

Hexachlorophene 의 Mannich Bases 합성 및 항미생물작용에 관한 연구

金 鍾 浩 · 裴 武* · 李 啓 準*

慶熙大學校 文理科大學 化學科

*韓國科學技術研究所, 應用微生物研究室

Studies on the Synthesis of Mannich Bases of Hexachlorophene and their Antimicrobial Activities

Jong Ho Kim* Moo Bae** Kye Joon Lee**

*Department of Chemistry, Kyung Hee University, Seoul, Korea

**Applied Microbiolog Lab., KOREA Institute of Science and Technology, Seoul, Korea

(Received April 30, 1973)

Abstract

Thirty-three Mannich bases of 2,2'-methylene bis (3,4,6-trichlorophenoxy-acetic acid) were synthesized hexachlorophene as potential antimicrobial agents and tested against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum*, *Epidermophyton floccosum*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae* in vitro. It was found that: 1) 2,2'-Methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(N,N-diethylamino) propionic acid] and 2,2'-methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(N,N-dimethylamino) propionic acid] were active against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* at the concn. of 1 μ g/ml respectively; 2) 2,2'-Methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(m-hydroxy-p-carboxyphenylamino) propionic acid] and 2,2'-methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(cyclohexylamino) propionic acid] were active against *Trichophyton rubrum* at the concn. of 2 μ g/ml respectively; 3) 2,2'-Methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(m-hydroxy-p-carboxyphenyl-amino) propionic acid] and 2,2'-methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(piperidino) propionic acid] were active against *Microsporum gypseum* at the concn. of 2 μ g/ml respectively; 4) 2,2'-Methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(m-hydroxyphenylamino) propionic acid], 2,2'-methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(m-hydroxy-p-carboxy phenylamino) propionic acid], 2,2'-methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(o-chlorophenylamino) propionic acid], 2,2'-methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(o-chloro-p-nitrophenylamino) propionic acid], 2,2'-methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(methylamino) propionic acid], 2,2'-methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(hydroxylamino) propionic acid], 2,2'-methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(cyclohexylamino) propionic acid], 2,2'-methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(morpholino) propionic acid], 2,2'-methylene bis [α -(3,4,6-trichlorophenoxy)- β -(p-sulfophenylamino) propionic acid] and 2,2'-methylene

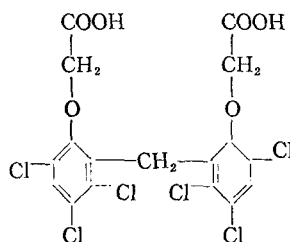
bis (α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(4-sulfo-1-naphthylamino) amic propionid [were active against *Epidermophyton floccosum* at the concn. of 1 μ g/ml respectively; 5) 2, 2'-Methylene bis (α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(m-hydroxyphenylamino) propionic acid), 2, 2'-methylene bis (α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(m-hydroxy-p-carboxyphenylamino) propionic acid), 2, 2'-methylene bis (α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(p-methylphenylamino) propionic acid) and 2, 2'-methylene bis (α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(hydroxylamino) propionic acid) were active against *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae* at the concn. of 1 μ g/ml respectively.

서 론

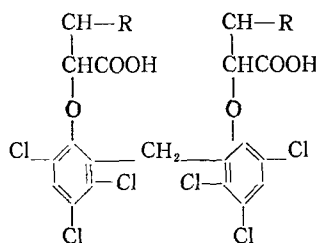
Chlorophenol 계통 화합물 및 그 금속염등이 현저한 항미생물작용이 있음이 보고된 이래 Gump^{1,2)}는 hexachlorophene 금속염의 항미생물작용, Ter Horst 등³⁾은 2, 3-dichloro-1, 4-naphthoquinone의 항미생물성, 또한 Gump 등⁴⁾은 3, 5, 3', 5'-tetrachloro-2, 2'-dihydroxydiphenyl의 항미생물성, Turner 등⁵⁾ 및 Block⁶⁾는 pentachlorophenol 금속염의 항미생물성 및 항조류성 등을 보고하였다. 한편 Pokorny⁷⁾가 chlorophenoxyacetic acid 계통 화합물을 합성한 이래 Marsh 등^{8,9)}은 Chlorophenoxyacetic acid 유도체인 2, 2'-methylene bis(4-chlorophenoxyacetic acid), hexachlorophene 및 bithionol 등을 포함한 여러 bisphenol 계통 화합물의 항미생물성 효과를 화학구조 적으로 비교하여 보고하였으며, 또한 Gregg 등¹⁰⁾, Grubb 등¹¹⁾ 및 Lawrence 등^{12,13)}은 hexachlorophene 및 bithionol의 항미생물성을 용도별로 하여 보고하였다. 특히 최근에 Noone¹⁴⁾은 항생물질에 의하여 내성이 생긴 미생물에 대하여 hexachlorophene이 매우 효과적으로 살균성을 나타내었다고 보고한바도 있거니와 한편 hexachlorophene은 어린아이의 세척용 살균제로 사용했을 때 독성을 나타낸다고 미국 F. D. A. 는 발표하였다.

그러므로 저자들은 이와 같은 hexachlorophene의 독성을 저하시키고 한편 더욱 효과적인 항미생물성을 나타낼 수 있는 화합물을 얻을 목적으로 hexachlorophene에 monochloroacetic acid를 반응^{7,15,16,17)}시켜 새로운 화합물인 2, 2'-methylene bis(3, 4, 6-trichlorophenoxyacetic acid)를 합성하고 이것을 모체화합물로 하여 여러 amine들과 Mannich 반응^{18,19,20)}을 시켰다. 그리하여 새로운 Mannich base 유도체 33종류를 합성하였으며 이 33종류의 새 화합물과 전술한 모체화합물에 대하여 hexachlorophene을 대조화합물로 하여 첫 실험단계로서 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Microsporum gypseum*, *Epidermophyton*

floccosum, *Trichophyton rubrum*, *Aspergillus niger* 및 *Aspergillus oryzae*에 대하여 항미생물작용을 비교하였다.



2, 2'-methylene bis (3, 4, 6-trichlorophenoxyacetic acid)



Mannich base of 2, 2'-methylene bis (3, 4, 6-trichlorophenoxyacetic acid)

실험 방법

Hexachlorophene 유도체의 합성

방법 A: 2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichlorophenoxyacetic acid) 0.01 mole, 8종류의 amine 각각 0.02 mole 및 paraformaldehyde 0.02 mole을 95% EtOH 200ml 에 가운용해시킨후 conc. HCl 1 ml를 가하고 6시간 reflux시킨다. 증발농축한 후 방치하여 얻은 침전을 EtOH-H₂O로 재결정한다.

방법 B: 방법 A에서 처음으로 얻은 침전을 10% NaOH에 용해하여 여과한 후 여액에 dil. HCl을 가하여 pH 6.0으로 할때에 얻은 침전을 EtOH-H₂O 또는 D. M. F. -H₂O (22, 24, 29번 화합물)로 재결정한다.

항균성 시료액용의 조제

Table 1의 새 합성화합물 34종류 및 Hexachlorophene을 각각 50mg씩 평량하여 ethanol에 용해시키고 증유수를 첨가하여 Hamada등²¹⁾의 방법에 의하여 최종농도가 20% ethanol 용액중 1000 μ g/ml의 시액을 만들고 추가하여 20% ethanol 용액으로 희석 시키므로써 500, 100, 20, 10 μ g/ml의 시료용액을 조제하였다. 항진균성 시험용시료는 20% ethanol 용액에 Tween 60을 0.1% 첨가하였다.

Hexachlorophene 유도체의 항균성시험

(1) 항세균성시험법

사용한 검정균은 *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 및 *Escherichia coli* ATCC 14169의 세종류이었다.

각 검정균을 Nutrient broth(Bacto)배지에 24시간 배양한후 이 배양액을 멸균해둔 시험관에 무균적으로 각각 0.9 ml 식을 주입하고 여기에 각종 합성화합물 및 각종 농도의 조제시료액 0.1ml 식을 가한후(최종시료농도는 10배로 희석됨) 진탕하면서 1시간을 경과시킨다음 이 액을 멸균해서 준비해둔 Nutrient액체배지에 백금이로 3회 접종하였다.

생장최적온도의 incubators에서 24~48시간 경과된후 세균발육 유무로 항균력을 검정하였다.

(2) 항진균시험법

사용된 진균은 *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum**, *Epidermophyton floccosum**, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*이었고, 배지는 Sabouraud glucose agar medium²²⁾를 pH 6.8로 조절하여 멸균한 후 사용하였다.

검정방법은 Sabouraud 배지를 시험관에 각각 4.5ml 식을 무균적으로 주입한 후 여기에 각 시료 0.5ml 식을 가(이때 각 시료는 10배로 희석됨)한 다음 autoclave내에서 121°C, 15Lbs. 증기압하에서 20분간 멸균하여 사면배지를 만든다. 여기에 각각 진균을 이식시킨후 *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum*, *Epidermophyton floccosum*은 37°C, *Aspergillus niger*와 *Aspergillus oryzae*는 28°C에서 배양하므로써 *T. rubrum*은 37°C에서 10일후에, *M. gypseum*은 37°C에서 96시간후에, *E. floccosum*은 37°C에서 7일후에, *Asp. niger* 및 *Asp. oryzae*는 28°C에서 7일후의 발육억제로 각각 검정하였다.

*Strains were obtained from Dept. of Clinical Pathology, Seoul National University Hospital

결과 및 고찰

1. Hexachloropene 유도체 합성

2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichlorophenoxyacetic acid) (1) Hexachlorophene 4.07g(0.01 mole) 및 monochloroacetic acid 1.9g (0.02 mole)을 20% NaOH 10ml 에 가온용해시키고 100°C에서 6시간 반응시킨후 10% HCl을 pH 6.0이 될때까지 교반하면서 서서히 가한다. 이때 생긴 백색 침전을 H₂O로 세척, EtOH-H₂O로 재결정하여 백색 결정을 얻었다. 收率은 4.8g(92%), mp 149-150°

2, 2'-Methylene bis [α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(*o*-carboxyphenylamino)propionic acid] (2) 방법 A로 합성하여 등황색 결정을 얻었다. 收率 4.3g(52%), mp 158-160°

2, 2'-Methylene bis [α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(*m*-carboxyphenylamino) propionic acid] (3) 방법 A로 합성하여 갈색 결정성 분말을 얻었다. 收率 5.0g(61%), mp 135-136°

2, 2'-Methylene bis [α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(*p*-carboxyphenylamino) propionic acid] (4) Method A로 합성하여 갈색 결정성 분말을 얻었다. 收率 4.6g(56%), mp 72-74°

2, 2'-Methylene bis [α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(*o*-hydroxyphenylamino) propionic acid] (5) 방법 A로 합성하여 황갈색 결정성 분말을 얻었다. 收率 3.9g (51%), mp 138-139°

2, 2'-Methylene bis [α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(*m*-hydroxyphenylamino) propionic acid] (6) 방법 A로 합성하여 황갈색 결정성 분말을 얻었다. yield 3.6g(47%), mp 165-166°

2, 2'-Methylene bis [α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(*p*-hydroxyphenylamino) propionic acid] (7) Method A로 합성하여 홍백색 결정성 분말을 얻었다. 收率 3.8g(50%), mp 134-135°

2, 2'-Methylene bis [α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(*p*-methoxyphenylamino) propionic acid] (8) 방법 A로 합성하여 백색 침상결정을 얻었다. 收率 3.8g(48%), mp 154-155°

2, 2'-Methylene bis [α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(*m*-hydroxy-*p*-carboxy phenylamino) propionic acid] (9)

방법 A로 합성하여 갈색 결정성 분말을 얻었다. 收率 5.5g (64%), mp 148-149° (dec.)

2, 2'-Methylene bis [α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-

β-(*o*-nitrophenylamino) propionic acid] (10)

방법 B로 합성하여 황색 결정성 분말을 얻었다.
收率 5.9g (72%), mp 141-142°

2, 2'-Methylene bis[α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(*m*-nitrophenylamino) propionic acid] (11)

방법 B로 합성하여 갈색 결정성 분말을 얻었다.
收率 3.8g (46%), mp 152-153°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(*p*-nitrophenylamino) propionic acid] (12)

방법 B로 합성하여 황색 결정성 분말을 얻었다.
收率 5.1g(62%), mp 141-142°

2, 2'-Methylene bis[α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(*o*-chlorophenylamino) propionic acid] (13)

방법 B로 합성하여 황색 결정성 분말을 얻었다.
收率 6.2g (77%), mp 129-130°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(*p*-chlorophenylamino) propionic acid] (14)

방법 B로 합성하여 백색 결정성 분말을 얻었다.
收率 3.8g(47%), mp 158-159°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(*o*-chloro-*p*-nitrophenylamino) propionic acid] (15)

방법 B로 합성하여 백색 결정성 분말을 얻었다.
收率 4.1g(50%), mp 138-139°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(*o*-methyl-*p*-nitrophenylamino)propionic acid] (16)

방법 B로 합성하여 백색 결정성 분말을 얻었다.
收率 4.4g (52%), mp 160-161°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(*o*-methylphenylamino) propionic acid] (17)

방법 B로 합성하여 회백색 결정성 분말을 얻었다. 收率 4.8g (63%), mp 141-142°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(*p*-methylphenylamino) propionic acid] (18)

방법 B로 합성하여 유흘백색 결정성 분말을 얻었다. 收率 4.2g (55%), mp 139-140°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(phenylamino) propionic acid] (19)

방법 B로 합성하여 백색 침상 결정을 얻었다.
收率 3.6g(49%), mp 161-162°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(phenylhydrazino) propionic acid] (20)

방법 B로 합성하여 적갈색 결정성 분말을 얻었다. 收率 5.4g(71%), mp 125-126°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)

-β-(methylamino) propionic acid] (21)

방법 B로 합성하여 백색 침상 결정을 얻었다.
收率 4.1g(67%), mp 96-97°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(N,N-dimethylamino) propionic acid] (22)

방법 B로 합성하여 황백색 결정을 얻었다.
收率 3.1g(49%), mp 251-252° (dec.)

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(ethylamino) propionic acid] (23)

방법 B로 합성하여 황백색 결정성 분말을 얻었다. 收率 4.0g(63%), mp 204-205°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(N,N-diethylamino) propionic acid] (24)

방법 B로 합성하여 황백색 결정을 얻었다.
收率 4.4g (63%), mp 189-190°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(*n*-butylamino) propionic acid] (25)

방법 B로 합성하여 백색 결정을 얻었다. 收率 4.7g(68%), mp 145-147°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(ethanolamino) propionic acid] (26)

방법 B로 합성하여 황색 결정성 분말을 얻었다.
收率 4.7g(71%), mp 237-239°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(N,N-diethanolamino) propionic acid] (27)

방법 B로 합성하여 등색 결정성 분말을 얻었다.
收率 4.3g(57%), mp 96-98°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(hydroxylamino) propionic acid] (28)

방법 B로 합성하여 백색 결정성 분말을 얻었다.
收率 4.1g(57%), mp 162-163°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(cyclohexylamino) propionic acid] (29)

방법 B로 합성하여 백색 결정성 분말을 얻었다.
收率 5.3g(71%), mp 218-219°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(piperidino) propionic acid] (30)

방법 B로 합성하여 회적색 결정성 분말을 얻었다. 收率 4.6g (64%), mp 133-134°

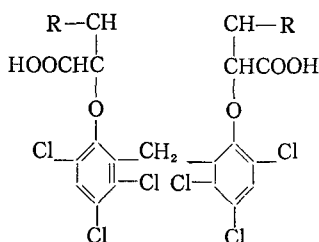
2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(morpholino) propionic acid] (31)

방법 B로 합성하여 백색 침상결정을 얻었다.
收率 4.4g(61%), mp 226-228°

2, 2'-Methylene bis [α-(3, 4, 6-trichlorophenoxy)-β-(2-pyridylamino) propionic acid] (32)

방법 B로 합성하여 갈색 결정성 분말을 얻었다.

Table. I Mannich Bases of 2,2'-Methylene bis (3,4,6-trichlorophenoxyacetic acid)



No.	R	Recryst. Solvent	m. p. (°C)	Yield (%)	Formula	Anal. C. H. N (%)					
						Calcd.			Found		
						C	H	N	C	H	N
1	H	EtOH-H ₂ O	149-150	92	C ₁₇ H ₁₀ O ₆ C ₁₆	39.00	1.91		38.5	1.91	
2	<i>o</i> -HOOC C ₆ H ₄ NH	"	158-160	52	C ₃₃ H ₂₄ N ₂ O ₁₀ C ₁₆	48.23	2.92	3.41	47.9	2.55	3.27
3	<i>m</i> -	"	135-6	61	C ₃₃ H ₂₄ N ₂ O ₁₀ Cl ₆	48.23	2.92	3.41	48.7	3.29	3.54
4	<i>p</i> -	"	72-4	56	C ₃₃ H ₂₄ N ₂ O ₁₀ Cl ₆	48.23	2.92	3.41	48.5	3.40	3.37
5	<i>o</i> -HOC C ₆ H ₄ NH	"	138-9	51	C ₃₁ H ₂₄ N ₂ O ₈ Cl ₆	48.62	3.14	3.66	48.9	2.84	3.52
6	<i>m</i> -	"	165-6	47	C ₃₁ H ₂₄ N ₂ O ₈ Cl ₆	48.62	3.14	3.66	47.9	2.74	3.61
7	<i>p</i> -	"	134-5	50	C ₃₁ H ₂₄ N ₂ O ₈ Cl ₆	48.62	3.14	3.66	48.1	3.54	3.69
8	<i>p</i> -CH ₃ OC C ₆ H ₄ NH	"	154-5	48	C ₃₃ H ₂₈ N ₂ O ₈ Cl ₆	49.81	3.53	3.53	50.2	3.72	3.66
9	<i>n</i> -HO-P-HOOC C ₆ H ₃ NH	"	148-9 (dec.)	64	C ₃₃ H ₂₄ N ₂ O ₁₂ Cl ₆	46.42	2.88	3.28	46.8	2.92	3.17
10	<i>o</i> -NO ₂ C ₆ H ₄ NH	"	141-2	72	C ₃₁ H ₂₂ N ₄ O ₁₀ Cl ₆	45.20	2.67	6.80	45.4	2.64	6.67
11	<i>m</i> -	"	152-3	46	C ₃₁ H ₂₂ N ₄ O ₁₀ Cl ₆	45.20	2.67	6.80	44.7	3.17	6.96
12	<i>p</i> -	"	141-2	62	C ₃₁ H ₂₂ N ₄ O ₁₀ Cl ₆	45.20	2.67	6.80	45.7	2.17	6.74
13	<i>o</i> -ClC ₆ H ₄ NH	"	129-130	77	C ₃₁ H ₂₂ N ₂ O ₆ Cl ₈	46.38	2.74	3.49	46.8	2.54	3.31
14	<i>p</i> -	"	158-9	47	C ₃₁ H ₂₂ N ₂ O ₆ Cl ₈	46.38	2.74	3.49	45.9	3.14	3.58
15	<i>o</i> -Cl- <i>p</i> -NO ₂ C ₆ H ₃ NH	"	138-9	50	C ₃₁ H ₂₀ NO ₁₀ Cl ₈	41.70	2.24	6.27	41.4	2.62	6.21
16	<i>o</i> -CH ₃ - <i>p</i> -NO ₂ C ₆ H ₃ NH	"	160-1	52	C ₃₃ H ₂₆ N ₄ O ₁₀ Cl ₆	46.53	3.06	6.58	46.1	2.84	6.71
17	<i>o</i> -CH ₃ C ₆ H ₄ NH	EtOH-H ₂ O	141-2	63	C ₃₃ H ₂₈ N ₂ O ₆ Cl ₆	52.03	3.67	3.68	51.9	3.24	3.14
18	<i>p</i> -	"	139-140	55	C ₃₃ H ₂₈ N ₂ O ₆ Cl ₆	52.03	3.67	3.68	52.4	4.07	3.79
19	C ₆ H ₅ NH	"	161-2	49	C ₃₁ H ₂₄ N ₂ O ₆ Cl ₆	50.75	3.27	3.83	50.2	3.04	3.99
20	C ₆ H ₅ NHNH	"	125-6	71	C ₃₁ H ₂₆ N ₄ O ₆ Cl ₆	48.75	3.41	7.33	49.2	3.17	7.48
21	CH ₃ NH	"	96-7	67	C ₂₁ H ₂₀ N ₂ O ₆ Cl ₆	41.37	3.28	4.60	40.9	3.09	4.47
22	CH ₃ > N CH ₃	D. M. F. -H ₂ O	251-2 (dec.)	43	C ₂₃ H ₂₄ N ₂ O ₆ Cl ₆	43.32	3.77	4.40	42.9	3.54	4.61
23	C ₂ H ₅ NH	EtOH-H ₂ O	204-5	63	C ₂₃ H ₂₄ N ₂ O ₆ Cl	43.32	3.77	4.40	43.8	3.27	4.32
24	C ₂ H ₅ > N C ₂ H ₅	D. M. F. -H ₂ O	189-190	63	C ₂₇ H ₃₂ N ₂ O ₆ Cl ₆	46.75	4.61	4.04	47.3	4.47	4.12
25	<i>n</i> -C ₄ H ₉ NH	EtOH-H ₂ O	145-7	68	C ₂₇ H ₃₂ N ₂ O ₆ Cl ₆	46.75	4.61	4.04	46.9	4.11	3.87
26	HOCH ₂ CH ₂ NH	"	237-9	71	C ₂₃ H ₂₄ N ₂ O ₈ Cl ₆	41.26	3.58	4.19	40.7	3.49	3.98
27	(HOCH ₂ CH ₂) ₂ N	"	96-8	57	C ₂₇ H ₃₂ N ₂ O ₁₀ C ₆	42.80	4.22	3.70	42.5	4.04	3.56
28	HONH	"	162-3	57	C ₁₉ H ₁₆ N ₂ O ₆ Cl ₆	37.19	2.61	4.57	36.7	2.43	4.73
29	C ₆ H ₁₁ NH	D. M. F. -H ₂ O	218-9	71	C ₃₁ H ₃₆ N ₂ O ₆ Cl ₆	49.93	4.83	3.77	50.5	5.04	3.58
30	C ₅ H ₁₀ N	EtOH-H ₂ O	133-4	64	C ₂₉ H ₃₂ N ₂ O ₆ Cl ₆	48.54	4.46	3.90	49.1	4.22	4.07
31	OC ₄ H ₉ N	"	226-8	61	C ₂₇ H ₂₈ N ₂ O ₆ Cl ₆	44.32	3.81	3.81	44.7	3.74	3.72
32	2-(C ₆ H ₄ N)NH	"	96-7	48	C ₂₉ H ₂₂ N ₄ O ₆ Cl ₆	47.35	3.03	7.62	47.9	3.04	7.75
33	<i>p</i> -HO ₃ SC ₆ H ₄ NH	"	243-4 (dec.)	52	C ₃₁ H ₂₄ N ₂ O ₁₂ S ₂ Cl ₆	41.65	2.68	3.14	41.6	2.95	3.02
34	<i>p</i> -HO ₃ SG ₁₀ H ₆ NH	"	123-4	41	C ₃₉ H ₂₈ N ₂ O ₁₂ S ₂ Cl ₆	47.13	2.81	2.81	46.9	2.84	2.98

Table II. Microbial Inhibitory Concentration ($\mu\text{g/ml}$) of Mannich Bases of
2, 2'-Methylene bis(3, 4, 6-trichlorophenoxyacetic acid)

Microorganism Compd.	St. aureus a)	B. subtilis b)	E. coli a)	T. rubrum c)	M. gypseum d)	E. e) floccosum	Asp. niger f)	Asp. f) oryzae
1	10	10	100<	100	100<	10	10	10
2	10	10	100<	50	100	10	10	10
3	50	10	100<	50	100	10	10	10
4	10	2	100<	50	50	2	2	2
5	50	10	100<	100	100	2	2	2
6	50	10	100<	100	100	1	1	1
7	50	10	100<	50	50	2	2	2
8	100	100	100<	100	100	10	50	50
9	10	2	100<	2	2	1	1	1
10	10	10	100<	100	100	2	2	2
11	10	10	100<	100	100	2	2	2
12	10	10	100	50	50	10	2	2
13	10	50	100<	50	100	1	2	2
14	10	50	100<	50	50	10	2	2
15	50	2	100<	100	100<	1	10	10
16	10	100	100<	10	50	10	2	2
17	10	10	100<	10	50	10	2	2
18	2	10	100<	10	10	2	1	1
19	50	100	100<	10	50	50	2	2
20	50	2	100<	50	100	10	10	10
21	10	2	100	50	50	1	2	2
22	2	1	100	50	50	10	10	10
23	10	2	100	50	50	2	2	2
24	1	2	100	50	50	10	10	10
25	10	2	100	50	50	10	10	10
26	50	10	100<	100	100	10	50	50
27	50	10	100<	100	100	10	50	50
28	50	10	100<	100	100<	1	1	1
29	10	10	100<	2	100	1	2	2
30	50	10	100<	50	2	10	10	10
31	50	2	100<	50	50	1	10	10
32	50	2	100<	100	100<	50	100	100
33	50	10	100<	50	100	1	50	50
34	50	2	100<	10	10	1	10	10
Hexachlorophene	10	10	100<	100	100<	10	10	10

a) Nutrient broth bacto medium (35°, 24-48 hrs.)

b) Nutrient broth bacto medium (30°, 24-48 hrs.)

c) Sabouraud medium (37°, 10 days)

d) Sabouraud medium (37°, 96 hrs.)

e) Sabouraud medium (37°, 7 days)

f) Sabouraud medium (28°, 7 days)

率收 3.5g(48%), mp 96-97°

2, 2'-Methylene bis [α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(*p*-sulfophenylamino) propionic acid] (33)

화합물(1) 5.23g(0.01 mole), sulfanilic acid 3.46g(0.02 mole)과 paraformaldehyde 0.6g(0.02 mole)을 50% EtOH 200ml 에 가온용해시킨 후 conc. HCl 1ml 을 가하고 6 시간 reflux시킨다. 반응이 완료된 후 그 반응액에 EtOH를 가하고 실온에 방치하면 황백색 침전이 생성된다. 이 침전을 EtOH-H₂O로 재결정하여 황백색 결정성 분말을 얻었다. 收率 4.6g(52%), mp 242-244°(dec.)

2, 2'-Methylene bis [α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(4-sulfo-1-naphthylamino) propionic acid] (34)

화합물 (33)의 합성방법으로 합성하여 암갈색 결정성 분말을 얻었다. 收率 4.1g (41%), mp 123-124°

본 연구에서 보고된 hexachlorophene 유도체들은 원 hexachlorophene과는 달리 유기용매인 ethyl, ether, benzene, chloroform, 및 acetone 등에 잘 용해되지 않았으며 따라서 그들의 염산염도 얻기가 곤란하였다.

2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichlorophenoxy acetic acid)는 Mannich반응이 비교적 용이하게 이루어 진다는 것이 확인되었으며 따라서 Mannich 반응의 반응범위를 넓혀 놓았다.

2. 합성 물질의 항미생물작용

Table 2에서 알 수 있는 바와같이 새로 합성된 Hexachlorophene유도체들중 12종은 *B. Subtilis*에 대해 Hexachlorophene보다 강한 항세균성작용을 나타냈다. 그중 화합물 22 및 24는 *S. t. aureus*와 *B. subtilis* 양세균에 대하여 5 배 내지 10배 강한 항세균작용을 가진다는 사실이 밝혀졌다.

한편 진균류에 대해서도 Hexachlorophene 보다 강한 그 유도체가 많음을 알 수 있으나 특히 화합물 9는 . 항진균성이 현저하여 그 저지력은 *T. rubrum* 및 *M. gypseum*에 대하여는 Hexachlorophene에 비교하면 50배나 되며, *E. floccosum*, *Asp. niger* 및 *Asp. oryzae*에 대해서는 10배에 달할뿐 아니라 실험에 사용한 5종의 진균류 모두에 대하여 항균력을 가지고 있음이 밝혀진 것이다. 이 화합물이 현저한 항균력을 나타내는 그 작용기전에 관해서는 흥미있는 바이며 금후의 연구과제가기도 하다.

요 약

34종의 Hexachlorophene유도체가 합성되었으며

그 각각의 화합물에 대하여 항균성시험이 행해졌다. 검정균은 세종류의 세균과 무좀균(백성균)을 포함한 5종류의 진균류이다. 시험결과는

1. 2, 2'-Methylene bis [α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(N,N-diethylamino) propionic acid] 및 2, 2'-methylene bis [α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(N,N-dimethylamino) propionic acid]는 *Sta. aureus*와 *B. subtilis*에 대해 강한 항균작용을 나타냈다.

2, 2, 2'-methylene bis [α -(3, 4, 6-trichlorophenoxy)- β -(*m*-hydroxy-*p*-carboxyphenylamino) propionic acid]는 특히 진균류의 생장저해작용이 강하며 *Trichophyton rubrum* 및 *Microsporium gypseum*에는 2 μ g/ml의 농도에서 항균성을 가지며, *Epidermophyton floccosum* *Aspergillus niger* 및 *Aspergillus oryzae*에 대해서는 1 μ g/ml의 농도에서 항균성을 나타냄으로서 Hexachlorophene 항균성의 10배 내지 50배의 항균력을 가진다.

3. 34종류의 합성물질중 원 Hexachlorophene에 비해 5종류의 진균류에 대해 부분적으로나마 강한 항균력을 나타내는 물질은 23종류였고 3종류의 세균에 대해선 13종류였다.

References

- Gump, W. S. U. S. Pat. , 2, 272, 267, 2, 272, 268 (1942)
- Gump, W. S. U. S. Pat. , 2, 253, 725(1944).
- Ter Horst, W. P. and E. L. Felix, Ind. Eng. Chem. , 35, 1255 (1943)
- Gump, W. S. and M. Luthy, U. S. Pat. , 2, 353, 724 (1944).
- Turner, H. J. D. M. Reynolds and A. C. Redfield, Ind. Eng. Chem. , 40, 450 (1948).
- Block, S. S. Ind. Eng. Chem. , 41, 1783 (1949).
- Pokorny, R. J. Am. Chem. Soc. , 63, 1768 (1941).
- Marsh, P. B. M. L. Butler, Ind. Eng. Chem. 38, 701 (1946).
- Marsh, P. B. M. L. Butler and B. S. Clark, Ind. Eng. Chem. , 41, 2176 (1949).
- Gregg, R. M. and L. C. Zopf, J. Am. Ph. A. , 40, 390 (1951).
- Grubb, T. C. and H. A. Wands, J. Am. Ph. A. , 41, 59 (1952).

12. Lawrence, C. A. and A. L. Erdlandson, J. Am. Ph. A., **42**, 352(1953).
13. Lawrence, C. A. and A. L. Erdlandson, Science, **118**, 274 (1953).
14. Noone, P. Pharm. J. (London), **25**, 118 (1970).
15. Haskelberg, L. J. Org. Chem., **12**, 426 (1947).
16. Ebel, E. J. Bell, A. Fries, C. Kasey and J. M. Berkebile, J. Chem. Educ., **24**, 449 (1947).
17. Buckless, R. E. and S. Wawzonek, J. Chem. Educ., **25**, 514 (1948).
18. Adams, R., L. F. Fieser, W. E. Bachmann, T. R. Johnson and H. R. Snyder, Org. React., **6**, **1**, 303 (1957).
19. Blick F. F. and F. J. McCarty, J. Org. Chem. **24**, **8**, 1061 (1959).
20. S. V. Lieberman and E. C. Wagner, J. Org. Chem., **14**, **6**, 1001 (1949).
21. Hamada, Y., H. Matsuoka and H. Fukatsu, J. Pharm. Soc. Jap., **91**, **5**, 565 (1971).
22. Hamada Y. and F. Tomita, J. Pharm. Soc. Jap., **88**, **11**, 1361 (1968).