

2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloroacetoxy benzene) 유도체에 관한 연구

제 1 보 합성 및 항균성

柳洲鉉 · *金鍾浩 · **史惠淳 · **尹惠禎 · 梁隆 · 金有三

연세대학교 식품공학과

*경희대학교 화학과

**이화여자대학교 약학과

Studies on Derivatives of 2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloroacetoxy benzene)

Part 1. Synthesis and Antimicrobial Sensitivity

Ju Hyun Yu, *Jong Ho Kim, **Hae Sun Sa

*Hae Jung Yun, Ryung Yang and Yu Sam Kim

Department of Food Engineering, Yonsei University,

*Department of Chemistry, Kyunghee University,

**Department of Pharmacy, Ewha Wemen's University, Seoul, Korea,

(Received May 9, 1973)

Abstract

2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloroacetoxy benzene) had been synthesised from Hexachloro-phene.

The eleven new derivatives -(2, 2'Methylene bis {3, 4, 6-trichloro o-(β -anilinopropionoxy) benzene: m. p 173~4°C $C_{31}H_{24}N_2O_4Cl_6$, 2, 2' Methylene bis {3, 4, 6-trichloro (β -Cyclohexylaminopropionoxy) benzene}: M. P. 187~8°C, $C_{31}H_{36}N_2O_4Cl_6$, 2, 2'-Methylene bis {3, 4, 6-trichloro (β -phenyl hydrazinopropionoxy) benzene}; M. P. 151~3°C, $C_{33}H_{28}N_2O_4Cl_6$, 2, 2'-Methylene bis {3, 4, 6-trichloro (β -o-toluidinopropionoxy) benzene}; M. P. 172~3°C, $C_{33}H_{28}N_2O_4Cl_6$, 2, 2'-Methylene bis {3, 4, 6-trichloro (β -p-todudinopropionoxy) benzene}; 153~4°C, $C_{33}H_{28}N_2O_4Cl_6$, 2, 2'-Methylene bis {3, 4, 6-trichloro (β -o-chloro anilinopropionoxy) benzene}; 170~2°C, $C_{31}H_{27}N_2Cl_8O_4$, 2, 2'-Methylene bis {3, 4, 6-trichloro (β -p-sulfaminopropionoxy) benzene}; M. P. 310~5°C, $C_{31}H_{24}N_2S_2O_{10}Cl_6$, 2, 2'-Methylene bis {3, 4, 6-trichloro (β -piperidinopropionoxy) benzene}; M. P. 168~2°C, $C_{29}H_{32}N_2O_4Cl_6$, 2, 2'-Methylene bis {3, 4, 6-trichloro (β -morpholino propionoxy) benzene}; M. P. 226~8°C, $C_{27}H_{28}N_2O_6Cl_6$, 2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloro (β -2-amino pyridino propionoxy) benzene); M. P. 145~6°C, $C_{29}H_{22}N_4O_4Cl_6$ —were synthesized by Mannichs reaction as potential antimicrobial agents and their antimicrobial activity were tested against *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas ovalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*,

aerogenes, *Bacillus Acerobacter Polymyxa*, *Bacillus brevis*, *Streptomyces griseus*, *Candida tropicalis*, *Rhodotorula glutinis*, *Candida utilis*, *Hansenula anomala*, *Saccharomyces cerevisiae* in vitro. Among them, compounds of benzylamine and p-toluidine showed an effective antimicrobial activity against *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas ovalis*.

머 리 말

以前 부터 Chlorophenol 계 화합물 및 그 금속염 등은 이상적인 살균제로서 보고되어 왔다. Porkorny(1941)¹⁾는 2, 4, 5-trichlorophenol Zn 염의 항균성에 대해, Turner 및 Reynold(1948)²⁾ 등은 Pentachlorophenol의 항균성에 대해, Colbert(1946)³⁾ 등은 o-phenylphenol 및 2-chloro-4-phenylphenol-Na 염의 항균성에 대해 그 항균작용을 보고하였다. Gump(1944)⁴⁾가 Hexachlorophene의 강력한 항균작용을 보고한 이래 Gregg 등(1951)⁵⁾ Grubb 등(1952)⁶⁾ Lawrence 등(1953)^{7,8)} 등도 Hexachlorophene 및 bithinol의 항균성을 용도별로 실험보고했다. 근자에 와서 Noone(1970)⁹⁾은 일반 항생제에 의해 내성균주가 된 곳에 외용살균제로서 hexachlorophene이 현저한 효과는 나타내었다고 보고했다. 필자는 강한 살균력이 있는 hexachlorophene으로 부터 2, 2'-Methylene bis(3, 4, 6-trichloroacetoxy benzene)을 합성한 후 이를 모체 화합물로 하여 Mannich¹⁰⁾반응에 의해 11종의 새로운 화합물을 합성하고 그 항균성을 검토하였다.

재료 및 실험방법

1. 항균성 검정균주

세균은 *Bacillus subtilis* Natto 11~6IAM 1136, *Pseudomonas ovalis* IAM 1002, *Escherchia coli* 0111B4 NCDC *Staphylococcus aureus* FAD 2099 IAM 1058, *Aerobacter aerogenes* ATCC 8308 IAM 1063, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus brevis* IFO 3331 IAM 1031, *Streptomyces griseus* IAM 0070 *Streptomyces griseolus* IAM 0021을 사용하였고 효모의 검정균주는 *Candida tropicalis*(cast)IAM 4862, *Rhodotorula glutinis* IAM 4642, *Candida utilis* IAM 4215, *Candida albicans* IAM 4888, *Hansenula anomala* H. st. Sydow IAM 4213, *Saccharomyces cerevisiae* 등을 사용하였다.

2. 항균성 검정배지

세균의 검정배지는 beef extract 3.0g과 Polypeptone 5.0g 및 agar 20g을 증류수 1000ml에 용해

시켜 pH 7로 조절하였으며, 효모용 배지는 Koji extract에 포도당 1%, 한천 2%가 되도록 첨가후 pH 5로 조절하여, 이들 배지를 1 kg/cm² 증기압하에 15분간 멸균하여 사용했다.

3. 항균성 검정시료

합성한 새로운 합성화합물 11종 hexachlorophene 및 2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloroacetoxy benzene) (MTAB라 약함)을 각각 100mg을 평량하여 acetone 100ml에 용해시켜 최종농도가 1000 μ g/ml 되게한 시료를 paper disk에 흡착시켜 사용했다.

4. 합성법

1) 2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloroacetoxy benzene)의 합성법

기저화합물인 MTAB는 hexachlorophene 4.07g (0.02 mol)을 acetic acid 10ml에 용해시킨 후 aceticanhydride 10 mg를 추가하여 12시간 수욕상에서 교반하여 얻은 백색의 결정을 합성재료로 하였다.

2) 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro-(β -anilinopropionoxy) benzene]의 합성법

MTAB 4.91g(0.02 mol), aniline 1.80g (0.02 mol), paraformaldehyde 0.6g (0.02 mol)을 ethanol 200ml에 가하고 가온하여 녹인후 알콜성 농염산 0.25 ml를 가하고 열판 자석교반기에서 6시간 환류반응하여 증발 농축하고 Dimethylformamide 및 물의 동용혼액(이하 D. M. F-H₂O로 약함)으로 재결정하여 백색결정을 얻었다. 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro (β -cyclohexylaminopropionoxy) benzene], 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro(β -phenylhydrazinopropionoxy) benzene], 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro (β -benzylaminopropionoxy) benzene], 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro (β -o-toluidinopropionoxy) benzene], 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro(β -p-toluidinopropionoxy) benzene], 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro-(β -o-chloroanilinopropionoxy) benzene], 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro-(β -p-sulfanilino propionoxy) benzene] 및 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro-(β -piperidinopropionoxy) benzene]등도 위와 같은 방법으로 합성했다.

3) 2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloro-(β -morpholinopropionoxy) benzene)의 합성법

MTAB 4.91g(0.02 mol), morpholine 1.74g(0.02 mol)과 paraformaldehyde 0.6g(0.02 mol)을 methanol 200ml에 가하고 가운하여 녹인후 methanolic 농염산(1:1) 0.25ml를 가하고 열판 자석교반기에서 20시간 환류반응한 후 ethanol 및 물의 동용혼액으로 재결정하여 백색결정을 얻었다.

4) 2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloro (β -2-aminopyridinopropionoxy) benzene)의 합성법

MTAB 4.91g (0.02 mol), 2-aminopyridine 1.88g (0.02 mol), paraformamide 0.6g (0.02 mol)을 2)의 합성방법으로 합성하여 D. M. F-H₂O로 재결정하여 백색결정성 분말을 얻었다.

5) 항균성 검정법

Paper disk method¹¹⁾

각 세균을 액체배지에 접종하여 30°C에서 24시간 진탕배양한다. 이 균액을 한천배지 25ml을 멸균 용해시켜서 Petri dish에 부어 두께 5mm정도로 만든 한천평판배지위에 부어 접종하고, 그 위에 각 합성화합물의 acetone 용액을 흡착시켜 말린 paper disk(지름 7mm)를 얹어 37°C에서 18시간 배양한 후 disk돌레에 균이 발육저지된 clear zone의 직경을 측정하여 항균성을 검사하였다.

결과 및 고찰

1. 2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloroacetoxy benzene)유도체의 합성




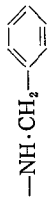
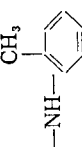
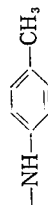
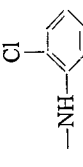
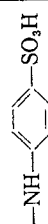
2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloroacetoxy benzene)을 모체화 합물로 하여 aniline, cyclohexylamine, phenylhydrazine, o-chloroaniline, sulfanilic acid, o-toluidine, p-toluidine, piperidine, morpholine, 2-aminopyridine을 paraformamide와 Mannich반응¹²⁾ 시켜서 얻었다. kim 등에 의해 2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloroacetoxy benzene)에 대한 연구가 있었으며 Yu⁽¹⁾, Lee⁽²⁾ 등에 의해 2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloroacetoxy benzene)의 hydroxylamine유도체에 대한 연구 발표가 있었다. 그후 현재까지 다른 유도체에 대한 연구 발표가 없었으며 합성한 11가지 유도체는 새로운 물질이다. 새로운 합성화합물의 명칭을 국제명명법에 따라 명명하면 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro-(β -anilinopropionoxy) benzene], Yield : 37%, M. P. : 173~4°C, Anal. Calcd. for C₃₁H₂₄N₂O₄Cl₆ : N, 3.99%, Found : N, 3.97%, 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro (β -

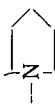
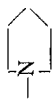
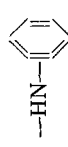
cyclohexylaminopropionoxy) benzene], Yield : 31%, M. P. : 186~8°, Anal. Calcd. for C₃₁H₃₆N₂O₄Cl₆ : N, 3.93% Found : N, 4.12%, 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro (β -phenylhydrazinopropionoxy) benzene], Yield : 34%, M. P. : 160~2°, Anal. Calcd. for C₃₁H₂₈N₄O₄Cl₆ : N, 7.63%, Found : N, 8.01%, 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro (β -benzylamino propionoxy) benzene] Yield : 52%, M. P. : 151~3°, Anal. Calcd for C₃₃H₂₈N₂O₄Cl₆ : N, 3.84%, Found : N, 3.99%, 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro (β -o-toluidinopropionoxy) benzene] Yield : 32%, M. P. : 172~3°, Anal. Calcd. for C₃₃H₂₈N₂O₄Cl₆ : N, 3.84% Found : N, 4.0%, 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro (β -p-toluidinopropionoxy) benzene] Yield : 45%, M. P. : 153-4°, Anal. Calcd. for C₃₃H₂₈N₂O₄Cl₆ : tN, 3.84%, Found : N, 3.69%, 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro-(β -o-chloroanilinopropionoxy) benzene] Yield : 43.9, M. P. : 170~2° Anal. Calcd. for C₃₁H₂₂N₂Cl₆O₄ : N, 3.64% Found : N, 3.51%, 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro (β -p-sulfanilopropionoxy) benzene] Yield : 48%, M. P. : 310~5°, Anal. Calcd. for C₃₁H₂₄N₂S₂O₁₀Cl₆ : N, 3.25%, Found : N, 3.19%, 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro (p-piperidinopropionoxy) benzene] Yield : 28%, M. P. : 168~9°, Anal. Calcd. for C₂₉H₃₂N₂O₄Cl₆ : N, 4.02%, Found : N, 3.84% 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro (β -morpholinopropionoxy) benzene] Yield : 67%, M. P. : 226~8°, Anal. Calcd. for C₂₇H₂₈N₂O₆Cl₆ : N, 4.00%, Found : N, 3.96%, 2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro(β -2-aminopyridinopropionoxy) benzene] Yield : 64%, M. P. : 145~6°, Anal. Calcd. for C₂₉H₂₂N₄O₄Cl₆ : N, 7.96%, Found : N, 8.12%이다. 이들의 물리 화학적 성질은 Table I에 표시하였다. Table I에 표시한 바와 같이 각 합성화합물의 질소분석치와 질소계산치와의 차이는 0.5%이하이므로 구조식(I)의 R위치에 각각 aniline, Cyclohexylamine, phenylhydrazine, benzylamine, o-toluidine, p-toluidine, o-chloroaniline, sulfanilic acid, piperidine, morpholine, 2-aminopyridine이 결합되었다고 할 수 있다.

2. 항균성

새로 합성한 화합물의 항균성을 검토하기 위하여 세균 및 효모에 대한 antimicrobial sensitivity

Table I Nomenclature, Physical and Chemical properties of Mannich bases of 2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloropropionoxy benzene)

Comp No	Nomenclature	Radicals	Recrys Solvent	M. P (°C)	Appearance	Molec. wt	Yield (%)	Formula	Anal (%)	
									Calcd	Found
1	2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloro-o-(β-anilinopropionoxy) benzene)		DMF -H ₂ O	173-4°	White cryl	701	37	C ₃₁ H ₃₄ N ₂ O ₄ Cl ₆	3.99	3.97
2	2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloro (β-cyclohexylaminopropionoxy) benzene)		D. M. F -H ₂ O	187-8°	White Cryl pd.	713	31	C ₃₁ H ₃₈ N ₂ O ₄ Cl ₆	3.96	4.12
3	2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloro (β-phenylhydrazinopropionoxy) benzene)		EtOH -H ₂ O	168-9°	brown Cryl	733	34	C ₃₁ H ₃₈ N ₄ O ₄ Cl ₆	7.63	8.01
4	2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloro (β-benzylamino propionoxy) benzene)		EtOH -H ₂ O	151-3°	white cryl	7.29	52	C ₃₃ H ₃₈ N ₂ O ₄ Cl ₆	3.84	3.99
5	2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloro (β-o-toluidinopropionoxy) benzene)		EtOH -H ₂ O	172~3°	brown cryl	729	32	C ₃₃ H ₃₈ N ₂ O ₄ Cl ₆	3.84	4.01
6	2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloro (β-p-toluidinopropionoxy) benzene)		D. M. F -H ₂ O	153-4°	Pinkish pd	729	45	C ₃₃ H ₃₈ N ₂ O ₄ Cl ₆	3.84	3.69
7	2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloro (β-o-chloroanilino propionoxy) benzene)		EtOH -H ₂ O	170-2°	white cryl	770	43	C ₃₁ H ₃₂ N ₂ Cl ₈ O ₄	3.64	3.51
8	2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloro (β-p-sulfanilino propionoxy) benzene)		EtOH -H ₂ O	310-5°	Pinkish pd.	861	48	C ₃₁ H ₂₄ N ₂ S ₂ O ₁₀ Cl ₆	3.25	3.19

Comp No	Nomenclature	Radicals	Recrys solvent	m. p (%)	Appearance	Molec-ula wt	Yield (%)	Formula	Anal N (%)	
									Calcd	Found
9	2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro (β -piperidinopropionyloxy) benzene]		EtOH -H ₂ O	168-9°	white crys pd	685	28	C ₂₃ H ₂₂ N ₂ O ₄ Cl ₆	4.02	3.84
10	2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro (β -morpholinopropionyloxy) benzene]		EtOH -H ₂ O	226-8	white crys pd	689	67	C ₂₇ H ₂₈ N ₂ O ₆ Cl ₆	4.00	3.96
11	2, 2'-Methylene bis [3, 4, 6-trichloro (β -2-aminopyridino propionyloxy) benzene]		D. M. F -H ₂ O	145~6°	white crys pd	703	64	C ₂₃ H ₂₂ N ₄ O ₄ Cl ₆	7.96	8.12

indicate cryl : crystal, calcd : calculated, pd : powder, Anal : analysis

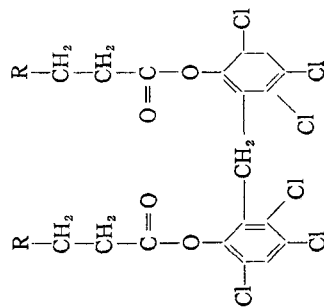
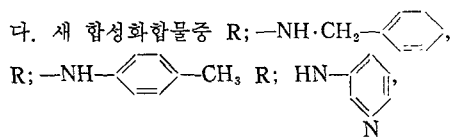



Table 2. Sensitivity of organisms to Mannich bases of 2,2'-Methylene bis [3,4,6-trichloroacetoxy benzene] (1 mg/ml) incubated at 37°C, for 24 hrs

Radical for R Microorganisms	-NH-	-NH-NH-	-NH-CH ₂ -NH-CH ₂ -	-NH-CH ₃ -	-NH-CH ₃ -	-NH-Cl-	-NH-SO ₃ H-	-N<	-N<	-N<	HN-	Hexachlo ro- phene	MTAB
<i>Bacillus subtilis</i> Natto 11-6 IAM 1136	7	8	9	8	10	7	7	9	7	7	9	10	7
<i>Pseudomonas ovalis</i> IAM 1003	8	9	9	9	10	9	9	8	9	9	9	10	8
<i>Escherichia coli</i> 0111 B4 NCDC	8	7	7	8	8	7	7	10	9	9	10	9	9
<i>Staphylococcus aureus</i> FAD2099 IAM 1058	7	7	7	7	7	7	8	8	7	7	7	10	7
<i>Aerobacter aerogenes</i> ATCC 8308 IAM 1063	7	7	7	7	8	7	7	8	9	9	7	7	7
<i>Bacillus Polymyxa</i>	7	7	8	8	7	7	7	7	7	7	7	12	7
<i>Bacillus brevis</i>	7	7	7	7	8	7	7	7	7	7	9	11	7
<i>Streptomyces griseus</i> IAM 0070	N	N	N	N	N	N	N	7	7	7	9	8	7
<i>Streptomyces griseolus</i> IAM 0021	N	N	N	N	N	N	N	7	7	7	7	9	7
<i>Candida tropicalis</i> (cast) IAM 4862	7	7	7	7	7	8	7	7	7	7	7	7	7
<i>Rhodotorula glutinis</i> IAM 4642	8	8	9	8	8	8	8	7	7	7	9	7	7
<i>Candida utilis</i> IAM 4215	N	N	N	N	N	N	N	7	7	7	7	10	7
<i>Candida albicans</i> IAM 4888	N	N	N	N	N	N	N	7	9	9	8	9	7
<i>Hansenula anomala</i> H. st. sydow IAM 4213	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	N	N
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7	7	7	8	8	7	7	9	8	8	8	9	8

N ; Not tested, Number ; Diameter of Clear zone (mm), Diameter of Paper disk ; 7mm

를 paper disk method로 조사한 결과는 Table 2와 같다. 표에서와 같이 새 합성화합물은 세균중에서 *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas ovalis*, *Escherchia coli*, *Bacillus brebis* 효모중에서는 *Rhodotorula glutihis*, *Saccharomyces cerevisiae*에 대해 항균성을 나타냈으며 전반적으로 *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas ovalis*, 대해 항균성이 컸다.



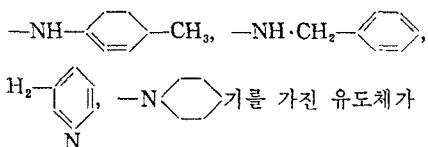
R; $-\text{N}$  가를 가진 화합물이 세균에 대해 강한 항균력을 나타냈으며. Ortho 위치에 $-\text{CH}_3$ 를

가진 Radical- $\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{CH}_3)$ 은 Para인때보다 항균력이 약했다. 모든 합성화합물은 모체화합물인 MTAB보다는 항균성이 강했으나 hexachlorophene에 비해 떨어졌다.

요 약

(1) 2, 2'-Methylene bis (3, 4, 6-trichloroacetoxy benzene)을 모체화합물로 하여 Mannich반응에 의해 11종의 새로운 화합물을 합성했다.

(2) 합성화합물중 R위치에



다 세균에 대해 비교적 강한 항균력을 나타냈다.

인 용 문 헌

- 1) Porkorny, R; J. Am. Chem. Soc., 63, 1768 (1941)
- 2) Turner, H. J., Reynold; D. M.; Ind. Eng. Chem., 40, 450 (1948)
- 3) Colbert, J. C., Lacy, R. M; J. Am. Chem. Soc., 68, 270 (1946)
- 4) Gump, W. S.; U. S. P., 2, 253, 725 (1944)
- 5) Gregg, R. M., Zopf. L. C.; J. Am. Ph. A., 40, 390 (1951)
- 6) Grubb, T. C., Wands, H. A.; J. Am. Ph. A., 41, 59 (1952)
- 7) Lawrence, C. A., Erdlandson, A. L.; Science, 118, 274 (1953)
- 8) Lawrence, C. A., Erdlandson J. Am. Ph. A., 42, 352 (1953)
- 9) Noone, P.; Pharm. J. (London), 205, 118 (1970)
- 10) Adams, R., Bachmann, W. E., Johnson, J. R., Fieser, L. F. and Synder, H. R.; Org. React, 6(1), 303 (1957)
- 11) Yu, J. H., Kim, J. H., Lee, S. Y.; Korean J. Food Sci. Technol. 4, 73 (1972)
- 12) Kim, J. H.; Report of 14th Annual Meeting, Kor. Pharmacol. Soc., (1962)