

Carbamate 화합물의 합성 및 보건학적 연구

민 경 진

계명대학교 자연과학대학 공중보건학과

Synthesis and Biological Activities of Carbamate Derivative

Kyung Jin Min

Dept. of Public Health, College of Natural
Science Keimyung University

ABSTRACT

Carbamates are generally used as insecticide, thus 8-hydroxy-5-chloroquinolinyl-N-ethylcarbamate was newly synthesized.

Its physical properties were determined and chemical structure was identified by means of IR, nmr in addition to elemental analysis.

The effect of the compound on rat's ileum, and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *E. coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* were examined.

It was observed that the dosage over 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of the compound relaxed rat's ileum and the same dosage of the compound inhibited growth of the above strains of bacteria.

I. 緒 論

Carbamate는 약 100년전 carbar豆에서 carbamate계 alkaloid인 physostigmine이 單離되어 의약품으로 사용됨에 따라 이후 여러가지 carbamate의 합성이 시도되고 있다. 일반적 합성방법은 phenol류에 isocyanate를 반응시키거나 phenolate에 isocyanate를 작용시키는 방법^{1,2)}과 phenol류를 tertiary amine이나 alkali금속염의 존재하에 carbamoyl chloride를 작용시키는 방법^{3,4)} 및 chl-

oroformic acid ester에 alkylamine을 반응시키는 방법⁵⁻⁸⁾ 등이 있다.

1950년 R. L. Metcalf 등⁹⁾은 의약품으로 사용되는 carbamate중 prostigmine 및 physostigmine이 곤충의 cholinesterase를 저해함을 밝혔고, 1952년 Martine 등^{10,11)}은 방향족 carbamate가 살충력이 있다는 것을 발견하여 Dimetan, Pyrotan, Isolan등을 합성하였으며, 1954년 M. J. Kolbenzen 등¹²⁾은 phenyl N-methylcarbamate유도체의 살충력과 cholinesterase저해에 관하여 보고한 바 있다.

* 본 논문은 1990년도 계명대학교 각종학술연구 조성비에 의하여 연구되었음.

특히 근래에는 Tamik, Tranid 등¹³⁾의 oxime carbamate도 살충제로서 개발되고 있으며, 1973년 徐 등^{14,15)}은 alkyl p-hydroxybenzoate 및 alkyl, phenylsalicylate와 furfuraldoxime carbamate를 합성하고 이들의 살충효과 및 항균력에 대하여 보고하였다. 1984년 S. Kumar 등¹⁶⁾은 alkyl 5(6)-(substituted carbamoyl) 및 5(6)-(disubstituted carbamoyl)benzimidazole-2-carbamate 류의 구충작용에 대하여 보고하였으며, 1985년 姜¹⁷⁾은 alkyl-N-[2-(6-substituted benzothiazolyl)] carbamate 류를 합성하고 이들의 장관에 대한 약리작용 및 항균력을 조사한데 이어 1986년에는 pyridinol carbamate를 합성하고 전술한 약리작용과 항균력에 대한 성적을 보고한 바 있다.

이상의 연구들에서 보다 강력하고 독성이 적은 항미생물제를 개발할 목적으로 quinoline고리를 가지는 carbamate인 8-hydroxy-5-chloroquinolinyl-N-ethylcarbamate를 합성하고 장관에 대한 약리작용 및 항균력을 조사하여 약간의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

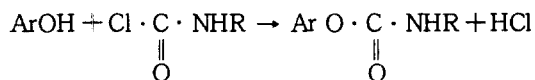
1. 합성방법

1) 5-Chloro-8-hydroxyquinoline의 합성

Skraup법으로 5-chloro-8-hydroxyquinoline을 얻었다. 즉, 2-amino-4-chlorophenol 0.2mol, glycerine 0.8mol, 2-nitro-4-chlorophenol 0.1mol 및 c-H₂SO₄ 0.6mol의 혼합물을 상법으로 약 5시간 반응시키고 alkali로 중화하여 백색 결정상의 5-chloro-8-hydroxyquinoline을 얻었다.

2) 5-Chloro-8-quinolinolyl-N-ethylcarbamate의 합성

A법 :

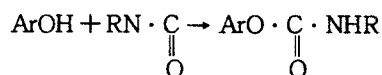


0.2mol의 5-chloro-8-hydroxyquinoline을 최소량의 benzene에 녹이고 triethylamine을 반응물과 같은 mol비로 넣고 여기에 carbamoyl chloride를 반응물의 1.5배 mol가하여 30°가 넘지 않도록 주의하면서 5~6시간 동안 교반, 환류하였다. 다음, 어두

운 곳에서 하룻 동안 방치한 후 생성물을 여취하고 benzene에서 재결정시켰다.

B법 : 상기 A법에서 탈염산제 및 촉매인 triethylamine을 사용하지 않고 동일하게 조작하는 방법.

C법 :



상기 A법에서 carbamoyl chloride 대신에 isocyanate를 1.5mol비로 반응시키는 방법.

D법 : 상기 C법에서 triethylamine을 사용하지 않는 방법.

2. 합성화합물의 확인

① 원소분석 : C, H, N에 대하여 F & M model 180원소분석장치로 측정하였다.

② 용점측정 : Mitamura제 미량용점측정장치를 사용하였다.

③ 분자량측정 : Rast법으로 하였다. 표준물질로서 diphenyl carbazide를, 용매로서 DMF를 사용하였다.

④ IR : KBr정제법으로 Hitachi EPI-G₃ Grating IR Spectrophotometer를 사용하여 측정하였다.

⑤ nmr : Varian model EM 360/60 MHz Spectrometer를 사용하였다.

3. 腸管收縮 및 弛緩 실험

250g 내외의 雄性 흰쥐의 복부 정중선을 따라 절개하고 回腸을 적출하여 생리식염수로 수회 세척하여 장내용물을 제거하고 약 2cm길이의 절편을 만들어 Magnus법^{18,19)}에 의하여 이 절편을 용적 20ml의 산소포화 bath내에 懸垂하고 Hart/Muscle Transducer에 연결하여 그 운동 상태를 Harvard Biograph (Model No. 2120) 상에 묘기하면서 관찰하였다.

영양액은 tyroid액을 사용하였으며 bath내의 온도는 37°로 고정시켰고 화합물은 DMF에 용해시켜 bath내에 주입하였다. 이때 화합물의 농도는 bath내의 g/ml로 표시하였다.

화합물에 대한 반응을 관찰한 후에는 영양액으로 bath를 충분히 세척한 다음 실험을 행하였다.

4. 항균력 실험

합성화합물의 항균력 실험은 agar dilution method^{21,22)}에 준하여 행하였다. 배지는 nutrient broth medium(peptone 10g, beef extract 10g, NaCl 5g)을 증류수 1l에 용해시켜 조제, pH 7.1~7.2를 사용하였고, 시험균주는 경상북도 보건연구소 미생물과에 계대보관되어온 다음 4종의 균주를 사용하였으며 실험 직전에 肉汁배지에 배양하였다.

Staphylococcus aureus ATCC 25923 (Stap.)

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (Pseu.)

Escherichia coli ATCC 25922 (Esch.)

Salmonella typhi (Sal).

합성화합물 20mg을 DMF 10ml에 용해시켜 1ml당 2,000 μ g 함유한 용액을 만든 후 DMF로 희석하여 희석액 1ml당 500 μ g, 250 μ g, 100 μ g, 50 μ g, 25

μ g이 되도록 각각 조제하였으며, 균액은 시험균을 nutrient broth medium(37 $^{\circ}$ C, 18~24시간)중에서 배양된 균 1ml을 10배 희석하여 0.1ml씩 접종하고 37 $^{\circ}$ C, 18~24시간 배양시킨 다음 육안으로 균의 생육을 인지할 수 없는 최소의 농도(MIC)로 항균력 유무를 판정하였다

III. 실험결과 및 고찰

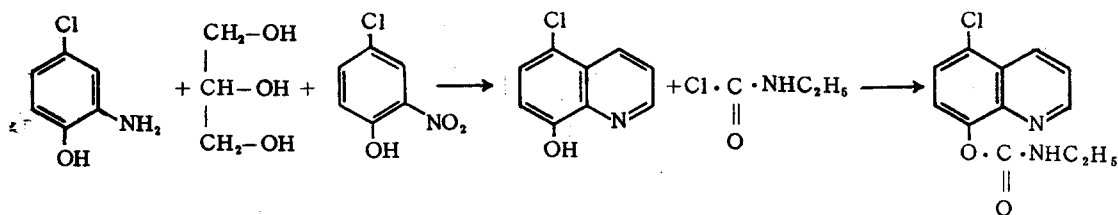
1. 합성경로 및 확인

① 합성경로는 scheme과 같다.

② 합성화합물의 물리적성상 및 원소분석결과는 Table 1과 같다. 원소분석 결과는 계산치와 실험오차 범위내에서 일치하였고, 분자량도 계산치와 잘 일치하였다.

③ 분광분석

합성화합물의 IR분광분석²³⁻²⁵⁾의 결과 Table 2

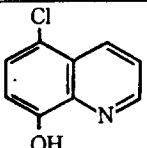
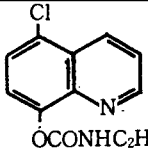


Scheme. Synthesis of the compound.

Table 1. Physical properties of the compound

Formula	Appearance	Yield(%)	Recryst. solvent	m.p.	Elemental analysis(Calcd.)	m.w.(Calcd.)
C ₁₂ H ₁₁ ClN ₂ O ₂	White powder	45	Benzene	146~148	C 57.27 (57.50) H 4.39 (4.42) N 11.11 (11.17)	250 (250.68)

Table 2. IR spectral data of the compound

Raw material assignment of band (cm ⁻¹)			Synthesized compd. assignment of band (cm ⁻¹)		
	ν OH	3100		ν CO	1680
	ν C=N	1560		ν NH	3280
		1505			
	ν CH	2960		ν C=N	1560

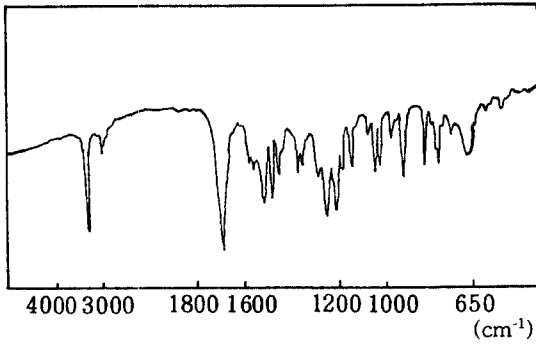


Fig. 1. IR spectrum of the compound.

Table 3. nmr spectral data of the compound

Compound	Assignment of signal (δ)
	a 1.1 (3H, t)
	b 3.3 (2H, q)
	c 6.2 (1H, b)
	d 8.8 (2H, m)
	e 7.7 (3H, m)

*t : triplet, q : quartet, b : broad, m : multilet
solvent : DMSO-d₆, δ shift from TMS(ppm)

와 같다. 또, nmr분광분석²⁶⁾의 결과는 Table 3과 같다.

합성경로 및 원소분석, 분자량측정과 분광분석의 결과를 종합하여 볼 때 추정구조식과 같은 화합물이 합성되었음이 확실하다.

2. 장관의 수축 및 이완에 미치는 영향

흰쥐의 回腸절편에 대한 실험결과는 Fig. 3과 같다.

그림에서 나타난 바와 같이 Gram음성균의 생육을 저지시킨 농도인 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 합성화합물을 bath내에 가하였을 때에는 흰쥐의 장관운동은 약 40%정도 억제되었으며 Gram양성균의 생육을 억제시킨 농도인 250 $\mu\text{g/ml}$ 를 가하였을 때는 장관의 운동이 완전히 억제됨을 관찰할 수 있었다.

3. 항균력

항균력 실험의 결과는 Table 4와 같다.

합성화합물은 Gram음성, 양성균에 관계없이 100 $\mu\text{g/ml}$, 250 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서는 생육이 전혀 없었으며 Gram음성균에 대해서는 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서

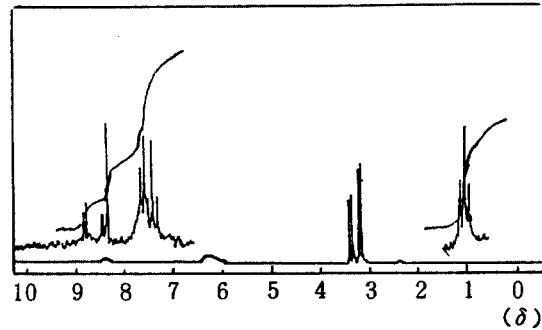


Fig. 2. nmr spectrum of the compound.

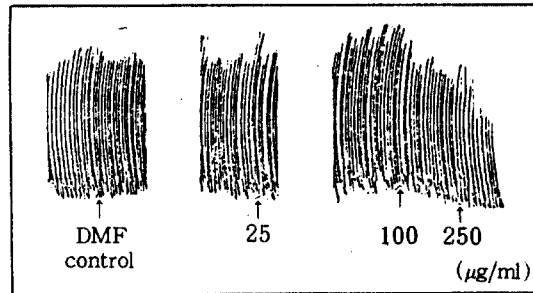


Fig. 3. Effect of the compound on contraction of rat's ileum.

C=compound, washing out time : 1 min.

Table 4. Antibacterial activity of the compound

Conc. $\mu\text{g/ml}$	Strains				
	Sal.	Esch.	Stap.	Pseu.	Nitrofurantoin
25	+	+	+	+	-
50	+	-	+	+	-
100	-	-	+	-	-
250	-	-	-	-	-
500	-	-	-	-	-

- : Absence of growth.

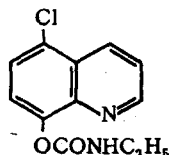
+ : Presence of growth

생육이 저지됨을 볼 수 있었다.

IV. 결 론

이상의 실험성적을 종합하면,

1. m.p., 분자량측정, IR 및 nmr, 원소분석 결과를 통하여 화합물을 합성할 수 있었다.



2. 100 µg/ml 이상의 농도에서는 흰쥐의 장관운동을 현저히 억제시켰다.

3. 100 µg/ml 이상의 농도에서 *Salmonella typhi*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* 모두의 생육을 억제하였다.

참 고 문 헌

- 1) 武田薬品工業(株), Carbamine산 유도체의 제조법, 日本特許, 昭 40, 22452, 1965.
- 2) Bayer, Carbamine산 ester의 제조법, 日本特許, 昭 40, 23788, 1965.
- 3) 武田薬品工業(株), Carbamine산 유도체의 제조법, 日本特許, 昭 41, 4780, 1966.
- 4) Fisons Pest Control, LTD., Composition Insecticide, French Pat. 1335758, 1963.
- 5) 日本化学(株) Arylmercaptophenyl-N-methylcarbamate의 제조법, 日本特許, 昭 39, 2449, 1964.
- 6) 日本化学(株), Propylmercaptophenyl-N-methylcarbamate의 제조법, 日本特許, 昭 39, 30278, 1964.
- 7) 日本化学(株), 신규 Carbamine산 ester의 제법, 日本特許, 昭 39, 6524, 1964.
- 8) Hooker Chemical Co., Side Chain Halogenated Alkylphenyl Haloformates, U.S. Pat., 3420868, 1969.
- 9) Robert L. Metcalf, Ralph B. March, Properties of Acetylcholine Esterases from the Bee, Fly and the Mouse and Their Re-

lation to Insecticide Action, J. Econ. Entomol., 43, 670, 1950.

- 10) CIBA Aktiengesellschaft, Swiss Pat., 279533, 1952.
- 11) J.R. Geigy AG., Swiss Pat., 282655, 1952.
- 12) M.J. Kolbenzen, R.L. Metcalf and T.R. Fukuto, Insecticidal Activity of Carbamate Cholinesterase Inhibitors, Agr. and Food Chem., 2, 864, 1954.
- 13) Du pont, de Nemous and Co., carbamylhydroxamates, Leur Preparation et leur utilisation, French Pat., 1467548, 1966.
- 14) 서병천, 수종 Carbamate 화합물의 합성 및 약물학적 연구, 1973.
- 15) B.C. Seoh, J. Pharm. Soc. R.O.K., 17, 16, 1973.
- 16) A. Misra, S. Gupta, N. Fatima, J.C. Katiyar, R.K. Chatterjee and A.B. Sen, J. Med. Chem., 27, 1083, 1984.
- 17) 강희양, 계명대학교 생활과학연구소, 과학논집, 11, 1985.
- 18) 차석포, 자라 적출장편의 약리학적 성질, 전남의대잡지, 151, 1964.
- 19) 이신웅, 조규박, 김화웅, 최재규, Amaranth Brilliant Blue Tartarazine이 장편에 미치는 영향, 충남대학교 논문집(자연), 11, 159, 1970.
- 20) 김종석, Marki amurenais Ruprecht의 성분 및 약리작용의 연구, 서울 의대잡지, 1, 79, 1960.
- 21) J.B. Bauer, P.G. Ackerman, "Clinical Laboratory Method" 8th Ed., C.V. Mosby, Saint Louis, 662, 1974.
- 22) "Clinical Laboratory Method & Diagnosis" 7th Ed., C.V. Mosby, Saint Louis, 140, 1976.
- 23) K. Nakanishi, "Infrared Absorption Spectroscopy", Nankodo Co. Ltd., Tokyo, 1967.
- 24) L.J. Bellamy, "Infrared Spectra of Complex Molecules" 2nd Ed., John Wiley & Sons, New York, 1958.

25) R.M. Silverstein, G.C. Bassler, "Spectrometric Identification of Organic Compound" 2nd Ed., John Wiley & Sons, New

York, 1967.

26) H. Günther, "NMR Spectroscopy", John Wiley & Sons, New York, 1979.