

5.7-Dichloro-8-hydroxyquinaldyl-N-ethylcarbamate의 합성 및 항균작용에 관한 연구

강 회 양

계명대학교 자연과학대학 공중보건학과

Study on the Synthesis and Antimicrobial Activity of 5.7-Dichloro-8-Hydroxyquinaldyl-N-Ethylcarbamate

Hoe-Yang Kang

Department of Public Health, College of Natural Science,
Keimyung University, Daegu, 704-701, Korea

ABSTRACT

5.7-Dichloro-8-hydroxyquinaldyl-N-ethylcarbamate, one of the carbamate derivative which are generally used as insecticide, was newly synthesized. Its physical properties were determined and chemical structure was identified by means of I.R., nmr in addition to elemental analysis. The yield of addition, using triethylamine as catalyst, 5.7-dichloro-8-hydroxyquinaldine and isocyanate was better than that of condensation of 5.7-dichloro-8-hydroxyquinaldine with carbamoylchloride. The effect of the compound on rabbit's ileum and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* were examined. It was observed that the dosage over 100 µg/ml of the compound relaxed rabbit's ileum and the same dosage of the compound inhibited growth of the above strains of bacteria.

Keywords : 5.7-dichloro-8-hydroxyquinaldyl-N-ethylcarbamate, antimicrobial activity, 5.7-dichloro-8-hydroxyquinaldine, bacteriostatic action, insecticide.

I. 緒 論

Carbamate는 약 100년전 Calabar豆에서 천연 carbamate계 alkaloid인 physostigmine이 單離된 이래, 여러가지 carbamate의 합성이 시도되어 왔다.

그 합성방법은 일반적으로 phenol類에 isocyanate를 非水不活性溶媒中에서 반응 시키거나, phenolate의 수용액 중에 isocyanate를 작용시키는 방법^{1,2)}과, phenol類를 脫鹽酸劑及觸媒로서 第三級 amine이나 alkali금속염의 존재하에 carbamoylchloride를 작용시키는 방법^{3,4)} 및 chloroformic acid ester에 alkylamine을 작용시키는 방법⁵⁻⁸⁾ 등이 있다.

1950년 R.L.Metcalf 등⁹⁾은 의약품으로 사용되는 carbamate중 prostigmine 및 physostigmine이 곤충

의 cholinesterse를 阻害함을 究明하였고, 1952년 Martin 등^{10,11)}은 방향족 carbamate화합물이 살충력이 있다는것을 발견하여 Dimetan, Pyrotan, Isolan 등을 개발하였으며, 1954년 M.J.Kolbegen 등¹²⁾은 phenyl-N-methyl carbamate 유도체의 살충력과 cholinesterse阻害에 관하여 報告한바 있다.

특히 근래에는 Tamik, Tranid 등¹³⁾의 oxime carbamate도 살충제로서 개발되고 있으며, 1973년 徐¹⁴⁾는 phenol derivate인 alkyl p-hydroxybenzoate 및 alkyl, phenylsalicylate와 furfural derivate인 furfuraldioxime carbamate類 합성과 이에 대한 살충효과 및 항균력에 대하여 발표하였다. 1984년 S. Kumar 등¹⁵⁾은 alkyl 5(6)-(substituted carbamoyl) 및 5(6)-(disubstituted carbamoyl) benimidazole-2-carbamate類의 구충작용에 대하여 보고하였으며, 1985년 姜^{16,17)}은 alkyl-N-[2-(6-substituted benzothiazolyl)]carbamate類를 합성하고 항균력을 조

*본 연구는 1997년도 계명대학교 비사연구기금으로 이루어 졌음.

사한데 이어 1986년에는 2-Hydroxy pyridinoly-N-ethyl carbamate를 합성하고 항균력에 대한 성적을 보고한바 있다.

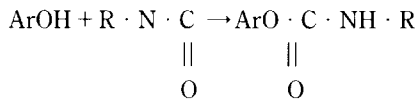
Carbamate系 化合物의 合成에 관한 많은 研究報文 中 에서 quinolinol로부터 carbamate를 合成한 報告는 없었으므로, 著者는 이들 化合物로부터도 carbamate系 化合物를 合成할 수 있으리라는데 착안하여 文獻에 記載되어 있지 않은 carbamate系 化合物인 5,7-dichloro-8-hydroxyquinaldyl-N-ethyl-carbamate를 合成하였다.

著者는 그 合成方法과 收率을 검토하는 한편, 殺蟲劑로서보다 약물학적인 검토에 흥미를 느껴 新 合成 化合物의 미생물적 활성을 기대하고 우선 일반 미생물적 실험의 일환으로 細菌(Gram 양성균과 Gram 음성균)에 대한 시험관내 抗菌力 實驗과 아울러 內用藥으로서의 應用을 豫想하여 家兎腸管에 대한 作用을 檢討하여 약간의 知見을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 合成方法

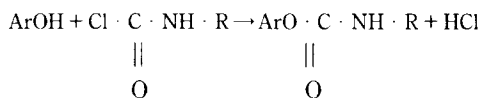
A 法 :



5,7 dichloro-8-hydroxyquinaldine을 최소량의 benzene에 용해시키고 脫鹽酸劑及 觸媒로서 triethylamine을 반응물질과 同 mole비율로 첨가하고 여기에 ethyl isocyanate를 반응물질의 1.5 mole¹⁾ 비율로 가하여 반응초기에는 온도를 30°C가 넘지 않도록 하였으며 還流下 충분히 교반하면서 상온에서 5~6시간 반응시키고 암소에서 一晝夜 방치후 생성물을 benzene에서 재결정시켰다.

B 法 : 上記 A法에서 脫鹽酸劑及 觸媒인 triethylamine을 사용치 않고 동일하게 조작하는 방법.

C 法 :



上記 A法에서 ethyl isocyanate 대신에 ethyl carbamoylchloride 를 1.5 mole비율로 반응시키는

방법.^{2,4)}

D 法 : 上記 C法에서 triethylamine을 사용치 않는 방법.

2. 合成化合物의 確認方法

1) 원소분석 : 化合物를 C.H.N에 대하여 F & M model 180원소분석장치를 사용하였다.

2) 용점측정 : 微量融點測定裝置(三田村製)를 사용하였다.

3) 분자량측정 : 等溫蒸溜에 의한 방법(Rast 法)으로 측정하였다. 표준물질로서 diphenyl carbazide를, 용매로서 N,N'-dimethyl formamide(DMF)를 사용하였다.

4) 적외선 분광분석 : KBr 정제법으로 Mattson-3000 FT-Infrared spectrophotometer를 사용하였다.

5) NMR : Varian gemini-200/200 MHz spectrophotometer를 사용하였다.

3. 腸管收縮 및 弛緩에 對한 實驗

雌雄의 區別없이 成熟家兎의 頭部에 打擊을 加하여 죽인후 腹部 正中線을 따라 切開하고 回腸을 摘出하여 腸內容物을 生理食鹽水로 數回 洗滌한後 約 2 cm의 길이로 切片을 만들어 Magnus法^{18,20)}에 의하여 腸管切片을 容積 20 ml의 酸素飽和 bath內에 懸垂하고 Heat/muscle transducer에 연결하여 그 運動狀態를 Harvard Biograph(Model No.2120)에 표기하면서 化合物의 反應을 관찰하였다.

營養液은 Tyrode 液을 使用하였으며, bath內의 溫度는 37°C로 고정시켰고, 化合物은 DMF에 溶解시켜 bath內에 注入하였다. 이때 化合物의 濃度는 bath內의 g/ml로 表示하였다.

化合物에 對한 反應을 觀察한 後에는 營養液으로 bath內를 充分히 세척한 다음 實驗을 行하였다.

4. 抗菌力에 關한 實驗.

합성化合物의 항균력 실험은 tube dilution method^{24,29)}에 준하여 실험하였다.

培地는 nutrient broth medium(Peptone 10g, beef extract 10g, NaCl 5g)을 증류수 1l에 용해시켜 조제, pH 7.1~7.2를 사용하였고, 시험균주는 경상북도 보건환경연구원 미생물과에 계대 보관되어 온 다음 四종의 균주를 사용하였으며 실험직전에 육즙배지에 배양하였다.

Staphylococcus aureus ATCC25923 (step.)

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (*pseu.*)

Escherichia coli ATCC 25922 (*Esch.*)

Salmonella typhi (*salm.*)

檢液은 합성물질 각 20 mg을 DMF 10 ml에 용해시켜 1 ml당 2000 µg 함유한 용액을 만든후 DMF로 희석하여 희석액 1 ml당 500 µg, 250 µg, 100 µg, 50 µg, 25 µg이 각각 함유되도록 조제하였으며, 균액은 시험균을 nutrient broth medium(37°C, 18~24시간) 중에서 배양된 균 1 mg을 10배 희석하여 0.1 ml씩 접종하고 37°C 18~24시간 배양시킨다음, 육안으로 균의 발육을 인지할수 없는 최소의 농도(MIC)로 항균력 유무를 판정하였다.

III. 實驗結果 및 考察

1. 합성 및 확인

1) 본 합성방법을 반응식으로 표시하면 Scheme 1과 같다.

2) 합성화합물의 분석결과는 Table 1과 같다.

합성화합물은 원소분석치가 계산치와 실험오차범위내에서 일치하고, 분자량이 계산치와 거의 일치하였다.

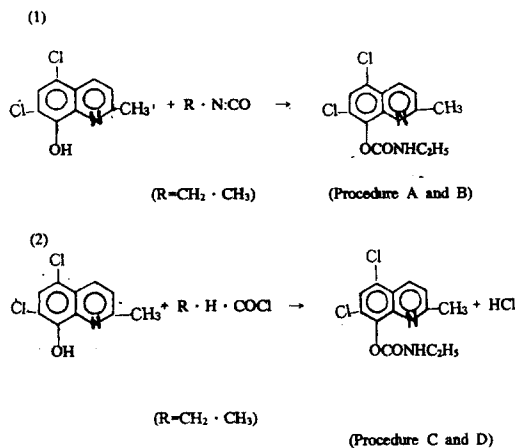
3) I.R.Spectra³⁰⁻³³⁾

합성화합물의 I.R 분광분석의 결과는 Table 2와 같다.

4) NMR 분광분석^{34,35)}

합성화합물의 NMR 분광분석의 결과는 Table 3와 같다.

2. 合成原料인 5,7-dichloro-8-hydroxyquinaldine의 I.R.spectrum을 살펴보면

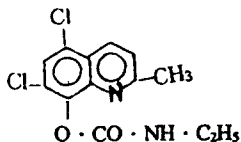


Scheme 1. Reactions for the syntheses.

3350 cm⁻¹부근에서 OH stretching band가, 1550 cm⁻¹부근에서 C=N의 stretching band가, 1490, 850, 730 cm⁻¹부근에서는 ring의 stretching pattern을 나타내는 signal이 나타나며, ethyl isocyanate의 I.R. spectrum에서는 2980 cm⁻¹부근의 aliphatic CH stretching과 2270, 1375 cm⁻¹에서 ν_{N=C=O}의 특징을 나타내는 signal이 나타나나, 合成化合物의 I.R.spectrum은 Fig. 1에서 보는바와같이 3320 cm⁻¹부근의 NH stretching band와 2980 cm⁻¹부근의 aliphatic CH stretching band가 나타나고 isocyanate의 특징 signal인 ν_{N=C=O} 가없어지는 대신 amide性 C=O stretching band가 1730 cm⁻¹부근에서 강하게 나타남을 보아 合成化合物은 amide형태의 결합을 하고 있음을 알 수 있다.

또한 合成化合物의 ¹H-NMR spectrum은 Fig. 2에서 보는바와 같이 δ 1.14 ppm에서 CH₃ proton이

Table 1. Syntheses of



Formula	Appearance	Yield(%)	Recyst solvent	m.p.(°C)	Elementary analysis(%)			mol. wt. (calcd.)
					(Calcd.)			
					C	H	N	
C ₁₃ H ₁₁ Cl ₂ N ₂ O ₂	Colorless needles	A method 71	Benzene	137~138	52.44 (52.19)	4.32 (4.04)	9.57 (9.36)	301.65 (299.17)
		B method 62						
		C method 54						
		D method 42						

Table 2. I.R. spectral data of the compound

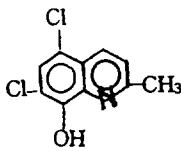
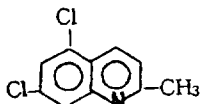
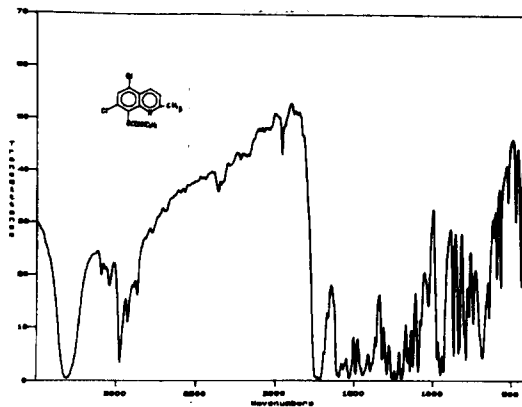
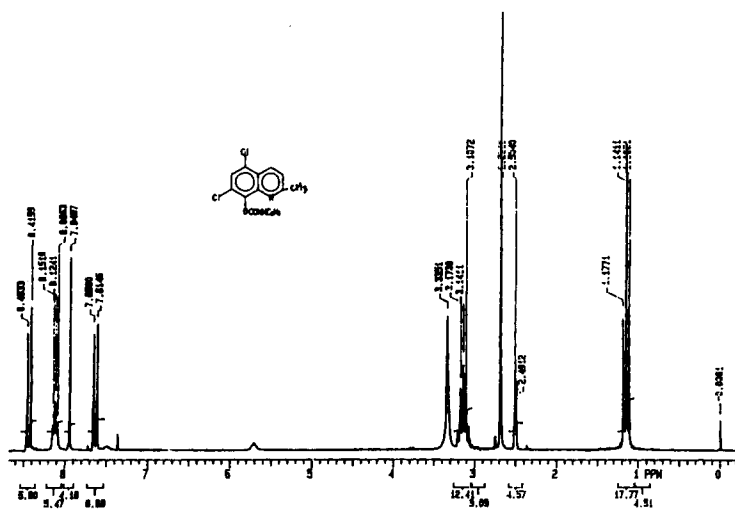
Raw material	Assignment of band(cm^{-1})	Synthesized compound	Assignment of band(cm^{-1})	
	ν_{OH}	3350 cm^{-1}	ν_{NH}	3320 cm^{-1}
	$\nu_{\text{C-H}}$	2940 cm^{-1}	$\nu_{\text{C-H}}$	2980 cm^{-1}
		2860 cm^{-1}	$\nu_{\text{C=O}}$	1730 cm^{-1}
	$\nu_{\text{C=N}}$	1550 cm^{-1}	$\nu_{\text{C=N}}$	1580 cm^{-1}
	ν_{ring}	1490 cm^{-1}	$\nu_{\text{C-O-C}}$	1215 cm^{-1}
			850 cm^{-1}	
			730 cm^{-1}	
$\text{C}_2\text{H}_5\text{NCO}$	ν_{CH}	2980 cm^{-1}		
	$\nu_{\text{N=C=O}}$	2270 cm^{-1}		
		1375 cm^{-1}		
	$\nu_{\text{N-CH}_2}$	1430 cm^{-1}		


Table 3. NMR spectral data of the compound

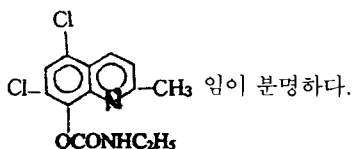
Compound	Assignment of signal(δ)
	$\text{CH}_3 - \delta 1.14 \text{ ppm}(\text{t})$
	$\text{CH}_2 - \delta 3.14 \text{ ppm}(\text{q})$
	$\text{CH}_3 - \delta 2.68 \text{ ppm}(\text{s})$
	$3\text{H} - \delta 7.75 \text{ ppm}(\text{d})$
	$4\text{H} - \delta 8.44 \text{ ppm}(\text{d})$
	$6\text{H} - \delta 7.94 \text{ ppm}(\text{s})$

*s: singlet, t: triplet, q: quartet, d: doublet, solvent: Dimethyl sulfoxide- d_6 , δ : shift from TMS(ppm)

**Fig. 1.** IR spectrum of the compound.**Fig. 2.** nmr spectrum of the compound.

triplet로 나타나고, δ 3.14 ppm 에서는 CH_2 proton 의 quartet이 나타나 있으며,

는 δ 2.68 ppm에서 singlet로, 3-H는 δ 7.75 ppm에서 doublet로, 4-H는 δ 8.44 ppm에서 doublet, 그리고 6-H는 δ 7.84 ppm에서 singlet로 나타남을 보아 합성화합물의 구조는

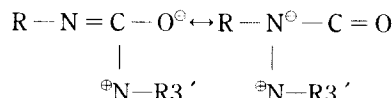


3. 각 합성법에 따른 생성물의 수율은 Table 1에서 보는바와 같이 carbamoyl chloride 를 작용시키는 축합반응이 ethyl isocyanate를 작용시키는 추가반응보다 不良하였다.

즉 촉매存在下에 추가반응(A法)과 축합반응(C法)을 비교하면 C法이 A法보다 17% 收率이 不良하고, 촉매를 사용하지 않은 추가반응(B法)과 축합반응(D法)을 비교하면, D法이 B法보다 20% 收率이

低下되었다. 이는 Scheme 1에서 보는 바와같이 축합반응(A法, B法)에서는 生成物과 副生한 HCl과의 逆反應 및 副生 HCl의 反應系로부터의 除去(脫鹽酸)등의 收率의 低下要因等に 基因한 것이라고 推測할 수 있다.

또한 촉매 존재하의 첨가반응(A法)에서는 無觸媒下의 첨가반응(B法)보다 9% 정도 수율이 높았으며, 축합반응(C法, D法)에서도 촉매의 有無로 C法은 D法보다 12% 수율이 높았다. 이는 isocyanate가 촉매인 第三級 amine과 中間체로서 분자화합물



을 형성하여^{21,22)} 極性이 커진 中間體와 phenol이나 alcohol誘導體와의 反應速度가 促進된다는 說^{21,23)}과 一致한다.

4. 腸管의 收縮 및 弛緩에 미치는 影響

本合成化合物의 家兔 腸切片에 對한 實驗結果는

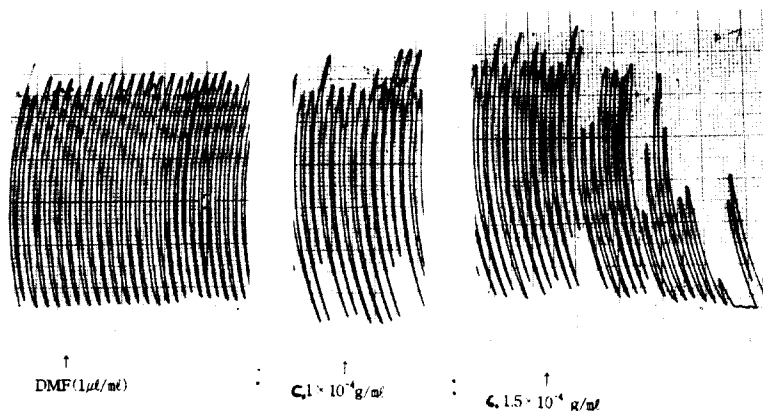


Fig. 3. Effect of compound on the contraction of rabbit's ileum.
DMF: Dimethyl formamide. C: Compound ; Washing out.

Table 4. Antibacterial activity of the compound

Strains	<i>salm.</i>	<i>Esch.</i>	<i>stap.</i>	<i>Pseu.</i>	nitrofurantoin	control
conc. $\mu\text{g/ml}$						
25	+	+	+	+	-	+
50	+	+	+	+	-	+
100	-	-	+	-	-	+
250	-	-	-	-	-	+
500	-	-	-	-	-	+

- : absence of growth, + : Presence of growth.

Fig. 3과 같다.

Fig. 3에서 나타난 바와 같이 Gram陰性菌發育을 沮止시킨 濃度인 100 µg/ml의 濃度에서 50% 정도가 억제되었으며 Gram 양성균의 발육을 억제시킨 농도 250 µg/ml에서는 장관의 운동이 완전히 억제됨을 관찰할 수 있었다.

5. 抗菌力

항균력 실험의 결과는 Table 4와 같다.

합성화합물은 Gram음성, 양성균에 관계없이 100 µg/ml, 250 µg/ml 농도에서는 생육이 전혀 없었으며 Gram음성균에 대하여서는 100 µg/ml 농도에서 생육의 억제작용이 나타남을 볼 수 있었다.

IV. 結 論

以上の 실험성적을 종합하면,

1. m.p, 分子量 測定, I.R. 및 nmr, Elementary Analysis 를 통하여 5.7-dichloro-8-hydroxyquinaldyl-N-ethylcarbamate 化合物이 合成되었음을 알 수 있다.

2. 本 化合物의 合成은 觸媒(triethylamine) 存在 하에서 isocyanate類를 작용시키는 添加反應이 carbamoyl chloride類를 作用시키는 縮合反應보다 收率이 良好하였다.

3. 100 µg/ml 이상의 농도에서 *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* 共히 發育을 抑制하였다.

4. Gram陰性菌 발육을 저지시킨 100 µg/ml의 농도에서 家兔의 腸管運動을 현저히 억제시켰다. 또한 Gram陽性菌의 발육을 저지시킨 농도 250 µg/ml 에서 家兔의 腸管運動은 완전히 억제됨을 관찰할 수 있었다.

參考文獻

- 1) 武田藥品工業(株): carbaimin酸 誘導體의 製造法, 日本特許, 昭 40, 22458, 1965.
- 2) Bayer: carbamin酸 ester 製造法, 日本特許, 昭 40, 23788, 1965.
- 3) 武田藥品工業(株): carbaimin酸 誘導體의 製造法, 日本特許, 昭 41, 4780, 1966.
- 4) Fisons Pest Control, LTD.: composition insecticide, French Pat., 1335758, 1963.
- 5) 日本化藥(株): Arylmercaptophenyl-N-methyl-carbamate의 製造法, 日本特許, 昭 39, 24449, 1964.
- 6) 日本化藥(株): Propalgymercapto phenyl-N-methyl-

- carbamate의 製造法, 日本特許, 昭 39, 30278, 1964.
- 7) 日本化藥(株): 新規carbamin酸 ester의 製造法, 日本特許, 昭 39, 6527, 1964.
- 8) Hooker Chemical Corporation: Side Chain Halogenated Alkylphenyl Haloformates, U.S. Pat., 3420868, 1969.
- 9) Robert L Metcalf and Ralph B. March: Properties of Acetylcholine esterases from the Bee, the Fly and the Mouse and their Relation to Insecticide Action, J. Econ. Entomol., 43, 670, 1950.
- 10) CIBA Aktiengesellschaft: Swiss Pat., 279533, 1952.
- 11) J.R. Geigy A.G.: Swiss Pat., 282655, 1952.
- 12) M.J. Kolbezen, R.L. Metcalf, and T.R. Fukuto: Insecticidal Activity of Carbamate Cholinesterase Inhibitors, Agr. and Food Chem., 2, 8641, 1954.
- 13) Du pont, de Nemours and Co.: French Pat., 1467548, 1966.
- 14) 徐丙天: 數種 Carbamate 化合物의 合成 및 藥物學的研究, 1973.
- 15) S.Kumar, M.Seth, A.P. Bhaduri: J. Med. chem., 27, 1083, 1984.
- 16) 姜會洋: 啓明大學校 生活科學研究所, 科學論集 11, 1985.
- 17) 姜會洋: 啓明大學校 生活科學研究所, 科學論集 12, 1986.
- 18) 車石鈞: 자라 剔出腸片의 藥理學의 性質, 全南醫大雜誌, 151, 1964.
- 19) 李神雄, 曹圭朴, 金和雄, 崔在圭: Amaranth, Brilliant Blue, Tartarazine이 腸片에 미치는 영향, 忠南大學校 論文集(自然) 11, 159, 1970.
- 20) 金鍾石: Marki amurenais Ruptecht의 成分 및 藥理作用의 研究, 서울醫大雜誌, 1, 79, 1960.
- 21) A.Farkas and G.A.Mills: Catalytic Effects in Isocyanate Reactions, Advan. Catalysis, 13, 393, 1962.
- 22) 向山光昭: Recent Advances in Isocyanate Chemistry, 有機合成化學, 19, 755, 1961.
- 23) J.W.Brintain and P.G. Gemeinhardt: Catalysis of the Isocyanate-Hydroxyl Reaction, J. of Applied Polymer Science, 4, 207, 1960.
- 24) J.B.Baur, P.G.Ackerman: Clinical Laboratory Method, 8th Ed., C.V.Mosby, saint Louis, 662, 1974.
- 25) 金重明: Studies on Antibiotic Activity of Various plants, 慶北大學校 論文集(自然), 8, 119, 1965.
- 26) 金商煥: 抗生物質 感受性 試驗法에 關한 研究, 中央醫學, 6, 401, 1964.
- 27) 全燾基, 李在九, 許東燮, 朴秉琦: 韓國에서 分離한 Salmonella 및 Shigella의 抗生物質耐性, 中央醫學, 10, 715, 1966.
- 28) 金炯祐, 徐城澤, 全燾基: 尿路系 및 腸系 病原細菌의 各種 抗菌劑에 對한 感受性, 中央醫學, 25, 165, 1973.

- 29) 梁學道: 抗生劑 感受性 試驗, 中央醫學, **20**, 491, 1971.
- 30) K. Nakanishi: Infrared Absorption spectroscopy, Nankodo Co. LTD., Tokyo, 1967.
- 31) L. J. Bellamy: Infrared spectra of complex Molecules. 2nd Ed., John Wiley & Sons, New York, 1958.
- 32) R. M. Silverstein, G. C. Bassler: Spectrometric Indentification of organic compound, 2nd Ed., John Wiley & Sons, New York, 1967.
- 33) C. J. Pouchert: The Aldrich Library of Infrared spectra, Aldrich Chemical Co., LTD., 1981.
- 34) H. G nther: NMR Spectroscopy, John Wiley & Sons, New York, 1979.
- 35) C. J. Pouchert: The Aldrich Library of NMR spectra, Aldrich Chemical Co., LTD., 1981.