

β -Ketoacetoanilide 염화물의 조합 라이브러리 합성 및 주요 식물병원균에 대한 항균활성

한호규* · 남기달 · 배수열 · 양범승¹ · 이선우² · 조광연²

한국과학기술연구원 생체과학연구부, ¹경기대학교 화학과, ²한국화학연구원 생물기능연구팀

요약 : 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 유도체의 합성 및 이들 화합물의 대표적인 6종의 식물병원균에 대한 항균력을 조사하였다. Carousel Reaction Stations 장치를 이용하여 조합 합성 기법을 통하여 키틴 이합체를 염소와 아닐린 유도체와 차례로 반응시켜 89종의 베타-케토아세트아닐라이드 클로라이드 유도체를 얻었다. 합성된 화합물 라이브러리의 항균력(*in vivo*)을 벼 도열병, 벼 잎집무늬마름병, 토마토 잿빛곰팡이병, 토마토 잎마름역병, 밀 붉은녹병, 보리 흰가루병 등의 주요 식물병에 대한 항균력 시험을 수행하였다. 일반적으로 페닐기의 4 위치(*para*)에 치환체가 존재하는 화합물의 경우에 선택적으로 토마토 잎마름역병을 방제하였다.(2004년 1월 15일 접수, 2004년 3월 24일 수리)

key words : combinatorial synthesis, new fungicide, tomato late blight.

서 론

감자 역병·토마토 잎마름역병(late blight, 이하 역병)은 *Phytophthora infestans*에 의해 발생하는 병으로 인류에 비참한 재앙을 초래한 역사를 가진 곰팡이 병이다. 이 병원균은 *Phytophthora* 속에서는 드물게 토양전염 뿐만 아니라 공기전염을 하여 전파되며, 감자와 토마토의 잎, 줄기뿐만 아니라 괴경을 침해하고 저온다습조건에서 빠르게 확산한다. *Phytophthora*는 *Pythium* 및 *Peronospora* 속과 함께 색조류계(Chromista), 난균문(Oomycota), 난균강(Oomycetes), 노균병균목(Peronosporales), 부패균과(Pythiaceae)에 속한다(Hawksworth 등, 1995). 일반 곰팡이의 세포벽이 chitin이고 균사에는 격막이 있고 다세포이며, 또한 콜레스테롤을 합성할 수 있으며 운동성이 있는 포자가 없다. 반면에 난균강 곰팡이는 세포벽이 cellulose와 β -glucan으로 구성되어 있고, 격막이 없는 다핵균사이며, 콜레스테롤을 합성할 수 없으며 thiamine이 생장에 필수요소이고, 두 개의 편모가 부착된 유주자를 형성한다. 이들 차이점으로 인하여 strobilurin 계 살균제를 제외한 대부분의 살균제는 이들 곰팡이에 대하여 특이적으로 살균작용을 한다. 역병을 방제하는 대

표적인 화합물로서는 phenylamides 계열의 metalaxyl (Davidse, 1987), oxadixyl 과 etridiazole(Davidse 등, 1984), dimethomorph(Alber 등, 1988), ethaboxam, famoxadone(Joshi와 Sternberg, 1996), cyazofamid(Mitani 등, 1998), zoxamide (Egan 등, 1998) 등의 화합물들이 효과적인 것으로 알려져 왔다. 그러나 최근 개발된 약제들은 단일 작용점이기 때문에 기존의 약제에 대한 약제내성균이 쉽게 발현되는 특징이 있다(Kendall과 Hollomon, 1998). 내성균을 제어할 수 있는 방법 중의 하나는 기존 약제의 작용기작과는 전혀 다른 새로운 작용기작을 가진 약제로 처리하는 것이다. 기존 약제의 분자수정에 의한 신농약 개발(me-too 접근법)과 비교할 때, 새로운 골격(new scaffold)을 가진 새로운 작용기작의 생리활성물질의 개발은 저항성균에 대한 효과적인 제어를 위하여 큰 장점이 있다. 본 연구에서는 새로운 골격을 가진 농약 살균제 개발과정에서 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 4가 역병 병원균 (*Phytophthora infestans*)에 대하여 선택적인 활성을 나타냄을 발견하였다.

최근에 다수의 화합물을 동시에 제조할 수 있는 조합화학(combinatorial chemistry)에 의한 화합물 합성법 및 고효율 스크리닝(high throughput screening) 기법이 개발되어 신의약 개발 분야(Adel 등, 2002)에서는 많이 이용되고 있으나 신농약 개발 분야에서의 이용은

*연락처

아직까지 거의 없는 실정이다. 본 연구는 신농약 개발의 일환으로, 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 4의 hit 화합물로부터 선도물질(lead compound)을 이끌어 내기 위하여 이 분자의 생리활성을 나타내는 필수 부분을 알아내고 분자의 다양성(diversity)을 나타낼 수 있는 기능이 도입된 다수의 화합물을 합성할 필요가 있었다. 본 연구에서는 조합화학 방법에 의한 새로운 골격을 가진 신농약 살균제의 개발을 위한 선행 연구로서 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 4의 조합 라이브러리(combinatorial library) 합성을 위해서 동시에 12개의 반응을 수행할 수 있는 Carousel Reaction Stations를 사용하였다. 합성된 화합물들의 토마토 역병(tomato late blight) 등의 대표적인 식물병원균 6종에 대한 항균력을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

수소핵자기공명스펙트럼(^1H NMR)은 Varian Gemini 300 (300 MHz)을 사용하였으며 tetramethylsilane (TMS)를 표준물질로 δ 값으로 표기하였다. FT-IR spectrum은 Perkin-Elmer 16F-PC FT-IR를 사용하였으며 cm^{-1} 로 나타내었다. 녹는점은 Walden Precision Apparatus Electrothermal 9300을 이용하여 측정하였다. 합성 반응기는 Radleys Discovery Technologies사의 12 Place Carousel Reaction Stations를 사용하였고 시약은 Aldrich Chemical Co. 또는 Tokyo Chemical Industry Co.에서 구입하여 정제하지 않고 사용하였다.

Carousel Reaction Stations를 이용한 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 4의 합성방법

Carousel Reaction Stations 12개의 반응용기의 내부가 공기와 접촉하지 못하도록 질소로 충전된 플라스크내의 키틴이합체 1(1.8 mL, 23.3 mmol)의 메틸렌클로라이드 용액(6 mL)을 -10°C 로 냉각시키고 미리 제조한 메틸렌클로라이드에 녹인 2%(v/v)의 염소용액(53 mL, 23.3 mmol)을 반응혼합물의 온도가 0°C 이하가 유지되도록 냉각하면서 10분 동안에 걸쳐 각각 가한 다음 10분동안 같은 온도에서 더 교반하였다. 각각의 반응혼합물에 서로 다른 아닐린 유도체 12종(각 2.13 mmol)의 메틸렌클로라이드 용액(2 mL)을 10분동안에 걸쳐 서서히 가한 다음 상온에서 3시간동안 교반하였다. 각각의 반응혼합물에 증류수(3 mL)를 가하고 상

온에서 1시간동안 교반한 후 침전물을 여과한 다음 에틸에테르로 씻고 진공하에서 건조하여 고체상의 상응하는 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 유도체 4를 얻었다.

위와 같은 방법으로 89종의 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 유도체 4를 얻었으며 수율 및 녹는점을 표 1에 수록하였다. 그들 중 2개의 화합물의 수소핵자기공명스펙트럼 및 적외선흡수스펙트럼 등의 물리적인 성질을 표기하면 다음과 같다.

4-Chloro-N-(4-methoxyphenyl)-3-oxo-butylamide (Table 1, entry 1)

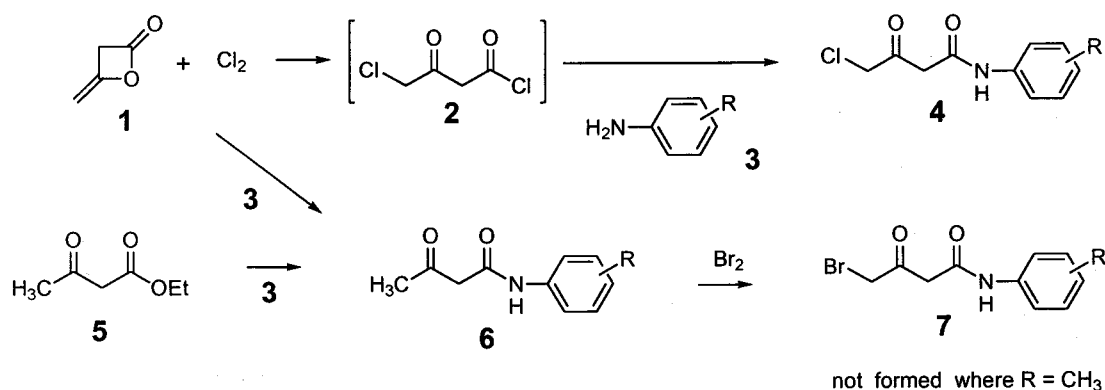
$R_f = 0.43$ (n-헥산:에틸아세테이트 = 1:1); ^1H NMR (DMSO- d_6) 3.65 (s, 1.6H, 2- CH_2)^a, 3.72 (s, 3H, OCH_3), 4.27 (s, 0.4H, CH_2Cl)^b, 4.64 (s, 1.6H, CH_2Cl)^a, 5.50 (s, 0.4H, vinyl H)^b, 6.87~6.92 (m, 2H, ArH), 7.44~7.50 (m, 2H, ArH), 10.01 (s, 0.8H, NH)^a, 10.13 (s, 0.2H, NH)^b a/b = keto/enol = 4/1; FT-IR(KBr) 3298(NH), 1736(ketone C = O), 1650(amide C = O).

4-Chloro-N-(4-chlorophenyl)-3-oxo-butylamide (Table 1, entry 4)

$R_f = 0.15$ (n-헥산:에틸아세테이트 = 4:1); ^1H NMR (DMSO- d_6) 3.68 (s, 1.56H, 2- CH_2)^a, 4.30 (s, 0.44H, enolic CH_2Cl)^b, 4.64 (s, 1.56H, CH_2Cl)^a, 5.52 (s, 0.44H, vinyl H)^b, 7.34~7.40 (m, 2H, ArH), 7.56~7.62 (m, 2H, ArH), 10.28 (s, 0.78H, NH)^a, 10.38 (s, 0.22H, NH)^b a/b = keto/enol = 3.5/1; FT-IR(KBr) 3288(NH), 1734 (ketone C = O), 1652(amide C = O).

결과 및 고찰

본 연구의 hit 화합물 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 유도체와 유사한 구조를 갖고 있는 감마-브로모 아세트아세트아닐라이드 7은 상응하는 아세트아세트아닐라이드 유도체 6을 브롬과 반응시켜 합성된다 (Clemens, 1986)(Scheme 1). 그러나 이 제조방법은 키틴이합체 1 또는 에틸 아세트아세테이트 5로부터 중간체 아세트아세트아닐라이드 유도체 6을 거쳐서 제조해야 하는 복잡한 과정을 거쳐야 할 뿐만 아니라 어떤 아세트아세트아닐라이드 유도체의 브롬화물(예를 들면, *para*에 메틸기가 치환된)은 이 방법에 의하여 합성할



Scheme 1

수 없었다. 본 연구실에서는 보다 간편하게 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 4를 티아졸리딘 유도체 합성하기 위한 중간체로 사용한 바 있어서(한 등, 2001), 이 합성방법을 응용하여 조합화학 기술과 접목하면 쉽게 4의 조합 라이브러리를 합성할 수 있을 것으로 생각되었다. 이 합성법을 간단히 설명하면, 키틴이합체를 염화(chlorination)하여 생성된 중간체 아실클로라이드 2를 분리하지 않고 아닐린 유도체로 처리하여 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 4를 합성하는 것이다.

본 연구에서는 상술한 것처럼, hit 화합물로부터 선도물질을 이끌어 내기 위하여 분자의 다양성을 나타낼 수 있는 기능이 도입된 조합 라이브러리의 합성을 위해서 동시에 12 반응을 수행할 수 있는 Carousel Reaction Stations를 사용하기로 하였다. 조합화학기술에 의한 다수의 화합물을 동시에 합성하기 위해서는 비교적 높은 수율의 생성물을 얻을 수 있는 반응 조건 및 간편한 반응 후 처리과정(work-up)의 확립이 중요한 요소이다. Scheme 1에 의하면, 중간체인 아실클로라이드 2와 아닐린 유도체 3과의 반응에서 부산물로 염산이 생성되는데, 부산물을 간편하게 제거하고 원하는 생성물을 쉽게 분리할 수 있는 반응 조건을 확립하기 위하여 우선 모델시험을 수행하였다. 부산물로 생성되는 염산의 제거를 위해서 피리딘 또는 트리에틸아민 등의 3차 아민을 사용한 결과, 미지의 부산물의 혼합물이 생성되었다. 다시 말하면, 이러한 조건하에서는 원하는 생성물인 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 4의 순도가 낮았을 뿐만 아니라 부산물과 원하는 4의 분리도 어려웠다. 중간체 아실클로라이드 2는 물과 쉽게 반응하며, 부산물로 생성되는 아닐린 유도체의 염산염은 물에 쉽게 용해된다는 점

을 반응 후 처리과정에 이용하기로 하였다. 중간체 아실클로라이드 2의 1몰 당량에 대하여 2몰 당량의 아닐린 유도체를 사용한 결과, 부산물인 염산과 아닐린 유도체의 염은 물로 씻어 쉽게 제거할 수 있었으나 생성물에 아닐린 유도체가 오염되어 있었기 때문에, 이것을 제거하기 위하여 생성물을 묽은 염산으로 씻어야 하는 불편함이 있었다. 이러한 예비실험을 바탕으로, 여러 차례의 모델 시험을 수행한 결과, 중간체 아실클로라이드 2의 1몰 당량에 대하여 1.1몰 당량의 아민 유도체를 사용하였을 때 반응 후 처리가 매우 간편했을 뿐만 아니라, 생성물인 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 4의 생성수율과 순도가 비교적 높았다. 이러한 결과를 근거로 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 4의 조합 라이브러리를 합성하였다.

키틴 이합체 1과 염소와의 반응에 의해서 생성된 중간체 아실클로라이드 2는 수분에 불안정하였기 때문에 공기 중의 수분과 접촉할 수 없도록 모든 반응은 질소 충전 하에서 수행하였다. 메틸렌클로라이드 용액 중에서 키틴 이합체 1를 이것과 동일한 몰 당량의 염소와 반응시켜 중간체 아실클로라이드 2를 얻고, 이 혼합용액을 Carousel Reaction Stations의 12개의 반응용기에 동일하게 등분하여 각각 옅긴 다음, 아실클로라이드 2의 1몰 당량에 대하여 각각 1.1몰 당량의 12 종류의 아닐린 유도체 3을 녹인 메틸렌클로라이드 용액을 각각의 반응용기에 가하였다. 그 결과, 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 4와 더불어 부산물로서 아닐린 유도체의 염산염이 생성되었다. 반응 혼합물에 물을 가하면 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 4는 물에 녹지 않았기 때문에 반응혼합물을 여과하여 4를 간단히 얻을 수 있었다. 본 반응의 조합화학에 의한 합성의 장점은 트리에틸아민 또는 피리

단의 사용 없이, 아닐린 유도체 **3**을 아실클로라이드 **2** 보다 정량적인 관점에서 적게 사용하고, 물로 세척하는 매우 간단한 반응 후 처리과정에 의하여 비교적 높은 순도로 원하는 화합물을 동시에 다량 얻었다는 것이다. 이와 같이, 중간체인 아실클로라이드 **2**의 분리 없이 반응을 연속 수행하는 방법(one-pot reaction)에 의해서 한번에 12종의 화합물을 합성하는 방법에

의하여 총 89종의 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 **4**(수율 14~85%)를 얻었다(표 1).

합성된 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 조합 라이브러리의 항균력을 대표적인 주요한 식물병인 벼도열병(Rice Blast: RCB), 벼 잎집무늬마름병(Rice Sheath Blight: RSB), 토마토 잿빛곰팡이병(Tomato Gray Mold: TGM), 토마토 역병(Tomato Late Blight: TLB), 밀 붉

Table 1. Yields, melting points, and control value of β-ketoacetanilide- chlorides **4** against six plant pathogens

entry	R	yield (%)	mp (°C)	Control Activity ^{a,b)} (%)					
				RCB	RSB	TGM	TLB	WLR	BPM
1	C ₆ H ₄ (4-OCH ₃)	51	144-145	0	0	8	69	37	0
2	C ₆ H ₂ (2,4,6-tri Cl)	30	161-162	10	0	8	63	33	0
3	C ₆ H ₄ (2-F)	42	101-102	0	0	0	13	7	0
4	C ₆ H ₄ (4-Cl)	44	116-117	0	0	0	81	20	0
5	C ₆ H ₄ (4-OCF ₃)	49	94-95	0	0	71	81	7	0
6	C ₆ H ₄ (4-Br)	53	122-124	0	0	8	78	27	0
7	C ₆ H ₄ (4-(CH ₂) ₃ CH ₃)	43	132	0	0	17	44	7	0
8	C ₆ H ₃ (2,5-di Cl)	67	99-100	0	0	8	78	53	0
9	C ₆ H ₄ (4-NO ₂)	51	143-145	0	10	0	38	43	0
10	C ₆ H ₄ (4-CH ₃)	49	149-151	0	0	0	81	67	0
11	C ₆ H ₅	56	136-137	0	0	0	44	60	0
12	C ₆ H ₄ (4-OC ₆ H ₅)	38	122-123	0	0	0	84	83	0
13	C ₆ H ₄ (4-CN)	34	130-132	0	0	17	25	27	0
14	C ₆ H ₃ (3,4-di CH ₃)	42	124	0	0	0	84	80	0
15	C ₆ H ₄ (4-OC ₆ H ₄ (4-Cl))	59	134-135	30	0	8	44	43	0
16	C ₆ H ₄ (4-OCH ₂ CH ₃)	50	155-156	10	0	25	50	20	0
17	C ₆ H ₄ (4-CH ₂ CH ₃)	54	150-151	10	20	42	84	80	0
18	C ₆ H ₄ (4-CH(CH ₃) ₂)	45	127-128	0	0	58	88	87	0
19	C ₆ H ₄ (4-C(CH ₃) ₃)	45	112-114	0	0	8	81	73	17
20	C ₆ H ₄ (4-CHF ₂)	37	99	0	0	8	56	27	0
21	C ₆ H ₃ (3-F, 4-OCH ₃)	40	120-121	0	0	0	56	53	0
22	C ₆ H ₂ (2,6-di Cl, 4-CF ₃)	55	139-140	20	10	0	69	43	0
23	C ₆ H ₂ (2,6-di Cl, 4-OCF ₃)	42	134	20	0	8	63	83	0
24	C ₆ H ₄ (4-O(CH ₂) ₃ CH ₃)	50	140-142	20	0	25	88	87	0
25	C ₆ H ₃ (2-CH ₃ , 4-OCH ₃)	27	129	0	0	0	25	33	0
26	C ₆ H ₃ (3-Cl, 4-OCH ₃)	50	112	10	0	0	84	0	0
27	C ₆ H ₄ (3-OCH ₃)	50	101-102	10	0	0	25	13	0
28	C ₆ H ₄ (3-CH ₃)	47	87	0	0	17	0	73	0
29	C ₆ H ₄ (2-CH ₃)	29	99-101	0	0	0	25	0	0
30	C ₆ H ₂ (2,4,6-tri CH ₃)	62	152-153	10	0	8	84	0	0

은녹병(Wheat Leaf Rust: WLR), 보리 흰가루병(Barley Powdery Mildew: BPM) 등 6종에 대하여 시험(*in vivo*) 하였다. 생물활성시험은 본 연구실에서 보고한 방법 (한 등, 2003)과 동일하게 수행하였으며 그 결과를 표 1에 나타냈다.

Table 1. Continued

entry	R	yield (%)	mp (°C)	Control Activity ^{a) b)} (%)					
				RCB	RSB	TGM	TLB	WLR	BPM
31	C ₆ H ₄ (2-Cl)	62	92-94	0	0	17	25	0	0
32	C ₆ H ₃ (3,5-di Cl)	35	99-100	0	0	17	90	13	0
33	C ₆ H ₃ (2,4-di Cl)	56	104-106	0	0	8	44	43	0
34	C ₆ H(2,3,5,6-tetra Cl)	85	150-153	10	0	17	90	3	0
35	C ₆ H ₃ (2,3-di Cl)	57	99-101	0	0	8	25	0	0
36	C ₆ H ₄ (2-CF ₃)	49	93-95	0	0	0	6	3	0
37	C ₆ H ₄ (4-CF ₃)	31	139-140	0	0	8	0	13	0
38	C ₆ H ₄ (4-COCH ₃)	35	120-121	0	0	17	90	67	0
39	C ₆ H ₄ (2-Br)	59	86-87	10	0	17	13	0	0
40	C ₆ H ₄ (4-F)	52	119-121	0	0	0	25	0	0
41	C ₆ H ₃ (3,5-di F)	54	74-76	0	0	0	6	3	0
42	C ₆ H ₃ (3,5-di CF ₃)	75	124-126	10	0	0	19	3	0
43	C ₆ H ₄ (3-F)	47	88-89	0	0	25	6	0	0
44	C ₆ H ₂ (2,4,6-tri F)	60	107-108	0	0	0	0	0	0
45	C ₆ H ₃ (2,6-di CH ₂ CH ₃)	53	116-118	0	0	0	31	20	0
46	C ₆ H ₃ (2,4-di CH ₃)	33	102-104	10	0	8	31	0	0
47	C ₆ H ₃ (2,4-di OCH ₃)	51	85-86	0	0	0	13	0	0
48	C ₆ H ₃ (2-OCH ₃ , 4-CH ₃)	41	116-117	0	0	0	0	0	0
49	C ₆ H ₃ (2-F, 5-CH ₃)	54	118-120	30	0	17	0	3	0
50	C ₆ H ₃ (2-NO ₂ , 4-Cl)	55	128-129	40	0	8	13	27	0
51	C ₆ H ₃ (2-F, 4-Cl)	49	108-109	20	0	0	6	0	0
52	C ₆ H ₃ (2,5-di F)	28	92-93	30	0	8	0	3	0
53	C ₆ H ₃ (2-F, 4-NO ₂)	62	101-103	0	0	8	0	0	0
54	C ₆ H ₃ (2-Cl, 4-NO ₂)	76	103-105	0	0	0	0	27	0
55	C ₆ H ₃ (2-CH ₃ , 4-Br)	53	134-136	0	0	17	31	3	0
56	C ₆ H ₃ (2-CH ₃ , 5-Cl)	38	128-129	0	0	0	0	33	0
57	C ₆ H ₃ (3-F, 4-CH ₃)	37	123-125	0	0	0	13	53	0
58	C ₆ H ₃ (2-OCH ₃ , 5-CH ₃)	47	115-117	0	0	0	0	60	0
59	C ₆ H ₃ (2-NO ₂ , 4-CH ₃)	71	101-103	0	0	0	0	73	0
60	C ₆ H ₂ (2,6-di Br, 4-F)	67	149-150	0	0	0	19	83	0
61	C ₆ H ₄ (3-CN)	39	112-113	0	0	0	25	67	0
62	C ₆ H ₃ (3-OCH ₂ O(4-))	34	117-119	0	0	0	0	73	0
63	C ₆ H ₃ (2-CH ₃ , 4-Cl)	43	130-131	25	0	0	31	83	0
64	C ₆ H ₄ (2-CH ₂ CH ₃)	23	103-104	0	0	0	25	80	0

Table 1. Continued

entry	R	yield (%)	mp (°C)	Control Activity ^{a,b)} (%)					
				RCB	RSB	TGM	TLB	WLR	BPM
61	C ₆ H ₄ (3-CN)	39	112-113	0	0	0	25	67	0
62	C ₆ H ₃ (3-OCH ₂ O(4-))	34	117-119	0	0	0	0	73	0
63	C ₆ H ₃ (2-CH ₃ , 4-Cl)	43	130-131	25	0	0	31	83	0
64	C ₆ H ₄ (2-CH ₂ CH ₃)	23	103-104	0	0	0	25	80	0
65	C ₆ H ₄ (4-CH ₂ CH ₂ CH ₃)	41	147-149	69	5	42	89	87	0
66	C ₆ H ₃ (2-CH ₃ , 5-CH ₃)	25	136-137	0	0	0	56	43	0
67	C ₆ H ₄ (2-NO ₂)	68	94-95	0	0	0	19	80	0
68	C ₆ H ₂ (2,6-di Br, 4-OCF ₃)	82	163-164	90	0	0	84	87	0
69	C ₆ H ₄ (4-I)	28	115-117	0	0	0	44	90	0
70	C ₆ H ₃ (3,4-di CH ₃)	39	140-141	10	0	13	95	10	17
71	C ₆ H ₄ (4-OCH(CH ₃) ₂)	38	122-124	0	0	0	84	20	0
72	C ₆ H ₃ (3-OCH ₂ CH ₂ O(4-))	51	134-135	0	0	0	69	3	0
73	C ₆ H ₃ (3-CH ₂ CH ₂ CH ₂ (4-))	31	144-145	0	0	19	84	7	0
74	C ₆ H ₄ (4-O(CH ₂) ₄ CH ₃)	27	136-137	20	0	6	81	3	0
75	C ₆ H ₃ (3-Br, 4-CH ₃)	5	116-119	0	0	0	84	27	0
76	C ₆ H ₃ (2-Br, 4-CH ₃)	53	96-98	0	0	0	3	3	0
77	C ₆ H ₃ (2-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ (3-))	47	138	0	0	3	78	0	0
78	C ₆ H ₂ (2,4,6-tri C(CH ₃) ₃)	22	199-200	0	0	0	13	0	0
79	C ₆ H ₂ (2,3,4-tri F)	25	85-86	0	0	0	6	0	0
80	C ₆ H ₃ (3,5-di OCH ₃)	14	105-106	0	0	0	6	0	0
81	C ₆ H ₄ (4-C ₆ H ₁₃ (n-))	16	126-129	65	0	7	6	53	0
82	C ₆ H ₄ (4-C ₁₀ H ₂₁ (n-))	66	113-115	0	0	0	6	0	0
83	C ₆ H ₄ (4-O(CH ₂) ₄ CH ₃)	30	136-138	92	0	0	78	33	0
84	C ₆ H ₄ (4-C ₇ H ₁₅ (n-))	63	134-137	0	0	0	0	20	8
85	C ₆ H ₄ (3-CO ₂ C ₂ H ₅)	28	98	0	0	6	96	20	0
86	C ₆ H ₄ (4-CO ₂ C ₂ H ₅)	49	105-106	0	0	13	99	93	0
87	C ₆ H ₃ (3,5-di F)	30	124-125	0	0	25	99	27	0
88	C ₆ H ₄ (4-CO ₂ CH ₃)	53	133-134	95	0	0	63	43	0
89	C ₆ H ₃ (3-Cl, 4-CN)	53	130-132	80	0	0	89	60	0

^{a)} *in vivo*, 100 ppm

^{b)} RCB : Rice Blast, RSB : Rice Sheath Blight, TGM : Tomato Gray Mold, TLB : Tomato Late Blight, WLR : Wheat Leaf Rust, BPM : Barley Powdery Mildew.

표 1에 나타난 것처럼, 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 조합 라이브러리의 화합물들은 대체적으로 토마토 역병(TLB)에 대한 선택적인 항균력을 보였다. 대부분 페닐기의 4 위치(*para*)에 치환체가 있는 경우에 활성이 높았지만 뚜렷한 구조와 활성과의 관계를 본 연구의 결과에 의해서는 알아낼 수는 없었다. 그

런데, 수소 핵자기공명스펙트럼에 의하면 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 유도체 **4**는 케토(keto)형 **4a**와 엔올(enol)형 **4b**가 평형상태로 존재하였는데(Scheme 2), 항상 케토형이 엔올형보다 더 많은 비율(2.4 ~ 11.6배)로 존재하였다. 이들의 비율과 토마토 역병에 대한 항균력과의 상관관계도 발견할 수 없었다.



Scheme 2

본 연구에서는 역병원균에 항균력을 가진 hit 화합물을 근거로 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 조합 라이브러리 4를 합성하였다. 베타-케토아세트아닐라이드 염화물 라이브러리 4는 새로운 골격의 화합물로서, 저농도에서의 역병원균에 대한 항균력 시험, 구조와 항균력과의 관계, 작용기작 및 농약으로서의 사용 가능성을 타진하기 위한 독성연구 등을 수행 중에 있으며 추후에 보고할 예정이다.

인용문헌

- Adel, N., A. M. Richard and A. H. Richard (2002) Parallel Solid-Phase Synthesis of Disubstituted 1,6-Piperazine-2-ones. *J. Combi. Chem.* 4:542~545.
- Alber, G., J. Curtze, and S. A. Drandarevski (1988) Dimethomoph (CME151), a novel curative fungicide. *Proc. Br. Crop Prot. Conf. Pests Dis.* 17.
- Clemens, R. J. (1986) Diketene. *Chem. Rev.* 86:241.
- Davidse, L. C. and M. A. de Waard (1984) Systemic fungicides. *Adv. Plant Pathol.* 2:191~257.
- Davidse, L. C. (1987) Biochemical aspects of phenylamide fungicides - action and resistance. p. 275, *In Modern Selective Fungicides* (ed. Lyr, H.), Longman Scientific, Essex, UK.
- Egan, A. R., E. L. Michelotti, D. H. Young, W. J. Wilson and H. Mattioda (1998) RH-7281: A novel fungicide for control of downy mildew and late blight. *Proc. Br. Crop Prot. Conf. Pests Dis.* 335~340.
- Hawksworth, D. L., Kirk, P. M., Sutton, B. C. and Pegler, D. N. (1995) *Anisworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. 8th ed. IMI. CAB International.
- Joshi, M. M. and J. A. Sternberg (1996) DPX-JE874: a broad-spectrum fungicide with a new mode of action, in *Proc. Brighton Crop Prot Conf.-Pests and Diseases*, British Crop Protection Council, Farnham, UK, pp 21~26.
- Kendall, S. J. and D. W. Hollomon (1998) Fungicide resistance. pp.87~108 *In Fungicidal Activity* (ed. Hutson, D. and J. Miyamoto), John Wiley & Sons, Chichester, UK.
- Mitani, S., S. Araki, N. Matsuo and P. Camblin (1998) IKF-916-a novel systemic fungicide for the control of oomycete plant diseases, in *Proc. Brighton Crop Protect Conf.-Pests Dis.*, BCPC, Farnham, Surrey, UK, pp.351~358.
- 한호규, 남기달, 신선호, 마혜덕 (2001) 2-Phenylimino-1,3-thiazoline 염산염 유도체의 합성. *한국농약과학회지* 5(1):13~17.
- 한호규, 남기달, 임철수, 마혜덕, 김진철, 조광연 (2003) Isosterism을 이용한 새로운 1,3-thiazoline 유도체의 디자인 및 신규 2,4-diimino-1,3-thiazolidine 유도체의 살균활성. *한국농약과학회지* 7(2):51~57.

Synthesis of combinatorial library of β -ketoacetanilide chlorides and their antifungal activity against main plant pathogens

Hoh-Gyu Hahn*, Kee Dal Nam, Suyeal Bae, Bumseung Yang¹, Seon-Woo Lee² and Kwang Yun Cho²(*Organic Chemistry Lab, Korea Institute of Science and Technology, P. O. Box 131, Cheongryang, 136-791, Seoul, Korea, ¹Department of Chemistry, Kyonggi University, Suwon 442-760, Korea, and ²Screening Division, Korea and Research Institute of Chemical Technology, P. O. Box 107, Yusong, Taejon 305-600, Korea*)

Abstract : A synthesis of new β -ketoacetanilide chloride derivatives and anti fungal activity of these compounds library against 6 typical plant pathogens were described. Reaction of ketene dimer with chlorine followed by treatment of aniline derivatives gave 89 kinds of the corresponding β -ketoacetanilide chlorides through combinatorial synthetic technology using Carousel Reaction Stations. Evaluation of antifungal activity (*in vivo*) of this chemical library against rice blast, rice sheath blight, tomato gray mold, tomato late blight, wheat leaf rust and barley powdery mildew was carried out. In general, β -ketoacetanilide chlorides which present a substituent at 4 in phenyl group(*para*) of the compounds showed selective control activity against tomato late blight caused by *Phytophthora infestans*.

*Corresponding author(Fax : +82-2-958-5189, E-mail : hghahn@kist.re.kr)