

모노아자크라운에테르 기능기를 가진 생리활성 포스피네이트 유도체의 합성

南宗祐[†] · 鄭榮標* · 梁一友

[†]인하대학교 공과대학 화학공학과

육군사관학교 교수부 화학과

(1992. 9. 24 접수)

Syntheses of Biologically Active Phosphinate Derivatives with a Pendant Monoazacrown Ether

Chong-Woo Nam[†], Yeong-Jin Chung*, and Il-Woo Yang

[†]Department of Chemical Engineering, Inha University, Inchon 402-751, Korea

Department of Chemistry, Korea Military Academy, Seoul 139-799, Korea

(Received September 24, 1992)

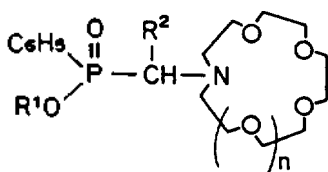
요 약. 모노아자크라운에테르 기능기를 분자내에 갖는 4종의 새로운 포스피네이트 유도체들을 합성하고 그들의 생리활성을 조사하였다. 생리활성 포스피네이트 유도체들의 합성은 페닐포스피네이트를 알데히드 및 모노아자크라운에테르와 한 단계로 반응시켜 61~72%의 비교적 높은 수율로 이루어질 수 있었다. 합성된 화합물들의 생리활성은 수컷의 생쥐에 대한 복강주사로 검사하였으며, LD₅₀ 값이 65~90 mg/kg으로서 크라운에테르 기능기가 부착되면 단순한 페닐포스피네이트에서 보다 독성이 현저히 증가됨을 나타내었다. 모노아자-15-크라운-5를 부착한 화합물과 모노아자-18-크라운-6를 부착한 화합물의 고리 크기에 의한 독성차는 현저하지 않았으나, 에스테르기의 종류에는 다소 영향을 받아 옥틸 또는 프로필 포스피네이트 유도체들이 에틸 포스피네이트 유도체에 비해 독성이 높게 나타났다.

ABSTRACT. Four kinds of new phosphinate derivatives with a pendant monoazacrown ether were synthesized and their biological activities were tested. These biologically active phosphinates were synthesized in relatively good yields (61~72%) by one step reactions of phenylphosphinate with aldehyde and monoazacrown ether. Toxicity of these compounds was tested by intraperitoneal injection of the compounds to male mouse and revealed LD₅₀ value of 65~90 mg/kg, which showed enhanced toxicity by attachment of a pendant azacrown ether to a simple phenylphosphinate structure. Although the ring size effect of the pendant crown ethers, (monoaza-15-crown-5 and monoazo-18-crown-6), being negligible, the identity of the ester functional group in the phosphinate structure exerted sizable influence on toxicity. Thus, phosphinate derivative with octyl or propyl ester group showed somewhat higher toxicity than that with ethyl ester group.

서 론

1939년 Schrader에 의해 유기인 화합물에 독성 작용이 있다는 것이 밝혀진 이후 인체나 곤충에 대하여 생리적 활성을 나타내는 유기인 화합물에 대한 연구가 많이 이루어져 왔으며 이들 중 특성의 구조를 갖는 화합물들은 농염용 살충제 또는 군용

신경작용제로 널리 사용되고 있다^{1,2}. 현재까지 알려진 유기인 작용제들은 용도에 따라 물리, 화학적 성질과 생리활성의 정도가 매우 다양하나 실용화된 대부분 작용제의 구조적 공통점은 phosphonic 또는 phosphoric산의 알킬 혹은 아릴 에스테르 형이라는 점이다^{3,4}. 이러한 유기인 유도체들의 독성은 신경전



- | | | | |
|---|-----------------------|-------------------|---------|
| 1 | $R^1 = CH_3(CH_2)_7-$ | $R^2 = CH_3CH_2-$ | $n = 1$ |
| 2 | $CH_3CH_2CH_2-$ | $H-$ | 1 |
| 3 | $CH_3(CH_2)_7-$ | $H-$ | 2 |
| 4 | CH_3CH_2- | $H-$ | 2 |

Scheme 1.

달효소인 acetylcholine esterase(AChE)의 가수분해 작용을 억제하여 생체의 신경조직을 꼬이거나 수축된 상태로 유지하여 마비를 일으키게 되는 것으로 이해되고 있다⁵.

본 연구에서는 유기인 유도체 중 생리활성이 비교적 낮은 것으로 알려진 phosphinate⁶⁻⁸ 구조에 크라운에테르가 부착된 화합물들을 합성하고(구조식: Scheme 1), 합성된 화합물들에 대한 생리활성 조사를 시도하였다. 유기인 살충제인 malathion에 대한 EPN의 첨가 등의 예에서 보이는 바와 같이 특정한 구조를 갖는 물질은 다른 화합물과 협력효과(synergistic effect)를 일으켜 독성을 현저히 증대시킬 수 있음을 잘 알려진 사실이다⁹. 크라운에테르들은 생체내의 금속이온기질 상호작용에 이상을 초래함으로써 자체독성이 있는 것으로 알려져 있으므로 본 연구에서 시도된 크라운에테르를 포함하는 phosphinate 유도체의 생리활성 연구는 유사한 화합물들에서의 크라운에테르의 영향을 판단하는 단서가 될 수 있다.

실 험

시 약

일본의 Kokusan, Osaka, Kanto, 독일의 Merk, 미국의 Aldrich 회사 제품 및 한국특수가스(주)의 특급 또는 1급 시약을 획득하여 그대로 사용하였으며 aluminum chloride, barium oxide, magnesium sulfate는 오븐에서 200°C로 10시간 이상 건조시킨 후 사용하였고, 응축트랩에서 냉각제로 사용한 dry ice와 acetone은 공업용으로 구입 사용하였다.

일반적 실험법

생성물 구조확인을 위한 적외선 흡수분광분석은 Perkin Elmer Model 467을 이용하여 실시하고 흡수값은 파수(cm^{-1})로, 핵자기공명분광분석은 Bruker FT-NMR 200을 사용하여 TMS에 대한 델타(δ) 값으로 보고하였다. 원소분석은 기초과학지원센터(서울, E.A. 1108)에 의해 수행되었다.

합 성

Phenylphosphonous dichloride, 6. 질소분위기에서 반응플라스크에 C_6H_6 (39.05 g, 0.5 mol), PCl_2 (82.39 g, 0.6 mol), $AlCl_3$ (22.66 g, 0.17 mol)을 넣고 76°C에서 5시간 동안 환류시켰다¹⁰. 반응 중 생성되는 부산물인 염화수소의 방출이 정지된 후 반응기를 외부에서 35°C까지 냉각하면서 diethyl phthalate(298 ml)를 넣고 30분 동안 교반했다. 얻어진 혼합물을 감압증류하여 투명한 액체의 중간 생성물($PhPCl_2$), 6을 얻었다. 수득량: 27.74 g, 31.0%; bp.: 128°C/30 mmHg(문헌치¹¹, bp.: 99~101°C/11 mmHg).

Ethyl phenylphosphinate, 7. Ice-salt로 반응플라스크의 온도를 -5~-10°C로 내린 후 앞에서 합성한 $PhPCl_2$ (35.79 g, 0.20 mol)를 넣고, EtOH(18.42 g, 0.4 mol)을 부가 깔대기를 통하여 적하하였다. 이때 생성되는 염화수소를 제거하기 위해 건조한 질소기체를 약하게 bubbling하였다. 반응 완료 후 감압증류시켜 투명한 액체의 생성물 7을 얻었다. 수득량: 27.56 g(81.0%); bp.: 126~7°C/6 mmHg(문헌치¹², bp.: 94~5°C/1 mmHg); IR(neat) 2360(P-H), 1235(P=O), 1040(P-O-C); $^1H-NMR(CDCl_3)$ δ 1.25(t, 3), 4.1(q, 2), 7.7(q, 5), 11.22(s, 1).

Propyl phenylphosphinate, 8. 화합물 7의 합성과 유사한 방법으로 $PhCl_2$ (35.79 g, 0.20 mol)와 *n*-PrOH(24.04 g, 0.4 mol)을 반응시켜 투명한 액체의 생성물 8을 얻었다. 수득량: 26.52 g(72.0%); bp.: 142~3°C/6 mmHg(문헌치¹², bp.: 158°C/15 mmHg); $^1H-NMR(CDCl_3)$ δ 0.93(t, 3), 1.7(m, 2), 4.01(t, 2), 7.73(q, 5), 8.96(s, 1).

Octyl phenylphosphinate, 9. 화합물 7의 합성과 같은 방법으로 $PhPCl_2$ (35.79 g, 0.20 mol)와 *n*-OctOH(52.09 g, 0.4 mol)를 반응시켜 투명한 생성물 9를 얻었다. 수득량: 38.14 g(75.0%); bp.: 165~6°C/2 mmHg(문헌치¹², bp.: 155°C/1 mmHg); IR(neat) 2360(P-H), 1235(P=O); $^1H-NMR(CDCl_3)$ δ 0.90(t, 3),

1.26~1.71(m, 12), 4.07(t, 2), 7.72(q, 5), 8.96(s, 1).

Triethylene glycol di(toluen-p-sulfonate), 12. 75 ml의 건조한 pyridine에 triethylene glycol(27.0 g, 0.18 mol)의 교반된 용액에 대하여, pyridine 175 ml에 녹아 있는 *p*-toluene sulfonyl chloride(71.50 g, 0.375 mol)을 천천히 부가하였다. 부가하는 동안 반응 혼합물의 온도는 $-10 \sim -5^\circ\text{C}$ 로 유지하고, 부가 후 냉장고(4°C)에서 하룻밤 동안 방치하였다. 반응혼합물을 찬 증류수 250 ml로 교반한 후 여과하여 얻은 고체를 찬 증류수로 세척하고 절대 에탄올에서의 재결정하여 백색결정의 생성물 12를 70.98 g (80.0%) 얻었다. mp.: $83 \sim 84^\circ\text{C}$; IR(neat) 1360, 1180(S-O-), 1000~800(S-O-C); $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 2.44(s, 6H, ArCH₃), 3.38~4.0(m, 8H, OCH₂), 4.14(t, 4H, SOCH₂), 7.30 and 7.76(d, 8H, ArH).

Tetraethylene glycol di(toluen-p-sulfonate), 13. 화합물 12의 합성에서와 유사한 방법으로 tetraethylene glycol(30 g, 0.154 mol)과 *p*-toluene sulfonyl chloride(71.5 g, 0.375 mol)을 반응시켜 하룻밤 동안 냉장고(4°C)에 방치하고 분리된 수용액층은 methylene chloride(150 ml \times 3)로 추출하였다. 합친 methylene chloride층은 5N HCl(200 ml \times 4)와 물(150 ml \times 4)로 씻고 건조한 magnesium sulfate를 사용하여 건조시켰다. 용매를 증발시켜 orange oil의 생성물 13를 145.9 g(94.0%) 얻었다. IR(neat) 1360, 1180(S-O-), 1000~800(S-O-C); $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 2.43(s, 6H, ArCH₃), 3.34~3.87(m, 12H, OCH₂), 4.16(t, 4H, SOCH₂), 7.30 and 7.76(d, 8H, ArH).

1-Aza-4,7,10,13-tetraoxacyclopentadecane(monoaza-15-crown-5)¹³, 14. Diethanol amine(4.2 g, 0.04 mol)과 sodium metal(2.76 g, 0.12 mol)을 33 ml의 *t*-butanol에 용해시켰다. Dioxane에 triethylene glycol di(toluen-p-sulfonate), 12(18.27 g, 0.04 mol)을 녹인 용액을 40°C 에서 4시간 동안 걸쳐 위 용액에 적가했다. 12시간 동안 반응시킨 후 반응 혼합물을 여과하고 용매는 증발시켰다. 물(33 ml)을 잉여 혼합물에 부가하고, *n*-hexane(60 ml)으로 불순물을 한번 추출하여 제거한 뒤에 dichloromethane(66 ml \times 4)으로 추출하고 용매를 증발시켜 흰색의 고체로 crude product가 얻어졌다. *n*-Hexane에서 재결정하여 순수한 생성물 14를 얻었다. 수득량: 4.38 g

(50.0%); IR(neat) 3310, 710~650(N-H), 1120(C-N or C-O-C); $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 2.74(t, 4), 3.02(s, 1), 3.43~3.83(m, 16).

1-Aza-4,7,10,13,16-pentaoxacyclooctadecane(monoazo-18-crown-6)¹³, 15. Diethanol amine(4.2 g, 0.04 mol)과 potassium metal(4.7 g, 0.12 mol)을 *t*-butanol(333 ml)에 용해시켰다. Dioxane(200 ml)에 tetraethylene glycol ditosylate(20.1 g, 0.04 mol), 13을 녹인 후 이 용액에 가하여 화합물 14의 합성과 같은 방법으로 반응시켜 생성물 15를 얻었다. 수득량: 4.29g(40.8%); mp.: $49 \sim 51^\circ\text{C}$; IR(neat) 3310, 725(N-H), 1120(C-N or C-O-C); $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 2.74(t, 4), 3.20(s, 1), 3.43~3.83(m, 20).

Octyl[1-(monoaza-15-crown-5)]propylphenylphosphinate, 1. 25 ml 반응플라스크에 monoaza-15-crown-5(3.50 g, 16 mmol)와 octyl phenylphosphinate(4.06 g, 16 mmol)를 넣고 $90 \sim 95^\circ\text{C}$ 로 온도를 유지하면서 propionaldehyde(99.0 wt.%, 1.23 g)를 적하하였다. 반응 혼합물을 밤새 반응시킨 후 감압하에 증발시키고, 생성된 갈색의 혼합물은 CHCl₃(50 ml)에 용해시켰다. 물(25 ml \times 2)로 세척하고 magnesium sulfate로 건조시켜서 얻은 혼합물을 관 크로마토그래피[alumina, ethylacetate/ethanol(20/1, v/v) 혼합용리액]를 통하여 정제하여 brown oil의 생성물 1을 얻었다. 수득량: 5.91 g(72.0%); IR(neat) 1200(P=O), 1120(C-N), 1015(P-O-C); $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 1.03(t, 3), 1.7~2.4(m, 12), 4.00(t, 2), 7.5(q, 5), 0.93(t, 3), 1.63(m, 2), 1.90(t, 1), 2.97~3.68(m, 20), Anal. Calcd for C₂₇H₄₈O₆NP \cdot 3H₂O: C, 58.78; H, 9.87; N, 2.54%. Found: C, 58.53; H, 9.87; N, 2.46%.

Propyl(monoaza-15-crown-5)methylphenylphosphinate, 2. 화합물 1의 합성과 유사한 방법으로 monoaza-15-crown-5(3.50 g, 16 mmol)와 propyl phenylphosphinate(2.94 g, 16 mmol) 그리고 formaldehyde(2.0 g, 37 wt.%)를 반응시켜 brown oil의 생성물 2를 얻었다. 수득량: 4.71 g(71.0%); IR(neat) 1200(P=O), 1120(C-N), 1030(P-O-C); $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 0.88(t, 3), 1.17(m, 2), 3.95(t, 2), 7.7(m, 5), 1.65(s, 2), 2.80~3.69(m, 20). Anal. Calcd for C₂₀H₂₄O₆NP \cdot 3.5H₂O: C, 53.09; H, 6.91; N, 3.09%. Found: C,

53.16; H, 7.42; N, 3.05%.

Octyl(monoaza-18-crown-6)methylphenylphosphinate, 3. 화합물 1의 합성과 같은 방법으로 monoaza-18-crown-6(4.21 g, 16 mmol)와 octyl phenylphosphinate(4.06 g, 16 mmol), 그리고 formaldehyde(2.0 g, 37 wt.%)을 반응시켜 brown oil의 생성물 3을 얻었다: 수득량: 5.84 g(69.0%); IR(neat) 1200(P=O), 1120(C-N), 1065(P-O-C); ¹H-NMR(CDCl₃) δ 0.87(t, 3), 1.19~1.25(m, 12), 4.04(t, 2), 7.60(m, 5), 1.65(s, 1), 2.85~3.69(m, 24). Anal. Calcd for C₂₇H₄₈O₇NP·2H₂O: C, 58.99; H, 9.53; N, 2.54%. Found: C, 58.79; H, 9.52; N, 2.56%.

Ethyl(monoaza-18-crown-6)methylphenylphosphinate, 4. 화합물 1의 합성과 같은 방법으로 monoaza-18-crown-6(4.21 g, 16 mmol)와 ethyl phenylphosphinate(2.72 g, 16 mmol), 그리고 formaldehyde(2.0 g, 37 wt.%)를 반응시켜 brown oil의 생성물 4를 얻었다: 수득량: 4.34 g(61.0%); IR(neat) 1210(P=O), 1120(C-N), 1030(P-O-C); ¹H-NMR(CDCl₃) δ 1.18(t, 3), 4.03(q, 2), 7.70(m, 5), 1.30(s, 2), 2.70~3.68(m, 24). Anal. Calcd for C₂₁H₂₆O₇NP·4.2H₂O: C, 50.95; H, 7.00; N, 2.82%. Found: C, 51.11; H, 7.17; N, 2.35%.

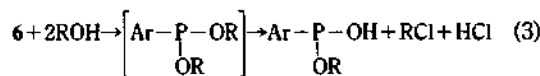
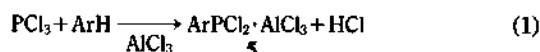
독성검사(LD₅₀ 산출실험)

실험대상인 mouse(20~30 g, 수컷)는 24시간 동안 관찰하였으며, 시료는 에탄올로 1차 희석 후 식염수로 2차 희석하여 intraperitoneal injection(복강주사)으로 실시했다. LD₅₀ 계산은 Miller와 Tainter의 방법¹⁴에 따랐다.

결과 및 고찰

Alkyl phenylphosphinate의 합성. Alkyl phenylphosphinate(7, 8, 9)는 Friedel-Craft 반응을^{10,12} 준용한 삼염화인의 아릴화반응에 의해서 얻어진 이염화페닐인을 Petrov법에 따라¹⁵ 가알코올분해시키는 두 단계의 과정을 통하여 합성하였다. 삼염화인을 염화알루미늄 존재하에 벤젠과 환류시키면 갈색의 complex가 얻어지는데 여기에 diethyl phthlate (DEP)를 가하여 phenylphosphonous dichloride, 6을 분리하고, 이를 1:2 몰비의 알코올과 반응시켜

alkyl phenylphosphinate들을 합성하였다(Scheme 2). 본 실험에서 사용한 할로포스핀의 아릴화 과정(반응식 1과 2)은 유기수은 화합물을 이용하는 방법¹⁶, 배위수 5인 R₂PX₃ 형태의 중간 생성물의 열분해¹⁷, 삼염화인과 방향족 화합물의 열분해¹⁸ 등의 다른 보고된 방법들에 비하여 취급이 용이하고 수율도 높다.



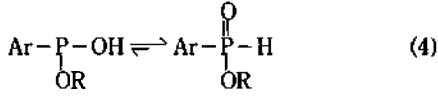
7 Ar=C₆H₅-, R=CH₃CH₂-

8 C₆H₅-, R=CH₂CH₂CH₂-

9 C₆H₅-, R=CH₃(CH₂)₇-

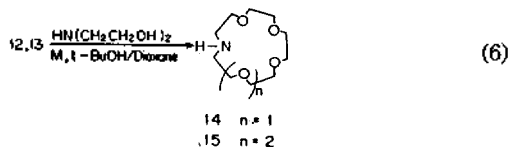
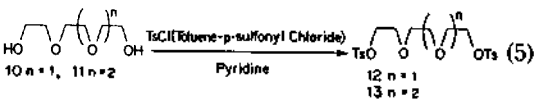
Scheme 2.

반응식 (3)에 나타난 아릴할로포스핀의 모노에스테르화 반응메카니즘은 arylphosphonous dichloride와 1:2 몰비의 알코올과의 반응에 의해 생성된 diester가 반응의 부산물로 용액내에 존재하는 염화수소에 의하여 분해가 일어나는 것으로 설명된다¹⁵. 이러한 방법은 dichlorophosphine에서 1 mol 상당의 에탄올을 사용, 한 개의 염소원자만 에톡시 그룹으로 치환시킨 다음, 가수분해에 의해 에스테르를 얻은 두단계 과정을 거치는 반응¹⁹이나, 디에스테르를 합성하여 가수분해 시키는 방법²⁰, 또는 제한된 조건하에서 dichlorophosphine과 diester의 disproportionation 반응²¹ 등에 비해 훨씬 용이하다. 생성물인 alkyl arylphosphinate는 3배위 구조와 4배위 구조의 tautomer 형태를 취하는데 일반적으로 4배위 구조가 안정한 것으로 알려져 있다²². 분광학적으로 조사한 결과 적외선 흡수치는 2335~2365 cm⁻¹에서 P=O 신축진동을 나타내며, P-OH로 할당할 만한 지역에 흡수가 관찰되지 않으므로 기보 고된 포스포릴 구조와 일치한다. ¹H-NMR 스펙트럼을 보면 P-H 스핀-스핀 커플링 상수가 490~760 Hz에 나타나며, 그 위치는 인의 치환기와 입체적 구조에 따라 좌우되는 것으로 이해된다.



Alcoholysis 과정에서 발생하는 염화수소는 생성물과 추가적으로 반응하여 arylphosphonous acid를 생성할 수 있으므로 이러한 2차 반응을 방지하기 위하여 본 실험에서와 같이 반응을 열음수조를 이용하여 저온에서 실시하면서 건조한 비활성 기체(질소)를 약하게 bubbling하여야 하며, 반응을 높은 온도에서 수행하여야 하는 경우에는 반응 혼합물속에 tertiary base를 가하여 염화수소를 제거하는 방법도 있다²³.

Monoazacrown ether의 합성. Monoazacrown ether는 dioxane에 녹아 있는 ethylene glycol ditosylate와 *t*-butanol에 녹아 있는 diethanol amine을 반응시키는 Okahara 고리화 방법¹³을 이용하여 합성하였다(Scheme 3). 반응에 사용된 tri-, 또는 tetraethylene glycol di(toluene-*p*-sulfonate)는 일반적으로 알려진 대로, 건조한 pyridine 용매에 1몰의 ethylene glycol과 3몰의 *p*-toluenesulfonyl chloride를 반응시켜 얻었다. 생성물들(14, 15)는 각각 백색결정 및 orange oil로서 86%, 94% 수율로 얻었다. 생성물의 적외선 스펙트럼에서 나타나는 1360, 1180 cm⁻¹의 -SO₂- stretching, 1000~800 cm⁻¹의 S-O-C stretching과 ¹H-NMR 스펙트럼의 2.43(s, 6H, ArCH₃), 4.14(t, 2H, SOCH₂), 7.3 and 7.76(d, 8H, ArH), 그리고 3.38~4.0(m, 8H, OCH₂) 및 3.34~3.87(m, 12H, OCH₂) 피이크들은 glycol의 OH 그룹이 tosylate 되었음을 나타내는 증거들이다.



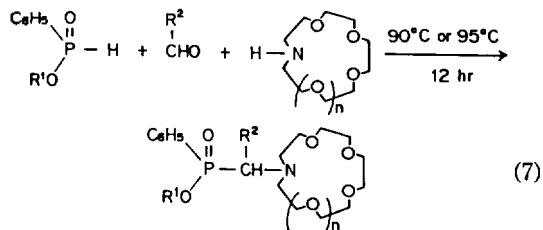
Scheme 3.

Ethylene glycol ditosylate와 diethanol amine의 반응에 의한 monoazacrown ether의 합성은 고리화의 "template"로서 고려 크기에 맞는 금속염 so-

dium(monoaza-15-crown-5) 또는 potassium metal (monoaza-18-crown-6)을 각각 사용하였으며, intramolecular cyclization임을 고려하여 0.04 mol의 묽은 농도에서 반응시켰다. 아자크라운에테르 합성법으로서 *N*-benzylazacrown ether을 합성하여 고압 수소로 환원시키는 방법이 자주 사용되고 있으나²⁴ 본 실험에 사용한 방법이 비교적 용이하며 생성물들의 수득율도 50.0%, 40.8%로 적절한 편이다.

IR 스펙트럼상 3310 cm⁻¹에서 N-H stretching, 1120 cm⁻¹ 근처에서 C-O-C 또는 C-N stretching, 710~650 cm⁻¹에서 N-H wagging이 나타남으로서 확인되었다. ¹H-NMR에서는 2.57~3.1(m, 5H, NCH₂ and NH), 3.31~3.38(m, 16H or 20H, OCH₂) 피이크들이 나타남으로서 제시된 구조를 추가적으로 확인할 수 있었다.

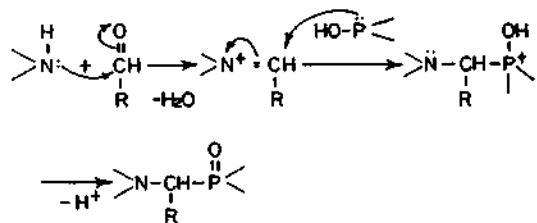
Alkyl Monoazacrownalkylphenylphosphinate (1~4)의 합성. Alkyl monoazacrownalkylphenylphosphinates는 한 단계로 알데히드를 기 합성된 alkyl phenylphosphinate 및 monoazacrown ether와 반응시켜 61~72%의 비교적 높은 수율로 합성하였으며(Scheme 4), IR 스펙트럼에서 2335~2365 cm⁻¹에 나타나는 P-H, 1725 cm⁻¹의 C=O 신축진동, 그리고 1680 cm⁻¹ 근처의 N-H 가위질 진동 등의 소멸로 반응의 진행을, ¹H-NMR 스펙트럼과 원소분석결과로 생성물의 구조를 각각 확인하였다.



- | | | | | |
|---|---|---|--------------|--------|
| 1 | R ¹ = CH ₃ (CH ₂) ₇ -, | R ² = CH ₃ CH ₂ -, | <i>n</i> = 1 | (72 %) |
| 2 | CH ₃ CH ₂ CH ₂ -, | H-, | 1 | (71 %) |
| 3 | CH ₃ (CH ₂) ₇ -, | H-, | 2 | (69 %) |
| 4 | CH ₃ CH ₂ -, | H-, | 2 | (61 %) |

Scheme 4.

Aminoalkylphosphinic ester를 얻는 방법은 Mannich 반응에서와 유사하게 aldehyde를 2차 amine과 alkyl phosphinate의 혼합물에 부가하는 1단계 합성법²⁵ 외에 1) alkylphosphinate와 치환된 alkylene-diamine의 혼합물을 가열하는 방법²⁵, 2) 1차 아민과



Scheme 5.

aldehyde를 반응시켜 생성된 imine과 alkyl phosphinate를 반응시키는 방법들²⁶이 있다. 2)의 경우, 수율은 거의 정량적으로 얻을 수 있으나 저분자량 imine의 polymerization 경향이 있으므로 부적당하고, 1)의 경우도, 수율은 좋으나 미리 alkylenediamine을 합성해야 하는 단점이 있다.

이 반응의 초기 반응 메카니즘으로서 aldehyde에 대한 P(O)H 혹은 amine 그룹의 친핵공격이 있을 수 있다. 전자의 경우, 카르보닐 화합물에 P(O)H 그룹의 친핵공격으로 중간 생성물인 α -hydroxymethylphosphonic ester가 얻어진 다음, 이것이 다시 amine과 반응하는 경로를 거쳐게 된다. 이러한 반응은 반응시간이 길어야 하며 고온 조건이 필요하다는 보고가 있고²⁷, 또한 강력한 염기의 촉매가 필요하므로²⁸ 본 실험조건에서 일어나지 않는 것으로 판단된다. 본 반응에서는 Scheme 5에 나타난 바와 같이 알데히드에 대한 아민의 공격으로 생성된 iminium 양이온에 대한 인의 친핵공격의 과정을 거쳐 일어나는 것으로 이해된다.

독성검사

신경전달물질인 acetylcholine을 choline과 acetic acid로 분해시키는 분해효소인 acetylcholine esterase는 유기인에 의하여 포스포릴화되며 활성유기인에 의한 포스포릴화 과정은 가역적이 아니거나 적어도 역반응이 매우 느리게 일어나는 것이어야 한다²⁹. 대개 이들의 독성과 생리활성과의 관계는 유사하므로³⁰ 단순한 독성검사를 실시하여 생리활성을 짐작한다. 합성된 phosphinate 유사체들의 독성 검사 결과는 LD₅₀값이 65~90 mg/kg으로서 Table 1에 나타내었다.

이 값은 알려진 맹독성 phosphonate 에스테르인 VX, 16보다 낮으나 생리활성 phosphinate 화합물 17보다는 높은 것으로 나타났다.

Table 1. Intraperitoneal toxicity of phosphinate derivatives towards male mouse

Compounds	Formula	LD ₅₀ value(mg/kg)
1	C ₂₇ H ₄₈ O ₆ NP	70
2	C ₂₀ H ₂₄ O ₆ NP	65
3	C ₂₇ H ₄₈ O ₇ NP	70
4	C ₂₁ H ₂₆ O ₇ NP	90

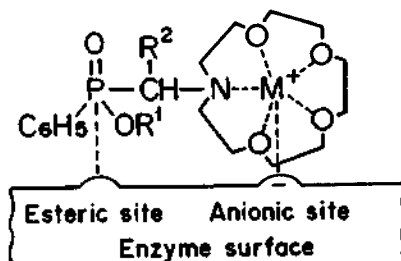


Fig 1. Hypothetical model of the enzyme inhibitor complex formed during the inhibition of acetylcholinesterase by azacrownalkylphosphinates.

일반적으로 포유동물의 체내에서 여러가지 금속 이온들이 존재하여 생체기능 및 조절에 관련된 중요한 작용을 하는데, 특히 Na⁺ 또는 K⁺ 이온은 세포 삼투압의 유지, 신경정보의 전달, 그리고 아미노산의 활성적 이동 등에 관련이 있는 것으로 알려져 있다³². 따라서 15-아자크라운-5 기능을 갖는 유기인산 에스테르(1, 2)는 주로 포유동물의 세포 외부에 존재하는 Na⁺ 이온(혈장에 약 140 mM이 있음)과³², 18-아자크라운-6가 부착된 화합물(3, 4)은 주로 K⁺ 이온(cytosol에 약 110 mM 존재)과³² 링사이즈의 공동(cavity) 크기가 잘 맞아 선택적으로 complex를 형성하여 Na⁺ 또는 K⁺ 이온의 작용을 억제함과 동시에 효소와 상호작용을 일으키는 것으로 이해된다. 크라운에테르들은 그 자체만으로도 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있으며 비슷한 ring size를 갖는 15-crown-5의 LD₅₀은 1,020 mg/kg, 18-crown-6의 LD₅₀은 750 mg/kg으로 보고된 바 있다³³.

유기인 화합물의 생리활성은 극성(polarity)으로 인한 억제물질과 효소의 활성자리간의 친화도에 연 관되며³⁴, 금속이온을 포함하는 N-alkylazacrown ether 그룹은 효소의 anionic site와 Fig.1에 보인 바와 유사한 상호작용을 일으킬 것으로 판단된다.

Table 2. LD₅₀ values of some organophosphonate and organophosphinate derivatives (Mouse)

No.	Chemical name	Structure	LD ₅₀ (mg/kg)
16	Methylethoxy-(2-diisopropylaminoethylthio)-phosphine Oxide; VX	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3-\text{P}-\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N} \begin{array}{l} \diagup \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \diagdown \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} \\ \mid \\ \text{EtO} \end{array}$	0.01 ³¹
17	Ethyl bis[allyloxy)methyl]phosphinate	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{EtO}-\text{P}-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2 \\ \mid \\ \text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2 \end{array}$	625 ⁶

단순한 phosphinate 화합물들의 낮은 활성은 이러한 상호작용이 결여된 데 기인하는 것으로 이해된다.

Alkoxy group의 사슬길이의 변화(R¹)에 따른 독성결과를 조사한 결과 그 차이는 현저하지 않으나 에톡시 그룹이 치환된 화합물 4의 독성이 90 mg/kg으로서 다른 화합물들(65~70 mg/kg)보다 비교적 낮았다. 유사 phosphinate 화합물에서도 알콕시 그룹의 사슬길이가 독성에 미치는 영향은 현저하지 않으며 C₄-C₆인 화합물에서 최대 독성을 나타내는 것으로 보고되어 있다³⁵. R² 그룹의 영향은 본 실험에서 조사된 화합물들에서 현저하지 않은 것으로 나타났다.

결 론

아자크라운에테르 기능기를 분자내에 갖는 생리 활성 포스피네이트 유도체들을 케닐 포스피네이트와 알데히드 그리고 모노아자크라운에테르를 한 단계로 반응시켜 비교적 높은 수율로 합성할 수 있다. 합성된 화합물의 독성검사 결과, LD₅₀ 값이 90~65 mg/kg으로서 phosphinate 구조에 아자크라운에테르 기능기를 부착한 화합물의 독성은 단순한 알킬 케닐포스피네이트에서 보다 현저히 증가되었다. 아자크라운에테르환의 크기(ring size)가 18-crown-6이거나 15-crown-5인 경우의 독성차는 현저하지 않았으나, 에스테르기의 종류에는 다소의 영향을 받아 알콕시 그룹이 프로폭시 또는 옥틸옥시인 화합물의 독성이 에틸옥시 그룹인 화합물보다 약간 높았다.

본 연구에서 합성한 화합물들의 독성검사를 실시하는데 도움을 주신 육군 31화학실험소 분석실 관

계관 여러분께 감사드린다.

인 용 문 헌

1. D. Nachmansohn, E. A. Feld, *J. Biol. Chem.*, **171**, 715 (1947).
2. B. Holmstedt, *Parmacon. Rev.*, **11**, 567 (1959).
3. Davies, D. R., "Handbuch der Exper Parmacon", *Erganzungswerk*, Vol. XV, p. 860, 1963.
4. M. K. Johnson, *Arch. Toxicol.*, **34**, 259 (1975).
5. L. E. Tammelin, *Acta Chem. Scand.*, **11**, 859 (1957); **11**(8), 1340 (1957).
6. I. V. Berezovskaya, L. A. Eliseeva, and E. K. Mukhametzyanova, *et al.*, *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser Khim.*, **6**, 1369 (1968).
7. C. W. White, J. Rodriguez, and T. P. Kellner, *Report, Toxicologyser-55, Lair-191*, 1984.; CA: 102(25) 216564j.
8. M. K. Johnson, *J. Neurochem.*, **23**(4), 785 (1974).
9. Brien, R. D. O. "Toxic Phosphorus Esters", Academic Press, New York, p. 210, 1960.
10. T. D. William, *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 2595 (1948).
11. T. Weil, B. Prijs, and H. Erlenmeyer, *Helv. Chim. Acta*, **36**, 1314 (1953).
12. A. N. Pudovik and D. K. Yarmukhametova, *Izvest. Akad. Nauk. S.S.S.R., Otdel. Nauk*, 721 (1952).
13. H. Maeda, Y. Nakatsuji, and M. Okahara, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, 471 (1981).
14. L. C. Miller and M. L. Tainter, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **57**, 261 (1944).
15. K. A. Petrov, N. K. Bliznyuk, Y. N. Studnev, and A. F. Kolomiets, *Zhurnal Obshchei Khimil.*, **31**(1), 179 (1960).
16. Dreher, Otto, *Ann. Chim. Pham.*, **154**, 30 (1973).

17. Collie Reynolds, *J. Chem. Soc.*, **107**, 367 (1915).
18. Michaelis, Lange, *Ber.*, **8**, 1313 (1875).
19. W. H. Woodstock, *U. S. Patl.*, **2**, 137, 792 (1936).
20. M. Sander, *Chem. Ber.*, **93**, 1220 (1963).
21. F. W. Hoffman, D. H. Wadsworth, and H. D. Wiess, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 3945 (1958).
22. A. J. Kjrby and S. G. Warren, "The Organic Chem. of Phosphorus", Elsevier, Amsterdam, p. 21, 1967.
23. J. Gerrad, *J. Chem. Soc.*, 1464 (1940).
24. (a) G. W. Gokel and B. J. Garcia, *Tetrahedron Lett.*, **4**, 317 (1977); (b) J. H. Shim, K. B. Chung, and Masao Tomi, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **13**(3), 252 (1992).
25. E. K. Fields, *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 1528 (1952).
26. M. I. Kabachnik and T. J. Medved, *Dokl. Akad. Nauk SSSR.*, **83**, 698 (1952); *Chem. Abstr.*, **47**, 2724 (1953).
27. V. S. Abramov and V. I. Barabanov, *Zh. Obsch. Khim.*, **36**, 1830 (1966).
28. A. N. Pudovik and J. P. Kitaev, *Zh. Obsch. Khim.*, **467**, 22 (1952).
29. I. B. Wilson, *Biol. Chem.*, **208**, 123 (1954).
30. J. Ooyama and N. Nakamura, *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **24**(7), 744 (1960).
31. Sten-Magnus Aquilonius, and Anders Sundwall, *et al.*, *Toxicology and Applied Pharmacology*, **6**, 269 (1964).
32. A. L. Lehninger, "Principles of Biochem", Jons Hopkins Univ. of Medicine, Worth Publishers, Inc., p. 385, 1982.
33. M. Hiraoka, "Crown Compounds-Their Characteristics and Application", Elsevir Scientific Pub. co., NY., p. 206, 1982.
34. W. Z. Perkow, *Naturforsch.*, **126**, 33 (1957).
35. A. J. J. Ooms, "The Possibility to Delimitate Nerve Gases within The Field of Organophosphorus Compounds", Vol. 6, p. 200, SPRI, Ed., Humanities Press, N.Y., 1975.