

## Methanesulfonamide와 phenylhydrazone 유도체의 살균활성에 대한 parameter focusing

성낙도\* · 김선영 · 최중권<sup>1</sup> · 옥환석<sup>2</sup>

충남대학교 농과대학 응용생물화학부, <sup>1</sup>한국화학연구소 생유기과학부, <sup>2</sup>미성농약(주) 중앙연구소

**요약** : 일련의 methanesulfonamide(I a-I g)와 phenylhydrazone(II a-II h) 유도체를 합성하고 식물성 병원균인 잣빛 곰팡이병균(BC: *Botrytis cinerea*), 고추 역병균(PC: *Phytophthora capsici*) 및 문고병균(RS: *Rhizoctonia solani*)에 대한 살균활성을 한천 희석법으로 측정하였다. 살균활성은 (I)보다 (II)가 다소 큰 영향을 미쳤으며 (I)과 (II) 모두 PC=BC>RS의 순서로 살균활성을 나타내었다. 다루어진 화합물 중에서 3-chlorophenyl 치환체, II g가 PC균에 대하여 가장 강한 활성 ( $pI_{50}=3.96$ )을 보였다. 또한, parameter focusing을 통하여 검토된 살균활성에 미치는 요인들로는 Ovality, 극성 및 logP상수 등 이었다. (1999년 2월 20일 접수, 1999년 7월 22일 수리)

Key words: methanesulfonamide, phenylhydrazone, fungicidal activity, parameter focusing, SAR.

Sulfonamide계 농약으로 개발된 화합물에는 제조제로 활용되고 있는 sulfonylurea계 화합물(bensulfuron, bentazone, ethametsulfuronmethyl 및 famphur(살충제) 등)을 위시하여 식물생장 조절제인 mefluidido와 metosulam등이 있다. 또한 phenylhydrazone계 농약으로는 살충제로 buprofezin, 제조제로 chloridazon, 그리고 살균제로는 ferimzone과 fluquinconazole등이 개발 (Tomlin, 1994)되어 상용화 되고 있다.

저자들은 생물활성을 정량적으로 이해(Draber 등, 1992)하고, 나아가 흥미로운 구조를 가진 화합물들(성 등, 1997a, 1998b)에 대한 새로운 용도로의 개발 가능성(성 등, 1997b)을 연구하고 있다.

본 연구에서는 살균활성 물질을 탐색하기 위한 random approach의 일환으로 일련의 methanesulfonamide와 phenylhydrazone 유도체를 합성하고 요약에서 언급된 3가지 종류의 식물성 병원균들을 대상으로 살균활성과 그에 미치는 요소들에 대하여 알아 보았다. 합성에 이용한 시약으로는 Aldrich제 1급시약을, 그리고 용매들은 가능한 정제하여 사용하였다. 구조확인을 위하여 NMR Spec.은 TMS를 내부 표준물질로 하여 Varian Gemin. 모델(200MHz)을, 그리고 MS Spec.은 Shimadzu GCMS-QP 1000모델을 각각 이용하였다. 또한 녹는점은 MUI-TEM 융점 측정기로 측정하여 자료화하였다.

**1H-Benzotriazol-1-ylmethanesulfonate** : 0°C의 meth-

ylene chloride 60 mL에 1-hydroxy benzotriazole (10 g, 74 mM)을 녹인 용액에 6 mL의 methanesulfonylchloride (77.7 mM)을 가하여 30분간 반응시킨 다음에 triethylamine 12.4 ml(88.8 mM)를 넣고 2시간 동안 저어주었다. 반응 혼합물에 2N 염산을 가하고 methylene chloride로 추출하여 유기층을 magnesium sulfate로 건조한 다음에 n-hexane/methylene chloride (1:1, v/v)용액으로 재결정(2.2 g, 수율 78%)하였다. m.p.(°C):90~91, <sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>/TMS), δ 3.58(s, 3H, SCH<sub>3</sub>), 7.61~7.67(m, 3H, ArH), 8.05(d, 1H, J=7.7Hz, ArH), MS(m/z), 213(M<sup>+</sup>, 80.7), 51(100)

**6-nitro-1H-benzotriazol-1-yl methanesulfonate** : 앞서서의 반응에서 1-hydroxybenzotriazole 대신에 1-hydroxy - 6 - nitrobenzotriazol(4.4 g, 24.4 mM)을 methanesulfonylchloride(25.6 mM)와 반응시켜서 6-nitro-1H-benzotriazol-1-yl methanesulfonate(3.6 g, 수율 57%)을 column chromatography (R<sub>f</sub>=0.27, ethyl acetate/n-hexane 1:3, v/v)하여 얻었다. m.p.(°C):107~108.5, <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>/TMS), δ 3.65(s, 3H), 8.24(d, J=9.2Hz, 1H), 8.43(dd, J=0.6 & 9.1Hz, 1H), 8.65(d, J=1.8Hz, 1H), MS(m/z), 258(M<sup>+</sup>, 14), 79(100)

**N - (1 - phenylethyl) methanesulfonamide (I a)** : 1H - benzotriazol-1-yl methanesulfonate (213 mg, 1 mM)을 무수 DMF 7 mL에 녹이고 N-phenyl ethylamine (121 mg, 1.05 mM)을 가하여 1시간 동안 저어주었다. 반응 혼합물을 methylene chloride로 희석하고 2N 염산으로 씻어준 다음에 유기층을 magnesium sulfate로

\*연락처

건조하였다.

용매를 제거하고 column chromatography(전개용매 : ethylacetate/n-hexane=1:3(v/v))로 정제(Rf=0.28)하여 I a를 얻었다.  $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3/\text{TMS})$   $\delta$  1.51(d, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.60(s, 3H, SCH<sub>3</sub>), 4.63(q, 1H, J=7.0 Hz, CH), 4.97(brs, 1H), 7.31~7.36(m, ArH, 5H), MS(m/z), 199(M<sup>+</sup>, 3.9), 91(100). 위와같은 방법으로 1H-benzotriazole-1-yl methanesulfonate으로 amine유도체를 mesylation 반응 (Sung 등, 1999)시켜서 화합물 I a ~ I g를 각각 합성하였다.

**phenone-2,4-dinitrophenylhydrazone (II a)** : 실온에서 5 mL의 ethylene glycol dimethylether에 benzylalcohol (1 mM)과 6-nitro-1H-benzotriazol-1-yl methansulfonate (1.1 mM)를 85°C에서 두시간 동안 저어주면서 반응시켰다. 반응 혼합물에 2,4-dinitrophenylhydra-zine(1mM)을 가하여 생성된 노란고체 II a를 얻었다. m.p.(°C):237~239,  $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3+\text{DMSO-d}_6/\text{TMS})$   $\delta$  7.43~7.47(m, 3H), 7.77~7.84(m, 2H), 8.15(d, J=9.6Hz, 1H), 8.35(dd, J=2.5 & 9.6Hz, 1H), 8.57(s, 1H), 9.02(d, J=2.6Hz, 1H), 11.61(brs, 1H),

MS(m/z)286(M<sup>+</sup>, 28), 51(100). 위와 같이 alcohol 유도체와 6-nitrobenzotriazol-1-yl methanesulfonate와의 반응으로 alcohol 유도체를 알데히드로 산화한 다음에 2,4-dinitrophenylhydrazine과의 반응으로 화합물 II a~II h를 각각 합성하였으며 녹는점은 표 1에 정리하였다.

한편, 살균활성 검정 대상 균주는 충남대학교 농과대학 농생물학과에서 분양받은 것으로 앞서의 방법 (성 등, 1998b)으로 3반복하여 군사생장을 50% 저해하는 살균활성 (pI<sub>50</sub>)값을 각각 측정하여 표 1에 정리하였다. 그리고 구조-활성관계 (SAR)를 검토하기 위한 물리-화학 파라미터는 소수성상수, logP(CLOGP, Ver. 3.53)값을 위시하여 분자내 특정 원자 (N,S 및 C)의 알짜전하, HOMO 및 LUMO 에너지 (e.v)등이었으며 이들 값은 HyperChem (HyperCube, Ver. 4.0, 1993)으로 계산 (PM3)한 것이다. 또한, 실질적으로 작용하는 표면적과 그 최소 면적의 비를 나타내는 Ovality (Ova.=S/(4πR<sup>2</sup>), R={3V/4π}<sup>1/3</sup>, 여기서 S는 표면적이고 V는 분자의 부피이다.) 분자의 쌍극자 능력 (Dip.), 극성 (Polar) 및 원자하전의 절대값의 합(Σ

Table 1. Fungicidal activity(pI<sub>50</sub>) of methanesulfonamide(I) and 2,4-dinitrophenylhydrazone(II) derivatives *in-vitro* against the three fungi.

No	R-	M.P.(°C)	BC	PC	RS
I a	phCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH-	Liquid	3.75	3.68	2.79
I b	phCH <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> )-	Liquid	3.61	3.72	2.98
I c	phCH(OH)CH <sub>2</sub> NH-	104	3.59	3.58	3.64
I d	phCH(CH <sub>3</sub> )NH-	Liquid	3.31	3.72	2.59
I e	2-CH <sub>3</sub> phNH-	97-98.5	3.62	3.56	2.61
I f	<sup>a</sup> C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> ON-	112-113	3.74	3.76	2.81
I g	<sup>b</sup> C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> -	110-111	3.79	3.75	3.21
II a	ph-	237-239	3.46	3.53	2.51
II b	2-Fph	202-203	3.52	3.31	3.10
II c	phCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -	130-132	3.45	3.85	3.15
II d	2-Clph-	198-201	3.66	3.92	2.96
II e	phCH=CH-	251-253	3.53	3.65	3.07
II f	3-thiophenyl-	231-233	3.46	3.92	2.64
II g	3-Clph-	261.5	3.75	3.96	3.80
II h	<sup>c</sup> C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> -	190-192	3.47	3.75	3.27

(I):R-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, (II):R-CH=NNH-2,4(NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>ph, BC:Botrytis cinerea, PC:Phytophthora capsici, RS:Rhizoctonia solani <sup>a</sup>2-methyl-4-methoxyanilino-, <sup>b</sup>1,2,3,4-tetrahydro-1-naphthyl-, <sup>c</sup>4-(1-methylethenyl)cyclohexenyl-,

Table 2. Physicochemical parameters of (I) and (II) derivatives

No.	Ova <sup>a)</sup>	Dip <sup>b)</sup>	Pol <sup>c)</sup>	MH <sup>d)</sup>	AQ <sup>e)</sup>	LU <sup>f)</sup>	logP
I a	1.53	3.04	21.55	0.19	2.36	-0.32	1.23
I b	1.50	3.53	21.55	0.08	2.21	-0.41	1.09
I c	1.54	1.58	22.19	0.27	3.07	-0.49	0.32
I d	1.51	3.11	21.55	0.19	2.33	-0.36	1.21
I e	1.43	3.50	19.72	0.20	2.07	-0.56	1.04
I f	1.50	4.58	22.19	0.20	2.49	-0.53	1.04
I g	1.50	4.01	24.45	0.20	2.29	-0.56	2.04
II a	1.54	2.44	26.72	0.21	3.23	-1.74	1.42
II b	1.55	3.13	26.63	0.21	3.37	-1.82	1.56
II c	1.62	2.46	30.39	0.21	3.49	-1.65	2.48
II d	1.56	2.79	28.65	0.21	3.16	-1.80	2.13
II e	1.59	1.46	30.20	0.21	3.54	-1.81	2.02
II f	1.52	2.35	26.24	0.21	2.98	-1.85	1.06
II g	1.56	1.47	28.65	0.21	3.14	-1.83	2.13
II h	1.61	2.37	32.04	0.21	3.53	-1.74	2.54

<sup>a</sup>Ovality:the ratio of the actual surface area and its minimum surface area, <sup>b</sup>Dipole moment of the molecule, <sup>c</sup>Polar: polarizability-volume dependent, <sup>d</sup>Maximum positive charge on a H atom in mole-cule, <sup>e</sup>ABSQ: sum of absolute values of the atomic charges on each atom, <sup>f</sup>LUMO.

'Qi)을 뜻하는 ABSQ 등 물리 상수들은 SciQSAR 프로그램 (SciVision, 1995)으로 계산하였다. 표 2에는 SAR분석 결과로부터 살균활성에 중요한 영향을 미치는 것으로 판단된 물리-화학파라미터들을 정리하였다.

살균활성은 (I)보다 (II)가 전반적으로 약간 크게 영향(II>I)을 미쳤으며 (I)은 BC=PC>RS균 순서로 BC와 PC균에 비슷한 살균활성을 보였다. 그러나 (II)는 PC≥BC>RS균의 순서로 PC균에 대하여는 가장 높은 살균활성을, 그리고 RS균에 대하여는 공통적으로 가장 낮은 살균활성을 나타내었다. 또한, (II)는 PC균에 대하여 비교적 유의할 만한 활성을 보였다. 그 중에서 phenylethyl 치환체, IIc ( $pI_{50}=3.85$ ), 2-chlorophenyl 치환체, II d ( $pI_{50}=3.92$ ) 및 3-thiophenyl 치환체, II f ( $pI_{50}=3.92$ )가 비교적 높은 활성을 보였으며 특히, 3-chlorophenyl 치환체, II g ( $pI_{50}=3.96$ )가 제일 강한 살균활성을 나타내었다.

균 중별로 살균활성에 미치는 요인을 알아보기 위하여 parameter focusing (Miyamoto 등, 1983)을 시도하였다. 한 예로 (II)의 BC균에 미치는 소수성상수 (logP)와 Ova.와의 관계(그림 1)로부터 비교적 높은 활성을 나타낸 물질들이 무리군(focus)을 이루고 있음을 보여주고 있다. 이를 근거로 BC균에 대한 살균활성은 Ovality가 1.55~1.59 그리고 logP는 1.56~2.00 범위의 값을 갖는 치환기로서 이들 두 파라미터를 변수로 한 식 ( $pI_{50} = -6.398(\pm 1.700)Ova + 0.431(\pm 0.113) \log P + 12.747(\pm 2.471)$ ,  $n=8$ ,  $s=0.066$ ,  $F=7.511$ ,  $r=0.866$  및  $r^2=0.750$ )은 실질적으로 작용하는 기질의 표면적과 그 최소면적의 비가 감소할수록(Ova.<0) 그리고 소수성이 약간 증가 할수록 ( $\log P \geq 0$ ) 살균활성이 증진될 것임을 75%(100 $r^2$ ) 설명하고 있다. 생물활성은 개략적으로 기질분자의 입체성과 소수성 그리고 전자효과 등의 선형함수로 설명 (Hansch 등, 1964)됨으로 나머지 25%(1-r<sup>2</sup>)는 아마도 분자내 작용기에 의한 전자효과가 살균활성에 다소 영향을 미칠 것으로 예상된다.

이와 같은 방법으로 검토한 결과, (I)에 의한 BC균에 미치는 살균활성 요소는 Pol.(극성)과 Qs, PC균은 Ovality와 Dipole, RS균은 Pol.과 MaXH, 그리고 (II)에 의한 PC균에 미치는 살균활성 요소는 Ovality와 ABSQ, RS균은 LUMO와 logP 등이었으며 이들 물리-화학 파라미터들로 구성된 SAR식들이 살균활성을 비교적 잘 설명하고 있음( $r>0.82\sim 0.94$ )을 알았다.

결론적으로 (II)가 (I)보다 높은 살균활성을 나타내었으며 특히, (II)는 PC균에 대하여 비교적 높은 활성을 보였다. 그 중에서 2-chlorophenyl 치환체, II

g가 제일 강한 활성( $pI_{50}=3.96$ )을 보였으며 SAR분석 결과, Ovality와 극성 및 소수성 (logP)상수 등이 주로 영향을 미치는 요인으로 설명되었다. 다음 과제로는 많은 화합물들에 대하여 보다 구체적인 연구가 이루어져야 할 것이다.

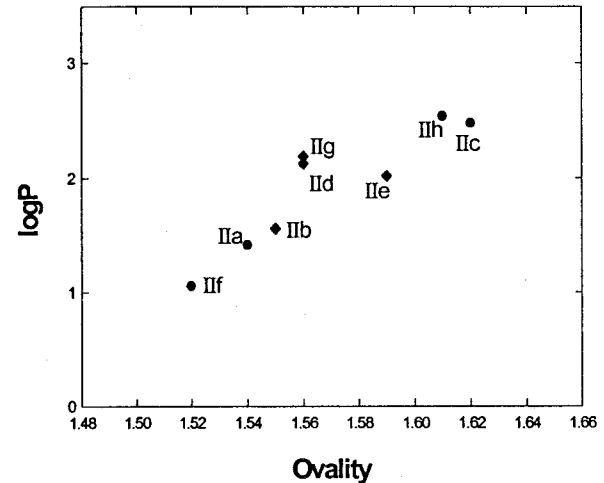


Fig. 1. Parameter focusing between logP and Ovality constant of (II) against *Botrytis Cinerea*. (Active compounds : ◆).

## 인용문헌

- CLOGP (Ver. 3.53) LogP, Calculation algorithm, Pomona college, Medicinal chemistry project, p.1771, Claremont. CA. U.S.A.
- Draber, W. and T., Fujita (1992) Rational approaches to structure, activity, and ecotoxicology of agrochemicals, CRC Press, London.
- Hansch, C. and T., Fujita (1964) A method for the correlation of biological activity and chemical structure, J. Am. Chem. Soc., 86:1616~1626.
- HyperChem (1993) Hyperchem for windows: Ch. 7, Chemistry Calculation HyperCube Inc., Ontario, Canada.
- Miyamoto, J. and P. C. Kearney (1983) Pesticide Chemistry: Human welfare and the environment Vol. 1, Magee, P. S., Parameter focusing. A new QSAR technique, pp.251~260, Pergamon Press, Oxford.
- SciVision (1995) 128 Spring St. Lexington, MA.

- 02173 U.S.A.
- Sung, N. D., S. Y. Kim, J. K. Choi and S. S. Kim (1999) 1H-benzotriazol-1-yl methanesulfonate : A regioselective N-mesylation reagent. *Tetrahedron Letters*, 40:117~120.
- Tomlin, C. (1994) *The pesticide manual* (10th ed.). Corp protection publication, Surrey, U.K.
- 성낙도, 유성재, 성민규, 김대황 (1997a) 새로운 N-치환 benzotriazol-1-yl 유도체의 항균활성에 미치는 치환기 효과, *한국농화학회지* 40(1):80~84.
- 성낙도, 유성재 (1997 b), 신규 벤조트리아졸 유도체, 특허:0211144.
- 성낙도, 유성재, 남기달, 장기혁, 한호규 (1998 a) 새로운 5,6-dihydro-2-trifluoromethyl-1,4-oxathiazin-2(1H)-one 유도체의 항균활성에 미치는 치환 phenylcarbamoyl group의 영향, *한국농약과학회지*, 2(3):64~69.
- 성낙도, 유성재, 김태영, 옥환석 (1998b) 비스 방향족  $\alpha, \beta$ -불포화 케톤 유도체 중 항균활성에 관한 phenyl backbone의 영향, *한국농약과학회지* 2(2):22~28.

#### Parameter focusing on the fungicidal activity of methanesulfonamide and phenylhydrazone derivatives

Nack-Do Sung\*, Sun-Young Kim, <sup>1</sup>Joong-Kwon Choi and <sup>2</sup>Whan-Suk Ok (Division of Applied Biology & Chemistry, College of Agriculture, Chungnam National University, Taejeon, 305-764, Korea, <sup>1</sup>Bio-organic Science division, KRICT, Taejeon, 305-343, Korea, and <sup>2</sup>Mi-Sung Ltd. 46-3 Daewha-dong, Daeduk-ku, Korea, 306-020)

**Abstract** : A series of methanesulfonamide (I a-I g) and phenylhydrazone (II a-II h) derivatives were synthesized and their fungicidal activity *in vitro* against gray mold (BC: *Botrytis cinerea*), phytophthora blight (PC: *Phytophthora capsici*) and sheath blight (RS: *Rhizoctonia solani*) were measured by agar dilution method. The (II) derivatives showed higher activity than (I) derivatives. And the relative orders of the fungicidal activity are BC=PC>RS, Among these compounds, 3-chlorophenyl substituent, II g showed the most highest activity ( $pI_{50}=3.96$ ) against PC. From the parameter focusing technique, major factors on the activity were ovality, polar and logP constant and so on.

\*Corresponding author (Fax : +82-42-825-3306, E-mail : ndsung@hanbat.chungnam.ac.kr)