Journal of the Korean Chemical Society
2003, *Vol. 47, No. 3*
Printed in the Republic of Korea

단 신

항균성을 가진 1,3,4-Thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline류의 합성

김호식* · 김동은 · 이경환 · Yoshihisa Kurasawa†
대구가톨릭대학교 자연대학 화학과
†日本 北里大學 藥學部

(2003. 4. 7 접수)

Synthesis of 1,3,4-Thiadiazino[5,6-*b*]quinoxalines with Antimicrobial Activity

Ho Sik Kim*, Tong Eun Kim, Kyong Hwan Lee, and Yoshihisa Kurasawa†
Department of Chemistry, Catholic University of Daegu, Gyongsan 712-702, Korea
†School of Pharmaceutical Sciences, Kitasato University, Tokyo 108-8641, Japan

(Received April 7, 2003)

주제어: 1,3,4-Thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline류, 항균성, 항조류성
Keywords: 1,3,4-Thiadiazino[5,6-*b*]quinoxalines, Antimicrobial Activity, Algicidal Activity

서 론

4*H*-1,3,4-Thiadiazine(**1**)류와 quinoxaline(**2**)류는 다음과 같은 기본적인 구조를 가지고 있다(*Chart* 1).

위와 같은 헤테로고리 화합물들은 생물활성을 가지는 것이 많다고 보고되어 있다.[1-3] 몇가지 4*H*-1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline류(**3**)가 2,3-dichloroquinoxaline(**4**)과 thioacylhydrazine류(**5**)의 Smiles 자리옮김반응[4]으로 합성되었으나(*Chart* 2),[5,6] 이와 같은 방법으로 합성된 화합물 **3**은 C_2-Me 및 C_2-Ph기가 다른 기로 치환되기 어렵기 때문에 본 연구실에서는 2번 탄소에 치환이 가능한 4*H*-1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxline류를 합성한 바 있다.[7-9]

따라서 본 연구에서는 1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline류를 합성한 경험을 기반으로 2,3-dihydroxyquinoxaline(**10**)과 2,6-dichloroquinoxaline(**11**)을 출발물질로 하여 여러 가지 시약과 반응시켜 quinoxaline 고리에 1,3,4-thiadiazine 고리가 집합된 새로운 1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline류를 합성하였으며, 합성한 화합물에 대한 항균성과 항조류성을 조사하였다.

Chart 1.

Chart 2.

실 험

본 실험에서 사용한 시약은 특급품을 정제하지 않고 사용하였으며, 용매는 EP급을 주로 사용하였다. 출발물질로 사용한 2,3-dihydroxyquinoxaline(**10**)[10]과 2,6-dichloroquinoxaline(**11**)[11,12]은 문헌에 알려진 방법으로 합성하였다. 그리고 녹는점은 Haake Buchler사의 디지털 녹는점 측정장치로써 얻었고, 보정은 하지 않았다.

IR 스펙트럼은 Mattson Polaris FT-IR 분광광도계를 사용하여 얻었고, ^{1}H NMR 스펙트럼은 Varian Gemini-200(200 MHz) 분광계를 사용하여 얻었다. 그리고 Mass 스펙트럼은 Shimadzu GC/MS QP-5000 분광계를 사용하여 얻었다.

2-Substituted amino-4*H*-1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline류(14)의 합성. 환류냉각기가 부착된 100 mL 플라스크에 화합물 **13**(1 g, 5 mmol), methyl isothiocyanate(0.56 g, 7.7 mmol), 그리고 *N,N*-디메틸포름아미드 30 mL를 넣고 기름중탕에서 2시간 환류시켰다. 반응물을 실온으로 냉각시킨 후 생성된 고체를 감압여과한 다음 *N,N*-디메틸포름아미드/에탄올로 재결정하여 붉은색 결정인 2-methylamino-4*H*-1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline (**14a**) 0.53 g(수득률 46%)을 얻었다. mp: 240-241 °C; IR(KBr, cm^{-1}): 3365, 1639, 1410; MS(m/z): 231(M^+); ^{1}H NMR(DMSO-d_6, δ): 10.11(s, 1H, NH), 7.65-7.24 (m, 4H, aromatic H), 6.63(brs, 1H, NH), 2.70(d, J=4.6 Hz, 3H, CH_3).

그리고, 화합물 **13**을 phenyl isothiocyanate 및 ethoxycarbonyl isothiocyanate와 각각 반응시켜 화합물 **14b,c**를 합성할 경우에는 화합물 **14a**와 같은 당량비로 하였으나, 용매는 에탄올을 사용하였다.

2-Phenylamino-4*H*-1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline (**14b**)은 고동색 결정으로 0.90 g(수득률 61%)을 얻었다. mp: 300 °C(dec.); IR(KBr, cm^{-1}): 3230, 1637, 1409, 748, 689; MS(m/z): 293(M^+); ^{1}H NMR(DMSO-d_6, δ): 10.35 (s, 1H, NH), 9.05(s, 1H, NH), 7.70-6.87(m, 9H, aromatic H).

2-Ethoxycarbonylamino-4*H*-1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline(**14c**)은 노란색 결정으로 0.79 g(수득률 55%)을 얻었다. mp: 242-243 °C; IR(KBr, cm^{-1}): 3226, 1695, 1406; MS(m/z): 289(M^+); ^{1}H NMR(DMSO-d_6, δ): 10.73(s, 1H, NH), 10.58(s, 1H, NH), 7.64-7.30(m, 4H, aromatic H), 4.12(q, J=7.0 Hz, 2H, CH_2), 1.22(t, J=7.0 Hz, 3H, CH_3).

1-(3-Chloroquinoxalinyl)-4-ethoxycarbonyl-2-thiosemicarbazate(15c)의 합성. 환류냉각기가 부착된 250 mL 플라스크에 화합물 **13**(1 g, 5 mmol), ethoxycarbonyl isothiocyanate(1 g, 7.5 mmol), 그리고 클로로폼 50 mL를 넣고 물중탕에서 2시간 환류시켰다. 반응물을 실온으로 냉각시킨 후 생성된 고체를 감압여과하여 붉은색 결정인 화합물 **15c**(0.82 g, 수득률 50%)를 얻었다. mp: 192-193 °C; IR(KBr, cm^{-1}): 3289, 1716, 1544, 1450, 1238; MS(m/z): 325(M^+), 327(M^++2); ^{1}H NMR(DMSO-d_6, δ): 11.48(s, 1H, NH), 9.83(s, 1H, NH), 7.94-7.55(m, 4H, aromatic H), 4.25(q, J=7.0 Hz, 2H, CH_2), 1.28(t, J=7.0 Hz, 3H, CH_3).

6-Chloro-2-[2-(*N*-substituted thiocarbamoyl)-hydrazino]quinoxaline 4-Oxide류(18)의 합성(일반적인 방법). 환류냉각기가 부착된 100 mL 플라스크에 화합물 **17**(1 g, 5 mmol), methyl isothiocyanate(0.73 g, 10 mmol), 그리고 tetrahydrofuran 30 mL를 넣고 물중탕에서 3시간 환류시켰다. 용매를 증발제거 시킨 후 물을 가해 생긴 결정을 감압여과하여 미색 결정인 6-chloro-2-[2-(*N*-methylthiocarbamoyl)hydrazino]quinoxaline 4-oxide(**18a**) 0.98 g(수득률 69%)을 얻었다. mp: 223-224 °C; IR(KBr, cm^{-1}): 3273, 1576, 1561, 1498, 1391, 1223; MS(m/z): 283(M^+), 285(M^++2); ^{1}H NMR(DMSO-d_6, δ): 9.52(s, 1H, NH), 9.48(s, 1H, NH), 8.26(s, 1H, C_3-H), 7.90(s, 1H, C_5-H), 7.80-7.70(m, 2H, aromatic C-H and C_8-H), 2.87(d, J=4.3 Hz, 3H, CH_3).

6-Chloro-2-[2-(*N*-ethoxycarbonylthiocarbamoyl)-hydrazino]quinoxaline 4-Oxide(**18b**)는 황색 결정으로 1.26 g(수득률 74%)을 얻었다. mp: 176-177 °C; IR(KBr, cm^{-1}): 3210, 1719, 1541, 1478, 1233; MS(m/z): 341(M^+), 343(M^++2); ^{1}H NMR(DMSO-d_6, δ): 11.63(s, 1H, NH), 11.40(s, 1H, NH), 10.52(s, 1H, NH), 8.63(s, 1H, C_3-H), 7.93(s, 1H, C_5-H), 7.80-7.40(m, 2H, aromatic C-H and C_8-H), 4.24(q, J=7.0 Hz, 2H, CH_2), 1.28(t, J=7.0 Hz, 3H, CH_3).

8-Chloro-2-phenylamino-4*H*-1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline(19)의 합성. 환류냉각기가 부착된 100 mL 플라스크에 화합물 **17**(1 g, 5 mmol), phenyl isothiocyanate (2 g, 14.2 mmol), 그리고 tetrahydrofuran 30 mL를 넣고 물중탕에서 6시간 환류시켰다. 용액을 실온으로 냉각시킨 후 결정을 감압여과하여 주황색 결정인 화합물 **19**(0.72 g, 수득률 44%)를 얻었다. mp: 218-219 °C; IR(KBr, cm^{-1}): 3205, 1551, 1345, 1276; MS(m/z): 327(M^+), 329(M^++2); ^{1}H NMR(DMSO-d_6, δ): 10.37(s, 1H, NH), 9.85(s, 1H, NH), 9.15(s, 1H, NH), 8.05(d, J=2.7 Hz, 1H, C_9-H), 7.85-6.88(m, 7H, C_6-H, C_7-H and aromatic H).

7-Chloro-1,2,4-triazolo[4,3-*a*]quinoxalin-3-ium-1-thiolate(20)의 합성. 환류냉각기가 부착된 100 mL 플라스크에 화합물 **17**(0.5 g, 2.4 mmol), phenyl isothiocyanate (1.01 g, 7.1 mmol), 그리고 *N,N*-디메틸포름아미드 20 mL를 넣고 기름중탕에서 2시간 환류시켰다. 용매를 증

발제거시킨 후 에탄올을 가해 생긴 결정을 감압여과하여 흑갈색 결정인 화합물 **20**(0.46 g, 수득률 81%)을 얻었다. mp: 250-251 °C; IR(KBr, cm^{-1}): 3241, 1630, 1560, 1253, 1193; MS(m/z): 236(M^+), 238(M^++2); ^1H NMR (DMSO-d_6, δ): 15.05(brs, 1H, NH), 10.34(d, *J*=9.0 Hz, 1H, C_9-H), 9.15(s, 1H, C_4-H), 8.07(d, *J*=2.4 Hz, 1H, C_6-H), 7.82(dd, *J*=2.4, 9.0 Hz, 1H, C_8-H).

결과 및 고찰

전보[13]에서 4*H*-1,3,4-oxadiazino[5,6-*b*]quinoxaline류의 합성에 대하여 보고하였는데, 합성한 화합물 중에서 항조류성을 조사한 결과 화합물 **6**, **7**의 성장저해(Growth Inhibition, %)는 500 ppb의 농도에서 *Selenastrum capricornutum*에 대하여 92.0%, 45.1%로 나타났으며, 화합물 **8**, **9**는 *Nitzschia closterium*에 대하여 41.0%, 43.2%로 항조류성을 나타내었다(*Chart* 3).

본 연구에서는 전보[13]에서 합성한 1,3,4-oxadiazino[5,6-*b*]quinoxaline류의 oxadiazine 고리에 있는 산소 원자대신에 황 원자가 치환된 1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline류를 합성하고 이들 화합물의 항균성을 조사하였다. 즉, *o*-페닐렌디아민과 oxalic acid dihydrate를 반응시켜 얻은 2,3-dihydroxyquinoxaline(**10**), 그리고 6-chloro-2-quinoxalinone을 phosphoryl chloride로 염소화반응시켜 얻은 2,6-dichloroquinoxaline(**11**)을 출발물질로 하여 이들을 여러 가지 시약과 반응시켜 생물학적 활성이 기대되는 1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline류의 합성을 시도하였는데, 이들의 합성경로는 다음과 같다.

화합물 **10**을 phosphorous pentachloride로 염소화반응시켜 항결핵성을 가진 2,3-dichloroquinoxaline(**12**)을 합성한 다음,[14-16] hydrazine hydrate로 hydrazinolysis시켜 2-chloro-3-hydrazinoquinoxaline(**13**)을 합성하였다.[17] 이것을 isothiocyanate류와 *N,N*-디메틸포름아미드 또는

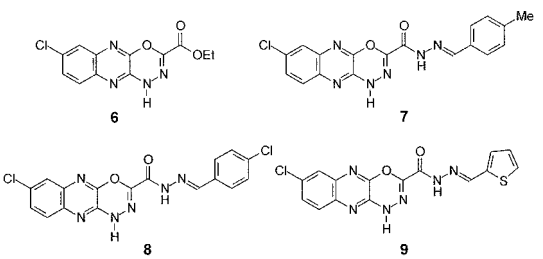
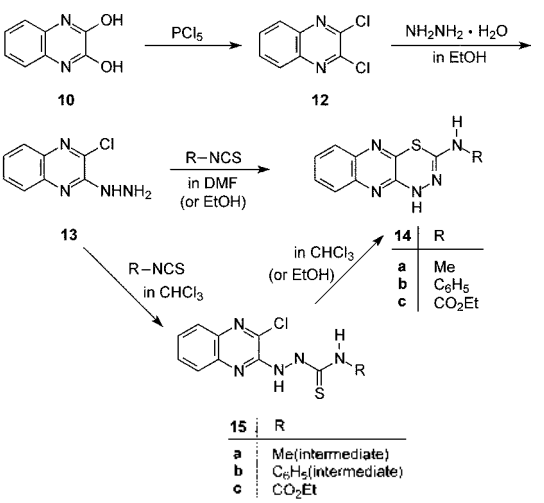


Chart 3.

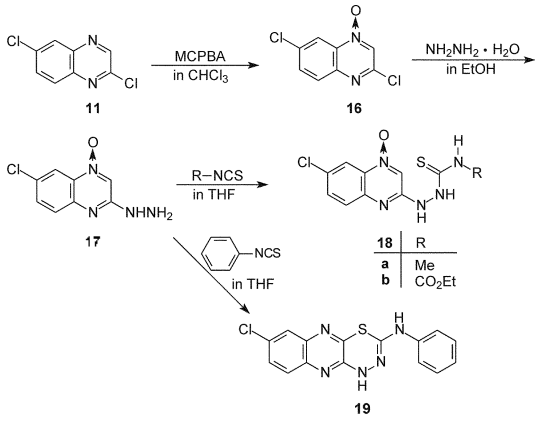


Scheme 1.

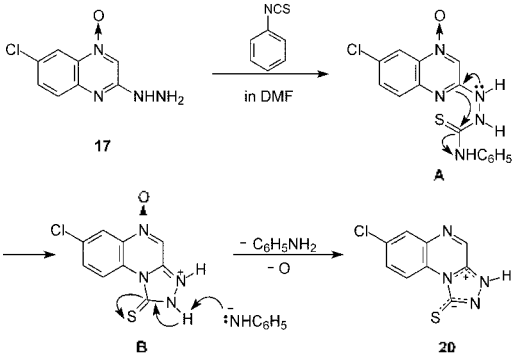
에탄올 용매하에서 반응시켜 2-methylamino-4*H*-1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline(**14a**), 2-phenylamino-4*H*-1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline(**14b**)및 2-ethoxycarbonylamino-4*H*-1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline (**14c**)을 각각 합성하였다(*Scheme* 1).

그런데, 화합물 **13**을 클로로폼 용매하에서 ethoxycarbonyl isothiocyanate와 반응시키면 안정한 화합물인 1-(3-chloroquinoxalinyl)-4-ethoxycarbonyl-2-thiosemicarbazate(**15c**)가 생성되었고, 이것을 에탄올 용매하에서 환류시키면 분자내 고리화반응에 의해 화합물 **14c**가 생성되었다. 그러나 화합물 **13**을 methyl isothiocyanate 또는 phenyl isothiocyanate와 클로로폼 용매하에서 반응시키니 화합물 **15b,c**가 분리되지 않고 이들의 중간체를 거쳐 분자내 고리화반응이 일어나서 화합물 **14b,c**가 생성되었다. 화합물 **14**의 확인은 화합물 **13**의 ^1H NMR 스펙트럼에서 나타났던 4.69-4.62 ppm에서의 아미노기의 피이크가 나타나지 않는 것과 IR 및 MS 스펙트럼 등으로 확인하였으며, 화합물 **15c**는 IR 스펙트럼에서 1716 cm^{-1}에서 나타난 카르보닐기의 흡수띠와 ^1H NMR 및 MS 스펙트럼 등으로 확인하였다.

이번에는 이미 보고[11,12,18]된 방법으로 2,6-dichloroquinoxaline(**11**)을 출발물질로 하여 *m*-chloroperbenzoic acid (MCPBA)와 반응시켜 2,6-dichloroquinoxaline 4-oxide (**16**)를 합성한 다음 hydrazinolysis시켜 6-chloro-2-hydrazinoquinoxaline 4-oxide(**17**)를 합성하였다. 화합물 **17**을 isothiocyanate류와 반응시켜 6-chloro-2-[2-(*N*-



Scheme 2.



Scheme 3.

methylthiocarbamoyl)hydrazino]quinoxaline 4-oxide(**18a**), 6-chloro-2-[2-(*N*-ethoxycarbonylthiocarbamoyl)-hydrazino]-quinoxaline 4-oxide(**18b**) 및 8-chloro-2-phenylamino-4*H*-1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*]quinoxaline(**19**)을 합성하였다 (*Scheme* 2).

화합물 **17**을 methyl isothiocyanate 또는 ethoxycarbonyl isothiocyanate와 tetrahydrofuran 용매하에서 반응시키니 화합물 **18a,b**가 생성되었다. 그러나 화합물 **17**을 phenyl isothiocyanate와 tetrahydrofuran 용매하에서 반응시키니 화합물 **19**가 생성되었다. quinoxaline *N*-oxide 류의 α-탄소는 *N*-oxide moiety에 아실화반응이 일어난 후 친핵성 공격이 쉽게 일어나는데,[3,7,9] 본 연구에서는 그러한 조건이 아닌데도 화합물 **19**가 생성되었다. 그리고 용매를 *N,N*-디메틸포름아미드를 사용하면 화합물 **18**이 분리되지 않고 중간체 **A**, **B**를 거쳐 메소 이온형 화합물[9,19-22]인 7-chloro-1,2,4-triazolo[4,5-*a*]quinoxalin-3-ium-1-thiolate(**20**)가 생성되었다. 이것은 용매의 극성 때문에 triazole 고리가 생성된 것으로 볼 수 있다. 그리고 phenyl isothiocyanate는 탈산소제[23]로서 탈산소 메카니즘에 참여 하였는데, 반응 메카니즘은 다음과 같다 (*Scheme* 3).

합성한 화합물 중에서 화합물 **15c**는 *Bacillus subtilis*에 대하여 최소발육저지농도(Minimum Inhibitory Concentration: MIC, ppm)가 >10 ppm으로 항균성을 나타내었고, 화합물 **19**는 *Bacillus subtilis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Trichophyton mentagrophytes*에 대하여 MIC가 각각 >10 ppm으로 항균성 및 항진균성을 나타내었다. 그리고 화합물 **14a**, **15c**의 성장저해(Growth Inhibition, %)는 500 ppb의 농도에서 *Selenastrum carpricornutum*에 대하여 93.2%, 42.1%로 나타났으며, 화합물 **14c**는 *Selenastrum capricornutum*, *Nitzschia closterium*에 대하여 93.0%, 86.5%로 항조류성을 나타내었다.

본 연구는 2003학년도 대구가톨릭대학교 연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 항균성과 항조류성에 대한 screening test는 日産化學工業株式會社(일본)에 의하여 수행되었기에 감사의 말씀을 드립니다.

인 용 문 헌

1. (a) Smalley, R. K. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*; Katrizky, A. R., Rees, C. W., Scriven, E. F. V., Eds.; Pregamon Press : Oxford, U. K., 1996; Vol. 6, pp 737-781. (b) Sato, N. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*; Katrizky, A. R., Rees, C. W., Scriven, E. F. V., Eds.; Pregamon Press: Oxford, U. K., 1996; Vol. 6, pp 234-278. (c) Cheeseman, G. W. H.; Cookson, R. F. *The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Condensed Pyrazines*; Weissberger, A., Taylor, E. C., Eds.; John Wiley & Sons: New York, U. S. A., 1979; pp 1-290.
2. Kurasawa, Y.; Takada, A.; Kim, H. S. *J. Heterocyclic Chem.* **1995**, *32*, 1085.
3. Kim, H. S.; Kurasawa, Y. *Heterocycles* **1998**, *49*, 557.
4. Elliott, A. J.; Gibson, M. S.; Kayser, M. M.; Pawelchak, G. A. *Can. J. Chem.* **1973**, *51*, 4115.
5. Elliott, A. J. *J. Heterocyclic Chem.* **1981**, *18*, 799.
6. Elliott, A. J. *U. S. Patent* **1997**, 4025510 ; *Chem. Abstr.* **1997**, *87*, 153420h.
7. Kurasawa, Y.; Sekine, M.; Kim, H. S.; Okamoto, Y. *J. Heterocyclic Chem.* **1996**, *33*, 1859.
8. Kim, H. S.; Okamoto, Y.; Kurasawa, Y. *J. Heterocyclic*

Chem. **1997**, *34*, 1029.
9. Kim, H. S.; Kim, T. E.; Kwag, S. T.; Park, Y. T.; Hong, Y. S.; Okamoto, Y.; Kurasawa, Y. *J. Heterocyclic Chem.* **1997**, *34*, 1539.
10. Mager, H. I. X.; Berends, W. *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* **1958**, *77*, 842.
11. Sakata, G.; Makino, K. *Chem. Lett.* **1984**, 323.
12. Makino, K.; Sakata, G.; Morimoto, K.; Ochiai, Y. *Heterocycles* **1985**, *23*, 2025.
13. Kim, T. E.; Kim, H. S. *J. Korean Chem. Soc.* **1998**, *42*, 449.
14. Cheeseman, G. W. H. *J. Chem. Soc.* **1962**, 1170.
15. Tomoda, H.; Saito, S.; Ohishi, M.; Shiraishi, S. *Nippon Kagaku Kaishi* **1989**, 2059.
16. Asano, K. *Yakugaku Zasshi* **1958**, *78*, 729.
17. Reddy Sastry, C. V.; Krishman, V. S. H.; Narayan, G. K. A. S. S.; Vemana, K. *Ind. J. Chem.* **1991**, *30B*, 936.
18. Kim, H. S.; Kurasawa, Y.; Yoshii, C.; Masuyama, M.; Takada, A.; Okamoto, Y. *J. Heterocyclic Chem.* **1990**, *27*, 1111.
19. Newton, C. G.; Ramsden, C. A. *Tetrahedron* **1982**, *38*, 2965.
20. Friedrichsen, W.; Kappe, T.; Bottcher, A. *Heterocycles* **1982**, *19*, 1083.
21. Kurasawa, Y.; Kawano, T.; Katoh, A.; Takada, A.; Kim, H. S.; Okamoto, Y. *J. Heterocyclic Chem.* **1992**, *29*, 1337.
22. Buccheri, F.; Cusmano, G.; Gruttadauria, M.; Noto, R.; Werber, G. *J. Heterocyclic Chem.* **1997**, *34*, 1447.
23. Kurasawa, Y.; Yoshishiba, N.; Kureyama, T.; Okano, T.; Takada, A.; Kim, H. S.; Okamoto, Y. *J. Heterocylic Chem.* **1992**, *29*, 1653.