

## Alkylphenyl fluorobenzoate 유도체들의 합성과 몇 가지 식물병원균에 대한 항균활성

최원식\* · 차경민 · 김영선 · 장순호 · 임상호<sup>1</sup> · 최인영<sup>2</sup> · 김태준<sup>2</sup> · 정봉진<sup>2</sup>

순천향대학교 자연과학대학 생명공학과, <sup>1</sup>남양유업(주) 중앙연구소, <sup>2</sup>(주)동부하이텍 농생명연구소

(2008년 11월 9일 접수, 2008년 11월 20일 수리)

### A Synthesis of Alkylphenyl fluorobenzoate Derivatives and Their Antifungal Activities on Several Phytopathogens

Won-Sik Choi\*, Kyung-Min Cha, Young-Sun Kim, Soon-Ho Jang, Sang-Ho Lim<sup>1</sup>, In-Young Choi<sup>2</sup>, Tae-Jun Kim<sup>2</sup> and Bong-Jin Jung<sup>2</sup>

Department of Biotechnology, Soonchunhyang University, <sup>1</sup>Namyang Dairy Products Research Institute, <sup>2</sup>Dongbu Hitec Agrolife Research Institute

#### Abstract

Sixty compounds such as alkylphenyl fluorobenzoate esters from thymol(I), 5-isopropyl-3-methylphenol (II), 4-isopropyl-3-methylphenol (III), 2-sec-butylphenol (IV) and 4-sec-butylphenol (V) were synthesized. These derivatives were identified by IR, <sup>1</sup>H-NMR spectrometer and GC/MS. Their *in vivo* antifungal activities were tested against phytopathogens such as *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum orbiculare* and *Rhizoctonia solani*. As the result, 2-sec-butylphenyl 2,5-difluorobenzoate (IV-6) and 4-sec-butylphenyl 2,5-difluorobenzoate (V-6) showed 90% above antifungal activity against *Botrytis cinerea*. 2-Isopropyl-5-methylphenyl 2,3,6-trifluorobenzoate (I-11), 2-isopropyl-5-methylphenyl 2,4,5-trifluorobenzoate (I-12), 5-isopropyl-3-methylphenyl 2,3,6-trifluorobenzoate (II-11), 4-isopropyl-3-methylphenyl 2,3,6-trifluorobenzoate (III-11) and 4-isopropyl-3-methylphenyl 2,4,5-trifluorobenzoate (III-12) showed 90% above potent antifungal activity against *Colletotrichum orbiculare*.

**Key words** Antifungal activity, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum orbiculare*, 4-isopropyl-3-methylphenyl 2,3,6-trifluorobenzoate, 2-sec-butylphenyl 2,5-difluorobenzoate

#### 서 론

천연물 중에서 식물의 정유성분은 휘발성이 강한 mono 또는 sesquiterpenoid가 다량 함유되어 있으며 이러한 정유성분들의 항균활성에 대한 연구들이 많이 진행되고 있다(Nychas와 Tassou, 2000). Ajowan, dill, egyptian geranium, lemongrass, rosemary와 tea tree 등의 식물오일은 곰팡이의 생장을 억제

하고, sage, nutmeg, eucalyptus와 cassia 오일 또한 항균활성이 높은 식물로 알려져 있다(Ormancey 등, 2001; Vina와 Carol, 2007). 또한 아플라톡신이나 오클라톡신을 생성하는 진균성 병원균에 대하여 mentha, pine, cinnamon과 tea tree 오일들은 훈증에 의한 예방효과 및 방제효과가 높아 곡물을 저장하는데 필요한 천연물 농약으로 사용 가능성이 제기되고 있다(Lee 등, 2003; Lee 등, 2004; Choi 등, 2006a; Lee 등, 2007; Kumar 등, 2007; Lee 등, 2007; Szczebanik 등, 2007). 따라서, 본 연구실에서는 선행연구로 식물병원균에

\*연락처 : Tel. +82-41-530-1351, Fax. +82-41-530-1351  
E-mail: wschoi@sch.ac.kr

대한 식물오일의 항균활성을 알아보기 위해 thyme 오일 외 42종의 식물오일들을 대상으로 *in vitro* 항균활성 실험을 실시하였다. 그 결과로 thyme, clove bud, rose geranium과 sassafras 오일이 잿빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*), 오이 탄저병균(*Colletorichum orbiculare*)과 고추 역병균(*Phytophthora capsici*) 등에 500 µg/mL의 농도에서 항균활성을 나타내었으며, 이 중 thyme 오일이 가장 우수한 활성을 나타냄을 알았다. 또한, GC/MS를 이용하여 thyme 오일의 주성분들을 조사한 결과 thymol, carvacrol, linalool, *p*-cymene과 borneol임을 알았다. 이 주성분들에 대하여 식물병원균에 대한 항균활성을 250 µg/mL에서 *in vitro*와 *in vivo* 실험을 실시한 결과 alkylphenol의 구조를 갖는 thymol과 carvacrol이 잿빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*), 오이 탄저병균(*Colletorichum orbiculare*)과 고추 역병균(*Phytophthora capsici*)에 활성을 나타내었다. 따라서, thymol과 유사한 구조를 갖는 여러 alkylphenol 화합물들을 실험한 결과 2개의 alkyl기 중의 하나는 수소 또는 methyl기일 때, 나머지 alkyl기는 isopropyl 또는 *sec*-butyl기인 화합물들에서 thymol이나 carvacrol과 유사한 항균활성을 나타냄을 확인하였다(최 등, 2006b).

이러한 alkylphenol 화합물들을 선도물질로 하여 식물병원균에 항균활성이 우수한 화합물들을 얻기 위해 alkylphenol의 OH기의 H를 치환시켜 ester, sulfonyl ester, phosphoyl ester 및 ether로 변화시킨 화합물 300여종을 합성하여 항균활성 실험을 실시한 결과, ester계열 화합물들인 alkylphenyl carboxylate나 alkylphenyl benzoate 화합물들의 활성이 우수하였으며, alkylphenyl carboxylate들보다 alkylphenyl benzoate 화합물들이 토마토 역병균(*Phytophthora infestans*), 오이 잿빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)과 오이 탄저병균(*Colletorichum orbiculare*) 등에 우수한 효과를 나타내었다(최 등, 2006c; 최 등, 2006d). 따라서, 200여종의 alkylphenyl benzoate들을 합성하여 항균활성 실험을 실시한 결과 benzene고리에 전자주개(electron donor)보다 전자끌개(electron acceptor)들이 더 우수한 활성을 나타내었으며 그 중에서 alkylphenyl fluorobenzoate 화합물들의 항균활성이 특히 우수하였다(최 등, 2007). 따라서, 본 연구에서는 선행연구를 통해 항균활성이 확인된 alkylphenyl fluorobenzoate 화합물을 합성하고자 benzene고리에 불소가 1-3개 치환된 benzoyl halide와 alkylphenol의 OH기를 반응시켜 alkylphenyl mono-, di-와 trifluorobenzoate 유도체들을 합성하였고, 이 유도체들에 대하여 토마토 역병균(*Phytophthora infestans*) 외 3종의 식물병원균에 대한 *in vivo* 항균활성 실험을 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 실험기기

본 연구에서 thymol, 5-isopropyl-3-methylphenol, 4-isopropyl-3-methylphenol, 2-*sec*-butylphenol, 4-*sec*-butylphenol과 benzoyl chloride 계열 시약은 Aldrich사의 제품을 사용하였다. 대조약제인 디메토모르프 수화제(dimethomorph WP, 25%)는 동방아그로 제품을, 디클로플루아니드 수화제(dichlorofluanid, 50%), 프로피네브 수화제(propineb WP, 70%), 펜사이큐론 수화제(pencycuron WP, 25%)는 동부하이텍 제품을 사용하였다. 유도체 합성의 확인을 위해 GC/MS(GC/MS-QP5050, Shimadzu), IR spectrometer(FT/IR-4100, Jasco)와 <sup>1</sup>H-NMR(Bruker 200 NMR spectrometer, Bruker)을 사용하였다.

### Alkylphenyl fluorobenzoate 유도체들의 합성

#### 2-Isopropyl-5-methylphenyl 2-fluorobenzoate(I-1)의 합성

Thymol(I) 1.0 g(6.66 mmol)에 아세토니트릴 30 mL를 가하여 완전히 용해시킨다. 트리에틸아민을 1.1 mL를 가하여 30분 동안 교반 후 0°C로 조절하였다. 2-Fluorobenzoyl chloride 1.39 g(8.81 mmol)을 3°C 이하에서 서서히 적가하고 1시간 동안 반응시켰다. 증류수 20 mL와 염화메틸렌 30 mL를 첨가하고 20분 동안 교반 후 유기층을 분리하였다. 유기층에 증류수 20 mL를 가하고 20분간 교반 한 후 2차 분리된 유기층을 합하여 무수황산마그네슘 0.5 g을 가하고 10분 동안 교반하여 여과한 후 여액을 농축하여 연한 노란색 오일(I-1) 1.88 g(90.0%)을 얻었다. 또한 thymol(I)을 이용한 화합물(I-2~I-12)들도 I-1과 같은 방법으로 합성하였다.

#### 5-Isopropyl-3-methylphenyl 2-fluorobenzoate(II-1)의 합성

5-Isopropyl-3-methylphenol(II) 1.0 g(6.66 mmol)과 2-fluorobenzoyl chloride 1.39 g(8.81 mmol)을 사용하여 화합물(I-1)과 같은 방법으로 합성하여 연한 노란색 오일(II-1) 1.52 g(85.0%)을 얻었다. 또한, 5-isopropyl-3-methylphenol을 이용한 화합물(II-2~II-12)들도 I-1과 같은 방법으로 합성하였다.

#### 4-Isopropyl-3-methylphenyl 2-fluorobenzoate(III-1)의 합성

4-Isopropyl-3-methylphenol(III) 1.0 g(6.66 mmol)과 2-

fluorobenzoyl chloride 1.39 g(8.81 mmol)을 사용하여 화합물(I-1)과 같은 방법으로 합성하여 연한 노란색 오일(III-1) 1.65 g(91.2%)을 얻었다. 또한, 4-isopropyl-3-methylphenol을 이용한 화합물(III-2~III-12)들도 I-1과 같은 방법으로 합성하였다.

#### 2-sec-Butylphenyl 2-fluorobenzoate(IV-1)의 합성

2-sec-Butylphenol(IV) 1.0 g(6.66 mmol)과 2-fluorobenzoyl chloride 1.39 g(8.81 mmol)을 사용하여 화합물(I-1)과 같은 방법으로 합성하여 연한 노란색 오일(IV-1) 1.61 g(90.2%)을 얻었다. 또한, 2-sec-butylphenol 화합물(IV-2~IV-12)들도 I-1과 같은 방법으로 합성하였다.

#### 4-sec-Butylphenyl 2-fluorobenzoate(V-1)의 합성

4-sec-Butylphenol(V) 1.0 g(6.66 mmol)과 2-fluorobenzoyl chloride 1.39 g(8.81 mmol)을 사용하여 화합물(I-1)과 같은 방법으로 합성하여 연한 노란색 오일(V-1) 1.84 g(93.2%)을 얻었다. 또한, 4-sec-butylphenol 화합물(V-2~V-12)들도 I-1과 같은 방법으로 합성하였다.

#### 유도체들의 *in vivo* 항균활성

실험에 사용한 토마토 역병균(*Phytophthora infestans*), 오이 잭빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*), 오이 탄저병균(*Colletotrichum orbiculare*)과 벼 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*) 등 4종의 식물병원균주들은 한국농업미생물자원센터

(Korean Agricultural Culture Collection, KACC)에서 분양받아 사용하였다. 병원균의 배양, 시료의 제조 및 살포, 병원균의 접종, 발병유도 실험은 선행연구의 *in vivo* 항균활성 실험방법을 변형하여 실시하였고 모든 실험은 3회 반복 실시하여 그 평균값을 측정값으로 다음 식에 의해 항균활성을 산출하였다(Lewis, 1992; 최 등, 2007). 또한 모든 시료 및 대조물질의 농도는 0.4 mM로 제조하여 사용하였다.

$$\text{항균활성(\%)} = \frac{\text{무처리구 병반면적율(\%)} - \text{처리구 병반면적율(\%)}}{\text{무처리구 병반면적율(\%)}} \times 100$$

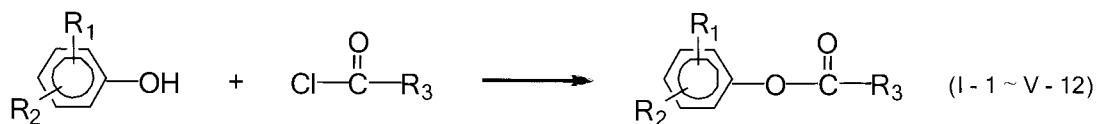
#### 농도에 따른 *in vivo* 항균활성

*in vivo* 항균활성 실험에서 오이 탄저병균과 오이 잭빛곰팡이병균에 대한 항균활성이 90% 이상을 나타내는 화합물 7종에 대하여 선행연구의 *in vivo* 항균활성 실험방법을 변형하여 각 화합물의 농도 변화에 따른 항균활성 실험을 실시하였다(Lewis, 1992; 최 등, 2007). 시료의 가장 낮은 농도는 0.05 mM이고 2배씩 증가시키면서 0.8 mM까지의 농도에 대하여 항균활성을 측정하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 유도체들의 합성과 확인

Thymol(I), 5-isopropyl-3-methylphenol(II), 4-isopropyl-3-methylphenol (III), 2-sec-butylphenol(IV), 4-sec-butyl-



- (I) R<sub>1</sub>: 2-isopropyl, R<sub>2</sub>: 5-methyl (II) R<sub>1</sub>: 5-isopropyl, R<sub>2</sub>: 3-methyl (III) R<sub>1</sub>: 4-isopropyl, R<sub>2</sub>: 3-methyl  
(IV) R<sub>1</sub>: 2-sec-butyl, R<sub>2</sub>: H (V) R<sub>1</sub>: 4-sec-butyl, R<sub>2</sub>: H

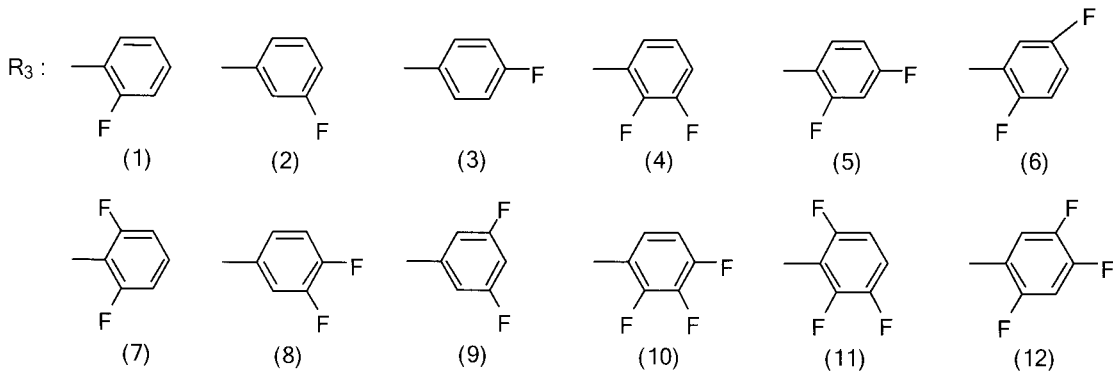


Fig. 1. Synthesis of alkylphenyl fluorobenzoate derivatives.

phenol(V)과 mono-, di-, trifluorobenzoyl chloride를 출발 물질로 하여 alkylphenyl mono-, di-와 trifluorobenzoate계 화합물 60종을 Fig. 1과 같은 방법으로 합성하였다.

합성된 화합물들의 대부분은 연한 노란색 오일이었으며 IR, <sup>1</sup>H-NMR-spectrum과 GC/MS를 이용하여 합성을 확인하였다. GC/MS의 분석조건은 Table 1과 같다.

한 예로 항균활성이 우수한 4-isopropyl-3-methylphenyl 2,3,6-trifluorobenzoate(III-11)의 경우, IR-spectrum에서 1262 cm<sup>-1</sup>(C-O), 1733 cm<sup>-1</sup>(C=O) peak를 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR-spectrum에서는 1.25 ppm(d, 6H) peak는 isopropyl기의 CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>을, 2.38 ppm(s, 3H)에서 CH<sub>3</sub>, 2.66 ppm(m, 1H)에서 CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 7.11-7.26 ppm(m, 3H), 7.33 ppm(s, 1H)과 7.99 ppm(m, 2H)에서 aromatic proton들을 확인하여 합성이 이루어졌음을 알았다. 또한 GC/MS에서 분자량이 308(M<sup>+</sup> R.T: 35.7 min)로 일치함을 알 수 있었으며 전하량(m/e)이 135, 282, 158(base peak)인 특징적인 피크들을 확인할 수 있었다. 이와 같은 방법으로 유도체들의 합성을 확인하였으며 항균활성이 70% 이상을 나타내는 유도체들의 GC/MS, IR 및 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼 결과를 요약하였다 (Table 2).

### *in vivo* 항균활성

Benzene고리에 불소가 1개, 2개 또는 3개 치환된 화합물인 alkylphenyl mono-, di-와 trifluorobenzoate 60종을 합성하였고, 토마토 역병균 등 4종의 식물병원균에 대한 *in vivo* 항균활성을 측정하여 70% 이상의 높은 항균활성을 나타내는 화합물들의 생리활성 결과를 요약하였다(Table 3).

합성한 유도체들의 항균활성 판정기준은 대조약제의 항균활성에 대하여 ±3%인 경우 항균활성이 우수, 3% 이상 높은

경우 항균활성이 매우 우수한 것으로 판정하였다. 오이 잿빛곰팡이병균에서는 대조약제인 디클로플루아니드보다 화합물 IV-6이 98.2%의 우수한 항균활성을 나타내었으며, 오이 탄저병균에서는 대조약제인 프로피네브보다 화합물 III-11과 III-12의 항균활성이 각각 97.0%, 96.8%로 매우 우수한 항균활성을 나타내었다. 또한 화합물 I-11, I-12와 II-11은 각각 92.4%, 91.3%와 93.7%로 대조약제와 유사한 항균활성을 나타내었다. 벼 잎집무늬마름병균에 화합물 III-11이 87.5%의 항균활성을 나타내어 대조약제인 펜사이큐론과 유사한 항균활성을 나타내었다. 토마토 역병균에 대해서는 모든 유도체들이 대조약제인 디메토모르프보다 낮은 항균활성을 나타내었다(Table 3). 또한, 90% 이상 높은 *in vivo* 항균활성을 나타내는 화합물들의 반수영향농도(EC<sub>50</sub>)를 알아보기 위해 7종의 화합물에 대하여 오이 탄저병균과 오이 잿빛곰팡이병균에서 농도 변화에 따른 항균활성을 측정하였다(Table 4, 5).

오이 탄저병균과 오이 잿빛곰팡이병균에 대하여 대부분의 유도체들이 0.2 mM의 농도까지는 대조약제에 비하여 높은 항균활성을 나타내었다. 그러나 0.1 mM 이하의 농도에서는 화합물 III-11과 IV-6을 제외한 화합물들은 대조약제보다 낮은 활성을 나타내었다(Table 4). 또한, Table 4의 결과를 바탕으로 오이 탄저병균과 오이 잿빛곰팡이병균에 대해 농도의 존곡선(concentration dependent curve)을 작성하여 EC<sub>50</sub>값을 측정한 결과, 화합물 III-11은 0.042 mM, 화합물 IV-6은 0.044 mM로 대조약제보다 약간 높은 활성을 나타내었다 (Table 5).

선행 연구를 통해 alkylphenol과 fluorobenzoate의 구조에 따른 항균활성 관계를 살펴보았다. alkylphenol의 OH기와 ester화 반응에 의해 얻은 유도체들의 항균활성을 조사한 결과, alkylphenyl fluorobenzoate 화합물들이 우수한 항균

**Table 1.** Analytical condition of GC/MS

Condition items	Analytical condition
Column	CBP5-M25-025
Carrier gas	Helium
Flow rate	1.5 mL/min
Injection volume	1.0 µL
Injector temp.	250°C
Oven temp.	start at 120°C, stand for 5min, increase 10°C/min, stand for 5 min
Terminal auxl temp.	260°C
Total running time	25 min
Dectector voltage	1.3 kV
Library	NIST. shimadzu Co.

**Table 2.** GC/MS and spectral data of alkylphenyl fluorobenzoate derivatives

Name	IR (cm <sup>-1</sup> )	<sup>1</sup> H-NMR (ppm)	GC/MS (m/e)
I-11	1262(C-O)	1.27(d, 6H), 2.32(s, 3H), 3.07(m, 1H), 7.05-7.14(m, 2H),	308(M <sup>+</sup> ), 135,
	1735(C=O)	7.05-7.14(m, 2H), 7.16(m, 1H), 7.34(d, 1H), 7.89(m, 1H)	281, 158(base)
I-12	1260(C-O)	1.22(d, 6H), 2.36(s, 3H), 3.04(m, 1H), 7.02-7.11(m, 2H),	308(M <sup>+</sup> ), 134,
	1731(C=O)	7.37-7.41(m, 2H), 7.76(m, 1H)	283, 159(base)
II-11	1262(C-O)	1.25(d, 6H), 2.35(s, 3H), 2.61(m, 1H), 6.84(m, 1H),	308(M <sup>+</sup> ), 132,
	1733(C=O)	7.10(s, 1H), 7.24-7.26(d, 2H), 7.74(m, 1H)	282, 160(base)
III-2	1264(C-O)	1.20(d, 6H), 2.31(s, 3H), 2.69(m, 1H), 7.11(d, 1H), 7.26(d, 1H),	272(M <sup>+</sup> ), 135,
	1731(C=O)	7.35(s, 1H), 7.48-7.50(m, 2H), 7.76(m, 1H), 7.98(m, 1H)	244, 124(base)
III-9	1273(C-O)	1.18(d, 6H), 2.29(s, 3H), 2.62(m, 1H), 6.87(m, 1H),	290(M <sup>+</sup> ), 132,
	1755(C=O)	7.08(d, 1H), 7.27(d, 1H), 7.11(m, 1H),	261, 141(base)
III-11	1262(C-O)	1.25(d, 6H), 2.38(s, 3H), 2.66(m, 1H), 7.11(m, 1H),	308(M <sup>+</sup> ), 135,
	1733(C=O)	7.15(m, 1H), 7.26(m, 1H), 7.33(s, 1H), 7.99(m, 1H),	282, 158(base)
III-12	1264(C-O)	1.23(d, 6H), 2.35(s, 3H), 2.60(m, 1H), 7.10(m, 1H),	308(M <sup>+</sup> ), 132,
	1731(C=O)	7.14(m, 3H), 7.24(m, 1H), 7.30(s, 1H), 7.92(m, 1H)	281, 159(base)
IV-4	1263(C-O)	0.73(t, 3H), 1.29(d, 3H), 1.51(m, 2H), 2.56(m, 1H), 7.25(m, 1H),	290(M <sup>+</sup> ), 135,
	1738(C=O)	7.30(d, 2H), 7.45(m, 1H), 7.54(d, 2H), 7.99(n, 1H)	260, 141(base)
IV-6	1271(C-O)	0.75(t, 3H), 1.24(d, 3H), 1.53(m, 2H), 2.58(m, 1H), 7.28(d, 1H),	290(M <sup>+</sup> ), 130,
	1752(C=O)	7.38(m, 1H), 7.44(m, 1H), 7.53(d, 2H), 7.79(d, 1H)	261, 143(base)
IV-9	1273(C-O)	0.78(t, 3H), 1.20(d, 3H), 1.58(m, 2H), 2.53(m, 1H), 7.26(d, 1H),	290(M <sup>+</sup> ), 133,
	1755(C=O)	7.39(t, 1H), 7.55(d, 2H), 7.76(d, 1H), 7.94(d, 1H)	262, 142(base)
V-5	1272(C-O)	0.77(t, 3H), 1.19(d, 3H), 1.50(m, 2H), 2.59(t, 1H), 6.88(m, 1H),	290(M <sup>+</sup> ), 134,
	1751(C=O)	7.14(m, 1H), 7.32(d, 2H), 7.60(d, 2H), 8.15(m, 1H)	265, 142(base)
V-6	1253(C-O)	0.71(t, 3H), 1.26(d, 3H), 1.53(m, 2H), 2.48(t, 1H), 7.27(d, 2H),	290(M <sup>+</sup> ), 130,
	1733(C=O)	7.38(m, 1H), 7.44(m, 1H), 7.55(d, 2H), 7.76(d, 1H)	261, 140(base)
V-7	1257(C-O)	0.80(t, 3H), 1.28(d, 3H), 1.51(m, 2H), 2.57(t, 1H),	290(M <sup>+</sup> ), 133,
	1731(C=O)	7.10(t, 2H), 7.25(d, 2H), 7.51-7.55(m, 3H)	260, 141(base)
V-9	1273(C-O)	0.72(t, 3H), 1.24(d, 3H), 1.58(m, 2H), 2.59(t, 1H), 7.28(d, 2H),	290(M <sup>+</sup> ), 131,
	1755(C=O)	7.36(t, 1H), 7.59(d, 2H), 7.82(d, 1H), 7.96(d, 1H)	264, 143(base)
V-11	1267(C-O)	0.77(t, 3H), 1.25(d, 3H), 1.55(m, 2H), 2.52(t, 1H),	308(M <sup>+</sup> ), 135,
	1734(C=O)	7.14(m, 1H), 7.27(d, 2H), 7.44(m, 1H), 7.53(d, 2H)	283, 158(base)

활성을 나타냄을 확인하였다(최 등, 2006c; 최 등, 2006d; 최 등, 2007). 따라서, 본 연구에서는 선행되었던 연구들의 항균 활성 결과를 바탕으로 alkylphenyl fluorobenzoate 화합물의 여러 유도체들을 얻기 위해 benzoate의 benzene고리에 불소가 1개, 2개 또는 3개 치환된 화합물인 alkylphenyl mono-, di-와 trifluorobenzoate 60종을 합성하여 항균활성을 조사한 결과, 4종의 식물병원균 중에서 오이 탄저병균과 오이 잣빛곰팡이병균에 특히 활성이 높은 것으로 나타났다. 오이 탄저병균에서는 alkylphenyl fluorobenzoate의 benzoate의 benzene고리에 불소가 1개 치환된 화합물보다 2개 치환된 화합물들이 우수한 항균활성을 나타내었으며 90% 이상 활성을 나타내는

화합물은 benzene고리에 불소가 3개 치환된 화합물에서만 관찰되었다. 이 경우 benzene고리에 치환된 3개의 불소 위치는 2,3,6-위치나 2,4,5-위치에 있을 경우가 높은 활성을 나타내었으며 2,3,4-위치에 존재할 경우에는 항균활성이 낮은 것을 알 수 있었다. 오이 잣빛곰팡이병균에서는 alkylphenyl fluorobenzoate의 benzoate의 benzene고리에 치환된 불소의 수가 1개 또는 3개일 때 보다는 2개인 화합물에서 더 높은 항균활성을 나타내었으며, 2개의 불소가 치환된 위치에 따라 활성이 차이가 있음을 알았다. Benzene고리에 2개의 불소가 2,5-위치에 치환된 경우 활성이 90% 이상으로 매우 우수한 것으로 나타나고 있으며 2,3-과 2,4-위치에 치환된 화합물들

**Table 3.** Antifungal activities of alkylphenyl fluorobenzoate derivatives

Compounds	Substituents			Antifungal activity (%) (mean±SD) <sup>a)</sup>			
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Pi <sup>b)</sup>	Bc	Co	Rs
S <sup>c)</sup>	-	-	-	95.3 ± 0.8 <sup>d)</sup>	96.3 ± 0.4 <sup>e)</sup>	93.7 ± 1.0 <sup>f)</sup>	88.0 ± 0.5 <sup>g)</sup>
I-11	2-Isopropyl	5-methyl	2,3,6-trifluorobenzoate	12.7 ± 2.1	15.8 ± 4.2	92.4 ± 0.9	32.4 ± 3.1
I-12	2-Isopropyl	5-methyl	2,4,6-trifluorobenzoate	24.6 ± 3.2	15.0 ± 3.0	91.3 ± 1.2	24.0 ± 2.8
II-11	5-Isopropyl	3-methyl	2,3,6-trifluorobenzoate	23.0 ± 1.4	28.7 ± 2.9	93.7 ± 0.8	79.1 ± 1.9
III-2	4-Isopropyl	3-methyl	3-fluorobenzoate	22.4 ± 1.1	31.3 ± 2.0	21.2 ± 1.2	84.6 ± 1.7
III-9	4-Isopropyl	3-methyl	3,5-difluorobenzoate	24.9 ± 0.7	23.8 ± 3.1	87.1 ± 2.0	13.5 ± 2.8
III-11	4-Isopropyl	3-methyl	2,3,6-trifluorobenzoate	22.3 ± 0.9	27.9 ± 1.7	97.0 ± 0.5	87.5 ± 1.4
III-12	4-Isopropyl	3-methyl	2,4,6-trifluorobenzoate	34.1 ± 2.7	24.8 ± 3.8	96.8 ± 0.7	12.0 ± 2.9
IV-4	2-sec-Butyl	H	2,3-difluorobenzoate	26.2 ± 3.6	21.0 ± 1.1	24.8 ± 3.3	75.3 ± 3.0
IV-6	2-sec-Butyl	H	2,5-difluorobenzoate	25.3 ± 1.2	98.2 ± 0.8	27.0 ± 2.4	36.3 ± 4.8
IV-9	2-sec-Butyl	H	3,5-difluorobenzoate	27.8 ± 3.4	28.6 ± 3.2	89.1 ± 1.6	23.4 ± 2.1
V-5	4-sec-Butyl	H	2,4-difluorobenzoate	12.5 ± 4.7	84.0 ± 1.6	23.3 ± 3.9	35.8 ± 1.8
V-6	4-sec-Butyl	H	2,5-difluorobenzoate	21.5 ± 2.5	90.3 ± 1.1	14.4 ± 3.3	32.7 ± 1.3
V-7	4-sec-Butyl	H	2,6-difluorobenzoate	84.6 ± 0.4	24.4 ± 3.4	23.0 ± 4.1	22.0 ± 2.7
V-9	4-sec-Butyl	H	3,5-difluorobenzoate	12.4 ± 3.9	12.1 ± 2.2	86.4 ± 2.3	31.3 ± 0.9
V-11	4-sec-Butyl	H	2,3,6-trifluorobenzoate	22.7 ± 2.6	31.0 ± 4.0	81.3 ± 2.4	33.4 ± 1.7

<sup>a)</sup> Means followed by the same letter are not significantly different at P<0.05 (Student t-test).

<sup>b)</sup> Pi; *Phytophthora infestans*, Bc; *Botrytis cinerea*, Co; *Colletotrichum orbiculare*, Rs; *Rhizoctonia solani*.

<sup>c)</sup> S; Commercialized fungicides, <sup>d)</sup> Dimethomorph, <sup>e)</sup> Dichlofluanid, <sup>f)</sup> Propineb, <sup>g)</sup> Pencycuron.

**Table 4.** Antifungal activities of alkylphenyl fluorobenzoate derivatives in various concentration against *Colletotrichum orbiculare* and *Botrytis cinerea*

Compounds	Antifungal activity (%) (mean±SD) <sup>a)</sup>									
	<i>Colletotrichum orbiculare</i>					<i>Botrytis cinerea</i>				
Conc. (mM)	0.8	0.4	0.2	0.1	0.05	0.8	0.4	0.2	0.1	0.05
S <sup>b)</sup>	96.3 ± 0.4	93.7 ± 1.0	84.0 ± 0.5	70.4 ± 0.9	55.3 ± 1.4	-	-	-	-	-
S <sup>c)</sup>	-	-	-	-	-	99.0 ± 0.4	96.3 ± 0.4	91.7 ± 0.4	72.4 ± 0.7	53.8 ± 3.0
I-11	93.3 ± 0.7	92.4 ± 0.9	82.1 ± 0.8	63.2 ± 2.3	46.4 ± 1.5	-	-	-	-	-
I-12	92.7 ± 1.2	91.3 ± 1.2	80.6 ± 1.3	58.0 ± 2.0	42.1 ± 3.5	-	-	-	-	-
II-11	95.1 ± 0.6	93.7 ± 0.8	83.5 ± 1.1	64.7 ± 1.4	49.3 ± 2.0	-	-	-	-	-
III-11	98.8 ± 1.4	97.0 ± 0.5	86.0 ± 0.7	72.2 ± 0.3	57.4 ± 1.4	-	-	-	-	-
III-12	97.6 ± 0.5	96.8 ± 0.7	84.8 ± 0.2	67.0 ± 1.0	52.8 ± 0.8	-	-	-	-	-
IV-6	-	-	-	-	-	99.4 ± 0.1	98.2 ± 0.8	91.3 ± 1.2	75.2 ± 2.5	55.4 ± 2.2
V-6	-	-	-	-	-	97.1 ± 0.7	90.3 ± 1.1	77.8 ± 2.0	52.5 ± 1.8	40.2 ± 1.3

<sup>a)</sup> Means followed by the same letter are not significantly different at P<0.05 (Student t-test).

<sup>b)</sup> Propineb WP, <sup>c)</sup> Dichlofluanid WP.

의 항균활성은 낮게 나타남을 알았다. 또한, 오이 탄저병균에서는 alkyl기가 isopropyl기와 methyl기로 치환된 경우에 항균활성이 90% 이상으로 나타나고 있으며, 오이 잿빛곰팡이병균에서는 alkyl기가 sec-butyl기일 경우 90% 이상의 항균활성을 나타내었다. 따라서, 오이 탄저병의 경우 alkylphenyl의

alkyl기에 isopropyl기와 methyl기가 치환되어 있고 benzoate의 benzene고리의 2,3,6-과 2,4,5-위치에 3개의 불소가 치환된 경우 항균활성이 매우 우수하게 나타나고 있다. 오이 잿빛곰팡이병균에서는 alkylphenyl의 alkyl기가 sec-butyl기이며 benzoate의 benzene고리의 2,5-위치에 2개의 불소가 치환된

**Table 5.** EC<sub>50</sub> of alkylphenyl fluorobenzoate derivatives against *Colletotrichum orbiculare* and *Botrytis cinerea*

Compounds	EC <sub>50</sub> (mM)	
	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
Propineb WP	0.044	-
Dichlofluanid WP	-	0.045
I-11	0.056	-
I-12	0.068	-
II-11	0.052	-
III-11	0.042	-
III-12	0.047	-
IV-6	-	0.044
V-6	-	0.089

경우가 가장 높은 항균활성을 나타내었다.

본 연구를 통해 오이 잿빛곰팡이병균에 우수한 항균활성을 나타내는 화합물인 2-*sec*-butylphenyl 1,4-difluorobenzoate (IV-6)와 오이 탄저병균에 매우 우수한 항균활성을 나타내는 화합물인 4-isopropyl-3-methylphenyl 2,3,6-trifluorobenzoate (III-11)는 낮은 농도에서도 대조약제인 디클로플루아니드 수화제와 프로피네브 수화제보다 유사하거나 높은 항균활성을 나타내는 것을 알 수 있었다. 또한, 이들 화합물들은 합성방법이 간단하고 수율이 높아 경제적으로 저렴하게 생산이 가능할 것으로 사료되며 앞으로 침투효과, 포장시험, 독성시험 및 임상시험을 통해 새로운 항균성 작물보호제로의 개발이 가능할 것으로 예상된다.

## 감사의 글

본 연구는 2007년도 농림수산식품부(MFAFF) 농림기술관리센터(ARPC) 지원 연구비(과제번호: 107019-03-1-HD110)에 의하여 이루어진 것이므로 이에 감사드립니다.

## >> 인 / 용 / 문 / 헌

Choi, W. S., B. S. Park, Y. H. Lee, D. Y. Jang, H. Y. Yoon and S. E. Lee (2006a) Fumigant toxicity of essential oils and monoterpenes against *Lycoriella mali* adults. *J. Crop Protection*. 25:398~401.

Kumar, R., N. K. Dubey, O. P. Tiwari, Y. B. Tripathi and K. K. Sinha (2007) Evaluation of some essential oils as botanical fungitoxicants for the protection of stored food commodities from fungal infestation. *J. Sci. Food Agric.* 87:1737~1742

Lewis, R. J. (1992) *Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials*. 8th Ed., Van Nostrand-Reinhold.

Lee, S. E., J. H. Jeong, D. K. Kim and W. S. Choi (2003) Inhibitory Effect on Aflatoxin B<sub>1</sub>-8,9-epoxide Formation and Anti-complementary Activity of Methanol Extract from *Hericium erinaceus* Cultivated with *Artemisia iwayomogi*. *Korea J. Food Sci. Biotechnol.* 12(2):183~186.

Lee, B. H., P. C. Annis, F. Tumaalii and W. S. Choi (2004) Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1, 8-cineole against 3 major stored-grain insects. *J. Stored Products Research.* 40:553~564.

Lee, S. E., B. S. Park, P. Bayman, L. Baker, W. S. Choi and C. Campbell (2007) Suppression of ochratoxin biosynthesis by naturally occurring alkaloids. *J. Food Additives and Contaminants.* 24(4):391~397.

Lee, B. H., W. Huh, Y. L. Ren, D. Mahon and W. S. Choi (2007) New Formulations of Ethyl Formate to Control Internal Stages of *Sitophilus oryzae*. *J. Asia-Pacific Entomol.* 10(4):369~374.

Nychas, G. E. and C. C. Tassou (2000) Traditional preservatives-oils and spices. In R. K. Robinson, C. A. Bat and P. D. Patel (eds.). pp. 1717~1722, *Encyclopedia of food microbiology*, Academic press, London, UK.

Ormaney, X., S. Sisalli and P. Coutiere (2001) Formulation of essential oils in functional perfumery. *Parfums. Cosmetiques. Actualites.* 157:30~40.

Szczabanik, M., J. Jobling, S. Morris, P. Holford (2007) Essential oil vapours control some common postharvest fungal pathogens. *Australian J. Exper. Agric.* 47:103~109.

Vina, W. Yang. and Clausen. Carol A (2007) Antifungal effect of essential oils on southern yellow pine. *International Biodeterioration & Biodegradation.* 59:302~306.

최원식, 김관영, 장도연, 엄대용, 김태준, 정봉진 (2006b) 식물오일과 그 성분들의 살균활성, *한국농약과학회지*, 10(3):201~209.

최원식, 정찬진, 장도연, 차경민, 엄대용, 김태준, 정봉진 (2006c) Thymol과 Carvacrol 유도체들의 합성과 식물병원균에 대한 항균활성, *한국농약과학회지*, 10(4):237~248.

최원식, 장순호, 장도연, 최경길, 이병호, 김태준, 정봉진 (2006d) 4-isopropyl, 5-isopropyl-3-methylphenol 유도체들의 합성과 식물병원균에 대한 항균활성, 한국농약과학회지, 10(4):249~261.

최원식, 장도연, 최경길, 이병호, 김태준, 정봉진 (2007) Isopropylphenyl 유도체들의 합성과 식물병원균에 대한 항균활성, 한국응용생명화학회지, 50(3):178~186.

---

### Alkylphenyl fluorobenzoate 유도체들의 합성과 몇 가지 식물병원균에 대한 항균활성

최원식\* · 차경민 · 김영선 · 장순호 · 임상호<sup>1</sup> · 최인영<sup>2</sup> · 김태준<sup>2</sup> · 정봉진<sup>2</sup>

순천향대학교 자연과학대학 생명공학과, <sup>1</sup>남양유업(주) 중앙연구소, <sup>2</sup>(주)동부하이텍 농생명연구소

**요 약** Thymol(I), 5-isopropyl-3-methylphenol(II), 4-isopropyl-3-methylphenol(III), 2-*sec*-butylphenol(IV)과 4-*sec*-butylphenol(V)을 출발물질로 하여 alkylphenyl fluorobenzoate계 ester 유도체 60종을 합성하였다. 이 유도체들의 합성은 IR, <sup>1</sup>H-NMR과 GC/MS를 이용하여 확인하였다. 이들 화합물들에 대하여 토마토 역병균, 오이 잭빛곰팡이병균, 오이 탄저병균과 벼 잎집무늬마름병균에 대한 항균활성을 조사하였다. 오이 잭빛곰팡이병균에 2-*sec*-butylphenyl 2,5-difluorobenzoate (IV-6)와 4-*sec*-butylphenyl 2,5-difluorobenzoate(V-6)등이 90% 이상의 우수한 항균활성을 나타내었다. 오이 탄저병균에 대하여 2-isopropyl-5-methylphenyl 2,3,6-trifluorobenzoate(I-11), 2-isopropyl-5-methylphenyl 2,4,5-trifluorobenzoate(I-12), 5-isopropyl-3-methylphenyl 2,3,6-trifluorobenzoate(II-11), 4-isopropyl-3-methylphenyl 2,3,6-trifluorobenzoate(III-11)와 4-isopropyl-3-methylphenyl 2,4,5-trifluorobenzoate(III-12)가 90% 이상의 매우 우수한 항균활성을 나타내었다.

**색인어** 4-isopropyl-3-methylphenyl 2,3,6-trifluorobenzoate, 2-*sec*-butylphenyl 2,5-difluorobenzoate, 오이 잭빛곰팡이병균, 오이 탄저병균, 항균활성

---