

Isopropylmethylphenyl benzenesulfonate 유도체의 합성과 식물병원균에 대한 생리활성

최원식^{1*}, 남석우¹, 김학천²
¹순천향대학교 생명공학과, ²경보제약(주) 중앙연구소

Synthesis and Phytopathogenic Activities of Isopropylmethylphenyl benzenesulfonate Derivatives

Won-Sik Choi^{1*}, Seok-Woo Nam¹ and Hak-Cheun Kim²

¹Department of Biotechnology, Soonchunhyang University

²Kyongbo Pharm

요약 본 연구에서 thyme oil의 주성분인 thymol (1)과 유사한 구조를 갖는 4-isopropyl-3-methylphenol (2), 5-isopropyl-3-methylphenol (3), 4-isopropylphenol (4)과 2-isopropylphenol (5)을 출발 물질로 하여 sulfonyl ester 계열 유도체 25종을 합성하였다. IR, ¹H-NMR과 GC/MS를 이용하여 이들 유도체들이 합성되었음을 확인하였다. 이들 유도체들에 대한 식물병원균의 생장 억제실험은 벼도열병균(*Pyricularia grisea*), 벼잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*), 토마토잎마름역병균(*Phytophthora infestans*), 오이탄저병균(*Colletotrichum orbiculare*)과 오이흰가루병균(*Sphaerotheca fusca*)에 대하여 실시하였다. 그 결과, 2-isopropyl-5-methylphenyl o-toluenesulfonate (1a), 2-isopropylphenyl 2,4,5-trichlorobenzenesulfonate (5b)와 2-isopropylphenyl 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonate (5c)는 각각 *in vivo*에서 벼도열병균(*Pyricularia grisea*), 토마토잎마름역병균(*Phytophthora infestans*)과 오이흰가루병균(*Sphaerotheca fusca*)에 대하여 우수한 항균활성을 나타내었다.

Abstract Twenty five compounds isopropylmethylphenyl benzenesulfonate derivatives of thymol (1), 4-isopropyl-3-methylphenol (2), 5-isopropyl-3-methylphenol (3), 4-isopropylphenol (4), and 2-isopropylphenol (5) derivatives were synthesized. These compounds were analyzed for their structural confirmation with IR, GC/MS, and ¹H-NMR. Synthetic compounds were tested against phytopathogenic fungi activities such as *Pyricularia grisea*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora infestans*, *Colletotrichum orbiculare*, and *Sphaerotheca fusca*. 2-Isopropyl-5-methylphenyl o-toluenesulfonate (1a), 2-isopropylphenyl 2,4,5-trichloro-benzenesulfonate (5b) and 2-isopropylphenyl 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonate (5c) showed a potent *in vivo* antifungal activity against *Pyricularia grisea*, *Phytophthora infestans* and *Sphaerotheca fusca*.

Key Words : Isopropylmethylphenyl benzenesulfonate derivatives, Phytopathogen, Fungicidal activity

1. 서론

농약은 농작물의 병충해를 예방하고 제거하기 위해 사용하는 살균제, 살충제, 기타약제와 농작물 등의 생리기능을 증진시키거나 억제하는데 사용되는 성장촉진제, 발아억제제와 기타 약제를 말한다. 또한 농작물의 착색을 좋

게 하여 품질을 향상시키는 물질이며 이러한 물질들의 효과를 증진시키기 위하여 사용되는 전착제와 제제화에 사용되는 여러 가지 보조제들도 농약으로 규정하고 있다 [1-3]. 더욱이 최근에는 농약의 범위가 넓어져 천적 및 해충에 병을 유발시켜 사멸시키는 해충 병원균 등도 농약에 포함시키고 있으며, 해충의 증식을 억제시키는 불임화제

본 논문은 순천향대학교 학술연구비지원(고가기자재 지원사업)으로 수행하였음.(과제번호:20030230)

*교신저자 : 최원식(wschoi@sch.ac.kr)

접수일 10년 10월 6일

수정일 10년 11월 02일

게재확정일 10년 12월 17일

와 해충을 유인하여 사멸시키는 유인제 등을 모두 농약으로 규정하고 있다. 또한 생물공학 기법인 유전자를 재조합하여 병해충에 저항성을 가지는 작물(insect-resistant crops)과 제초제에 저항성을 가지는 작물(herbicide-resistant crops)들을 개발하므로 앞으로의 농약의 개념은 더욱 넓어질 것으로 전망된다[4-6]. 선진국에서는 수 년 전부터 이러한 분야에 관심을 가져 천연물 또는 미생물로부터 가축과 인체에 무해하며, 각종 환경오염 문제에 부작용이 낮은 농약 개발이 활발히 진행 중이다[7-12]. 따라서, 본 연구실에서는 천연물 살균제 농약을 개발하기 위해 43종의 식물오일들의 살균활성을 조사한 결과 thyme 오일이 몇 가지 식물병원균에 활성이 있음을 알았다. 또한, thyme 오일의 주성분인 carvacrol과 thymol이 높은 항균력을 나타냈으며, 식물 병원균에 대한 포자억제, 발아억제력 등의 실험에서도 우수한 효과를 나타내었다[13]. Carvacrol, thymol, 4-isopropyl-3-methylphenol, 5-isopropyl-3-methylphenol, 4-isopropylphenol과 2-isopropylphenol을 선도물질로 하여 여러 ester 및 ether화합물들을 합성하여 식물병원균들에 대한 활성을 조사한 결과 오이탄저병(*Colletotrichum orbiculare*), 토마토잎마름병(*Phytophthora infestans*)과 벼도열병(*Pyricularia grisea*) 등에 우수한 생리활성을 나타내었다[14-16]. 본 연구에서는 항균활성이 있는 isopropylmethylphenol 또는 isopropylphenol 화합물(2~5)들의 sulfonyl ester계 화합물 25종을 합성하였으며 이들 유도체들에 대하여 벼도열병균(*Pyricularia grisea*)의 4종에 대한 식물병원균의 생리활성을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 시약

유도체 합성에 사용한 모든 시약은 Aldrich(USA)사의 제품을 사용하였으며, 용매 등은 합성 시 사용되는 공업용 또는 일급시약들을 정제하지 않고 사용하였다. 항균활성시험에 사용한 공시약제 blastidin-s (벼도열병균), valindamycin (벼잎집무늬마름병균), dimethomorph (토마토잎마름병균), dichlofluanid (오이탄저병균)와 fenarimol (오이흰가루병균)은 동부한농(Korea)의 제품을 사용하였으며 제제의 원제 농도를 고려하여 실험하였다. 생리활성을 확인하기 위하여 DIFCO사의 potato dextrose agar (PDA)를, 평판배지를 제조하기 위하여 녹십자사의 페트리 디쉬 85 × 15mm를 사용하였다.

2.2 실험 기기

유도체합성을 확인하기 위해 사용한 GC/MS는 GCMS-QP5050 (Shimadzu, Japan), IR-spectro-photometer는 FT/IR-4100 plus (JASCO, Japan), ¹H-NMR은 Bruker 200 NMR-spectrometer (Bruker, Germany), 생리활성 검증을 위해 사용한 고온멸균기는 HVE-25 (HIRAYAMA사), 무균대 CB-20H (JEIO TECH사)와 배양기는 HB-301S (HANBAEK SCIENTIFIC사)를 사용하였다.

2.3 합성

2.3.1 2-Isopropyl-5-methylphenyl *o*-toluenesulfonate (1a)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 thymol(1) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 triethylamine (0.8 g, 7.9 mmol)을 가하여 30분 동안 반응시킨 후 0℃로 온도를 조절한 후 *o*-toluenesulfonyl chloride (0.76 ml, 3.98 mmol)를 가하였다. 3시간 동안 15-20℃에서 반응시킨 후 염화메틸렌(15 ml)과 증류수 (15 ml)를 가하여 20분간 교반 후 층분리를 하였다. 유기층을 증류수(20 ml)로 세척 후 무수 황산 마그네슘으로 건조시키고 여과하여 감압 농축하였다. 농축액을 실리카 겔 크로마토그래피법(아세트니트릴과 증류수 4:1)으로 정제하여 목적물(1.02 g, 98%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1359, 1172, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.1-2.2(s, 3H, -CH₃), 3.0-3.1(s, 3H), 3.3-3.4(m, 1H), 6.7-6.8(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 4H, aromatic H), MS(m/e) : 304(M⁺), 91(base).

2.3.2 2-Isopropyl-5-methylphenyl 2,4,5-trichlorobenzenesulfonate (1b)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 thymol(1) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 2,4,5-trichlorobenzene-sulfonyl chloride (1.11 ml, 3.96 mmol)을 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(1.02 g, 83.6%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1375, 1175, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.20(d, 6H), 2.34(s, 3H), 3.05(m, 1H), 6.7-6.8(m, 3H, aromatic H), 8.07-8.32(m, 2H, aromatic H), MS(m/e) : 393(M⁺), 149(base).

2.3.3 2-Isopropyl-5-methylphenyl 2-mesitylenesulfonate (1c)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 thymol(1) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 2-mesitylenesulfonyl chloride (1.11 ml, 3.96 mmol)을 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(0.92 g, 83.5%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1361, 1180, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.1-2.2(s, 3H), 3.0-3.1(m, 1H), 6.4-6.6(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m,

2H, aromatic H), MS(m/e) : 332(M⁺), 119(base).

2.3.4 2-Isopropyl-5-methylphenyl 4-chloro-3-nitrobenzenesulfonate (1d)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 thymol(1) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 4-chloro-3-nitrobenzenesulfonyl chloride (1.02 ml, 3.98 mmol)을 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(1.04 g, 85.2%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1387, 1192, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.1-2.2(s, 3H), 3.0-3.1(m, 1H), 6.4-6.6(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 3H, aromatic H), MS(m/e) : 369(M⁺), 91(base).

2.3.5 2-Isopropyl-5-methylphenyl 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonate (1e)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 thymol(1) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonylchloride (0.94 ml, 3.98 mmol)을 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(0.92 g, 81.7%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1380, 1180, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.1-2.2(s, 3H), 2.64(s, 3H), 3.0-3.1(m, 1H), 6.4-6.6(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 3H, aromatic H), MS(m/e) : 349(M⁺), 138(base).

2.3.6 4-Isopropyl-3-methylphenyl o-toluene-sulfonate (2a)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 4-isopropyl-3-methylphenol(2) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 o-toluene-sulfonyl chloride (0.76 ml, 3.98 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(0.81 g, 81%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1380, 1186, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.34(s, 3H), 2.64(s, 3H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 4H, aromatic H), MS(m/e) : 304(M⁺), 149(base).

2.3.7 4-Isopropyl-3-methylphenyl 2,4,5-trichlorobenzenesulfonate (2b)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 4-isopropyl-3-methylphenol(2) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 2,4,5-trichlorobenzene-sulfonyl chloride (1.11 ml, 3.96 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(1.12 g, 86.2%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1376, 1196, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.34(s, 3H), 2.64(s, 3H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 2H, aromatic H),

MS(m/e) : 393(M⁺), 121(base).

2.3.8 4-Isopropyl-3-methylphenyl 2-mesitylene-sulfonate (2c)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 4-isopropyl-3-methylphenol(2) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 2-mesitylenesulfonyl chloride (0.87 ml, 3.97 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(1.12 g, 86.2%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1364, 1194, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.34(s, 3H), 2.35(s, 3H), 2.64(s, 3H), 2.67(s, 6H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 2H, aromatic H), MS(m/e) : 332(M⁺), 121(base).

2.3.9 4-Isopropyl-3-methylphenyl 4-chloro-3-nitrobenzenesulfonate (2d)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 4-isopropyl-3-methylphenol(2) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 4-chloro-3-nitrobenzenesulfonyl chloride (1.02 ml, 3.98 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(1.03 g, 84.4%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1380, 1193, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.34(s, 3H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 3H, aromatic H), MS(m/e) : 369(M⁺), 121(base).

2.3.10 4-Isopropyl-3-methylphenyl 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonate (2e)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 4-isopropyl-3-methylphenol(2) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonyl chloride (0.94 ml, 3.98 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(0.95 g, 82.6%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1370, 1184, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.34(s, 3H), 2.36(s, 3H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 3H, aromatic H), MS(m/e) : 349(M⁺), 121(base).

2.3.11 5-Isopropyl-3-methylphenyl o-toluene-sulfonate (3a)의 합성의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 5-isopropyl-3-methylphenol(3) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 o-toluene-sulfonyl chloride (0.76 ml, 3.98 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(0.84 g, 84%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1371, 1175, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.34(s, 3H), 2.36(s, 3H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 4H, aromatic H), MS(m/e) : 304(M⁺), 105(base).

2.3.12 5-Isopropyl-3-methylphenyl 2,4,5-trichloro-benzenesulfonate(3b)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 5-isopropyl-3-methylphenol(3) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 2,4,5-trichlorobenzene sulfonyl chloride (1.11 ml, 3.96 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(1.12 g, 86.2%)을 얻었다. IR (cm^{-1}) : 1391, 1193, $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, \delta)$: 1.0-1.1(d, 6H), 2.34(s, 3H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 2H, aromatic H), MS(m/e) : 393(M^+), 121(base).

2.3.13 5-Isopropyl-3-methylphenyl 2-mesitylene-sulfonate (3c)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 5-isopropyl-3-methylphenol(3) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 2-mesitylenesulfonyl chloride (0.87 ml, 3.97 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(0.91 g, 82.6%)을 얻었다. IR (cm^{-1}) : 1367, 1179, $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, \delta)$: 1.0-1.1(d, 6H), 2.34(s, 3H), 2.35(s, 3H), 2.64(s, 3H), 2.67(s, 6H) 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 2H, aromatic H), MS(m/e) : 332(M^+), 121(base).

2.3.14 5-Isopropyl-3-methylphenyl 4-chloro-3-nitrobenzenesulfonate (3d)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 5-isopropyl-3-methylphenol(3) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 4-chloro-3-nitrobenzenesulfonyl chloride (1.02 ml, 3.98 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(1.02 g, 83.6%)을 얻었다. IR (cm^{-1}) : 1383, 1193, $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, \delta)$: 1.0-1.1(d, 6H), 2.34(s, 3H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 3H, aromatic H), MS(m/e) : 369(M^+), 121(base).

2.3.15 5-Isopropyl-3-methylphenyl 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonate (3e)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 5-isopropyl-3-methylphenol(3) (0.5 g, 3.32 mmol)을 용해하고 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonyl chloride (0.94 ml, 3.98 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(0.97 g, 83.8%)을 얻었다. IR (cm^{-1}) : 1375, 1187, $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, \delta)$: 1.0-1.1(d, 6H), 2.34(s, 3H), 2.36(s, 3H) 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 3H, aromatic H), MS(m/e) : 349(M^+), 121(base).

2.3.16 4-Isopropylphenyl *o*-toluenebenzenesulfonate (4a)의 합성의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 4-isopropylphenol(4) (0.5 g, 3.67 mmol)을 용해하고 *o*-toluenesulfonyl chloride (0.84 ml, 4.40 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(0.79 g, 82.9%)을 얻었다. IR (cm^{-1}) : 1350, 1176, $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, \delta)$: 1.0-1.1(d, 6H), 2.34(s, 3H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 4H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 4H, aromatic H), MS(m/e) : 290(M^+), 91(base).

2.3.17 4-Isopropylphenyl 2,4,5-trichlorobenzene-sulfonate(4b)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 4-isopropylphenol(4) (0.5 g, 3.67 mmol)을 용해하고 2,4,5-trichlorobenzene-sulfonyl chloride (1.24 ml, 4.42 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(1.07 g, 85.6%)을 얻었다. IR (cm^{-1}) : 1390, 1194, $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, \delta)$: 1.0-1.1(d, 6H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 4H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 2H, aromatic H), MS(m/e) : 380(M^+), 134(base).

2.3.18 4-Isopropylphenyl 2-mesitylenesulfonate (4c)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 4-isopropylphenol(4) (0.5 g, 3.67 mmol)을 용해하고 2-mesitylenesulfonyl chloride (0.97 ml, 4.43 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(0.96 g, 82%)을 얻었다. IR (cm^{-1}) : 1363, 1199, $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, \delta)$: 1.0-1.1(d, 6H), 2.64(s, 3H), 2.67(s, 6H) 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 4H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 2H, aromatic H), MS(m/e) : 318(M^+), 121(base).

2.3.19 4-Isopropylphenyl 4-chloro-3-nitrobenzenesulfonate (4d)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 4-isopropylphenol(4) (0.5 g, 3.67 mmol)을 용해하고 4-chloro-3-nitrobenzenesulfonyl chloride (1.04 ml, 4.06 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(1.03 g, 88%)을 얻었다. IR (cm^{-1}) : 1749, 1234, $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, \delta)$: 1.0-1.1(d, 6H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 4H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 3H, aromatic H), MS(m/e) : 355(M^+), 121(base).

2.3.20 4-Isopropylphenyl 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonate (4e)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 4-isopropylphenol(4) (0.5 g, 3.67 mmol)을 용해하고 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonyl chloride (1.04 ml, 4.41 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(1.07 g, 96.4%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1373, 1179, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 4H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 3H, aromatic H), MS(m/e) : 335(M⁺), 121(base).

2.3.21 2-Isopropylphenyl o-toluenebenzene-sulfonate (5a)의 합성의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 2-isopropylphenol(5) (0.5 g, 3.67 mmol)을 용해하고 o-toluenesulfonyl chloride (0.84 ml, 4.40 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(0.81 g, 84.4%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1370, 1175, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.34(s, 3H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 4H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 4H, aromatic H), MS(m/e) : 290(M⁺), 91(base).

2.3.22 2-Isopropylphenyl 2,4,5-trichlorobenzene-sulfonate (5b)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 2-isopropylphenol(5) (0.5 g, 3.67 mmol)을 용해하고 2,4,5-trichlorobenzenesulfonyl chloride (1.24 ml, 4.42 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(1.03 g, 81.9%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1384, 1181, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 4H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 2H, aromatic H), MS(m/e) : 318(M⁺), 91(base).

2.3.23 2-Isopropylphenyl 2-mesitylenesulfonate (5c)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 2-isopropylphenol(5) (0.5 g, 3.67 mmol)을 용해하고 2-mesitylenesulfonyl chloride (1.04 ml, 4.06 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(0.95 g, 90.5%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1362, 1189, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.64(s, 3H), 2.67(s, 6H) 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 4H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 2H, aromatic H), MS(m/e) : 355(M⁺), 88(base).

2.3.24 2-Isopropylphenyl 4-chloro-3-nitrobenzene-sulfonate (5d)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 2-isopropylphenol(5) (0.5 g, 3.67 mmol)을 용해하고 4-chloro-3-nitrobenzenesulfonyl chloride(1.04 ml, 4.06 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(1.03 g, 88%)을 얻었다. IR

(cm⁻¹) : 1387, 1194, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.87(m, 1H), 6.4-6.6(m, 4H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 3H, aromatic H), MS(m/e) : 355(M⁺), 135(base).

2.3.25 2-Isopropylphenyl 2-methyl-5-nitrobenzene-sulfonate (5e)의 합성

아세트니트릴(30 ml)에 2-isopropylphenol(5) (0.5 g, 3.67 mmol)을 용해하고 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonyl chloride (1.04 ml, 4.41 mmol)를 가한 후 (1a)의 합성과 동일하게 실험하여 목적물(0.93 g, 83.8%)을 얻었다. IR (cm⁻¹) : 1375, 1191, ¹H-NMR(CDCl₃, δ) : 1.0-1.1(d, 6H), 2.87(m, 1H), 2.93(s, 3H), 6.4-6.6(m, 3H, aromatic H), 7.2-7.3(m, 3H, aromatic H), MS(m/e) : 335(M⁺), 135(base).

2.4 식물병원균에 대한 살균활성 실험

2.4.1 in vitro 항균활성실험

항균활성실험은 PDA(potato dextrose agar) 3.9 g을 증류수 100 ml에 용해하여 고압멸균(121℃, 15분)한 후 배지의 온도를 50℃가 되도록 식히고 DMSO (dimethyl sulfoxide)에 녹인 합성한 시료를 배지와 혼합하여 최종농도를 100 μg mL⁻¹가 되도록 한 후 페트리디쉬에 20 mL씩 분주하여 PDA 혼합배지를 제조하였다. 식물병원균의 접종과 배양은 배지 중앙에 균주 생장 부위가 배지면과 맞닿도록 지름 5 mm의 agar disc를 접종하였으며, 접종된 배지는 암실조건(25℃, 습도 75%)에서 배양하였다. 항균활성실험은 무처리균의 균사생장지름이 80(±5) mm가 될 때까지 배양한 후 균사생장지름을 측정하였으며 모든 실험은 3회 이상 실시하여 그 평균값을 측정값으로 하였다 [17].

$$\text{균사생장 억제율(\%)} = \frac{\text{무처리균의 균사생장지름} - \text{처리균의 균사생장지름}}{\text{무처리균의 균사생장지름}} \times 100$$

2.4.2 in vivo 활성실험

실험에 사용한 오이(품종 : 백다다기)와 토마토(품종 : 광명)는 2엽기의 유묘(10-15 cm)를 사용하였으며, 벼(품종 : 일품)는 3-4엽기의 유묘(25-30 cm)를 사용하였다. 활성평가는 벼도열병균(*Pyricularia grisea*), 벼잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*), 토마토잎마름역병균(*Phytophthora infestans*), 오이탄저병균(*Colletotrichum orbiculare*)과 오이흰가루병균(*Sphaerotheca fusca*)을 대상으로 실시하였다.

접종원으로 벼도열병균(*Pyricularia grisea*)은 RPA (rice polish 20 g, dextrose 10 g, agar 15 g, 증류수 1L) 배지에 접종 뒤 인큐베이터(25℃, 광조건)에서 2일간 배양하였다. 생성된 분생포자를 수확하여 Tween 20이 1,000 ppm 함유된 1×10^6 spores mL⁻¹의 현탁액을 만들어 4엽기의 일품벼 경엽에 고루 살포하였다.

벼잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*)은 PDA배지 28℃에서 2일간 배양하였다. 성장한 균사체 6 mm 절편을 121℃에서 30분씩 2회 멸균된 밀기울(wheat bran medium : wheat bran 200 g, 왕겨 100 g, 증류수 100 mL) 배지에 접종 후 배양한 후 균체를 벼 유묘의 기저부에 접종하여 발병을 유도시켰다. 토마토잎마름역병균(*Phytophthora infestans*)은 V8배지(V8-juice 200 ml, CaCO₃ 4.5 g, agar 20 g, 증류수 800 mL)에 접종한 뒤 인큐베이터(20℃, 광조건)에서 7일간 배양하여 생성된 균사체의 기중균사를 전착제(spreader)로 제거한 후 인큐베이터(25℃, 광조건)에서 2일간 배양하였다. 형성된 유주자낭을 수확하여 Tween 20이 1,000 ppm 함유된 1×10^4 sporangia mL⁻¹의 현탁액을 만들어 본엽 2-3엽의 토마토 유묘의 경엽에 고루 살포하였다. 오이탄저병균오이탄저병균(*Colletotrichum orbiculare*)과 오이흰가루병균(*Sphaerotheca fusca*)은 PDA (potato dextrose agar)배지에 접종한 뒤 인큐베이터(20℃, 광조건)에서 7일간 배양하였다. 생성된 분생포자를 수확하여 Tween 20이 1,000 ppm 함유된 1×10^5 sporangia mL⁻¹의 현탁액을 만들어 1엽기 오이 유묘의 본엽에 고르게 살포하였다. 각각 접종된 유묘들은 dew chamber (27℃, 95% 암조건)에서 48 시간 보관 후 항온항습실(25℃, 80%)에서 광조건, 암조건을 각각 12 hr으로 처리되었으며, 무처리의 발병을 충분히 유도한 후 결과를 조사하였다. 오이와 토마토작물의 병반면적률을 측정하였으며, 벼작물의 경우는 발병지부로부터 병반의 발생 높이를 측정하여 다음과 같은 식에 의하여 방제율을 산출하였다. 모든 실험은 3회 이상 실시하여 그 평균값을 측정값으로 하였다.

$$\text{방제율(\%)} = \frac{\text{무처리군 병반면적(길이)률\%} - \text{처리군 병반면적(길이)률\%}}{\text{무처리군의 병반면적률\%}} \times 100$$

2.4.3 통계 처리

모든 실험은 3회 반복 실시하였으며, 각 실험군 간의

유의성 검정은 Windows statistical package, version 10.0인 SPSS (SPSS Institute, Chicago, IL, USA) program을 이용하여 ANOVA test를 실시한 후 Dunnett post-hoc test를 하여 $p < 0.05$ 에서 유의성을 검정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 유도체들의 합성

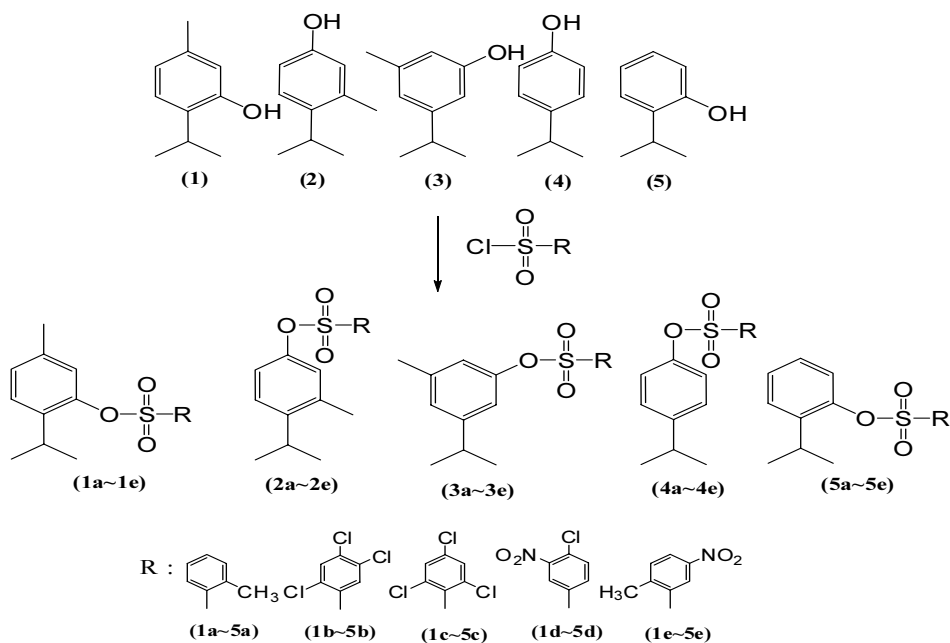
Thymol(1)과 유사화합물(2~5)에 대한 방향족 치환기들이 포함된 isopropylmethylphenyl ester 유도체 25종을 합성하였다. 이들 합성 방법과 각 화합물의 구조는 그림 1과 같다. 합성여부의 확인은 GC/MS, IR spectrum 및 1H-NMR spectrum을 이용하였다.

3.2 유도체들의 항균활성

3.2.1 In vitro 활성실험

항균활성 실험은 대조군과 공시약제를 isopropyl methyl-phenol benzenesulfonate(1a~5e)에 대하여 시료를 배지에 혼합 하여 식물병원균인 벼도열병균(*Pyricularia grisea*) 외 5종을 접종하여 유도체들의 항균활성을 조사하였다. Isopropylmethylphenyl benzenesulfonate(1a~5e) 유도체들에 대한 식물병원균의 항균효과는 표 1과 같다.

표 1에서 보는 바와 같이 2-isopropyl-5-methyl-phenyl *o*-toluenesulfonate(1a)는 벼도열병균(*Pyricularia grisea*)에서 2-isopropylphenyl 2,4,5-trichloro-benzenesulfonate(5b)는 토마토잎마름역병균(*Phytophthora infestans*)에서 2-isopropylphenyl 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonate(5e)는 오이 흰가루병균(*Sphaerotheca fusca*)에서 blastidin-s, dimethomorph와 fenanrimol 보다 유사하거나 우수한 항균활성을 나타내었다. In vitro 실험에서 항균활성이 좋은 6종의 화합물 2-isopropyl-5-methylphenyl *o*-toluenesulfonate(1a), 5-isopropyl-3-methylphenyl 2,4,5-trichlorobenzene-sulfonate(3b), 5-isopropyl-3-methylphenyl 2-mesitylene-sulfonate(3c), 5-isopropyl-3-methylphenyl 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonate(3e), 2-isopropylphenyl 2,4,5-trichlorobenzenesulfonate(5b), 2-isopropylphenyl 2-methyl-5-nitrobenzenesulfonate(5e)를 선별하여 벼, 토마토, 오이 작물에서 *in vivo* 실험을 실시하였다.



[그림 1] Isopropylmethylphenyl benzenesulfonate 유도체들의 합성(1a~5e)

[표 1] Isopropylmethylphenyl benzenesulfonate 유도체들에 대한 항균활성(in vitro)

Compounds	Growth Inhibition(%)						
	Pathogen	<i>Pyricularia grisea</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Phytophthora infestans</i>	<i>Colletotrichu m orbiculare</i>	<i>Sphaerotheca fusca</i>	<i>p-value</i>
Commercial chemicals		55	29	38	52	53	
1a		63	13	15	21	0	<.0001*
1b		13	15	16	23	11	.2455
1c		20	0	0	16	0	.1622
1d		8	3	0	14	0	.1524
1e		0	0	0	0	12	.2532
2a		27	0	0	0	11	.0973
2b		24	0	0	0	0	.0862
2c		2	3	0	8	0	.3244
2d		25	9	10	5	0	.0742
2e		3	0	0	0	8	.8221
3a		11	4	19	8	9	.5421
3b		32	5	17	48	25	<.0001*
3c		26	27	0	17	0	<.0001*
3d		28	0	2	6	0	.4316
3e		49	0	19	0	13	<.0001*
4a		5	0	2	30	0	.3525
4b		21	0	0	12	0	.4521
4c		41	5	12	13	0	.1982
4d		23	0	27	0	0	.3672
4e		0	1	2	1	0	.9854
5a		27	9	8	0	7	.5643
5b		28	5	45	0	12	<.0001*
5c		0	0	3	10	0	.1324
5d		22	1	0	14	13	.5421
5e		47	0	21	0	55	<.0001*

*p<0.05

[표 2] Isopropylmethylphenyl benzenesulfonate 유도체들에 대한 항균활성(*in vivo*)

Compounds	Pathogen	Control Value(%, 100 $\mu\text{g/ml}$)					<i>p</i> -value
		<i>Pyricularia grisea</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Phytophthora infestans</i>	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	<i>Sphaerotheca fusca</i>	
Commercial chemicals		83.2	70.4	81.7	92.0	84.5	
1a		94.7	23.0	17.8	26.5	0	<.007*
3b		50.9	12.8	57.0	83.0	44.4	<.02*
3c		42.1	39.2	0	20.4	0	<.04*
3e		74.5	0	48.0	0	22.2	<.05*
5b		49.1	16.7	85.2	0	22.2	<.005*
5e		70.9	0	45.4	0	86.3	<.002*

**p*<0.05

3.2.2 *In vivo* 활성실험

효과가 우수한 6가지 화합물들을 5종의 식물병원균에 대하여 작물실험을 실시한 결과는 표 2와 같다. 표 2에서 보는 바와 같이 2-isopropyl-5-methylphenyl o-toluenesulfonate(1a)가 벼도열병균에서 94.7%, 2-isopropylphenyl 2,4,5-trichloro-benzenesulfonate(5b)는 토마토잎마름역병균에서 85%를 나타내었으며, 2-isopropyl phenyl 2-methyl-5-nitrobenzene-sulfonate(5e)이 오이흰가루병균에서 86%의 방제효과를 나타내었다. 이전 연구에서 isopropylphenyl alkylate, isopropylphenyl benzoate, isopropyl-methylphenyl alkylate와 isopropylmethylphenyl benzoate 유도체들이 여러 식물병원균에 살균효과가 있음을 알았으며[13-16], 본 연구에서는 isopropylmethyl phenyl benzenesulfonate 또는 isopropylphenyl benzene-sulfonate 유도체들도 식물병원균에 살균효과가 있음을 알았다.

4. 결론

식물오일 중 살균활성이 있는 thyme 오일의 주성분인 thymol(1)과 유사화합물(2~5)에 대한 방향족 치환기들이 포함된 sulfonyl ester 유도체 25종을 합성하였다. 유도체들의 합성은 IR spectrum, ¹H-NMR spectrum과 GC/MS로 분석하여 합성이 되었음을 확인하였다. 이들 유도체들에 대하여 5종의 식물병원균에 대한 항균활성을 실시한 결과 벼도열병균, 토마토잎마름역병균과 오이흰가루병균에 대해 항균활성을 나타내었다. 이 중에서 2-isopropyl-5-methylphenyl o-toluenesulfonate(1a)는 벼도열병균에서 2-isopropylphenyl 2,4,5-trichlorobenzene sulfonate (5b)는 벼잎집무늬마름병균에서 2-isopropylphenyl 2-methyl-5-nitro-benzenesulfonate(5e)는 오이흰가루병균에서 *in vivo*

항균활성 결과 각각 94.7%, 85%와 86%의 우수한 항균 활성을 나타내었으며, 선행 연구된 벼도열병균과 벼잎집 무늬마름병균에 대하여 우수한 예방효과를 나타낸 2-isopropyl-5-methylphenyl-acetate와 methyl (2-isopropyl-5-methylphenoxy)-acetate 보다 높은 항균활성을 나타내었다. 이 결과, (1a), (5b)와 (5e) 화합물과 이와 유사구조를 갖는 화합물들의 연구를 계속함으로써 이 계통의 새로운 항균제 개발이 가능할 것으로 사료된다.

참고문헌

- [1] G. S. Helling, P. C. Kearney and M. Alexan, Behavior of pesticides in soil, *Advan. Agron*, 23, pp. 147-240, 1971.
- [2] A. W. Brown, *A ecology of pesticides*, John wiley, 1978.
- [3] K. Hurele, Do soil suffer from pesticide?, In *Pesticide Chemistry : IUPAC.*, (ed., Freshe, H., V. C. H, Verlagsgellschaft, MB, H. Weinheion). pp. 319-327, 1991.
- [4] Y. Kurahashi, S. Sakawa, T. Kinbara, K.Tanaka and S. Kagabu, Biological activity of carpropamid (KTU 3616): A new fungicide for rice blast disease, *J. Pesticide Sci*, 22, pp. 108-112, 1997.
- [5] S. E. Lee, B. S. Park, M. K. Kim, W. S. Choi, H. T. Kim, K. Y. Cho, S. G. Lee, and H. S. Lee, Fungicidal activity of piperonaline, a piperidine alkaloid derived from long paper, *Piper longum L.*, against phytopathogenic fungi, *Crop Prot*, 20, pp. 523-528, 2001a.
- [6] B. H. Lee, W. S. Choi, S. E. Lee, and B. S. Park, Fumigant toxicity of essential oils an their

constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.), Crop Prot, 20, pp. 317-320, 2001b.

[7] B. Lawrence, Rosemary oil. Essential oils, USA Allured Publishing, pp. 60, 1989.

[8] Larrondo, J. V., M. Agut, and M. A. Torras, Antibacterial activity of essenes from labiates, Microbios, 82, pp. 171-172.

[9] G. N. Agrios, Significance of plant disease, In Plant Pathology (4th edition), Academic Press, San Diego, USA, pp. 25-37.

[10] P. Muller, Effect of pesticides of fauua and flora in pesticide, In Food and Environmental Implications, IAEA, Vienna.

[11] S. O. Duke, A. M. Rimando, S. R. Baerson, B. E. Scheffler, E. Ota, and R. G. Belz, Strategies for the use of natural products for weed managemet, J. Pesticide Sci, 2, pp. 298-306, 2002.

[12] B. H. Lee, C. P. Annis, F. Tumaalii, and W. S. Choi, Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects, J. Stored Prod. Res, 40, pp. 553-564, 2004.

[13] 최원식, 김관영, 장도연, 엄대용, 김태준, 정봉진, 식물오일과 그 성분들의 살균활성, 농약과학회지, 10(3), pp. 201-209, 2006.

[14] 최원식, 정찬진, 장도연, 차경민, 엄대용, 김태준, 정봉진, Thymol과 Carvacrol 유도체들의 합성과 식물병원균에 대한 항균활성, 농약과학회지, 10(4), pp. 237-248, 2006.

[15] 최원식, 장도연, 최경길, 이병호, 김태준, 정봉진, Isopropylphenyl 유도체들의 합성과 식물병원균에 대한 항균활성, J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem, 50(3), pp. 178-186, 2007.

[16] 최원식, 장순호, 장도연, 최경길, 이병호, 김태준, 정봉진, 4-Isopropyl, 5-isopropyl-3-methylphenol 유도체들의 합성과 식물병원균에 대한 항균 활성, 농약과학회지, 10(4), pp. 249-261, 2006.

[17] 신승원, 수종허브 정유의 Candida속 진균에 대한 억제 활성 및 ketoconazole과의 병용효과, 대한약학회지, 46(3), pp. 203-207.

최 원 식(Won-Sik Choi)

[정회원]



- 1974년 2월 : 고려대학교 화학과 (이학사)
- 1977년 2월 : 고려대학교 화학과 (이학석사)
- 1985년 2월 : 고려대학교 화학과 (이학박사)
- 1982년 3월 ~ 1989년 2월 : 강릉대학교 화학과 교수
- 1989년 3월 ~ 현재 : 순천향대학교 생명공학과 교수

<관심분야>
유기화학, 유기합성, 천연물화학

남 석 우(Seok-Woo Nam)

[정회원]



- 2007년 2월 : 순천향대학교 유전공학과 (이학사)
- 2009년 2월 : 순천향대학교 유전공학과 (이학석사)
- 2009년 3월 ~ 현재 : 순천향대학교 생명공학과 (박사과정)

<관심분야>
유기화학, 유기합성, 천연물화학

김 학 천(Hak-Cheun Kim)

[정회원]



- 2002년 2월 : 순천향대학교 유전공학과 (이학사)
- 2004년 2월 : 순천향대학교 유전공학과 (이학석사)
- 2004년 3월 ~ 현재 : (주)경보제약 대리

<관심분야>
유기화학, 유기합성, 천연물화학