



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2016년 2월
석사학위 논문

유해 적조 제어를 위한
dichlorobenzylamine 유도체 합성 및
활성 평가

조선대학교 대학원
신재생에너지융합학과
유 순 중

유해 적조 제어를 위한
dichlorobenzylamine 유도체 합성 및
활성 평가

Synthesis and algicidal activity of
dichlorobenzylamine derivatives against
harmful red tides

2016년 2월 25일

조선대학교 대학원

신재생에너지융합학과

유 순 중

유해 적조 제어를 위한
dichlorobenzylamine 유도체 합성 및
활성 평가

지도교수 조 훈

이 논문을 공학석사학위 신청 논문으로 제출함

2015년 10월

조선대학교 대학원

신재생에너지융합학과

유 순 중

조대인의 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 유 지 강 (인)

위 원 조선대학교 교수 최 재 곤 (인)

위 원 조선대학교 교수 조 훈 (인)

2015년 11월

조선대학교 대학원

목 차

I. 서론.....	1
1. 연구 목적.....	1
II. 문헌 연구.....	2
1. 적조에 대한 이해.....	2
1) 적조의 정의.....	2
2) 적조 발생 원인.....	2
3) 적조 발생 시기와 피해.....	3
4) 유해성 적조의 종류.....	4
5) 적조방제 대책.....	6
6) 황토 살포의 문제점.....	10
2. 생태 독성 평가.....	11
1) 물벼룩(<i>Dahpnia magna</i>).....	11
2) 제브라피쉬(<i>Danio rerio</i>).....	13
III. 재료 및 방법.....	14
1. 재료.....	14
1) 유기합성.....	14
2) 유해 적조류.....	14
(가) 시험종 및 배양조건.....	14
(나) 배양액 조제.....	17
3) 물벼룩(<i>Dahpnia magna</i>).....	18
(가) 시험종 및 배양조건.....	18
(나) 배양액 조제.....	19
4) 물벼룩 먹이(<i>Selenastrum gracile</i>).....	21

(가) 시험종 및 배양조건	21
(나) 배양액 조제	21
5) 제브라 피쉬(<i>Danio rerio</i>)	23
(가) 시험종 및 배양조건	23
2. 약물 활성 측정 실험 방법	24
1) 약물 농도에 따른 조류 살조율 활성 측정	24
2) 시간에 따른 적조 살조율 측정	24
3) 물벼룩 급성 독성 시험	25
4) 제브라피쉬 급성 독성 시험	25
3. 유기합성 실험 방법 및 NMR 데이터	26
1) 화합물 (1)~(56)의 합성	26
2) 화합물 (57)~(63)의 합성	49
3) 화합물 (64)~(65)의 합성	52
IV. 결과 및 고찰	54
1. 약물 활성 측정 실험 결과	54
1) 유해 적조에 대한 활성측정	54
2) 후보물질 선정	67
2. 생태독성 평가	67
1) 물벼룩 급성 독성 평가	68
2) 제브라피쉬 급성 독성 평가	70
3. 시간에 따른 적조 살조율	71
V. 결론	73
【참고문헌】	75
¹ H NMR Spectra	80

List of Tables

Table 1. 적조예보종류 및 발령기준	6
Table 2. 년도별 적조발생에 의한 양식 수산 피해금액	7
Table 3. 적조생물의 구제 방법과 원리	8
Table 4. <i>Daphnia</i> species	12
Table 5. Red tide species for test	14
Table 6. The culturing condition of red tides	16
Table 7. Composition of F/2 culture media (stock solution)	17
Table 8. Composition of F/2 culture media	17
Table 9. The culturing condition of <i>Daphnia magna</i>	18
Table 10. Composition of M4 culture media (stock solution)	19
Table 11. Composition of M4 culture media	20
Table 12. The culturing condition of <i>Selenastrum gracile</i>	21
Table 13. Composition of BG11 (blue-green medium) culture media (stock solution)	22
Table 14. Composition of BG11 (blue-green medium) culture media	22
Table 15. The culturing condition of <i>Danio rerio</i>	23
Table 16. Algicidal activity of compounds 1~9 against harmful red tides	55
Table 17. Algicidal activity of compounds 10~13 against harmful red tides	56
Table 18. Algicidal activity of compounds 14~17 against harmful red tides	57
Table 19. Algicidal activity of compounds 18~22 against harmful red tides	58
Table 20. Algicidal activity of compounds 23~30 against harmful red tides	59
Table 21. Algicidal activity of compounds 31~38 against harmful red tides	60
Table 22. Algicidal activity of compounds 39~42 against harmful red tides	61
Table 23. Algicidal activity of compounds 43~50 against harmful red tides	62
Table 24. Algicidal activity of compounds 51~53 against harmful red tides	63
Table 25. Algicidal activity of compounds 54~56 against harmful red tides	64
Table 26. Algicidal activity of compounds 57~63 against harmful red tides	65
Table 27. Algicidal activity of compounds 64~65 against harmful red tides	66

Table 28. Lead compounds.....67

Table 29. Summary of algicidal activity data and the ecotoxicological data of the compounds (33, 34) used in the laboratory toxicity test.....69

List of Figures

Figure 1. 유해적조에 의한 수산 양식업 피해.....4

Figure 2. 유해적조 구제를 위한 황토살포.....9

Figure 3. Photos of loess dust blanket area (a) and clean area (b).....10

Figure 4. Culture of red tides.....16

Figure 5. Survival ratio of *Daphnia magna* in different concentration of compounds (27, 28, 33, 34, 35, 36) for 48 hour.....68

Figure 6. Survival ratio of *Danio rerio* in different concentration of compounds (33, 34) for 14 day69

Figure 7. Microscopic observation of time-dependent surviving cells rate by compound 34 (1 μ M) loading.....70

Figure 8. Microscopic observations of time-dependent algicidal activity produced by compound 34 (1 μ M) loading.....71

List of Schemes

Scheme 1. Synthesis of compounds (1~56) ; $R_1 = H, F, Cl, Br, OH$; $R_2 =$ Alkyl or benzyl groups

Scheme 2. Synthesis of compounds (57~63) ; $R_1 =$ Alkyl groups

Scheme 3. Synthesis of compounds (64~65) ; $R_1 = H, Cl$

List of Abbreviations

$CDCl_3$: *d*-Choloform

C. marina : *Chattonella marina*

C. polykrikoides : *Cochlodinium polykrikoides*

DMSO : Dimethylsulfoxide

D. magna : *Daphnia magna*

D. rerio : *Danio rerio*

EC_{50} : Effect concentration 50%

H. akashiwo : *Heterosigma akashiwo*

H. circularisquama : *Herterocapsa circularisquama*

LC_{50} : Lethal concentration 50%

MSDS : Material safety data sheet

$NaBH_4$: Sodium borohydride

$NaOH$: Sodium hydroxide

NMR : Nuclear magnetic resonance

SAR : Structure activity relationship

THF : Tetrahydrofuran, anhydrous

TLC : Thin layer chromatograph

ABSTRACT

Synthesis and algicidal activity of dichlorobenzylamine derivatives against harmful red tides

Sunjong Yu

Advisor : Prof. Hoon Cho, Ph.D.

Department of Energy Convergence

Graduate School of Chosun University

Although there have been many studies of removing the harmful algae species using the physical, chemical, biological and hybrid means in Korea as the reports of damage of cultivation of marine products industry, disturbance of marine ecosystem and hazard to public health and safety by harmful red tides (HABs) have recently increased each year, there is yet no feasible alternative measure other than spraying red clay. However, despite many efforts, the damage from harmful algae species is increasing, and the sprayed red clay is settled under water and causes the secondary pollution. As thus, the new harmful algae species removing substance must be developed.

This paper studied the chemical method to efficiently control harmful algae species by synthesizing **65** new chemicals known to be active to harmful algae species and inoculating 5~0.1 μM of the synthesized chemical to harmful algae species to analyze the activity change according to the SAR (structure activity relationship). The analysis indicated that the 3,4-dichlorobenzylamine derivative showed relatively high activity to 4 types of harmful algae species (*Cochlodinium polykrikoides*, *Heterosigma akashiwo*, *Cattonella marina*, and *Heterocapsa circularisquama*) and the synthesized compounds **27**, **28**, **33**, **34**, **35**, **36** and **6** showed the high activity of 0.1~1 μM of 24 h - LC₅₀ to 4 types of harmful algae species.

When treated with 1 μM , almost cells were confirmed to be destroyed. To verify the safety of compounds, an acute ecotoxicology tests using the water flea (*Daphnia magna*) and zebrafish (*Danio rerio*) were conducted, and the test confirmed that the compounds **33** and **34** were safe against the ecotoxicology by showing the high survival rates at 15 μM . The test result indicates that the compounds **33** and **34** are the suitable substances to control harmful algae species. In the future, the risk to marine ecosystem should be systematically assessed using the mesocosm to study the feasibility of field application.

I. 서론

1. 연구 목적

현재 국내 유해성 적조에 의한 피해는 잡는 어업이 기르는 어업으로 전환되면서 유해성 적조에 의한 양식업의 피해가 매년 수백억 원에 이르고, 수서 생태계의 교란 등 피해가 계속해서 증가하고 있는 상황에 있다. 또한 사람의 건강에 직접적으로 피해를 일으키는 유해적조생물이 우리나라의 연안에서 출현할 경우 공중 보건피해가 더욱 커질 것이다 [1, 2]. 최근 적조발생 현상은 국내 뿐만 아니라 세계적으로 많은 연구가 진행되어 유해적조를 중심으로 적조원인 생물의 분류 및 적조발생환경, 유해적조에 의한 어패류 독화 등 매우 다양한 정보들이 있다 [3, 4]. 이러한 적조 생물을 제어하기 위해 우리나라에서는 지금까지 황토가 친환경적, 경제적이며 효율적으로 적조를 제어 할 수 있다고 판단하여 1996년부터 적조 대 발생 지역에 황토를 대량으로 살포하기 시작했다 [5]. 하지만 이 방법은 적조생물 뿐만 아니라 황토의 침전 시 저서식물의 피해, 해저 사막화 등 또 다른 2차 오염을 일으킬 수 있다 [6]. 유해 적조를 제어하는 기술은 현재 까지 황토에 의존해 왔지만 이외에 친환경성, 경제성, 안전성, 효율성등을 만족하는 기술개발이 필요한 실정이다.

유기화합물들은 치료용 의약품등과 같이 생물학적 활성을 가지는 것뿐만 아니라 중간체의 역할로서 구조를 변형하여 새로운 화합물을 합성할 수 있다. 이러한 유기화합물의 작용기 중에서는 amine 과 carbonyl 화합물들이 가장 많으며 amine 구조는 화학적 구성요소에서 상당히 중요한 부분을 차지한다 [7]. Amine은 모든 살아있는 유기체에 널리 존재하며 가장 풍부하고 다양한 화학 구조들을 가지고 많은 의약품 중에는 amine 구조가 포함되어 있으며 특히 아미노산은 모든 생명체의 단백질이 만들어지는 구성 요소이다 [8]. 이러한 생물학적 활성을 가지는 amine 유도체를 합성하여 목적에 적합한 약물을 설계하여 유해 적조를 짧은 시간과 저 농도에서 효율적으로 살조할 수 있는 유기물질을 연구 개발하고 신규 후보물질에 대해 물벼룩의 급성생태독성과 제브라피쉬의 어류독성 평가를 실시하여 조류제어약물로부터 안전성을 검증한다.

II. 문헌연구

2. 적조에 대한 이해

1) 적조의 정의

적조현상란, 외부의 환경자극에 의해 해양의 동, 식물 플랑크톤이 일시에 대량으로 번식하여 해수를 변색시키고, 향취를 나쁘게 하며, 유해 적조 생물로 인해 어패류를 집단 폐사 시키거나, 용존산소의 부족과 저서생물의 변화 등과 같은 생태계내의 이상 현상을 일으키며 인간의 건강과 다른 생물에 나쁜 영향을 나타내는 현상이라고 정의하고 외국에서는 harmful algal blooms, red tide, water bloom, dinoflagellate bloom 등으로 부르고 있다. 이처럼 적조현상이 세계적인 관심사로 떠오르는 이유는 전 세계적으로 유해 적조 생물이 연안 양식장등에 어패류를 폐사시키고 해양생태계와 관광 레저산업의 피해, 유해 적조류에서 생산된 독에 의해 공중 보건 안전을 위협하는 등에 나쁜 영향을 끼치고 있기 때문이다 [5, 9, 10].

2) 적조 발생 원인

우리나라 1980년대의 적조 발생 건수의 급격한 증가는 적조 발생 해역에 대한 정보 수집 능력이 높아진 부분도 있겠지만, 남해안 및 남동해안을 중심으로 급속하게 진행된 대규모 임해공업단지의 조성으로 인한 산업폐수와 인구 밀집에 의해 생활하수, 축산폐수가 강우로 인해 육지로부터 영양염류가 녹아 들어가 규산염, 질산염, 인산염, 비타민류, 영양염의 농도가 높아지고 가두리 어류 양식장의 과도한 먹이 투여 및 배설물 등으로 질소와 인의 유입이 많아져 부영양화에 따른 적조의 발생을 증가 시켰다 [11, 12]. 이러한 영양염류와 적조생물의 광합성에 필요한 일조량과 해수의 온도가 알맞고 안정된 수위가 형성되며 철 등의 중금속, 특수한 유기물 등의 작용과 적절한 pH가 유지되면서 증식자극발생을 시켜 적조 발생의 원인이 된다 [13, 14].

3) 적조 발생 시기와 피해

국내에서 적조 발생 시기를 보면 1960년대부터 1980년까지는 진해만을 중심으로 제한적인 해역에서 소규모적으로 단기간에 걸쳐 연간 1-3회의 적조 발생빈도를 보였지만 [16, 17], 1985년에는 34회로 급격한 발생 빈도를 나타내었다. 그리고 1998년에는 연 120건 이상으로 증가하였다. 유해 적조에 의한 수산피해는 1989년부터 유해성 고밀도 적조가 어패류 대규모 폐사를 초래한 이래 1995년에는 직접적인 수산 피해만 764억원에 이르렀으며 간접적인 피해까지 고려한다면 적조피해는 심각한 수준에 이르렀다 [5]. 또한 해외에서도 지난 2001년 7월 일본의 구마모토 현에서 40억엔 (420억)의 피해를 입혔고 1998년 4월 홍콩에서 450억원의 피해를 입혔다 [17].

유해/유독성 적조는 생물에 피해를 일으키는 적조로서 내만 또는 연안에 많이 나타나고 이들은 해수색이 변색할 정도가 아닌 저밀도에서 해양생물의 독화를 발생시켜 심각한 위협이 된다 [18]. 유해적조가 대량 발생 하였을 때는 적조에서 점액물질을 과다 배출시켜 어류 아가미 표면에 부착하게 되면 아가미에서 점액질 분비가 증가해 산소교환능력이 떨어지고, 어류체내 유해활성산소 증가, 스트레스 등에 의해 어류가 폐사되는 것으로 알려져 있다 [19]. 유해적조류가 생산한 독은 직접 해양생태계의 다른 해양 생물에 피해를 주기도 하지만 어류 및 패류를 독화시키게 되면 유독한 조류를 먹이로 섭취하는 생물이 대사과정에서 독성물질을 체내에 축적시키고 축적된 독성물질은 먹이연쇄과정에 따라 해양 생물로 전송되어 폐사시키거나 인간의 건강을 직접적으로 위협한다. 독화된 어패류인 수산물을 사람이 섭취하면 마비성 패류독(paralytic shellfish poison, PSP), 설사성 패류독(diarrhetic shellfish poison, DSP), 기억상실성 패류독(amnesic shellfish poison, ASP), 신경성 패류독(neurological shellfish poison, NSP) 등과 같은 인체에 악영향을 끼친다 [20].



Figure 1. 유해적조에 의한 수산 양식업 피해
해양수산연구정보 (NIFS) 적조정보시스템 www.nifs.go.kr

4) 유해성 적조의 종류

우리나라 연안/내만해역에서 적조발생으로 막대한 수산피해를 동반하여 사회적 문제를 발생시키는 와편모조류인 *Cochlodinium polykrikoides* (*C. polykrikoides*), *Karenia mikimotoi*을 비롯하여 현재 일본이나 중국연안 등 인접국가의 주요 적조생물로 향후 국내 적조발생 잠재종으로서 침편모조류 *Chattonella* 속의 종, *Heterosigma akashiwo* (*H. akashiwo*) 및 와편모조류 *Heterocapsa circularisquama* (*H. circularisquama*) 등이 알려졌으며, *Chattonella* 종을 포함한 7종이 유해 생물로 기록되어 있다 [21].

유해성 와편모조류(dinophyta)인 *C. polykrikoides*는 대서양 Puerto Rico Island에서 Margalef (1961)에 의해 처음 기록되었다. 이후 대서양연안과 일본 규슈 서안의 야즈시로만등에 출몰하여 1995년 이후에는 국내에서 대규모로 발생하여 매년 수산업에 피해를 입히고 있는 가장 대표적인 종으로 알려져 있다 [22-25]. *C. polykrikoides*에 의한 플랑크톤 독소가 어류를 치사시키는 것으로 보고하였으나, 독성은 검출되지 않았고 점액물질이 방출되어 어류폐사의 원인으로 추정하였다 [26].

유해성 와편모조류에 속하는 *H. circularisquama*는 1988년 일본 시고쿠 우라노우치 만에서 처음으로 발생되어 보고된 종이다 [27]. 이 종은 진주조개, 굴, 바지락등 이매패 류에 집중적인 피해를 주는 것으로 알려져 있다. 일본에서 발생이 시작한 것은 중국 남방으로부터 진주조개를 대량으로 수입한 이후 수입 진주조개에 의해 유입됐을 가능성을 의심하고 있다. *H. circularisquama*는 진주조개의 패각속에서 타원형이나 구형의 형태로 변하지만 죽지 않고 대량으로 생존하고 적정 조건이 되면 수일 내에 정상적인 세포로 돌아오는 종으로 급격한 환경변화에도 강하게 적응한다. 이와같이 일본에서 패 류를 수입하는 우리나라에서 수송과정을 통해 항 후 본 종의 출현 및 확산 될 것으로 보여짐으로 유의해야 할 종이다 [28].

유해성 침편모조류(raphidophyceae)에 속하는 *H. akashiwo*는 온난해역에서 전 세계 적으로 관찰되고 있으며, 북태평양 연안에서는 양식 돔, 연어와 방어등에 막대한 피해 가 보고되었다 [29,30]. 이 종은 연안해역의 부영양화가 동반된 내만해역 적조발생시 최우점종이기도 하다. 한국에서 *H. akashiwo*의 적조 발생 시기는 4월에서 9월 사이에 빈번하게 발생하고, 마산만을 시작으로 남해의 내만해역인 폐쇄성 연안해역에서 적조 를 형성한다 [31].

유해성 침편모조류 *Chattonella sp.* 속 생물들 중 한국연안에서 출현하는 종들은 열 대, 아열대 및 온대해역에서 출현하며 대 발생 시 해양생물 및 수산자원생물에 막대한 경제적 손실과 사회문제를 유발시키는 대표적인 적조생물이다 [32-34]. 2004년 일본에 서는 *Chattonella marina* (*C. marina*)로 인해 세토내해의 수오나다에서 대규모 적조가 발생하여 약 20,000여 마리의 양식어류가 폐사되면서 어류독성이 확인 되었다 [35].

이들 종은 한국내만에서 출현하고 있으나 아직까지는 수산양식업에 직접적인 피해가 보고되지 않지만 본 종들에 의한 적조발생 및 양식어류에 대한 피해가 매우 큰 종으로 모니터링이 매우 중요하다.

Table 1. 적조예보종류 및 발령기준

발령기준	규모	적조생물밀도 (개체/mL)	비고
적조주의보	반경 2~5 km (12~79 km ²) 수역에 걸쳐 발생 어업피해 발생 위험	- 편모조류: 종과 독성에 따라 결정 <i>Chattonella sp.</i> : 발견즉시 <i>Cochlodinium sp.</i> : 발견즉시 <i>Gymnodinium sp.</i> : 발견즉시 기타 편모조류 : 5000 이상 - 규조류 : 10 ⁴ 이상	- 규모와 밀도는 현 지상황과 적조생물의 종류 및 피해도에 따 라 변할 수 있음
적조경보	반경 5 km (79 km ²)이상 수역에 걸쳐 발생 어업피해가 발생	- 편모조류: 종과 독성에 따라 결정 <i>Chattonella sp.</i> : 50이상 <i>Cochlodinium sp.</i> : 1,000 이상 <i>Gymnodinium sp.</i> : 3,000 이상 기타 편모조류 : 3×10 ⁴ 이상 - 규조류 : 10 ⁶ 이상	- 기타 필요한 경우 과거의 사례에 따름
적조속보	적조주의보, 경보 발령 중 적조의 진행과 변화정보 (유독종 출현, 이동확산) 및 어업피해방지에 관한 조치가 필요할 때		
적조해제	적조가 소멸되어 어업피해 위험이 없고 수질이 정상상태로 회복했을 때		

국립수산과학원, 1996

5) 적조방제 대책

우리나라에서는 황토가 적조생물 중 *C. polykrikoides*를 효과적이고 경제적으로 살조한다고 판단하고 1996년부터 적조 대량 발생해역에 황토를 살포하였으며 1998년에는 7만톤, 1999년에는 13만톤을 남해안과 동해안에 집중 살포했다. 2000년에는 7만 3천톤으로 줄었다가 다시 2001년부터 2002년까지 14~15만톤으로 살포량이 증가하는 추세이다 [36]. 이러한 노력에도 불구하고 적조로 인한 양식장의 피해액은 기하급수적으로 증가하고 있다.

Table 2. 년도별 적조발생에 의한 양식 수산 피해금액

년도	피해액 (원)
1996	21억
1997	15억
1998	1.6억
1999	3.2천
2000	2.6천
2001	84억
2002	49억
2003	215억
2004	1.2억
2005	10억
2006	0.7억
2007	115억
2012	44억
2013	247억
2014	74억

(Data : 국립수산과학원)

적조는 내재적 특성과 환경조건의 영향을 받아 증식 또는 소멸하기 때문에 환경조건의 개선과 제어를 통해 적조생물의 증식을 억제하는 수단이 곧 적조발생의 근본적 대책이라고 할 수 있다 [37]. 따라서 적조발생해역에서는 육상에서 유입되는 오염물질과 해상의 양식장으로부터 버려지는 오염물질 그리고 오염된 연안해역 자체의 정화능력을 상실케 하는 무분별한 매립과 같은 어장환경을 개선해야한다. 이런 노력에도 적조가 대 발생이 났을 때 이를 해결하기 위한 적조방제 기술이 필요하다.

현재까지 적조 발생 시 제어를 위해 다양한 살조방법이 연구되고 있으나 적조생물 제어기술이 해양생물의 영향과 환경손상정도를 평가한 후 경제성이 있다고 판단될 때 실용화 할 수 있다 [5]. 조류제어 기술을 크게 물리학적, 화학적, 생물학적 제어방법으로 구분할 수 있고 복합적인 방법도 사용된다. 물리적 제어방법은 세포에 물리적 자극을 주는 것으로 주로 초음파를 이용하며 적조를 제거하는 기술로 가장 효율적으로 세

포를 파괴하는 주파수 영역대는 400 kHz였다 [38]. 현재 가장 많이 사용하는 물리적 제어방법은 응집·침전을 활용한 기술로써 황토살포에 의한 적조생물을 제거시키는 방법으로 적조생물의 일시적인 구제방법으로서 효율성은 높지 평가되어 외국에서도 사용되고 있다 [39-41]. 화학적 제어방법은 적조생물을 치사 또는 응집시키는 효능을 갖고 있는 유기 화합물을 이용하여 적조생물을 제거하는 기술로 현재까지 제어 효능이 있는 화학물질이 있었으나 물질의 효율성 및 환경친화성, 경제적인 부분에 의해 실용화 할 수 있는 물질을 찾아내는데 실패하였다 [42]. 한편 외국에서는 유기물질인 N-acetyl-L-cysteine과 ethyl-L-cystein ester을 이용해 *Gymnodinium mikimotoi*를 살조하는 능력이 있다는 것을 밝혔으며 적당한 농도는 0.1 mM (155 g/L)수준이라고 보고하였다 [43]. 생물학적 제어방법은 생물에서 추출할 수 있는 생리활성 물질이나 생물자체의 포식과 분해기능을 가지는 생물을 이용해 적조를 제어하는 기술로 최근 환경친화성이 인정되어 많은 연구가 진행되고 있다. 생태계 먹이사슬에 따라 상위 소비자가 하위 생산자를 포식하는(top-down control)작용을 이용하는 기법으로 요각류나 섬모충류로서 외편모조류를 포식하게 하는 방법이다 [5]. 하지만 이러한 방법들은 경제성, 생태 안전성, 조류살조 효율성을 모두 만족하지 못해 실용화 되지 못하고 있다.

Table 3. 적조생물의 구제 방법과 원리

	방법	원리	응용물질
물리적 방법	· 초음파 처리 법	- 세포파괴	- 초음파 (160-400 KHz)
	· 오존 처리 법	- 독성중화	- 오존
	· 적조 생물제거 법	- 제거, 여과, 원심분리	- 원심분리기
	· 전기분해 법	- 세포치사	- 전해수
화학적 방법	· 화학약품살포 법	- 세포치사, 파괴	- 황산동, 유기화합물
	· 황토살포 법	- 응집, 침강	- 황토, 점토
	· 응집제살포 법	- 응집, 침강	- 철염, 계면활성제등
생물학적 방법	· 포식압 (일명,천적)	- 먹이망(grazer)	- 요각류, 섬모충류
	· 살조물질	- 세포파괴, 용해	- 폴리유로나이드등
	· 세균, 비루스	- 분해	- <i>Cytophaga sp.</i>
	· 기생생물	- 기생	-
	· 생물효소	- 세포막파괴, 용해	- 만노시다제

적조문제 해결을 위한 국가종합 기획연구 과제 개발 방안 국립수산과학원, 해양수산부, 2002

우리나라에서는 1985년 경북 영천산 점토를 사용하여 *Prorocentrum triestinum*에 대한 제어 실험결과 80%가 제거되는 효과가 있다는 연구결과가 보고된 이래 최근에는 황토가 *C. polykrikoides*를 방제하기 위한 중요한 수단으로 활용되고 있다 [44].

국립수산과학원을 중심으로 한 연구사례를 보면, 황토의 적조 살조효율은 약 30~80% 범위로서 황토의 종류, 입자 크기, 및 살포방법 등에 따라 크게 차이를 보이고 있고 최근에는 황토의 적조 살조효과를 증진시키려는 연구들이 이루어지고 있다 [45-47]. 국립수산과학원에서 실시한 현장과 실험실에서의 실험결과들은 황토 입자가 미세할수록 그리고 황토 투입량이 많을수록 적조생물 제거율이 높은 경향을 보인다. 황토를 50 μm 이하로 분쇄할 경우 황토 10 g/L 투입 시 30분 후 86.4%의 제거율을 보였고 60분 후에는 88.2%의 제거율을 보인 것으로 보고되고 있다 [48].

황토에 의해 적조세포가 제거되는 원리는 황토는 비중이 크고 무기물로 되어 있으며 단위 무게당 표면적이 크고 ionized surface group을 가지고 있으므로 이온성 물질의 흡착능력이 탁월하다. 적조세포 주위에는 negative charge를 나타내고 황토 속에 포함된 positive charge를 갖는 다량의 금속 (마그네슘 염, 알루미늄 염과 철 염등)이 포함되어 있어 적조세포에 흡착되어 제거되며 황토의 positive charge와 적조세포 제거율이 연관되어지는 것으로 알려지고 있다 [49, 50].



Figure 2. 유해적조 구제를 위한 황토살포
 (Data : 국립수산과학원 보도자료 2013.07)

6) 황토 살포의 문제점

우리나라에서는 주로 수산업에 피해를 입히는 적조 생물 *C. polykrikoides* 종을 방제하기 위해 매 년 황토를 살포하고 있으나 이는 효율적이지 못한 방법으로 살포함으로 황토를 필요 이상 많이 사용하고 무분별한 황토채취로 인해 자연훼손과 해저에 황토가 다량 침전 되면 수중 생태계의 영향을 주기 때문에 외국의 경우 황토살포를 고려하지 않고 있다 [6]. 또한 적조 발생수역에 살포되어 해저에 쌓인 황토에서는 철(Fe) 성분이 용출되고 이 철은 인(P)과 함께 $10 \mu\text{g/L}$ 이상이면 *C. polykrikoides*의 증식이 촉진되는 중요한 물질로 작용하는 것으로 밝혀진 바 있다 [51]. 또한 황토가 살포된 해역에는 수중으로 가는 빛이 84.1% 차단되어 해저 수초는 광합성 작용이 불가능하게 나타나며, 황토 살포 후 pH가 0.86 낮아져 해양 생물의 정상 성장을 방해 할 수 있는 것으로 추정되며 미역과 다시마 같은 수초들은 대부분 죽었고, 조개와 우렁들은 황토에 묻혀 집단 폐사한 상태로 발견되었다. 또한 황토가 살포된 지역은 어류가 거의 관측되지 않는 등 황토의 무분별한 살포는 해저 생물들에게 큰 피해를 줄 수 있는 수준으로 조사되었다 [6, 52].

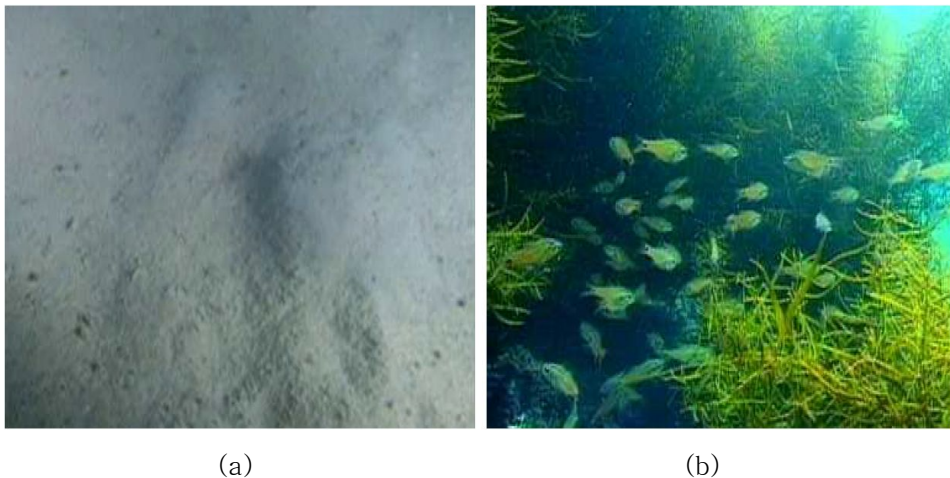


Figure 3. Photos of loess dust blanket area (a) and clean area (b)
 박치현, (2004) 황토살포가 연안생태계에 미치는 영향과 적조 방제제에 대한 연구. 박사학위논문.

2. 생태독성평가

각각의 생물종에 대한 화학물질의 독성은 생물종마다 다르며 특히 수서 생물계에서는 화학물질을 강제로 투여하는 포유동물과 달리 노출문제가 더 복잡한 측면이 있다. 수서생물의 일반적인 독성평가에서는 화학물질을 시험 수에 완전히 녹이며 이 때 농도가 결정된다. 이러한 간접적인 투여 방법 때문에 시험생물체에 실제 투여된 농도를 정확히 얻기가 어렵다. 따라서 대부분의 경우 수서 생물독성은 시험 수의 농도로 표기한다. 시험물질이 생물체에 독성을 나타냈는지를 결정하는데는 화학물질의 실제농도와 노출기간이 중요하고 휘발성 물질, 분해성 물질, 축적성이 큰 물질 또는 수 용해도가 낮은 물질등은 수서독성시험을 수행하는데 있어서 생물체에 흡수된 양과 수중에 존재하는 양의 차이가 발생할 가능성이 있어 생물체에 유입되는 독성영향을 나타내는 실제 농도가 얼마인지가 정확하지 않는다. 이러한 문제를 해결하기 위해 유수식, 지수식, 반지수식의 방법으로 독성물질에 노출시키는 방법을 채택하고 있다 [53].

조류제어 물질을 국내 환경보건안전부에서 고시한 환경오염 생체지표 개발 및 독성연구 표준화에 맞춰 물벼룩에 대한 급성독성 평가와 제브라피쉬에 대한 어독성을 평가가 필요하며 수중생태독성에 대해 안전성을 검증되어야한다 [54, 55].

1) 물벼룩 (*Daphnia magna*)

물벼룩이 생태독성평가에 중요한 시험생물로 선택된 이유는 전 세계적으로 분포하며 수생태계 먹이 사슬의 중요한 역할과 여러 가지 화학물질에 대한 높은 민감성을 나타내며 실험이 간단하고 비용이 저렴하기 때문에 전 세계적으로 생태독성평가 시험종으로 사용되고 있다 [56-58]. 물벼룩 생태 독성실험은 환경보건안전부에서 환경오염생체지표 및 독성연구에 이용되고 있으며 오랜 기간 동안 갑각류인 *Daphnia magna*는 표준 테스트에 사용되었고 그 원리는 시료내의 독성물질 영향에 의해 물벼룩이 유영성을 잃게 되는데 시료를 여러 비율로 희석한 시험수에 물벼룩을 넣고 24시간 동안 관찰하여 물벼룩의 50%가 유영저해를 일으키는 시료농도인 반수영향농도 EC_{50} 으로 환산한 값을 말한다 [59].

물벼룩 독성실험은 급성과 만성 영향으로 크게 두 가지로 구분되며, 생물반응이 아

주 짧은 노출 시간 내에 나타나는 경우, 급성 영향으로 보기 때문에 [60] 본 논문에서 볼 때 바다는 유속이 빠르고 수 분내에 약물이 퍼짐으로 독성에 대한 시험법은 급성독성이 적합하다고 판단하여 급성독성시험법을 선택했다.

Table 4. *Daphnia* species

물벼룩명 (학명)	물벼룩명 (국내명)	서식온도	최대 크기	서식지 또는 특이사항
 <i>Daphnia magna</i>	큰 물벼룩	16~28℃	4.5~6 mm	<ul style="list-style-type: none"> ·미 북반구 서식 ·급성독성시험종 OECD 공식 추천 종 ·국내 생태독성 배출 관리제도에서 선정한 시험 종
 <i>Daphnia pulex</i>	참 물벼룩	15~25℃	3~4 mm	<ul style="list-style-type: none"> · 미국 전역에 서식 · 급성 독성 시험 종
 <i>Moina marocopa</i>	모이나 물벼룩	16~23℃	0.8~1.2 mm	<ul style="list-style-type: none"> · 국내 및 북반구 서식 · 국내에서 고유종으로 연구 진행 중
 <i>Bosmina logirostris</i>	긴 빨 물벼룩	6~23.5℃	0.5 mm	<ul style="list-style-type: none"> · 물에 부유성으로 서식하며 전 세계 및 국내 분포

환경부, www.biowet.or.kr

2) 제브라피쉬 (*Danio rerio*)

수생생물의 독성평가의 경우 주로, 조류, 갑각류, 어류가 시험 대상으로 사용되며 그 중 어류를 이용한 독성시험은 기간에 따라 급성과 만성으로 구분된다. 제브라피쉬는 잉어과에 속하는 어류로 길이는 4~5 cm로 인간이 지니고 있는 대부분의 장기를 가지고 있고, 인간의 유전질환과 매우 유사한 특징을 지니고 있는 점에서 생쥐에 비해 빠른 시간에 유전자의 기능을 연구 할 수 있어서 많이 이용되고 있다 [55]. 제브라피쉬에 대한 급성독성실험은 7~14일 일 때 치사율에 따른 반수치사농도인 LC₅₀으로 환산한 값을 말한다 [61].

Ⅲ. 재료 및 방법

1. 재료

1) 유기 합성

합성을 위해 사용된 모든 화학물질들은 Acros, Junsei, Sigma-Aldrich와 TCI사의 시약을 사용하였다. 각 화합물들은 methylene chloride와 H₂O를 이용한 추출 방법과 silica gel로 충전된 column chromatography를 이용해 정제하였으며, TLC (thin layer chromatography)와 발색시약, UV검출기를 통해 1차 분석을 했으며 순수하게 얻어진 화합물은 ¹H NMR (¹H nuclear magnetic resonance), 범위 300 MHz에서 ¹H를 측정하고 ¹H MNR의 화학적 이동량(δ 등급)은 parts per million (ppm, 백만 분율)으로 표시하였으며, *J*-coupling 결합상수는 Hz 단위로 측정하였다.

2) 유해 적조류

가) 시험종 및 배양조건

Table 5. Red tide species for test

와편모조류 (Dinophyta)	<i>Cochlodinium polykrikoides</i> <i>Heterocapsa circularisquama</i>
침편모조류 (Raphidophyceae)	<i>Chattonella marina</i> <i>Heterosigma akashiwo</i>

유해조류 중 와편모조류인 *Cochlodinium polykrikoides*는 국립수산과학원 남서해수
 산연구소에서 분양을 받았으며 같은 와편모조류인 *Heterocapsa circularisquama*와 침
 편모조류인 *Chattonella marina*는 National center for marine algae and microbiota
 (NCAM)에서 분양을 받았고 침편모조류 *Heterosigma akashiwo* (KMMCC1133)는 한
 국해양미세조류은행에서 받아서 실험을 진행 하였다.

해당 적조생물 배양은 대한해협 해수를 0.45 μm membrane filter로 여과 후 0.2 μm
 membrane filter로 여과하여 고온고압 멸균기 (15 min, 121 $^{\circ}\text{C}$)로 멸균하여 사용하였다.
 이렇게 처리된 해수를 Si가 제거된 F/2 medium [62] 에서 pH 8, 수온 23 $^{\circ}\text{C}$, 광량 100
 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 광주기 12L : 12D로 조절하여, shaking incubator에서 RPM 45 min^{-1} 로
 설정하여 고밀도가 유지 될 때까지 배양하였다. 배양튜브는 SPL사의 polystyrene으로
 된 cell culture flask 75 cm^2 와 Nalgene사의 polycarbonate으로 된 500 mL bottle을 이
 용하였다.

Table 6. The culturing condition of red tides

Condition	
Illumination (Light : Dark)	100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (12L : 12D)
Temperature	23°C
pH	8
RPM	45 min^{-1}
Medium	F/2 without Si



Figure 4. Culture of red tides

나) 배양액 조제

Table 7. Composition of F/2 culture media (stock solution)

Stock (1) Trace elements	
Compound	g/L
Na ₂ EDTA	4.16 g
FeCl ₃ ·6H ₂ O	3.15 g
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.01 g
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.022 g
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.01 g
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.18 g
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.006 g
Stock (2) Vitamin mix	
Compound	g/L
Cyanocobalamine (vitamin B ₁₂)	0.0005 g
Thiamine HCl (vitamin B ₁)	0.1 g
Biotin	0.0005 g

Table 8. Composition of F/2 culture media

F/2 Medium	
Compound	per liter
NaNO ₃	0.057 g
NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	0.00565 g
Trace elements stock solution (1)	1.0 mL
Vitamin mix stock solution (2)	1.0 mL

3) 물벼룩(*Daphnia magna*)

가) 시험종 및 배양조건

물벼룩은 OECD 공시종인 *Daphnia magna*를 시험종으로 선정하였으며, 물벼룩은 국립환경과학원 물환경연구부 물환경공학연구과에서 분양을 받아 배양하였다. 물벼룩 사육을 위한 먹이는 녹조류인 *Selenastrum gracile*를 배양하여 공급하였다. 물벼룩 배양액은 OECD에서 추천하는 M4 medium을 사용하였으며 광량 $80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 광주기 12L : 12D, pH 7.6~7.8, 온도 20°C로 조절하였다.

Table 9. The culturing condition of *Daphnia magna*

Condition	
Illumination (Light : Dark)	$80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (12L : 12D)
Temperature	20°C
pH	7.6~7.8
Feed	<i>Selenastrum gracile</i>
Medium	M4

나) 배양액 조제

Table 10. Composition of M4 culture media (stock solution)

Stock (1) Combined traced element		
Compound	Concentration (g/200 mL)	Stock (1) 해당량 (m/L)
H ₃ BO ₃	11.438 g	1 mL
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.442 g	1 mL
LiCl	1.224 g	1 mL
RbCl	0.284 g	1 mL
SrCl ₂ ·6H ₂ O	0.608 g	1 mL
NaBr	0.064 g	1 mL
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.252 g	1 mL
CuCl ₂ ·2H ₂ O	0.067 g	1 mL
ZnCl ₂	0.052 g	1 mL
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.040 g	1 mL
KI	0.013 g	1 mL
Na ₂ SeO ₃	0.00876 g	1 mL
NH ₄ VO ₃	0.0023 g	1 mL
Fe-DETA 용액	Concentration (g/L)	20 mL
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	2.5 g	
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.995 g	
Stock (2) Vitamin mix		
Compound	Stock (2) 해당량 (g/L)	
Cyanocobalamine (vitamine B ₁₂)	0.75 g	
Thiamine HCl (vitamin B ₁)	0.01 g	
Biotin	0.075 g	

Table 11. Composition of M4 culture media

M4 Medium		
Compound	Concentration (g/200 mL)	M4 해당량 (mL/L)
CaCl ₂ ·2H ₂ O	58.76 g	1.0 mL
MgSO ₄ ·7H ₂ O	49.32 g	0.5 mL
KCl	11.60 g	0.1 mL
NaHCO ₃	12.96 g	1.0 mL
Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	10.00 g	0.2 mL
NaNO ₃	0.548 g	0.1 mL
KH ₂ PO ₄	0.286 g	0.1 mL
K ₂ HPO ₄	0.368 g	0.1 mL
Stock (1)	-	50 mL
Stock (2)	-	0.1 mL

4) 물벼룩 먹이(*Selenastrum gracile*)

가) 배양조건

물벼룩 사육을 위한 먹이는 녹조류인 *Selenastrum gracile* (KCTC AG10009)을 한 국미생물자원센터에서 분양을 받았으며, 배양액은 BG11 medium [63]을 사용하였다. 배양조건은 온도 20℃, 광량 60 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 광주기 14L : 10D로 조절하였다. 배양튜브는 SPL사의 polystyrene으로 된 cell culture flask, 75 cm^3 를 이용하였다.

나) 배양액 조제

Table 12. The culturing condition of *Selenastrum gracile*

Condition	
Illumination (Light : Dark)	60 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (14L : 10D)
Temperature	20℃
pH	7.1
RPM	45 min^{-1}
Medium	BG11

Table 13. Composition of BG11 (blue-green medium) culture media (stock solution)

Stock (1) Trace metal solution		
Compound	per liter	
H ₃ BO ₃	2.86 g	
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.81 g	
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.22 g	
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.39 g	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.08 g	
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0.05 g	

Stock (2) - 1~7		
	Compound	each per liter
1	MgSO ₄ ·7H ₂ O	7.5 g
2	CaCl ₂ ·2H ₂ O	3.2 g
3	Citric acid	0.6 g
4	EDTANa ₂	0.1 g
5	Na ₂ CO ₃	2 g
6	K ₂ HPO ₄	4 g
7	Ammonium ferric citrate green	0.6 g

Table 14. Composition of BG11 (blue-green medium) culture media

BG11 Medium		
Compound	per liter	
NaNO ₃	1.5 g	
stock (1)	1.0 mL	
stock (2) - 1, 2, 3, 4, 5	10 mL each after separate autoclave	
stock (2) - 6, 7	10 mL each	

5) 제브라 피쉬(*Danio rerio*)

가) 배양조건

제브라피쉬는 구입하여 실험실에서 수돗물을 일반 필터로 1차로 여과한 후 carbon 필터로 2차 여과하여 활성탄으로 탈염하여 사용하였다. 수온은 26℃로 유지시키며 2주 동안 충분히 안정화를 시킨 다음 실험을 수행하였다. 먹이는 Tabia사에서 판매하는 열대어 전용사료를 2일에 1회 급여하여 사육하였다.

Table 15. The culturing condition of *Danio rerio*

Condition	
Illumination (Light : Dark)	60 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (14L : 10D)
Temperature	26℃
pH	7.5

2. 약물 활성 측정 실험 방법

1) 약물 농도에 따른 조류 살조율 활성 측정

고밀도로 배양된 적조생물 배양액 $14 \times 10^4 \sim 16 \times 10^4$ cell/mL을 96-well-plate에 200 μ L 씩 준비하고 합성된 화합물을 f/2 medium에 희석시켜 다양한 농도로 접종하여 최종농도가 5, 2, 1, 0.5, 0.2, 0.1 μ M가 되도록 처리해 주고 대조군과 함께 적조생물 배양조건에 맞춰 24h동안 유지시킨다. 24h 후 대조군을 10 μ L을 취해 neubauer hemocytometer에 올리고 현미경을 통해 온전한 형태의 적조생물의 세포수를 카운트하고 각 농도별 실험군을 같은 방법으로 세포 수 감소를 확인하고 세포 수 감소율(algicidal activity)을 사용해 계산하였다.

$$\text{Algicidal activity (\%)} = (\text{대조군} - \text{실험군} / \text{대조군}) \times 100$$

각 농도별 대조군 대비 실험군의 세포수 감소율을 얻은 값을 24 h 경과 후 상기조류 세포수를 50% 제어할 수 있는 농도 (24 h - LC₅₀)를 계산한다.

본 실험은 3회 이상 반복하여 수행되었으며, 적조생물 *C. polykrikoides* 종의 경우 고밀도 배양이 어려워 $0.2 \times 10^4 \sim 0.8 \times 10^4$ cell/mL에서 진행하였다.

2) 시간에 따른 적조 살조율 측정

적조생물 효과적으로 제어하는 약물의 조건을 볼 때 바다는 유속이 빠르고 수 분 내에 약물이 희석됨으로 짧은 노출 시간과 낮은 농도에서 적조 생물을 파괴할 수 있어야 한다.

적조에 대한 활성 24 h - LC₅₀ 값이 0.5 μ M 이하인 물질을 선별하여 50 mL conical tube에 고밀도로 배양된 적조생물 배양액을 40 mL씩 준비하고 합성된 화합물을 DMSO에 녹여 f/2 medium으로 희석시켜 최종농도가 1 μ M가 되도록 처리해 주고 시간에 따른 세포 감소율을 현미경으로 확인한다.

3) 물벼룩 급성 독성 시험

적조생물에 대한 활성에서 약물농도에 따른 활성과 시간에 따른 적조 살조능력에 대해 가장 적합한 약물을 선별해 물벼룩 급성독성 실험을 진행하였다. 급성독성 시험에서 사용한 농도는 조류에 투여한 약물에서 가장 적합한 농도의 10배 이상으로 처리하며 안전성을 확인한다. 물벼룩 급성독성 실험은 2주~5주된 건강한 어미로부터 배양되어 태어난 24시간 이내의 건강한 물벼룩으로 수행했다. 독성실험은 50 mL conical tube에 M4 medium 40 mL씩 준비하고 선별된 화합물을 DMSO에 녹여 M4 medium으로 희석시켜 control과 5, 10, 15 μM 로 처리하여 48 h - EC_{50} 값을 확인한다. EC_{50} 값이 조류를 효과적으로 제어할 수 있는 농도의 10배 이상인 10 μM 이상이면 물벼룩의 급성독성에는 영향을 거의 미치지 않는다고 판단한다.

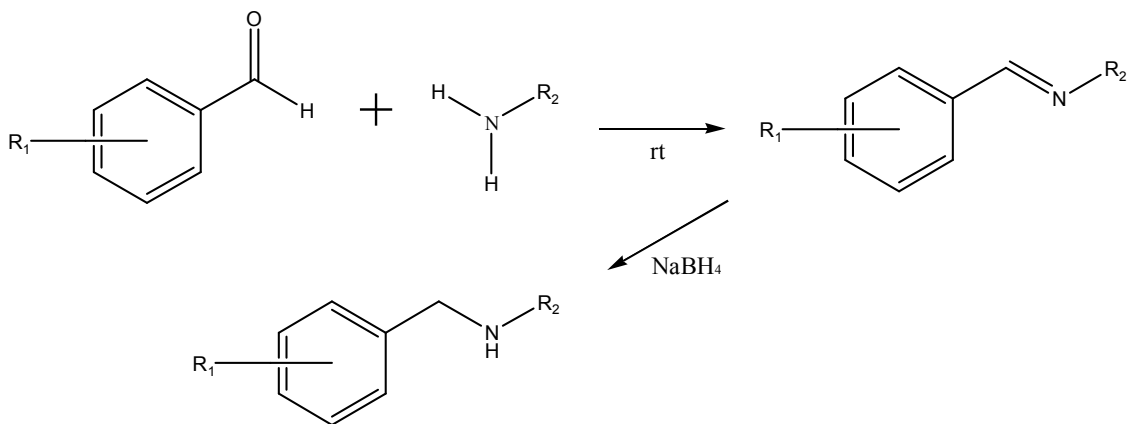
4) 제브라피쉬 급성 독성 시험

물벼룩 급성독성 실험에서 48h - EC_{50} 값이 10 μM 이상일 때의 약물을 선별하여 제브라피쉬에 대한 급성독성 실험을 진행하였다. 제브라피쉬 급성독성 실험은 부화 후 3개월 이상된 2 ± 1 cm 크기의 개체를 실험 시작 전 14일 동안 0% 사망률을 확인하고 순응시킨 뒤 이틀간 절식시킨 후 실험을 수행했다. 선별된 약물을 농도별로 각각 5, 10, 15, 20, 25, 30 μM 가 되도록 처리하였다. 시험기간 동안에는 시험액을 교환하지 않는 지수식 시험방법(static nonrenewal test)으로 진행하였다 [53]. 24시간 간격으로 2주일 동안 사망률과 기형률 변화를 관찰한다.

3. 유기합성 실험방법

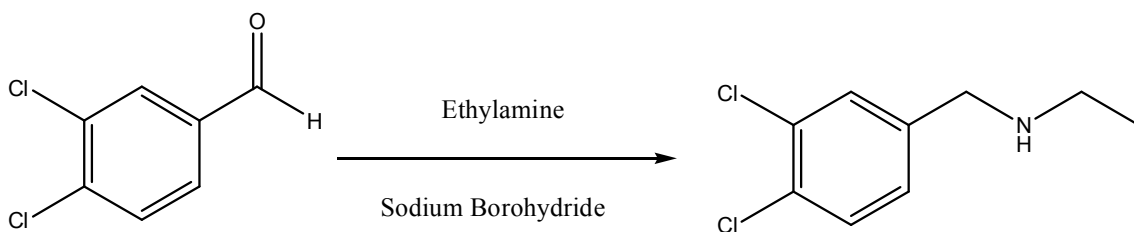
1) 화합물 (1~56)의 합성

General procedure for the synthesis of compounds



Scheme 1. Synthesis of compounds (1~56) ; $R_1 = \text{H, F, Cl, Br, OH}$; $R_2 = \text{Alkyl or benzyl groups}$

(1) (3,4-Dichlorobenzyl)ethylamine



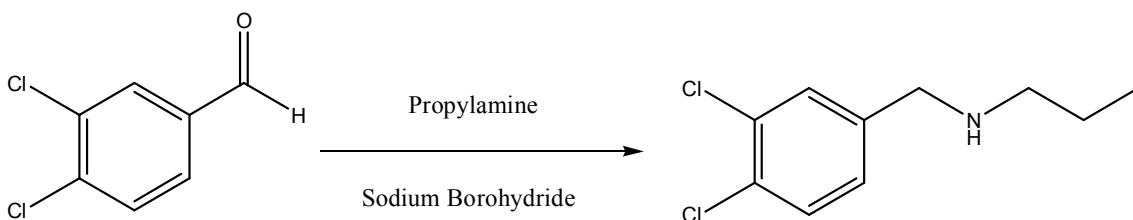
Methanol 10 mL에 3,4-dichlorobenzaldehyde 1 g (5.714 mmol)를 녹인 다음 ethylamine 0.257 g (5.714 mmol)을 넣고, 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 여기에 sodium borohydride 0.32 g (8.45 mmol)을 서서히 가한 후 1시간 동안 교반하였다. 반응의 진행정도는 TLC로 확인하며, 반응이 더 이상 진행되지 않으면 혼합물에 물 40 mL를 가한 후 methylene chloride 30 mL로 2회 추출하여 이를 합하고, 무수 황산마그네슘으로 물을 제거한 다음 감압증류하였다. 반응물을 silica gel이 충전된 column에서

ethyl acetate와 n-hexane의 혼합용매를 이동상으로 하여 분리시키고 무색 액체 (3,4-Dichlorobenzyl)ethylamine을 얻었다.

Yield : 95.4%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), δ 7.38 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=8.4$ and 2.1 Hz, 1H), δ 3.74 (s, 2H), δ 2.69 (m, $J=6.9$, 2H), δ 1.28 (b, 1H), δ 1.15 (t, $J=6.9$ Hz, 3H)

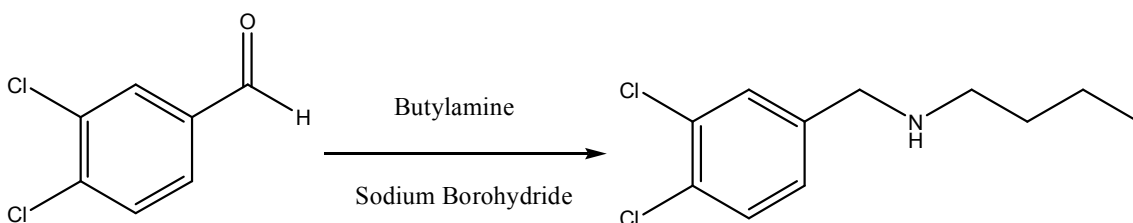
(2) (3,4-Dichlorobenzyl)propylamine



Yield : 94.3%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.45 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=8.4$ and 1.8 Hz, 1H), δ 3.73 (s, 2H), δ 2.58 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), δ 1.58 (m, $J=7.3$ Hz, 2H), δ 1.42 (b, 1H), δ 0.94 (t, $J=7.3$ Hz, 3H)

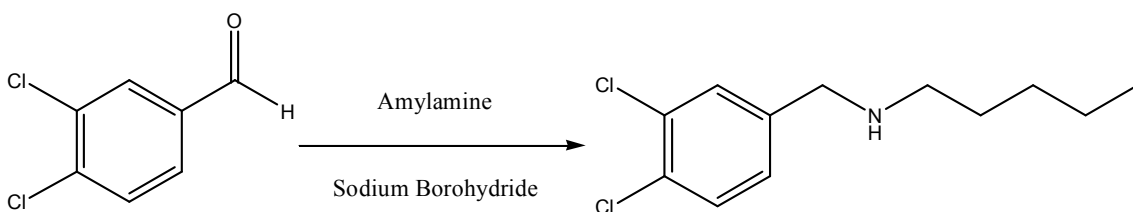
(3) Butyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



Yield : 93.4%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=8.0$ and 2.1 Hz, 1H), δ 3.74 (s, 2H), δ 2.62 (t, $J=6.9$ and 7.3 Hz, 2H), δ 1.53 (m, $J=6.9$ Hz, 4H), δ 1.25 (b, 1H), δ 0.93 (t, $J=7.32$ Hz, 3H)

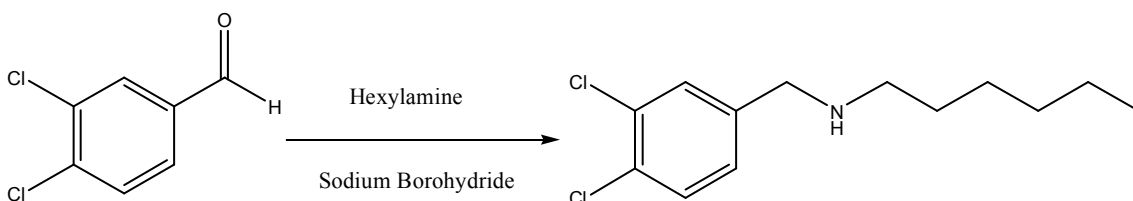
(4) (3,4-Dichlorobenzyl)pentylamine



Yield : 68%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J=1.83$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.43$ Hz, 1H), δ 7.18 (dd, $J=1.83$ and 8.43 Hz, 1H), δ 3.74 (s, 2H), δ 2.61 (t, $J=7.32$ Hz, 2H), δ 1.55 (m, $J=6.96$ Hz, 2H), δ 1.32 (m, 4H), δ 0.91 (t, $J=6.96$ Hz, 3H),

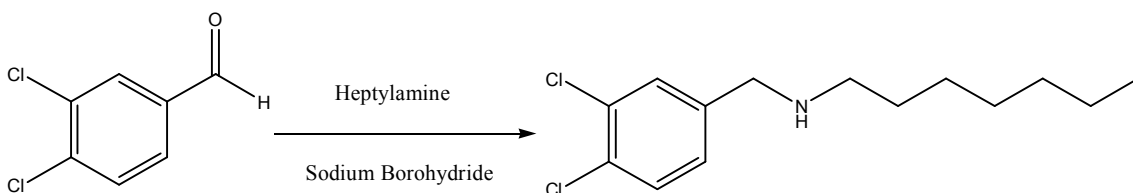
(5) (3,4-Dichlorobenzyl)hexylamine



Yield : 88%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (d, $J=2.19$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.43$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=8.43$ and 2.19 Hz, 1H), δ 3.74 (s, 2H), δ 2.61 (t, $J=7.32$ and 6.96 Hz, 2H), δ 1.51 (m, 8H), δ 0.90 (t, $J=6.96$ Hz, 3H)

(6) (3,4-Dichlorobenzyl)pentylamine

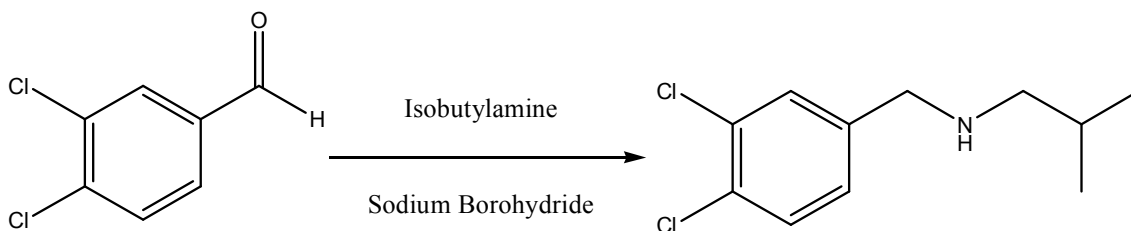


Yield : 83%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (d, $J=2.22$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.43$ Hz, 1H), δ

7.17 (dd, $J=8.43$ and 2.22 Hz, 1H), δ 3.73 (s, 2H), δ 2.61 (t, $J=6.96$ and 7.32 Hz, 2H), δ 1.51 (m, 10H), δ 0.90 (t, $J=6.96$ Hz, 3H)

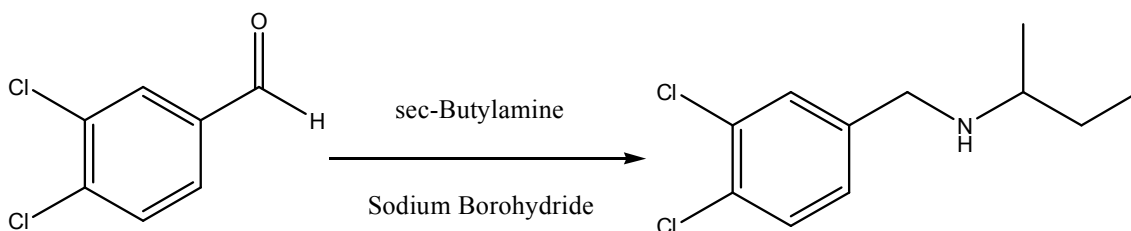
(7) (3,4-Dichlorobenzyl)isobutylamine



Yield : 90 %

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (d, $J=1.83$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.07$ Hz, 1H), δ 7.18 (dd, $J=1.83$ and 8.07 Hz, 1H), δ (d, $J=$ Hz, 1H), δ 3.78 (s, 2H), δ 2.41 (d, $J=6.96$ Hz, 2H), δ 1.79 (m, 1H), δ 0.92 (d, $J=6.6$ Hz, 6H)

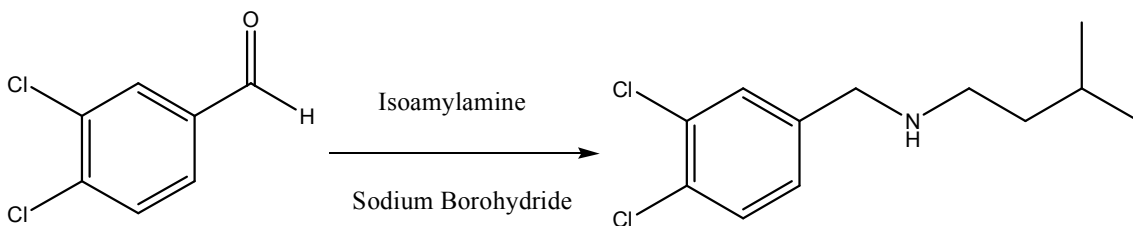
(8) *sec*-Butyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



Yield : 91%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J=1.47$ Hz, 1H), δ 7.38 (d, $J=8.07$ Hz, 1H), δ 7.18 (dd, $J=8.07$ and 1.47 Hz, 1H), δ 3.79 (m, $J=13.56, 10.23$ Hz, 2H), δ 2.63 (m, $J=6.24$ Hz, 1H), δ 1.57 (m, 1H), δ 1.06 (d, 3H), δ 0.92 (t, 3H),

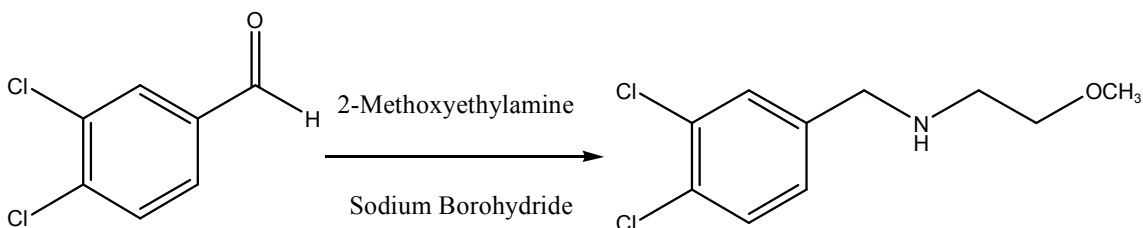
(9) 3,4-Dichlorobenzyl-(3-methylbutyl)amine



Yield : 94%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (d, $J=2.19$ Hz, 1H), δ 7.38 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=8.0$ and 2.19 Hz, 1H), δ 3.74 (s, 2H), δ 2.63 (t, 2H), δ 1.70 (m, $J=6.9$ Hz, 1H), δ 1.42 (m, $J=6.9$ Hz, 2H), δ 1.28 (b, 1H), δ 0.90 (d, 6H)

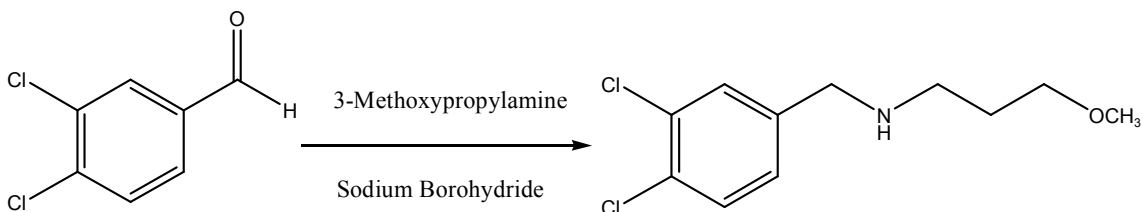
(10) 3,4-Dichlorobenzyl-(2-methoxyethyl)amine



Yield : 92.1%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.45 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.18 (dd, $J=8.0$ and 1.8 Hz, 1H), δ 3.76 (s, 2H), δ 3.52 (t, $J=5.1$ Hz, 2H), δ 3.35 (s, 3H), δ 2.79 (t, $J=5.3$ Hz, 2H)

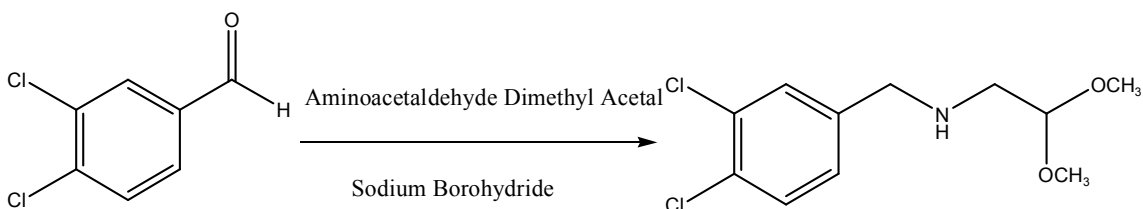
(11) 3,4-Dichlorobenzyl-(3-methoxypropyl)-amine



Yield : 94%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (d, $J=1.83$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.04$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=8.04$ and 1.83 Hz, 1H), δ 3.74 (s, 2H), δ 3.47 (t, $J=6.21$ Hz, 2H), δ 3.33 (s 3H), δ 2.71 (t, $J=6.21$ Hz, 2H), δ 1.81 (m, $J=6.21$, 2H)

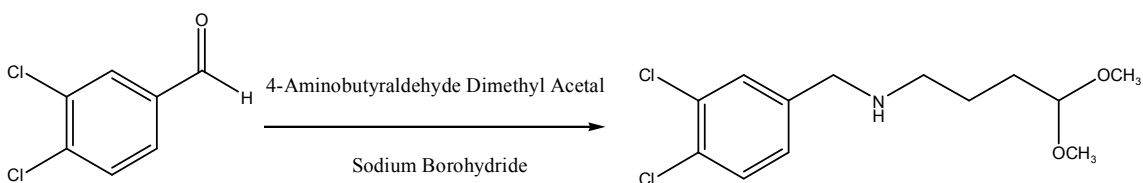
(12) 3,4-Dichlorobenzyl-(2,2-dimethoxyethyl)amine



Yield : 88.3%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=8.0$ and 1.8 Hz, 1H), δ 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), δ 3.76 (s, 2H), δ 3.38 (s, 6H), δ 2.73 (d, $J=5.5$ Hz, 2H)

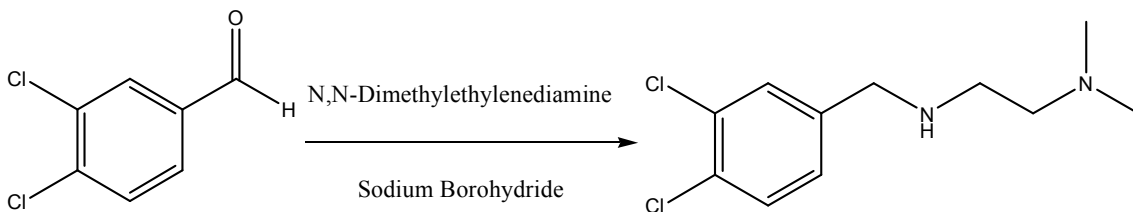
(13) 3,4-Dichlorobenzyl-(4,4-dimethoxybutyl)amine



Yield : 87.5%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=8.0$ and 1.8 Hz, 1H), δ 4.38 (t, $J=5.49$ Hz, 1H), δ 3.74 (s, 2H), δ 3.31 (s, 6H), δ 2.64 (t, 2H), δ 1.69 (m, 4H)

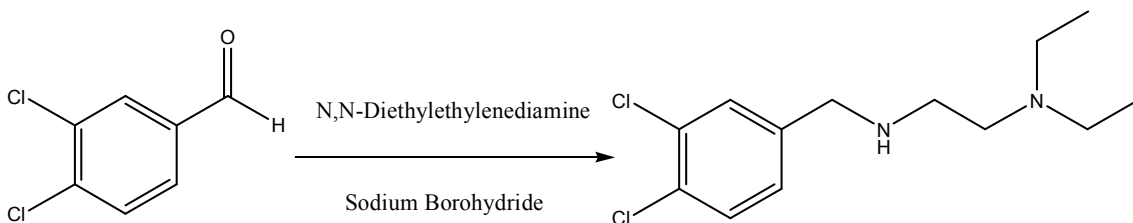
(14) N'-(3,4-Dichlorobenzyl)-N,N-dimethylethane-1,2-diamine



Yield : 93.2%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J=2.2$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), δ 7.18 (dd, $J=8.4$ and 2.2 Hz, 1H), δ 3.76 (s, 2H), δ 2.68 (m, $J=5.8$ Hz, 2H), δ 2.45 (t, $J=5.8$ Hz, 2H), δ 2.21 (s, 6H), δ 2.12 (s, 1H)

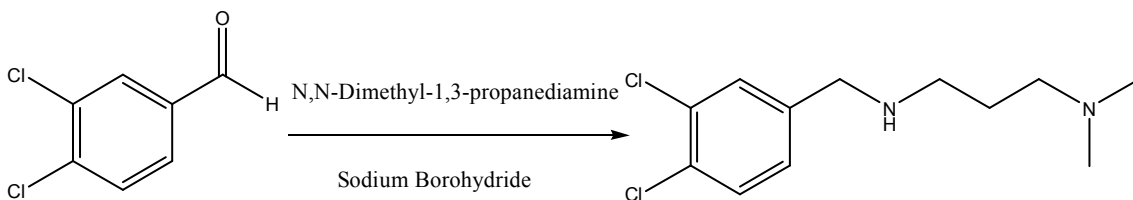
(15) N'-(3,4-Dichlorobenzyl)-N,N-diethylethane-1,2-diamine



Yield : 89.5%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.18 (dd, $J=8.0$ and 1.8 Hz, 1H), δ 3.76 (s, 1H), δ 2.68 (m, 8H), δ 1.06 (t, $J=6.9$ Hz, 6H)

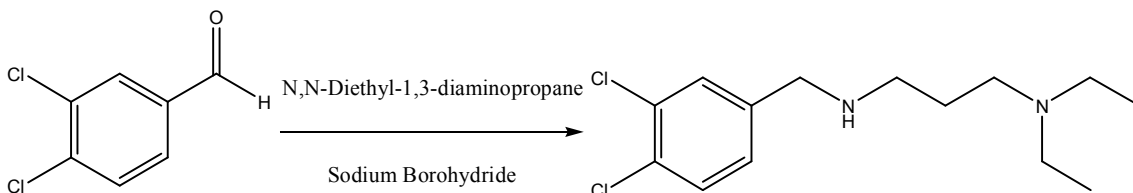
(16) N'-(3,4-Dichlorobenzyl)-N,N-dimethylpropane-1,3-diamine



Yield : 89.9%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=8.4$ and 1.8 Hz, 1H), δ 3.74 (s, 2H), δ 2.66 (t, $J=6.9$ Hz, 2H), δ 2.34 (t, $J=6.9$ Hz, 2H), δ 2.22 (s, 6H), δ 1.72 (m, $J=6.9$ Hz, 3H)

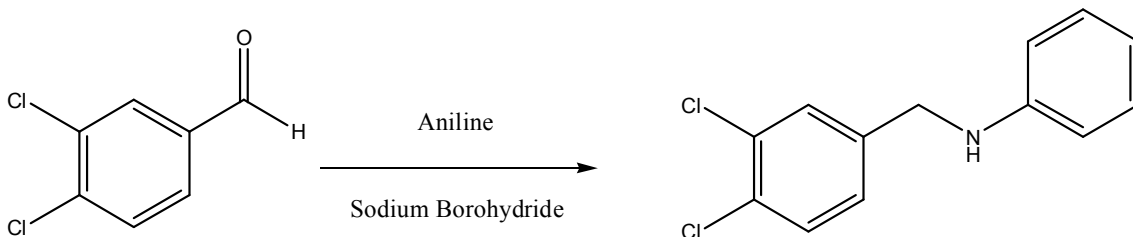
(17) N'-(3,4-Dichlorobenzyl)-N,N-diethylpropane-1,3-diamine



Yield : 90.7%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=8.0$ and 1.8 Hz, 1H), δ 3.73 (s, 2H), δ 2.66 (t, $J=6.5$ Hz, 2H), δ 2.57 (m, 6H), δ 1.72 (m, $J=6.5$ Hz, 1H), δ 1.05 (t, $J=7.3$ Hz, 6H)

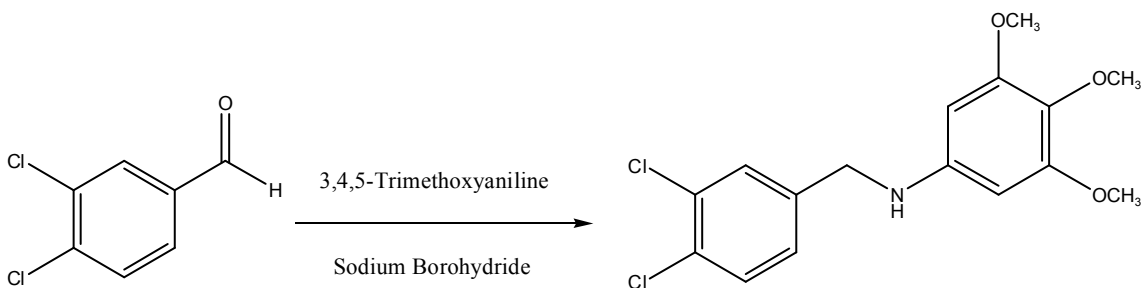
(18) (3,4-Dichlorobenzyl)phenylamine



Yield : 87%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.45 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.2 (m, 3H), δ 6.76 (tt, $J=7.3$ and 1.0 Hz, 1H), δ 6.59 (dt, $J=7.3$ and 1.0 Hz, 2H), δ 4.29 (s, 2H), δ 4.10 (b, 1H)

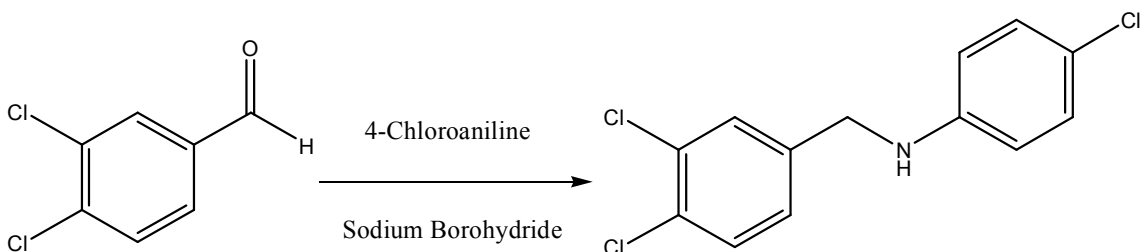
(19) 3,4-Dichlorobenzyl-(3,4,5-trimethoxyphenyl)amine



Yield : 82.8%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.48 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.42 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), δ 7.23 (dd, $J= 8.4$ and 1.8 Hz, 1H), δ 5.83 (s, 2H), δ 4.27 (s, 2H), δ 3.77 (d, 9H)

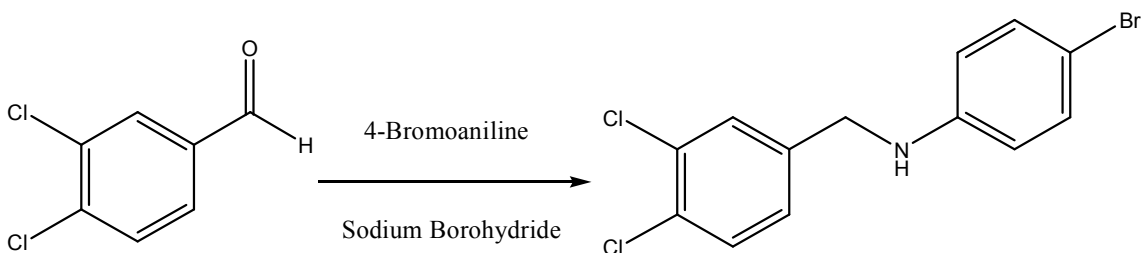
(20) 4-Chlorophenyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



Yield : 89%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.41 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.19 (dd, $J= 8.0$ and 1.8 Hz, 1H), δ 7.13 (dt, $J=9.8$ and 2.2 Hz, 2H), δ 6.52 (dt, $J=9.8$ and 2.2 Hz, 2H), δ 4.28 (s, 2H), δ 4.14 (b, 1H)

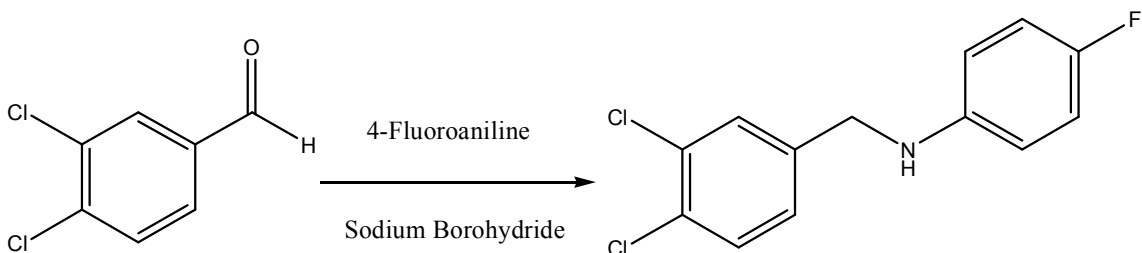
(21) 4-Bromophenyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



Yield : 30.5%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.41 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.26 (tt, 2H), δ 7.19 (dd, $J=8.0$ and 1.8 Hz, 1H), δ 6.48 (tt, 2H), δ 4.29 (d, 2H), δ 4.16 (b, 1H)

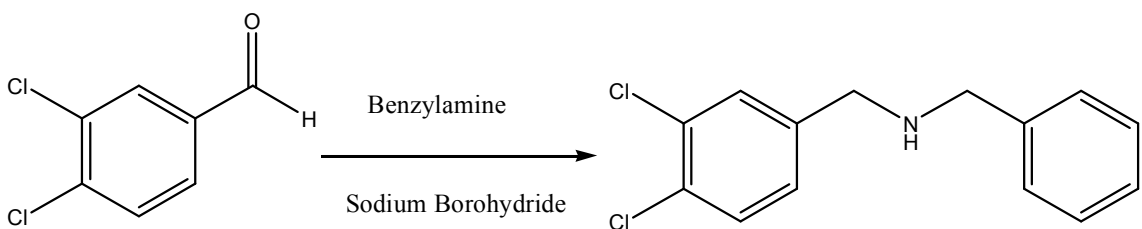
(22) 3,4-Dichlorobenzyl-(4-fluorophenyl)amine



Yield : 86%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.46 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.41 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.21 (dd, $J=8.0$ and 1.8 Hz, 1H), δ 6.91 (m, 2H), δ 6.53 (m, 2H), δ 4.26 (s, 2H), δ 4.01 (b, 1H)

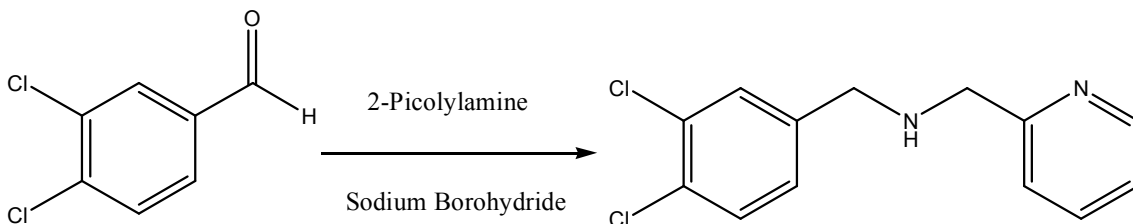
(23) Benzyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



Yield : 89.1 %

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.47 (d, $J=2.2$ Hz, 1H), δ 8.74 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 8.73 (m, 5H), δ 7.20 (dd, $J=8.0$ and 1.8 Hz, 1H), δ 3.79 (s, 2H), δ 3.76 (s, 2H), δ 1.60 (b, 1H)

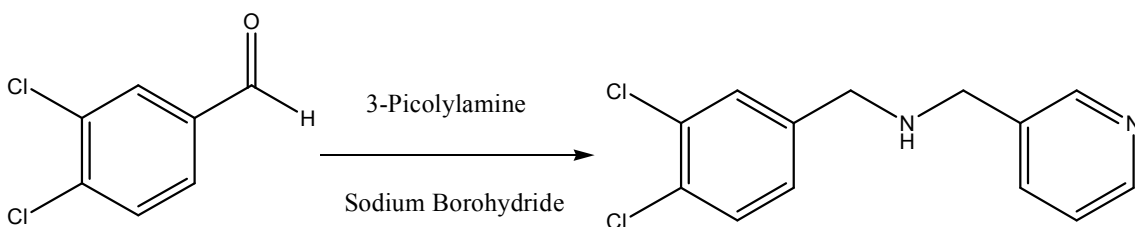
(24) (3,4-Dichlorobenzyl)pyridin-2-ylmethylamine



Yield : 73.3%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.57 (d, 1H), δ 7.68 (td, $J=7.6$ and 1.8 Hz, 1H), δ 7.48 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.40 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.30 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.21 (m, 2H), δ 3.90 (s, 2H), δ 3.79 (s, 2H), δ 2.16 (b, 1H)

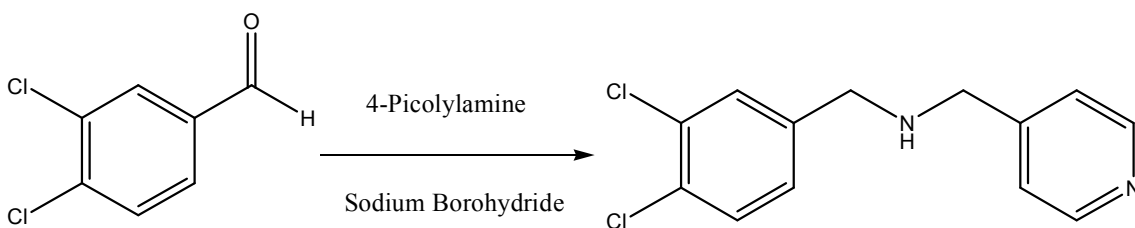
(25) (3,4-Dichlorobenzyl)pyridin-3-ylmethylamine



Yield : 69.8%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.57 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 8.53 (dd, $J=4.7$ and 1.8 Hz, 1H), δ 7.72 (d, $J=7.7$ Hz, 1H), δ 7.47 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.41 (d, $J=8.43$ Hz, 1H), δ 7.30 (m, 1H), δ 7.20 (dd, $J=8.4$ and 1.8 Hz, 1H), δ 3.80 (s, 2H), δ 3.77 (s, 2H), δ 2.04 (b, 1H)

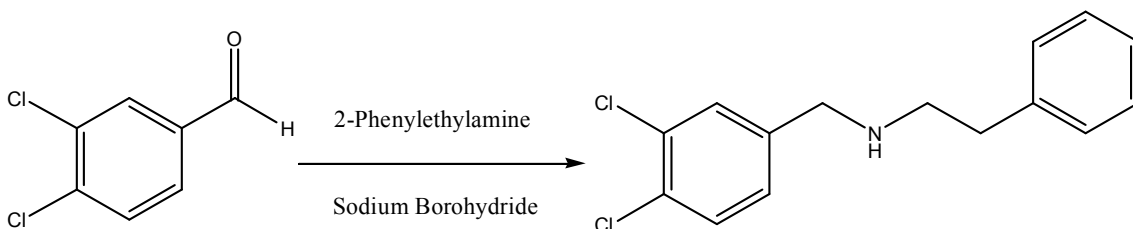
(26) (3,4-Dichlorobenzyl)pyridin-4-ylmethylamine



Yield : 72%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 8.57 (dd, 2H), δ 7.47 (d, $J=1.83$ Hz, 1H), δ 7.42 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.29 (dd, 2H), δ 7.20 (dd, $J=8.0$ and 1.83 Hz, 1H), δ 3.81 (s, 2H), δ 3.76 (s, 2H), δ 1.75 (b, 1H)

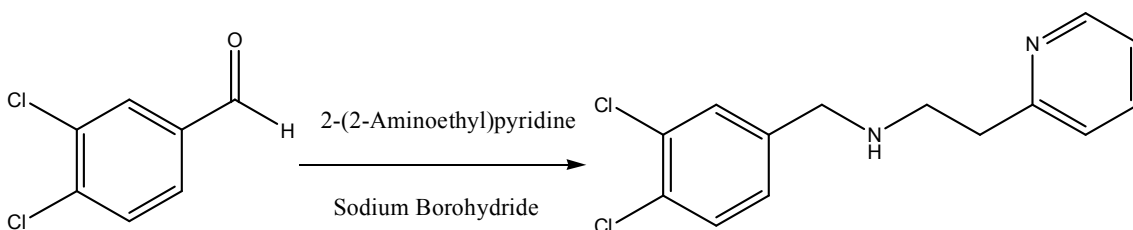
(27) (3,4-Dichlorobenzyl)phenethylamine



Yield : 87.4 %

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.38 (m, 7H), δ 7.12 (dd, $J=8.4$ and 1.8 Hz, 1H), δ 3.74 (s, 2H), δ 2.89 (m, 4H)

(28) 3,4-Dichlorobenzyl-(2-pyridin-2-yl-ethyl)amine

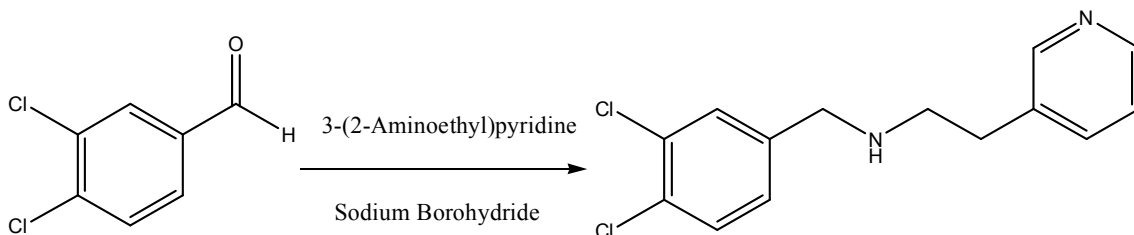


Yield : 37.3%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 8.55 (d, 1H), δ 7.64 (td, $J=7.6$ and 1.8 Hz, 1H), δ

7.41 (d, $J=1.8$ Hz 1H), δ 7.37 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.18 (m, 3H), δ 3.78 (s, 2H), δ 3.01 (m, 4H)

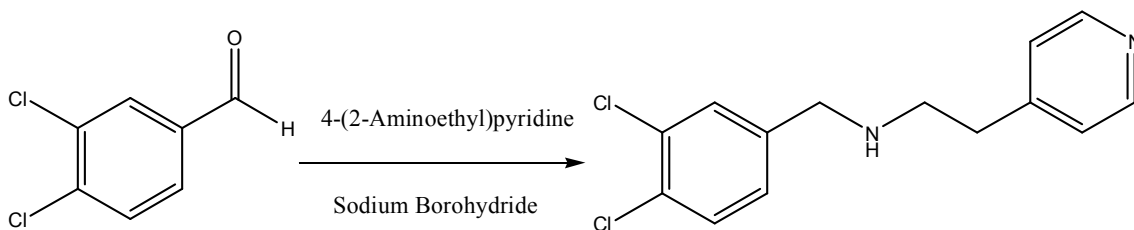
(29) 3,4-Dichlorobenzyl-(2-pyridin-3-yl-ethyl)amine



Yield : 62.2%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.48 (s, 2H), δ 7.54 (dt, 1H), δ 7.39 (m, 2H), δ 7.26 (m, 1H), δ 7.13 (dd, $J=8.4$ and 2.1 Hz, 1H), δ 3.76 (s, 2H), δ 2.90 (m, 4H)

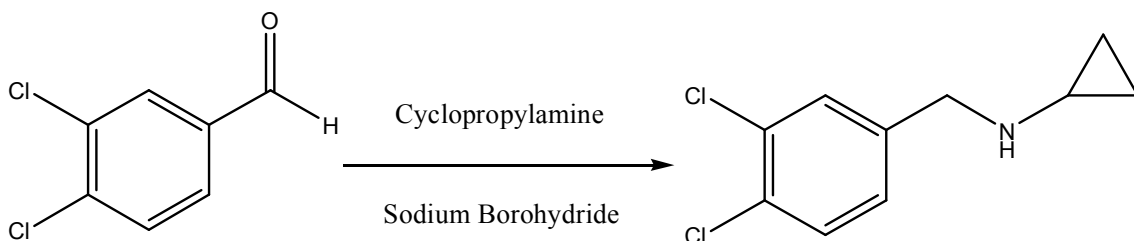
(30) 3,4-Dichlorobenzyl-(2-pyridin-4-yl-ethyl)amine



Yield : 76.7%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.53 (d, 2H), δ 7.39 (m, 2H), δ 7.15 (m, 3H), δ 3.76 (s, 2H), δ 2.91 (m, 2H), δ 2.83 (m, 2H), δ 2.37 (b, 1H)

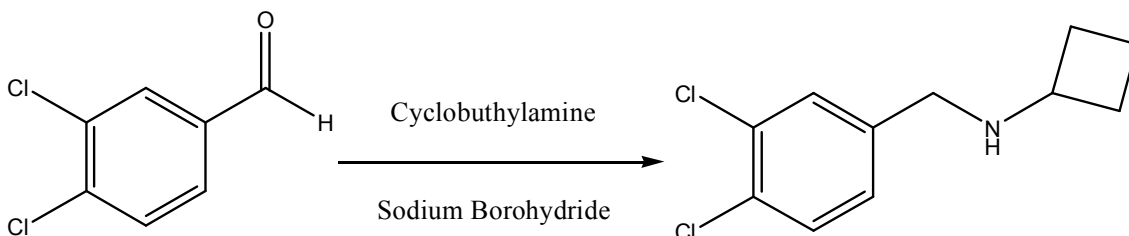
(31) Cyclopropyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



Yield : 48.7%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.40 (d, $J=2.2$ Hz, 1H), δ 7.38 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), δ 7.15 (dd, $J=8.4$ and 2.2 Hz, 1H), δ 3.78 (s, 2H), δ 2.14 (m, 1H), δ 0.46 (m, 4H)

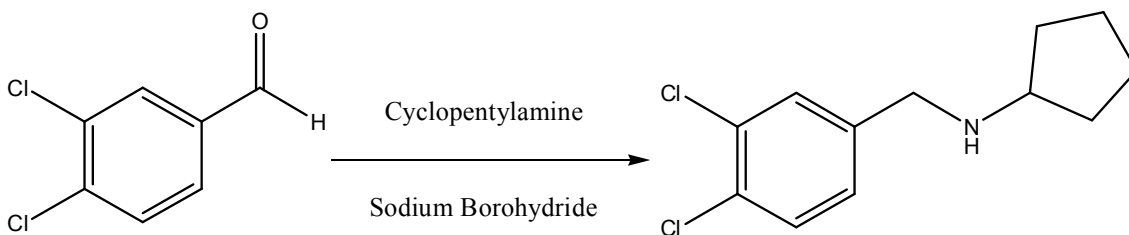
(32) Cyclobutyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



Yield : 45.7%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (d, $J=2.19$ Hz, 1H), δ 7.38 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), δ 7.16 (dd, $J=8.4$ and 2.19 Hz, 1H), δ 3.65 (s, 2H), δ 3.30 (m, 1H), δ 2.25 (m, 2H), δ 1.73 (m, 4H)

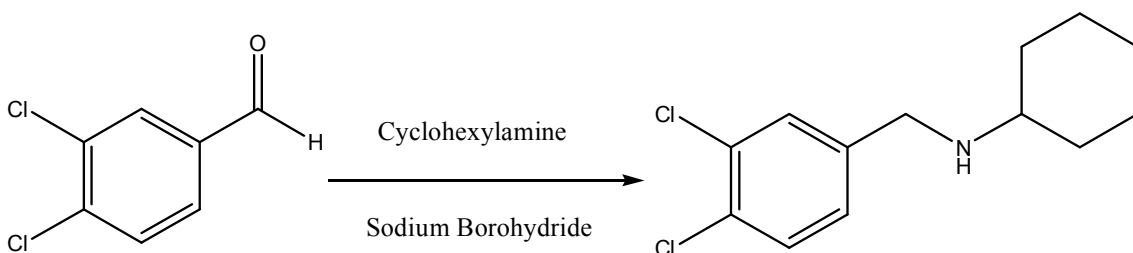
(33) Cyclopentyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



Yield : 96%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=8.0$ and 1.8 Hz, 1H), δ 3.72 (s, 2H), δ 3.12 (m, $J=6.5$ Hz, 1H), δ 1.87 (m, 8H)

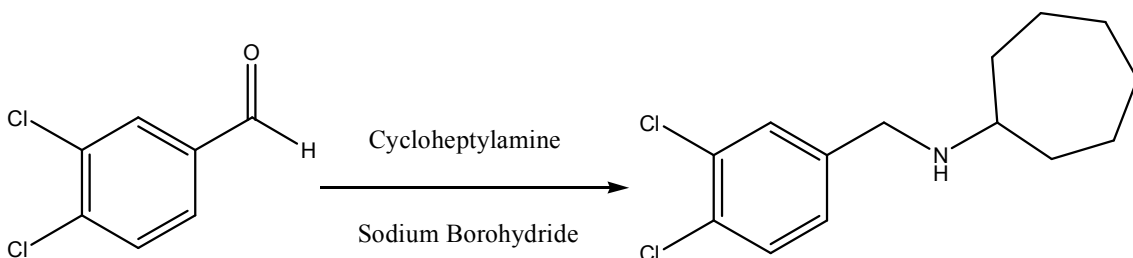
(34) Cyclohexyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



Yield : 90.2%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.38 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=8.0$ and 1.8 Hz, 1H), δ 3.76 (s, 2H), δ 2.47 (m, 1H), δ 1.91 (m, 10H)

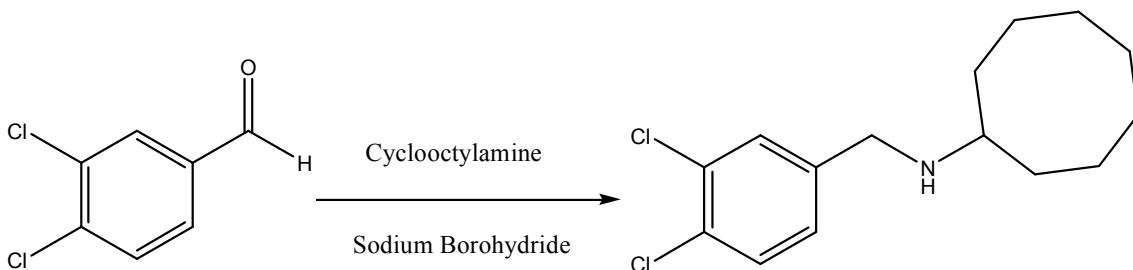
(35) Cycloheptyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



Yield : 64%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.38 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=8.4$ and 1.8 Hz, 1H), δ 3.76 (s, 2H), δ 2.47 (m, 1H), δ 1.91 (m, 12H)

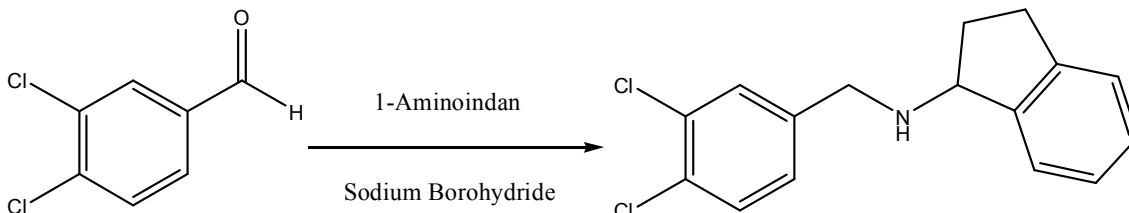
(36) Cyclooctyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



Yield : 73.5%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.38 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=8.0$ and 1.8 Hz, 1H), δ 3.72 (s, 2H), δ 2.70 (m, 1H), δ 1.80 (m, 14H)

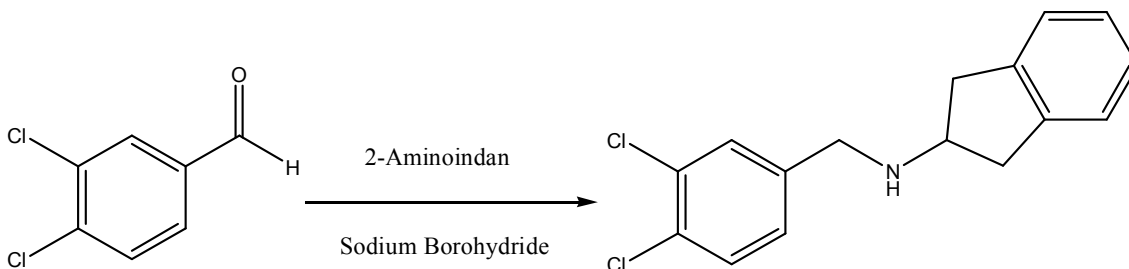
(37) (3,4-Dichlorobenzyl)indan-1-yl-amine



Yield : 61.2%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.52 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.39 (m, 2H), δ 7.25 (m, 4H), δ 4.28 (t, $J=6.5$ Hz, 1H), δ 3.91 (m, 2H), δ 3.00 (m, 1H), δ 2.87 (m, 1H), δ 2.46 (m, 1H), δ 1.87 (m, 1H)

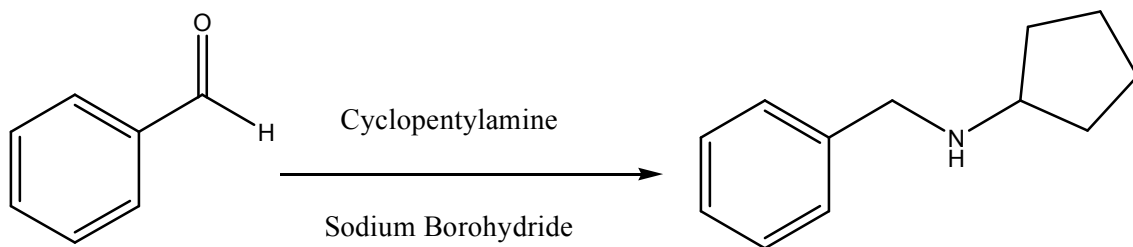
(38) (3,4-Dichlorobenzyl)indan-2-yl-amine



Yield : 63.1%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.46 (d, $J=1.83$ Hz, 1H), δ 7.39 (d, $J=8.07$ Hz, 1H), δ 7.21 (m, 5H), δ 3.81 (s, 2H), δ 3.68 (m, 1H), δ 3.02 (m, 2H), δ 2.83 (m, 2H)

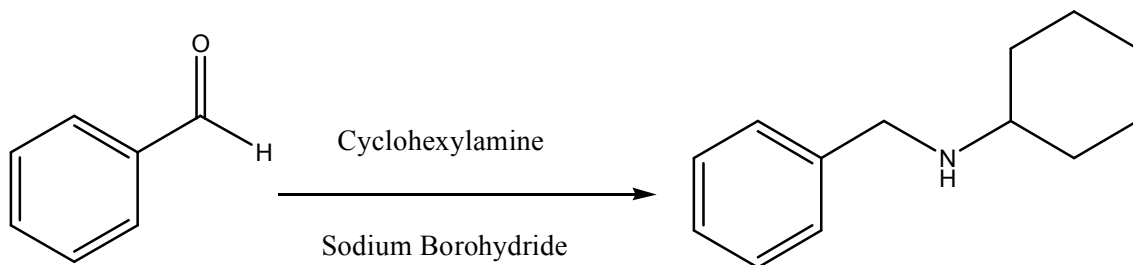
(39) Benzylcyclopentylamine



Yield : 78.5%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.32 (m, 5H), δ 3.77 (s, 2H), δ 3.16 (m, $J=6.57$ Hz, 1H), δ 1.86 (m, 8H)

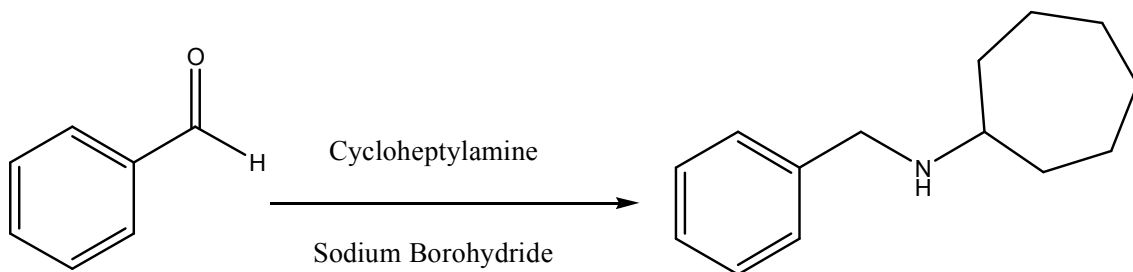
(40) Benzylcyclohexylamine



Yield : 61.8%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.32 (m, 5H), δ 3.77 (s, 2H), δ 3.16 (m, 1H), δ 1.90 (m, 10H)

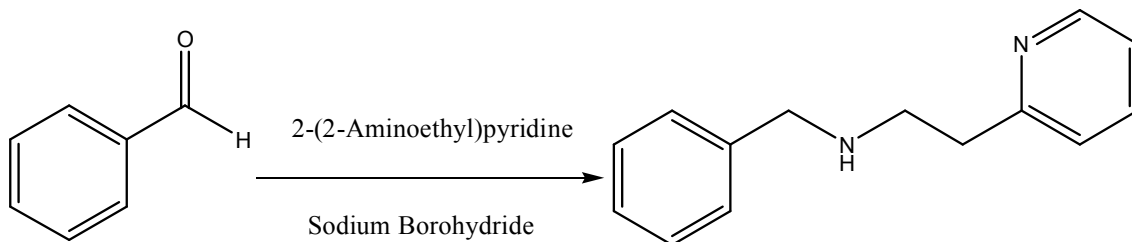
(41) Benzylcycloheptylamine



Yield : 73.2%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.37 (m, 5H), δ 3.77 (s, 2H), δ 2.69 (m, 1H), δ 1.89 (m, 12H)

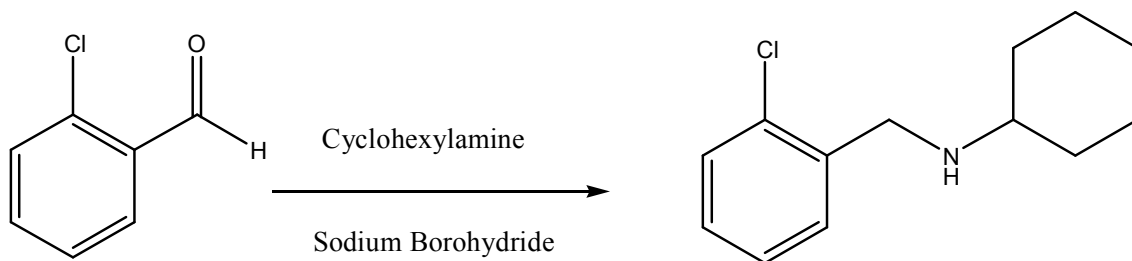
(42) Benzyl-(2-pyridin-2-yl-ethyl)amine



Yield : 87%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.53 (d, 1H), δ 7.61 (td, $J=7.6$ and 1.8 Hz, 1H), δ 7.31 (m, 7H), δ 3.83 (s, 2H), δ 3.08 (m, 4H)

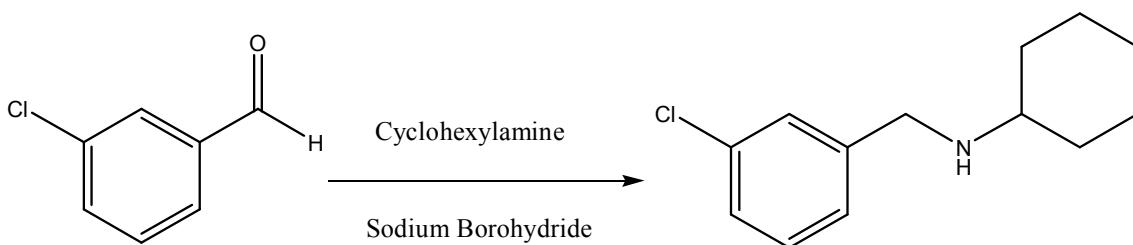
(43) (2-Chloro-benzyl)cyclohexylamine



Yield : 95%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.40 (m, 2H), δ 7.26 (m, 2H), δ 3.89 (s, 2H), δ 2.49 (m, 1H), δ 1.94 (m, 10H)

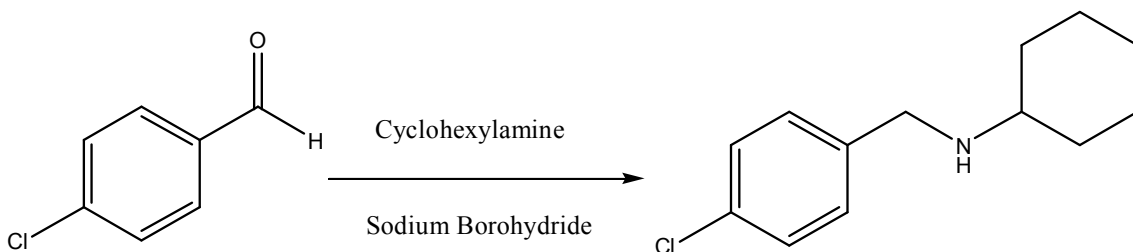
(44) (3-Chloro-benzyl)cyclohexylamine



Yield : 95%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.33 (s, 1H), δ 7.27 (m, 3H), δ 3.78 (s, 2H), δ 2.49 (m, 1H), δ 1.93 (m, 10H)

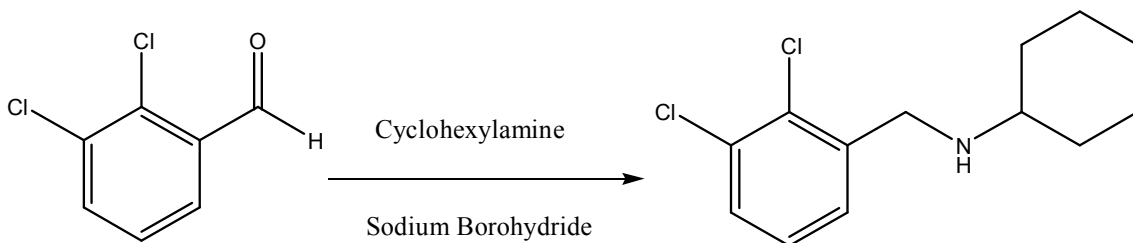
(45) (4-Chloro-benzyl)cyclohexylamine



Yield : 85.8%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.27 (d, $J=2.94$ Hz, 4H), δ 3.77 (s, 2H), δ 2.48 (m, 1H), δ 1.91 (m, 10H)

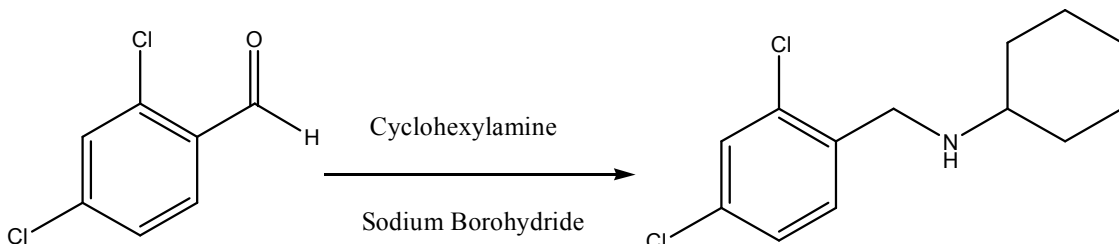
(46) Cyclohexyl-(2,3-dichlorobenzyl)amine



Yield : 96.4%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.37 (dd, $J=1.47$ and 7.68 Hz, 1H), δ 7.34 (dd, $J=1.47$ and 7.68 Hz, 1H), δ 7.19 (t, $J=7.68$ Hz, 1H), δ 3.92 (s, 2H), δ 2.48 (m, 1H), δ 1.93 (m, 10H)

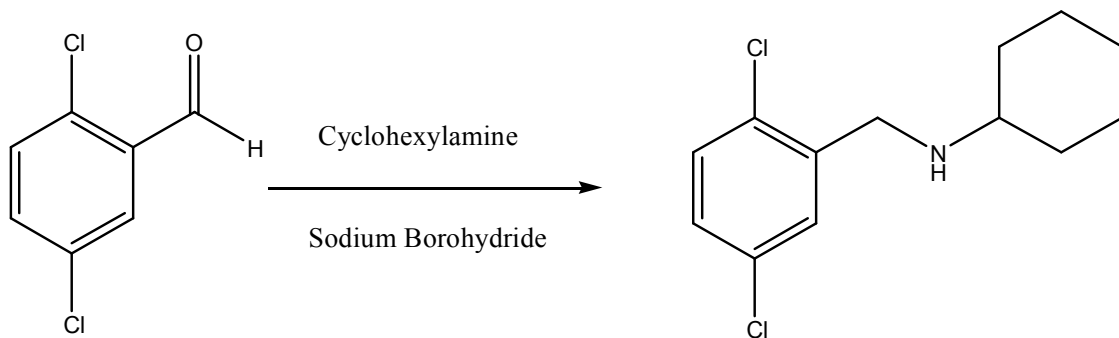
(47) Cyclohexyl-(2,4-dichlorobenzyl)amine



Yield : 86.3%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.36 (m, 2H), δ 7.22 (dd, $J=1.83$ and 8.04 Hz, 1H), δ 3.85 (s, 2H), δ 2.47 (m, 1H), δ 1.92 (m, 10H)

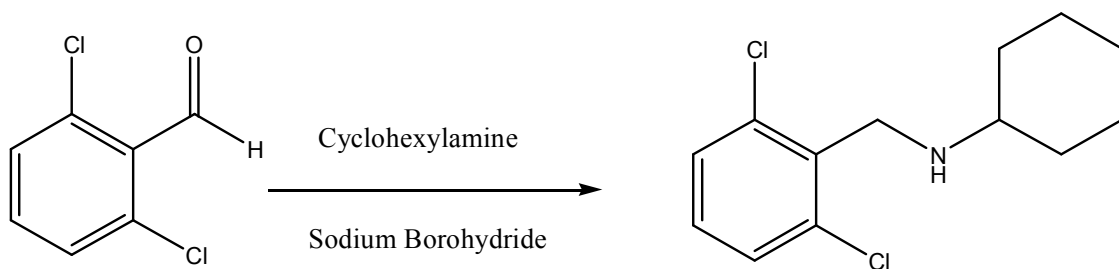
(48) Cyclohexyl-(2,5-dichlorobenzyl)amine



Yield : 81.5%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J=2.58$ Hz, 1H), δ 7.27 (d, $J=8.43$ Hz, 1H), δ 7.17 (dd, $J=2.58$ and 8.43, Hz, 1H), δ 3.85 (s, 2H), δ 2.50 (m, 1H), δ 1.94 (m, 10H)

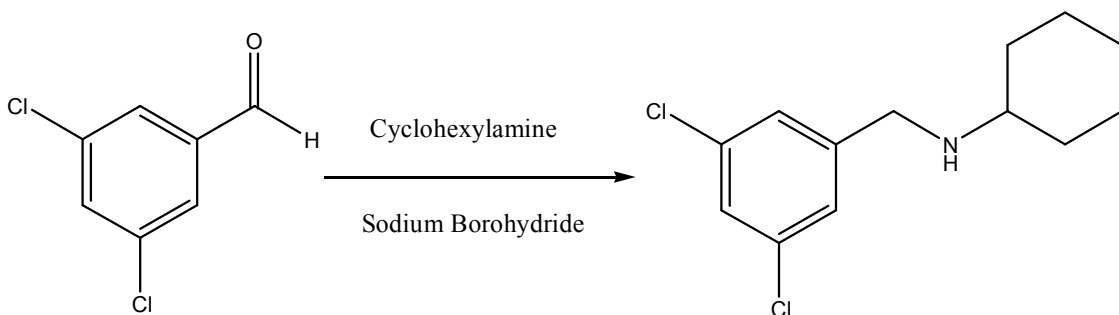
(49) Cyclohexyl-(2,6-dichlorobenzyl)amine



Yield : 84.0%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.30 (d, $J=8.04$ Hz, 2H), δ 7.14 (t, $J=8.04$ Hz, 2H), δ 4.07 (s, 2H), δ 2.48 (m, 1H), δ 1.95 (m, 10H)

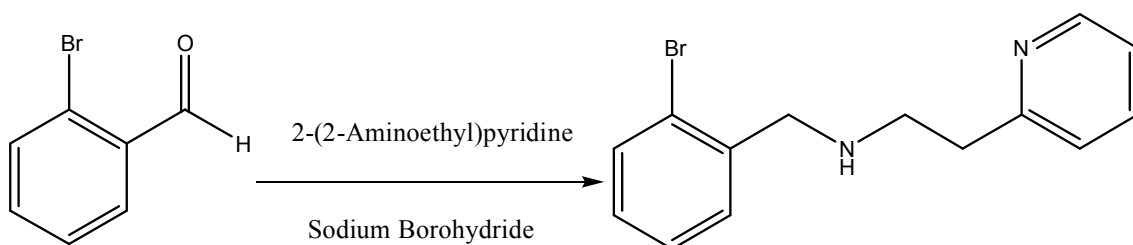
(50) Cyclohexyl-(3,5-dichlorobenzyl)amine



Yield : 91.2%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.26 (s, 3H), δ 3.76 (s, 2H), δ 2.44 (m, 1H), δ 1.91 (m, 10H)

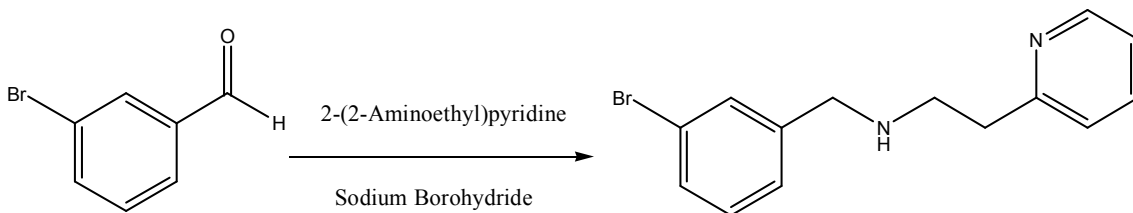
(51) 2-Bromobenzyl-(2-pyridin-2-yl-ethyl)amine



Yield : 31.8%

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.54 (m, 1H), δ 7.62 (td, *J*=7.6 and 1.8 Hz, 1H), δ 7.53 (dd, *J*=8.0 and 1.1 Hz, 1H), δ 7.38 (dd, *J*=7.6 and 1.8 Hz, 1H), δ 7.29 (td, 1H), δ 7.1 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), δ 7.14 (m, 2H), δ 3.90 (s, 2H), δ 3.07 (m, 4H), δ 2.08 (b, 1H)

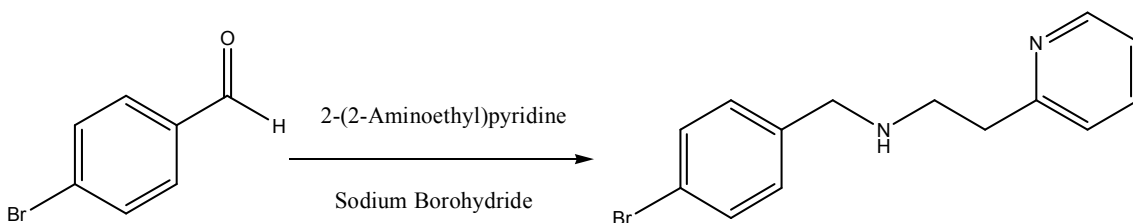
(52) 3-Bromobenzyl-(2-pyridin-2-yl-ethyl)amine



Yield : 40.5%

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.54 (d, *J*=4.3 Hz, 1H), δ 7.63 (td, *J*=7.7 and 1.8 Hz, 1H), δ 7.46 (s, 1H), δ 7.37 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), δ 7.23 (m, 4H), δ 3.79 (s, 2H), δ 3.06 (m, 4H)

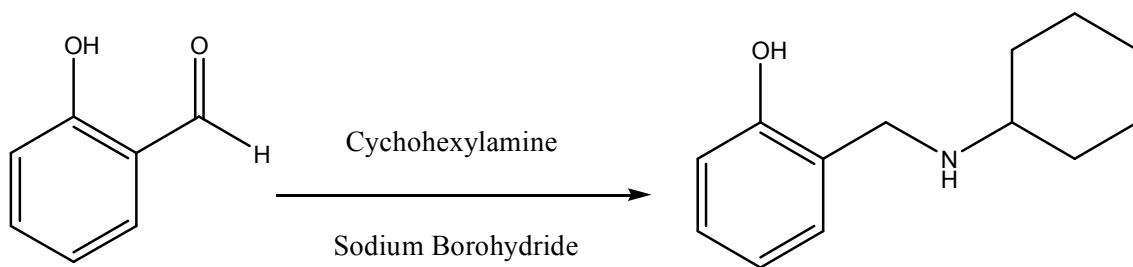
(53) 4-Bromobenzyl-(2-pyridin-2-yl-ethyl)amine



Yield : 68.3%

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.53 (d, *J*=4.7 Hz, 1H), δ 7.62 (td, *J*=7.7 and 1.8 Hz, 1H), δ 7.43 (d, 2H), δ 7.19 (m, 4H), δ 3.78 (s, 2H), δ 3.06 (m, 4H)

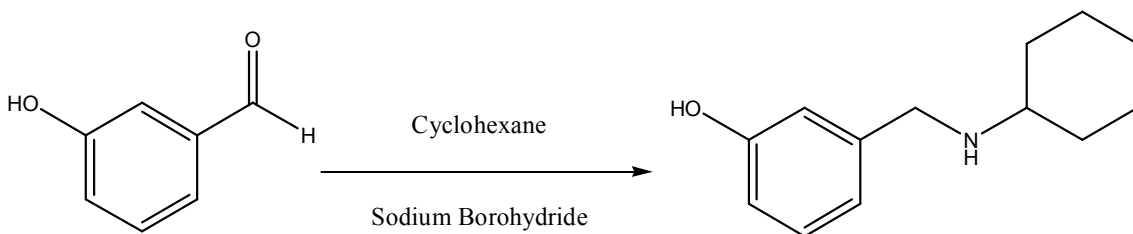
(54) 2-Cyclohexylaminomethylphenol



Yield : 78.9%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.18 (td, $J=7.32$ and 1.47 Hz, 1H), δ 6.98 (d, $J=7.32$ Hz, 1H), δ 6.83 (m, 2H), δ 4.01 (s, 2H), δ 2.56 (m, 1H), δ 1.99 (m, 10H)

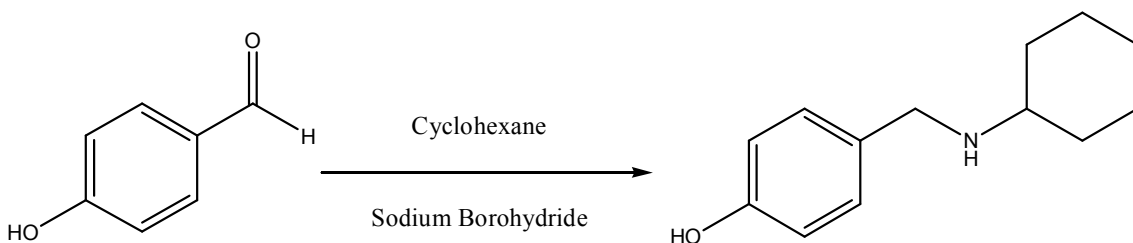
(55) 3-Cyclohexylaminomethylphenol



Yield : 81%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.15 (t, $J=7.68$ Hz, 1H), δ 6.77 (d, $J=7.68$ Hz, 1H), δ 6.69 (m, 2H), δ 3.71 (s, 2H), δ 2.57 (m, 1H), δ 1.96 (m, 10H),

(56) 4-Cyclohexylaminomethylphenol

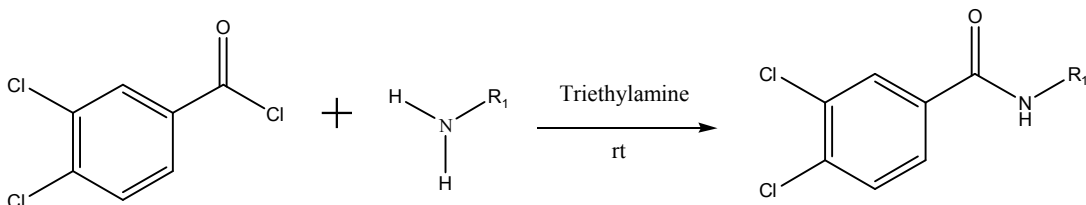


Yield : 75.7%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.04 (d, $J=8.04$ Hz, 2H), δ 6.55 (d, $J=8.04$ Hz, 2H), δ 3.80 (b, 1H), δ 3.69 (s, 2H), δ 2.58 (m, 1H), δ 1.98 (m, 10H)

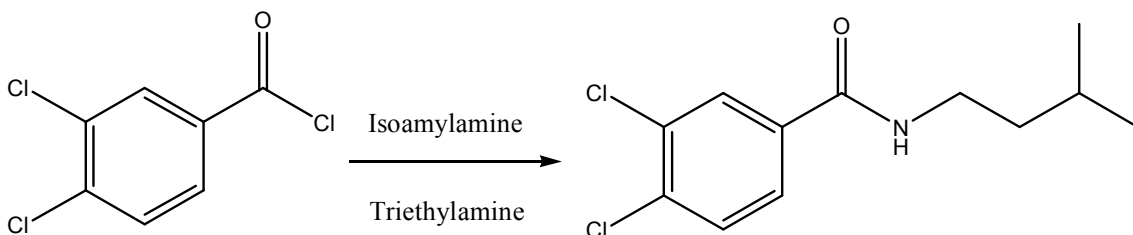
2) 화합물 (57~63)의 합성

General procedure for the synthesis of compounds



Scheme 2. Synthesis of compounds (57~63) ; R_1 = Alkyl groups

(57) 3,4-Dichloro-N-(3-methylbutyl)benzamide

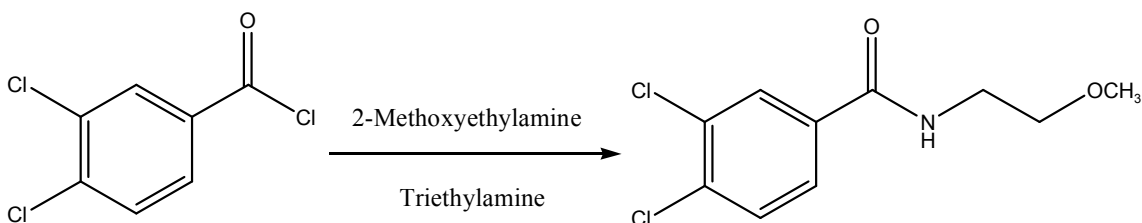


THF 20ml에 3,4-dichlorobenzoyl chloride 1 g (4.774 mmol)를 녹인 다음 isoamylamine 0.416 g (4.774 mmol)을 넣고, triethylamine 1 mL (7.161 mmol)을 서서히 가한 후 1시간 동안 교반하였다. 반응의 진행정도는 TLC로 확인하며, 반응이 더 이상 진행되지 않으면 혼합물에 물 40 ml를 가한 후 methylene chloride 30 mL로 3회 추출하여 이를 합하고, 무수 황산 마그네슘으로 물을 제거한 다음 감압증류하였다. 반응물을 silica gel이 충전된 column에서 ethyl acetate와 n-hexane의 혼합용매를 이동상으로 하여 분리시키고 연 붉은색 고체 3,4-dichloro-N-(3-methylbutyl)benzamide을 얻었다.

Yield : 90.7%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.85 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.59 (dd, $J= 8.0$ and 1.8 Hz, 1H), δ 7.51 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 6.05 (b, 1H), δ 3.50 (m, 2H), δ 1.74 (m, $J=6.6$ Hz, 1H), δ 1.54 (m, $J=6.6$ Hz, 2H), δ 0.96 (d, $J=6.6$ Hz, 6H)

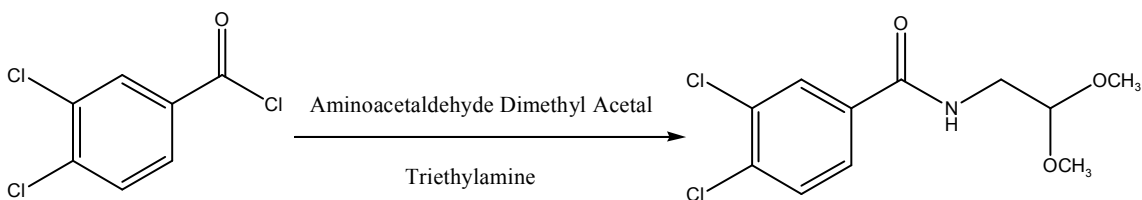
(58) 3,4-Dichloro-N-(2-methoxyethyl)benzamide



Yield : 88.9%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.89 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), δ 7.62 (dd, $J=8.4$ and 2.1 Hz, 1H), δ 7.52 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), δ 6.47 (b, 1H), δ 3.67 (m, $J=4.7$ Hz, 2H), δ 3.57 (t, $J=4.7$ Hz, 2H), δ 3.40 (s, 3H)

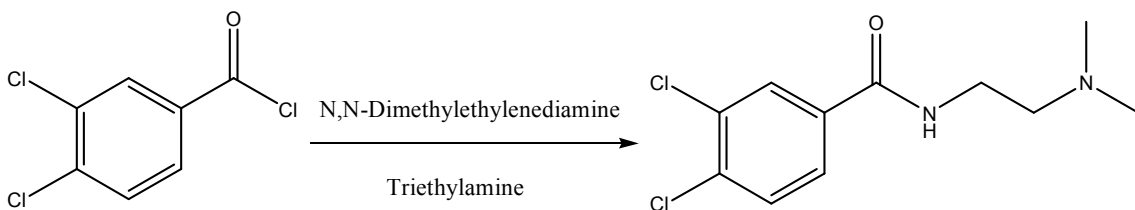
(59) 3,4-Dichloro-N-(2,2-dimethoxyethyl)benzamide



Yield : 96%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.88 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.61 (dd, $J=8.0$ and 1.8 Hz, 1H), δ 7.52 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), δ 6.31 (b, 1H), δ 4.50 (t, $J=5.1$ Hz, 1H), δ 3.61 (t, $J=5.1$ Hz, 2H), δ 3.44 (s, 6H)

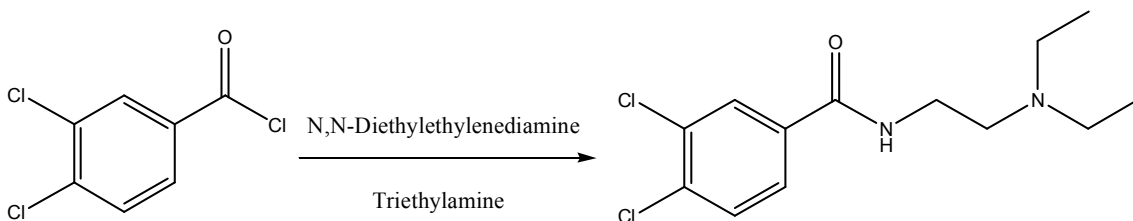
(60) 3,4-Dichloro-N-(2-dimethylaminoethyl)benzamide



Yield : 95%

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.91 (d, *J*=2.2 Hz, 1H), δ 7.65 (dd, *J*=8.0 and 2.2 Hz, 1H), δ 7.52 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), δ 6.96 (b, 1H), δ 3.55 (m, *J*=5.8 Hz, 2H), δ 2.58 (t, *J*=5.8 Hz, 2H), δ 2.30 (s, 6H)

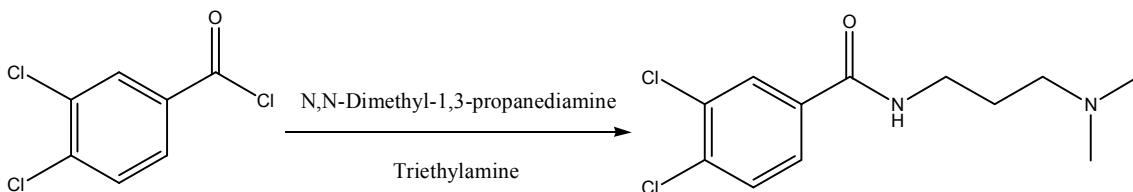
(61) 3,4-Dichloro-N-(2-diethylaminoethyl)benzamide



Yield : 94.1%

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.90 (d, *J*=2.1 Hz, 1H), δ 7.62 (dd, *J*=8.0 and 2.1 Hz, 1H), δ 7.51 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), δ 7.1 (b, 1H), δ 3.51 (m, *J*=5.1 Hz, 2H), δ 2.69 (t, *J*=5.1 Hz, 2H), δ 2.63 (m, *J*=6.9 Hz, 4H), δ 1.08 (t, *J*=6.9 Hz, 6H)

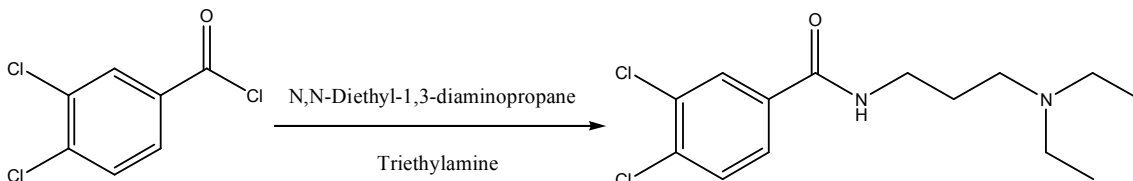
(62) 3,4-Dichloro-N-(3-dimethylaminopropyl)benzamide



Yield : 97.6%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9.02 (b, 1H), δ 7.88 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), δ 7.65 (dd, $J=8.4$ and 1.8 Hz, 1H), δ 7.51 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), δ 3.59 (m, $J=5.8$ Hz, 2H), δ 2.61 (t, $J=5.8$ Hz, 2H), δ 2.37 (s, 6H), δ 1.84 (m, $J=5.8$ Hz, 2H)

(63) 3,4-Dichloro-N-(3-diethylaminopropyl)benzamide

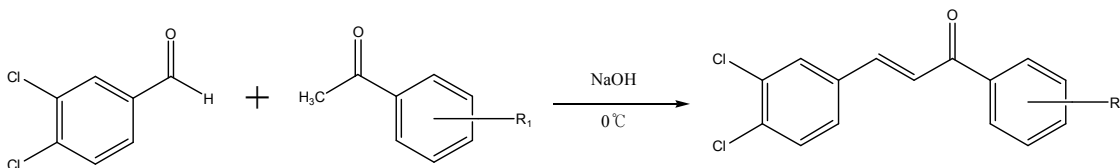


Yield : 91.2%

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9.31 (b, 1H), δ 7.89 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), δ 7.68 (dd, $J=8.4$ and 2.1 Hz, 1H), δ 7.51 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), δ 3.59 (m, $J=5.4$ Hz, 2H), δ 2.68 (m, 6H), δ 1.81 (m, $J=5.4$ Hz, 2H), δ 1.09 (t, $J=6.9$ Hz, 6H)

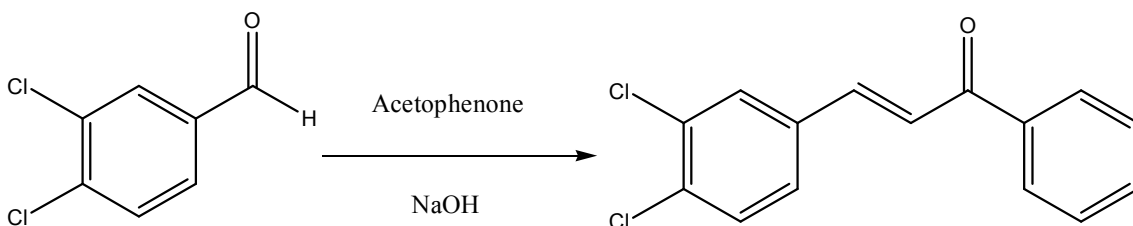
3) 화합물 (64~65)의 합성

General procedure for the synthesis of compounds



Scheme 3. Synthesis of compounds (64~65) ; $\text{R}_1 = \text{H}, \text{Cl}$

(64) 3-(3,4-Dichlorophenyl)-1-phenylpropenone

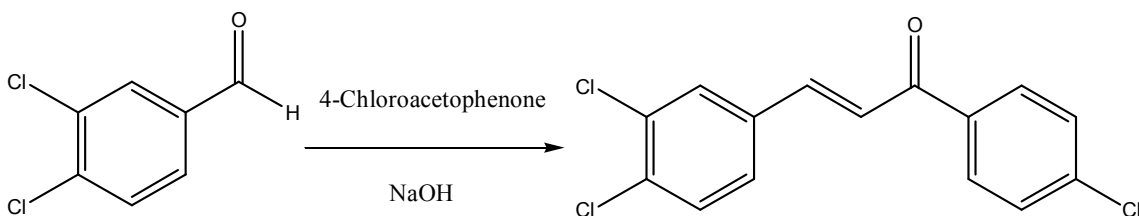


Ethanol 20 mL에 3,4-dichlorobenzaldehyde 1 g (5.741 mmol)를 녹인 다음 acetophenone 0.686 g (5.714 mmol)을 넣고 녹인다. 모두 녹은 후 혼합물을 0°C 이하에서 교반 시켜주며 4M NaOH 1.2 mL를 서서히 적가한 후 실온에서 약 3시간 동안 교반하였다. 반응의 진행정도를 TLC로 확인하여 출발물질이 더 이상 나타나지 않게 되면 반응물을 차가운 ethanol로 씻어 주며 필터 한다. 반응물을 silica gel이 충전된 column에서 ethyl acetate와 n-hexane의 혼합용매를 이동상으로 하여 분리시키고 흰색 고체 3-(3,4-dichlorophenyl)-1-phenylpropenone을 얻었다.

Yield : 73.2%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 8.04 (dt, 2H), δ 7.74 (d, $J=1.83$ Hz, 1H), δ 7.68 (s, 1H), δ 7.64 (tt, 1H), δ 7.55 (m, 5H)

(65) 1-(4-Chlorophenyl)-3-(3,4-dichlorophenyl)propenone



Yield : 75.8%

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.99 (dt, 2H), δ 7.74 (d, $J=1.83$ Hz, 1H), δ 7.68 (s, 1H), δ 7.52 (m, 5H)

IV. 결과 및 고찰

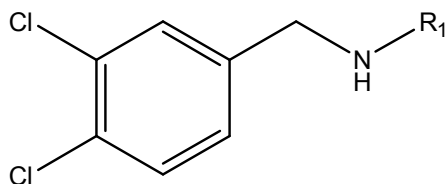
1. 약물 활성 측정 실험 결과

1) 유해 적조에 대한 활성 측정

위의 실험방법으로 benzylamine의 유도체와 benzamide 유도체등에 다양한 치환기를 도입하여 비슷한 구조에 대해 SAR (structure activity relationship)을 진행하여 유해 적조류 4종인 *C. polykrikoides*, *H. circularisquama*, *C. marina*, *H. akashiwo* 에 대해 활성측정을 하였고 최적후보물질을 도출해냈다.

활성 결과 값은 24 h - LC₅₀ (lethal concentration 50%)으로 비교 분석하여 나타내었다.

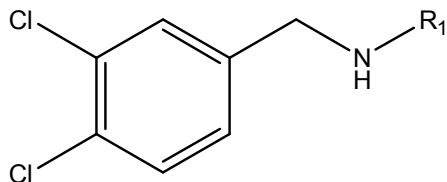
Table 16. Algicidal activity of compounds 1~9 against harmful red tides



LC ₅₀ (24 hour) (μM)					
Compounds		<i>C. M</i>	<i>H. A</i>	<i>H. C</i>	<i>C. P</i>
NO.	R ₁				
1	(CH ₂) ₁ CH ₃	5<	1.18	5<	5<
2	(CH ₂) ₂ CH ₃	2.67	0.73	5<	4.38
3	(CH ₂) ₃ CH ₃	3.16	0.44	2.86	3.51
4	(CH ₂) ₄ CH ₃	1.65	0.80	5<	1.71
5	(CH ₂) ₅ CH ₃	2.14	1.50	5<	3.29
6	(CH ₂) ₆ CH ₃	3.94	4.10	5<	5<
7	CH ₂ CH(CH ₂) ₂	1.14	0.30	5<	4.44
8	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	0.52	0.32	4.45	5<
9	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	2.00	0.28	1.50	1.53

Table 16에서 3,4-dichlorobenzyl amine을 고정하여 alkyl amino groups을 치환하여 합성하였고 LC₅₀ 활성을 평가 하였다. 대체적으로 *H. akashiwo* 종에 대해 높은 활성을 보였고 구조 변형 결과 R₁의 탄소 수가 4~5개 인 3, 4번과 9번이 유해적조 4종에 활성이 높게 나타났다.

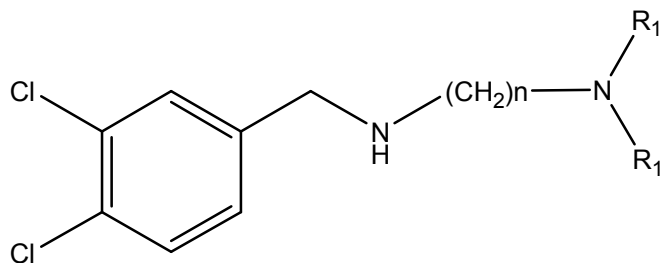
Table 17. Algicidal activity of compounds 10~13 against harmful red tides



LC ₅₀ (24 hour) (μM)					
Compounds		<i>C. M</i>	<i>H. A</i>	<i>H. C</i>	<i>C. P</i>
NO.	R ₁				
10	(CH ₂) ₂ OCH ₃	5<	1.30	5<	5<
11	(CH ₂) ₃ OCH ₃	0.99	0.29	5<	4.82
12	CH ₂ CH(OCH ₃) ₂	5<	4.00	5<	5<
13	(CH ₂) ₃ CH(OCH ₃) ₂	5<	1.3	4.8	4.41

Table 17에서는 alkyl amino groups에서 말단에 methoxy group을 도입하였을 때 alkyl기가 많을수록 활성이 증가하는 것을 볼 수 있으나 methoxy group으로 인해 전체적으로 활성이 감소하는 것을 알 수가 있었다.

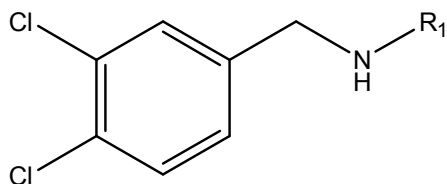
Table 18. Algicidal activity of compounds 14~17 against harmful red tides



LC ₅₀ (24 hour) (μM)						
Compounds			<i>C. M</i>	<i>H. A</i>	<i>H. C</i>	<i>C. P</i>
NO.	n	R ₁				
14	2	CH ₃	5<	2.25	3.10	5<
15	2	CH ₂ CH ₃	2.90	1.58	1.76	2.30
16	3	CH ₃	0.81	1.26	3.30	0.29
17	3	CH ₂ CH ₃	2.60	1.30	3.40	0.32

Table 18은 alkyl amino groups에 질소를 도입하였을 때 질소에 의한 활성 영향은 크지 않고 앞선 결과와 비슷하게 탄소 체인이 늘어날수록 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 16, 17번 화합물은 *C. polykrikoides*에 높은 활성을 보였지만 상대적으로 다른 유해적조세포 종에는 높은 활성을 보이지는 않았다.

Table 19. Algicidal activity of compounds 18~22 against harmful red tides



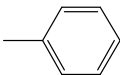
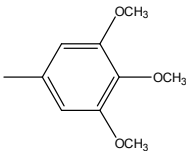
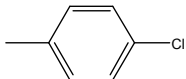


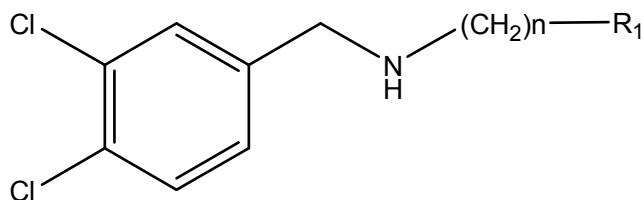
		LC ₅₀ (24 hour) (μM)			
Compounds		<i>C. M</i>	<i>H. A</i>	<i>H. C</i>	<i>C. P</i>
NO.	-R ₁				
18		3.50	1.27	5<	4.14
19		5<	5<	5<	5<
20		5<	1.28	3.30	3.60
21		5<	1.19	2.83	4.00
22		5<	1.54	5<	5<

Table 19에서는 amine group 대신 aniline과 할로젠이 치환된 구조등에 관한 활성을 측정된 결과 값이며 aniline은 amine group에 비해 활성이 대체적으로 감소하였다. 여기에서도 methoxy group을 도입하자 활성이 낮아지는 것을 보였고 methoxy group은 적조에 대한 활성을 낮추는 것을 알 수 있었다. 그리고 benzene에 할로젠이 치환됐을 때 *H. circularisquama*에 활성이 증가하였으나 *C. marina*에 대해서는 활성이 줄어든 것을 확인할 수 있었다.

Table 20. Algicidal activity of compounds 23~30 against harmful red tides



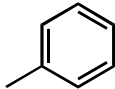
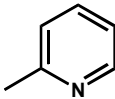
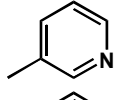
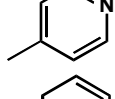
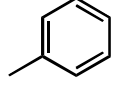
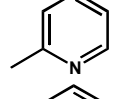
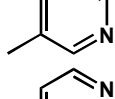
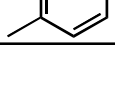
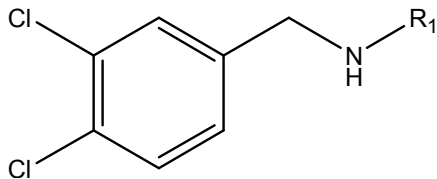
		LC ₅₀ (24 hour) (μM)				
Compounds			<i>C. M</i>	<i>H. A</i>	<i>H. C</i>	<i>C. P</i>
NO.	n	R ₁				
23	1		3.46	0.6	3.23	2.75
24	1		3.40	0.72	5<	5<
25	1		5<	0.79	3.55	2.00
26	1		5<	2.28	5<	5<
27	2		0.46	0.12	1.50	0.87
28	2		0.31	0.18	1.05	0.50
29	2		3.50	0.59	1.60	0.42
30	2		3.47	0.42	1.91	2.70

Table 20에서는 aniline구조에 탄소 체인에 따른 활성을 비교하였으며 benzene기와 염기성을 나타내는 pyridine 구조를 이용해 N의 위치를 바꿔 활성변화를 나타내었다.

여기에서도 탄소 체인의 길이가 늘어날수록 활성이 증가하며 n이 2인 화합물이 *C. polykrikoides*에 대해 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었고 그 중 compound 27, 28이 유해적조 4종에 대해 활성이 모두 높았다.

Table 21. Algicidal activity of compounds 31~38 against harmful red tides



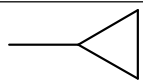
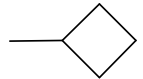
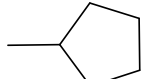
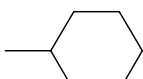
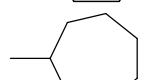
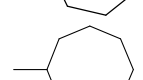
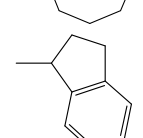
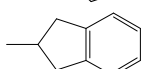
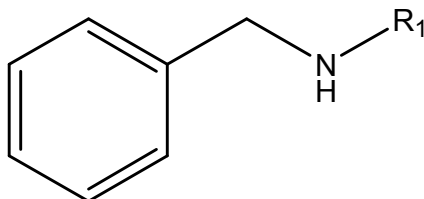
		LC ₅₀ (24 hour) (μM)			
Compounds		<i>C. M</i>	<i>H. A</i>	<i>H. C</i>	<i>C. P</i>
NO.	R ₁				
31		5<	5<	5<	5<
32		1.13	0.48	3.08	1.66
33		0.32	0.24	1.04	0.36
34		0.29	0.21	1.14	0.15
35		0.25	0.26	0.69	0.15
36		0.50	0.34	1.19	0.10
37		1.44	1.14	2.00	0.31
38		1.69	0.71	5<	3.76

Table 21에서 R₁이 cyclo alkyl group을 도입하였으며 고리가 커질수록 *C. polykrikoides*에 활성이 증가하는 것을 알 수 있었으며 또한 유해적조 4종에도 높은 활성을 보였다.

Table 22. Algicidal activity of compounds 39~42 against harmful red tides



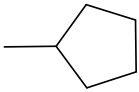
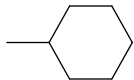
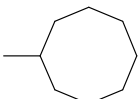
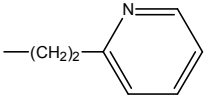
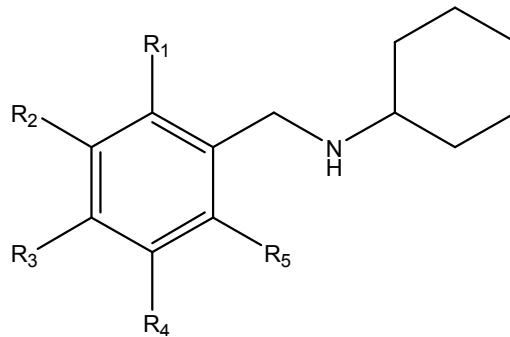
		LC ₅₀ (24 hour) (μM)			
Compounds		<i>C. M</i>	<i>H. A</i>	<i>H. C</i>	<i>C. P</i>
NO.	R ₁				
39		1.69	0.66	5<	5<
40		5<	0.67	5<	5<
41		0.52	0.15	5<	5<
42		0.34	0.13	5<	5<

Table 22는 위의 실험에서 유해적조 4종에 대해 활성이 대체적으로 좋았던 치환기기를 3,4-dichloro를 제외 시킨 후 활성을 평가하였고 침편모조류인 *C. marina*와 *H. akashiwo*의 종에 높은 활성을 보였지만 다른 2 종에 대해서는 활성을 보이지 않았다. 3,4-dichlorobenzene을 포함하는 구조가 4종의 적조류에 활성이 높다는 것을 알 수가 있었다.

Table 23. Algicidal activity of compounds 43~50 against harmful red tides

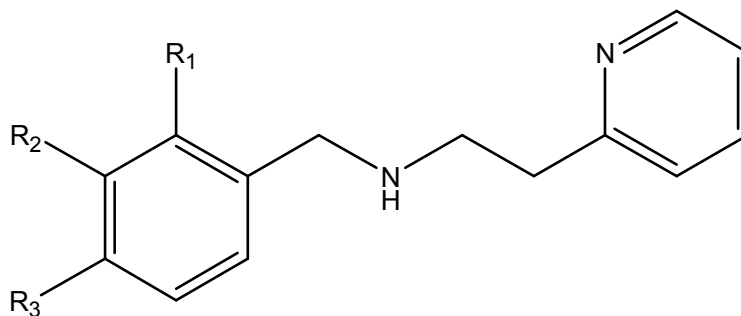


LC ₅₀ (24 hour) (μM)									
Compounds						<i>C. M</i>	<i>H. A</i>	<i>H. C</i>	<i>C. P</i>
NO.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅				
43	Cl	-	-	-	-	0.79	1.43	5<	5<
44	-	Cl	-	-	-	0.47	0.44	4.18	3.45
45	-	-	Cl	-	-	0.31	0.14	3.65	2
46	Cl	Cl	-	-	-	0.97	1.47	5<	2.06
47	Cl	-	Cl	-	-	3.4	3.85	5<	4.1
48	Cl	-	-	Cl	-	5<	5<	5<	5<
49	Cl	-	-	-	Cl	3.78	5<	5<	5<
34 ^a	-	Cl	Cl	-	-	0.29	0.21	1.14	0.15
50	-	Cl	-	Cl	-	4.02	5<	5<	3.7

34^a는 비교를 위해 Table 21의 활성결과 값을 넣었다.

Table 23은 Cl의 개수와 위치에 따른 활성 변화를 비교 하였으며 실험 결과 R₃에 위치한 4-chlorobenzylamine인 (45) 구조가 유해적조세포 4종에 대해 활성이 높았지만 3,4-dichlorobenzylamine인 (34) 구조가 가장 활성이 좋은 것을 알 수 있었다.

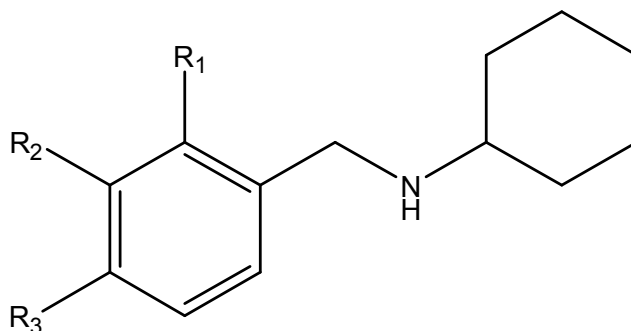
Table 24. Algicidal activity of compounds 51~53 against harmful red tides



LC ₅₀ (24 hour) (μM)							
Compounds				<i>C. M</i>	<i>H. A</i>	<i>H. C</i>	<i>C. P</i>
NO.	R ₁	R ₂	R ₃				
51	Br	-	-	1.12	0.28	5<	5<
52	-	Br	-	0.74	0.57	5<	3.5
53	-	-	Br	0.72	0.14	5<	5<

Table 24는 위의 실험에서 활성이 가장 좋았던 R₁-R₃기의 3번과 4번 탄소의 Cl을 Br로 치환시켜 활성을 평가하였으며 *H. circularisquama*와 *C. polykrikoides*에는 거의 활성을 보이지 않았지만 *C. marina*와 *H. akashiwo*에는 높은 활성을 보여 Br이 치환된 유도체에도 적조에 대한 활성이 있는 것으로 알 수 있었다.

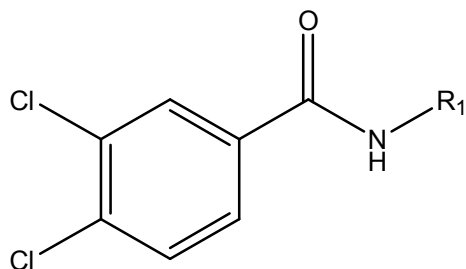
Table 25. Algicidal activity of compounds 54~56 against harmful red tides



LC ₅₀ (24 hour) (μM)							
Compounds				<i>C. M</i>	<i>H. A</i>	<i>H. C</i>	<i>C. P</i>
NO.	R ₁	R ₂	R ₃				
54	OH	-	-	0.49	0.36	5<	5
55	-	OH	-	5<	3.46	5<	1.92
56	-	-	OH	5<	5<	5<	5<

Table 25는 위의 실험에서 활성이 좋은 cyclohexylamine 치환기를 기반으로 R₁₋₃기의 3번과 4번 탄소의 Cl 대신 OH를 도입하였을 때 활성 결과이다. 54번만이 *C. marina*와 *H. akashiwo*에 높은 활성을 보였지만 다른 종에 대해서는 거의 활성을 나타내지 않았다. OH기는 위치에 따라 적조에 대한 활성이 증가하는 것을 알 수 있었다.

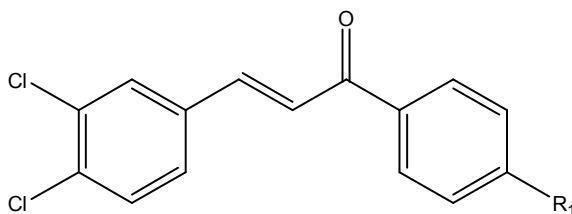
Table 26. Algicidal activity of compounds 57~63 against harmful red tides



		LC ₅₀ (24 hour) (μM)			
Compounds		<i>C. M</i>	<i>H. A</i>	<i>H. C</i>	<i>C. P</i>
NO.	R ₁				
57	-(CH ₂)CH(CH ₃) ₂	5<	5<	5<	5<
58	-(CH ₂)OCH ₃	5<	5<	5<	5<
59	-CH ₂ CH(OCH ₃) ₂	5<	5<	5<	5<
60	-(CH ₂) ₂ N(CH ₃) ₂	5<	1.63	5<	5<
61	-(CH ₂) ₂ N(CH ₂ CH ₃) ₂	5<	1.85	1.97	4.55
62	-(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂	5<	1.55	5<	5<
63	-(CH ₂) ₃ N(CH ₂ CH ₃) ₂	4.5	2.27	5<	2.22

Table 26은 3,4-dichlorobenzylamine에서 3,4-dichlorobenzamide로 치환하여 여러 그룹을 치환했을 때 활성을 평가한 결과로 같은 치환기를 붙인 화합물 14, 15, 16, 17의 3,4-dichlorobenzylamine구조와, 화합물 60, 61, 62, 63의 3,4-dichlorobenzamide구조를 비교 한 결과 대체적으로 benzylamine이 효과가 더 좋아 benzamide보다 유해적조 살조물질에 적합하다고 판단된다.

Table 27. Algicidal activity of compounds 64~65 against harmful red tides



		LC ₅₀ (24 hour) (μM)			
Compounds		<i>C. M</i>	<i>H. A</i>	<i>H. C</i>	<i>C. P</i>
NO.	R ₁				
64	H	5<	3.67	5<	1.66
65	Cl	5<	1.7	5<	1.33

Table 26은 3,4-dichlorobenzene 유도체를 합성했고 3,4-dichlorobenzene으로 인해 적조에 대한 활성을 띄고 있지만 뚜렷하게 높게 나타나지는 않았다.

2) 후보물질 선정

합성된 물질의 LC₅₀ 결과를 토대로 후보물질을 선정하였다. 선정된 기준으로는 보유 중인 유해적조 4종 중 국내 양식업에 가장 피해를 많이 입히는 *C. polykrikoides*에 활성이 높으며 다른 3종의 유해 적조에서 활성이 높은 화합물로써 6종을 선별하였다. 선별된 후보물질은 3,4-dichlorobenzylamine에 cyclo 그룹이 포함된 경우가 많았다. 선별된 후보물질에 대해 물벼룩 급성독성시험을 진행하였다.

Table 28. Candidate compounds

Compounds	LC ₅₀ (24 hour) (µM)			
	<i>C. marina</i>	<i>H. akashiwo</i>	<i>H. circularisquama</i>	<i>C. polykrikoides</i>
27	0.46	0.12	1.50	0.87
28	0.31	0.18	1.05	0.50
33	0.32	0.24	1.04	0.36
34	0.29	0.21	1.14	0.15
35	0.25	0.26	0.69	0.15
36	0.50	0.34	1.19	0.10

2. 생태독성 평가

1) 물벼룩 급성 독성 평가

선정된 후보물질 6 (27, 28, 33, 34, 35, 36)종을 바탕으로 물벼룩 급성독성시험을 진행하였다. 농도의 범위는 조류제어 시 약물 투여농도의 15배로 하였다. 시간은 48시간을 기준으로 진행하였으며 사용된 용매에 의한 독성영향은 물질안전보건자료(MSDS)에서 DMSO의 독성이 *Daphnia magna*에 대해 EC₅₀가 24,600 mg/L로 2.46%이하로 존재할 때 그 독성에 대한 영향이 낮다고 할 수 있다. 본 연구에서는 가장 높은 농도범위인 15 μM에 함유된 DMSO가 0.15%로 존재한다. 실험을 통해서 control의 물벼룩 생존율은 90%로 영향을 받으나 OECD의 물벼룩 독성시험에서 대조군 10% 이내의 영향을 무시할 수 있으므로 독성에 대한 영향은 나타나지 않는다고 판단한다. 농도의 범위는 조류제어 시 약물 투여 농도의 5배, 10배, 15배로 하였다. 후보물질 33, 34은 15 μM 까지 EC₅₀에 도달하지 않았고 실험결과 15 μM이상에서 독성이 상대적으로 낮은 33번과, 34번이 적합하다고 판단된다.

Figure 5. Survival ratio of *Daphnia magna* in different concentration of compounds (27, 28, 33, 34, 35, 36) for 48 hour

2) 제브라 피쉬 급성 독성 평가

물벼룩 급성독성 시험을 통해 EC_{50} 값이 $15 \mu\text{M}$ 이상인 **33번**과 **34번**에 대해 제브라피쉬 독성시험을 진행하였다. 농도의 범위는 조류제어 시 약물을 투여하는 농도의 10배, 15배, 30배로 하였다. 제브라피쉬는 약 14을 기준으로 진행하였으며 사용된 용매에 의한 독성영향은 나타나지 않았다. 후보물질의 실험결과를 볼 때 모두 $10 \mu\text{M}$ 에서 독성이 나타나지 않았으며 상태 또한 control과 같았고 **33번**과 **34번** 두 물질이 물벼룩 급성독성과 어독성에 대해 안전하다고 평가된다.

Figure 6. Survival ratio of *Danio rerio* in different concentration of compounds (**33**, **34**) for 14 day

Table 29. Summary of algicidal activity against harmful algae data and the ecotoxicological data of the compounds (**33**, **34**) used in the laboratory toxicity test

Species	Classification	Duration	Compound/ LC ₅₀ , EC ₅₀ (μM)	
			33	34
<i>C. marina</i>			0.32	0.29
<i>H. akashiwo</i>	Red tide	24 h/survival	0.24	0.21
<i>H. circularisquama</i>			1.04	1.14
<i>C. polykrikoides</i>			0.36	0.15
<i>D. magna</i>	Water flea	48 h/survival	>15	>15
<i>D. rerio</i>	Fish	330 h/survival	>15	>15

3. 시간에 따른 적조 제거율

물벼룩과 제브라피쉬의 안전성이 확인된 후보물질 2개를 바탕으로 국내 수산 양식업에 가장 많은 피해를 입히는 *C. polykrikoides*에 대해 화합물 **34**번이 **33**번보다 활성이 높아 **34**번의 시간에 따른 적조세포 제거율을 확인하였다. 시험종은 *C. marina*, *H. akashiwo*, *H. circularisquama*, *C. polykrikoides* 4종으로 모두 최종농도가 1 μ M가 되게 약물을 처리하여 시간(min)에 따른 조류 제거율을 현미경으로 카운트하여 기록하였다. *C. marina*, *H. akashiwo*, *C. polykrikoides*은 약물을 투여한지 1분 안에 세포가 터지거나 이동성을 잃게 되며 이동성이 있는 세포도 순식간에 터지는 현상이 나타났다. 30분 뒤에는 세포의 절반이 사멸됐고 180분 안에 거의 모든 세포가 사멸된 것을 알 수 있었다. *H. circularisquama*은 초기 약물 투여 시 조류세포에 대한 영향은 거의 보이지 않았고 약물 투여 후 약 30분부터 서서히 사멸되는 것을 관찰할 수 있었다. 120분 뒤에는 절반이 사멸되어 유지되는 경향을 보여 다른 종에 비해 비교적 사멸시키는 속도가 느렸다. 이러한 결과로 신규 합성 물질은 낮은 농도에서 빠른 시간내에 적조를 살조할 수 있는 것으로 사료된다.

Figure 7. Microscopic observation of time-dependent surviving cells rate by compound **34** (1 μ M) loading

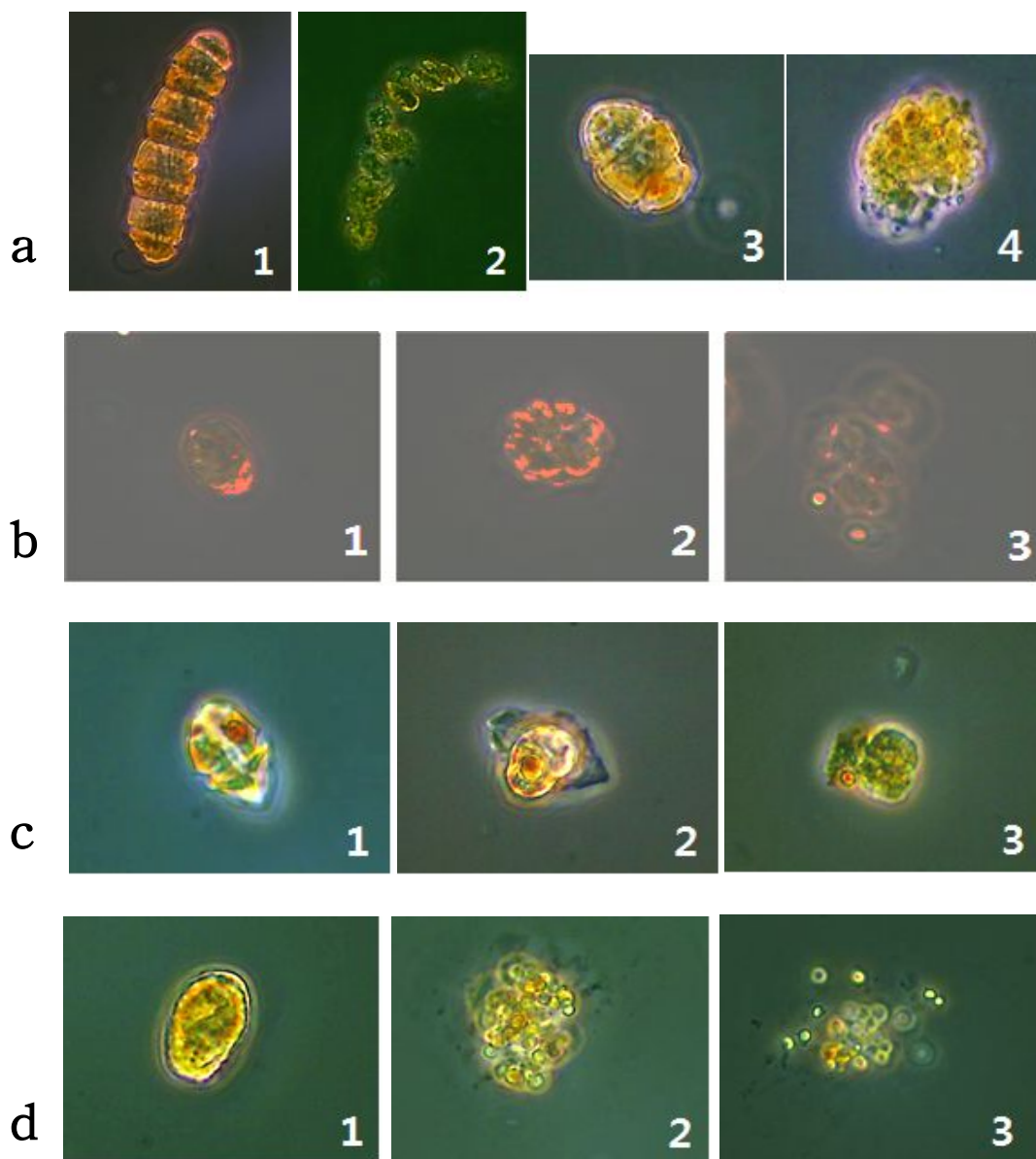


Figure 8. Microscopic observations of time-dependent algal activity produced by compound **34** ($1 \mu\text{M}$) loading. (a) *Cochlodinium polykrioides*, (b) *Heterosigma akashiwo*, (c) *Heterocapsa circularisquama*, (d) *Chattonella marina* ; (a)-1, (a)-3, (b)-1, (c)-1, (d)-1 control without compound **34**

V. 결론

황토는 유해 적조생물인 *Cochlodinium polykrikoides*에 응집 흡착을 하여 국지적으로 발생하는 적조를 구제하는 방법으로 현재 우리나라에서 가장 많이 사용되고 있지만 이는 서론에서의 이론적 고찰로 볼 때 저서식물 및 수생생물의 폐사 등 2차 오염이 야기 되었다. 따라서 적조를 구제하기 위한 지속적인 황토살포는 장기적으로 수중 생태계 보호를 위해 금지되어야 하며 새로운 적조구제 방법을 모색해야 한다.

본 논문에서는 유해적조를 제어하기 위한 방법으로 황토를 대신할 수 있는 새로운 유기물질을 합성하여 국내 수산업에 심각한 피해를 입히는 *C. polykrikoides* 뿐만 아니라 *H. circularisquama*, *C. Marina*, *H. akashiwo* 등 전 세계적으로 수산피해, 공중보건 문제 등을 일으키는 유해 적조생물종을 1 μM 에서 1시간 이내의 짧은 노출 시간에 효율적으로 사멸시키는 결과를 얻을 수 있었다.

황토의 적조 제거효율의 이론적 고찰에 의하면 가장 효율이 높을 때의 양은 10 g/L를 사용 했을 때 1시간에 86.4%의 제거율을 보였다. 본 논문의 실험결과 compound 34번 cyclohexyl(3,4-dichlorobenzyl)amine은 1 μM 농도로 0.25 mg/L을 사용 했을 때 비슷한 결과 값을 얻을 수 있었다. 또한 생태독성에서 물벼룩(*Daphnia magna*)과 제브라피쉬(*Danio rerio*)중에 대해 EC_{50} , LC_{50} 값이 15 μM 이상으로 수중 생태계에서 안전하다고 판단된다.

신규 적조제어 물질은 저분자의 유기물질로서 외부 환경에 의해 CO_2 와 H_2O 로 자연적으로 분해가 일어나기 쉬우며 이는 2차오염을 유발시키는 황토과 다르게 지속적으로 사용이 가능하며 2차오염을 최소화 시킬 수 있다. 위의 결과로 볼 때 신규 유해적조제어 물질은 황토에 비해 경제성, 효율성과 생태 안전성등 황토를 대신할 새로운 적조구제물질로 적합하다고 판단된다.

약물처리 후 현미경을 통한 적조세포 확인 결과 신규 물질이 적조의 어떠한 기질에 영향을 받을지는 알 수 없으나 세포가 사멸하는 형상을 볼 때 광합성, 호흡등 적조가 생존하는데 필요한 작용에 영향을 주지는 않지만 직접적으로 세포벽에 관여해 적조세포가 터지는 것으로 보였다. 이러한 결과는 약물이 빠른 시간내에 세포를 직접 공격하여 사멸시킴으로 효율적인 적조제어물질로 판단된다.

신규 유도체에 대해 다른 유해 적조를 대상으로 제어연구가 계속되어 3,4-dichlorobenzylamine 유도체의 구조에 따른 다양한 종의 적조 활성측정을 통해 특정 적조의 우점종에 의해

대규모 적조 발생 시 상황에 맞는 적조제어물질을 살포해야 한다. 추후 현장 적용을 위해 메소코즘(mesocosm)과 같은 인공생태계를 이용한 해양생태계 유해성 평가등 생태계 안전성을 검증하고 신규 물질의 해양살포 방법 및 효율성 연구가 더 필요할 것으로 보인다. 또한 적조확산 모델링 연구등을 통해 적조의 이동경로를 파악하여 신규 화합물을 이용하여 적조발생 초기에 대응하여 피해를 최소화 할 수 있는 방법등 다양한 연구가 진행되어야한다.

【참고문헌】

1. 趙昌煥. 1979. 진해만 적조와 양식굴의 대량폐사 韓水誌. 12(1) 27-33
2. 김학균. 2007. 유해 적조 피해 발생과 대책. 한국방재학회지, 제7권 제3호 통권 26호, p. 7-21
3. Okaich, T., D. M. Anderson and T. Nemoto(des.). 1989. Red Tides; Biology, Environmental Science and Toxicology. Elsevier, New York, p. 489
4. Heisler, J., P. M. Gilbert, J. M. Burkholder, D. M. Anderson, W. Cochlan, W. C. Dennison, Q. Dortch, C. J. Gobler, C. A. Heil, E. Humphries, A. Lewitus, R. Magnien, H. G. Marshall, K. Srrlner, D. A. Stockwell, D. K. Stockwell and M. Suddleson. 2008. Eutrophication and harmful algal blooms: A scientific consensus. Harmful Algae, 8, p. 3-13.
5. 해양수산부. 2002. 적조문제 해결을 위한 국가종합 기획연구 과제 개발방안, 국립수산과학원
6. 박치현. 2004. 황토살포가 연안 생태계에 미치는 영향과 적조 방제제에 대한 연구. 울산대학교 박사 학위 논문
7. J. Ward, R. Wohlgemut, Curr. 2010. Org. Chem. 14
8. J E. McMurry. 2008. Organic chemistry 7
9. 권철휘. 2002. 한국남해안의 *Cochlodinium* 적조확산 모델링 응용연구. 부경대학교 박사 학위 논문
10. Anderson DM. 2009. Approaches to monitoring, control and management of harmful algal blooms (HABs), Ocean & Coastal Management. 52: p. 342-347
11. 윤양호. 1996. 전남 연안해역의 적조발생과 대책방안. 광주전남 비전 21, 11, p. 45-62
12. Park J. S. and kim H. G. 1991. "Recent approches on red tide. Korea and french Seminer on red tide". NFRDA, p. 159
13. Fraga S., B. Reguer and I. Bravo. 1990. *Gymnodinium catenatum* Bloom formation in the sapaishrias. In: Toxic Marine phytoplankton, edited by Graneli, E., B. Sundstorm, L. Edler and D.M. Anderson, Elesevier, New York, p. 149-154
14. Friligos, N. and Gotsis-Skretas. 1989. Eutrophication and red tide in Aegean coastal waters. Toxic and Envir. Chem., 24, p. 171-180
15. 박주석, 김종두. 1967. 진해만의 적조현상에 관한 연구. 국립수산과학원 연구보고, 1, p. 63-79

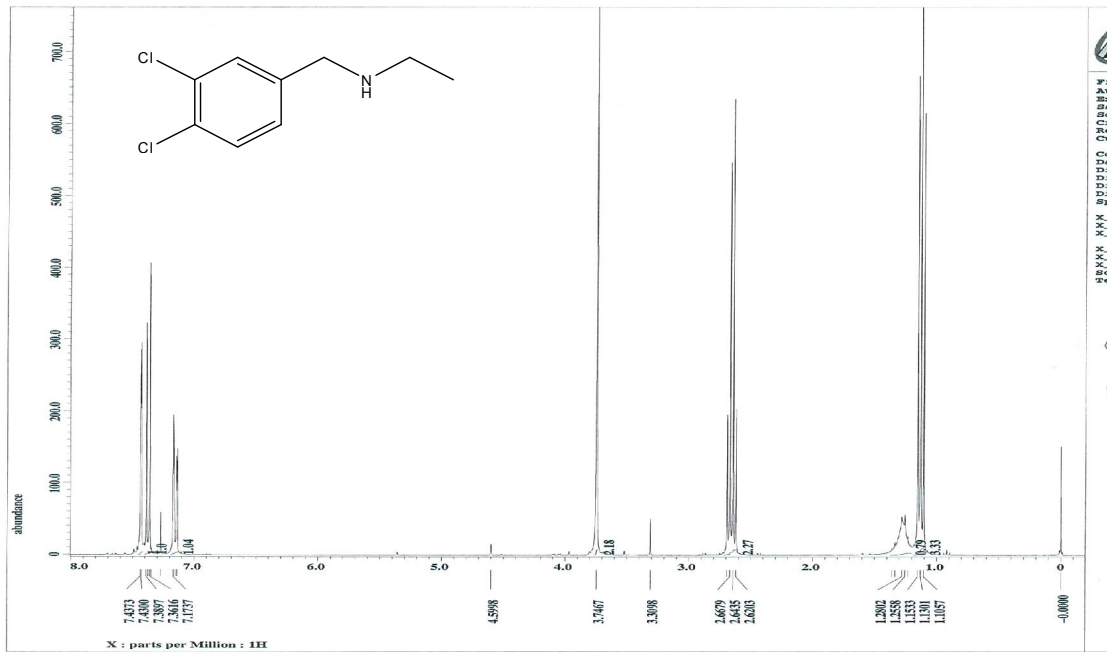
16. 박주석. 적조의 확대 변천과 종합대책, 수산연구, 9, p. 6-19
17. 박인선. 2002. 적조발생의 근본적 원인 제거 대책 연구, 이화여자대학교 환경논문집. p. 51-56.
18. Wang, D.-Z., 2008. *Neurotoxins* from marine dinoflagellates: A brief review. Mar. Drugs, 6, p. 349-371
19. 최희구, 성기탁, 이창규, 강양순. 2009. 해양환경정보총람=Handbook on oceanography, marine environment and harmful marine organisms. 국립수산과학원 환경연구과, 국립수산과학원 자원환경부 어장정보과. p. 1-438
20. Hallagraeff, G. M., 1993. A review of harmful algae blooms and their apparent global increase. Phycologia, 32, p. 79-99
21. 윤양호, 2010. 바다의 반란 적조, p. 1-530
22. Silva, E. S., 1967. *Chchlodinium beterolobatum* n. sp.: structure and some cytophysiological aspects. J. Protozol., 14(4), p. 745-754
23. 김학균 외 10. 1998. 한국연안의 적조-최근 적조의 발생원인과 대책-(개정판). 국립수산과학원, 부산, p. 292
24. Yoon, Y. H., 2001. A summary on the red tide mechanisms of the harmful dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides* in Korean coastal water. Bull. Plankton Soc. Japan, 48(2), p. 113-120
25. 윤양호. 2007. 우리나라 남서해역의 해양환경과 적조발생 특성. in “전남동부권역 해양생태계 주요 이슈와 관리방안, 여수지방해양수산청(해양환경과)”, p. 29-57.
26. Kim, D.-K., T. Oda, T. Muramatsu, D.-I. Kim, Y. Matsuyama and T. Honjo, 2002b. Possible factors responsible for the toxicity of *Chchlodinium polykrikoides*, a red tide phytoplankton. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 132, p. 415-423.
27. Horiguchi, T., 1995. *Heterocapsa circularisquama* sp. nov.(Peridinales, Dinophyceae); A new marine dinoflagellate causing mass mortality of bivalves in Japan. Phycol. Res., 43, p. 129-136.
28. Honjo, T., N. Imada, Y. Oshima, Y. Maema, K. Nagai, Y. Matsuyama and T. Uchida. 1998. Potential transfer *Heterocapsa circularisquama* with pearl oyster consignments. in “Reguera, B., J. Blanco, M. Fernandez and T. Wyatt(eds.). Harmful Algae. Xunta de Galicia, IOC of Unesco, Vigo”, p. 224-226
29. Okaichi, T. 1989. Red tide problems in the Seto Inland Sea, Japan. In: Red Tide

- Biology, Environmental Science, and Toxicology.(eds.), T. Okaichi, Anderson D. M. and T. Nemoto, Elsevier N Y. p. 137-142
30. Honjo, T., 1993. Overview on bloom dynamics and physiological ecology of *Heterosigma akashiwo*. In: Toxic phytoplankton blooms in the sea. Smayda, T. J. and Y. Shimizu, eds. Amsterdam Netherlands Elsevier, 3: p. 33-42.
 31. 김학균, 2005. 해양적조 다습출판사. p. 1-449.
 32. Imai, I., M. Yamaguchi and M. Watanabe. 1998. Ecophysiology, life cycle, and bloom dynamics of *Chattonella* in the Steo Inland Sea, Japan. in “Anderson D. M., A.D. *Cembella* and G. M. Hallegraeff(eds), Physiological Ecology of Harmfyl Algal Blooms. Springer Verlag, Berlin”, p. 95-112
 33. Vrieling, E. G., R. P. T Koeman, K. Nagasaki, Y. Ishida, L. Peperzak, W. W. C. Gieskes and M. Veenhuis. 1995. *Chattonella* and *Fibrocapsa*(Raphidophyceae): First observaion of, potentially harmful red tide organisms in Dutch coastal waters. Netherlands J. Sea Res., 33, p. 183-191
 34. Zhang, Y., F. X Fu, E. Whereat, Coyne, K. J. and D. A. Hutchins. 2006. Bottom-up controls on a mixed-species HAB assemblage: A comparison of sympatric *Chattonella subsalsa* and *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) isolates from the Delaware Inland Bays, USA. Harmful Algae 5: p. 310-320
 35. Hiroishi, S., H. Okada, I. Imai and T. Yoshida. 2005. High toxicity of the novel bloom-forming species of *Chattonella ovata* (Rahpidophyceae) to cultured fish. Harmful Algae, 4, p. 783-797
 36. 해양수산부 미발표 통계자료, 2004
 37. 박치현. 2004. 황토살포가 연안 생태계에 미치는 영향과 적조 방제제에 대한 연구. 울산대학교 박사 학위 논문, p. 12
 38. 赤潮研究會編輯委員會, 1980. 赤潮に關する邁年の知と研究の問題點(水産研究叢書 33). (社)日本水産資源保護協會, 東京. p. 274
 39. Maruyama, T., R. Yamada, K. Usui, H. Suzuki and T. Yoshida, 1987. Removal of marine red tide planktons with acid treated clay. Nippon Suisan Gakkaishi, 53, p. 1811-1819.
 40. Shirta, A., 1989a. Red tide problem and countermeasures (1). Int. Aqua. Fish. Technol., 1, p. 195-293.
 41. Sengco, M. R., p. 2009. Prevention and control of *Karenia brevis* blooms. Harmful

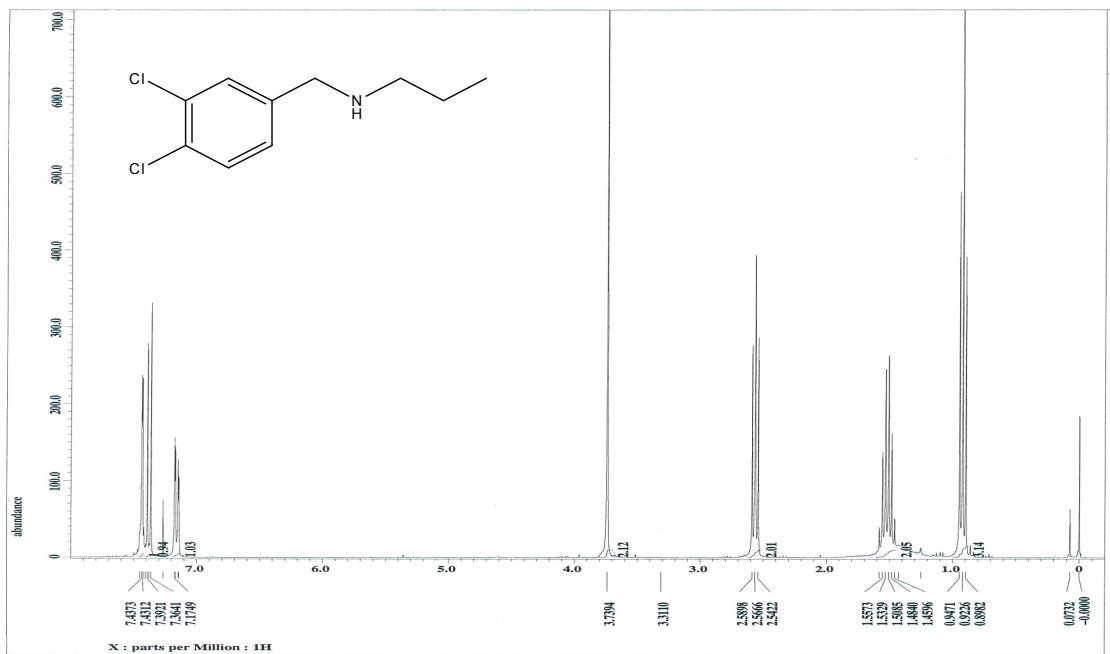
- Algae, 8, p. 623-628.
42. 김학균. 1987. 적조피해와 방지대책. 적조현상과 어장보호. 적조 및 어장보호에 관한 심포지움 결과보고서, p. 115~128
 43. Ian R. Jenkinson, Genevieve Arzul. 2001. Mitigation by cysteine compounds of rheotoxicity, cytotoxicity and fish mortality caused by the dinoflagellates, *Gymnodinium mikimitoi* and *G. CF. Maguelonnense*, In: G. M. Hallegraeff, S. I. Blackburn, C. J. Bolch & R. J. Lewis (eds). 2001. Harmful Algal blooms 2000. Proc. 9th int. Conf. Harmful algal blooms. IOC. Paris
 44. Kim H.G. 2000. *Cochlodinium polykrioides* in Korea coastal waters and their mitigation. In: Harmful algae (intergovernmental Oceanographic of UNESCO), p. 227-228
 45. Sun X. X., Zou J. Z., and Yu Z. M. 1999. Coagulation of *Heterosigma akashiwo* with modified clay. In: 1st Conference harmful algae management and mitigation, p. 17
 46. Yu Z. and Zou J. 2000. progress of studies on harmful algal blooms and mitigation with clays in China. In: Proceeding of the inter-state symposium on harmful algal blooms and clays. NFRID, p. 74-87
 47. 배현민, 김창숙, 조용철. 2000. 황토의 적조구제 효과 및 전해수 혼합에 의한 새로운 적조구제 기술. 적조와 황토에 관한 국가간 심포지엄 프로시딩, 국립수산물학원, p. 74-87
 48. 윤성중, 배현민, 허승, 이필용. 1998. 황토 입자 크기에 따른 적조생물 구제효과, 한국수산학회지. 단일호, p. 395-395
 49. Dzombak, D. A. and F. M. M. Morel. 1987. Adsorption of inorganic pollutants in aquatic systems. J. Hydraulic Engineering, 113, p. 430-475
 50. Yu Z., Sun X., Song X., ZHANG B. 1999. Clay surface modification and its coagulation of red tide organisms. Chinese Science Bulletin. 44, 7, p.617-620
 51. 赤潮. 發生機構와 對策. 1980. 日本{水産シリス 34券 日本{水産學{會 發行}
 52. 渡邊憲人 . 二重谷伸行(岐阜縣公害研究所) . 山田雅英 . 加納芳直 . 坂瞭三(岐阜縣公衆衛生檢査センター), 1992. 石灰による海域環境の改善
 53. Van Leeuwen, C. J., and J. L. M. Hermens. 2001. Risk Assessment of Chemicals: An Introduction. Kluwer Academic Publishers, USA. p. 326-340.
 54. 환경보건안전부. 2006, 환경오염 생체지표 개발 및 독성연구 표준화,
 55. Sa Hu Park. 2012. Zebrafish; *Danio rerio*: importance of long time viewpoint, The

- Science & Technology, p. 54-55
56. 환경부. 2007. 제51항 물벼룩을 이용한 급성독성 시험법(ES 04751.1). p3. 71-377.
 57. Ten Berge, W. F. 1978. Breeding *Daphnia magna*. Hydrobiology 59: p. 121-123.
 58. Soetaert, A, Moens, L. N, Van der ven K. Van Leemput, K, Naudtes, B., Blust, R, DECoen, W. M. 2006. Molecular impact of propiconazol on *Daphnia magna* using a reproduction related cDNA array, Comp. Biochem. Physiol. C. 142: p. 66-67.
 59. Adema, D. M. 1987. *Daphnia magna* as a test animal in acute and chronic toxicity tests. Hydrobiology 59: p. 125-134.
 60. Goulden, CE, Comotto, RM, Hendrickson JA, Hornig LL, Johnson KL. 1982. Procedures and Recommendation for the culture and use of *Daphnia* in Bioassay studies
 61. 환경보건안전부. 2006. 환경오염 생체지표 개발 및 독성연구 표준화
 62. Guillard RRL and Ryther JH. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervaceae* (Cleve) Gran. Can. J. Microbiol. 8, p. 229-239.
 63. Algal culturing techniques. Robert A. Andersen. Phycological Society of American.

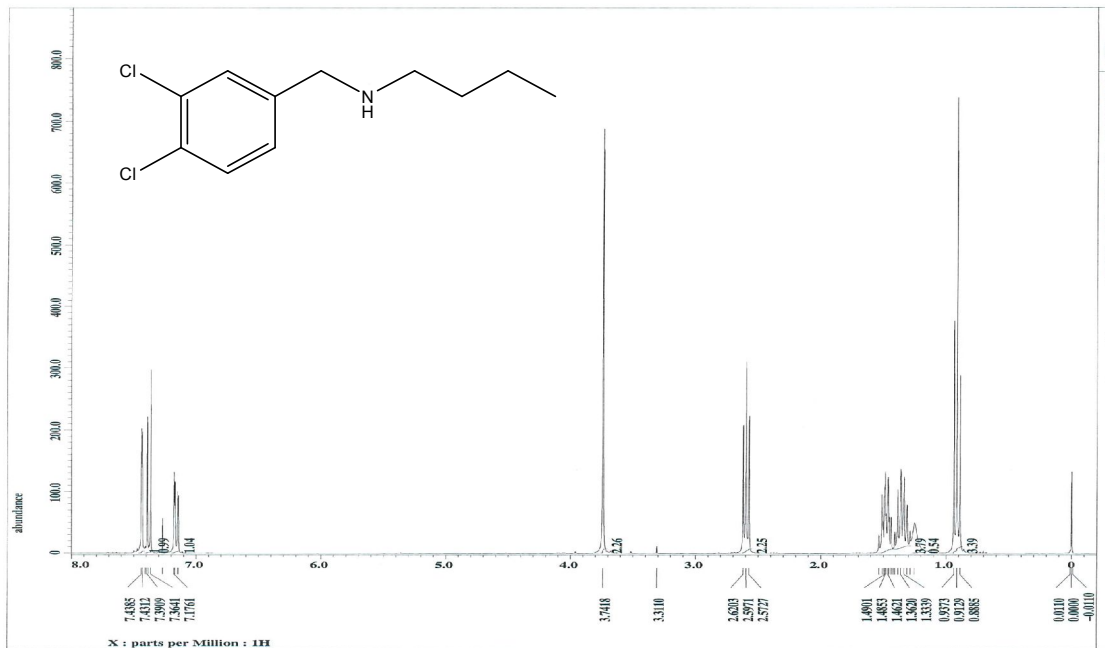
^1H NMR Spectra



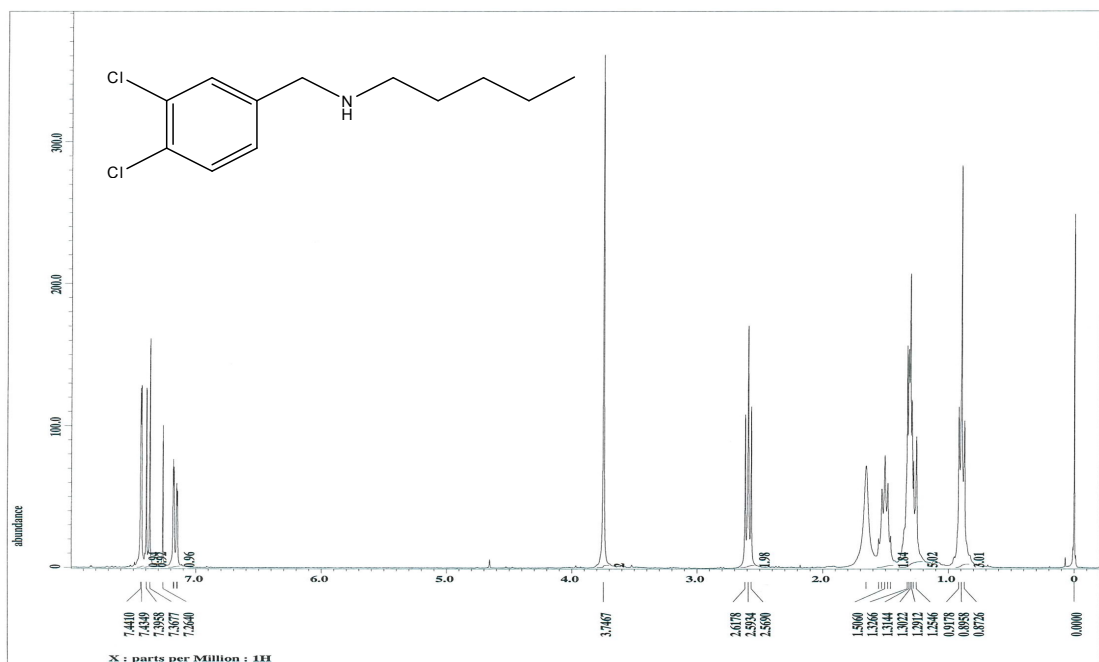
(1) (3,4-Dichlorobenzyl)ethylamine



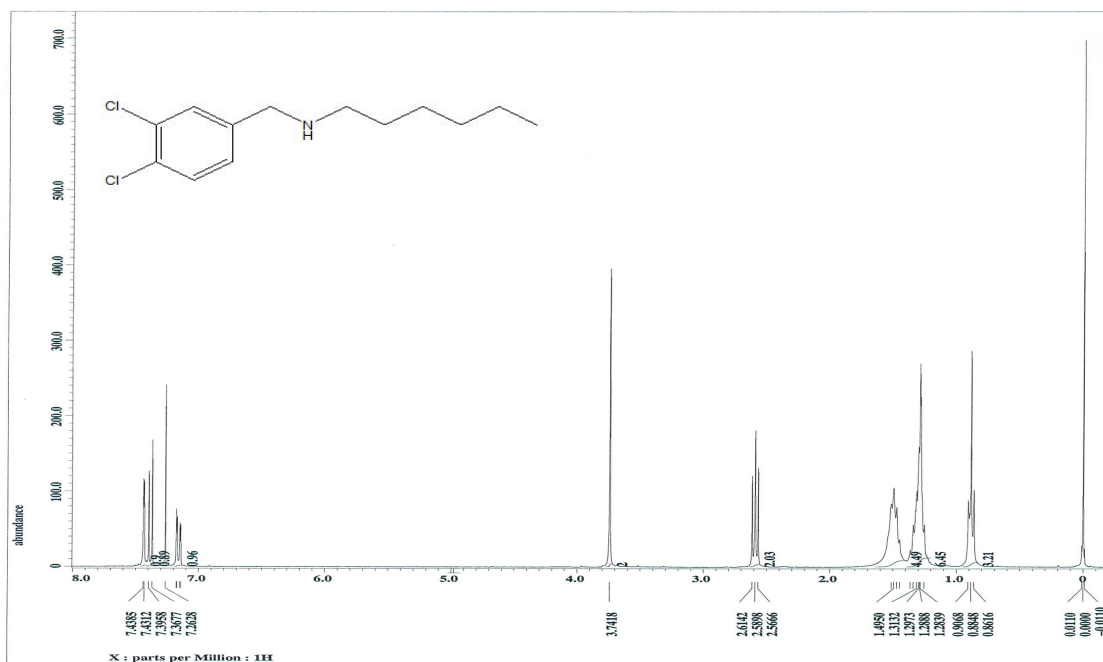
(2) (3,4-Dichlorobenzyl)propylamine



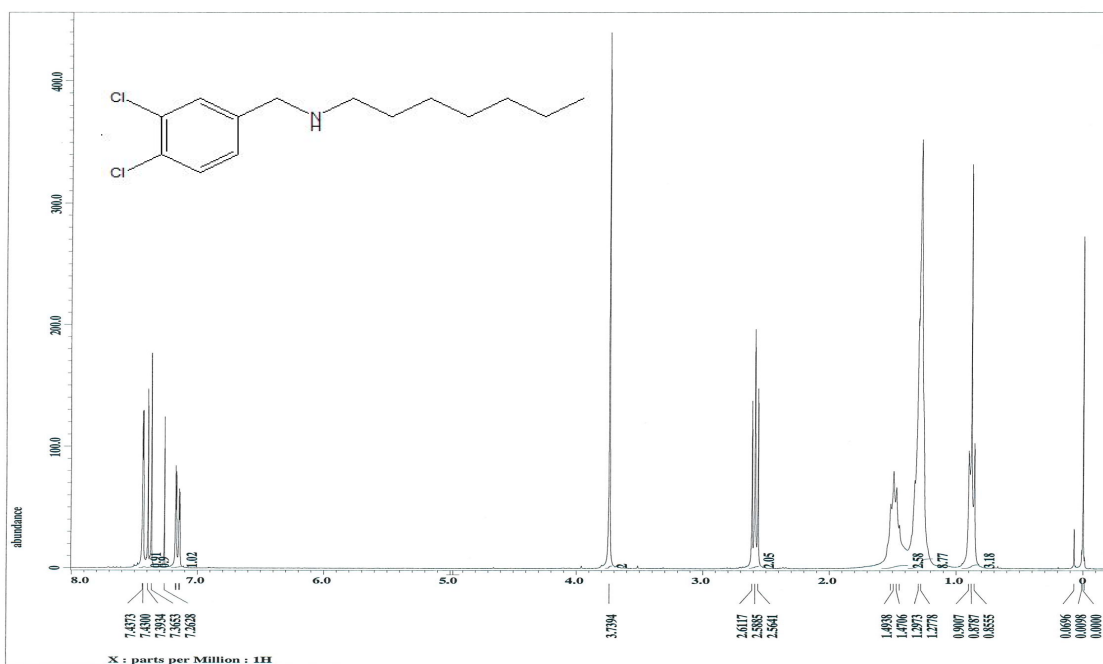
(3) Butyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



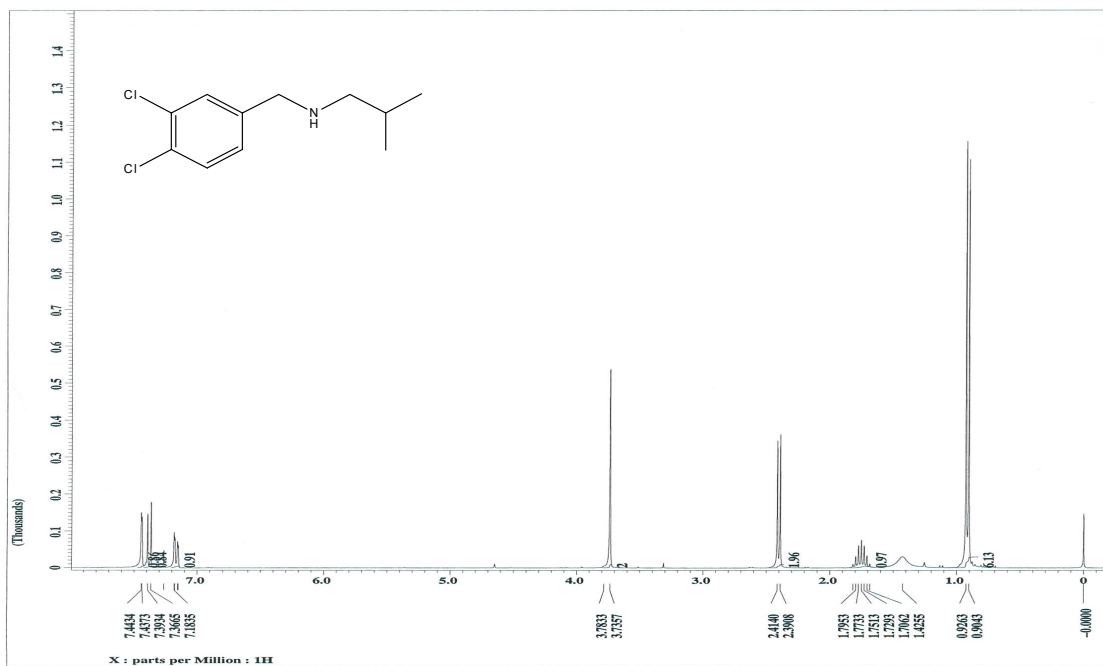
(4) (3,4-Dichlorobenzyl)pentylamine



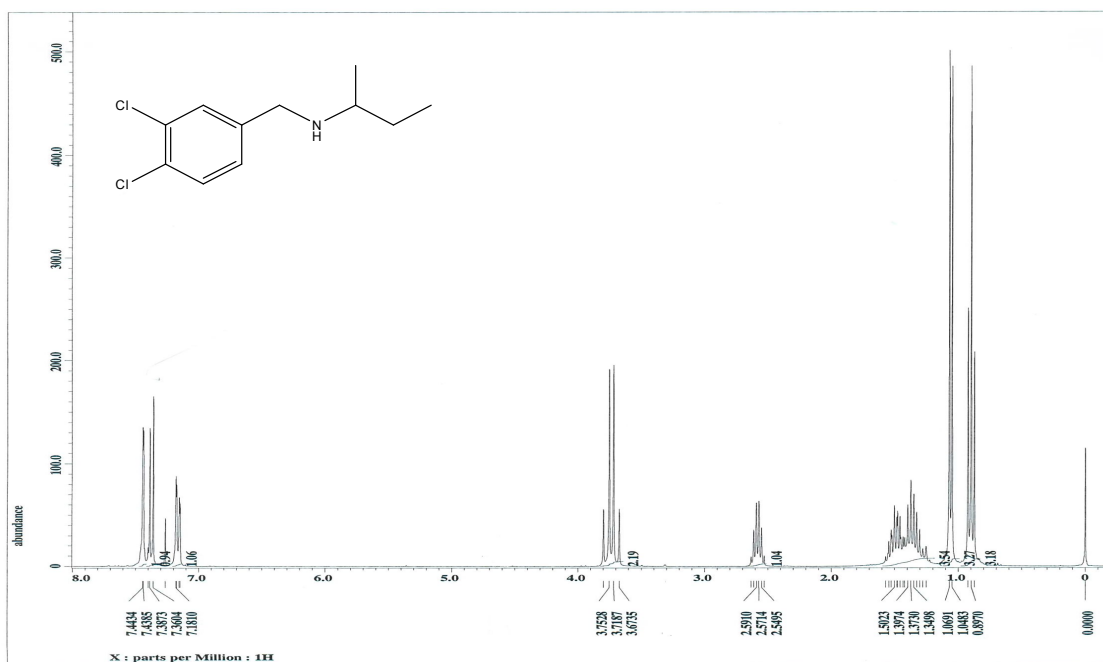
(5) (3,4-Dichlorobenzyl)hexylamine



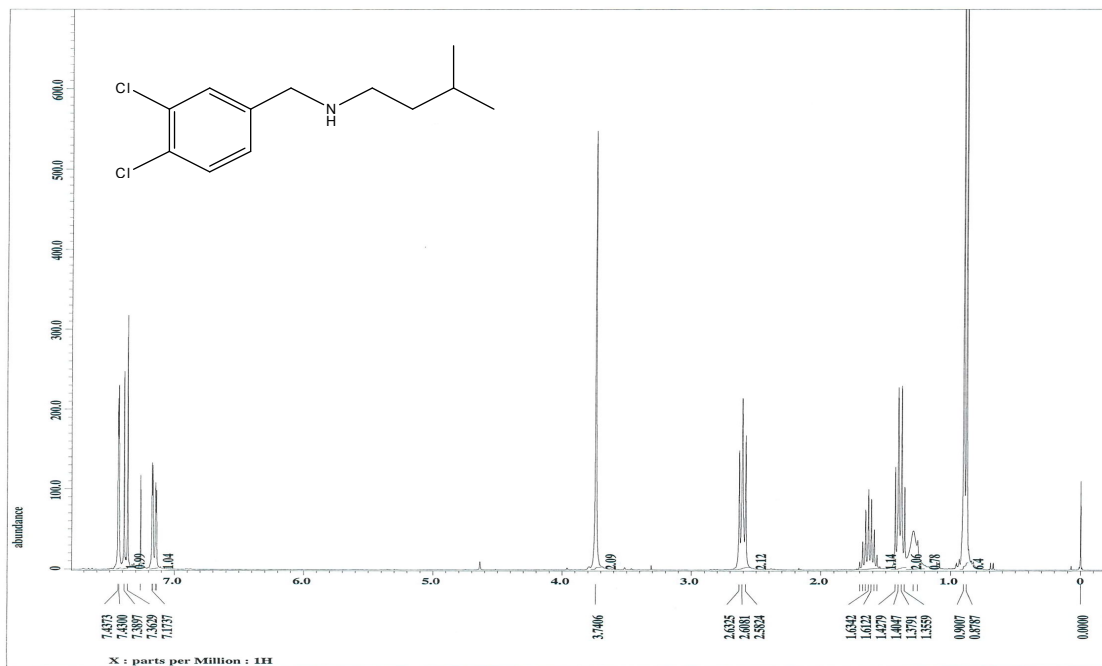
(6) (3,4-Dichlorobenzyl)pentylamine



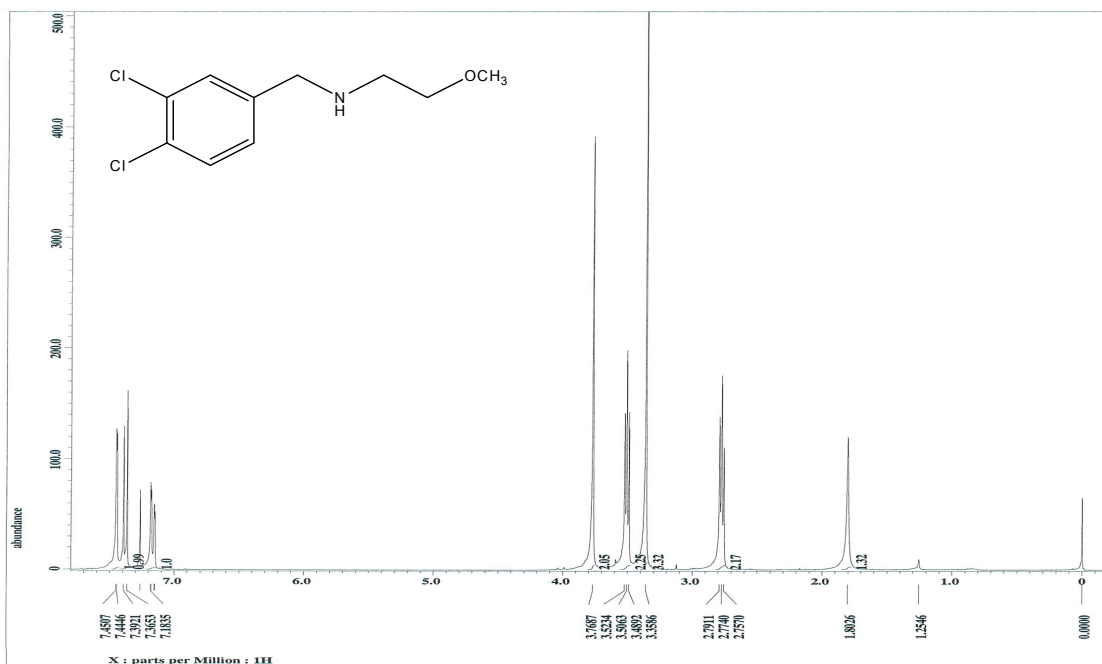
(7) (3,4-Dichlorobenzyl)isobutylamine



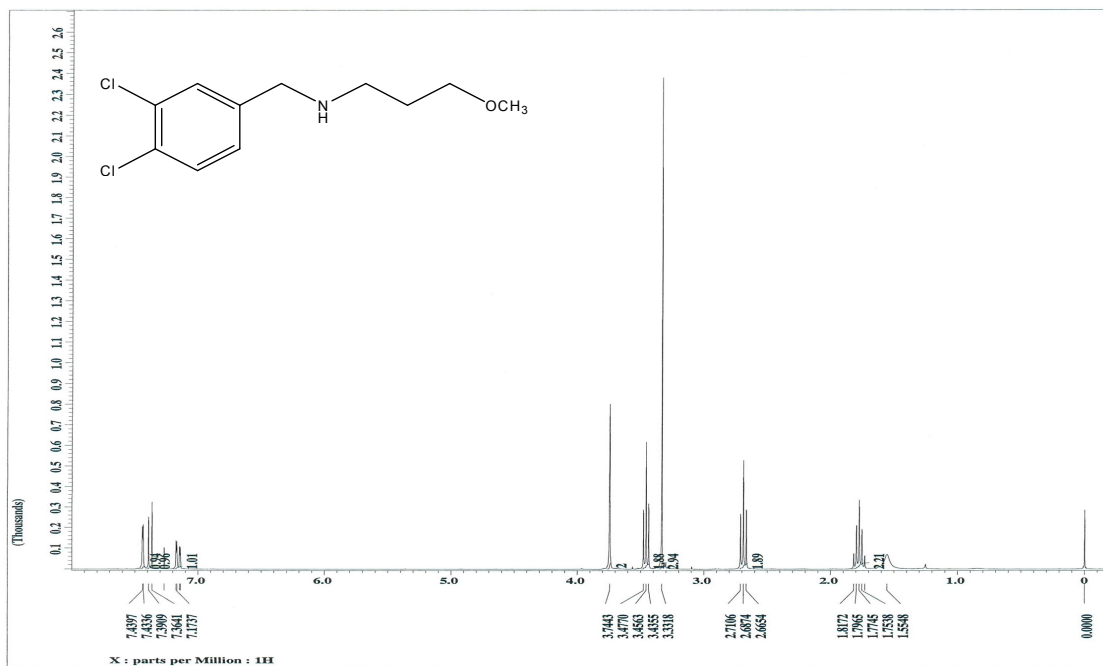
(8) sec-Butyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



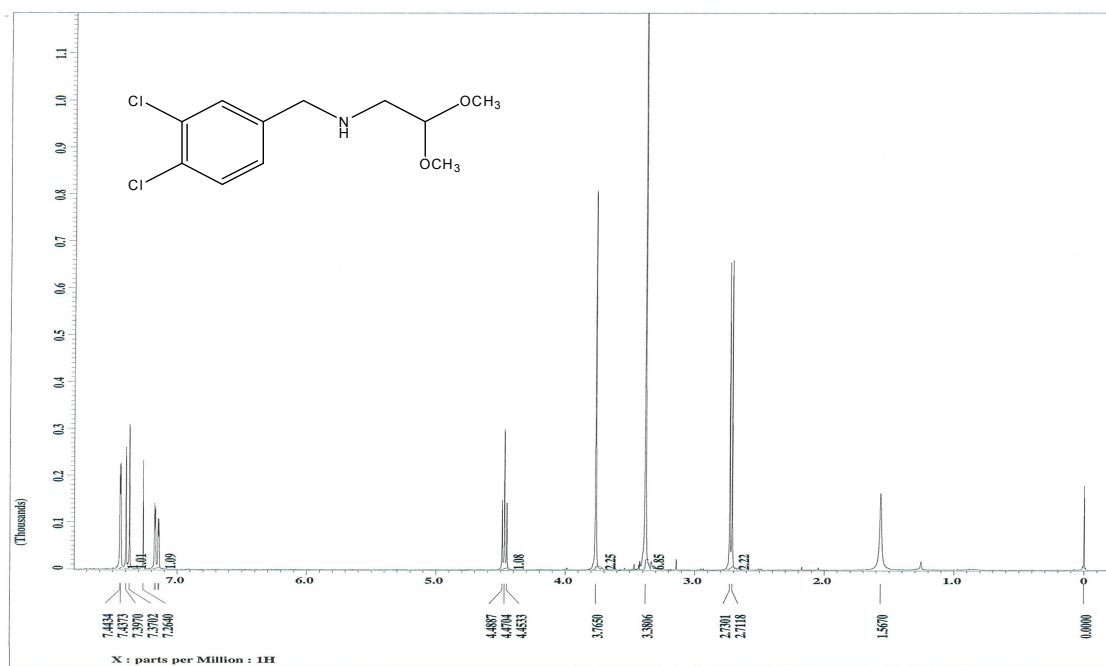
(9) 3,4-Dichlorobenzyl-(3-methylbutyl)amine



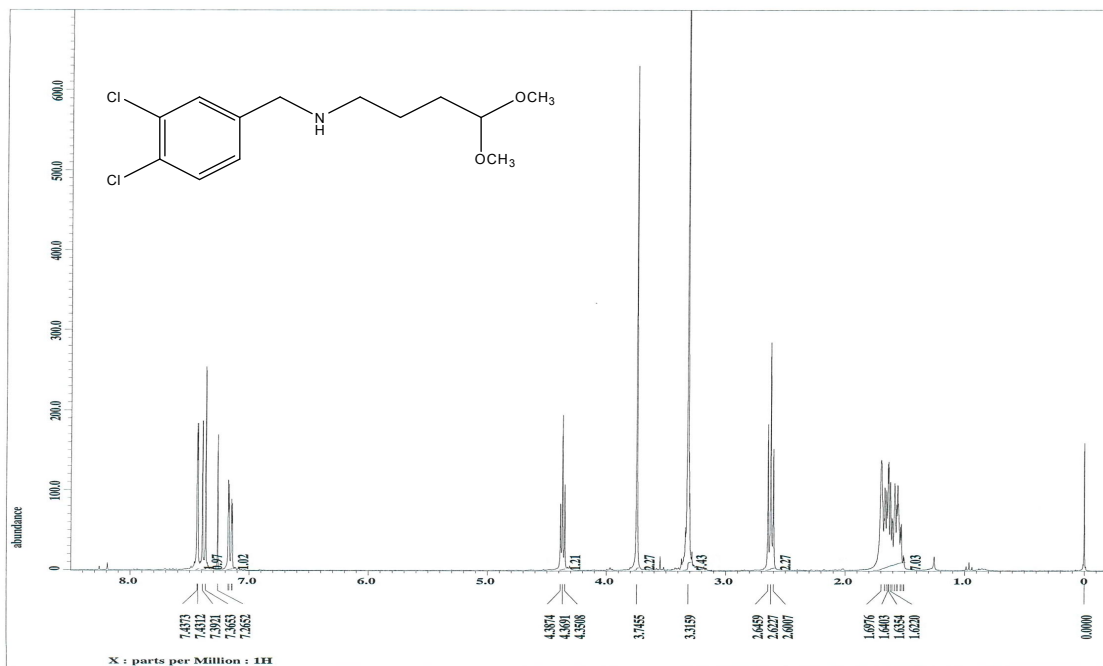
(10) 3,4-Dichlorobenzyl-(2-methoxyethyl)amine



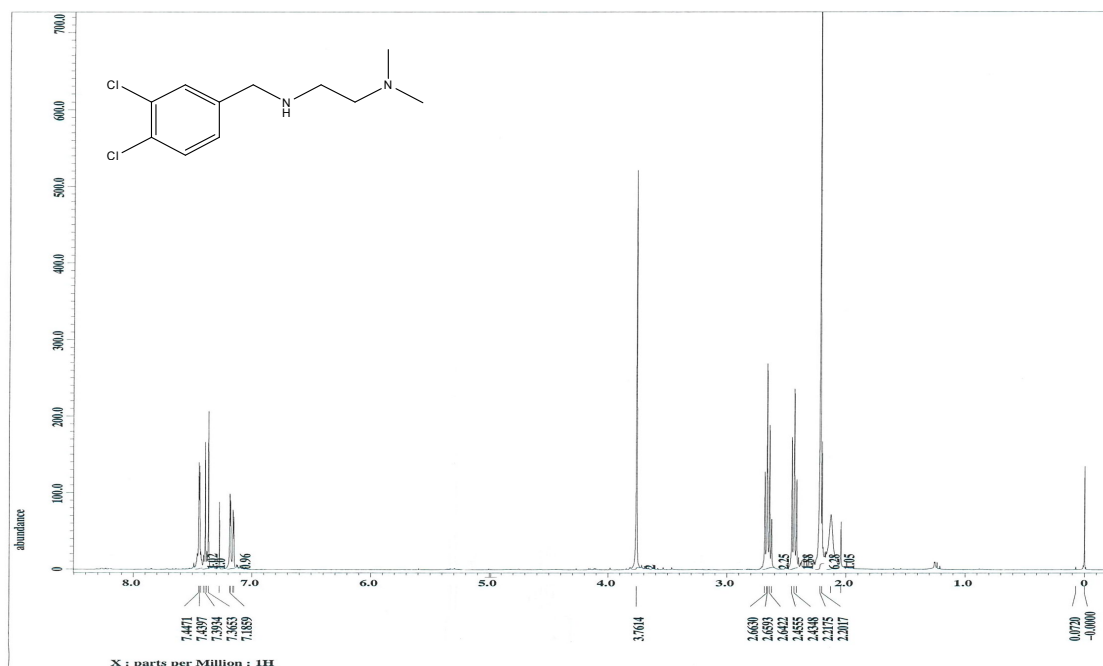
(11) 3,4-Dichlorobenzyl-(3-methoxypropyl)-mine



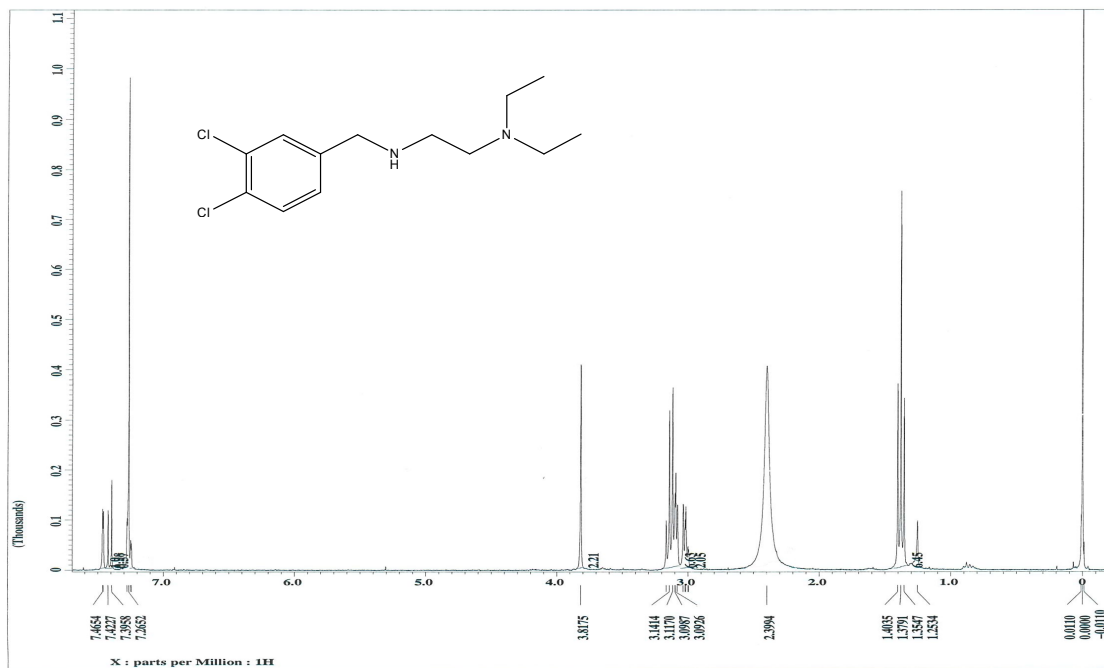
(12) 3,4-Dichlorobenzyl-(2,2-dimethoxyethyl)amine



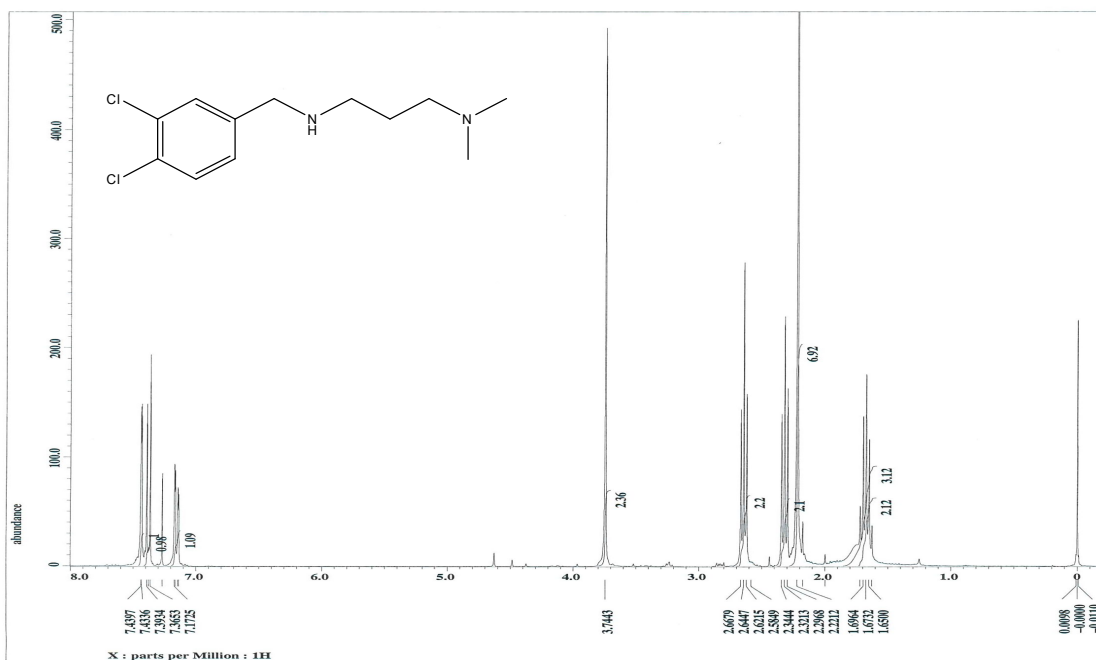
(13) 3,4-Dichlorobenzyl-(4,4-dimethoxybutyl)amine



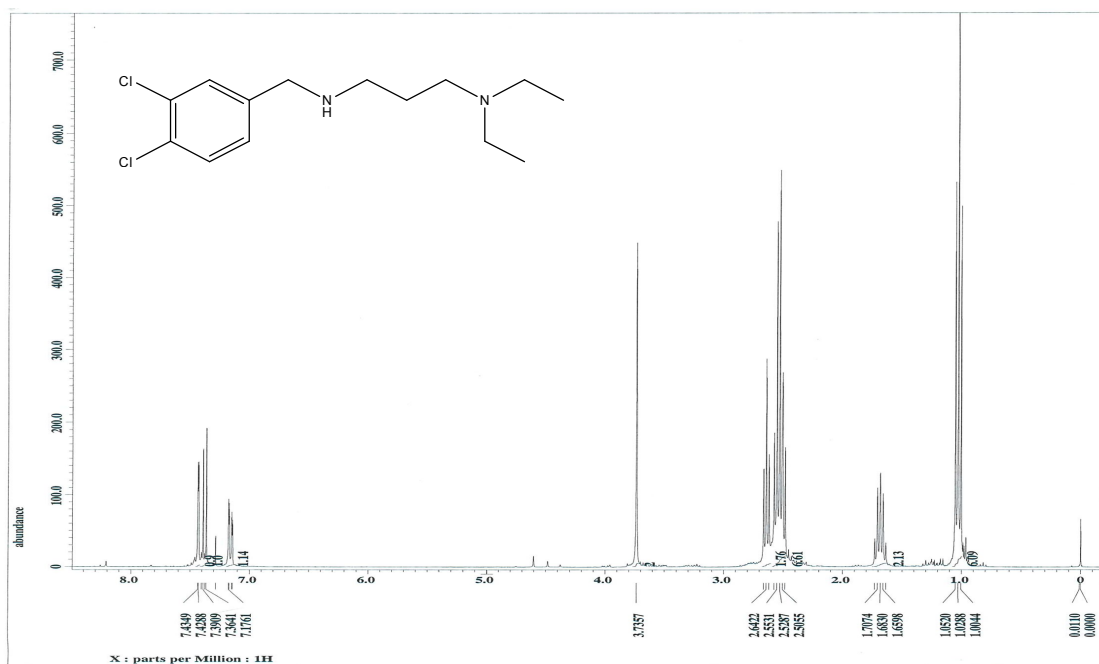
(14) N'-(3,4-Dichlorobenzyl)-N,N-dimethylethane-1,2-diamine



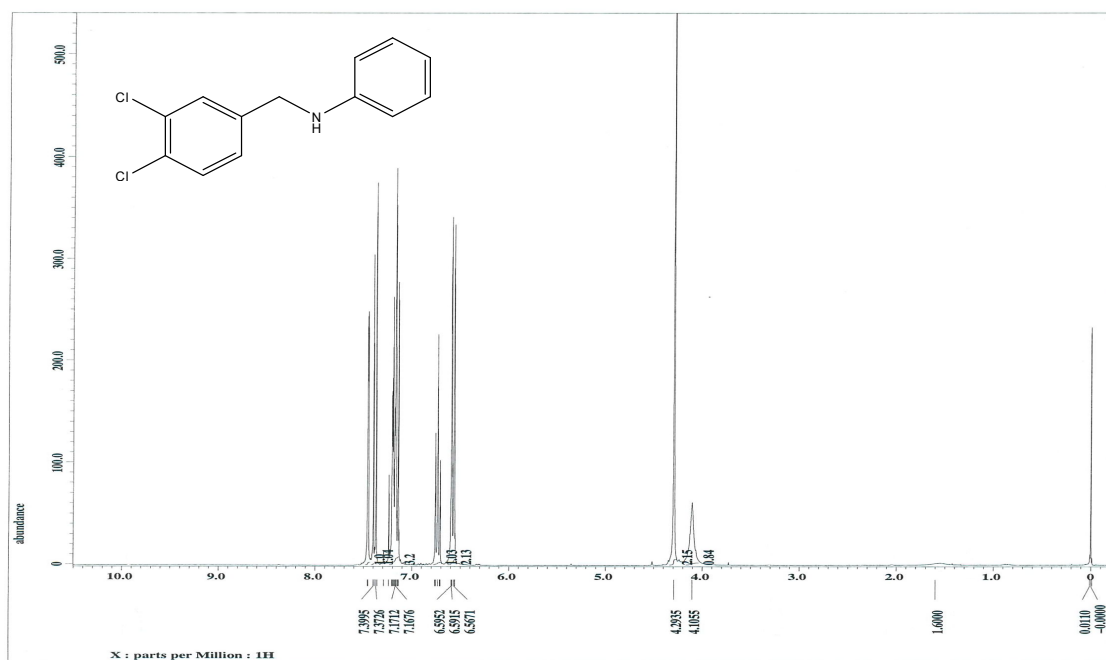
(15) N'-(3,4-Dichlorobenzyl)-N,N-diethylethane-1,2-diamine



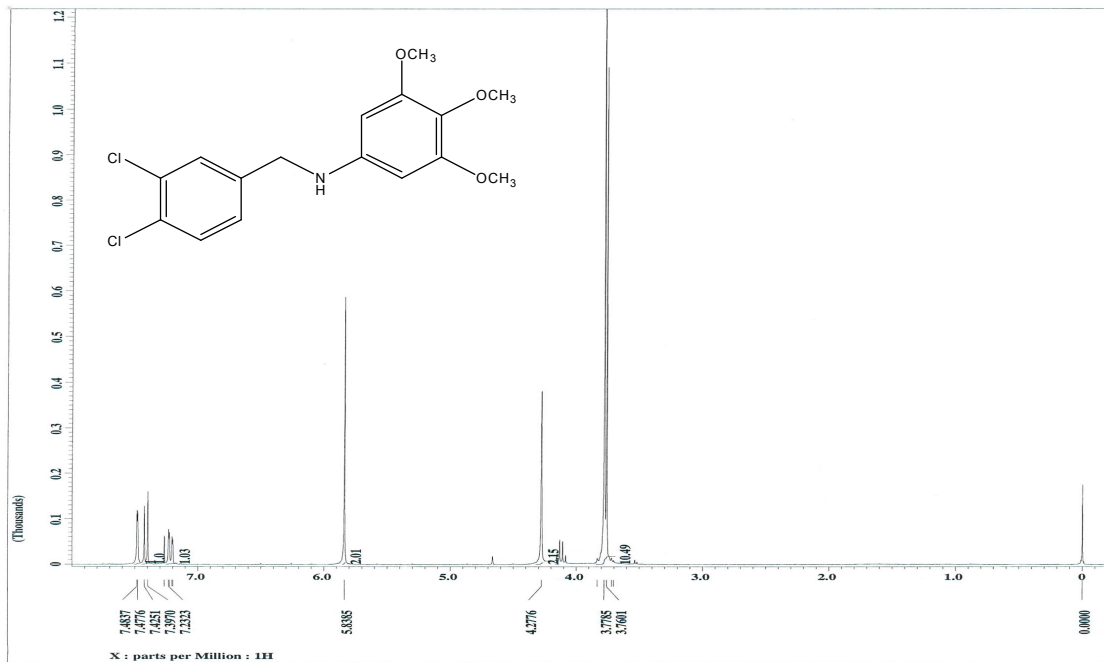
(16) N'-(3,4-Dichlorobenzyl)-N,N-dimethylpropane-1,3-diamine



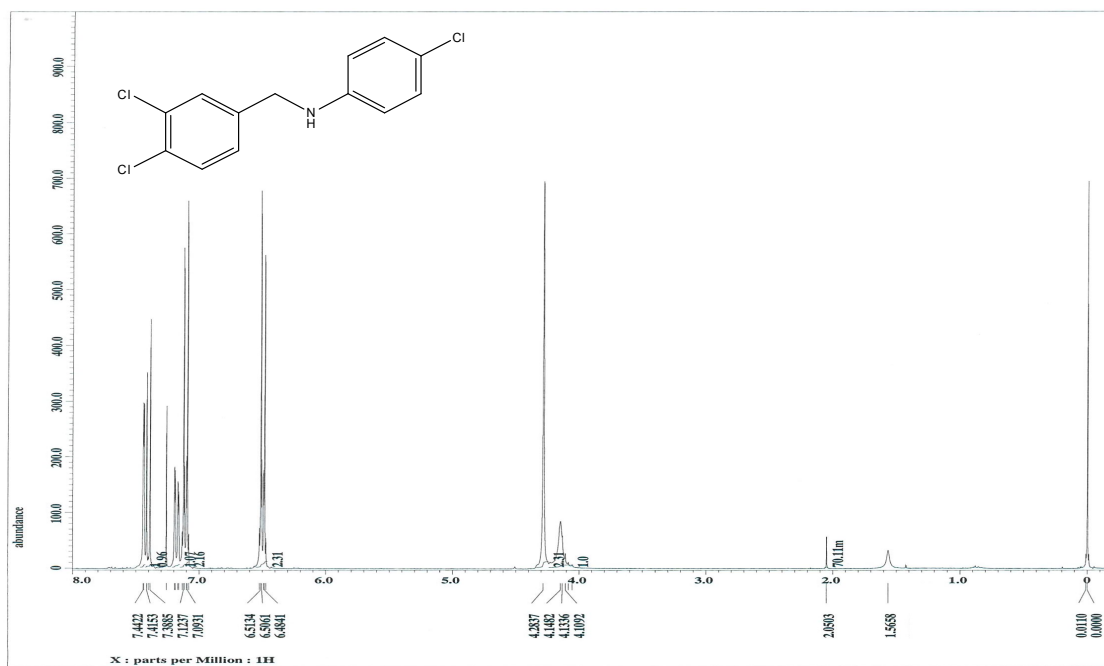
(17) N'-(3,4-Dichlorobenzyl)-N,N-diethylpropane-1,3-diamine



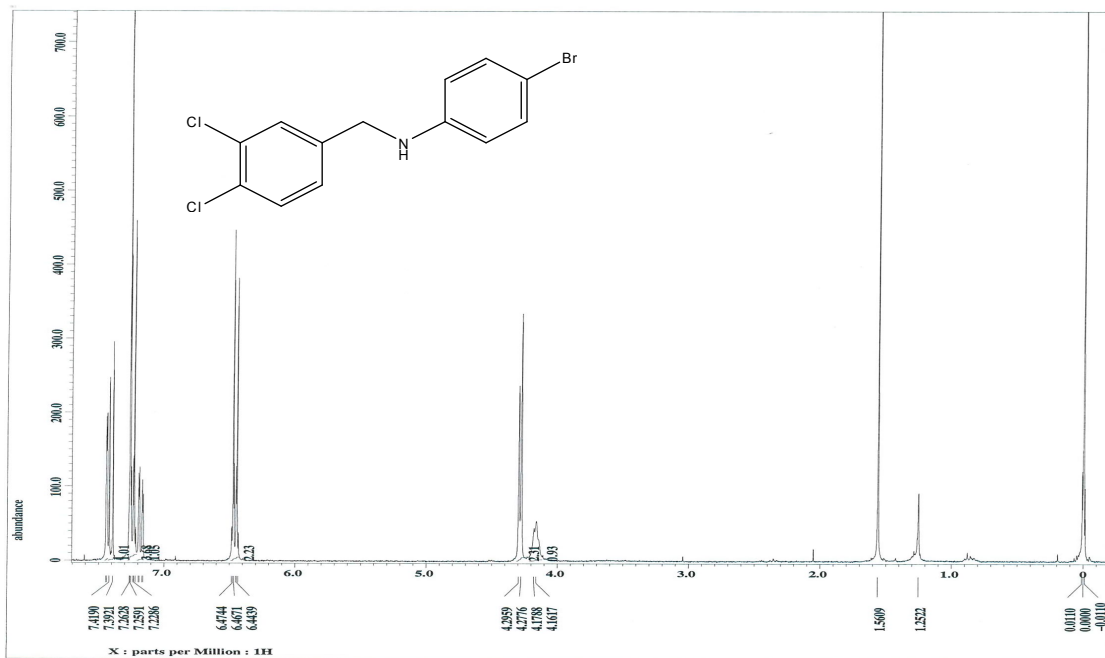
(18) (3,4-Dichlorobenzyl)phenylamine



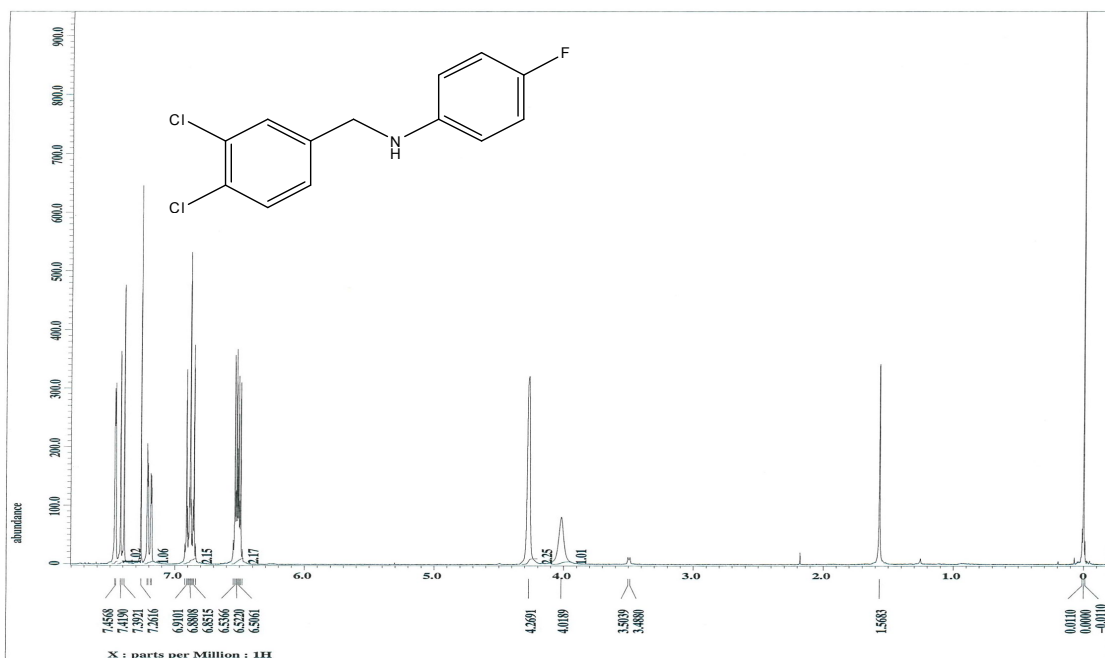
(19) 3,4-Dichlorobenzyl-(3,4,5-trimethoxyphenyl)amine



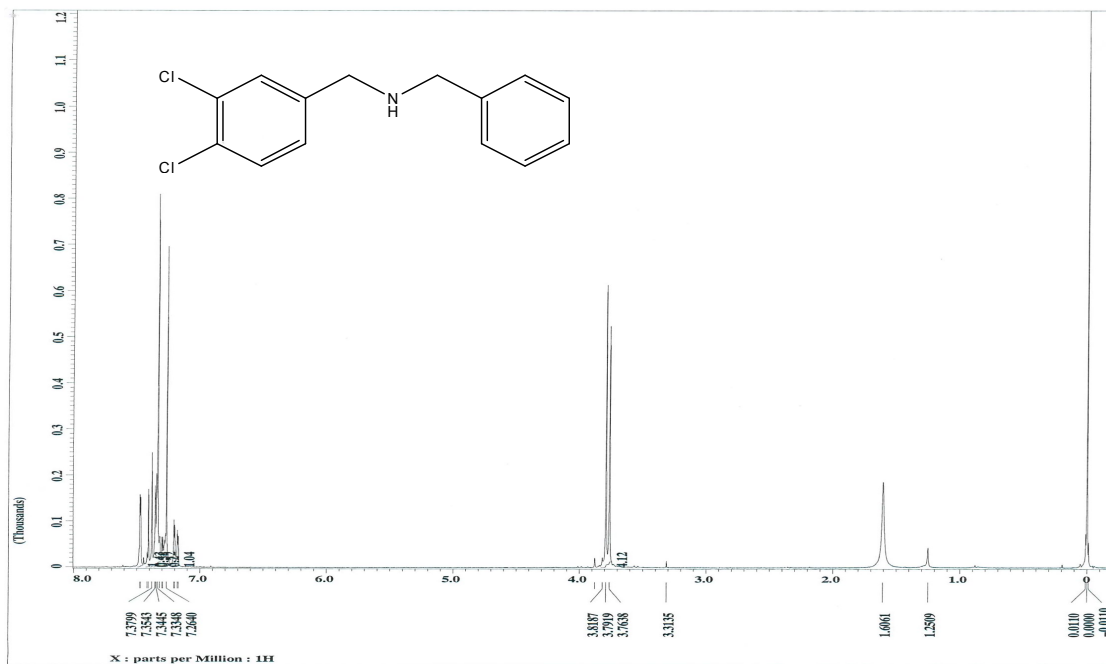
(20) 4-Chlorophenyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



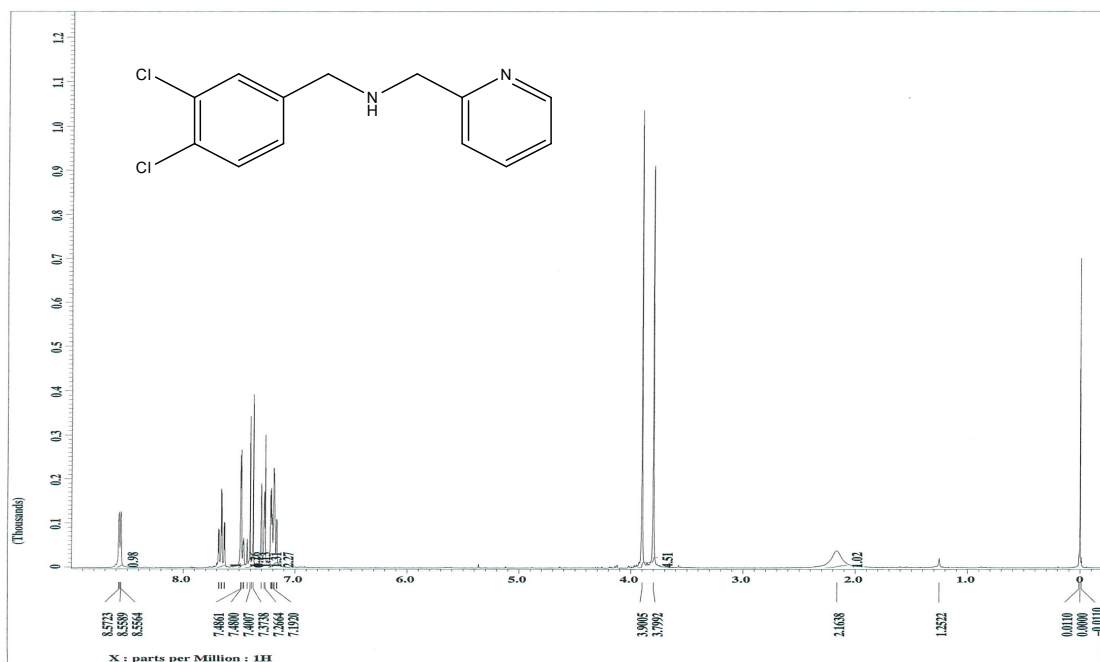
(21) 4-Bromophenyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



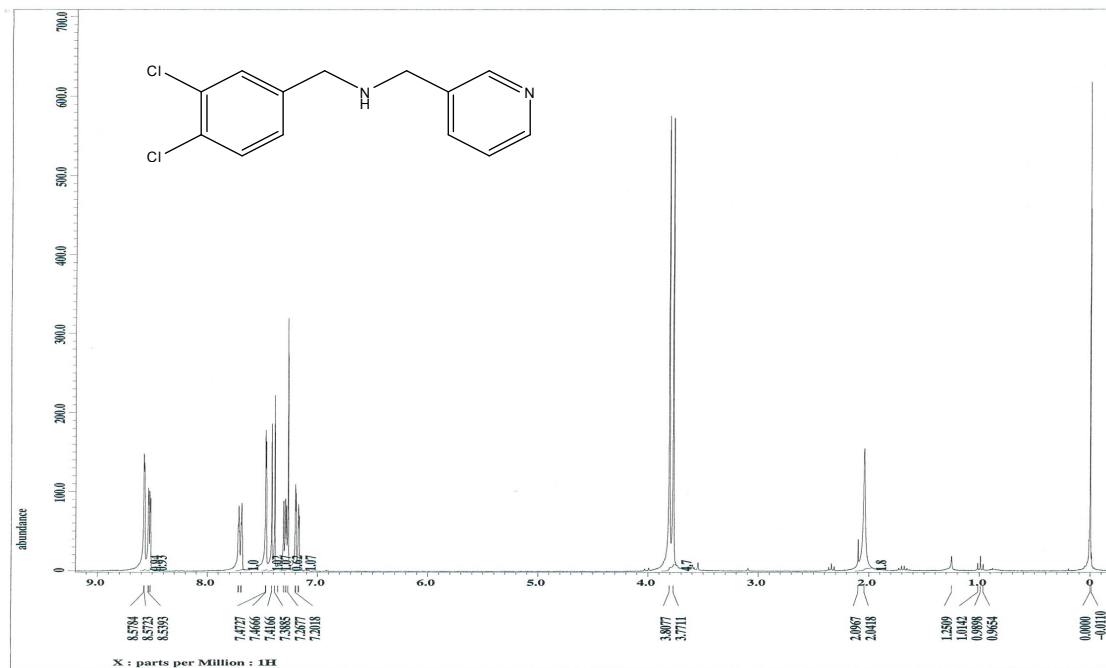
(22) 3,4-Dichlorobenzyl-(4-fluorophenyl)amine



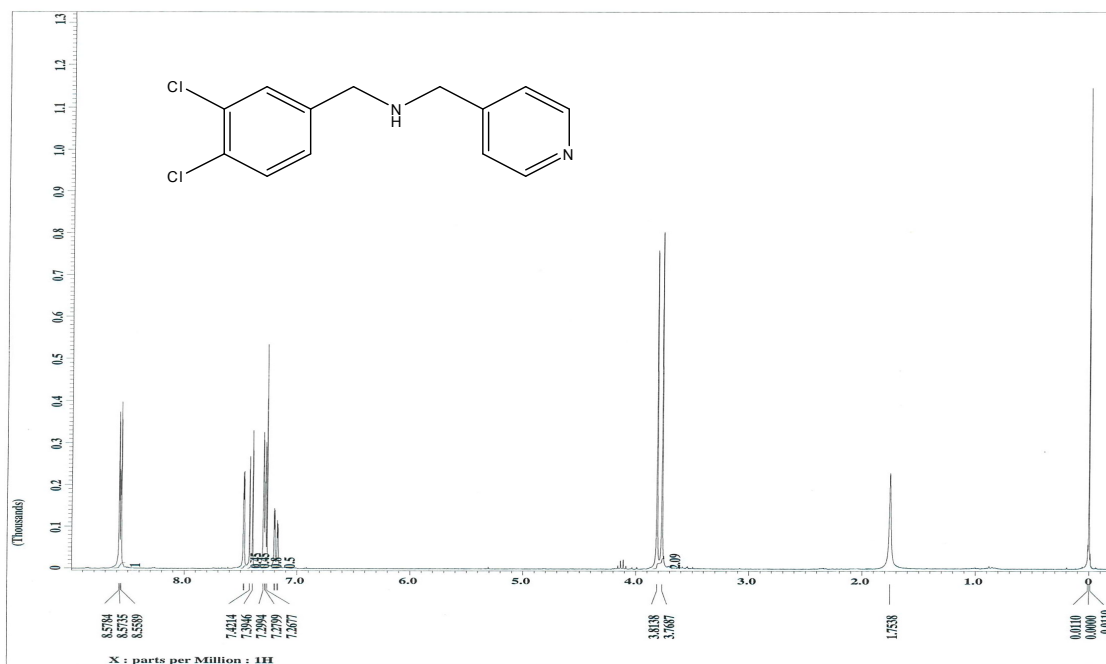
(23) Benzyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



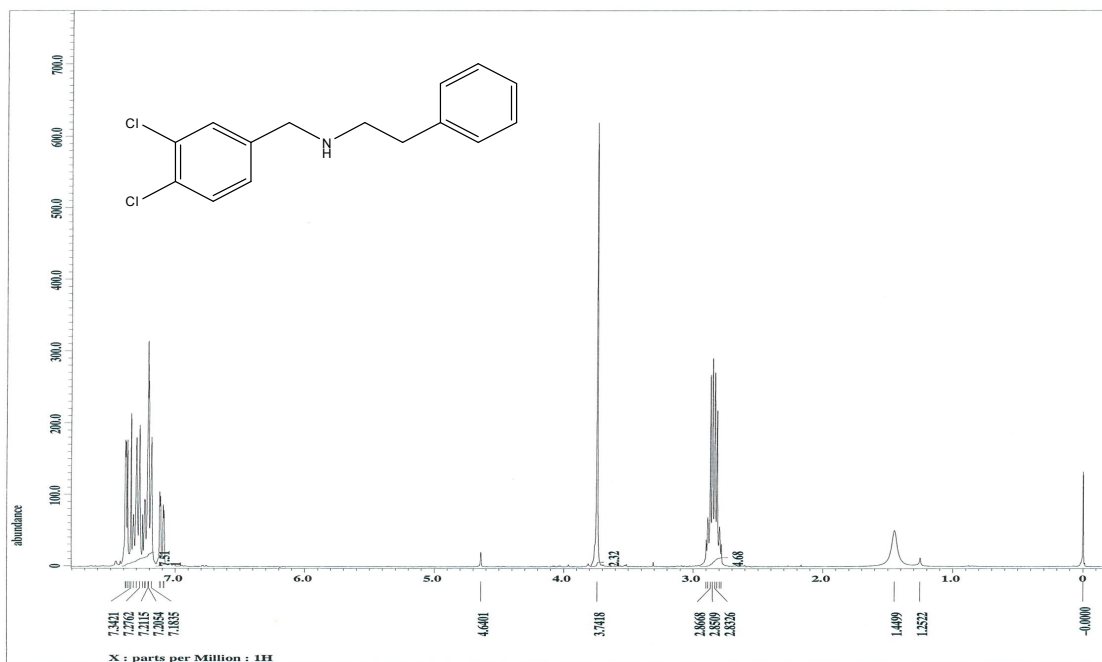
(24) (3,4-Dichlorobenzyl)pyridin-2-ylmethanamine



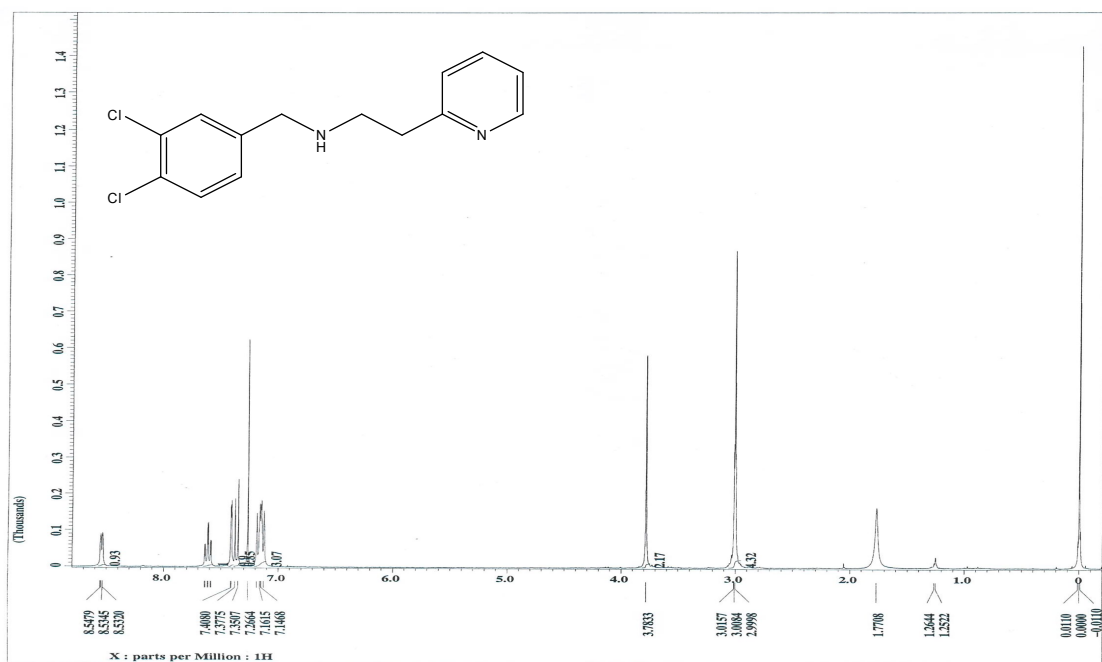
(25) (3,4-Dichlorobenzyl)pyridin-3-ylmethanamine



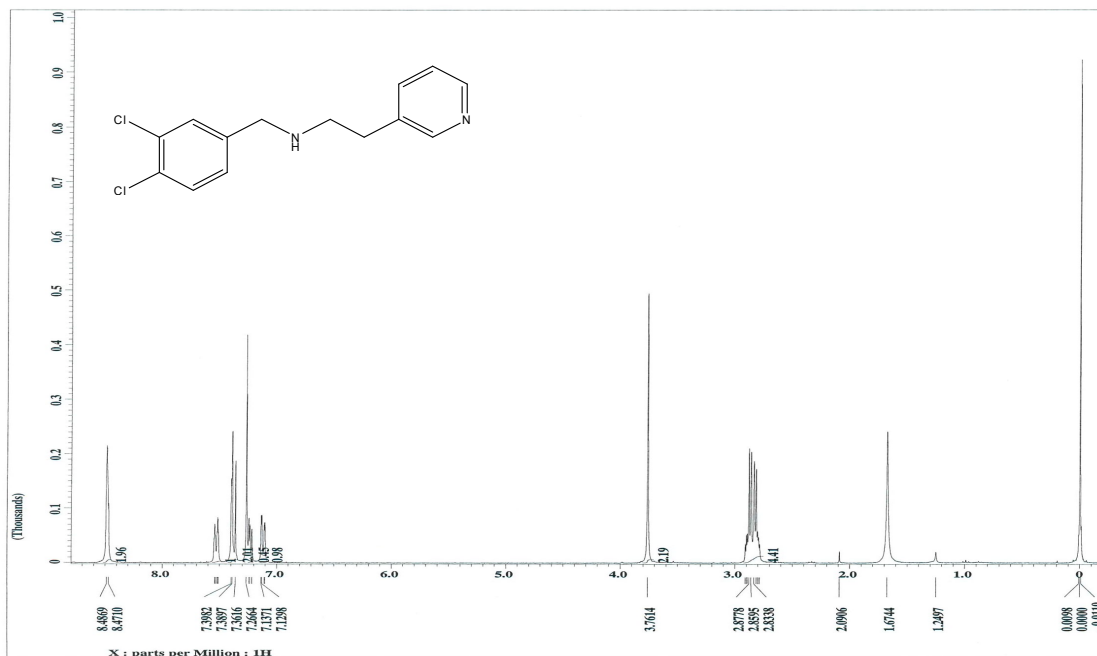
(26) (3,4-Dichlorobenzyl)pyridin-4-ylmethanamine



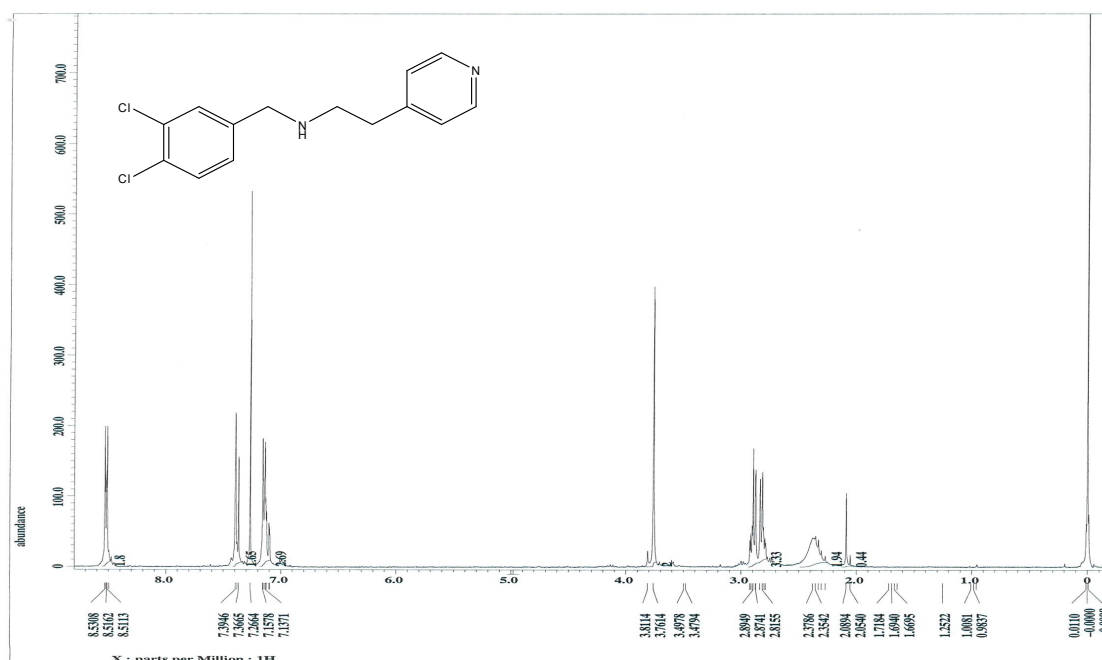
(27) (3,4-Dichlorobenzyl)phenethylamine



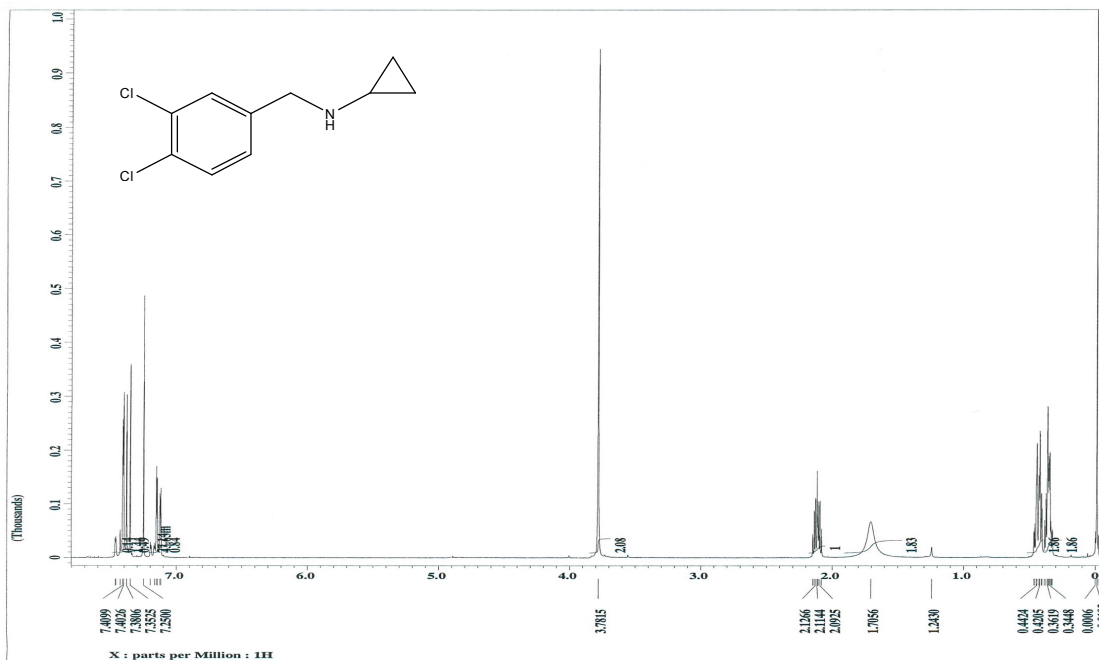
(28) 3,4-Dichlorobenzyl-(2-pyridin-2-yl-ethyl)amine



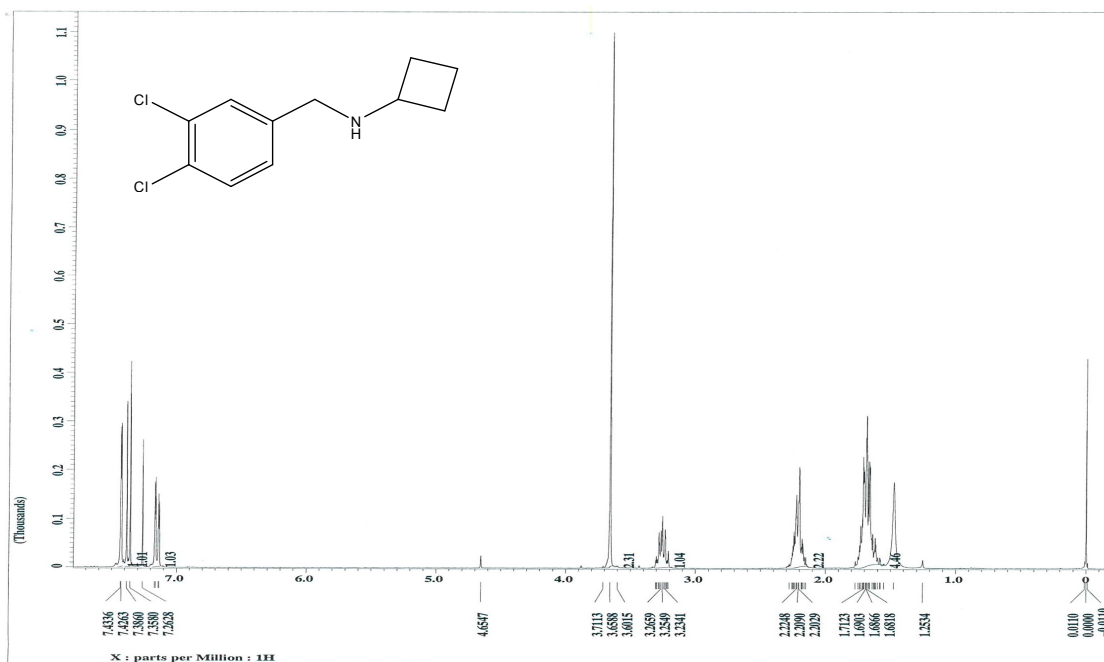
(29) 3,4-Dichlorobenzyl-(2-pyridin-3-yl-ethyl)amine



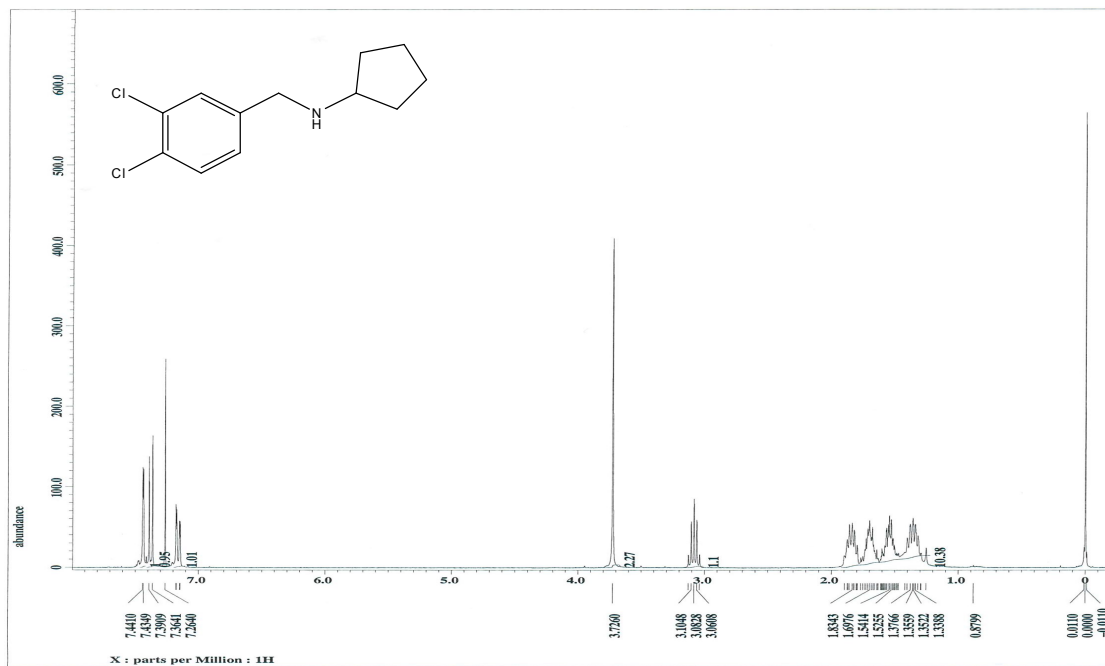
(30) 3,4-Dichlorobenzyl-(2-pyridin-4-yl-ethyl)amine



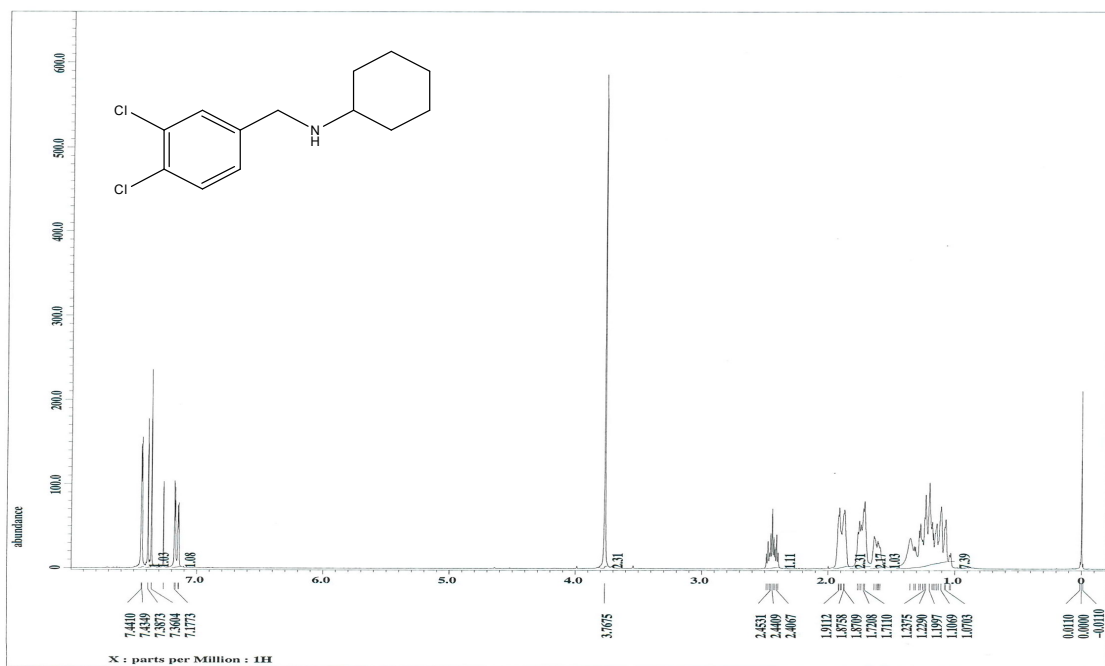
(31) Cyclopropyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



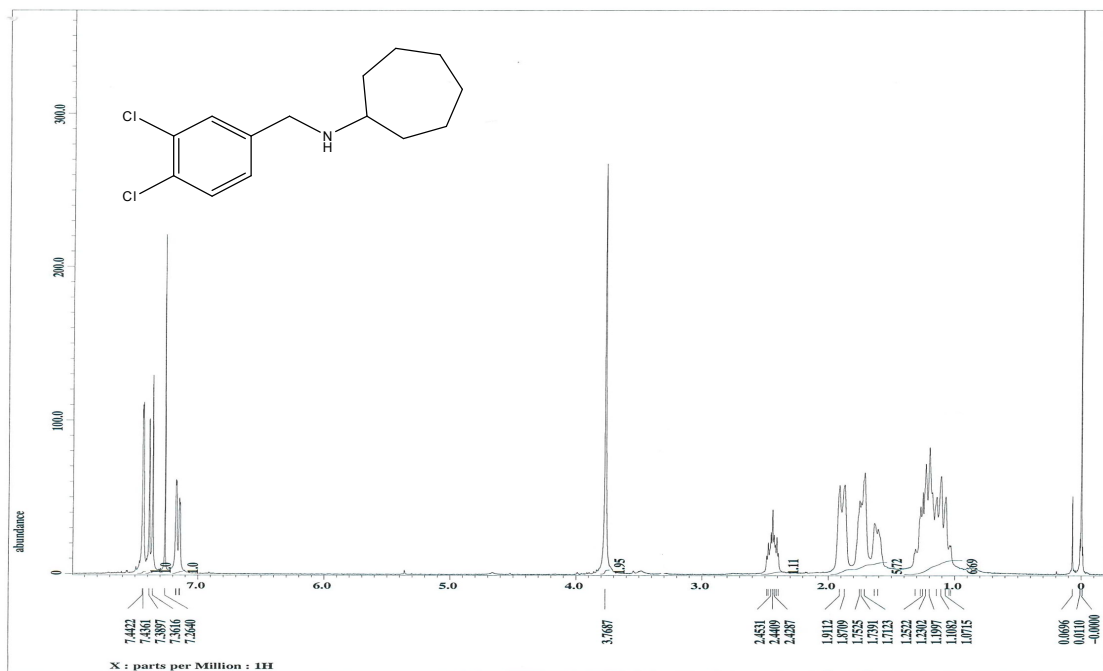
(32) Cyclobutyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



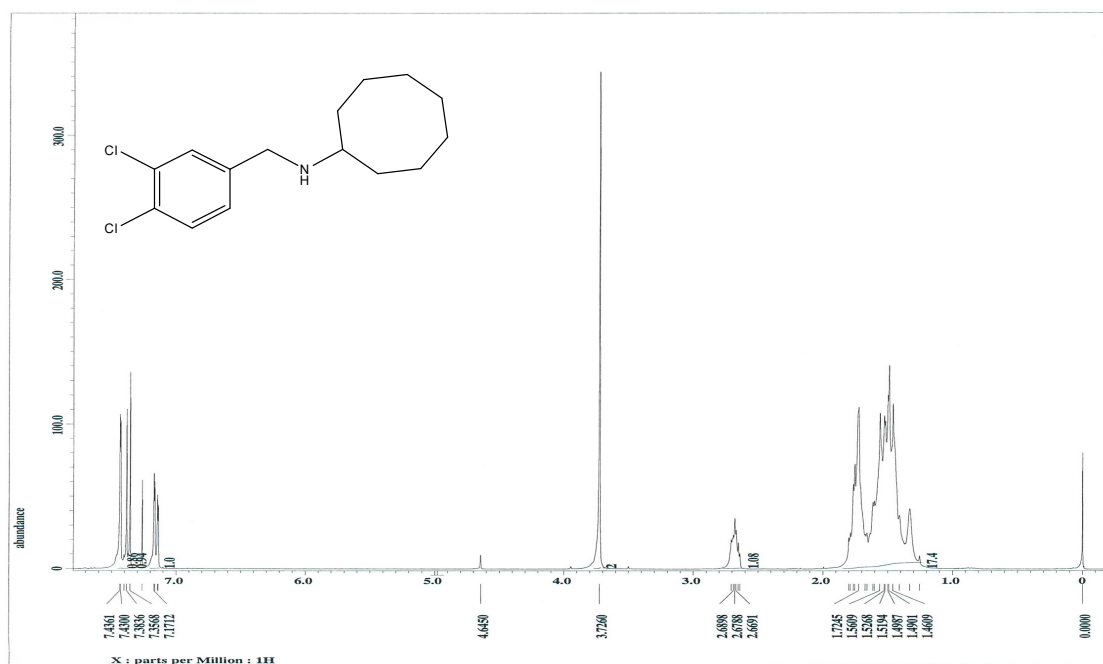
(33) Cyclopentyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



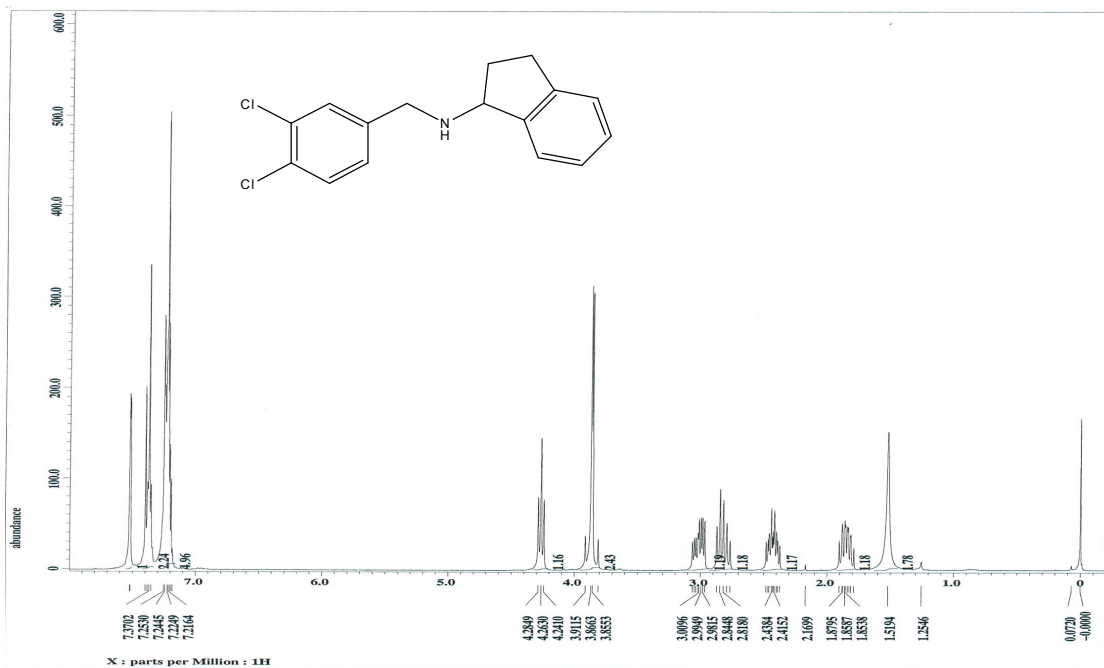
(34) Cyclohexyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



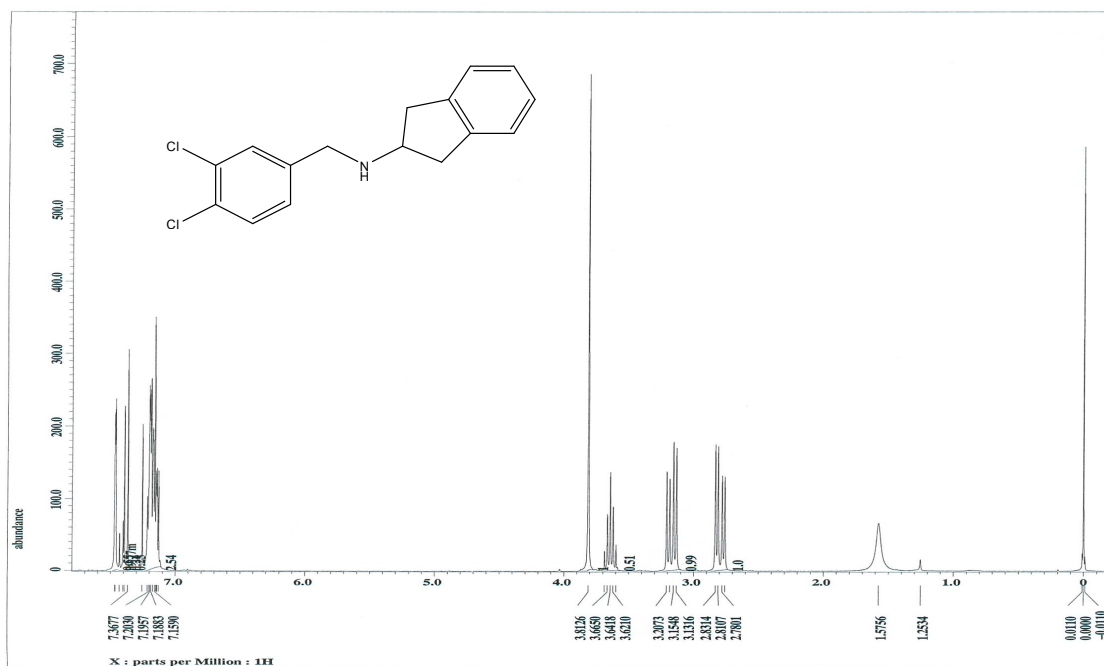
(35) Cycloheptyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



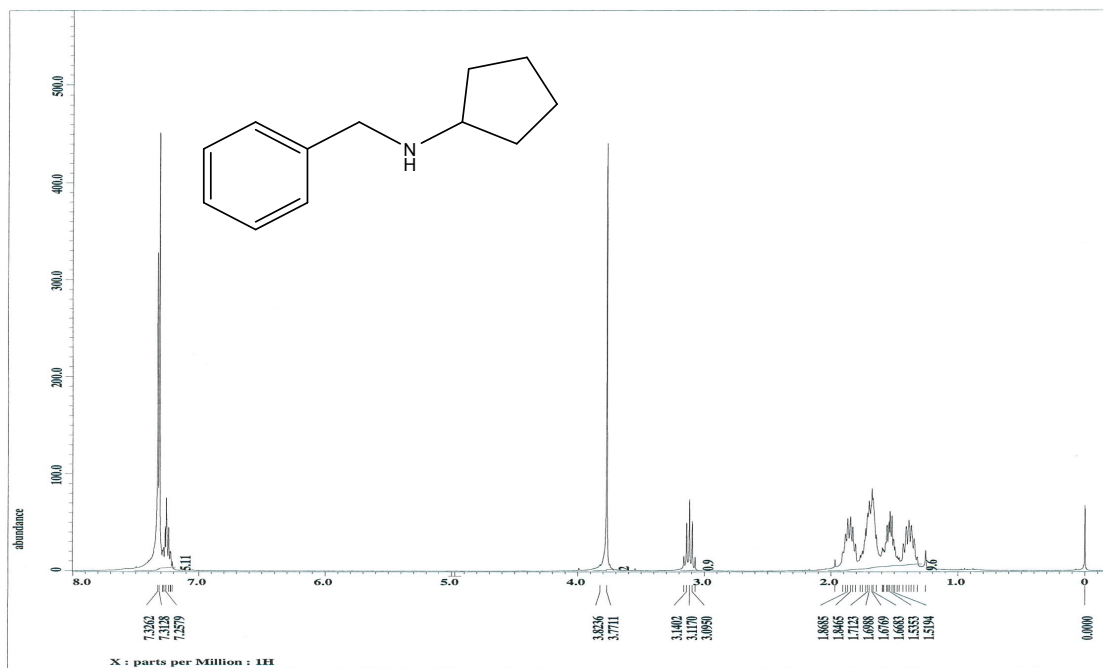
(36) Cyclooctyl-(3,4-dichlorobenzyl)amine



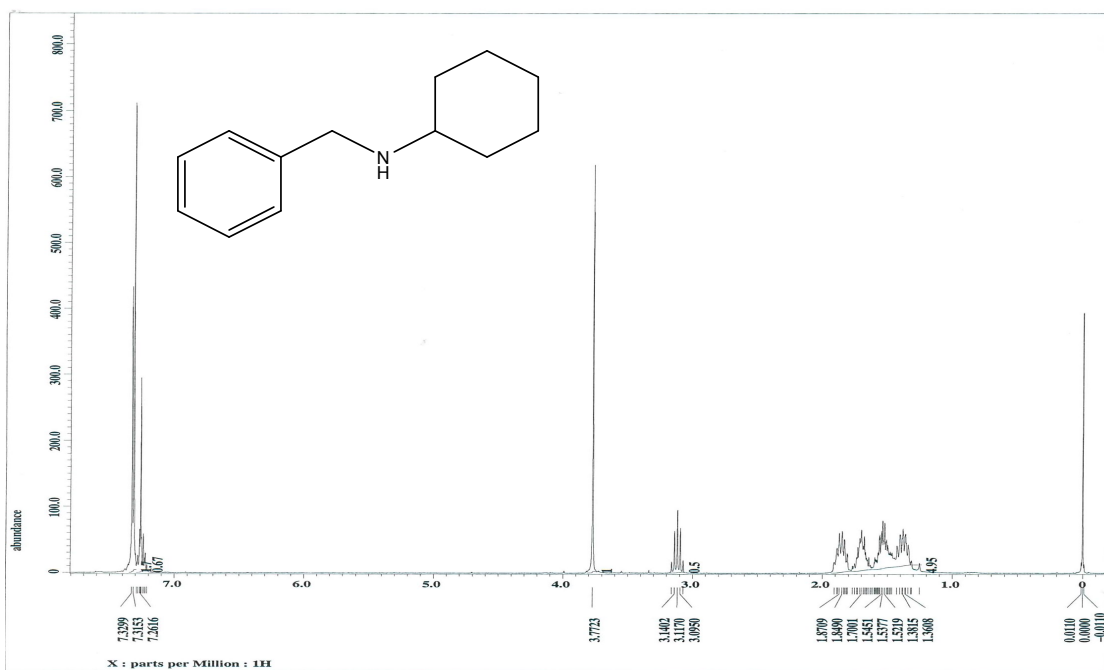
(37) (3,4-Dichlorobenzyl)indan-1-yl-amine



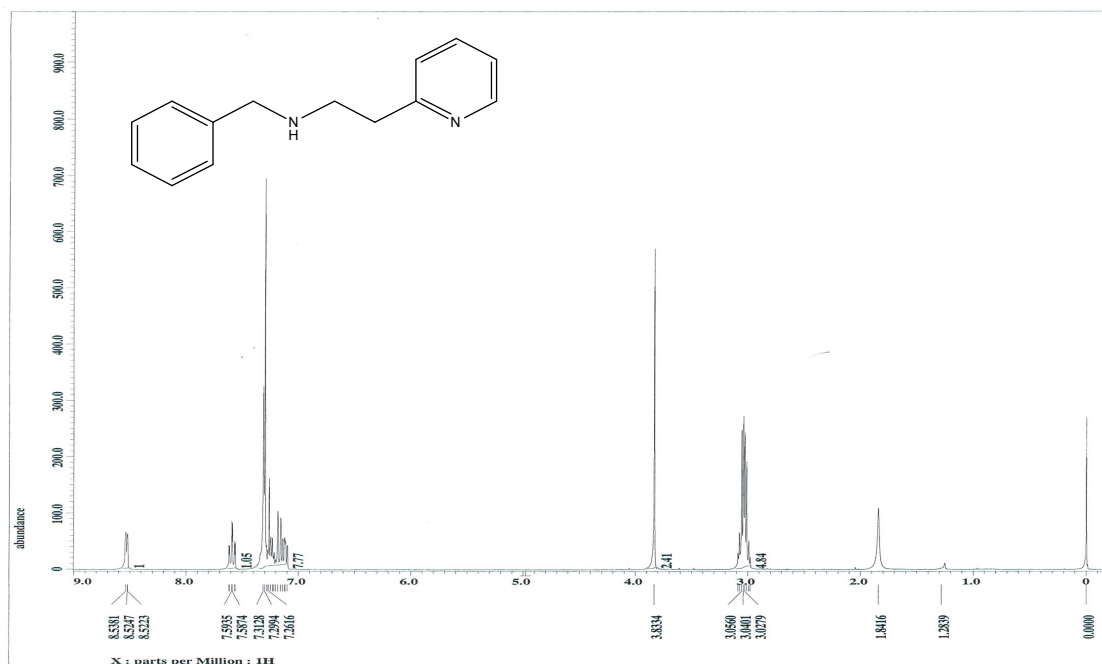
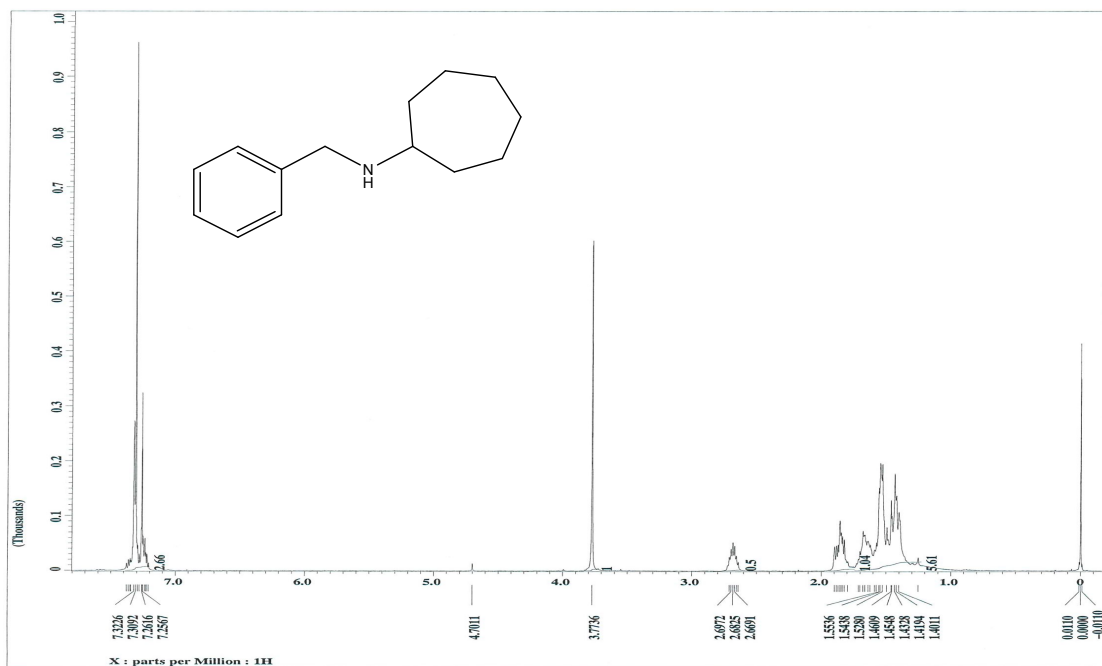
(38) (3,4-Dichlorobenzyl)indan-2-yl-amine

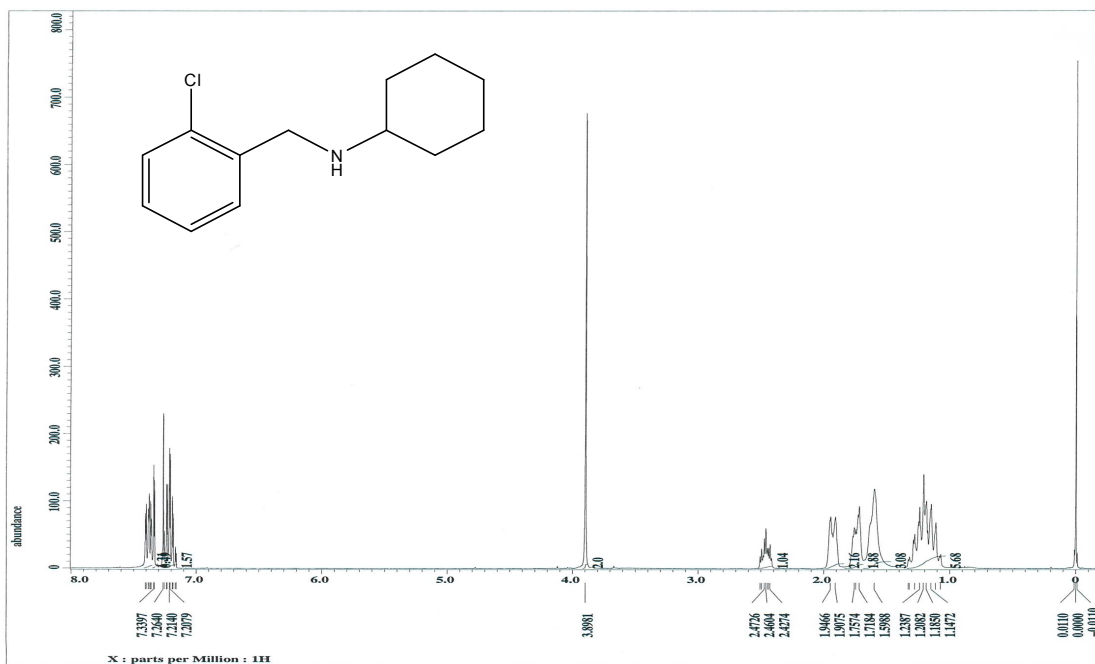


(39) Benzylcyclopentylamine

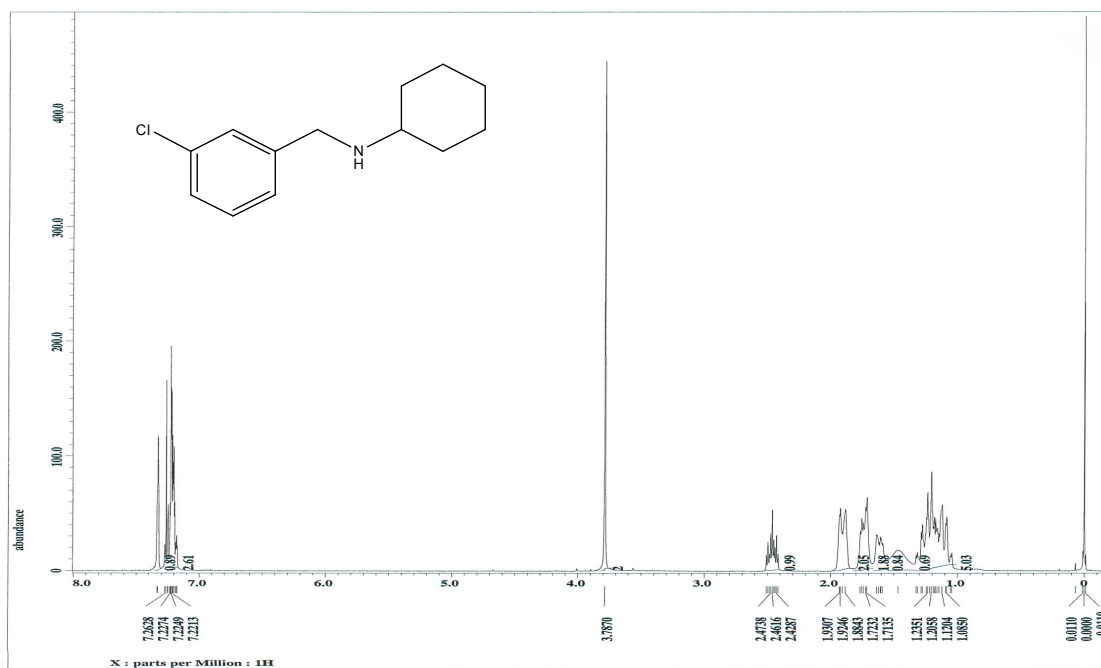


(40) Benzylcyclohexylamine

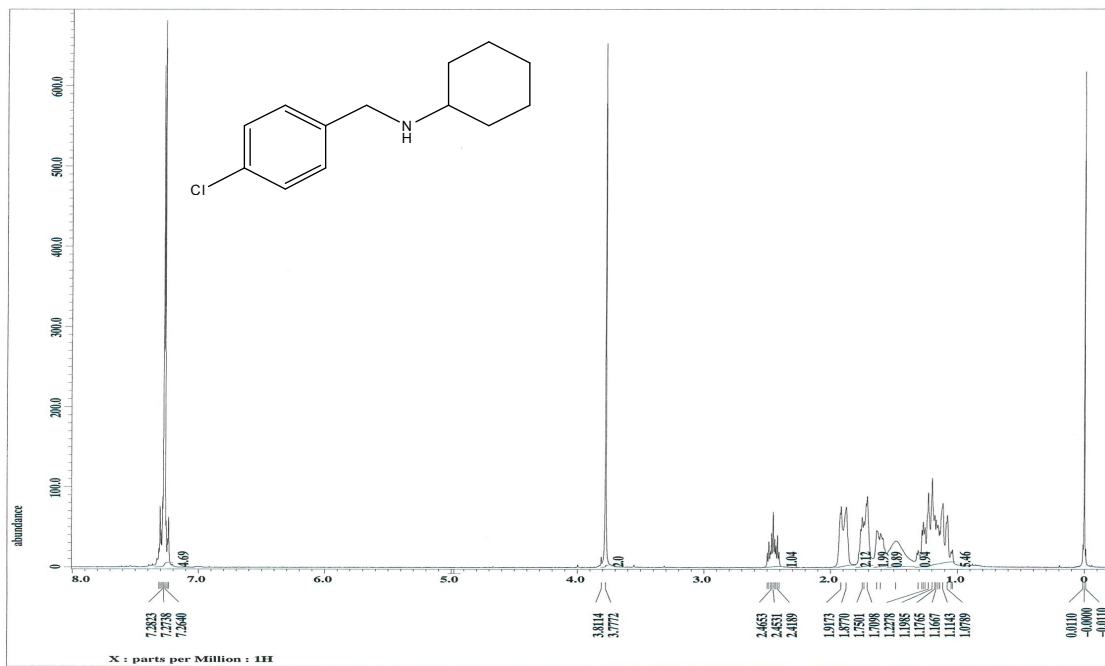




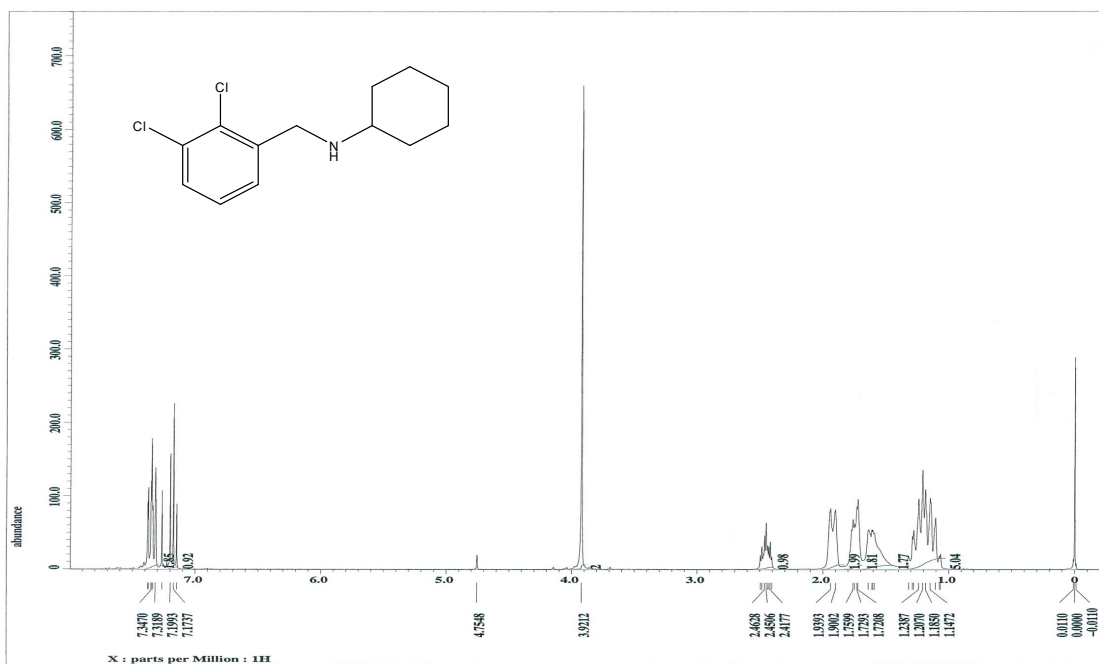
(43) (2-Chloro-benzyl)cyclohexylamine



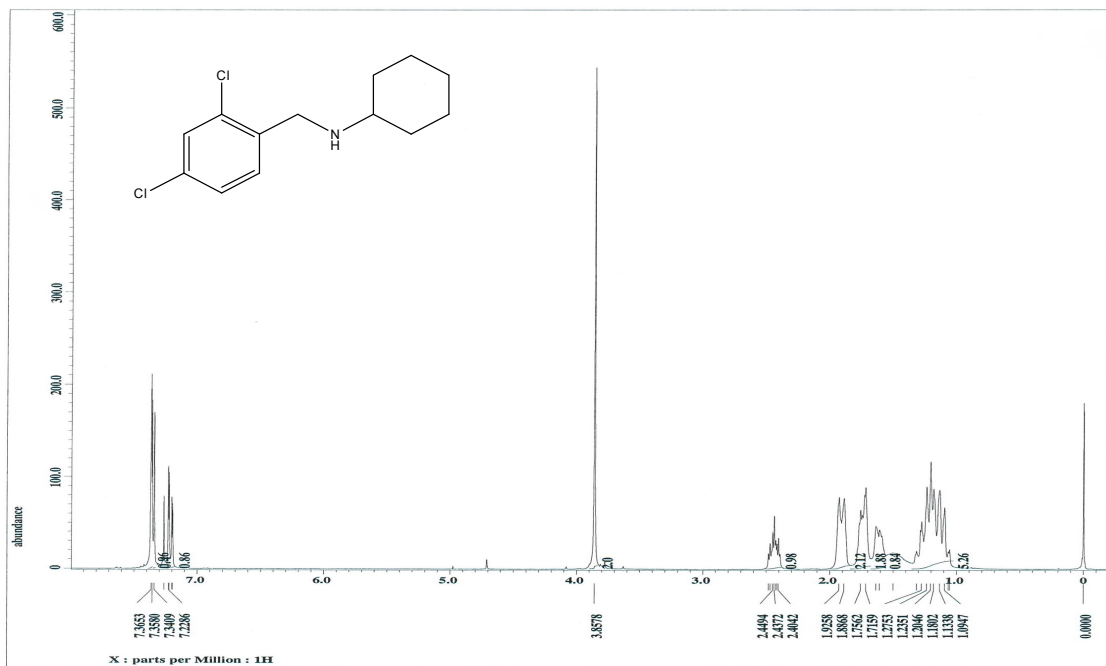
(44) (3-Chloro-benzyl)cyclohexylamine



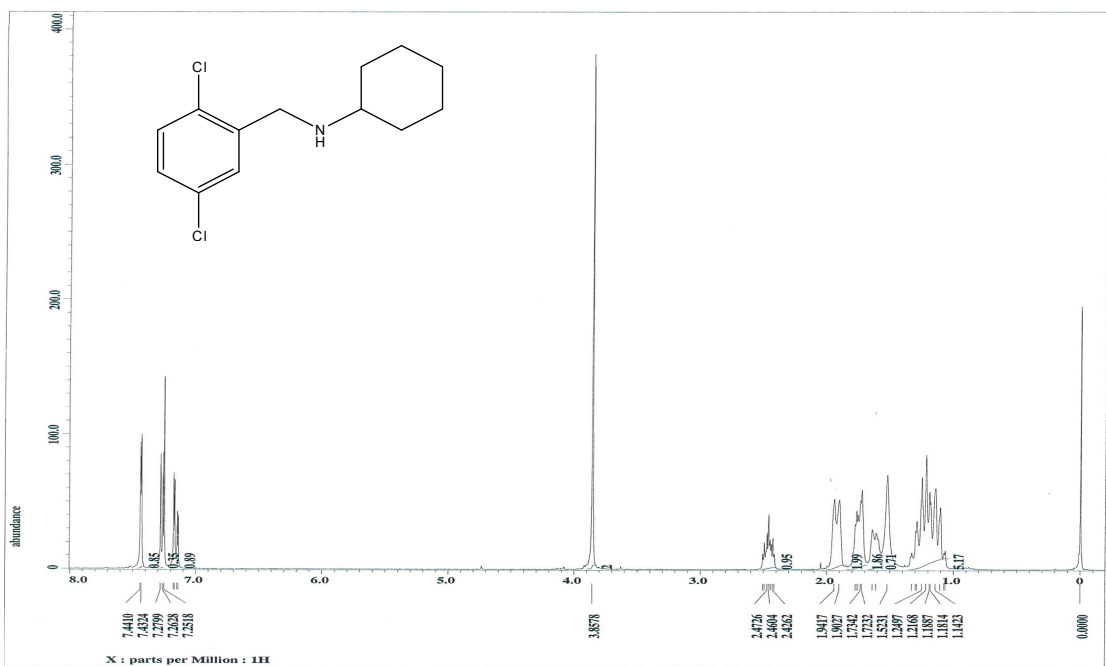
(45) (4-Chloro-benzyl)cyclohexylamine



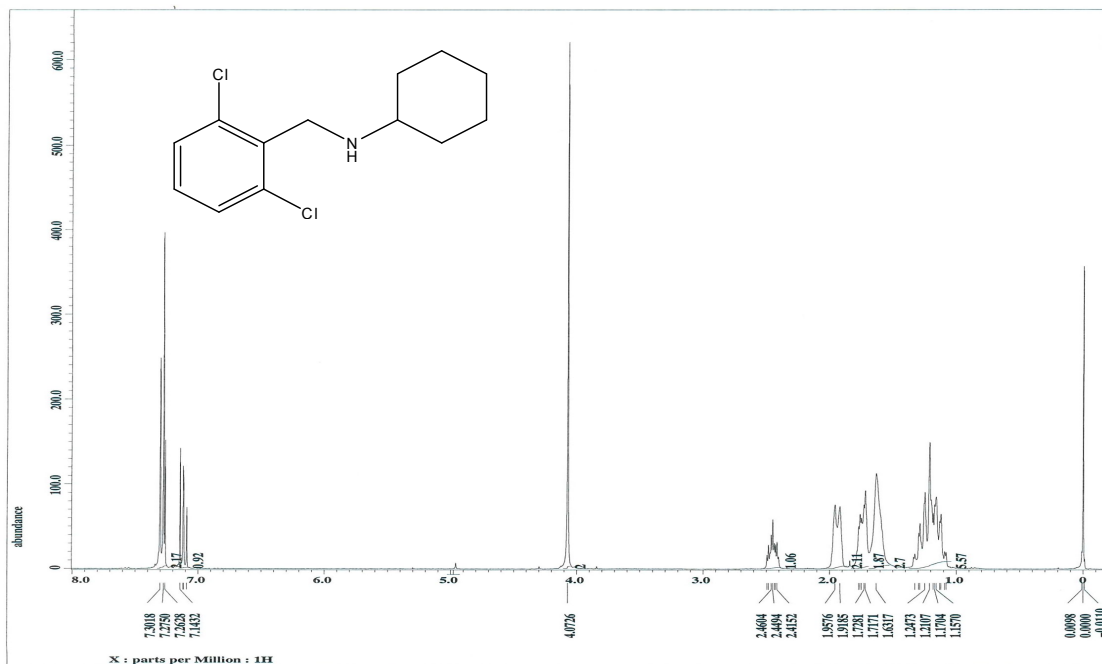
(46) Cyclohexyl-(2,3-dichlorobenzyl)amine



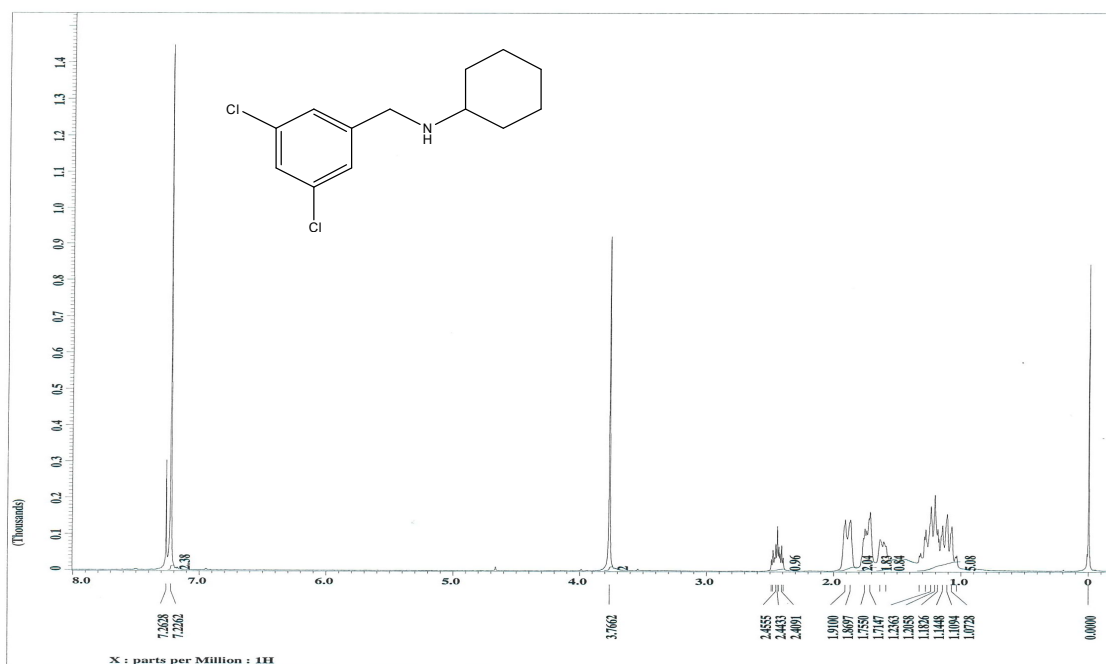
(47) Cyclohexyl-(2,4-dichlorobenzyl)amine



(48) Cyclohexyl-(2,5-dichlorobenzyl)amine



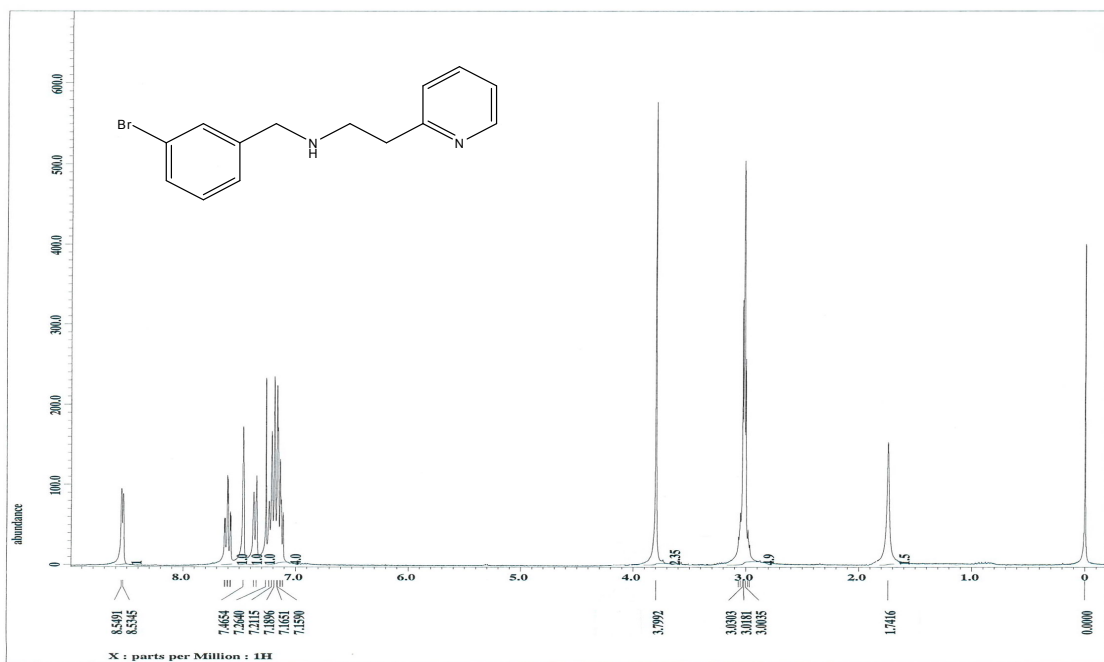
(49) Cyclohexyl-(2,6-dichlorobenzyl)amine



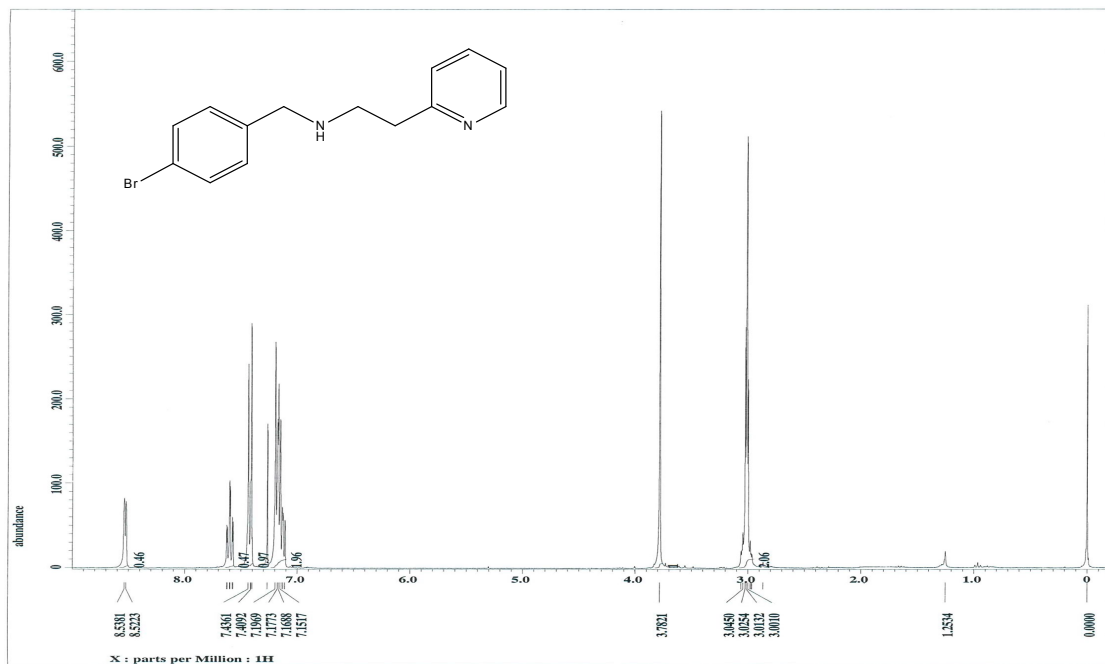
(50) Cyclohexyl-(3,5-dichlorobenzyl)amine



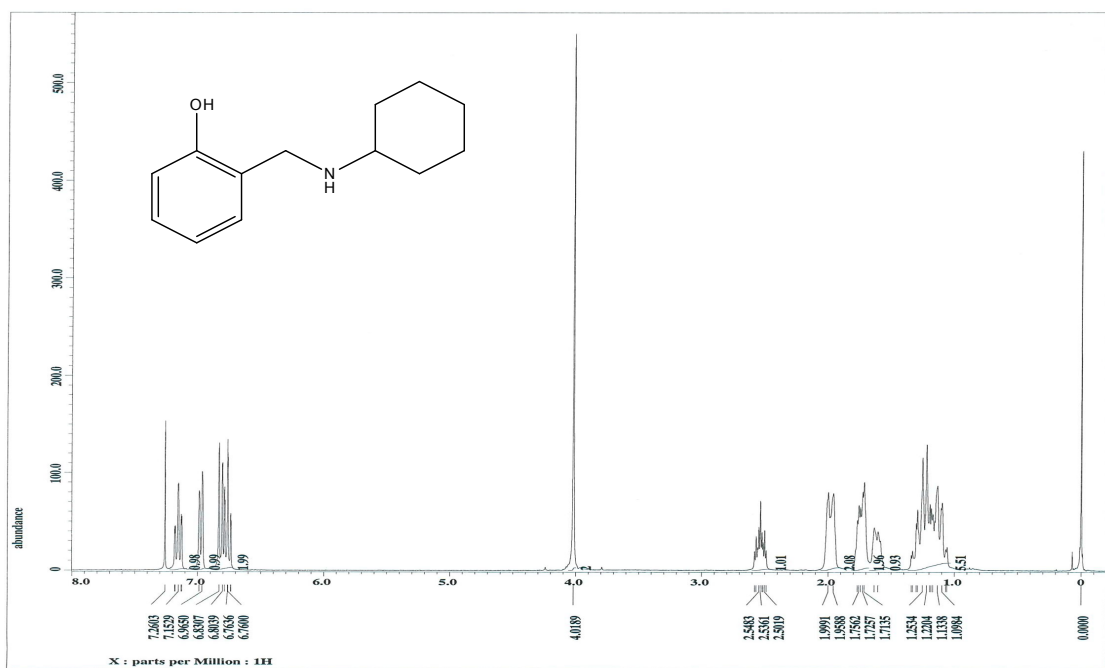
(51) 2-Bromobenzyl-(2-pyridin-2-yl-ethyl)amine



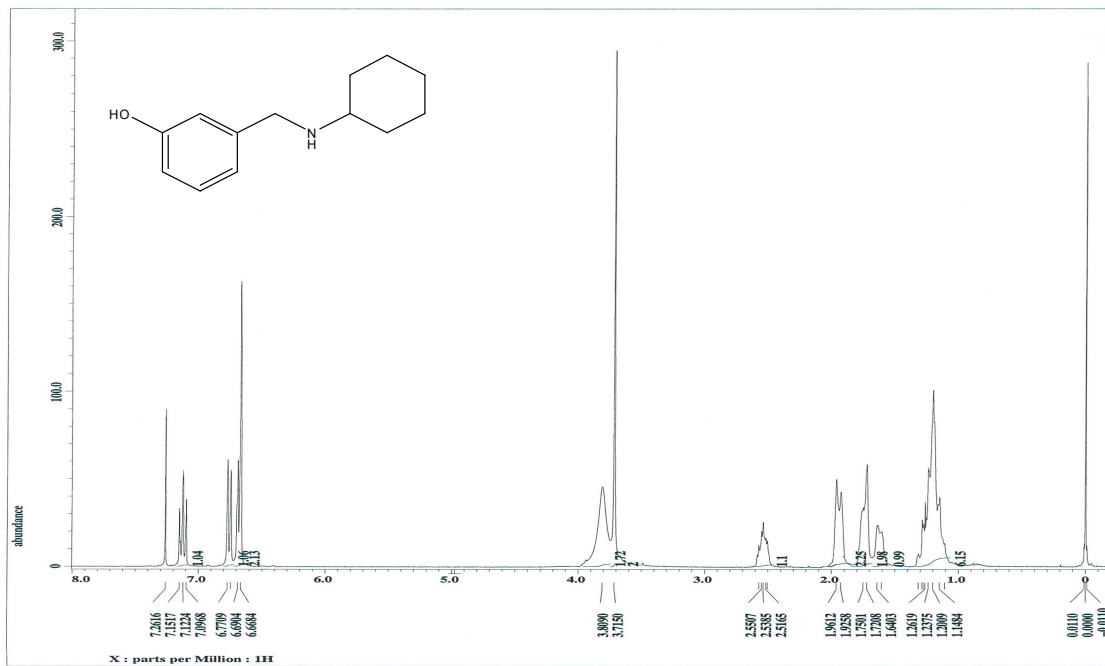
(52) 3-Bromobenzyl-(2-pyridin-2-yl-ethyl)amine



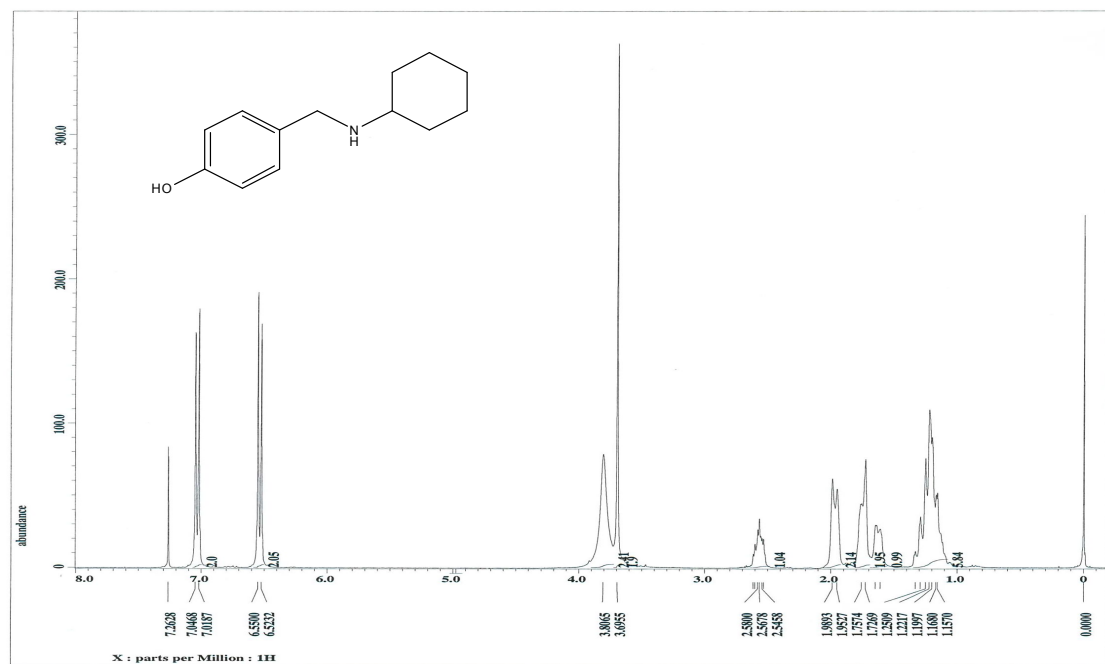
(53) 4-Bromobenzyl-(2-pyridin-2-yl-ethyl)amine



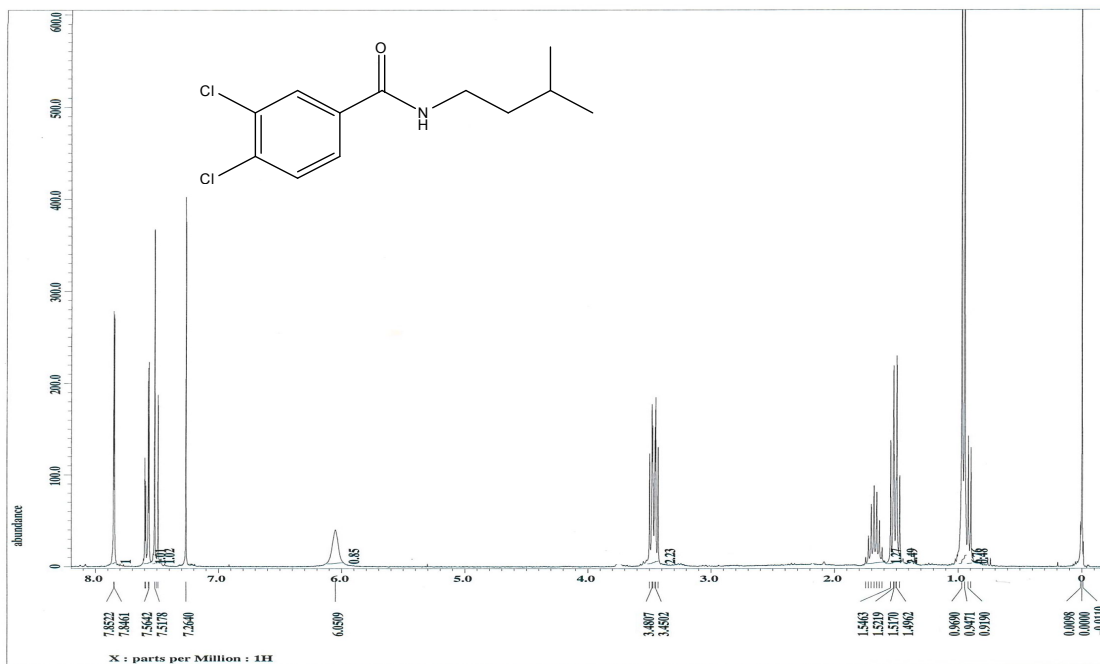
(54) 2-Cyclohexylaminomethylphenol



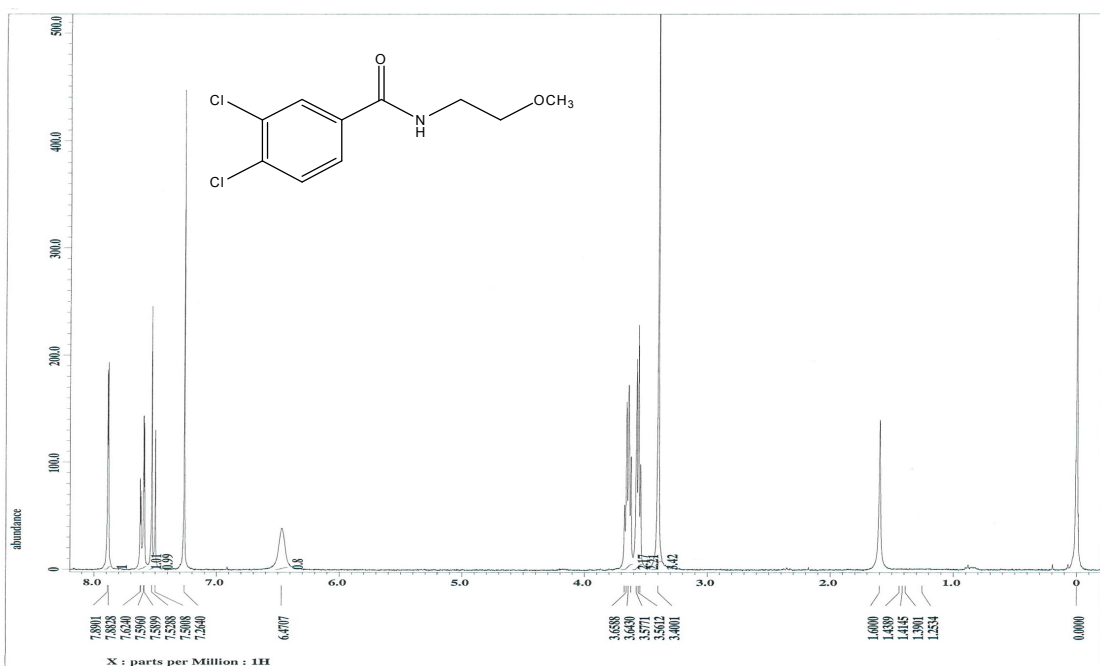
(55) 3-Cyclohexylaminomethylphenol



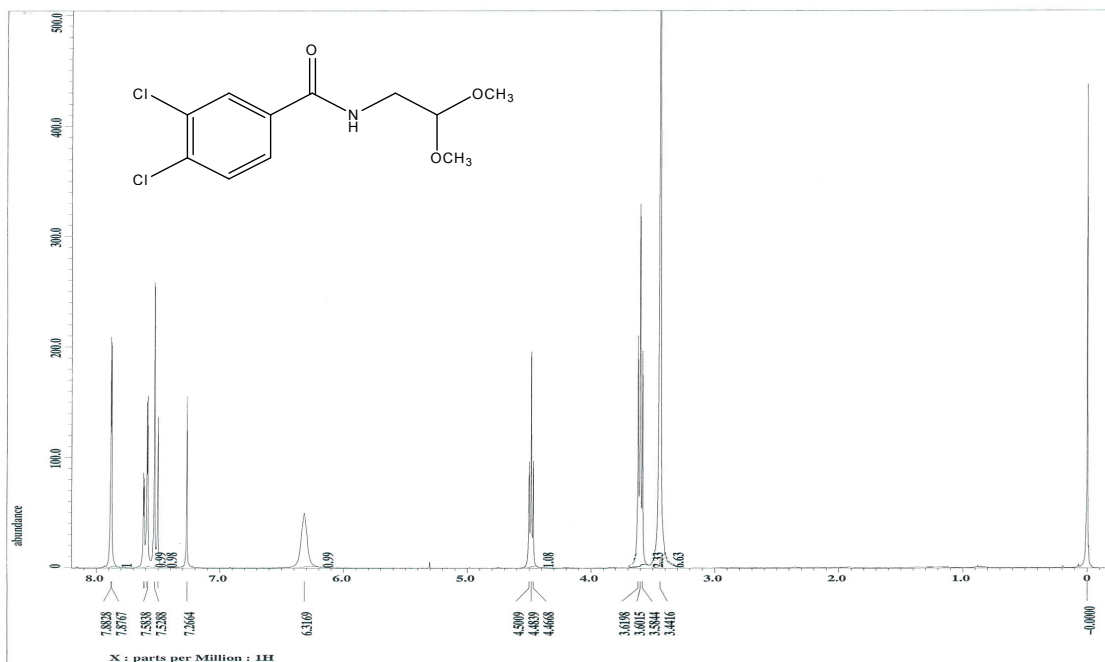
(56) 4-Cyclohexylaminomethylphenol



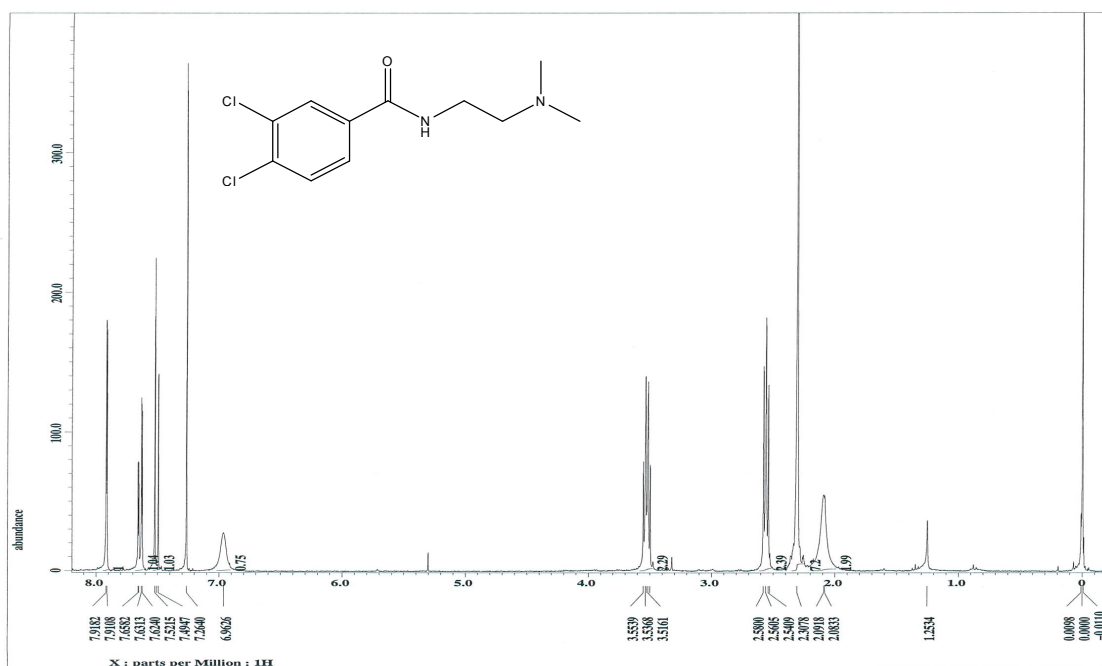
(57) 3,4-Dichloro-N-(3-methylbutyl)benzamide



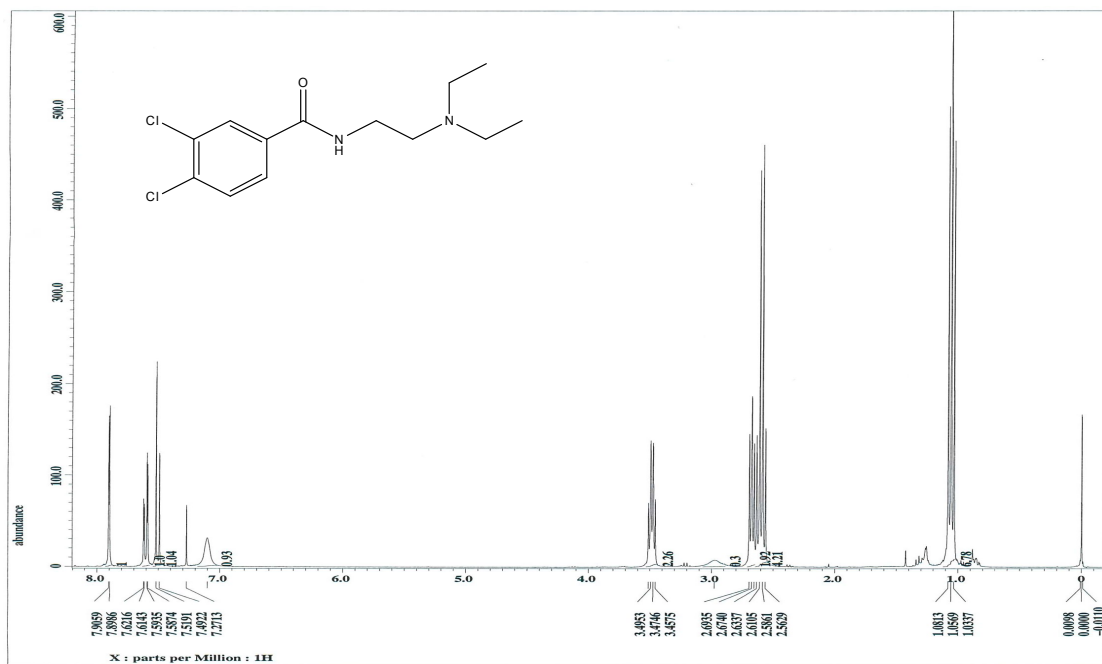
(58) 3,4-Dichloro-N-(2-methoxyethyl)benzamide



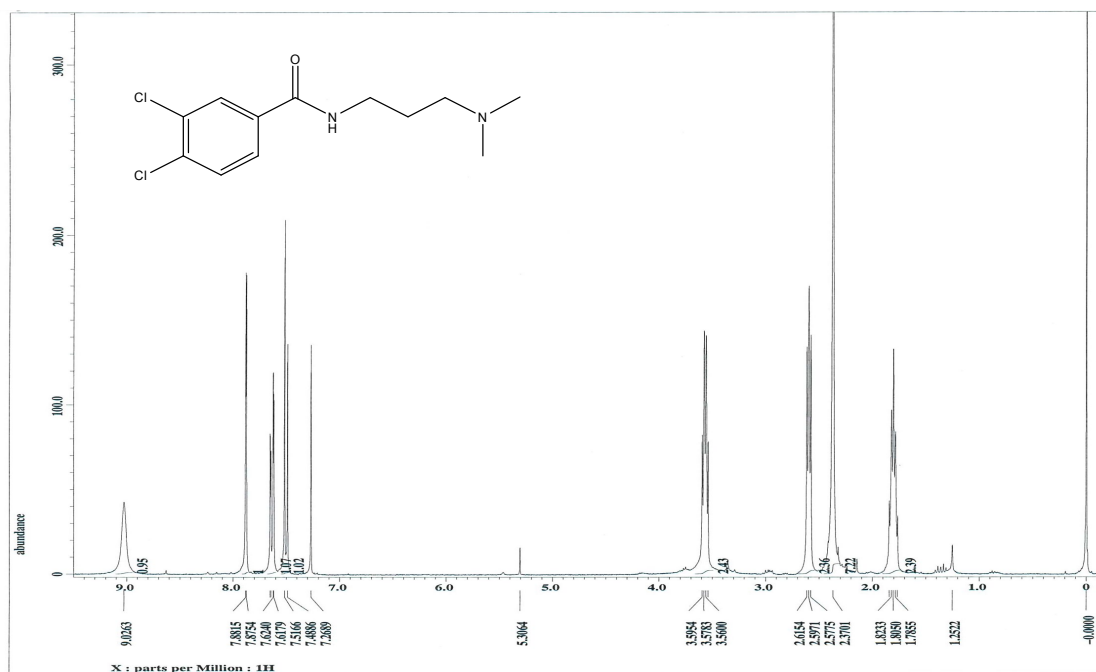
(59) 3,4-Dichloro-N-(2,2-dimethoxyethyl)benzamide



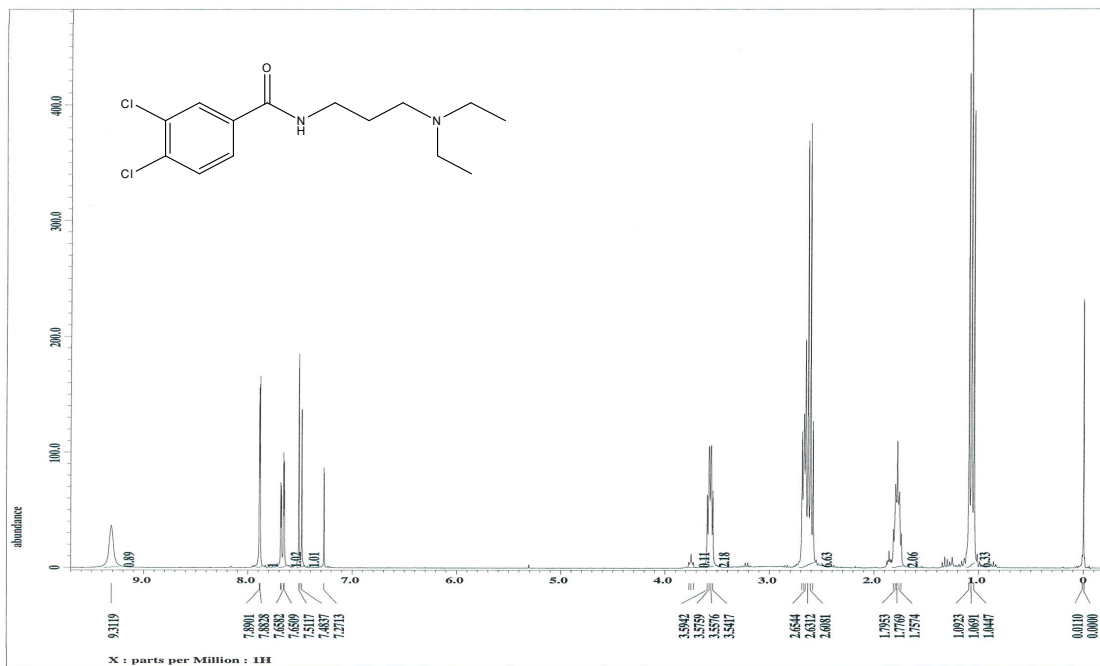
(60) 3,4-Dichloro-N-(2-dimethylaminoethyl)benzamide



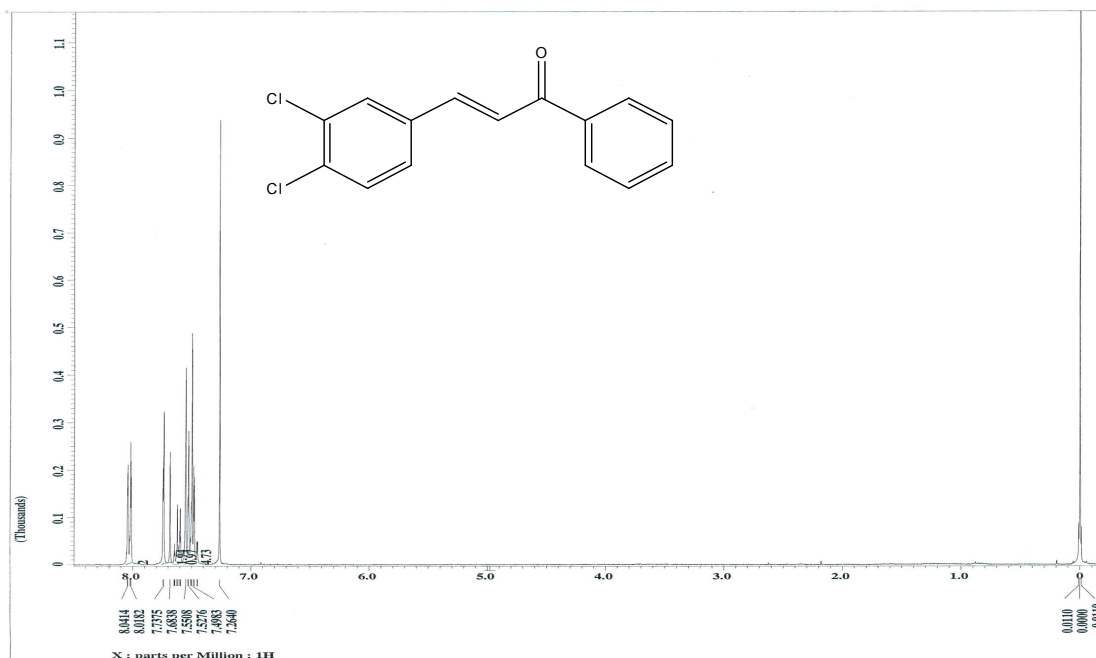
(61) 3,4-Dichloro-N-(2-diethylaminoethyl)benzamide



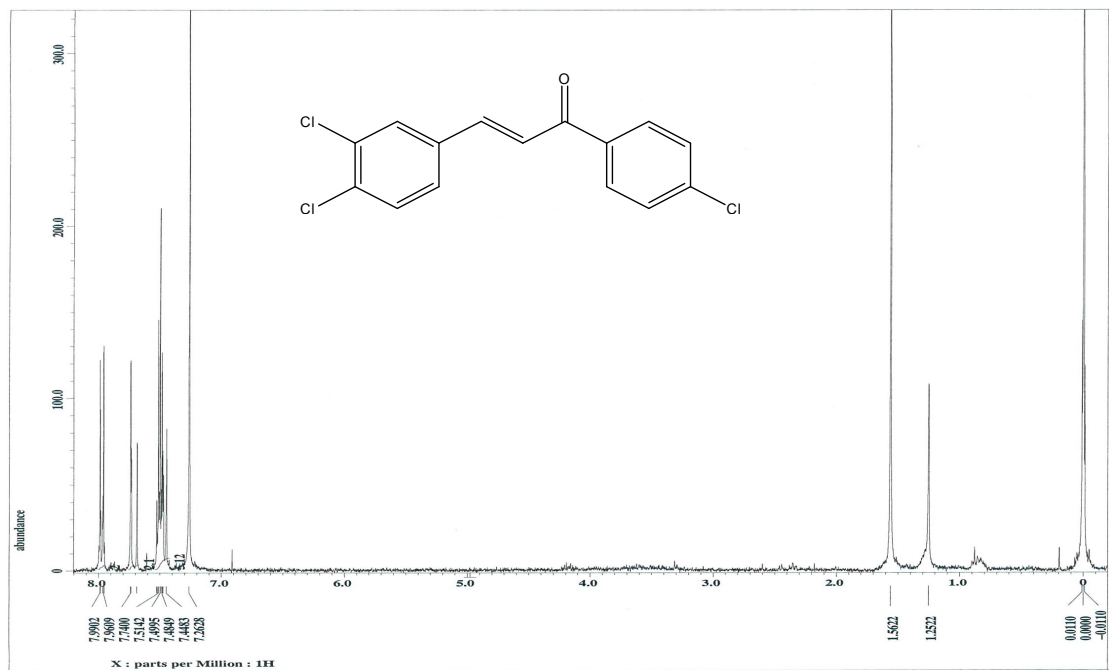
(62) 3,4-Dichloro-N-(3-dimethylaminopropyl)benzamide



(63) 3,4-Dichloro-N-(3-diethylaminopropyl)benzamide



(64) 3-(3,4-Dichlorophenyl)-1-phenylpropenone



(65) 1-(4-Chlorophenyl)-3-(3,4-dichlorophenyl)propenone