

## Phenazine Ring을 가진 界面活性劑의 合成과 그 抗菌性 (제 2 보)

金鍾大† · 金東洙 · 李相稷 · 韓盛旭

영남대학교 이과대학 화학과

(1983. 4. 16 접수)

### Synthesis and Antimicrobial Properties of Surfactants Containing Phenazine Ring (II)

Jong Dae Kim†, Dong Soo Kim, Sang Jik Lee and Sung Wook Han

Department of Chemistry, Yeungnam University, Kyongsan 632, Korea

(Received April 16, 1983)

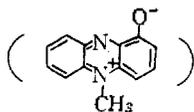
**요 약.** Aniline으로부터 출발하여 5 단계를 거쳐 alkyl benzofuroxane을 얻고 이것과 hydroquinon과 반응시켜 7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide을 합성하였다. 生成物은 IR, NMR spectrum, 元素分析 등으로 확인하였다. 이들 誘導體들의 수용액에 대한 表面張力を 測定하였고, 아울러 Gram 양성균과 Gram 음성균에 대한 抗菌性を 調査하였더니 alkyl기가 치환된 phenazine 유도체는 alkyl기가 없는 1-carboxyphenazine보다 항균성이 강하고, 또한 phenazine 분자의 질소 원자에 산소 원자가 결합된 화합물이 가장 抗菌성이 강한 것이 판명되었다.

**ABSTRACT.** 7-Alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxides were synthesized from hydroquinone, and alkyl benzofuroxanes which were previously obtained through five reaction steps starting from aniline. Infrared, nuclear magnetic resonance spectrometry and elemental analysis were employed to identify the products concerned in the synthetic processes. It was observed that these alkylated phenazine oxides lowered the surface tension of water substantially. These derivatives showed stronger antimicrobial activity against both gram positive and negative microbes than 1-carboxyphenazine which had no alkyl side chain. It was also found that the antimicrobial activity of the phenazine compound increased when the nitrogen of the ring was bound to the oxygen atom.

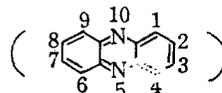
#### 1. 序 論

일반적으로 한 分子속에 親水性和 疎水性 alkyl기를 가진 界面活性劑는 吸着과 퍼짐의 결과 細胞의 表面과 細菌에 作用하여 抗菌力내지 殺菌力을 가진 것들이 있다.

저자들은 綠膿菌의 배양에서 生成되는 抗生物



質의 하나인 pyocyanine의 구조식을 갖는 phenazine ring

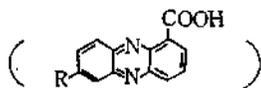


에 착안하여 phenazine ring을 갖는 새로운 界面活性劑를 合成하고자 한다.

이 方面의 合成은 1929년에 Wrede와 Strack에 의해 1-hydroxyphenazine을 처음 合成하였고, 1950년 Hegedus에 의해 2, 6-dinitroaniline과 o-

iodonitrobenzene으로 역시 1-hydroxyphenazine  
를 합성하였다.

저자들은 1981년 大韓化學會誌 3號誌에 발표  
한 「Phenazine Ring을 가진 界面活性劑의 合成  
과 그 抗菌性(제 1 보)」<sup>1</sup>에서와 같이, S. Suzuki  
등이 合成한 1-carboxyphenazine(Turbmicine)<sup>2</sup>  
의 抗菌力에 比하여, 7 위치에 疎水性인 alkyl기  
(C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>, C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>-)를 도입한 界面活性인 7-alkyl-  
1-carboxyphenazine



이 보다 그 抗菌性이 높다는 것을 확인하였다.

本 研究에서는, 일반적으로 3 차 알킬아민은  
抗菌性이 없는데 비하여 4 차 알킬암모늄염은 抗  
菌性이 크다는 事實<sup>3</sup>에 착안하여 Phenazine Ring  
에 있는 질소 원자를 4 차 암모늄염과 같은 구  
조의 화합물을 합성하면 보다 강력한 抗菌性을  
가질 것으로 예상하여 7-alkyl-2-hydroxyphena-  
zine-5, 10-dioxide을 합성하고, alkyl기는 butyl  
기, hexyl기 및 octyl기의 3 가지로 하여, 이들  
의 物理的 性質과 抗菌性간의 상관 관계를 조사  
하고자 하였다.

## 2. 實 驗

### 2.1. 試藥 및 器機

本 實驗에 사용한 試藥중 aniline, benzene,  
ethyl alcohol, chloroform, acetic acid는 E.  
Merck(독일)제 특급품을 사용하였으며, sodium  
azide, n-alkyl alcohol, hydrochloric acid, sod-  
ium nitrite는 Hayashi(일본)제 특급품을 사용하  
였다. 그리고, nitric acid fuming (비중 1.52),  
silicagel(Wako gel C-200)은 Wako, Kanto(일  
본) 제 특급품을 사용하였다. 合成한 化合物를  
확인하는데 使用한 器機는 Melting point Ap-  
paratus (Fisher-Johns), IR Spectrophotometer  
(Perkin-Elmer 735B), NMR Spectrophotometer  
(Varian model HA-60), Refractometer(Bausch  
& Lomb Co), Surfactometer(Simaz model  
ST-1) 및 Elemental Analyzer (Perkin-Elmer  
Co)를 사용하였다.

### 2.2. 化合物의 合成

Aniline과 alcohol류를 출발물질로 하여 여섯  
段階를 거쳐 7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-  
dioxide를 합성하였다.

合成한 7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-di-  
oxide의 alkyl기는 butyl기 hexyl기, octyl기를  
가진 alcohol류로써 출발하였는데 本論文에서는  
세가지 alcohol중에서 octyl alcohol로 合成한 것  
만을 서술하였다. 또한 butyl alcohol나 hexyl-  
alcohol를 사용할때도 octyl alcohol때와 같은 當  
量比로 하였으며, 合成法도 이에 준하여 수행하  
였다.

**4-Aminalkylbenzene의 合成.** Asahara등이  
aniline에서 4-aminobutylbenzene 를 合成한 方  
法에 준하였다<sup>4</sup>.

Dean stark trap이 달린 환류 냉각기를 부착시  
킨 500ml 플라스크에 octyl alcohol 60g (0.462  
mole), aniline 43g(0.462 mole), anilinehydro-  
chloride 18g(0.140 mole) 및 ZnCl<sub>2</sub> (가열용해하  
여 공기중에 방치하여 고체화된 것을 분쇄한 것)  
44g(0.323 mole)을 넣고 기름증탕속에서 가열하  
였다.

혼합물은 10시간 가열(환류온도 240~250°C)  
한 후 냉각하여 다갈색 고체를 얻었다.

4-Aminooctylbenzene hydrochloride와 ZnCl<sub>2</sub>  
의 복염인 고체물질에 40% NaOH 수용액을 200  
ml가하여 저으면서 70°C에서 2시간 가열 분해  
하였다. 반응물을 실온까지 냉각한 후 반응혼합  
물은 ether 30ml로 여러번 추출한 후, 이 ether  
층이 중성이 될 때까지 물로 씻은뒤 무수황산나  
트륨을 넣고서 하룻밤 건조시켰다. 건조제를 분  
리한 후, ether을 증발 제거한 뒤 소량의 아연분  
말을 가해 減壓蒸溜를 하여 필요로 하는 4-ami-  
nooctylbenzene 51.8g(수득률 51%)을 얻었다.

IR Spectrum에서 1620cm<sup>-1</sup>에 -NH<sub>2</sub>(N-H 변  
각운동), 3450~3350cm<sup>-1</sup>에 -NH<sub>2</sub>(N-H 신축진  
동), 2900cm<sup>-1</sup>에 -CH<sub>2</sub>- (alkyl기의 C-H 신축  
진동) 및 825cm<sup>-1</sup>에 p-치환체(C-H 면외변각진  
동)의 피이크를 나타내었다.

이 물질의 bp는 136~138°C/10.0mmHg(문헌  
치 145~149/14)<sup>1</sup>이고 굴절률(n<sub>D</sub><sup>20</sup>)은 1.4962(1.

4950)이었다.

한편 4-aminoethylbenzene의 bp는 122~125°C/10.0mmHg(139~143/14)이고 굴절률( $n_D^{20}$ )은 1.5261(1.5220)이며 수득률은 46%이었다. 4-aminobutylbenzene의 b. p.는 113~114°C/10.0mmHg(133~136/14)이고 굴절률( $n_D^{20}$ )은 1.5370(1.5350)이며 수득률은 48%이었다.

**4-Acetylaminoalkylbenzene의 合成.** 환류냉각기를 부착한 100ml 플라스크에 (1)에서 合成한 4-aminoethylbenzene 13.2g(0.64mole)과 증류 정제한 무수초산 9.8ml(0.103mole)를 혼합하여 1시간 가열 환류하였다.

반응종료후 냉각하여 얼음-물 200ml속에 저으면서 반응물을 부으면 흰색의 침전이 석출하였다. 석출된 흰 침전물을 흡인 여과 분리한 후 용점이 일정할 때까지(88.0~90.0°C) *n*-hexane으로 여러번 재결정하여 생성물 10.97g(수득률 69%)을 얻었다<sup>5</sup>.

IR(KBr), 3270(-NH-), 2940~2840(CH), 1655(C=O), 830cm<sup>-1</sup>(*para*치환). NMR(CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ), 0.85(*t*, 3H), 1.05~1.80(*s*, 12H), 2.10(*s*, 3H), 2.32~2.80(*t*, 2H), 6.90~7.60(*m*, 4H), 8.75(*s*, 1H).

### 3-Nitro-4-acetylaminoalkylbenzene의 合成.

교반장치, 환류냉각기, 온도계, 깔때기를 준비하여 300ml 플라스크에 (2)에서 合成한 4-acetylaminoethylbenzene 10g(0.04 mole)을 넣고 빙초산 50ml, 무수초산 50ml를 가하여 溶解하고 얼음중탕을 이용하여 -5°C로 냉각한 후 반응물의 온도를 5°C이하로 유지하면서 발연질산(밀도 1.52) 7.5g(0.120 mole)을 1시간 정도로 천천히 가하였다. 완전히 가한 후 5°C로 유지시키면서 1시간 동안 放置하여 둔 다음 이 반응 혼합물을 얼음물속에 넣으면 노랑색 침전물이析出되며 이것을 흡인 여과하여 물로 씻은 후 減壓 乾燥하고 이 固體에 메탄올을 가하여 加熱용해한 후 결정이 석출될 직전까지 물을 가하여 再結晶하였다. 용점이 일정(59°C)할 때까지 再結晶 조작을 반복하였고, 7.32g(수득률 62%)을 얻었다<sup>6</sup>.

IR(KBr), 3360, 2920 2850, 1700, 1590(N-O),

1350, 860cm<sup>-1</sup>. NMR(CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ), 0.90(*t*, 3H), 1.10~1.90(*s*, 12H), 2.3(*s*, 3H), 2.45~2.90(*t*, 3H), 7.30~8.85(*m*, 3H).

**3-Nitro-4-aminoalkylbenzene의 合成.** 환류냉각기를 부착시킨 300ml 플라스크에 (3)에서 合成한 3-nitro-4-acetylaminoethylbenzene 10g(0.0342mole)을 넣고 ethyl alcohol 100ml를 가하여 溶解하였다. 여기에 진한 염산 10ml를 가한 후 이 混合物를 1.5시간 加熱 還流하고 反應을 정지하여 냉각한 후 얼음-물 속에 흘려 넣었다니 橙色 침전물이 얻어졌다. 이것을 흡인 여과하여 물로 세척하고 용점이 일정할 때까지 벤젠으로 再結晶하여 5.74g(수득률 67%)의 생성물을 얻었다<sup>7</sup>.

IR(KBr), 3470~3360(-NH<sub>2</sub>), 2910~2850(CH), 1620, 1590cm<sup>-1</sup>(N-O). NMR(CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ), 0.90(*t*, 3H), 1.10~1.80(*s*, 12H), 2.20~2.80(*t*, 2H), 6.60(*s*, 2H), 6.70~8.00(*m*, 3H).

### 6-Alkylbenzofuroxane의 合成.

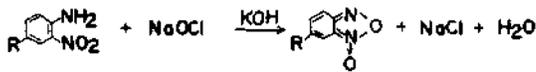
자석것기가 장치된 500ml 플라스크에 34.88g(0.139mole)의 3-nitro-4-aminoethylbenzene, 55ml의 물 및 31ml(35%)의 진한 염산을 넣고 얼음중탕속에서 저으면서 0~5°C로 유지하였다. 또한 따로 준비한 9.59g의 NaNO<sub>2</sub>에 33ml의 물을 넣어 만든 수용액을 분액깔대기로 서서히 적하하여 디아조화반응을 시키니 담황색의 용액을 얻었다.

반응물을 흡인여과한 다음 용액을 별도로 준비한 2l들이 비이커에 넣고 얼음물로써 외부를 냉각시키면서 9g의 NaN<sub>3</sub>을 35ml의 물에 용해한 수용액을 넣으니 N<sub>2</sub>기체가 발생하였다. 기체 발생이 끝난 후 분액깔대기에 넣어 toluene으로 추출하고 무수황산나트륨으로 건조시킨 다음 환류 냉각기가 장치된 플라스크에 넣고 6시간 가열하니 N<sub>2</sub>기체의 발생이 중지되었다. toluene을 증발시킨 다음 자주색의 끈기있는 액체를 Column Chromatography로 정제하여, 生成物 17.44g(수득률: 50%)을 얻었다<sup>8</sup>.

IR(neat), 2920~2840(CH), 1620(C=N), 1260cm<sup>-1</sup>(N→O). NMR(CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ), 0.90(*t*, 3H), 1.10~1.90(*s*, 12H), 2.30~2.90(*t*, 2H), 6.70~8.20(*m*, 3H).



meyer 반응으로서 아지드화시킨 다음 toluene 용매 하에서 熱分解하여 얻은 방법을 택하였다. 이 방법外에도 새로 만든 하이포염소산나트륨으로 酸化하는 방법<sup>11)</sup>이 있다. 저자들은 후자의 방법을 피한 이유는



有毒한 염소가스의 취급에 대한 危險뿐만 아니라 치환된 alkyl기 가운데 benzene핵에 결합된 methylene기가 산화될 가능성을 우려하였기 때문이다.

### 3.2 表面張力

합성한 phenazine 유도체들의 表面張力은 시료가 물에 녹지 않으므로 나트륨염의 경우에만 측정하였다. 7-butyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide는 뚜렷한 임계미셀농도(CMC)는 찾아볼 수 없으나,  $10^{-2}\text{mol/l}$ 에서 38dyne/cm까지 表面張力을 低下시켰으며, hexyl기나 octyl기가 치환된 유도체인 경우  $10^{-4}\text{mole/l}$  부근에서 明確한 임계미셀농도를 찾아 볼 수 있었다 (Fig. 2). 각각의 表面張力 低下能力은  $10^{-4}\text{mol/l}$ 에서 butyl기는 42.5dyne/cm, hexyl기는 32.5dyne/cm 및 octyl기는 26.8dyne/cm로서 alkyl기의 탄소사슬이 길수록 크다는 것을 알 수 있다.

### 3.3 抗菌性

Alkyl기가 phenazine고리에 도입되어 界面活性를 지니게 된 유도체는 대상균에 對한 吸着力의 증가로 인하여 alkyl기를 갖지 않는것보다 抗菌력이 커진다는 사실은 이미 제 1 보에서 제시하였다.

이리 보고한 바에 의하면, 界面活性를 가진 일

반적인 phenazine 유도체인 7-alkyl-1-carboxyphenazine에서 alkyl기가 octyl기일 경우 *Bacillus subtilis* PCI-219에 對한 最小發育阻止濃度(MIC)가  $25\mu\text{g/ml}$ 이며, Gram 陰性菌인 *E. coli* NIHJ와 *Pseudomonas aeruginosa* IFO-308에 對하여는  $50\sim 100\mu\text{g/ml}$ 임을 알았다 (Table 1).

本 實驗室에서 合成한 7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide의 alkyl기가 상기한 화합물과 같은 octyl기일때 Gram 陽性菌에 對한 MIC

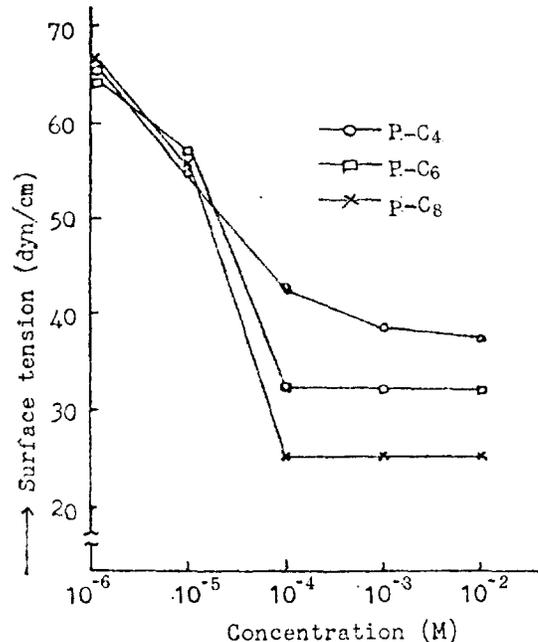


Fig. 2. Correlation between concentration and surface tension of 7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide sodium salt.

Table 1. Minimum inhibitory concentration (MIC) of 7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide.

Organisms	1-carboxy phenazine	7-octyl-1-carboxy phenazine	7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide		
			(VI)-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	(VI)-C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	(VI)-C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>
<i>Staphylococcus aureus</i> 209PJC-1(+)	>50	25	10	10	25
<i>Bacillus subtilis</i> PCI-219(+)	>50	25	10	25	25
<i>E. coli</i> NIHJ(-)	>50	50	2	5	10
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (-)	-	-	2	5	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO-3080(-)	-	>100	5	10	25

는 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로써 상기한 화합물과 같지만 Gram 음성균에 대하여서는 10, 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로써 보다 센抗菌력을 나타냄을 알 수 있다.

한편 7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide를 살펴보면, alkyl기가 octyl기, hexyl기 및 butyl기로 바꾸어짐에 따라 이들의 MIC는 Gram 양성균인 *Staphylococcus aureus* 209PJC-1에 대해서는 각각 25, 10 및 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이고, *Bacillus subtilis* PCI-219에 대해서는 25, 25 및 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 나타났다. 한편 Gram 음성균인 *E. coli* NIHJ에 대해서는 10, 5 및 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , *Vibrio parahaemolyticus* 균에는 25, 5 및 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 및 *Pseudomonas aeruginosa* IFO-3080균에 대해서는 25, 10 및 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 나타났다. 따라서 Gram 양성균보다는 Gram 음성균에 대하여 보다 강한抗菌력을 나타내며, 3가지 화합물 가운데 alkyl기의 탄소수가 적은 butyl 유도체가 가장 강한抗菌력을 지님을 알 수 있다. 그런데 이들 3가지 화합물 중界面活性도는 butyl기가 가장 작으므로抗菌성은 alkyl기의 탄소수가 짧은편이 강하고界面活性도는 긴편이 크다는 뜻이 된다.

일반적으로抗菌性化合物的抗菌作用에 카니즘을 살펴보면, 細胞壁이나 細胞膜機能의妨害, 단백질生合成의阻害, 유전정보의誤讀 및呼吸反應의阻害등을 들 수 있다.

界面活性劑의抗菌作用은 細胞表面에吸着하여 정상적인 細胞活動을 방해하여 일어남으로 그界面活性도가抗菌성과 병행관계를 나타낼 수 있다. 그러나抗菌作用을 발휘하는因子는 여러가지이므로界面活性이 크다고 하여 반드시抗菌력이 세다고는 할 수 없을 것이다.

본 연구에서의 7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide의 3가지化合物은 모두界面活性을 지니나 그抗菌성이界面活性과 並行性을 보이지 않음은, 界面活性外的因子가抗菌성에 더 크게 기여한 때문이라고 생각된다.

界面活性을 가진 Malachite green으로<sup>12</sup> 행한 다른 연구자의 연구결과에서도 基本構造에 도입된 alkyl기의 탄소수가 적을 때抗菌성이 커짐을 볼 수 있는데 이에 관한 확실한 근거를 마련하기 위하여 더 많은 연구가 앞으로 기대된다.

#### 4. 結 論

抗菌性을 갖는界面活性劑인 7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide는 aniline으로 부터出發하여 여러段階를 거쳐合成하였다. alkyl기는 octyl기, hexyl기 및 butyl기로 하였고, 各段階別 收率은 모두 50% 이상이었다.

물의表面張力은 10<sup>-5</sup>mole/l에서 3가지 유도체가 모두 58dyne/cm 부근이나, 10<sup>-4</sup>mole/l에서는 octyl 유도체는 26.8 dyne/cm, hexyl 유도체는 32.5 dyne/cm 및 butyl 유도체는 42.5 dyne/cm까지 底下시켰으므로 7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide는界面活性을 分明히 나타냄을 알았다.

한편合成한化合物의抗菌性을 조사한結果, phenazine 고리의 질소원자에 산소원자가配位되어 4차암모늄염과 같은 구조인 phenazine dioxide는 일반적인 phenazine 고리를 갖는 유도체보다는抗菌력이 강하며, 도입된 alkyl기 가운데 octyl기나 hexyl기보다 butyl기를 갖는편이 강한抗菌력을 발휘하였다. 또한 대상균에 대해서는 Gram 양성균보다는 Gram 음성균에 더效果의이었다.

따라서 이化合物의表面張力底下能力은 octyl기를 갖는편이 크고,抗菌성은 butyl기를 갖는편이 더 강하므로表面張力底下와抗菌력의 세기 사이에는 반드시 並行관계가 있지는 않다는 것으로 판단하였다.

본 연구는 문교부학술연구 조성비의 도움으로 이루어졌는데, 저자들은 문교부당국에 감사사를 드린다.

#### 인 용 문 헌

1. Jong Dae Kim and Y. H. Park, 大韓化學會誌, 25, 199 (1981).
2. K. Isono, K. Anzai and S. Suzuki, *J. Antiotics Ser. A.*, 11, 265 (1958).
3. 掘口博, "新界面活性劑," P. 198, 三共出版社, 1980.
4. Asahara, Dakaki, Wadanabe, 日本化工誌.

- 59, 578 (1956).
5. G. Hilgetac and A. Martini, "Preparative Organic Chemistry," P.422, John Wiley and Sons, 1972.
  6. G. Hilgetac and A. Martini, "Preparative Organic Chemistry," P.423, John Wiley and Sons, 1972.
  7. J. D. Kim and Y. H. Park, 大韓化學會誌, **25**, 201 (1981).
  8. N. Rabjohn, "Org. Syn.," "Vol. IV, P.75, 1963.
  9. M. L. Edwards, R. E. Bambury and H. K. Kim, *J. Heterocyclic Chem.* **13**, 653 (1976).
  10. C.J. Pouchert, "The Aldrich Library of Infrared Spectra," 2nd Ed, 1240H, 1975.
  11. Rabjohn, "Org. Syn. Collective" Vol. IV, P.74, 1963.
  12. T. Uchibori, S. Watanabe and Y. Abe, 油化學(日本), **26**, 715 (1977).