

## Phenazine Ring 을 가진 界面活性劑의 合成과 그 抗菌性(제 3 보)

金鍾大<sup>†</sup> · 金浩植<sup>\*</sup> · 韓盛旭

영남대학교 이과대학 화학과

<sup>\*</sup>효성여자대학교 사범대학 화학과

(1985. 10. 7 접수)

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

Jong Dae Kim<sup>†</sup>, Ho Sik Kim<sup>\*</sup> and Sung Wook Han

Department of Chemistry, Yeungnam University, Kyongsan 632, Korea

<sup>\*</sup> Department of Chemistry, Teacher's College, Hyosung Women's University,

Daegu 634, Korea

(Received October 7, 1985)

**요 약.** Aniline 과 *n*-alkyl alcohol 類로 부터 6-alkylbenzofuroxan 을 얻고 이것과 4-aminophenol 을 反應시켜 butyl, hexyl, octyl 기를 가진 7-alkyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide 를 合成하였다. 그리고 benzofuroxan 과 4-aminophenol 을 反應시켜 2-aminophenazine-5, 10-dioxide 도 合成하였으며, 生成物들은 IR, NMR, 元素分析등으로 확인하였다. 이들 phenazine 誘導體의 수용액에 대한 表面張力을 測定하였는데 alkyl 기의 탄소수가 증가할수록 表面張力이 低下됨을 알았다. 또한 抗菌性을 稀釋法에 의하여 調査하였는데 alkyl 기의 탄소수가 4 개인 butyl 誘導體의 경우가 가장 抗菌성이 강했으며, alkyl 기가 없는 2-aminophenazine-5, 10-dioxide 보다는 alkyl 기가 置換된 2-aminophenazine-5, 10-dioxide 의 抗菌성이 더 강하다는 것을 알았다.

**ABSTRACT.** 7-Alkyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxides bearing butyl, hexyl and octyl group were synthesized by the reaction of 4-aminophenol with 6-alkylbenzofuroxans which had been obtained from aniline and *n*-alkyl alcohols. And 2-aminophenazine-5, 10-dioxide was prepared by the reaction of 4-aminophenol with benzofuroxan. Infrared, nuclear magnetic resonance spectrophotometers, and elemental analyzer were employed to identify the products concerned with the synthetic processes. Surface tension of aqueous solutions of these phenazine derivatives was determined by surface tensiometer and it was found that the surface tension decreased with an increase of the number of carbon in the alkyl group. Antimicrobial activities were evaluated in terms of minimum inhibitory concentration by a dilution method. The butyl derivative showed the highest activity among these derivatives. It was observed that the antimicrobial activity of these alkyl substituted 2-aminophenazine-5, 10-dioxides was stronger than that of 2-aminophenazine-5, 10-dioxide.

#### 1. 序 論

phenazine 誘導體들의 存在는 19세기 말 이후로 알려져 왔는데, 이들 모든 誘導體는 Fig. 1

과 같은 기본적인 구조를 가지고 있다.

phenazine 誘導體들은 *Pseudomonas* 屬의 代謝 産物에서 얻어지며<sup>1</sup>, 이들 誘導體는 抗菌性을 갖는다고 알려져 있다<sup>2</sup>. 예를들면 Fig. 2에 나타낸

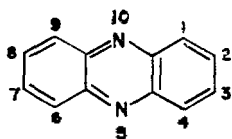


Fig. 1. Structure and numbering system of the phenazine nucleus.

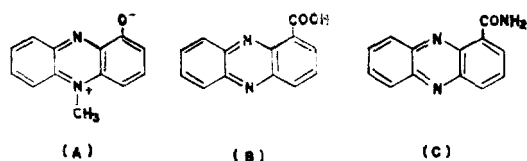


Fig. 2. Structures of (A) pyocyanine, (B) phenazine-1-carboxylic acid, and (C) oxychlororaphine.

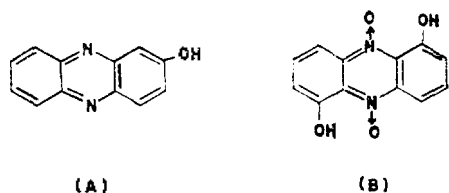


Fig. 3. Structures of (A) 2-hydroxyphenazine and (B) iodinin.

pyocyanine, phenazine-1-carboxylic acid, oxychlororaphine 등은 *P. aeruginosa* 에 의해서 얻어 지는데<sup>3</sup>, 특히 pyocyanine 은 1890년에 Gessard<sup>4</sup> 에 의해 처음 분리되었으며, 또한 가장 많이 연구<sup>5</sup>되었기 때문에 phenazine 誘導體의 기본골격으로 생각하게 되었다.

그후 抗菌性을 가진 30여개 이상의 phenazine 誘導體들이 微生物로 부터 분리되었는데, *P. aureofaciens* 에 의해서는 2-hydroxyphenazine 이 얻어졌으며<sup>6</sup>, *P. iodina* 에 의해서는 iodinin 이 얻어졌다<sup>2a,7</sup> (Fig. 3).

그리고 이들 phenazine 誘導體의 生合成에 관한 研究도 많이 報告<sup>8</sup>되어 있다.

phenazine 고리를 合成하는 데는 여러가지 方法이 있는데, (1) catechol 이나 benzoquinone 類와 芳香族 diamine 과의 縮合反應<sup>9</sup>, (2) 置換 aniline 類와 置換 nitrobenzene 類의 Wohl-Aue 縮合反應<sup>10</sup>, (3) *o*-nitrodiphenylamine 이나 diamino-diphenylamine 類의 고리화反應<sup>11</sup>, (4) *o*-pheny-

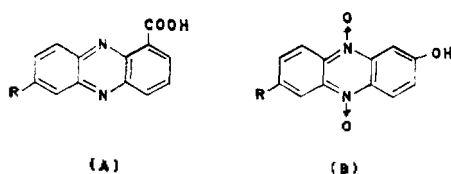


Fig. 4. Structures of (A) 7-alkyl-1-carboxyphenazine and (B) 7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide.

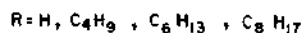
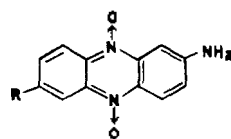


Fig. 5. Structure of 7-alkyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide.

lenediamine 이나 aminodiphenylamine 類의 酸化反應<sup>12</sup>, (5) benzofuroxan 類와 phenol 類 및 1,2-cyclohexanedione 類와의 反應<sup>13</sup>등이 있다.

이들 反應중 *o*-phenylenediamine 이나 芳香族 diamine 등은 定安하나 alkyl기가 置換된 diamine 誘導體는 공기중에서 매우 不安定하기 때문에 著者들은 3-nitroalkylbenzene 類를 anthranilic acid 와 反應시켜서 7-alkyl-1-carboxyphenazine 을 合成하여 本誌에 報告<sup>14</sup>한 바 있으며, 또한 phenazine 고리에 있는 醜소원자물 4 차 압 보습鹽과 같은 구조의 化合物로 合成하면 보다 강력한 抗菌性을 가질 것으로 예상하여 7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide 를 合成하여 本誌에 報告<sup>15</sup>하였다 (Fig. 4).

著者들은 前報<sup>15</sup>에 이어 aniline 과 *n*-alkyl alcohol 類를 출발물질로 하여 알킬화반응, 아세틸화반응, 니트로화반응, 가수분해 및 디아조화반응을 거쳐 6-alkylbenzofuroxan 을 合成한 다음 4-aminophenol 과 反應시켜 7-alkyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide 를 合成하였으며, 또한 benzofuroxan 과 4-aminophenol 을 反應시켜 2-aminophenazine-5, 10-dioxide 를 合成하였다 (Fig. 5).

그리고 合成한 phenazine 誘導體에서 alkyl기 의 종류에 따른 物理的인 性質과 抗菌性간의 상관 관계를 調査하였으며, 前報<sup>14,15</sup>에서 提示한 結

果들과 비교 검토하고자 하였다.

## 2. 實 驗

### 2.1 試藥 및 機器

本 實驗에서 使用한 試藥중 aniline, *n*-butyl alcohol, *n*-hexyl alcohol, *n*-octyl alcohol, *n*-hexane, hydrochloric acid, acetic acid, acetic anhydride, fuming nitric acid (비중 1.5), sodium nitrite, sodium azide, silica gel (Wakogel, C-200) 등은 Wako, Shinyo, Junsei (日本)製 特級品을 使用하였으며, methyl alcohol, ethyl alcohol, benzene, toluene, chloroform 등은 Rots(벨기에)製 特級品을 使用하였다. 그리고 4-aminophenol, benzofuroxan, sodium methoxide는 Aldrich(美國)製 特級品을 使用하였다. 合成한 化合物을 확인하는데 使用한 機器는 Melting point apparatus(Haake Buchler Co.), Refractometer (Abbe Refractometer Type 1), IR spectrophotometer(Perkin-Elmer 753B), NMR spectrophotometer(Varian EM 360L), Surface tensiometer(Fisher Model 20) 및 Elemental analyzer(Perkin-Elmer Model 283)를 使用하였다.

### 2.2 化合物의 合成

aniline과 *n*-alkyl alcohol 類를 출발물질로 하여 5段階를 거쳐 6-alkylbenzofuroxan을 合成하고 6-alkylbenzofuroxan과 4-aminophenol을 反應시켜 7-alkyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide를 合成하였다. 合成한 phenazine 誘導體의 alkyl기는 *n*-butyl기, *n*-hexyl기, *n*-octyl기를 가진 alcohol 類를 使用하였는데, 本 論文에서는 *n*-octyl alcohol로 合成한 것을 서술하였다. 그리고 *n*-butyl alcohol이나 *n*-hexyl alcohol을 使用할 때 도 *n*-octyl alcohol의 경우와 같은 當量比로 하였으며, 合成法도 이에 준하여 행하였다. 또한 benzofuroxan과 4-aminophenol을 反應시켜서 2-aminophenazine-5, 10-dioxide도 合成하였다.

#### 2.2.1 4-Aminoalkylbenzene의 合成

Rinkes<sup>16</sup>, 淺原등<sup>17</sup>이 aniline과 alcohol 類로부터 合成한 方法에 準하였다.

Dean-Stark trap과 還流冷却器가 부착된 500

ml 플라스크에 *n*-octyl alcohol 60.2g(0.462 mole), aniline 43g(0.462mole), aniline hydrochloride(合成하여 methyl alcohol로 精제한 것) 18g(0.14mole) 및 ZnCl<sub>2</sub> 44g(0.323mole)을 넣고 저으면서 기름중탕에서 가열하였다. 수분을 완전히 제거한 다음 還流溫度를 240~250°C로 하여 10시간 가열한 후 냉각하여 갈색의 고체를 얻었다. 이 고체는 4-aminooctylbenzene hydrochloride와 ZnCl<sub>2</sub>의 複鹽이므로 40% NaOH 수용액을 200ml 가하여 저으면서 70°C에서 4시간 가열 분해하였다. 反應物을 실온으로 냉각한 다음 플라스크 內容物을 500ml 분별갈매기에 옮기고 上層部의 油狀物을 ether로 抽出하였다. 그리고 이 ether층이 중성이 될때까지 충분히 물로 씻은 다음 무수 황산나트륨을 넣어서 하루 밤 건조시켰다. 건조제를 분리하고 ether를 증발 제거한 뒤 소량의 아연분말을 가하고 減壓蒸溜하여 4-aminooctylbenzene 56.2g(수득률 59.2%)을 얻었다. b.p.는 136~138°C/10mmHg(문헌치<sup>18</sup> 170~172/17)이고 굴절률(*n*<sub>D</sub><sup>20</sup>)은 1.4962였다.

IR(neat, cm<sup>-1</sup>): 3410, 3340, 3010, 2945, 2910, 2845, 1616, 1510, 1460, 1375, 1268, 820; NMR(neat, δ): 0.93(*t*, 3H), 1.08~1.87(*m*, 12H), 2.46(*t*, 2H), 3.35(*s*, 2H), 6.36(*d*, 2H), 6.88(*d*, 2H).

#### 2.2.2 4-Acetylaminoalkylbenzene의 合成

앞에서 合成한 4-aminoalkylbenzene을 일반적인 方法인 초산무수물을 使用하여 amino기를 아세틸화 시켰다.

還流冷却器가 부착된 200ml 플라스크에 4-aminooctylbenzene 50g(0.243mole)에 초산무수물 40ml(0.424mole)를 가하여 4시간 加熱 還流시켰다. 실온으로 식힌 다음 얼음물 200ml 속에 저으면서 反應物을 가하니 흰색의 침전이 析出되었다. 析出된 고체를 흡인여과한 후 녹는점이 일정하게 될때까지 *n*-hexane으로 여러번 再結晶하여 4-acetylaminoalkylbenzene 39.5g(수득률 65.8%)을 얻었으며, m.p.는 88~90°C였다.

IR(KBr, cm<sup>-1</sup>): 3290, 3120, 3050, 2958, 2915, 2848, 1650, 1600, 1510, 1460, 1368, 1265, 825; NMR(CDCl<sub>3</sub>, δ): 0.87(*t*, 3H), 1.05~1.72(*m*,

12H), 2.12(*s*, 3H), 2.53(*t*, 2H), 6.98(*d*, 2H), 7.32(*d*, 2H), 7.75(*b*, 1H).

### 2.2.3 3-Nitro-4-acetylaminooctylbenzene 의 合成

攪拌裝置, 溫度計 및 滴下갈매기를 부착시킨 500ml 플라스크에 앞에서 合成한 4-acetylaminooctylbenzene 34g(0.138mole)을 넣고 초산과 초산무수물을 각각 180ml씩 가하여 溶解하였다. 얼음중탕을 이용하여  $-5^{\circ}\text{C}$ 로 冷却한 후 反應物의 온도를  $5^{\circ}\text{C}$  이하로 유지되도록 하면서 발연질산 17ml(0.405mole)를 1시간동안 서서히 가하였다. 완전히 가한 후  $5^{\circ}\text{C}$ 로 유지시키면서 1시간동안 放置하여 둔 다음 이 反應混合物를 얼음물속에 가하니 노란색의 고체가 析出되었다. 이 고체를 흡인여과하여 물로 몇차례 씻은 후 methyl alcohol로서 再結晶하여 34.7g(수득률 86.1%)의 3-nitro-4-acetylaminooctylbenzene을 얻었으며, m. p.는  $58\sim 59^{\circ}\text{C}$ 였다.

IR(KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3362, 2940, 2908, 2840, 1690, 1620, 1575, 1510, 1450, 1364, 1336, 1275, 838; NMR( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.86(*t*, 3H), 1.06~1.90(*m*, 12H), 2.25(*s*, 3H), 2.62(*t*, 2H), 7.13~7.53(*m*, 1H), 7.90(*s*, 1H) 8.50(*d*, 1H), 10.26(*b*, 1H).

### 2.2.4 3-Nitro-4-aminoalkylbenzene 의 合成

還流冷却器를 부착시킨 500ml 플라스크에 앞에서 合成한 3-nitro-4-acetylaminooctylbenzene 50g(0.171mole)을 넣고 ethyl alcohol 250ml를 가하여 溶解시킨 다음 진한 염산 40ml를 가하여 2시간 加熱 還流시켰다. 反應物을 실온으로 식힌 다음 0.5M NaOH 수용액 200ml에 저으면서 가해주니 갈색의 고체가 析出되었다. 흡인여과한 후 물로 세척하고 methyl alcohol로서 再結晶하여 36.5g(수득률 85.4%)의 3-nitro-4-aminoalkylbenzene을 얻었으며, m. p.는  $46\sim 47^{\circ}\text{C}$ 였다.

IR(KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3478, 3360, 2914, 2840, 1628, 1560, 1508, 1460, 1332, 818; NMR( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.86(*t*, 3H), 1.06~1.86(*m*, 12H), 2.53(*t*, 2H), 5.85(*b*, 2H), 6.66(*d*, 1H), 7.15(*d*, 1H), 7.86(*s*, 1H).

### 2.2.5 6-Alkylbenzofuroxan 의 合成

Smith<sup>19</sup>등이 제안한 方法으로 合成하였다. 攪拌裝置, 溫度計 및 滴下갈매기를 부착한 500ml 플라스크에 앞에서 合成한 3-nitro-4-aminoalkylbenzene 70.81g(0.283mole)과 물 112ml, 진한 염산(35%) 63.1ml를 가하고 얼음중탕에서 저으면서  $0\sim 5^{\circ}\text{C}$ 를 유지하였다. 또한 별도로 준비한  $\text{NaNO}_2$  19.52g에 물 67.2ml를 넣어서 만든 수용액을 위의 용액에 滴下갈매기로 소량씩 가하여  $0\sim 5^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간가량 저어주니 담황색의 용액을 얻을 수 있었다. 反應物을 흡인여과하고 여액을 얼음물로 외부를 냉각시킨 2l 비이커에 넣어 냉각시키고,  $\text{NaN}_3$  18.33g을 71.3ml의 물에 溶解시킨 수용액을 저으면서 가해주니 질소기체가 발생하였다. 질소기체의 발생이 끝난 후 분별갈매기에 넣어 toluene으로 추출하고 무수 황산나트륨을 넣어서 하루 밤 건조시켰다. 건조제를 분리하고 還流冷却器가 장치된 플라스크에 넣고 10시간 가열하니 질소기체의 발생이 중지되었다. 反應物을 실온으로 냉각시킨 다음 toluene을 증발 제거하여 자주색의 액체 6-octylbenzofuroxan 60.8g(수득률 86.6%)을 얻었다. 굴절률( $n_D^{20}$ )은 1.3980이었다.

IR(neat,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2925, 2852, 1618, 1590, 1525, 1484, 1460, 1370, 1348, 1008; NMR( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0.83(*t*, 3H), 1.03~2.00(*m*, 12H), 2.70(*t*, 2H), 6.80~7.83(*m*, 3H).

### 2.2.6 7-Alkyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide 의 合成

冷却器와 攪拌裝置를 구비한 100ml 플라스크에 앞에서 合成한 6-octylbenzofuroxan 3.97g(0.016mole)과 4-aminophenol 1.75g(0.016mole)을 50ml methyl alcohol에 溶解시킨 다음 0.86g(0.016mole)의 sodium methoxide를 가하고 저으면서 실온에서 24시간 反應시킨 후 反應物을 분별갈매기로 옮겨서 chloroform으로 抽出하였다. chloroform을 증발시킨 다음 column chromatography(展開溶媒, EtOH :  $\text{CHCl}_3=1:20$ )로 정제하여 진한 자주색의 7-octyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide 2.43g(수득률 44.8%)을 얻었으며, m. p.는  $110\sim 111^{\circ}\text{C}(\text{dec.})$ 였다.

IR(KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3310, 3200, 2910, 2845, 1598,

1335, 1074, 805; NMR(DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ): 0.83(t, 3H), 0.93~1.67(m, 12H), 2.78(t, 2H), 6.73(s, 2H), 6.97~7.82(m, 2H), 7.93~8.65(m, 4H); Anal. Calcd. for  $C_{20}H_{25}N_5O_2$ : C, 70.80; H, 7.37; N, 12.39. Found: C, 70.58; H, 7.39; N, 12.43.

**2.2.7 2-Aminophenazine-5, 10-dioxide의 合成**  
 冷却器와 攪拌裝置를 구비한 100ml 플라스크에 benzofuroxan 1.63g(0.012mole)과 4-aminophenol 1.31g(0.012mole)을 tetrahydrofuran 15ml와 methyl alcohol 15ml의 混合溶媒에 녹인 다음 0.65g(0.012mole)의 sodium methoxide를 가하고 저으면서 실온에서 24시간 反應시켰다. 反應物을 分별갈매기로 옮기고 chloroform으로 抽出하였다. chloroform을 증발 제거시킨 다음 ethyl alcohol로 再結晶하여 갈색고체인 2-aminophenazine-5, 10-dioxide 1.43g(수득률 52.5%)을 얻었으며, m. p.는 220~221°C(dec.)였다. IR(KBr,  $cm^{-1}$ ): 3310, 3170, 1608, 1340, 1078, 824; NMR(DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ): 6.72(b, 2H), 7.10~8.53(m, 7H); Anal. Calcd. for  $C_{12}H_9N_5O_2$ : C, 63.44; H, 3.96; N, 18.50. Found: C, 63.53; H, 3.98; N, 18.32.

### 2.3 物性調査

#### 2.3.1 表面張力の 測定

合成한 phenazine誘導體들은 물에 녹지 않기 때문에 염화아민鹽에 대하여 表面張力を 測定하였다. 2차 증류수를 使用하여  $10^{-2}$ ~ $10^{-6}$  mole/l의 각종 수용액을 만들고 溶媒의 증발을 막기 위해 페트리접시에 넣고 약 30분간 방치하여 표면층을 安定化시킨 다음 表面張력을 測定(測定溫度 27°C)하였다.

#### 2.3.2 抗菌性 試驗

抗菌性 實驗은 다음 5種의 菌株 즉, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29853, *Salmonella typhi*를 使用하였으며, 菌接種 18시간 전에 Brain heart infusion broth에 培養하였다. 合成한 phenazine誘導體들이 이들 菌株에 대한 抗菌作用을 관찰하기 위하여 Brain heart infusion broth 38g

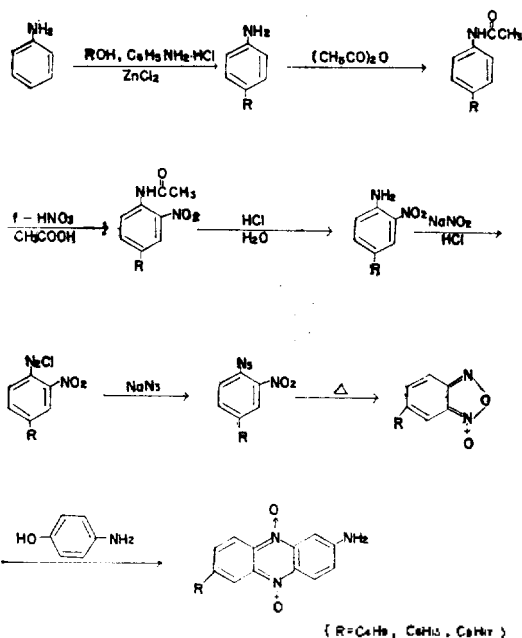
을 증류수 1l에 溶解시켜 基本培地로 使用하였다. 그리고 phenazine誘導體들은 물에 不溶이므로 각 1mg을 ethyl alcohol 1ml에 溶解시켜 Brain heart infusion broth 水溶液으로 倍數稀釋을 하였다.

抗菌性 試驗은 tube dilution method에 準하였는데, 시험관에 倍數稀釋法으로 Brain heart infusion broth 수용액 1ml에 化合物의 濃도가 각각 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78  $\mu$ g/ml 되게 하고 여기에 Brain heart infusion broth에서 培養한 培養菌液을 1 loop씩 接種하여 37°C에서 18시간 培養시킨 다음 육안으로 菌의 發育을 인지할 수 없는 最少의 濃度 즉, minimum inhibitory concentration(MIC)을 관찰하였다.

### 3. 結果 및 考察

#### 3.1 合成

각 段階별 合成經路는 Scheme 1에 나타내었다. Scheme 1에서 4-aminoalkylbenzene의 合成은 aniline과 alcohol類 및 Lewis acid인  $ZnCl_2$ 를 利用한 Lucas reagent로 하였으며, Dean-Stark trap으로서 反應이 進行됨에 따라 生成되는 물을



Scheme 1. Overall scheme for synthesis of 7-alkyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide.

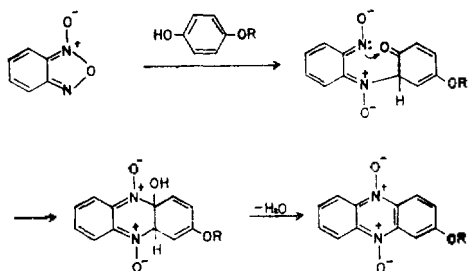
除去시키니 反應溫度가 上昇하였다. 赤外線 스펙트럼에서는  $820\sim 823\text{cm}^{-1}$  부근에서  $\nu$ -置換體의 C-H 面外變角振動 피이크를 확인할 수 있었으나  $735\sim 770\text{cm}^{-1}$  부근에서 나타나는  $\sigma$ -置換體의 C-H 面外變角振動 피이크는 볼 수 없었으며, 核磁氣共鳴 스펙트럼에서는  $6.28\sim 6.36\text{ppm}$  과  $6.82\sim 6.88\text{ppm}$  부근에서 AA'BB' type의 대칭된 피이크를 확인할 수 있었다.

3-nitro-4-aminoalkylbenzene 으로부터 6-alkyl-benzofuroxan 의 合成에서는 하이포염소산나트륨으로 酸化하는 方法<sup>20</sup>이 있으나 이 方法은 alkyl기가 酸化될 가능성이 있고 有毒한 염소기체의 취급에 대한 위험 때문에 다른 方法 즉, 아미노기를 디아조화시킨 다음  $\text{NaN}_3$  로서 Sandmeyer 反應을 거쳐 熱分解하는 方法을 택하였다.

6-alkylbenzofuroxan 의 赤外線 스펙트럼에서는 N $\rightarrow$ O 伸縮振動 피이크<sup>7,21</sup>를  $1348\sim 1350\text{cm}^{-1}$  부근에서 볼 수 있었으며 最終化合物인 phenazine 誘導體에서도 확인할 수 있었다. 또한 phenazine 誘導體에서는  $3305\sim 3310\text{cm}^{-1}$  및  $3170\sim 3200\text{cm}^{-1}$  부근에서 2개의 N-H 伸縮振動 피이크를 볼 수 있었으며,  $805\sim 824\text{cm}^{-1}$  부근에서 phenazine 고리계의 骨格振動에 해당하는 피이크<sup>22</sup>를 확인할 수 있었다. 그리고 最終段階, 즉 benzofuroxan 類로부터 phenazine 誘導體의 合成에 대한 반응메카니즘은 아래와 같이 이루어졌다고 報告<sup>13</sup>되어 있다(Scheme 2).

### 3.2 表面張力

合成한 phenazine 誘導體들이 물에 녹지 않기 때문에 염화아민鹽의 경우에만 測定하였는데 Fig. 6 에 phenazine 誘導體들의 表面張력과 濃度



Scheme 2. A proposed mechanism for the formation of phenazine-5,10-dioxide derivative from benzofuroxan and phenolic compound.

와의 관계를 나타내었다.

Fig. 6 에 의하면 butyl 誘導體의 경우  $10^{-2}$  mole/l 에서  $44.6\text{dyne/cm}$  까지 表面張力を 底下시켰으나 critical micelle concentration(CMC)을 나타내는 屈曲點을 확실히 알 수 없었다. 그러나 曲線의 傾向으로 부터 어느정도 미셀形成이 이루어졌다고 추측하였는데, 이것은 butyl 誘導體가 hexyl 이나 octyl 誘導體의 경우보다 疎水性이 약하기 때문이라고 생각되었다. hexyl 및 octyl 誘導體의 경우는  $10^{-4}$  mole/l 에서 CMC를 나타내는 屈曲點이 관찰되었기에 미셀形成이 이루어졌다고 생각하였다. phenazine 誘導體들의 表面張力 底下能力은  $10^{-4}$  mole/l 에서 butyl 기는  $50.2\text{dyne/cm}$ , hexyl 기는  $38.2\text{dyne/cm}$ , octyl 기는  $32.5\text{dyne/cm}$  로서 alkyl기의 탄소수가 증가할수록 表面張力 底下能力이 크다는 것을 알 수 있었다. 그리고 2-aminophenazine-5,10-dioxide의 경우에는 濃도에 따른 表面張力の 底下를 거의 찾아 볼 수 없었다.

### 3.3 抗菌性

7-alkyl-2-aminophenazine-5,10-dioxide 및 2-aminophenazine-5,10-dioxide의 gram 陽性菌과 gram 陰性菌에 대한 MIC를 Table 1에 나타내었다.

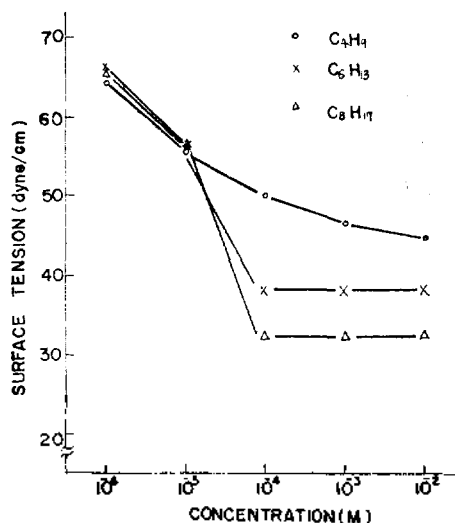


Fig. 6. Correlation between concentration and surface tension of 7-alkyl-2-aminophenazine-5,10-dioxide hydrochloride.

Table 1. Minimum inhibitory concentrations ( $\mu\text{g/ml}$ ) of 7-alkyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide

Organisms	Sample	7-alkyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide <sup>a</sup>			
		H	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>
<i>St. aureus</i> ATCC 25923 (+) <sup>b</sup>		50	12.5	12.5	25
<i>B. subtilis</i> (+)		25	6.25	12.5	25
<i>E. coli</i> ATCC 25922(-) <sup>c</sup>		50	12.5	25	25
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 29853(-)		50	12.5	52	25
<i>Sal. typhi</i> (-)		50	12.5	12.5	25

<sup>a</sup> alkyl group=H, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>, C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>. <sup>b</sup> Gram positive. <sup>c</sup> Gram negative.

Table 1에 의하면 phenazine誘導體에서 alkyl기가 butyl, hexyl, octyl기로 바뀌어짐에 따라 이들의 MIC는 gram 양성균인 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923에 대해서는 12.5, 12.5 및 25 $\mu\text{g/ml}$ 이고, *Bacillus subtilis*에 대해서는 6.25, 12.5 및 25 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났다. 그리고 gram 음성균인 *Escherichia coli* ATCC 25922와 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29853에 대해서는 각각 12.5, 25 및 25 $\mu\text{g/ml}$  그리고 *Salmonella typhi*에 대해서는 12.5, 12.5 및 25 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났는데, alkyl기의 탄소수가 적을수록抗菌력이 강하다는 것을 알 수 있었다. 또한 이들의 MIC를 alkyl기가 없는 2-aminophenazine-5, 10-dioxide의 MIC와 비교할 때 alkyl기가 있는 경우가 alkyl기가 없는 경우보다抗菌력이 강하게 나타났는데 이것은 第1報<sup>14</sup>에서 報告한 것과一致하였다. 그리고 *Staphylococcus aureus*에 대한 1-aminophenazine의 MIC가 78 $\mu\text{g/ml}$ 인 경우<sup>23</sup>와 amino기의 위치가 조금 다르지만 本實驗에서 合成한 2-aminophenazine-5, 10-dioxide의 MIC가 50 $\mu\text{g/ml}$ 인 경우를 비교할 때 phenazine고리의 질소원자에 산소원자가 配位되어 4차 암모늄鹽과 같은 구조를 갖는 phenazine dioxide는 일반적인 phenazine고리를 갖는誘導體보다抗菌력이 강하다는事實을 알 수 있었다. 또한 이것은 1,6-dihydroxyphenazine과 1,6-dihydroxyphenazine-5, 10-dioxide의 경우 *Escherichia coli*에 대한 MIC가 >75 및 >2 $\mu\text{g/ml}$ 인

報告<sup>24, 24</sup>와도 잘一致하였다. 이러한 사실로 미루어 볼때 phenazine誘導體의 경우 N→O結合部分이抗菌력에 큰 역할을 한다고 생각되었다. 따라서 合成한 7-alkyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide와 2-aminophenazine-5, 10-dioxide의抗菌性試驗에서는 gram 음성균보다 gram 양성균에抗菌력이 강하게 나타났으며, alkyl기가 없는 경우보다는 alkyl기가 있는 경우가抗菌력이 더 강하였다. 그리고 alkyl기가 butyl, hexyl, octyl기인 경우에서 탄소수가 적은 butyl誘導體가 가장 강한抗菌력을 지니고 있음을 알 수 있었다.

특히 表面張力 底下能力과抗菌性과의 관계에서는 界面活性이 큰 octyl誘導體의 경우가抗菌력이 약한 반면에 界面活性이 작은 butyl誘導體가 가장 강한抗菌력을 가진다는事實과, 일반적으로抗菌성에作用하는因子는細胞壁이나細胞膜機能의妨害<sup>25</sup>, 유전정보의誤讀 및呼吸反應의阻害<sup>26</sup>, 단백질生合成의阻害<sup>27</sup>등 여러가지因子들이 있으므로 界面活性이 크다고 하여 반드시抗菌력이 강하다고 할 수 없을 것이다.

이상의實驗結果는 4차 암모늄鹽<sup>28</sup>이나 Malachite green<sup>29</sup>에 대하여 界面活性과抗菌性的 관계를 研究한 報告와도 잘一致하였다.

#### 4. 結 論

aniline과 *n*-alkyl alcohol類를 출발물질로 하여 6 단계를 거쳐 7-butyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide, 7-hexyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide 및 7-octyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide를 각각 合成하고, benzofuroxan과 4-aminophenol로부터 2-aminophenazine-5, 10-dioxide를 合成한 다음 이들 phenazine誘導體에 대한 表面張力과抗菌性과의 관계를 비교 조사하였다.

7-alkyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide의 염화아민鹽의 경우에 表面張力を測定한結果 10<sup>-4</sup> mole/l에서 butyl誘導體는 50.2dyne/cm, hexyl誘導體는 38.2dyne/cm, 그리고 octyl誘導體는 32.5dyne/cm까지 表面張力を 底下시켰으므로

7-alkyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide 는 界面活性를 가진다는 것을 알 수 있었다.

phenazine 誘導體들의 抗菌性을 조사한 結果 대장균에 대해서는 gram 陰性菌보다 gram 陽性菌에 강한 抗菌力을 나타내었으며, alkyl기가 없는 경우보다는 alkyl기가 있는 경우가 抗菌力이 더 강하였다. 그리고 alkyl기가 butyl, hexyl, octyl기인 경우에서 탄소수가 적은 butyl 誘導體가 가장 강한 抗菌力을 가지고 있음을 알았다. 따라서 이들 phenazine 誘導體에서 表面張力 底下能力은 octyl 誘導體의 경우가 크며 抗菌力은 butyl 誘導體의 경우가 가장 강하다는 事實에서 表面張力 底下能力과 抗菌性은 直接的인 連關性이 없다는 事實을 再確認하였다.

#### 인 용 문 헌

- (a) A. J. Kluyver, *J. Bacteriol.*, **72**, 406(1956); (b) W. C. Haynes *et al.*, *ibid.*, **72**, 412(1956).
- (a) N. N. Gerber and M. P. Lechevalier, *Biochemistry*, **3**, 598(1964); (b) K. Katagiri, H. Endo, M. Tada and Y. Kimura, *Ann. Rept. Shionogi Res. Lab.*, **15**, 84(1965).
- (a) R. Takeda, *J. Ferm. Technol.*, **36**, 281(1958); (b) P. C. Chang and A. C. Blackwood, *Can. J. Microbiol.*, **15**, 439(1969).
- C. Gessard, *Ann. Inst. Pasteur*, **4**, 88(1890).
- (a) F. Wrede and E. Strack, *Z. Physiol. Chem.*, **140**, 1(1924); (b) M. O. Burton, B. A. Eagles and J. J. R. Campbell, *Can. J. Res.*, **25C**, 121(1947); (c) M. O. Burton, J. J. R. Campbell and B. A. Eagles, *ibid.*, **26C**, 15(1948); (d) K. A. Jensen and C. H. Holten, *Acta Chem. Scand.*, **3**, 1446(1949).
- M. E. Levitch and P. Rietz, *Biochemistry*, **5**, 689(1966).
- G. R. Clemo and A. F. Daglish, *J. Chem. Soc.*, 1950, 1481.
- (a) R. Takeda and I. Nakanishi, *Hakko Kagaku Zasshi*, **38**, 9(1959); (b) W. M. Ingledew and J. J. R. Campbell, *Can. J. Microbiol.*, **15**, 535(1969); (c) U. Hollstein and L. G. Marshall, *J. Org. Chem.*, **37**, 3510(1972); (d) C. B. Stephen and J. M. Turner, *Biochem. Soc. Trans.*, **1**, 751(1973).
- (a) C. Mermod, *Helv. Chim. Acta*, **18**, 362(1935); (b) U. Hollstein, *J. Heterocyclic Chem.*, **5**, 299(1968).
- I. Yosioka, *Yakugaku Zasshi*, **72**, 847(1952).
- (a) R. B. Herbert and F. G. Holliman, *Tetrahedron*, **21**, 663(1965); (b) S. R. Challand, R. B. Herbert and F. G. Holliman, *J. C. S. Chem. Commun.*, 1970, 1423.
- F. G. Holliman and B. A. Jeffery, *Tetrahedron*, **19**, 1841(1963).
- (a) M. J. A. El-Haj *et al.*, *J. Org. Chem.*, **37**, 589(1972); (b) M. L. Edwards, R. E. Bambury and H. K. Kim, *J. Heterocyclic Chem.*, **13**, 653(1976); (c) C. H. Issidorides *et al.*, *Tetrahedron*, **34**, 217(1978).
- J. D. Kim and Y. H. Park, *J. Korean Chem. Soc.*, **25**, 199(1981).
- J. D. Kim, D. S. Kim, S. J. Lee and S. W. Han, *ibid.*, **27**, 457(1983).
- I. J. Rinkes, *Recueil des Travaux chimiques des Pays-Bas*, **62**, 557(1943).
- (a) 淺原照三, 高木行雄, 生産研究, **6**, 220(1954); (b) 淺原照三, 高木行雄, 渡邊重, 工業化學雜誌, **59**, 578(1956).
- R. C. Weast, "Handbook of Chemistry and Physics," 53rd Ed., P. C142, The Chemical Rubber Co., 1972.
- P. A. S. Smith and J. H. Boyer, *Org. Syn.*, **31**, 14(1951).
- (a) A. G. Green and F. M. Rowe, *J. Chem. Soc.*, 1912, 2443; (b) F. M. Rowe and J. S. H. Davies, *ibid.*, 1920, 1344.
- M. J. Haddadin and C. H. Issidorides, *Tetrahedron Letters*, 3253(1965).
- C. Stammer and A. Taurins, *Spectrochim. Acta*, **19**, 1625(1963).
- I. Yosioka and S. Uehara, *Yakugaku Zasshi*, **78**, 351(1958).
- N. N. Gerber and M. P. Lechevalier, *Biochemistry*, **4**, 176(1965).
- (a) H. Akabori and M. Nakamura, *J. Antibiotics, Ser. A*, **12**, 17(1959); (b) J. F. Riley, *Cancer Res.*, **8**, 183(1948).



26. K. Hano, H. Iwata and K. Nakajima, *Chem. Pharm. Bull.*, **13**, 107(1965).
27. M. Cannon, J. E. Davies and A. Jimenez, *FEBS Lett.*, **32**, 277(1973).
28. R. S. Shelton *et al.*, *J. Amer. Chem. Soc.*, **68**, 753(1946).
29. 內堀毅, 渡邊昭一郎, 阿部芳郎, *油化學*, **26**, 715(1977).