

페나진 유도체의 합성과 항균성에 관한 연구(제 2보)

姜一英·金相烈·金浩植^{*†}·金鍾大^{**}·許 增^{***}

효성여자대학교 약학대학

^{*}효성여자대학교 사범대학 화학과

^{**}영남대학교 이과대학 화학과

^{***}영남대학교 약학대학

(1989, 12, 4 접수)

Synthesis and Antimicrobial Activity of Phenazine Derivatives (II)

Il Young Kang, Sang Yul Kim, Ho Sik Kim^{*†}, Jong Dae Kim^{**}, and Keun Huh^{***}

College of Pharmacy, Hyosung Women's University, Gyongsan 713-900, Korea

^{*}Department of Chemistry, Teacher's College, Hyosung Women's University, Gyongsan 713-900, Korea

^{**}Department of Chemistry, Yeungnam University, Gyongsan 713-800, Korea

^{***}College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyongsan 713-800, Korea

(Received December 4, 1989)

요 약. 아세트아닐리드와 부타노일, 헥사노일, 옥타노일기를 가진 *n*-acyl chloride 류로부터 6-acylbenzofuroxan 류를 합성하고, 이들과 히드로퀴논 및 4-아미노페놀을 반응시켜 8-acyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide 류와 8-acyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide 류를 합성하였다. 이들 phenazine dioxide 유도체의 항균성을 회석법에 의하여 최소 말육저지 농도로서 조사하였는데, 그람양성균에서 옥타노일기를 가진 phenazine dioxide 유도체들이 부타노일기나 헥사노일기를 가진 유도체를 보다 항균성이 더 강하였으나, 그람음성균에서는 항균성과 아실기의 탄소수와는 관계가 없다는 것은 알았다. 활성산소(O₂⁻) 생성의 주효소인 xanthine oxidase의 활성을 phenazine dioxide 유도체 존재하에서 측정했을 때 8-acyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide 류의 효소활성 저해작용은 아실기의 탄소수가 증가함에 따라 증가하였다.

ABSTRACT. 8-Acyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxides and 8-acyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxides were synthesized by the reaction of hydroquinone and 4-aminophenol with 6-acylbenzofuroxans which had been obtained from acetanilide and *n*-acyl chlorides bearing butanoyl, hexanoyl and octanoyl groups. The antimicrobial activities of these phenazine dioxide derivatives were investigated in terms of minimum inhibitory concentration by the common twofold dilution technique. It was observed that the antimicrobial activity of the phenazine dioxide derivatives bearing octanoyl group was stronger than that of those bearing butanoyl and hexanoyl groups in gram positive microorganisms, but it was observed that the antimicrobial activity and the number of the carbon atom of acyl groups did not have any relation in gram negative microorganisms. When the activity of xanthine oxidase which is the key enzyme in the generation of superoxide anion radical (O₂⁻), was measured in the presence of phenazine dioxide derivatives, the inhibitory action of the enzyme activity of 8-acyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxides was increased in accordance with the number of the carbon atom of acyl groups.

서 론

미생물의 길항현상으로서 녹농균이 다른 미생물에 대하여 억제물질을 생산하는데 이의 활성성분으로서 pyocyanine¹, 1-hydroxyphenazine²이 분리되었으며, 이들은 페나진 골격을 가지고 있다는 것을 알았다. 그 후 페나진 골격을 가진 iodinin³, lomofungin⁴ 등이 미생물의 대사산물에서 분리되었으며 (Chart 1), 항균성을 가진 수 많은 페나진 유도체들이 미생물의 대사산물⁵에서나 혹은 화학적인 방법⁶으로 합성되어졌다. 저자들도 몇 가지 페나진 유도체를 합성하여 본지에 보고⁷한 바 있다 (Chart 2).

본 연구는 항균성을 가진 헤테로고리 화합물을 합성⁷⁻¹³하던 중 아세트아닐리드와 *n*-acyl chloride 류를 출발물질로 하여 아실화반응, 니트로화반응, 가수분해 및 디아조화반응을 거쳐 6-acylbenzofuroxan 류를 합성한 다음, 히드로퀴논 및 4-아미노페놀을 반응시켜 새로운 phenazine dioxide 유도체인 8-acyl-2-hydroxyphenazine-5,10-dioxide 류 및 8-acyl-2-aminophenazine-5,10-dioxide 류를 각각 합성하였다 (Chart 3).

그리고 생체내의 복잡한 생리작용은 활성산소 (superoxide anion radical)의 생성계와 분해과정의 원활한 조절에 의해서 이루어지며²⁰, 생성계의 과잉현상은 생체에 독성을 유발시킨다는 보고²¹와 생성계에 관여하는 효소가 xanthine oxidase²²임을 감안하여 저자들은 새로운 헤테로고리 화합

물인 phenazine dioxide 유도체들을 합성하고 이들 유도체의 항균작용과 화학구조와의 상호관계를 비교 조사하였으며, 또한 약리작용을 검토하기 위해 화학구조와 활성과의 관계를 효소활성 억제작용과 관련지어 고찰하였다.

결과 및 고찰

합 성. 각 단계별 합성경로는 Scheme 1에 나타내었다.

Scheme 1에 의하면 4-아실-2-니트로아닐린으로부터 6-acylbenzofuroxan 류의 합성에서는 아미노기를 디아조화시키고, 아지드화나트륨을 사용한 Sandmeyer 반응으로서 아지드화시킨 다음 틀루엔 용매하에서 열분해하는 방법²³을 택하였다. 이 방법 외에도 차아염소산나트륨으로 산화시키는 방법²⁴이 있으나 이 방법을 피한 이유는 유독한 염소기체의 취급에 대한 위험 뿐만 아니라 벤젠핵에 결합된 아실기가 산화될 가능성을 우려하였기 때문이었다.

6-acylbenzofuroxan 류의 합성에서 4-butanoyl-2-nitroaniline 의 경우 디아조화반응과 아지드화나트륨을 사용한 Sandmeyer 반응을 거치니 4-butanoyl-2-nitrophenylazide 의 황색고체가 석출되었는데, 이것은 적외선 스펙트럼에서 2112

Chart 1

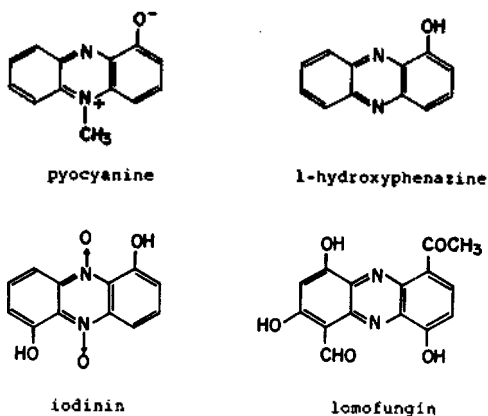


Chart 2

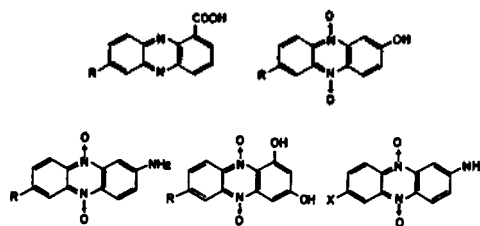
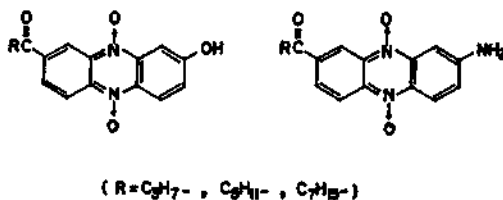
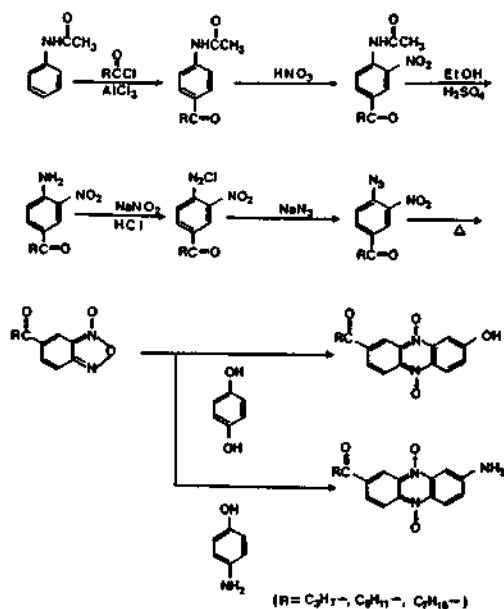


Chart 3



(R = C₂H₅-, C₆H₁₁-, C₇H₁₅-)



Scheme 1.

cm⁻¹에 나타난 azide의 N₃ 신축진동띠로 확인되었다. 그러나 4-hexanoyl-2-nitrophenylazide와 4-octanoyl-2-nitrophenylazide의 경우에는 고체로 석출되지 않아서 톨루엔으로 추출한 다음 환류시켰다.

Benzofuroxan 유도체들은 적외선 스펙트라에서 N→O 신축진동이 1010~1018 cm⁻¹ 및 1300~1346 cm⁻¹ 부근에서 나타났으므로 확인할 수 있었다²⁵.

8-acyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide 류의 합성은 benzofuroxan 유도체와 히드로퀴논을 실온에서 반응시켜서 합성하였다. 이들 phenazine dioxide 유도체의 적외선 스펙트라에서는 3330~3400 cm⁻¹ 부근에 수소결합한 O-H 신축진동띠를 볼 수 있었으며, 1070~1076 cm⁻¹ 및 1338~1344 cm⁻¹ 부근에서 N→O 신축진동띠를 볼 수 있었다.

또한 8-acyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide 류의 합성은 benzofuroxan 유도체와 4-아미노페놀을 실온에서 반응시켜 합성하였는데, 이들 phenazine dioxide 유도체의 적외선 스펙트라에서는 3170~3318 cm⁻¹ 및 3310~3405 cm⁻¹ 부근에서 두 개의 N-H 신축진동띠와 1074~1078

Table 1. Antimicrobial spectrum of 8-acyl-2-hydroxyphenazine-5,10-dioxides

Organisms	8-acyl-2-hydroxyphenazine-5,10-dioxide		
	Sample C ₃ H ₇ C-	C ₅ H ₁₁ C-	C ₇ H ₁₅ C-
<i>St. aureus</i> ATCC 25923(+) ^a	100 ^c	25	6.25
<i>B. subtilis</i> (+)	50	25	12.5
<i>E. coli</i> ATCC 25922(-) ^b	100	100	100
<i>P. aeruginosa</i> (-)	100	100	100
<i>Sal. typhi</i> H 901(-)	50	50	50

Table 2. Antimicrobial spectrum of 8-acyl-2-amino-phenazine-5,10-dioxides

Organisms	8-acyl-2-amino-phenazine-5,10-dioxide		
	Sample C ₃ H ₇ C-	C ₅ H ₁₁ C-	C ₇ H ₁₅ C-
<i>St. aureus</i> ATCC 25923(+) ^a	50 ^c	25	6.25
<i>B. subtilis</i> (+)	50	25	12.5
<i>E. coli</i> ATCC 25922(-) ^b	100	100	100
<i>P. aeruginosa</i> (-)	100	100	100
<i>Sal. typhi</i> H 901(-)	50	50	50

^aGram positive, ^bGram negative, ^cMIC(minimum inhibitory concentration); ug/ml.

cm⁻¹ 및 1330~1340 cm⁻¹ 부근에서 N→O 신축진동띠를 볼 수 있었다. 특히 phenazine dioxide 유도체들은 810~840 cm⁻¹ 부근에서 페나진고리계의 골격진동에 해당하는 흡수띠²⁶를 확인할 수 있었다.

항균성. Phenazine dioxide 유도체들의 그람 양성균과 그람 음성균에 대한 MIC를 Table 1과 2에 각각 나타내었다.

Table 1에 나타낸 것처럼 8-acyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide 류에서 아실기가 부타노일, 헥사노일 및 옥타노일로 바뀌어짐에 따라 이들의 MIC는 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923에 대해서는 100, 25 및 6.25 μg/ml 이고, *Bacillus subtilis*에 대해서는 50, 25 및 12.5 μg/ml로 나타났다. 그리고 그람 음성균인 *Escherichia coli* ATCC 25922와 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해서도 모두 100 μg/ml 이고, *Salmonella typhi* H 901에 대해서는 모

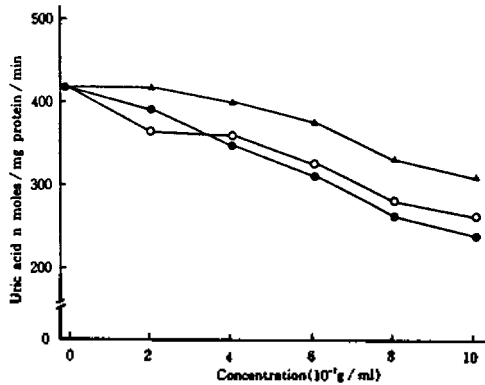


Fig. 1. Effect of phenazine dioxide derivatives on the hepatic xanthine oxidase activities in vitro. Each points represent the mean of 3 experiments. 8-butanoyl-2-hydroxyphenazine-5,10-dioxide, ▲-▲; 8-hexanoyl-2-hydroxyphenazine-5,10-dioxide, ○-○; 8-octanoyl-2-hydroxyphenazine-5,10-dioxide, ●-●.

두 $50 \mu\text{g/ml}$ 로 나타났는데, 그람양성균에서는 아실기의 탄소수가 많을수록 항균력이 강해진다는 것을 알 수 있었으나 그람음성균에서는 아실기의 탄소수와 항균력은 무관하다는 것을 알았다. 그리고 항균작용은 그람음성균에서 보다 그람양성균에서 강하게 나타남을 알 수 있었다.

이와 같은 결과는 8-acyl-2-aminophenazine-5,10-dioxide 류의 경우에도 비슷하게 관찰되었는데, Table 2에 의하면 아실기가 부타노일, 헥사노일 및 옥타노일로 바뀌어짐에 따라 이들의 MIC가 그람양성균인 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923에 대해서는 50, 25 및 $6.25 \mu\text{g/ml}$ *Bacillus subtilis*에 대해서는 50, 25 및 $12.5 \mu\text{g/ml}$ 로 나타났다. 그리고 그람음성균인 *Escherichia coli* ATCC 25922 및 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해서는 모두 $100 \mu\text{g/ml}$ 이고, *Salmonella typhi* H 901에 대해서는 모두 $50 \mu\text{g/ml}$ 로 나타났는데, 그람양성균에 대해서는 아실기의 탄소수가 많을수록 항균력이 강해진다는 것을 알 수 있었고, 그람음성균에 대해서는 아실기의 탄소수와 항균작용은 무관하다는 것을 알았다. 그리고 항균력은 그람양성균에서 그람음성균보다 강하게 나타남을 알 수 있었다.

효소활성. 합성한 phenazine dioxide 유도체를 시험관내에서 농도를 다르게 하면서 첨가했을

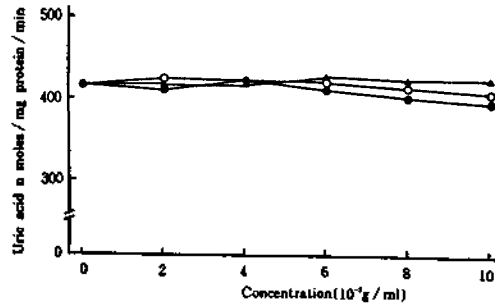


Fig. 2. Effect of phenazine dioxide derivatives on the hepatic xanthine oxidase activities in vitro. Each points represent the mean of 3 experiments. 8-butanoyl-2-aminophenazine-5,10-dioxide, ▲-▲; 8-hexanoyl-2-aminophenazine-5,10-dioxide, ○-○; 8-octanoyl-2-aminophenazine-5,10-dioxide, ●-●.

때 hydroxyapatite column을 통하여 정제된 xanthine oxidase 활성에 어떤 영향을 주는가를 비교 관찰하여 Fig. 1과 2에 각각 나타내었다.

Fig. 1에 의하면 히드록시기가 치환되어 있는 phenazine dioxide 유도체들은 첨가농도에 따라 효소의 활성이 현저하게 억제되었는데 시험관내에 $8 \times 10^{-7} \text{g/ml}$ 첨가했을 때는 각각 329.9, 289.4 및 $277.8 \text{ nmoles/mg protein/min}$ 으로서 대조치²⁷인 $416.7 \text{ nmoles/mg protein/min}$ 에 비하여 약 20, 30 및 35% 정도 현저히 억제되었으며, 이들 유도체의 효소활성 억제작용은 아실기의 탄소수가 많을수록 강하게 나타남을 알 수 있었다. 그러나 Fig. 2와 같이 아미노기가 치환되어 있는 phenazine dioxide 유도체들은 시험관내의 첨가농도를 증가시켜도 효소활성에는 별다른 영향을 미치지 않았다.

최근에 생체내의 여러 가지 생리화학적 현상은 활성산소의 생성과 분해에 의존하고 있음²⁰이 알려지고 있으므로 활성산소 생성효소인 xanthine oxidase의 활성변동을 검토하였을 때 합성한 phenazine dioxide 유도체들이 유의성있게 억제됨을 관찰할 수 있었다.

실 험

시약 및 기기

본 실험에 사용한 시약 중 판 크로마토그래피는

실리카겔(Wakogel C-200)을 이용하였으며, xanthine sodium salt는 Nakarai Chem. Co. 그리고 hydroxyapatite는 Sigma Chem. Co. 등의 제품을 사용하였다. 그 밖의 시약들은 Aldrich, Wako, Shinyo, Junsei Chem. Co. 등의 제품을 정제하지 않고 그대로 사용하였다. 합성한 화합물을 확인하였는데 사용한 기기는 melting point apparatus(Haake Buchler Co., 온도보정없이 사용하였음), IR spectrophotometer(Perkin-Elmer 753B), NMR spectrometer(Bruker WP-80) 및 elemental analyzer(Perkin-Elmer 240B)를 사용하였다. 그리고 약리작용 실험에는 UV spectrophotometer(Hitachi Model 200-20), refrigerated centrifuge(Hitachi 20PP-52D), ultracentrifuge(Hitachi 70P-72) 및 fraction collector(Korea Manhattan)를 사용하였다.

화합물의 합성

아세트아닐리드와 *n*-acyl chloride 류를 출발물질로 하여 5단계를 거쳐 6-acylbenzofuroxan 류를 합성하고 이들과 히드로퀴논, 4-아미노페놀을 각각 반응시켜 8-acyl-2-hydroxyphenazine-5,10-dioxide 류 및 8-acyl-2-aminophenazine-5,10-dioxide 류를 합성하였다. 합성한 phenazine dioxide 유도체들의 아실기는 *n*-부타노일, *n*-헥사노일, *n*-옥타노일기를 각각 가지고 있는데 본 논문에서는 *n*-butanoyl chloride로 합성한 것을 대표적으로 서술하였다. 그리고 *n*-hexanoyl chloride나 *n*-octanoyl chloride를 사용할 때도 *n*-butanoyl chloride의 경우와 같은 당량비로 하였으며, 합성법도 이에 준하여 행하였다.

(1) 4-Acylacetanilide 류의 합성. Leiser-son²⁸ 등의 방법으로 합성하였다. 환류냉각기가 부착된 1l 플라스크에 아세트아닐리드 81.1g (0.6 mol), CS₂ 350 ml 및 *n*-butanoyl chloride 85.2g (0.8 mol)을 넣고 저으면서 염화알루미늄 260g (2 mol)을 20~30분 동안 서서히 가한 다음 가열하였다. 반응이 진행될 동안 냉각기 상부로 HCl 기체가 방출되는데, 24시간 정도 반응시키니 기체의 방출이 중단되었다. 반응물을 실온으로 냉각시킨 후 상부의 CS₂층은 버리고 하

부의 적갈색을 띤 내용물을 진한 염산 20 ml에 얼음물 200 ml를 가한 용액에 저으면서 가하니 연한 갈색의 고체가 석출되었다. 석출된 고체를 감압여과한 후 메탄올로 재결정하여 4-butanoylacetanilide 115g(수득률 93.5%)을 얻었으며, mp는 123~124°C였다.

IR(KBr, cm⁻¹): 3335, 2955, 1686, 1644, 1598, 1512, 1460, 1364, 1245, 825; ¹H NMR(CDCl₃, δ): 0.98(t, 3H), 1.73(sext, 2H), 2.20(s, 3H), 2.92(t, 2H), 7.63(d, 2H), 7.92(d, 2H), 8.48(br, 1H).

(2) 4-Acyl-2-nitroacetanilide 류의 합성. Lothrop²⁹의 방법으로 합성하였다. 교반장치, 온도계 및 적하깔때기를 부착시킨 500 ml 비이커에 앞에서 합성한 4-butanoylacetanilide 69.7g (0.34 mol)을 넣고 초산무수물 300 ml를 가하여 용해시켰다. 얼음중탕에서 반응물의 온도를 5°C 이하로 유지하면서 발연질산 50.4 ml (1.2 mol)를 서서히 가한 후 2시간 동안 반응시켰다. 이 반응물을 저으면서 얼음물 1l에 가하니 황색고체가 석출되었는데, 감압여과하여 물 100 ml로 3차례 세척한 다음 메탄올로 재결정하여 4-butanoyl-2-nitroacetanilide 80.24g(수득률 94.4%)을 얻었으며, mp는 94~95°C였다.

IR(KBr, cm⁻¹): 3330, 2958, 2930, 2870, 1710, 1670, 1605, 1575, 1502, 1440, 1370, 1340, 1278, 842; ¹H NMR(CDCl₃, δ): 1.03(t, 3H), 1.78(sext, 2H), 2.35(s, 3H), 2.96(t, 2H), 8.18(d, 1H), 8.80(d, 1H), 8.95(s, 1H), 10.48(br, 1H).

(3) 4-Acyl-2-nitroaniline 류의 합성. Fanta 등³⁰의 방법으로 합성하였다. 환류냉각기를 부착시킨 500 ml 플라스크에 앞에서 합성한 4-butanoyl-2-nitroacetanilide 75g (0.3 mol)을 넣고 에탄올 300 ml를 가하여 용해시킨 다음 진한 황산 40 ml를 가하여 5시간 환류시켰다. 반응물을 실온으로 냉각시킨 후 0.5 M NaOH 용액 300 ml에 저으면서 가해주니 갈색고체가 석출되었다. 고체를 감압여과한 다음 물 100 ml로 3차례 세척하고 메탄올로 재결정하여 4-butanoyl-2-nitroaniline 59.4g(수득률 95.2%)을 얻었

으며, mp는 111~113 °C였다.

IR(KBr, cm^{-1}): 3458, 3310, 2930, 2870, 1662, 1618, 1554, 1520, 1480, 1370, 1344, 838; $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3, \delta)$: 1.02(t, 3H), 1.76(sext, 2H), 2.90(t, 2H), 6.53(br, 2H), 6.88(d, 1H), 7.96(d, 1H), 8.75(s, 1H).

(4) 6-Acylbenzofuroxan 류의 합성. Smith 등²³의 방법으로 합성하였다. 교반장치, 온도계 및 적하깔때기를 부착시킨 500 ml 비이커에 앞에서 합성한 4-butanoyl-2-nitroaniline 50 g(0.24 mol)에 증류수 96 ml, 진한 염산 54 ml를 가하고 얼음중탕에서 저으면서 0~5 °C를 유지하였다. 또한 별도로 준비한 비이커에 아질산 나트륨 17.4 g에 증류수 60 ml를 넣어서 만든 수용액을 위의 용액에 0~5 °C를 유지하면서 적하깔때기로 소량씩 가한 후 1시간 동안 반응시켰다. 반응물을 감압여과한 다음 여액을 1 l 비이커에 넣고 얼음물로 비이커 외부를 냉각시키면서 아지드화 나트륨 15.6 g을 증류수 60 ml에 용해시킨 수용액을 가해주니 질소기체가 발생하면서 황색고체인 4-butanoyl-2-nitrophenylazide가 석출되었다. 감압여과한 후 환류냉각기가 부착된 200 ml 플라스크에 넣고 톨루엔 60 ml를 가한 다음 10시간 환류시키니 질소기체의 발생이 중지되었다. 톨루엔을 증발 제거시킨 후 메탄올로 재결정하여 6-butanoylbenzofuroxan 37.2 g(수득률 75.3%)을 얻었으며, mp는 55~56 °C였다.

IR(KBr, cm^{-1}): 3090, 2960, 2930, 2870, 1675, 1602, 1580, 1528, 1480, 1445, 1365, 1305, 1018; $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3, \delta)$: 1.03(t, 3H), 1.80(sext, 2H), 3.00(t, 2H), 7.10~8.72(m, 3H).

(5) Phenazine dioxide 유도체의 합성

8-Acyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide 류의 합성. 교반장치와 냉각기를 부착시킨 100 ml 플라스크에 앞에서 합성한 6-butanoylbenzofuroxan 3.3 g(0.016 mol)과 히드로퀴논 1.76 g(0.016 mol)을 메탄올 60 ml에 녹인 다음 메톡시화 나트륨 0.86 g(0.016 mol)을 가하고 저으면서 실온에서 24시간 반응시켰다. 반응물에 1N HCl 용액 30 ml를 가하여 석출된 고체를 감압여과하고

물 100 ml로 3차례 세척한 다음 관 크로마토그래피(전개용매: EtOH : $\text{CHCl}_3=1:20$)로 정제하여 적자색 고체인 8-butanoyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide 3.1 g(수득률 65%)을 얻었으며, mp는 187~188 °C였다.

IR(KBr, cm^{-1}): 3330, 1682, 1602, 1344, 1076, 822; $^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6, \delta)$: 1.00(t, 3H), 1.73(sext, 2H), 2.95~3.85(m, 2H), 7.32~7.87(m, 2H), 8.05~8.82(m, 3H), 8.96(s, 1H), 11.33(br, 1H); Anal. Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$: C, 64.43; H, 4.70; N, 9.40. Found: C, 64.11; H, 4.72; N, 9.45.

8-Acyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide 류의 합성. 교반장치와 냉각기를 부착시킨 100 ml 플라스크에 6-butanoylbenzofuroxan 3.3 g(0.016 mol)과 4-아미노페놀 1.75 g(0.016 mol)을 메탄올 60 ml에 녹인 다음 메톡시화 나트륨 0.86 g(0.016 mol)을 가하고 저으면서 실온에서 24시간 반응시켰다. 이 반응물을 200 ml의 얼음물속에 저으면서 가해주니 침전물이 석출되었다. 여기에 1N HCl 용액 30 ml를 가하여 감압여과한 다음 여액에 1N NaOH 용액 30 ml를 가하여 중화시키니 고체가 석출되었다. 고체를 감압여과한 다음 관 크로마토그래피(전개용매: EtOH : $\text{CHCl}_3=1:20$)로 정제하여 진한 청색의 8-butanoyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide 2.58 g(수득률 54.2%)을 얻었으며, mp는 168~169 °C였다.

IR(KBr, cm^{-1}): 3405, 3310, 1674, 1612, 1590, 1330, 1074, 825; $^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6, \delta)$: 0.98(t, 3H), 1.15~1.96(m, 2H), 2.95~3.76(m, 2H), 6.88(br, 2H), 7.22~7.66(m, 2H), 7.93~8.86(m, 3H), 8.96(s, 1H); Anal. Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3$: C, 64.65; H, 5.05; N, 14.14. Found: C, 64.31; H, 5.88; N, 12.85.

약리작용실험

(1) 항균성 시험. 전보^{7c-e}와 동일한 방법으로 하였다.

(2) 효소합성 실험. 일정한 조건으로 사육한 250 g 내외의 SD 계 웅성 rat를 사용하였으며 실험 전 24시간 동안 절식시켰다. 실험동물을 에테

르로 가볍게 마취시키고 복부정중선을 따라 절개한 후 0.9% 염화나트륨 용액으로 관류시킨 간장을 적출하였으며, 적출한 간장을 생리식염수로 수차례 세척한 다음 부착물과 수분을 제거하였다. Rowe 등³¹의 방법에 준하여 xanthine oxidase를 정제한 다음, Stirpe 등³²의 방법으로 xanthine oxidase의 활성을 측정하였다. 그리고 단백질의 농도는 Lowry 등³³의 방법에 의하여 bovin serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

인 용 문 헌

1. F. Wrede and E. Strack, *Z. Phys. Chem.*, **140**, 1 (1924).
2. E. Friedheim and L. Michaelis, *J. Biol. Chem.*, **21**, 355 (1931).
3. G. R. Clemo and H. McIlwain, *J. Chem. Soc.*, 1481 (1950).
4. (a) L. E. Johnson and A. Dietz, *Appl. Microbiol.*, **17**, 755 (1969); (b) M. E. Bergy, *J. Antibiotics, Ser. A*, **22**, 126 (1969).
5. (a) M. E. Levitch and E. R. Stadtman, *Arch. Biochem. Biophys.*, **106**, 194 (1964); (b) J. I. Toohey, C. D. Nelson, and G. Krotkov, *Can. J. Bot.*, **43**, 1055 (1965); (c) M. E. Levitch and P. Rietz, *Biochem.*, **5**, 689 (1966); (d) T. Suzuki, K. Uno and T. Deguch, *Agr. Biol. Chem.*, **35**, 92 (1971); (e) M. Kitahara, H. Nakamura, Y. Matsuda, M. Hamada, H. Naganawa, K. Maeda, H. Umezawa, and Y. Iitaka, *J. Antibiotics*, **35**, 1412 (1982); (f) K. H. Michel and M. M. Hoehn, *U. S. Pat.*, **4**, 400, 510 (1983); (g) J. Tax, P. Sedmera, J. Vokoun, J. Urban, J. Karnetova, K. Stajner, Z. Vanek, and V. Krumphanzl, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **48**, 527 (1983); (h) K. Bush, P. R. Henry, M. S. Woehleke, W. H. Trejo, and D. S. Slusarchyk, *J. Antibiotics*, **37**, 1308 (1984); (i) J. B. Tunac, S. W. Mamber, B. D. Graham, and W. E. Dobson, *ibid.*, **39**, 192 (1986). (j) K. Bush, D. S. Slusarchyk, and W. C. Liu, *U. S. Pat.*, 4,568,675 (1986).
6. (a) F. G. Holliman, B. A. Jeffery, and D. J. H. Brock, *Tetrahedron*, **19**, 1841 (1963); (b) L. Marchetti and G. Tosi, *Ann. Chimica*, **57**, 1414 (1967); (c) S. R. Challand, R. B. Herbert, and F. G. Holliman, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1423 (1970); (d) H. Sayo, K. Mori and A. Ueda, *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 525 (1977); (e) B. Nay, E. F. V. Scriven, H. Suschitzky, and D. R. Thomas, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 611 (1980); (f) A. Yabe, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **53**, 2933 (1980); (g) Y. V. D. Nageswar, T. V. P. Rao, and V. Thirupathaiah, *Indian J. Chem.*, **19B**, 624 (1980); (h) K. C. Brown and J. F. Corbett, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, 886 (1981); (i) C. Balboni, L. Benati, P. C. Montevicchi, and P. Spagnolo, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2111 (1983); (j) M. Tracy and E. M. Acton, *J. Org. Chem.*, **49**, 5116 (1984); (k) L. Benati, P. C. Montevicchi, and P. Spagnolo, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1577 (1985).
7. (a) J. D. Kim and Y. H. Park, *J. Korean Chem. Soc.*, **25**, 199 (1981); (b) J. D. Kim, D. S. Kim, S. J. Lee, and S. W. Han, *ibid.*, **27**, 457 (1983); (c) J. D. Kim, H. S. Kim, and S. W. Han, *ibid.*, **30**, 126 (1986); (d) J. D. Kim, H. S. Kim, and S. W. Han, *ibid.*, **31**, 464 (1987); (e) H. S. Kim, S. W. Han, and J. D. Kim, *ibid.*, **33**, 551 (1989).
8. Y. Kurasawa, Y. Kamigaki, H. S. Kim, R. Futatsukawa, M. Kanoh, M. Okiyama, A. Takada, and Y. Okamoto, *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 853 (1989).
9. Y. Kurasawa, H. S. Kim, K. Yonekura, A. Takada, and Y. Okamoto, *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 857 (1989).
10. Y. Kurasawa, Y. Kamigaki, H. S. Kim, C. Watanabe, M. Kanoh, M. Okiyama, A. Takada, and Y. Okamoto, *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 861 (1989).
11. Y. Kurasawa, Y. Kamigaki, H. S. Kim, K. Yonekura, A. Takada, and Y. Okamoto, *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 869 (1989).
12. H. S. Kim, Y. Kurasawa, and A. Takada, *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 871 (1989).
13. H. S. Kim, Y. Kurasawa, and A. Takada, *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 1129 (1989).
14. Y. Kurasawa, H. S. Kim, R. Futatsukawa, C. Watanabe, A. Takada, and Y. Okamoto, *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 1159 (1989).
15. H. S. Kim, Y. Kurasawa and A. Takada, *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 1511 (1989).
16. H. S. Kim, Y. Kurasawa, C. Yoshii, M. Masuyama, A. Takada, and Y. Okamoto, *J. Heterocyclic Chem.*, in press.

17. H. S. Kim, Y. Kurasawa, C. Yoshii, M. Masuyama, A. Takada, and Y. Okamoto, *J. Heterocyclic Chem.*, in press.
18. H. S. Kim, Y. Kurasawa, C. Yoshii, M. Masuyama, A. Takada, and Y. Okamoto, *J. Heterocyclic Chem.*, submitted.
19. H. S. Kim, S. H. Nam, and Y. Kurasawa, *J. Korean Chem. Soc.*, submitted.
20. (a) T. Spector, *Biochem Pharmacol.*, **37**, 349 (1988); (b) J. Storch and E. Ferber, *Anal. Biochem.*, **169**, 262 (1988).
21. (a) D. A. Rowley and B. Halliwill, *FEBS Lett.*, **142**, 39 (1982); (b) K. Kakinuma, T. Yamakuchi, H. Suzuki, and Y. Nagai, *ibid.*, **145**, 16 (1982); (c) I. A. Rajkovic and R. Williams, *Biochem. Pharmacol.*, **34**, 2083 (1985).
22. (a) E. Tubaro, B. Lotti, G. Cavallo, C. Croce, and G. Borelli, *Biochem. Pharmacol.*, **29**, 1938 (1980); (b) E. Tubaro, B. Lotti, C. Santiangeli, and G. Cavallo, *ibid.*, **29**, 1945 (1980); (c) H. P. Jones, M. B. Grisham, S. K. Bose, V. A. Shannon, A. Schott, and J. M. McCord, *ibid.*, **34**, 3673 (1985).
23. P. A. S. Smith and J. H. Boyer, *Org. Syn.*, **31**, 14 (1951).
24. (a) F. M. Rowe and J. S. H. Davis, *J. Chem. Soc.*, 1344 (1920); (b) F. B. Mallory, *Org. Syn.*, **37**, 1 (1957).
25. (a) M. J. Haddadin and C. H. Issidorides, *Tetrahedron Lett.*, 3253 (1965); (b) C. H. Issidorides and M. J. Haddadin, *J. Org. Chem.*, **31**, 4067 (1966); (c) D. P. Claypool, A. R. Sidani, and K. J. Flanagan, *ibid.*, **37**, 2372 (1972).
26. C. Stammer and A. Taurins, *Spectrochim. Acta*, **19**, 1625 (1963).
27. I. Y. Kang, S. Y. Kim, H. S. Kim, and K. Huh, *Yakhak Hoeji*, submitted.
28. J. L. Leiserson and A. Weissberger, "Organic Syntheses", 2nd Ed., Collective Vol. IV, pp. 183-184, John Wiley & Sons, New York, 1955.
29. W. C. Lothrop, *J. Am. Chem. Soc.*, **64**, 1698 (1942).
30. P. E. Fanta and D. S. Tarbell, "Organic Syntheses", Vol. II, p. 434, John Wiley & Sons, New York, 1955.
31. P. B. Rowe and J. B. Wyngaarden, *J. Biol. Chem.*, **241**, 5571 (1966).
32. F. Stirpe and E. D. Corte, *J. Biol. Chem.*, **244**, 3855 (1969).
33. O. H. Lowry, N. J. Roserbrough, A. L. Farr, and R. J. Randall, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).