

페나진 유도체의 합성과 항균성

—7-치환-2,3-디히드록시페나진-5,10-디옥시드류의 합성 및 항균성—

이만길[#] · 김호식^{*} · 한성욱^{**}

고신대학 화학과

^{*}효성여자대학교 사범대학 화학과

^{**}대구전문대학 식품영양과

(Received August 20, 1992)

Synthesis and Antimicrobial Activity of Phenazine Derivatives

—Synthesis and Antimicrobial Activity of

7-Substituted-2, 3-dihydroxyphenazine-5, 10-dioxides—

Man-Kil Lee[#], Ho-Sik Kim^{*} and Sung-Wook Han^{**}

Department of Chemistry, Koshin University, Pusan 606-080, Korea

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

^{**}Department of Food and Nutrition, Taegu Junior College, Taegu 702-260, Korea

Abstract—7-Substituted 2, 3-dihydroxyphenazine 5, 10-dioxides were synthesized by the reaction of 1, 2, 4-trihydroxybenzene with 6-substituted benzofuroxan derivatives which had been obtained from aniline derivatives bearing methoxy, methyl, acetyl and nitro group at the para position. 2, 3-Dihydroxyphenazine 5, 10-dioxide was also prepared by the reaction of 1, 2, 4-trihydroxybenzene with benzofuroxan. The antimicrobial activities of these phenazine dioxide were investigated in terms of minimum inhibitory concentration by the common twofold dilution technique. It was observed that the antimicrobial activity of the phenazine dioxides bearing electron releasing substituents was stronger than that of those bearing electron withdrawing substituents. From this result, it was concluded that the antimicrobial activity of phenazine dioxide derivatives has a direct relationship with the electronic effect of the substituents.

Keywords □ 7-Substituted 2, 3-dihydroxyphenazine-5, 10-dioxides, 2, 3-dihydroxyphenazine-5, 10-dioxide, antimicrobial activity, electronic effect.

Phenazine 유도체들은 다음과 같은 기본적인 구조를 가지고 있다(Chart 1).

오늘날까지 항균성을 가진 많은 phenazine 유도체들이 미생물의 대사산물¹⁻⁷⁾에서 분리되었거나 혹은 화학적인 방법⁸⁻¹³⁾으로 합성되어 있다. 저자들도 몇 가지 phenazine 유도체를 합성하여 보고¹⁴⁻¹⁹⁾한 바 있다(Chart 2).

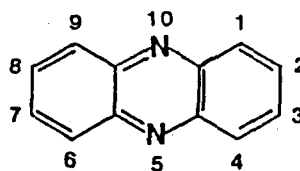


Chart 1

본 연구는 생물학적 활성을 가지는 새로운 헤테로고리 화합물의 합성에 관한 연구²⁰⁻⁴⁰⁾를 하던 중 phenazine 유도체들이 제초제,^{1,41)} 구충제,⁴²⁻⁴³⁾ 고혈압⁴⁴⁾

[#]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

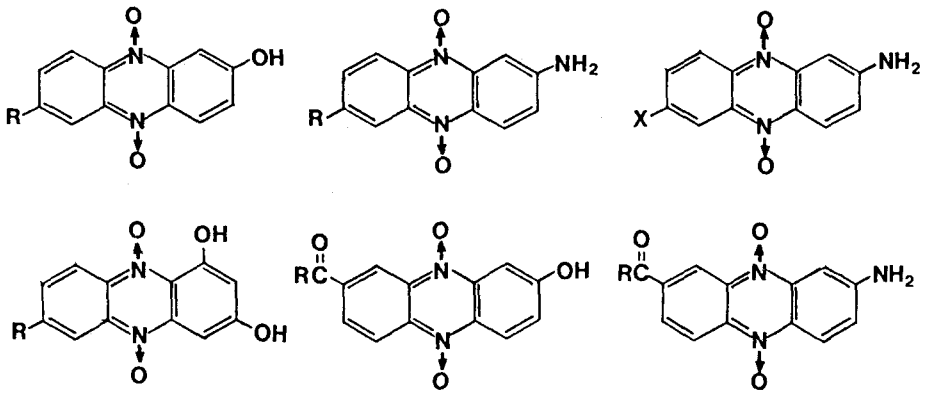
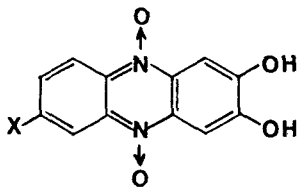


Chart 2



(X: OCH₃, CH₃, H, COCH₃, NO₂)

Chart 3

및 저혈압치료제,⁷⁾ 항암제⁴⁵⁾와 같은 여러가지 용도에 유용하게 사용되고 있다는 사실에 착안하여 위의 보고¹⁴⁻¹⁹⁾들의 경험을 토대로 아닐린 유도체들을 출발 물질로 하여 아세틸화반응, 니트로화반응, 가수분해 및 디아조화반응을 거쳐 6-substituted benzofuroxan 류를 합성한 다음 1,2,4-trihydroxybenzene과 반응시켜 여러가지 치환기가 도입된 새로운 phenazine dioxide 유도체인 7-substituted 2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide 류를 합성하였으며, 또한 benzofuroxan과 1,2,4-trihydroxybenzene를 반응시켜 2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide를 합성하였다(Chart 3).

그리고 합성한 phenazine dioxide 유도체에서 치환기의 종류에 따른 항균성을 조사하여 치환기의 전자효과와 항균성간의 상관관계를 연구하고자 하였다.

실험방법

시약 및 기기-본 실험에서 사용한 시약 중 관 크로마토그래피는 실리카겔(Wakogel C-200)을 이용하였으며, 그 밖의 시약들은 Aldrich, Wako, Shinyo,

Junsei Chem. Co. 등의 제품을 정제하지 않고 그대로 사용하였다. 그리고 합성한 화합물을 확인하는데 사용한 기기는 Melting point apparatus(Haake Buchler Co.), IR spectrophotometer(Perkin-Elmer 753B), NMR spectrometer(Varian EM 360L) 및 Elemental analyzer(Perkin-Elmer Model 283)를 사용하였다.

화합물의 합성-아닐린 유도체들을 출발물질로 하여 5단계를 거쳐 benzofuroxan 유도체를 합성하고, 이들 유도체와 1,2,4-trihydroxybenzene을 반응시켜 7-substituted 2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide 류를 합성하였다. 합성한 phenazine 유도체들은 methoxy기, methyl기, acetyl기 및 nitro기와 같은 치환기들을 각각 가지고 있는데, 본 논문에서는 4-acetylaniline으로 합성한 것을 대표적으로 서술하였다. 그리고 4-methoxyaniline, 4-methylaniline 및 4-nitroaniline을 사용할 때도 4-acetylaniline의 경우와 같은 당량비로 하였으며, 합성법도 이에 준하여 행하였다. 또한 benzofuroxan과 1,2,4-trihydroxybenzene을 반응시켜서 2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide도 합성하였다.

4-Acetylacetanilide(2)의 합성-4-acetylaniline(1)을 일반적인 합성법으로 아세틸화 반응 시켰다.

수득률 : 29.20g(83%)

mp 165~166°C (lit.⁴⁶⁾ 166-167°C)

IR(KBr) cm⁻¹ : 3280(NH), 1680(C=O)

¹H-NMR(CDCl₃) δ : 2.20(3H, s, NHCOCH₃), 2.60(3H, s, ArCOCH₃), 7.50~8.05(4H, m, arom.).

4-Acetyl-2-nitroacetanilide(3)의 합성-초산무수물(40 ml)과 발연질산(비중 1.50, 20 ml, 0.22 mol)을 혼

합한 다음 반응물의 온도를 5~10°C 유지하면서 화합물(2)(20.00g, 0.11 mol)를 약 1시간동안 천천히 가하였다. 5~10°C 를 유지하면서 20분동안 방치한 다음 이 반응물을 저어가면서 얼음물속에 가해주니 연한 황색의 침전이 석출되었다. 이 침전을 흡인여과 한 다음 묽은 Na₂CO₃수용액으로 세척하고 메탄올로 재결정하여 노란색의 슴털같은 결정을 얻었다.

수득률 : 18.89g(81%)

mp 126~127°C

IR(KBr) cm⁻¹ : 3340(NH), 1715, 1675(C=O), 1510, 1340(NO₂)

¹H-NMR(CDCl₃) δ : 3.35(3H, s, NHCOCH₃), 3.65(3H, s, ArCOCH₃), 9.10~10.00(3H, m, arom.), 11.55(1H, b, ArNH).

4-Acetyl-2-nitroaniline(4)의 합성—화합물(3)(23.00 g, 0.1 mol)을 에탄올(300 ml)에 용해시킨 다음 진한 염산(42 ml)을 가하고 3시간동안 환류시켰다. 반응물을 실온으로 식힌 다음 NaOH(0.5 M)용액 1l에 저어가면서 가하니 진한 노란색의 침전이 석출되었다. 침전물을 흡인여과하고 물로 씻은 후 메탄올로 재결정하였다.

수득률 : 12.58g(86%)

mp 124~125°C

IR(KBr) cm⁻¹ : 3340, 3320(NH₂), 1665(C=O), 1520, 1340(NO₂)

¹H-NMR(CDCl₃) δ : 2.60(3H, s, ArCOCH₃), 6.55(2H, b, ArNH₂), 6.80~8.75(3H, m, arom.).

4-Acetyl-2-nitrophenylazide(5)의 합성—화합물(4)(18.00g, 0.10 mol)에 물(36 ml)과 진한 염산(24 ml)을 가하고 0~5°C 로 냉각시킨 다음 별도로 준비한 NaNO₂(6.90g)에 물(22 ml)을 넣어 녹인 수용액을 분별깔때기로 소량씩 가한 다음 0~5°C 유지하면서 1시간 가량 방치하니 갈색의 용액이 생성되었다. 흡인여과한 용액을 별도로 준비한 얼음-물(1)속으로 저어면서 가하고 NaN₃(6.50g)를 물(22.5 ml)에 녹인 수용액을 넣으니 질소기체가 발생하면서 노란색의 결정이 석출되었다. 이 고체를 흡인여과하고 메탄올로 재결정하였다.

수득률 : 15.00g(70%)

mp 69~70°C

IR(KBr) cm⁻¹ : 2120(N₃), 1670(C=O), 1525, 1355(NO₂)

¹H-NMR(CDCl₃) δ : 2.80(3H, s, ArCOCH₃), 7.95~8.70(3H, m, arom.).

6-Acetylbenzofuroxan(6)의 합성—gas trap을 장치한 플라스크에 화합물(5)(15.00g, 0.07 mol)를 넣고 톨루엔(32 ml)을 가한 후 저어면서 18시간 환류시키니 질소기체의 발생이 중지되었다. 반응물을 실온까지 냉각시킨 다음 톨루엔을 증발제거하니 갈색의 고체가 생성되었으며, 메탄올로 재결정하였다.

수득률 : 9.9g(80%)

mp 89~90°C

IR(KBr) cm⁻¹ : 1675(C=O), 1480(CH₃), 1355, 1255(N→O)

¹H-NMR(CDCl₃) δ : 2.65(3H, s, ArCOCH₃), 7.55~8.55(3H, m, arom.).

7-Acetyl-2, 3-dihydroxyphenazine 5, 10-dioxide(7)의 합성—화합물(6)(1.78g, 0.01 mol)과 1, 2, 4-trihydroxybenzene(1.26g, 0.01 mol)을 에탄올(80 ml)에 녹인 다음 NaOH(0.25 M) 수용액(8 ml)를 가하고 저어면서 실온에서 24시간 반응시켰다. 이 반응물을 얼음-물(300 ml)속에 저어면서 가하고 HCl(6 M)용액을 산성이 될때까지 가하여 흡인여과한 다음 관 크로마토그래피(에탄올 : 클로로포름=1 : 20)로 정제하여 자주색의 결정을 얻었다.

수득률 : 1.32g(46%)

mp 202~203°C

IR(KBr) cm⁻¹ : 3400(OH), 1660(C=O), 1610(C=N), 1460(CH₃), 1360, 1260(N→O), 820(phenazine ring)

¹H-NMR(DMSO-d₆) δ : 2.60(3H, s, COCH₃), 3.60(2H, b, OH), 7.40~8.60(5H, m, phenazine ring)

Anal. Calcd for C₁₄H₁₀N₂O₅

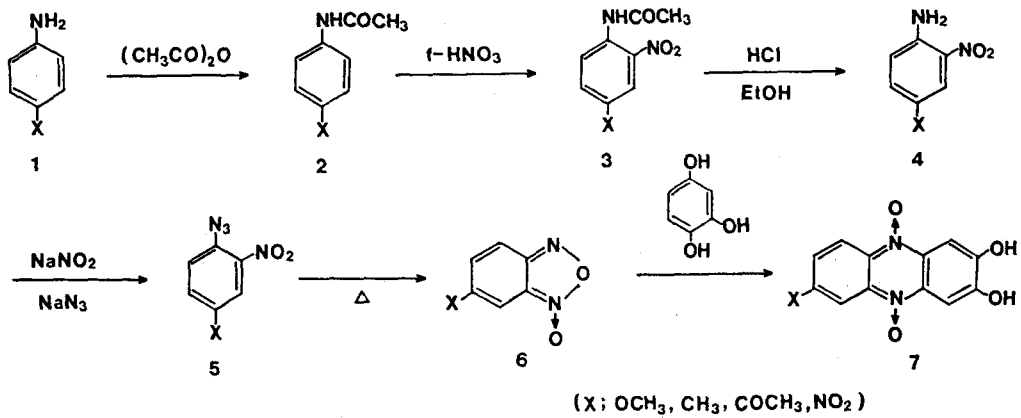
Calcd(%) C: 58.74 H: 3.50 N: 9.80

Found(%) C: 58.76 H: 3.52 N: 9.79.

2, 3-Dihydroxyphenazine 5, 10-dioxide의 합성—benzofuroxan(1.63g 0.01 mol)을 THF(15 ml)와 메탄올(15 ml)의 혼합용매에 용해시킨 다음 실온에서 24시간 반응시켰다. 이 반응물을 염산(1 M)으로 산성화 시켜 흡인여과한 후 물로 여러번 씻은 다음 관 크로마토그래피(에탄올 : 클로로포름=1 : 20)로 정제하여 검정색의 결정을 얻었다.

수득률 : 1.31g(45%)

mp 188~189°C



Scheme 1

IR(KBr) cm⁻¹: 3350(OH), 1615(C=N), 1340, 1050 (N→O), 805(phenazine ring)

¹H-NMR(DMSO-d₆) δ: 7.55~8.60(6H, m, phenazine ring)

Anal. Calcd for C₁₂H₈N₂O₄

Calcd(%) C: 59.02 H: 3.28 N: 11.48

Found(%) C: 59.07 H: 3.25 N: 11.51.

항균성 실험 - *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus substilis*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29853 을 사용하였으며, 균점종 18시간 전에 Brain heart infusion broth에 배양하였다. 합성한 phenazine dioxide 유도체들이 이들 균주에 대한 항균작용을 관찰하기 위하여 Brain heart infusion broth 38g을 증류수 1l에 용해시켜 기본배지로 사용하였다. 그리고 phenazine dioxide 유도체들은 물에 불용이므로 각 1 mg을 에탄올 1 ml에 용해시켜 Brain heart infusion broth 수용액으로 배수희석을 하였다. 항균성 시험은 시험관희석법에 준하였는데, 시험관에 배수희석으로 Brain heart infusion broth 수용액 1 ml에 화합물의 농도가 각각 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78 µg/ml되게 하고 여기에 Brain heart infusion broth에서 배양한 배양균액을 1 loop씩 접종하여 37 °C에서 18시간 배양시킨 다음 육안으로 균의 발육을 인지할 수 없는 최소의 농도 즉, 최소 발육 저지 농도 (minimum inhibitory concentration; MIC)를 관찰하였다.

결과 및 고찰

합성 - 각 단계별 합성경로는 Scheme 1에 나타나 있었다.

Scheme 1에 의하면 4-substituted 2-nitroaniline으로부터 benzofuroxan 유도체의 합성에서는 아미노기를 디아조화시키고, sodium azide를 사용한 Sandmeyer반응으로서 아지드화 시킨 다음 톨루엔 용매하에서 열분해하는 방법을 택하였다.

그러나 이 방법외에도 하이포염소산나트륨으로 산화하는 방법⁴⁷⁾이 있으나 이 방법을 피한 이유는 벤젠핵에 결합된 치환기들이 산화될 가능성을 우려하였기 때문이었다.

benzofuroxan유도체들은 IR 스펙트럼에서 N→O 신축진동이 1320~1380 cm⁻¹ 및 1220~1285 cm⁻¹ 부근에서 나타났으므로 확인 할 수 있었다.

또한 phenazine dioxide유도체의 합성은 benzofuroxan유도체와 1, 2, 4-trihydroxybenzene을 실온에서 반응시켜서 합성하였다. 이때 생성물의 분리는 우선 HCl(6 M)수용액을 가하여 용액을 산성으로 하여 흡인여과한 다음 NaOH(6 M)수용액으로 다시 알칼리성으로 만들어 흡인여과 하면 phenol류와 phenazine dioxide 유도체는 염으로 되어 여액속에 녹아있게 되고, NaOH수용액에 녹지않는 미반응물인 benzofuroxan 유도체는 제거할 수 있었다. 그래서 이 여액에 다시 HCl(6 M)을 가하여 산성으로 만든 다음 클로로포름으로 추출하고 물로 여러번 세척한 다음 클로

Table I—Minimum Inhibitory Concentration($\mu\text{g/ml}$) of 7-substituted 2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxides

organisms	sample	7-substituted 2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxides				
		OCH ₃	CH ₃	H	COCH ₃	NO ₂
<i>St. aureus</i> ATCC 25923(+) ^a		6.25	12.5	12.5	25	50
<i>B. subtilis</i> (+) ^a		6.25	6.25	12.5	25	50
<i>E. coli</i> ATCC 25922(-) ^b		12.5	12.5	25	50	100
<i>Sal. typhi</i> (-) ^b		6.25	12.5	12.5	25	50
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 29853(-) ^b		12.5	25	25	50	100

a; Gram positive b; Gram negative

로포름은 증발제거 시키고 관 크로마토그래피로 정제하여 최종물질인 phenazine dioxide 유도체를 얻었다. 이들 phenazine dioxide 유도체의 IR spectra에서는 3300~3400 cm^{-1} 부근에서 수소결합한 O-H 신축진동을 볼 수 있었으며, 특히 800~830 cm^{-1} 부근에서 phenazine 고리계의 골격진동에 해당하는 흡수띠⁴⁸⁾를 확인 할 수 있었다.

항균성—7-substituted 2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide 및 2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide의 Gram 양성균과 Gram 음성균에 대한 MIC를 Table I에 나타내었다.

Table I에 의하면 phenazine dioxide 유도체에서 치환기가 methoxy, methyl, hydrogen, acetyl 및 nitro기로 됨에 따라 이들의 MIC는 Gram 양성균인 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923에 대해서 6.25, 12.5, 12.5, 25 및 50 $\mu\text{g/ml}$, *Bacillus subtilis*에 대해서는 6.25, 6.25, 12.5, 25 및 50 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났다. 그리고 Gram 음성균인 *Escherichia coli* ATCC 25922에 대해서는 12.5, 12.5, 25, 50 및 100 $\mu\text{g/ml}$, *Salmonella typhi*에 대해서는 6.25, 12.5, 12.5, 25 및 50 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났으며, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29853에 대해서는 12.5, 25, 25, 50 및 100 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났다.

치환기가 있는 phenazine dioxide 유도체들의 MIC와 치환기가 없는 2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide의 MIC를 비교할 때 전자를 주는 치환기는 치환기가 없는 경우보다 항균력이 강하게 나타났으며, 전자를 당기는 치환기는 치환기가 없는 경우보다 항균력이 약하게 나타났다. 그리고 *Escherichia coli*에 대한 1,6-dihydroxyphenazine의 MIC가 >75 $\mu\text{g/ml}$ 인 경우⁴⁹⁾와 히드록시기의 위치가 조금 다르지만 본 실험에서 합성한 화합물 2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide의 MIC가 25 $\mu\text{g/ml}$ 인 경우를 비교할 때 phe-

nazine dioxide가 일반적인 phenazine 고리를 갖는 유도체보다 항균력이 더 강하다는 사실을 알 수 있었다.

이러한 사실로 미루어 볼 때 phenazine dioxide 유도체의 경우 N→O 결합부분이 항균성에 큰 역할을 한다고 생각되었다.¹⁶⁾ 따라서 합성한 phenazine 유도체들의 항균성 시험에서는 Gram 음성균보다 Gram 양성균에 항균력이 더 강하게 나타났으며, 치환기가 없는 2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide를 기준으로 할 때 전자를 주는 치환기가 치환된 경우가 전자를 당기는 치환기가 치환된 경우보다 항균력이 더 강하게 나타났다.

그리고 치환기가 methoxy, methyl기인 경우에 있어서 전자를 더 많이 주는 methoxy 유도체가 강한 항균력을 가졌으며, acetyl, nitro기인 경우에는 전자를 더 많이 당기는 nitro 유도체가 약한 항균력을 지니고 있음을 알았다. 그러므로 phenazine dioxide 유도체의 경우 치환기에 따른 전자효과와 항균성과의 관계에서는 가장 전자를 많이 주는 methoxy기가 치환되었을 경우가 항균력이 가장 강하며, 가장 전자를 많이 당기는 nitro기가 치환되었을 경우가 항균력이 가장 약하다는 사실을 알았다.

이상의 실험결과에서 phenazine dioxide 유도체는 N→O 결합의 산소원자에 전자밀도가 증가할 수록 항균성이 강하다는 뜻이 되므로 그 항균성이 전자효과와 병행성을 보이고 있다고 추정할 수 있을 것이다.

일반적으로 항균성을 갖는 화합물의 항균메카니즘을 살펴보면, (1) 세포벽 합성장애,^{2,50-52)} (2) 세포질막 손상,⁵⁰⁻⁵²⁾ (3) 세포질내 단백질 합성억제,⁵²⁻⁵⁴⁾ (4) 핵산대사억제,^{52,54,56)} (5) 염산합성억제,⁵³⁾ 등을 들 수 있다.

이와같은 항균작용을 나타내는 것이 여러가지 있

는데 이중 어떤 메카니즘이 phenazine 유도체의 항균작용에 적용되어지는 가는 정확히 알 수 없다.

그러나 모든 phenazine 유도체들은 세계의 평면방향족 방향 고리구조를 가진 화합물인데, 이들 phenazine 유도체들 중에서 phenazine 1-carboxylic acid, phenazine 1-carboxamide, pyocyanin, 1,6-dihydroxyphenazine, iodinin 등과 같은 화합물들은 polynucleotide에 배위자로 작용하여 복합체를 만들어 항균력을 가진다.⁵⁵⁾ 즉, DNA에 intercalation 작용으로 DNA template-controlled RNA 합성을 억제하던지 RNA polymerase나 ribonucleoside 5'-triphosphate에 결합하여 DNA 합성을 억제함으로써 항균력을 나타낸다고 보고되어져 있다.^{54,55)} 따라서 합성한 모든 phenazine dioxide 유도체들도 세계의 평면방향족 고리구조를 가지고 있으므로 대부분 polynucleotide에 작용하여 DNA 합성을 억제함으로써 강한 항균력을 나타낸다고 생각되었다.

본 연구에서 합성한 phenazine dioxide 유도체들에서 치환기에 따라 항균력이 다르게 나타난 것은 보다 많은 전자를 주는 치환기가 치환된 phenazine dioxide 유도체의 경우 평면방향족 고리를 가진 phenazine 골격의 유도효과와 공명효과에 의해 N→O 결합의 산소원자에 전자밀도를 높여 주기 때문에 세균의 대사과정에 보다 용이하게 결합하여 정상적인 세균활동을 방해함으로써 보다 강한 항균력을 나타내므로 phenazine dioxide 유도체에서는 치환기의 전자효과와 항균성은 직접적인 연관성이 있다고 생각되었다.

결 론

아닐린 유도체를 출발물질로 하여 6단계를 거쳐 새로운 phenazine 유도체인 7-methoxy-2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide, 7-methyl-2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide, 7-acetyl-2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide, 7-nitro-2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide를 각각 합성하였고, benzofuroxan과 1,2,4-trihydroxybenzene을 반응시켜 2,3-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide도 합성하였다.

합성한 phenazine dioxide 유도체들의 항균성을 조사한 결과 Gram 음성균보다 Gram 양성균에 강한 항균력을 나타내었으며, phenazine 고리의 질소원자

에 산소원자가 배위되어 4차 암모늄염과 같은 구조를 갖는 phenazine dioxide는 일반적인 phenazine 고리를 갖는 유도체 보다는 항균력이 더 강하였다. 그리고 전자를 주는 치환기를 가진 phenazine dioxide 유도체들은 전자를 당기는 치환기를 가진 phenazine dioxide 유도체들 보다 항균력이 더 강하였다.

이와같은 결과는 phenazine dioxide 유도체의 N→O 결합의 산소원자에 전자밀도가 증가하면 할수록 강한 항균력을 가진다고 생각되었다.

그러므로 phenazine dioxide 유도체에서 치환기의 전자효과와 항균성은 직접적인 연관성이 있다고 사료된다.

감사의 말씀

“이 논문은 1991년도 교육부지원 한국학술진흥재단 자유공모(지방대학육성) 과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었음”을 감사드립니다.

문 헌

- 1) Toohey, J. I., Nelson, C. D. and Krotkov, G.: Isolation and identification of two phenazines from a strain of *Pseudomonas aureofaciens*. *Can. J. Bot.*, **43**, 1055(1965).
- 2) Levitch, M. E. and Rietz, P.: The isolation and characterization of 2-hydroxyphenazine from *Pseudomonas aureofaciens*. *Biochem.*, **5**, 689(1966).
- 3) Suzuki, T., Uno, K. and Deguch, T.: Extracellular accumulation of phenazine derivatives by *Arthrobacter paraffineus* grown on n-paraffin. *Agr. Biol. Chem.*, **35**, 92(1971).
- 4) Michel, K. H. and Hoehn, M. M.: Phenazine antibiotic. *U.S. Pat.*, **4**, 400, 510(1983).
- 5) Bush, K., Henry, P. R., Woehleke, M. S., Trejo, W. H. and Slusarchyk, D. S.: Phenazine - angiotensin - converting enzyme inhibitor produced by a *Streptomyces*. *J. Antibiotics* **37**, 1308(1984).
- 6) Tunac, J. B., Mamber, S. W., Graham, B. D. and Dobson, W. E.: A novel phenazine antitumor antibiotic discovery, fermentation, culture characterization and biological activity. *J. Antibiotics* **39**, 192 (1986).

- 7) Bush, K., Slusarchyk, D. S. and Liu, W. C.: Phenazine ace inhibitor produced from *Steoptomyces* species. *U.S. Pat.*, 4, 568, 675(1986).
- 8) Holliman, F. G., Jeffery, B. A. and Brock, D. J. H.: The synthesis of 7-aminophenazine-1-, 7-aminophenazine-2- and 8-aminophenazine-2-carboxylic acids. *Tetrahedron*, **19**, 1841(1963).
- 9) Challand, S. R., Herbert, R. B. and Holliman, F. G.: A new phenazine synthesis. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1423(1970).
- 10) Sayo, H., Mori, K. and Ueda, A.: Anodic oxidation of 2- and 4'-substituted benzene sulfenilides. *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 525(1977).
- 11) Yabe, A.: Low-temperature photolysis of ortho-substituted azidobiphenyls formation of phenazine formation of phenazine from 2,2'-diazidobiphenyls. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **53**, 2933(1980).
- 12) Tracy, M. and Acton, E. M.: Synthesis of tetrahydrobenzo[b]phenazines as anthracycline N-isosteres. *J. Org. Chem.*, **49**, 5116(1984).
- 13) Benati, L., Montevecchi, P. C. and Spagnolo, P.: Benzene sulphenanilidyl radicals. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1577(1985).
- 14) Kim, J. D., Kim, D. S., Lee, S. J. and Han, S. W.: Synthesis and antimicrobial properties of surfactants containing phenazine ring(II). *J. Korean Chem. Soc.*, **27**, 457(1983).
- 15) Kim, J. D., Kim, H. S. and Han, S. W.: Synthesis and antimicrobial properties of surfactants containing phenazine ring(III). *J. Korean Chem. Soc.*, **30**, 126(1986).
- 16) Kim, J. D., Kim, H. S. and Han, S. W.: Synthesis and antimicrobial activity of phenazine derivatives (I). *J. Korean Chem. Soc.*, **31**, 464(1987).
- 17) Kim, H. S., Han, S. W. and Kim, J. D.: Synthesis and antimicrobial properties of surfactants containing phenazine ring(IV). *J. Korean Chem. Soc.*, **33**, 551(1989).
- 18) Kang, I. Y., Kim, S. Y., Kim, H. S., Kim, J. D. and Huh, K.: Synthesis and antimicrobial activity of phenazine derivatives(II). *J. Korean Chem. Soc.*, **34**, 189(1990).
- 19) Kang, I. Y., Kim, S. Y., Kim, H. S. and Huh, K.: Effect of phenazine dioxide derivatives on the hepatic xanthine oxidase activity. *Yakhak Hoeji*, **34**, 112(1990).
- 20) Kurasawa, Y., Kamigaki, Y., Kim, H. S., Futatsukawa, R., Kanoh, M., Okiyama, M., Takada, A. and Okamoto, Y.: Synthesis and ¹³C-NMR study of novel pyrazolo[5', 1': 3, 4]-[1, 2, 4]triazino[5, 6-d]-pyrimidines. *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 853(1989).
- 21) Kurasawa, Y., Kim, H. S., Yonekura, K., Takada, A. and Okamoto, Y.: Synthesis and tautomeric behavior of 3-(pyrazolyl hydrazonomethyl)-2-oxo-1, 2-dihydroquinoxalines. *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 857(1989).
- 22) Kurasawa, Y., Kamigaki, Y., Kim, H. S., Watanabe, C., Kanoh, M., Okiyama, M., Takada, A. and Okamoto, Y.: A facile synthesis of novel pyrazolo [5', 1': 3, 4][1, 2, 4]triazino [6, 5-f][1, 3, 4]thiadiazepines. *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 861(1989).
- 23) Kurasawa, Y., Kamigaki, Y., Kim, H. S., Yonekura, K., Takada, A. and Okamoto, Y.: Preferable tautomer of dihydropyrazolo[5, 1-c][1, 2, 4]triazines in solution. *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 869(1989).
- 24) Kim, H. S., Kurasawa, Y. and Takada, A.: A selective synthesis of novel isoxazolo[2, 3-a]quinoxalines and pyrrolo[1, 2-a]quinoxalines. *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 871(1989).
- 25) Kim, H. S., Kurasawa, Y. and Takada, A.: A selective synthesis of 1-aryl-3-quinoxaliny-1, 2, 4-triazole and furo[2, 3-b]quinoxaline. *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 1129(1989).
- 26) Kurasawa, Y., Kim, H. S., Futatsukawa, R., Watanabe, C., Takada, A. and Okamoto, Y.: Tautomeric structure of dihydropyrazolo[1, 5-a]pyrimidin 7-one in a solution. *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 1159(1989).
- 27) Kim, H. S., Kurasawa, Y. and Takada, A.: A convenient synthesis of novel pyridazino[3, 4-b]quinoxaline and pyrazolo[3, 4-b]quinoxaline utilizing 1, 3-dipolar cycloaddition reaction. *J. Heterocyclic Chem.*, **26**, 1511(1989).
- 28) Kim, H. S., Kurasawa, Y., Yoshii, C., Masuyama, M., Takada, A. and Okamoto, Y.: A facile synthesis of novel 1, 2-diazepino[3, 4-b]quinoxalines by a 1, 3-dipolar cycloaddition reaction. *J. Heterocyclic Chem.*, **27**, 819(1990).

- 29) Kim, H. S., Kurasawa, Y., Yoshii, C., Masuyama, M., Takada, A. and Okamoto, Y.: Synthesis of pyridazino[3,4-b]quinoxalines and pyrazolo[3,4-b]quinoxaline by 1,3-dipolar cycloaddition reaction. *J. Heterocyclic Chem.*, **27**, 1111(1990).
- 30) Kim, H. S., Kurasawa, Y., Yoshii, C., Masuyama, M., Takada, A. and Okamoto, Y.: Synthesis of pyrrolo[1,2-a]quinoxalines by 1,3-dipolar cycloaddition reaction. *J. Heterocyclic Chem.*, **27**, 1115(1990).
- 31) Kim, H. S., Kurasawa, Y., Yoshii, C., Masuyama, M., Takada, A. and Okamoto, Y.: Synthesis of isoxazolo[2,3-a]quinoxalines and pyrrolo[1,2-a]quinoxalines by 1,3-dipolar cycloaddition reaction. *J. Heterocyclic Chem.*, **27**, 1119(1990).
- 32) Kim, H. S., Kurasawa, Y., Yoshii, C., Masuyama, M., Takada, A. and Okamoto, Y.: A convenient synthesis of 1,2-diazepino[3,4-b]quinoxalines via a 1,3-dipolar cycloaddition reaction and their tautomeric structure in a solution. *J. Heterocyclic Chem.*, **27**, 2197(1990).
- 33) Kurasawa, Y., Kim, H. S., Takada, A. and Okamoto, Y.: Synthesis of 6-quinoxalinyldihydropyrazolo[1,5-a]pyrimidin 7-ones by a ring transformation. *J. Heterocyclic Chem.*, **27**, 2203(1990).
- 34) Kurasawa, Y., Kim, H. S., Katoh, R., Kawano, T., Takada, A. and Okamoto, Y.: A facile synthesis of 5,14-methano-16-oxo-1,5,6-benzoxadiazono[3,4-b]quinoxalines by a 1,3-dipolar cycloaddition reaction and an intramolecular alcoholysis. *J. Heterocyclic Chem.*, **27**, 2209(1990).
- 35) Kim, H. S., Nam, S. H. and Kurasawa, Y.: A selective synthesis of isoxazolo[2,3-a]quinoxaline and pyrrolo[1,2-a]quinoxalines by 1,3-dipolar cycloaddition reaction. *J. Korean Chem. Soc.*, **34**, 469(1990).
- 36) Kurasawa, Y., Kim, H. S., Kawano, T., Katoh, R., Takada, A. and Okamoto, Y.: A convenient synthesis of 1,4-dihydro-4-oxopyridazino-[3,4-b]quinoxalines by a ring transformation of 1,2-diazepino-[3,4-b]quinoxalines. *J. Heterocyclic Chem.*, **28**, 199(1991).
- 37) Kurasawa, Y., Kim, H. S., Katoh, R., Kawano, T., Takada, A. and Okamoto, Y.: A convenient synthesis of 5,14-methano-16-oxo-1,5,6-benzoxadiazono[3,4-b]quinoxalines utilizing a 1,3-dipolar cycloaddition reaction and an intramolecular alcoholysis. *J. Heterocyclic Chem.*, **28**, 787(1991).
- 38) Lee, S. J., Kim, J. D., Choi, J. H. and Han, S. W.: Synthesis and antimicrobial activity of malachite green derivatives. *Korean Biochem. J.*, **24**, 343(1991).
- 39) Kurasawa, Y., Katoh, R., Takada, A., Kim, H. S. and Okamoto, Y.: Reaction of 6-chloro-2-[1-methyl-2-(N-methylthiocarbonyl)]-hydrazinoquinoxaline 4-oxide with dimethyl acetylenedicarboxylate. *J. Heterocyclic Chem.*, in press.
- 40) Kim, H. S., Park, T. J., Doh, Y. H., Lee, M. K. and Kurasawa, Y.: Synthesis of novel 1,2,4-triazole derivative. *J. Korean Chem. Soc.*, in press.
- 41) Nelson, C. D. and Toohey, J. I.: Method of controlling the growth of N-oxious plants. *U.S. Pat.*, **3**, 367, 765(1968).
- 42) Bijloo, J. D. and Reerink, E. H.: Phenazine derivatives for combating nematodes. *U.S. Pat.*, **3**, 080, 284(1963).
- 43) Grunberg, E.: Anthelmintic method using 6-methoxy-1-phenazinol 5,10-dioxide. *U.S. Pat.*, **3**, 502, 774(1970).
- 44) Jones, P. H.: Iodinin as an anti-hypertensive agent. *U.S. Pat.*, **3**, 764, 679(1973).
- 45) Fouche, J. C. L., Reine, B. I. and Gneremy, C. G. A.: Phenazine derivatives. *U.S. Pat.*, **3**, 455, 926(1969).
- 46) Weast, R. C.: *Handbook of Chemistry and Physics*, 56rd ed., CRC Press, p. C-77(1972).
- 47) Rabjohn, N.: Benzofurazan oxide in *Organic Syntheses*, Coll. Vol. IV, 2nd ed., John Wiley & Sons, New York, pp. 75-77(1963).
- 48) Stammer, C. and Taurins, A.: Infrared spectra of phenazines. *Spectrochim. Acta*, **19**, 1625(1963).
- 49) Geber, N. N. and Lechevalier, M. P.: Phenazine and phenoxazinones from *Waksmania aerata sp. nov.* and *Pseudomonas iodina*. *Biochem.*, **3**, 598(1964).
- 50) Hollstein, U.: A new synthesis of 1-methylphenazine(I). *J. Heterocyclic Chem.*, **5**, 299(1968).
- 51) Riley, J. F.: Retardation of growth of a transplantable carcinoma in mice fed basic metachromatic dyes. *Cancer Res.*, **8**, 183(1948).
- 52) 정희영 : 항생제의 길잡이, 수문사, 서울, pp. 72-92

- (1983).
- 53) Cannon, M., Davies, J. E. and Jimenez, A.: Inhibition by lomofungin of nucleic acid and protein synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett.*, **32**, 227(1973).
- 54) Levitch, M. E.: Regulation of aromatic amino acid biosynthesis in phenazine-producing strain of *Pseudomonas*. *J. Bacteriol.*, **103**, 16(1970).
- 55) Hollstein, U. and Van Gemert, R. J. Jr.: Interaction of phenazine with polydeoxyribonucleotides. *Biochem.*, **10**, 497(1971).