

페나진 고리를 가진 계면활성제의 합성과 그 항균성(제 4보)

金濟植[†]·韓盛旭^{*}·金鍾大^{**}

효성여자대학교 사범대학 화학과

^{*}대구전문대학 식품영양과

^{**}영남대학교 이과대학 화학과

(1989. 5. 15 접수)

Synthesis and Antimicrobial Properties of Surfactants Containing Phenazine Ring (IV)

Ho Sik Kim[†], Sung Wook Han^{*}, and Jong Dae Kim^{**}

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

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

(Received May 15, 1989)

요 약. 아닐린과 부틸, 헥실, 옥틸기를 가진 *n*-알킬 알코올류로부터 6-alkylbenzofuroxan 류를 합성하고, 이들과 1,3,5-trihydroxybenzene 을 반응시켜 7-alkyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide 류를 합성하였다. 그리고 benzofuroxan 과 1,3,5-trihydroxybenzene 을 반응시켜 1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide 도 합성하였다. 이들 phenazine dioxide 유도체의 수용액에 대한 표면장력을 측정하였는데 알킬기의 탄소수가 증가할수록 표면장력이 저하됨을 알았다. 또한 항균성을 회석법에 의하여 조사하였는데 알킬기의 탄소수가 4개인 부틸유도체의 경우가 가장 항균성이 강했으며, 알킬기가 없는 phenazine dioxide 유도체보다는 알킬기가 치환된 phenazine dioxide 유도체의 항균성이 더 강하다는 것을 알았다.

ABSTRACT. 7-Alkyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxides were synthesized by the reaction of 1,3,5-trihydroxybenzene with 6-alkylbenzofuroxans which had been obtained from aniline and *n*-alkyl alcohols bearing butyl, hexyl and octyl group. 1,3-Dihydroxyphenazine-5,10-dioxide was also prepared by the reaction of 1,3,5-trihydroxybenzene with benzofuroxan. The surface tension of aqueous solutions of these phenazine dioxide derivatives was determined by surface tensiometer and it was found out that the surface tension decreased with an increase of the number of carbon in the alkyl group. The antimicrobial activities of these phenazine dioxide derivatives were investigated in terms of minimum inhibitory concentration by the common twofold dilution technique. The derivative bearing butyl group showed the highest activity among these derivatives examined. It was observed that the antimicrobial activity of these alkyl substituted phenazine dioxide derivatives was stronger than that of the unsubstituted phenazine dioxide derivative.

서 론

미생물에 의하여 생산되는 페나진 유도체에 대한 보고¹⁻⁵가 많이 있는데, 이들 페나진 유도체는

대부분의 경우 *Pseudomonas* 속의 대사산물에 의해서 생산된다. 그리고 몇 개의 미생물이 같은 페나진 유도체를 생산하는 즉, 생산양식이 겹치는 경우도 있으며, 어떤 경우에는 같은 미생물이

3~10개의 페나진 유도체를 생산하기도 한다. 예를 들면 *P. aeruginosa*¹에 의해서는 pyocyanine, phenazine-1-carboxylic acid 그리고 oxychlororaphine 이 얻어지며, *P. fluorescens*²에 의해서는 phenazine-1-carboxylic acid, *P. aureofaciens*³에 의해서는 phenazine-1-carboxylic acid와 2-phenazinol-1-carboxylic acid, *P. chlororaphis*⁴에 의해서는 oxychlororaphine, 그리고 *P. iodina*⁵에 의해서는 iodinin 이 각각 얻어졌다.

페나진을 모핵으로 하는 여러 유도체들에 대한 항균작용 및 구충작용 등의 연구가 광범위하게 진행되어 왔는데 griseolutein A와 B는 강한 항균성⁶을 나타내고 pyocyanine^{1a}, oxychlororaphine⁴, iodinin⁷과 비교했을 때 보다는 독성이 낮다는 것이 알려져 있다. 특히 griseolutein B는 Ehrlich 복수암에 대한 항종양작용⁸이 확인되었으며, phenazine dioxide류는 Ehrlich 복수암을 접종시킨 쥐의 생존일수를 연장시켰으나, 몇몇 유도체들은 독성도 강하였다⁹. 그리고 페나진과 6-methoxy-1-phenazinol-5, 10-dioxide는 구충작용¹⁰이 있다고 보고되어 있다. 1, 6-dihydroxyphenazine은 효모, 식물병원균의 발육을 저지하는 작용을 나타내며¹¹, phenazine-1-carboxylic acid는 고등식물의 성장은 저해하지만 곤충, 어류, 동물에 대해서는 그다지 독성을 나타내지 않기 때문에 제초제로 사용 가능¹²하다는 보고도 있다. 그리고 치환된 2-aminophenazine-5, 10-dioxide류는 항암성이 있다고 보고¹³되어 있으며, 1, 2, 3, 4-tetrahydrophenazine-5, 10-dioxide는 가축의 만성호흡질병의 치료에 사용되며¹⁴, iodinin은 고혈압 치료제¹⁵, 3, 6-dihydroxyphenazine-1-carboxylic acid는 저혈압 치료제¹⁶로 사용된다는 보고도 있다.

또한 페나진 유도체의 생합성에 관한 연구도 pyocyanine¹⁷, phenazine-1-carboxylic acid¹⁸, oxychlororaphine¹⁹, 2-hydroxyphenazine^{3b} 그리고 iodinin²⁰에 대하여 행하여져 있으며, 페나진 유도체를 화학적으로 합성한 여러가지 방법이 오늘날까지 많이 발표되어 있다²¹. 저자들도 3-nitroalkylbenzene 류와 anthranilic acid의 반

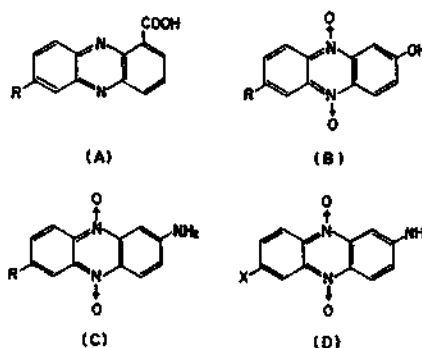
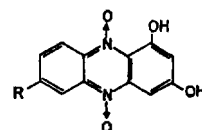


Fig. 1. Structures of (A) 7-alkyl-1-carboxyphenazine, (B) 7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5,10-dioxide, (C) 7-alkyl-2-aminophenazine-5,10-dioxide, and (D) 7-substituted 2-aminophenazine-5,10-dioxide.



R = H, C₂H₅, C₆H₅, C₆H₄

Fig. 2. Structures of 7-alkyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide.

응으로 7-alkyl-1-carboxyphenazine을 합성한 바 있으며, 페나진 고리에 있는 질소원자를 4차 암모늄염과 같은 구조의 화합물로 합성하면 보다 강력한 항균성을 가질 것으로 예상하여 7-alkyl-2-hydroxyphenazine-5, 10-dioxide류, 7-alkyl-2-aminophenazine-5, 10-dioxide류 및 7-substituted 2-aminophenazine-5, 10-dioxide류를 각각 합성하여 본지에 보고²²하였다.

본 연구는 항균성을 가진 헤테로고리 화합물을 합성²³하던 중 우선 전보^{22c}에 이어서 아닐린과 *m*-알킬 알코올류를 출발물질로 하여 알킬화반응, 아세틸화반응, 니트로화반응, 가수분해 및 디아조화반응을 거쳐 6-alkylbenzofuroxan류를 합성한 다음 1, 3, 5-trihydroxybenzene과 반응시켜 새로운 phenazine dioxide 유도체인 7-alkyl-1, 3-dihydroxyphenazine-5, 10-dioxide류를 합성하였으며, 또한 benzofuroxan과 1, 3, 5-trihydroxybenzene을 반응시켜 1, 3-dihydroxyphenazine-5, 10-dioxide를 각각 합성하였다.

그리고 합성한 phenazine dioxide 유도체에서 알킬기의 종류에 따른 물리적인 성질과 항균성간의

상관관계를 조사하고자 하였다.

실 험

시약 및 기기.

본 실험에서 사용한 시약은 전보^{22c}와 같으며, 다만 전보에서 사용하지 않은 1,3,5-trihydroxybenzene은 Aldrich 제 특급품을 사용하였다. 그리고 합성한 화합물을 확인하는데 사용한 기기도 전보^{22c}와 동일하였다(단 녹는점 측정기는 온도보정없이 사용하였다).

화합물의 합성.

아닐린과 *n*-알킬 알코올류를 출발물질로 하여 5단계를 거쳐 6-alkylbenzofuroxan 류를 합성하였는데, 이의 합성방법은 전보^{22c}와 같으므로 기술하지 않았다. 본 논문에서는 6-alkylbenzofuroxan 류와 1,3,5-trihydroxybenzene을 반응시켜 7-alkyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide를 합성하는 방법과 benzofuroxan과 1,3,5-trihydroxybenzene을 반응시켜 1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide를 합성하는 방법을 기술하였다.

(1) 7-Alkyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide 류의 합성. 6-alkylbenzofuroxan 류에서 알킬기는 *n*-부틸, *n*-헥실, *n*-옥틸기를 가지고 있는데 본 논문에서는 6-octylbenzofuroxan으로 합성한 것을 기술하였다.

냉각기와 교반장치를 구비한 100 ml 플라스크에 6-octylbenzofuroxan 3.72 g(0.015 mole)과 1,3,5-trihydroxybenzene 2.43 g(0.015 mole)을 메탄올 50 ml에 녹인 다음 0.81 g(0.015 mole)의 메톡시화 나트륨을 가하고 저으면서 실온에서 24시간 반응시켰다. 반응물에 1N HCl 용액 20 ml를 가하여 산성화시키고 분별깔때기로 옮긴 다음 클로로포름으로 추출하였다. 추출한 클로로포름용액을 물 50 ml로 3차례 세척한 다음 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 분리하고 클로로포름을 증발 제거시킨 다음 관 크로마토그래피(충진제: 실리카겔, 전개용매: EtOH: CHCl₃ = 1:20)로 정제하여 자주색의 7-octyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide 2.79 g(수득율 52.3%)을 얻었으며, mp는 106~107°C였다.

IR(KBr, cm⁻¹): 3360, 2925, 2855, 1615, 1350, 1158, 1055, 815; ¹H NMR(DMSO-d₆, δ): 0.85(*t*, 3H), 1.10~1.96(*m*, 12H), 2.83(*t*, 2H), 6.63(*s*, 1H), 7.20(*s*, 1H), 7.63~8.56(*m*, 3H); Anal. Calcd. for C₂₀H₂₄N₂O₄: C, 67.42; H, 6.74; N, 7.87. Found: C, 67.21; H, 6.76; N, 7.91.

(2) 1,3-Dihydroxyphenazine-5,10-dioxide의 합성. 냉각기와 교반장치를 구비한 100 ml 플라스크에 benzofuroxan 1.63 g(0.012 mole)과 1,3,5-trihydroxybenzene 1.95 g(0.012 mole)을 테트라히드로푸란 15 ml와 메탄올 15 ml의 혼합용매에 녹인 다음 0.65 g(0.012 mole)의 메톡시화 나트륨을 가하고 저으면서 실온에서 24시간 반응시켰다. 반응물에 1N HCl 용액 20 ml를 가하여 산성화시키니 보라색의 고체가 석출되었다. 이 고체를 감압여과하고 물 30 ml로 3차례 세척한 다음 에탄올로 재결정하여 1.62 g(수득율 55.3%)의 1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide를 얻었으며, mp는 218°C였다.

IR(KBr, cm⁻¹): 3290, 1610, 1340, 1185, 1052, 805; ¹H NMR(DMSO-d₆, δ): 6.56(*s*, 1H), 7.13(*s*, 1H), 7.56~8.60(*m*, 4H); Anal. Calcd. for C₁₂H₈N₂O₄: C, 59.02; H, 3.28; N, 11.48. Found: C, 58.85; H, 3.34; N, 11.29.

물성조사

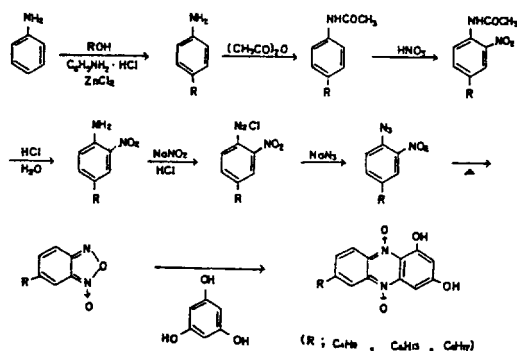
(1) 표면장력의 측정. 합성한 phenazine dioxide 유도체들은 물에 녹지 않기 때문에 나트륨염에 대하여 표면장력을 측정하였다. 2차 증류수를 사용하여 10⁻²~10⁻⁶ mole/l의 각종 수용액을 만들고 용매의 증발을 막기 위해 페트리접시에 넣고 약 30분간 방치하여 표면층을 안정화시킨 다음 표면장력을 측정(측정온도 27°C)하였다.

(2) 항균성 시험. 전보^{22c,d}와 동일한 방법으로 하였다.

결과 및 고찰

합 성. 각 단계별 합성경로는 Scheme 1에 나타내었다.

Scheme 1에 의하면 2-니트로-4-알킬아닐린으로



Scheme 1. Overall scheme for synthesis of 7-alkyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide.

부터 6-alkylbenzofuroxan 류의 합성에서는 아미노기를 디아조화시키고, 아지드화나트륨을 사용한 Sandmeyer 반응으로서 아지드화시킨 다음 톨루엔 용매하에서 열분해 하는 방법²⁴을 택하였다. 그러나 이 방법 외에도 차아염소산 나트륨으로 산화하는 방법²⁵이 있으나 이 방법을 피한 이유는 유독한 염소가스의 취급에 대한 위험 뿐만 아니라 벤젠핵에 결합된 알킬기가 산화될 가능성을 우려하였기 때문이었다.

6-alkylbenzofuroxan 류의 적외선 스펙트럼에서는 1348~1350 cm⁻¹ 및 1008~1012 cm⁻¹ 부근에서 N → O 신축진동²⁶가 나타났는데, 이 흡수띠는 최종 화합물인 phenazine dioxide 유도체들에서도 1340~1350 cm⁻¹ 및 1045~1055 cm⁻¹ 부근에서 확인할 수 있었다. 그리고 phenazine dioxide 유도체의 경우 3290~3400 cm⁻¹ 부근에서 수소결합한 O-H 신축진동띠를 볼 수 있었다. 특히 phenazine dioxide 유도체들은 805~815 cm⁻¹ 부근에서 phenazine 고리계의 골격진동에 해당하는 흡수띠²⁷를 확인할 수 있었다.

표면장력. 합성한 phenazine dioxide 유도체들은 물에 녹지 않기 때문에 나트륨염의 경우에만 표면장력을 측정하였는데 Fig. 3에 phenazine dioxide 유도체들의 표면장력과 농도와의 관계를 나타내었다.

Fig. 3에 의하면 부틸유도체의 경우 10⁻² mole/l에서 47.5 dyne/cm 까지 표면장력을 저하시켰으나 critical micelle concentration(CMC)을 나타내는 골목점은 확실히 알 수 없었다. 그러나 옥

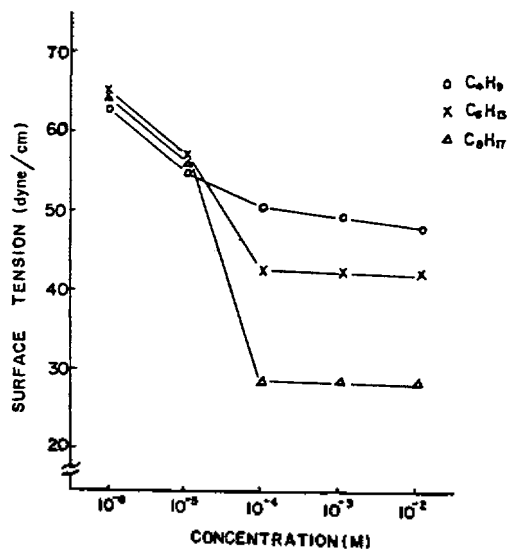


Fig. 3. Correlation between concentration and surface tension of 7-alkyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide sodium salt.

션의 경향으로부터 미셀형성이 어느 정도 이루어진 것으로 추측하였는데, 이것은 부틸유도체가 헥실이나 옥틸유도체의 경우보다 소수성이 약하기 때문이라고 생각되었다. 헥실 및 옥틸유도체의 경우는 10⁻⁴ mole/l에서 CMC를 나타내는 골목점이 관찰되었기 때문에 미셀형성이 이루어진 것으로 판단되었다. 이들 phenazine dioxide 유도체의 표면장력 저하능력은 10⁻⁴ mole/l에서 부틸기는 50.8 dyne/cm, 헥실기는 42.5 dyne/cm, 옥틸기는 28.4 dyne/cm로서 알킬기의 탄소수가 증가할수록 표면장력 저하능력이 크다는 것을 알 수 있었다. 그러나 1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide의 경우에는 농도에 따른 표면장력의 저하를 볼 수 없었다.

항균성. phenazine dioxide 유도체들의 그람 양성균과 그람 음성균에 대한 MIC를 Table 1에 나타내었다.

Table 1에 의하면 7-alkyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide에서 알킬기가 부틸, 헥실, 옥틸기로 바뀌어짐에 따라 이들의 MIC는 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923에 대해서는 6.25, 12.5 및 12.5 μg/ml, *Bacillus subtilis*에 대해서는 3.13, 6.25 및 6.25

Table 1. Antimicrobial spectrum of 7-alkyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide

Organisms	Sample			
	7-alkyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide ^a			
	H	C ₄ H ₉	C ₆ H ₁₃	C ₈ H ₁₇
<i>St. aureus</i> ATCC 25923(+) ^b	25 ^d	6.25	12.5	12.5
<i>B. subtilis</i> (+)	12.5	3.13	6.25	6.25
<i>E. coli</i> ATCC 25922(-) ^c	50	12.5	12.5	25
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 29853(-)	50	12.5	25	25
<i>Sal. typhi</i> (-)	50	12.5	25	25

^aalkyl group; H, C₄H₉, C₆H₁₃, C₈H₁₇. ^bGram positive, ^cGram negative, ^dMIC (minimum inhibitory concentration); ug/ml.

μg/ml로 나타났다. 그리고 그람음성균인 *Escherichia coli* ATCC 25922에 대해서는 12.5, 12.5 및 25 μg/ml, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29853과 *Salmonella typhi*에 대해서는 각각 12.5, 25 및 25 μg/ml로 나타났는데, 알킬기의 탄소수가 적을수록 항균력이 세어진다 것을 알 수 있었다. 또한 이들의 MIC를 알킬기가 없는 1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide의 MIC와 비교할 때 알킬기가 있는 경우가 항균력이 강하게 나타났다. 그리고 *Escherichia coli*에 대한 1,6-dihydroxyphenazine의 MIC가 >75 μg/ml인 경우²⁸와 히드록시기의 위치가 조금 다르지만 본 실험에서 합성한 1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide의 MIC가 50 μg/ml인 경우를 비교할 때 phenazine dioxide가 일반적인 페나진고리를 갖는 유도체보다 항균력이 더 강하다는 사실을 알 수 있었다. 그리고 전보^{22b,c}와 비교할 때 phenazine dioxide 유도체에서 알킬기 이외에 전자를 주는 치환기가 1개 치환되어 있는 경우보다는 본 연구에서 합성한 7-alkyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide류와 같이 알킬기 이외에 전자를 주는 치환기가 2개 치환되어 있는 경우가 항균력이 더 강하다는 사실을 알 수 있었다. 이러한 사실로 미루어 볼 때 phenazine dioxide 유도체의 경우 N → O 결합부분이 항균성에 큰 역할을 하고 있음을 추정할 수 있었다.

그리고 7-alkyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide류의 경우 그람음성균보다 그람양성균에 대하여 항균력이 강하게 나타났다. 따라서 합성한 phenazine dioxide 유도체들의 항균성 시험에서는 알킬기가 없는 phenazine dioxide 유도체와 같이 계면활성이 없는 경우보다는 알킬기가 있는 phenazine dioxide 유도체와 같이 계면활성이 있을 때가 항균력이 더 강하였다. 그리고 알킬기가 부틸, 헥실, 옥틸기인 경우에서 탄소수가 적은 부틸유도체가 가장 강한 항균력을 지니고 있음을 알 수 있었다. 특히 표면장력 저하능력과 항균성과의 관계에서는 계면활성이 큰 옥틸유도체의 경우가 항균력이 약한 반면에 계면활성이 작은 부틸유도체가 가장 강한 항균력을 가졌다. 또한 미셀이 형성되는 것보다 훨씬 낮은 농도에서도 항균성을 나타내므로 계면활성에 의해서만 항균성이 결정되는 것은 아니라고 판단되었다. 일반적으로 계면활성제의 항균작용은 세포표면에 흡착하여서 정상적인 세포활동을 방해하여 일어남으로 그 계면활성도가 항균성과 병행관계를 나타낼 수 있다. 그런데 항균성 화합물의 항균작용 메커니즘을 살펴보면 세포벽이나 세포막 기능의 방해²⁹, 해당 및 호흡반응의 저해³⁰, 핵산합성의 방해³¹ 등을 들 수 있는데 항균작용을 발휘하는 인자는 여러가지이므로 계면활성이 크다고 하여 반드시 항균력이 강하다고는 할 수 없을 것이다. 본 연구에서의 7-alkyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide류의 알킬유도체들은 모두 계면활성을 지니나 그 항균성이 계면활성과 병행성을 보이지 않음은 계면활성 이외 다른 인자가 항균성에 더 크게 기여한 때문이라고 생각되었다.

결 론

아닐린과 *n*-알킬 알코올류를 출발물질로 하여 6단계를 거쳐 새로운 phenazine dioxide 유도체인 7-alkyl-1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide류를 합성하였고, benzofuroxan과 1,3,5-trihydroxybenzene을 반응시켜 1,3-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide도 합성하였다.

합성한 phenazine dioxide 유도체들은 물에 녹지 않기 때문에 나트륨염의 경우에 표면장력을 측

정한 결과, 10^{-4} mole/l에서 부틸유도체는 50.8 dyne/cm, 헥실유도체는 42.5 dyne/cm, 옥틸유도체는 28.4 dyne/cm 까지 표면장력을 저하시켰으므로 이들 phenazine dioxide 유도체들은 계면활성을 나타낸다고 생각되었으며, 알킬기의 탄소수가 증가할수록 표면장력 저하능력이 커진다는 것을 알았다.

Phenazine dioxide 유도체들의 항균성을 조사한 결과, 그람음성균보다 그람양성균에 강한 항균력을 나타내었으며, 알킬기가 없는 경우보다는 알킬기가 있는 경우가 항균력이 더 강하였다. 그리고 페나진고리의 질소원자에 산소원자가 배위되어 4차 암모늄염과 같은 구조를 갖는 phenazine dioxide는 일반적인 페나진 고리를 갖는 유도체보다도 항균력이 더 강하였다. 또한 도입된 알킬기 가운데서도 옥틸기나 헥실기보다 부틸기를 갖는 편이 강한 항균력을 나타낸다는 사실도 알았다. 그리고 알킬기 이외에 전자를 주는 치환기가 1개 치환되어 있는 경우보다는 2개 치환되어 있는 경우가 더 강한 항균력을 나타낸다는 사실로서 phenazine dioxide 유도체의 경우 N → O 결합부분이 항균성에 큰 역할을 하고 있을 것이라고 추정하였다.

따라서 이들 phenazine dioxide 유도체에서 표면장력 저하능력은 옥틸기를 갖는 편이 크고, 항균력은 부틸기를 갖는 편이 더 강하므로 표면장력 저하와 항균력의 세기 사이에는 반드시 병행관계가 없다는 것을 알았다.

본 연구는 한국과학재단의 연구비 지원에 의하여 이루어졌으므로, 이에 깊은 감사를 드립니다.

인 용 문 헌

- (a) F. Wrede, and E. Strack, *Z. Physiol. Chem.*, **181**, 58 (1929); (b) H. Hillemann, *Ber. Deut. Chem. Ges.*, **71B**, 46 (1938); (c) K. A. Jensen, and C. H. Holton, *Acta Chem. Scand.*, **3**, 1446 (1949); (d) R. Takeda, *J. Ferm. Technol.*, **36**, 281 (1958); (e) P. C. Chang, and A. C. Blackwood, *Can. J. Microbiol.*, **15**, 439 (1969).
- E. A. Kiprianova, and A. S. Rabinovich, *Mikrobiologiya*, **38**, 224 (1969).
- (a) A. J. Kluver, *J. Bacteriol.*, **72**, 406 (1956); (b) M. E. Levitch, and P. Rietz, *Biochemistry*, **5**, 689 (1966); (c) E. S. Olson, and J. H. Richards, *J. Org. Chem.*, **32**, 2887 (1967).
- F. Kögl, and J. J. Postowsky, *Ann. Chem.*, **480**, 280 (1930).
- (a) M. Podojil, and N.N. Gerber, *Biochemistry*, **6**, 2701 (1967); (b) S. C. Bell, and J. M. Turner, *Biochem. Soc. Trans.*, **1**, 751 (1973).
- (a) S. Nakamura, *Chem. Pharm. Bull.*, **6**, 539 (1958); (b) S. Nakamura, E. L. Wang, M. Murase, K. Maeda, and H. Umezawa, *J. Antibiotics, Ser. A*, **12**, 55 (1959).
- G. R. Clemo, *J. Chem. Soc.*, 479 (1938).
- (a) H. Umezawa, S. Hayano, K. Maeda, Y. Ogata, and Y. Okami, *J. Antibiotics*, **4**, 34 (1951); (b) Y. Ogata, *Japan Med. J.*, **6**, 493 (1953); (c) *Idem.*, *J. Antibiotics, Ser. A*, **12**, 133 (1959).
- (a) K. Katagiri *et al.*, *Ann. Rep. Shionogi Res. Lab.*, **16**, 52 (1966); (b) K. Katagiri *et al.*, *ibid.*, **17**, 133 (1967).
- (a) J. D. Bijloo, and E. H. Reerink, *U. S. Patent*, **3,080,284** (1963); (b) E. Grunberg, *ibid.*, **3**, 502, 774 (1970).
- M. Nakamura, and G. Akabori, *Jpn. Pat.*, 6348 (1962).
- (a) J. I. Toohey, C. D. Nelson, and G. Krotkov, *Can. J. Botany*, **43**, 1151 (1965); (b) C. D. Nelson, and J. I. Toohey, *U. S. Patent*, **3,367,765** (1968).
- J. C. L. Fouche *et al.*, *U. S. Patent*, 3,455,926 (1969).
- J. D. Johnston, *ibid.*, **3**, 520, 888 (1970).
- P. H. Jones, *ibid.*, **3**, 764, 679 (1973).
- Y. Bush, and D. S. Slusarchyk, *ibid.*, **4**, 568, 675 (1966).
- (a) U. Hollstein, R. A. Burton, and J. A. White, *Experientia*, **22**, 210 (1966); (b) P. C. Chang and A. C. Blackwood, *Can. J. Biochem.*, **46**, 925 (1968); (c) W. M. Ingledew, and J. J. R. Campbell, *Can. J. Microbiol.*, **15**, 535 (1969); (d) M. E. Flood, R. E. Herbert, and F. G. Holliman, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 622 (1972).
- (a) M. E. Levitch, and E. R. Stadtman, *Arch. Biochem. Biophys.*, **106**, 194 (1964); (b) U. Hollstein and D. A. HeCamey, *J. Org. Chem.*, **38**, 3415 (1973).
- (a) R. Takeda, and I. Nakanishi, *Hakko Kagaku Zasshi*, **38**, 9 (1959); (b) R. E. Carter, and J. H. Richards, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 495 (1961).
- R. B. Herbert, F. G. Holliman, and J. B. Sheridan,

- Tetrahedron Lett.*, 4201 (1974).
21. (a) M. F. Grondon, and A. S. Wasfi, *J. Chem. Soc.*, 1982 (1963); (b) M. F. Grondon, and B. T. Johnston, *ibid.*, 255 (1966); (c) L. Marchetti, and G. Tosi, *Ann. Chimica*, 57, 1414 (1967); (d) S. R. Challand, R. B. herbert, and F. G. Holliman, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1423 (1970); (e) B. Nay *et al.*, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 1, 611 (1980); (f) K. C. Brown, and J. F. Corbett, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 2, 886 (1981); (g) C. Balboni, L. Benati, P. C. Montevocchi, and P. Sapagnolo, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 1, 2111 (1983); (h) L. Benati, P. C. Montevocchi, and P. Sagnolo, *ibid.*, 1577 (1985).
22. (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) *Idem.*, *ibid.*, 31, 464 (1987).
23. (a) Y. Kurasawa, Y. Kamigaki, H. S. Kim, R. Futatsukawa, M. Kanoh, M. Okiyama, A. Takada, and Y. Okamoto, *I. Heterocyclic Chem.*, 26, 853 (1989); (b) Y. Kurasawa, H. S. Kim, K. Yonekura, A. Takada, and Y. Okamoto, *ibid.*, 26, 857 (1989); (c) Y. Kurasawa, Y. Kamigaki, H. S. Kim, C. Watanabe, M. Kanoh, M. Okiyama, A. Takada, and Y. Okamoto, *ibid.*, 26, 861 (1989); (d) Y. Kurasawa, Y. Kamigaki, H. S. Kim, K. Yonekura, A. Takada, and Y. Okamoto, *ibid.*, 26, 869 (1989); (e) H. S. Kim, Y. Kurasawa, and A. Takada, *ibid.*, 26, 871 (1989); (f) *Idem.*, *ibid.*, in press; (g) Y. Kurasawa, H. S. Kim, R. Futatsukawa, C. Watanabe, A. Takada, and Y. Okamoto, *ibid.*, in press; (h) H. S. Kim, Y. Kurasawa, and A. Takada, *ibid.*, submitted.
24. (a) P. A. S. Smith, and J. H. Boyer, *Org. Syn.*, 31, 14 (1951); (b) N. Rabjohn, "Organic Syntheses", 2nd Ed., Collective Vol. IV, pp.75-77, John Wiley & Sons, New York, (1963).
25. (a) A. G. Green, and F. M. Rowe, *J. Chem. Soc.*, 2443 (1912); (b) F. M. Rowe, and J. S. H. Davis, *ibid.*, 1344 (1920); (c) F. B. Mallory, *Org. Syn.*, 37, 1 (1957).
26. (a) G. R. Clemo, and A. F. Daglish, *J. Chem. Soc.*, 1481 (1950); (b) M. J. Haddadin, and C.H. Issidorides, *Tetrahedron Lett.*, 3253 (1965); (c) C. H. Issidorides, and M.J. Haddadin, *J. Org. Chem.*, 31, 4067 (1966); (d) C. P. Claypool, A. R. Sidani, and K. J. Flanagan, *ibid.*, 37, 2372 (1972).
27. C. Stammer, and A. Taurins, *Spectrochim. Acta*, 19, 1625 (1963).
28. N. N. Gerber, and M. P. Lechvalier, *Biochemistry*, 3, 598 (1964).
29. (a) J. F. Riley, *Cancer Res.*, 8, 183 (1948); (b) H. Akabori, and M. Nakamura, *J. Antibiotics, Ser. A*, 12, 17 (1959).
30. (a) V. C. Barry, M. L. Conalty, and E. E. Gaffney, *J. Pharm. Pharmacol.*, 8, 1089 (1956); (b) K. Hano, H. Iwata, and K. Nakajima, *Chem. Pharm. Bull.*, 13, 107 (1965).
31. (a) U. Hollstein, and P. L. Butler, *Biochemistry*, 11, 1345 (1972); (b) M. Cannon, J. E. Davies, and A. Jimenez, *FEBS Lett.*, 32, 277 (1973); (c) M. Cannon, *Biochem. J.*, 142, 457 (1974).