

微生物의 抗腫瘍性 代謝產物

金 炳 珪*

(Received December 1, 1972)

Byong Kak Kim: Antitumor Metabolites of Micro-organisms.

微生物의 代謝產物은 극히 多様함으로 그중에는 癌細胞에 선택적으로 作用하여 增殖을 抑制하는 것이 있으리라는 예상하에서 腫腸을 移植한 動物을 使用하여 抗癌性 物質을 스크리닝하기 시작한 것은 1951年경 부터 었다. 그리하여 지난 20餘年間に 200種 以上の 抗腫양성 物質이 報告되었고 그 化學構造는 가지 各색이다.

그간의 研究의 추세를 돌이켜 본다면 초기에는 抗腫양作用에 중점을 두었기 때문에 독성 이 강한 物質이 다수 보고되었으며 중기에는 組織培養을 利用했기 때문에 細胞毒 物質이 주 축을 이루고 있다. 近來에는 毒性이 낮은 物質, 특히 高分子의 物質이 추구되고 있는 경향 이다.

이미 報告된 200餘종의 抗腫양성 항생물질中 실지로 쓰이고 있는 것은 10여종에 불과하 다는 사실은 全身療法劑로서의 抗癌劑의 毒性이 얼마나 중요한 가를 잘 證언해 주고 있다.

抗腫양성 抗生物質은 化學構造, 生成하는 微生物, 作用機轉 등에 따라 分類할 수 있다. 그러나 化學構造가 多様하다는 점에서 또 生成하는 미생물은 대개 放線菌類이라는 점에서 그리고 作用機轉은 대개 核酸에 作用한다는 점에서 볼때 이러한 分類基準을 채택한다는 것이 특별히 유리한 점이 없는 것 같으므로 여기서는 편의상 發見된 年代順으로 나열하여 記 載하기로 한다.

Actinomycin D

1940年 Waksman 과 Woodruff 이 actinomycin A 를 發見하였으나¹⁾ 그 毒性때문에 망각되 어 있다가 Brockmann 과 협조자들이 1949年 actinomycin C 를 분리하므로써 再인식하게 되 었다.²⁾ 그후 1954年 Manaker와 그 공동연구자들은 *Streptomyces antibioticus* 및 同屬의 기타 放線菌으로 부터 actinomycin D 를 분리하였다.³⁾

Actinomycin 類는 quinoid 구조의 phenoxazine 發色團을 공통으로 가진 1군의 항생물질이

* Department of Microbial Chemistry, College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea.

며 그 카복실기에 결합된 2개의 대칭 polypeptide측쇄를 이루는 아미노산만이 유도체에 따라 상이하다. 이 측쇄는 생리활성에 필요한 부분이다. 이들 중에서 actinomycin D가 실험종양에 대해서 가장 널리 연구되었을 뿐만 아니라 임상적으로도 가장 빈번히 쓰이고 있다(Fig. 1)

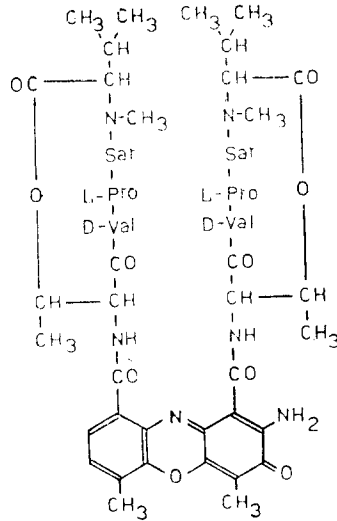


Fig. 1--Actinomycin D

이 항생물질은 포류유물의 腺癌, 黑芽세포腫 S-91 및 신경膠芽세포腫에 강력한 작용을 나타낸다. 임상적으로 actinomycin D는 다음과 같은 종양을 퇴행시키거나 크기의 감소를 이룬다. 즉 小兒 Wilm氏 종양, 胸癌, 絨毛암, 胚子암, 橫紋筋肉腫, 畸形암, Hodgkin氏病, 淋巴腫, 黑色腫 등이다.⁴⁻⁶⁾

Actinomycin D와 그 관련유도체는 DNA 분자의 작은 틈에 튼튼하면서도 可逆的인 결합을 이루는 것으로 간주되고 있다. 이렇게 항생물질이 결합된 DNA는 그이상 RNA 합성에 대한 原型의 기능을 발휘할 수 없으며 따라서 RNA와 단백질의 생합성을 방해하게 된다.⁷⁻¹¹⁾ 그 결합부위는 DNA의 guanine-cytosine 쌍의 guanine이며 actinomycin D의 아미노基 및 이에 인접한 carbonyl基와 결합하는 것 같다.¹²⁾

核酸과 actinomycin D間的 X선 굴절 연구에 의하면 평균해서 nucleotide 18개 마다 1분자의 actinomycin D가 존재한다고 보고된 바 있다.¹³⁾ 또한 이 항생물질은 interferon 생성, histone 합성, glucose-6-phosphate dehydrogenase 합성, gluconeogenic 효소 합성 및 인지질의 합성을 억제한다는 것이 보고되었다.¹⁴⁻¹⁹⁾ 종양은 대개 actinomycin D에 대해서 쉽게 耐性을 이루어지지 않는다. 그러나 내성이 일어나게 되면 그것은 암세포의 막이 조성과 구조의 변경으로 인한 actinomycin D의 투과성이 변화했기 때문이다.²⁰⁻²¹⁾

Sarkomycin

1953年 Umezawa *et al.*이 Gamakura 地方의 토양에서 分離한 *Streptomyces erythrochromogenes*의 培養液으로부터 抽出하였고 마우스의 Ehrlich 암에 有効한 成分을 分離하여 結晶化된 것을 sarkomycin 이라고 命名하였다.²²⁾ Sarkomycin 을 硫化水素로 처리하여 얻는 sarkomycin SI 는 抗효모性과 抗종양性이 인정되고 있다.²³⁾

이 항생물질은 다른 대부분의 抗生物質과는 달리 축적성인 慢性 毒性이 적다. 그러나 임상효과는 약한 편이다. 作用機轉은 효소단백의 SH 基와 결합하여 DNA polymerase 를 阻해하는 것으로 보고 있다. 또한 F-episome 의 消去作用도 인정되고 있다.

Carzinophilin

1954年 Hata 등이 *Streptomyces sahachiroi*의 배양액으로 부터 분리하였다.²⁴⁻²⁵⁾ 이것의 기본구조는 1-methyl-7-methoxynaphthalene-6-carboxylic acid 이며 抗腫瘍性뿐만 아니라 그람 양성균, 항산성균에 대하여도 항균력을 나타낸다.²⁶⁾

DNA 合成에 대해 강한 阻해작용을 가지어 抗종양 활성은 강하지만, 白血球減少症을 현저하게 나타내는 缺點이 있어서 많이 쓰이지 않는다.

Etamycin

1954年 Heinemann 등은 *Streptomyces lavendulae*의 대사산물中에서 그람양성균에 저지 작용을 가진 물질을 분리하여 etamycin 이라 명명하였다.²⁷⁾ 이것은 *Strept. griseus*가 생성하는 viridogrisein²⁸⁾과 동일한 物質이다.

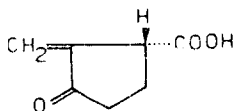


Fig. 2--Sarkomycin

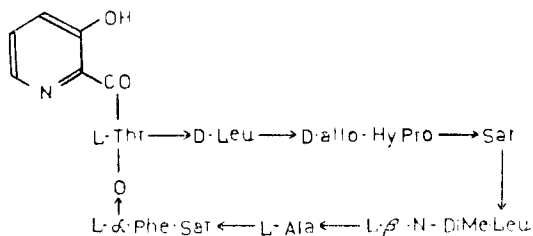


Fig. 3--Etamycin

이 계통에 속하는 항생물질은 주로 그람 양성균 및 결핵균에 유효하고 배양액중에서 수종의 유효성분이 동시에 생성되어 강한 상승작용을 나타낸다. Etamycin 은 개에서 가역적 白血球

減少症을 이끈다.

Azaserine

L-Azaserine 은 1954年 *Streptomyces fragilis* 의 배양액에서 부터 Stock 등²⁹⁾ 및 Bartz 등³⁰⁾ 에 의해 각각 독립적으로 발견되었다.

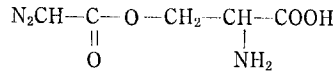


Fig. 4—L-Azaserine

이것은 sarcoma 180²⁹⁾, Ehrlich 腹水암 및 腺癌 EO771³¹⁾ 도 억제한다.

임상적으로는 이것은 小兒의 急性 白血病을 일시적으로 경감시키며 Hodgkin 氏病을 일시적으로 개선한다.³²⁾

이 약의 毒性은 消化기관的 장애, 혈액의 변화, 전신중독증, 위장, 간, 및 신장의 病變을 야기시키는 것이다. 어린이의 급성 백혈병의 경우 6-mercaptopurine 과 병용했을때 상승효과가 나타났다.³³⁾

6-Diazo-5-oxo-L-norleucine

페루地方의 토양에서 분리한 *Streptomyces* 속의 1 균주의 배양액에서 6-diazo-5-oxo-L-norleucine (DON)이 발견되었다.^{35,35)}

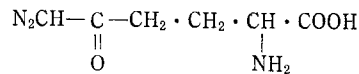


Fig. 5—6-Diazo-5-oxo-L-norleucine

마우스 Sarcoma 180 에 대해 이약은 억제작용을 가졌으나(0.1mg 1kg)³⁶⁾, 체중감소와 致死가 관찰되었다.³⁵⁾ 또한 이 약은 sarcoma MA387, Ehrlich 복수암, Mecca solid lymphosarcoma, Rous chicken tumor 를 억제한다.³⁷⁾ 더욱 DON 은 methotrexate 나 6-mercaptopurine 에 耐性인 白血病 L-1210 에 대해서 억제 효과가 있다.³⁸⁾ 마우스 sarcoma 에 대해서는 DON 이 azaserine 보다 억제작용이 더 강하지만 쥐에서는 더 약하다.

임상적으로 DON 은 黑色腫, 淋巴腫, 絨毛암에 대해 일시적 경감을 가져온다.³⁹⁾ DON 과 azaserine 은 營養胚葉종양에 有效하다. DON 은 경구로 투여할 수 있으며 서서히 자라는 종양을 지속적으로 경감시킨다.

人體에서의 副作用은 azaserine 과 유사하여 설사, 吐氣, 구토, 백혈구 감소증을 일으키나, 상이점은 위장, 간 및 신장의 병변이 나타나지 않는 것이다. DON 을 동물에 반복 투여했을때 azaserine 보다 50—100 배 더 毒性이 컸으며 현저한 축적작용이 나타났다. DON 을

6-mercaptapurine 과 병용했을때 상승효과가 있다.

DON 과 azaserine 은 DNA 와 RNA 의 purine 생합성에서 formate incorporation 을 억제한다. 즉 purine 의 *de novo* 합성의 첫 반응의 하나인 formylglycinamide ribonucleotide 가 formylglycine amidine RNucleotide 로 전환되는 반응을 억제한다. DON 은 glutamine 과 경쟁적 억제작용을 시현하며 DON 의 구조가 glutamine 과 더 유사하기 때문에 억제작용도 azaserine 보다 더 강하다.⁴⁰⁾

Azaserine 의 경우 그 L 이성체만이 생리활성이 있고 D 형은 不活性인데 반하여, DON 의 D 체는 약하지만 억제작용을 가진다.

Alzopeptin 및 Azotomycin

DON 과 유사한 구조를 가진 항생물질로써 alzopeptin 이 있으며 이는 *Streptomyces* 속의 1 균주에서 분리되었고 2 분자의 DON 이 alanine 으로 연결되어 있다.^{51),52)} 이것은 일부 mouse neoplasm 에 억제작용이 있으나 쥐 또는 hamster 의 종양에 대해 무효이다.⁴¹⁾

Streptomyces ambofaciens 로 부터 duazomycin 類가 분리되었는데 A,B,C 의 3 형이 있다.^{42,43)} A 형은 N-acetyl-DON 이며 아세틸기는 생체내에서 유리될 수 있다. B 형은 azotomycin 이란 명칭으로 더 잘 알려져 있으며 2 분자의 DON 과 1 분자의 글루타민산으로 구성되어 있다. 이 약은 人體에서 充實性 종양에 효과가 있다고 보고된 바 있다.⁴⁴⁻⁴⁵⁾ azotomycin 은 생체내에서 글루타민산과 DON 으로 가수분해되고 결국 이것이 항종양작용을 나타내는 것이다. 이 약은 直腸암과 軟조직의 肉종에 객관적으로 현저한 억제작용을 보이며 DON 보다 독성이 훨씬 적은 것으로 판명되었다.⁴⁶⁾ 이것은 단독으로 혹은 L-asparaginase 와 병용할때 생체내에서 강력한 면역억제 작용을 이끈다.

Mitomycin C

Mitomycin A, B, C 및 porfiromycin 은 *Streptomyces caespitosus* 와 기타 數種의 *Streptomyces* 속에서 분리된 것으로서^{47,48)} aziridine 환, carbamate 기 및 aminoquinone 환의 구조를 공통으로 가지고 있다.⁴⁹⁻⁵¹⁾ 合成된 aziridine 류는 잘 알려져 있지만 천연으로 존재하는 것은 이것이 처음이다.

Mitomycin C 는 각종 실험동물의 종양, 즉 肉腫의 腹水變體, 유방의 腺癌, 黑色腫, 쥐의 肝腫, Walker carcinosarcoma, 및 Jensen sarcoma 에 대하여 현저한 작용을 나타낸다.⁵²⁻⁵⁴⁾ 특히 이 약은 미국과 일본에서 광범위한 임상실험을 거쳤으며^{55,59)} 胃, 胸部, 肺, 췌장 등의 암종을 객관적으로 식별되는 정도의 退行을 이끈다. 또한 이것은 만성 골수성 白血病, Hodgkin 씨병, 惡性 임파종, 일부 上皮세포 종양, 絨毛上皮腫, 방광암 등에 대하여 中程度의 효과를 발현한다. 이 약은 骨肉腫의 일부 환자에서 종의 성장을 억제한다. 상용량은 1일 1~2mg 씩이며 20~40 일간 투여한다. 체중 1 kg 당 40mg 이상의 용량을 투여하면 대부분의 환자가 독성을 나타내는데 증세는 구토, 토기, 식욕전권, 발열, 백혈구 특히 thrombocyst 의 감소로 나타나는 골수 기능의 심한 저하, 위장관의 上皮, 肝, 腎장의 손상 등이다.

Mitomycin C 에 耐性이 된 淋巴肉腫이 nitrogen mustard 와 ethyleneimine 유도체에 대해서도 상호간에 交叉耐性이 있다는 사실은 이것이 생물학적 alkyl 化劑로서 作用할 것이라는 점을 뒷받침 해주고 있다.⁶⁰⁻⁶¹⁾ 또한 이 약은 알킬化劑와 동일하게 세포 DNA 의 解重합을 이룬다.⁶²⁻⁶³⁾ 포유동물의 세포배양에서 DNA 생합성의 선택적 억제현상이 나타난다. 高농도에서 이 약은 심지어 세포 RNA 와 단백질 생합성을 억제하기도 하는데 RNA 의 단백질로의 유전정보의 해석을 방해한다.⁶⁴⁾

Mitomycin C 는 그 자체로서는 생물학적으로 불활성이며 그 환원형과 벤젠형이 활성인 것으로 보여지고 있다.⁶⁵⁾ 이 환원형은 비교적 不安定하므로 환원과정중에 DNA 가 존재해야만 crosslinking 이 일어날 수 있다. Carbamate 측쇄의 $-CH_2-O-C(=O)-NH_2$ 결합이 활성인 alkyl 化 부위로 작용한다. 이때 DNA 가닥의 guanine 간에 횡적 결합을 형성한다.^{66,67)} 따라서 활성화된 mitomycin C 는 2 개의 알킬화제와 유사하며 4 개의 탄소로 된 직쇄가 활성부위를 연결한다. 그 환원형은 *in vitro* 에서 nuclide 매 500 개마다 한 분자씩의 比로 DNA 와 결합한다.⁶⁶⁾ 항암작용에 관해서는 aziridine 환의 질소 원자가 다른 基로 치환되어서는 안된다. 즉 N-methyl 유도체인 porfiromycin 은 실제로 작용이 전혀 없다.⁶⁸⁾

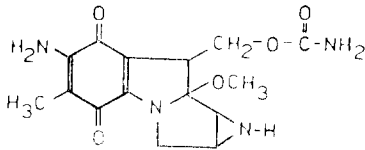


Fig. 6—Mitomycin C

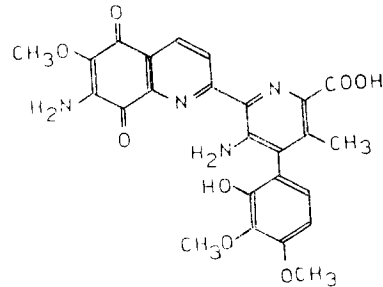


Fig. 7—Streptonigrin

Streptonigrin

1960 년 Rao 등이 *Streptomyces flocculus* 의 배양액에서 이 물질을 분리하였으며^{42,69,70)} 일명 bruneomycin 이라고도 한다.

이것은 廣範圍 항암물질이어서 carcinoma 755, C₃H 마우스의 자연발생 乳癌, 및 人體 sarcoma strain HS 1 과 HEP 3 에 대해 현저한 억제작용을 발현한다.⁷¹⁻⁷³⁾ 또한 이 약이 상당히 억제작용을 나타내는 것으로서 腺癌 EO771 과 1025, Wagner 와 Ridgway osteogenic sarcoma, Harding-Passey 黑色腫, Flexner-Jobling 암, Walker 암육종 256 및 Iglesias 난소종양이 있다. 뿐만 아니라 조직배양에서 HeLa 세포를 고도로 억제한다. 동물에 대한 毒性실험에서 streptonigrin 을 非경구보다는 經口로 투여하는 것이 독성의 발현이 적었다.

임상적으로 streptonigrin 은 Hodgkin 씨병, 임파腫과 기타 血液암에 確實한 활성을 나타낸다.⁷⁴⁻⁷⁶⁾ 또한 만성 임파성 白血병, 그리고 흉부, 폐, 頭頸部, 膽汁管, 胃腸 子宮경부 癌과 같은 充實性 종양에 대하여 객관성 있는 반응을 일으킨다. 이의 毒性을 보면 吐氣, 구토, 설사, 부분적 脫毛症, 血栓性 靜脈炎, 경진혼미, 엘러지 등이며 가장 난처한 독성은 骨髓의

심한 억제현상이다. 이 억제현상은 투여량의 조절 등으로 완화시킬 수 있다.

Streptonigrin의 methyl ester을 만들어 연구하여 본바 母體화합물보다 毒性도 적고 療法係數가 더 높음을 알게 되었다.⁷⁷⁻⁸¹⁾

Streptonigrin은 aminoquinone 구조를 가지고 있는데 이는 actinomycin D와 mitomycin C에도 존재하며 이들 항암제의 항암작용에 중요한 역할을 한다.⁸²⁾ 또한 streptonigrin은 溶原性 세균을 유발시키며 세균의 DNA合成 및 DNA에 의한 RNA合成에 대해 선택적인 有害作用을 나타낸다.⁸³⁾ 뿐만아니라 이를 DNA의 존재하에서 환원시키면 DNA를 파괴시킨다.^{84,85)} DNA에 安定하게 결합된 streptonigrin의 양은 deoxynucleotide 2,000 mole에 대해 1 mole로 추산되고 있다. 이 약은 세포의 생활사中 DNA合成단계에서 DNA와 우선적으로 결합한다.⁸⁶⁾ 또한 이것은 세포의 ATP 및 단백질 합성을 감소시킨다. 이 약의 aminoquinone 부분이 항암작용에 중요하다는 점은 이 부분을 다른 것으로 변경시켜 보면 알 수 있다. 예를 들면 isopropylidine 유도체(Fig. 8)는 *in vitro*에서 DNA 또는 단백질 합성에 전혀 작용하지 않으며 人體의 白血病의 백혈구에 대해서도 별다른 작용이 없다.⁸¹⁾ 그런데 aminoquinone 부분을 가진 7-amino-6-methoxyquinone-5,8-dione(Fig. 9)도⁸⁷⁾ 역시 마우스의 白血病

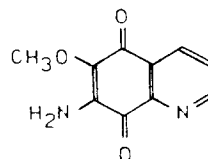
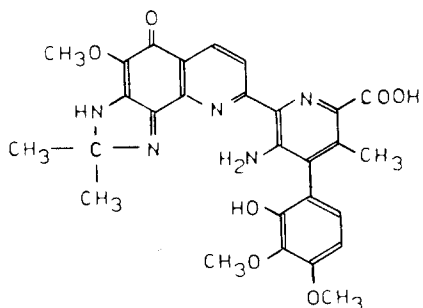


Fig. 8—Streptonigrin isopropylidine 유도체 Fig. 9—7-Amino-6-methoxy-quinoline-5,8-dione

L-1210에 대해 작용이 없는 점으로 보아 N-O-O의 三角구조가 일부 抗白血病약의 共通되는 구조일 것라고 제안된 바 있다.⁸⁸⁾ streptonigrin, 그 methyl ester 및 isopropylidine 유도체는 Rauscher의 쥐 白血病 바이러스에 대해 *in vivo*에서 작용을 가지며 이러한 마우스의 생존기간을 현저히 연장시킨다.⁸⁹⁾

Streptozotocin

이것은 1960년 *Streptomyces achromogenes* var. 128의 1 균주의 발효액으로부터 분리되었으며^{90,91)} 그후 합성되었다.⁹²⁾ 이 약은 광범위 항생물질이어서 Gram 양성균 및 음성균으로 감염시킨 마우스에 경구로 또는 근육주사하면 유효하게 치료한다. 이것은 또한 sarcoma 180, Ehrlich 암, Walker carcinosarcoma 256 및 白血病 L-1210, P-388와 L-5178Y에 대해 항암 작용을 나타낸다.^{93,95)}

Streptozotocin은 강력한 당뇨병 유발제이다. 즉 마우스, 쥐, 햄스터, 개, 원숭이에게 정맥주사하면 초기에는 過血糖症을 일으키며 후에 低혈당증으로 변화된다. 이들 동물의 Langerhans 섬은 파괴되어서 마침내 tolbutamide에 영구적으로 내성인 상태로 된다.⁹⁶⁻⁹⁹⁾

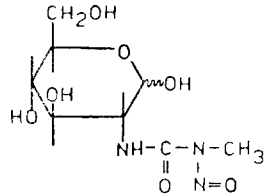


Fig. 10—Streptozotocin

동물에서 독성 실험을 시행하여 본 결과 이것은 골수와 소화기관 접막에 대해서 아무 불리한 작용도 일으키지 않는다. 미리 nicotineamide 를 복강내에 주사함으로써 이 약의 항암작용의 손실없이 당뇨병의 毒性을 경감시킬 수 있다. 人體에 대한 독성실험에서 그 최대 내량은 동물의 경우보다 크다. 그렇지만 이 약을 투여한 환자에서 심장 腎장 독성을 나타내었다.⁹⁹⁾ Streptozotocin 이 췌장섬 β-세포를 선택적으로 파괴하는 성질을 가졌으므로 췌장 섬세포의 多種 호르몬分泌의 惡性 암종의 치료에 임상적으로 쓰여진바 있으며 이때 증세를 경감시키면서 肝의 2 차적 증세의 크기를 감소시켰다.^{100,101)}

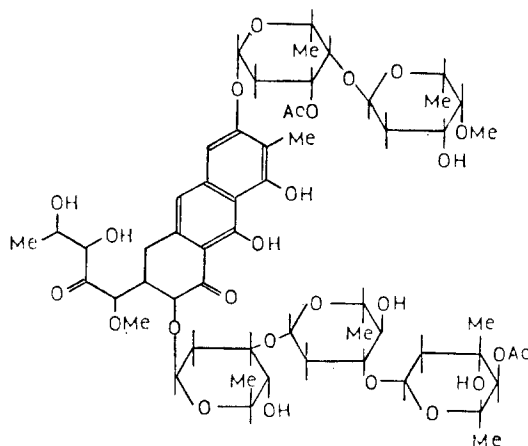
Streptozotocin 은 *E. coli* 에서 DNA 의 생합성을 억제하나 RNA 및 단백질 합성을 별로 현저하게 억제하지 않음이 실증된 바 있다.¹⁰²⁾ 다수의 合成 N-alkyl-N-nitroso 화합물에 의한 diazomethane 또는 기타 diazoalkane 류의 *in vivo* 생성이 잘 기술되어 있기 때문에 이 약도 생물학적 알킬화제로 작용할 수 있을 것이다.¹⁰³⁾ 肝의 glucose-6-phosphatase 활성을 억제하는 몇가지 화합물의 N-nitrosoamine 部分이 發癌性일 것이라고 제안된 바 있으며^{104,105)} streptozotocin 은 위에서 腎장의 종양을 발생시킨다고 보고 되었다.^{106,107)} streptozotocin 을 中國 햄스터의 복강내에 주사해 줌으로써 여러가지 종양상태가 발생함을 관찰하였다.¹⁰⁸⁾

Chromomycin A₃

1960 년 Tatsuoka 등이 *Streptomyces griseus* 菌株 7 호의 배양액으로 분리하였다.¹⁰⁹⁻¹¹²⁾

Chromomycin A₃ 는 항암작용 및 항균작용을 나타내며 그 작용기전은 DNA 의 G 와 결합하여 DNA 를 原型으로 하는 RNA polymerase 반응을 저해하기 때문에 RNA 합성을 선택적으로 방해하는 것으로 보고 있다.^{113,114)} 또한 DNA polymerase 반응도 저해하지만 저해작용은 약한 편이다.¹¹³⁾ Chromomycin A₃ 와 DNA 가 결합하려면 Mg⁺⁺ 이 필요하며 이것이 兩者의 결합을 중개하는 것으로 추정하고 있다.¹¹⁵⁾

별도로 *Streptomyces olivoreticuli* 로 부터 olivomycin 류가 분리되었는데 그 기본구조는 chromomycin 류와 同一하다.^{116,117)} 따라서 olivomycin 류 및 mithramycin 의 작용도 chromomycin 과 극히 유사하다.

Fig. 11—Chromomycin A₃

Mithramycin

1962년에 mithramycin은 *Streptomyces plicatus*의 액내배양에서 생성되는 항암성 물질이며¹¹⁸⁾ 최근에 항생물질 LA-7017 및 aureolic acid와 同一한 것으로 밝혀졌다.

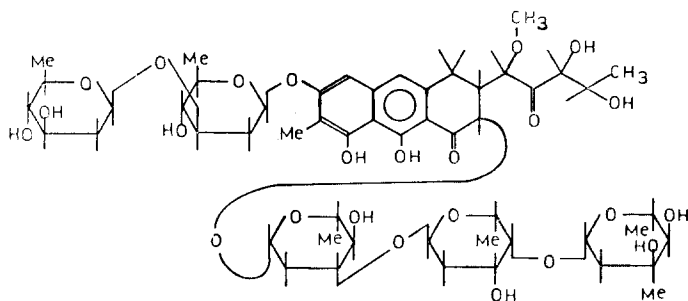


Fig. 12—Mithramycin

이것은 *in vitro*에서 Gram 양성균과 HeLa 세포의 성장을 억제하며 마우스의 腺癌 및 쥐의 人型 종양 HS1型에 대하여 中程度의 항암작용을 나타낸다. Mithramycin은 핵스터에 이식한 방광암을 억제한다.¹¹⁹⁾ 마우스 神經膠腫에 대한 mithramycin의 작용에 관한 연구에서 第3週, 6週, 8週째에 4日間 연속으로 1일에 1.25 mg/kg을 투여했을때 가장 억제가 현저하였다.¹²⁰⁾ 또한 이 약은 고환의 胚子癌을 가진 환자, 黑色腫 또는 淋巴腫 등의 환자에서 부분

적 혹은 완전한 억제를 일으킨다.¹²¹⁾

중요한 임상적 독성은 血小板 감소증과 관련된 出血性 素質이다. 마우스의 神經膠腫에 대해서 방사선요법과 mithramycin을 병용했을 때 항종양작용이 촉진되었다.¹²²⁾ 이 약의 適正량은 정맥내에 1일에 50 mcg/kg 씩 격일제로 8회 투여한다.¹²³⁾

Mithramycin은 극히 독성이 강하여 개와 원숭이에게 이를 정맥주사로 1일에 0.1 mg/kg을 투여하면 致死케 된다. 이 보다 少量을 투여하면 食慾감퇴, 吐出, 무관심, 窒素血症, 貧血, 淋巴球감소증, 멜레나, 血小板감소증 그리고 血清內 알칼리성 phosphatase, glutamic oxalotic transaminase 및 glutamic pyruvic transaminase 値의 상승 등의 中毒性 증세가 보인다. 시체의 육안적 검사를 해보면 광범위한 出血과 水腫 그리고 肋膜과 腹膜의 滲出, 肝硬化 등의 특징이 관찰된다. 그러나 이 약에 노출시킨 正常 肝세포는 증양세포보다 RNA 합성능을 더 신속히 회복하였다. 고환암의 치료에 mithramycin요법을 시행했던바 다수의 환자에서 出血性 素質이 부수적으로 나타났다.¹²⁴⁾ 또한 현저한 血小板감소증과 혈소판기능의 변화를 관찰하였다. 이 약의 毒性은 격일제로 투여하므로써 현격히 감소시킬 수 있다.

人腦종양의 조직배양액에 mithramycin을 가하면 核의 크기와 모양의 變化, 核의 染色質의 조성과 分布의 변화등의 손상을 초래한다.¹²⁵⁾ 이 약을 개에 투여하면 腎皮質에서의 RNA 合成이 현저히 감소되며 尿量 및 나트륨배설, *p*-aminohippurate의 감소를 일으키고 尿의 칼리움과 血漿포도당이 증가된다.¹²⁶⁾ 이것은 또한 칼슘감소작용이 있어서 종양환자의 尿의 칼슘배설 및 hydroxyproline 배설을 감소시킨다.¹²⁷⁾ Daunorubicin이 DNA나선의 열기쌍사이에 끼어 들어가는 작용기전을 가진 反面에, mithramycin은 2중나선의 相應하는 가닥사이에 bridge를 形成하므로써 安定된 복합체를 이루게 되며 결국DNA의 2차 구조를 安定化시키는 것이다.¹²⁸⁾ 이 결합에 Mg⁺⁺ 이온이 필요하다. 이 약이 DNA 합성 자체에 직접 영향을 미치지 않는다. 그러나 熱變性에 대하여 天然 DNA에 安定성을 부여하지는 않으며 이것이 actinomycin 類의 作用과 相異한 점이다. 마우스 종양, HeLa 세포 및 *Bacillus subtilis* 배양의 연구에서 mithramycin은 ³²P로 표지된 인산 및 ¹⁴C로 표지된 uracil이 RNA로 전입되는 것을 현저히 억제했으나 DNA 또는 단백질에 대해 아무 영향이 없었다. 이것은 또한 DNA 바이러스의 DNA에 의존하는 RNA 합성 뿐만 아니라 부화제란에서의 RNA 합성을 가역적으로 억제하였다. 그러나 바이러스 RNA 의존 RAN polymersae의 합성은 약간 억제되었다.^{129,130)}

Anthramycin

1963년 anthramycin은 *Streptomyces refuineus* var. *thermotocrans* NRRL 3143호로부터 분리되었으며 refuin의 活性성분이다.^{131,132)} 精製되지 않은 粗抽出物은 약 0.5%의 anthramycin을 함유한다. 이 약은 抗菌作用 뿐만 아니라 마우스종양 및 人體암세포에 대해서 抗癌作用을 나타낸다.^{131,133)}

이 메칠 에스테르는 여러가지 實驗 白血病을 지닌 마우스의 생존기간을 연장시킨다.¹⁴⁵⁾ 또한 白血病 P388과 L-1210, 혈장세포종양 LCP, Ehrlich 암 및 肉腫 180에 대해 유효하다. anthramycin은 다른 수종의 항암제에 비해 毒性이 적은 것으로 보고되었다.¹³⁴⁾ 정맥주



Fig. 13—Anthramycin

사로 서서히 1 일에 1mg 까지 투여할때 악화된 환자들의 약 66%에서 양호한 반응이 나타났다. 이것은 肺癌이나 惡性 黑色腫에 비해 胸部암에 더욱 유효하다.

Anthramycin의 메칠 에스테르는 복수암 180 및 腹上皮瘤세포에서 DNA 합성을 강력히 억제한다.¹³⁵⁾ 또한 마우스 白血病세포, *E. coli*, HeLa 세포 및 Ehrlich 복수 암세포에서의 RNA와 DNA 양자의 합성을 억제한다.¹³⁶⁾ 이 메칠 에스테르는 DNA 나선과 결합하는 고도의 선택성을 가지며, 이것은 결국 DNA와 RNA 생합성에서 DNA가 原型으로 作用하지 못하도록 단돈다.¹³⁶⁾ 사실 DNA와 이 메칠에스테르의 복합체는 대단히 安定하여 보통 理化學的方法으로는 쉽게 分解되지 않는다. DNA와 anthramycin이 복합체를 形成하는 성질이 바로 이 약의 *in vitro* 및 *in vivo*에서 抗癌作用의 1차적 원인이라고 볼수 있다. 유리 purine류와 pyrimidine류 및 이들의 유도체, s-RNA 그리고 rG:rC polymer 등은 anthramycin과 복합체를 形成할 수 없다.^{137,138)} 그러므로 DNA의 3次元 구조가 anthramycin과 相互作用을 하게 되는 것이라고 설명할 수 있다. 뿐만 아니라 anthramycin은 熱로 變性시킨 DNA와도 반응하며 단지 훨씬 낮은 속도로 반응한다. 따라서 이것은 DNA의 2次的 구조도 anthramycin과의 결합에 영향을 미친다는 것을 암시하고 있다. Anthramycin은 DNA에 의존하는 RNA polymerase 및 DNAase 효소에 대해서 DNA와 競爭的 抑制劑이다.^{136,139)} 마우스에 anthramycin의 메칠 에스테르를 皮下로 주사할 때에 cryst necrosis가 발생한다는 것이 보고되었다.¹⁴⁰⁾

Daunorubicin

1963년 *Streptomyces peucetius* var. *CARNEUS*의 배양액으로부터 분리된 daunomycin과¹⁴¹⁻¹⁴³⁾ *Streptomyces coeruleorubidus*로부터 분리된 rubidomycin^{144,145)}은 同一한 물질이다.

daunorubicin은 동물의 각종 실험종양에 대하여 활성을 나타내는데 예를 들면 sarcoma 180, Ehrlich 복수암, Yoshida AH-130 肝腫, 初期 및 惡化된 마우스 白血病 L-1210, Walker carcinoma 256, 쥐의 腹水骨髓 등이다.^{146,148)}

임상적으로 이 약은 급성 淋巴芽세포 백혈병, 급성 骨髓芽細胞 백혈병, 病毒轉移性 神經芽細胞腫, 淋巴肉腫, 橫紋筋肉腫에 대하여 抑암작용을 나타낸다.^{149,150)}

어린이의 급성 淋巴芽細胞 백혈병에 대한 임상시험결과를 비교한 총설이 최근 발표되었

다.¹⁵¹⁾

이 약의 일반적 독성은 血液에 나타나는데 즉 심한 백혈구減少症, 血小板 감소증, 骨髓形成不全症 등이다. 심장에 대한 독성도 관찰된다.¹⁵²⁾

Daunorubicin의 작용기전은 완전히 구명되지 않았으나 일면 actinomycin D의 기전과 유사하다. 이 약을 DNA 용액에 가하면 粘度가 증가하고 摺抗數가 감소하며 따라서 이렇게 결합된 DNA는 熱에 대해 더 安定하다.¹⁵³⁾ 그러므로 daunorubicin은 DNA 2 중나선의 양가닥과 복합체를 形成하는 것 같다. 그 결과 DNA와 RNA 合成이 모두 억제된다.^{154,156)} 이 약은 포유동물 세포에서는 RNA 합성보다 DNA 합성에 더 큰 영향을 미친다. 그러나 그 억제 정도는 種에 따라 상이하다. *In vitro*에서 배양한 正常세포 및 종양세포의 핵산 대사에 대한 daunorubicin의 작용에 관한 연구에서 신속한 교체가 일어나는 종양세포 부분을 특별히 억제하고 正常세포에서는 교체가 완만한 부분을 억제함이 관찰되었다.¹⁵⁷⁾ 또한 이 약은 세포의 전생활주기중에 일어나는 RNA 합성을 강력히 억제하였다.^{158,159)}

Daunorubicin은 감염된 HeLa 세포에서 DNA 바이러스의 복제를 현저히 억제한다. 反面에 이 약은 RNA 바이러스生成을 억제하지 않는다. 따라서 이것은 바이러스의 DNA 복제를 억제하든지 아니면 m-RNA의 번역을 防止하는 것 같다.¹⁶⁰⁾ 이 약의 조직 및 體液으로의 分布에 관한 연구가 보고된 바 있다.¹⁶¹⁻¹⁶³⁾ 즉 이 약은 血液으로부터 조직으로 쉽게 移行하며 여러 장기에 의해 흡수된다.¹⁶⁴⁾ 쥐의 조직을 이용한 daunorubicin 대사에 관해서 연구되었는데^{165,166)} 이것이 daunorubicin과 daunorubicinol의 各 aglycone 뿐만 아니라 daunorubino로 신속히 전환됨을 알았다. 人體에서 그리고 효소反應에서도¹⁶⁷⁾ 主要한 대사산물로 분리된 바 있는 daunorubicinol은 daunorubicin의 13-hydroxy 유도체이다.

이 대사산물인 daunorubicinol도 역시 항암작용이 있으나¹⁶⁶⁾ 반대로 aglycone인 daunomycinone은 없다. 가수분해산물인 daunosamine도 항암작용이 없다.

Daunorubicin의 일부 N-acyl 유도체가 합성되었으며 毒性이 적은 것으로 주장되고 있으나¹⁶⁸⁾ 이들은 일반적으로 활성이 더 약하다.¹⁶⁹⁾ Daunorubicin을 化學적으로 전환시켜 또 하나의 항생물질인 adriamycin을 얻었으며^{170,171)} (Fig. 14), semicarbazone, thiosemicarbazone, 14-hydroxy, 14-halogeno, 및 dihydro 유도체도 合成되어 연구되었다.^{172,174)}

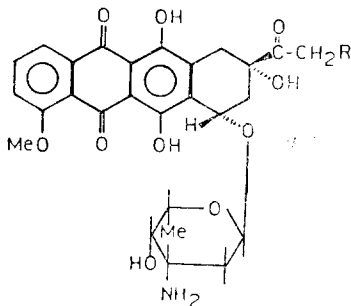


Fig. 14—Daunorubicin (R=H)
Adriamycin (R=OH)

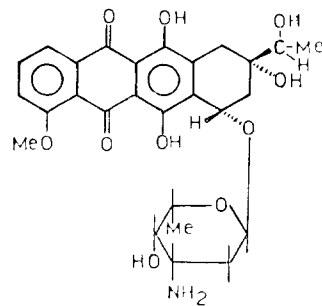


Fig. 15—Daunorubicinol

Bleomycin 류

일본의 토양에서 분리한 *Streptomyces verticillus* 의 배양액에서 추출되었으며 phleomycin 류의 연구중에서 硫黃을 함유하는 一群의 glycopeptide 유도체로서 발견되었다.¹⁷⁵⁻¹⁸⁴ 이것은 배양액중에서 銅과 착염을 이루어 존재한다. 이 부류의 항생물질을 통칭 bleomycin 으로 命名하였다.^{185,186}

Bleomycin 류는 각종 세균 및 곰팡이에 항생작용을 나타내며 A群과 B群으로 나눌 수 있다. 各群은 6 종의 유사한 유도체로 다시 細分할 수 있다.

Bleomycin 류의 기본구조는 硫黃을 함유하는 發色團인 2'-(2-aminoethyl)-2,4-bithiazole-4-carboxylic acid 이다(Fig. 16). Bleomycin 의 화학구조는 아직 완전히 解明되지는 않았으며 A₂, A₂', A₅, A₆, E₁ 및 B₂ 의 부분적 화학구조를 다음 Fig. 17 에 표시하였다.

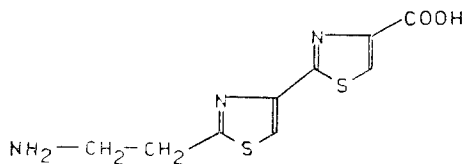


Fig.16—2'-(2-Aminoethyl)-2,4-bithiazole-4-carboxylic acid

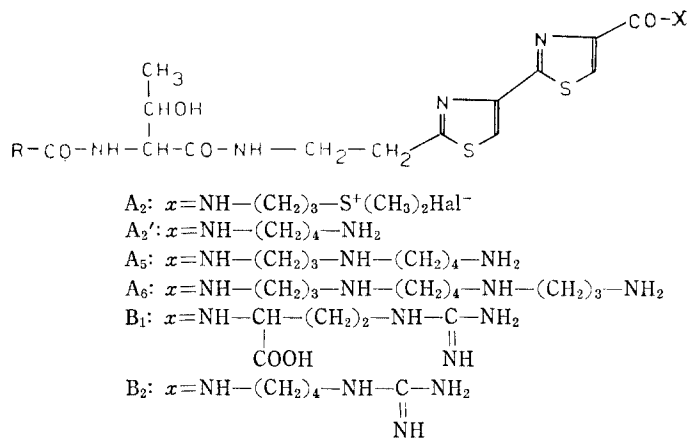


Fig.17—Bleomycins

이들 유도체중에서 主成分이면서 가장 중요한 것은 A₂ 이다. 이 A₂ 의 분자량은 1400 이 더 전기한 부분구조 이외에 2개의 당, 펩타이드 및 아미노산을 함유한다.¹⁸⁷⁻¹⁸⁹

bleomycin A 군은 Ehrlich 腸水腫, 마우스肉腫 180 에 대하여 良好한 항암작용을 나타낸다.¹⁹⁰

臨床的으로 bleomycin A₂ 는 人體의 表皮세포腫, 頭部와 목부분의 鱗狀세포肉腫, 淋巴肉腫, Hodgkin 氏病, 茸伏息肉腫 (mycosis fungoides), Kaposi 肉腫, 細網肉腫의 치료에 有用하다.¹⁹¹⁻¹⁹⁵ 이 약은 동맥, 정맥, 근육 및 皮內注射로 투여되며 그 効能은 甲狀腺암, 胸腫瘍에서 증명되었다.^{196,197} Bleomycin 類는 phleomycin 類와는 反對로 腎臟에 대한 毒性이 낮다. 이들 bleomycin 類의 가장 뛰어난 性質은 환자에게서 白血球나 血小板減少증을 거이 일

으키지 않는다는 점이다. 그런데 從來에는 白血球 감소증이야 말로 抗癌劑가 不可缺하게 수반하는 副作用으로 알고 있었던 것이다. 그대신 이 약은 피부에 대해 중요한 毒作用을 발현한다. 더욱이 肺에 대한 독작용이 間質肺炎의 형태로 빈번히 發生하는데 老人환자나 높은 용량을 쓸 경우 肺섬유조직증식 및 死亡에까지 惡化되는 수도 있다. Bleomycin類는 骨髄抑制作用없이 治療效果를 나타내므로 적절히 쓰여진다면 併用化學療法의 연구에서 특별히 흥미 있는 抗生物質임에 틀림없다.

Bleomycin A₂는 thymidine이 DNA로 전입되는 것을 妨害하므로써 HeLa 세포와 *E. coli*에서의 DNA 生合成을 억제한다. 그러나 DNA와의 相互作用의 性質은 餘他 항암제의 作用과는 오히려 相異하다. Bleomycin A₂ 혹은 A₅의 單一 물질이 아닌 Bleomycin 혼합물도 amino-acyl-s-RNA 특히 arginyl-s-RNA 및 lysyl-s-RNA의 生成을 妨害하므로써 ribosome에서의 단백질 生合成을 역시 억제한다.¹⁹⁸⁾ Sulfhydryl化合物 또는 과산화수소의 存在下에서 bleomycin A₂는 DNA와 결합하여 單一鎖 切斷을 초래한다. 이와같은 DNA의 절단이 바로 thymidine이 DNA로 전입되는 것을 억제하는 原因이라고 믿고 있다. 이것은 결국 세포의 감수분열을 中斷케 한다.^{119,200)} 이 作用은 X선이나 자외선조사의 作用과 유사한 것으로 본다. 그러나 bleomycin 作用은 골수에 대해 실제 아무 영향도 미치지 않는다는 점에서 광선조사의 경우와 실제로 상이하다. 더욱이 bleomycin의 作用은 Cu²⁺, Co²⁺, Zn²⁺ 이온 및 EDTA를 가하면 억제된다. Bleomycin A₂의 *in vitro* 실험에서 이것은 DNA와 반응하여 그 용융온도를 강하시킴을 알았으며 A₂야말로 DNA 용접을 강하시킨 최초의 항생물질이라는 사실은 注目할만한 하다. Actinomycin D, anthramycin, daunorubicin 및 phleomycin과 같은 항생물질은 DNA의 용융온도를 도리어 상승시켜서 DNA구조의 安定만을 초래한다. 또한 이들 항생물질은 DNA의 복제와 번역을 억제하는 反面, A₂는 DNA의 2중나선을 풀어 놓으므로써 DNA 합성과 감수분열을 억제한다. A₂는 合成된 polynucleotide인 poly d(GC)-poly d(CG)와 선택적으로 作用하지만 poly d(AT)-poly d(TA)와는 作用치 않는다. 天然 DNA의 單一쇄 分裂을 일으키는 최강 deoxyribonuclease에 polynucleotide 만을 作用시킨후에는 용융온도에 變化가 오지 않는다. 故로 이것은 bleomycin의 두가지 作用, 곧 용융온도의 강하 및 DNA strand의 分裂作用이 서로 獨立된 作用임을 암시하고 있다. Bleomycin 존재하에서 合成된 RNA는 不在下에서 合成된 것 보다 크기가 더 작고 더 큰 비율로 前조기를 RNA 함유한다.²⁰²⁾ Bleomycin은 DNA template와 결합하여서 RNA polymerase 반응의 延長과정을 妨害하므로써 RNA 生合成을 억제한다고 제안된 바 있다. 역시 이 抗生物質이 RNA polymerase 反應도 억제한다고 보고 되었다.²⁰³⁾ 토끼의 移植性 VX-2 肉腫에서 核의 DNA에 미치는 bleomycin의 영향을 추기한 연구에서 세포가 核分裂단계에 들어가는 것을 bleomycin이 防止하긴 하나, DNA 合成을 억제하지 않음을 알았다. 세포開裂없이 DNA가 복제되면 細胞集團中에 높은 DNA 含量을 가진 것이 큰 비율로 나타난다고 주장되고 있다.²⁰⁴⁾

Adriamycin

Adriamycin 즉 14-hydroxydaunorubicin은 *Streptomyces peucetius* var. *caesius*의 배양액으로부터 염산염으로 분리되었으되²⁰⁵⁾ 이 방선균은 원래 *Streptomyces peucetius*를 N-nitro-N-methylurethan으로 돌연변이를 시켜 얻은 균이다.¹⁷⁰⁾

Adriamycin은 Ehrlich 腹水癌, 腹水性 淋巴肉腫, 充實性 肉腫 180, 쥐의 Oberling-Guerin-

Guerin 肉腫의 成長을 현저히 억제한다. 또한 이 약은 치료한 실험동물의 생존기간을 상당히 연장시켰다.²⁰⁵⁾ 그리고 이 약은 동물실험²⁰⁵⁾과 임상시험²⁰⁶⁾에서 daunorubicin보다 더 우수한 療法係數를 나타내었다. 뿐만 아니라 세포형성에 대해 저지작용을 발현하였으며 특히 脾臟, 骨髓와 같은 극히 활발하게 번식하는 조직에서 뚜렷하였다.²⁰⁷⁾ HeLa 세포의 조직배양 실험에서 adriamycin은 速効의 抗分裂作用 및 抗代謝作用을 示顯하였다. 즉 이 약은 신속하게 세포질막을 透過하여 核과 결합하였으며 그 抑制作用은 이 약의 농도와 접촉시간에 比例하였다. 이 약은 또한 DNA와 RNA 合成을 억제하였다.^{208,209)}

Adriamycin 임상시험에서 淋巴芽細胞性 白血病 환자 25명中 9명은 완전히 해소되었고 4명은 부분적으로 경감되었다. 또한 急性 骨髓芽細胞性 白血病 18名の 임상例에서 6例는 완전히 그리고 3例는 불완전하게 경감되었다.²¹⁰⁾ 急性 임파아세포성 및 만성 白血病, 그리고 淋巴腫, 神經芽細胞腫 Wilm氏 종양, Ewing肉腫, 軟조직肉腫, 卵巢畸形腫, 태아橫紋 筋肉腫에서 adriamycin은 대부분 그 退行을 초래하였다.²¹¹⁾

Adriamycin은 骨髓에 대해 극히 毒性이 강하며 환자로 하여금 外部의 病原菌에 대해 극히 약하게 만든다. 심장에 毒性은 뚜렷하나, 다른 유사물질보다 그 頻도가 낮다.²¹⁰⁾ 또한 이 약은 口內炎, 口腔潰瘍, 脫毛, 再生不能 骨髓 形成不全症등을 일으킨다.²⁰⁶⁾ Adriamycin은 人體白血病의 조직배양에서 그 염색체에 손상을 입힌다.²¹²⁾ 또한 이 약은 phytohemagglutinin과 함께 배양한 人體淋巴 세포에 대해 突然變異作用을 나타낸다.²¹³⁾

마우스의 L-1210 淋巴樣 白血病과 P-388 白血病에 대한 抗암作用을 직접 비교해 보았을 때 adriamycin이 daunorubicin보다 中間生存時間을 연장시키에 있어서 그리고 長期間生存例를 만드는 데 있어서 훨씬 더 有効하였다.²¹⁴⁾ 이 두가지 抗生物質은 모두 腹腔內 및 皮下注射로 是 有効하나 徑口로 투여하면 효과가 없다.

이 원고를 작성함에 있어서 助言과 격려를 주신 서울 大學校 生藥研究所 教授 禹源植博士께 深甚한 謝意를 올리며 여러가지로 協助하여 주신 同研究所 池亨浚教授께 感謝하는 바이다.

REFERENCES

1. S.A. Waksman and H.B. Woodruff, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **45**, 609 (1940)
2. H. Brockmann and N. Grubhofer, *Naturwissenschaften*, **36**, 376 (1949)
3. R.A. Manaker, F.J. Gregory, L. C. Vining, and S. A. Waksman, *Antibiotics Annual*, 1954—5, p-853. Medical Encyclopedia Inc., N.Y.
4. S. Farber, R. Toch, E.M. Sears, and D. Pinkel, *Adv. Cancer Res.*, **4**, 2 (1956)
5. C.T.C. Tan, R.B. Golbey, C.L. Yap, N. Wollner, C.A. Hackethal, L.M. Murphy, H.W. Dargeon, and J.H. Burchenal, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **89**, 426 (1960)
6. G.T. Ross, L. L. Stolbach, and R. Hertz, *Cancer Res.*, **22**, 1015 (1962)
7. A.R. Mackenzie *Cancer*, **19**, 1369 (1966).
8. J.M. Kirk, *Biochim. Biophys. Acta*, **42**, 167 (1960)
9. I.H. Goldberg and M. Rabinowitz, *Science*, **136**, 315 (1962)
10. E. Reich, *Cancer Res.*, **23**, 1428 (1963)
11. H.S. Schwartz, J.E. Soderger, and R.Y. Ambaye, *Cancer Res.*, **28**, 192 (1968)
12. M.J. Waring, *Nature*, **219**, 1320 (1968)

13. L.D. Hamilton, W. Fuller, and E. Reich, *Nature*, **198**, 538 (1963)
14. R.R. Wagner, *Nature*, **204**, 49 (1964)
15. M. Ho and Y. Kono, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **53**, 220 (1965)
16. G.R. Honig and M. Rabinovitz, *Fed. Proc.*, **23**, 268 (1964)
17. D.M. Goldenberg, S. White, and W. Ernstberger, *Experientia*, **23**, 920 (1967)
18. G. Weber, R.L. Singhal, and N. B. Stamm, *Science*, **142**, 390 (1962)
19. I. Pastan and R.M. Friedman, *ibid.*, **160**, 316 (1968)
20. R.W. Brockman, *Adv. Cancer Res.*, **7**, 129 (1963)
21. D. Kessel and H.B. Bosmann, *Cancer Res.*, **30**, 2695 (1970)
22. H. Umezawa, T. Takeuchi, and K. Nitta, *J. Antibiot.*, **A 6**, 101 (1953)
23. S. Tatsuoka, A. Miyaka, S. Wada, and E. Iwasaki, *J. Antibiot.* **B11**, 275 (1958)
24. T. Hata, F. Koga, Y. Sano, K. Kanamori, A. Matsumae, R. Sugawara, T. Hoski, T. Shima, S. Ito, and S. Tomizawa, *J. Antibiot.*, **A7**, 107 (1954)
25. H. Kamada, S. Wakaki, Y. Fugimoto, K. Tomioka, S. Ueyama, H. Marumo, and K. Uzu *J. Antibiot.*, **A8**, 187 (1955)
26. M. Tanaka, M. Kishi, and Y. Maruta, *J. Antibiot.*, **B13**, 177 (1960)
27. B. Heinemann, A. Gourevitch, J. Lein, D. L. Johnson, M.A. Kaplan, D. Vanas, and I.R. Hooper, *Antibiotics Annual*, 1954—5; Medical Encyclopedia Inc., N.Y. 1955, p-728.
28. T.H. Haskell, A. Maretzki, and Q.R. Bartz, *Antibiotics Annual*, 1954~5, p.784 Medical Encyclopedia Inc., N.Y.
29. C.C. Stock, H.C. Reilly, S.M. Buckleg, D.A. Clarke, and C.P. Rhoads, *Nature*, **173**, 71 (1954)
30. Q.R. Bartz, C.C. Elder, R.P. Frohardt, S.A. Fusari, T.H. Haskell, D.W. Johannessen, and A. Ryder, *ibid.*, **173**, 72 (1954)
31. K. Sugiura and C.C. Stock, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **88**, 127 (1955).
32. R.R. Ellison, D.A. Karnofsky, S.S. Sternberg, M.L. Murphy, and J.H. Burchenal, *Cancer*, **7**, 801 (1954)
33. L.R. Duvall, *Cancer Chemother. Rep.*, **7**, 65 (1960)
34. H.W. Dion, S.A. Fusari, Z.L. Jakubowski, J.G. Zora, and Q.R. Bartz, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 3075 (1956)
35. J. Ehrlich, G.L. Coffey, M.W. Fisher, A.B. Hillegrass, D.L. Kohberger, H.E. Machamer, W.A. Rightsel, and F.R. Roegner, *Antibiot Chemother.*, **6**, 487 (1956)
36. K. Sugiura, C.C. Stock, H.C. Reilly, and M.M. Schmid, *Cancer Res.*, **18**, 66 (1958)
37. I.S. Johnson, L.A. Baker, and H.F. Wright, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **76**, 861 (1958)
38. J.A. Jacquez, and D.A. Hutchinson, *Cancer Res.*, **19**, 397(1959).
39. D.A. Karnofsky, R.B. Golby, and M.C. Li, *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.*, **5**, 33(1964)
40. T.C. French, I.B. Dawid, R.A. Day, and J.M. Buchanan, *J. Biol. Chem.*, **238**, 2171(1963)
41. W. Barg, E. Boggiano, N. Sloane, and E.C. De Renzo, *Fed. Proc.*, **16**, 150 (1957)
42. K.V. Rao, and W.P. Cullen, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 1127(1960)
43. K.V. Rao, S.C. Brooks, M. Kugelman and A.A. Romano, *Antibiotics Annual*, 1960, p-943, Medical Encyclopedia Inc., N.Y.
44. F.J. Ansfield, *Cancer Chemother. Rep.*, **46**, 37(1965)
45. S.K. Carter, *ibid.*, **1**, part III, 207(1968)

46. A.J. Weiss, G. Ramirez, T. Grage, J. Strawitz, L. Goldman, and V. Dawning, *Cancer Chemother. Rep.*, **52**, 611(1968)
47. T. Hata, R. Sano, R. Sugawara, A. Matsumae, K. Kanamori, T. Shima, and T. Hoshi, *J. Antibiot.*, **A9**, 141(1956)
48. R. Sugawara and T. Hata, *J. Antibiot.*, **A9**, 147(1956)
49. J.S. Webb, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 3185(1962)
50. J.B. Patrick, *et al.*, *ibid.*, **86**, 1889(1964)
51. C.L. Stevens, *et al.*, *J. Med. Chem.*, **8**, 1 (1965)
52. H. Kanamori, T. Shima, C. Morita, and T. Hata, *J. Antibiot.*, **A10**, 120(1957)
53. K. Sugiura, *Cancer Chemother. Rep.*, **13**, 51(1961)
54. T. Hata, C. Hossenlopp, and H. Takita, *ibid.*, **13**, 67 (1961)
55. R. Jones, Jr., *Cancer Chemother. Rep.*, **2**, 3(1959)
56. A.E. Evans, *ibid.*, **14**, 1(1961)
57. F.S. Philips, H.S. Schwartz, and S.S. Sternberg, *Cancer Res.*, **20**, 1354(1960)
58. T. Nakamura, *Jap. J. Urol.*, **60**, 633(1969)
59. R.M. Whittington, and H.P. Close, *Cancer Chemother. Rep.*, **54**, 195(1970)
60. S. Oboshi, *Gann*, **50**, 147(1959)
61. G.P. Wheeler, *Cancer Res.*, **23**, 1334(1963)
62. H. Kersten, *Z. Phys. Chem.*, **329**, 31(1962)
63. I.H. Goldberg, *Am. J. Med.*, **39**, 722(1965)
64. M.I. Lerman, and M.S. Benyumovich, *Nature*, **206**, 1231 (1965)
65. V.N. Iyer and W. Szybalski, *Science*, **145**, 55(1964)
66. A. Weissbach and A. Lisio, *Biochemistry*, **4**, 196(1965)
67. M.N. Lipsett and A. Weissbach, *ibid.*, **4**, 206(1965)
68. L.R. Duvall, *Cancer Chemother. Rep.*, **30**, 35(1963)
69. W.S. Marsh, A.L. Garretson, and E.M. Wesel, *Proc. Am. Ass. Cancer Res.*, **3**(2), 131 (1960)
70. K.V. Rao and W.P. Cullen, *Antibiotics Annual, 1960*, p-950, Medical Encyclopedia Inc., N.Y.
71. W.S. Marsh, A.L. Garretson, and E.M. Wesel, *Antibiot. Chemother.*, **11**, 151 (1961)
72. E.V. Prokhorova, *Antibiotiki*, **14**, 621 (1969)
73. D.I. Gol'dberg and G.V. Karpova, *ibid.*, **14**, 845(1969)
74. W.L. Wilson, C. Labra, and E. Barrist, *Antibiot. Chemother.*, **11**, 147(1961)
75. J.D. Hurley, *Proc. Am. Ass. Cancer Res.*, **5**, 29(1964)
76. D.T. Kaung, R. M. Whittington, H.H. Spencer, and M.E. Patno, *Cancer*, **23**, 597(1969)
77. E.W. Humphrey and F.S. Dietrich, *Cancer Chemother. Rep.*, **33**, 21 (1963)
78. N.S. Mizuno and E.W. Humphrey, *ibid.*, **41**, 23(1964)
79. T.G. Hall, *Cancer Res.*, **26**, 1297(1966)
80. M. Levine and M. Borthwick, *Virology*, **21**, 568(1963)
81. N.S. Mizuno, *Biochem. Pharmacol.*, **16**, 933(1967)
82. K.V. Rao, K. Biemann, and R.B. Woodward, *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 2532(1963)
83. K. Koschel, G. Hartmann, W. Kersten, and H. Kersten, *Biochem. Z.*, **344**, 76(1966)
84. J.R. White and H.L. White, *Science*, **145**, 1312(1964)
85. H.L. White and J.R. White, *Biochem. Biophys. Acta*, **123**, 648(1966)

86. N.S. Mizuno and D.P. Gilboe, *ibid.*, **224**, 319(1970)
87. T.K. Liao, W.H. Nybeng and C.C. Cheng, *Angew., Chem.* **79**, 100(1967)
88. K.Y. Zee-Cheng and C.C. Cheng, *J. Pharm. Sci.*, **59**, 1630(1970)
89. T.J. McBride, J.J. Oleson, and D. Woolf, *Cancer Res.*, **26**, 727(1966)
90. J.J. Vavra, C. DeBoer, A. Dietz, L.J. Hanka, and W.T. Sokolski, *Antibiotics Annual*, **1960**, p.230, Medical Encyclopedia Inc., N.Y.
91. R.R. Herr, T.E. Eble, M.E. Bergy, and H.K. Jahnke, *ibid.*, **1960**, p-236, Medical Encyclopedia Inc., N.Y.
92. The Upjohn Co., *British Pat.*, 1,191,808 (1969)
93. F.R. White, *Cancer Chemother. Rep.*, **30**, 49(1963)
94. J.S. Evans, G.C. Gerritsen, K. M. Mann, and S.P. Owen, *ibid.*, **48**, 1 (1965)
95. B.K. Bhuyan, "In Vitro," Vol.4, P. Farnes, Ed., Williams and Wilkins, Baltimore, **1968**, p-154
96. N. Rakieten, M.L. Rakieten, and M.V. Nadkarni, *Cancer Chemother., Rep.* **29**, 91(1963)
97. M. Brosky and J. Logothetopoulos, *Diabetes*, **18**, 606(1969)
98. R.M. Pitkin and W.A. Reynolds, *ibid.*, **19**, 85(1970)
99. L. Sadoff, *Cancer Chemother., Rep.*, **54**, 457, (1970)
100. L. Sadoff, *Diabetes*, **18**, 675(1969)
101. S.K. Carter, L. Broder, and M. Friedman, *Ann. Intern. Med.*, **74**, 445(1971)
102. B. Heinemann and A.J. Howard, *Antimicrob. Ag. Chemother.*, **5**, 488(1965)
103. E.R. Garrett, *J. Am. Pharm. Ass., Sci. Ed.*, **49**, 767(1960)
104. J.C.H. De Man, *Cancer Res.*, **24**, 1347(1964)
105. P.N. Magee and P.F. Swann, *Brit. Med. Bull.*, **25**, 240(1969)
106. R.N. Arison and E.L. Feudale, *Nature*, **214**, 1254(1967)
107. N. Rakieten, B.S. Gordon, A. Beaty, D.A. Cooney, R.D. Davis, and P.S. Schein, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **137**, 280(1971)
108. L.D. Berman, J. Hayes, and T. Sibay, *Proc. Am. Ass. Cancer Res.*, **12**, 86(1971)
109. S. Tatsuoka, A. Miyake, and K. Mizuno, *J. Antibiot.*, **B13**, 332(1960)
110. K. Mizuno, *ibid.*, **B13**, 329(1960)
111. K. Mizuno, *ibid.*, **B13**, 335(1960)
112. K. Mizuno, *ibid.*, **A16**, 22(1963)
113. G. Hartmann, H. Goller, K. Koschel, W. Kersten, and H. Kersten, *Biochem. Z.*, **341**, 126(1964)
114. Y. Kaziro, and M. Kamiyama, *Biochem, Biophys. Res. Comm.*, **19**, 433(1965)
115. D.C. Ward, E. Reich, and I.H. Goldberg, *Science*, **149**, 1259(1965)
116. M. Miyamoto, Y. Kawamatsu, M. Shinohara, and Y. Asai, *Tetrahedron Lett.*, 693(1963)
117. Y.A. Berlin, S.E. Esipow, M.N. Kolosov, and M.M. Shemyakin, *Tetrahedron Lett.* 1643(1966)
118. K.V. Rao, W.P. Cullen, and B.A. Sobin, *Antibiot. Chemother.*, **12**, 182(1962)
119. F.B. Burt, M. Pavone-Maculoso, J.W. Horns, and J.J. Kaufman, *J. Urol.*, **95**, 51(1966)
120. B.J. Kennedy, J.W. Yarbrow, V. Kickert, and M. Sandberg-Wollheim, *Cancer Res.* **28**, 91(1968)
121. N.W. Ream, C.P. Perlia, J. Wolter, and S.G. Taylor, III, *J. Am. Med. Ass.* **204**, 1030(1968).
122. T.B. McNulty, V.A. Dirks, J.W. Yarbrow, and B.J. Kennedy, *Cancer*, **23**, 1273(1969)
123. R.B. Livingston and S.K. Carter, *Single Agents in Cancer Chemotherapy*, IFI/Plenum, New York, 1970, p.272.

124. C.B. Wilson and M. Baker, *J. Nat. Cancer Inst.*, **38**, 459(1967)
125. B.J. Kennedy, *Cancer*, **26**, 755(1970)
126. R.B. Gilsdorf, J.W. Yarbro, and A.S. Leonard, *J. Surg. Oncol.* **2**, 84(1970)
127. V. Parsons, M. Baum, and M. Self, *Brit. Med. J.*, **1**, 474(1967)
128. W. Kersten, H. Kersten, and W. Szybalski *Biochemistry*, **5**, 236(1966)
129. R.D. Smith, D. Henson, J. Gehrke, and J.R. Barton, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **121**, 209(1966)
130. C. Scholtsssek, H. Becht, and I. Macpherson, *J. Gen. Virol.*, **8**, 11(1970)
131. M.D. Tendler, and S. Kormann, *Nature*, **199**, 501(1963)
132. W. Leimgruber, V. Stefanovic, F. Schenker, A. Karr, and J. Berger, *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 5791(1965)
133. R.H. Adamson, L.G. Hart, V.T. De Vita, and V.T. Olivero, *Cancer Res.*, **28**, 343 (1968)
134. S. Korman and M.D. Tendler, *Proc. Am. Ass. Cancer Res.*, **6**, 37 (1965)
135. C.P. Sigdestad, R.F. Hagemann, and S. Leshner, *Chemotherapia*, **15**, 297 (1970)
136. H.M. Bates, W. Kuenzig, and W.B. Watson, *Cancer Res.*, **29**, 2195(1969)
137. V. Stefanovic, *Biochem, Pharmacol.*, **17**, 315 (1968)
138. K.W. Kohn and C.L. Spears, *J. Mol. Biol.*, **51**, 551 (1970)
139. S.B. Horcwz and A.P. Grollman, *Antimicrob. Ag. Chemother.*, **1968**, p-21
140. C.P. Sigdestad, R.F. Hagemann, and S. Leshner, *Chemotherapia*, **15**, 286 (1970)
141. A. Grein, C. Spalla, A. DiMarco, and G. Canevazzi, *Giorn. Microbiol.*, **11**, 109(1963)
142. G. Cassinelli and P. Orezzi, *ibid.* **11**, 167 (1963).
143. A. DiMarco, M. Gaetani, P. Orezzi, B.M. Scarpinato, R. Silvestrini, M. Soldati, T. Dasdia, and L. Valentini, *Nature*, **201**, 706 (1964)
144. M. Dubost, P. Ganter, R. Maral, L. Ninet, S. Pinnert, J. Preud'homme, and G.H. Werner, *Compt. Rend.*, **257**, 1813 (1963)
145. M. Dubost, P. Ganter, R. Maral, L. Ninet, S. Pinnert, J. Preud'homme, and G.H. Werner, *Cancer Chemother. Rep.*, **41**, 35(1964)
146. A. DiMarco, M. Gaetani, L. Dorigotti, M. Soldati, and O. Bellini, *Cancer Chemother. Rep.*, **38**, 31 (1964)
147. J.M. Venditti, B.J. Abbott, A. DiMarco, and A. Goldin, *ibid.*, **50**, 659 (1966)
148. B. Nomiya, K. Kagino, Y. Orikasa, and H. Fujimori, *Jap. J. Antibiot.*, **23**, 171 (1970)
149. C. Tan, H. Tasaka, K.P. Yu, M.L. Murphy, and D.A. Karnofsky, *Cancer*, **20**, 333 (1967)
150. L. Massimo, A. Fossati-Guglielmoni, and E. Fortuna, *Helv Paediat. Acta*, **23**, 315 (1968)
151. B. Jones *et al.*, *Cancer Res.*, **31**, 84 (1971)
152. E.H. Herman, P.S. Schein, and R.M. Farmar, *Toxicol, Appl, Pharmacol.*, **16**, 335 (1970)
153. G.F. Saunders, W.N. Reese, and P.P. Saunders, *Biochim, Biophys. Acta*, **190**, 406(1969)
154. J.H. Kim, A.S. Gelbard, B. Djordjevic, S.H. Kim, and A.G. Perez, *Cancer Res.*, **28**, 2437(1968)
155. I. Gado, E. Baromissza, and I. Horvah, *J. Antibiot.*, **22**, 574 (1969)
156. A. Rusconi and A. DiMarco, *Cancer Res.*, **29**, 1507 (1969)
157. R. Silvestrini, A. DiMarco, S.DiMarco, and T. Dasdia, *Tumori*, **49**, 399 (1963)
158. A. DiMarco, M. Soldati, A. Fioretti, and T. Dasdia, *Cancer Chemother Rep.* **38**, 39 (1964)
159. R. Silvestrini, A. DiMarco, and T. Dasdia *Cancer Res.*, **30**, 966 (1970)
160. A. Cohen, E.H. Harley, and K.R. Rees, *Nature*, **222**, 36 (1969)

161. A. Rusconi, G. DiFronzo, and A. DiMarco, *Cancer Chemother. Rep.*, **52**, 331 (1968)
162. J.M. Finkel, K.T. Knapp, and L.T. Mulligan, *ibid.*, **53**, 159 (1969)
163. N.R. Bachur, A.L. Moore, J.G. Bernstein, and A. Liu, *ibid.*, **54**, Part I, 89 (1970)
164. M.A. Picone and A. Traina, *Arzneim-Forsch.*, **20**, 88 (1970)
165. N.R. Bachur and J.C. Cradock, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **175**, 331 (1970)
166. N.R. Bachur and M. Gee, *ibid.*, **177**, 567 (1971)
167. N.R. Bachur, *ibid.*, **177**, 573 (1971)
168. J. Bouchaudon and G. Jolles, *German Pat.*, 1,811, 518 (1969)
169. A. DiMarco, R. Silvestrini, S. DiMarco, and T. Dasdia, *J. Cell Biol.*, **27**, 545 (1965)
170. F. Arcamone, G. Cassinelli, G. Fantini, A. Grein, P. Orezzi, C. Pol, and C. Spalla, *Biotechnol. Bioeng.*, **11**, 1101 (1969)
171. F. Arcamone, G. Franceschi, S. Penco, and A. Selva, *Tetrahedron Lett.*, **1969**, 1007
172. F. Arcamone, W. Barbieri, G. Franceschi and S. Penco, *Chim. Ind.*, **51**, 834 (1969)
173. A. DiMarco and A. Rusconi, *Cancer Chemother. Proc.*, **1966**, 23
174. G. Canevazzi, A. DiMarco, M. Gaetani, A. Grein, and P. Orezzi, *German Pat.*, 1,920,198(1996)
175. K. Maeda, H. Kosaka, K. Yagishita, and H. Umezawa, *J. Antibiot.* **A9**, 82 (1956)
176. T. Takita, K. Maeda, and H. Umezawa, *ibid.*, **A12**, 111 (1959)
177. T. Takita, *ibid.*, **A12**, 285 (1959)
178. W.T. Bradner and M.H. Pindell, *Nature*, **196**, 682 (1962)
179. J. Lein, B. Heinemann, and A. Gourevitch, *ibid.*, **196**, 783 (1962)
180. H. Umezawa, M. Hori, M. Ishizuka, and T. Takeuchi, *J. Antibiot.*, **A15**, 274 (1962)
181. N. Tanaka, H. Yamaguchi, and H. Umezawa, *ibid.*, **A16**, 86 (1963)
182. A. Falashi and A. Kornberg, *Fed. Proc.*, **23**, 940 (1964)
183. T. Ikekawa, F. Iwami, H. Hiranaka, and H. Umezawa, *J. Antibiot.*, **A17**, 194 (1964)
184. M. Ishizuka, T. Takeuchi, and H. Umezawa, *J. Antibiot.*, **A19**, 260 (1966)
185. H. Umezawa, K. Maeda, T. Takeuchi, and Y. Okami, *ibid.*, **A19**, 200 (1966)
186. H. Umezawa, Y. Suhara, T. Takita, and K. Maeda, *ibid.*, **A19**, 210 (1966)
187. T. Takita, Y. Muraoka, K. Maeda, and H. Umezawa, *J. Antibiot.*, **A21**, 79 (1968)
188. Y. Muraoka, T. Takita, K. Maeda, and H. Umezawa, *ibid.*, **A23**, 252 (1970)
189. T. Takita, T. Yoshioka, Y. Muraoka, K. Maeda, and H. Umezawa, *ibid.*, **A24**, 795 (1971)
190. W.T. Bradner, *Proc. Am. Ass. Cancer Res.*, **11**, 11 (1970)
191. G. Bonadonna, M. DeLena, C. Bartoli, E. Bajetta, R. Molinari, A. Guzon, G. Beretta, F. Fossati-Bellani, and S. Monfardini, *Proc. Am. Ass. Cancer Res.*, **12**, 11 (1971)
192. A. Yagoda, I. Krakoff, C. LaMonte, and C. Tan, *ibid.*, **12**, 37 (1971)
193. O.S. Selawry, T. Ohnuma, and D. P. Shedd, *ibid.*, **12**, 70 (1971)
194. J.K. Luce, E.J. Freireich, M.A. Luna, J.M. Miller, A.G. Goldman, and R.K. Kalett, *ibid.*, **12**, 83 (1971)
195. T.J. Cunningham, K.B. Olson, J. Horton, A. Wright, and G. Harrington, *ibid.*, **12**, 97 (1971)
196. T. Ichikawa, *J. Jap. Med. Ass.*, **61**, 487 (1969)
197. K. Takeda, Y. Sagawa, and T. Arakawa, *Gann*, **61**, 207 (1970)
198. H. Suzuki, K. Nagai, H. Yamaki, N. Tanaka, and H. Umezawa, *J. Antibiot.*, **A21**, 379 (1968)
199. A. Lambert, M. Nagatsu, T. Okagaki, and R.M. Richart, *Proc. Am. Ass. Cancer Res.*, **12**, 15

- (1971)
200. R.S. Bornstein, D.A. Hungerford, P.F. Engstrom, and J.W. Yarbro, *ibid.*, **12**, 30 (1971)
 201. H. Suzuki, K. Nagai, H. Yamaki, N. Tanaka, and H. Umezawa, *J. Antibiot.*, **22**, 446 (1969)
 202. T. Ohnuma and J.F. Holland, *Proc. Am. Ass. Cancer Res.*, **11**, 60 (1970)
 203. N. Tanaka, *J. Antibiot.*, **23**, 523 (1970)
 204. M. Nagatsu, T. Okagaki, R.M. Richart, and A. Lambert, *Cancer Res.*, **31**, 992 (1971)
 205. A. DiMarco, M. Gaetani, and B. Scarpinato, *Cancer Chemother. Rep.*, **53**, 33(1969)
 206. G. Bonadonna, S. Monfardini, M. DeLena, F. Fossati-Bellani, and G. Beretta, *Cancer Res.*, **30**, 2572 (1970)
 207. C. Bertazzoli, T. Chieli, M. Grandi, and G. Ricevuti, *Experientia*, **26**, 389 (1970)
 208. R. Silvestrini, C. Gambarucci, and T. Dasdia, *Tumori*, **56**, 137 (1970)
 209. J.J. Wang, D.S. Chervinsky, and J. Rosen, *Proc. Am. Ass. Cancer Res.*, **12**, 77 (1971)
 210. G. Mathé, J.L. Amiel, M. Hayat, F. de Vassal, L. Schwarzenberg, M. Schneider, C. Jasmin, and C. Rosenfeld, *Presse Med.*, **78**, 1997(1970)
 211. N. Wollner, C. Tan, F. Ghayimi, G. Rosen, M. Tefft, and M.L. Murphy, *Proc. Am. Ass. Cancer Res.*, **12**, 75 (1971)
 212. B.K. Vig, *Cancer Res.*, **31**, 32 (1971)
 213. L. Massimo, F. Dagna-Bricarelli, and A. Fossati-Guglielmoni, *Rev. Eur. Etud. Clin. Biol.*, **15**, 793 (1970).
 214. J.S. Saniberg, F.L. Howsden, A. DiMarco, and A. Goldin, *Cancer Chemother. Rep.*, **54**, Part I, 1 (1970)