

Streptomyces tubercidicus ME-9189 균주가 생산하는 nucleoside계 제초 활성 물질

김원곤 · 김종평 · 김창진 · 유익동*
한국과학기술연구원 생명공학연구소

A Herbicidal Nucleoside Compound isolated from *Streptomyces tubercidicus* ME-9189. Won-Gon Kim, Jong-Pyung Kim, Chang-Jin Kim and Ick-Dong Yoo*. *Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST, Taejeon 305-600, Korea* - Three thousand microbial strains collected from different sources were screened for herbicidal activity. A strain of ME-9189 showed herbicidal activity against *Digitaria sanguinalis* and *Portulaca oleracea* was isolated from a mountainy soil. Based on taxonomic studies, the strain was identified as *Streptomyces tubercidicus*. The active compound of ME-9189 was purified from the culture broth by charcoal, silica gel, sephadex LH-20 column chromatography and crystalization, consecutively. The ME-9189 compound was identified as tubercidin by spectroscopic methods of UV, ¹H and ¹³C-NMR, and EIMS. In the bioassay, growth of radish shoot and root was inhibited by 50% with tubercidin treatment of 10 ppm, showing 2 times higher activity than that of herbicidin A and similar to that of toyocamycin.

일반적으로 유기합성 제초제는 강력하고 빠른 제초효과를 있으나 제초제에 따라서는 독성이 강하여 토양, 환경 및 식품 내의 잔류독성등이 문제가 되어왔기 때문에 보다 안전한 제초제의 개발이 절실히 요구되고 있다. 한편, 미생물 대사산물은 쉽게 분해되어 잔류 독성이 없고 그 구조와 생물활성이 매우 다양한 것으로 알려져 있다. 이에 따라 유기합성 제초제들의 강한 독성으로 야기되는 단점들을 극복하고 이를 대체할 수 있는 새로운 작용기작과 새로운 구조의 lead molecules를 미생물 대사산물로부터 개발하려는 연구가 활발히 진행되고 있으며(1), 이미 anisomycin, bialaphos, cycloheximide, herbimycin, herbicidins, toyocamycin 등 방선균 유래 제초활성 물질이 발견되었다(2). Bialaphos(L-2-amino-4-[(hydroxy)(methyl)phosphinoyl]butyryl-L-alanyl-L-alanine)는 1973년 *Streptomyces hygroscopicus* 배양액으로부터 *Pellicularia sasakii*에 대한 항균성 활성물질로서 처음 보고되었으나, 그후 강력한 제초활성뿐만 아니라 토양에서 쉽게 분해되는 성질이 발견되어 1986년 산업화되었다(3).

Nucleoside계 제초활성 물질은 herbicidins과 toyocamycin 이외에 formycin, gougerotin이 알려져 있으며(4-7), 최근에는 Isaac 등(8)이 새로운 제초제를 합성하는데 이용하고자 새로운 구조를 갖는 lead compound를 탐색하던 중, *Thermoactinomyces*으로부터 5'-deoxyguanosine, coariseromycin, 5'-deoxytoyocamycin, coformycin, adenine 9-β-D-arabinofuranoside 등의 nucleoside계 물질을 보고하였다.

필자들은 새로운 구조를 갖는 미생물 유래 제초활성 물질을 선별하기 위하여 우리나라 각 지역의 토양으로부터 방선균을 분리하였으며, 이들을 대상으로 제초활성이 있는 균주를 선별하고 제초활성 물질을 분리하는 연구를 수행하였다. 그중 ME-9189 균주가 생산하는 nucleoside계 제초 활성물질을 분리 정제하고 구조결정 및 제초활성을 조사하였다.

재료 및 방법

방선균의 분리 및 선별

우리 나라 전역의 농가 부식토, 산림 퇴적물 및 농가 포장 등으로부터 토양 시료를 채취한 후 humic acid-vitamin agar 배지(9)(HA 배지, humic acid 1g, Na₂HPO₄ 0.5g, KCl 1.7g, FeSO₄·7H₂O 0.01g, CaCO₃ 0.01g, vitamin B complex trace, cycloheximide 50 mg/l, pH 7.2)를 사용하여 방선균 약 3,000 균주를 분리한 후, 배양원액을 사용하여 바랭이, 돌피, 쇠비름, 참소리쟁이 등의 잡초와 무우에 대하여 종자의 발아 및 생육 저해활성을 조사하였다. 본 실험의 결과 무우에 대한 발아후 생육 저해활성과 쇠비름(*Portulaca oleracea*) 및 바랭이(*Digitaria sanguinalis*)에 대하여 강한 제초활성을 나타낸, 설악산 지역에서 분리한 ME-9189 균주를 최종 선별하였다.

선발균주의 동정

선발된 ME-9189 균주의 미생물학적 특성을 조사하기 위하여 형태적 특성, 배양적 특성, 생리적 특성 및 탄소 이용성 등을 조사하였다. 조사 방법은 ISP(International Streptomyces Project) 방법(10)에 준하였다. 배양적 특성은 ISP 배지(Difco, USA)를 이용하여 27°C에서 14~21

*Corresponding author.

Key words: Herbicidal metabolite, *Streptomyces tubercidicus*, nucleoside, tubercidin

일 동안 배양하면서 관찰하였다. 탄소원 이용 등 생리학적 특성은 Pridham 및 Gottlieb 방법(11)에 의해 조사하였다. 세포벽 조성은 Becker 등의 방법(12)으로 조사하였다.

활성물질의 생산

ME-9189 균주로부터 활성물질의 생산을 위하여 glucose-soybean meal-soluble starch(GSS 배지, soluble starch 10 g, glucose 22 g, soybean meal 25 g, beef extract 1 g, yeast extract 4 g, NaCl 2 g, K₂HPO₄ 0.25 g, CaCO₃ 2 g/l, pH 7.3)를 사용하였으며, 500 ml 삼각 flask에 100 ml씩 배지를 첨가하여 150 rpm, 27°C의 조건에서 2일간 배양한 종균액을 3.5 l의 배지를 함유한 5 l jar fermentor(한국발효기)에 3%(v/v) 농도로 접종하였다. 소포제는 neorin을 0.2% 농도로 첨가하였고, 통기량 1 vvm, 교반속도 200 rpm, 온도는 27°C의 조건에서 5일간 배양하였다.

제초 활성물질의 분리정제

활성물질의 분리 정제를 위해서 jar fermentor 상에서 5일간 배양한 *S. tubercidicus* ME-9189 배양액을 원심 분리(6000 rpm, 10분)하여 균체를 제거한 후 얻어진 3 l의 배양상등액을 사용하였다(Fig. 1). 먼저 배양상등액을 활성탄 column(φ50×200 mm)에 통과시켜 흡착시키고 50% 아세톤/증류수(v/v)로 씻어 내고, 70% 아세톤/증류수로 활성분획을 용출시켜 감압 농축하였다. 감압농축액을 CHCl₃ : MeOH=10 : 1을 용매로 하는 silica gel column(φ40×150 mm, Merck Co., No. 7734) 상에서 전개시켜 활성분획을 얻고 다시 감압 농축한 후 50% 메탄올/증류수를 용매로 하는 Sephadex LH-20 column(φ25×900 mm, Pharmacia LKB) 상에서 전개시켜 활성분획을 얻었다. 이 활성 분획을 감압 농축한 후 소량의 메탄올에 녹여 4°C에 방치하여 5 mg의 흰색 prism 도

양의 결정을 얻었으며 최종적으로 HPLC 상에서 retention time 20분의 단일 peak로 검출되어 순수 분리되었음을 확인하였다. 이때 HPLC 분석 조건으로는 Senshu-pak ODS column(φ10×300 mm, Senshu, Japan)을 사용하여, 전개 용매 MeOH : H₂O=15 : 85, 유속 1.2 ml/min, UV 254 nm에서 측정하였다. 각 분리정제 과정에서 얻어진 분획의 활성은 무우의 발아후 생육 저해활성으로 조사하였다.

구조 분석 및 이화학적 특성 조사

ME-9189 화합물의 구조 분석을 위한 NMR 분석은 Bruker AMX 500 spectrometer를 이용하였으며, 표준물질로는 TMS(tetramethylsilane)를 사용하였고 용매는 DMSO-d₆를 이용하여 측정하였다. 분자량 결정은 EIMS (electron impact mass spectroscopy, Hewlett Packard HP 5989A spectrometer)로 측정하였으며, UV spectrum (Shimazu UV-260)은 메탄올을 용매로 하여 측정하였다.

제초 활성 측정방법

ME-9189 화합물의 제초활성은 Yamada 등의 방법(7)에 의해서 무우, 피 및 클로버 종자의 발아후 생육 저해활성으로 조사하였다. 즉 직경 9 cm의 petri dish에 여지를 깔고 ME-9189 화합물의 메탄올 용액을 증류수로 단계별로 희석시킨 용액으로 여지를 충분히 흡수시킨 다음 무우, 피, 클로버의 종자 10립을 여지 위에 놓고 27°C에서 5일 동안 배양한 다음, 줄기 및 뿌리의 생육 정도를 대조구와 비교하였다. 활성 정도는 0~10% 저해를 1로 하고, 90~100% 저해를 10으로 해서 총 10등급으로 나누어 활성 정도를 나타내었다.

결과 및 고찰

균주 동정

선발된 ME-9189 균주의 형태적 특성은 광학현미경 및 전자현미경을 통하여 관찰하였다. 그 결과 포자의 연결 형태는 나선형이었고, 포자 수는 20~40개이었다. 또한 포자의 크기는 0.5~0.7×0.8~1.0 μm이었으며 포자의 표면은 smooth하였다(Fig. 2).

각종 ISP 배지에서의 배양적 특성을 조사하여 Table 1에 나타냈다. 본 균주는 모든 ISP 배지에서 양호한 생육을 보였으며 기균사의 색상은 회색 내지 백회색을 나타낸 반면 배지 뒷면의 색상은 노란색 내지 갈색을 나타내었다.

한편, 생리적 특성 및 당 이용성을 조사하여 Table 2에 나타내었다. 본 균주는 멜라닌 색소 및 수용성 색소를 생성하지 않으며, 녹말은 분해하나 스킴 밀크는 분해하지 못하였다. Nitrate 환원 능력은 있으나 젤라틴 액화 능력이 없으며 밀크를 펩톤화 시키지 못하였다. 당 이용 정도는 D-glucose, xylose, meso-inositol, fructose, raffi-

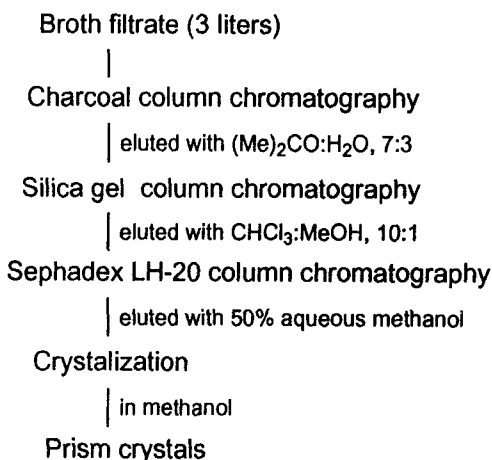


Fig. 1. Isolation procedure of a herbicidal active compound from *Streptomyces tubercidicus* ME-9189.

nose, melibiose, galactose은 잘 이용하였으나, arabinose, sucrose, mannitol, rhamnose, cellobiose은 이용하지 못하였다. 또한 균사 세포벽 성분인 diaminopimelic acid (DAP)를 분석한 결과 LL-DAP 형태를 나타냈다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 본 균주는 *Streptomyces*속에 속하며 관련 문헌(13, 14)을 조사한 결과 본 균주의 미생물학적 특성이 xylose 이용성만 제외하고 *Streptomyces tubercidicus* 균주와 일치함을 알 수 있었다. 따라서 본 균주는 *Streptomyces tubercidicus* 또는 그 근연종으로 판단되어 *Streptomyces tubercidicus* ME-9189 균주로 명명하였다.

제조활성 물질 ME-9189 화합물의 구조분석 및 이화학적 특성

순수 분리된 ME-9189 화합물의 이화학적 특성은 Table 3과 같다. 즉 본 물질은 흰색의 prism 형태의 결정이며, DMSO에는 잘 녹으나 hexane, CHCl₃에는 녹지 않았으며 물과 메탄올, 아세톤에는 약간 녹았다. 메탄올에 녹여 UV 흡수파장을 측정한 결과 최대 흡수파장이 중성 및 알카리 조건에서는 269 nm이었으나, 산성 조건에서는 226, 270 nm로 약간 이동하였다. 이러한 UV 흡수 형태는 nucleoside 계열의 항생물질중 일부에서 관찰된 것으로 알려져 있다(15). EIMS 분석결과 m/z 266에서 [M]⁺

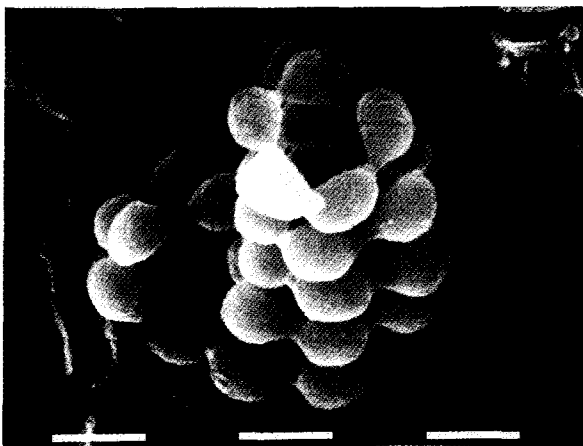


Fig. 2. Scanning electron micrograph of spore chains of strain ME-9189 grown on ISP-2 agar incubated at 27°C for 2 weeks (×18000). A bar represents 1 μm.

Table 1. Cultural characteristics of strain ME-9189.

Medium	Growth	Aerial mycelium	Reverse side color	Soluble pigment
Yeast extract-malt extract agar (ISP medium 2)	Good	Gray	Yellow	None
Oatmeal agar (ISP medium 3)	Moderate	Gray	Yellow	None
Inorganic salts-starch agar (ISP medium 4)	Good	Gray	Yellow	None
Glycerol-asparagine agar (ISP medium 5)	Moderate	Grayish white	Ivory	None
Tyrosine agar (ISP medium 7)	Moderate	Grayish white	Brown	None

Observation after incubation at 27°C for 2 weeks.

peak가 관찰되어 분자량이 266인 것으로 추정되었다.

ME-9189 화합물의 구조분석을 위하여 ¹H-NMR를 측정한 결과를 Fig. 3에 나타냈다. 그 결과 8.20 ppm(1H, s)의 heterocyclic 방향족 수소에 기인하는 것으로 예측되는 signal 1개, 7.32 ppm(1H, d, J=3.7 Hz)와 6.57 ppm(1H, d, J=3.7 Hz)의 서로 coupling 하는 방향족 수소 2개, D₂O 첨가시 signal이 사라지는 7.03, 5.30, 5.25, 5.08 ppm의 exchangeable 수소에 의해 기인되는 것으로 예측되는 4개의 resonance가 관측되었다. 또한 5.97 ppm(1H, d, J=6.3 Hz)의 anomeric 수소 및 4.42~3.51 ppm 사이의 hydroxylated 수소가 관측되어 이 화합물이 당을 함유하고 있음을 알 수 있었다. ¹³C-NMR에서는 157.4, 151.4, 149.8, 122.2, 103.0, 99.4 ppm의 방향족 탄소 6개와 87.5, 85.0, 73.5, 70.6, 61.7 ppm의 당 유래의 탄소 5

Table 2. Taxonomical characteristics of strain ME-9189.

DAP type	LL
Spore chain	spirale
Spore surface	smooth
Aerial mass color	gray
Soluble pigments	none
Melanoid pigments	none
Starch hydrolysis	positive
Nitrate reduction	positive
Gelatin liquefaction	negative
Milk peptonization	negative
Hydrolysis of skim milk	negative
Carbon utilization ^a	
D-Glucose	+
L-Arabinose	-
Sucrose	-
D-Xylose	+
meso-Inositol	+
Mannitol	-
D-Fructose	+
L-Rhamnose	-
Raffinose	+
D-Melibiose	+
D-Galactose	+
Cellobiose	-

a: +, Positive utilization; -, no utilization.

Table 3. Physico-chemical properties of the ME-9189 compound.

Appearance	White prisms
UV λ_{max}	269 (MeOH) 269 (MeOH+0.1N NaOH) 226, 270 (MeOH+0.1N HCl)
EIMS (m/z)	266
Molecular formula	C ₁₁ H ₁₄ N ₄ O ₄
Rf*	
CHCl ₃ :MeOH (2:1)	0.46
BuOH:MeOH:H ₂ O (4:1:1)	0.61
RP-18 (MeOH:H ₂ O=3:7)	0.24
Color reaction	
positive	I ₂
negative	20% H ₂ SO ₄ , Anisaldehyde-H ₂ SO ₄ , ninhydrin, Dragendorff's molybdophosphoric acid
Solubility	
soluble	DMSO
slightly soluble	H ₂ O, MeOH, Acetone
insoluble	CHCl ₃ , n-hexane

*TLC: Silica; Merck Art No. 5735, RP-18; Merck Art No. 15389

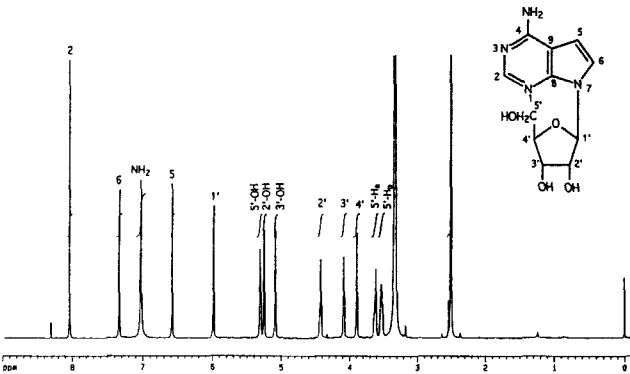


Fig. 3. The structure and ¹H NMR spectrum (500 MHz in DMSO-d₆) of the ME-9189 compound.

개등 총 11개의 탄소 signal이 관측되었다.

이상과 같이 이화학적 특성 및 기기분석을 통한 구조해석 결과들을 종합하여 볼 때 본 물질은 purine 유도체와 당으로 구성된 nucleoside 계열의 물질로 추정되었으므로 여러 가지 nucleoside 항생물질들의 문헌상의 기기분석 결과를 비교 조사하였다. 그 결과 본 물질의 각종 spectral data 및 이화학적 특성이 tubercidin(7-deazaadenosine ; 4-amino-7β-D-ribofuranosyl-7H-pyrrolo [2,3-d]pyrimidine)과 일치하여 본 물질을 tubercidin으로 동정하였다.

제초 활성

Table 4. Herbicidal activity of the ME-9189 compound and related compounds.

Compounds	Concn. (ppm)	Radish	Barnyard grass	Clover
Compound	100	10	10	10
ME-9189	50	10	10	10
	25	9	8	8
	12.5	6	6	6
Herbicidein A	100	10	9	9
	50	10	9	8
	25	7	6	6
	12.5	4	6	5
Toyocamycin	100	10	10	10
	50	10	10	10
	25	8	8	8
	12.5	6	6	6
Adenosine	100	0	0	0

Inhibition ratio was scored as 10 grades from 1 (0~10% growth inhibition) to 10 (90~100% growth inhibition).

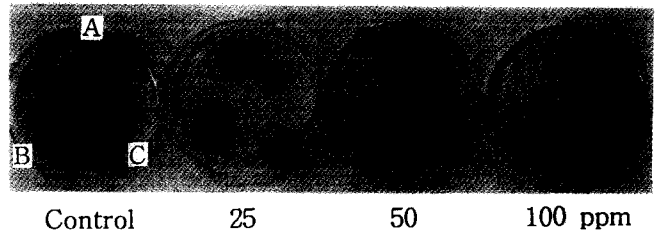


Fig. 4. Herbicidal activity of the ME-9189 compound. Seeds of radish, clover and barnyard grass were grown in a petri dish (9 cm in diameter, 0.6 cm deep) at 27°C for 5 days under lightening in the presence of indicated amounts of the ME-9189 compound. A; Radish, B; Clover, C; Barnyard grass.

ME-9189 화합물의 제초활성은 무우, 피 및 클로버에 대하여 종자 발아후 생육 저해활성을 측정하여 조사하였다. ME-9189 화합물의 제초 활성은 구조적으로 유사한 adenosine과 잘 알려진 nucleoside계 제초활성 물질인 herbicidein A 및 toyocamycin과 비교하여 Table 4에 나타내었다. ME-9189 화합물은 무우, 피 및 클로버등 모든 공시 식물에 대하여 발아후 생육을 억제하여 비선택적인 활성을 보였는데, 무우의 줄기 및 뿌리의 생육에 대해서 12.5, 25, 50 ppm의 농도에서 각각 6, 9, 10 정도의 농도 의존적인 제초 활성을 나타내었다. 또한 피, 클로버에 대해서도 무우와 비슷한 활성을 나타내었다(Fig. 4). 그러나 구조적으로 ME-9189 화합물과 매우 유사하지만 생체 성분인 adenosine은 100 ppm의 고농도에서도 공시식물의 생육이 억제되지 않아 제초활성이 전혀 없는 것으로 나타났다. ME-9189, herbicidein A 및 toyocamycin의 무우에 대한 생육 저해활성을 비교해 본 결과, 50%

생육 저해농도(EC₅₀)는 각각 10, 19, 10 ppm인 것으로 나타나 ME-9189 화합물은 herbicidin A보다 약 2배 강한 활성을 나타내었고, toyocamycin과는 비슷한 활성을 보였다. 그러나 Fig. 4에서 보는 바와 같이 ME-9189 화합물은 100 ppm의 고농도에서도 공시 식물의 종자가 발아된 점을 미루어 볼 때, 본 화합물은 식물의 종자 발아에는 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

Tubercidin은 adenine의 N-7이 C-H로 치환된 adenosine의 유도체로서, 1957년 Anzai 등(16)에 의해서 *Streptomyces tubercidicus*으로부터 암세포에 세포독성을 나타내는 물질로 처음 보고되었으며, 그후 1983년에 *Tolypothrix byssoide*라는 남조류에서도 발견되었다(17). Tubercidin은 항암 활성(18) 및 항바이러스 활성(19)을 갖는 것으로 보고되었다. 그러나 tubercidin의 제조 활성에 대한 보고는 본 보고가 처음이다. 한편 Iwata 등(20)에 의해서 *Streptomyces mirabilis*으로부터 분리된 tubercidin 유도체인 Antibiotic SF-2494(5'-O-sulfamoyltubercidin)은 바랭이(*Digitaria sanguinalis*)와 벼들여귀(*Polygonum laqpathifolium*)에 대하여 bialaphos보다 강한 제조활성을 갖는다고 보고된 바 있다.

요 약

방선균으로부터 제조활성 물질을 탐색하던 중 쇠비름과 바랭이에 대하여 강한 제조활성을 갖는 균주를 선발하여, 그 균주가 생산하는 활성물질을 분리 정제한 후 구조를 결정하고 정제된 물질에 대한 활성을 조사하였다. 선발된 ME-9189 균주의 미생물학적 특성을 조사한 결과 본 균주는 *Streptomyces tubercidicus*로 동정되어 본 균주를 *Streptomyces tubercidicus* ME-9189로 명명하였다. 또한 균 배양 상등액으로부터 활성탄, silica gel, sephadex LH-20 column chromatography 및 재결정화를 통하여 제조활성 물질 ME-9189 화합물을 정제한 후 UV, ¹H 및 ¹³C-NMR, EIMS 등의 기기분석을 한 결과 본 물질을 tubercidin(4-amino-7β-D-ribofuranosyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidine)으로 동정하였다. Tubercidin은 10 ppm의 농도에서 무우의 발아후 생육을 50% 저해하였으며, herbicidin A보다 약 2배 강한 활성을, toyocamycin과는 비슷한 활성을 나타내었다.

참고문헌

1. Sekizawa, Y. and T. Takematsu. 1982. How to discover antibiotics for herbicidal use, Pp. 261-268. In *Abstracts of the 5th International Congress of Pesticide Chemistry (IUPAC)*, Kyoto.
2. Okuda, S. 1992. Herbicides, *The Search for Bioactive Compounds from Microorganisms*. Pp. 224-236. In S. Omura (ed.), Springer-Verlag, New York.
3. Tachibana, K. and K. Kaneko. 1986. Development of a new herbicide, Bialaphos. *J. Pestic. Sci.* **11**: 297-304.
4. Arai, M., T. Haneishi, N. Kitahara, R. Enikita, K. Kawakubo and Y. Kondo. 1976. Herbicides A and B, two new antibiotics with herbicidal activity. I. Producing organism and biological activities. *J. Antibiot.* **29**: 863-869.
5. Hori, M., E. Ito, T. Takita, G. Koyama, T. Takeuchi and H. Umezawa. 1964. A new antibiotic, formycin. *J. Antibiot. Ser. A* **17**: 96-99.
6. Murao, S. and H. Hayashi. 1983. Gougerotin, as a plant growth inhibitor, from *Streptomyces* sp. No. 179. *Agric. Biol. Chem.* **47**: 1135-1136.
7. Yamada, O., Y. Kaise, F. Futatsuya, S. Ishida, K. Ito, H. Yamamoto and K. Munakata. 1972. Studies on plant growth-regulating activities of anisomycin and toyocamycin. *Agric. Biol. Chem.* **36**: 2013-2015.
8. Isaac, B.G., S.W. Ayer, L.J. Letendre and R.J. Stonard. 1991. Herbicidal nucleosides from microbial sources. *J. Antibiot.* **44**: 729-732.
9. Hayakawa, M. and H. Nonomura. 1987. Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil Actinomycetes. *J. Ferment. Technol.* **68**: 501-509.
10. Shirling, E.B. and D. Gottlieb. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **16**: 313-340.
11. Pridham, T.G. and D. Gottlieb. 1948. The utilization of carbon compounds by some *Actinomycetales* as an aid for species determination. *J. Bacteriol.* **56**: 107-114.
12. Becker, B., M.P. Lechevalier, R.E. Gordon and H.A. Lechevalier. 1964. Rapid differentiation between *Nocardia* and *Streptomyces* by paper chromatography of whole-cell hydrolysates. *Appl. Microbiol.* **12**: 421-423.
13. Nonomura H. 1974. Key for classification and identification of 458 species of the *Streptomyces* included in the International *Streptomyces* Project. *J. Ferment. Technol.* **52**: 78-92.
14. Shirling, E.B. and D. Gottlieb. 1968. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. II. Species descriptions from first study. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **18**: 69-189.
15. Seto, H., N. Koyama, H. Ogine and Y. Kodama. 1983. The structure of a novel nucleoside antibiotic, dapiramycin. *Tetrahedron lett.* **24**: 495-498.
16. Anzai, K., G. Nakamura and S. Suzuki. 1957. A new antibiotic, tubercidin. *J. Antibiot. Ser. A* **10**: 201-204.
17. Barchi, J.J., Jr., T.R. Norton, E. Furusawa, G.M.L. Patterson and R.E. Moore. 1983. Identification of a cytotoxin from *Tolypothrix byssoide* as tubercidin. *Phytochemistry.* **22**: 2851-2852.
18. Harry, F.B., F.J. Ansfield, J.H. Mason and W.L. Wilson. 1970. Clinical studies with tubercidin administered by direct intravenous injection. *Cancer Res.* **30**: 76-78.
19. Bergstrom, D.E., A.J. Brattesani, M.K. Ogawa, P. Anantha Reddy, M.J. Schweickert, J. Balzarini and E.D. Clercq. 1984. Antiviral activity of C-5 substituted tubercidin analogues. *J. Med. Chem.* **27**: 285-292.
20. Iwata, M., T. Iwamastu, H. Miyadhi, K. Tachibana, K. Mastumato, T. Shomura, M. Sezaki and T. Watanabe. 1987. A new herbicidal antibiotic, SF2494 (5'-O-sulfamoyltubercidin) produced by *Streptomyces mirabilis*. *Scientific Reports of Meiji Seika Kaisha* **26**: 17-22.

(Received 20 October 1995)