

## $\beta$ -카볼린 화합물의 합성 및 구조분석

변홍주 · 한민희 · 문기성 · 정경환<sup>†</sup> · 이향열<sup>\*†</sup>

한국교통대학교 생명공학과

(2019년 6월 6일 접수: 2019년 6월 28일 수정: 2019년 6월 28일 채택)

### Synthesis and Structural Characterization of $\beta$ -Carboline Compounds

Hong-Ju Byeon · Min-Hui Han · Gi-Seong Moon  
Kyung-Hwan Jung<sup>†</sup> · Hyang-Yeol Lee<sup>\*†</sup>

Department of Biotechnology, Korea National University of Transportation,  
61 Daehak-ro, Jeungpyeong-gun, Chungbuk 27909

(Received June 6, 2019; Revised June 28, 2019; Accepted June 28, 2019)

**요약** : 자연에서도 생합성이 되는 테트라하이드로- $\beta$ -카볼린 화합물은 Pictet-Spengler반응을 통해서 화학적으로도 합성된다. 본 연구에서는  $\beta$ -카볼린 화합물을 쉽고 효과적으로 합성할 수 있는 친환경 합성법을 개발하여 유기용매가 아닌 물을 사용하여 합성하였다. 이 화합물은 투명한 결정형의 생성물로 얻어지므로 복잡한 분리과정이 필요하지 않다. 합성된 화합물은 NMR 및 UPLC/MS를 이용하여 구조를 확인하였다. 화합물 **1**의 이론적 분자량( $C_{17}H_{17}N_2$  249.1392), 화합물 **2** ( $C_{17}H_{23}N_2$  255.1861), 화합물 **3**( $C_{19}H_{21}N_2O_3$  325.1552), 화합물 **4**( $C_{19}H_{19}N_2O$  279.1497)과 측정된 화합물들의 질량과 비교하였다. 그 결과 측정된 화합물 **1**의 분자량 ( $[M+H]^+ m/z$  detected 249.1315), **2** (detected 255.1789), **3** (detected 325.1460) 그리고 **4** (detected 279.1364)와 거의 일치함으로써 생성된 화합물이 **1~4**의 구조를 가지고 있음을 확인하였다. 합성된 화합물들을 그람 음성균인 *E. coli* DH5  $\alpha$ 를 대상으로 항균효과를 조사한 결과 강한 저해효과를 확인할 수 있었다.

**주제어** :  $\beta$ -카볼린, Pictet-Spengler반응, 항균효과, 친환경반응, 수용액반응

**Abstract** : The Pictet-Spengler reactions have widely known for the organic synthesis or biosynthesis of biologically active compounds, tetrahydro- $\beta$ -carbolines. We have developed the simple and efficient synthetic method for the synthesis of  $\beta$ -carbolines in water. Their chemical structures were characterized by nmr and UPLC/MS/QTOF. Calculated masses of compound **1** ( $C_{17}H_{17}N_2$  249.1392), **2** ( $C_{17}H_{23}N_2$  255.1861), **3** ( $C_{19}H_{21}N_2O_3$  325.1552) and **4** ( $C_{19}H_{19}N_2O$  279.1497) were almost identical with the detected masses of compound **1** (249.1315), **2** (255.1789), **3** (325.1460) and **4** (279.1364)

<sup>†</sup>Corresponding author  
(E-mail: khjung@ut.ac.kr, hyl@ut.ac.kr)

respectively. Those synthesized four compounds showed strong antibiotic activity against the common *E. coli*.

**Keywords :**  $\beta$ -carbolines, Pictet-Spengler reaction, anti-microbial effect

## 1. 서론

Pictet-Spengler반응을 통해 생성되는 테트라하이드로- $\beta$ -카볼린화합물은 다양한 합성물 및 천연화합물로서 발견 및 합성되고 있다.  $\beta$ -카볼린화합물은 많은 약리작용 및 생물학적인 효능이 알려져 있어 이러한 효능을 이용하여 항균, 항암, 항바이러스 효과를 갖는 화합물을 합성하는 연구가 활발히 진행되고 있다<sup>1~4</sup>. 대표적인 천연에서 발견되는  $\beta$ -카볼린화합물 중 하나인 빈블라스틴(Vinblastine)과 빈크리스틴(Vincristine)이 탁월한 항암효과를 보이고 있다. 현재 빈블라스틴은 림프선, 비장, 간에 영향을 주는 암인 호지킨병(Hodgkin's disease)의 치료에 사용되고 있다. 빈크리스틴은 빈블라스틴보다 항암효과는 더 뛰어나나 신경독성이 더 큰 것으로 알려져 있으며 소아 백혈병(leukaemia), 림프종(lymphomas), 소세포 폐암(small-cell lung cancer), 자궁암(cervical cancer)과 유방암(breast cancer) 등을 치료하는데 사용되고 있다<sup>5~10</sup>. 이러한 고부가가치의  $\beta$ -카볼린화합물을 합성하기 위해서는 일반적으로 고가이거나 유독성의 촉매 및 유기용매를 사용하여 반응하고 있다. 상업적으로 생산하기에는 고비용이거나 유독성 물질의 사용으로 인한 환경문제가 고려되어야 한다. 또한 대부분의 유기반응이 그렇듯이 수분에 민감한 반응의 합성수율이 낮게 된다. 따라서 수분에 민감한 유기반응은 상업적 생산을 하기에 적절하지 않다. 최근에는 건강 및 환경에 대한 문제 때문에 유기용매나 독성이 있는 화합물을 사용하지 않는 친환경 합성법에 대한 관심이 커지고 있다. 따라서 가장 싸면서 안전한 용매인 H<sub>2</sub>O를 사용한 반응의 개발이 크게 요구되고 있다. 수용액에서의 Pictet-Spengler 고리화반응은 다소 알려져 있으나 대부분 극한의 반응조건이나 강산성인 촉매 등이 요구된다. Lewis산이나 Brønsted산과 같은 촉매시스템이 수용액 반응의 촉매로 개발되고 있으나 대부분 비싸거나 독성이 매우 강하다. 더불어 생성물은 라세미 혼합물로서 결정이 아닌 고체형태로 합성된

다<sup>11~18</sup>. 본 연구에서는 자연에서 쉽게 구할 수 있는 천연물인 L-(+)-tartaric acid를 반응 촉진제로 사용하여 수용액상에서 Pictet-Spengler반응 생성물을 투명한 결정 상태로 합성하였다. 이 반응은 유기용매를 사용하지 않고 용매로써 H<sub>2</sub>O, 그리고 반응촉진제로써 천연물인 L-(+)-tartaric acid를 사용하는 친환경 합성법이다. 본 합성법은 인체에 유해하거나 폭발성이 있는 유기용매를 사용하지 않고, 생성물이 결정이기 때문에 단순한 filtration이외의 다른 분리공정이 필요하지 않아 산업적으로 매우 적합한 공정일 것으로 보인다. 본 반응의 생성물의 구조는 NMR 및 LC/MS로 분석하였으며 항균효과를 *E. coli*를 대상으로 agar diffusion법을 사용하여 조사하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 재료 및 기기

포도산(L-(+)-Tartaric acid), 트립타민하이드로클로라이드(Tryptamine hydrochloride), 벤즈알데하이드(benzyl aldehyde), 사이클로헥실 알데하이드(cyclohexyl aldehyde), 파라메톡시벤질 알데하이드(*p*-methoxybenzyl aldehyde), 시린지 알데하이드(syringe aldehyde)는 시그마/알드리치 시약을 구입하여 정제 없이 사용하였다. NMR은 Bruker사의 500MHz기기를 사용하였다. UPLC/MS 분석은 고성능 Q-TOF LC MS/MS 시스템에 1.7  $\mu$ m 입자를 가진 2.1 x 100 mm 크기의 C18 칼럼을 사용하였으며 0.6 mL min<sup>-1</sup>의 유속 및 ESI source를 사용하여 측정하였다.

### 2.2. 항균활성 실험

합성된 화합물 1~4를 이용하여 *Escherichia coli* DH5 $\alpha$ 에 대한 항균실험을 수행하였다. 실험 방법은 한천확산법 (agar diffusion method)<sup>11</sup>으로 각각의 균주를 최적배지에서 키운 배양액 100 $\mu$ L를 평판배지에 도말한 후 그 위에 시료 10 $\mu$ L를 점적하였다. 최적온도(30 혹은 37°C)에서

48h 배양 후 한 후 시료 주위에 저해환 생성 유무를 관찰하였다. LB배지(Yeast extract 5g/L, Tryptone 10g/L, NaCl 10g/L)를 사용하였다.

### 2.3. 화합물 1~4의 합성

포도산(L-(+)-Tartaric acid, 0.5 eq., 0.5 mmol)는 트립타민하이드로클로라이드 (1.0 eq., 1.0 mmol)와 알데하이드 (1.0 eq., 1.0 mmol)의 혼합물과 함께 15ml 팔콘튜브에 넣었다. 증류수를 튜브에 있는 혼합물이 4.0 mL가 될 때까지 첨가하고 파라필름으로 밀봉하였다. 튜브는 60°C로 맞추어진 항온조에 넣고 결정이 형성될 때까지 1~2일을 놔두었다. 때에 따라서는 입자생성을 촉진할 수 있는 seed를 첨가해 준다. 생성된 결정은 여과하고 차가운 물로 씻어준 후 건조하여 화합물 1~4를 얻었다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. $\beta$ -Carboline compounds 1~4의 NMR을 이용한 구조확인

자연에서 풍부하게 존재하는 천연물인 포도산(L-tartaric acid)를 반응 촉진제로 사용하여 수용액상에서 결정 상태의 Pictet-Spengler반응 생성물을 합성하였다. 이 반응은 유기용매를 사용하지 않고 용매로써 H<sub>2</sub>O를 사용함으로써 매우 환경친화적인 합성법이다. 인체에 유해하거나 폭발성

이 있는 유기용매를 사용하지 않으면서 고가의 촉매나 독성의 촉매도 사용하지 않고 합성하였다. 수용액상에서 합성된 카볼린 화합물 1~4는 무색의 투명한 결정 형태로 얻었다. 결정은 더 이상의 정제과정 없이 걸러서 건조시킨 후 NMR을 이용하여 구조를 확인하였다.

### 1-Phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole, 1

<sup>1</sup>H-NMR에서 indole의 방향족의 4개 CH 피크는 7.59, 7.33, 7.19, 7.12에서 나타났으며 페닐기의 5개 CH 피크는 7.56~7.46 ppm에서 나타났다. 지방족의 5개 피크는 각각, 5.96, 3.70~3.65, 3.62~3.57, 3.35~3.26에서 나타났다. <sup>13</sup>C-NMR에서는 모두 14개의 탄소피크가 나타났는데 대칭으로 인해 겹치는 피크를 제외하고 방향족 탄소가 12개, 지방족 탄소가 2개 확인되어 본 화합물의 구조는 1-Phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole, 1으로 확인되었다. 고성능 LC/MS를 이용한 질량분석 결과에서도 본 화합물의 이론적 분자량(calc. C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub> 249.1392)이 측정된 질량과 일치하는 결과(detected 249.1315)를 얻었다.

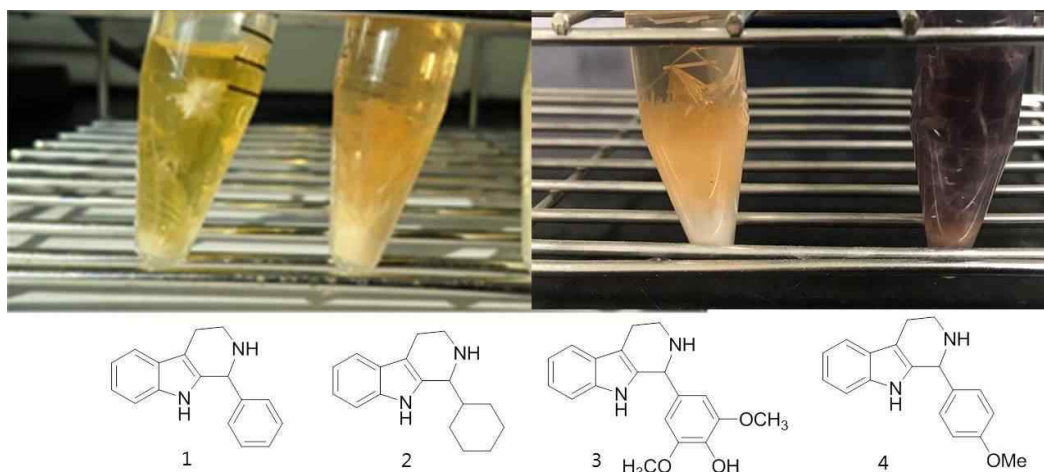


Fig. 1.  $\beta$ -Carboline compounds 1~4.

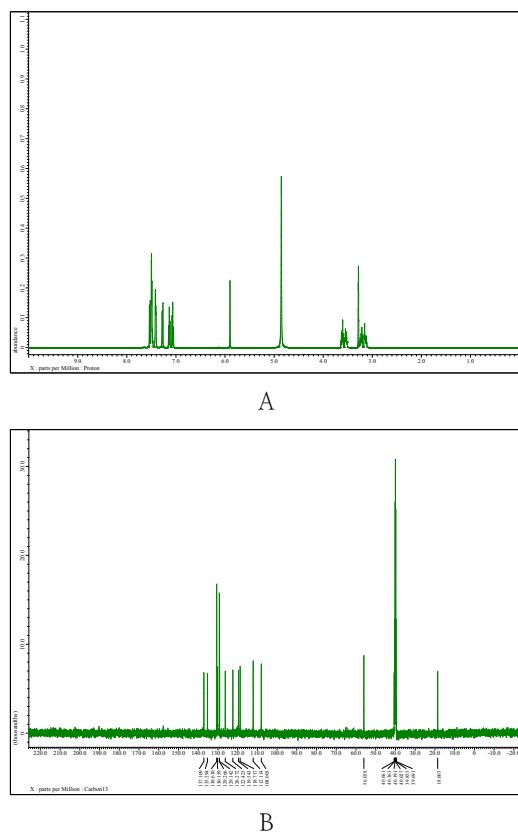


Fig. 2. NMR spectra of compound 1.

A:  $^1\text{H}$ -NMR, B:  $^{13}\text{C}$ -NMR.

\*NMR solvent: MeOD

수율: 25% (결정).  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, MeOD)  $\delta$  (ppm): 7.59 (d, 1H,  $J=8.0$  Hz), 7.56–7.53 (m, 3H), 7.48–7.46 (m, 2H), 7.33 (d, 1H,  $J=8.0$  Hz), 7.19 (t, 1H,  $J=8.0$  Hz), 7.12 (t, 1H,  $J=8.0$  Hz), 5.96 (s, 1H), 3.70–3.65 (m, 1H), 3.62–3.57 (m, 1H), 3.35–3.26 (m, 1H), 3.22–3.18 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz, MeOD)  $\delta$  (ppm): 137.1, 135.3, 130.6, 130.2, 129.3, 129.1, 126.3, 122.4, 119.5, 118.7, 112.1, 108.0, 56.0, 18.6. LCMS  $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$  calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_2$  249.1392; detected 249.1315.

### 1-Cyclohexyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole, 2

$^1\text{H}$ -NMR에서 indole의 방향족 4개 CH 피크는 7.51, 7.40, 7.18, 7.08에서 나타났으며 지방족의 11개 피크는 각각, 4.65, 3.79~3.74, 3.47~3.42, 3.18~3.11, 3.11~3.07, 2.35~2.29, 1.95, 1.82, 1.53, 1.48~1.38, 1.32~1.20에서 나타났다.  $^{13}\text{C}$ -NMR에서는 모두 15개의 탄소피크가 나타났는데 대칭으로 인해 겹치는 피크를 제외하고 방향족 탄소가 8개, 지방족 탄소가 7개 확인되어 본 화합물의 구조는 1-cyclohexyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole, 2으로 확인되었다. 고성능 LC/MS를 이용한 질량분석 결과에서도 본 화합물의 이론적 분자량(calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2$  255.1861)이 측정된 질량과 일치하는 결과(detected 255.1789)를 얻었다.

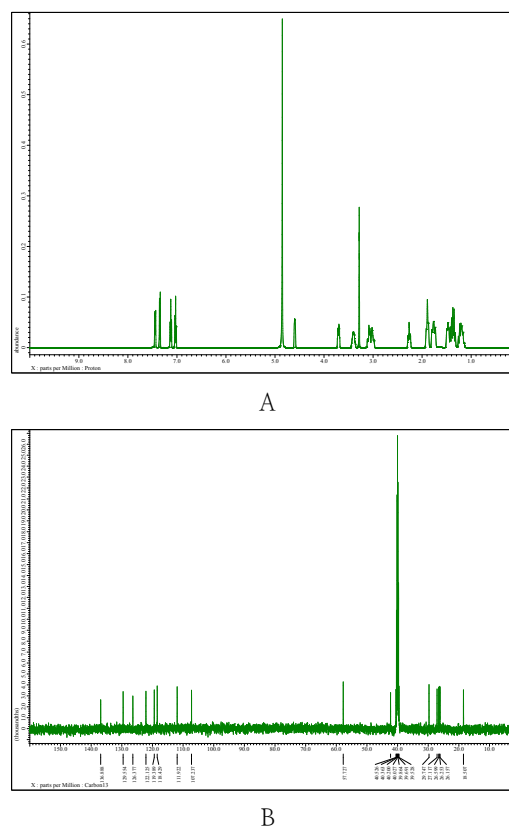


Fig. 3. NMR spectra of compound 2.

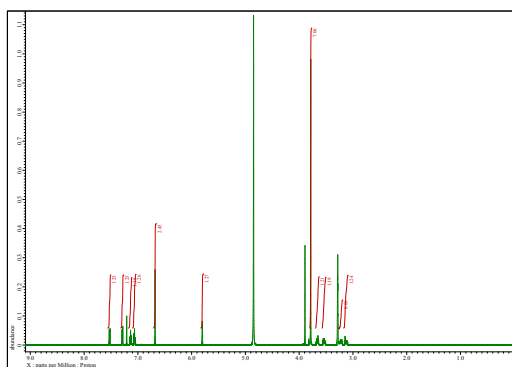
A:  $^1\text{H}$ -NMR, B:  $^{13}\text{C}$ -NMR.

\*NMR solvent: MeOD

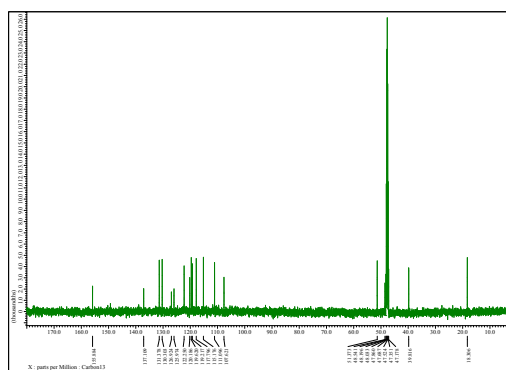
수율: 45% (결정).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, MeOD)  $\delta$  (ppm): 7.51 (dd, 1H,  $J = 8.0$  Hz,  $J = 2.5$  Hz), 7.40 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz), 7.18 (t, 1H,  $J = 7.0$  Hz), 7.08 (td, 1H,  $J = 7.0$  Hz, 0.5 Hz), 4.65 (d, 1H,  $J = 4.5$  Hz), 3.79–3.74 (m, 1H), 3.47–3.42 (m, 1H), 3.18–3.11 (m, 1H), 3.11–3.07 (m, 1H), 2.35–2.29 (m, 1H), 1.95 (t, 2H,  $J = 10.5$  Hz), 1.82 (t, 2H,  $J = 16.0$  Hz), 1.53 (t, 1H,  $J = 10.0$  Hz), 1.48–1.38 (m, 1H), 1.32–1.20 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, MeOD)  $\delta$  (ppm): 137.3, 130.0, 126.8, 122.5, 119.8, 118.6, 112.3, 107.7, 58.2, 40.8, 30.2, 27.0, 26.7, 26.6, 18.9. LCMS  $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$  calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2$  255.1861; detected 255.1789.

#### 2,6-Dimethoxy-4-(2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-yl)phenol, 3

$^1\text{H}$ -NMR에서 indole의 방향족 5개 CH 피크는 7.58, 7.34, 7.19, 7.12, 6.74ppm에서 나타났으며 지방족의 5개 피크는 각각, 2개의 메톡시기 ( $-\text{OCH}_3$ )로부터 나온 3.84ppm와 6개의 지방족 CH 피크가 5.86, 3.84, 3.74~3.70, 3.62~3.57, 3.31~3.26, 3.21~3.16ppm에서 나타났다.  $^{13}\text{C}$ -NMR에서는 모두 16개의 탄소피크가 나타났는데 대칭으로 인해 겹치는 4개의 피크를 제외하고 방향족 탄소가 12개, 지방족 탄소가 4개 확인되어 본 화합물의 구조는 2,6-Dimethoxy-4-(2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-yl)phenol, **3**으로 확인되었다. 고성능 LC/MS를 이용한 질량분석 결과에서도 본 화합물의 이론적 분자량(calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_3$  325.1552)이 측정된 질량과 일치하는 결과(detected 325.1460)를 얻었다.



A



B

Fig. 4. NMR spectra of compound **3**.A:  $^1\text{H}$ -NMR, B:  $^{13}\text{C}$ -NMR.

\*NMR solvent: MeOD

수율: 40% (결정).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, MeOD)  $\delta$  (ppm): 7.58 (d, 1H,  $J = 9.0$  Hz), 7.34 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz), 7.19 (t, 1H,  $J = 8.0$  Hz), 7.12 (t, 1H,  $J = 8.0$  Hz), 6.74 (s, 2H), 5.86 (s, 1H), 3.84 (s, 6H), 3.74–3.70 (m, 1H), 3.62–3.57 (m, 1H), 3.31–3.26 (m, 1H), 3.21–3.16 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, MeOD)  $\delta$  (ppm): 163.6, 139.3, 133.1, 129.7, 128.1, 128.0, 124.5, 121.5, 120.1, 116.6, 113.3, 109.7, 58.8, 56.8, 42.9, 20.4. LCMS  $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$  calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_3$  325.1552; detected 325.1460.

#### 1-(4-Methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole, 4

$^1\text{H}$ -NMR에서 indole의 방향족 5개 CH 피크는 7.57, 7.33, 7.19, 7.12, 7.07ppm에서 나타났으며 지방족의 7개 피크는 각각, 1개의 메톡시기 ( $-\text{OCH}_3$ )로부터 나온 3.86ppm와 5개의 지방족 CH 피크인 5.89, 3.67~3.63, 3.59~3.54, 3.11~3.07, 3.30~3.24ppm에서 나타났다.  $^{13}\text{C}$ -NMR에서는 모두 15개의 탄소피크가 나타났는데 대칭으로 인해 겹치는 2개의 피크를 제외하고 방향족 탄소가 12개, 지방족 탄소가 3개 확인되어 본 화합물의 구조는 1-(4-methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole, **4**으로 확인되었다. 고성능 LC/MS를 이용한 질량분석 결과에서도 본 화합물의 이론적 분자량(calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2$  279.1497)이 측정된 질량과 일치하는 결과

(detected 279.1364)를 얻었다.

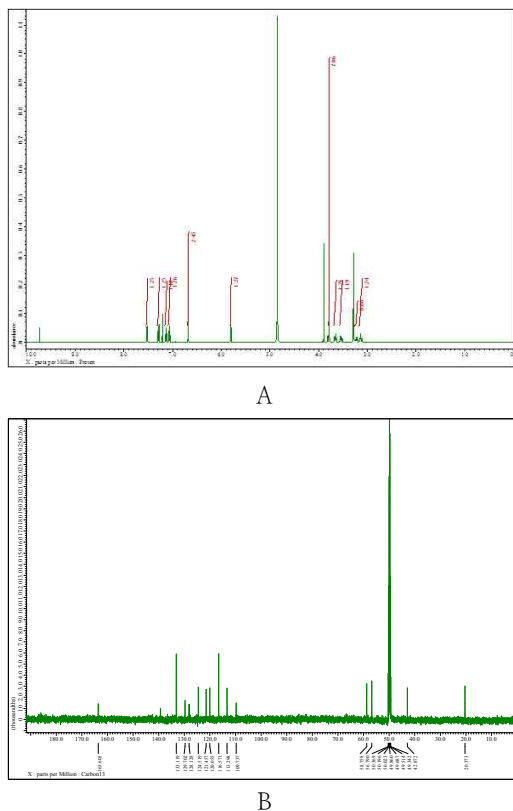


Fig. 5. NMR spectra of compound 4.

A:  $^1\text{H}$ -NMR, B:  $^{13}\text{C}$ -NMR.

\*NMR solvent: MeOD

수율: 40% (결정).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, MeOD)  $\delta$  (ppm): 7.57 (d, 1H,  $J = 9.0$  Hz), 7.33 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz), 7.19 (t, 1H,  $J = 7.0$  Hz), 7.12 (t, 1H,  $J = 7.0$  Hz), 7.07 (d, 2H,  $J = 9.0$  Hz), 5.89 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.67-3.63 (m, 1H), 3.59-3.54 (m, 1H), 3.11-3.07 (m, 1H), 3.30-3.24 (m, 1H), 3.20-3.15 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$ NMR (100 MHz, MeOD)  $\delta$  (ppm): 155.9, 137.1, 131.4, 130.3, 122.3, 120.2, 119.6, 119.2, 117.8, 115.2, 111.1, 107.6, 51.4, 39.8, 18.3. LCMS  $[\text{M}+\text{H}]^+m/z$  calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}$  279.1497; detected 279.1364.

### 3.2. 화합물 1~4의 LC/MS 분석

합성된 화합물들은 모두 고성능 LC/MS/QTOF를 이용한 질량분석을 실시하였다. 그 결과 화합물 1의 이론적 분자량(calcd.  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_2$  249.1392), 화합물 2의 이론적 분자량(calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2$  255.1861), 화합물 3의 이론적 분자량(calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_3$  325.1552), 화합물 4의 이론적 분자량(calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}$  279.1497)과 측정된 화합물들의 질량과 비교하였다. 측정된 화합물 1의 분자량 ( $[\text{M}+\text{H}]^+m/z$  detected 249.1315), 2 (detected 255.1789), 3 (detected 325.1460) 그리고 4 (detected 279.1364)와 거의 일치함으로써 생성된 화합물이 1~4의 구조를 가지고 있음을 확인하였다.

### 3.3. 화합물 1~4의 *E. coli* DH5 $\alpha$ 에 대한 항균효과

일반적인 그람-음성 병원균인 *E. coli*에 대한 항균제의 내성 효과는 요즘 특히 사회적 문제가 되고 있다. 따라서 다양한 종류의 항균제를 개발할 필요성이 대두되고 있는데 본 연구에서 합성한 화합물 1~4는 모두 *E. coli* DH5 $\alpha$ 에 대해 강력한 항균효과를 가지고 있음을 확인하였다. 화합물 1~4 모두 뚜렷한 agar diffusion법을 이용한 테스트에서 큰 저해환을 보여 향후 항균제 후보물질로써도 개발 가능성을 보여 추가 연구가 필요해 보인다. 본 연구실에서 개발한 간단한 합성법을 이용하여 앞으로 다양한 종류의 화합물들을 합성하고 여러 종류의 항균제 내성 병원균들에 대해서도 그 저해 효과를 검증해 볼 계획이다.

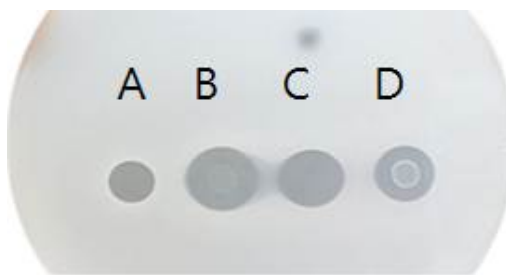
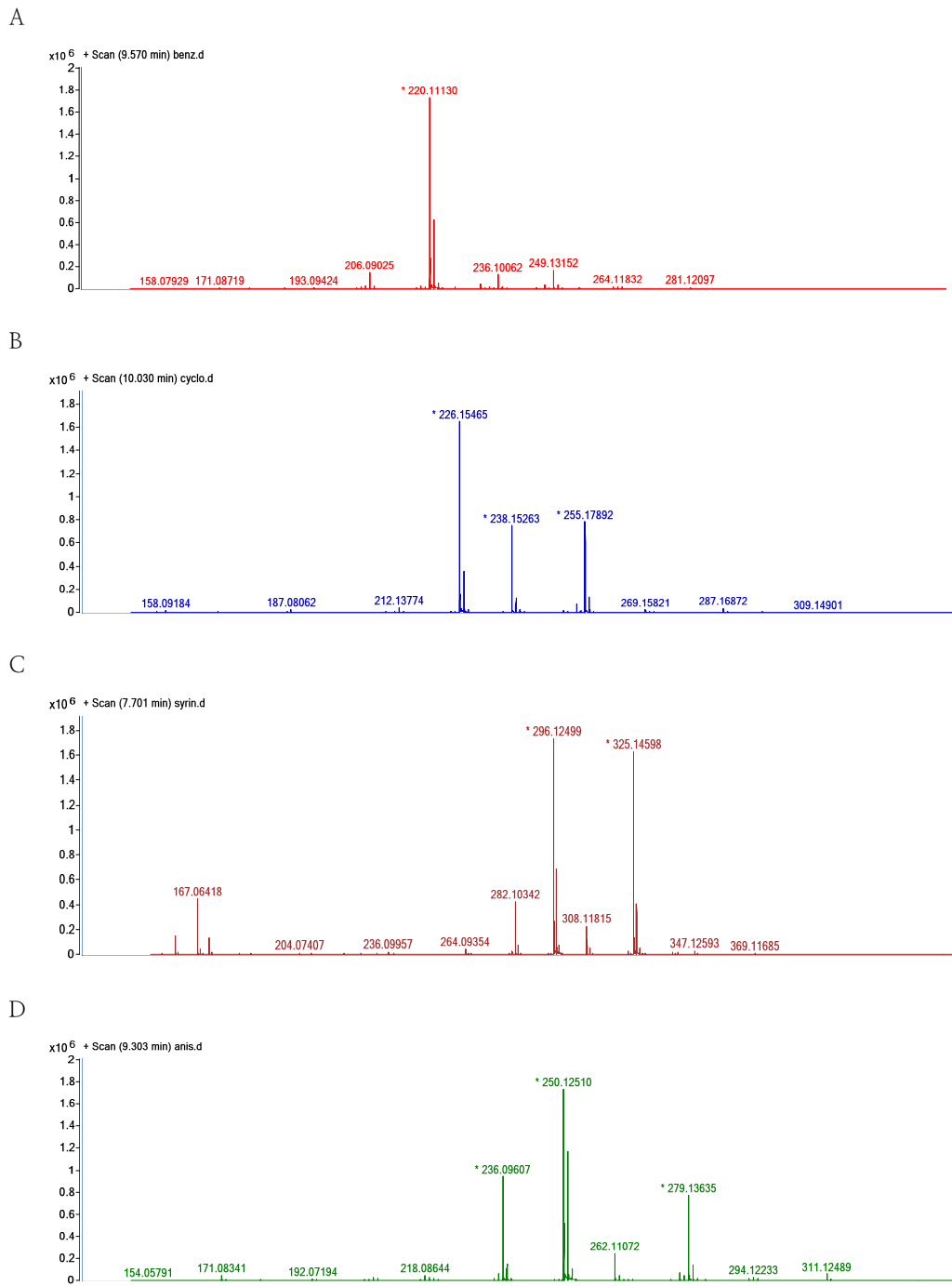


Fig. 6. Anti-microbial effect of compounds 1~4 in *E. coli* DH5 $\alpha$ . A: 3, B: 4, C: 1, D: 2.

Fig. 7. UPLC/MS/QTOF spectra of  $\beta$ -carboline compounds. A: **1**, B: **2**, C: **3**, D: **4**.

#### 4. 결론

트립타민에 다양한 알데하이드를 도입한  $\beta$ -카볼린화합물 1~4를 합성하고 NMR 및 고성능 LC/MS를 이용하여 구조를 분석하였다. 본 연구로 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 촉매인 포도산(L-(+)-tartaric acid)을 트립타민과 알데하이드 수용액에 첨가하여 합성하였다.
2. 합성된 화합물들은 투명한 결정 형태로 생성물을 얻었으며, NMR 및 고성능 LC/MS를 이용하여 구조를 분석한 결과  $\beta$ -카볼린화합물 1~4임을 확인하였다.
3. 유기용매를 사용하지 않고 물을 용매로 사용하는 친환경 합성법으로써 산업적으로 활용 가치가 매우 클 것으로 보인다.
4. 친환경 합성법으로 얻은  $\beta$ -카볼린화합물 1~4 모두 그람-음성 병원균인 *E. coli*에 대한 항균이 있었으나 특히 화합물 2와 3이 우수함을 보여 향후 항균 후보 물질로써 개발 가능성이 있음을 보였다.

#### 감사의 글

이 논문은 2017년도 한국교통대학교의 해외파견연구교수지원금을 받아 수행한 연구임.

#### References

1. H. Y. Lee, N. Yerkes, and S. E. O'Connor, "Aza-Tryptamine Substrates in Monoterpene Indole Alkaloid Biosynthesis". *Chemistry & Biology*, Vol. 16, pp. 1225-1229, (2009).
2. J. Murata, J. Roepke, H. Gordon, and V. De Luca, "The Leaf Epidermome of *Catharanthus roseus* Reveals It's Biochemical Specialization". *The Plant Cell*, Vol. 20, pp. 524-542, (2008).
3. J. S. Kim, J. H. Joo, J. E. Kang, S. D. Jang, K. H. Jung, G. S. Moon, H. Y. Lee, "Antioxidant Effects and Spectrophotometry Analysis of Alkaloids from *Vinca minor*", *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, Vol. 32, No. 1, pp. 16-22, (2015).
4. J. S. Kim, J. E. Kang, I. H. Yu, K. H. Jung, G. S. Moon, H. Y. Lee, "Antimicrobial and Immunological activities of *Vinca minor* Extracts", *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, Vol. 32, No. 1, pp. 108-115 (2015).
5. J. S. Kim, I. H. Yu, J. H. Joo, G. H. Nam, K. H. Jung, Y. S. Chung, H. Y. Lee, "Biological effects of *Vinca minor* extract; Tyrosinase inhibition, stimulation of ROS generation and increasement of cell migration activity in keratinocytes", *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, Vol. 33, No. 4, pp. 788-794, (2016).
6. J. Murata, J. Roepke, H. Gordon, and V. De Luca, "The Leaf Epidermome of *Catharanthus roseus* Reveals It's Biochemical Specialization". *The Plant Cell*, Vol. 20, pp. 524-542, (2008).
7. R. Bhadra, S. Vani, and J. V. Shanks, "Production of indole alkaloids by selected hairy root lines of *Catharanthus roseus*". *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 41, pp. 581-592, (1993).
8. J. A. Morgan, J. V. Shanks, "Inhibitor studies of tabersonine metabolism in *C. roseus* hairy roots". *Phytochemistry*, Vol. 51, pp. 61-68, (1999).
9. A. Verma, K. Hartonen, and M-L. Riekkola, "Optimisation of Supercritical Fluid Extraction of Indole Alkaloids from *Catharanthus roseus* using Experimental Design Methodology-Comparison with other Extraction Techniques". *Phytochemical Analysis*, Vol. 19, pp. 52-63, (2008).
10. S. Hisiger and M. Jolicoeur, "Analysis of *Catharanthus roseus* alkaloids by HPLC". *Phytochem Rev.*, Vol. 6, pp. 207-234, (2007).
11. J. T. Mohr, M. R. Krout, B. M. Stoltz,



- “Natural products as inspiration for the development of asymmetric catalysis”. *Nature*, Vol. 455, pp. 323-332, (2008).
12. J. S. Szawkalo, S. J. Czarnocki, A. Zawadzka, K. Wojtasiewicz, A. Leniewski, J. K. Maurin, Z. Czarnocki, J. Drabowicz, “Enantioselective synthesis of some tetrahydroisoquinoline and tetrahydro- $\beta$ -carboline alkaloids”. *Tetrahedron: Asym.*, Vol. 18, pp. 406-413, (2007).
  13. S. M. Allin, S. N. Gaskell, M. R. J. Elsegood, W. P. Martin, “A new asymmetric synthesis of the natural enantiomer of the indolizidino[8,7-*b*]indole alkaloid (+)-harmicine”. *Tetrahedron Lett.*, Vol. 48, pp. 5669-5671, (2007).
  14. D. Huang, F. Xu, X. Lin, Y. Wang, “Highly enantioselective pictet-spengler reaction catalyzed by SPINOL-phosphoric acid”. *Chem Eur J.*, Vol. 18, pp. 3148-3152, (2012).
  15. J. E. Klijn, J. B. F. N. Engberts, “Fast reactions ‘on water’”. *Nature*, Vol. 435, pp. 746-747, (2005).
  16. S. Narayan, S. J. Muldoon, M. G. Finn, V. V. Fokin, H. C. Kolb, K. B. Sharpless, “On water”: unique reactivity of organic compounds in aqueous suspension”. *Angw Chem Int Ed.*, Vol. 44, pp. 3275-3279, (2005).
  17. B. Saha, S. Sharma, D. Sawant, B. Kundu B, “Water as an efficient medium for the synthesis of tetrahydro- $\beta$ -carbolines vis Pictet-Spengler reactions”. *Tetrahedron Lett.*, Vol. 48, pp. 1379-1383, (2007).
  18. T. Kitanosono, K. Masuda, P. Xu, S. Kobayashi, “Catalytic organic reactions in water toward sustainable society”. *Chem Rev.*, Vol. 118, pp. 679-746, (2018).