

천연에서부터 제초활성물질의 탐색

제2보 둥근잎가정큰나무 (*Rhathiolepis ovata* Briat) 로 부터
Pinoresinal의 단리 및 생물활성

안종웅 · 최정섭 · 조광연*

The Search for Naturally Occurring Herbicidal Compounds

II. Isolation of Pinoresinol from *Rhathiolepis ovata* Briat and Its Biological Activity

Ahn J.W., J.S. Choi and K.Y. Cho*

ABSTRACT

As a result of screening search for biologically active substances to weed seeds among higher plants, MeOH extract from *Rhathiolepis ovata* Briat was found to inhibit germination of test weeds considerably.

In the course of purifying the active substances, pinoresinol which showed very similar behavior with the active fraction on various chromatographies, was isolated from the same source, spectrally identified and bioassayed.

Pinoresinol exhibited germination inhibitory activity against the common purslane (*Portulaca oleracea* L.) only; the inhibitory effect was about 55% at concentration of 5 mg/ml.

Key words : *Rhathiolepis ovata* Briat, germination inhibitor, pinoresinol, *Portulaca oleracea* L.

緒 言

第 1 報에서는 천연에서 잡초종자의 발아억제물질을 분리할 목적으로 먼저 생물검정법을 확립한 다음 45여종의 식물체의 MeOH 추출액에 대해 그 활성유무를 조사한 결과, 둥근잎가정큰나무의 MeOH 추출액이 공시 잡초종자에 대해 강한 발아 억제 활성을 나타냄을 보고 하였다.

본 연구에서는 둥근잎가정큰나무의 MeOH 추출액 속에 함유된 활성물질을 분리하는 과정에서 주 활성본체가 대단히 미량으로 존재한다는 사실과 아울러 각종 Chromatography 상에서 이 활성본체와 대단히 유사한 거동을 나타내는 물질이 다량 함유되어 있음을 발견하고, 이 물질을 결정상태로 달리하여 RO-1 이라 명명한 다음, 미량으로 존재하는 활성

본체의 화학구조에 대한 지견을 얻을 목적으로 우선, RO-1의 구조해석 및 그 생물활성을 조사하였기에 보고하고자 한다.

材料 및 方法

1. 시약 및 기기

추출과 용매분획 및 Chromatography 에 사용된 용매는 모두 시약급(EP)을 사용했으며 column chromatography용 silica gel (230-400 mesh)은 Merck 社 제품을 사용하였다.

구조분석을 위하여 IR은 JASCO A-3, ¹H-NMR은 JEOL JNM-FX 200 (199.6 MHz), ¹³C-NMR은 JEOL JNM-RX 200 (50.3 MHz), UV는 UVDEC-505, MS는 저분해능 질량분석(LRMS)용으로써 JEOL JMS-D100을 사용했

* 한국화학연구소 Korea Research Institute of Chemical Technology, Daedeogdanji, Daejeon 302-343. Korea

고, 고분해능 질량분석 (HRMS) 용으로서 JEOL JMS-OLSG 2 를 사용했다.

용점 Melting-Point App. (제일이화학기기제작소)를 사용해 측정하였다.

2. 생물검정

RO-1 을 아세톤에 용해시켜 소정농도로 처리한 다음, 공시 증자에 대한 발아억제 활성을 측정하였다. 그 측정방법은 前報에 나타난 바와 같다.

3. RO-1의 분리. 정제

둥근잎가정큰나무잎의 MeOH 추출액을 그림 1 과 같이 용매분획한 결과, 공시증자에 대해 강한 발아억제활성을 나타내는 CH₂Cl₂ 가용성의 중성획분 (CH₂Cl₂ fraction, 18g)을 다시 silica gel(100g) column chromatography를 행하여 분리하였다. 이때 사용된 solvent system은 EtOAc-n-Hexane 으로써 EtOAc의 비율을 20% → 40% → 100% 로 점차 높혀 용출시키고 마지막은 MeOH로 용출시켰다.

이들중 가장 활성이 강한 40% EtOAc fraction 을 농축하여 용매를 제거시킨후 EtOAc로 재용해 시켰을때 침전되는 무색의 RO-1의 결정을 여과, 분취한 다음 이것을 다시 EtOAc를 이용해 재결정 한 것을 구조분석에 공시하였다.

結果 및 考察

1. RO-1의 화학구조

RO-1 은 무색의 무정형결정체로 단리 되었으며 이 물질의 고분해능 MS가 M⁺m/z 358.1414 (error-0.2 mmu)를 나타냄에 따라 분자식을 C₂₀H₂₂O₆ (u_s=10)으로 결정하였다. 그리고 UV λ_{max}^{MeOH} nm(ε) : 237 (2900), 275 (2800)는 분자중에 phenol 의 존재를 시사해 주며 IR(CHCl₃)의 결과로부터 수산기 (ν 3500cm⁻¹)와 벤젠핵(ν 1610, 1520, 1460 cm⁻¹)의 존재가 추정되었다.

¹H-NMR (CDCl₃)에서는 6.90-6.82ppm에 3 개의 H에 상당하는 방향족 proton의 signal 이 나타났으며, 이중 6.82 ppm의 signal 은 그 cou-

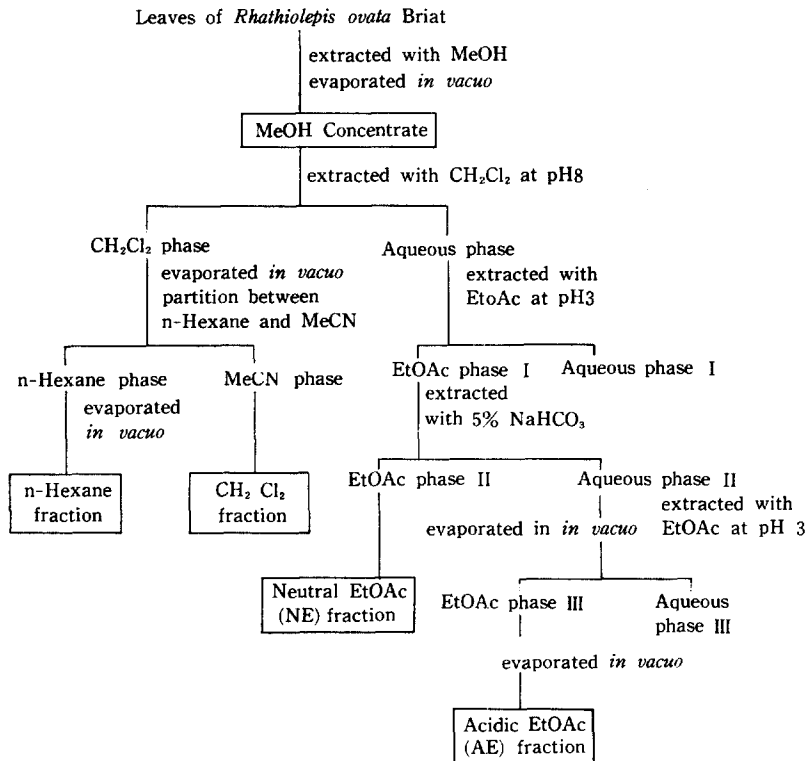


Fig. 1. Solvent Fractionation Procedure.

pling constant로부터 *ortho*- 및 *meta*-coupling을 하고 있음을 알 수 있었다. 그리고 3.91 ppm의 methoxy group은 그 chemical shift에서 benzene 고리에 치환되어 있음이 추정되며, 5.60 ppm의 signal은 D₂O를 첨가하면 사라지는 점으로 보아 수산기의 peak임을 알 수 있었다. 이 수산기도 상기한 IR 및 UV 등의 결과로 벤젠고리에 결합된 phenol의 수산기임이 추정되었으며, 이것은 ¹³C-NMR의 결과에서도 잘 뒷받침되었다. (δ_c , 144.9, 146.3 ppm). 이와 아울러 3.10-4.74ppm 사이에 존재하는 4H分の proton들에 대한 ¹H-¹H spin decoupling 실험의 결과 및 그 chemical shift로부터 RO-1은 phenyl-propanoid (C₆-C₃)의 구조를 갖고 있음이 추정되었다. 한편 ¹³C-NMR(CDCl₃)에서는 그 chemical shift로부터 6개의 SP² 탄소 (146.3-108.3 ppm)와 4개의 SP³ 탄소 (85.6-54.0ppm)로 assign 될 수 있는 10개의 signal 밖에 관찰되지 않았으며, 이것은 RO-1의 구성탄소중 절반에 해당하는 것으로써 RO-1의 구조가 상당히 대칭을 띠고 있음을 시사하였다.

이상의 사실과 더불어 RO-1의 불포화도를 감안할 때 결과적으로 RO-1은 2량체의 phenyl-propanoid 구조로 구성된 lignan의 일종으로 추정되

어 문헌을 검색한 결과, pinoresinol (1)의 ¹H-NMR⁴⁾ 및 IR spectrum(그림 2)이 RO-1의 그것과 일치하였으므로 RO-1을 pinoresinol (1)로 동정하였으며, 이 실험을 통하여 pinoresinol이 등근잎가정큰나무에 함유되어 있다는 사실이 처음으로 밝혀지게 되었다.

m. p. 118-119 °C ; ¹H-NMR (CDCl₃) : 6.90 (1H, d, J=1.7 Hz), 6.89 (1H, d, J=8.1 Hz), 6.82 (1H, dd, J=8.1, 1.7 Hz), 5.60 (1H, s), 4.74 (1H, d, J=4.4 Hz), 4.25 (1H, dd, J=9.3, 7.0 Hz), 3.91 (3H, S), 3.88 (1H, dd, J=9.3, 3.7 Hz), 3.10 (1H, ddd, J=7.0, 4.4, 3.7 Hz), ¹³C-NMR (CDCl₃) : 146.3 (S), 144.9 (S), 132.6 (S), 118.6 (d), 113.8 (d), 108.3 (d), 85.6 (d), 7.14 (t), 55.8 (q), 54.0 (q).

2. RO-1의 생물활성

일반적으로 lignan 화합물은 다양한 생리활성을 가진 화합물로 알려져 있고^{1,2,5}, 아울러 pinoresinol은 구조적으로 phenol 화합물의 범주에 속하여 잡초종자에 대한 발아 억제활성이 상당히 기대되었으나, 예상과는 달리 고농도에서 쇠비름종자에 대해 약간의 발아억제활성을 나타낼 뿐 별다른 활성은 없었다. (그림 3)

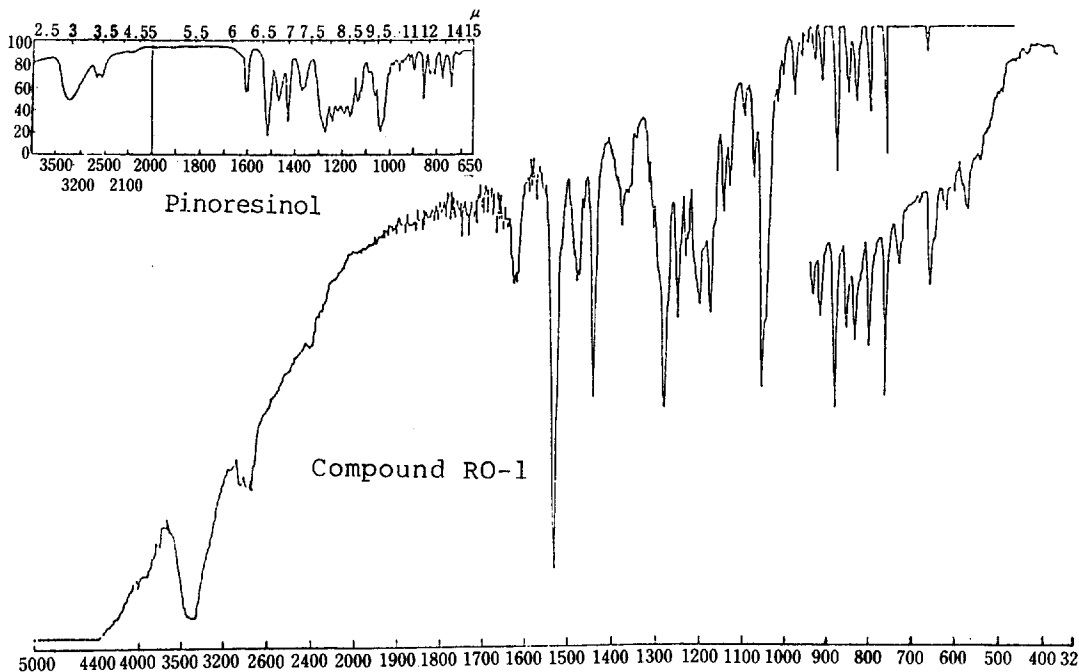


Fig. 2. Identification of RO-1 as Pinoresinol by IR Spectrum.

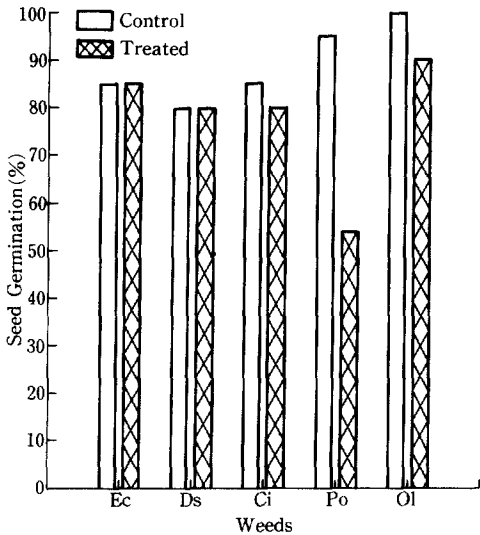


Fig. 3. Effect of pinoresinol on germination of test weeds at 5000 ppm

Ec : *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.

Ds : *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.

Ci : *Cyperus iria* L.

Po : *Portulaca oleracea* L.

OI : *Oenothera lamarckiana* Ser.

그러나, 이와 구조적으로 유사한 monoepoxyignanolid (2)³⁾ 및 monoepoxyignan (3)⁶⁾ 등은 종자발아에 강한 억제작용을 나타내는 것으로 보고 되어 있고, 또한 둥근잎가정큰나무잎의 MeOH 추출액에 함유된 주 활성분체도 상기한 바와 같이 각종 chromatography 상의 거동 및 TLC 상의 발색 등으로 미루어 볼 때, pinoresinol 과 구조가 유사한 lignan 유도체일 가능성이 높을 것으로 사려되어 구조활성 상관에 대해 매우 흥미로운 점이 있을 것으로 생각되며, 좀 더 면밀한 검토가 요망된다.

摘 要

둥근잎가정큰나무(*Rhathiolepis ovata* Briat)에 함유된 발아억제물질을 정제하는 과정에서 강한 활성을 나타내는 주 활성분체의 함유량이 미량(1 ppm 이하)임을 발견하고, 이 물질의 효율적인 분리방법

을 모색키 위하여 그 구조에 대한 지견을 얻을 목적으로 각종 chromatography 상에서 이 활성 분체와 유사한 거동을 나타내는 물질의 존재를 확인하여 분리한 후, 구조를 분석한 결과 pinoresinol임을 알 수 있었다. 이에 따라 pinoresinol 이 둥근잎가정큰나무에 존재한다는 사실이 처음으로 밝혀지게 되었으며 pinoresinol 의 공시종자에 대한 발아억제활성은 논피, 바랭이, 참방동사니, 큰달맞이꽃의 종자에는 인정되지 않았으나, 쇠비름종자에 대해서는 5000 ppm 에서 55% 정도 발아를 억제시켰다.

引用 文 獻

1. Kumada Y.H., N.T. Takeuchi, H. Umezawa, K. Yamshita and K. Watanabe. 1978. Biochemical activities of the derivatives of dehydrodicaffeic acid dilactone, J. Antibiotis, 31 : 105-111.
2. Kupchan S. M., R.W. Britton, M.F. Ziegler, C.J. Gilmore, R.J. Restivo and R.F. Bryan. 1973. Steganacin and steganagin, novel antileukemic lignan lactones from *Steganotaenia araliacea*, J. Am. Chem. Soc., 95 : 1335-6.
3. Lavie D.E., C.Levy, A. Cohen, M. Evenari and Y. Guttermann. 1974. New germination inhibitor from *Aegilops ovata* L., Nature, 249 : 388.
4. Ludwig H.B., J. Nist and J.L. McCarthy. 1964. Magnetic resonance of protons in lignin-related compounds, J. Am. Chem. Soc., 86 : 1186-1194.
5. MacRae W.D. and G.H. Neil Towers. 1984. Biological activities of lignins, Phytochemistry, 23 : 1207-1220.
6. Yoshihara T., Y. Katsuyoshi and S. Sakamura. 1982. A lignan type stress compound in potato infected with nematode (*Globodera rostochiensis*), Agric. Biol. Chem., 46 : 853-4.