

Streptomyces sp. ME-13 균주가 생산하는 anisomycin계 AB3217 화합물의 제조활성

김원곤 · 김종평 · 박동진 · 김창진 · 곽상수 · 유익동*

한국과학기술연구원 생명공학연구소

초록 : 광독립 영양세포를 이용하여 미생물유래 제조활성 물질을 탐색하던 중 강한 제조활성을 갖는 균주를 선발하고, 그 균주가 생산하는 활성 물질들을 분리 정제한 후 구조를 결정하였으며, 이들의 활성을 조사하였다. 선발된 ME-13 균주의 미생물학적 특성을 조사한 결과 Streptomyces로 동정되어 본 균주를 Streptomyces sp. ME-13으로 명명하였다. 균배양 상등액으로부터 활성탄소흡착, silica gel, MCI gel 등의 column chromatography 및 HPLC를 통하여 2 가지 활성 물질을 순수 분리하였다. 이들 화합물은 기기분석결과, anisomycin계의 AB 3217-A와 B로 각각 동정되었다. AB3217-A와 B는 25 ppm 농도에서 무우와 피의 종자 발아를 완전히 억제하였고, 종자 발아후 50% 생육저해농도는 약 6 ppm 정도로 서로 비슷하였으며 anisomycin보다 6배 정도 강한 제조활성을 보였다. 이와 같은 제조활성은 본 연구에 의하여 처음으로 밝혀졌다(1995년 10월 4일 접수, 1996년 3월 6일 수리).

서 론

*Streptomyces hygroscopicus*의 발효산물로부터 C-P 결합형 tripeptide계 제조활성 물질인 bialaphos (L-2-amino-4-[(hydroxyl)(methyl)phosphinoyl]butyryl-L-alanyl-L-alanine)가 발견되어 미생물 제조제로 개발된¹⁾ 이래 미생물 대사산물유래 제조활성물질의 탐색연구가 활발히 진행되고 있다.²⁻⁴⁾ Bialaphos는 식물 체내에서 phosphothricin으로 바뀐 다음 glutamine 합성효소를 저해하여 식물 체내에 암모니아를 축적시킴으로써 식물체에만 특이적으로 살초효과를 나타낸다는 작용기작이 밝혀지면서^{5,6)} 미생물 제조제 연구가 더욱 주목을 받게 되었다. 그후 glutamine 합성 효소 저해제로 phosalacine,⁷⁾ 식물 생육 조절물질로 pironetin,⁸⁾ peptidyl transferase 저해제로 gougerotin⁹⁾ 등이 보고되었다.

한편 미생물 대사산물로부터 제조활성물질을 탐색하기 위한 screening계로는 종자발아 검정법, whole plant 검정법, 수경 및 사경 검정법, oxygen evolution 측정법 및 광독립 영양세포 (photoautotrophic cell) 검정법등이 개발되었다. 그중 광독립 영양세포 검정법은 광합성에 의해 성장하는 식물체에만 특이적으로 반응함으로써 가축이나 인체에는 비교적 피해가 적은 화합물을 선택적으로 선발할 수 있기 때문에 매우 우수한 screening 계로 보고되었다.^{10,11)}

본 연구에서는 이상과 같은 장점을 지닌 광독립 영양세포를 이용하여 미생물 유래 제조활성 물질을 탐색하던 중 anisomycin계열의 제조활성물질을 선발하고 구조를 결정하였으며 제조활성을 규명하였기에 보고한다.

재료 및 방법

방선균의 분리 및 선발

국내 각 지역으로부터 토양시료를 채취하고 humic acid-vitamin 한천배지¹²⁾ (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 3000주를 순수 분리하였다.

제조활성 생산균주의 미생물학적 특성조사

선발균주의 미생물학적 특성조사는 ISP (International Streptomyces Project)방법¹³⁾에 준하여 조사하였다. 즉 배양적 특성은 ISP배지에서 28°C, 21일간 배양하면서 관찰하였으며 탄소원의 이용성 및 생리적 특성 등은 Pridham 및 Gottlieb 방법,¹⁴⁾ 그리고 세포벽 조성성분은 Becker방법¹⁵⁾으로 조사하였다.

제조활성물질의 분리정제

ME-13균주를 glucose-soybean meal-soluble starch 배지¹⁶⁾ (GSS배지, soluble starch 10g, glucose 22g, soybean meal 25g, beef extract 1g, yeast extract 4g, NaCl 2g, K₂HPO₄ 0.25g, CaCO₃ 2g/l, pH 7.3)를 이용하여 28°C, 1vvm, 200 rpm에서 3일간 배양한 후 배양 상등액으로부터 활성물질을 정제하였다.

제조활성물질의 물리화학적 특성 및 구조분석

순수하게 정제된 제조활성물질은 상법에 따라 융점, UV, IR 스펙트럼을 조사하였으며, 분자량 및 화학구조를

찾는말: *Streptomyces* sp., photoautotrophic cells, herbicidal metabolites, AB3217-A, AB3217-B.

*연락처

결정하기 위하여 FAB-MS (Concept-1S, Kratos Co., England) 및 NMR (Varian Unity 300, Varian Co., USA) 기기분석을 수행하였다.

광독립 영양세포주의 배양

광독립 영양세포주는 Yamada 등¹⁷⁾에 의해서 선발된 우산이끼 (*Marchantia polymorpha* L.) 세포주를 사용하였다. 즉 대수기 말기까지 배양한 우산이끼 세포주를 10 mg/ml의 농도가 되도록 현탁시킨후 24 well microtiter dishes에 1 ml씩 분주하고 methanol로 추출한 방선균 배양 상등액 100 µl를 처리하였다. 1~2%의 CO₂농도를 유지하기 위하여 2 M carbonate 완충액을 well사이에 가한 후 26°C, 100 rpm, 120 µE/m²/sec. 조건에서 배양하면서 세포주의 생육정도를 관찰하며 제조활성물질 생산균주를 선발하였다.

제조활성 검정

제조활성 검정은 Yamada 등¹⁸⁾의 방법에 의해서 무우, 피의 발아 저해활성 및 살초활성을 검정하였다. 즉 직경 9 cm의 petri dish에 여지를 깔고 정제 화합물을 단계별로 희석한 후 5 ml씩 가하여 여지를 충분히 흡습시킨후 각 종자 20립 씩을 놓고 27±1°C, 1000 lux조건하의 growth chamber에서 5일간 생육시키며 생육정도를 조사하였다. 활성평가는 시료를 처리하지 않은 작물을 대조구로 하여, 뿌리 및 줄기의 생육저해정도를 백분율로 나타냈다.

결과 및 고찰

제조활성물질 생산균주의 미생물학적 특성

방선균 3000여주의 배양액으로부터 우산이끼 광독립 영양세포주의 생육을 강력하게 저해하는 ME-13 균주를 최종적으로 선발하였으며 선발된 균주의 미생물학적 특성을 조사하여 Fig. 1 및 Table 1, Table 2에 나타냈다.

즉 선발된 ME-13 균주의 형태학적 특징은 Fig. 1과 같이 포자의 표면은 smooth하였으며, 20~40개의 포자가 나선형을 이루며 연결되어 있었다. 또한 포자의 크기는 0.6~0.8×0.9~1.1 µm이었다. 각종 배지에서의 배양적 특성을 Table 1에 나타냈다. 본 균주는 공시한 모든 배지에서 양호한 생육을 보였으며 aerial mycelium의

색상은 회색을 나타내었으며 배지 뒷면의 색상도 회색 내지는 갈색을 나타냈다. 한편 생리적 특성 및 당 이용성을 조사하여 Table 2에 나타냈다. 본 균주는 멜라닌 색소 및 수용성 색소를 생성하지 않았으며 전분은 분해하나 skim milk는 분해하지 못하였다. 당 이용성은 glucose, sucrose, mannitol, galactose등은 잘 이용하였으나 fructose, raffinose, arabinose, cellobiose등은 이용하지 못하였다. 또한 균사 세포벽 성분인 diaminopimelic acid (DAP)를 분석한 결과 LL-DAP 형태를 나타냈다. 이상의 미생물학적 특성을 종합하여 고찰한 결과, 본 균주는 *Streptomyces thermonitrificans* 또는 *Streptomyces lydicus* 균주와 매우 유사하였으나 모든 특성이 완전히 일치하지는 않았다.¹⁹⁾ 따라서 본 균주를 *Streptomyces* sp. ME-13균주로 명명하였다.

제조활성물질의 분리정제

Streptomyces sp. ME-13균주를 GSS배지에서 3일간 배양한 후 배양 상등액으로부터 제조활성물질을 분리 정제하였다. 먼저 배양 상등액 2l를 활성탄에 통과시켜 활성물질을 흡착시키고 70% methanol 및 70% acetone으로 용출시켜 각각 분획 I과 분획 II를 얻었다. 분획 I은 silica gel, MCI gel column chromatography, HPLC를 거쳐 3.2 mg의 순수한 백색 분말상의 화합물 1을 얻

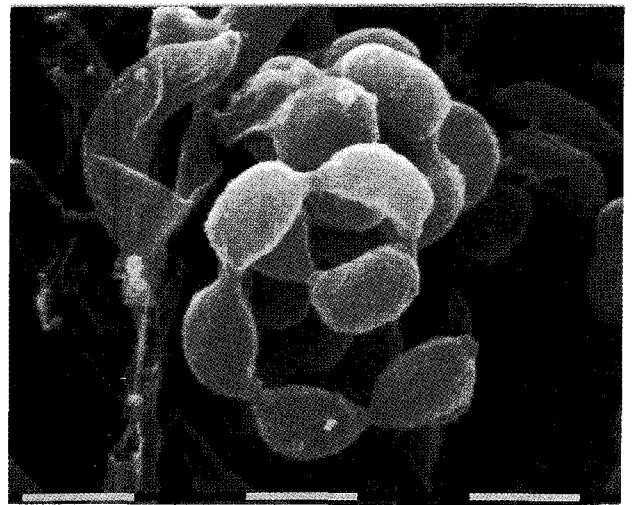


Fig. 1. Scanning electron micrograph of spore chains of strain ME-13 on ISP-2 agar incubated at 27°C for 2 weeks (x 18 000). A bar represents 1 µm.

Table 1. Cultural characteristics of strain ME-13.

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

Observation after incubation at 27°C for 2 weeks.

Table 2. Taxonomical characteristics of strain ME-13.

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

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

었다. 분획 II는 ethylacetate로 추출한 후 sephadex LH-20, MCI gel column chromatography와 TLC를 거쳐 CH₂Cl₂:MeOH=2:1의 용매 조건에서 R_f 0.5의 순수한 백색 분말상 화합물 **2**를 4.5 mg 분리하였다.

화합물 1, 2의 구조분석

(1) 화합물 1

화합물 **1**은 백색분말상으로 물과 DMSO에는 잘 용해되나 CHCl₃, MeOH 및 Me₂CO에는 난용성이었다. 물을 용매로 하여 UV흡수 스펙트럼을 측정한 결과 224, 272, 278 nm에서 최대 흡수피크를 나타내었고, FAB-MS에 의한 분자량 측정결과 (M+H)⁺ 이온 피크가 *m/z* 354에서 관측되어 본 화합물의 분자량이 353인 것으로 추정되었다. 이상의 물리화학적 특성을 근거로 data base를 검색한 결과 본 화합물은 anisomycin계열의 AB 3217-A²⁰⁾와 유사함을 알 수 있었다. 따라서 동일 화합물인지의 여부를 확인하기 위하여 DMSO-*d*₆를 용매로 하여 ¹H-NMR을 측정하고 각각의 관찰된 signal들을 AB 3217-A의 구조와 비교 분석하였다. 그 결과 6.84 및 7.20 ppm에서 상호간에 *ortho*-coupling (*J*=8.7 Hz)하는 aromatic proton signal이 관측되었고 그들의 적분치가 각각 2H 분인 것으로 보아 구조상에 1,4-치환 benzene환이 존재함을 알 수 있었다(Table 3). 1,4-치환 benzene환은 3.72 ppm에서 관측된 methoxy기와 함께 anisomycin류 화합물의 chromophore인 anisole환을 구성하는 것으로 추정되었다. 또한 4.89 ppm에 anomeric proton이, 3.8~5.4

Table 3. ¹H-NMR data for compounds **1** and **2**.

Proton	Compound 1 (500 MHz in DMSO- <i>d</i> ₆)	Compound 2 (300 MHz in D ₂ O)
1-H	4.89 s	5.41 s
3-H	4.09 m	4.65 m
4-H	3.94 m	4.53 m
5-H _a	2.42 dd, <i>J</i> =4.5, 10.6	3.24 d, <i>J</i> =12.9
5-H _b	2.84 dd, <i>J</i> =5.7, 10.7	3.62 dd, <i>J</i> =3.9, 12.9
7-H	3.42 m	4.24 dd, <i>J</i> =3.9, 10.5
8-H	4.38 d, <i>J</i> =9.5	5.37 d, <i>J</i> =10.5
10-H _a	3.68 m	3.84 m
10-H _b	3.70 m	3.94 dd, <i>J</i> =2.4, 13.5
11-H	4.17 m	4.65 m
12-H	4.00 m	4.45 d, <i>J</i> =6.9
13-H	4.00 m	5.18 s
16-H	7.20 d, <i>J</i> =8.7	7.45 d, <i>J</i> =8.7
17-H	6.84 d, <i>J</i> =8.7	7.08 d, <i>J</i> =8.7
19-H	6.84 d, <i>J</i> =8.7	7.08 d, <i>J</i> =8.7
20-H	7.20 d, <i>J</i> =8.7	7.45 d, <i>J</i> =8.7
OCH ₃	3.72 s	3.88 s
23-H		2.45 t, <i>J</i> =7.2
24-H		1.61 m
25-H		1.36 m
26-H		1.48 m
28-H		1.18 s
29-H		1.18 s

ppm 부근에 산소와 결합한 proton들이 관측되었고 이들 각각의 chemical shift치는 AB3217-A의 chemical shift치와 잘 일치하는 것을 알 수 있었다. 본 화합물의 [α]_D치가 -70°(*c* 0.05, water)으로 AB3217-A의 [α]_D치[-52.5°(*c* 1.0, water)]와 유사하며 또한 두 화합물의 부재탄소 주변의 ¹H chemical shift치가 일치하여 화합물 **1**은 AB 3217-A [(1*R*,3*S*,4*S*,7*R*,8*R*,11*R*,12*S*,13*R*)-4,12,13-trihydroxy-8-(4-methoxyphenyl)-6-aza-2,9,14-trioxatricyclo[9.2.1.0^{3,7}]tetradecane]와 같은 입체구조의 동일 화합물이 입증되었다(Fig. 2).

(2) 화합물 2

물을 용매로 하여 UV흡수 스펙트럼을 조사한 결과 화합물 **1**과 동일하여 본 화합물 또한 anisomycin류의 화합물임을 알 수 있었다. IR흡수 스펙트럼에서는 3455~3369 cm⁻¹에서 hydroxyl기, 1737 cm⁻¹에서 carbonyl group에서 유래하는 밴드가 관측되었다. ¹H-NMR 스펙트럼은 화합물 **1**과 동일한 양상을 나타내었으나, 화합물 **1**에서 관측된 signal외에 2.45, 1.61, 1.48, 1.36 ppm에 methylene proton, 1.18 ppm에 2개의 methyl proton signal이 새로이 관측되었다(Table 3). ¹³C-NMR에서는 화합물 **1**에서 유래된 signal이외에 4개의 methylene, 2개의 methyl 탄소를 비롯하여 72.4 ppm에서 *sp*³ 사급탄소, 176.3 ppm에서 carbonyl탄소 유래의 signal이 관측되었다. 이상의 NMR data에 근거하여 문헌조사를 실시한 결과 화합물 **2**는 Kanbe 등²¹⁾이 보고한 AB3217-B와 동일한 NMR스펙트럼 양상을 나타내었다. 또한 두 화합물간의

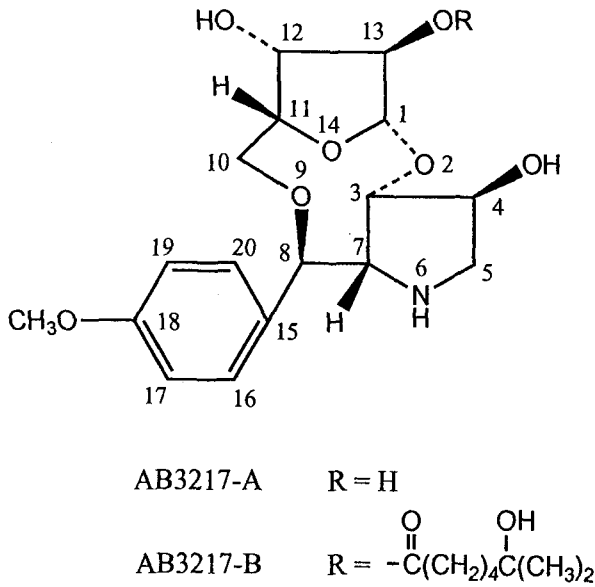


Fig. 2. The structures of AB3217-A and B.

$[\alpha]_D^{25}$ [화합물 2: -54° (c 0.19, water), AB3217-B: -68.3° (c 1.0, water)]이 유사하여 화합물 2는 AB3217-B [(1R, 3S, 4S, 7R, 8R, 11R, 12S, 13R)-4, 12, 13-trihydroxy-8-(4-methoxyphenyl)-6-aza-2, 9, 14-trioxatricyclo[9.2.1.0^{3,7}]tetradecanyl (6-methyl-6-hydroxy)heptanoate]와 동일 입체구조의 동일 화합물임이 판명되었다(Fig. 2).

AB3217-A, B 화합물의 제조활성

AB3217-A, B의 제조활성을 무우와 피에 대하여 종자의 발아 저해활성 및 살초활성을 측정하여 구조적으로 유사한 제조활성물질인 anisomycin¹⁸⁾과 비교, 조사하였다. AB3217-A는 25 ppm농도에서 무우와 피의 발아를 완전 저해하였고, 발아 후의 뿌리 및 줄기의 생육을 농도의존적으로 저해하였다(Fig. 3, 4). 무우와 피에 대한 50% 생육저해농도(EC₅₀)를 조사한 결과, AB3217-A는 각각 4.5, 7.6 ppm이었으나, anisomycin은 27.0, 39.3 ppm인 것으로 나타나 AB3217-A는 무우, 피에 대하여 anisomycin보다 각각 6.0, 5.2배 높은 제조활성을 보였다. 또한 AB3217-A의 제조활성의 선택성은 Fig. 3에서 보는 바와 같이 무우와 피에 대해서는 선택성을 거의 나타내지 않았으나, 쇠비름, 피, 바랑이, 참소리쟁이를 공시한 pot 실험에서는 특히 피, 바랑이의 잎과 줄기를 고사시키는 강한 선택적 제조활성을 나타내었다(결과 미공개). AB3217-A가 anisomycin보다 약 6배 정도 강한 활성을 보이는 이유는 *p*-methoxybenzylic 탄소원자와 pyrrolidinyl group중 3번 탄소원자 사이에 glycosidic과 ether 결합으로 β-D-xylofuranose가 연결되어 9-membered ring이 형성되었기 때문인 것으로 사료되었다. 한편, anisomycin의 pyrrolidine환의 3번 탄소에 존재하는 acetyl기가 탈락된 deacetylanisomycin은 무우, 피에 대하여 anisomycin보다 약 2배 정도 강한 제조활성을 갖는 것으로 보고된 바 있다.¹⁸⁾

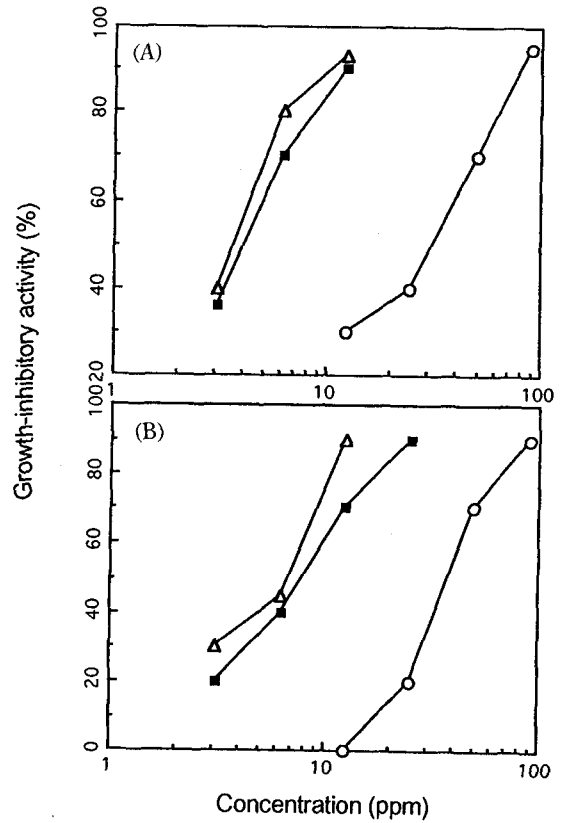


Fig. 3. Effects of AB3217-A and B against the growth of radish (A) and barnyard grass (B) after germination. ■-■, AB3217-A, △-△, AB3217-B, □-□, Anisomycin, Growth-inhibitory activity (%) = [1-(shoot length of plant treated with sample/shoot length of untreated plant)]×100.

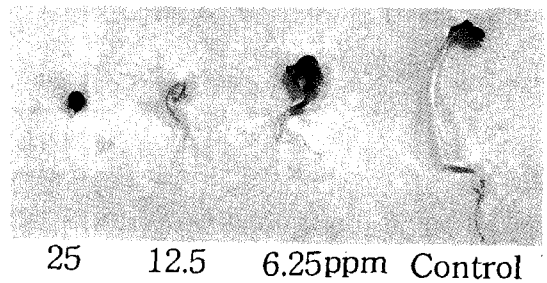


Fig. 4. Herbicidal activity of AB3217-A against radish. Seeds of radish were grown in a petri dish (9 cm in diameter, 0.6 cm deep) at 27°C for 5 days under lightening in the presence of indicated amounts of AB3217-A.

AB3217-B의 무우와 피에 대한 EC₅₀는 각각 4.2, 5.7 ppm으로, AB3217-A와는 그 활성이 비슷하였고, anisomycin보다는 각각 6.4, 6.9배 높았다. AB3217-A와 AB3217-B의 제조활성이 비슷한 점으로 미루어 β-D-xylofuranose에 연결된 aliphatic chain은 활성에 영향을 미치지 않는 것으로 해석되었다.

Anisomycin은 1954년 *Streptomyces griseolus*으로부터 *Trichomonas vaginalis*와 *Endamoeba histolytica*에 대한 강력한 활성을 갖는 항생물질로 발견되었으며,²²⁾ 쥐에

대한 LD₅₀가 150~400 mg/kg으로 비교적 독성이 적어 antiprotozoan 및 단백질 합성 저해제로 널리 쓰이고 있다.²³⁾ 최근에는 DNA 및 RNA 바이러스에 대한 항바이러스활성도 보고된 바 있다.²⁴⁾ 제조활성물질로서의 anisomycin은 1972년 Yamada 등¹⁸⁾에 의해서 재발견된 이후, Fujii 등에 의해 유도제 합성실험을 통해서 methoxyphenone (3,3'-dimethyl-4-methoxy benzophenone)라는 제조제로 개발, 실용화되었다.²⁵⁾ 이 화합물의 작용기구는 chlorophyll을 광산화로부터 보호하고 있는 carotenoid의 생합성을 저해하는 것이고, 벼와 피에 대한 반응성에서 선택성을 보인다. 즉, 발아 초기에는 두 작물 모두 chlorosis를 보이나, 생육이 진행됨에 따라 벼는 회복되고 피는 회복되지 않는다.^{5,25)} 한편 본 화합물인 AB3217-A와 B는 약 10 µg/ml의 농도에서 우산이끼 광독립영양세포를 bleaching하는 점(결과 미제재)과 위의 사실을 종합하여 볼 때, AB3217-A 및 B의 제조활성기작도 carotenoid의 생합성을 저해함으로써 일어나는 것으로 사료된다. AB 3217-A와 B는 1992년 Kanbe 등^{20,21)}에 의해서 *Streptomyces platensis*의 배양액으로부터 anti-mite활성물질로서 보고된 바 있으나, 제조활성은 본 연구에서 처음으로 규명되었다.

참 고 문 헌

- Tachibana, K. and K. Kaneko (1986) Development of a new herbicide, Bialaphos. *J. of Pestic. Sci.* **11**, 297-304.
- Sekizawa, Y and T. Takematsu (1982) How to discover antibiotics for herbicidal use. In 'Abstracts of the 5th International Congress of Pesticide Chemistry (IUPAC)', pp. 261-268, Kyoto.
- Ayer, S. W., B. G. Isaac, D. M. Krupa, K. E. Crosby, L. J. Letendre and R. J. Stonard (1989) Herbicidal compounds from microorganisms. *Pestic. Sci.* **27**, 221-223.
- Okuda, S (1992) Herbicides. In 'The Search for Bioactive Compounds from Microorganisms', Omura, S., pp 224-236. Springer-Verlag, NewYork.
- 橋 邦隆, 金子 邦夫 (1985) 除草劑としての微生物代謝産物. *植物の化學調節* **20**, 33-40.
- Krieg, L. C., M. A. Walker, T. Senaratna and B. D. McKersie (1990) Growth, ammonia accumulation and glutamine synthetase activity of alfalfa (*Medicago sativa* L.) shoots and cell cultures treated with phosphinothricin. *Plant Cell Reports* **9**, 80-83.
- Omura, S., M. Murata, H. Hanaki, K. Hinotozawa, R. Oiwa and H. Tanaka (1984) Phosalacine, a new herbicidal antibiotic containing phosphinothricin. Fermentation, Isolation, Biological activity and Mechanism of action. *J. Antibiot.* **37**, 829-835.
- Kobayashi, S., K. Tsuchiya, T. Harada, M. Nshide, T. Kurokawa, T. Nakagawa and N. Shimada (1994) Pironetin, a novel plant growth regulator produced by *Streptomyces* sp. NK 10958. *J. Antibiot.* **47**, 697-701.
- Marao, S. and H. Hayashi (1983) Gougerotin as a plant growth inhibitor from *Streptomyces* sp. No. 179. *Agric. Biol. Chem.* **47**, 1135-1136.
- Sato, F., S. Takeda and Y. Yamada (1987) A comparison of effects of several herbicides on photoautotrophic, photo-mixotrophic and heterotrophic cultured tobacco cells and seedlings. *Plant Cell Reports* **6**, 401-404.
- Thiemann, J., A. Nieswandt and B. Barz (1989) A microtest system for the serial assay of phytotoxic compounds using photoautotrophic cell suspension cultures of *Chenopodium rubrum*. *Plant Cell Reports* **8**, 399-402.
- 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.
- Shirling, E. B. and D. Gottlieb (1966) Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **16**, 313-340.
- 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.
- 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.
- 유익동 (1992) 방선균에 의한 식물생육조절물질탐색(V). 과학기술처보고서 BSN80460-431-3. pp.31-36.
- Yamada, Y. and F. Sato (1983) Selection for photoautotrophic cells. In 'Handbook of Plant Cell Culture', Evans D. E., pp489-500, Macmillan Publishing Co., New York.
- 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.
- 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.
- Kanbe, K., Y. Mimura, T. Tamamura, S. Yatagai, Y. Sato, A. Takahashi, K. Sato, H. Naganawa, H. Nakamura, T. Takeuchi and Y. Iitaka (1992) AB3217-A, a novel anti-mite substance produced by a strain of *Streptomyces platensis*. *J. Antibiot.* **45**, 458-464.
- Kanbe, K., A. Takahashi, T. Tamamura, K. Sato, H. Naganawa and T. Takeuchi (1992) Isolation and structures of two novel anti-mite substances, AB3217-B and C. *J. Antibiot.* **45**, 568-571.
- Sobin, B. A. and F. W. Tanner, Jr. (1954) Anisomycin, a new anti-protozoan antibiotic. *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 4053.
- Grolloman, A. P. (1967) Inhibitors of protein biosynthesis. II. Mode of action of anisomycin. *J. Biol. Chem.* **242**, 3226-3233.
- Meaney, C. A. and J. C. Glorioso (1994) Evaluation of herpes simplex vectors for virus-mediated gene suppression in the CNS. *J. Cell. Biochem.* **18A**, 246-250.
- 竹松哲夫 (1982) Methoxyphenone. '除草劑研究總覽', p 697-700, 博友社, 東京

AB3217-A and B, herbicidal compounds related to anisomycin from *Streptomyces* sp. ME-13
Won-Gon Kim, Jong-Pyung Kim, Dong-Jin Park, Chang-Jin Kim, Sang Soo Kwak and Ick-Dong Yoo* (*Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST, Taejeon 305-600, Korea*)

Abstract: During the screening of herbicidal substances from microbial secondary metabolites using photoautotrophic cells, a strain of ME-13 with strong herbicidal activity was isolated from soil. Based on the taxonomic studies, the strain was identified as *Streptomyces*. Two active compounds were purified from the culture broth through the column chromatographies using active charcoal, silica gel, MCI gel, and ODS HPLC. The compounds were identified as AB3217-A and B, respectively, related to anisomycin by spectroscopic methods. AB3217-A and B completely suppressed the germination of radish and barnyard grass at 25 ppm. In comparison to anisomycin, they showed the 6 times higher inhibitory activities against the growth of shoot and root of radish and barnyard grass with EC50 of around 6 ppm.

*Corresponding author