

## Monoglyceride 관련물질의 Brassinosteroid-like 생물활성

박종대 · 박근형\*

전남대학교 식품공학과

**초록 :** Monoglycerides, diglycerides, triglycerides와 free fatty acids를 대상으로 brassinosteroid검정용 생물검정법인 rice inclination test에 의해 생물활성을 검정하였다. Monoglycerides 뿐만 아니라 diglycerides, triglycerides 그리고 free fatty acids의 일부도 이 생물검정법에 양성을 나타냈다. 활성을 나타낸 물질중  $\alpha$ -monoolein, diolein은 동일 농도의 indole-3-acetic acid 보다 높은 생물활성을 나타내어 olein 관련물질이 특히 높은 생물활성을 갖는 흥미로운 사실을 확인할 수 있었다.(1997년 4월 7일 접수, 1997년 5월 20일 수리)

### 서 론

식물의 생장, 발아, 개화 등의 생리현상이 무엇에 의해 제어되고 있는가라는 문제는 예로부터 자연과학의 주요 연구과제로 추구되어 왔다. 많은 연구의 결과, 이러한 생리현상이 auxin, gibberellin, cytokinin, abscisic acid, ethylene 등 5종의 plant hormone을 중심으로 내생의 식물 생리활성 물질에 의해 제어되고 있음이 조금씩 알려지고 있다.

1979년 Grove 등<sup>1)</sup>에 의해 steroid 골격 구조를 갖는 생장 조절 물질로 brassinolide가 단리되자, brassinosteroid로 총칭되는 brassinolide 및 그 동족체는 제6의 식물 hormone으로 등장되었으며, brassinosteroid는 gibberellin 발견 이후 가장 주요한 발견으로 평가되고 있다.<sup>2)</sup> Brassinosteroid에 관한 연구는 식물의 brassinosteroid 탐색, brassinosteroid의 생리작용과 응용연구 등을 생각할 수 있으나, 가장 핵심적이고 시급한 것은 식물이 생산하고 있는 brassinosteroid-like 활성물질의 탐색일 것이다.

한편, 생물체에 함유된 미량의 생물활성물질을 탐색하거나 활성물질을 단리하기 위해서는 생물검정법(bioassay)이 필수 불가결한 수단이 되고 있음은 주지의 사실이다. Brassinosteroid 검출 생물검정법은 종래의 auxin 검정법을 중심으로 검토되어, 그 중 벼의 조직을 이용한 rice inclination test 검정법<sup>3)</sup>이 감도와 검출 특성이 좋아 세계적으로 널리 이용되고 있다. 저자들도 이 생물검정법을 지표로 결명자(*Cassia tora*), 벼(*Oryza sativa*), 들깨(*Perilla frutescens*) 그리고 담배(*Nicotiana tabacum*) 배양세포를 대상으로 brassinosteroid-like 활성물질의 탐색을 시도하여, 결명자에서 5종, 벼에서 3종, 들깨에서 1종의 brassinosteroid를 동정하였으며 이와 함께 결명자, 벼, 들깨 그리고 담배 배양세포에 함유된 rice inclination test 양성을  $\alpha$ -monopalmitin,  $\alpha$ -monoolein,  $\alpha$ -monolinolein을 단리하여 보고하였다.<sup>4,5)</sup>

지금까지 rice inclination test에 양성을 나타내는 물질은 brassinosteroid와 auxin이 알려져 있었는데, 전혀 구조가 다른 monoglycerides가 이 생물검정법에 양성을 나타냄은 대단히 흥미로운 사실이었다. 식물 및 배양세포에서 brassinosteroid-like 활성물질로 동정된 monoglycerides의 생리적 기능 등에 관해서는 추후 검토가 이루어질 것으로 예상되나, 우선적으로는 monoglycerides 관련물질의 생물활성을 검정할 필요가 있다.

여기에서 전보<sup>4,5)</sup>에서 활성물질로 단리된 물질을 포함한 monoglycerides와 diglycerides, triglycerides 그리고 free fatty acids를 대상으로 rice inclination test 생물검정법에 의한 생물활성을 검정하여 얻어진 결과를 보고한다.

### 재료 및 방법

#### 실험재료

monoglycerides, diglycerides, triglycerides, free fatty acids 및 indole-3-acetic acid(IAA)는 Sigma사에서 구입하여 사용하였다.

#### 생물검정법

Monoglycerides, diglycerides, triglycerides, free fatty acids의 생물활성 검정은 상풍벼의 조직을 이용한 Park 등<sup>6)</sup>의 생물검정법(rice inclination test)에 의하여 활성을 측정하였다. 즉, 암조건하에서 6일간 균일하게 생육된 유묘를 선택하여 lamina joint 밑으로 1~2 cm 정도를 절단한다. 얻어진 leaf segment를 증류수가 담긴 petri dish에 띄운 후, 항온기에 넣어 적색광 조건하에서 30°C를 유지시키면서 하룻밤 동안 배양한 다음, 각도(180°C에서 제 2본엽의 엽신과 엽초에 의해 이루어진 각도를 뺀 값)가 10~15°로 균일한 leaf segment를 선발한다. 그리고 용매가 제거된 검정시료가 담긴 petri dish에 pH 6.5의 완충용액(1 mM, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>+

찾는말 : brassinosteroid-like activity, rice inclination test, monoglycerides  
\*연락처자

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 10 ml를 가하고, 선발된 leaf segment 8개를 겹치지 않게 띄워 30°C 암조건의 항온기에서 48시간 배양한 후 각도를 측정하여 활성도를 검정하였다.

#### Glycerides와 free fatty acids의 생물활성 검정

Monoglycerides( $\alpha$ -monopalmitin,  $\alpha$ -monopalmitolein,  $\alpha$ -monostearin,  $\alpha$ -monoolein,  $\alpha$ -monoelaidin,  $\alpha$ -monolinolein), diglycerides[dipalmitin (1,2-dipalmitin과 1,3-dipalmitin 각 50% 혼합물), 1,3-dipalmitolein, distearin(1,2-distearin과 1,3-distearin 각 50% 혼합물), 1,3-diolein, 1,3-dielaidin, 1,3-dilinolein], triglycerides(tripalmitin, tri-palmitolein, tristearin, triolein, trielaidin, trilinolein)와 free fatty acids(palmitic acid, palmitoleic acid, stearic acid, oleic acid, elaidic acid, linoleic acid)를 *n*-hexane으로 녹여서 1, 5, 10, 50, 100, 500  $\mu\text{M}$  농도가 되게 취한 후 생물 검정하였다. 이때 대조구로 IAA는 1, 10, 100  $\mu\text{M}$  농도, brassinolide는 0.1, 0.5, 1.0 nM 농도가 되도록 취하여 동시에 생물검정하였다.

#### Brassinosteroid와 monoglycerides 혼합용액의 생물활성 검정

Brassinolide 0.1 nM에 monoglycerides를 각각 5, 50, 500  $\mu\text{M}$ 의 농도로 혼합되도록하여 생물검정하였다.

#### 결과 및 고찰

#### Monoglycerides의 생물활성

6종의 monoglycerides와 brassinolide 및 IAA를 대상으로 rice inclination test 생물검정법에 의해 측정된 생물활성을 Table 1에 나타냈다. 6종의 monoglycerides 중  $\alpha$ -monostearin을 제외한 5종에서 양성반응을 나타냈으며, 활성의 크기는 100  $\mu\text{M}$  농도에서  $\alpha$ -monoolein >  $\alpha$ -monoelaidin >  $\alpha$ -monopalmitin >  $\alpha$ -monolinolein >  $\alpha$ -monopalmitolein 순이었다. 이중 가장 높은 활성을 보인  $\alpha$ -monoolein은 같은 농도의 IAA 보다 높은 활성을 보였으며, brassinolide 1 nM의 농도와 유사한 활성을 보였다. 그리고 가장 활성이 높았던  $\alpha$ -monoolein의 경우 500  $\mu\text{M}$ 에서는 오히려 굴절 각도의 감소를 보여 100  $\mu\text{M}$  농도 부근에서 최대 활성을 나타냈다.

이 결과로 보아 탄소수 16~18개의 다중결합이 있는 monoglycerides가 생물활성을 나타냈는데, 특히 탄소수 18개를 가지면서 double bond가 한 개 있는  $\alpha$ -monoolein이 가장 활성이 높았고, 이의 이성체인  $\alpha$ -monoelaidin도 높은 경향을 나타냈다.

#### Diglycerides의 생물활성

6종의 diglycerides를 대상으로 rice inclination test 생물 검정법에 의해 활성을 검정한 결과를 Table 2에 나타냈다. 대부분의 diglycerides에서는 활성이 나타나지 않았으나 monoolein이 두개 결합된 diolein에서만 활성이 나타났다. 100  $\mu\text{M}$  농도의 diolein은 109°의 높은 활성을 보여, 동일한

Table 1. Biological activities of monoglycerides by the rice inclination test

Compound	Degree <sup>1)</sup> of inclination at concentration ( $\mu\text{M}$ )					
	1	5	10	50	100	500
$\alpha$ -monopalmitin	51±4.3	53±4.9	57±7.1	58±6.0	63±6.9	47±8.6
$\alpha$ -monopalmitolein	50±4.7	48±6.8	50±2.4	52±2.5	45±4.9	47±4.3
$\alpha$ -monostearin	43±3.3	45±4.9	42±5.5	42±5.1	41±8.3	48±3.5
$\alpha$ -monoolein	50±3.6	47±8.2	62±4.5	64±9.1	110±6.2	103±7.9
$\alpha$ -monoelaidin	59±8.1	53±6.2	60±9.9	86±6.9	75±9.6	96±4.8
$\alpha$ -monolinolein	59±6.5	60±4.1	55±7.8	63±9.2	60±5.0	90±9.8
indole-3-acetic acid	49±4.9	—	58±4.6	—	85±6.1	—
brassinolide	57±4.9 <sup>2)</sup>	89±4.5 <sup>3)</sup>	112±5.3 <sup>4)</sup>	—	—	—

control : 44±4.7, <sup>1)</sup>180°-angle between the lamina and sheath with±S.D. (n=8), <sup>2)</sup>0.1 nM, <sup>3)</sup>0.5 nM, <sup>4)</sup>1.0 nM.

Table 2. Biological activities of diglycerides by the rice inclination test

Compound	Degree <sup>1)</sup> of inclination at concentration ( $\mu\text{M}$ )					
	1	5	10	50	100	500
dipalmitin	44±2.4	52±3.5	45±6.6	45±6.3	47±5.6	45±6.5
dipalmitolein	38±6.4	46±2.6	53±5.0	46±6.5	46±5.3	42±4.5
distearin	42±4.7	45±6.3	47±5.7	42±7.9	41±3.8	45±6.6
diolein	63±5.6	49±6.1	49±8.6	45±6.1	109±4.6	85±6.4
dielaidin	48±6.0	48±8.4	45±7.9	38±7.0	57±5.7	51±8.1
dilinolein	47±4.9	44±3.0	51±5.2	50±6.5	42±9.4	56±5.4
indole-3-acetic acid	49±4.9	—	58±4.6	—	85±6.1	—
brassinolide	57±4.9 <sup>2)</sup>	89±4.5 <sup>3)</sup>	112±5.3 <sup>4)</sup>	—	—	—

control : 44±4.7, <sup>1)</sup>180°-angle between the lamina and sheath with±S.D. (n=8), <sup>2)</sup>0.1 nM, <sup>3)</sup>0.5 nM, <sup>4)</sup>1.0 nM.

Table 3. Biological activities of triglycerides by the rice inclination test

Compound	Degree <sup>1)</sup> of inclination at concentration ( $\mu\text{M}$ )					
	1	5	10	50	100	500
tripalmitin	44±3.2	44±5.9	39±6.0	43±2.1	45±8.8	43±9.6
tripalmitolein	56±5.5	51±4.7	52±5.3	48±2.7	44±6.5	40±9.8
tristearin	39±6.6	48±8.7	47±8.9	44±5.5	40±7.8	49±5.7
triolein	58±9.4	60±7.4	66±9.6	50±5.9	83±6.2	95±8.5
trielauidin	50±6.4	58±3.5	41±8.4	47±6.0	46±8.5	45±6.4
trilinolein	46±2.3	47±3.8	46±5.0	47±2.9	71±9.8	76±8.0
indole-3-acetic acid	49±4.9	-	58±4.6	-	85±6.1	-
brassinolide	57±4.9 <sup>2)</sup>	89±4.5 <sup>3)</sup>	112±5.3 <sup>4)</sup>	-	-	-

control : 44±4.7, <sup>1)</sup>180°-angle between the lamina and sheath with  $\pm$  S.D. (n=8), <sup>2)</sup>0.1 nM, <sup>3)</sup>0.5 nM, <sup>4)</sup>1.0 nM.

농도의 IAA 보다 높은 생물활성을 보였다.

### Triglycerides의 생물활성

Triglycerides의 생물활성을 검정한 결과를 Table 3에 나타냈다. 6종의 triglycerides 중 triolein과 trilinolein에서 생물활성이 나타났다. 활성의 크기는 triolein이 trilinolein 보다 더 높은 활성을 보였는데, triolein 100  $\mu\text{M}$  농도에서 83°의 활성을 나타내어 같은 농도의 IAA와 유사하거나 약간 낮은 활성을 나타냈다.

### Free fatty acids의 생물활성

6종의 free fatty acids의 생물활성을 검정한 결과를 Table 4에 나타냈다. free fatty acids는 대부분 활성이 나타지 않았으나 50  $\mu\text{M}$  농도 이상에서는 oleic acid가 활성이 인정되었다. oleic acid의 100  $\mu\text{M}$  농도의 활성은 동일 농도의 IAA 보다 훨씬 낮은 활성을 나타냈다. 그리고 같은 농도의  $\alpha$ -monoolein, diolein, triolein 등의 glycerides가 갖는 생물활성보다 낮은 활성을 나타냈다.

### Brassinosteroid와 monoglycerides 혼합용액의 생물활성

brassinolide 0.1 nM에 3종의 monoglycerides를 각각 5, 50, 500  $\mu\text{M}$  공존시킨 혼합용액의 생물활성을 검정한 결과

Table 4. Biological activities of free fatty acids by the rice inclination test

Compound	Degree <sup>1)</sup> of inclination at concentration ( $\mu\text{M}$ )					
	1	5	10	50	100	500
palmitic acid	40±5.5	47±5.6	44±6.5	43±5.7	53±7.1	46±8.6
palmitoleic acid	39±6.2	60±6.4	48±5.4	45±7.3	47±6.4	41±7.2
stearic acid	48±6.4	45±6.5	40±7.6	47±8.7	42±6.3	60±5.1
oleic acid	50±8.1	56±3.5	53±5.3	66±5.4	67±3.2	76±6.9
elaidic acid	44±5.4	42±9.4	40±9.1	53±6.6	55±7.5	50±3.3
linoleic acid	43±7.9	50±5.7	44±6.4	49±4.6	51±3.8	44±6.5
indole-3-acetic acid	49±4.9	-	58±4.6	-	85±6.1	-
brassinolide	57±4.9 <sup>2)</sup>	89±4.5 <sup>3)</sup>	112±5.3 <sup>4)</sup>	-	-	-

control : 44±4.7, <sup>1)</sup>180°-angle between the lamina and sheath with  $\pm$  S.D. (n=8), <sup>2)</sup>0.1 nM, <sup>3)</sup>0.5 nM, <sup>4)</sup>1.0 nM.

Table 5. Biological activities of brassinolide and monoglycerides solution by the rice inclination test

Compound	Degree <sup>1)</sup> of inclination at concentration ( $\mu\text{M}$ )		
	5	50	500
brassinolide 0.1 nM+ $\alpha$ -monopalmitin	72±5.0	76±6.4	78±5.8
brassinolide 0.1 nM+ $\alpha$ -monoolein	73±5.9	79±5.7	99±7.4
brassinolide 0.1 nM+ $\alpha$ -monolinolein	70±8.0	83±6.7	96±6.8

control : 43±3.3, <sup>1)</sup>180°-angle between the lamina and sheath with  $\pm$  S.D. (n=8)

를 Table 5에 나타냈다. monoglycerides 5  $\mu\text{M}$  농도 첨가구에서는 각각의 생물활성보다 약간 높은 활성을 나타냈으나 고농도의 monoglycerides 첨가구에서는 생물활성의 증가가 인정되지 않았다. 이러한 결과는 저농도 첨가구의 생물활성은 brassinolide 0.1 nM에서 발현되는 활성과 monoglycerides가 나타내는 각각의 생물활성이 합하여 나타난 활성의 크기라고 생각되어지며 상승효과로는 인정될 수 없었다.

이상의 monoglycerides, diglycerides, triglycerides, free fatty acids를 대상으로, brassinosteroid 검정용 생물검정법으로 확립된 rice inclination test로 생물활성을 검정한 결과, monoglycerides 뿐만 아니라 diglycerides와 triglycerides, 그리고 free fatty acids의 일부도 이 생물검정법에 양성을 나타냄을 확인할 수 있었다. 이중  $\alpha$ -monoolein, diolein은 동일한 농도의 IAA보다 높은 활성을 나타냈다. 이들 물질 가운데 특히 탄소수 18개와 이중결합이 하나인 olein 관련물질이 높은 생물활성을 나타낸다는 흥미스러운 사실을 확인할 수 있었다.

Glycerides의 구조와 활성발현과의 상관관계, 그리고 이들 물질의 식물체내에서의 생리적 기능 등에 관한 연구가 추후 이루어지길 기대한다.

### 감사의 글

본 연구는 서울대학교 농업생물신소재연구센터를 통한 한국과학재단우수연구센터의 지원에 의한 연구결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

### 참 고 문 헌

- Grove, M. D., G. F. Spencer, W. K. Rohwedder, N. Mandava, J. F. Worley, J. D. Warthen, G. L. Steffens, J. L. Flippen-Anderson and J. C. Cook (1979) Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. *Nature*, **281**, 216-217.
- Adam, G. and Marquardt, V. (1986) Brassinosteroids. *Phytochemistry*, **25**, 1787.
- Wada, K., S. Marumo, H. Abe, T. Morishita, K. Nakamura, M. Uchiyama and K. Mori (1984) A rice laminar inclination test—A micro-quantitative bioassay for brassinosteroids. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 719-726.
- Park, K. H., J. D. Park, K. H. Hyun, M. Nakayama and T.

- Yokota (1994) Brassinosteroids and monoglycerides in immature seeds of *Cassia tora* as the active principles in the rice lamina inclination bioassay. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 1343-1344.
5. Park, K. H., J. D. Park, K. H. Hyun, M. Nakayama and T. Yokota (1994) Brassinosteroids and monoglycerides with brassinosteroid-like activity in immature seeds of *Oryza sativa* and *Perilla frutescens* and in cultured cells of *Nicotiana tabacum*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 2241-2243.
6. Park, K. H., K. H. Hyun and D. Y. Kim (1986) An assay method with lamina joints of Korean rice., *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, **29**, 22-28.

### Brassinosteroid-like Activity of Monoglyceride Analogues

Jong-Dae Park and Keun-Hyung Park\*(*Department of Food Science and Technology, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea*)

**Abstract :** The biological activity of monoglycerides, diglycerides, triglycerides and free fatty acids were investigated by the rice inclination test that is specific bioassay for brassinosteroids. The experimental results revealed that some diglycerides, triglycerides and free fatty acids as well as monoglycerides showed positive response.  $\alpha$ -Monoolein and diolein as active principles showed higher activity than indole-3-acetic acid at the same concentration. From the results, it can be confirmed that the active principles are related to olein which especially have a high activity.

**Key words :** brassinosteroid-like activity, rice inclination test, monoglycerides

\*Corresponding author