

## 식물 특정효소저해제의 생물활성 조사에 의한 신규제초제 작용점 탐색

황인택\* · 최정섭 · 박상희 · 이관휘 · 이병희 · 홍경식 · 조광연

한국화학연구소 스크리닝 연구부

**요약** : 본 연구는 새로운 제초제 후보물질을 탐색하기 위하여 식물특이적 효소 저해제로 알려진 107개 기존 화합물에 대하여 생물활성을 조사하였다. Germination test, seedling assay, wheat leaf disc assay, cyanobacteria assay, whole plant assay를 통하여 15종의 저해제를 선발하였고 이들은 34종 효소를 저해하는 것으로 확인되었다. 이들 화합물 중에서 phenylhydrazine, purine, o-phenanthroline, oleylamine, 7,8-benzoquinoline, aminooxyacetic acid, dicyclohexylcarbodiimide 등은 성체를 이용한 온실 실험에서 높은 제초활성을 나타내었다. 7,8-benzoquinone, 8-hydroxyquinoline, 2,2'-dipyridyl 및 o-phenanthroline 등은 피, 벼, 토마토의 발아를 1.25~5  $\mu$ M의 농도에서도 억제하였다. 7,8-benzoquinoline, cyanuric fluoride, 4-methylpyrazole, tranylcypromine, oleylamine과 trifluoperazine 등은 30~100  $\mu$ M 농도에서 cyanobacteria의 생육을 저해하였다. Dicyclohexyl carbodiimide와 chlorpromazine은 100  $\mu$ M 농도에서 wheat leaf disc의 백화현상을 유기시켰다. 이상과 같이 생물학적 활성을 갖는 식물 특이적 효소 저해제들은 신규제초제 후보물질을 선발하기 위한 새로운 대상효소로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.(2000년 12월 14일 접수, 2001년 2월 9일 수리)

Key words : inhibitor, herbicide, biological activity, plant-specific enzyme, searching target.

### 서 언

신규농약개발을 위하여 지금까지 전 세계적으로 이용되어 온 스크리닝 방법은 이미 잘 알려진 농약 또는 천연물질을 모체로 유도체를 합성하고, 이를 식물체에 직접 처리하여 효과를 확인하는 random-screening과 이른바 "Me-Too" 합성 등이 대부분이었다. 그러나 신농약 개발의 확률을 높이기 위하여 유사계통의 유기합성 화합물을 대상으로 조직 또는 작용점을 이용하는 biorational approach 개념이 최근에 이용되고 있다(Saari, 1999; 이 등, 1996). 또한 빠르고, 많은 종류의 화합물을 동시에 스크리닝하기 위하여 대량고속약효검색법(high throughput screening, HTS)도 개발되고 있다(Broach와 Thorner, 1976; 畑中, 2000).

그러나 최근에는 환경오염과 보건위생에 대한 관심이 고조되어 신규 농약들의 구비조건이 고도의 선택성 외에 환경친화성과 인축에 대한 독성 등에서 더욱 까다롭기 때문에 random-screening에 의한 개발 확률이 더욱 낮아지고 있다(이 등, 1996; 松中, 2000).

따라서 신규 농약원제를 개발하기 위한 후보물질 도출경로를 다양화하는 것이 필요하며 이에 는 지금까지 연구된 식물 특이적 대사과정에 관여하는 효소 저해제를 대상으로 생물활성을 조사하는 것도 하나의 선도물질 선발의 한 경로가 될 수 있다(Rendina와 Abell, 1994). 이러한 개발경로는 선도물질로부터 유도체 합성 및 생리활성 분석, 효소활성 측정법 확립, 저해된 효소로부터 살초작용기작 분석, 특이적인 생리활성 연구 및 assay방법 확립 등이 random screening에 비해 보다 수월하다는 장점이 있다.

따라서 본 연구는 각종 참고문헌과 논문을 통하여 조사

한 식물 특이적 효소저해제를 구입하여 식물에 대한 생리활성을 *in vitro* 또는 *in vivo* 시험으로 조사하고 이를 통한 선도 후보물질과 신규 작용점으로서의 저해효소를 선발하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 약제선발

시험에 사용한 화합물은 기존문헌 조사를 통하여 제조활성이 기대되는 화합물을 선발하였다(Dey와 Harborne, 1997; Cobb, 1992; Weller 등, 1993; Devine 등, 1993; Dawson 등, 1986; Zolliner, 1993; Dagley와 Nicholson, 1970; Hatzios와 Hoagland, 1989; Kearney와 Kaufman, 1988; Anderson, 1996). 조사된 화합물은 Sigma 및 Aldrich chemical(USA)로부터 구매하였으며 알파벳 순서로 정리하여 HIT-일련번호로 코드화 하였다(표 1).

#### 온실시험

밭 토양을 표면적 350 cm<sup>2</sup>의 플라스틱 포트에 담고 수수, 돌피, 개밀, 바랭이, 미국개기장, 메꽃, 도꼬마리, 어저귀, 자귀풀, 까마중 종자를 파종 복토한 후 구입한 화합물질을 발아전도양처리와 발아후경엽처리 하였다. 약제처리는 용매와 계면활성제(tween-20, 0.1%)를 첨가한 유제형태로 조제한 후 물로 희석하여 8 kg/ha의 단일농도로 분무처리(4000 L/ha)하였다. 단일농도 처리에서 90% 이상의 제초활성을 보이거나 특징적인 증상을 발현하는 약제는 처리농도를 공비 1/2로 감소시켜가면서 5단계로 처리하여 약제처리 2주 후 무처리에 대한 제초활성을 달관조사(0~100) 하였다(Streibig와 Kudsk, 1993).

\*연락처

**Table 1. Compounds used in this study**

| HIT No. | Compound                           | HIT No. | Compound                                      | HIT No. | Compound                       |
|---------|------------------------------------|---------|---|---------|--------------------------------|
| 001     | $\alpha$ -Aminobutyric acid        | 037     | Diallylsulphide                               | 073     | <i>N</i> -Ethylmaleimide       |
| 002     | Acacetin                           | 038     | 6-Diazo-5-oxo- <i>L</i> -norleucine           | 074     | Niclosamide                    |
| 003     | Acetohydroxamate                   | 039     | Dicumarol                                     | 075     | Nordihydroguaiaretic acid      |
| 004     | Acetopyruvic acid                  | 040     | Dicyclohexylcarbodiimide                      | 076     | Oleylamine                     |
| 005     | <i>N</i> -Acetylimidazole          | 041     | Diethylpyrocarbonate                          | 077     | Oxalacetic acid                |
| 006     | Acrolein                           | 042     | Dihydroxyacetone                              | 078     | Oxalic acid                    |
| 007     | Agaricic acid                      | 043     | Dinoseb                                       | 079     | Oxamic acid                    |
| 008     | Agmatine                           | 044     | 2,2'-Dipyridyl                                | 080     | 2-Oxoglutaric acid             |
| 009     | Albizzin                           | 045     | 5,5'-Dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) aldehyde | 081     | 3-Oxoglutaric acid             |
| 010     | Alizerin                           | 046     | D,L-Ethionine sulphone                        | 082     | <i>o</i> -Phenanthroline       |
| 011     | 3-Amino-1,2,4-triazole             | 047     | Ethoxyquin                                    | 083     | Phenolphthalein                |
| 012     | 4-Amino-5-imidazole carboxamide    | 048     | Ethoxyformic acid                             | 084     | Phenylhydrazine                |
| 013     | 1-Aminobenzotriazole               | 049     | Ethylacetoacetic acid                         | 085     | Phenylpyruvic acid             |
| 014     | D-2-Aminobutyric acid              | 050     | Ethyleneglycolmono methylether                | 086     | Phospho-ribosylpyrro phosphate |
| 015     | Aminoxyacetic acid                 | 051     | Ferulic acid                                  | 087     | Primaquine                     |
| 016     | D,L-2-Aminovaleric acid            | 052     | Gallic acid                                   | 088     | Propionic acid                 |
| 017     | Ampicillin                         | 053     | Genistein                                     | 089     | Purine                         |
| 018     | Apigenin                           | 054     | Glucosamine 6-phosphate                       | 090     | Putrescine                     |
| 019     | Azelaic acid                       | 055     | Glyceraldehyde                                | 091     | Pyridine 2,4-dicarboxylic acid |
| 020     | Baicalein                          | 056     | Glyoxylic acid                                | 092     | Pyridoxal                      |
| 021     | 7,8-Benzoquinoline                 | 057     | Glyphosate                                    | 093     | Pyrophosphate                  |
| 022     | Bilirubin                          | 058     | Gossypol                                      | 094     | Rhodamin B                     |
| 023     | Bromoxynil                         | 059     | D-Gulono-1,4-lactone                          | 095     | <i>S</i> -adenosylmethionine   |
| 024     | Caffeic acid                       | 060     | Hydroxynorvaline                              | 096     | Sebaic acid                    |
| 025     | Canavanine                         | 061     | 8-Hydroxyquinoline                            | 097     | Sitosterol                     |
| 026     | Cephalothin                        | 062     | Iproniazid                                    | 098     | Spermidine                     |
| 027     | <i>o</i> -Chlorocinnamic acid      | 063     | Isonicotinic acid                             | 099     | Spermine                       |
| 028     | Chlorogenic acid                   | 064     | Itaconic acid                                 | 100     | Succinic acid                  |
| 029     | Chlorpromazine                     | 065     | Kojic acid                                    | 101     | Suramin                        |
| 030     | Cinnamic acid                      | 066     | Malonic acid                                  | 102     | Tetradecane                    |
| 031     | Citric acid                        | 067     | 6-Methylaminopurine                           | 103     | Tetrahydrofurane               |
| 032     | <i>L</i> -Citrulline               | 068     | Methylglyoxal                                 | 104     | Tranlylcypromine               |
| 033     | <i>p</i> -Coumaric acid            | 069     | <i>N</i> -Methyloctadecylamine                | 105     | Traumatic acid                 |
| 034     | Cyanide                            | 070     | 4-Methylpyrazole                              | 106     | Trifluoperazine                |
| 035     | Cyanuric fluoride                  | 071     | Methylthioadenosine                           | 107     | Ubiquinone-5                   |
| 036     | 1,1-Cyclopropane dicarboxylic acid | 072     | 2-Naphthoic acid                              |         |                                |

### 발아시험

직경 6 cm의 Petri dish에 솜을 깔고 각 화합물 1 mM 단일농도의 약액 8 mL씩 처리하였다. 처리한 탈지면 위에 동진벼 5립과 식용피 종자 30립을 파종하고 25°C, 12/12h (L/D) 조건의 생육상에서 생육시킨 후 1주일 동안의 발아율과 초기생육에 대한 영향을 조사하였다. 농도 확대 시험은 발아 억제율 90% 이상의 효과를 가진 화합물을 대상으로 1, 0.3, 0.1, 0.03, 0.01 mM로 희석 처리하였고, 발아 억제력이 가장 강했던 4개의 화합물에 대해서는 벼, 피, 토마토를 대상으로 20, 5, 1.25, 0.31, 0.078  $\mu$ M로 희석 처리하였고 위의 방법과 동일한 방법으로 발아저해력을 조사하였다(Streibig와 Kudsk, 1993; Böger와 Sandmann, 1992).

### Cyanobacteria 생육억제 시험

Cyanobacteria 배양용기에 BG-11(Castenholz, 1988)를 넣고 2주일 동안 배양시킨 cyanobacteria 배양액을 원심 분리하여 집균한 후 배양액을 사용하여 균 수가  $10^5$ 개/mL가 되도록 현탁시켜 20 mL씩 실험용기에 분주하였다. 약제처리는 최종농도가 1, 0.3, 0.1, 0.03, 0.01 mM이 되도록 각 실험용기에 처리하여 연속광 25°C 조건의 shaking incubator에서 배양하였다. 24시간 후에 1차, 48시간 후에 2차 조사하여 무처리에 대한 상대 억제율을 조사하였다(황 등, 1993a; 황 등, 1993b).

### 밀 엽절편법

온실에서 1주일 동안 생육시킨 밀(그루밀)의 잎을 수확하여 잎 끝에서 1 cm를 제외한 하단부위 3 cm를 예리한 칼로 절단하여 3 mm의 절편을 만들었다. 이 절편은 절단하는 즉시 7 mL의 2-(N-morpholino)ethansulfonic acid (MES) buffer(pH 6.5)가 담겨져 있는 6 cm Petri dish에 0.2 g씩을 띄웠다. 약제를 처리하고 12시간 동안 암 조건에서 흡수시킨 후 광 조건으로 옮겨 24시간 후(1차), 48시간 후(2차)에 무처리와 비교한 색상의 변화를 조사하였다(Streibig와 Kudsk, 1993; Böger와 Sandmann, 1992).

## 결과 및 고찰

### 온실시험

포트에서 재배한 10종의 잡초를 대상으로 8 kg/ha의 농도로 발아전도양처리와 발아후경엽처리를 수행한 결과 107개의 화합물 중에서 발아전도양처리에서 HIT-11, 15, 23, 43 등의 잡초 방제효과가 우수하게 나타났다. 발아후경엽처리에서는 HIT-11, 15, 21, 23, 40, 43, 57, 76, 82, 84, 89 등의 방제효과가 우수하여 발아전도양처리에서보다 많은 화합물들이 선별되었다. 이들 중에서 HIT-11, 15, 23, 43 등은 발아전 및 발아후처리에서 모두 우수한 살초효과를 나타내었고, HIT-21, 40, 57, 76, 82, 84, 89 등은 발아후경엽처리에서만 살초효과를 나타내었다(표 2). HIT-11은 3-amino-1,2,4-triazole로서 아미노산 histidine 생합성에 관여하는 효소 imidazole glycerol phosphate dehydratase (IGPD) 저해제로서 잘 알려진 기존 제초제 amitrol 이며(이 등, 1996) 특징적인 살초증상으로는 처리된 잎이 백화

되면서 고사되었다. Ohta 등(1997)은 최근 세계적인 농약 원제회사에서 IGPD 저해제로서 triazole계의 화합물들이 연구되고 있음을 보고한 바 있다. HIT-15는 aminooxy-acetic acid로서 alanine aminotransferase, phenylalanine ammonia lyase(PAL)와 aminolevulinic acid aminotransferase 등을 저해하는 물질로 알려져 있다(Martinez-Carrion과 Jenkins, 1965; Jorin 등, 1988). 제초효과는 발아전도양처리보다 발아후경엽처리에서 우수하였으며, 화본과 잡초보다 광엽잡초에 대한 살초효과가 강하게 나타났다. 발아후경엽처리에서 나타나는 살초증상은 황화현상을 동반한 생장 억제이었다. HIT-21은 7,8-benzoquinoline으로서 cinnamyl alcohol dehydrogenase를 저해하는 물질로 알려져 있다(Wyrambik와 Grisebach, 1979). 발아전도양처리효과는 전혀 없었으나, 발아후경엽처리에서 어저귀, 까마중, 미국개기장 등에 대해서만 95% 이상 방제하였다. HIT-23은 광합성 과정에서 oxidative phosphorylation 과정중 uncoupler로 작용하는 기존 제초제 bromoxynil이었다(이 등, 1996). 발아전도양처리에서 광엽잡초를 100% 방제하였으며, 발아후경엽처리에서도 개미를 제외한 9종의 잡초를 완전히 방제하였는데 전형적인 광합성 저해 증상을 나타내어 식물체의 잎이 황화, 건조되어 고사하였다.

HIT-40은 dicyclohexyl carbodiimide로서 adenosine triphosphatase ATPase(calmodulin  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$ ), cytochrome  $b_{6-f}$ ,  $H^+$ -transporting ATP synthase, protein kinase, NADH dehydrogenase(ubiquinone) 등을 저해하는 것으로 알려져 있으며(Zollner, 1993; Li 등, 1991), 제초효과는 발아후경엽처리에서만 높게 나타났으며 살초증상은 광합성 저해제와 유사한 모습으로 처리된 잎이 황화, 건조되면서 고사하였다.

HIT-43은 HIT-23과 같이 oxidative phosphorylation uncoupler로 작용하는 제초제 dinoseb 이었다(이 등, 1996; Zollner, 1993). 약제 처리 후 3일부터 잎이 시들어 5일째는 대부분의 잎이 건조되었다.

HIT-57은 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphatase-synthase 등을 저해하는 것으로 알려진 기존 제초제 glyphosate이었다(이 등, 1996; Zollner, 1993; Kishore와 Shah, 1988). 발아전도양처리 효과는 전혀 나타나지 않았으나 발아후경엽처리에서 모든 초종을 완전히 방제하였다. HIT-76은 oleylamine으로 myosin-light-chain kinase와 protein kinase( $Ca^{2+}$ /calmodulin) 저해제로 알려져 있으며(Zollner, 1993; Ramos, 1991), 발아전도양처리효과는 전혀 없었지만 발아후경엽처리효과는 우수하게 나타났으며 살초증상은 생장 억제 후 고사였다.

HIT-82는 o-phenanthroline으로 경엽처리시 처리된 잎이 완전고사 되었다. 이 화합물은 aconitate hydratase, amine oxidase, aminopeptidase, cinnamyl-alcohol dehydrogenase, carbonyl reductase, indanol dehydrogenase, lactate dehydrogenase, pyruvate carboxylase 등 50여 종의 효소를 저해하는 물질로 알려져 있기(Zollner, 1993; Wyrambik와 Grisebach, 1979) 때문에 발아후경엽처리효과를 발현하는 핵심효소의 분별은 어려웠다. 그러나 발아전도

Table 2. Screening result of compounds by pre- and post-emergence application at the rate of 8 kg/ha in a greenhouse

| Chemicals |      | Control value (%) <sup>a)</sup> |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----------|------|---------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|           |      | SB <sup>b)</sup>                | EC  | AS  | DS  | PD  | SN  | AI  | AT  | XS  | CE  |
| HIT-11    | Pre  | 70                              | 100 | 95  | 100 | 100 | 95  | 80  | 60  | 60  | 70  |
|           | Post | 80                              | 90  | 95  | 90  | 100 | 90  | 95  | 95  | 95  | 70  |
| HIT-15    | Pre  | 30                              | 35  | 0   | 40  | 80  | 35  | 40  | 0   | 0   | 0   |
|           | Post | 90                              | 80  | 30  | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 35  |
| HIT-21    | Pre  | 0                               | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   |
|           | Post | 70                              | 20  | 0   | 70  | 95  | 100 | 20  | 100 | 20  | 0   |
| HIT-23    | Pre  | 0                               | 40  | 0   | 30  | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 90  |
|           | Post | 100                             | 100 | 40  | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| HIT-40    | Pre  | 0                               | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   |
|           | Post | 80                              | 90  | 60  | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| HIT-43    | Pre  | 35                              | 100 | 70  | 100 | 100 | 100 | 80  | 100 | 100 | 70  |
|           | Post | 100                             | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| HIT-57    | Pre  | 0                               | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   |
|           | Post | 100                             | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| HIT-76    | Pre  | 0                               | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   |
|           | Post | 95                              | 90  | 50  | 70  | 100 | 100 | 30  | 100 | 70  | 30  |
| HIT-82    | Pre  | 0                               | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   |
|           | Post | 90                              | 50  | 60  | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| HIT-84    | Pre  | 0                               | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   |
|           | Post | 50                              | 70  | 35  | 100 | 40  | 0   | 40  | 100 | 40  | 0   |
| HIT-89    | Pre  | 0                               | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   |
|           | Post | 70                              | 80  | 35  | 95  | 95  | 30  | 100 | 40  | 90  | 100 |

<sup>a)</sup>Control value was obtained by visual rating based on the scale of 0 to 100, 0 means no control and 100 means complete control.

<sup>b)</sup>SB, 수수(*Sorghum bicolor*); EC, 돌피(*Echinochloa crus-galli*); AS, 개밀(*Agropyron smithii*); DS, 바랭이(*Digitaria sanguinalis*); PD, 미국개기장(*Panicum dichotomiflorum*); CH, 메꽃(*Calystegia japonica*); XS, 도꼬마리(*Xanthium strumarium*); AT, 어저귀(*Abutilon avicennae*); AI, 자귀풀(*Aeschynomene indica*); SN, 까마중(*Solanum nigrum*).

양처리효과는 전혀 나타나지 않았다. HIT-84는 phenylhydrazine으로써 HIT-82와 같이 여러 가지 효소를 저해하는 것으로 알려져 있기(Zolliner, 1993; Yamada 등, 1967) 때문에 제초효과가 발현되는 target enzyme을 분별하기 어려웠다. 이 화합물도 역시 발아전토양처리효과는 나타나지 않았다. HIT-89는 아주 간단한 구조를 가진 purine이었는데 발아후경엽처리시 제초효과를 나타내었지만 발아전토양처리효과는 없었다.

이 화합물은 adenine deaminase, adenosine deaminase, ribose-5-phosphate-ammonia ligase 등을 저해하는 것으로 알려져 있다(Zolliner, 1993; Hartenstein과 Fricovich, 1967).

시험 화합물 중에는 기존 제초제가 포함되어 있는데 이는 여러 가지 생물검정 결과를 통하여 화합물들의 활성을 비교 평가하기 위한 대조 약제로 사용하고 또한 생물검정

을 통하여 선발하는 과정의 신빙성을 보상하기 위함이었다. 한편 기존 제초제가 모든 생물검정과정에서 선발되지 않은 것은 각 생물검정의 특성이 편중되어 있지 않음을 의미하는 것이기도 하다.

이상과 같이 처리한 107개의 화합물 중에서 8 kg/ha의 처리농도를 기준으로 제초효과가 우수하게 나타난 화합물은 모두 기존 제초제를 포함하여 11개이었다. 이들 중에서 기존 제초제를 제외한 7개의 화합물은 새로운 제초제 후보 화합물로서의 가능성을 시사하였다. 온실시험에서 제초활성을 나타내지 못한 기타 화합물들도 작용점까지의 흡수와 이행이 이루어지지 못하였거나, 흡수된 후 식물체내에서 분해-불활성화 되거나, 작용점까지 도달되어 작용점을 저해하였지만 화합물에 의한 저해활성이 낮거나, 식물체를 치사시킬 수 있는 핵심 효소가 아니기 때문 등 화합물 자체의 작용점에 대한 저해와는 다른 요인이 작용하였을 가능성이

Table 3. Effects of inhibitors on the seed germination and root growth

|                               |        | Inhibition of seed germination (%) |       |       |       |   |
|-------------------------------|--------|------------------------------------|-------|-------|-------|---|
|                               |        | 100~80                             | 80~60 | 60~40 | 40~20 | 20~0  |
| Inhibition of root growth (%) | 100~80 | 023 <sup>a)</sup>                  |       |       | 072   | 011, 021, 025, 030, 038, 040, 044, 047, 061, 073, 075, 082, 087, 094, 106 |
|                               | 80~60  |                                    |       |       |       | 033, 035, 043   |
|                               | 60~40  |                                    |       | 029   |       | 015, 045, 067, 076, 099   |
|                               | 40~20  |                                    |       |       |       | 057   |
|                               | 20~0   |                                    |       |       |       | Others  |

<sup>a)</sup>HIT code number refer to table 1 for the identity.

있다. 또한 광분해, 가수분해, 토양과의 흡착, 신속한 소실 등의 환경적 요인들도 관여할 것으로 추측된다. 따라서 후보물질의 탐색을 위해서는 보다 직접적이면서, 환경적 요인을 제어할 수 있는 *in vitro* 시험을 통하여 생물적인 활성을 재조사할 필요가 있다고 판단되었다.

**발아시험**

발아율 90% 이상의 강피종자를 대상으로 화합물이 종자의 발아에 미치는 영향을 조사한 결과 1 mM의 처리농도에서 90% 이상 억제하는 17개의 화합물이 선발되었다. 선발된 화합물은 3-amino-1,2,4-triazole, 7,8-benzoquinone, canavanine, 2,2'-dipyridyl, dicyclohexylcarbodiimide, cinnamic acid, 6-diazo-5-oxo-L-norleucine, 8-hydroxyquinoline, 2-naphtioic acid, ethoxyquin, N-ethyl-maleimide, nordihydroguaiaretic acid, o-phenanthroline, primaquine, rhodamin B, trifluoperazine, trifluoperazine 이었다(표 3).

농도확대시험 결과, 선발된 화합물 대부분의 발아 억제력은 농도 희석에 따라 크게 감소되었지만 HIT-021, HIT-061, HIT-044, HIT-082 등의 4개 화합물은 낮은 농도에서도 발아억제효과가 우수하게 나타났다(그림 1). 이들 중에서 HIT-044는 2,2'-dipyridyl로서 1.25 μM에서도 100% 발아억제효과를 나타내었지만 벼와 피간의 선택성은 나타나지 않았다.

Cinnamyl-alcohol dehydrogenase를 저해하는 것으로 보고된(Zolliner, 1993; Wyrambik와 Grisebach, 1979) HIT-021(7,8-benzoquinoline)은 5 μM에서 토마토의 발아를 완전 억제하였지만 벼와 피의 지상부 생장은 억제하지 못하였다. 그러나 벼와 피의 뿌리신장을 크게 억제하였고 피 보다는 벼의 뿌리신장을 더욱 억제하였다. HIT-61 (8-hydroxyquinoline)은 amine oxidase, catechol methyltransferase, cinnamyl-alcohol dehydrogenase, cyclohexane monooxygenase, indanol dehydrogenase, pyridoxal dehydrogenase 등의 저해제로 알려져 있으며(Zolliner, 1993), 발아억제효과는 7,8-benzoquinoline과 유사한 경향이였다. HIT-044(2,2'-dipyridyl)은 벼, 피, 토마토의 발아를 크게 억제하여 시험 화합물 중에서 가장 강력한 발아억제효과를 나타내었다. 이 화합물은 amine oxidase, arachid-

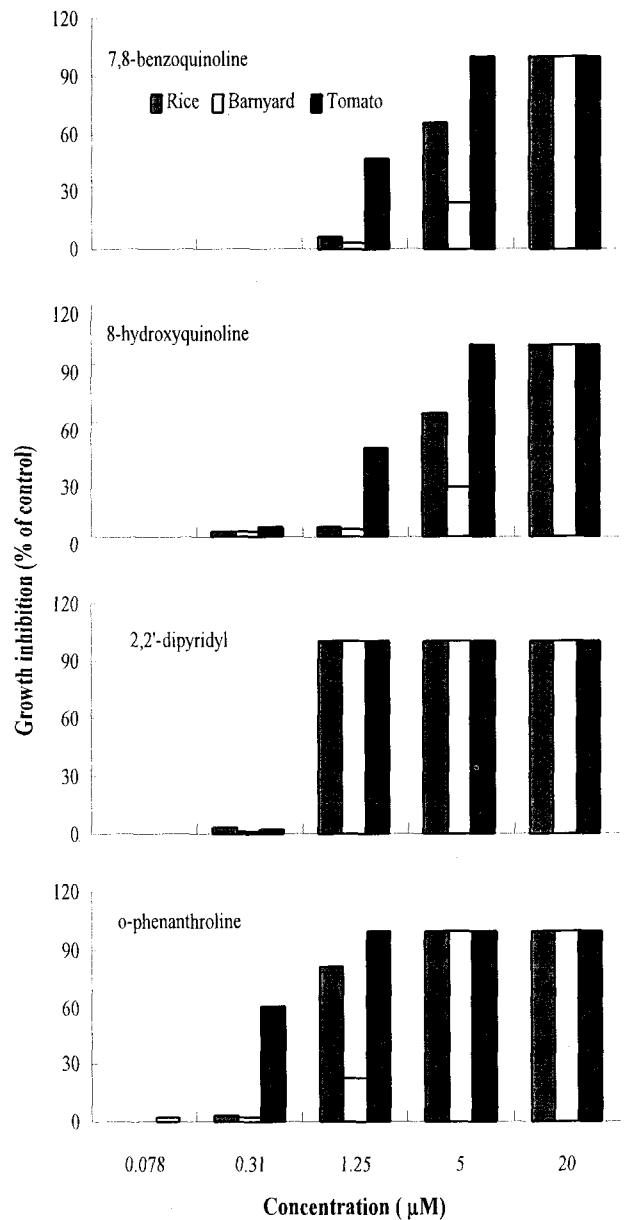


Fig. 1. Effect of inhibitors on the growth of rice, barnyardgrass, and tomato seedlings.

onate 12-lipoxygenase, alcohol dehydrogenase, carbonyl reductase, cinnamyl-alcohol dehydrogenase, collagenase, indanol dehydrogenase, parathion hydrolase, phenylalanine 4-monooxygenase, pyridoxaldehyde dehydrogenase 등을 저해하는 것으로 보고되어 있다(Zolliner, 1993; Wyrambik과 Grisebach, 1979).

HIT-082(*o*-phenanthroline)은 aconitate hydratase, aminopeptidase, amine oxidase, cinnamyl-alcohol dehydrogenase, carbonyl reductase, pyruvate carboxylase, lactate dehydrogenase, indanol dehydrogenase 등 약 50여 가지의 효소를 저해하는 것으로 보고되어 있지만(Zolliner, 1993) 4가지 화합물이 공통적으로 저해하는 효소는 amine oxidase(Yamada 등, 1967), cinnamyl-alcohol dehydrogenase(Wyrambik과 Grisebach, 1979)와 indanol dehydrogenase(Zolliner, 1993) 등이었다. 이들이 발아를 억제하는 원인에 대해서는 연구된 바가 없지만 우수한 발아억제 제조제 개발을 위한 선도물질로서의 가능성이 있다고 생각된다.

**Cyanobacteria 생육억제 시험**

Cyanobacteria를 이용한 생물검정은 재료의 균일성과 배양의 편이성, 효과 검색의 간편성 및 특이성을 장점으로 가지고 있지만 고등식물과의 차이점, 특정 현상만을 관찰할 수 있다는 단편성 등의 단점을 가지기도 한다(황 등, 1993a, 황 등 1993b). 본 시험으로 얻을 수 있는 특징적인 생물활성은 생장저해와 색소체 관련 대사과정 저해로 구분되며, 색소체 관련 대사 저해제의 증상은 백화로 나타나고 생장저해 증상은 황화로 나타난다(Streibig와 Kudsk. 1993; Böger와 Sandmann, 1992). 일정량의 biomass로부터 출발하기 때문에 chlorophyll 함량 또는 turbidity의 변화를 통하여 정밀한 측정이 가능하지만, 단일 농도에서의 상호 비교를 목적으로 하는 시험에서는 색상의 변화를 달관으로 평가하는 것도 효과적이며(자료생략) 1차 시험에서 효과가 우수한 화합물에 대해서는 처리농도의 변화와 정밀한 측정이 수반되어야 할 것이다. 대상 화합물 중에서 색상의 변화를 통하여 cyanobacteria의 생육을 억제하는 화합물을 선별하였는데 trifluoperazine, 7,8-benzoquinoline, chlorpromazine, 4-methylpyrazole, cyanuric fluoride, tranylcypromine, oleylamine 등이 선별되었다(표 4).

7,8-benzoquinoline은 cinnamyl-alcohol dehydrogenase를 저해하는 것으로 알려진(Wyrambik과 Grisebach, 1979) 화합물로서 100  $\mu$ M이상 처리에서 cyanobacteria의 생장을 100% 억제하였고, D-amino acid oxidase 저해제(Biase 등, 1991; Jung과 Seiler. 1978) 및 oxidative phosphorylation uncoupler(Zolliner, 1993)로 알려진 chlorpromazine은 30  $\mu$ M에서도 cyanobacteria의 생장을 100% 억제하였다. 대조약제로 사용한 paraquat는 1  $\mu$ M에서도 90% 억제효과를 보였고 3  $\mu$ M이상에서는 100% 억제하는 것으로 나타났다. Cyanuric fluoride는 galactolipase 저해 물질로 알려져 있으며 cyanobacteria 생육 억제효과는 1 mM에서만 100% 억제하였다. 4-methylpyrazole도 1 mM 이상에서만 100% 억제효과를 보였는데 이 화합물은 alcohol dehydrogenase, cinnamyl-alcohol dehydrogenase, retinol dehydrogenase를 저해하는 물질로 보고되었다(Wyrambik과 Grisebach, 1979). Myosin-light-chain kinase와 protein kinase(Ca<sup>2+</sup>/calmodulin) 등을 저해하는 물질로 보고된(Zolliner., 1993; Ramos, 1991) oleylamine도 1 mM 이상에서만 100% 저해하였다. Amine oxidase (flavin-containing)를 저해하는 것으로 알려진 tranylcypromine은 300  $\mu$ M에서 60%, 1 mM에서는 100% 저해하였다. Adenosine triphosphatase, Ca<sup>2+</sup> transporting ATPase, H<sup>+</sup> transporting ATPase, phospholipase, pyruvate dehydrogenase 등을 저해하는 것으로 알려진 HIT-106 (trifluoperazine)은 chlorpromazine과 같이 대조약제로 사용한 paraquat보다 약하지만 30  $\mu$ M에서도 100% 억제하였고 생장억제 증상은 paraquat 보다 빠르게 나타났다. 이상과 같이 화합물 처리 24시간 후에 백화증상을 나타내었고 cyanobacteria 생장을 억제하는 물질들과 저해 효소를 통하여 예측할 수 있는 신규 제조제 개발을 위한 작용점으로는 cinnamyl-alcohol dehydrogenase, amine oxidase, ATPase, pyruvate dehydrogenase 이었다.

**밀 엽전편법**

Cyanobacteria와는 달리 고등식물인 밀의 잎을 이용하여 화합물의 생물활성을 조사한 결과 1 mM에서 효과가 우수한 28개의 화합물이 선별되었다. 그러나 대부분의 화합물이 1 mM에서만 효과를 보였고 그 이하의 처리농도에서는 효

**Table 4. Effect of enzyme inhibitors on the growth of cyanobacteria**

| Conc.<br>(mM) | Growth inhibition <sup>a)</sup> (%) |        |        |        |        |         |         | Conc.<br>( $\mu$ M) | Paraquat |
|---------------|-------------------------------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------------------|----------|
|               | HIT-21                              | HIT-29 | HIT-35 | HIT-70 | HIT-76 | HIT-104 | HIT-106 |                     |          |
| 1             | 100                                 | 100    | 100    | 100    | 100    | 100     | 100     | 10                  | 100      |
| 0.3           | 100                                 | 100    | 0      | 0      | 20     | 60      | 100     | 3                   | 100      |
| 0.1           | 95                                  | 100    | 0      | 0      | 0      | 20      | 100     | 0                   | 90       |
| 0.03          | 0                                   | 100    | 0      | 0      | 0      | 0       | 100     | 0.3                 | 40       |
| 0.01          | 0                                   | 0      | 0      | 0      | 0      | 0       | 0       | 0.1                 | 0        |

<sup>a)</sup>HIT-21, 7,8-benzoquinoline; HIT-29, chlorpromazine; HIT-35, cyanuric fluoride; HIT-70, 4-methylpyrazole; HIT-76, oleylamine; HIT-104, tranylcypromine; HIT-106, trifluoperazine.

과가 나타나지 않았다. Leaf disc를 사용하여 화합물의 생물학적 활성을 조사하고자 하는 목적은 광합성 또는 색소체 관련 화합물을 선별하는데 있다(Streibig과 Kudsk, 1993; Böger와 Sandmann, 1992).

또한 시료의 균일성과 편이성은 cyanobacteria과 비교하여 부족하지만 고등식물인 밀을 직접 사용한다는 점에서는 장점을 가지고 있다. 대상으로 하였던 107개의 화합물 중에서는 3-amino-1,2,4-triazole, chlorpromazine, dicyclohexylcarbodiimide, dinoseb bromoxynil 등이 가장 우수하였지만 3-amino-1,2,4-triazole, bromoxynil과 dinoseb 등은 기존 제초제들이었기 때문에 대조약제로 이용되었고, 새로운 저해제로서는 dicyclohexylcarbodiimide과 chlorpromazine이 선발되었다(표 5). Cyanobacteria의 생장도 크게 억제하였던 chlorpromazine을 처리한 leaf disc는 백색으로 변화되었는데 100  $\mu$ M에서도 70% 효과를 나타내었고 그 이상의 농도에서는 완전히 백색으로 변화되었다.

선발된 화합물 HIT-040 (dicyclohexylcarbodiimide)은 adenosinetriphosphatase, cytochrome  $b_{6-f}$ , ATPase (calmodulin,  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$ ),  $H^+$ -transporting ATP synthase, NADH dehydrogenase (ubiquinone), protein kinase 등을 저해하는 물질로 알려져 있으며(Zollner, 1993; Li 등, 1991) 처리한 leaf disc도 백색으로 변화되었는데 100  $\mu$ M에서도 90% 효과를 나타내었고 그 이상의 농도에서는 완전히 백화 되었다. Leaf disc가 백화되는 것은 carotenoid 생합성과 관련이 있으며(Streibig과 Kudsk, 1993; Böger와 Sandmann, 1992), 최종적으로는 광합성을 저해하는 것으로 생각된다. 이를 확실하게 밝히기 위해서는 이들의 1차 작용점에 대한 연구가 필요하며, 저해하는 것으로 알려진 효소를 대상으로 접근하는 것이 바람직할 것이다. 그러나 저해하는 효소 이외의 작용점을 가지고 있을 가능성도 배제해서는 안 될 것이다.

이상과 같이 107개의 식물 특이적 효소 저해제의 활성을 4가지 생물검정을 통하여 조사한 결과 4가지 검정방법에서 공통적으로 선발된 화합물은 없었고, 2가지 이상의 검정방법에서 공통적으로 선발된 화합물은 기존 제초제를 제외하고, aminooxyacetic acid, 7,8-benzoquinoline, canavanine, chlorpromazine, cyanuric fluoride, dicyclohexylcarbodiimide, 8-hydroxyquinoline, 2-naphtic acid, N-ethylmaleimide, oleylamine, o-phenanthroline, prima-

quine, trifluoperazine 등이었다. 그 외에 2,2'-dipyridyl, 4-methylpyrazole, phenylhydrazine, purine, tranlycypromine 등이 한가지 생물검정에서 선발되었다. 이들 화합물이 저해하는 것으로 알려진 효소를 정리하였을 경우 8회 중복된 효소가 cinnamyl-alcohol dehydrogenase이었다. 또한 5회 중복된 효소는 adenosine triphosphatase이었고, amine oxidase, protein kinase, indanol dehydrogenase 등이 4회, carbonyl reductase 등이 3회 중복되었다.

기타 aconitate hydratase, alcohol dehydrogenase, aminopeptidase, cytochrome  $b_{6-f}$ , D-amino acid oxidase,  $H^+$ -transporting ATP synthase, lactate dehydrogenase, myosin-light-chain kinase, NADH dehydrogenase (ubiquinone), pyruvate carboxylase 등이 2회 중복되었고, 1회 관련효소로서는 adenine deaminase, adenosine deaminase, alanine aminotransferase, arachidonate 12-lipoxygenase, catechol methyltransferase, collagenase, galactolipase, imidazole glycerol phosphate dehydratase(IGPD), cyclohexane monooxygenase, parathion hydrolase, phenylalanine 4-monooxygenase, pyridoxaldehyde dehydrogenase, phenylalanine ammonia lyase (PAL), phospholipase, pyridoxal dehydrogenase, pyruvate dehydrogenase, retinol dehydrogenase, ribose-5-phosphate-ammonia ligase 등으로 요약할 수 있었다(표 6). 가장 많이 선발되었던 cinnamyl-alcohol dehydrogenase는 식물체의 리그닌생합성 과정에서 마지막 단계를 촉매하는 효소로 알려져 있지만 아직까지는 제초제의 작용점으로서의 가능성이 보고된 바는 없다(Wyrambik과 Grisebach, 1979). 그러나 식물의 세포벽 또는 조직의 막을 구성하는 구조적 성분으로서 리그닌은 매우 중요하기 때문에 리그닌 생합성이 억제된다면 세포의 plasticity의 감소와 함께 성장이 억제될 것으로 보여 중요한 작용점으로서의 가능성이 높다. 또한 5회 중복된 효소 adenosine triphosphatase는 식물의 생장에 필요한 에너지 대사와 직접적으로 관련되어 있기 때문에 화학물질에 의해 저해된다면 생존이 어려울 것으로 예측된다(Devine 등, 1993).

기타 효소 중에서 phenylalanine ammonia lyase(PAL), imidazole glycerol phosphate dehydratase(IGPD), pyruvate dehydrogenase 및  $H^+$ -transporting ATP synthase 등이 개발된 제초제 또는 시험용 화학물질에 의

Table 5. Effect of enzyme inhibitors using the wheat leaf disc assay

| Conc. (mM) | Growth inhibition <sup>a)</sup> (%) |        |        |        |        |
|------------|-------------------------------------|--------|--------|--------|--------|
|            | HIT-11                              | HIT-23 | HIT-29 | HIT-40 | HIT-43 |
| 1          | 100                                 | 100    | 100    | 100    | 100    |
| 0.3        | 100                                 | 100    | 95     | 100    | 100    |
| 0.1        | 100                                 | 100    | 70     | 90     | 100    |
| 0.03       | 30                                  | 0      | 20     | 20     | 100    |
| 0.01       | 0                                   | 0      | 20     | 0      | 60     |

<sup>a)</sup>HIT-11, 3-amino-1,2,4-triazole; HIT-23, bromoxynil; HIT-29, chlorpromazine; HIT-40, dicyclohexylcarbodiimide; HIT-43, dinoseb.

**Table 6. Summary of bioassay results for searching new target enzymes**

| Inhibitor                | Target enzyme  |
|--------------------------|--|
| Aminooxyacetic acid      | alanine aminotransferase, phenylalanine ammonialyase(PAL)  |
| 3-Amino-1,2,4-triazole   | imidazole glycerol phosphate dehydratase(IGPD)   |
| 7,8-Benzoquinoline       | cinnamyl-alcohol dehydrogenase   |
| Chlorpromazine           | D-amino acid oxidase   |
| Cyanuric fluoride        | galactolipase  |
| Dicyclohexylcarbodiimide | adenosinetriphosphatase ATPase(calmodulin $Ca^{2+}/Mg^{2+}$ ), cytochrome $b_{6-f}$<br>$H^+$ -transporting ATP synthase, NADH dehydrogenase(ubiquinone), protein kinase  |
| 2,2'-Dipyridyl           | amine oxidase, arachidonate 12-lipoxygenase, alcohol dehydrogenase, carbonyl<br>reductase, cinnamyl-alcohol dehydrogenase, collagenase, indanol dehydrogenase,<br>parathion hydrolase, phenylalanine 4-monooxygenase, pyridoxaldehydehydrogenase |
| 8-Hydroxyquinoline       | amine oxidase, catechol methyltransferase, cinnamyl-alcohol dehydrogenase,<br>cyclohexane monooxygenase, indanol dehydrogenase, pyridoxal dehydrogenase  |
| 4-Methylpyrazole         | alcohol dehydrogenase, cinnamyl-alcohol dehydrogenase, retinol dehydrogenase   |
| o-Phenanthroline         | aconitate hydratase, amine oxidase, aminopeptidase, cinnamyl-alcohol dehydrogenase,<br>carbonyl reductase, indanol dehydrogenase, lactate dehydrogenase, pyruvate<br>carboxylase   |
| Oleylamine               | myosin-light-chain kinase, protein kinase( $Ca^{2+}$ /calmodulin)  |
| Phenylhydrazine          |  |
| Purine                   | adenine deaminase, ribose-5-phosphate-ammonialigase, adenosine deaminase   |
| Tranylcypromine          | Amine oxidase(flavin-containing)   |
| Trifluoperazine          | Adenosine triphosphatase, $Ca^{2+}$ transporting ATPase, $H^+$ transporting ATPase,<br>phospholipase, pyruvate dehydrogenase   |

해 저해되는 것으로 보고되었지만(Jorin 등, 1988; Ohta 등, 1997; Saari, 1999) 아직까지는 확실한 기작을 설명할 수 없다. 그 외에 선발된 효소는 아직까지 제초효과를 나타내는 작용점으로 알려지지 않은 것으로 이들 중에는 신규 제초제로 개발하는데 적합한 작용점이 존재할 것으로 예측되며, 이를 검증하기 위하여 효소저해를 통한 제초효과의 확인 등 추가적 연구가 필요하다고 생각한다.

### 인용문헌

- Abell, L. M. (1996) Biochemical Approaches to Herbicide discovery: Advances in Enzyme Target Identification and Inhibitor Design. *Weed Sci.* 44:73 4~742.
- Anderson, W. P. (1996) *Weed Science. Principles and applications.* p.388, West Publishing Com. New York.
- Biase, D. D., M. Simmaco, D. Barra, F. Bossan, M. Hewlins, and R. A. John (1991) Mechanism of inactivation and identification of sites of modification of ornithine aminotransferase by 4-aminohex-5-ynoate. *Biochemistry*, 30:2239~2246.
- Broach J. R. and J. Thorner (1976) High-throughput screening for drug iscovery. *Nature*, 384(6604):14~16.
- Böger, P. and G Sandmann (1992) Target assays for modern herbicides and related phytotoxic compounds. p.299, Lewis Publishers. Boca Raton.
- Castenholz, R. W. (1988) Culturing methods for cyanobacteria. pp.68~93, *In Methods in Enzymology (Ed. by Packer, L. and Glazer).*
- Cobb, A. 1992. *Herbicide and Plant Physiology.* p.200, Chapman & Hall, London.
- Dagley, S. and D. E. Nicholson (1970) *An Introduction to Metabolic Pathways.* p.210, Blackwell Scientific Publications.
- Dawson, R. M. C., D. C. Elliott, W. H. Elliott, and K. M. Jones (1986) *Data for Biochemical Research.* p.408, Cearendon Press, Oxford.
- Devine, M., S. O. Duke and C. Fedtke (1993) *Physiology of the Herbicide Action.* p.441, PTR Prentice Hall, New Jersey.
- Dey, P. M. and J. B. Harborne (1997) *Plant Biochemistry.* p.554, Academic Press. New York.
- Hartenstein, R. C. and I. Fricovich (1967) Adenine aminohydrolase. An investigation of specificity. *The Journal of Biological Chemistry.* 242(4):740~746.
- Hatzios, K. K. and R. E. Hoagland (1989) *Crop safeners for herbicides.* p.400, Academic Press. New York.
- Jorin, J., R. Lopez-Valbuena, and M Tena (1988) Purification and properties of phenylalanine



- ammonia-lyase from sunflower(*Helianthus annuus* L.) hypocotyls. *Biochemica et Biophysica Acta*. 964:73~82.
- Jung, M. J. and M. Seiler (1978) Enzyme-activated irreversible inhibitors of L-ornithine: 2-oxoacid aminotransferase. Demonstration of mechanistic features of the inhibition of ornithine aminotransferase by 4-aminohex-5-ynoic acid and gabaguline and correlation with *in vivo* activity. *The Journal of Biological Chemistry*. 253(20):7431~7439.
- Kearney, P. C. and D. D Kaufman (1988) *Herbicides. Chemistry, degradation, and mode of action*. p.403, Marcel Dekker, Inc. New York.
- Kishore, G. M. and D. M. Shah (1988) Amino acid biosynthesis inhibitors as herbicides. *Ann. Rev. Biochem.* 57:627~663.
- Li, L. B., L. Yu, and C. A. Yu (1991) Inhibitory effects of dicyclohexylcarbo diimide on spinach cytochrome  $b_6-f$  complex. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 179(1):507~511.
- Martinez-Carrion, M. and W. T. Jenkins (1965) D-alanine-D-glutamate transaminase. II. Inhibitors and the mechanism of transamination of D-amino acids. *The Journal of Biological Chemistry*. 240(9):3547~3552.
- Ohta, D., I. Mori. and E. Ward (1997) Inhibitors of imidazoleglycerol phosphate dehydratase as herbicides. *Weed Sci*. 45:610~620.
- Ramos, C., M. A. Delgado, and I. L. Calderon (1991) Inhibition by different amino acids of the aspartate kinase and the homoserine kinase of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Letters*, 278, 123~126.
- Rendina, A. R. and L. M. Abell (1994) *Biochemical Approaches to Herbicide Discovery*, enzyme target selection and inhibitor design. *Amer. Chem. Soc. Symp. Ser.* 407~424.
- Saari, L. L. (1999) A prognosis for discovering new herbicide sites of action. pp. 207~219, *In Pesticide Chemistry and Bioscience*(Ed. by Brooks G. T. and T. R. Roberts).
- Streibig, J. C. and P. Kudsk (1993) *Herbicide bioassays*. p.270, CRC press. Boca Raton.
- Weller, S. C., F. D. Hess, J. R. Abernathy, A. P. Appleby, G. F. Warren, J. H. Dawson, R. Liebl, J. L. Ahlrichs, T. N. Jordan, G. E. Van Scoyoc, G. E. Ruhl, D. I. Leap, H. A. Holt, C. S. Throssell, D. C. Thill, D. R. Griffith, and P. A. Banks (1993) *Herbicide Action*. p.621, Purdue University, West Lafayette, Indiana.
- Wyrambik, D. and H. Grisebach (1979) Enzymic synthesis of lignin precursors, Further studies on cinnamyl-alcohol dehydrogenase from soybean-cell-suspension cultures. *Eur. J. Biochem.* 97:503~509.
- Yamada, H., H. Kumagai, T. Uwajima, and K. Ogata (1967) Bacterial monoamine oxidases, Part II. Substrate and inhibitor specificities of tyramine oxidase of *Sarcina lutea*. *Agric. Biol. Chem.* 31(8):897~901.
- Zollner, H. (1993) *Handbook of enzyme inhibitors*. p.520, VCH. New York.
- 畑中 利彦 (2000) ハイスループットスクリーニング技術の新しい動向, SPAとLEAD seeker, *化学と生物*, 38(8):555~560.
- 松中 昭一 (2000) 農薬のおはなし, 日本規格協会 pp. 16~18, 東京
- 이희재, 황인택, 조광연 (1996) 제초제와 식물생리(Ed. by A. Cobb), 번역서 pp.25~43, 서울외국서적, 서울.
- 황인택, 김진석, 조광연, 요네야마 쿄이치, 요시다 시게오 (1993b) 신규 합성 화합물들이 cyanobacteria의 광합성 전자전달계에 미치는 영향. *한잡초지* 13(2):89~95.
- 황인택, 홍경식, 조광연, 요시다 시게오 (1993a) Cyanobacteria를 이용한 광합성 전자전달저해제의 생합리적 스크리닝. *한잡초지*, 13(2):81~88.

---

**Searching of Possible Target Enzymes for Herbicide Development using Commercial Plant-Specific Inhibitors**

In Taek Hwang\*, Jung Sup Choi, Sang Hee Park, Kwan Hwi Lee, Byung Hoi Lee, Kyung Sik Hong, Kwang Yun Cho (*Korea Research Institute of Chemical Technology, Jang-dong 100, Yusong, Taejon, 305-343, Korea*)

**Abstract :** This study was conducted to search new target enzymes of novel herbicide candidate. Total of 107 biochemical inhibitors reported to inhibit over than 100 different plant enzymes were purchased from commercial chemical companies. 15 inhibitors and 34 enzymes were selected by germination assay, seedling assay, wheat leaf disc assay, and whole plant assay. Among them, seven compounds of purine, phenylhydrazine, *o*-phenanthroline, oleylamine, dicyclohexylcarbodiimide, 7,8-benzoquinoline, and aminooxyacetic acid showed high herbicidal activity in the whole plant assay under greenhouse while 7,8-benzoquinone, 8-hydroxyquinoline, 2,2'-dipyridyl, and *o*-phenanthroline inhibited seed germination of barnyardgrass, rice, and tomato at concentrations of 1.25 to 5  $\mu$ M. The compounds of 7,8-benzoquinoline, chlorpromazine, cyanuric fluoride, 4-methylpyrazole, oleylamine, tranylcyromine, and trifluoperazine inhibited the growth of cyanobacteria at 30 to 100  $\mu$ M. The compounds of dicyclohexylcarbodiimide and chlorpromazine exhibited whitening effect on the wheat leaf disc at 100  $\mu$ M. These results suggest that the plant-specific enzyme inhibitors which have biological activities may supply the target enzyme for developing new herbicide candidate.

---

\*Corresponding author (Fax : +82-42-861-4913, E-mail : ithwang@pado.kRICT.re.kr)