

만형자(*Vitex trifolia* L.)로부터 항균활성물질의 분리 및 구조결정박영식 · 황주태 · 김영신 · 김진철¹ · 임치환*충남대학교 농업생명과학대학 생물환경화학과, ¹한국화학연구원 녹색화학분야

(Received on September 5, 2012. Revised on October 23, 2012. Accepted on November 20, 2012)

Isolation and Identification Antifungal Compounds
from *Vitex trifolia* L.Young-Sik Park, Joo-Tae Hwang, Young-Shin Kim, Jin-Cheol Kim¹ and Chi-Hwan Lim*Department of Bioenvironmental Chemistry, College of Agricultural and Life Science,
Chungnam National University, Yuseong-Gu, Daejeon 305-764, Republic of Korea¹Green Chemistry Division, Korea Research Institute of Chemical Technology,
Yuseong-Gu, Daejeon 305-600, Republic of Korea

Abstract *Vitex trifolia* L. is a full grown fruit of *Vitex rotundifolia* L. (*Verbenaceae*). It has been used for treating headache, dizziness, toothache and removal of fever as a traditional medicine in Korea. *V. trifolia* (500 g) were extracted three times with 80% aqueous MeOH at room temperature. The MeOH extract (38 g) was successively partitioned with *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH and H₂O. Both *n*-hexane and EtOAc fractions showed more than 80% antifungal activity *in vivo* against several plant pathogens at 2000 ppm. Successive repeated silica gel, Sephadex LH-20, preparative TLC, and preparative HPLC of these fractions led to isolation of three compounds. Using mainly mass spectroscopy and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, their chemical structures were determined as agnuside(1), chrysosplenol B(2), and artemetin(3). Compound 2 was isolated for the first time from *V. trifolia*. Study on *in vitro* and *in vivo* antifungal activities of the isolated compounds is in progress.

Key words *Vitex trifolia* L., Agnuside, Chrysosplenol B, Artemetin

서 론

세계적으로 작물 수확 전후의 곰팡이병에 의한 피해는 대략 5-50%에 달할 정도로 매우 크다(Oerke 등, 1994). 오늘날 무공해, 무독성의 환경 친화적인 농업이 요구되고 있는 상황에서 식물유래 천연물이 각광받고 있다. 이러한 관점에서 다방면으로 쓰이고 있는 한약재인 만형자는 생리활성 물질이 다량 함유되어 있기 때문에 천연의 의약품 및 병해충 방제제로서 유용하게 이용 될 수 있다.

만형자(*Vitex trifolia* L.)는 마편초과의 순비기나무의 열매

이다. 만형자의 기원식물인 순비기나무는 독특하면서 강한 향기를 가지고 있어 예전부터 잎과 가지는 목욕용 재료나 실내의 습기를 제거하기 위한 흡습제 및 방매제로 사용하였으며, 종자인 만형자는 두통을 완화시키는 효과가 있다고 하여 민간에서는 베갯속으로 사용하였다. 또한 우리나라를 포함한 중국과 일본 등 동양의학에서 만형자는 성질이 차고 맛은 쓰면서 맵고 독이 없어 강장, 진정, 진통, 소염작용이 있어 감기, 만성중이염, 이명, 난청, 시력장애, 두통, 신경통, 습진 및 다양한 염증과 알러지성 질환의 치료에 사용하고 있다(Park과 Lee, 2000).

만형자에 관한 연구로는 monoterpene류를 포함한 약 76종의 정유성분과 골수성 백혈병 저해효과를 나타내는 flavonoids와 식물생장을 조절하는 phenol 화합물 등이 분리 동정된 바 있다(Kang과 Kim, 1994; Ono 등, 2000; Xin 등, 2006).

*Corresponding author

Tel: +82-42-821-6734, Fax: +82-42-821-7883

E-mail: chlim@cnu.ac.kr

또한 만형자는 혈압상승억제, 항암, 항돌연변이, 항알러지, 진정, 방충작용, 항산화 활성, 항세균활성, 항말라리아활성, 항원충활성 등 다양한 생리활성이 보고 되어있다(Hossain 등, 2001; Chikako, 2003; Lee 등, 2009).

농업용 항생물질의 개발은 이미 오래전부터 시작되어 그동안 kasugamycin, polyoxin, validamycin, nikkomycin 등이 실용화되어 독성이 강한 일부 유기합성농약을 대체하고 식량증산에 이바지해 왔다. 합성 농약에 비해 천연물 농약은 인축, 어패류에 대한 독성이 적으며, 식물에 대한 약해가 적고 대부분 속효성을 가지고 있다. 나아가서 항균력을 가지는 천연물 및 이들의 유도체화를 통한 새로운 농약의 개발은 합성농약의 단점을 보완하기 위한 방법으로서 많은 연구가 이루어지고 있다(Jane 등, 2003; Kim, 2003; Kim, 2005; Adamu, 2009).

본 연구에서는 만형자의 추출물과 여기에서 분리된 화합물을 이용하여 다양한 식물병원균에 대한 항균활성을 평가하고 만형자 유래 천연 살균제 개발을 위한 기초자료를 얻기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

공시 식물과 식물 병원균

만형자는 현제약(주)에서 구입하여 사용하였다. *In vivo* 항균실험에는 벼 도열병균(*Magnaporthe oryzae*), 벼 잎집무늬마름병(*Rhizoctonia solani*), 토마토 잣빛곰팡이병(*Botrytis cinerea*), 토마토 역병(*Phytophthora infestans*), 밀 붉은녹병(*Puccinia recondita*), 보리 흰가루병(*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*)을 사용하였으며 모두 한국 화학 연구원에서 배양하여 사용하였다.

시약 및 기기

활성물질의 추출 및 용매분획에 사용한 *n*-hexane, ethyl acetate (EtOAc), methanol (MeOH), *n*-butanol (*n*-BuOH) 등의 용매는 국내 삼전순약(18L, 공업용) 제품을 정제하지 않고 사용하였다. NMR용 용매는 CDCl₃ (Sigma-Aldrich, U.S.A)를 사용하였고, HPLC 용매로 사용한 MeOH은 공업용을 정제하여 사용하였다. 그리고 Flash column chromatography 용 silica gel은 70-230 mesh (Merck, Germany)를 사용하였고, 분석용 및 분취용 silica gel TLC는 Merck사의 Kiesel gel 60F₂₅₄ (0.25 mm) 및 Kiesel gel 60F₂₅₄ (0.5 mm) plate, HPLC 컬럼은 YMC-Pack ODS-A (250 × 20 mm, Kyoto, Japan)를 사용하였다. 발색시약은 10% H₂SO₄ 및 vanillin-H₂SO₄ (vanillin 1% in methanol + 5% H₂SO₄ in methanol)를 사용하였으며, UV 254와 365 nm로 검출하였다. HPLC는 LC900 series (JASCO, Japan)/UV detector, HP-1090 series (HP, USA)/DAD detector, 비선광도는 polarimeter P-

1020 (JASCO, Japan), ESI-MS는 4000Q Trap (AD SCIEX, USA)를, NMR spectrometer는 JNM-AL400 (400 MHz/100 MHz, JEOL Ltd, Japan)을 사용하였다. NMR의 internal standard는 tetra-methylsilane (TMS)을 사용하였으며, chemical shift는 ppm (δ)으로 나타내었다.

만형자 추출물의 *in vivo* 항균활성 검정

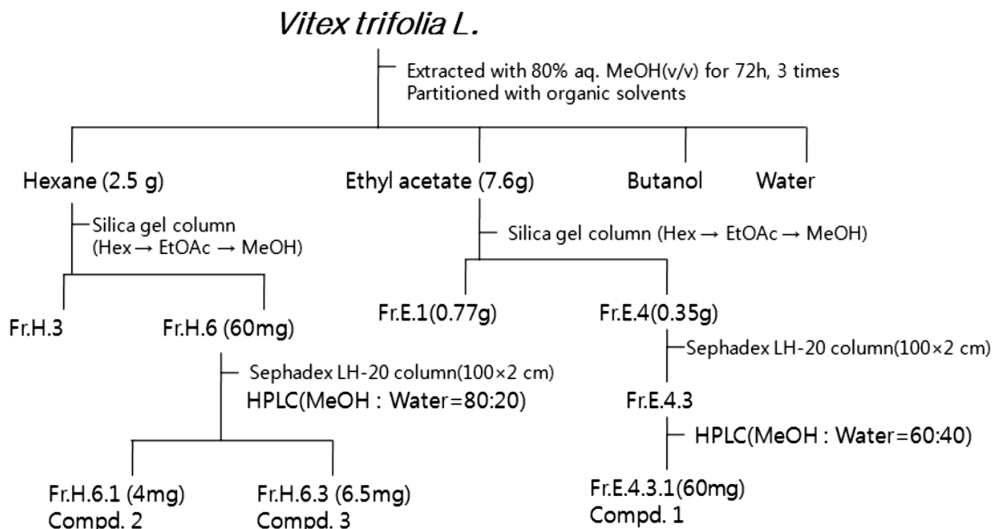
6종의 식물 병원균에 대한 추출 용매별 예방효과를 조사하였다. 만형자 분획물(*n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH, H₂O) 각 80 mg을 10 mL의 acetone이나 5 mL의 MeOH에 녹이고 Tween 20 (250 μ L/mL) 용액을 가하여 최종 부피가 40 mL이 되도록 시료를 제조하였다(물질 최종 농도: 2,000 ppm). 실험에 사용한 벼와 토마토, 밀 그리고 보리는 지름 4.5 cm의 플라스틱 포트에 수도용 상토 또는 원예용 상토를 70% 정도 채운 후, 종자를 파종하여 25 ± 5°C의 온실에서 1주 내지 4주간 재배하여 사용하였다. 시료가 식물체에 골고루 분무될 수 있도록 turn table에 놓고 처리구는 2000 ppm의 시료 50 mL를, 대조구는 tween 20 solution 50 mL를 대상 식물체에 살포하고 풍건한 다음 실온에서 1일 동안 방치하였다. 시료 처리 하루 후에 처리된 각각의 식물체에 병원균을 접종하고 3일 내지 8일 후에 발병도를 조사하였다(Kim 등, 2001; Cho 등, 2006). 각각의 실험은 3반복으로 실시하였고 방제기는 다음 식에 따라 계산 하였다.

$$\text{방제기(\%)} = \left(1 \times \frac{\text{처리구의 병반면적율}}{\text{대조구의 병반면적율}}\right) \times 100$$

각 병원균에 대한 활성은 80%이상의 저해율을 나타내는 시료에 대하여 항균활성이 있다고 판단하고 항균 물질 분리에 이용하였다.

만형자로부터 활성물질의 분리

마쇄한 만형자 500 g을 80% aqueous MeOH에 침지하여 상온에서 3회 추출하고 감압 농축하여 얻어진 추출물 38 g을 3차 증류수에 용해한 후 *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH 그리고 H₂O층 순으로 분획하여 각각 2.5, 7.6, 10.5, 15.4 g의 분획물을 얻었다. 이중에서 EtOAc 분획층을 silica gel column chromatography을 이용하여 *n*-hexane과 EtOAc 용매계로 용출하여 8개의 fraction (Fr.E.1-8)으로 나누었다. 이중 Fr.E.4 fraction을 Sephadex LH-20 column을 사용하여 9개의 fraction (Fr.E.4.1-9)으로 나눈 후 Fr.E.4.3 fraction을 preparative HPLC로 분리하여 colorless gum type의 화합물 1 (60.0 mg)을 얻었다. *n*-Hexane 분획층도 마찬가지로 silica gel column chromatography로 분리한 fraction (Fr.H.1-8) 중 Fr.H.6 fraction을 Sephadex LH-20 column을 사용하여 분리 후 preparative HPLC를 사용하여 colorless gum type의 화합물 2 (4.0 mg)와 화합물 3 (6.5 mg)을 분리하였다(Scheme 1).



Scheme 1. Isolation of active compounds from *Vitex trifolia* L.

결 과

만형자의 분획별 *in vivo* 항균 활성 검정

만형자 추출물의 *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH, H₂O 분획물 2000 ppm을 6가지 공시 균주에 대해 *in vivo* 항균 활성을 검정한 결과, *n*-hexane 분획물이 벼 도열병균에 대해 88%, EtOAc 분획물이 벼 도열병균에 대해 85%, 밀 붉은녹병에 대해 87%의 저해도를 나타내었다(Table 1). 이상의 결과로부터 극성이 작은 분획에 활성 물질이 분포하고 있으며, 벼 도열병에 대하여 비교적 높은 활성을 보임을 확인하였다. 따라서 높은 활성을 보인 *n*-Hexane층과 EtOAc 분획층을 이용하여 다양한 column chromatography를 이용하여 3가지의 항균물질을 분리하였다.

구조결정

화합물 1의 구조결정

화합물 1의 화학구조는 ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ESI-MS 분

석에 의하여 결정되었다. ESI-MS 측정결과 molecular ion peak가 *m/z* 467 (*M* + 1)⁺, 465 (*M* - 1)에서 관측되어 분자량이 466임을 확인하였다. ¹H-NMR spectrum을 해석한 결과(Table 2), 7.83 ppm (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-6", H-2"), 6.75 ppm (2H, d, *J* = 8.9 Hz, H-3", H-5")에서 상호간에 meta coupling하고 있는 aromatic ring의 peak가 확인되었다. 6.25 ppm (1H, dd, *J* = 6.3, 1.8 Hz, H-3), 5.73 ppm (1H, s, H-7), 4.60 ppm (1H, d, *J* = 6.3 Hz, H-4)에서 methine proton peak가 관측되었고, 당 유래의 hydroxyl group에 인접한 proton peak가 3.77 ppm (2H, d, *J* = 8.3 Hz, H-2', H-6'), 5.03 ppm (2H, m, H-3', H-4')에서 확인되었다. ¹³C-NMR spectrum을 해석한 결과, 6탄당의 signal이 관찰되었으며, carbonyl group의 carbon peak가 168.10 ppm (C-11)에서 관측되었다. 또한 aromatic methine carbon peak가 133.16 ppm (C-2", C-6"), 116.47ppm (C-3", C-5")에서 관측되었다. Hydroxyl group에 인접한 aromatic quaternary carbon peak가 163.93 ppm (C-4"), 당 유래의 hydroxyl group에 인접한

Table 1. Antifungal activity of the four fractions obtained by solvent partitioning of 80% aqueous methanol extracts of *Vitex trifolia* L. against six fungal pathogens^{a)}

Fraction	Conc. (μL/mL)	Control Value (%) ^{b)}					
		RCB ^{c)}	RSB	TGM	TLB	WLR	BPM
<i>n</i> -Hexane	2000	88	26	55	55	0	15
Ethyl acetate	2000	85	32	73	55	87	0
<i>n</i> -Butanol	2000	70	32	27	45	0	0
Aqueous	2000	58	11	18	0	-	0

^{a)}Seedlings were inoculated with spores or mycelial suspensions of the test organism 1 day after solutions of the plant extracts were sprayed onto the leaves to run-off.

^{b)}Control value(%) = (1 - disease severity of treated plants/disease severity of untreated plants) × 100.

^{c)}RCB = Rice blast; RSB = Rice sheath blight; TGM = Tomato gray mold; TLB = Tomato late blight; WLR = Wheat leaf rust; BPM = Barley powdery mildew.

methine peak가 71.56 ppm (C-4'), 78.06 ppm (C-3'), 75.02 ppm (C-2'), 63.80 ppm (C-6')에서 관측되었고, 당과 연결되는 위치의 carbon peak가 98.12 ppm (C-1), 100.36 ppm (C-1')에서 관측되었다. 화합물 1의 선광도는 $[\alpha]_D^{25} -23^\circ$ (c 0.37 MeOH)로 측정되었다. 이상의 결과와 문헌 비교를 종합하여 화합물 1의 화학구조를 agnuside (M.W 466, C₂₂H₂₆O₁₁)로 동정하였다(Isao 등, 1988; Parvinder 등, 2009).

화합물 2의 구조결정

화합물 2의 화학구조는 ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ESI-MS 분석에 의하여 결정되었다. ESI-MS 측정 결과 molecular ion peak가 m/z 375 (M + 1)⁺, 373 (M - 1)⁻에서 관측되어 분자량이 374임을 확인하였다. ¹H-NMR spectrum을 해석한 결과(Table 3) aromatic ring에서 상호 meta coupling 위치에 있는 methine proton peak가 7.72 ppm (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', H-6')에서 관측되었다. 또한 6.51 ppm (1H, s, H-8)에서 aromatic methine proton이 관측되었다. 그리고 4개의 methoxy group의 proton peak가 4.00 ppm (3H, s, 6-OCH₃),

3.96 ppm (3H, s, 7-OCH₃), 3.93 ppm (3H, s, 4'-OCH₃), 3.88 ppm (3H, s, 5'-OCH₃)에서 확인되었다. ¹³C-NMR spectrum 분석 결과 methoxy group의 carbon peak가 60.86 ppm (3-OCH₃, 7-OCH₃), 56.28 ppm (5'-OCH₃), 56.01 ppm (6-OCH₃)에서 관측되었다. 그리고 methoxy group과 결합하고 있는 quaternary carbon peak가 139.07 ppm (C-3, C-6), 158.88 ppm (C-7), 145.62 ppm (C-5')에서 관측되었다. Carbonyl group의 carbon peak가 179.09 ppm (C-4)에서 관측되었고, alcohol기와 결합한 carbon peak가 152.82 ppm (C-5), 148.85 ppm (C-4')에서 관측되었다. Phenol 고리의 연결 부위에 있는 carbon peak를 155.72 ppm (C-2), 123.66 ppm (C-1')에서 확인하였다. 그리고 aromatic methine group의 carbon peak를 90.34 ppm (C-8), 110.41 ppm (C-6'), 121.65 ppm (C-2'), 114.37 ppm (C-3')에서 확인하였다. 이상의 결과를 종합하여 화합물 2의 화학구조를 chrysosplenol의 유도체인 chrysosplenol B (M.W 374, C₁₉H₁₈O₈)로 동정하였다(Jaber 등, 1988; Gudej과 Czapski, 2009; Long과 James, 2010).

화합물 3의 구조결정

화합물 3의 화학구조는 ESI-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR의 측정에 의하여 결정되었다. ESI-MS 분석결과 389 (M + 1)⁺, 387 (M - 1)⁻ m/z로 분자량이 388임을 확인하였다. 화합물 3의 NMR data는 화합물 2의 NMR data와 매우 유사(Table 3)하여 화합물 2 또한 flavonoid계 화합물임을 알 수 있었다. ¹H-NMR spectrum을 해석한 결과 12.61 (1H, s) ppm에서 수소결합에 의한 C5-OH group의 signal이 관측되었으며, 3.87 ppm에서 또 다른 methoxy group의 signal이 관측되어 C4'-OH group이 methoxy group으로 치환되었을 것으로 추측하였다. ¹³C-NMR data를 해석한 결과 5개의 methoxy group이 관측되었고, ESI-MS data 역시 14 units가 증가하여 이를 뒷받침하였다. 이상의 결과와 문헌검색을 종합하여 화합물 3의 화학구조를 artemetin (M.W 388, C₂₀H₂₀O₈)으로 동정하였다(Centro 등, 2002; Nurgun과 Bilge, 2010).

만형자로부터 분리한 3개의 물질(agnuside, chrysosplenol B, artemetin)들 중에서 chrysosplenol B는 만형자로부터 처음 분리되었다. 이들 분리한 3개의 물질들에 대한 *in vitro* 및 *in vivo* 항균활성에 대한 연구를 진행하고 있다. 만형자는 벼 도열병, 토마토 잿빛곰팡이병, 토마토 역병 및 밀 붉은녹병에 대하여 활성을 보이며, 특히 벼 도열병과 밀 붉은녹병에 매우 강한 활성을 보였다. 우리나라의 경우 벼의 친환경 재배 농가가 해마다 급증하고 있고, 또한 벼 도열병에 벼에 발생하는 가장 중요한 식물병 중의 하나이므로 이에 대한 친환경 살균제 개발은 파급효과가 클 것으로 예상된다. 녹병의 경우 우리나라에서는 밀 붉은녹병에 큰 문제가 되지 않지만 밀이 주식인 유럽과 미주대륙의 경우 밀 붉은녹병이 가장 심각한 식물병 중의 하나이다. 따라서 이 식물병을 효

Table 2. NMR (¹H, 400 MHz; ¹³C, 100 MHz) data of compound 1

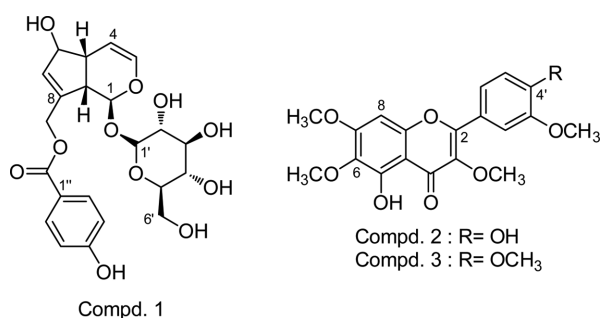
Position	Compound 1	
	δ H	δ C
1	5.04(1H, m) ^{a)}	98.12
3	6.25(1H, dd, J = 6.3, 1.8 Hz)	143.11
4	4.60(1H, d, J = 6.3 Hz)	105.72
5	2.61(1H, m)	46.39
6	3.80(1H, s)	49.58
7	5.73(1H, s)	132.62
8	-	141.89
9	2.89(1H, m)	48.73
10	5.03(2H, m)	62.85
11	-	168.10
1'	5.01(1H, m)	100.36
2'	3.77(1H, d, J = 8.3 Hz)	75.02
3'	5.03(1H, m)	78.06
4'	5.03(1H, m)	71.56
5'	4.90(1H, s)	78.36
6'	3.77(2H, m)	63.80
1''	-	122.26
2''	7.83(1H, d, J = 8.7 Hz)	133.16
3''	6.75 ppm(1H, d, J = 8.9 Hz)	116.47
4''	-	163.93
5''	6.75 ppm(1H, d, J = 8.9 Hz)	116.47
6''	7.83(1H, d, J = 8.7 Hz)	133.16

^{a)}proton signal multiplicity and coupling constant(J=Hz) are parentheses, the characters denote s, singlet; d, doublet; dd, double doublet; m, multiplet.

Table 3. NMR (^1H , 400 MHz; ^{13}C , 100 MHz) data of compound 2, 3

Position	δH		δC	
	Compd. 2	Compd. 3	Compd. 2	Compd. 3
2	-	-	155.72	152.51
3	-	-	139.07	158.56
4	-	-	179.09	178.69
5	-	-	152.82	152.51
6	-	-	139.07	139.30
7	-	-	158.88	158.56
8	6.51(1H, s)	6.52(1H, s)	90.34	90.02
9	-	-	152.42	155.00
10	-	-	106.63	105.72
1'	-	-	123.66	122.60
2'	7.72 (2H, d, $J=3$ Hz) ^{a)}	7.72 (2H, d, $J=2.0$ Hz)	121.65	121.88
3'	6.99 (1H, d, $J=8.4$ Hz)	7.01 (1H, d, $J=8.6$ Hz)	114.37	110.95
4'	-	-	148.85	155.90
5'	-	-	145.62	110.95
6'	7.72 (2H, d, $J=3$ Hz)	7.72(2H, d, $J=2.0$ Hz)	110.41	110.55
3-OCH ₃	3.93(3H, s)	3.93(3H, s)	60.86	59.86
6-OCH ₃	4.00(3H, s)	3.98(3H, s)	56.01	55.73
7-OCH ₃	3.96(3H, s)	3.97(3H, s)	60.86	55.73
4'-OCH ₃	-	3.87(3H, s)	-	55.99
5'-OCH ₃	3.88(3H, s)	3.96(3H, s)	56.28	60.55
5-OH	12.60(1H, s)	12.61(1H, s)	-	-

^{a)}Proton signal multiplicity and coupling constant(J = Hz) are parentheses, the characters denote s, singlet; d, doublet

**Fig. 1.** Chemical structures of compounds 1-3 isolated from *Vitex trifolia* L..

과적으로 방제하는 천연물 살균제 개발은 의미가 크다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 화학비료농약 대체 자원 이용 기술 개발((Project No.: 200901OFT102966197)의 지원에 의하여 이루어진 연구 결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

Literature Cited

- Adamu, A. K. (2009) Isolation and characterization of antibacterial compounds from a *Garcinia livingstonei* (Clusiaceae) leaf extract. University of Pretoria 39-40, 72-76.
- Centro, P. de P. Q., A. Biolgicase, C. M. Departamento de and M. Faculdade de (2002) Evaluation of the antiedematogenic activity of artemetin isolated from *Cordia curassavica* DC. Brazilian J. Med. Biol. Res. 35:1228~1231.
- Chikako, M. (2003) Antioxidative, Antihyaluronidase and Antityrosinase activities of some constituents from the aerial part of *Piper elongatum* VAHL. Food Sci. Technol. Res. 9(2):197~201.
- Cho, J. Y., G. J. Choi, S. W. Lee, H. Lim, K. S. Jang, C. H. Lim, K. Y. Cho and J. C. Kim (2006) *In vivo* antifungal activity against various plant pathogenic fungi of curcuminoids isolated from *Curcuma longa* L. rhizomes. Plant Pathology J. 22:94~96.
- Gudej, J. and P. Czapski (2009) Components of the petroleum ether and chloroform extracts of *Chrysosplenium alternifolium*. Chem. Nat. Comp. 45:717~719.
- Hossain, M. M., N. Paul, M. H. Sohrab and E. Rahman (2001) Antibacterial activity of *Vitex trifolia*. Fitoterapia 72(6):

- 695~167.
- Isao, K., I. Masaaki, O. Yoshiko, F. Tamayo and K. Nobusuke (1988) Iridoid and phenolic glucoside from *Vitex Rotundifolia*. *Phytochemistry* 28(2):611~612.
- Jaber, S. M., S. H. Mohammed, A. Mohammed, M. M. H. Alyahya, A. S. Amir and S. E. Farouk (1988) Flavonoids and coumarins from three Saudi Arabian *Compositae* Species. *Int. J. Crude Drug Res.* 26(2):181~184.
- Jane, R. H., C. Mary, L. M. D. Neil, J. H. Belinda and A. R. J. Graham (2003) Semisynthetic preparation of amentoflavone: A negative modulator at GABA receptors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13:2281~2284.
- Kang, S. S. and J. S. Kim (1994) Phytochemical Analysis of *Vitidis Fructus*. *Korean J. Pharmacogn.* 98:214~220.
- Kim, J. B. (2005) Pathogen, insect and weed control effects of secondary metabolites from plants. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 48:1~15.
- Kim, J. C., G. J. Choi, J. H. Park, H. T. Kim and K. Y. Cho (2001) Activity against plant pathogenic fungi of phomalactone isolated from *Nigrospora sphaerica*. *Pest Manag. Sci.* 57:554~559.
- Kim, J. S. (2003) Development of biopesticide using higher plant-derived natural products. *Korea Research Institute of Chemical Technology.* 1-10:75~97.
- Lee, Y. S., B. D. Choi, E. Y. Joo, S. R. Shin (2009) Antioxidative activities and tyrosinase inhibition ability in various extracts of the *Vitex rotundifolia* seeds. *Korean J. Food Preserv.* 16:101~108.
- Long, Z. L., M. H. James (2010) Identification of the phenolic components of *chrysanthemum* flower (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Food Chem.* 120:319~326.
- Nurgüün, K. Ş. Bilge (2010) Two major flavonoids from the fruits of *Vitex Agnus-castus* L.. *Turk J. Pharm. Sci.* 7(2):121~124.
- Oerke, E. C., H. W. Dehne, F. Schonbeck and A. Weber (1994) Crop production and crop protection: Estimated losses in major food and cash crops. Elsevier, Amsterdam.
- Ono, M., H. Sawamura, Y. Ito and K. Mizuki (2000) Diterpenoids from the fruits of *Vitex trifolia*. *Phytochemistry.* 55(8):873~877.
- Park, J. H. and C. K. Lee (2000) The Encyclopedia of Medicinal Plants. Shinilbooks. 183~184, 248~249.
- Parvinder, P. S., A. Q. Naveed, S. Syed and D. R. Mahendhar (2009) Regio-selective acylation of biologically important iridoid glycosides by *Candida antarctica* lipase. *J. Mol. Cat.* 51(1):49~53.
- Xin, Y H., Q. Y. Zhang and B. K. Huang (2006) Study on chemical constituents in fruits of *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. *Arch. Pharm. Res.* 29:747~749.

만형자(*Vitex trifolia* L.)로부터 항균활성물질의 분리 및 구조결정

박영식 · 황주태 · 김영신 · 김진철¹ · 임치환*

충남대학교 농업생명과학대학 생물환경화학과, ¹한국화학연구원 녹색화학분야

요 약 합성농약의 단점을 보완하기 위하여 무공해, 무독성의 환경 친화적인 농약이 요구되고 있다. 특히, 식물 유래 천연물이 각광받고 있으며 이러한 관점에서 선행 실험 결과 강한 항균활성을 나타낸 만형자(*Vitex trifolia* L.)로부터 항균활성물질을 분리하여 기기분석을 통해 화학구조를 결정하고, 항균활성 검정을 실시하였다. 만형자를 80% aqueous MeOH로 추출한 후 *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH 및 H₂O 등 4개의 층으로 분획하였다. 이들 분획물을 이용하여 2000 ppm 수준으로 6가지 식물병원균에 대해 *in vivo* 항균활성을 검정한 결과, *n*-hexane 분획물이 벼 도열병균에 대해 88%, EtOAc 분획물이 벼 도열병균에 대해 85%, 밀 붉은녹병에 대해 87%의 방제효과를 나타내었다. Silica gel column, Sephadex LH-20 column chromatography, preparative HPLC를 사용하여 단일 화합물로 분리한 다음, ESI-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR의 기기분석 결과를 해석하여 agnuside, chrysosplenol B, artemetin로 구조를 동정하였다. Chrysosplenol B는 만형자로부터 처음 분리되었다. 분리한 물질들의 *in vitro* 및 *in vivo* 항균활성에 대한 연구를 진행하고 있다.

색인어 *Vitex trifolia* L., Agnuside, Chrysosplenol B, Artemetin