

할미꽃(*Pulsatilla koreana* Nakai)으로부터 새로운 살초활성물질 anemonin의 분리

최해진¹, 김희연¹, 허장현¹, 허수정², 김도순³, 김성문^{1*}

Isolation of New Herbicidal Compound Anemonin from *Pulsatilla koreana* Nakai

Choi, Hae-Jin¹, Hee-Yeon Kim¹, Jang-Hyun Hur¹, Su-Jeong Heo², Do-Sun Kim³
and Songmun Kim^{1*}

ABSTRACT The objective of this study was to isolate herbicidally active compound(s) from *Pulsatilla koreana*, a native plant in Korea and to identify its chemistry. The herbicidal activity (GR₅₀) of methanol extracts of dried plant which is determined by a seed bioassay using canola (*Brassica napus* L.) was 6,776µgg⁻¹. Activity-directed fractionation of the extracts, using a seed bioassay, led to the identification of anemonin (1,7-dioxadispiro[4.0.4.2] dodeca-3,9-diene-2,8-dione) as a herbicidal component of the extracts. The GR₅₀ value of isolated anemonin from *Pulsatilla koreana* was 63µgg⁻¹. The chemical formula and molecular weight of anemonin are C₁₀H₈O₄ and 192.17, respectively.

Key words : anemonin; *Pullsatilla Koreana*; 1,7-dioxadispiro[4.0.4.2]dodeca-3,9-diene-2,8-dione.

서 론

유기농업을 위한 CODEX 유기지침은 잡초방제를 위하여 유기원 (동물, 식물, 미생물) 또는 광물에서 유래한 자재만을 허용하고 모든 유기합성 제초제의 사용을 금하고 있어서(최 등 2002), 유기농업의 확대를 위해서는 친환경 잡초방제를 위한 유기원의 살초활성물질 개발이 요구되고 있다. 현재까지 유기원 또는 광물 기원의 살초활성물질을 탐색하는 연구는 전 세계적으로 이루어지고 있으나(김 등 2001a), 이들을 제초제로 개발한 예로는 glufosinate가 유일하기에 향

후 이에 대한 집중적인 연구가 수행될 것이라 예상된다.

천연물 기원의 제초제 개발을 위해서는 우선 살초활성물질을 함유하고 있는 유기원 또는 광물로부터 탐색해야 하는데, 식물은 종의 다양성과 이에 함유되어 있는 생리활성물질의 다양성으로 인하여 오랜 기간 동안 많은 연구자의 연구대상이 되어 왔다(Duke 등 2000). 현재까지 다양한 식물로부터 artemisinin, caffeine, 1,4-cineole, coumarin, dehydrozalanin C, dhurrin, DIBOA, BOA, ferulic acid, juglone, kaempferol, psoralen, quassinoids, quercetin,

¹ 강원대학교 생물환경학부, Division of Biological Environment, Kangwon National University.

² 강원도 농업기술원, Gangwondo Agricultural Research and Extension Services.

³ LG생명과학, LG Life Sciences, Ltd.

* 연락처저자(corresponding author) : 전화) 033-250-6447, Fax) 033-241-6640, E-mail) skim5@kangwon.ac.kr

scopolamine, scopoletin, sesquiterpenes, sorgoleone, -tertieryl과 같은 살초활성물질들이 발견되었는데(김 등 2003), 이들의 낮은 살초력과 복잡한 화학구조는 상업용 제초제로의 개발을 가로막는 장애가 되고 있다(Duke 등 2000).

최근에는 저항성 잡초문제에 직면한 제초제 개발 회사에서 새로운 화학구조를 갖는 살초활성물질을 식물로부터 얻으려는 시도를 하고 있는데, 그 한 예를 bottlebrush plant로부터 얻어진 leptospermone의 화학구조를 바탕으로 개발된 Mesotrione[®]에서 찾을 수 있다(Mitchell 등 2001).

다양한 생리활성물질을 함유하고 있는 식물종은 전세계의 광범위한 지역에서 서식하기도 하지만 어떤 식물종은 제한된 지역에서 서식하기도 한다. 따라서 살초활성물질이 함유되어 있는 식물이 국지적으로 서식하고 있는 경우, 그 식물에 대한 정보를 가지고 있거나 혹은 접근이 용이한 연구자들이 보다 우위에 서서 개발을 주도할 수 있을 것이다. 우리나라에는 현재까지 185과 1,065속 4,596종의 자생 식물이 서식하는 것으로 알려져 있으나(이 2002), 아직까지 밝혀지지 않은 양치류 이하 하등식물 및 고등식물에서도 신종이 계속 보고되고 있는 실정이라 약 6천여 종 이상이 될 것이라 추정되고 있다(성 2002).

우리 나라의 전역에 자생하는 할미꽃은 총 4종-가는잎할미꽃(*P. cernua*), 분홍 할미꽃(*P. davurica*), 산할미꽃(*P. nivalis*) 및 할미꽃(*P. koreana*)이 있는데, 이 중 할미꽃(*P. koreana*)은 분류학상 미나리제비과(Ranunculaceae)에 속하는 다년생 초본식물로서, 뿌리는 길고 곧으며 흑갈색을 띠고, 꽃자루 길이는 30~40cm이며, 꽃은 암자색을 띠며 3~4월에 피우는데, 민간에서는 전초를 학질과 신경통, 지사(止瀉), 진통, 지혈, 소염, 건위 등의 치료제로 그리고 뿌리를 백두옹이라 하여 해열, 수렴, 살균 등에 사용해 왔다(박 2000). 최근에는 할미꽃을 산업에 응용하려는 시도가 활발하게 이루어져 간장(손 2002a)과 레토르식품(손 2002b)으로도 개발되었다.

최근들어 할미꽃에 함유되어 있는 생리활성물질과 그 효능에 관한 연구가 이루어지고 있는데,

deoxypodophyllotoxin은 항암치료 효과(안 등 2001), 2,3,11,14,20,22-hexahydroxy-5-cholest-7-en-6-one은 당뇨치료 효과(조 등 1998), 4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid와 3,4-dihydroxycinnamic acid의 항미생물 활성(이 등 1998), 그리고 pulsaquinone은 항균 효과(박 2001)를 각각 가지고 있는 것으로 보고된 바 있다. 할미꽃의 추출물은 살초활성을 나타내는데 살초활성 분획물에는 11-hexadecenoic acid, methyl ester; 14-methylpentadecanoic acid, methyl ester; 1,2-benzenedicarboxylic acid, butyl 2-methylpropyl ester; 6-octadecenoic acid, methyl ester; 15-methyl-heptadecanoic acid, methyl ester; docosane; 1,2-benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester; 1-(7-hydroxy-5-methoxy-2,2-dimethyl-2H-1-benzopyran-6-yl)-ethanone; hexanedioic acid, mono(2-ethylhexyl)ester; 5-(p-nitrophenyl)-3,7-diphenyl-4H-1,2-diazepine와 같은 화합물이 존재하는 것으로 구명되었다(김 1994). 그러나 현재까지 할미꽃에 함유되어 있는 살초활성물질의 정체는 구명되지 않고 있다.

본 연구에서 저자들은 할미꽃의 methanol 추출물을 24-well testplate에서 유채(*Brassica napus* L.)를 대상으로 순차용매분획-활성검정(activity-directed bioassay)과 흡착 컬럼 크로마토그래피를 통하여 높은 살초활성을 나타내는 anemonin으로 알려져 있는 1,7-dioxadispiro[4.0.4.2]dodeca-3,9-diene-2,8-dione을 분리·동정하였다.

재료 및 방법

시료 채취

실험에 사용된 할미꽃 시료는 2002년 5월부터 10월까지 강원도 춘천시 서면 서상리(37° 56.191' N, 127° 42.051' E)에서 채집하였다. 할미꽃의 지상부위만을 채집하여 음건한 후 분쇄기를 이용하여 완전 마쇄하였다.

MeOH 추출물

건조시료 1kg을 취하여 methanol (MeOH) 2L가 담겨 있는 5-L erlenmeyer flask에 넣고 100rpm에서 24시간 진탕하여 2회 반복추출하였다. 추출된 MeOH을 250-ml round bottom flask에 담고 rotary vacuum evaporator(EYELA NE-1101)를 이용하여 완전농축한 다음, d-H₂O를 50ml 첨가하였다. Flask 내의 건조물을 d-H₂O를 이용하여 잘 용해시킨 다음 동결건조기(ILSHIN Lab Co. Ltd.)를 이용하여 건조시켰다. 동결건조된 시료를 실온 압조건에서 보관하면서 MeOH 추출물의 살초활성검정에 사용하였다.

Seed bioassay

MeOH 추출물을 d-H₂O을 사용하여 10,000µg⁻¹이 되게 stock solution을 제조하였고, 이 stock solution을 이용하여 처리액을 제조하였다. 처리액을 모래 1g 위에 5립의 캐놀라 (*Brassica napus* L.) 종자가 치상되어 있는 24-well tissue culture testplate에 처리하였고, testplate를 온도 25℃, 습도 70%, 광도 3,100 Lux 조건의 식물성장상에 놓고 7일 동안 생장시켰다. 처리 7일 후 캐놀라의 생체중을 측정하여 각 시료에 대한 GR₅₀ 값(식물의 생장을 50% 저해할 수 있는 약량)을 구하였다.

MeOH 추출물의 용매 분획

MeOH 건조물 10g 당 각각 100 ml의 hexane, dichloromethane(CH₂Cl₂), ethylacetate(EtOAc), butanol(BuOH), H₂O으로 단계적으로 용매의 극성을 높여 가면서 각 용매의 가용획분별로 분획한 후, 각각의 분획층을 rotary vacuum evaporator로 완전농축하고 동결건조시켰다. 동결건조된 분획물을 d-H₂O를 사용하여 stock solution을 제조하였고, 각각의 분획층으로부터 얻은 분획물에 대한 seed bioassay를 전술한 바와 같이 수행하였다.

Anemonin의 분리 및 정제

CH₂Cl₂ 분획물을 CH₂Cl₂-hexane 용액(1 : 3), EtOAc-CH₂Cl₂ 용액(1 : 2), EtOAc-CH₂Cl₂ 용액(1 : 15)으로 흡착 (Silica gel 60, 0.040~0.063mm,

Merck) 컬럼 크로마토그래피에서 용출분획하고, 각각의 용출액을 rotary vacuum evaporator로 완전농축한 다음 앞서 기술한 방법에 따라 activity-directed bioassay를 실시하였다.

활성분획물을 박막 (Silica gel 60 F₂₅₄, Silica gel RP-18 F₂₅₄, Merck) 크로마토그래피를 이용하여 정제한 다음, 박막을 끊어 100-ml의 round bottom flask에 넣고 rotary vacuum evaporator로 완전농축하였다. Round bottom flask에 2ml의 CH₂Cl₂를 첨가하여 시료를 용해시킨 후, round bottom flask를 4℃의 냉장고에서 72시간 보관하여 백색의 결정이 생성된 것을 확인한 다음, 결정을 상온에서 MeOH을 이용하여 재결정하였다. 재결정된 활성분획물의 화학구조를 구명하기 위하여 기기분석을 실시하였다.

Anemonin의 기기분석

¹H-NMR, ¹³C-NMR

Varian Gemini 200 (400 MHz) NMR spectroscopy를 사용하여 분석하였고, 용매는 CDCl₃를 사용하였으며, 내부표준물질로는 tetramethylsilane (TMS)을 사용하였다.

MS

직접주입장치가 장착된 Micromas 사의 Autospec 365 series mass spectrometer를 이용하여 이온화전압(70 eV), ion source temperature 250℃, interface temperature 250℃의 조건에서 direct inlet 방식으로 분석하였다.

결과 및 고찰

MeOH 추출물의 살초효과

할미꽃 잎 건조시료 100g으로부터 얻은 MeOH 추출물을 유채(*Brassica napus* L.)와 피(*Echinochloa-cruss galli* P. Beauv.)를 대상으로 seed bioassay를 수행하였다. MeOH 추출물을 토양에 처리시 유채 생장은 억제된 반면(GR₅₀, 6,776µg

g⁻¹) 피의 생장은 억제되지 않았기에 본 연구의 모든 seed bioassay에서는 유채만을 살초활성 검정의 대상으로 삼았다. 본 연구에서 결과는 할미꽃 잎에 살초활성물질이 함유되어 있다는 것을 시사하여 주는데, 살초활성물질은 뿌리에도 존재하는 것으로 보고된 바 있다(김 1994).

할미꽃 MeOH 추출물(4kg ha⁻¹)을 수수(*Sorghum bicolor* Moench.), 피(*Echinochloa-cruis galli* P. Beauv.), 개밀(*Agropyron smithii*), 바랭이(*Digitaria sanguinalis* Scop.), 미국개기장(*Panicum dichotomiflorum* Michx.), 까마중(*Solanum nigrum*), 자귀풀(*Aeschynomene indica* L.), 어저귀(*Abutilon avicennae* Gaertn.), 도꼬마리(*Xanthium strumarium* L.), 메꽃(*Calystegia japonica* Choisy)의 경엽에 처리하고 살초활성 검정을 수행한 결과, 세엽잡초인 수수, 피, 바랭이, 미국개기장의 생육이 각각 40%, 30%, 40%, 20% 억제되었다.

할미꽃 MeOH 추출물에 함유되어 있는 살초활성 물질을 경엽처리실험을 통해 분리하기 위해서는 무엇보다도 많은 약량이 요구되는 단점이 있었기에 ‘활성성분의 정제와 분리’ 실험에서는 경엽처리 실험 대신 토양처리 실험을 수행하였다.

활성성분의 정제와 분리

할미꽃 100g에서 얻어진 MeOH 추출물(18.83g)을 EtOAc, CH₂Cl₂, BuOH, hexane, H₂O로 분획한 다음 각각의 분획물을 유채를 대상으로 살초활성을 검정한 결과, BuOH 분획물, hexane 분획물, H₂O 분획물의 GR₅₀ 값은 > 8,000µg g⁻¹이었던 반면, EtOAc 분획물과 CH₂Cl₂ 분획물의 GR₅₀ 값은 각각 1,960µg g⁻¹과 1,561µg g⁻¹이었다(표 1). MeOH 추출물로부터 얻은 5개의 용매분획물 중 EtOAc 분획물과 CH₂Cl₂ 분획물에서 살초활성물질의 존재가 시사되었는데, 본 연구에서는 CH₂Cl₂ 분획물만을 대상으로 살초활성물질 분리 실험을 수행하였다. 향후 EtOAc 분획물에 함유되어 있는 살초활성물질의 분리를 통하여 새로운 살초활성물질을 탐색해 낼 수 있을 것이라 예상된다.

용매분획물 중 가장 높은 살초활성을 나타낸

Table 1. Growth inhibition of solvent extracts from *Pulsatilla koreana* Nakai. The methanol extract from *Pulsatilla koreana* was extracted with five different solvents. The solvent extracts were freeze-dried and their effect on the growth of canola (*Brassica napus* L.) seedlings was determined. The GR₅₀ is a concentration to inhibit the growth of plants by fifty percent compared to the growth of control plants. Means and standard errors (in parenthesis) are based on data from three replicates.

Solvent extracts	GR ₅₀ (µg g ⁻¹)
EtOAc	1,960 (102)
CH ₂ Cl ₂	1,561 (99)
BuOH	8,137 (99)
Hexane	> 10,000
H ₂ O	8,878 (101)

Table 2. Herbicidal activities of DA, DB, and DC fractions from CH₂Cl₂ extracts of *Pulsatilla koreana*. DA, DB, and DC fractions were obtained by eluting CH₂Cl₂ extracts with CH₂Cl₂-hexane solution (1 : 3, v/v) in a silica gel column chromatography. Means and standard errors (in parenthesis) are based on data from three replicates.

Solvent extracts	GR ₅₀ (µg g ⁻¹)
DA	> 1,000
DB	> 1,000
DC	536 (105)

CH₂Cl₂ 분획물을 흡착 (Silica gel 60, 0.040~0.063mm, Merck) 컬럼 크로마토그래피에서 CH₂Cl₂ : hexane 용액(1 : 3, v/v)을 이용하여 용출분획하였다. 그 결과 Ve/Vt (elution volume/column bed volume) 0.00~0.31 (DC), 0.32~0.48 (DB), 0.65~0.78 (DA)를 얻었으며 각 분획물에 대하여 살초활성을 검정한 결과는 DC 분획물의 GR₅₀ 값이 536µg g⁻¹으로 가장 낮았다(표 2).

활성분획물 DC(457mg)를 EtOAc : CH₂Cl₂ 용액 (1 : 2)으로 흡착 (Silica gel 60, 0.040~0.063mm, Merck) 컬럼 크로마토그래피에서 용출분획한 결과, Ve/Vt 0.64~0.99의 DCA와 0.00~0.58의 DCB를 얻었다. DCA와 DCB 분획물 중 DCA의 GR₅₀ 값은

Table 3. Herbicidal activities of DCA and DCB fractions from DC extracts of *Pulsatilla koreana*. DCA and DCB fractions were obtained by eluting DC extracts with EtOAc : CH₂Cl₂ solution (1 : 2, v/v) in a silica gel column chromatography. Means and standard errors (in parenthesis) are based on data from three replicates.

Solvent extracts	GR ₅₀ (μg g ⁻¹)
DCA	200 (104)
DCB	> 1,000

220 μg g⁻¹으로 DCB보다 낮았다(표 3).

활성분획물 DCA(13mg)를 EtOAc : CH₂Cl₂ 용액 (1 : 15)으로 흡착 (Silica gel 60, 0.040~0.063mm, Merck) 컬럼 크로마토그래피에서 용출분획한 결과, Ve/Vt 0.00~0.55에 3개의 spot (DCAI, DCAJ, DCAK), 0.57에 1개의 spot(DCAH, 0.396mg), 그리고 0.65~0.99에 6개의 spot(DCAA, DCAB, DCAC, DCAD, DCAE, DCAF)을 얻었다. Spot 간의 분리가 어려웠던 Ve/Vt 0.00~0.55과 0.65~0.99의 분획물을 각각 모아 살초활성을 검정한 결과 유체에 대한 GR₅₀ 값은 공히 > 1,000 μg g⁻¹이었고, DCAH의 유체에 대한 GR₅₀ 값은 63 ± 40 μg g⁻¹이었다.

활성물질 DCAH의 구조확인

백색결정의 살초활성물질 DCAH를 normal phase 실리카겔(Silica gel 60 F₂₅₄, Merck)과 reversed phase 실리카겔(Silica gel RP-18 F₂₅₄, Merck) 박막 크로마토그래피에서 정제한 후, 직접도입방식으로 EI mass 분석을 실시한 결과 molecular ion(M⁺)이 m/z 192(base peak)에 나타났으며, 특징적인 fragment ion이 m/z 164, 136, 110, 96, 82, 68, 63, 54에 나타났다(그림 1). 이 spectrum으로 NIST library 검색을 실시한 결과, anemonin으로 알려져 있는 1,7-dioxadispiro[4.0.4.2]dodeca-3,9-diene-2,8-dione의 가능성이 시사되었다.

CDCl₃를 용매로 사용하여 ¹H-NMR을 실시한 결과, δ(ppm) 2.3 (1H, m, H-1), 2.5 (1H, m, H-2), 6.1 (1H, d, J = 5.67 Hz, H-3), 7.7 (1H, d, J = 5.64 Hz, H-4)에서 proton signal이 확인되었다(그림 2).

CDCl₃를 용매로 사용하여 ¹³C-NMR을 실시한 결과, δ(ppm) 170.88 (C-1), 121.14 (C-2), 153.26 (C-3), 90.31 (C-4), 23.86 (C-5)에서 5개의 carbon signal이 확인되었다(그림 3). Anemonin의 화학구조상 carbon의 수가 10 개임에도 불구하고 5개의 carbon signal 밖에는 확인되지 않은 이유는 이 화합물의 구조가 좌우대칭으로 인하여 나타난 것이라

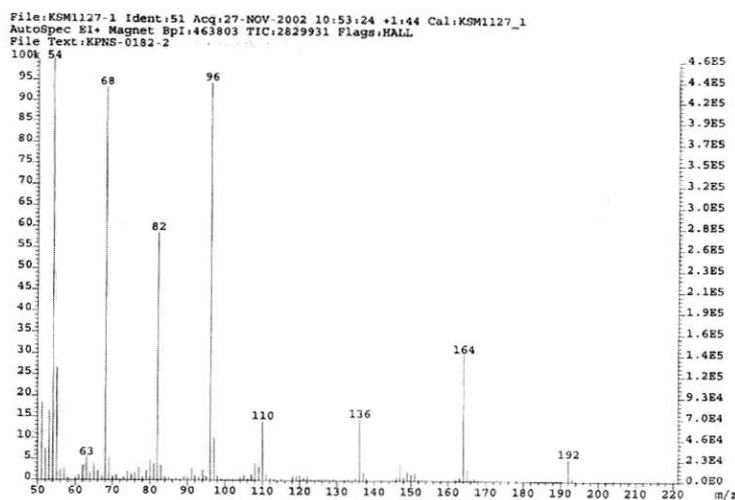


Fig. 1. Direct-EI-mass spectrum of DCAH from leaves of *Pulsatilla koreana*.

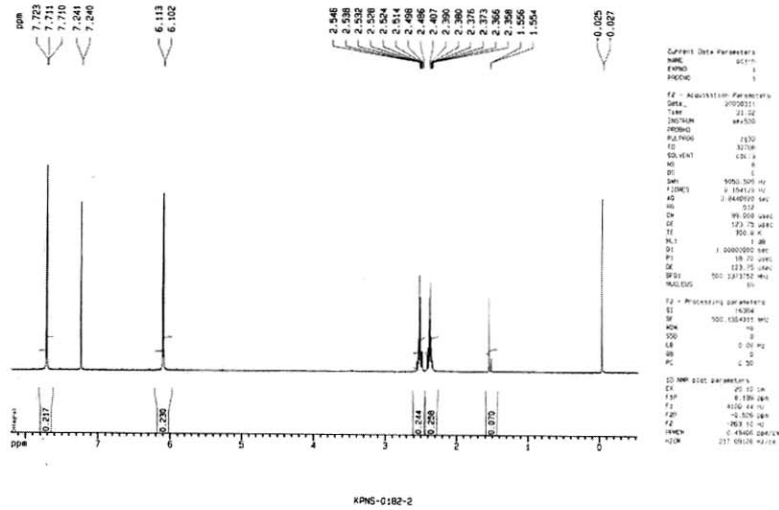


Fig. 2. ¹H-NMR spectra of DCAH from leaves of *Pulsatilla koreana*.

판단된다.

이상의 MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR의 분석에서 할미꽃으로부터 살초활성물질로 단리된 활성물질 DCAH는 분자량이 192.17이고, 화학구조식이 C₁₀H₈O₄인 anemonin으로 알려져 있는 1,7-dioxadispiro[4.0.4.2]

dodeca-3,9-diene-2,8-dione(그림 4)으로 동정되었다.

할미꽃에 함유된 살초활성물질에 대한 연구는 이전에 김(1994)에 의해 수행된 바 있는데, 저자는 할미꽃 뿌리로부터 살초활성이 있는 2개의 분획물을 분리하고, 분획물에 함유되어 있는 살초활성물질을 GC-

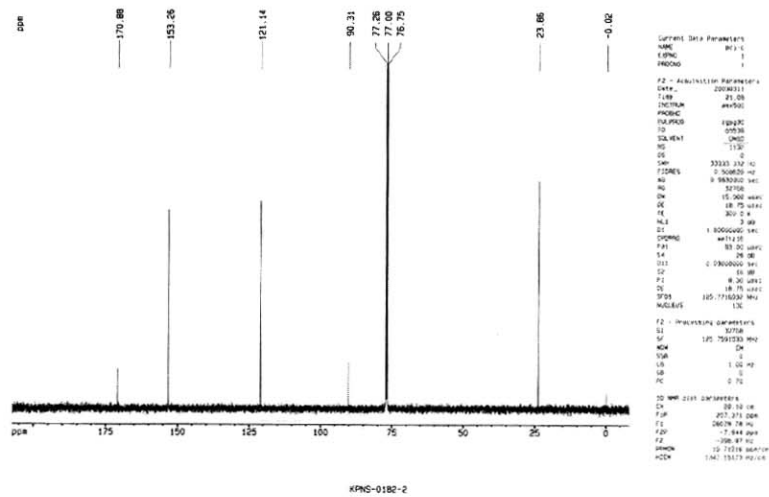


Fig. 3. ¹³C-NMR spectra of DCAH from leaves of *Pulsatilla koreana*.

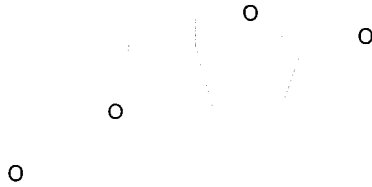


Fig. 4. Chemical structure of anemonin (1,7-dioxadispiro [4.0.4.2]dodeca-3,9-diene-2,8-dione) from leaves of *Pulsatilla koreana*.

MS 분석을 통하여 11-hexadecenoic acid, methyl ester; 14-methyl-pentadecanoic acid, methyl ester; 1,2-benzenedicarboxylic acid, butyl 2-methylpropyl ester; 6-octadecenoic acid, methyl ester; 15-methyl-heptadecanoic acid, methyl ester; docosane; 1,2-benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester; 1-(7-hydroxy-5-methoxy-2,2-dimethyl-2H-1-benzopyran-6-yl)-ethanone; hexanedioic acid, mono (2-ethylhexyl)ester; 5-(p-nitrophenyl)-3,7-diphenyl-4H-1,2-diazepine의 존재를 밝혔지만, 이들 중 어떤 화합물이 실제 살초활성에 관여했는지에 대해서는 구명하지 못하였다. 김(1994)이 할미꽃에 존재하는 것으로 보고한 1,2-benzenedicarboxylic acid는 마디풀과(Polygonaceae)의 다년생초본인 애기수영(*Rumex acetosella* L.)의 살초활성 분획물에서도 발견되어지며(기드 2001b) 그 살초력으로 매우 나약기에(GR_{50} (유채) > 5,000 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, unpublished data) 실제 살초활성에는 관여하지 않았을 것이라 판단된다. 김(1994)이 할미꽃의 살초활성 분획물로부터 분리동정한 화합물의 살초력 검정을 수행할 경우 새로운 살초활성물질을 찾아 낼 가능성이 있다고 판단된다.

본 연구를 통하여 새로이 밝혀진 살초활성물질 anemonin은 할미꽃 이외에도 미나리제비과(Ranunculaceae)의 Chinese pulsatilla (*Pulsatilla chinensis* (Bge.) Reg.), hupeh anemone (*Anemone hupehensis* Lem), common marsharigold (*Caltha palustris* L.), scapose masharigold (*Caltha scapose* Hook. F. et Thoms), Japanese buttercup (*Ranunculus japonicus* Thunb.), poisonous buttercup (*Ranunculus sceleratus* L.), Chinese

clematis (*Clematis chinensis* Osbeck)와 화본과(Grameneae)의alang grass (*Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv. var. major (Nees) C. E. Hubb)에도 존재하는 생리활성물질로서(Yan 등 1999), 현재까지 무균성 염증의 치료(Hu 등 2002)에 뛰어난 효과가 있는 것으로 알려져 있을 뿐 제초제로의 개발에 대해서는 전혀 보고된 바가 없는 실정이다. 현재 저자들은 anemonin을 새로운 제초제의 모화합물로 활용하기 위하여 anemonin의 작용점과 작용기작을 구명하기 위한 연구를 수행하고 있다.

요 약

우리 나라 자생식물인 할미꽃(*Pulsatilla koreana*)의 살초력이 탁월하였기에 이에 함유되어 있는 살초활성물질을 분리동정하였다. 할미꽃 건조시료를 methanol로 추출하고, 그 추출물을 유채(*Brassica napus* L.)를 대상으로 seed bioassay를 수행한 결과 GR_{50} 값은 6,776 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 이었다. Methanol 추출물을 ethylacetate, butanol, dichloromethane, hexane, H₂O로 재분획한 다음, 각각의 분획물에 대한 살초력을 검정한 결과 dichloromethane 추출물의 GR_{50} 값이 1,562 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 로 가장 낮았다. 고활성의 dichloromethane 추출물을 dichloromethane-hexane (1 : 3), ethylacetate-dichloromethane (1 : 2), ethylacetate-dichloromethane (1 : 15) 용액으로 흡착(Silica gel 60, 0.040~0.063mm) 컬럼 크로마토그래피에서 용출분획하고 각 분획물의 살초활성을 검정한 다음 GR_{50} 값이 63 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 인 DCAH 분획물을 분리하였다.

DCAH 분획물의 화학구조를 밝히기 위하여 ¹H-NMR, ¹³C-NMR, EI-MS 분석을 수행한 결과, 분자량 192.17, 화학구조식 C₁₀H₈O₄인 1,7-dioxadispiro[4.0.4.2]dodeca-3,9-diene-2,8-dione(anemonin)으로 판명되었다. 본 연구를 통해서 구조가 밝혀진 anemonin은 향후 새로운 제초제의 개발을 위한 모화합물로 활용될 수 있을 것이라 기대된다.

감사의 글

본 연구는 강원도 농업계 특성화 대학 연구비(강원도 자생식물을 이용한 천연농약 개발 연구)의 지원으로 수행되었음.

인용 문헌

- 김형동. 1994. 할미꽃중에 존재하는 제초활성물질의 검색. 안동대학교. 23p.
- 김성문, 허수정, 용석호, 김진석, 허장현. 2001a. 천연물기원 살초활성물질. 한국잡초학회지 21 : 199-212.
- 김희연, 김인혜, 허장현, 김성문. 2001b. 애기수영 (*Rumex acetosella* L.) 살초활성 분획층에 함유된 천연물질의 구조동정. 한국잡초학회 추계학술 발표 초록 21(2) : 109.
- 김희연, 최해진, 유용만, 허수정, 임상현, 김진석, 김성문. 2003. 식물기원 제초활성물질. 한국잡초학회지 23(3) : In press.
- 박근형, 문제학, 마승진. 2001. 백두옹으로부터 분리한 신규 천연항균물질 및 그의 분리방법. 대한민국특허 2001-0090122.
- 박종희, 이정규. 2000. 상용약용식물도감. 신일상사. pp.456-458.
- 최두희, 이윤정, 이용환. 2002. CODEX 규정 적용에 따른 유기농업의 대응방안. pp. 57-82. In 2002 세계농업규범관련 쟁점대응 심포지엄. 농촌진흥원.
- 이창복. 1984. 대한식물도감. 향문사. pp.346-347.
- 손영석. 2002a. 약이되는 물질을 함유한 간장. 대한민국특허 2002-0004595.
- 손영석. 2002b. 약이되는 물질을 함유한 레토르식품. 대한민국특허 2002-0004718.
- 안병준, 김용, 김송배. 2001. 데옥시포도필로톡신, 진세노사이드 R g 1 및 글리시리리진 함유 항암 조성물. 대한민국특허 2001-0109710.
- 조의환, 정순간, 박시경, 오갑진, 배춘일, 김현태, 김현중, 박사룡. 1998. 당뇨병 치료제 조성물. 대한민국특허 1998-077618.
- 이향희, 마승진, 문제학, 박형근. 1998. 백두옹에서 향미생물 활성을 갖는 4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid와 3,4-dihydroxycinnamic acid의 분리 및 동정.
- Duke, S. O., F. Dayan and A. Rimando. 2000. Natural products as tools for weed management. pp. 1-11. In Proceedings on Recent Topics of Weed Science and Weed Technology.
- Yan, X., J. Zhou, and G. Xie. 1999. Traditional Chinese medicines : molecular structures, natural sources, and applications. Ashgate Publishing Ltd. p.35.
- Hu, S., S. Hu., and Q. Hu. 2002. European Patent 1 252 893 A1.