

# Allelopathy와 천연제초제

## 2

### 유용고등식물로부터 천연제초제 개발

박 광 호 (農博)

작물시험장 논잡초연구실

#### 천연제초제의 탐색

농약산업은 의약산업과 함께 정밀화학 공업의 주종을 이루는 분야이다. 에너지 및 자원 절약형 산업으로 다른 산업에 비해 부가가치가 높아 수익성이 매우 큰 편이다. 더우기 최근 물질특허제도의 국내도입으로 이와 관련된 정밀화학 공업이 전략적 기술개발 분야로서 G-7 국책으로도 현재 활발히 추진되고 있다.

신농약 개발을 위한 접근방법으로는 ① 효과가 있을 것으로 생각

되는 화합물을 합성, 활성검정을 통하여 얻는 방법, ② 기존의 알려진 화합물을 구조변경등을 통하여 개발하는 방법, ③ 컴퓨터를 이용하여 QSAR을 거쳐 새로운 화합물을 설계, 합성, 검증하는 방법, ④ 천연물(고등식물 및 미생물)에서 새로운 화합물을 분리하여 활성시험을 거쳐 선도화합물(Lead compound)을 유리하거나 그 유도체를 합성하는 방법등이다.

최근 세계적 추세인 환경보전과 저생산비에 의한 지속적 농업(Sustainable agriculture)연구가 활발히

진행되고 있다. 이에 따라 제초제 또한 종래의 합성농약에서 점차 반감기(Half life)가 짧고 잔류독성에 문제가 거의 없는 미량제의 개발로 향하는 추세이다. 더우기 고등식물이나 미생물이 생장 및 생존하면서 생합성 과정에서 만들어내는 2차대사산물중 제초제 활성이 높은 천연물을 추출·분리하려는 시도가 최근 선진국등지에서 활발히 진행되고 있으며 많은 연구투자를 하고 있는 실정이다. 특히 이들 천연 화합물들은 일반적으로 토양 및 자연환경조건에서 생분해(Biodegradation)되어 종래의 합성농약과는 달리 환경에 대한 부작용이 거의 일어나지 않을 가능성이 높기 때문에 이 분야에 대한 연구는 앞으로 더욱 눈부시게 발전이 기대된다.

### 고등식물로 부터 개발된 천연제초제

많은 폐녹시계 제초제들은 대부분 육신 유도체들이다. 특히 벤조산 화합물들은 주로 고등식물의 상대역제작용을(Allelopathy)에 관여하고 있다. TBA, TIBA, Dicamba등은 벤조산 화합물에 할로겐

(F, Cl, Br등)화합물을 합성시킨 유도체를 만들어 제초제로 사용하여 온 대표적인 예이다. 또한 보편적인 상대역제 작용성 물질(Allelochemicals)인 Salicylic acid, *p*-Hydroxybenzoic acid, Hydroquinone 및 Umbelliferone 화합물들은 이들 화합물 자체를 잡초에 분무함으로써 여러종류의 잡초를 효과적으로 방제할 수 있다.

그림1은 최근까지 고등식물로부터 개발되어 알려진 유용천연제초제들이다. 특히 엽록소 생합성 대사과정의 전구물질인 ALA( $\delta$ -aminolevulinic acid)는 감광제(Photosensitizer)로서 최근 제초제 개발 가능성에 관한 주목을 끌고 있다.

한편 상대역제작용성 물질로 약

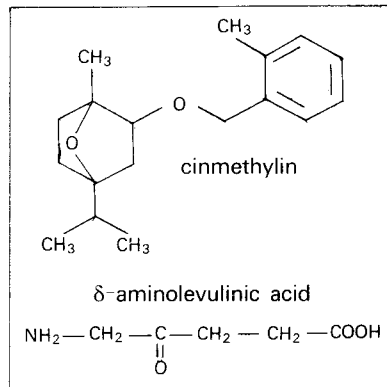


그림1. 고등식물로 부터 개발된 유용 천연제초제

25여년전에 알려진 1, 8-Cineole 은 Benzyl 그룹을 치환함으로써 발아전 처리제로서 대부분의 일년생 화본과 잡초와 몇몇 광엽잡초를 폭넓게 방제할 수 있는 Cinmethylin이란 제초제를 개발하기도 하였다. 또한 최근 커피종자로부터 1,3, 7-Trimethylxanthine이란 제초활성이 높은 천연물질을 추출분리하여 물질특허 등록 출원 중에 있는 상태이다.

세계적으로 제초제의 사용은 1944년 2, 4-D가 합성되고 1947년 상업적으로 보급되면서 부터였다. 최근 45여년 동안에 많은 제초제가 개발보급되었다. 우리나라에서는 1965년 까지만 해도 주로 손제초에 의한 잡초방제를 해왔고 일부농가에서는 재래적인 방법으로 천연재료(특정 나뭇잎등)를 잡초 방제에 이용해 왔다. 그러다가 70년대를 전환점으로 제초제 사용이 중요한 잡초방제법으로 대두되면서 80년대에는 벼재배의 경우 제초제에 의한 잡초방제가 주를 이루어 특정제초제의 매년 연속사용으로 농업생태계에 많은 변화를 가져오기도 하였다.

과거에 재래적으로 사용해온 제초활성이 높은 천연재료들을 이

용, 최근 발전된 정밀화학기술과 첨단기기를 접목하여 쾌적한 환경보전과 안전농산물 생산을 위한 천연제초제 개발에 더욱더 심혈을 기울이게 되리라 생각된다.

### 천연 제초활성물질의 추출 및 생물검정

종래까지 많은 천연물 연구가들은 주로 천연의약품 개발에 주력해왔다. 현재에도 부가가치가 높은 의약품, 식료품 및 생활환경용품에 상당한 비중을 투자하고 있는 실정이다. 많은 연구가들이 상대억제작용성(Allelopathy)에 관한 연구는 이미 보고된 논문을 토대로 페놀 및 알칼로이드등의 천연 화합물 분석법에 따라 물질 분리 및 정제과정을 통하여 이미 알려진 표준물질과 비교동정하는 방법에 주로 의존해왔기 때문에 강한 활성을 보이는 특정천연 물질탐색이 사실 어려운 실정이다. 그러나 최근 몇몇 연구가들은 천연물의 극성별 다른 용매를 이용하여 수차례의 물질추출을 하여 각각 생물검정을 통한 제초활성물질을 찾아가는 방법을 채택하면서 무한한 가능성을 제시하고 있다.

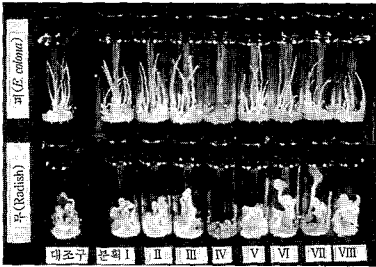


그림2. 분획 IV의 제초활성

필자 또한 국내의 수집가능한 모든 문헌정보를 통하여 가장 연구가치가 높다고 인정되던 해바라기 종자를 앞서 언급한 과정을 거치면서 최근 알려진 고속크로마토그래피(Liquid chromatography) 방법에 따라 각각 다른 분획을 얻은 후 생물검정을 한 결과 그림2에서와 같이 분획IV(Fraction IV)에서만 공시한 생물검정재료(무 및 피 종자)에 강한 제초활성을 보였다. 이는 특정 목적을 가진(예, 천연제초제) 천연물 연구자들에게는 매우 흥미있는 일이며 이 분획을 이용하여 점차 순수물질로 분리정제하여 최종적으로 제초활성물질을 찾아가는 방법이다. 이 물질을 기둥크로마토그래피(Column chromatography) 및 분획용 박층크로마토그래피(Preparative thin layer chromatography) 등을 이용하여 더

욱 순수한 물질로 분리하며 또한 앞의 생물검정과 같은 방법으로 제초활성을 검정한다.

또한 그림3에서 보면 동일한 분획IV에서 분리한 물질임에도 분획 0.74에서는 정상적인 생물검정재료의 발아 및 성장을 보인 반면 분획 0.88에서는 분리된 강한 제초활성을 보였던 분획IV에서와 같은 매우 괄목할만한 제초활성을 보여주고 있다. 이 제초활성을 보인 분획 0.88 물질을 더욱더 순수정제하기 위하여 분획용 고속액체크로마토그래피(Preparative High performance liquid chromatography)를 이용, 정밀 분리정제한 후 앞서 수행한 동일한 방법의 생물검정을 통하여 순수한 천연제초활성 물질을 찾았다.

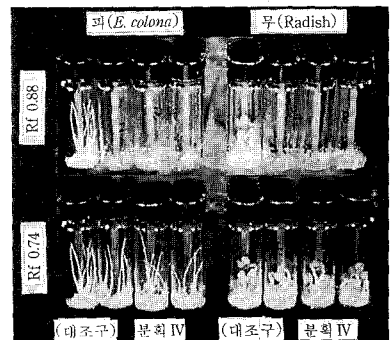


그림3. 분획 0.88의 제초활성

HPLC를 이용하여 미지의 화합물을 찾는다는 것은 매우 어려운 일이다. 따라서 미지의 화합물을 동정하려면 동일한 기기작동조건에서 미지화합물 특성을 구명하는데 널리 사용하는 정밀기기분석을 위해 충분한 시료를 얻어야 한다. 이를 위해 시료자동분획 채취기(Fraction collector 등)를 많이 이용한다.

### 천연제초활성물질의 동정

최근 정밀기기(GC/MS, NMR, IR 등)의 눈부신 발달로 물질의 화학적 특성(관능기, 구조식, 분자량등) 및 물리적 특성(용점, 결정등)구명은 점차 손이 쉬워지는 편이다. 앞에서 언급한 강한 제초활성을 보인 분획0.88을 이용 GC/MS 분석을 한 결과 tR4.76의 130m/e와

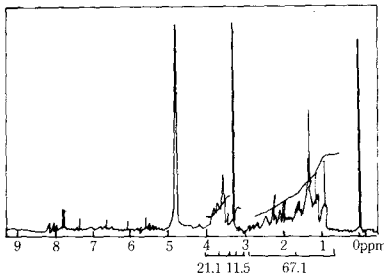


그림4. 제초활성물질의 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼

tR5.47의 340m/e를 각각 얻 으며 이는 순수정제된 물질이 두가지 지임을 나타내는 것 같다.

따라서 <sup>1</sup>H-NMR을 통한 분석에서 그림4와 같은 크로마토그램을 얻 으며 충분한 시료량의 부족으로 뚜렷한 피크는 얻지 못하였지만 일반적으로 지방족 화합물(Aliphatic compound)의 경우 스펙트럼상에서 피크들이 1-5ppm부위에서 나타나고 방향족 화합물(Aromatic compound)의 경우 대체적으로 5ppm이후에 피크가 나타나는 특성으로 보아 이 제초활성물질은 지방족 화합물인 것 같다. 또한 IR(Infrared spectrometer) 스펙트럼상에서는 그림5에서와 같이 1679 및 2858에서 각각 피크를 보였으며 1679피크로 보아 에스테르 화합물인 것 같았다. 또한 2858피크는 지방족 C-H의 긴 쇠상(chain)형 화합물 특성으로 보였으며 3400에서의 강한 흡수스펙트럼

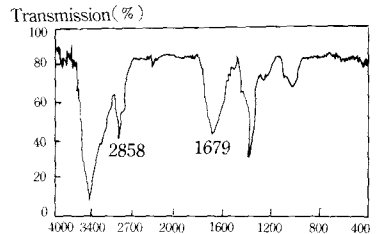


그림5. 제초활성물질의 IR 스펙트럼

## 〈천연제초제 개발을 위한 접근 방법〉

| 단계별  | 접 근 방 법             |
|------|---------------------|
| 1단계  | 유용고등식물 수집           |
| 2단계  | 조추출물 및 1차 생물검정      |
| 3단계  | 체초활성물질 분리 및 2차 생물검정 |
| 4단계  | 체초활성물질 정제 및 3차 생물검정 |
| 5단계  | 체초활성물질 동정           |
| 6단계  | 살초폭 및 선택성 스크리닝      |
| 7단계  | 포장 스크리닝             |
| 8단계  | 독성 및 안전성 검정         |
| 9단계  | 제형개발                |
| 10단계 | 특허출원                |
| 11단계 | 등록 및 상품화            |

은 시료속에 함유된 물(H<sub>2</sub>O) 때문인 것으로 추정된다.

이와같이 천연물 연구는 앞서 논술한 바와 같이 목표물질을 찾기 위한 과정이 매우 복잡하고 수많은 시행 및 착오를 거쳐야 함은 물론 정확한 생물검정을 토대로 단계별 접근을 해야 한다. 특히 생물검정은 정확하고 빠른 시간내에 재현성이 있어야 한다. 또한 천연물이 강한 체초활성을 가지고 있다해도 상품화 하기까지는 표에서와 같이 여러단계를 거쳐야 한다. 따라서 새로운 천연제초제(합성제초제 포함)를 개발하여 상품화 하기까지는 상당한 시간과 노력이 들어가게 된다. 한편 몇몇 국가에서는 해바라기 자체를 멀칭재료로

이용하여 포장에서 직접 잡초방제에 이용하기도 하며 특히 여러가지 작물중에서도 최근 강한 상대억제작용성 품종을 선발하여 직접적으로 잡초방제에 이용한다는 보고도 있다. 또한 유전공학기법 및 분자생물학등을 이용, 유전자 도입등의 방법으로 기존 널리 재배되고 있는 우량품종에 강한 상대억제작용성 작물 및 특정품종을 도입하는 방법도 시도되고 있다. 따라서 이들 분야의 전문인들이 각각 연구 역할분담과 공동연구를 통하여 집중적인 노력을 하면 앞으로 자연환경보전과 안전농산물 생산 및 공급에 천연제초제의 역할은 매우 큰 위치를 차지하게 되리라 생각된다. <끝>