

Diterpenoid 의 생화학

韓 龜 東

서울대학교 생약연구소

Biochemistry of Diterpenoids

Koo Dong HAN

Professor of Biochemistry

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul, Korea

The cyclization of geranylgeranyl pyrophosphate followed by ionization, proton elimination or cation center migration produces dicyclic, tricyclic and tetracyclic diterpenoids. The role of some of diterpenoids in animals is well known but their precise functions in plants remain to be explained.

저자는 앞서 diterpenoid 의 분포에 대하여 언급하였다.¹⁾ 금차에는 표제에 대하여 diterpenoid 의 생합성과 식물에 있어서의 그 생물학적 의의에 대하여 논급코자 한다.

Diterpenoid 의 생합성

Terpenoid 의 생합성기전에 대하여는 주지하는 바와 같이 biogenetic isoprene rule 이 기초가 되어있고 각종 terpenoid 에 관하여 논급되어왔다.

이제 지금까지 논급되어온 결과를 종합하여 보면 다음과 같다(Fig. 1, 2). 그러나 여기에는 steroid 나 gibberellin 의 경우를 제외하고는 실험이 수반되지 않고 대부분이 많은 speculation 에 의하여 설명되어 왔다. 가령 carotenoid 의 biosynthesis 에 있어서 Lynen, Henning²⁾ 등은 geranylpyrophosphate (C₁₀) farnesylpyrophosphate (C₁₅) 및 geranylgeranyl pyrophosphate (C₂₀)을 경유하여 iso-pentenyl pyrophosphate 가 phytoene 으로 변하여 이것으로부터 각종 carotenoid 가 생합성되는 것이라고 예측하였다. 또 Grob³⁾는 효모에 대해서, Nandi⁴⁾ 등은 carrot root와 돼지간에 대해서 Kandutch⁵⁾등은 *Micrococcus lysodeikticus* 에 대하여 geranylgeranyl pyrophosphate 의 enzymatic synthesis 에 관하여 각각 보고하고있으나 이 물질이 carotene 생합성에 대한 condensing unit 라고 단정할 수 있는 experimental proof 가 없다.

Diterpene의 biosynthetic mechanism에 대하여도 광범

위한 연구가 전개되어 왔으며 그 결과를 종합해보면 Fig. 3 에 표시한 것과같다.

Diterpene 도 역시 mevalonic acid 가 iso-pentenyl pyrophosphate 또는 dimethylallylpyrophosphate 로 변환 다음 이것이 2 분자결합해서 geranylpyrophosphate 로 되고 또 1 분자의 iso-pentenylphosphate 가 결합하여 farnesylpyrophosphate 가 되며 다시 한 분자결합해서 C₂₀ 인 geranylgeranylpyrophosphate 로 된다.

이 geranylgeranylpyrophosphate 또는 geranylgeranylpyrophosphate 의 cyclization 에 의하여 cyclic intermediate를 형성하며 ionization 에 의하여 가정적인 carbonium ion 을 형성하고 proton 의 elimination, cationic center 의 migration, Wagner-meerwein 의 rearrangement 등에 의하여 dicyclic, tricyclic 및 tetracyclic diterpene 이 합성되는 것으로 알려져 있다(Fig. 3). mevalonic acid 가 tricyclic diterpenes 또는 tetracyclic diterpene 의 precursor 로 되어 있으며⁶⁾ geranylgeranylpyrophosphate 가 (-)-kaurene 으로 또 후자가 gibberellic acid 로 변환하는 것도 알려졌다. (Fig.4)

그러나 상기한바와 같은 diterpene 의 biosynthesis mechanism 에 있어서도 대부분이 post-mevalonoid precursor 를 사용한 experimental proof 가 결여되어 있다.

요컨대 terpenoids 의 biosynthesis 에 관한 연구에 대부분은 이상과 같이 많은 speculation 을 내포하고 있는

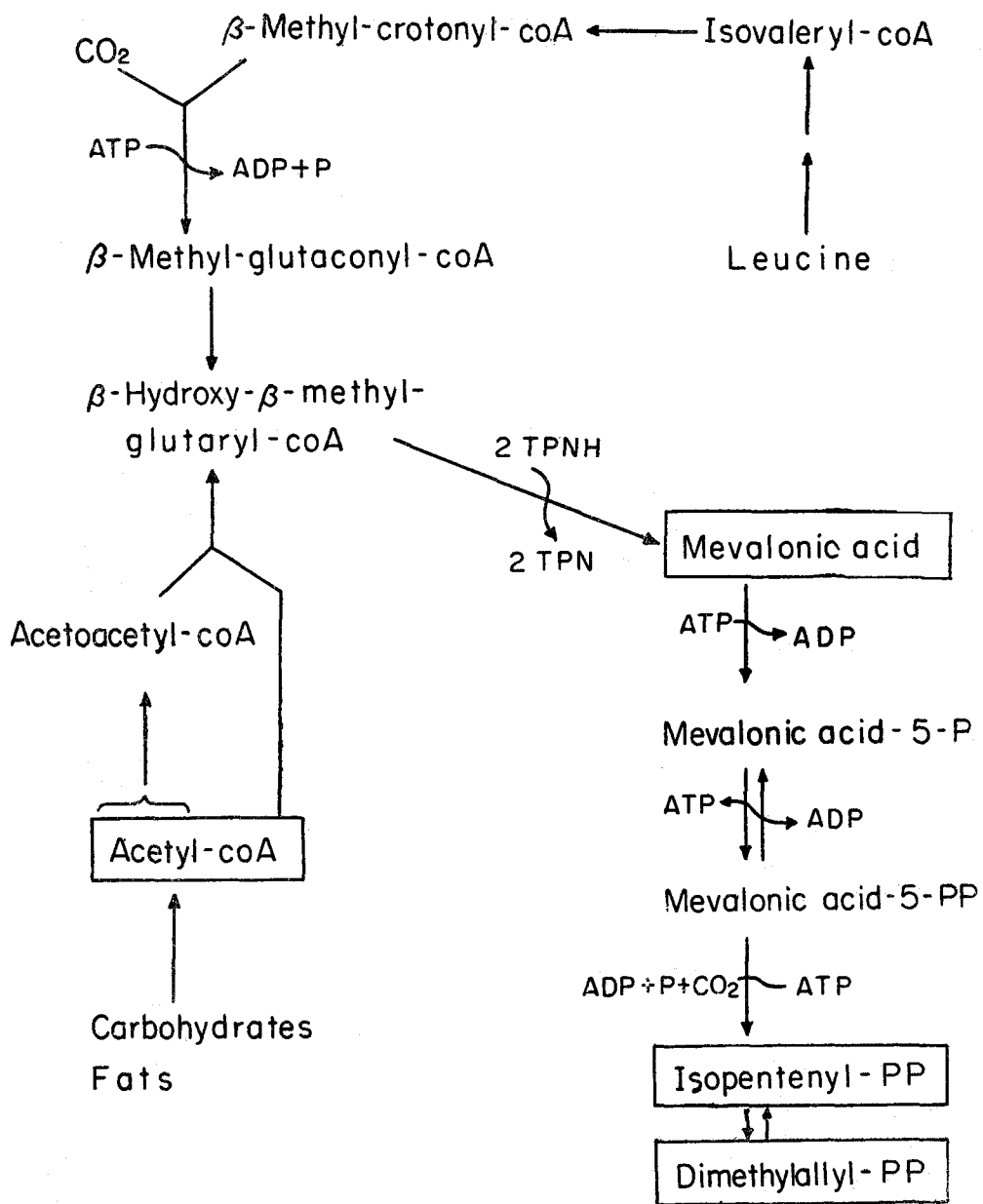


Fig. 1 Postulated intermediates in *iso*-pentenyl-PP biosynthesis⁶⁾

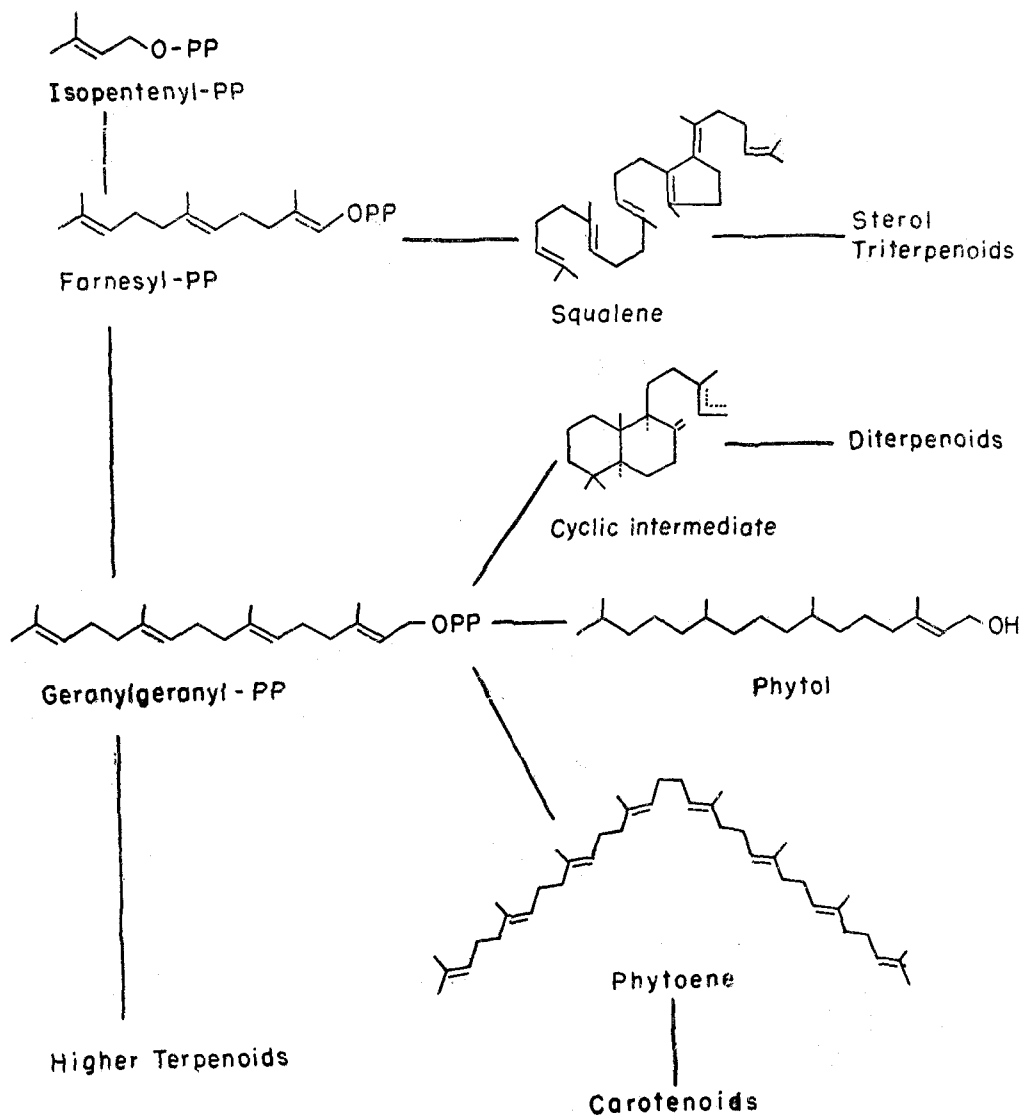


Fig. 2 Biogenetic relationships of the terpenoids⁷⁾

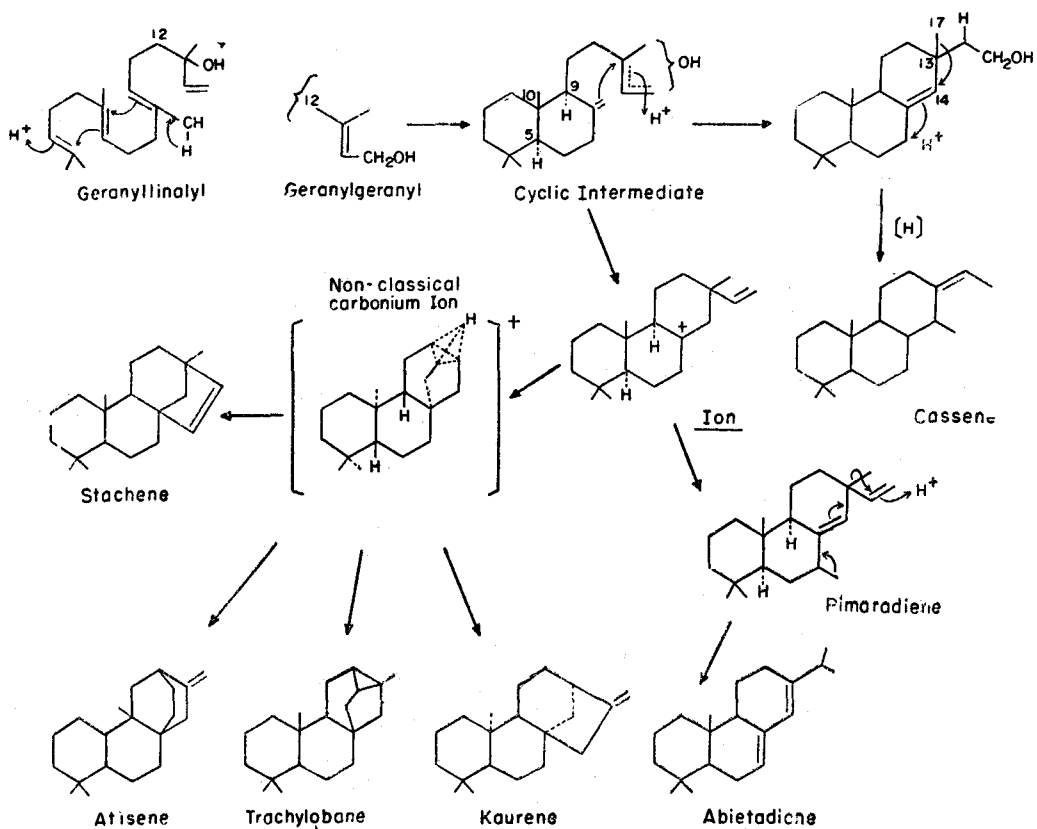


Fig. 3 Biogenesis of the diterpenoids.

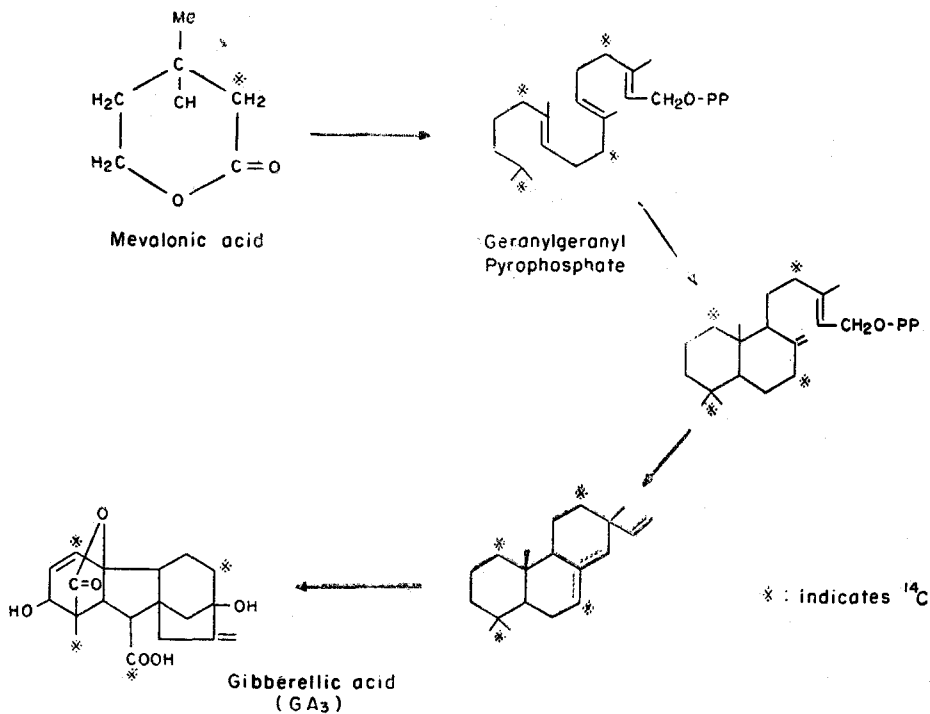


Fig. 4 The incorporation of [2-¹⁴C] mevalonic acid into gibberellic acid

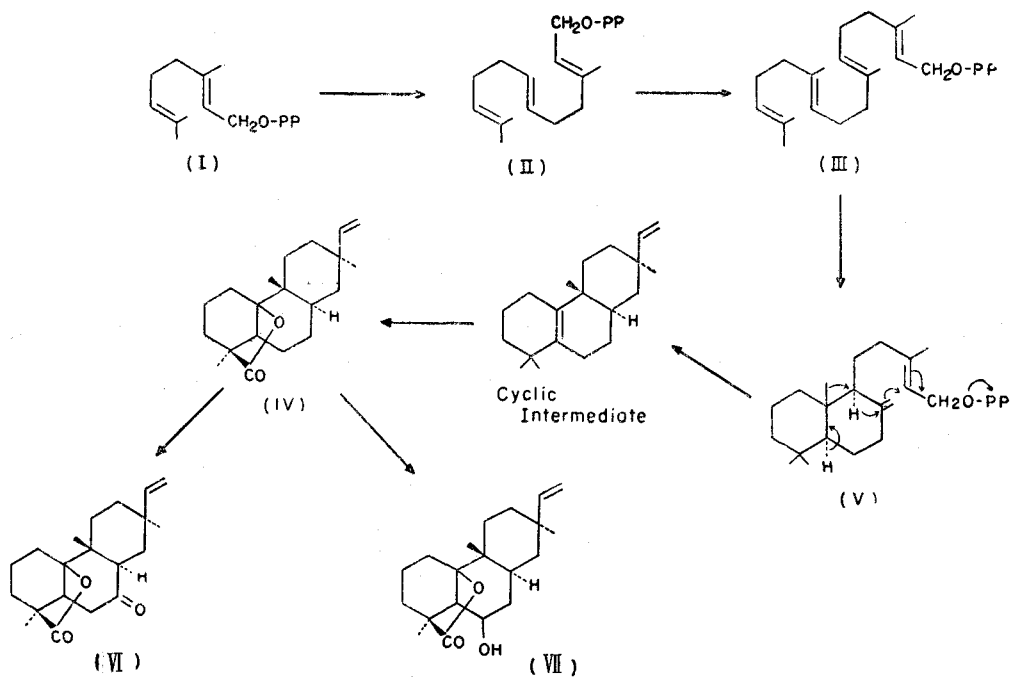
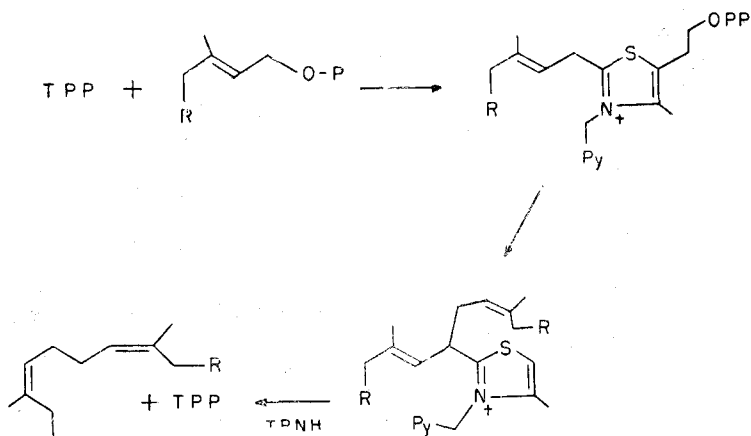


Fig. 5 Postulated pathway of rosenonolacton.



R = Geranyl
 Py = 2-Methyl-4-Aminopyrimidyl
 I = Isopentenyl

Fig. 6 Reductive dimerisation of farnesyl-pp.

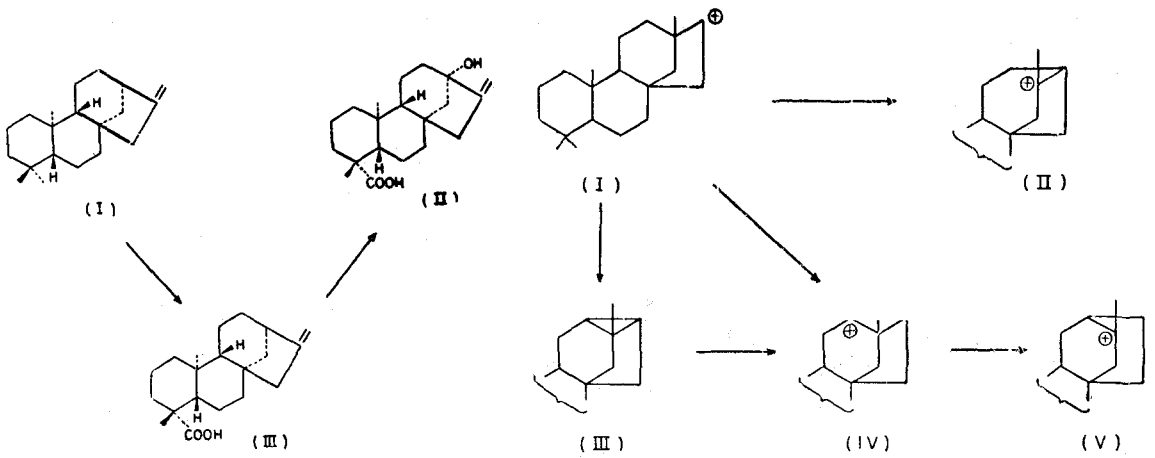


Fig. 7 Biogenesis of steviol.

Fig. 8

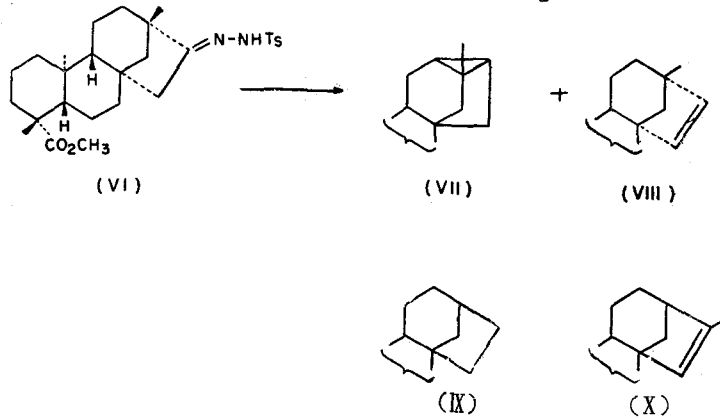


Fig. 9

실정이었으므로 이를 타개하기 위하여 최근에 와서 비로소 종래 발표되어 있는 postulated intermediate에 대하여 이를 뒷받침할 수 있는 experimental proof를 얻기 위한 실험과정에 돌입하고 있는 것이 최근에 발표되고 있는 논문들에서 역력히 볼 수 있으며 이 방법에 있어서의 연구상항이라 보겠다.

Rosenonolactone^{11), 12)}과 carotene의 biosynthesis에 관한 연구가 그의 한 좋은 예가 될 것이다.

합성한 1-¹⁴C-geranylpyrophosphate(I)를 가지고 *Tricotechium roseum*를 사용하여 실험한 결과 metabolite에서 rosenonolactone(VI)과 rosolactone(VII)을 각각 분리하였으며 이 실험을 기초로하여 rosenonolactone의 biosynthetic mechanism을 다음과 같이¹³⁾ 제안하였다. (Fig. 5)

acetic acid → iso-pentenylpyrophosphate → geranylpyrophosphate(I) → farnesylpyrophosphate(II) → geranylgeranylphosphate(III) → dicyclicterpene(V) → tricyclic lactone(IV)

→ rosenonolactone(VI)
→ rosolactone(VII)

또 kaurene(I)이 gibberellic acid의 specific precursor라는 것이 알려졌고 이에 대한 실험적근거도^{14, 15)} 충분하여 그의 biosynthesis mechanism이 확정된 것의 대표적인 것으로 볼 수 있다. 이것으로 미루어 볼 때 kaurene은 또 다른 tetracyclic diterpene의 precursor가 될 수 있음을 예측할 수 있고 최근에 steviol(II)의 biosynthetic mechanism이 규명된 것도 그의 한 좋은 예가 될 것이다. *Stevia rebandiana*에 있어서 mevalonic acid로부터 kaurene(I)과 (-)-kaur-16-en-19-oic acid(III)를 경유하여 steviol이 합성된다는 것이 실험적으로 증명되었다. (Fig. 7)

또 최근에 mevalonate-2-¹⁴C를 가지고 cell free system에서 kaurene, squalene 및 phytoene 등이 생성되는 mechanism이 보고되고 있다.

즉 pea fruits로부터 얻은 soluble system에 mevalonate-2-¹⁴C를 가하여 incubate한 mixture에서 kaurene

squalene 및 phytoene 을 각각 얻었으며 incubation condition 으로서 ATP, Mg²⁺, Mn²⁺ 및 pyridine nucleotide 에 대한 관계를 검토하여 squalene 만이 pyridine nucleotide 를 요구하고 있으며 또 phytoene 만이 Mn²⁺ 를 요구하고 있다는 것을 밝혔다. 그러기 때문에 incubation 할때 pyridine nucleotide 를 가하지 아니하면 squalene 이 합성되지 않고 Mn²⁺ 를 가하지 않으면 phytoene 이 합성되지 않는것이 실험적으로 밝혀진 것이다. 그뿐아니라 squalene 의 합성은 Mn²⁺ 의 농도에 있어서 어느 한계를 넘어가면 오히려 억제되고 이와 반대로 phytoene 의 합성은 촉진된다는 것도 밝히고 있다. 그러기 때문에 이 두 intermediate 는 Mn²⁺ 의 농도에 좌우된다는 것을 의미하며 특히 kaurene 의 합성에 있어서는 다른 두 intermediate 의 optimal pH 보다 더 얇은 optimal pH 를 가지고 있다는 것도 아울러 밝혀졌으므로 모든 terpenoid 가 가장 간단한 precursor 로부터 출발하지만 그의 다양성의 일단을 이해하는데 중요한 실험적 자료를 제공하고 있다는 점에서 큰 의의를 찾아 볼 수 있을 것이다. 이와같은 실험은 또한 carotene 의 생합성에 관한 최근의 연구에서도 볼 수 있다.

즉 carotene 생합성에 있어서 4, 8, 12, 16, -trans-¹⁴C-geranylgeranylpyrophosphate 가 phytoene, phytofluene, carotene, lycopene 으로 convert 한다는 것을 cell-free enzyme system에 의하여 증명¹⁶⁾하고 있으며 geranylgeranylpyrophosphate 가 carotene biosynthesis 에 있어서 한 condensing unit 가 된다는 것을 실험적으로 증명하였다.

Iso-prenoid units "head-to-tail" polymerization 의 mechanism 에 관하여는 이미 많은 연구가 이루어졌다고는 하지만 "tail-to-tail" 및 "irregular" combination 에 대하여는 이것을 완전히 밝히기에는 아직도 많은 문제가 남아있다.

이 문제에 대하여 최근 thiaminepyrophosphate(TPP) 가 "tail-to-tail" 및 combination 에 coenzyme 으로서 중요한 역할을 한다는 것이 밝혀졌으며 이 실험결과를 기초로하여 squalene 의 biosynthesis 에 있어서 farnesylpyrophosphate 의 biogenetic "tail-to-tail" dimerization 이 coenzyme TPP 에 의하여 촉매된다는 사실을 구명하고 Fig. 6 에 표시한바와 같은 reaction sequence 를 제시한 것은 terpenoid biosynthesis 에 관하여 일보전진하고 있는 경향이라 하겠다^{17, 18)}.

각종 type 의 tetracyclic diterpene 들을 상호연결시키는 biogenetic scheme 에 있어서 모든 구조기지의 diterpene 들에 적용할 수 있는 skeletal rearrangement 의

문제 또한 diterpene 생합성에 있어서 중요한 과제가 되는 것이다.

이에 대한 실험적인 연구가 또한 활발히 진행되고 있음을 볼 수 있으며 그 한 예로서 isosteviol derivatives 의 rearrangement 에 관한 최근연구를 들 수 있다¹⁹⁾. 과거에 있어서 diterpene 에 대하여 다음과 같은 형의 rearrangement 가 관찰되었다. (Fig. 8)

즉 I → II, ²⁰⁻²³⁾ I → IV, III → V, 등의 rearrangement 가 연구되어 왔다. (Fig. 8, 9)

이에 대하여 iso-steviol methylester 의 tosylhydrazone (VI) 을 가지고 일정한 조건하에서 실험적으로 변화시켜 Fig. 9 와 같은 4 종의 물질(methyltrachyloban-19-oate (VII), methylhibaen-19-oate(VIII), 및 methylkauren-19-oate(IX) methylisokauren-19-oate(X) 을 identify 하고 이들 각물질의 함량을 측정함으로써 rearrangement 의 난이도를 관찰한 결과 hibaene 과 kaurene 상호간의 변이를 일으키는 Wagner-Meerwein rearrangement 가 I → II 의 형이 가장 용이하다는 결론을 얻었으며 이것은 상호 rearrangement 에 관한 문제에 좋은 자료가 될 것이다.

식물에 있어서의 diterpene 의 생물학적 의의

자연계에 존재하고 있는 terpenoid 화합물은 그 종류에 있어서 어느 천연산물보다 많다는 것은 이미 기술한바와 같거니와 이들 화합물에 관한 biological function 을 생각할 때 이와같은 수많은 terpene 들 개개 모두가 독특한 생리적 작용을 가지고 있다고 기대하는 것은 현실을 무시하는 사고방식이라 하겠다.

식물의 중요한 특성의 하나로서 극히 간단한 물질을 가지고 구조가 복잡한 물질뿐만이 아니라 종류에 있어서도 수많은 각종물질을 만들 수 있는 능력을 가지고 있다는 점을 들 수 있을 것이다. 이와 같은 식물특성의 한 대표적인 예로서 단지 5개의 탄소로 구성되어 있는 가장 간단한 biological isoprenoid unit 로부터 수백종에 달하는 terpenoid 가 합성된다는 사실을 들 수 있으며 식물의 여사한 특성의 일면을 여실히 말하고 있는 것이다. 만일 우리가 식물의 이와같은 생합성적인 낭비성이 식물진화에 그 목적이 있으리라는 것을 용인한다면 terpenoid 개개에 대하여 어떤 function 을 기대할 것이 아니라 각주요한 group 에 대하여 최소한 하나의 function 을 기대해야 될 것이라는 점을 점차알게 될 것이다. gibberellin 은 식물 hormone 으로서의 중요한 function 을 가지고 있는 diterpene 이다. gibberellin 에는 10여종의 유사 구조를 가지고 있는 gibbane skeletal diterpene 이 발견되어 있다.

그러나 이 물질들이 모두 같은 식물 hormone의 작용을 나타내는 것이 아니라 그 중 실지로 hormone 작용을 가지고 있는 것은 몇종에 국한되어 있으며 또 그 강약에도 큰 차이가 있다. 이는 gibberellin이 식물 hormone으로 등장할 초기에 있어서 즉 진화과정에 있어서 이 물질의 basic diterpenoid precursor인 geranylgeranylpyrophosphate의 gibberellin으로의 생합성반응을 촉매하는 enzyme이 동시에 출현하였을 것이며 이 진화과정에 있는 enzyme은 그의 특이성이 그리크지 않았기 때문에 gibberellin의 합성반응을 촉매할 뿐만 아니라 동시에 이와 관련있는 다른 diterpene의 합성반응도 촉매할 수 있었기 때문에 plant hormone으로서의 gibberellin뿐만 아니라 이와 관련있는 diterpenoid도 동시에 합성되었으리라고 볼 수 있다. 따라서 이런 diterpene은 plant hormone으로서의 function을 가지고 있지 않을 것이며 따라서 function이 없는 gibberellin 유사 diterpene이 많이 생성되었을 것이다.

그러기 때문에 basic skeleton이 같다고 해서 모두 plant hormone의 function이 있다고 생각할 수 없고 gibberellin group 중 main group만이 그 function을 나타내는 것이라고 볼 수 있으며 식물의 생합성적 낭비성을 인정할 수 있을 것이다.

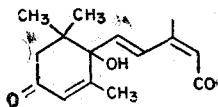
또하나 추측할 수 있는 사실은 진화에 있어서의 function의 promotion도 엿볼 수 있다는 점이다. 상술한 gibberellin은 생합성과정에서 kaurene이 그의 precursor가 되는 것이다.

그런데 이 gibberellin의 precursor인 kaurene 역시 최근에 plant hormone의 function이 있다는 것이 판명되었다. ²⁴⁾ 그러나 그의 강도는 gibberellin에 비하여 약한 것을 볼때 진화초기에 있어서는 kaurene compound로 이 역할을 하였으리라는 것도 추측할 수 있지 않을까?

특수한 biological function을 가지고있는 terpenoid도 많이 발견되고 있다. 이제 그 대표적인 것을 몇가지 살펴보기로 하자.

Monoterpenes : 이 중에는 곤충에 대하여 유인작용을 하는 것 또는 이와 반대로 추방작용을 가지고 있는 것 등이 있다. 박하 *Menthae Folium*를 재배하고 있는 밭에는 곤충이 접근하지 못한다고 한다.

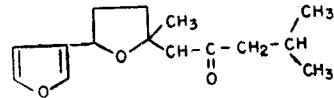
Sesquiterpenes: 이 중에는 식물의 성장 특히 발아에



관계되는 작용을 가지고 있는 것들이 있다.

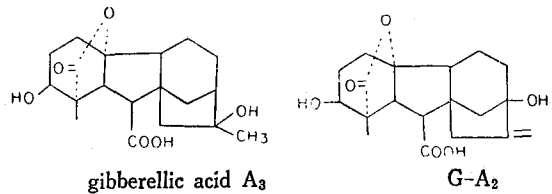
abscisic II는 식물의 성장억제작용²⁵⁾을 가지고

있는 terpene이다. 그 작용은 dormin과 비슷하다고 한다. dormin²⁶⁾은 목본식물에 있어서 발아정지의 조절작용을 가지고 있다. 또 cotton plant의 abscission을 조절한다. isomeamarone²²⁾은 고구마뿌리에서 처음 발견된 것으로서 식물병원균 black rot fungus에 대한 강력한 antifungal action을 가지고 있다. 또 최근에 euparotin acetate, elephantin 및 elephantopin 등이 항종양성 terpene으로서 강력한 작용이 있다는 것이 보고되고 있다. ²⁵⁾

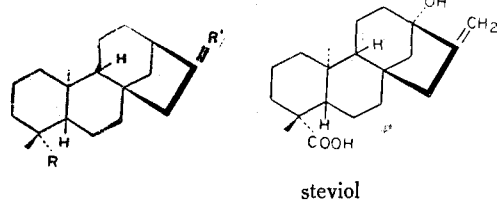


Diterpenes: fungus인 *Gibberella fujikuroi*에서 분리한 gibberellins은 식물세포의 elongation, division 및 expansion을 stimulate하는 작용을 가지고 있는 강력한 식물 hormone이다.

gibberellins에는 10여종의 유도체가 발견되어 있으며 다음과 같은 gibberellic acid가 가장 activity가 강하다.

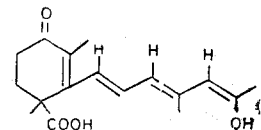


Kaurene derivatives 중에서는 steviol, kaurenoic acid 및 kaurenol이 가장 강하다. ²⁵⁾



kaurenol kaurenoic acid
 $R=CH_2OH$ $R=COOH$
 $R'=CH_2$ $R'=CH_2$

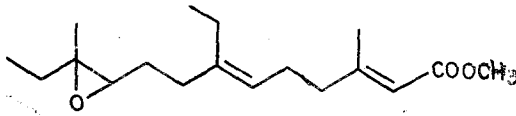
Trisporic acid ²⁶⁾는 diterpene의 분해산물로서 carotino-genesis를 촉진한다. 즉 carotene 생합성에 있어서



biosynthesis pathway 에 관여하는 enzyme 합성의 depressor 로서 작용하여 이를 촉진시킴으로써 carotene 생합성에 관여한다.

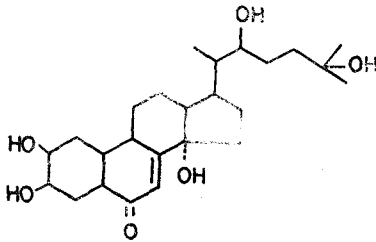
Triterpenes : triterpene 에는 생리적으로 중요한 물질들이 많이 포함되어 있으며 특히 steroids 에 관해서는 가장 광범위한 연구가 이루어지고 있다. 따라서 biological function 에 관해서도 수많은 업적이 발표되고 있다

Steroids 의 biological function 의 중요한 것을 요약해 보면 세포막의 구성물질로서의 역할 또는 hormonal function 과 vitamin function 등을 들 수 있으며 최근 발표된 다음과 같은 곤충변태 hormone 이 식물에서 최초로 발견된 것은 특기할만한 발전이라 하겠다. 즉 “누에”에서 ecdysone 과 ecdysterone 이 발견되었고 최근에는 이 동물성 hormone 이 또는 이와 근연관계에 있는 hormone 이 *Podocarpus Nakaii* 일에서 (ponasterone), 최루름 *Achyranthes fauriei* 의 뿌리 및 뽕나무 일에서 (ecdysterone, inokosterone) 또는 川牛膝등에서 (cyasterone) 발견되어 생물학, 생화학의 의약학 등 각 분야에

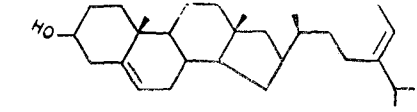


juvenile hormone

많은 연구과제를 제공하고 있다.



ecdysone



또 iso-fucosterol 은 식물성장 촉진인자로서 특히 sexual organ 의 발달에 중요한 역할을 하고 있는 것이 밝혀지고 있다²⁶⁾.

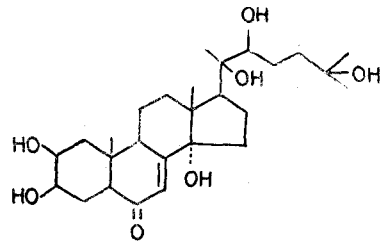
Tetraterpenes (Carotenoids): carotenoid 는 주지하는바와 같이 photosynthesis 에 관여하고 있으며 최근 이에 관한 연구의 결과 “two light” theory of photosynthesis 가 제창되고 있는 것은 주지하는 바이다.

열매 또는 꽃에 흔히 함유되어 있는 carotene 은 곤충의 attractant ²⁶⁾로서 혹은 repellent 로서의 역할을 하고 있다는 것도 밝혀지고 있다.

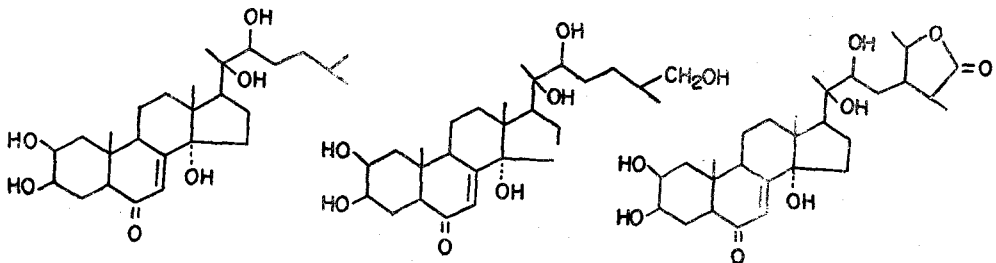
우리가 주지하는 vitamin A 도 carotene 과 밀접한 관계를 가지고 있으며 carotene 이 prosthetic group 으로 되어 있는 rhodopsin (增感光性蛋白質)에 대하여도 많은 연구가 이루어지고 있다²⁷⁾.

Polyterpenoids : 고무는 공업분야에 넓은 용도가 있고 그 분야에 연구가 많으나 biological significance 에 대하여는 미개척분야이다.

Mixed terpenoids : chlorophyll 의 lipophilic phytol residue chain 을 구성하고 있으며 이 phytol residue 는



ecdysterone



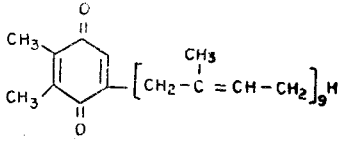
ponasterone A

inokosterone

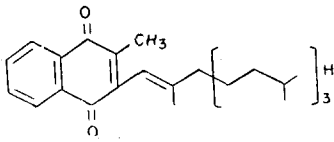
cyasterone

porphyrin component로서의 biological function에 대하여 불가결한 것임은 주지하는 바이다.

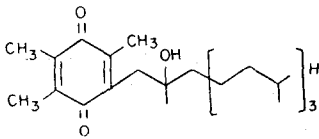
Plastoquinone(PQ)은 photosynthetic phosphorylation의 역할을 하고 있는 terpene이다.



그 밖에 vitamin의 작용을 가지고 있는 vitamin K의 phyllo quinone, tocopherol quinone 및 ubiquinone 등을 들수있다.



phyllo quinone



tocopherol quinone

이상 열거해 본 terpenoid의 biological significance를 개관할 때 diterpene에 관하여는 여타 terpenoid에 비하여 그의 biological significance에 관한 연구업적이 적음에 놀래움을 금할 수 없으며 한편 미개척분야가 많이 남아 있음을 시사하고 있으므로 이 분야연구에 종사하는 인사에게는 오히려 자극과 흥미를 자아내고 있다.

왜냐하면 우리가 오늘보는 고등 식물이 terpenoid의 parallel development 없이 오늘의 진화를 가져올 수 없었을 것이라는 것을 확신하기 때문이며 이것은 분명히 diterpene이 더 광범위한 연구분야를 우리들에게 제공하고 있다는 것을 깨닫게 되기 때문이다. 유기화학자 생화학자, 생물학자가 서로 긴밀하게 연결하여 연구하면 장래 우리 인류복지를 위하여 지대한 공헌을 할 수 있는 분야라고 생각한다.

더군다나 analysis에 대하여 chromatography, 구조 결정에 있어서 spectroscopy (NMR, IR, UV, Mass spectrometry) 등과 같은 최신방법은 이 방면의 연구에 대하여 정력과 시간의 낭비를 감소시킬 것이며 우리들은 이런 혜택을 받을 수 있는 시대에 처하여 있기 때

문에 더욱 효과적인 연구업적을 얻을 수 있을 것을 확신하는 바이다.

문 헌

- 1) HAN: *This Journal* 1, 3(1970)
- 2) *Angew Chem.* 72, 820(1950)
- 3) C. GROB *et al:* *Chimia.* 15(1961)
- 4) D.L. NANDI *et al:* *Arch. Biochem. Biophys.* 105 (1964)
- 5) A. A. KANDUTSH *et al:* *J. Biol. Chem.* 239(1964)
- 6) T. SWAIN: *Phytochemistry* 3, 603(1969)
- 7) T. SWAIN: *Phytochemistry* 2004(1968)
- 8) B.E. CROSS: *J. Chem. Soc.* 295(1964)
- 9) J.E. GRAEBE: *J. Biol. Chem.* 240(1965)
- 10) *Advances in Organic Chemistry: Methods and Results* 5
- 11) B. ACHILLADELIS, R. HAUSON: *Tetrahedron Letters* 42, (1968)
- 12) B. ACHILLADELIS, R. HAUSON: *Phytochem.* 7, 4 (1968)
- 13) B. ACHILLADELIS: *Phytochem.* 8, 3(1969)
- 14) B.E. CROSS *et al:* *J. Chem. Soc.* 295(1964)
- 15) J.E. GRAEBE, *et al:* *J. Biol. Chem.* 240(1965)
- 16) J.R. HANSON: *Phytochemistry* 7, 4(1968)
- 17) J.E. GRAEBE *Phytochemistry* 7, 11(1968)
- 18) G.E. RISINGER *et al:* *Tetrahedron Letters* 27, 3133 (1963)
- 19) R.M. COATES, *et al:* *Tetrahedron Letters* 49, 5145 (1968)
- 20) R.M. COATES *et al:* *Tetrahedron Letters* 49, (1968)
- 21) R.R. SOBTI *et al:* *Tetrahedron Letters* 35, 3939 (1966)
- 22) R.A. APPELTON *et al:* *J. Chem. Soc.* 2319(1966)
- 23) A.H. KANADIET *al:* *Tetrahedron Letters* 10, 1255 (1965)
- 24) B.O. PHINNEY *et al:* *Encyclopedia of plant physiology* 14
- 25) J.B. PRIDHAM: *Terpenoids in plants*
- 26) B.O. PHINNEY *et al:* *Encyclopedia of plant physiology* 14, (1958)
- 27) S.M. KUPCHAN: *J. Chem. Soc.* 89, (1967)