식물병연구
Res. Plant Dis. 17(1) : 25-31 (2011)
DOI: 10.5423/RPD.2011.17.1.025

보문 | Open Access

Research in Plant Disease
©The Korean Society of Plant Pathology

당귀로부터 분리한 decursinol angelate의 밀 붉은녹병에 대한 항균활성

윤미영[1,2] · 김영섭[3] · 최경자[1] · 장경수[1] · 최용호[1] · 차병진[2] · 김진철[1]*
[1]한국화학연구원 산업바이오화학연구센터, [2]충북대학교 식물의학과, [3]한국화학연구원 바이오소재연구센터

Antifungal Activity of Decursinol Angelate Isolated from *Angelica gigas* Roots Against *Puccinia recondita*

Mi-Young Yoon[1,2], Young Sup Kim[3], Gyung Ja Choi[1], Kyoung Soo Jang[1], Yong Ho Choi[1], Byeongjin Cha[2] and Jin-Cheol Kim[1]*
[1]*Chemical Biotechnology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-605, Korea*
[2]*Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Chungbuk 361-763, Korea*
[3]*Biomaterials Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-343, Korea*
(Received on January 31, 2011; Accepted on February 14, 2011)

Rust causes significant losses in the yield and quality of various crops. The development of new effective and environmentally benign agents against the pathogen is of great interest. In the course of searching a natural antifungal compound from medicinal plants, we found that the methanol extract of *Angelica gigas* roots had a potent control efficacy against wheat leaf rust (WLR) caused by *Puccinia recondita*. The antifungal substance was isolated from the methanol extract by silica gel column chromatography, alumina column chromatography and C_{18} preparative HPLC. It was identified as decursinol angelate by EI-MS and ^{1}H-NMR data. In *in vivo* test, decursinol angelate effectively suppressed the development of WLR and red pepper anthracnose (RPA) among the 6 plant diseases tested. In addition, the wettable powder-type formulation of ethyl acetate extract of *A. gigas* roots significantly suppressed the development of WLR. The crude extract containing decursinol angelate and the chemical appear to be a potential candidate for control of WLR. In addition, this is the first report on the *in vivo* antifungal activity of decursinol angelate against WLR as well as RPA.

Keywords **: *Angelica gigas*, Decursinol angelate, Fungicidal activity, Wheat leaf rust**

녹병은 담자균류의 녹병균목(*Uredinales*)에 속하는 활물기생균인 *Puccinia* spp., *Uromyces* spp., *Aecidium* spp., *Gymnosporangium* spp. 속에 의해 발생하는 식물병의 하나이며, 식량 작물, 채소 그리고 관상식물 등에 발생하는 병이다. 특히 *Puccinia* spp.는 밀 등의 줄기녹병(*P. graminis*), 밀, 보리, 호밀 등의 누런녹병 혹은 줄녹병(*P. striiformis*), 밀과 호밀의 잎녹병 혹은 붉은녹병(*P. recondita*), 보리의 잎녹병 또는 좀녹병(*P. hordei*), 귀리 관녹병(*P. coronata*), 옥수수 녹병(*P. sorghi*), 조 녹병(*P. purpurea*), 사탕수수 녹병(*P. saccharo*) 등 많은 작물에 경제적으로 큰 피해를 주고 있다. 특히, 우리나라에서는 최근 시설하우스내 재배면적이 확대되고 있는 들깨에 녹병(*Colesporium plectranthi* Barclay)이 발생하여 큰 문제가 되고 있다(Yun 등, 2007).

위에서와 같은 녹병의 방제를 위하여 인류는 오랫동안 화학농약의 사용량을 증대시켜 왔다. 현재까지 화학농약은 적은 양으로도 효과가 우수하며 저렴하고 소득증대에 큰 역할을 한 것은 사실이나, 화학농약의 오용과 남용은 천적, 유용균, 곤충의 멸종, 환경·생태오염, 토양이나 식품중의 잔류독성, 저항성 병원균·해충·잡초의 증가 등의 문제점을 야기하였다. 특히 일부 화학농약의 경우 환경호르몬으로 추정되어 생태계 교란을 일으키는 주요 원인 중의 하나로 인식되고 있다(Katan, 1982; Staub, 1991). 따라서 이러한 화학농약의 극심한 피해를 줄이기 위한 일환으로 저독성 농약, 잔류성이 적은 농약, 천적에 해롭지 않은 농약의 개발을 서두르고 있으며, 많은 연구자들은 대체농약으로써 생물농약에 대한 연구를 활발히 진행하

*Corresponding author
Phone) +82-42-860-7436, Fax) +82-42-861-4913
Email) kjinc@krict.re.kr

고 있다(Choi 등, 2009; Copping과 Menn, 2000; Dik과 Van Der Staay, 1995; Shukla 등, 2009; Soylu 등, 2010; Yoon 등, 2010). 특히, 식물의 천연물질을 이용한 농약은 곤충, 선충, 식물 병원균에 대한 식물자체 방어 수단인 물질이 함유되어 있는 식물 조추출물을 직접 이용하기 때문에 생태계에 안전하여 부가가치가 높은 농산물을 생산할 수 있는 장점이 있다(Copping과 Menn, 2000; Dik과 Van Der Staay, 1995).

본 연구실에서는 당귀(*Angelica gigas* Nakai)의 methanol (MeOH) 추출물을 이용하여 *in vivo* 항균활성 실험을 실시하였다. 그 결과 벼 도열병, 벼 잎집무늬마름병, 토마토 역병 및 밀 붉은녹병에 대하여 방제 효과를 보이는 것을 확인하였고, 그 중 벼 도열병에 대해 높은 활성이 나타났다. 벼 도열병에 대해 활성을 나타내는 물질을 분리하기 위해 solvent partitioning과 column chromatography를 통하여 decursin의 항균물질을 분리하였고, 이 물질은 *in vivo* 실험에서 벼 도열병에 대하여 항균활성이 높은 것으로 나타났다. 반면, 밀 붉은녹병에 대한 항균활성은 500 μg/m*l* 수준에서도 전혀 방제활성을 나타내지 않았으며 이외 식물병에 대해서도 방제활성이 미약한 것으로 확인되었다(유 등, 2001). 이 결과는 당귀 MeOH 추출물에 함유되어 있는 벼 도열병 방제물질은 decursin이며, 이외 다른 식물병원균에 항균활성을 가지는 물질은 decursin이 아닌 다른 항균물질이 함유되어 있음을 나타내었다.

당귀는 산형과에 속하는 다년생 초본으로써, 1~2년생 구근을 말한다. 당귀의 효능은 당귀에 함유되어 있는 vitamin B_{12}, folic acid가 조혈작용을, vitamin E가 자궁기능의 발육 촉진과 조절작용을 하는 것으로 알려져 있다(최와 김, 2006). 당귀의 약리학적 작용을 나타내는 주성분은 coumarin 유도체인 decursin이며, 이 외에 decursinol, umbelliferon, β-sitosterol 등이 함유되어 있는 것으로 보고되었다(Konoshima 등, 1968; Chi와 Kim, 1970; Kang과 Kim, 2007). 당귀의 주성분인 decursin과 decursinol angelate에 대하여 항 종양 효과(Lee 등, 2003a), 박테리아 생장 억제 효과(Lee 등, 2003b; Bae 등, 1998), 순환계 질환과 관련된 효과(Lee 등, 2003c) 및 대사 억제 효과(Yoo 등, 2007)가 보고되어 있다. 그러나 당귀와 당귀로부터 분리된 decursinol angelate를 이용하여 밀 붉은녹병에 대한 항균활성에 관한 연구는 전무한 실정이다.

본 연구에서는 선행연구를 통해 당귀 MeOH 추출물을 이용하여 벼 도열병 다음으로 활성이 우수했던 밀 붉은녹병에 대해 항균활성을 가지는 물질을 분리, 정제하고 얻어진 물질을 이용하여 식물병원균에 대한 *in vivo* 항균활성 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료. 본 실험에 사용한 시료는 2009년 12월, 대구광역시 소재의 한약방에서 구입하여 실험에 사용하였으며, voucher specimen은 한국화학연구원에 보관되어 있다.

항균물질의 분리. 건조된 당귀 시료 100 g을 상온에서 methanol (5 *l*)에 침지한 후 여과하였다. MeOH 추출액을 감압 농축한 다음 MeOH 추출물(17 g)을 70% MeOH 1 *l*에 현탁시킨 후 동량의 *n*-hexane으로 partition을 실시하였고, 물 층에 존재하고 있는 MeOH을 제거하기 위하여 감압 농축하였다. 얻어진 시료에 100% H_2O로 재용해한 후 동량의 ethyl acetate(EtOAc)와 *n*-butanol(*n*-BuOH)로 단계적으로 추출하여 *n*-hexane 분획물 4.2 g, EtOAc 분획물 3.6 g, *n*-BuOH 분획물 2.6 g 및 물 층 6.6 g을 얻었다. *In vivo* 항균활성 검정을 통하여 *n*-hexane과 EtOAc 분획물이 항균활성을 나타내는 것을 확인하였고, 두 분획물을 합쳐서 감압 농축하였다. 이로부터 활성물질을 분리하기 위하여 용출용매 *n*-hexane:EtOAc(8:2-1:1, v/v)로 silica gel column chromatography(Kiesel gel 60, 70-230 mesh, 3.6 cm i.d.×80 cm; E. Merck, Darmstadt, Germany)를 실시하였다. 활성 분획물을 다시 alumina column(Neutral 90, 70-230 mesh, 2 cm i.d.×40 cm; E. Merck)에 가한 다음, methylene chloride(MC)로 용출하여 총 5개의 분획을 얻을 수 있었다. 활성 물질을 순수하게 정제하기 위하여 preparative HPLC를 이용하였다. 이때 preparative HPLC 조건은 다음과 같다; column: Capcell Pak C_{18}(20×250 mm), 용출용매: 0.1% trifluoroacetic acid(TFA)이 첨가된 acetonitrile과 0.1% TFA가 첨가된 물의 gradient solvent system, 유속: 10 m*l*/min, 검출파장: 329 nm이 과정을 통하여 compound 1 (15 mg)을 얻었다.

기기분석. 분리한 물질의 구조를 동정하기 위하여 질량분석 및 핵자기공명분석을 실시하였다. 질량분석은 double-focusing high-resolution(HR) mass spectrometer(JEOL JMS-DX303; JEOL Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. NMR spectrum은 Bruker AMZ-500(500 MHz) NMR spectrometer(Bruker Analytische Messtechnik Gmbh, Rheinstetten, Germany)로 측정하였고, tetramethylsilane (TMS)를 internal standard로 이용하였다.

화합물 1(Decursinol angelate). 메탄올을 이용하여 얻어진 흰색 결정체. EI-MS *m/z*: 328 (5.1) $[M]^+$, 228 (32.7), 213 (100), 147 (1.8), 83 (21.8), 55 (21.5); ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) d_H (ppm): 7.58 (1 H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 7.26 (1 H, s, H-5), 7.15 (1 H, s, H-8), 6.23 (1 H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 6.11 (1 H, q, J = 7.3 Hz, H-3"), 5.14 (1 H, t, J = 5.0

Hz, H-3'), 3.23 (1 H, dd, J = 17.1 Hz, H-4'$_a$), 2.89 (1 H, dd, J = 17.1 Hz, 5.1 Hz, H-4'$_b$), 1.89 (3 H, d, J = 7.3 Hz, H-4''), 1.84 (3 H, s, 2''-CH_3), 1.49 (3 H, s, gem-CH_3), 1.37 (3 H, s, gem-CH_3).

당귀 최적 추출 용매 선정. 건조된 당귀 10 g을 마쇄하여 100 m*l*의 *n*-hexane, MC, EtOAc 그리고 acetone을 첨가하여 150 rpm으로 하루 정치하였다. 얻어진 각 추출물을 감압 농축하였다. *n*-Hexane 추출물은 acetone으로 용해하였고, 다른 용매 추출물들은 MeOH에 용해한 다음 250 μg/m*l* Tween 20 용액에 현탁한 후 식물체에 분무하여 접종 1일전 예방효과를 조사하였다.

당귀 조추출물의 제형. 당귀 조추출물의 항균활성을 확인하기 위하여 건조된 당귀 300 g을 최적 추출 용매로 선정된 EtOAc로 2회 추출하였다. 얻어진 추출물을 감압 농축하였고, 당귀 EtOAc 추출물(2 g)을 Choi 등(2009)의 방법에 따라 수화제(Wettable powder, WP)로 제조하였다.

***In vivo* 항균활성 검정.** 당귀 MeOH 추출물, 유기용매 분획물 및 수화제에 대해서는 밀 붉은녹병(*P. recondita*)에 대하여 *in vivo* 항균활성을 조사하였고, 분리한 항균물질에 대하여는 항균활성 스펙트럼을 조사하기 위하여 밀 붉은녹병을 포함하여 벼 잎집무늬마름병(*Rhizoctonia solani*), 토마토 잿빛곰팡이병(*Botrytis cinerea*), 토마토 역병(*Phytophthora infestans*), 보리 흰가루병(*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) 및 고추 탄저병(*Colletotrichum coccodes*) 등 총 6가지 식물병에 대한 *in vivo* 항균활성을 조사하였다. MeOH 추출물, EtOAc 분획물, BuOH 분획물 및 분리한 항균 물질은 MeOH(최종농도, 5%)로, *n*-hexane 분획물은 acetone(최종농도, 10%)으로, 그리고 물분획물과 수화제는 증류수로 용해 또는 희석한 후 계면활성제 Tween 20을 250 μg/m*l* 수준으로 포함하는 증류수에 희석하였다. 이때 대조구는 5% MeOH 또는 10% acetone과 250 μg/m*l*의 Tween 20을 함유하는 증류수를 사용하였다. 각 식물병당 3개의 포트를 이용하였고, 활성성분 시료를 엽면에 분무 살포한 후 24시간 동안 풍건한 다음 각각의 식물 병원균을 접종하였다. 접종 3일 내지 8일 후에 병반면적율을 조사하였다(Kim 등, 2001; Choi 등, 2001).

대조약제로 벼 잎집무늬마름병은 validamycin(50과 5 μg/m*l*; Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Germany), 토마토 잿빛곰팡이병은 fludioxonil(50과 5 μg/m*l*; Dr. Ehrenstorfer GmbH), 토마토 역병은 dimethomorph(10과 2 μg/m*l*; Dr. Ehrenstorfer GmbH), 밀 붉은녹병은 flusilazole(10과 2 μg/m*l*; Dr. Ehrenstorfer GmbH), 보리 흰가루병은 benomyl(100과 1 μg/m*l*; Dr. Ehrenstorfer GmbH) 및 고추 탄저병은 dithianon(50과 10 μg/m*l*; Dr. Ehrenstorfer GmbH)을 사용하였다.

각각의 실험은 3반복으로 실시하였고, 이로부터 얻은 병반면적율을 이용하여 다음과 같은 식에 따라 방제가를 계산하였다.

$$\text{방제가(\%)} = [(\text{무처리구 발병도} - \text{처리구 발병도}) / \text{무처리구 발병도}] \times 100$$

통계처리. 모든 자료의 처리는 PROC GLM procedure (SAS institute, Cary, NC)를 사용하여 처리하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균치±표준편차(SD)로 표시하였고, 통계적 유의성 검정은 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후 F 값을 구하고 Duncan's multiple range test(P=0.05)를 이용하여 대조군과 각 구간의 유의성 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

본 실험실의 선행연구를 통해 당귀 MeOH 추출물이 밀 붉은녹병에 대해서 80% 이상의 방제효과를 확인하였다(유 등, 2001). 따라서 당귀 MeOH 추출물로부터 밀 붉은녹병에 대하여 항균활성을 갖는 물질의 분리를 시도하였다. 당귀 MeOH 추출물을 *n*-hexane, EtOAc 및 *n*-BuOH을 이용하여 단계적으로 용매 분획하여 밀 붉은녹병에 대하여 *in vivo* 항균활성 검정을 실시하였다. 그 결과 얻은 *n*-hexane 분획물 및 EtOAc 분획물이 1,000 μg/m*l*의 수준에서 각각 80%와 87%로 밀 붉은녹병에 대하여 높은 방제효과를 보였다(Fig. 1). 따라서 밀 붉은녹병에 대하여 활성을 보이는 물질은 *n*-hexane과 EtOAc 분획물에 존재하는 것으로 나타나 두 분획물로부터 항균활성 물질의 분리 정제를 시도하였다. 활성 분획물을 silica gel column chromatography, alumina column chromatography와 preparative HPLC를 통하여 화합물 **1**을 순수하게 분리하였다. 화합물 **1**의 구조 결정을 위하여 질량분석 및 핵자기공명분석을 실시하였다. 화합물 **1**은 흰색 결정체로 electron impact(EI) mode를 이용하여 질량분석을 실시한 결과 분자이온(M^+)이 *m/z* 328에서 나타났고, 주요 fragment ion은 *m/z* 228, 213(base peak), 83, 55였다. 이 질량스펙트럼은 decursinol angelate와 일치하는 것으로 나타났다. 이 물질의 정확한 구조 동정을 위하여 ^{1}H-NMR 스펙트럼을 얻었다. 화합물 **1**의 EI-MS와 ^{1}H-NMR spectrum을 Ryu 등(1990)이 보고한 decursinol angelate의 데이터와 비교한 결과 일치하는 것으로 나타남에 따라 분리한 항균물질은 decursinol angelate로 동정되었다.

Decursinol angelate는 *A. gigas* 뿌리의 주요 성분 중의

하나이며, 당귀에는 decursinol angelate 성분 외에 decursinol, nodakenetin, umbelliferone, nodakenin 등의 coumarin계 물질들이 포함되어 있다(Chi와 Kim, 1970; Ryu 등, 1990). Decursinol angelate는 1966년 바디나물(*Angelica decursiva*)의 뿌리에서 처음 분리해 낸 coumarin 유도체인 decursin의 구조 이성질체이다(Hata와 Sano, 1996). 두 물질은 당귀 외에도 기름나물(*Peucedanum terebinthaceum*)의 과실에도 존재한다고 보고된 바 있다(Ganbaatar 등, 2008). 지금까지 알려진 바로 benzopyrone 계열인 coumarin의 많은 유도체들은 항미생물활성 및 살충활성이 보고되었으며(Rehman 등, 2005; Ng 등, 1996), 그 중에서도 pyranocoumarin 유도체인 decursinol angelate는 Lee 등(2003b)과 Bae 등(1998)에 의해 decursinol angelate가 *Bacillus subtillis*와 *Helicobacter pylori*에 대해 억제 효과를 갖는다는 보고가 있다. Decursinol angelate에 관한 약리활성은 많이 보고되어 있지만 식물병을 일으키는 병원균에 대한 *in vivo* 항균활성에 대한 보고는 아직 없다. 따라서 decursinol angelate의 밀 붉은녹병에 대한 살균 활성은 본 연구에서 처음으로 보고하는 것이다.

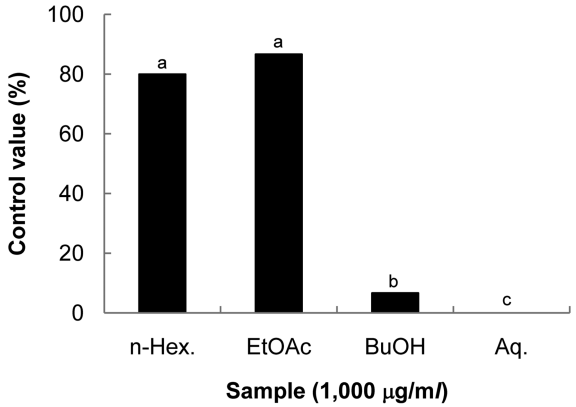

Fig. 1. *In vivo* antifungal activities of the four fractions obtained from the methanol extract of *Angelica gigas* roots against wheat leaf rust. Bars with the same letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test at the 0.05 level of confidence. *n*-Hex.: *n*-hexane fraction, EtOAc: ethyl acetate fraction, BuOH: *n*-butanol fraction, Aq.: aqueous fraction.

당귀 MeOH 추출물로부터 분리한 decursinol angelate의 *in vivo* 항균활성을 밀 붉은녹병을 포함하여 6가지 식물병에 대하여 방제활성 실험을 수행하였다. Decursinol angelate는 밀 붉은녹병에 대해 200 μg/m*l*과 400 μg/m*l* 수준에서 각각 43%와 73%의 방제활성을 나타냈으며, 고추 탄저병에 대해 80%와 86%로 높은 방제활성을 보였다(Table 1). 이 결과는 Fig. 2에서 나타낸 것과 같이 병

Table 1. *In vivo* antifungal activities of the decursinol angelate against six plant diseases[a]

Material	Control value (%)						
	Conc. (μg/m*l*)	RSB[b]	TGM	TLB	WLR	BPM	RPA
Decursinol angelate	200	20±1.4c[c]	0b	39±16.0b	43±2.1c	8±3.5b	80±2.1a
	400	65±2.1b	8±7.1b	46±15.9b	73±1.4b	25±3.5b	86±1.4a
Validamycin	50	100±0.7a	-[d]	-	-	-	-
	5	71±0.7b	-	-	-	-	-
Fludioxonil	50	-	100a	-	-	-	-
	5	-	93±2.1a	-	-	-	-
Dimethomorph	10	-	-	90±6.8a	-	-	-
	2	-	-	50±19b	-	-	-
Flusilazole	10	-	-	-	100a	-	-
	2	-	-	-	73±1.4b	-	-
Benomyl	100	-	-	-	-	100a	-
	1	-	-	-	-	90a	-
Dithianon	50	-	-	-	-	-	82±8.5a
	10	-	-	-	-	-	75±3.5a

[a]Seedlings were inoculated with spores or mycelial suspensions of the fungal pathogens 1 day after being sprayed with solutions of the plant extracts.
[b]RSB, rice sheath blight; TGM, tomato grey mould; TLB, tomato late blight; WLR, wheat leaf rust; BPM, barley powdery mildew; RPA, red pepper anthracnose.
[c]Each value represents the mean±standard deviation of two runs with three replicates each. The lower case letters indicate values that are not significantly different (P=0.05) from other values in their own column with the same letter, according to Duncan's multiple range test.
[d]Not tested.

Fig. 2. *In vivo* antifungal activities of decursinol angelate from *Angelica gigas* roots against red pepper anthracnose. (**a**) untreated plants, (**b**) treated with 200, (**c**) 400 μg/m*l* of decursinol angelate, and (**d**) treated with 50 μg/m*l* of dithianon.

원균만 접종된 무처리구는 고추 탄저병의 전형적인 병징을 나타낸 반면, decursinol angelate를 처리한 후 병원균을 접종한 실험군은 decursinol angelate의 처리농도에 병징이 현저히 감소하였으며, 처리한 식물체에 약해를 나타내지 않음을 확인하였다.

당귀에서 분리된 decursin 및 decursinol angelate($C_{19}H_{20}O_5$; molecular weight, 382)는 이차 알콜기가 각각 3,3-dimethyl acryloyl 그룹(seneciolyic acid)과 angeloyl 그룹이 에스터화되어 있는 그룹(angeloylic aicd)이 있으며, 이는 구조이성질체로서 물성이 거의 유사하다. 그러나 유 등(2001)에 의해서 보고된 바에 의하면 decursin은 밀 붉은녹병에 대해서 전혀 방제효과를 나타내지 않았다. 따라서 이 결과를 바탕으로 밀 붉은녹병을 방제하는데 decursinol angelate의 angeloylic acid기와 밀접한 관계가 있을 것이라고 생각된다. 이러한 구조적인 활성 차이는 Lee(2003a)에 의한 보고에서도 *in vivo* 실험에서 decursin과 decursinol angelate를 처리한 후 종양 크기를 측정한 결과 각각 40.6%, 45.6%로 감소하였고, 이들의 효과가 차이가 나는 것을 decursinol angelate의 angeloylic acid기 보다는 decursin의 seneciolyic aicd가 더 효과가 크기 때문이라고 보고하였다.

밀 붉은녹병 방제에 활성이 뛰어난 당귀의 최적추출 용매를 선정하기 위하여 *n*-hexane, MC, EtOAc와 acetone로 추출한 후 방제활성을 확인하였다. 그 결과, Fig. 3과 같이 당귀 EtOAc 추출물이 밀 붉은녹병에 대해서 방제효과가 가장 뛰어났고, 다른 용매들 보다 추출물의 양이 많았기 때문에 EtOAc를 선택하였다. EtOAc 추출물을 이용하여 농민들이 사용할 수 있는 제제인 수화제를 제조하여 밀 붉은녹병에 대해 250배, 500배, 1,000배로 희석배수를 달리하여 처리한 결과, 각각 83%, 67% 및 60%의 방제효과를 보였다(Fig. 4).

현재, 녹병을 방제하기 위한 약재로는 piperazine, pyrimidine, imidazole, triazole 계 등의 ergosterol 생합성

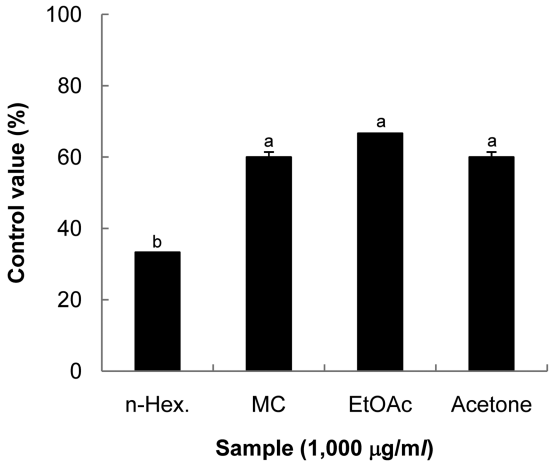

Fig. 3. *In vivo* antifungal activities of the crude extracts 1,000 μg/m*l* of *Angelica gigas* roots extracted with various organic solvents against wheat leaf rust. Bars with the same letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test at the 0.05 level of confidence. *n*-Hex.: *n*-hexane extract, MC: methylene chloride extract, EtOAc: ethyl acetate extract, Acetone: acetone extract.

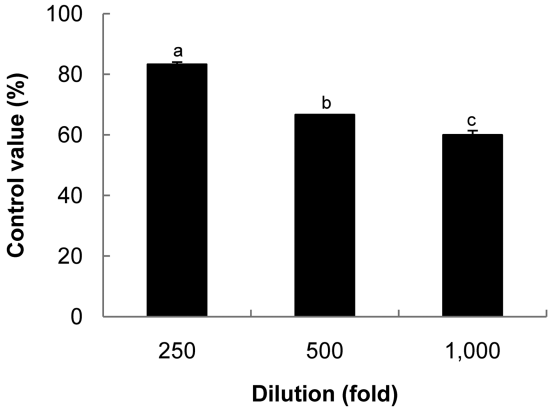

Fig. 4. *In vivo* antifungal activity of the wettable powder-type formulation of ethyl acetate extract of *Angelica gigas* roots against wheat leaf rust. Each value represents the mean ± standard deviation of two runs with three replicates each. Bars with the same letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test at the 0.05 level of confidence.

저해제, oxathin계 화합물 그리고 strobilurin계의 살균제 등이 사용되고 있다. 그러나 이들 살균제를 계속 사용함에 따라 약제 저항성 균들이 발생하게 되었다(Abiko 등, 1977). 이러한 문제점을 극복하기 위해서 최근 식물유래의 생리활성물질에 대한 관심이 높아지고 있다. 그 이유는 천연물 유래 생리활성물질은 자연에서 유래되었기 때문에 안전성 면에서 우수하며, 그 활성성분 자체뿐만 아니라 그 골격을 이용하여 새로운 농약개발을 위한 선도물질로서 이용 가치가 높기 때문이다. 당귀는 오래전부터

고혈압, 빈혈, 어혈에 사용하며 그 밖에도 진정제, 진통제, 강장제로 사용되어 왔고, 현재 식품에 사용할 수 있도록 허가된 한약재이다(오 등, 2006). 또한 당귀에 함유되어 있는 decursinol angelate의 약리 효과는 꾸준히 보고되고 있는 실정이다. 따라서 decursinol angelate을 포함하고 있는 당귀 추출물은 인체에 무해하면서도 친환경적으로 밀 붉은녹병, 들깨 녹병, 잔디 녹병 등의 녹병을 방제하는데 크게 기여할 것으로 예상된다. 추후 제품으로 개발하기 위해서는 추출물의 가격에 대한 평가, 최적 제제 개발, 포장에서의 다양한 식물병에 대한 약효 검점 및 안전성시험 등이 진행되어야 한다.

요 약

녹병은 다양한 작물의 품질과 수확량에 큰 영향을 끼친다. 따라서 이들을 방제하기 위하여 효과적이고 환경친화적인 살균제의 개발이 절실하다. 본 연구에서는 한약재로부터 항균 물질을 탐색하는 과정에서, 당귀 메탄올 추출물이 *Puccinia recondita*에 의해 발생하는 밀 붉은녹병에 대하여 우수한 방제효과를 나타내는 것을 확인하였다. 밀 붉은녹병에 대하여 활성을 보이는 한 개의 항균물질을 silica gel chromatography, alumina column chromatography와 C_{18} preparative HPLC를 통해 분리, 정제하였다. 분리한 항균물질은 EI-MS와 ^{1}H-NMR의 기기분석 결과 decursinol angelate로 동정되었다. 이 물질은 시험한 6개의 식물병 중에서 밀 붉은녹병과 고추 탄저병에 대하여 우수한 항균활성을 보였다. 또한, 당귀의 에틸아세테이트 추출물의 수화제도 밀 붉은녹병에 대해 우수한 항균활성이 보였다. 따라서 decursinol angelate와 이를 포함한 당귀 추출물을 이용할 경우 밀 붉은녹병을 방제할 수 있는 새로운 살균제의 개발이 가능하리라 생각된다. 본 논문에서 decursinol angelate에 의한 밀 붉은녹병 방제 효과를 처음 보고하는 바이다.

Acknowledgements

This study was carried out with the support of Cooperative Research Program for Agricultural Science & Technology Development (Project No.: 200901OFT102966197), Rural Development Administration, Republic of Korea.

참고문헌

오윤정, 이수한, 정승원, 노완섭. 2006. 당귀가 유산균의 생육에 미치는 영향. 동아시아식생활학회지 16: 344-348.

유시용, 김진철, 김영섭, 김홍태, 김성기, 최경자, 김정섭, 이선우, 허정희, 조광연. 2001. 당귀와 백지로부터 분리한 coumarin 계 물질들의 식물병원균에 대한 항균활성. 농약과학회지 5: 26-35.

최은정, 김향숙. 2006. 당귀와 승검초의 혼합 비율에 따른 혼돈병(餠)의 기호. 한국조리과학회지 22: 88-95.

Abiko, K., Kishi, K. and Yoshioko, A. 1977. Occurrence of oxycarboxin-tolerant isolates of *Puccinia horiana* P. Hennings in Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 43: 145-150.

Bae, E. A., Han, M. J., Kim, N. J. and Kim, D. H. 1998. Anti-*Helicobacter pylori* activity of herbal medicines. *Biol. Pharm. Bull.* 21: 990-992.

Chi, H. J. and Kim, H. S. 1970. Studies on the components of Umbelliferae plants in Korea: pharmacological study of decursin, decursinol and nodakenin. *Kor. J. Pharmacogn.* 1: 25-32.

Choi, N. H., Choi, G. J., Min, B.-S., Jang, K. S., Choi, Y. H., Park, M. S., Choi, J. E., Bae, K. and Kim, J.-C. 2009. Effects of neolignans from the stem bark of *Magnolia obovata* on plant pathogenic fungi. *J. Appl. Microbiol.* 106: 2057-2063.

Copping, L. G. and Menn, J. J. 2000. Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Manag. Sci*. 56: 651-676.

Dik, A. J. and Van Der Staay, M. 1995. The effect of Milsana on cucumber powdery mildew under Dutch conditions. *Med. Fac. Landbouw. Univ. Gent* 59: 1027-1034.

Ganbaatar, Z., Gantumur, B., Osadchii, S. A., Shul'ts, E. E., Shakirov, M. M. and Tolstikov, G. A. 2008. Plant coumarins. 3.(+)-PTeryxin from *Peucedanum terebinthaceum*. *Chem. Nat. Co.* 44: 578-581.

Hata, K. and Sano, K. 1996. The constitution of decursin, a new coumarin isolated from the root of *Angelica decursiva* FR. et SAV. (umbelliferae). *Tetrahedron Lett.* 14: 1461-1465.

James, C. 1971. A Manual of Assessment Keys for Plant Disease. Canadian Department of Agriculture Publishing.

Kang, S. Y. and Kim, Y. C. 2007. Neuroprotective coumarins from the root of *Angelica gigas*: Structure-activity relationships. *Arch. Pharm. Res.* 30: 1368-1373.

Katan, T. 1982. Resistance to 3, 5-dichlorophenyl-N-cyclicimide (dicarboximide) fungicides in the grey mould pathogen *Botrytis cinerea* in protected crops. *Plant Pathol.* 31: 133-141.

Konoshima, M., Chi, H. J. and Hata, K. 1968. Coumarins from the root of *Angelica gigas* Nakai. *Chem. Pharm. Bull.* 16: 1139-1140.

Lee, S., Lee, Y. S., Jung, S. H., Shin, K. H., Kim, B.-K. and Kang, S. S. 2003a. Anti-tumor activities of ducursinol angelate and decursin from *Angelica gigas*. *Arch. Pharm. Res*. 26: 727-730.

Lee, S., Shin, D. S., Kim, J. S., Oh, K. B. and Kang, S. S. 2003b. Antibacterial coumarins from *Angelica gigas*. *Arch. Pharm. Res.* 26: 449-452.

Lee, Y. Y., Lee, S., Jin, J. L. and Yun-Choi, H. S. 2003c. Platelet anti-aggregatory effects of coumarins from the roots of

Angelica genuflexa and *A. gigas*. *Arch. Pharm. Res.* 26: 723-726.

Ng, T. B., Ling, J. M. L., Wang, Z. T., Cai, J. N. and Xu, G. J. 1996. Examination of coumarins, flavonoid and polysaccharopeptide for antibacterial activity. *Gen. Pharmacogn.* 27: 1237-1240.

Rehman, S. U., Chohan, Z. H., Gulnaz, F. and Supuran, C. T. 2005. *In-vitro* antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of some coumarins and their metal complexes. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 20: 333-340.

Ryu, K. S., Hong, N. D., Kim, N. J. and Kong, Y. Y. 1990. Studies on the coumarin constituents of the root of *Angelica gigas* Nakai. Isolation of decursinol angelate and assay of decursinol angelate and decursin. *Kor. J. Pharmacogn.* 21: 64-68.

Shukla, R., Kumar, A., Singh, P. and Dubey, N. K. 2009. Efficacy of *Lippia alba* (Mill.) Brown essential oil and its monoterpene aldehyde constituents against fungi isolated from some edible legume seeds and aflatoxin B1 production. *Int. J. Food Microbiol.* 135: 165-170.

Soylu, E. M., Kurt, S. and Soylu, S. 2010. *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *Int. J. Food Microbiol.* 143: 183-189.

Staub, T. 1991. Fungicide resistance; practical experience with antiresistance strategies and the role of integrated use. *Annu. Rev. Phytopathogl.* 29: 421-442.

Yoo, H. H., Lee, M. W., Kim, Y. C., Yun, C. H. and Kim, D. H. 2007. Mechanism-based inactivation of cytochrome P450 2A6 by decursinol angelate isolated from *Angelica gigas*. *Drug Metab. Dispos.* 35: 1759-1765.

Yoon, M.-Y., Choi, G. J., Choi, Y. H., Jang, K. S., Par, M. S., Cha, B. and Kim, J.-C. 2010. Effect of polyacetylenic acids from *Prunella vulgaris* on various plant pathogens. *Lett. Appl. Microbiol.* 51: 511-517.

Yun, H. Y., Kim, Y. H., Hong, S. G. and Lee, K. J. 2007. First description of *Coleosporium plectranthi* causing perilla rust in Korea. *Plant Pathol. J.* 23: 7-12.