농약과학회지 (Korean J. Pestic. Sci.)
Vol. 30, No. 3, pp. 200-206 (2026)
Open Access https://doi.org/10.7585/kjps.2026.30.3.200
ORIGINAL ARTICLES

Online ISSN 2287-2051
Print ISSN 1226-6183
Check for updates

감나무속 식물 *Diospyros melanoxylon*으로부터 잿빛곰팡이균 (*Botrytis cinerea*)에 대한 항진균 활성물질 분리 및 구조 규명

전경미[1,2] · 황병수[3] · 이동운[4] · 최용화[1]*

[1]경북대학교 생태환경시스템학과, [2]JNC Chemical, [3]국립낙동강생물자원관, [4]경북대학교 생태과학과

Isolation and Structural Elucidation of Antifungal Substance against *Botrytis cinerea* from the Ebenaceous Plant *Diospyros melanoxylon*

Kyong-Mi Jeon[1,2], Buyng Su Hwang[3], DongWoon Lee[4], and Yong-Hwa Choi[1]*

[1]School of Ecological and Environmental Systems, Kyungpook National University, Sangju 37224, Republic of Korea
[2]JNC Chemical Co. Ltd., Sangju 37224, Republic of Korea
[3]Using Technology Development Department Bio-resources Research Division, Nakdonggang National Institute of Biological Resources, Sangju 37242, Republic of Korea
[4]Department of Ecological Science, Kyungpook National University, Sangju 37224, Republic of Korea

(Received on August 4, 2026. Revised on August 24, 2026. Accepted on August 24, 2026)

Abstract An antifungal active substance was identified in the woody part of *Diospyros melanoxylon* to develop eco-friendly agricultural materials against *Botrytis cinerea*, the causative agent of gray mold. The methanol extract from the woody part of *D. melanoxylon* was sequentially fractionated using hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol, and the aqueous layer. Biological activity tests revealed that the hexane fraction exhibited the strongest activity, leading to its isolation and purification via silica gel column chromatography. Finally, GC-MS and NMR analysis identified the HSC-8 subfraction, as 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone. The EC_{50} value of 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone as an antifungal active substance against *B. cinerea* was 49.12 ppm. Therefore, since the wood extract of *D. melanoxylon* exhibited antifungal activity against *B. cinerea,* this extract has potential as an eco-friendly agricultural material.

Key words: Antifungal active substance, *Botrytis cinerea, Diospyros melanoxylon,* 5-Methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone

서 론

Botrytis cinerea (잿빛곰팡이균)는 전 세계적으로 심각한 식물 진균 중 하나로, 딸기, 토마토, 포도 등 원예작물의 수확 전후에 큰 손실을 초래하고 있다(Prins et al., 2000). *B. cinerea* 병징은 작은 수침상 반점에서 회색의 포자덩어리가 빠르게 형성되고, 2 ~ 3일 내에 기주식물 전체로 확산된다 (Williamson et al., 2007). 이러한 괴사영양균(necrotrophic)은 식물에 기생하여 감염된 식물 세포를 직접 사멸시키고, 그 죽은 조직의 영양분을 흡수하는 특성을 가지고 있다 (Paul et al., 1998). 저온다습한 환경에서 바람과 관수, 접촉 등을 통해 쉽게 전파되고, 특히 시설재배의 경우 비가 자주 오거나 하우스 내부가 과습할 때 급증한다고 보고되고 있다. 최근 기후 변화에 따른 시설 재배 면적의 확대와 고온다습한 환경의 영향으로 잿빛곰팡이균의 발생 빈도와 피해 강도가 더욱 높아지고 있다(Romanazzi and Feliziani, 2014).

*B. cinerea*의 방제는 전통적으로 작물 생육 기간 동안 합성 살균제를 주기적으로 살포하는 화학적 방제에 주로 의존해 왔다(Li et al., 2018). 그러나 특정 계통 살균제의 반복적·지

*Corresponding author
E-mail: ychoi@knu.ac.kr

속적 사용 및 오남용으로 인해 약제에 대한 저항성(내성) 균주가 빠르게 출현하고 있으며, 농산물 내 잔류 농약에 대한 소비자들의 안전성 우려 또한 지속적으로 제기되고 있다 (Rosslenbroich and Stuebler, 2000). 이러한 화학적 방제의 한계를 극복하기 위해 기존 살균제의 사용량을 줄이면서 방제 효율을 높일 수 있는 합성 살균제와 천연 화합물 또는 비화학적 방제법의 병용 처리가 시도되고 있다(Abbey et al., 2019). 나아가 환경 독성을 최소화하고 내성균 발생 위험을 근본적으로 낮추기 위해, 기존 화학 살균제를 대체하거나 보완할 수 있는 식물 유래 천연물(natural products) 제제 기반의 친환경 방제 기술 개발이 강력한 대안으로 주목받고 있다 (Yigal and Shtienberg, 1995).

본 연구에 사용된 *Diospyros melanoxylon* Roxb.은 감나무과(Ebenaceae)의 다년생 목본으로, 인도와 스리랑카 등 건조한 열대·아열대 기후 지역에 자생한다(Saraf et al., 2024). 해당 종은 최대 15 m까지 자라는 중간 크기의 관목성 나무로, 건조하고 견고한 외피를 형성하는 것이 특징이다 (Chandrashikha, 2021). 잎은 호생 또는 대생으로 착생하며 최대 길이는 35 cm에 이르고, 꽃은 연보라색의 자웅이주 형태를 보인다(Kalpana et al., 2014). *D. melanoxylon*은 강력한 약리 활성을 지녀 인도 전통 의학에서 설사, 이질, 콜레라와 같은 소화기계 증상과 기관지염, 폐렴, 잇몸 출혈 등의 질환을 치료하는 처방에 빈번히 사용되었으며(Rathore, 1972) *Diospyros*속 식물 유래의 naphthoquinone계 화합물인 plumbagin, diospyrin 등은 다양한 식물병원성 진균 및 세균에 대해 우수한 항균 활성을 나타내어 농업 병해 제어를 위한 천연 살균제 및 생물학적 방제 소재로서의 높은 잠재력이 보고된 바 있다(Lajubutu, 1995). 이러한 천연 퀴논계 유도체들은 병원균의 포자 발아 억제 및 균사 생장 저해 효과가 우수하여 실제 식물 병해 방제제로의 적용 가능성이 지속적으로 입증되고 있다(Ryu, 2012).

따라서 본 연구에서는 잿빛곰팡이병의 화학적 방제를 대체하기 위하여 친환경 농자재 개발을 목적으로 *D. melanoxylon* 목질부로부터 잿빛곰팡이병 병원균인 *B. cinerea*에 대한 항진균 활성물질을 탐색 및 구명하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구는 활성물질 탐색을 위해 병원균주로 *B. cinerea* (KACC 41008)를 사용하였으며, 균주는 경상국립대학교 식물의학과 진균병학연구실에서 분양받아 계대배양하여 사용하였다.

식물재료인 *D. melanoxylon* 목질부를 네팔 약재상에서 구매 사용하였고, 표본 시료는 경북대학교 대학원 생태환경시스템학과 천연물화학연구실에 보관 중이다.

D. melanoxylon 동정

본 연구에 사용된 식물체는 한약재로 구체적인 학명의 기재가 없어 재료의 유전자 분석을 통해 식물체를 동정하였다. 식물체 동정을 위하여 목질부를 ㈜Macrogen에 표본으로 의뢰하였으며, genomic DNA를 추출하여 rbcLa-F and rbcLa-R primers (Kress and Erickson 2007)를 사용하여 Geneious 프로그램으로 cp DNA를 시퀀싱한 결과, *D. melanoxylon*와 99.8% 상동성이 확인되어 본 실험에 사용한 식물 재료는 *D. melanoxylon*로 동정하였다.

시약 및 기기

용매분획과 silica gel column chromatography에서 사용된 methanol (MeOH, 99.5%), *n*-hexane(95.0%), chloroform ($CHCl_3$, 99.5%)은 ㈜삼전순약공업(Samchun Pure Chemical Co., Ltd., Pyeongtaek, Korea), ethyl acetate (EtOAc, 99.5%), *n*-butanol (BuOH, 99.0%)은 ㈜덕산약품공업(Duksan Pure Chemicals Co., Ltd., Ansan, Korea)의 extra pure grade를 사용하였고, H_2O는 초순수 정수기로 조제하여 사용하였다. Bioassay에 사용된 Potato dextrose agar (PDA)는 Becton, Dickinson and Company (Sparks, MD, USA)의 배지를 사용하였으며, 여과지(300 mmϕ, No.2)는 Advantec (Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan) 제품을 사용하였고, petri dish는 SPL Life Sciences (Pocheon, Korea)사 제품을 사용하였다. Silica gel(7734)는 Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Germany)사 제품을, cartridge column은 Watchers (IsChem, Seoul, Korea)사의 flash cartridge를, NMR 분석용매로 사용한 chloroform-d ($CDCl_3$)는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다. NMR spectrometer는 Varian Bruker (Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten, Germany)사의 DMX 600(600 MHz)을 이용하였고, 내부표준물질은 tetramethylsilane (TMS)을 사용하였으며, chemical shift는 ppm으로 나타내었다. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)는 Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA)사의 7890A 기종을, column은 HP-5MS capillary를, detector는 Agilent 5975C를 사용하였으며, library는 Wiley (John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA; W9N08.L)를 사용하였다. 통계분석에는 SAS (version 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 프로그램을 사용하였다.

실험 병원균의 배양 조건

B. cinerea 병원균의 배양 배지는 PDA배지를 petri dish (60 mm × 15 mm)에 분주, 평판배지를 만들어 수행하였다. *B. cinerea* 병원균을 cork borer(8 mm)로 채취하여 배지의 중앙에 치상 시킨 후 25°C incubator에서 7일간 배양하였다.

MeOH 용매추출

건조된 *D. melanoxylon* 목질부 1,750 g을 잘게 분쇄 후 99.5% MeOH 3 L로 실온에서 24시간 침지, 추출하였으며, 침지와 추출과정을 3회 반복하였다. 추출물은 여과지로 고형물을 걸러내고 40°C에서 rotary evaporator로 회전감압 농축하여 MeOH 추출물 60.43 g을 얻었다.

용매분획

MeOH 추출물 60.43 g을 증류수 500 mL에 현탁시킨 후 hexane, $CHCl_3$, EtOAc, BuOH 용매 순으로 각각 500 mL씩 3회 반복하여 용매분획하였다. 그 결과, hexane fraction 7.53 g, $CHCl_3$ fraction 17.16 g, EtOAc fraction 2.62 g, BuOH fraction 24.13 g 및 aqueous layer 8.99 g을 얻었다.

항진균 활성 생물검정

항진균 활성 탐색을 위하여 121°C autoclave에 15분간 고압멸균한 후 PDA배지를 약 45 ~ 50°C로 식혔다. 여기에 메탄올 추출물은 1,000 ppm, 용매분획 및 chromatography 분획들은 각각 100 ppm 농도가 되도록 첨가한 후, petri dish (60 mm × 15 mm)에 분주 평판배지를 제조하였다. 병원균주를 cork borer (5 mm)로 채취하여 배지 중앙에 접종하고, 25°C incubator에서 4일간 배양 후 균주의 생장 속도를 보며 항진균 활성 여부를 조사하였다.

항진균 활성물질 분리 및 정제

MeOH 추출물을 순차적으로 용매분획하여 각각의 분획물에 대한 항진균 활성을 검토한 결과, 생물검정에서 가장 활성이 강했던 hexane fraction으로부터 항진균 활성물질을 분리·정제하기 위하여 open column chromatography (50 mm × 860 mm)를 수행하였다. Column은 silica gel (7734) 650 g을 *n*-hexane에 현탁시켜 습식법(wet packing method)으로 충전한 후 hexane fraction 7.53 g을 loading 하고, 용매계 (hexane : EtOAc = 7 : 3, v/v)로 isocratic 방식으로 용출하여, 200 mL씩 46개의 fraction (HS-1 ~ HS-46)을 얻었다. 이들 용매분획을 bioassay한 결과, 활성을 나타낸 HS-24 ~ HS-26 용매분획을 농축하여 활성분획 110 mg을 얻었다.

Open column chromatography에서 얻은 활성물질 분획 HS-24 ~ HS-26 110 mg을 silica gel 30 g이 충진된 54 mL cartridge column에 loading하고 용매계(Hexane : EtOAc = 3 : 4, v/v)로 용출하여 15 mL씩 50개의 subfraction (HSC-1 ~ HSC-50)을 얻었다. 50개의 subfraction을 bioassay한 결과 HSC-8 subfraction에서 활성이 나타났으며, 최종적으로 HSC-8 subfraction 15 mg의 활성물질을 얻었다.

항진균 활성물질 구조 구명

최종 활성물질로 분리한 HSC-8 subfraction의 화학구조는 MS와 ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR 분석으로 화합물의 구조를 해석하였다. GC/MS 분석은 HSC-8 subfraction을 100 ppm 농도가 되도록 acetone (HPLC grade, B&J, USA)에 희석한 후 분석하여 분자량($[M]^+$)이 *m/z* 202임을 확인하였다. NMR 분석은 HSC-8 subfraction 10 mg을 $CDCl_3$에 녹여 분석하였다.

Yellow solid; EIMS *m/z* 202 $[M]^+$

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 2.14 (3H, d, J = 1.4 Hz, $-CH_3$), 4.01 (3H, s, $-OCH_3$), 6.74 (1H, q, J = 1.6 Hz, H-3), 7.29 (1H, dd, J = 0.9, 8.6 Hz, H-6), 7.66 (1H, dd, J = 7.6, 8.4 Hz, H-7), 7.77 (1H, dd, J = 1.1, 7.6 Hz, H-8); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 15.8 ($-CH_3$), 56.5 ($-OCH_3$), 117.7 (C-6), 119.4 (C-4a), 120.0 (C-8), 134.4 (C-3), 134.6 (C-7), 137.9 (C-8a), 145.4 (C-2), 159.4 (C-5), 184.5 (C-4), 185.8 (C-1)

균사생장 억제 실험

최종 분리한 항진균 화합물의 잿빛곰팡이균에 대한 생육억제 효과를 평가하기 위하여 고압멸균 한 PDA배지에 농도가 0 ppm, 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm이 되도록 화합물을 첨가하여 petri dish (90 mm × 15 mm)에 분주 평판배지를 만들었다. 완전히 굳혀진 평판배지에 cork borer (5 mm)로 채취한 잿빛곰팡이균 균주를 배지 중앙에 치상하고 25°C incubator에서 4일간 배양 한 후, 균주의 생장속도를 보며 균사생장 억제능을 검정하였다.

통계 분석

모든 실험은 3반복으로 수행되었으며, 얻어진 결과는 SAS 프로그램을 이용하여 통계 처리하였다. 처리 농도에 따른 *B. cinerea*의 균사 생장 저해율을 바탕으로 Probit 분석 (Probit analysis)을 실시하여 50% 생장 저해 농도인 EC_{50} (effective concentration for 50% inhibition of mycelial growth)을 산출하였다.

결과 및 고찰

D. melanoxylon 목질부의 MeOH 추출물을 잿빛곰팡이병 병원균인 *B. cinerea*에 대하여 1,000 ppm 농도에서 생물검정한 결과 80.9% 균사체 억제능을 나타내었다(Fig. 1).

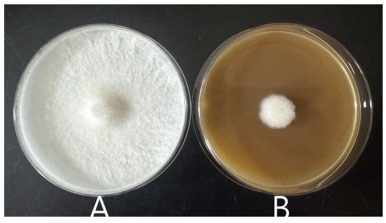


Fig. 1. Antifungal activity of MeOH extract from the woody part of *D. melanoxylon* against mycelial growth of *B. cinerea* at 1,000 ppm concentration. (A) Control; (B) MeOH extract.

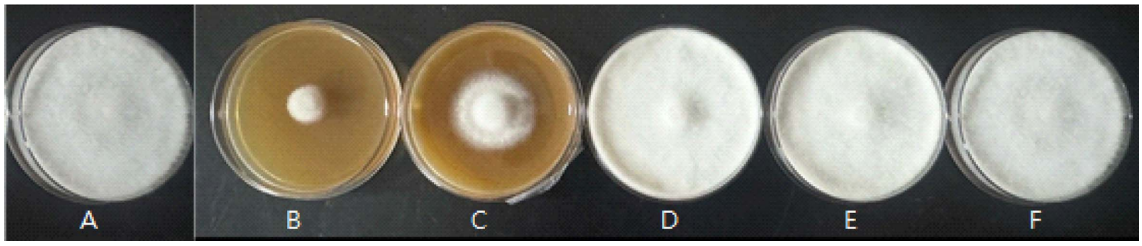


Fig. 2. Antifungal activities of each fractions of MeOH extract the woody part of *D. melanoxylon* against mycelial growth of *B. cinerea* at 100 ppm concentration. (A) Control; (B) Hexane fraction; (C) $CHCl_3$ fraction; (D) EtOAc fraction; (E) BuOH fraction; (F) Aqueous layer.

D. melanoxylon 목질부로부터 항진균 활성물질을 구명하고자 *D. melanoxylon* 목질부의 MeOH 추출물을 hexane, $CHCl_3$, EtOAc, BuOH, aqueous로 용매분획하여 얻은 각각의 용매분획을 대상으로 100 ppm에서 항진균 활성을 검정한 결과, hexane fraction에서 가장 강한 활성을 나타내었고 다음으로 $CHCl_3$ fraction에서 강한 활성을 나타내었다(Fig. 2).

가장 강한 활성을 나타낸 hexane fraction을 대상으로 항진균 활성물질을 분리 및 정제하고자 hexane fraction 7.53 g을 silica gel 650 g이 충진된 open column chromatography에 charge하고 hexane : EtOAc (7 : 3, v/v)의 용매계로 isocratic 방식으로 순차 용출하여 200 mL씩 총 46개의 fractions (HS-1 ~ HS-46)을 얻었다. 46개 fractions을 대상으로 항진균 활성 검정한 결과 HS-24 ~ HS-26 fraction에서 강한 활성을 나타내었다.

HS-24 ~ HS-26 fraction 110 mg을 silica gel 30 g이 충진된 54 mL cartridge column에 loading하고 Hexane : EtOAc (3 : 4, v/v) 용매계로 용출하여 15 mL씩 50개의 subfraction (HSC-1 ~ HSC-50)을 얻었다. 50개의 subfraction을 항진균 활성검정한 결과 HSC-8 subfraction에서 활성이 나타나 최종적으로 항진균 활성물질 HSC-8 subfraction 15 mg을 얻었다.

최종적으로 항진균 활성물질로 분리한 HSC-8 subfraction을 GC-MS로 분석한 결과, GC chromatogram에서 14.26 분에 나타난 peak가 면적대비 97.9%로 추정되었으며(Fig. 3), Mass spectrum에서 *m/z* 202에서 M^+ peak (base)가 검출되었고 주요 fragmentation으로 *m/z* 187, 173, 156 등이 검출되었다(Fig. 4).

HSC-8 subfraction을 $CDCl_3$용매로 용해시켜 NMR로 구조분석하였다.

^{1}H-NMR spectrum을 분석한 결과, aromatic 영역 δ 7.77 (dd, J = 1.1, 7.6 Hz), 7.66 (dd, J = 7.6, 8.4 Hz), 7.29 (dd, J = 0.9, 8.6 Hz)에서 vicinal trisubstituted aromatic ring, δ 6.74 (q, J = 1.6 Hz)에서 alkenyl proton, δ 4.01 (s)에서 methoxy protons, δ 2.14 (d, J = 1.4 Hz)에서 allylic methyl doublet이 관찰되어 methoxy기와 methyl기가 치환된 naphthoquinone 유도체로 추정되었다.

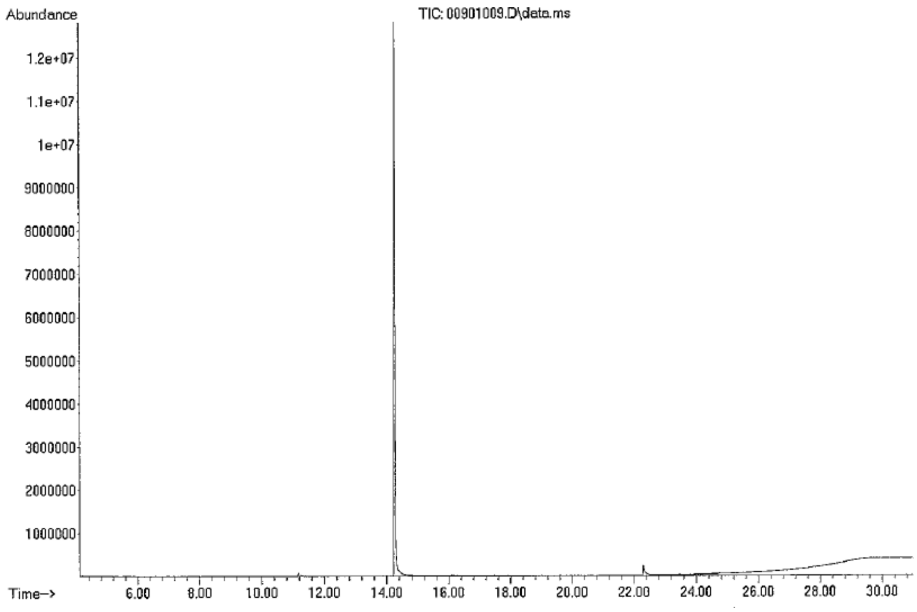


Fig. 3. GC chromatogram of HSC-8 subfraction.

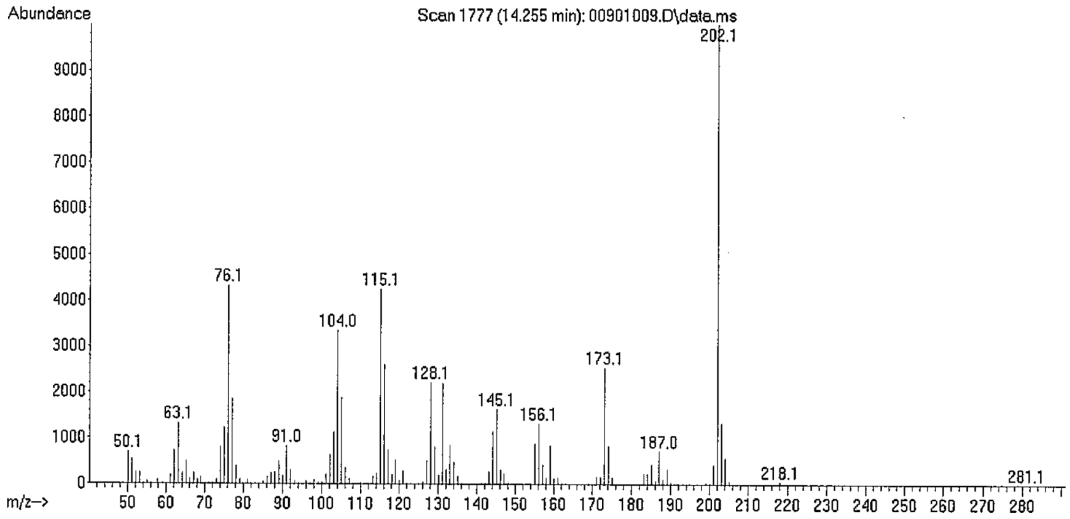


Fig. 4. Mass spectrum of HSC-8 subfraction.

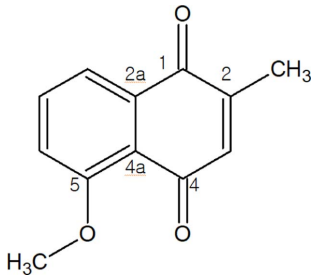


Fig. 5. Chemical structure of 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone isolated from the woody part of *D. melanoxylon.*

^{13}C-NMR spectrum을 분석한 결과, 12개 carbon에 상응하는 peak가 검출되었으며 δ 15.8에서 methyl carbon peak가, δ 56.5에서 methoxy carbon peak가, δ 134.6, 134.4, 120.0, 117.7에서 methine carbon peak가, δ 185.8, 184.5에서 carbonyl carbon peak가, δ 159.4, 145.4, 137.9, 119.4 ppm에서 quaternary carbon peak 검출되었다.

^{1}H-NMR spectrum과 ^{13}C-NMR spectrum을 분석한 결과 *D. melanoxylon* 목질부로부터 순수분리한 HSC-8 subfraction은 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone으로 구조 동정하였으며(Fig. 5), 이 화합물의 구조해석은 Okuyama et al. (1999)의 구조해석과 일치하였다.

D. melanoxylon 목질부로부터 잿빛곰팡이병 원인균인 *B. cinerea*에 대한 항진균 활성을 나타낸 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone은 naphthoquinone계 유도체로서 대표적인 생리활성 천연물질인 plumbagin (5-hydroxy-methyl-1,4-naphthoquinone) 화합물의 5번 위치에 있는 hydroxy기가 methoxy기로 치환된 plumbagin methyl ether 화합물이다.

Tezuka et al. (1973)에 의해 *D. melanoxylon*로부터 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone 화합물이 처음으로 분리되어 구조해석되었다. 그밖에 지금까지 *D. melanoxylon* 식물체로부터 분리되어 구조해석된 naphthoquinone계 화합물로는 3,3′-bis[6-hydroxy-5-methoxy-2-methylnaphthoquinone] (Sidhu et al., 1973)과 4,11-Dihydroxy-5-methoxy-2,9-dimethyldinaphtho[1,2-b:2′,3′-d]furan-7,12-quinone (Sankaram et al., 1981)이 보고되었다.

5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone 화합물이 식물병원성 곰팡이균인 *Alternaria tenuis, Helmin-thosporium spiceferum, Colletotrichum dematium, C. gloeosporioides*에서 포자발아 억제활성이 보고되었다(Sankaram et al., 1975).

D. melanoxylon 목질부로부터 순수 분리한 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone 화합물의 잿빛곰팡이병 원인균인 *B. cinerea*에 대한 항진균 활성을 검정하기 위하여 균사생장 억제능실험을 진행하였다.

5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone의 최종농도가 0 ppm,

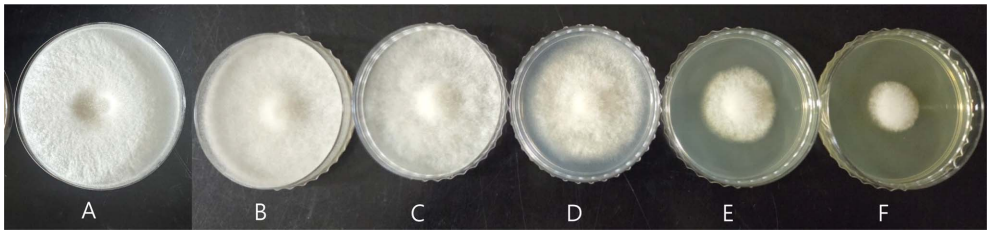


Fig. 6. Antifungal activities at various concentrations of 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone isolated from the woody part of *D. melanoxylon* against mycelial growth of *B. cinerea in vitro*. (A) Control; (B) 1 ppm; (C) 5 ppm; (D) 10 ppm; (E) 50 ppm; (F) 100 ppm.

Table 1. Effective concentration for 50% inhibition (EC_{50}) of 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone against mycelial growth of *B. cinerea in vitro*

	EC_{50} value (mg/l)		
	Average	Minimum	Maximum
5-Methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone	49.12	46.85	52.30

*Figures were EC_{50} value (mg a.i. L^{-1})

1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm 되도록 배지를 조성하여 배지 중앙에 고체배지에서 배양된 *B. cinerea* 병원균을 치상하고 25℃ incubator에서 4일간 배양 후 항진균 활성을 검정하였다(Fig. 6). 또한 항진균 활성에 대하여 EC_{50} 값을 산출하였다(Table 1).

그 결과, 5-Methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone 화합물은 50 ppm 농도 이상에서 *B. cinerea*의 균사 생장을 억제하는 항진균 활성을 나타내었으며, EC_{50} 값은 49.12 ppm으로 산출되었다.

따라서, *D. melanoxylon* 목질부에서 분리한 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone 잿빛곰팡이병균인 *B. cinerea*의 생장을 저해하는 활성물질 중 하나로 확인되었으며, 향후 추가적인 *in vivo* 방제 효과 검정 및 제형 연구가 수반된다면 잿빛곰팡이병 방제를 위한 친환경 천연물 유래 소재로서의 활용 가능성이 있을 것으로 사료된다.

Author Information and Contributions

Kyong-Mi Jeon: Kyungpook National University, Ph.D. student, https://orcid.org/0009-0005-1345-2158.

Buyng Su Hwang: Nakdonggang National Institute of Biological Resources, Researcher. ORCID http://orcid.org/0000-0002-6774-7294.

DongWoon Lee, Kyungpook National University, Professor, ORCID http://orcid.org/0000-0001-9751-5390.

Yong-Hwa Choi, Kyungpook National University, Professor, ORCID http://orcid.org/0000-0002-5675-9417.

Research design; Choi YH, Jeon KM, Experiment; Jeon KM, Data analysis; Choi YH, Hwang BS, Writing – original draft preparation; Jeon KM, Writing – review & editing; Jeon KM, Hwang BS, Lee DW, Choi YH.

이해상충관계

저자는 이해상충관계가 없음을 선언합니다.

Literature Cites

Abbey JA, Percival D, Abbey L, Asiedu SK, Prithiviraj B, Schilder A, et al., 2019. Biofungicides as alternative to synthetic fungicide control of grey mould (*Botrytis cinerea*) – prospects and challenges. Biocontrol Science and Technology. 29(3):207-228.

Chandrashikha P, Prajapati RK, Prakash NA. 2021. Morphological Characterization of Tendu Fruit (*Diospyros melanoxylon* Roxb) and selection of plus Trees from Kondagaon and Kanker Forest Stands of Chhattisgarh. The Pharma Innovation. 10(9):14-23.

Kalpana R, Singh VK, Jain P, Rao SP, Ahmed Z, et al., 2014. In-vitro and in-vivo antiadipogenic, hypolipidemic and antidiabetic activity of *Diospyros melanoxyl* (Roxb). J. Ethnopharmacol. 155(2):1171-1176.

Kress WJ, Erickson DL. 2007. A Two-Locus Global DNA Barcode for Land Plants: The Coding *rbcL* Gene Complements the Non-Coding *trnH-psbA* Spacer Region. PLoS ONE. DOI.org/10.1371/journal.pone.0000508.

Lajubutu BA, Pinney RJ, Roberts MF, Odelola HA, Oso BA, et al., 2024. Antibacterial activity of diosquinone and plumbagin from the root of *Diospyros mespiliformis* (Hostch) (Ebenaceae). Wiley Online Llbrary. 9(5):346-350.

Li H, Chen Y, Zhang Z, Li B, Qin G, et al., 2018. Pathogenic mechanismsand control strategies of *Botrytis cinerea* causing post-harvest decay in fruits and vegetables. Food Quality and Safety. 2(3):111-119.

Okuyama E, Homma M, Satoh Y, Fujimoto H, Ishibashi M, et al., 1999. Monoamine oxidase Inhibitory naphthoquinone and/or naphthalene dimers from Lemuni Hitam (*Diospyros* sp.), a malaysian herbal medicine. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 47(10):1473-1476.

Paul B, Chereyathmanjiyil A, Masih I, Chapuis L, Benoit A, et al., 1998. Biological control of *Botrytis cinerea* causing grey mould disease of grapevine and elicitation of stilbene phytoalexin (resveratrol) by a soil bacterium. FEMS Microbiology Lettdrs. 165:65-70.

Pradhan SN, Ghosh S, Bhowmik S. 2016. Antifungal potential of 1,4-naphthoquinone deri vatives against phytopathogenic fungi. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 64(45): 8560-8568.

Prins TW, Tudzynski P, Tiedemann AV, Tudzynski B, Have AT. 2000. Infection strategies of *Botrytis cinerea* and related

necrotrophic pathogen. Fungal Pathology. pp 33-64.
Rathore JS. 1972. *Diospyros melanoxylon*, a bread-winner tree of India. Springer Nature Link. 26:333-339.
Romanazzi G, Feliziani E. 2014. *Botrytis cinerea* (gray mold). Postharvest decay: Control strategies. pp.131-146.
Rosslenbroich H-J, Stuebler D. 2000. *Botrytis cinerea*—history of chemical control and novel fungicides for its management. Crop Prot. 19:557-561.
Ryu CK, Kim YH, IM HA, Kim JY, Yoon JH, Kim A, et al., 2012. Synthesis and antifungal activity of 6,7-bis(arylthio)-quinazoline-5,8-diones and furo[2,3-f]quinazolin-5-ols. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 22(1):500-503.
Sankaram AVB, Reddy VVN, Sidhu GS. 1981. A pentacyclic quinone diosindigo B from the heartw ood of *Diospyros melanoxylon*. Phytochemistry. 20(5):1093-1096.
Sankaram AVB, Srinivasan TN, Indulkar AS. 1975. Fungicidal activity of some naturally occurring naphthaquinones. Pestic. Sci. 6;165-168.
Saraf PN, Srivastava j, Munoz F, Charles B, Samal P, Quamar MF, et al., 2024. Ecological niche modelling to project past, current and future distributional shift of black ebony tree *Diospyros melanoxylon* Roxb. in India. Nordic Society Olkos. DOI.org/10.1111/njb.04266.
Sidhu GS, Sankaram AVB, Ali, SM. 1973. A new binaphthaquinone from the heartwood of *Diospyros melanoxylon* Roxb. Indian Journal of Chemistry. 11(5):507-508.
Tezuka M, Takahashi C, Kuronagi M, Satake M, Yoshihira K, et al., 1973. New naphthoquinones from *Diospyros*. Phytochmiatry. 12(1):175-183.
Williamson B, Tudzynski B, Tudzynski P, Van Kan JL. 2007. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. Molecular. Plant Pathology. 8(5):561-580.
Yigal E, Shtienberg D. 1995. *Botrytis cinerea* in greenhouse vegetables: chemical, cultural, physiological and biological controls and their integration. Integr. Pest Manag. Rev. 1:15-29.

감나무속 식물 *Diospyros melanoxylon*으로부터 잿빛곰팡이균 (*Botrytis cinerea*)에 대한 항진균 활성물질 분리 및 구조 규명

전경미[1,2] · **황병수**[3] · **이동운**[4] · **최용화**[1]*

[1]경북대학교 생태환경시스템학과, [2]JNC Chemical, [3]국립낙동강생물자원관, [4]경북대학교 생태과학과

요 약 잿빛곰팡이 원인균인 *Botrytis cinerea*에 대한 친환경 농자재 개발을 목적으로, *Diospyros melanoxylon* 목질부로부터 항진균 활성물질을 탐색하였다. *D. melanoxylon* 목질부의 메탄올 추출물을 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 그리고 물층으로 순차적 용매분획 하였다. 각각의 용매분획을 대상으로 항진균 활성시험 결과, 가장 강한 활성을 나타낸 헥산분획을 silica gel column chromatography를 이용하여 항진균 활성물질을 분리·정제하였다. 최종적으로 순수 분리한 활성분획인 HSC-8을 GC-MS 및 NMR로 분석한 결과, 항진균 활성물질은 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone 화합물로 구조해석하였다. 5-Methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone 화합물의 *B. cinerea*에 대한 항진균 활성을 검토한 결과, EC_{50} 값이 49.12 ppm로 확인되었다. 따라서 *D. melanoxylon* 목질부로부터 항진균 활성물질로 구명한 5-methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone 화합물이 잿빛곰팡이 원인균인 *B. cinerea*에 대한 항진균 활성이 확인되어 친환경농업자재로 개발 가능할 것으로 판단된다.

핵심어: 항진균 활성물질, *Botrytis cinerea, Diospyros melanoxylon,* 5-Methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone