

황련 추출물의 고추역병에 대한 *In-vitro* 항진균 활성 및 고추 생육촉진 효과

안선미¹ · 이동신¹ · 김미선¹ · 최수지¹ · 최충식² · 이종복² · 장한수³ · 손호용^{1,*}
¹안동대학교 식품영양학과, ²한스바이오, ³경북바이오산업연구원

Bioactivity of the Extract of *Coptis chinensis*: *In-vitro* Antifungal Activity against *Phytophthora capsici* and Growth-promotion Effect in Red-pepper. Ahn, Seon-Mi¹, Dong-Sin Lee¹, Mi-Sun Kim¹, Su-Ji Choi¹, Chung-Sik Choi², Jung-Bok Lee², Han-Su Jang³, and Ho-Yong Sohn^{1,*}. ¹Dept. of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea, ²HansBio, Gyeongbuk Institute for Bioindustry, Andong, 760-380, Korea, ³Gyeongbuk Institute for Bioindustry, Andong, 760-380, Korea – To investigate anti-phytopathogenic fungal activity of *Coptis chinensis*, the methanol extract and its organic solvent fractions were prepared. Using the extract and the fractions, *in-vitro* spore-germination inhibition and mycelial-growth inhibition activities were evaluated against *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phytophthora capsici*, *Pycnularia grisea*, *Rhizoctonia solani*, *Botryosphaeri dothidea*, *Glomerella cingulata*, respectively. Treatment of the methanol extract (500 mg/mL) into the spore of phytopathogenic fungi completely inhibited germinations for 5 days, except *B. dothidea*, and showed strong antifungal activities against *P. grisea* and *B. cinerea*, and antioomycetes activity against *P. capsici*. The minimal growth inhibition concentrations of the methanol extract against *P. grisea*, *B. cinerea* and *P. capsici* were 300, 300, and 500 mg/mL, respectively. For practical application of *C. chinensis* in red-pepper field, the hot-water extract (1,000 mg/mL) was prepared in commercial facility, after evaluation of heat stability and solvent-extraction yields of antifungal substances. The 3-times leaf-spray of the extract from June to August, 2008 did not show any deleterious effect to red-pepper. In fact, the leaf-spray promoted plant growth including leaf, root and fruit. The average weight and rind of each fruit were increased to 119% and 117% comparison to those of without treatments. Our results suggest that *C. chinensis* is a useful source for control of red-pepper diseases and plant growth.

Key words: Antifungal, *Coptis chinensis*, growth-promotion, mycelial-growth inhibition, *Phytophthora capsici*, red-pepper

서 론

정밀화학 산업의 발달은 다양한 농업용 항균 화학제 개발로 이어지고, 이들 화학제들이 현대농업에 광범위하게 이용됨으로써 농업의 대량생산이 가능해지고, 수송 및 저장단계에의 부패손실을 최소화 할 수 있게 되었다. 그러나, 화학농약을 지속적으로 사용하는 것은 토양 잔류 및 수계오염을 일으키며 생태계에 부정적인 결과를 초래한다[12]. 또한 화학농약 남용에 따른 식물병원성 곰팡이들의 항균제 내성 획득은 화학농약의 효율성을 떨어뜨리거나 병원성 및 부패성 미생물 제어능을 원천적으로 상실하게 만든다. 최근에는 화학농약 사용에 따른 거부감이 소비자층 사이에서 확대됨으로써 더욱더 새로운 친환경적 항균제 개발이 시급히 요구되고 있다.

한방에서 사용되는 약재 중 일부는 우수한 항균활성을 나

타내며, 그 중에서도 작약, 지모, 금은화, 연교 및 황련 등은 대표적인 항균활성 약재로 알려져 있다[3, 10, 24]. 특히, 황련은 버도열병 곰팡이(*Rhizoctonia solani*) 및 잿빛곰팡이(*Botrytis cinerea*)에 대한 항균 활성이 우수하며 실험실 환경뿐만 아니라 포장실험을 통한 야외실험에서도 항균력이 입증[11]되어 있어 새로운 친환경 항균제 개발이 기대되고 있다. 황련(*Coptis chinensis*)은 중국이 원산지이며, 미나리아재비과(*Ranunculaceae*)의 여러해살이 초본 식물로서 한국, 일본 및 중국 등지에서 재배되고 있으며, 민간에서는 설사나 위열로 인한 구토 치료에 이용되어 왔으며 해열 및 해독작용이 있는 것으로 알려져 있다[2]. 주요 성분으로는 berberine, palmatine, coptisine, magnoflorine, epi-berberine, berberrubine, worenine 및 ferulic acid가 보고되어 있다[4, 16]. 황련은 다양한 생리활성을 가지는 것으로 잘 알려져 있으며[1], 실제로 항세균 활성[2, 23, 25], 항candidosis[10] 및 식물병원균에 대한 항진균 활성[4], 항산화 활성[1, 9], melanin 생성 억제활성[9], aldose reductase 저해활성[6], 항당뇨 활성[22], LPS유도성 염증 매개물질 생성억제효과[7, 17] 및 암세포 생육억제 활성[5, 8, 14, 15] 등

*Corresponding author

Tel: 82-054-820-5491, Fax: 82-054-823-1625

E-mail: hysohn@andong.ac.kr

이 보고되어 있다. 최근, 이러한 활성은 주로 protoberberines인 berberine 및 palmatine에 의해 나타나는 것으로 밝혀지고 있다.

본 연구에서는 친환경 항진균제로서의 황련의 실제적 이용을 위해 황련의 메탄올 추출물을 조제하고 이로부터 다양한 유기용매 분획을 조제하여 이들을 대상으로 식물병원성 곰팡이에 대한 항진균 활성을 평가하였으며, 그 결과 황련 메탄올 추출물의 부탄올 분획물 및 물 잔류물에서 고추역병 곰팡이(*Phytophthora capsici*) 생육억제 및 포자발아 억제능이 우수함을 확인하였다. 또한 상업적 시설에서 조제한 황련 열수 추출물을 실제 고추 재배지에 처리한 결과 약해는 나타나지 않았으며, 보다 우수한 고추생육이 이루어져 실제적 이용 가능성을 확인할 수 있었다. 본 연구에서는 황련 추출물이 기존에 알려진 식물병원성 곰팡이뿐만 아니라 고추 역병균과 같은 난균류의 제어에도 이용할 수 있음을 처음으로 제시하였다.

재료 및 방법

황련 추출물 및 분획물 조제

실험에 사용한 황련은 2008년 9월 경북 안동에서 판매되는 황련(중국산)으로 구입 직후 이물질을 제거하고 60°C에서 항량 건조시켜 사용하였다. 이 경우 황련의 수분 함량은 9.73%였으며, 황련 시료는 안동대학교 식품영양학과에 보관되어 있다(시료번호 A0405). 황련의 메탄올 추출물 조제를 위해 건조 황련 5 kg에 10 L의 메탄올을 가하여 상온에서 24 시간씩 4회 추출하였으며, 이후 추출액을 filter paper(Whatman No. 2)로 거른 후 60°C에서 감압 건조하여 조제하였다. 이때 최종 추출 효율은 20.2%(w/w)를 나타내어 매우 우수한 추출효율을 나타내었다. 조제된 메탄올 추출물은 물에 현탁 후, 헥산, 에틸아세테이트 및 부탄올을 이용하여 순차적으로 분획하였으며, 분획물과 물 잔류물은 동일한 방법으로 감압건조하여 분말화 하였다. 각각의 시료 분말은 DMSO에 녹인 후 적당한 농도로 희석하여 항균 활성 평가에 사용하였다. 한편 야외 재배지 실험을 위한 황련 시료 조제를 위해서는, 황련 10 kg에 100리터의 열수(80°C)를 이용하여 24시간 추출하였으며, 이때 추출효율은 12.93% (w/w)를 나타내었다. 열수 추출액은 상온에서 냉각 후 1,000 µg/mL의 농도로 조정 후 고추 재배지에 엽면살포하였다.

사용 식물병원균 및 배지

실험에 사용한 식물병원균은 *Colletotrichum gloeosporioides* (고추탄저병), *Phytophthora capsici* (고추역병), *Pyricularia grisea* (벼도열병), *Rhizoctonia solani* (잎집무늬마름병), *Botryosphaeria dothidea* (겉무늬썩음병), *Glomerella cingulata* (사과과실탄저병) 및 *Botrytis cinerea* (잿빛곰팡이병)의 7종이었다. 식물병원성 곰팡이의 배양, 보존 및 항진균 활성 평가용 배

지로는 PDB (potato dextrose broth, Difco Co. USA) 및 PDA (potato dextrose agar, Difco Co. USA)를 사용하였다.

항진균 활성 측정

항진균 활성평가는 균사체 생육억제 활성과 포자발아억제 활성을 측정하여 평가하였다[18-20]. 먼저 균사체 성장억제 활성 평가의 경우에는 PDB 액체 배지에 각각의 곰팡이를 접종하여 28°C에서 3일간 진탕 배양한 후, 각 균사체를 원심집균하여 회수하고 멸균수로 3회 수세한 후 이를 초음파 파쇄기로 균질화 하여 접종액으로 사용하였으며, PDB 배지 3 mL에 다양한 농도의 황련 시료를 첨가하여 28°C에서 5일간 배양한 후 생육정도를 육안 판정하였다. 한편 포자 발아억제 활성 평가의 경우, 각각의 식물병원성 곰팡이를 PDA 배지에 3주간 배양하여 포자를 형성하게 하고 이를 회수하여 증류수에 현탁 후 초음파 분쇄기로 균일화 한 후 멸균거제로 여과하였다. 여과액은 4,000 rpm에서 10분간 원심분리(HA-1000-3, Hanil Science, Korea)하여 포자를 회수하였으며, 현미경 검경을 통해 균사체가 없음을 확인하였다. 이후 PDB를 이용하여 각각 10⁴ spores/mL 농도로 조정된 후, 96-well plate에 접종하여 28°C 배양기에서 5일간 배양하면서 포자발아 및 성장 정도를 육안 판정하였다. 대조구로는 시판농약 성분인 difenoconazole, thiopantate-methyl, mancozeb(K-company, Korea), amphotericin B 및 miconazole(Sigma Co., USA)을 dimethylsulfoxide에 녹여 사용하였다.

황련 추출물의 열 안전성 평가 및 대량 추출용매 선정

황련 추출물의 항균 활성물질의 열 안전성을 평가하기 위해 50 mg/mL 농도의 메탄올 추출물을 80°C에서 1, 2, 4, 8, 및 24시간 동안 열 처리 후 상온에서 냉각하였다. 이후 *P. capsici* 배양액에 각각의 열처리 시료를 500 µg/mL 농도로 처리하여, 잔존 균사체 성장억제 활성을 평가하였다. 대량 추출의 경우에는 메탄올 추출물의 부탄올 분획 및 물 잔류물에서 우수한 항진균 활성이 나타나는 결과에 미루어 메탄올, 부탄올 및 물을 추출용매로 사용하였으며, 30, 60 및 80°C에서 24시간 1회 추출하여 추출효율을 비교하였다.

황련 열수 추출물의 고추 재배지 적용

황련 추출물의 실제적 이용가능성을 검토하기 위해, 조제된 열수 추출물을 안동지역 고추 재배지에 2008년 6월, 7월 및 8월에 한달 간격으로 3차례에 걸쳐 일반적인 분무방법으로 엽면살포를 실시하였고, 이후 고추의 약해 및 병해를 관찰하였다. 황련 처리에 의한 고추의 작물 생육촉진 활성은 고추 수확, 뿌리, 잎, 전체 고추작물의 크기를, 인근의 비처리 고추 재배지의 그것과 비교하여 평가하였다.

통계 처리

황련 처리 및 무처리 고추 재배지에서 각각 수확한 고추

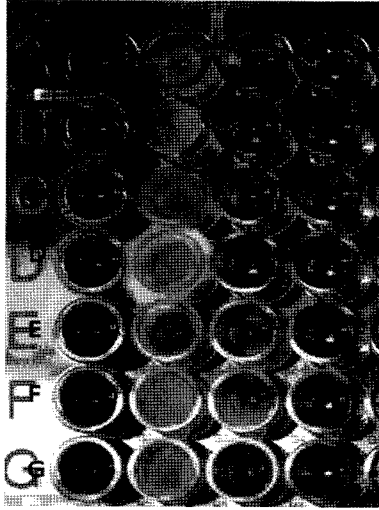


Fig. 1. Spore-germination inhibition activity of the methanol extract of *C. chinensis* against different plant pathogens. Lane 1, treatment of methanol extract (500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) into spore inoculated PDB; Lane 2, spore inoculated PDB; Lane 3, treatment of amphotericin B (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) into spore inoculated PDB; Lane 4, PDB only; A, *C. gloeosporioides*; B, *P. capsici*; C, *P. grisea*; D, *R. solani*; E, *B. dothidea*; F, *G. cingulata*; G, *B. cinerea*. The data are a classical result of three independent determinations.

의 크기 및 과육의 중량결과는 SPSS(version 12.0, SPSS Inc, IL, USA)을 이용한 분산분석(ANOVA)을 실시하였고, 각 측정 평균값의 유의성($p < 0.05$)은 Duncan's multiple range test를 사용하여 검정하였다

결과 및 고찰

황련의 메탄올 추출물 조제 및 순차적 유기용매 분획물 조제

황련의 메탄올 추출 효율은 상온에서 24시간, 1회 추출시에는 11.3~13.3%의 추출효율을, 2회 추출시에는 16.6~17.2%, 3회 추출시에는 18.4~19.1%, 4회 추출시에는 19.9~20.2%(w/w)를 나타내어 추출회수가 증가될수록 추출효율이 증가되었으며, 최대 20.2%(w/w)의 매우 높은 수율을 나타내었다. 한편 메탄올 추출물의 분획효율은, hexan 분획, 에틸아세테이트 분획, 부탄올 분획 및 물 잔류물의 양이 각각 6.98%, 3.10%, 55.04%, 및 34.88%(w/w)를 나타내어 약 90%의 성분이 부탄올 분획 및 물 잔류물로 이행됨을 알 수 있었다.

황련 메탄올 추출물의 포자발아 억제활성

황련의 식물병원성 곰팡이의 포자발아억제 활성평가 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 먼저 준비된 각각의 곰팡이 포자를 황련 메탄올 추출물 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도의 PDB 배지에 이식하여 5일간 배양한 결과, *B. dothidea*에서만 미약한 성장이 확인되었으며 나머지 6종의 곰팡이 포자는 발아하지 못하였다. 반면 황련 추출물을 첨가하지 않은 경우 모두 양호한 포자발아가 나타났으며, 대조구로 사용된 amphotericin B(100 $\mu\text{g}/$

mL) 첨가의 경우 *B. dothidea* 및 *G. cingulata*를 제외한 5종의 곰팡이에서 포자발아억제가 나타났다. 따라서 황련의 메탄올 추출물은 검무늬썩음병균을 제외한 식물병원성 곰팡이에 대한 포자 발아억제활성이 우수하며, amphotericin B에 비해 *G. cingulata* 제어 가능성이 높음을 알 수 있었다.

황련 메탄올 추출물 및 유기용매 분획물의 균사체 성장 억제 활성

식물병원성 곰팡이의 균사체 성장억제 활성 평가를 위해 96-well microplate를 이용하여 다양한 농도의 황련 메탄올 추출물을 처리한 결과 300, 500, 및 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도를 결정하였다(결과 미제시). 3 mL test tube에서 각각의 곰팡이 균사체에 황련 메탄올 추출물을 첨가하여 5일간 배양한 결과는 Table 1에 나타내었다. 대조구로 사용된 miconazole은 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 *R. solani*, *P. grisea*, 및 *G. cinulata*에는 생육억제 활성이 나타나지 않았으며, 농약 원재료인 thiopante-methyl 및 mancozeb은 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도 까지 실험 곰팡이들의 생육을 억제하지 못하였으며, difenoconazole의 경우에는 *C. gloeosporioides*에 대해 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 생육을 억제하였다. 황련 메탄올 추출물의 경우 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 *P. grisea*와 *Botrytis cinerea*에서만 활성이 인정되었다. 그러나, 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리시에는 유주자를 형성하는 난균류인 *P. capsici*[13]에서도 균사성장 억제 활성이 나타났으며 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리시에는 *G. cinulata*에서 활성이 인정되었다. 반면 *C. gloeosporioides*, *B. dothidea*, 및 *R. solani*에서는 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리시에도 활성이 나타나지 않았다. 이러한 결과는 2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도의 황련 메탄올 추출물이 *P. grisea*와 *Botrytis cinerea*에 대해 우수한 항진균 활성을 나타내는 반면 *R. solani*에 대해서는 활성을 나타내지 않는다는 기존의 결과[11]와 유사하며, 실제 황련 메탄올 추출물의 *P. grisea*와 *B. cinerea*에 대한 최소 성장억제농도는 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도임을 알 수 있었다. 메탄올 추출물의 분획물의 경우, 항진균 활성 패턴은 거의 동일하게 나타났으며 특히 부탄올 분획 및 물 잔류물에서는 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 hexan 및 에틸아세테이트 분획보다 우수한 *P. capsici*의 성장억제 활성을 나타내었으며, *P. capsici*에 대한 MIC는 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 확인하였다(Fig. 2). 이러한 결과는 황련의 추출물이 난균류인 *P. capsici* 제어에 효율적으로 이용될 수 있음을 나타내며, 또한 황련의 항균 활성이 기존에 알려진 부탄올 분획내의 berberine 이외의 다양한 물질에 의해 나타남을 제시하며 전체 메탄올 추출물의 90%를 차지하는 부탄올 분획 및 물 잔류물이 주요 활성물질을 포함하는 것으로 판단된다. 또한 berberine, palmatine, coptisine 및 epiberberine 등의 protoberberines화합물이 부탄올 분획 및 물 잔류물에 포함되어 있음[16, 21]을 고려할 때, 황련의 항균성 물질은 berberine 뿐만 아니라 다양한 protoberberines에 의한 것으로 추측된다.

Table 1. Antifungal activity of the methanol extract of *Coptis chinensis* and its sequential organic solvent fractions.

Chemical Conc. (µg/mL)	¹ PC	CG	BD	RS	PG	GC	BC
Miconazole							
1	² +	+	+	+	+	+	+
5	-	-	-	+	+	+	-
Methanol ex.							
300	±	+	+	+	-	+	-
500	-	+	+	+	-	±	-
1,000	-	+	+	+	-	-	-
Hexane fr.							
300	+	+	+	+	-	+	-
500	-	+	+	+	-	+	-
1,000	-	+	+	+	-	+	-
Ethylacetate fr.							
300	+	+	+	+	-	+	-
500	-	+	+	+	-	+	-
1,000	-	+	+	+	-	+	-
Butanol fr.							
300	±	+	+	+	-	+	-
500	-	+	+	+	-	+	-
1,000	-	+	+	+	-	±	-
Water fr.							
300	±	+	+	+	-	+	-
500	-	+	+	+	-	+	-
1,000	-	+	+	+	-	-	-

¹PC, *Phytophthora capsici*; CG, *Colletotrichum gloeosporioides*; BD, *Botryosphaeri dothidea*; RS, *Rhizoctonia solani*; PG, *Pyricularia grisea*; GC, *Glomerella cinulata*; BC, *Botrytis cinerea*. ²+ :Growth, - : No growth.

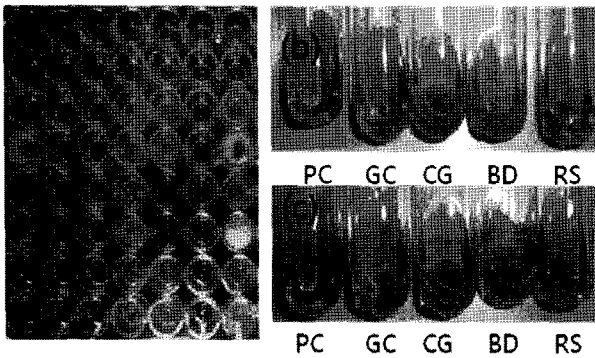


Fig. 2. Photography of mycelial-growth inhibition test of *C. chinensis* in 96-well microplate scale (a), and in test tube scale (b, and c). Mycelial-growth inhibition was determined by visible fungal growth during 5 days cultivation. (a) methanol extract and its organic solvent fractions, (b) butanol fraction (500 µg/mL), and (c) water fraction (500 µg/mL). PC, *P. capsici*; GC, *G. cinulata*; CG, *C. gloeosporioides*; BD, *B. dothidea*; RS, *R. solani*. The data are classical results of three independent determinations.

황련의 대량 추출 용매 및 추출조건 선정

황련 추출물이 고추역병 제어에 효율적임을 실제 재배지에서 확인하고, 대량 적용 가능성을 검토하기 위해 상업적 시설에서 대량 추출을 실시하였다. 먼저 고온 추출의 가능성을 확인하기 위해 황련 메탄올 추출물(50 mg/mL)을 80°C

Table 2. Comparison of extraction yields of *C. chinensis* under different extraction solvents and temperatures for 24 hours.

Extraction solvent	Methanol (°C)			Butanol (°C)			Water (°C)		
	30	60	80	30	60	80	30	60	80
Yield (%)	11.34	12.06	17.43	2.01	3.17	6.53	7.51	10.37	12.93

The used *C. chinensis* and the solvent were 3 kg and 30 liter, respectively.

에서 열처리 후, 잔존 항균 활성을 *P. capsici*을 대상으로 평가하였다. 항진균 활성 실험에 사용한 농도는 500 µg/mL 농도였으며, 80°C에서 24 시간 처리한 경우에도 활성은 안정하게 유지되었다(결과 미제시). 대량 추출용매로 메탄올, 부탄올 및 물을 이용하여 30, 60, 80°C에서 24시간 1회 추출하여 각각의 수율을 비교하였다. 그 결과, 추출온도 증가에 따라 수율이 증가되었으며 메탄올 추출시 가장 높은 수율(11.34~17.43%)을 나타내었으며, 주요 활성분획 용매인 부탄올의 경우 가장 낮은 수율(2.01~6.53%)을 보였으며, 경제성과 안전성이 우수한 물의 경우 약 7.51~12.93%의 수율을 나타내었다(Table 2). 따라서 재배지의 처리를 위한 대량 추출의 경우 추출용매로 경제성, 안전성 및 조업 용이성을 고려하여 물을 최종 선정하였으며, 추출온도는 80°C, 1회 추출을 결정하였다.

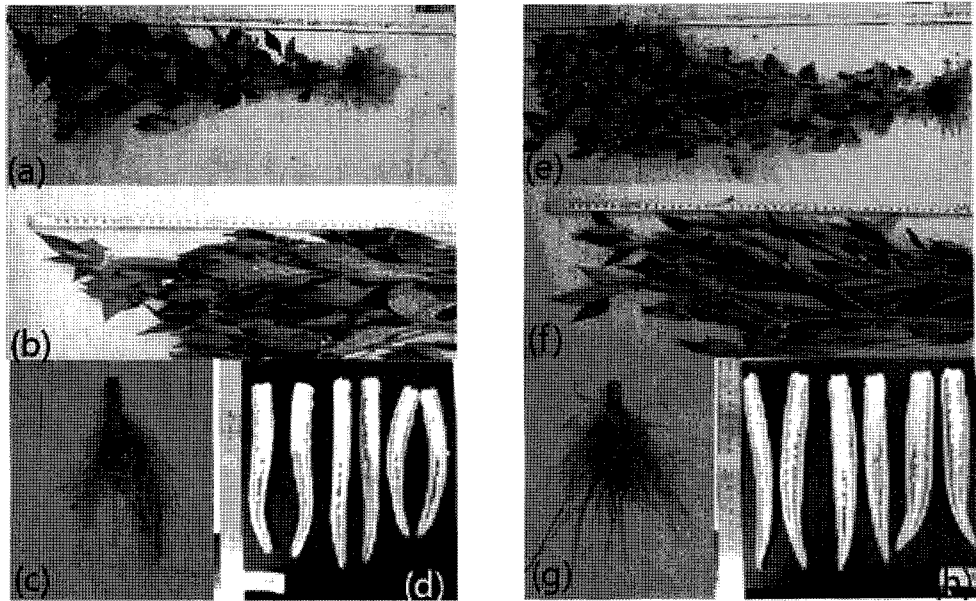


Fig. 3. Comparison of growth of whole red-pepper plant (a, e), leaf (b, f), root (c, g), and fruit (d, h) between treatment of the water extract of *C. chinensis* (right panel) and without treatment (left panel). The data are classical results from the red-pepper field (1,000 m²).

황련 열수 추출물의 고추 재배지 적용

상업적 시설에서 대량으로 조제된 황련 열수 추출물 (1,000 µg/mL)을 고추 재배지에 6월부터 한달 간격으로 3차례에 걸쳐 엽면살포를 실시한 결과 고추역병 및 고추탄저병은 나타나지 않았으며 특이한 약해도 나타나지 않았다. 인위적인 발병은 인근 고추밭의 문제로 실시하지 못하였다. 실제 황련 처리에 의한 고추의 작물 생육촉진 활성을 비교한 결과, 황련 비처리 재배지에 비해 전체 고추작물의 성장이 우수하였으며(Fig. 3a, 3e), 잎(Fig. 3b, 3f) 및 뿌리(Fig. 3c, 3g)의 성장 촉진도 확인되었다. 특히, 황련 처리 재배지의 고추는 과육이 평균 2.12±0.12 mm로 비처리 재배지의 1.81±0.09 mm보다 두꺼웠으며, 개당 중량도 처리구에서 20.154±1.20 g으로 비처리구의 16.91±0.84 g 보다 우수하였다(Fig. 4). 현재 고추역병 방제를 위해 가장 일반적으로 사용되는 화학농약(H 제품)의 경우, 1,000 m² 재배면적당 1회 엽면살포 비용이 31,000원(공장도 가격)이 소요되는 것으로 추정되며 재배기간 중 장마 직후 위주로 2-3회 살포하는 것(국내 고시기준: 수확 5일전까지 4회 이내로 처리)으로 알려져 있다. 반면 본 연구의 황련 추출물의 경우 1회 살포 소요비용은 약 44,000원/1,000 m²(황련 20,000원/kg, 추출효율 13~15%, 부가비용 10% 가정) 정도로 화학농약 살포에 비해 다소 경제적 부담이 있을 것으로 추정된다. 그러나 이는 친환경 먹거리에 대한 소비자들의 선호도, 식품원재료의 안전성 제고, 작업자의 건강 위해성 감소 등의 부가적인 장점과, 살포시기 및 살포 횟수 조정 등의 연구를 통한 추가적인 경제성 확보가 가능하리라 예상된다. 향후, 재배지에서 인위적 고추관련 식물병 유발후 황련 추출물의 방제효과 검증이 필

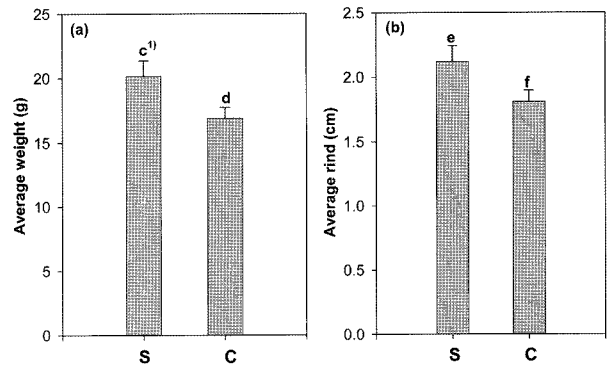


Fig. 4. Comparison of (a) average weight and (b) average rind of harvested red-pepper fruits between (S) treatment of the water extract of *C. chinensis* and (C) without treatment.

Error bars indicate the standard error of each mean value (n=5). ¹⁾Means with the different superscripts are significantly different (p<0.05).

요하며, berberine, coptsine, palmatine 및 epiberberine 등의 protoberberines을 주 대상으로 항진균 활성물질의 정제가 진행 중에 있다.

요 약

황련의 식물병원성 곰팡이에 대한 항진균활성을 평가하기 위해 황련 메탄을 추출물 및 유기용매 분획물들을 조제하여 *Colletotrichum gloeosporioides*(고추탄저병), *Phytophthora capsici*(고추역병), *Pyricularia grisea*(벼도열병), *Rhizoctonia solani*(잎집무늬마름병), *Botryosphaeri dothidea*(겉무늬썩음

병), *Glomerella cingulata*(사과과실탄저병) 및 *Botrytis cinerea*(갯빛곰팡이병)의 7종에 대해 0~1,000 µg/mL 농도로 처리한 후, 포자발아억제 활성 및 균사체 생육억제 활성을 평가하였다. 그 결과 황련 메탄올 추출물은 500 µg/mL 농도에서 *B. dothidea* 를 제외한 6종의 곰팡이의 포자발아를 억제하였으며, *P. grisea* 및 *B. cinerea* 에 대해 300 µg/mL의 MIC를, *P. capsici*에 대해서는 500 µg/mL의 MIC를 나타내었고, 다른 4종에 곰팡이에 대해서는 균사체 성장억제 활성이 나타나지 않았다. 고추 재배지의 실제적 적용을 위해 대량 추출조건을 선정 한 후, 상업적 시설에서 열수 추출물(1,000 µg/mL)을 조제하고, 이를 6월부터 한달 간격으로 3회에 걸쳐 엽면살포한 결과 병해와 약해가 전혀 나타나지 않았다. 황련 살포에 의해 고추의 전반적인 생육, 잎, 뿌리 발육이 촉진되었으며, 고추는 평균 중량이 119%, 과육의 두께가 평균 117% 증가되어 생육촉진 및 수확량 증가효과를 확인하였다. 본 연구결과는 황련 추출물이 고추 관련 질병 방제에 유용하며, 고추생육 촉진효과를 가짐을 시사하고 있다.

REFERENCES

- An B. J. J. T. Lee, C. E. Lee, J. H. Kim, J. H. Son, J. H. Kwak, J. Y. Lee, T. S. Park, H. J. Bae, M. J. Jang, and C. H. Jo. 2005. A study of physiological activities of *Coptis rhizoma* and application for cosmetic ingredients. *Kor. J. Herbology* **20**: 83-92.
- Bae, J. H. 2005. Antimicrobial effect of *Plagiorhegama dubium* extract on food borne pathogen. *Kor. J. Food Nutr.* **18**: 81-87.
- Choi, G. J., J. C. Kim, K. S. Jang, H. K. Lim, I. K. Park, S. C. Shin, and K. Y. Cho. 2006. In vivo antifungal activities of 67 plant fruit extracts against six plant pathogenic fungi. *J. Microbiol. Biotechnol.* **16**: 491-495.
- Chung, I. M., and S. B. Paik. 1997. Separation and activity test of antifungal substance from *C. japonica* extract. *Anal. Sci. Technol.* **10**: 153-159.
- Hwang T. M., H. C. Kuo, T. H. Tseng, J. Y. Liu, and C. Y. Chu. Berberine induces apoptosis through a mitochondria caspases pathway in human hepatoma cells. 2006. *Arch. Toxicol.* **80**: 62-73.
- Jung, H. A., N. Y. Yoon, H. J. Bae, B. S. Min, and J. S. Choi. 2008. Inhibitory activities of the alkaloids from *Coptidis Rhizoma* against aldose reductase. *Arch. Pharm. Res.* **31**: 1405-1412.
- Jung, H. W., and Y. K. Park. 2007. Effects of subfractions of *Coptidis rhizoma* extract on the nitric oxide production in LPS-stimulated BV2 microglial cells. *Kor. J. Herbology* **22**: 73-78.
- Keumann V., Kosfalova D., Jantova S., Cemakova M., Drimal J. 2004. In vitro cytotoxicity of berberine against HeLa and L1210 cancer cell lines. *Pharmazie* **59**: 548-551.
- Kim, I. C. 2008. Antioxidative property and whitening effect of the *Puerariaradix*, *Poriacocos* and *Coptidis rhizoma*. *J. Kor. Oil Chem. Soc.* **25**: 219-225.
- Kim, J. Y., Y. S. Yi, and Y. H. Lim. 2009. Biological and antifungal activity of herbal plant extracts against *Candida* species. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **37**: 42-48.
- Lee, C. H., H. J. Lee, J. H. Jeon, and H. S. Lee. 2005. In vivo antifungal effect of *Coptis japonica* root-derived isoquinoline alkaloids against phytopathogenic fungi. *J. Microbiol. Biotechnol.* **15**: 1402-1407.
- Lee, J. B., J. H. Shin, J. O. Jang, K. S. Shin, C. S. Choi, K. W. Kim, M. S. Jo, C. P. Jeon, Y. H. Kim, and G. S. Kwon. 2008. Antifungal activity of Bacillus sp. AM-651 against *Phytophthora capsici* Kor. *J. Microbiol. Biotechnol.* **36**: 227-232.
- Lee, J. Y., D. H. Sherman, and B. K. Hwang. 2008. In vitro antimicrobial and in vivo antioomycete activities of the novel antibiotic thiobutacin. *Pest Manag. Sci.* **64**: 172-177.
- Liu, Z., Q. Liu, B. Xu, J. Wu, C. Guo, F. Zhu, Q. Yang, G. Gao, Y. Gong, and C. Shao. 2009. Berberine induces p53-dependent cell cycle arrest and apoptosis of human osteosarcoma cells by inflicting DNA damage. *Mutat. Res.* **662**: 75-83.
- Ma, C.Y., S. C. Shen, D. W. Huang, H. M. Chang, and J. S. Wu. 2008. Growth inhibition and induction of apoptosis in U937 cells by *Coptis chinensis* extract. *J. Food Sci.* **73**: H127-133.
- Min B. S. and J. S. Cho. 2008. Quantitative determination of protoberberines from the roots of *Coptis chinensis*. *Nat. Prod. Sci.* **14**: 1-5.
- Park, Y. K., H. W. Jung, C. M. Kim, J. S. Choi, and Y. S. Kim. 2007. Effect of berberine on the production of inflammatory mediators from LPS-stimulated BN2 microglial cells. *Kor. J. Herbology* **22**: 117-125.
- Ryu, H. Y., E. J. Kum, K. H. Bae, Y. K. Kim, I. S. Kwon, and H. Y. Sohn. 2007. Evaluation for the antimicrobial, antioxidant and antithrombosis activity of Korean traditional liquors. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **35**: 310-315.
- Sohn, H. Y. H. Y. Ryu, Y. Jang, H. S. Jang, Y. M. Park, and S. Y. Kim. 2008. Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of aerial part of *Saxifraga stolonifera*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **36**: 195-200.
- Sohn, H. Y., K. H. Son, C. S. Kwon, G. S. Kwon, and S. S. Kang. 2004. Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* Nakai. *Phytomedicine* **11**: 666-672.
- Tanabe, H., H. Suzuki, A. Nagatsu, H. Mizukami, Y. Ogihara, and M. Inoue. 2006. Selective inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation by coptisine isolated from *Coptis rhizome*, one of the crude drugs composing Kampo medicines Unsei-in. *Phytomedicine* **13**: 334-342.
- Tang, L. Q., W. Wei, L. M. Chen, and S. Liu. 2006. Effects of berberine on diabetes induced by allxan and a high-fat/

- high-cholesterol diet in rats. *J. Ethnopharmacol.* **108**: 109-115.
23. Yan, D., C. Jin, X. Xiao, and X. Dong. 2008. Antimicrobial properties of berberine alkaloids in *Coptis chinensis* Franch by microcalorimetry. *J. Biochem. Biophys. Methods* **70**: 845-849.
24. Yoo, J. K. , K. H. Ryu, J. H. Kwon, S. S. Lee, and Y. J. Ahn. 1998. Fungicidal activity of oriental medicinal plant extracts against plant pathogenic fungi. *Agric. Chem. Biotechnol.* **41**: 600-604.
25. Yu, H. H., K. J. Kim, J. D. Cha, H. K. Kim, Y. E. Lee, N. Y. Choi, and Y. O. You. 2005. Antimicrobial activity of berberine alone and in combination with ampicillin or oxacillin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Food* **8**: 454-461.

(Received Aug. 5, 2009/Accepted Aug. 25, 2009)