

## Isopropylphenyl 유도체들의 합성과 식물병원균에 대한 항균활성

최원식\* · 장도연 · 최경길 · 이병호<sup>1</sup> · 김태준<sup>1</sup> · 정봉진<sup>1</sup>순천대학교 자연과학대학 생명공학과, <sup>1</sup>(주)동부한농 농생명연구소

## Synthesis and Phytopathogenic Activities of Isopropylphenyl Derivatives

Won-Sik Choi\*, Do-Yeon Jang, Kyoung-Gil Choi, Byung-Ho Lee<sup>1</sup>, Tae-Jun Kim<sup>1</sup> and Bong-Jin Jung<sup>1</sup>

Department of Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan, ChoongNam 336-745, Korea

<sup>1</sup>Dongbu Hannong Chemical, Moonjindong, Daeduck Science Town, Daejeon 305-708, Korea

Received June 8, 2007; Accepted September 5, 2007

42 compounds such as ester, sulfonyl ester, phosphoyl ester and ether derivatives of 4-isopropylphenol (I) and 2-isopropylphenol (II) were synthesized. These derivatives were identified by IR, GC/MS and <sup>1</sup>H-NMR spectra. Their *in vitro* antifungal activities were tested against 10 plant pathogenic fungi. Among them, several compounds showed potent *in vitro* antifungal activity. The selected compounds showing potent *in vitro* antifungal activity were tested for their *in vivo* antifungal activities against 5 plant diseases such as rice blast, rice sheath blast, cucumber anthracnose, cucumber gray mold and tomato late blight. As a result, 2-isopropylphenyl piperonyloate (II-7a) showed a potent *in vivo* antifungal activity against cucumber anthracnose and tomato late blight, 4-isopropylphenyl 4-methoxybenzenesulfonate (I-6b) effectively inhibited the development of rice blast.

**Key words:** Antifungal activity, 2-Isopropylphenol, 4-Isopropylphenol, Phytopathogen

## 서 론

1960년대 이 후 인구 증가로 인한 기아와 질병을 해결하기 위하여 농약사용을 적극 권장한 결과 식량증산과 보건향상에 크게 기여하였다. 그러나 이러한 결과로 천적, 유용균, 곤충의 멸종, 야생동물 및 어류에 대한 악영향, 사람과 동물에 대한 독성, 토양이나 식품중의 잔류와 그 외의 각종 환경오염 문제 등이 점차 부작용으로 나타나기 시작하였다.<sup>1-4)</sup> 이러한 문제점들을 해결하기 위해 대체 농약(alternative pesticides)의 필요성이 절실히 요구되었으며, 선진국에서는 수년 전부터 이러한 분야에 관심을 가져 천연물 또는 미생물로부터 인간과 가축에 무해하며 각종 환경오염이 낮은 농약을 개발하고자 하는 시도가 활발히 진행 중이다.<sup>5-8)</sup>

천연물 중에서 식물오일 성분은 휘발성이 강한 mono 또는 sesquiterpenoid가 다량 함유되어 있으며 이러한 식물오일들의 항진균 작용에 대하여 밝혀지고 있다. Ajowan, dill, egyptian geranium, lemongrass, rosemary와 tea tree 등의 식물오일은 *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*와 *Penicillium chrysogenum*

등의 곰팡이에 성장을 억제하며, sage, nutmeg, eucalyptus와 cassia 오일 또한 항균성이 높은 식물오일로 알려져 있다.<sup>9-11)</sup> 아플라톡신을 생성하는 진균성 병원균에 대하여 mentha, pine, cinnamon과 tea tree 오일들은 훈증에 의한 예방효과 및 방제효과가 높아 현재 곡물을 저장하는데 필요한 천연물 농약으로 사용가능성이 제기되고 있다.<sup>12,13)</sup> 최근에는 cassia와 thyme 오일이 *Alternaria alternata*에 효과가 있으며, thyme 오일의 주성분인 thymol이 *Monilinia fructicola*에 효과가 있다는 사실이 밝혀졌다.<sup>14,15)</sup> 따라서 본 연구실에서는 식물오일을 이용하여 식물병원균에 대한 항균제 효과를 알아보기 위해 여러 식물 오일들을 대상으로 식물병원균에 대하여 항균활성을 조사하였다. 그 중 thyme 오일이 식물병원균에 대해서 우수한 항균활성이 있음을 알았으며, thyme 오일의 주성분들인 thymol과 carvacrol이 항균력을 나타내는 주요 물질임을 알 수 있었다. Thymol과 carvacrol의 유사구조인 4-isopropyl-3-methylphenol, 5-isopropyl-3-methylphenol에 대한 항균활성을 확인한 결과 유사한 항균력을 나타내었다.<sup>16)</sup> 현재까지 연구되지 않은 alkylphenol OH기의 H 대신 ester, sulfonyl ester 등으로 변화시킨 유도체들을 합성하여 항균활성을 조사한 결과, 2-isopropyl-5-methylphenyl acetate는 *Botrytis cinerea*와 *Pyricularia oryzae*에 항균활성을 나타내었으며, methyl(2-isopropyl-5-methylphenoxy) acetate는 *Rhizoctonia solani*에서, ethyl 4-(2-methyl-5-isopropylphenoxy) crotonate는

\*Corresponding author  
Phone and Fax: 82-41-530-1351  
E-mail: wschoi@sch.ac.kr

*Phytophthora infestans*에서, 4-isopropyl-3-methylphenyl(2-aminothiazole-4-yl) methoxyiminoacetate가 *P. oryzae*에 methyl(4-isopropyl-3-methylphenoxy) acetate와 methyl(5-isopropyl-3-methylphenoxy) acetate는 *B. cinerea*에 높은 방제활성을 나타내었다.<sup>17,18)</sup>

본 연구에서는 앞에서 서술한바와 같이 thymol 및 cavacrol 과 같은 isopropylmethylphenol 화합물들이 항균력을 갖고 있는것에 착안하여 유칼립투스 식물성분으로 알려져 있는 4-isopropylphenol(I) 및 2-isopropylphenol(II)에 대한 화합물들도 항균력이 있음을 확인하였다.<sup>16)</sup> 또한, (I)과 (II) 화합물들의 OH 기의 수소대신 여러 화합물로 치환시켜 ester(I-1a~I-8a, II-1a~II-8a), sulfonyl ester(I-1b~I-6b, II-1b~II-6b), phosphoyl ester(I-1c~I-2c, II-1c~II-2c)와 ether계(I-1d~I-5d, II-1d~II-5d) 유도체 42종을 합성하였으며, 이들 유도체들에 대하여 오이탄저병균 (*Colletotrichum orbiculare*)의 9종의 식물병원균의 항균활성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

**시약.** 본 연구에서 사용된 시약은 Aldrich사의 제품을 사용하였으며, 공시약제인 판마시수화제(thiobendazole 60%)와 포름수화제(dimethomorph 25%)는 동방아그로 제품을 사용하였고, 안타유제(etridiazole 25%), 폴리옥신수화제(polyoxin B 10%), 안트라콜(propineb 70%), 몬세렌(pencycuron 25%), 유파렌(dichlofluanid 50%)과 침수화제(tricyclazole 75%)는 동부한농의 제품을 사용하였다.

**실험기기.** 유도체 합성의 확인을 위해 GC/MS는 GCMS-QP5050(shimadzu사)을 사용하였으며 분석조건은 Table 1에 나타내었다. IR spectrophotometer는 FT/IR-4100(JASCO사), <sup>1</sup>H-NMR은 Bruker 200 NMR spectrometer(Bruker사)를 사용하였다. 항균력 실험을 위한 고온멸균기는 HVE-25(Hirayama사), 무균대 CB-20H(jeio tech사), 배양기는 HB-301S(Hanbaek Scientific사)을 사용하였다.

**시험균주.** 실험에 사용한 *C. orbiculare*등 9종의 식물병원균주들은 한국농용미생물보존센터(Korean Agricultural Culture Collection, KACC)에서 분양받아 사용하였다.

**Ester 유도체; 4-Isopropylphenyl acetate(I-1a)의 합성.** 4-Isopropylphenol(I) 1.0 g(7.34 mmole)을 아세트니트릴 30 ml에

가하여 완전히 용해시켰다. 트리에틸아민을 1.1 ml를 가하여 30 분 동안 교반 후 0°C로 조절하였다. Acetyl bromide 0.65 ml(8.81 mmole)를 3°C 이하에서 서서히 적가하고 1시간 동안 반응시켰다. 증류수 20 ml와 염화메칠렌 30 ml를 가하여 20분 동안 교반한 후 유기층을 분리하였다. 유기층에 증류수 20 ml를 가하고 20분간 교반한 후 2차 분리하였다. 분리된 유기층에 무수황산마그네슘 0.8 g을 20분간 처리하고 여과한 후 여액을 농축하여 농축물을 silica gel 관 크로마토그래피 법(아세트니트릴 : 증류수 = 4 : 1)으로 정제하여 목적물(I-1a) 0.89 g(67.6%)을 얻었다. 또한, 4-isopropylphenol(I)과 2-isopropylphenol(II)을 이용한 ester 화합물(I-2a~I-8a, II-1a~II-8a)들도 I-1a와 유사한 방법으로 합성하였다.

**Sulfonyl ester 유도체; 4-Isopropylphenyl methanesulfonate(I-1b)의 합성.** 4-Isopropylphenol(I) 1.0 g(7.34 mmole)을 아세트니트릴 20 ml에 가하여 완전히 용해시켰다. 트리에틸아민을 1.1 ml를 가하여 30분 동안 교반한 후 methanesulfonyl chloride 0.63 ml(8.81 mmole)를 염화메칠렌 5 ml와 혼합하여 서서히 적가하였고 2시간 동안 반응시켰다. 증류수 20 ml와 염화메칠렌 20 ml를 가하여 10분 동안 교반하고 유기층을 분리 하였다. 유기층에 무수황산마그네슘 0.8 g을 10분간 처리하고 여과한 후 여액을 농축하여 silica gel관 크로마토그래피 법(아세트니트릴 : 증류수 = 4 : 1)으로 정제하여 목적물(I-1b) 1.12 g(72.2%)을 얻었다. 또한, 4-isopropylphenol(I)과 2-isopropylphenol(II)을 이용한 sulfonyl ester 화합물(I-2b~I-6b, II-1b~II-6b)들도 I-1b와 유사한 방법으로 합성하였다.

**Phosphoyl ester 유도체; Diethyl 4-isopropylphenoxyphosphate(I-1c)의 합성.** 4-isopropylphenol(I) 1.0 g(7.34 mmole)을 염화메칠렌 20 ml에 가하여 완전히 용해시켰다. 트리에틸아민을 1.1 ml를 가하여 30분 동안 교반하고 diethyl chlorophosphate 1.27 ml(8.81 mmole)를 염화메칠렌 5 ml와 혼합하여 서서히 적가하고 2시간 동안 반응시켰다. 증류수 20 ml를 가하여 10분 동안 교반하고 유기층을 분리하였다. 유기층에 무수황산마그네슘 0.8 g을 10분간 처리하고 여과한 후 여액을 농축하여 농축물을 silica gel관 크로마토그래피 법(아세트니트릴 : 증류수 = 4 : 1)으로 정제하여 목적물(I-1c) 1.34 g(67.35%)을 얻었다. 또한, 4-isopropylphenol(I)과 2-isopropylphenol(II)을 이용한 phosphoyl ester 화합물(I-2c, II-1c~II-2c)들도 I-1c와 유사한 방법으로 합성하였다.

**Ether 유도체; 4-Isopropylmethoxybenzene(I-1d)의 합성.** 4-isopropylphenol(I) 1.0 g(7.34 mmole)를 염화메칠렌 20 ml에 용해시키고 수산화칼륨 0.5 g을 가하여 10분간 실온에서 교반하였다. Tetrabutylammonium bromide를 0.48 g 가하고 10분간 교반한 후 iodomethane 0.9 g(14.68 mmole)을 가하여 2시간 동안 반응시켰다. 반응 후 염화메칠렌 10 ml와 증류수 20 ml를 넣고 15분간 교반하고 유기층을 취하여 증류수 20 ml를 가하고 유기층을 분리하였다. 유기층에 무수황산마그네슘 1.4 g을 가하여 여과하였다. 여액을 감압농축하고 silica gel 관 크로마토그래피 법(아세트니트릴 : 증류수 = 4 : 1)으로 정제하여 목적물(I-1d) 0.96 g(87.09%)를 얻었다. 또한, 4-isopropylphenol(I)과 2-isopropylphenol(II)을 이용한 ether 화합물(I-2d~I-5d, II-1d~II-

Table 1. Analytical conditions of GC/MS

Column	CBP5-M25-025
Carrier gas	Helium
Flow rate	1.5 ml/min
Injection volume	1.0 $\mu$ l
Injector temp.	250°C
Oven temp.	start at 120°C stand for 5 min increase 10°C/min stand for 5 min
Terminal auxl temp.	260°C
Total running time	25 min
Dectector voltage	1.3 kV
Library	NIST. shimadzu Co.

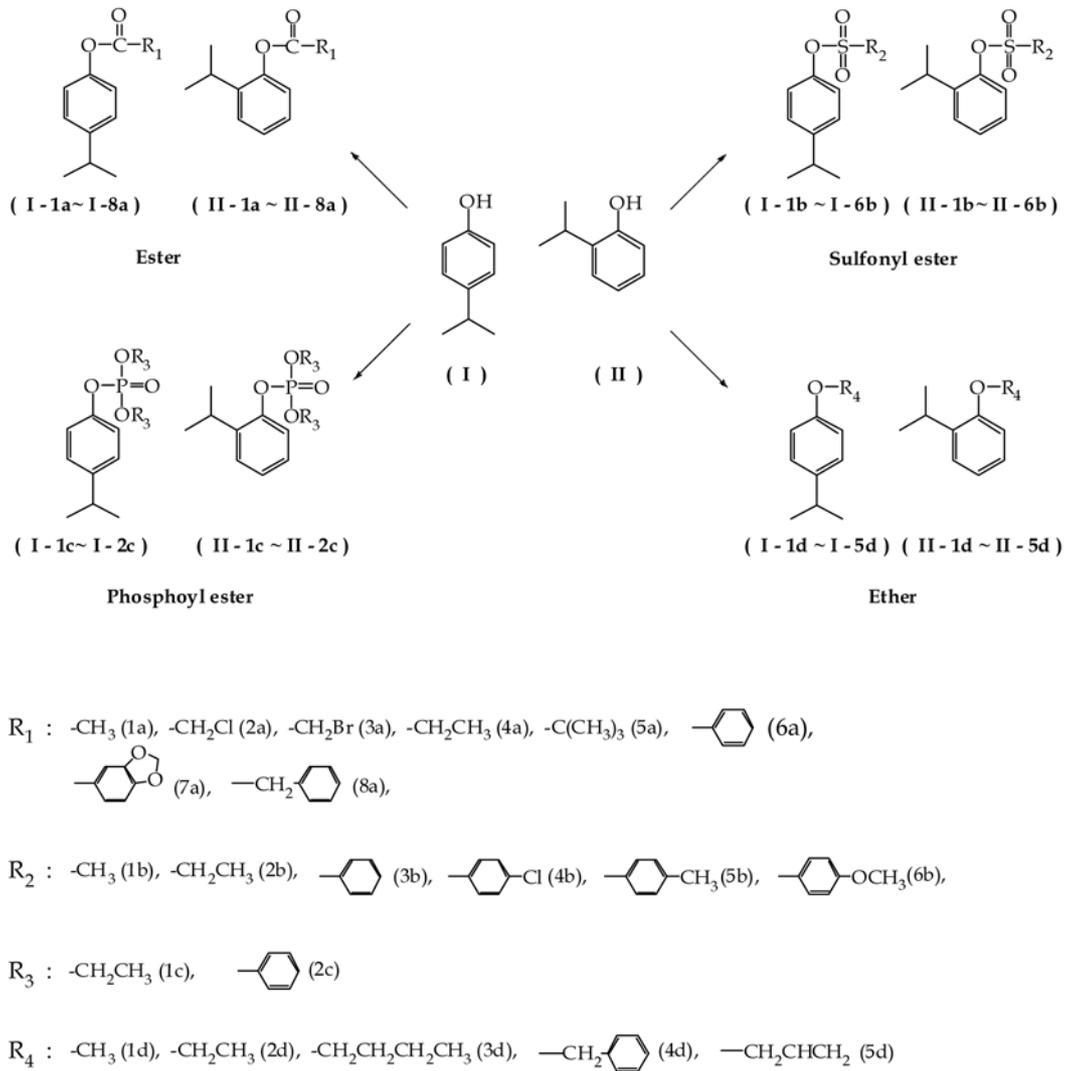


Fig. 1. Synthesis of 4-isopropylphenol(I) and 2-isopropylphenol(II) derivatives.

5d)들도 I-1d과 유사한 방법으로 합성하였다.

**유도체들의 항균활성.** 항균 활성실험은 PDA(potato dextrose agar)를 증류수에 용해하여 고압멸균(121°C, 15분)한 후 배지의 온도를 50°C가 되도록 식히고 DMSO에 녹인 유도체를 배지와 혼합하여 최종농도를 100 µg/ml 되도록 한 후 페트리디쉬에 20 m/씩 분주하여 PDA 혼합배지를 제조하였다. 식물병원균의 접종과 배양은 배지 증양에 균주 성장부위가 배지면과 맞닿도록 지름 5 mm의 agar disc를 접종하였으며 접종된 배지는 암실조건(25°C, 습도 75%)에서 배양 하였다. 항균활성실험은 무처리균의 균사생장지름이 80(±5)mm가 될 때까지 배양한 후 균사생장지름을 측정하였으며 모든 실험은 3회 이상 실시하여 그 평균값을 측정값으로 하였고 균사생장억제율은 다음과 같은 식에 의하여 산출하였다.<sup>19)</sup>

$$\text{균사생장 억제율(\%)} = \left( \frac{\text{무처리균의 균사생장지름} - \text{처리균의 균사생장지름}}{\text{처리균 균사생장지름}} \right) \times 100$$

**In vivo** 활성. 실험에 사용한 오이(품종: 백다다기)와 토마토

(품종: 광명)는 2엽기의 유묘(10-15 cm)를 사용하였으며, 벼(품종: 일품)는 3-4엽기의 유묘(25-30 cm)를 사용하였다. 활성평가 는 오이 탄저병(*Colletotrichum orbiculare*), 오이 잭빛곰팡이병 (*Botrytis cinerea*), 토마토 역병(*Phytophthora infestans*), 벼 도열병(*Pycularia oryzae*)과 벼 잎집무늬마름병(*Rhizoctonia solani*)을 대상으로 수행하였다. 접종원으로 *C. orbiculare*는 PDA배지에 접종 뒤 인큐베이터(20°C, 광조건)에서 7일간 배양한 후 생성된 분생포자를 수확하여 Tween 20이 1000 ppm 함유된  $1 \times 10^5$  spores/ml의 현탁액을 만들어 2엽기 오이 유묘의 본엽에 고르게 살포하였다. *B. cinerea*은 PDA배지에 접종한 뒤 인큐베이터(20°C, 광조건)에서 14일간 배양한 후 생성된 분생포자를 수확하여 PDB(potato dextrose broth)로 Tween 20이 1000 ppm 함유된  $1 \times 10^6$  spores/ml의 포자현탁액을 만들어 2엽기 오이 유묘의 본엽에 고르게 살포하였다. 토마토 역병균은 V8배지(V8-juice 200 ml, CaCO<sub>3</sub> 4.5 g, Agar 20 g, 증류수 800 ml)에 접종한 뒤 인큐베이터(20°C, 광조건)에서 7일간 배양 후 생성된 균사체의 기중균사를 spreader로 제거한 후 인큐베이터 (25°C, 광조건)에서 2일간 배양한 뒤 형성된 유주자낭을 수확하

Table 2. Analytical data of 4-isopropylphenol(I) derivatives

Compound	IR (cm <sup>-1</sup> )	<sup>1</sup> H-NMR (ppm)	GC/MS (m/e)
I-1a	1750 (C=O), 1240 (C-O)	1.29(d, 6H), 2.18(s, 3H), 2.90(m, 1H), 7.23(m, 4H)	178(M <sup>+</sup> ), 136, 121(base)
I-2a	1740 (C=O), 1240 (C-O)	1.23(d, 6H), 2.94(m, 1H), 4.32(s, 2H), 7.11(m, 4H)	212(M <sup>+</sup> ), 197, 177, 121(base)
I-3a	1760 (C=O), 1265 (C-O)	1.32(d, 6H), 3.13(m, 1H), 4.21(s, 2H), 7.08(m, 4H)	256(M <sup>+</sup> ), 177, 121(base)
I-4a	1750 (C=O), 1165 (C-O)	1.08(t, 3H), 1.34(d, 6H), 2.25(s, 2H), 3.12(m, 1H), 7.08(m, 4H)	192(M <sup>+</sup> ), 136, 121(base)
I-5a	1750 (C=O), 1213 (C-O)	1.19(s, 9H), 1.30(d, 6H), 3.12(m, 1H), 7.21(m, 4H)	220(M <sup>+</sup> ), 136, 121(base)
I-6a	1740 (C=O), 1260 (C-O)	1.26(d, 6H), 3.13(m, 1H), 7.14(m, 4H), 7.65(m, 5H)	240(M <sup>+</sup> ), 197, 105(base)
I-7a	1725 (C=O), 1265 (C-O)	1.35(d, 6H), 3.24(m, 1H), 5.90(s, 2H), 7.14(m, 4H), 7.48(m, 3H)	284(M <sup>+</sup> ), 241, 149(base)
I-8a	1745 (C=O), 1230 (C-O)	1.21(d, 6H), 3.54(s, 2H), 3.12(m, 1H), 7.16(m, 4H), 7.22(m, 5H)	254(M <sup>+</sup> ), 136, 118(base)
I-1b	1375 (S=O), 1182 (S-O)	1.29(d, 6H), 2.94(s, 3H), 3.18(m, 1H), 7.14(m, 4H)	214(M <sup>+</sup> ), 199, 121(base)
I-2b	1375 (S=O), 1175 (S-O)	1.24(d, 6H), 1.39(t, 3H), 3.16(m, 1H), 3.45(m, 2H), 7.14(m, 4H)	228(M <sup>+</sup> ), 213, 199, 121(base)
I-3b	1378 (S=O), 1190 (S-O)	1.23(d, 6H), 3.24(m, 1H), 6.81(m, 4H), 7.64(m, 5H)	276(M <sup>+</sup> ), 261, 135, 77(base)
I-4b	1390 (S=O), 1195 (S-O)	1.28(d, 6H), 3.08(m, 1H), 6.84(m, 4H), 7.81(m, 4H)	310(M <sup>+</sup> ), 295, 175, 171(base)
I-5b	1380 (S=O), 1180 (S-O)	1.30(d, 6H), 2.42(s, 3H), 3.14(m, 1H), 6.81(m, 4H), 7.56(m, 4H)	290(M <sup>+</sup> ), 275, 155, 91(base)
I-6b	1377 (S=O), 1198 (S-O)	1.27(d, 6H), 3.12(m, 1H), 3.83(s, 3H), 6.86(m, 4H), 7.44(m, 4H)	306(M <sup>+</sup> ), 291, 171(base)
I-1c	1290 (P=O), 1041 (C-O), 790 (P-O)	1.11(m, 6H), 1.28(d, 6H), 3.10(m, 1H), 3.84(m, 4H), 6.92(m, 4H)	272(M <sup>+</sup> ), 229, 257(base)
I-2c	1305 (P=O), 950 (C-O), 764 (P-O)	1.16(m, 6H), 3.14(m, 1H), 6.85(d, 2H), 7.25(m, 12H)	368(M <sup>+</sup> ), 325, 353(base)
I-1d	1250 (C-O), 1150 (-C=C-O-)	1.28(d, 6H), 3.14(m, 1H), 3.73(s, 3H), 7.12(m, 4H)	150(M <sup>+</sup> ), 120 135(base)
I-2d	1470 (-CH <sub>2</sub> -), 1165 (-C=C-O-)	1.24(d, 6H), 1.33(t, 3H), 3.12(m, 1H), 3.98(m, 2H), 6.81(m, 4H)	164(M <sup>+</sup> ), 135, 149(base)
I-3d	1453 (-CH <sub>2</sub> -), 1152 (-C=C-O-)	0.96(t, 3H), 1.27(d, 6H), 1.33(m, 2H), 1.71(m, 2H), 3.24(m, 1H), 3.94(t, 2H), 6.81(m, 4H)	192(M <sup>+</sup> ), 177, 149, 121(base)
I-4d	1456 (-CH <sub>2</sub> -), 1152 (-C=C-O-)	1.26(d, 6H), 2.35(s, 2H), 3.12(m, 1H), 6.83(m, 4H), 7.08(m, 5H)	226(M <sup>+</sup> ), 211, 183, 91(base)
I-5d	1291 (C=C), 1159 (-C=C-O-)	1.35(d, 6H), 3.10(m, 1H), 4.61(d, 2H), 5.23(d, 2H), 5.64(m, 1H), 6.81(m, 4H)	176(M <sup>+</sup> ), 133, 161(base)

여 Tween 20이 1000 ppm 함유된  $1 \times 10^4$  sporangia/ml의 현탁액을 만들어 본엽 2엽기 토마토 유묘의 경엽에 고루 살포하였다. *P. oryzae*는 RPA(rice polish 20 g, dextrose 10 g, Agar 15 g, 증류수 1 l) 배지에 접종 뒤 인큐베이터(27°C, 광조건)에서 14일간 배양 후 생성된 균사체의 기중균사를 spreader로 제거

한 후 인큐베이터(25°C, 광조건)에서 2일간 배양한 뒤 형성된 분생포자를 수확하여 Tween 20이 1000 ppm 함유된  $1 \times 10^6$  spores/ml의 현탁액을 만들어 3-4엽기의 일품벼 경엽에 고루 살포하였다. *R. solani*는 PDA배지 28°C에서 2일간 배양하고 성장한 균사체 6 mm 절편을 떼어내어 121°C에서 30분씩 2회 멸

Table 3. Analytical data of 2-isopropylphenol(II) derivatives

Compound	IR (cm <sup>-1</sup> )	<sup>1</sup> H-NMR (ppm)	GC/MS (m/e)
II-1a	1750 (C=O), 1240 (C-O)	1.28(d, 6H), 2.08(s, 3H), 3.12(m, 1H), 7.08(m, 4H)	178(M <sup>+</sup> ), 136, 121(base)
II-2a	1740 (C=O), 1240 (C-O)	1.23(d, 6H), 2.97(m, 1H), 4.28(s, 2H), 7.01(m, 4H)	212(M <sup>+</sup> ), 197, 177, 121(base)
II-3a	1760 (C=O), 1263 (C-O)	1.25(d, 6H), 3.12(m, 1H), 4.26(s, 2H), 7.14(m, 4H)	256(M <sup>+</sup> ), 177, 121(base)
II-4a	1750 (C=O), 1165 (C-O)	1.09(t, 3H), 1.28(d, 6H), 2.27(s, 2H), 3.25(m, 1H), 7.08(m, 4H)	192(M <sup>+</sup> ), 136, 121(base)
II-5a	1750 (C=O), 1213 (C-O)	1.19(s, 9H), 1.37(d, 6H), 3.12(m, 1H), 7.20(m, 4H)	220(M <sup>+</sup> ), 136, 121(base)
II-6a	1740 (C=O), 1265 (C-O)	1.33(d, 6H), 3.21(m, 1H), 7.14(m, 4H), 7.65(m, 5H)	240(M <sup>+</sup> ), 197, 105(base)
II-7a	1725 (C=O), 1265 (C-O)	1.30(d, 6H), 3.11(m, 1H), 5.90(s, 2H), 7.12(m, 4H), 7.48(m, 3H)	284(M <sup>+</sup> ), 241, 149(base)
II-8a	1745 (C=O), 1230 (C-O)	1.29(d, 6H), 3.68(s, 2H), 3.14(m, 1H), 7.16(m, 4H), 7.22(m, 5H)	254(M <sup>+</sup> ), 136, 118(base)
II-1b	1375 (S=O), 1182 (S-O)	1.24(d, 6H), 2.94(s, 3H), 3.16(m, 1H), 7.16(m, 4H)	214(M <sup>+</sup> ), 199, 121(base)
II-2b	1375 (S=O), 1175 (S-O)	1.26(d, 6H), 1.37(t, 3H), 3.22(m, 1H), 3.42(m, 2H), 7.12(m, 4H)	228(M <sup>+</sup> ), 213, 199, 121(base)
II-3b	1378 (S=O), 1192 (S-O)	1.27(d, 6H), 3.11(m, 1H), 6.74(m, 4H), 7.84(m, 5H)	276(M <sup>+</sup> ), 261, 135, 77(base)
II-4b	1390 (S=O), 1195 (S-O)	1.32(d, 6H), 3.12(m, 1H), 6.81(m, 4H), 7.72(m, 4H)	310(M <sup>+</sup> ), 295, 175, 171(base)
II-5b	1380 (S=O), 1180 (S-O)	1.26(d, 6H), 2.35(s, 3H), 3.12(m, 1H), 6.79(m, 4H), 7.54(m, 4H)	290(M <sup>+</sup> ), 275, 155, 91(base)
II-6b	1377 (S=O), 1190 (S-O)	1.24(d, 6H), 3.00(m, 1H), 3.73(s, 3H), 6.83(m, 4H), 7.41(m, 4H)	306(M <sup>+</sup> ), 291, 171(base)
II-1c	1290 (P=O), 1033 (C-O), 790 (P-O)	1.21(m, 6H), 1.29(d, 6H), 3.20(m, 1H), 3.91(m, 4H), 6.81(m, 4H)	272(M <sup>+</sup> ), 229, 257(base)
II-2c	1305 (P=O), 960 (C-O), 765 (P-O)	1.17(m, 6H), 2.94(m, 1H), 6.92(d, 2H), 7.31(m, 12H)	368(M <sup>+</sup> ), 325, 353(base)
II-1d	1250 (C-O), 1150 (-C=C-O-)	1.27(d, 6H), 3.23(m, 1H), 3.73(s, 3H), 6.75(m, 4H)	150(M <sup>+</sup> ), 120 135(base)
II-2d	1473 (-CH <sub>2</sub> -), 1165 (-C=C-O-)	1.21(d, 6H), 1.33(t, 3H), 3.12(m, 1H), 3.95(m, 2H), 6.84(m, 4H)	164(M <sup>+</sup> ), 135, 149(base)
II-3d	1453 (-CH <sub>2</sub> -), 1152 (-C=C-O-)	1.01(t, 3H), 1.24(d, 6H), 1.33(m, 2H), 1.71(m, 2H), 3.15(m, 1H), 3.94(t, 2H), 6.91(m, 4H)	192(M <sup>+</sup> ), 177, 149, 121(base)
II-4d	1456 (-CH <sub>2</sub> -), 1152 (-C=C-O-)	1.25(d, 6H), 2.35(s, 2H), 3.12(m, 1H), 6.81(m, 4H), 7.08(m, 5H)	226(M <sup>+</sup> ), 211, 183, 91(base)
II-5d	1302 (C=C), 1159 (-C=C-O-)	1.27(d, 6H), 3.16(m, 1H), 4.61(d, 2H), 5.28(d, 2H), 5.89(m, 1H), 7.12(m, 4H)	176(M <sup>+</sup> ), 133, 161(base)

균된 wheat bran medium(밀기울 200 g, 왕겨 100 g 증류수 100 ml)배지에 접종한 후 배양된 균체를 벼 유묘의 기저부에 접종하여 발병을 유도시켰다. 각각 접종된 유묘들은 dew chamber (27°C, 95%, 암조건)에서 48시간 보관한 후 항온항습실(25°C, 80%)에서 광조건, 암조건을 각각 12시간으로 처리한 벼를 제외

하고 모두 dew chamber(23°C, 95%, 암조건)에서 48시간 보관한 후 항온항습실(25°C, 80%)에서 광조건, 암조건을 각각 12시간으로 한 조건으로 처리하였으며, 무처리균의 발병을 충분히 유도한 후 결과를 조사하였다. 오이와 토마토작물의 병반면적율을 측정하였으며, 벼작물의 경우는 발병지부로부터 병반

Table 4. Phytopathogenic activities for 4-isopropylphenol(I) derivatives

Compounds	Pathogen	Growth Inhibition (%)									
	Aa <sup>a</sup>	Pc <sup>a</sup>	Pu <sup>a</sup>	Pi <sup>a</sup>	Cg <sup>a</sup>	Rs <sup>a</sup>	Bc <sup>a</sup>	Co <sup>a</sup>	Po <sup>a</sup>	Tv <sup>a</sup>	
<sup>b</sup> Commercial chemicals		38.8 <sup>c</sup>	60.0 <sup>c</sup>	23.5 <sup>c</sup>	47.2 <sup>c</sup>	41.2 <sup>c</sup>	29.4 <sup>c</sup>	58.8 <sup>c</sup>	52.9 <sup>c</sup>	55.3 <sup>c</sup>	70.6 <sup>c</sup>
I		29.4	16.5	-	43.1	37.6	17.6	-	25.9	42.4	-
I-1a		24.7	28.2	8.7	24.7	12.9	-	-	-	-	-
I-2a		9.4	10.6	-	-	3.5	1.2	2.4	21.2	1.2	-
I-3a		-	2.4	-	9.4	21.2	25.9	52.3	1.2	-	-
I-4a		9.4	29.4	-	22.4	17.6	-	-	15.3	24.7	-
I-5a		11.8	29.4	9.2	29.4	26.4	-	-	5.9	25.9	-
I-6a		2.4	-	-	29.4	-	-	-	-	-	-
I-7a		31.3	-	-	-	-	-	-	27.4	-	-
I-8a		-	-	-	-	-	-	-	-	36.5	-
I-1b		27.1	28.2	5.9	24.7	9.4	-	-	29.4	-	-
I-2b		-	-	-	17.6	23.2	-	-	-	-	-
I-3b		3.5	20.0	-	16.5	17.6	-	24.7	25.9	-	-
I-4b		-	-	-	-	-	-	-	5.9	-	-
I-5b		7.1	18.8	3.5	29.4	23.5	-	-	-	-	-
I-6b		-	15.3	-	23.5	-	26.1	16.8	-	48.2	-
I-1c		-	8.2	-	18.8	11.8	11.8	22.4	21.2	-	-
I-2c		12.9	2.4	-	11.8	28.2	21.2	-	-	-	-
I-1d		10.6	21.2	5.9	10.6	10.6	-	7.1	25.9	-	-
I-2d		4.7	32.9	7.1	16.5	8.2	-	2.4	-	-	-
I-3d		7.1	2.4	-	5.9	2.4	22.4	-	7.1	-	-
I-4d		-	-	-	-	22.8	-	24.3	38.8	27.1	-
I-5d		2.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: non-effective

<sup>a</sup>Aa: *Alternaria alternata*, Pc: *Phytophthora capsici*, Pu: *Pythium ultimum*, Pi: *Phytophthora infestans*, Cg: *Colletotrichum gloeosporioides*, Rs: *Rhizoctonia solini*, Bc: *Botrytis cinerea*, Co: *Colletotrichum orbiculare*, Po: *Pyrularia oryzae*, Tv: *Trichoderma virens*<sup>b</sup>All chemical were treated at a control of 100 µg/ml<sup>c</sup>Aa: polyoxin, Pc; Pi; Cg: dimethomorph (25%), Pu: Etridiazole, Rs: penycuron, Bc: dichlorofluanide, Co: propineb 70%, Po: tricyclazole, Tv: thiobendazole

의 발생높이를 측정하여 다음과 같은 식에 의하여 방제율을 산출하였다. 모든 실험은 3회 이상 실시하여 그 평균값을 측정값으로 하였다.<sup>20)</sup>

$$\text{방제율} = \frac{\text{무처리구 병반면적(길이)율\%} - \text{처리구 병반면적(길이)율\%}}{\text{무처리구의 병반면적율\%}}$$

## 결 과

유도체들의 합성과 확인. 화합물 I과 II의 ester(I-1a~I-8a, II-1a~II-8a), sulfonyl ester(I-1b~I-6b, II-1b~II-6b), phosphoyl ester(I-1c~I-2c, II-1c~II-2c)와 ether계(I-1d~I-5d, II-1d~II-5d) 화합물 42종을 Scheme 1과 같은 방법으로 합성하였다. GC/MS, IR-spectrum과 <sup>1</sup>H-NMR-spectrum을 이용하여 합성이 되었음을 확인하였다. 한 예로 4-isopropylphenyl acetate(I-1a)의 경우 GC/MS에서 분자량이 178(M<sup>+</sup> R.T: 10.2 min)로 일치함을 알수 있었으며 전하량(m/e)이 136, 121(base peak)인 특징적인 peak 들을 확인할 수 있었다. IR-spectrum에서는 1750 cm<sup>-1</sup>(C=O), 1245 cm<sup>-1</sup>(C-O) peak를 확인하였다. 또한 <sup>1</sup>H-NMR-spectrum에서 7.32 ppm(4H, m) peak는 phenyl기의 4개 수소를, 2.90 ppm

(1H, m)에서 isopropyl의 CH-의 수소를, 2.35 ppm(3H, s)의 peak는 CH<sub>3</sub>의 수소를, 1.25 ppm(6H, d)에서 isopropyl기의 -CH<sub>3</sub>기의 수소를 확인 하여 합성이 되었음을 알았다. 이와 같은 방법으로 합성된 유도체들을 분석하였으며, 그 결과는 Table 2와 3에 요약하였다.

**In vitro 항균활성.** (I)과 (II)로부터 제조한 유도체들에 대하여 *C. orbiculare*의 9종의 식물병원균에 대하여 항균활성을 측정하였다. (I)과 (II)의 유도체들에 대한 식물병원균의 항균효과는 Table 4와 5에 나타내었다. Ester화합물중 I-3a는 *B. cinerea*에 대하여 52.3%의 항균력을 나타냄으로써 공시약제인 유파렌 수화제가 나타낸 58.8%와 유사한 항균력을 나타내었으며, II-7a는 *P. infestans*에 대하여 63.2%와 *C. orbiculare*에 대하여 53.3%의 항균력을 나타냄으로써 각각의 공시약제인 포름수화제 47.2%와 안트라콜수화제 52.9%의 항균력보다 우수한 생리활성을 나타내었다. Sulfonyl ester화합물들중 I-6b는 *P. oryzae*에 공시약제인 범수화제 55.3%의 항균력에는 미치지 못하였지만, 48.2%의 항균력을 보여줌으로써 비교적 높은 항균력을 나타내었다. Phosphoyl ester화합물들은 유도체 대부분이 낮은 생리활성을 나타내거나 거의 활성이 없었다. Ether화합물 중에서는 I-4d가 *C. orbiculare*에 38.8%의 항균활성을 나타내었으나, 공시약제인 안트라콜 수화제의 52.9%보다는 항균력이 낮았다.

**Table 5. Phytopathogenic activities for 2-isopropylphenol(II) derivatives**

Compounds	Pathogen	Growth Inhibition (%)								
	Aa <sup>a</sup>	Pc <sup>a</sup>	Pu <sup>a</sup>	Pi <sup>a</sup>	Cg <sup>a</sup>	Rs <sup>a</sup>	Bc <sup>a</sup>	Co <sup>a</sup>	Po <sup>a</sup>	Tv <sup>a</sup>
<sup>b</sup> Commercial chemicals	38.8 <sup>c</sup>	60.0 <sup>c</sup>	23.5 <sup>c</sup>	47.2 <sup>c</sup>	41.2 <sup>c</sup>	29.4 <sup>c</sup>	58.8 <sup>c</sup>	52.9 <sup>c</sup>	55.3 <sup>c</sup>	70.6 <sup>c</sup>
II	27.1	18.8	-	41.2	32.9	-	-	24.7	30.6	-
II-1a	7.1	27.1	11.3	16.5	25.8	-	-	22.4	23.5	-
II-2a	10.6	8.2	-	5.9	15.3	5.9	2.4	4.7	1.2	-
II-3a	2.4	-	-	7.1	23.5	47.1	22.4	3.5	-	-
II-4a	9.4	32.9	-	12.9	9.4	-	-	29.4	30.6	-
II-5a	11.8	20	-	19.4	25.3	-	-	5.9	28.2	-
II-6a	4.7	-	-	19.4	-	-	-	-	-	-
II-7a	36.7	-	-	-	-	-	-	53.3	-	-
II-8a	-	-	-	-	17.6	-	-	37.6	27.1	-
II-1b	5.9	27.1	-	12.9	11.8	-	5.9	7.1	-	-
II-2b	-	-	-	17.6	28.2	-	-	-	-	17.6
II-3b	1.2	35.3	9.4	24.7	10.6	-	27.1	29.4	-	-
II-4b	23.5	-	-	-	23.5	-	-	30.6	29.4	-
II-5b	-	17.6	2.4	15.3	-	-	4.7	28.2	-	-
II-6b	15.3	-	-	23.5	23.1	11.3	12.4	40.0	17.6	-
II-1c	-	-	-	17.6	10.6	1.2	-	-	-	-
II-2c	3.5	-	-	17.6	23.1	7.1	-	7.1	7.1	-
II-1d	9.6	20.2	7.9	11.6	12.4	-	7.5	26.9	-	-
II-2d	2.7	35.9	7.1	17.5	8.6	-	3.4	-	-	-
II-3d	7.1	-	-	11.8	15.3	-	-	2.4	2.4	-
II-4d	15.3	-	-	20.0	25.9	29.4	-	21.2	21.2	-
II-5d	2.4	-	-	-	-	-	-	-	17.6	-

-: non-effective

<sup>a</sup>Aa: *Alternaria alternata*, Pc: *Phytophthora capsici*, Pu: *Pythium ultimum*, Pi: *Phytophthora infestans*, Cg: *Colletotrichum gloeosporioides*, Rs: *Rhizoctonia solani*, Bc: *Botrytis cinerea*, Co: *Colletotrichum orbiculare*, Po: *Pycularia oryzae*, Tv: *Trichoderma virens*

<sup>b</sup>All chemical were treated at a control of 100 µg/ml

<sup>c</sup>Aa: propineb 70%, Pc; Pi; Cg: dimethomorph (25%), Pu: Etridiazole, Rs: penycuron, Bc: dichlorofluanide, Co: propineb 70%, Po: tricyclazole, Tv: thiobendazole

**In vivo** 항균활성. *In vitro* 실험에서 비교적 생리활성이 높은 II-7a, I-3a, I-6b와 I-4d 화합물에 대하여 5종의 식물병원균에 대한 방제실험을 실시한 결과는 Table 6과 같다. I-3a는 *B. cinerea*에 68.8%의 방제효과를 나타내었으며, II-7a는 *C. orbiculare*와 *P. infestans*에 88.2%, 97.2%로 공시약제인 안트라퀴놀수화제 72.3%와 포름수화제 92.4% 보다 더 우수한 방제활

성을 나타내었다. I-6b는 *P. oryzae*와 *R. solani*에 98.3%와 85.3%의 방제활성을 나타내었으며, *P. oryzae*의 공시약제인 밭수화제 96.6%보다 우수한 활성을 나타내었으나, *R. solani*에 대해서는 공시약제인 몬세렌수화제 97.7% 방제효과보다는 다소 떨어지는 방제효과를 보여주었다.

**고찰**

화합물 I과 II의 OH기의 H대신 여러 계열의 유도체 42종을 합성하고 <sup>1</sup>H-NMR, IR, GC/MS를 이용하여 합성이 되었음을 확인하였다. 식물병원균에 대한 생리활성을 조사한 결과 II-7a가 *C. orbiculare*와 *P. infestans*, I-6b는 *P. oryzae*에서 공시약제보다 우수한 방제활성을 나타내었다.

Thymol, carvacrol, 4-isopropyl-3-methylphenol과 5-isopropyl-3-methylphenol 화합물들의 유도체들을 합성하여 항균활성을 연구한 결과 ester 계열의 2-isopropyl-5-methyl-phenylacetate가 *B. cinerea*와 *P. oryzae*에 각각 86%과 95% 4-isopropyl-3-methylphenyl (2-amino-thiazole-4-yl)methoxyiminoacetate가 *P. oryzae*에 93%, phenoxy ester 계열의 methyl(2-isopropyl-5-methylphenoxy)acetate가 *P. oryzae*에 97%의 활성이 있었으며, methyl(4-isopropyl-3-methylphenoxy)acetate가 *B. cinerea*에 88%의 방제

**Table 6. Curative effect of some derivatives on phytopathogen (In vivo)**

Compounds	Pathogen	Control value (%)				
	CAN <sup>b</sup>	TLB <sup>b</sup>	CGM <sup>b</sup>	RCB <sup>b</sup>	RSB <sup>b</sup>	
<sup>a</sup> Commercial chemicals	72.3 <sup>c</sup>	92.4 <sup>c</sup>	86.3 <sup>c</sup>	96.6 <sup>c</sup>	97.7 <sup>c</sup>	
I-3a	-	-	68.8	5.6	-	
II-7a	88.2	97.2	-	64.6	5.9	
I-6b	17.6	8.0	50.0	98.3	85.3	
I-4d	63.2	-	62.5	67.4	-	

-: non-effective

<sup>a</sup>All chemical were sprayed at a concentrate of 500 µg/ml

<sup>b</sup>CAN: Cucumber anthracnose, TLB: Tomato late blight, CGM: Cucumber gray mold, RCB: Rice blast, RSB: Rice sheath blight

<sup>c</sup>CAN: propineb 70%, TLB: dimethomorph (25%), CGM: dichlorofluanide, RCB: tricyclazole, RSB: penycuron

활성을 나타내었다.<sup>17,18)</sup> 이와 같이, 선행 연구된 isopropylmethylphenol이나 본 연구의 isopropylphenol화합물의 ester, alkylphenoxy ester 및 sulfonyl ester 계열 화합물이 식물병원균에 대한 우수한 항균활성 또는 방제활성을 나타내고 있으며, 출발물질이 isopropylmethylphenol구조에 methyl기가 없는 isopropylphenol 유도체들도 ester 및 sulfonyl ester계열에서 생리활성을 나타냄을 알았다. 또한 2-isopropylphenyl piperonyloate (II-7a)는 *C. orbiculare*와 *P. infestans*에 대하여 88.2%, 97.2%로 공시약제인 안트라콜수화제 72.3%와 포름수화제 92.4%보다 더 우수한 방제활성을 나타내었으며, 4-isopropylphenyl-4-methoxybenzenesulfonate(I-6b)는 *P. oryzae*의 공시약제인 빔수화제 96.6%보다 우수한 활성을 보였다. 그러므로, isopropylmethylphenol이나 isopropylphenol계 화합물 모두 새로운 살균제를 개발하는 출발물질로 이용될 수 있으며, 이들 화합물의 -OH기의 H대신 ester, phenoxy ester 및 sulfonyl ester기들을 도입한 유도체들이 *B. cinerea*, *C. orbiculare*, *P. infestans*와 *P. oryzae* 등에 높은 항균활성을 확인하였다. 따라서, 이들 alkylphenol의 ester, phenoxy ester 및 sulfonyl ester계열 유도체들을 보다 체계적으로 연구함으로써 *B. cinerea*, *C. orbiculare*, *P. infestans*와 *P. oryzae*의 새로운 농약개발이 가능할 것으로 예상된다.

## 초 록

항균활성이 있는 4-isopropylphenol(I)과 2-isopropylphenol(II)을 출발물질로 하여 ester, sulfonyl ester, phosphoyl ester와 ether계열 유도체 42종을 합성하였으며, 확인은 IR, <sup>1</sup>H-NMR과 GC/MS를 이용하였다. 이들 유도체들에 대한 *in vitro* 항균활성 실험을 오이탄저병균(*Colletotrichum orbiculare*) 외 9종에 대하여 실시하였다. 그 결과, 2-isopropylphenyl piperonyloate(II-7a)가 오이탄저병균(*Colletotrichum orbiculare*)과 토마토잎마름병균(*Phytophthora infestans*)에 효과가 있었으며, 4-isopropylphenyl bromoacetate(I-3a)가 오이잿빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*), 4-isopropylphenyl-4-methoxybenzenesulfonate(I-6b)는 벼도열병균(*Pycularia oryzae*)에 탁월한 효과를 나타내었으며, 4-isopropylphenylbenzyl ether(I-4d)가 오이탄저병균(*Colletotrichum orbiculare*)에 우수한 효과를 나타내었다. *In vivo* 실험에서는 2-isopropylphenyl piperonyloate(II-7a)가 오이탄저병(*Colletotrichum orbiculare*)과 토마토잎마름병(*Phytophthora infestans*), 4-isopropylphenyl 4-methoxybenzenesulfonate(I-6b)가 벼도열병(*Pycularia oryzae*)에 매우 우수한 항균활성을 나타내었다.

**Key words:** 2-isopropylphenol, 4-isopropylphenol, 식물병원균, 항균활성

## 감사의 글

본 연구는 농림부(MAF) 농림기술관리센터(ARPC) 지원 연구비(과제번호: 203129-3)에 의 하여 이루어진 것이므로 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Heling, G. S., P. C. Kearney and M. Alexan (1971), Behavior of pesticides in soils, *Acva. Agron.* **23**, 147-240.
2. Brown, A. W. (1978) A Ecology of Pesticides. John Wiley & Sons.
3. Sylverstre G. S., and J. M. Fournier, (1979) Effects or pesticide on the microflora. *Advan. Agron.* **31**, 1-18.
4. Muller, P., (1998) Effects of pesticides of fauua and flora in pesticide., In *Food and Environmental Implications*, IAEA., Vienna, 11-27.
5. Kurahashi, Y., S. Sakawa, T. kinbara, K. Tanaka and S. Kagabu (1997) Biological Activity of Carpropamid (KTU 3616): A New Fungicide for Rice Blast Disease, *J. Pesticide Sci.* **22**, 108-112.
6. Duke, S. O., A. M. Rimando, S. R. Baerson, B. E. Scheffler, E. Ota and R. G. Belz (2002) Strategies for the Use of Natural Products for Weed Management, *J. Pesticide Sci.* **27**, 298-306.
7. Lee, B. H., C. P. Annis, F. Tumaalii and W. S. Choi, (2004) Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects, *J. Stored Prod. Res.* **40**, 553-564.
8. Motoyama T., K. Imanishi, T. Kinbara, Y. Kurahashi and I. Yamaguchi, (1998) Inhibition of Scytalone Dehydratase in Melanin Biosynthesis by Carpropamid, a Novel Rice Blast Controlling Agent, *J. Pesticide Sci.* **23**, 58-61.
9. Nychas, G. E., & Tassou, C. C. (2000) Traditional preservatives-oils and spices. In R. K. Robinson, C. A. Batt, and P. D. Patel (eds.), *Encyclopedia of food microbiology* London, UK: Academic Press 1717-1722.
10. Ormancey, X., Sisalli, S., and Coutiere, P. (2001) Formulation of essential oils in functional perfumery., *Parfums, Cosmetics, Actualites* **157**, 30-40.
11. Vina W. Yang and Carol A. Clausen (2007) Antifungal effect of essential oils on southern yellow pine, *International Biodeterioration & Biodegradation* **59**, 302-306.
12. Kumar, R., Dubey, N. K., Tiwari, O. P., Tripathi, Y. B., Sinha, K. K. (2007) Evaluation of some essential oils as botanical fungitoxicants for the protection of stored food commodities from fungal infestation, *J. Sci. Food Agric.* **87**, 1737-1742.
13. Szczerbanik, M., Jobling, J., Morris, S., Holford, P. (2007) Essential oil vapours control some common postharvest fungal pathogens, *Australian J. Exper. Agric.* **47**, 103-109.
14. Wu F. and Xiaodong Z. (2007) Essential oils to control *Alternaria alternata* *in vitro* and *In vivo*. *Food Control* **18**, 1126-1130.
15. Antonet M. Svircev, R. J. Smith, T. Zhou, M. Hernade, Weitang L. and C. L. Chu (2007) Effects of thymol fumigation on survival and ultrastructure of *Monilinia fructicola*, *Postharvest Biology and Technology* **45**, 228-233.
16. Choi, W. S., Kim, K. Y., Jang, D. Y., Um, D. Y., Jung, B. J. and Kim, T. J. (2006) Activeties of essential oils and their main compounds, *Korean J. Pesticide Sci.* **10**, 201-209.
17. Choi, W. S., C. J., Jung, D. Y., Jang, K. M., Cha, D. Y., Um, T. J. Kim, and B. J. Jung (2006) *In vitro* and *In vivo* antifungal activaties of derivatives of thymol and carvacrol against phytopathogenic fungi, *Korean J. Pesticide Sci.* **10**, 237-248.

18. Choi, W. S., S. H., Jang, D. Y., Jang, K. G., Choi, B. H., Lee, T. J. Kim, and B. J. Jung (2006) Antifungal activities for derivatives of 4-isopropyl-3-methylphenol and 5-isopropyl-3-methylphenol against plant pathogenic fungi, *Korean J. Pesticide Sci.* **10**, 249-261.
19. Droby, S., Wisniewski, M. E., Cohen, L., Weiss, B., Tuitou, D., Eilam, Y. *et al.* (1997) Influence of  $\text{CaCl}_2$  on *Penicillium digitatum*, grapefruit peel tissue, and biocontrol activity of *Pichia guilliermondii*. *Phytopathology* **87**, 310-315.
20. Lewis, R. J. (1992), *Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials*, 8th Ed., Van Nostrand-Reinhold