

오배자의 항균 성분

부용출, 전체옥

태평양 중앙연구소

449-900, 경기도 용인군 기흥읍 보라리 산 1번지

Antimicrobial components from Galla Rhois

Boo, Yong-Chool and Jeon, Che-Ok

449-900

요 약

본 연구는 여드름의 원인균인 *Propionibacterium acnes* ATCC 6919에 대해 항균력을 보이는 오배자(*Galla Rhois*)의 유효 성분을 규명하고자 수행되었다. 오배자의 95%에탄올 추출물, 노르말렉산 추출물, 노르말렉산 추출물중 검화성 물질의 이 균에 대한 최소 생육 저지 농도는 각각 20 μ g/ml, 10 μ g/ml, 5 μ g/ml이었다. 그 검화성 물질로부터 2종의 항균 성분을 분리하였으며 이들은 ^{13}C -NMR, ^1H -NMR, MS, IR, UV 스펙트라에 근거하여 각각 6-pentadec-8-enyl salicylic acid과 6-pentadecyl salicylic acid로 동정되었다. 이들은 공히 1 μ g/ml 이하의 농도에서 *P. acnes*의 생육을 저지하였다.

서 론

피부 상재균인 *Propionibacterium acnes*는 피지를 분해하여 지방산을 유리함으로써 여

드름에서 보이는 붉은 발진인 구진, 농포, 결절 등의 염증성 병변을 유발시킨다(1). 따라서 이 균에 대응하는 적절한 항균제의 사용은 여드름 증상의 개선에 도움이 될 것으로 기대된다. 본 연구자들은 여러 생약의 추출물들을 대상으로 이 균(*P. acnes* ATCC 6919)에 대한 항균력을 검색하여 오고 있으며 그 과정에서 오배자(*Galla Rhois*)의 추출물의 강력한 항균 작용을 관찰한 바 있다.

오배자는 옻나무과 식물인 붉나무(*Rhus japonica* Linne)의 어린 가지 자상에 오배자 진딧물(*Melaphis chinensis* Bell)이 형성한 충영으로, 이 약에는 가수 분해성 탄닌이 50% 이상 함유되어 있고, 수렴, 지혈, 해독, 항균 작용이 있는 것으로 알려져 왔다(2). 그러나 특히 항균 작용에 있어서 탄닌이 유효 성분일 것으로 일반적으로 여겨져 왔을 뿐 그 구체적인 연구는 없었던 것으로 조사되었다. 이에 본 연구에서는 오배자의 유효 항균 성분을 규명하고자 하였다.

재 료 및 방 법

1. 기기

녹는점의 측정에는 Arthur H. Thomas company의 capillary melting point apparatus를 이용하였다. UV, IR 스펙트럼의 측정에는 각각 CECIL CE 5500, BIO-RAD FTS-40을 이용하였다. NMR, MS 스펙트럼은 각각 BRUKER AM 300, Hewlett-Packard 5988을 이용하여 측정하였다.

2. 항균력 측정

항균력 측정에 사용된 균주는 *Propionibacterium acnes* ATCC 6919이었다. BHI(Brain Heart Infusion) 액체 배지 5ml에 시료를 첨가한 후 37°C, 혐기 조건에서 48시간 동안 모배양한 *P. acnes* 균액을 100 μ l 가하고, 같은 조건하에서 48시간 배양한 후 비탁법으로 균의 생육 여부를 평가하였다. 이때 균의 생육이 관찰되지 않은 가장 높은 생약 농도를 최소 저지 농도(minimum inhibitory concentration; MIC)로 하였다.

3. 오배자 추출물의 제조

시중에서 구입한 오배자를 분쇄한 것 50g에 5배 부피의 95% 에탄올을 가하여 3시간 가

열 환류 추출하여 여과하고, 그 여액을 감압 증발시켜 에탄올 추출물 29g을 제조하였다. 동일한 방법으로 오배자 분말 400g으로 부터 노르말렉산 추출물 16g을 제조하였다.

4. 오배자의 노르말렉산 추출물로부터 항균 성분의 분리

오배자의 노르말렉산 추출물로부터 Figure 1에 도시한 방법에 따라 항균 성분을 분리하였다. 간단히 설명하면 이 노르말렉산 추출물 16g으로 부터 비검화성 물질 8.6g과 검화성 물질 5.2g을 따로 얻고, 검화성 물질은 Sephadex LH-20 컬럼(5x45cm, Sigma)상에서 크로마토그래피하고(용리액, 95% 에탄올) 그 용출액을 100ml단위로 분획하였다. 항균성분이 함유된 4-8번 분획을 증발시켜 얻은 물질 3.1g을 Lichrosorb RP-18컬럼(3.3 x 44cm, Merck)을 이용하여 재차 크로마토그래피하였다. 용리액으로는 85% Acetonitrile을 이용하였으며 그 용출액을 100ml단위로 분획하였다. 항균력이 높게 나타난 35-42, 55-60번 분획을 따로 증발시키고 각각 메탄올에서 재결정하여 compound-1(0.13g)과 compound-2(0.43g)를 얻었다.

Compound-1:

colorless needles from methanol: mp.40-41°C; UV λ_{\max} (MeOH) 310nm($\epsilon=1800$); IR ν_{\max} cm^{-1} ,1645(COOH); MS m/z, 346(M^+), 302(M^+-CO_2), 121, 120, 108, 107; ^1H NMR(CDCl_3) δ , ppm from TMS, 0.88(3H, t), 1.26-1.32(16H), 1.59(2H), 2.01(4H), 2.98(2H, t), 5.33(2H, m), 6.77(1H, d), 6.87(1H, d), 7.35(1H, t), 11.1(1H, s); ^{13}C NMR(CDCl_3) δ 13.99, 22.67, 26.90, 27.17, 29.36, 29.48, 29.55, 29.59, 29.69, 29.76, 29.80, 31.96, 36.46, 110.50, 115.86, 122.76, 129.62, 129.68, 135.37, 147.84, 163.60, 176.41

Compound-2:

colorless needles from methanol: mp.81-82°C; UV λ_{\max} (MeOH) 310nm($\epsilon=1800$); IR ν_{\max} cm^{-1} ,1655(COOH); MS m/z, 348(M^+), 304(M^+-CO_2), 121, 120, 108, 107; ^1H NMR(CDCl_3) δ 0.88(3H, t), 1.25(24H), 2.98(2H, t), 6.78(1H, d), 6.87(1H, d), 7.35(1H, t), 11.1(1H, s); ^{13}C NMR(CDCl_3) δ 14.12, 22.69, 29.37, 29.49, 29.64, 29.71, 29.81, 31.93, 32.00, 36.48, 110.38, 115.67, 122.81, 135.48, 147.91, 163.63, 176.42

결과 및 고찰

여드름 원인균인 *P. acnes*에 대한 항균력을 측정된 결과, 오배자의 95%에탄올 추출물,

노르말렉산 추출물이 각각 20, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 균의 생육을 저해하였다(Table.1). 이 추출물들의 항균력은 방부제인 methyl paraben, germal 115, 여드름 질환에 항균제로 사용되고 있는 benzoyl peroxide등 보다는 강력한 것이다. 오배자의 노르말렉산 추출물이 95%에 탄을 추출물에 비해 상대적으로 더 강한 항균력을 보인 것은 이 약에 탄닌 이외의 항균 성분이 함유되어 있음을 시사하는 것으로 사료되었다. 그 것은 탄닌이 노르말 렉산으로는 잘 추출되지 않는 극성의 물질이기 때문이다.

오배자의 노르말 렉산 추출물을 비검화성 물질과 검화성 물질로 대별하고 항균력을 평가한 결과 검화성 물질만이 유효한 항균력을 나타내었다. 이 검화성 물질에 대해서 Sephdex LH-20, Lichrosorb RP-18 컬럼 크로마토그래피를 순차적으로 실시하여 2종의 유효 항균 성분(compound-1, compound-2)을 분리하였다(Figure 1). 이 두 성분의 *P. acnes*에 대한 최소 생육 저지 농도는 공히 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다. 이는 연구자들이 시험한 항균제 중 가장 강력한 것으로 나타난 hexamidine diisethionate의 항균력에 버금 가는 것이다(Table 1).

Compound-1(mp. 40-41 $^{\circ}\text{C}$)과 compound-2(mp. 81-82 $^{\circ}\text{C}$)의 ^1H , ^{13}C NMR 스펙트라는 서로 매우 유사하였으며, 이들이 모두 anacardic acids임을 보여 주었다. Anacardic acids는 salicylic acid의 6번 위치에 포화 또는 불포화된 긴 사슬의 alkyl기가 치환된 화합물을 말한다.

Compound-2의 경우 포화된 alkyl측쇄를 갖고 있는 것으로 해석되었으며 그 MS스펙트럼으로 부터 그 측쇄가 pentadecyl기임을 알 수 있었다(MS m/z 348(M^+), 304($M-\text{CO}_2$)). Compound-1은 그 ^1H , ^{13}C NMR 스펙트라로 부터 그 측쇄에 하나의 이중 결합을 갖고 있는 점이 compound-2와 다른 유일한 구조적 차이인 것으로 추정되었으며(^{13}C -NMR, δ 129.62, 129.68ppm; ^1H -NMR, δ 5.33ppm(2H, m)) 이는 그 MS 스펙트럼으로도 확인되었다(MS m/z 346(M^+), 302($M-\text{CO}_2$)). 이중결합의 위치의 규명은 별도로 행하지 않았으나 측정된 모든 기기 분석 결과를 문헌치(3)와 비교하고, 천연에 존재하는 점을 고려하여 Compound-1의 측쇄를 pentadec-8-enyl로 동정하였다. 결국 compound-1과 compound-2는 각각 6-pentadec-8-enyl salicylic acid, 6-pentadecyl salicylic acid로 동정되었다(Fig. 2).

이들은 은행잎과 율나무과의 여러 식물에서도 발견되는 물질로(4) 항균 작용(5), 항종양 작용(3)이 보고된 바 있다. 이들 화합물들의 항균 작용에 있어서 긴 사슬의 alkyl측쇄가 필수적 역할을 하는 것으로 추정되며 이는 salicylic acid가 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하의 농도에서는 항균 작용을 보이지 않기 때문이다(Table 1). 이들 성분은 붉나무에도 함유되어 있었으며(결과 생략) 따라서 오배자에 함유되어 있는 anacardic acids는 진딧물 스스로 합성한 것이 아니라 그 숙주 식물인 붉나무의 것을 축적한 것으로 추정된다. 본 연구의 결과로 오배자의

유효 항균 성분중 일부가 규명되었다.

ABSTRACT

Two acardic acids showing antimicrobial activity against *Propionibacterium acnes* ATCC 6919, were isolated from Galla Rhois. They were identified as 6-pentadec-8-enyl salicylic acid and 6-pentadecyl salicylic acid on the base of spectroscopic evidence.

참 고 문 헌

1. Arnold HL, Odom RB, and James WD., Andrew's Diseases of the skin, Clinical dermatology, 8th Ed. WB Saunders Co. Philadelphia. 1990, pp250-258
2. 김재길, 원색 천연 약물 대사전. 도서 출판 남사당. 1984, p.362
3. Itokawa, H., Totsuka, N., Nakahara, K., Takeya, K., Lepoittevin, JP, and Asakawa, Y., Antitumor principles from *Ginkgo biloba* L.. Chem.Pharm.Bull. 1987, 35(7):3016-3020
4. Gellerman, JL. and Schlenk, H., Methods for isolation and determination of anacardic acids. Anal.Chem. 1968, 40(4):739-743
5. Gellerman, JL., Walsh, NJ., Werner, NK. and Schlenk, H., Antimicrobial effects of anacardic acids. Can.J.Microbiol. 1969, 15:1219-1223

Table. 1. Anti-microbial activity of Galla Rhois extracts and and antiseptics against *Propionibacterium acnes* ATCC 6919.

test material	MIC($\mu\text{g/ml}$)
95% aqueous ethanol extract of Galla Rhois	20
n-hexane extract of Galla Rhois	10
methylparaben	900
germal 115	600
benzoyl peroxide	700
salicylic acid	>200
hexamidine diisethionate	1

MIC: Minimum inhibitory concentration

The microorganism was cultured in Brain Heart Infusion medium containing a test material at 37°C for 48 hours, and then the growth of the cells was assessed by the turbidometric method.

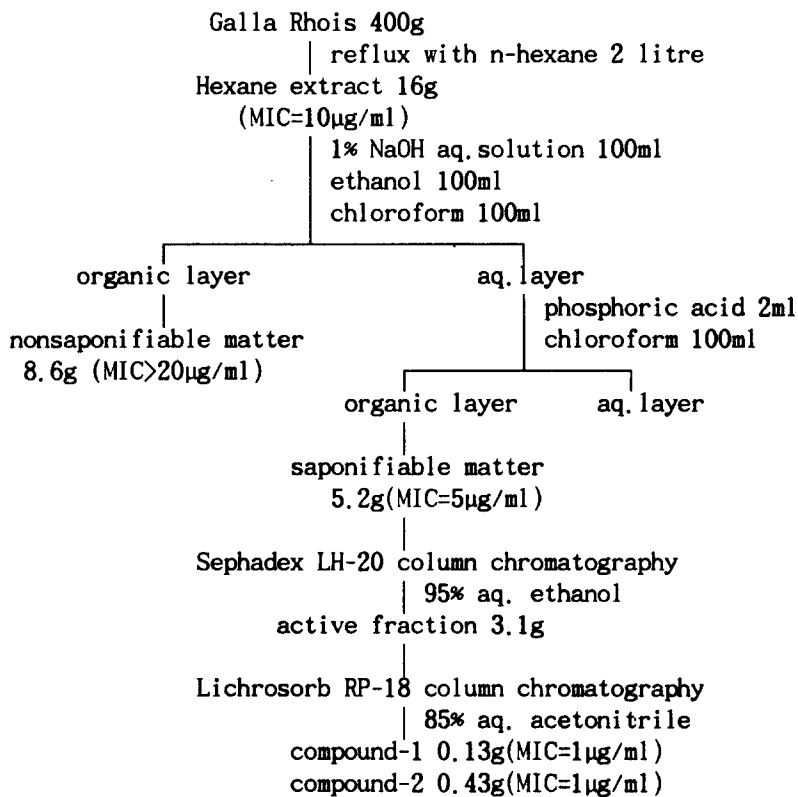
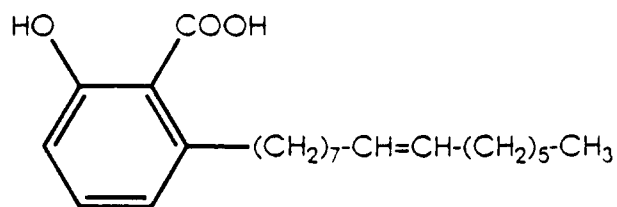
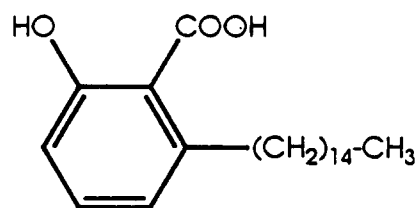


Fig.1. Isolation of antimicrobial compounds from Galla Rhios. MIC: Minimum inhibitory concentration against *Propionibacterium acnes* ATCC 6919.



Compound-1, MW=346



Compound-2, MW=348

Fig.2. Structure of antimicrobial components isolated from *Galla Rhois*.