

산국 추출물의 항균력

남상해* · 양민석

경상대학교 농화학과, 식물분자생물학연구소

초록 : 산국과 감국의 용매분획물과 sesquiterpenoid lactones, Compound I, II를 4종의 미생물에 대하여 항균실험을 하였다. 이 중에서 산국의 chloroform분획과 sesquiterpenoid lactones, Compound I에서 *B. subtilis*과 *V. parahaemolyticus*에 대하여 항균력이 있었다. 그리고 야생감국의 chloroform분획과 sesquiterpenoid lactones에서는 항균력이 산국보다 약하게 나타났으며, Compound II와 재배감국의 모든 분획은 미생물에 대하여 항균력이 전혀 나타나지 않았다(1995년 3월 16일 접수, 1995년 4월 20일 수리).

서 론

산국(山菊)의 약리학적 효과에 대한 연구는 찾아 보기 어렵다. 그러나 산국꽃의 추출물에는 중추신경의 진정작용이나, 혈압강하작용,¹⁾ 결핵균 및 각종 바이러스에 대한 억제효과가 있다²⁾고 하며, 산국이 민간요법에 이용된 경우는 주독을 푸는데는 꽃을 그늘에 말렸다가 한술갈 정도를 뜨거운 물에 넣어 한참 후에 마신다고 전해 내려오고 있고, 종기 부종등의 염증을 완화시키는데 꽃과 잎을 소금과 함께 찧어 그 즙액을 발랐다³⁾고 하여 산국의 꽃에 항균물질이 함유되어 있을 것이라고 짐작하게 되었다. 따라서 본 연구자는 산국 꽃의 항균성을 검색해 볼 목적으로 본 실험을 수행하였다. 우선 산국 꽃의 methanol 추출물을 몇가지 용매로서 분획하여 항균력시험을 해 본 결과, 이 중 다른 용매분획에 비하여 chloroform 분획에 항균물질이 많이 포함되어 있음을 알았다. 또한 chloroform 분획에는 대부분의 국화과 식물에 흔히 존재하는 sesquiterpenoid lactones이 많이 존재함을 알고, 산국의 꽃에서 용매분획의 단계를 거치지 않고 Herz 등⁴⁾의 방법에 의하여 직접 추출하여 높은 수율의 sesquiterpenoid lactones을 얻을 수가 있었다. 또한 본 연구자가 이미 분리해 둔 Compound I과 II⁵⁾가 암세포에 대하여 세포독성이 있는 sesquiterpenoid lactones의 일종이므로 항균력을 비교해 보고자 하였으며, 산국과 동속약초인 감국을 비교하면서 수종의 미생물에 대한 항균성을 검색한 결과를 보고 하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

생약재료

산국은 진주시 나동면, 함양군 안의면, 마천면 등지에서 14.8 kg을, 야생감국은 1.2 kg을 1992년 9월부터 1993년 10월까지 함양군 안의면, 사천군 축동면, 진주시

집현면 등지에서 채취하였으며, 재배감국은 한약재료상에서 5kg을 구입하여 대한식물도감⁶⁾ 원색한국약용식물도감⁷⁾ 등을 참고로 동정하였으며, 음지에서 건조하여 사용하였다.

공시균주

본 실험에 사용한 균주는 모두 4종으로서 그람 양성균으로서 *Bacillus subtilis* (ATCC 9372)와 *Staphylococcus aureus* (ATCC 13301), 그람 음성균으로서 *Escherichia coli* (ATCC 15489)와 *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 33844)를 사용하였다.

배지

균 생육배지는 모든 균주에 대하여 nutrient agar를 사용하였으며, 다만 *Vibrio parahaemolyticus*의 생육을 위한 배지에는 3%의 NaCl을 첨가하여 각각 사용하였다. 상기 배지는 Difco사, 시료의 용해를 위하여 사용한 dimethylsulfoxide (DMSO)는 Sigma사 제품을 사용하였다.

실험방법

시료의 조제

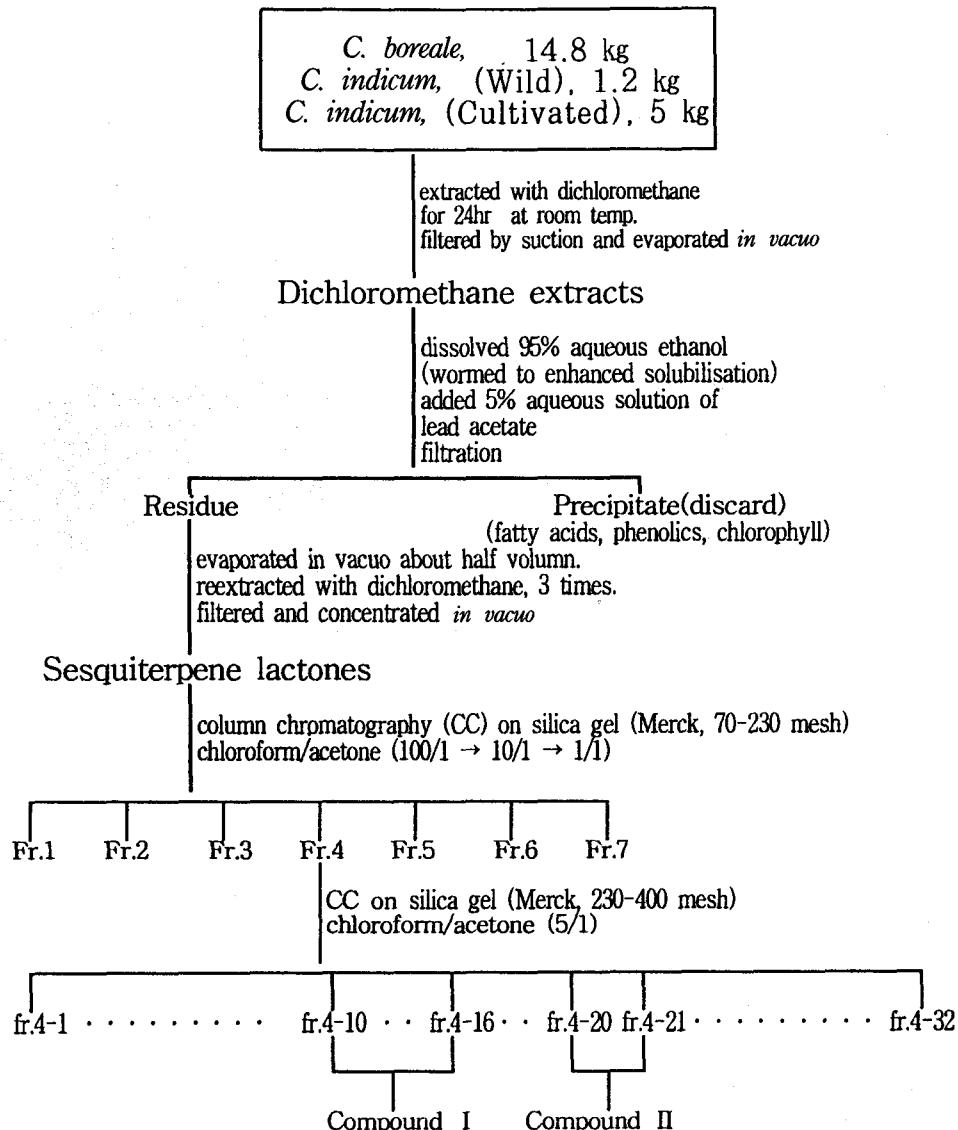
항균시험에 적용한 시료중 용매분획들은 각 생약의 methanol 추출물에 n-hexane, chloroform, ethylacetate, n-butanol을 차례로 가하여 추출하였으며, sesquiterpenoid lactones과 Compound I, II는 Scheme 1과 같이 추출하여, 대조군에는 10%의 DMSO만을 넣었으며, 시험군에는 각 추출물을 10 mg/ml의 농도가 되도록 DMSO에 녹이고 다시 증류수 9 ml를 가하여 조제하였다.

항균력 측정

항균력 검색에 사용한 균주는 사면에 배양된 각 균주 1백금이를 취해 10 ml nutrient broth의 균 생육배지에 접종하고 30°C에서 18~24시간씩 계대배양하면서 사용하였다. 항균력 시험용평판배지의 조제는 nutrient agar

찾는말 : *Chrysanthemum boreale* M., *Chrysanthemum indicum* L., antibacterial activity, sesquiterpenoid lactones

*연락처자



Scheme 1. Isolation of sesquiterpenoids lactones, Compound I and II by the procedure of Herz and Högenauer.⁴⁾

로서 기충용배지(agar 1.5%)를 petri dish에 약 15 ml씩 분주하여 응고시키고, 중충용배지(agar 0.75%)를 각각 2.5 ml씩을 시험관에 분주하여 멸균한 후, 45°C의 수욕상에 보관하면서 각종 시험균액 0.1 ml를 무균적으로 첨가하여 잘 혼합한 후, 기충용 배지위에 고르게 펴지도록 도포한 뒤 응고시켜 2중의 균 접종·평판배지를 만들어 사용하였다. 시료의 항균력 검색은 한천배지확산법(disc plate method)으로 측정하였다. 즉, 각각의 시료용액을 0.45 µm membrane filter (Millipore, USA)로 여과하여 제균하고 멸균된 filter paper disc (Toyo seisakusho, 8 mm)에 100 µl씩을 흡수시킨 후, 추출용매를 완전히 회산시키고 시험용 평판배지위에 놓아 밀착시키고 4°C에서 1시간 방치한 후, 30°C의 배양기에서 24시간 배양한다음, disc주변의 항균대을 관찰하였다.^{8,9)}

결과 및 고찰

산국과 감국의 용매분획물 4종과 원래의 식물체에서 추출한 sesquiterpenoid lactones 추출물을 4종의 미생물에 대한 항균성실험을 해 본 결과, *E. coli*와 *S. aureus*에 대해서는 거의 항균력이 나타나지 않았다. 그러나 *B. subtilis*와 *V. parahaemolyticus*에 대해서는 산국의 경우에 chloroform 분획물과 sesquiterpenoid lactones 추출물에서 비교적 강한 항균력이 나타났다. 특히 sesquiterpenoid lactones 추출물에서는 chloroform 분획물에 비하여 강한 항균력이 나타났다. 또한 야생감국에서는 *V. parahaemolyticus*에 대해서 sesquiterpenoid lactones 추출물과 chloroform 분획물에서 항균력이 나타났으나, 재배감국은 *V. parahaemolyticus*에 대하여 sesquiterpenoid lactones 추출물에서 약한 항균력이 나타났을 뿐, 다른 미생물에 대해서는 전혀 나타나지 않았다.

암세포에 대한 세포독성이 나타난 Compound I과 II⁵⁾를 sesquiterpenoid lactones 추출물과 항균력을 비교해

Table 1. Antibacterial activities of each extracts from *C. boreale* and *C. indicum* (wild & cultivated) against *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* and *V. parahaemolyticus*.

Microorganisms	medicinal plants	clear zone diameters (mm) inhibited by each extracts				
		n-Hexane	CHCl ₃	EtOAc	BuOH	SL ^{b)}
<i>E. coli</i>	<i>C. boreale</i>	—	—	—	—	9
	<i>C. indicum</i> (W)	—	—	—	—	—
	<i>C. indicum</i> (C)	—	—	—	—	—
<i>S. aureus</i>	<i>C. boreale</i>	—	9	—	—	9
	<i>C. indicum</i> (W)	—	—	—	—	—
	<i>C. indicum</i> (C)	—	—	—	—	—
<i>B. subtilis</i>	<i>C. boreale</i>	—	12	—	—	20
	<i>C. indicum</i> (W)	—	9	—	—	—
	<i>C. indicum</i> (C)	—	—	—	—	—
<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>C. boreale</i>	—	12	—	—	23
	<i>C. indicum</i> (W)	—	10	—	—	15
	<i>C. indicum</i> (C)	—	—	—	—	10

^{b)}sesquiterpenoid lactones

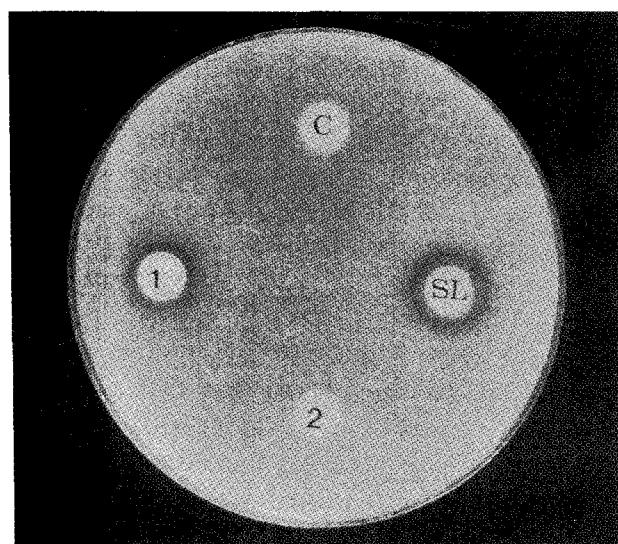


Fig. 1. Antibacterial activities of the extracts from *C. boreale* against *B. subtilis*. (C, control; 1, Compound I; 2, Compound II; SL, sesquiterpenoid lactones)

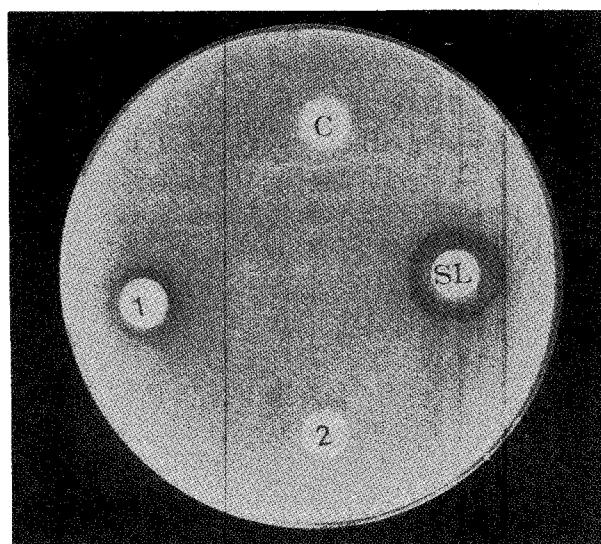


Fig. 2. Antibacterial activities of the extracts from *C. boreale* against *V. parahaemolyticus*. (C, control; 1, Compound I; 2, Compound II; SL, sesquiterpenoid lactones)

보기 위하여 *B. subtilis*와 *V. parahaemolyticus*에 대하여 실험을 하였다. 그 결과 두 종류의 미생물에 대하여 모두 Compound I에서는 약한 항균력이 나타났으나, Compound II에서는 두 미생물에 대하여 항균력이 전혀 나타나지 않았다. 반면에 sesquiterpenoid lactones 추출물에서는 비교적 강한 항균력이 나타났다.

Dan Bensky 등²⁾에 의하면 산국 추출물이 *S. aureus*에 항균력이 있다고 하였고, 우의 보고¹⁰⁾에서도 산국 methanol 추출물의 항균력 실험에서 *E. coli*와 *S. aureus*에 대하여 100 µg/disc이 최소 저해농도라고 하였는데, 본 실험에서 100 µg/disc의 농도로만 실험하였으므로 더 이상의 농도에서는 효과가 있을 것으로 보였다. 이와 같은

결과로 미루어 볼 때, 산국의 sesquiterpenoid lactones 추출물에는 *V. parahaemolyticus*에 대하여 강한 항균력을 가지는 물질이 포함되어 있을 것으로 여겨지므로, 앞으로 이 유효물질을 분리정제하고, 새로운 항생물질의 개발에 더욱 노력하여야 할 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 경상대학교 식물분자생물 및 유전자조작 연구소(PMBBRC)의 연구비 지원에 의하여 수행된 연구결과의 일부로서 깊은 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

1. 최영전 (1992) 한국민속식물. 아카데미서적
2. DanBensky and G. Andrew (1986) in Chinese herbal medicine. *Eastland Press, Seattle.* p 59.
3. 竹谷孝一, 系川秀治 (1993) 1993年度 天然抗癌資源의 開發에 關한 國際學術會議.
4. 강삼식, 윤혜숙 (1988) 천연물과학. 서울대학교 출판부.
5. 남상해, 최상우, 장대식, 양민석 (1995) 산국으로부터 항암 활성성분의 분리. 한국농화학회지(투고중)
6. 이창복 (1989) 대한식물도감. 향문사 서울 p648.
7. 육창수 (1990) 원색한국약용식물도감. 아카데미서적 p 536-537.
8. Bauer, A. W., M. M. Kirby, J. C. Sherris and M. Truck (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* **45**, 493-496.
9. Piddock, L. J. V. (1990) Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* **68**, 307-318.
10. 우원식 (1975) 서울대학교 생약연구소 업적집 14:69-74.

Antibacterial Activities of Extracts from *Chrysanthemum boreale* M.

Sang-Hae Nam* and Min-Suk Yang (*Department of Agricultural Chemistry, Plant Molecular Biology and Biotechnology Research Center, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea*)

Abstract: Antibacterial activity test of solvent fractions, sesquiterpenoid lactones, and Compound I and II extracted from *Chrysanthemum boreale* M. and *Chrysanthemum indicum* L. were performed against four microorganisms. Among the tested substances, antibacterial activities were appeared against *B. subtilis* and *V. parahaemolyticus* at the chloroform fraction, sesquiterpenoid lactones and Compound I extracted from *C. boreale*. But chloroform fraction and sesquiterpenoid lactones extracted from *C. indicum* were showed weakly than those of *C. boreale*. Compound II and all fractions extracted from *C. indicum* were not appeared against the all tested microorganisms.

*Corresponding author