

한국산 도꼬마리 추출물의 항균효과 및 분리 정제

김현수* · 신재욱

계명대학교 자연과학대학 미생물학과

Isolation and Antimicrobial Activity of *Xanthium strumarium* L. Extract. Hyun-Soo Kim* and Jae-Ouk Shin. Department of Microbiology, College of Natural Science, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea - Antimicrobial activity of various extracts of *Xanthium strumarium* L. was tested against 25 strains of bacteria, yeast and fungus. The crude ethylacetate extract exhibited strong growth inhibition to the tested strains with the exception of partial Gram-negative bacteria. The property of antimicrobial compound was very stable under heat treatment at 120°C, but it was unstable in acid (pH 3.0) and alkali (pH 10.0) treatment. The antimicrobial compounds were purified by boiling water extraction, ethylacetate extraction, charcoal column chromatography, silica gel column chromatography and reverse phase HPLC. The purified compound A and B were detected in a single peak (each above 98% purity) through the HPLC analysis. The compound A and B showed a strong growth inhibition against Gram-negative and positive bacteria in the agar diffusion method. When tested by the FDA method using the esterase, compound A mainly inhibited the growth of bacteria and compound B showed the growth inhibition of both bacteria and yeasts.

오늘날 UR 협상에 따른 농산물의 수입개방 그리고 물질특허 제도가 국가간 마찰의 쟁점으로 부각됨에 따라 한국산 생물 종의 보전 및 개발, 응용 등의 문제가 심각히 대두되고 있다. 이들 문제의 대처 방안으로 학계 및 산업계를 비롯하여 다양한 분야에서 수많은 연구가 수행되고 있으며, 그 중 신물질의 탐색 및 이용과 관련하여 생약 및 민간 처방약 등으로부터 새로운 기능을 가진 천연물질의 연구가 동서양을 비롯하여 활발히 진행되고 있다. 실제 동서양을 막론하고 전통 한약제는 현대 의학에 사용되고 있는 많은 의약품의 중요한 자원으로 이용되어 왔으나, 항세균제의 분야에 있어서는 기존 항세균제의 낮은 생산 경비와 우수한 항균효과 때문에 상대적으로 연구 실적이 미비한 점이 없지 않았다. 그러나 근래에 들어서 천연 한약재 중에서 항세균효과 및 항암효과를 갖는 성분들에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 단풍나무에서 추출된 ginnalin(1), 황화호에서 추출된 astemismic acid(2), 황백이나 황련등에서 추출된 berberin, 감귤류의 과피에 포함된 성분인 hesperidin(3) 등의 항세균 효과를 비롯하여 충치 유발균인 *Streptococcus mutans* 증식 억제 효과를 가진 생약제 및 향신료(4), 초피 추출물의 항암효과(5), 심황(turmeric)으로부터 분리된 phenol 화합물의 항암효과(6) 등 다수가 보고된 바 있으며, 약용식물의 성분 중 flavonoids, alkaloids, glycosides, polyph-

enols 등 각종 성분의 항균, 항암효과가 알려져 있다. 또한 녹차를 비롯하여 식품 중에 함유된 성분을 분리하여 항균, 항암 및 각종 생리기능 효과에 관한 수많은 연구가 수행되어 있다(7-9).

본 실험에 사용한 재료인 *Xanthium strumarium* L.(한국명: 도꼬마리, 생약명: 창이자)은 국화과 식물로서 전국 각지에 널리 분포하고 있으며 특히 길가나 황폐지 등에서도 자생력이 강한 한해살이 풀로서 꽃이 지고 난 뒤 길이 1 cm 가량 되는 많은 가시를 가진 열매가 달리며 속에 있는 두 개의 씨가 한약재로 쓰이고 있다. 도꼬마리에 관한 연구는 중국산 도꼬마리(*Xanthium sibiricum* Patr. ex Widd)가 시초로서 열매의 씨(창이자)가 해열, 발한, 진통, 산풍, 거습, 케양성 피부병, 신경통 및 악성 종양에 효과가 있으며, 항균효과로서는 티푸스균, 이질균, 황색 포도상 구균에 저해효과가 있다고 알려져 있다. 창이엽에는 거풍습, 진통, 해열, 살충 등 다양한 효능이 있다고 알려져 있다(10-12). 창이자에 함유된 성분으로는 γ -lactone인 xanthinin과 carotenoid, alkaloid, saponine, xanthostrumarin 및 oleic acid 등이 알려져 있으나 체계적으로 분리 정제된 특정 성분의 약리 작용은 알려져 있지 않다. 또한 한국산 도꼬마리로부터 분리 정제된 성분의 약리효과에 관한 체계적인 연구는 미흡하며, 단지 도 등(13)이 보고한 도꼬마리 종자중의 지질성분에 관한 연구가 있을 뿐이다. 이들 도꼬마리가 민간요법으로 습진등의 피부병 치료에 이용되고 있다는 점과 다양한 약리작용을 한다는 점으로부터 항균성, 항암성 물질의 존재가 예상된다.

*Corresponding author

Tel. 82-53-580-5284, Fax. 82-53-580-5164

E-mail: hskim@kmucc.keimyung.ac.kr

Key words: *Xanthium strumarium* L., Antimicrobial activity

본 연구는 한국산 도꼬마리로부터 항균 및 항암효과가 있는 물질을 규명하기 위한 일환으로서, 도꼬마리 각 부위로부터 추출한 성분이 세균 및 진균 등에 대한 광범위한 항균효과를 가진다는 점과 이들 항균성 물질을 분리 정제한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에서 사용된 재료는 경남, 경북 지역의 산야에 자생하는 *Xanthium strumarium* L.(한국명: 도꼬마리)을 1995년 10월 중 채취하여 음건, 세절한 후 사용하였다.

시료의 조제

도꼬마리 추출액의 조제는 열매, 잎 및 줄기를 대상으로 하여 시료 100 g을 실험 내용에 따라 methanol, ethylacetate 및 열수로 3회 추출하여 evaporator(EYELA Co. Japan)로 감압농축하였다.

이들 농축 시료는 일정량을 각각의 추출 용매에 용해시켜 filter paper로 여과한 후 수지성분 및 유독성분(11)으로 알려진 불용성의 황색물질인 Xanthostrumarin 배당체를 제거하여 항균용 검사 시료로서 사용하였다.

시험균주 및 사용배지

도꼬마리 추출물의 항균효과를 검토하기 위하여 본 실험에 사용한 시험균주는 그람 양성세균 12종, 음성세균 8종 및 진균류 5종을 선정하여 사용하였다.

시험균주의 생육배지는, 세균의 경우 LB agar(tryptone 10 g, NaCl 10 g, yeast extract 5 g/l) 및 Mueller Hinton agar(Difco Co.)를, 효모류는 PGY agar(peptone 20 g, yeast extract 10 g, glucose 20 g/l) 그리고 곰팡이인 *Asp. fumigatus*는 YM agar(yeast extract 3 g, malt extract 3 g, peptone 5 g, glucose 10 g/l, pH 5.5)를 사용하였다.

항균력 및 Minimal Inhibitory concentration(MIC) 측정

Paper disc 법 각 시험균주를 18~24시간 배양한 후 (*Asp. fumigatus*는 7일 배양한 slant로부터 조제한 spore 용액 사용) $10^6 \sim 10^7$ cells/ml되게 petri dish에 도말한 다음 paper disc($\phi 6$ mm, Advantec Co.)에 각종 시료를 첨가하여(유기용매 추출획분은 용매 건조 후) 얹고, 25°C(효모, 곰팡이)와 37°C(세균)에서 24~48 시간 배양하였다. 항균력은 clear zone의 유무로써 확인하였으며 MIC는 시험균의 생육이 저해되는 최저 농도로써 결정하였다.

FDA(fluorescein diacetate)법 Chand 등(14)의 방법을 변형하여 사용하였다. 즉, 대수증식기의 시험균 175 μ l와 시료 20 μ l를(각 시료당 3점씩) 96well microplate

에 넣고 30°C에서 40분간 배양 후 0.2% FDA(acetone에 용해) 5 μ l를 첨가하여 90분간 배양을 계속하였다. 항균 효과는 microplate reader(Bio-rad Co. Model 550)를 사용하여 시험균이 생산하는 esterase에 의한 FDA 분해 산물인 fluorescein 생성량을 흡광도 490 nm에서 그리고 균생육도는 655 nm(Reference)에서 측정하였으며, 항균 효과는 시료의 첨가 및 미첨가의 차이로서 확인하였다.

항균성 물질의 안정성 조사

항균성 물질의 안정성을 검토하기 위하여 열수추출물을 대상으로 산성(pH 3.0, 1 N HCl로 조정) 및 알칼리성(pH 10.0, 1 N NaOH로 조정)하에서 1시간 방치 후 중성(pH 7.0)으로 조절하여 항균력을 검토하였으며, 열처리하는 동일 시료를 120°C, 1기압에서 20분간 가열 처리한 다음 항균활성을 검토하였다. 처리 시료의 항균력은 시험균 *B. subtilis* PCI 219 및 *E. coli* K-12주를 대상으로 하여 시료 20 μ l를 사용하여 paper disc법으로 확인하였다.

항균성 물질의 분리정제

항균성 물질의 분리 정제는 Fig. 1에서 보인 바와 같이 도꼬마리 500 g(열매 및 잎, 줄기)을 2 l의 증류수를 사용하여 3회 열수추출하여 감압농축한 다음(200 ml) 2배량의 ethylacetate에 3회 추출하여 무수 Na_2SO_4 로 건조 후 농축하였다. 농축물을 50 ml의 ethylacetate로 용해시켜 불용성분을 여과한 다음, 활성탄 column($\phi 3.5 \times 50$ cm, Merck Co.)에 흡착시킨 후 CH_2Cl_2 -methanol(94:6) 용매로 항균성 물질을 용출시켜 농축하였다(0.343 g). 농축한 활성 획분을 silica gel 60 column($\phi 3.5 \times 60$ cm, Merck Co.)에 충전하여 CH_2Cl_2 -methanol(94:6) 용매로 항균성

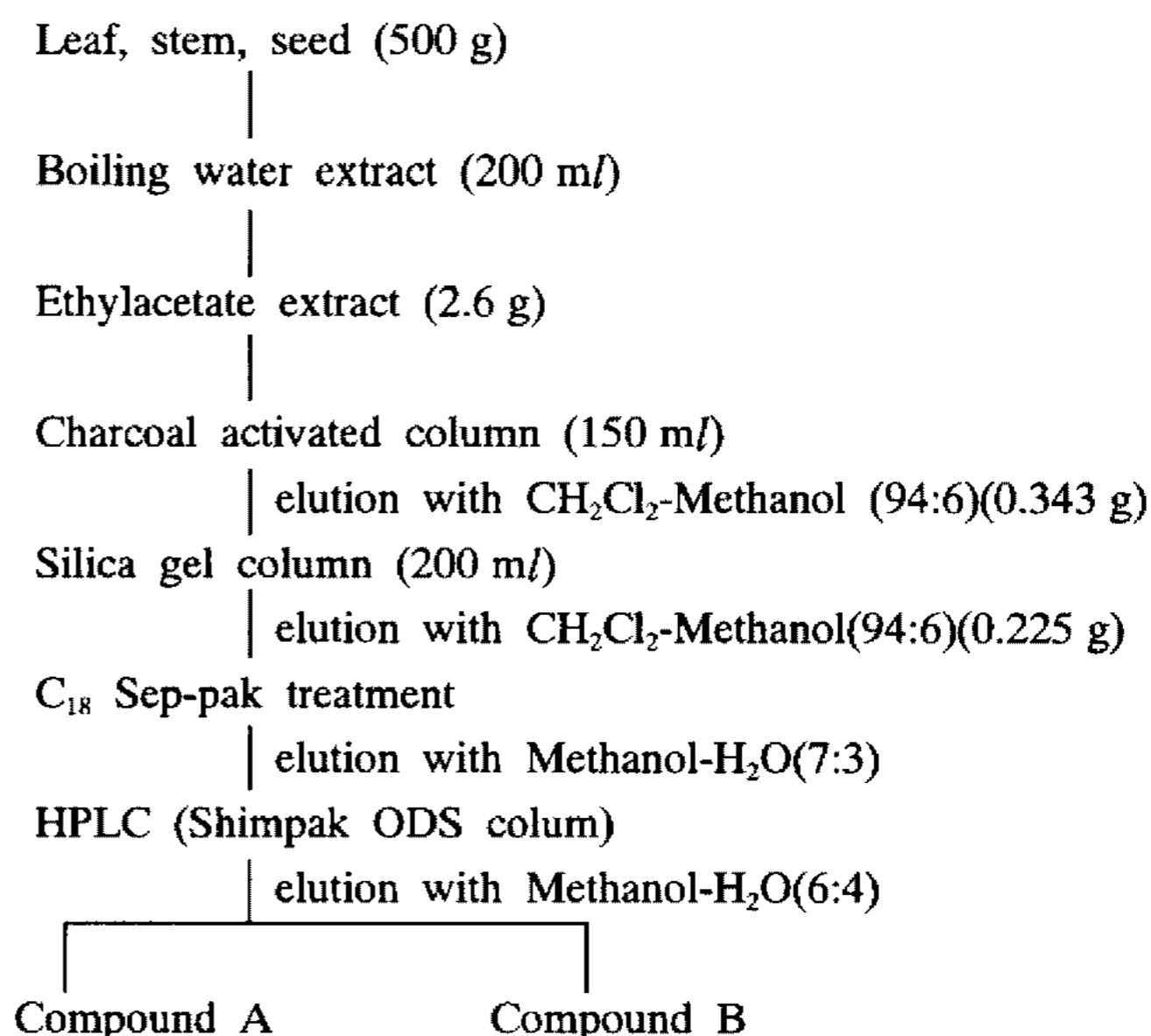


Fig. 1. Scheme for isolation of antimicrobial compound A and B.

물질을 용출하였다. 용출시킨 활성획분을 농축하여 소량의 methanol에 용해시켜 전처리용 sep-pak cartridge (C₁₈, Waters Co.)에 흡착시킨 다음 methanol-water(7:3)를 사용하여 활성 성분을 수회 분취하여 농축하였다. 농축한 항균성 획분을 methanol에 용해시켜 역상계 HPLC(Shimadzu LC-10AD, Shimadzu Shimpak column C₁₈, MeOH:H₂O=6:4, UV 254 nm)를 이용하여 항균성 물질 A, B를 정제하였다. 정제과정 중 항균성 물질의 확인은 *B. subtilis* PCI 219 및 *E. coli* K-12주를 사용하여 agar diffusion법으로 확인하였으며, 정제표품 A, B의 항균효과는 agar diffusion법 및 FDA법으로 재확인하였다.

결과 및 고찰

도꼬마리 부위별 추출물의 항균효과

중국산 도꼬마리의 경우, 趙博學(12)은 창이자(열매)의 分齊에 의한 항균조사 결과 티푸스균, 이질균, 황색포도상 구균에 대하여 성장을 억제하는 작용이 있음을 보고하였다. 따라서 본 실험에서는 한국산 도꼬마리의 열매 및 잎, 줄기를 각각 열수추출, methanol 및 ethylacetate로 추출하여 추출물의 항균활성을 검토하였다.

Table 1의 결과에서 보인 바와 같이 열매 뿐 아니라 잎, 줄기의 추출물에서도 *E. coli* K-12 및 *B. subtilis* PCI 219에 강한 항균력을 나타내었으며, 효모인 *H. anomala*의 경우 다소 낮은 항균력을 보였다. 또한 항균성 물질은 열수뿐만 아니라 유기용매인 methanol, ethylacetate에서도 용출되었으며, 유기용매를 사용한 경우 *E. coli* K-12를 제외하고 열수추출보다 다소 높은 항균효과를 나타내었다.

각종 추출물의 항균 spectrum

Table 1의 결과에서 추출용매에 따른 항균력의 차이를 나타냄에 따라 각 추출물을 Gram(+)세균(12균주), Gram(-)세균(8균주), 효모(4균주), 곰팡이(1균주)를 대상으로 하여 항균 spectrum을 MIC로써 비교하였다. 열매 및 잎, 줄기에서 유사한 항균력을 가지므로 도꼬마리

(열매, 잎, 줄기 포함) 100 g씩을 각각 열수, methanol 그리고 ethylacetate로 추출하여 각각 27 g(농축액), 0.98 g(건조중량), 0.82 g(건조중량)을 얻었으며, 각 농축시료를 각각의 추출 용매에 용해시켜 농도별로 항균력을 측정하였다. Table 2의 결과에서 보인 바와 같이 추출물의 MIC를 기준으로 하여 항균력은 ethylacetate, methanol, 열수추출의 순으로 항균효과가 뛰어났으며, 항균 spectrum은 Gram(+)균 대다수에 우수한 효과를 보였으며, Gram(-)균의 일부 및 효모, 곰팡이 등 진균에도 항균활성을 나타내었다. 이 결과는 趙(12)가 보고한 황색 포도상 구균에 대한 항균효과와는 일치하나 티푸스균에 대한 항균력에서는 차이를 나타내었다. 따라서 본 실험의 결과로써 Gram(-)균의 일부를 제외하고 세균 및 진균에 대한 광범위한 항균효과를 가진다고 사료되었다.

항균성 물질의 안정성 조사

항균성 물질의 분리 정제를 위한 특성을 검토하기 위하여 항균성 물질의 간단한 성질을 조사하였다. Table 2의 실험에서 조제한 열수 추출물을 사용하여 가압가열처리(120℃, 1기압, 20분), 산(pH 3.0) 및 알칼리(pH 10.0)처리를 수행하였다. 처리한 각 시료를 중성(pH 7.0)으로 조정하여 다음, 각 처리 시료 20 μl의 항균력을 조사한 결과, Table 3에서 보인 바와 같이 가압가열처리시에는 미처리 시료에 비해 항균력의 변화가 없었으나, 산 처리의 경우 50%이상 실활을 보였으며 알칼리 처리시는 완전히 실활되었다. 이들 결과로부터 본 항균성 물질이 열에는 매우 안정하다고 판단되었으며, 열수추출물의 pH가 5.5(결과 미제재)인 점에서 알칼리보다 산성에서 다소 안정하다고 사료되었다.

항균성 물질의 분리정제

항균성물질의 분리 및 정제는 Fig. 1에서 보인 바와 같이 도꼬마리 500 g을 3회 열수추출하여 200 ml되게 농축한 다음 ethylacetate로 추출하여 감압 농축하였다(2.6 g). Ethylacetate추출액은 활성탄 column에 흡착시켜 CH₂Cl₂-methanol(94:6)조성의 용출조건에서 13%(0.343 g)의 수율로 항균성 획분을 얻었다. 이 과정에서 상당수

Table 1. Antimicrobial activity by the various extracts of *Xanthium strumarium* L.

Strains	Seeds			Leaves and stems		
	Boiling water extract	Methanol extract	Ethylacetate extract	Boiling water extract	Methanol extract	Ethylacetate extract
	Inhibitory zone (φ, mm)					
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	16	20	21	19	21	21
<i>Escherichia coli</i> K-12	23	19	17	25	17	17
<i>Hansenula anomala</i> B-7	10	12	15	11	13	12

Each sample was prepared as described in Materials and Methods. Antimicrobial activity was tested by paper disc method using 20 μl of each extract. Bacteria and Yeast were incubated for 24 hours at 37℃ and 25℃, respectively.

Table 2. MIC of the extracts against various strains by agar diffusion method using paper disc

Strains	Boiling water	Minimal inhibitory concentratin (MIC, mg)	
		Methanol extract	Ethylacetate extract
Gram(+)			
<i>Micrococcus smegmatis</i> KCTC 1057	0.5	0.1	0.1
<i>Streptococcus lactis</i> IFO 12007	1	0.5	0.05
<i>Streptococcus equii</i>	0.5	0.05	0.05
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1927	5	0.5	0.2
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 29212	10	0.5	0.5
<i>Streptococcus zooepidermicus</i>	0.5	0.2	0.05
<i>Bacillus subtilis</i> KCTC 1929	1	0.05	0.05
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	0.5	0.1	0.05
<i>Bacillus licheniformis</i> IFO 12197	0.5	0.2	0.1
<i>Bacillus stearothermophilus</i> IFO 12550	0.5	0.2	0.1
<i>Bacillus megaterium</i>	1	0.5	0.5
<i>Micrococcus phlei</i> KCTC 1932	0.5	0.5	0.05
Gram (-)			
<i>Escherichia coli</i> KCTC 1923	1	0.5	0.2
<i>Escherichia coli</i> K-12 IFO 03301	0.1	0.05	0.05
<i>Enterobacter aerogenes</i> KCTC 2190	- ^a	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	-	-	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i> KCTC 1645	5	0.2	0.05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KCTC 1930	-	-	-
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 1926	-	-	-
Fungi			
<i>Hansenula anomala</i> B-7	5	1	1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5	2	2
<i>Candida albicans</i> KCTC 1940	5	2	0.5
<i>Cryptococcus neoformans</i> KCTC 7003	1	0.2	0.1
<i>Aspergillus fumigatus</i> IFO 5840	1	0.5	0.5

^aNo growth after 18 hours incubation at 37°C with 5mg of extract.

Table 3. Antibacterial effect of the boiling water extract under various conditions

Strains	Treatment			
	None	Heat ^a	Acid ^b	Alkali ^c
Inhibitory zone (φ, mm)				
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	19	18	9	-
<i>Escherichia coli</i> K-12	24	23	12	-

^a120°C, 1 atm and 20 min. ^bpH 3.0. ^cpH 10.0.

의 엽록소 성분이 제거되었으며, 활성획분을 다시 silica gel column에 흡착시켜 앞의 동일 용매계에서 용출한 결과 66%(0.225 g)의 수율로 활성획분을 분리하였다. 다시 전처리용 sep-pak cartridge(C₁₈)를 수회 처리하여 methanol-H₂O(7:3) 용매로 활성 부분을 용출시켜 감압농축한 다음 HPLC용 시료로서 사용하였다. Sep-pak처리한 시료를 reverse phase HPLC(C₁₈)로써 분석하였다. HPLC profile은 Fig. 2의 (I)에서 보는 바와 같이 여러 개의 peak가 검출되었다. 각 peak의 항균활성을 조사하

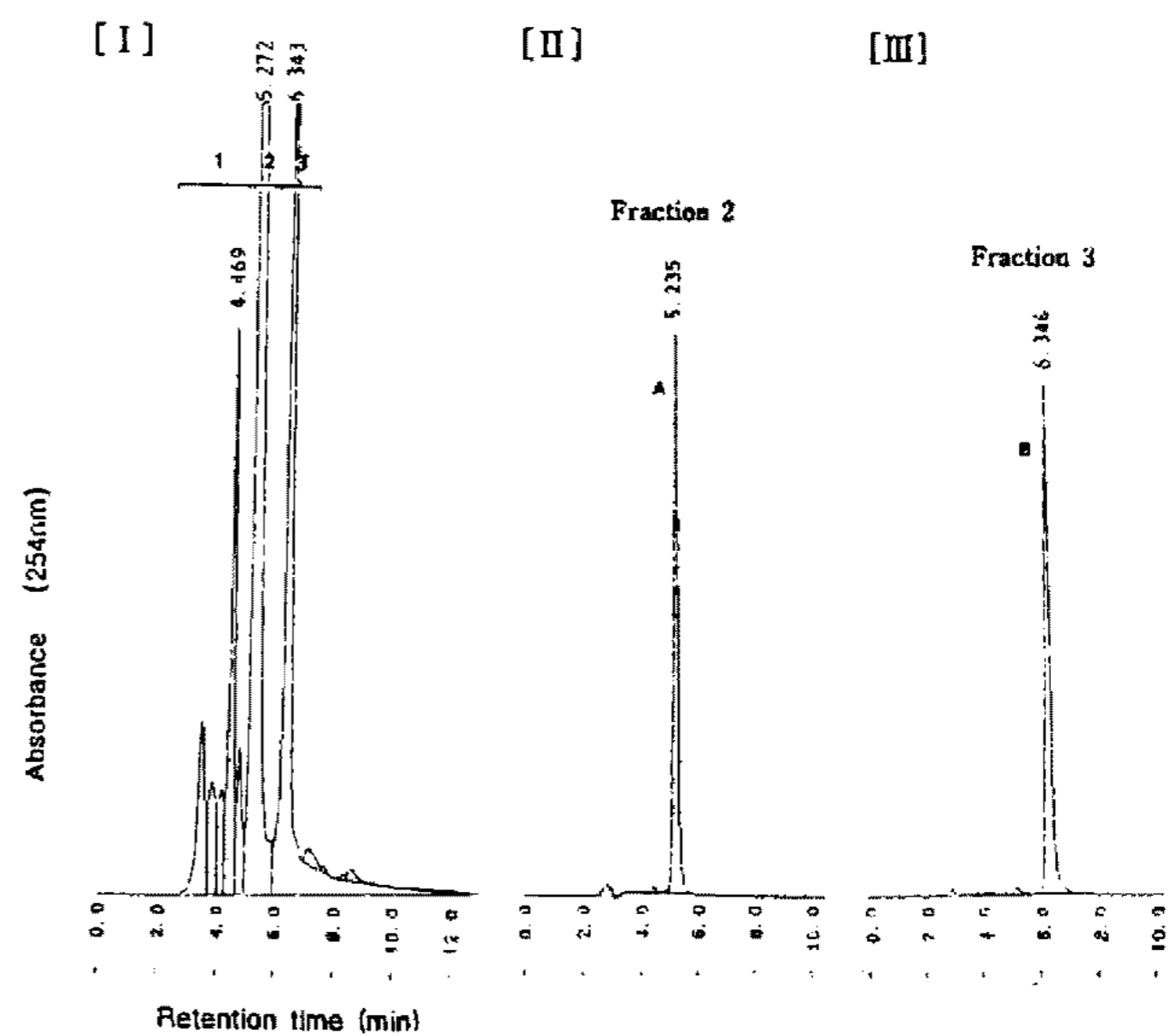


Fig. 2. HPLC chromatography of antimicrobial compounds. Each sample was eluted through an ODS column (Shimadzu Shimpak, 4.6×300 mm with 60% methanol at a flow rate of 1.0 ml/min and detected at 254 nm. [I]: Sep-pak(C₁₈) treatment, [II]: Compound A, [III]: Compound B.

기 위하여 retention time 3분~5분(fraction 1), 5분~6분(fraction 2), 6분~7분(fraction 3)의 3획분을 5회 분취하여 각각 60 µg, 80 µg, 75 µg을 얻었으며, 이들 획분은 *E. coli* K-12주 및 *B. subtilis* PCI 219를 대상으로 항균력을 검토하였다. Table 4에서 보는 바와 같이 fraction 1은 항균활성을 보이지 않았으며 fraction 2, 3은 비슷한 항균력을 나타내었다. 이 결과에서 항균활성을 보인 retention time 5.2분과 6.3분 peak를 수회 분취하여 각각 0.3 mg, 0.28 mg을 얻었으며, 동일조건에서 HPLC로써 확인한 결과, Fig. 2의 II, III에서 보인 바와 같이 단일 물질로서 peak A 및 B가 검출되었다. 이들 정제된 peak A와 B를 chromatopak integrator(Shimadzu Co. C-R7A, Japan)으로 분석한 결과 98% 이상 정제되었음을 확인하였다(결과 미제재).

정제물질 A 및 B의 항균 활성

Fig. 2에서 정제된 항균성 물질 A 및 B의 항균활성을 검토하기 위해 각 정제 표품을 사용하여 agar diffusion법 및 FDA(fluorescein diacetate)법으로 비교하였다. Paper disc를 사용한 agar diffusion법의 경우, 정제물질 A, B를 각각 10 µg, 20 µg을 *E. coli* K-12, *B. subtilis* PCI 219를 사용하여 항균효과를 검토한 결과, Fig. 3에서 보인 바와 같이 10 µg을 사용한 경우 물질 B는 *E. coli* K-12, *B. subtilis* PCI 219에 항균력을 보였으나, A는 항균효과를 나타내지 못하였다. 20 µg을 첨가한 경우 B보다 A가 *E. coli* K-12, *B. subtilis* PCI 219에 더 강한 항균효

Table 4. Antibacterial activity of fraction 1, 2 and 3 in the reverse phase HPLC analysis

Fractions (µg) ^a	<i>Escherichia coli</i> K-12	<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219
	Inhibitory zone (φ, mm)	
1(60)	-	-
2(80)	20	19
3(75)	19	18

^aEach fraction was prepared through the five runs of HPLC with an ODS column.

Table 5. Antimicrobial activity of the purified compound A and B in the fluorescein diacetate(FDA) method

Test strains	Compound A						Compound B					
	490 nm		655 nm				490 nm		655 nm			
	C ^a	S ^b	C-S	C	S	C-S	C	S	C-S	C	S	C-S
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.886	1.742	0.144	0.255	0.199	0.056	1.886	1.882	0.004	0.275	0.270	0.005
<i>Escherichia coli</i> K-12	2.174	2.131	0.043	0.442	0.283	0.159	2.193	2.150	0.043	0.476	0.369	0.107
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	2.123	2.107	0.016	0.295	0.253	0.042	2.156	2.149	0.007	0.300	0.295	0.005
<i>Hansenula anomala</i> B-7	0.850	0.852	-0.022	0.474	0.488	-0.014	1.088	1.007	0.081	1.047	1.041	0.006
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1.053	1.066	-0.013	0.716	0.747	-0.031	1.238	1.236	0.002	0.890	0.937	-0.047

FDA method was performed as described in Materials and Methods. The purified sample were dissolved in methanol and 20 µl(20 µg) solution of each concentration of the test substance or the methanol as control was added. ^aControl. ^bSample.

과를 나타내었다. 한편, agar diffusion법은 18~24시간이 소요되므로 휘발성 및 불안정한 시료에는 문제가 야기되며, agar속으로 시료의 확산율, 용해성 등 물리적 특성에 따라 MIC의 오차가 유발된다. 따라서 대다수의 미생물이 생산하는 비특이적 esterase에 의해 FDA가 분해되어 생성되는 fluorescein양을 흡수최대 파장인 490 nm에서 측정하는 FDA법(14)을 사용하여 정제물질의 항균활성을 조사하였다. Table 5에서 보인 바와 같이 정제물질 A, B 각 20 µg으로 항균효과를 검토한 결과, 물질 A의 경우 B보다 *S. aureus*, *E. coli* K-12, *B. subtilis* PCI 219의 esterase생산(Table 5, 490 nm) 및 균증식(Table 5, 655 nm)이 강하게 저해되었다. 진균의 경우 20 µg의 농도에서 *H. anomala* B-7에는 물질 B만이 항균효과를 나타내었으며, *S. cerevisiae*의 경우 A는 항균효과를 보이지 않았으나 B는 esterase생산(490 nm)에만 미약하게 저해하는 듯한 양상을 나타내었다. 이 결과는 앞에서 보인 추출물의 MIC(Table 2)가 진균의 경우 높게 나타난 점과 균에 따라 MIC가 다른 점에서 정제물질의 첨가량에 기인한다고 사료되었다. 따라서 주어진 첨가량(20 µg)에서는 정제물질 A는 항진균효과를 가지지 않는 반면, 항세균효과가 우수하며 B는 항세균효과와 항진균효과를 가진다고 판단되었다. 본 정제물질 A, B의 GC-Mass분석 결과(결

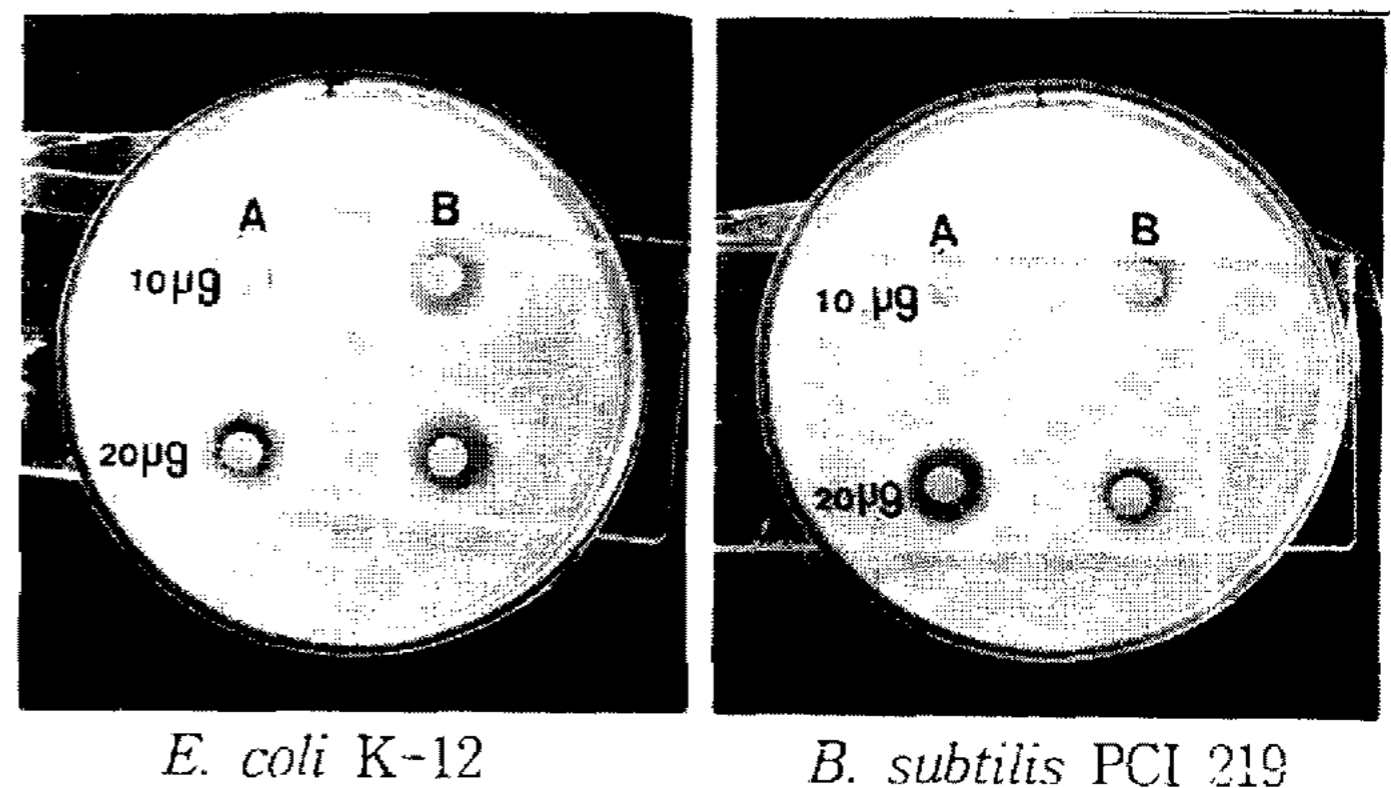


Fig. 3. Antibacterial activity of the purified compound A and B.

A: Purified compound A. B: Purified compound B.

과 미제재), 분자량이 각각 386과 230으로 서로 다른 물질임이 판명되었다. 또한 본 정제물질의 항균효과 이외의 항암효과, 항변이원성 등의 검토를 수행 중에 있으며 대량 분취하여 구조를 분석 중에 있다.

요 약

한국산 도꼬마리(*Xanthium strumarium* L.) 추출물의 항균효과를 검토하기 위해 열매, 줄기, 잎을 대상으로 하여 열수, methanol 및 ethylacetate로 추출하였다. 각 추출물의 항균효과는 agar diffusion법에 의한 MIC를 검토한 결과, ethylacetate 추출물의 항균효과가 가장 우수하였으며 Gram(-)세균의 일부를 제외한 Gram(+)세균, 효모, 곰팡이에 항균효과를 나타내었다. 항균성물질의 특성은 열수추출물을 열처리(120°C, 20분, 1기압), 산(pH 3.0) 및 알칼리(pH 10.0)처리한 결과, 열에는 안정한 반면 산처리의 경우 50%이상이 실활되었으며, 알칼리처리 시 완전히 실활되었다.

항균성물질의 정제는 열수추출, ethylacetate추출, 활성탄 및 silica gel column에 흡착, 용출하여 sep-pak(C₁₈) 및 HPLC(ODS column)로써 최종 정제하였다. 항균성물질 A, B는 HPLC로써 최종 분리하였으며 순도는 98% 이상이었다. 정제 표품 A 및 B를 agar diffusion법을 이용하여 항균활성을 검토한 결과, 20 µg 첨가시 A가 B보다 다소 높은 항균력을 보였으며, *B. subtilis* PCI 219보다 *E. coli* K-12에 다소 강한 활성을 나타내었다. 또한, fluorescein diacetate(FDA)법을 이용한 항균활성을 검토한 결과, 20 µg 사용의 경우에는 항균성물질 A는 Gram(+), Gram(-)균에 강한 생육저해 효과를 보였으나, 효모류에는 항균효과가 거의 없었으며, B는 세균 및 효모류에도 항균활성을 나타내었다.

감사의 말

본 연구는 1996년도 계명대학교 비사 연구기금으로 이루어졌음.

참고문헌

1. 채영복, 김완주, 지옥표, 안미자, 노영주. 1988. 한국유용 식물 자원 연구 총람. p. 2-3. 한국화학연구소, 대전.
2. 채영복, 김완주, 지옥표, 안미자, 노영주. 1988. 한국유용 식물 자원 연구 총람. p. 215-226. 한국화학연구소, 대전.
3. 한성순, 김수영, 유일준. 1986. 한국산 천연약품 자원에 관한 연구(IV), hesperidin 및 그 유도체의 항균작용. 충북대학교 약학논문집 1: 42-47.
4. 유영선, 박기분, 김영배. 1993. 생약재 및 향신료의 *Streptococcus mutans* 증식 억제 효과. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 21(2): 187-191.
5. 김소희, 박건영. 1993. 초파리 추출물의 항돌연변이 및 MG-63 암세포 증식 억제 효과. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 21(6): 628-634.
6. Nagabhushan, M. and S. V. Bhide. 1992. Curcumin as an inhibitor of cancer. *J. Am. Coll. Nutr.* 11: 192-198.
7. Senji, S., M. Kim, M. Taniguchi, and T. Yamamoto. 1989. Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a Cariogenic Bacterium. *Agric. Biol. Chem.* 53(9): 2307-2311.
8. Mizuno, M., M. Toda, N. Ueno, G. Danno, and K. Kanazawa. 1989. Desmutagenicity of a dibenzofuran-quinone derivative toward the mutagenicity of Trp-p-2, *Agric. Biol. Chem.* 53(4): 959-964.
9. Dkai, Y., T. Eksttikul, O. Svendsby, M. Iizuka, K. Ito, and N. Minamiura. 1993. Antitumor activity in an extract of Thai rice seedling. *J. Ferment. Bioeng.* 76(5): 367-370.
10. 문관심. 1991. 약초의 성분과 이용. p. 634-635.
11. 中藥研究文獻摘要, 1975. Pp 332(1952. 呂治華 報告. 生物學通報, 1卷1期).
12. 中藥研究文獻摘要, 1975. Pp 333(1956. 趙博學 報告. 中醫雜誌, 1號).
13. 도재철. 1983. 한국산 도꼬마리 종자중의 지질성분에 관한 연구. 자원 문제 연구 논문집 2(1): 85-91.
14. Chand, S., I. Lusunzi, D. A. Veal, L. R. Williams, and P. Karuso. 1994. Rapid screening of the antimicrobial activity of extracts and natural products. *J. Antibiotics* 47: 1295-1304.

(Received 16 December 1996)