

## 식물 추출물의 *Pityrosporum ovale* 및 *Candida albicans*에 대한 항진균 활성

장소영\* · 유시용<sup>1</sup> · 김성덕

충남대학교 자연과학대학 생물학과, <sup>1</sup>한국화학연구원 생명화학연구부

### Antifungal Activity of Plant Extracts against *Pityrosporum ovale* and *Candida albicans*

So Young Jang\*, Shi Yong Ryu<sup>1</sup>, and Seong Deog Kim

Department of Biology, Chungnam National University, Taejon 305-764 and  
<sup>1</sup>Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejon 305-343, Korea

**Abstract** – For the purpose of searching for the new antifungal agent from the plant origin, we have examined twenty seven species of medicinal plants for the antifungal activity against *Candida albicans* and *Pityrosporum ovale*. The whole MeOH extract of each plant material and the *n*-hexane and EtOAc fractions were evaluated individually for the antifungal activity. Among the test materials, the fractions from the root bark of *Zanthoxylum schinifolium*, *Zanthoxylum piperitum* and *Citrus unshiu* showed significant antifungal activities in a dose dependent manner against *Pityrosporum ovale* and *Candida albicans*, respectively.

**Key words** – *Pityrosporum ovale*, *Candida albicans*, antifungal agents, *Zanthoxylum schinifolium*

최근 합성 의약품의 부작용과 독성에 대하여 많은 임상 예들이 자주 보고 됨에 따라 천연물로부터 보다 안전한 새로운 형태의 의약품의 개발을 위한 연구가 전 세계적으로 다시 활발히 진행되고 있다.<sup>1)</sup> 한편, 식물은 동물과는 달리 스스로 이동할 수 없기 때문에 여러 가지 주위 환경에 의한 스트레스로부터 회피하기 위하여 혹은 스스로를 보호하기 위해 많은 종류의 이차대사산물을 체내에 축적하고 있으며 이들 축적된 이차산물들은 종종 유용한 의약품의 자원으로 활용된다고 알려져 있다.<sup>2)</sup> 실제로 미국의 경우 현재 가장 많이 사용되고 있는 150여종의 처방약 가운데 118종이 천연자원에 근간을 두고 있다. 그 중 식물자원으로 유래된 의약품이 74%, 곰팡이 등 진균류 유래의 의약품이 18%, 박테리아로 얻어진 의약품이 5%를 차지하고 있다고 보고되어 있다.<sup>3)</sup>

진균류(fungi)는 자연계에서 널리 존재하며 종종 사람들에게 무좀, 백선 등 여러 가지 질병을 일으키고 있다. 근래

에 들어 광범위 항생물질 및 면역 억제제의 남용 등에 의한 기회성감염증의 증가로 진균 감염증은 그 중요성이 증대되고 있다.<sup>4)</sup> *Candida albicans*는 가장 많은 질병을 유발하는 진균 감염원으로 인체의 면역력이 저하되었을 때 기회감염으로 발생되며,<sup>5)</sup> *Pityrosporum ovale*는 filamentous form으로 성장하는 비듬의 원인균으로 과다한 땀 분비와 스트레스에 의해 종종 감염된다.<sup>6)</sup> 진균감염증의 치료를 위해 현재 사용되고 있는 대표적인 항진균제는 ketoconazole, itraconazole, terbinafine 등을 들 수 있다.<sup>7)</sup> 이들 항진균제는 terbinafine을 제외하고는 모두 정균작용에 따라 항진균 효과를 나타내기 때문에 장기적인 투여를 요하게 되어 간장 및 신장독성유발, 두통 및 피부 과민 반응 등의 부작용이 나타나고 치료가 끝난 후에도 재발되기 쉬운 문제점을 갖고 있다.

한편 식물 추출물의 항진균 활성에 대한 연구는 Bang<sup>8)</sup>이 계피나무로부터 항진균성 trans-cinnamaldehyde의 작용기전 및 구조활성에 관해 보고한 바 있다. 또한 Thouvenel 등<sup>9)</sup>이 *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium*의 줄기 수피로부터 분리한 알칼로이드 추출물의 *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton mentagrophytes*

\*교신저자(E-mail) : syhelenah@hanmail.net  
(FAX) : 042-860-7160

var. *interdigitale* 균주에 대한 항진균능을 측정된 보고가 있다. Chaaib 등<sup>10)</sup>은 *Fagara zanthoxyloides*의 뿌리 수피로부터 항진균, 항산화 물질을 분리하고 7가지 활성 물질의 화학구조를 밝힌바 있다. Abreu 등<sup>11)</sup>은 *Zanthoxylum rhoifolium*의 잎, 열매, 꽃으로부터 48가지 화합물을 분리하고 화학구조를 밝혔으며, 이들 화합물의 *Staphylococcus aureus* 균주에 대한 항균력을 연구한 바 있다. Chen 등<sup>12)</sup>은 산초나무 뿌리 껍질로부터, 새로운 8개의 coumarin류를 분리하였고, 분리된 terpenyl-coumarins과 furoquinolines이 항혈전에 효능이 있음을 밝힌바 있다. 또 이 중 collinin은 anti-HBV DNA replication activity가 있음을 보고하였다. 한편 조 등<sup>13)</sup>은 산초나무 줄기의 메탄올 추출물로부터 분리한 lacinartin이 Monoamine oxidase에 대해 저해활성을 나타낸다고 보고하였다. 한편 기존의 연구에 의하면 항진균 물질의 개발에 따른 여러 가지 부작용이 적은 생물학적 치료제들은 아직 많은 효과를 기대하기에 미흡한 실정이므로 아직도 항진균 화학물질의 탐색이 절실히 필요한 실정이다.

본 연구에서는 운향과 식물들이 비교적 다른 식물들에 비해 뿌리가 잘 썩지 않고 여러 가지 병원성 세균에 대한 항균작용이 있다는 보고<sup>14)</sup>를 근거로 하여 현재 사용되고 있는 합성 항진균제에 비해 독성과 부작용이 없거나 적으며, 광범위하고 내성이 없는 항진균 물질을 탐색하기 위해 운향과 식물을 포함하여 총 27종의 식물을 대상으로 *P. ovale* (KCCM 11894) 및 *C. albicans* (ATCC 10231) 두 진균에 대해 항진균 활성을 검색하였다.

## 실험재료 및 방법

**실험재료 및 시약** - 항진균 실험에 사용된 Sabouraud's agar(SA), Luria-Bertani(LB) broth는 Difco제품이며, 실험에 사용한 진균은 *P. ovale*(KCCM 11894)과 *C. albicans* (ATCC 10231)으로 한 달에 한번씩 계대배양하며 사용하였다. 실험에 사용한 생약재는 서울 경동시장에서 구입하여 감정을 받아 본 실험에 사용하였고, 운향과 식물과 그 외 식물은 충청남도 공주 야산과 계룡산에서 채집 후 감정을 받아 본 실험에 사용하였다. 기타 실험에 사용한 시약 및 용매류는 국내외에 시판하는 특급시약을 사용하였다.

**시료의 추출** - 각 생약시료는 건조 후 세말로 만든 후 시료 100 g당 메탄올 4 l를 넣고 mantle 추출기에서 총 12시간 3회 추출하였다. 추출액은 여과지로 여과한 후 감압건조하여 메탄올 추출물을 조제하였다. 이 메탄올 추출물을 증류수 500 ml에 현탁시키고 핵산, 에틸아세테이트로 단계적으로 용매분획하여 핵산 가용분 및, 에틸아세테이트 가용분을 얻었다. 실험직전에 각각 해당용매에 1 g/ml, 100 mg/ml

의 농도로 녹인 후 실험에 사용하였다.

**항진균 활성 실험** - 각 생약시료의 *C. albicans*에 대한 항진균 활성도의 측정은 디스크 확산법<sup>15)</sup>을 사용하였다. *C. albicans*는 Sabouraud's broth(SB)에 접종하여 30°C, 100 rpm으로 12시간 진탕 배양하였다. 10<sup>5</sup> CFU/ml *C. albicans* 균주 2.5 ml을 47°C로 유지된 Sabouraud's top agar 50 ml에 넣고 잘 섞은 후 미리 준비한 SA plate에 7 ml씩 분주하였다. 1시간 후 1 g/ml, 0.1 g/ml로 조제된 생약추출물 시료를 멸균된 disc(직경 8 mm)에 적셔 plate에 올려놓고 30°C에서 24시간 배양한 뒤 *C. albicans*의 억제 정도를 관찰하였다.

*P. ovale*에 대한 항진균 활성도의 측정은 생진균수 측정법<sup>16)</sup>을 사용하였다. *P. ovale*는 LB broth에 접종하여 30°C, 100 rpm에서 약 72시간 동안 진탕 배양하였다. 4×10<sup>4</sup> CFU/ml *P. ovale* 균 90 μl에 1 g/ml, 0.1 g/ml로 조제된 생약추출물 시료 10 μl를 섞은 후 30°C에서 2시간 동안 반응시켰다. 그 다음 반응 시킨 각각의 시료를 SA plate에 넣어 spreading 하였다. 그 후 30°C 배양기에서 48시간 동안 배양한 후 *P. ovale* 균의 억제 정도를 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

운향과 식물을 포함한 총 27종의 식물의 메탄올 추출물 및 핵산, 에틸아세테이트 분획을 대상시료로하여 *P. ovale*, *C. albicans* 균에 대한 항진균 효과를 측정하였다.

Table I에서 보는 바와 같이 항진균 활성을 평가한 총 27종의 식물 추출물 중에서 *P. ovale* 및 *C. albicans*에 가장 강한 항진균 활성을 나타낸 것은 산초나무(*Zanthoxylum schinifolium*) 핵산 분획물이었다. *C. albicans*의 경우 핵산 분획물의 저지환이 1 g/ml에서 20 mm이었으며, *P. ovale*의 경우 1 g/ml, 0.1 g/ml 농도에서 100% 균주가 억제되었다. 산초나무 메탄올 추출물의 경우는 1 g/ml 농도에서 *C. albicans*에 대한 저지환은 15 mm미만이었으며, *P. ovale*는 1 g/ml 농도에서 100% 균주가 억제되었다. 그리고 초피나무(*Zanthoxylum piperitum*) 에틸아세테이트 분획물의 경우 *P. ovale*는 1 g/ml 농도에서 100% 균주가 억제되었다. 귤나무(*Citrus unshiu*) 핵산 분획물과 황벽나무(*Phellodendron amurense*) 메탄올 추출물은 *C. albicans*에 대한 저지환이 1 g/ml 농도에서 15 mm로 나타났다.

저지환이 10 mm이상으로 *C. albicans*에 대하여 활성을 나타내는 식물추출물은 모두 5종이며, 그 중 활성이 가장 강한 종은 산초나무의 핵산 분획물이었다. 한편 *P. ovale*에 대하여 활성을 나타내는 식물추출물은 5종으로 역시 그 중 활성이 가장 강한 종은 산초나무의 핵산 분획물이었다.

산초나무의 핵산 분획물은 *C. albicans*에 대하여 1 g/ml

**Table I.** Antifungal activity of plants against *Candida albicans* and *Pityrosporum ovale*

Korean name	Scientific name	Parts used	<i>Candida albicans</i>			<i>Pityrosporum ovale</i>		
			MeOH	Hex.	EtOAc	MeOH	Hex.	EtOAc
귤나무*	<i>Citrus unshiu</i>	root bark	-	++	-	++	+	-
금감*	<i>Fortunella japonica</i> var. <i>margarita</i>	root bark	-	-	-	-	-	-
단풍취	<i>Aiinsliaea acerifolia</i>	root	-	-	-	-	-	-
딱총나무	<i>Sambucus williamsii</i> var. <i>coreana</i>	root	-	-	-	-	-	-
매죽나무	<i>Styrax japonicum</i>	root	-	-	-	-	-	-
두충*	<i>Eucommia ulmoides</i>	cortex	-	-	-	-	-	-
마황*	<i>Ephedra sinica</i>	root	-	-	-	-	-	-
모과나무*	<i>Chaenomeles sinensis</i>	root	+	-	-	-	-	-
백선피*	<i>Dictamnus dasycarpus</i>	radicis cortex	-	-	-	-	-	-
뽕나무	<i>Morus alba</i>	root	-	-	-	-	-	-
산사나무	<i>Crataegus pinnatifida</i>	root	-	-	-	-	-	-
생강나무	<i>Lindera dbtusiloba</i>	root	-	-	-	-	-	-
산초나무	<i>Zanthoxylum schinifolium</i>	root bark	++	+++	-	+++	+++	++
상황*	<i>Phellinus linteus</i>	whole part	-	-	-	-	-	-
상산*	<i>Orixa japonica</i>	root	-	-	-	-	-	-
쉬나무	<i>Evodia daniellii</i>	root	-	-	-	-	-	-
영지*	<i>Ganodema tsugae</i>	whole part	-	-	-	-	-	+
오수유	<i>Evodia officinalis</i>	root	-	-	-	-	-	-
유자나무*	<i>Citrus junos</i>	root bark	-	-	-	-	-	-
유피*	<i>Citrus grandis</i>	pericarpium	-	-	-	-	-	-
오가피	<i>Acanthopanax gracilistylus</i>	root	-	-	-	-	-	-
천초*	<i>Zanthoxylum bungeanum</i>	pericarpium	-	-	-	-	-	-
초피나무	<i>Zanthoxylum piperitum</i>	root bark	+	+	+	++	-	+++
측백나무	<i>Thuja orientalis</i>	root	-	-	-	-	-	-
탱자나무	<i>Poncirus trifoliata</i>	root bark	-	-	-	-	-	-
황벽나무	<i>Phellodendron amurense</i>	root bark	++	+	-	-	-	-
향유	<i>Elsholtzia ciliata</i>	root	-	-	-	-	-	-

\*The plant materials was purchased from Kyung dong Herbal maket in Seoul and pharmacognostically identified.

The antifungal activity was represented as *Candida albicans* -: no inhibitory zone, + : <10 mm, ++ : < 15 mm, +++ : < 20 mm in diameter. The antifungal activity was represented as *Pityrosporum ovale* -: inactive, + : > 400 colonies/plate, ++ : > 200 colonies/plate, +++ : 0 colony/plate.

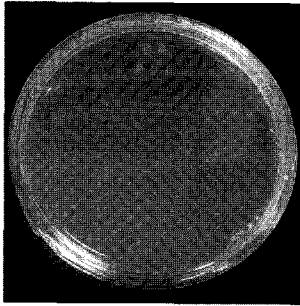
농도에서 저지환이 20 mm 이상이였으며, 0.1 g/ml 농도에서는 10 mm이었다. 한편 *P. ovale*에 대해서는 1 g/ml, 0.1 g/ml 농도 모두에서 100% 균주가 억제되었다(Plate 1).

산초나무는 여러 가지 병원성 세균에 대한 항균작용이 있다고 보고되어 있으므로<sup>14)</sup> 본 연구의 결과와 잘 일치하고 있다. 또 terpenoids, alkaloids, aliphatic 및 aromatic compounds 등의 다양한 구조와 극성의 성분들이 항진균 활성을 발현하는 것으로 보고된바 있으며<sup>8)</sup> 또 산초나무의 뿌리와 줄기에는 알칼로이드, 마그노플로빈 등의 성분이 함유되어 있다고 보고<sup>14)</sup>되었다. 황벽나무에도 알칼로이드 성분이 확인된 보고가 있다.<sup>17)</sup>

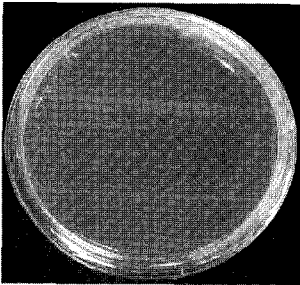
1970년대에 개발되어 임상에서 가장 대표적으로 사용되고

있는 imidazole 및 triazole계의 합성 진균제인 ketoconazole, clotrimazole, itraconazole과 fluconazole의 등장<sup>18)</sup>에 이르기 까지 지난 60여 년간에 걸쳐 진균감염증의 치료를 위해 보다 효과적이며 새로운 계열의 안전한 항진균제의 개발을 위한 연구는 계속되어 왔다. 한편 이들 기존의 항진균제들은 rat에 대한 LD<sub>50</sub> 값이 320 mg 및 227 mg/ml으로서 비교적 강한 독성을 나타내고 있는 실정이다. 이러한 연유로 식물 추출물 등 천연물로부터 보다 저독성의 항진균 물질을 탐색하는 연구가 절실히 요구되고 있다.

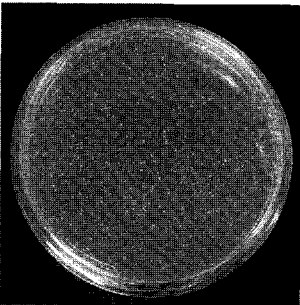
따라서 본 실험에서 나타난 바와 같이 산초나무 추출물 등 항진균 활성을 나타내는 식물 추출물들은 향후 보다 안전한 항진균제의 원료로 활용될 수 있으리라 사료된다. 이

① *Pityrosporum ovale*

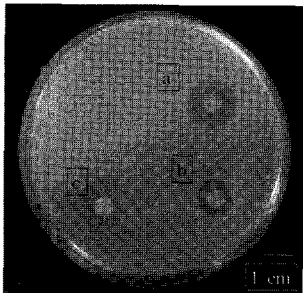
Hexane 1



Hexane 2



Control

② *Candida albicans*

**Plate 1.** Antifungal activities of *Zanthoxylum schinifolium* hexane fraction against *Pityrosporum ovale* and *Candida albicans*.

① Control : non-treated.

Hexane 1: Hexane soluble part was treated as a concentration of 1.0 g/ml.

Hexane 2: Hexane soluble part was treated as a concentration of 0.1 g/ml.

② a : Hexane soluble part was treated as a concentration of 1.0 g/ml.

b : Hexane soluble part was treated as a concentration of 0.1 g/ml.

c : non-treated control.

들을 임상적으로 응용하기 위해서는 현재 사용되는 대조약 제와의 비교실험과 피부에 질병을 일으키는 많은 진균들에 대한 추가적 실험이 요구되며 분획물 또는 순수하게 정제된 단일물질을 분리해 항진균에 대한 추가 실험이 필요할 것으로 사료된다.

## 결 론

*Citrus unshiu* 등 27종의 식물추출물을 대상시료로하여 생진균수 측정법과 디스크 확산법에 준하여 *P. ovale* 및 *C. albicans*에 대한 항진균 활성을 검색하여 본 결과 *Zanthoxylum schinifolium*, *Zanthoxylum piperitum*, *Citrus unshiu*, *Phellodendron amurense* 등의 추출물이 우수한 항진균 효과를 나타내었다. 특히 *Zanthoxylum schinifolium*의 메탄올 추출물 및 헥산 분획물은 *P. ovale* 및 *C. albicans*에 대하여 0.1 mg/ml 이하의 농도에서도 우수한 항진균 효과를 나타내었다.

## 감사의 말씀

본 연구는 2002년 메타바이오 연구소의 연구비로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

1. 정해영(1993) 천연 민간 생약으로부터 항암물질의 분리 동정 및 그 작용 기전에 관한 연구-천연물로부터 항암제 개발에 관한 연구보고서. pp. 53-88. 성균관대학 약학대학, 서울.
2. Peter, B. Kaufman, Leland, J. Cseke, Sara, Warber, James, A. Duke, and Harry, L. (1998) Natural products from plants, CRC Press (Boca Rato, Boston, London, New York, Washington, D.C.) 37-90.
3. Farnsworth, N. R. (1985) Medical plants in therapy. *Bulletin of the World Health Organization*. **63**: 965-981.
4. Sternberg, S. (1994) The emersing fungal threat. *Science*, **266**: 1632-1634.
5. Grayer, R. J. and Harbon, J. B. (1994) A survey of antifungal compounds from high plants. *Phytochemistry*, **37**: 19-42.
6. Borelli, D. (1980) Treatment of Pityriasis versicolor with ketoconazole. *Reviews of Infentious Diseases*, **4**: 592.
7. Mattew, J. S., Omar, P. S., and Jerome, L. S. (1993) Systemic drugs in the treatment of dermatophytosis. *Int. J. Dermatology*, **32**: 16-21.
8. 방규호(2000) 항진균성 trans-cinnamaldehyde의 작용기전 및 구조 활성. 충남대학교 약학대학 박사학위 논문, 1-6.
9. Thouvenel, C., Gantier, J. C., Duret, P., Fourneau, C.,

- Hocquemiller, R., Ferreira, M. E., Rojas de Arias A., and Fournet, A. (2003) Antifungal compounds from *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium*. *Phytother. Res.* **17**(6): 678-680.
10. Chaib, F., Queiroz, E. F., Ndjoko, K., Diallo, D., and Hostettmann, K. (2003) Antifungal and antioxidant compounds from the root bark of *Fagara zanthoxyloides*. *Planta Med.* **69**(4): 316-320.
11. Abreu, G. W., Weber, A. D., Giacomelli, S. R., Simionatto, E., Dessoy, E. C., and Morel, A. F. (2003) Composition and antibacterial activity of the essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium*. *Planta Med.* **69**(8): 773-775.
12. Chen, I. S., Tsai, I. L., Lin, W. Y., Teng, C. M., Ishikawa, T., Doong, S. L., Huang, M. W., and Chen, Y. C. (2000) Coumarins and Antiplatelet Constituents from the Root bark of *Zanthoxylum schinifolium*. *Planta Medica.* **66**: 618-623.
13. Jo, Y. S., Huong, D. T. L., Bae, K. H., Lee, M. K., and Kim, Y. H. (2002) Monoamine oxidase inhibitory coumarin from *Zanthoxylum schinifolium*. *Planta Med.* **68**(1): 84-85.
14. 최옥자(1994) 약초의 성분과 이용, 371. 일월서각, 서울.
15. 도동선, 이상명, 나민균, 배기환(2002) 층치원생세균 *Streptococcus mutans* OMZ 176에 대한 약용식물 추출물의 항균활성. *Kor. J. Pharmacogn.* **33**(4): 319-323.
16. 김승권(1994) 최신병원미생물학, 75. 고문사, 서울.
17. Wei, P. H., Chen, L. R., Wei, Y. Q., Yuan, J. R., Ma, J. P., and Chen, L. X. (2002) Determination of alkaloids from *Coptis chinensis* Franch. and *Phellodendron amurense* Rupr. Decocted together in baitouweng decocta by high performance capillary electrophoresis. *Se Pu.* **20**(6): 554-556.
18. Yoo, C. K. (1997) The recent trends in research of new antifungal agents. *New Drug News*, **5**: 14-24.

(2003년 9월 23일 접수)