Korean J. Plant Res. 31(5):423-432(2018)
https://doi.org/10.7732/kjpr.2018.31.5.423

Print ISSN 1226-3591
Online ISSN 2287-8203

Original Research Article

여드름 유발균 *Propionibacterium acnes*에 대한 녹나무과 10종의 항균활성

조주성[1], 지래원[2], 장보국[3], 정헌상[4], 이철희[5]*

[1](주)농우바이오, 박사연구원, [2]충북대학교 원예과학과, 박사연구원, [3]충북대학교 원예과학과, 박사과정생, [4]충북대학교 식품생명공학과, 교수, [5]충북대학교 원예과학과, 교수

Anti-microbial Activities of Ten Lauraceae Species against *Propionibacterium acnes*

Ju Sung Cho[1], Lai Won Chi[2], Bo Kook Jang[3], Heon Sang Jeong[4] and Cheol Hee Lee[5]*

[1]Ph.D. Researcher, Quality Control & Seed Tech Team, Nongwoo Bio CO., LTD., Yeoju 12655, Korea
[2]Ph.D. Researcher and [3]Ph.D. Graduate Student, Major in Horticulture,
Division of Animal, Horticultural, and Food Sciences, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea
[4]Professor, Department of Food Science and Biotechnology, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea
[5]Professor, Major in Horticulture, Division of Animal, Horticultural, and Food Sciences,
Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

Abstract - This study was performed to develop a new natural antimicrobial materials by analyzing the effect of extracts obtained from Ten Lauraceae Species on the inhibitory activity against *Propionibacterium acnes*. The plant materials were collected from Wando and Jeju islands, and the antimicrobial activity of the crude extracts was examined by the agar diffusion method with different part (i.e., leaf and branch), solvents (i.e., distilled water, 80% ethanol, and 100% methanol) and at different ultrasonic extracting times (i.e., 15, 30, and 45 minutes). The control agents used were synthetic antimicrobials, methylparaben and phenoxyethanol, at concentrations of 0.4, 1, 2, and 4 ㎎/disc. Altogether, extracts of 10 species used in the study showed inhibitory activity, which confirmed their antimicrobial action against acnes. Among these, leaves of *Laurus nobilis* L. which was extracted in 80% ethanol for 45 min showed the largest clear zone (19.8 ㎜). Leaves of *L. nobilis* L., showing highest antimicrobial activities among 10 species, were successively reextracted with n-hexane, chloroform, ethylacetate and n-butanol. As a results, in all fractions except butanol, clear zone above 10 ㎜ were formed. The ethyl acetate fraction showed the highest inhibitory activity (13.3 ㎜) and the inhibitory activity was significantly higher than that of crude extract (10.2 ㎜) and phenoxyethanol as a control (12.5 ㎜).

Key words - Laurel, Methylparaben, Phenoxyethanol, Pruning product, Skin disease pathogens

서 언

현대사회에서 피부미용에 투자하는 시간과 비용은 점차 증가되고 있다. 하지만 잘못된 세정습관, 합성 화학성분제나 오일제품의 장기간 사용 및 신체 리듬과 생리적인 변화에 따른 testosterone의 불균형 등은 피지선을 비대 시키고 피지 분비를 왕성하게 한다. 과다 분비된 피지에 의해 모낭벽 세포에 이상각화가 일어나 모낭구가 막히면 피지가 배출되지 못하고 정체하게 된다(Suh, 2010). 이에 피부는 항상성이 깨지고, 모공 내 미생물들이 성장하기 좋은 조건으로 조성됨으로써 혐기성균, 호기성 구균, 진균 등이 번식하게 된다(Brown and Shalita, 1998; Ahn *et al.*, 2002).

여드름 유발균인 *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*)는 피지 과다분비 부위에서 번식하면서 lipase를 분비하여 피지성분의 중성지방을 유리지방산으로 변화시킨다. 이후 모낭 주위에 밀집된 백혈구가 모낭벽을 파괴하고 모낭 내용물이 진피 내로

*교신저자 : leech@chungbuk.ac.kr
Tel. +82-43-261-2526

ⓒ 본 학회지의 저작권은 (사)한국자원식물학회지에 있으며, 이의 무단전재나 복제를 금합니다.
This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

유입되어 염증성 여드름을 야기하며(Kim and Byeom, 2007), 추후 오목흉터(potted scar)나 비대흉터(hypertrophicscar)와 같은 후유증을 동반하기도 한다(Brown and Shalita, 1998).

염증성 여드름 치료에 사용되는 스테로이드제는 피부 위축, 구순 주위 피부염, 자반증 및 간 손상 등의 부작용을 일으킬 수 있다(Kim *et al.*, 1995). 또한 광범위 하게 사용되는 화학 방부제인 paraben의 과용은 알레르기성 접촉 피부염을 유발하며, 체내 세포조직에 축적되어 유방암 세포에서 고농도의 파라벤이 검출되는 등의 부작용이 보고된 바 있다(Lee *et al.*, 2006). 염증성 질환 치료제인 레티노이드는 비타민 A의 천연 또는 합성 유도체이며 생체 내에서는 retinoic acid와 같은 활성형태로 각질형성 세포의 증식과 분화조절, 피지선 억제, 면역조절 및 항염증 작용, 여드름 및 건선 등의 피부질환에 사용된다(Kim, 2008). 또한 retinoic acid는 광노화와 내인성 노화 피부의 주름살 및 피부탄력을 호전시킬 수도 있으나 레티노이드 피부염(retinoid dermatitis)이라 불리는 일종의 자극성 접촉피부염으로 홍반, 인설, 건조, 작열감, 소양감 등을 호소하는 부작용을 유발할 수 있다(Kim, 2008).

최근 들어 화학 합성 항생제에 내성을 가지는 균주가 발견되고 관련된 부작용들이 표출됨에 따라 이를 해결하고자 천연물 유래의 항균 · 항산화물질 탐색이 활발하다(Otvos, 2000). 국내에서 편백, 나한백, 유칼립투스, 소목 등의 수목류는 항산화 효과와 세포독성효과, 항염효과, 항알러지 효과 등이 연구되었으며(Kang *et al.*, 2002; Jeon *et al.*, 2010; Jung, 2010), 그 중 소목(*Caesalpinia sappan* L.)에서 분리한 brazilin은 항산화 활성과 구강상피암 증식억제 효과가 보고된 바 있다. 또한 수목류의 정유성분에 대한 항균 · 항진균 및 모발 기능성물질의 이용기술 개발(RDA, 2007), 한국산 자생식물 125종에 대한 항균력 탐색 및 대황의 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균활성(Choi *et al.*, 2002) 및 치자의 항산화 활성 및 활성성분의 분리(Yang *et al.*, 2011) 등의 연구가 진행되었다. 최근에는 자원식물의 메탄올 추출물을 이용한 식물병원성 곰팡이의 포자발아 억제활성 연구도 보고되었다(Park *et al.*, 2017). 이처럼 국내에서도 식물유래 항균물질 탐색에 관한 연구가 꾸준히 진행되고 있으나 대부분 초본의 약용식물에 국한되어 있어, 상록성 목본수종에 대한 관심과 연구는 부족한 실정이다.

다양한 상록성 목본수종에서 유래한 polyphenol과 flavonoid는 항산화 및 항균효과를 나타내기 때문에, 잎과 가지 등의 재료 자급율이 높은 천연 소재로서 경제적 가치가 풍부하여 개발 가능성이 매우 높다(Kim and Han, 1997; Bae and Moon, 2001). 그러나 동일종이라도 지리적인 환경 및 채취시기에 따라 구성성분이 변하고, 용매 종류 및 농도에 따라 항균력에 차이가 있기에 국내 수목연구가 무엇보다도 중요하다(Park *et al.*, 1992; Kim *et al.*, 2004).

우리나라 남부에 자생하는 상록성 목본의 기능성 연구로는 솔잎 추출물의 항균활성(Park *et al.*, 2017), 황칠나무의 부위별 항산화 활성 분석(Yu and Moon, 2018) 및 구실잣밤나무의 항산화 및 항균활성(Kim *et al.*, 2011) 등 꾸준히 진행되고 있어 활용성은 점차 증가될 것으로 기대된다. 또한 상록성 목본은 전정으로 인해 버려지는 부산물을 이용하여 1년 내내 재료의 수급이 수월하고 더불어 식물의 부가가치를 상승시킬 수 있다는 장점이 있다. 본 연구는 우리나라 남부지방에 자생하는 상록성 목본식물인 녹나무과 10종의 피부상재균주 *P. acnes* 증식 억제 효과를 검증함으로써 염증성 여드름 질환의 치료를 목적으로 하는 새로운 천연 추출물을 활용한 기능성 화장품용 소재를 개발하고자 시행되었다.

재료 및 방법

식물 재료

남부지방에 자생하는 녹나무과 6속 10종 상록 목본의 잎과 가지를 2013년 1월 중순부터 2월초까지 전라남도 완도 및 제주도 일대에서 채취하였다(Table 1). 식물재료는 생체중을 측정한 후 48시간 동안 동결건조(FD8512, IlShin Lab. Co. Ltd., Seoul, Korea)하였으며, 이후 건물중을 측정하여 각 재료의 수분함량을 계산하였다(Table 1). 건조된 시료는 분쇄기(Hood mixer FM-681C, Hanil, Gwangju, Korea)로 곱게 분쇄한 후, −70±2℃의 deep freezer (Ultra-low temperature freezer SW-U5-200, Samwon, Goyang, Korea)에 저장하면서 실험에 사용하였다.

실험균주 및 배지

실험에 사용된 균주 *P. acnes* (KCTC 3320)는 그람 양성균이며 한국유전자 은행에서 분양받았다. 배지는 RCM broth (Reinforced Clostridial Medium, Difco, Detroit, MI, USA)를 사용하였으며, 3~5주 간격으로 계대배양하였다. 실험 2주 전에는 3~5일 간격으로 broth 10 ㎖에 미생물 배양액 100 ㎕를 접종하여 활성도를 높였다. 혐기성 세균인 *P. acnes*는 배양 시 gas pak (AnaeroPack®, Mitsubishi Gas Chemical Co., Inc, Tokyo, Japan)을 넣은 밀폐용기에 넣어 37±0.5℃의 CO_2 incubator (VS-9108MS, Vision, Yeoju, Korea)에서 관리되었다.

Table 1. List of ten Lauraceae evergreen broad-leaved species used in this study

Scientific name	Korean name	Collection site	Moisture content (%)	
			Leaf	Stem
Actinodaphne lanecifolia (Sieb. et Zucc.) Meisn.	육박나무	Wando, Jeollanam-do	71.5±1.11	52.6±2.15
Cinnamomum loureirii Ness.	육계나무	Jeju-si, Jeju-do	58.0±1.13	40.7±1.18
Cinnamomum yabunikkei H.Ohba	생달나무	Wando, Jeollanam-do	47.4±2.80	50.3±2.12
Cinnamomum camphora (L.) J.Presl	녹나무	Jeju-si, Jeju-do	53.2±0.99	51.8±3.34
Laurus nobilis L.	월계수	Wando, Jeollanam-do	58.3±3.50	49.4±3.32
Litsea japonica (Thunb.) Juss.	까마귀쪽나무	Wando, Jeollanam-do	57.0±2.97	57.1±1.68
Machilus japonica Siebold & Zucc.	센달나무	Wando, Jeollanam-do	55.2±4.41	52.7±1.13
Machilus thunbergii Siebold & Zucc.	후박나무	Wando, Jeollanam-do	50.2±5.08	52.5±1.97
Neolitsea aciculata (Blume) Koidz.	새덕이	Jeju-si, Jeju-do	51.2±1.01	53.5±2.31
Neolitsea sericea (Blume) Koidz.	참식나무	Jeju-si, Jeju-do	55.3±2.30	54.9±1.19

녹나무과 10종의 항균활성 탐색

각 종의 동결건조한 잎 시료 1.0 g을 100% 메탄올(methanol, Merck, Darmstadt, Hesse, Germany)에 잠기도록 유리병에 넣어 혼합한 후 Ultrasonic cleaner (30×24×14.5 ㎝, 5510-DTH, Branson, Danbury, CT, USA)로 30분 동안 초음파 추출을 시행하였다. 모든 추출물은 잔사를 재추출하지 않고 1회, 2반복 추출하였다. 추출 직후 vacuum pump (GAST)와 여과지(Advantec No. 2, Toyo Roshi Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 감압여과 하였으며, 여과된 추출물은 용매를 사용하여 최종 농도를 50배로 정량하였다. 이후 추출물은 질소 충전하여 −70±2℃ deep freezer (Samwon Engineering Co.)에 보관하면서 항균활성 평가에 사용하였으며, 5 ㎖를 취하여 증발접시에 담고 60±2℃의 dry oven (KPI-507L, Korea Power Ind. Co. Ltd, Seoul, Korea)에 48시간 건조시켜 추출물의 가용성 고형분 함량(g/g db)을 구하였다(Table 1).

Agar diffusion assay는 다음의 순서로 진행하였다. 50배 추출물을 감압농축(N-1000, EYELA, Tokyo, Japan) 후 DMSO로 녹여 50 ㎎/㎖로 농축한 다음 클린벤치 내에서 멸균한 8 ㎜의 paper disc (Advantec No. 2, Toyo Roshi Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)에 2 ㎎/disc가 되도록 하였으며, 용매를 충분히 건조시켰다. 0.7%의 agar를 첨가한 soft agar broth는 멸균한 다음 미리 활성화 시킨 미생물 배양액(O.D. value = 1.0)을 60℃의 soft agar broth에 1% v/v로 접종하였다. 그리고 magnetic stirrer로 혼합한 다음 90×15 ㎜의 페트리디쉬에 12 ㎖씩 분주하였으며, 15분 이내에 추출물을 주입한 disc를 치상하였다. 이후 37℃의 incubator에서 24시간 동안 배양하였으며, 배양 후 disc의 직경을 포함한 clear zone을 측정하였다. 추출물의 항균활성을 화장품 제조 시 사용되는 합성항균제인 phenoxyethanol (0H2108, Junsei Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan)과 methylparaben (8K5015, Junsei Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan)을 0.4, 1, 2, 4 ㎎/disc의 농도로 희석하여 추출물과 같은 조건으로 배양하였다.

추출조건에 따른 항균활성

잎 추출물의 항균활성이 가장 우수한 종(월계수)을 선발하여 적정 추출부위, 용매 및 시간을 구명하고자 하였다. 동결건조한 가지와 잎 시료를 사전연구를 통해 선정된 물(deionized water; nano pure grade), 80% 에탄올(Jin chemical pharmaceutical Co., LTD, Siheung, Korea) 및 100% 메탄올(Merck)을 용매로 하여 15, 30 및 45분 동안 각각 초음파 추출하였다. 추출 당시 초음파 수조 내 수온은 20±2℃였으며, 추출 15분 후에는 1.0±0.5℃, 30분 후에는 2.5±0.8℃, 45분 후에는 3.6±0.7℃가 상승하였다. 이후 동일한 방법으로 agar diffusion assay를 수행하여 항균활성을 분석하였다.

용매 분획에 따른 항균활성

추출조건에 따른 항균활성이 가장 우수하였던 종(월계수)의 잎 시료를 100% 메탄올을 용매로 30분간 초음파 추출하여 조추출물을 제조하였다. 조추출물을 감압농축(EYELA) 후 동결건조하여 고형분 시료 1.0 g을 얻었다. 이후 고형분 시료, 증류수 및 n-hexane을 1:9:10의 비율로 혼합하여 분획하였으며 n-hexane 층을 농축하여 분획물을 얻었다. n-hexane 분획 후 수층은 다

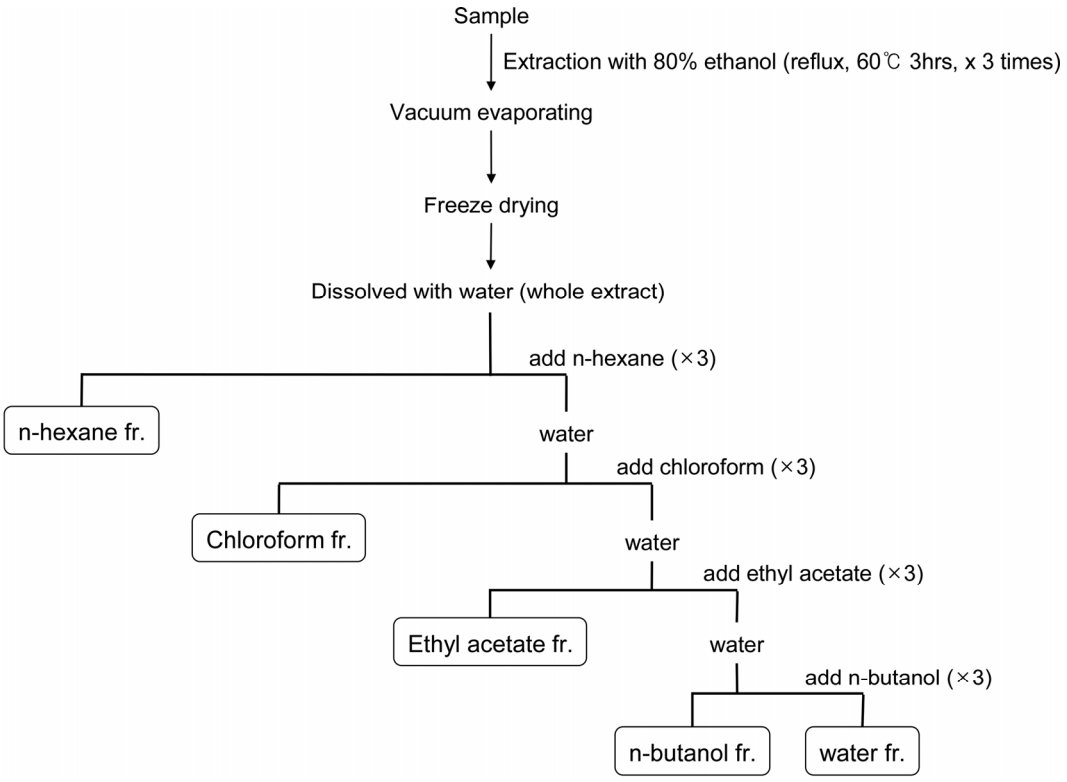

Fig. 1. Schematic diagram for solvent fractionation of whole extract using n-hexane, chloroform, ethyl acetate, and n-butanol.

시 chloroform, ethyl acetate, n-butanol 순으로 순차적으로 용매 분획하였으며(Fig. 1), 각각의 분획층으로부터 동일한 방법으로 고형분 시료를 얻은 후 증류수에 녹여 항균실험에 사용하였다.

통계 분석

녹나무과 10종의 잎 추출물에 대한 항균활성은 3반복, 그외 항균활성은 6반복을 1회로 2회 반복 실험하였다. 또한 추출조건에 따른 항균활성은 부위, 용매 및 시간 간의 요인별 유의성을 검정하였다. 실험 후 모든 결과값은 SAS version 9.3 (SAS institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 평균과 표준오차를 구하였으며, $P<0.05$의 유의수준에서 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계분석 하였다.

결과 및 고찰

*P. acnes*에 대한 녹나무과 10종의 항균활성

연구에 사용된 10종의 모든 잎 추출물에서 우수한 *P. acnes* 억제활성이 확인되었다(Table 2). 여드름균 생육 억제환을 측정한 결과, 모든 추출물에서 지름 20 ㎜ 이상으로 조사되었으며, 특히 월계수(30.00 ㎜)가 가장 우수한 활성을 보였다. 다음으로 육박나무(28.05 ㎜), 센달나무(27.70 ㎜), 육계나무(27.65 ㎜) 및 생달나무(25.75 ㎜) 순으로 높은 활성을 나타내었다. 이상의 5종의 잎 추출물은 대조구인 phenoxyethanol (4 ㎎/disc, 15.20 ㎜)과 methylparaben (2 ㎎/disc, 24.70 ㎜)에 비해서도 높은 항균활성을 기록하였다.

실험에 사용된 녹나무과 식물재료들은 예전부터 국내·외에서 다양한 민간요법 치료제로 사용되었으며, 최근에 그 효능들이 검증되었다. 월계수는 상록 활엽교목으로 우리나라 경남과 전남지방에 분포되어 있다. 월계수 추출물은 신경통, 류마티스 진통제, 발진, 구풍제, 소화제, 수렵제 등의 사용된다고 알려져 있으며(Kivcakb and Mert, 2002; Simic, 2003), glutamic acid과 leucin 및 vitamin A, C가 다량 함유되어 있다(Lee *et al.*, 2005). 제주도에 자생하는 녹나무의 약재로 사용되는 장뇌에는 정유성분인 camphor 외에 cineol, 1-camphene 등이 함유되어 있고, 제주도에서는 녹나무 잎 다린 물을 당뇨병 치료에 민간요법으로 사용해왔다(Kim *et al.*, 2007). 또한 녹나무의 잎 추출물은 플라보노이드가 풍부하여, 항산화 활성과 항염증 효과가 높

Table 2. Antimicrobial activities of extracts obtained from leaves of ten Lauraceae species against *Propionibacterium acnes*

Scientific name	Korean name	Contents of soluble solids (㎎/g)		Concentration (㎎/disc)	Clear zone (㎜)
		Leaf	Stem		
Phenoxyethanol[z]				0.40	-[y]
				1.00	8.20±1.20g[x]
				2.00	13.40±0.75f
				4.00	15.20±1.00ef
Methylparaben				0.40	-
				1.00	8.50±2.30g
				2.00	24.70±1.20bc
				4.00	15.20±1.45ef
Actinodaphne lanecifolia (Sieb. et Zucc.) Meisn.	육박나무	0.16	0.18	2.00	28.05±1.13ab
Cinnamomum loureirii Ness.	육계나무	0.12	0.27	2.00	27.65±2.68ab
Cinnamomum yabunikkei H.Ohba	생달나무	0.27	0.32	2.00	25.75±1.41bc
Cinnamomum camphora (L.) J.Presl	녹나무	0.20	0.26	2.00	24.35±0.09c
Laurus nobilis L.	월계수	0.16	0.15	2.00	30.00±2.02a
Litsea japonica (Thunb.) Juss.	까마귀쪽나무	0.32	0.21	2.00	21.95±1.24d
Machilus japonica Siebold & Zucc.	센달나무	0.26	0.31	2.00	27.70±1.44ab
Machilus thunbergii Siebold & Zucc.	후박나무	0.15	0.31	2.00	22.80±1.10cd
Neolitsea aciculata (Blume) Koidz.	새덕이	0.20	0.34	2.00	24.00±0.58c
Neolitsea sericea (Blume) Koidz.	참식나무	0.21	0.22	2.00	23.90±0.23c

[z]Positive control as a synthetic antioxidant.
[y]Not detected.
[x]Means ± S.E. (n=10) and separation within columns by Duncan's multiple range test, $P<0.05$.

은 것으로 보고되었다(Lee and Balick, 2005). 생달나무는 전라남도 및 제주도에 분포한다. 강한 향을 내는 녹나무에 비해 향에 대한 만족도가 높아 향기가 인체에 미치는 생리적 측면의 영향에 대한 연구(Kim *et al.*, 2007)가 이뤄진 바 있다. 육박나무는 남쪽 섬 지방에 분포하며 관절염, 복통, 과로 등의 치료에 사용되었다(KBIS, 2018).

본 연구에서 월계수 잎 추출물의 *P. acnes*에 대한 항균활성은 Choi *et al.* (1998)이 연구한 97종의 천연물, 새삼 및 실새삼(Suk *et al.*, 2004), 감초 등 한약 복합 추출물(Kim *et al.*, 2006), 대황, 황백 및 황금의 복합 추출물(Son *et al.*, 2005) 및 자몽종자 추출물과 법제유황수(Ha *et al.*, 2009), 강활, 백작약, 물푸레피, 현삼 및 황금 추출물(Kim, 2008)에 비해서도 우수하였다.

시판 합성 치료제인 methylparaben은 쉽게 분해되지 않으므로 신체 조직에 축적되거나 환경오염물질로 남아 다양한 부작용을 유발하며, 그 외에도 내분비계 교란(Foran *et al.*, 2000) 및 내성균주 출현(Eady *et al.*, 2003) 등 다양한 부작용을 유발하는 것으로 알려져 있으므로 사용에 제한이 있다. 본 연구에서 월계수 등 5종은 methylparaben뿐만 아니라 phenoxyethanol에 비해서도 우수한 활성을 보여, *P. acnes*에 대한 합성 항균제를 대체할 수 있는 천연물 유래 여드름 예방 및 치료 소재로 개발이 가능할 것으로 생각된다.

추출조건에 따른 월계수의 항균활성

녹나무과 10종의 잎 추출물 중 *P. acnes* 억제활성이 가장 우수하였던 월계수를 부위, 용매 및 시간을 달리하여 추출한 다음 항균활성 분석하였다. 연구의 결과, 월계수 잎을 80% 에탄올을 용매로 45분간 추출하였을 때 억제활성이 가장 우수하였으며(19.8 ㎜), 대조구의 모든 농도에 비해서도 높았다(Table 3). 또

Table 3. Antimicrobial activities of extracts obtained from leaves and stems of *Laurus nobilis* L. against *Propionibacterium acnes* according to extraction methods

Part	Solvent	Extraction time (min.)	Clear zone (㎜)
Control (㎎/disc)	Methylparaben[z]	0.4	-
		1.0	8.6±0.65i[y]
		2.0	14.2±0.27de
		4.0	14.8±0.38c-[e]
	Phenoxyethanol	0.4	-
		1.0	-
		2.0	13.1±0.80d-g
		4.0	18.7±0.27ab
Leaf	MeOH 100%	15	10.9±0.79g-i
		30	10.2±0.76hi
		45	18.6±0.20ab
	EtOH 80%	15	14.9±1.18cd
		30	13.9±0.60d-f
		45	19.8±0.68a
	Distilled water	15	14.7±0.90c-e
		30	17.1±0.05bc
		45	18.8±0.06ab
Stem	MeOH 100%	15	14.6±0.95de
		30	14.3±0.55de
		45	17.7±0.03ab
	EtOH 80%	15	12.2±0.84e-h
		30	13.3±0.10e-h
		45	11.6±0.61f-g
	Distilled water	15	-
		30	-
		45	-
Significance[x]			
P (Part)			***
S (Solvent)			***
T (Time)			***
P × S			***
P × T			***
T × S			***
P × T × S			ns

[z]Positive control as a synthetic antioxidant.

[y]Means ± S.E. (n=10) and separation within columns by Duncan's multiple range test, $P<0.05$.

[x]ns, *, **, *** : nonsignificant or significant at $P<0.05$, 0.01 or 0.001, respectively.

한 월계수는 가지부위의 물 추출물을 제외한 모든 조건에서 항균활성을 나타내었으며, 추출부위, 용매 및 시간에 따른 유의적인 활성도의 차이를 보였다($P<0.001$).

본 연구에서 월계수 가지의 물 추출물은 항균활성이 전혀 없었는데, 이는 Park (1998)의 솔잎 추출물이 식중독세균의 생존에 미치는 영향에 관한 연구에서 에탄올 추출물이 물 추출물에 비해 월등히 높은 항균활성을 가진다는 것과 유사하다. Park *et al.* (2017)의 연구에서는 에탄올을 용매로 한 소나무의 부위별 추출물은 *P. acnes*에 대해 항균활성을 나타내었으나 열수추출물에서는 부위에 관계없이 활성이 나타나지 않았다. 또한 동일 실험에서 송엽, 송절 및 송화 등 추출부위에 따른 활성도는 다른 것으로 보고된 바 있다.

식물성추출물의 약리활성은 식물 종과 추출 부위별로 다르게 나타나며, 동일 추출부위에서도 추출용매에 따라 용출되는 성분이 달라지기 때문에 차이를 보인다(Lee *et al.*, 2006). 식물 소재의 에탄올 추출물은 polyphenol, flavonoid, polypeptide 등의 성분으로 이루어져 있으며, 그 중 phenolic compound와 flavonoid가 미생물의 세포막에 침투하여 세포막을 파괴시킴으로써 항균 활성을 나타낸다(Paniwnyk *et al.*, 2001; Lambert *et al.*, 2011)의 연구에서는 식물원료를 물로 추출할 경우 추출물 내에 수산기 radical이 형성되어 생리활성이 저하되는 결과가 보고된 바 있다. 한편 Lee and Yoon (2010)의 연구에서는 월계수 잎의 메탄올 및 열수추출물에서 피부의 AGEs 형성을 억제하는 항주름활성과 최종 당화산물 생성 억제활성이 높았으므로 월계수는 추출의 목적에 따라 추출조건을 달리할 필요하다. 따라서 *P. acnes*에 대한 항균활성을 목적으로 월계수를 추출할 때 잎은 80% 에탄올을 용매로 45분간 추출하고, 가지부위는 물 추출을 피하는 것이 효과적일 것으로 생각된다.

월계수 추출물의 용매분획별 항균활성

P. acnes 억제활성이 우수하였던 월계수 잎을 100% 메탄올을 용매로 초음파 30분 추출한 다음 n-hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol 그리고 water 순으로 용매 분획하여 항균활성을 비교분석하였다. 각 분획물에서 얻어진 가용성 고형분의 함량은 조추출물에서 161.7 ㎎/g 수준이었으며, Water 분획물에서 544.0 ㎎/g의 고형분을 얻어내 가장 높은 수율을 보였다(Table 4). 반면 n-Hexane 분획물에서는 89.3 ㎎/g으로 수율이 가장 낮아, 분획물별 가용성 고형분 함량은 차이가 있었다.

Table 4. Antimicrobial activities of different solvent fractions obtained from leaf of *Laurus nobilis* L. against *Propionibacterium acnes*

No.	Treatment (㎎/disc)		Soluble solids contents (㎎/g)	Clear zone (㎜)
	Methylparaben[z]	0.4		-[y]
		1.0		12.4±0.34c[x]
		2.0		14.4±1.00b
		4.0		18.2±1.44a
	Phenoxyethanol	0.4		-
		1.0		-
		2.0		-
		4.0		12.5±0.85c
1	n-Hexane	2.0	208.1	12.8±0.23c
2	Chloroform	2.0	89.3	10.9±0.17d
3	Ethyl acetate	2.0	107.9	13.3±0.17bc
4	n-Butanol	2.0	289.8	-
5	Water	2.0	544.0	10.0±0.25d
	Crude extract	2.0	161.7	10.2±0.12d

[z]Positive control as a synthetic antioxidant.
[y]Not detected.
[x]Means ± S.E. (n=10) and separation within columns by Duncan's multiple range test, $P<0.05$.

월계수 잎 용매 분획물의 항균활성을 분석한 결과, ethyl acetate 분획물에서 억제환이 13.3 ㎜로 가장 컸으며, 조추출물(10.2 ㎜)과 대조구인 phenoxyethanol (12.5 ㎜)에 비해서도 유의적으로 우수한 억제활성을 나타내었다. 또한 butanol 분획물을 제외한 모든 분획물에서 10.0 ㎜ 이상의 억제환이 형성되었다.

자생 상록활엽수인 두릅나무과의 황칠나무는 잎의 ethyl acetate 분획물에서 tyrosinase 저해활성과 melanin 생성 억제활성이 높다는 연구결과가 있다(Mo and Oh, 2013). 또한 입과 줄기의 ethyl acetate 분획물에서 DPPH 라디컬 소거능이 가장 높았다. 그러나 황칠나무의 Acetylcholinesterase 저해 활성은 dichloromethane 분획물에서 가장 높게 조사되었다. Kim *et al.* (2011)의 연구에서 우리나라 남해안에 자생하는 상록활엽수 구실잣밤나무의 DPPH 라디컬 소거능과 xanthine oxidase 저해활성은 butanol 분획물에서, superoxide 라디컬 소거활성은 ethyl acetate 분획물에서 우수하였다. 또한 *Staphylococcus aureus* 외 5종의 균 억제활성을 측정하였을 때 ethyl acetate 분획물에서 높은 항균활성을 나타내었다. 양치식물인 관중과 더부살이고사리는 butanol 분획물에서, 참지네고사리는 ethyl acetate 분획물에서 총 폴리페놀 함량이 많았으며, 총 플라보노이드 함량은 관중이 chloroform 분획물에서, 참지네고사리와 더부살이고사리는 hexane 분획물에서 많았다. 또한 DPPH 라디컬 소거활성은 관중과 더부살이고사리가 butanol 분획물에서, 참지네고사리가 water 분획물에서 가장 높았다(Kim *et al.*, 2012). 따라서 추출물의 활용목적에 따라 식물 종별 적정 분획용매는 다르며, 본 실험에서 월계수 잎의 ethyl acetate 분획물은 *P. acnes*의 생육억제에 가장 효과적인 것으로 판단되었다.

본 연구의 결과, 연구에 사용된 녹나무과 10종은 모두 *P. acnes*에 대해 유의적인 생육 억제활성이 증명되었으므로 합성 항균제를 대체할 천연물 유래 항균소재로써 개발가치가 높은 것으로 생각된다. 특히 월계수 잎 추출물은 기존에 *P. acnes* 억제활성이 인정된 천연 또는 합성 항균소재에 비해서도 효과가 우수하였기 때문에 저비용으로 높은 효과를 낼 수 있는 경제적인 여드름 예방 및 치료용 천연소재로 다양하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

적 요

본 연구는 녹나무과 10종의 추출물이 *Propionibacterium acnes*의 억제활성에 미치는 영향을 분석하여 새로운 천연 항균소재를 개발하기위해 수행되었다. 실험재료는 완도와 제주도에서 채집하였으며, 부위(잎, 가지), 용매(증류수, 80% 에탄올, 100% 메탄올) 및 초음파 추출시간(15, 30, 45분)에 따른 조추출물의 항균활성을 agar diffusion method로 조사하였다. 대조구로는 합성항균제인 methylparaben과 phenoxyethanol 0.4, 1, 2, 4 ㎎/disc를 사용하였다. 연구에 사용된 10종의 모든 추출물에서 억제활성을 보였으며, 여드름균에 대한 항균작용을 확인할 수 있었다. 이 중 월계수는 80% 에탄올에 45분간 추출한 조건에서 20.2 ㎜의 생육억제환을 나타내어 가장 우수한 여드름균에 대한 항균작용을 확인할 수 있었다. 월계수 잎을 100% 메탄올을 용매로 초음파 30분 추출한 다음 n-hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol 그리고 water 순으로 용매 분획하여 항균활성을 비교분석하였다. 결과, butanol 분획물을 제외한 모든 분획물에서 10.0 ㎜ 이상의 억제환이 형성되었다. 그중 ethyl acetate 분획물에서 억제환이 13.3 ㎜로 가장 컸으며, 조추출물(10.2 ㎜)과 대조구인 phenoxyethanol (12.5 ㎜)에 비해서도 유의적으로 우수한 억제활성을 나타내었다.

References

Ahn, B.K., E.H. Choi and S. Lee. 2002. The pathogenesis of acne. J.S.B.R. 4:62-70.

Bae, H.G. and S.P. Moon. 2001. Structure of evergreen broad-leaved forest community at Baegunbong area in Wando. Forest Sci. Technol. 90:756-766.

Brown, S.K. and A.R. Shalita. 1998. Acne vulgaris. The Lancet 351:1871-1876.

Choi, S.M., M.J. Kim, Y.H. Choi, H.J. Ahn and Y.P. Yun. 1998. Screening of the antibacterial activity of natural products against *Propionibacterium acnes*. Yakhak Hoeji 42:89-94.

Choi, Y.G., Y.S. Kim, G.S. Cho and C.K. Sung. 2002. Screening for antimicrobial activity from Korean plants. J. Korean Soc. Food Nutr. 15:300-306.

Eady, E.A., M. Gloor and J.J. Leyden. 2003 *Propionibacterium acnes* resistance a worldwide problem. Dermatology 206: 54-56.

Foran, C.M., E.R. Bennett and W.H. Bebson. 2000. Developmental evaluation of a potential non-steroidal estrogen: triclosan. Mar. Environ. Res. 50:153-156.

Ha, Y.M., B.B. Lee, H.J. Bae, K.M. Je, S.R. Kim, J.S. Choi and I.S. Choi. 2009. Anti-microbial activity of grapefruit seed extract and processed sulfur solution against human skin

pathogen. J. Life Sci. 19:94-100.

Jeon, M.A., H.J. Kwon, Y.H. Kim, K.I. Han, H.N. Chung, S.K. Chung, I.S. Bang and M.D. Han. 2010. Antioxidative activities and antiproliferation effects on oral carcinoma KB cell of the brazilin from *Caesalpinia sappan* L. J. Dent. Hyg. Sci. 10: 365-372.

Jung, H. 2010. Antimicrobial activity of 4 rheum plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Department of Oriental Medicine Resources, MS Thesis. Sunchon National University, South Korea.

Kang, M.H., M.K. Oh, J.K. Bang, D.H. Kim, C.H. Kang and B.H. Lee. 2002. Varietal difference of lignan contents and fatty acids composition in Korean sesame cultivars. Korean J. Crop Sci. 45:203-206.

Kim, E.I., B.M. Jung and A.J. Wi. 2007. A study on the physiological and psychological effects of volatile substances from *Cinnamomum camphora* and *C. japonicum*. J. People Plants Environ. 10:79-86.

Kim, H.S. and H.J. Byeom. 2007. *Beauty science I*. Chung-ku Publisher, Seoul, South Korea.

Kim, J.M., H.C. Oh, S.P. Sing, M.K. Kim and C.Y. Hwang. 2006. Study on the anti-microbacterial activity, anti-inflammatory and anti-allergic effects of several herb-extract. Korean J. Orient. Physiol. Pathol. 20:103-114.

Kim, J.Y., W.J. Yoon, E.Y. Yim, S.Y. Park, Y.J. Kim and G. Song. 2011. Antioxidative and antimicrobial activities of *Castanopsis cuspidata* var. *sieboldii* extracts. Korean J. Plant Res. 24:200-207.

Kim, K.J., S.I. Jeong, J.D. Cha, S.M. Kim and Y.O. You. 2004. Inhibitory effects of *Caesalpinia sappan* on growth and invasion of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus.* J. Ethnopharmacol. 91:81-87.

Kim, N.R., H.J. Kwon, J.S. Cho and C.H. Lee. 2012. Antioxidant activities of fractions obtained from *Dryopteris crassirhizoma*, *D. nipponensis* and *Polystichum lepidocaulon*. Korean J. Plant Res. 25:176-183.

Kim, S.I. and Y.S. Han. 1997. Isolation and identification of antimicrobial compound from sancho (*Zanthoxylum Schinifolium*). Korean J. Soc. Food. Sci. 13:56-63.

Kim, S.S. 2008. Antimicrobial properties of extracts form *Ostericum koreanum* extracts on acnes strains. Department of Beauty Business, MS Thesis. Soogsil University, South Korea.

Kim, Y.S., H.S. Park, K.S. Kim, H.S. Shin, B.S. Kim, W.S. Choi, S.W. Lee and T.J. Park. 1995. Postmarketting surveillance for nonsteroidal antiinflammatory drugs. J. Korean Acad. Fam. Med. 16:600-607.

Kivcakb, B. and T. Mert. 2002. Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* extracts. Fitoterapia 73:242-243.

Korea Biodiversity Information System. 2018. http://www.nature.go.kr/kbi/plant/pilbk/selectPlantPilbkDtl.do (accessed 04 2018)

Lambert, R.J.W., P.N. Skandamis, P.J. Coote and G.H.E. Nychas. 2011. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J. Appl. Microbiol. 91:453-562.

Lee, H.S. and J.A. Yoon. 2010. Inhibitory activity of advanced glycation endproducts (AGE) formation of edible plants for development of anti-wrinkle ingredients. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 39:186-192.

Lee, O.H., H.B. Lee, J.S. Lee, J.Y. Son, S.K. Rhee, H.D. Kim, Y.C. Kim and B.Y. Lee. 2005. Chemical properties of olive and bay leaves. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 34:503-508.

Lee, R. and M.J. Balick. 2005. Sweet wood-cinnamon and its importance as a spice and medicine. J. Sci. Healing 1:61-64.

Lee, S.H., S.J. Kim, J.R. Park, E.H. Jo, N.S. Ahn, J.S. Park, J.W. Hwang, J.Y. Jung, Y.S. Lee and K.S. Kang. 2006. Oestrogenic activity of parabens *in vitro* estrogen assays. J. Fd. Hyg. Safety 21:100-106.

Mo, J.H. and S.J. Oh. 2013. Tyrosinase inhibitory activity and melanin production inhibitory activity of the methanol extract and fractions from *Dendropanax morbifera* lev. Asian J. Beauty Cosmetol. 11:275-280.

Otvos, L.J.R. 2000. Antibacterial peptide from insects. J. Pept. Sci. 6:497-511.

Paniwnyk, L., E. Beaufoy, J.P. Lorimer and T.J. Mason. 2001. The extraction of rutin from flower buds of *Sophora japonica*. Ultrason. Sonochem. 8:299-301.

Park, C.S. 1998. Antibacterial activity of ethanol extract of pine needle against pathogenic bacteria. Korean J. Postharvest Sci. Technol. 5:380-385.

Park, S.H., K.B.W.R. Kim, M.J. Kim, J.S. Choi, Y.J. Cho and D.H. Ahn. 2017. Antimicrobial activity of extracts from different parts and essential oil from *Pinus densiflora* on skin pathogens. J. Life Sci. 6:646-651.

Park, S.J., Y.H Rhu, S.G Bae and D.G. Ahn. 2017. Screening of antifungal activities of plant extracts against phytopathogenic fungi. Korean J. Plant Res. 30:343-351.

Park, U.Y., D.S. Chang and H.R. Cho. 1992. Screening of

antimicrobial activity for medicinal herbs extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 21:91-96.

Rural Development Administration. 2007. Utilization technology of tree essential oils as antimicrobial, antifungal, and functional hair growth materials. Rural Development Administration, Seoul, South Korea.

Simic, M. 2003. Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extract. Fitoterapia 74:613-616.

Son, D.B., S.P. Song, C.H. Hwang, S.H. Hong and C.Y. Hwang. 2005. Study on the anti-microbial activity, anti-inflammatory and anti-alergic effects of mixture of *Rheum coreanum*, *Scutellaria baikalensis*, *Phellodenron amurense*. J. Korean Orient. Med. Ophtalmol. Otolaryngol. Dermatol. 18:154-171.

Suh, D.H. 2010. Pharmacologic treatment of acne. J. Korean Med. Assoc. 53:623-629.

Suk, K.D., Lee S.H. and Kim K.S. 2004. Growth-inhibitory effects of *Cuscuta japonica* Choisy's and *C. australis* R.Be's extract against *Propionibacterium acnes*. Korean J. Pharmacogn. 35:375-379.

Yang, H.J., M.j. Park and H.S. Lee. 2011. Antioxidative activities and components of *Gardenia jasminoides*. Korean J. Food Sci. Technol. 43:51-57.

Yu, J.M. and H.I. Moon. 2018. Antioxidants and acetyl-cholinesterase inhibitory activity of solvent fractions extracts from *Dendropanax morbiferus*. Korean J. Plant Res. 31:10-15.

(Received 26 April 2018 ; Revised 1 June 2018 ; Accepted 5 June 2018)