

약모밀(*Houttuynia cordata*) 뿌리에서 추출한 순차분획물의 항균활성

김민주, 송종호, 권혁동, 손정은, 박인호

동아대학교 생물학과

전화 (051) 200-7274, FAX (051) 200-7269

Antimicrobial activities, extraction yields and chemical compositions of the extracts from the powder of vacuum dried *Houttuynia cordata* root on various solvents were investigated. Antimicrobial activity was investigated by disc diffusion method against several microorganisms, nine species of Gram positive and thirteen Gram negative bacteria. Ethanol, ethylacetate and butanol extracts exhibited potent antimicrobial activities against *B. megaterium*, *C. xerosis*, *S. aureus*, *S. epidermidis* and *E. coli*. Chloroform and aqueous extracts from *H. cordata* showed weak antimicrobial activity against the tested bacteria. Ethylacetate and butanol extracts exhibited strong antimicrobial activity against the tested microorganisms. The extraction yields were 15.7%, 3.7%, 0.13%, 0.5% and 5.9% in ethanol, chloroform, ethylacetate, butanol and aqueous fractions, respectively. To further elucidate the effective components, solvent extracts was analyzed by GC/MSD.

서론

전통약물로서 민간에서 광범위한 분야에서 효능을 나타내고 있으며 최근 항균제로서의 역할과 항암제로서의 효용이 관심의 대상이 되고 있는 약모밀(*Houttuynia cordata* Thunb.)은 삼백초과(Saururaceae)에 속하는 다년생 초본이다. 이 식물체는 중국 및 일본이 원산지로 한방과 민간에서는 수종, 매독, 치질, 임질, 방광염, 자궁염, 폐렴, 기관지염, 무좀, 악창, 중금속 해독 등에 효능이 알려져 있으며, 이 식물의 휘발성 화합물과 flavonoids 성분의 이노효과, 항균 및 항진균효과 등이 알려져 있어 최근 이를 과학적으로 규명해 보고자 하는 연구가 진행되고 있다.

따라서 본 연구는 약모밀 뿌리의 ethanol 추출물과 각 분획에 대하여 항균활성을 검토하고 그 활성성분을 검색하고자 한다.

재료 및 방법

분획물의 추출

본 연구에 사용한 약모밀은 부산광역시 강서구 가락 일대에서 재배된 것을 수집하여 음건하였다. 건조된 약모밀의 뿌리를 미세하게 마쇄한 후 0.5 mm 체로 거른

다음 그 분말을 -20°C 냉동고에 보관하여 분획물 추출 재료로 사용하였다. 미세하게 마쇄한 250 g의 약모밀 뿌리에 2.5 l ethanol을 가하여 순환냉각장치를 이용하여 3시간 동안 가열 추출한 후 0.45 μm membrane filter로 여과하여 ethanol 분획물을 얻었고, 이를 rotary vacuum evaporator로 감압, 농축, 건조하였다. 상기의 과정을 2회 반복 추출하였다. 건조된 ethanol 추출물을 500 ml H_2O -ethanol(9:1)에 재용해하고 여기에 500 ml chloroform을 가하여 chloroform 추출물과 수용성 추출물로 분획하여 chloroform 추출물을 얻었다. 수용성 분획에 ethylacetate 및 butanol을 순차적으로 첨가하여 최종적으로 butanol과 수용성 추출물을 얻었다. ethylacetate, butanol 및 수용성 추출물은 rotary vacuum evaporator로 감압하여 농축, 건조하였다.

미생물배양 및 배지

항균활성 측정에 사용된 미생물균주는 한국과학기술연구원 생명공학연구소 유전자은행에서 분양 받아 30°C 와 36°C 에서 배양하여 사용하였다.

순차분획물의 항균활성 측정

각 순차분획물에 대한 항균활성은 disc diffusion 방법으로 측정하였다¹⁾. 각 추출물을 각 용매에 재용해하여 각 추출물의 농도를 조절하여 멸균된 paper disc(\varnothing 8 mm)에 점적한 다음, 공기 중에서 용매를 완전히 휘발시키고 각각의 검정균이 접종된 agar plate 상에 완전히 밀착시켜 4°C 냉장고에서 1시간 방치하였다. 각 agar plate는 배양기에서 18시간 배양하였고, 배양한 후 inhibition zone의 직경을 mm단위로 측정하여 항균력을 비교하였다.

뿌리의 ethanol 추출물의 GC/MSD 분석

Gas chromatography/Mass selective detector(GC/MSD)에 의하여 각 순차분획 추출물의 휘발성 성분을 분석하였다²⁾. GC/MSD는 HP model 6890A series GC system과 연결된 HP model 6890 series Mass Selective Detector를 사용하였다. Column은 HP-5 crosslinked 5% Ph Me Silicone capillary column(50 m length x 0.32 mm i.d. x 1.05 μm film thickness, Hewlett-Packard Co., USA)을 사용하였으며 oven 온도는 40°C 에서 5분간 유지 후 $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 으로 승온하여 120°C 에서 1분간 유지시켰으며 다시 280°C 까지 $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 으로 승온하였다. Injector 및 interface의 온도는 각각 270°C 와 290°C 로 하였다. Carrier gas는 He 1.0 ml/min, split mode (ratio=15:1)로 하여 시료 1.5 μl 을 주입하였다. MS의 EMVolts는 1890, 그리고 scan range는 35 700amu로 하였고 GC에서 분리된 각 peak의 성분은 Willey275. L에 의하여 동정하였다.

결과 및 고찰

건조된 약모밀 뿌리에서 추출한 ethanol 및 각 순차분획물의 추출수율은 Table 1에 나타내었다. 추출에 사용한 전체 약모밀 뿌리에 대한 ethanol 추출물의 수율은 약 15.7%이었다. Ethanol 추출물에 대한 각 순차분획물 중 ethylacetate 추출물이 가장 낮은 수율을 보였다. 22 종의 미생물에 대한 약모밀 뿌리의 ethanol 추출물 및 순차추출물에 대한 항균활성의 측정 결과는 Table 2와 같다. *H. cordata* 뿌리에서 얻은 ethanol 추출물의 항균활성을 측정한 결과, Gram 음성균에 비해 Gram 양성균에 대하여 항균활성이 보다 강하게 나타났고, Gram 양성균 중 *C. xerosis*와 *S. aureus*에 대한 항균활성이 전체 다른 양성균에 비하여 높게 나타났다. Gram 양성균 중에서 *Bacillus* 속에 대하여서는 모두 항균활성을 보였고, 이들 미생물 중 *B. cereus*에 대한 항균활성이 상대적으로 높았다. 그러나 전체 Gram 양성균 중에서 *L. monocytogenes*에 대한 항균활성은 나타나지 않았다. 13종의 Gram 음성균에 대한 항균활성은 나타나지 않거나 나타나더라도 Gram 양성균에 비하여 현저히 낮았다. 그러나 *E. coli*와 *S. typhi*에 대한 항균활성은 다른 음성균에 비하여 높았다. Chloroform 추출물은 *C. xerosis*와 *M. luteus*를 제외한 모든 미생물에 대한 항균활성이 나타나지 않았고, 수용성 추출물은 항균활성이 나타나지 않거나 나타난다하더라도 다른 추출물에 비하여 활성이 상대적으로 미약하였다. 그러나 ethylacetate와 butanol 추출물의 경우 상대적으로 다른 추출물에 비하여 처리 농도가 낮음에도 불구하고 대부분의 미생물에 대하여 항균활성이 강하게 나타났다. 이와 같은 결과는 ethylacetate 추출물에 주로 존재하는 phenol성 물질이 그 원인으로 생각된다. Fig. 1은 약모밀 뿌리에서 얻은 ethanol 추출물의 gas chromatogram을 나타낸 것이다. 전체 102 가지의 물질에 검출되었다.

Table 1. Yield of each fractions extracted from *H. cordata* root

Fraction	Dried weight(g)	Yield(%)
Ethanol	41.91	15.72
Chloroform	9.47	3.68
Ethylacetate	0.33	0.13
n-Butanol	1.24	0.50
Aqueous	14.80	5.92

$$\text{Yield(\%)} = \frac{\text{dried weight of extract fraction(g)}}{\text{dried weight of } H. \text{ cordata root(g)}} \times 100$$

Table 2. Antimicrobial activity of extracts from *H. cordata* root

Microorganisms	ethanol ext.				CHCl ₃ ext.				ethylacetate ext.				butanol ext.				H ₂ O ext.			
	(mg/disc)				(mg/disc)				(mg/disc)				(mg/disc)				(mg/disc)			
	5	10	15	20	5	10	15	20	1.25	2.50	3.75	5.00	2.5	5.0	7.5	10.0	5.0	10.0	15.0	20.0
<i>B. cereus</i>	8.5	9.0	9.7	10.7	-	-	-	-	-	-	-	± 8.5	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. megaterium</i>	± 8.5	9.5	10.0	-	-	-	-	-	10.0	11.3	12.3	12.8	10.0	10.8	12.0	13.0	-	9.0	10.3	11.0
<i>B. subtilis</i>	-	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	8.8	10.0	-	-	-	-
<i>C. xerosis</i>	9.3	10.3	11.0	11.8	8.8	9.5	10.0	10.2	-	8.5	9.0	9.5	-	±	9.0	9.5	-	-	±	+
<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	± 8.8	-	-	-	-	-
<i>M. luteus</i>	±	9.2	9.7	10.3	±	±	8.5	9.0	-	-	-	8.5	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	8.5	9.2	9.8	11.0	-	-	-	-	-	8.5	9.5	-	-	9.0	10.0	-	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i>	±	9.0	9.7	10.2	-	-	-	-	-	9.0	9.0	10.0	11.3	12.5	13.0	-	9.3	10.5	11.5	-
<i>S. faecalis</i>	-	-	±	9.0	-	-	-	-	-	9.0	9.3	-	±	10.0	10.5	-	-	-	-	±
<i>C. freundii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	± 8.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. cloacae</i>	-	-	±	9.2	-	-	-	-	-	-	8.5	-	-	±	±	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	±	8.7	9.2	9.7	-	-	-	-	9.8	11.0	12.0	13.0	9.5	10.0	11.5	12.3	-	±	9.5	10.3
<i>E. coli O157</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	10.5	11.8	12.5	13.8	10.0	11.3	12.3	13.3	-	-	-	11.0
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.5	10.0	-	-	9.0	10.0	-	-	-	-	±
<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	8.5	9.0	10.3	11.3	11.8	12.8	-	-	-	-
<i>S. typhi</i>	±	8.7	9.5	10.8	-	-	-	-	-	±	9.0	10.3	11.0	12.0	13.3	-	-	-	-	-
<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	9.8	11.0	11.8	12.8	9.5	10.5	11.8	12.5	-	8.5	10.0	11.0
<i>S. sonnei</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.5	-	-	±	9.3	-	-	-	-	-
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.8	9.8	10.8	-	-	8.5	9.0	-	-	-	-
<i>V. vulnificus</i>	-	-	-	8.5	-	-	± 8.8	± 8.8	± 9.0	9.5	10.8	-	± 9.0	9.8	-	-	-	-	-	±
<i>Y. enterocolitica</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-

요약

약모밀(*Houttuynia cordata*)의 뿌리에서 추출한 ethanol, chloroform, ethylacetate, butanol 및 수용성 추출물의 항균활성을 9 종의 Gram 양성균과 13 종의 Gram 음성균에 대하여 disc diffusion 방법으로 조사하였다. Ethanol, ethylacetate, butanol 추출물은 *B. megaterium*, *C. xerosis*, *S. aureus*, *S. epidermidis* 및 *E. coli*에 대하여 항균활성을 나타내었고, chloroform과 수용성 추출물은 활성이 나타나지 않거나 미약하였다. 그러나 Ethylacetate와 butanol 추출물은 상대적으로 낮은 농도에서 강한 항균활성을 나타내었다.

참고문헌

1. Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris, and M. Turck, "Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method"(1966), Am.J. Clin. Pathol.,45, 493
2. 송중호, 권혁동, 이원구, 박인호, "침미래덩굴 뿌리에서 추출한 순차분획물의 항균활성과 성분분석"(1998), 한국식품영양과학회지, 27(4), 573