대한약리학잡지 : 제 9 권 제 1 호
Korean J. of Pharmacology
Volume 9, Number 1, 1973

除虫菊花 抽出物의 抗眞菌作用

가톨릭대학 의학부 약리학교실

〈지도 조 규 철 교 수
조 병 헌 부교수〉

이종화 · 조선희 · 송병숙 · 백운상

=Abstract=

Antifungal Activity of Extracts from Pyrethrum Cinerariaefolium V.

Jong Hwa Lee, Sun Hee Cho, Byung Sook Song and Un Sang Paek

Department of Pharmacology, Catholic Medical College
Seoul, Korea

(Directors: Prof. Kyu Chul Cho, Assoc. Prof. Byung Heon Cho)

Although numerous drugs are available for the treatment of superficial fungi infections of skin, and yet the clinical effects of most of such drugs are not satisfactory.

In the hope of searching for effective drugs for superficial fungi infections, the authors observed fungistatic effects of Pyrethri Flos, a common herb in Korea, with water extract (PFWE), ethanol extract (PFEE), and methanol extract (PFME) from Pyrethrum cinerariaefolium V.

In *in vitro* studies, the spores of fungi were inoculated on Sabouraud's glucose agar media which contained Pyrethri Flos extracts in each concentrations of 500 μg/ml, 1,000 μg/ml and 5,000 μg/ml respectively, and the growth of the fungi was observed for 3 weeks.

The species of the fungi used in these experiments were Epidermophyton floccosum, Microsporum canis, Microsporum nanum, Microsporum gypseum, Microsporum cookei, Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton tonsurans and Trichophyton verrucosum.

The results of these studies were as follows;

1. The growth of M. nanum & T. rubrum was slightly inhibited by PFWE 500 μg/ml, and the growth of M. nanum, M. cookei & T. rubrum was slightly inhibited by PFWE 1,000 μg/ml. The growth of E. floccosum, M. gypseum & M. cookei was slightly inhibited, however the growth of M. canis, M. nanum, T. mentagrophytes, T. rubrum & T. tonsurans was significantly inhibited by PFWE 5,000 μg/ml.
2. With 500 μg/ml of PFEE, the growth of M. canis, M. nanum, T. mentagrophytes, T. rubrum & T. tonsurans was significantly inhibited, and moderate inhibition of M. cookei growth and slight inhibition E. floccosum & M. gypseum were observed.
   The growth of M. canis, M. nanum, T. mentagrophytes, T. rubrum & T. tonsurans was significantly inhibited, and the growth of E. floccosum, M. gypseum & M. cookei was moderately inhibited by PFEE 1,000 μg/ml. Significant inhibitions of the growth of E. floccosum, M. canis, M. nanum, M. gypseum, M. cookei, T. mentagrophytes, T. rubrum & T. tonsurans were observed by PFEE 5,000 ug/ml.

3. The growth of E. floccosum & M. cookei was moderately inhibited, and the growth of M. canis, M. nanum, M. gypseum, M. mentagrophytes, T. rubrum & T. tonsurans was significantly inhibited by PFME 500 μg/ml. But the growth of E. floccosum, M. canis, M. nanum, M. gypseum, M. cookei, T. mentagrophytes, T. rubrum & T. tonsurans was significantly inhibited, and the growth of T. verrucosum was slightly inhibited in both PFME 1,000 μg/ml and 5,000 μg/ml.

머 리 말

진균류의 감염증에는 표재성(表在性; 局所性) 감염과 심부성(深部性; 全身性) 감염이 있으며, 표재성 감염진균류로 Epidermophyton, Microsporum 및 Trichophyton 등에 의한 감염증이 임상적으로 가장 중요한 것으로 인정되고 있다(Ormsby et al., 1954).

표재성감염증으로서 우리 나라에서 흔히 출현되는 것으로는 汗疱性 白癬症, 頭部白癬症 및 頑癬症 등으로, 이와 같은 표재성감염진균류들의 피부감염증에는 과거로부터 여러가지 약물들이 국소적으로 적용되어 왔으나, 그 임상적 효과는 만족할 만한 것이 못 되었었고, 오히려 만성적으로 되는 症例가 적지 않았다.

현재 표재성감염진균류의 치료에 사용되고 있는 약물들은 그 종류가 多數에 이르지만, 이 가운데 특히 빈번히 사용되고 있는 salicylic acid, undecylenic acid 및 griseofulvin 등을 제외하고는 별로 우수한 약효를 나타내는 약제들이 아직 발견되지 못하고 있는 실정이다.

趙炳憲 (1966)과 李圭龍 (1968)들은 유기합성제제의 일종인 benzalaniline, trimethylenetrianiline 및 benzoin으로, 또한 植物抽出物製劑로서 초피나무알콜추출물 및 회향유(조병헌, 1963)의 抗진균작용을 실험한 결과, 유효한 작용이 있음을 인정한 바 있다.

표재성감염증진균류에 대하여 강력한 항진균작용이 있어, 널리 국소적으로 사용되는 성분 가운데 특히 식물성 성분의 일종인 propionic acid, caprylic acid 및 undecylenic acid 들은 한포성백선증에 가장 효과적이나, 이들의 장기사용은 사용부위의 국소적 염증을 일으킬 우려가 있고, 또 계속 사용으로 내성진균이 출현될 수도 있다(Vilanova et al., 1954).

이와 같은 사실을 근거로 하여, 저자들은 항진균작용이 있는 약제들을 검토중, 민간인들 사이에 살충목적으로 널리 사용되는 除虫菊을 채취, 그 꽃부분을 건조시켜 증류수, 에틸알콜 및 메틸알콜 등의 3가지 용매를 사용하여 추출물을 생성시켰다. 이 3가지 추출물을 몇가지 농도에서 9종의 피부성진균에 對하여 항진균작용을 관찰한 바, 시험관내에서 그 효과를 인정하였기에 이에 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

1. 제충국화의 수용성 및 알콜추출물

제충국(Pyrethrum cinerariaefolium V.)의 꽃이 만개하였을 때에 채취하여, 제충국화(Pyrethri Flos)를 충분히 건조시켜 분말화한다. 이 건조분말 200 g을 취하여 증류수로 수회 용해반복추출한 후에 농축 건고시키어 암적색의 제충국화의 수용성 추출물(Pyrethri Flos Water Extract; 이후 PFWE로 약함) 약 50 g을 얻었다. 또 한편으로 제충국의 알콜성추출물을 제조하기 위하여 먼저, 제충국화건조분말 100 g을 취하여 에틸알콜 1,000 ml로 수회 반복용해 추출한 다음에 농축 건고시켜 적갈색의 제충국화에틸알콜추출물 (Pyrethri Flos Ethanol Extract; 이후 PFEE라 약함) 약 25 g을 생성시켰다. 같은 방법으로 제충국화건조분말 100 g을 취하여 메틸알콜 1,000 ml로 수회 용해반복추출, 농축 건고시켜 흑갈색의 제충국화메틸알콜추출물 (Pyrethri Flos Methanol Extract; 이후 PFME로 약함) 약 20 g을 얻었다.

이렇게 하여 얻은 3種의 추출물들, 즉 PFWE, PFEE 및 PFME를 각각 3가지의 농도 500 μg/ml, 1,000 μg/ml 및 5,000 μg/ml가 되도록 Sabouraud's glucose agar 배지에 용해시켜 검체로 사용하였다.

2. 시험관내에서의 항진균작용에 대한 실험

1) 배 지

Sabouraud's glucose agar 배지를 사용하였다. 조성은 pepton 1%, glucose 4% 및 agar 1.8%로서 이 배지를 pH 6.6으로 조절한 다음, 120°C에서 20분간 멸균하였다. 여기에 Penicillin G. crystal (pfizer) 20 μg/ml와 Streptomycin (pfizer) 40 μg/ml를 50°C 上에서 加한 다음 사면배지로 만들어 사용하였다(Conant, 1954).

2) 사용균종

다음과 같은 9종의 피부성진균,

Epidermophyton floccosum
Microsporum canis
Microsporum nanum
Microsporum gypseum
Microsporum cookei
Trichophyton mentagrophytes
Trichophyton rubrum
Trichophyton tonsurans
Trichophyton verrucosum

을 Belgium의 Institude of Tropical Medicine에서 분양받아서 사용하였다.

3) 항진균시험에 사용된 검체의 농도

검체는 앞에 서술한 바와 같은 방법으로 저자들이 추출한 3종의 추출물들, PFWE, PFEE 및 PFME을 각각 3가지의 농도, 500 μg/ml, 1,000 μg/ml 및 5,000 μg/ml로서 관찰하였다.

Sabouraud's glucose agar 배지에 Penicillin G. 와 Streptomycin을 넣을 때 동시에 검체를 위와 같은 종류와 농도로 배지 안에 넣어 잘 혼합시켜 사용하였다.

사면배지에서의 검사는 Sabouraud's glucose agar 배지內에서 3주일이상 정상발육시킨 9종의 피부성진균의 포자를 25°C에서 한 백금이(白金耳)씩 각각의검체및 정상사면배지에 이식하고 3주일 동안 배양하여 관찰하였다.

본 실험에서의 항진균작용의 유무 및 정도의 판단기준은, 검체추출물의 가장 낮은 농도인 500 μg/ml에서, 정상배지상의 균태(대조군)에 비하여 그 발육상태가 균태직경의 ½이하로 뚜렷하게 억제된 것을 기준으로 하였다. 또한 동일한 검체에 대하여 3회씩 반복하여 얻은 실험결과를 종합, 평균하여 그 작용 및 효과를 결정하였다.

실험성적

시험관내의 항진균작용을 관찰하기 위하여, PFWE, PFEE 및 PFME 3種 추출물을 각각 3가지의 농도, 즉 500 μg/ml, 1,000 μg/ml 및 5,000 μg/ml가 되도록 Sabouraud's glucose agar 배지에 넣어 사면배지로 만든 다음, 정상 Sabouraud's glucose agar 배지에서 3주일 이상 배양시킨 9종의 피부성진균을 25°C上에서 일정량씩(한 白金耳) 정상 사면배지(대조군) 및 검체사면배지에 이식시켜 3주일동안 배양한 후 균태형상을 관찰한 결과는 다음과 같다.

PFWE 500 μg/ml에서 M. nanum 및 T. rubrum에 對하여 경도(輕度)의 억제를 보였으며, 1,000 μg/ml에서는 M. nanum, M. cookei 및 T. rubrum에 대하여 경도억제를 보였고, 5,000 μg/ml에서 E. floccosum 및 M. gypseum에 대하여는 경도억제를, M. cookei에 대하여는 中等度억제를, M. canis, M. nanum, T. mentagrophytes, T. rubrum 및 T. tonsurans에 대하여서는 현저한 억제를 보였다.

PFEE 500 μg/ml에서 E. floccosum 및 M. gypseum에 對하여 경도억제를 보였고, M. cookei에 대하여 中等度억제를, M. canis M. nanum, T. mentagrophytes, T. rubrum 및 T. tonsurans에 대하여 현저한 억제를 보였다.

PFEE 1,000 μg/ml에서는 E. floccosum, M. gypseum

Table The fungistatic effects of Pyrethri Flos extracts (PFWE, PFEE & PFME)

Drug / Concent. μg/ml / Fungi	Normal	PFWE			PFEE			PFME		
		500	1,000	5,000	500	1,000	5,000	500	1,000	5,000
E. floccosum	—	—	—	+	+	++	+++	++	+++	+++
M. canis	—	—	—	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
M. nanum	—	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
M. gypseum	—	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++
M. cookei	—	—	+	++	++	++	+++	++	+++	+++
T. mentagrophytes	—	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
T. rubrum	—	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
T. tonsurans	—	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
T. verrucosum	—	—	—	*—	*—	*—	*—	*—	+	+

Sabouraud's glucose agar was used for culture. The growth of various fungi was observed for 3 weeks.
+++ : Complete inhibition ++ : Moderate inhibition + : Slightly inhibition — : No effect
PFWE : Pyrethri Flos Water Extract PFEE : Pyrethri Flos Ethanol Extract
PFME : Pyrethri Flos Methanol Extract * : The spores and forms of fungi were varied.

및 M. cookei에 대하여 중등도의 억제를, M. canis, M. nanum, T. mentagrophytes, T. rubrum 및 T. tonsurans에 대하여 현저한 억제를 보였고, PFEE 5,000 μg/ml에서 E. floccosum, M. canis, M. nanum, M. gypseum, M. cookei, T. mentagrophytes, T. rubrum 및 T. tonsurans에 대하여 뚜렷한 억제를 나타내었다.

PFME 500 μg/ml에서 E. floccosum 및 M. cookei에 대하여 중등도억제를 보였으며, 1,000 μg/ml이상 5,000 μg/ml에서 E. floccosum, M. canis, M. nanum, M. gypseum, M. cookei, T. mentagrophytes, T. rubrum 및 T. tonsurans에 대하여 현저한 억제를 보였고, T. verrucosum에 대하여서는 경도억제를 보였다(Table 및 Fig. 참조).

특히 주목할 만한 결과로서, PFEE및 PFME는 PWSE에 비하여 같은 농도에서 훨씬 유효한 항진균작용을 보였으며, PFEE 및 PFME에서는 대부분의 균태들이 변성까지 일으켜 형태 및 포자형성이 변이되었다. PFME는 PFEE 및 PFEE에서도 억제치 못한 T. verrucosum에 대하여서 경도억제를 보인 것은 흥미있는 결과였다.

고 안

제충국(Pyrethri cinerariaefolium V.)은 菊科(compositae)에 屬하는 유고슬라비아原産의 多年草로서, 미국 및 구주 각 지역에서는 insect flower라 하여 농약용살충제로 사용하며, 우리 나라에서는 1900년경 경상남도 부산지방에서 처음으로 재배되었고, 현재는 전라남도 송정리 및 제주도의 일부지방에서 대부분의 양이 생산되어, 국내소비에 쓰인다(정태현, 1959).

우리 나라에서 재배되고 있는 제충국화 종류로는 白花種과 赤花種이 있으며, 제충국화의 수확적기는 만개시로서, 이때 또한 가장 화분량이 많고 또 화분량이 많을 수록 유효성분이 많이 포함되어 있으므로, 화분량이 많을 수록 良品이라고 한다.

세계적인 재배분포를 살펴 보면, 과거 제충국의 명산지로는 일본의 북해도 지방이었으나, 二次대전 이후로는 Africa 지역의 kenia 국의 고원지대에서 재배가 발달되어 일본산보다 더욱 양품을 다량 재배, 산출하고 있다(임기홍, 1961).

제충국화는 민간에서 농업용 살충제의 용도로서 분말이나 석유乳劑로 사용하며, 그 밖에도 모기, 빈대, 벼룩 등에 insecticides로서도 분말제나 gasoline 유출액하여 사용하기도 한다(이선주, 1963)

현재 널리 使用되고 있는 항진균제제로는 수은화합물, 유황화합물, salicylic acid 유도체, 지방화합물인 *undecylenic acid* 및 *formaline* 등이 함유된 제제들이다. 그러나 이들 제제중에는 장기간 사용중에 피부에 염증을 유발시키거나 내성진균을 출현시키는 경우도 있다(Vilanova et al., 1950; Weld et al., 1947).

또 일반적으로 널리 알려진 임상적으로 유효한 항진균작용이 있는 제제들은, 탄소수가 7~13개의 지방산제제이며, 이 가운데에도 탄소와 탄소사이에 2중결합을 형성하고 있는 불포화지방산의 구조를 가진 제제성분이 더욱 강력한 항진균작용을 나타낸다고 한다(Wyss, 1945).

이런 구조상에 관련된 항진균작용의 유무 및 정도를 참고로 하여 보면, 제충국화가 항진균작용이 현저함을 알 수 있다. 즉 제충국화의 유효성분은 pyrethrin Ⅰ, pyrethrin Ⅱ 및 cinerin Ⅰ 및 cinerin Ⅱ 등의 4가지로서 그 구조속에 불포화지방산을 함유하고 있다. pyrethrin Ⅰ 및 pyrethrin Ⅱ는 pyrethrolone과 chrysanthemum-monocarboxylic acid(菊一酸) 및 chrysanthemum-dicarboxylic acid(菊二酸)와의 복합유기물질이며, 또한 cinerin Ⅰ 및 cinerin Ⅱ는 cinerolone과 chrysanthemum-monocarboxylic acid 및 chrysanthemum-dicarboxylic acid와의 복합유기물질이다. pyrethrolone이나 cinerolone은 C=11의 ketoalcohol로서 측쇄파라핀계지방족화합물이며 2중결합의 위치와 수만 다를 뿐이다. 또한 chrysanthemum-monocarboxylic acid 및 chrysanthemum-dicarboxylic acid는 C=10의 불포화지방산들이다. 위와 같은 4가지 성분이 유효성분이며, 그 함량은 0.3~1.6%로서 만약 이 성분들이 가수분해를 받는다면 그 효력이 저하되는 경향이 있다고 한다(우인근, 1963).

이와 같은 사실로 미루어 보아, 제충국의 유효성분은 이들 4성분의 복합작용이며, 제조 및 성분추출도중에 가수분해를 받지 않는 것이 그 작용을 강하게 나타내는 것으로 생각된다.

그러므로 3종의 추출물 가운데, 수용성추출물이 다른 유기용매인 알콜추출물보다 낮은 효력을 보인 이유로는, PFWE는 증류수로 추출 도중에 이미 추출액중에서 유효성분인 pyrethrin Ⅰ, Ⅱ 및 cinerin Ⅰ, Ⅱ 등이 일부 또는 전부 가수분해를 받아 분해되었기때문이 아닌가도 생각된다.

또한 같은 농도에서 그 항진균작용을 비교할 때, 메틸알콜추출물인 PFME가 에틸알콜추출물인 PFEE에서보다 현저한 항진균작용을 나타낸 것을 관찰할 수 있는데, 이 이유로는 메틸알콜에서는 에틸알콜에서보다

생약성분들이 저분자물질까지 용해되고, 또 유효성분들이 분해되는 경우가 적기 때문에 그 효력이 강력한 것으로 생각된다.

Sabourand's glucose agar 배지 속에 들어있는 검체는 PFWE 보다도 PFEE 및 PFME 에서 oil 이 부유된 것을 볼 수 있는 것으로 미루어 보아, 제충국의 유효성분인 oil 은 확실히 유기용매인 에틸알콜이나 메틸알콜에 더 잘 용해됨을 알 수 있었다.

이와 같은 관찰을 토대로, 저자들은 제충국화의 3종 추출물 PFWE, PFEE 및 PFME 의 항진균작용을 인정할 수 있었으며, 앞으로 결정화를 시도하면 추출물에서 보다 훨씬 적은 농도나 양으로서도 抗진균작용을 나타낼 수 있을 것으로 기대되며 이 문제는 앞으로 더 추구하여 볼 흥미있는 실험으로 생각된다.

맺 음 말

제충국화의 3종추출물인 PFWE, PFEE 및 PFME 들을 각각 500 μg/ml, 1,000 μg/ml 및 5,000 μg/ml 가 되도록 Sabouraud's glucose agar 사면배지에 넣었다. 여기에 正常 發育시킨 9종의 피부성진균, Epidermophyton floccosum, Microsporum canis, Microsporum nanum, Microsporum gypseum, Microsporum cockei, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum, Trichophyton tonsuraus 및 Trichophyton verrucosum 을 한 白金耳씩 이식, 각 검체사면배지 및 정상사면배지에서 3주일동안 배양, 관찰한 결과는 다음과 같았다.

1. 제충국화로부터 수용성추출물(PFWE), 에틸알콜추출물(PFEE) 및 메틸알콜추출물(PFME)를 생성시켰다.

2. PFWE 5,000 μg/ml 에서 E. floccosum, M. cockei 진균에 대하여 경도억제를, M. gypseum 에 對하여 중등도억제를, 그 밖에 M. canis, M. nanum, T. mentagrophytes, T. rubrum 및 T. tonsurans 에 대하여 현저한 억제를 보였다.

2. PFEE 는 500 μg/ml 농도에서 PFWE 5,000 μg/ml 농도에서와 같은 정도의 항진균작용을 보였다. 또 PFEE 1,000 μg/ml, 5,000 μg/ml 에서는 E. floccosum, M. gypseum 및 M. cockei 에 대하여 중등도억제를, M. canis, M. nanum, T. mentagrophytes, T. rubrum 및 T. tonsurans 에 대하여 현저한 억제를 보였다. 특히 PFEE 5,000 μg/ml 에서는 T. verrucosum 을 제외한 모든 균주의 성장을 현저하게 억제시켰다.

3. PFME 는 500 μg/ml 에서 PFEE 1,000 μg/ml 와 같은 정도의 항진균작용을 보였다. 또 PFME 1,000 μg/ml 및 5,000 μg/ml 에서 T. verrucosum 에 대하여 경도억제를, 나머지 8종에 대하여 현저한 억제를 보였다.

4. PFWE, PFEE 및 PFME 3종추출물 가운데 같은 농도에서 PFME 가 가장 항진균작용이 강하며, PFEE 가 그 다음이며, PFWE 는 가장 낮은 항진균작용을 보였다.

REFERENCES

Conant, N.F.: *Manual of clinical mycology. 2nd ed. W.B. Saunders Co., philadelphia, 413, 1954.*

趙炳憲: *Trithioformaldehyde, Benzalaniline* 및 초피나무 *alcohol* 추출물의 抗진균작용. 가톨릭대학 의학부 논문집, *10:65, 1966.*

李圭龍: *Trimethylene trianiline, Benzoin* 및 茴香油의 抗진균작용. 가톨릭대학 의학부 논문집, *14:31, 1968.*

鄭台鉉: 除虫菊, 韓國植物圖鑑(草本部). 新志社, 서울, *1956.*

趙炳憲, 李鍾訓: 한국산 매자나무성분의 결정화 및 항균작용. 가톨릭대학 의학부 논문집, *7:129, 1963.*

李善宙: *Pyrethri Flos.* 生藥學, *p. 206-208, 1963.*

林基興: *Pyrethrum cinerariaefolium V.* 藥用植物學(各論). *p. 290, 1961.*

Ormsby, O.S. & Montgomery, H. *Disease of the skin. 8th ed. Lea & Fehiger Co., Philadelphia, 1128, 1954.*

Vilanova, X & Cassanovas, M.: *Artificially produced resistance in the Trichopyton gypseum in the presence of undecylenic acid and in the presence of some vegetable. J. Invest. Dermat. 15:161, 1950.*

Weld, J.T. & Gunthur, A.: *The antibacterial properties of sulfur. J. Exper. Med. 85:531, 1947.*

Wyss, O., Ludwing, B.J. and Jorner, R.R.: *The fungistatic and fungicidal of fatty acid and related comp. Arch. Biochem. 7:415, 1945*

≫이종화 외 3人 논문 사진 부도≪

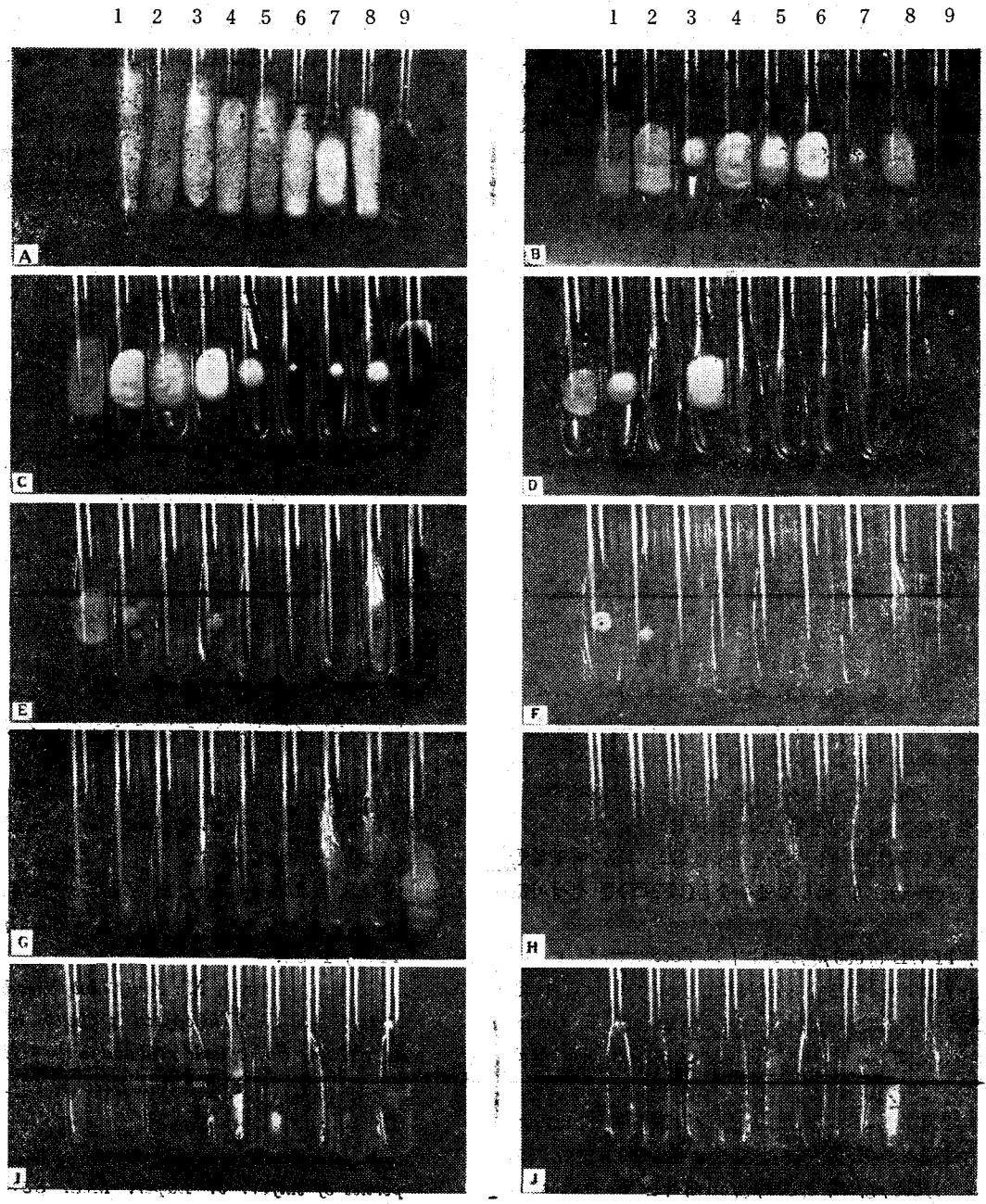

Fig. The fungistatic effects of water extract (PFWE) ethanol extract (PFEE) and methanol extract (PFME) from Pyrethrum cinerariaefolium V.

(fungi) 1. E. floccosum 2. M. canis 3. M. nanum 4. M. gypseum
5. M. cookei 6. T. mentagrophytes 7. T. rubrum 8. T. tonsurans 9. T. verrucosum

(Samples) A). Normal B). PFWE 500 μg/ml C). PFWE 1,000 μg/ml D). PFWE 5,000 μg/ml
E). PFEE 500 μg/ml F). PFEE 1,000 μg/ml G). PFEE 5,000 μg/ml H). PFME 500 μg/ml
I). PFME 1,000μg/ml J). PFME 5,000 μg/ml