

## Chrysanthemum屬 식물의 항균성

장대식<sup>1\*</sup> · 남상해<sup>3</sup> · 최상욱<sup>2</sup> · 양민석<sup>1</sup>

<sup>1</sup>경상대학교 농화학과, <sup>2</sup>경상대학교 공동실험실습관, <sup>3</sup>진주 산업대학교 식품가공학과

**초록** : *Chrysanthemum*屬 식물(5종, 9부위)의 methanol 추출물 및 각 용매분획물의 수율을 조사한 결과, methanol 추출물의 수율은 31.5%~16.9%의 비교적 다양한 범위를 보였으며 전초보다 꽃이 높은 경향을 보였다. Methanol 추출물에 대한 각 분획물의 비율을 살펴보면, 전 시료에서 공통적으로 물 분획물이 가장 높은 비율을 차지하며 꽃보다 전초에서 더 높고, 유기용매 분획물은 모두 전초보다 꽃에서 높은 경향을 보였다. *Chrysanthemum*屬 식물의 methanol 추출물과 용매분획물들에 대한 항균실험 결과, 구절초의 꽃이 전반적으로 강한 항균력을 보였고 산국의 꽃과 구절초의 전초 그리고 쑥갓의 꽃이 비교적 우수하였다. 용매 분획물에 대한 항균력 비교에서는 각 식물체의 chloroform 분획물이 *Bacillus subtilis*와 *Vibrio parahaemolyticus*를 비롯한 4종의 공시균주 모두에 대해 전반적으로 가장 강한 활성을 보였다. 산국 전초의 chloroform 분획물은 산국 꽃의 chloroform 분획물보다 4가지 균주 모두에서 더 강한 활성을 보여주었다. 산국과 구절초의 꽃과 전초, 그리고 쑥갓의 꽃의 chloroform 분획물들은 서로 유사한 TLC pattern을 보였다(1996년 4월 14일 접수, 1996년 6월 14일 수리).

### 서 론

새로운 항균성물질의 개발과 국내자생식물에 대한 성분연구의 일환으로, 탁월한 항균력을 가지고 있는 자생식물에 대한 자료를 수집하던 중 禹<sup>1)</sup>의 연구에서 산국(*Chrysanthemum boreale* Mak.)과 사철쑥(*Artemisia capillaris* Thunb.)의 전초가 *Staphylococcus aureus*와 *Escherichia coli*에 대해 탁월한 항균력이 있음을 알았다. 이들 두 식물체 중 사철쑥에 대해서는 쑥과 함께 생리활성이나 성분연구가 비교적 많이 이루어졌으나, 산국에 대한 생리활성이나 성분에 관한 연구자료는 거의 찾아보기 어려웠기 때문에 산국에 대해 특별한 관심을 가지게 되었다. 더욱이, 최근에는 南<sup>2,3)</sup> 등의 연구에서, 산국꽃의 항암성에 대한 실험을 행하는 과정에서 분리된 sesquiterpene lactone의 한 종류로 추정되는 물질이 몇몇 암세포주에 대한 강한 세포독성을 가질뿐만 아니라 *Vibrio parahaemolyticus*와 *Bacillus subtilis*에 대한 항균활성도 가지고 있으며 산국과 동속식물인 감국(*Chrysanthemum indicum* L.)의 chloroform 분획물이나 sesquiterpene lactone 추출물도 어느 정도의 항균성을 가짐을 보고하였다. 그럼에도 불구하고, 아직까지 산국의 항균물질에 대한 규명이 이루어지지 않고 있으며, 南 등에 의해 분리된 물질이 *V. parahaemolyticus*와 *B. subtilis*에는 항균활성을 가지지만 *S. aureus*와 *E. coli*에 대한 활성이 확인되지 않았기 때문에 이들 두 균주에 대한 활성물질은 따로 있을 것이라 사료된다. 또한, 산국은 감국이나 재배감국과 혼용하며 주로 꽃을 이용하므로 이들의 전초에 대한 연구는 더욱 미약하며, 동속식물인 구절초도 민간

이나 한방에서 비교적 사용빈도가 높음에도 불구하고 정유성분<sup>4)</sup>을 제외한 다른 성분에 대한 연구가 거의 이루어져 있지 않은 실정이기 때문에, 이들 식물이 포함되어 있는 *Chrysanthemum*屬에 대한 연구에도 관심을 가지게 되었다.

따라서, 산국을 포함하는 *Chrysanthemum*屬 식물들도 상당한 항균활성이 있을 것으로 판단되어, 이들 식물로부터 항균활성물질의 분리와 성분연구를 위한 기초적인 실험을 수행하였다. 즉, *Chrysanthemum*屬 식물 5종 9부위를 수집하여 methanol로 추출한 후 용매분획을 실시하여 얻은 분획물들의 항균성을 조사하고 이들의 chloroform 분획물에 대한 TLC pattern을 비교하였으며, 이 과정에서 얻어진 몇몇 결과를 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 식물체 재료

본 실험에 사용한 식물체 재료 5종 9부위, 즉 산국(*Chrysanthemum boreale* Mak.)의 꽃과 전초, 감국(*C. indicum* L., Wild)의 꽃과 전초, 재배감국(*C. indicum* L. Cultivated)의 꽃, 구절초(*C. zawadskii* Kita.)의 꽃과 전초, 그리고 쑥갓(*C. coronarium*)의 꽃과 전초는 대한식물도감<sup>5)</sup>과 원색한국약용식물도감<sup>6)</sup> 등을 참고로 하여 서부경남일대의 자생지에서 채취, 동정하여 음건하였고 재배감국은 인근 한의원에서 구입하였다. 음건된 식물체는 세절하여 분쇄한 후 실험재료로 사용하였다.

#### 사용균주 및 재료

찾는말 : *Chrysanthemum*, 항균성, TLC pattern

\*연락처

Table 1. Comparison of yields in the solvent fractions and methanol extracts from plants in *Chrysanthemum* spp. tested

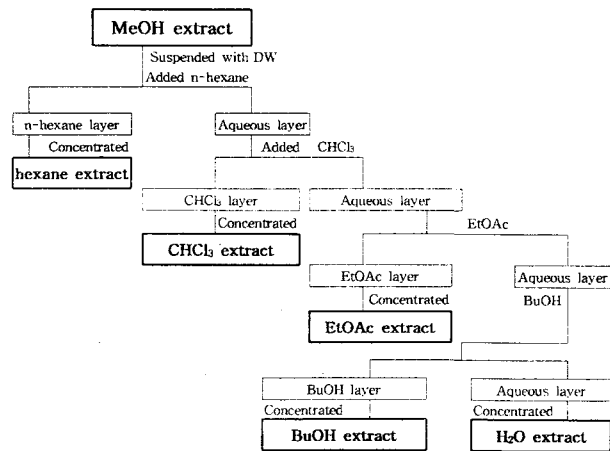
Fractions	Species								
	BF*	BH	IF	IH	FF	ZF	ZH	CF	CH
Dry wt. of plant	500	500	500	500	200	200	300	200	300
MeOH ex.	153.0	134.3	98.4	84.4	62.9	57.5	69.3	61.1	72.6
n-Hexane	21.1	11.3	20.8	7.5	18.8	12.3	13.8	14.4	15.2
CHCl <sub>3</sub>	21.2	5.5	10.9	5.4	2.7	8.3	9.3	5.6	3.8
EtOAc	8.9	3.6	4.5	2.1	3.3	8.8	3.9	7.8	5.9
BuOH	17.2	12.0	16.8	12.9	4.1	5.1	4.1	8.6	10.1
Water	49.3	67.6	36.9	39.2	26.6	18.2	29.8	19.7	30.6

\*BF: *C. boreale*(F) BH: *C. boreale*(H) IF: *C. indicum*, Wild (F) IH: *C. indicum*, Wild (H) FF: *C. indicum*, Cultivated (F) ZF: *C. zawadskii*(F) ZH: *C. zawadskii*(H) CF: *C. coronarium*(F) CH: *C. coronarium*(H), F: flower H: herb.

실험에 사용한 균주는 gram 양성균으로서 *Staphylococcus aureus* ATCC 13301과 *Bacillus subtilis* ATCC 9372, gram 음성균으로서 *Escherichia coli* ATCC 15489 및 *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 33844를 한국중균협회에서 분양받아 사용하였다. 균 생육배지로는 nutrient agar를 사용하였는데 *V. parahaemolyticus*의 경우에는 nutrient agar배지에 3% NaCl을 첨가하여 사용하였다.

**Chrysanthemum屬 식물의 용매 추출**

음건, 세절한 식물체 시료(200~500 g)를 methanol (2 l)로서 환류냉각기에서 24시간씩 3회 반복 추출하여 여



Scheme 1. The procedure for solvent fractionation of the methanol extracts.

과한 후, 추출액을 50°C에서 감압농축하여 각 시료들의 methanol 추출물을 얻었다. Methanol 추출물을 증류수에 현탁시킨 후 n-hexane, chloroform, ethyl acetate 그리고 butanol을 차례로 가하여 순차적으로 분획하여 얻은 용매추출물과 남은 물층은 농축하여 수율을 계산한 후 -20°C에 보관하면서 용매분획물 시료로 하였다(scheme 1).

**항균력 측정**

각 식물체의 methanol 추출물의 항균성 검색에 사용한 균주는 slant에 배양된 각 균주 1백금이를 취해 10 ml

broth 생육배지에 접종하고, 30°C에서 18~24시간씩 3회 계대배양하여 사용하였다. 항균성 시험용 평판배지의 조제는 각각의 생육배지로 멸균된 기층용 배지(agar 1.5%)를 petri dish에 15 ml씩 분주하여 응고시키고, 중층용 배지(agar 0.75%)를 각각 2.5 ml씩을 시험관에 분주하여 멸균한 후, 45°C의 수욕상에 보관하면서 각종 시험균액 0.1 ml를 무균적으로 첨가하여 잘 혼합한 후, 기층용 배지위에 고르게 퍼지도록 도포한 뒤 응고시켜 2중의 균점종 평판배지를 만들어 사용하였다. 시료의 항균력 검색은 한천배지확산법(disk plate method)으로 측정하였다.<sup>7)</sup> 즉, 각 분획물을 용매분획에 사용한 용매에 100 mg/ml의 농도로 녹여 0.45 μm membrane filter (Mili-pore社, USA)로 여과하여 재균하고 멸균된 filter paper disc (Toyo, 8 mm, Japan)에 20 μl (2 mg)씩을 흡수시킨 후, 추출용매를 완전히 휘산시키고 시험용 평판배지위에 놓아 밀착시키고 4°C 냉장고에서 1시간 방치한 후, 30°C의 incubator에서 24~48시간 배양한 다음 disk주변의 clear zone의 직경을 측정하였다.<sup>4)</sup>

**결과 및 고찰**

**Chrysanthemum屬 식물의 추출**

*Chrysanthemum*屬 식물의 methanol 추출물 및 각 용매분획별 수율을 조사한 결과, methanol 추출물의 수율은 31.5%(재배감국의 꽃)~16.9%(감국의 잎)의 비교적 다양한 범위를 보였으며 전초보다 꽃이 높은 경향을 보였다. Methanol 추출물에 대한 각 분획물의 비율을 살펴보면, 전 시료에서 공통적으로 물 분획물이 가장 높은 비율(구절초의 꽃: 31.7%~산국의 잎: 50.3%)을 차지하며 꽃보다 잎에서 더 높고, 유기용매 분획물은 모두 잎보다 꽃에서 높은 경향을 보였다(Table 1).

*Chrysanthemum*屬 식물 5종 9부위의 methanol 추출물과 용매분획물들에 대한 항균실험 결과 Table 2와 Fig. 1에서 보는 바와 같이, 구절초의 꽃이 전반적으로 가장 강한 항균력을 보였고 산국의 꽃과 구절초의 전초 그리고 쪽갓의 꽃이 비교적 우수하였다. 용매 분획물에 대한 항균력 비교에서는 각 식물체의 chloroform 분획

Table 2. Antibacterial activities of the solvent fractions from MeOH extracts of plants in *Chrysanthemum* spp.

Bacteria	Plants*	Diameter of clear zone(mm), 2 mg/disk					
		MeOH	n-hexane	CHCl <sub>3</sub>	EtOAc	BuOH	Water
<i>B. subtilis</i>	BF	8.6	—**	12.4	—	—	—
	BH	—	—	14	10.6	—	—
	IF	—	—	12	—	9.4	—
	IH	—	—	—	8.8	—	—
	FF	—	—	—	10.6	—	—
	ZF	10	—	14	10	9	—
	ZH	10	—	12	12	—	—
	CF	9	—	14	11	—	—
	CH	—	—	—	9.6	—	—
<i>V. para-haemolyticus</i>	BF	9.2	—	14	—	—	—
	BH	8.8	8.8	16	11	—	—
	IF	9.6	—	13	—	9.6	—
	IH	—	—	9	—	9.6	—
	FF	—	—	—	9.2	—	—
	ZF	10	12	18	10.4	9.6	—
	ZH	10	9.6	16	11	—	—
	CF	—	—	16	10	10	—
	CH	—	—	—	9.6	—	—
<i>S. aureus</i>	BF	—	—	—	—	—	—
	BH	—	—	14	—	—	—
	IF	—	—	—	—	—	—
	IH	—	—	—	—	—	—
	FF	—	—	—	9	—	—
	ZF	9	—	14	10	—	—
	ZH	—	—	9	10.6	—	—
	CF	—	—	10	8.8	—	—
	CH	—	—	—	9.6	—	—
<i>E. coli</i>	BF	—	—	—	—	—	—
	BH	9.4	—	14	9	—	—
	IF	—	—	—	—	—	—
	IH	—	—	—	—	—	—
	FF	—	—	—	9	—	—
	ZF	9.6	—	15	9	—	—
	ZH	9	—	12	9.2	—	—
	CF	8.8	—	10	8.4	—	—
	CH	—	—	—	9	—	—

\*BF: *C. boreale*(F) BH: *C. boreale*(H) IF: *C. indicum*, Wild (F) IH: *C. indicum*, Wild (H) FF: *C. indicum*, Cultivated (F) ZF: *C. zawadskii*(F) ZH: *C. zawadskii*(H) CF: *C. coronarium*(F) CH: *C. coronarium* (H), F: flower H: herb \*\*'-': No antibacterial activity.

물이 *B. subtilis*와 *V. parahaemolyticus*를 비롯한 4종의 공시균주 모두에 대해 전반적으로 가장 강한 활성을 보인 반면에, n-hexane 분획물들은 *V. parahaemolyticus*를 제외한 나머지 3가지 균주에서 그리고 물 분획물은 4가지 공시균주 모두에 대해서 전혀 활성을 보이지 않았다. Butanol 분획물의 경우는 감국의 꽃과 구절초의 꽃에서 *S. aureus*를 제외한 3가지 균주에 대해 약간의 활성을 가지나 나머지 식물체의 butanol 분획물은 활성이 거의 없거나 전혀 없었다. 그리고 ethyl acetate 분획물의 경우는 식물체의 종류에 따라 어느 정도 활성을 가지는 것도 있었는데 대체로 꽃 보다는 전초에서 상

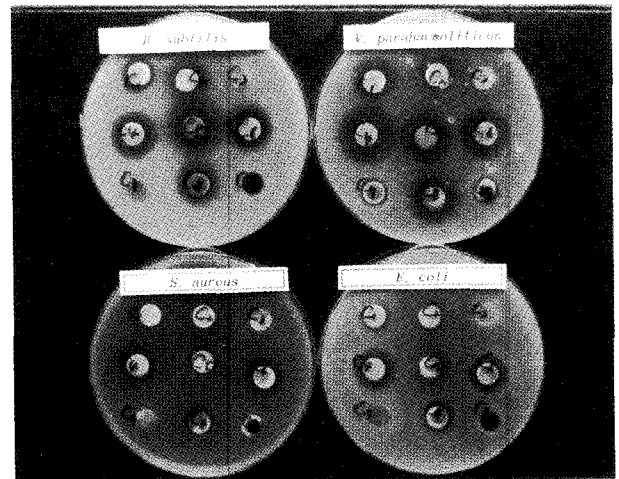


Fig. 1. Antibacterial activities of the CHCl<sub>3</sub> fractions from 9 kinds of MeOH extracts against four bacterial strains tested.

C1: *C. boreale*(F) C2: *C. indicum*(F) C3: *C. indicum*, Cultivated (F) C4: *C. zawadskii*(F) C5: *C. coronarium*(F) C6: *C. boreale*(H) C7: *C. indicum*(H) C8: *C. zawadskii*(H) C9: *C. coronarium*(H) F: flower H: herb.

대적으로 강한 활성을 나타내었다. 또한, 산국 전초의 methanol 추출물은 *B. subtilis*와 *V. parahaemolyticus*에 대한 항균력이 산국꽃에 비해 활성이 약하지만, 산국 전초의 chloroform 분획물은 산국 꽃의 chloroform 분획물보다 오히려 강한 활성을 보여주었다. 전체 methanol 추출물에 대한, 활성의 주체로 생각되는, chloroform 분획물의 비율이 산국의 꽃이 13.9%(21.2 g/153 g)임에 비해 산국의 전초는 4.1%(5.5 g/134.3 g)에 불과한 사실은 이 같은 결과를 어느 정도 설명해주며, 꽃과 전초의 활성이 크게 차이 나지 않는 구절초의 경우는 꽃의 methanol에 대한 chloroform 비율이(14.4%, 8.3 g/57.5 g) 전초(13.4%, 9.3 g/69.3 g)와 크게 차이 나지 않는 사실이 이를 더욱 뒷받침해 준다고 하겠다. 그리고 *S. aureus*와 *E. coli*에 대한 활성이 산국의 꽃에서는 전혀 없거나 미미하지만 산국의 전초에서는 비교적 강하게 나타나는데, 이같은 결과는 禹<sup>1)</sup>의 연구에서 산국의 전초가 이들 균에 대한 탁월한 항균성을 보고한 사실과 南<sup>2,3)</sup> 등의 연구에서 산국의 꽃이 *B. subtilis*와 *V. parahaemolyticus*에 대해서는 강한 항균력을 가지나 *S. aureus*와 *E. coli*에는 전혀 활성이 없다고 보고한 사실과 잘 부합되며, 적어도 *S. aureus*와 *E. coli*에 대한 항균물질은 산국의 전초에만 존재하거나 꽃보다 많은 양으로 존재할 것이라 사료된다.

*Chrysanthemum*屬 식물들을 포함한 국화과 식물에는 항균활성을 비롯한 다양한 생리적 활성을 가지고 있는 sesquiterpene lactone<sup>9-12)</sup>이 광범위하게 존재하고 있다. 실제로 이들 식물체로부터 cumambrin A, B, arteglinin A를 비롯한 수종의 sesquiterpene lactone에 대한 보고가 있었으며<sup>13,14)</sup> 이들 화합물군은 chloroform 분획물에 대부분 존재하고 있기 때문에 이들의 항균성에 있어서 상당한 역할을 담당하리라 생각된다. 그러나 감국의 지

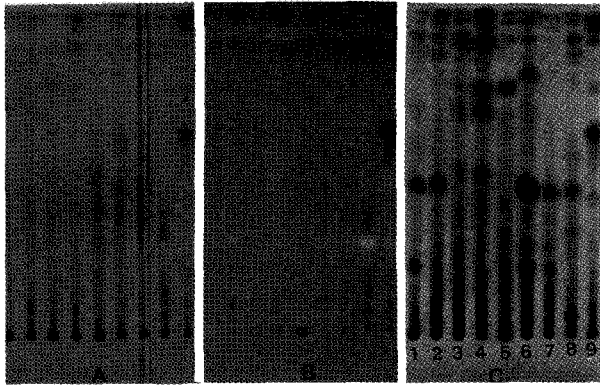


Fig. 2. Comparison of TLC patterns of  $\text{CHCl}_3$  fractions from MeOH extracts of *Chrysanthemum* spp. tested.

Developing solvent: n-hexane/EtOAc=6/4 A: UV 254 nm B: UV 356 nm C: 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  spray, heating at  $110^\circ\text{C}$ , for 5 min 1. *C. boreale* (F) 2. *C. boreale*(H) C3: *C. indicum*, Cultivated (F) 4. *C. indicum*(H) 5. *C. flos*(F) 6. *C. zawadskii*(F) 7. *C. zawadskii*(H) 8. *C. coronarium*(F) 9. *C. coronarium*(H).

상부와 쑥갓의 지상부, 그리고 재배감국의 꽃은 4종 의 공시군주에 대하여 chloroform 분획물보다 ethyl acetate 분획물에서 활성이 더 강한 경향을 보였기 때문에 이들의 항균성은 sesquiterpene lactone이 아닌 flavonoid를 비롯한 다른 천연물 group에 기인하는 것 같다. 하지만 전반적으로 볼 때, 각 식물체의 chloroform 분획물에서 강한 활성을 보였기 때문에 각 식물체의 chloroform 분획물에 대한 TLC pattern을 조사하였다(Fig. 2).

10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 을 분무한 후  $110^\circ\text{C}$ 에서 5분간 발색 시켰을 때 적색, 황색 그리고 청색 등의 선명한 색깔들이 많이 나타나는 것으로 보아, 이들 식물체의 chloroform 분획물에는 terpenoid 화합물이 다양하게 존재하고 있음을 알 수 있다. 그리고 *Chrysanthemum*屬 식물 5종 9 부위의  $\text{CHCl}_3$  분획물에 대한 TLC pattern을 비교한 결과, 한 방이나 민간에서 혼용하는 산국, 감국 그리고 재배감국의 꽃과 전초는 예상과는 달리 서로 상이한 양상을 보여주며, 오히려 쓰임새가 서로 다른 산국과 구절초의 꽃과 전초, 그리고 쑥갓의 꽃에서 더 비슷한 양상을 보이며 이들의 항균활성이 상이한 TLC pattern을 보여주는 감국의 꽃과 전초, 재배감국의 꽃 그리고 쑥갓의 전초에 비해 항균활성이 상대적으로 강하다는 사실이 흥미롭다. *Chrysanthemum*屬 식물들은 한방에서 비교적 광범위하게 사용될 뿐만 아니라 국화주를 비롯한 기호 식품에도 이용되기 때문에, 이들 식물에 대한 항균성을 비롯한 다양한 생리활성에 관한 연구와 체계적인 성분 연구가 요구된다.

이상의 결과로 미루어볼 때, *Chrysanthemum*屬 식물 중에서 산국의 잎과 구절초에서 상당한 항균활성을 보였으며, 또한 이들 식물체에서 cumambrin A, B, artegla-sin A를 비롯한 수종의 sesquiterpene lactone에 보고가

있었지만 생리활성에 대한 문헌을 거의 찾아볼 수 없고, sesquiterpene lactone 추출물이 *S. aureus*와 *E. coli*에 대한 활성이 거의 없다는<sup>2)</sup> 점을 감안해볼 때 항균물질에 대한 연구는 그렇게 간단하지 않을 것으로 예상된다. 현재 본 연구진은 각각의 *Chrysanthemum*屬 식물들로부터 항균성물질들을 규명하고 체계적인 성분연구를 위한 실험을 수행중에 있다.

## 감사의 글

이 논문은 농림수산부의 첨단농업 기술개발연구비에 의하여 수행된 연구결과의 일부로서 깊은 감사를 드립니다.

## 참고 문헌

1. 우원식 (1975) Biological screening of Korean medicinal plants. 서울대학교 논문집(C), **25**, 53-58.
2. 남상해, 양민석 (1995) 산국추출물의 항균력. 한국농화학회지, **38**(3), 269-272.
3. 남상해, 양민석 (1995) 산국으로부터 항암활성성분의 분리. 한국농화학회지, **38**(3), 273-277.
4. 신숙희, 최영임(1986) 구절초의 정유성분 및 동속생약 정유와의 비교 연구. 생약학회지, **13**(4), 153-156.
5. 이창복 (1989) 대한식물도감. 향문사 서울.
6. 육창수 (1990) 원색한국양용식물도감. 아카데미서적.
7. Piddok, L. J. V. (1990) Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J. Appl. Bacteriol* **68**, 307-318.
8. Nezhun G ren, Jasmin Jakupovic, and Seminur Topal (1990) Sesquiterpene lactones with antibacterial activity from *Tanacetum argyrophyllum* var. *argyrophyllum*. *Phytochem.*, **29** (5), 1467-1469.
9. Francisco A. M., Juan Carlos C. G. and Guillermo M. M. (1992) Potential allelopathic activity of several sesquiterpene lactone models. *Phytochem.*, **31**(6), 1969-1977.
10. Nikoraus H. F., Jeffrey D. W., James L. R., Leovigildo Q. and Marios A. M. (1990) Stimulation of witchweed germination by sesquiterpene lactones: a structure-activity study. *Phytochem.*, **29**(8), 2479-2483.
11. Abad M. J., Bermejo P., Valverde S., and Villar A. (1993) Anti-inflammatory activity of Hydroxyachillin, a sesquiterpene lactone from *Tanacetum microphyllum*. *Plant Med.*, **60**, 228-231.
12. Wagner H., Fessler B., Lotter H., and Wray V. (1988) New chlorine-containing sesquiterpene lactones from *Chrysanthemum parthenium*. *Plant Med.*, **54**, 171-172.
13. Mladenova K., Tsankova E. and Stoianova-Ivanova B. (1985) New sesquiterpene lactones from *Chrysanthemum indicum*. *Plant Med.* **51**, 284-285.
14. El-Masry, S., et al (1984) Sesquiterpene lactones from *Chrysanthemum coronarium*. *Phytochem.*, **23**(12), 2953-2954.

---

**Antibacterial Activity of Some *Chrysanthemum* spp.**

Dae-Sik Jang<sup>1\*</sup>, Sang-Hae Nam<sup>3</sup>, Sang-Uk Choi<sup>2</sup> and Min-Suk Jang<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Department of Agricultural Chemistry; <sup>2</sup>Central Laboratory, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea; <sup>3</sup>Department of Food Processing, Chinju National University, Chinju 660-758, Korea)

**Abstract :** The yields of methanol extracts of several *Chrysanthemum* spp.(5 species, 9 parts) and their solvent fractions were investigated. The yields of methanol extracts ranged from 16.9%(for flower of *C. indicum*, Cultivated) to 31.5%(for whole plant of *C. indicum*). In the tests of the antibacterial activity, the methanol extracts from flower of *C. zawadskii* and *C. boreale*, whole plant of *C. zawadskii*, and flower of *C. coronarium* showed excellent antibacterial activity. Generally, the chloroform fractions exhibited stronger antibacterial activity against all the bacteria tested when compared with other solvent fractions. In case of *C. boreale*, the chloroform fraction of the whole plant was shown stronger antibacterial activity against all four bacterial strains tested when compared with that of the flower. The chloroform fractions from flower and whole plant of *C. boreale* and *C. zawadskii*, and flower of *C. coronarium* were shown a similar TLC pattern.

---

\*Corresponding author