

Leptospermum Scoparium 수증기 추출물인 마누카 기름의 항균효과

이계주[#] · 정경수 · 김은희 · 서현주 · 홍남두*

충남대학교 약학대학, *방촌천연물연구소

(Received December 18, 1996)

Antimicrobial Activities of a Steam distillate of *Leptospermum Scoparium*

Gye Ju Rhee[#], Kyeong-Soo Chung, Eun Hee Kim,
Hyun Joo Suh and Nam Doo Hong*

Colloge of Pharmacy, Chung Nam National University,

*Institute of Bangchon Herbal Research

Abstract—The antimicrobial activity of Manuka oil, a steam distillate from *Leptospermum scoparium*, was investigated, and it's MIC against ten kinds of microorganisms was determined. MICs against bacteria and fungi were measured by means of both two-fold dilution method and agar plate two-fold dilution method, respectively. MICs of Manuka oil against *Staphylococcus aureus* KCTC 1916 and *Micrococcus luteus* KCTC 1915, gram-positive microorganisms, were identical as 3.05 µg/ml, while it's antibacterial activity against gram-negative microorganisms such as *Pseudomonas aeruginosa* KCTC 2513, *Escherichia coli* KCTC 1682, *Klebsiella pneumoniae* KCTC 2001 or *Proteus vulgaris* KCTC 2433 was negligible (MIC : ≥ 1000 µg/ml), suggesting a high susceptibility of gram-positive bacteria to Manuka oil. In addition, MIC against *Aspergillus niger* KCTC 6077 was 24 µg/ml, and that against the other fungi, *Tricophyton mentagrophytes* KCTC 1374 and *Candida albicans* KCTC 1940 was ≥ 1000 µg/ml. When Manuka oil ointment was used in combination with other drugs, i.e., gentamycin sulfate, chlortrimazol and hydrocortisone acetate, and diphenhydramine · HCl and hydrocortisone acetate, it's antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* KCTC 1916 was higher than Manuka oil ointment or other drugs alone. In conclusion, Manuka oil possesses a selective antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, and can be used as a potent antibacterial agent against it.

Keywords □ Manuka oil, MIC, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*.

페니실린의 사용을 시발점으로 하여 항생제에 대한 연구는 계속되어 왔고 지금까지 발견되거나 합성된 항생제의 종류 및 기원도 매우 다양하다. 특히, 최근에는 식물에서 항생물질을 추출 분리하려는 노력도 진행되고 있다. 여러 나라에서 나름대로 자생 식물에 대한 연구 및 항균력 검색을 시도하고 있으며 국내 신의약연구소에서도 새로운 항균제 개발을 위한 연구가 진행되고 있다.¹⁾

많은 식물유 중 일부는 살균, 방부 및 소독 등의 효과를 보이는데 감염 부위의 치료에 사용되는 식물유들 중 호주에서 자라는 tea tree (*Melaleuca alternifolia*)로부터 증류한 식물유의 효과는 주목할 만하다.^{2~7)} 2차 세계대전 중 호주에서는 살균 소독약의 공급이 어려워지자 tea tree 기름으로부터 증류 수거한 기름을 감염된 상처 부위에 사용하였다. 이 기름은 농을 흡수하고 상처 부위의 청결 및 소독에 탁월한 효과가 있었으며, 정상 조직에는 손상을 입히지않아서 민간에서 살균 소독제로 사용되었고, 드디어 1949년 British Pharmacopoeia codex 에 수재 되었다.

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 042-821-5932 (팩스) 042-822-5343

*Melaleuca alternifolia*에서 추출한 essential oil에는 terpin-1-en-4ol이 함유되어 항균 작용과 향기로 말미암아 현재 화장품, 비누, 샴푸 등에 다양하게 이용되고 있는데, 이 tea tree 기름의 특이하고도 강한 향으로 인하여 인체에 적용하는 제품으로는 그 appliance에 문제점이 제기된다. *Leptospermum scoparium*은 *Melaleuca alternifolia*와 유사하게, 뉴질랜드에서 같은 목적으로 민간에서 사용하는 자생 식물이다. 이 나무에서 추출한 essential oil에서 분리한 polyketones 은 tea tree 기름과 비교하여 특이한 역겨운 향이 약한 이점이 있다.

오래 전부터 뉴질랜드에서 상처 치료에 민간요법으로 사용되어 왔던 *Leptospermum scoparium* (일명 Manuka)으로부터 추출한 essential oil의 경우도 호주의 tea tree 기름과 같이 살균제로 사용될 수 있는지의 여부도 신중히 검토해 볼 필요성이 있다고 생각된다. *Leptospermum scoparium*은 뉴질랜드에서 야생으로 자라는 나무인데, 오래 전부터 마오리족에 의해 단독 혹은 다른 약물과 병용으로 여러 가지 질병의 치료에 사용되어져 왔다.⁸⁻¹²⁾

이들 essential oil은 UV 광선을 흡수하는 능력이 강력¹³⁾하여 sunscreen 제제에 응용할 수 있으며, 내피 끓인 액을 구강 소독 및 세척에 사용하여서 이 물질에서 강력한 살균력이 기대된다. 또한 마누카의 항균력은 다른 성분 들과 작용하여 그 효과가 상승되기도 한다. 이에 따라 tea tree 기름에 대하여서는 항균 효과가 보고되어 있으나, 마누카 기름에 대한 항균력의 연구는 아직 보고를 찾아볼 수 없다.

그러나 마누카 기름에 대한 연구는 향료업계에서 새로운 방향성 물질을 분리하고자 하는 방향에서 주로 연구되어 왔다.^{14,15)} 즉, anethole, cineole, menthol, eugenol 및 safrol 등이 그것이다. 그러나 예로부터 정유 성분은 민간 치료에 사용되어 왔고, 이들의 생물학적 효과와 치료학적 가능성에 대하여 Brud¹⁶⁾ 등과 Buchlauer¹⁷⁾ 등이 보고한 바 있다. aromatherapy 와 aromachology 는 근래 관심이 증가하고 있는 분야이며, 객관적이며 엄격한 연구에 기초한다면 정당화 될 것이다.¹⁸⁾ 모든 생물학적 성질 중에서 생독물성 (항균성, 항진균성)에 관해서는 근년에 가장 많이 연구되고 있으며, 대개는 이러한 연구가 천연자원에 가치를 부여하는 동안 위생 환경의 관리가 절대 필요한 개발국에서 주로 이루어져 왔다.

최근에는 새로운 성질 및 효능을 갖는 essential oil 이나 기름 중의 특정 성분을 분리하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 합성품에 대한 내성의 증가 및 알러지 등의 부작용에 대하여 더 많은 관심을 가지게 되어서 천연물을 소재한 안전하고 완만한 제품이 요구되고 있다. Brud¹⁶⁾는 정유 함유 식물의 역종요법 (allelopathy)은 막대한 역량을 가지고 개발할 분야라고 하여 연구의 무한한 가능성을 제시하였다.

따라서 본 연구실에서는 *Leptospermum scoparium*에서 추출한 essential oil의 항균력을 실험하고자 몇몇 균주에 대해서 항균력 실험을 하였다. 또한 이 활성성분에 대하여 새로운 천연 살균제로서의 개발 가능성을 모색하고자, 몇 가지 형태의 연고를 제제설계하여 항균력을 확인하였으며, 기존의 항생제 연고와 비교하고 항생제와의 복합 연고를 제조하여 상가 효과를 검토하였다.

실험방법

시약 및 기기 - Manuka oil (*Leptospermum Scoparium*의 잎과 가지를 수증기 증류하여 얻어진 기름: Tairawhiti Ltd., Newzealand), Bacitracin ointment (500 IU/g): 구주제약), Tefose 63 (Gattefossé, Korea), Labrafil M 1944 (Gattefossé, Korea), Tween 80 (Duksan Pharm. Ltd.), Heavy liquid paraffin (Duksan Pharm. Ltd.), Propylene glycol, heavy (Duksan Pharm. Ltd.), 항균실험 및 균주 보존에 사용한 배지 들은 Difco사의 것을 사용하였으며, 기타 각 종 시약은 1급 내지 특급 시약을 사용하였다. 실험에 사용한 재료는 컵(외경 7.9~8.1 mm, 내경 5.9~6.1 mm, 높이 9.9~10.1 mm의 스텔레스강제 원통), 항생물질 시험용 petri dish (falcon 90×15 mm), 기계식 교반기 (Chang Shin Scientific Co.), cup dropper 등이 있다.

시험균주 및 배지 - *In vitro* 항균력 측정을 위한 균주는 한국 과학기술연구원 생명공학 연구소 유전자원 센터 유전자 은행 (KCTC)에서 분양받아 사용하였고, Table I과 같이 그람 양성균 3종, 그람 음성균 4종, 진균 3종을 시험균주로 하되 각 균주마다 최적의 배지를 선택하여 실험하였다.¹³⁾

항균력 시험(MIC)¹⁴⁻¹⁷⁾

검액 제조 - 시료를 가용화시키기 위하여 Manuka

Table I— Microbial strains and media used for MIC experiments

	Strains	Media
Gram positive bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1916	Nutrient broth Mueller-Hinton Medium
	<i>Bacillus subtilis</i> KCTC 1021	Nutrient broth
	<i>Micrococcus luteus</i> KCTC 1915	Nutrient broth Antibiotic Medium No. 5
Gram negative bacteria	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KCTC 2513	Nutrient broth
	<i>Escherichia coli</i> KCTC 1682	Nutrient broth
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> KCTC 2001	Nutrient broth
	<i>Proteus vulgaris</i> KCTC 2433	Nutrient broth
Fungi	<i>Candida albicans</i> KCTC 1940	YM broth/agar
	<i>Tricophyton mentagrophytes</i> KCTC 6077	Sabouraud's dextrose broth/agar
	<i>Aspergillus niger</i> KCTC 1374	Potato dextrose broth/agar

기름 5 g에 Tween 80 15 g, 에탄올 10 ml를 혼합한 후 증류수 적당량을 가하여 solubilization하여 50 ml의 투명한 microemulsion 상태의 검액을 제조하였고 대조군으로는 활성성분을 함유하지 않는 formulation을 사용하였다.

균주배양 및 균액제조 - 동결건조된 상태로 분양받은 앰플내의 균주를 각 균주에 적합한 액체배지 0.5 ml을 첨가하여 pasteur pipette으로 잘 섞어준 후 적당량을 액체배지에 접종하고 37°C에서 18~24 시간 3차례 배양하였다. 이 균액을 동일한 배지로 희석(균사를 형성하는 진균은 균일하게 희석되지 않으므로 homomixer를 사용하여 균액을 균질화 함)하여 530 nm에서 흡광도가 0.2가 되도록 조절하여 사용한 균액의 균농도는 10⁵ CFU/ml이다.

항균실험 세균에 대한 항균 실험 - 시험관 희석법으로 제조한 검액 5 ml을 각 실험군에 따라 선택한 최적의 액체배지(Table I) 5 ml와 잘 섞은 후 2배씩 계속 계열 희석한 시험관에 전항에 기술한 50 µl의 균액을 넣어 균일하게 혼합시킨 후 37°C에서 18~24시간 배양하여 각 시료에서 균주의 증식을 억제한 최소농도(minimal inhibitory concentration : MIC)를 육안으로 관찰하였다. 이 때 활성성분을 함유하지 않는 균액 배지를 대조군으로 하였고, 검액자체가 유탁상태이므로 MIC가 높아서 검액자체의 탁도와 분별이 모호한 경우에는 배양액을 phase contrast microscope 상에서 관찰하여 생균의 존재여부를 판별하되 판별이 곤란한 경우에는 gram staining하여 명시야 현미경으로 관찰하여 MIC를 확정지었다.

균사를 형성하는 진균에 대한 항균실험 - 제조한 검액(10 ml)을 균주마다 최적의 agar배지 10 ml에 가하

Table II— Formulation sheet of ointment containing Manuka oil (total 100 g)

Base	No.	II-1	II-2	II-3	II-4	II-5	II-6	II-7
Manuka oil		0.5	1	1.5	2	4	5	10
Labrafil		3	3	3	3	3	3	3
Paraffin(heavy)		3	3	3	3	3	3	3
Propyleneglycol		3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8
Distilled water		qs	qs	qs	qs	qs	qs	qs
Na-EDTA		qs	qs	qs	qs	qs	qs	qs
BHA		qs	qs	qs	qs	qs	qs	qs
Tefose		20	20	20	20	20	20	20

여 균일하게 혼합하고 단계적으로 2배씩 계열 희석한 후 agar가 굳기전에 petri dish에 부어 농도별로 실험 약물이 함유된 agar plate를 제조하였다. 각 plate에 50 µl의 균액을 주입, conradi 봉으로 표면에 잘 퍼준 후 26°C 배양기에서 대조군에서 성장이 나타날때까지 1~7일간 배양한 후 각 plate에서 균주의 증식을 억제 한 최소농도를 육안으로 관찰하였다.

연고의 제조(외용 연고제의 설계)¹⁸⁻¹⁹⁾ - MIC실험 결과 마누카 기름이 황색 포도상구균(*Staphylococcus aureus*) 등 일부 그람 양성균에 강력한 항균효과(Table IV)를 나타내므로 그람 양성균에 탁월한 효과를 나타내는 Bacitracin을 대조물질로 설정, 시판 중인 구주제약의 바시트라신 단일 연고 제제의 항균력과 비교하기 위하여 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 5% 및 10%의 활성성분을 함유하는 마누카 기름 단일연고를 Table II와 같은 조성으로 제조하였다.

이상의 제제설계에 따라 시료 II-1~II-7까지를 제조하였다. 즉, 먼저 Lafrasil M 1994와 liquid paraffin을 혼합하여 미리 70°C로 용해한 Tefose 63에 가하고,

Table III— Formulation sheet of ointment containing Manuka oil(total 100 g)

Ingredient	III-1	Ingredient	III-2
Manuka oil	4	Manuka oil	4
Cetanol	3.2	Petrolatum(white)	15
Stearyl alcohol	3.2	Cetanol	2.5
Sorbitan monostearate	2.4	Stearyl alcohol	2.5
Polysorbate 60	2.4	Sorbitan monostearate	1.2
Liquid paraffin(light)	8	Polyoxyethylene hydro-	
Propylene glycol	15	genated castor oil	2.5
Purified water	qs	Polysorbate 60	0.6
		Liquid paraffin(light)	1.7
		Purified water	qs

따로 물과 propyleneglycol, 방부제 및 기타 첨가물을 혼합하여 70°C로 가온하여 교반(2000~3000 rpm)하면서 Tefose 용액에 서서히 가하고 60분간 교반을 계속한 다음 서서히 냉각하여 제조하였다.

따로 Table III에 따라 설계된 연고를 유상과 수상을 분리 용해하고 70°C에서 양액을 가온하고 homomixer를 사용하여 3000 rpm으로 교반하면서 유성액에 수성액을 서서히 가하고 60분간 교반하고 서서히 냉각시켜 제조하였다.

제조한 연고는 현미경을 통하여 그 혼합 상태와 유화 상태를 관찰하였고, 안정성을 검토하고자 연고를 -5°C와 25°C로 1주일 간씩 교대로 학대하면서 연고의 분리 및 결정의 석출 여부를 관찰 하였다.

연고제의 항균력 비교실험²⁰⁾ - 연고의 항균력 비교실험은 항생물질 의약품기준 역가시험항의 원통평판법¹¹⁾에 의거하여 시행하였다.

균액제조 - *Staphylococcus aureus*는 Mueller-Hinton agar plate에, *Micrococcus luteus*는 antibiotic medium No.5 plate에 각각 3계대 배양한 균을 멸균한 loop로 1/3 plate 가량의 colony를 찍어서 멸균 생리식염수 10 ml에 넣어 세계 흔들어서 부유시킨 것을 균액으로 하였다.

검액제조 - 바시트라신 연고(이하 ST)와 마누카 기름 만의 연고(이하 SA) 각 1 g을 블렌더에 넣고 1% 인산완충액 (pH 5.9~6.1)¹¹⁾을 가하여 100 ml로 한 것을 30분간 homogenizing (5000 rpm)한 후, 1% 인산염 완충액으로 희석하여 ST는 2 IU의 고농도 검액 (ST_H)과 0.5 IU의 저농도 검액 (ST_L)을 제조하고, SA는 0.2, 0.3, 0.35, 0.4, 0.45, 0.5%의 검액 (SA_H)과 그 각각에 대해서 2배 또는 4배 희석한 저농도 검액 (SA_L)을 제조하였다.

원통평판법 - 내경 90 mm petri dish에 각 agar 배지를 20 mm씩 부어 basal agar를 만들고, 그 위에 seed agar(1%)를 10 mm씩 부어 균혀 준 다음, 원통 4개를 반지름 약 28 mm의 동심원상의 중심에 대하여 약 90° 간격이 되도록 10~13 mm 높이에서 수직으로 낙하시켰다. 원통 한천평판 5개를 1군으로하여 원통 한천평판의 제 1원통에는 ST_H, 제 2원통에는 ST_L를, 나머지 2개의 원통에는 SA_H, SA_L (마누카 기름 원액은 별도)을 각각 200 μ씩 넣고 37°C에서 18~24시간 배양한 후 각 억제환의 지름(mm)을 마이크로 캘리퍼로 측정하였다.

복합연고의 제조 - 황산겐타마이신, 클로트리마졸, 초산히드로코르티손과 활성성분인 마누카 기름을 4% 함유하는 복합 항생제 연고(이하 A)와 염산디펜히드라민, 초산히드로코르티손, 마누카 기름을 혼합하여 같은 농도의 복합 항균제 연고(이하 B)를 제조하였으며 A 연고와 B 연고 각각에 대하여 마누카 기름을 함유하지 않는 연고를 제조하여 대조군 (이하 A', B')으로 하였다.

조제 복합연고의 항균력 - 복합연고의 항균력 실험은 전술한 시료연고와 바시트라신 연고의 항균력 비교 실험에서와 동일한 방법에 의거하여 시행하되, 각 연고의 검액은 0.2% 연고 희석액을 고농도 검액(AH, BH)으로 하고 이를 2배 희석한 0.1% 연고 희석액을 저농도 검액(AL, BL)으로 하였으며 대조군 연고 역시 같은 방법으로 희석하여 고농도 검액(AH', BH')과 저농도 검액(AL', BL')을 제조하여 원통평판법으로 각각의 억제환을 측정하였다.

결과 및 고찰

마누카 기름의 항균력을 평가하기 위하여 대표적인 그람 양성균 3종과 그람 음성균 4종, *Candida albicans*를 비롯한 진균 3종에 대한 MIC를 측정하고, 마누카 기름을 함유하는 단일 연고제를 조제하여 시판되고 있는 bacitracin 연고제와 비교실험 하였으며, 마누카 기름을 기존의 항생물질과 혼합한 복합 항생제 연고와 복합 항균제 연고를 조제하여 항균력의 변화 여부를 관찰한 결과는 다음과 같다.

*In vitro*에서 MIC를 측정한 결과, 총 10개 균주 중 4개 균주에 대하여 항균력이 확인되었으며 특히, 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus*와 *Micrococcus luteus*

Table IV—Antimicrobial activity of Manuka oil measured by minimum inhibitory concentration

Microorganisms	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1916	3.05
<i>Bacillus subtilis</i> KCTC 1021	≥ 1000
<i>Micrococcus luteus</i> KCTC 1915	3.05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KCTC 2513	≥ 1000
<i>Escherichia coli</i> KCTC 1682	≥ 1000
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KCTC 2001	≥ 1000
<i>Proteus vulgaris</i> KCTC 2433	≥ 1000
<i>Candida albicans</i> KCTC 1940	195
<i>Aspergillus niger</i> KCTC 6077	24
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> KCTC 1374	≥ 1000

Table V—Antimicrobial activity of Manuka oil against *Staphylococcus aureus*

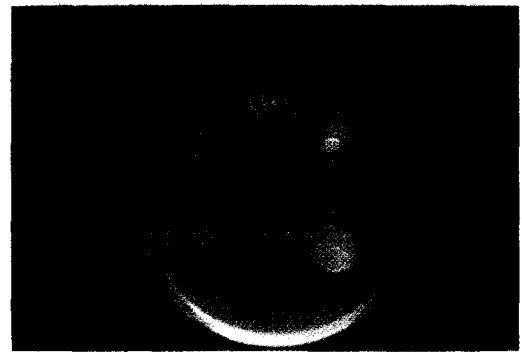
Manuka oil concentration (%)	Inhibition zone(mm)	
	SA _H	SA _L
0.2	10.30	*
0.3	13.65	*
0.35	13.70	*
0.4	14.40	11.50
0.45	14.40	14.25
0.5	15.10	14.65

* Inhibition zone only appears on the part of agar covered with loaded sample

에 대하여서는 MIC가 각각 3.05 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났다. 그러나 실험한 4종의 그람 음성균에 대하여는 항균효과를 나타내지 못하였으며, fungi에 대하여는 *Aspergillus niger*에 대하여 MIC 값이 24 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났다. 따라서 미누카 기름은 그람 양성균 중 *Bacillus subtilis* 균주를 제외한 *Staphylococcus aureus*와 *Micrococcus luteus* 2가지에 대하여 강한 항균력을 나타내었고 *Aspergillus niger*에 대하여서도 상당한 항진균력을 가지고 있었다(Table IV).

크림형 시료연고는 기제를 Tefose계와 고급 알코올계의 비율을 달리하여 제조한 결과 기제와 활성성분의 혼합상태가 균질한 유화상태를 나타내어 연고 제조가 용이하였다.

연고 중에 함유된 마누카 기름의 항균성을 검토하고자, 제조한 연고로부터 적당한 농도의 회석검액을 만들어 시판 중인 바시트라신 연고와 비교하여 원통평판법으로 실험한 결과는 *Staphylococcus aureus*에 대해서 시판 바시트라신 연고의 두 검액 ST_H와 ST_L 모두가 저지원이 나타나지 않았지만, 마누카 기름 함유 연고의 두 검액 SA_H와 SA_L에서는 Table V와 같은 크기의 저지원이 보였다(Fig. 1). 반면에, *Micrococcus luteus*에 대

**Fig. 1**—Inhibition zone of 0.45% Manuka oil ointment against *Staphylococcus aureus*.
a: ST_H, b: ST_L, c: SA_H, d: SA_L**Fig. 2**—Inhibition zone of 0.45% Manuka oil ointment against *Micrococcus luteus*.
a': ST_H, b': ST_L, c': SA_H, d': SA_L

하여서는 평균적으로 ST_H(바시트라신 연고 고농도 표준액)가 13 mm, ST_L(바시트라신 연고 저농도 표준액)가 8.85 mm의 저지원을 나타냈으나, 시료연고는 실험한 농도 범위에서 바시트라신 연고보다 항균력이 미약하였다. 그러나 마누카 기름 원액은 10.2 mm의 저지원을 나타내어 ST_H와 ST_L의 중간농도에 해당하는 항균력을 보여주었다(Fig. 2).

복합 항생제 연고(A)와 복합 항균제 연고(B)를 희석한 검액으로 원통평판법을 시행한 결과 *Staphylococcus aureus*에 대하여 마누카 기름을 함유하는 연고(A, B)의 경우가 대조군(A', B')보다 더 큰 저지원을 나타냈는데, (A)의 경우는 대조군(A')보다 평균적으로 1.5~2.4 mm 정도 큰 저지원을 보였고 (B)의 경우는 대조군보다 0.9~1.6 mm 정도 더 큰 저지원을 보였다.

또한 *Staphylococcus aureus*에 대하여 복합 항생제 연고(A)는 같은 농도(0.2%) 수준에서 마누카 기름 단일

Table VI—Antimicrobial activity of ointment containing multicomponent antibiotics, and ointment containing antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*

Ointments	Inhibition zone(mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
AH	10.87	7.67 (18.98)
AL	9.74	7.52 (19.25)
AH'	8.50	7.59 (19.24)
AL'	8.21	7.47 (19.29)
BH	8.53	7.50
BL	8.11	7.41
BH'	7.56	7.32
BL'	7.50	7.40

연고보다 평균적으로 0.57 mm가 큰 저지원을 나타내어 약간의 상가된 항균력을 나타냈다(Table V, VI).

*Candida albicans*에 대하여서는 복합 항생제 연고(A)와 복합 항균제 연고(B) 모두 뚜렷한 저지원을 나타내지는 않았지만 (A)는 균의 성장을 완전히 억제하지는 못하였어도 평균 직경 19 mm 정도의 항균작용이 미약한 저지원을 나타내었는데 이것은 연고의 일부 성분만이 확산되어 나타난 결과로 생각된다(Table VI). 따라서 마누카 기름 복합 연고의 항균력 검토를 위한 원통평판법 실험에서는 연고의 활성성분인 기름과 연고의 친유성 기재 성분의 수용성 배지에 대한 확산과 같이 제제에서 발생하는 문제를 고려해야 함을 알 수 있었다.

따라서, 앞으로 항생물질을 복합함으로써 얻어지는 상가작용을 정확히 관찰하기 위하여서는 연고제가 아닌 항생물질 자체를 사용하는 checkerboard method로 실험하여야 할 것으로 사료된다.

결 론

*Leptospermum scoparium*의 수증기 추출물인 마누카 기름을 대표적 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, *Bacillus subtilis* KCTC 1021, *Micrococcus luteus* KCTC 1915와 그람 음성균인 *Pseudomonas aeruginosa* KCTC 2513, *Escherichia coli* KCTC 1682, *Klebsiella pneumoniae* KCTC 2001, *Proteus vulgaris* KCTC 2433에 대하여 시험관 회석법으로 MIC를 측정된 결과, 실험한 4종의 그람음성균 모두에 대하여서는 항균효과를 나타내지 못하였으나, 그람 양

성균인 *Staphylococcus aureus*와 *Micrococcus luteus*에 대하여는 MIC가 둘 다 3.05 µg/ml로서 선택적으로 강한 항균력을 나타내었다. 또한 *Candida albicans* KCTC 1940, *Aspergillus niger* KCTC 6077, *Trichophyton mentagrophytes* KCTC 1374 등 fungi 3종에 대하여는 평판배지회석법으로 시험한 결과 *Aspergillus niger*에 대한 MIC가 24 µg/ml로서 완만한 항진균성을 나타내었다.

시험 바시트라신 연고와 마누카 기름 단일 시료연고를 원통평판법으로 비교 실험한 결과는, *Staphylococcus aureus*에 대하여 바시트라신 연고는 저지원이 나타나지 않은 반면 시료연고는 실험한 농도범위에서 평균적으로 10 mm 이상의 저지원을 보였다.

복합 항생제 연고는 *Staphylococcus aureus*에 대하여 마누카 기름 단일 연고보다 평균적으로 0.57 mm가 큰 저지원을 나타내었으며, 대조군 연고(A', B')에 비하여 복합 항생제 연고(A)는 1.5~2.4 mm, 복합 항균제 연고(B)는 0.9~1.6 mm 정도 더 큰 저지원이 나타났다.

따라서, 마누카 기름을 항균제로 개발할 가능성이 제시되었으며, 보다 확실한 판단은 각종 항생물질을 이용한 checkerboard method와 같은 실험이 추가로 요망된다.

감사의 말씀

이 연구의 일부는 충남대학교 약학대학 부속 의약품 개발 연구소의 교수 연구조성비로 이루어 졌으며 이에 감사를 드립니다.

문 헌

- 1) Recio M. C., Rias J. L. and Villar A., A review of some antimicrobial compounds isolated from medicinal plants reported in the literature 1978-1988. *Phytotherapy Research*, **3**, 117 (1988).
- 2) Mitscher L. A., A modern look at folklore use of anti-infective agent. *Journal of Natural Products*, 1025~1040 (1987).
- 3) Shapiro S., Meier A., Guggenheim B., The antimicrobial activity of essential oils and essential oil components towards oral bacteria. *Oral Microbial Immunol.* **9**, 202~208 (1994).

- 4) Penolope A., Doran J., Intraspecific variation in leaf oils of *Melaleuca alternifolia*, *Biochem. Syst. Ecol.*, **22**, 419~430 (1994).
- 5) Williams L., Lusunzi I., Essential oil from *Melaleuca dissitiflora*, *2nd. Crops. Prod.*, **2**, 211~217 (1994).
- 6) Carson C. F., Riley T. V., Susceptibility of *Propionibacterium acnes* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*, *Leff. Appl. Microbiol.* **19**, 24~25 (1994).
- 7) Villar D., Knight M. J., Toxicity of melaleuca oil and related essential oils applied topically on dogs and cats. *Vet. Hum. Toxicology*, **19**, 24~5 (1994).
- 8) Cook J., "A voyage towards the south pole and round the world", *Strahan & Cadell*, London, (1977).
- 9) Polack J. S., "Manners and customs of the New Zealanders", *Madden and Co 2. London*, (1840).
- 10) Neill J., "New Zealand family herb doctor", Miller, Dick and Co. Dunedin (1884).
- 11) Porter N. G., Lammerink J. P., "Effect of temperature on the relative densities of essential oils and water", *Journal of Essential Oil Research* **6** (3), 269~277 (1994).
- 12) Poverty Bay Cookery Calender, Federation of womens' Institutes, Special Maori Section, several issues (1930s).
- 13) Korean Collection for Type Cultures (KCTC), *Catalogue of Strains 4th Ed.* (1996).
- 14) 防菌防霉學會(Japan), 防均防微, Handbook, 日本技報堂, **933**, 1026 (1986).
- 15) Gerhard P., Manual of methods for general bacteriology ASM(Washington), 84~88 (1981).
- 16) 防均防微(Japan), 防均防微 Handbook, 日本技報堂, 700~781 (1986).
- 17) 抗生物質 醫藥品基準, 保健福祉部 告示, 第 120號, 保健福祉部, P. 745 (1978).
- 18) Rhee G. J., Lah W. L., Studies on the rheological properties on the some marketing emulsion base ointments. *Seoul National University Journal*, **24**, 24~31 (1974).
- 19) Lee I. J., Antibiotic Susceptibility of Pathogenic Microorganisms(I) *Report of National Institute of Health*, Korea, **8**, 203~208 (1971).
- 20) Mortimer P. Starr, Heinz Stolp, Haas G. Trüper, Albert Balows, Hans. G. Schlegel, *The Prokaryotes I, II*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (1981).
- 21) Lee Kyu Song, Lee Gye Ju, Studies on the Stability of Medicines (I), Report of National Institute of Health, Korea, 183~186 (1970).
- 22) Harold J. Benson, *Microbiological Applications* (A Laboratory Manual in General Microbiology), 5th Ed. Wm. C. Brown Publishers, U.S.A. (1990).
- 23) Kwon Chung Moo, Lee Gye Ju, Antimicrobial Activity of Zirconium Pyrithion Complex, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **18** (3), 107~111 (1988).