

## 목단피 추출물의 항균 및 항산화 작용

권오근, 손진창, 김상철, 정신교\*, 박승우  
경북 보건환경연구원, \*경북대학교 식품공학과

### Antimicrobial and Antioxidative Activities from Moutan Cortex Extract

O-Guen Kweon, Jin-Chang Son, Sang-Chul Kim, Shin-Kyo Chung\* and Seung-Woo Park

*Kyongbuk Insititute of Health and Environment  
Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University*

#### Abstract

Methanol extract and various solvent fractions from Moutan Cortex were tested for their antimicrobial activities, free radical scavenging activities and antioxidative activities, and phenolic compounds in ethylacetate fraction were analyzed by GC and HPLC. In the antimicrobial activities test, the ethylacetate fraction of methanol extract showed stronger than other fractions. The antimicrobial activities were more effective against Gram positive bacteria than Gram negative bacteria. Minimum inhibitory concentration(MIC) of ethylacetate fraction showed 156-1250 $\mu$ g/ml against Gram positive bacteria and 2500-5000 $\mu$ g/ml against Gram negative bacteria. The free radical scavenging activities and antioxidative activities using linoleic acid were higher in ethylacetate fraction. The antioxidative activity of ethylacetate fraction was similar to  $\alpha$ -tocopherol. The 3 major phenolic compounds were analyzed by GC and HPLC and these content were determined. The content of p-hydroxybenzoic acid, methyl gallate and gallic acid were 1.35%, 14.61% and 4.01%, respectively.

**Key words** : Moutan Cortex, Antimicrobial activity, Antioxidative activity

#### 서 론

목단피(Moutan Cortex)는 모란(*Paeonia moutan* Sims., *Paeonia suffruticosa* Andrews)의 근피로서, 한방에서는 소염, 해열, 진통제 등으로 사용하고 있는 중요한 한약재이다. 목단피에 관한 연구로는 목단피의 항돌연 변이원성(1,2), 항염증 작용(3), 항산화 작용(4)에 관한 연구가 보고된 바 있으며, 목단피의 성분으로는 paeonol, paeoniflorin, paeonoside, gallic acid, methyl gallate, ethyl gallate 등이 알려져 있다(5,6).

본 연구는 목단피 추출물을 천연 항균제 및 천연 항산화제로의 개발 가능성을 검토하기 위하여 목단

피의 메탄올 추출물을 각종 용매로 분획하여 분획별 활성을 조사하고, 활성이 높게 나타난 에칠아세테이트 분획으로부터 GC 및 HPLC를 이용하여 활성 성분을 확인하고 그 함량을 측정하였다.

#### 재료 및 방법

##### 재 료

본 실험에 사용한 목단피는 경북 의성의 한약재상에서 국내산을 구입하여 음건한 후 세절하여 시료로 사용하였다.

##### 시료의 추출 및 분획

목단피 1kg에 3배량의 메탄올을 가하여 2회 환류 추출하고 감압농축하여 메탄올 조추출물(150g)을 얻

Corresponding author : Seung-Woo Park, Kyongbuk Insititute of Health and Environment, Sankyuk-dong, Taegu 702-702, Korea

었다. 메탄올 조추출물은 10% 메탄올에 용해한 후 순차 용매분획하여 클로로포름(23.0g), 에칠아세테이트(16.5g), 부탄올(24.5g) 및 물(81.5g) 분획물을 얻어 각 분획별 활성을 실험하였다.

#### 항균작용

시료의 항균력은 paper disc ( $\phi$  8mm, Toyo)를 이용한 agar diffusion법(7)으로 실험하였다. 항균성 시험에 사용한 균주는 그람 양성균 4주(*Bacillus cereus* ATCC 11778, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6583, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228), 그람 음성균 4주(*Escherichia coli* ATCC 11105, *Salmonella thyphimurium* ATCC 13311, *Enterobacter aerogenes* ATCC 29751, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076) 이고, 배지는 Mueller-Hinton 배지를 사용하였다. Agar plate에 미리 배양한 균액을 멸균 면봉으로도말하고 paper disc에 각 추출물을 dimethylsulfoxide (DMSO)에 용해하여 50 $\mu$ l(2.0mg)씩 흡수시켜 plate 표면에 얹고, 36 $^{\circ}$ C에서 24시간 배양한 후 disc 주위의 clear zone(mm)의 직경을 측정하였다. 최소저해농도(MIC)의 측정법은 micro plate를 이용한 two-fold dilution 방법으로 측정하였으며, DMSO를 대조액으로 하였다.

#### 프리라디칼 소거작용

프리라디칼 소거작용은 Blois의 방법(8)을 변형하여 다음의 방법으로 측정하였다. 각 시료 0.2ml(40 $\mu$ g)에  $4 \times 10^{-4}$ M 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 에탄올용액 0.8ml를 가한 후 혼합하고 10분후 525nm에서 흡광도를 측정하였다. 프리라디칼 소거작용은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도를 사용하여 백분율로 나타내었다.

#### 항산화작용

항산화작용은 Nakatani 등(9)에 의한 linoleic acid model system을 이용한 ferric thiocyanate method에 의하여 측정하였다. 즉, 에탄올에 녹인 2.51% linoleic acid 2.88ml와 40mM phosphate buffer (pH 7.0) 9ml, 80% 에탄올에 녹인 시료 0.12ml(0.12mg)를 cap tube에 가한 후 혼합하고 40 $^{\circ}$ C에서 incubation 시켰다. 경시적으로 반응액 0.1ml를 취하여 75% 에탄올 9.7ml와 30% ammonium thiocyanate 0.1ml를 가하고 정확히 3분 후 3.5% HCl에 녹인 20mM의 FeCl<sub>2</sub> 0.1ml를 가하여 500nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### GC 및 HPLC에 의한 페놀화합물의 분석 및 정량

항균작용과 항산화 작용이 우수하게 나타난 에칠아세테이트 분획은 GC와 HPLC를 이용하여 페놀화합

물을 분석하였다.

GC(Hewlett-Packard 5890 Series II, USA)의 분석조건은 column은 SPB-5(capillary, 0.53mm  $\times$  30m), oven 온도는 120 $^{\circ}$ C에서 3분 유지 후 250 $^{\circ}$ C 까지 분당 6 $^{\circ}$ C로 승온하였고, 시료주입구 온도는 230 $^{\circ}$ C, 검출기 온도는 260 $^{\circ}$ C, 캐리어 가스는 질소, 검출기는 FID, 시료주입량은 2 $\mu$ l로 하였다. GC 분석을 위한 시료는 N,O-bis(trimethylsilyl)-acetamide(BSA)와 아세토니트릴(1:4) 시약으로 60 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시켜 TMS화시킨 후 사용하였다. HPLC(Waters Associates, USA)의 분석조건은 column은  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub>(3.9  $\times$  300mm), 이동상은 0.1% trifluoroacetic acid(TFA)를 함유한 20% 아세토니트릴, 검출기는 UV 254nm, 유속은 0.9ml/min, 시료주입량은 20 $\mu$ l로 하였다. 확인된 페놀화합물의 정량은 GC에서 분석된 peak area와 표준품의 peak area의 비로 부터 계산하였으며, 3회 분석한 후 산술평균값으로 나타내었다.

## 결과 및 고찰

#### 항균작용

목단피의 메탄올 추출물과 각 용매분획의 항균활성을 측정된 결과는 Table 1과 같다. 목단피의 메탄올 추출물과 클로로포름 분획은 *E. coli*를 제외한 모든 시험균주에 항균작용을 나타내었고, 에칠아세테이트 분획은 모든 시험균주에 항균작용을 나타내었다. 부탄올 분획은 그람 양성균 일부에 대하여 항균작용을 나타내었고, 물 분획은 모든 시험균주에 항균작용을 나타내지 않았다. 모든 분획에서 그람 음성균 보다는 그람 양성균에 대하여 항균작용이 강하였고, 균종별로는 *S. aureus*, *S. epidermidis*에 대하여 항균력이 강하게 나타났다. 항균작용이 우수하게 나타난 에칠아세테이트 분획물의 MIC를 측정된 결과는 Table 2와 같다. *S. epidermidis*에 대하여 MIC가 156 $\mu$ g/ml로 억제 작용이 가장 높게 나타났고, *B. cereus*, *S. aureus*에 대하여는 312 $\mu$ g/ml로 나타났다. 그러나 그람 음성균에는 MIC가 2500-5000 $\mu$ g/ml로 억제작용이 다소 약하게 나타났다. 현재 합성보존료로 많이 사용하고 있는 benzoic acid의 MIC는 625-1250 $\mu$ g/ml로 *Staphylococcus*와 *B. cereus*에 대하여는 목단피의 에칠아세테이트 분획이 benzoic acid 보다 항균력이 높게 나타났다. 이 결과로서 목단피의 에칠아세테이트 분획에는 그람 양성균에 탁월한 효과를 나타내는 항균성 물질을 함유하고 있는 것으로 판단되었다.

**Table 1. Antimicrobial activities of methanol extract and each solvent fractions from Moutan Cortex against various microorganisms**

Microorganisms	Inhibition zone(mm)				
	MeOH	CHCl <sub>3</sub>	EtOAc	BuOH	H <sub>2</sub> O
<i>E. coli</i> ATCC 11105	-	-	11	-	-
<i>E. aerogenes</i> ATCC 29751	9	9	10	-	-
<i>S. enteritidis</i> ATCC 13076	9	11	13	-	-
<i>S. typhimurium</i> ATCC 13311	10	12	14	-	-
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	10	11	13	-	-
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	11	11	16	10	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6583	12	12	19	9	-
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	13	13	21	9	-

- : no inhibition

**Table 2. Minimum inhibitory concentration(MIC) of ethylacetate fraction from Moutan Cortex against various microorganisms**

Microorganisms	MIC( $\mu$ g/ml)	
	EtOAc	Benzoic acid
<i>E. coli</i> ATCC 11105	2500	1250
<i>E. aerogenes</i> ATCC 29751	5000	1250
<i>S. enteritidis</i> ATCC 13076	2500	1250
<i>S. typhimurium</i> ATCC 13311	2500	1250
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	1250	1250
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	312	1250
<i>S. aureus</i> ATCC 6583	312	1250
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	156	625

**프리라디칼 소거작용**

지방질 식품의 산화와 생체의 산화·환원 반응, 자외선, 방사선, 잔류농약 등에 의해 생성되는 유리라디칼은 지질의 산화와 DNA 손상, 단백질의 변성 등을 초래하여 노화, 발암, 동맥경화등 퇴행성 질환을 유발하는 것으로 알려져 있다(10). 따라서 프리라디칼을 소거하는 물질은 식품의 산화와 생체의 산화를 방지하므로써 식품계와 생체계에서 유용한 작용을 하게된다. 목단피 추출물의 DPPH 라디칼에 대한 소거활성을 측정한 결과는 Table 3과 같다.

**Table 3. Free radical scavenging activities of methanol extract and each solvent fractions from Moutan Cortex**

Samples	Free radical scavenging(%)
MeOH	63.0
CHCl <sub>3</sub>	62.5
EtOAc	97.6
BuOH	29.9
H <sub>2</sub> O	10.0
BHA	94.9
$\alpha$ -Tocopherol	95.9

메탄올 추출물은 63.0% 정도의 라디칼 소거활성을 나타내었고, 클로로포름 분획은 62.5%, 에칠아세테이트 분획은 97.6% 정도의 라디칼 소거활성을 나타내었다. 그러나 부탄올 분획과 물 분획은 30% 이하의 낮은 라디칼 소거활성을 나타내었다. 프리라디칼 소거활성이 가장 높게 나타난 에칠아세테이트 분획물은 합성 항산화제로 많이 사용하는 BHA와 천연 항산화제로 많이 사용하는  $\alpha$ -tocopherol 보다 프리라디칼 소거작용이 다소 높게 나타났다.

**항산화 작용**

Linoleic acid를 이용한 모델시스템에서 목단피의 지질 과산화물 억제작용을 조사한 결과는 Table 4와 같다. 메탄올 추출물은 대조군에 비하여 40.3%, 클로로포름 분획은 25.5%, 에칠아세테이트 분획은 87.3%, 부탄올 분획은 27.0%, 물 분획은 9.0%의 지질 과산화물 생성을 억제하였으며, 에칠아세테이트 분획의 항산화 작용이 가장 강하게 나타났다. 에칠아세테이트 분획은 BHA 보다는 활성이 다소 낮았으나, 천연 항산화제로 많이 사용하고 있는  $\alpha$ -tocopherol과 대등한 활성을 나타내었다. 항균작용과 프리라디칼 소거작용, 항산화작용 시험에서 목단피의 에칠아세테이트 분획의 활성이 가장 높아 활성을 나타내는 물질이 유사 물질일 것으로 추정되었다.

**Table 4. Antioxidative activities of methanol extract and each solvent fractions from Moutan Cortex in linoleic acid model system**

Samples	Lipid peroxidation inhibition(%)
MeOH	40.3
CHCl <sub>3</sub>	25.5
EtOAc	87.3
BuOH	27.0
H <sub>2</sub> O	9.0
BHA	96.2
$\alpha$ -Tocopherol	87.5

**GC 및 HPLC에 의한 페놀화합물의 분석**

목단피 에칠아세테이트 분획에서 활성을 나타내는 물질이 페놀화합물일 것으로 추정되어 GC와HPLC를 이용하여 페놀화합물을 분석하였다.

GC를 이용하여 페놀화합물을 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. 4개의 주요 peak가 관찰되었으며 표준품으로 확인한 결과, p-hydroxybenzoic acid, methyl gallate, gallic acid와 동일한 retention time을 보였고, 하나의 물질은 확인되지 않았다. GC에서 분리된 물질을 다시 HPLC로 확인한 결과, retention time 4.2분에 gallic acid,

7.3분에 methyl gallate, 8.1분에 p-hydroxybenzoic acid가 분리되었다(크로마토그램 생략). GC와 HPLC 분석에서 p-hydroxybenzoic acid, methyl gallate, gallic acid가 확인되므로 이들 물질이 에칠아세테이트 분획의 주요 성분으로 판단되었다. Methyl gallate와 gallic acid는 목단피에서 Yukihiro등(6)에 의해 분리된 바 있으며, 이(11)는 붉나무의 에칠아세테이트 분획에서 methyl gallate와 gallic acid를 분리하여 이들 성분의 항산화 작용을 보고하였고, 이(12)는 도토리 gallic acid의 항산화성을 보고하였다. 또한 p-hydroxybenzoic acid의 에스테르류는 현재 합성 보존료로 많이 사용하고 있다.

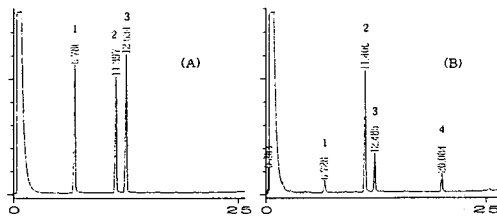


Fig. 1. GC chromatograms of phenolic compounds from Moutan Cortex.

A : Standard, B : Sample(EtOAc fraction),  
1 : p-Hydroxybenzoic acid,  
2 : Methyl gallate, 3 : Gallic acid,  
4 : Unknown.

#### 페놀화합물의 함량과 생리활성

목단피의 에칠아세테이트 분획에서 확인된 3종의 페놀화합물을 GC를 이용하여 정량한 결과는 Table 5와 같다. 에칠아세테이트 분획 중 p-hydroxybenzoic acid는 1.35%, methyl gallate는 14.61%, gallic acid는 4.01% 함유하고 있었으며, methyl gallate의 함량이 가장 높게 나타났다.

Table 5. Content of phenolic compounds in ethylacetate fraction from Moutan Cortex

Compounds	Content(%)
p-Hydroxybenzoic acid	1.35
Methyl gallate	14.61
Gallic acid	4.01

확인된 3종의 페놀화합물은 표준품을 이용하여 항균효과와 항산화 효과를 측정하였으며, 그 결과는 Table 6과 같다. 항균성 시험에서 p-hydroxybenzoic acid는 MIC가 1250-2500 $\mu$ g/ml 였고, methyl gallate는 625-5000 $\mu$ g/ml, gallic acid는 87.5-5000 $\mu$ g/ml 이었다. 특히 gallic acid는 *Staphylococcus*에 대하여 매우 강한 항균활성을 나타내었다.

Table 6. Antimicrobial and antioxidative activities of phenolic compounds

Microorganisms	MIC( $\mu$ g/ml)		
	p-Hydroxybenzoic acid	Methyl gallate	Gallic acid
<i>E. coli</i> ATCC 11105	2500	1250	5000
<i>E. aerogenes</i> ATCC 29751	5000	2500	5000
<i>S. enteritidis</i> ATCC 13076	2500	1250	2500
<i>S. typhimurium</i> ATCC 13311	2500	625	5000
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	1250	1250	5000
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	1250	2500	5000
<i>S. aureus</i> ATCC 6583	1250	625	175
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	2500	1250	87.5
Lipid peroxidation inhibition(%)	3.5	93.5	90.3

항산화 효과는 methyl gallate가 대조군에 비하여 지질 과산화물 생성을 93.5% 억제하였고, gallic acid는 90.3% 억제하였다. 그러나 p-hydroxybenzoic acid는 항산화 작용을 거의 나타내지 않았다. 이상의 결과로 미루어 목단피 에칠아세테이트 분획의 항균작용과 항산화 작용은 페놀화합물에 기인된 것으로 판단되었다.

#### 요 약

목단피의 메탄을 추출물과 용매 분획물을 이용하여 항균작용, 프리라디칼 소거작용 및 항산화 작용을 검색하고, HPLC와 GC를 이용하여 페놀화합물을 분석하였다. 항균작용은 에칠아세테이트 분획에서 가장 높게 나타났으며, 그람 음성균 보다는 그람 양성균에 대하여 더욱 효과적이었다. 에칠아세테이트 분획의 MIC를 측정한 결과, 그람 양성균에 대하여는 156-1250 $\mu$ g/ml, 그람 음성균에는 2500-5000 $\mu$ g/ml 이었다. DPPH 라디칼에 대한 프리라디칼 소거활성과 linoleic acid를 이용한 항산화 시험에서도 에칠아세테이트 분획이 가장 높은 활성을 나타내었다. 에칠아세테이트 분획의 항산화 활성은  $\alpha$ -tocopherol과 비슷하였다. 에칠아세테이트 분획으로 부터 GC와 HPLC를 이용하여 3종의 페놀화합물을 확인하였으며, 그 함량은 p-hydroxybenzoic acid 1.35%, methyl gallate 14.61%, gallic acid 4.01% 이었다.

#### 참고문헌

1. Fukuhara, Y. and Yoshida D.(1987) Paeonol : A bio-antimutagen isolated from a crude drug, Moutan Cortex. *Agic. Biol. Chem.*, 51, 1441-1446.

2. Ryuichiro, I., Yoshikawa K., Minakawa H., Komura H. and Kada T.(1984) Specificities of bio-antimutagens in plant kingdom. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 2587-2591.
3. Mitsuo, M., Maruyama H. and Kameoka H.(1983) Essential oil constituents of "Moutan Radix Cortex" *Paeonia moutan* Sims.(=*P. suffruticosa* Andrews). *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 2925-2927.
4. Boo, Y. C. and Jeon C. O.(1993) Antioxidants of Theae Folium and Moutan Cortex. *J. Korean Agric. Chem. Biotechnol.*, **36**, 326-331.
5. Shibata, S., M. Inaba and Aimi N.(1966) The occurrence of paeoniflorin in the plants of *Paeonia* spp. *Syoyakugaku zasshi*, **20**, 37-39.
6. Yukihiro, S., Yamada Y., Nishioka I. and Matsunaka H.(1990) Depigmentation and inhibition of cell growth of B-16 melanoma cells by compounds isolated from *Paeonia suffruticosa callus*. *Plant Cell Reports*, **8**, 711-713.
7. Davidson, P. M. and Parish M. E.(1989) Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.*, **43**, 148-155.
8. Blois, M. S.(1977) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 103-107.
9. Nakatani, N. and Kikuzaki H.(1987) A new antioxidative glucoside isolated from oregano(*Origanum vulgare* L.). *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 2727-2781.
10. Ames, B. N., Shigenaga M. K. and Hagen T. M.(1993) Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. *Pro. Natl. Acad. Sci.*, **90**, 7915-7920.
11. Lee, K. H.(1995) Antioxidative Effect and Constituents from *Rumex coreanus* Nakai and *Rhus javanica* L., Ph. D. Thesis, Kyung Pook National University.
12. Lee, M. H., Jeong J. H. and Oh M. J.(1992) Antioxidative activity of gallic acid in Acorn extract. *Korean Soc. Food Nutr.*, **21**, 693-700.

---

(1998년 8월 9일 접수)