

생약재의 항균, 항고혈압 및 항암 활성

도정룡* · 김기주 · 조진호 · 김영명 · 김병삼 · 김현구 · 임상동 · 이수원¹
한국식품연구원, ¹성균관대학교 식품생명공학과

Antimicrobial, Antihypertensive and Anticancer Activities of Medicinal Herbs

Jeong-Ryong Do*, Ki-Ju Kim, Jin-Ho Jo, Young-Myoung Kim, Byeong-Sam Kim, Hyun-Ku Kim, Sang-Dong Lim, and Soo-Won Lee¹

Korea Food Research Institute

¹Department of Food and Biotechnology, SungKyunKwan University

Antibacterial, antifungal, anticancer and angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory activities of water and 70% ethanol extracts of 32 medicinal herbs species were investigated. *Terminalia chebula* extracts showed strong antibacterial activities. Ethanol extract of *Cinnamomum cassia* showed good antifungal activity. ACE inhibitory activities of *P. corylifolia* water extract and Fraction I of *P. corylifolia* water extract were 65.2 and 81.8%, respectively. Cytotoxicity of ethanol precipitate fraction obtained from water extract of *Eugenia caryophyllata* was highest.

Key words: medicinal herb, antibacterial, antifungal effect, antihypertensive, anticancer

서 론

중국 한방약물학 전문서인 신농본초경의 분류에 따르면 생약재는 다량 또는 장기간 복용해도 부작용이 없는 약재와 독성이 있어 주의해야 할 약재, 독성이 있어 장기간 복용이 어려운 약재로 분류하고 있다.

이러한 생약재는 독성의 유무와 약효의 차이는 있지만 활성 성분의 작용에 의해 상호 의약품과 식품으로 이용 가능한 것으로 알려져 있다. 이러한 생약재의 활성성분은 각각의 생리활성에 따라 항균활성을 비롯하여 항곰팡이, 항고혈압 및 항산화 효과 등의 생리 활성이 보고 되고 있으며, 식물화학성분이 특정질병의 진행을 억제하거나 지연시킨다는 연구결과가 보고 되고 있다(1,2).

식품의 부패와 변질은 주로 미생물의 작용에 의해 일어나는데, 이를 방지하기 위해 각종 합성 보존제를 사용되고 있다. 또한 식품보존제로 사용하고 있는 합성보존제의 지속적인 사용이 여러 가지 부작용을 일으킬 수 있다는 문제가 제시되고 있다(3). 이러한 문제점을 해결하고 식품의 보존성을 확보하기 위해 천연자원에서부터 항균제 개발연구가 활발히 진행되고 있다. 이에 따라 독성이 적고 항균력이 뛰어난 천연항균물질이

식품 부패의 원인인 미생물의 증식을 억제하여 식품의 저장기간과 신선도를 유지시켜줌으로 산업적인 이용이 증가하고 있는 추세이다(4).

생리활성 성분들은 대부분 2차 대사산물로서 어느 특정 생물에만 분포되어 있으며 식물체의 생합성과정 중 소량씩 생성되는데 flavonoid, terpenoid, steroid, alkaloid, quinone, tannin, indole, coumarin 및 plant sterol등이 그 대표적 성분들이다. 이 생리활성 성분들은 매우 적은 양으로도 고유의 생리활성을 나타내며, 분자량은 Mw. 2,000 이하의 저분자 물질로부터 수만 이상의 고분자 물질로 구분된다(24,25). 이러한 생리활성 성분들 중 flavonoids와 catechin 등은 polyphenol류에 속하는 물질로서 여러 가지 생약재는 물론 과일과 곡류 등에서 볼 수 있으며, 특히 차(tea)에 많이 함유하고 있는 물질이다. 이 polyphenol물질은 항균작용(5)은 물론 항고혈압(6)과 항암활성(7) 등의 생리 활성을 나타내는데, 이는 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl기를 가진 방향족 화합물로서 식물계에 다량으로 존재하며 높은 극성과 열, pH에 대해 민감하게 작용한다. Suzuki 등(8)은 한약을 포함한 117종의 ACE저해 활성을 탐색하여 대두식품과 차(tea), 과일, 메밀 등이 ACE저해 활성에 좋은 것을 확인하였다. 이들 ACE저해제들은 대부분이 열에 안정하며, 체내에 흡수가 용이한 비교적 저분자 물질로 그 저해능력은 혈압 강하제와 비교하였을 때 비교적 낮은 활성을 나타내지만 대량으로 항상 섭취하는 식품 중에 존재한다는 점에서 그 유용성이 기대된다고 하였다. 이에 본 실험에서는 천연물에 존재하는 항균 및 항곰팡이, 항고혈압, 항암 활성에 탁월한 효과를 나타내는 물질을 탐색하기 위해 32종의 생약재를 식품에 사용 가

*Corresponding author: Jeong-Ryong Do, Korea Food Research Institute, san 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam-si, Kyonggi-do 463-420, Korea
Tel: 82-31-780-9240
Fax: 82-31-709-9876
E-mail: jrdo@kfri.re.kr

능한 용매인 물과 에탄올로 추출하여 항균, 항고혈압, 항암 활성을 탐색하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 32종의 생약재는 항균활성 실험 결과를(9) 참고하여 190여종의 생약재에서 선정하였으며, 실험재료로 사용한 생약재는 금산약초시장에서 건조된 상태로 구입하여 사용하였다(Table 1).

생약재 추출

본 실험에 사용한 32종의 생약재는 세절 및 분쇄한 후 증량의 10배량의 증류수와 70% 에탄올을 첨가하여 환류냉각기가 장착된 추출기로 비등점에서 2시간 동안 추출하였다. 물 추출물은 Whatman No. 2 여과지로 여과하여 농축기로(Heidolph 4000, Schwabach, Germany)농축한 후 동결 건조 하였고, 에탄올 추출물은 50°C에서 6 h동안 증탕하여 에탄올을 완전히 제거한 후 동결 건조 하였다.

생약재의 추출수율은 Refractometer(ATAGO, Tokyo, Japan)수치로 나타내었으며, 동결 건조하여 -4°C 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

사용균주 및 배지

항균 및 항곰팡이 활성실험에 사용한 균주는 *Escherichia coli* KCTC 1682, *Bacillus subtilis* ATCC 14593, *Staphylococcus aureus* ATCC 12692, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15522, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 균주와 *Aspergillus niger* ATCC 62751, *Aspergillus oryzae* ATCC 16507, *Trichoderma reesei* ATCC 26921, *Penicillium rugulosum* IFO 4683, *Mucor miehei* KFRI 01011 균주로서 KFRI(한국식품개발연구원)에서 분양받아 사용하였다. 각각의 균주들은 BHI, tryptic soy, malt extract 및 potato dextrose(Difco, Detroit, MI, USA)의 각 배지에 전 배양하여 실험에 사용하였다.

항균 및 항곰팡이 활성

항균 활성 검색에 사용한 균주는 37°C에서 18-24시간 동안 전 배양하여 실험에 사용하였고, 항곰팡이 활성검색에 사용한 균주는 30°C에서 72시간 동안 전 배양하여 실험에 사용하였다. 항균 및 항곰팡이 활성 실험 평판배지의 조제는 각각의 생육 배지를 멸균하여 기층용 배지(agar 1.5%)를 제조하였고, 제조한 기층용 배지에 균주를 혼합한 증층용 배지(agar 0.75%)를 부어 균히 제조하였다. 위의 평판배지에 paper disc(φ8 mm, Advantec, Toyo Roshi Co., Tokyo, Japan)를 올려 밀착시킨 후 10% 농도의 생약재 추출물을 20 μL 첨가하여, 37°C와 30°C의 incubator에 18-24시간, 48-72시간 동안 각각 배양한 후 paper disc agar diffusion법에 따라 항균 및 항곰팡이 활성을 clear zone 직경(mm)으로 측정하였다.

ACE저해작용

ACE저해활성은 Cushman(10)의 방법을 응용하여 측정하였다. ACE저해 활성은 1% 시료용액 50 μL에 0.1 μM sodium borate buffer(pH 8.3) 100 μL와 ACE 조효소액 50 μL를 가한 다음 37°C에서 5 min동안 예비반응 시킨 후, HHL (hippuryl-histidyl-

leucine) 50 μL를 첨가하여 37°C에서 30 min동안 반응시켰다. 이에 1 N HCl 250 μL를 가하여 반응을 정지시킨 후, ethyl acetate 1.5 mL를 가해 15 sec동안 교반한 후, 원심분리(3000 rpm/5 min, 4°C)하여 1 mL의 상등액을 얻었다. 상등액을 120°C에서 30 min동안 건조시켜 ethyl acetate를 완전히 제거한 후, 증류수 3 mL를 첨가하여 hippuric acid를 용해한 후 228 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$ACE\ inhibition(\%) = 1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{시료 무첨가구의 흡광도}} \times 100$$

Cytotoxicity

32종 생약재의 cytotoxicity 측정은 Goun와 Powell(11,12)의 실험 결과 및 한국생명공학연구원의 '암 질환용 식품의약 개발에 관한 연구' 보고서 등을 바탕으로 정향, 작약, 지유, 호장근, 감초, 강황의 6가지 생약재를 선정하였다. 시료제조는 생약재추출물에 에탄올을 첨가하여 침전시켜 제조하였다.

세포배양

실험에 사용한 세포는 SNU-1(KCLB, 00001)과 HeLa(KCLB, 10002)로서 KCLB(한국세포주은행)로부터 분양 받아 사용하였다. 사용한 배지는 56°C water bath에서 30 min동안 inactivation 처리한 FBS 10%(v/v)와 항생제(1% penicillin-streptomycin) 1%(v/v), sodium bicarbonate 0.2%(w/v), HEPES 0.475%(w/v), L-glutamine 0.03%(w/v)을 첨가하여 RPMI-1640배지(Sigma, St. Louis, MO, USA) 1 L를 제조하여 사용하였다. 세포배양은 37°C, 5% CO₂ incubator에서 T-75 culture flask(BD Biosciences, Bedford, USA)에 배양하였다.

MTT assay

MTT assay는 인간에서 유래하는 2가지 종류의 암세포에 대한 cytotoxicity를 Carmichael(13)의 colorimetric MTT assay방법을 응용하여 측정하였다. 즉, SNU-1과 HeLa의 세포를 RPMI-1640(Sigma) 배지에서 72시간 배양하여 SNU-1 세포는 1×10⁴ cell/well이 되게 농도를 조정하고, HeLa세포는 1×10³ cell/well로 각각 조정하여 실험하였다. 위 농도의 cell들을 96 well plate에 130 μL씩 분주하고 1 mg/mL 농도의 시료를 20 μL 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 72시간 배양하였다. 이에 MTT 용액 10 μL를 첨가하여 SNU-1세포는 4시간동안 HeLa세포는 5시간동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 발색시킨 후 PBS buffer 50 μL와 20% SDS용액을 50 μL씩 분주하여 20 h동안 incubation 시킨 후, dimethyl sulfoxide(DMSO)를 사용하여 세포를 완전히 풀어준 뒤 ELISA microplate reader(Emax, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 540 nm에서 확인하였다.

$$Cytotoxicity(\%) = 1 - \frac{\text{실험구의 well의 absorbance}}{\text{blank well의 absorbance}} \times 100$$

Gel filtration분획

시료를 6% 농도로 제조하여 0.2 μm의 syringe filter로 여과한 후 Sephacryl S-300(Pharmacia, Uppsala, Sweden)컬럼에 loading하여 분획하였다. 용출용매로는 증류수를 사용하였으며, 용출 속도는 1.8 mL/min으로 분획하였다. 분획결과 Fig. 2와 같이 3개의 pick를 확인 할 수 있었으며, 이를 동결 건조하여 실험하였다.

Table 1. Extract yields of medicinal herbs

(*Brix)

Scientific Name	Korean Name	Effective part	Water extract	EtOH extract
<i>Acanthopanax senticosus</i>	가시오가피	Bark	1.1	1.5
<i>Terminalia chebula</i>	가자	Seeds	5.9	5.4
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	감초	Root	2.9	2.4
<i>Curcuma longa</i>	강황	Root	0.9	2.4
<i>Pueraria thunbergiana</i>	갈근	Root	5.7	2.1
<i>Liriope plathyphylla</i>	맥문동	Root	5.3	3.2
<i>Lycium chinense</i>	구기자	Seeds	4.2	2.6
<i>Cinnamomum cassia</i>	계피	Bark	0.9	1.4
<i>Angelica sinensis</i>	당귀	Root	4.5	4.0
<i>Rubus coreanus Miquel</i>	복분자	Fruit	2.5	1.7
<i>Cornus officinalis</i>	산수유	Seeds	5.0	3.1
<i>Dendrobium nobile</i>	석곡	Body	0.7	1.0
<i>Caesalpinia sappan</i>	소목	Body	0.3	0.6
<i>Ganoderma lucidum</i>	영지	Body	0.9	0.7
<i>Schizandra chinensis</i>	오미자	Seeds	4.5	2.9
<i>Evodia officinalis</i>	오수유	Seeds	3.4	2.9
<i>Lindera strychnifolia</i>	오약	Root	0.9	1.4
<i>Myristica fragrans</i>	육두구	Root	1.0	1.8
<i>Artemisia asiatica</i>	애엽	Leaves	2.8	1.5
<i>Alpinia oxyphylla</i>	익지인	Root	1.6	1.7
<i>Paeonia albiflora</i>	작약	Root	2.0	1.4
<i>Eugenia caryophyllata</i>	정향	Seeds	1.6	4.4
<i>Phyllostachys nigra</i>	죽엽	Leaves	0.6	1.0
<i>Fraxinus rhynchophylla</i>	진피	Fruit skin	4.7	3.7
<i>Sanguisorba officinalis</i>	지유	Root	1.9	2.3
<i>Cnidium officinale</i>	천궁	Root	4.0	2.6
<i>Psoralea corylifolia</i>	파고지	Seeds	2.2	2.2
<i>Piper longum</i>	필발	Seeds	1.6	1.1
<i>Alpinia katsumadai</i>	초두구	Root	0.8	1.7
<i>Reynoutria japonica</i>	호장근	Root	1.7	3.1
<i>Coptis japonica</i>	황련	Root	2.6	1.8
<i>Astragalus membranaceus</i>	황기	Root	2.8	2.1

결과 및 고찰

생약재 추출수율

생약재의 추출수율은 Table 1과 같다. 물 추출물의 경우 브릭스가 5.0 이상인 생약재는 가자, 갈근, 맥문동, 산수유 등으로 4종 이었고, 3.0-4.5에 달하는 생약재는 구기자, 당귀, 오미자, 오수유, 진피 등 5종으로 나타났으며, 2.0-3.0브릭스인 생약재는 감초, 복분자, 애엽, 작약, 파고지, 황련, 황기 등 7종으로 나타났고, 그 외의 생약재는 2.0 브릭스 미만의 적은 수율을 나타내었다. 70% 에탄올 추출물의 경우에는 가자, 정향, 당귀가 5.4, 4.4, 4.0 브릭스로 수율이 매우 높았으며, 그 다음으로 수율이 높은 생약재는 진피, 맥문동, 산수유, 호장근, 오미자, 오수유, 구기자, 천궁, 감초, 강황, 지유, 파고지, 황기, 갈근이 2.1-3.7브릭스로 70% 에탄올 추출수율이 높았다. 그 외에는 2브릭스 미만으로 추출 수율이 매우 낮은 것으로 나타났다(Table 1).

본 실험의 결과에서 물과 70% 에탄올에서 추출수율이 가장 높은 생약재는 가자로 나타났으며, 정향은 물 추출물에서는 수율이 낮았으나, 70%에탄올에서는 수율이 매우 높은 것으로 나타났다. 이는 정향 중에 정유성분이 풍부하기 때문인 것으로 사료된다.

생약재 추출물의 항균활성

32종의 생약재 추출물을 이용하여 6종의 미생물에 대한 항균 활성을 검색하였다. 그 결과 가자 물 추출물과 에탄올 추출물이 Gram 음성 균과 Gram 양성 균에 대해 높은 항균활성을 나타냈으며, 복분자와 지유 추출물은 *L. plantarum*을 제외한 5 균종에 대해 좋은 항균활성을 나타내었다. 이외에도 소목과 황련의 추출물이 *E. coli*를 제외한 *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *L. plantarum*의 균에 대해 좋은 항균활성을 나타내었으며, 정향 추출물은 *E. coli*균종에 대해서는 약한 항균활성을 보인 반면 *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. typhimurium*의 균종에 대해서는 좋은 항균활성을 나타내었다. 대체적으로 생약재 물 추출물의 경우 *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*균주의 Gram 음성 균에 대해 항균활성이 좋았고, *B. subtilis*, *S. aureus* 균주의 Gram 양성 균에 대해 좋은 항균활성을 나타내었다. 그에 반해 *E. coli*의 Gram 음성 균과 Gram 양성 균인 *L. plantarum*균주에 대해서는 항균활성이 낮은 것으로 나타났다. 생약재 에탄올 추출물의 항균활성 결과는 물 추출물의 항균활성결과에 비해 월등히 좋은 활성을 나타내었다. 이는 20여종의 생약재를 물과 에탄올을 사용하여 추출하고 항균활성을 실험한 결과 에탄올 추출물이 물 추출물에 비해 2-10배 높은 항균활성을

Table 2. Antimicrobial effects of water and ethanol extracts from medicinal herbs

Medicinal Herbs	Microorganism Strains											
	Water extract						Ethanol extract					
	E.c	B.s	Pa	S.a	S.t	L.p	E.c	B.s	Pa	S.a	S.t	L.p
<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	-	-	-	-	-	-	-	12	-	9	12	9
<i>Terminalia chebula</i>	18 ¹⁾	26	26	28	12	15	18	23	23	28	14	15
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	-	9	12	9	-	-	-	17	16	15	9	9
<i>Curcuma longa</i>	-	-	-	-	-	-	-	13	9	11	13	13
<i>Pueraria thunbergiana</i>	-	-	-	-	-	-	-	13	12	9	9	-
<i>Liriope plathyphylla</i>	-	9	-	-	9	-	-	9	-	9	12	-
<i>Lycium chinense</i>	-	9	9	-	9	9	-	-	9	-	9	9
<i>Cinnamomum cassia</i>	-	9	-	-	16	-	-	-	9	-	22	17
<i>Angelica sinensis</i>	-	9	-	9	9	-	-	-	9	-	9	-
<i>Rubus coreanus Miquel</i>	16	15	20	23	16	-	15	20	20	22	15	-
<i>Cornus officinalis</i>	-	12	9	12	-	9	-	9	-	-	9	-
<i>Dendrobium nobile</i>	-	-	-	12	13	-	-	-	13	13	15	15
<i>Caesalpinia sappan</i>	-	15	15	20	28	13	-	16	16	25	15	17
<i>Ganoderma lucidum</i>	-	-	9	9	-	-	-	-	-	-	9	-
<i>Schizandra strychnifolia</i>	-	-	-	-	-	-	9	-	12	12	12	-
<i>Evodia officinalis</i>	-	9	-	9	-	-	-	13	19	-	9	-
<i>Lindera aggregata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-
<i>Myristica fragrans</i>	-	9	-	9	-	-	-	20	9	12	9	-
<i>Artemisia asiatica</i>	-	-	-	9	-	-	-	-	-	-	12	-
<i>Alpinia oxyphylla</i>	-	-	-	9	-	-	-	-	-	11	9	-
<i>Paeonia albiflora</i>	-	-	9	9	9	-	13	15	14	16	16	-
<i>Eugenia caryophyllata</i>	9	12	18	20	15	-	14	20	17	21	13	-
<i>Phyllostachys nigra</i>	-	-	-	9	-	-	-	-	-	9	9	-
<i>Fraxinus rhynchophylla</i>	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-	9	-
<i>Sanguisorba officinalis</i>	16	13	20	21	16	-	16	20	22	22	17	-
<i>Cnidium officinale</i>	-	-	-	9	-	-	-	11	9	11	9	-
<i>Psoralea corylifolia</i>	-	-	9	10	-	-	-	13	15	13	9	-
<i>Piper longum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	9	9	9	-
<i>Alpinia katsumadai</i>	-	-	-	-	-	-	-	11	9	-	9	-
<i>Reynoutria japonica</i>	-	-	-	-	-	-	-	16	15	15	17	-
<i>Coptis japonica</i>	-	13	12	16	15	14	-	13	16	19	9	12
<i>Astragalus membranaceus</i>	9	-	-	-	9	-	-	-	9	9	9	-

E.c: *Escherichia coli*. B.s: *Bacillus subtilis*. P.s: *Pseudomonas aeruginosa*. S.a: *Staphylococcus aureus*. S.t: *Salmonella typhimurium*. L.p: *Lactobacillus plantarum*.
¹⁾Inhibition zone diameter (mm). ²⁾Not detected

나타낸 Park 등(19)의 연구결과와 일치한다. 특히 가자, 복분자, 정향, 지유, 소목, 강황, 황련 등의 13가지 생약재 추출물에서 높은 항균활성을 나타내었다. 가자 에탄올 추출물의 경우 물 추출물의 결과와 같이 *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *L. plantarum*의 6가지 균주에 대해 좋은 항균활성을 나타냈으며, 복분자, 작약, 정향, 지유의 추출물은 *L. plantarum*을 제외한 5가지 균종에 대해 높은 항균 활성을 나타내었다. 또한 소목 추출물의 경우에는 *E. coli* 균주를 제외한 *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *L. plantarum* 균종에서 높은 항균 활성을 보였으며, 이외에 강황, 파고지, 석곡, 오미자, 육두구, 호장근 추출물에서 비교적 좋은 항균활성을 나타내었다. 에탄올 추출물에서도 *E. coli*, *L. plantarum* 균주에 대해서는 좋지 않은 항균력을 보였으며, 물 추출물의 경우와 같이 에탄올 추출물도 Gram 음성 균인 *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*균에 대해 좋은 항균활성을 나타냈으며, *B. subtilis*, *S. aureus*

의 Gram 양성 균에서도 좋은 항균활성을 나타내었다. 또한 *E. coli*균과 *L. plantarum* 균주에 대해서는 좋지 못한 항균활성을 나타내었다. 이는 항균력에 있어서 향신료나 생약재의 종류에 따라 다르며, 한 가지 생약재의 그 추출물도 일정 항균효과를 보이는 것이 아니라 미생물의 균종에 따라 그 민감도가 달라진다고 보고한 결과와 같다(14). Park 등(20)은 자초에서 항균성 물질을 추출시 용매별, 온도별에 따른 추출조건과 항균력을 실험한 결과 에탄올 농도가 높을수록 그리고 가열하여 추출하는 것보다 상온에서 추출하면 항균력이 높다고 하였다. 이러한 실험 결과는 Lee 등(21)과 Chung(22), Hong(23)의 연구에서도 동일한 결과를 찾아볼 수 있었다. 본 연구에서는 생약재의 물 추출물에 비해 에탄올추출물에서 많은 종류가 항균활성을 나타내었지만, 가장 좋은 항균활성을 나타낸 가자의 경우 항균활성 실험결과 큰 차이는 없었다. 이는 추출공정에서 보다 쉽고 빠르게 추출할 수 있다는 장점을 갖고 있으며, 그 효율도 뛰어나 산업화 가능

Table 3. Antifungal effects of water and ethanol extracts from medicinal herbs

Medicinal Herbs	Microorganism Strains									
	Water extract					Ethanol extract				
	A.n	A.o	M.m	Pr	Tr	A.n	A.o	M.m	Pr	Tr
<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	- ²⁾	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Terminalia chebula</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	-	-	-	-	-	15	-	-	-	-
<i>Curcuma longa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pueraria thunbergiana</i>	39 ¹⁾	-	40	20	19	-	-	-	-	-
<i>Liriope plathyphylla</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lycium chinense</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cinnamomum cassia</i>	-	-	-	-	-	24	20	29	18	24
<i>Angelica sinensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rubus coreanus Miquel</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cornus officinalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Dendrobium nobile</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Caesalpinia sappan</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ganoderma lucidum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Schizandra chinensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Evodia officinalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lindera strychnifolia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Myristica fragrans</i>	-	-	-	-	-	-	-	18	-	-
<i>Artemisia asiatica</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Alpinia oxyphylla</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Paeonia albiflora</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Eugenia caryophyllata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Phyllostachys nigra</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Fraxinus rhynchophylla</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sanguisorba officinalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cnidium officinale</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Psoralea corylifolia</i>	-	-	-	-	-	14	-	29	-	13
<i>Piper longum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Alpinia katsumadai</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20
<i>Reynoutria japonica</i>	-	-	-	-	-	-	-	18	-	-
<i>Coptis japonica</i>	-	-	36	-	-	-	-	35	-	-
<i>Astragalus membranaceus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A.n: *Aspergillus niger*. A.o: *Aspergillus oryzae*. M.m: *Mucor miehei*.

T.r: *Trichoderma reesei*. Pr: *Penicillium rugulosum*.

¹⁾Inhibition zone diameter (mm) ²⁾Not detected

성이 있는 것으로 사료된다. 항균활성을 나타내는 성분으로는 폴리페놀이 중요한 역할을 하는 것으로 보고 되고 있다(15).

생약재 물, 에탄올 추출물의 농도별 항균 효과

생약재를 농도별로 제조하여 5가지 균종에 대해 항곰팡이 활성을 측정하였다. 32종 생약재의 추출물을 농도별로 제조하여 항곰팡이 활성을 실험한 결과 황련 물 추출물을 250 µg 첨가 하였을 때 *M. miehei* 균주에 대해서 9 mm의 clear zone을 나타내었다. 또한 계피 에탄올 추출물은 500 µg 이하의 첨가량에서는 활성이 나타나지 않았으며, 파고지 에탄올 추출물이 125 µg의 가장 적은 양으로 항곰팡이 활성을 나타내었다.

생약재 추출물의 항곰팡이 활성

농산물을 수확하여 저장 및 소비자에게 유통되는 기간동안 곰팡이에 의해 손실되는 양이 10-30%이상의 손실율을 갖는다.

이는 경제적으로 큰 손실이 아닐 수 없다. 이에 본 연구에서는 32종의 생약재를 이용하여 항곰팡이 활성을 탐색하였다.

물 추출물의 경우 황련 추출물에서는 *M. miehei* 균주에 대해 36 mm의 clear zone 수치를 나타내었다. 물 추출물과는 달리 에탄올 추출물에서는 비교적 다양한 생약재에서 항곰팡이 활성이 나타났다. 특히 계피의 에탄올 추출물에서는 *A. niger*, *M. miehei*, *P. rugulosum*, *A. oryzae*, *T. reesei*의 5가지 균종에 대해서 각각 24, 20, 29, 18, 24 mm의 clear zone 수치의 항곰팡이 활성을 나타내었다. 이 외에 파고지 추출물은 *A. niger*, *M. miehei*, *P. rugulosum* 균종에 대해 각각 14, 29, 13 mm의 clear zone을 나타냈으며, 감초 추출물에서는 *A. niger* 균주에 대해 항곰팡이 활성을 나타내었고, 육두구, 호장근 및 황련 추출물에서는 *M. miehei* 균주에 대해 항곰팡이 활성을 나타내었다. 또한 초두구 추출물에서는 *T. reesei* 균주에 대해 좋은 항곰팡이 활성을 나타내었다.

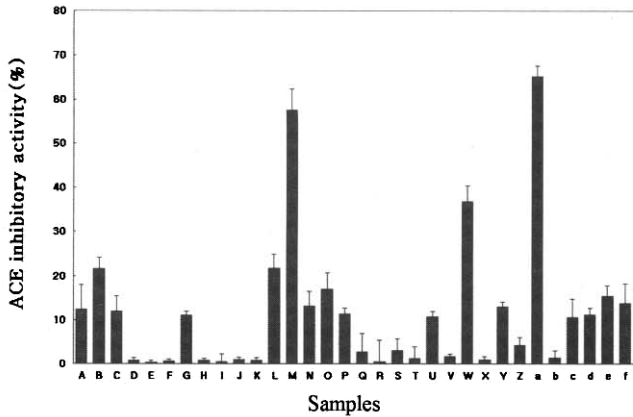


Fig. 1. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory effect of water extracts of medicinal herbs.

A: *Acanthopanax sessiliflorum*, B: *Terminalia chebula*, C: *Glycyrrhiza glabra*, D: *Curcuma longa*, E: *Pueraria thunbergiana*, F: *Liriope plathyphylla*, G: *Lycium chinense*, H: *Cinnamomum cassia*, I: *Angelica sinensis*, J: *Rubus coreanus* Miquel, K: *Cornus officinalis*, L: *Dendrobium nobile*, M: *Caesalpinia sappan*, N: *Ganoderma lucidum*, O: *Schizandra chinensis*, P: *Evodia officinalis*, Q: *Lindera strychnifolia*, R: *Myristica fragrans*, S: *Artemisia asiatica*, T: *Alpinia oxyphylla*, U: *Paeonia albiflora*, V: *Eugenia caryophyllata*, W: *Phyllostachys nigra*, X: *Fraxinus rhynchophylla*, Y: *Sanguisorba officinalis*, Z: *Cnidium officinale*, a: *Psoralea corylifolia*, b: *Piper longum*, c: *Alpinia katsumadai*, d: *Reynoutria japonica*, e: *Coptis japonica*, f: *Astragalus membranaceus*.
*concentration 10 mg/mL.

생약재 물, 에탄올 추출물의 농도별 항곰팡이 효과

생약재를 농도별로 제조하여 5가지 균종에 대해 항곰팡이 활성을 측정하였다. 32종 생약재의 추출물을 농도별로 제조하여 항곰팡이 활성을 실험한 결과 황련 물 추출물을 250 µg 첨가 하였을 때 *M. miehei* 균주에 대해서 9 mm의 clear zone을 나타내었다. 또한 계피 에탄올 추출물은 500 µg 이하의 첨가량에서는 활성이 나타나지 않았으며, 파고지 에탄올 추출물이 125 µg 의 가장 적은 양으로 항곰팡이 활성을 나타내었다.

물과 에탄올 추출물의 ACE저해효과

생약재의 생리활성물질 중 혈압상승에 관여하는 angiotensin converting enzyme(ACE)을 억제, 고혈압의 발생 기작인 renin-angiotensin system의 생화학적 기전을 조절하여 혈압강하에 중요한 역할을 하는 물질이 있다는 연구가 근래에 보고 되고 있다. 인체 내에서 ACE는 renin에 의하여 생성된 decapeptide인 angiotensin I로부터 C-말단의 dipeptide(His-Leu)를 가수분해시킴으로써 강력한 혈관수축작용을 나타내는 angiotensin II를 생성하고 혈압강하작용을 갖는 bradykinin을 분해하여 불활성화 함으로서 고혈압의 원인이 되고 있다. 이러한 ACE의 저해인자로서는 저분자 peptide들과 그 유도체들, 차(tea)에 존재하는 catechin과 메틸의 rutin같은 polyphenol 성분들이 대표적으로 알려져 있다(16). 이에 본 실험에서는 32종의 생약재 물 추출물을 동결 건조한 시료를 10 mg/mL의 농도에서 ACE 저해작용 측정한 결과, 파고지가 항고혈압 활성이 가장 좋았고, 그 다음으로 소목과 죽엽이 높은 항고혈압 활성을 나타내었으며, 그 외에는 30%이하의 ACE저해율을 나타내었다. 다른 생약재와 비교해 볼 때 가장 항고혈압 활성이 높은 파고지를 선정하여 칼럼으로 분획하고 분획물의 ACE저해 활성을 분석하였다.

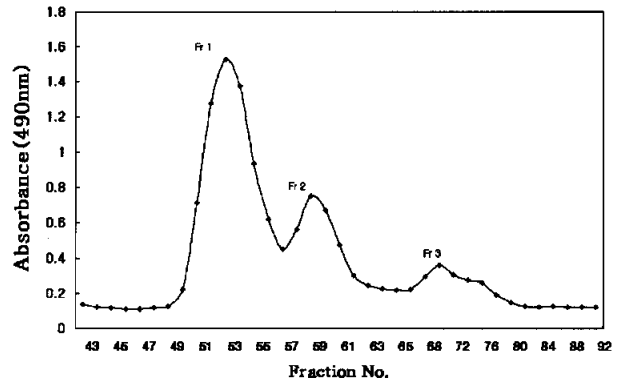


Fig. 2. Separation of water extract of the *Psoralea corylifolia* by Sephacryl S-300 HR.

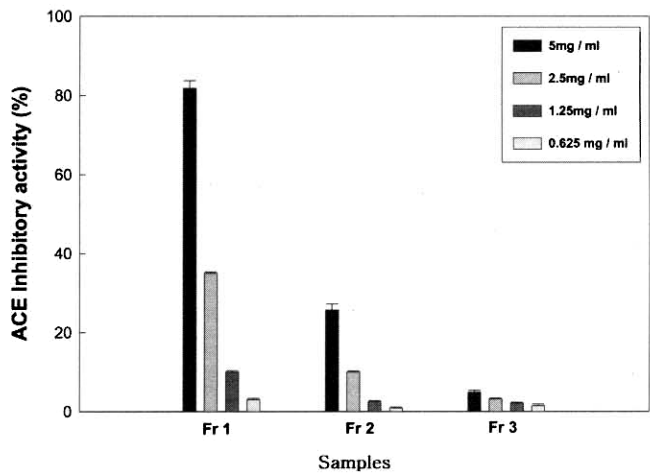


Fig. 3. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitory effect on according to the concentration of *Psoralea corylifolia* fraction by sephacryl S-300 HR chromatography.

Fr. 1: Fraction No. 49-56, Fr. 2: Fraction No. 57-64, Fr. 3: Fraction No. 65-82.

파고지(*Psoralea corylifolia*)분획물의 ACE저해 활성

선택한 파고지 생약재를 Sephacryl S-300 HR column으로 분획한 결과 3개의 fraction을 얻을 수 있었다. 이 3개의 분획물을 5, 2.5, 1.25, 0.625 mg/mL의 농도로 제조하여 ACE저해 활성을 실험한 결과 Fr 1의 5 mg/mL 농도에서 81.80%로 가장 좋은 ACE저해 활성을 보였으며, Fr 2에서 Fr 3으로 갈수록 ACE저해 활성이 낮아졌다. 이는 파고지 물 추출물에서는 저분자물질 보다 고분자물질에서 ACE저해 활성이 높다는 것을 알 수 있었다. 또한 Fr 1의 IC₅₀을 조사한 결과 파고지 분획물 동결건조 중량이 3.5±0.3 mg/mL이었다(Fig. 3).

본초학에 의하면 파고지는 개암 풀 열매 또는 보골지(補骨脂)라고도 한다. 개암풀 열매는 가을에 익는데 맛은 맵고 쓰며 성질은 따뜻하며, 파고지는 신경과 비경, 심포경에 작용하며, 강심, 항암, 지혈, 항균 등의 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 이렇듯 파고지는 오래전부터 한방에서 사용되어져온 약재로서 그 안전성이 입증되었고, 적당한 양의 섭취는 천연자원으로서 항고혈압 효능이 기대된다.

생약재의 Cytotoxicity

최근에는 부작용이 적으면서 유효한 항암제를 개발하기 위

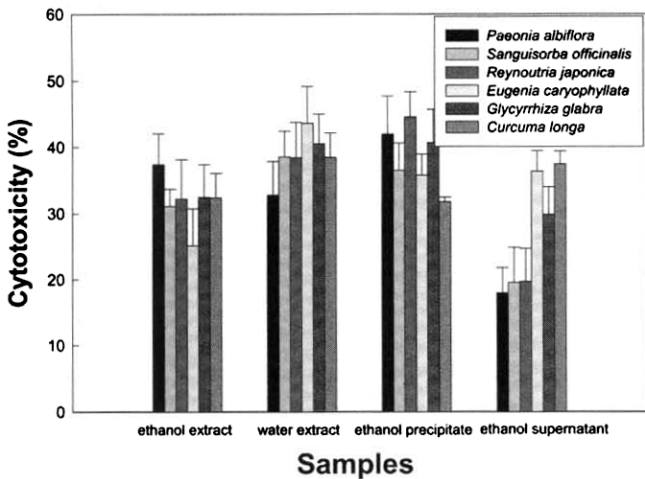


Fig. 4. Cytotoxicity of medicinal herbs water extracts, 70% ethanol extracts, ethanol precipitate, and ethanol supernatant fraction on SNU-1 cells. *concentration (1 mg/mL).

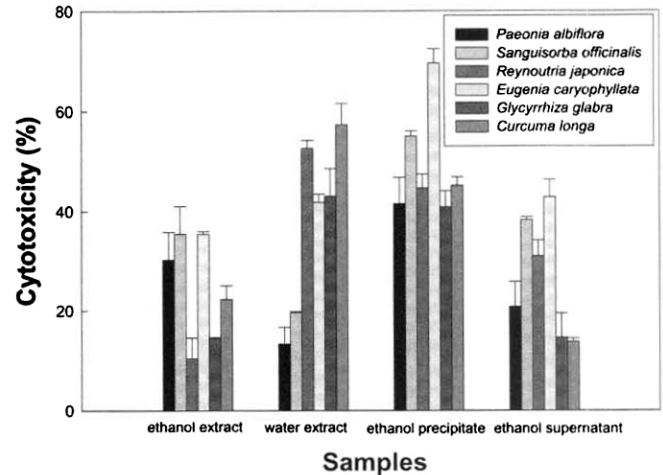


Fig. 5. Cytotoxicity of medicinal herbs water extracts, 70% ethanol extracts, ethanol precipitate fraction, and ethanol supernatant fraction on HeLa cells. *concentration (1 mg/mL).

해 천연식물 자원으로부터 생리활성을 가진 물질 검색이 많이 이루어지고 있다. 즉 천연물을 이용한 미지의 약효성분을 검색, 발견함으로써 새로운 건강보조 대체 의약품으로 개발하려는 노력이 매우 활발히 전개되고 있다(17,18).

이에 본 실험에서는 32종의 생약재를 대해 SNU-1 cells와 HeLa cells의 cytotoxicity를 MTT assay방법에 준하여 실시하였다. MTT assay방법은 살아있는 세포의 mitochondria dehydrogenase에 의해 청색 formazan으로 변환되는 원리를 이용한 것이며, 살아있는 세포의 증식이나 독성검사에 활용하는 방법으로서 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)2,5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma USA)시약을 PBS buffer에 5 mg/mL의 농도로 제조하여 Carmichael 등(24)의 방법에 의해 색소의 강도를 ELISA reader로 측정하는 방법이다.

SNU-1 cells에 대한 cytotoxicity

작약, 지유, 호장근, 정향, 감초, 강황의 생약재를 water extracts, 70% ethanol extracts, ethanol precipitate, ethanol supernatant으로 제조 및 분획한 후, 4가지의 시료를 1 mg/mL의 농도로 제조하여 SNU-1 cells에 대해 cytotoxicity를 실시하였다. 그 결과 대체적으로 water extracts, ethanol precipitate에서 cytotoxicity활성이 좋게 나타났다. 또한 SNU-1 cells에 대해서 정향(*Eugenia aromaticum*)의 water extract가 1 mg/mL의 농도에서 43.58%로 좋은 세포독성을 나타내었고, 호장근(*Polygonum aviculare*)의 ethanol precipitate의 분획물에서는 44.53%의 세포독성을 나타내었다(Fig. 4).

HeLa cells에 대한 세포독성(cytotoxicity)

작약, 지유, 호장근, 정향, 감초, 강황의 생약재를 water extracts, 70% ethanol extracts, ethanol precipitate, ethanol supernatant으로 제조 및 분획한 후, 4가지의 시료를 1 mg/mL의 농도로 제조하여 HeLa cells에 대해 세포독성을 조사하였다. 그 결과, 대체적으로 water extracts, ethanol precipitate에서 cytotoxicity활성이 좋게 나타났다.

또한 HeLa cells에 대해서 정향의 ethanol precipitate분획물의 1 mg/mL 농도에서 69.60%의 좋은 세포독성을 나타내었고, 지

유의 ethanol precipitate분획물의 1 mg/mL 농도에서도 55.03%의 세포독성을 나타내었다. 또한 호장근의 water extract에서는 52.62%의 세포독성을 나타내었다(Fig. 5).

요 약

본 연구에서는 32종 생약재로부터 70% 에탄올과 물 추출물을 제조하고, 이들의 항균, 항곰팡이, 항암, 항고혈압활성을 조사하였다. 생약재의 추출물 제조는 32종의 생약재를 100에서 2시간동안 추출한 후 동결 건조하였다. 항균활성은 6종의 병원성 미생물을 사용하여 32종 생약재의 물 추출물과 70% 에탄올추출물에 대해 조사하였다. 그중 가자의 물 추출물과 70% 에탄올 추출물을 125 µg 첨가했을 때 14 mm 이상의 항균 억제환을 나타내어 가장 좋은 항균활성을 보였다. 항곰팡이 활성은 5종의 곰팡이를 사용하여 32종 생약재의 물 추출물과 70% 에탄올추출물에 대해 paper disc확산법으로 조사하였다. 그 결과 계피의 70% 에탄올추출물을 1000 µg 첨가했을 때 10 mm 이상의 항균 억제환을 보여 가장 좋은 항곰팡이 활성을 나타내었다. 32종의 생약재 물 추출물과 70% 에탄올 추출물에 대한 ACE저해 활성을 조사하였다. 그 결과 파고지의 물 추출물이 10 mg/mL의 농도에서 65.2%의 억제율을 나타내었으며, 파고지의 물 추출물로부터 sephacryl S-300 컬럼으로 분획한 Fr I의 분획물이 5 mg/mL의 농도에서 81.1%의 억제율을 나타내었다. 생약재의 물 추출물과 70%에탄올 추출물의 세포독성을 조사하였다. 선정된 6종의 생약재중 정향의 에탄올 침전분획이 암세포에 대해 가장 우수한 세포독성을 나타내었다.

문 헌

1. Sofos JN, Bouchat LR, Davidson PM, Johnson EA. Naturally occurring antimicrobials in food. Regul. Toxicol. Pharmacol. 28: 71-72 (1998)
2. King A, Young G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. J. Am. Diet. Assoc. 99: 213-218 (1999)
3. Lee SH, Lim YS. Antimicrobial effects of *Schizandra chinensis* extract on pathogenic microorganism. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 239-243 (1998)

4. Baratta MT, Dorman HJD, Deans SG, Figueiredo AC, Barroso JG, Ruberto G. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour Fragr. J.* 13: 235-244 (1998)
5. Ikigai H, Nakae T, Hara Y, Shimamura T. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochim Biophys Acta.* 1147: 132-136 (1993)
6. Huang Y, Zhang A, Lau CW, Chen ZY. Vasorelaxant effects of purified green tea epicatechin derivatives in rat mesenteric artery. *Life Sci.* 63: 257-283 (1998)
7. Yang CS, Wang ZY. Tea and cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 85: 1038-1049 (1993)
8. Suzuki T, Ishikawa N, Meguro H. Angiotensin I converting enzyme inhibitory activity in foods. *Nippon Nogeigaku Kaishi.* 57: 1143-1146 (1983)
9. Kim MS, Lee DC, Hong JE, Chang KS, Cho HY, Kwon YK, Kim HY. Antimicrobial effects of ethanol extracts from Korean and Indonesian plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 949-958 (2000)
10. Cushman DW, Cheung HS. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* 20: 1637-1648 (1971)
11. Goun EA, Petrichenko VM, Solodnikov SU, Suhinina TV, Kline MA, Cunningham G, Nguyen C, Miles H. Anticancer and anti-thrombin activity of Russian plants. *J. Ethnopharmacol.* 81: 337-342 (2002)
12. Powell CB, Fung P, Jackson J, Dall'Era J, Lewkowicz D, Cohen I, Smith-McMune K. Aqueous extract of herba *Scutellaria barbatae*, a chinese herb used for ovarian cancer, induces apoptosis of ovarian cancer cell lines. *Gynecol. Oncol.* 91: 332-340.
13. Carmichael J, De Graff WG, Gazder AF, Minna JD, Mitchell JB. Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.* 47: 943-946 (1987)
14. Frazier WA, Bartles JR. Discoidin I-membrane interactions I. Discoidin I binds to two types of receptor on fixed *Dictyostelium discoideum* cells. *Bioch. Biophys. Acta* 687: 121-128 (1982)
15. Do JR, Kang SN, Kim KJ, Jo JH, Lee SW. Antimicrobial and antioxidant activities and phenolic contents in the water extract of medicinal plants. *Food Sci. Biotechnol.* 13: 640-645 (2004)
16. Maruyama S, Miyoshi S, Tanaka H. Angiotensin I-converting enzyme inhibitors derived from ficus carica. *Agric. Biol. Chem.* 53: 2763-2767 (1989)
17. Ha YL, Michael WP. Naturally occurring novel anticarcinogenes: Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid (CLA). *J. Korean Soc. Food Nutr.* 20: 401-407 (1991)
18. Chihara G, Hamuro J, Maeda Y, Arai Y, Fukuoka Y. Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially Lentinan, from Lentinusedodesing. *Cancer Res.* 30: 2276-2278 (1970)
19. Park UY, Chang DS, Cho HR. Antimicrobial effect of medicinal herb. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21: 91-96 (1992)
20. Park UY, Chang DS, Cho HR. Antimicrobial effect of lithospermum radix (*Lithospermum erythrorhizon*) extract. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21: 97-100 (1992)
21. Lee BW, Shin DH. Screening of Natural Antimicrobial Plant Extract on Food Spoilage Microorganisms. *Korean J. Food Sci. Technol.* 23: 200-204 (1991)
22. Chung CK, Park OK, Yoo IJ, Park KM, Choi CU. Antimicrobial activity of essential oils of curry spices. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22: 716-719 (1990)
23. Hong ND, Rho YS, Kim NJ, Kim JS. A Study on Efficacy of Ulmi Cortex. *Korean J. Pharmacogn.* 21: 217-222 (1990)
24. Golovinsky EV, Maneva LS, Angelov I I, Veljanova KD, Sniker DJ, Stankevich EK. Antibacterial and antitumor activity of some derivatives of ureidosuccinic acid. *Neoplasma.* 23: 43-46 (1976)
25. Ayres HM, Payne DN, Furr JR, Russell AD. Use of Malthus-AT system to assess the efficacy of permeabilizing agents on the activity of antibacterial agents *Pseudomonas aeruginosa*. *Lett. Appl. Microbiol.* 26: 422-426 (1998)

(2004년 10월 4일 접수; 2004년 12월 17일 채택)