

Isoflavonoid의 피부염증균에 대한 항균 및 항산화효과

신정미 · 유형원 · 이현옥* · 이미희 · 백승화[#]

원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과, *원광보건대학 치위생과

(Received July 11, 2005; Revised February 13, 2006)

Antimicrobial and Antioxidative Effects of Isoflavonoids on Skin Microbial Inflammation Pathogens

Jung Mi Shin, Hung Won Yu, Hyun Ok Lee*, Mi Hee Lee and Seung Hwa Baek[#]

Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine and Institute of Basic Natural Sciences,
Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

*Department of Dental Hygiene, Wonkwang Health Science College, Iksan 570-750, Korea

Abstract — Puerarin and daidzin have been isolated from *Puerariae thunbergiana* Benth. Structures were determined by spectroscopic methods. Compounds showed weak antimicrobial activity against *S. mutans*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, and *C. albicans* (MIC, 800 µg/ml). However, these compounds were not antioxidative. *Puerariae thunbergiana* Benth. extracts against microorganisms were evaluated in terms of the minimum inhibitory concentrations (MIC). In general, *C. albicans* was stronger antimicrobial activity than the other microorganisms. The antioxidative activity of was observed in the ethyl acetate extract (IC_{50} , 119.87±0.16 µg/ml). The DPPH radical scavenging effect (IC_{50} , 1,673.3±0.54 µM) of the puerarin was comparable with that of synthetic antioxidant, BHA (IC_{50} , 88.39±1.1)×10⁻³ µM. These results suggest that puerarin and daidzin have a potential antimicrobial activity.

Keywords □ *Puerariae thunbergiana* Benth., antimicrobial effects, minimum inhibitory concentration (MIC)

칡(*Puerariae thunbergiana* Benth.)은 콩과에 속하는 다년생 덩굴식물로서 우리나라 전역의 산지 및 중국, 일본, 남아메리카, 멕시코 및 미국의 일부에서 야생하는 등 온대 및 열대지방에 널리 자생하는 두과식물(Leguminosae)이다. 동부아시아에서는 오래전부터 전통적인 약재로서 사용되었으며, BC 6세기경부터 사용에 대한 문헌기록이 남아 있다.¹⁾ 한방에서는 그 뿌리를 갈근이라 부르고 다년생의 낙엽성 활엽 덩굴나무로 뿌리를 건조하여 사용하며, 갈근은 크게 두 종류로ⁱ 얇게 종(縱)으로 자른 것을 板葛根이라고 하고, 5 mm 정도의 角이 있도록 자른 것을 角葛根이라고 한다. 칡의 꽃을 길화라고 부르며, 칡줄기의 속 껍질은 청올치라고 부르며 옷감을 짜고, 노를 꼬는데 사용한다.²⁾ 칡은 오래 전부터 구황작물로 이용되고 있고, 음주와 관련된 숙취증상을 완화하기 위해 사용되며, 고혈압, 협심증, 당뇨병 등에 약효를 갖

고 있으며, 주요 성분으로는 isoflavone 유도체와 starch 10~14%, daidzin, diadzein(daidzin-7-glucoside), puerarin, puerarin-7-xyloside, genistein, formononetin, coumestan 유도체, 방향족 배당체 및 oleanane계 sapogenin 등으로 구성되어 있다.^{2,3)} 본 연구는 칡의 뿌리를 유기용매(*n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, methanol)와 물을 사용하여 연속추출한 후, 얻은 갈근 추출물이 피부염증균에 대한 항균효과와 항산화활성결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 칡(*Puerariae thunbergiana* Benth.)은 2002년 10월에 충남 논산시 노성면 가곡리산에서 채집한 후에 음건하여 외부형태를 검정한 후, Blender로 분쇄하여 사용하였다. 실험에 사용된 식물체는 원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과에 보관되어 있다.

*본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 063-850-6225 (팩스) 063-841-4893
(E-mail) shbaek@wonkwang.ac.kr

기기 및 시약

Rotary vacuum evaporator(EYELA : N-N Series, Switzerland), freezing dryer(-50°C 이하, vaccum 5 microns Hg 이하 : E D8510, Ilshin Lab Co.), CO₂ incubator(NUAIR), ELISA reader (Molecular devices, spectra MAX 340, USA), Microscope (Olympus, CK2, USA). NMR은 FT/NMR spectrometer, model JEOL-ECP 500을 사용하였으며, Dimethyl sulfoxide-d₆를 용매로 사용하였으며, 내부표준물질로 tetramethyl-silane(TMS)를 기준으로 σ(0.00 ppm)으로 측정하였다. Column chromatography의 흡착제는 silica gel 60(kiesel gel, 230~400 mesh), silica gel plate(0.25 mm, polygram sil N-HR/UV254, E. Merck), sand (Aldrich)를 사용하였다. n-Hexane, chloroform, ethyl acetate, methanol(DAEJUNG)은 재증류하여 사용하였으며, 물은 3차 증류수를 사용하였다. Daidzein과 quercetin은 Aldrich에서 구입하여 사용하였다.

추출방법

본 연구에 사용된 척뿌리(갈근, 5,000 g)를 세절하여 blender로 분쇄하여 사용하였다. 갈근을 n-hexane(3×15,000 mL)으로 상온에서 24시간 동안 진탕하면서 3회 추출한 후, 헥산추출액을 0.4 μm 여과지로 여과하여 35°C에서 감압농축하여 헥산 추출물을 얻었다. 위와 같은 방법으로 클로르포름, 에틸 아세테이트, 메탄올로 추출하여, 클로르포름 추출물, 에틸 아세테이트 추출물, 메탄올 추출물을 얻었다. 위 추출물의 잔사를 80°C~85°C에서 4시간 동안 진탕하면서 3회 환류추출하여 물 추출물을 얻었다.

생리활성물질의 분리^{4,5)}

갈근 에틸아세테이트 추출물(20 g)을 300 mL 등근플라스크에 넣고, 에틸아세테이트(40 mL)을 넣어 용해시킨 후, 실리카겔(40 g)을 넣어 용매를 감압증류시켜 실리카겔에 코팅시켰다. 코팅된 에틸아세테이트 추출물을 다시 실리카겔(250 g)이 충진된 컬럼크로마토그라피(47 mm×800 mm)에 넣어 클로르포름/메탄올 이동상으로 용리시켜 분획 1(250 mg), 분획 2(1,250 mg), 분획 3(5,100 mg), 분획 4(2,780 mg), 분획 5(1,600 mg), 분획 6(3,150 mg), 분획 7(2,160 mg)을 얻었다. 클로르포름/메탄올 이동상(13~20%)으로 용리시켜 얻은 분획(4)에서 결정을 아세톤으로 재결정시켜 yellow amorphous power puerarin(30 mg, 1.1%)을 얻었으며, 클로르포름/메탄올 이동상(20~25%)으로 용리시켜 얻은 분획(2)에서 얻은 결정을 메탄올/클로르포름(4:1)에서 재결정시켜 백상 침상결정 daidzin(1, 100 mg, 8%)을 얻었다. Daidzin(1) : Rf= 0.36(크로르포름/메탄올 7:3); ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ 8.39(s, 1H, C-2), 8.04(d, J=8.7 Hz, 1H, C-5), 7.40(d, J=8.7 Hz, 2H, C-2' and C-6'), 7.23(d, J=1.8 Hz, 1H, C-8), 7.14(dd, J=2.3, 8.9 Hz, 1H, C-6), 6.81(d, J=8.3 Hz, 2H, C-3' and C-5'), 5.10

(d, J=6.9 Hz, 1H, Glc-C-1), 9.55(4'-OH); ¹³C-NMR(DMSO-d₆), δ C-2(153.9), C-3(124.3), C-4(175.3), C-5(127.5), C-6(116.1), C-7(162.0), C-8(100.6), C-9(157.8), C-10(119.0), C-1'(122.9), C-2'(130.6), C-3'(115.6), C-4'(157.6), C-5'(115.6), C-6'(130.6), Glucose C-1(104.3), C-2(73.7), C-3(77.1), C-4(70.2), C-5(77.8), C-6(61.2). Puerarin(2) : Rf=0.26(클로르포름/메탄올 7:3); ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ 8.34(s, 1H, C-2), 7.93(d, J=8.7 Hz, 1H, C-5), 7.39(dd, J=2.8, 8.3 Hz, 2H, C-2' and C-6'), 6.98(d, J=8.7 Hz, 1H, C-6), 6.80(dd, J=3.1, 8.3 Hz, 2H, C-3' and C-5'), 4.80(d, J=9.7 Hz, 1H, Glc-C-1); ¹³C-NMR(DMSO-d₆), δ C-2(152.6), C-3(122.9), C-4(174.9), C-5(126.1), C-6(114.8), C-7(161.2), C-8(112.5), C-9(156.1), C-10(116.6), C-1'(122.4), C-2'(130.0), C-3'(114.8), C-4'(157.1), C-5'(114.8), C-6'(130.0), Glucose C-1(78.6), C-2(73.2), C-3(70.5), C-4(70.5), C-5(81.7), C-6(61.1).

사용균주 및 배지

실험에 사용된 균주는 *Streptococcus mutans*(S. mutans, JC-2), *Staphylococcus epidermidis*(S. epidermidis, ATCC 12228), *Staphylococcus aureus*(S. aureus, ATCC 29213)와 *Candida albicans*(C. albicans, KCTC 1940)를 사용하였다. 세균배양에 사용된 배지는 S. mutans, S. epidermidis와 S. aureus는 Brain heart infusion(BHI, Difco)를 사용하였고, C. albicans는 Sabouraud(증류수 1 l)에 Bacto-peptone 10 g, Bacto-dextrose 40 g)를 사용하였다.

항균력 측정

항균효과를 파악하기 위하여 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 측정하였다. 액체배지 희석법⁶⁻⁸⁾을 이용하였으며, 96-microwell plate(Nunclon, Denmark)에 각 추출물의 농도를 최고 3,200 μg/mL에서 최저농도 100 μg/mL까지 2배씩 연속적으로 희석하였다. 각 균주는 단일 콜로니를 액체배지에 접종하고, 37°C 배양기에서 18시간 동안 배양한 균주(10⁵ cells/mL)를 접종하여 37°C 배양기에서 24시간 배양한 후, ELISA (Spectra Max 250, Molecula Deveces, USA)에 의한 흡수파장 630 nm에서 흡광도를 측정하여 배지의 탁도를 확인하였고, 순수 배양액의 흡광도 값과 같은 결과를 얻은 것을 MIC로 결정하였으며, MIC의 수치가 낮은 것을 항균효과가 높은 것으로 판정하였다.

항산화 측정

척뿌리의 추출물로부터 유용활성물질을 탐색하기 위해 항산화 활성을 검정하였으며, 자유 라디칼인 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(DPPH)을 사용한 항산화활성 측정방법을 이용하였다. 실험관에 메탄올을 넣고 시료 화합물을 농도별로 첨가 한 다음 상

기 DPPH(0.3 mM) 용액을 500 μl 첨가하여 실온에서 30분간 반응시키고 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.^{9,10)}

시료의 처리

조제한 시료는 즉시 4°C 냉장고에 저장하였고, 사용직전에 10% DMSO에 희석하여 실험에 사용하였다.

결과 및 고찰

갈근 연속추출물의 항균력

칡의 뿌리를 유기용매를 사용하여 극성이 낮은 용매로부터 극성이 높은 용매로 상온에서 연속추출하여 얻은 추출물과 그 잔사는 물을 80~850°C에서 4시간 동안 추출하여 얻은 결과, 용매의 극성에 따라 추출물의 수득율은 증가함을 볼 수 있었다(Table I). 연속추출물에 대한 항균효과를 측정한 결과, 극성이 낮은 헥산과 클로르포름용매로 추출한 추출물에 대하여 *S. mutans*, *S. epidermidis*와 *S. aureus*에 대한 최소억제농도는 3,200 μg/ml 이상으로 항균활성이 나타나지 않았다. 그러나 *C. albicans*는 클로르포름 추출물에서 최소억제농도가 800 μg/ml로 항진균활성이 관찰되었다. 에틸아세테이트 추출물과 메탄올 추출물에 대하여 *S. mutans*, *S. epidermidis*와 *S. aureus* 대한 최소억제농도는 3,200 μg/ml로 항균활성이 나타났다. 진균인 *C. albicans*는 헥산 추출물과 물 추출물을 제외하고는 모든 추출물에서 최소억제농도가 높은 800 μg/ml로 항진균활성이 관찰되었으며, 물 추출물의 *S. epidermidis*와 *S. aureus*에 대한 최소억제농도는 1,600 μg/ml로 다른 추출물의 항균활성보다 높게 나타났다. 칡뿌리를 연속 추출한 클로르포름 추출물, 에틸아세테이트 추출물과 메탄올 추출물은 효모형 진균인 *C. albicans*에 대한 항진균효과를 함유한 생리활성물질이 포함되어 있으리라 생각된다(Table I and III). 갈근 연속추출물에 대한 항산화효과를 DPPH법을 이용하여 측정한 결과 에틸아세테이트 추출물에서 가장 활성(IC_{50} , 119.87 ± 0.16 μg/ml)이 높게 관찰되었으며, 용매의 극성이 증가하는 순서인 메탄올 추출물(IC_{50} , 146.36 ± 0.30 μg/ml), 물 추출물(IC_{50} , 171.18 ± 0.20 μg/ml)이 높게 관찰되었으며, 용매의 극성이 증가하는 순서인 메탄올 추출물(IC_{50} , 146.36 ± 0.30 μg/ml), 물 추출물(IC_{50} , 171.18 ± 0.20 μg/ml)로 항산화활성이 감소하는 경향이 관찰되었으나, 극성이 약한 클로르포름 추출물(IC_{50} , 220.45 ± 1.20 μg/ml)으로 감소하였으며, 헥산 추출물(IC_{50} , 3,900.32 ± 6.10 μg/ml)에서는 항산화활성이 거의 관찰되지 않았다. 갈근추출물에 대한 항산화활성은 에틸아세테이트 추출물(IC_{50} , 119.87 ± 0.16 μg/ml) > 메탄올 추출물(IC_{50} , 146.36 ± 0.30 μg/ml) > 물 추출물(IC_{50} , 171.18 ± 0.21 μg/ml) > 클로르포름 추출물(IC_{50} , 220.45 ± 1.20 μg/ml) > 헥산 추출물(IC_{50} , 3,900.32 ± 6.10 μg/ml) 순서로 감소되었다. 에틸아세테이트 추출물(IC_{50} , 119.87 ± 0.16 μg/ml)의 가장 높

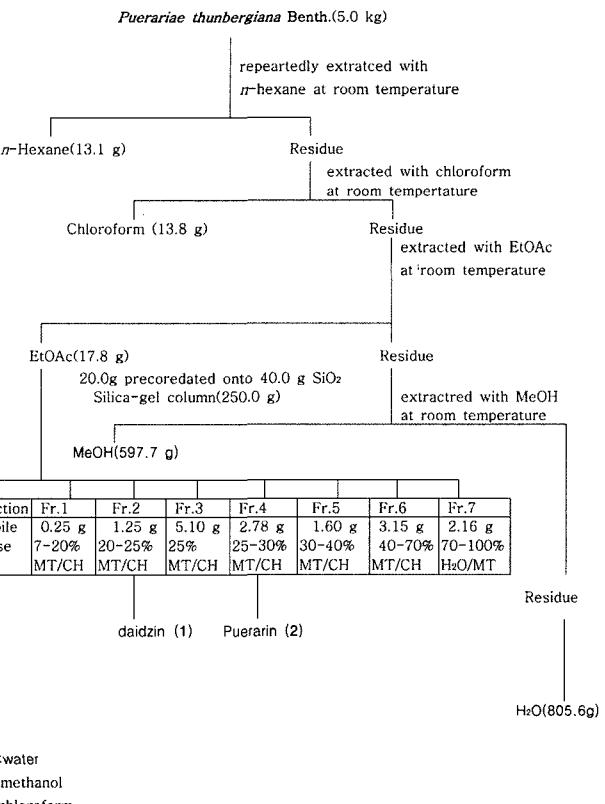


Fig. 1 - Isolation of daidzin (1) and puerarin (2) from *Puerariae thunbergiana* Benth.

171.18 ± 0.20 μg/ml로 항산화활성이 감소하는 경향이 관찰되었으나, 극성이 약한 클로르포름 추출물(IC_{50} , 220.45 ± 1.20 μg/ml)으로 감소하였으며, 헥산 추출물(IC_{50} , 3,900.32 ± 6.10 μg/ml)에서는 항산화활성이 거의 관찰되지 않았다. 갈근추출물에 대한 항산화활성은 에틸아세테이트 추출물(IC_{50} , 119.87 ± 0.16 μg/ml) > 메탄올 추출물(IC_{50} , 146.36 ± 0.30 μg/ml) > 물 추출물(IC_{50} , 171.18 ± 0.21 μg/ml) > 클로르포름 추출물(IC_{50} , 220.45 ± 1.20 μg/ml) > 헥산 추출물(IC_{50} , 3,900.32 ± 6.10 μg/ml) 순서로 감소되었다. 에틸아세테이트 추출물(IC_{50} , 119.87 ± 0.16 μg/ml)의 가장 높

Table I - Antimicrobial and antioxidative effects of the extracts of *Puerariae thunbergiana* Benth. roots

Tested material	MIC ₅₀ (μg/ml)*				IC_{50} (μg/ml)	Yield (%)
	<i>S. mutans</i>	<i>S. epider</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>		
HXRП	>3,200	>3,200	>3,200	>3,200	3,900.32 ± 6.0	13.1 g (0.26)
CFRP	>3,200	>3,200	>3,200	800	220.45 ± 1.2	13.8 g (0.28)
EARP	3,200	3,200	3,200	800	119.87 ± 0.2	17.8 g (0.36)
MTRP	3,200	3,200	3,200	800	146.36 ± 0.3	597.7 g (11.95)
WRP	>3,200	1,600	1,600	>3,200	171.18 ± 0.2	805.6 g (16.11)

*Each extract was examined in triplicate experiments. Plant extracts: HXRП; *n*-Hexane extract of the root of *Puerariae thunbergiana* Benth. CFRP; Chloroform extract of the root of *Puerariae thunbergiana* Benth. EARP; Ethyl acetate extract of the root of *Puerariae thunbergiana* Benth. MTRP; Methanol extract of the root of *Puerariae thunbergiana* Benth. WRP; Water extract of the root of *Puerariae thunbergiana* Benth.

은 항산화활성은 synergistic effect에 기인되는 것으로 생각된다 (Tables I and II).

Isoflavonoids의 분자구조분석

¹H-NMR spectrum에서 5.10 ppm에서 glucose의 anomeric proton signal^o doublet($J=6.9$ Hz)으로 나타났으며, 3.45와 3.71 ppm(m)에서 glucose CH₂OH에 기인하는 signal^o multiplet으로 관찰되었다. 또한 3.18~3.47 ppm에 glucose에 귀속되어지는 전형적인 proton signal^o 관찰되었다. A고리에서 나타난 signal^o 8.04 ppm($J=8.7$ Hz)에서 H-5, 7.14 ppm($J=2.3, 8.7$ Hz)에서 H-6 proton^o doublet으로, 7.23 ppm($J=1.8$ Hz)에서 doublet으로 나타났으며, A고리의 oxygenated pattern 가운데서 가장 많이 나타나는 6번 proton^o 5, 8번 proton보다 high field에서 관찰되었다. B고리의 7.40 ppm($J=8.7$ Hz)에서 proton signal^o doublet으로 H-2과 H-6가 나타났으며, 6.81 ppm($J=8.3$ Hz)에서 proton signal^o doublet으로 H-3'과 H-5'가 관찰되었다. B고리의 H-2', H-6', H-3', H-5'의 proton signal^o 7.40 ppm(d, $J=8.7$ Hz)과 6.81 ppm(d, $J=8.3$ Hz)^o 나타나 A고리의 H-5와 H-6, H-8보다 low field에서 관찰되었다. C고리의 8.39 ppm에서 proton signal^o singlet으로 나타나 isoflavone 골격의 2번위치에 olefinic proton을 관찰할 수 있으며, 3번위치가 B고리에 연결되었을 것으로 생각된다(Fig. 2).⁴⁾ Fig. 2는 ¹³C-NMR spectrum에서 보는 바와 같이 isoflavanoid 골격의 A ring의 ¹³C-NMR spectrum은 153.9 ppm C-2, 124.3 ppm C-3, 175.3 ppm C-4, 162.0 ppm C-7의 탄소를 확인하였으며, 104.0 ppm에서 glucose에 기인하는 anomeric carbon signal을 확인할 수 있었으며, 61.2 ppm에서 glucose의 C-6^o에 의한 CH₂OH기임을 알 수 있다. C-4의 ketone의 탄소가 175.3 ppm으로 관찰되었으며, 162.0 ppm(C-7)은 A고리와 glucosyl 그룹과 157.6 ppm은 C-4^o hydroxyl로 치환된 것을 알 수 있었다. 73.7 ppm, C-2", 77.1 ppm C-3", 70.2 ppm C-4"와 77.8 ppm C-5"은 이동의 연구에서의 결과와 같이 glucose임을 확인할 수 있었다.⁴⁾ 이상의 결과를 종합해본 결과 화합물 1은 daidzin(1)으로 판단된다. ¹H-NMR spectrum에서 4.80 ppm

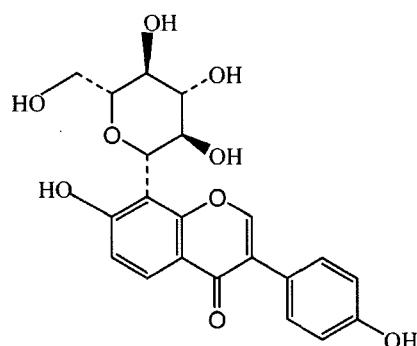
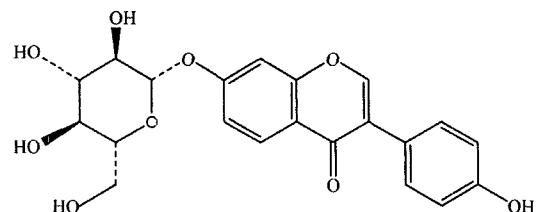


Fig. 2 – The structure of daidzin (1) and puerarin (2).

에서 glucose의 anomeric proton signal^o doublet($J=9.7$ Hz)으로 나타났으며, 3.42(m)와 3.71 ppm에서 glucose CH₂OH에 기인하는 signal^o $J=11$ Hz의 doublet으로 관찰되었다. 또한 3.24~4.01 ppm에 glucose에 귀속되어지는 전형적인 proton signal^o 관찰되었다. A고리에서 나타난 signal^o 7.93 ppm($J=8.7$ Hz)에서 H-5, 6.98 ppm($J=8.7$ Hz)에서 H-6 proton^o doublet으로 나타났으며, A고리의 oxygenated pattern 가운데서 가장 많이 나타나는 7-hydroxy group에서 6번 proton^o 5번 proton보다 high field에서 관찰되었다. B고리의 7.39 ppm($J=8.3$ Hz)에서 proton signal^o doublet으로 H-2과 H-6가 나타났으며, 6.80 ppm($J=8.3$ Hz)에서 proton signal^o doublet으로 H-3'과 H-5'가 관찰되었다. B고리의 H-2', H-6', H-3'과 H-5'의 proton signal^o 7.39 ppm(d, $J=8.3$ Hz)과 6.80 ppm(d, $J=8.3$ Hz)^o 나타나 A고리의 H-5와

Table II – Antimicrobial and antioxidative effects of the compounds from *Puerariae thunbergiana* Benth. roots

Tested material	MIC ₅₀ (μ g/ml)*				IC ₅₀ (μ M)
	<i>S. mutans</i>	<i>S. epider</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	
Daidzin (1) ⁴⁾	3,200	3,200	3,200	800	1,983.3±0.54
Puerarin (2) ⁴⁾	3,200	3,200	3,200	3,200	1,673.3±0.54
Daidzein	>3,200	>3,200	>3,200	>3,200	>1000
Quercetin	>3,200	>3,200	>3,200	>3,200	16.1±0.75
Eugenol	>3,200	1,600	>3,200	800	18.7±0.68
Benzyl alcohol	>3,200	>3,200	>3,200	>3,200	>1,000
Ethyl acetate	1,600	>3,200	>3,200	3,200	>1,000
Benzoic acid	>3,200	1,600	800	800	>1,000

*Each extract was examined in tripliate experiments. BHA; (88.39±1.1)×10⁻³ μ M.

Table III – List of microorganisms used for antimicrobial susceptibility test

Gram-positive bacteria	
<i>Streptococcus mutans</i>	JC-2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213
Yeast type fungus	
<i>Candida albicans</i>	KCTC 1940

H-6보다 low field에서 관찰되었다. C고리의 8.34 ppm에서 proton signal¹⁰ singlet으로 나타나 isoflavone 골격의 2번위치에 olefinic proton을 관찰할 수 있으며, 3번위치가 B고리에 연결되었을 것으로 생각된다(Fig. 2).⁴⁾ Fig. 2는 ¹³C-NMR spectrum에서 isoflavonoid 골격의 A ring의 ¹³C-NMR spectrum은 153.2 ppm C-2, 123.6 ppm C-3, 175.5 ppm C-4, 161.8 ppm C-7의 탄소를 확인하였으며, 74.0 ppm에서 glucose에 기인하는 anomeric carbon signal을 확인할 수 있었으며, 62.0 ppm에서 glucose의 C-6¹¹에 의한 CH₂OH기임을 알 수 있다. C-4의 ketone의 탄소가 175.5 ppm으로 관찰되었으며, 161.8 ppm과 157.5 ppm은 C-7와 C-4¹⁰ hydroxyl로 치환된 것을 알 수 있었다. 71.3 ppm, C-2", 79.3 ppm C-3", 71.0 ppm C-4"와 82.4 ppm C-5"은 이등의 연구에서의 결과와 같이 glucose임을 확인할 수 있었다.⁴⁾ 이상의 결과를 종합해본 결과 화합물 2는 puerarin(2)으로 판단된다.

Isoflavonoids의 항균력

갈근에서 분리된 isoflavonoid인⁴⁾ daidzin과 puerarin에 대하여 *S. mutans*, *S. epidermidis*와 *S. aureus*에 대한 최소억제농도는 3,200 µg/ml으로 미약한 항균활성이 나타났으나, 효모성 진균인 *C. albicans*에 대한 최소억제농도는 800 µg/ml과 3,200 µg/ml로 관찰되었다. 그러나 칡의 구성성분인 daidzein과 quercetin의 최소억제농도는 3,200 µg/ml 이상으로 항균활성이 나타나지 않았으나, 효모성 진균인 *C. albicans*에 대한 최소억제농도는 800 µg/ml~3,200 µg/ml로 나타났다. Benzyl alcohol, ethyl acetate는 daidzein과 quercetin의 최소억제농도는 3,200 µg/ml 이상으로 항균활성이 나타나지 않았으나, ethyl acetate에서 효모성 진균인 *C. albicans*에서만 최소억제농도는 3,200 µg/ml로 나타났다. 그러나 benzoic acid는 *S. epidermidis*에 대한 최소억제농도는 1,600 µg/ml로 미약한 항균활성이 나타났으나, *S. aureus*와 효모성 진균인 *C. albicans*에 대한 최소억제농도는 800 µg/ml 농도로 관찰되었다(Tables II and III).

갈근추출물로부터 분리된 puerarin과 daidzin에 대한 항산화활성은 DPPH법으로 측정한 결과와 daidzein의 항산화능도 Choo et al.¹¹⁾ 보고한 것처럼 유사한 활성을 관찰할 수 있었다. 그렇지만 quercetin과 eugenol의 활성을 유사한 측정값을 얻었으며, benzyl alcohol, ethyl acetate의 활성은 미약한 것으로 관찰되었으나, 방향족산인 benzoic acid는 *S. epidermidis*에 대한 최소억

제농도는 1,600 µg/ml로 약한 항균활성이 나타났으며, *S. aureus*와 효모성 진균인 *C. albicans*에 대한 최소억제농도는 800 µg/ml로 관찰되었다(Table II).¹¹⁾

결 론

본 연구에서는 갈근을 유기용매와 물로 연속추출하여 얻은 갈근 추출물과 생리활성물질을 피부염증균에 대한 항균, 항진균효과와 항산화활성을 검색하여 다음과 같은 실험결과를 얻었다. 결론적으로 갈근의 크로토포름 추출물, 에틸아세테이트 추출물과 메탄올 추출물에 대한 항진균효과(MIC₅₀, 800 µg/ml)는 효모형 진균인 *C. albicans*에 대한 활성이 *S. mutans*, *S. epidermidis*와 *S. aureus*보다 높게 관찰되었으며, 물 추출물의 *S. epidermidis*와 *S. aureus*에 대한 항균효과는 최소억제농도(MIC₅₀, 1,600 µg/ml)로 관찰되었다. 갈근연속추출물에서 에틸아세테이트 추출물의 항산화활성(IC₅₀, 119.87±0.16 µg/ml)은 가장 좋은 활성을 얻었으며, 이와 같은 연구결과는 isoflavonoid 골격구조와 연관할 때, 갈근추출물에서 관찰된 항균 및 항진균효과는 puerarin, daidzin, daidzein, quercetin보다는 다른 생리활성물질이 함유되어 나타나는 것으로 생각된다. 향후 칡 추출물에 대한 항균 및 항진균물질을 분리 및 분석을 통하여, 이를 생리활성물질에 대한 피부염증균의 억제효과를 연구하고자 한다.

감사의 말씀

본 연구는 오시오한의원 산학협동 연구비에 의해 이루어졌으며, 이에 감사드린다.

문 헌

- 1) 박종희 저 : 한약백과도감, 도서출판, 신일상사 (2002).
- 2) 박창호, 강신인 공저 : 한약재포장기술, 청문각 (2002).
- 3) 장규섭, 임진혁, 금혜례나, 이은주 : 감마선 조사 칡 전분 gel의 rheology 특성. 한국식품과학회지 36(5), 740 (2004).
- 4) Lee, S. J., Baek, H. J., Lee, C. H. and Kim, H. P. : Antiinflammatory activity of isoflavonoids from Pueraria Radix and biochanin A derivatives. Arch. Pharm. Res. 17, 31 (1994).
- 5) Hirakura, K., Morita, M., Nakajima, K., Sugama, K., Kakagi, K., Niitsu, K., Ikeya, Y., Maruno, M. and Okada, M. : Phenolic glucosides from the root of *Pueraria lobata*. Phytochem. 46, 921 (1997).
- 6) Cho, H., Weon, R. S., Yang, E. Y. and Kim, J. S. : Antimicrobial effect of the extract of *Sophora flavescens* Ait (I). J. Pharm. Soc. Korea 43, 419 (1999).
- 7) Kim, K. Y., Chung, D. O. and Chung, H. J. : Chemical composition and antimicrobial activities of *Houttuynia cordata*

- T_{HUNB}. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 400 (1997).
- 8) Chung, B. S., Kim, H. S. and Kim, S. K. : Susceptibility tests of *Candida* species isolated from vagina. *J. Korean Soc. Microbiol.* **24**, 523 (1989).
- 9) 이현옥, 김창희, 임진아, 이미희, 백승화 : 칡 추출물의 구강미생물에 대한 항균효과, *한국치위생과학회지* **4**, 45 (2004).
- 10) 이희경, 김주성, 김명조, 허권, 이현용, 유창연 : 일일초 품종 및 부위별 메탄올 추출물 활성 비교. *Kor. J. Med. Crop Sci.* **10**, 212 (2002).
- 11) Choo, M. K., Park, E. K., Yoon, H. K. and Kim, D. H. : Antithrombotic and antiallergic activities of daidzein, a metabolite of puerarin and daidzin produced by human intestinal microflora. *Biol. Pharm. Bull.* **25**, 1328 (2002).