

은행잎 추출물의 집먼지 진드기 *Dermatophagoides pteronyssinus*에 대한 살충효과

† 이 인 화 · 박 주 영 · ¹최 승 현

조선대학교 환경공학과 BK21바이오가스기반 수소생산 전문인력양성팀, ¹(주)식물나라

(접수 : 2007. 2. 2., 게재승인 : 2007. 2. 23.)

Insecticidal Effect of *Dermatophagoides pteronyssinus* using *Ginkgo biloba* Leaves Extracts

In-Hwa Lee†, Ju-Young Park, and Seung-Hyun Choi¹

Department of Environmental Engineering, BK21 Team for Biohydrogen Production,

Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

¹Photoworld Co., Ltd.

(Received : 2007. 2. 2., Accepted : 2007. 2. 23.)

A insecticidal effect of *Ginkgo biloba* leaves extract was conducted for *Dermatophagoides pteronyssinus* as a predominant species in Korea. *D. pteronyssinus* has been cultured in constant temperature and humidity chamber at the 25°C and 75% of relative humidity. The mortality of mites was determined by counting the dead bodies for every hour within 48 hours with pin hall microscope after treated by *Ginkgo biloba* leaves extract spreaded on 0.1 g of mass cultured media. The sequence of mortality for *D. pteronyssinus* are as follows, bilobalide was 91.6%, 80°C water extract was 82.8%, second water fraction was 75%, ethyl acetate fraction from 80°C water fraction was 73%, first ethyl acetate fraction from 80°C water extract was 69.4%, putaltrin was 65%, distilled water was 58%, methanol extract was 57.8%, Ginkgolide-A was 57.1%, ethyl acetate fraction of 80°C water extract was 55%, respectively. From the these results we conclude that the bilobalide is the most effective component in the *Ginkgo biloba* leaves extract having insecticidal effect on house dust mite.

Key Words : *Ginkgo biloba* leaves extract, house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*, insecticidal effect

서 론

호흡기 알레르기질환의 가장 중요한 기인성 알레르겐은 집먼지 진드기로 밝혀져 있다(1-6). 집먼지 진드기과(Pyroglyphidae) 속에는 10종이 보고되어 있으며 *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, *D. microceras*와 *E. maynei*가 중요한 알레르겐으로 지목받고 있다. 국내에는 *D. pteronyssinus*, *D. farinae*와 *E. maynei*가 보고되었다(7, 8). 특히 *D. pteronyssinus*와 *D. farinae*는 공동으로 서식하고 있으며, *D. farinae*가 좀 더 광범위하게 분포되어 있다. 그러나 보고자에 따라 또는 지역에 따라 *D. pteronyssinus*가 더 많이 조사되기도 한다(9). *D. pteronyssinus*는 1864년 Bogdanoff에 의

해 처음 발견되었고 전 세계적으로 분포되어 있으며, 집먼지 진드기 항원이 사람이나 개에서 천식 및 아토피성 피부염의 가장 중요한 원인물질로 확인됨에 따라 그에 대한 많은 연구가 진행되어 왔다(10).

이러한 집먼지 진드기의 제거를 위해서 고온스팀청소, 미세섬유사용, 화학합성 제제에 의한 살비 등 여러 방법이 사용되고 있지만 효과적인 제거방법은 제시되지 못하고 있다. 집먼지 진드기 살비제로 phthaltrin (Cyclohex-1-ene-1,2-dicarboximidomethyl-3(2-methyl (1RS,3RS:1R,3SR)-2,2-dimethyl-prop-1-1-enyl)cyclopropanecarboxylate), DEET (N,N-diethyl-3-methylbenzamide) 등이 사용되고 있는데, 약제의 선택성과 살비효과면에서 집먼지 진드기 살비 특효제로서 효과적이지 못하다.

은행나무 잎은 flavonoids, terpenes, organic acids 및 기타 다양한 화합물들을 함유하고 있으며(11, 12), 이에 대한 화학적 고찰과 많은 약리학적 연구들이 수행되어 왔다(13, 14). 은행잎의 약리 작용에 대해서는 많은 연구가 진행된

† Corresponding Author : Department of Environmental Engineering, Gwangju 501-759, Korea

Tel : +82-62-230-6627, Fax : +82-62-234-6627

E-mail : ihlee@chosun.ac.kr

반면, 살충 활성에 대한 연구는 상대적으로 매우 저조한 상태이다. 이는 은행잎 추출물이 매우 고가이며, 살충제로 개발되기 위한 경제성이 매우 적기 때문이다. 또한 *piris rapae crucivora* 유충에 대한 섭식저해물질로 ginkolide A, ginkolide B 및 bilobalide 등이 보고 되었으며(15), 벼멸구에 대한 강력한 살충성분으로 bilobalide와 ginkolide A, B와 C를 분리·동정하였다(16). 그러나 이러한 개별 성분을 사용하여 실제 해충에 대한 살충효과의 정량적인 결과가 보고되지 않아 생물학적 살충제로 개발하기 위해서는 보다 심도 있는 연구가 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 은행잎에 존재하는 살충효과가 있는 생리활성 물질을 추출용매와 추출조건에 따라 분리하고 이러한 추출물질을 사용하여 집먼지 진드기의 우점종의 일종인 *D. pteronyssinus* 살비에 미치는 효과를 정량적으로 산출하고자 한다. 또한 추출성분 중에서 각각의 성분에 대한 집먼지 진드기 제거효율을 살펴보고 가장 효과적인 활성물질이 무엇인지를 규명하고자 한다.

재료 및 방법

실험 시료

실험에서 사용한 은행잎은 2001년 9월 하순과 10월 중순 사이에 광주광역시 동구 도심의 가로수에서 채취하여 1주일간 음건시킨 후 300 μm 이하로 분말화하여 사용하였다. 집먼지 진드기는 국내에 가장 많이 서식하고 있는 *D. pteronyssinus*을 배양하여 사용하였다.

집먼지 진드기 사육

*D. pteronyssinus*는 Miyamoto의 제안한 방법(10)에 의해 yeast, powdered animal food와 dried fish powder를 각각 1 : 1 : 1로 혼합한 배지를 사용하여 사육하였다. 이때 항온습기 (Model: SF-01, SAMHEUNG)를 이용하여 온도와 습도를 각각 25℃, 75%로 유지하였고, 먹이수분은 15%로 만들었다(16). 디지털 핀홀 현미경 (pin hall microscope)을 이용하여 집먼지 진드기를 관찰하였다.

은행잎 추출물 제조

은행잎 추출물은 용매, 추출조건 및 분획방법에 따라 다양한 종류의 추출물을 제조하였다.

증류수 추출물 (GLW)은 은행잎 분말 100 g을 취하여 증류수 1 l를 가하고 수욕액상에서 2시간 동안 추출한 후 여과하였으며, 증류수 추출물 (GLW80)는 80℃ 수욕액상에서 증탕하여 제조하였다.

메탄올 추출물 (GLM(T20))은 은행잎 분말 100 g을 취하여 methanol 1 l를 가하고 일주일 동안 담근 후 200 ml를 분취하여 진공농축기를 이용하여 얻어진 4.34 g을 1% Tween 20 90 ml에 용해시켰다. 그리고 에틸아세테이트 추출물 (GLEA(T20))은 은행잎 분말 100 g을 취하여 에틸아세테이트 1 l를 가하고 일주일 동안 담근 후 200 ml를 분취하여 감압증발기 (BUCHI- V-800, R-205, B-490, Vac V-500)를 이용하여 얻어진 추출물 5.695 g을 1% Tween 20

50 ml에 용해시켜 만들었다.

은행잎 분획추출물은 은행잎 분말 100 l을 증류수 1 l와 함께 둥근 플라스크에 옮긴 다음 80℃ 수욕액상에서 2시간 동안 증탕한 후 GF/C (공극 1.2 μm) 여과지로 거른 후 Fig. 1에 의해 GLW80-EA (T20), GLW80-EA-EA(T20), GLW80-EA-W를 제조하였다.

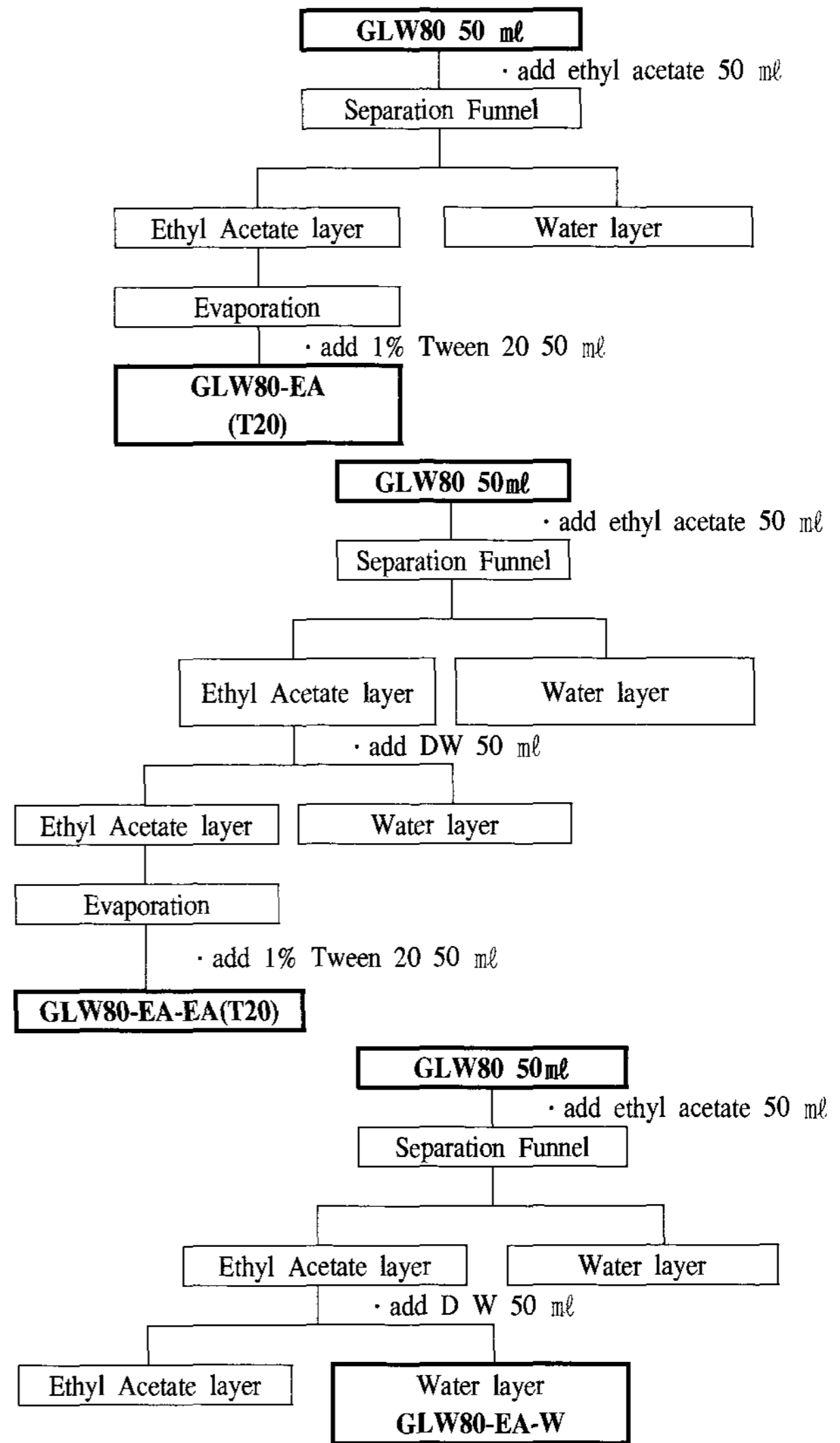


Figure 1. Fractionation of the extract from *Ginkgo biloba* leaves.

집먼지 진드기 살충실험

*D. pteronyssinus*에 대한 살충 실험은 제조한 은행잎 추출물을 각각 0.5 ml와 1.0 ml로 농도를 증가하여 살포한 후 2시간 간격으로 치사율을 확인하였다. Fig. 2는 살충실험을 위한 집먼지 진드기의 표준시료로서, 모눈종이를 2 × 2 cm 크기로 잘라서 Petri dish 밑 부분에 붙이고, 여과지 (GF/C)를 4 × 4 cm 크기에 안쪽 2 × 2 cm 크기로 잘라낸 후 물을 적셔서 집먼지 진드기가 밖으로 이동하지 못하도록 한 후, 각각의 petri dish에 일정한 양의 집먼지 진드기를 넣고 은행잎 추출물 시료들을 노즐 (Model: RA-C1, RA-C2)을 이용하여 100 μl를 일시에 분사하였다. 분사 후 2시간 간격으로 디지털 현미경으로 집먼지 진드기의 치사

을을 집먼지 진드기의 활동성 유무로 확인하였다. Fig. 3은 살충실험을 위한 실험장치로서 노즐과 시료 사이의 높이는 45 cm로 간격을 두었다. Fig. 4는 은행잎 추출물 살포 후 *D. pteronyssinus*의 모습을 나타낸 결과이다.

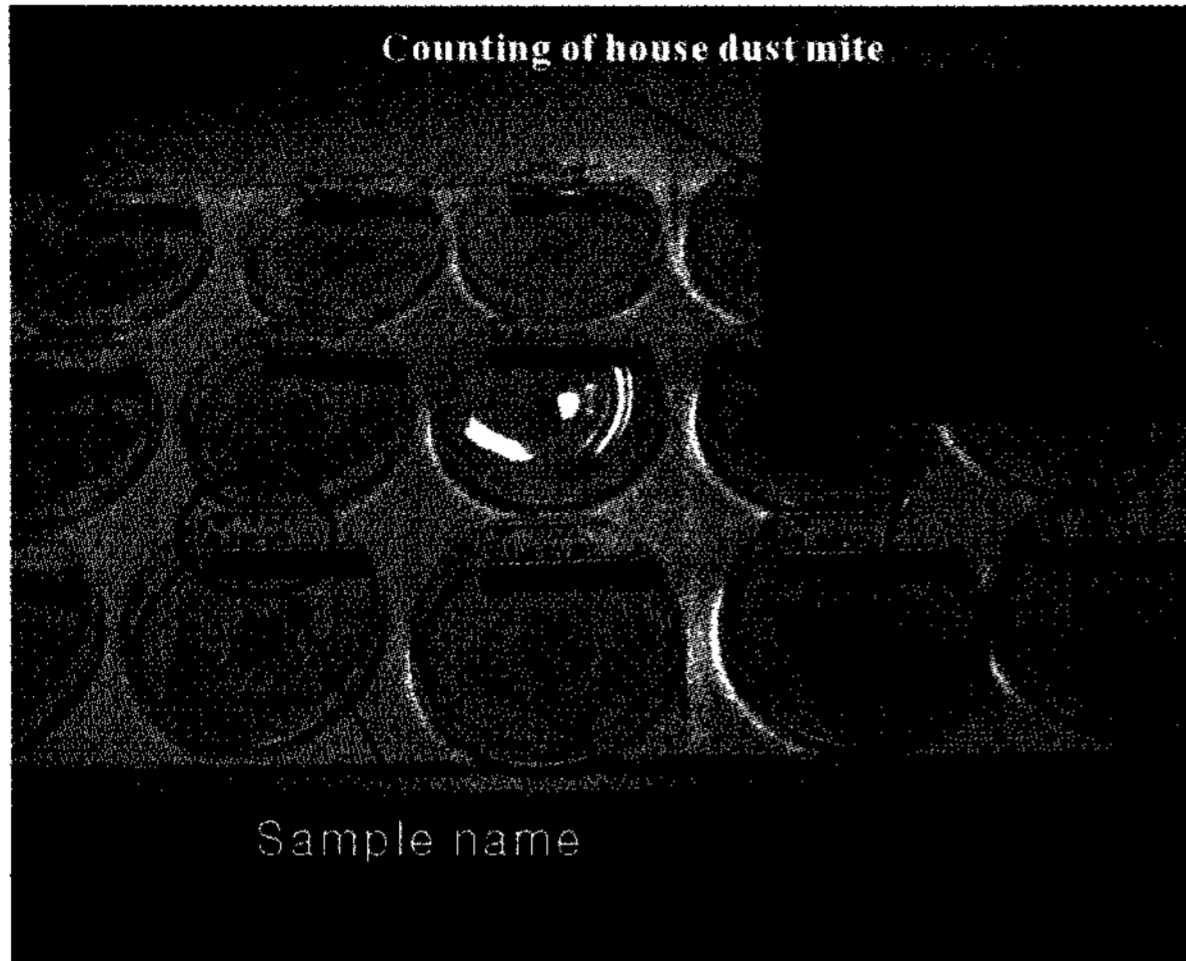


Figure 2. Preparation of the samples for counting of house dust mite on grid paper in the petri dish.

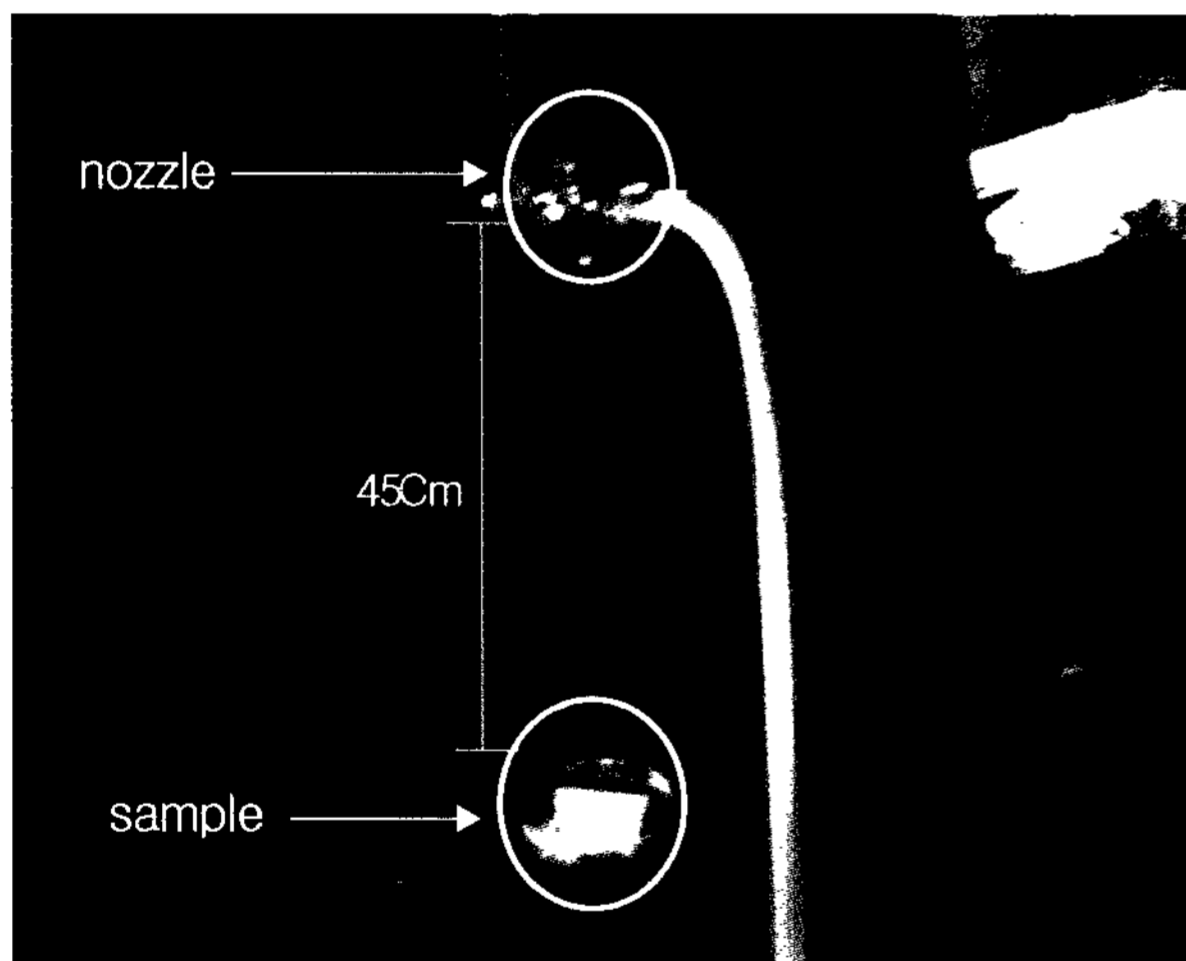


Figure 3. Spray the house dust mite with *Ginkgo biloba* leaves extracts.

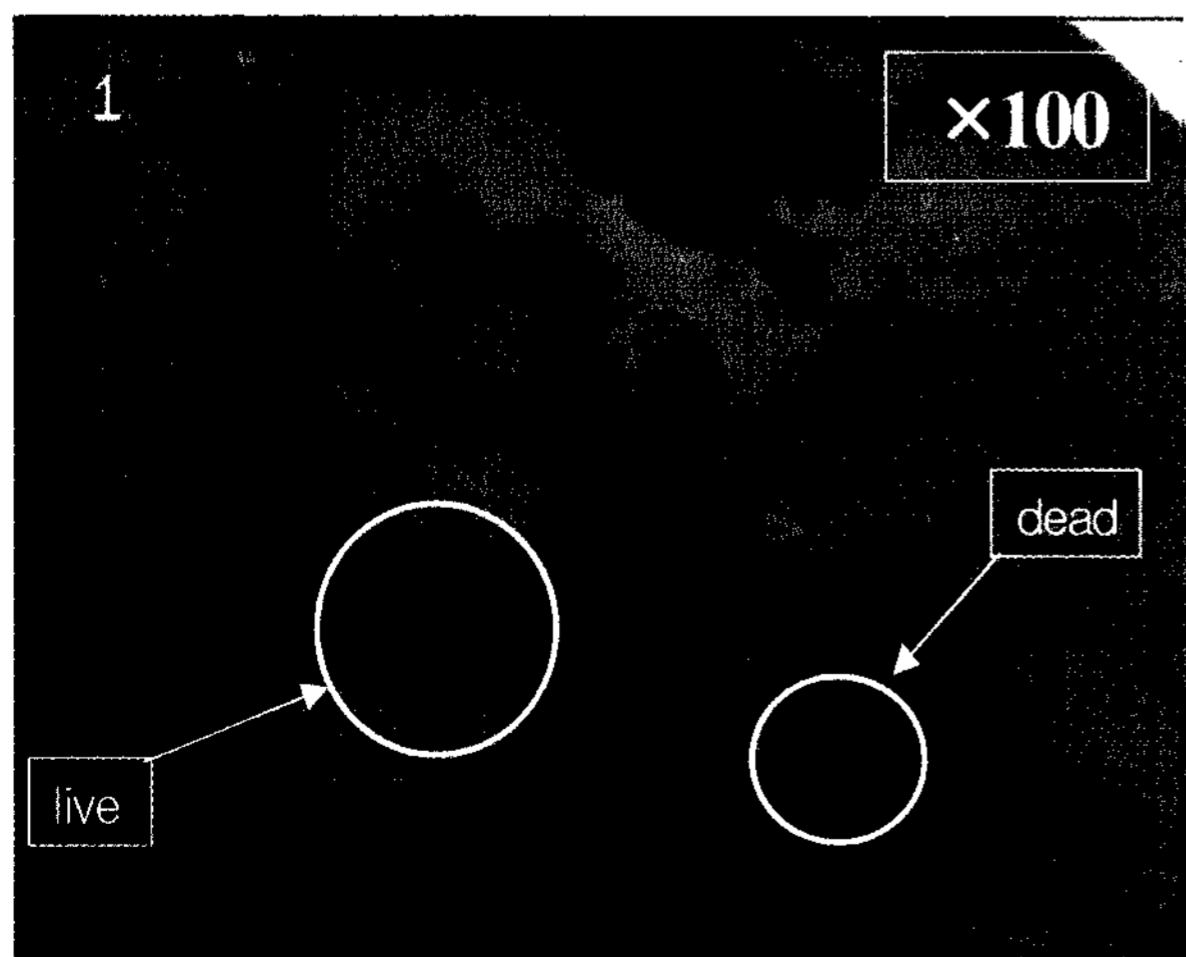


Figure 4. Observation of the house dust mite after spraying.

결과 및 고찰

은행잎 추출물 살충효과

Fig. 5는 은행잎 추출물의 살충실험 결과이다. 증류수를 사용한 은행잎 추출물 (GLW) 경우 살비 초기에는 치사율이 낮았으나 24시간 이후에는 치사율이 증가하였다. 48시간 경과 후 80℃ 온수 추출액 (GLW80)이 가장 높은 치사율을 보였으며, 이는 살충성분이 열수에 의하여 추출량이 증가된 원인으로 보여진다. 은행잎 매탄올 추출물 (GLW80)과 은행잎 에틸아세테이트추출물 (GLEA(T20))을 사용한 경우를 비교해보면 초기 치사율은 극성이 더 큰 매탄올 추출물 (GLM(T20))이 높았으나, 24시간 이후에는 약 60%의 비슷한 효율을 보였다.

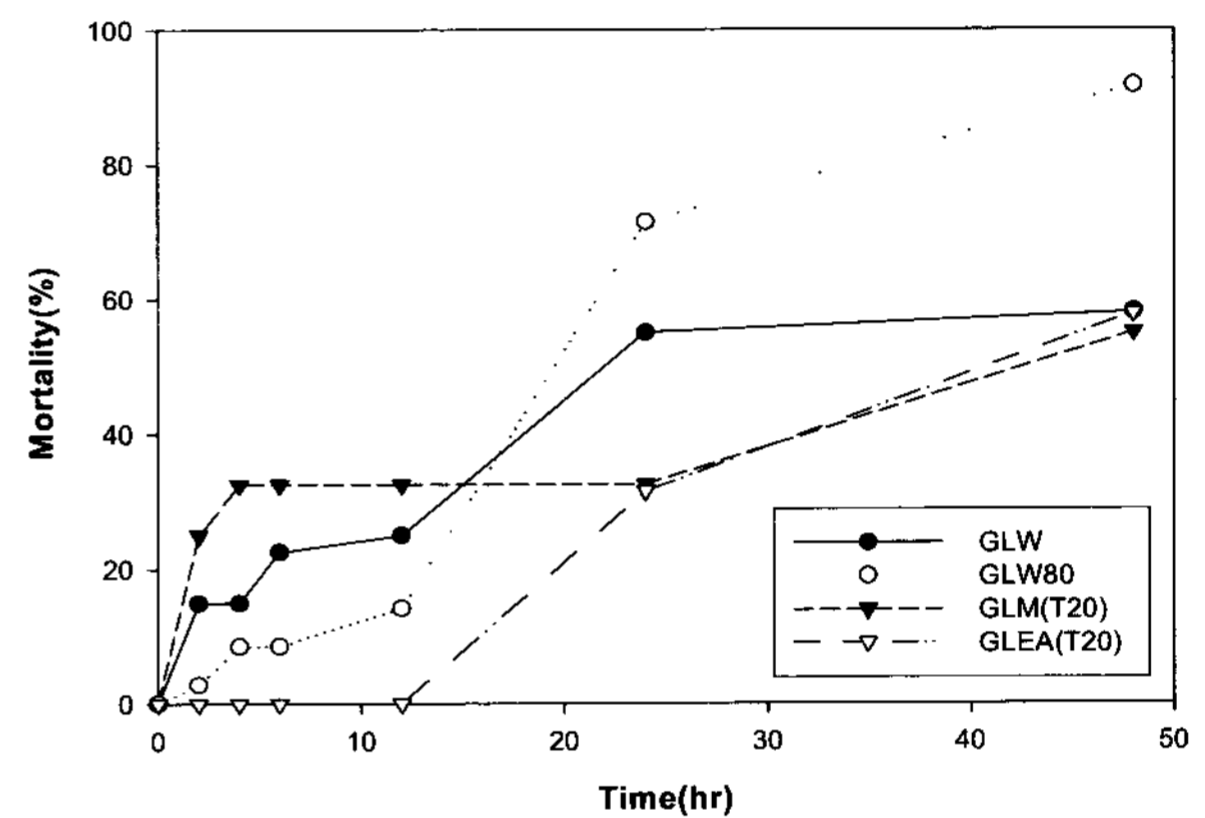


Figure 5. Pesticide effect of *Dermatophagoides pteronyssinus* on the *Ginkgo biloba* leaves extracts according to various extraction conditions.

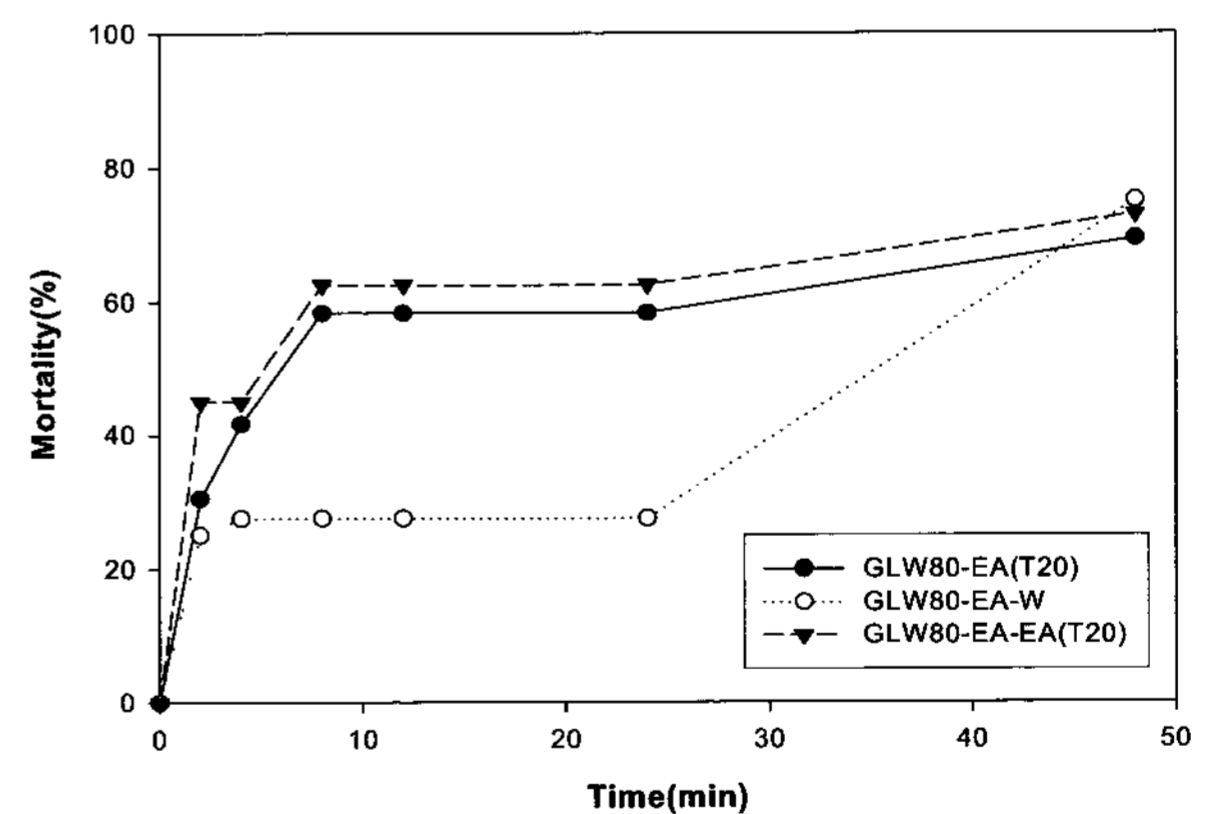


Figure 6. Pesticide effect of *Dermatophagoides pteronyssinus* on the *Ginkgo biloba* leaves fractions.

은행잎 분획 추출물에 따른 살충효과

유기용매에 의한 분획별 은행잎 추출액을 이용한 *D. pteronyssinus* 살충효과가 Fig. 6에 나타나 있다. Fig. 5에서 온수 추출의 경우 은행잎의 살충성분이 안정화되는 치사율이 높은 결과를 토대로 은행잎 분획추출물은 은 80℃ 온수 추출 후 제조하여 사용하였다. 80℃에서 온수 추출한 1차 분획분 (GLW80-EA(T20))과 2차분획분 (GLW80-EA-EA(T20))의 경우 8시간 경과 후 약 60%의 비슷한 치사율을

보였다. 2차 분획시 물분획층 (GLW80-EA-W)를 사용한 경우 초기에는 낮은 치사율을 보이다가 최종 48시간 경과 후 GLW80-EA(T20), GLW80-EA-EA(T20)와 같이 약 70%의 높은 결과가 나왔다.

Bilobalide의 살충효과 검증

은행잎 추출물을 이용하여 *D. pteronyssinus*에 대한 살충 효과를 검증하기 위해 bilobalide, ginkgolide A 및 putaltrin을 이용하였다. Fig. 7을 보면 2시간 후 putaltrin, bilobalide는 각각 52.5%, 30.5%의 높은 치사율을 보인 반면 ginkgolide A은 2.8%의 매우 낮은 살충효과를 보여 살충활성물질이 아닌 것으로 판단된다. bilobalide는 12시간까지 일정한 치사율을 유지하다가 24시간 경과 후 72.2% 치사율을 넘어섰으며, 48시간 이후에는 bilobalide가 91.6%의 높은 살비율을 보였다.

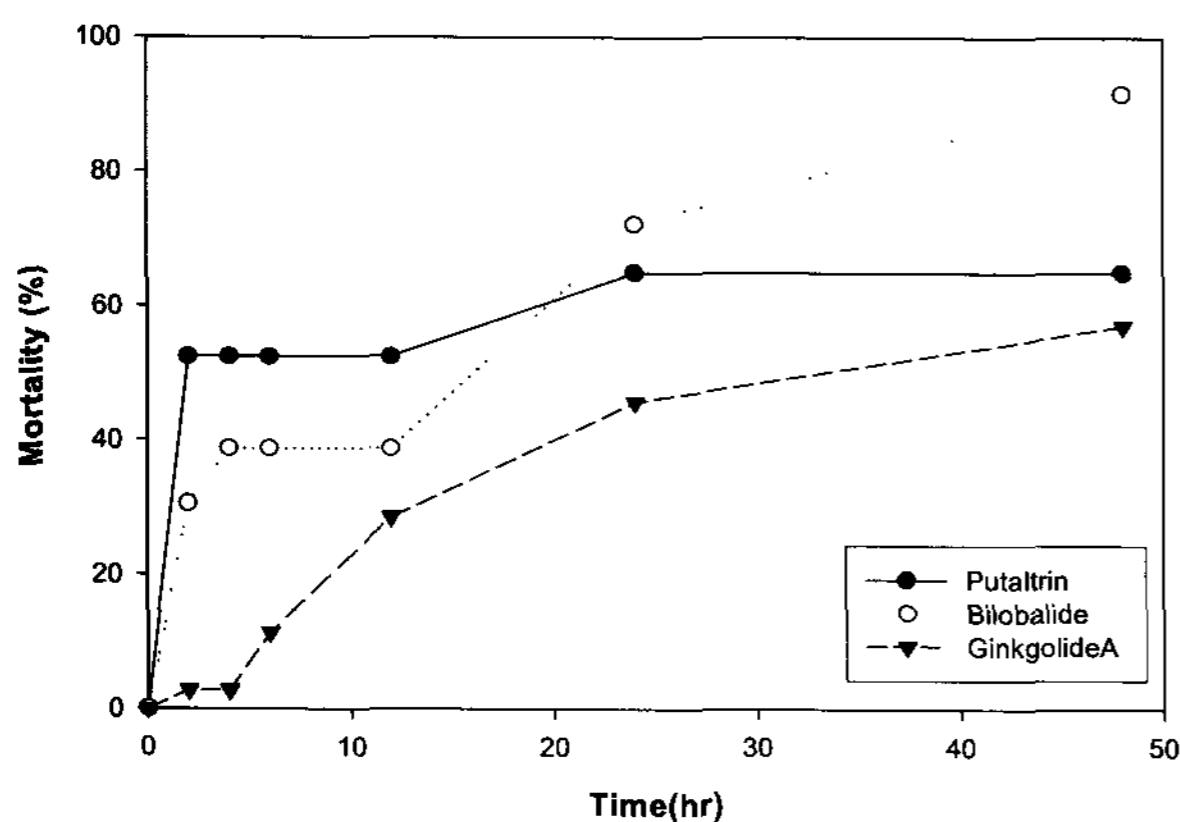


Figure 7. Pesticide effect of *Dermatophagoides pteronyssinus* using Putaltrin and Bilobalide, Ginkgolide A under *Ginkgo biloba* leaves.

요 약

본 연구에서는 은행잎에 존재하는 생리활성 물질이 추출용매와 추출조건에 따른 *D. pteronyssinus*에 대한 살충 실험을 통해 최적 추출 조건을 확립하였다. 은행잎 성분 중 bilobalide가 *D. pteronyssinus*에 살충효과가 있음을 검증하였으며, 다양한 은행잎 추출조건에 따른 살충실험을 한 결과 48시간 이후 약 68%~80%의 치사율을 보였다. 종합적으로 판단해 볼 때 경제성과 치사율을 고려하면 80℃에서 온수추출물 (GLW80)이 가장 최적추출 조건이다.

감 사

이 논문은 2002년도 조선대학교 교내연구비 지원에 의하여 연구되었으므로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Ahu, S. D. and H. J. Kim (1983), Skin Test and Specific Desensitising Therapy in Allergic Rhinitis and Asthma, *Allergy* 3(3), 159-167.
- Kang, S. Y., B. H. Choi, H. B. Moon, K. I. Min, and Y. Y. Kim (1984), The Prevalence of Immediate Skin Reactions in Patients with Respiratory Allergies, *Allergy* 4(1), 49-56.
- Cho, H. S., K. H. Lee, Y. G. Choi, D. G. Jo, and N. S. Kim (1985), Result of Allergen Skin Tests in Type I Hypersensitivity, *Allergy* 5(1), 14-22.
- Lee, Y. G. and Y. I. Oh (1985), Results of Skin Test, Peripheral Eosinophil Count, Total and Specific Ig E in Allergic Patients in Chunbuk area, *Allergy* 5(2), 147-155.
- Lee, K. U. and K. E. Kim (1988), A Study on the Method of Exclusion on Unnecessary allergens from the Vaccines for Immunotherapy, *Allergy* 8(2), 150-164.
- Yoon, Y. W., M. K. Lee, H. S. Park, S. S. Park, and C. S. Hong (1989), The Skin test reactivity and the level of the total IgE in the Allergic Patients, *Allergy* 9(3), 385-398.
- Cho, B. K. and W. Houh (1977), The Mite Fauna of Korean House Dust(I), *The Korean Journal of Dermatology* 15(2), 133-138.
- Soun, B. O. (1986), Textonomic Studies on House Dust Mites (Acari: Pyroglyphidae)(M. S. Thesis), Konkuk university, Seoul.
- Lee, W. K. and B. K. Cho (1984), An Ecological study on the House Dust Mite, *The Korean Journal of Dermatology* 22(3), 286-294.
- Miyamoto, J. K., I. H. Akira, and S. S. Manabu (1975), A successful Method for Culture of the House Dust Mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *J. Exp. Med.* 45(2), 133-138.
- Camponovo, F. F. and F. Soldati (2000), *Ginkgo biloba* in Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles, *Harwood, Amsterdam* 12, 245.
- Defeudis, F. V. (1991), *Ginkgo biloba* extract (EGb761), In *Chemical Composition of Ginkgo biloba extract (EGb 761)*, *Eisvier Paris*, 9-24
- Van Beek, T. A. and G. P. Lelyveld (1992), Concentration of Ginkgolides and Bilobalide in *Ginkgo biloba* leaves in relation to the time of year, *Planta Med.* 58, 413-416.
- Braquet, P. (1988), *Ginkgolides Chemistry, biology, pharmacology and clinical perspectives*, *J. R. Prous Science Publishers*, 794.
- Matsumoto T. and T. Sei (1987), Antifeedant activities of *Ginkgo biloba* L. components against the larva of *Pieris rapae crucivora*, *Agric. Biol. Chem.* 157, 1270-1273.
- Ahn, Y. J., M. Kwon, H. M. Park, and C. K. Han (1997), Potent insecticidal activity of *Ginkgo biloba* derived trilactone terpenes against *Nilaparvata lugens*, 90-105.