

## 세신 정유 추출물의 피부진균 및 기회감염진균에 대한 항진균 효과

한갑훈\*

우석대학교 제약공학과

### Antifungal Activity of Essential Oil from *Asarum sieboldii* against Epidermal and Opportunistic Pathogenic Fungi

Kap-Hoon Han\*

Department of Pharmaceutical Engineering, Woosuk University, Wanju 565-701, Korea

(Received June 12, 2007)

**ABSTRACT:** Root of *Asarum sieboldii* has been used in chinese medicine. It has been known that the extract of *A. sieboldii* has medicinal effect such as antifebrile, anodyne, and anti-inflammatory. Antifungal activity of the essential oil extracted from *A. sieboldii* against various epidermal and opportunistic human pathogenic fungi was investigated. Steam-distillated essential oil demonstrated very high antifungal activity against *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Cryptococcus neoformans*, and *Candida albicans*. MIC (minimum inhibitory concentration) of the essential oil against *C. albicans* was 5 ul/ml, indicating that the essential oil may be used as natural preservatives for cosmetic and nutritional products.

**KEYWORDS:** Antifungal activity, *Asarum sieboldii*, *Aspergillus fumigatus*, Essential oil

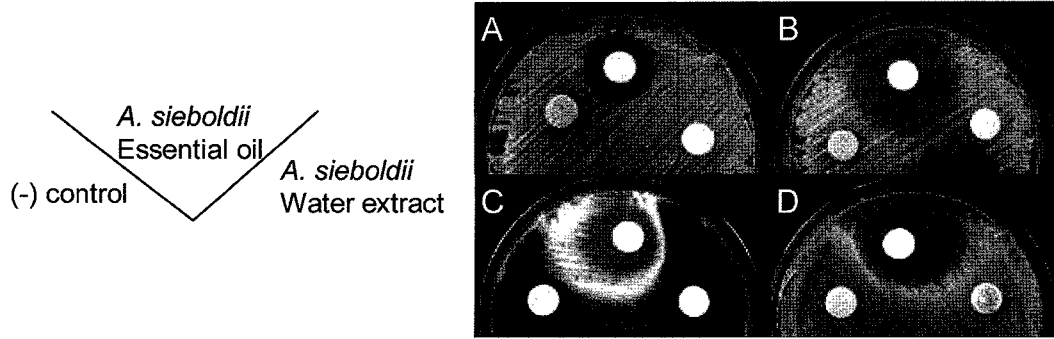
특정 생물이 합성하는 화학물질들이 주위 환경에 방산되어 다른 생물체들에게 여러 가지 영향을 끼치는 것을 알레로파시(allelopathy)라고 한다(Rice, 1979). 이러한 현상은 특히 식물체에서 두드러지며 식물과 식물간 혹은 식물과 미생물간의 생존과 생태학적 지위(ecological niche)의 구성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이러한 알레로파시에 관여하는 물질들에는 phenolics, terpenoid, alkaloid, acetogenin, steroid 등이 포함되어 있으며 이들을 allelochemical이라 칭한다(Whittaker and Feeny, 1971). 이러한 allelochemical 중 휘발성 물질(volatile compound)의 대표적인 물질인 정유(essential oil)들은 자연상태에서 주위환경에 퍼져나가 서식처의 변화를 야기하기도 하며 식물의 생존과 적응에 여러 가지 역할을 하기도 한다(Wink, 1988). 이러한 물질을 생산하는 식물체의 예는 비쭉, 쭉, 더위지기, 참쭉, 산국, 천궁, 색비어, 유칼리투스 등 매우 다양하다.

정유성분은 미생물들에 대한 화학적 방어기능 뿐만 아니라 곡물보존을 위한 살충제, 제조활성, 항균활성, 균류성장 억제등의 활성을 가지며(Cammae et al., 1992; Dixshit et al., 1979; Grayer and Kokubun, 2001; Mayer, 1989; Rice, 1979; Vaughn and Spencer, 1993; Yun et al., 1993), 최근 아로마 요법등을 통하여 많이 알려져 있

고 인간에게도 다양한 효능을 갖는다. 따라서 이들이 미치는 영향을 생물체의 범위와 작용기작에 관한 연구들을 수행하고 있으며 이들에 대한 보다 체계적인 연구는 인체에 무해한 천연방부제나 살충제 등으로 사용할 수 있어, 식물-미생물간의 상호작용을 연구하는 기초과학적 연구뿐만 아니라 다양한 산업에 응용할 수 있는 연구효과를 얻을 수도 있다(Lee et al., 1999).

세신(細辛)은 족두리풀(*Asarum sieboldii*)이나 민족두리풀(*Asarum sieboldii* var. *seoulensis*)의 뿌리 및 전초를 한약재로 사용할 때 일컫는 말이다. 족두리풀은 한국 중부 이남의 산에 널리 분포하며 민족두리풀은 각지의 깊은 산그늘진 습지에서 자란다. 고르지 않게 구부러진 노끈모양을 하고 있고, 특이한 냄새가 있으며 맛은 맵고 혀를 약간 마비시킨다. 효능은 감기나 풍한으로 머리가 아프거나 코가 막히고 열이 나며 가래와 기침이 나고 숨이 찰 때 쓴다. 후두염, 비염, 기관지염에 쓰면 좋다. 해열작용, 항알레르기작용, 국소마취용, 억균작용 등이 있음이 밝혀졌다. 또한 강심, 혈관 확장, 평활근 이완, 지질대사 증강작용 및 혈당상승작용이 있어 신체의 대사기능을 높이는 것으로 알려져 있다. 세신은 피부진균과 그람양성세균등에 대하여 항균력이 있으며 정유가 약 3% 정도 포함되어 있고 이들의 주요 성분은 methyleugenol, asarylketone, cineol, safrole 등이 알려져 있다(생약학교재편찬위원회, 2006). 최근 kakuol이라는 성분이 세신의 메탄올 추출물에서 밝

\*Corresponding author <E-mail: khhan@woosuk.ac.kr>



**Fig. 1.** Antifungal effect of *Arsarum sieboldii* essential oil against various fungi. Fungal spores were prepared from fresh media and inoculated on PDA. Paper discs were contained 50  $\mu$ l of unknown oriental herb extract as a negative control, *A. sieboldii* essential oil and *A. sieboldii* water extract. Plates were incubated for 3 days at 30°C for observing inhibition zone. A, *Candida albicans*; B, *Cryptococcus neoformans*; C, *Aspergillus niger*; D, *Aspergillus fumigatus*.

혀졌고 이것이 *Colletotrichum orbiculare*, *Botrytis cinerea*, 그리고 *Cladosporium cucumerinum* 등의 진균에 대하여 항진균 효과를 나타낸다는 보고가 있었고, 에탄올 및 물 추출물이 구강세균인 *Streptococcus mutans*에 항균활성이 있다고 알려져 있다(Lee *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2006).

현재 식품을 비롯한 화장품 첨가물에서 인공 방부제의 첨가를 최소화하고 천연물 추출에서 얻어지는 천연방부제의 사용이 늘어나고 있는 추세이며 이를 위하여 다양한 식물이나 한약재 등을 사용하여 항균활성이 높은 추출물을 확보하는 연구가 활발히 진행중에 있다. 따라서 용매추출물을 이용하지 않고, 대신 세신에서 추출한 정유를 이용하여 사람의 진균증을 나타내는 *Aspergillus fumigatus*나 *Cryptococcus neoformans* 등의 기회감염균과 피부질환을 야기하는 *Candida albicans*에서의 항진균 능력을 연구하고, 화장품의 주요 오염원 중의 하나인 *Aspergillus niger*에 대한 항진균 능력을 조사함으로써, 이를 이용한 항진균제 개발이나 천연 방부, 방향제로 개발할 수 있는 기본 자료를 확보하고자 본 연구를 실시하였다.

항진균 활성 검사를 위하여 사용된 균주로 효모형 균주는 *Candida albicans*(ATCC10231), *Cryptococcus neoformans*(H99)를 사용하였고, 사상형 균주는 *Aspergillus niger*(ATCC8642), *Aspergillus fumigatus*(Af237)를 사용하였다. 항세균 효과를 비교해보기 위하여 *Staphylococcus aureus*(ATCC6538)와 *Escherichia coli*(ATCC8739), *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC9027)를 사용하였다. 모든 미생물은 30°C에서 배양하였으며 진균의 경우에는 Potato Dextrose Agar(PDA) 혹은 Potato Dextrose Broth(PDB)에 접종하여 배양했으며 세균의 경우에는 Tryptic Soy Agar(TSA)에서 배양하였다.

세신의 샘플은 삼흥건재약품소에서 국산을 구입하여 사용하였다. 정유는 Karlsruker 장치를 이용하여 증기증류법(steam distillation)으로 추출하였다. 요약하면, 100 g의 세신을 2 l 용량의 둥근 플라스크에 넣고 증류수 1 l를 첨가한 후 열을 가하여 약 12~14시간 정도 끓여서 추출하였

다(Lee *et al.*, 1999). 정유를 추출하고 남은 열수 추출액은 비교 실험을 위하여 따로 보관하였다. 추출한 정유는 냉장보관하였고, 유기용매등으로 처리하지 않고 얻어진 원액의 적당량을 취해 항균효과를 보는데 사용하였다.

항진균 정성 실험은 각 균주의 단일 콜로니를 새로운 배지에 접종하여 3일간 키운 후 얻어진 포자를 이용하여 PDA(Potato Dextrose Agar) 배지에 도말하고 지름 10 mm의 paper disc에 희석하지 않은 정유 50  $\mu$ l를 흡수시켜 배지에 올려놓고 30°C에서 3일간 배양한 후 paper disc 주변의 성장억제환의 유무와 크기를 관찰하였다. MIC(minimum inhibitory concentration)측정은 편의상 효모형 균주인 *C. albicans*와 그람양성 피부상재 세균인 *S. aureus*에서 실시하였다. *C. albicans*의 경우 Potato Dextrose Broth(PDB)에서, 그리고 *S. aureus*의 경우 Tryptic Soy Broth(TSB)에서  $1 \times 10^6$  농도로 각각 액체배양하여 배양액 100  $\mu$ l를 새로운 3 ml의 액체배지에 접종하고 희석하지 않은 정유를 0, 1, 10, 50, 100  $\mu$ l씩 각각 접종하여 24 시간 진탕배양한 후 균주의 성장을 육안과 spectrophotometer로 측정하여 조사하였다.

Fig. 1에서 보여주는바와 같이 세신의 정유 추출물은 피부감염균인 *C. albicans*뿐만 아니라 진균성 뇌수막염을 유발하는 *C. neoformans*와 aspergillosis를 유발하는 *A. fumigatus*에 이르기까지 매우 광범위한 진균에 대해 강력한 진균 성장 억제 활성을 나타내었다. Paper disc 실험에 따른 성장억제대의 크기로 비교해 봤을때에는 *C. neoformans*의 성장 저해가 가장 두드러졌으며 *A. fumigatus*와 *A. niger*가 *C. neoformans*보다는 조금 억제대의 크기가 작았으나 여전히 높은 성장억제를 보였다. *C. neoformans*와 *A. fumigatus*의 경우, 인간에 감염하는 기회감염균이기 때문에 이들에 대해 효과적으로 성장을 억제하는 효과가 있다는것은 향후 기회감염균의 방제에 중요하게 활용할 수 있을 가능성을 시사하고 있다. 비록 이들보다 억제대가 조금 작기는 하나 *C. albicans*에서도 강한 성장억제대를 관찰할 수 있었고, 뿐만 아니라 *C. albicans*를 이용하

여 MIC 측정 결과 약 5 ul/ml의 농도에서도 현저하게 생장을 억제하는 것으로 나타났다. 이에 반하여 세신의 열수추출물은 동일한 양을 paper disc에 첨가하였을 때 전혀 항진균 효과를 나타내지 못하였다. 따라서 세신이 함유하고 있는 항진균 성분은 적은 양으로도 강력한 항진균 활성을 나타내며 이러한 항진균 효과는 정유 성분에만 함유되어 있음을 시사한다. 비단 진균 뿐만 아니라 그람음성균과 그람 양성균 등에 대하여서도 동일한 실험을 수행하였는데, *E. coli*와 *S. aureus*에서도 항균활성이 우수하였으며, MIC도 *S. aureus*의 경우 약 3 ul/ml로 매우 우수한 항균력을 나타내었다(자료 미제시). 따라서 이러한 정유추출물을 적절히 활용하면 새로운 항생물질로서 또는 화장품이나 식품에서의 천연 방부제로서의 기능을 수행할 수 있으리라 사료된다.

## 적 요

세신은 한약재로써 오랫동안 사용되어 왔으며 해열, 진정, 진통, 항염증, 면역억제작용등을 나타낸다. 세신에서 증기증류법으로 추출한 정유를 이용하여 이의 항진균 활성을 조사하였다. 세신의 정유는 *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *Candida albicans* 그리고 *Cryptococcus neoformans* 등의 피부진균 및 기회감염균에 대하여 높은 항진균 활성을 나타내었다. *C. albicans*에 대한 최소억제 농도는 약 5 ul/ml로 매우 적은 양으로 높은 억제 효과를 보였으며 이를 바탕으로 천연항균제 또는 천연방부제로 식품 및 화장품에 첨가제로 사용할 수 있는 가능성을 보여 주었다.

## 감사의 글

본 연구는 2006년도 중소기업청 산학연 공동연구 컨소시엄 연구비(00020049) 지원과 한국과학재단 특정기초연구(R01-2006-000-11204-0) 연구비 지원에 의하여 이루어

졌으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Cammae, B. P. A., DeBolle, M. F. C., Terras, F. R. G., Proostost, P., Damme, J. V., Rees, S. B., Vanderleyden, J. and Brekaert, W. F. 1992. Isolate and characterization of a novel class of plant antimicrobial peptides from *Mirabilos jalapa* seeds. *J. Biol. Chem.* **267**: 2228-2233.
- Dixshit, A., Singh, R. D., Tripathi, R. D. and Dixit, S. N. 1979. Fungitoxic and phytotoxic studies of some essential oils. *Biol. Bull. India* **1**: 45-51.
- Grayer, R. J. and Kokubun, T. 2001. Plant-fungal interactions: the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plants. *Phytochemistry* **56**: 253-263.
- Lee, H. O., Han, K. Y. and Han, D. M. 1999. Antibacterial and antifungal effect by *Artemisia lavandulaefolis*. *Kor. J. Food Nutr.* **12**: 559-563.
- Lee, J. Y., Moon, S. S. and Hwang, B. K. 2005. Isolation and antifungal activity of kakuol, a propiophenone derivative from *Asarum sieboldii* rhizome. *Pest. Manag. Sci.* **61**: 821-825.
- Mayer, A. M. 1989. Plant-fungal interactions: A plant psychologist's view point. *Phytochemistry* **28**: 311-317.
- Rice, E. L. 1979. Allelopathy-An update. *The Botanical Review* **45**: 15-109.
- Vaughn, S. F. and Spencer, G. F. 1993. Volatile monoterpenes as potential parent structures for new herbicides. *Weed Science* **41**: 114-119.
- Whittaker, R. H. and Feeny, P. P. 1971. Allelochemicals, chemical interactions between species. *Science* **171**: 757-770.
- Wink, M. 1988. Plant breeding, importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theor. Appl. Gen.* **75**: 225-233.
- Yu, H. H., Seo, S. J., Hur, J. M., Lee, H. S., Lee, Y. E. and You, Y. O. 2006. *Asarum sieboldii* extracts attenuate growth, acid production, adhesion, and water-insoluble glucan synthesis of *Streptococcus mutans*. *J. Med. Food* **9**: 505-509.
- Yun, K. W., Kil, B. S. and Han, D. M. 1993. Phytotoxic and antimicrobial activity of volatile constituents of *Artemisia princeps* var. *orientalis*. *J. Chem. Ecol.* **19**: 2757-2766.
- 생약학교재편찬위원회. 2006. 생약학, 동명사. Pp 151-152.