

잔토리졸과 어성초 추출물의 항균 효과

조완구[†]·김종일*·김민주*

[†]전주대학교 대체의학대학 대체건강관리학부
*LG 생활건강 기술연구원
(2008년 4월 3일 접수 ; 2008년 9월 1일 채택)

Microbiological Effects of Xanthorrhizol and Houttuynia cordata Thunb. Extract

Wan Goo Cho[†]·Jeong il Kim*·Min Ju Kim*

[†]College of Alternative Medicine, Jeonju University, Hyoja-dong, Wansan-gu,
Jeonju, 560-759, Korea

*Household & Health Care R&D Center, LG H&H Ltd, Jang-dong, Yuseong-Gu,
Daejeon 305-343, Korea

(Received April 3, 2008 ; Accepted September 1, 2008)

Abstract : Anti-microbiological effects of xanthorrhizol, ie., extract from curcuma xanthorrhiza and extract from houttuynia cordata Thunb. against influenza virus and E. coli O157 were tested. From the influenza experiments, the effects were shown above 93 % in case of houttuynia cordata Thunb. extract, however, the effects was not shown in case of xanthorrhizol. The effects were sustained in mixtures of houttuynia cordata Thunb. and curcuma xanthorrhiza extracts. We also tested the anti-microbiological effects of hand sanitizer containing houttuynia cordata Thunb. and xanthorrhizol. The effect of hand sanitizer containing 2,000 ppm of xanthorrhizol and 500 ppm of houttuynia cordata Thunb. extract was better than that of commercialized foreign product.

Key words : *Curcuma xanthorrhiza*, *houttuynia cordata Thunb.*, *influenza type A virus*, *E. coli O157*, *anti-microbiological effect*

1. 서론

최근 식품의약품안전청의 발표 자료에 의하면 학교급식 등 단체급식의 확대 및 외식 기회 증가 등 식생활 패턴의 변화, 지구 온난화 현상 및 실내온도 상승 등의 환경변화로 식중독이 증가하고 규모 면에서도 집단화, 대형화 하고

있고 특히 학교집단급식소에서의 식중독의 발병이 큰 폭으로 증가하였다고 보고하였다[1,2]. 식중독의 원인균에는 많은 세균들이 있으나 대표적인 원인균으로는 장출혈성 대장균(*E. Coli* O157: H7)과 장염 비브리오균, 살모넬라균 등을 들 수 있고, 바이러스로는 노로바이러스(*Norovirus*)등이 원인이 된다.

대표적인 바이러스에 의한 질병인 인플루엔자는 온대지방에서 거의 매년 겨울철에 유행되

*주저자 (e-mail : wgcho@jj.ac.kr),

는 흔한 호흡기 질환의 하나이다. 인플루엔자의 유행은 노인이나 어린이들 또한 만성 질환자들에게 호흡기 질환으로 인한 입원율과 사망률을 증가시킬 뿐만 아니라, 건강한 사람들에서도 업무상 차질을 일으켜 막대한 사회 경제적 손실을 가져오는 중요한 질병이다. 다행히 인플루엔자는 백신으로 발생을 미리 막을 수도 있는 질환이기도 하지만, 인플루엔자 바이러스는 거의 매년 항원변이(소변이, antigenic drift)를 일으키므로, 전 세계적으로 항원 변이와 유행 양상을 매년 추적 관찰하여야만 적절한 백신을 만들어 낼 수 있는 질환이다. 지난 세기에는 3회의 인플루엔자 대유행이 있었다. 1918년의 스페인 독감(influenza A/H1N1)은 전 세계적으로 2천만에서 5천만의 사망자를 가져 왔다[3]. 1957년의 아시아 독감 (influenza A/H2N2)은 약 1백만, 1968년의 홍콩 독감(influenza A/H3N2)은 약 70만의 사망자를 가져왔다[4]. 또한 중증급성호흡기증후군(SARS), 조류 독감 바이러스, 여름철과 겨울철에 번갈아서 찾아오는 눈병 및 독감에 대한 뉴스를 신문, 방송을 통하여 접하는 경우가 점점 많아지고 있고 이러한 질병들의 전이에는 손에 의한 감염이 80 %에 이르는 보고가 있어서 손 씻기에 대한 중요성은 매우 강조되지만 현실적으로는 잘 이루어지고 있지 않고 있다[5,6].

이러한 손 씻기를 편리하게 하기 위한 목적으로 일부 병원이나 대형 프랜차이즈 음식점에서는 화학 살균물질(클로로헥시딘 등)이나 에탄올이 60 % 이상 함유된 손 소독제를 설치하고 손 소독제 사용에 의한 결과 질병의 미감율의 감소로 학생들의 결석률 감소 등의 효과가 있으나 장기 사용 시 손에 자극, 거칠어짐 등의 부작용을 보이고 있다.

지치 추출물을 비롯한 식물 추출물의 대장균에 대한 항균효과가 보고되어 있으나[7] 호흡기 질환을 일으키는 바이러스에 대한 연구는 부족한 실정이다.

본 연구에서는 잔토리놀과 여성초 추출물의 항균 및 항바이러스 효과를 평가하고 이들을 적용한 손 세정제 처방의 제품과 현재 유통되고 있는 제품과의 항균, 항바이러스의 효능을 비교해 보았다

2. 실험

2.1. 실험 재료

건조한 인도네시아산 생강(*Curcuma xanthorrhiza*)의 근경을 구입하여 건조한 후 분쇄하여 96% hexane에 3일정도 적침한 뒤 이를 여과하고, 감압 증발하여 조성이 23 wt%인 *Curcuma Xanthorrhiza hexane extract*를 얻었으며, 이 시료를 silica fresh column을 이용하여 용매조건은 Hexane:ethylacetate(1:1)으로 분리 정제 하였다. 다시 silica fresh column을 이용하여 hydrophobic부분(α -curcumene)을 제거하여 조성이 53.0 wt%인 *Curcuma Xanthorrhiza extract*를 얻을 수 있었다. 실리카겔 크로마토그래피하여 얻은 건분은 Fig. 1의 구조식을 가진 xanthorrhizol로 확인되었다. 여성초(*Houttuynia cordata* Thunb.) 추출물은 여성초 1.0 Kg에 에탄올 2,000 mL를 넣고 추출 온도 25 °C에서 24시간 추출 농축하여 제조하였다. 여과 장치를 사용하여 여과한 후 4 °C에서 24시간 냉장보관 후 침전물을 여과 제거한 후 여과액을 회전식 진공증발기를 사용하여 에탄올을 증발시키고 유체 상태의 추출물 35.0g을 얻었다. 본 추출물을 10 wt%농도가 되도록 에탄올로 재 희석하여 본 실험의 시료로 사용하였다.

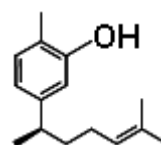


Fig. 1. Chemical structure of Xanthorrhizol.

유기 용매인 메탄올, 부탄올, 에틸아세테이트는 공업용을 사용하였으며 그 외 시약은 Sigma-Aldrich사의 특급 시약을 사용하였다. 에탄올은 93%의 것을 사용하였으며 물은 정제수를 가지고 초 순수 제조장치(미래과학, 한국)를 통과시켜 18 MW 이상인 것을 사용하였다. 에틸렌다이아민테트라아세테이트(EDTA-2Na, Japan Catalyst, Japan)는 처방 실험의 재료로 사용하였다.

2.2. 장출혈성 대장균 및 바이러스

본 연구에서 사용된 대장균은 E. coli O157:H7로 고려대학교 식품과학부 이민석 교수연구실에서 분양 받아 사용하였고 바이러스는 influenza virus [A/johannesburg/33/94(H1N1)] 와 [A/Brazil /1/79(H3N2)]를 분양 받아 사용하였다.

2.3. 숙주세포와 바이러스 및 대장균용 배지

본 연구에서 influenza virus의 숙주세포는 Madin-Darby Canine Kidney(MDCK)를 사용하였고 배양 배지로는 Eagle's minimum essential medium(EMEM)에 fatal bovine serum을 10 wt% 첨가하여 사용하였다. 대장균은 BHI(Brain Heart Infusion)배지를 이용하여 37 °C에서 배양하였다.

2.4. 적혈구 용액

기니아피그는 (주)LG생명과학(대전광역시, 한국)에서 구입하여 1주일 이내에 사용하였고, 심장에서 주사기로 혈액을 채취(heart puncture)하여 적혈구만 모아 적혈구 농도가 7.5 wt% 되도록 phosphate buffered saline(PBS,pH7.4)에 현탁하여 4 °C에 보관하여 사용하였다.

2.5. 장출혈성 대장균에 대한 항균력 측정

항균력을 측정하기 위하여 Agar plate법을 이용하였다. 하루 전에 배양한 대장균 원액을 희석하여 배지 1.0 ml당 균수가 10⁷이 되도록 제조한다. 제조한 접종균을 10배 다단희석 한 후 각 시험 균 별로 적당한 희석배수를 결정한 후 만들어진 agar plate에 100 µl씩 분주한 후 배지 내에 고루 퍼지게 한다. 37 °C 배양기에 넣고 24시간 배양 후 균수를 비교하였다.

2.6. 손소독제 사용 후 장출혈성대장균에 대한 잔류 항균력 시험법

항생제를 복용하거나 항균 크림, 비누 등의

항균제품을 사용하지 않은 손에 1.5 g의 손소독제를 바른 후 말린다. 전 배양된 장출혈성대장균을 BHI액체배지에 10⁶ CFU/ml이상 되도록 희석한 후 1.0 ml를 취하여 손소독제가 처리된 손바닥에 균일하게 유리봉으로 도포하여 clean-bench에서 건조시킨 후 대장균 검출용 Hand-Printing Agar Plate에 3초간 hand printing을 하였다. Hand printing한 손을 멸균된 polyglove로 씻고 시간별 hand printing한 Hand-Printing Agar Plate를 온도 37 °C 배양기에서 24시간 배양한 후 균수를 관찰하였다.

2.7. 바이러스의 역가 측정

바이러스 역가를 측정하기 위하여 haemagglutination assay(HA)방법을 이용하였다. 바이러스 배양액을 PBS로 2배 다단희석(two fold dilution)하여 round bottom 96well plate에 50µl씩 분주하고 적혈구용액(RBC)을 50 µl를 각 well에 가하여 상온에서 60분 이상 반응시킨 후 적혈구의 침강정도를 대조구와 비교하여 HA unit값을 결정하였다[7].

2.8. 항바이러스 활성 측정법

천연물 및 한약재 추출물을 인플루엔자 A형에 대한 항바이러스 활성을 측정하기 위하여 HI(haemagglutination inhibition)시험법을 이용하였다.

인플루엔자 바이러스 배양액에 농도별로 천연물 및 한약재 추출물을 첨가하고 4시간 뒤 HA시험을 하여 인플루엔자 바이러스의 역가를 측정하여 대조구와 비교하여 역가 감소(중화)차를 구하였다.

$$\text{역가 감소율(\%)} = 1 - (\text{시료 처리 후 바이러스 역가} / \text{시료처리 전 바이러스 역가}) \times 100$$

2.9. 손세정제의 처방 제조

손 세정제의 처방은 Table 1의 구성에 의해

Table 1. Formulations of hand sanitizer

No.	product	Composition
1	control	Ethanol 65%, Deionized Water 35% (W/W)
2	P company	Ethanol 62%, carboxy vinyl polymer
3	hand sanitizer	Ethanol 25%, Curcuma xanthorrhiza Ext., 0.2%, Houத்துynia cordata Thunb.Ext., 0.05% , EDTA 0.05%

제조하였다. 제조방법으로는 폴리리머를 물에 45 °C에서 교반기를 이용하여 용해시킨 다음 에탄올을 첨가하고 추출물을 첨가하여 실온으로 냉각하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 잔토리졸(Xanthorrhizol)과 어성초 추출물의 항바이러스 효과 평가

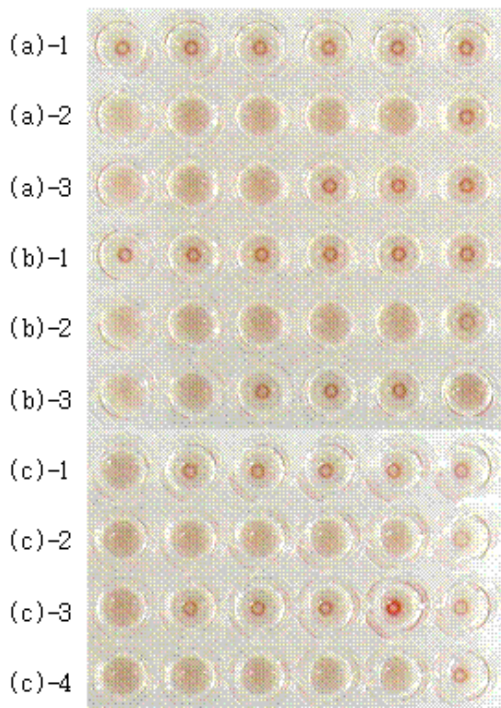


Fig. 2. Anti-virus effect of curcuma xanthorrhiza ext(CXE) and Houttuynia cordata Thunb. ext(HCTE). (a)-1 HCTE 1,000ppm;(a)-2 CXE 1,000ppm;(a)-3 HCTE+CXE 1,000ppm; (b)-1 HCTE 500ppm;(b)-2 CXE 500ppm;(b)-3 HCTE+CXE 500ppm;(c)-1 HCTE 100ppm;(c)-2 CXE 100ppm;(c)-3 HCTE+CXE 100ppm;(c)-4 control (influenza virus A(H1N1)).

어성초추출물과 잔토리졸의 각각에 대한 항

바이러스 활성을 비교하고 어성초추출물과 잔토리졸을 혼합한 후 항바이러스 활성의 변화를 측정하기 위하여 influenza virus A(H1N1type)와 각 농도별 상온에서 4시간 반응하여 HI test를 하였다. 그 결과 어성초 100 ppm농도에서 93% 이상의 항바이러스 효과를 나타내었으나 잔토리졸은 HA test에서 항바이러스 활성은 나타나지 않았다. 그러나 어성초와 잔토리졸의 혼합물에서는 어성초의 항바이러스 효과가 유지되는 것으로 확인 하였다(Fig. 2).

3.2. 손위생제의 항바이러스 효과 평가

어성초 추출물을 잔토리졸이 0.2 wt% 함유된 손 소독제에 0.05 wt%첨가하여 에탄올을 주성분으로 하는 P사의 손세정제(Table 1)와 influenza virus에 대하여 HI test로 항바이러스 효과를 비교 평가 하였다(Fig. 3). 그 결과 일반적인 손 소독제로 쓰이는 에탄올은 influenza virus에 효과가 없는 것으로 나타났으며, P사의 손세정제는 세균에 대한 항균력과 달리 항바이러스 효과는 virus 용액에 10 wt%를 첨가하여도 항바이러스 역가는 50 % 미만으로 시험

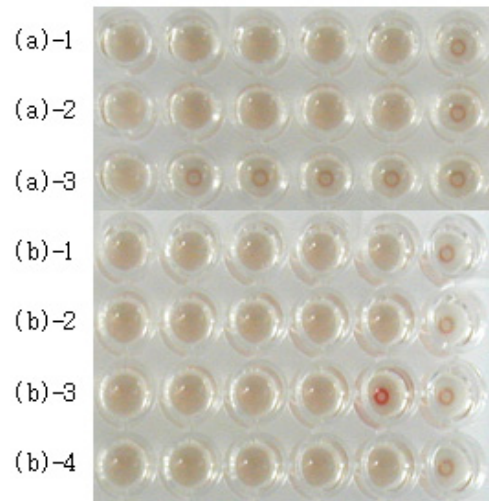


Fig. 3. Anti-virus effects of hand sanitizers. (a)-1 No 1. 10%;(a)-2 No 2. 10%;(a)-3 No 3. 10%;(b)-1 No 1. 1%;(b)-2 No 2. 1%;(b)-3 No 3. 1%;(b)-4 control (influenza virus A(H1N1)).

되었다. 어성초 추출물이 함유된 손 소독제는 10 wt%농도에서 93% 이상의 항바이러스 효과를 나타내었으며, 1.0 wt%농도에서도 50%의 항바이러스 역가를 나타냈다.

3.3. 손소독제 사용후 장출혈성대장균에 대한 잔류 항균력 평가

P사의 손세정제로 처리한 손에서의 장출혈성 대장균은 초기에 감소 경향을 나타내나 90분 이후에도 10^3 CFU 이상으로 유지되었다(Fig. 4 (a)-(d)). 잔토리졸과 어성초 추출물을 함유한 손 세정제는 30분 만에 장출혈성 대장균이 거의 사멸 되었으며 그 이후에도 대장균은 검출되지 않았다. 잔토리졸이 손에 잔류하여 지속적인 살균력을 내는 것으로 판단된다(Fig. 4 (e)-(h)).

최근의 식약청 발표 자료에 의하면 학교급식의 단체급식의 확대 및 외식기회의 증가 등

에 의해 해마다 식중독의 발생이 증가되고 있으며, 규모 면에서도 집단화, 대형화 되고 있다 [4]. 더욱 우려되는 것은 전국의 초.중.고등학교의 98.4 %인 10,343개 학교에서 704만명의 학생들에게 급식을 실시하고 있는데, 2003년부터 학교에서의 집단 환자 발생이 증가추세에 있다는 점이다[8].

또한 최근 세계보건기구(WHO)에서 발표한 자료에 따르면, 지난해 발생한 조류독감으로 아시아지역에서만 2005년까지 1천300억 달러에 달하는 경제적 손실이 발생할 것이라고 하였고 국가적으로는 중국 611억 달러,태국 127억 달러 등으로 추산됐으며, 중증호흡기증후군(SARS)으로 인한 아시아지역의 관광객 감소도 홍콩 67.9 %, 대만 81.9 %, 싱가포르 70.7 %로 나타났다고 밝혔다.

이러한 세균 및 바이러스에 의한 질병의 전이를 막기 위해서는 철저한 손 세정을 가장 권

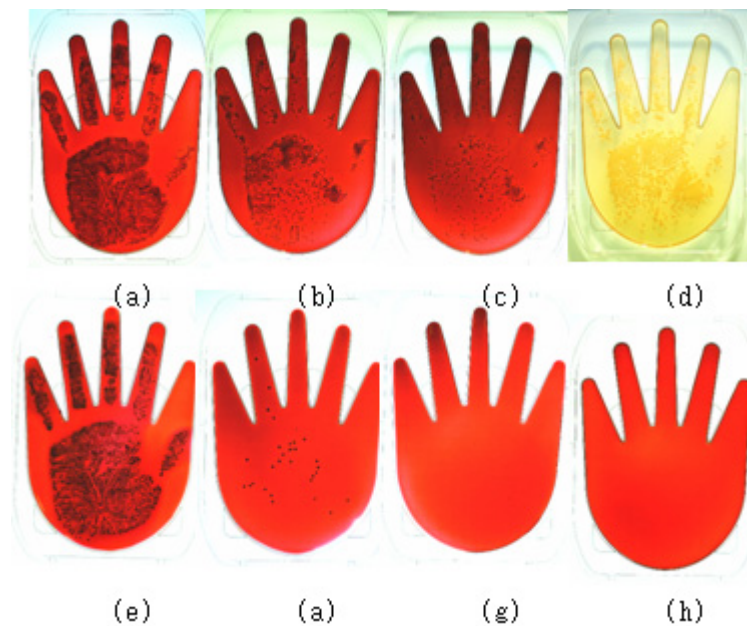


Fig. 4. Anti-microbiological effects of hand sanitizer against *E. coli* O157.

(a) P company, after 0 min.;(b) P company, after 30 min.;(c) P company, after 90 min.;(d) P company, after 150 min.;(e) hand sanitizer, after 0 min.;(f) hand sanitizer, after 30 min.;(g) hand sanitizer, after 90 min.;(h) hand sanitizer, after 150 min..

하고 있다. 서울특별시 학교보건원의 설문조사에 의하면 학생들이 손을 씻지 않는 주요 이유는 씻기 귀찮다(20%), 시설이 불편하다(14%), 씻을 필요성을 못 느낀다(10%)로 조사되었다 [1].

이러한 문제를 해결하기 위해서는 무엇보다도 쉽게, 즉 씻을 물도 그리고 말릴 필요도 없는 새로운 제형의 손 소독제의 개발을 적극 검토해야 할 것으로 생각된다. 이러한 목적으로 식물추출물을 적용한 손세정제로 장출혈성 대장균과 influenza virus에 대한 효과를 확인하였다. 그 결과 잔토리졸 2000 ppm, 어성초 500 ppm으로 처방된 제품에서 뛰어난 효능을 확인하였다. 대조군으로 에탄올을 주원료(62%)로 하는 P사의 손세정제는 세균에 대한 초기 살균력은 뛰어나지만 항바이러스 활성에는 약한 것으로 시험 되었다.

4. 결론

잔토리졸과 어성초추출물이 함유된 손 세정제를 제조한 후 대표적인 식중독 원인균인 E.coli O157: H7을 이용하여 살균력을 측정하였고 인플루엔자 바이러스는 사람, 기니아피그, 닭의 적혈구에 결합하는 성질을 이용하는 HA (Haemagglutination assay) test를 이용하여 바이러스역가를 측정하였고, HI(Haemagglutination inhibition) test로 항바이러스 활성을 평가하였다.

잔토리졸(2000 ppm), 어성초(500 ppm)가 함유된 손세정제를 장출혈성 대장균과 influenza virus에 대한 효능을 실험한 결과 식중독 원인균에 대해서 105 이상의 균수 감소를 관찰하였고 influenza A형 virus에 대하여 항바이러스 활성을 나타내는 것을 확인하였다. 또한 제품을 손에 사용 후 2시간 30분까지도 초기의 항균력을 그대로 유지하는 것을 확인하였다. 또한 Ethanol을 62% 함유하고 있는 외국의 P사의 손세정제와 비교한 결과 잔토리졸과 어성초 추출물을 함유한 손세정제가 보다 우수한 항바이러스 효과와 잔류항균 효능을 확인하였다. 그러나 항균물질인 잔토리졸과 항바이러스 물질인 어성초를 첨가한 혼합제형에서 각각의 효능에서의 시너지 효과는 확인하지 못하였다.

참고문헌

1. J. S. Kim, H. K. Jung, S. Y. Lee, J. S. Kim and I. S. Kang, The actual state of handwashing in nurses in medical and surgical wards of a university hospital, *J. Korean Academy of Family Medicine*, **24(6)**, 565 (2003).
2. N. Y. Park, J. W. Kwon, I. S. Jeong, and M. S. Kim, Evaluation of field epidemiology specialist program for school nurse, *J. Korean Soc. Health Education and Promotion*, **24(1)**, 63 (2007).
3. J. S. Moon, K. Y. Sohng, and J. E. Lee, Status of health education by elementary school nurses, *J. Korean Soc. Health Education and Promotion*, **22(4)**, 57 (2005).
4. J. S. Jeong, J. K. Choi, I. S. Jeong, K. R. Paek, H. Y. In and K. D. Park, A nationwide survey on the hand washing behavior and awareness, *J. Prev. Med. Public Health*, **40(3)**, 197 (2007).
5. D. H. Lee and K. D. Park, The preparedness plan for influenza pandemic, *J. Prev. Med. Public Health*, **38(4)**, 386 (2005).
6. W. J. Kim, Overview of pandemic influenza, *J. Prev. Med. Public Health*, **38(4)**, 373 (2005).
7. J. H. Bae, *Korean J. Food Sci. Technol., Safety/Toxicology* : Antimicrobial effect of lithospermum erythrorhizon extracts on the food-borne pathogens, **36(5)**, 823 (2004).
8. Y. Y. Kim, J. Y. Lee, J. H. Hwang, K. A. Kim, S. W. Jang, M. S. Park, H. W. Cho, H. H. Lee and C. Kang, Characterization of hemagglutinin and neuraminidase genes and oseltamivir resistance of influenza viruses isolated in Korea, *Korean J. Virology*, **35(2)**, 149 (2005).