

안질환세균에 대한 도꼬마리 추출물의 항균 활성

한선희 · 김봉환

춘해보건대학 안경광학과

투고일(2008년 4월 5일), 수정일(2008년 6월 3일), 게재확정일(2008년 6월 10일)

목적: 이 논문은 안질환세균에 대한 도꼬마리 추출물의 항균활성을 알아보아 콘택트렌즈 관리용액에 첨가되어 있는 합성보존제를 대체할 천연 보존제로서의 가능성을 제시하기 위함이다. **방법:** 안질환세균에 대한 도꼬마리 추출물의 항균활성은 한천 확산법(agar diffusion test)으로 측정했으며, 항균활성은 종이원반(paper disc) 주위의 선명지대(clear zone)의 생성유무와 선명지대(clear zone)의 크기(mm)로서 알아보았다. 실험에 사용한 세균은 포도상구균(*Staphylococcus*)과 녹농균(*Pseudomonas*)이었다. **결과:** *Staphylococcus aureus* KCCM 40050에 대한 도꼬마리 추출물 1000 µg/20 µl 농도의 선명지대는 11.5 mm로 나타났다. 또한 *Pseudomonas aeruginosa* KCCM 11803 균주에 대한 도꼬마리 추출물 1000 µg/20 µl 농도의 선명지대는 9.0 mm, *Pseudomonas fluorescens* KCCM 40223 균주에 대해서는 7.0 mm로 나타났다. **결론:** 이 실험을 통해 안질환세균에 대한 도꼬마리 추출물의 항균활성이 입증되었다. 따라서 도꼬마리 추출물이 콘택트렌즈 관리용액에 첨가될 천연 보존제로서의 가치가 충분히 있다고 판단되어진다.

주제어: 항균활성, 안질환세균, 도꼬마리 추출물

서 론

식물은 인류에게 매우 유용한 물질을 제공하며, 이들에 의해 유래된 복잡하고 독특한 신규생리활성 물질들이 지금까지 20,000개 이상이 밝혀져 왔다¹. 또한, 최근 세계적으로 자생식물로부터 생리활성 물질의 탐색이 활발히 이루어지고 있으며, 자생식물은 항균성, 항세균성, 항진균성의 특성도 나타내고 있다^{2,3}.

본 실험에 사용한 재료인 *Xanthium strumarium* L.(한국명: 도꼬마리, 생약명: 창이자)는 국화과 식물로서 전국 각지에 널리 분포하고 있으며 특히 길가나 황폐지 등에서도 자생력이 강한 한해살이 풀이다. 도꼬마리는 한국, 중국, 일본, 만주 등 아시아 전역에 걸쳐 분포되어 있으며 우리나라에서는 야생하는 것도 있고 전국에 재배하여 어린 잎을 식용하며 열매의 씨는 창이자라 하여 약용으로 쓴다. 창이자는 해열, 발한, 진통, 산풍, 거습, 궤양성 피부병, 신경통 및 악성 종양에 효과가 있으며, 항균효과로서는 티푸스균, 이질균, 황색 포도상 구균에 저해효과가 있다고 알려져 있어서 여러 종류의 질병에 민간요법으로 사용되고 있다⁴. 따라서 본 연구에서는 한국산 도꼬마리로부터 추출한 성분이 안질환세균에 대하여 어느 정도의 항균활성을 나타내는지에 대해 실험하여 보았다. 시험균주로 녹농균

(*Pseudomonas*)과 포도상구균(*Staphylococcus*)을 선정하였는데, 이는 일반적으로 콘택트렌즈에서 감염되어 염증을 유발시키는 대표적인 균들이기 때문이다. 그람음성균의 대표적인 녹농균(*Pseudomonas*)은 주로 콘택트렌즈에 의해 감염이 야기되고, 그람양성균의 대표적인 포도상구균(*Staphylococcus*)은 정상적인 눈에서 가장 많이 발견되는 균으로 모든 안조직에 감염이 되어 각막 주변부 궤양 같은 안질환을 유발하기도 한다⁵. 이처럼 세균의 위험으로부터 벗어날 수 없는 콘택트렌즈는 관리용액을 이용한 철저한 렌즈세척과 렌즈관리에 의지할 수 밖에 없다⁶. 그러나, 콘택트렌즈 관리용액에는 용액의 안정성과 세균의 증식을 방지하기 위해 합성보존제가 첨가되는데, 각막과 결막 건조증 환자의 경우 장기간 사용시에 눈에 독성을 일으키는 것으로 알려져 있다⁷. 이러한 합성보존제의 독성을 대체할 수 있는 천연보존제의 개발이 시급한 실정에 천연보존제로서의 도꼬마리 추출물 유용가능성을 실험해 보았다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 도꼬마리(*Xanthium strumarium* L.)는 국산한약재로 그 씨앗을 이용하였으며, 대구 중구 약령시

의 건엽사로부터 구입하였다.

2. 시료의 조제

도꼬마리 추출물의 조제는 400 g의 열매를 조분쇄하여 10 L의 물에 넣어 끓여 필요한 양으로 농축하면서 열수 추출을 3회 반복하여 최종 2,000 ml를 얻었다. 열수 추출물을 evaporator(EYELA Co. Japan)로 농축하고, 이들 농축 시료를 유기용매인 에테르(ether) 추출 용매에 용해시켜 filter paper로 여과한 후 수지성분 및 유독성분으로 알려진 불용성의 황색물질인 Xanthostrumarin 배당체를 제거하여 항균용 검사 시료로서 사용하였으며⁸ 최종 2.04 g을 획득했다. 또한, 본 실험에 사용한 도꼬마리 추출물은 메탄올(MeOH)에 녹여서 시료를 조제했다.

3. 시험균주 및 사용배지

도꼬마리 추출물의 항균효과를 검토하기 위하여 본 실험에 사용한 시험균주는 *Pseudomonas aeruginosa* KCCM 11803, *Pseudomonas fluorescens* KCCM 40223, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* KCCM 40050이며, 시험균주의 생육배지는 LB agar(1% tryptone, 0.5% yeast extract, 1% sodium chloride, 1.5%, pH 7.0±0.2)를 사용하였다.

4. 항균활성 측정

안질환세균에 대한 도꼬마리 추출물의 항균활성은 한천 확산법(agar diffusion test)으로 측정했다. 즉, 페트리 접시(petri dish)에 배양된 시험균주를 0.5 mm의 4각형으로 배지와 함께 취하여 PDA 평판배지위에 disc 접종하여 24시간 배양한 후, 시험균주의 주위에 여제 물질인 메탄올(MeOH), 도꼬마리 추출물 1000 µg/20 µl 농도, 500 µg/20 µl 농도, 300 µg/20 µl 농도, 비교시료로서 0.1 N HCl에 녹인 키토산(chitosan) 1000 µg/20 µl 농도, 도꼬마리 추출물 500 µg/10 µl의 농도와 키토산 500 µg/10 µl 농도를 혼합하여 조제된 시료를 각각 종이원반(paper disc)(φ; 6 mm, Whatman Co.)에 분주했다. 그리고, 각각의 종이원반(paper disc)을 건조시켜 각 시험균주 위에 올려놓고 30°C에서 48시간 정지 배양했으며, 항균활성은 종이원반(paper disc) 주위의 선명지대(clear zone)의 생성유무와 선명지대(clear zone)의 크기(mm)로서 알아보았다.

5. TLC에 의한 항균 물질 분리

항균물질의 분리는 Thin-layer chromatography(TLC)를 이용하여 분리했다. 즉, TLC(Silica gel 60F254, Merck) plate 위에 도꼬마리 추출물(50 µg/µl) 1 µl를 떨어뜨려 실온에서 상승법으로 전개하여 건조한 후, 254 nm의 자외선 파장에서 조사하여 분석하였다. 전개용매로 methylene

chloride와 methanol을 각각 94 : 6으로 혼합하여 사용하였다.

결 과

1. TLC에 의한 항균물질 확인

도꼬마리 추출물을 TLC plate 위에 얹고 전개한 결과, 8개의 밴드를 확인할 수 있었다. 각각의 밴드를 회수하여 메탄올(methanol)에 녹인 후 다시 감압 농축하여 항균활성을 확인한 결과, Rf 값이 0.87과 0.74를 나타내는 밴드에서만 항균활성을 나타내었고, Rf 값이 0.87 밴드에서 강한 항균활성이 나타난 반면 Rf 값이 0.74의 밴드는 항균활성이 상대적으로 낮게 나타났다(Fig. 1).

2. 안질환세균에 대한 도꼬마리 추출물의 항균활성 측정

안질환세균에 대한 도꼬마리 추출물의 항균효과를 종이원반(paper disc) 주위의 선명지대의 생성유무와 선명지대의 크기(mm)로서 알아본 결과, *S. aureus* KCCM 40050 (Fig. 2), *P. aeruginosa* KCCM 11803 (Fig. 3), *P. fluorescens* KCCM 40223 균주의 순서로 각각 항균활성을 나타냈다.

S. aureus KCCM 40050에 대한 도꼬마리 추출물 1000 µg/20 µl 농도의 선명지대는 11.5 mm, 도꼬마리 추출물 500 µg/20 µl 농도의 선명지대는 8.0 mm로 나타났으며, *P. aeruginosa* KCCM 11803 균주에 대한 도꼬마리 추출물 1000 µg/20 µl 농도의 선명지대는 9.0 mm, *P. fluorescens* KCCM 40223 균주에 대한 도꼬마리 추출물 1000 µg/20

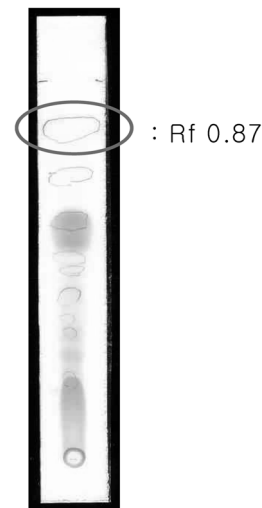


Fig. 1. TLC analysis of *Xanthium strumarium* L. extract.

From the result of TLC analysis, eight bands were found, and those showed antibacterial activities at Rf 0.87 and Rf 0.74 each. Strong antibacterial activities were found at Rf 0.87, but it was relatively low at Rf 0.74.

Table 1. Antibacterial activities of *Xanthium strumarium* L. extract

Strains	Test solutions	clear zone (ϕ , mm)		
		Extract 1000 μ g/20 μ l	Extract 500 μ g/20 μ l	Extract 300 μ g/20 μ l
<i>S. aureus</i> KCCM 40050		11.5	8.0	-
<i>P. aeruginosa</i> KCCM 11803		9.0	-	-
<i>P. fluorescens</i> KCCM 40223		7.0	-	-

Seeing that clear zone was found 11.5 mm and 9.0 mm on *S. aureus* KCCM 40050 and *P. aeruginosa* KCCM 11803 strain respectively, it was found that *X. strumarium* L. extract has antibacterial effect on eye trouble causing bacteria.

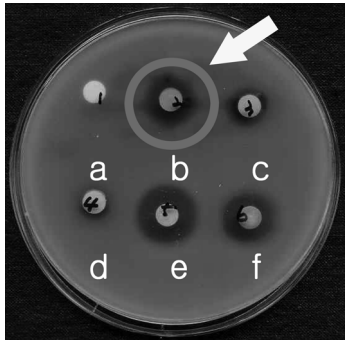


Fig. 2. Results of antibacterial activities of *Xanthium strumarium* L. extract on *S. aureus* KCCM 40050.

a, Methanol; b, *X. strumarium* L. extract 1000 mg/20 ml; c, *X. strumarium* L. extract 500 mg/20 ml; d, *X. strumarium* L. extract 300 mg/20 ml; e, Chitosan 1000 mg/20 ml; f, Mixed *X. strumarium* L. extract 500 mg/10 ml and chitosan 500 mg/10 ml.

μ l 농도의 선명지대는 7.0 mm로 각각 항균활성을 나타냈다(Table 1).

고찰 및 결론

한국산 도꼬마리로부터 새로운 항균 및 항암효과 등 다

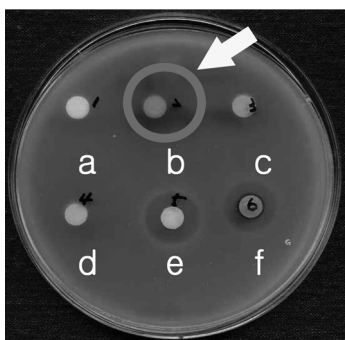


Fig. 3. Results of antibacterial activities of *Xanthium strumarium* L. extract on *P. aeruginosa* KCCM 11803.

a, Methanol; b, *X. strumarium* L. extract 1000 mg/20 ml; c, *X. strumarium* L. extract 500 mg/20 ml; d, *X. strumarium* L. extract 300 mg/20 ml; e, Chitosan 1000 mg/20 ml; f, Mixed *X. strumarium* L. extract 500 mg/10 ml and chitosan 500 mg/20 ml.

양한 생리활성기능이 있는 신규물질의 탐색과 응용을 위한 일환으로서 도꼬마리의 각 부위로부터 추출한 성분이 세균 및 진균류 등에 대한 광범위한 항균효과를 가진다는 사실과 더불어, 이들 항균성 물질이 직장암 세포주에 강력한 생육저해 효과를 보임에 따라 다양한 암세포주에 대한 항암효과를 비롯하여 항변이원성효과가 있고 기타 각종 생리활성 기능을 가진 성분의 규명이 보고된 바 있다¹. 이렇게 광범위한 항균효과를 가지는 도꼬마리 추출물을 이용하여, 대표적 안질환 세균인 포도상구균(*Staphylococcus*)과 녹농균(*Pseudomonas*)에 대한 항균활성을 측정해 봄으로서, 도꼬마리 추출물이 콘택트렌즈 관리용액에 첨가될 천연보존제로서의 유용성 가치 유무를 알아보려고 하였다.

최근 여러 가지 이유로 콘택트렌즈 사용이 나날이 증가하고 있으며, 이미 널리 실용화되어 있는 실정이다. 그럼에도 불구하고 콘택트렌즈는 사용자의 부주의로 인한 각종 안질환, 이물감, 충혈, 안건조증 등을 유발시킬 수 있으며, 콘택트렌즈에 의한 세균각막염이 아직도 많은 문제가 되고 있다⁹. 이러한 합병증을 줄이기 위해 콘택트렌즈를 사용하고 난 후에는 반드시 적절한 관리용액을 사용해 주어야 하는데, 콘택트렌즈 관리용액이 갖추어야 할 조건으로는 다음과 같다. 첫째 광범위한 영역의 항균작용, 둘째 착용의 신속성과 지속성, 셋째 알러지 반응이나 자극 및 독성이 없어야 하며, 넷째 함유된 다른 화합물 상호간의 반응이 없이 안정된 상태를 유지해야 하며, 다섯째 화합물이 잘 용해되어야 한다는 조건을 만족하여야 한다¹⁰. 이처럼 콘택트렌즈 관리용액이 광범위한 영역의 항균작용을 하여 세균감염의 기회를 줄이기 위해서는 각각의 화합물의 농도가 높아야 하나, 그렇게 되면 눈에 자극감 또는 화학적 안 외상을 줄 수가 있으므로 그 적정 농도를 유지하는 것이 무엇보다 중요하다고 할 수 있겠다¹¹. 그리고, 콘택트렌즈 관리용액들에는 용액의 안정성과 세균의 증식을 방지하기 위해 합성보존제가 첨가되는데, 이러한 합성 보존제는 각막과 결막 건조증 환자의 경우 장기간 사용 시에 눈에 독성을 일으키는 것으로 알려져 있으며, 이중 가장 심각한 것으로 각막혼탁, 각막천공 등을 초래하여 실명을 유발할 수 있으며 감염성 각막염이나 각막궤양 환자의

40%이하는 시력이 감소하거나 실명이 된다고 하였다¹². 이처럼 부작용을 일으키는 합성 보존제의 독성을 대체할 수 있는 천연보존제의 개발이 시급한 실정이며, 이미 개발된 천연보존제로는 나린진(naringin)과 키토산(chitosan) 등을 들 수 있겠다¹³.

이에 본 연구에서는 국내에서도 연구가 이루어져 특히, *Bacillus subtilis* KCCM 12148 시험균주에 강한 항균활성이 있는 것으로 알려져 있는³ 한국산 도꼬마리로부터 추출한 성분이 안질환세균에 대하여 어느 정도의 항균활성을 나타내는지에 대한 실험을 해 본 결과, *S. aureus* KCCM 40050, *P. aeruginosa* KCCM 11803, *P. fluorescens* KCCM 40223 균주의 순서로 각각 항균활성을 나타냈다. *S. aureus* KCCM 40050에 대한 도꼬마리 추출물 1000 µg/20 µl 농도의 선명지대는 11.5 mm, 도꼬마리 추출물 500 µg/20 µl 농도의 선명지대는 8.0 mm로 나타났으며, *P. aeruginosa* KCCM 11803 균주에 대한 도꼬마리 추출물 1000 µg/20 µl 농도의 선명지대는 9.0 mm, *P. fluorescens* KCCM 40223 균주에 대한 도꼬마리 추출물 1000 µg/20 µl 농도의 선명지대는 7.0 mm로 각각 항균활성을 나타냈다.

이처럼 도꼬마리 추출물이 안질환 유발 세균에 대한 항균활성을 가지고 있음이 입증되었으므로, 이는 향후 콘택트렌즈 관리용액에 첨가되어 있는 합성보존제를 대체할 천연보존제로서의 도꼬마리 추출물 유용가능성이 충분히 있음을 나타내며, 앞으로 합성보존제의 대체물질로서 여러 균주에 항균활성이 있는 것으로 밝혀진 도꼬마리 추출물을 이용하여 더욱 더 활발한 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 김현수, 유대식, 이인선, 김용원, 여수환, “한국산 도꼬마리 추출물로부터 항균항암물질의 탐색”, 한국생물공학회지, 18(3): 55-61(2003).
2. 박성민, 정혁준, 한선희, 여수환, 김용원, 안형근, 김현수, “식물병원성진균에 대한 도꼬마리 추출물의 항진균 활성”, 한국생명과학회지, 15(5):692-695(2005).
3. 한선희, “안질환세균에 대해 항균활성을 가지는 콘택트렌즈 천연보존제의 개발”, 계명대학교 박사학위논문, pp. 91-106(2006).
4. 정필근, “생약초”, 홍신문화사, 서울특별시, 한국, pp. 63-65(2003).
5. 오염상, 성경립, 차홍원, “Photorefractive keratectomy (PRK) 후 착용한 치료용 콘택트렌즈의 오염”, 대한안과학회지, 44(2):309-314(2003).
6. 고훈, 김은혜, 이흥숙, 박미정, “샘플착용 미용 콘택트렌즈의 세균 오염에 대한 관리방법”, 한국안광학회지, 13(1):21-25(2008).
7. Vajdic C., Holden B. A., Sweeney D. F., and Cornish R. M., “The frequency of ocular symptoms during spectacle and daily soft and rigid contact lens wear”, *Optom. Vis. Sci.*, 76(2):705-711(1999).
8. 김현수, “한국산 도꼬마리 추출물의 항균활성과 분리정제”, 한국생물공학회지, 25(1):183-188(1997).
9. 설창룡, 김만수, 김재호, “콘택트렌즈의 착용자에서 발생한 각막손상”, 대한안과학회지, 30(3):363-367(1989).
10. Tsuda S., Kosaka Y., and Murakani M., “Detection of nivalenol genotoxicity in cultured cells and multiple mouse organs by the alkaline single-cell gel electrophoresis assay”, *Mutat. Res.*, 451(5):191-200(1998).
11. 김인숙, 유근창, 채수철, 전창진, “천연보존제 나린진이 가토안의 각막상피와 내피에 미치는 영향”, 한국안광학회지, 10(1):63-69(2005).
12. Palmer M. L. and Hyndiuk R. A., “Contact lens-related infectious keratitis”, *Int. Ophthalmol. Clin.*, 33(2):23-49(1993).
13. 김인숙, “천연 보존제와 합성 보존제가 Contact Lens의 장용에 미치는 영향”, 경북대학교 박사학위논문, pp. 78-86(2005).

1. 김현수, 유대식, 이인선, 김용원, 여수환, “한국산 도꼬마리

Antibacterial Activity of *Xanthium strumarium* L. Extract Against Bacteria Causing Eye Disease

Sun-Hee Han and Bong-Hwan Kim

Department of Ophthalmic Optics, Choonhae College of Health Sciences
(Received April 5, 2008; Revised June 3, 2008; Accepted June 10, 2008)

Purpose: The purpose of this study is to investigate the antibacterial activity *Xanthium strumarium* L. extract against bacteria causing eye disease and to examine the possibility as a natural preservative on behalf of synthetic preservatives which are added to the contact lens solution. **Methods:** Antibacterial activity of *Xanthium strumarium* L. extract against the bacteria causing eye disease was assessed using agar diffusion method, and determined by whether clear zone was formed around paper disc and in terms of the size(mm) of clear zone. *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were used in the study. **Results:** *Xanthium strumarium* L. extract provided activity against *Staphylococcus aureus* KCCM 40050 in a concentration of 1000 µg/20 µl with an clear zone of 11.5 mm. Moreover, *Xanthium strumarium* L. extract showed an activity against *Pseudomonas aeruginosa* KCCM 11803 in a concentration of 1000 µg/20 µl with an clear zone of 9.0 mm, and against *Pseudomonas fluorescens* KCCM 40223 with an clear zone of 7.0 mm. **Conclusions:** Antibacterial activity of *Xanthium strumarium* L. extract against the bacteria causing eye disease was proved. This result suggests that *Xanthium strumarium* L. extract can be a potential natural preservative, which is added to contact lens solution.

Key words: Antibacterial activity, Bacteria causing eye disease, *Xanthium strumarium* L. extract