

꾸지뽕나무 근피의 항균활성물질

김윤철, 허 진, 손동환, 김학성*
원광대학교 약학대학

Antibacterial Compounds of the Root Barks of *Cudrania tricuspidata*

Youn-Chul Kim, Jin Hur, Dong-Hwan Sohn, Hak Sung Kim*
College of Pharmacy, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

Abstract – Six prenylated xanthenes, cudraxanthone B (1), isocudraxanthone K (2), cudraxanthone H (3), cudratricusxanthone A (4), cudraxanthone L (5) and macluraxanthone B (6), have been isolated from the MeOH extract of *Cudrania tricuspidata* root barks. The evaluation for antibacterial effect of compounds 1-6 against the pathogenic microorganisms concerning with public health or zoonosis was conducted. Of these, compound 4 showed significant antibacterial effect in disk diffusion method.

Keywords – *Cudrania tricuspidata*, Moraceae, Prenylated xanthenes, Antibacterial

미생물 유래 항생물질의 발견은 인류역사에 있어서 획기적인 의약품 개발의 성공사례로 여겨지고 있다. 그럼에도 불구하고 최근에 이르러 새로운 병원성 세균의 출현에 의하여 인류의 건강에 위협요소로 부각되고 있다. 이러한 이유 중의 하나는 항생물질의 무분별한 사용 등으로 인한 약제 내성을 들 수 있다. 또한, 이와 같은 문제점을 극복하기 위한 연구가 활발하게 진행되고 있는 실정이다. 한편, 고등식물에 함유된 성분들은 새로운 작용기전을 가지는 항균제로의 개발 가능성이 높은 자원으로 인식되고 있다.¹⁾ 저자들은 고등식물 추출물로부터 새로운 항균활성물질 도출 연구를 수행하는 과정에서 한방에서 요천통, 객혈, 타박상 등의 치료에 이용되고 있는 꾸지뽕나무 근피²⁾의 메탄올 추출물이 유의한 항균활성을 나타냄을 발견하였기 때문에 함유성분의 분리를 수행하여 얻어진 6종의 화합물에 대한 항균활성을 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용한 꾸지뽕나무 근피는 2004년 10월 충청남도 금산읍 민간약초상에서 구입하였으며, 시료의 일부는 표준품 (WK04-527)으로 보관하고 있다.

시약 및 기기 – Column chromatography용 담체는 Kiesel

gel 60 (70~230 mesh, Merck), RP-18 Lichroprep (Merck), Sephadex LH-20 (Sigma)을 각각 사용하였다. 선광도는 JASCO P1020을 사용하여 측정하였다. NMR spectrum은 JEOL JNM-ECP 500 (¹H, 500 MHz; ¹³C, 125 MHz)을, ESI-MS는 API-2000 spectrometer를 사용하여 측정하였다.

시험 균주 및 배양 – *Escherichia coli* O157 (ATCC 35150), *Shigella dysenteriae* (ATCC 49557), MRSA (ATCC 700698)는 American Type Culture Collection으로부터 분양 받았으며, *E. coli* K88 (E-126), *E. coli* K99 (E-125), *E. coli* O157 (동물분리주), *Salmonella enteritidis* (Sal-36), *S. gallinarum*, *S. typhimurium* (Sal-13), *Vibrio cholerae* O1 (JOL 375) 및 *V. cholerae* O139 (JOL 376)는 국립수의과학연구원에서 분양 받았다. 상기의 균주들은 Tryptic soy broth (TSB, Difco, USA)에 현탁시키고 37°C에서 배양하였다.

디스크 확산법을 이용한 항균활성 검정 – 멸균된 여과지 디스크 (6 mm)에 시료용액 (20 mg/ml) 10 µl씩을 가하여 각 디스크 당 200 µg의 시료가 함유되도록 만든 후 건조시켜 한천배지 위에 놓고 37°C에서 18시간 동안 배양하였다. 항균효과는 균주의 성장 억제환의 크기 (mm)를 측정하여 평가하였으며, 각각 2회 측정된 결과의 평균치로 나타내었다.

추출 및 정제 – 건조된 꾸지뽕나무 근피(1 kg)를 MeOH (3 l×2회)로 2시간 동안 가열추출하고 여액을 감압농축하여 MeOH 추출물(42 g)을 얻었다. 이 추출물을 증류수 (1 l)에 현탁하고 CH₂Cl₂, n-BuOH 순으로 극성에 따라 분획하였다.

*교신저자 (E-mail): hankidad@wku.ac.kr
(FAX): 063-850-6818

CH₂Cl₂ 가용부 (13.3 g)는 CH₂Cl₂-MeOH (60:1 → 30:1 → 1:1)을 용출용매로 한 silica gel column chromatography (CC)를 실시하여 6개의 분획 (Fr. 1-6)으로 나누었다. Fr. 1 (1.2 g)은 90% aqueous MeOH을 용출용매로 하는 RP C-18 CC를 실시하여 4개의 분획 (Fr. 11-14)으로 나누었다. Fr. 12 (170 mg)는 다시 CH₂Cl₂-MeOH (gradient) 혼합용매를 용출용매로 하는 silica gel CC에 의하여 3개의 소분획 (Fr. 121-123)으로 나누었다. Fr. 122 (80 mg)를 65% aqueous MeOH을 용출용매로 하는 RP C-18 CC를 실시하여 화합물 1 (14.0 mg)을 얻었다. Fr. 123 (50 mg)은 *n*-hexane-EtOAc (4:1)을 용출용매로 하는 silica gel CC에 의하여 화합물 2 (20.5 mg)를 얻었다. Fr. 13 (120 mg)은 *n*-hexane-EtOAc (4:1)을 용출용매로 하는 silica gel CC를 실시하여 화합물 3 (10.5 mg)을 얻었다. Fr. 3 (4.5 g)은 CHCl₃-MeOH (gradient) 혼합용매를 용출용매로 하는 silica gel CC에 의하여 5개의 분획 (Fr. 31-35)으로 나누었다. Fr. 33 (500 mg)은 CHCl₃-MeOH (15:1)을 용출용매로 하는 Sephadex LH-20 CC에 의하여 화합물 4 (85.3 mg)를 얻었다. Fr. 34 (1.2 g)는 85% aqueous MeOH을 용출용매로 하는 RP C-18 CC를 실시하여 화합물 5 (48.5 mg)를 얻었다. Fr. 35 (1.1 g)는 CHCl₃-MeOH (30:1)을 용출용매로 하는 Sephadex LH-20 CC를 실시하여 화합물 6 (88.5 mg)을 얻었다.

결과 및 고찰

천연물로부터 새로운 항균활성물질을 발견할 목적으로 11종의 인수공통감염병 원인균주에 대한 디스크 확산법을 실시하고, 유의한 항균활성을 나타낸 꾸지뽕나무 근피 MeOH 추출물의 CH₂Cl₂ 가용부에 대하여 각종 column chromatography를 실시하여 6종의 화합물 (1-6)을 얻었다. 얻어진 화

합물의 구조는 논문에 보고된 스펙트럼의 문헌치와 비교하여, 화합물 1은 cudraxanthone B,³⁾ 화합물 2는 isocudraxanthone K,⁴⁾ 화합물 3은 cudraxanthone H,⁵⁾ 화합물 4는 cudraticusxanthone A,⁶⁾ 화합물 5는 cudraxanthone L,⁷⁾ 화합물 6은 macluraxanthone B⁸⁾로 각각 동정하였다 (Fig. 1).

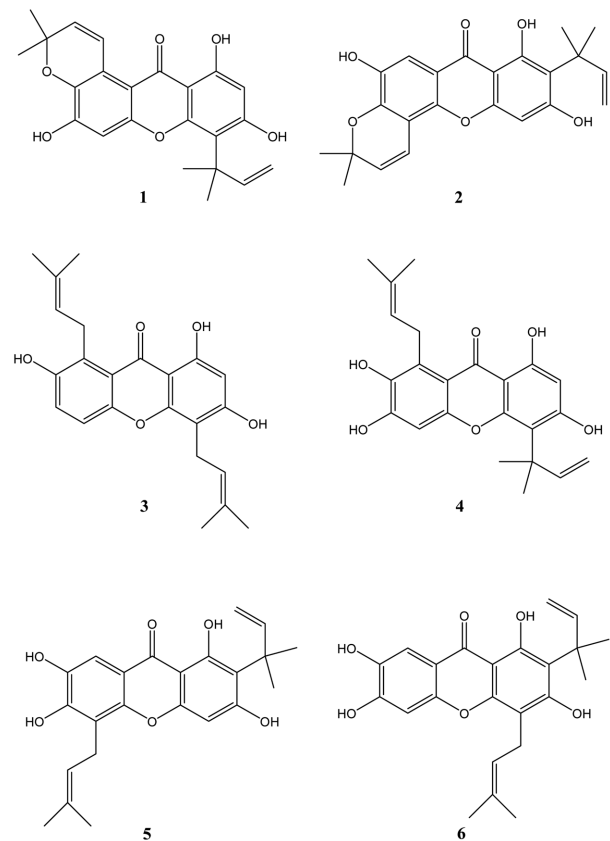


Fig. 1. Chemical structures of compounds 1-6.

Table I. Antibacterial activity of compounds 1-6^a

Strain	Origin	1	2	3	4	5	6
<i>Vibrio cholerae</i> O1	JOL 375	ND	ND	ND	ND	ND	ND ^c
<i>Vibrio cholerae</i> O139	JOL 376	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>E. coli</i> O157	동물분리주	ND	ND	ND	7 ^b	ND	ND
MRSA	ATCC700698	10	8	9	14	10	8
<i>Shigella dysenteriae</i>	ATCC49557	ND	ND	7	7	7	ND
<i>Salmonella gallinarum</i>	-	ND	ND	ND	7	ND	ND
<i>E. coli</i> O157	ATCC35150	7	ND	7	7	7	ND
<i>Salmonella typhimurium</i>	Sal-13	ND	ND	ND	7	ND	ND
<i>Salmonella enteritidis</i>	Sal-36	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>E. coli</i> K99	E-125	ND	7	7	7	7	ND
<i>E. coli</i> K88	E-126	ND	ND	ND	7	ND	ND

^aValues are the means of duplicates at the concentration of 200 µg/disk. ^bInhibitory zone diameters are in mm. ^cNo detected antibacterial activity at the concentration of 200 µg/disk.

꾸지뽕나무 근피로부터 얻어진 6종의 prenylated xanthone 계 화합물 (1-6)의 항균활성을 디스크 확산법을 이용하여 검정하였으며, 그 결과를 Table I에 나타내었다. 실험에 이용한 6종의 화합물은 모두 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 균주에 대하여 감수성을 가지는 것으로 나타났다. MRSA는 여러 나라에서 의료기관의 원내감염의 심각한 원인 중의 하나로 병원성 균주⁹⁾로 알려져 있기 때문에 본 연구에 이용된 화합물들의 이 분야에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다. 화합물 3, 4, 5는 MRSA외에 *Shigella dysenteriae*, *E. coli* O157, *E. coli* K99 등의 균주에 대하여 완화된 항균활성을 나타내었다. *Shigella spp.*는 그람음성균으로 전염성이 매우 큰 이질인 적리(赤痢)의 원인균으로 알려져 있으며,¹⁰⁾ *E. coli* O157은 다양한 음식물에서 발견되는 범 세계적으로 공중위생에 심각한 영향을 미치는 병원성 세균이고,¹¹⁾ *E. coli* K99는 새끼 돼지의 설사를 유발하는 주요 원인균으로 보고되었다.¹²⁾ 또한, 6종의 화합물 중 cudratricusxanthone A (4)는 *Vibrio cholerae* O1과 *V. cholerae* O139, *Salmonella enteritidis*를 제외한 시험에 사용한 모든 균주에 대하여 항균활성을 나타내었다. 이상의 결과로부터 꾸지뽕나무 근피에서 얻어진 prenylated xanthone 계 화합물은 인수공통감염병을 유발하는 것으로 알려진 다양한 병원균에 대하여 감수성을 가지는 것으로 밝혀졌으며, 앞으로 prenylated xanthone계 화합물의 다양한 유도체 합성 연구 등을 이용하여 이들 병원성 미생물들을 제어할 수 있는 의약품개발에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

천연물로부터 새로운 항균활성물질을 발견할 목적으로 11종의 인수공통감염병 원인균주에 대한 디스크 확산법을 실시하고, 유의한 항균활성을 나타낸 꾸지뽕나무 근피 MeOH 추출물의 CH₂Cl₂ 가용부로부터 6종의 prenylated xanthone 계 화합물인 cudraxanthone B (1), isocudraxanthone K (2), cudraxanthone H (3), cudratricusxanthone A (4), cudraxanthone L (5), macluraxanthone B (6)를 얻었다. 6종의 화합물은 모두 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 균주에 대하여 감수성을 가지는 것으로 나타났으며, 특히 화합물 4는 *Vibrio cholerae* O1과 *V. cholerae* O139, *Salmonella enteritidis*를 제외한 시험에 사용한 8종의 인수공통감염병 원인균주에 대하여 항균활성을 나타내었다.

사 사

이 논문은 2005년도 정부재원(교육인적자원부 학술연구

조성사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (KRF-2005-042-E00195).

인용문헌

1. Barbour, E. K., Al Sharif, M., Sagherian, V. K., Habre, A. N., Talhouk, R. S. and Talhouk, S. N. (2004) Screening of selected indigenous plants of Lebanon for antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.* **93**: 1-7.
2. Jiang su new medical college (1977) Encyclopedia of Chinese Medicinal Substances. Shanghai Peoples Publisher, Shanghai, p. 1502.
3. Fujimoto T., Hano Y., Nomura T. and Uzawa J. (1984) Components of root bark of *Cudrania tricuspidata* 2. Structures of two new isoprenylated flavones, cudraflavones A and B. *Planta. Med.* **50**: 161-163.
4. An, R. B., Sohn, D. H. and Kim, Y. C. (2006) Hepatoprotective compounds of the roots of *Cudrania tricuspidata* on tacrine-induced cytotoxicity in Hep G2 cells. *Biol. Pharm. Bull.* **29**: 838-840.
5. Hano, Y., Matsumoto, Y., Sun, J. Y. and Nomura, T. (1990) Structures of four new isoprenylated xanthones, cudraxanthones h, i, j, and k. *Planta. Med.* **56**: 478-481.
6. Zou, Y. S., Hou, A. J., Zhu, G. F., Chen, Y. F., Sun, H. D. and Zhao, Q. S. (2004) Cytotoxic isoprenylated xanthones from *Cudrania tricuspidata*. *Bioorg. Med. Chem.* **12**: 1947-1953.
7. Hano, Y., Matsumoto, Y., Shinohara, K., Sun, J. Y. and Nomura, T. (1991) Structures of four new isoprenylated xanthones, cudraxanthones L, M, N, and O from *Cudrania tricuspidata*. *Planta. Med.* **57**: 172-175.
8. Groweiss, A., Cardellina, J. H. and Boyd, M. R. (2000) HIV-inhibitory prenylated xanthones and flavones from *Maclura tinctoria*. *J. Nat. Prod.* **63**: 1537-1539.
9. Tiemersma, E. W., Bronzwaer, S. L., Lytikainen, O., Degener, J. E., Schrijnemakers, P., Bruinsma, N., Monen, J., Witte, W. and Grundman, H. (2004) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999-2002. *Emerg. Infect. Dis.* **10**: 1627-1634.
10. Jennison, A. V. and Verma, N. K. (2004) *Shigella flexneri* infection: pathogenesis and vaccine development. *FEMS Microbiol. Rev.* **28**: 43-58.
11. Mead, P. S. and Griffin, P. M. (1998) *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet* **352**: 1207-1212.
12. Jin, L. Z., Samuel, K. B., Ronald, R. M. and Andrew, A. F. (1998) In vitro inhibition of adhesion of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 to piglet intestinal mucus by egg-yolk antibodies. *FEMS Immunol. Med. Mic.* **21**: 313-321.

(2008년 8월 14일 접수)