

삼나무 정유의 표재성 진균에 대한 항진균 활성*¹

김 선 홍*² · 이 수 연*² · 홍 창 영*² · 정 한 섭*² · 박 미 진*⁴ · 최 인 규*^{2,3†}

Antifungal activity of essential oil from *Cryptomeria japonica* against dermatophytic fungi*¹

Seon-Hong Kim*² · Su-Yeon Lee*² · Chang-Young Hong*² · Han-Seob Jeong*² ·
Mi-Jin Park*⁴ · In-Gyu Choi*^{2,3†}

요 약

본 연구에서는 표재성 진균에 의한 피부질환 개선용 소재로의 개발을 위해 삼나무 정유의 표재성·알레르기성 진균, *Trichophyton schoenleinii*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton mentagrophytes (interdigitale)*, *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum*, *Aspergillus fumigatus*에 대한 항진균 활성을 평가하여 삼나무 정유의 표재성 진균에 의한 피부질환 개선 소재로의 개발 가능성을 평가하고자 하였다. 항진균 활성 평가는 삼나무 정유의 MIC (Minimum Inhibitory Concentration) 측정과 TLC bioassay, 한천희석법을 통해 측정하였다. 또한 활성 성분의 주성분을 확인하기 위해 GC/MS 분석을 실시하였다. 삼나무 정유 crude oil의 MIC는 모든 균에서 500 ppm 이하의 농도 값을 나타냈으며, TLC bioassay를 통해 spot 1에서 항진균 효과를 확인하였다. 한천희석법을 통한 항진균 활성은 *A. fumigatus*를 제외한 모든 진균에 대해 삼나무 정유 crude oil의 경우, 500 ppm 이상에서 100%의 활성을 나타냈고, 분획 D의 경우, 100 ppm에서도 100%의 활성을 나타냈다. TLC bioassay를 통해 항진균 활성을 나타낸 spot 1과 한천희석법을 통해 활성을 나타낸 분획 D를 GC/MS로 분석한 결과 주성분은 elemol, γ -eudesmol, β -eudesmol이었다. 따라서 elemol, eudesmol 등은 표재성 진균에 의한 피부질환의 개선 소재로의 이용 가능성이 충분하다고 사료된다.

*¹ 접수 2012년 2월 3일, 채택 2012년 7월 9일

*² 서울대학교 농업생명과학대학 산림과학부, Dept. of Forest Sciences, College of Agriculture & Life Sciences, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea

*³ 서울대학교 농업생명과학연구원, Research Institute for Agriculture & Life Sciences, College of Agriculture & Life Sciences, Seoul National University, Seoul 151-921, South Korea

*⁴ 국립산림과학원 녹색자원이용부 바이오에너지연구과, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

† 교신저자(corresponding author) : 최인규(e-mail: cingyu@snu.ac.kr)

ABSTRACT

In this study, the antifungal activity of *Cryptomeria japonica* essential oil against superficial and allergic fungi, *Trichophyton schoenleinii*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum*, and *Aspergillus fumigatus*, was evaluated for determining the potential compound as dermatitis treatment. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) measurement, TLC bioassay and agar dilution methods were used for determining the antifungal activity of crude essential oil and its fractions from *C. japonica*. Also, their major constituents were analyzed by GC/MS. The MICs were below 500 ppm at all superficial fungi, and spot 1 of *C. japonica* essential oil showed highly effective antifungal activity by TLC bioassay. In antifungal activity by agar dilution methods, crude oil showed high antifungal effect at more than 500 ppm and fraction D was significantly effective at even 100 ppm except for *A. fumigatus*. The major compounds of spot 1 and fraction D of *C. japonica* oil determined by GC/MS were elemol, γ -eudesmol, and β -eudesmol, which could be used as atopic dermatitis treatment material.

Keywords: *Cryptomeria japonica*, essential oil, antifungal activity, superficial fungi, atopic dermatitis

1. 서 론

최근 도시·산업화의 속도가 빨라짐에 따라 대기 및 실내공기 오염·집먼지 진드기 노출·인스턴트식품 섭취 증가와 같은 환경적 요인과 스트레스와 같은 정신적 요인들에 의한 아토피 피부질환, 천식, 알레르기 비염 등 환경성 질환 환자 수가 해마다 크게 증가하고 있다(국민건강보험공단, 2009). 특히 아토피 피부질환 환자는 환경성 질환 환자 중 71.6%를 차지하며, 전 인구의 약 5~10%, 어린이들의 15~20%에서 나타나고 있다(Foster *et al.*, 2010). 아토피 피부질환은 만성재발성피부염증 질환으로 환자들이 심한 소양감을 느끼며 이러한 소양감은 환경 적응능력 및 작업능률의 감소, 불면증, 정서 장애 등의 고통을 수반한다. 하지만 아토피 피부질환의 발생기전은 명확히 밝혀지지 않고 있으며 유전적, 환경적, 면역학적, 심리적 요인 등이 복합적으로 영향을 주는 것으로 인식되고 있다(김 등, 2009).

이러한 아토피 피부질환의 치료는 완치가 아닌 재발하거나 악화되는 것을 막기 위해 스테로이드제, 항히스타민제, 면역억제제, 보습제와 같은 의약품이 이용되고 있다(Lee *et al.*, 2010). 하지만 많은 연구

들에서 이와 같은 제품을 오랜 기간 남용하게 되면 다양한 부작용을 일으킨다고 보고하였다(Del Rosso & Friedlander, 2005; Norris, 2005). 현대인의 삶의 질에 대한 관심이 증가함에 따라 합성 의약품이 아닌 천연 성분을 이용한 치료 방법에 대한 관심 또한 증가하고 있다(Koehn & Carter, 2005). 그 결과 숲이 가진 건강증진 및 질병 치유 효과의 과학적 기작을 규명하여 숲 치유를 근거중심의학으로 발전시키려는 연구가 가속화되고 있다(김, 2010).

최근 산림청은 '치유의 숲'을 조성하여 아토피 피부질환 등 환경성 질환 예방 및 치유를 위해 숲의 자연치유력을 효과적으로 활용할 수 있는 방안을 마련하고 있다(국립산림과학원, 2008). 숲 치유는 숲으로부터 발생하는 피톤치드에 의해 이루어진다. 피톤치드는 주성분이 테르펜(terpene)이며 나무가 병균, 해충, 곰팡이 등의 외부침입으로부터 자기보호를 하기 위해 내뿜는 물질이다(김, 2006). 테르펜은 휘발성 유기화합물의 정유(essential oil)를 이루는 물질이며 정유는 항박테리아, 항균, 항바이러스 등의 항미생물 효과를 가지고 있다(Burt, 2004; Cavanagh & Wilkinson, 2002; Edris, 2007; Oussalah *et al.*, 2007; Reichling *et al.*, 2009; Singh *et al.*, 2002).

그중 편백 정유는 항균, 항충 활성과 같은 생리활성에 효과적이고(곽 등, 2006; 박 등, 2005; Cheng *et al.*, 2007) 티 트리(tea tree) 정유는 *Staphylococcus aureus*에 대한 항박테리아 활성이 높으며(Carson *et al.*, 2006) 저먼 캐모마일(German chamomile) 정유는 스트레스를 완화시키고 아토피성 피부에 효과가 있다고 밝혀졌다(Lee *et al.*, 2010). 하지만 현재 숲 치유에 대한 관심이 높아지는 반면, 수목 정유에 대한 아토피 피부질환에 관한 연구는 미비한 실정이다.

본 연구에서 사용된 삼나무(*Cryptomeria japonica*)는 우리나라 남부지방과 제주도에 널리 분포되어 있는 수종으로 목재 산업에 다양한 용도로 사용되며 그 추출성분은 항진균, 항박테리아 활성을 가지고 있다(이 등, 2009; Cheng *et al.*, 2005; Kofujita *et al.*, 2001).

아토피 피부질환 환자의 경우 피부장벽 기능의 손상으로 감염성 질환의 동반이 흔해 표재성 진균 감염의 발생률이 높다고 보고되었고(유 등, 2009) 알레르기를 일으키는 곰팡이에 의해 아토피 피부질환이 악화된다고 보고된 바 있다(문, 2010). 이러한 연구를 바탕으로 아토피 피부질환 개선을 위해서 표재성 진균과 알레르기성 진균에 대한 항진균 활성 연구가 필요하다.

따라서 본 연구는 숲 치유 활성 성분을 구명하기 위해 삼나무 정유 내 다양한 성분들에 의한 아토피 피부질환 관련 진균에 대한 항진균 활성을 확인하여 삼나무 정유의 아토피 피부질환 개선 효과를 평가하기 위해 수행되었다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

본 연구에 사용된 공시재료는 국립수목원에서 채취한 삼나무(*Cryptomeria japonica*) 잎을 대상으로 하였으며, 피톤치드의 대표적 화합물인 정유를 이용하여 진균 억제 평가를 시도하였다. 수증기 증류법(steam distillation)으로 정유를 추출하기 위해 잎은 생체 상태로 -39°C에서 냉동 보관하였다. 공시균주로는 국내 임상 논문을 중심으로 아토피 환자들에게서

발생 빈도가 높고 질환 유발에 영향력이 큰 3속의 균주를 선택하였다. 선택된 진균은 표재성 진균인 *Trichophyton* 속 4종(*Trichophyton schoenleinii* 60447 (*T. schoenleinii*), *Trichophyton tonsurans* 11866 (*T. tonsurans*), *Trichophyton mentagrophytes (interdigitale)* 11950 (*T. mentagrophytes*), *Trichophyton rubrum* 60443 (*T. rubrum*))과 표피균속 *Epidermophyton floccosum* 11667 (*E. floccosum*), 그리고 알레르기성 진균인 *Aspergillus fumigatus* 60331 (*A. fumigatus*)로 한국 미생물 보존센터(KCCM)에서 구입하였으며 Becton, Dickinson and Company로부터 구입한 Sabouraud Dextrose Agar (SDA) 배지에 26~28°C에서 7일간 배양하였다.

2.2. 정유의 추출

실험실 규모의 수증기 증류 장치에 500 g의 삼나무 잎과 4 l의 증류수를 첨가하여 정유를 추출하였다. 온도를 점차 증가시켜 100°C에서 24시간 동안 휘발성 분들을 응축액 형태로 포집하였다. 응축액 형태의 정유는 ethyl acetate를 100 ml씩 첨가하여 3회 추출하고 rotary evaporator (BÜCHI, rotavapor R-114)를 통해 농축시켜 최종 정유를 얻은 뒤 4°C에서 냉장 보관하였다.

2.3. 항진균 활성

2.3.1. 삼나무 정유 crude oil의 항진균 활성

2.3.1.1. MIC (Minimum Inhibitory Concentration) 측정

균의 생장을 저해시키는 최소 기질의 농도를 확인하기 위하여 단계희석법(serial dilution method)을 이용하여 MIC를 측정하였다. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard)에 따라 microdilution plate (96 well)의 각각의 well에 Sabouraud Dextrose Broth (SDB) 배지 100 μ l를 넣고 삼나무 정유 100 μ l를 넣은 후, 단계적으로 0.5 배 희석되도록 이전 well에서 배지와 정유 혼합액을 100 μ l씩 떠내어 다음 well에 넣었다. 그 농도는

Table 1. Ranges of oils concentration to the plates

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|-----|-------|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| ppm | 2,000 | 1,000 | 500 | 250 | 125 | 625 | 313 | 156 | 78 |

Table 1과 같다. 그 후 6종의 균주를 멸균수로 1×10^6 CFU/ml의 포자현탁액(24시간 이상 선배양된 균주) 10 μ l를 각각의 well에 넣었다. 준비된 micro-dilution plates (SPL life sciences, Tissue culture testplate)를 26~28°C에서 배양하여 1, 3, 5일 후에 육안 상으로 혼탁도를 관찰하였고 Multiple Plate Reader (Victor 3, Perkin Elmer, USA)를 이용하여 MIC를 측정하였다.

2.3.1.2. TLC Bioassay

본 연구에 사용된 삼나무 정유는 여러 성분들이 섞여 있는 혼합물이다. 이러한 혼합물 성분 중 항진균 활성을 나타내는 주요 성분들을 검출하기 위해 TLC (Thin Layer Chromatography) bioassay를 실시하였다.

정유 5 mg/ml를 ethyl acetate에 용해시켜서 TLC plate (0.5 mm thick, silica gel, MERCK, USA)에 점적하였다. 이후 hexane : ethyl acetate (8 : 1, v/v)의 용매에 전개시켜 발색시약(phosphomolybdic acid)으로 분리된 양상을 확인하였다. 양상에 따라 5개의 spot 1~5로 구분한 뒤 각각의 spot을 진균이 도말되어 있는 SDA 배지에 고정시켰다. 7일이 지난 후 균사의 억제환을 확인한 후 가장 효과가 높았던 분획 부분에 대해 GC/MS로 성분 분석을 실시하였다.

2.3.1.3. 한천희석법

한천희석법을 이용하여 *in vitro* 상에서의 균사 성장량을 측정하여 진균에 대한 삼나무 정유의 감수성 평가를 실시하였다. 기질을 멸균된 SDA 고체 배지에 0.1, 0.5, 1 mg/ml로 직접 첨가하여 50 mm petri-dish에 옮겼다. 이후 4 mm의 균사의 plug를 접종시킨 후 처리구와 무처리구인 대조구로 구분하여 포자 형성이 이루어질 때까지 26~28°C에서 배양하였다. 성장량 평가는 대조구의 균사 생장이 50 mm petri-dish에서 완료된 후 다음의 식을 이용하여 성장량을 측정하였다.

Growth index (%)

$$= \left[\frac{\text{처리구의 균사 성장환 직경(mm)}}{\text{무처리구의 균사 성장환 직경(mm)}} \right] \times 100$$

2.3.2. 삼나무 정유 분획물의 항진균 활성

2.3.2.1. 삼나무 정유 분획

증기 증류법을 통해 얻은 삼나무 잎 정유의 활성물질을 탐색하고자 TLC를 통해 화합물들의 분리 양상을 확인한 후 일차 분획을 위해 open column chromatography를 실시하였다. 정유 성분들은 비교적 비극성이기 때문에 silica gel 60 (40~100 μ m)을 고정상으로 하여 normal phase로 진행하였다. 지름이 8 cm인 column을 사용하였으며 silica gel 450 g을 hexane에 섞어 column에 부어준 후 용매의 조건을 고려하여 24시간 동안 packing시켜 두었다. 24시간이 지난 후 packing된 silica의 약 3%에 해당하는 sample 15 g을 loading하였다. Eluent solvents는 hexane과 ethyl acetate의 비율을 49 : 1, 30 : 1, 18 : 1, 9 : 1, 4 : 1, 1 : 1로 하여 총 12 l를 사용하였다. 용매의 속도는 20 ml/min으로 하여 50 ml씩 분취하였다. 나누어진 분취물은 TLC 양상에 따라 A~E로 총 5분획으로 나누었다.

2.3.2.2. 분획물의 항진균 활성

분획물의 항진균 활성을 확인하고자 한천희석법으로 실험을 실시하였다. 각각의 분획물을 위의 한천희석법 실험법에 따라 실시하였다. 그 후 활성 성분을 확인하기 위해 GC/MS 분석을 실시하였다.

2.4. GC/MS 분석

GC (model-Agilent 6890)분석을 위해 column은 HP5 (25 m \times 0.32 mm \times 0.52 μ m)를 사용하였다. Carrier gas는 헬륨을 사용하였고 온도 조건은 injector 260°C, detector 280°C, oven 온도는 초기온도

Table 2. MIC of crude essential oil from *C. japonica* against superficial fungi. (mg/ml) (AF : *A. fumigatus*, EF : *E. floccosum*, TM : *T. mentagrophytes*, TR : *T. rubrum*, TT : *T. tonsurans*, TS : *T. schoenleinii*, IC : itraconazole)

| AF | EF | TM | TR | TT | TS | IC |
|-----|-----|--------|--------|--------|--------|----|
| 0.5 | 0.5 | 0.0156 | 0.0625 | 0.0313 | 0.0625 | - |

120°C에서 5분간 유지시킨 후 4°C/min씩 상승시켜 최종온도 280°C까지 올린 후 10분간 유지시켜서 분석하였다. MS는 model Agilent 5973을 사용하고 EI mode로 분석하였다. 얻어진 시료 피크의 mass data와 표준 library data (Willy 7th ed)와 비교하여 피크의 화합물 구조를 동정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 삼나무 정유 crude oil의 항진균 활성

3.1.1. MIC (Minimum Inhibitory Concentration) 측정

진균을 삼나무 정유에 노출시킨 뒤 5일이 지난 후 육안으로 혼탁도를 비교하고 Multiple Plate Reader를 이용하여 MIC를 측정하였다. 그 결과는 Table 2와 같다. 삼나무 정유는 *Trichophyton* 종에 대하여 낮은 MIC를 나타냈다. *T. mentagrophytes*은 0.0156 (15.6 ppm), *T. rubrum*은 0.0625 (62.5 ppm), *T. tonsurans*는 0.0313 (31.3 ppm), *T. schoenleinii*는 0.0625 (62.5 ppm)의 MIC를 나타냈다. *A. fumigatus*와 *E. floccosum*에 대해서는 0.5 (500 ppm)의 MIC를 나타냈다. Positive control로 사용된 itraconazole에서는 측정 범위 내 농도에서는 혼탁도를 관찰할 수 없었다. MIC 결과를 통해 삼나무 정유는 표재성·알레르기성 진균에 대해 500 ppm 정도의 농도 이하에서는 항진균 활성을 가진다고 판단된다. Zollo 등(1998)에 따르면, 바질과인 *Ocimum gratissimum*와 *Ocimum basilicum* 정유는 *Aspergillus flavus*에 대해 각각 1,250 ppm과 5,000 ppm, *Trichophyton rubrum*에 대해 각각 78 ppm과 312 ppm의 MIC를 나타냈다. 선백리향(*Thymus vulgaris*)은 *A. flavus*에 대해 625 ppm, *T. rubrum*에 대해 156 ppm의 MIC를

나타냈으며, 꿀풀과 식물인 *Hyptis suaveolens*와 *Hyptis lanceolata*은 *A. flavus*에 대해 모두 10,000 ppm, *T. rubrum*에 대해 각각 156 ppm, 625 ppm의 MIC를 나타냈다고 보고하였다(Zollo et al., 1998). 이는 삼나무 정유가 허브 정유 보다 낮은 농도에서 항진균 활성을 가진다는 것을 의미한다. 따라서 위와 같은 결과를 통해 삼나무 정유는 낮은 농도로 진균에 대해 높은 항진균 활성을 나타낼 것으로 판단된다.

3.1.2. TLC bioassay

TLC에 의해 분리된 삼나무 정유 spot 1~5에 의한 균사 억제환을 관찰한 결과 *A. fumigatus*를 제외한 모든 균에 대해 공통적으로 spot 1에서 억제환이 관찰되었다(Fig. 1). 삼나무 spot 1은 다른 spot들에 비해 항진균 활성이 뛰어난 것으로 판단된다.

삼나무 정유의 spot 1에 대하여 성분 분석을 한 결과는 Table 3과 같다. 삼나무 정유의 spot 1의 구성 성분 중 주요 성분으로는 elemol (16.38%), γ -eudesmol (37.85%), β -eudesmol (20.34%)이 검출되었다. 이로써, elemol, γ -eudesmol, β -eudesmol이 피부 질환을 야기하는 진균에 대해 항진균 활성을 나타내는 효과 성분이라 사료된다.

이 등(2009)에 의하면, 삼나무 심재 추출물을 TLC bioassay를 한 결과 높은 항진균 활성을 나타낸 spot의 주성분이 elemol과 eudesmol, hinokione이라고 보고한 바 있다. 박 등(2005)에 의하면, 편백 정유 중 항진균 활성을 나타내는 주성분이 elemol, cedrol, eudesmol 등이며 이 성분들은 피부사상균인 *Microsporum canis*와 *Trichophyton mentagrophytes*에 대해 항진균 활성을 나타낸다고 보고하였고, 광 등(2006)에 의하면, 항진균 활성 측정법인 디스크 확산법과 한천희석법을 통해 sesquiterpene인 β -eudesmol이 높은 항진균 효과를 나타냈다고 보고한 바 있다.

Table 3. Major compounds of spot 1 by TLC bioassay of *C. japonica* crude essential oil

| Spot | Retention Time | Area (%) | Compound |
|------|----------------|----------|--------------------|
| 1 | 3211 | 1638 | Elemol |
| | 3422 | 3785 | γ -Eudesmol |
| | 3486 | 2034 | β -Eudesmol |

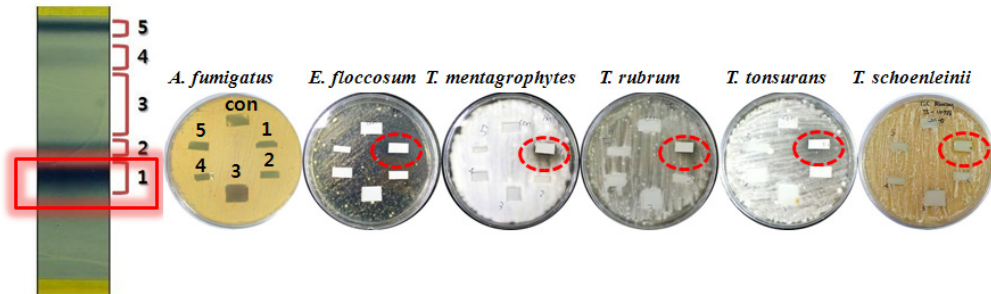


Fig. 1. Clear zone of spot 1-5 by TLC bioassay of *C. japonica*.

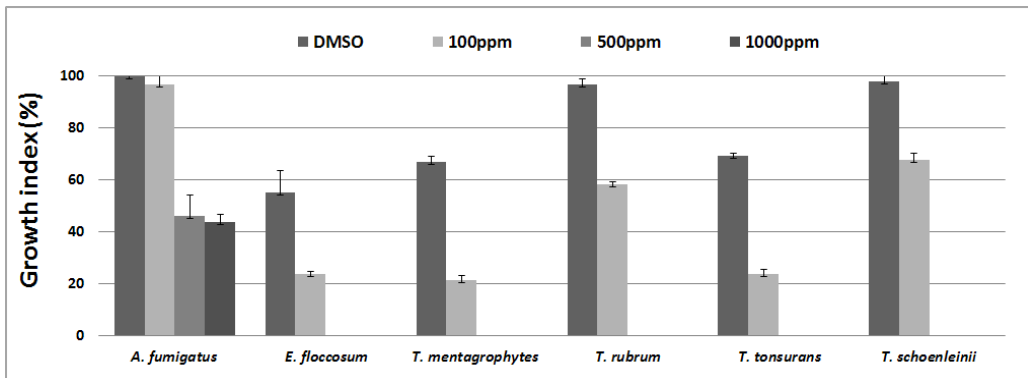


Fig. 2. Growth index (%) of crude essential oil from *C. japonica* by agar dilution method against superficial fungi.

따라서 삼나무 정유 spot 1은 주성분이 elemol, γ -eudesmol, β -eudesmol로 구성되어 있기 때문에 높은 TLC bioassay 효과가 확인된 것이라 사료된다.

3.1.3. 한천희석법

농도별 삼나무 정유의 표재성·알레르기성 진균에 대한 항진균 활성을 한천희석법으로 실험한 결과 500 ppm과 1,000 ppm에서 높은 항진균 활성을 나타냈다

(Fig. 2). 이 실험의 결과는 진균의 생장률이 낮을수록 저해 능력이 높음을 나타낸다. 삼나무 정유를 DMSO에 녹여 실험을 실시하였기 때문에 DMSO를 대조구로 사용하였다. 한천희석법을 실시한 후 생장률을 측정할 결과 DMSO에 비해 삼나무 정유가 균의 생장률이 낮아 모든 균에 대한 항진균 효과를 나타냄을 확인하였고, DMSO에 대한 영향이 아닌 삼나무 정

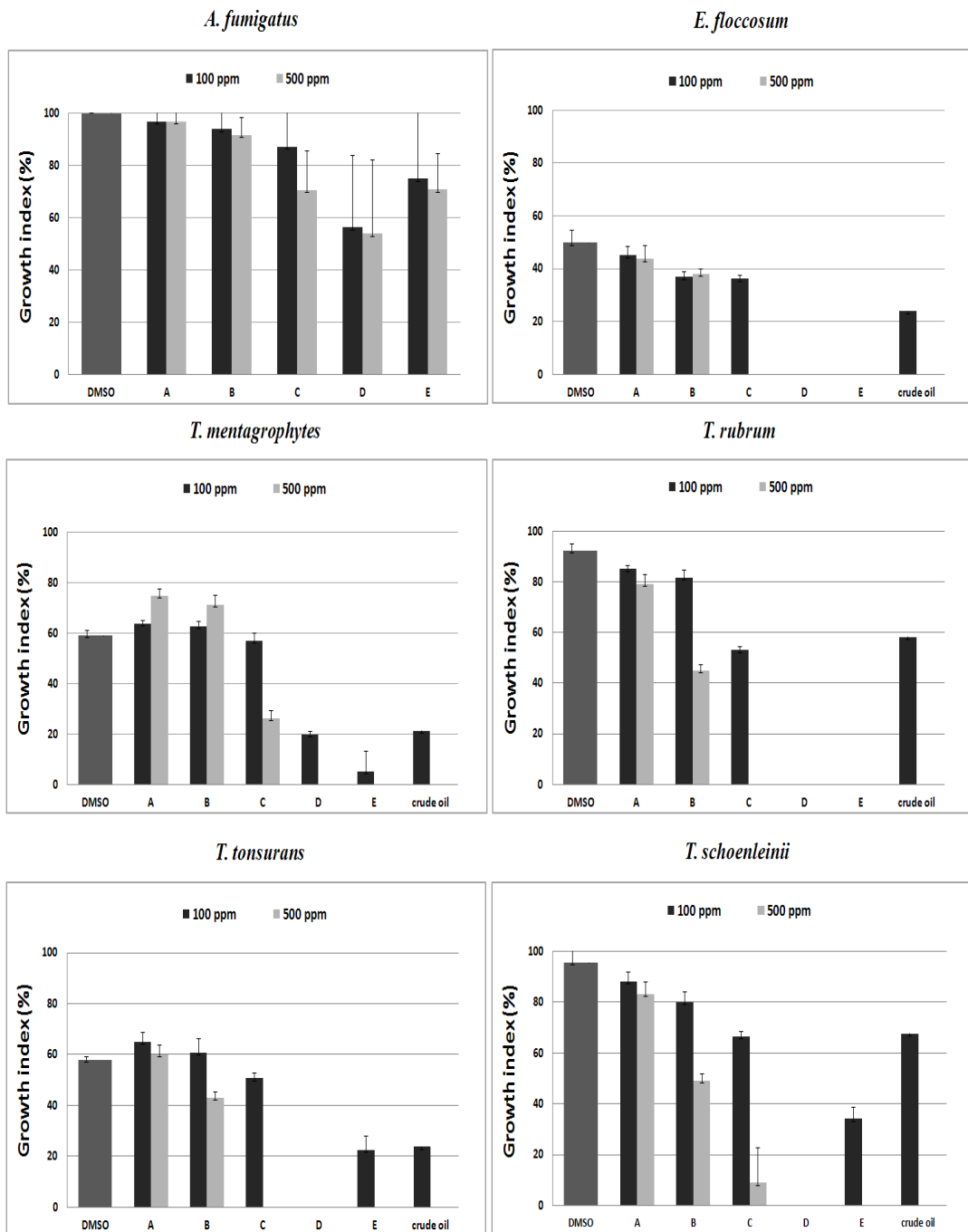


Fig. 3. Growth index (%) of 5 fractions from *C. japonica* by agar dilution method against superficial fungi.

Table 4. The relative proportion and the retention time of major constituents from *C. japonica* fractions by GC/MS analysis

| Fraction | Retention Time | Area (%) | Compound |
|----------|----------------|----------|---------------------|
| A | 18.04 | 19.45 | γ -Terpinene |
| | 14.04 | 16.14 | α -Pinene |
| | 43.14 | 13.76 | Kaurene |
| B | 25.01 | 72.32 | Bornyl acetate |
| C | 22.14 | 86.55 | 4-Terpineol |
| D | 31.87 | 37.58 | Elemol |
| | 33.98 | 36.09 | γ -Eudesmol |
| | 34.70 | 25.06 | β -Eudesmol |
| E | 34.59 | 69.25 | α -Cadinol |

유에 의해 항진균 활성을 일으키는 것으로 판단하였다. 500 ppm과 1,000 ppm의 농도에서 삼나무 정유는 *A. fumigatus*를 제외한 *E. floccosum*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. tonsurans*, *T. schoenleinii*에서 100%의 성장 억제제를 나타냈고, 100 ppm에서도 비교적 높은 활성을 나타냈다.

Cheng 등(2005)에 따르면, 삼나무 잎과 수피와 심·번체는 항진균 활성을 가지며 그 중 잎의 정유가 *Trametes versicolor*에 대해 항진균 효과를 나타냈고, 삼나무 심재와 잎의 정유가 *Ganoderma australe*에 대해 항진균 효과를 나타냈다고 보고하였다. 또한 Cha 등(2007)에 의하면, 삼나무 정유는 구강박테리아에 대해 항박테리아 효과를 나타낸다고 보고하였다.

이러한 결과를 바탕으로 생리활성이 높은 삼나무 정유는 보다 낮은 농도에서 높은 항진균 활성을 나타내므로 항진균제로의 개발에 있어 경쟁력 있는 재료로 이용이 가능할 것이라 판단된다.

3.2. 삼나무 정유 분획물의 항진균 활성

3.2.1. 분획물의 항진균 활성

삼나무 정유 분획물의 항진균 활성을 검정하기 위해 분획별로 한천희석법을 실시하였다. 삼나무 정유가 1,000 ppm의 농도에서 균사 생장이 전혀 이뤄지

지 않았기 때문에 100 ppm과 500 ppm의 농도로 한천희석법을 실시하였다. 그 결과 분획 D에서 생장물이 가장 낮은 것으로 확인되었다(Fig. 3). *A. fumigatus*를 제외한 모든 균에서 높은 항진균 활성을 나타낸 분획 D는 삼나무 정유보다 높은 항진균 활성을 나타냈고 100 ppm과 500 ppm의 농도에서 *Trichophyton* 속 4종과 *E. floccosum*에 대해서 100%의 항진균 활성을 나타냈다. 분획 E 또한 *E. floccosum*과 *T. rubrum*에 대하여 100%의 항진균 활성을 나타냈다.

따라서 삼나무 정유 분획 D와 E가 항진균 활성을 나타내므로 아토피 피부질환 개선에 효과적인 물질이라 판단된다. 특히 삼나무 정유 분획 D는 낮은 농도에서 높은 항진균 활성을 나타내므로 항진균제로의 개발 가능성을 가진다고 사료된다.

3.2.2. 활성 성분의 GC/MS 분석

삼나무 분획 A의 주성분은 γ -terpinene, α -pinene, kaurene, 분획 B는 bornyl acetate, 분획 C는 4-terpineol, 분획 D는 elemol, γ -eudesmol, β -eudesmol이며, 분획 E는 α -cadinol이다(Table 4).

생장물이 가장 낮은, 즉 항진균 효과가 가장 높은 삼나무 분획 D의 주성분인 elemol, γ -eudesmol, β -eudesmol은 삼나무 정유의 TLC bioassay에서 확인된 활성 성분과 일치하였다. 분획 E도 항진균 활성이

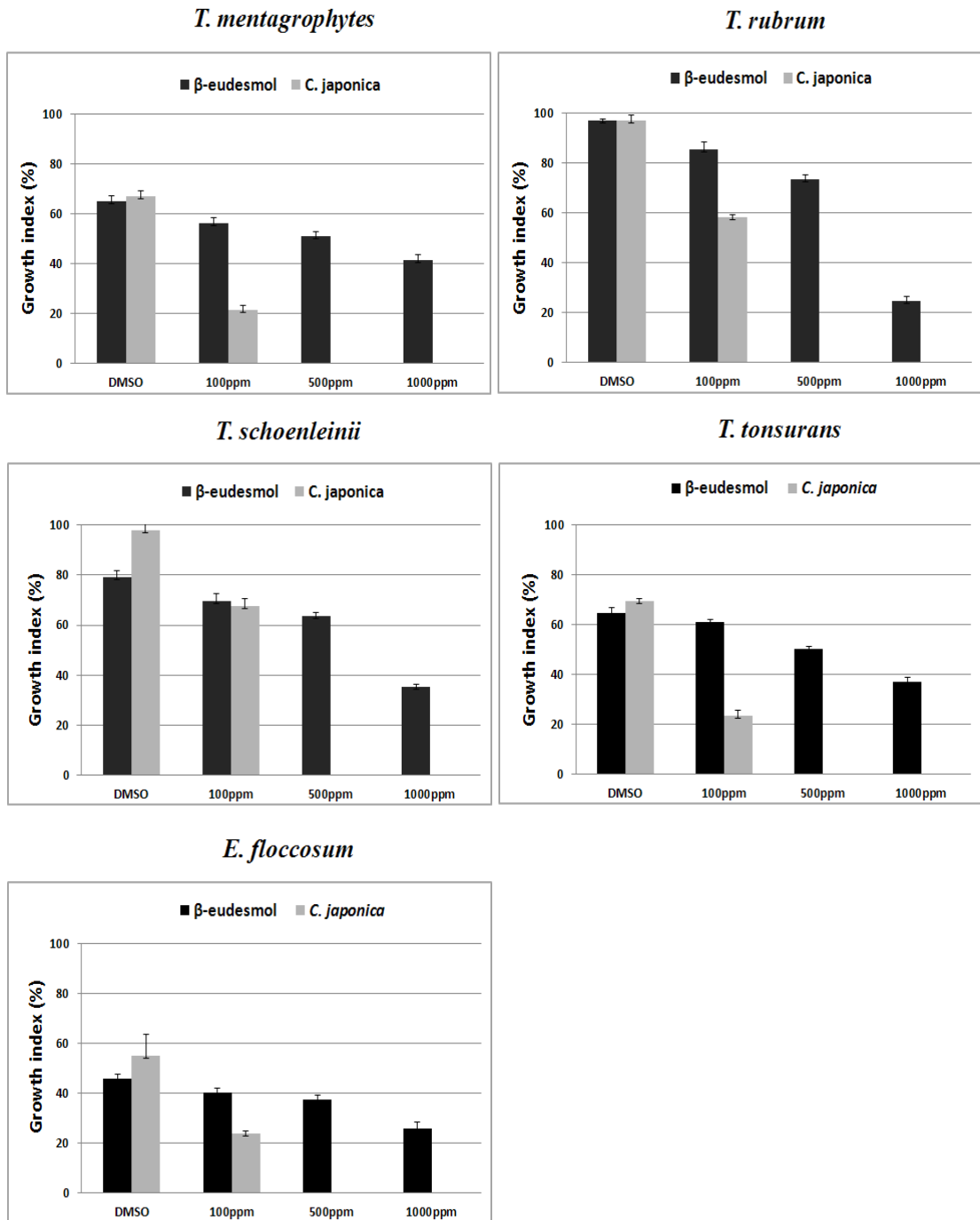


Fig. 4. Growth index (%) of β -eudesmol by agar dilution method against superficial fungi.

높았기 때문에 주성분인 α -cadinol 또한 항진균 활성에 효과적인 성분이라 사료된다. Choi 등(2006)에 의하면 편백 정유 분획 중 eudesmol과 α -cedrol이 주성분인 분획과 elemol이 주성분인 분획이 항알레르기성 활성을 가지므로 아토피 피부질환과 같은 알레르기 질환에 대해 eudesmol, α -cedrol과 elemol이 항알레르기 효과를 가질 것이라 보고하였다.

항진균 효과가 확인된 elemol, γ -eudesmol, β -eudesmol, α -cadinol 중 시중에 표준물질로 판매되고 있는 β -eudesmol로 한천희석법을 실시하였다. 삼나무 정유는 *Trichophyton* 속과 *Epidermophyton* 속에 대해 높은 항진균 활성을 나타냈으므로 *Trichophyton* 3종과 *Epidermophyton* 1종으로 한천희석법을 실시하였다(Fig. 4). 그 결과, β -eudesmol은 농도가 높아짐에 따라 항진균 활성이 높아지는 것으로 확인이 되었지만 500 ppm과 1,000 ppm에서 100%의 항진균 활성을 나타낸 삼나무 정유와, 100 ppm의 삼나무 분획 D에 비해 낮은 항진균 활성을 나타냈다. 이와 같은 결과를 통해, 가장 높은 항진균 활성을 보인 분획 D의 효과는 β -eudesmol 단독 성분에 의한 것이 아니라 elemol, γ -eudesmol, β -eudesmol 세 가지 성분들 간의 시너지즘에 의한 효과였는지에 대한 추가적인 실험이 필요할 것으로 판단된다. 또한 분획 E도 높은 활성을 나타내므로 α -cadinol의 항진균 활성에 대한 추가적인 실험이 필요할 것으로 판단되므로 단일물질로의 분리·동정이 필요하다.

최근 환경적인 요인들로 인해 후천적으로 면역력이 저하된 사람들이 증가하면서 진균 감염의 발생 사례가 늘고 있어(유 등, 2009; 이 등, 2010) 항진균제에 대한 연구들이 주목받을 것이라 예상된다. 따라서 삼나무 정유의 높은 항진균 활성 결과를 바탕으로 삼나무 정유가 항진균제로서 이용이 가능할 것이라 판단된다.

4. 결 론

본 연구에서는 아토피 피부질환 환자들에게서 감염 빈도가 높은 표재성·알레르기성 진균 6종에 대하여 삼나무 정유 crude oil, 삼나무 정유 분획, 분획 성분 중 활성성분으로 밝혀진 β -eudesmol을 이용하여 항진균 활성을 평가하였다. 그 결과, 삼나무 정유 crude

oil과 elemol, γ -eudesmol, β -eudesmol이 주성분인 분획 D가 진균에 노출시켰을 때 균 생장을 저해시켰다. 특히 삼나무 정유 분획 D는 삼나무 정유 crude oil과 β -eudesmol 보다 6종의 진균에 대해 낮은 농도에서도 높은 항진균 활성을 나타냈다. β -eudesmol은 항진균 활성이 가장 높은 삼나무 정유 분획 D의 주성분임에도 불구하고 항진균 활성이 낮았다. 이는 삼나무 분획 D의 주요 성분인 elemol, γ -eudesmol, β -eudesmol이 서로 시너지 효과를 일으켜 높은 항진균 활성을 나타냈을 것이라 사료된다.

결론적으로 본 연구에서 사용된 삼나무 정유가 차후의 항진균제 관련 연구에 주요한 기초 자료가 될 것이며, 특히 삼나무 정유 분획 D를 구성하는 성분들은 항진균제로의 개발 가능성이 충분하다고 사료된다.

사 사

본 연구는 산림과학원 녹색자원이용부 녹색산업연구과 '산림치유 기반구축을 위한 통합의학적 응용기술 개발(과제번호: 0525-20110020)'의 위탁연구과제 지원에 의하여 이루어진 것입니다.

참 고 문 헌

1. 국민건강보험공단. 2009. 2006~2007년 환경성질환 진료환자 분석 보고서. 18.
2. 국립산림과학원. 2008. 산음 '치유의 숲' 조성 기본계획
3. 김영용. 2006. 삼림의 피톤치드와 건강. 제주교육대학교 논문집 35. 281~303.
4. 광기섭, 박미진, 정의배, 장제원, 최인규. 2006. 피부사상균에 대한 편백정유의 Mono-및 Sesquiterpene 항진균 활성 비교. 목재공학 34(3): 46~55.
5. 김종희. 2010. 국립공원 치유캠프가 아토피피부염 환자에 미치는 영향. 한국산림휴양학회지 14(2): 45~50.
6. 김혜영, 장은영, 심재훈, 김지현, 정영희, 박수화, 황은미, 한영신, 안강모, 이상일. 2009. 원자: 알레르기 가족력이 영아기 아토피피부염 발생에 미치는 영향. 소아알레르기 및 호흡기학회지 19(2): 106~114.
7. 문경환. 2010. 곰팡이 센서(Fungal detector)를 이용한 알러지 환자 가정의 실내 환경 평가-사례연구. 한국환경보건학회지 36(1): 27~32.
8. 박미진, 이수민, 광기섭, 정의배, 장제원, 최인규. 2005. 피부사상균 *Microsporum canis* 및 *Trichophyton*

- mentagrophytes*에 대한 편백정유의 항진균 활성물질 탐색. 목재공학 33(3): 72~78.
9. 유광호, 김지영, 이갑석, 서성준, 홍창권. 2009. 아토피 피부염 환자에서의 표제성 진균증. 대한피부과학회지 47(1): 1~5.
 10. 이수연, 광기섭, 이전제, 여환명, 최인규. 2009. 삼나무 흑심재 추출물의 피부사상균에 대한 항진균 활성. 목재공학 37(3): 265~273.
 11. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. International journal of food microbiology 94(3): 223~253.
 12. Carson, C., K. Hammer, and T. Riley. 2006. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. Clinical microbiology reviews 19(1): 50.
 13. Cavanagh, H. and J. Wilkinson. 2002. Biological activities of lavender essential oil. Phytotherapy Research 16(4): 301~308.
 14. Cha, J. D., M. R. Jeong, S. I. Jeong, S. E. Moon, B. S. Kil, S. I. Yun, K. Y. Lee, and Y. H. Song. 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cryptomeria japonica*. Phytotherapy Research 21(3): 295~299.
 15. Cheng, S. S., H. T. Chang, C. L. Wu, and S. T. Chang. 2007. Anti-termitic activities of essential oils from coniferous trees against *Coptotermes formosanus*. Bioresource technology 98(2): 456~459.
 16. Cheng, S. S., H. Y. Lin, and S. T. Chang. 2005. Chemical composition and antifungal activity of essential oils from different tissues of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*). Journal of agricultural and food chemistry 53(3): 614~619.
 17. Choi, I., K. Kim, Y. Kim, M. Park, Y. Lee, and D. Jeung. 2006. Fractions of *Chamaecyparis obtusa* Display Antiallergic Effect in RBL2H3 Cells. Journal of microbiology and biotechnology 16(11): 1747.
 18. Del Rosso, J. and S. F. Friedlander. 2005. Corticosteroids: options in the era of steroid-sparing therapy. Journal of the American Academy of Dermatology 53(1): S50~S58.
 19. Edris, A. E. 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. Phytotherapy Research 21(4): 308~323.
 20. Foster, R. H., G. Hardy, and R. G. Alany. 2010. Borage oil in the treatment of atopic dermatitis. Nutrition 26(7-8): 708~718.
 21. Koehn, F. E. and G. T. Carter. 2005. The evolving role of natural products in drug discovery. Nature Reviews Drug Discovery 4(3): 206~220.
 22. Kofujita, H., Y. Fujino, T. Sasaki, M. Hasebe, M. Ota, and K. Suzuki. 2001. Antifungal activity of the bark of *Cryptomeria japonica* and its relevant components. Journal - Japan Wood Research Society 47(6): 479~486.
 23. Lee, S. H., Y. Heo, and Y. C. Kim. 2010. Effect of German chamomile oil application on alleviating atopic dermatitis-like immune alterations in mice. Journal of veterinary science 11(1): 35.
 24. Norris, D. A. 2005. Mechanisms of action of topical therapies and the rationale for combination therapy. Journal of the American Academy of Dermatology 53(1): S17~S25.
 25. Oussalah, M., S. Caillet, L. Saucier, and M. Lacroix. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control 18(5): 414~420.
 26. Reichling, J., P. Schnitzler, U. Suschke, and R. Saller. 2009. Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties-an overview. Forsch Komplementmed 16(2): 79~90.
 27. Singh, G., I. Kapoor, S. Pandey, U. Singh, and R. Singh. 2002. Studies on essential oils: part 10; antibacterial activity of volatile oils of some spices. Phytotherapy Research 16(7): 680~682.
 28. Zollo, P., L. Biyiti, F. Tchoumboungang, C. Menut, G. Lamaty, and P. Bouchet. 1998. Aromatic plants of tropical Central Africa. Part XXXII. Chemical composition and antifungal activity of thirteen essential oils from aromatic plants of Cameroon. Flavour and fragrance journal 13(2): 107~114.