
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853에 대한 약용식물 추출물들의 활성

음진성*

Activity of Nature Plants Extracts
against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Jin-seong Eum*

요약

*Pseudomonas aeruginosa*에 대한 항균물질을 찾기 위하여 한의학에서 전통적으로 사용되어 오던 34종류 약용식물로부터 에탄올 추출물들을 분리하여 항균활성을 조사하였다. *Gardenia jasminoides*, *Arctium lappa*, *Citrus unshiu* 및 *Phellodendron amurense* 등의 에탄올 추출물들이 *P. aeruginosa* ATCC 27853에 대해서 항균활성을 나타냈다. 이들 중 *Gardenia jasminoides*의 에탄올 추출물은 *P. aeruginosa*에 대해 강한 항균활성을 나타냈다. 앞으로 이를 약용식물들의 추출물들이 *P. aeruginosa*에 대한 천연항균물질로서 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

ABSTRACT

Anti-*Pseudomonas aeruginosa* activities for ethanol extract of 34 medicinal plants widely used in the folk medicine were evaluated to screening of anti-*Pseudomonas aeruginosa* agents. The ethanol extracts of *Gardenia jasminoides*, *Arctium lappa*, *Citrus unshiu*, and *Phellodendron amurense* showed antimicrobial activities against *P. aeruginosa* ATCC 27853. The ethanol extracts of *Gardenia jasminoides* among these medicinal plants showed significant antimicrobial activity against *P. aeruginosa*. Therefore, we expect that these medicinal plants will be useful for nature antimicrobial agent against *P. aeruginosa* in future.

키워드

Pseudomonas aeruginosa, 천연항균물질

Key word

Pseudomonas aeruginosa, nature antimicrobial agent

* 정희원 : 목원대학교(jseum@mokwon.ac.kr)

접수일자 : 2012. 06. 11
심사완료일자 : 2012. 07. 02

Open Access <http://dx.doi.org/10.6109/jkiice.2012.16.8.1799>

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

I. 서 론

*Pseudomonas aeruginosa*는 그람음성간균으로 창상을 통해 인체에 감염되며 형광성 색소인 pyocyanin을 생성하여 녹색의 농을 형성한다. *P. aeruginosa*는 물, 토양 등의 자연환경뿐만 아니라 사람의 가검물, 분변 등 모든 환경에서 쉽게 발견되고 전파경로도 다양하다. *P. aeruginosa*는 병원내 감염의 주요한 원인균 중의 하나로 각종의 임상검체나 병원 환경에서도 분리되며, 종양환자나 면역기능이 떨어진 환자에게 감염이 쉽게 유발된다[1]. 이런 *P. aeruginosa*에 효과적인 항생물질은 몇 종류에 불과하며 주사 시에는 독성이 강하여 부작용 문제가 자주 발생되고 있다.

*P. aeruginosa*에 감염되는 질병은 최근에 급격히 증가하고 있으며 병원감염 및 기회감염으로 인한 질병으로 인하여 임상에서는 *P. aeruginosa*에 대한 관심이 높아지고 있다. *P. aeruginosa*에 의한 질병은 만성 폐질환, 뇌막염, 요도감염, 폐혈증, 골수염 등 매우 다양하며 화상, 급성 백혈병, 기관이식 등에 의한 수술 후 감염 등 여러 질병에 빈발하게 나타나고 있다. 환자에게 병원감염의 빈도는 낮지만 임상적으로 *P. aeruginosa*에 의한 감염의 결과는 매우 심각한 것으로 알려져 있다[2]. 특히 백혈병과 골수등의 악성 종양환자 및 항생제를 장기간 투여받은 환자 등 면역기능이 저하된 환자에서는 *P. aeruginosa*의 감염에 의한 정착율이 높다.

병원 환경에서 유래된 *P. aeruginosa*는 항균제에 대해서 내성을 가지고 있으며 더구나 다내제성이기 때문에 기회감염 등에 의해서 원내감염되면 항균제선택이 제한되어 있어 치명율이 높다고 한다. 면역력이 저하된 환자에 감염되어 생명을 위협하는 *P. aeruginosa*의 대다수가 다내제성이므로 항균제의 단독사용 보다는 서로 사용기전이 다른 약제를 동시에 사용하여 상승작용에 의한 상승효과가 보고되고 있다. 대표적으로 carbenicillin과 gentamicin의 병합사용이다. 그러나 이러한 병합사용에 대해서도 빠르게 내성 균주가 나타나고 있으므로 중증질환이 있고 면역기능이 저하된 환자들의 치료에는 안전하고 적절한 화학용법이 요구되고 있다[3].

최근 한의학 및 민간요법에서는 효능이 알려져 있는 천연물질들이 생체 내에서 식균작용을 활성화 시키는 등 질병에 대한 방어력을 증가시켜서 만성질환을 예방하고 치료하는데 효과적인 것으로 알려져 있다[4].

동서양을 막론하고 이러한 면역력을 증진시키고 활성화시키는 천연물질 및 생약제재에 대한 관심이 높아지고 있으며 약물로 인한 부작용을 극복하기 위하여 천연식물로부터 생리활성을 가진 물질의 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

최근에는 superbacteria로 알려져 있는 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 같은 항생제 내성균에 *Sophora flavescens*, *Dryopteris crassirhizoma*, *Pinus densiflora*, *Glycyrrhiza uralensis*등의 약용식물들이 항균활성을 나타내며, 이들 생약제재들은 여드름 등의 피부병 및 식중독 등 여러 감염성 질환의 치료 및 예방에 이용될 수 있을 것으로 보고되었다[5].

이러한 광범위한 천연물질들의 항균활성평가는 보다 효율적이며 독성으로부터 안정성이 확보된 천연항균물질을 개발하는데 기초자료로 사용될 수 있을 것이다.

본 연구에서는 *P. aeruginosa*에 의한 병원감염을 최소화 시키고 항균제 사용의 남용을 방지하기 위하여 *P. aeruginosa*에 항균능력이 있는 생약제제를 조사하기 위하여 우리나라에서 전통적으로 사용되고 있는 34종류의 약용식물로부터 에탄올을 이용하여 추출물을 분리하여 농축하였다. 이를 대상으로 병원 감염의 원인균 중의 하나인 *P. aeruginosa* ATCC 27853에 대한 항균활성을 나타내는 약용식물을 검색하였다.

II. 재료 및 방법

2.1. 약용식물의 종류

약용식물의 재료는 경동한방솔루션 제약회사로부터 구입하였으며 실험에 사용된 약용식물들은 *Mentha arvensis* var. *piperascens* (박하), *Ledebouriella seseloides* (토원방풍), *Dictamnus albus* (백선파), *Paeonia lactiflora* var. *hortensis* (백작약), *Angelica dahurica* (백지), *Spirodela polyrhiza* (부평초), *Saururus chinensis* (삼백초), *Cryptotympana pustulata* (선퇴), *Pinus densiflora* (송절), *Raw ginseng* (수삼), *Cimicifuga heracleifolia* (승마), *Bupleurum falcatum* (시호), *Magnolia kobus* (신이화), *Artemisia princeps* (애엽), *Houttuynia cordata* (여성초), *Forsythia saxatilis* (연교), *Arctium lappa* (우방자), *Castanea crenata* (율피), *Aster tataricus* (자완), *Syzygium*

aromaticum(정향), *Hovenia dulcis*(지구자), *Citrus unshiu*(진피), *Asparagus cochinchinensis*(천문동), *Gardenia jasminoides*(치자), *Anemone dichotoma*(토황금), *Smilax glabra*(토복령), *Hovenia dulcis*(헛개나무), *Scrophularia buergeriana*(현삼), *Schizonepeta tenuifolia* var.*japonica*(형개), *Prunus sargentii*(화피), *Red Ginseng*(홍삼), *Astragalus membranaceus*(황기), *Coptis chinensis*(황련), *Phellodendron amurense*(황백) 등 총 34종류의 건조된 제품을 사용하였다.

2.2. 세균 및 배양

본 연구에 사용된 *P. aeruginosa* ATCC 27853는 한국 생명공학연구원 생물자원센터에서 분양받았으며 Brain Heart Infusion(BHI) medium으로 37°C에서 배양하였다.

2.3. 약용식물로 부터 추출물 분리

건조된 약용식물 25 g을 증류수로 3번 세척 한 후 증류수 500 ml에 30분간 보관하였다. 증류수에 보관된 생약 25 g에 70% ethanol (MERK, Germany) 500 ml을 첨가하고 냉각장치가 설치된 heating mental에 넣어서 3시간 동안 환류 가열, 추출시켰다. 환류 가열된 추출액은 실온에서 1시간 식힌 후 filtration시켰다.

2.4. 약용식물 추출물의 농축 및 동결건조

여과된 추출물들은 funnel에 넣어 저온회전농축기 (EYELA, SB-1000, Japan)를 이용하여 45°C에서 약 1시간 동안 가온 감압 농축시켰다. 농축된 추출액은 -70°C에서 동결시킨 후 동결건조기(EYELA, FDH-1200, ULVAC GLD-051, Japan)를 이용하여 진공상태에서 약 12시간 동결 건조시켰다. 건조 분말은 무게를 측정한 후 -70°C에서 보관하였다[12].

2.5. 항균활성 검사

각 약용식물 추출물들의 항균활성은 디스크 확산법 (disk diffusion)을 이용하여 측정하였다. 건조분말 20 mg을 dimethyl sulfoxide (DMSO) 1 ml에 녹여서 20 ug/ml 농도로 준비하였다. *P. aeruginosa* ATCC 27853를 Brain Heart Infusion Agar Broth(Difco.)에 도말하여 건조시켰다. BHI 한천배지 위에 paper disk (Advantec, Toyo Seisakusho Co., Ltd.)를 올려놓고 생약 추출물을 첨가한 후 37°C에서 48시간 배양하여 성장억지대의 직경을 측정하였다.

III. 실험 결과

우리나라에서 전통적으로 사용되고 있는 34종류의 약용식물을 대상으로 에탄올을 이용하여 추출물을 분리하여 농축하였다. 이를 이용하여 병원 감염의 원인균인 *P. aeruginosa*에 항균활성을 나타내는 약용식물을 검색하였다.

표 1. *P. aeruginosa*에 대한 약용식물 추출물들의 항균활성

Table. 1 Antimicrobial activity of medicinal plant extracts against *P. aeruginosa*

Scientific Name	Medicinal Part	
<i>Mentha arvensis</i> var. <i>piperascens</i>	Herb	-
<i>Lebedourilla</i> <i>seseloide</i>	Root	-
<i>Dictamnus albus</i>	Root	-
<i>Paeonia lactiflora</i> var. <i>hortensis</i>	Root	-
<i>Angelica dahurica</i>	Root	-
<i>Spirodela polyrhiza</i>	Herb	-
<i>Saururus chinensis</i>	Herb	-
<i>Cryptotympana</i> <i>pustulata</i>	Slough	-
<i>Pinus densiflora</i>	Node ofj Branch	-
<i>Raw ginseng</i>	Root	-
<i>Cimicifuga</i> <i>heracleifolia</i>	Rhizoma	-
<i>Bupleurum falcatum</i>	Root	-
<i>Magnolia kobus</i>	Flower Bud	-
<i>Artemisia princeps</i>	Leaf	-
<i>Houttuynia cordata</i>	Herb	-
<i>Forsythia saxatilis</i>	Fruit	-
<i>Arctium lappa</i>	Fruit	++
<i>Castanea crenata</i>	Pericarp	-
<i>Aster tataricus</i>	Root	-
<i>Syzygium</i> <i>aromaticum</i>	Flower Bud	-

<i>Hovenia dulcis</i>	Fruit	-
<i>Citrus unshiu</i>	Pericarp	++
<i>Asparagus cochinchinensis</i>	Tuberous	-
<i>Gardenia jasminoides</i>	Fruit	+++
<i>Anemone dichotoma</i>	Herb	-
<i>Smilax glabra</i>	Root	-
<i>Hovenia dulcis</i>	Trunk	-
<i>Scrophularia buergeriana</i>	Root	-
<i>Schizonepeta tenuifolia</i>	Herb	-
<i>Prunus sargentii</i>	Bark	-
<i>Red ginseng</i>	Root	-
<i>Astragalus membranaceus</i>	Root	-
<i>Coptis chinensis</i>	Rhizoma	-
<i>Phellodendron amurense</i>	Bark	++

The antimicrobial activity was represented as followed; -, no inhibitory effect; +, 8.1-10.0 mm; ++, 10.1-13.0 mm; +++, 13.1-16.0 mm

표 1에서 보는 바와 같이 *P. aeruginosa*의 성장을 억제시키는 약용식물들은 *Gardenia jasminoides*, *Arctium lappa*, *Citrus unshiu*, 및 *Phellodendron amurense* 등 4종류이다.

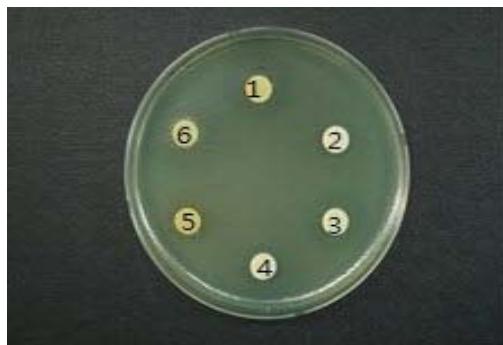


그림 1. *P. aeruginosa*에 대한 항균활성
Fig. 1 Assay of antimicrobial activity against *P. aeruginosa*.
1:*Mentha arvensis*, 2:*Dictamnus albus*, 3:*Paeonia lactiflora*, 4: *Angelica dahurica*, 5:*Spirodela polyrhiza*, 6:*Saururus chinensis*



그림 2. *P. aeruginosa*에 대한 항균활성
Fig. 2 Assay of antimicrobial activity against *P. aeruginosa*.

1:*Cryptotympana pustulata*, 2:*Pinus densiflora*,
3:Raw ginseng, 4:*Cimicifuga heracleifolia*, 5:*Bupleurum falcatum*, 6:*Magnolia kobus*

그림 1, 2, 3, 4, 5 및 6은 *P. aeruginosa*에 대한 34종류 약용식물 추출물을 디스크 확산법 결과이다.

그림 4에서 5번째 시료는 *Gardenia jasminoides*의 과실 추출물로서 성장억지대의 직경이 13.1-16.0 mm이며 성장억지대 부위가 가장 크고 항균활성이 제일 높았다.



그림 3. *P. aeruginosa*에 대한 항균활성
Fig. 3 Assay of antimicrobial activity against *P. aeruginosa*.

1:*Artemisia princeps*, 2:*Houttuynia cordata*,
3:*Forsythia saxatilis*, 4:*Arctium lappa*, 5:*Castanea crenata*, 6:*Aster tataricus*

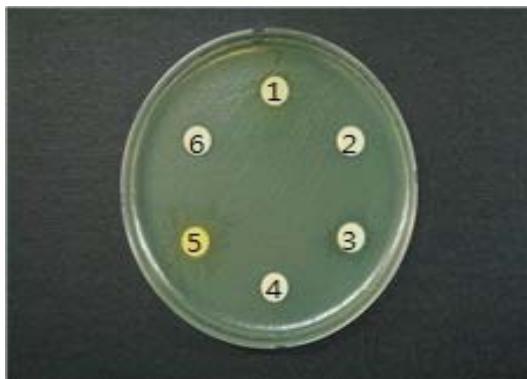


그림 4. *P. aeruginosa*에 대한 항균활성
Fig. 4 Assay of antimicrobial activity against
P. aeruginosa.

1:*Syzygium aromaticum*, 2:*Hovenia dulcis*,
3:*Citrus unshiu*, 4:*Asparagus cochinchinensis*,
5:*Gardenia jasminoides*, 6:*Smilax glabra*

그림 4에서 3번째 시료는 *Arctium lappa*의 과실 추출물로서 성장억지대의 직경이 10.1-13.0 mm인 중간 크기로서 중간활성을 나타냈다. 그림 3에서 4번째 시료인 *Citrus unshiu*의 과피 추출물과 그림 6에서 4번째 시료인 *Phellodendron amurense*의 수피 추출물들은 성장억지대 직경이 10.1-13.0 mm로서 중간활성을 나타냈다.



그림 5. *P. aeruginosa*에 대한 항균활성
Fig. 5 Assay of antimicrobial activity against
P. aeruginosa.
1:*Anemone dichotoma*, 2:*Ledebouriella seseloide*,
3:*Hovenia dulcis*, 4:*Scrophularia buergeriana*,
5:*Schizonepeta tenuifolia* var.*japonica*, 6:*Red ginseng*

이와 같은 결과로 부터 *Gardenia jasminoides*의 에탄올 추출물은 가장 높은 항균활성을 나타냈으며, *Arctium lappa*, *Citrus unshiu*, 및 *Phellodendron amurense*의 에탄올 추출물들은 중간정도의 항균활성을 나타냈다.



그림 6. *P. aeruginosa*에 대한 항균활성
Fig. 6 Assay of antimicrobial activity against
P. aeruginosa.
1:*Prunus sargentii*, 2:*Astragalus membranaceus*,
3:*Coptis chinensis*, 4:*Phellodendron amurense*,
5, 6:not tested

IV. 결론

*Gardenia jasminoides*는 우리나라 중남부 및 중국에 분포하고 있으며 과실을 생약으로 이용한다. 성분으로는 과실에 geniposide, gardenoside 등의 glycoside와 crocin이 함유되어 있으며 한방에서는 하열, 지혈, 항고혈압약으로 사용되는 것으로 알려져 있다. *Arctium lappa*는 우리나라 각지에 자생하는 초본식물로서 생약으로 과실을 사용하고 성분으로는 arctiin, arctigenin, arctinal 등이 함유되어 있으며 한방에서는 이뇨, 종양, 인후통, 감기 등에 사용한다. *Citrus unshiu*는 귤의 과피로서 한방에서는 건위소화, 진해거담제로 사용한다. *Phellodendron amurense*은 우리나라 및 동아시아 북부 산지에 자생하는 교목으로 생약으로는 수피를 사용한다. 성분으로는 수피에 alkaloid계통인 berberine, palmatine, obakunone 등이 함유되어 있으며 외용 소염약 및 지사제의 원료로 이용된다[6].

본 연구에서는 *Gardenia jasminoides*, *Arctium lappa*,

Citrus unshiu, 및 *Phellodendron amurense* 등의 에탄올 추출물들이 심각한 원내 질병을 유발하는 *P. aeruginosa*에 대하여 항균활성을 나타냈다. 특히 *Gardenia jasminoides*의 에탄올 추출물은 이들 중에서 제일 강한 항균활성을 나타냈다. 앞으로 이들 추출물들에 대한 인체 독성의 안전성 실험이 밝혀진다면 *P. aeruginosa*의 감염에 의해서 유발되는 여러 감염성 질환의 치료 및 병원내 감염을 예방하는 천연 항균 대체 물질로서 다양하게 사용될 가능성이 있을 것으로 사료된다.

저자소개

음진성(Jin-seong Eum)



1983: 고려대학교
생물학과 이학사
1985: 고려대학교대학원 생물학과
이학석사

1991: 고려대학교대학원 생물학과 이학박사
1992-현재: 목원대학교 바이오건강학부 교수
2001-2002: 미국 플로리다 의과대학 초빙교수

참고문헌

- [1] Doging, G, "Pseudomonas aeruginosa as an opportunistic pathogen campa". 245-260, Plenum press, New york, 1993.
- [2] Addul, N.H, A.G.John and M.D.Christopher, "Production of extracellular virulence factors by *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtaines from trachel, urinary tract, and wound infections." *J. Surgical Research*, vol, 61, pp. 425-432, 1996.
- [3] Jung,K.C., Y.W.Lee, M.J.Kim, E.G.Lim, Y.B.Kim and Y.H. oh, "Studies on the *Pseudomonas aeruginosa* isolated from infected patient" *Kor. J. Life Sci.* vol. 9, pp. 348-357, 1999.
- [4] Park, E.M., E.J.Ye, S.J.Kim, S.A.Kim and M.J.Bae, Effect of beverage using herbs on the antimicrobial anticancer and antiallergy activities, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, vol.34, pp 953-958, 2005
- [5] Eum,J.S. and Y.D.Park, "Antimicrobial activity of Medicinal plant extracts against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*", *J. Exp. Biomed. Sci.*, Vol. 13, pp. 189-195, 2007.
- [6] 한국약용식물학 연구회, " 종합 약용식물학", 학창사, 서울, 2005.