



Acaricidal and antimicrobial toxicities of *Cyanachum paniculatum* root oils and these components against *Haemaphysalis longicornis* and human intestinal bacteria

Myung-Ji Lee¹ · Hui-Ju Kim¹ · Ah-Hyeon Jeong¹ · Hoi-Seon Lee¹

산해박 뿌리에서 추출한 정유 및 구성성분의 인간 장내미생물에 대한 항균활성 및 작은소피참진드기에 대한 살비활성

이명지¹ · 김희주¹ · 정아현¹ · 이희선¹

Received: 28 November 2018 / Accepted: 30 November 2018 / Published Online: 31 December 2018
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2018

Abstract Anaerobic growth-inhibiting and acaricidal activities of 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone derived from *Cyanachum paniculatum* oil and its derivatives against five intestinal bacteria (*Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *Clostridium pefringens*, *Escherichia coli* and *Lactobacillus casei*) and *Haemaphysalis longicornis* were examined. In the packet test against the larvae of *H. longicornis*, none of the *C. paniculatum* oil exhibited acaricidal activity, while the *C. paniculatum* oil showed only antimicrobial activity against five intestinal bacteria in the disc diffusion method. Based on the inhibition zones and MIC values, 2',4'-dimethoxyacetophenone, 2',5'-dimethoxyacetophenone, 2'-hydroxy-4'-methoxyacetophenone, 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone, 2'-methoxyacetophenone, and 4'-methoxyacetophenone, containing a methyl group on the acetophenone skeleton, possessed growth-inhibiting activities against *C. pefringens* and *E. coli*. However, acetophenone, 2'-hydroxyacetophenone, 4'-hydroxyacetophenone, 2',4'-hydroxyacetophenone and 2',5'-hydroxyacetophenone, which contained a hydroxyl group on the acetophenone skeleton, had no

growth-inhibiting activity against intestinal bacteria. These results indicated that 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone and its derivatives could potentially be developed as natural antimicrobial agents to specific control of *C. pefringens* and *E. coli*.

Keywords Acaricidal activity · Antimicrobial activity · *Cyanachum paniculatum* · *Haemaphysalis longicornis* · 2'-Hydroxy-5'-methoxyacetophenone · Intestinal bacteria

서 론

인간의 장내에는 다양한 미생물들이 서식하며 장내 세균총 (intestinal microflora)이라 하여 장내 유익균 및 유해균이 일정한 균형을 이루고 있다[1,2]. 이들은 다양한 효소 및 대사산물을 생성하여 인체 내 영양분의 흡수, 면역체계의 유지, 세포증식, 노화 현상 등에 영향을 미친다[3,4]. 장내 세균총의 대표적인 유익균으로 알려진 *Bifidobacterium* spp.와 *Lactobacillus* spp. 등은 정상작용 촉진, 유산균의 증식 및 항생물질을 생산하여 숙주생물에게 이로운 역할을 하는 반면[5,6], 독소, 부패산물 및 발암물질 생산하여 부작용을 일으키는 *Clostridium* spp., *Escherichia coli* 및 *Staphylococcus* spp. 등과 같은 장내 유해균 또한 존재한다[7,8]. 이러한 이유로 장내 세균총의 균형 파괴를 막고 장내 유해균의 증식을 억제하기 위해 항생제 및 합성 항균제가 사용되고 있으나, 무차별적으로 강한 항균력을 나타내어 장내 세균총의 균형이 무너지며 오남용으로 인한 저항성 균주의 출현으로 인해 문제가 되고 있다[9].

Hoi-Seon Lee (✉)
E-mail: hoiseon@jbnu.ac.kr

¹Department of Bioenvironmental Chemistry, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Republic of Korea

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.

최근 기후변화 및 개발 등으로 인한 환경변화로 신종 감염병이 출현하면서 세계적으로 문제가 되고 있으며, 이와 동시에 기후변화에 민감한 모기 및 진드기류에 의한 감염병들이 증가하고 있다[10]. 중증열성혈소판감소증후군(severe fever thrombocytopenia syndrome; SFTS)은 주로 야외에서 서식하는 SFTS 바이러스의 매개체인 작은소피참진드기(*Haemaphysalis longicornis*)에 물려 감염되는 것으로 알려졌다[11,12]. 주요 증상으로는 발열, 구토, 설사, 혈소판 감소증 및 다발성 장기부전 등이며 치료제가 지금까지 없고 치사율이 12-30%에 달하기 때문에 피해가 우려된다[13]. 전국적으로 작은소피참진드기가 참진드기에서 우점종으로 89%의 분포율을 보였으며[14], 다양한 환경에서 발생빈도가 높아 작은소피참진드기 방제가 절실한 상황이다.

식물 유래 추출물은 다양한 생리활성 물질이 함유되어 있으며, 항균활성, 살충활성 및 살비활성과 같은 다양한 연구들이 꾸준히 이루어져왔다[6,13,15,16]. 산해박(*Cynanchum paniculatum*)은 박주가리과(Asclepiadaceae)로 동아시아 지역에 주로 자생하는 다년초이다. 산해박의 주요 성분으로는 acetophenones, alkaloids 및 steroids 등으로 알려져 있으며, 약용식물로서 치통, 두드러기, 류마티스 관절염 및 심외부 통증 등의 치료를 위해 전통적으로 이용해 왔다[17,18]. 이러한 생리활성에도 불구하고 산해박 정유 및 구성성분의 장내 미생물과 작은소피참진드기 대한 생물학적 활성에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 이전에 수행되었던 산해박 정유의 집먼지진드기 2종 및 저장식품진드기에 대한 살비활성 연구[19]를 토대로 산해박 정유 및 GC-MS 분석을 통해 확인된 구성성분의 장내 미생물 5종에 대한 생육억제활성 및 작은소피참진드기에 대한 살비활성에 대한 연구를 진행하였다.

재료 및 방법

정유 추출

본 식물체는 수증기증류 추출법(steam distillation extraction)을 사용하였으며, 먼저 산해박 뿌리를 증류수로 세척한 후, 음건하여 분쇄기를 이용하여 마쇄하였다. 3,000 mL의 둥근 플라스크에 마쇄한 산해박 뿌리 200 g과 증류수 2,000 mL을 혼합하여 교반한 후에 100 °C 열을 가하였다. 다른 한쪽에는 둥근바닥플라스크에 hexane 300 mL를 넣고 냉동 순환수조(VTRC-640, JEIO TECH, Seoul, Korea)를 이용하여 정유 성분이 포함된 기체를 hexane이 담긴 플라스크에 포집 될 수 있도록 5시간동안 연속 추출하였다. 추출 후 hexane층만 분획여두로 분리하여 hexane층에 남은 소량의 수분을 무수황산마그네슘(MgSO₄)을 이용하여 제거하였다. 이를 회전식 감압농축기(rotary vacuum evaporator, Model: N-3NM, EYELA, Tokyo, Japan)로 30 °C에서 감압농축 후에 순수한 정유성분을 얻었으며 실험을 위해 4 °C에서 냉장 보관하였다.

시험약제

Acetophenone, 2',4'-dihydroxyacetophenone, 2',5'-dihydroxyacetophenone, 2',4'-dimethoxyacetophenone, 2',5'-dimethoxyacetophenone, 2'-hydroxyacetophenone, 4'-hydroxyacetophenone, 2'-hydroxy-4'-methoxyacetophenone, 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone,

4'-hydroxy-3'-methoxyacetophenone, 2'-methoxyacetophenone, 4'-methoxyacetophenone, myristic acid 및 palmitic acid를 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)사 및 Tokyo Chemical Industry (Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

사용균주

산해박 뿌리의 수증기 증류 추출법을 통해 얻어진 정유 및 그 구성성분의 생육억제 활성을 평가하기 위해 3종 장내 유익균으로 *Bifidobacterium bifidum* KACC 20601, *Bifidobacterium longum* KCCM 11953 및 *Lactobacillus casei* KACC 12413을 선발하였고, 2종 장내 유해균으로는 *Clostridium pefringens* KCCM 12098 및 *Escherichia coli* KCCM 12199을 선발하여 한국미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorganisms, KCCM) 및 농촌진흥청 국립농업과학원(Korean Agricultural Culture Collection, KACC)에서 분양 받아 사용하였다. 장내 미생물에 알맞은 생육조건 배지인 BHI 및 MRS broth를 사용하여 혐기성 배양기(HIRAYMA, Tokyo, Japan)로 80% N₂+15% CO₂+5% H₂의 조건에서 37 °C, 48시간 배양하여 실험에 사용하였다.

항균활성 검정

산해박 정유성분의 장내미생물에 대한 항균활성 검정은 Lim 등[20]의 생물검정법에 따라 디스크확산법(disc diffusion method)으로 검정하였다. BHI 및 MRS broth에 2일간 혐기 배양한 각각의 장내 미생물 배양액을 멸균된 EG agar (Eiken chemical, Tokyo, Japan) plate에 100 µL를 도말하였다. 그 후, 산해박 정유 추출물 및 시험약제를 20-10 mg씩 취해 메탄올 200 µL에 용해한 후, paper disc (advantec, 8 mm diameter and 1 mm thickness, Toyo Roshi, Tokyo, Japan)에 분주하였다. Paper disc를 각각의 균이 도말된 EG agar 배지 표면에 올려놓고, 37 °C에서 48시간 혐기 배양한 후, 생육저지환(inhibition zone)의 크기를 측정하여 항균활성을 평가하였다.

최소저해농도(minimum inhibitory concentration; MIC)

장내 미생물 균주에 대한 최소저해농도는 Mann과 Markham[21]의 방법에 따라 broth-dilution method를 응용하여 수행되었다. 멸균된 액체배지에 균 희석액 1 mL과 시료 10 mg/mL를 초기 농도로 순차적으로 희석하여 첨가한 후 4시간 마다 UV-spectrophotometer를 이용하여 흡광도(600 nm)를 측정하면서 48 시간동안 37 °C에서 혐기 배양하였다. 상기 실험을 통하여 생육 저해 농도곡선 상에서 균의 생장이 검출되지 않은 최소농도를 MIC로 설정하였다.

진드기 채집

본 연구에서 사용한 작은소피참진드기는 2018년 5월부터 10월 까지 전라북도 완주군에 위치한 상관 저수지 및 전라북도 전주 시 전주천 인근 풀숲에서 채집하였다. 진드기 채집방법으로는 천(가로 150 cm×세로 100 cm)으로 조사지역의 수풀을 쓸어내리는 flag method를 사용하여 채집하였다. 채집한 진드기는 실체 현미경을 통해 Yamaguti 등[22]에서 제시한 방법에 따라 분류 동정하여 실험에 사용하였다.

살비활성 검정

산해박 정유성분의 작은소피참진드기 유충 및 약충 대한 살비활성 검정은 Stone과 Haydock [23]의 packet test로 검정하였다. 산해박 정유 추출물을 ethanol과 Triton X가 포함된 증류수에 희석시켜 제조된 다양한 농도(1, 3 및 5%)의 시료를 250 µL 취한 후, 가로 5 cm×세로 10 cm 크기로 자른 filter paper (chmlab group, 90 mm diameter, Barcelona, Spain)에 분주하였다. 시료를 처리한 filter paper는 fume hood에서 20분간 건조한 후, filter paper를 반으로 접어 양쪽을 집게(bulldog clip)로 막고 열린 한 쪽 입구를 통해 작은소피참진드기 유충 및 약충을 각각 20마리씩 넣어 봉하였다. 압조건의 incubator에 온도 27±1 °C, 상대습도 70±10%에서 24시간 경과 후 움직이지 않는 개체를 죽은 것으로 간주하여 살비율을 계산하였다.

통계처리

각 시험은 3반복으로 수행하였으며, 본 시험을 통해 얻어진 결과는 SPSS 통계프로그램(Version 12.0, Chicago, IL, USA)을 통해 각각의 평균과 표준오차를 나타내었다.

결과 및 고찰

수증기 증류추출법을 통하여 얻어진 산해박 뿌리 정유 추출물의 장내 미생물 5종에 대한 항균활성 및 작은소피참진드기에 대한 살비활성을 Table 1에 나타내었다. 산해박 정유는 장내 유해균 *C. perfringens* 및 *E. coli*에 대해 inhibition zone이 20.0 mg/disc에서 각각 11.3 및 13.1 mm로 나타났으며, 유익균 3종 (*B. bifidum*, *B. longum* 및 *L. casei*)에 대해서는 항균활성이

나타나지 않았다. 한편, 산해박 정유성분의 작은소피참진드기에 대한 살비활성 검정 결과, 본 연구에서 실험한 농도인 1.0, 3.0 및 5.0%에서 유충과 약충에 살비활성을 나타내지 않았다.

GC-MS 분석을 통해 검출된 정유 구성물질 4'-hydroxyacetophenone, 2',5'-hydroxyacetophenone, 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone, 4'-hydroxy-3'-methoxyacetophenone, myristic acid 및 palmitic acid의 장내 미생물 5종에 대한 항균활성을 Table 2에 나타내었다. 산해박 정유의 구성성분 중에 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone 또한 유익균 3종을 제외한 *C. perfringens* 및 *E. coli*에 대해 10.0 mg/disc에서 각각 12.1 및 12.0 mm의 항균활성을 나타내었다. 그러나 4'-hydroxyacetophenone, 4'-hydroxy-3'-methoxyacetophenone, myristic acid 및 palmitic acid는 장내 미생물 5종에 대하여 어떠한 항균활성도 나타나지 않았다. 이전의 연구에 따르면 산해박 정유는 장내 미생물에 대한 항균활성 이외에도 살비활성, 항염작용 및 항당뇨 활성 등과 같은 생리활성이 밝혀져 있다고 알려져 있다[24-26]. 약용식물로부터 유래한 많은 생리활성물질들은 장내 미생물에 대해 생리활성 있다는 연구 결과가 있으며[20,27], Yang 등[28]은 백리향속의 *Thymus tosevii* 및 구성성분인 myrtenol이 장내 유해균 *C. difficile*, *C. perfringens* 및 *E. coli*에 대해 항균활성이 나타났다는 연구결과를 보고하였다.

산해박 정유에서 유래된 구성성분 중에 항균활성을 나타내는 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone에 대하여 유도체 10종 (acetophenone, 2'-hydroxyacetophenone, 4'-hydroxyacetophenone, 2'-methoxyacetophenone, 4'-methoxyacetophenone, 2',4'-dihydroxyacetophenone, 2',5'-dihydroxyacetophenone, 2',4'-dimethoxyacetophenone, 2',5'-dimethoxyacetophenone 및 2'-hydroxy-4'-methoxyacetophenone)을 선발하여 구조에 따른 장내 미생물 5종에 대한 항균활성의 생리활성 및 구조적 차이를 확인하였다

Table 1 Antimicrobial and acaricidal activities of essential oil of *C. paniculatum* against intestinal bacteria and *Haemaphysalis longicornis*

Sample	Inhibition zone diameter (mm, mean±SE) ^a						Mortality (%)		
	Conc. (mg/disc)	<i>B. bifidum</i>	<i>B. longum</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. casei</i>	Conc. (%)	<i>H. longicornis</i>	
								larvae	nymph
<i>C. paniculatum</i> oil	20.0	- ^b	-	11.3±0.61	13.1±0.60	-	1.0	-	-
							3.0	-	-
							5.0	-	-
Negative control (Only solvent)	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^aThe diameter of the paper discs (8 mm) is included. No inhibitions (<8 mm diameter)

^bNo activity

Table 2 Antimicrobial activities of major components derived from *C. paniculatum* oil against intestinal bacteria^a

Sample	Conc. (mg/disc)	Inhibition zone diameter (mm, mean±SE) ^b				
		<i>B. bifidum</i>	<i>B. longum</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. casei</i>
4'-Hydroxyacetophenone		- ^c	-	-	-	-
4'-Hydroxy-3'-methoxyacetophenone		-	-	-	-	-
2'-Hydroxy-5'-methoxyacetophenone	10.0	-	-	12.1±0.83	12.0±0.73	-
Myristic acid		-	-	-	-	-
Palmitic acid		-	-	-	-	-

^aCultured on Eggerth-Gagnon agar at 37°C for 2 days in an atmosphere of 80% N₂, 15% CO₂, 5% H₂

^bThe diameter of the paper discs (8 mm) is included. No inhibitions (<8 mm diameter)

^cNo activity

(Table 3). 2'-Methoxyacetophenone는 *C. perfringens* 및 *E. coli*에 대해 10.0 mg/disc에서 각각 17.3 및 14.3 mm의 inhibition zone으로 유도체 중에서 가장 높은 항균활성을 나타내었다. 4'-Methoxyacetophenone은 *C. perfringens* 및 *E. coli*에 대해 각각 16.1 및 13.6 mm의 inhibition zone이 나타났으며, 장내 유익균 *B. bifidum* (11.5 mm)에 대해서도 항균활성을 나타냈다. 2',4'-Dimethoxyacetophenone을 처리하였을 때에는 *C. perfringens*에 대해서만 11.0 mm로 inhibition zone 값을 나타냈으며, 2',5'-dimethoxyacetophenone은 *C. perfringens* 및 *E. coli*에 대해서 각각 14.0 및 11.0 mm의 inhibition zone이 나타냈다. 2'-Hydroxy-4'-methoxyacetophenone의 경우에는 *E. coli*에 대해서만 11.0 mm의 inhibition zone을 나타내었다. 그러나 acetophenone, 2'-hydroxyacetophenone, 4'-hydroxyacetophenone, 2',4'-hydroxyacetophenone, 2',5'-hydroxyacetophenone은 5종 장내 미생물에 대해 항균활성을 나타내지 않았다. 2'-Hydroxy-5'-methoxyacetophenone 및 유도체 10종 중에 항균활성을 보인 6개 화합물은 acetophenone의 구조에서 작용기(functional group)와 관련성을 나타냈다. Acetophenone 구조에 methyl group이 존재하는 경우,

선택적으로 장내 유해균에 대해 항균활성이 나타났으나, hydroxy group이 존재하는 경우에는 장내 미생물 5종에 대해 아무런 생육억제활성을 나타내지 않았다.

각각의 장내 미생물 균주에 대한 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone 및 그의 유도체 10종의 최소저해농도(MIC)는 Table 4에 나타내었다. 2'-Methoxyacetophenone과 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone은 *C. perfringens* 및 *E. coli*에 대해 MIC를 측정 한 결과, 모든 균주에 대하여 5.0 mg/mL을 나타냈으며, 4'-methoxyacetophenone 및 2',5'-dimethoxyacetophenone은 *C. perfringens* 및 *E. coli*에 대해 각각 5.0 및 10.0 mg/mL의 MIC 값을 나타내었다. 또한 4'-methoxyacetophenone은 장내 유익균 *B. bifidum* (10.0 mg/mL)에 대해서도 MIC 값을 나타내었다. 2',4'-Dimethoxyacetophenone은 *C. perfringens*에 대해서만 10.0 mg/mL의 MIC 값을 나타냈으며, 2'-hydroxy-4'-methoxyacetophenone의 경우에는 *E. coli*에 대해서만 10.0 mg/mL의 MIC 값을 나타내었다. 그러나 acetophenone, 2'-hydroxyacetophenone, 4'-hydroxyacetophenone, 2',4'-hydroxyacetophenone 및 2',5'-hydroxyacetophenone은 5종 장내 미생물에 대해 10.0 mg/

Table 3 Antimicrobial activities of 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone and its derivatives against intestinal bacteria^a

Compound	Conc. (mg/disc)	Inhibition zone diameter (mm, mean ± SE) ^b				
		<i>B. bifidum</i>	<i>B. longum</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. casei</i>
Acetophenone		- ^c	-	-	-	-
2'-Hydroxyacetophenone		-	-	-	-	-
4'-Hydroxyacetophenone		-	-	-	-	-
2'-Methoxyacetophenone		-	-	17.3±2.24	14.3±0.71	-
4'-Methoxyacetophenone		-	11.5±0.61	16.1±1.35	13.6±0.61	-
2',4'-Dihydroxyacetophenone	10.0	-	-	-	-	-
2',5'-Dihydroxyacetophenone		-	-	-	-	-
2',4'-Dimethoxyacetophenone		-	-	11.0±0.36	-	-
2',5'-Dimethoxyacetophenone		-	-	14.0±1.36	11.0±0.51	-
2'-Hydroxy-4'-methoxyacetophenone		-	-	-	11.0±0.36	-
2'-Hydroxy-5'-methoxyacetophenone		-	-	12.1±0.83	12.0±0.73	-

^aCultured on Eggerth-Gagnon agar at 37°C for 2 days in an atmosphere of 80% N₂, 15% CO₂, 5% H₂

^bThe diameter of the paper discs (8 mm) is included. No inhibitions (<8 mm diameter)

^cNo activity

Table 4 Minimum inhibition concentration (MIC) values of 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone and its derivatives against intestinal bacteria^a

Compound	MIC (mg/mL) ^b				
	<i>B. bifidum</i>	<i>B. longum</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. casei</i>
Acetophenone	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0
2'-Hydroxyacetophenone	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0
4'-Hydroxyacetophenone	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0
2'-Methoxyacetophenone	>10.0	>10.0	5.0	5.0	>10.0
4'-Methoxyacetophenone	>10.0	10.0	5.0	10.0	>10.0
2',4'-Dihydroxyacetophenone	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0
2',5'-Dihydroxyacetophenone	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0
2',4'-Dimethoxyacetophenone	>10.0	>10.0	10.0	>10.0	>10.0
2',5'-Dimethoxyacetophenone	>10.0	>10.0	5.0	10.0	>10.0
2'-Hydroxy-4'-methoxyacetophenone	>10.0	>10.0	>10.0	10.0	>10.0
2'-Hydroxy-5'-methoxyacetophenone	>10.0	>10.0	5.0	5.0	>10.0

^aCultured on Eggerth-Gagnon agar at 37°C for 2 days in an atmosphere of 80% N₂, 15% CO₂, 5% H₂

^bMIC values <10.0 mg/mL

mL 농도에서의 혼탁도와 대조구의 혼탁도가 큰 차이가 없어서 MIC는 그 이상인 것으로 나타났다. 이를 통해 항균활성 검증 결과와 상응하는 결과를 나타내었으며, 다른 이전의 연구에서 화합물의 구조적 특성이 항균효과의 차이를 결정한다고 밝혔다 [27-31].

본 연구를 통해 산해박 정유에서 유래된 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone 및 그 유도체는 작은소피참진드기에 대해 살비활성을 나타내지 않았으나, 장내 유익균에는 영향을 미치지 않고 장내 유해균에 대해 선택적 항균 활성을 나타내는 것을 확인함으로써 정장작용 효과 및 선택적 항균제 개발 가능성을 보였다.

초 록

산해박 뿌리 정유 추출물에 대한 장내 미생물 5종(*Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *C. perfringens*, *E. coli* 및 *L. casei*)의 항균활성 및 작은소피참진드기(*Haemaphysalis longicornis*)의 살비활성을 검증하였다. 산해박 정유는 20.0 mg/disc에서 유해균 2종(*C. perfringens* 및 *E. coli*)에 대해 항균활성을 확인하였으나, 작은소피참진드기에는 살비활성을 나타내지 않았다. GC-MS 분석을 통해 얻어진 구성성분 중에 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone이 유해균 2종에 대해서 10.0 mg/disc에서 각각 12.1 및 12.0 mm의 inhibition zone이 나타난 것을 확인하였다. 이와 같은 결과로 인하여 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone 유도 화합물들의 구조에 따른 항균활성을 검증하고자 acetophenone 계열 유도체 10종(acetophenone, 2'-hydroxyacetophenone, 4'-hydroxyacetophenone, 2'-methoxyacetophenone, 4'-methoxyacetophenone, 2',4'-dihydroxyacetophenone, 2',5'-dihydroxyacetophenone, 2',4'-dimethoxyacetophenone, 2',5'-dimethoxyacetophenone 및 2'-hydroxy-4'-methoxyacetophenone)과 비교 실험한 결과, methyl group이 포함된 acetophenone 유도화합물에서는 유해균 2종에 대해 항균활성을 나타내었으며, 장내유익균에 대해서는 영향을 미치지 않았다. 그러나 hydroxyl group이 포함된 acetophenone 유도화합물에서는 장내 미생물에 대해 항균 활성이 전혀 나타내지 않았다. 이상의 결과를 통해 산해박 정유와 구성성분 2'-hydroxy-5'-methoxyacetophenone 및 그 유도체는 천연 장내 세균총 개선제로서의 가능성을 제시하였다.

Keywords 산해박 · 살비활성 · 작은소피참진드기 · 장내미생물 · 항균활성 · 2'-Hydroxy-5'-methoxyacetophenone

감사의 글 본 연구과제는 보건복지부 한국보건산업진흥원 방역연계 범부처 감염병 연구개발 사업(HG18C0055)의 지원으로 수행되었습니다.

References

1. Cummings JH, Macfarlane GT (1991) The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J Appl Bacteriol* 70: 443–459
2. Savage DC (1977) Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Ann Rev Microbiol* 31: 107–133
3. Lupp C, Finlay BB (2005) Intestinal microbiota. *Curr Biol* 15: 235–236
4. Michael B, Thomas C (2007) Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease. *J Nur* 137: 751S–755S

5. Choi CS, Chung JB, Chung SI, Yang YT (1984) Antibacterial activity of *Lactobacillus casei* isolated from a fermented milk against pathogenic enteric bacteria. *J Korea Soc Microbiol* 19(1): 41–47
6. Kim JD, Kim MY, Seo HJ, Kim BJ, Kim DH, Kim EO, Chung HY, Kong JY (2002) Combination of natural products removing ROS for growth promoting effects of the useful Enterobacteria, *Lacobacillus*. sp. *Korean J Microbiol Biotech* 30:270–281
7. Lee HS, Ahn YJ (1998) Growth-Inhibiting Effects of Cinnamomum cassia Bark-Derived Materials on Human Intestinal Bacteria. *J Agric Food Chem* 46(1): 8–12
8. Lee WK, Lee SM, Bae HS, Baek YJ (1999) Effect of *Bifidobacterium longum* HY8001 administration on human fecal bacterial enzymes and microflora. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 27(4): 267–272
9. Petersen A, Andersen JS, Kaewmak T, Somsiri T, Dalsgaard A (2002) Impact of integrated fish farming on antimicrobial resistance in a pond environment. *Appl Environ Microbiol* 68: 6036–6042
10. Menne B, Ebi KL (2006) Climate change and adaptation strategies for human health. WHO, Europe
11. Kim KH, Oh MD (2014) Severe fever with thrombocytopenia syndrome. *Korean J Med* 86: 271–276
12. Lee DK (2017) Ecological characteristics and current status of infectious disease vector in South Korea. *J Korean Med Assoc* 60(6): 458–467
13. Yang JY, Kim MG, Park JH, Hong ST, Lee HS (2014) Evaluation of benzaldehyde derivatives from *Morinda officinalis* as anti-mite agents with dual function as acaricide and mite indicator. *Sci Rep* 4: 7149
14. Song BG, Lee WG, Ju YR (2017) Geographical distribution of Ixodid ticks in the Republic of Korea, 2015. *Public Health Wkly Rep* 10:239–245
15. Sanyacharemkul S, Nantapap S, Sangrueng K, Nuntasana N, Pompimon W, Meepowpan P (2016) Antifungal of modified neolignans from *Mitrephora wangii* Hu. *Appl Biol Chem* 59(3): 385–389
16. Lee MJ, Lee SE, Kang MS, Park B, Lee SG, Lee HS (2018) Acaricidal and insecticidal properties of *Coriandrum sativum* oils and their major constituents extracted by three different methods against stored product pests. *Appl. Biol. Chem.* 61(5): 481–488
17. Dou J, Li P, Bi ZM, Zhou JL (2007) New C21 steroidal glycoside from *Cynanchum paniculatum*. *Chinese Chemical Lett* 18: 300–302
18. Sun Y, Liu Z, Wang J, Tian W, Zhou H, Zhu L, Zhang C (2008) Supercritical fluid extraction of paeonol from *Cynanchum paniculatum* (Bge.) Kitag. and subsequent isolation by high-speed counter-current chromatography coupled with high-performance liquid chromatography-photodiode array detector. *Sep Purif Technol* 64: 221–226
19. Kim MG, Yang JY, Lee HS (2013) Acaricidal potentials of active properties isolated from *Cynanchum paniculatum* and acaricidal changes by introducing functional radicals. *J Agric Food Chem* 61: 7568–7573
20. Lim MY, Jeon JH, Jeong EY, Lee CH, Lee HS (2007) Antimicrobial activity of 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone isolated from *Caesalpinia sappan* toward intestinal bacteria. *Food chemistry* 100(3): 1254–1258
21. Mann CM, Markham JL (1998) A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *J Appl Microbiol* 84: 538–554
22. Yamaguti N, Tipton VJ, Keegan HI, Toshioka S (1971) Ticks of Japan, Korea and the Ryukyu Islands. *Brigham Young Univ Sci Bull* 15:1–226
23. Stone BF, Haydock KP (1962) A method for measuring the acaricide-susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.). *Bull Entomol Res* 53(3): 563–578
24. Hsieh CL, Cheng CY, Tsai TH, Lin IH, Chang SY, Lin JG, Lao CJ, Tang NY (2006) Paeonol reduced cerebral infarction involving the superoxide anion and microglia activation in ischemia-reperfusion injured rats. *J Ethnopharmacol* 106: 208–215
25. Lee SK, Nam KA, Heo YH (2003) Cytotoxic activity and G2/M cell cycle arrest mediated by antifone, A phenanthroindolizidine alkaloid isolated from *Cynanchum paniculatum*. *Planta Med* 69: 21–25
26. Lau CH, Chan CM, Chan YW, Lau KM, Lau TW, Lam FC, Law WT, Che CT, Leung P C, Fung KP, Ho YY, Lau CBS (2007) Pharmacological

- investigations of the anti-diabetic effect of Cortex Mountan and its active component paeonol. *Phytomedicine* 14: 778–784
27. Jeong EY, Jeon JH, Kim HW, Kim MG, Lee HS (2009) Antimicrobial activity of leptospermon and its derivatives against human intestinal bacteria. *Food chemistry* 115(4): 1401–1404
 28. Yang JY, Lee HW, Lee HS (2015) Growth inhibitory activities of myrtanol and structural analogues from *Thymus tosevii* against intestinal bacteria. *Food Sci Biotechnol* 24(1): 169–174
 29. Jeong EY, Lee MJ, Kang MS, Lee HS (2018) Antimicrobial agents of 4-methoxysalicylaldehyde isolated from *Periploca sepium* oil against foodborne bacteria: structure–activity relationship. *Appl Biol Chem* 61(4): 397–402
 30. Iwasa K, Nanba H, Lee DU, Kang SL (1998) Structure-activity relationships of protoberberines having antimicrobial activity. *Planta Med* 64: 748–751
 31. Gyawali R, Ibrahim SA (2014) Natural products as antimicrobial agents. *Food Control* 46: 412–429