

바닷물과 조개에서 패혈증비브리오균 증식에 대한 천연물의 항균 효과

홍영진^{1†} · 류필열^{1†} · 김승용² · 염경민² · 박정업² · 조세진² ·
귀루이홍² · 트란더베치³ · 진 항⁴ · 김영란^{2,*}

¹전남대학교 의과대학, ²전남대학교 약학대학, ³베트남 과학기술원, ⁴운남 농업과학원

Antibacterial effects of natural products on *Vibrio vulnificus* growth in seawater and shellfish

Yeongjin Hong^{1†}, Phil Youl Ryu^{1†}, Seung Yong Kim², Kyung Min Yeom², Jung Up Park²,
Se Jin Jo², Rui Hong Guo², The Bach Tran³, Hang Jin⁴, and Young Ran Kim^{2,*}

¹Department of Microbiology, Chonnam National University Medical School

²College of Pharmacy, Chonnam National University

³Institute of Ecology and Biological Resources (IEBR), Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

⁴Institute of Medicinal Plants, Yunnan Academy of Agricultural Sciences (YAAS)

Abstract *Vibrio vulnificus*, an opportunistic pathogen, causes septicemia when raw shellfish and fish are eaten by patients with hepatic diseases or reduced immunity. In this study, we evaluated inhibitory effects of some natural products on *V. vulnificus* growth using 96-well microplate assay. We found that *Phyllanthus emblica* L., *Rosa chinensis* Jacq., *Rosa rugosa* Thub., and *Chukrasia tabularis* A. Juss. significantly inhibited *V. vulnificus* growth in Luria-Bertani (LB) broth. Among these four extracts, the inhibition diameter of *Chukrasia tabularis* was 16.00 ± 0.58 mm in disc diffusion assay on *V. vulnificus* growth. In addition, these four natural products protected HeLa cells from *V. vulnificus*-induced cytotoxicity. A cocktail containing these four products showed an inhibitory effect on *V. vulnificus* growth in seawater and shellfish by reducing its growth by 75.7% and 97%, respectively. These results suggest that these four natural products are safe and effective natural antimicrobial candidates to prevent *V. vulnificus* infection.

Keywords: *Vibrio vulnificus*, antibacterial activity, shellfish, natural products

서 론

병원성 비브리오균은 *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholera*, *Vibrio vulnificus* 등이 대표적이며, 그 중 *V. vulnificus*는 전 세계적으로 해양 환경뿐만 아니라 어패류에도 서식하며 식품 유래 병원성 미생물 중 가장 치사율이 높은 것으로 알려져 있다(Park 등, 2003; Randa 등, 2004). 비브리오패혈증은 과음으로 인한 간질환 환자, 당뇨병, 만성 신부전증 환자 또는 면역력이 억제된 사람이 익지않은 어패류에 서식하는 패혈증비브리오균에 의해 감염되어 결과적으로는 50%의 사망률을 갖는다고 보고되어 있다(Brauns 등, 1991; Chong 등, 1982). 이외에도 상처 부위를 통한 세균의 유입으로 인해 비브리오패혈증이 유발된다(Strom 등, 2000). *V. vulnificus*는 세 가지 주요 외독소로 RTX 독소(RtxA1), hemolysin

(VvhA) 및 elastolytic protease (VvpE)를 가지고 있다(Kim 등, 2007; Miyoshi 등, 2012). RtxA1 독소는 패혈증비브리오균의 세포 독성에서 가장 중요한 역할을 하며 칼슘 매개 미토콘드리아 기능장애를 통해 세포의 괴사를 일으키고, hemolysin인 VvhA는 세포막에 구멍을 만들어 세포사멸을 유도한다고 보고 되어있다(Kim 등, 2008; Kim 등, 2013). 또한 metalloprotease인 VvpE는 패혈증비브리오균 감염의 병리를 담당한다고 알려져 있다(Kim 등, 2007; Miyoshi 등, 2012). 어패류를 날것으로 즐기는 우리나라, 일본, 동남아시아에서는 비브리오균에 의한 질병이 많이 발생하며 국내에서의 비브리오패혈증은 전남에서 1979년에 최초로 발병하였다(Chung 등, 2005).

또한, 패혈증비브리오균의 감염은 특정 범위 내에서 바닷물의 온도가 증가함에 따라 거의 선형적으로 증가하는 경향을 나타내며, 온실가스와 에어로졸 배출에 의한 지구온난화는 잠재적으로 바닷물의 수온과 염분을 높여 패혈증비브리오균의 감염 기회를 증가시킨다(Chu 등, 2011). 최근 보고에 따르면 비브리오패혈증 환자는 지난 3년간 151명이 발생하였으며, 그 중 56명이 사망하여 치사율이 37%나 되었다(Jung 등, 2008). 특히 여름철 생선회 소비가 증가하는 우리나라에서는 2001년 41건, 2002년 60건, 2003년 80건, 2004년 57건, 2005년 57건, 2006년 88건, 2007년 58건으로 매년 비브리오패혈증 환자가 꾸준히 발생하고 있다. 오늘날 생활 수준의 향상으로 식품 위생 및 안전성이 중요시됨에 따라 미생물로부터 식품을 안전하게 보존할 수 있는 합성 물질이 사

[†]These two authors contributed equally to this work as first author.

*Corresponding author: Young Ran Kim, PhD, Professor, College of Pharmacy and Research Institute of Drug Development, Chonnam National University, Gwangju 61186, Republic of Korea
Tel: +82-62-530-2923
Fax: +82-62-530-2949
E-mail: kimyr@jnu.ac.kr
Received October 28, 2019; revised February 4, 2020; accepted February 4, 2020

용되고 있다. 그러나 수족관의 소독에 사용되는 차아염소산나트륨과 같은 염소계 소독제 또는 이산화염소와 같은 화학 합성 소독제의 지속적인 사용은 인체에 남아 독성을 나타낼 위험성이 있다. 그러므로 인체에 해롭지 않으며 비브리오균에 대한 강력한 살균력을 가지고 있는 안전한 천연물 소독제의 개발이 필요한 실정이다.

Phyllanthus emblica L., *Rosa chinensis Jacq.*, *Rosa rugosa Thunb.*, *Chukrasia tabularis A. Juss.* 총 4가지 천연물은 중국에서 자생하는 식물로 알려져 있다. 4가지 천연물에 대한 최근 연구에 따르면, *Phyllanthus emblica L.*는 폐 보호 효과, 항암 효과, 면역 증강, 탈모방지 등의 효능이 알려져 있으며(Jang 등, 2018; Kim 등, 2017; Ngamkitidechakul 등, 2010; Wang 등, 2017) *Rosa chinensis Jacq.*는 미백 효능 및 항산화 효과가 보고되었다(Kim 2017; Luo 등, 2019). 또한 *Rosa rugosa Thunb.*는 항염증, 항당뇨, 스트레스 완화, 항균 효과 등이 알려져 있으며(Liu 등, 2018; Na 등, 2016; Olech 등, 2012; Tursun 등, 2016), *Chukrasia tabularis A. Juss.*는 항균, 항산화, 항염증 효능에 대해 보고되어 있다(Kaur 등, 2008; Nagalakshmi 등, 2003; Ogbale 등, 2016). 따라서 본 연구에서는 특히 여름철 해산물의 수족관 저장으로 인해 일어나는 패혈증비브리오균의 감염을 줄이기 위해 4가지 천연물의 항균 효과를 평가하였다.

재료 및 방법

사용 균주의 배양 및 배지

*Vibrio vulnificus (V. vulnificus)*는 표준 균주인 MO6-24/O (Reddy 등, 1992) 야생형 균주를 사용하였다. 균주는 20% glycerol (Sigma-Aldrich, MO, USA)을 사용하여 -70°C에 보관하였으며, 균의 배양에 사용된 배지는 Luria-bertani (LB) broth, thiosulfate citrate bile salts sucrose (TCBS), Bacto agar broth로 Difco Laboratories (Detroit, MI, USA)에서 구입하여 사용하였다. 사용 균주는 LB agar plates에 배양 후 single colony를 액체 배지에 접종하여 37°C incubator에서 4×g으로 24시간 동안 배양한 다음 새로운 배지에 1/1,000로 접종하여 log phase 상태로 만들어 사용하였다.

천연물 추출물의 제조

다양한 천연물의 메탄올 추출물은 IBMRC (International Biological Material Research Center, Daejeon, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 500종 이상의 천연물 메탄올 추출물을 스크리닝 하여 패혈증비브리오균에 대하여 항균효과가 우수한 추출물 4종을 선별하였다. 본 실험에 사용된 *Phyllanthus emblica L.* (PEM, CN), *Rosa chinensis Jacq.* (RCM, CN), *Rosa rugosa Thunb.* (RRM, CN), *Chukrasia tabularis A. Juss.* (CTM, CN) 추출물은 메탄올을 용매로 하여 45°C에서 3일 동안 추출하였다. 추출물을 하루에 10회씩 sonication 후 상온에 2시간 정치하는 과정을 10회 반복하였으며 무형광 슝을 이용하여 여과 후 Rotary Evaporator (N-1000SWD, EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여 45°C에서 농축하였다. 그 후 동결 건조기(Biotron corporation, Modul spin 40, Bucheon, Korea)를 이용하여 24시간 동안 건조하였다. 4가지 추출물은 메탄올과 인산완충식염수(DPBS, Welgene, Gyeongsan, Korea)를 1:9의 비율로 혼합한 용매로 농도에 맞게 희석하여 사용하였으며 실험에 사용 될 때까지 4°C에 보관하였다. 바닷물과 조개는 광주광역시 북구 우산동 시장에서 구입하여 사용하였다.

패혈증비브리오균에 대한 항균 실험

Log phase 상태의 패혈증비브리오 균주를 96-well microplates (SPL life sciences Co., Pocheon, Korea)에 90 µL씩 접종하였다. 천연물 메탄올 추출물의 농도는 100, 200 µg/mL로 사용하였으며, 음성대조군으로는 추출물 대신 LB broth 10 µL를 첨가하였다. 37°C incubator에서 24시간 배양 한 후, ELISA microplate reader (ELx808, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA)를 사용하여 630 nm에서 흡광도(Abs)를 측정하여 아래와 같이 저해 효과를 계산하였다.

$$\text{Inhibition \%} = \frac{\text{Abs of control} - \text{Abs of 천연물}}{\text{Abs of control}} \times 100$$

페이퍼디스크 확산법

페이퍼디스크 확산법은 Kirby-Bauer 디스크 확산 분석을 참고하여 확인하였다(Jo 등, 2018). 천연물의 항균 활성을 확인하기 위해 패혈증비브리오균을 37°C incubator에서 4×g으로 24시간 동안 액체 배양한 후 LB agar plates에 100 µL를 분주하고 멸균된 면봉을 이용하여 균일하게 도말 하였다. 균이 도말된 agar plates 위에 멸균된 페이퍼디스크(직경 6 mm)를 올린 후 천연물 메탄올 추출물을 200, 400 µg/disc의 농도로 페이퍼디스크 위에 분주하여 37°C incubator에서 24시간 배양 후 억제 환의 직경을 측정하였다. 대조군으로는 10% 에탄올(EtOH)을 사용하였다.

HeLa 세포 배양

HeLa 인간 자궁경부상피세포는 한국세포주은행(Korea Cell Line Bank, Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. HeLa 세포는 1% penicillin-streptomycin (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA)과 10% fetal bovine serum (FBS; ThermoFisher Scientific)을 첨가한 Dulbecco Modified Eagle's medium (DMEM, Welgene) 배지를 이용하여 5% CO₂가 포함된 37°C incubator에서 배양하였다.

세포 독성 평가

HeLa 세포를 96-well microplates에 1×10⁴ cells/well로 분주하고 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 세포를 serum-free DMEM으로 세척 한 후, 4가지 천연물 메탄올 추출물의 농도를 100, 200 µg/mL로 24시간 동안 처리하였다. HeLa 세포에 대한 세포 독성을 평가하기 위해 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxy-methoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS, Promega, Madison, WI, USA)시약 20 µL를 처리하고 4시간 이내에 ELISA microplate reader를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다 (Kim 등, 2003).

Lactate dehydrogenase (LDH) assay

HeLa 세포를 48-well microplates (SPL life sciences Co.)에 5×10⁴ cells/well로 분주한 후 24시간 배양하였다. 세포를 serum-free DMEM으로 세척하고 새로운 DMEM으로 교체한 후 4가지 천연물 메탄올 추출물을 200 µg/mL의 농도로 처리하였다. 1시간 후 multiplicity of infection (MOI) 100으로 패혈증비브리오균을 처리하고 90분 동안 배양하였다. 젯산탈수소효소(LDH)의 방출은 CytoTox96™ non-radioactive cytotoxic assay kit (Promega)를 사용하여 제조자의 프로토콜을 참조하여 측정하였으며 triton 처리를 기준(100%)으로 비교하였다. 흡광도는 ELISA microplate reader를 사용하여 490 nm에서 측정하였다.

바닷물과 조개에서의 패혈증비브리오균에 대한 항균 활성

24시간 액체 배양한 패혈증비브리오균을 10⁷ CFU/mL로 바닷물과 조개에 1시간 전처리 후 각각의 수족관에 천연물 메탄을 추출물 혼합액을 200 µg/mL로 처리한 후 37°C incubator에서 24시간 배양 하였다. 바닷물과 조개를 각각 분쇄기로 파쇄 하고 DPBS에 10², 10³, 10⁴, 10⁵배 희석하여 TCBS agar plates에 100 µL씩 도말 하였다. TCBS agar plates는 37°C incubator에서 24시간 동안 배양 후 colony 수를 세어 항균 효과를 확인하였다.

통계분석

모든 실험은 3회 반복 실시하였으며, 실험결과에 대한 통계는 Graph Pad Prism ver. 5.01 (Graph Pad Software, San Diego, CA, USA) 프로그램을 이용하여 일원배치분산분석(one-way ANOVA)과 Tukey's post hoc test를 실시하여 p<0.05 유의 수준에서 평균(mean)±표준오차(standard error of the mean, SEM)으로 통계처리 하였다.

결과 및 고찰

액체 배양과 디스크 확산법을 이용한 패혈증비브리오균 성장 억제 효과

패혈증비브리오균의 성장 억제 효과는 96-well microplates를 사용하여 확인하였다. 4가지 천연물 메탄을 추출물과 균을 24시간 처리한 후 630 nm에서 흡광도를 측정하여 항균 활성을 평가하였다. 그 결과 PEM, RCM, RRM, CTM 추출물 모두 100, 200 µg/mL 농도에서 패혈증비브리오균의 성장을 농도 의존적으로 억제하였다(Fig. 1). PEM, RCM, RRM, CTM은 200 µg/mL의 농도에서 80% 이상의 억제 효과를 나타내는 것으로 보아 4가지 천연물 메탄을 추출물 모두 항균효과가 뛰어난다는 것을 알 수 있었다. 또한 페이퍼디스크 확산법을 이용한 항균 활성의 평가는 4가지 천연물 메탄을 추출물을 20, 40 mg/disc의 농도로 처리한 후 24시간 동안 배양하여 억제환의 직경을 측정하였다(Fig. 2). 그 결과 4가지 천연물 메탄을 추출물 모두 패혈증비브리오균의 성장을 억제하였으며, 억제환의 크기는 PEM (14.33±0.67), RCM (14.00±0.58), RRM (14.00±0.87), CTM (16.00±0.58 mm)으로 나타났다. 특히 CTM 추출물은 40 mg/disc 농도에서 패혈증비브

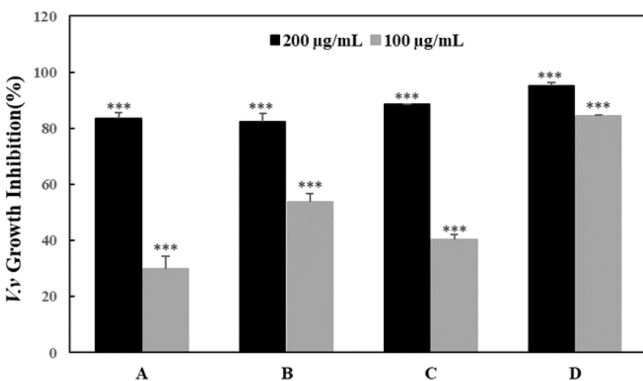
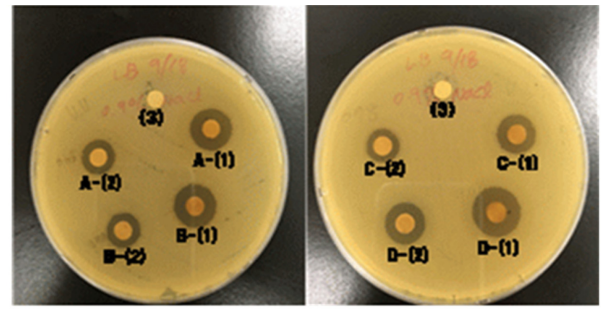


Fig. 1. Effects of natural products on *V. vulnificus* growth by microplate dilution assay. *V. vulnificus* was treated with natural product in 96-well microplates and then incubated for 24 h. Absorbance was measured by ELISA reader at 490 nm. ***p<0.001 compared with untreated group. A: *Phyllanthus emblica* L. B: *Rosa chinensis* Jacq. C: *Rosa rugosa* Thunb. D: *Chukrasia tabularis* A. Juss.



Botanical name	Growth Inhibition Zone (mm)	
	40 mg/disc -(1)	20 mg/disc -(2)
A	14.33±0.67	12.73±0.37
B	14.00±0.58	12.00±0.58
C	14.00±0.87	11.33±0.88
D	16.00±0.58	13.67±0.67
EtOH (10%)	ND ¹⁾	ND ¹⁾

Fig. 2. Antibacterial activity of natural products by disc diffusion assay. *V. vulnificus* culture solution was spread on LB agar plates and discs were placed on the plates. The natural products were dropped and incubated in a 37°C incubator for 24 h. Then, the diameter of the clear zone including the disc was measured. A: *Phyllanthus emblica* L., B: *Rosa chinensis* Jacq., C: *Rosa rugosa* Thunb., D: *Chukrasia tabularis* A. Juss.; (1): 40 mg/disc, (2): 20 mg/disc (3): EtOH (10%) Not detected¹⁾; Values are mean±SEM.

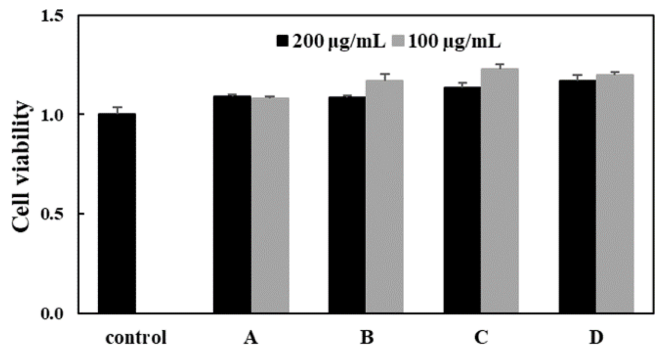


Fig. 3. Safety test of natural products to HeLa cells by MTS assay. HeLa cells were cultured in 48-well microplates overnight and washed with serum-free DMEM. The cells were treated with natural products at final concentrations of 100, 200 µg/mL for 24 h and further incubated with MTS in 37°C incubator for 4 h. Absorbance was measured by ELISA reader at 490 nm. A: *Phyllanthus emblica* L. B: *Rosa chinensis* Jacq. C: *Rosa rugosa* Thunb. D: *Chukrasia tabularis* A. Juss.

오균의 성장 억제 효과가 가장 뛰어났다(Fig. 2). 위의 결과를 종합하여 볼 때, 4가지 천연물 메탄을 추출물은 패혈증비브리오균에 대한 항균 활성이 우수하며, 그 중 CTM의 항균 효과가 가장 좋았다.

4가지 천연물의 MTS assay를 이용한 안전성 평가

HeLa 세포에 대한 4가지 천연물 메탄을 추출물의 안전성을 평가하기 위해 농도별로 24시간 동안 처리한 후 MTS assay를 수행하였다. 4가지 천연물 메탄을 추출물은 100, 200 µg/mL의 농도에서 HeLa 세포에 대한 세포독성을 나타내지 않았다(Fig. 3). 따

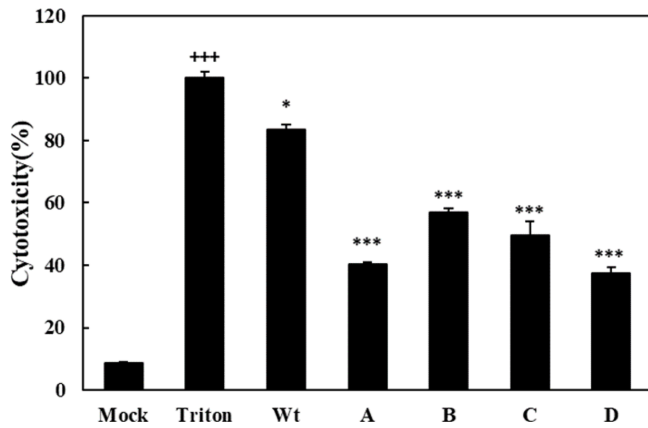


Fig. 4. Effects of natural products on *V. vulnificus*-induced cytotoxicity to HeLa cells by LDH assay. HeLa cells cultured in 48-well microplates overnight were washed with serum-free DMEM. Natural products (10 μ L) were pretreated for 1 h and then were infected with *V. vulnificus* at an MOI of 100. After 90 min, the supernatants were assayed as a cytotoxicity parameter. The absorbance was measured with ELISA reader at 490 nm. The maximum amount of releasable LDH enzyme activity (100%) was determined by lysing the cells with 0.1% of triton. A: *Phyllanthus emblica* L. B: *Rosa chinensis* Jacq. C: *Rosa rugosa* Thunb. D: *Chukrasia tabularis* A. Juss. $^{***}p<0.001$, $^{*}p<0.05$, $^{***}p<0.001$ compared with a triton-treated group.

라서 세포 독성을 나타내지 않으며 200 μ g/mL의 농도에서 천연물 메탄올 추출물들이 뛰어난 항균 효과를 나타낸 결과를 종합하여 LDH assay를 위한 천연물의 농도를 200 μ g/mL으로 설정하여 실험을 수행하였다.

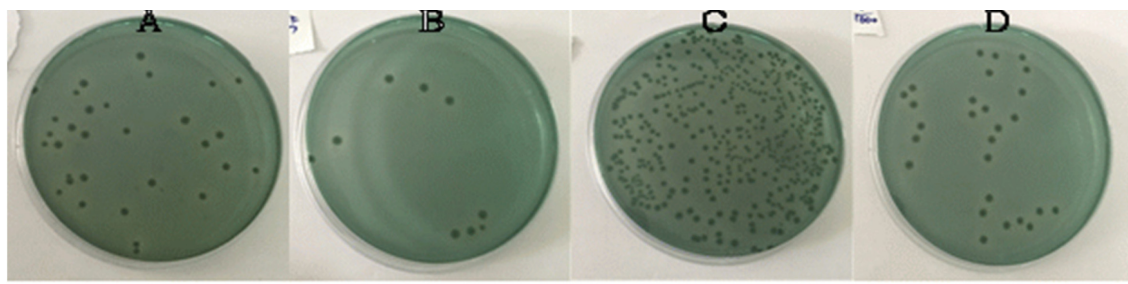
LDH assay를 이용한 패혈증비브리오균의 세포막 손상에 대한 4가지 천연물의 억제 효과

패혈증비브리오균의 세포막 손상에 대한 4가지 천연물 메탄올 추출물의 억제효과를 확인하기 위해 LDH assay를 수행하였다. HeLa 세포에 패혈증비브리오균을 처리한 경우 균이 분비한 RTX

독소에 의해 HeLa 세포의 세포막이 손상되거나 세포 사멸 결과 LDH가 배양 배지로 방출되었다. 그러나 4가지 천연물 메탄올 추출물을 각각 전처리 한 결과 200 μ g/mL의 농도에서 PEM (59.73%), RCM (42.97%), RRM (50.43%), CTM (62.52%)로 LDH의 방출을 억제하는 효과를 나타내었다(Fig. 4). 이와 같은 결과에 따라 4가지 천연물 메탄올 추출물은 패혈증비브리오균의 HeLa 세포에 대한 세포막 손상을 현저하게 억제하는 것을 확인할 수 있었다.

4가지 천연물의 바닷물과 조개에서의 패혈증비브리오균 성장에 대한 억제 효과

위의 실험 결과를 종합하여 볼 때, 4가지 천연물 메탄올 추출물은 모두 패혈증비브리오균에 대한 항균 활성 및 균의 세포막 손상에 대한 억제효과가 우수하였다. 이를 바탕으로 바닷물과 조개에 패혈증비브리오균을 감염시킨 수족관 모델에서 4가지 천연물 메탄올 추출물 혼합액의 항균 효능을 평가하였다. 바닷물과 조개에 패혈증비브리오균을 1시간 전처리 후, 추출물 혼합액을 200 μ g/mL 농도로 처리하여 24시간 배양하였다. 바닷물과 조개를 각각 파쇄 후 TCBS agar plates에 100 μ L씩 도말 하고 배양 한 다음 colony를 세어 균의 수를 확인하였다. 바닷물과 조개를 100 배 희석하여 도말 한 plates에서 추출물 혼합액을 처리하지 않은 바닷물은 평균 33개, 조개는 445개의 colony가 확인되었다. 추출물 혼합액을 처리한 결과, 바닷물과 조개에서는 8.33개, 25개의 colony가 생성되었다. 그 결과 바닷물에서 colony 감소율은 75.7%, 조개에서는 97%로 뚜렷한 억제효과가 확인되었다(Fig. 5). 4가지 추출물 중 PEM 속에 포함된 단일 성분인 제아틴과 갈릭산, RRM 속 벤질 알콜 및 페놀성 화합물, CTM에 포함된 사포닌 계열 성분인 트리테르페노이드 및 정유에서 항균 활성이 보고 되었다 (Jang 등, 2018; Kaur 등, 2008; Kim 등, 2017; Liu 등, 2018; Na 등, 2016; Ngamkitidechakul 등, 2010; Ogbole 등, 2016). 그러나 RCM은 단일 성분에 대한 항균 활성이 보고된 것이 없었다. 따라서 본 연구에서 사용된 천연물 추출물 혼합액은 바닷물과 조개에서 패혈증비브리오균의 성장을 억제하였으며, 이상의 결과는 여름철 바닷물과 해산물에서 생존하는 패혈증비브리오균에 대한 천연 소독제로의 응용 가능성을 시사한다.



	Sea water	Sea shell	<i>V. vulnificus</i>	Mixed cocktail	The number of colony (Avg)
A	+	-	+	-	33±2.52
B	+	-	+	+	8.33±0.67
C	-	+	+	-	445.00±16.70
D	-	+	+	+	25.33±1.67

Fig. 5. Effects of natural products on *V. vulnificus* growth in seawater and shellfish. Shellfishes were placed in aquarium with seawater and *V. vulnificus* was injected with 10^7 CFU/mL. After 1 h, a mixed cocktail of the 4 natural products (200 μ g/mL) was added to each aquarium, followed by incubation at 37°C for 24 h.

요 약

본 연구에서는 패혈증비브리오균에 대한 PEM, RCM, RRM과 CTM 메탄을 추출물의 항균 활성을 평가하였다. 96-well microplates를 사용한 액체 배양법 실험 결과 4가지 천연물은 200 µg/mL 농도에서 80%이상의 항균 효과를 나타내었다. 또한 페이퍼 디스크 확산법을 사용하여 항균 활성을 평가한 결과 4가지 천연물은 20, 40 mg/disc의 농도에서 농도 의존적으로 패혈증비브리오균의 성장을 억제하였다. 다음으로 4가지 천연물의 안전성을 평가하기 위해 MTS assay를 통해 HeLa 세포에 대한 독성을 확인한 결과 100, 200 µg/mL의 농도에서 세포 독성을 나타내지 않았다. 또한 LDH assay를 사용하여 패혈증비브리오균의 HeLa 세포에 대한 세포막 손상 억제 효과를 평가한 결과 PEM, RCM, RRM과 CTM 메탄을 추출물은 200 µg/mL 농도에서 세포막 손상 억제 효과를 나타내었다. 다음으로 바닷물과 조개를 사용한 수족관 모델에서 4가지 천연물의 메탄을 추출물 혼합액 200 µg/mL 농도는 colony 생성을 현저하게 감소시켜 패혈증비브리오균의 증식을 억제 하는 결과를 나타내었다. 이와 같은 결과를 통해 4가지 천연물의 메탄을 추출물은 바닷물과 해산물에 존재하는 패혈증비브리오균에 대해 뛰어난 항균효과를 나타내면서 인체에는 무해한 천연소독제로 응용할 수 있을 것으로 판단된다.

References

- Brauns LA, Hudson MC, Oliver JD. Use of the polymerase chain reaction in detection of culturable and nonculturable *Vibrio vulnificus* cells. *Appl Environ. Microbiol.* 57: 2951-2655 (1991)
- Chong YS, Park MY, Lee SY, Kim KS, Lee SI. *Vibrio vulnificus* septicemia in a patient with liver cirrhosis. *Yonsei Med. J.* 23: 146-152 (1982)
- Chu CS, Do YH, Kim YK, Saito YH, Lee SD, Park HM, Lee JK. Mathematical modeling of *Vibrio vulnificus* infection in Korea and the influence of global warming. *Osong Public Health Res. Perspect.* 2: 51-58 (2011)
- Chung YH, Cho CH, Lee SW, Lim CH. Influence of septic in *Vibrio vulnificus* from phytic acid. *J. Agri. Sci.* 32: 71-80 (2005)
- Jang SH, Kim JM, Wee JH, Kim JT, Choi WH. Effects of amla (*Phyllanthus emblica* L.) extract on hair growth promoting. *Korean Soc. Biotechnol. Bioengineer. J.* 33: 1-7 (2018)
- Jo SJ, Park MJ, Guo RH, Park JU, Yang JY, Lee SS, Kim YR. Antioxidant, antibacterial, antifungal, and anti-inflammatory effects of 15 tree essential oils. *Korean J. Food Sci. Technol.* 50: 535-542 (2018)
- Jung YS, Jung SI, Kang SJ, Jun CH, Park KH, Shin JH, Chung EK. Clinical manifestations and prognostic factors in *Vibrio vulnificus* septicemia. *Korean J. Intern. Med.* 74: 288-295 (2008)
- Kaur R, Arora S, Singh B. Antioxidant activity of the phenol rich fractions of leaves of *Chukrasia tabularis* A. Juss. *Bioresour. Technol.* 99: 7692-7698 (2008)
- Kim BS. Composition for skin-whitener containing extract of China rose. Korea Patent 0017082 (2017)
- Kim YR, Lee SE, Kang IC, Nam KI, Choy HE, Rhee JH. A bacterial RTX toxin causes programmed necrotic cell death through calcium-mediated mitochondrial dysfunction. *J. Infect. Dis.* 207: 1406-1415 (2013)
- Kim YR, Lee SE, Kim CM, Kim SY, Shin EK, Shin DH, Chung SS, Choy HE, Fox AP, Hillman JD, Handfield M, Rhee JH. Characterization and pathogenic significance of *Vibrio vulnificus* antigens preferentially expressed in septicemic patients. *Infect. Immun.* 71: 5461-5471 (2003)
- Kim YR, Lee SE, Kook H, Yeom JA, Na HS, Kim SY, Chung SS, Choy HE, Rhee JH. *Vibrio vulnificus* RTX toxin kills host cells only after contact of the bacteria with host cells. *Cell Microbiol.* 10: 848-862 (2008)
- Kim CM, Park RY, Chun HJ, Kim SY, Rhee JH, Shin SH. *Vibrio vulnificus* metalloprotease VvpE is essentially required for swarming. *FEMS Microbiol. Lett.* 269: 170-179 (2007)
- Kim JH, Shim TJ, Min SY. Food composition with the fruit extract of *Phyllanthus emblica* Linn. and the leaf extract of *Psidium guajava* for the improvement of immunity. Korea Patent 1722448 (2017)
- Liu L, Yaseen M, Tang D, Ye J, Aisa HA, Xin X. Polyphenol-enriched extract of *Rosa rugosa* Thunb regulates lipid metabolism in diabetic rats by activation of AMPK pathway. *Biomed. Pharmacother.* 100: 29-35 (2018)
- Luo Y, Wang H, Li X, He T, Wang D, Wang W, Jia W, Lin Z, Chen S. One injection to profile the chemical composition and dual-antioxidation activities of *Rosa chinensis* Jacq. *J. Chromatogr A.* 18: 460663 (2019)
- Miyoshi SI, Wang JY, Katoh KZ, Senoh MT, Mizuno TK, Maehara YK. An extracellular serine protease produced by *Vibrio vulnificus* NCIMB 2137, a metalloprotease-gene negative strain isolated from a diseased eel. *World J. Microb. Biot.* 28: 1633-1639 (2012)
- Na JR, Oh DR, Han S, Kim YJ, Choi E, Bae D, Oh DH, Lee YH, Kim S, Jun W. Antistress effects of *Rosa rugosa* Thunb. on total sleep deprivation-induced anxiety-like behavior and cognitive dysfunction in Rat: possible mechanism of action of 5-HT6 receptor antagonist. *J. Med. Food.* 19: 870-881 (2016)
- Nagalakshmi MA, Thangadurai D, Pullaiah T. In vitro antimicrobial efficacy of leaf essential oils of *Chukrasia tabularis* Adr Juss and *Melia dubia* Cav (Meliaceae). *Phytother. Res.* 17: 414-416 (2003)
- Ngamkitdechakul C, Jaijoy K, Hansakul P, Soonthornchareonnon N, Sireeratawong S. Antitumor effects of *Phyllanthus emblica* L.: induction of cancer cell apoptosis and inhibition of in vivo tumor promotion and in vitro invasion of human cancer cells. *Phytother. Res.* 24: 1405-1413 (2010)
- Ogbole OO, Saka YA, Fasina PS, Fadare AA, Ajaiyeoba EO. Antimalarial and cytotoxic properties of *Chukrasia tabularis* A. Juss and *Tourraea vogelii* Hook F. *Ex. Benth. Parasitol. Res.* 115: 1667-1674 (2016)
- Olech M, Nowak R, Los R, Rzymowska J, Malm A, Chrusciel K. Biological activity and composition of teas and tinctures prepared from *Rosa rugosa* Thunb. *Central European J. Bio.* 7: 172-182 (2012)
- Park KN, Lee SH. Antimicrobial activity of pine needle extract and horseradish on the growth of *Vibrio*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 185-190 (2003)
- Randa MA, Polz MF, Lim E. Effects of temperature and salinity on *Vibrio vulnificus* population dynamics as assessed by quantitative PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 5469-5476 (2004)
- Reddy GP, Hayat U, Abeygunawardana C, Fox C, Wright AC, Maneval DR, Bush CA, Morris JG. Purification and determination of the structure of capsular polysaccharide of *Vibrio vulnificus* MO6-24. *J. Bacteriol.* 174: 2620-2630 (1992)
- Strom MS, Paranjpye RN. Epidemiology and pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *Microbes. infect.* 2: 177-188 (2000)
- Tursun X, Zhao Y, Alat Z, Xin X, Tursun A, Abdulla R, AkberAisa H. Anti-inflammatory effect of *Rosa rugosa* flower extract in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages. *Biomol. Ther.* 24: 184-190 (2016)
- Wang CC, Yuan JR, Wang CF, Yang N, Chen J, Liu D, Song J, Feng L, Tan XB, Jia XB. Anti-inflammatory effects of *Phyllanthus emblica* L on benzopyrene-induced precancerous lung lesion by regulating the IL-1beta/miR-101/Lin28B signaling pathway. *Integr. Cancer Ther.* 16: 505-515 (2017)