

울금색소 추출물의 항균성과 물질분리 동정

한신영, 최석철

부산대학교 생활환경대학 의류학과

I. 서론

*Curcuma*는 라틴어인 Kourkoum로부터 유래된 말로 생강과에 속하며 열대 지역에서 재배된다. 뿌리는 독특한 맛과 색을 가진 향신료이며 직사광선으로부터 피부를 보호하기 위해서 사용하였다. 울금은 다년생 식물로 키가 60~100cm에 짧은 줄기와 타원형의 잎사귀를 가진 식물이다. 울금의 활성성분인 curcumin [(E,E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-one]은 tumeric의 뿌리의 1.5~2%의 무게에 해당된다. 이것은 콜레스테롤 수치를 감소시키며 발암 물질을 억제시키는 항암성, 항돌연변이성, 항종양성, 항산화성 등의 약학적으로 유용한 성분을 가지고 있다. 울금의 기능성에 관한 연구가 많이 보고되고 있는 가운데 본 연구에서는 울금으로부터 분리한 물질들의 항균활성 실험을 통하여 항균성에 영향을 주는 물질을 분리 동정하고자 한다.

II. 재료 및 실험방법

1. 재료

부산광역시 약재상에서 건조시킨 중국산 울금을 구입하여 분쇄하여 사용하였다.

2. 울금 추출물의 제조 및 분리 동정

2-1. 추출 및 분획

분쇄한 울금 200g에 CH_2Cl_2 를 첨가하여 shaking하여 얻은 CH_2Cl_2 추출물 Hexan : MeOH (1:1) 혼합용매를 이용하여 녹인 다음 분액깔때기에 부어 n-Hexan층과 MeOH층으로 분리하였고, MeOH분획으로부터 compound I, II, III을 얻었다.

2-2. 항균성 물질의 분리

각 용매에 대한 울금 분획물의 *E. coli*와 *S. aureus*에 대한 항균활성이 가장 높게 나타난 methanol fr.을 silica gel에 흡착시켜 dichloromethane로 충분히 현탁시킨 후 고정된 column chromatography를 실시하여 subfraction을 얻었다. 각 subfraction들의 항균 활성 물질을 확인하기 위하여 CH_2Cl_2 : MeOH (30 : 1) 혼합용매로 TLC를 수행하여 3개의 화합물을 분리하여 compound I, II, III를 얻었다.

2-3. NMR 분석과 동정

Methanol fraction으로부터 분리한 compound I, II, III의 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum을 측정하였고, 항균성에 관여하는 물질을 동정하였다.

3. 항균성 시험

3-1. 시험균

Escherichia coli KCTC 1039(*E. coli*)와 *Staphylococcus aureus* KCTC 1928(*S. aureus*)를 사용하였다.

3-2. 배지

균주는 37°C에서 12시간 배양하고 50% glycerol을 1 : 1로 혼합하여 -75°C에서 보관하면서

사용하였고, Nutrient 액체배지 및 고체배지를 항균실험용 배지로 사용하였다.

3-3. 항균력 시험

액체배지희석법으로 항균력을 측정하였다.

4. 통계처리

대조군과 각 시료로부터 Duncans's multiple range test를 이용하여 통계분석하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 울금추출물 및 분획물의 항균성

울금의 각 용매별 분획물의 항균활성을 알아보기 위해 *E. coli*와 *S. aureus*에 대한 성장억제 효과를 관찰한 결과는 Table 1과 Table 2와 같다. 각 분획물들의 농도가 높아질수록 OD값이 낮아졌고, dichloromethane ext., hexane fr.과 methanol fr.가운데 methanol fr.이 *E. coli*에 대해 64%, *S. aureus*에 대해 71%로 가장 높은 성장억제효과를 나타내었다.

Table 1. Antimicrobial activity of fractionated samples from tumeric on the growth of *E. coli*

Sample	OD ₆₀₀		
	0.25% ¹⁾	0.5%	1.0%
Control	0.894±0.02 ^a	0.894±0.02 ^b	0.894±0.02 ^b
CH ₂ Cl ₂ ext. ²⁾	0.905±0.013 (-) ^a	0.586±0.008 (34) ^d	0.425±0.016 (52) ^d
Hexane fr. ³⁾	0.895±0.006 (-) ^a	0.708±0.025 (21) ^a	0.551±0.007 (38) ^a
MeOH fr.	0.770±0.026 (14) ^b	0.505±0.004 (44) ^e	0.325±0.018 (64) ^e
Residues'MeOH ext.	0.909±0.011 (-) ^a	0.677±0.019 (24) ^c	0.518±0.018 (42) ^c

¹⁾Concentration of extract

²⁾extract

³⁾fraction

Parantheses indicate the inhibition rates(%)

Means with the different letters in the same column are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range test

Table 2. Antimicrobial activity of fractionated samples from tumeric on the growth of *S. aureus*

Sample	OD ₆₀₀		
	0.25% ¹⁾	0.5%	1.0%
Control	0.589±0.007 ^b	0.589±0.007 ^b	0.589±0.007 ^b
CH ₂ Cl ₂ ext. ²⁾	0.572±0.006 (3) ^d	0.521±0.003 (11) ^d	0.267±0.009 (55) ^a
Hexane fr. ³⁾	0.586±0.005 (-) ^a	0.565±0.003 (4) ^a	0.519±0.009 (12) ^a
MeOH fr.	0.497±0.015 (16) ^e	0.304±0.001 (48) ^e	0.171±0.008 (71) ^e
Residues'MeOH ext.	0.584±0.005 (1) ^c	0.533±0.004 (10) ^c	0.221±0.027 (62) ^c

¹⁾Concentration of extract

²⁾extract

³⁾fraction

Parantheses indicate the inhibition rates(%)

Means with the different letters in the same column are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range test

2. 항균 활성 물질의 분리 및 동정

2-1. 항균활성 물질 분리

가장 높은 항균 활성을 나타낸 methanol fr.으로부터 silica gel column chromatography를 TLC를 실시하여 얻은 Compound I, II, III의 항균활성 시험을 실시하여 Table 3과 Table 4와 같은 결과를 얻었다. 각 compound들은 농도가 높아질수록 항균력이 높아졌고, *E. coli*와 *S. aureus*에 대해서 Compound I 이 가장 높은 항균활성을 나타내었다.

Table 3. Antimicrobial activity of compound isolated from methanol fraction on the growth of *E. coli*

Sample	OD ₆₀₀		
	0.25% ¹⁾	0.5%	1.0%
Control	0.934±0.020 ^a	0.934±0.020 ^a	0.934±0.020 ^a
Compound I	0.623±0.007 (33) ^c	0.257±0.010 (72) ^c	0.025±0.012 (97) ^c
Compound II	0.786±0.009 (16) ^b	0.468±0.011 (50) ^b	0.175±0.023 (81) ^b
Compound III	0.921±0.016 (1) ^a	0.865±0.023 (7) ^a	0.739±0.016 (21) ^a

¹⁾Concentration of extract

Parantheses indicate the inhibition rates(%)

Means with the different letters in the same column are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range test

Table 4. Antimicrobial activity of fractionated samples from tumeric on the growth of *S. aureus*

Sample	OD ₆₀₀		
	0.25% ¹⁾	0.5%	1.0%
Control	0.640±0.008 ^a	0.640±0.008 ^a	0.640±0.008 ^a
Compound I	0.386±0.017 (40) ^c	0.112±0.008 (82) ^c	0.004±0.003 (99) ^c
Compound II	0.477±0.009 (26) ^b	0.245±0.019 (62) ^b	0.160±0.020 (75) ^b
Compound III	0.467±0.011 (27) ^a	0.341±0.013 (47) ^a	0.276±0.014 (57) ^a

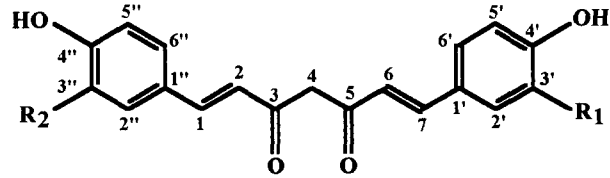
¹⁾Concentration of extract

Parantheses indicate the inhibition rates(%)

Means with the different letters in the same column are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range

2-2. 울금의 메탄올 분획물로부터 분리된 항균활성 물질의 동정

울금 methanol fr.으로부터 silica gel column chromatography를 실시하여 TLC상에 전개하여 분리한 Compound I, II, III를 ¹³C-NMR, ¹H-NMR 분석을 실시한 결과, curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin으로 동정되었고 구조식은 Fig. 1과 같다. 항균력 시험 결과에서 *E. coli*와 *S. aureus*에 대한 compound I와 compound II의 항균력이 높게 나타난 반면, compound III는 항균활성이 낮게 나타났는데, 이는 compound I와 compound II에는 methoxyl(OCH₃)기와 phenol기가 함께 존재하여 항균활성을 상승시키는데 비해 compound III에서는 methoxyl(OCH₃)기가 존재하지 않기 때문이라고 사려된다.



$R_1=R_2=OMe$; Curcumin I
 $R_1=OMe$, $R_2=H$; Curcumin II
 $R_1=R_2=H$; Curcumin III

Fig. 1. The structure of Curcumin I ,II,III

IV. 결론

울금 추출물의 항균활성에 관여하는 물질을 분리 동정하기 위하여 울금을 유기용매로 분획하여 항균성 실험을 통해서 각 분획물의 항균활성을 시험하였고, silica gel column chromatography와 TLC를 실시하여 얻은 compound I, II, III를 NMR분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 유기용매로 분획한 울금의 항균활성 시험에서 dichloromethane ext., hexane fr.과 methanol fr.가운데 methanol fr.이 *E. coli*에 대해 64%, *S. aureus*에 대해 71%로 가장 높은 성장억제효과를 나타내었다.
2. 가장 높은 항균활성을 보인 methanol fr.으로부터 column chromatography와 TLC를 실시하여 얻은 compound I, II, III의 항균성 시험 결과 compound I 이 가장 높은 항균활성을 보였다.
3. compound I, II, III를 NMR분석한 결과 curcumin I, II, III(curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxy curcumin)으로 동정되었으며 compound I 이 가장 높은 항균력을 보인 것은 methoxyl(OCH₃)기가 항균 활성에 관여하기 때문이라 생각된다.

참고문헌

1. Paolo Scartezzini, Ester Speroni , *Journal of Ethnopharmacology*, **71**, 23 (2000)
2. Ammon, H.P.T., Wahl, M.A.: *Pharmacology of Curcuma longa*, *Panta Medica* **57**, 1 (1991)
3. Chignell, Piotr Biesk, Krzysztof J. Rezka, Ann G. Motten, Robert H. Silk and Thomas A. Dahl, *Photochemistry and Photobiology*, **59**, 295 (1994)
4. Thosiya Masuda, Tunko Isobe, Akiko Jito and No Buji, Naka-Tani, Thosiya Masuda, Tunko Isobe, Akiko Jito and Nobuji Nakatani, *Phytochemistry*, **31**, 3645 (1992)
5. Russell L. Rouseff, *J. Food Science*, **53**, 1823 (1988)