

지칭개에서 분리한 Hemistepsin A와 B의 비듬균에 대한 항균효과

이종록¹, 정대화, 박문기^{1*}

Antifungal Activities of Hemistepsin A and B Isolated from *Hemistepita lyrata* Bunge against Dandruff-causing Microbe *Malassezia obutusa*

Jong Rok Lee¹, Dae Hwa Jung, and Moon Ki Park^{1*}

접수: 2012년 11월 7일 / 게재승인: 2013년 1월 24일
© 2013 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: There are a large number of bioactive sesquiterpene lactones from compositae plants including *Hemistepita lyrata* Bunge. In the present study, we purified two sesquiterpene lactones, Hemistepsin A and B, from *H. lyrata* and evaluated their antimicrobial activities against *Malassezia obutusa*. Chromatographic separation was used for the preparation of Hemistepsin A and B, and the identity of these compounds was confirmed by NMR. Strong inhibition of growth of *M. obutusa* was obtained with all doses of Hemistepsin A tested. Moreover, antifungal activity of Hemistepsin A occurred in a dose-dependent manner. Hemistepsin B also showed potent antifungal activity at the dose of 800 µm/disc. From these results, it was suggested that Hemistepsin A and B be beneficial for the preparation of the useful agent for treating scalp diseases occurred by dandruff-causing *Malassezia* species.

Keywords : Hemistepsin A, Hemistepsin B, Antifungal Activity, Dandruff, *Hemistepita lyrata*

1. 서론

지칭개 (*Hemistepita lyrata* Bunge)는 국화과 (Compositae)에 속하는 2년생 초본으로 5월경에 홍자색 꽃이 핀다. 중약 (中藥)에서는 니호채(泥胡菜)라고도 불리우며 높이는 30~80 cm 이고 다육질인 원뿔꼴의 뿌리가 있으며, 잎은 가늘고 긴 피침형으로 우리나라 전국의 산이나 들에서 자생한다. *Hemistepita lyrata* Bunge의 전초는 열을 내리고 해독하며 부기를 가라앉히고 어혈을 없애는 효능이 있으며, 조그마한 종기, 외상의 출혈, 골절을 치료하는 것으로 알려져 있다 [1]. 지칭개에 대한 성분연구는 지금까지 4종의 sesquiterpen lactone이 분리되었고 [2-4], 또한 Hemistepsin A와 B는 세포독성 과 식중독균에 대한 항균효과가 있는 것으로 보고되었으며[3,4], 그리고 3종의 diene-yn-diene chromophore 화합물이 보고되어져 있다 [5]. 이들의 생리활성에 관한 연구는 항암효과, FPTase (farnesyltransferase) 저해 효과, NO (nitric oxide) 생성 저해효과 등이 보고되었다 [6-8].

두피에는 한선과 피지선이 널리 분포되어 미생물이 번식하기 좋은 환경으로 많은 미생물이 상주하고 있다[9]. 주요 상주 미생물은 3개 균으로 혐기성균, 호기성 구균과 진균인 *Malassezia* species가 있다. 비듬은 이러한 두피 상주균 중의 하나인 *Malassezia* 균이 남성 호르몬이 분비되는 사춘기 이후 두피와 같은 지루 부위에서 상존하기 시작하면서 생기게 된다 [10]. 특히 기후, 땀, 음식 등의 환경적인 요인과 스트레스 등의 생리적인 요인에 의해 비듬균이 과다하게 증식하여 정상균 총의 74%가 넘으면 비듬이 생기고, 83%가 넘으면 지루성 피부염이 발생한다 [11]. 이처럼 비듬이란 두피의 노화 각편이 썰겨 모양으로 탈락하는 것과 피지의 분해 산화

대구한의대학교 한방생명자원연구센터
Research Center for Biomedical Resources of Oriental Medicine,
Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea

¹대구한의대학교 제약공학과
¹Department of Pharmaceutical Engineering, Daegu Haany University,
Gyeongsan 712-715, Korea
Tel: +82-53-819-1420, Fax: +82-53-819-1229
e-mail: moonki@dhu.ac.kr

물이 혼합된 상태로 살아있는 피부 세포에서 자연스럽게 생겨나게 되는 신진대사의 부산물이며 경미한 지루성 피부염이라고 할 수 있다. 그러나 이러한 증상이 심해질 경우 이것을 비듬증, 임상학적으로는 두부 비강진, 의학적으로는 건성 지루라고 한다. 두피가 심한 통증이나 가려움증 또는 염증이나 홍반을 동반하는 경우에는 비듬균이 원인이 되어 나타나는 증상들로 반드시 비듬균의 성장을 억제해야 한다. 또한 과도한 비듬이 방치될 경우 탈모증까지 유발될 수 있으므로 주의해야 한다 [10]. 지금까지 비듬 치료에 사용되어 온 약이나 샴푸에는 Zinc pyrithion, Ketoconazole, Piroctoneolamine, Selenium sulfide, Coal tar solution 등과 같은 화학물질이 함유되어 있다 [11]. 비듬 방지제로 많이 사용되어 온 화학 물질의 경우 적은 양으로도 우수한 항균력을 가지는 반면 다른 한편으로는 체내에 흡수되어 임신 중인 태아를 기형으로 만들 수 있는 매우 위험한 물질이기도 하여 이러한 이유로 항균제의 성분이 위험성을 가진 합성화학물질이 아닌 인체에 전혀 해가 되지 않는 천연물질로 대체되어야 한다 [12]. 지금까지 연구되어 있는 항비듬 효과가 있는 식물로는 구절초(*Chrysanthemum zawadskii*) [13], 대나무 (*Phyllosrachys Bambusoides*) [14], 오이풀 (*Sanguisorba officinalis*) [15], 송지 (*Resina pini*) [16], 개나리 (*Forsythia viridissima*)와 철꿩대(*Echinops setifer*) [17] 등이 보고되었다.

따라서 본 연구에서는 국내에 자생하는 식물인 지칭개로부터 부작용이 적고, 효능이 우수한 새로운 비듬균에 대한 항균활성 물질을 탐색하여, 이를 기능성 생활용품으로 개발할 수 있는 가능성을 알아보려 하여, 비듬균에 대한 항균력이 있는 sesquiterpen lactone 계열의 화합물인 Hemistepsin A와 B를 분리하여 유의성 있는 항비듬균 효과를 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 식물체 재료

본 실험에서 사용한 지칭개 메탄올추출물은 국가지정 대구한의대학교 향장 소재은행에서 분양받아 sesquiterpene lactone 분리에 사용하였다.

2.2. 미생물 배양

비듬 원인균으로는 *Malassezia obtusa* (*M. obtusa*, KCTC 7847)를 생명자원센터 (Korean Collection for Type Culture)로부터 분양받아 mLNA (modified Leeming & Notman agar) 배지 (Bacteriological peptone 10 g, Glucose 5 g, Yeast 0.1 g, Ox bile 8 g, Glycerol 1 mg, Glycerol monostearate 0.5 g, Tween 60 0.5 mg, Cow's milk 10 mL, Agar 12 g, Distilled water 1 L)에 배양하여 균체를 회수한 후, 멸균수로 3회 현탁하여 glycerol을 1:1의 비율로 첨가하여 -72°C에 보관하였으며 실험 3일 전에 균을 활성화시킨 후 사용하였다.

2.3. Compound A와 B의 분리

국가지정 대구한의대학교 한약자원 향장 소재은행에서 분양받은 지칭개 메탄올추출물 150 g을 실리카겔 (70~230 mesh) 칼럼 (12 × 20 cm)에 걸은 후, 클로로포름/메탄올의 혼합용매에서 메탄올의 비율을 순차적으로 높여 가며 (1/0 → 4/1) 칼럼크로마토그래피를 하였다. 용출액은 200 mL씩 회수하였으며, 이렇게 얻어진 80개의 분획을 TLC pattern에 따라 12개의 분획 (Fr. 1~12)으로 분리하였다. 12개의 분획물 중에서 클로로포름/메탄올 = 19/1의 용매조건에서 용출되었으며 10% 황산에서 푸른색으로 발색되는 목표물질 (UV_{254nm}; active, R_f 0.45 in CHCl₃/MeOH = 9/1)이 가장 많이 함유된 분획물 Fr. 7 (21 g)을 실리카겔 (230~400 mesh) 칼럼 (5 × 20 cm)에 걸은 후, 2차 칼럼크로마토그래피를 실시하였다. 소분획물 6의 TCL 결과 목표물질들 주위에 몇 가지 색소성분이 존재하였기 때문에 이들을 제거하기 위해 Hexan/에틸아세테이트 = 2/1을 초기용매로 사용하여 에틸아세테이트의 비율을 점점 높여 가면서 50 mL씩 용출액을 회수하였다. 그 결과, Hexan/에틸아세테이트 = 2/1의 용매조건에서 목표물질들이 용출되기 시작하였으며 그때부터 700 mL를 회수하여 농축하였다. 이렇게 얻어진 농축액을 TLC 한 결과 약 30% 정도의 불순물이 존재하였다.

Hemistepsin A와 B의 순수 분리를 위하여 위의 소분획물을 Recycling preparative HPLC (JAI 9104, Japan)와 C₁₈칼럼 (20 × 400 mm, 10 μm; JAI, Japan)을 사용하였고 75% 메탄올 용매를 사용하여 유상물질인 Compound A와 담황색의 결정인 Compound B를 순수 분리 하였다. 각 화합물의 화학구조는 NMR (Bruker AW500, Germany), EI/MS (Jeol JMS-700, Japan), UV/Vis spectrophotometer (Beckman Coulter, USA), FT-IR (Mattson Genesis series, USA), Elemental analyzer (LECO CHNS-932, USA)로 분석하였다.

2.4. 항균활성 측정

분리된 Hemistepsin A와 B의 항균활성을 측정하기 위하여 한천배지 확산법을 이용하였다 [18]. 먼저 비듬균인 *M. obtusa*는 24시간 동안 전 배양하였고, 1.5 ± 0.5 × 10⁸ cells/mL로 균수를 조정하여 45°C로 유지된 top agar에 100 μL씩 접종하여 잘 혼합한 후, mLNA agar plate에 도말하였다. Hemistepsin A와 B는 100, 200, 400, 800 μg/20 μL/disc의 농도로 준비하여 8 mm paper disc (Advactec, Japan)에 점적하고 대조군으로 Hemistepsin A와 B의 용해 용매인 DMSO를 20 μL 점적하여 무균상태에서 건조한 후, 균주를 도말한 mLNA agar 배지 표면 위에 올리고 30°C에서 48시간 동안 배양하였다. 항균효과는 공시균주의 생육이 저해되면서 형성되는 생육저해환 (Clear zone)의 크기로 확인하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. Compound A(Hemistepsin A)의 구조 규명

Compound A는 무색의 유상물질로서 적외선 스펙트럼 (FT-

IR)에서 3045 cm^{-1} 과 1760 cm^{-1} 에서 2개의 카르보닐 group이 관찰되었다. 자외선 스펙트럼 (UV spectrophotometer)에서 λ_{max} (CHCl_3)가 241 nm 에서 관찰되었다. 질량 스펙트럼 (EI/MS)에서 분자이온 (M^+)의 피이크가 $m/e = 346$ 에서 관찰되었고, 2-hydroxy-methyl propenoyl기의 피이크가 $m/e = 262$ ($M^+ - 84$)에서, 그리고 $m/e = 85$ 에서 각각 관찰되었다 또한 $m/e = 244$ 와 $m/e = 226$ 은 ($M^+ - 84 - 18$)과 ($M^+ - 84 - 18 - 18$)를 각각 의미하므로 2개의 OH기 혹은 acyl기가 존재함을 알 수 있다. ^{13}C -NMR 스펙트럼에서는 19개의 탄소 피이크가 관찰되었고 DEPT 스펙트럼에서는 7개의 CH_2 ($2\text{H} \times 7 = 14\text{H}$), 6개의 CH ($1\text{H} \times 6 = 6\text{H}$)가 관찰되었다. 원소분석 (Elemental analyzer)에서 $\text{C} = 65.9\%$, $\text{H} = 6.5\%$ 가 확인되었고 ^1H -NMR 스펙트럼에서는 20개의 양성자와 D_2O 를 처리하였을 때 사라지는 2개의 양성자를 확인하였다. 이상의 분광학적인 자료를 종합할 때 화합물 Compound A의 분자식은 $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_6$ 으로 추정할 수 있었다.

^{13}C - ^1H COSY(HMQC) 스펙트럼에서 Table 1과 같은 상관관계를 찾았다. 이것은 endo methylene 2개와 vinylic methylene 4개가 분자내에 존재함을 의미할 것이다. 나머지 결과들은 DEPT 스펙트럼의 결과와 잘 일치하였다. 그리고 ^1H - ^1H COSY 스펙트럼에서 H13a/b의 vinyl양성자는 allylic위치 H9 (3.20 ppm)와 cross peak가 관찰되고 H9는 H8 (5.14 ppm), H10 (4.27 ppm)과 cross peak가 각각 관찰되었다 H8은 H7a/b

Table 1. NMR data for Hemistepsin A

Position	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	51.4	2.84 (m, 1H)
2	139.4	(Quaternary)
3	73.7	4.55 (m, 1H)
4	38.3	1.74 (m, 1H) 2.23 (m, 1H)
5	45.7	2.97 (m, 1H)
6	137.3	(Quaternary)
7	37.1	2.40 (dd, $J_1 = 14.6\text{ Hz}$, $J_2 = 3.8\text{ Hz}$, 1H) 2.72 (dd, $J_1 = 14.6\text{ Hz}$, $J_2 = 5.2\text{ Hz}$, 1H)
8	73.4	5.14 (m, 1H)
9	47.5	3.19 (m, 1H)
10	78.6	4.27 (m, $J_1 = 10.6\text{ Hz}$, $J_2 = 9.0\text{ Hz}$, 1H)
11	141.8	(Quaternary)
12	165.4	(C = O)
13	122.7	5.62 (d, $J = 3.1\text{ Hz}$, 1H) 6.20 (d, $J = 3.4\text{ Hz}$, 1H)
14	113.5	5.36 (m, $J = 1.7\text{ Hz}$, 1H) 5.48(m, 1H)
15	118.2	4.94 (d, $J = 1.4\text{ Hz}$, 1H) 5.14(m, 1H)
1'	169.1	(C = O)
2'	152.2	(Quaternary)
3'	126.7	5.96 (d, $J = 1.2\text{ Hz}$, 1H) 6.32 (d, $J = 0.9\text{ Hz}$, 1H)
4'	62.1	4.38 (s, 2H)

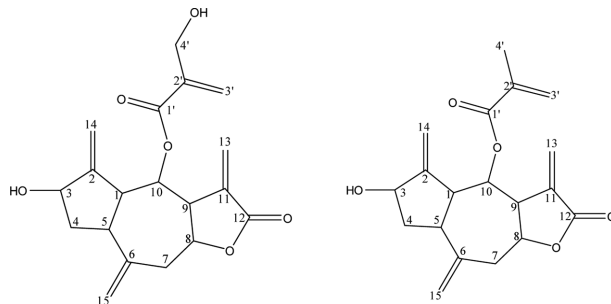


Fig. 1. Structures of Hemistepsin A(a) and B(b).

(2.41, 2.72 ppm)와 연결되어 있고 H7a/b는 H15a/b와 아주 약한 cross peak가 관찰되었다. H15a/b는 더 이상의 어떤 양성자와도 연결성이 없었으며, 또 다른 방향인 H10은 H1과 연결성이 있고 allylic위치의 H14a/b vinyl양성자 그리고 H5 (2.98 ppm)와 상관관계가 있다. 또한 H5양성자는 H4a/b (1.74, 2.23 ppm)와, H4a/b는 H3 (4.55 ppm)과 연결성이 있으며 H3은 H1과 연결성이 있는 H14a/b와 cross peak가 관찰됨으로서 5고리 + 7고리 + 5고리의 기본 골격을 가지고 있음을 알 수 있다. 격리된 H3'a/b vinyl 양성자는 H4' (4.38 ppm)의 2개의 양성자와 관계가 있고 H4'의 methylene은 더 이상의 관계가 없는 것으로 보아 OH기가 붙어 있는 것으로 추정되며, 이것은 질량스펙트럼에서 $m/e = 85$ 에서 관찰된 2-hydroxymethyl propenonyl기와 잘 일치하였다. 이것은 15개의 탄소를 갖는 sesquiterpen lactone 골격에 4개의 탄소를 갖는 2-hydroxymethyl propenonyl기가 붙어있음을 의미한다. 이상의 분광학적인 자료를 종합하면 Compound A는 3'-hydroxy-10 (2-hydroxymethyl propenoyl)-2,6,11-guaiatriene-b12,8-olide로 확정하였으며, 문헌조사 결과와 비교하여 이 화합물은 hemistepsin A임이 확인되었다 (Fig. 1(a)).

3.2. Compound B(Hemistepsin B)의 구조 규명

Compound B는 담황색의 결정으로, 적외선 스펙트럼에서 3500 cm^{-1} 에서 전형적인 알코올 흡수띠와 1772 cm^{-1} 과 1680 cm^{-1} 에서 2개의 카르보닐기가 관찰되었다. 자외선 스펙트럼에서 λ_{max} (CHCl_3)가 229 nm 에서 관찰되었다. 질량 스펙트럼에서 분자이온 (M^+)의 피이크가 $m/e = 330$ 에서 관찰되었고, 2-methyl propenonyl기의 피이크가 $m/e = 261$ ($M^+ - 69$)과 $m/e = 69$ 에서 각각 관찰되었다. 또한 $m/e = 244$ 와 $m/e = 226$ 은 ($M^+ - 86$)과 ($M^+ - 86 - 18$)를 각각 의미하므로 1개의 OH기 혹은 acyl기가 존재함을 알 수 있다. ^{13}C -NMR 스펙트럼에서는 19개의 탄소 피이크가 관찰되었으며, 화학적 이동값 δ 166.4 ppm, 169.2 ppm으로부터 2개의 카르보닐기가 존재하며 δ 73.7 ppm, 74.1 ppm, 78.6 ppm으로부터 각 탄소 옆에는 산소가 존재함을 알 수 있었다. 그리고 DEPT 90과 135 스펙트럼에서는 1개의 CH_3 ($3\text{H} \times 1 = 3\text{H}$), 6개의 CH_2 ($2\text{H} \times 6 = 12\text{H}$), 6개의 CH ($1\text{H} \times 6 = 6\text{H}$)가 관찰되었다. 또한 ^1H -NMR 스펙트럼의 적분비로부터 22개의 양성자가 있음을 알 수 있었다.

따라서 이러한 분광학적인 자료를 종합하여 볼 때 화합물 Compound B의 분자식은 C₁₉H₂₂O₅로 추정할 수 있다.

¹³C-¹H COSY (HMQC) 스펙트럼에서 Table 2와 같은 상관 관계를 찾았으며 이것은 endo methylene 2개와 vinylic methylene 4개가 분자 내에 존재함을 의미할 것이다. 그리고 ¹H-¹H COSY 스펙트럼에서 H13a/b의 vinyl양성자는 allylic 위치 H9 (3.19 ppm)와 교차피이크가 관찰되고, H9는 H8 (5.14 ppm) H10 (4.23 ppm)과 cross peak가 각각 관찰되었다. 또한, H8은 H7a/b (2.37, 2.71 ppm)와 연결되어 있고 H7a/b는 H15a/b와 아주 약한 allylic coupling이 관찰되었다. 그리고 H15a/b는 더 이상의 어떤 양성자와도 연결성이 없었으며, 또 다른 방향인 H10은 H1과 연결성이 있고 allylic 위치의 H14a/b vinyl양성자 그리고 H5 (2.98 ppm)와 상관관계가 있다. H5 양성자는 H4a/b (1.73, 2.20 ppm)와 H4a/b는 H3 (4.55 ppm)과 연결성이 있으며, H3은 H1과 연결성이 있는 H14a/b와 allylic coupling이 관찰됨으로서 5고리 + 7고리 + 5고리의 기본 골격을 가지고 있음을 알 수 있다. 그리고 격리된 H3'a/b vinyl 양성자는 H4' (1.97 ppm)의 3개의 양성자와 allylic 관계가 있고 H4'의 methyl은 더 이상의 관계가 없기 때문에 Compound B는 15개의 탄소를 갖는 sesquiterpen lactone 골격에 4개의 탄소를 갖는 2-methyl propenonyl기가 붙어 있음을 의미한다. 따라서 Compound B는 Compound A의 기본골격과 같음을 알 수 있었다. 그 예로 전형적인 ABX형태의 스핀분리를 하

는 H10은 4중선이다. 이들 dd (이중·이중선)의 짝지움 상수 J₁ = 10.6 Hz이고 J₂ = 9.0 Hz이다. J₁은 H10과 H1간의 스핀분리이고 J₂는 H10과 H9간의 스핀분리로서 이들의 J값을 고려한 서로간의 이면각은 150~160°이기 때문에, H10과 H9 및 H1은 H10을 기준으로 trans형태로 각각 존재할 것이다. 아울러 H8과 H7a의 J값은 5.2 Hz, H7b와 H8의 J값은 3.9 Hz이고, H7a와 H7b간의 J값은 14.5 Hz로 Compound B는 화합물 Compound A와 같은 입체구조를 가지고 있음을 알 수 있었다. 이상의 결과를 종합해 볼 때, Compound B는 Compound A와 같이 5고리 + 7고리 + 5고리의 기본골격을 가지는 sesquiterpen lactone인 guaianolide의 일종으로서, Compound A와는 10번 위치에 2-hydroxy methyl propenonyl group 대신에 2-methyl propenonyl group이 결합된 것만 다른, 3'-hydroxy-10(2-methyl propenoyl)-2,6,11-guaiatriene-12,8-olide인 것으로 확정하였으며, 문헌조사 결과와 비교하여 이 화합물을 hemistepsin B로 최종 확인하였다 (Fig. 1(b)).

3.3. Hemistepsin A와 B의 비듬균에 대한 항균활성

지칭개에서 분리한 2종의 sesquiterpen lactones인 Hemistepsin A와 B를 대상으로 샴푸와 비누 등의 생활용품으로서의 이용 가능성을 조사하기 위하여, 비듬균 *M. obtusa*에 대한 항균활성을 측정하였다. 항균실험 결과 Table 3과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 800 µg/disc 농도에서 Hemistepsin A와 B는 31 mm와 35 mm 크기의 생육저해환을 보여 강한 항균활성을 나타내었다. 특히, Hemistepsin A의 항균활성은 농도 의존적으로 증가하였다. Hemistepsin A는 100, 200, 400, 800 µg/disc의

Table 2. NMR data for Hemistepsin B

Position	δ _c (ppm)	δ _H (ppm)
1	51.3	2.84 (m, 1H)
2	137.4	(Quaternary)
3	73.7	4.55(m, 1H)
4	39.0	1.73 (m, 1H) 2.20 (m, 1H)
5	45.3	2.98 (m, 1H)
6	136.0	(Quaternary)
7	37.1	2.37 (dd, J ₁ = 14.5 Hz, J ₂ = 3.9 Hz, 1H) 2.71 (dd, J ₁ = 14.5 Hz, J ₂ = 5.2 Hz, 1H)
8	73.1	5.08 (m, 1H)
9	47.7	3.19 (m, 1H)
10	78.6	4.25 (m, J ₁ = 10.6 Hz, J ₂ = 9.0 Hz, 1H)
11	141.9	(Quaternary)
12	166.4	(C = 0)
13	122.6	5.60 (d, J = 3.0 Hz, 1H) 6.21 (d, J = 3.4 Hz, 1H)
14	113.5	5.36 (m, J = 1.7 Hz, 1H) 5.49 (m, J = 1.9 Hz, 1H)
15	118.1	4.94 (d, J = 1.5 Hz, 1H) 5.14 (m, 1H)
1'	169.2	(C = 0)
2'	152.3	(Quaternary)
3'	126.6	5.67 (d, J = 1.5 Hz, 1H) 6.18 (d, J = 1.3 Hz, 1H)
4'	18.3	4.38 (s, 3H)

Table 3. Antifungal activity of Hemistepsin A and B against *M. obtusa*

	Diameter of clear zone ^a (mm)			
	100	200	400	800 (µg/disc)
Hemistepsin A	11 ^b	18	25	31
Hemistepsin B	- ^c	-	-	35

^aDiameter of clear zone includes disc diameter of 8 mm.

^bData represent the mean of three separate experiments.

^cNot detected.

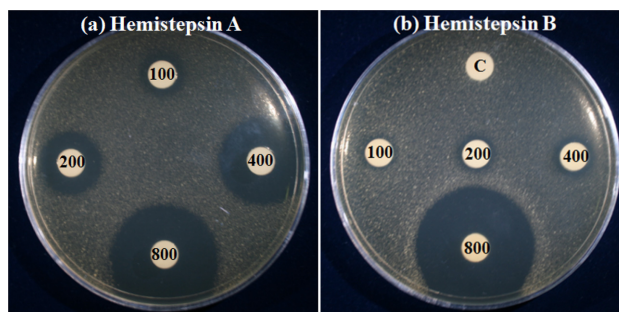


Fig. 2. Inhibitory effects of Hemistepsin A(a) and B(b) on the growth of *M. obtusa*. Hemistepsin A and B were loaded on the agar plates spreaded with *M. obtusa*, and then the yeasts were incubated for 48 h at 30°C.

농도에서 각각 11, 18, 25, 31 mm의 Clear zone이 형성 되었으므로 최소 저해농도 (MIC)는 100 µg/disc 이하이고, 반면에 Hemistepsin B는 특이하게 800 µg/disc의 높은 농도에서 만 35 mm의 커다란 Clear zone이 형성 되었을 뿐 그 이하의 농도에서는 항균활성이 나타나지 않았기 때문에 400-800 µg/disc 범위에서 MIC 값이 나타날 것으로 예측된다.

Hemistepsin A, B와 같은 sesquiterpene lactone의 다양한 생리활성은 이들의 α -methylene- γ -butyrolactone 구조에 기인하는 것으로 알려져 있으며 [19,20], DNA polymerase와 단백질 합성효소와 같은 함황효소 (thiol-containing enzyme)의 thiol group과 비가역적 alkylation을 유발함으로써 효소활성을 저해함이 보고되어져 있다 [21]. 따라서, Hemistepsin A, B의 비듬균에 대한 항균활성도 이러한 구조적 특징에 기인할 것으로 사료되나, 정확한 기작 연구는 더 진행되어야 할 것이다.

4. 결론

지칭개 (*Hemistepita lyrata* Bunge)를 이용하여 비듬균에 대한 항균활성을 갖는 화합물 분리를 위하여 지칭개 메탄올 추출물을 silica gel column chromatography를 반복적으로 실시한 후 Recycling preparative HPLC (JAI, 9104)와 C₁₈칼럼 (JAI, 20 × 400 mm, 10 µm)을 사용하여 2종의 sesquiterpene lactone계 화합물을 순수 분리하였다. 이들 화합물들에 대한 물리화학적 성상, NMR, MS, IR 등의 spectral data를 검토한 결과 Hemistepsin A와 B로 동정되었다. Hemistepsin A와 B를 대상으로 샴푸와 비누 등의 생활용품으로서의 이용가능성을 조사하기 위하여, 비듬균 *M. obtusa*에 대한 항균활성을 측정하였다. 그 결과 Hemistepsin A와 B는 800 µg/disc 농도에서 비듬균 *M. obtusa*에 대해 31 mm와 35 mm 크기의 생육 저해환을 만들어 비교적 강한 항균활성이 확인되었기 때문에 저장안정성 등에 대한 후속연구가 뒷받침된다면 샴푸와 비누 등의 생활용품으로서의 개발이 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국연구재단 연구소재은행 지원사업 (향장소재은행)에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Peoples Press (1977) *In Encyclopedia of the Traditional Chinese Materia Medica*. pp. 1458-1459. Peoples Press, Shanghai, China.
2. Jang, D. S., M. S. Yang, and K. H. Park (1998) Sesquiterpene Lactone from *Hemisteptia lyrata*. *Planta Med.* 64: 289-290.
3. Jang, D. S., T. J. Ha, M. S. Yang, and K. H. Park (1999)

- Hemistepsins with Cytotoxic Activity from *Hemisteptia lyrata*. *Planta Med.* 65: 765-766.
4. Ha, T. J., J. R. Lee, J. Lee, K. H. Park, and M. S. Yang (2001) Studies on the Constituents from the Flowers of *Hemisteptia lyrata* (Bunge) (I). *Kor. J. Pharmacogn.* 32: 238-241.
5. Ha, T. J., D. S. Jang, K. D. Lee, J. R. Lee, K. H. Park, and M. S. Yang (2002) Studies on the Constituents from the Flowers of *Hemisteptia lyrata* (Bunge) (II). *Kor. J. Pharmacogn.* 33: 92-95.
6. Jang, D. S., K. H. Park, H. M. Kim, D. H. Hong, H. K. Chun, Y. H. Kho, and M. S. Yang (1998) Biological Activities of Sesquiterpene Lactones Isolated from Several Compositae Plants. Part 1 Cytotoxicity Against Cancer Cell Lines. *Kor. J. Pharmacogn.* 29: 243-247.
7. Jang, D. S., B. M. Kwon, and M. S. Yang (1999) Biological Activities of Sesquiterpene Lactones Isolated from Several Compositae Plants, Part 2 FPTase Inhibitory Activity. *Kor. J. Pharmacogn.* 30: 70-73.
8. Jang, D. S., K. H. Park, H. L. Ko, H. S. Lee, B. M. Kwon, and M. S. Yang (1999) Biological Activities of Sesquiterpene Lactones Isolated from Several Compositae Plants. Part 3 Inhibitory Activity on Nitric Oxide Release and ACAT. *Kor. J. Pharmacogn.* 30: 74-78.
9. McGinley, K. J., J. J. Leyden, and R. R. Marples (1979) Quantitative microbiology of the scalp in non-dandruff, dandruff and seborrheic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* 64: 401-405.
10. Roberts, S. B. (1969) *Pityrosporum orbiculare* incidence and distribution in clinically normal skin. *Br. J. Dermatol.* 81: 264-269.
11. Choi, I. (2003) Antimicrobial activity of *Rhus javanica* extracts against animal husbandry disease-related bacteria. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 1214-1220.
12. Hyeon, J. J., D. W. Kim, J. B. Jun, and S. L. Chung (1993) Statistical and mycologic studies on dandruff. *Kor. J. Dermatol.* 31: 164-174.
13. Lee, S. H. and J. S. Lee (2007) Production and Characteristics of Antidandruff Compound from *Chrysanthemum zawadskii*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 35: 220-225.
14. Lee, S. K. (2003) Antimicrobial effect of Bamboo (*Phyllosrachys Bambusoides*) Essential oil on Trichophyton and Pityrosporum. *J. Fd Hyg. Safety.* 18: 113-117.
15. Ryu, M. J., Y. S. Rim, D. I. Choi, and S. Y. Lee (2011) Anti-fungal Activity against *Malassezia furfur* and Anti-inflammatory Activity in RAW 264.7 Cells of the Sanguisorba officinalis Extracts. *Kor. J. Society of Cosmetology.* 17: 225-232.
16. Suk, K. D. (2004) Inhibitory effect of Resina Pini on growth of *Malassezia furfur* Bailon. *Kor. J. Soc. Hygienic Sciences.* 10: 227-231.
17. Ryu, M. J., S. Y. Lee, Y. Park, and Y. K. Yang (2011) Antioxidative Activities and Antifungal Effect against *Malassezia furfur* in the Extracts from 6 spp. Medicinal Plants. *J. Kor. Soc. Cosm.* 16: 120-128.
18. Piddok, L. J. V. (1990) Techniques used for the determination of antibacterial resistance and sensitivity in bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* 68: 307-318.
19. Cateni, F., J. Zilic, M. Zacchigna, P. Bonivento, F. Frausin, and V. Scarcia (2006) Synthesis and biological properties of new α -methylene- γ -butyrolactones and α,β -unsaturated delta-lactones. *Eur. J.*

- Med. Chem.* 41: 192-200.
20. Matsuda, H., T. Kagerura, I. Toguchida, H. Ueda, T. Morikawa, and M. Yoshikawa (2000) Inhibitory effects of sesquiterpenes from bay leaf on nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated macrophages: structure requirement and role of heat shock protein induction. *Life Sci.* 66: 2151-2157.
21. Hoffmann, H. M., and J. Rabe (1985) Synthesis and Biological activity of α -methylene- γ -butyrolactones. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24: 94-110.