

구릿대 뿌리 정유의 항진균 효과

노정현 · 신은지 · 신승원[#]

덕성여자대학교 약학대학

(Received February 9, 2014; Revised February 21, 2014; Accepted February 21, 2014)

Antifungal Activities of Essential Oil from the Roots of *Angelica dahurica* Bentham et Hooker f.

Junghyun Rho, Eunji Shin and Seungwon Shin[#]

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

Abstract — The essential oil was extracted from the roots of *Angelica dahurica* Bentham et Hooker f. by steam distillation and its composition was analyzed by GC-MS. The antifungal activities were evaluated by micro-dilution method against five *Aspergillus* and three *Trichophyton* species. The most abundant component was α -pinene (17.21%) among 40 compounds identified in this oil. The essential oil fraction of *A. dahurica* and α -pinene exhibited marked inhibiting activities against the tested *Aspergillus* and *Trichophyton* species with MICs (minimum inhibitory concentrations) between 0.12 mg/ml and 8 mg/ml.

Keywords □ essential oil, *Angelica dahurica*, α -pinene, *Aspergillus*, *Trichophyton*

구릿대(*Angelica dahurica* Bentham et Hooker f.)는 미나리과에 속하는 다년생 초본으로 이 식물의 건조된 뿌리가 대한약전에 백지(*Angelicae Dahuricae Radix*)의 원료로 수재되어 있다. 구릿대는 주로 깊은 산 시냇가에서 야생하는 식물이지만 우리나라에서는 중북부 이북 지방의 여러 지역에서 재배 되고 있다.¹⁾

백지는 해표산풍, 통규지통, 조습지대, 소종배농의 효능이 있어서, 감기, 두통 및 치통과 그 외 부인과 질환 및 축농증 등의 여러 염증 증상의 치료에 사용에 사용되고 있다.^{2,3)} 근래에는 백지가 한방처방의 구성 약물로 뿐 아니라, 식품첨가물, 차 등 식품용 재료뿐 아니라, 미용팩 재료 등 용도가 다양해지고 있으며, 백지의 항염증 효과에 대한 연구와 더불어 항암, 항균, 항산화 작용에 대해서도 활발하게 연구되고 있다.⁴⁻¹²⁾

백지의 가장 대표적인 성분으로는 coumarin 유도체가 오래 전부터 알려져 있으며, 계속 새로운 구조의 활성 coumarin 유도체들이 보고되고 있다.¹³⁻²²⁾

본 연구에서는 백지의 정유의 항진균 활성을 검정하기 위하여,

수증기 증류법으로 백지의 정유를 분리하고, 병원성인 강한 진균류인 *Aspergillus* 속 균 주 5종과 *Trichophyton* 속 균 주 3종에 대한 백지정유 분획과 그 주성분의 억제효과를 측정하여 기존의 항진균제와 비교하였다.

실험재료 및 방법

정유추출 및 분석

백지는 2012년 12월 서울 경동시장에서 3.6 Kg을 구입하여 방법에 따라 수증기 증류하여 정유 1.73 g을 얻었다. 같은 방법으로 추출을 여러 번 반복하여 얻은 정유를 합쳐서, 분석 및 활성 검정에 사용하였다. 재료 식물 표본(ANDAH 12-1)은 덕성여자대학교 약학대학 표본실에 보관하였다.

추출한 정유의 조성은 Hewlett-Packard 6890 GC와 Hewlett-Packard 5973 MSD 분석기기에 2% 용액(ether) 1 μ l씩 주입하여 전보²³⁾에서와 같은 조건에서 분석하였다.

균주

본 연구에서는 *A. flavus* KCCM11899, *A. fumigatus* KCCM 60027, *A. niger* KCCM11241, *A. terreus* KCCM12067, *A. versicolor* KCCM11592, *T. mentagrophytes* KCCM11950, *T. rubrum* KCCM60443, *T. tonsurans* KCCM11866를 한국미생물

[#]Corresponding Author

Seungwon Shin

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

Tel.: 02-901-8384 Fax.: 02-901-8386

E-mail: swshin@duksung.ac.kr

보존센터(KCCM)에서 분양 받아서 YM 한천배지(yeast and malt extract agar, Difco, USA)에 발라서 계대하고, 항균력 측정 시 최종 생균 수가 1×10^4 /well이 되도록 YM 액체배지(yeast and malt extract broth)로 희석하여 사용하였다.

백지정유의 *Aspergillus* 및 *Trichophyton* 속 진균에 대한 최소억제농도(MIC) 측정

최종 생균수가 1×10^4 /well이 되도록 조정된 균 현탁액 100 μ l를 백지정유분획과 α -pinene은 2% Tween20을 포함한 YM 액체배지에 분산시키고, 최종농도가 0.12~16.00 mg/ml가 되도록 단계 희석하여 96 well plate의 각 well에 100 μ l씩 분주하였다. 최종 생균 수가 1×10^4 /well이 되도록 조정된 균 현탁액 100 μ l씩을 추가한 후, 24~26°C에서 7일간 배양하여 균 생장이 보이지 않는 최소농도를 MIC로 판정하였다. 대조물질인 amphotericin B, ketoconazole, itraconazole과 α -pinene은 Sigma(USA) 사에서 구입하여 사용하였다.

실험결과 및 고찰

본 연구에서는 백지 각 3.6 Kg을 SDE(spontaneous distillation and extraction) 장치를 이용하여 5시간 동안 수증기증류하고, ether로 추출, 탈수, 용매증발의 과정을 거쳐 각각의 정유 1.73 g을 얻었다. 추출한 백지정유 분획의 조성을 GC-MS(gas-chromatography-mass spectrometry)와 각 해당 standard와의 GC 동시분석법으로 동정하여 비교한 결과, Table I에 나타난 바와 같이 40 종의 성분이 확인되었다. 백지정유에 가장 함유율이 높은 성분은 α -pinene(17.21%)인 것으로 확인되었고, 그 다음으로는 β -thujene(12.44%)의 함량이 높았다. Pentadecenol(4.67%), γ -elemene(3.87%), tricycooctane(3.78%) 등도 비교적 높은 함량을 나타냈다. 결과적으로 이 정유분획의 83.6% 이상이 non-oxygenated hydrocarbon으로 구성되어 있었고, oxygenated hydrocarbon은 16.4%에 불과하였다. 이상과 같은 본 실험의 백지정유 분석결과는 김 등²⁴⁾이나, Zhao 등²⁵⁾이 분석한 결과와는 정유를 조성하는 물질의 종류나, 각각의 함량에 있어서는 상당한 차이를 보이나, 3가지 경우 모두에서 높은 함량의 non-oxygenated hydrocarbon이 확인되었다.

*Aspergillus*속 진균은 정상인에서나, 특히 면역력인 약해진 상태에서, 보통 aspergillosis라고 불리우는 제 증상을 나타내는데, 경우에 따라서는 치명적인 다양한 체표성 질환이나 침투성 질환을 일으킨다.²⁶⁾ 그 중 *A. fumigatus* 감염증이 가장 흔하여, 다음으로 *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* 등도 중요 병원성 *Aspergillus*로 꼽힌다. 또한 *A. versicolor*는 흔히 균사조각이나 포자의 흡입에 의해 감염되며, 감염 시 이 진균이 생산하는 독성물질이 심각한 증상을 유발할 수 있다.^{27,28)} 특히 최근 개발된 항생제에 대한

Table I – Composition of the essential oil from the roots of *A. dahurica* analyzed by GC-MS

No.	Compounds	RT	RI*	Area (%)
1.	α -pinene	5.89	907	17.21
2.	camphene	6.39	923	0.41
3.	β -pinene	7.50	959	1.15
4.	β -myrcene	8.66	996	0.28
5.	α -phellandrene	8.81	1001	7.67
6.	δ -3-carene	9.03	1005	5.74
7.	β -thujene	9.93	1024	12.44
8.	δ -elemene	24.07	1331	1.66
9.	valencene	26.14	1378	0.87
10.	α -gurjunene	26.19	1379	1.80
11.	β -elemene	26.43	1384	4.51
12.	β -cedrene	27.02	1398	1.13
13.	γ -muurolene	27.33	1406	1.27
14.	β -caryophyllene	27.52	1411	0.44
15.	γ -elemene	28.15	1429	3.87
16.	azulene	28.68	1443	0.27
17.	α -acoradiene	29.41	1463	0.27
18.	gelmacrened	29.95	1478	1.49
19.	1H-cycloprop[e]azulene	30.16	1484	0.25
20.	β -cadinene	30.43	1492	0.22
21.	α -selinene	30.54	1495	0.37
22.	cuparene	30.98	1507	0.49
23.	δ -cadinene	31.05	1509	0.89
24.	α -zingibirene	31.44	1520	0.70
25.	bicyclopentylidene	31.70	1527	1.58
26.	α -cedrene	31.86	1531	0.51
27.	ledene oxid-(II)	34.94	1632	2.53
28.	cyclooctene	35.16	1644	0.93
29.	13-tetradecanolide	35.33	1653	1.68
30.	2-methyl-5-pent-2-ene	35.49	1662	0.98
31.	trans-isoelemicin	35.80	1679	1.69
32.	cis- β -asarone	35.91	1685	1.70
33.	Trans-dimethylstilbene	35.96	1687	1.22
34.	elemicin	36.02	1691	0.61
35.	cyclododecane	36.10	1695	3.32
36.	juniper camphor	36.33	1707	1.36
37.	z-11-pentadecenol	36.84	1735	4.69
38.	tricyclooctane	36.97	1742	3.78
39.	E-7-dodecen-1-ol acetate	37.11	1749	2.44
40.	E-2-tridecenal	37.62	1777	0.50
	In total			94.92

*GC retention indices (RI) calculated against C8 to C23 n-alkanes on a HP-5 MS column.

내성균이 속속 보고되고 있어 많은 우려를 일으키고 있다.^{29,30)} *Trichophyton*속 진균은 주로 사람이나 동물의 체표면에 진균증을 여러가지 진균증을 발생시킨다. 그 중에서도 특히 *T. rubrum*은 피부진균증의 대표적인 원인균이며, 다음으로는 *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans* 등이 주 감염원으로 꼽힌다.³¹⁾ Itraconazole 등에 내성인 *Trichophyton*속 진균류도 임상에서 분리, 보고됨에 따라, 새로운 항진균제의 개발에 대한 필요성이 증가되고 있다.³²⁾

식물 정유는 천연항진균제 개발의 중요 자원이며, 백지의 주 효

Table II – MICs (minimum inhibitory concentrations) of the essential oil fraction from the dried roots of *A. dahurica* and its main component against *Aspergillus* species

Name	Essential oil frac. (mg/ml)	α -Pinene (mg/ml)	Amphotericin B (μ g/ml)	Itraconazole (μ g/ml)
<i>A. flavus</i>	4.00	2.00	4.00	2.00
<i>A. fumigatus</i>	2.00	4.00	8.00	2.00
<i>A. niger</i>	2.00	0.25	8.00	4.00
<i>A. terreus</i>	1.00	8.00	32.00	0.25
<i>A. versicolor</i>	1.00	4.00	4.00	1.00

Table III – MICs (minimum inhibitory concentrations) of the essential oil fraction from the dried roots of *A. dahurica* and its main component against *Trichophyton* species

Name	Essential oil frac. (mg/ml)	α -Pinene (mg/ml)	Itraconazole (μ g/ml)	Ketoconazole (μ g/ml)
<i>T. mentagrophytes</i>	0.25	2.00	128.00	8.00
<i>T. rubrum</i>	0.12	1.00	2.00	8.00
<i>T. tonsurans</i>	0.25	1.00	>128.00	16.00

과 중의 하나가 소염항균 활성이므로, 백지정유 분획의 항진균제로의 개발 가능성을 확인하기 위하여, 본 연구에서는 백지로 부터 추출한 정유의 *Aspergillus*속 및 *Trichophyton*속 진균류에 대한 활성을 검정하였다.

Table II에는 대표적인 병원성 *Aspergillus*속 진균 5 종에 대한 백지 정유 분획과 그 주성분인 α -pinene과 기존 항진균제인 amphotericin B 및 itraconazole의 최소억제농도를 측정된 결과가 정리되어 있다. 표에 나타난 바와 같이 백지 정유 분획과 정유의 주성분인 α -pinene은 실험에 사용한 모든 *Aspergillus*종에 대해 뚜렷한 억제효과를 보였고, 특히 *A. terreus*와 *A. versicolor*에 대한 MIC가 1.00 mg/ml로 가장 높은 항진균 효과를 나타냈다. 총 정유분획 보다 α -pinene에 대한 *Aspergillus*종에 따른 감수성의 차이가 크게 나타났다.

백지 정유에 대한 *Trichophyton*속 진균류에 대한 억제 효과 실험결과는 Table III에 정리되어 있다. 이 경우에도 백지 정유 분획과 α -pinene을 처리시 MIC가 0.12~1.00 mg/ml로 나타나, 이들이 뚜렷한 항 *Trichophyton*가 있음이 확인되었다. 또한 실험한 3종 *Trichophyton* 모두가 총 백지 정유 분획보다 α -pinene에 대해 더 높은 감수성을 보였다.

이상의 실험 결과를 종합해 보면, 백지정유는 α -pinene 등 대부분의 생리활성에 별로 기여하지 못하는 non-oxygenated hydrocarbon의 비율이 큰 데도 불구하고 *Aspergillus*속 및 *Trichophyton*속 진균류에 대한 뚜렷한 억제 작용을 나타냄이 확인되었다. 백지 정유의 이들 진균류에 대한 MIC 결과는, 비교 물질로 사용한 기존의 항생제인 amphotericin B, ketoconazole, itraconazole에 비하면 현저히 높지만, 이들 항생제의 독성, 부작용, 특히 내성 발생 현황 등을 고려할 때, 새로운 천연항생제 개

발의 자원으로 충분한 가치가 있는 것으로 생각된다.

감사의 말씀

이 논문은 한국연구재단의 여상과학자 연구비(NRF-2011-0011249) 지원을 받아 수행한 연구임.

참고문헌

- 1) 이창복 : 원색 대한식물도감(상권), 향문사, 서울, p. 842 (2006).
- 2) 한국생약학교수협의회 : 본초학, 아카데미서적, 서울, pp. 80-83 (2003).
- 3) 한약제제학 교재편찬위원회 : 한약제제학, 신일북스, 서울, p. 137 (2013).
- 4) Lechner, D., Stavri, M., Oluwatuyi, M., Rogelio, P. M. and Gibbons, D. : The anti-staphylococcal activity of *Angelica dahurica* (Bai Zhi). *Phytochemistry* **65**, 331 (2004).
- 5) Lee, Y. S., Jang, S. M. and Kim, N. W. : Antioxidative activity and physiological function of the *Angelica dahurica* Roots. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 20 (2007).
- 6) Choi, I. H., Song, Y. K. and Lim, H. H. : Analgesic and anti-inflammatory effect of the aqueous extract of *Angelica dahurica*. *J. Korean Oriental Med.* **29**, 32 (2008).
- 7) Lee, M. Y., Seo, C. S., Lee, J. A., Lee, N. H., Kim, J. H., Ha, H. K., Zheng, M. S., Son, J. K. and Shin, H. K. : Anti-asthmatic effects of *Angelica dahurica* against ovalbumin-induced airway inflammation via upregulation of heme oxygenase-1. *Food Chem. Toxicol.* **49**, 829 (2011).
- 8) Lee, M. Y., Lee, J. A., Seo, C. S., Ha, H. K., Lee, H. Y., Son, J. K. and Shin, H. K. : Anti-inflammatory activity of *Angelica dahurica* ethanolic extract on RAW 264.7 cells via upregulation of heme oxygenase-1. *Food Chem. Toxicol.* **49**, 1047 (2011).
- 9) Kim, Y. K., Kim, Y. S. and Ryu, S. Y. : Antiproliferative effect of furanocoumarins from the root of *Angelica dahurica* on cultured human tumor cell lines. *Phytother. Res.* **21**, 288 (2007).
- 10) Xu, S. F., Ye, Y. P., Li, X. Y. and Chen, F. Y. : Chemical composition and antioxidant activities of different polysaccharides from the roots of *Angelica dahurica*. *Chem. Biodiver.* **8**, 1121 (2011).
- 11) Kimura, Y. and Okuda, H. : Histamine-release effectors from *Angelica dahurica* var. *dahurica* root. *J. Nat. Prod.* **60**, 249 (1997).
- 12) Okuyama, T., Takata, M., Nishino, H., Nishino, A., Takayasu, J. and Iwashima, A. : Studies on the antitumor-promoting activity of naturally occurring substances. II. Inhibition of tumor-promoter-enhanced phospholipid metabolism by umbelliferous materials. *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 1084 (1990).
- 13) Kimura, Y., Ohminami, H., Arichi, H., Okuda, H. Baba, K., Kozawa, M. and Arichi, S. : Effects of various coumarins from

- roots of *Angelica dahurica* on actions of adrenaline, ACTH and insulin in fat cells. *Planta Medica*. **45**, 183 (1982).
- 14) Wang, T. T., Jin, H., Li, Q., Cheng, W. M., Hu, Q. Q., Chen, X. H. and Bi, K. S. : Isolation and simultaneous determination of coumarin compounds in Radix *Angelica dahurica*. *Chromatographia*. **65**, 477 (2007).
 - 15) Eun, J. S., Park, J. A., Choi, B. K., Cho, S. K., Kim, D. K. and Kwak, Y. G. : Effects of oxypeucedanin on hKv1.5 and action potential duration. *Biol. Pharm. Bull.* **28**, 657 (2005).
 - 16) Wang, L. H., Mei, Y. H., Wang, F., Liu, X. S. and Chen, Y. : A novel and efficient method combining SFE and liquid-liquid extraction for separation of coumarins from *Angelica dahurica*. *Sep. Purif. Technol.* **77**, 397 (2011).
 - 17) Xie, Y., Chen, Y., Lin, M., Wen, J., Fan, G. and Wu, Y. : High-performance liquid chromatographic method for the determination and pharmacokinetic study of oxypeucedanin hydrate and byak angelicin after oral administration of *Angelica dahurica* extracts in mongrel dog plasma. *J. Pharm. Biochem. Anal.* **44**, 166 (2007).
 - 18) Kang, T. J., Lee, S. Y., Singh, R. P., Agarwal, R. and Yim, D. S. : Anti-tumor activity of oxypeucedanin from *Ostericum koreanum* against human prostate carcinoma DU145 cells. *Acid Oncol.* **48**, 895 (2009).
 - 19) Xie, Y., Zhao, W., Zhou, T., Fan, G. and Wu, Y. : An efficient strategy based on MAE, HPLC-DAD-ESI-MS/MS and 2D-prep-HPLC-DAD for the rapid extraction, separation, identification and purification of five active coumarin components from Radix *Angelica dahurica*. *Phytochem. Anal.* **21**, 473 (2010).
 - 20) Zheng, X., Zhang, X., Sheng, X., Yuan, Z., Yang, W., Wang, Q. and Zhang, L. : Simultaneous characterization and quantitation of 11 coumarins in Radix *Angelicae dahuricae* by high performance liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biochem. Anal.* **51**, 599 (2010).
 - 21) Cottigli, F., Loy, G., Garau, D., Floris, C., Casu, M., Pompei, R. and Bonsignore, L. : Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. *Phytomedicine* **8**, 302 (2001).
 - 22) Youn, U. J., Yoo, J. K., Chen, Q. C., Lee, I. S., Na, M. K., Min, B. S., Jung, H. J., Seo, E. K. and Bae, K. W. : The comparison of constituents distributed in the root of *Angelica dahurica*. *Kor. J. Pharmacogn.* **41**, 185 (2010).
 - 23) Roh, J., Lim, H. and Shin, S. : Biological activities of the essential oils from *Angelica acutiloba*. *Nat. Prod. Sci.* **16**, 175 (2012).
 - 24) Kim, H. S. and Chi, H. J. : Studies on essential oils of plants of *Angelica* genus in Korea (III). *Kor. J. Pharmacogn.* **21**, 121 (1990).
 - 25) Zhao, A. H., Yang, X.-B., Yang, X.-W., Tao, H.-Y., Yu, J.-L. and Wang, W.-Q. L. : GC-MS analysis of the chemical components of volatile oil from the root of *Angelica dahurica*. *Chin. J. Anal.* **32**, 763 (2012).
 - 26) Sim, Y. and Shin, S. : Anti-*Aspergillus* activities of the *Ligusticum chuanxiong* essential oil alone and in combination with antibiotics. *Nat. Prod. Sci.* **16**, 175 (2010).
 - 27) Denning, D. W. : Aspergillosis: diagnosis and treatment. *Int. J. Antimicrob. Agents* **6**, 161 (1996).
 - 28) Dagenais, T. R. T. and Keller, N. P. : Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in invasive Aspergillosis. *Clin. Microbiol. Rev.* **22**, 447 (2009).
 - 29) Beernaert, L. A., Pasmans, F., Waeyenberghe, L., Dorrestein, G. M., Verstappen, F., Vercammen, F., Haesebrouck, F. and Martel, A. : *Aspergillus fumigatus* strains resistant to both itraconazole and voriconazole. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**, 2199 (2009).
 - 30) Cuenca-Estrella, M., Gomez-Lopez, A., Garcia-Effron, G., Alcazar-Fuoli, L., Mellado, E., Buitrago, M. J. and Rodriguez-Tudela, J. L. : Combined activity In vitro of caspofungin, amphotericin B, and azole agents against itraconazole-resistant clinical isolates of *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 1232 (2005).
 - 31) Sim, Y. and Shin, S. W. : Combinatorial anti-*Trichophyton* effects of the *Ligusticum chuanxiong* essential oil components with antibiotics. *Arch. Pharm. Res.* **31**, 497 (2008).
 - 32) Hryncewicz-Gwóźdz, A., Kalinowska K., Plomer-Nieźgoda, E., Bielecki, J. and Jagielski, T. : Increase in resistance to fluconazole and itraconazole in *Trichophyton rubrum* clinical isolates by sequential passages in vitro under drug pressure. *Mycopathologia* **176**, 49 (2013).