

청미래덩굴 뿌리에서 추출한 순차분획물의
항균활성과 성분 분석

이원구 · 권혁동 · 박효진 · 김성준 · 강정미 · 차경숙 · 하상태

식약품분석과

청미래덩굴 뿌리에서 추출한 순차분획물의 항균활성과 성분 분석

식 약 품 분 석 과

권혁동 · 이원구 · 박효진 · 김성준 · 강정미 · 차경숙 · 하상태

Antimicrobial Activity and Composition of Extract from *Smilax china* root

Food and Drug Analysis Division

W. K. Lee, H. D. Kwon, H. J. Park, S. J. Kim, J. M. Kang,
K. S. Cha and S. T. Ha

Abstract

Antimicrobial activity of five extract fractions from the root of *Smilax china* was investigated by disc diffusion method against several microorganisms, *A. rhizogenes*, *A. tumefaciens*, *C. utilis*, *S. cerevisiae*, *B. megaterium*, *B. subtilis* and *E. coli*. Solvent

extract yield of the powder of vacuum dried *Smilax china* root was 13.10% of methanol fraction, 0.54% of hexane fraction, 0.20% of chloroform fraction, 0.83% of ethylacetate fraction, 2.73% of butanol fraction and 8.71% of aqueous fraction. Methanol extract exhibited potent antimicrobial activity against *A. rhizogenes*, *B. megaterium* and *B. subtilis*. Chloroform extract exhibited antimicrobial activity against *A. tumefaciens*, *B. megaterium* and *B. subtilis*. Ethylacetate extract exhibited strong antimicrobial activity against *A. rhizogenes*, *A. tumefaciens*, *B. megaterium* and *B. subtilis*. Butanol extract exhibited antimicrobial activity against *A. rhizogenes*, *B. megaterium* and *B. subtilis*. Extracts that showed high antimicrobial activity against *A. tumefaciens*, *B. megaterium* and *B. subtilis* are ethylacetate and chloroform extracts at 235 ppm. Methanol, chloroform, ethylacetate and butanol extracts were analyzed by GC/MSD. Methanol extract was including phenolics(8.86%), furan(16.04%), alcohols(0.83%), acids(36.10%), ketones(13.07%), aldehydes(0.20%) and sterols(1.53%). Chloroform extract was including phenolics(29.13%), furans(1.96%), alcohols(8.23%), acids(7.22%), ketones(4.40%), aldehydes(1.75%) and benzenes(10.17%). Ethylacetate extract was including phenolics(45.99%), furans(4.03%), alcohols(1.17%), acids(27.80%) and ketones(44.21%). Butanol extract was including phenolics(18.96%), acids(4.88%), ketones(3.84%), alkanes(3.51%) and sterols(7.27%)

Key words : *Smilax china*, antimicrobial activity, root extract, GC/MSD analysis

I. 서 론

최근에 한방 및 민간요법에서 경험적으로 얻은 각종 생약제들의 약리활성을 과학적 실험으로 구명하려는 연구가 진행되고 있으며 이와 함께 새로운 항종양물질⁽¹⁾, 항균물질⁽²⁻⁴⁾ 및 생리활성물질⁽⁵⁻⁷⁾의 검색에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

식물체에 존재하는 항균물질에 대한 검색은 Mitscher⁽⁶⁾ 등이 107종의 식물체에서 ethanol 추출물의 항균활성을 조사하였고, Leven⁽⁹⁾ 등은 43과 100종 식물체의 수용성, methanol, dichloromethan 및 petroleum ether 추출물의 항균활성을 조사하여 검색, 식물의 84%가 항균활성을 가지며, 75%가 항진균성 활성을 갖는다고 보고하였다. 항균물질의 검색과 항균활성에 관한 국내의 연구는 목단피(*Paenia suffruticosa*)⁽¹⁰⁾, 구기자(*Lycium chinense*)⁽¹¹⁾, 방기(*Sinomenium acutum*)와 감초(*Glycyrrhiza uralensis*)⁽¹²⁾, 치자(*Gardenia jasminoides*)^(10,13), 질경이(*Plantago asiatica*)^(11,13), 황벽(*Phellodendron amurense*), 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*), 리기다소나무(*Pinus rigida*)⁽¹³⁾, 모과(*Chaenomeles sinensis*)⁽¹⁴⁾, 유백피(*Ulmus davidiana*)⁽¹⁵⁾, 자초(*Lithospermum erythrorhizon*)⁽¹⁶⁾, 단삼(*Salvia multiiorhiza*)⁽¹⁷⁾, 신이대(*Sasacoreana*)⁽¹⁸⁾, 새뱅이(*Caridina denticulata*)⁽¹⁹⁾ 및 구절초(*Chrysanthemum zawadskii*)^(20,21) 등의 생약제 추출물에 대하여 이루어지고 있다.

식물에 존재하는 항균물질은 그 대부분이 alkaloid류, flavonoid류, terpene류, phenol화합물, quinone류 및 휘발성 향기성분 등의 이차대사산물이거나 또는 그 유도체들로 알려져 있다. 항균활성을 갖는 alkaloid류는 *Strychnos afzelii*의 줄기 박피에서 분리된 bisnor-dihydrotoxiferine, bisnor-C-alkaloid H 및 Caracurine V가 *Streptococcus* 속 미생물에 대하여 항균활성이 있다고 보고된 바 있으며⁽²²⁾, *Taberanemontana chippii*에서 추출한 45가지의 alkaloid 가운데 dimeric voacamin류의 alkaloid가 Gram 양성균에 대하여 강한 항균활성을 가진 것으로 보고되었다⁽²³⁾. 뿐만 아니라 benzylisoquinoline alkaloids, dehydroglauanine 및 liriodenine 등도 항균물질로 알려져 있다⁽²⁴⁻²⁶⁾. Flavonoid류에 있어서는 *Salvia palaestina*에서 추출한 flavonoid 중에서 circimaritin이 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* 및 *Pseudomonas aeruginosa* 등의 미생물에 대하여 강한 항균활성이 있으며, *Glycyrrhiza glabra*에서 추출한 isoflavonoid 역시 *Staphylococcus aureus*와 *Mycobacterium smegmatis*에 대하여 항균활성을 가지는 것으로 보고되었다^(27,28). 항균활성을 갖는 phenol성 화합물로는 *Magnolia grandiflora*에서 추출한 magnolol, honokiol, 3,5'-diallyl-2'-hydroxy-4-methoxy biphenyl 등이 Gram 양성균에 대하여 항균활성이 존재하며, *Acer ginnala* 잎의 수성 acetone 추출물에서

얻은 8종의 phenolic 화합물과 *Aralia elata*에서 추출한 4-hydroxycinnamic acid가 항균활성을 갖는다고 보고된 바 있다⁽²⁹⁻³¹⁾. 또한 *Echium lycopsis*의 callus 배양에서 추출한 quinone 유도체 및 *Sassafras randaiense*의 뿌리에서 추출한 neolignans도 항균활성을 갖는다고 보고되었다^(32,33).

본 연구에서 재료로 사용한 청미래덩굴(*Smilax china*)은 백합과(Liliaceae)에 속하는 덩굴성 관목으로 우리 나라를 비롯한 중국, 일본에 널리 분포하며, 민간에서 암 치료제, 당뇨병, 이뇨, 체력증강 및 적혈구나 hemoglobin의 증가를 유지하는데 그 뿌리를 약제로 사용하고 있다^(34,35). 뿐만 아니라, 근성장에 대한 영향을 연구한 결과, 20% 농도에서 황색포도상구균, 녹농균, 대장균 등에 대하여 근성장 억제작용이 있다고 알려져 있다⁽³⁶⁾. 그러나 청미래덩굴에 대한 항균활성에 대한 연구는 송⁽³⁰⁾ 등에 의해서 수행된 조분획 추출물의 항균활성에 대한 보고가 있을 뿐이다.

더구나 다른 *Smilax* 속 식물에 대해서도 *Smilax menispermoides*의 근경에서 steroidal saponin의 분리와 *Smilax lebrunii*의 뿌리에서 분리한 steroidal glycoside 등이 보고되었으나 아직까지 이들 물질에 대한 생물학적 활성은 구명되지 않았다^(37,38).

따라서 본 연구에서는 한방 및 민간에서 약제로 사용되고 있는 청미래덩굴 뿌리로부터 얻은 methanol 추출물, methanol 추출물의 chloroform, ethylacetate, buthanol 및 수용성 분획물을 사용하여 Gram 양성균, Gram 음성균 및 효모에 대한 항균활성을 조사하였고, GC/MSD를 이용하여 각 순차분획물의 성분을 분석하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 연구에 사용한 청미래덩굴의 뿌리는 경상남도 창원군 영산면 일대에서 채집한 후, 세절하여 음건하였다. 건조된 청미래덩굴의 뿌리를 Food mixer (KMF-361, Daewoo Co., Korea)를 사용하여 미세하게 마쇄한 후 0.5mm 체로 거른 다음 그 분말을 -29°C 냉동고에 보관하여 분획물 추출재료로 사용하였다.

2. 분획물의 추출

미세하게 마쇄한 청미래덩굴의 뿌리(50g)에 methanol(1000ml)을 가하여 8시간 현탁한 후 membrane filter(0.45 μ m, Millipore Co., U.S.A.)로 여과하여 methanol 분획물을 얻었고, 이를 rotary vacuum evaporator(R-114, Buchi Co., Switzerland)로 감압, 농축, 건조하였다. 건조된 methanol 추출물을 250ml H₂O-methanol(9:1)에 재용해하고 여기에 250ml hexane을 가하여 hexane 추출물과 수용성 추출물로 분획하여 hexane 추출물을 얻고, 수용성 분획에 chloroform(250ml)을 첨가하여 chloroform 추출물을 얻었다. 다음에 수용성 분획에 ethylacetate 및 butanol을 순차적으로 첨가하여 최종적으로 butanol과 수용성 추출물을 얻었다. Hexane, chloroform, ethylacetate, butanol 및 수용성 추출물은 rotary vacuum evaporator로 감압하여 농축, 건조하였다(Fig. 1).

3. 미생물배양 및 배지

항균활성 측정에 사용된 *Agrobacterium rhizogenes*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae* 등은 한국과학기술연구원 생명공학연구소 유전자은행에서 분양 받아 사용하였다. 각 미생물의 배양은 송⁽³⁶⁾ 등의 방법에 따라 30 $^{\circ}$ C에서 배양하였다.

4. 순차분획물의 항균활성 측정

각 순차분획물에 대한 항균활성은 disc diffusion 방법을 이용하여 측정하였다. 각 추출물을 각 용매에 재용해하여 각 추출물의 농도를 235ppm으로 조절하여 멸균된 disc(S & S antibiotic-assay disc, 1/4 inch, Aldrich Chemical Co., Inc., USA)에 점적한 다음, 공기중에서 용매를 완전히 휘발시키고 각각의 검정균이 접종된 agar plate 상에 완전히 밀착시켜 냉장고에서 1시간 방치하였다. *Bacillus* 속, *E. coli*, *C. utilis* 및 *S. cerevisiae*는 30 $^{\circ}$ C 배양기에서 16-17시간 배양하였고, *A. rhizogenes*와 *A. tumefaciens*

*faciens*는 30℃ 배양기에서 36시간 배양한 후 inhibition zone의 직경을 mm단위로 측정하여 항균력을 비교하였다⁽³⁹⁾.

5. 온도 및 저장 기간에 따른 추출물의 안정성

청미래덩굴 뿌리에서 얻은 각 추출물을 4℃에서 35일간 저장한 후 disc diffusion 방법으로 항균활성을 측정하였다.

6. 뿌리 추출물의 GC/MSD 분석

Gas chromatography/Mass selective detector(GC/MSD)에 의하여 각 순차분획 추출물의 휘발성 성분을 분석하였다. GC/MSD는 HP model 6890A series GC system과 연결된 HP model 6890 series Mass Selective Detector를 사용하였다. Column은 HP-5 crosslinked 5% Ph Me Silicone capillary column(50m length × 0.32mm i.d. × 1.05µm film thickness, Hewlett-Packard Co., USA)을 사용하였으며 oven 온도는 methanol과 ethylacetate 추출물의 경우에는 40℃에서 5분간 유지 후 5℃/min으로 승온하여 120℃에서 1분간 유지시켰으며 다시 280℃까지 15℃/min으로 승온하였다. Chloroform 추출물은 40℃에서 5분간 유지 후 5℃/min으로 승온하여 175℃에서 15분간 유지시킨 후 다시 15℃/min으로 280℃까지 승온하였으며 butanol 추출물은 80℃에서 3분간 유지 후 5℃/min으로 승온하여 180℃에서 10분간 유지시킨 후 다시 10℃/min으로 280℃까지 승온하였다. Injector 및 interface의 온도는 각각 270℃와 290℃로 하였다. Carrier gas는 He 1.0ml/min, split mode (ratio=15 : 1)로 하여 시료 1.5µl을 주입하였다. MS의 EM Volts는 1890, 그리고 scan range는 35-700amu로 하였고 GC에서 분리된 각 peak의 성분은 Willey275. L에 의하여 동정하였다.

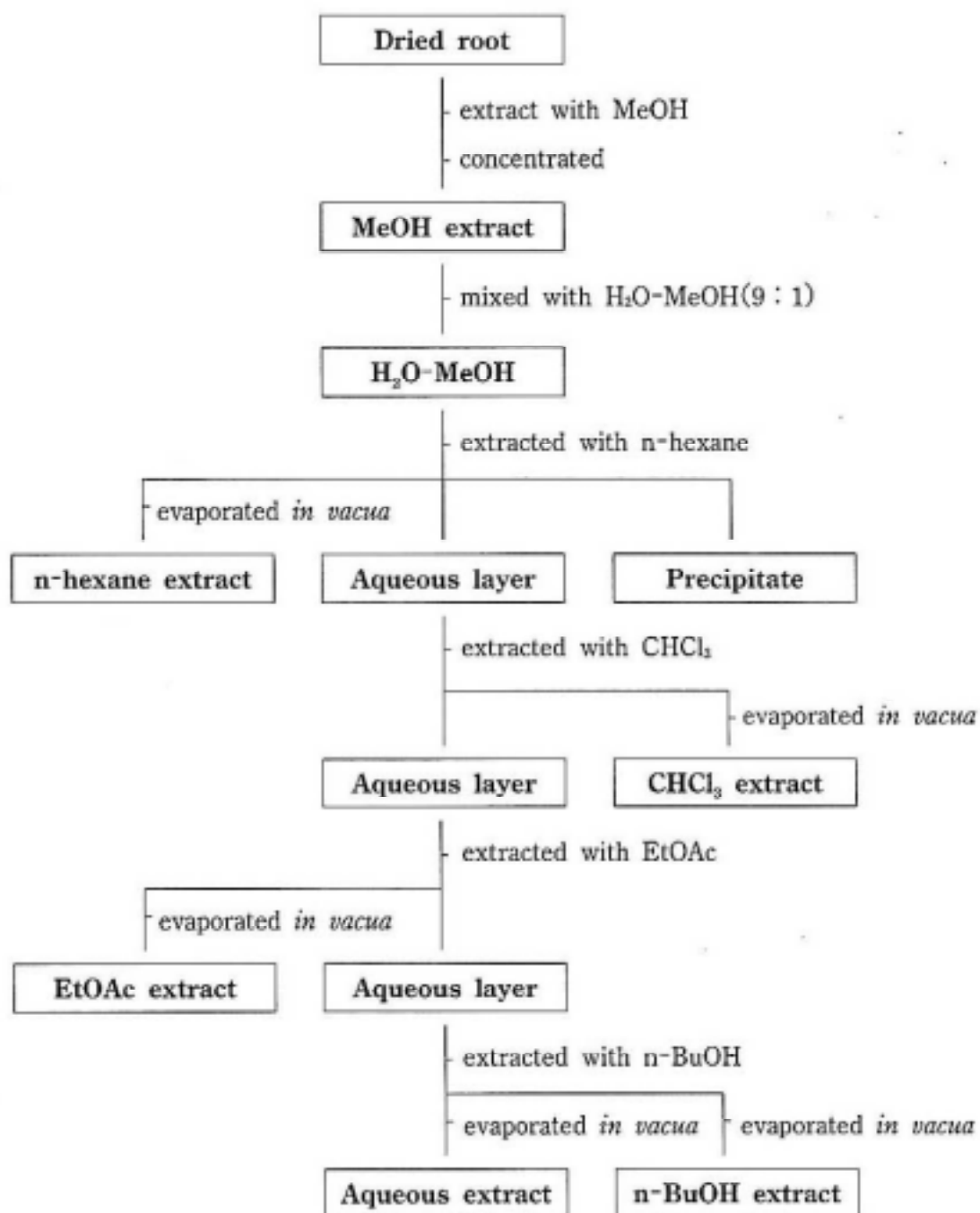


Fig. 1. Fractionation of antimicrobial substances from *Smilax china* root

III. 결과 및 고찰

1. 순차분획물의 추출수율

건조된 청미래덩굴의 뿌리에서 추출한 methanol 및 각 순차분획물의 추출수율은 Table 1에 나타내었다. 50g의 건조된 청미래덩굴 뿌리에 대하여 6.55g의 methanol 추출물을 얻었으며 추출수율은 13.10%이었다. Methanol 추출물에 대한 hexane, chloroform, ethylacetate, butanol 및 수용성 분획물의 추출수율은 각각 0.54%, 0.20%, 0.83%, 2.73% 및 8.71%으로 chloroform의 추출수율이 가장 낮았으며 수용성 추출물의 수율이 높게 나타났다.

Table 1. Yield of each fractions extracted from *Smilax china* root

Fraction	dried weight(g)	Yield(%)
Methanol	6.55	13.10
n-Hexane	0.27	0.54
Chloroform	0.10	0.20
Ethylacetate	0.42	0.83
n-Butanol	1.37	2.73
Aqueous	4.35	8.71

$$\text{Yield(\%)} = \frac{\text{dried weight of extract fraction, g}}{\text{dried } Smilax \text{ china root, 50g}} \times 100$$

2. 뿌리에서 추출한 순차분획물의 항균활성

A. rhizogenes, *A. tumefaciens*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *E. coli*, *C. utilis* 및 *S.*

*cerevisiae*에 대한 청미래덩굴 뿌리에서 얻은 methanol 추출물과 methanol 추출물의 chloroform, ethylacetate, butanol 및 수용성 분획물의 항균활성은 Table 2와 같다.

Table 2. Antimicrobial activity of extracts from *Smilax china* root

Microbes	Inhibition zone, mm				
	Methanol	Chloroform	Ethylacetate	Butanol	Aqueous
<i>A. rhizogenes</i>	-	-	12.0	9.0	-
<i>A. tumefaciens</i>	-	10.0	13.5	-	-
<i>B. megaterium</i>	8.0	12.5	12.0	-	-
<i>B. subtilis</i>	9.0	11.0	11.5	10.0	8.0
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-
<i>C. utilis</i>	-	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-

concentration of each extract, 235 ppm ; -, not measurable activity

각 순차분획 추출물의 농도를 235ppm으로 하여 각 균주에 대한 항균활성을 측정한 결과, methanol 추출물의 경우 *B. megaterium*과 *B. subtilis*에 대하여 높은 항균활성을 보였으나 *A. rhizogenes*를 비롯한 다른 미생물에 대해서는 항균활성이 관찰되지 않았다. 이와 같은 결과는 송⁽³⁶⁾ 등이 보고한 청미래덩굴 뿌리의 methanol 추출물의 항균활성과 비교하여 *A. rhizogenes*와 *A. tumefaciens*의 항균활성이 보이지 않았는데 이것은 methanol 추출물에 존재하는 항균물질의 농도가 낮은 것으로 생각된다. 그리고 chloroform 추출물에 대한 항균활성은 *A. tumefaciens*, *B. megaterium*과 *B. subtilis*에서 나타났고, ethylacetate 추출물은 *A. rhizogenes*, *A. tumefaciens*, *B. megaterium* 및 *B. subtilis*에 대하여 다른 추출물에 비하여 보다 강한 항균활성을 보였으나 다른 균에 대해서는 항균활성을 보이지 않았다. Butanol 추출물의 항균활성은 *A. rhizogenes*와 *B. subtilis*에서 나타났고 수용성 추출물은 *B. subtilis*에서만 항균활성을 보였는데 *B. subtilis*에 대한 수용성 추출물의 항균활성은 butanol 추출물에 비하여 낮았다. 청미래덩굴 뿌리의 각 추출물의 항균활성은 *B. subtilis*에 대해서는 모든 추출물이 항균활성을 보였고, butanol과 수용성 추출물을 제외한 다른 추출물은 *B.*

*megaterium*에 대하여 항균활성을 나타내었다. 이러한 결과는 건조 시료에 대한 각 분획 추출물의 수율과 관련이 있는 것으로 보인다. Methanol 추출물의 경우 그 상대적인 수율이 chloroform, ethylacetate 및 butanol의 수율에 비하여 높아 항균물질의 상대적인 함량이 낮아 methanol 추출물의 항균활성이 다른 순차분획 추출물에 비하여 낮은 것으로 생각된다. 또한 수용성 추출물의 경우, 항균활성이 methanol 추출물에 비하여 낮은 것은 다른 *Smilax* 속 식물의 수용성 추출물의 경우와 유사한 결과를 보이고 있다⁽⁹⁾. 항균물질의 추출 용매에 따른 항균활성은 ethylacetate>chloroform>butanol≒methanol>수용성 추출물의 순으로, 이와 같은 결과는 쑥의 methanol 추출물의 순차분획물에서 나타나는 결과와 유사하였다⁽⁴⁰⁾.

3. 추출물의 안정성

청미래덩굴의 뿌리에서 추출한 각 용매 추출물을 4°C 냉장고에서 35일간 보관한 다음 각 추출물의 농도를 235ppm으로 조절한 후 각각의 미생물에 대한 항균활성의 측정 결과는 Table 3에 나타내었다.

Table 3. Stability of extracts from *Smilax china* root during storage

Microbes	Inhibition zone, mm				
	Methanol	Chloroform	Ethylacetate	Buthanol	Aqueous
<i>A. rhizogenes</i>	-	-	11.0	-	-
<i>A. tumefaciens</i>	-	10.0	13.0	-	-
<i>B. megaterium</i>	7.5	11.5	12.5	7.5	-
<i>B. subtilis</i>	7.5	11.5	12.0	8.0	7.5
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-
<i>C. utilis</i>	-	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-

These results showed the antimicrobial activity of extracts from *Smilax china* root stored at 4°C for 35 day.

concentration of each extract, 235 ppm ; -, not measurable activity

냉장보관에 따른 항균활성의 변화는 크게 보이지 않았다. Methanol 추출물은 *B. megaterium*과 *B. subtilis*에 대하여 항균활성이 나타났으며 chloroform 추출물은 *A. tumefaciens*, *B. megaterium*과 *S. subtilis*에 대하여, ethylacetate 추출물은 *A. rhizogenes*, *A. tumefaciens*, *B. megaterium*과 *S. subtilis*에 대하여, buthanol 추출물은 *B. megaterium*과 *S. subtilis*에 대하여 항균활성을 보였으며, 수용성 추출물은 *S. subtilis*에서만 항균활성을 보였다. 35일간 저장한 후에도 ethylacetate 추출물은 저장하기 전과 마찬가지로 다른 추출물에 비하여 *A. rhizogenes*, *A. tumefaciens*, *B. megaterium* 및 *B. subtilis*에 대하여 강한 항균활성을 보였다. 이러한 결과로 보아 각 추출물은 장기간 보관하여도 항균활성은 저장기간에 따라서 어느 정도 안정성이 있는 것으로 생각된다.

4. 뿌리 추출물의 성분분석

청미래덩굴의 뿌리에서 얻은 methanol 추출물의 성분에 대한 GC/MSD분석 결과는 Fig. 2 및 Table 4와 같다. Methanol 추출물에는 47가지의 휘발성 화합물이 검출되었으며 이들의 상대적인 함량을 조사한 결과, acid류가 36.10%, furan류가 16.04%, ketone류가 13.07%, phenol류가 8.86% 함유되어 있으며 그밖에 alcohol류, aldehyde류 및 sterol 화합물이 함유되어 있었다. Acid로는 quinic acid가 전체 추출물의 21.36%로 가장 많이 존재하고 hexadecanoic acid가 5.64%를 차지하고 있으며, furan계 화합물중 5-(hydroxymethyl)-2-furancarboxaldehyde가 15.51%로 가장 많이 존재하였으며 항균작용이 존재한다고 알려진 phenol류의 경우에는 benzoic acid(3-hydroxy-benzoic acid, 4-hydroxy-benzoic acid)가 4.29% 존재하였다. 이 같은 결과는 송⁽³⁶⁾ 등이 보고한 청미래덩굴 뿌리의 methanol 추출물의 성분 분석에 비하여 보다 많은 물질이 검출되었다. Chloroform 추출물의 경우(Fig. 3, Table 5)에는 82가지의 화합물이 검출되었고, methanol 추출물과 비교하여 benzene류의 화합물이 검출되었으며, phenol성 화합물이 29.13% 함유되어 있고 그 종류도 methanol 추출물에 비하여 다양하였다. 그러나 furan계 화합물이 크게 감소하여 2,3-dihydro-benzofuran만이 검출되었다. Ethylacetate 추출물에는 24가지의 화합물이 검출되었다(Fig. 4, Table 6).

검출된 전체 화합물의 45.99%가 phenol성 화합물들로 이중 73.53%가 1,3,5-benzenetriol과 2-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)naphthalen-1-ol이었다. 또한 acid 화합물이 27.80%로 다량 존재하였다. Butanol추출물에는 37가지의 화합물이 검출되었는데 phenol성 화합물이 18.96%로 상대적으로 많이 존재하고 sterol 화합물도 7.27% 존재하였다(Fig. 5, Table 7).

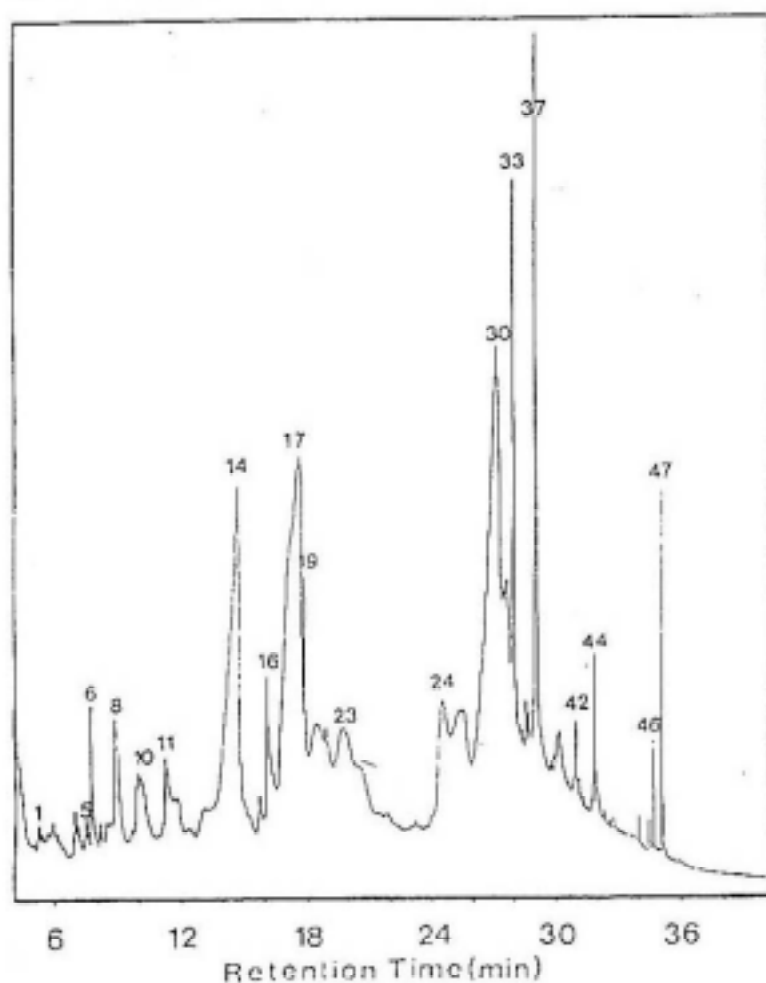


Fig. 2. Gas chromatogram of methanol extract obtained from *Smilax china* root. Peak numbers correspond to those listed in Table 4.

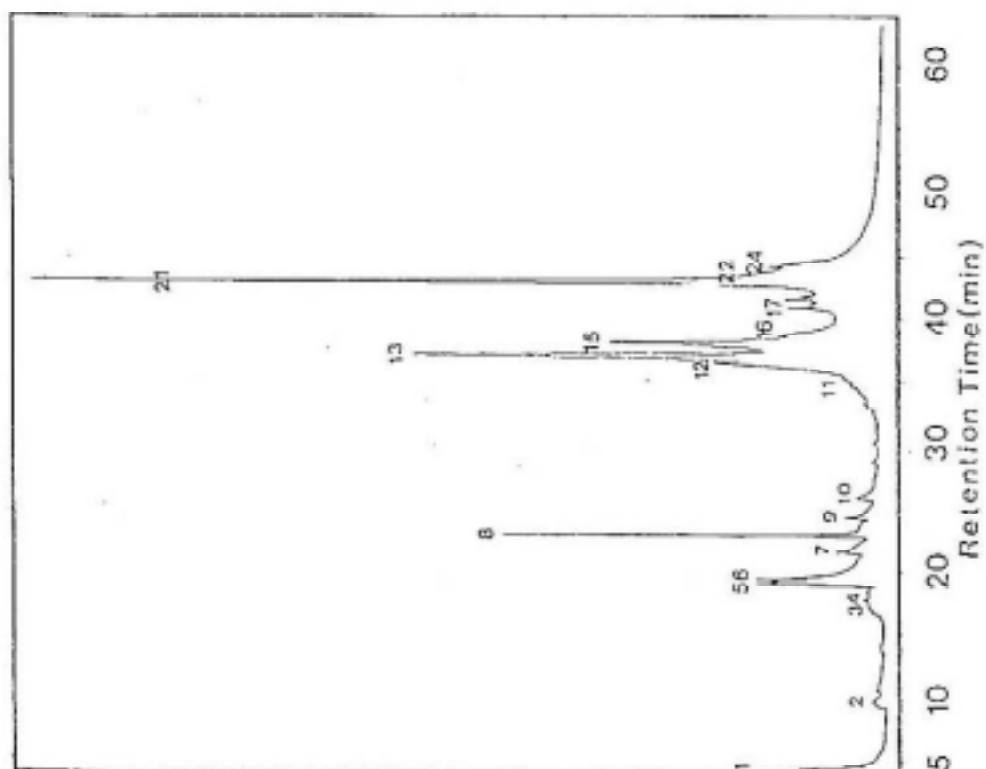


Fig. 4. Gas chromatogram of ethylacetate extract obtained from *Smilax china* root.

Peak numbers correspond to those listed in Table 6.

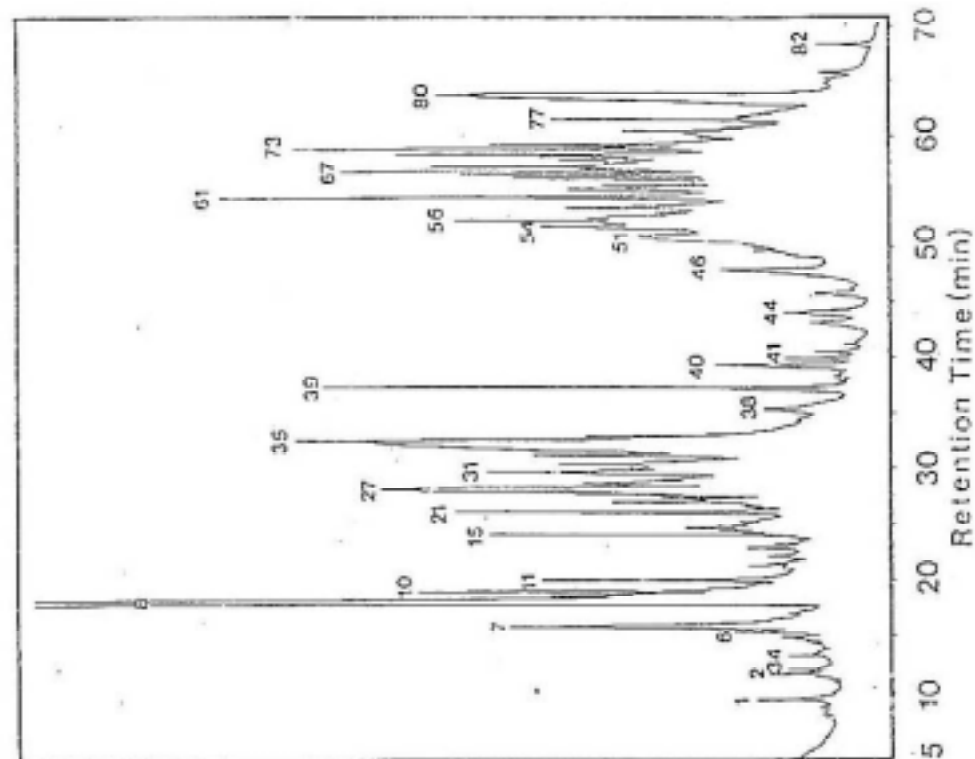


Fig. 3. Gas chromatogram of chloroform extract obtained from *Smilax china* root.

Peak numbers correspond to those listed in Table 5.

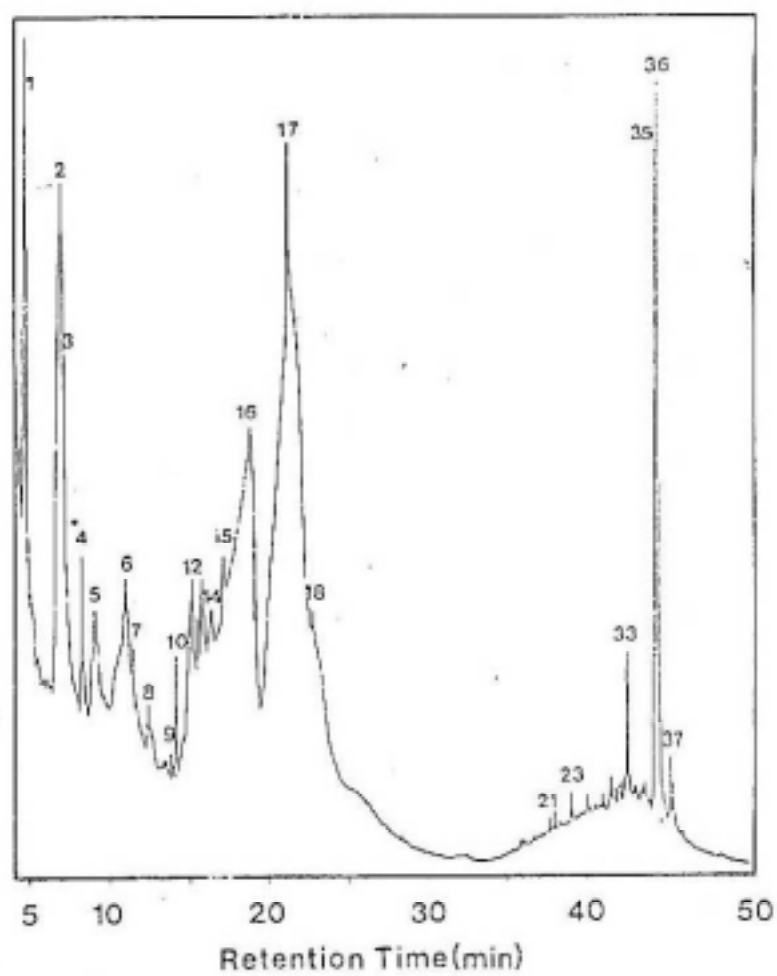


Fig. 5. Gas chromatogram of butanol extract obtained from *Smilax china* root.
Peak numbers correspond to those listed in Table 7.

Table 4. Compounds in the methanol extract from *Smilax china* root

Peak No.	RT(min)	Area(%)	Compound Name
Phenolics(8.86%)			
15	15.750	0.396	4-vinylphenol
16	16.109	2.444	1,2-benzenediol
19	17.870	1.619	4-vinyl-2-methoxy-phenol
24	24.535	2.331	3-hydroxy-benzoic acid
25	24.606	1.960	4-hydroxy-benzoic acid
41	30.923	0.114	2,4-bis(dimethylbenzyl)phenol
Furans(16.04%)			
1	5.195	0.172	2-acetylfuran
3	6.853	0.357	5-methylfurfural
17	17.624	15.511	5-(hydroxymethyl)-2-furancarboxaldehyde
Alcohols(0.83%)			
21	18.453	0.563	1,2,3-propanetriol, 1-lactone
35	28.681	0.267	1-hexadecanol
Acids(36.10%)			
30	27.186	21.363	quinic acid
33	27.975	5.642	hexadecanoic acid
34	28.569	0.648	heptadecanoic acid
36	28.722	0.657	(E,E)-9,12-octadecadienoic acid, methyl ester
37	29.060	6.761	linoleic acid
38	29.203	0.756	octadecanoic acid
42	30.995	0.266	2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-hexadecanoic acid, ethyl ester
Ketones(13.07%)			
2	5.850	0.243	2-hydroxy-2-cyclopenten-1-one
7	8.061	0.130	1,2-cyclohexanedione
11	11.245	0.868	2,3-dihydro-5-hydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one
12	11.583	0.004	2,4-hexanedione
14	14.726	11.829	2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one
Alddehydes(0.20%)			
5	7.386	0.196	pentenal
Sterols(1.53%)			
46	34.732	0.307	(3. β , 22E)-stigmasta-5,22-dien-3-ol
47	35.152	1.227	(3. β , 24S)-stigmasta-5-en-3-ol

Table 5. Compounds in the chloroform extract from *Smilax china* root

Peak No.	RT(min)	Area(%)	Compound Name
Phenolics(29.13%)			
2	11.623	0.179	2-methoxy-phenol
8	18.237	13.482	4-vinyl-2-methoxy-phenol
10	18.903	1.595	2,6-dimethoxy-phenol
12	21.299	0.115	2-methoxy-4-(1-propenyl)-phenol
23	26.971	0.729	2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol
27	28.107	2.818	4-(3-hydroxy-1-propenyl)-2-methoxy-phenol
35	32.489	7.531	3-hydroxy-4-methoxycinnamic acid
65	56.057	1.217	2,3-dimethoxy-5-[2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethenyl]phenol
70	57.634	1.468	2-methoxy-4-(methoxymethyl)-phenol
Furans(1.96%)			
7	15.801	1.959	2,3-dihydro-benzofuran
Alcohols(8.23%)			
3	12.033	0.412	phenylethyl alcohol
37	33.093	1.399	γ -phenyl-benzenepropanol
39	37.280	1.674	2-[2-(2-methoxyethoxy)ethoxy]-ethanol
62	55.095	1.869	(3 β)-24-norchola-5,20(22),22-trien-3-ol
76	60.347	1.931	3,4-dimethoxy-benzenemethanol
77	61.381	0.947	15-nonylphenyl-3,6,9,12,15-pentaoxapentadecanol
Acids(7.22%)			
5	14.889	0.131	butanedioic acid, dimethyl ester
9	18.596	0.678	isopentyl 3-hydroxy-2-methylenebutanoate
17	24.667	0.484	dodecanoic acid
29	28.834	0.355	decanoic acid
31	29.714	1.857	methyl ferulate
36	32.837	0.976	hexadecanoic acid
45	45.788	0.260	5,8,11-heptadecatrienoic acid, methyl ester
55	52.105	1.178	4-methyl-1,3-benzenedicarboxylic acid, dimethyl ester
56	52.300	1.297	1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl)ester

Table 6. Compounds in the ethylacetate extract from *Smilax china* root

Peak No.	RT(min)	Area(%)	Compound Name
Phenolics(45.99%)			
2	9.899	0.470	phenol
5	18.927	3.618	1,2-benzendiol
7	21.521	0.947	4-ethyl-2-methoxy-phenol
8	22.810	3.224	4-vinyl-methoxy-phenol
9	24.264	0.427	2-methyl-1,3-dibenzenediol(Resorcinol)
10	25.854	0.559	2-propyl-phenol
11	34.481	1.021	3,4,5-trimethoxy-phenol(Antiarol)
12	36.542	10.262	1,3,5-benzenetriol(Phloroglucinol)
19	41.544	1.905	2-hexylphenol
21	42.998	23.552	2-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)naphthalen-1-ol
Furans(4.03%)			
6	19.372	4.026	2,3-dihydro-benzofuran
Alcohols(1.17%)			
3	17.766	1.168	1,2,3-propanetriol
Acids(27.80%)			
13	37.144	15.937	quinic acid
15	38.127	11.189	3(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-propenoic acid
20	40.860	0.667	1,2-benzenedicarboxylic acid, monoester
Ketones(44.21%)			
24	44.205	3.768	(5 α)-androstane-3,11,17-trione
Miscellaneous(4.19%)			
1	4.193	3.507	tetradecamethyl-heptast loxane

Table 7. Compounds in the butanol extract from *Smilax china* root

Peak No.	RT(min)	Area(%)	Compound Name
Phenolics(18.96%)			
2	6.975	7.738	1,2-benzendiol
4	8.273	0.766	4-vinyl-2-methoxy-phenol
9	13.812	0.117	2,5-dihydroxy-benzoic acid, methyl ester
10	14.128	0.395	2,6-dimethyl-3-(methoxymethyl)-p-benzoquinone
12	15.130	3.196	3-hydroxy-benzoic acid
14	16.346	2.590	4-hydroxy-3-methoxy-benzenacetic acid
15	17.072	4.153	2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol
Acids(4.88%)			
18	22.753	4.783	hexadecanoic acid
22	38.000	0.095	1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl)ester
Ketones(3.84%)			
1	4.788	3.168	2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one
11	14.619	0.309	1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-ethanone
32	42.231	0.360	1,4-dimethyl-2(1H)-pyridinethione
Alkanes(3.51%)			
3	7.179	2.133	1,1-bis-n-butoxy isobutane
19	35.864	0.038	2,9-dimethyl-undecane
21	37.735	0.065	hexadecane
23	39.032	0.322	pentadecane
24	40.075	0.519	octacosane
26	40.964	0.275	dodecane
29	41.761	0.162	tridecane
Sterols(7.27%)			
36	44.290	6.826	(3 β ,25R)-spirost-5-en-3-ol
37	45.279	0.444	(25R)-spirost-4-en-3-one
Miscellaneous(21.19%)			
13	15.712	3.181	2,6,6-trimethyl-3,4-benzotricyclo[3.2.0.0(2,7)]heotene
16	18.778	18.010	1,6-anhydro- β -D-glucopyranose(Levoglucozan)

청미래덩굴 뿌리의 각 순차분획 추출물의 성분을 GC/MSD를 이용하여 분석한 결과 항균활성을 나타내는 물질로 알려진 phenol성 화합물이 다량 들어 있었다. 235 ppm의 각 순차분획물을 처리하여 항균활성을 조사한 결과 균성장 억제 작용을 보이는 미생물의 종류는 methanol 추출물의 경우에는 *B. megaterium*과 *B. subtilis*에 대하여, chloroform 추출물은 *A. tumefaciens*, *B. megaterium* 및 *B. subtilis* 등에 대하여, ethylacetate 추출물은 *A. rhizogenes*, *A. tumefaciens*, *B. megaterium* 및 *B. subtilis* 등의 4가지 미생물에 대하여, butanol 추출물은 *A. rhizogenes*와 *B. subtilis*의 2가지 미생물에 대하여 항균활성이 나타났으며, 각 순차분획 추출물을 GC/MSD로 분석한 결과 각 추출물에 함유된 phenol성 화합물의 함량은 ethylacetate(45.99%), chloroform(29.13%), butanol(18.96%) 및 methanol(8.86%) 순으로 나타났다. 즉, 각 분획 추출물에 함유된 phenol성 화합물의 함량에 비례하여 미생물의 성장 억제를 보였다. 청미래덩굴 뿌리의 순차분획 추출물에 존재하는 phenol성 화합물들 중에서 2-methyl-1,3-dibenzenediol과 3-hydroxy-benzoic acid 등의 화합물은 *Anacardium occidentale*의 nut shell oil에서도 분리되었는데 이러한 화합물은 *B. subtilis*, *E. coli* 및 *S. cerevisiae* 등에 대하여 항균활성이 존재한다고 보고되었으며⁽⁴¹⁾, *Artemisia princeps*와 *Cotoneaster acutifolous*에서 분리된 2,3-dihydrobenzofuran이 *B. subtilis*와 *S. aureus* 및 *E. coli*에 대한 항균활성이 있고, phytoalexin 효과가 존재한다고 보고⁽⁴²⁾되었는데 청미래덩굴 뿌리 추출물에서도 같은 물질이 확인되었다. 따라서 청미래덩굴 뿌리에 존재하는 phenol성 화합물이 각 순차분획물에서 나타나는 항균활성에 크게 기여하는 것으로 생각된다.^(29,32,33)

IV. 요 약

청미래덩굴(*Smilax china* L.)의 뿌리에서 추출한 methanol, chloroform, ethylacetate, butanol 및 수용성 추출물의 항균활성을 *A. rhizogenes*, *A. tumefaciens*, *C. utilis*, *S. cerevisiae*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *E. coli*에 대하여 disc diffusion 방법으로 조사하였다.

뿌리에서 얻은 methanol 추출물은 *B. megaterium*과 *B. subtilis*에 대하여 항균활성이 나타났고, chloroform 추출물은 *A. tumefaciens*, *B. megaterium*, *B. subtilis*에 대하여, ethylacetate 추출물은 *A. rhizogenes*, *A. tumefaciens*, *B. megaterium* 및 *B. subtilis*에 대하여 강한 항균활성을 보였다. 또한, butanol 추출물은 *A. rhizogenes*와 *B. subtilis*에 대하여 항균활성이 존재하였으며, 수용성 추출물은 *B. subtilis*에서만 항균활성을 나타내었다. GC/MSD에 의한 각 추출물의 분석 결과, methanol 추출물은 phenol성 화합물이 8.86%, furan계 화합물이 16.04%, alcohol류가 0.83%, acid류가 36.10%, ketone류가 13.07%, aldehyde류가 0.20%의 함량으로 존재하고, chloroform 추출물에는 phenol성 화합물이 29.13%, furan계 화합물이 1.96%, alcohol류가 8.23%, acid류가 7.22%, ketone류가 4.40%, aldehyde류가 1.75%, benzene류가 10.17% 존재하였다. Ethylacetate 추출물에 함유된 화합물은 phenol성 화합물이 45.99%, furan계 화합물이 4.03%, alcohol류가 1.17%, acid류가 27.80%, ketone류가 44.21% 존재하였다. Butanol 추출물은 phenol성 화합물이 18.96%, acid류가 4.88%, ketone류가 3.84%, alkane류가 3.51%, sterol류가 7.27% 함유되어 있었다.

또한, 청미래덩굴 뿌리 순차분획 추출물의 phenol성 화합물 함량은 항균활성의 정도와 비례함을 알 수 있었다. Methanol 추출물의 경우에는 *B. megaterium*과 *B. subtilis*에 대하여, chloroform 추출물은 *A. tumefaciens*, *B. megaterium*과 *B. subtilis* 등에 대하여, ethylacetate 추출물은 *A. rhizogenes*, *A. tumefaciens*, *B. megaterium* 및 *B. subtilis* 등의 4가지 미생물에 대하여, butanol 추출물은 *A. rhizogenes*와 *B. subtilis*의 2가지 미생물에 대하여 항균활성이 나타났으며, 각 추출물을 GC/MSD로 분석한 결과 각 추출물에 함유된 phenol성 화합물의 함량은 ethylacetate(45.99%), chloroform(29.13%), butanol(18.96%) 및 methanol(8.86%) 순으로 나타났다. 따라서 청미래덩굴 뿌리에서 얻은 각 순차분획 추출물의 항균활성은 이들에 존재하는 phenol성 화합물의 함량에 기인하는 것으로 생각된다.

V. 참고문헌

1. Leven, M., Berghe, D.A.V. and Mertens, F. : Screening of higher plants for biological activities I. Antimicrobial activity, *Planta Medica*, 36, 311(1979)
2. Didry, N., Dubreuil, L. and Pinkas, M. : Antimicrobial activity of Naphtoquinones and *Allium* extracts combined with antibiotics, *Pharm. Acta. Helv*, 67, 148(1992)
3. Lee, K.H., Ibuka, T., Wu, R.Y. and Geissman, T.A. : Structure-antimicrobial activity relationships among the sesquiterpene lactones and related compounds, *Phytochemistry*, 16, 1177(1977)
4. Nagaki, M. : Two sesquiterpene Lactones from *Artemisia* species, *Phytochemistry*, 23, 462(1984)
5. Nef, C., Rio, B. and Chrestin, H. : Induction of catharanthine synthesis and stimulation of major indole alkaloids production by *Catharanthus roseus* cells under non-growth-altering treatment with *Pythium vexans* extracts, *Plant Cell Reports*, 10, 26(1991)
6. Maldonado-Mendoza, I.E., Ayora-Talavera, T.R. and Loyola-Vargas, V.M. : Tropane alkaloid production in *Datura stramonium* root cultures, *In Vitro Cell. Dev. Biol.*, 28, 67(1992)
7. Tomita, Y. and Ikeshiro, Y. : Biosynthesis of ursolic acid in cell cultures of *Perilla frutescens*, *Phytochemistry*, 35, 121(1994)
8. Mitscher, L.A., Leu, R.P., Bathala, M.S., Wu, W.N. and Beal, J.L. : Antimicrobial agents from higher plants. I. Introduction, rationale and methodology, *Lloydia*, 35, 157(1972)
9. Leven, M., Berghe, D.A.V., Mertens, F., Vlietinck, A. and Lammens, E. : Screening

of higher plants for biological activities I. Antimicrobial activity, *Planta Medica*, 36, 311(1979)

10. 박옥연, 장동석, 조학래 : 한약재 추출물의 항균효과 검색, *한국영양식량학회지*, 21, 91(1992)
11. 이병완, 신동화 : 식품 부패미생물의 증식을 억제하는 천연항균성 물질의 검색, *한국식품과학회지*, 23, 200(1991)
12. 신동화, 한지숙, 김문숙 : 방기 및 감초의 에탄올 추출물이 *Listeria monocytogenes*의 증식 억제에 미치는 영향, *한국식품과학회지*, 26, 627(1994)
13. 이병완, 신동화 : 식품 부패미생물에 대한 천연항균성 물질의 농도별 및 분획별 항균 특성, *한국식품과학회지*, 23, 205(1991)
14. 이정희, 이서래 : 식품중 페놀성 물질의 몇가지 생리활성, *한국식품과학회지*, 26, 317(1994)
15. 이홍용, 김치경, 성태경, 문택규, 임치주 : 유백피 추출물의 항세균작용, *산업미생물학회지*, 20, 1(1992)
16. 박옥연, 장동석, 조학래 : 자초(*Lithospermum erythrorhizon*) 추출물의 항균특성, *한국영양식량학회지*, 21, 97(1992)
17. 목종수, 박옥연, 김영목, 장동석 : 용매와 추출조건에 따른 단삼(*Salvia multiorrhiza*) 추출물의 항균력, *한국영양식량학회지*, 23, 1001(1994)
18. 김미정, 변명우, 장명숙 : 대나무(신이대)잎의 생리활성과 항균성 효과, *한국영양식량학회지*, 25, 135(1996)
19. 박희연, 이창국, 박원기, 이용호 : 새뱅이(*Caridina denticulata*) 추출물의 항균 효과, *한국식품영양과학회지*, 26, 54(1997)
20. 장대식, 남상해, 최상욱, 양민석 : *Chrysanthemum*屬 식물의 항균성, *한국농화학*

31. 마승진, 국주희, 고병섭, 박근형 : 두릅에서 항미생물활성을 갖는 4-hydroxycinnamic acid의 분리 및 동정, 한국농화학회지, 39, 265(1996)
32. Tabata, M., Tsukada, M and Fukui, H. : Antimicrobial activity of quinone derivatives from *Echium lycopsis* callus cultures, *Planta Medica*, 44, 234(1982)
33. El-Feraly, F.S., Cheatham, S.F. and Breedlove, R.L. : Antimicrobial neolignans of *Sassafras randaiense* roots, *J. Natural Products*, 46, 493(1983)
34. 陳存仁 : 圖說漢方醫藥大事典(한국어판), 4, 257, 東部文化社, 서울, (1984)
35. 常敏毅, 金洙哲, 註解圖說 抗癌本草, p40, 바람과 물결, 서울, (1992)
36. 송종호, 권혁동, 이원구, 박인호 : 청미래덩굴에서 추출한 조분획의 항균활성, 한국생물공학회지, 12, 560(1997)
37. Ju, Y. and Jia, Z.J. : Steroidal saponins from the rhizomes of *Smilax menispermoides*, *Phytochemistry*, 31, 1349(1992)
38. Ju, Y. and Jia, Z.J. : Minor steroidal glycosides from the roots of *Smilax lebrunii*, *Phytochemistry*, 33, 1193(1993)
39. Veliky, I.L. and Latta, R.K. : Antimicrobial activity of cultured plant cells and tissues, *Lloydia*, 37, 611(1974)
40. 박석규, 박종철 : 쑥의 추출물 및 coumaric acid의 항균활성, 한국생물공학회지, 9, 506(1994)
41. Himejima, M. and Kubo, I. : Antibacterial agents from Cashew *Anacardium occidentale*(Anacardiaceae) nut shell oil, *J. Agric. Food Chem.*, 39, 418(1991)
42. Kokubu, T., Hrborne, J.B., Eagles, J. and Waterman, P.G. : Dibenzofuran phytoalexins from the sapwood of *Cotoneaster acutifolius* and five related species, *Phytochemistry*, 38, 57(1995)