

매자나무뿌리 알콜 추출물의 항진균 작용

가톨릭 醫科大學 藥理學教室

〈指導 魯 炳 林 教授〉
趙 炳 憲 副教授

金 潤 根 · 朴 靜 純

—Abstract—

Antifungal Activity of Alcohol Extract and Crystal(A) of Berberis Koreana Palibin

Yoon Keun Kim, M.D. and Chung Soon Park, M.D.

Department of Pharmacology, Catholic Medical College
Seoul, Korea

(Direct: Professor. Byung Lim Roh Assoc. Prof. Byung Heon Cho)

The fungistatic effects of extract and crystal (A) of Berberis Koreana Palibin, a common shrub in Korea, were observed and compared with undecylenic acid and vegetable oil. In vitro studies, the spores of fungi were inoculated on Sabouraud's glucose agar media which contained compounds of various concentrations, and the growth of the fungi was observed for 3 weeks.

The species of the fungi used in these experiments were Epidermophyton floccosum, Microsporum gypseum, Microsporum audouini, Microsporum canis, Microsporum nanum, Microsporum cookei, Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton tonsurans and Trichophyton verrucosum.

The results of the studies were as follows:

1. The growth of E. floccosum, M. audouini, M. canis, M. nanum, M. cookei, was inhibited in Sabouraud's glucose agar media containing extract and crystal (A) of Berberis Koreana Palibin 1mg/ml.

I. 머리말

眞菌類의 感染은 表在性(局所性)과 深部性(全身性)으로 나누고 있는데 표재성진균감염에 있어서는 Trichophyton, Microsporum 및 Epidermophyton 등에 의한 감염이 임상적으로 가장 중요한 것으로 인정 되고 있다(Orrmsby et al. 1954¹⁾).

표재성진균감염증으로 우리나라에서 흔히 볼 수 있는 것은 汗疱性白癬症, 頭部白癬症 및 頑癬症이며 이와 같은 진균류의 피부감염증에는 오래전부터 여러가지 약물이 극소적으로 적용되고 있으나 그 임상적효과는 만족할 정도가 못되며 만성적으로 되는 예가 적지 않다.

현재 표재성진균감염에 사용되고 있는 약물의 종류는 많으나 그중에서 undecylenic acid 및 griseofulvin을 제

외 하고는 우수한 효과를 나타내는 약물이 아직 발견되지 않고 있는 실정이며, 趙²⁾와 李³⁾는 유기합성제로 benzaniline 및 trimethylene-trianiline 과 식물성체제로서는 초피나무 알콜추출물 및 회향유를 가지고 항진균 작용을 실험하여 유효한 약물로 인정된바 있다.

식물성 약물에 속하는 propionic acid, caprylic acid 및 undecylenic acid 는 한포성백선증에 가장 효과적으로 사용되고 있으나 이 약물들은 극소염증을 일으킬때가 있으며 또한 오래동안 사용하면 내성진균으로 되는 수가 있다고 한다(Vilanova et al. 1950⁴⁾). 趙⁵⁾는 우리나라에 야생하고 있는 Berberis속 매자나무뿌리의 성분을 추출정화하여 항균작용을 검색한 결과, 결핵균 및 그의 수종의 균주에 대하여 발육저지 작용을 나타내었다는 보고가 있다.

저자들은 이와 같은 매자나무 뿌리의 알콜추출물 및 결정성 물질을 가지고 항진균 작용을 실험하여 실험관 내에서 항진균 작용을 인정 할 수 있었다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험에 사용한 약물

매자나무(*Berberis Koreana Palibin*)뿌리의 알콜 추출물 및 결정화에 사용한 재료는 서울근교에 야생하는 매자나무뿌리를 채취하여 사용하였다. 결정화의 화학적 조작은 알콜추출법에 의하여 매자나무뿌리 2,000 g을 잘게 썰어서 95% 알콜 6,000 ml로 3번 열침한 다음 농축하여 알콜추출물 450 g을 얻었다(이하 BK-E 라고 약함).

이 추출물을 2배량의 에칠알콜로 용해시키고, 5배의 증류수를 가하여 희석한 다음 석출되는 수지상의 침전물을 여과하여 제거하고 이 여액을 다시 농축한후 여기에 다 소량의 염산을 가하여 산성으로 하여 석출되는 황색침상결정(A)를 얻었다(이하 BKC-A 라고 약함).

2. 시험관내에서의 항진균작용에 대한 실험

1) 배지(培地)

Sabouraud's glucose agar 배지의 조성은 pepton 1%, glucose 4% 및 agar 1.8%이며, 이 배지를 pH 6.6으로 수정하고 나서 120°C에서 20분간 멸균한 다음 penicillin G crystal (Pfizer) 20 µg/ml와 streptomycin (Pfizer) 40 µg/ml를 50°C에서 가한것을 사면 배지 및 평판배지로 만들어서 사용하였다.⁶⁾

2) 사용균종

다음과 같은 10종의 피부성진균,

- Epidermophyton floccosum,
- Microsporium gypseum,
- Microsporium audouini,
- Microsporium canis,
- Microsporium nanum,
- Microsporium cookei,
- Trichophyton rubrum,
- Trichophyton mentagrophytes,
- Trichophyton tonsurans,
- Trichophyton verrucosum

을 Belgium의 Insitute of Tropical Medicine에서 분양 받아서 사용하였다.

3) 항진균시험에 사용된 시료의 농도

시료는 앞에 말한바와 같은 방법으로 본 교실에서 결정화 및 추출한 BKC-A 및 BK-E를 사용하였다.

Sabouraud's glucose agar 배지안에 penicillin과 strept-

omycin를 넣을때 BKC-A 및 BK-E를 ml 당 500 µg 및 1,000 µg씩, 그리고 대조로써 여로(藜蘆)뿌리 추출물, 연초(煙草)추출물, 낙화생 기름, 대두기름 계자기름 및 undecylenic acid는 각각 ml 당 1,000 µg가 되도록 배지에 넣었다.

사면배지에서의 검사는 Sabouraud's glucose agar 배지에서 정상발육하여 생긴 포자(孢子)를 한 백금이(白金耳)씩 시료약제가 들어 있는 Sabouraud's glucose agar 사면배지에 25°C에서 이식 배양하고 3주간 관찰하였다.

본실험에서는 약물의 농도가 1,000 µg/ml에서 적어도 균의 발육상태가 정상균태(菌苔)의 직경의 1/2이하로 뚜렷하게 억제작용을 받은 것을 기준으로 삼아서 억제작용이 있고 없음을 판단하였다. 그리고 동일한 약물에 대하여서 3회씩 실험을 반복하고 얻은 결과를 종합하여서 약물의 효과를 결정하였다.

한 ml에 1,000 µg의 약물이 들어있는 Sabouraud's glucose agar 사면배지에서 진균발육이 억제되었다고 인정되는 진균을 다시 정상 Sabouraud's glucose agar 배지에 이식하고 그 발육상태를 3주간 관찰하였다.

또 한편 발육이 완전히 억제된 것을 배양한 부위에서 그 일부를 lactophenol cotton blue 염색(phenol crystal 20 gm, lactic acid 20 ml, glycerine 40 ml, cotton blue 0.05 gm, 증류수 20 ml)을 하여서 균의 형태를 관찰하였다.

III. 실험성적

시험관내 항진균작용은 앞에서 말한 진균 10종을 정상 Sabouraud's glucose agar 배지에서 3주이상 배양한 균태의 일정량을 정상배지와 약물 또는 식물기름을 함유한 각개 배지에 이식하고 3주간에 걸쳐 그 발육상태와 균태 형성을 비교 관찰하여서 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. BK-E 및 BKC-A의 항진균작용

한 ml에 BK-E, 500 µg, BKC-A 500 µg 및 1,000 µg을 함유하는 사면배지와 여로추출물, 연초추출물, 낙화생기름, 대두기름, 계자기름 및 undecylenic acid를 각각 ml 당 1,000 µg가 되게 Sabouraud's glucose agar 배지에 넣어 사면배지에서 10종의 진균의 발육상태를 관찰한 결과는 다음과 같다.

BK-E는 500 µg/ml 농도에서 *E. floccosum*, *M. audouini*, *M. canis*, *M. nanum*, *M. cookei*에 대하여 억제작용을 나타내었으며, *M. gypseum*, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*에 대하여서는 약간의 억제작용을 나타낼 뿐이다. 그리고 BKC-A는 *T. verrucosum*을 제외한 모든 균주에 대하여 500~1,000 µg/ml 농도에

Table 1. Fungistatic effects of BK-E and extracts of various plant and Vegetable oils

Fungi	Test drugs	Normal media	BK-E			BKC-A			Veratrum extract	Nicotianae Folium extract	Arachidis oil	Sojae oil	Sinapis oil	Undecylenic acid
	Concent. $\mu\text{g/ml}$		500	500	1,000	1,000	1,000	1,000						
<i>E. floccosum</i>	—	—	++	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+++
<i>M. gypseum</i>	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
<i>M. audouini</i>	—	—	++	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+++
<i>M. canis</i>	—	—	++	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+++
<i>M. nanum</i>	—	—	++	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—	+++
<i>M. cookei</i>	—	—	++	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+++
<i>T. rubrum</i>	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
<i>T. mentagrophytes</i>	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
<i>T. tonsurans</i>	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
<i>T. verrucosum</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++

Sabouraud's glucose agar was used for culture.
 The growth of various fungus was observed for 3 weeks.
 +++: Complete inhibition
 ++: moderate inhibition
 +: slightly inhibition
 —: no effect

있어서 약간의 억제작용을 나타내었다. 한편 대조약물에 있어서는 undecylenic acid는 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 모든 균주에 대하여 완전한 억제작용을 나타내고 있는데 비해서 여로알콜추출물과 연초알콜추출물만이 *E. floccosum*, *M. audouini*, *M. canis*, *M. nanum* 및 *M. cookei*에 대해서만 약간의 억제작용을 나타내고 있으며 이외의 기름종류들에 있어서는 진균발육에 대해서 억제작용이 없는 것을 알 수 있다(Table 1 및 Fig. 1 참조).

한편 BK-E에 의하여 발육이 억제되어 있는 진균의 현미경적 소견의 변화는 *E. floccosum*, *M. audouini*, *M. canis*, *M. nanum*, *M. cookei*에 있어서 약간의 균사의 형성이 불완전하거나 또는 팽창되어 있고, 아포도 기형적인데가 있다.

IV. 고 안

한방에서는 주로 Berberis속 식물인 황련(黃連), 황백(黃柏)이 많이 사용되고 있는데, 이와같은 식물들은 오래전부터 腹痛, 小腸炎性泄瀉, 胃腸障害로 오는 多尿症 및 口渴等으로 水分을 많이 攝及하는 症狀, 그리고 黃疸症, 蛔虫症 및 肝機能低下症, 炎症性諸眼疾患, 皮膚病, 外傷等이며, 婦人症으로는 炎症性的 婦人科諸疾患 및 出血性疾患, 그리고 神經過敏症等을 주로 치료하는데 사용되어 왔다고 하지만(本草綱目) 그의 약리작용 및 항균작용에 관해서는 뚜렷하지 못한점이 많아 최근 趙와 李⁵⁾에 의하여 우리나라에 야생하고 있는 Berberis

속 매자나무뿌리에서 결정화 및 항균실험을 하여 *Micrococcus lysodeikticus*, *Hemolytic streptococcus*, *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus* 등 구람양성, 그리고 구균, 임질균, 백일핵균등 구람음성구균, 적리균같은 구람음성간균등의 증식을 억제하나 일정한 발육억제경향은 볼 수 없었다고 한다. 그리고 결핵균에 대해서 INAH의 3,000배 이상의 양을 사용하여야 INAH와 같은 작용을 나타낼 수 있다고 한다.

저자들은 이와 같은 항균작용과 피부병 및 안질환에 Berberis속 식물이 사용되어 왔다는 것을 토대로 하여 항진균작용을 우선 실험관내실험을 하여 본결과 BK-E가 *E. floccosum*, *M. audouini*, *M. canis*, *M. nanum*, *M. cookei* 등에 대하여 억제작용을 나타낸것이 BKC-A보다 약간 강한 작용으로 보아 매자나무뿌리 알콜추출물중에 식물성지방산이 있어 협동적으로 억제작용을 나타낸 것으로 추측된다.

Wyss²⁾(1945)에 의하면 caprylic acid는 undecylenic acid와 화학구조는 비슷하나 이중결합이 없는 것이 다른 점인데 이 물질의 항균작용은 undecylenic acid에 비하면 미약하다고 한다. 일반적으로 지방산은 탄소수가 7~13개 사이의 물질이 강한 항진균작용을 나타내고, 또한 이러한 지방산중 탄소간에 이중결합이 있는 물질이 더욱 강한 항진균 작용을 나타내는 것으로 알려져 있는데, 한편 대조약물인 undecylenic acid은 실험에 사용한 진균주 10종에 대하여 대부분이 완전한 억제작용을

나타내고 있는데 비하여 BK-E 및 BKC-A는 미약한 억제작용이 있는 것으로 보아 실용할 만한 가치를 인정되지 않은 것으로 생각된다. 그리고 nicotin을 함유하고 있는 연초 및 계자기름등은 살충제 및 발포약으로 알려져 있으나 항진균작용에 있어서는 효과가 극히 미약한 것을 알 수 있다.

V. 맺음 말

저자들의 식물체에서 결정화 및 추출한 BKC-A 및 BK-E를 가지고 다음 10종의 표준진균, Epidermophyton floccosum, Microsporum gypseum, Microsporum audouini, Microsporum canis, Microsporum nanum, Microsporum cookei, Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton tonsurans 및 Trichophyton verrucosum에 대한 항진균작용은 실험관내를 통하여 관찰하였고, 아울러 여로, 연초, 추출물 및 낙화생기름, 대두기름, 계자기름 및 undecylenic acid들의 작용과 비교 관찰하여 얻은 결과는 다음과 같다.

1. Sabourauds glucose agar 배지에 있어서 BK-E는 500 μ g을 함유하는 농도에서 E. floccosum, M. audouini, M. canis, M. nanum, M. cookei에 대하여 억제작용을 나타내었으며, M. gypseum, T. rubrum, T. mentagrophytes 및 T. tonsurans에 대하여서는 약간의 억제작용을 나타내었다. 그리고 BKC-A는 500~1,000 μ g 함유배지에서 T. verrucosum을 제외한 모든균주에 대하여 약간의 억제작용을 나타내는데 비하면 undecylenic acid는 BK-E 및 BKC-A보다 뚜렷한 억제작용이 있다.

<이 논문을 지도하여 주신 노병림교수님 및 조병현부교수님께 감사 드립니다.>

REFERENCES

- 1) Ormsby, O.S. and Montgomery, H.: *Disease of the skin. 8th ed. Lea & Febiger Co. Philadelphia. 1128, 1954.*
- 2) 趙炳憲: *Trithioformaldehyde, Benzalniline* 및 초과나무 alcohol 抽出物の 抗真菌作用, 가톨릭大學 醫學部 論文集 10:65. 1966.
- 3) 李圭龍: *Trimethylenetrianiiline, Benzoin* 및 茴香油의 抗真菌作用, 가톨릭大學 醫學部 論文集 14:31, 1968.
- 4) Vilanova, X. and Cassanovas, M.: *Artificially produced resistance in the Trichophyton gypseum in the presence of undecylenic acid and in the presence of some vegetable. J. Invest. Dermat 15:161, 1950.*
- 5) 趙炳憲, 李鍾訓: 韓國産 매자나무 成分의 結晶化 및 抗菌作用 가톨릭大學 醫學部 論文集 7:129, 1963.
- 6) Conant, N.F.: *Manual of clinical mycology. 2nd ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia, 413, 1954.*
- 7) Wyss, O., Ludwig, B.J. and Jorner, R.R.: *The fungistatic and fungicidal of fatty acid and related compounds. Arch. Biochem. 7:415, 1945.*

≫ 金潤根, 朴靜純 論文寫真附圖 ‹

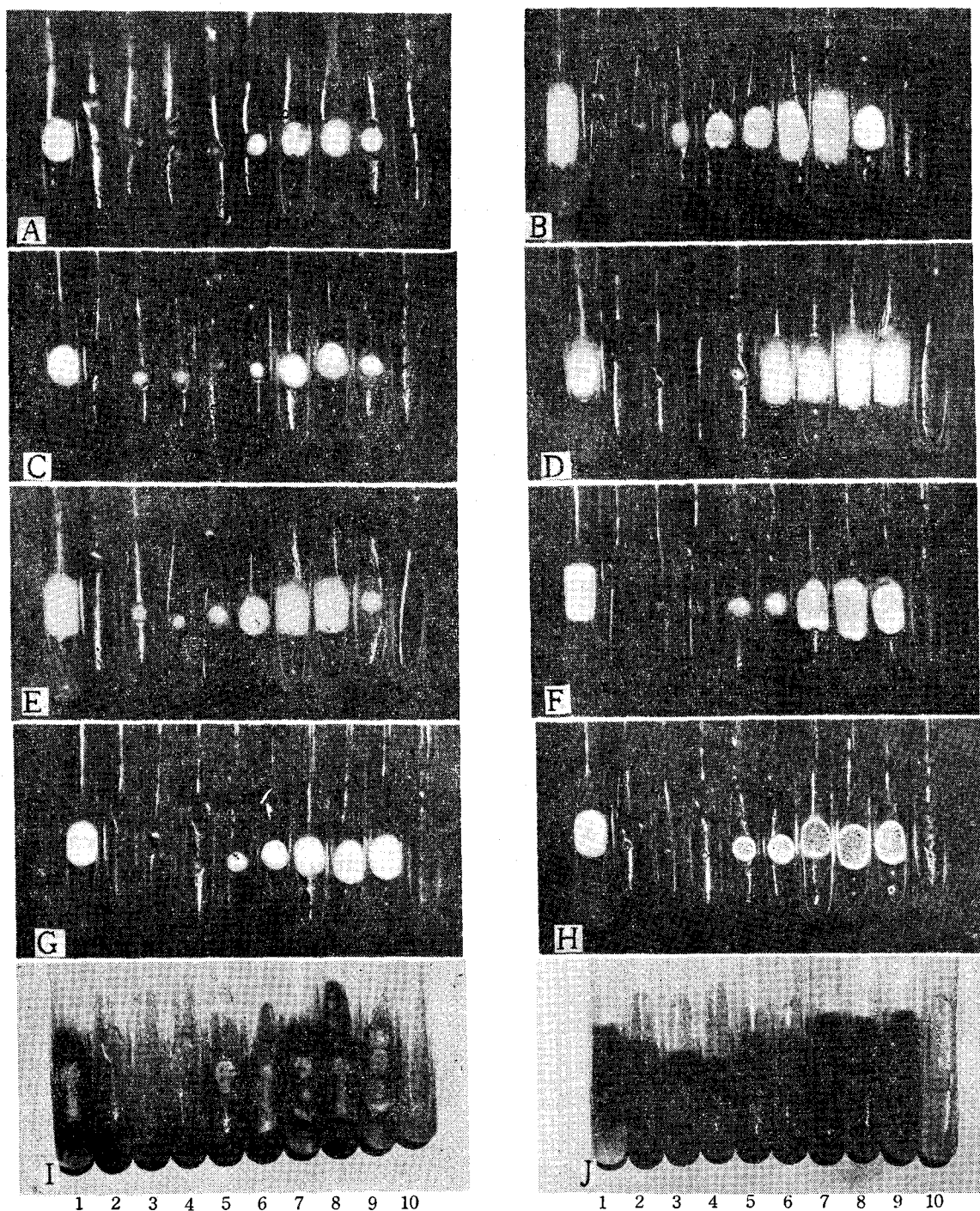


Fig. 1. 8 days growth of A. (*E. floccosum*) B. (*M. gyozeum*) C. (*M. audouini*) D. (*M. canis*) E. (*M. nanum*) F. (*M. cookei*) G. (*T. rubrum*) H. (*T. mentagrophytes*) I. (*T. tonsurans*) J. (*T. verrucosum*) on Sabourand's glucose agar medium containing various compounds. Test tube 1. (normal media) 2. (berberis koreana extract 500µg/ml) 3. (berberis koreana crystal 500µg/ml) 4. (berberis koreana crystal 1000µg/ml) 5. (veratrum extract 1000µg/ml) 6. (nicotianae folium extract 1000µg/ml) 7. (arachidis oil 1000µg/ml) 8. (sojag oil 1000µg/ml) 9. (sinapis oil 1000µg/ml) 10. (undecylenic acid 1000µg/ml)