

Gardnerella vaginalis에 대한 牡丹皮, 蘇木, 魚腥草, 連翹, 夏枯草, 玄蔘의 항균 효과

장경호 · 이동녕 · 김형준*

세명대학교 한의과대학 부인과학교실

In vitro activities of Moutan Cortex Radicis, Caesalpiniae Lignum, Houttuyniae Herba, Forsythiae Fructus, Prunellae Herba, Scrophulariae Radix against Gardnerella vaginalis

Kyung Ho Zhang, Dong Nyung Lee, Hyung Jun Kim*

Department of Oriental Gynecology, College of oriental Medicine, Se-Myung University

The purpose of this thesis is to dedicate to get the objectivity of herbal medicine treatments by choosing herbs likely to work as antibacterial agents, *Moutan Cortex Radicis*, *Caesalpiniae Lignum*, *Houttuyniae Herba*, *Forsythiae Fructus*, *Prunellae Herba*, *Scrophulariae Radix* against *Gardnerella vaginalis* which is associated with Bacterial vaginosis, making experiments on them and getting the significant results. Each herb's efficacy on control the number of Bacterial vaginosis is noticed by using Disk Susceptibility test with six herbs medicine and Broth dilution assay of the culture. Disk Suseptibility Test : The efficiency strength is as follows in a row : *Caesalpiniae Lignum*, *Moutan Cortex Radicis*, *Prunellae Herba*, *Forsythiae Fructus*, *Houttuyniae Herba*, *Scrophulariae Radix*. MIC : *Prunellae Herba* is 1.5 mg/ml, *Caesalpiniae Lignum* is 5 mg/ml, *Forsythiae Fructus* and *Moutan Cortex Radicis* is 10 mg/ml for *G. vaginalis*. As a results, herbmed which tested in this study have an antibacterial effects against *G. vaginalis* and that may be used for treatment of Bacterial vaginosis. Assistant use of external medicine to p.o medicine is expected to bring the good effect of treatment which is used for the origin of this disease.

Key words : *Gardnerella vaginalis*, Bacterial vaginosis, herbmed

서론

膣炎은 산부인과 외래를 방문하는 환자들의 가장 흔한 질환 중 하나로 비정상적인 질 분비물과 함께 국소 염증성 변화를 주소증으로 하는 증상이다¹⁾.膣炎은 원인에 따라 感染性和 非感染性으로 나누는데, 感染성 질염은 다시 원인균에 따라 세균성, 곰팡이성, 원충류성 그리고 바이러스성으로 나누며, 비감염성 질염은 빈번한 질 세척이나 의류 및 기타 화학물질로 인한 과민 반응성과 자극에 의한 膣炎, 膣內 이물질로 인한 염증 그리고 閉經後 나타나는 萎縮性 膣炎 등이 있을 수 있다²⁾.

膣炎을 일으키는 원인균으로는 *Candida albicans*와 같은 真菌

*Trichomonas vaginalis*와 같은 원충, 葡萄狀 球菌들의 細菌, 單純疱疹性 바이러스 및 *Gardnerella vaginalis* 등이 있다. 이 중에서 *G. vaginalis*는 細菌性膣症(Bacterial vaginosis)을 일으키는 주요 원인균으로 알려져 있다^{3,4)}. *G. vaginalis*는 정상적인 여성에서는 40%정도에서 발견되지만 세균성 질증 환자에서는 95%이상 발견되는 균으로, 주요 증상은 혐기성 세균 특유의 악취를 내는 질분비물의 증가를 특징으로 한다. 근래에 이 균에 의해 誘發되는 細菌性膣症이 早産, 羊膜炎 등 다른 산부인과 질환과 밀접한 관련이 있음이 밝혀지면서 학계의 관심이 더 높아지고 있는 실정이다^{5,6)}. 細菌性膣症은 한의학에서 陰戶病의 범주에 포함되는데, 그 症狀에 따라 帶下, 陰痒症으로 표현되며, 병인으로는 濕熱 또는 濕毒과 관련하여 설명하고 있으며 치료법으로 內治法, 外用藥 그리고 內外治法을 兼用하는 방법을 사용하고 있으나 아직 체계적인 연구는 부족한 편이다. 근래 陰戶病의 치료에 대한 실험적 연

* 교신저자 : 김형준, 충북 제천시 신월동 세명대학교 부속 한방병원

· E-mail : khjoongy@hanmail.net, · Tel : 043-649-1819

· 접수 : 2005/06/02 · 수정 : 2005/07/11 · 채택 : 2005/08/04

구를 살펴보면, 宋⁷⁾의 龍膽瀉肝湯과 銀花瀉肝湯, 鄭⁸⁾의 膈下逐瘀湯과 清泡逐瘀湯, 宋⁹⁾의 完帶湯 등 內服藥에 대한 보고가 대부분이며 外用藥에 대한 연구로는 張¹⁰⁾, 金¹¹⁾의 보고가 있었으나 細菌性陰症의 특정 원인균에 대한 연구는 金¹²⁾을 제외하고는 없는 실정이다.

이에 저자는 細菌性陰症의 주 原因菌인 *G. vaginalis*을 치료하기 위하여 여러 문헌¹³⁾과 본초학 서적¹⁴⁾을 참고한 바 항균성이 있다고 알려진 65가지 약물을 선택하였으며 이중 帶下와 陰痒의 治療에 활용되는 清熱解毒藥, 利水滲濕藥, 收澀藥 약물 중에 항균작용이 있을 것으로 기대되는 한약재를 탐색하고자 牧丹皮, 蘇木, 魚腥草, 連翹, 夏枯草, 玄蔘 등 6가지 한약재를 선택하여 본 연구에 착수하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실 험

1. 재료

이 실험에서 사용한 약제는 牧丹皮(Moutan Cortex Radicis), 蘇木(Caesalpiniae Lignum), 魚腥草(Houttuyniae Herba), 連翹(Forsythiae Fructus), 夏枯草(Prunellae Herba), 玄蔘(Scrophulariae Radix)으로서 시중에서 구입하여 정선한 것을 사용하였다.

Brain heart infusion(BHI)과 말의 혈청(Heat Inactivated horse serum)은 Difco Co.에서, agar는 Junsei Co.(Japan), agarose는 Acros Co., Ampicillin은 Sigma Co.(USA)에서 구입하였다. paper disk (8 mm)는 Toyo Roshi Kaisha Co.(Japan)에서 구입하였다.

2.菌株

본 실험에 사용한 균주 *Gardnerella vaginalis* (ATCC 49145; [Gardner and Dukes] Greenwood and Pickett)는 미국 ATCC(American Type Culture Collection)에서 동결건조된 것을 구입하여 Modified BHI broth에 녹인 후 Modified BHI agar에 2~3회 계대배양 후 사용하였다.

3. 방법

1) 시료의 조제

건조된 각 약재 15 g을 150 ml의 증류수에 넣고 약 2시간 동안 煎湯하였다. 탕액을 50 ml Centrifuge tube(Corning, USA)에 옮긴 후 2,000 × g에서 20분간 원심분리하여 상층액을 회수하였다. 회수된 추출물을 진공농축기를 이용하여 약 15 ml 정도로 농축한 후 동결건조기로 건조하였다. 건조된 시료에 대해 건조중량을 측정하여 수율(yield)을 결정한 후(Table 1), 증류수에 녹여 모두 100 mg/ml의 농도로 만들었다. 건조된 각 시료는 121℃에서 15분간 고압증기멸균하여 시료 내에 어떤 세균이나 진균도 존재하지 않도록 한 후 각각 1 ml씩 microcentrifuge tube에 넣어 사용 직전까지 영하 20℃에 냉동 보관하였다.

2) 약재추출물의 농도와 수율

15 g의 약재를 전탕하여 15 ml로 감압농축한 추출물의 농도와 수율은 다음과 같다(Table 1). 수율이 낮은 蘇木, 夏枯草, 連翹 등은 玄蔘처럼 수율이 높은 약재보다 추출물의 농도가 훨씬 낮

은 것을 알 수 있다.

Table 1. Preparation of the aqueous extract of each herb and the yields

Herbs	Dried weight (g)	Concentration of the herb extract (mg/ml)	Weight of the dried powder (g)	Yields (% W/W)
Moutan Cortex Radicis (牧丹皮)	15.0	98.7	1.48	9.9
Caesalpiniae Lignum (蘇木)	15.0	28.0	0.42	2.8
Houttuyniae Herba (魚腥草)	15.0	84.0	1.97	13.1
Forsythiae Fructus (連翹)	15.0	60.0	0.90	6.0
Prunellae Herba (夏枯草)	15.0	22.0	0.33	2.2
Scrophulariae Radix (玄蔘)	15.0	205	3.08	20.5

Fifteen grams of each herb were soaked into 150 ml distilled water and boiled for 2 hrs. The aqueous extract was centrifuged at 2000 × g for 20 minutes and the supernatant was concentrated to 15 ml with a vacuum rotary evaporator constituting the herb extract, and freeze-dried with a lyophilizer. The dried powder of each herb extract was weighed and the yields were calculated. The concentration of the extract was calculated on the basis of the yields.

3) 培地 및 細菌培養

*G. vaginalis*는 Modified BHI agar나 Modified BHI media를 사용하여 5% CO₂가 들어있는 CO₂ 배양기에서 37℃로 배양하였다. Modified BHI agar는 37 g의 brain heart infusion을 증류수 800 ml와 혼합한 후 10% NaOH로 pH를 7.4로 맞추고 15 g agar를 첨가하였다. 121℃에서 15분간 고압멸균한 후 50℃로 식힌 것을 50℃의 말의 혈청(Heat Inactivated Horse Serum, 200 ml)과 기포가 생기지 않도록 조심스럽게 혼합한 후 87 × 10 mm Petri dish나 60 × 15 mm tissue culture dish에 부어 평판배지를 만든 후 사용직전까지 냉장 보관하였다.

4) 液體培地 內 菌數와 吸光度(OD₆₀₀)의 관계

OD₆₀₀ = 1을 나타낼 때의 액체배지내의 *G. vaginalis*의 균수를 결정하기 위해 OD₆₀₀ = 1의 액체배지를 YM 배지로 각각 10¹, 10², 10³, 10⁴, 10⁵, 10⁶, 10⁷ 배 희석하여 각 희석액으로부터 100 μg씩 평판배지에 도말한 후 24℃에서 48시간후 각 평판배지에서 자란 집락의 수를 세어 배양액내의 *G. vaginalis* 수를 산정하였다. *G. vaginalis*의 600 nm에서의 흡광도는 평균적으로 1 AU (Absorbance Unit) = 1.7 × 10⁷ cfu/ml로 나타났다. 따라서 다음의 모든 실험에서는 이 수치를 바탕으로 각 실험에 대해 같은 수의 균을 넣어 실험을 하였다.

5) 감수성 디스크법에 의한 항균작용 검사

감수성 디스크 검사를 하기 위해 *G. vaginalis*의 세균발을 준비하였다. 우선 *G. vaginalis*의 단일집락을 YM 액체배지에 접종하여 배양한 지 48시간 지난 후 분광기(Bio-Rad Smart Spec 3000, USA)를 이용하여 culture의 흡광도(OD₆₀₀)를 측정해 균수를 계산한 후, 87 × 15 mm 평판배지 당 2 × 10⁵ cfu (colony forming unit)의 *G. vaginalis*가 들어갈 수 있게 YM 배지로 희석하였다. 2 × 10⁵ cfu의 *G. vaginalis* culture를 47℃로 가온한 3 ml의 멸균된 top agarose (5% agarose)와 혼합하여 37℃로 가온한 YM 평판배지의 표면에 얇게 덮어 *G. vaginalis* 균주가 평판배지에 균등한 배열로 위치하도록 하였다. 세균발은 20분 동안 상온

에서 고정된 후 사용하였다.

영하 20℃에 보관했던 시료는 고농도의 용액이므로 실험전에 미리 55℃로 가온하여 침전물이 생성되는 것을 방지하였고, 사용 직전 시험관을 흔들어서 균질한 용액으로 만들어 정확하게 농도를 맞추었다. 멸균된 Petri dish에 올려놓은 paper disc에 50 µg (5 mg)씩 100 mg/ml의 시료를 떨어뜨린 후 멸균된 핀셋으로 균주가 도말된 세균발에 올려놓았다. 각 실험에는 30 µg 또는 50 µg의 ampicillin을 positive control로 포함시켰다. 디스크를 올려놓은 plate는 항온배양기에서 37℃로 배양하였다. 48시간 후 시료에 의해 *G. vaginalis*의 세균성장이 조금이라도 억제가 된 시료를 항균성이 있는 시료로 보았다.

6) 液體培地 稀釋法(Broth dilution method)에 의한 항균활성도 검사

항균성을 나타낸 시료의 *G. vaginalis*에 대한 최소저지농도 (Minimal Inhibition Concentration; MIC)에 대한 조사는 표준액 체배지 희석법을 이용하였다. 55℃의 100 mg/ml의 시료를 YM 배지를 사용하여 200 µl의 부피로 반응최종농도 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 mg/ml 등이 되도록 연속희석하였다. *G. vaginalis*의 단일집락을 YM 배지에 접종한 지 48시간 후 OD₆₀₀을 재서 모든 시료에 대해 2 × 10⁴ cell이 들어가도록 YM 배지로 희석하였다. 준비된 희석 시료(200 µl)와 *G. vaginalis* (800 µl)를 시험관에 넣어(최종 1 ml) 37℃, CO₂ 배양기에서 배양하였다. 대조군으로 시료(시료+배지), 배지, 시료를 넣지 않은 배양액(배지+균)을 각각 배양하였다. 48시간 후 각 시료를 1.5 ml microcentrifuge tube에 옮긴 후 12,000 × g에서 1분간 원심분리 후 대조군과 비교하여 조금이라도 옅은 노란색의 세포침전물이 보이는 것을 "+", 세포침전물이 보이지 않는 것을 "-"로 표시하였다. 시료에 의해 균의 성장이 억제된 마지막 시험관의 시료농도를 MIC로 기록하였다. 각 항약제추출물에 대한 실험은 3회씩 반복하여 실험의 정확성을 기하였다.

성 적

1. 감수성 디스크법에 의한 항균효과

본 실험에 사용한 시료는 모두 문헌적으로 항균성이 있다고 알려진 약재를 선택하였다. 7 mg의 시료를 디스크에 떨어뜨려 48시간 후 *G. vaginalis*의 세균성장이 조금이라도 성장이 억제된 것은 항균력을 가지고 있는 것으로 보였다. 같은 농도를 기준으로 하였을 때 시료의 *G. vaginalis*에 대한 항균력은 蘇木이 현저하게 좋았고, 牡丹皮, 夏枯草, 連翹 등도 약간의 항균력을 나타냈다. 玄蔘과 魚腥草는 거의 반응성을 나타내지 않았다. 본 실험의 대조군으로 항균제 ampicillin을 포함시켰다.

감수성 디스크법에 의한 실험결과 각 약제들에 의한 *G. vaginalis*의 생장에 대한 저지대를 볼 수 있었고 이들의 크기와 특징이 각각 다른 정도로 나타났다. 감수성 디스크법에 의한 결과 중 10 mg의 藥材에 대한 저지대 및 특징을 실험결과를 찍은 사진에 대한 陰畫(negative image)를 통해 면밀히 관찰한 후 기록하였다(Table 2).

蘇木은 *G. vaginalis*에 대해서 넓은 저지대(10 mm)와 많은 위성집락을 나타내어 아주 강한 균 성장저해를 관찰할 수 있었으며, 그 다음으로 牡丹皮, 夏枯草(7 mm)가 *G. vaginalis*에 대해서 비교적 넓은 저지대를 보이며 주위에 많은 위성집락을 관찰할 수 있었다. 連翹(4~6 mm)는 저지대의 범위는 적으나 저지대 주변에 위성집락이 형성되었으며, 魚腥草와 玄蔘은 저지대를 형성하지 못하여 항균효과가 거의 없는 것으로 관찰되었다.

Table 2. Comparison of results of the disk susceptibility test.

Herbs	Inhibition zone (mm)	Characteristics of the inhibition zone
<i>Moutan Cortex Radicis</i> (牡丹皮)	7	Many satellite colonies
<i>Caesalpiniae Lignum</i> (蘇木)	10	Many satellite colonies
<i>Houttuyniae Herba</i> (魚腥草)	0	No inhibition
<i>Forsythiae Fructus</i> (連翹)	4-6	Many satellite colonies
<i>Prunellae Herba</i> (夏枯草)	7	Many satellite colonies
<i>Scrophulariae Radix</i> (玄蔘)	0	No inhibition

Herb extracts of *Moutan Cortex Radicis*, *Caesalpiniae Lignum*, *Houttuyniae Herba*, *Forsythiae Fructus*, *Prunellae Herba* and *Scrophulariae Radix* were applied to the disks, and the size and the characteristics of the inhibition zone were recorded. The experiments were repeated three times.

2. 液體培地稀釋法에 의한 抗菌活性度

*G. vaginalis*의 세포침전물은 옅은 노란색을 띠며 약제에 따라 비슷한 색을 띠는 것들도 있으므로 대조군과 비교하여 세포 침전물의 유무를 면밀히 판단하여 기록하였다(Table 3). 이 실험에서 사용된 방법은 48시간 동안 약제 추출물에 의해 *G. vaginalis*의 성장이 육안으로 보았을 때 완전히 억제된 농도를 MIC로 추정하였기 때문에 Table 3에 나타난 MIC의 농도는 실제로 약제에 의하여 90% 이상의 균 성장을 억제할 것으로 보여진다. 최소저지농도는 夏枯草가 MIC = 1.25 mg/ml로 낮은 농도에서 균의 성장을 억제하는 것으로 나타났다. 蘇木은 MIC = 5 mg/ml에서 균의 성장 억제를 볼 수 있었으며 連翹와 牡丹皮는 비교적 고농도인 10 mg/ml에서 균의 성장을 억제하는 것으로 나타났다.

Table 3. In vitro activity of 4 antifungal herb extract against *G. vaginalis*.

Concentration of each herb extract (mg/ml)	<i>Moutan Cortex Radicis</i> (牡丹皮)	<i>Caesalpiniae Lignum</i> (蘇木)	<i>Forsythiae Fructus</i> (連翹)	<i>Prunellae Herba</i> (夏枯草)
40	-	-	-	-
20	-	-	-	-
10	-	-	-	-
5	+	-	+	-
2.5	+	+	+	-
1.25	+	+	+	-
0.63	+	+	+	+
MIC (mg/ml)	10	5	10	1.25

고 찰

일반적으로 外陰과 膾腔의 炎症性 질환을 일으키는 원인균으로는 *Candida albicans*와 같은 真菌, *Trichomonas vaginalis*와 같은 원충, 單純疱疹性 바이러스 및 *G. vaginalis* 등이 있다. 이 중에서 *G. vaginalis*는 유산간균이 주축이 되어있는 질의 주된 균주가 혐기성 세균으로 대치되어 발생하는 細菌性膾腔(bacterial

vaginosis)을 일으키는 원인균^{1,15-19)}이다.

*G. vaginalis*는 성병 뿐 만이 아니라 여러 가지 산부인과적, 소아과적 질환과도 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되고 있는데, 羊膜早期破水, 產後 子宮內膜炎, 제왕절개후 子宮內膜炎 등과 분만과 관련된 신생아 腦膜炎 등이 그 대표적인 질환이며⁵⁻⁶⁾, 이외에도 비정상 자궁출혈²⁰⁾, 면역질환²¹⁾과도 연관이 있는 것으로 현재 연구가 진행중이다. 細菌性陰症의 주 증상은 질 분비물의 증가와 악취이며²²⁾ 이외에도 癢痒症, 性交痛 등이 있다²³⁻²⁴⁾.

서양의학에서는 細菌性陰症의 치료방법에 대해 그동안 다양한 방법들이 소개되어 왔는데 크게 경구약, 질내 도포약으로 구분된다. 경구용 metronidazole이 細菌性陰症의 대표적인 약제로 사용되어 왔지만, 부작용이 많고 임신시에는 사용이 제한된다는 단점이 있다. 질내 도포제로는 gentian violet, triple sulfa cream, 이외에도 clindamycin 등이 있다. estrogen hormone은 경구용 제제나 질정 질크림 등의 형태로 내외용 약을 겸하여 사용되기도 한다²⁵⁻²⁶⁾. 문헌적으로 여성의 내성기 질환에 대해서는, 과거 해부학적 지식이 미비했었고 隱曲之處의 병으로 인식하여 病症에 대한 언급조차 기피된 경향이 있었다. 그리고 여성의 內性器系統에 야기되는 각종 炎症性疾患은 부인과의 중요한 임상영역임에도 불구하고 古典에서는 독립된 항목으로 논급되지 않았으며 그 치료체계도 이루어져 있지 않은 실정이다. 따라서 한의학적으로 여성의 內性器질환은 帶下, 崩漏 혹은 經行腹痛 등 부수증상에 대한 對症療法에 의존할 수 밖에 없는 것이 사실이다³⁾. 그러므로 현재의 細菌性陰症은 그 증상에 따라 한의학적으로 帶下の 病症으로 간주할 수 있으며 陰痒症 등과 함께 陰戶病의 범주에 포함시키기도 한다. 原因으로는 蟲蝕所爲, 濕熱下注와 밀접한 연관성이 있다²⁷⁾. 실제로 濕熱(濕痰, 濕邪)은 前陰病, 五色帶下, 陰痒症을 유발하는 원인으로 역대문헌을 통틀어 가장 많은 빈도로 조사되었으며 細菌性陰症을 韓醫學의 견지에서 바라볼 때 濕熱素因의 경우가 가장 많았다²⁸⁻³¹⁾. 치료에 있어서 內治와 外治로 구분하나 대부분의 경우 內外를 兼治하고 있다. 文獻記錄으로는 張³²⁾이 蛇床子散과 狼牙散을 陰瘡와 陰蝕症에 坐藥과 洗法으로 사용한 것을 비롯하여 陳³³⁾은 白礬散과 新桃葉을 納法으로 活用하였고 李²⁷⁾는 陰腫痛과 陰脫에 五倍子를 분말이나 湯洗하여 塗布하였으며 簫³⁴⁾는 靑藍을 熨法으로 사용하는 등 陰戶病의 모든 症狀에 內治와 外治를 兼하였음을 알 수 있다. 陰戶病에 응용된 外治法에 대해 宋³⁵⁻³⁶⁾은 20種의 韓醫學文獻에서 總 115種의 약물이 각종 陰戶病의 外治藥으로 응용되었음을 보고하였으며 이외에도 趙³⁷⁾는 帶下の 색태별 분류에 따른 문헌적 고찰을 하였고, 尹³⁸⁾은 帶下症의 鍼灸治療에 관한 문헌적 고찰을 하였고, 孫³⁹⁾은 帶下症에 대한 사상의학적 치료에 대해 연구하는 등 학계에서는 많은 연구가 있었다. 근래 陰戶病의 治療에 대한 실험적 연구로 宋⁷⁾의 龍膽瀉肝湯과 銀花瀉肝湯, 鄭⁹⁾의 膈下逐瘀湯과 清泡逐瘀湯, 宋⁹⁾의 完帶湯 등 內服藥에 대한 보고가 대부분이고, 外治藥에 대한 연구로는 張¹⁰⁾, 金¹¹⁾의 보고가 있었지만 細菌性陰症의 특정 원인균에 대한 연구는 金¹²⁾을 제외하고는 없는 실정이다.

이에 저자는 細菌性陰症의 주 原因菌인 *G. vaginalis*균을 치료하기 위해 여러 文獻¹³⁾과 本草學 書籍¹⁴⁾을 참고한 바 항균성이

있다고 알려진 65가지 약물을 선택하였으며 이중 帶下와 陰痒의 治療에 활용되는 清熱解毒藥, 利水滲濕藥, 收澀藥 약물 중에 抗菌作用이 있을 것으로 기대되는 牡丹皮, 蘇木, 魚腥草, 連翹, 夏枯草, 玄蔘 등 6가지 한약재를 예비실험을 통해 선택하여 본 연구를 진행하게 되었다.

본 실험에서 사용된 약물을 살펴보면 牡丹皮(Moutan Cortex Radicis)는 清熱涼血, 活血散瘀하여 溫毒發斑, 吐血, 癰腫瘡毒 등의 증을 치료하며 약리 실험상 typhus菌, 大腸菌, 赤痢菌, 黃色葡萄狀球菌, 肺炎球菌 등을 억제하는 효능이 있다³⁸⁻³⁹⁾. 蘇木(Caesalpiniae Lignum)은 行血破瘀, 消腫止痛하여 經閉通經, 產後瘀阻, 外傷腫痛 등을 치료하며 약리 실험상으로도 influenza virus, 大腸菌, 赤痢菌 C群, 肺炎雙球菌, 디푸테리아菌 등을 억제하는 효능이 있다³⁸⁻³⁹⁾. 魚腥草(Houttuyniae Herba)는 清熱解毒, 消癰排膿, 利水通淋하여 肺癰, 消腫, 熱淋, 瘡毒 등을 치료하는데 최근에 와서는 肺癰을 치료하는 효능 외에 大葉性肺炎, 급성기관지염, 小兒肺炎, 腸炎으로 인한 설사 및 尿路感染 등의 증상에도 양호한 효과가 있다고 알려졌으며 약리 실험상으로는 黃色葡萄狀球菌을 강하게 抑制하고, influenza virus, ECHO virus의 진행을 막는다고 알려졌다³⁸⁻³⁹⁾. 連翹(Forsythiae Fructus)는 清熱解毒, 消腫散結하여 癰腫, 乳癰, 丹毒, 風熱感冒, 溫病初起, 熱淋尿閉 등의 증을 치료하며 약리 실험상으로도 黃色葡萄狀球菌, 赤痢菌 A群, 溶血性連鎖球菌, 肺炎雙球菌, typhus菌에 항균작용이 있다고 한다. 또 結核菌을 현저하게 억제하기 때문에 結核에 대한 치료 효과도 있으며 이외에도 oleanic acid 성분이 포함되어 強心, 利尿의 효능이 있다³⁸⁻³⁹⁾. 夏枯草(Prunellae Herba)는 清肝散結하여 癭瘤, 乳癰, 乳癌, 血崩, 帶下 등의 증을 치료하는데 최근에는 高血壓를 치료한다고 알려졌고, 임상에서는 腫瘤를 치료하는 方劑에 가하여 상용하고 있다. 약리실험상 赤痢菌, typhus菌, 綠膿菌, 溶血性連鎖球菌 등에 대한 억제작용이 있으며 이외에도 抗腫瘍작용이 있어 자궁경부암의 성장을 억제한다³⁸⁻³⁹⁾. 玄蔘(Scrophulariae Radix)은 滋陰清熱, 解毒滑腸하여 熱病傷陰, 舌絳煩渴, 癰毒發斑, 骨蒸勞嗽, 癰腫瘡毒 등의 증을 치료하며 약리실험상 diphtheria 毒素를 中和시키고 綠膿菌을 강하게 억제한다. 이외에도 血壓降下, 血管擴張의 효능이 있다³⁸⁻³⁹⁾.

본 실험에서 蘇木, 夏枯草, 連翹, 牡丹皮의 수율은 각각 2.8%, 2.2%, 6.0%, 9.9%로 이들의 수용성추출물을 *G. vaginalis* 치료를 위한 單味藥으로 사용한다면, 효과는 다소 낮더라도 수율이 좋았던 牡丹皮가 효과는 좋지만 수율이 낮은 蘇木보다 더 좋은 항균효과를 나타낼 것으로 생각된다. 감수성 디스크법에 의한 시료의 항균작용 검사에서, 같은 농도를 기준으로 하였을 때, 시료의 *G. vaginalis*에 대한 항균력은 蘇木이 넓은 저지대(10 mm)와 많은 위성집락을 나타내어 아주 강한 균 성장저해를 관찰할 수 있었으며 그 다음으로 牡丹皮, 夏枯草(7 mm)가 비교적 넓은 저지대를 보이며 주위에 많은 위성집락을 관찰할 수 있었다. 連翹(4~6 mm)는 저지대의 범위는 적으나 저지대 주변에 위성집락이 형성되었으며, 魚腥草와 玄蔘은 저지대를 형성하지 못하여 항균효과가 거의 없는 것으로 관찰되었다. 蘇木은 예비실험에서 매우 약한 균성장 억제능을 보여주었지만 본 실험에서는 가장 강한 항

균효과를 나타내었다. 저지대에 관한 실험을 시행하여 이를 관찰할 때에 시료를 plate에 떨어뜨릴 때 시료의 양이 많은 경우에는 plate밖으로 시료가 퍼져나갈 수 있어서 저지대를 관찰하면 균이 자라지 않은 것인지 시료가 퍼진 것인지 명확치 않았는데, 사진 이미지를 陰畫(negative image)의 방법으로 관찰하여 저지대의 속성이 균인지 시료인지를 알 수 있었다(Table 2). 감수성 디스크 실험에서 비교적 강한 항균 효과를 나타낸 蘇木, 牡丹皮, 夏枯草, 連翹의 수용성 추출물이 액체배지에서 *G. vaginalis*의 성장을 억제할 수 있는지 조사하기 위하여 표준 액체배지 희석법을 이용하여 최소저지농도를 조사하였다. 배지내 *G. vaginalis*의 성장을 90% 이상 억제할 수 있는 최소저지농도(MIC) 값은 夏枯草 1.25 mg/ml, 蘇木 5 mg/ml, 連翹와 牡丹皮 10 mg/ml의 순서로 夏枯草가 가장 강한 항균 효과를 나타냈다. 牡丹皮는 최종농도 10 mg/ml까지 *G. vaginalis*의 세포침전물을 볼 수 없었으나 5mg/ml에서는 많은 성장을 볼 수 있었다. 감수성 디스크법에 의한 결과에서는 아주 약한 균 성장저해를 관찰할 수 있었지만 MIC는 그 결과보다 양호한 성장저해를 나타냈다. 夏枯草는 감수성 디스크법에 의한 예비 실험에서는 적은 양(0.05 mg)으로 매우 넓은 저지대를 나타냈고 저지대 주변에 작은 위성 집락(satellite colony)를 관찰할 수 있었으나 한 달후 실시한 본 실험에서는 효과가 많이 떨어졌다. 이는 夏枯草의 유효성분이 殺菌作用 보다는 靜菌作用에 의해 균성장 저해를 보여주는 것 같고, 유효성분이 상온에서 시간이 지남에 따라 잘 파괴가 되거나 산소에 의한 산화 등으로 불안정한 물질인 듯하다. 連翹는 항균이나 항진균력이 좋은 약재로 알려져 있지만 *G. vaginalis*에 대해서는 비슷한 다른 약물보다 훨씬 고농도에서 항균효과가 나타났다.

본 실험에서 감수성 디스크법에 의해 결정된 細菌類인 *G. vaginalis*에 대해 抗菌效果를 나타내는 약물과 MIC로 결정된 抗菌效果의 값이 일치하지 않는 것들이 있었는데 이것은 감수성 디스크법에서 볼 수 있는 것처럼 어떤 약물에 대해서는 디스크 주변에 세균이 전혀 자라지 않아 완전히 투명한 배지를 보여준 반면 어떤 약물은 저지대는 넓지만 저지대 안에 살아 남는 균주가 몇 개씩 관찰되는 것을 볼 수 있었다. 이에 대한 원인은 前者가 殺菌效果가 큰 반면 後者は 殺菌效果 보다는 균의 발육을 억제하는 靜菌效果가 큰 약물일 가능성을 보여주는 것으로 생각되며 이에 대한 원인은 이 약재에 들어 있는 有效成分의 작용기전이 *G. vaginalis*의 세포벽이나 세포막의 합성억제 또는 溶菌作用 또는 이들 중 두 가지 이상의 복합적인 작용에 의해 달라질 수 있으므로 이것에 대한 심층연구가 필요하리라 사료된다.

기존의 실험에서는 약재를 전탕하여 흡광도만으로 균과의 반응을 관찰하는 것이 대부분이었는데, 이러한 실험에서는 한약액의 탁도때문에 세포 침전물이 살아있는 것을 보기 힘든 면이 있어 실험의 실효성에 의문이 있다고 생각되었다. 본 실험에서도 시료 자체가 대개 혼탁하거나 색을 띠는 것들이 많아 48시간 후에 관찰한 시료와 혼합되어 있던 *G. vaginalis*가 들어 있는 배양액이 육안으로 균의 성장억제 여부를 분별할 수 없었다. 이에 저자는 마지막 단계에서 흡광도의 차이를 비교하는 대신 모든 배양액을 microcentrifuge tube에 옮겨 1분간 遠心分離하여 침전

물의 색과 양을 비교하였다. 이때 한약재나 균만을 집어넣은 시험관의 침전물을 대조군으로 하여 한약재 추출물 자체가 가지고 있는 침전물과 약재에 대해서 반응하지 않고 스스로 자란 세균의 침전물을 구분하여 보다 정확한 연구를 기할 수 있었다.

위의 결과에서 보여주는 것처럼 MIC가 낮아 항균효과가 좋은 약재를 細菌性陰症에 대한 外用藥으로 사용될 때 효능은 좋지만 수율이 낮은 경우 같은 양의 농축액을 만들 때 최종농도가 낮아지므로, MIC는 낮지만 추출물의 농도가 높은 것들이 효과가 좋은 것으로 나타났다. 이에 대한 개선책으로 有效成分이 물에 잘 녹지 않는 脂溶性일 경우 수율을 높이는 에탄올이나 메탄올 등의 유기용매를 이용한 후 減壓濃縮하여 軟膏의 형태를 가지는 外用藥으로 사용하면 좋을 것으로 사료되며 이 밖에 각 약재에 들어 있는 有效成分의 작용기전이 다를 가능성이 있으므로 위에서 효능이 좋은 약물들을 두 세가지 혼합한 형태로 外用藥으로 사용한다면 좋은 치료약으로 작용할 수 있을 것이다.

결론

본 실험에서는 細菌性陰症의 原因菌인 *Gardnerella vaginalis*를 治療할 수 있는 外用藥으로 牡丹皮, 蘇木, 魚腥草, 連翹, 夏枯草, 玄蔘을 選擇하여 이들의 抗菌 效果를 比較하였다.

각 韓藥材의 수용성 추출물 10 mg의 *G. vaginalis*에 대한 抗菌 效果는 蘇木, 牡丹皮, 夏枯草, 連翹의 순으로 蘇木이 가장 강한 항균 효과를 나타냈으며 魚腥草와 玄蔘은 항균효과가 전혀 없었다. 액체배지에서 균 성장을 90% 이상 억제할 수 있는 최소저지농도 MIC 값은 *G. vaginalis*에 대해 夏枯草 1.25 mg/ml, 蘇木 5 mg/ml, 連翹와 牡丹皮 10 mg/ml의 순서로 夏枯草가 가장 강한 항균 효과를 나타냈다.

참고문헌

1. 大韓產婦人科學會. 婦人科學. 서울, 갈빈서적. pp 256-262, 1997.
2. Abraham Rubin. Vaginitis in Manual of clinical problems in OBGY. Boston, Little, Brown and Company. p 285, 1990.
3. 姜明旻. 臨床婦產科學. 서울, 성보사. pp 169-172, 332-334, 1989.
4. 이정규. Gardnerella Vaginalis의 성장조건과 Biotypes. 대한산부인과학회지 36(6):837-846, 1993.
5. West, R.R., O'Dowd, T.C., Smail, J.E. Prevalence of Gardnerella vaginalis. Br Med J 296, 1163-1164, 1988.
6. Leitich, H., Bodner-Adler, B. Bacterial vaginosis as a risk factor for Preterm delivery: meta-analysis. Am J Obstet Gynecol 189(1):139-147, 2003.
7. 宋炳基, 具本泓. 龍膽瀉肝湯과 銀花瀉肝湯의 抗炎症, 解熱, 鎮痛, 利尿 및 抗菌效果. 美源回甲記念論文集. p 1025, 1981.
8. 鄭址弘, 宋炳基. 膈下逐瘀湯과 清血逐瘀湯의 抗炎症, 解熱, 鎮痛, 抗菌 및 抗血栓效果. 慶熙大學校 論文集 15, 101-116, 1986.
9. 宋錫鎬, 梁秀烈, 李京燮, 宋炳基. 完帶湯이 利尿, 消炎 및 抗菌에 미치는 影響. 慶熙大學校 論文集 12, 337-347, 1989.

10. 張俊福, 李京燮, 宋炳基. 陰戶病의 外用藥으로 응용되는 五倍子, 艾葉, 苦蔘, 蜀椒 및 黃柏의 항균과 소염효과. 대한한방부인과학회지 14(2):270-280, 1993.
11. 金亨俊. 陰戶病의 外用藥으로 응용 되는 蛇床子, 百部根, 枯白朮, 硼砂의 抗菌과 消炎效果. 碩士學位論文 경희대학교. 1995.
12. 金瞳一, 李泰均. Gardnerella vaginalis 菌의 生育을 抑制하는 韓藥材 探索에 관한 研究. 대한한방부인과학회지 10(2):97-115, 1997.
13. 陸昌洙. 韓藥의 藥理, 成分, 臨床應用. 서울, 癸丑文化社. pp 238-240, 252-255, 269-271, 388-340, 731-744, 597-599, 1984.
14. 周金黃. 中藥藥理學. 上海, 上海科學技術出版社. pp 101-103, 117-119, 178-181, 192-194, 220-224, 234-238, 1986.
15. Borchardt Ka et al. Importance of Gardnerella vaginitis as an aetiological agent in bacterial vaginosis. Genitour in Med (letter) 65, 285, 1989.
16. Cristiano, L., Coffetti, N., Dalvai, G., Lorusso, L., Lorenzi, M. Bacterial vaginosis: Prevalence in outpatients, association with micro-organism and laboratory indices. Genitor in Med 65, 382-387, 1989.
17. Greenwood, J.R., Pickett, M.J. Transfer of Hemophilus vaginalis Gardner & Duke to a new genus, Gardnerella vaginalis. Comb Nov int syst bacteriol 30, 170-178, 1980.
18. Briselden, A.M., Hilier, S.L. Longitudinal study of the biotypes of Gardnerella vaginalis. J Clin Microb 28, 2761, 1990.
19. Finegold, S. M., Baron, E. J. Diagnostic Microbiology (7th ed). Mosby Co. Missouri. U.S.A. 1986.
20. B. Bhattacharjee, A.K., Ghosh, A. Murray. A study on the possible association of dysfunction uterine bleeding with bacterial vaginosis, mycoplasma, ureaplasma, and Gardnerella vaginalis. Sexually transmitted infections 76(5):407, 2000.
21. Farhad, B. Hashemi, Mahmood Ghassemi. Activation of Human Immunodeficiency Virus type 1 expression by Gardnerella vaginalis. The journal of infections Diseases 179(4):924-931, 1999.
22. Eschenbach, D.A., Hillier, S., Critchlow, C., Syevens, C., DeRouen, T., Holmes, K.K. Diagnosis and clinical manifestaion of bacterial vaginosis. Am J Obstet Gynecol 158, 819-828, 1988.
23. Livengood, C.H. Thomason, J.L., Hill, G.B. Bacterial vaginosis: Diagnostic and pathogenic findings during tropicalis clindamycin therapy. Am J Obstet Gynecol 163, 515-520, 1990.
24. 정혁, 장하중. 세균성질증에서 Gardnerella Vaginalis의 분리 배양 및 임상진단법의 적용. 대한산부인과학회지 4(12):1725-1733, 1991.
25. Holmes, K.K., Spiegel, C., Amsel, R., Eschenbach, D.A., et al. Nonspecific vaginosis. Scand J Infect Dis 25, 110-114, 1987.
26. Bartley, D.L., Morgan, L., Rimsza, M.E. Gardnerella vaginalis in Prepubertal girls. ADJC 141, 1014-1017, 1987.
27. 李時珍. 本草綱目. 北京, 人民衛生出版社. pp 374-376, 798-802, 935-940, 1851-1856, 1977-1981, 1982.
28. 유심근. 帶下誘發 原因의 문헌적 고찰. 대한한방부인과학회지 pp 27-32, 1987.
29. 陳貴延. 實用中西醫結合診斷治療學. 서울, 一中社. pp 923-939, 1992.
30. 康命吉. 濟衆新編. 서울, 杏林出版社. pp 161-162, 1974.
31. 韓醫婦人科學 교재편찬위원회. 韓醫婦人科學(상). 서울, 정담. pp 288-300, 2002.
32. 張機. 仲景全書. 서울, 大成文化社. pp 438-439, 1994.
33. 陳自明. 婦人良方大全. 臺北, 集文書局. pp 6-55, 1979.
34. 蕭壩. 女科經論. 江蘇省科學技術出版社. pp 339-347, 1986.
35. 宋銀姬, 梁秀烈, 李京燮, 宋炳基. 陰戶病의 外用藥에 관한 문헌적 考察. 대한한방부인과학회지 2, 9-22, 1988.
36. 宋銀姬, 梁秀烈, 李京燮, 宋炳基. 帶下의 外用藥에 관한 研究. 대한한의학회지 9, 9-14, 1988.
37. 조성희, 진친식. 帶下의 색태별 분류에 따른 문헌적 고찰. 대한한방부인과학회지 13(2):345-369, 2000.
38. 윤현미, 안창범. 帶下의 침구치료에 관한 문헌적 고찰. 東義大學校論文集 3(1):5-37, 1999.
39. 손영석. 부인대하증에 대한 사상의학적 치료. 사상의학회지 8(2):261-267, 1996.