

의성개나리 果皮 成分의 抗真菌作用에 관한 研究(I)

盧 榮 洙

경희대학교 약학대학

Antifungal Studies on Components from the Pericarp of *Forsythia viridissima*(I)

Young Soo RHO

College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul, Korea

The antifungal studies on the triterpenoids from the pericarp of *Forsythia viridissima* LINDL. were conducted. The pericarp was obtained from the the plant which was cultivated at Eusung, Kyungsang-bukkdoo, Korea. Substances A and B were isolated by column fractionation and purified by recrystallization. Antifungal actions of substance A, acetyloleanolic acid, show significant inhibition effect against *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*, *Microsporum nanum*, *M. canis*, and *M. cookei*. Substance B, viridissimic acid, shows negative effect against *Candida albicans* and shows lower effects against other test fungi.

서 론

의성개나리 *Forsythia viridissima* LINDL.의 果實을 「連翹」라 하여 漢方에서 主要 排膿 消炎 解毒 利尿藥¹⁾으로 使用하고 있다.

一般적으로 漢方에서의 連翹는 木犀科나무(*Oleaceae*) 科에 屬하는 *Forsythia*屬 植物의 果實을 乾燥한 것으로서²⁾ 우리나라에서 市販되는 連翹의 基源植物은 主産地인 慶尙北道 義城郡 및 그 인접지방에서 集團栽培되고 있는 *Forsythia*屬 植物을 鄭³⁾등이 分類學的으로 檢討하여 *Forsythia viridissima*로 確認하고 이를 「의성개나리」로 新稱한바 있으며 村⁴⁾에 의하여 連翹는 *F. viridissima*와 *F. suspensa* VHAL 2系列로 確認하였다.

連翹의 成分 研究는 村⁵⁾에 의하여 *F. suspensa*의 果皮에서 oleanolic acid를 單離 報告하였고 著者⁶⁾는 *F. viridissima*(의성개나리)의 果皮에서 acetyloleanolic acid와 oleanolic acid의 異性體인 新物質 viridissimic acid를 單離 確認하여 報告하였다.

連翹의 抗菌作用에 관한 研究로는 岡崎⁷⁾등이 水浸液과 약세톤액기스를 材料로 하여 *Staphylococcus*

*aureus*에 대한 實驗에서 抗菌성이 陽性임을 報告하였고 著者⁸⁾등은 連翹로 製造한 tar의 ether抽出物을 *Bacillus subtilis*, *Sarcima lutea*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*등에 대한 抗菌성을 檢討하여 強한 抗菌성을 認定하였다.

한편 抗真菌성에 관한 研究는 劉⁹⁾등이 水浸液을 가지고 *Candida albicans*에 대한 檢索을 하여 陰性으로 報告하였다.

著者는 連翹가 「瘰癧, 惡瘡瘍, 麻疹, 水痘」등¹⁰⁾ 主로 皮膚 疾患에 使用한다는 점을 勘案하여 의성개나리 果皮에서 單離하여 確認된 acetyloleanolic acid와 viridissimic acid 및 水浸液, 메탄올 엑기스, 에틸 엑기스를 材料로 하여 皮膚 疾患을 誘發하는 真菌株에 대한 作用을 液體培地 稀釋法¹¹⁾에 의하여 *in vitro*에서 調査하여 抗真菌作用이 나타나고 있음을 確認하여 이에 報告코지한다.

실 험

1. 재 료

1) 試驗 真菌株: 皮膚疾患을 誘發하는 다음과 같은

10種의 眞菌을 試驗菌株로 使用하였다.

1. *Candida albicans*, 2. *Epidermophyton floccosum*,
3. *Microsporum canis*, 4. *M. cookei*, 5. *M. gypseum*,
6. *M. nanum*, 7. *Trichophyton mentagrophytes*, 8. *T. rubrum*
9. *T. tonsurans*, 10. *T. verrucosum*.

2) 培地 : Sabouraud's liquid medium을 使用하였으며 組成은 peptone 1%, glucose 4%, 이며 pH를 6.6으로 調節한 다음 120°C에서 20분간 滅菌하고 이것에 Penicillin G. crystal (Pfizer) 20 μ g/ml와 streptomycin (Pfizer) 40 μ g/ml를 50°C에서 注加하여 一般細菌의 發育抑制劑로 使用하였다.

3) 檢液의 調製 : 엑기스는 의성개나리의 果實(連翹)에서 果皮만을 選別하여 (生藥의 94%)를 粗末로 하고 100g씩 3個를 取하여 各各 蒸溜水, 메탄올, 에틸 엑기스를 만들고 이것을 20% tween 80으로 4mg/ml가 되도록 懸濁시킨 다음 滅菌하여 使用하였으며 單離한 成分은 Substance A(acetyloleanolic acid)와 Substance B(viridissimic acid)를 各各 20% tween 80으로 4mg/ml가 되도록 懸濁하고 滅菌하여 使用하였다. 그리고 現在 皮膚疾患에 治療劑로 使用되고 있는 tolnaftate, griseofulvin, undecylenic acid를 對照試驗物質로 하여 이들을 各各 4mg/ml의 濃度로 20% tween 80으로 懸濁한 다음 滅菌하여 使用하였다.

4) 試驗菌液의 調製 : 上記의 眞菌株를 繼代培養한 것을 上記培地 10ml에 1白金耳씩 接種하여 30°C에서 3日

間 培養한 다음 菌株를 均等히 浮遊시키고 여기에 滅菌生理食鹽水를 加하여 100倍로 稀釋 懸濁시킨 液을 試驗菌液으로 하였다.

2. 실험 방법

한 菌株에 對하여 文獻記載方法¹¹⁾에 따라 各 檢液과 對照試液에 對하여 80個의 系列에 12個의 滅菌한 작은 試驗管을 8列로 配列하여 1番의 試驗管으로부터 마지막 試驗管(12)番까지 順序대로 上記의 培地를 1ml씩 넣은 다음 各 系列에 檢液과 對照試液을 1番試驗管에 1ml씩 加한다. 그리고 1番 試驗管부터 11番 試驗管까지 培地稀釋하여 마지막 11番 試驗管에서는 1ml를 버린다. 이어서 미리 準備한 試驗菌液을 1ml씩 모든 試驗管에 順序대로 넣은 다음 30°C에서 3日間 培養한 것을 菌의 發育에 의한 混濁의 有無로 最小發育阻止濃度로 判定하였으며 모든 系列의 12番 試驗管을 空試驗으로 하여 發育의 程度로 하였다.

이와같은 方法으로 10個의 菌株에 對하여 3回 反復 施行한 것을 平均値로 하여 最小發育阻止濃度를 求하였다.

실험결과 및 고찰

實驗方法에 의하여 求한 各物質의 最小發育阻止濃度の 實驗成績은 Table I과 같다.

Table I. Antifungal activit by broth serial dilution method

Str.	Sub.	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.0373	0.0156	0.0075	0.0037	0.0018	(Cont.) mg/ml
	Conc.												
	Me. E.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Et. E.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Wa. E.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C. al.	A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	To.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Un.	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
	Gr.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Me. E.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Et. E.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Wa. E.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
E. fl.	A.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	B.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	To.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
	Un.	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	Gr.	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—

Str.	Sub.	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.0373	0.0156	0.0075	0.0037	0.0018	(Cont) mg/ml
	Conc.												
M.ca.	Me. E.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Et. E.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Wa. E.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	B.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	To.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Un.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Gr.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
M.co.	Me.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Et. E.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Wa. E.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	B.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	To.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Un.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	Gr.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
M.gy.	Me.E.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Et. E.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Wa.E.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	B.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	To.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Un.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	Gr.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
M.na.	Me. E.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Et. E.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Wa. E.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A.	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	B.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	To.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Un.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Gr.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
T.me.	Me. E.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Et. E.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Wa. E.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	B.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	To.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Un.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Gr.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Str.	Sub. Conc.	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.0337	0.0156	0.0075	0.0037	0.0018	(Cont.) mg/ml
	Me.E.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Et. E.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	Wa. E.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T.ru.	A.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	B.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	To.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	Un.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	Gr.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Me.E.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Et.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Wa.E.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T. to.	A.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	B.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	To.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	Un.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	Gr.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	Me. E.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Et. E.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Wa. E.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T. ve.	A.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	To.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Un.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	Gr.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

Cultivated in Sabouraud's liquid Medium at 30°C for 48 hrs.

- | | | | |
|--------|------------------------------------|--------|---------------------------------|
| C. al: | <i>Candida albicans</i> | E.fl: | <i>Epidermophyton floccosum</i> |
| M. ca: | <i>Microsporium canis</i> | M.co: | <i>M. cookei</i> |
| M. gy: | <i>M. gypseum</i> | M.na: | <i>M. nanud</i> |
| T. me: | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | T.ru: | <i>T. rubrum</i> |
| T. to: | <i>T. tonsurans</i> | T. ve: | <i>T. verrucosum</i> |
| Me.E. | Methanol-ex. | Et. E: | Ether-ex. |
| Wa.E. | Water-ex. | To: | Tolnaftate |
| Un.: | Undecylenic acid | Gr.: | Griseoulvin |
| A.: | Acetyoleanolic acid | B: | Viridissimic acid |
| +: | inhibition | -: | growth |

Table I에서 觀察된 各物質의 最小發育阻止濃度를 比較檢討하면 다음과 같다.

에틸 엑기스는 試驗한 菌株 全部에 대하여 抗眞菌性을 認定할 수 있었다. 그 중에서도 *Trichophyton rubrum*은 0.0625mg/ml의 濃度까지 *Microsporium canis*, *M. nanum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. tonsurans*

등은 0.125mg/ml濃度까지 그리고 *M. cookei*는 0.25mg/ml 濃度에서까지 抗眞菌性을 나타내었다.

에탄올 엑기스는 *Candida albicans*을 除外한 試驗菌株 全部에서 多少의 發育阻止能을 나타내었다. 特히 *Microsporium canis*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporium nanum*은 0.125mg/ml의 濃度에서 까지 그리고 *Tricho-*

phthon mentagrophytes, *T. tonsurans* 등은 0.25mg/ml의 농도에서 抗真菌性を 나타내었다.

물엑기스는 試驗菌株 全部에 대하여 發育阻止能이 極히 微弱하였다.

특히 *Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton verrucosum* 등에는 發育阻止能이 完全히 陰性이었으며 가장 強하게 發育阻止能이 나타난 *Microsporium cooki*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* 등도 發育阻止濃도가 1mg/ml 정도에 不過하였다.

엑기스 部分에 關한 이상의 事實을 綜合하여보면 連翹에서 抗真菌作用을 나타내는 成分은 물에는 難溶이고 ether, methylalcohol 등에 可溶性인 것 같다.

Substance A (acetyloleanolic acid)는 試驗菌株 가운데 *Candida albicans* 만이 發育阻止能이 陰性이며 나머지 菌株에는 대부분 強한 抗真菌性を 認定할 수 있었다.

특히 *Trichophyton rubrum*에는 發育阻止濃도가 0.075 mg/ml 으로서 對照物質 undecylenic acid 보다 強한 抗真菌性を 나타내었고 *Microsporium nanum*는 發育阻止濃도가 0.0156mg/ml 로서 역시 undecylenic acid 와 同一하였다. 그리고 *Trichophyton mentagrophytes*는 0.0313 mg/ml, *Trichophyton tonsurans* 0.0625 mg/ml *Microsporium canis*, *Microsporium cookei* 등에는 0.125 mg/ml의 濃도에서까지 發育을 阻止함으로써 強한 抗真菌性を 認定할 수 있었다. 다만 *Microsporium gypseum* 0.25mg/ml의 濃도에서 發育을 阻止하고 있었고 나머지 菌株도 感受性は 全部 나타내었다.

Substance B (Viridissimic acid)는 試驗菌株 가운데 역시 *Candida albicans* 만은 發育阻止能이 陰性이었고 나머지 菌株에서는 acetyloleanolic acid 보다 發育阻止能이 弱하지만 感受性만은 認定할 수 있었다. 즉 *Microsporium canis*, *M. cookei*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. tonsurans*, *T. rubrum* 등에서는 0.25mg/ml의 濃도에서 發育이 阻止되었고 *Epidermophyton floccosum*, *Microsporium gypseum*, *M. nanum* 등은 0.5mg/ml의 濃도에서 抗真菌性を 나타내었다.

이상의 事實에서 連翹成分 가운데 acetyloleanolic acid는 真菌株의 種類에 따라 差異는 있지만 強한 抗真菌能은 앞으로 毒性を 檢討한다면 抗真菌劑로 開發할 수 있는 可能性은 充分히 있다고 思慮되었다.

결 론

1. 물, 에틸, 메탄올, 엑기스의 抗真菌作用試驗은 에

틸, 메탄올 엑기스가 *Candida albicans*을 除外하고는 抗真菌作用을 認定할 수 있었다. 이는 連翹 중의 抗真菌性成分이 에틸, 메탄올 등의 有機溶媒에 可溶性임을 意味한다.

2. Acetyloleanolic acid는 試驗菌株 가운데 *Candida albicans*를 除外하고는 比較的 強한 抗真菌性を 나타내었으며 특히 *Trichophyton rubrum* 菌株에는 發育阻止能이 undecylenic acid보다 強하였고 *Microsporium nanum* 菌株에서는 發育阻止濃도가 undecylenic acid와 거의 같았다.

또한 *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton tonsurans*, *Microsporium canis*, *Microsporium cookei* 菌株 등에 強한 抗真菌性を 認定할 수 있었다.

3. Viridissimic acid는 역시 *Candida albicans* 菌株에는 發育阻止能이 陰性이었으며 나머지 試驗菌株은 acetyloleanolic acid보다는 抗真菌性이 弱하지만 感受性は 認定할 수 있었다.

本 實驗을 指導하여 주신 許鈴堦先生과 實驗을 助力하여 주신 金鍾禹先生에게 深謝하는 바이다

<1975. 8. 21 접수>

문 헌

- 1) 刈米: 和漢藥用植物, p. 104, 廣川書店(1968).
- 2) 木村: 原色日本植物圖鑑 p. 631, 保育社(1969).
- 3) 鄭台鉉, 李愚喆: 韓國植物學會誌 5, 37(1962).
- 4) 村上: 日藥誌 77, 403(1957).
- 5) 村上: 日藥誌 77, 437(1957).
- 6) 盧榮洙: 第24回 大韓藥學會學術報告抄錄 p. 21 (1975).
- 7) 岡崎, 加藤: 日藥誌 71, 5 (1951).
- 8) 許鈴, 金申圭, 金鍾禹, 盧榮洙: 慶熙藥大 論文集 1, 59 (1973).
- 9) 劉承兆, 徐正植: Kor. J. Pharmacog. 5, 147 (1974).
- 10) 李時珍: 本草綱目 p. 631 高文社版(1973).
- 11) FROBISHER, M.: "Fundamentals of Microbiology," 8th ed. p. 295 (1968).