

人蔘의 生理活性에 關한 연구  
(제 1 보) 細菌의 生育에 미치는 人蔘成分의 影響

전흥기 · 김선희 · 이종근  
부산대학교 자연과학대학 미생물학과  
(1982년 3월 19일 수리)

Studies of the Physiological Activity of  
Korean Ginseng

(Part 1) The Effects of Ginseng Components on the Growth of Bacteria

Hong Ki Jun, Sun Hee Kim and Jong Kune Lee

Department of Microbiology, College of Natural Science, Busan National University, Busan, Korea

(Received March 19, 1982)

Abstract

The effects of ginseng extract and ginseng saponin on the growth of bacterial cells were variable depending upon the species of bacterium and concentrations of saponin. *Serratia marcescens* and *Aerobacter aerogenes* showed the maximum growth in the basal medium plus 0.1% of ginseng extract, but did the suppressed growth in the medium plus above 1% of ginseng extract. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* showed the maximum growth in the basal medium plus 5% of ginseng extract. The slightly accelerated growth was shown with *Micrococcus flavus* and *Aerobacter aerogenes* cultivated in the basal medium plus 0.002% of ginseng saponin, but the remarkably suppressed growth was done in the medium plus above 0.02% of ginseng saponin. Ginseng saponin functioned a physiologically suppressing factor of growth to genus *Serratia*, but no antimicrobial activity was found against *Erwinia aroideae* and *Sarcina marginata*. The substance causing the antimicrobial activity from ginseng saponin was proven to be a ginsenoside Rg<sub>1</sub>.

諸 論

人蔘(*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 식물 분류상 五加科(*Araliaceae*)에 속하는 동양고래의 약초로서 그 약리적 효능이 높이 평가되어 왔다. 1854년 Garrique<sup>(1)</sup>가 人蔘의 생리활성 성분인 saponin류를 미국산 *Panax quinque-folium* L.의 뿌리에서 분리한 이후, shibata 등

(2-5)에 의해 saponin의 구조가 결정된 후 지금까지 dammarane 계 glycoside 성분의 화학적인 성질과 약리 및 생화학적 작용에 대한 많은 연구가 보고되었다. 인삼 saponin성분이 나타내는 생물활성은 Adapotogen 활성<sup>(6)</sup>과 중추신경에 대한 작용등의 약리효과<sup>(7-9)</sup>와 단백질 및 핵산생합성에 대한 영향<sup>(10-12)</sup>과 당질 및 지질 대사에 대한 영향<sup>(13-16)</sup>, 그리고 여러 효소제에 대한 영

항<sup>17-19</sup> 등 많은 보고가 있으나 인삼성분의 미생물에 대한 영향에 관해서는 부분적인 연구들 뿐이다.

Gramenitskaya 등<sup>20</sup>은 인삼부위에 따라 미생물 증식에 미치는 효과가 다르게 나타난다고 하였으며 K rylov 등<sup>21</sup>은 五加科 식물에서 얻은 추출물이 tobacco mosaic virus 감염에 대한 생체의 저항성을 증대시킨다고 하였으며 Wardrope<sup>22</sup>는 인삼성분에 antibacterial 및 antiviral action이 있다고 보고하였다. 조<sup>23</sup> 등은 *Escherichia coli*의 증식에 대한 인삼 saponin의 영향을 보고한 바 있다.

본 연구는 인삼의 생리활성에 관한 연구의 일환으로서 인삼을 성분별로 분획하여 미생물의 생육에 미치는 영향을 관찰함과 동시에 인삼의 항균활성의 원인물질을 규명하여 실제로 사용되고 있는 항생물질의 항균활성에 대한 인삼 saponin의 영향을 검토하기 위한 기본자료를 얻고자 하였다.

## 材料 및 方法

### 人蔘Extract와 Crude saponin의 조제

충분히 수세한 錦山산 3~4년생 人蔘을 건조하여 ethyl alcohol로 3시간씩 3회 환류냉각하면서 가열추출하여 여과한 후 감압 농축하여 고형분 함량이 약 77%인 人蔘 extract를 얻었다. 또한 crude saponin은 人蔘 extract를 shibata 등<sup>28, 29</sup>의 추출방법에 의해 약 20% 수율의 crude saponin을 얻었다.

### 人蔘Saponin의 성분별 추출 및 분리

12.5g의 crude saponin을 최소량의 methyl alcohol에 용해시켜 silica gel 25g와 잘 혼합하여 실온에서 충분히 건조시킨 후 silica gel 500g을 건식으로 충전시킨 column(7×44cm) 위에 놓고 CHCl<sub>3</sub>: CH<sub>3</sub>OH : H<sub>2</sub>O (65 : 35 : 10, v/v/v)의 하층용액으로 용출시키면서 15ml씩 fractionation 한 다음 thin-layer chromatography (TLC)의 상승법에 의한 1차전개로서 8개의 분획물질로 분리한 후 각 분획물질을 감압농축하여 소량의 methyl alcohol에 용해시켜 활성판

처리를 한 후 이것을 감압농축하여 시료로 사용하였다. TLC의 전개용매로는 column chromatography와 동일한 용출액을 사용하였으며 15cm 정도로 전개시킨 후 1% Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>/10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>의 발색시약을 사용하여 110℃에서 10분간 가온발색시켜서 나타난 saponin과 각 분획물질의 TLC pattern을 비교확인하였다.

### 사용균주

사용균주는 Table 1과 같으며 보존배지로는 3.0% peptone, 1.0% glycerol, 0.01% yeast extract, 0.01% meat extract, 0.1% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.15% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.7% agar (pH 7.0)의 배지를 사용하였다.

Table 1. Test microorganisms

Microorganism	Strain No.
<i>Bacillus subtilis</i>	IFO 3007
<i>Bacillus megaterium</i>	ATCC 14581
<i>Sarcina lutea</i>	IFO 3232
<i>Sarcina marginata</i>	IFO 3066
<i>Micrococcus luteus</i>	IFO 3763
<i>Micrococcus flavus</i>	IFO 3242
<i>Staphylococcus aureus</i>	IFO 3060
<i>Escherichia coli</i> Crooks	Ajinomoto
<i>Erwinia aroideae</i>	IFO 3830
<i>Salmonella typhi</i>	BNU* 3310
<i>Aerobacter aerogenes</i>	IFO 3317
<i>Serratia marcescens</i>	IFO 3046
<i>Serratia plymuthicum</i>	IFO 3055

\*BNU: Busan National University

### 시약 및 기구

Chloroform, methyl alcohol은 Mallinckrodt 사 제품을 사용하였고 Muller-Hinton medium, nutrient broth는 Difco 제품을 사용하였다. Silica gel (Kiesel gel 60G 230mesh)는 Merck사 제품을 사용하였으며 이들 외의 시약은 시판되는 특급품 및 1급품을 사용하였다. 또한 membrane

filter는 sartorius 제를 사용하였으며 paper-disc는 Toyo Roshi 2 filter paper를 punch로 눌러 직경 7mm인 disc를 제조하여 사용하였으며 미생물의 증식은 spectrophotometer (Spectronic 20, Bausch and Lomb) 제를 사용하여 660nm에서 측정하였다.

### 전배양

상법에 의하여 멸균한 nutrient broth 4 ml가 들어있는 시험관(1.5×18cm)에 사용균주 1백균이를 접종하여 진탕배양기(120 Rev. at 6 cm stroke)에서 30°C, 24시간 배양한 것을 종균으로 사용하였다.

### 人蔘Extract와 인삼Saponin의 첨가배양

0.8% nutrient broth, 0.15%  $K_2HPO_4$ , 0.1%  $KH_2PO_4$  (pH 7.0)의 조성을 기본배지로 하여 배조균은 기본배지를, 첨가균은 기본배지에 0.01%에서 5%의 인삼extract를 가하였으며 또한 인삼 saponin의 경우는 첨가균은 기본배지에 membrane filter(pore size: 0.45 $\mu$ m)를 사용하여 인삼saponin의 농도가 0.002%에서 1%가 되는 배양액을 사용하였다. 세균의 접종은 각각의 배양기(2.1×20cm)에 0.1ml의 전배양한 종균 현탁액을 접종하여 최종용량이 5ml되게 하여 진탕배양기에서 30°C, 24시간 배양하였다.

### 人蔘Saponin에 대한 세균의 최소발육저지 농도(MIC)의 측정

인삼saponin의 항균력은 직경이 9 cm인 Petri dish를 사용하여 한천평판희석법(agar plate dilution method)을 이용하여 측정하였다. 즉 검정배지인 Muller-Hinton agar에 인삼saponin 0.1~5%를 첨가한 배지상에서 세균의 생육도를 관찰하였다.

### 인삼Saponin의 각 성분 분획물질의 항균력 측정

Shibata 등<sup>34)</sup>의 방법에 의해 성분별로 추출된 각 분획의 건조중량을 측정하여 인삼saponin에 대한 함량(%)을 환산하여 본 실험을 행하였다.

column chromatography로서 얻은 각 분획을 합한 총건조중량은 사용된 인삼saponin양의 38.3%에 상당하는 양을 얻었다. 각 분획물질의 항균력 측정은 paper-disc method를 이용하였다. 즉 세균의 종균현탁액을 첨가한 Muller-Hinton agar 평판상에 5% 인삼saponin의 38.3%에 상당하는 1.915%의 각 fraction 용액의 paper-disc를 놓아 어느 성분의 분획물질이 대조균의 5% 인삼saponin용액이 나타내는 항균 활성의 원인물질이 되는가를 생육저지원의 직경측정을 통하여 조사하였다.

## 結果 및 考察

### 人蔘Extract가 세균의 증식에 미치는 영향

인삼extract를 기본배지에 0.01%, 0.1%, 1%, 5%로 첨가하여 배양한 결과는 Fig. 1,

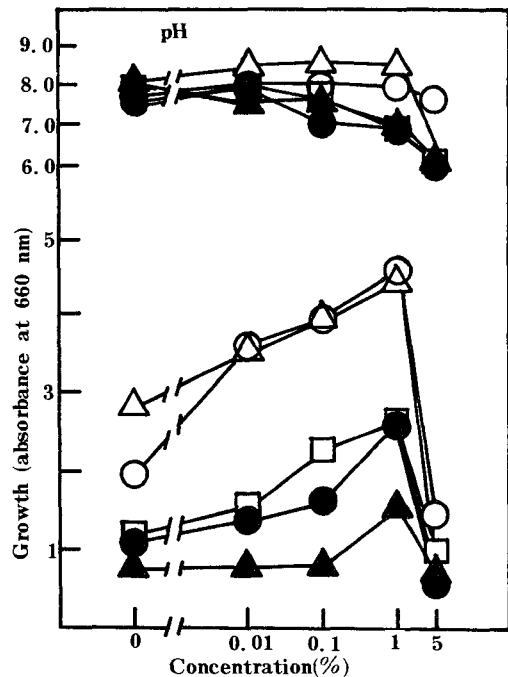


Fig. 1. Effect of Ginseng Extract on Bacterial Growth.

- — *Bacillus megaterium*.
- — *Bacillus subtilis*.
- △ — *Staphylococcus aureus*.
- ▲ — *Micrococcus luteus*.
- — *Escherichia coli*.

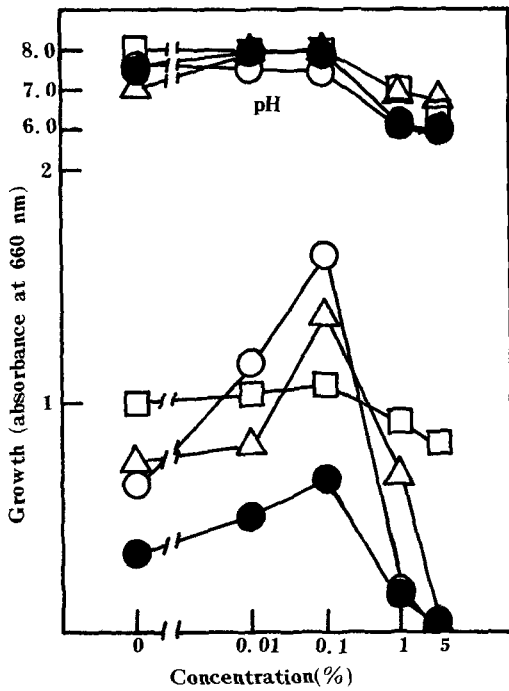


Fig. 2. Effect of Ginseng Extract on Bacterial Growth.

- Serratia marcescens*,
- Serratia plymuthicum*,
- △—*Aerobacter aerogenes*,
- Micrococcus flavus*.

2, 3 과 같다. *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*는 1% 인삼 extract 첨가군에서 최대의 증식을 나타냈으나 5% 첨가군은 대조군보다 증식이 억제되었다.

그리고 *Aerobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*는 인삼 extract 0.1% 첨가군에서 최대 증식을 나타내지만 1% 이상의 농도에서 현저히 증식이 억제되었으며 *Micrococcus flavus* 와 *Serratia plymuthicum*도 이와 비슷한 증식을 보였다. 또한 *Erwinia aroideae*, *Sarcina marginata*는 인삼 extract 첨가 농도가 증가함에 따라 증식이 촉진되어 5% 첨가군에서 최대의 증식을 나타내었다.

*Salmonella typhi*, *Sarcina lutea*의 경우는 인삼 extract 1% 첨가군에서 최대 증식이 되었으나, 5% 첨가군에서는 약간의 증식 억제 현상을 나타내었다. 이 실험의 결과 인삼 extract

의 농도와 세균의 증식과의 관계는 균주에 따라서 다르게 나타났다. 이와 같은 결과는 인삼 extract 중에 포함된 인삼 특유의 성분에 의해 나타나는 세균의 증식 및 저해 효과가 각 균주에 따라 다르다는 것을 보여 주고 있다.

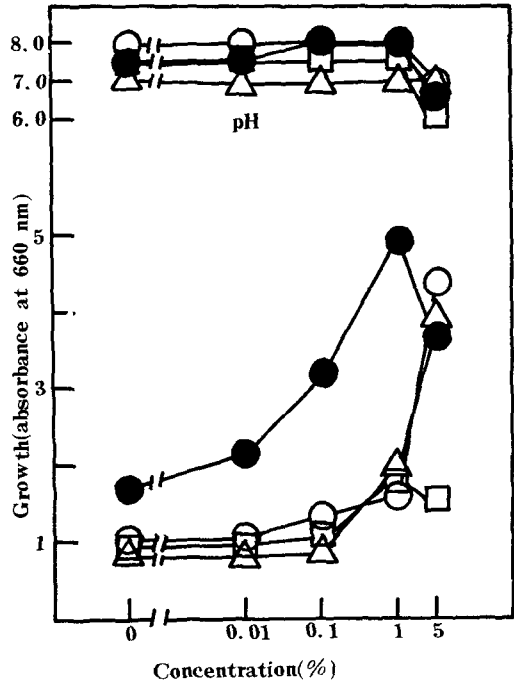


Fig. 3. Effect of Ginseng Extract on Bacterial Growth.

- Sarcina marginata*,
- Sarcina lutea*,
- △—*Erwinia aroideae*,
- Salmonella typhi*

#### 人蔘 Saponin이 세균의 증식에 미치는 영향

인삼 saponin 0.002%, 0.02%, 0.2%, 1%를 기본 배지에 첨가하여 배양했을 때의 각 균의 증식을 검토한 결과는 Fig. 4, 5, 6과 같다.

*Staphylococcus aureus*는 인삼 saponin의 첨가 농도가 증가함에 따라 증식이 촉진되어 1% 인삼 saponin 첨가군에서 최대의 증식을 나타내었으며 *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*의 경우도 동일한 결과를 보여 주었다. *Escherichia coli*와 *Sarcina lutea*는 각각 0.002% 및 0.02%의 인삼 saponin 첨가군에서 최대 증식을 나타내었으며 1% 농도에서는 대조군보다 약간

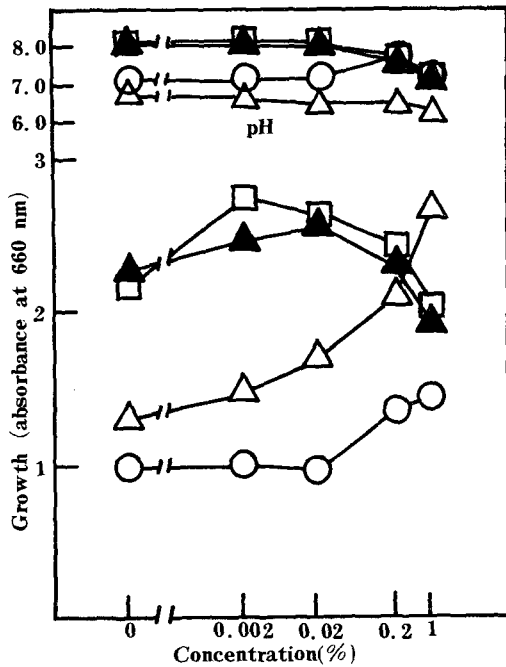


Fig. 4. Effect of Ginseng Saponin on Bacterial Growth.

- *Bacillus subtilis*,
- △— *Staphylococcus aureus*,
- ▲— *Sarcina lutea*,
- *Escherichia coli*.

의 증식 억제 현상을 보였다. *Salmonella typhi*, *Erwinia aroideae*, *Sarcina marginata*의 증식은 사용된 인삼saponin 농도에서는 별 영향을 보이지 않는 것으로 나타났다. 또한 *Micrococcus luteus*, *Micrococcus flavus*와 *Aerobacter aerogenes*는 0.002% 첨가군에서는 증식이 약간 촉진되는 경향을 나타냈으나 0.02% 이상의 농도에서는 현저하게 증식이 억제되었다. 그리고 *Serratia marcescens*, *Serratia plymuthicum*의 경우는 인삼saponin 첨가시 증식이 현저하게 억제되며 0.2% 이상의 첨가군에서는 거의 증식되지 않는 것으로 나타났다.

이상의 결과를 종합해 보려는 인삼saponin의 첨가에 의한 세균의 증식은 균주에 따라서 달랐다. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus megaterium* 등에서는 saponin의 농도가 증가함에 따라 증식이 촉진되었으나 *Serratia marcescens* 등의 경우는 오히려 증식이 억제되었다. 반면에 *Aerobacter aerogenes*, *Micrococcus luteus* 등에서

는 비교적 낮은 농도(0.002%)에서는 증식이 촉진되는 경향을 보였으나 0.02% 이상의 농도에서는 증식이 억제되는 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 인삼extract 중에 포함된 인삼 특수성분의 세균세포 증식 및 저해효과가 각 균주 및 saponin의 농도에 따라 다르다는 것을 보여주고 있으며 따라서 세균의 glycoside의 이용성 및 glycoside 자체의 항균활성 또는 미생물의 항균활성에 대한 무효 화작용 등과 관련된다고 생각되며 인삼extract가 고농도로 첨가된 경우에는 삼투압에 대한 각 균주의 적응능력도 관계된다고 생각된다.

#### 人蔘 Saponin에 대한 세균의 최저발육 저지 농도(MIC) 측정

한천 평판 회석법을 이용하여 인삼saponin의 항균 활성을 조사하기 위해 기본 배지에 0.1%에서 5%의 인삼saponin을 첨가하여 배양한 결과는 Table 2에 표시한 바와 같다.

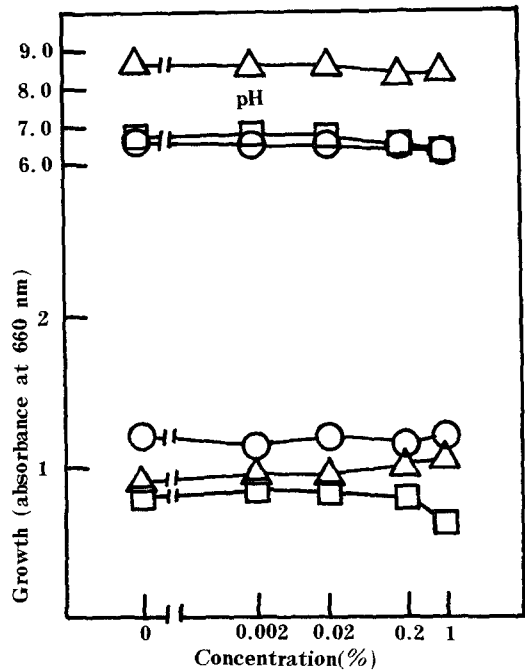


Fig. 5. Effect of Ginseng Saponin on Bacterial Growth

- *Sarcina marginata*,
- △— *Erwinia aroideae*,
- *Salmonella typhi*.

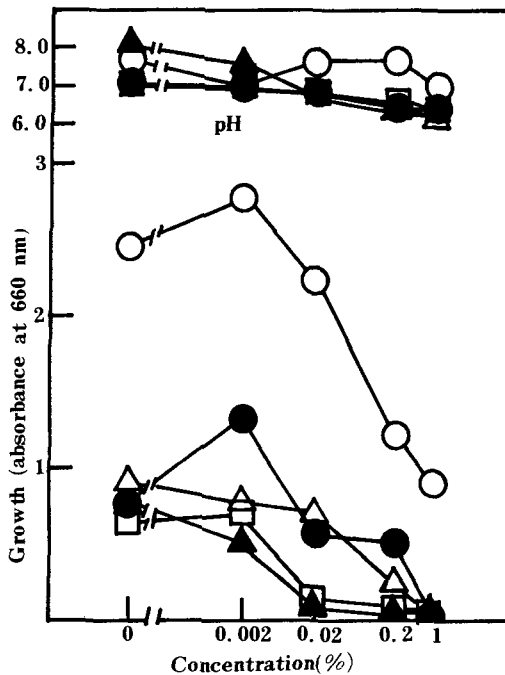


Fig. 6. Effect of Ginseng Saponin on Bacterial Growth.

- *Micrococcus luteus*,
- *Micrococcus flavus*,
- △— *Serratia marcescens*,
- ▲— *Serratia plymuthicum*,
- *Aerobacter aerogenes*.

*Aerobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Serratia plymuthicum*에 대한 인삼saponin의 MIC는 1mg/ml였고 사용 균주 중 상기 균주 이외의 세균에서는 50mg/ml의 농도에서 증식이 가능한 것으로 나타났다. 인삼saponin

Table 2. Antimicrobial spectrum of Ginseng saponin

Microorganism	Ginseng Saponin MIC (mg/ml)
<i>Aerobacter aerogenes</i>	1
<i>Serratia marcescens</i>	1
<i>Serratia plymuthicum</i>	1
<i>Micrococcus flavus</i>	>50
<i>Micrococcus luteus</i>	>50
<i>Sarcina lutea</i>	>50
<i>Sarcina marginata</i>	>50
<i>Bacillus subtilis</i>	>50
<i>Bacillus megaterium</i>	>50
<i>Escherichia coli</i>	>50
<i>Staphylococcus aureus</i>	>50
<i>Erwinia aroideae</i>	>50
<i>Salmonella typhi</i>	>50

에 대한 검정균의 감수성 관계를 살펴 보면 *Aerobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*와 같은 Gram-음성 세균에 대해 활성이 비교적 큰 것으로 나타났으나 Gram양성 세균과 Gram-음성 세균 간의 일률적인 차이점은 발견할 수 없었다.

#### 인삼Saponin 성분 분획 물질의 항균 활성 측정

액체 배양과 한천 평판 회석법에 의해서 나타난 인삼saponin의 항균 활성이 인삼의 Gin-

Table 3. Antimicrobial Activity by Fractionations of Ginseng Saponin

Saponin Organism	5% Saponin	Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3	Fr. 4
<i>Serratia marcescens</i>	13mm	++	12mm	-	++
<i>Serratia plymuthicum</i>	12mm	++	11mm	-	++
<i>Aerobacter aerogenes</i>	9 mm	++	9 mm	-	++
<i>Micrococcus flavus</i>	10mm	++	9 mm	-	+
<i>Micrococcus luteus</i>	10mm	++	9 mm	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	10mm	++	9 mm	-	+

++ ; Positive, + ; Weak positive, - ; Negative

All of Fr. 5, 6, 7, 8 were negative.

senoside 성분 중에서 어떤 성분이 원인이 되는가를 검토하기 위하여 silica gel colum chromatography에 의해서 분리된 각 분획 물질 Fraction 1 에서 Fraction 8의 항균 활성을 Paper-disc method로서 조사한 결과는 Table 3와 같다. 대조군의 saponin이 나타내는 항균 활성은 panaxatriol 계 saponin인 Rg<sub>1</sub>, Rf, Rg<sub>2</sub>로 구성된 fraction 2에서 나타났으며 Rg<sub>2</sub>가 주성분이며 Rg<sub>1</sub> 성분이 혼저량이 들어 있는 fraction 1 에도 약간의 활성이 나타났다. 또한 Rf가 주성분인 fraction 3에서는 항균 활성이 나타나지 않는 것으로 보아 panaxatriol 계 saponin인 Rg<sub>1</sub>이 항균 활성의 주된 원인 성분으로 생각되었다. 그리고 panaxadiol 계 saponin Rd가 주성분인 fraction 4에서도 약간의 항균 활성이 나타났다 (Fig. 7, 8)

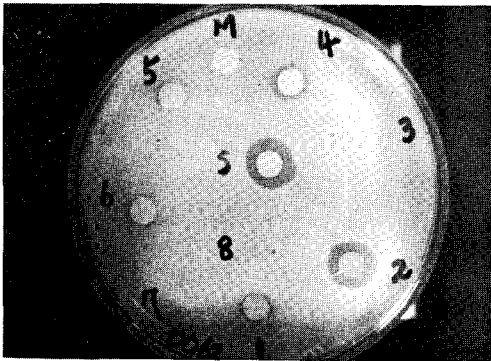


Fig. 7. Antimicrobial Activity of Ginseng Saponin. Fractionation against *Aerobacter aerogenes* (S; Sapanin, 1-8; No. of Saponin Fraction)

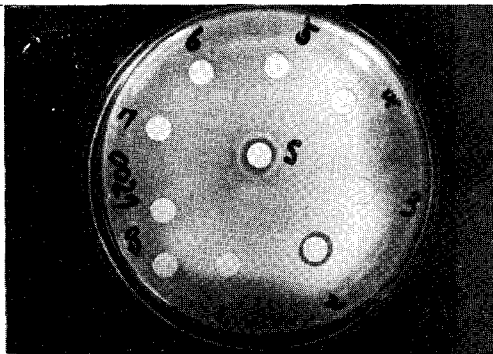


Fig. 8. Antimicrobial activity of Ginseng Saponin. Fractionating against *serratia plymuthicum* (S; Saponin, 1-8; No. of Saponin Fraction)

이와 같은 결과는 한등<sup>(8,9)</sup>이 밝힌 항염증의 원인 성분인 Panax saponin A (sinsenoside Rg<sub>1</sub>)와 거의 일치하는 것으로 나타났다.

## 要 約

인삼extract와 인삼saponin의 세균 세포 증식에 대한 영향은 세균의 종 및 인삼 성분 농도에 따라 차이가 있었다. *Serratia marcescens*, *Aerobacter aerogenes* 등은 인삼extract 0.1% 첨가 농도에서 최대 증식을 나타내었으나 1% 농도 이상에서는 증식이 억제되었으며 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* 등은 1% 농도에서 최대 증식을 나타내었으나 5% 농도에서는 증식이 억제되었다. 인삼saponin 0.002% 농도에서는 *Micrococcus flavus*, *Aerobacter aerogenes* 등은 증식이 약간 촉진되나 0.02% 이상의 농도에서는 증식이 현저히 억제되고 *Serratia*속 세균에서는 인삼saponin이 증식 억제 인자로 작용하였으나 *Erwinia aroideae*, *Sarcina marginata* 등에서는 세균 증식에 무관한 것으로 나타났다. 이러한 인삼saponin이 나타내는 항균 활성의 원인 물질은 ginsenoside Rg<sub>1</sub>이었다.

## 사 사

본 연구는 1981년도 산학협동재단의 학술연구비에 의한 연구논문의 일부임.

## 參 考 文 獻

- 1) Garriques, S. S. : *Ann. Chem. Pharm.*, **90**, 231 (1854)
- 2) Shibata, S., Ando, T. and Tanaka, O. : *Chem. Pharm. Bull.*, **14**, 1157 (1966)
- 3) Sanda, S., Kando, N., Shoji, J., Tanaka, O. and Shibata, S. : *Chem. Pharm. Bull.*, **22**(2), 421 (1974)
- 4) Sanda, S., Kando, N., Shoji, J., Tanaka, O. and Shibata, S. : *Chem. Pharm. Bull.*, **22**(10), 2407 (1974)

- 5) Shibata, S., Fujita, M., Itokawa, I., Tanaka, O. and Ishii, T. : *Chem. Pharm. Bull.*, **11(6)**, 751 (1963)
- 6) Brekhman, I. I. and Dardymov, I. V. : *Ann. Rev. Pharmacol.*, **9**, 419 (1969)
- 7) Nabata, H., Saito, H. and Tagag, K. : *Japan J. Pharmacol.*, **23**, 29 (1973)
- 8) Han, B. H. : *Korean J. Pharmacol.*, **22**, 245 (1972)
- 10) Hiai, S., Oura, H., Tsukada, K. and Hirai, Y. : *Chem. Pharm. Bull.*, **19**, 1956 (1971)
- 11) Oura, H., Nakashima, S. and Tsukada, K. : *Chem. Pharm. Bull.*, **19(3)**, 453 (1971)
- 12) Oura, H., Hiai, S., Odaka, Y. and Yokazawa, T. : *J. Biochem.*, **77**, 1057 (1975)
- 13) Oura, H., Nakashima, S., Tsukada, K. and Ohta, Y. : *Chem. Pharm. Bull.*, **20(5)**, 980 (1972)
- 14) Han, B. H., Kim, C. H. and Han, Y. N. : *Korean Biochem. J.*, **6(2)**, 63 (1973)
- 15) 김영은, 한병훈, 전계수, 안병준 : *약학회지*, **7**, 18 (1962).
- 16) Joo, C. N. and Koo, J. H. : *Korean Biochem. J.*, **13(2)**, 63 (1980).
- 17) 주충노, 최임순, 정노팔, 이상직, 김옥희 : *한국생화학회지*, **7(1)**, 75 (1974).
- 18) 김태봉, 이근배, 이희성, 방진신, 최병호 : *과학기술처보고서 R-73-81* (1973).
- 19) Kim, B. M. : *Korean J. Food Sci. Technol.*, **12(1)**, 1 (1980).
- 20) Gramenitskaya, V. G. : *Mikrobiologiya*, **25**, 221 (1972).
- 21) Krylov, A. V., Kostin, V. D. and Chuyan, A. H. : *Acta. Virol. (Praque)*, **16**, 75 (1972).
- 22) Wardrope, A. J. B. : *Belg. Br. Appl.*, July, **14**, 1 (1965).
- 23) Joo, C. N., Cho, Y. D. and Kwon, H. Y. : *Korean Biochem. J.*, **11(2)**, 113 (1978).