

黃芩湯의 抗菌作用

李 仁 蘭 · 朴 興 順

梨花女子大學校 藥學大學

Antimicrobial Activity of Scute Decoction

Ihn Rhan Lee and Heung Soon Park

College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120, Korea

Abstract—Antimicrobial activities of three different extracts from experimentally prepared scute decoction, commercial scute decoction and an extract from *Scutellaria baicalensis* were evaluated and their inhibitory potencies were compared. Both the extracts from scute decoction and *Scutellaria* showed rather strong antimicrobial activities against *E. coli* and *St. aureus* at the low concentration of 2.5 mg/ml. On the other hand, the extract of commercial scute decoction was found to show an inhibitory effect at higher concentration (75 mg/ml). All preparations did not inhibit the fungal growth of *Aspergillus niger*. Both *Sh. dysenteriae* (Subgroup A) and *Sh. boydii* (Subgroup C) which were used for determination of the strain differences in *Shigella* spp. had almost the same susceptibility to the extract from scute decoction.

Keywords—Scute decoction Ex. · antimicrobial activity · *E. coli* · *B. subtilis* · *St. aureus* · *Sh. dysenteriae* · *Sh. boydii*

페니실린의 發見以來로 細菌性 疾病의 치료에 여러가지 항생물질이 널리 쓰이고 있으나 몇몇 항생물질들은 심각한 副作用을 보이고 있기도 하다. 특히 chloramphenicol은 *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. viridans*, *Pasteurella multocida*, *Corynebacterium diphtheriae* 등을 비롯하여, *Neisseria* spp., *Haemophilus* spp., *Bacillus* spp., *Listeria* spp., *Bartonella* 그리고 대부분의 혐기성 세균과 *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Rickettsia* 등에 대하여 높은 抗菌力을 보여 치료제로 각광을 받아왔으나, 長期間 투여시 조혈이상을 유발하여 골수 억제와 재생불량성 빈혈이 나타나며, allergy에 의한 發赤, 혈관성 부종, 그리고 담마진 등이 發生되고, 위염, 소장 결장염과, depression, confusion 등의 말초신경병

변, 퇴행성 뇌질환, Gray 症侯群, 그리고 supra infection 등 많은 부작용이 보고되어,¹⁾ 이미 美國에서는 chloramphenicol의 使用을 금지한 바 있다. 이러한 문제점을 타개하는 方法 中の 하나로 항균성을 나타내는 生藥製劑나 傳統醫藥品을 쓰므로써, 항생제의 과량투여를 최대한 억제하고 부작용의 誘發을 최소한으로 할 수 있다고 믿는다.

傷寒論²⁾에 收載된 黃芩湯은 寒氣, 發熱, 腹痛, 명치 부위가 답답하게 느껴지는 여러 가지 증상 중, 特히 細菌性으로 인한 胃腸炎, 痢疾, 또는 赤痢 등에 쓰이고 있어, 黃芩湯 Ex.(엑기스)가 赤痢菌인 *Shigella dysenteriae*를 비롯하여, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, 그리고 *E. coli* 등에 대하여 抗菌性을 檢討한 바 chloramphenicol의 抗菌力에 比較하여 유의성이

確認되어 報告하는 바이다.

실험 방법

1. 실험재료 및 시약

黃芩湯 Ex.는 市販 黃芩, 芍藥, 甘草를 傷寒論의 藥方에 따라 재래식 약탕관에서 달여 원질 분리한 상등액을 냉동건조시켜 가루로 썼으며, 黃芩엑기스는 시판 黃芩을 黃芩湯엑기스와 같은 방법으로 냉동건조 분말로, 시판黃芩湯엑기스는 제제회사제품을, 250mg의 chloramphenicol 정제는 중근당 제약회사의 제품을 썼다.

사용된 균주는 본교약학대학 보관용인 *Escherichia coli* ATCC 9637, *Bacillus subtilis* ATCC 9633, *Aspergillus niger* van Tieghem IMI 41873 과 국립보건원 보관용인 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 (Serotype A₁), *Shigella boydii* ATCC 9207-1 (Serotype C₁)를 썼다.

세균용 배지로는 Oxoid社 제품인 Trypton soya agar (TSA, Trypton 15.0 g, soya pepton 5.0 g, NaCl 5.0 g, agar No. 3 15.0 g, 증류수 1,000 ml), Trypton soya broth(TSB, pancreatic digestic of casein 17.0 g, papaic digest of soybean meal 3.0 g, NaCl 5.0 g, dibasic potassium phosphate 2.5g, dextrose 2.5 g, 증류수 1,000 ml), 眞菌用培地로는 Malt Ex. (malt Ex. 50.5 g, agar 20.0 g, 증류수 1,000 ml), 赤痢菌 *Shigella dysenteriae* (A₁)과 *Shigella boydii* (C₁)用 배지로는 Difco사 제품인 Brain Heart Infusion Broth (BHIB, Calf Brains, Infusion from 200 g, Beef Heart, Infusion from 250 g, Proteose peptone, Difco 10 g, Bacto-Dextrose 2 g, NaCl 5 g, disodium phosphate 2.5 g, 증류수 1,000 ml), Brain Heart Infusion Agar (BHI Agar, Calf Brains, Infusion from 200 g, Beef Hearts, Infusion from 250 g, proteose peptone, Difco 10 g, Bacto-Dextrose 2 g, NaCl 5 g, disodium phosphate 2.5 g, Bacto-agar 15 g, 증류수 1,000 ml)를 썼다.

2. 검체의 조제

가. 黃芩湯 Ex.는 재래식 약탕관에서 市販 黃芩 6.0 g 大棗 6.0 g 芍藥 4.0 g 甘草 4.0 g을 물

600 ml를 넣어 直火(물의 온도 92°)에서 약 150 ml가 되도록 끓여 배보자기로 걸러 찌꺼기는 버리고 다시 계속 끓여 약 50 ml가 되도록 농축시킨후²⁻⁵⁾ 遠心分離(10,000 rpm 30分間)하여 상등액을 냉동건조시켜 얻은 갈색분말 4.0 g을 사용하였다.

나. 黃芩 Ex.는 市販 黃芩 6.0 g에 물 400 ml를 넣어 黃芩湯 Ex.와 같은 방법으로 얻은 황색분말 1.8 g을 썼으며 비교 검체로서 市販 黃芩湯 Ex.는 제약회사 제품을 그대로 사용하였고 250 mg chloromphenicol 정제는 중근당 제약회사를 사용하였다.

3. 黃芩湯 Ex.의 TLC

黃芩湯 Ex.의 冷浸液과 溫浸液을 검체로 n-Butanol : HAC : H₂O (40 : 10 : 20)을 전개용매로 TLC(Silicagel G)를 실시한 결과 冷浸液은 9개의 반점(Rf 0.05, 0.13, 0.25, 0.37, 0.47, 0.57, 0.67, 0.70, 0.82)이 溫浸液은 10개의 반점(Rf 0.07, 0.13, 0.27, 0.38, 0.45, 0.59, 0.67, 0.71, 0.83, 0.95)이 분리됨을 관찰하였다. 이때 각 생약의 주요활성물질의 표준품은 黃芩의 baicalein(50% EtOH액 10 mg/50 ml), 芍藥의 paeoniflorin(6 mg/25 ml MeOH액) 및 甘草의 glycyrrhizin-K와 TLC로 비교 관찰하였다. (Fig. 1) 활성물질의 표준품은 國立保健院 표준품을 사용하였다.

4. 항균력 시험

가. 菌株 培養

常法에 따라서 세균은 TSA 40 g을 증류수 1,000 ml에 넣어 직화로 용해시킨 10 ml를 시험관에 부어 121°(15b)에서 15분간 가압멸균하여 斜面 靜置시킨 TSA slant에 균을 접종하여 37°에서 24시간 배양한 것을 종균으로 사용하였다.

眞菌은 Malt Ex. 50 g과 Agar 20 g을 증류수에 녹인 것을 상기방법으로 만든 Malt Ex. slant에 균을 접종하여 27°에서 72시간 배양시킨것을 種菌으로 사용하였다.

나. 培地の 調製

배양시킨 種菌 1 loop를 취하여 세균은 가압멸균시킨 TSB 10 ml에 현탁시켜 37°에서 24시간 배양시켰고 眞菌은 Malt Ex. broth 10 ml에 현

탁시켜 27°에서 72시간 배양시켰다.

균이 배양된 액체배지 1ml를 취하여 0.9% 멸균 생리식염수로 100배 희석한 것을 본 실험에 사용하였다.

다. 抗菌力 測定實驗

黃芩湯 Ex., 시판 黃芩湯 Ex., 黃芩 Ex. 그리고 chloramphenicol의 항균력을 측정하기 위하여 寒天평판도말법을 사용하였다. 세가지탕제에 대하여 최종농도가 1, 2.5, 5, 10 mg/ml이 되도록 멸균된 증류수 1ml에 20배의 양을 용해시키고 미리 조제하여 가압멸균시킨 TSA 19ml에 잘 섞어 petri dish에 부어 굳힌다. Chloramphenicol은 같은 방법으로 최종농도가 10, 50, 100 µg/ml이 되도록 하였다. 이 배지 위에 전술된 바와 같이 희석된 *E. coli*, *B. subtilis*, *St. aureus*, 그리고 *Sh. dysenteriae*를 도말이식한뒤 37°에서 24시간 배양한 뒤 세균의 生育度를 관찰하였다. 항균력을 비교하기 위하여, 배지에 가압멸균한 증류수 1ml로 대조구를 삼았다.

같은 방법으로 *A. niger*는 Malt Ex. 배지를 써서 각각의 湯劑 Ex.의 최종농도 1 mg/ml가 되도록 하여 27°에서 72시간 배양시킨후 생육도를 비교관찰하였다.

5. *Shigella* spp.에 대한 黃芩湯 Ex.의 力價比較

두가지 *Shigella*균 즉 *Sh. dysenteriae*(Serotype A₁, ATCC 1936)과 *Sh. boydii*(Serotype C₁, ATCC 9207-1)은 미리 준비된 BHI의 사면배지로부터 1~2콜로니를 따내어 10 ml의 멸균된 BHI 액체배지에 접종 37°에서 24시간 배양하여 種菌으로 사용하였다.

黃芩湯 Ex.는 0.9%의 生理食鹽水로 희석하여 50, 100, 150, 200, 그리고 250 mg/ml이 되도록 준비하고, chloramphenicol(중근당, 250 mg/capsule)도 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 그리고 2.5 mg/ml이 되도록 희석하였다. 지름 9cm의 Petri dish에 준비된 BHI Agar 배지에 두 종류의 種菌을 도말이식하고 적당한 간격으로 다섯개의 멸균 스텐레스제품의 컵(외경 8 mm, 내경 6 mm, 높이 10 mm)을 올려 놓고 희석해둔 황금탕 Ex.와 chloramphenicol을 각각 0.3ml씩 분주하였다. 실험오차를 줄이기 위하여 각 균주당 세장

의 배지를 사용하였다.

또한 *Shigella* A₁과 C₁균에 대한 MIC를 측정키 위하여 黃芩湯 Ex.의 농도를 A₁균은 50, 70, 80, 90 mg/ml로 C₁균은 50, 100, 120, 130 mg/ml로 각각 농도를 높여 같은 방법으로 관찰하였다.

실험결과 및 고찰

黃芩湯 Ex.의 主効成分을 분석하기 위하여 각 생약성분으로부터 분리정제된 표품과 함께 冷浸 및 溫浸液을 TLC에서 전개한 결과 黃芩湯 Ex.의 冷浸 및 溫浸液은 표품의 유효성분을 포함하여 9과 10개의 반점으로 분리되었다. 각성분의 Rf 값은 그림 1과 같다. 통상 生藥湯劑의 調製에서 가열에 의한 활성물질의 분해 또는 탈수 등 變質의 우려를 배제할 수 없다. 그러나 그림 1에서 보는 바와 같이 黃芩湯 Ex.의 冷浸液과 湯劑液에서 뚜렷한 성분의 변화는 관찰되지 않고 다만 한개의 반점만이 더 나타나고 있는 사

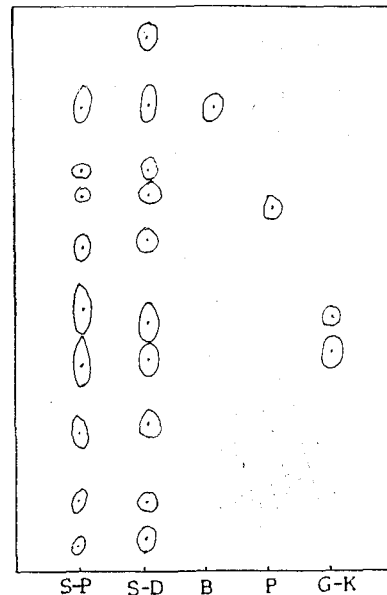


Fig. 1. Thin layer chromatogram(Silicagel G) of various scute decoctions. Solvent system, n-Butanol : HAC : H₂O (40 : 10 : 20); Detector, UV lamp. S-P: Scute percolation, S-D: Scute decoction, B: Baicalein, P: Paeoniflorin, G-K: Glycyrrhizin-K

Table I. The Antimicrobial Activity of Scute decoction Ex., *Scutellaria baicalensis* Ex. and Commercial Scute decoction Ex.

Drugs (mg/ml)	Control	Scute decoction Ex.				Commercial Scute decoction Ex.				<i>Scutellaria baicalensis</i> Ex.				Chloramphenicol		
		1	2.5	5	10	1	2.5	5	10	1	2.5	5	10	0.01	0.05	0.1
<i>E. coli</i> ATCC 9637	-	-	+	+	##*	-	-	+	##	+	+	##*	##*	-	+	##*
<i>B. subtilis</i> ATCC 9633	-	-	-	-	##*	-	-	-	-	-	-	-	##*	##	##	##*
<i>St. aureus</i> ATCC 6538	-	-	+	+	##*	-	-	+	##	+	##	##*	##*	-	-	##*
<i>Sh. dysenteriae</i> ATCC 9361	-	-	##	##*	##*	-	-	-	-	##	##	##*	##*	##	##*	##*

The activities were estimated as following; -, negative; +, weak positive; ##, positive; ##, strong positive; ##*, completely inhibited.

실로 미루어 향균 또는 항염증 물질로 알려진 황금탕 Ex.의 baicalein, wogonin, oroxylin A 와芍藥의 paeoniflorin 및甘草의 glycyrrhizine-K 등의 물질이 熱에 안정한 물질임을 알 수 있다.

黃芩湯 Ex., 市販黃芩湯 Ex., 그리고 黃芩 Ex.의 농도를 바꾸어가며 네가지 종류의 세균에 대하여 抗菌力을 시험하여 본 결과 Table I에 표시된바와 같이 *Sh. dysenteriae*가 가장 민감하였고 *E. coli*와 *St. aureus*도 生育의 抑制를 받았으나, *B. subtilis*는 비교적 고농도의 黃芩湯 Ex.에서

비로서 억제됨이 관찰되었다. 비교된 黃芩湯 Ex.는 조제과정에서 유효성분의 함량에서 커다란 차이를 보이고 있는데, 黃芩 Ex.가 강한 抗菌力을 보이는데 비하여, 市販 黃芩湯 Ex.는 상대적으로 효과가 거의 없었다. 市販 黃芩湯의 경우 5~10 mg/ml의 농도에서 *E. coli*와 *St. aureus*에 대해서만 낮은 抗菌力을 보였다. 黃芩湯 Ex.가 黃芩 Ex.보다 弱한 抗菌力을 나타내는 것은 湯劑의 菌力에 대한 活性物質이 주로 黃芩의 成分에서 비롯되는 것으로 생각되며 湯材인 芍藥과甘草의 活性物質들은 抗菌性보다는 오히려 抗炎症作用을 나타내는 것으로 판단된다. 즉 黃芩湯의 藥方인 黃芩, 大棗, 芍藥, 甘草는 모두 항 allergy 작용을 나타내나 항염증, 활성성분을 볼 때 芍藥은 paeoniflorin, oxypaeoniflorin 및 benzoylpaeoniflorin⁶⁾이며, 또한 이물질들은 mitomycin C항암효과의 증가⁷⁾ 등이 보고되었고,甘草는 glycyrrhetic acid의 K, Na, stearyl 또는 succinic acid의 염과 licoricone 등이며, 피부 장해 치유효과^{8,9)}도 보고되었고, 특히 芍藥의 paeoniflorigenone¹⁰⁾은 근육이완작용이 있어 진통, 진경성과 生草의 liquiritigenin의 분해물은 진경성 작용이 나타난다고^{11~14)}하고 그러한 목

Table II. Zone of inhibition by Scute decoction Ex. and Chloramphenicol on *Shigella* spp. measured by cup method.

Drugs		<i>Shigella dysenteriae</i> serotype A ₁	<i>Shigella boydii</i> serotype C ₁
Scute decoction Ex.	50mg/ml	N.I.*	N.I.*
	100	1.1±0.1	0.9±0.1
	150	1.2±0.2	1.4±0.1
	200	1.2±0.1	2.0±0.2
	250	2.2±0.2	2.0±0.1
Chloramphenicol	0.5	1.9±0.2	2.7±0.1
	1.0	2.3±0.3	3.0±0.2
	1.5	3.2±0.1	3.3±0.2
	2.0	3.4±0.1	3.3±0.2
	2.5	4.1±0.3	4.3±0.4

(unit: cm)

Five stainless cups were placed on the lawns of *Shigella* spp. on BHI agar plates, and kept at 37°. Each cup contains 0.3 ml of dilutions. The effect was evaluated after 48 hrs (Mean±SEM). N.I.* Not inhibitory

Table III. MIC zone of scute decoction Ex. on *Shigella* spp. measured by cup method.

Bacteria	<i>Shigella dysenteriae</i> serotype A ₁	<i>Shigella boydii</i> serotype C ₁
Initory potency		
MIC ^{a)}	90	130

a) The minimum concentration (mg/m) at which test samples caused 1.0 cm inhibitory zone

적으로 다른 탕제로 널리 쓰이기도 한다. 그러나 黃芩은 활성물질이 주로 baicalein, wogonin 및 oroxylin-A 등이며 *Sh. dysenteriae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis* 등의 성장을 억제시키고 또한 flavone 유도체는 항 allergy 작용이 있고^{15,16)} 黃芩의 ether Ex.가 gram 양성균에 살균작용¹⁷⁾도 보고된바, 黃芩湯의 抗菌性은 甘草, 芍藥 및 大棗보다 黃芩에 의한 것이 확실하게 뒷받침이 된다고 생각된다.

黃芩湯의 傳來用途에 비추어 보거나 Table I에 나타난 바와 같이 黃芩湯의 抗菌効果는 *Shigella* spp.에 대하여 강하게 나타나고 있다. 그 효과를 구체적으로 비교하여 보기 위해 두가지의 Strains, *Sh. dysenteriae*(Serotype A₁, ATCC 9361)과 *Sh. boydii*(Serotype C₁, ATCC 9207-1)에 대한 抗菌力을 스테인레스제 컵을 사용하여 chloramphenicol과 비교한 결과 Table II와 같다. 서로 다른 두 균주에 대한 黃芩湯 Ex.와 chloramphenicol의 効果는 대체로 비슷하였으나, MIC 측정결과 *Shiyella dysenteriae* serotype A₁은 90mg/ml(1.0 cm)에서 *Sh. boydii* serotype C₁은 130 mg/ml(1.1 cm)에 비해 약 40 mg 차이를 나타내었다(Table III).

黃芩湯의 効果가 眞菌類에도 미치는가 보기 위하여 *Aspergillus niger* van Tieghem(IMI 41873)을 malt배지위에 24°에서 72시간 배양하면서 세균과 같은 실험을 행하였으나 黃芩, 黃芩湯, 市販黃芩湯 Ex.의 세가지와 chloramphenicol에서 전혀 억제되지 않는 것을 관찰할 수 있었다. Chloramphenicol의 작용기작이 세균의 단백질합성에 관여하는 50S ribosome에 부착하는 것으로 미루어 眞菌類에는 生育抑制效果가 기대되지 않는다고 생각된다.

이상에서 살펴본바와 같이 抗菌 또는 抗炎症作用이 강한 몇가지 생약이 배합된 黃芩湯의 典據는 「傷寒論日 太陽與少陽合病 自下痢者 與黃芩湯」이라 하여 太陽病과 少陽病의 合病으로 自下痢하는 者에게는 黃芩湯을 투여한다는 뜻으로

急性腸炎, 腹痛, 赤痢 痢疾에 쓰므로서 좋은 治療效果를 나타내고 있음이 본 연구를 통하여 재확인 할 수 있었다.

〈1987년 9월 11일 접수 : 11월 18일 수리〉

문 헌

1. A.M.A.: Drug Evaluation 5th ed. pp.1644 (1983).
2. Hong-yen Hsu and William G. Peacher: SHANG HAN LUN, Oriental Healing Arts, p.162 (1981).
3. 朴盛洙: 現代漢方 講座, 金鋼出版社, p.8, 82, 116, 123 (1981).
4. 龍野一雄: 仲景方類聚, 癸丑文化社, p.179 (1974).
5. 湯本求真: 皇漢醫藥, 癸丑文化社, II p.310(1977).
6. Hawashi, T., Kurosawa, S., Shimizu, M. and Morita, N.: *Shoyakugaku zasshi* (1985).
7. Tumuar Juntendo Co., Ltd. Belg. BE 897, 402 (Cl. A61K), (1983).
8. Ikeda, T. (Maruzen Pharm. Co., Onomichishi, Japan), *Nippon Koshohin Kagakkaish.* 8, 64 (1984).
9. Marks, A. *Seifen, Oele, Fette, Wachase* 111 (1), 19 (1985).
10. Hayashi, T., Kurosawa, S., Shimizu M., and Morita, N.: *Shoyakugaku Zasshi* 39, 214 (1985).
11. 柴田承二, 糸川秀治, 三川 潮, 庄司順三, 瀧戶道夫: 藥用天然物質, 南山堂, 337, 406 (1982).
12. 北川 勲, 三川 潮, 庄司順三, 瀧戶道夫, 友田正司, 西岡五夫: 生藥學, 廣川書店, p.142, 234, 218, 188 (1986).
13. 東京生藥研究會編: 漢方藥의 評價와 開發技術, CMC, p.241, 217 (1983).
14. 三橋 博: 生藥學, 南江堂, p.141, 122, 204, 164 (1983).
15. Kubo, M., Kimura, Y., Odani, T. and Tani: *Chem. Pharm. Bull.*, 32, 2724 (1984).
16. Tsao, T.F., Newman, M.G., Kwok, Y.Y. and Horikoshi, A.K.: *J. Dent. Res.* 61, 1103 (1982).
17. Kubo, M., Kimura, Y., Odani, T., and Tani: *Planta Med.* 43, 194 (1981).