

抗生劑 耐性 化膿菌의 生育을 抑制하는 韓藥材 探索에 關한 研究

朴元榮 · 徐雲教 · 鄭智天*

I. 緒 論

化學療法이 時作된 이래 耐性菌들의 수가 꾸준히 증가되고 있는데 抗生劑耐性(antibioic resistance)이라고 하는 것은 어느 藥劑에 원래 感受性이었던 菌이 感受性이 없어지는 境遇를 말한다. 細菌의 抗生劑에 대한 耐性은 先天性 혹은 內在的 耐性和 後天性 혹은 獲得 耐性으로 분류할 수 있으며 後天性 耐性은 다시 突然變異에 의한 耐性和 새로운 遺傳子 獲得에 의한 耐性으로 나눌 수 있다^{1,2)}.

細菌은 4개의 分명한 기작에 의해서 抗生劑에 耐性을 보인다. 1) 抗生劑를 不活性化시키는 酵素의 生成, 2) 抗生劑의 標的(target site) 혹은 作用點에 의한 變化, 3) 膜의 變化에 의한 抗生劑의 不透過性(impermeability) 그리고 4) 抗生劑 感受性 段階의 迂迴이다^{1,2)}.

抗生物質의 不分별한 使用은 抗生劑耐性菌 出現에 중요한 要因이 되며, 만일 한 抗生物質에 耐性이 생기면 그 耐性은 동시에 같은 유형인 작용기작을 가진 다른 抗生物質에 대해서도 생기게 된다. 예를 들면 痢疾菌(*Shigella* spp.)에는 예전에 sulfa劑가 매우 有效하였으나, 現在는 모두 sulfa劑 耐性으로 되어 있으므로 sulfa劑에 의한 治療는 效果가 없는 것으로 되어 있다. 더구나 최근에는 sulfa劑 만이 아니고 chloramphenicol,

tetracycline, streptomycin 등과 같은 抗生劑에서도 多劑 耐性의 痢疾菌이 나타난다.^{1,3)}

일반적으로는 細菌, 바이러스와 같은 感染性 病原體에 의하여 發生^{4,5,6)}하는 肺炎은 肺胞와 그 周圍의 肺실질에 생기는 急性炎症을 말하는 것으로 感冒스런 오한, 全身發熱, 흉부자통, 호흡빈삭, 맥삭, 고통성 해수, 객담 등의 症狀과 全身症狀으로 두통, 전신자통, 권태, 구갈, 식욕부진, 변비 등^{4,7)}을 호소하여 韓醫學에서 風溫, 咳嗽, 肺熱病 등^{7,8,9)}의 病症과 類似한 것으로 認識하고 있다.

특히, 院內肺炎은 그 頻度 및 치명율이 높아 病院內 感染중 重要한 疾患으로¹⁰⁾ 最近에는 그람 陽性菌에 의한 感染의 增加가 病院 感染의 重要한 問題點으로 등장하고 있는데 原因菌種 가운데 黃色葡萄球菌(*S. aureus*)이 頻度順位 1, 2위를 다투고 있다^{11,12)}.

黃色葡萄球菌(*S. aureus*)는 人體의 化膿性 疾患의 原因菌으로 皮膚에는 癰(furuncle), 癤(carbuncle), 蜂窩織炎(phlegme), 粘膜에는 中耳炎, 結膜炎, 膀胱炎을 일으키며 筋炎, 骨髓炎을 비롯하여 때로는 全身性 敗血症을 일으키는 수가 있다. 이 菌은 自然界에 널리 분포되어 있고 各種 抗生物質을 使用하여 治療하고 있으나 耐性을 빨리 獲得하므로 強力한 抗生劑가 開發됨에도 불구하고 여전히 各種 感染症을 誘發하는 重要한 病原菌으로 남아있다.^{1,13)}

*동국대학교 한의과대학 내과학교실

이에 관한 韓方治法 연구로는 李 등¹⁴⁻²²⁾이 複合處方 및 藥物을 利用하여 病院性 細菌에 대한 抗菌作用을 報告한 實驗 研究가 있으나 지금까지 抗生劑耐性菌에 대한 研究는 찾아볼 수 없었다.

이에 著者는 風溫病 등의 치료에 응용되어 抗菌效果가 기대되는 淸熱解毒, 解表泄熱, 宣肺化痰, 收澁^{7,8,23,24,25,26)} 등의 효능을 가진 23種의 個別 韓藥物이 抗生劑耐性 *S. aureus* 菌의 生育抑制 效果가 있는 지를 實驗하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 材料

1) 使用 韓藥材

乾燥된 23種의 韓藥材를 購入하여 使用하였다. 使用한 韓藥材의 種類, 學名 및 使用 部位는 Table 1에서 보는 바와 같다.

2) 試藥, 菌株 및 消耗品

細菌培養에 使用된 brucella medium, yeast extract, tryptone은 Difco Co. 製를 使用하였고, ethanol, dimethyl sulfoxide, NaCl은 Sigma社製를 使用하였다. 抗菌成分의 檢索을 위하여 使用한 濾過紙는 日本 Toyo Roshi Kaisha의 Advantec paper disc (Thick, 8 mm) 를 구입 使用하였고, 抗菌力의 比較를 위하여 使用된 streptomycin, kanamycin, tetracycline, ampicillin, chloramphenicol 및 streptomycin用 抗生劑 disc는 BBL社의 susceptibility test discs (BBL Sensi Disc) 製品을 使用하였다.

韓藥材의 抗菌力 實驗을 위하여 使用한 抗生劑 耐性 病原性 *Staphylococcus aureus* (Fig. 1)과 他 細菌에 미치는 影響을 알아보기

위해 使用한 그람 陽性 大腸菌(*Escherichia coli*) 및 그람 陰性 枯草菌 (*Bacillus subtilis*)은 韓國科學技術研究院 遺傳子銀行 (KCTC; Korean Collection for Type Cultures, Taejon, Korea) 으로 부터 分讓받아 繼代培養(transfer)하여 使用하였다. 使用한 細菌의 學名 및 strain number는 Table 2에서 보는 바와 같다.

3) 機器 및 裝置

各 韓藥材의 extract 製造를 위해서 減壓濃縮機는 Eyla社의 Rotary evaporator (NE-1S)를 利用하여 濃縮하였고, Ilisin社의 Bondiro(FD5505)을 利用하여 凍結乾燥하였다. 培地의 製造, 滅菌,

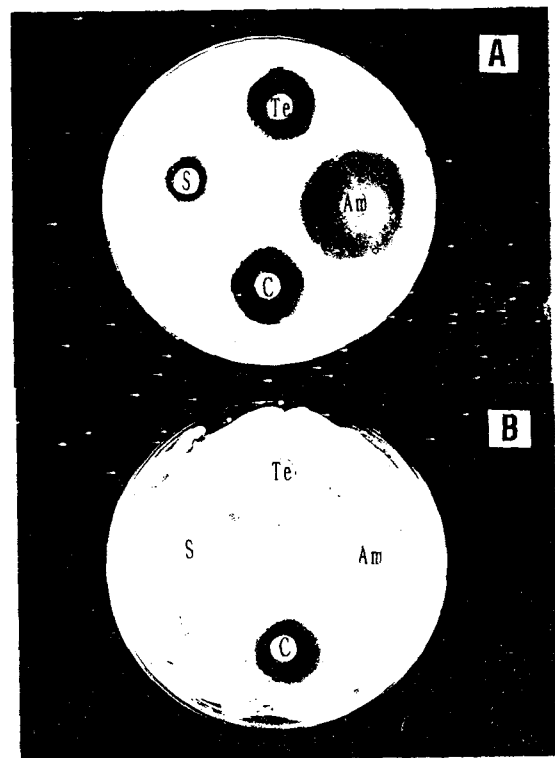


Fig. 1. Antibiotics-sensitive characteristics of *Staphylococcus aureus* KCTC 1916 (A) and antibiotics-resistant characteristics (S, Am, Te) of *Staphylococcus aureus* KCTC 1928. S: Streptomycin, Te: Tetracycline, C: Chloramphenicol, Am: Ampicillin

培養과 韓藥材의 抽出을 위하여 使用한 器機는 國產製作器機를 使用하였다.

液體培地에서 細菌의 生育을 測定하기 위하여 日本 Shimadzu 社의 UV-160 Aspectrophotometer 를 使用하였으며 660 nm에서 測定하였다.

2. 方法

1) 水溶性 및 에탄올 溶解性 抗菌물질 檢液의 製造

一般試驗法에 따라 乾燥 韓藥材를 細切하였다. 各 韓藥材 (Table 1)의 乾燥重量 100 g에 蒸溜水 300-900 ml를 添加하여 121°C 重湯器에서 3시간 동안 重湯, 抽出하였다. 重湯液을 濾過한 후, 減壓濃縮機에서 濾液이 50 ml이 되도록 濃縮하였다. 凍結乾燥(-50°C, 9mmTorr)하여 乾燥粉末을 얻어 試料物質로 使用하였다.

抽出 溶媒로 에탄올을 使用하고, condenser가 附着된 soxhlet을 使用하여 抽出한 條件 이외에는 에탄올 溶解性 抽出物의 製造는 水溶性 抽出物의 製造와 같다.

2) 使用培地 및 細菌培養 條件

組成에 따라 製造된 培地는 1.0 N NaOH 또는 HCl을 利用하여 pH가 6.8-7.0이 되도록 調節하고 121°C에서 20분간 加壓濕熱滅菌機 (autoclave)에서 滅菌하여 使用하였다. 寒天平板培地의 製造를 위하여 各 培地에 寒天(agar)을 最終濃도가 1.5% 되도록 添加하였다.

3) 細菌의 液體培養

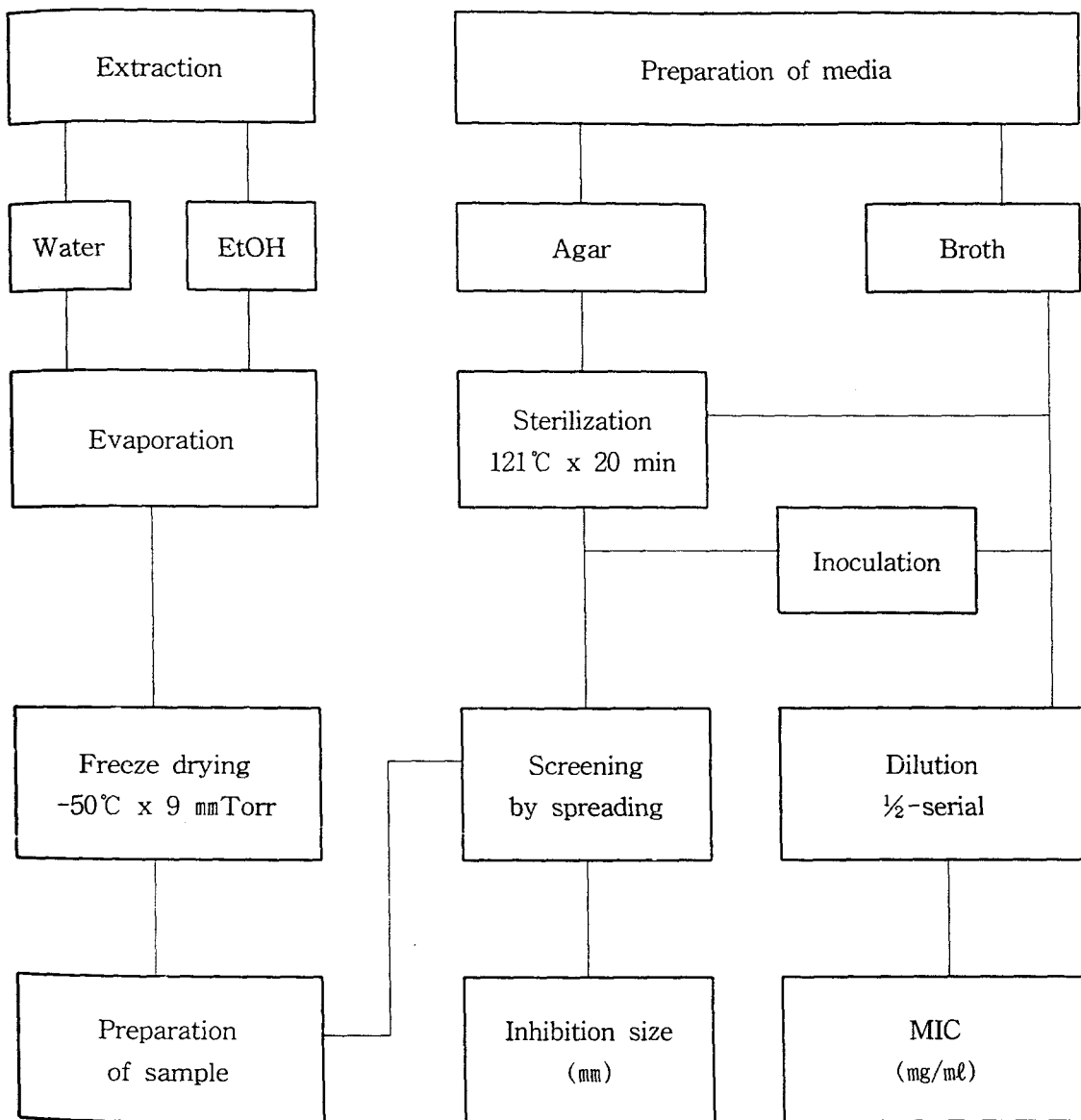
最適 培養條件 下에서 各 細菌 菌柱를 試驗管에서 18-24시간 동안 液體培養하였다. 培地는 121°C에서 20분간 滅菌후 使用하였다. 對照 公試菌柱로 使用된 大腸菌(*E. coli*), 枯草菌(*B. subtilis*)과 實驗菌으로 使用된 化膿菌(*S. aureus*)의 培養을 위한 Luria-Bertani培地(LB)의 組成은 다음과 같다: bacto tryptone 1%, bacto yeast extract 0.5%, NaCl 1%.

4) 寒天培地를 利用한 韓藥材의 抗菌物質 探索

美國 食品醫藥局(U.S Food and Drug Administration)에서 권장하는 Kirby-Bauer 變法을 利用하였다. 液體 培養된 各 細菌 菌柱를 滅菌된 綿棒을 利用하여 準備된 各 細菌의 寒天(agar 1.5%)培地上에 塗抹하였다. 準備된 disc를 檢液에 充分히 적신 後, 塗抹된 寒天培地上에 適切히 位置하도록 하였다. 이때 滅菌된 핀셋을 利用하여 disc를 가볍게 눌러서 位置의 變動이 없도록 하였다. 平板塗抹 後 disc가 位置한 plate를 各 細菌 菌柱의 培養에 適切한 溫度와 培養條件下에서 12시간 또는 18-24시간 동안 培養한 後, 生育阻止環의 直徑이 큰 韓藥材를 探索하였다. 比較阻止環은 測定된 生育阻止環 直徑으로부터 disc 直徑을 控除한 測定值를 mm 單位로 決定하였다.

5) 最小生育阻止濃度 (MIC)의 測定

使用한 韓藥材의 各 溶媒에 對한 試料 中 1次 探索된 抗菌力이 큰 試料를 선택하여, 細菌의 液體 培養시 生育을 抑制하는 最小 試料 檢液의 濃度(MIC: Minimal Inhibitory Concentration)를 測定하였다. 水溶性 및 에탄올 抽出物 試料를 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 溶解하였다. 濃도가 서로 다르도록 液體培地에 添加하여 試驗培地를 製造하였다. 各 濃度別로 添加 液體培養液에서 24시간 培養 후, 分光光度計(Spectrophotometer, 660 nm)로 各 細菌의 生育 程度를 測定하여, 細菌의 生育阻止 最小 試料 濃度を 決定하였다. 試料物質의 吸光度를 測定하고, blank 값을 控除한 後, control과 比較하였다.



Scheme 1. Screening and determining scheme of oriental medicines against pathogenic bacteria.

III. 實驗 結果

1. 水溶性 抽出物에 의한 漢藥材의 抗細菌 效果

Fig. 2, 3 및 Table 3, 4, 5에서 보는 바와 같이 使用한 23種의 韓藥材 水溶性 抽出物 中 黃連, 黃芩, 枇杷葉, 烏梅에서 病原菌 *S. aureus*의 生育을 抑制하였으며, 水溶性 抽出物에서 濃縮程度를 勘案한 比較阻止環의 直徑은 各各 10.7 mm, 2.0 mm, 1.0 mm, 2.0 mm로 黃連에서 가장 優秀한 抗菌效果를 보여주었다. 또한 抗生劑耐性 病原菌 *S. aureus*에 대한 黃連 및 烏梅의 比較阻止環의 直徑은 5.3 mm, 2.3 mm으로 나타나, 두 細菌 모두에 대해 黃連의 水溶性 抽出物을 使用하였을 때 가장 높은 抗細菌 效果를 보여 주었다. 黃連의 水溶性 抽出物은 對照群으로 使用한 枯草菌(*B. subtilis*)의 生育에 상당한 정도의 生育抑制 效果를 보여 주었으나, 大腸菌(*E. coli*)에는 미미한 정도의 生育抑制 效果를 나타내었다.

2. 에탄올 抽出物의 抗細菌 效果

Fig. 2, 3 및 Table 3, 4, 5에서 보는 바와 같이 使用한 23種의 韓藥材 에탄올 抽出物 中 黃芩, 黃連, 五味子, 烏梅에서 病原菌 *S. aureus*의 生育을 抑制하였으며, 에탄올 抽出物에서 濃縮程度를 勘案한 比較阻止環의 直徑은 各各 1.3mm, 7.3mm, 2.7mm, 3.3mm로 黃連에서 가장 優秀한 抗菌效果를 보여주었다. 또한 抗生劑耐性 病原菌 *S. aureus*에 대한 黃芩, 黃連, 五味子, 烏梅의 比較阻止環의 直徑은 3.3 mm, 12.7mm, 2.0mm, 2.3mm으로 나타나 두 細菌 모두에 대해 黃連의 에탄올 抽出物을 使用하

였을 때 가장 높은 抗細菌 效果를 보여주었다.

金銀花, 敗醬, 黃芩, 黃連, 五味子, 烏梅의 에탄올 抽出物은 對照群으로 使用한 大腸菌에 어느 정도의 生育抑制 效果가 나타났으며, 敗醬, 黃芩, 黃連, 括樓仁, 馬兜鈴, 五味子, 烏梅는 枯草菌의 生育에 어느 정도의 生育抑制 效果가 나타났다.

3. 水溶性 및 에탄올 抽出物의 最小 生育抑制濃度

最終濃도가 20 mg/ml이 되도록 5-ml vial에 1/2 serial dilution法으로 DMSO로 溶解한 水溶性 抽出物 添加 培養液을 製造하였다. 加壓 菌機를 利用하여 滅菌한 後, 培養된 病原菌 *S. aureus*의 前培養液을 接種量 5%가 되도록 接種하였다. 24시간 후 Spectrophotometer를 利用하여 660 nm에서 生育程度를 測定한 結果, 黃連 및 黃柏에서의 最小生育阻止濃도는 各各 20 mg/ml 및 30 mg/ml이었다. 黃連과 烏梅의 水溶性 抽出物에 對한 抗生劑耐性 病原菌 *S. aureus*의 MIC는 15 mg/ml, 10 mg/ml이었다.(Fig. 4, Table 6)

에탄올을 溶媒로 抽出한 試料를 最初濃도가 20 mg/ml이 되도록 製造 後, 同一한 方法으로 試驗한 結果, 病原菌 *S. aureus*의 경우 黃連 및 烏梅 抽出物에 對하여 各各 7.5 mg/ml 및 12 mg/ml의 MIC 測定值를 보여주었으며, 抗生劑耐性 病原菌 *S. aureus*에 對하여 黃連 및 烏梅에서 各 13 mg/ml 및 20 mg/ml의 測定值를 나타내었다.(Fig. 4, Table 7)

Table 1. The oriental medicines used in this study.

Mechanism	Medicinal name	Scientific name	Part used	
清熱	解毒	金銀花	<i>Lonicera japonica</i>	花
		蒲公英	<i>Taraxacum platycarpum</i>	葉根全草
		魚腥草	<i>Houttuynia cordata</i>	全草
		敗醬	<i>Patrinia scabriosaeifolia</i>	根, 根莖
	瀉火	生石膏	-	
		知母	<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	根莖
	燥濕	黃芩	<i>Scutellaria baicalensis</i>	根
		黃連	<i>Coptis japonica</i>	根
		黃柏	<i>Phellodendron amurense</i>	樹幹皮
	涼血	玄蔘	<i>Scrophularia buergeriana</i>	根
	清虛熱	地骨皮	<i>Lycium chinense</i>	根皮
		胡黃連	<i>Picrorrhiza kurroa</i>	根莖
解表	牛蒡子	<i>Arctium lappa</i>	成熟果實	
	柴胡	<i>Bupleurum chinense</i>	根	
	升麻	<i>Cimicifuga heracleifolia</i>	根莖	
	野菊花	<i>Chrysanthemum indicum</i>	花	
化痰	栝樓仁	<i>Trichosanthes kirilowii</i>	成熟種子	
止咳平喘	百部	<i>Stemona japonica</i>	根	
	紫菀	<i>Aster tataricus</i>	根	
	枇杷葉	<i>Eriobotrya japonica</i>	葉	
	馬兜鈴	<i>Aristolochia contorta</i>	成熟果實	
收澁	五味子	<i>Schizandra chinensis</i>	成熟果實	
	烏梅	<i>Prunus mume</i>	未熟果實	

Table 2. The pathogenic bacteria and culture conditions.

	Species	Strain*	Culture condition	
			Temp.(°C)	Medium**
Pathogen	<i>Staphylococcus aureus</i>	KCTC1916	37	LB
	<i>Staphylococcus aureus</i>	KCTC1928***	37	LB
Control	<i>Escherichia coli</i>	KCTC1039	37	LB
	<i>Bacillus subtilis</i>	KCTC1028	30	LB

* KCTC: Korean Collection for Type Cultures, Taejon, Korea.

** LB: bacto tryptone 1%, bacto yeast extract 0.5%, NaCl 1%.

*** The KCTC1928 is an antibiotic-resistant strain.

Table 3. Growth inhibition of water- and ethanol-soluble extracts of various oriental medicines against the pathogenic *Staphylococcus aureus* KCTC1916.

Oriental medicines	Inhibition size (mm) of extracts	
	Water-soluble	EtOH-soluble
金銀花	0	0
蒲公英	0	0
魚腥草	0	0
敗醬	0	0
生石膏	0	0
知母	0	0
黃芩	0	1.3
黃連	10.7	7.3
黃柏	2.0	0
玄參	0	0
地骨皮	0	0
胡黃連	0	0
牛蒡子	0	0
柴胡	0	0
升麻	0	0
野菊花	0	0
括樓仁	0	0
百部	0	0
紫菀	0	0
枇杷葉	1.0	0
馬兜鈴	0	0
五味子	0	2.7
烏梅	2.0	3.3

Table 4. Growth inhibition of water- and ethanol-soluble extracts of various oriental medicines against the antibiotic-resistant pathogenic *Staphylococcus aureus* KCTC1928.

Oriental medicines	Inhibition size (mm) of extracts	
	Water-soluble	EtOH-soluble
金銀花	0	0
蒲公英	0	0
魚腥草	0	0
敗醬	0	0
生石膏	0	0
知母	0	0
黃芩	0	3.3
黃連	5.3	12.7
黃柏	0	0
玄參	0	0
地骨皮	0	0
胡黃連	0	0
牛蒡子	0	0
柴胡	0	0
升麻	0	0
野菊花	0	0
括樓仁	0	0
百部	0	0
紫菀	0	0
枇杷葉	0	0
馬兜鈴	0	0
五味子	0	2.0
烏梅	2.3	2.3

Table 5. Growth inhibition of water- and ethanol-soluble extracts of various oriental medicines against non-pathogenic controls, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*.

Oriental medicines	Inhibition size (mm) of extracts			
	<i>Escheriachi coli</i>		<i>Bacillus subtilis</i>	
	Water-soluble	EtOH-soluble	Water-soluble	EtOH-soluble
金銀花	0	2.5	0	0
蒲公英	0	0	0	0
魚腥草	0	0	0	0
敗 醬	3.0	2.3	0	3.0
生石膏	0	0	0	0
知 母	0	0	0	0
黃 芩	1.6	2.6	0	2.6
黃 連	2.0	3.0	12.0	6.0
黃 栢	0	0	0	0
玄 蓼	0	0	0	0
地骨皮	0	0	0	0
胡黃連	0	0	0	0
牛蒡子	2.0	0	0	0
柴 胡	0	0	0	0
升 麻	1.5	0	0	0
野菊花	0	0	0	0
括樓仁	0	0	0	1.6
百 部	0	0	0	0
紫 菀	0	0	0	0
枇杷葉	1.5	0	0	0
馬兜鈴	0	0	0	3.3
五味子	2.0	1.3	1.6	2.3
烏 梅	2.0	1.6	2.6	3.0

Table 6. Minimal inhibitory concentration (MIC) of water-soluble extracts of the selected oriental medicines against pathogenic *Staphylococcus aureus*.

Species	Oriental medicine	MIC (mg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1916	黃連	20
	黃栢	30
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1928 (antibiotic-resistant strain)	黃連	15
	烏梅	10
<i>Escherichia coli</i>	黃連	10
	敗醬	25
<i>Bacillus subtilis</i>	黃連	5
	烏梅	20

Table 7. Minimal inhibitory concentration (MIC) of ethanol-soluble extracts of the selected oriental medicines against pathogenic *Staphylococcus aureus*.

Species	Oriental medicine	MIC (mg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1916	黃連	7.5
	烏梅	12
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1928 (antibiotic-resistant strain)	黃連	13
	烏梅	20
<i>Escherichia coli</i>	黃連	10
	敗醬	25
<i>Bacillus subtilis</i>	黃連	5
	烏梅	20

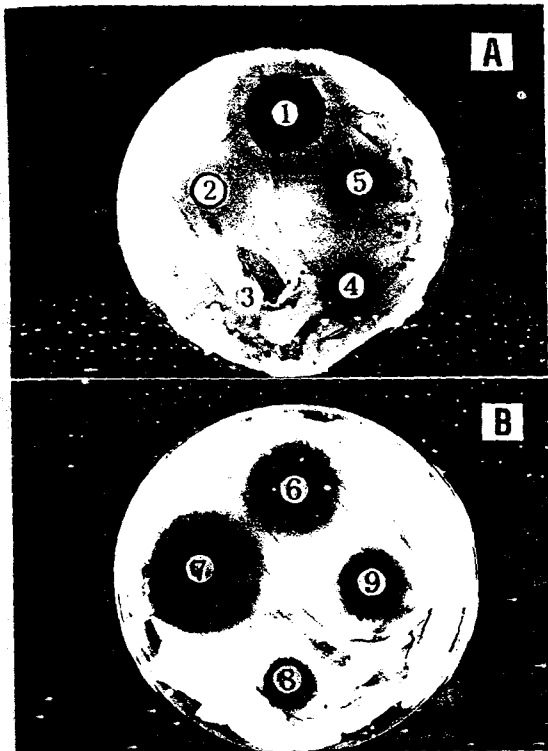


Fig. 2. The growth inhibition of water-soluble (A) and ethanol-soluble (B) extracts of the selected oriental medicines against a pathogenic bacterium, *Staphylococcus aureus* KCTC 1916. A-1: *Coptis japonica*, 2: *Phellodendron amurense*, 3: *Bulpleurum chinense*, 4: *Eriobotrya japonica*, 5: *Prunus mume*, B-6: *Scutellaria baicalensis*, 7: *Coptis japonica*, 8: *Schizandra chinensis*, 9: *Prunus mume*

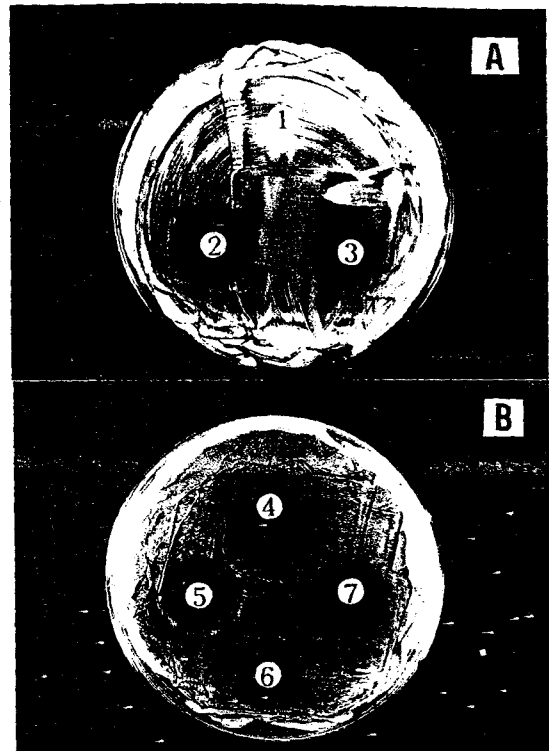


Fig. 3. The growth inhibition of water-soluble (A) and ethanol-soluble (B) extracts of the selected oriental medicines against a antibiotics-resistant pathogenic bacterium, *Staphylococcus aureus* KCTC 1928. A-1: *Anemarrhena asphodeloides*, 2: *Coptis japonica*, 3: *Prunus mume*, B-4: *Scutellaria baicalensis*, 5: *Coptis japonica*, 6: *Schizandra chinensis*, 7: *Prunus mume*

IV. 考 察

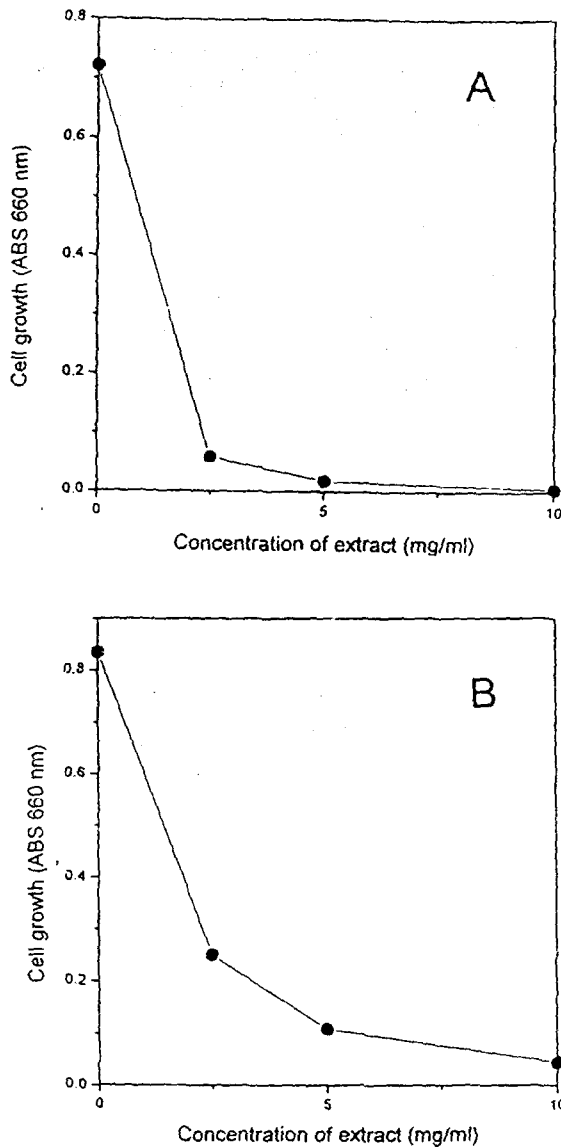


Fig. 4. Minimal inhibitory concentration against *Staphylococcus aureus* KCTC 1928 with water-soluble extract of *Prunus mume* (A) and ethanol-soluble extracts of *Coptis japonica* (B).

現在에도 많은 抗生劑가 使用되고 있지만 숙주의 變化, 새로운 菌株의 出現, 菌株의 抗生劑에 대한 耐性變化 등은 다시 새로운 抗生劑의 出現을 要求하게 된다. 그러나 抗癌化學療法의 使用이나 骨髓移植, 臟器移植의 頻度가 점차 增加함에 따른 숙주의 變化와 전세계적으로 多藥劑 耐性을 가진 plasmid의 전파에 따른 抗生劑 耐性 出現은 이미 深刻한 상황에 到達했다²⁷⁾.

細菌이 抗生劑에 대하여 耐性이 생기는 기전은 細菌의 本질적인 特性에 起因하는 內在的 耐性和 前에는 感受性을 나타내었던 藥劑에 대하여 感受性菌이 새로이 耐性을 나타내는 獲得耐性으로 分類할 수 있다. 獲得耐性은 細菌이 突然變異나 새로운 遺傳子 즉 plasmid를 獲得함으로써 發生한다고 하였으며 이러한 遺傳情報가 形質轉換(transformation), 形質導入(transduction) 또는 接合(conjugation)의 形態를 취하여 다른 個體로 傳達될 수 있다²²³⁾.

한편, 院內肺炎은 感染에 대한 臨床的, 放射線學的, 檢査室的 證據로서 感染이 入院 당시 存在하거나 잠복기 狀態가 아닌 것으로 대개는 入院시 잠복기에 있는 感染이 아니면서 病院에 入院한지 48시간 以後의 肺炎으로 發生率은 尿路感染에 이어 2번째의 病院感染을 차지하고 가장 높은 死亡率을 보인다^{10,29)}. 최근에는 黃色葡萄球菌(*S. aureus*)을 비롯한 그람陽性菌이 院內肺炎의 重要한 病原菌으로 등장하고 있는데^{10,11,12)} 1940년대부터 penicillin 耐性菌株가 增加하였으며, 그 이후 methicillin 耐性菌株가 報告되기 시작하여 현재에 이르기까지 중요한 院內 感染源으로 전 세계적으로 *S. aureus*의 95% 以上이 penicillin, ampicillin, antipseudomonas penicillin에 耐性이 있다고 알려져 있다²⁷⁾.

黃色葡萄球菌(*S. aureus*)는 지름 0.8~0.1 μ m

의 그람 양성(+)의 球菌으로서 葡萄송이 처럼 排列되어 있으며 hemotoxin, leucocidin, entrotoxin과 같은 毒素을 產生한다. 이 菌은 人體의 化膿性 疾患의 原因菌으로 皮膚에는 癰(furuncle), 癤(carbuncle), 蜂窩織炎(phlegme), 粘膜에는 中耳炎, 結膜炎, 膀胱炎 더욱이 筋炎, 骨髓炎을 비롯하여 때로는 全身性 敗血症을 일으키는 수가 있는데 連鎖球菌에 비해 制限된 部位에 그치는 수가 많다. 그러나 自然界에 널리 分布되어 있고, 各種 抗生物質을 使用하여 治療하고 있으나 耐熱性이 強하여 쉽게 死滅되지 않고 耐性を 빨리 獲得하므로 강력한 抗菌劑가 開發되고 公衆 衛生環境이 개선됨에도 불구하고 여전히 各種 感染症을 誘發하는 重要한 病原菌으로 남아있다.^{1,13,27)}

따라서 세계 최고 수준의 penicillin 耐性 및 多劑 耐性 頻度を 보이는 國內의 사정과 그람 양성(+) 細菌 중에서 人體 感染을 일으키는 가장 重要한 菌이며 최근 院內肺炎의 重要한 病原菌으로 등장하고 있는 抗生劑 耐性 黃色葡萄球菌의 增加 등을 고려할 때 보다 效果의 治療法의 開發이 더욱 必要한 狀況이다.

韓方文獻에서 肺炎과 一致하는 病症은 言及되지 않았으나 李⁷⁾, 歐⁸⁾, 鮑²⁵⁾ 등에 의하면 風溫, 咳嗽, 肺熱病 등의 病症과 유사하다. 風溫과 관련하여 孟 등^{26,30)}은 風熱之邪가 發病의 主因으로 風溫은 冬·春 양계절에 發生하는 溫熱疾病이라고 하였고, 方 등^{9,24)}은 外感風熱病邪, 外衛不固 正氣虛弱, 起居不慎 寒溫失調 등으로 發病한다고 하였다. 본 病症의 變證는 치료 歐 등⁸⁾은 痰, 瘀, 毒의 상호 작용에 의하여 肺臟機能이 失조된 것으로 보고 清熱解毒, 化痰開竅, 活血化瘀法을 治療의 大法로 삼아 각각 透表解毒, 清氣解毒, 清營解毒, 益氣養陰, 回陽固脫 등의 治法을 使用하였으며, 陳 등^{24,25,26)}은 본 病症의 基本病理를 痰熱壅阻로 보고 治療에 있어서 清熱化痰宣肺法을 基本원칙으로 辛涼解表 清熱宣肺, 清熱解毒 宣肺平喘, 清心涼營開竅法을 使用하였고, 氣虛或氣陰兩虛型에는 益氣養陰 清化痰熱法, 陽氣虛脫을

검하면 回陽救陰固脫法 등을 臨床에 應用하였다.

抗生劑 耐性 化膿菌의 生育을 抑制하는 韓藥材의 探索을 위하여 臨床에서 主要 感染性 呼吸器疾患에 자주 應用되어 抗菌作用이 기대되는 清熱解毒, 清熱瀉火, 清熱燥濕, 涼血 및 解表, 化痰, 止咳平喘, 收澀藥을 중심으로 항균 효과를 관찰한 결과 使用한 23種의 單材 中 黃芩, 黃連, 黃柏, 枇杷葉, 五味子, 烏梅가 細菌의 生育을 抑制하는데 效果를 보여 주었고, 특히 黃連은 對照群과 病原菌 모두에서 높은 生育抑制 效果를 보여 주었다.

黃芩은 꿀풀과 (Labiatae)에 屬하는 多年生 草本으로 味는 苦, 性은 寒하며, 清熱燥濕, 瀉火解毒, 清熱安胎 등의 效能이 있다.^{31,32,33)} 主要成分으로는 flavone-glucuronic acid인 baicalin, wogonin, wogonin glucuronide, baicalein, oroxylin-A glucuronide, koganebananin, kullcapflavone I, skullcapflavone II 등의 flavonoid 成分인 β-sitosterol, campesterol, stigmasterol 등의 sterol 類, sucrose, glucose 등의 糖類로 構成되어 있다. 抗菌活性에 對해서는 赤痢菌, 티푸스菌, 綠膿菌, 葡萄狀球菌, 溶血連鎖狀球菌, 肺炎雙球菌 등에 強한 抗菌作用이 있으며 有效成分은 baicalein으로 알려져 있다.^{31,34)} Minaeva³⁵⁾와 Hsu³⁶⁾는 黃芩의 構成成分 中 wogonin이 抗菌效果를 보이는 것으로 報告하였다. 이외에 Hsu³⁶⁾는 黃芩의 抗菌效能에 對한 實驗으로 *Vibrio comma* 및 *Mycobacterium avium*에 對한 抗細菌 效能을 研究하였다.

黃連은 미나리아재비과 (Ranunculaceae)에 屬하는 草本으로 味는 苦하고, 性은 寒하며, 清熱燥濕 및 瀉火解毒의 效能이 있다.³¹⁾ 지금까지 밝혀진 黃連의 主要成分은 berberine이 主成分이고 其他成分으로 epiberberine, coptisine, jatrorrhizine, palmitine, magnoflorine, ferulic acid, berbersine 및 alkaloid 등이 있는 것으로 알려져 왔다.^{31,34)} 歷代 傳統 韓醫書에 依據한 黃連의 效能에 對하여서는 그동안 많

은 研究가 隨行되어 大部分 實驗的으로 證明된 바 있다. 黃連의 抗菌 spectrum은 상당히 그 폭이 넓고 특히 赤痢菌(dysentery bacillus)에 對한 抗菌作用이 가장 強하고 sulfa劑 보다 優秀하다고 알려져 있다. 그 외에 黃連은 黃色葡萄狀球菌 (*Staphylococcus aureus*), 티푸스菌 (*Salmonella typhi*), 肺炎雙球菌 (*Streptococcus pneumoniae*), 大腸菌 (*Escherichia coli*), 腦膜炎球菌 (*Neisseria meningitis*), 百日咳菌 (*Bordetella pertussis*), 디프테리아菌 (*Corynebacterium diphtheriae*), 連鎖狀球菌 (*Streptococcus sp.*), 人形結膜菌도 抑制한다는 報告가 있다³¹. 黃連의 抗菌效能에 對한 具體的 實驗으로는 Otsuka와 Tsukui³⁷⁾, Otsuka 와 Fujimura³⁸⁾, 禹³⁹⁾, 柳⁴⁰⁾ 및 李⁴¹⁾ 등의 研究가 있어왔다. 특히 李⁴¹⁾의 結果에 의하면 黃連 抽出物 中 berberine 成分이 眼疾患을 誘發하는 細菌에 卓越한 效果가 있음을 立證하였다. 한편, 中醫學에서는 최근 抗生劑와의 병용투여에 의한 연구 등^{42,43)}도 활발하게 이루어지고 있다.

黃栢은 芸香科(Rutaceae)에 屬하며 味는 苦, 性은 寒하다. 主成分은 alkaloid 1~3%(berberine, plamatine, jateorrhizine, phellodendrine 등), sterol 7~8%(campesterol, β -sitosterol)이다. 淸熱, 瀉火解毒, 淸虛熱의 效能이 있고, 抗菌活性은 *in vitro*에서 포도球菌에 對한 抑制作用이 가장 強하고, 디프테리아菌, 肺炎連鎖球菌, 連鎖狀球菌에도 強한 殺菌作用을 보인다. 또한 抗真菌活性도 보인다^{31,34)}.

枇杷葉은 薔薇科(Rosaceae)에 屬하며 枇杷의 잎을 乾燥한 것으로 味는 苦하고 性은 平하다. 化痰止咳의 效能이 있으며, 主成分은 amygdalin, ursolic acid, oleanolic acid, malic acid, citric acid, tannin 등이 있다^{31,34)}.

五味子는 木蓮科 (Magnoliaceae)에 屬하는 多年生 落葉 蔓木으로 味는 酸, 性은 溫 無毒하며 斂肺滋腎, 澁精止瀉, 益氣生津斂汗 등의 效能이 있다고 알려져 있다.五味子에 對한 成分의 分離 및 構造에 關한 많은 研究가 있어 왔는데 主成分으로는 精油 및 有機酸, 脂

肪油가 大部分을 차지하고, 其他成分으로 gomisin, angeloylgomisin, trigloylgomisin, bezoylgomisin, schizandrin 등이 있는 것으로 알려져 있다.^{31,34)}五味子是 赤痢菌(dysentery bacillus), 葡萄狀球菌 (*Staphylococcus sp.*), 腸炎菌, *Proteus vulgaris*菌, *Enterococcus faecalis*菌, *Neisseria gonorrhoeae*菌 등에 抗菌效果가 있는 것으로 알려져 왔으나⁴⁴⁾ 抗生劑 耐性菌에 對한 抗菌效能에 關해서는 아직 體系의인 研究報告가 거의 없는 實情이다.

烏梅는 薔薇科 (Rosaceae)에 屬하는 多年生 落葉木으로 味는 酸, 性은 溫하며 斂肺止咳, 澁腸止瀉, 和胃安蛔, 固崩止血, 生津止渴 등의 效能이 있다^{31,32,33)}. 烏梅는 木部에 citric acid, sitosterol, oleanolic acid 등이 있으며, naringenin, prunin, leucoanthocyanidin 등을 含有하고 있다^{31,34)}. 赤痢菌 등의 消化管의 病原性 細菌, beta溶血性 連鎖球菌의 生育을 抑制한다는 研究報告가 있으나 具體的인 研究內容은 未洽한 편이다⁴⁵⁾.

이들 가운데 특히 菌抑制 效果가 뚜렷한 黃連의 病原菌 *S. aureus*에 對한 最小生育阻止 濃度는 물을 溶媒로 抽出한 試料를 使用하였을 경우 20 mg/ml이었고, 에탄올을 抽出溶媒로 使用하여 抽出한 경우 7.5 mg/ml이었다. 抗生劑耐性 病原菌 *S. aureus*에 對한 黃連의 水溶性 抽出物의 MIC는 15 mg/ml이었고, 에탄올을 抽出溶媒로 使用하여 抽出한 경우는 13 mg/ml이었다. 이 濃度는 기존의 抗生劑와 比較하면 相對的으로 높은 편이나 使用한 試料가 粗濃縮液이고 一般的으로 比較하는 抗生劑가 純粹한 物質임을 考慮한다면 黃連이 細菌에 對하여 強한 抗菌效果가 있다고 判斷할 수 있다. 抽出物속의 적은 量의 抗細菌 成分을 抽出하는 溶媒의 選擇에 따라서는 그 有效成分의 量을 더 많이 얻을 수 있으며, 따라서 最小生育阻止에 미치는 濃度도 적어질 수 있을 것이라 判斷된다.

著者가 使用한 病原菌 *S. aureus* 와 抗生劑 耐性 病原菌 *S. aureus*에 抗菌效果를 미치는

成分이 李⁴¹⁾의 결과에서의와 같이 berberine인지 아니면 다른 成分에 의해서 인지는 더 研究해야 할 필요가 있으며 各 抽出物의 成分差異에 起因하는 藥理作用도 다를 것으로 豫想된다.

새로운 抗生物質의 探索은 이진과 같은 形態로 繼續되고 있지만 그 發見率은 급격히 떨어지고 있다. 實際적으로 有效한 抗生物質 대부분이 이미 發見되어 버렸는지도 모른다. 더욱이 抗生物質에 대하여 抵抗性을 나타내는 病院性 菌株가 우려할 만큼의 速度로 나타나기 시작했다. 따라서 이를 극복하기 위한 방법으로 임상에서 抗生物質 병합요법 등이 사용되며, 새롭고 강력한 抗生物質의 開發研究 등이 많은 研究家들에 의해 이루어지고 있으나 보다 새로운 治療法의 開發이 더욱 時急한 實情이다.

이상의 實驗結果로 보아 抗生物質耐性 病原菌에 대한 抗菌效果에 關聯된 韓藥材의 有效成分의 同定 및 分離方法의 改善과 安定性의 檢證이 이루어진다면, 이들 藥材가 抗生物質耐性 病原菌 *S. aureus* 細菌의 生育抑制劑로 사용할 수 있으리라 判斷된다. 또한, 본 實驗은 抗生物質耐性 病原菌 *S. aureus*에 대하여 藥物이 일정한 濃도와 成分으로 직접 作用할 수 있는 試驗管内 抗菌效果를 알아보고자 한 것으로 이 實驗結果를 기초로 抗菌效果가 優秀한 韓藥材를 選別하고 이 藥材를 대상으로 항후 動物感染 모델 등을 이용한 生體內에서의 研究가 이루어져야 할 것으로 생각한다.

V. 結 論

清熱, 解表, 化痰, 止咳平喘, 收澀의 目的으로 呼吸器 疾患에서 多用하는 23種의 單材를 使用하여 抗生物質耐性을 가진 病原菌 *S. aureus*의 生育을 抑制하는 藥材를 探索하고, 探索된 藥材의 抽出物에 대한 細菌의 最小生育抑制濃度を 測定하였다.

1. 韓藥材 水溶性 抽出物 中 黃連에서 抗生物劑 感受性 病原菌 *S. aureus*의 生育을 抑制하였으며, 抗生物劑 耐性 病原菌 *S. aureus*에 대해 黃連, 烏梅 抽出物이 細菌의 生育을 抑制하였다.
2. 韓藥材 에탄올 抽出物 中 黃連, 烏梅, 五味子が 抗生物劑 感受性 化膿菌에 대하여, 黃連, 黃芩, 烏梅가 抗生物劑 耐性 化膿菌의 生育을 抑制하였다.
3. 黃連의 水溶性 및 에탄올 溶解性 抽出物은 抗生物劑 感受性 및 耐性 化膿菌과 對照群으로 使用된 枯草菌에 대하여 매우 優秀한 抗菌活性을 보여주었으나, 對照群으로 使用된 大腸菌에 대하여는 미미한 程度의 抗細菌效果를 보여주었다.
4. 病原菌 *S. aureus*에 대한 黃連 및 黃栢의 水溶性 抽出物의 最小生育阻止濃度は 各各 20 mg/ml 및 30 mg/ml이었으며, 黃連 및 烏梅의 에탄올 溶解性 抽出物의 MIC는 各各 7.5 mg/ml 및 12 mg/ml로 나타났다.
5. 抗生物劑耐性 病原菌 *S. aureus*에 대한 黃連 및 烏梅의 水溶性 抽出物의 最小生育阻止濃度は 15 mg/ml, 10 mg/ml이었으며, 에탄올 溶解性 抽出物의 경우에는 各各 13 mg/ml 및 20 mg/ml로 나타났다.

以上の 結果를 통하여 黃連, 烏梅의 水溶性 및 에탄올 溶解性 抽出物이 抗生物劑耐性을 가진 病原菌 *S. aureus*에 對하여 優秀한 生育抑制作用을 나타냄을 알 수 있었다

參考文獻

- 1) 金臣武 外 4人 共著 : 病院微生物學, 高麗醫學, pp.56-61, 1996.
- 2) 정선식 : 항생제의 내성기전, 가정의학회지

- 16(3):258-271, 1995.
- 3) 裴 武, 李永祿 翻譯 : 微生物學, 아카데미 서적, p.685, 1990.
 - 4) 서울대학교 의과대학 편 : 호흡기학, 서울, 서울대학교출판부, pp. 145-158, 1986.
 - 5) 정태훈, 김창호 : 폐렴의 정의 및 분류, 결핵 및 호흡기질환 43(3): 297-307, 1996.
 - 6) 閔昌泓, 柳在根 共著 : 最新微生物學, 高文社, pp.139-171, 1980
 - 7) 李珩九 鄭昇杞 編著 : 東醫肺系內科學, 서울, 도서출판 아트동방, pp. 338-354, 1996.
 - 8) 歐陽忠興 外 : 中醫呼吸病學, 北京, 中國醫藥科技出版社, pp. 511-548, 1994.
 - 9) 方藥中 外: 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.91-99, 1986.
 - 10) 신형식, 김성민, 백경란, 김양수, 배현주, 오명돈, 정문현, 최강원 : 원내 폐염의 원인에 관한 연구, 감염 23(3):139-144, 1991.
 - 11) 조동택 : 원내감염 원인균으로서 Methicillin 내성 황색포도구균의 중요성, 감염 27(1): 11-13, 1995.
 - 12) 최강현, 송재훈, 조구영, 김형호, 유 빈, 서철원, 배직현 : 그람양성균 감염에 대한 Teicoplanin의 임상적 효과, 감염 25(1): 57-62, 1993.
 - 13) 정희진, 정문기, 김우주, 김민자, 박승철 : 황색포도상구균 균혈증의 임상적 의의, 감염 26(3):255-262, 1994.
 - 14) 李鍾燮, 李京燮, 宋炳基 : 蒼栝樗皮丸이 抗炎症, 解熱, 利尿 및 抗菌作用에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集 8卷, pp.251-262, 1985.
 - 15) 梁尙殷 : 易黃湯이 利尿 抗腫瘍 消炎 抗菌에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院 碩士, 1987.
 - 16) 宋炳基 : 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, 慶熙大學校大學院 博士, 1980.
 - 17) 宋錫鎬 : 完帶湯이 利尿 消炎 및 抗菌에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院 碩士, 1987.
 - 18) 姜東煥 : 妬乳에 活用되는 連翹湯 및 加味連翹湯이 消炎 鎮痛 및 抗菌作用에 미치는 影響, 大田大學校大學院 碩士, 1992.
 - 19) 李漢哲 : 加味芷貝散이 實驗動物의 鎮痛 消炎 解熱 및 抗菌에 미치는 影響, 圓光大學校大學院 碩士, 1988.
 - 20) 金鍾翰 : 還魂散(內消散) 물 엑스 및 20% 에탄올 엑스의 消炎 鎮痛 抗菌作用에 관한 研究, 圓光大學校大學院 碩士, 1992.
 - 21) 李安九 : 八正散煎湯液이 實驗動物의 鎮痛 消炎 및 抗菌作用에 미치는 影響에 관한 實驗的 研究, 圓光大學校大學院 碩士, 1988.
 - 22) 申載鏞 : 金銀花 煎湯 熟成度에 따른 抑菌作用에 관한 實驗研究, 大韓韓醫學會誌 5卷, pp.348-354.
 - 23) 顧保群 : 呼吸系病實用方, 江蘇科學技術出版社, pp.35-53, 1993.
 - 24) 南京中醫學院 編 : 溫病學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.209-219, 1978.
 - 25) 鮑 軍 : 大葉性肺炎, 北京, 人民衛生出版社, pp.17-42, 1984.
 - 26) 孟樹江 外 : 溫病學, 長沙, 湖南科學技術出版社, pp.48-57, 1987.
 - 27) 김구엽, 이희주, 서환조 : 세균의 항생제 감수성 변화의 추이, 감염 27(2):119-140, 1995.
 - 28) 우준희 외 : 세균성폐렴의 원인균과 그 치료, 결핵 및 호흡기질환 42(1):67-75, 1995.
 - 29) 김성규, 양동규 : 폐렴의 치료, 결핵 및 호흡기질환 44(1):11-24, 1997.
 - 30) 成都中醫學院 主編 : 溫病學講義, 香港, 醫藥衛生出版社, pp.44-68, 1987.
 - 31) 陸昌洙, 金成萬 外 4人 共著 : 漢藥의 藥理·成分·臨床應用, 癸丑文化社, pp.404-411 775-780 885-886, 1984.
 - 32) 全國韓醫科大學 本草學教授 : 本草學, 서울, 永林社, pp.178-179, 615-616, 1992.
 - 33) 顏正華 : 臨床實用中藥學, 北京, 人民衛生出版社, pp.131-133, 496-498, 1992.

- 34) 藥品植物學研究會 著 : 藥品植物學各論, 學窓社, pp.173-174, 196, 200-201 228-229 376-377, 1986.
- 35) Minaeva, V.G. 1966. Trudy Botan. Sada, Zapad. Sibir. Filiala. Akad. Nauk S.S.S.R. 1:77 & Hsu, H-Y., 1954. J. Taiwan Pharm. Assoc. 6:2
- 36) Hsu, H.-Y., 1952, J. Taiwan Pharm. Assoc. 4:11
- 37) Otsuka, H. and M. Tsukui. Yakugaku Zasshi, 94:796-801, 1972.
- 38) Otsuka, H. and H. Fujimura. Yakugaku Zasshi, 101:883-890, 1981.
- 39) 禹元洪 : 三種 黃連의 抗菌力 比較 實驗, 圓光大學校大學院 碩士, 1982.
- 40) 柳炳秀 : 黃連類의 效能과 berberine 含量에 관한 研究, 慶熙大學校大學院 博士, 1992.
- 41) 이진아 : 黃連類의 眼疾患 誘發 病原性 微生物 抑制效果에 관한 研究, 東國大學校大學院 碩士, 1994.
- 42) 龔志朮 外 : 中西藥聯合藥敏試驗對提高耐藥菌抑菌效果的實驗報告, 實用中西醫結合雜誌 8(3):169-170, 1995.
- 43) 常明向 外 : 黃連素與TMP聯用抗菌作用實驗研究, 實用中西醫結合雜誌 8(4):223, 1995.
- 44) 金楨滋 : 骨盤炎症性疾患을 誘發하는 *Neisseria gonorrhoeae* 菌의 生育을 抑制하는 韓藥材 探索에 관한 研究, 東國大學校大學院 碩士, 1994.
- 45) 林幸淵 : 產褥期 感染 誘發 細菌의 生育을 抑制하는 韓藥材 探索에 관한 研究, 東國大學校大學院 碩士, 1994.

ABSTRACT

A Study on Screening of Oriental Medicines Against Antibiotics-resistant *Staphylococcus aureus*

Won Young Park, Woon Gyo Seo, Ji Cheon Jeong

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine,
Dongguk University

The various oriental herbal medicines, which have usually been used for treatment of reducing fever, purging intense heat and detoxication, were screened to determine the antibacterial activity and the minimal inhibitory concentration against antibiotics-resistant *Staphylococcus aureus*.

The results obtained were as follows:

1. Among the 23 oriental medicines tested, the water-soluble extract of *Coptis japonica* showed very excellent antibacterial activity against antibiotics-sensitive and -resistant *S. aureus*. A little activity was found in the extracts of *Scutellaria baicalensis*, *Eriobotrya japonica* and *Prunus mume* against antibiotics-sensitive *S. aureus* and in that extracts of *P. mume*, *Schizandra chinensis* and *S. baicalensis* against antibiotics-resistant *S. aureus*. When *C. japonica* was used, the high antibacterial activity was shown against *Bacillus subtilis* and other extracts showed a little or no antibacterial activity against *B. subtilis* and *E. coli* as a control.

2. The highest antibacterial activities against antibiotics-resistant *S. aureus* were found in the ethanol-soluble extract of *C. japonica*. Other ethanol-soluble extracts of *S. baicalensis*, *S. chinensis* and *P. mume* showed a little activity against both antibiotics-sensitive and antibiotics-resistant *S. aureus*.

3. Among the medicinal herbs tested, the water- and ethanol extracts of *C. japonica* showed very excellent antibacterial activity against the pathogenic *S. aureus* and both *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* used as a control.

4. When the water-soluble extracts of *C. japonica* and *S. baicalensis*, minimal inhibitory concentrations (MICs) against antibiotics-sensitive *S. aureus* were 20 mg/ml and 30 mg/ml, respectively. The MICs of the ethanol-soluble extracts of *C. japonica* and *P. scabriosaeifolia* were 7.5 mg/ml and 12 mg/ml, respectively.

5. For the MICs against antibiotics-resistant *S. aureus*, the water-soluble extracts of *C. japonica* and *P. mume* showed 15 mg/ml and 10 mg/ml, respectively. The MICs of the ethanol-soluble extracts of *C. japonica* and *P. mume* were 13 mg/ml and 20 mg/ml, respectively.

As a result, the highest antibacterial activity was found in both water- and ethanol-soluble extracts of *C. japonica* against antibiotics-resistant *S. aureus*. And the water- and ethanol-soluble extracts of *S. baicalensis*, *S. chinensis* and *P. mume* showed comparatively high antibacterial activities against both antibiotics-sensitive and -resistant *S. aureus*.

Key Words : antibiotics-sensitive and -resistant *S. aureus*, *C. japonica*, *P. mume*, MICs