

고삼추출물의 항균효과 (I)

조 훈 · 원성란 · 양은영 · 김종수* · 유일수* · 류도곤** ·

이정호*** · 강길웅**** · 백승화*****

건일제약(주), *익산대학 화학공학과, **원광대학교 한의과대학 생리학교실,

의과대학 예방의학교실, *자연과학대학 화학기술 · 생명과학부

(Received March 26, 1999)

Antimicrobial Effect of the Extract of *Sophora flavescens* Ait (I)

Hoon Cho, Sung Ran Weon, Eun Yeong Yang, Jong Soo Kim*, Il Soo You*, Do Gon Ru**,
Jeong Ho Lee***, Kil Ung Kang**** and Seung Hwa Baek*****

Kuhnil Pharmaceutical Co. LTD., Chunan Chungnam 330-810, Korea

*Department of Chemical Engineering, Iksan College, Iksan 570-752, Korea

**Department of Physiology, School of Oriental Medicine

***Department of Preventive Medicine, School of Medicine and

****Devision of Chemistry Technology & Biological Science, College of Natural Sciences,
Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea.

Abstract — In order to develop an antimicrobial agent, dried *Sophora flavescens* Ait. was extracted with several solvents, and then antimicrobial activity was investigated. The minimal inhibitory concentration (MIC) of the extracted substance against microorganisms were also examined. Antimicrobial activity of the initial methanol extract from the sample was the strongest compared to those of other solvent extracts such as H₂O, *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate and methanol. The methanol extract had strong growth inhibition activity against gram-positive bacteria (MIC, 25~50 µg/ml) such as *B. subtilis* and *S. aureus*. Among gram-positive bacteria tested, *B. subtilis* was the most susceptible to the extracted substance. The antimicrobial activity of the methanol extract from the sample had strong growth inhibition activity against gram-negative bacteria such as *P. aeruginosa* (MIC, 25 µg/ml).

Keywords □ *Sophora flavescens* Ait. antimicrobial activity, minimal inhibitory concentration.

도둑놈의 지팡이(*Sophora flavescens* Aiton, pharmaceutical name: *Radix Sophorae Flavescens*)는 콩과(Leguminosae)에 속하고 곱蓼이라 부르며, 우리나라 각처의 산과 들에서 자생하는 다년초로서 키가 80~120 cm, 전체에 노란색의 짧은 털이 있고, 뿌리는 비대, 아주 쓴맛이 나며, 줄기는 곧게 서있고, 잎은 호생하며, 깃꼴 겹잎, 작은 잎은 10쌍으로 2~4 cm, 가장자리는 밋밋하며, 턱잎은 실모양이며, 길이

5~8 mm, 잎자루의 길이 15~25 cm, 꽃은 연한 노란색, 길이 15~18 mm, 많은 꽃이 총상화서를 이루며, 줄기 끝에 붙어 있고, 열매는 협과, 원통형, 씨와 씨 사이가 잘록하게 들어가 염주 모양으로 되어 있으며, 개화기는 6~8월, 결실기는 9~10월이며, 뿌리는 약용으로 쓰인다.¹⁾ 김²⁾은 곱蓼이 糖尿에 미치는 影響에 관한 實驗的 研究에서 곱蓼이 血糖降下 insulin 함량의 증가에 미치는 영향이 있어 당뇨병의 치료에 효과가 있다고 보고하였고, 송³⁾은 곱蓼煎湯液에 의한 循環器 anaphylaxis의 抑制效果에서 곱蓼煎湯液이 循環器 anaphylaxis에 직접 관여하는 매개물질을 길항하기 보

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 0653-850-6225 (팩스) 0653-841-4893

다는 이들 매개물의 생합성을 차단하거나 비만세포로부터의 유리를 차단할 가능성이 있다고 보고하였다. 또한 한 등⁴⁾은 *Listeria monocytogenes*의 증식 억제에 미치는 뽕나무 및 고삼 에탄올 추출물의 분획별 효과에서 고삼 추출물은 *L. monocytogenes* ATCC 19113 균주에 대해서만 증식억제 효과가 있다고 보고하였다. 본 연구에서는 한방에서 약재로 사용하고 있는 苦蔘 뿌리로부터 물, methanol, ethyl acetate, chloroform 및 *n*-hexane의 추출물을 얻고, 이 추출물을 이용하여 gram 양성균, gram 음성균 및 진균에 대한 항균 및 항진균 활성을 조사하였다.

실험방법

실험재료 - 본 실험에 사용한 고삼의 뿌리는 원광대학교 한의과대학 한방병원에서 구입하여 외부형태를 비교 조사하여 확인 후 사용하였다. 실험에 사용된 식물체는 원광대학교 자연과학대학 천연물화학교실에 보관되어 있다.

시약 및 기기 - Dimethylsulfoxide(DMSO, Sigma), Mueller Hinton broth(Difco), Sabouraud dextrose broth(Difco), Mueller Hinton agar(Difco), Sabouraud dextrose agar(Difco), Micropipette(Gilson), Conical tube(Falcon), Petri dish(Falcon), Incubator(Jeio tech).

검액재료 - 본 연구에 사용한 고삼의 뿌리는 원광대학교 한의과대학 한방병원에서 구입한 것을 사용하였으며, 고삼의 뿌리는 20 g을 1000 ml 등근 플라스크에 넣고 여기에 1차 증류수 100 ml 넣어 100°C에서 3시간 동안 물 증탕하여 환류추출하였다. 이와 같이 세번 반복 추출하여 얻은 추출물을 0.4 µm 필터로 여과한 후, 여과액을 증류기로 35°C에서 감압농축시킨 다음 냉동건조하여 추출물 2,386 mg을 얻었다. 헥산, 에틸 아세테이트, 클로로포름은 상온에서 위의 방법에 따라 용매를 감압농축하여 헥산 추출물 310 mg, 에틸아세테이트 추출물 795 mg, 클로로포름 추출물 612 mg, 메탄올 추출물 2,641 mg을 얻었다.

사용균주 - 항균 및 항진균 시험용으로 사용된 균주는 국립보건원으로부터 분양 받아 사용하였으며, Table I에 나타낸 바와 같이 gram 양성세균으로는 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, gram 음성세균으로는 *Escherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas*

aeruginosa ATCC 1636, 진균으로는 *Aspergillus niger* ATCC 9029, *Candida albicans* ATCC 10231을 사용하였다.

균주의 배양 - 세균은 Mueller Hinton broth를 사용하였고, 배지에 균을 이식하여 37°C 배양기에서 16~20시간동안 배양하였다. 진균은 Sabouraud dextrose broth를 사용하였으며, 배지에 균을 이식하여 22°C 배양기에서 5~7일 배양하여 사용하였다.

시료의 처리 - 조제한 시료는 즉시 4°C 냉장고에 저장하였다가, 사용직전에 배지로 희석하여 실험에 사용하였다.

항균 및 항진균력 측정 - 각 용매 추출물에 대한 항균 및 항진균력은 고체배지 희석법^{5,6,7)}을 이용하여 측정하였다. 각 추출물을 10% DMSO 생리식염수에 용해시킨 후 추출물의 농도를 최고농도 2,000 µg/ml에서 최저농도 62.5 µg/ml까지 2배 계단희석 하였다. 희석된 각각의 시료 2.0 ml를 petri dish에 취하고 여기에 배지 18.0 ml를 섞어 배지가 굳은 다음 배양시킨 균을 백금으로 5 mm정도 도말하여 세균은 37°C 배양기에서 24시간, 진균은 22°C 배양기에서 5~7일간 배양하였다. 항균력의 대조군으로는 Amocla(건일, Amoxicillic sod., Clavulanic acid pot.)를 사용하였고, 항진균력의 대조군으로는 Ketoconazole을 사용하였다, 각 배양이 끝나면 집락형성 여부를 관찰하여 성장이 인정되지 않는 가장 낮은 농도를 최소억제농도(Minimal Inhibitory concentration, MIC)⁸⁾로 판정하였다.

실험결과 및 고찰

Methanol 추출물을 제외한 모든 추출물에 대한 최소억제농도는 gram 양성균인 *S. aureus* ATCC 6538P,

Table I - List of microorganisms used for antimicrobial susceptibility test.

Gram positive bacteria	
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538P
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 9341
Gram negative bacteria	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 10536
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 1636
Fungi	
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 9029

Table II – Minimal inhibitory concentrations (MIC) of *Sophora flavescens* Ait. extracted with different solvents^{a)} against various microorganisms

strains	MIC (µg/ml)						
	Amocla	Ketoconazole	WSF	MTSF	CFSF	EASF	HXSF
<i>S. aureus</i>	<6.25	>200	>200	50	>200	>200	>200
<i>B. subtilis</i>	<6.25	>200	>200	25	>200	>200	>200
<i>M. luteus</i>	<6.25	>200	>200	>200	>200	>200	>200
<i>E. coil</i>	<6.25	>200	>200	>200	>200	>200	>200
<i>P. aeruginosa</i>	<6.25	>200	>200	25	>200	>200	>200
<i>A. niger</i>	>200	<6.25	>200	>200	>200	>200	>200
<i>C. albicans</i>	>200	<6.25	>200	>200	>200	>200	>200

Plants extracts; WSF; water extract of *Sophora flavescens* Ait.; MTSF; methanol of *Sophora flavescens* Ait.; CFSF; chloroform extract of *Sophora flavescens* Ait.; EASF; ethyl acetate extract of *Sophora flavescens* Ait.; HXSF; hexane extract of *Sophora flavescens* Ait.
^{a)} Each extract was examined in triplicate experiments.

B. subtilis ATCC 6633, *M. luteus* ATCC 9341에 대하여 200 µg/ml 이상, gram 음성균인 *E. coli* ATCC 10536, *P. aeruginosa* ATCC 1636에 대하여는 200 µg/ml 이상의 농도로 나타나 항균대조균인 *Amocla*의 최소억제농도(<6.25 µg/ml)에 비해 항균력이 낮은 것으로 나타났으며, 진균인 *A. niger* ATCC 9029, *C. albicans* ATCC 10231에 대해서도 200 µg/ml 이상의 농도로 MIC가 나타나 대조균 *Ketoconazole*의 최소억제농도(<6.25 µg/ml)에 비해 항진균력이 낮은 것으로 나타났다(Table II).

Methanol 추출물에 대한 최소억제농도는 양성균인 *S. aureus* ATCC 6538P에 대해서는 50 µg/ml, *B. subtilis* ATCC 6633에 대해서는 25 µg/ml, *P. aeruginosa* ATCC 1636에 대해서는 25 µg/ml로 나타났다. 이러한 결과는 대조균인 *Amocla*의 최소억제농도(<6.25 µg/ml) 보다는 다소 높은 것으로 나타났으나 다른 추출물에 비하여 항균력이 매우 높은 것으로 나타났다. 진균인 *A. niger* ATCC 9029, *C. albicans* ATCC 10231가 200 µg/ml이상의 농도로 최소억제농도가 나타났으나, 대조균 *Ketoconazole*의 최소억제농도(<6.25 µg/ml)에 비해 항진균력이 낮은 것으로 나타났다(Table II). Methanol 추출물이 다른 추출물에 비해 항균력이 높은 것으로 보아 고삼에 함유되어 있는 항균성 물질이 methanol에 잘 용출되는 것으로 판단되며, 활성을 갖는 물질의 구조구명에 대한 추가연구가 필요하다고 생각된다.

결 론

고삼에서 용매 추출하여 항균물질의 이용가능성을

타진하기 위한 방법의 일환으로, 추출용매의 종류에 따른 항균력을 시험하고, 각종 미생물에 대한 균종별 항균력을 비교, 검토한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 물, 메탄올, 에틸아세테이트, 클로르포름, 헥산을 용매로 사용하여 고삼으로부터 추출한 결과 메탄올로 추출한 것이 다른 용매 추출물보다 항균력이 가장 강하게 나타내었다.

2. 그람 양성균인 *S. aureus* 와 *B. subtilis*에서의 항균효과는 25~50 µg/ml의 최소억제농도를 나타내으나, *M. luteus*에서는 200 µg/ml이상이므로 항균효과가 미미하였다. 또한 그람음성균인 *P. aeruginosa*에서는 강한 항균효과가 나타났으나, *E. coil*에서는 200 µg/ml이상의 최소억제농도가 필요하였다.

3. 고삼 메탄올 추출물의 진균에 대한 항진균 활성은 나타내지 않았으며 최소억제농도는 200 µg/ml 이상이었다.

감사의 말씀

본 연구는 한국과학재단 전라북도청 후원, 의약자원 연구센터의 연구지원 (98-16-01-04-A-3)에 의해 이루어 졌으며, 이에 감사한다.

문 헌

- 1) 李永魯 : 原色韓國植物圖鑑, 敎學社, 서울 p. 366 (1996).
- 2) 金鎮喆 : 苦蔘이 糖尿에 미치는 影響에 관한 實驗的 研究, 大邱韓醫科大學 大學院, 碩士學位論文 (1991).
- 3) 宋澈旻 : 苦蔘煎湯液에 의한 循環器 Anaphylaxis의 抑

- 制效果, 圓光大學校 大學院, 碩士學位論文 (1997).
- 4) 한지숙, 신동화 : *Listeria monocytogenes*의 증식 억제에 미치는 뽕나무 및 고삼 에탄올 추출물의 분획별 효과, 한국식품과학회지 **26**, 539 (1994).
 - 5) 미생물 및 면역학 분과회 : 실험종합미생물학, 대학사, 서울 p. 116 (1998).
 - 6) 유영효, 박남준, 김병오, 최문정, 심점순, 강태충, 이재욱, 김대영 : 새로운 퀴놀론계 항균제 DWQ-013의 항균작용, 약학회지, **38**, 265 (1994).
 - 7) 민병선, 방규호, 이준성, 배기환 : *Candida*와 *Penicillium*속 진균에 대한 천연물의 항진균효과 검색, 약학회지, **40**, 582 (1996).
 - 8) 이진섭 외 : 진단병원미생물학, 고려의학, 서울 p. 589 (1996).