

小青龍湯의 微生物學의 研究

丁 皓 鎮·金 一 赫

中央大學校 藥學大學

The Microbiological Studies on "Sochungyoung-Tang"

Ho-Jin JUNG, Il-Hyuk KIM

College of Pharmacy, Chungang University

"Sochungyoung-Tang" has been known to be used in acute edema, bronchitis, pneumonia, nephrosis, and arthritis etc. in traditional chinese medicine. In this study, it was examined on the antimicrobial and anti-inflammatory activities.

The following results were obtained;

- 1) In the antibacterial activities, the ethanol extract of "Sochungyoung-Tang" showed to be more active than water extract against ten bacteria (Table I). Especially, antibacterial activities against *Staphylococcus sp.* showed the highest among the strains tested.

But in the fungi, ethanol extract and water extract showed slightly significant effects (Table II).

- 2) The water extract showed significant anti-inflammatory effects against the rat hind paw edema induced by 1% carrageenin in the scab and carbuncle in the mice infected by *Staphylococcus aureus* CUCC 74371.

緒 論

生藥의 抗菌¹⁻³⁾ 및 抗真菌⁴⁾作用, 抗炎作用에 대한 實驗은 다양하게 이루어지고 있으나 湯劑에 있어서는 극히 일부에서만 행해지고⁵⁻⁸⁾ 있을 뿐이다. 著者는 炎症治療를 위한 漢藥製劑中에서 小青龍湯에 대하여 抗菌, 抗炎作用實驗을 하였다.

小青龍湯은 麻黃湯의 變方으로 麻黃, 半夏, 芍藥, 甘草, 桂枝, 細辛 및 五味子を 構成生藥으로 한다. 이 湯은 喘息性咳嗽, 急性浮腫, 喘息性氣管支炎, 氣管支喘息, 百日咳, 肺炎, 濕性胸膜炎, 急性腎炎, 關節炎 및 結膜炎등 각종 炎症에 쓰이고 있다.⁹⁻¹⁰⁾

傷寒論에 의하면 「傷寒 心下有水氣 欬而微喘 發熱不渴 小青龍湯主之」 또한 「乾嘔發熱而欬 或利 或噎 或小便不利 或小腹滿 或喘者 小青龍湯主之」라 하여 추위에 의하여 생기는 病으로 心下에 水氣가 있고 기침을 하며 혹은 口渴, 下利, 喉閉, 小便不利, 下腹部 膨滿과 기침이 있는 者에게 小青龍湯을 쓴다고 하였다. 또한 金匱要略¹²⁾에는 「病溢飲者, 當發其汗, 大青龍湯主之; 小青龍湯亦主之」라 하였고, 東醫寶鑑¹³⁾에는 「小青龍湯治傷寒表不解因心下有水氣乾渴氣逆發欬喘 (中略)服此湯者暑氣濫水欲散」이라 하여 傷寒에 解表하지 못하고 心下에 水氣가 있으므로 인하여 乾渴逆하고 氣가 逆하여 發熱하며 咳嗽喘息하는 症을 다스려 此湯을 복용하면 暑氣가 濫하고 水氣가 흘러진다고 하였다.

그리고 小青龍湯의 구성생약중에 麻黃은 解肌, 發汗, 除寒熱, 通滕理, 通九竅, 調血脈, 退熱, 益肺, 定喘의 작용이 있으며¹⁴⁻¹⁵⁾, 半夏는 止汗, 下氣, 開胃, 健脾, 悅澤面目, 消痰, 散痛, 寬中, 利膈의 작용이 있다.¹⁶⁻¹⁷⁾

實 驗

1. 實驗材料

本 實驗에 使用한 小青龍湯은 麻黃3, 芍藥3, 乾姜3, 甘草 3, 細辛3, 五味子3, 半夏 6의 比⁹⁾로 配合한 후 細切하였다.

2. 試料의 製造

1) H₂O extract: 材料 540g에 水 2l를 加하여 5시간, 3回 反復抽出하여 脫脂綿으로 熱時濾過한 후 減壓濃縮, 冷凍乾燥한 것 120g을 H₂O extract로 하였다.

2) EtOH extract: 材料 600g에 95/v/v%-ethanol 2l를 加하여 3시간, 3回 反復抽出하여 여지로 冷時濾過後 減壓濃縮, 冷凍乾燥한 것 95g을 EtOH extract로 하였다.

3. 抗菌力 實驗¹⁸⁻¹⁹⁾

1) 培地: Agar dilution method에 準하여 bacto-nutrient agar를 使用하여 小青龍湯의 H₂O

extract과 EtOH extract를 각각 20~0.0781w/v% 까지 2배 稀釋系로 조제하여 시험판에 넣고 autoclave로 121°C, 15Lb, 15분의 조건하에서 滅菌한다. 역시 미리 滅菌된 직경 9cm의 petri dish에 넣어 굳힌 다음 incubator에서 1日間 培養하여 完全滅菌 與否를 判定한 후 실험용 검체배지로 한다. 단, 對照藥物로서는 tetracycline-HCl을 사용하였고^{20)~21)} 培地를 40°C정도까지 식힌후 各 희석계열의 tetracycline-HCl을 加하여 실험용 검체배지로 하였다.

2) 供試菌株: 中央大學校 醫大에서 분양받아 藥大 微生物實驗室에서 계대배양중인 다음 菌株를 사용하였다(Table I, II).

3) MIC의 判定: 실험용 검체배지의 petri dish 뒷면을 이용하여 4등분한 후 미리 검체를 넣지 않은 같은 배지에 이식배양한 균주를 도말한 후 37°C에서 20시간 incubation한후 육안적으로 발육을 인정할 수 없는 최저농도(Minimal inhibitory concentration)를 感受性值로 하였다.⁵⁾ (Tables I, II).

4. *Staphylococcus aureus*菌 接種後 膿瘍 面積 測定實驗^{7,8)}

1) 實驗動物: 體重 20g 内外의 생쥐(dd strain, ♂)을 使用하여 1群當 10마리로 하였고 皮內 菌

Table I. Antibacterial activities (MIC) of the H₂O extract and EtOH extract of "Sochungryoung-Tang."

Strains	MIC ^{a)}		
	H ₂ O ext.	EtOH ext.	TC ^{b)}
<i>Staphylococcus aureus</i> CCUCC 74371	0.625	0.1563	0.00064
<i>Staphylococcus epidermis</i> CUCC 74372	1.25	0.1563	0.00032
<i>Staphylococcus albus</i> CUCC 74373	1.25	0.3125	0.00032
<i>Bacillus anthracius</i> ORD-IVR	2.5	0.3125	0.00032
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> PW8	2.5	0.3125	0.00032
<i>Bacillus subtilis</i> CUCC 7451	1.25	0.3125	0.00032
<i>Proteus vulgaris</i> CUCC 74101	2.5	0.3125	0.00032
<i>Brucella abortus</i> CUCC 1119-3	2.5	0.3125	0.00032
<i>Pseudomonas aerogenes</i> CUCC 74261	2.5	0.3125	0.00064
<i>Escherichia coli</i> CUCC 74911	2.5	0.625	0.00064

a) Minimal inhibitory concentration by agar dilution method, % w/v (based on dry weight of crude drugs).

b) Tetracycline-HCl.

Table II. Effect of H₂O extract to the scab and carbuncle in mouse at 2.5 days after infection with *Staphylococcus aureus* CUCC 74371. (unit: mm²)

Dose(mg/kg/day)	Size at 2 days after infection		Size at 5 days after injection	
	Scab	Carbuncle	Scab	Carbuncle
Control	a) 22.43 ±2.42	31.33 ±4.92	24.62 ±4.15	24.91 ±4.38
100	19.12 ±6.46 (14.76)	23.05 ±5.47 (26.43)	22.52 ±2.11 (8.53)	22.76 ±2.36 (+)
250	14.16* ±2.93 (36.87)	15.44* ±1.90 (50.72)	8.65**±1.55 (64.87)	15.27*±1.48 (38.70)
500	5.43**±1.23 (75.79)	7.14**±1.42 (77.21)	5.06**±1.89 (79.04)	13.36*±2.05 (46.37)
1000	2.61**±0.76 (88.76)	7.28**±2.24 (76.76)	6.81**±1.62 (72.34)	11.47*±3.29 (53.95)

a) Standard error of the mean, () : Inhibition rate, (+) : Promotion of carbuncle.
*p<0.05, **p<0.01.

液接種을 위해 背部의 털을 除去하였다.

2) 供試藥劑의 調製 : 對照群은 normal saline 으로 하고 實驗群은 小青龍湯의 H₂O extract 1000, 500, 250, 100mg을 秤取하여 각각을 normal saline에 녹여 劑량을 20ml로 하였다.

3) 接種液의 調製 : 생쥐에 皮內接種에 의하여 안정한 膿瘍을 형성하는 *Staphylococcus aureus* CUCC 74371 菌株을 nutrient broth에 대량배양 후 이 培養液을 平板培養法에 의한 計數로 測定으로 菌수를 計算하였다.²²⁾ 菌液 接種시 菌침분리한후 normal saline으로 置換하여 10⁸/0.1ml로 調整하였다.

4) 實驗方法 : 각 試料를 經구로 0.4ml/20g씩 5日間 投與後 생쥐의 背部에 菌액 0.1ml/mouse

씩 皮內 注射하고 다시 2日間 同량의 試料를 投與한 實驗群 및 같은 方法으로 2日間 試料를 投與한후 菌액을 接種하고 다시 5日間 試料를 投與한 實驗群을 撲殺後 바로 vernier caliper(NSK)로서 scab의 크기를 測定하였다. 또한 scab를 포함한 皮膚를 剝離하고 carbuncle의 크기를 같은 方法으로 測定하였다(Table III).

5. Carrageenin 浮腫實驗

1) 實驗動物 : 體重 120g내외의 Sprague-dawley 계 흰쥐를 雌雄 구별없이 실험 1군당 6마리로 하였다.

2) 供試藥劑의 調製 : 대조군은 normal saline 으로하고 實驗群은 小青龍湯 H₂O extract 1000, 500, 250, 100mg 및 indomethacin 10mg²³⁾을 調整하여 normal saline에 녹여 각 試料의 劑량을 각각 10ml로 하였다.

3) 실험방법 : ^{24)~27)} 흰쥐의 後肢右足を glass container에 水銀을 채워 흰쥐後肢의 一定部分 (Maleolus lateral)까지 浸漬시킬때 흐르는 水銀의 量으로 測定하였다.

각 試料를 投與하기 전에 흰쥐 後肢의 容積을 測定하고 gavage를 통하여 試料를 각각 1ml/100g씩 投與하였다. 30分後에 起炎劑로서 1%-carrageenin saline solution 0.5ml/rat를 後肢右足趾에 注射한후 浮腫의 時間적 變化(1, 2, 3, 4, 5hr)에 따라 各 실험군의 足趾浮腫 容積을 測定하여 浮腫增加率 및 浮腫抑制率을 구하였다(Table IV).

Table III, Antifungal activities (MIC) of the H₂O extract and EtoH extract of "*Sochungyoung-Tang*".

Strains	MIC ^{a)}		
	H ₂ O ext.	EtoH ext.	TC ^{b)}
<i>Aspergillus niger</i>	10.0	1.25	0.00256
<i>Aspergillus awamoni</i> var. <i>fussens</i>	10.0	2.5	0.00512
<i>Rhizopus delemar</i>	5.0	0.625	0.00128
<i>Saccharomyces cerevisae</i>	2.5	0.625	0.00128

a) Minimal inhibitory concentration by agar dilution method. %w/v (based on dry weight of crude drug).

b) Tetracycline-HCl.

結果 및 考察

1. 小青龍湯의 H₂O extract 및 EtOH extract의 抗菌 및 抗真菌作用

細菌類에 대한 感受性에 있어서 小青龍湯의 H₂O extract는 EtOH extract에 비하여 4~8배 정도의 낮은 감수성을 나타내었다. H₂O extract의 경우 *Sta. aureus* CUCC 74371에 가장 낮은 0.625w/v%의 MIC를 보였고, 다른 모든 菌에서는 1.25~2.5w/v%의 MIC를 나타내었다. EtOH extract의 경우에는, *E. coli*에서 0.625w/v%의 가장 높은 MIC를 나타내었으며, *Sta. aureus* CUCC 74371 및 *Sta. epidermis* CUCC 74372에 가장 낮은 0.1563w/v의 MIC를 나타내어 小青龍湯은 *Staphylococcus sp.*에 가장 큰 抗菌作用에 있음을 보여주었다. 또한 H₂O extract나 EtOH extract의 어느 경우에서나 gram 양성균 및 gram 음성균에 대한 感受性은 거의 비슷함을 보여 주었다.

같은 방법으로 행한 Saito등⁵⁾에 의한 排膿湯의 抗菌力에 있어서 *Staphylococcus sp.*에 대한 MIC가 10~20w/v%인 것과 비교할때 구성생약이 다르기는 하나 小青龍湯은 排膿湯보다 현저하게 큰 抗菌作用이 있음을 나타내었다.

眞菌에 대한 感受性試驗에 있어서 H₂O extract는 EtOH extract보다 4~8배 정도의 낮은 感受성을 보였으며, 또한 抗菌力과 비교하여 4배 이상의 MIC를 나타내었다. 특히 *Aspergillus sp.*의 眞菌에 대해서는 H₂O extract가 10w/v%의 MIC를, EtOH extract가 1.25~2.5w/v%의 MIC를 나타내어 小青龍湯의 眞菌에 대한 감수성을 비교적 약한 것으로 思料된다. 그러나 *Saccharomyces cervisiae*에 대해서는 H₂O extract 및 EtOH extract가 각각 2.5~0.625w/v%의 MIC를 나타내어 抗菌力과 비슷한 感受성을 나타내었다.

2. 小青龍湯의 抗炎效果

Staphylococcus aureus CUCC 74371를 接種후 scab 및 carbuncle에 대한 억제효과는 對照群에서 菌接種 2日後에 測定한 scab 및 carbuncle의 크기는 각각 22.43, 31.33mm²의 크기를 나타내

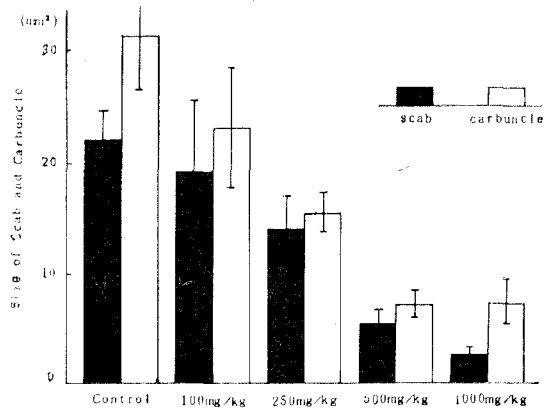


Fig. 1. Size of scab and carbuncle in mouse at 2 days after infection with *Staphylococcus aureus* CUCC 74371.

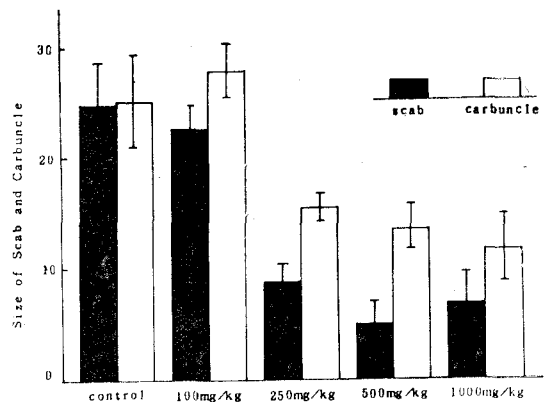


Fig. 2. Size of scab and carbuncle in mouse at 5 days after infection with *Staphylococcus aureus* CUCC 74371.

었으며 5日後에 測定한 實驗群에서는 각각 24.62, 24.92mm²의 크기를 나타내었다. 또한 모든 實驗群을 통하여 볼때 scab보다는 carbuncle의 크기가 더 크게 나타났다(Figs 1 and 2). 菌을 接種한후 2日後에 測定한 實驗群에서 100, 250, 500, 1,000mg/kg 투여량의 순으로 scab 및 carbuncle에 대한 그 크기는 현저한 감소를 나타내어 scab는 1000mg/kg에서, carbuncle은 500mg/kg에서 대조군에 대해 각각 88.63% 및 77.21%의 가장 큰 抑制率을 나타내었다(Fig. 3). 또한 菌接種 5日後에 測定한 scab 및 carbuncle의 크기도 투여량의 증가에 따라 현저한 감소를 나타

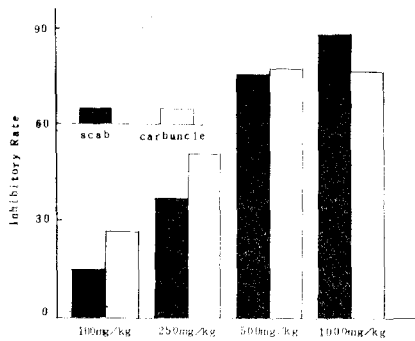


Fig. 3. Inhibitory effect of H₂O extract against diseased control at 2 days after infection with *Staphylococcus aureus* CUCC 74371.

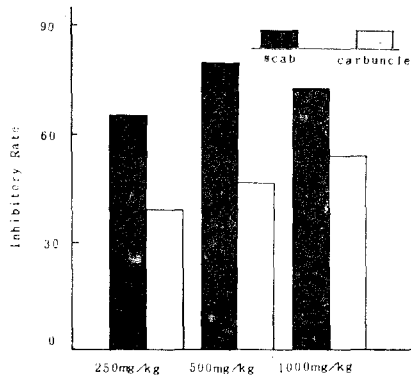


Fig. 4. Inhibitory effect of H₂O extract against diseased control at 5 days after infection with *Staphylococcus aureus* CUCC 74371.

내었고 모든 實驗群에서의 scab 보다는 carbuncle 에 대한 抑制率이 더 컸다(Fig. 4).

이상의 결과를 통계학적으로 유의성을 검정한 바 菌接種한후 2日 또는 5日後에 있어서나 100mg/kg 투여군에서는 유의성 있는 抑制率을 보이지 않았으나 250, 500, 1000mg/kg 투여군 모두에서 현저한 抑制率을 나타내었다. 그리고 carbuncle 에 대해서 菌接種 5日後보다 2日後에 있어서의 억제율이 현저하게 커서 小青龍湯의 H₂O extract 의 炎症에 대한 치료효과외에 어느 정도의 예방 효과가 있음이 사료된다.

Carrageenin 浮腫에 대한 效果는 起炎劑 주사 후 浮腫率이 증가하여 대조군에서는 3시간만에 최고의 浮腫率인 56.79%를 나타내었으며 대조 약물 투여군 및 試料 100mg/kg 투여군에서도 같은 시간에 최고의 浮腫率을 나타내었다. 그러나 250, 500, 1000mg/kg 투여군에서는 起炎劑 주사 후 4시간만에 최고의 浮腫率에 도달하였고 그후 모든 實驗群이 시간이 경과함에 따라 감소되었다. 또한 浮腫抑制率에 있어서 250, 1000mg/kg 투여군에서 2시간만에 500mg/kg 투여군에서는 3시간만에 최고의 抑制率을 나타낸후 시간이 경과함에 따라 점차 감소하였다. 그러나 대조약물인 indomethacin 10mg/kg 투여군에서는 4시간만에 최고의 浮腫抑制率인 69.44%를 나타내었다

Table IV Anti-inflammatory activity of H₂O extract on carrageenin edema of the rat hind paw.

Sample	Dose (mg/kg)	Paw edema after the injection of 1%-carrageenin				
		1hr	2hr	3hr	4hr	5hr
Control	— a)	19.2 ±1.22	37.35 ±1.76	56.79 ±2.84	55.53 ±2.33	51.58 ±1.94
Indomethacin	10	10.00**±1.82 (47.42)	15.30**±2.97 (59.04)	19.85**±3.56 (65.05)	16.97**±1.06 (69.44)	16.03**±1.77 (68.92)
H ₂ O extract	100	18.95 ±1.32 (0.37)	33.15 ±1.63 (11.24)	56.82 ±1.67 (+)	50.78 ±2.19 (8.55)	49.20 ±1.62 (4.61)
	250	18.01 ±1.74 (5.31)	28.98**±1.83 (22.41)	45.75* ±2.38 (19.44)	46.33* ±2.11 (16.57)	44.88* ±1.42 (12.99)
	500	16.46* ±0.83 (13.46)	31.57* ±1.43 (15.48)	42.42* ±1.01 (25.30)	43.49**±1.80 (21.68)	41.78**±1.27 (19.00)
	1000	14.84**±1.79 (21.98)	24.69**±1.37 (33.90)	39.58**±1.54 (30.30)	40.12**±1.81 (27.75)	37.26**±1.41 (27.76)

a) Standard error of the mean. () ; Inhibition rate. (+); Promotion of paw edema.
*p<0.05, **p<0.01.

(Fig. 6).

이상의 結果로 보아 100mg/kg 투여군에 있어서는 유의성 있는 浮腫抑制率을 나타내지 못했으나 250mg/kg 투여군에서는 2시간째부터 500, 1000mg/kg 투여군에서는 1시간째부터 유의성 있는 浮腫抑制率을 나타내었다(Table IV).

結 論

각종 炎症治療에 사용하는 小青龍湯의 H₂O extract 및 EtOH extract에 대하여 agar dilution method로 행한 抗菌, 抗真菌作用 및 H₂O extract에 대하여 *Staphylococcus aureus* CUCC 74371接種後 膿瘍面積 測定法과 carrageenin 浮腫法으로 抗炎症作用을 實驗한 結果 다음과 같다.

小青龍湯의 EtOH extract는 H₂O extract보다 4배이상의 강한 抗菌力이 있었고 양 extract 모두 *Staphylococcus sp.*에 대한 感受性이 가장 크게 나타났다.

小青龍湯의 EtOH extract는 H₂O extract에 비하여 4배이상의 抗真菌作用을 나타내었으나 抗菌力에 비하여 4배이상의 MIC가 測定되어 小青龍湯의 真菌에 대한 감수성은 약한 것으로 나타났다.

Staphylococcus aureus CUCC 74371菌 10⁸/0.1ml를 생쥐의 背部에 接種한 2日後에 scab와 carbuncle의 크기를 測定한 結果 대조군에 비하여 현저한 炎症抑制效果를 나타내어 250, 500, 1000mg/kg 투여군에서 유의성을 나타내었다.

같은 방법으로 菌接種한 5日後에 있어서의 scab 및 carbuncle을 測定한바 100mg/kg 투여군을 제외한 250, 500, 1000mg/kg 투여군에서 유의성 있는 抗炎症效果를 나타내었다.

Carrageenin 浮腫法으로 행한 小青龍湯의 抗炎症 實驗結果 起炎劑 주사후 100mg/kg 투여군은 제외하고 250mg/kg 투여군에서는 2시간부터, 500, 1000mg/kg 투여군에서는 1시간부터 유의성 있는 浮腫抑制 效果를 나타냈으며 250, 1000mg/kg 투여군에서 2時間後에, 500mg/kg 투여군에서는 3時間後에 가장 큰 浮腫抑制率을 나타내었다.

(1983년 9월 15일 접수)

參 考 文 獻

1. Won Sick Woo, et al: *Arch. Pharm. Res.*, 2(2), 127 (1977)
2. Young Jae Kim, et al: *Pharm. Soc. Korea*, 8, 54 (1964).
3. Sung Man Cha: *Kor. J. Pharmacog.* 8 (1), 1 (1977).
4. Seung Cho Yoo, Jung Sick Sun: *ibid*, 5 (3), 147 (1974).
5. Ken-ichi Saito et al: *Shoyakugaku Zasshi*, 33(4), 198 (1979).
6. Sachiko Honma et al: *ibid*, 33(4), 202 (1979).
7. Yoshihiro Kano et al: *ibid*, 33(4), 189 (1979).
8. Masanao Tsujimoto, et al: *ibid*, 33(4), 206 (1979).
9. 日本厚生省藥務局: 一般用 藥方處方の 手引き, p-143 (1970).
10. 李泰浩 編: 大方藥合編, p-126 (1977).
11. 大塚敬節: 傷寒論 解說, 劔乞社, p-209 (1976).
12. 武藤達吉: 金匱要略 講義, 素人社, p-140 (1980).
13. 許浚: 東醫寶鑑, 豐年社, p-560 (1966).
14. 赤松金芳: 和漢藥, p-655 (1970).
15. 李時珍: 本草綱目, 高文社, p-588 (1973).
16. 赤松金芳: 和漢藥, p-601 (1970).
17. 李時珍: 本草綱目 高文社, p-693 (1973).
18. Lucille Sommermeyer, et al; *Laboratory Manual and Workbook for Microbiology in Health and Disease*, p-34 (1969).
19. Se Ho Han; *J. Pharm. Soc. Korea*, 10, 7 (1966).
20. L.D. Sabath, et al; *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 9(6), 962 (1976)
21. Kum Haw, et al; *Bull. K. H. Pharma. Sci.*, 2, 1 (1974).
22. J.B. Isabel, et al; *Microbes and Man*, p-35 (1962).
23. Kayoko Tsunaga et al; *Shoyakugaku Zasshi*, 33 (3), 178 (1979).
24. Il Hyuk Kim and Jin Hwan Kwak; *Kor. J. Pharmacog.*, 5(3), 179 (1974).
25. C.A. Winter, et al; *Proc. Soc. Exptl. Mec.*, 111, 544 (1962).
26. E.B. Lee, K.C. Takaki; *日藥誌*, 92, 961 (1972).
27. K.C. Takaki, S.K. Kayaoka; *ibid*, 88, 14 (1972).