

벨베린과 수종 항생제가 세균발육에 미치는 영향

지 형 준 · 우 영 숙 · 이 용 주*

서울대학교 생약연구소 · 성균관대학교 약학대학*

Effect of Berberine and Some Antibiotics on the Growth of Microorganisms

Hyung-Joon Chi, Yung Sook Woo and Yong Ju Lee*

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460 and
College of Pharmacy, Sung-Kyun-Kwan University,* Swon 440-746, Korea

Abstract—The combined effect of berberine isolated from the bark of *Phellodendron amurense* and some antibiotics was evaluated in order to measure the antibiotic activities. In this study, in the presence of streptomycin, tetracycline, cephradine as antibiotics, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei* as microorganisms were grown in an Automated Microbiology System. In case of *Staphylococcus aureus*, combination with berberine and cephradine resulted in the strongest synergistic activity and in case of *Escherichia coli* and *Shigella sonnei*, combination with berberine and streptomycin resulted in the strongest synergistic activity. The combination with berberine and antibiotics increased the antibiotic activities, thereby showing a synergistic action.

Keywords—Berberine · antibiotic activities · combined effect

벨베린(berberine)은 황백(黃柏 *Phellodendri Cortex*), 황련(黃連 *Coptidis Rhizoma*) 등에 함유되어 있는 isoquinoline계 알칼로이드로서 고미건위 정장지사 진정 소염 지혈작용 등이 있어 의약품으로 쓰이고 있다.¹⁾

Amin 등²⁾은 berberine이 고초균, 대장균, 폐염간균, 황색포도상구균, 화농연쇄상구균, 셀레우스균, 코레라균, 디프테리아균 등의 동물성 병원균 뿐만 아니라 *Candida*, *Cryptococcus*, 효모, 진균류 등 식물성 병원균에 이르기 까지 광범위한 항균스펙트럼을 나타낸다고 보고 하고 있다.³⁾ 또한 Ukida, Inagaki, Johnson 등은 각종 세균에 대한 berberine의 항균작용시험을 하였고, 특히 berberine은 장내세균에 대하여 강력한 살균, 항생작용을 나타낸다는 것을 많은 연

구결과가^{4,5)} 뒷받침하고 있다.

이 연구는 현재 국내에서 생산되고 있는 정장지사제 중에는 berberine을 주성분으로한 제제가 많아 이들 berberine함유 정장지사제를 항생제와 같이 투여하였을 때에 미치는 영향을 살펴 보기 위하여 황백에서 추출한 berberine염산염과 streptomycin, tetracycline 및 cephradine 등 시판 항생제를 시료로 써서 이들의 여러가지 농도와 배합비율을 달리조제한 배지에서 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* 및 *Shigella sonnei* 등을 배양하였을 때에 나타나는 세균의 성장억제율을 비교시험한 바 berberine과 위 3종의 항생제는 서로 상승적인 항균작용을 나타냄을 알수 있었다.

실험재료 및 방법

재 료

벨베린은 황백(Phellodendron bark)에서 추출 정제한 벨베린염산염(berberine-HCl)을 멸균증류수에 녹여 A액은 1 mg/10 ml, B액은 10 mg/10 ml의 용액으로 조제하였다. 항생제는 streptomycin(근화제약), tetracycline(종근당) 및 cephradine(일성신약)의 표준품을 각제약회사에서 공급받아 이들을 멸균증류수에 녹여 A액은 1 mg/100 ml, B액은 1 mg/10 ml, C액은 1 mg/1 ml의 용액으로 조제하였다. 실험균주는 국립보건원에서 분양받은 다음 세가지 균을 nutrient broth에서 전배양하여 실험에 사용하였다.¹⁾ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 2) *Escherichia coli* ATCC 10536 3) *Shigella sonnei* ATCC 9290.

실험방법

세균의 배양시험—벨베린과 항생제의 용량은 이미 보고된 실험균주들에 대한 minimum inhibitory concentration(MIC)와 예비시험을 거쳐 설정한 MIC를 기준으로하였다(Table I).

세균의 배양은 Abott Lab.(USA)의 Automated microbiology system, Model MS-2(Research system)의 배양용 cartridge를 써서 Table II에 제시한 바와 같이 nutrient broth에서 24시간 전배양한 균액을 0.2 ml씩 넣고 시료용액을 여러가지 농도로 배합조제하여 배양 cartridge의 각 배양기에 넣고 전체 배양액의 액량이 2.6 ml가 되게 nutrient broth로 조절한 후 36°에서 10시간 동안 배양하였다.

세균의 성장을 측정 및 산출—Automatic microbiology system에서 10시간 동안 배양하면서 매 15분마다 측정된 배양액의 광투과율을 다음과 같은 식에 따라 계산하여 세균의 성장율을 산출하였다.

$$OD = NOL - \log_{10}(TN/T\phi)$$

OD : Optical density

NOL : A value of optical density corrected to account for growth up to transfer.

TN : A transmission value at some later time.

T ϕ : First transmission value.

Table I. Minimum inhibitory concentration of samples

| Microorganisms | Samples(μ g/ml) | Berberine | Streptomycin | Tetracycline | Cephradine |
|------------------------------|----------------------|-----------|--------------|--------------|------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | | 50.00 | 3.10 | 0.08 | 0.60 |
| <i>Escherichia coli</i> | | 50.00 | 3.10 | 1.56 | 50.00 |
| <i>Shigella sonnei</i> | | 50.00 | 3.10 | 1.30 | 6.15 |

Table II. Dose schedule of ber and antibiotics

| Contents(ml) | Cartridge No. | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|---------------|-----|------|-----|-------|-------|-------|-------|------|--|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | |
| Nutrient broth | 2.6 | 2.4 | 2.2 | 2 | 2.1 | 2 | 2.1 | 2 | 1.9 | |
| Berberine solution | 0 | 0 | 0.44 | 0.4 | 0.42 | 0.4 | 0.42 | 0.4 | 0.76 | |
| Antibiotics solution | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.013 | 0.013 | 0.016 | 0.016 | 0 | |
| Pre-cultured microorganisms broth | 0 | 0.2 | 0 | 0.2 | 0 | 0.2 | 0 | 0.2 | 0 | |

| Contents(ml) | Cartridge No. | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|---------------|------|------|-------|-------|-------|-------|------|------|--|
| | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | |
| Nutrient broth | 1.7 | 1.85 | 1.7 | 1.85 | 1.7 | 2.6 | 2.4 | 2.6 | 2.4 | |
| Berberine solution | 0.68 | 0.74 | 0.68 | 0.74 | 0.68 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Antibiotics solution | 0 | 0.01 | 0.01 | 0.014 | 0.014 | 0.016 | 0.015 | 0.02 | 0.02 | |
| Pre-cultured microorganisms broth | 0.2 | 0 | 0.2 | 0 | 0.2 | 0 | 0.2 | 0 | 0.2 | |

실험 결과

광범위한 항균스펙트럼과 여러가지 약리작용을 가지고 있는 벨베린(berberine-HCl)과 항생제(streptomycin, tetracycline, cephradine)가 공존하였을 때에 나타내는 항균작용을 시험하기 위하여 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538), *Escherichia coli*(ATCC 10536) 및 *Shigella sonnei*(ATCC 9290)를 대상균으로하여 nutrient broth에서 배양하여 세균의 성장율을 측정한다, berberine은 *Staphylococcus aureus*(*Sta. aureus*)에 대하여 30 µg/ml(MIC 60%)의 농도에서 대조군에 비하여 균의 성장이 34% 억제되었고 streptomycin(이하 SM로 표시) 1.24 µg/ml(MIC 40%)에서 59%, 2.48 µg/ml(MIC 80%)에서 75% 억제되었다. Berberine(MIC 60%)와 SM(MIC 40%)을 병용하면 85%, berberine(MIC 80%)와 SM(MIC 80%)을 병용하면 균의 성장율이 95%까지 억제되었다(Fig. 1).

Berberine 20 µg/ml(MIC 40%)의 농도에서 균의 성장은 대조군에 비하여 25% 억제되었으며 tetracycline(이하 TC로 표시) 0.08 µg/ml(MIC 100%)에서 30%가 억제되었다. Berberine(MIC 40%)와 TC 0.064 µg/ml(MIC 80%)를

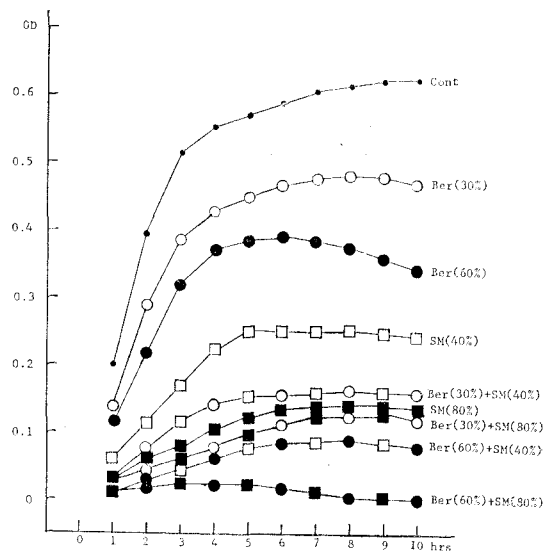


Fig. 1. Growth curve of *Staphylococcus aureus* to berberine and streptomycin

병용하면 TC(MIC 100%) 투여량과 비슷한 정도의 성장억제효과가 나타나며, berberine 40 µg/ml(MIC 80%)와 TC(MIC 80%)를 병용하면 42%, berberine(MIC 80%)와 TC(MIC 100%)를 병용하면 균의 성장이 50%까지 억제되었다(Fig. 2).

Berberine 50 µg/ml(MIC 100%)의 농도에서 균의 성장은 대조군에 비하여 38% 억제되었으며 cephradine(이하 CF로 표시) 0.6 µg/ml(MIC 100%)와 CF 3 µg/ml(MIC×5)에서는 10시간 이내에 균의 성장이 완전히 억제되었다. Berberine(MIC 60%)와 CF(MIC 100%)를 병용하면 7시간 이내에, berberine(MIC 60%)와 CF(MIC×5)를 병용하면 6시간 이내에, berberine(MIC 100%)와 CF(MIC 100%)를 병용하면 5시간 이내에, berberine(MIC 100%)와 CF(MIC×5)를 병용하면 3시간 이내에 균의 성장이 완전히 억제되었다(Fig. 3).

*Escherichia coli*에 대하여 berberine 30 µg/ml(MIC 60%)의 농도에서 대조군에 비하여 균의 성장이 47% 억제되었고, SM 2.48 µg/ml(MIC 80%)도 비슷하게 억제되었으며, SM 1.24 µg/ml(MIC 40%)에서는 29%가 억제되었다. Berberine 20 µg/ml(MIC 40%)와 SM(MIC 80%)를 병용하면 70%, berberine(MIC 60%)와 SM(MIC

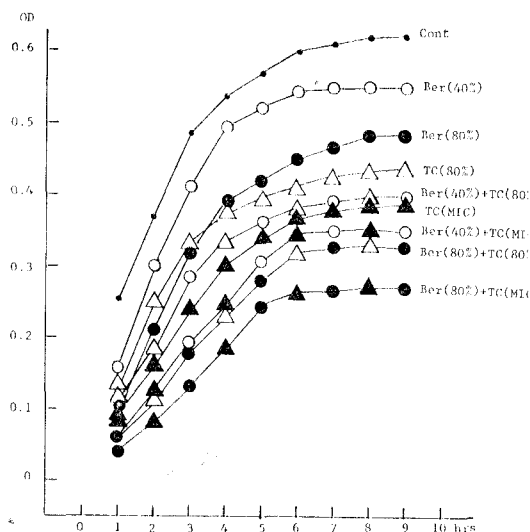


Fig. 2. Growth curve of *Staphylococcus aureus* to berberine and tetracycline

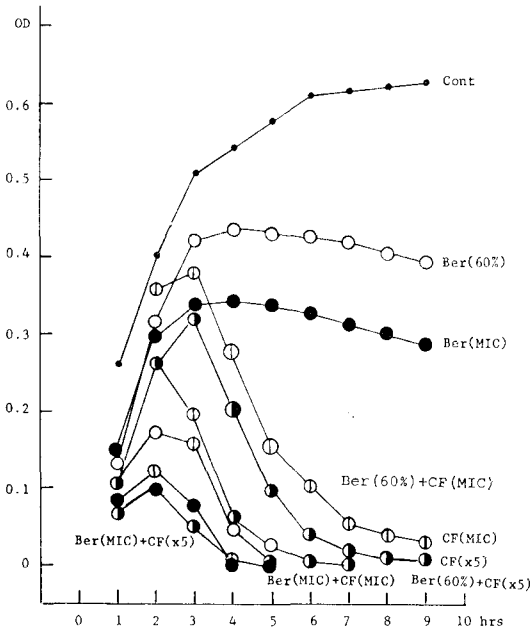


Fig. 3. Growth curve of *Staphylococcus aureus* to berberine and cephradine

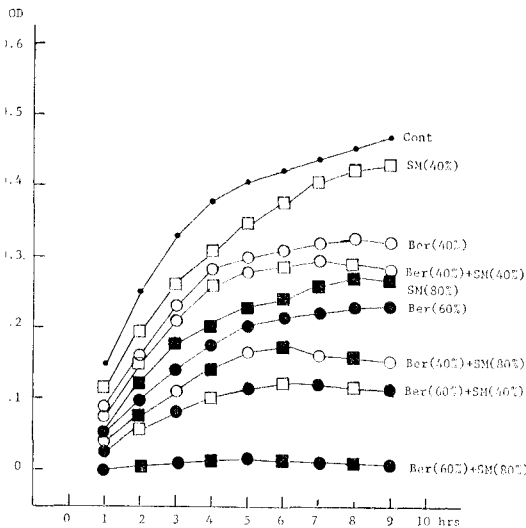


Fig. 4. Growth curve of *Escherichia coli* to berberine and streptomycin

80%)를 병용하면 균의 성장이 94% 억제되었다 (Fig. 4).

Berberine 30 $\mu\text{g/ml}$ (MIC 60%)에서는 47%, 50 $\mu\text{g/ml}$ (MIC 100%)에서는 76%의 균의 성장이 억제되었으며 TC 0.624 $\mu\text{g/ml}$ (MIC 40%)에서는 69%, 1.404 $\mu\text{g/ml}$ (MIC 90%)에서는 82%

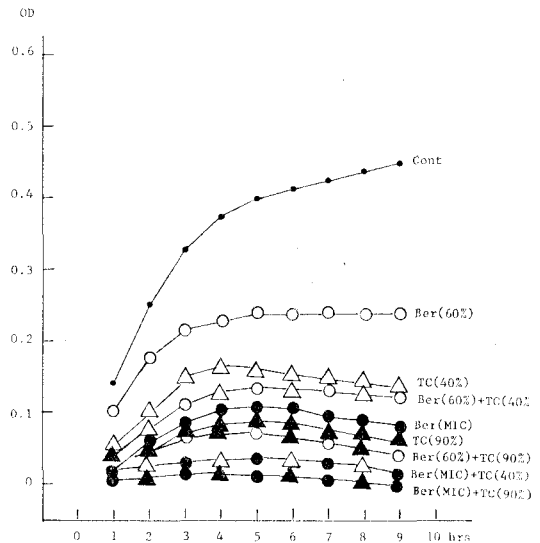


Fig. 5. Growth curve of *Escherichia coli* to berberine and tetracycline

의 억제효과가 나타났다. Berberine (MIC 60%)와 TC (MIC 40%)를 병용하면 65%, berberine (MIC 60%)와 TC (MIC 90%)를 병용하면 84%, berberine (MIC 100%)와 TC (MIC 40%)를 병용하면 96%, berberine (MIC 100%)와 TC (MIC 90%)를 병용하면 균의 성장이 98%로 억제되었다 (Fig. 5).

Berberine (MIC 60%)에서는 47%, berberine (MIC 100%)에서는 76%가 대조군에 비하여 균의 성장이 억제되었으며, CF 50 $\mu\text{g/ml}$ (MIC 100%)에서는 47%, CF 1,000 $\mu\text{g/ml}$ (MIC $\times 20$)에서는 85%의 성장억제효과가 나타났다.

Berberine (MIC 100%)와 CF (MIC 100%)를 병용하면 89%, berberine (MIC 100%)와 CF (MIC $\times 20$)을 병용하면 균의 성장이 97% 억제되었다 (Fig. 6).

*Shigella sonnei*에 대하여 berberine 30 $\mu\text{g/ml}$ (MIC 60%)는 38%, berberine 40 $\mu\text{g/ml}$ (MIC 80%)의 농도에서는 55%의 균의 성장억제작용이 나타났으며 SM 2.48 $\mu\text{g/ml}$ (MIC 80%)는 17%, SM 3.1 $\mu\text{g/ml}$ (MIC 100%)의 농도에서 균의 성장이 대조군에 비하여 68% 억제되었다.

Berberine (MIC 60%)와 SM (MIC 100%)를 병용하면 71%, berberine (MIC 80%)와 SM (MIC 80%)를 병용하면 73%, berberine (MIC

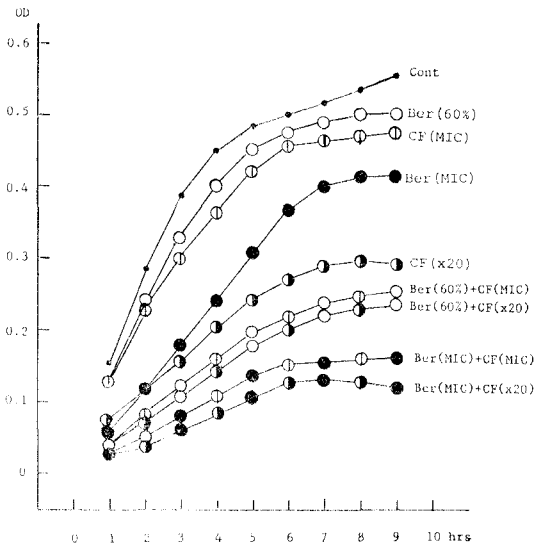


Fig. 6. Growth curve of *Escherichia coli* to berberine and cephradine

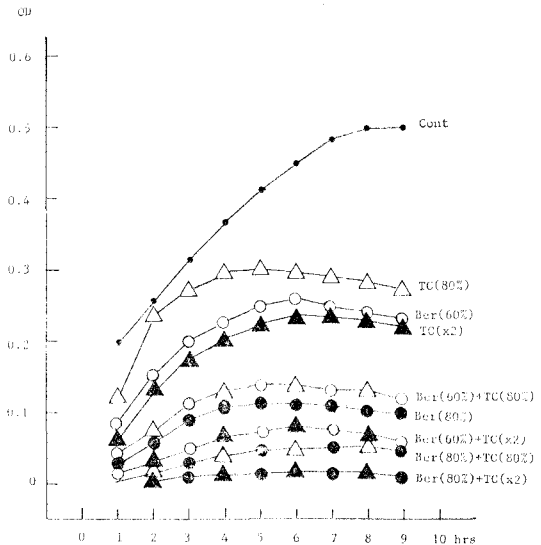


Fig. 8. Growth curve of *Shigella sonnei* to berberine and tetracycline

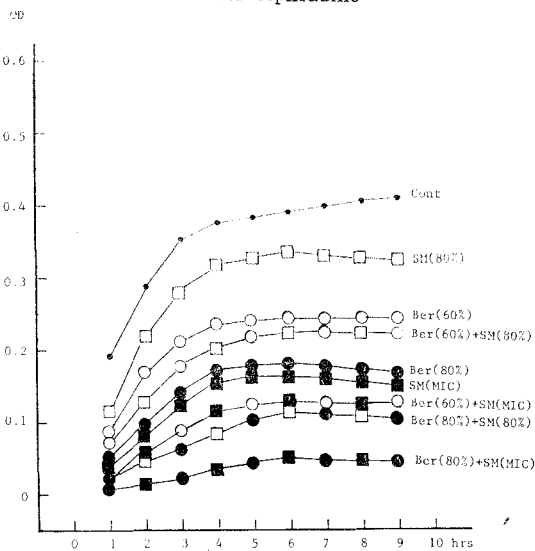


Fig. 7. Growth curve of *Shigella sonnei* to berberine and streptomycin

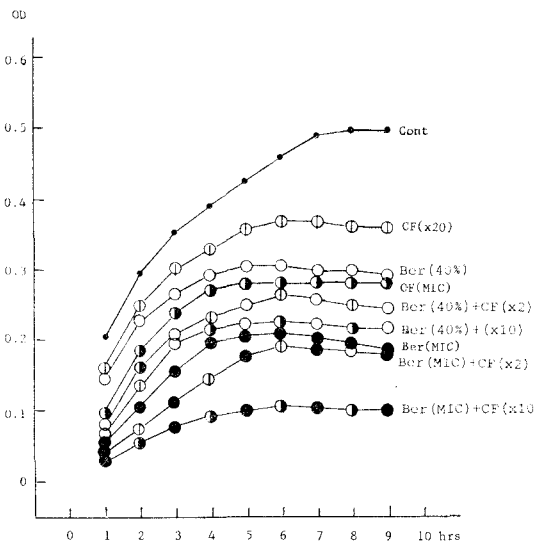


Fig. 9. Growth curve of *Shigella sonnei* to berberine and cephradine

80%)와 SM(MIC 100%)를 병용하면 대조군에 비하여 90%의 균의 성장이 억제되었다(Fig. 7).

Berberine(MIC 60%)에서는 38%, berberine(MIC 80%)에서는 55%, TC(MIC 80%)에서는 37%, TC(MIC $\times 2$)에서는 50%의 성장억제작용이 나타나나, berberine(MIC 80%)와 TC(MIC 80%)를 병용하면 87%, berberine(MIC 80%)와 TC(MIC $\times 2$)를 병용하면 95%의 성장억제

효과가 나타났다(Fig. 8).

Berberine(MIC 40%)에서는 35%, berberine(MIC 100%)에서는 58%의 성장억제효과가 나타났으며 CF(MIC $\times 2$)에서는 26%, CF(MIC $\times 10$)에서는 42%의 억제작용이 나타나는데, berberine(MIC 100%)와 CF(MIC $\times 2$)를 병용하면 64%, berberine(MIC 100%)와 CF(MIC $\times 10$)를 병용하면 균의 성장이 84%나 억제되는

현상이 나타났다(Fig. 9).

결 론

Berberine은 *Staphylococcus aureus*에 대하여 cephradine과 병용하였을 때에 2시간째 부터 현저한 항균작용을 나타내며, streptomycin과 병용하였을 때에는 5시간째 부터 균의 성장이 억제되었고 tetracyclin과 병용하였을 때에는 6시간째 부터 정균현상이 나타났다.

*Escherichia coli*에 대하여 streptomycin을 병용하였을 때에 5시간째 부터 균의 성장이 억제되기 시작하며, tetracycline을 병용하면 3시간째 부터 균의 성장을 억제하고 cephradine은 크게 영향을 주지 못하였다.

*Shigella sonnei*에 대하여 streptomycin과 병용하였을 때에 4시간째 부터 정균현상이 나타나며, tetracycline과 cephradine은 5시간째 부터 정균작용이 나타난다.

따라서 생약성분인 berberine을 주성분으로 한 정장지사제와 항생제(streptomycin, tetracycline, cephradine)를 병용하였을 때에 상승적인 항균작용을 기대할 수 있을 것이다.

〈1991년 3월 2일 접수 : 1991년 3월 15일 수리〉

문 헌

1. 이선주·이용주 : 생약학, 서울, 동명사, p. 63, 99 (1977).
2. Amin, A.H., Subbaiah, T.V. and Abbasi, K.M.: *Can. J. Microbiol.* 15, 1067 (1969).
3. Homma, N., Kono, M., Kadohira, H., Yoshihara, S. and Masuda, S.: *Arzneimittel Forsch.* 11, 450 (1961).
4. Ukita, T., Mizuno, D. and Tamura, T.: *Japan J. Exptl. Med.* 20, 103 (1949).
5. Johnson, C.C., Johnson, G. and Poe, C.F.: *Acta Pharmacol. Toxicol.* 8, 71 (1952).