

## 천연 퀘루세틴이 수종 항생물질의 항균력에 미치는 병용효과

어성국 · 김영소 · 이종길 · 이도익\* · 김일혁\* · 한성순<sup>†</sup>

충북대학교 약학대학, \*중앙대학교 약학대학

(Received September 4, 1996)

### Antimicrobial Activity of Natural Quercetin Alone and in Combination with Some Antibiotics

Seong Kug Eo, Young So Kim, Chong Kil Lee, Do Ik Lee\*,  
Il Hyuk Kim\* and Seong Sun Han<sup>†</sup>

College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

\*College of Pharmacy, Chungang University, Seoul 156-756, Korea

**Abstract**—As part of our search for less toxic antimicrobial agents from natural resources, rutin was isolated from *Sophora japonica* and then hydrolyzed to quercetin. Antimicrobial activity of quercetin was tested *in vitro* against five kinds of gram positive and ten kinds of gram negative bacteria by serial broth dilution method. Among fifteen kinds of bacteria tested, the antimicrobial activity of quercetin was the most potent against *Proteus vulgaris* showing minimal inhibitory concentration(MIC) of 125 µg/ml. To investigate the effect of antimicrobial combinations of quercetin with four kinds of antibiotics (ampicillin, cefazolin, oxytetracycline and chloramphenicol), the fractional inhibitory concentration index (FICI) was determined by checkerboard assay for each strain. The antimicrobial combinations of quercetin with four kinds of antibiotics resulted in synergism in one instance, additive effect in four instances, but no antagonism was observed.

**Keywords** □ quercetin, antimicrobial activity, serial broth dilution method, minimal inhibitory concentration (MIC), antimicrobial combinations, fractional inhibitory concentration index (FICI).

Quercetin(5,7,3',4'-tetrahydroxyflavonol, C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>)은 황색 침상결정이며 flavonoid 화합물 중에서 가장 많고 생물활성이 큰 물질로서, 단독으로 또는 배당체인 quercitrin, isoquercitrin, quercimetrin, rutin 등으로 천연에 널리 분포되어 있다.<sup>1)</sup> 사람들에게 있어서 quercetin의 1일 섭취량은 50~500 mg에 이르는 것으로 알려져 있다.<sup>2)</sup>

Quercetin의 약리작용으로는 cytochrome C의 산화환원작용 및 갑상선 중 요오드량의 감소, adrenaline 효과의 증강작용, 종양축소작용, 항바이러스작용 및 동상예방효과, 지방산화억제작용, 항히스타민작

용, 모세혈관강화작용 및 mytomycin 투여시 나타나는 출혈의 감소작용 등이 있다.<sup>3)</sup>

항균효과에 관한 연구로는 Kimura 등<sup>4)</sup>이 *Sophora japonica*의 에탄올 엑스가 quercetin, rutin 및 isorhamnetin-3-rutinoside의 상호작용에 의하여 *Propionibacterium acnes*, *Propionibacterium avidum* 및 *Staphylococcus aureus*에 대하여 항균효과가 있다고 보고하였고, Jain 등<sup>5)</sup>은 양파의 껍질에서 분리한 quercetin과 quercetin의 금속화합물들이 항세균 및 항진균작용이 있음을, John 등<sup>6)</sup>은 14종의 토양 및 장내세균에 대해서는 항균작용이 없음을 각각 보고하였다.

항생물질과 천연물과의 병용시 항균효과에 관한 연구로는 김 등<sup>7)</sup>이 인삼사포닌이 수종의 항생물질의 항균작용에 미치는 영향을 보고한 것과 신<sup>8)</sup>이 13종의 담자균

<sup>†</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 0341-61-2817 (팩스) 0431-68-2732

의 메탄올 추출물의 항균력을 검색하고 다른 항생물질의 항균력에 미치는 상호작용을 보고한 바 있으며, 윤 등<sup>9)</sup>은 영지버섯 엑스가 수종 항생물질의 항균력에 미치는 병용효과를, 김 등<sup>10)</sup>은 잔나비겉상 엑스가 수종 항생물질의 항균력에 미치는 병용효과에 대하여, 임 등<sup>11)</sup>은 천연 rutin이 수종 항생물질의 항균력에 미치는 병용효과에 대하여 각각 보고한 바 있다.

이상의 quercetin에 관한 연구보고를 종합하면, quercetin은 상시 다량으로 섭취되며 독성이 적은 비교적 안전한 생리활성물질로서, rutin이나 quercitrin 등의 배당체 보다 항균력이 강하리라 사료되어 15종의 병원성 세균에 대하여 항균력시험을 실시하고, ampicillin, cefazolin, oxytetracycline 및 chloramphenicol 등 항생물질의 항균력에 미치는 병용효과를 측정하여 그 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

### 실험방법

**재료, 기기 및 시약** - 실험에 사용한 재료는 시판되는 괴화 *Sophora japonica*를 청주 시내에서 구입하여 사용하였다. Nutrient agar와 nutrient broth는 Difco사에서 구입하였으며 병용시험에 사용한 ampicillin, cefazolin, oxytetracycline 및 chloramphenicol 등의 시험항생물질은 종근당(주)에서 분양받아 사용하였으며 균수측정에 UV-spectronic 21(Milton Roy Co., U.S.A)을, 세균배양을 위하여 electric incubator (Astell Hearson Co., U.K.)와 shaking water-bath incubator (Gallen Kamp Co., U.K.)를 사용하였다.

**시험균주** - 본 대학 미생물학교실에서 계대배양하여 보관하고 있는 균주 중 gram 양성균으로 *Bacillus anthracis* ATCC 6603, *Bacillus cereus* ATCC 27348, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 등의 5종을, gram 음성균으로 *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella oxytoca* 1082E, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Proteus vulgaris* ATCC 6509, *Providencia rettgeri* ATCC 936, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella tomson* ATCC 10256, *Salmonella typhi* ATCC 6229, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Serratia marcescens* ATCC 27117 등 10종의 세균을 사용하였다. 병용시험

에 사용한 균주로는 항균력시험 결과 항균력이 우수한 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923과 *Proteus vulgaris* ATCC 6509를 선정하였다.

**시료의 단리** - 재료를 상법에 따라 추출하여 rutin을 얻고 이를 가수분해하여 황색 침상결정의 quercetin을 얻었다.<sup>12)</sup>

**시료용액의 조제** - quercetin과 시험항생물질인 ampicillin, cefazolin, oxytetracycline 및 chloramphenicol을 vacuum desiccator 중에서 항량이 될 때까지 건조시킨 후 용매로 dimethyl sulfoxide(DMSO)와 tween 80을 사용하여 용해시키고 nutrient broth로 최고농도가 500 µg/ml가 되도록 시료용액을 조제하였다. DMSO와 tween 80은 균의 발육억제에 전혀 영향이 없는 농도에서 사용하였고 대조시험을 병행하였다.

**균액의 조제** - 시험균주 중 *Serratia marcescens*는 26°C에서, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*는 30°C에서 그 밖의 모든 균주는 37°C에서 18시간 액내배양하여 UV-Spectronic 21으로 540 nm에서 T(%)≈30이 되도록 균수를 조정된 후 1 ml를 100배 희석하여 사용하였다.<sup>13)</sup>

**항균력시험** - Quercetin 및 항생물질의 시료용액을 serial broth dilution method<sup>14)</sup>에 따라 실험실계된 농도로 배수희석한 후 9개의 시험관에 각 농도의 용액을 각각 1 ml씩 분주하고 10번 시험관을 대조시험관으로 한 후 각 시험관에 균액 50 µl를 접종하여 각 균주의 최적농도에서 18시간 배양한 후 육안으로 균의 발육 여부를 관찰하여, 최소발육저지농도(minimal inhibitory concentration: MIC)로 항균력을 평가하였다. 더 정확한 MIC를 구하기 위하여 결정된 MIC를 세분하여 실험하였다.

**시험항생물질과의 병용시험** - quercetin과 시험항생물질과의 병용시험은 checkerboard assay<sup>15)</sup>에 따라 시험관을 x축과 y축에 각각 7개씩 배열하고 quercetin의 시료용액은 x축의 6번시험관을 MIC로 하여 nutrient broth로 1번 시험관까지 배수희석하고 ampicillin, cefazolin, oxytetracycline 및 chloramphenicol의 시료용액도 y축의 6번시험관을 MIC로 하여 각각 같은 방법으로 배수희석한 후 균액을 50 µl씩 접종하고 18시간 배양한 후 육안으로 균의 발육유무를 관찰하였다. 이 결과는 Jadavji 등<sup>16)</sup>의 평가방법에 따라 isobologram, fractional inhibitory concentration(FIC) 및 fractional inhibitory concentration

**Table I**— MICs of quercetin against gram positive bacteria

Strains	MIC( $\mu\text{g/ml}$ )
<i>Bacillus anthracis</i> ATCC 6603	500
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 27348	500<
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	500<
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	500<
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	250

**Table II**— MICs of quercetin against gram negative bacteria

Strains	MIC( $\mu\text{g/ml}$ )
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	500<
<i>Klebsiella oxytoca</i> 1082E	500<
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	500<
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6509	125
<i>Providencia rettgeri</i> ATCC 936	500<
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	500<
<i>Salmonella tompson</i> ATCC 10256	500<
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 6229	500<
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	500<
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 27112	500

index(FICI) 등으로 평가하였다.

### 결과 및 고찰

**항균력시험** - 항균력시험에서 gram 양성균에 대한 결과는 Table I과 같고 gram 음성균에 대한 결과는 Table II와 같다.

Gram 양성균에 있어서는 *Staphylococcus aureus*에 대한 MIC가 250  $\mu\text{g/ml}$  이고, gram 음성균에서는 *Proteus vulgaris*에 대한 MIC가 125  $\mu\text{g/ml}$ 로써 각각 가장 우수한 항균력을 나타내었으나, *Bacillus cereus*를 비롯한 4종의 gram 양성균과, *Escherichia coli* 를 비롯한 나머지 9종의 균주에 대해서는 MIC가 500  $\mu\text{g/ml}$  이상이 었다. 시험균주에 대한 quercetin의 항균력시험 결과를 고찰해 볼 때 혼합 감염균으로써 화농성 질환, 요로감염 증 등에서 발견되고 항생물질에 대한 감수성도 각각 다르고, 내성균주가 많이 생성되고 있는 *Staphylococcus aureus*와 *Proteus vulgaris*에 대하여 특이적으로 우수한 항균효과를 나타내었다. 이것은 김 등<sup>10)</sup>의 잔나비결상수침체의 항균력에 대한 연구보고에서도 비슷한 결과를 얻은 것으로 보아 천연자원에서 얻은 항균물질이 *Staphylococcus aureus*와 *Proteus vulgaris*의 두 균주에 미치는 항균효과에 대하여 더 연구해야할 것으로 사료된다.

**병용시험** - 본 시험에 사용한 시험균주 *Staphylo-*

**Table III**— MICs of test antibiotics used for antimicrobial combinations

Strains	MIC( $\mu\text{g/ml}$ )			
	ABPC	CEZ	OTC	CM
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1.00	0.25	0.12	8.00
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6509	0.50	0.25	2.00	4.00

ABPC : ampicillin      CEZ : cefazolin  
OTC : oxytetracycline,    CM : chloramphenicol

**Table IV**— FICs and FICIs of quercetin with test antibiotics

Strains	FIC			FICI
	Quercetin	ABPC	CEZ	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.50	0.50	1.00	1.00
	0.50	0.50	1.00	
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6509	0.50	1.00	1.50	1.50
	0.50	1.00	1.50	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.25	0.50	0.75	0.75
	0.13	0.25	0.38	
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6509	0.50	1.00	1.50	1.50
	0.25	0.50	0.75	

ABPC : Ampicillin,      CEZ : Cefazolin  
OTC : Oxytetracycline,    CM : Chloramphenicol

*coccus aureus*과 *Proteus vulgaris*에 대한 시험항생물질의 MIC는 Table III과 같고, 병용시험 결과 평가한 FIC 및 FICI는 Table IV와 같으며, isobologram은 Fig. 1, 2와 같다.

항생제의 병용투여는 내성균주의 발현빈도를 현저히 감소시킬 수 있으며, 단독 투여시 독성 및 부작용이 있는 항생제는 병용투여하여 약용량을 줄일 수 있으므로 독성을 감약시킬 수 있고, 세균의 복합감염시에는 보다 넓은 항균범위를 갖는 등의 기대효과가 있기 때문에 항생제가 발견된 후 지금까지 활발히 연구되고 있다. 그 예로써 trimethoprim과 sulfonamide, penicillin류와 aminoglycoside류의 병용투여시 항균력 증가 및 내성균주의 생성을 현저히 억제시키는 바 있다.<sup>17, 18)</sup>

실험결과를 고찰하여 보면 quercetin과 oxytetra-

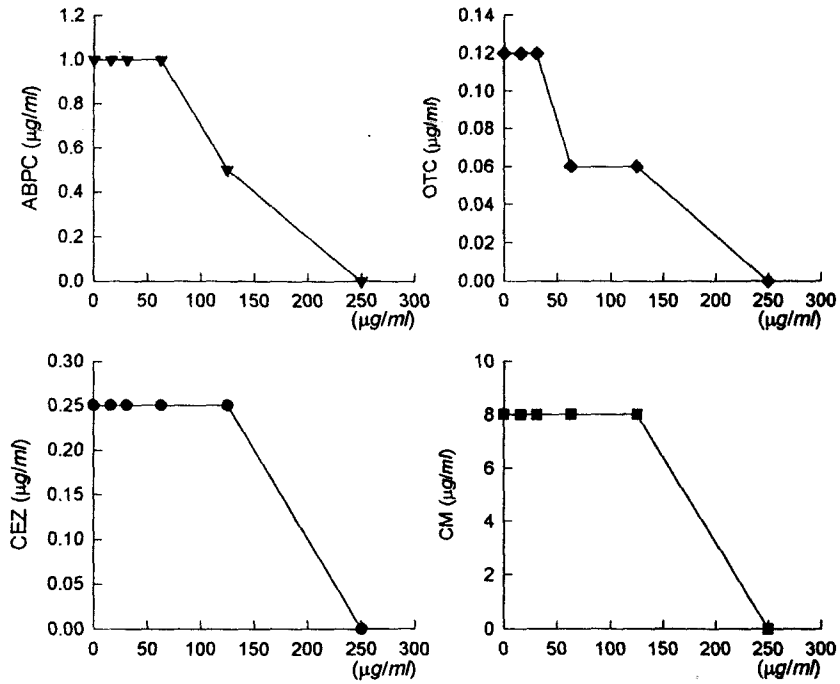


Fig. 1 — Isobolograms of antimicrobial combinations with quercetin and some antibiotics against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

ABPC : ampicillin, CEZ : cefazolin, OTC : oxytetracycline, CM : chloramphenicol

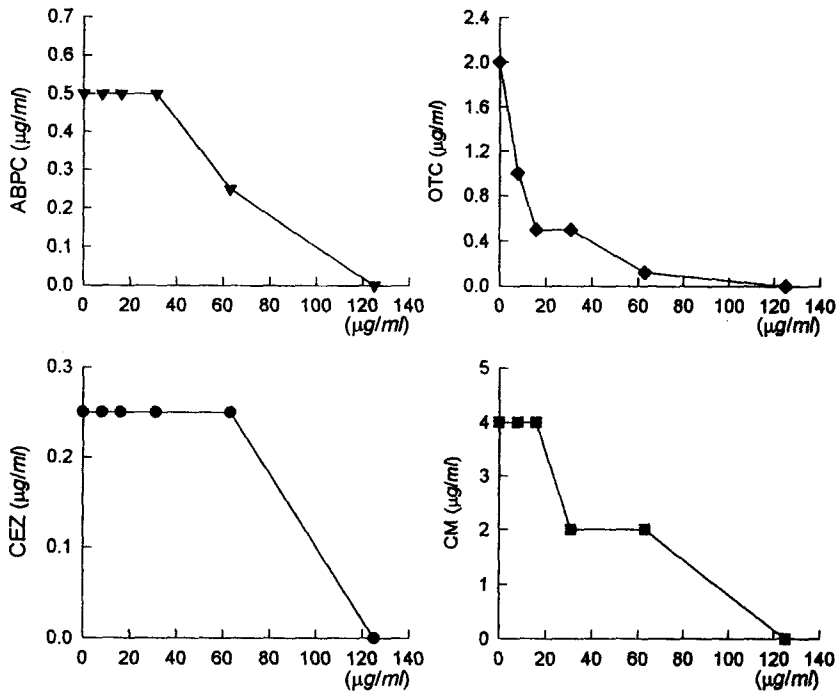


Fig. 2 — Isobolograms of antimicrobial combinations with quercetin and some antibiotics against *Proteus vulgaris* ATCC 6509.

ABPC : ampicillin, CEZ : cefazolin, OTC : oxytetracycline, CM : chloramphenicol

cycline을 병용시 *Proteus vulgaris*에 대하여 상승효과를 나타내었고, *Staphylococcus aureus*에 대하여는 상가효과를 나타내었으며, ampicillin과의 병용시에는 두 균주 모두에 대하여 상가효과를 나타내었다. Chloramphenicol과의 병용시에는 *Proteus vulgaris*에 대하여 상가효과를, *Staphylococcus aureus*에 대하여는 무관효과를 보였으며, cefazolin과의 병용시에는 두 균주 모두에 대하여 무관효과를 보였다(Table IV).

이러한 결과를 종합해 보면, 길항효과를 나타낸 예는 전혀 없었으며, oxytetracycline과 병용했을 때의 상승효과율이 4종의 시험 항생물질 가운데 가장 높았다. 또한 quercetin과 oxytetracycline, quercetin과 ampicillin의 병용효과가 두 균주 모두에 대하여 상가효과 이상의 병용효과를 나타내었으며, 이때 oxytetracycline과 ampicillin의 FIC는 각각 0.5 이하로써 항생물질의 단독투여시 보다 투여량이 반으로 줄었음을 의미한다.

## 결 론

괴화 *Sophora japonica*에서 추출 단리한 quercetin의 항균력시험과 4종의 항생물질과의 병용시험을 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Quercetin의 항균력시험 결과 gram 양성균에서는 *Staphylococcus aureus*에 대한 MIC가 250 µg/ml, gram 음성균에서는 *Proteus vulgaris*에 대한 MIC가 125 µg/ml로 각각 우수한 항균효과를 나타내었다.

2. 병용투여시 항균효과의 평가에서는 quercetin과 oxytetracycline의 병용시 *Proteus vulgaris*에 대하여 상승효과를, *Staphylococcus aureus*에 대하여는 상가효과를 나타내었으며, quercetin과 ampicillin에서는 두 균주 모두 상가효과를 보였고, 길항효과를 나타낸 예는 없었다.

## 문 헌

- 1) 천연물화학연구회 : 천연물화학, 진명출판사, 서울 p. 266 (1979).
- 2) Deschner, E. E. : *Phenolic compounds in food and their effects on health*(II), ACS Symp. series 507, Washington, D.C., p.265 (1992).
- 3) Willaman, J. J. : Some biological effects of the flavonoids. *J. Am. Pharm. Assoc.* **44**, 404 (1952).
- 4) Kimura, M. and Hiromi, Y. : Interaction in the antibacterial activity of flavonoids from *Sophora japonica* L. to *Propionibacterium*. *Yakugaku Zasshi* **104**, 340 (1984).
- 5) Jain, K. K., Kohli, D. V. and Uppadhavay, R. K. : *Indian Drugs Pharm. Ind.* **11**, 30 (1976).
- 6) John, A. E., William, B. A. and Daniel, B. E. : Negative allelopathic effects of rutin and quercetin on fourteen soil and enteric microbes. *Biochem. Syst. Ecol.* **6**, 1 (1978).
- 7) Kim, H. S., Han, S. S., Oh, K. W., Jeong, T. S. and Nam, K. Y. : Effects of ginseng saponin on the antimicrobial activities of some antibiotics. *Kor. J. Mycol.* **15**, 87 (1987).
- 8) 신명철 : 한국산 담자균의 항균력 및 수종의 항생제와의 상호작용에 관한 연구. 충남대학교 석사학위논문 (1988).
- 9) Yoon, S. A., Eo, S. K., Kim, Y. S., Lee, C. K. and Han, S. S. : Antimicrobial activity of *Ganoderma lucidum* extract alone and in combination with some antibiotics. *Arch. Pharm. Res.* **17**, 438 (1994).
- 10) Kim, Y. S., Rym, K. H., Lee, C. K. and Han, S. S. : Antimicrobial activity of *Elfvigia applanata* extract alone and in combination with some antibiotics. *Yakhak Hoeji* **38**, 742 (1994).
- 11) Rym, K. H., Eo, S. K., Kim, Y. S., Lee, C. K. and Han, S. S. : Antimicrobial activity of natural rutin alone and in combination with some antibiotics. *Chungbuk J. Pharm. Sci.* **10**, 37 (1995).
- 12) 植物化學研究會 : 植物化學實驗書, Hirokawa Publ. Co., Tokyo, p.120 (1960).
- 13) Gary, S. M. and Douglas, M. J. : *Mycology for the Clinical Laboratory*, Reston Publishing Co., Inc., Reston, Virginia, p.262 (1979).
- 14) Ericsson, H. and Sherris, J. C. : *Acta Pathol. et Microbiol.* 2nd., section B, Suppl., p.217 (1971).
- 15) Victor Lorian, M. D. : *Antibiotics in Laboratory Medicine* 3rd ed., Williams & Wilkins Co., New York, p.537 (1985).
- 16) Jadavji, T., Prober, C. G. and Cheung, R. : *In vitro* interactions between rifampin and ampicillin or chloramphenicol against *haemophilus influenzae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **26**, 91

- (1984).
- 17) Poe, M. : Antibacterial synergism-A proposal for chemotherapeutic potentiation between trimethoprim and sulfamethoxazole. *Science* **194**, 533 (1976).
- 18) Jawetz, E., Gunnison, J. B. and Colman, V. R. : The combined action of penicillin with streptomycin or chloromycetin on *Enterococci in vitro*. *Science* **111**, 254 (1950).