

百日咳 誘發菌 *Bordetella pertussis*에 대한 虎杖根의 生育 抑制 效果

정운석, 이주일, 서운교
동국대학교 한의과대학 내과학교실

Effective Antibacterial Activity of *Reynoutria Japonica* Against *Bordetella Pertussis* ATCC 9797

Wun-Suk Jung, Ju-Il Lee, Un-Kyo Seo

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

This study was designed to identify the effects of *Reynoutria Japonica* on antibacterial activity against *Bordetella pertussis* ATCC 9797 which is cause of whooping cough.

The ethanol- and water-extracts of more than 80 oriental herbal medicine were investigated by Kirby-Bauer method to determine their inhibitory effects on growth of *B. pertussis* ATCC 9797 *in vitro*. For that *Reynoutria Japonica* was selected.

The ethanol-soluble extract of *Reynoutria Japonica* showed relatively high antibacterial activity against *B. pertussis* ATCC 9797. However, the water-soluble extract of *Reynoutria Japonica* showed no antibacterial activity.

The ethanolic extract was further fractionated with organic solvents such as hexane, chloroform, and ethyl acetate, in that order. Among the fraction tested, the chloroform fraction showed the highest antibacterial activity when the ethanol-soluble extract of *Reynoutria Japonica* minimal inhibitory concentration(MIC) was $25\mu\text{g}/\text{ml}$.

Results support a role for *Reynoutria Japonica* in inhibiting the cell growth of *B. pertussis* ATCC 9797, but further experimentation is required.

Key Words: Whooping cough, *Bordetella pertussis*, *Reynoutria Japonica*, Antibacterial activity, Minimal inhibitory concentration

1. 緒 論

百日咳는 그람음성간균인 *Bordetella pertussis*에 의한 질환으로 주로 유아나 어린이에게 발병하는 전염성이 높은 呼吸器 感染 疾患이다. 특징적으로 심한 痙攣性 기침이 오랫동안 지속되며 합병증으로 氣管支肺炎, 氣管支擴張症, 腦出血, 腦炎 등이 發生 한다^{1,2}.百日咳는 90% 이상의 發病率을 나타내는데, 특히 영아에서의 발병은 重症을 나타내며 致命率도

높아 전체 사망자의 약 80%가 생후 1년 이내의 嬰 幼兒이다^{3,4}.

국내에서 디프테리아, 파상풍,百日咳 혼합 백신(DTP)의 사용은 1958년부터 시작되어 한국에서의百日咳 罹患者率은 1984년 이전에는 인구 10만 명당 약 1.9~4.6 명이었으나 1985년 이후부터는 1.9명 이하로 감소되어 있는 것으로 나타났다^{4,5}.

그런데, 1960년 중반부터 이 백신 접종 후 發病 되는 發熱, 食慾減退, 심한 보챌, 痙攣 등과 같은 전신부작용 및 일부에서 腦症에 의한 重症의 부작용이 점차 문제화되기 시작하였다⁶. 또한 최근에는 성인에게도 감염되어 비특이적인 氣管支炎이나 上氣道感染이 증가되고 있는데, 痙攣性 기침을 보이는

· 접수 : 2005. 5. 31. · 채택 : 2005. 6. 7.
· 교신저자 : 정운석, 경기도 성남시 분당구 수내동 87-2
동국대학교 분당한방병원 6층 의국
(Tel. 031-710-3734, Fax. 031-710-3734
E-mail : jos0829@hanmail.net)

성인 환자들의 25% 이상이 百日咳 환자들이라는 주장도 있다⁷. 따라서 백신에 의한 부작용을 줄이고 증가하는 비특이적 기도 감염질환에 대처할 수 있는 天然物(藥用植物)의 개발이 필요하며, 지금까지는 百日咳에 효과적인 韓藥材 探索과 관련한 연구가 全無한 실정이다.

이러한 실정에서 저자는 效能 및 主治症에 기초하여 抗菌活性이 기대되는 韓藥材 80여 가지를 Kirby-Bauer 법으로 1차 探索한 結果 虎杖根(*Reynoutria japonica*)에서 유의한 結果를 얻었다. 虎杖根은 마디풀과에 속하는 다년초로 祛風利濕, 止咳化痰, 清熱解毒 등의 효능이 있어 尿道炎, 膀胱炎, 喘息, 動脈硬化 등의 치료에 사용되어온 植物性 藥材로 抗菌 效果가 기대되는 藥材이다^{8,15}.

이에 虎杖根의 *Bordetella pertussis* 生育抑制에 관한 實驗을 통하여 유의한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 材料

1) 使用 韓藥材

사용한 韓藥材는 국산 한약재로 동국대학교 부속 한방병원에서 구입하였으며, 韓藥材는 細切 후 乾燥시켜 사용하였다.

2) 試藥, 菌株 및 消耗品

細菌培養에 사용된 yeast extract, tryptone은 Difco Co. 製를 사용하였고, ethanol, dimethyl sulfoxide, NaCl, organic solvent는 Sigma社製를 사용하였다. 抗菌成分의 檢索을 위하여 사용한 濾過紙는 日本

Toyo Roshi Kaisha의 Advantec paper disk(Thick, 8mm)를 구입 사용하였다.

虎杖根의 抗菌力 實驗을 위하여 사용한 病原性 百日咳菌인 *Bordetella pertussis* ATCC 9797는 American Type Culture Collection(ATCC)에서 分讓받아 繼代培養하여 사용하였다. 사용한 細菌의 學名 및 strain number에 관여하는 病名은 Table 1에서 보는 바와 같다.

3) 機器 및 裝置

韓藥材 水溶性 抽出物 및 에탄올 溶解性 抽出物 제조를 위해서 減壓濃縮機는 Eyela社의 rotary evaporator(NE-1S)를 이용하여 농축하였고, Ilsin社의 Bondiro(FD5505)을 이용하여 凍結乾燥하였다. 培地의 製造, 滅菌, 培養과 韓藥材의 抽出을 위하여 사용한 기기는 국산제작기기를 사용하였다.

液體培地에서의 細菌 生育을 측정하기 위하여 日本 Shimadzu社의 UV-160A spectrophotometer를 사용하였으며 660nm에서 측정하였다.

2. 方法

1) 韓藥材 水溶性 및 에탄올 溶解性 抗菌物質 檢液의 製造

건조된 韓藥材 100g에 蒸溜水 300~900ml를 첨가하여 121℃ 중탕기에서 3시간 동안 중탕, 추출하였다. 중탕액을 여과한 후, 減壓濃縮機에서 濾液이 50ml가 되도록 농축하였다. 농축 후 凍結乾燥(-50℃, 9mm Torr)하여 乾燥粉末을 얻어 試料物質로 사용하였다.

추출용매로 에탄올을 사용하고, condenser가 부착 soxhlet을 사용하여 추출한 조건 이외에는 에탄올 溶解性 抽出物의 제조는 水溶性 抽出物의 제조와 같다.

Table 1. The pathogenic bacteria and culture conditions used in this experiment.

Species	Strain	Culture condition		Characteristics
		Temp.(°C)	Medium	
<i>Bordetella pertussis</i>	ATCC* 9797	37	BGM**	whooping cough

*ATCC : American Type Culture Collection

**BGM : proteose peptone 1%, sodium chloride 0.55%, pancreatic digest of casein 0.5%, peptic digest of animal tissue 0.5%, potato solids from infusion 0.45%, glycerol 1%, defibrinated rabbit blood 15%.

2) 韓藥材 有機溶媒 分割物 檢液의 製造

虎杖根 有機溶媒 分割物을 제조하기 위해 추출용 매로 물이나 에탄올을 사용하여 추출한 溶解性 抽出物을 물에 용해시킨 후, 溶媒의 극성도가 증가하는 순서대로 헥센(hexane), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate)의 단계로 분획하였다.

3) 細菌의 液體培養

최적 培養條件下에서 각 細菌 菌柱를 시험관에서 18~24시간 동안 液體培養하였다. 培地는 121℃에서 20분간 멸균후 사용하였다. 제조된 液體培地에 각 細菌을 접종하여 37℃에서 36시간 동안 배양하여 실험에 사용하였다. 細菌培養을 위한 Bordet Gengou Medium(BGM)의 조성은 다음과 같다: proteose peptone 1%, sodium chloride 0.55%, pancreatic digest of casein 0.5%, peptic digest of animal tissue 0.5%, potato solids from infusion 0.45%, glycerol 1%, defibrinated rabbit blood 15%.

4) 寒天培地를 利用한 韓藥材의 抗菌活性 檢定

韓藥材 抽出物의 抗細菌 活性을 검정하기 위해 Kirby-Bauer 擴散法을 이용하였다. 液體培養된 細菌菌柱를 멸균된 삼각병을 이용하여 준비된 寒天(agar 2%)培地上에 塗抹하였다. 준비된 disk를 檢液에 충분히 적신 후, 塗抹된 寒天培地上에 적절히 위치하도록 하였다. 이때 멸균된 편셋을 이용하여

disk를 가볍게 눌러서 위치의 변동이 없도록 하였다. 平板塗抹 후 disk가 위치한 plate를 細菌培養에 적절한 온도와 培養條件下에서 24~36시간 동안 배양한 후, 生育阻止環의 직경을 측정하였다.

5) 最小生育阻止濃度(MIC)의 測定

韓藥材 抽出物의 試驗細菌에 대한 最小阻害濃度를 결정하기 위해 細菌의 液體培養時 抽出物의 농도를 조절하여 生育을 억제하는 最小 試料檢液의 농도(MIC: Minimal Inhibitory Concentration)를 측정하였다. 韓藥材 水溶性 및 에탄올 溶解性 抽出物 試料를 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 용해하였다. 농도가 서로 다르도록 液體培地에 첨가하여 試驗培地를 제조하였다. *Bordetella pertussis* ATCC 9797을 각 농도별로 첨가된 液體培養液에서 24시간 배양 후, 分光光度計(spectrophotometer, 660nm)로 각 細菌의 生育 정도를 측정하여, 細菌의 生育阻止 最小 試料 濃度를 결정하였다. 試料物質의 吸光度를 측정하고, blank 값을 控除한 후, 對照群과 비교하였다.

III. 實驗 結果

1. 韓藥材 水溶性 및 에탄올 溶解性 抽出物의 抗細菌 活性

Bordetella pertussis ATCC 9797의 生育을 억제

Table 5-1. Growth inhibition of ethanol soluble extract of oriental herbal medicines against pathogenic bacteria, *B. pertussis* ATCC 9797.

Oriental herbal medicines	Clear zone (Dia., mm)	Oriental herbal medicines	Clear zone (Dia., mm)	Oriental herbal medicines	Clear zone (Dia., mm)	Oriental herbal medicines	Clear zone (Dia., mm)
葛根	0	金銀花	0	白薇	0	山椒	0
葛花	0	丹蔘	0	百部根	0	桑白皮	9
甘草	0	當歸	0	柏子仁	9	石斛	0
乾薑	0	杜沖	0	白何首烏	0	石菖蒲	0
決明子	11	馬兜鈴	0	覆盆子	0	仙鶴草	0
桂皮	0	馬齒莧	0	浮萍草	0	蘇木	10
苦蔘	10	麻黃	0	枇杷葉	0	小茴香	0
瓜蒌根	0	木香	0	射干	0	熟地黃	0
槐花	0	薄荷	0	山茱萸	0	升麻	0
枸杞子	0	半夏	0	山藥	0	柴胡	0

Table 5-2. Growth inhibition of ethanol soluble extract of oriental herbal medicines against pathogenic bacteria, *B. pertussis* ATCC 9797.

Oriental herbal medicines	Clear zone (Dia., mm)	Oriental herbal medicines	Clear zone (Dia., mm)	Oriental herbal medicines	Clear zone (Dia., mm)	Oriental herbal medicines	Clear zone (Dia., mm)
惡實莖	0	肉荳蔻	9	紫蘇子	0	玄蔘	0
艾葉	0	益智仁	8	蒼朮	0	胡桃仁	0
野菊花	0	忍冬草	0	川芎	0	虎杖根	12
魚腥草	0	梓實	0	草豆蔻	0	胡黃連	0
烏梅	8	紫苑	0	側柏葉	0	黃芩	9
五味子	8	赤楊	0	破古紙	9	黃耆	0
五倍子	0	皂角子	0	貝母	0	黃柏	0
烏藥	0	竹葉	0	敗醬	0	黃連	0
牛蒡子	0	地骨皮	0	篇蓄	0		
鬱金	8	知母	0	蒲公英	0		
榆根皮	0	車前子	0	夏枯草	0		

하는 韓藥材를 탐색한 결과는 Table 5-1, 5-2와 같다. 韓藥材 水溶性 및 에탄올 溶解性 抽出物(농도 10mg/ml)의 *B. pertussis* ATCC 9797에 대한 抗細菌 活性을 측정된 결과, 水溶性 抽出物에서는 抗細菌 活性을 나타내지 않았으며, 에탄올 溶解性 抽出物에서 決明子, 苦蔘, 柏子仁, 桑白皮, 蘇木, 五味子, 五倍子, 鬱金, 肉荳蔻, 益智仁, 破古紙, 虎杖根, 黃芩에서 生育阻止環을 나타내었다. 이들 중 저조한 것은 柏子仁, 桑白皮, 五味子, 五倍子, 鬱金, 肉荳蔻, 益智仁, 破古紙, 黃芩이었으며, 우수한 것은 決明子, 苦蔘, 蘇木이고 生育阻止 活性이 가장 우수한 虎杖根을 최종 선별하였다.

2. 虎杖根 水溶性 및 에탄올 溶解性 抽出物の 抗細菌 活性

선별 韓藥材인 虎杖根 水溶性 및 에탄올 溶解性 抽出物(농도 10mg/ml)의 *B. pertussis* ATCC 9797에

대한 抗細菌 活性을 측정된 결과, 虎杖根 에탄올 溶解性 抽出物에서 百日咳 菌株에 대해 11.3 ± 0.6 mm 生育阻止環을 나타내었다(Table 2.). 그러나 虎杖根 水溶性 抽出物の 경우 百日咳 誘發菌에 대한 抗細菌 活性을 나타내지 않았다.

Table 2. Growth inhibition of water and ethanol soluble extracts of *Reynoutria japonica* against pathogenic bacteria, *B. pertussis* ATCC 9797.

	EtOH soluble extract	Water soluble extract
<i>Bordetella pertussis</i> ATCC 9797	11.3 ± 0.6	0

3. 虎杖根 有機溶媒 分劃物の 抗細菌 活性

虎杖根 有機溶媒 分劃物の 百日咳 菌株에 대한 抗細菌 活性을 측정된 결과, 분획에 사용한 hexane, chloroform, ethyl acetate에 分劃 收率을 나타내었다

Table 3. Crude extract and fractionation yield of *Reynoutria japonica* by various organic solvents.

Oriental herbal medicine	Yield(%)				
	Crude extract	Hexane fraction	Chloroform fraction	Ethylacetate fraction	Water fraction
<i>Reynoutria japonica</i>	34.0	1.0	13.6	8.6	75.5

(Table 3.). 有機溶媒 중 chloroform을 이용하였을 경우 13.6%로 다른 有機溶媒에 비해 높은 分割收率을 나타내었으며, hexane을 이용하였을 경우 分割收率이가장 낮았다(1%).

B. pertussis ATCC 9797에 대해 각각 hexane은 14.3 ± 1.2 mm, chloroform 15.7 ± 1.5 mm, ethyl acetate 9.3 ± 1.5 mm의 抗細菌 活性을 나타내었다.

분획에 사용한 有機溶媒 중 chloroform fraction이 가장 우수한 抗細菌 活性을 나타내었으나 water fraction에서는 抗菌 活性을 나타내지 않았다(Table 4.).

Table 4. Growth inhibition of organic solvent fractions of *Reynoutria japonica* against *B. pertussis* ATCC 9797.

	<i>Bordetella pertussis</i> ATCC 9797
Hexane fraction	14.3 ± 1.2
Chloroform fraction	15.7 ± 1.5
Ethyl acetate fraction	9.3 ± 1.5
Water fraction	0

4. 虎杖根 에탄올 溶解性 抽出物의 抗生劑 耐性 菌株에 대한 MIC

B. pertussis ATCC 9797에 대해 虎杖根 에탄올 溶解性 抽出物이 농도별로 첨가된 液體培地上에서 48시간 배양 후 細菌의 生育程度를 分光光度計를 이용하여 측정하여 MIC를 결정하였다. 虎杖根 에탄올 溶解性 抽出物의 *B. pertussis* ATCC 9797에 대한 MIC를 결정한 결과는 $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다(Fig. 1.).

IV. 考 察

百日咳는 *Bordetella pertussis*에 의해 전염되어 주로 유아나 어린이에게 전염성이 높은 호흡기 감염 질환으로 심한 痙攣性 기침이 오랫동안 지속되는 특징이 있으며 6~8주간의 장기간의 경과를 밟는다. 증상은 대개 카타르기(점막염증기), 발작기, 회복기 세 시기로 나누어지고 발작적 기침과 함께 발작 후 구토가 흔하며 심한 경우 경정맥 확장, 안구돌출, 청색증 등이 있을 수 있으며 합병증으로 氣管支肺炎, 氣管支擴張症, 腦出血, 腦炎 등이 발생한다¹². 百日咳는 모체로부터 수동적으로 받는 徑胎盤免疫을 기대할 수 없기 때문에 신생아기부터 이 병에 대한 감수성이 매우 높다. 더욱이 영아에서의 발병은 重症을 나타내며 致命率도 높아 전체 사망자의 약 80%가 생후 1년 이내의 嬰幼兒이다. 또한, 百日咳는

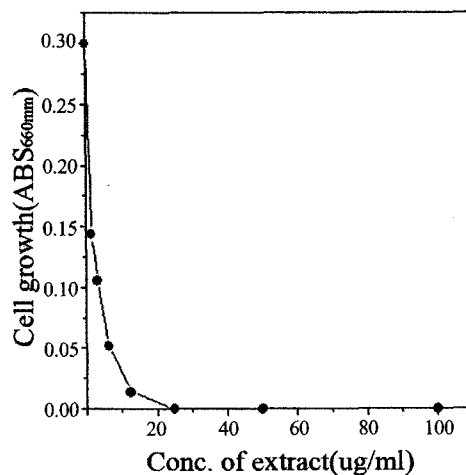


Fig. 1. Minimal inhibitory concentration (MIC) against *B. pertussis* ATCC 9797 with ethanol-soluble extract of *Reynoutria japonica*.

대중 내 전파가 매우 높은 질환으로 주로 증상이 있는 환자로부터 배출되는 호흡기 비말로 인해 전파가 이루어지는데, 면역되지 않은 가족 접촉자들에게 있어서 90~100%의 罹患率⁴이 있다.

百日咳 독은 그람음성균인 *Bordetella pertussis*에서 생성되는 독소로 5개의 subunit로 구성되어 있으며 이는 histamine, serotonin 등에 대한 감수성을 증가시켜 anaphylaxis를 유발시키기도 하고 cold stress나 X-ray 등에 대한 과민 반응을 유발시킨다⁹. 또한, 지방 세포에서의 지방분해를 촉진시키고 췌장의 소도세포(Islet cell)로부터 인슐린의 생성을 증가시켜 저혈당을 유발시키기도 한다.百日咳 독은 이러한 작용 외에 면역기관의 세포에 대해서도 여러 가지 작용을 하는 것으로 알려져 있는데 림프구 증다증이 나타나고 대식 세포의 복강내 이동이 억제되며, 매질의 작용력을 갖고 있어 지연형 과민 반응과 염증 반응이 강화되고 T림프구의 유사분열이 촉진되며 항체생성이 증가된다는 보고가 있다^{10,11}.

한국에서의 百日咳 罹患率은 1984년 이전에는 인구 10만 명당 약 1.9~4.6 명이었으나, 1985년 이후부터는 1.9명 이하로 감소되어 있는 것으로 나타나 있다⁴.百日咳 사백신이 포함된 DTP 백신은 1980년대 초까지 국내에서 광범위하게 사용되어져 왔으나, 1960년 중반이후 이 백신 접종 후 발현되는 發熱, 食慾減退, 심한 보챔, 痙攣 등과 같은 전신부작용 및 일부에서 腦症에 의한 重症의 부작용이 점차 문제화되기 시작하였다⁶. 또한, 자연 발생한 百日咳 후에는 일생동안 면역이 지속되지만, 백신에 의한 면역은 12년이 지나면 항체가 감소하여 결과적으로 청소년과 성인기에 百日咳에 감수성을 보이게 되었다. 이는 백신에 의한 면역은 자연면역에 비해 방어력이 완전하지 못하고, 높은 接種率로 집단 사이에서의 罹患率은 급격히 떨어져 百日咳에 대한 노출이나 booster 효과가 결여되는 문제로 인한 것으로 이에 대한 대체방안이 필요하게 되었다¹³.

이에 논자는 效能 및 主治症에 기초하여 韓藥材 중 百日咳菌의 生育억제효과를 가진 약물을 탐색하게 되었고, 韓藥材 水溶性 및 에탄올 溶解性 抽出物

을 통해 실험해 본 결과 虎杖根에서 가장 우수한 결과를 얻게 되었다.

虎杖根은 蓼科(마디풀과)에 속한 다년생 초본인 虎杖 *polygonum cuspidatum* SIEB. et ZUCC. 또는 王虎杖 *P. sachalinensis* FR. SCHM.의 根莖과 根을 건조한 것으로, 봄과 가을에 채집하여 鬚根을 제거하고 洗淨하여 晒乾한다. 성분은 polygonin, emodin 및 emodin monomethylester 등을 함유하고 있는데, 최근 연구에 의하면 resveratrol, lignan sulfate, piceid 등의 중요 생리활성을 지닌 물질이 함유되어 있음이 밝혀졌다¹⁴. 性은 微寒 無毒하고, 味는 苦하여 祛風利濕, 散瘀定痛, 止咳化痰하는 효능이 있어, 通經하고 瘀阻로 인한 經閉와 風濕痺痛 및 跌撲損傷을 치료한다. 또한, 濕熱黃疸과 淋濁帶下를 치료하고, 淸熱解毒作用을 가지고 있어 水火燙傷이나 瘡癤腫毒, 毒蛇咬傷에 塗敷하여 응용하고, 瀉下通便시키는 작용이 있어 熱結便秘에 사용할 수 있다. 최근 임상에서는 喘息, 高血壓, 癌, 動脈硬化 등에 응용하고 膽石症과 尿路結石에 金錢草를 배합하여 응용한다¹⁵.

예로부터 虎杖根은 감제뿌리(감택불휘)라고 불리며, 『神農本草經』에서는 ‘一名苦杖, 一名大虫杖, 莖如竹筴狀, 上有赤斑點, 處處有之, 二月八月採.’라 하였고, 『東醫寶鑑』에서 ‘性微溫, 味苦無毒, 破留血癥結, 通利月水, 下產後惡血, 排膿, 主瘡癤·癰毒·撲損瘀血, 利小便, 通五淋.’라고 하였다¹⁶. 『名醫別錄』에서는 ‘主通利月水, 破留血癥結.’이라 하였고, 『本草拾遺』에서는 ‘主風在骨節間及血瘀·煮汁作酒服.’라 하였고, 『貴州民間方藥集』을 보면 ‘收斂止血, 治痔瘻, 祛風濕, 發表散寒, 散瘀血, 外用治火傷.’이라 하여 虎杖根의 효능과 주치를 언급하였다¹⁷. 虎杖根에 관한 연구논문을 살펴보면 이¹⁸는 虎杖根에서 emodin성분을 분리하여 혈관신생 억제효과가 있음을 언급하였고, 박¹⁹은 인체에서 화농성 질환, 폐렴, 골수염, 패혈증을 유발시키는 *S.aureus*에 대한 抗菌效果를 실험하여 虎杖根이 이에 대해 강한 抗菌力이 있음을 말하였고, 노²⁰는 그의 논문에서 虎杖根으로부터 분리된 쿠마린계 물질이 NO생성 저해제로 작용하여 NO과다생성으로 비롯되는 염증반응에

의한 조직손상, mutagenesis, 신경조직의 손상 등을 방지하는데 효과가 있다 하였다.

韓藥材 水溶性 및 에탄올 용해성 抽出物(농도 10mg/ml)의 *B. pertussis* ATCC 9797에 대한 抗細菌 활성을 測定한 결과 水溶性 抽出物에서는 별다른 결과를 얻지 못한 반면 에탄올 용해성 抽出物에서는 의미있는 결과를 얻었다. 이중 柏子仁, 桑白皮, 五味子, 五倍子, 鬱金, 肉豆蔻, 益智仁, 破古紙, 黃芩에서는 저조한 生育阻止環을 나타낸 반면 決明子, 苦蔘, 蘇木에서는 우수한 生育阻止環을 나타내었다. 특히 虎杖根은 가장 우수한 生育阻止 활성을 가진 약물이 실험결과 나타났다.

선별된 韓藥材인 虎杖根의 水溶性 및 에탄올 抽出物의 抗細菌 활성을 비교해본 결과 에탄올 용해성 抽出物의 경우는 11.3 ± 0.6 mm의 生育阻止環을 나타낸 반면 水溶性 抽出物의 경우 百日咳 誘發菌에 대한 抗細菌 활성이 나타나지 않았다. 虎杖根 有機溶媒 分劃物의 百日咳 誘發菌에 대한 抗細菌 활성을 測定하기 위해 hexane, chloroform, ethyl acetate fraction에서의 分劃 收率을 비교하였다(Table 3.). 有機溶媒 중 chloroform를 이용하였을 경우 13.6%으로 다른 有機溶媒에 비해 높은 分劃 收率을 나타내었으며, hexane을 이용한 경우 가장 낮은 分劃 收率을 나타내었다. *B. pertussis* ATCC 9797에 대한 虎杖根 有機溶媒 分劃物의 항세균 활성은 hexane의 경우 14.3 ± 1.2 mm, chloroform은 15.7 ± 1.5 mm, ethyl acetate는 9.3 ± 1.5 mm의 抗細菌 활성을 보임으로써 有機溶媒 중 chloroform fraction이 가장 우수한 抗細菌 활성을 나타낸 반면 water fraction에서는 抗菌 활성이 없는 것으로 나타났다.

虎杖根 에탄올 용해성 抽出物의 百日咳 菌株에 대한 MIC를 測定하기 위해 虎杖根 에탄올 용해성 抽出物이 濃度別로 첨가된 液體培地上에서 *B. pertussis* ATCC 9797을 48시간 배양 후 生育程度를 分光光度計를 이용하여 측정하였다. 측정결과 MIC는 $25 \mu\text{g/ml}$ 이었다(Fig. 1.).

이상의 실험 결과를 종합해보면 虎杖根이 *B. pertussis* ATCC 9797에 대한 抗細菌력에 있어서 높

은 活性能을 가지고 있음을 알 수 있었다. 또한, 水溶性 抽出物보다는 에탄올 용해성 抽出物에서 높은 抗細菌 效果를 보였고, 有機溶媒 分劃物의 抗細菌 活性能을 측정한 결과 chloroform fraction이 가장 우수한 抗細菌 활성을 나타내었다. 이상의 결과로 虎杖根은 *B. pertussis* ATCC 9797에 대해 높은 抗細菌 活性能을 보이는 것으로 실험 결과 확인되었으며 *B. pertussis* ATCC 9797의 억제제로써 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

V. 結 論

韓藥材의 效能 및 主治症에 기초한 百日咳 誘發菌 *B. pertussis* ATCC 9797의 生育抑制에 관한 실험을 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

81종 韓藥材의 에탄올 용해성 抽出物(농도 10mg/ml)에서 *B. pertussis* ATCC 9797에 대한 抗菌 活性을 탐색한 결과, 決明子, 苦蔘, 柏子仁, 桑白皮, 蘇木, 五味子, 五倍子, 鬱金, 肉豆蔻, 益智仁, 破古紙, 虎杖根, 黃芩에서 活性을 나타내었고 그중 虎杖根에서 가장 우수한 抗菌 活性을 나타내었다.

虎杖根 水溶性 및 에탄올 용해성 抽出物(농도 10mg/ml)의 抗菌 活性을 측정한 결과, 에탄올 용해성 抽出物에서 11.3 ± 0.6 mm의 生育阻止環을 나타내었으며, 最小 生育 阻止 濃度는 $25 \mu\text{g/ml}$ 이었다. 水溶性 抽出物은 抗菌 活性을 나타내지 않았다.

虎杖根의 hexane, chloroform, ethyl acetate fraction에서 抗菌 活性을 나타내었으며 chloroform fraction에서 가장 높게 나타났다.

이상의 결과를 통하여 虎杖根이 *B. pertussis* ATCC 9797의 抑制劑로 응용될 수 있을 것으로 생각된다.

參考文獻

1. 민홍기, 신광훈, 김순남, 이명숙, 유시형, 김지윤, 강진한. 한국에서의 백일해 면역력에 대한 조사 연구. 대한미생물학회지. 1999;34(6):583-9.

2. 김중근, 고선희. 백일해 독이 림프절 B 림프구의 분화에 미치는 영향. 한국면역학회지. 2000; 22(2):71-9.
3. 황호춘, 조도현, 임윤규. ELISA을 이용한 정제 백일해백신의 역가검정. Korea J. of Lab. Ani. Sci. 1996;12(1):135-9.
4. 손영모. 예방접종(디프테리아, 파상풍, 백일해). 대한의학협회지. 1991;34(3):242-6.
5. 보건복지부. 우리나라 예방접종사업의 평가 연구. DPT접종의 평가. 1995:105-32.
6. Barkin RM, Pichichero ME. Diphtheria-pertussistetanous vaccine: reactogenicity of commercial products. *Pediatrics*. 1991;63:260-5.
7. Mink CM, Cherry J, Christenson P, et al. A search for *Bordetella pertussis* infection in university students. *Clin infect Dis*. 1992;14: 464-71.
8. Vastano BC, Chen Y, Zhu N, Ho C, and Rosen RT. Isolation and identification of stilbenes in two varieties of *Polygonum cuspidatum*. *J. Agric. Food Chem*. 2000;48:253-6.
9. Sekura RD, Zhang YL. Pertussis toxin: structural elements involved in the interaction with cells. in pertussis toxin(ed Sekura RD). Orlando. Acardemic Press. 1985:45-64.
10. Kong AS, Morse SI. The in vitro effects of *Bordetella pertussis* lymphocytosis-promoting factors on murine lymphocytes. *J. Exp. Med*. 1977;145:151-62.
11. Munoz JJ, et al. Elicitation of experimental allergic encephalomyelitis in mice with the aid of pertussigen. *Cell. Immunol*. 1984;83: 92-100.
12. 해리슨. 내과학. 해리슨내과학 편찬위원회. 서울:정담; 1997, p.705-8.
13. Mortimer EA, et al: Protective efficacy of the takeda acellular pertussis vaccine combined with diphtheria and tetanus toxoids following household exposure of Japanese children. *Am J Dischild*. 1990;144:899-904.
14. Chen, L. Han, Y. Yang, F. and Zhang, T. High-speed counter-current chromatography separation and purification of resveratrol and piceid from *Polygonum cuspidatum*. *J. Chromatogr. A* 907. 2001:343-6.
15. 全國韓醫科大學 本草學教授 共著. 本草學. 서울: 영림사; 1995, p.420-1.
16. 許浚. 東醫寶鑑. 서울:법인문화사; 1999, p.1962.
17. 高本釗. 新編中藥大辭典(冊二). 臺北:新文豐出版公司; 1976, p.127-9.
18. 이태규 외. 호장근으로부터 분리된 emodin의 혈관신생 억제활성. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol*. 2003;46(1):50-4.
19. 박영식 외. 수종의 한약제로 제조한 Tar의 항균 작용에 관한 연구. *경희약대논문집*. 1984;12:61-5.
20. 노태철 외. 호장근의 쿠마린에 의한 RAW 264.7 세포주의 nitric oxide 생성 저해활성. *생약학회지*. 2001;32(3):181-8.
21. 서울대학교 의과대학 편. 호흡기학, 서울, 서울대학교출판부. 1986:145-58.
22. 이현옥, 한규용, 한동민. 참죽 정유의 항세균 및 항진균 효과. *한국식물학회지*. 1999;12(6):559-63.
23. 이홍용, 김치경, 성태경, 문택규, 임치주. 유백피 추출물의 항세균 작용. *한국미생물생명공학회지*. 1992;20(1):1-5.
24. 조재용, 최 일, 황의경. *Escherichia coli*에 대한 한약재추출물의 항균활성. *대한수의학회지*. 2003; 43(4):625-31.
25. 지원대, 서수교, 곽동주, 김성영, 백경연, 정영진. 구강균에 대한 각종 한약재의 증식 억제. *한국위생과학회지*. 1997;3(1~2):21-30.
26. 최성배. 백일해 예방약의 백혈구 증가 인자에 관한 연구. *대한미생물학회지*. 1985;20(1):109-13.
27. Noel R. Krieg. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 1984;1:391-2.