J. Toxicol. Pub. Health
Vol. 22, No. 4, pp. 453-458 (2006)

Official Journal of
Korean Society of Toxicology
Available online at http://www.toxmut.or.kr

# 마우스에 대한 Surfactin C의 급성경구독성시험

박병권[1] · 임종환[2] · 황윤환[1] · 김명석[1] · 송인배[1] · 이홍기[1] · 한성진[1] · 황미현[3]
김종우[2] · 이만휘[3] · 박승춘[3] · 윤효인[1]
[1]충남대학교 수의과대학, [2]비엔씨바이오팜, [3]경북대학교 수의과대학

# Acute Oral Toxicity of Surfactin C in Mice

**Byung-Kwon Park[1], Jong-Hwan Lim[2], Youn-Hwan Hwang[1], Myung-Seok Kim[1], In-Bae Song[1], Hong-Gee Lee[1], Sung-Jin Han[1], Mi-Hyun Hwang[3], Jong-Woo Kim[2], Seong-Chun Park[3], Man-Hee Rhee[3] and Hyo-In Yun[1]**

*[1]College of Veterinary Medicine, Chungnam National University, Daejeon 305-764*
*[2]B&C Biopharm, IAE Building, Yongin, Gyeonggido 449-863*
*[3]College of Veterinary Medicine, Kyoungbuk National University, Daegu, Korea*

*Received August 30, 2006; Accepted October 8, 2006*

**ABSTRACT.** This study was carried out to investigate the acute toxicity of surfactin C in mice. Surfactin C was administered orally at does of 0, 381, 610, 977, 1562 and 2500 mg/kg. Number of deaths, clinical signs, body weights, feed and water consumptions, and biochemical examinations were investigated for 14 days after single oral administration of surfactin C. $LD_{50}$ value was over 2500 mg/kg in mice. In addition, no differences were found between control and treated groups in clinical signs, body weight gains, hematology, serum chemistry, feed and water consumptions. The results indicate that surfactin C did not show any toxic effects at 2500 mg/kg in mice.

**Keywords:** Acute oral toxicity, Surfactin, $LD_{50}$, Mouse.

## 서 론

생물계면활성제는 효모나 세균 등에 의해 생산되는 계면활성을 나타내는 물질로, 화학계면활성제와는 달리 생분해성이며, 낮은 독성을 나타내고 극한의 온도 및 pH에서도 효과적으로 작용하는 것으로 알려져 있다(Desai and Banat, 1997; Cameotra and Makkar, 2004). Surfactin은 Arima *et al.*(1968)이 *Bacillus subtilis*에서 1968년도에 분리한 강력한 표면장력완화작용을 나타내는 지질 단백질로서 항암효과, 콜레스테롤 저감효과 및 혈전분해효과, 항진균 및 항균활성, 항마이코플라즈마 활성 등의 많은 생리 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Tsukagoshi *et al.*, 1970; Cooper *et al.*, 1979; Vollenbroich *et al.*, 1997).

Correspondence to: Hyo-In Yun, Lab of Veterinary Pharmacology & Toxicology, College of Veterinary Medicine, Chungnam National Univeristy, 220 Gung-dong, Yuseong-gu, Deajeon 305-764, Korea
E-mail: hiyun@cnu.ac.kr

Surfactin은 구조적으로 생리적 활성이 다른 여러 개의 isoform으로 구성되며, Kanatomo *et al.*(1995)은 지방산의 사슬길이 및 구조에 따라 Surfactin A, Surfactin B, Surfactin C 및 surfactin D로 분류하였으나, 더 많은 isoform이 존재할 것으로 여겨지고 있다. 이러한 surfactin isoform 중, surfactin C는 플라미즈노겐 구조의 변화에 기인하는 혈전용해효과를 증가시키며, 혈소판응집억제 활성을 갖는 것으로 알려져 있다(Kikuchi *et al.*, 2002; Lim *et al.*, 2005). 최근 보고에 따르면, surfactin C는 cyclooxygenase(COX)-2, interleukin(IL)-1beta 및 inducible nitric oxide synthase(iNOS) 등의 염증매개인자를 억제하며, 메치실린 내성 포도상구균에 대한 높은 감수성을 나타내었다(Hwang *et al.*, 2005a, b). 이러한 다양한 생리활성 때문에 surfactin은 화장품 공업, 약품공업 및 기타 산업분야에서 관심의 대상이 되고 있으며, 이에 따른 surfactin의 생산 및 surfactin의 새로운 응용분야에 대한 연구가 활발히 연구되고 있다. 그러나, surfactin C의 독성에 대한 생체 반응 및 변화 등에 관한 연구는 전무하였

다. 따라서 본 연구에서는 한국된장에서 분리한 *Bacillus subtilis* BC1212로부터 추출한 surfactin C의 급성독성을 평가하여 sufractin C의 안전성을 확보하고자 ICR 마우스를 이용하여 급성경구독성시험을 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 시험물질

한국된장에서 분리한 *Bacillus sbutilis* BC1212의 배양액에서 시험물질인 surfactin C는 임(2005) 등의 방법에 따라 추출 및 정제하였다.

### 시험동물

4주령의 특정병원체부재 ICR 마우스(수컷 26.9±2.0 g, 암컷 23.5±2.0 g)는 대한바이오링크 (음성, 한국)에서 분양받았으며, 1주일간의 순화사육기간 동안 일반증상을 관찰하여 건강한 개체를 시험에 공시하였다. 순화 및 시험기간 중에 사육환경은 온도 22.3±1.0°C, 상대습도 51.5±0.6%, 환기횟수 13~18회/hr, 조명시간은 12시간(오전 07:00~오후 07:00), 조도 200~300 Lux의 조건으로서 유지하였으며,?폴리카보네이트 사육상자(260×200×120 $mm^3$)에 5마리씩 넣고 대팻밥 깔집을 깔아 사육하였다. 실험 동물용 고형사료(샘타코, 오산)와 음수(상수도수)는 자유 급여시켰다.

### 군분리 및 투여용량의 설정

시험동물의 군분리는 체중을 기준으로 무작위법을 이용하여 실시하였으며, 용량군당 암수 각각 5마리씩 배치하였다. 동물의 개체식별은 꼬리에 유성매직으로 표시한 일련번호에 의하였다. 최고 투여 용량 설정은 예비 실험을 토대로 하여 최대용량은 2500 mg/kg로 설정하였으며, 1.6의 공비로 4개의 용량군(2500 mg/kg, 1562 mg/kg, 976 mg/kg 및 610 mg/kg)과 대조군을 설정하였다.

### 시험물질의 투여

시험물질인 surfactin C는 생리식염수에 균일하게 현탁되도록 시험 당일에 조제하였으며, 시험동물은 투여개시 4시간 전부터 절식시킨 후 시험물질을 투여하였다. 투여액량은 체중 1 kg 당 5 ml로 설정하였으며, 시험물질의 투여는 마우스용 금속제 존데를 이용해서 체중측정치 기준으로 1회 강제 경구 투여하였다.

### 임상관찰 및 사망동물 수

모든 시험동물에 대한 임상증상관찰 및 사망동물수는 투여 당일에는 투여 후 10분, 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 및 4시간 간격으로, 익일부터는 14일까지는 매일 2회 이상 관찰하였다. 치사동물이 발견되었을 때에는 즉시 부검을 실시하였다.

### 체중, 사료 및 음수 섭취량

공시된 모든 동물에 대하여 투여 당일 및 투여 후 생존동물에 대하여 1, 3, 7일 및 14일째 개체별 체중을 측정하였으며, 사료 및 음수 섭취량은 7, 14일에 사육상자당 사료 및 음수섭취량을 측정하였다.

### 혈액학적 및 혈청생화학적 검사

생존 동물은 관찰기간 종료 후 ether를 이용하여 마취시킨 후 후대정맥을 통해 혈액을 채취한 후 경추탈골법으로 살처분하였다. 채취한 혈액에 대한 혈액학적검사는 자동혈구측정기를 이용하여 측정하였고, 혈청생화학적검사는 자동생화학분석기를 이용하여 측정하였다.

### 부검소견 및 병리조직학적 검사

시험종료 후 생존동물은 ether를 이용하여 마취시킨 후 방혈 치사시켜서 육안적 장기이상 유무를 관찰하였다. 육안적으로 이상징후가 발견된 장기는 병리조직학적 검사를 추가적으로 실시하였다.

### 통계학적 처리

시험결과는 평균값과 표준편차로 표기하였으며, 통계학적 분석은 통계처리 computer program인 SPSS를 이용하였으며, 대조군과 시험군간의 체중변화, 사료와 음수 섭취량, 혈액학치 및 혈액생화학치에 대해서 일원배치분산분석(one-way analysis of variance, ANOVA)을 실시하였으며 통계학적 유의성이 관찰되는 항목은 post-hoc test로 Duncan's multiple comparison test를 실시하였다. 이때 통계학적 유의 수준 $P < 0.05$로 설정하였다. 비모수인 경우 분산에 대하여 Kruskal-Wallis nonparametric analysis를 실시하였다.

## 결 과

### 체중변화

시험기간 동안 사료 및 음수의 섭취량은 대조군과 비교하여 통계학적 유의성을 나타내지 않았으며, 시험물질에 의한 사료 및 음수 섭취량에 대한 어떠한 영향도 관찰되지 않았다. 또한 시험 기간 동안 두 군의 개체들에게서 체중이 증가 하는 경향을 나타내었으며, 모든 개체들에게서 시험 물질에 기인한 체중 변화는 관찰되지 않았다 (Table 1).

**Table 1.** Body weight changes in male and female mice after a single oral administration of surfactin C

| Dose groups (mg/kg) | Body weight at the indicated time post dosing (g)[a] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Day 1 | Day 3 | Day 7 | Day 14 |
| Male | | | | |
| 0 | 26.70 ± 1.54 | 27.28 ± 1.60 | 30.58 ± 2.69 | 31.46 ± 1.83 |
| 610 | 26.82 ± 1.62 | 27.59 ± 1.65 | 31.38 ± 1.85 | 32.46 ± 1.53 |
| 976 | 26.96 ± 1.29 | 27.74 ± 1.34 | 31.12 ± 1.50 | 32.00 ± 0.53 |
| 1562 | 26.96 ± 1.39 | 27.66 ± 1.47 | 30.88 ± 0.58 | 32.48 ± 1.04 |
| 2500 | 27.10 ± 1.10 | 27.64 ± 1.13 | 28.74 ± 0.98 | 29.88 ± 0.93 |
| Female | | | | |
| 0 | 23.40 ± 1.13 | 23.95 ± 1.21 | 25.28 ± 1.63 | 25.30 ± 0.96 |
| 610 | 23.60 ± 0.80 | 24.28 ± 0.82 | 24.64 ± 0.61 | 25.04 ± 0.61 |
| 976 | 23.38 ± 1.38 | 24.05 ± 1.40 | 24.06 ± 1.48 | 24.92 ± 1.22 |
| 1562 | 23.82 ± 1.45 | 24.44 ± 1.45 | 24.74 ± 2.05 | 25.82 ± 1.76 |
| 2500 | 23.22 ± 0.79 | 23.68 ± 0.80 | 23.34 ± 1.00 | 24.10 ± 0.86 |

[a]Values are presented as mean ± S.D. (n = 5).

**Table 2.** Accumulative mortality in male and female mice after a single oral administration of surfactin C

| Dose groups (mg/kg) | Number of died animals at the indicated time post dosing (died animals/total observed animlas) | | | | | Total[a] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Day 0 | Day 1 | Day 3 | Day 7 | Day 14 | |
| Male | | | | | | |
| 0 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| 610 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| 976 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| 1562 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| 2500 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/50/5 | |
| Female | | | | | | |
| 0 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| 610 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| 976 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| 1562 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| 2500 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 |

[a]Total mortalities during 14 days of observation periods, died animals/total observed animals (n = 5).

### 일반증상 및 사망률

본 시험에서 surfactin C 제제를 경구 투여하였을 때 설정 농도인 2500 mg/kg에서 치사한 개체가 관찰되지 않았다(Table 2). 따라서 본 시험물질의 최소치사량(minimum lethal dose, MLD)은 2500 mg/kg 이상으로 나타났다. 또한 시험물질에 투여에 의한 일반적인 중독 증상인 침울, 운동 감소, 경련, 보행 이상, 진전 등의 어떠한 증상도 관찰되지 않았다(Table 3).

### 부검소견 및 혈청 생화학적검사

시험 종료 후 시험군과 대조군의 모든 동물을 살처분하여 실시한 부검결과, 모든 장기에서 독성작용에 의한 이상 소견은 관찰되지 않았다. 혈액학적 검사 및 혈청 생화학적 검사에서는 시험군 및 대조군 개체간에서 미묘한 차이가 있었으나, 시험군과 대조군 모두 정상 수치 내의 값으로 혈액학적 검사 및 혈청생화학적 검사에서도 시험물

**Table 3.** Clinical findings in male and female mice after a single oral administration of surfactin C (n = 5)

| Dose group (mg/kg) | Findings | Days after treatment | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| Male | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | Appear normal | 5[a] | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 610 | Appear normal | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 976 | Appear normal | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 1562 | Appear normal | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 2500 | Appear normal | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Female | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | Appear normal | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 610 | Appear normal | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 976 | Appear normal | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 1562 | Appear normal | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 2500 | Appear normal | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |

**Table 4.** The values of serum biochemical parameters in mice after single oral administration of surfactin C

| Parameters[a] | Dose groups (mg/kg) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 0 | | 2500 | |
| | Male | Female | Male | Female |
| L D H (unit/l) | 1899.00 ± 216.28 | 1934.80 ± 196.82 | 1963.00 ± 163.18 | 1875 ± 171.19 |
| CREA (mg/dl) | 0.42 ± 0.18 | 0.42 ± 0.15 | 0.52 ± 0.15 | 0.36 ± 0.15 |
| TBIL (mg/dl) | 0.42 ± 0.19 | 0.64 ± 0.19 | 0.74 ± 0.11 | 0.54 ± 0.30 |
| TP (g/dl) | 5.32 ± 0.39 | 5.76 ± 1.02 | 5.42 ± 0.78 | 5.42 ± 0.58 |
| AST (unit/l) | 170.80 ± 41.15 | 160.60 ± 31.93 | 189.60 ± 23.65 | 169.00 ± 40.48 |
| BUN (mg/dl) | 27.20 ± 3.42 | 25.20 ± 4.60 | 24.60 ± 2.79 | 26.00 ± 6.44 |
| ALKP (unit/l) | 152.80 ± 25.16 | 132.20 ± 13.70 | 140.80 ± 15.83 | 163.80 ± 34.92 |
| ALT (unit/l) | 74.40 ± 7.02 | 65.60 ± 6.11 | 69.40 ± 11.15 | 76.00 ± 18.18 |

[a]Values were expressed as mean ± S.D. (n = 5). LDH, lactate dehydrogen; CREA, creatinine; TBIL, total bilirubin; TP, total protein; AST, .aspartate aminotransferase; BUN, blood urea nitrogen; ALKP, alkaline phosphatase; ALT, aminotransferase.

**Tabel 5.** Hematological values in ICR mice for 2 weeks after single oral administration of surfactin C

| Hematological parameters[a] | | Dose groups (mg/kg) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 | | 2500 | |
| | | Male | Female | Male | Female |
| Leukocyte | WBC (m/mm$^3$) | 3.70 ± 1.75 | 4.53 ± 2.31 | 3.70 ± 1.41 | 3.67 ± 2.47 |
| | Lym (%) | 75.30 ± 10.85 | 85.87 ± 4.61 | 83.39 ± 3.33 | 80.74 ± 4.80 |
| | Mon (%) | 9.50 ± 1.67 | 5.41 ± 1.71 | 6.95 ± 1.53 | 6.66 ± 0.83 |
| | N/Gr (%) | 9.46 ± 1.82 | 3.87 ± 1.51 | 5.69 ± 1.37 | 6.16 ± 3.42 |
| | Eos (%) | 3.42 ± 3.39 | 3.08 ± 2.55 | 2.41 ± 2.11 | 3.91 ± 2.48 |
| | Bas (%) | 0.36 ± 0.34 | 0.29 ± 0.18 | 0.39 ± 0.12 | 0.29 ± 0.15 |
| | Others (%) | 1.84 ± 0.87 | 1.48 ± 0.67 | 1.31 ± 0.40 | 2.17 ± 0.71 |
| Erythrocyte | RBC (m/mm$^3$) | 8.68 ± 0.86 | 8.82 ± 1.17 | 9.10 ± 0.63 | 8.38 ± 1.02 |
| | MCV (fl) | 52.62 ± 1.49 | 51.72 ± 2.25 | 50.79 ± 2.42 | 51.81 ± 1.85 |
| | Hct (%) | 45.70 ± 4.76 | 45.69 ± 6.62 | 46.15 ± 2.89 | 43.50 ± 6.12 |
| | MCH (pg) | 16.20 ± 0.29 | 16.06 ± 0.65 | 15.71 ± 0.66 | 16.64 ± 3.30 |
| | MCHC (g/dl) | 30.80 ± 0.09 | 31.07 ± 1.80 | 30.99 ± 0.84 | 32.21 ± 6.67 |
| | Hb (g/dl) | 14.06 ± 1.35 | 14.17 ± 1.90 | 14.29 ± 0.95 | 13.82 ± 2.08 |
| Thrombocytes | THR (m/mm$^3$) | 614.00 ± 31.20 | 638.5 ± 72.74 | 756.00 ± 62.26 | 634.38 ± 79.81 |
| | MPV (fl) | 7.40 ± 1.57 | 7.81 ± 2.29 | 7.39 ± 0.79 | 7.02 ± 1.22 |

[a]Values were expressed as mean ± S.D. (n = 5). WBC, white blood cell; Lym, lymphocyte; Mon, monocyte; N/Gr, nucleated granulocyte; Eos, eosinophil; Bas, basophil; RBC, red blood cell; MCV, mean corpuscular volume; Hct, hematocritt; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; Hb, hemoglobin; THR, thrombocyte; MPV, mean platelet volume.

질에 의한 독성작용을 확인되지 않았다(Table 4, 5).

## 고 찰

과거 수십년간 미생물 유래 생물계면활성제는 그들이 갖는 생분해성, 낮은 독성, 생태학적 적합성 및 낮은 생산비 등의 이유에 의해 꾸준한 관심을 받고 있다(Desai and Banat, 1997; Cameotra and Makkar, 2004). 본 연구에서는 surfactin C에 대한 안전성 평가의 일환으로 반복투여시 발현될 수 있는 급성독성을 평가하기 위하여 마우스의 급성 경구 독성시험을 실시하였다.

Surfactin C의 단회 경구투여에 의한 독성을 평가하기 위해 암수 모두 대조군 및 시험물질 2500 mg/kg, 1562 mg/kg, 976 mg/kg 및 610 mg/kg 투여군으로 설정하여 ICR 마우스에 투여한 후 2주간 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰하였다. 본 시험에서 시험물질 투여에 기인한 어떠한 중독증상도 관찰되지 않았다. 대조군 및 최대투여용량인 2500 mg/kg 투여군간의 혈액학적 및 혈청생화학적 수치간의 차이가 관찰되었으나, 이러한 차이들은 시험물질에 기인한 원인이 아니라 동물 실험에서 일반적으로 관찰될 수 있는 개체간의 차이로 정상범위에 속함으로 무시할 수 있는 소견으로 사료된다(Yamashita *et al.*, 1992).

Oka *et al.*(1993)은 surfactin C는 일본 전통식품인 "나

토"에 상대적으로 많은 양인 약 0.3 g/g으로 포함되어 있으며, 일본인 1일 평균 약 10 mg의 surfactin C(나토로서 약 30 g)을 섭취하나 건강상의 이상을 나타내지 않는 것으로. Arima *et al.*(1968)은 *Bacillus subtilis*에서 분리한 surfactin의 단회 경구 투여에 따른 $LD_{50}$이 4 g/kg 이상으로 매우 안전한 물질로 보고하였다. 그러나, surfactin이 갖는 강력한 표면장력완화작용에 의해 체내로 흡수될 경우 용혈등의 부작용을 나타내기 때문에 근육주사 및 정맥주사시 $LD_{50}$은 각각 200 mg/kg 및 100 mg/kg로 알려져있다(Arima *et al.*, 1968; Kikuchi and Hasumi, 2002). 이러한 투여경로에 따른 독성의 차이는 surfactin의 생체내 흡수율에 따른 것으로 사료된다. 최근 임 등(2005)의 투여경로에 따른 surfactin C의 생체내 이용률에 대한 연구에서 정맥, 근육 및 피하주사 후에 surfactin C는 빠른 속도로 소실을 나타내었으나, 경구투여에 의한 surfactin C는 매우 낮은 생체이용률을 나타내는 것으로 보고된 바 있다. 본 연구에서 급성 경구 독성시험에서의 투여용량은 생체이용률에 관한 시험의 투여용량에 비해 매우 높은 용량이나, surfactin C 자체의 낮은 생체이용률 때문에 미량이 생체내에 흡수되었을 것으로 예측되며, 그로 인해 특이한 독성증상은 관찰되지 않은 것으로 판단된다. 대체적으로 surfactin C를 비롯한 대부분의 미생물 유래 생물계면활성제들은 낮은 독성을 나타내는 것으로 알려져 있으나, 이는 이들의 낮은 생체이용률에 기인하는 것으로 판단된다.

Surfactin C에 대한 급성독성시험 결과, 최대투여용량인 2500 mg/kg 투여 시에도 치사한 개체가 없었으므로 surfactin C의 $LD_{50}$ 값은 ICR 마우스에서 수컷과 암컷 모두 2500 mg/kg 이상으로 나타났다. 또한, 모든 관찰 항목에서 특이한 이상이나 변화가 관찰 되지 않았으므로 surfactin C는 2500 mg/kg 이하의 용량에서 독성이 발현되지 않는 안전한 물질로 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21 사업(과제번호: 20050301034427)의 지원에 의해 이루어진 것임.

## 참고문헌

Arima, K., Kakinuma, A. and Tamura, G. (1968): Surfactin, acrystalline peptidelipid surfactant produced by *Bacillus subtilis*: isolation, characterization and its inhibition of fibrin clot formation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **31**, 488-494.

Cameotra, S.S. and Makkar, R.S. (2004): Recent applications of biosurfactants as biological and immunological molecules. *Curr. Opin. Microbiol.*, **7**, 262-266.

Cooper, D.G., Macdonald, C.R., Duff, S.J.B. and Kosaric, N. (1981): Enhanced production of surfactin from *Bacillus subtilis* by continuous product removal and metal cation additions. *Appl. Environ. Microbiol.*, **42**, 408-412.

Cooper, D.G., Zajic, J.E. and Gerson, D.F. (1979): Production of surface-active lipids by *Corynebacterium lepus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 4-10.

Desai, J.D. and Banat I.M. (1997): Microbial production of surfactant and their commercial potential. *Microbiol. Mol. Biol.*, **61**, 47-64.

Hwang, M.H., Lim, J.H., Kim, K.S., Rhee, M.H., Kim, N.W., Kim, J.C. and Park, S.C. (2005a): Antibacterial activity *In vitro* and primary dermal irritationtest in rabbits of surfactin produced in *Bacillus subtilus* complex BC2121. *J. Toxicol. Pub. Health*, **20**, 39-43.

Hwang, M.H., Lim, J.H., Yun, H.I., Rhee, M.H., Cho, J.Y., Hsu, W.H. and Park, S.C. (2005b): Surfactin C inhibits the lipopolysaccharide-induced transcription of interleukin-1beta and inducible nitric oxide synthase and nitric oxide production in murine RAW 264.7 cells. *Biotechnol Lett.*, **27**, 1605-1608.

Kameda, Y. Matsui, K., Kato, H., Yamada, T. and Sagai, H. (1972): Antitumor activity of Bacillus natto. 3. Isolation and characterization of a cytolytic substance on Ehrlich ascites carcinoma cells in the culture medium of Bacillus natto KMD 1126. *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 1551-1557.

Kanatomo, S., Nagai, S., Ohki, K. and Yasuda, Y. (1995): Study on surfactin, a cyclic depsipeptide. I. Isolation and structure of eight surfuctin analogs produced by Bacillus natto KMD 2311. *Yakugaku. Zasshi.*, **115**, 756-764.

Kikuchi, T. and Hasumi, K. (2002): Enhancement of plasminogen activation surfactin C: augmentation of fibrinolysis *in vitro* and *in vivo*. *Biochem. Biophys. Acta.*, **1596**, 234-245.

Lim, J.H., Park, B.K., Kim, M.S., Hwang, M.H., Rhee, M.H., Park, S.C, and Yun, H.I. (2005): The anti-thrombotic activity of surfactin. *J. Vet. Sci.*, **6**, 353-355.

Lim, J.H., Kim, M.S., Park, B.K., Hwang, Y.H., Hwang, M.H., Park, S.C. and Yun, H.I. (2005): Systemic availability and pharmacokinetics of surfactin, a lipopeptide produced by *Bacillus subtilis* BC1212 in rats. *J. Toxicol. Pub. Health*, **21**, 319-323.

Oka, K., Hirano, T., Homma, M., Ishii, H., Murakami, K., Mogami, S., Motizuki, A., Morita, H., Takeya, K. and Itokawa, H. (1993) Satisfactory separation and MS-MS spectrometry of six surfactins isolated from *Bacillus subtilis* natto. *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 1000-1002.

Toraya, T., Maoka, T., Tsuji, H. and Kobayashi, H. (1995): Purification and structural determination of an inhibitor of starfish oocyte maturation from a *Bacillus* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 1799-1804.

Tsukagoshi, N., Tamura, G. and Arima, K. (1970): A novel protoplast-bursting factor (surfactin) obtained from bacillus subtilis IAM 1213. II. The interaction of surfactin with bacterial membranes and lipids. *Biochim. Biophys. Acta.*, **196**, 211-214.

Vollenbroich, D., Pauli, G., Ozel, M. and Vater, J. (1997): Antimycoplasma properties and application in cell culture of surfactin, a lipopeptide antibiotic from *Bacillus subtilis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 44-49.

Yamashita, K., Nakano, S., Kuwata, M., Yada, H., Irimura, K., Morinaga, H. and Morita, K. (1992): Single dose toxicity studies of suplatast tosilate (IPD-1151T). *J. Toxicol. Sci. Jpn.*, **17**, 1-9.

Zbinden, G. and Flury-Roversi, M. (1981): Significance of the $LD_{50}$-test for the toxicological evaluation of chemical substances. *Arch. Toxicol.*, **47**, 77-99.