

질편모충에 대한 고삼(*Sophora flavescens*)의 약제효과에 따른 미세구조적 변화

경희대학교 의과대학 기생충학교실

최원규 · 조유정 · 주종필

In vitro Effect of *Sophora flavescens* on the Ultrastructure of *Trichomonas vaginalis* Donne

Won-Gyu Choi, M.D., Yoo-Joung Cho, Ph.D. and Jong-Phil Chu, M.D.

Department of Parasitology, College of Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea

Background : *Trichomonas vaginalis* is a pathogenic protozoa infecting human genitourinary tract. Metronidazole is currently the drug of choice to treat *T. vaginalis* infection. However, because of the side effects and the occurrence of resistant strains of metronidazole, it is needed to investigate alternatives.

Methods : The antiprotozoal effect of aquatic extract from *Sophora flavescens* on the growth and fine structure of *T. vaginalis* was examined by using trypan blue exclusion assay and electron microscopy.

Results : One hour after the addition of 4 mg/mL extract and half hour after the addition of 5 mg/mL showed antiprotozoal effect. One to two hours after the addition of 3 mg/mL extract, the movement of

flagella and axostyle had disappeared, but death of the cells had not occurred until two hours after the addition. The fine structure of the cytoplasm was also changed half an hour to two hours after addition. The number of polyribosome decreased when that of single ribosomes in the cytoplasm increased.

Conclusion : These results indicated that *S. flavescens* had the antiprotozoal effect on *T. vaginalis* by inhibition of cell multiplication as well as an impairment of protein synthesis. (Korean J Infect Dis 34: 248~254, 2002)

Key Words : *Trichomonas vaginalis*, *Sophora flavescens*

서론

질편모충(*Trichomonas vaginalis*)은 성행위로 전파되는 기생충 질환으로 사람의 비노생식기에 서식한다. 요도염, 질염, 전립선염을 일으키는 원인 중 하나이며, 경부암, 비특이성 골 반염 및 불임과도 관련이 있는 것으로 보고되고 있다¹⁾. 해마다 세계적으로 17억 정도에 해당되는 여성이 이에 감염되는 것으로 추정되며, 남성의 경우에는 무증상인 경우가 많아 남자 환자의 처리가 전파 예방에 더 큰 효과가 있는 것으로 보

고되었다²⁾.

1950년대 이후 metronidazole과 같은 약제의 개발로 이 질환의 치료 및 관리에 비교적 좋은 효과를 얻고 있으나 이 약제에 내성을 갖는 질편모충이 근래에 보고되고 있어 이의 치료에 적신호를 비쳐주고 있다^{3, 4)}.

한편 한약 제재로 오래 전 한의학 문헌에 기재되어온 약제들 중 고삼(*Sophora flavescens*)은 고련피(*Melaleuca azedarach*), 빈랑(*Areca catechu*) 등과 같이 청열조습(淸熱燥濕)약의 범주에 속하는데 세균성, 진균성 및 기생충성 질염의 치료제로 사용하여 왔으며, 특히 고삼의 성분에는 d-matrine, d-oxy-matrine 등 여러 성분이 있는 것으로 알려져 있다⁵⁾. 그러나 이러한 약제들의 약리 작용에 대해서 알려진 바가 없으므로 고삼의 질편모충에 대한 효과를 관찰하고자 하였다. 한

접수: 2002년 4월 11일, 승인: 2002년 7월 31일
교신저자: 주종필, 경희대학교 의과대학 기생충학교실
Tel: 02)961-0919, Fax: 02)967-8401
E-mail: cjp@khu.ac.kr

의학에서 부인과 질환 중에서 대하증에 청열(淸熱), 이수(利水), 살충, 지양(止痒)을 치료할 목적으로 사용하여 온 고삼의 질편모충에 대한 항원충 작용을 시간과 농도에 따라 전자현미경으로 관찰하였으며, 나아가 약제의 효과가 확인된 후 그 활성 성분을 규명하여 임상에 적응시키는데 기초 자료를 제공하고자 이 연구를 시도하였다.

재료 및 방법

1. 질편모충의 배양

실험실에서 계대 배양해 온 질편모충(KT4)을 37℃, 5% CO₂ 조건하에서 TYM (Trypticase Yeast extract Maltose, pH 7.0) 배지에서 배양하여 실험에 사용하였다.

2. 한약제의 고농축액 제조

경희의료원 한방 약제과에서 검인된 약을 엄선 구입하여 사용하였다. 먼저 5 L 플라스크에 증류수 1,500 mL를 넣은 후 고압멸균기에서 150℃, 3 kg/cm³의 조건으로 1시간 가압 멸균하였다. 이후 고삼(97.5 g)을 세척하여 진탕기(Misung Scientific Co. Korea)에 넣은 후 3시간 진탕하였다. 진탕액을 감압 농축하고, 농축한 용액을 원심분리기(IEC Centra-8R, USA)로 3,000 rpm, 4℃의 조건 하에서 15분간 원심 분리하여 상층액을 취하였다. 상층액을 멸균된 200 mL 플라스크에 넣은 후 다시 membrane filter (pore size; 0.22 μm)로 제균한 뒤 건조시킨 분말을 4℃에서 냉장 보관하면서 실험 직전에 메탄올에 녹여 실험에 사용하였다.

3. 질편모충에 대한 한약제의 효과 검사

(1) 생존율 검사

배양 질편모충 3.0×10⁶에 고삼 분말을 메탄올에 녹여 최종 농도가 0, 2, 3, 4, 5, 6 mg/mL가 되게 하여 37℃로 CO₂

배양기에서 1, 1.5, 2, 2.5, 3시간 동안 배양하였다. 이후 각 시간대 별로 도립현미경하에서 세포 생존을 검사인 trypan blue exclusion 방법으로 관찰하였다.

(2) 전자현미경 관찰

각 시간별, 농도별 실험군은 전자현미경 관찰을 위하여 2,000 rpm으로 5분간 원심분리한 후 상층액을 버리고 2.5% glutaraldehyde에 4시간 고정하였다. 이후 PBS로 세척한 후 1% osmium tetroxide (pH 7.4)로 2시간 동안 후고정시킨 다음, 알코올로 탈수시키고 SEM과 TEM을 위한 실험을 하였다.

① 주사전자현미경 관찰을 위하여 위의 과정 이후 iso-amylacetone로 처리하고 critical point dryer로 건조시킨 후 colloidal silver로 aluminium stab에 부착시키고 JEC-1, 100 ion coater에서 200Å의 두께로 gold coating 하였다. 관찰은 JSM-35C 주사전자 현미경으로 20 KV에서 실시, 관찰하였다.

② 투과전자현미경 관찰을 위하여 위의 과정 이후 propylene oxide로 치환한 후 Epon 812에 포매하였다. 조직을 LKB III ultratome으로 1 μm의 초박절편을 작성하여 alkali toluidin blue로 염색하고, 관찰부위를 결정한 후 40~60 nm의 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색 하고, Hitachi H 600Å 전자현미경으로 가속전압 60~80 kV에서 관찰하였다.

결 과

1. 질편모충 생존율 검사

고삼을 배양 질편모충에 농도별 처리한 결과 3시간 동안 각 농도별로 산출한 세포 생존수는 Table 1과 같다. 대조군 (0.2% 메탄올 함유)의 세포의 수가 배양 시(0시간) 3.0×10⁶에서 배양 후 2시간 동안 감소했다가 3시간 후 세포 분열을

Table 1. The Number of Viable *T. vaginalis* according to the Concentration of *S. flavescens* for 3 Hours

Time (hr)	Conc (mg/mL)					
	Extract from <i>S. flavescens</i>					
	0	2	3	4	5	6
0.5	2.0±0.2×10 ⁶	1.4±0.1×10 ⁶	1.4±0.1×10 ⁶	1.2±0.1×10 ⁶	0.7±0.1×10 ⁶	0
1.0	1.8±0.1×10 ⁶	1.2±0.1×10 ⁶	1.2±0.1×10 ⁶	0.8±0.2×10 ⁶	0.9±0.1×10 ⁶	0
1.5	1.7±0.2×10 ⁶	1.1±0.3×10 ⁶	1.1±0.3×10 ⁶	0.7±0.3×10 ⁶	1.5±0.5×10 ⁶	0
2.0	1.7±0.1×10 ⁶	1.3±0.2×10 ⁶	1.3±0.2×10 ⁶	0.7±0.1×10 ⁶	0	0
2.5	2.8±0.2×10 ⁶	1.3±0.2×10 ⁶	1.3±0.1×10 ⁶	0.7±0.3×10 ⁶	0	0
3.0	2.5±0.2×10 ⁶	1.3±0.2×10 ⁶	1.3±0.2×10 ⁶	0.5±0.5×10 ⁶	0	0

*The number of viable *T. vaginalis* in 0 hour is 3×10⁶

통해 $2.5 \pm 0.2 \times 10^6$ 으로 약간 증가하였다. 2 mg/mL와 3 mg/mL 실험군에서는 0.5시간 내 현저히 생존수가 감소하다가 일정하게 유지되었고, 2 mg/mL 실험군과 3 mg/mL 실험군 간에는 유의한 차이를 보이지 않았다. 4 mg/mL 실험군에서는 배양 후 0.5시간에 $1.2 \pm 0.1 \times 10^6$ 로 감소하기 시작하여 3시간 이후에는 생존율이 $0.5 \pm 0.1 \times 10^6$ 로 감소하였다. 5 mg/mL의 농도에서는 2시간 이후부터 생존 수가 0에 도달함을 관찰할 수 있었으며, 6 mg/mL의 농도에서는 초기부터 생존한 세포가 없음을 확인할 수 있다.

2. 전자현미경 관찰 소견

(1) 주사전자현미경 관찰

주사전자현미경 관찰에서는 대조군(0.2% 메탄올)에서 대체로 파동막이 보이지 않았으며 몸체가 부풀 듯한 모양을 보여 주었고, 축삭과 4개의 편모가 확실하게 관찰되었다. 후편모는 전편모와는 달리 질편모충의 몸체 복측을 향하였다. 앞쪽 구(canal) 내에는 전반 운동기관이 위치하고 각각의 편모가 나뉘어져 존재하고 있음을 볼 수 있었다. 일부에서는 가까운 질편모충끼리 편모가 서로 얽혀져 있는 것이 흔히 관찰되었고, 또한 몸체에 작은 구멍이 있는 것도 관찰되었다(Figure 1). 이후 2 mg/mL 처리군의 배양 0.5시간에서는 대조군에 비해 편모의 길이 및 축삭도 다소 짧아진 모양을 보여 주었다(Figure 2). 3 mg/mL 처리군의 배양 1시간 경과 후, 축삭이 사라지고 편모도 짧아졌으며 가까이 있는 편모충들은 편모끼리 서로 뒤엉킨 모습을 보여주었다. 체표면은 울퉁불퉁한 모양으로 변하였고 일부 세포막은 파괴되어 보였다(Figure 3). 4 mg/mL 처리군에서는 1시간 배양 후 세포

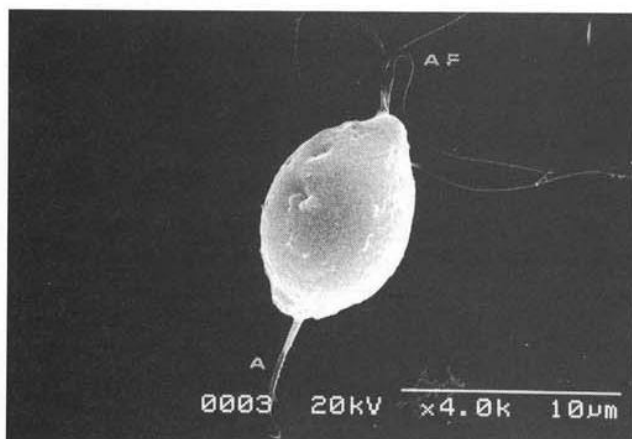


Figure 1. Scanning electron micrographs (SEM) of control *T. vaginalis* cultivated in TYM medium containing 0.2% methanol. Trophozoite of control *T. vaginalis* shows 4 anterior flagella (AF), and an axostyle (A) ($\times 4,000$).

표면이 약간 부풀어 올랐고, 축삭과 편모는 관찰되지 않으며 대부분의 세포 모양이 불규칙하여 질편모충이라고 알아보기 힘든 모습이였다(Figure 4). 5 mg/mL 처리군에서는 2시간 경과함에 따라 일반적으로 축삭 및 편모가 사라졌으며 rock pool 모양의 구멍이 세포 표면에 나있었다. 질편모충이 파괴된 모양을 보여주었으며 세포벽이 파괴되어 폴립처럼 표피가 부풀어 오른 모양이 관찰되었다(Figure 5).

(2) 투과전자현미경 관찰

투과전자현미경 관찰에서도 약제의 농도와 배양 시간에 따라 질편모충의 형태에 변화가 있었다. 대조군에서 질편모충은 불규칙한 모양의 핵과 hydrogenosome 및 편모의 절단면, 축삭의 일부가 관찰되었다. 핵의 chromatin은 염색성이

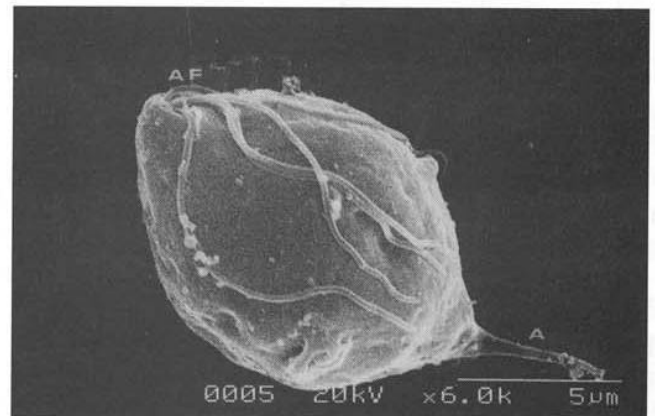


Figure 2. SEM of *T. vaginalis* cultivated in TYM medium containing 2 mg/mL of extract from *S. flavescens* for 0.5 hour. The flagella (AF) of trophozoite are winding round itself and an axostyle (A) is bended. Flagella and axostyle show slightly shortened ($\times 6,000$).

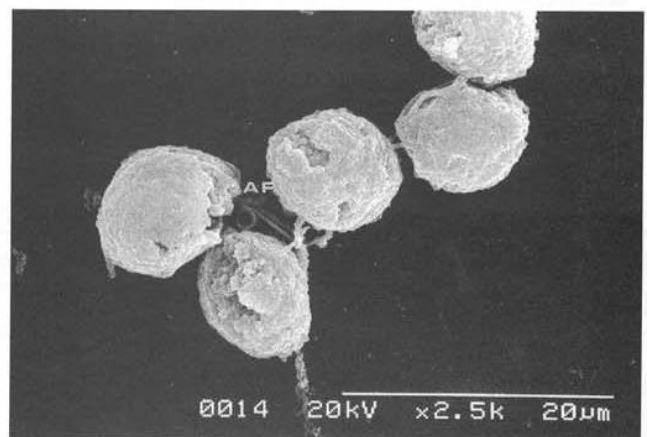


Figure 3. SEM of *T. vaginalis* cultivated in TYM medium containing 3 mg/mL of extract from *S. flavescens* for 1 hour. An axostyle is not seen. The flagella of trophozoite are very shortened and winding round itself. Body of trophozoite is irregular and shows peel like surface ($\times 2,500$).

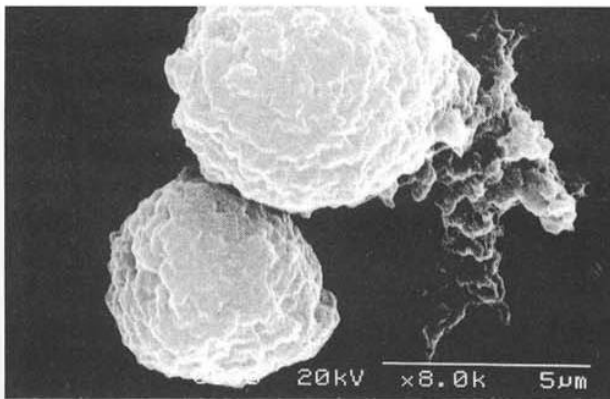


Figure 4. SEM of *T. vaginalis* cultivated in TYM medium containing 4 mg/mL of *S. flavescens* for 1 hour. An axostyle and flagella are not seen. Body of trophozoite is irregular and shows peel like surface ($\times 6,000$).

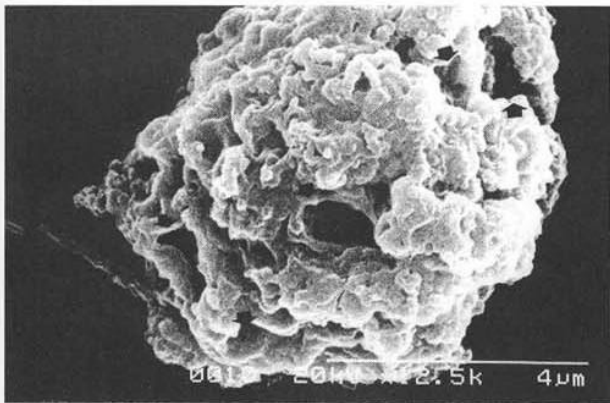


Figure 5. SEM of *T. vaginalis* cultivated in TYM medium containing 5 mg/mL of extract from *S. flavescens* for 2 hours. The cell shows like ghost cell. Large size hollows are distributed on the cell surface here and there. An axostyle and flagella are not seen, too ($\times 12,500$).

넓어져 보이고 진정염색질(euchromosome)보다 이질염색질이 많아 보였다(Figure 6). 고삼 2 mg/mL를 투여한 3시간 군에서의 외양은 대조군과 별 차이가 없어 보이나 내부 세포질에서는 많은 electron dense한 부위가 많이 관찰되고 핵도 더욱 넓어져 이질염색질이 많은 소견을 보였다. 세포내의 골지체는 감소되어 보이고 식공포도 대조군보다 많이 관찰되었다(Figure 7). 3 mg/mL의 농도로 1시간 배양한 군은 세포질 내에 free ribosome이 많이 관찰되었다. 세포막에 손상이 보이고 핵도 넓어지고 세포질에 많은 공포화 현상이 관찰되었다. Costa의 일부도 관찰되었고 식공포도 커졌으며 글리코겐 과립이 빠져나간 것으로 보이는 electron translucent한 곳이 보였다(Figure 8). 5 mg/mL의 농도로 1시간 처리한 군에서는 죽은 세포들도 관찰되며 hydrogenosome은 위축되어 보였다. 핵 주위의 ER도 퇴행성 변화를 보였다. Polyri-

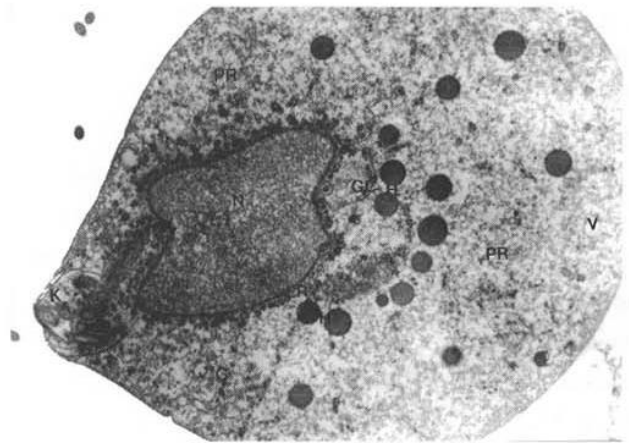


Figure 6. Transmission electron micrograph (TEM) of control *T. vaginalis* cultivated in TYM medium containing 0.2 % methanol. *T. vaginalis* consists of an irregular shaped kinetoplast (K), nucleus (N), hydrogenosomes (H), Golgi complex (GC), glycogen granules (G), polyribosomes (PR), vacuoles (V), parabasal body (P) in the cytoplasm. Nucleus (N) encircled by endoplasmic reticulum (ER) contains clusters of chromatinic materials in the nucleoplasm. Hydrogenosomes (H) are surrounded by polyribosomes and glycogens ($\times 6,000$).

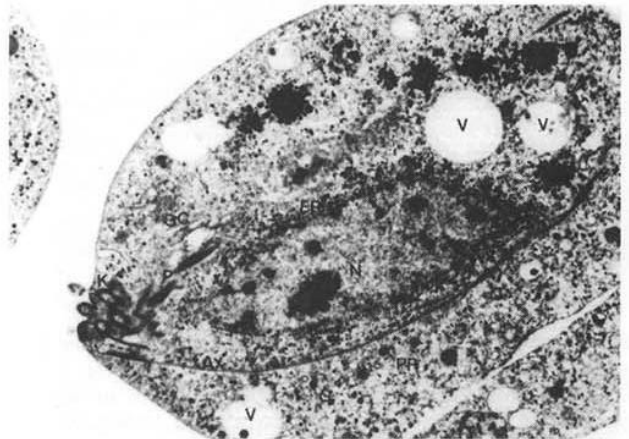


Figure 7. TEM of *T. vaginalis* cultivated in TYM medium containing 2 mg/mL of extract from *S. flavescens* for 3 hours. The free ribosomes in the cytoplasm are mostly present as polyribosomes (PR). A nucleus (N), hydrogenosomes (H), Golgi complex (GC), glycogen granules (G), polyribosomes (PR), vacuoles (V), parabasal body (P), kinetoplast (K), axostyle (Ax), some of the perinuclear endoplasmic reticulum (ER) are also visible ($\times 6,000$).

bosome과 free ribosome의 수는 거의 관찰되지 않을 정도로 격감하였으며 공포도 크기가 커져서 식공포와 구별이 되지 않았다. 세포벽도 일부가 파괴되었으며 전반적으로 퇴행성 변화가 심하여 질편모충의 내부 구조를 관찰하기가 불가능한 것들이 많이 관찰되었다(Figure 9).

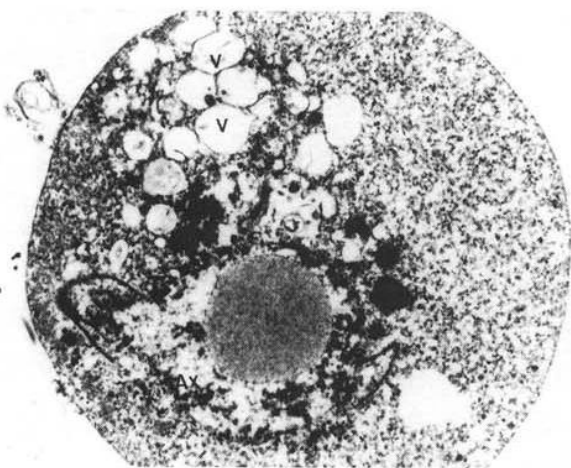


Figure 8. TEM of *T. vaginalis* cultivated in TYM medium containing 3 mg/mL of extract from *S. flavescens* for 1 hour. A nucleus (N), vacuole (V), axostyle (Ax), some hydrogenosomes (H) and glycogen rosettes are also visible ($\times 7,000$).

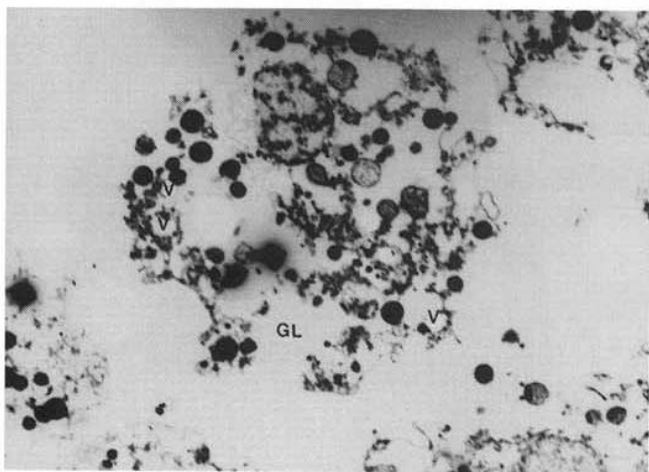


Figure 9. TEM of *T. vaginalis* cultivated in TYM medium containing 5 mg/mL of extract from *S. flavescens* for 1 hour. The electron translucent zone (GL) is increased in the cytoplasm. The vacuoles (V) are destruction and hydrogenosome are decreased compared with untreated trophozoites. Partially destroyed cell membrane is observed. Polyribosomes and free ribosomes are decreased in number. Dead trichomonads are easily seen ($\times 4,000$).

고 찰

트리코모나스성 질환은 전 세계적으로 광범위하게 분포하고 있고 성적 접촉에 의해 전파되는 기생충증으로 이들 감염자에 대한 최근 국내 통계자료는 없지만 미국에만 매해 300만명 이상의 신환이 발생하는 것으로 보고되고 있다⁶⁾. 따라서, 질편모충의 여러 가지 치료 약제에 대한 연구가 활발히 시도되고 있으며^{7, 8)}, 이러한 연구 결과로 metroni-

dazole, tinidazole 등의 약물이 개발되어 좋은 치료 효과를 얻고 있었다. 그러나 metronidazole에 대하여 저항성을 갖는 질편모충이 근래에 보고되고 있어 이들 약물의 지속적인 사용에 적신호를 비쳐주고 있다^{3, 4)}.

한의학에서 일찍이 아메바성 원충, 질편모충, 람블편모충 등의 감염 시에 고삼, 고련피, 빈랑 등의 한약재를 치료제로 사용하여 왔다는 보고가 있다^{9, 10)}. 그러나 고삼, 고련피, 빈랑 같은 한약재의 질편모충에 대한 항원충 효과 및 그 기전에 대한 구체적인 연구 보고가 없을 뿐더러 효능에 관하여도 입증되지 않은 것들이 대부분이라고 할 수 있다. 이에 고삼의 질편모충에 대한 효과를 파악하기 위하여 실험을 한 결과 질편모충에 대한 항원충 효과가 있음을 세포 생존을 검사를 통해 관찰할 수 있었다. 대조군의 경우 0.5시간에서는 메탄올에 의한 효과로 그 수가 감소되었다가, 2.5시간 이후로는 증식을 통해 수적으로 증가한 것을 볼 수 있었다. 반면 2~3 mg/mL 처리군에서는 초기 감소하여 3시간 동안 별다른 변화를 보이지 않았는데, 이는 비록 죽지는 않았으나 증식이 일어나지 않은 것으로 사료되며 metronidazole 1 μ g/mL을 투여한 Nielsen¹¹⁾의 실험에서도 투여한 군에서 1시간경에 질편모충의 분열이 정지되는 현상을 관찰한 것과 비슷한 결과를 얻었다. 4 mg/mL 처리군에서는 시간이 지남에 따라 서서히 생존 수가 감소하는 것을 볼 수 있었고, 5 mg/mL 처리군에서는 2시간만에, 6 mg/mL 처리군에서는 0.5시간 내로 모두 죽은 것을 관찰할 수 있었는데, 농도가 증가함에 따라 그 생존 수가 감소하는 것을 알 수 있었다. Metronidazole의 실험에서는 적은 농도(4 μ g/mL)에서 8~18 시간까지도 이들에 대한 살충작용이 없었다고 보고한 Asami¹²⁾의 연구와 Nielsen¹¹⁾의 1 μ g/mL을 투여한 실험군에서도 1시간 경에 질편모충의 분열이 정지되고, 7시간에서는 편모와 파동막의 움직임이 감소되었고 22시간이 경과한 후에야 약 70%의 편모충이 죽었다는 보고를 한 바 있다. 그러나 5 mg/mL의 농도에서 2시간만에 질편모충이 전부 사멸한 저자의 실험 결과를 볼 때 고삼도 질편모충에 대한 살충력이 강함을 알 수 있다.

질편모충의 미세구조적 변화에 대해서 주사전자 현미경으로 관찰한 대조군의 기본 형태는 타원, 난원형으로 4개의 편모 및 1개의 파동막 및 축삭으로 구성되어 다른 관찰자의 소견과 같았다^{13, 14)}. 편모가 처음부터 2개 혹은 4개로 갈라져 나오는 것도 있으나 때로 4개가 붙어 나오는 것도 관찰되었다. 한편 인접해 있는 영양형끼리는 서로 편모로 접촉되어 있는 것이 자주 관찰되는데 이 소견은 김⁵⁾과 일치하였다. 주사전자 현미경에서 관찰된 바와 같이 실험군에서 고

삼이 이들의 축삭에 일차적으로 변화를 초래한 것을 볼 수 있었다. 적은 농도(2 mg/mL)에서도 시간이 경과함에 따라 축삭이 먼저 사라졌으며 이후 편모도 점차 사라져 간 것을 관찰 할 수 있었다. 또한, 고농도(5 mg/mL)에서는 단 2시간에 이들의 형태에 치명적인 결과를 초래시킨 것이 관찰된다.

투과전자현미경하에서도 약제의 농도와 배양 시간에 따라 관찰된 질편모충의 형태적 변화는 주사전자현미경 소견과 일치하였다. 대조군 질편모충은 불규칙한 모양의 핵과 hydrogenosome 및 편모의 절단면, 축삭의 일부가 관찰되었다 (Figure 6). 또한 핵의 chromatin은 염색성이 엷어져 보이고 진정 염색질(euchromosome)보다 이질 염색질이 많아 보였다. 세포면에 작은 구멍이 나있는 것이 관찰되는데 이것은 신체의 일부 기관의 pinocytosis 통로의 개구부로 추정된다.

고삼 2 mg/mL를 투여한 초기에 골지체들이 많이 감소되고 hydrogenosome은 주로 축삭이나 costa 주변에 분포되어 있었고 핵도 더욱 엷어져 이질염색질이 많은 소견을 보인다. 이러한 소견은 Nelsen¹¹⁾의 metronidazole 최고 농도인 4 µg/mL을 투여한 실험군에서 미세구조를 관찰한 결과 1시간 군에서는 polyribosome의 수가 줄어 드문드문 보이고 주로 single ribosome이 관찰된다고 하였고 ER도 대조군에 비해 현저히 감소한 것으로 보고하였다. 크로마틴 과립, 골지복합체, 운동기관, 편모, pinocytotic vesicles 등은 형태적으로 아무 변화가 없었다고 보고한 것과는 약간의 차이가 있다. 3 시간군에서의 외양은 대조군과 별 차이가 없어 보이나 내부 세포질에서는 많은 electron dense한 부위가 많이 관찰되는데 이것은 glycogen granule이 빠져나간 흔적이 아닌가 생각된다. 세포내의 골지체는 감소하고 식공포도 관찰되었다. 그러나 hydrogenosome은 관찰되지 않았다(Figure 7). Michel 등¹⁵⁾은 hydrogenosome이 pyruvate의 대사 과정 중 혐기성 산화에 관여하므로 hydrogenosome의 붕괴는 세포를 죽게 한다고 하였다. 또한, 철분이 결핍된 배지에서 질편모충은 hydrogenosome의 수가 줄고 주위의 polyribosome도 없어지고 공포로 둘러싸여 있다고 보고하였다. 따라서 고삼 투여 3 시간군에서 비록 세포벽은 제 형태를 유지하고 있으나 에너지 생산에 관여하는 것으로 알려진 소기관인 hydrogenosome의 소실은 질편모충의 pyruvate 대사과정을 방해하여 에너지 생산에 영향을 줄 것이며 점차 사멸될 것이 예상된다.

3 mg/mL의 농도에서 시간 경과에 따라 세포막의 손상이 관찰되었고(Figure 8), 4 mg/mL 이상의 농도에서는 세포막에 손상이 오며 핵도 엷어지고 세포질에 많은 공포화 현상이 관찰되고 죽은 세포들도 관찰되었는데(Figure 9), 이것은 충체의 퇴행성 변화가 많이 진행된 것을 의미한다. Palade와

Siekevitz¹⁶⁾는 polyribosome이 외부로 배출될 단백질 생산에 관여한다고 하였는데 고삼에 있어서도 세포 내에서 필요한 단백질이나 외부로 배출될 단백질 합성에 장애를 초래한다고 생각된다. 따라서 고삼은 수시간 내에 질편모충의 증식과 운동성을 정지시키는 것으로 사료되었다.

Nielsen¹¹⁾은 metronidazole의 약리 작용이 원충의 세포 내 핵산의 합성에 지장을 초래하여 분열을 억제하는 것으로 보고하였다. 이러한 결과는 전자 현미경적으로 free ribosome이 증가하고 polyribosome이 감소하는 결과로 잘 나타난다고 보고한 바 있다. 또 Edwards와 Mathison¹⁷⁾은 metronidazole의 고농도에서 정상적으로 H₂ 같은 전자이온들의 전달 기전을 막는다고 보고한 바 있다. 따라서 약리적으로 metronidazole은 증식기의 interphase 시기에 영향을 주어 분열을 억제하는 작용을 갖은 것으로 알려졌다. 본 전자현미경적 관찰에서도 고삼의 농도를 3 mg/mL로 처리한 1시간 이상의 군에서 점차로 세포내 polyribosome이 감소하였으며 6 mg/mL의 농도로 1시간 이상 배양한 군에서는 polyribosome, free ribosome 및 hydrogenosome 등을 관찰 할 수 없을 정도로 그 수가 현저히 감소된 것을 관찰 할 수 있었으나 이를 metronidazole과 같은 약리 기전으로 추정하기에는 보다 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이상의 관찰을 통하여 고삼의 약리적 기전 역시 metronidazole과 같이 단백질 합성에 영향을 주어 세포의 증식을 억제하는 것으로 보이나 hydrogenosome의 소실에 따른 pyruvate 대사과정의 방해만을 확인할 수 있었고 다른 약리 작용에 대하여는 더 연구하여야 할 것으로 생각된다.

앞으로 고삼의 살충작용에 대한 활성 성분의 분리와 작용 부위를 규명함으로써 유도 물질의 개발에 의한 한약재의 실용화 연구가 진행되어야 할 것으로 생각되며 나아가 한약재의 이론적 토대를 마련하는데, 또한 이를 실제 임상에 적용시키는데 일조를 할 것으로 생각된다.

요 약

목 적 : 질편모충은 비뇨생식기에 기생하는 원충으로 트리코모나스성 질염을 일으킨다. Metronidazole은 이 질환의 치료와 관리에 비교적 좋은 효과를 나타내고 있으나, 이 약제에 대한 부작용과 저항성을 갖는 질편모충이 근래에 보고되고 있어 새로운 약제의 개발이 필요한 바, 한약 제제로서 세균성, 진균성 및 기생충성 질염의 치료제로 사용되어온 고삼 추출물의 질편모충에 대한 항원충 작용과 그에 따른 미세구조 변화를 관찰하여 새로운 metronidazole의 대체약으

로서의 가능성을 모색하고자 이 연구를 시도하였다.

방 법 : 고삼의 추출액을 계대 배양한 질편모충(KT4)에 각 농도별, 시간별로 처리하여 trypan blue exclusion법으로 생존율을 측정하고 전자 현미경하에서의 세포 구조의 미세변화를 관찰하였다.

결 과 : 고삼을 배양 질편모충에 농도별·시간별로 질편모충에 미친 영향을 관찰한 결과를 보면, 질편모충의 생존율은 4 mg/mL의 농도 군에서는 배양 1시간, 5 mg/mL의 농도에서는 0.5시간 이후부터 현저한 감소를 보였다. 주사전자 현미경적 소견으로는 2 mg/mL의 농도에서 시간에 따른 생존율의 변화는 없었으나 고삼에 의해 운동기관 중 특히 축삭에 영향을 주어 위축된 것을 볼 수 있었으며 농도 증가에 따라 편모도 사라지고 심한 세포막의 파괴를 관찰할 수 있었다. 투과 전자 현미경적 소견으로는 2 mg/mL의 농도에서 세포질내 식공포가 커지고 hydrogenosome의 크기는 감소하기 시작하여 농도가 증가할수록 핵의 모양이나 색깔까지도 심한 변화가 있음을 관찰할 수 있었다.

결 론 : 이러한 결과를 종합해 볼 때, 고삼이 질편모충의 생존율에 영향을 미치며 특히 pyruvate 대사과정에 영향을 주어 증식을 억제하는 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) Heine P and McGregor J: *Trichomonas vaginalis*: a re-emerging pathogen. Clin Obstet Gynecol 36:137-144, 1993
- 2) World Health Organization: WHO factsheet. Office of HIV/AIDS and sexually transmitted disease. World Health Organization, Geneva, Switzerland 1997
- 3) Robertson JF, Azmy AF, Ochran W: Assent to ascent of the testis. Br J Urol 61:146-147, 1988
- 4) Weihe J, Metelmann C, Borner K, Meingassner J, Orfanos CE: Metronidazole-resistant trichomoniasis and successful therapy following high dosage. Hautarzt 39: 237-239, 1988
- 5) 김창민 등: 완역 중약대사전, 서울: 정담출판사, p340-347, 1998
- 6) 이순형, 채종일, 홍성태: 임상 기생충학 개요. 서울: 고려의학 p337, 1996
- 7) McCutchan JA, Ronald AR, Corey L, Handsfield HH: Evaluation of new anti-infective drugs for the treatment of vaginal infections. Infectious diseases society of America and the Food and Drug Administration. Clin Infect Dis 15:115-122, 1992
- 8) Rivera LR, Trenado MQ, Valdez AC, Gonzalez CJ: Prevalence of bacterial vaginitis and vaginosis: association with clinical and laboratory features, and treatment. Gynecol Obstet Mex. 64:26-35, 1996
- 9) 장홍선: 현대 중약 약리학, 중국: 천진과학기술출판사, p186-187, 1997
- 10) 진존인: 도설 한방의약대사전(한국판). 서울: 한국, 송악출판사, p137, 1990
- 11) Nielsen MH: In vitro effect of metronidazole on the ultrastructure of *Trichomonas vaginalis* Donne. Acta Path Microbiol Scand 84:93-100, 1976
- 12) Asami K: Effects of metronidazole on *Trichomonas vaginalis* in culture and in an experimental host. Am J Trop Med 12:535-538, 1963
- 13) Min DY, Ryu JS, Ahn MH, Park SJ, Cho WW: Transmission and Scanning electron microscopic changes of *Trichomonas vaginalis* after antiserum treatment. Hanyang Med Coll 14:511-526, 1994
- 14) Ryu JS, Park JW, Min DY: Effect of sodium nitrite on *Trichomonas vaginalis*. Korean J Parasitol 33:349-356, 1995
- 15) Michel R, Raether W, Schupp E, Uphoff M, Kr A: Ultrastructural changes of *Trichomonas vaginalis* prior and after cryopreservation. Z Parasitend 71:277-285, 1985
- 16) Palade GE, Siekevitz P: Liver microsome. An integrated morphological and biochemical study. J Biophys Biochem Cytol 2:171-200, 1956
- 17) Edwards DI, Mathison GE: The mode of action of metronidazole against *Trichomonas vaginalis*. J Gen Microbiol 63:297-302, 1970

