

# 내소황련탕(內疎黃連湯) 및 구성약재의 항산화효과 검증과 항암 및 항균효과

안봉전<sup>\*\*</sup>, 이창언, 손준호, 이진영, 박태순, 박정미, 배호정, 편정란

대구한의대학교 화장품약리학과

## Antioxidant, Anticancer and Antibacterial Activities of Naesohwangryntang and its Ingredients

Bong-Jeun An<sup>\*\*</sup>, Chang-Eon Lee, Jun-Ho Son, Jin-Young Lee, Tae-Soon Park, Jung-Mi Park, Ho-Jung Bae, Jeong-Ran Pyeon

Dept. of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University

### ABSTRACT

**Objectives** : Antioxidant, Anticancer and Antibacterial Activities of Naesohwangryntang and its composition oriental medicines.

**Methods** : We were experimented anti-oxidation effect and growth inhibition ability on cancer cells and antibacterial activity on various kinds of bacteria of skin.

**Results** : The results were obtained as follows : Electron donating ability(EDA) of water extract Naesohwangryntang and ethanol extract Naesohwangryntang was 60% and 70% at 1000 ppm concentration. In the test of SOD-like activity, ethanol extract showed more activity with 27.4% in 700 ppm, while water extract was low in 19.6%. Clear zones formed by sample against the human skin-resident microflora indicated that anti-microbial activity of ethanol extract Naesohwangryntang was higher than that of water extract Naesohwangryntang. The growth inhibition rates of each sample on lung-cancer(A549), at 1000 ppm cancer cell was over 40%. The growth inhibition rate of the each sample melanoma-cancer(B16F10, G361), at 1000 ppm was over 80%.

**Conclusions** : The results indicated that, ethanol extract which is superior in its anti-oxidation and antibacterial effect is useful to be applied in cosmetic industry.

Key words : Naesohwangryntang, anticancer, antioxidant

## 서론

內疎黃連湯은 《丹溪心法》<sup>1)</sup>에 처음 기재된 처방으로 癰疽의 瘡皮色腫硬하고 發熱而嘔하며, 大便閉, 脈洪實者의 증상을 치료하는 복합처방이다. 이 처방은 癰疽로 인한 각종 증상에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 內疎黃連湯의 구성약물은 허준의 《東醫寶鑑》<sup>2)</sup>에 수록되어 있으며, 대황(大黃), 연교(連翹), 적작약(赤芍藥), 황련(黃連), 황금(黃芩), 당귀(當歸), 치자(梔子), 빈랑(檳榔), 목향(木香), 박하(薄荷), 길경(桔梗), 감초(甘草)로 구성되어 있다.

內疎黃連湯을 구성약물의 효능은 피를 맑게 하고 해독하며 혈을 통하게 하는 대황, 청열해독, 소종산결하는 연교, 청열량혈, 산어지통하는 적작약, 청열조습, 심경의 열을 풀어버리고, 독을 해독하는 황련, 열을 낮추고, 피를 멈추게 하며, 뱃속의 놀란 태아를 편안하게 다스리는 황금, 조혈작용을 돕고 화열하며, 월경을 고르게 하고 통증을 없애는 당귀, 청열, 사화, 피를 맑게하는 치자, 살충, 적병을 깨뜨리고, 흥분을 가라앉히며 기운을 내리게 하는 빈랑, 통증을 없애고, 탕약을 먹어서 몸을 덥게하여 온중화위하는 목향, 잇몸이 붓고 고름이 나는 것을 막는 박하, 가래를 없애고 고름을 빼내는 길경, 윤페, 독을 중화하며, 열을 다스리는 감초로 구성되어 있으며 대소변을 통하게 하여 이 열을 제거하는 작용이 있기 때문에 瘡瘍毒약이 裏에 들어가 발열, 번갈이 있고 脈이 沈물하고 유력한 증상을 나타내는 응저의 實證에 사용한다<sup>3)</sup>. 內疎黃連湯에 대한 연구로는 천<sup>4)</sup>의 內疎黃連湯 및 구성약물의 항균 활성에 관한 실험적 연구가 보고되어 있으나 內疎黃連湯 및 구성약물의 생리활성검증 및 항암·항균작용에 대한 과학적인 연구는 미비한 상태이다.

따라서 본 연구에서는 內疎黃連湯을 이용하여 생리활성을 검증하고 內疎黃連湯 구성 약물들의 우수한 약리작용인 항암 및 항균작용을 검토하여 식품 및 화장품 소재로서의 적합성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료 및 추출방법

#### 1) 약재

본 실험에 사용한 內疎黃連湯은 許俊의 《東醫寶鑑》에 기록된 내용에 준하였으며, 시료로 사용된 內

疎黃連湯의 구성 약재는 Table 1 과 같으며 대구한의 대학교 부속 대구한방병원 약제과에서 구입하여 물로 세척하고 음건 후 사용하였다.

Table 1. Composition of Nesohwangryuntang

韓藥名	學名	weight(g)
大黃	<i>Eisenia bicyclis</i>	7.500
連翹	<i>Forsythia Viridissima</i> Lindl.	5.625
赤芍藥	<i>Paeonia lactiflora</i> P. hortensis M.	5.625
黃連	<i>Coptis chinensis</i>	3.750
黃芩	<i>Scutellaria baicalensis</i>	3.750
當歸	<i>Angelica gigas</i> Nakai	3.750
梔子	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	3.750
檳榔	<i>betel palm tree</i>	3.750
木香	<i>Inula helenium</i>	1.875
薄荷	<i>Mentha arvensis</i> var. <i>piperascens</i> Malinv.	1.875
桔梗	<i>Platycodon grandiflorum</i>	1.875
甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer	1.875
Total		45

### 2) 시료 추출

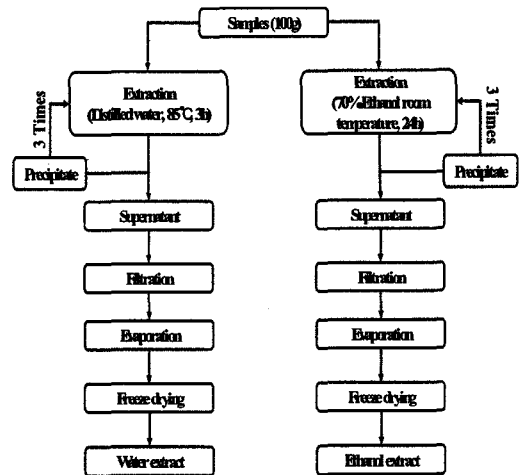


Fig. 1. Procedure for extraction from medical plants.

시료 추출은 열수 추출물의 경우, 內疎黃連湯의 구성 약재는 대황(大黃), 연교(連翹), 적작약(赤芍藥), 황련(黃連), 황금(黃芩), 당귀(當歸), 치자(梔子), 빈랑(檳榔), 목향(木香), 박하(薄荷), 길경(桔梗), 감초(甘草)에 10배 양의 증류수를 가하여 85°C에서 3시간 환류냉각 추출하여 상등액과 침전물을 분리하여 3회 반복 추출

하였다. 시료의 에탄올 추출은 70% 에탄올 10배의 양을 가하여 실온에서 24시간 침지하여 상등액과 침전물을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 각 추출물을 원심분리 및 여과, 농축하여 동결건조 후 냉장실에 보관하면서 본 실험의 시료로 사용하였으며 Fig. 1 과 같이 內疎黃連湯의 추출과정을 나타내었다.

### 3) 시약 및 기기

항산화능 검증 실험에 사용된 시약인 1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), pyrogallol 등은 Sigma chemical Co.(St. Louis, MO., USA)에서 구입하였다.

항균력 검색 실험에서 사용한 공시 균주는 피부상재균으로서 *Staphylococcus aureus* KCTC 1621, *Staphylococcus epidermidis* KCTC 1917 및 *Escherichia coli* KCTC 1039를 계대 배양하여 사용하였으며, 구강내 세균으로서 *Streptococcus mutans* KCTC 3065 및 *Candida albicans* KCTC 7965를 계대 배양하여 사용하였다. 전 배양 및 본 배양을 위한 액체 배지는 nutrient broth(NB), tryptic soy broth(TSB), brain heart infusion(BHI) 및 YM broth(YMB)를 Difco Lab.(Sparks, MD, USA)에서 구입하여 사용하였으며, 생육 저해환 측정을 위한 고체배지는 nutrient agar(NA), tryptic soy agar(TSA), brain heart infusion agar(BHIA) 및 YM agar(YMA)를 Difco Lab.(Sparks, MD, USA)에서 구입하여 사용하였다.

암세포 증식에 미치는 영향에 대한 실험의 세포주는 피부암세포인 B16F10과 G361, 간암세포인 HepG2, 대장암세포인 HT-29 및 폐암세포인 A549를 Korean cell line bank(KCLB)에서 구입하여 사용하였다. 항암 효과 측정을 위한 시약은 RPMI 1640 Medium, DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium), fetal bovine serum(FBS), penicillin/streptomycin, trypsin 250, 0.4% trypan blue stain은 Gibco BRL Co.(Grand Island, NY, USA) 및 haemocytometer(Marienfeld, Germany)에서 구입하여 사용하였으며, [3-(4,5)-dimethylthiazolyl-2-y]-diphenyl-zolium bromide(MTT)는 Sigma chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

그 외의 기타 시약은 특급 시약을 사용하였다.

UV/VIS spectrophotometer(Hitachi, Japan), rotary vacuum evaporator(Tokyo, Rikakikai Co., Japan), centrifuge(Hitachi, Japan), freeze drier(Ilsin, Korea),

microscope(Olympus, Japan), CO<sub>2</sub> incubator(Hanbaek Scientific Co., Korea), pH meter(Metrohm, Switzerland), B.O.D incubator(Hanbaek Co., Korea), autoclave(Hanbaek Scientific Co., Korea), ELISA reader(Bio Rad, Japan), Spectro photometer(Minolta, Japan) 등을 사용하여 측정하였다.

## 2. 실험방법

### 1) 항산화 효과 측정

① 전자공여능 측정 : 추출물의 전자공여능(electron donating ability : EDA)은 Blois의 방법<sup>5)</sup>을 변형하여 실시하였다. 각 시료용액 2.0 ml에 2×10<sup>-4</sup>M의 1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 1.0 ml 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 실험구와 대조구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

② Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정 : SOD 유사활성은 Marklund의 방법<sup>6)</sup>에 따라 실시하였다. 각 시료용액 0.2 ml에 Tris-HCl의 완충용액(50 mM Tris + 10 mM EDTA, pH 8.5) 2.6 ml와 7.2 mM pyrogallol 0.2 ml를 가하여 25 °C에서 10분간 반응시킨 후 1.0 N HCl 0.1 ml를 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420 nm에서 측정하였다. SOD 유사활성은 시료용액의 실험구와 대조구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

### 2) 항균 효과 측정

① 배양 : 전 배양 및 본 배양을 위한 액체 배지는 *Streptococcus mutans* 및 *Candida albicans*는 각각 brain heart infusion(BHI) 및 YM Broth(YMB)를 사용하였으며, 고체 배지는 brain heart infusion agar(BHIA) 및 YM agar(YMA)를 사용하였다. *Escherichia coli* 및 *Staphylococcus epidermidis*의 액체 배지로서 nutrient broth(NB)를 사용하였으며, 고체 배지는 nutrient agar(NA)를 사용하였다. *Staphylococcus aureus*의 액체 배지로서 tryptic soy broth(TSB)를 사용하였으며, 고체 배지는 tryptic soy agar(TSA)를 사용하여 배양하였다. 모든 균주는 BOD incubator에서 37°C로 배양하였다.

② 생육 저해환(Clear zone) 측정 : 항균력 측정은 paper disc법으로 측정하였다. 즉, 평판 배지에 배양된 각 균주를 1 백금이량 취해서 액체 배지 10 ml에서 18~24시간 배양하여 활성화시킨 후 다시 액체 배지 10 ml에 균액을 0.1 ml 접종하여 3~6시간 본 배

양한 후 평판배지 1개당 균액을 약  $10^7$  cells되게 접종하여 멸균 면봉으로 균일하게 도말하였다. 멸균된 filter paper disc(Tokyo, 8mm, Japan)를 고체 평판배지에 올려놓은 다음 0.05 ml/disc가 되도록 시료를 농도별로 흡수시켜 35°C에서 18~24시간 배양하여 disc주위의 clear zone(mm)의 직경을 측정하였다.

### 3) 항암 효과 측정

① 세포배양: 본 실험에 이용한 각 세포의 배양은 10% fetal bovine serum(FBS)과 1% penicillin/streptomycin(100 U/ml)을 첨가한 RPMI 1640 배지를 사용하였으며, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에 적응시켜 계대 배양하였다.

② 적정 접종 세포수 결정: 세포독성 측정을 위한 지수기의 적정 세포수 측정은 96 well plate에  $5 \times 10^4$  cells/well이 되게 0.18 ml 분주한 후 세포밀도를 1/2로 희석하면서 접종한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 상에서 4일간 배양하였다. 여기에 5 ppm의 농도로 제조한 MTT 용액 0.02 ml를 첨가하여 4시간 배양한 후 배양액을 제거하고 각 well당 dimethyl sulfoxide(DMSO): Ethanol (1:1)용액 0.15 ml를 가하여 30분간 교반한 뒤 ELISA reader로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

③ MTT assay에 의한 세포독성 측정: 암세포 주에 대한 증식 억제효과는 Carmichael의 방법<sup>7)</sup>에 따라 측정하였다. 각 암세포주를 96 well plate에  $0.6 \sim 8 \times 10^3$  cells/well이 되게 0.18 ml 분주하고 시료를 농도 별로 조절하여 0.02 ml 첨가한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양하였다. 대조군은 시료와 동량의 증류수를 첨가하여 동일한 조건으로 배양하였다. 여기에 5 ppm농도로 제조한 MTT 용액 0.02 ml를 첨가하여 4시간 배양한 후 배양액을 제거하고 각 well당 dimethyl sulfoxide(DMSO): Ethanol (1:1)용액 0.15 ml를 가하여 실온에서 30분간 반응 시킨 뒤 ELISA reader로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 암세포주의 성장억제 효과는 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

④ 통계처리: 본 연구의 통계처리는 SPSS 10.0 for windows program을 사용하였으며, 유의차 검증은 분산분석(ANOVA: analysis of variance)을 한 후  $p=0.05$  수준에서 Duncan의 다중검증법(DMRT: Duncan's multiple range test)에 따라 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 항산화 효과 측정

#### 1) 전자공여능 확인

內疎黃連湯 및 구성약물의 열수 추출물 및 에탄올 추출물에 대한 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과 Fig. 2와 같이 나타내었다. 內疎黃連湯 복합처방의 열수 추출물의 경우 1,000 ppm에서 67%, 에탄올 추출물은 1,000 ppm에서 74%의 효과를 나타내었으며, 특히 대황, 연교, 적작약, 황련, 황금 치자, 박하의 에탄올 추출물의 경우 1,000 ppm에서 60~70% 정도의 효과를 나타내는 열수 추출물에 비하여 90% 이상의 효과를 나타내었다. 또한 Choi<sup>8)</sup>에 의하면 70% 이상의 전자공여능의 효과를 보이는 다류 제품인 현미녹차(92%), 홍차(92%), 녹차(91%), 허브티(91%), 동규자차(73%)의 효과보다는 낮은 수치를 보였으나 두동차(39%), 감잎차(49%)보다는 內疎黃連湯이 높은 수치를 나타내었다. Kim<sup>9)</sup>의 연구에서 당귀미의 전자공여능 효과 29%보다는 높게 나타났고, Kang<sup>10)</sup>의 솔잎 열수 추출물의 전자공여능 값 80.9%에 비하여 內疎黃連湯 열수 추출물이 다소 낮은 값을 나타내었지만, 에탄올 추출물의 경우, Kim 등<sup>11)</sup>이 보고한 솔잎 에탄올 추출물의 74.4%의 전자공여능 값과 비슷한 결과를 나타내었다. 따라서 內疎黃連湯의 열수 추출물 및 에탄올 추출물은 활성산소를 소거하는 능력이 농도에 의존적으로 증가하는 것을 볼 수 있었다.

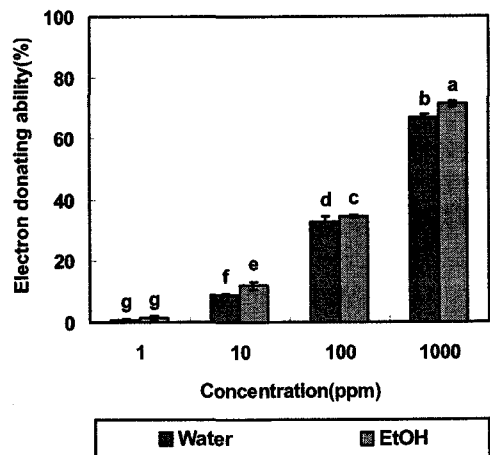


Fig. 2. Electron donating ability of Nesohwangryuntang. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

2) SOD 유사활성 확인

內疎黃連湯의 농도별 SOD 유사활성은 각 추출물 모두 Fig. 3와 같이 100 ppm에서는 활성이 매우 미비하였으나, 700 ppm의 경우 열수 추출물은 19.66%로 나타내었으며, 에탄올 추출물은 27.44%로 나타내었다. 이는 열수 추출물에 비하여 에탄올 추출물의 항산화 효과가 뛰어난 것을 알 수 있었으며, 에탄올 추출물의 경우 Lee<sup>13)</sup>은 시무나무 근피의 SOD 유사활성에서 시무나무 근피의 경우 22.76%, Hong<sup>14)</sup>의 과실, 과채류의 착즙액의 SOD 유사활성에서 사과 착즙액의 경우 14.6%, 케일 농축액의 경우 26.7%, 키위 착즙액의 경우 27.6%, 무 착즙액의 경우 24.1%의 활성과 비교하여 높게 나타났다. 또한 Lim<sup>15)</sup>의 한국산 약용식물의 SOD 유사활성에서 20% 미만, Kim<sup>16)</sup>의 해동피, 오가피, 파고지, 토사자 및 속단이 약 20%의 활성과 비교할 때도 內疎黃連湯의 SOD 유사활성이 높은 것으로 확인되었다.

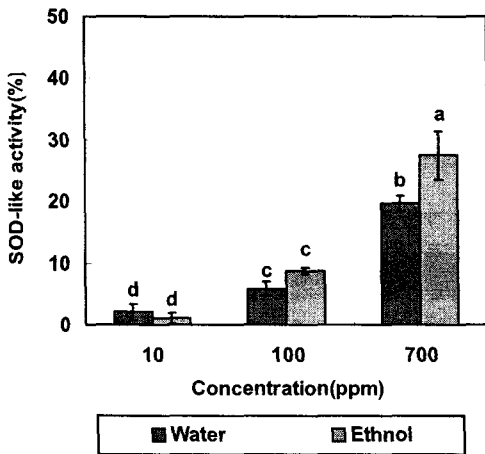


Fig. 3. SOD-like activity of Nesohwang-ryuntang. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

2. 항균 효과 확인

內疎黃連湯 복합처방의 피부상재균인 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* 및 *Staphylococcus epidermidis*와 구강내 세균인 *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*에 대한 clear zone 형성을 관찰한 결과 Table 2~6 및 Fig. 4~5과 같이 나타내었다. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* 및 *Staphylococcus epidermidis* 및 *Streptococcus mutans*에 대한 항균효과는 0.5

mg/disc의 농도에서는 항균력을 나타내지 않았으나 2.5 및 5 mg/disc에서는 항균력이 매우 높게 나타났다. 특히 Park<sup>17)</sup>의 수종 한약재 추출물의 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균활성을 연구한 논문을 살펴보면 5 mg/disc에서 복분자, 비파엽, 산사 및 오매가 각각 13.20, 9.30, 9.80, 11.30 및 10.90 mm에 비하여 內疎黃連湯이 열수 추출물 22.50 mm, 에탄올 추출물 21.55 mm 모두 탁월한 항균효과를 나타내었다. 5 mg/disc에서는 시료 모두 직경 21 mm 이상의 저해환을 관찰 할 수 있었으며, 열수 추출물에 비하여 에탄올 추출물의 항균력이 높게 나타났다. 內疎黃連湯 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 *Escherichia coli*와 *Candida albicans*를 제외한 모든 균주에 대해서 항균 효과가 나타났다. *Candida albicans*의 경우 황련을 제외한 모든 약제에서 항균력이 나타나지 않았고 황련의 에탄올 추출물은 1 mg/disc에서 17 mm로 가장 큰 저해환을 관찰할 수 있었으며, 열수 추출물에 비하여 에탄올 추출물의 항균력이 높게 나타났다. *Escherichia coli*의 경우 모든 약제에서 항균력이 나타나지 않았다. *Staphylococcus aureus*의 경우 대황, 적작약, 황련, 연교, 치자, 빈랑, 감초에서 항균력이 나타났으며, 특히 황련의 에탄올 추출물이 1 mg/disc에서 32 mm로 가장 큰 저해환을 나타내었다. *Staphylococcus epidermidis*의 경우 대황, 연교, 적작약, 황금, 빈랑, 감초에서 항균력이 나타났으며, 특히 연교의 에탄올 추출물이 1 mg/disc에서 30 mm로 가장 큰 저해환을 나타내었다. *Streptococcus mutans*의 경우 대황, 적작약, 황련, 황금, 감초에서 항균력이 나타났으며, 특히 황련의 에탄올 추출물이 1 mg/disc에서 28 mm로 가장 큰 저해환을 나타내었다.

Table 2. Inhibition zone of Nesohwang-ryuntang on microorganism

Strain	Concentration(mg/disc)					
	0.5		2.5		5	
	Water	Ethanol	Water	Ethanol	Water	Ethanol
<i>Candida albicans</i>	- <sup>b</sup>	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>staphylococcus aureus</i>	-	-	12 <sup>a</sup>	13.5	21	22
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	14.5	15	25	25.5
<i>Streptococcus mutans</i>	-	-	15	17	28	29

<sup>a</sup>: Inhibition zone diameter(mm), <sup>b</sup>: No inhibition

Table 3. Inhibition zone of medicinal plants on *Candida albicans*

Samples	Concentration(mg/disc)					
	0.25		0.5		1	
	Water	Ethanol	Water	Ethanol	Water	Ethanol
Daewhang	- <sup>b</sup>	-	-	-	-	-
Yeonkyo	-	-	-	-	-	-
Jeokjakyak	-	-	-	-	-	-
Hwangryun	9 <sup>a</sup>	11	9.7	15	1.2	17
Hwangkum	-	-	-	-	-	-
Dangkui	-	-	-	-	-	-
Chija	-	-	-	-	-	-
Binrang	-	-	-	-	-	-
Mokhyang	-	-	-	-	-	-
Bakha	-	-	-	-	-	-
Kilkyung	-	-	-	-	-	-
Kamcho	-	-	-	-	-	-

<sup>a</sup> : Inhibition zone diameter(mm), <sup>b</sup> : No inhibition

Table 4. Inhibition zone of medicinal plants on *Staphylococcus aureus*

Samples	Concentration(mg/disc)					
	0.25		0.5		1	
	Water	Ethanol	Water	Ethanol	Water	Ethanol
Daewhang	15 <sup>a</sup>	21	17	23	20	24
Yeonkyo	- <sup>b</sup>	-	-	-	-	-
Jeokjakyak	11	-	12	-	2	-
Hwangryun	14	22	15	26	18	32
Hwangkum	-	-	-	-	-	12
Dangkui	-	-	-	-	-	-
Chija	-	-	-	10	-	11
Binrang	-	-	-	15	-	16
Mokhyang	-	-	-	-	-	-
Bakha	-	-	-	-	-	-
Kilkyung	-	-	-	-	-	-
Kamcho	-	-	-	12	-	18

<sup>a</sup> : Inhibition zone diameter(mm), <sup>b</sup> : No inhibition

Table 5. Inhibition zone of medicinal plants on *Staphylococcus epidermidis*

Samples	Concentration(mg/disc)					
	0.25		0.5		1	
	Water	Ethanol	Water	Ethanol	Water	Ethanol
Daewhang	10 <sup>a</sup>	11	17	17	18	19
Yeonkyo	18	- <sup>b</sup>	-	20	25	30
Jeokjakyak	15	-	12	-	21	12
Hwangryun	12	14	15	17	15	22
Hwangkum	-	14	-	18	-	25
Dangkui	-	-	-	-	-	-
Chija	-	-	-	-	-	-
Binrang	-	12.5	-	14	-	14.5
Mokhyang	-	-	-	-	-	-
Bakha	-	-	-	-	-	-
Kilkyung	-	-	-	-	-	-
Kamcho	-	11	-	14	-	16

<sup>a</sup> : Inhibition zone diameter(mm), <sup>b</sup> : No inhibition

Table 6. Inhibition zone of medicinal plants on *Streptococcus mutans*

Samples	Concentration(mg/disc)					
	0.25		0.5		1	
	Water	Ethanol	Water	Ethanol	Water	Ethanol
Daewhang	- <sup>b</sup>	10 <sup>a</sup>	-	12	12	12.5
Yeonkyo	-	-	-	-	-	-
Jeokjakyak	10	10	12	10.5	15	11
Hwangryun	-	15	9	20	12	28
Hwangkum	-	-	-	10.5	-	12
Dangkui	-	-	-	-	-	-
Chija	-	-	-	-	-	-
Binrang	-	-	-	-	-	-
Mokhyang	-	-	-	-	-	-
Bakha	-	-	-	-	-	-
Kilkyung	-	-	-	-	-	-
Kamcho	-	-	-	13	-	15

<sup>a</sup> : Inhibition zone diameter(mm), <sup>b</sup> : No inhibition

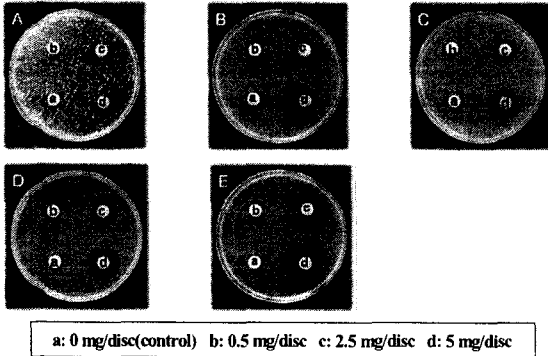


Fig. 4. Inhibition zone of Naesohwang-ryuntang water extract against micro-organism. A : *Candida albicans*, B : *Escherichia coli*, C : *Staphylococcus aureus*, D : *Staphylococcus epidermidis*, E : *Streptococcus mutans*.

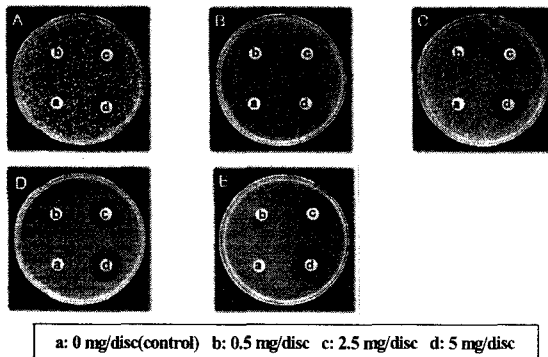


Fig. 5. Inhibition zone of Naesohwang-ryuntang ethanol extract against micro-organism. A : *Candida albicans*, B : *Escherichia coli*, C : *Staphylococcus aureus*, D : *Staphylococcus epidermidis*, E : *Streptococcus mutans*.

### 3. MTT assay에 의한 항암 효과

內疎黃連湯 및 구성약물의 암세포에 대한 세포증식 억제율은 Fig. 6~8과 같이 나타내었다. 암세포 모두 시료 농도가 증가함에 따라 세포 증식 억제율이 증가하였는데, 특히 G361, B16F10, MDA에 대하여 열수 추출물의 경우 內疎黃連湯의 복합처방의 경우 100 ppm에서 열수 추출물의 억제율은 55%로 나타내었고, 에탄올 추출물은 38% 이하의 낮은 증식억제 효과가 나타났으나 1,000 ppm에서 폐암세포인 A549를 제외한 G361, B16F10, MDA의 열수 추출물 및 에탄올 추출물의 세포증식억제율은 80% 이상으로 나타났다 열수의 경우 96.6%, 95.2%, 89.3%의 증식억제 효과가 나타났으며, 에탄올 추출물의 경우 각각 92.0%, 94.5%, 88.4%의 증식억제 효과가 나타났다. 또한 內疎黃連湯의 구성약물인 연교의 열수 추출물의

경우 1,000 ppm에서 G361, B16F10, MDA에 대하여 90% 이상의 높은 증식억제효과가 나타났으며, 에탄올 추출물의 경우 1,000 ppm에서 G361, B16F10, MDA에 대하여 각각 83.6%, 96.3%, 93.4%의 높은 증식억제효과가 나타났다. 특히 황련의 열수 추출물 및 에탄올 추출물의 경우 1,000 ppm에서 B16F10, MDA에 대하여 90% 이상의 비교적 높은 증식억제효과가 나타내었다. 이는 Min<sup>18)</sup>이 보고한 달나무 뿌리껍질 추출물로부터 얻은 분획물들에서 시료를 첨가하여 62.7%의 세포증식 억제율과 비교할 때 內疎黃連湯의 세포 증식 억제능이 더 우수한 것으로 사료된다. 또한 Lee<sup>19)</sup>의 감귤 농축액에서 배양한 운지버섯 배양 추출물의 항암활성을 살펴보면 처리농도가 6,000 µg/ml에서 A549 세포의 생육 저해율은 82%에 비하여 內疎黃連湯의 경우 1,000 µg/ml에서 열수 추출물은 43%, 에탄올 추출물은 38%로 높은 항암효과를 나타내었다.

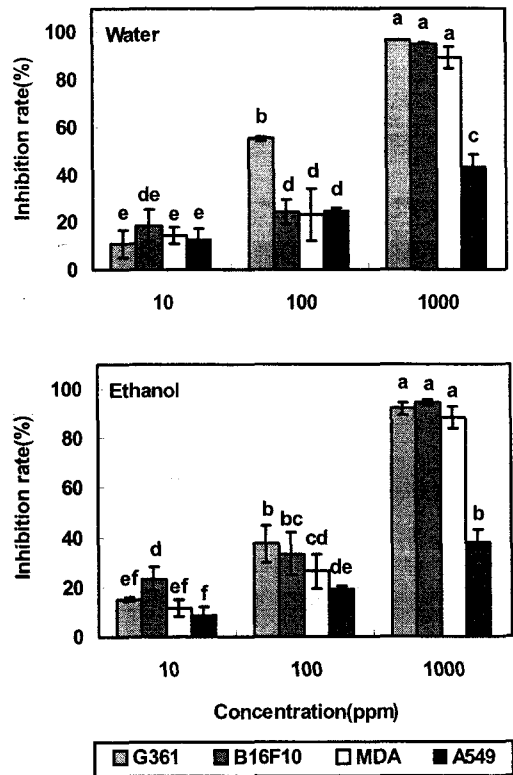


Fig. 6. Growth inhibition rate of Nesohwangryeontang against cancer cell. Values are means of 5 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$

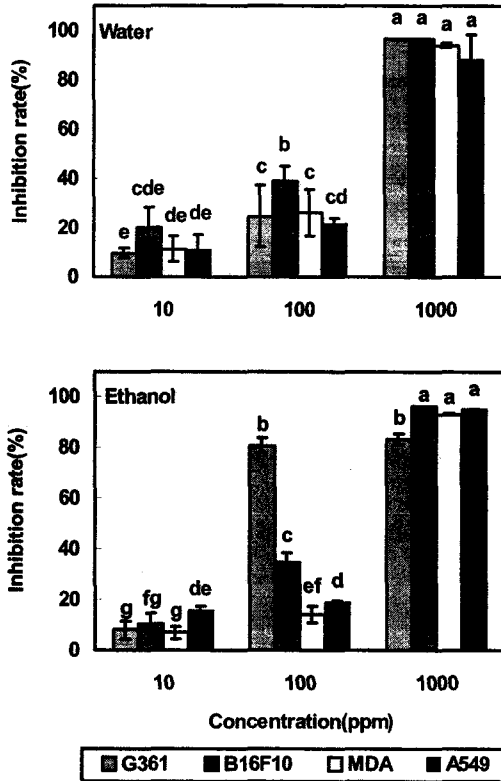


Fig. 7. Growth inhibition rate of *Forsythia Viridissima* Lindl against cancer cell. Values are means of 5 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

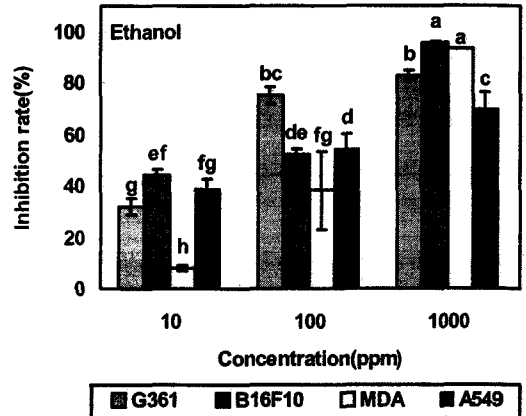
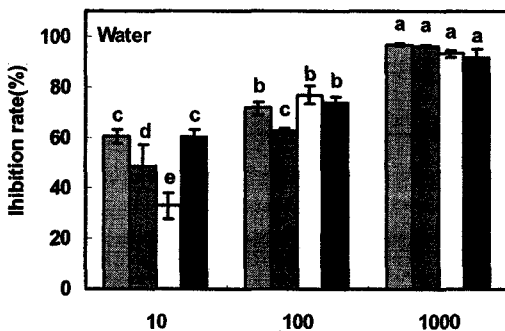


Fig. 8. Growth inhibition rate of *Coptidis Rhizoma* against cancer cell. Values are means of 5 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

### 결론

內疎黃連湯 및 구성약재의 항산화효과 항암·항균 효과에 관한 연구를 수행하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 전자공여능 측정 결과, 內疎黃連湯의 복합처방 중 열수 추출물은 1000 ppm에서 67%, 에탄올 추출물은 1,000 ppm에서 74%의 효과를 나타내었다. 특히 대황, 연교, 적작약, 황련, 황금 치자, 박하의 에탄올 추출물의 경우 1,000 ppm에서 60~70% 정도의 효과를 나타내는 열수 추출물에 비하여 90% 이상의 효과를 나타내었다.
2. SOD 유사활성 측정 결과, 內疎黃連湯의 농도별 SOD 유사활성은 700 ppm의 경우 열수 추출물은 19.66%, 에탄올 추출물은 27.44%로 나타내었으며, 이는 열수 추출물에 비하여 에탄올 추출물이 우수한 항산화 효과가 나타났다.
3. 항균효과 측정 결과, 內疎黃連湯 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 *Escherichia coli*와 *Candida albicans*를 제외한 모든 균주에 대해서 항균 효과가 나타났다.
4. MTT에 의한 항암효과 측정 결과, 암세포 모두 시료 농도가 증가함에 따라 세포 증식 억제율이 증



가하였는데, 1,000 ppm에서 폐암세포인 A549를 제외한 G361, B16F10, MDA의 열수 추출물 및 에탄올 추출물의 세포증식억제율은 약 90% 이상의 세포 증식억제 효과가 나타났다.

이상의 실험으로 內疎黃連湯 및 구성약재들의 항산화효과 및 항암·항균 효과를 살펴보았다. 그 결과 한의학적으로 그 효능이 입증된 內疎黃連湯 및 구성약물은 식품 및 화장품산업의 천연 소재로서 이용 가능성이 충분하다고 사료된다.

### 감사의 글

본 연구는 산업자원부 지역산업 중점기술 개발사업(10017426-2005-12)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

1. 朱霞亨 丹溪心法. 인민위생출판사. 북경. 1993 : 424.
2. 許俊 東醫寶鑑. 제6판. 남산당. 서울. 2001 : 536.
3. 지영선 동의피부과학. 일중사. 서울. 1996 : 44.
4. Chun SC, Jee SY, Lee SK. The antimicrobial activity of *Naesohwang-ryuntang* and its composition oriental medicines. Korean J. Herbology. 2004 : 19 : 51-60.
5. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 1958 : 181 : 1199-1200.
6. Marklund S, Marklund G. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Bioche. 1974 : 47(3) : 469-474.
7. Carmichael J, DeGraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Mitchell JB. Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay : assessment of chemosensitivity testing. Cancer Res. 1987 : 47(4) : 936-942.
8. Choi Y, Kim M, Shin JJ, Park JM, Lee J. The antioxidant activities of the some commercial teas. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 2003 : 32 : 723-727.
9. Kim SM, Cho YS, Kim EJ, Bae MJ, Han JP, Lee SH, Sung SK. Effect of hot water extracts of *salvia miltiorrhiza Bge*, *Prunus persica Stokes*, *Angelica gigas Nakai* and *Pinus strobus* on lipid oxidation. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 1998 : 27 : 399-405.
10. Kang YH, Park YK, Oh SR. and Moon KD. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 1995 : 27 : 978-984.
11. Kim SM, Cho YS, Sung SK, Lee IG, Lee SH. and Kim DG. Antioxidative and nitrite scavenging activity of pine needle and green tea extracts. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 2002 : 22 : 13-19.
12. Lee YJ, Han JP. Antioxidative activities and nitric scavenging abilities of extracts from *Ulmus devidiana*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 2000 : 29 : 893-899.
13. Hong HD, Kang NK, Kim SS. Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. Korean J. Food Sci. Technol. 1998 : 30(6) : 1484-1487.
14. Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY, Chung IM. Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. Korean J. Medicinal Crop. Sci. 2004 : 12(3) : 191-202.
15. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR Rhyu MR. Screening of the Antioxidant Activity of Some Medicinal Plants. Korean J. Food Sci. Technol. 2004 : 36(2) : 333-338.
16. Park CG, Bang KH, Lee SE, Cha MS, Sung JS, Park HW, Seong NS. Antibacterial activity from medicinal plant extracts on the *Staphylococcus aureus*. Korean J. Medicinal Crop. Sci. 2001 : 9(4) : 251-258.
17. Min KJ, Choung SH, Koo SJ. Studies on the against cancer cell effect of *Broussonetia Kazinoki* extracts. Korean J. Soc Food Sci. 1999 : 15(3) : 231-237.
18. Lee SJ, Moon SH, Kim T, Kim JY, Seo JS, Kim DS, Kim JI, Kim YJ, Park YI. Anticancer and antioxidant activities of *coriolus versicolor*

- culture extracts cultivated in the citrus extracts.  
Kor. J. Microbiol. Biotechnol. 2003 : 31(4) :  
362-367.
19. Lee YJ, Han JP. Antioxidative activities and  
nitric scavenging abilities of extracts from  
*Ulmus devidiana*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.  
2000 : 29 : 893-899.