

황련 전탕액이 *Staphylococcus aureus* 와 *Staphylococcus epidermidis* 에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구

서 형 식

상지대학교 한의과대학 안이비인후피부과 교실

The Experimental Study on Anti-bacterial Potency of *Coptidis rhizoma* extract on *Staphylococcus aureus* & *Staphylococcus epidermidis*.

Hyung-sik Seo

Objective : This experimental study was performed to investigate the effect of *Coptidis rhizoma* extract on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* that induce keratitis.

Methods : MIC was measured by dropping to 50 μ l according to density *Coptidis rhizoma* extract(100%, 10%, 1%, 0.1%). Anti-bacterial potency was measured by the size of inhibition zone with change of volume.

Results : 1. MIC on *Staphylococcus aureus* in *Coptidis rhizoma* extract was 100%, 50 μ l and anti-bacterial potency increase compare with quantity.

2. MIC on *Staphylococcus epidermidis* in *Coptidis rhizoma* extract was 100% & 10%, 50 μ l and anti-bacterial potency increase compare with quantity.

Conclusions : The present author think that *Coptidis rhizoma* extract must be made a new eye drops.

Key words : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, keratitis, *Coptidis rhizoma* extract, MIC, Inhibition zone.

1. 서 론

각막염은 각막에 생기는 염증성 질환으로 폐렴 구균, 포도상구균, 연쇄상구균, 녹농균, 진균 등에 의해 유발되며¹⁾, 이중 *Staphylococcus aureus*가 각막염을 가장 심하게 일으키는 균으로 알려져 있고,

교신저자: 서형식, 강원도 원주시 우산동 238번지 상지대학교 부속
한방병원 안이비인후피부과
(Tel: 033-741-9266, E-mail: aran99@sangji.ac.kr)
• 접수 2006/06/02 • 수정 2006/07/03 • 채택 2006/07/24

*Staphylococcus epidermidis*는 피부 상재균으로 있다가 주로 안검결막염을 일으키지만 세균 각막염 또한 일으키고, 어떤 지역에서는 세균 각막염의 가장 많은 부분을 차지하기도 한다²⁾.

각막염에 해당하는 한의학적 질환은 銀星獨見, 聚星障, 凝脂翳, 花翳白陷 등이 있으며³⁾, 이는 각막염이 진행되는 상태에 따라 보이는 각막표면의 모양에 따라 命名한 것이다. 각막에 하나의 혼탁이 있는 경우는 銀星獨見, 여러개의 혼탁이 보이는 경우는 聚星障, 흑정의 손상부위에 염증성 분비물이 응고되어 동물유지와 비슷한 것이 달라붙어 있는 경우는 凝脂翳, 궤양이 형성된 경우는 花翳白陷이라 한다. 이러한 각막염증에서 각막의 상피박리 같은 가벼운 경우는 아무런 장애없이 치유되나, 각막의 궤양은 백태를 유발하여 각막의 투명성을 손상시켜 시력장애를 유발하거나, 천공을 유발하여 심한 경우 실명에 이를 수 있다.

각막염의 치료에 있어서 현대의학적으로 점안약을 이용하는 치료방법이 일반적이라 할 수 있는 반면에 한의학적으로는 점안약의 사용이 쉽게 이루어지지 않고 있으며 한약을 전탕하여 사용하는 것도 여의치 않은 것이 현재 상황이다. 각막에는 혈관분포가 없기 때문에 약물을 국소 점안하는 것이 약물 침투에 용이하며⁴⁾, 각막 내 높은 농도를 유지하고 세균이나 세균에서 나오는 여러 가지 독소와 효소를 씻어내는 효과가 있으므로 유리하다⁵⁾. 그러나 점안약은 특성상 무균의 제제로서 불용성 이물을 포함하지 않는 용액 또는 입자가 극히 미세하여야 한다⁶⁾. 따라서 한약을 전탕하여 점안약으로 활용하여도 되나 이물감을 나타낼 수 있고, 입자가 극히 미세하다고 보기도 어렵다. 이에 황련을 점안약으로 활용하기 위하여 제형 변화를 하기 앞서 각막염의 호발균인 *Staphylococcus aureus*와 *Staphylococcus epidermidis*에 대한 항균효과를 알아보기 위하여 최소 성장 억제 농도 측정 및 억제환 측정 실험을 하고 연구 결과를 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 재료

1) 약물

본 실험에 사용한 황련은 시중 건재상에서 구입하여 잡질을 제거하고 형태가 완전한 것을 정선하여 사용하였다(Table 1).

Table 1. Prescription of Herb-med.

Herb-med	Herb	Scientific Name	Dose(g)
황련 전탕액	황련	Coptidis Rhizoma	40

2) 균주 및 배지

본 실험에 사용한 *Staphylococcus aureus*(KCTC 1916), *Staphylococcus epidermidis*(KCTC 1917)는 한국생명공학연구원(KCTC)에서 분양받아 Nutrient Agar(Beef extract, 3.0g; Peptone, 5.0g; Agar, 20.0g; D.W. 1.0L, pH 6.8±0.2, U.S.A.) 배지에 이식하여 37℃의 환경에서 배양하였다.

2. 방법

1) 피검균액의 준비

피검균 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*를 NA(Nutrient Agar)에 접종한 후, 37℃에서 4~10일간 배양하였다. 배양된 균주를 0.85% NaCl에 3.2×10⁹CFUs/ml가 되도록 현탁하여 사용하였다.

2) 최소 성장 억제 농도 측정(MIC) 및 억제환(Inhibition zone) 측정

검액의 최소 성장 억제 농도 측정(MIC) 및 억제환(Inhibition zone) 측정은 Disc diffusion method에 준하여 실시하였다. 피검균인 *Staphylococcus*

*aureus*와 *Staphylococcus epidermidis*의 현탁액 100 μ l를 적정배지인 Nutrient Agar에 도말하였고, 검액은 원액, 10%, 1%, 0.1%로 희석한 것과 희석액 별로 각각 20 μ l~100 μ l씩 준비하여 사용하였다. 피검균을 도말한 배지 위에 paper disc(8mm)를 올려놓고 검액 50 μ l를 농도별로 희석하여 적하하고, 37 $^{\circ}$ C에서 2~6일간 배양한 후 같은 조건 하에서 항균력의 유무를 관찰하였다.

항균력이 나타난 최소희석농도의 검액은 50~20 μ l까지 양을 감소하며 최소 성장 억제 농도(MIC)를 측정하였으며, 같은 방법으로 원액의 검액을 50~20 μ l까지 양을 조절하여 나타난 억제환의 직경(mm)을 측정하여 항균력을 비교하였다. 항균력을 보이지 않을 경우 원액의 검액을 50~100 μ l까지 양을 증량하며 최소 성장 억제 농도를 측정하였으며, 같은 방법으로 원액의 검액을 50~100 μ l까지 양을 조절하여 나타난 억제환의 직경(mm)을 측정하여 항균력을 비교하였다.

항균제 효과를 비교하기 위하여 Levofloxacin제의 점안약 Cravit(제일제약)를 검액과 같은 농도로 실험하였으며 모든 실험은 3회 반복 시행하였다.

III. 實驗結果

1. 최소 성장 억제 농도(MIC)

1) *Staphylococcus aureus*(KCTC 1916)

황련 전탕액은 50 μ l 원액에서만 항균효과를 나타냈고, 희석액에 있어서는 항균효과를 보이지 않았다(Table 2, Fig. 1).

항균효과를 보이는 원액에 대해 양을 조절하여 실험한 결과 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l의 모든 경우에 양의존적으로 항균효과를 보였다(Table 3, Fig. 2).

Table 2. MIC of 50 μ l *Coptidis rhizoma* extract & Cravit on *Staphylococcus aureus*

	100%	10%	1%	0.1%
<i>Coptidis rhizoma</i>	24,3	-	-	-
Cravit	31	28,3	23,5	15,5

-: No inhibition

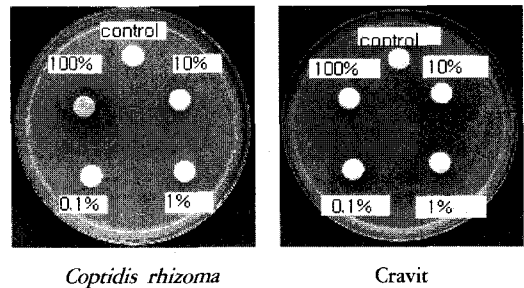


Fig. 1. MIC of 50 μ l *Coptidis rhizoma* extract & Cravit on *Staphylococcus aureus*.

Table 3. MIC of *Coptidis rhizoma* extract(100%) on *Staphylococcus aureus*

	50 μ l	40 μ l	30 μ l	20 μ l
<i>Coptidis rhizoma</i>	26	24	20	16

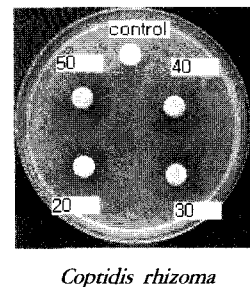


Fig. 2. MIC of *Coptidis rhizoma* extract(100%) on *Staphylococcus aureus*.

2) *Staphylococcus epidermidis*(KCTC 1917)

황련 전탕액은 50 μ l 원액, 10% 희석액에서 항균효과를 나타냈고, 1%, 0.1% 희석액에서 있어서는 항균효과를 보이지 않았다(Table 4, Fig. 3). 항

Table 4. MIC of 50 μ l *Coptidis rhizoma* extract & Cravit on *Staphylococcus epidermidis*

	100%	10%	1%	0.1%
<i>Coptidis rhizoma</i>	22	12	-	-
Cravit	32.7	25.3	25	16

-: No inhibition

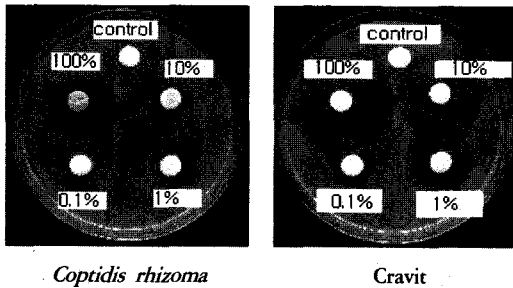


Fig. 3. MIC of 50 μ l *Coptidis rhizoma* extract & Cravit on *Staphylococcus epidermidis*.

Table 5. MIC of *Coptidis rhizoma* extract(100%) on *Staphylococcus epidermidis*

	50 μ l	40 μ l	30 μ l	20 μ l
<i>Coptidis rhizoma</i>	-	25	23	23

-: No inhibition

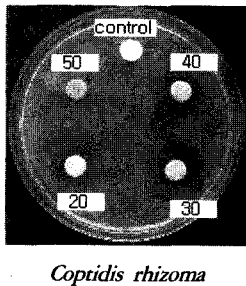


Fig. 4. MIC of *Coptidis rhizoma* extract(100%) on *Staphylococcus epidermidis*.

균효과를 보이는 원액에 대해 양을 조절하여 실험한 결과 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l의 경우에 양의존적으로 항균효과를 보였으나, 50 μ l에서는 항균효과를 보이

지 않았다(Table 5, Fig. 4).

IV. 考 察

각막은 안구의 외막 중 앞쪽 1/6을 차지하는 투명한 무혈관 조직이며 각막상피, 보우만층, 각막간질, 데스메막, 각막내피의 5개의 층으로 이루어져 있고, 보우만층은 일단 파괴되면 재생되지 못하고 반흔을 만들게 된다⁷⁾. 따라서 각막의 상피파리 이외의 손상은 각막에 반흔을 형성하여 시력장애 및 시력상실을 유발할 수 있다. 그러나 정상 각막은 눈꺼풀, 속눈썹, 눈물의 세척작용으로 세균감염으로부터 일차적으로 방어되며, 눈물의 항균성분이 세균 감염을 방지하는 등의 생리적 방어기능⁸⁾으로 인해 쉽게 감염되지는 않는다. 그러나 우리나라 실명 원인에 대한 조사에 의하면 1970년도에는 각막질환이 7.6%를 차지하던 것이 1972년도에는 8.7%를 차지하였고, 1980년도에는 13%를 차지하여 각막질환에 의한 실명이 점차로 증가하고 있는 추세이다⁹⁾.

각막염은 세균성, virus성, 진균성의 순으로 많이 발생하고, 세균에 의한 각막염이 각막의 모든 미생물 감염의 65~90%를 차지하는 것으로 알려져 있으며⁸⁾, 원인 세균은 녹농균, 폐렴구균, 황색포도상구균, 표피포도상구균 등이다⁷⁾.

세균각막염을 유발하는 주된 원인균인 *Staphylococcus species*¹⁰⁾는 Gram양성균으로 건조에 대한 저항력이 강하여 건조된 물질에서도 수 개월간이나 살아있으며, 또 함수탄소, 단백질, 지방 등을 모두 영양분으로 이용할 수 있어서 신체의 어느 부위에서도 살 수 있다¹¹⁾. *Staphylococcus aureus*는 주로 정상적인 피부와 결막을 포함하는 점막 등에 상주하며, 외상으로 손상된 각막에서 흔히 감염을 유발하고 적절한 치료가 되지 않으면 진행하여 각막천공을 일으키게 되는데 *Staphylococcus epidermidis*에 의한 각막염보다 증상이 심하다²⁾. *Staphylococcus epidermidis*는

1993년에 Khosla 등에 의해서 처음으로 각막궤양의 원인균으로 보고되었으며, 현재로는 세균각막염의 비교적 흔한 원인균으로 알려져 있다. Schaefer 등은 1997년부터 1998년까지 발생한 85예의 각막염 중에서 *S. epidermidis*가 전체의 40% 정도로 가장 흔한 원인균이었다고 보고하였으며, 국내에서는 장²⁾ 등이 세균각막염으로 확인된 401안의 4.1%를 차지하였다고 보고하였다. *S. epidermidis*에 의한 각막염은 저연령층보다는 고연령층에서 각막외상이 있을 시에 호발하며²⁾, 콘택트렌즈의 착용과 연관된 감염성 각막염의 주요한 원인균으로 알려져 있는데¹²⁾, 이는 세포의 다당질인 adhesin에 의해서 biofilm을 형성함으로써 세균의 부착과 증식이 잘 되며, 세척이나 소독 시 콘택트렌즈의 살균효과가 떨어지는 것이 한 가지 원인이라고 하였다²⁾.

각막염의 치료는 원인균을 제거하고, 염증반응을 억제하며, 정상적인 각막의 구조를 회복시키는 데 있다. 따라서 임상적인 평가, 검사실 검사 시행 및 올바른 판정, 적절한 항생제 투여 및 수술적 치료에 대한 지식 등이 필수적이며⁸⁾, 성공적 치료를 위해서는 약제의 적절한 투여방법이 필요하다¹³⁾. 안과적 치료에 있어 항생제의 전신적 투여는 각막에 도달하는 농도가 충분하지 못하고 다량 사용 시 간기능 저하가 유발될 수 있으며, 또한 내성을 가진 균주의 출현도 문제되고 있어¹⁴⁾, 약제의 점안이 가장 흔히 사용되고 있다¹⁵⁾.

한의학적 안과치료는 內治와 外治로 나눌 수 있으며, 外治는 약물을 눈 국부에 직접 작용시키는 치료방법으로 外障 질환에 사용한다. 外治의 방법은 點藥, 滴藥, 敷法, 洗眼法, 熏法, 熨法 등이 있으며¹⁶⁾, 이 중 滴藥이 지금의 점안치료와 유사하다고 할 수 있다. 滴藥은 약물들을 달여서 침전이 생기지 않을 때까지 여러 번 여과하여 소독한 다음 하루에 2-3회 滴眼하는 방법이다. 그러나 滴藥은 한약을 煎湯하고 여과·소독하여야 하며, 장기간

보관이 용이하지 않아 임상상 활용이 여의치 않아 한방안과에서조차 사용하기가 어려운 실정이다.

황련은 매자나무과에 속하는 여러해살이 풀인 산련풀의 뿌리줄기를 말린 것으로 열을 내리고 습을 없애며 독을 푸는 효능이 있으며, 달인 물로 결막염 및 각막염에 사용할 수 있다¹⁷⁾. 또한 많은 한의학서적에 황련안약수로 만들어 각종 안과질환에 사용하는 것으로 되어 있다. 이에 황련을 점안약으로 사용하기 위하여 세균성 각막염을 일으키는 균 중 *Staphylococcus aureus*와 *Staphylococcus epidermidis* 균주를 선택하여 최소 성장 억제 농도 측정 및 억제환 측정 실험을 양방의학의 항생제인 Cravit를 대조군으로 하여 실시하였다.

*Staphylococcus aureus*에 대해서 황련 전당액은 50 μ l 원액에서만 항균효과를 나타냈고, 희석액에 있어서는 항균효과를 보이지 않았으며, 항균효과를 보이는 원액에 대해 양을 조절하여 실험한 결과 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l의 모든 경우에 양의존적으로 항균효과를 보였다.

*Staphylococcus epidermidis*에 대해서 황련 전당액은 50 μ l 원액, 1/10 희석액에서 항균효과를 나타냈고, 1/100, 1/1000 희석액에서 있어서는 항균효과를 보이지 않았으며, 항균효과를 보이는 원액에 대해 양을 조절하여 실험한 결과 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l의 경우에 양의존적으로 항균효과를 보였다. 그러나 1단계 실험에서 50 μ l에서는 항균효과를 보였으나, 2단계 실험에서 항균효과를 보이지 않은 것은 검액의 확산이 덜 되었기 때문으로 사려되며, 10/1 희석액에서의 2단계 실험은 희석액이 원액에 비하여 항균효과가 크지 않아 진행되지 못하였다.

이상의 결과로 볼 때 황련 전당액은 *Staphylococcus aureus*와 *Staphylococcus epidermidis* 균주에 대하여 항균능력이 있음이 입증되었다. 이에 앞으로 항균효과를 최대로 발휘할 수 있도록 제제약의 규정에 맞게 제형방법을 변형시켜 효과적인 점안약으로 개발하는 노력이 필요할 것으로 사려된다.

V. 結 論

황련 전탕액의 각막염 유발균인 *Staphylococcus aureus*와 *Staphylococcus epidermidis*에 미치는 항균효과를 알아보기 위하여 최소 성장 억제 농도(MIC)와 억제환(Inhibition zone) 측정을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. *Staphylococcus aureus*에 대해 황련 전탕액은 50 μ l 원액에서만 항균효과를 보였다.
2. *Staphylococcus aureus*에 대해 원액의 황련 전탕액은 양의존적으로 항균효과를 보였다.
3. *Staphylococcus epidermidis*에 대해 황련 전탕액은 50 μ l 원액, 1/10 희석액에서 항균효과를 보였다.
4. *Staphylococcus epidermidis*에 대해 원액의 황련 전탕액은 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l의 경우에 양의존적으로 항균효과를 보였다.

황련 전탕액은 *Staphylococcus aureus*와 *Staphylococcus epidermidis*에 대해 다소 높은 항균효과를 보여 향후 제제약의 규정에 맞는 제형변화를 통해 효과적인 점안약으로의 개발이 요구된다.

參 考 文 獻

1. 신태양사 편집국 백과사전부. 원색최신의료대백과사전. 신태양사. 1994; 47-8.
2. 장영식, 한영호. *Staphylococcus epidermidis* 각막염의 역학조사. 대한안과학회지. 2002; 43(4): 665-72.
3. 李傳課. 중의안과학. 인민위생출판사. 2002; 477, 479, 488, 497.
4. 최규동 채병윤. 黃連, 진피, 秦皮散이 녹농균성

- 각막염에 미치는 효과에 관한 실험적 연구. 대한외관과학회지. 1999; 12(1): 18-35.
5. 이상준, 이주화. Soft Contact Lens 사용 중 발생된 녹농균성 각막염 3예. 대한안과학회지. 1990; 31(5): 681-6.
6. 약제학분과회. 제제학. 한림원. 2000; 12.
7. 윤동호, 이상욱, 최익. 안과학. 일조각. 1996; 2-3, 111-2.
8. 한국의안부연구회 편. 각막. 일조각. 1999; 75-95.
9. 심일청, 오준섭. 세균성 및 진균성 각막궤양의 임상적 고찰. 대한안과학회지. 1982; 23: 915-9.
10. Jones DB. Initial therapy of suspected microbial corneal ulcer. II. Specific antibiotic therapy based on corneal smears. Surv Ophthalmol. 1979; 24: 105-16.
11. 정희영, 전종휘. 감염질환. 서울: 수문사. 1987; 665-75.
12. Tabbara KF, El-Sheikh HF, Aabed B. Extended wear contact lens related bacterial keratitis. Br J Ophthalmol. 2000; 84: 327-8.
13. 이유환, 한영호, 김광혁. 실험적 *Staphylococcus aureus* 각막염에서 Ciprofloxacin을 적신 Collagen Shield의 치료효과. 대한안과학회지. 1996; 37(10): 1601-6.
14. 김상윤. 녹농균의 항생제 내성의 특성. 경북대학교 대학원. 1985.
15. 이유환, 한영호, 노주현. 점안약의 오염에 관한 연구. 대한안과학회지. 1996; 37(5): 141-8
16. 김성원, 김성권. 한방전문의총서(안과). 해동의 학사. 1996: 72-5.
17. 리명영 외 34명. 동의학사전. 여강출판사. 1988: 1037-8.