

원저

황련의 증량에 따른 전탕액이 Staphylococcus aureus에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구

· 서형식
상지대학교 한의과대학 안이비인후피부과 교실

The Experimental Study on Anti-bacterial Potency of Coptidis rhizoma extract compare with quantity on Staphylococcus aureus

Hyeong-sik Seo

Dept. of Ophthalmology, Otorhinolaryngology & Dermatology, College of Korean Medicine, Sangji University

ABSTRACT

- Objective** This experimental study was performed to investigate the effect of Coptidis rhizoma extract compared with quantity on Staphylococcus aureus that induce keratitis.
- Methods** Minimal inhibitory concentration(MIC) was measured by dropping to 50 μ l according to density Coptidis rhizoma extract(100%, 10%, 1%, 0.1%) compared with quantity(40g, 80g, 160g). 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 showed anti-bacterial potency compared with quantity and density in 100% and 10% of all samples(40g, 80g, 160g).
 2. MIC on Staphylococcus aureus in Coptidis rhizoma extract(40g, 80g, 160g) was showed anti-bacterial potency compared with quantity all samples(20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l) in 100% density.
 3. MIC on Staphylococcus aureus in Coptidis rhizoma extract(40g, 80g, 160g) was showed anti-bacterial potency compared with quantity all samples(20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l) in 100% density. Anti-bacterial potency of 80g Coptidis rhizoma extract decreased compared with 40g. Anti-bacterial potency of 160g Coptidis rhizoma extract decreased compared with 40g in 20 μ l, 30 μ l.
- Conclusions** Coptidis rhizoma extract was showed anti-bacterial potency compare with quantity and density. In herbal drug, anti-bacterial potency compare with quantity and density must be studied.

key words Staphylococcus aureus, keratitis, Coptidis rhizoma extract, MIC, Inhibition zone.

1. 서론

각막염은 각막에 생기는 염증성 질환으로 폐렴구균, 포도상구균, 연쇄상구균, 녹농균, 진균 등에 의해 유발되며¹⁾, 폐렴쌍구균이 제일 많이 차지하고 있다²⁾. 그러나 최근 Cortico-steroid제 안약의 남용으로 인하여 Staphylococcus aureus와 Staphylococcus epidermidis가 각

막괴양을 일으키는 세균으로 새롭게 발견되었으며²⁾, 그중 Staphylococcus aureus가 각막염을 가장 심하게 일으키는 균으로 알려져 있다³⁾.

한의학적으로 聚星障, 凝脂翳, 花翳白陷 등의 질환이 각막염에 해당되며⁴⁾, 이는 각막염이 진행되는 상태에 따라 보이는 각막표면의 모양에 따라 命名한 것으로 서양의학의 원인균에 따른 분류와는 다른 차이를 보이고 있다. 각

※ 교신저자 : 서형식, 강원도 원주시 우산동 238번지 상지대학교부속한방병원 안이비인후피부과
(Tel: 033-741-9266, E-mail : aran99@sangji.ac.kr)

※ 이 논문은 2006년도 상지대학교 교내 연구비 지원에 의한 것임

막의 상피박리만을 보이는 聚星障은 아무런 장애없이 치유되나, 각막의 꺾양을 형성하는 凝脂翳와 花翳白陷은 각막의 투명성을 손상시켜 시력장애를 유발하거나, 천공을 유발하여 심한 경우 실명에 이를 수 있다.

Staphylococcus aureus에 대한 한의학적 연구로는 서⁵⁻⁷⁾의 소염약침액, 황련해독탕, 황련이 Staphylococcus aureus에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구, 황련해독탕 약침액과 전탕액이 Staphylococcus aureus와 Staphylococcus epidermidis에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구, 황련 전탕액이 Staphylococcus aureus와 Staphylococcus epidermidis에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구가 있었다.

黃連은 매자나무과에 속하는 여러해살이 풀인 산련풀의 뿌리줄기를 말린 것으로 熱을 내리고 濕을 없애며 毒을 푸는 효능이 있으며, 달인 물로 결막염 및 각막염에 사용할 수 있다⁸⁾. 또한 많은 한의학서적에 黃連眼藥水로 만들어 각종 안과질환에 사용하는 것으로 되어 있다.

각막에는 혈관분포가 없기 때문에 내복제보다는 약물을 국소 점안하는 것이 약물침투에 용이하며⁹⁾, 세균이나 세균에서 나오는 여러 가지 독소와 효소를 씻어내는 효과가 있으므로 유리하다¹⁰⁾. 따라서 한의학의 안과영역에서는 사용하기 편리하고 효과적인 점안제의 개발이 필요하다. 그러나 점안약은 특성상 무균의 제제로서 불용성 이물을 포함하지 않는 용액 또는 입자가 극히 미세하여야 하므로¹¹⁾ 손쉽게 만들기 어려운 상황이다.

이에 黃連을 점안약으로 활용하기 위하여 제형 변화를 하기 앞서 각막염의 유발균주에 하나인 Staphylococcus aureus에 대해 증량에 따른 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 40g, 80g, 160g을 사용하였다.

2) 균주 및 배지

본 실험에 사용한 Staphylococcus aureus(KCTC 1916)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) 약물의 제조

황련 40g, 80g, 160g을 각각 증류수 1ℓ 씩을 가한 후 전탕기(DWP-1800T, daewoong, Korea)를 이용하여 2시간 30분 전탕하였다. 10분간 원심분리하여 상층액을 취한 후 0.2 micrometer filter로 여과시켜 멸균하였다.

2) 피검균액의 준비

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

3) 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 aureus의 현탁액 100μl를 적정배지인 Nutrient Agar에 도말하였고, 검액은 원액, 10%, 1%, 0.1%로 희석한 것과 희석액 별로 각각 20μl~100μl씩 준비하여 사용하였다. 피검균을 도말한 배지 위에 paper disc(8mm)를 올려놓고 검액 50μl를 농도별로 희석하여 적하하고, 37℃에서 2~6일간 배양한 후 같은 조건 하에서 항균력의 유무를 관찰하였다. 항균력이 나타난 최소희석농도의 검액은 50~20μl까지 양을 감소하며 최소 성장 억제 농도(MIC)를 측정하였으며, 같은 방법으로 원액의 검액을 50~20μl까지 양을 조절하여 나타난 억제환의 직경(mm)을 측정하여 항균력을 비교하였다. 항균력을 보이지 않을 경우 원액의 검액을 50~100μl까지 양을 증량하며 최소 성장 억제 농도를 측정하였으며, 같은 방법으로 원액의 검액을 50~100μl까지 양을 조절하여 나타난 억제환의 직경(mm)을 측정하여 항균력을 비교하였다. 항균제 효과를 비교하기 위하여 Levofloxacin제제의 점안약 Cravit(제일제약)를 검액과 같은 농도로 실험

하였으며 모든 실험은 3회 반복 시행하였다.

또한 20 μ l, 30 μ l에서 160g의 황련 전탕액이 40g의 황련 전탕액보다 항균력이 감소하였다(Table 3, Fig. 3).

III. 實驗結果

1. 최소 성장 억제 농도(MIC)

1) 50 μ l에서 희석비율에 따른 항균력

Staphylococcus aureus에 대해 40g, 80g, 160g의 황련 전탕액 100%와 10%의 농도에서 량 및 농도에 의존적으로 항균력을 보였다.(Table 1, Fig. 1).

2) 원액의 량에 따른 항균력

Staphylococcus aureus에 대해 40g, 80g, 160g의 황련 전탕액 100% 농도의 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l 모두 증량 및 원액의 량에 의존적으로 항균력을 보였다(Table 2, Fig. 2).

3) 10%액의 량에 따른 항균력

Staphylococcus aureus에 대해 40g, 80g, 160g의 황련 전탕액 10% 농도의 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l에서 원액의 량에 의존적으로 항균력을 보였다. 그러나 80g의 황련 전탕액이 40g의 황련 전탕액보다 항균력이 감소하였다.

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 된다.²⁾ 따라서 각막의 상피박리 이외의 손상은 각막에 반흔을 형성하여 시력장애 및 시력상실을 유발할 수 있다. 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 추세이다.¹²⁾

각막염은 세균성, virus성, 진균성의 순으로 많이 발생하고²⁾, 세균에 의한 각막염이 각막의 모든 미생물 감염의 65~90%를 차지하는 것으로 알려져 있으며¹³⁾, 원인 세균은 녹농균, 폐렴구균, 황색 포도상구균, 표피포도상구균 등이다.²⁾

세균각막염을 유발하는 주된 원인균인 Staphylococcus species14)는 Gram양성균으로 건조에 대한 저

<Table 1> MIC of 50 μ l Coptidis rhizoma extract(40g, 80g, 160g) & Cravit on Staphylococcus aureus

	100%	10%	1%	0.1%
Coptidis rhizoma(40g)	27.7	13.3	-	-
Coptidis rhizoma(80g)	30	15	-	-
Coptidis rhizoma(160g)	31.5	16	-	-
Cravit	31	28.3	23.5	15.5

-: No inhibition



Fig. 1 MIC of 50 μ l Coptidis rhizoma extract(40g, 80g, 160g) & Cravit on Staphylococcus aureus.

〈Table 2〉 MIC of 100% Coptidis rhizoma extract compare with quantity on Staphylococcus aureus

	50 μ l	40 μ l	30 μ l	20 μ l
Coptidis rhizoma(40g)	30.5	28.5	28	24.7
Coptidis rhizoma(80g)	32.7	30.3	30	28
Coptidis rhizoma(160g)	35	32	31	29.7

--: No inhibition

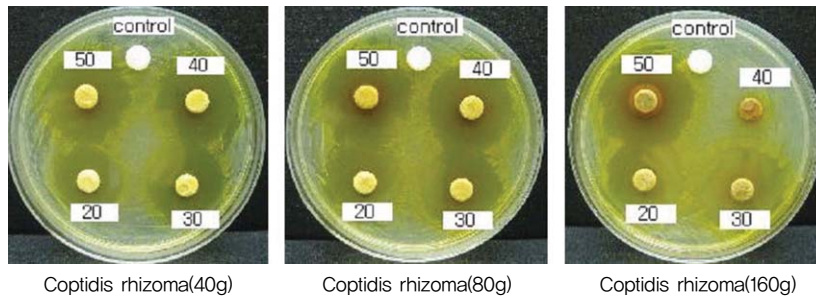


Fig. 2 MIC of 100% Coptidis rhizoma extract compare with quantity on Staphylococcus aureus

〈Table 3〉 MIC of 10% Coptidis rhizoma extract compare with quantity on Staphylococcus aureus

	50 μ l	40 μ l	30 μ l	20 μ l
Coptidis rhizoma(40g)	14.5	14	13	11
Coptidis rhizoma(80g)	13.7	11	10	--
Coptidis rhizoma(160g)	17.3	15	12.3	10.3

--: No inhibition

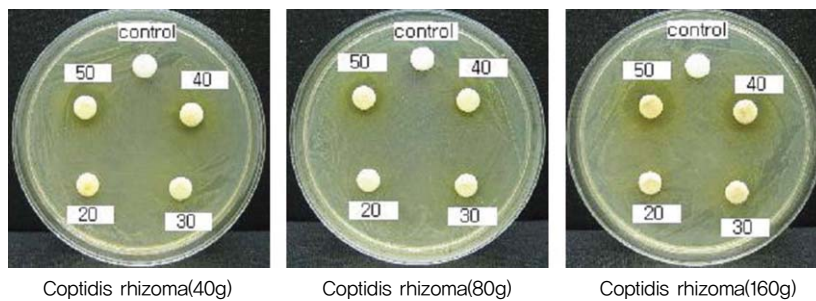


Fig. 3 MIC of 10% Coptidis rhizoma extract compare with quantity on Staphylococcus aureus

항력이 강하여 건조된 물질에서도 수 개월간이나 살아있으며, 또 함수탄소, 단백질, 지방 등을 모두 영양분으로 이용할 수 있어서 신체의 어느 부위에서도 살 수 있다¹⁵⁾. Staphylococcus aureus는 주로 정상적인 피부와 결막을 포함하는 점막 등에 상주하며, 외상으로 손상된 각막에서 흔히 감염을 유발하고 적절한 치료가 되지 않으면 진행하

여 각막천공을 일으키게 되는데 Staphylococcus epidermidis에 의한 각막염보다 증상이 심하다³⁾.

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 필수적

이며¹³⁾, 성공적 치료를 위해서는 약제의 적절한 투여방법이 필요하다¹⁶⁾. 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 있어¹⁷⁾, 약제의 점안이 가장 흔히 사용되고 있다¹⁸⁾.

黃連은 매자나무과에 속하는 여러해살이 풀인 산련풀의 뿌리줄기를 말린 것으로 熱을 내리고 濕을 없애며 毒을 푸는 효능이 있으며, 달인 물로 결막염 및 각막염에 사용할 수 있다⁸⁾. 또한 많은 한의학서적에 黃連眼藥水로 만들어 각종 안과질환에 사용하는 것으로 되어 있으며, 서^{5,7,19)}의 연구에서도 黃連이 항균효과가 있다고 보고를 하였다.

한의학적 안과치료는 內治와 外治로 나눌수 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 있으며²⁰⁾, 이중 滴藥이 지금의 점안 치료와 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.

이에 황련을 보다 편리한 약침제제의 점안약으로 사용하기 위하여 세균성 각막염을 일으키는 균 중 Staphylococcus aureus 균주를 선택하여 증량에 따른 항균효과를 양방의학의 항생점안제인 Cravit를 대조군으로 하여 최소 성장 억제 농도 측정 및 억제환 측정 실험을 실시하였다.

Staphylococcus aureus에 대한 황련의 증량에 따른 최소 성장 억제 농도에서는 40g, 80g, 160g의 황련 전탕액 100%와 10%의 농도에서 량 및 농도에 의존적으로 항균력을 보였다.

이에 100%와 10% 농도에서 20-50 μ l의 량에 따른 억제환 실험을 측정한 결과는 다음과 같았다.

40g, 80g, 160g의 황련 전탕액 100% 농도에서도 Staphylococcus aureus에 대해 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l 모두 증량 및 원액의 량에 의존적으로 항균력을 보였다.

40g, 80g, 160g의 황련 전탕액 10% 농도에서 Staphylococcus aureus에 대해 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l에서 원액의 량에 의존적으로 항균력을 보였다. 그러나 황련 80g의 전탕액이 황련 40g의 전탕액보다 항균력이 감소하였다. 또한 20 μ l, 30 μ l에서 황련 160g의 전탕액이 황

련 40g의 전탕액보다 항균력이 감소하였다

이상의 결과로 볼 때 황련 전탕액은 Staphylococcus aureus 균주에 대하여 농도 및 량 의존적으로 항균력을 갖는 것으로 나타났으나, 10% 농도에 있어서 항균력이 량 의존적으로 증가하지 않는 것으로 보아 향후 항균력에 대한 약물의 적정량에 대하여 보다 깊이 있는 연구가 필요할 것으로 사려된다.

V. 結 論

황련의 증량에 따른 전탕액이 각막염 유발균인 Staphylococcus aureus에 미치는 항균효과를 알아보기 위하여 최소 성장 억제 농도(MIC)와 억제환(Inhibition zone) 측정을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Staphylococcus aureus에 대해 40g, 80g, 160g의 황련 전탕액 100%와 10%의 농도에서 량 및 농도에 의존적으로 항균력을 보였다.
2. Staphylococcus aureus에 대해 40g, 80g, 160g의 황련 전탕액 100% 농도의 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l 모두 증량 및 원액의 량에 의존적으로 항균력을 보였다.
3. Staphylococcus aureus에 대해 40g, 80g, 160g의 황련 전탕액 10% 농도의 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l에서 원액의 량에 의존적으로 항균력을 보였다.

이상의 결과로 향후 황련을 포함한 모든 약물의 가장 우수한 항균효과를 보일 수 있는 적정량에 대한 보다 깊이 있는 연구가 필요할 것으로 사려된다.

參考文獻

1. 신태양사 편집국 백과사전부. 원색최신의료대백과사전. 신태양사. 1994; 47-8.
2. 윤동호, 이상욱, 최익. 안과학. 일조각. 1996; 2-3, 111-3.
3. 장영식, 한영호. Staphylococcus epidermidis 각막염의 역학조사. 대한안과학회지. 2002; 43(4): 665-72.
4. 李傳課. 중의안과학. 인민위생출판사. 2002; 477.

- 479, 488, 497.
5. 서형식. 소염약침액, 황련해독탕, 황련이 *Staphylococcus aureus*에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구, 대한약침학회지, 2006; 9(2): 87-92.
 6. 서형식. 황련해독탕 약침액과 전탕액이 *Staphylococcus aureus*와 *Staphylococcus epidermidis*에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구, 대한약침학회지, 2006; 9(2): 99-104.
 7. 서형식. 황련 전탕액이 *Staphylococcus aureus*와 *Staphylococcus epidermidis*에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구, 한방안이비인후피부과학회지, 2006; 19(2): 71-76.
 8. 리명영 외 34명. 동의학사전. 여강출판사. 1988: 1037-8.
 9. 최규동 채병윤. 黃連, 진피, 秦皮散이 녹농균성 각막염에 미치는 효과에 관한 실험적 연구. 대한외관과학회지. 1999; 12(1): 18-35.
 10. 이상준, 이주화. Soft Contact Lens 사용 중 발생된 녹농균성 각막염 3예. 대한안과학회지. 1990; 31(5): 681-6.
 11. 약제학분과회. 제제학. 한림원. 2000; 12.
 12. 심일청, 오준섭. 세균성 및 진균성 각막궤양의 임상적 고찰. 대한안과학회지. 1982; 23: 915-9.
 13. 한국외안부연구회 편. 각막. 일조각. 1999: 75-95.
 14. Jones DB. Initial therapy of suspected microbial corneal ulcer. II. Specific antibiotic therapy based on corneal smears. *Surv Ophthalmol*, 1979; 24: 105-16.
 15. 정희영, 전중휘. 감염질환. 서울: 수문사. 1987: 665-75.
 16. 이유환, 한영호, 김광혁. 실험적 *Staphylococcus aureus* 각막염에서 Ciprofloxacin을 적신 Collagen Shield의 치료효과. 대한안과학회지. 1996; 37(10): 1601-6.
 17. 김상윤. 녹농균의 항생제 내성의 특성. 경북대학교 대학원. 1985.
 18. 이유환, 한영호, 노주현. 점안약의 오염에 관한 연구. 대한안과학회지. 1996; 37(5): 141-8.
 19. 서형식. 황련 전탕액이 *Staphylococcus aureus*와 *Staphylococcus epidermidis*에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구. 한방안이비인후피부과학회지, 2006; 19(2): 19-25.
 20. 김성원, 김성권. 한방전문의총서(안과). 해동의학사. 1996: 72-5.