

원저

秦皮散이 Staphylococcus species(S. aureus, S. epidermidis)의 배양일에 따른 항균효과의 지속성에 관한 연구

• 서형식 상지대학교 한의과대학 안이비인후피부과 교실

The Experimental Study on the continuous Anti-bacterial Potency of Jinpi-san on Cultivation of Staphylococcus species(S. aureus, S. epidermidis)

Hyeong-sik Seo
Dept. of Ophthalmology, Otorhinolaryngology & Dermatology,
College of Korean Medicine, Sangji University

ABSTRACT

- Objectives** This experimental study was performed to investigate the continuous anti-bacterial potency of *Jinpi-san* on cultivation of *Staphylococcus species*(*S. aureus*, *S. epidermidis*) that induce eye disease.
- Methods** Minimal inhibitory concentration(MIC) was measured by dropping to 50 μ l diluted *Jinpi-san*(100%, 10%, 1%, 0.1%) on *S. aureus*, *S. epidermidis* that were cultivated from 2 to 6 days. Anti-bacterial potency was measured by the size of inhibition zone with change of volume(20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l).
- Results** 1. Anti-bacterial potency of *Jinpi-san* on *S. aureus* was appeared in 100% and increased on 6 days. Anti-bacterial potency with change of volume was increased in propotion to increase volume. Anti-bacterial potency of *Jinpi-san* on *S. aureus* was appeared continuous.
2. Anti-bacterial potency of *Jinpi-san* on *S. epidermidis* was appeared in 100%, 10%, 1% on 2 days and in 100%, 10% on 6 days. In 100% *Jinpi-san*, Anti-bacterial potency of 6 days was increased, in 10%, Anti-bacterial potency of 2 days was increased, in 1%, Anti-bacterial potency of 6 days was disappear. Anti-bacterial potency with change of volume was increased in propotion to increase volume except for 20 μ l of 6 days and increased on 6 days, but bacteria was increased. Anti-bacterial potency of *Jinpi-san* on *S. epidermidis* wasn't appeared continuous.
- Conclusions** Anti-bacterial potency of *Jinpi-san* on cultivation of *S. aureus* was showed continuous, but on cultivation of *S. epidermidis* was not showed continuous.

Key word *Staphylococcus species*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Jinpi-san*, eye disease, MIC, Inhibition zone.

1. 서론

外障이란 瞳神이외의 눈병을 總稱하여 이르는 말로, 발생 부위는 胞臉, 貲部, 白睛, 黑睛 등이며, 주로 六淫邪毒에 의하여 발병한다¹⁾. 六淫邪毒이란 외부로부터 침입한 병의 원인으로 세균이나 바이러스 같은 미생물에 해당한다 볼 수 있으며,

Staphylococcus species(*S. aureus*, *S. epidermidis*)가 세균성 안질환을 일으키는 주된 원인균²⁾이라 보고되고 있다.

안과 질환에 다용되는 외치의 방법으로 서 등³⁾은 適法이라 보고를 하였으며, 適法은 약물을 煎湯하여 점안하는 방법이다. 약물을 국소 점안하는 것은 약물침투에 용이⁴⁾하며, 세균이나 세균에서 나오는 여러 가지 독소와 효소를 씻어내는 효과가 있으므로 유리⁵⁾하다고 보고 되고 있다. 이런 측면에서 볼 때 六淫邪毒에 의하여 발병한 급성적인 外障에 안구에 자

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

극이 없으며 효과적인 한방 점안약을 사용하는 것이 다방면에서 유리할 수 있다고 사려된다.

秦皮散은 東醫寶鑑에서 兩目赤腫, 疼痛, 流淚, 生青白?를 치료⁶⁾하는 洗眼藥으로 소개되는 약이며, 서⁷⁾는 항균효과가 있다고 보고하였다.

본 연구에서는 六淫邪毒에 의해 유발되는 外障疾患에 유효한 點眼藥으로 사용할 목적으로 *S. aureus*와 *S. epidermidis*에 대한 秦皮散의 항균효과의 지속성을 알아보기 위해서 배양일에 따른 최소 성장 억제 농도 측정 및 억제 환 측정 실험을 수행하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 재료

1) 약물

본 실험에 사용한 秦皮散의 약재는 시중 건재상에서 구입

<Table 1> Prescription of Jinpi-san

Jinpi-san	Scientific Name	Dose(g)
秦皮	<i>Fraxini Cortex</i>	26
黃連	<i>Coptidis rhizoma</i>	26
滑石	<i>Talcum</i>	26
總量		78

하여 잡질을 제거하고 형태가 완전한 것을 정선하여 사용하였다.

2) 균주 및 배지

본 실험에 사용한 *S. aureus*(KCTC 1916), *S. epidermidis*(KCTC 1917)는 한국생명공학연구원(KCTC)에서 분양 받아 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°C의 환경에서 배양하였다.

2. 방법

1) 약물의 제조

秦皮散 78g을 증류수 1ℓ 를 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 *S. aureus*와 *S. epidermidis*를 NA(Nutrient Agar)에 접종한 후, 37°C에서 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 *S. aureus*와 *S. epidermidis*의 현탁액 100μl를 적정배지인 Nutrient Agar에 도말하였고, 검액은 원액, 10%, 1%, 0.1%로 희석한 것과 희석액 별로 각각 50μl를 준비하여 사용하였다. 피검균을 도말한 배지 위에 paper disc(8mm)를 올려놓고 검액 50μl를 농도별로 희석하여 적하하고, 37°C에서 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 실험하였으며 모든 실험은 3회 반복 시행하였다.

III. 實驗結果

1. 최소 성장 억제 농도(MIC)

1) *S. aureus*(KCTC 1916)

*S. aureus*에 대한 2일과 6일의 秦皮散의 항균력은 원액에 서만 나타났으며, 2일보다 6일의 항균력이 약간 높게 나타났다(Table 2, Fig. 1).

2) *S. epidermidis*(KCTC 1917)

*S. epidermidis*에 대한 2일과 6일의 秦皮散의 항균력은 2

<Table 2> MIC of 50μl Jinpi-san & Cravit on cultivation of S. aureus

	100%	10%	1%	0.1%
Jinpi-san(2일)	14	-	-	-
Jinpi-san(6일)	15	-	-	-
Cravit(2일)	31	28.3	23.5	15.5

--: No inhibition

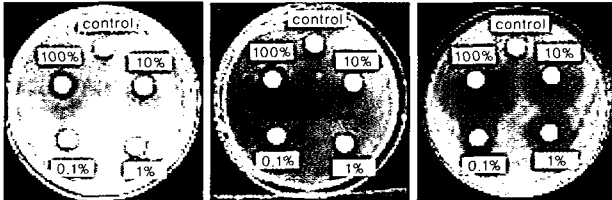


Fig. 1. MIC of 50μl Jinpi-san & Cravit on cultivation of S. aureus

<Table 3> MIC of 50μl Jinpi-san & Cravit on cultivation of S. epidermidis

	100%	10%	1%	0.1%
Jinpi-san(2일)	23.7	21	12	-
Jinpi-san(6일)	29.3	11	-	-
Cravit(2일)	32.7	25.3	25	16

--: No inhibition

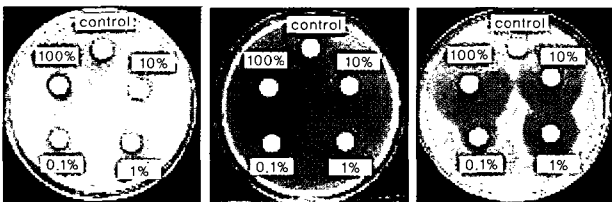


Fig. 2. MIC of 50μl Jinpi-san & Cravit on cultivation of S. epidermidis

일에서는 원액, 10%, 1% 검액에서 나타났고, 6일에서는 원액, 10% 검액에서 나타났다. 원액에서는 2일보다 6일의 항균력이 높았고, 10%에서는 6일보다 2일의 항균력이 높았으며, 1%에서는 6일에 항균력을 보이지 않았다(Table 3, Fig. 2).

2. 억제환(Inhibition zone) 크기 비교

1) S. aureus(KCTC 1916)

S. aureus에 대한 2일과 6일의 秦皮散 원액의 항균력은 20-50μl의 모든 검액에서 나타났으며, 량에 비례하였다. 2일과 6일의 항균력은 동일하게 나타났다(Table 4, Fig. 3).

<Table 4> Growth inhibition effect of Jinpi-san & Cravit on cultivation of S. aureus

	50μl	40μl	30μl	20μl
Jinpi-san(100%, 2일)	19	17	15	14
Jinpi-san(100%, 6일)	19	17	15	14
Cravit(0.1%, 2일)	15.5	-	-	-

--: No inhibition

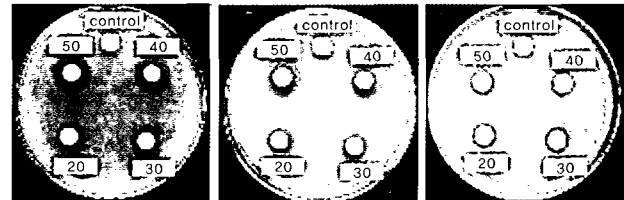


Fig. 3. Growth inhibition effect of Jinpi-san & Cravit on cultivation of S. aureus

<Table 5> Growth inhibition effect of Jinpi-san & Cravit on cultivation of S. epidermidis

	50μl	40μl	30μl	20μl
Jinpi-san(100%, 2일)	16	14	13	13
Jinpi-san(100%, 6일)	36	28.5	23.5	25
Cravit(0.1%, 2일)	-	-	-	-

--: No inhibition

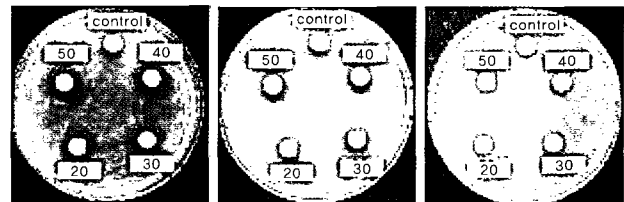


Fig. 4. Growth inhibition effect of Jinpi-san & Cravit on cultivation of S. epidermidis

2) S. epidermidis(KCTC 1917)

S. epidermidis에 대한 2일과 6일의 秦皮散 원액의 항균력은 2일에서는 모든 검액에서 량에 비례해서 나타났고, 6일에서는 20μl를 제외하고 량에 비례해서 나타났으며, 2일보다는 6일의 항균력은 높게 나타났다. 그러나 6일 배양하는 동안 억제환은 크기가 증가하기는 했으나, 동시에 균도 함께 자라는 모습을 보였다(Table 5, Fig. 4).

IV. 考 察

外障이란 瞳神이외의 눈병을 總稱하여 이르는 말로, 발생 부위는 胞臉, 贅部, 白睛, 黑睛 등이며, 주로 六淫邪毒에 의하여 발병한다¹⁾. 六淫邪毒이란 외부로부터 침입한 風, 寒, 暑, 濕, 燥, 火의 邪氣를 말하는 것으로 대기중에 존재하는 세균이나 바이러스 같은 미생물에 해당한다 볼 수 있으며, 이는 인체의 면역이 저하된 경우, 또는 자체의 힘이 강한 경우 인체에 침범하여 질병을 일으키게 되는 것이다. 안질환을 일으키는 원인으로는 세균성, virus성, 진균성의 순으로 많이 발생하고²⁾, 세균에 의한 경우가 모든 미생물 감염의 65~90%를 차지하는 것으로 알려져 있으며³⁾, 원인 세균은 녹농균, 폐렴구균, 황색 포도상구균, 표피포도상구균 등이다⁴⁾. 이 중 *Staphylococcus species*가 세균성 안질환을 일으키는 주된 원인균⁵⁾이라 보고되고 있다.

六淫邪毒에 의하여 발병한 급성적인 外障眼病에 대한 한 의학적 치료방법은 다른 질환과 마찬가지로 內治와 外治로 나눌 수 있으나, 급성적인 성격의 질환에 內治는 비용적인 측면이나 환자의 편리성 면에서 다소 임상에서 시행하기 어려우며, 현재 한의학적으로 유효하게 상용화 된 外治의 방법은 全無한 실정이다. 外障에 대응되는 외치의 방법은 適法⁶⁾이며, 이는 약물을 국소 점안하는 치료방법으로 外障眼病에 약물침투가 용이하며⁷⁾, 세균이나 세균에서 나오는 여러 가지 독소와 효소를 씻어내는 효과가 있으므로 유리⁸⁾하다 할 수 있다.

秦皮散은 東醫寶鑑에서 兩目赤腫, 疼痛, 流淚, 生青白翳를 치료하는 洗眼藥으로 소개되는 약이며, 서⁹⁾에 의해 항균효과가 있다고 보고되었으나, 항균력에 대한 결과만 있을 뿐 항균력의 지속성에 대한 연구 결과는 없는 상황이다. 이에 六淫邪毒에 의해 유발되는 外障疾患에 유효한 洗眼藥으로 사용할 목적으로 *Staphylococcus species*(*S. aureus*, *S. epidermidis*)에 대한 秦皮散의 항균효과의 지속성을 알아보기 위해서 배양일에 따른 최소 성장 억제 농도 측정 및 억제환 측정 실험을 수행하였다.

*S. aureus*에 대한 秦皮散의 항균력은 2일과 6일 모두 원액에서만 나타났으며, 2일보다는 6일의 항균력이 높게 나타났고, 용량과 관련된 결과에서 용량과 비례하는 항균력을 보였으나 일수에 따른 항균력은 동일하게 나타났다. 이로 볼 때 *S. aureus*에 대한 秦皮散의 항균력은 지속성을 보인다고 사려된다.

*S. epidermidis*에 대한 秦皮散의 항균력은 2일에서는 원

액, 10%, 1% 검액에서 나타났고, 6일에서는 원액, 10% 검액에서 나타났고, 원액에서는 2일보다 6일의 항균력이 높았고, 10%에서는 6일보다 2일의 항균력이 높았으며, 1%에서는 6일에 항균력을 보이지 않았다. 용량과 관련된 결과에서 2일에서는 모든 검액에서, 6일에서는 20 μ l를 제외한 검액에서 량에 비례해서 나타났고, 2일보다는 6일의 항균력은 높게 나타났다. 그러나 6일 배양하는 동안 억제환은 크기가 증가하기는 했으나, 동시에 균도 함께 자라는 모습을 보였다. 이로 볼 때 *S. epidermidis*에 대한 秦皮散의 항균력은 최고치에서 유지되지 않고 감소하는 것으로 사려된다.

이상의 결과로 볼 때 秦皮散은 *S. aureus*에 대해서는 항균력을 지속적으로 유지하나, *S. epidermidis*에 대해서는 항균력이 지속되지 않음을 알 수 있었다. 향후 *S. aureus*와 *S. epidermidis*에 동시에 지속적인 항균력을 보일 수 있는 사용량과 적정농도에 대한 연구가 필요하리라 사려된다.

V. 結 論

秦皮散이 *Staphylococcus*(*S. aureus*, *S. epidermidis*)의 배양일에 따른 항균효과의 지속성을 알아보기 위하여 최소 성장 억제 농도(MIC)와 억제환(Inhibition zone) 측정을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. *S. aureus*에 대한 秦皮散의 항균력은 2일과 6일 모두 원액에서만 나타났으며, 2일보다는 6일의 항균력이 높게 나타났고, 용량과 관련된 결과에서 용량과 비례하는 항균력을 보였으나 일수에 따른 항균력은 동일하게 나타났다. 즉 *S. aureus*에 대한 秦皮散의 항균력은 지속성을 보였다.
2. *S. epidermidis*에 대한 秦皮散의 항균력은 2일에서는 원액, 10%, 1% 검액에서 나타났고, 6일에서는 원액, 10% 검액에서 나타났고, 원액에서는 2일보다 6일의 항균력이 높았고, 10%에서는 6일보다 2일의 항균력이 높았으며, 1%에서는 6일에 항균력을 보이지 않았다. 용량과 관련된 결과에서 2일에서는 모든 검액에서, 6일에서는 20 μ l를 제외한 검액에서 량에 비례해서 나타났고, 2일보다는 6일의 항균력은 높게 나타났다. 그러나 6일 배양하는 동안 억제환은 크기가 증가하기는 했으나, 동시에 균도 함께 자라는 상태여서 *S. epidermidis*에 대한 秦皮散의 항균력은 지속성을 보이지 않았다.

參考文獻

1. 리명영 외 34명. 동의학사전. 서울. 여강출판사. 1988: 1207.
2. 정희영, 전중휘. 감염질환. 서울. 수문사. 1987: 665-75.
3. 서형식, 이용구, 노석선. 眼病의 외치법에 대한 문헌적 고찰. 대한외관과학회지. 1997;10(1): 185-208.
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. 許浚. 東醫寶鑑. 법인문화사. 1999: 565.
7. 서형식. 秦皮散이 *Staphylococcus aureus*와 *Staphylococcus epidermidis*에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구. 한방안이비인후피부과학회지. 2007;20(1): 195-200
8. 윤동호, 이상욱, 최억. 안과학. 일조각. 1996: 2-3, 111-2.
9. 한국외안부연구회 편. 각막. 일조각. 1999: 75-95.