

Original Article / 원저

좌금환과 수련환의 항균, 항산화 및 미백 효과

전수아*¹⁾ · 노현민¹⁾ · 조은희²⁾³⁾ · 박민철*¹⁾³⁾

¹⁾원광대학교 한의과대학 안이비인후피부과

²⁾원광대학교 한의과대학 침구과

³⁾원광대학교 한국 전통의학연구소

Antibiotic, Antioxidant and Whitening effects of Jwa Kum-Whan and Soo Ryeon-Whan

Soo-A Jeon*¹⁾ · Hyeon-Min Noh¹⁾ · Eun-Hee Jo²⁾³⁾ · Min-Cheol Park*¹⁾³⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Otolaryngology and Dermatology, Wonkwang University

²⁾Department of Acupuncture and Moxibustion, Wonkwang University

³⁾Korean Traditional Medicine Institute, Wonkwang University

Abstract

Objectives : The purpose of this study was to research the antibiotic, antioxidant and whitening effects of Jwa Kum-Whan(JKW) and Soo Ryeon-Whan(SRW). Both Jwa Kum-Whan and Soo Ryeon-Whan are composed of *Coptidis rhizoma* and *Evodiae fructus*, but the ratios of the two species are different. JKW is composed of *Coptidis rhizoma* and *Evodiae fructus* by ratio of 6:1 and SRW's ratio is 1:1.

Methods : Antibiotic activities of JKW and SRW's water extracts were studied by paper disc diffusion method. Four kinds of bacteria were applied in paper disc, and each extract was dropped, individually. The diameter of inhibition zone was measured. DPPH assay was used for studying free radical scavenging activity. DPPH is quantitatively decolorized from purple color by antioxidant material. Change of color was measured by spectrophotometer. Whitening activity was analyzed by tyrosinase inhibition assay. Tyrosinase is major enzyme for control process of making eumelanin. Optical Density was measured by spectrophotometer.

Results : *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*'s inhibition zone were made large available by Both prescriptions. Inhibition zone's diameter of JKW was preferable to SRW's. Radical scavenging activity was better at SRW, but JKW's activity was available, too. Tyrosinase inhibition activity was found out available only for JKW, not for SRW.

© 2017 the Society of Korean Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology

This is an Open Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Conclusions : JKW had antibiotic effects for *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*. And had antioxidant, whitening effects. SRW had antibiotic, antioxidant activities but not whitening effect.

Key words : Jwa Kum-Whan; Soo Ryeon-Whan; *Coptidis Rhizoma*; *Evodiae Fructus*; Whitening effects; Antibiotic effects

I. 서 론

부작용 및 독성이 적은 식물 유래 천연물의 유효성분에 기반을 둔 친환경적인 기능성 화장품에 대한 수요가 증가함에 따라 한약재를 통한 원료 물질의 필요성이 점차 대두되고 있는 실정이다¹⁾.

《동의보감》²⁾皮門의 내용을 근거로 하여 피부 병리 상태에 효능을 가질 것으로 사료되는 좌금환과 수련환은 黃連과 吳茱萸 두 가지 약물의 약대(藥對)로 이루어져 있다. 이 배합은 一寒一熱과 辛開苦降의 상반되는 성질을 이용하여 黃連의 苦寒한 性味는 肝經의 橫逆之火를 瀉하고 和胃降逆하며, 吳茱萸의 辛熱한 性味는 疏肝解鬱 降逆止嘔하는 한편 黃連의 寒冷한 性을 制한다³⁾.

좌금환과 수련환에 대해 보고된 연구들로는 고지혈증에 대한 영향⁴⁾, 좌금환의 항염증 효과⁵⁾, 혈관이완과 K⁺ channel에 대한 연구⁶⁾, 腸運動 및 胃液分泌에 미치는 影響⁷⁾, 수련환 물 추출물의 항염증작용⁸⁾ 등이 있으나 좌금환과 수련환을 통한 항균, 항산화, 미백에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없다.

저자들은 좌금환과 수련환의 항균, 항산화, 미백 활성에 관한 연구를 시행하여 좌금환의 *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*에 대한 항균 능력, 항산화 및 미백 효과, 그리고 수련환의 상기한 두 가지 균주에 대한 항균 능력과 항산화 작용 활성에 대해 유의성 있는 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 연구방법 및 재료

1. 약재

본 실험에 사용한 약재는 유일제약의 황련(*Coptidis rhizoma*, 중국산)과 원광허브의 오수유(*Evodiae fructus*, 중국산)이다. 좌금환은 동의보감상의 용량을 2배로, 수련환은 방약합편상의 용량을 1.5배로 하여 약재의 총량을 비슷한 수준으로 맞추어 전자는 황련 360g, 오수유 60g로 구성하였으며 후자는 황련 160g, 오수유 160g으로 처방을 구성하였다. 약재 총량의 약 10배인 4 l의 증류수에 100℃로 2시간 반 동안 전탕하였다.

각 탕약을 여과지(Watman NO.2)로 여과하여 35℃이하로 세팅된 감압농축기(RE-111, Switzerland)에서 용매를 증발시켜 추출액을 얻었으며, 동결건조기(Ilshin TFD5505, Korea)로 건조하여 분말로 만든 후 4℃에서 냉장 보관하였다. 각 처방의 동결건조 후 수득률은 좌금환은 7.61%, 수련환은 8.67%였다 (Table 1).

Table 1. Prescriptions of JKW and SRW in This Study

	Jwa Kum-Whan	Soo Reon-whan
<i>Coptidis rhizoma</i>	360g	160g
<i>Evodiae fructus</i>	60g	160g
Water	4L	4L
Yield	7.61%	8.67%

Boiling Time : 2.5 Hours

2. 방법

1) Bacterial inhibitory zone analysis

항균 실험에 사용한 균주는 *Candida albicans*,

Corresponding author : Min-Cheol Park, Department of Ophthalmology, Otolaryngology and Dermatology, College of Korean Medicine, Wonkwang University, 460 Iksandaero, Iksan, Korea,

(Tel: 063-859-2821, E-mail address: spinx11@wonkwang.ac.kr)

● Recieved 2017/4/7 ● Revised 2017/5/10 ● Accepted 2017/5/17

Staphylococcus aureus, *Aspergillus niger*, *Pseudomonas aeruginosa*로 한국 미생물 보존 센터 (Korean Culture Center of Microorganisms)에 의뢰하여 분양받은 것을 사용하였으며 각 균주에 적합한 배지에서 각각의 생육 온도에 따라 생육, 보관하였다. 균주의 생육 온도는 *C. albicans*와 *A. niger*는 25°C, *S. aureus*와 *P. aeruginosa*는 37°C였으며 *C. albicans*는 YM(YM: Yeast & Malt) agar에서, *S. aureus*와 *P. aeruginosa*는 Tryptocase soy agar에서, *A. niger*는 Potato dextrose agar 배지에서 배양하였다.

고체배지에서 계대 배양된 4종의 균주는 각각의 액체배지(1ml)에 담긴 시험관에 접종한 후 시간과 온도가 설정된 진탕배양기(VISION 8480, Korea)에서 배양하였다. 배양된 균주의 밀도는 흡광광도계(UV spectrophotometer, Biochrom, Libsra S22, England)를 사용해 515nm에서 Optical Density (O.D.)값 0.5로 조절하여 실험을 수행하였다.

평판배지법에 따른 항균실험(Paper disc diffusion method)은 James and Sherman(1999)과 Collins et

al(1989)의 방법을 변형하여 실시하였다. 증류수에 용해시킨 농도별 추출물을 항생물질검정용 Paper disk(Adaantec, Ø6mm)에 20µl씩 흡수시킨 후 이 Disk를 균이 고르게 도말된 Muller-Hilton agar배지에 놓고 양성대조균으로 항세균제인 ampicillin 및 항진균제인 amphotericin(Sibma Co, USA)를 각각 1µg/disc농도로 사용하였으며 이를 균의 생육온도로 조절된 Incubator에서 24시간 배양한 후 Paper disc 주변에 생성된 생육 저해환(inhibitory zone, clear zone)의 직경을 Digital vernier caliper(Mitutoyo, Japan)로 측정하여 항균력을 비교하였다(Table 2~6).

2) DPPH radical scavenging activity

좌금환과 수련환 열수추출물의 항산화 활성을 측정하기 위해 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical scavenging activity를 측정하였다. DPPH의 자유기 소거능 측정은 추출물의 DPPH에 대한 전자공여효과를 통해 시료의 환원력을 측정하는 방법으로 고안되었다^{9,10}. DPPH는 매우 안정한 free

Table 2. Species of Germs that Used in This Study and Each Growth Condition

KCCM No.	Germs	Temp.	Culture Medium
11282	<i>Candida albicans</i>	25°C	YM agar
11335	<i>Staphylococcus aureus</i>	37°C	Tryptocase soy agar
11724	<i>Aspergillus niger</i>	25°C	Potato dextrose agar
11802	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37°C	Tryptocase soy agar

Table 3. Antimicrobial Activity by Paper Disc Method of the JKW Water Extracts on the Growth of *C. albicans* (n=3 replicates).

Density (mg/ml)	P.C	50	25	12.5	6.25	
Diameter of inhibitory zone(mm)	1st.	8,9	19,76	14,57	13,01	11,45
	2nd.	9,02	23,65	16,48	10,59	10,59
	3rd.	9,56	23,1	15,71	10,08	10,08
Medium	9,16	22,17	15,59	11,23	10,71	

- P.C (Positive control) : Ampicillin and amphotericin were used at concentrations of 1µg/disc respectively

- Differences between P.C and each density group were analyzed using Wilcoxon rank-sum test *p-value <0,05

radical로 radical 소거활성이 있는 항산화 물질에 의해 정량적으로 보라색에서 탈색되므로 항산화 활성을 용이하게 측정가능하다¹¹⁾. 또한 DPPH는 가시광선 영역에서 매우 강한 흡수를 보여주기 때문에 UV-Vis 분광광도계로 측정할 수 있어 항산화 활성 측정에 일반적으로 광범위하게 이용된다⁹⁾. 96-well plate에 실험 농도별로 에탄올에 녹인(6,25, 12,5, 25, 50mg/ml) 추출물 100 μ l와 0.4mM로 제조된 DPPH 용액 100 μ l를 더하여 호일로 빛을 차단하여 실온에서 10분간 반응시킨 후 ELISA reader로 515nm에서 흡광도를 측정

하였다. 양성대조군은 BHT(Butyl Hydrated Toluene) 용액 100 μ g/ml을 사용하였으며 양성 대조군을 실험군과 비교하여 자유기 소거활성을 다음과 같이 백분율로 나타내었다.

$$EDA \text{ (Electron Density Ability)} = (B-A)/B \times 100$$

A : 515nm 시료의 흡광도

B : 515nm 대조군의 흡광도

Table 4. Antimicrobial Activity by Paper Disc Method of the SRW Water Extracts on the Growth of *C. albicans* (n=3 replicates).

Density (mg/ml)		P.C	50	25	12,5	6,25
Diameter of inhibitory zone(mm)	1st.	8,22	18,76	11,89	8,57	6,25
	2nd.	8,48	17,65	15,64	9,08	9,78
	3rd.	8,81	19,18	16,81	8,62	8,09
Medium		8,50	18,53	14,78	11,23	8,04

- P.C (Positive control) : Ampicillin and amphotericin were used at concentrations of 1 μ g/disc respectively

- Differences between P.C and each density group were analyzed using Wilcoxon rank-sum test *p-value <0,05

Table 5. Antimicrobial Activities by Paper Disc Method of the JKW Water Extracts on the Growth of *S. aureus* (n=3 replicates).

Density (mg/ml)		P.C	50	25	12,5	6,25
Diameter of inhibitory zone(mm)	1st.	10,28	13,53	11,22	9,46	7,22
	2nd.	9,87	15,15	12,67	9,02	9,02
	3rd.	10	14,94	11,64	8,58	8,35
Medium		10,05	14,54	11,84	9,02	8,20

- P.C (Positive control) : Ampicillin and amphotericin were used at concentrations of 1 μ g/disc respectively

- Differences between P.C and each density group were analyzed using student-t test *p-value <0,05

Table 6. Antimicrobial Activities by Paper Disc Method of the SRW Water Extracts on the Growth of *S. aureus* (n=3 replicates).

Density (mg/ml)		P.C	50	25	12,5	6,25
Diameter of inhibitory zone(mm)	1st.	6,29	7,73	6,36	6,12	-
	2nd.	6,76	7,61	6,67	6,21	-
	3rd.	6,09	8,02	6,58	6,16	-
Medium		6,38	7,79	6,54	6,16	-

- P.C (Positive control) : Ampicillin and amphotericin were used at concentrations of 1 μ g/disc respectively

- Differences between P.C and each density group were analyzed using Wilcoxon rank-sum test *p-value <0,05

3) Tyrosinase inhibitory activity

미백효과 활성은 Tyrosinase 활성 저해 실험 (tyrosinase inhibition assay)으로 측정하였다. 이는 멜라닌 합성과정의 속도 결정 단계를 촉매하는 tyrosinase의 활성 저해율을 측정하여 미백 성분의 효과를 평가하는 방법이다⁹⁾.

시험관(test tube)에 0.1M phosphate buffer(pH 6.5) 100 μ l와 1.5ml tyrosinase 용액 100 μ l을 첨가한 후에 농도별(6.25, 12.5, 25, 50mg/ml)로 희석한 좌금환, 수련환 물 추출액을 100 μ l씩 넣는다. 여기에 2000U/ml의 mushroom tyrosinase 100 μ l를 첨가하고 5분 후의 흡광도를 37 $^{\circ}$ C에서 490nm로 측정하였다. 표준비교물질로 알부틴(Albutin, 250mg/ml)을 사용하였다. 각각의 농도에서 시료 자체의 색상에 의한 흡광도를 측정하여 이를 제외한 활성을 도출하였다.

$$\text{Inhibition(\%)} = (1 - (S_a - S_b) / S_c) \times 100$$

Sa: 시료 및 기질 그리고 효소가 모두 들어간 상태에서 측정된 흡광도

Sb: 효소대신 buffer가 들어간 상태에서 측정된 흡광도

Sc: 시료대신 buffer가 들어간 상태에서 측정된 흡광도

III. 연구결과

1. Bacterial inhibitory zone analysis

좌금환과 수련환 물 추출물의 Paper disc method를 이용한 항균 활성 실험 결과 모두 농도 의존적인 활성도를 보였다. 좌금환은 *C. albicans*에 대해 가장 낮은 농도인 6.25mg/ml에서도 양성대조군에 비교하여 유사한 활성을 보이며 50mg/ml에서는 2배 이상의 활성을 보였다. *S. aureus*에 대해 25mg/ml에서 대조군 이상의 활성을 보였으며 50mg/ml에서는 약 40% 이상의 활성을 나타내었다.

수련환은 *C. albicans*에 대해 12.5mg/ml에서 대조군 이상의 활성을 나타냈으며 50 mg/ml에서는 2배 이상

의 활성을 나타냈다. *S. aureus*에 대해서는 25mg/ml에서 대조군과 유사한 활성을 보였으며 6.25mg/ml에서는 활성을 나타내지 않았다.

반면 좌금환과 수련환은 *A. niger*, *P. aeruginosa*에 대한 항균 활성을 나타내지 않았다.

2. DPPH radical scavenging activity

DPPH를 이용한 자유기 소거 활성 실험 결과 좌금환은 가장 높은 농도인 50 mg/ml에서 대조군과 유사한 정도의 활성을 보였으며 그 이하의 농도에서도 유효한 활성이 있었으나 대조군에 미치지 못했다. 시료 자체의 색소로 인해 96-well plate에서 갈색 색상이 진하게 보이는 양상을 보였다.

수련환의 경우 96-well plate에서 육안 상 DPPH 용액의 보라색이 얼어지는 차이를 보였으며 흡광도상으로도 12.5mg/ml이상의 농도에서 모두 대조군에 비해 다소 우세한 활성을 보였으나 농도에 따른 차이는 미세하였다.

3. Tyrosinase inhibitory activity

좌금환과 수련환 물 추출물의 미백 활성 연구를 위한 Tyrosinase 활성 저해도 측정 결과 좌금환의 경우 6.25mg/ml의 농도와 12.5mg/ml에서는 활성이 없었으며 25mg/ml과 50mg/ml에서는 미백 활성 표준물질인 Albutin과 대등한 정도의 활성을 보였다. 가장 높은 농도인 50mg/ml에서는 미세하지만 우세한 활성을 보였다. 그러나 수련환은 6.2mg/ml부터 50mg/ml까지의 농도에서 모두 Tyrosinase 저해 활성을 보이지 않았다.

IV. 고 찰

현대 사회에서 아름다운 신체적 외모는 대인지각의 후광효과(halo effect)로 작용하여 개인의 능력, 사회적 지위와 같은 다른 특질까지 긍정적으로 평가하게

되어, 행복과 사회적 성공으로 연결된다는 생각이 일반적이다. 또한 현대인에게 외모는 타인에게 자신을 알리는 수단일 뿐 아니라 서로간의 우열과 인생의 성패를 좌우하는 중대한 사회적 지표로써 능력을 판단하게 하는 기준이 되고 있다^{12,13}. 이처럼 외모의 중요성이 부각되며 이를 가꾸기 위한 화장품에 대한 지대한 관심이 지속되고 있다. 특히 부작용 및 독성이 적고 친환경적인 제품의 소비추세에 따라 식물 유래 천연물을 유효성분으로 사용하는 기능성 화장품에 대한 수요가 증가하고 있다¹.

저자들은 황련의 항산화¹⁴, 항균^{15,16}, 항염¹⁷, 미백 작용¹⁰, 주요성분인 Berberine의 항염증 효과, 오수유의 항암¹⁸, 항염증¹⁹, 오수유의 주요 성분인 ecodiamine의 항염증 효과²⁰, 그리고 좌금환과 수련환의 항염 효과 연구^{5,8} 등을 근거로 하여 황련과 오수유의 약대로 이루어진 좌금환과 수련환이 항균, 항산화, 미백 활성 작용을 가지고 있을 것으로 추정하였다.

또한 한의학적 관점으로 고려하였을 때 피부의 병리상태는 火, 熱이 원인인 경우가 많은데, 현대 병명으로 두드러기 등의 병증을 포함하고 있는²¹ 斑疹과 隱疹은 동의보감 《東醫寶鑑》² 皮門에서 "治一切熱, 血熱, 酒熱"해야 한다고 하였으며 "發斑者, 因胃熱助手少陰火, 入于手太陰肺也" 라고 하여 斑疹이 발생하는 원인을 胃熱로 보았다. 또한 "傷寒 發斑, 謂之陽毒, …, 名雖不同, 同歸於熱, 皆心火入肺, 故紅點見於皮毛之間."이라 하여 心火를 發斑의 원인으로 보았다. 상기한 기존 연구 이외에도 이러한 근거에 미루어 脾胃와 心, 肝火에 작용하는 좌금환²²이 염증성 피부질환인 여드름, 두드러기 등에 효과가 있을 것으로 추정할 수 있다.

左金丸과 茱萸丸은 黃連과 吳茱萸 두 가지 약물의 약대로 이루어져 있다. 藥對는 藥物配伍의 이론 중 하나로, 보통 두 가지 약물이 한 쌍을 이루지만, 때로는 세 가지 이상의 약물로 구성되어 임상에서 頻用되는 고정된 配伍양식이며, 中國의 陳維華가 저술한 藥對

論에 기술된 내용에 의하면 "藥對는 2종 한약의 짝짓기 응용으로서 한약 配伍 중의 최소 단위"라고 하였다^{23,24}.

黃連과 吳茱萸의 藥對는 一寒一熱과 辛開苦降의 상반되는 성질을 이용하여 黃連의 苦寒한 性味는 肝經의 橫逆之火를 瀉하고 和胃降逆하며(實則瀉其子), 清心火하고, 吳茱萸의 辛熱한 性味는 疏肝解鬱 降逆止嘔하는 한편 黃連의 寒冷한 性을 制하므로, 清瀉肝火 降逆和胃 開鬱散結의 效能을 갖게 된다^{3,22}.

左金丸은 《丹溪心法》²⁵에 처음 수록된 처방으로, "黃連 六兩 吳茱萸 一兩(或 半兩) 上爲末 治肝火"로 수록되어 있으며 단계심법 이후의 의서에서는 黃連과 吳茱萸의 比率를 6:1로 유지하고 있다^{26,27,28,29}. 異名으로는 回令丸, 四令丸, 左金茱萸六一丸 등이 있다^{30,31}. 主治는 肝火犯胃證으로 清肝瀉火 降逆止嘔 등의 效能이 있으며, 《醫方集解》³²에서는 瀉下之劑에, 《中藥方劑通譯》³³에서는 清熱劑에, 《實用處方綱目》³⁴에서는 清臟腑熱劑에 수록되어 있는 등 주로 火, 熱에 관련된 병증에 쓰여졌다.

茱萸丸은 《丹溪心法》에 수록된 처방으로, 茱萸丸이란 이름은 左金丸의 異名으로 불리기도 하였으나, 《醫學正傳》에서 半夏, 白茯苓, 吳茱萸, 陳皮, 蒼朮 각 2兩, 黃連 2.5兩의 구성이 보이고, 《東醫寶鑑》, 《方藥合編》에 黃連, 吳茱萸 각 2兩의 구성이 나타나는 것으로 보아 左金丸의 배합비율을 조정하여 赤白, 痢疾을 주 증상으로 하는, 치료 목적을 달리한 방제로 볼 수 있다³⁵.

黃連은 苦寒한 性味로 心, 肝, 胃, 大腸經에 들어가 清熱燥濕, 解毒燥濕의 효능이 있어 熱病이 心經에 들어가 생긴 高熱, 煩燥, 譫妄과 熱邪로 血熱妄行한 吐血, 濕熱로 인한 胸痞, 泄瀉, 痢疾, 心火亢盛으로 인한 心煩失眠, 胃熱로 인한 嘔吐, 肝火로 인한 目赤腫痛을 다스린다³.

吳茱萸는 性味는 熱하고 辛苦하며 有毒하여 肝·脾·胃·腎經에 귀경하여 散寒止痛, 降逆止嘔, 助陽止瀉의 效能으로 厥陰頭痛, 寒疝腹痛, 寒濕脚氣, 經行腹

痛, 脘腹脹痛, 嘔吐炭酸, 五更泄瀉, 外治口瘡, 高血壓 등에 응용되고 있다³⁶⁾.

각 약제의 기존 연구들을 살펴보면 황련은 항산화¹⁴⁾, 항균^{15,16)}, 항염¹⁷⁾ 작용이 있고 미백 작용이 같거나 나 복령에 비해 탁월하며³⁷⁾, 주요성분인 Berberine이 항염증 효과를 가진 것으로 밝혀졌다. 오수유는 약리 효능으로 항암¹⁹⁾, 항염증²⁰⁾, 과민성 설사에 대한 효과³⁸⁾ 등을 나타내는 것이 기존 연구에 보고되었고, 오수유 추출물이 신경세포 효과³⁹⁾, 고혈압 조절 활성⁴⁰⁾이 있는 것으로 알려져 있고, 주요 성분인 ecodiamine의 항염증 효과²¹⁾가 잘 알려져 있다.

항산화 활성을 연구하기 위한 항산화능 측정 방법은 Total phenolic content, DPPH radical-scavenging activity, Ferrous ion chelating activity, Reducing power 연구법 등이 있다¹⁰⁾. 이 중 일반적으로 광범위하게 이용되며⁹⁾, 저비용으로 반복 실험이 가능한 DPPH radical-scavenging activity 측정을 이용하였으며, 차후 보다 다각적인 항산화 연구를 위하여 다른 연구방법들도 고려해 볼 수 있을 것이다.

미백 활성을 연구하기 위해 피부의 색을 결정하는 요소와 그 생성과정을 살펴보았다. 피부의 색을 결정하는 Melanin 합성 반응은 melanosome 관련 단백질에 의해 제어된다. Tyrosinase는 tyrosine을 산화해 DOPA로 변환하는 tyrosine hydroxylase 활성, DOPA를 DOPAquinone으로 산화하는 DOPA oxidase 활성을 가지고 있어 melanin 합성 반응에 가장 중요한 역할을 하고 있고 또한, 최근에서는 DHI(5, 6-dihydroxyindole)를 indole-5,6-quinone에 산화하는 DHIoxidase 활성을 소유하는 것이 보고되어 있다. Tyrosinase에는 T1, T2, T3의 3개의 isozyme이 존재하고, Tyrosinase는 그 일차구조 내에 sialic acid, man-nose 및 galactose의 당을 가지며, melanosome 안에서의 melanin 합성에 있어서는 가장 성숙한 T3 isozyme이 크게 관여한다¹⁶⁾. 이러한 기전에서 tyrosinase의 효소 활성을 저해하는 작용을 확인하여 미백 활성의 유무를 가릴 수 있다.

본 연구 결과 항균 실험에서 좌금환과 수련환 물 추출물은 *C. albicans*와 *S. aureus*에 대해 항균 효과를 나타내었으며 모두 농도 의존적인 활성도를 보였다. 좌금환은 *C. albicans*에 대해 6.25mg/ml에서 P.C.에 비교하여 유사한 활성을 보였으며 50mg/ml에서 2배 이상의 활성을 보였다. 좌금환은 *S. aureus*에 대해 25mg/ml에서 대조군 이상의 활성을 보였으며 50mg/ml에서는 약 40%이상의 활성을 나타내었다. 수련환은 *C. albicans*에 대해 12.5mg/ml에서 대조군 이상의 활성을 나타냈으며 50mg/ml에서는 2배 이상의 활성을 보였다. 수련환은 *S. aureus*에 대해 25mg/ml에서 대조군과 유사한 활성을 보였으며 6.25mg/ml에서는 활성을 나타내지 않았다. *A. niger*, *P. aeruginosa*에 대한 항균 활성은 좌금환과 수련환 모두 나타나지 않았다.

항산화 연구인 DPPH 자유기 소거활성 실험 결과 좌금환은 50mg/ml에서 대조군과 유사한 정도의 활성을 보였으며 그 이하의 농도에서도 유효한 활성이 있었으나 대조군에 미치지 못했다. 수련환은 12.5mg/ml 이상의 농도에서 모두 대조군에 비해 미세하게 우세한 활성을 보였으나 농도에 따른 차이는 크지 않았다.

미백 효과 실험인 Tyrosinase 활성 저해 실험 결과 좌금환의 경우 6.25mg/ml의 농도와 12.5mg/ml에서 효능을 나타내지 않았으며 25mg/ml과 50mg/ml에서 Albutin과 유사한 정도의 활성을 보였다. 수련환은 6.25mg/ml부터 50mg/ml까지의 농도에서 모두 Tyrosinase 저해 활성을 보이지 않았다.

실험 결과를 종합해보면 *C. albicans*에 대한 항균 효과는 좌금환과 수련환이 유사했으며 *S. aureus*에 대한 효과는 좌금환이 수련환에 비해 강한 효과를 나타내어 2배가량 큰 생육저해환을 형성하였다. 항산화 효과는 좌금환에 비해 수련환이 큰 것으로 나타나 좌금환은 50mg/ml에서 대조군의 효과와 유사하였고 수련환은 12.5mg/ml의 농도에서도 대조군보다 미약하게 우세한 결과를 나타내었다. 미백실험의 경우 수련환은 미백 활성을 보이지 않았으며 오히려 Tyrosinase

활성도가 증가한 것으로 나타났다. 좌금환은 12.5mg/ml에서 대조군인 Albutin과 유사한 효과를, 50mg/ml에서 대조군에 비해 미세하지만 강한 효과를 나타내었다.

실험 결과를 비교 분석해보면, 항균 실험의 경우 황련의 항균 작용^{15,16)}이 두 약재의 항균 효과에 차이를 가져온 것으로 보인다. 항산화 실험은 황련 열수추출물의 항산화 효과를 연구한 논문⁴¹⁾에 따르면 Hayase 등의 방법에 따라 Peroxide value를 측정하여 항산화성의 지표로 사용하였는데 linoleic acid를 기질로 하여 황련 추출물을 5, 10, 25mg씩 각각 첨가하여 실험한 결과 합성 항산화제인 BHT 및 ascorbic acid와 거의 같으며 천연 항산화제인 α -tocopherol 보다는 아주 우수한 항산화력을 나타내었다. 실험 방법의 차이가 있으나 황련의 유효한 항산화 효능을 나타내는 논문이라 할 수 있는데, 본 실험에서 황련의 비율이 6 배가 높은 좌금환의 항산화능이 수련환에 비해 작게 나타난 것은 寒熱이 상반되는 황련과 오수유 두 약재 간의 상호작용이 나타난 것으로 사료되며, 오수유 열수추출물의 항산화능에 대한 연구 또한 추가적으로 필요할 것으로 보인다. 미백 실험 또한 항균 실험과 마찬가지로 황련의 미백작용¹⁸⁾이 좌금환과 수련환의 미백효과 차이를 나타내는데 영향을 준 것으로 사료된다.

본 연구의 미비점으로는 반복 실험 횟수가 비교적 적었으며 항균효과를 보다 명확히 하기 위한 세포 독성 실험이 추가적으로 필요하다는 것 등이 있다. 차후 좌금환과 수련환의 피부 외용제로서의 활용성을 높이기 위한 연구로 보다 많은 종류의 세균에 대한 활성, 다각적인 항산화와 미백 기전을 통한 연구, 보다 더 효율적인 약제 농도 등의 연구가 필요할 것으로 사료된다.

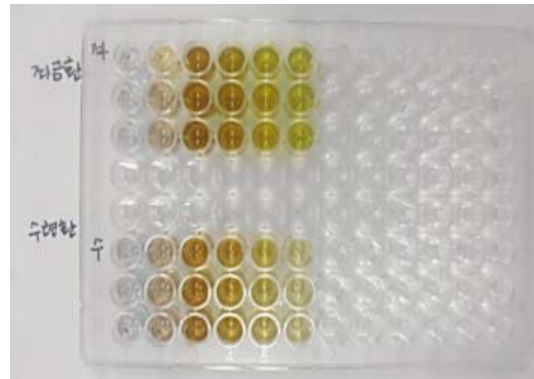


Fig. 1. Examining DPPH free radical scavenging activity of JKW and SRW in 96-well plate. First column is non contrast. Second column is positive control. The others are different densities of JKW and SRW.

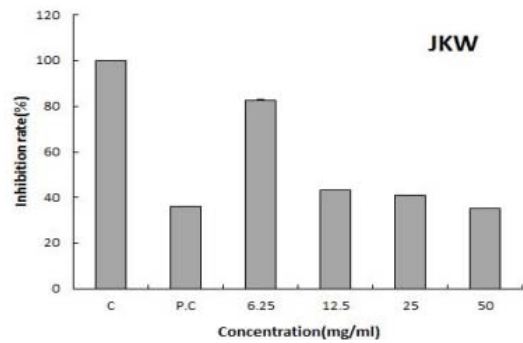


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of JKW water extract (N=3 replicates). Vertical bars indicate standard errors.

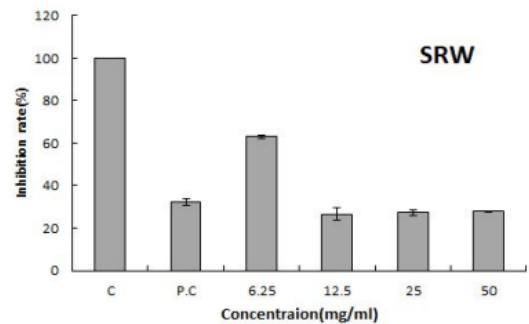


Fig. 3. DPPH radical scavenging activity of SRW water extract (N=3 replicates). Vertical bars indicate standard errors.

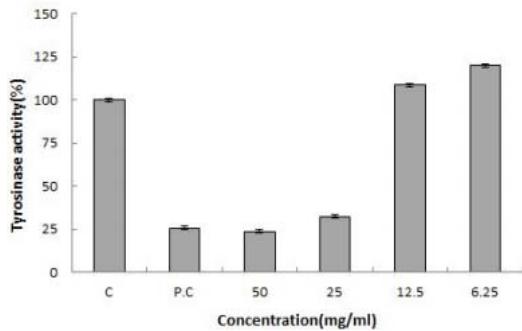


Fig. 4. Tyrosinase inhibitory activity of JKW water extract(N=3 replicates). Vertical bars indicate standard errors.

V. 결 론

저자는 좌금환과 수련환 물 추출물의 항균, 항산화, 미백 활성을 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 좌금환과 수련환 물 추출물의 Paper disc method 를 이용한 항균 활성 실험 결과 4종의 균주 (*Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger*, *Pseudomonas aeruginosa*)에 대하여 모두 농도 의존적인 활성도를 보였다.
2. 좌금환은 *C. albicans*에 대해 6.25mg/ml에서 P.C.에 비교하여 유사한 활성을 보이며 50mg/ml에서 2배 이상의 활성을 보였다.
3. 좌금환은 *S. aureus*에 대해 25mg/ml에서 대조군 이상의 활성을 보였으며 50mg/ml에서는 약 40%이상의 활성을 나타내었다.
4. 수련환은 *C. albicans*에 대해 12.5mg/ml에서 대조군 이상의 활성을 나타냈으며 50mg/ml에서는 2배 이상의 활성을 보였다.
5. 수련환은 *S. aureus*에 대해 25mg/ml에서 대조군과 유사한 활성을 보였으며 6.25mg/ml에서는 활성을 나타내지 않았다.
6. 좌금환과 수련환은 *A. niger*, *P. aeruginosa*에 대한 항균 활성을 나타내지 않았다.

7. 좌금환은 DPPH 자유기 소거활성 실험 결과 50mg/ml에서 대조군과 유사한 정도의 활성을 보였으며 그 이하의 농도에서도 유효한 활성이 있었으나 대조군에 미치지 못했다.
8. 수련환은 DPPH 자유기 소거활성 실험 결과 12.5 mg/ml 이상의 농도에서 모두 대조군에 비해 미세하게 우수한 활성을 보였으나 농도에 따른 차이는 크지 않았다.
9. 좌금환의 경우 6.25mg/ml의 농도와 12.5mg/ml에서 Tyrosinase 활성 저해 작용이 없었으며 25mg/ml과 50mg/ml에서 Albutin과 대등한 정도의 활성을 보였다.
10. 수련환은 6.25mg/ml부터 50mg/ml까지의 농도에서 Tyrosinase 저해 활성을 보이지 않았다.

감사의 말씀

이 논문은 2016년도 원광대학교의 교내 연구비 지원에 의해서 수행됨.

References

1. Yoon KR, Kim YJ, Lee E, Lee JM. Anti-inflammatory Effects of *Coptidis Rhizoma*. *Kor J Herbology*. 2009;24(8):79-86.
2. Yoon SH, Kim HJ. *Donguibogam*, 2nd ed. HaDong:Donguibogam publishing co. 2005:725-40.
3. National Chinese Drug Administration Chinese herbal medicine Editorial Board. Chinese herbal medicine Final Edition. Shanghai:Shanghai Science and Technology publishing co. 1996:71-80.
4. Kim YH, Seong NS, Lee YJ. The Effects of *Jwa Kum-Whan* and *Soo Ryeon-Whan* on the

- Hyperlipidemia in Rats. *Kor J Herbology*. 2005;20(2):91-102.
5. Seong MJ. Anti-inflammatory effect of Joakeumwhan. A doctoral thesis, Department of Oriental Pharmacy Graduate School, Wonkwang University. 2007.
 6. Son CW, Lee HJ, Liou JL, Shin HM. Role of K⁺ Channels in the Vasodilation of Jagumhuan. *Kor J Oriental Physiology & Pathology*. 2005;19(3):743-8.
 7. Choi DH, Moon G, Moon SJ. Effects of joakeumwhan Extract on Motility of Intestine and Gastric Secretion. *J of Wonkwang Oriental Medicine*. 1993;3(1):133-47.
 8. Yoon YH. The study of anti-inflammatory effect of Suryeonhwan water extract. A master's thesis, Department of Oriental Pharmacy Graduate School, Wonkwang University. 2013.
 9. Han JH, Lee SY. Comparing Medical Efficacy of Socheongyong-tang with Lactic Acid Bacteria Fermented Socheongyong-tang. *Kor J Oriental Physiology & Pathology*. 2011;25(2):246-56.
 10. Lee JH. Antimicrobial and antioxidant activities of marine plants. A master's thesis, Department of Biology, Wonkwang University. 2006.
 11. Cha SH, Ahn MW, Lee JS, Kim YS, Kim DU, Byun TG, et al. The Effect of Fcoidan Molecula Weight on Cosmetic Function. *J of Korean Chemical Engineering Research*. 2012;50(4):604-9.
 12. Yoo TS. Directional Internalization of Sociocultural Values Related to the Appearance of Body Image and Self-Esteem. *J of the Korean Society of Clothing and Textiles*. 2013;37(3):260-9.
 13. Park KH, Kim IS. Differences of Appearance Management Behaviors and Life Satisfaction among Lifestyle Groups. *J of Korean Clothing Industry Soc*. 2013;15(4):554-64.
 14. Kim IC. Antioxidative Property and Whitening Effect of the Pueraria Radix, Poria Cocos and Captidis Rhizoma. *J of The Korean Oil Chemist's Soc*. 2008;25(2):219-25.
 15. S Higaki, Y Hasegawa, M Morohashi, K Sakamoto, T Yamagishi. The influence of Coptidis Rhizoma to lipase activity of Propionibacterium acnes. *The japanese J of Dermatology*. 1990;100(8):883-9.
 16. Seoul National University College of Medicine. Establishment of functionality evaluation system for skin beauty improvement of Health Functional Food. Korea Food & Drug Administration research project. 2003;25-9.
 17. Lee YA, Hong SJ, Lee SH, Kim KS, Park EK, Han CS, et al. Anti-inflammatory Effects of the Coptis chinensis Extract. *Kyung Hee Med*. 2007;23(1):21-9.
 18. Zhang Y, Zhang QH, Wu LJ, Tashiro SI, Onodera S, Ikejima T. Atypical apoptosis in L929 cells induced by evodamine isolated from *Evodia rutaecarpa*. *J asian Nat Prod Res*. 2004;6(1):19-27.
 19. Matsuda H, Yoshikawa M, Iinuma M, Kubo M. Antinociceptive activities of 70% methanol extract of *evodiae fructus* and its alkaloidal components. *Biol Pharm Bull*. 1997;20(3):243-8.
 20. Noh EJ, Ahn KS, Shin EM, Jung SH, Kim YS. Inhibition of lipopolysaccharide-induced iNOS

- and COX-2 expression by dehydroevodiamine through suppression of NF- κ B activation in RAW 264.7 macrophages. *Life Sci.* 2006;79(7):695-701.
21. College of Korean Medicine Dermatology Textbook Compilation Committee. *Korean Medicine Dermatology*. 2007;376-80.
 22. Cui X, Cui J. Prescription Chart solution(方劑學 圖表解). Seoul:jibmundang. 2010:114-5.
 23. Lee SH. Sigeummugseonsaeng Clinical Pharmacology(施金墨先生 臨床藥對論). Seoul:uiseongdang. 2003:16-8.
 24. Gang BS, Kim YS. Clinical formulation herbal medicine(臨床配合本草學). Seoul:Youngrim publishing co. 1994:198-293.
 25. Ju DG. Danyesimbeobbuyo. Seoul:Daesung Culture publishing co. 1993:369.
 26. Jiang W, Zhou LN. Seongbangsin-yongchiheomdaejeon. Beijing: Beijing Chinese Medicine publishing co. 1994:45-6.
 27. Xu J, Wang M. Prescription(方劑學). Beijing:Beijing People 's Health publishing co. 1995:158-60.
 28. Chengdu Institute of Traditional Chinese Medicine prescriptions. Chinese medicine treatment method and prescription(中國治法與方劑). Beijing:Beijing People 's Health publishing co. 1982:303.
 29. Zhang BC. Seongbangbyeondog(成方便讀). Jiangsu:Jiangsu Science and Technology publishing co. 1990:157-8.
 30. Tan T, Liu Q. Sang-yongjung-yagbaedaeyeogeumgi(當用中藥配對與禁忌). Shanxi:Shanxi Science and Technology publishing co. 2003:139-41.
 31. Noh YH. Yakdaeron(藥對論). Seoul:Iljung publishing co. 1998:85-6.
 32. Wang A. Medical solution(醫方集解). Seoul:Daesung publishing co. 1984:459-61.
 33. Zong Q. Chinese prescription translation Volume II(中國方劑通譯 卷二). Hebei:Hebei Science and Technology publishing co. 1995:41-2.
 34. He L. Practical prescription outline(實用處方綱目). Shaanxi:Shaanxi Science and Technology publishing co. 1991:156-9.
 35. Kim IH, Lee YJ. A philological study on Jwa Kum-Whan. Kyungwon University School of Oriental Medicine Institute Proceedings. 2003:71-82.
 36. Collaborative Textbook Compilation Committee of National University of Traditional Korean medicine. The joint textbook publish commission compilation. Herbalogy. seoul:younglimsa. 2007:379-80.
 37. Hu JP, Takahashi N, Yamada T. Coptidis Rhizoma inhibits growth and proteases of oral bacteria. *Oral Dis.* 2000;6(5):297-302.
 38. Ko JS, Rho MC, Chung MY, Song HY, Kang JS, Kim K, et al. Quinolone alkaloids, diacylglycerol acyltransferase inhibitors from the fruits of *Evodia rutaecarpa*. *Planta Med.* 2002;68(12):1131-3.
 39. Kim ST, Ahn SH, Kim JD, Kim YK. Protective Effect of MeOH Extract of *Evodia officinalis* on Cyanide-induced Neurotoxicity in Cultured Neuroblastoma Cells. *Kor J Pharmacogn.* 2003;34(4):282-7.
 40. Kang SI, Kim HC, Rheu HM, Yang JS, Jung SY. Studies of *Evodiae Fructus* on the blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *K.O.M.S.* 1998;19(2):50-8.

41. Kim YJ, Lee MJ, Park JW, Kim JK, Choi DY, Kim CH. Antioxidant Activity of Water-Extract from *Coptis chinensis* Franch. Korean J of Life Science, 2000;10(3):241-6.