원저

黃連 煎湯液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 Coptidis rhizoma extract 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 Coptidis rhizoma extract on cultivation of Staphylococcus species(S. aureus, S. epidermidis) that induce eye disease.

Methods Minimal inhibitory concentration(MIC) was measured by dropping to 50㎕ diluted Coptidis rhizoma extract(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㎕, 30㎕, 40㎕, 50㎕).

Results
1. Anti-bacterial potency of Coptidis rhizoma extract on S. aureus was appeared in 100%, 10% and was the same as anti-bacterial potency of 2 days and 6 days. Anti-bacterial potency with change of volume(100%) was increased in propotion to increase volume on all samples. Anti-bacterial potency with change of volume(10%) was increased in propotion to increase volume on all samples except 20㎕ .Anti-bacterial potency of Coptidis rhizoma extract on S. aureus was appeared continuous.
2. Anti-bacterial potency of Coptidis rhizoma extract on S. epidermidis was appeared in 100%, 10% and was the same as anti-bacterial potency of 2 days and 6 days. Anti-bacterial potency with change of volume(100%) was increased in propotion to increase volume on all samples. Anti-bacterial potency with change of volume(10%) was appeared in 50㎕. Anti-bacterial potency of Coptidis rhizoma extract on S. epidermidis was appeared continuous.

Conclusions Anti-bacterial potency of Coptidis rhizoma extract on cultivation of S. aureus & S. epidermidis was showed continuous.

key words *Staphylococcus species, S. aureus, S. epidermidis, Coptidis rhizoma extract, eye disease, MIC, Inhibition zone.*

Ⅰ. 서 론

外障이란 瞳神이외의 눈병을 總稱하여 이르는 말로, 발생부위는 胞瞼, 眥部, 白睛, 黑睛 등이며, 주로 六淫邪毒에 의하여 발병한다[1]. 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 원인균[2]이라 보고되고 있다.

안과 질환에 다용되는 외치의 방법으로 서 등[3]은 適法이라 보고를 하였으며, 適法은 약물을 煎湯하여 점안하는 방법이다. 약물을 국소 점안하는 것은 약물침투에 용이[4]하며, 세균이나 세균에서 나오는 여러 가지 독소와 효소를 씻어내는 효과가 있으므로 유리[5]하다고 보고 되고 있다.

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

이런 측면에서 볼 때 六淫邪毒에 의하여 발병한 급성적인 外障에 안구에 자극이 없으며 효과적인 한방 점안약을 사용하는 것이 다방면에서 유리할 수 있다고 사려된다.

黃連은 매자나무과에 속하는 여러해살이 풀인 산련풀의 뿌리줄기를 말린 것으로 열을 내리고 습을 없애며 독을 푸는 효능이 있으며, 달인 물로 결막염 및 각막염에 사용할 수 있다[6]. 또한 많은 한의학서적에 황련안약수로 만들어 각종 안과질환에 사용하는 것으로 되어 있으며, 서[7]는 黃連이 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. aureus와 S. epidermidis에 대한 黃連의 항균효과의 지속성을 알아보기 위해서 배양일에 따른 최소 성장 억제 농도 측정 및 억제환 측정 실험을 수행하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 재료

1) 약물

본 실험에 사용한 黃連은 시중 건재상에서 구입하여 잡질을 제거하고 형태가 완전한 것을 정선하여 사용하였다.

〈Table 1〉 Prescrition of Herb-med.

Herb	Scientific Name	Dose(g)
黃連	Coptidis Rhizoma	80

2) 균주 및 배지

본 실험에 사용한 S. aureus(KCTC 1916), S. 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) 약물의 제조

黃連 80g을 증류수 1ℓ 를 가한 후 전탕기(DWP-1800T, daewoong, Korea)를 이용하여 2시간 30분 전탕하였다. 10분간 원심분리하여 상층액을 취한 후 0.2 micrometer fillter로 여과시켜 멸균하였다.

2) 피검균액의 준비

피검균 S. aureus와 S. epidermidis를 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 S. aureus와 S. epidermidis의 현탁액 100㎕를 적정배지인 Nutrient Agar에 도말하였고, 검액은 원액, 10%, 1%, 0.1%로 희석한 것과 희석액 별로 각각 50㎕를 준비하여 사용하였다. 피검균을 도말한 배지 위에 paper disc(8mm)를 올려놓고 검액 50㎕를 농도별로 희석하여 적하하고, 37℃에서 2~6일간 배양한 후 같은 조건 하에서 항균력의 유무를 관찰하였다. 항균력이 나타난 최소희석농도의 검액은 50~20㎕까지 양을 감소하며 최소 성장 억제 농도(MIC)를 측정하였으며, 같은 방법으로 원액의 검액을 50~20㎕까지 양을 조절하여 나타난 억제환의 직경(mm)을 측정하여 항균력을 비교하였다. 항균력을 보이지 않을 경우 원액의 검액을 50~100㎕까지 양을 증량하며 최소 성장 억제 농도를 측정하였으며, 같은 방법으로 원액의 검액을 50~100㎕까지 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. aureus에 대한 2일과 6일의 黃連의 항균력은 원액, 10% 검액에서 나타났으며, 2일과 6일의 항균력은 동일하게 나타났다(Table 2, Fig. 1).

2) S. epidermidis(KCTC 1917)

S. epidermidis에 대한 2일과 6일의 黃連의 항균력은 원액, 10% 검액에서 나타났으며, 2일과 6일의 항균력은

동일하게 나타났다(Table 3, Fig. 2).

2. 억제환(Inhibition zone) 크기 비교

1) S. aureus(KCTC 1916)

S. aureus에 대한 2일과 6일의 黃連 원액의 항균력은 20-50㎕의 모든 검액에서 나타났으며, 량에 비례하였고, 동일하게 나타났다. 2일과 6일의 黃連 10% 검액의 항균력은 30-50㎕의 검액에서 나타났으며, 량에 비례하였고, 동일하게 나타났다(Table 4, Fig. 3).

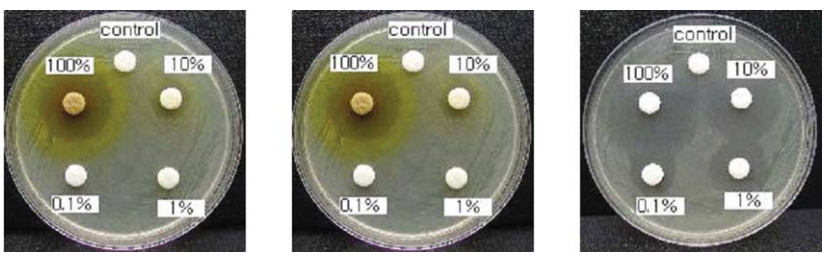
2) S. epidermidis(KCTC 1917)

S. epidermidis에 대한 2일과 6일의 黃連 원액의 항균력은 20-50㎕의 모든 검액에서 나타났으며, 량에 비례하였고, 동일하게 나타났다. 2일과 6일의 黃連 10% 검액의 항균력은 50㎕의 검액에서만 나타났으며, 동일하게 나타났다(Table 5, Fig. 4).

〈Table 2〉 MIC of 50㎕ Coptidis rhizoma extract & Cravit on cultivation of S. aureus

	100%	10%	1%	0.1%
Coptidis rhizoma extract(2일)	30	15	–	–
Coptidis rhizoma extract(6일)	30	15	–	–
Cravit(2일)	31	28.3	23.5	15.5

–: No inhibition



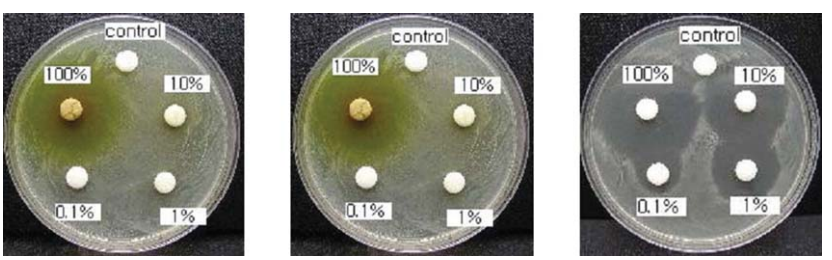
Coptidis rhizoma(2일) Coptidis rhizoma(6일) Cravit(2일)

Fig. 1 MIC of 50㎕ Coptidis rhizoma extract & Cravit on cultivation of S. aureus

〈Table 3〉 MIC of 50㎕ Coptidis rhizoma extract & Cravit on cultivation of S. epidermidis

	100%	10%	1%	0.1%
Coptidis rhizoma extract(2일)	31.3	13	–	–
Coptidis rhizoma extract(6일)	31.3	13	–	–
Cravit(2일)	32.7	25.3	25	16

–: No inhibition



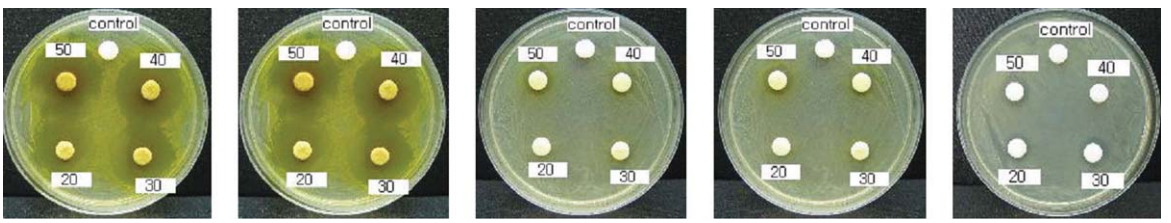
Coptidis rhizoma(2일) Coptidis rhizoma(6일) Cravit(2일)

Fig. 2 MIC of 50㎕ Coptidis rhizoma extract & Cravit on cultivation of S. epidermidis

〈Table 4〉 Growth inhibition effect of Coptidis rhizoma extract & Cravit on cultivation of S. aureus

	50㎕	40㎕	30㎕	20㎕
Coptidis rhizoma extract(100%, 2일)	32.7	30.3	30	28
Coptidis rhizoma extract(100%, 6일)	32.7	30.3	30	28
Coptidis rhizoma extract(10%, 2일)	13.7	11	10	–
Coptidis rhizoma extract(10%, 6일)	13.7	11	10	–
Cravit(0.1%, 2일)	15.5	–	–	–

–: No inhibition



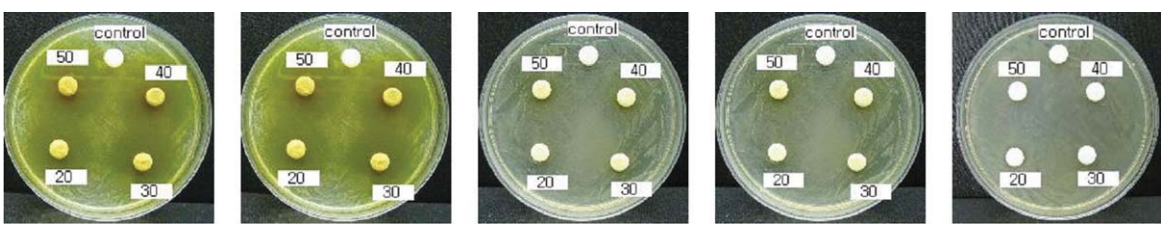
Coptidis rhizoma(100%, 2일, 6일) Coptidis rhizoma(10%, 2일, 6일) Cravit(2일)

Fig. 3 Growth inhibition effect of Coptidis rhizoma extract & Cravit on cultivation of S. aureus

〈Table 5〉 Growth inhibition effect of Coptidis rhizoma extract & Cravit on cultivation of S. epidermidis

	50㎕	40㎕	30㎕	20㎕
Coptidis rhizoma extract(100%, 2일)	31	30	27.7	25.7
Coptidis rhizoma extract(100%, 6일)	31	30	27.7	25.7
Coptidis rhizoma extract(10%, 2일)	10	–	–	–
Coptidis rhizoma extract(10%, 6일)	10	–	–	–
Cravit(0.1%, 2일)	–	–	–	–

–: No inhibition



Coptidis rhizoma(100%, 2일, 6일) Coptidis rhizoma(10%, 2일, 6일) Cravit(2일)

Fig. 4 Growth inhibition effect of Coptidis rhizoma extract & Cravit on cultivation of S. epidermidis

Ⅳ. 考 察

外障이란 瞳神이외의 눈병을 總稱하여 이르는 말로, 발생부위는 胞瞼, 眥部, 白睛, 黑睛 등이며, 주로 六淫邪毒에 의하여 발병한다[1]. 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 발생하고[8], 세균에 의한 경우가 모든 미생물 감염의 65~90%를 차지하는 것으로 알려져 있으며[9], 원인 세균은 녹농균, 폐렴구균, 황색 포도상구균, 표피포도상구균 등이다[8]. 이 중 Staphylococcus species가

세균성 안질환을 일으키는 주된 원인균[2]이라 보고되고 있다.

六淫邪毒에 의하여 발병한 급성적인 外障眼病에 대한 한의학적 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 다용되는 외치의 방법은 適法[3]이며, 이는 약물을 국소 점안하는 치료방법으로 外障眼病에 약물침투가 용이하며[4], 세균이나 세균에서 나오는 여러 가지 독소와 효소를 씻어내는 효과가 있으므로 유리[5]하다 할 수 있다.

黃連은 매자나무과에 속하는 여러해살이 풀인 산련풀의 뿌리줄기를 말린 것으로 열을 내리고 습을 없애며 독을 푸는 효능이 있으며, 달인 물로 결막염 및 각막염에 사용할 수 있다[6]. 또한 많은 한의학서적에 황련안약수로 만들어 각종 안과질환에 사용하는 것으로 되어 있으며, 서[7]는 黃連이 항균효과가 있다고 보고하였으나, 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 點眼藥으로 사용할 목적으로 Staphylococcus species(S. aureus, S. epidermidis)에 대한 黃連의 항균효과의 지속성을 알아보기 위해서 배양일에 따른 최소 성장 억제 농도 측정 및 억제환 측정 실험을 수행하였다.

S. aureus에 대한 2일과 6일의 黃連의 항균력은 원액, 10% 검액에서 나타났으며, 2일과 6일의 항균력은 동일하게 나타났다. 2일과 6일의 黃連 원액의 항균력은 20-50㎕의 모든 검액에서 나타났으며, 량에 비례하였고, 동일하게 나타났고, 2일과 6일의 黃連 10% 검액의 항균력은 30-50㎕의 검액에서 나타났으며, 량에 비례하였고, 동일하게 나타났다. 이로 볼 때 S. aureus에 대한 黃連의 항균력은 지속성을 보인다고 사려된다.

S. epidermidis에 대한 2일과 6일의 黃連의 항균력은 원액, 10% 검액에서 나타났으며, 2일과 6일의 항균력은 동일하게 나타났다. 2일과 6일의 黃連 원액의 항균력은 20-50㎕의 모든 검액에서 나타났으며, 량에 비례하였고, 동일하게 나타났고, 2일과 6일의 黃連 10% 검액의 항균력은 50㎕의 검액에서만 나타났으며, 동일하게 나타났다. 이로 볼 때 S. epidermidis에 대한 黃連의 항균력은 지속성을 보인다고 사려된다.

이상의 결과로 볼 때 黃連은 S. aureus와 S. epidermidis에 대해서 지속적인 항균력을 유지함을 알 수 있었다. 향후 희석액에 있어서도 높은 항균력을 나타내도록 사용량에 대한 연구가 필요하리라 사려된다.

V. 結 論

黃連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. aureus에 대한 2일과 6일의 黃連의 항균력은 원액, 10% 검액에서 나타났으며, 2일과 6일의 항균력은 동일하게 나타났다. 2일과 6일의 黃連 원액의 항균력은 20-50㎕의 모든 검액에서 나타났으며, 량에 비례하였고, 동일하게 나타났고, 2일과 6일의 黃連 10% 검액의 항균력은 30-50㎕의 검액에서 나타났으며, 량에 비례하였고, 동일하게 나타났다. 즉 S. aureus에 대한 黃連의 항균력은 지속성을 보였다.
2. S. epidermidis에 대한 2일과 6일의 黃連의 항균력은 원액, 10% 검액에서 나타났으며, 2일과 6일의 항균력은 동일하게 나타났다. 2일과 6일의 黃連 원액의 항균력은 20-50㎕의 모든 검액에서 나타났으며, 량에 비례하였고, 동일하게 나타났고, 2일과 6일의 黃連 10% 검액의 항균력은 50㎕의 검액에서만 나타났으며, 동일하게 나타났다. 즉 S. epidermidis에 대한 黃連의 항균력은 지속성을 보였다.

參考文獻

1. 리명영 외 34명. 동의학사전. 서울. 여강출판사. 1988: 1207.
2. 정희영, 전종휘. 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. 리명영 외 34명. 동의학사전. 여강출판사. 1988: 1037-8.
7. 서형식. 황련 전탕액이 Staphylococcus aureus와 Staphylococcus epidermidis에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구, 한방안이비인후피부과학회지, 2006; 19(2): 71-76.
8. 윤동호, 이상욱, 최억. 안과학. 일조각. 1996: 2-3, 111-2.
9. 한국외안부연구회 편. 각막. 일조각. 1999: 75-95.