원 저

황련의 증량에 따른 전탕액이 Pseudomonas aeruginosa에 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 Pseudomonas aeruginosa.

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 Pseudomonas aeruginosa that induce keratitis.

Methods : MIC was measured by dropping to 50㎕ according to density Coptidis rhizoma extract(100%, 10%, 1%, 0.1%) compared with quantity(40g, 80g, 120g, 160g). Anti-bacterial potency was measured by the size of inhibition zone with change of volume.

Results : MIC on Pseudomonas aeruginosa in Coptidis rhizoma extract compared with quantity(40g, 80g, 120g, 160g) was not showed all samples(100%, 10%, 1%, 0.1%).

Conclusions : Coptidis rhizoma extract compared with quantity was not showed anti-bacterial potency on Pseudomonas aeruginosa. The results differ that Coptidis rhizoma extract was showed anti-bacterial potency in 1999 year. Anti-bacterial Potency of Coptidis rhizoma extract compared with quantity on Pseudomonas aeruginosa must be studied.

Key words : *Pseudomonas aeruginosa, keratitis, Coptidis rhizoma, MIC, Inhibition zone.*

Ⅰ. 서 론

녹농균(Pseudomonas aeruginosa)은 슈도모나스과에 속하는 Gram 음성 호기성 간균으로 건강한 사람의 피부와 장관에서 분리되며, 균 자체는 균력이 약하여 건강한 개체에 대한 병원성은 약하다. 그러나 면역능이 저하된 개체, 중증 화상과 악성 종양, 각종 만성 질환, 대사이상 질환, 면역 억제제 · 항암제 · 항균제 등을 오랜 기간 투여한 환자 등에서는 다른 균종과 함께 기회 감염의 주요 원인체가 된다[1].

각막염은 각막에 생기는 염증성 질환으로 폐렴구균, 포도상구균, 연쇄상구균, 녹농균, 진균 등에 의해 유발되며[2], 최근 콘택트렌즈의 사용이 증가하면서 각막염의 발생율이 증가추세에 있다. 이중 녹농균은 연성콘택트렌즈 착용자에게 각막염을 유발하는 호발균으로 알려져 있고[3] 발병하면 진행 속도가 매우 빠르기 때문에 특히 조심해야 하는 세균이다[2].

한의학적으로 聚星障, 凝脂翳, 花翳白陷 등의 질환이

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

각막염에 해당되며[4], 이는 각막염이 진행되는 상태에 따라 보이는 각막표면의 모양에 따라 命名한 것으로 서양의학의 원인균에 따른 분류와는 다른 차이를 보이고 있다. 각막의 상피박리만을 보이는 聚星障은 아무런 장애없이 치유되나, 각막의 궤양을 형성하는 凝脂翳와 花翳白陷은 각막의 투명성을 손상시켜 시력장애를 유발하거나, 천공을 유발하여 심한 경우 실명에 이를 수 있다.

녹농균에 대한 한의학적 연구로는 정[5]의 四順淸凉飮子의 녹농균에 대한 항균효과와, 최 등[6]의 黃連, 秦皮, 秦皮散의 녹농균에 대한 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 있다[7]. 또한 많은 한의학서적에 黃連眼藥水로 만들어 각종 안과질환에 사용하는 것으로 되어 있으며, 최 등[6]은 黃連이 녹농균에 항균효과가 있다고 보고를 하였다.

각막에는 혈관분포가 없기 때문에 내복제보다는 약물을 국소 점안하는 것이 약물침투에 용이하며[6], 세균이나 세균에서 나오는 여러 가지 독소와 효소를 씻어내는 효과가 있으므로 유리하다[8]. 따라서 한의학의 안과영역에서는 사용하기 편리하고 효과적인 점안제의 개발이 필요하다. 그러나 점안약은 특성상 무균의 제제로서 불용성 이물을 포함하지 않는 용액 또는 입자가 극히 미세하여야 하므로[9] 손쉽게 만들기 어려운 상황이다.

이에 黃連을 점안약으로 활용하기 위하여 제형 변화를 하기 앞서 각막염의 유발균주에 하나인 Pseudomonas aeruginosa에 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, 120g, 160g을 사용하였다.

2) 균주 및 배지

본 실험에 사용한 Pseudomonas aeruginosa(KCTC 1750)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, 120g, 160g을 각각 증류수 1 *l* 씩을 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 Pseudomonas aeruginosa를 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 Pseudomonas aeruginosa의 현탁액 100㎕를 적정배지인 Nutrient Agar에 도말하였고, 검액은 황련 40g, 80g, 120g, 160g 전탕액을 각각 원액, 10%, 1%, 0.1%로 희석하여 50㎕씩 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. 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)

황련 전탕액 40g, 80g, 120g, 160g의 50㎕ 모든 농도(100%, 10%, 1%, 0.1%)에서 Pseudomonas aeruginosa에 대해 전혀 항균효과를 보이지 않았다.(Table 1, Fig. 1).

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 된다3). 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[10].

각막염은 세균성, virus성, 진균성의 순으로 많이 발생하고[3], 세균에 의한 각막염이 각막의 모든 미생물 감염의 65~90%를 차지하는 것으로 알려져 있으며[11], 원인세균은 녹농균, 폐렴구균, 황색 포도상구균, 표피포도상구균 등이다[3]. 이중 녹농균성 각막궤양은 연성콘텍트렌즈 착용자에게 호발하는 것으로 알려져 있어[3], 미용과 관련하여 콘텍즈렌즈의 착용이 많아지는 근래에 있어 새롭게 인식하여야 할 질환이라 생각된다.

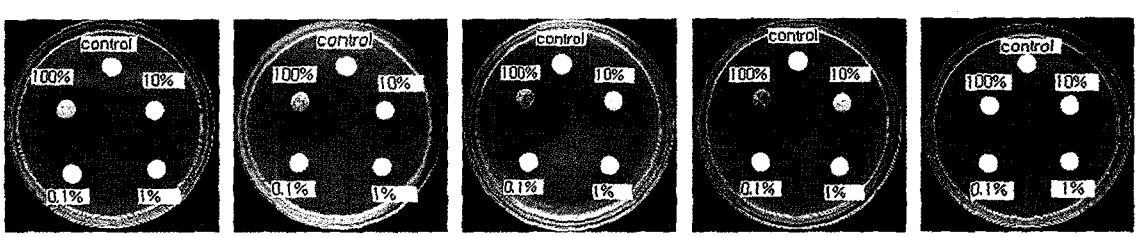
녹농균은 토양이나 물이 주된 서식장소인데 사람이나 동물의 피부 또는 장 등을 비롯하여 자연계에도 널리 분포하는 균으로, 전형적인 기회주의적 병원성균으로 건강한 사람에게 감염을 일으키는 일은 거의 없으나, 저항력이 약한 사람에게는 중증의 감염증을 일으킨다. 흔히 일으키는 질환으로는 화상부위 감염과 요로감염이나, 패혈증, 폐렴, 수막염 등도 적지 않으며, 병원내 감염의 중요한 원인균이기도 하다. 소수의 합성 β-lactam군 항생물질, piperacillin, 일부의 aminoglycoside계 항생물질 및 polymyxin류를 제외한 대부분의 화학요법제에 저항성을 나타내며, 유효한 약제에 대해서도 내성균이 증가 추세에 있으므로 치료하기에 매우 곤란한 세균감염증으로 병원 등에서 매우 조심하여 다루어야 하 세균 중에 하나이다[12].

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

Table 1. MIC of 50㎕ Coptidis rhizoma extract & Cravit on Pseudomonas aeruginosa

	100%	10%	1%	0.1%
Coptidis rhizoma(40g)	-	-	-	-
Coptidis rhizoma(80g)	-	-	-	-
Coptidis rhizoma(120g)	-	-	-	-
Coptidis rhizoma(160g)	-	-	-	-
Cravit	24.7	24	15.3	-

-: No inhibition



Coptidis rhizoma(40g) Coptidis rhizoma(80g) Coptidis rhizoma(120g) Coptidis rhizoma(160g) Cravit

Fig. 1 MIC of 50㎕ Coptidis rhizoma extract & Cravit on Pseudomonas aeruginosa

등이 필수적이며[11], 성공적 치료를 위해서는 약제의 적절한 투여방법이 필요하다[13]. 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 있어[14], 약제의 점안이 가장 흔히 사용되고 있다[15].

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 있다[7]. 또한 많은 한의학서적에 黃連眼藥水로 만들어 각종 안과질환에 사용하는 것으로 되어 있으며, 최 등[6]은 黃連이 녹농균에 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 있으며[16], 이중 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.

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

Pseudomonas aeruginosa에 대해서 40g, 80g, 120g, 160g 각각의 황련 전탕액은 50㎕ 100%, 10%, 1%, 0.1%의 모든 농도에서 항균효과를 보이지 않았다.

이는 최 등[6]의 黃連이 녹농균에 항균효과가 있다는 연구와 커다란 차이를 보여주고 있다. 단 본 연구는 黃連의 量에 있어서 최 등[6]이 실험한 375g 보다는 적은 量에 해당한다.

이상의 결과로 볼 때 황련 전탕액은 Pseudomonas aeruginosa 균주에 대하여 전혀 항균능력을 가지고 있지 않은 것으로 나타났다. 그러나 이보다 많은 量에 대하여 보다 깊이 있는 연구가 필요할 것으로 사려된다.

V. 結 論

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

1. Pseudomonas aeruginosa에 대하여 40g, 80g, 120g, 160g 각각의 황련 전탕액은 50㎕ 100%, 10%, 1%, 0.1%의 모든 농도에서 항균효과를 보이지 않았다.

이는 최 등[6]의 黃連이 녹농균에 항균효과가 있다는 연구와 커다란 차이를 보여주는 것으로 향후 量에 따른 항균효과에 대하여 보다 깊이 있는 연구가 필요할 것으로 사려된다.

參考文獻

1. 신태양사 편집국 백과사전부. 원색최신의료대백과사전4. 신태양사. 1994 ; 144-5.
2. 신태양사 편집국 백과사전부. 원색최신의료대백과사전1. 신태양사. 1994 ; 47-8.
3. 윤동호, 이상욱, 최억. 안과학. 일조각. 1996 : 2-3, 111-2.
4. 李傳課. 중의안과학. 인민위생출판사. 2002 ; 477, 479, 488, 497.
5. 정연희. 사순청량음자가 녹농균성 각막염에 미치는 효과에 관한 실험적 연구. 경희대학교 대학원. 1996.
6. 최규동 채병윤. 黃連, 진피, 秦皮散이 녹농균성 각막염에 미치는 효과에 관한 실험적 연구. 대한외관과학회지. 1999 ; 12(1): 18-35.
7. 리명영 외 34명. 동의학사전. 여강출판사. 1988 : 1037-8.
8. 이상준, 이주화. Soft Contact Lens 사용 중 발생된 녹농균성 각막염 3예. 대한안과학회지. 1990 ; 31(5): 681-6.
9. 약제학분과회. 제제학. 한림원. 2000 ; 12.
10. 심일청, 오준섭. 세균성 및 진균성 각막궤양의 임상적 고찰. 대한안과학회지. 1982 ; 23: 915-9.
11. 한국외안부연구회 편. 각막. 일조각. 1999 : 75-95.

12. 허창문, 김석홍, 맹석재. 최신 병원미생물학. 청구문화사. 1992 : 174-5.
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, 노주헌. 점안약의 오염에 관한 연구. 대한안과학회지. 1996 ; 37(5) : 141-8.
16. 김성원, 김성권. 한방전문의총서(안과). 해동의학사. 1996 : 72-5.