

원 저

황련의 증량에 따른 전탕액이 Staphylococcus epidermidis에 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 epidermidis

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 epidermidis that induce keratitis.

Methods : MIC was measured by dropping to 50 µl 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 epidermidis 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 epidermidis in Coptidis rhizoma extract(40g, 80g, 160g) was showed anti-bacterial potency compared with quantity all samples(20 µl, 30 µl, 40 µl, 50 µl) in 100% density, but anti-bacterial potency of 80g, 50 µl Coptidis rhizoma extract decreased compared with 40g, 50 µl.

3. MIC on Staphylococcus epidermidis in 40g Coptidis rhizoma extract was showed in 50 µl, 40 µl of 10% density, 80g Coptidis rhizoma extract was showed in 50 µl of 10% density, 160g Coptidis rhizoma extract was showed in 50 µl, 40 µl, 30 µl of 10% density.

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 epidermidis, keratitis, Coptidis rhizoma extract, MIC, Inhibition zone.

1. 서 론

각막염은 각막에 생기는 염증성 질환으로 폐렴구균, 포도상구균, 연쇄상구균, 녹농균, 진균 등에 의해 유발되

며¹⁾, 포도상구균 중 Staphylococcus epidermidis는 Gram 양성균의 구균으로 약하나마 병원성이 있어 기회감염의 원인이 되는 균이며²⁾, 피부 상재균으로 있다가 주로 안검결막염을 일으키지만 세균 각막염 또한 일으키고, 어떤 지역에서는 세균 각막염의 가장 많은 부분을 차지하기도 한다³⁾.

한의학적으로 聚星障, 凝脂翳, 花翳白陷 등의 질환이 각막염에 해당되며⁴⁾, 이는 각막염이 진행되는 상태에

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

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.

*Staphylococcus epidermidis*에 대한 한의학적 연구로는 서⁹⁾의 소염약침액, 황련해독탕, 황련이 *Staphylococcus epidermidis*에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구와, 정¹⁰⁾의 다종의 점안약이 각막염 유발균인 *Staphylococcus epidermidis*에 미치는 영향에 대한 실험적 연구가 있었다.

黃連은 매자나무과에 속하는 여러해살이 풀인 산련 풀의 뿌리줄기를 말린 것으로 熱을 내리고 濕을 없애며 毒을 푸는 효능이 있으며, 달인 물로 결막염 및 각막염에 사용할 수 있다⁹⁾. 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 용이하며⁸⁾, 세균이나 세균에서 나오는 여러 가지 독소와 효소를 씻어내는 효과가 있으므로 유리하다⁹⁾. 따라서 한의학의 안과영역에서는 사용하기 편리하고 효과적인 점안제의 개발이 필요하다. 그러나 점안약은 특성상 무균의 제제로서 불용성 이물을 포함하지 않는 용액 또는 입자가 극히 미세하여야 하므로¹⁰⁾ 손쉽게 만들기 어려운 상황이다.

이에 黃連을 점안약으로 활용하기 위하여 제형 변화를 하기 앞서 각막염의 유발균주에 하나인 *Staphylococcus epidermidis*에 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 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°C의 환경에서 배양하였다.

2. 방법

1) 약물의 제조

황련 40g, 80g, 160g을 각각 증류수 1 l씩을 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 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 *Staphylococcus epidermidis*의 현탁액 100 μl를 적정배지인 Nutrient Agar에 도말하였고, 검액은 원액, 10%, 1%, 0.1%로 희석한 것과 희석액 별로 각각 20 μl~100 μl씩 준비하여 사용하였다. 피검균을 도말한 배지 위에 paper disc(8mm)를 올려놓고 검액 50 μl를 농도별로 희석하여 적하하고, 37°C에서 2~6일간 배양한 후 같은 조건 하에서 항균력의 유무를 관찰하였다. 항균력이 나타난 최소희석농도의 검액은 50~20 μl까지 양을 감소하며 최소 성장 억제 농도(MIC)를 측정하였으며, 같은 방법으로 원액의 검액을 50~20 μl까지

양을 조절하여 나타난 억제환의 직경(mm)을 측정하여 항균력을 비교하였다. 항균력을 보이지 않을 경우 원액의 검액을 50~100 μ l 까지 양을 증량하며 최소 성장 억제 농도를 측정하였으며, 같은 방법으로 원액의 검액을 50~100 μ l 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) 50 μ l에서 희석비율에 따른 항균력

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

2) 원액의 량에 따른 항균력

Staphylococcus epidermidis에 대해 황련 40g, 80g, 160g의 전탕액 100% 농도의 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l 모두 증량 및 원액의 량에 의존적으로 항균력을 보였으나, 황련 80g의 전탕액 50 μ l에서 황련 40g의 전탕액 50 μ l보다 항균력이 감소하였다(Table 2, Fig. 2).

3) 10%액의 량에 따른 항균력

Staphylococcus epidermidis에 대해 황련 40g의 전탕액 10%의 농도에서 50 μ l, 40 μ l에서 량 의존적으로 항균력을 보였으며, 황련 80g의 전탕액 10% 농도에서는 50 μ l에서만 항균력을 보였고, 황련 160g의 전탕액 10%의 농도에서는 50 μ l, 40 μ l, 30 μ l에서 량 의존적으로 항균력을 보였다(Table 3, Fig. 3).

Table 1. MIC of 50 μ l Coptidis rhizoma extract(100%, 10%, 1%, 0.1%) compare with quantity(40g, 80g, 160g) & Cravit on Staphylococcus epidermidis

	100%	10%	1%	0.1%
Coptidis rhizoma(40g)	29.3	12.5	-	-
Coptidis rhizoma(80g)	31.3	13	-	-
Coptidis rhizoma(160g)	31.3	13.5	-	-
Cravit	32.7	25.3	25	16

- : No inhibition

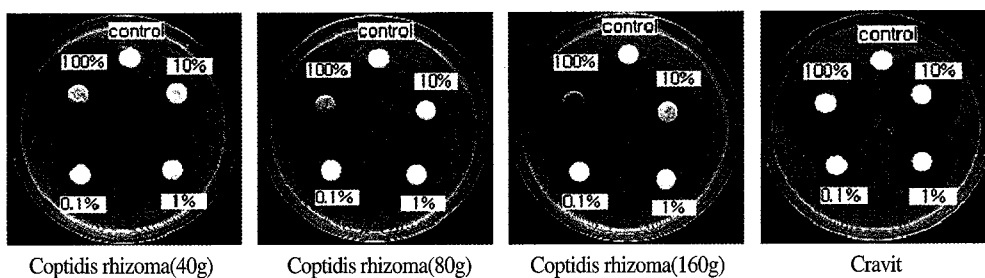


Fig. 1 MIC of 50 μ l Coptidis rhizoma extract(100%, 10%, 1%, 0.1%) compare with quantity(40g, 80g, 160g) & Cravit on Staphylococcus epidermidis.

Table 2. MIC of 100% Coptidis rhizoma extract compare with quantity(40g, 80g, 160g) on Staphylococcus epidermidis

	50 μ l	40 μ l	30 μ l	20 μ l
Coptidis rhizoma(40g)	32	28.3	26.3	24
Coptidis rhizoma(80g)	31	30	27.7	25.7
Coptidis rhizoma(160g)	37	33	31	29.7

-- : No inhibition

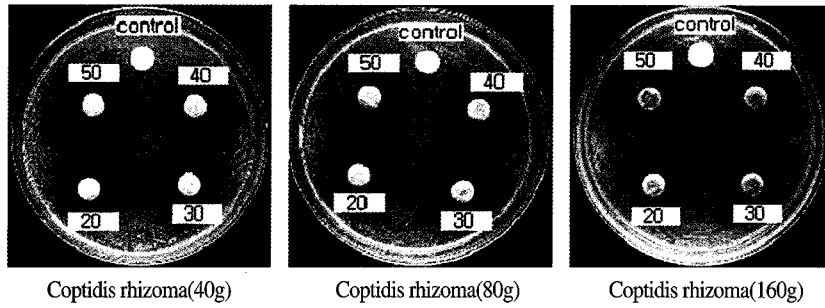


Fig. 2 MIC of 100% Coptidis rhizoma extract compare with quantity(40g, 80g, 160g) on Staphylococcus epidermidis

Table 3. MIC of 10% Coptidis rhizoma extract compare with quantity on Staphylococcus epidermidis

	50 μ l	40 μ l	30 μ l	20 μ l
Coptidis rhizoma(40g)	11.7	11	-	-
Coptidis rhizoma(80g)	10	-	-	-
Coptidis rhizoma(160g)	14.7	12	11	-

-- : No inhibition

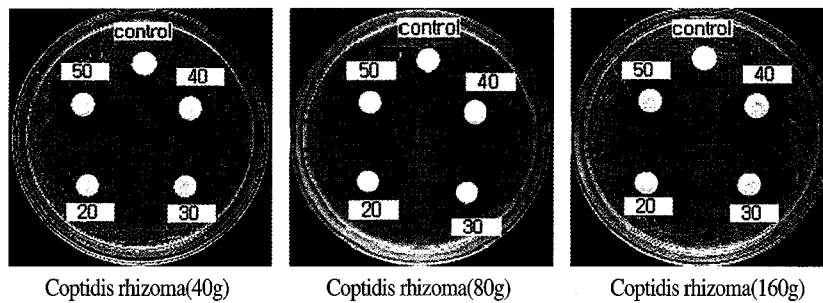


Fig. 3 MIC of 10% Coptidis rhizoma extract compare with quantity(40g, 80g, 160g) on Staphylococcus epidermidis

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 된다¹⁾. 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 추세이다²⁾.

각막염은 세균성, virus성, 진균성의 순으로 많이 발생하고³⁾, 세균에 의한 각막염이 각막의 모든 미생물 감염의 65~90%를 차지하는 것으로 알려져 있으며⁴⁾, 원인 세균은 녹농균, 폐렴구균, 황색 포도상구균, 표피포도상구균 등이다⁵⁾. 이 중 Staphylococcus epidermidis는 Gram 양성 포도구균으로 약하나마 병원성이 있어 기회감염의 원인이 되는 균⁶⁾이며, 이러한 균은 피부 상재균으로 있다가 인체의 면역이 저하되면 감염을 일으킬 수 있다.

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 필수적이며⁷⁾, 성공적 치료를 위해서는 약제의 적절한 투여방법이 필요하다⁸⁾. 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 있어⁹⁾, 약제의 점안이 가장 흔히 사용되고 있다¹⁰⁾.

黃連은 매자나무과에 속하는 여러해살이 풀인 산련 풀의 뿌리줄기를 말린 것으로 熱을 내리고 濕을 없애며 毒을 푸는 효능이 있으며, 달인 물로 결막염 및 각막염에 사용할 수 있다¹¹⁾. 또한 많은 한의학서적에 黃連 眼藥水로 만들어 각종 안과질환에 사용하는 것으로 되어 있으며, 서¹²⁾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 있으며¹³⁾, 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 Staphylococcus epidermidis 균주를 선택하여 증량에 따른 항균효과를 양방의학의 항생점안제인 Cravit를 대조군으로 하여 최소 성장 억제 농도 측정 및 억제환 측정 실험을 실시하였다.

Staphylococcus epidermidis에 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% 농도에서 Staphylococcus epidermidis에 대해 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l 모두 증량 및 원액의 량에 의존적으로 항균력을 보였으나, 80g의 황련 전탕액 50 μ l에서 40g의 황련 전탕액 50 μ l보다 항균력이 감소하였다.

40g의 황련 전탕액 10%의 농도에서 Staphylococcus epidermidis에 대해 50 μ l, 40 μ l에서 량 의존적으로 항균력을 보였으며, 80g의 황련 전탕액 10% 농도에서는 50 μ l에서만 항균력을 보였고, 160g의 황련 전탕액 10%의 농도에서는 50 μ l, 40 μ l, 30 μ l에서 량 의존적으로 항균력을 보였다.

100%와 10%의 농도에서 량에 따른 억제환 측정 결과에서 80g 황련 전탕액이 40g 황련 전탕액의 항균력보다 감소하는 것은 증량 및 농도 의존적으로 보인 항균력의 결과와 비교해 볼 때 이는 실험 도중 오염과 같은 다른 원인이 있는 것으로 사려된다.

이상의 결과로 볼 때 황련 전탕액은 Staphylococcus epidermidis 균주에 대하여 농도 및 량 의존적으로 항균력을 갖는 것으로 나타났다. 따라서 향후 항균력을 갖는 적정량에 대하여 보다 깊이 있는 연구가 필요할 것으로 사려된다.

V. 結 論

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

1. *Staphylococcus epidermidis*에 대해 40g, 80g, 160g의 황련 전탕액 100%와 10%의 농도에서 량 및 농도에 의존적으로 항균력을 보였다
2. *Staphylococcus epidermidis*에 대해 40g, 80g, 160g의 황련 전탕액 100% 농도에서 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l 모두 증량 및 원액의 량에 의존적으로 항균력을 보였으나, 황련 전탕액 80g의 50 μ l에서 40g의 50 μ l보다 항균력이 감소하였다
3. *Staphylococcus epidermidis*에 대해 40g의 황련 전탕액 10%의 농도에서 50 μ l, 40 μ l에서 량 의존적으로 항균력을 보였으며, 80g의 황련 전탕액 10% 농도에서는 50 μ l에서만 항균력을 보였고, 160g의 황련 전탕액 10%의 농도에서는 50 μ l, 40 μ l, 30 μ l에서 량 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. 원색최신의료대백과사전1. 신태양사. 1994 ; 47-8.
2. 신태양사 편집국 백과사전부. 원색최신의료대백과사전19. 신태양사. 1994 ; 63.
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 epidermidis*에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구, 한방안이비인후피부과학회지, 2006 ; 19(2) : 19-25.
6. 정순영, 서형식. 다종의 안질환 사용 처방이 각막염 유발균인 *Staphylococcus epidermidis*에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지, 2006 ; 19(1) : 123-134.
7. 리명영 외 34명. 동의학사전. 여강출판사. 1988 ; 1037-8.
8. 최규동 채명윤. 黃連, 鱗皮, 秦皮散이 녹농균성 각막염에 미치는 효과에 관한 실험적 연구. 대한외관과학회지. 1999 ; 12(1) : 18-35.
9. 이상준, 이주화. Soft Contact Lens 사용 중 발생한 녹농균성 각막염 3예. 대한안과학회지. 1990 ; 31(5) : 681-6.
10. 약제학분과회. 제제학. 한림원. 2000 ; 12.
11. 윤동호, 이상욱, 최억. 안과학. 일조각. 1996 ; 2-3, 111-2.
12. 심일청, 오준섭. 세균성 및 진균성 각막궤양의 임상적 고찰. 대한안과학회지. 1982 ; 23 : 915-9.
13. 한국의안부연구회 편. 각막. 일조각. 1999 : 75-95.
14. 이유환, 한영호, 김광혁. 실험적 *Staphylococcus aureus* 각막염에서 Ciprofloxacin을 적신 Collagen Shield의 치료효과. 대한안과학회지. 1996 ; 37(10) : 1601-6.
15. 김상윤. 녹농균의 항생제 내성의 특성. 경북대학교 대학원. 1985.
16. 이유환, 한영호, 노주현. 점안약의 오염에 관한 연구. 대한안과학회지. 1996 ; 37(5) : 141-8.
17. 서형식. 황련 전탕액이 *Staphylococcus aureus*와 *Staphylococcus epidermidis*에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구. 한방안이비인후피부과학회지, 2006 ; 19(2) : 19-25.
18. 김성원, 김성권. 한방전문의총서(안과). 해동의학사. 1996 : 72-5.