

여드름 원인균 *Propionibacterium acnes*에 대한 생약 추출물의 항균활성 측정

원진배 · 안주희 · 마충제*
강원대학교 생물소재공학전공

Antibacterial Activity of Some Medicinal Plants against *Propionibacterium acnes*

Jin Bae Weon, Juhee Ahn and Choong Je Ma*

Department of Biomaterials Engineering, Division of Bioscience and Biotechnology,
Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract – Acne, one of the most common skin disease, is a chronic inflammatory disease and is caused by uncertain and multiple factors. *Propionibacterium acnes* belongs to the human cutaneous normal flora and is a major etiologic agent of acne vulgaris. In this study, we evaluated the antibacterial effect of 19 medicinal plants. Antibacterial activity of extracts prepared from the 19 medicinal plants was investigated against bacteria related to acnes, *Propionibacterium acnes*. Among them, some medicinal plants inhibited the growth of the *P. acnes*. Minimum inhibitory concentration (MIC) of *Polygonum aviculare* (Herb) was 0.2 mg/ml against *P. acnes*. MIC of *Dianthus chinensis* (Aerial Part), *Forsythia viridissima* (Fruit), *Lygodium japonicum* (Spore) and *Sophora flavescens* (Root) were 0.4 mg/ml. Based on these results, *Polygonum aviculare* (Herb), *Dianthus chinensis* (Aerial Part), *Forsythia viridissima* (Fruit), *Lygodium japonicum* (Spore) and *Sophora flavescens* (Root) may be considered as a candidate for a good medicine for acne.

Key words – Acne, *Propionibacterium acnes*, Antibacterial activity, Medicinal plants

여드름은 모든 연령대에서 대부분의 사람들에게 발생하고 얼굴, 가슴, 어깨 부위 등에 면모, 농포, 구진, 결절 등의 형태로 나타나는 다형성 피부질환이다. 여드름의 발생원인은 정확한 원인은 밝혀져 있지 않으나 일반적으로 피지선에서의 과도한 피지분비, 호르몬 불균형, 유전적 소질, 비정상적인 모낭 내 이상 각화 및 *Propionibacterium acnes*의 증식 및 염증 반응 등 복합적인 요인으로 발생한다.^{1,2)} 여드름 주요 병원체인 *P. acnes*는 피부 내에 존재하는 혐기성 상재균으로써 피부 모낭 내에서 성장하는 지방 친화성 미생물이다. *P. acnes*는 남성호르몬인 androgen이나 다른 요인에 의해 생성된 피지의 triglycerides를 가수분해한 후 지방분해 효소 (lipase)와 화학주성인자의 분비를 통해 유리지방산을 생성하여 염증성 질환을 일으킨다. *P. acnes*와 같이 세균감염에 의한 여드름 발병에 대해 진신적인 치료 방법인 항생제 투여가 가장 큰 효과를 나타낸다.³⁾ 염증성 여드름을 치

료하기 위해 사용되는 항생제로는 tetracycline, clindamycin 등이 사용된다. 하지만 장기간 항생제를 사용할 경우 내성이 생겨 치료효과가 떨어질 수 있다.⁴⁾ 최근 여드름의 예방 또는 치료를 위해 생약 유래 물질에 대한 항균 및 항염증에 대한 많은 연구가 진행되고 있다.^{5,6)} 생약은 다양한 성분을 지니고 있어 여드름과 같은 복잡한 발생기전을 가진 질병에 효율적으로 적용될 수 있으며 생약 유래 물질의 경우 인체에 미치는 독성을 최소화할 수 있다.

본 연구에서는 항염증 활성이 알려지고 안전성이 확보된 생약 19종에 대해 여드름의 치료 및 예방효과를 확인하기 위해 여드름 주요 원인균인 *P. acnes*에 대한 최소성장억제 농도 (minimal inhibitory concentration, MIC)을 측정하였다.

재료 및 방법

시약 및 시료 – 각 생약은 대전전통약재시장과 경동시장에서 구입하여 대전대학교 한의과 대학 서용배 교수의 감

*교신저자 (E-mail): cjma@kangwon.ac.kr
(Tel): +82-33-250-6565

정을 거친 후 실험 재료로 사용되었다. 실험재료의 증거표본은 대학의 식물 표본실에 보관 중이다. 추출용 methanol은 (주)대정에서 구입하였다. 세균 배양용 reinforced clostridial medium (RCM)은 Becton, Dickinson & Co.에서 구입하였으며, peptone water는 Merck에서 구입하여 사용하였다.

추출 및 시료 제조 - 각 건조된 생약 50 g을 500 ml의 80% methanol을 첨가하여 4시간 3회 초음파 추출한 후 여과하였다. 여과 추출물을 40°C 수조 상에서 감압 농축하였다. 농축된 추출물을 동결 건조하여 분말 형태로 하였다.

세균 배양 - 본 실험에 사용된 여드름 원인균인 *Propionibacterium acnes* (KCTC 3314)은 한국유전자은행 (Korean Collection for Type Cultures, KCTC)으로부터 분양 받아 사용하였다. *P. acnes*를 reinforced clostridial medium (RCM)을 이용하여 3일 동안 37°C incubator에서 혐기 배양하여 활성화시켰다. 균주를 활성화시킨 후 4°C에 10분간 4000×g으로 원심 분리하여 모은 후 buffered peptone water (BPW) 안에서 풀어놓은 후 10⁸ CFU/ml로 배양하여 사용하였다.

여드름 원인균에 대한 생약 추출물의 최소발육저해농도 (MIC) 측정 - 생약 추출물의 항균효과를 확인하기 위한 최소발육저해농도 minimal inhibitory concentration (MIC)는 Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)의 변형된 broth dilution procedure 의하여 수행하였다. 생약 추출물을 여과한 후 최종농도가 51.2~0.1 mg/ml이 되도록 RCM을 이용하여 1/2 단계적으로 희석하여 농도 조절하였다. 배양된 *P. acnes*균을 시료가 담긴 96-well microtitre plate에 10⁵ CFU/ml 접종한 다음 37°C에서 3일간 배양하였다. 배양 후 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였으며 순수 broth 배지의 흡광도 값과 같은 결과를 얻은 농도를 MIC로 결정하였다. 항생제인 clindamycin과 tetracycline는 positive control으로 사용하였다.

결과 및 고찰

여드름을 일으키는 다양한 원인 중에 피지의 증가와 그에 따른 *P. acnes*의 증가는 염증 반응을 일으키고 이는 여드름 발생 기전으로 작용하고 있다. *P. acnes*의 염증 발생 기전에 대한 연구를 확인해보면 *P. acnes*는 monocytes에 의해 Proinflammatory cytokine인 TNF- α , IL- β , IL-8을 유도하여 염증을 유발한다. 또한 T-cell mitogenic activity을 가지고 있어 T-cells의 활성화와 immunological cytokines를 생산하여 염증반응을 촉진한다.⁷⁾ 이러한 염증성 여드름 치료를 위해 항생제인 clindamycin, erythromycin, lincomycin 사용되고 있다. 하지만 이러한 항생제는 설사, 구토와 같은 위장관계 부작용을 일으키고 간기능 장애 및 호중구감소증이 간헐적으로 발생한다.⁴⁾ 오랜기간 동안의 복용은 항생제에 대한 여

드름 균의 내성이 생기게 되며 치료의 효과가 적어진다.⁸⁾ 생약의 경우 다양한 성분이 함유되어 있어 여드름과 같이 발생 기전이 다양하고 복잡한 질환에 적용하는 것이 효과적이고 부작용이 적어서 여드름 치료에 효과적이다.

본 연구에서는 항염증 활성을 가진 생약 19종의 methanol 추출물로부터 *P. acnes*균을 통해 유발된 염증성 여드름에 대한 치료 효과를 검색하기 위해 생약 19종의 *P. acnes*에 대한 최소발육저해농도를 측정하였다 (Table I). 19종의 생약 추출물을 51.2~0.1 mg/ml의 농도에서 최소발육저해농도 측정결과, 생약 19종 중 5종의 생약인 *Polygonum aviculare* (Herb), *Dianthus chinensis* (Aerial Part), *Forsythia viridissima* (Fruit), *Lygodium japonicum* (Spore), *Sophora flavescens* (Root)의 활성이 높게 나타났다. *Polygonum aviculare* (Herb)가 0.2 mg/ml로 가장 낮게 나타났고 *Dianthus chinensis* (Aerial Part), *Forsythia viridissima* (Fruit), *Lygodium japonicum* (Spore), *Sophora flavescens* (Root)는 0.4 mg/ml로 낮은 최소발육저해 농도를 나타내었다. 이를 포함한 8종의 생약 추출물이 1.0 mg/ml의 최소발육저해농도를 나타내었다. *P. acnes*에 대한 최소발육저해농도가 낮았던 5종의 생약인 *Polygonum aviculare* (Herb),

Table I. Minimum inhibitory concentration (MIC) of extracts from 19 medicinal plants against *P. acnes*

Plant Name (Used Part)	Yield (%)	MIC (mg/ml)
<i>Lonicera japonica</i> (Flower)	21.2	0.8
<i>Taraxacum platycarpum</i> (Herb)	18.9	1.6
<i>Polygonum aviculare</i> (Herb)	15.4	0.2
<i>Dianthus chinensis</i> (Aerial Part)	20.0	0.4
<i>Lindera strichnifolia</i> (Tuber)	19.2	0.8
<i>Dioscorea tokora</i> (Rhizoma)	12.3	1.6
<i>Forsythia viridissima</i> (Fruit)	12.9	0.4
<i>Alpinia oxyphylla</i> (Fruit)	11.1	1.6
<i>Cornus officinalis</i> (Fruit)	9.8	>25.6
<i>Curcuma longa</i> (Tuber)	23.3	>25.6
<i>Lygodium japonicum</i> (Spore)	3.2	0.4
<i>Panax notoginseng</i> (Root)	15.2	6.4
<i>Broussonetia kazinoki</i> (Fruit)	12.3	0.8
<i>Broussonetia papyrifera</i> (Stem)	15.5	12.8
<i>Cynanchum paniculatum</i> (Root)	14.0	6.4
<i>Tilia amurensis</i> (Stem)	0.93	25.6
<i>Pueraria lobata</i> (Root)	24.6	6.4
<i>Sophora flavescens</i> (Root)	7.9	0.4
<i>Trichosanthes kirilowii</i> (Root)	8.0	6.4
Clindamycin	-	≤0.063
Tetracycline	-	≤0.25

Dianthus chinensis (Aerial Part), *Forsythia viridissima* (Fruit), *Lygodium japonicum* (Spore), *Sophora flavescens* (Root)은 항염증 작용과 다양한 세균에 대한 항균 작용이 있다고 알려져 있다. *Polygonum aviculare* 추출물의 항염증작용과 항균작용을 통해 치은 가장자리에 생기는 박테리아성 치은염에 대한 치료 효과가 연구되었고 *Polygonum aviculare*는 피부 진균증 치료에 이용하기 위해 *Epidermophyton floccosum*에 대한 항진균 작용과 *Polygonum aviculare*의 CHCl_3 분획층에 대한 항균효과도 보고되었다.^{9,10)} *Forsythia viridissima*는 suspenside, β -hydroxyacetoside, forthiaside, acetoside를 함유한 phenylpropanoid glycoside에 의해 항균작용을 나타낸다.¹¹⁾ *Forsythia viridissima*는 항염증작용과 항균작용이 알려진 *Phellodendri cortex*, *Glycyrrhizae radix*와 함께 피부질환을 유발하는 *Staphylococcus intermedius*에 대한 *in vitro* 항균 효과도 보고되었다.¹²⁾ *Sophora flavescens*는 기존의 보고에서 여드름에 대한 우수한 활성이 보고되어 있다.¹³⁾ 또한 *Sophora flavescens*의 뿌리로부터 분리된 prenylated flavonoids이 COX-2, iNOS, IL-6과 같은 proinflammatory 분자들을 억제하여 항염증 작용을 나타내며, 피부의 화농을 일으키는 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균작용도 연구되었다.¹⁴⁾ 또한 *Lygodium japonicum*의 성분인 flavonoid 계열의 kaempferol은 quercetin과 daidzein과 함께 iNOS와 mRNA 발현을 억제하고 NO를 생산하여 항염증 작용하고 *Lygodium japonicum*에서 분리된 polysaccharides는 *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Nocardia asteroides*에 대해 항균 작용이 보고되었다.¹⁵⁾ 5종의 생약 추출물의 항균 물질을 추정 한 결과, *Polygonum aviculare*와 *Lygodium japonicum*는 flavonoid인 kampferol을 함유하고 있으며 kampferol은 *P. acnes*에 대한 성장 억제 효과가 보고되어 있어 두 생약에 대한 항균 활성의 대표 물질로 사료된다.¹⁶⁾ *Forsythia viridissima*은 포함된 phenylpropanoid glycoside에 의해 항균 활성이 나타나며 그 중 항균 활성이 보고된 acteoside의 *Forsythia viridissima*의 항균 활성의 물질로 판단된다.¹⁷⁾ 최근 *Sophora flavescens*의 주요 생리 활성 물질 중 kuraridin과 kurarinone이 항균 활성 물질로 보고되었으며, 현재 추가적인 연구가 진행 중이다.¹⁸⁾ *Dianthus chinensis*에서 항염증 활성을 가지고 있는 9종의 triterpene saponin들 중 *P. acnes*균을 통해 유발된 염증성 여드름에 대한 치료 활성이 나타날 것으로 판단된다.¹⁹⁾

위의 실험결과와 보고된 항염증 작용과 항균작용 연구내용을 토대로 5종의 생약은 효과적인 여드름 치료제 후보물질로서 이용 가능성이 있으며, 이미 확인된 항균 활성 물질과 함께 5종의 생약의 *P. acnes*균 성장 억제 활성 물질을 확인하기 위해 추가적으로 물질을 분리하고 구조를 확인하여 주성분에 대한 연구를 진행해야 한다. 추출물이 아닌 단일 생리 활성 물질을 여드름 발병 기전에 적용하면 추출물의

다른 성분들의 영향을 받지 않아 치료효과가 높아지고 여드름 치료제 후보물질의 개발에 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

결론

본 연구는 국내에 자생하는 생약으로부터 안전하고 효과적인 여드름 예방 및 치료제 후보 물질을 제시하기 위해 연구를 진행하였고, *P. acnes* 성장 억제 실험 결과, 5종의 생약인 *Polygonum aviculare* (Herb), *Dianthus chinensis* (Aerial Part), *Forsythia viridissima* (Fruit), *Lygodium japonicum* (Spore), *Sophora flavescens* (Root)이 좋은 효과를 나타내었다. 이 5종의 생약 추출물을 0.2~0.4 mg/ml의 농도로 사용한다면 여드름 유발균의 성장을 억제하며 여드름 치료나 예방에 효과가 있을 것으로 생각된다. 또한 다른 항균제와 혼합하여 사용하거나 첨가하면 그 효과는 더욱 증가될 것이라고 생각된다. 향후 여드름 치료제로 사용될 가능성이 높이기 위해 5종의 생약에 대한 여드름 치료와 관련된 다양한 활성연구가 진행되어야 할 것으로 판단된다.

인용문헌

- Farrar, M. D. and Ingham, E. (2004) Acne: Inflammation. *Clin. Dermatol.* **22**: 380-384.
- Kligman, A. M. (1974) An overview of acne. *J. Invest. Dermatol.* **62**: 268-287.
- Weiss, J. S. (1997) Current options for the topical treatment of acne vulgaris. *Pediatr. Dermatol.* **14(6)**: 480-488.
- Lim, K. S., Myung, K. B., Chung, N. E. and Chung, W. S. (1995) A study on the MIC of antibiotics for *Propionibacterium acnes* in patients with acne. *Kor. J. Dermatol.* **33**: 437-444.
- Kim, N., Lim, Y. H., Park, S. W. and Nam, E. S. (2009) Antimicrobial activities of the anti-acne compounds from natural sources. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **37(1)**: 80-84.
- Seong, J. M., Park, N.-Y. and Lee, S.-H. (2003) Effect of *Shizandra chinensis* and pine needle on growth of pathogens relate to acne. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **31(1)**: 69-74.
- Vowels, B. R., Yang, S. and Leyden, J. J. (1995) Induction of pro-inflammatory cytokines by a soluble factor of *Propionibacterium acnes*: Implications for chronic inflammatory acne. *Infect. Immun.* **63**: 3158-3165.
- Brown, J. M. and Poston, S. M. (1983) Resistance of *Propionibacteria* to antibiotics used in the treatment of acne. *J. Med. Microbiol.* **16**: 271-280.
- González, B. M., Yslas, N., Reyes, E., Quiroz, V., Santana, J. and Jimenez, G. (2001) Clinical effect of a Mexican *Sanguinaria* extract (*Polygonum aviculare* L.) on gingivitis. *J. Ethnopharmacol.* **74(1)**: 45-51.

10. Salama, H. M. H. and Marraiki, N. (2009) Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Polygonum aviculare* L. (Polygonaceae), naturally growing in Egypt. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* **3(3)**: 2008-2015.
11. Kitagawa, S., Nishibe, S. and Baba, H. (1987) Studies on the Chinese crude drug "*Forsythia fructus*". VIII. on isolation of phenylpropanoid glycosides from fruits of *Forsythia koreana* and their antibacterial activity. *Yakugaku Zasshi* **107**: 274-278.
12. Jeong, H.-H. and Oh, T.-H. (2005) Antibacterial activity of topical agent extracted from *Phellodendri cortex*, *Forsythia fructus* and *Glycyrrhizae radix* against *Staphylococcus intermedius* in dogs. *J. Vet. Clin.* **22(4)**: 353-356.
13. Sohn, H.-Y., Son, K. H., Kwon, C.-S., Kwon, G.-S. and Kang, S. S. (2004) Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* Nakai. *Phytomedicine* **11**: 666-672.
14. Cha, J. D., Moon, S. E., Kim, J. Y., Jung, E. K. and Lee, Y. S. (2009) Antibacterial activity of sophoraflavanone G isolated from the roots of *Sophora flavescens* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytother. Res.* **23(9)**: 1326-1331.
15. Hämäläinen, M., Nieminen, R., Vuorela, P., Heinonen, M. and Moilanen, E. (2007) Anti-inflammatory effects of flavonoids: genistein, kaempferol, quercetin, and daidzein inhibit STAT-1 and NF- κ B activations, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin, and pelargonidin inhibit only NF- κ B activation along with their inhibitory effect on iNOS expression and NO production in activated macrophages. *Mediators Inflamm.* **2007**: 1-10.
16. Lim, Y.-H., Kim, I.-H. and Seo, J.-J. (2007) *In vitro* activity of kaempferol isolated from the *Impatiens balsamina* alone and in combination with erythromycin or clindamycin against *Propionibacterium acnes*. *J. Microbiol.* **45(5)**: 473-477.
17. Kang, K. H., Jang, S. K., Kim, B.-K. and Park, M. K. (1994) Antibacterial phenylpropanoid glycosides from *Paulownia tomentosa* Steud. *Arch. Pharm. Res.* **17(6)**: 470-475.
18. Sohn, H.-Y., Kim, Y.-S., Kum, E.-J., Kwon, Y.-S. and Son, K.-H. (2006) Screening of anti-acne activity of natural products against *Propionibacterium acnes*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **34(3)**: 265-272.
19. Hikino, H., Ohsawa, T., Kiso, Y. and Oshima, Y. (1984) Analgesic and antihepatotoxic actions of dianosides, triterpenoid saponins of *Dianthus superbus* var. *longicalycinus* Herb. *Planta Med.* **50**: 353-355.

(2011. 2. 8 접수; 2011. 3. 18 심사; 2011. 3. 18 게재확정)