

黃連解毒湯 · 扁柏 정유 복합추출물의 항산화 및 항균활성에 관한 연구

김보애[#], 박신희[#], 양재찬^{*}

목원대학교 테크노과학대학 생의약화장품학부

Antioxidative and Antimicrobial Activities of Herbal Complex Extract from *Hwangryunhaedok-tang* and Essential Oil of *Chamaecyparis obtusa*

Bo-Ae Kim[#], Shin-Ho Park[#], Jae-Chan Yang^{*}

Division of Biomedical & Cosmetics, College of Sciences & Technology, Mokwon University,
Daejeon 302-729, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : The present study was designed to investigate effects of mixed extracts (9:1, v/v) of *Hwangryunhaedok-tang*, *Chamaecyparis obtusa* essential oil. We evaluated the antimicrobial and antioxidant activity by manufacturing mixed extracts as the materials for functional medicinal herb cosmetics.

Methods : We performed antimicrobial were tested microbes (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Propionibacterium acnes*) by disc diffusion method and measure clear zone. Antioxidant activities were measured by DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity.

Results : Antimicrobial activities of mixed extracts against *S. epidermidis*, *P. acnes*, *S. aureus*, *E. coli*, and *Candida*, A were 10.9±3.0 mm, 16.9±2.0 mm, 9.2±2.0 mm, 10.3±1.0 mm, 11.8±3.0 mm respectively. The *Chamaecyparis obtusa* essential oil had the highest antimicrobial activities against *S. epidermidis*, *P. acnes*, *S. aureus*, *E. coli*, and *Candida*, A and clear zone of microbes were 16.7±3.0 mm, 28.8±0.2 mm, 15.9±2.0 mm, 11.5±1.0 mm, 16.3±3.0 mm. *Hwangryunhaedok-tang* extract showed antimicrobial activity but only *P. acnes* and *S. aureus*. The antioxidant activities of the mixed extracts were tested through the evaluation of DPPH radical scavenging activity. The 100 % mixed extracts were found to have 90 % DPPH radical scavenging activity. The mixed extracts was presented similar antioxidant activities compared with that of ascorbic acid. As a result, A mixture extract is expected to have antimicrobial effects and free radical scavenging activity was found.

Conclusions : Accordingly, It can be concluded that mixed extracts has the potential to cosmetic material.

Key words : *Hwangryunhaedok-tang*, *Chamaecyparis obtusa* essential oil, Antimicrobial activity, Antioxidative activity

I. 서 론

피부는 인체의 가장 큰 장기로서 외부 자극으로부터 생체 내부를 보호하는 장벽으로서의 역할이 크며, 피부질환은 외부 환경 스트레스 요인 외에도 생체 면역력 감소로 인한 피부상재균 증식에 의해 심화되며 *Staphylococcus epidermidis* (*S.*

epidermidis), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Candida albicans* (*Candida A.*)가 대표적이다. 이 외에도 피부에 여드름을 유발하는 원인세균으로 *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) 가 있으며 이들 세균에 의한 피부질환자 수는 해마다 증가하고 있다^{1,2)}. 특히, 피부상재균 중 *S. aureus*는 0.5 ~ 1.5 μ m 직경크기의 황색 구균으로 불규칙적인 포도 형태를 이

*Corresponding author : Jae-Chan Yang, Mokwon University, Korea.

· Tel : +82-42-829-7566 · E-mail : rabbit@mokwon.ac.kr

#First author : Bo-Ae Kim, Shin-Ho Park, Mokwon University, Korea.

· Tel : +82-42-829-7569 · E-mail : kba@mokwon.ac.kr, sdsop3@naver.com

· Received : 10 December 2016 · Revised : 6 January 2017 · Accepted : 15 January 2017

루어 얼굴의 코, 피부, 겨드랑이에서 주로 존재하고 피부의 상처를 통해서 화농을 일으킬 수 있으며 피부 부스럼 혹은 종기의 원인균으로 알려져 있다³⁾. 여드름의 주 원인균인 *P. acnes*는 혐기성세균으로 리파아제를 분비하게 되면 글리세롤과 지방산이 증가하게 되고, 이들 대사산물에 의해 피부내 모낭의 염증과 여드름을 발생 시킨다⁴⁾.

인간의 생명유지를 위해 산소를 이용하여 체내에 대사되는 과정은 중요하나 각종 여러 요인으로 일부는 활성산소인 슈퍼옥사이드 라디칼 (Superoxide radical, O₂⁻), 하이드록실 라디칼 (Hydroxyl radical, -OH), 과산화수소 (Hydrogen peroxide, H₂O₂)를 발생시켜 세포 및 조직중에 생성된다. 미생물 증가에 의한 ROS (Reactive Oxygen Species)가 증가되며 적당량 존재할 시 오염물질을 제거하는 역할을 하지만 과량의 ROS가 발생이 되면 피부세포에 염증을 유발하며 조직손상을 일으킨다⁵⁾. 이러한 일련의 과정이 반복적으로 진행되면 피부장벽은 약화되고 결국 미생물 2차 감염으로까지 이어지게 되어 피부 질환을 더욱 심화시키게 된다⁶⁾. 또한 활성산소의 과다 생성으로 인해 각종 피부노화, 염증, 세포괴사 등이 나타나 세포구조의 파괴와 진피결합조직의 손상을 유발시킨다. 그 중 -OH radical은 활성산소 중 강한 산화력을 나타내어 피부 염증을 일으키며, 피부노화를 촉진시키는 것으로 보고되고 있다^{7,8)}.

이와 관련하여 최근 천연 유래 화장품 신소재 개발에 대한 관심이 높아지고 있으며 이에 대한 연구가 다양하게 이루어지고 있다⁹⁾. 특히 한방이나 민간요법에서 사용되어지고 있는 여러 천연 물질들에서 항균, 항산화, 미백, 보습 및 피부 노화 억제 효과 등에 대한 연구가 보고되어지고 과학적으로 입증이 되면서 천연 유래 소재를 이용한 화장품시장이 증가하고 있다¹⁰⁾.

본 연구에서 이용한 黃連解毒湯은 황련 (*Coptis japonica*), 황금 (*Scutellaria baicalensis*), 황백 (*Phellodendron amurense*), 치자 (*Gardenia jasminoides*)의 1 : 1 : 1 : 1의 비율로 이루어진 처방이며 한방에서는 오래전부터 피부질환과 관련하여 사용되어지고 있다. 기존 黃連解毒湯에 대한 연구로써 신경세포 괴사 방어 효과¹¹⁾, 세포 손상 보호 효과¹²⁾, 알레르기성 접촉피부염 질환을 유발한 쥐의 피부 염증반응 감소¹³⁾ 등이 보고되었으며 약침에 관련된 연구로 흉부상열감 개선효과¹⁴⁾ 등의 효과를 보고하였다. 또한 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis* 균은 각막염의 원인균으로 알려져 있는데 黃連解毒湯의 주요 한약재인 황련과 황금이 안질환 세균에 대해 항균력을 가지는 것으로 보고되었지만 항균력을 유지하기 위해서는 고농도를 유지하여야 한다는 점에서 낮은 농도에서의 활용가치가 낮으며 낮은 농도에서도 항균력을 증진시킬 수 있는 추가적인 연구가 진행되어야 한다고 판단되고 있다¹⁵⁾.

본 연구에서 黃連解毒湯의 항균력을 증진시킬 목적으로 함께 사용된 扁柏나무 (*Chamaecyparis obtusa*)는 우리나라 남쪽 지방에 생육하며 정유에는 다양한 종류의 테르펜 성분을 함유하고 있다. 정유는 일반적으로 알데하이드 (aldehyde), 알코올 (alcohol) 등과 같이 여러 복합화합물로서 질병을 치료하는데 효능을 보이고 있으며 다양한 제품에 활용되고 있다¹⁶⁾. 정유 성분에는 항염증성, 살균, 식욕증진, 순환촉진, 탈취, 신경안정성 등 많은 유효한 성분을 가지고 있으며¹⁷⁾, 扁柏정유 성분 특성과 조성은 일본산 및 대만산 중심으로 모노테르펜

(monoterpene)류와 세스퀴테르펜 (sesquiterpene)류로 연구가 진행되었다¹⁸⁾. 또한 아토피 피부염, 접촉성 알레르기 피부질환자의 환부에는 피부상재균이 정상피부보다 증가되는 것으로 알려져 있으며 이들 원인균에 대한 지나친 성장을 억제하는데 도움을 주는 동시에 피부질환의 가려움증을 감소시켜 준다고 보고되어졌다¹⁹⁾.

黃連解毒湯은 피부염증을 억제하는 효과가 뛰어난 한의학 처방으로 피부관련 제품에 활용될 수 있는 가치가 높으나 黃連解毒湯 자체는 항균력이 낮아 피부질환의 원인균을 효과적으로 억제하기에는 한계가 있다. 그리하여 본 연구에서는 黃連解毒湯의 항균력을 증진시킬 목적으로 扁柏정유를 이용하였으며 이들을 복합 추출물 형태로 항균 및 항산화 실험을 진행하여 효용 가치를 평가하였고 그 결과를 아래와 같이 보고하는 바이다.

II. 방 법

1. 실험 재료

1) 시료 및 시약

본 연구에 사용된 黃連解毒湯(*Hwangryunhaedok-tang*) 구성 약재들인 황금, 황련, 황백, 치자를 (주)온니허브에서 구입하였고 扁柏(*Chamaecyparis obtusa*)정유는 (주)삼광켄에서 구입하여 모두 냉장보관 (4℃) 하여 사용하였다. 실험에 사용한 혼합추출물은 黃連解毒湯과 扁柏정유를 9:1 (v/v)로 혼합하여 사용하였다. 추출은 (주)더마랩에서 실시하였으며 30.0% 1,3-B.G (Butylene Glycol) 용매에 黃連解毒湯 구성 약재들을 95℃ 이하로 중탕 후 필터하여 본 실험에 사용하였다.

Table 1. The Compositions of *Hwangryunhaedok-tang*.

Herbal medicine name	Abbreviation	Weight (g)
황금 (黃芩)	<i>Coptis japonica</i>	10
황련 (黃連)	<i>Scutellaria baicalensis</i>	10
황백 (黃柏)	<i>Phellodendron amurense</i>	10
치자 (梔子)	<i>Gardenia jasminoides</i>	10
Total amount		40

2) 실험 균주

시료의 항균 효능을 평가를 위해 한국생명공학연구원 생물자원센터 (KCTC, Korea)에서 *Candida, A* (KCTC 7270), *S. aureus* (KCTC 1927), *S. epidermidis* (KCTC 1917), *E. coli* (KCTC 2571), *P. acnes* (KCTC 3314)를 구입하고 계대 배양하여 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 사용 균주 배양 및 조건

실험에서 사용한 공시 균주 *Candida, A*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. acnes* 계대 배양하였으며, 각 균주를

키우는데 사용된 미생물 배지와 배양조건은 Table 1에 나타내었다. 모든 균주는 37 °C incubator에서 배양하였고 사용된 고체배지는 멸균한 배지액을 petri dish에 각 15.0 ml씩 분주하여 상온에서 응고시킨 후 사용 하였다. 균 접종은 1루프로 취하여 액체배지에 37 °C에서 24시간, *P. acnes*는 72시간 배양하였다.

Table 2. Conditions for microorganisms used in experiment.

Conditions			
Strain name	Culture media	Culture condition	Culture time
<i>Candida, A</i>	PDB ^{a)}	Aerobic, 37°C	24h
<i>S. aureus</i>	TSB ^{b)}	Aerobic, 37°C	24h
<i>S. epidermidis</i>	TSB	Aerobic, 37°C	24h
<i>E. coli</i>	TSB	Aerobic, 37°C	24h
<i>P. acnes</i>	RCB ^{c)}	Anaerobic, 37°C	72h

^{a)}PDB: potato dextrose broth, ^{b)}TSB: tryptic soy broth, ^{c)}RCB: reinforced clostridial medium.

2) 항균활성 측정법

항균활성 측정법은 항균효과를 평가하기 위해 디스크 확산법 (Disk diffusion method)으로 확인하였다. 액체 배지에 배양된 각 균주를 10.0 µl 취한 뒤 새 액체 배지 10.0 ml에서 18~24시간 배양하여 활성화하였다. 배양된 균주를 다시 새 액체 배지 10.0 ml에 균액 1.0 × 10⁶ CFU/ml이 포함되도록 취하여 접종한다. *P. acnes* 균액의 세포 수는 microplate reader로 흡광도 (Optical density, O.D=595)를 측정하였으며 세균의 경우 O.D값을 1.0으로 고정하여 실험을 진행하였다. 현탁시킨 액체배지를 멸균된 면봉으로 균액을 평판 배지에 균일하게 도말하였다. 대조군으로는 M.P. (Methylparaben, Difc, Gyeonggi-do, Korea)를 사용하였고 각 추출물은 DMSO (Dimethyl sulfoxide)에 1, 10, 30, 50, 100 % 농도로 희석한 시료를 사용하였다. 멸균된 8mm paper disc (Advantec, Tokyo, Japan)를 고체 평판배지에 올려놓은 다음 각각의 paper disc에 35 µl/disc가 되도록 농도별 시료를 흡수시켜 37 °C의 인큐베이터에서 18~24시간 배양하였다. *P. acnes*는 Gaspack system (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)에 anaerogen을 넣어 밀봉한 후 산소와 이산화탄소를 치환하였고, 72시간 배양하여 disc 주위의 clear zone (mm)인 생육저해환 즉, 균 성장억제 영역의 직경을 측정하였다.

3) DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical 소거 활성

항산화 활성은 DPPH법을 이용하여 항산화 효과를 측정하였다. DPPH는 Radical 소거활성이 있는 물질과 만나 전자를 내어주면 DPPH 라디칼이 소멸이 되면서 보라색에서 옅은 노란색으로 변하며 이를 흡광도 측정한다. 각 시료는 30, 50, 100 % 농도로 제조하고 실험에 사용된 DPPH는 0.2 mM 농도로 메탄올에 용해하여 제조하였다. 96-well plate에 각각의 시료들을 2.0 ml를 넣어 37 °C에서 30분간 방치한 다음 492 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH의 전자공여능 (Electron donating abilities, EDA)은 Blois의 방법²⁰⁾을 변형하여 측정하며 시료용액의 첨가구와 무 첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다. 양성대조군으로 Ascorbic acid (SIGMA, USA, 0.05 mg/ml)를 사용하였다.

III. 결 과

1. 항균 효능 결과

본 연구에서는 黃連解毒湯과 扁柏정유의 단일 추출물과 혼합 추출물을 이용하여 항균 효과를 비교 연구하여 기능성 원료로서의 사용 가능성을 알아보하고자 각 균주의 생육저해환을 측정값은 Table 1, Table 2, Table 3 과 Fig 1, Fig 2, Fig 3으로 결과가 나타났다.

단일추출물과 혼합추출물을 농도별로 처리한 결과 黃連解毒湯 추출물은 *S. aureus*에서 최대 13.4±2.0 mm clear zone을 형성하였고 *P. acnes*에서 11.0±0.5 mm clear zone을 보여주었으며 다른 균에서는 항균활성이 관찰되지 않았다. 扁柏정유는 모든 균에서 높은 항균활성이 관측 되었으며 *S. epidermidis*에서 16.7±3.0 mm의 clear zone이 형성하였으며 *S. aureus*에서는 최대 15.9±2.0 mm clear zone을 형성하였고 10 %이하에서는 항균활성을 나타내지 않았다. *Candida, A*에서는 최대 16.3±3.0 mm의 clear zone을 형성하였고 *E. coli*에서 최대 11.5±1.0 mm의 clear zone을 형성하였으며 *P. acnes*에서 최대 28.8±0.2 mm의 clear zone이 형성하여 대부분 농도의존적인 항균활성을 나타내었다. 黃連解毒湯과 扁柏정유 혼합추출물 (9:1)은 *S. epidermidis*에서 최대 10.9±3.0 mm의 clear zone이 형성되었고 *S. aureus*에서 9.2±2.0 mm, *Candida, A*에서 11.8±3.0 mm, *E. coli*에서 10.3±1.0 mm, *P. acnes*에서 최대 16.9±2.0 mm의 clear zone을 형성하여 여드름 균에 항균효과가 있다는 것을 관찰할 수 있었다.

Table 3. Antimicrobial activity of *Hwangryunhaedok-tang* extracts on several microorganisms.

	<i>Hwangryunhaedok-tang</i> Concentrations (%)						
	0	1	10	30	50	100	M.P.
<i>S. epidermidis</i>	- ^{a)}	-	-	-	-	-	22.7±1.0 ^{b)}
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	11.1±1.0	13.4±2.0	22.0±2.0
<i>Candida, A</i>	-	-	-	-	-	-	22.9±3.0
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	21.8±3.0
<i>P. acnes</i>	-	-	-	-	-	11.0±0.5	21.0±2.0

a: no inhibition, b: inhibition zone diameter(mm)

Table 4. Antimicrobial activity of *Chamaecyparis obtusa* oil extracts on several microorganisms.

	<i>Chamaecyparis obtusa</i> oil Concentrations (%)						
	0	1	10	30	50	100	M.P.
<i>S. epidermidis</i>	-	-	-	11,5±1,0	16,7±3,0	15,6±3,0	16,7±2,0
<i>S. aureus</i>	-	-	-	11,7±1,0	15,9±2,0	15,5±2,0	14,9±3,0
<i>Candida, A</i>	-	12,8±3,0	10,6±1,0	14,8±3,0	13,7±2,0	16,3±3,0	27,0±3,0
<i>E. coli</i>	-	-	-	11,5±1,0	-	11,3±2,0	20,2±2,0
<i>P. acnes</i>	-	14,6±0,2	19,7±3,0	28,8±0,2	28,5±3,0	28,3±1,0	28,5±0,4

Table 5. Antimicrobial activity of *Hwangryunhaedok-tang* and *Chamaecyparis obtusa* oil mixed extracts (9:1) on several microorganisms.

	<i>Hwangryunhaedok-tang</i> and <i>Chamaecyparis obtusa</i> oil mixed extracts (9:1) Concentrations (%)						
	0	1	10	30	50	100	M.P.
<i>S. epidermidis</i>	-	-	-	-	10,9±1,0	10,9±3,0	11,9±1,0
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	9,2±2,0	12,4±2,0
<i>Candida, A</i>	-	10,6±2,0	10,2±3,0	11,8±3,0	11,0±2,0	11,4±2,0	26,1±3,0
<i>E. coli</i>	-	10,2±3,0	9,7±1,0	10,3±1,0	-	-	15,6±2,0
<i>P. acnes</i>	-	-	-	11,2±1,0	13,8±1,0	15,0±0,3	25,2±3,0

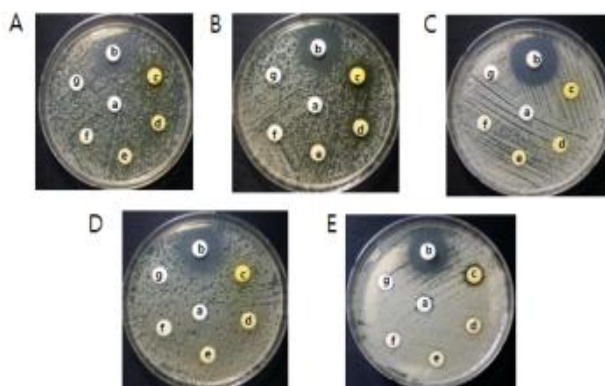


Fig. 1. Antimicrobial activity of *Hwangryunhaedok-tang* extract. a: control(-), b: control(+), c: 100 %, d: 50 %, e: 30 %, f: 10 %, g: 1 %. A: *S. epidermidis*, B: *S. aureus*, C: *Candida, A, D: E. coli*, F: *P. acnes*

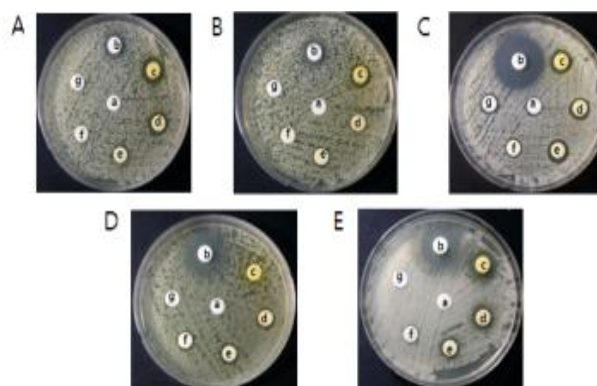


Fig. 3. Antimicrobial activity of *Hwangryunhaedok-tang* and *Chamaecyparis obtusa* oil mixed extracts(9:1). a: control(-), b: control(+), c: 100 %, d: 50 %, e: 30 %, f: 10 %, g: 1 %. A: *S. epidermidis*, B: *S. aureus*, C: *Candida, A, D: E. coli*, F: *P. acnes*

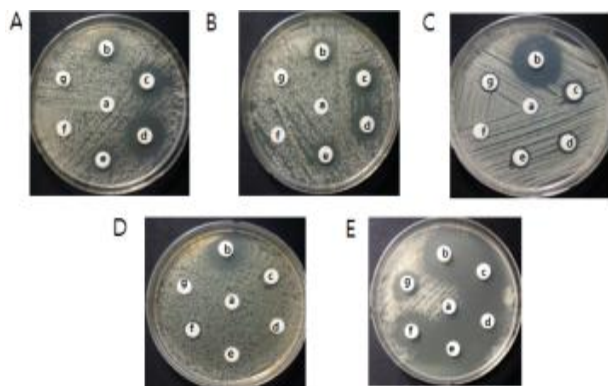


Fig. 2. Antimicrobial activity of *Chamaecyparis obtusa* oil extract. a: control(-), b: control(+), c: 100 %, d: 50 %, e: 30 %, f: 10 %, g: 1 %. A: *S. epidermidis*, B: *S. aureus*, C: *Candida, A, D: E. coli*, F: *P. acnes*

2. 항산화 활성 결과

항산화 작용을 알아보기 위하여 농도에 따른 각 시료의 항산화 능력을 DPPH free radical 소거 활성을 측정하였다. 黃連解毒湯 추출물 적용 농도인 100, 50, 30 %에서 각 66.5, 65.3, 67.9 %의 항산화활성을 나타내었고 扁柏정유 추출물은 적용 농도에서 각 64.5, 39.7, 27.4 %의 항산화활성을 나타내었다. 각 추출물은 농도의존적으로 항산화활성을 나타내었으나 양성대조 물질인 Ascorbic acid 보다 낮은 효능을 나타내었다 (Fig 4, Fig 5). 黃連解毒湯과 扁柏정유를 9:1비율로 혼합한 혼합추출물은 30 % 농도에서도 높은 항산화활성을 나타내었다. 혼합추출물 적용 농도에서 각 90.0, 75.0, 75.7 %의 항산화활성을 나타내었다 (Fig 6). 따라서, 黃連解毒湯과 扁柏정유의 항산화활성을 측정한 결과 농도가 높아짐에 따라 활

성이 증가하는 경향을 보였지만 각각의 단일 추출물을 측정할 때 보다 이들을 적정비율로 혼합하여 측정하였을 때 상당히 높은 활성을 보여주는 것으로 나타났다.

IV. 고 찰

천연물의 생리활성 성분을 이용하여 다양한 분야에 연구가 진행되고 있으며 질병을 치료하기 위한 목적의 개발이 많은 연구가 이루어지고 있다. 그리고 약물 개발뿐 아니라 화장품 소재, 식품첨가물 등 일상에 사용되는 합성물질이나 방부제, 향생제를 대체할 수 있는 물질의 개발에도 많은 연구가 진행되고 있다. 약용으로 사용되는 한약재는 동양의학에 대한 관심이 상승되며 천연물 중 한약재의 성분을 이용한 다양한 제품을 일상생활에서도 쉽게 볼 수 있게 되었다. 천연 항균활성 물질의 관한 연구는 한약재, 정유, 향신료 등 과 플라보노이드(flavonoid), 알칼로이드(alkaloid) 등이 보고되고 있으며²¹⁾ 단일 소재의 효과에 대한 연구는 많이 이루어져 있지만 혼합추출물에 대한 연구는 미비한 실정이다. 이에 본 연구에서는 黃連解毒湯 구성약재인 황련, 황금, 황백, 치자를 1:1:1:1의 비율로 30.0 % 1,3-B,G 용매로 추출하고 扁柏정유와 혼합하여 혼합추출물을 제조하여 그 추출물로 항산화, 항균 효능을 단일추출물과 비교 평가하여 한방화장품 소재로서의 사용가능성을 확인 하고자 하였다.

일반적으로 피부 질환과 특히 피부 염증을 유발하는 원인은 피부 상재균 중 그람양성균 (Gram positive bacteria)에 속하는 *S. epidermidis*, *S. aureus* 등의 세균과 여드름을 유발하는 원인세균인 *P. acnes*가 있으며 그람음성균 (Gram negative bacteria)으로는 *E. coli*등이 있으며 피부의 상처를 통하여 화농을 일으키며, 피부표면의 부스럼, 종기의 원인균으로 작용하여 피부염을 유발한다²²⁾. *S. epidermidis*는 포도상 구균으로 피부질환과 여드름증상을 악화시키는 원인균이다²³⁾. 특히 *S. aureus*는 황색 포도상 구균으로 아토피환자 피부에서 증가한다고 알려져 있다²⁴⁾. *P. acnes*는 혐기성 세균이며 리파아제 (lipase)를 분비해 피지내의 중성지방을 분해하고 유리 지방산이 생성되어 모낭병을 자극하고 염증을 일으킨다²⁵⁾. 본 연구에서 黃連解毒湯은 *S. aureus*와 *P. acnes*에 대해서는 항균효과를 나타냈으나 *S. epidermidis*, *E. coli*, *Candida*, *A*는 항균효과를 나타내지 않았다. 반면 扁柏정유는 모든 균에서 높은 항균 효과를 나타내었으며 특히 *P. acnes*에 항균력이 뛰어났음을 확인할 수 있었다. 黃連解毒湯을 단일추출물로 항균력을 측정된 결과 다른 균에 항균력이 나타나지 않았으나 扁柏정유를 9:1 비율로 혼합한 경우 모든 균에서 항균활성을 나타내었다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 黃連解毒湯과 扁柏정유의 혼합추출물은 염증성 피부질환을 개선하는데 도움이 될 것으로 확인된다.

피부 상재균은 1차적으로 피부에 영향을 미치는 요인으로 작용하지만 2차적으로 염증이 유발된 피부에 활성산소 중 특히 강산화력을 나타내는 -OH radical로 인해 피부염증과 피부노화를 촉진하는 것으로 알려져 있으며 인체의 피부는 산소로부터 생성된 활성산소에 의해서 염증을 유발하거나 세포조직에 손상을 주는 원인이 되고 있다²⁶⁾. 활성산소는 세포 생체막의 불포화 지방산을 공격해 지질과산화 반응을 유발하여 체내 과산화 지질을 축적해 생체 기능이 저하되고 동시에 질환을 유발하는 것으로 알려져 있다²⁷⁾. 항산화 측정에 사용된 DPPH는 안정한 free radical로서 항산화 효능이 있는 어떠한 물질과 만나면 라디칼이 소거되어 DPPH의 특유의 보라색

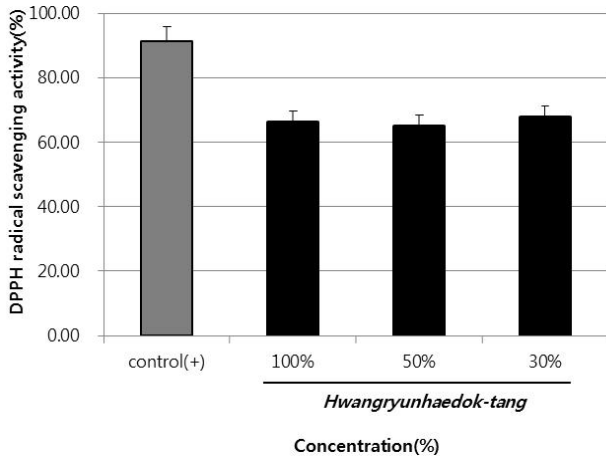


Fig. 4. Antioxidative activity of *Hwangryunhaedok-tang* extract in the DPPH radical scavenging activity assay.

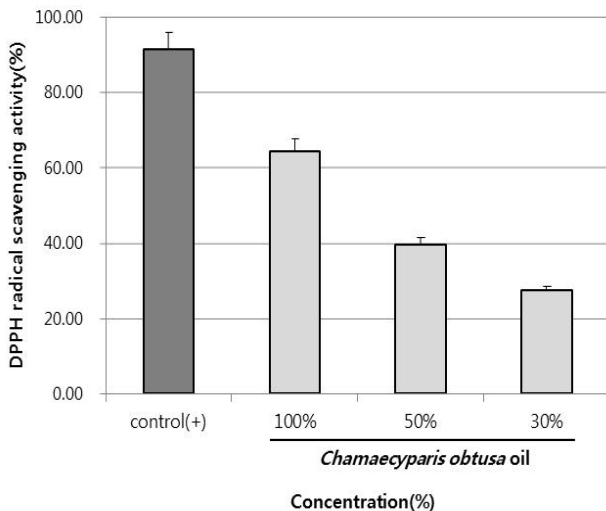


Fig. 5. Antioxidative activity of *Chamaecyparis obtusa* oil extract in the DPPH radical scavenging activity assay.

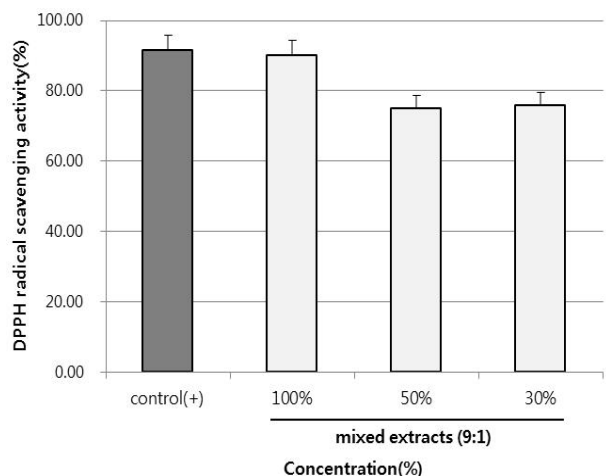


Fig. 6. Antioxidative activity of *Hwangryunhaedok-tang* and *Chamaecyparis obtusa* oil mixed extracts (9:1) in the DPPH radical scavenging activity assay.

이 열은 노란색으로 변하여 항산화 활성을 관측할 수 있다. DPPH의 저하는 자유 라디칼의 소거반응이 진행되고 있음을 알 수 있어 지질과산화의 억제정도를 예측가능하다²⁸⁾. DPPH는 플라보노이드 등의 페놀성 물질에 항산화작용의 지표로 질병과 노화를 예방하는 척도로 이용이 가능 하다²⁹⁾. 이에 항산화 활성을 측정할 결과 黃連解毒湯과 扁柏정유의 단일추출물은 항산화효과를 보였지만 양성대조물질인 Ascorbic acid 보다 낮았으나 혼합추출물에서는 양성대조군 만큼 효능이 증가한 것으로 나타났다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 黃連解毒湯과 扁柏정유를 9:1로 혼합한 혼합추출물은 피부 염증관련 5개 균주에 대한 항균활성과 높은 항산화활성을 단일추출물의 결과보다 높은 활성을 나타내었다. 초기 5:5, 6:4, 7:3 (v/v)으로 다양한 농도별 실험을 진행하였으나 용해도가 떨어지며 이러한 용해도 문제와 높은 농도의 扁柏정유 독성을 고려할시 최저농도에서 최대효과를 나타내는 9:1의 혼합추출물은 한방화장품 소재로서의 활용이 가능할 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구는 黃連解毒湯과 扁柏정유를 각각의 효능을 평가하고 동시에 9 : 1비율의 혼합추출물형태로 항균 및 항산화 효능을 확인하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 黃連解毒湯 추출물은 100 % 농도에서 *S. aureus*균은 최대 13.4±2.0 mm clear zone을 형성하였고 *P. acnes*에서 11.0±0.5 mm clear zone을 나타내었다. 扁柏정유 추출물은 5가지 모든 균주에서 항균활성을 보내었으며, 특히 추출물 농도 50 %에서 *S. epidermidis*에서는 16.7±3.0 mm의 clear zone이 형성하였으며 *S. aureus*에서는 최대 15.9±2.0 mm clear zone을 형성하였다. *Candida, A*에서는 최대 16.3±3.0 mm의 clear zone을 형성하였고 *E. coli*에서 최대 11.5±1.0 mm 의 clear zone을 형성 하였으며 *P. acnes*에서 최대 28.8 ±0.2 mm의 clear zone을 나타내어 항균활성을 확인 하였다.
2. 黃連解毒湯과 扁柏정유 9:1 혼합추출물은 *S. epidermidis*에서 최대 10.9±3.0 mm, *S. aureus*에서 9.2±2.0 mm, *Candida, A*에서 11.8±3.0 mm, *E. coli*에서 10.3±1.0 mm, *P. acnes*에서 16.9±2.0 mm의 clear zone을 형성하여 黃連解毒湯을 단독으로 사용 할 때 보다 항균활성이 증가하는 것을 확인하였다.
3. 추출물의 항산화 활성으로 DPPH 라디칼 소거능에 대하여 측정할 결과 黃連解毒湯, 扁柏정유와 9:1로 혼합한 추출물 모두 농도 의존적으로 DPPH 라디칼에 대한 시료의 환원력이 증가하는 것을 관찰할 수 있었으며 특히 黃連解毒湯과 扁柏정유 단일 형태로 실험한 항산화 효능보다 黃連解毒湯과 扁柏정유를 9 : 1로 복합할 경우 항산화 효능이 최대 23.5, 48.3 % 더 높게 나타나는 것으로 평가되었다.

이상의 결과로 黃連解毒湯과 扁柏정유 복합 추출물의 항균 및 항산화 활성에 대한 효능을 측정하여 객관화하였으며 추후 세부적인 기전연구가 뒷받침 된다면 黃連解毒湯과 扁柏정유 복합 추출물을 활용한 처방, 의약품 외용제, 화장품 소재로 충분히 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 한국장로교복지재단 수원시니어클럽 지원사업으로 연구되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Peng ZFD, Strack A, Baumert R, Subramaniam NK, Goh TF, Chia SN, Tan and Chia LS. Antioxidant flavonoids from leaves of *Polygonum hydropiper*. *L Phytochemistry*. 2003 ; 62 : 219-228.
2. Kim JE, Kim EH, Park SN. Antibacterial activity of *Persicaria hydropiper* extracts and its application of cosmetic material. *Kor J Microbiol Biotechnol*. 2010 ; 38 : 112-115.
3. Raimer SS. Managing pediatric atopic dermatitis. *Clin Pediatr*. 2000 ; 39: 1-14.
4. Winston MH, Shalita AR. Acne vulgaris, pathogenesis and treatment. *Pediatr. Clin N Am*. 1991 ; 38 : 889-903.
5. Ansel JC, Luger TA, Lowry, Lowr D, Perry P, Roop DR, Mountz JD. The expression and modulation of IL-1 alpha in murine keratinocytes. *J Immunology*. 1988 ; 140 : 2274-82.
6. Halliday GM. Inflammation, gene mutation and photoimmunosuppression in response to UVR induced oxidative damage contributes to photocarcinogenesis. *Mutation Research*. 2005 ; 571 : 107-20.
7. Cadenas E. Biochemistry of oxygen toxicity. *Ahn Rev Bio-chem*. 1989 ; 58 : 79-110.
8. Davies KJA. Protein damage and degradation by oxygen radical. *J Biol Chem*. 1987 ; 262 : 9914-34.
9. Cho WG. Comparison of Drug Delivery using Hairless and Pig Skin. *J of Korea Oil Chemists'Soc*. 2007 ; 24 : 410-15
10. Park SN. Antioxidative properties of baicalein, component from *Scutellaria baicalensis* Georgi and its application to cosmetics. *J Korea Ind Eng Chem*. 2003 ; 14 : 657-62.
11. Kondo Y, Kondo F, Asanuma M, Tanaka K, Ogawa N. Protective effect of oren-gedoku-to against induction of neuronal death by transient cerebral ischemia in the C57BL/6 mouse. *Neurochem Res*. 2000 ; 25 : 205-9.

12. Kim YO, Leem K, Park J, Lee P, Ahn DK, Lee BC, Park HK, Suk K, Kim SY, Kim H. Cytoprotective effect of *Scutellaria baicalensis* in CA1 hippocampal neurons of rats after global cerebral ischemia. *J Ethnopharmacology*. 2001 ; 77 : 183-8.
13. Kim BA, Yang JC, Park CI. Effects of *Hwangryunhaedok-tang* Extracts on DNCB-induced allergic contact dermatitis. *Kor J herbology*. 2009 ; 24 : 1-5
14. Cho GL, Kim JU, Lee YJ, Rhim EK, Shin SH, Kim DW, Hong SH, Joo JC. Two cases of Chest Heating Sensation treated by *Hwangryunhaedok-tang*. Herbal-Acupuncture. 2003 ; 6 : 127-35.
15. Kim IS, Seo JJ, Kim KG, Ha DR, Shin MK, Kim ES, Jeon SY. Antimicrobial Activity of *Hwangryunhaedok-tang* Extract against Keratitis. *J Int Korean Med*. 2014 ; 35 : 288-97.
16. Mishra AK, Dubey NK. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Appl Environ Microbiol*. 1994 ; 60 : 1101-5.
17. Price S, Price L. Aromatherapy for Health professionals. 2nd ed. Edinburgh : Churchill Livingstone. 1995 : 133-67.
18. Hayashi S, Yano K, Matsuura T. The monoterpene constituents of the essential oil from hinoki (*Chamaecyparis obtusa*). *Bull. Chem. Soc. Japan*. 1964 ; 37: 608-83.
19. Kim YY. Health and phytoncide of forest. *Res. J Cheju National Univ*. 2006 ; 35 : 302-7.
20. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958 ; 181: 1199-200
21. Bizri JN, Wahem IA. Citric acid and antimicrobials affect microbiological stability and quality of tomato juice. *J Food Sci*. 1994 ; 59: 130-5.
22. Sohn HY, Kim YS, Kum EJ, Kwon YS, Son KH. Screening of anti-acne activity of natural products against *Propionibacterium acnes*. *Kor J Microbial Biotechnol*. 2006 ; 34 : 265-72.
23. Kloos WE, Bannerman TL. Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev*. 1994 ; 7 : 117-40.
24. Raimer SS. Managing pediatric atopic dermatitis. *Clin Pediatr*. 2000 ; 39 : 1-14.
25. Ahn BK, Choi EH, Lee S, H. The pathogenesis of acne. *JSBR*. 2002 ; 4 : 62-70.
26. Davies KJA. Protein damage and degradation by oxygen radical. *J Biol Chem*. 1987 ; 262 : 9895
27. Hatano T. Constituents of natural medicines with scavenging effects on active oxygen species-Tannins and related polyphenol. *Natural Medicines*. 1995 ; 49 : 357-62.
28. Kitahara A, Matsumoto U, Ueda H, Ueoka R. A remarkable antioxidation effect of natural phenol derivatives on the autoxidation of γ -irradiated methyl linolate. *Chem Pharm Bull*. 1992 ; 40 : 2208-9.
29. Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Kor J Food Sci Technol*. 1995 ; 27 : 80-5.