

황련(*Coptis Radix*)으로부터 분리된 물질의 항균효능 및 화장품 약리활성에 대한 연구

장영아¹ · 김보애² · 정재식³ · 황혜진⁴ · 이진태^{1†}

¹대구한의대학교 바이오융합학부,

²목원대학교 테크노과학대학 생의약화장품학부,

³제일벽지(주)

⁴DYETEC연구원

(2017년 5월 22일 접수: 2017년 6월 10일 수정: 2017년 6월 14일 채택)

A Study on the Antimicrobial Activity and the Pharmacological Activities of material Isolated from *Coptis Radix*

Young-Ah Jang¹ · Bo-Ae Kim² · Jae-Shik Chung³ · Hye-Jin Hwang⁴ · Jin-Tae Lee[†]

¹Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University,

Gyeongsan-si, Gyeongsangbuk-do, Korea

²Mokwon University, College of Sciences & Technology, Division of Biomedical & Cosmetics,

Doanbuk-ro 88, Seo-gu, Daejeon 302-729, Korea,

³JEIL Wallpaper, Yongdae-gil, Juksan-myeon, Anseong, 17524, Korea

⁴Korea Dyeing & Finishing Technology Institute Advanced Processing Development Center,

Dytec, Dageu, 41706, Korea

(Received May 22, 2017; Revised June 10, 2017; Accepted June 14, 2017)

요약 : 본 연구는 황련으로부터 분리된 fraction의 항균효능과 항산화 효과를 평가하고 그것의 화장품 소재로서의 가능성을 확인하였다. 황련으로부터 분리된 fraction의 항균활성은 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* 균주로 disc diffusion 방법을 통해 생육저해환(clear zone)을 측정하였다. 그 결과 Fr. 1을 제외한 모든 시료에서 *S. aureus*와 *candida. A* 에서 항균활성을 나타내는 것으로 확인 하였다. 항산화 평가를 위해 황련 fraction의 농도 (50, 125, 250) $\mu\text{g/mL}$ 에 따라 처리하여 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능과 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) 양이온 라디칼 소거능을 확인하였다. 그 결과 Fr. 1, 2, 3, 4의 250 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 DPPH 라디칼 소거능 활성이 각 11.4%, 30.3%, 42.0%, 53.1% 로 ABTS⁺ 라디칼 소거능 활성은 동일농도에서 각 28.6%, 96.2%, 98.6%, 97.1%로 나타났다. Fr. 3, 4는 동일농도의 대조군 BHT 활성의 86.5%보다 높은 활성산소 저해능을 보였다. 황련의 세포독

[†]Corresponding author

(E-mail: jtlee cosmetics@gmail.com)

성을 측정한 WST assay 결과에서 Fr. 4를 제외하고는 Fr. 1, 2, 3은 독성을 나타내지 않았다. 이러한 결과로 황련으로부터 분리된 fraction은 항균능과 항산화 능을 가지는 화장품 소재로서의 가치를 가진다고 볼 수 있다.

주제어 : 황련, 항균력, 생육저해환, 항산화, 화장품소재

Abstract : This study evaluated antimicrobial efficacy and antioxidant effect of fraction isolated from *Coptis Radix* and confirmed its possibility as a cosmetic material. The extracts of isolated from *Coptis Radix* conducted an antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* by disc diffusion method and measure clear zone. As a result, it was confirmed that antimicrobial activity against *S. aureus* and *candida. A* was observed in all samples except Fr 1. The activity of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging and The activity of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) cation radical scavenging were determined by antioxidant assay according to the concentrations (50, 125, 250) $\mu\text{g/mL}$ of extracts of isolated from *Coptis Radix*. As a result, DPPH radical scavenging activity of Fr 1, 2, 3, 4 at 250 $\mu\text{g/mL}$ was 11.4%, 30.3%, 42.0% and 53.1%, respectively and ABTS + radical scavenging activity was 28.6%, 96.2%, 98.6% and 97.1% at the same concentration, respectively. Fr. 3 and 4 showed higher radical scavenging activity than the positive the control group BHT at the same concentration. In the WST assay results of measuring the cytotoxicity of *Coptis Radix*, except for Fr. 4, Fr. 1, 2 and 3 did not show toxicity. As a result, the fractions isolated from *Coptis Radix* can be regarded as a cosmetic material having antimicrobial activity and antioxidant ability.

Keywords : *Coptis Radix*, antimicrobial activity, clear zone, antioxidant, cosmetics material

1. 서론

미나리아재비과(毛茛科: Ranunculaceae)의 여러해살이 초본식물인 황련(*Coptis Radix*)은 중국이 원산지이며 생약용으로 한국, 일본, 중국 등지에서 재배하기도 한다[1]. 황련에는 주로 berberine, coptisine, epiberberine, palmatine, jateorrhizine, magnoflorine, worenine 등의 성분이 포함되어 있으며 관련된 연구는 이러한 성분들의 개별 효과 및 약리기전에 대해 활발히 진행되어지고 있다[2]. 황련의 주성분인 isoquinoline계 alkaloid인 berberin은 용혈성연쇄구균, 홍막염균, 폐렴쌍구균, 콜레라균, 탄저병균등에 대해 강한 억제효과가 있다고 보고 되어있고[3] 그 외에도 항염증, 지혈, 혈압강하 작용 등이 있는 것으로 알려져 있다[4]. 최근에는 이러한 황련의 주효능 이외의 인지기능 강화[5] 위장관 보호 효과[6] 진통 효과[7] 치은 섬유모세포 증식 효과[8] 등이 보고되고 있으며 황련의 약리적인 활성을

바탕으로 산업적 이용과 연관하여 화장품 소재로의 개발 가능성이 긍정적으로 전망되고 있다[9]. 그러나 관련 연구가 부족한 실정으로 이들 효능의 객관화에는 보다 많은 연구가 선행되어야 한다. 식물은 flavonoids, anthocyanins, carotenoids, vitamin 및 essential oil 등의 다양한 형태의 항산화 물질을 함유하고 있으며, 효소계 항산화제는 superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) 등이 있다[10]. 항산화 효소 중 SOD는 식물이 성장하는 동안 다양한 환경스트레스에 반응하며 주로 peroxisome에 존재하는 CAT는 H_2O_2 를 물과 산소로 분해한다. CAT와 더불어 H_2O_2 를 제거하는 중요한 효소로 작용하는 ascorbate peroxidase (APX)는 엽록체, 미토콘드리아, 세포질 및 세포벽에 존재하며, ascorbate를 산화시킴으로써 H_2O_2 를 불활성화시키는 것으로 알려져 있다[11]. 이러한 근거로 최근에는 각종 생약, 식용식품 추출물 등에서 안전하고 항산화 효과가

뛰어난 천연항산화제 연구가 활발히 진행되고 있으며 식품산업 및 화장품, 미용소재 산업에 적용되고 있다[12].

피부에는 다양한 피부 상재균이 존재하며 대부분 인간에게 해를 주지 않는 비병원성 균이거나 외부 유해균에 대한 방어작용을 하며 영양분을 공급하는 이익균이 존재한다[13]. 인체에 유해한 병원성 미생물(pathogenic microorganism)은 한 약재를 비롯한 일반의약품, 식품과 화장품에서 검출되지 않아야 하거나 법적으로 기준 수 이하로 검출되어야 한다. 이러한 병원성 미생물로는 대장균(*Escherichia coli*), 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*), 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*), 리스테리아모노사이토겐(*Listeria monocytogenes*) 및 바실러스 세리우스(*Bacillus cereus*) 등과 같은 세균이 있다[14]. 화장품은 수성과 유성이 주성분으로 미생물의 탄소원이 되는 성분이 많이 배합되어 있어 진균, 세균 등의 미생물이 침투하기 쉽다. 따라서 화장품 사용 시 균으로 인한 화장품의 오염을 막고 장기간 보관하기 위해 항균제의 첨가는 반드시 필요하다. 항균제에는 합성 항균제와 천연 항균제가 있으며 최근 합성 항균제인 파라벤(paraben)류, 페녹시에탄올(phenoxyethanol)에 대한 피부 자극과 안전성의 문제가 대두되면서 천연 항균제의 개발이 중요시되고 있다[15, 16]. 본 연구에서는 황련 열수 추출물을 크로마토그래피 분리하여 각 fraction의 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Candida A.*에 대한 항균 활성을 확인하였다. 또한 항산화 소재로서의 가치를 검토하고 시료의 세포내 독성을 파악하여 향후 황련 fraction의 천연 의약품과 다양한 화장품 소재로서의 활용에 기초자료를 제시하고자 한다.

2. 실험

2.1. 실험 재료

2.1.1. 재료

본 실험에서 사용한 황련은 경북 의성군 봉양면 (주)옴니허브에서 건조된 시료를 구입하였으며, 각 표본 및 추출물은 대구한의대학교 피부면역약리 실험실에 보관하고 있다.

2.1.2. 시약 및 기기

항균실험에 사용된 배지 Tryptic soybean broth (TSB)와 Tryptic soybean agar (TSA), Potato dextrose broth (PDB), Potato dextrose agar (PDA)는 BD Difco (USA)에서 구입하여 사용하였다. 항산화 실험에 사용한 시약 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl(DPPH), dimethyl sulfoxide는 Duksan (Duksan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 세포 배양 배지에 사용된 시약 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), Phosphate buffered saline (PBS), Fetal bovine serum (FBS), Trypsin-EDTA, Penicillin은 모두 Gibco BRL (Rockville, MD, USA)에서 구입하였으며 세포독성을 확인하기 위해 사용한 시약 water soluble tetrazolium salt-1(WST-1)는 (Sigma-Aldrich, USA)에서 구입하여 사용하였다. 황련추출물의 분리에 사용된 Column chromatography용 충전제는 Sephadex LH-20 (10-25 μ m, GE Healthcare Bio-Science AB, Uppsala, Sweden), 기기는 microplate reader (Molecular Devices, U.S.A), Rotary vacuum evaporator (Eyela Co., JAPAN), 항온조 (S&T Co., Ltd, Korea)를 이용하였다.

2.1.3. 실험 균주

시료의 항균 효능을 평가하기 위해 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), *Escherichia coli* (*E. coli*), *Candida albicans* (*Candida A.*)를 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC, Korea)에서 구입하여 계대배양 5회 후 실험에 사용하였다.

2.1.4. 실험 세포

시료의 세포 독성을 평가하기 위해 사용한 HaCaT cell은 한국세포주 은행에서 구매하여 계대배양한 뒤 실험을 진행하였다. 세포는 10% FBS, 1% penicillin (100U/mL)/streptomycin (100 μ g/mL)을 첨가한 DMEM 배지를 이용하여, 37° C, 5% CO₂ 가 함유한 조건에서 배양하였다. 세포배양 배지는 2일마다 새로운 배지로 갈아 실험에 적용하였다.

2.1.5. 시료 추출 및 분리

황련 열수 추출액(5g)을 물에 현탁하여 여과한

후 약 4.5g 을 Sephadex LH-20 컬럼 크로마토 그래피에 분리하였다. 용매는 H₂O-MeOH을 0%-100%까지 농도를 높였으며 TLC를 실시하여 4개의 분획물 Fr. 1(0-40%), Fr. 2(40-90%), Fr. 3(90-100%), Fr. 4(100%)로 나누었다. 분획물은 회전증발농축기로 55°C에서 유량 34 l/min로 감압 농축하여 4°C에서 보관하여 실험에 사용하였다.

2.2. 실험 방법

2.2.1. 균주 배양

균주의 전 배양 및 본 배양을 위한 배지는 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* 는 각각 TSB, TSA를 사용하였으며, *Candida A.* 는 PDB, PDA를 사용하였다. 모든 균주는 항온조에서 37°C로 배양하였고 액체배지에 세균은 1×10^6 CFU/mL, 진균은 1×10^5 CFU/mL 이 포함 되도록 균액을 접종하여 실험에 사용하였다.

2.2.2. 미생물 생육저해환(Clear zone) 측정

추출물의 항균력 측정을 하기 위해 disc diffusion방법을 이용하였다. 세균 1×10^6 CFU/mL, 진균 1×10^5 CFU/mL 이 포함되도록 현탁시킨 액체배지를 멸균한 면봉으로 고체배지 표면에 균일하게 도말하였다. 고체 배지 위에 멸균된 paper disc (8mm, Advqotec, Tokyo, Japan)를 밀착시킨 후 Fr. 1, 2, 3 각각 0.50, 1.00, 2.00, 4.00 mg/mL 농도로 처리하고 Fr. 4는 0.50, 1.00, 2.00 mg/mL 농도로 처리하였으며 35 μ L씩 흡수시키고 37°C 배양기에서 20 시간동안 배양하였다. 대조군으로 화장품 방부에 사용되는 합성방부제 Methylparaben을 50 mg/mL 농도로 사용하였다. 배양 후 disc주변에 생성된 clear zone의 직경을 측정하여 각 추출물의 항균활성을 비교 분석하였다.

2.2.3. DPPH 라디칼 소거능 측정

추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 다음과 같이 측정하였다. 시료와 양성대조군 butylated hydroxyanisole (BHA; Sigma-Aldrich, USA) 각 100 μ L에 0.2 mM의 DPPH 50 μ L를 넣어 최종농도를 50, 125, 250 μ g/mL로 만들어 교반한 후 30 min 방치한 다음 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) reader (Power Wave™ XS Microplate Spectrophotometer;

BioTek Instruments, USA)를 이용해 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능 효과는 시료 용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

2.2.4. ABTS⁺ 라디칼 소거능 측정

ABTS⁺ 라디칼 소거능 측정은 7 mM ABTS (Sigma-Aldrich, USA)와 2.4 mM potassium persulfate (K₂S₂O₈; Sigma-Aldrich, USA)을 1:1로 혼합하여 암실 및 실온에서 24 h 동안 반응시킨 후, 사용 전에 ABTS 용액을 에탄올에 희석하여 734 nm에서 흡광도 값이 0.706 ± 0.001 이 되게 하여 사용하였다. 시료와 양성대조군 Butylated hydroxy toluene (BHT; Sigma-Aldrich, USA) 각 50 μ L에 ABTS와 potassium sulfate 혼합액 950 μ L를 첨가하여 최종농도를 50, 125, 250 μ g/mL로 만든 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.2.5. 세포생존율 측정

황련의 Fr. 1, 2, 3, 4에 대한 세포독성 실험은 Water-soluble tetrazolium salt (WST-1) assay로 시행하였으며 방법은 다음과 같다. 각질형성세포를 96 well plate에 well당 1×10^4 세포로 200 μ L 분주하고, 37°C 5% CO₂ incubator에서 24 h 배양하였다. 배양 후 serum free DMEM 180 μ L와 분획물의 최종농도가 10, 25, 50, 75, 100 μ g/mL이 되도록 각각 20 μ L씩 첨가한 후 24 h 배양한 후 20 μ L의 WST-1 용액을 세포에 처리하여 추가적으로 37°C에서 30 min 배양한 후 ELISA reader 장치를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 항균활성 결과

본 실험에서는 황련의 Fr. 1, 2, 3, 4의 항균 효능을 확인하기 위해 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Candida A.* 균주를 이용하였으며, 시료에 대한 균의 생육저해환인 clear zone (mm)을 측정하여 Table 1-4와 같이 나타내었다. Fr. 1은 정제수, Fr. 2, 3, 4는 DMSO에 용해하여 Fr. 1, 2, 3 각각 0.50, 1.00, 2.00, 4.00 mg/mL 농도로 처리하였으며 Fr. 4는 0.50, 1.00, 2.00 mg/mL 농도로 처리하였다. 양성 대조군인 methylparaben

Table 1. Antimicrobial activity of Fr. 1 of *Coptis Radix*. on several microorganisms

Strains	Concentration(mg/mL)					
	Control(+)	Control(-)	0.50	1.00	2.00	4.00
<i>S. aureus</i>	13.00	-	- ^a	-	-	-
<i>S. epidermidis</i>	12.00	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	12.50	-	-	-	-	-
<i>Candida. A.</i>	22.50	-	-	-	-	-

^a: no inhibition

^b: Inhibition zone diameter (mm)

Table 2. Antimicrobial activity of Fr. 2 of *Coptis Radix*. on several microorganisms

Strains	Concentration(mg/mL)					
	Control(+)	Control(-)	0.50	1.00	2.00	4.00
<i>S. aureus</i>	16.50	-	12.00 ^b	15.50	19.50	21.00
<i>S. epidermidis</i>	15.50	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	14.50	-	-	-	-	-
<i>Candida. A.</i>	21.00	-	-	-	12.50	14.00

Table 3. Antimicrobial activity of Fr. 3 of *Coptis Radix*. on several microorganisms.

Strains	Concentration(mg/mL)					
	Control(+)	Control(-)	0.50	1.00	2.00	4.00
<i>S. aureus</i>	12.50	-	10.50	16.00	19.75	23.25
<i>S. epidermidis</i>	12.00	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	12.50	-	-	-	-	-
<i>Candida. A.</i>	22.50	-	10.00	11.50	14.50	17.50

Table 4. Antimicrobial activity of Fr. 4 of *Coptis Radix*. on several microorganisms.

Strains	Concentration(mg/mL)				
	Control(+)	Control(-)	0.50	1.00	2.00
<i>S. aureus</i>	15.25	-	12.25	16.50	20.00
<i>S. epidermidis</i>	12.00	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	12.50	-	-	-	-
<i>Candida. A.</i>	21.50	-	-	12.00	14.00

은 50 mg/mL을 사용하였고 음성대조군은 각 시료의 용매인 정제수와 DMSO를 사용하였다. Fr. 1의 항균 실험결과 모든 균주에서 항균활성을 나타내지 않았다. Fr. 2의 항균 실험결과 *S. aureus*에서 시료의 4.00 mg/mL 농도에서 21.00 mm의 clear zone을 확인할 수 있었으며 *Candida. A.*

에서는 4.00 mg/mL 농도에서 14.00 mm의 clear zone을 확인하였다. *S. epidermidis*와 *E. coli*에서는 clear zone이 확인되지 않았다. Fr. 3의 항균 실험결과 *S. aureus*에서는 4.00 mg/mL 농도에서 23.25 mm의 clear zone을 확인하였고 *candida. A*에서는 4.00 mg/mL 농도에서 17.5

mm의 clear zone을 확인하였으며 *S. epidermidis*, *E. coli*에서는 clear zone을 확인할 수 없었다. Fr. 4의 실험 결과 *S. aureus*에서는 2.00 mg/mL 농도에서 20.00 mm, *candida. A*에서는 2.00 mg/mL 농도에서 14.00 mm의 clear zone이 확인되었으며 *S. epidermidis*, *E. coli*에서는 나타나지 않았다. Fr. 1에서는 네 가지 균주 모두에서 clear zone을 확인할 수 없었다. Fr. 1을 제외한 모든 시료에서 *S. aureus*와 *candida*,

*A*에서 항균활성을 나타내는 것으로 확인되었으며 특히 *S. aureus*에서는 양성대조군보다 clear zone이 더 크게 나타나 항균활성이 매우 우수한 것을 확인할 수 있었다. 항균활성이 나타난 모든 시료에서의 효능은 농도 의존적으로 나타났으며 *S. aureus*에서는 Fr. 4의 효능이 가장 우수했고 *candida. A*에서는 Fr. 3의 효능이 가장 우수한 것으로 확인되었다.

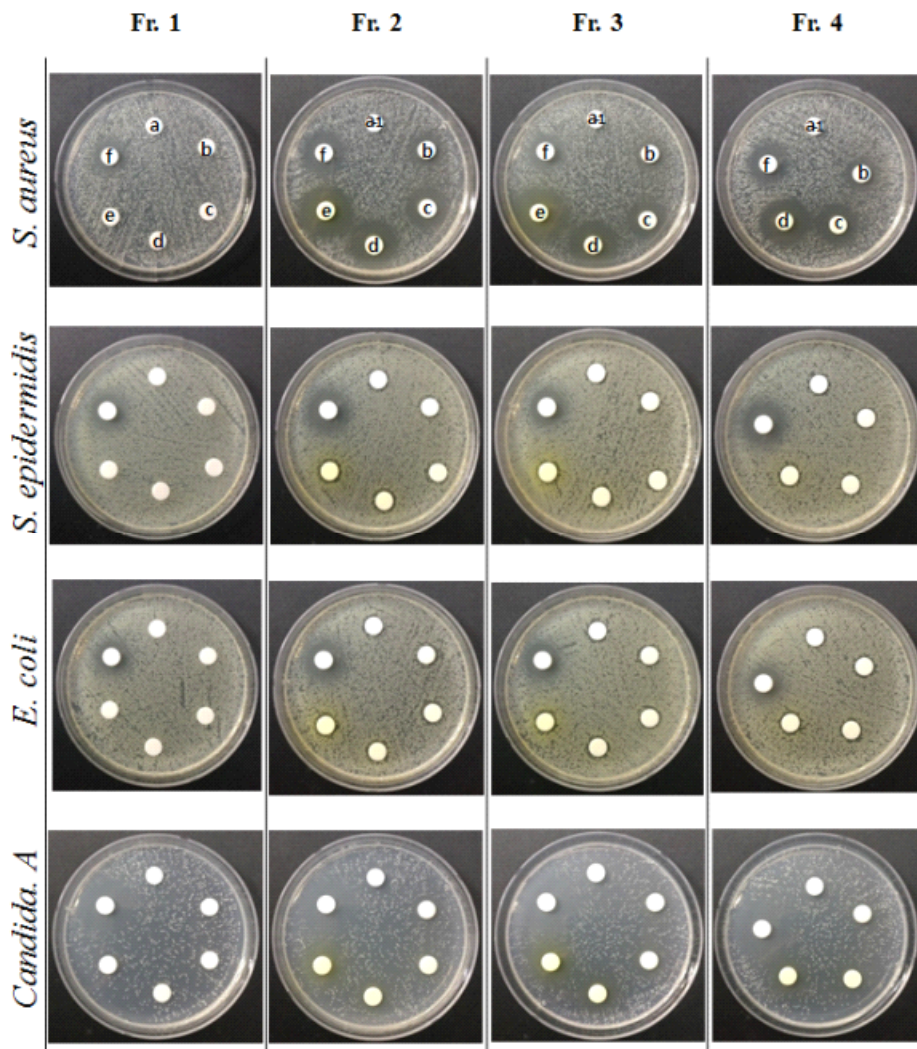


Fig. 1. Antimicrobial activity of Fraction 1, 2, 3, 4, of *Coptis Radix*. a : distilled water r(control(-)), a-1 (control(-)) : dimethyl sulfoxide (DMSO), b : 0.50 mg/mL, c : 1.00 mg/mL, d : 2.00 mg/mL, e : 4.00 mg/mL, f : Methylparaben (control(+)).

3.2.1. DPPH 라디칼 소거능 확인

DPPH는 분자 내 radical을 함유하고 있어서 Tocopherol, Ascorbic acid, polyhydroxy 방향족 화합물 및 방향족 아민류에 의해 환원시 radical이 소거되어 짙은 자색이 탈색되는 것으로 확인이 가능한 비교적 간단한 방법의 항산화 측정법이다[17]. 황련의 DPPH radical 소거능을 측정 한 결과 Fig. 2과 같이 나타내었다. 실험결과 250 µg/mL 농도에서 Fr. 1, 2, 3, 4 결과값은 11.4%, 30.3%, 42.0% 53.1% 로 Fr. 4가 가장 소거능이 높았으며 대조군 BHA는 동일농도에서 96.8%값을 나타내었다.

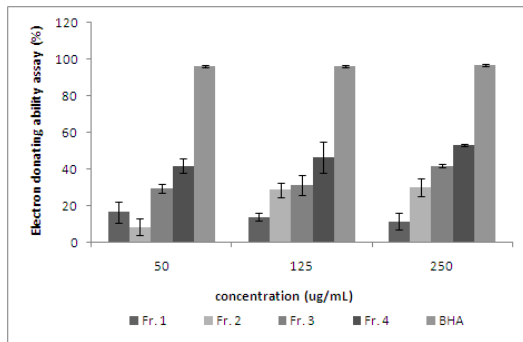


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity (%) of dependent on concentration from extracts of Fraction 1, 2, 3, 4. of *Coptis Radix*. BHA : Butylated hydroxyanisole. Results are expressed as means ± S.D. of triplicate data.

3.2.2. ABTS⁺ 라디칼 소거능 확인

ABTS 라디칼 소거 활성법은 *in vitro*, *in vivo* 항산화능을 측정하기 위한 방법으로 널리 이용되고 있다. ABTS를 peroxidase, H₂O₂와 반응시켜 활성 양이온인 ABTS free radical이 형성되면 추출물의 항산화력에 의해 ABTS free radical이 소거되어 라디칼 특유의 색인 청록색이 탈색되는데 이를 흡광도 수치로 나타내어 추출물의 항산화 활성을 평가할 수 있다[18]. ABTS⁺ radical 소거능을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 황련 Fr. 1, 2, 3, 4은 250 µg/mL의 농도에서 각각 74.2%, 100.0%, 100.2%, 99.9%의 활성을 나타내어 Fr. 2, 3, 4 시료는 동일농도의 대조군인 BHT 92.2% 값에 대비해 높은 활성을 나타내었다.

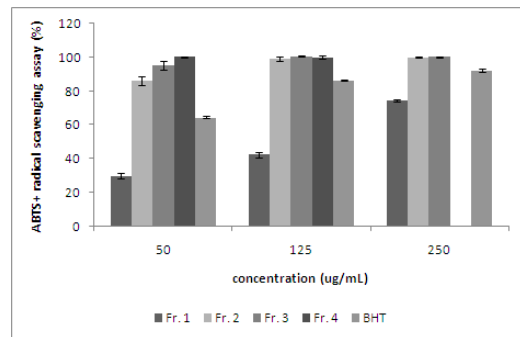


Fig. 3. ABTS⁺ cation radical decolorization of Fraction 1, 2, 3, 4. of *Coptis Radix*. BHT : Butylated Hydroxytoluene. Results are expressed as means ± S.D. of triplicate data.

3.3. 황련의 세포독성 보호효과

안전한 화장품소재로 활용 가능함을 알아보기 위해 인간 각질형성 세포인 HaCaT cell에서 황련에 의한 세포독성을 확인하였다. *in vitro* 세포독성은 세포의 미토콘드리아 활성에 의존하여, 세포의 생존을 결정할 수 있는 WST-1 반응액에 의해 측정되어졌다. 황련 Fr. 1, 2, 3, 4를 각각 10, 25, 50, 75 µg/mL 농도로 처리하여 24시간 배양 후 세포생존율을 측정한 결과, 실험농도에서 Fr. 1, 2, 3은 전농도에서 독성을 나타내지 않았으며 Fr. 4는 100 µg/mL농도에서 20%의 세포독성을 나타내었다. 이러한 결과는 향후 화장품소재 개발을 위한 세포내 약리기전의 연구에서 황련 fraction의 안전한 농도를 적용시키도록 한다.

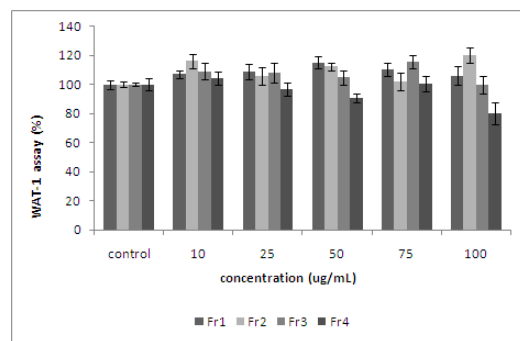


Fig. 4. Cell viability of dependent on concentration of Fraction 1, 2, 3, 4. of *Coptis Radix* using WST-1 assay.

4. 결론

본 연구는 황련 열수 추출액으로부터 분리한 4개의 분획물 (Fr. 1, 2, 3, 4)의 항균 효능을 확인하기 위해 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Candida A.*, 균주들을 이용하여 항균효능을 평가하였다. 항산화 효능을 평가하기 위해 DPPH radical scavenging activity와 ABTS⁺ cation radical decolorization 실험을 진행하였다. 또한 화장품 소재로서의 피부세포의 안전성을 확인하기 위해 세포생존율을 평가하였으며 결과는 다음과 같다.

1. 황련 Fr. 1, 2, 3, 4의 항균활성 결과 항균능을 나타낸 균주에서 clear zone 은 농도의존적으로 나타났으며 *S. aureus*에서는 Fr. 4의 효능이 가장 우수했고 *Candida A*에서는 Fr. 3의 효능이 가장 우수한 것으로 확인되었다.
2. 항산화 평가의 DPPH radical scavenging activity 결과 Fr. 4가 가장 효능이 우수하였으며 ABTS⁺ cation radical decolorization 결과 Fr. 1을 제외한 2, 3, 4 시료의 소거능 값이 250 µg/mL 농도에서 각 100.0%, 100.2%, 99.9%으로 나타나 동일농도의 대조군인 BHT 92.2% 값에 대비해 높은 활성을 나타내었다.
3. 황련 Fr. 1, 2, 3, 4의 세포독성 평가 결과 100 µg/mL농도에서 Fr. 4가 80.2%의 생존율을 나타내어 약 20%정도의 독성을 나타내었다. 그 외 Fr. 1, 2, 3은 실험 전농도에서 독성을 보이지 않았다.

이상의 결과로 보아 황련 Fr. 1, 2, 3의 항균 및 항산화 효능을 활용한 화장품 소재로 개발한다면 안전성이 높은 소재로 사용 가능성을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 환경부에서 지원하는 2015년 환경산업선진화기술개발사업 (과제번호: 2015000150005)의 연구수행으로 진행되었습니다.

References

1. B. J. An, J. T. Lee, C. E. Lee, J. H. Kim, J. H. Son, J. H. Kwak, J. Y. Lee, T. S. Park, H. J. Bae, M. J. Jang, C. H. Jo. A Study on Physiological Activities of Coptidis Rhizoma and Application for Cosmetic Ingredients. *The Korea Association of Herbology*, **Vol.20, No.3** 83-92, (2005).
2. K. B. Kim, H. T. Lee, K. H. Ku, J. W. Hong, S. I. Cho. Review of Pharmacological Effects of *Coptidis Rhizoma* and its Bioactive Compounds. *Journal of Korean Medicine*, **Vol.33, No.3** 160-183, (2012).
3. Yamahara J. Central depressive action of Coptidis rhizoma and its constituents. *Nipp Yaku Zas*, **Vol.72**, 899-908, (1976).
4. Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. *The Lancet*, **Vol.342**, 1007-1011, (1993).
5. H. Lee. Rat lens aldose reductase inhibitory activities of Coptis japonica root-derived isoquinoline alkaloids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **Vol.50, No.24** 7013-7016, (2002).
6. J. S. Kang, S. K. Kang, H. S. Kim, Preparation and Characteristics of Bread by Medicinal Herb Composites with Cognitive Function. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, **Vol.38, No.9** 1131-1138, (2009).
7. B. Li, H. R. Liu, Y. Q. Pan, Q. S. Jiang, J. C. Shang, X. H. Wan, B. C. He, J. Q. Yang, Q. X. Zhou. Protective effects of total alkaloids from rhizoma Coptis chinensis on alcohol-induced gastric lesion in rats. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, **Vol.31, No.1** 51-45, (2006).
8. H. G. Yoo. Effect of Rhizoma coptidis and Centella asiatica extracts on human gingival fibroblasts. *Journal of Periodontal*

- & *Implant Science*, **Vol.26, No.3** 681-688, (1996).
9. I. K. Park, H. S. Lee, S. G. Lee, J. D. Park, Y. J. Ahn. Antifeeding activity of isoquinoline alkaloids identified in *Coptis japonica* roots against *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae) and *Agelastica coerulea* (Coleoptera: Galerucinae). *Journal of Economic Entomology*, **Vol.93, No.2** 331-335, (2000).
 10. Block, G. Langseth L. Antioxidant vitamins and disease prevention. *Food Technolog.* **Vol.48**, 80-85, (1994).
 11. N. J. Kang, J. K. Kwon, H. C. Rhee, H. B. Jeong, H. T. Kim. Antioxidant enzymes as defense mechanism against oxidative stress induced by chilling in *Cucurbita ficifolia* leaves. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, **Vol.44**, 605-610, (2003).
 12. K. D. Kim, S. J. Kim, Research Paper : Studies on the Antimicrobial Effect of Herbal Extracts and It's Cosmetic Application. *Journal of the Korean Society of Cosmetology*, **Vol.13, No.1** 221-227, (2007).
 13. A. L. Cogen, V. Nizet, R. L. Gallo. Skin microbiota: a source of disease or defense. *British Journal of Dermatology*, **Vol.158, No.3** 442-455, (2008).
 14. S. Y. Kim, J. H. Kim, K. Y. Yu, H. S. Lee, I. H. Jeon, H. J. Kang, J. N. Lee, B. M. Choi, S. I. Jang. Synergic Antimicrobial Activity of *Scutellariae Radix*, *Coptidis Rhizoma* and Salicylic Acid Combination against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Korean Journal Oriental Physiology & Pathology*, **Vol.28, No.4** 390-395, (2014).
 15. J. Y. Lee, K. K. Lee, Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Allium hookeri* Root Extract and its Fractions. *Korea Journal Aesthetic Cosmetology*, **Vol.12 No.4** 533-538, (2014)
 16. R. R. Marples. The microflora of the face and acne lesions. *Journal of Investigative Dermatology*, **Vol.62** 326-331, (1974).
 17. M. H. Kang, C. S. Choi, Z. S. Kim, H. K. Chung, K. S. Min, C.G. Park, H. W. Park. Antioxidative Activities of Ethanol Extract Prepared from Leaves, Seed, Branch and Aerial Part of *Crotalaria sessiflora* L. *Korean Journal of Food Science and Technology*, **Vol.34** 1098-1102, (2002).
 18. R. L. Prior, X. Wu, K. Schaich. Standardized method for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplement. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **Vol.48** 115-119, (2005).