

원저

소염 약침액, 황련해독탕, 황련이 Staphylococcus aureus에 미치는 항균효과에 대한 실험적 연구

서형식

상지대학교 한의과대학 안이비인후피부과 교실

The Experimental Study on Anti-bacterial Potency of Soyum Herbal-acupuncture, Hwangryunhaedoktang & Coptidis rhizoma on Staphylococcus aureus.

Hyung-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 Soyum Herbal-acupuncture, Hwangryunhaedoktang & Coptidis rhizoma on Staphylococcus aureus that induce keratitis.

Methods : MIC was measured by dropping to 50 μ l according to density Soyum Herbal-acupuncture, Hwangryunhaedoktang & Coptidis rhizoma(100%, 10%, 1%, 0.1%). Anti-bacterial potency was measured by the size of inhibition zone with change of volume.

Results : 1. MIC on Staphylococcus aureus in Soyum Herbal-acupuncture disappear all sample.
2. MIC on Staphylococcus aureus in Hwangryunhaedoktang disappear all sample.
3. MIC on Staphylococcus aureus in Coptidis rhizoma was 100%, 50 μ l and anti-bacterial potency increase compare with quantity.

Conclusions : The present author think that Soyum Herbal-acupuncture must be extracted a new method for anti-bacterial potency and Coptidis rhizoma was made Herbal-acupuncture for eye drops.

Key words : Staphylococcus aureus, keratitis, Soyum Herbal-acupuncture, Hwangryunhaedoktang, Coptidis rhizoma, MIC, Inhibition zone.

1. 서론

각막염은 각막에 생기는 염증성 질환으로 폐렴구균, 포도상구균, 연쇄상구균, 녹농균, 진균 등에 의해 유발되며¹⁾, 폐렴쌍구균이 제일 많이 차지하고 있다²⁾. 그러나 최근 Cortico-steroid제 안약의 남용으로 인하여 Staphylococcus

aureus와 Staphylococcus epidermidis가 각막궤양을 일으키는 세균으로 새롭게 발견되었으며³⁾, 그중 Staphylococcus aureus가 각막염을 가장 심하게 일으키는 균으로 알려져 있다⁴⁾.

각막염에 해당하는 한의학적 질환은 銀星獨見, 聚星障, 凝脂翳, 花翳白陷 등이 있으며⁵⁾, 이는 각막염이 진행되는 상태에 따라 보이는 각막표면의 모양에 따라 命名한 것이다. 각막에 하나의 혼탁이 있는 경우는 銀星獨見, 여러개의 혼탁이 보이는 경우는 聚星障, 흑정의 손상부위에 염증성 분비물이 응고되어 동물유지와 비

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

슷한 것이 달라붙어 있는 경우는 凝脂翳, 궤양이 형성된 경우는 花翳白陷이라 한다. 이러한 각막염중에서 각막의 상피박리 같은 가벼운 경우는 아무런 장애없이 치유되나, 각막의 궤양은 백태를 유발하여 각막의 투명성을 손상시켜 시력장애를 유발하거나, 천공을 유발하여 심한 경우 실명에 이를 수 있다.

각막염의 치료에 있어서 현대의학적으로 점안약을 이용하는 치료방법이 일반적이라 할 수 있는 반면에 한의학적으로는 점안약의 사용이 쉽게 이루어지지 않고 있으며 한약을 전탕하여 사용하는 것도 여의치 않은 것이 현재 상황이다. 각막에는 혈관분포가 없기 때문에 약물을 국소 점안하는 것이 약물침투에 용이하며⁶⁾, 각막 내 높은 농도를 유지하고 세균이나 세균에서 나오는 여러 가지 독소와 효소를 씻어내는 효과가 있으므로 유리하다⁶⁾. 그러나 점안약은 특성상 무균의 제제로서 불용성 이물을 포함하지 않는 용액 또는 입자가 극히 미세하여야 한다⁷⁾. 따라서 한약을 전탕하여 점안약으로 활용하여도 되나 이물감을 나타낼 수 있고, 입자가 극히 미세하다고 보기도 어렵다. 이에 약침학회에서 공급되는 소염 약침액과 황련해독탕 및 황련 전탕액을 점안약으로 활용하기 위하여 각막염 유발균인 *Staphylococcus aureus*에 대한 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 소염 약침액은 대한약침학회에서 공급받아 실험에 사용하였으며, 황련해독탕과 황련은 시중 건재상에서 구입하여 잡질을 제거하고 형태가 완전한 것을 정선하여 사용하였다(Table 1).

2) 균주 및 배지

본 실험에 사용한 *Staphylococcus aureus*(KCTC 1916)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

소염 약침액은 대한약침학회에서 공급받았으며, 황련해독탕과 황련은 각각 40g으로 하여 증류수 1 l씩을

Table 1. Prescription of Herb-med.

Herb-med	Herb	Scientific Name	Dose(g)
소염 약침액 Soyum Herbal-acupuncture	포공영	Taraxaci Herba	39
	금은화	Lonicerae Flos	39
	생지황	Rehmanniae Radix	39
	연교	Forsythiae Fructus	39
	황련	Coptidis Rhizoma	24
	황금	Scutellariae Radix	24
	황백	Phellodendri Cortex	24
황련해독탕 Hwangryunhaedoktang	치자	Gardeniae Fructus	24
	황련	Coptidis Rhizoma	10
	황금	Scutellariae Radix	10
	황백	Phellodendri Cortex	10
황련	치자	Gardeniae Fructus	10
	황련	Coptidis Rhizoma	40

가한후 전탕기(DWP-1800T, daewoong, Korea)를 이용하여 2시간 30분간 전탕하였다. 10분간 원심분리하여 상층액을 취한 후 0.2micrometer filter로 여과시켜 멸균하였다.

2) 피검균액의 준비

피검균 Staphylococcus aureus를 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 aureus의 현탁액 100µl를 적정배지인 Nutrient Agar에 도말하였고, 검액은 원액, 10%, 1%, 0.1%로 희석한 것과 희석액 별로 각각 20µl~100µl씩 준비하여 사용하였다. 피검균을 도말한 배지 위에 paper disc(8mm)를 올려놓고 검액 50µl를 농도별로 희석하여 적하하고, 37°C에서 2~6일간 배양한 후 같은 조건 하에서 항균력의 유무를 관찰하였다. 항균력이 나타난 최소희석농도의 검액은 50~20µl까지 양을 감소하며 최소 성장 억제 농도(MIC)를 측정하였으며, 같은 방법으로 원액의 검액을 50~20µl까지 양을 조절하여 나타난 억제환의 직경(mm)을 측정하여 항균력을 비교하였다. 항균력을 보이지 않을 경우 원액의 검액을 50~100µl까지 양을 증량하며 최소 성장 억제 농도를 측정하였으며, 같은 방법으로 원액의 검액을 50~100µl까지 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. 희석율에 따른 최소 성장 억제 농도(MIC)

소염 약침액 및 황련해독탕은 50µl 전농도에서 억제 효과가 나타나지 않았으며, 황련은 50µl 원액에서만 억제 효과가 나타났고, Cravit는 50µl 전농도에서 억제 효과가 나타났다(Table 2, Fig. 1).

Table 2. MIC of Soyum Herbal-acupuncture, Hwangryunhaedoktang, Coptidis rhizoma & Cravit on Staphylococcus aureus

	100%	10%	1%	0.1%
Soyum(50µl)	-	-	-	-
Hwangryunhaedoktang(50µl)	-	-	-	-
Coptidis Rhizoma(50µl)	24.3	-	-	-
Cravit(50µl)	31	28.3	23.5	15.5

- : No inhibition

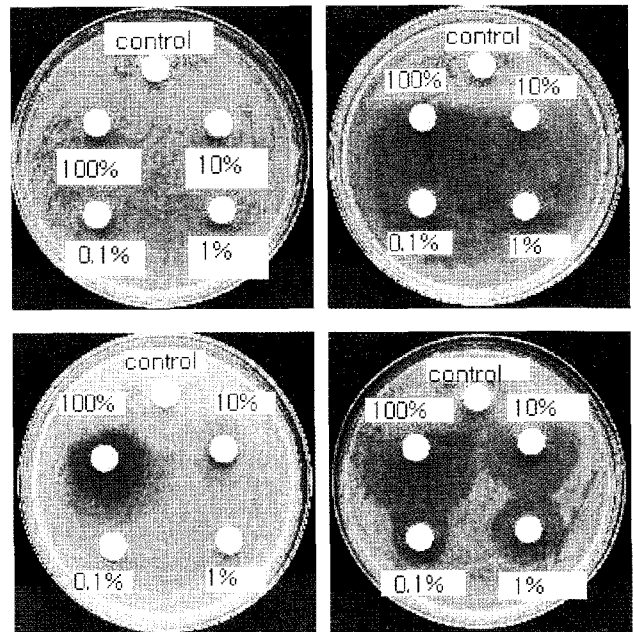


Fig. 1 MIC of Soyum Herbal-acupuncture, Hwangryunhaedoktang, Coptidis rhizoma & Cravit on Staphylococcus aureus.

2. 동일 농도에서 양에 따른 최소 성장 억제 농도(MIC)

소염 약침액과 황련해독탕은 희석율에 따른 실험에서 항균효과를 보이지 않아 원액의 농도를 높이면서 실험 하였으나 증량에 대해서도 전혀 항균효과를 나타내지 않았으며(Table 3, Fig. 2), 황련은 50 μ l의 원액에서만 항균효과를 보여 원액의 양을 50 μ l ~ 20 μ l로 감소하며 실험한 결과 증량에 비례해서 항균효과가 높아지는 것을 알 수 있었고, Cravit는 0.1%의 농도를 50 μ l ~ 20 μ l

로 낮추면서 실험한 결과 50 μ l에서만 항균효과를 나타냈다(Table 4, Fig. 3).

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 된

Table 3. MIC of Soyum Herbal-acupuncture, Hwangryunhaedoktang on Staphylococcus aureus

	50 μ l	60 μ l	70 μ l	80 μ l	90 μ l	100 μ l
Soyum(100%)	-	-	-	-	-	-
Hwangryunhaedoktang(100%)	-	-	-	-	-	-

- : No inhibition

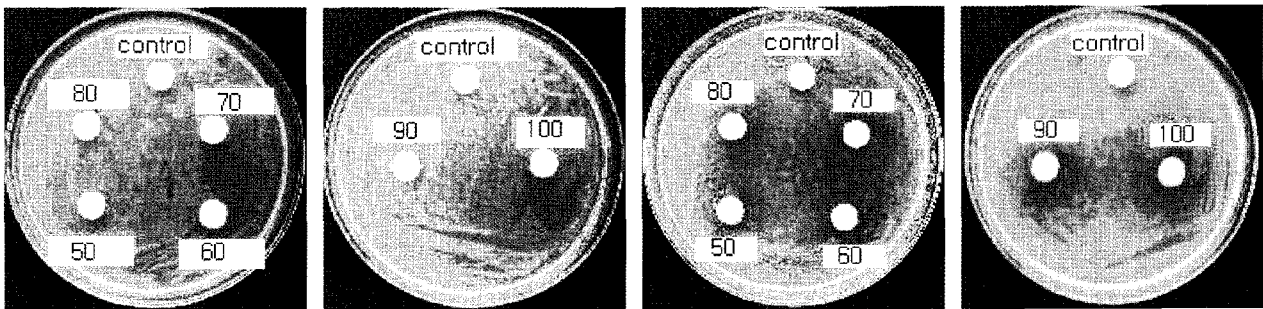


Fig. 2 MIC of Soyum Herbal-acupuncture, Hwangryunhaedoktang on Staphylococcus aureus.

Table 4. MIC of Coptidis rhizoma & Cravit on Staphylococcus aureus

	20 μ l	30 μ l	40 μ l	50 μ l
Coptidis Rhizoma(100%)	16	20	24	26
Cravit(0.1%)	-	-	-	15.5

- : No inhibition

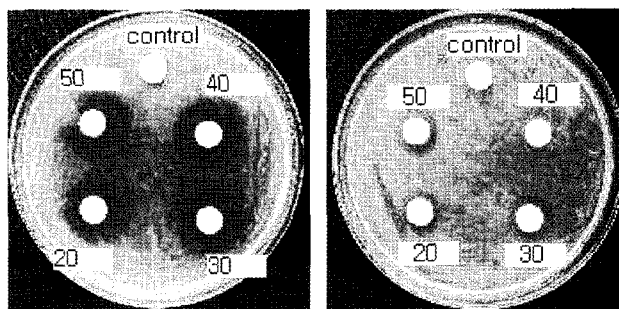


Fig. 3 MIC of Coptidis rhizoma(100%) & Cravit(0.1%) on Staphylococcus aureus.

다²⁾. 따라서 각막의 상피박리 이외의 손상은 각막에 반흔을 형성하여 시력장애 및 시력상실을 유발할 수 있다. 그러나 정상 각막은 눈꺼풀, 속눈썹, 눈물의 세척작용으로 세균감염으로부터 일차적으로 방어되며, 눈물의 항균성분이 세균감염을 방지하는 등의 생리적 방어기능⁸⁾으로 인해 쉽게 감염되지는 않는다. 그러나 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 추세이다⁹⁾.

각막염은 세균성, virus성, 진균성의 순으로 많이 발생하고, 세균에 의한 각막염이 각막의 모든 미생물 감염의 65~90%를 차지하는 것으로 알려져 있으며⁸⁾, 원인 세균은 녹농균, 폐렴구균, 황색 포도상구균, 표피포도상구균 등이다²⁾.

세균각막염을 유발하는 주된 원인균인 Staphylococcus species¹⁰⁾는 Gram양성균으로 건조에 대한 저항력이 강하여 건조된 물질에서도 수 개월간이나 살아있으며, 또 함수탄소, 단백질, 지방 등을 모두 영양분으로 이용할 수 있어서 신체의 어느 부위에서도 살 수 있다¹¹⁾. Staphylococcus aureus는 주로 정상적인 피부와 결막을 포함하는 점막 등에 상주하며, 외상으로 손상된 각막에서 흔히 감염을 유발하고 적절한 치료가 되지 않으면 진행하여 각막천공을 일으키게 되는데 Staphylococcus epidermidis에 의한 각막염보다 증상이 심하다³⁾.

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 필수적이며⁸⁾, 성공적 치료를 위해서는 약제의 적절한 투여방법이 필요하다¹²⁾. 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 있어¹³⁾, 약제의 점안이 가장 흔히 사용되고 있다¹⁴⁾.

한의학적 안과치료는 內治와 外治로 나눌 수 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 있으며¹⁵⁾, 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. 그러

나 滴藥은 한약을 煎湯하고 여과·소독하여야 하며, 장기간 보관이 용이하지 않아 임상상 활용이 여의치 않아 한방안과에서조차 사용하기가 어려운 실정이다. 이에 약침학회에서 사용하는 소염 약침액, 황련해독탕, 황련을 점안약으로 사용하기 위하여 세균성 각막염을 일으키는 균 중 Staphylococcus aureus 균주를 선택하여 최소 성장 억제 농도 측정 및 억제환 측정 실험을 양방의학의 항생점안제인 Cravit를 대조군으로 하여 실시하였다.

Staphylococcus aureus 균주의 희석율에 따른 최소 성장 억제 농도(MIC)는 소염 약침액 및 황련해독탕은 50 μ l 전농도에서 억제효과가 나타나지 않았으며, 황련은 50 μ l 원액에서만 억제효과가 나타났고, Cravit는 50 μ l 전농도에서 억제효과가 나타났다.

Staphylococcus aureus 균주의 양에 따른 최소 성장 억제 농도(MIC)는 소염 약침액과 황련해독탕은 희석율에 따른 실험에서 항균효과를 보이지 않아 원액의 농도를 높이면서 실험 하였으나 원액 전농도에서 전혀 항균효과를 나타내지 않았으며, 황련은 50 μ l의 원액에서만 항균효과를 보여 원액의 양을 50 μ l ~ 20 μ l로 감소하며 실험한 결과 증량에 비례해서 항균효과가 높아지는 것을 알 수 있었고, Cravit는 0.1%의 농도를 50 μ l ~ 20 μ l로 낮추면서 실험한 결과 50 μ l에서만 항균효과를 나타냈다.

이상의 결과로 볼 때 증류약침의 일종인 소염 약침액과 황련해독탕 전탕액은 전혀 항균효과를 보이지 않아 점안약으로 사용하기에는 적절치 않으며, 황련 전탕액은 항균효과를 보여 점안약으로 사용할 수는 있으나, 향후 사용상의 편리성을 도모해야 할 것이며, 증류약침 이외의 방법으로 추출하거나 또는 추출방식에 있어서의 변화를 모색해야 할 것으로 사려된다.

V. 結 論

소염 약침액, 황련해독탕, 황련의 각막염 유발균인 Staphylococcus aureus에 미치는 항균효과를 알아보기 위하여 최소 성장 억제 농도(MIC)와 억제환(Inhibition zone) 측정을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 소염 약침액은 50 μ l 전농도 및 원액의 60 μ l, 70 μ l, 80 μ l, 90 μ l, 100 μ l의 농도에서도 전혀 항균효과를 보이지 않았다.

- 2. 황련해독탕은 50 μ l 전농도 및 원액의 60 μ l, 70 μ l, 80 μ l, 90 μ l, 100 μ l의 농도에서도 전혀 항균효과를 보이지 않았다.
- 3. 황련은 50 μ l 원액에서 항균효과를 보였으며, 원액의 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l, 50 μ l에서 농도의존적으로 항균효과를 나타냈다.

이상의 결과로 황련에 대하여 점안약으로 활용할 수 있을 것으로 생각되며, 사용상의 편리를 위하여 효과를 유지할 수 있는 증류방법의 개선이 필요하리라 사려된다.

參考文獻

1. 신태양사 편집국 백과사전부. 원색최신의료대백과사전. 신태양사. 1994 ; 47-8.
2. 윤동호, 이상욱, 최역. 안과학. 일조각. 1996 : 2-3, 111-3.
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. 최규동 채명윤. 黃連, 진피, 秦皮散이 녹농균성 각

막염에 미치는 효과에 관한 실험적 연구. 대한외관과학회지. 1999 ; 12(1) : 18-35.

6. 이상준, 이주화. Soft Contact Lens 사용 중 발생된 녹농균성 각막염 3예. 대한안과학회지. 1990 ; 31(5) : 681-6.
7. 약제학분과회. 제제학. 한림원. 2000 ; 12.
8. 한국외안부연구회 편. 각막. 일조각. 1999 : 75-95.
9. 심일청, 오준섭. 세균성 및 진균성 각막궤양의 임상적 고찰. 대한안과학회지. 1982 ; 23 : 915-9.
10. Jones DB. Initial therapy of suspected microbial corneal ulcer. II. Specific antibiotic therapy based on corneal smears. Surv Ophthalmol. 1979 ; 24 : 105-16.
11. 정희영, 전종희. 감염질환. 서울: 수문사. 1987 : 665-75.
12. 이유환, 한영호, 김광혁. 실험적 Staphylococcus aureus 각막염에서 Ciprofloxacin을 적신 Collagen Shield의 치료효과. 대한안과학회지. 1996 ; 37(10) : 1601-6.
13. 김상윤. 녹농균의 항생제 내성의 특성. 경북대학교 대학원. 1985.
14. 이유환, 한영호, 노주현. 점안약의 오염에 관한 연구. 대한안과학회지. 1996 ; 37(5) : 141-8
15. 김성원, 김성권. 한방전문의총서(안과). 해동의학사. 1996 : 72-5.