대한예방한의학회지 제16권 제1호(2012년 4월)
Kor. J. Oriental Preventive Medical Society 2012 ; 16(1) : 43-56

전남 함평산 자색양파 추출물의 항균효과와 피부장벽 보호효과

윤대환 · 신헌태*
동신대학교 한의학과

The Anti-bacterial Effects and Epidermal Permeability Barrier Function of Red Onion Juice Produced in Jeon-Nam province in Korea

Dae Hwan Youn & Heon Tae Shin*
Department of Oriental Medicine, Dongshin Univ.

Abstract

Objective : In this study, we assessed the anti-bacterial effects and epidermal permeability barrier function of red onion juice comparing to yellow onion juice and *Houttuynia cordata* extract *in vitro*.

Methods : 3types of red and yellow onion juice were prepared as antibacterial agent candidates with Houttuynia cordata hot water extract using 4 different bacterial strains (*Escherichia coil, Salmonella enterica subsp. enterica, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus subsp*) by colony counting method.

The expression of filaggrin, a marker of keratinocyte differentiation, and serine palmitoyl transferase (SPT), a marker of the formation of the stratum corneum lipid barrier, in human HaCat keratinocytes were analyzed using HaCaT cell line.

The expression of COX-2 and AP-1 which is a factor of COX-2 transcription were also analyzed by western blotting method.

Results : There was detectable anti-bacterial effects on *Staphylococcus epidermidis , Staphylococcus aureus subsp* among 1%, 5%, 10% extracts of yellow and red onion.(81%-100%) The bacteriocidal effects were not shown on *Escherichia coil, Salmonella enterica subsp. enterica* among *Houttuynia cordata*, yellow onion and red onion extracts.

The in vitro results showed the concentration-dependent effects on the expression of both filaggrin and

· 접수 : 2011년 11월 30일 · 수정접수 : 2012년 2월 10일 · 채택 : 2012년 2월 10일
* 교신저자 : 신헌태, 전남 나주시 대호동 동신대학교 한의과대학 예방의학교실
전화 : 061-330-3528, 팩스 : 061-330-3519, 전자우편 : goodomd@naver.com

SPT in HaCat cells among 0.01%, 0.05%, 0.1%, 0.5% extracts in *Houttuynia cordata* and red onion, reflecting the notion that Houttuynia cordata and red onion can induce epidermal keratinocyte differentiation and improve the recovery of skin barrier functions.

The concentration-dependent effects also have been shown on the expression of both COX-2 and AP-1 among 0.01%, 0.05%, 0.1%, 0.5% extracts in *Houttuynia cordata* and red onion, while slight effect in yellow onion.

Conclusion: Red onion juice could be a potential candidate enhanser for the skin care and cosmetology.

Key words : anti-bacterial, *Houttuynia cordata,* red onion, filaggrin, serine palmitoyltransferase (SPT), Cox-2, AP-1

I. 서 론

식물추출물이 항균활성을 갖고 있다는 사실은 이미 오래전부터 알려져 왔는데 그 중에서 대표적인 것이 바로 향신료로 이용되는 마늘, 양파, 정향 등이다.[1)]

어성초(魚腥草)는 (*Houttuynia cordata Thunb.*) 삼백초과에 속하는 다년생 초본의 야생약초로서 줄기는 가늘고 잎은 심장모양을 한 식물로서 약모밀, 십약, 집채 등으로 불리우며, 잎을 비비면 생선비린내와 같은 독특한 냄새를 발산한다고 하여, 어성초로 불리어졌다. 한방에서는 淸熱解毒 消癰排膿 利尿通淋의 효능이 있어, 肺癰, 熱痰咳喘, 급성기관지염, 소아폐렴, 腸炎 등에 활용된다.[2)]

어성초는 국내, 일본 및 중국에서 오랜 기간동안 소독제, 이뇨제, 해열제로 사용되었으며, 항균제, 항바이러스제제, 항염증제제로서 사용되어 왔다.[3)] 어성초의 항균효과와 관련해서는 박[4)]은 *Bacillus cereus(B. cereus), Escherichia coli (E. coli), Saccharomyces cerevisiae (S. cerevisiae)* 균주에서의 항균력을 보고하였고, 신[5)] 등은 어성초의 휘발성향기성분 추출물이 *Vibrio* 와 *Bacillus* 속의 세균들에 강한 항균활성을 보이나, *E. coli, Samonella typhi, E. cloaceae, Y. enterocolitica* 등에는 항균활성이 떨어진다고 보고하였다. 또한, 어성초의 성분 중 decanonyl acetaldehyde와 강력한 이뇨효과를 가진 quercitrin과 iso-quercitrin은 대장균, 곰팡이, 무좀균, 임균에 대하여 강력한 항균활성이 있는 것으로 알려져 있다.[6)] 또한 최[27)] 등은 어성초추출물이 함유된 보습제제를 사용한 그룹에서 피부소양증환자들의 주관적 소양감, 경표피수분손실, 각질층수분함량이 유의있는 개선을 보였다고 보고하였다.

양파(*Allium cepa* L.)는 백합과에 속하는 다년생 식물로 quercetin 등의 flavonoid물질이 풍부하여 다양한 생리적 기능을 가지고 있으며, 마늘과 함께 우리나라의 대표적인 향신료이다. 향신료들의 항균작용과 관련해서는, Ueda 등[7)]은 각종 향신료들의 항미생물작용에 관하여, 山下[8)]는 향신료를 이용한 천연보존제를 보고하였고, Al-Delaimy 등[9)]과 Johnson 등[10)] 그리고 Tansey[11)]는 마늘에서, Shama 등[12)]은 양파의 추출물로부터 항균활성을 연구 보고하였다. 또한, 양파의 항산화기능,[13)] 혈행개선효과,[14)] 혈중지질대사 개선효과[15)] 중금속제거효능[16)] 등이 알려져 있으며, 피부미용과 관련한 연구로는 권[20)] 등이 양파껍질 에탄올추출물에서 *P. acnes, B. subtilis, E. coli, P. aeruginosa* 등 피부상재균주에서 항균효과를 보고하였으나, 동일균주에 대해 양파생즙으로는 항균효과가 없음을 보고하였고, 김[17)] 등도 양파껍질 에탄올추출물의 피부상재균인 *P.*

*ovale, P. acnes, S. aureus*에 대한 항균활성을 보고하였다. 한편 자색양파와 관련한 연구로써, 정[19] 등은 Linoleic acid를 이용한 자동산화억제력이 일반양파에 비해 자색양파에서 더 높게 나타났다고 하였으나, 자색양파의 항균 피부미용과 관련한 연구는 미흡한 실정이다.

한편, 본 연구에서는 피부상재균에 대해 항균효과가 있으면서 동시에 다양한 피부미용효과를 갖고 있어, 미용재료로써의 가능성이 알려져 있는 어성초, 쇠비름, 양파껍질처럼 자색양파의 피부미용효과를 알아보기 위해 각질형성세포주의 filaggrin과 SPT의 발현을 분석하였다. Filaggrin은 각질형성세포가 분화단계에서 발현시키는 여러 구조 단백 중 하나로 표피의 기저층으로부터 각질층까지 분화가 이루어지도록 하는 데에 관여하며, 피부조직의 수분유지에 필수적인 천연보습인자(natural moisture factor, NMF)의 주체를 이루기도 해 피부의 수분유지 및 피부막기능의 주요한 지표로 사용된다.[28] SPT(serine palmitoyl transferase)는 denovo ceramide의 합성을 증가하여 sphingomyelin의 가수분해를 가속화하는 메카니즘을 통하여 ceramide의 합성을 촉진시킴으로써 피부 막 기능형성에 매우 중요한 역할을 하는 인자이다.[29]

따라서, 본 연구에서는 자색양파의 항균효과를 일반양파, 어성초와 비교하고, 피부장벽기능의 주요한 표지자로 활용되는 filaggrin과 SPT의 발현을 분석함으로써 자색양파의 항균효과와 피부미용기능재료로써의 가능성을 알아보고자 한다.

II. 실험 방법

1. 항균실험

1) 실험 재료

본 실험에 사용한 일반양파와 자색양파는 전남 함평군에 소재한 농산물 시장에서 현지 생산품을 구입하였으며 어성초는 농업법인 주식회사 미산에서 판매 중인 무농약으로 재배한 어성초를 사용하였다.

2) 시험 균주 및 배지

항균 실험에 사용된 배지로는 Nutrient Broth, Tryptic Soy, Bacto gar(이상, Becton & Dickinson U.S.A)를 사용하였다. 사용된 균주는 *Escherichia coil*(KCTC 2571), *Salmonella enterica subsp. enterica*(KCTC 2054), *Staphylococcus epidermidis*(KCTC 1917), *Staphylococcus aureus subsp.aureus*(ATCC 6538) 이며, 한국생명공학연구원 생명자원센터에서 구입하였다.

3) 재료 추출 방법

양파는 일반양파와 자색양파 두 가지로 분류하였고, 각각을 3가지 방법으로 추출하였다. 먼저, 겉껍질을 제거한 일반양파와 자색양파를 Hood mixer와 Homogenizer를 사용하여 분쇄하였다(A type extract : 분쇄 후 양파즙). 분쇄 후 고형물 여과는 한약탕전용 부직포(B type extract : 부직포여과 양파즙)와 원심분리기 방법(C type extract : 원심분리 양파즙)을 사용하였다. 어성초 시료는 구입한 어성초 100g을 물에 3~4회 정도 헹군 후 정제수 1L에 넣고 끓기 시작한 후 중간 불로 10~15분 가열하였다. 이것을 감압 필터여과하여 1% 어성추출액을 얻었다. 추가적으로 감압 농축하여 최종적으로 10% 어성추출액을 얻었다.

4) 균 접종 및 배양 후 균수 측정

실험에는 그람 음성균이며 식중독 관련 균 *E. coil, S. enterica*와 그람 양성균이며 피부상재균인 *S. epidermidis, S. aureus*를 사용하였다.

Nutrient agar(NA)에는 *E. coil, S. enterica, S. epidermidis*를 접종하고 Tryptic soy agar (TSA)에는 *S. aureus*를 접종하였다.

이것을 37℃ incubator에서 48시간 배양한 후 0.8% 생리식염수로 현탁하여 각 세균수가 10^5-10^6cells/ml이 되도록 준비하였다. 이때 어성초 추출물은 각각 0.05%(500mg/L), 0.1%(1,000mg/L), 0.5%(5,000mg/L), 1%(10,000mg/L), 양파추출물은 각각 1%(10,000mg/L), 5%(50,000mg/L), 10%(100,000mg/L. 이하 %로 표기) 농도로 희석하여, 각각의 균을 접종한 배지에 접종하여, 항균력 실험을 진행하였으며 접종 후 24시간 경과 후 균수 변화를 colony counting 방법으로 측정하였다. 즉, 배양 24시간 경과 후 대조시료 및 시험시료에서 균액을 일정량을 취해 생리식염수를 이용하여 10^0, 10^1, 10^2, 10^3, 10^4배로 희석시킨다. 이것으로부터 일정양을 채취하여 페트리 접시(Petri dishes)에 떨어뜨린 후 Nutrient agar 배지에 골고루 도말하고, (37±1)℃에서 24~48시간 동안 배양 후 페트리 접시의 colony 수를 계수하였다. 3회 반복실험하였다.

비고 : 시험시료와 대조시료에서의 균 증식의 차이가 크기 때문에 희석 배수를 달리 한 후 희석 배수에 따른 환산을 하였다.

$$\text{살균 감소율}(\%) = \frac{M_a - M_b}{M_a} \times 100$$

M_a : 24시간 배양 후 대조시료의 균수
M_b : 24시간 배양 후 시험시료의 균수

5) 통계처리

연구자료의 분석을 위해 통계패키지인 SPSS 14.0 프로그램을 이용하였으며, 등분산가정하에 $p<0.05$로 유의수준을 정하였다.

2. 피부세포 실험

1) 세포주 배양

실험에 사용한 각질형성세포주(Human kerationocyte HaCaT cell line)는 DMEM (Dulbeco's Modified Eagle's Medium) 배지에 10% fetal bovine serum(FBS ; Gibco CO., USA), 1% penicilin-streptomycin(Gibco Co., USA)을 첨가하여 37℃, 5% CO_2 조건하에서 배양하여 사용하였다. 세포를 75mm plate에 약 80%의 confluency에 도달할 때까지 배양하였다.

2) 추출물 처리 방법

시료는 각각 DW로 1%의 추출물 stock을 만들어 최종 농도가 0.01(100mg/L), 0.05(500mg/L), 0.1(10,00mg/L), 0.5%(5,000mg/L. 이하 %로 표기)가 되도록 처리하여 CO_2 배양기에 24시간 배양하였다. 대조군은 상기와 동일한 배지에서 시험 물질을 첨가하지 않은 상태로 배양한 것을 이용하였다.

3) Filaggrin과 Serine Palmitoyl Transferase (SPT) 발현 분석

Filaggrin의 발현을 평가하기 위하여 상기의 방법으로 배양 및 시험한 세포로부터 트리졸(Trizol, invitrogen CO., USA)을 이용하여 total RNA를 추출한 다음, one step RNA PCR kit(AMV) (Takara Bio Inc., Otsu, Japan)에서 제공되는 방법에 준하여 reverse transcriptase polymerase chain reaction(RT-PCR) 분석을 시행하였다. PCR amplification은 GeneAmp®PCR System 2700(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)을 이용하여 94℃에서 30초 동안 denaturation을 시킨 후, 60℃에서 30초 동안 annealing을 하고, 72℃에서 75초 동안 extension

이 되도록 하였다. 이때 amplification products는 filaggrin과 β-액틴(actin)이 각기 약 400bp와 300bp이다. 이때, 프라이머(primer)로는 filaggrin에 대한 프라이머(Bioneer Corp., Daejeon, Korea, 5′-GGTAGATAGATCTGGACACTCAGGG-3′)를 사용하였으며, internal control으로는 β-액틴을 이용하여 발현량을 비교하였다. 또한 SPT의 발현을 분석하기 위하여 SPT의 mRNA level은 Dorfman과 Lichtenstein의 방법에 따라 RT-PCR로 분석하였다. 상기의 방법으로 배양 및 시험한 세포로부터 트리졸을 이용하여 total RNA를 추출하고, First strand cDNA synthesis kit (Fermentas, Hanover, MD, USA)에서 제공되는 방법에 준하여 cDNA를 합성하였다. RT PCR은 1μl template, 10μl PCR master mix(Qiagen, Valencia, CA, USA), 1μl β-actin과 7μl 증류수로 총 부피를 20μl로 한 PCR mix로 PCR을 수행하였다. 그때의 조건은 denature(95℃, 15초), annealing, extension(60℃, 60초)으로 45 cycle을 수행하였으며 mRNA의 양은 comparative CT method를 이용하여 각각의 template의 변이에 기인하는 증폭양을 normalization하였고, 또한 house keeping gene인 β-actin을 각 유전자의 기준으로 정하여 정량을 유도해 내었고, 대조시료에서의 각 유전자를 calibrator로 정하여 정량을 하였다.

4) 단백질 추출 및 COX-2, AP-1의 Western 분석

COX-2와 AP-1의 발현을 평가하기 위하여 상기의 방법으로 배양 및 시험한 세포에 lysis buffer [0.1% TritonX-100, 20mM Tris-Cl(pH 7.4), 1mM EDTA, 1mM EGTA, 150mM NaCl]를 처리하여 단백질을 추출하였다. 30μg의 단백질을 10% SDS-polyacrylamide gel에 전기영동 한 후, nitrocellulose membrane으로 단백질을 이동시키고 COX-2, AP-1, Actin 부분의 membrane을 blocking solution(5% skimmilk in 1×T-TBS)으로 1시간 동안 blocking시킨다. 1차 항체를 4℃에서 12시간 반응시키고, 세척 후 2차 항체를 반응시킨 후 ECL western blotting detection system을 이용하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 어성초 추출물에 대한 항균력

어성초 추출물 농도는 각각 0.05%, 0.1%, 0.5%, 1%, 10%에 대해 실시하였고, 24시간 후 항균 결과를 나타내었다(Table 1).

이와 같이 어성초 추출물은 농도 0.05%, 0.1%, 0.5%, 1%에서는 *Escherichia coil*, *Salmonella enterica subsp*, *Staphylococcs epidermidis*, *Staphylococcus aureus* 모두 항균력 결과가 나타나지 않았으며, 농도 10%일 때 *Staphylococcs epidermidis*, *Staphylococcus aureus*에서만 항균력이 나타났다.

2. 양파 추출물에 대한 항균력

양파 추출물 농도는 일반양파, 자색양파별로 각각 1%, 5%, 10%에 대해 실시하여 24시간 후 항균 결과를 나타내었고 양파 추출 방법에 따라 다음 세 가지(A, B, C)로 분류하여 실험하였다.

1) A 추출 방법에 의한 항균력 결과(Table 2)

일반양파 추출물(A type)과 자색양파 추출물(A type)은 농도 1%, 5%, 10%에서 *Escherichia coil, Salmonella enterica subsp* 에서는 항균력 결과가 나타나지 않았으나, *Staphylococcs epidermidis, Staphylococcus aureus*에서는 양호한 항균력이 나타났다. 자색양파와 일반양파 추

Table 1. Antibacterial activity of *Houttuynia cordata* Thumb. against test strains

(Unit : CFU/ml)

Strains	Number of bacteria at beginning	Number of bacteria				
		0.05%	0.1%	0.5%	1%	10%
E. coil	3×10^5	3.2×10^5	3×10^5	3×10^5	2.9×10^5	2.8×10^5
S. enterica	5×10^5	5.1×10^5	5×10^5	4.8×10^5	4.2×10^5	3.5×10^5
S. epidermidis	1.2×10^4	1.3×10^4	1.1×10^4	1×10^4	1×10^4	0^*
S. aureus	2×10^6	2.1×10^6	2×10^6	1.7×10^6	1.6×10^6	0^*

* Exceeded 95% antibacterial activity

Table 2. Antibacterial activity of A type extracts from onions against test strains.

(Unit : CFU/ml)

Strains	Number of bacteria at beginning	Number of bacteria						p-value
		Yellow onion			Red onion			
		1%	5%	10%	1%	5%	10%	
E. coil	3×10^5	3.2×10^5	3×10^5	3×10^5	3.1×10^5	3×10^5	2.8×10^5	.653
S. enterica	5×10^5	5×10^5	5×10^5	4.9×10^5	5.1×10^5	5×10^5	4.8×10^5	.184
S. epidermidis	2×10^4	$6.8\times10^{2*}$	$6.5\times10^{2*}$	$2.8\times10^{2*}$	$6.2\times10^{2*}$	$6\times10^{2*}$	$1.1\times10^{2*}$	.532
S. aureus	5×10^6	$1\times10^{5*}$	$9\times10^{3*}$	0^*	$4\times10^{3*}$	$1.5\times10^{3*}$	0^*	$.020^{**}$

* Exceeded 95% antibacterial activity

** $p<0.05$

출물간의 항균력 차이는 S.aureus에서만 일반양파 추출물에 비해 자색양파 추출물의 항균력이 높았다($p<0.05$).

2) B 추출 방법에 의한 항균력 결과(Table 3)

일반양파 추출물(B type)과 자색양파 추출물(B type)은 농도 1%, 5%, 10%에서 *Escherichia coil, Salmonella enterica subsp* 에서는 항균력 결과가 나타나지 않았으나, *Staphylococcs epidermidis, Staphylococcus aureus* 에서는 양호한 항균력이 나타났다.

자색양파와 일반양파 추출물간의 항균력 차이는 S.epidurmidis에서만 일반양파 추출물에 비해 자색양파 추출물의 항균력이 높았다($p<0.05$).

3) C 추출 방법에 의한 항균력 결과(Table 4)

일반양파 추출물(C type)과 자색양파 추출물(C type)은 농도 1%, 5%, 10%에서 4가지 실험균주에서 모두 항균력 결과가 나타나지 않았다.

위 결과를 종합해 보면 추출 방법에 따른 양파 추출물의 항균력 결과 식중독균에서는 A, B, C 추출 방법 모두 항균력 결과를 나타내지 않았으며, A와 B 추출 방법에서만 피부상재균에서 90% 이상의 항균력 결과를 나타내었다. 그리고, 자색양파와 일반양파 추출물간의 항균력 차이는 S.aureus와 S.epidurmidis에서 일반양파 추출물에 비해 자색양파 추출물의 항균력이 높았다($p<0.05$). 결론적으로 C 추출 방법은 항균력이 없고, A와 B 추출 방법에서 항균력을 나타낸 것으로 미루어 양파의 항균력 성분은

Table 3. Antibacterial activity of B type extracts from onions against test strains.

(Unit : CFU/ml)

Strains	Number of bacteria at beginning	Number of bacteria						p-value
		Yellow onion			Red onion			
		1%	5%	10%	1%	5%	10%	
E. coil	5×10^5	5.3×10^5	5.1×10^5	5×10^5	5.1×10^5	5×10^5	5×10^5	.184
S. enterica	6×10^5	6.2×10^5	6.1×10^5	6×10^5	6.1×10^5	6×10^5	6×10^5	.561
S. epidermidis	1×10^4	$1\times10^{3\#}$	$1.2\times10^{2*}$	$5\times10^*$	$2\times10^{2*}$	0^*	0^*	.040**
S. aureus	2×10^6	3.8×10^5	$2.9\times10^{5\#}$	$1.9\times10^{5\#}$	3.5×10^5	$2.8\times10^{5\#}$	$1.5\times10^{5\#}$	.839

* Exceeded 95% antibacterial activity
\# Exceeded 85% antibacterial activity
** $p<0.05$

Table 4. Antibacterial activity of C type extracts from onions against test strains.

(Unit : CFU/ml)

Strains	Number of bacteria at beginning	Number of bacteria					
		Yellow onion			Red onion		
		1%	5%	10%	1%	5%	10%
E. coil	6×10^5	6.2×10^5	6×10^5	6×10^5	6×10^5	5.9×10^5	5.8×10^5
S. enterica	5×10^5	5×10^5	5.1×10^5	5×10^5	5.1×10^5	4.9×10^5	4.9×10^5
S. epidermidis	6×10^4	6.2×10^4	6×10^4	5.9×10^4	6.1×10^4	6×10^4	6×10^4
S. aureus	1.5×10^6	1.6×10^6	1.5×10^6	1.2×10^6	1.7×10^6	1.3×10^6	1×10^6

원심분리한 양파 액상추출물이 아닌, 양파 고형물에 존재한다고 사료된다.

3. 추출물이 세포 및 피부 장벽 조절 인자에 미치는 영향

1) 세포 양상 분석

추출물이 각질형성세포(Human keratinocyte HaCat cell line)에 미치는 영향을 알아보기 위하여 3가지 추출물을 농도를 다르게 처리하여 세포의 양상을 확인하였다. 3가지 추출물을 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5%를 처리하였을 때 세포 양상을 확인한 결과, 3가지 추출물의 농도가 증가하여도 세포가 죽지 않고 잘 살아있는 것을 확인하였으며, 가장 높은 농도인 0.5%인 경우에만, 각 추출물처리 세포에서 약 10% 정도 생존력이 감소하는 것을 확인하였다.

2) 추출물이 피부 장벽 조절 인자에 미치는 영향

추출물의 피부 장벽 기능 보호 작용 수준을 살펴보기 위해, 각질형성세포주를 이용하여, 피부장벽기능에 주요한 표지자로 활용되는 filaggrin과 SPT의 발현 mRNA level을 RT-PCR로 분석하였으며 그 결과를 Fig. 2에 나타내었다. Fig. 2(a)에서 알 수 있는 바와 같이, 어성초 추출물을 0.01, 0.05, 0.1, 0.5%로 처리하였을 때에 농도 의존적으로 filaggrin의 발현양과 SPT의

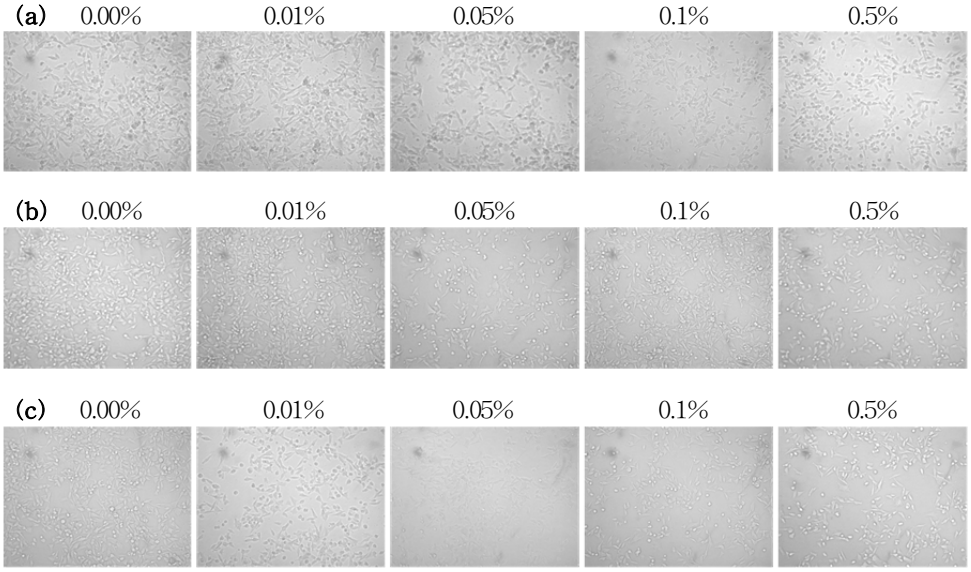

Fig.1. Viability of test cells by concentration of test extracts
(a) Extracts from *Houttuynia cordata* Thumb., (b) Extracts from Red onion, (c) Extracts from Yellow onion

발현양이 증가하였다. 또한, 자색양파 추출물을 0.01, 0.05, 0.1, 0.5%로 처리하였을 때 역시 농도 의존적으로 filaggrin과 SPT의 발현양이 증가하였다(Fig. 2(b)). 반면, 일반양파 추출물을 0.01, 0.05, 0.1, 0.5%로 처리하였을 때 농도 의존적으로 filaggrin과 SPT의 발현양이 증가하였으나, 어성초 추출물과 자색양파 추출물에 비하여 발현양이 많지 않았다(Fig. 2(c)).

3) 추출물이 피부 항염증 반응 인자에 미치는 영향

추출물이 피부 염증 반응 인자에 미치는 영향을 알아보기 위해서 COX-2의 발현과 COX-2의 transcription factor 중의 한 개인 AP-1의 발현을 western blotting으로 분석하였으며, 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. Fig. 3(a)에서 알 수 있는 바와 같이, 어성초 추출물을 0.01, 0.05, 0.1, 0.5%로 처리하였을 때에 농도 의존적으로 COX-2의 발현이 약간 감소하였고, AP-1 역시 농도가 증가함에 따라 그 발현양이 감소하였다. 또한 자색양파 추출물의 경우에도 0.01, 0.05, 0.1, 0.5%로 처리하였을 때에, COX-2의 발현과 AP-1발현이 농도 의존적으로 감소하였다(Fig. 3(b)). 하지만, 일반양파 추출물의 경우 0.01, 0.05, 0.1, 0.5%로 처리하였을 때 농도 의존적으로 COX-2와 AP-1의 발현이 감소하였으나, 어성초 추출물과 자색양파 추출물에 비하여 상대적 감소수준이 적었다(Fig. 3(c)).

Ⅳ. 고 찰

1. 일반양파와 자색양파의 항균력

일반적으로 천연물의 추출방법은 열수추출과

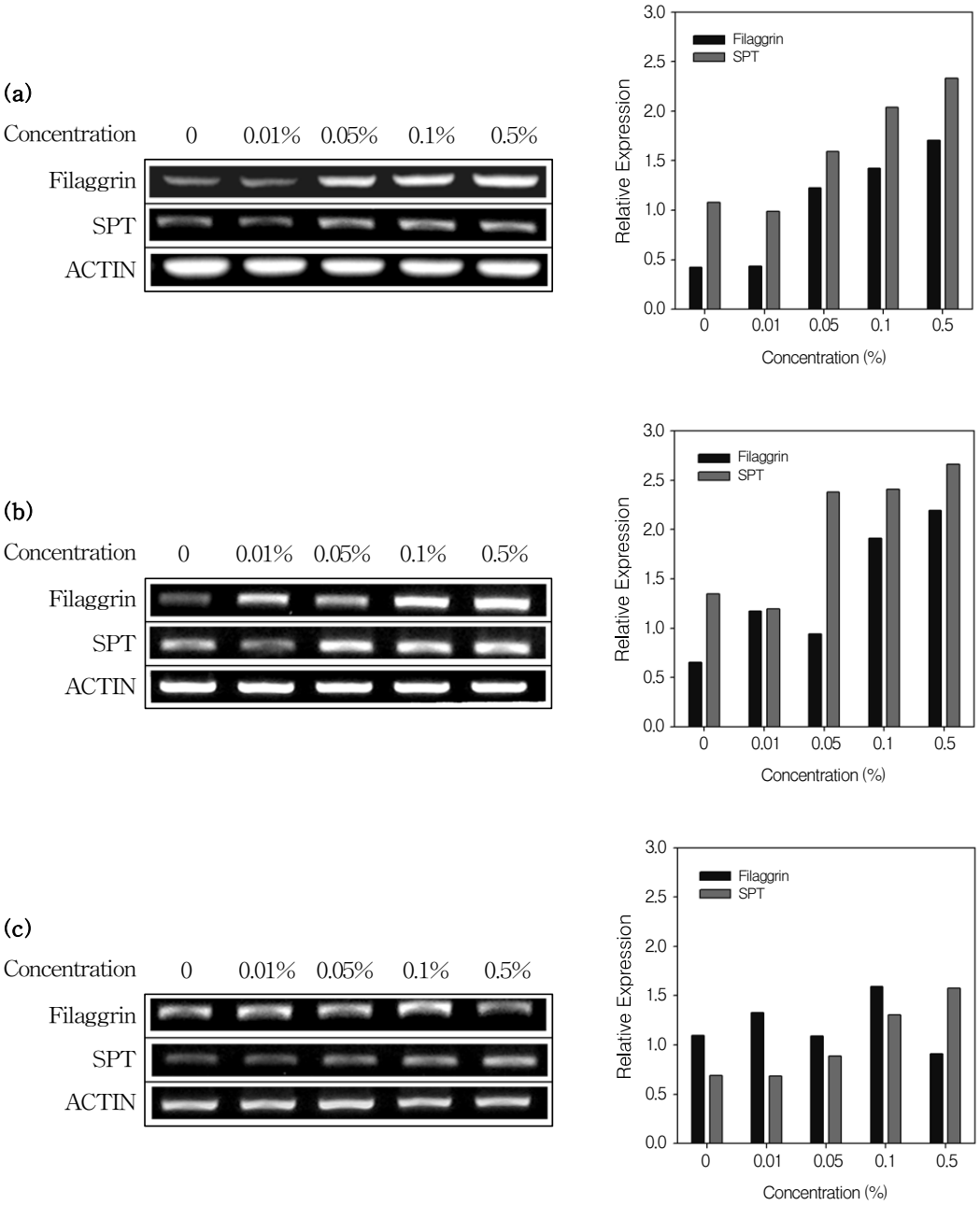

Fig.2. Expression of filaggrin and serine palmitoyltransferase (SPT) by concentration of test extracts
(a) Extracts from *Houttuynia cordata* Thumb., (b) Extracts from Red onion,
(c) Extracts from Yellow onion

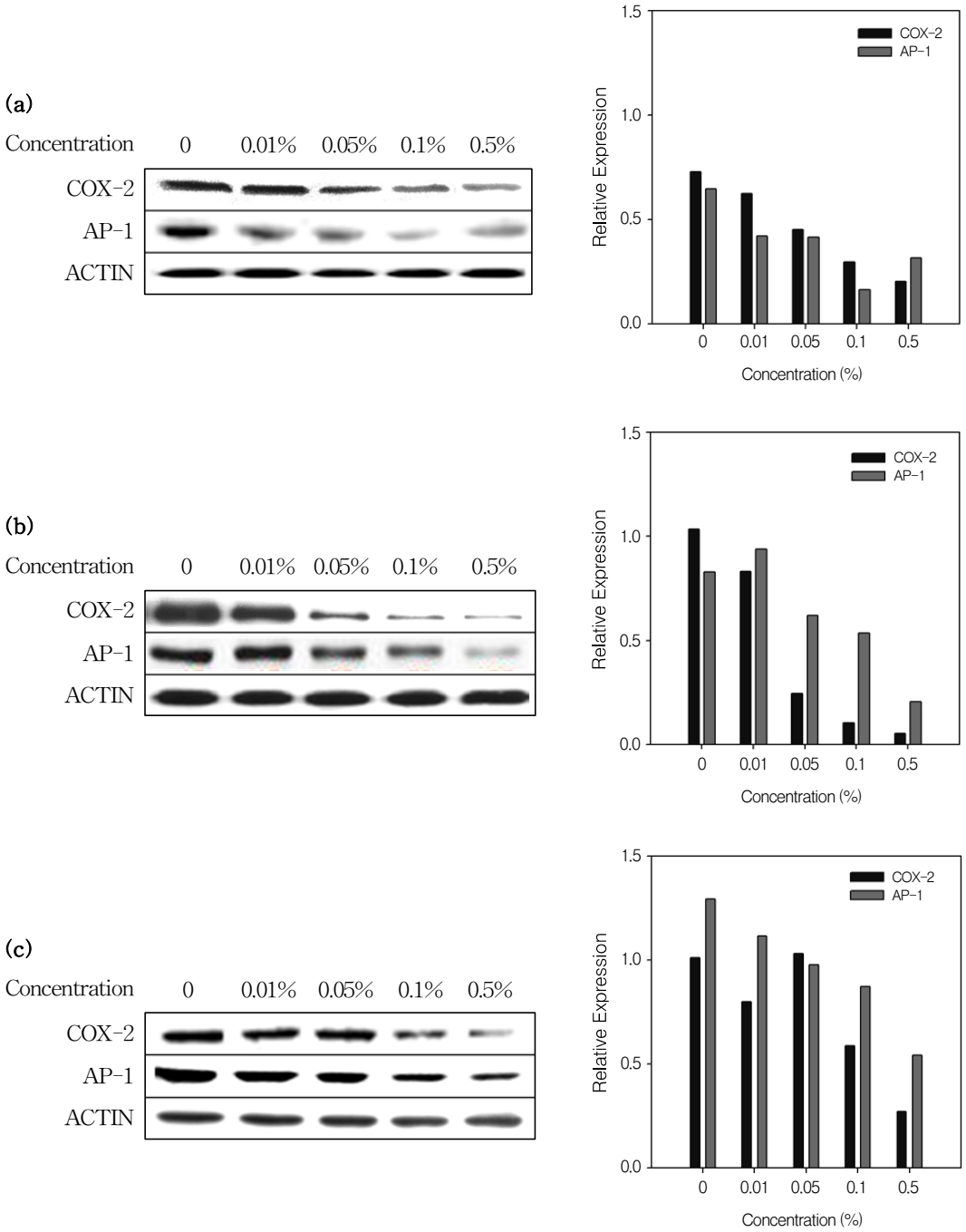

Fig.3. Expression of COX-2 and AP-1 by concentration of test extracts
(a) Extracts from *Houttuynia cordata* Thumb., (b) Extracts from Red onion,
(c) Extracts from Yellow onion

에탄올, 메탄올추출법이다. 추출이후의 활성물질 분획추출을 겸한다면, 열수추출보다는 에탄올 메탄올추출법이 다용된다. 본 연구에서는 자색양파를 일상생활에서의 활용가능성과 유효성분추출 목적보다는 천연물상태를 보전한 방법으로의 추출가능성을 염두에 두어, 세 가지 방법(A, B, C type)으로 추출하여 항균력을 검정하였다. 그 결과 식중독균인 *Escherichia coil, Salmonella enterica subsp* 에서는 A, B, C 추출 방법 모두 항균력을 보이지 않았으며, A와 B 추출 방법에서만 피부상재균인 *Staphylococcs epidermidis, Staphylococcus aureus* 에서 90% 이상의 항균력 결과를 나타내었다. 그리고, 자색양파와 일반양파 추출물간의 항균력 차이는 S.aureus와 S.epidurmidis에서 일반양파 추출물에 비해 자색양파추출물의 항균력이 높았다($p<0.05$). 양파의 항균효과가 S-methylcysteine과 S-n-propylcysteine 등의 함유황 아미노산에서 유래한다고 알려져 있으므로, 일반양파와 자색양파간의 항균활성물질추출연구를 통해 추후 밝혀질 수 있을 것이다. 한편, 원심분리기를 이용한 추출물은 항균력이 없고, A와 B추출물에서 항균력을 나타낸 것으로 미루어, 양파의 항균력 성분은 원심분리한 양파 액상추출물이 아닌, 양파 고형물에 존재한다고 사료된다.

2. 피부기능성 소재 연구

최근 피부미용계에서도 천연소재에 대한 관심이 증가하면서, 다양한 한약재와 식물을 활용한 연구가 증가하고 있다. 지금까지는 피부노화억제에 관한 연구가 가장 많으며, 그 다음으로 항균, 탈모, 세정, 자외선차단 등의 연구가 활발하다.[24] 천연소재로는 쇠비름, 어성초, 배초향, 당귀, 인삼 소엽, 감초, 상백피 등의 한약재와 녹차, 딸기, 옥수수, 쌀, 감자 등의 식재료 및 각종 정유류 등이 있으며, 새로운 천연소재개발이 활발한 편이다.[25]

이들 중 어성초, 쇠비름, 양파껍질 등은 피부상재균에 대해 항균효과가 있으면서 동시에 다양한 피부미용효과를 갖고 있어, 미용재료로써의 가능성이 알려져 있다. 피부상재균은 여드름, 모낭염 등을 일으키며, 이러한 외부적 손상으로 인해, 피부조직내에 물리적 생화학적 성상의 변화가 유발되어, 상피세포의 증식, 과색소침착, 과도한 활성산소의 형성을 통한 DNA 손상, 각종 효소와 단백질의 비정상적 활성화 등이 초래된다.[23] 이러한 피부 조직 내 변화는 외부물질의 피부흡수 및 수분증발을 조절하는 정상적인 피부장벽기능에 손상을 입힌다. Filaggrin은 각질형성세포가 분화단계에서 발현시키는 여러 구조 단백 중 하나로 표피의 기저층으로부터 각질층까지 분화가 이루어지도록 하는 데에 관여한다. 뿐만 아니라 filaggrin은 피부조직의 수분유지에 필수적인 천연보습인자(natural moisture factor, NMF)의 주체를 이루기도 해 피부의 수분유지 및 피부막기능의 지표로 사용된다.[28] SPT(serine palmitoyl transferase)는 denovo ceramide의 합성을 증가하여 sphingomyelin의 가수분해를 가속화하는 메카니즘을 통하여 ceramide의 합성을 촉진시킴으로써 피부막 기능형성에 매우 중요한 역할을 하는 인자이다.[29] 따라서 본 연구결과인, 자색양파 추출물과 어성초 추출물의 filaggrin발현증가 효능은 이들이 각질형성세포의 정상적인 분화를 촉진하고, 피부에서의 자연보습인자로 변환되는 filaggrin의 피부내 발현을 촉진함으로써 피부장벽기능을 개선할 수 있음을 나타낸다. 또한, 자색양파 추출물과 어성초 추출물에 의한 SPT 발현증가는 세포간 지질의 일종인 ceramide의 합성을 촉진하여 피부장벽보호효능을 나타낼 수 있음을 나타낸다. 반면, 일반양파 추출물도 filaggrin과 SPT의 발현양을 증가시켰으나, 어성초 추출물과 자색양파 추출물에 비하여 발현양이 많지 않았다.

COX는 cyclooxygenase와 peroxidase 활성을

모두 가지고 있는 효소이다. Cyclooxygenase 기능으로서 arachidonic acid를 prostagland로 변환하고, peroxidase기능으로서는 endoperoxide를 prostaglandin로 변환시키며, prostaglanin는 prostaglandins, thromboxane 및 prostacyclins의 전구체로 사용된다. COX-1은 모든 세포에 존재하면서, 정상세포의 항상성을 유지하며, Prostaglandin 합성에 필요한 효소로서 대부분의 정상세포에서는 발견되지 않으나, Prostaglandin이 증가된 염증세포와 암세포에서 주로 발견된다.[20] 따라서, COX-2의 발현억제물질은 염증과 암진행을 막는 긍정적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다.[21-22] 본 연구에서는 추출물이 피부염증 반응 인자에 미치는 영향을 알아보기 위해서 COX-2의 발현과 COX-2의 transcription factor 중의 한 개인 AP-1의 발현을 western blotting으로 분석하였으며, 그 결과, 어성초 추출물은 농도 의존적으로 COX-2의 발현이 약간 감소하였고, AP-1 역시 농도가 증가함에 따라 그 발현양이 감소하였다. 또한 자색양파 추출물의 경우에도 COX-2의 발현과 AP-1발현이 농도 의존적으로 감소하였다. 이는 어성초 추출물과 자색양파 추출물이 피부염증유발인자의 발현을 낮추어 항염증효과가 있음을 나타낸다.

V. 요 약

1. 추출방법, 추출농도에 따라 항균력의 차이가 있었으나, 일반양파, 자색양파의 1%, 5%, 10% 생즙추출물 모두, 피부상재균인 Staphylococcus epidermidis(KCTC1917), Staphylococcus aureus subsp(ATCC6538)에 양호한 항균력을 보였다(81%~100%). 어성초 열수추출물은 10% 고농도에서만 피부상재균인 Staphylococcus epidermidis(KCTC1917), Staphylococcus aureus subsp(ATCC6538)에 항균력을 보였다(100%).

2. 자색양파, 어성초, 일반양파의 1%, 5%, 10% 추출물 모두, 식중독 균인 Escherichia coil, Salmonella enterica subsp. enterica에서는 항균력을 보이지 않았다.

3. 자색양파 추출물과 어성초 추출물을 0.01%, 0.05%, 0.1%, 0.5%로 처리하였을 때, 피부장벽 조절인자인 filaggrin과 SPT의 발현을 농도 의존적으로 증가시켰다. 반면, 일반양파 추출물도 농도 의존적으로 filaggrin과 SPT발현양을 증가시켰지만, 자색양파 추출물에 비하여 발현양이 많지 않았다.

4. 피부 염증 반응 인자에 미치는 영향을 알아보기 위해서 COX-2의 발현과 AP-1의 발현을 분석한 결과, 자색양파와 어성초의 0.01%, 0.05%, 0.1%, 0.5% 추출물에서 농도 의존적으로 COX-2의 발현과 AP-1의 발현이 감소하였다. 반면 일반양파 추출물도 농도 의존적으로 COX-2의 발현과 AP-1의 발현이 감소하였으나, 자색양파 추출물에 비하여 감소양이 적었다.

5. 자색양파 추출물과 어성초 추출물은 피부장벽기능 조절인자인 filaggrin과 SPT의 발현양을 증가시켜 줌으로써, 피부의 수분 유지 기능을 강화하였고, 농도 의존적으로 피부 염증 반응 인자도 감소시켜 항염증효과가 있어, 피부미용기능재료로서의 가능성 보여주었다.

감사의 글

이 논문은 전라남도 함평군 지역특화사업 지원에 의하여 연구되었습니다. 감사드립니다.

Ⅳ. 참고문헌

1. Shin SE, Suh DS, Jung KR, Cha WS. Chemical characterization and antibacterial effect of volatile Flavor concentrate from Houttuynia cordata Thumb. J. Life Sci. 16(2) : 297-301. 2006

2. 본초학. 영림사. 1991
3. Lu H.M., Liang Y.Z., Yi L.Z., Wu X.J.. Anti-inflammatory effect of Houttuynia cordata injection. J. Ethnopharmacol. 104 : 245-249. 2006
4. Park HK. Study on the antimicrobial activity of Houttuynia cordata Thumb. Soon-cheon Univ. graduated school. 2002.
5. Lu H., W X., Liang Y., Zhang, J.. Variation in chemical composition and antibacterial activities of essential oils from two species of Houttuynia Thumb. Chem. Pharm. Bull. 54(7) : 936-940. 2006
6. Gardner, H. W., D. L. Dornbos, A. E. Desjardins. Hexanal, trans-2-hexenal and trans-2-nonenal inhibit soybean, Glycine amx, seed germination. J. Agric. Food Chem. 38 : 1316-1320. 1990
7. Ueda S., H. Yamashita, Y. Kuwabara, Inhibition of Clostridium boyuium and Bacillus sp. by spices and flavouring compounds. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi. 29 : 389-392. 1982
8. 山下晴美. 香辛料利用したう天然保存劑. New Food Industry. 27 : 35-41. 1985
9. Al-Delaimy, K.S., S.H. Ali, Antibacterial action of vegetable extracts on the growth of pathogenic bacteria, J. Food Agric. 21 : 110, 1970
10. Johnson, M.G., R.H. Vaughn, Death of Salmonella typhimurium and Escherichia coli in the presence of freshly reconstituted dehydrated garlic and onion, Appl. Microbiol. 17 : 903, 1969
11. Tansey, M.R., Inhibition of fungal growth by garic extract Mycologia. Appl. Microbiol. 67 : 409-413. 1975
12. Sharma, A., G.M. Tewari, A.J. Shrikhande, S.R. Padwal-Desai, C. Bandyopadhyay, Inhibition of aflatoxin producing fungi by onion extracts, J. Food Sci. 44 : 1545-1547. 1979
13. Campos KE, Diniz YS, Cataneo AC, Faine LA, Alves MJ, Novelli EL. Hypoglycaemic and antioxidant effects of onion, Allium cepa : dietary onion addition, antioxidant activity and hypoglycaemic effects on diabetic rats. Int J. Food Sci Nutr. 54 (3) : 241-246, 2003
14. Jung YS, Kim MH, Lee SH, Baik EJ, Park SW, Moon CH. Antithrombotic effect of onion in streptoxotocin-induced diabetic rat. Prostanglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids. 66(4) : 453-458, 2002
15. Woo HS, An BJ, Bae JH, Kim S, Choi HJ, Han HS, Choi C. Effect of biologically active fractions from onion on physiological activity and lipid metabolism. J. Korean Soc Food Sci Nutr. 32 (1) : 119-123, 2003
16. Sheo HJ, Lim HJ, Jung DL. Effect of onion juice on toxicity of lead in rat. J. Korean Soc Food Nutr. 22 : 138-143. 1993
17. Jeon HY, Kim JK, Kim WG, Lee SJ. Beneficial effect of curcumin on epidermal permeability barrier function in hairless rat. Korean J. Food Sci. Technol. 40(6) : 686-690. 2008
18. Kim JE, Kim AR, Kim MJ, Park SN. Antibacterial, Antioxidantive and Antiaging effects of Allium cepa peel extracts. Appl. Chem. Eng., 22(2) : 178-184, 2011
19. Jeong CH, Kim JH, Shim KH. Chemical Components of Yellow and Red Onion. J. Korean Soc Food Nutr. 35(6) : 708-712. 2006

20. Legan M. Cyclooxygenase-2, p53 and glucose transporter-1 as predictors of malignancy in the development of gallbladder carcinomas. Bosnian journal of basic medical sciences = Association of Basic Medical Sciences. 10(3) : 192-6. 2010
21. Menter D. G., Schilsky R. L., Dubois R. N.. Cyclooxygenase-2 and Cancer Treatment - Understanding the Risk Should Be Worth the Reward -. Clinical Cancer Research. 16(5) : 1384-90. 2010
22. Li Y., He W., Liu T., Zhang Q.. A new cyclo-oxygenase-2 gene variant in the Han Chinese population is associated with an increased risk of gastric carcinoma. Molecular diagnosis & therapy. 14(6) : 351-5. 2010
23. Jiang SJ, Chu AW, Lu ZF, Pan MH, Che DF, Zhou XJ. Ultraviolet B-induced alterations of the skin barrier and epidermal calcium gradient. Exp. Dermatol. 16 : 985-992. 2007
24. Rui Zhang, HJ Lee, YM Yoon, SM Kim, HS Kim, SH Li, SK An. The melanin inhibition, anti-aging and anti-inflammation effects of Portulaca oleracea extracts on cells. KSBB Journal. 24 : 397-402. 2009
25. ES Son. Development trend of cosmetic materials from natural substances. Tech. Trend Report. Kisti. 2003
26. CH Jeong, JH Kim KH Shim. Chemical componets of yellow and red onion. J. Korean Soc Food Sci Nutr. 35(6) : 708-712. 2006
27. Choi YH, Lee JS, Song CH, Kim JY, Lim HJ, Jang YH, Lee SJ, Kim DW. Clinical effects of spray type cool-moisturizer containing Houttuynia cordata extract on patients of atopy dermatitis and pruritus. Korean J. Dermatol. TS-7. 2011
28. Lim SW, Hong SP, Jeong SW, Kim B, Bak H, Ryoo HC, Lee SH, Ahn SK. Simultaneous effect of ursolic acid and oleanolic acid on epidermal permeability barrier function and epidermal keratinocyte differentiation via peroxisome proliferator-activated receptor-alpha. J. Dermatol. 34 : 625-634. 2007
29. Farrell AM, Uchida Y, Nagiec MM, Harris IR, Dickson RC, Elias PM, Holleran WM. UVB irradiation up-regulates serine palmitoyltransferase in cultured human keratinocytes. J. Lipid Res. 39 : 2031-2038. 1998