

## 화피, 석류피, 염부수백피 추출물의 항산화 및 항균 효과

김왕인<sup>1#</sup>, 김지은<sup>2</sup>, 이선희<sup>2</sup>, 문양선<sup>2</sup>, 이숙희<sup>2</sup>, 박수연<sup>1</sup>, 나창수<sup>1\*</sup>

1 : 동신대학교 한의과대학, 2 : 메디플랜

### Antioxidative and Antimicrobial Activities of Water- and Ethanol-Extracts from *Betula platyphylla* var. *japonica*, *Punica granatum* and *Rhus javanica*

Wangin Kim<sup>1#</sup>, Jieun Kim<sup>2</sup>, Seonhee Lee<sup>2</sup>, Yangsun Moon<sup>2</sup>, Sukhee Lee<sup>2</sup>, Sooyun Park<sup>1</sup>, Changsu Na<sup>1\*</sup>

1 : Oriental Medical School, 2 : Dongshin University; Medi-Plan

#### ABSTRACT

**Objectives** : This study was conducted to measure the antioxidative and antimicrobial activities of water- and ethanol-extracts from *Betula platyphylla* var. *japonica*, *Punica granatum* and *Rhus javanica* against various species of anaerobic bacteria.

**Methods** : In order to evaluate the antioxidative and antimicrobial activities of water- and ethanol-extracts, DPPH radical scavenging and superoxide dismutase (SOD)-like activities were measured in various species such as *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* and *Propionibacterium acnes* that induce skin inflammation. Also the total amount of phenol in each water- and ethanol-extract was measured to identify its role in the antioxidative and antimicrobial activities of water- and ethanol-extracts from *Betula platyphylla* var. *japonica*, *Punica granatum* and *Rhus javanica*. The antibacterial activity of the extracts was measured by confirming the lowest concentrations in disk diffusion and minimum inhibitory concentration (MIC) tests.

**Results** : It was observed that RJE (*Rhus javanica*-EtOH extracts) show the highest content of total phenol. In addition, for RJE the total phenol content was higher from samples taken from domestic sources than from samples taken from foreign sources. DPPH radical scavenging activity was increased by treatment with PGE (*Punica granatum*-EtOH extracts), RJE and RJW (*Rhus javanica*-water extracts). It was observed that SOD-like activity was highest in the treatment with PGE. All of the extracts showed antimicrobial activity on *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. acnes* and *E. coli*, including those from *Punica granatum*, and it was noted that the activity was higher with RJE than with RJW.

**Conclusions** : These results provide evidence that ethanol extracts of *Punica granatum* and *Rhus javanica* may have a beneficial role as antioxidants and antibiotics. Extracts from domestic samples of *Betula platyphylla* var. *japonica* appeared to have a greater efficacy than extracts from foreign samples.

**Key words** : Antimicrobial activity, Antioxidative effect, *Betula platyphylla* var. *japonica*, *Punica granatum*, *Rhus javanica*

#### 서론

피부는 외부환경과 가장 밀접하게 연관되어 있는 기관으로 외부로부터 인체를 보호하는 중요한 역할을 담당하고 있다<sup>1)</sup>.

여드름은 청소년기에 집중적으로 나타나면서 외모에 관심이 많은 학생들 사이에서 여드름에 관한 치료와 관리에 대하여 많은 노력을 기울이고 있다. 그러나 최근에는 청소년기에 한정되어 나타나는 증상이 아니라, 나이가 들어가면서 중년, 노

\*교신저자 : 나창수, 전남 나주시 대호동 252번지 동신대학교 한의과대학 경혈학교실  
· Tel : 061-330-3522 · E-mail : csna@dso.ac.kr  
#제1저자 : 김왕인, 전남 나주시 대호동 252번지 동신대학교 한의과대학 경혈학교실  
· Tel : 061-330-3522 · E-mail : wnanto9@naver.com  
· 접수 : 2013년 4월 29일 · 수정 : 2013년 5월 22일 · 채택 : 2013년 5월 27일

년층에서도 여드름이 유발되어 나타나고 있다. 여드름은 일반적으로 호르몬과 외부적 영향에 의해 피지가 모낭관 밖으로 배출되지 못하여 피부모공이 막힌 경우, 피부 상재균의 증식에 의해 야기되는 것으로 알려져 있으며, 또한 여드름균인 *P. acnes*의 모낭 증식 및 유전적 소질 등의 주요인자가 복합적으로 작용하여 나타나는 것으로 알려져 있다<sup>2)</sup>. 현재 여드름에 대한 치료에는 테트라사이클린, 에리트로마이신, 클린다미아 이신등이 사용되고 있으나<sup>1,2)</sup>, 내복항균제 및 항생제의 과도한 복용으로 여드름 치료제의 부작용이 끊이지 않은 문제점으로 제기되고 있다.

화피는 화목과에 속하는 낙엽교목인 자작나무 및 만주자작나무의 수피로 宋代《開寶本草》에 최초로 수록되었으며 화목피라고도 한다<sup>3)</sup>. 화피는 청열, 해독, 리습, 소종, 거담, 지해 등의 효능이 있어 열독, 황달, 유옹, 폐풍독, 응절매독, 피부 발진, 급성편도선염, 폐염, 신염, 치주염, 외상감염, 요로감염, 만성기관지염, 장염, 이질, 간염, 방광염, 설사, 기전, 습진, 양진, 응절종독 등의 증상을 치료하는 것으로 나타나 주로 염증성질환이나 피부질환에 많이 응용된다<sup>4-6)</sup>. 《東醫寶鑑》<sup>7)</sup>에 기록되어있는 화피가 포함된 처방 중에서 화피음자와 화피산은 창양과 응저에 사용되어 이는 화피가 주로 피부의 염증 치료에 관련되어있음을 시사한다.

석류피는 석류과에 속하는 석류나무의 뿌리, 줄기 또는 가지의 껍질을 말린 것으로 장을 수렴하고 지혈하며 구충하는 효능이 있으며 설사, 혈변, 탈항, 활정, 자궁출혈, 백대하, 충으로 인한 복통 개선을 치료하며, 세균성 이질과 각종 감염성 염증을 치료한다. 석류피의 성분 중 알칼로이드인 펠레티에린, 이소펠레티에린, 프로세우도 펠레티에린 등이 조충작용 발휘하며, 적리균을 비롯한 일련의 미생물에 대한 억제 작용을 나타낸다<sup>8,9)</sup>.

염부수백피는 옷나무과 식물 염부목의 코르크층을 제거한 나무 껍질로 붉나무수피와 같은 기원으로 부스럼을 씻는 작용이 있으며, 혈리, 종독, 창개, 악창을 치료하는데 사용된다<sup>9)</sup>.

안 등은 화피의 항산화 효과에 관하여 확인하였으며<sup>10)</sup>, 유 등은 석류피의 에탄올추출물을 활용하여 항균활성을 확인하였으며<sup>11)</sup>, 정 등은 붉나무 수피의 유효 성분들을 분리 및 동정하였다<sup>12)</sup>.

본 연구에서는 화피, 석류피, 염부수백피의 열수추출물 및 에탄올추출물의 항산화 및 항균 효과 관찰을 위하여 총 페놀 함량, 항산화 활성 및 항균효과를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

#### 1) 시료

본 실험에 사용한 화피 국산, 화피 중국산, 석류피 국산, 염부수백피 국산 시료는 (주)한약사랑(한국)으로부터 구입하여 활용하였다.

#### 2) 실험 균주 및 배양

본 실험에 사용한 균주는 피부에 염증을 유발시키는 균주로

*Staphylococcus epidermidis* (KCTC 1917), *Staphylococcus aureus* (KCTC 1927), *Escherichia coli* (KCTC 2571)은 NB/NA배지에서 37℃ aerobic상태로, *Pseudomonas aeruginosa* (KCTC 1637)은 NB/NA배지에서 25℃ aerobic상태로, *Candida albicans*(KCTC 7965)은 YMB/YMA배지에서 37℃ aerobic상태로, *Propionibacterium acnes* (KCTC 3314)은 RCMB/RCM배지에서 37℃ anaerobic상태로 각각 배양하였다.

## 2. 실험 방법

### 1) 추출방법

화피 국산, 화피 중국산, 석류피 국산, 염부수백피 국산의 70% 에탄올추출물(이하 에탄올추출물로 표기)을 획득하기 위하여 먼저, 건조된 한약재를 파쇄하여 건조중량의 10배의 70% 에탄올을 각각 첨가하여 실온에서 24 hr 동안 추출하였다. 추출액은 거름망으로 거른 후 회수 하였으며, 본 공정을 2회 반복하여 1차적으로 여과된 추출액을 얻었다. 1차적으로 여과된 70% 에탄올 추출액은 다시 5 µm filter paper(Advantec, No. 2)를 이용하여 여과한 후 40℃에서 감압 농축하여 에탄올 제거 및 5배 농축하였다. 농축된 추출물은 동결건조를 용이하게 하기 위하여 20~25 brix로 조정하여 -80℃에서 12~24 hr 동안 동결건조하여 분말상태로 만들어 -20℃에 냉동보관 하면서 사용하였다.

화피 국산, 화피 중국산, 석류피 국산, 염부수백피 국산의 열수추출물을 획득하기 위하여 일반적으로 사용되어지는 열수추출법을 이용하였다. 먼저 파쇄하여 한약재 중량의 10배의 증류수를 가하여 100℃에서 2시간 추출하였다. 추출된 액은 거름망으로 거른 후 회수하였으며, 이와 같은 공정을 2회 반복하여 1차적으로 여과된 열수 추출액을 얻었다. 1차적으로 여과된 열수 추출액은 다시 5 µm filter paper(Advantec, No. 2)를 이용하여 여과한 후 40℃에서 5배 감압 농축하였다. 농축한 추출물은 -80℃에서 12~24 hr 동안 동결건조하여 분말상태로 만들어 -20℃에 냉동보관하면서 사용하였다.

### 2) 균 분류

추출 방법에 따라 화피 국산 에탄올추출물(BKE : *Betula platyphylla* var. *japonica* in Korea-70% EtOH extract), 화피 국산 열수추출물(BKW : *Betula platyphylla* var. *japonica* in Korea-hot water extract), 화피 중국산 에탄올추출물(BCE : *Betula platyphylla* var. *japonica* in China-70% EtOH extract), 화피 중국산 열수추출물(BCW : *Betula platyphylla* var. *japonica* in China-hot water extract), 석류피 국산 에탄올추출물(PGE : *Punica granatum* in Korea 70% EtOH extract), 석류피 국산 열수추출물(PGW : *Punica granatum* in Korea-hot water extract), 염부수백피 국산 에탄올추출물(RJE : *Rhus javanica* in Korea-70% EtOH extract), 염부수백피 국산 열수추출물(RJW : *Rhus javanica* in Korea-hot water extract)로 나누어 분석을 시행하였다.

### 3) 총 페놀 함량 측정

각 한약재 추출물의 총 페놀 함량 측정은 Folin-Denis 방

법<sup>13)</sup>을 변형하여 사용하였다. 각 한약재 시료를 증류수에 녹여 100 µg/ml 농도가 되게 만들어 그 중 200 µl를 취한 후, 10% Sodium carbonate(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 용액 800 µl 가하여 실온에서 3분간 방치한 후, 2N Folin-ciocalteu 시약 400 µl를 가하여 이 혼합액을 1시간 동안 상온에서 방치하였다. 상온에서 1시간 동안의 반응이 끝난 혼합액은 UV/VIS spectrophotometer(SE-3100, ABBOTA, USA)을 사용하여 750nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 mg/100 g gallic acid equivalents(GAE) 단위로 나타내었으며, 각 한약재 추출물에 대한 실험은 최소 3회 이상 반복실험을 수행하였다.

4) DPPH 라디칼 소거 활성(DPPH radical scavenging activity) 측정

DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 소거 반응은 보편적인 항산화 rator법으로 특히 페놀과 aromatic amine 화합물의 항산화 활성 측정에 많이 사용되는 방법이다. 각 한약재 추출물의 전자공여능은 Biosis 방법<sup>14)</sup>을 변형하여 측정하였다. 즉, 시료 100 µl에 무수에탄올 500 µl, 2×10<sup>-4</sup>M DPPH 용액 400 µl를 가하여 30분간 실온에서 반응한 후 분광광도계를 이용하여 525nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때, 전자공여능은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 구하였다.

$$DPPH\ radical\ scavenging\ activity(\%) = \frac{(A_{control} - A_{sample})}{A_{control}} \times 100$$

A control : 시료 무첨가구의 흡광도 값  
 A sample : 시료 첨가구의 흡광도 값

5) SOD(Superoxide dismutase) 유사활성 측정

Superoxide dismutase 유사활성은 MarKlund 등의 방법<sup>15)</sup>에 따라 행하였다. 각 시료액 0.2ml에 0.2 M Tris-HCl buffer(pH 8.5) 3 ml, 7.2 mM pyrogallol 0.2ml를 혼합하여 25 °C에서 10분간 반응 시킨 후 1N HCl 1ml를 가하여 반응을 정지시키고 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$SOD-like\ activity(\%) = \frac{(A_{control} - A_{sample})}{A_{control}} \times 100$$

A control : 시료 무첨가구의 흡광도 값  
 A sample : 시료 첨가구의 흡광도 값

6) 디스크 확산법(Disc diffusion assay)에 의한 항균활성

각 추출물의 항균활성 검토를 위하여 paper disc 법을 사용하였다. 활성이 가장 우수한 시간대의 각 균주 현탁액(106 CFU/ml)을 제조하여 각 균주의 고체배지에 각각 100 µl씩 분주하여 멸균된 삼각병을 이용하여 도말하였다. 도말 후 건조된 배지에 멸균된 8 mm paper disc (ADVANTEC, Japan)를 올려 추출물을 분주하여 각 균주배양 조건에 맞추어 배양하였다. 그 후 disc 주위의 성장 저지환(clear zone)의 형성 유무를 확인 및 크기를 측정하였다.

7) 최소저해농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 평가

각 추출물의 미생물에 대한 최소저해 농도 실험은 Andrew 법을 변형하여 사용하였다. 각각의 균 농도를 106 CFU/ml이 되도록 조절하여 tube에 50 µl분주한 후 추출물을 각 농도별로 50µl, 액체 배지 900µl처리하여 각각의 배양 배지와 조건에서 배양한 후 미생물 증식여부를 확인 및 균 배양액의 탁도를 측정하여 저해 활성을 분석하였다.

3. 통계 분석

본 연구의 통계학적 분석은 SPSS 21.0 version for windows를 사용하였다. 각 군간의 통계학적 분석은 One way ANOVA test를 시행하였고, 유의한 차이가 있는 경우 사후검정은 Scheffe's test를 시행하였으며, 유의수준은 p<0.05로 설정하여 검정하였다.

결 과

1. 총 페놀 함량

화피-국산 열수추출물의 페놀 함량은 259.8±4.50 mg/100g, 화피 국산 에탄올추출물의 페놀 함량은 123.6±2.69 mg/100g으로 열수추출물이 에탄올추출물 보다 약 2배 정도 페놀성 물질의 함량이 더 많은 것으로 나타났다. 화피 중국산 열수추출물의 페놀 함량은 79.0±1.08 mg/100g, 화피 중국산 에탄올추출물의 페놀 함량은 83.3±1.04 mg/100g으로 에탄올추출물이 열수추출물보다 다소 많은 것으로 나타났다. 석류피 열수추출물의 페놀 함량은 242.4±4.53 mg/100g, 석류피 에탄올추출물의 페놀 함량은 187.0±3.56 mg/100g으로 열수추출물이 더 많은 것으로 나타났다. 염부수백피 열수추출물의 페놀 함량은 381.3±6.14 mg/100g, 염부수백피 에탄올추출물의 페놀 함량은 710.3±7.10 mg/100g으로 에탄올추출물이 약 2배 정도 페놀성 물질의 함량이 더 높은 것으로 나타났다. 사후검정 결과, 화피 중국산 에탄올추출물과 화피 중국산 열수추출물을 제외한 모든 군에서 유의한 차이가 있었다(p<0.001) (Table 1).

Table 1. The total phenolic content of 70% EtOH & water extract in *Betula platyphylla* var. *japonica*-Korea, *Betula platyphylla* var. *japonica*-China, *Punica granatum* and *Rhus javanica*

Groups	Total Phenolic Content				
	Mean	SD	F-value	P-value	Post Hoc Analysis : Scheffe test
BKE	123,6	2,69	9245,50	<0,001	described bellow †
BKW	259,8	4,50			
BCE	83,3	1,04			
BCW	79,0	1,08			
PGE	187,0	3,56			
PGW	242,4	4,53			
RJE	710,3	7,10			
RJW	381,3	6,14			

† : A significant difference in all groups except BCE and BCW.  
 BKE : *Betula platyphylla* var. *japonica* in Korea-70% EtOH extract, BKW : *Betula platyphylla* var. *japonica* in Korea-hot water extract, BCE : *Betula platyphylla* var. *japonica* in China-70% EtOH extract, BCW : *Betula platyphylla* var. *japonica* in China-hot water extract, PGE : *Punica granatum* in Korea-70% EtOH extract, PGW : *Punica granatum* in Korea-hot water extract, RJE : *Rhus javanica* in Korea-70% EtOH extract, RJW : *Rhus javanica* in Korea-hotwater extract.

## 2. DPPH 라디칼 소거 활성(DPPH radical scavenging activity)

화피 국산 열수추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은  $22.5 \pm 0.23\%$ , 화피 국산 에탄올추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은  $45.1 \pm 0.25\%$ 를 나타내었다. 화피 중국산 열수추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은  $13.5 \pm 0.19\%$ , 화피 중국산 에탄올추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은  $8.1 \pm 0.11\%$ 를 나타내었다. 석류피 열수추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은  $94.2 \pm 0.33\%$ , 석류피 에탄올추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은  $72.4 \pm 0.30\%$ 를 나타내었다. 염부수백피 열수추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은  $90.7 \pm 1.34\%$ , 염부수백피 에탄올추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은  $93.5 \pm 0.50\%$ 를 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거 활성은 화피 국산 열수추출물이 화피 중국산 열수추출물 보다 높은 활성을 보였으며, 에탄올추출물 보다 열수추출물이 더 높은 활성을 보여 앞선 폐놀함량 결과와 일치함을 나타내었으며, 또한 석류피 에탄올추출물이 석류피 열수추출물보다 높은 활성을 나타내었고, 염부수백피의 경우 열수추출물 및 에탄올추출물 모두 90% 이상의 우수한 활성을 보여 기존의 항산화 물질로 알려진 ascorbic acid와 유사한 DPPH 라디칼 소거 활성을 나타내었다. 사후검정 결과, 석류피 에탄올추출물, 염부수백피 에탄올추출물, ascorbic acid의 군간 차이는 없었으며, 나머지 군들은 모두 유의한 차이를 나타내었다( $p < 0.001$ ) (Table 2).

Table 2. The DPPH radical scavenging activity of 70% EtOH & water extract in *Betula platyphylla* var. japonica-Korea, *Betula platyphylla* var. japonica-China, *Punica granatum* and *Rhus javanica*

Groups	DPPH Radical Scavenging Activity				Post Hoc Analysis : Scheffe test
	Mean	SD	F-value	P-value	
BKE	22,5	0,23	27711,76	<0,001	described below †
BKW	45,1	0,25			
BCE	13,5	0,19			
BCW	8,1	0,11			
PGE	94,2	0,33			
PGW	72,4	0,30			
RJE	94,3	1,09			
RJW	90,7	1,34			
ASA	93,5	0,50			

† : A significant difference in all groups except PGE, RJE and ASA, BKE : *Betula platyphylla* var. japonica in Korea-70% EtOH extract, BKW : *Betula platyphylla* var. japonica in Korea-hot water extract, BCE : *Betula platyphylla* var. japonica in China-70% EtOH extract, BCW : *Betula platyphylla* var. japonica in China-hot water extract, PGE : *Punica granatum* in Korea-70% EtOH extract, PGW : *Punica granatum* in Korea-hot water extract, RJE : *Rhus javanica* in Korea-70% EtOH extract, RJW : *Rhus javanica* in Korea-hotwater extract, ASA : Ascorbic acid.

## 3. SOD(Superoxide dismutase) 유사활성

화피 국산 열수추출물의 SOD 유사활성은  $11.0 \pm 0.25\%$ , 화피 국산 에탄올추출물의 SOD 유사활성은  $9.5 \pm 0.23\%$ 를 나타내었다. 화피 중국산 열수추출물의 SOD 유사활성은  $5.0 \pm 0.15\%$ , 화피 중국산 에탄올추출물의 SOD 유사활성은  $4.5 \pm 0.31\%$ 를 나타내었다. 석류피 열수추출물의 SOD 유사활성은  $21.0 \pm 0.76\%$ , 석류피 에탄올추출물의 SOD 유사활성은  $17.0 \pm 0.27\%$ 를 나타내었다. 염부수백피 열수추출물의 SOD 유사활성은  $18.0 \pm 0.37\%$ , 염부수백피 에탄올추출물의 SOD

유사활성은  $14.0 \pm 0.31\%$ 를 나타내었다. SOD 유사활성의 경우 DPPH 라디칼 소거 활성과는 달리 석류피 에탄올추출물의 활성이 가장 높았으며, 석류피 열수추출물의 경우 그 다음의 활성을 나타내었다. 화피의 경우, 화피 국산 추출물들이 화피 중국산 추출물들 보다 높은 활성을 나타내었다 사후검정 결과, 화피 중국산 에탄올추출물과 화피 중국산 열수추출물을 제외한 모든 군에서 유의한 차이가 있었다( $p < 0.001$ ) (Table 3).

Table 3. The SOD-like activity of 70% EtOH & water extract in *Betula platyphylla* var. japonica-Korea, *Betula platyphylla* var. japonica-China, *Punica granatum* and *Rhus javanica*

Groups	SOD-like Activity				Post Hoc Analysis : Scheffe test
	Mean	SD	F-value	P-value	
BKE	11,0	0,25	2098,02	<0,001	described below †
BKW	9,5	0,23			
BCE	5,0	0,15			
BCW	4,5	0,31			
PGE	21,0	0,76			
PGW	17,0	0,27			
RJE	18,0	0,37			
RJW	14,0	0,31			

† : A significant difference in all groups except BCE and BCW, BKE : *Betula platyphylla* var. japonica in Korea-70% EtOH extract, BKW : *Betula platyphylla* var. japonica in Korea-hot water extract, BCE : *Betula platyphylla* var. japonica in China-70% EtOH extract, BCW : *Betula platyphylla* var. japonica in China-hot water extract, PGE : *Punica granatum* in Korea-70% EtOH extract, PGW : *Punica granatum* in Korea-hot water extract, RJE : *Rhus javanica* in Korea-70% EtOH extract, RJW : *Rhus javanica* in Korea-hotwater extract.

## 4. 디스크 확산법(Disc diffusion assay)에 의한

### 항균활성

각 한약재 추출물에 대하여 피부 상재균 중 피부에 염증을 유발할 수 있는 *S. epidermidis*, *S. aureus*, 여드름 유발 원인균인 *P. acnes* 등에 관한 항균활성 실험 결과 Table 4와 같다. *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. acnes* 균에 대하여 모든 추출물이 활성을 나타내었으나, 석류피 에탄올추출물과 염부수백피 에탄올추출물이 비교적 우수한 활성을 나타내었다. 국산 화피추출물의 경우 수입 화피추출물과 비교하여 높은 clear zone을 형성하였으나, 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 4).

Table 4. The anti-bacteria effect of water extract & 70% EtOH extract in *Betula platyphylla* var. japonica-Korea, *Betula platyphylla* var. japonica-China, *Punica granatum* and *Rhus javanica*

(단위 : mm)

	BKE	BWK	BCE	BCW	PGE	PGW	RJE	RJW
<i>S. epidermidis</i>	0,9	0,5	0,7	0,2	5,7	3,2	5,3	1,5
<i>S. aureus</i>	1,2	1	1,0	0,7	6,2	4	6	2
<i>P. acnes</i>	1	0,8	1,1	0,8	5,2	1,8	5,8	2,4
<i>E. coli</i>	1	0,8	-	-	5	2	7	3,8
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	0,3

BKE : *Betula platyphylla* var. japonica in Korea-70% EtOH extract, BKW : *Betula platyphylla* var. japonica in Korea-hot water extract, BCE : *Betula platyphylla* var. japonica in China-70% EtOH extract, BCW : *Betula platyphylla* var. japonica in China-hot water extract, PGE : *Punica granatum* in Korea-70% EtOH extract, PGW : *Punica granatum* in Korea-hot water extract, RJE : *Rhus javanica* in Korea-70% EtOH extract, RJW : *Rhus javanica* in Korea-hotwater extract.

### 5. 최소저해농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 평가

각 추출물의 균주에 대한 최소저해 농도 평가를 위하여 각 추출물을 농도별로 처리한 결과, 피부 상재균이나 피부 상태에 따라 염증을 유발할 수 있는 *S. epidermidis*, *S. aureus*, 여드름 유발 균인 *P. acnes*, *E. coli* 균을 대상으로 화피 추출물의 경우 국내산 및 중국산 모두 에탄올추출물이 MIC 값이 더 낮게 나타났다. 또한 화피 국산 추출물이 화피 중국산 추출물 보다 최소저해농도가 더 낮게 나타나서, 디스크 확산법과 유사한 결과를 보였다. *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. acnes* 및 *E. coli* 균에 대한 MIC 측정 결과 석류피 및 염부수백피 추출물이 우수한 MIC 농도를 나타내었다. 특히, 염부수백피 에탄올추출물과 석류피 에탄올추출물이 낮은 농도를 나타내었다(Table 5).

Table 5. The Minimum Inhibitory Concentration of water extract & 70% EtOH extract in *Betula platyphylla* var. *japonica*-Korea, *Betula platyphylla* var. *japonica*-China, *Punica granatum* and *Rhus javanica*

(단위 :mg/ml)

	BKE	BWK	BPE	BPW	PGE	PGW	RJE	RJW
<i>S. epidermidis</i>	8×10 <sup>-1</sup>	- <sup>a</sup>	9×10 <sup>-1</sup>	- <sup>a</sup>	8×10 <sup>-2</sup>	3×10 <sup>-1</sup>	8×10 <sup>-2</sup>	6×10 <sup>-1</sup>
<i>S. aureus</i>	7×10 <sup>-1</sup>	8×10 <sup>-1</sup>	8×10 <sup>-1</sup>	9×10 <sup>-1</sup>	6×10 <sup>-2</sup>	3×10 <sup>-1</sup>	4×10 <sup>-2</sup>	4×10 <sup>-1</sup>
<i>P. acnes</i>	7×10 <sup>-1</sup>	9×10 <sup>-1</sup>	9×10 <sup>-1</sup>	9×10 <sup>-1</sup>	4×10 <sup>-1</sup>	5×10 <sup>-1</sup>	4×10 <sup>-1</sup>	5×10 <sup>-1</sup>
<i>E. coli</i>	6×10 <sup>-1</sup>	7×10 <sup>-1</sup>	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	4×10 <sup>-1</sup>	4×10 <sup>-1</sup>	2×10 <sup>-1</sup>	3×10 <sup>-1</sup>
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	- <sup>a</sup>

\* -a : ≥ 1mg/ml

BKE : *Betula platyphylla* var. *japonica* in Korea-70% EtOH extract, BKW : *Betula platyphylla* var. *japonica* in Korea-hot water extract, BCE : *Betula platyphylla* var. *japonica* in China-70% EtOH extract, BCW : *Betula platyphylla* var. *japonica* in China-hot water extract, PGE : *Punica granatum* in Korea-70% EtOH extract, PGW : *Punica granatum* in Korea-hot water extract, RJE : *Rhus javanica* in Korea-70% EtOH extract, RJW : *Rhus javanica* in Korea-hotwater extract.

## 고찰

여드름이란 막힌 털구멍, 뾰루지, 깊은 종기 등을 일컫는 것으로 얼굴, 목, 등, 어깨에 발생하며, 10대에 발생하나 20대 또는 40대 성인에게도 나타날 수 있다. 여드름은 생명을 위협하는 병은 아니지만 심리적인 동요와 미관상으로 문제가 되며, 중증의 여드름은 심각하고 영구적인 흉터를 남길 수 있다<sup>16)</sup>. 여드름에는 여러 가지 치료제제가 존재하며, 현재의 병변보다는 미래의 발진을 막는 것에 중점을 두고 있다<sup>17)</sup>.

한의학에서 여드름은 “醫學綱目”에 大如酸棗, 或如豆, 色赤而內有膿血也. 瘰色赤, 臍內有膿血<sup>18)</sup>, “鍼灸寶鑑”에 청춘기 남녀의 안면, 특히 前額과 鼻의 橫頰 外側 등에 나기 쉬우나 胸部 또는 上背部에도 발생한다고 하였고, 脂漏、面皰를 수반하여 다발하는 화농성 丘疹이라고 하였다. 피지선 배설관에 피지와 각화된 상피가 건조하여 여물어 栓 모양의 것을 面0癩라 함으로 일종의 모낭염이며, 피부면에는 작은 흑점과 같이 보인다. 여기에 세균이 부착해서 감염하여 화농성의 구진을 만든다<sup>19)</sup>라고 서술하였다.

화피는 한방에서 여드름 치료시에 적용되는 약재로서 베를린, 고급지방산, 탄닌, 트리페르페노이드 등의 성분이 함유되

어 억균작용이 있다. 또한 화피의 항균성과, 생리활성을 높이기 위하여 배합한 석류피와 염부수백피 중 석류피는 펠레티에린, 이소펠레티에린 등의 알카로이드의 성분이 함유되어 조충을 제거하는 역할을 하고 있다. 염부수백피는 피로갈톨탄닌이 함유되어 있어 억균작용을 나타낸다<sup>20)</sup>. 현재 여드름의 치료는 다양하나, 항생제의 과다노출과 치료제의 부작용으로 환자의 환부에 트러블을 일으키는 경우가 발생하고 있다.

이에 본 연구에서는 천연원료를 사용함으로써 부작용을 최소화 하면서 여드름을 호전시킬 수 있는 방안 도출을 위하여 기존에 피부 질환에 많이 사용되고 있는 한약재인 화피 국산 및 중국산 추출물, 석류피 추출물, 염부수백피 추출물의 열수 및 에탄올 추출물의 페놀성 물질 함량 비교 연구와 여드름 개선의 측정 지표로 적용되고 있는 여드름성 균주에 대한 항균력 관찰, 혈액순환 및 피부 탄력성과 관련이 있는 항산화효과 연구를 통하여 여드름성 피부에 사용하기 적합한 개선제를 개발을 목적으로 본 연구를 진행한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

페놀성 물질은 식물계에 널리 분포하는 2차 대사산물로서 수산기를 가지는 방향성화합물을 총칭하는 것으로, 미생물 세포와 작용하여 성장 저해를 유발함으로써 항균작용<sup>21,22)</sup>, 항암효과<sup>23)</sup> 등이 있음이 밝혀졌다. Hydrooxycinnamic acid,를 비롯한 대부분의 페놀 화합물은 세포벽 다당류 리그닌 등과 ester 결합되어 있거나 중합체로 존재하며, 수산기를 통한 수소공여와 페놀 고리 구조의 공명 안정화에 의해 항산화 능력을 나타낸다<sup>24,25)</sup>.

화피, 석류피, 염부수백피의 각 열수추출물 및 70% 에탄올 추출물의 총 페놀함량을 확인한 결과 국산 화피가 중국산 화피에 비하여 열수 및 에탄올추출물에서 높은 페놀성분이 함유되어 있었으며, 석류 열수추출물의 경우 에탄올추출물보다 높은 페놀성분이 검출되었으며, 염부수백피의 경우 에탄올추출물에서 많은 페놀성분이 추출되었다. 이를 통하여 선행 연구에서 보였던 생리활성을 확인할 수 있었고, 석류피와 염부수백피의 경우 각각 열수와 에탄올 추출물에서 많은 양의 페놀 함량을 확인할 수 있었으며, 이 중 염부수백피 에탄올추출물에서 많은 수산기를 내는 것으로 사료된다.

전자공여능 활성은 DPPH를 이용한 전자공여능 측정으로 일종의 염료인 diphenylpicrylhydrazin은 자신의 흡수 전자 때문에 517-525 nm 부근에서 강한 흡수 band를 보이는 특성을 가지고 있으나, 페놀과 같이 수소나 전자를 제공해 주는 전자 공여체와 반응하게 되면 공여체로부터 전자나 hydrogen radical을 받아 phnoxy radical을 생성하게 되어 흡수 band도 사라지고 안정한 분자가 된다. 공여된 전자는 비가역적으로 결합하여 그 수에 비례하여 진보라색의 DPPH가 점점 열어져 노란색으로 변하는 흡광도 감소를 측정함으로써 radical 소거활성을 알 수 있다<sup>26)</sup>. 전자공여능은 phenolic acid와 flavonoids 등 페놀성 물질에 의한 항산화 작용의 지표이며 환원력이 큰 물질일수록 전자 공여능이 높아진다고 보고되어 있다<sup>27)</sup>. 국산 화피의 경우 중국산 화피에 비하여 열수추출물에서 높은 활성을 보였으며, 석류피와 염부수백피 역시 우수한 활성을 나타내었다.

SOD 유사활성 물질은 효소는 아니지만 SOD와 유사한 역할을 하는 저분자 물질로 주로 phytochemical에 속하며 superoxide의 반응을 억제하여 superoxide로부터 생체를 보호하는 것으로 보고되어 있다<sup>28)</sup>. SOD 유사활성 반응에서

pyrogallol은 물에 존재하는 superoxide radical에 의해 자동산화되거나 갈색물질을 형성하는데 superoxide 포착활성이 있는 물질이 존재 시 pyrogallol의 산화속도가 낮아지는 원리를 이용하여 superoxide 포착활성을 간접적으로 측정할 수 있다<sup>29,30</sup>. SOD 유사활성에서 국산 화피가 중국산 화피와 비교하여 보다 높은 활성을 나타내었으며, 에탄올추출물에서 활성이 높았다. 또한 석류피와 염부수백피도 에탄올추출물에서 높은 활성을 보였는데 이는 DPPH 라디칼 소거능과 달리 에탄올추출물에서 반응을 일으키는 것으로 보아 에탄올 추출 시 수산기가 더 활성화되는 것으로 사료된다.

항균활성은 디스크 확산법과 MIC 최저 농도를 통하여 확인하였으며, 디스크 확산법이란 균체가 도말된 고체 배지 위에 시료를 분주하여 시료가 항균활성이 있을 경우 세균의 증식이 일어나지 않아 paper disc를 중심으로 원형의 성장 저지환(clear zone)이 형성되는 것을 측정하는 방법이며, 한약재 추출물의 각 균주에 대한 항균활성을 최소저해농도로 측정하였다. 최소 저해 농도란 항균제 역가 측정법의 하나로, 균이 성장하지 않는 항균물질의 최소 농도를 의미한다. 피부 상재 균 중 피부에 염증을 유발할 수 있는 균과 여드름 유발 원인 균 등에 관한 항균활성을 확인한 바, 모든 추출물에서 활성을 나타내었으며, 특히 석류피와 염부수백피의 에탄올추출물에서 높은 활성을 나타내었다. 또한 화피의 경우 국산이 중국산에 비하여 높은 항균활성을 나타내었다. 관찰된 내용을 확인한 바 각 추출물들이 열수추출물보다 에탄올추출물에서 더 우수한 항균력을 보여, 여드름성 피부에 적합한 여드름 균생육저지를 위한 원료로서는 에탄올추출물이 적합한 것으로 사료된다.

각 추출물의 각각의 균주에 대한 최소저해농도 평가를 위하여 피부 상재균이나 피부 상태에 따라 염증을 유발할 수 있는 균과 여드름 유발균을 농도별로 확인한 바, 국산 화피가 중국산 화피 에탄올추출물에 비하여 더 낮은 MIC 값을 나타내었으며, 석류피와 염부수백피 역시 에탄올추출물에서 낮은 MIC 값을 나타내었다.

이상의 결과로 디스크 확산 법과 MIC 평가를 통하여 국내산 화피 추출물 및 석류피 추출물 염부수백피 추출물이 시약 균이나 염증 유발균과 여드름 균에 우수한 항균효과가 있음을 확인할 수 있었으며, 총 페놀함량, DPPH 라디칼 소거 활성 또한 유효한 효과를 나타내는 것을 확인 할 수 있었다.

박<sup>31)</sup> 등의 석류피와 화피에 관한 문헌고찰에서 석류피와 화피가 여드름, 아토피 피부염 등의 피부질환에 유효하고 피부미용에도 외용제나 화장품으로 활용가능성이 있음을 제시하였고, 본 실험에서 사용한 화피, 석류피, 염부수백피의 추출물이 항균 및 항산화 활성을 통하여 유효성을 확인하였으므로 화피, 석류피, 염부수백피 추출물은 여드름성 피부에 사용하기 적합한 외용제나 화장품의 주원료로서 충분한 활용성이 있다고 생각된다.

## 결 론

국산 및 중국산 화피 추출물과 국산 석류피 및 염부수백피 추출물의 페놀 함량, 여드름 균주에 대한 항균 효과 및 항산화 활성을 관찰한 바 다음과 같은 결과를 나타내었다.

1. 총 페놀 함량의 경우 화피 국산 열수추출물의 페놀 함량이 화피 중국산 에탄올추출물 보다 약 2배 정도 페놀성 물질의 함량이 더 많은 것으로 나타났으며, 국산 화피 열수추출물 및 에탄올추출물 모두 수입 화피의 페놀 함량보다 높은 것으로 나타났으며, 석류피는 열수추출물이 에탄올추출물 보다 많은 함량을 나타냈으며, 염부수백피는 에탄올추출물의 경우 가장 많은 페놀성 물질을 함유하고 있는 것으로 나타났다.
2. DPPH radical 소거능의 경우 화피 국산추출물이 중국산추출물 보다 높은 활성을 보였으며, 에탄올추출물보다 열수추출물이 더 높은 활성을 나타내었다. 석류피는 에탄올추출물이 열수추출물보다 높은 활성을 나타내었으며, 염부수백피는 열수추출물 및 에탄올추출물 모두 우수한 활성을 보여, 기존의 항산화 물질로 알려진 ascorbic acid와 비슷한 수준의 활성을 나타내었다
3. SOD 유사활성의 경우 화피 국산추출물이 중국산추출물 보다 높은 활성을 나타내었고, 에탄올추출물이 열수추출물 보다 높은 활성을 나타내었으며, 석류피 및 염부수백피 에탄올추출물이 높은 활성을 나타내었다.
4. 항균활성 및 최소저해농도 평가의 경우 *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. acnes* 균에 대하여 모든 추출물이 항균활성을 나타내었으며, 국산 화피 추출물의 경우 수입 화피추출물과 비교하여 높은 clear zone을 나타내었으며, 국산 화피 추출물이 중국산 화피 추출물 보다 최소저해농도가 더 낮게 나타났다. 석류피 에탄올추출물과 염부수백피 에탄올추출물이 다른 시료에 비하여 항균활성이 발현되었고, MIC 농도는 낮은 수준을 나타내었다.

## 감사의 글

이 논문은 2012년도 한의약산업육성 제품화지원사업(F110012)에 의하여 수행되었음

## References

1. Ha YM, Lee BB, Bae HJ, Je GM, Kim SR, Choi JS, Choi IS, Anti-microbial Activity of Grapefruit Seed Extract and Processed Sulfur Solution against Human Skin Pathogens. *J Life Sci*, 2009 ; 19(1) : 94-100.
2. Marples RR, The microflora of the face and acne lesions. *J Invest Dermatol*, 1974 ; 62(3) : 326-31.
3. Kim CM, Sin MK, An DK, Lee KS, Dictionary of the complete translation traditional chinese medicine. Seoul : Jeongdam, 1998 : 4950-2.
4. Shin MK, Primaries clinical herbology. Seoul : Publisher Seoul Younglim, 1989 : 317.
5. Shin MK, Clinical herbolog. Seoul : Namsandang.

- 1986 : 476-7.
6. Department of Herbology, College of the national school. Herbology. Seoul : Yeonglimsa. 1994 : 420-1.
  7. Heo J. Eastern medicinal manual. Seoul : Corporate Cultural History. 1999 : 732, 739, 1729, 1989.
  8. Kim JC. Dictionary Chinese medicine. 1998 : 2931-4.
  9. Oh JY, Choi U, Kim YS, Shin DH. Isolation and identification of antioxidative components from Bark of *Rhus javanica* Linne. *Korean J Food Sci Technol*. 2003 ; 35(4) : 726-32.
  10. An BJ, Cho YJ, Son JH, Park JM, Lee JY, Park TS. Antioxidant effects and tyrosinase inhibition activity of extract of *Prunus Sargentii* Rehder. *J Korean Soc Appl Bio Chem*. 2006 ; 49(2) : 45-8.
  11. Yu JH, Seo CS, Yim MJ. Antimicrobial activities of Pomegranate (*Punica granatum* Linne) Peel Extract. *J Pharmaceutical Sciences Sookmyung Women's Univ* 2004 ; 20 : 72-6.
  12. Chung SC, Hwang BY, Oh GJ, Kang SJ. Chemical components from the stem Bark of *Rhus javanica* L. *Kor J Pharmacogn*. 1999 ; 30(3) : 295-300.
  13. Folin O, Denis W. On phosphotungsticphosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem*. 1912 ; 12 : 239-49.
  14. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 1958 ; 26 : 1199-200.
  15. Marklund S, Marklund G. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 1974 ; 47 : 468-74.
  16. Kang WH. Atlas of skin diseases. Medical-US. 2008 : 205-10.
  17. Leslie Baumann, Edmund Weisverg. *Cosmetic Dermatology*. Seoul : Jeongdam media. 2004 : 75-82.
  18. Ruyoung. *Medical Gangmok*. Beijing : Chinese medical Kojeok publisher. 1999 : 506.
  19. Daejeonmunji. *Acupuncture and moxa cautery manual*. Daegu : Dongyangjonghabtongsin Institute publisher. 1986 : 710-1.
  20. Choi OJ. *Practical Oriental medicine*. Science Encyclopedia Seojeon Publisher. 1984 : 298-99, 349-50, 502-3.
  21. Grayer RJ, Harbone JB. A survey of antifungal compounds from higher plants. *Phytochem*. 1994 ; 37(1) : 19-42.
  22. Lee BW, Shin DH. Screening of natural antimicrobial plant extract on food spoilage microorganisms. *Korean J Food Sci Technol*. 1991 ; 23(2) : 200-4.
  23. Kim BG, Rhew TH, Choe ES, Chung HY, Park KY, Rhee SH. Effect of selected persimmon leaf components against sarcoma 180 induced tumor in mice. *J Korean Soc Food Nutr*. 1993 ; 22(3) : 334-9.
  24. Shahidi F, Wanasundara PK. Phenolic antioxidant. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1992 ; 32 : 67-103.
  25. Herrman K. Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1998 ; 28 : 315-47.
  26. Yokozawa T, Chen CP, Dong E, Tanaka T, Nonaka G, Nishooka I. Study on the inhibitory effects of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochemical Pharmacology*. 1998 ; 56 : 213-22.
  27. Shin JH, Lee JY, Ju JC, Lee SJ, Cho HS, Sang NJ. Chemical properties and nitrite scavenging ability of citron (*Citrus junos*). *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2005 ; 34(4) : 196-202.
  28. Kuramoto T. Development and application of food materials from plant extract such as SOD. *Up to date Food Processing*. 1992 ; 27(3) : 22-3.
  29. Bae RN, Lee SK. Factors affecting browning and its control methods in chopped garlic. *J Kor Soc Hort Sci*. 1990 ; 3 : 213-8.
  30. Jo KS, Kim HK, Ha JH, Park MH, Shin HS. Flavor compounds and storage stability of essential oil from garlic distillation. *Korea J Food Sci Technol*. 1990 ; 22 : 50-5.
  31. Park SY, Na CS, Jeong WC, Lee JC. A Literature Study of *Pericarpium Granati* and *Cortex Betulae Platyphyllae*. *J of Korean Oriental Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology*. 2012 ; 25(3) : 13-33.