

## 改容丸의 항염 및 항산화 효과에 대한 실험적 연구

서형식

Received : 09. 07. 06

Accepted : 09. 07. 20

**Key Words:***GaeYongHwan*,  
anti-inflammation,  
anti-oxidation, NO,  
DPPH,  
*Propionibacterium  
acnes*.The Experimental Study on Anti-inflammation and  
Anti-oxidation of *GaeYongHwan*

Hyeong-Sik Seo

**ABSTRACT****Objectives :** This study was performed to investigate the anti-inflammatory and anti-oxidant effects of *GaeYongHwan*(*GYH*) extract which has been used for patients with acnes.**Methods :** Anti-inflammatory and anti-oxidant effects of *GYH* extract were tested in terms of inhibitory ability of Nitric oxide(NO) production, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical scavenging activity and anti-bacterial effects against *Propionibacterium acnes*(*P. acnes*).**Results :**

1. All *GYH* treated groups did not show cytotoxicity.
2. Treatment with 100 $\mu$ g/ml of *GYH* extract lowered production levels of NO significantly compared to non-treated control or normal.
3. All of *GYH* treated groups did not show DPPH free radical scavenging activities.
4. All of *GYH* treated groups did not show anti-bacterial action against *P. acnes*.

**Conclusions :** These results imply that *GYH* extract has anti-inflammatory effect to treat acnes.**I. 緒論**

미용관련 피부질환으로는 여드름, 주사, 탈모, 기미, 백반 등이 있으며<sup>1)</sup>, 여드름, 탈모, 백반 등이 진료실에서 흔히 볼 수 있는 100대 피부질환으로 조사되고 있다<sup>2)</sup>. 이 중에서 여드름은 사춘기에 호발하는 모피지선 단위의 자기 국한성의 만성 염증성 질환으로 우리나라 통계에 의하면 약 80-90%의 성인이 여드름을 경험했거나 현재 앓고 있는 중일 정도<sup>3)</sup>로 다 빈도의 피부질환이다.

여드름의 생성원인은 유전적 원인, 피로와 스트레스 등 여러 요인이 복합적으로 작용하는 것으로 알려져 있으며, 일반적으로 호르몬과 외부적 영향에 의해 피지가 모낭관

밖으로 배출되지 못하여 피부 모공이 막힌 경우, 피부 상재세균 중 *Propionibacterium acnes*의 증식하여 유리지방산을 생성하고, 유리지방산의 자극으로 모낭에 염증을 일으키는 것으로 되어 있으며<sup>3)</sup>, 염증과정 중 체내 항상성 유지 및 세포 신호 전달에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 활성산소는 조직 손상, 염증 발현을 매개하는 인자로 작용할 수 있다<sup>4)</sup>.

여드름 환자의 치료는 경증의 경우에는 국소 도포제를 사용하고, 중등도 이상의 염증성 병변을 보이는 경우에는 국소 도포제와 경구투여 약물의 병행요법을 사용하고 있

\*Corresponding author : Hyeongsik Seo, Department of Ophthalmology, Otolaryngology and Dermatology, Oriental Medicine Hospital, Sangji University, 283, Woosan-dong, Wonju-si, Kangwon-do, 220-955, South Korea. Tel: +82-33-741-9266. E-mail: aran99@sangji.ac.kr.  
"This research was supported by Sangji University Research Fund, 2008"

다<sup>2)</sup>. 현재 한의학적 치료방법은 많은 질환에 있어 내복약의 경우투여 위주로 행해지고 있다. 그러나 피부과적 질환과 같이 병변이 외부로 드러나는 경우에는 외용약의 활용을 보다 더 선호하게 된다. 따라서 한의학적 치료 방법도 이에 보조를 맞추어야 할 필요성이 대두되고 있는 실정이다. 또한 현재 사용되고 있는 erythromycin, isotretinoin, benzoyl peroxide, vitamin A acid, triclosan, 및 azelaic acid 등의 약물들은 구순염, 점막 건조감, 최기형성작용, 기미, 혈전증 등의 부작용과 항생제 내성균주의 출현, 치료 중단시의 재발 등의 문제점이 보고되고 있다<sup>3)</sup>.

改容丸은 清代 程<sup>5)</sup>의 《醫學心悟》에 수록되어 있으며, 風熱로 인한 粉刺와 雀斑을 치료하는 洗顏의 외용약으로 안면에 발생하는 미용관련 피부질환에 활용이 가능한 처방이다. 이에 저자는 改容丸을 경증의 여드름에 洗顏의 외용약으로 사용하는데 있어 효과를 실험적으로 검증하기 위해 독성, 항염, 항산화 및 항균 효과에 대한 간략한 실험연구를 시행하였다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 材料

#### 1) 약 물

본 실험에 사용된 改容丸은 Table 1과 같으며, 상지대학교부속한방병원 약제과에서 정선하여 사용하였다.

#### 2) 세포주 및 균주

실험에 사용된 Raw 264.7 cell(Mouse Macrophage cell line)은 한국 세포주 은행(Korean Cell Line Bank: KCLB)에서 *Propionibacterium acnes*(KCTC 3314)은 한국 생명 공학 연구원 생물자원센터에서 분양받아 사용하였다.

#### 3) 시약 및 기기

실험에 사용한 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 3-(4,5-dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT), N<sup>G</sup>-methyl-L-arginine acetate salt(L-NMMA), Lipopolysaccharide (LPS) 시약들은 Sigma(USA), Dimethyl sulfoxide (DMSO), 2-Propanol Hueller-Hinton Broth는 Merck(USA)에서 구입하여 사용하였으며, ELISA

reader(Perkin-Elmer, Foster City, CA), Spectrophotometer(UNICO, USA), Micro centrifuge (Hettich, Germany) 등의 기기를 실험에 사용하였다.

## 2. 方法

### 1) 시료조제

改容丸 25g을 분쇄기를 이용하여 분말로 만들고 70% EtOH 500ml을 넣고 실온에서 180분 동안 교반기로 추출하였다. 추출한 후 여과지(ADVANTEC 5C)로 여과하고 여과액을 회전감압농축기를 이용하여 완전 농축하고 동결 건조하였다(추출 수율 2.75g). 시료를 적당량 가하여 microtube에 담은 후 100% DMSO를 이용하여 20, 50, 100mg/ml의 농도로 만들어 실험에 사용하였다.

### 2) 세포주 및 균주 배양

Raw 264.7 cell은 10% FBS(fetal bovine serum), penicillin(100units/ml), streptomycin(100units/ml)이 첨가된 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium) 배지로 5% CO<sub>2</sub>, 37℃에서 배양하였으며, 배지는 3~4일 간격으로 교체하고 배양용기에 90%이상 차라게 되면 계대 배양하여 실험에 사용하였다<sup>6)</sup>. *Propionibacterium acnes*은 생육배지로 Reinforced-clostridial Broth를 사용하여 37℃, incubator에서 72시간 동안 배양하였으며 항균성 실험에 사용한 고체배지는 각 배지의 Agar를 사용하였다<sup>7,8)</sup>.

### 3) 세포 독성 측정

96 well plate에 1 × 10<sup>4</sup>cells/well의 농도로 Raw 264.7 cell을 접종하여 24시간 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고, 改容丸의 농도가 20, 50, 100μg/ml가 되도록 처리하여 24시간 배양하였다. 배양 후 MTT시약을 각 well에 첨가하고, 4시간 동안 항온기에서 반응시킨 후, MTT 시약이 함유된 배지를 제거하였다. 각 well에 100 μl acid iso-propanol(0.04N HCl in iso-propanol)을 첨가하여 30분간 교반하여 주고, ELISA reader를 이용하여 570nm에서 흡광값을 측정하였다<sup>9)</sup>.

### 4) 항염 효능 측정

96 well plate에 5 × 10<sup>4</sup>cells/well의 농도로 Raw 264.7 세포를 접종한 후 24시간 배양하였다. 배양 후 改容

丸의 농도가 20, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되도록 세포에 처리하고 염증 반응 유도 인자인 LPS를 100 $\text{mg}/\text{ml}$ 의 농도로 처리하였다. 24시간 배양 후 배지를 이용하여 Nitric oxide (NO)의 생성 정도를 측정하였다<sup>10)</sup>. 96 well plate에 세포 배양액 50 $\mu\text{l}$ 와 Griess시약 50 $\mu\text{l}$ 를 혼합하여 10분 동안 반응시킨 후 ELISA reader를 이용하여 540nm에서 흡광값을 측정하였다. 양성 대조군으로는 NO 생성 억제제인 L-NMMA를 50 $\mu\text{M}$ 이 되도록 시험 시료와 같은 방법으로 처리하여 시험 시료의 NO 생성 저해능을 비교하였다.

#### 5) 항산화 효능 측정

DPPH의 환원성을 이용하여 시료의 DPPH 라디칼 소거효과를 측정하였다. DPPH를 메탄올에 용해시켜 0.1 mM DPPH 용액 1ml에 改容丸을 각 농도별로 제조하여 1 ml씩 넣어주고 잘 혼합하여 준 후, 실온에서 10분간 반응시킨 뒤 565nm에서 흡광값을 측정하였다<sup>11)</sup>.

#### 6) 항균 효능 측정

항균 효능을 평가하기 위해 본 실험에서는 paper disk diffusion 방법을 사용하였다<sup>12)</sup>. 10% DMSO에 stock되어 -70 $^{\circ}\text{C}$ 에 보관되어 있는 균주를 백금이를 이용하여 agar plate에 streaking하여 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 72시간 배양 하였다. 생성된 colony 하나를 백금이를 이용하여 broth배지에 접종하고 72시간 동안 200rpm, 37 $^{\circ}\text{C}$  shaking incubator에서 전배양 하였다. 전배양한 균 현탁액을 준비하고 이를 배양 액체배지로 희석하여  $1.5 \times 10^8$  cells/ml의 농도로 준비하였고 균 희석액을 미리 준비해 둔 agar plate에 균기 직전의 배지와 혼합하여 균을 때까지 정치하였다. 충분히 균은 고체배지 위에 멸균된 paper disk를 올려놓은 후 각각 250, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 희석되어진 시료를 disk에 loading 하였다. 50 $\mu\text{l}/\text{disk}$ 의 농도로 10분간 정치하여 시료가 모두 배지에 확산되어 흡수된 후, 균의 성장 최적 온도인 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 배양하였다. 양성 대조군으로 triclosan을 이용하여 시험한 후, 72시간 동안 배양하여 균의 성장 억제환의 직경을 측정하여 항균 활성을 비교 하였다.

#### 7) 통계분석

모든 실험 결과는 평균 $\pm$ 표준편차로 표기하였고 통계적 유의성은 one-way ANOVA로 하였으며, 사후분석은 Duncan's multiple comparison test를 시행하였고 p값이 0.05미만 일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

### III. 實驗結果

#### 1. 세포 독성 평가

改容丸이 세포 생존율에 미치는 영향을 살펴본 결과 20, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 각각  $67.7 \pm 6.4\%$ ,  $59.7 \pm 4.3\%$ ,  $50.6 \pm 4.0\%$ 의 세포 생존을 보였다(Table 2).

#### 2. 항염 효능 평가

改容丸의 NO 생성 저해능을 살펴본 결과 50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 각각  $2.2 \pm 14.7\%$ ,  $41.2 \pm 3.3\%$ 의 NO 생성 저해능을 보여 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 NMMA 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도의 NO 생성 저해능과 유사한 결과를 보였다(Table 3).

#### 3. 항산화능 평가

改容丸의 DPPH 라디칼 소거능은 20, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 각각  $12.5 \pm 9.5\%$ ,  $18.0 \pm 11.4\%$ ,  $22.4 \pm 16.6\%$ 로 나타났다(Table 4).

#### 4. 항균 효능 평가

改容丸은 *Propionibacterium acnes*에 대하여 250, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 특별한 항균 효과를 보이지 않았다(Table 4, Fig. 1).

### IV. 考察

여드름은 사춘기에 호발하는 모피지선 단위의 자기국한성의 염증성 질환으로 특징적인 면포와 홍반성 구진, 농포, 낭종, 결절, 반흔 등의 병변이 피지 분비가 많은 얼굴이나 목, 등, 어깨, 가슴에 나타나며<sup>2)</sup>, 병인으로 면포형성, 남성 호르몬, 박테리아 증식, 염증 유발, 피부장벽 기능 이상 및 기타(스트레스, 화장품, 계절 등)과 같은 6가지 요인이 제시<sup>13)</sup>되고 있다.

여드름은 병변의 양상에 따라 일반적으로 3단계로 구분되는데 대부분의 병변이 면포로 구성되고 가끔 구진과 농포가 동반되는 경우를 경증 여드름, 경증에 비해 염증성 병변이 흔히 존재하며 상대적으로 표재성의 구진농포성 병변이 관찰되고 주위에 면포가 동반될 수도 있고 또한 반흔을 남길 수도 있는 경우를 중증 여드름, 정도가 심하고

심재성의 염증성 병변이 다수 존재하여 구진, 농포, 결절, 낭종, 농양이 발생하고 농루, 비후성 반흔, 켈로이드가 흔히 동반될 수 있는 경우를 고증 여드름이라 한다<sup>13)</sup>.

여드름의 치료는 크게 약물에 의한 국소 치료와 전신 치료, 약물 이외의 광치료, 레이저 치료, 광역동 치료, 물리적 치료 등이 있으며 병변의 종류, 심한 정도, 이환기간, 치료 실패의 과거력, 반흔의 존재 및 정신적인 스트레스 등의 검토, 약물의 효과, 부작용, 치료비 등을 염두에 두고 개인 차이에 따라 선택적으로 시행하는 것이 중요하며, 약물에 의한 국소 치료는 경증, 중증, 고증의 여드름에 기타 치료와 함께 병용되는 방법으로 비염증성 면포만을 갖는 환자나 경증의 초기 여드름 병변에서는 단독 요법만으로도 치료 효과를 보일 수 있는 치료 방법이다<sup>13)</sup>.

현재 한의학적 치료방법은 많은 질환에 있어 내복약의 경우투여 위주로 행해지고 있으나, 피부과적 질환과 같이 병변이 외부로 드러나는 경우에는 임상적으로 외용약의 활용이 보다 더 선호될 수 있으며, 한의학적 치료 방법도 이에 보조를 맞추어야 할 필요성이 있다. 한방적으로 여드름에 대한 연구는 현재 대부분 내복약에 대한 실험적 연구나 증례가 대부분으로 외용약에 대한 연구는 많이 이루어 지지 않은 상황이다<sup>14)</sup>.

따라서 여드름의 치료에 활용할 수 있는 외용제에 대한 연구를 위하여 粉刺와 雀斑을 치료하는 洗顏의 외용약으로 안면에 발생하는 미용관련 피부질환에 활용하는 처방인 清代 程<sup>5)</sup>의 醫學心悟에 수록되어 있는 改容丸을 이용하여 효과를 실험적으로 검증하기 위해 독성, 항염, 항산화 및 항균 효과에 대한 실험연구를 시행하였다.

改容丸은 貝母, 白附子, 防風, 白芷, 菊花, 滑石, 皂莢의 약물로 구성되어 去風, 化痰, 清熱시키는 효능을 보일 수 있는 처방이다.

세포 독성에 대해 실험한 결과 改容丸 추출물은 20 $\mu$ g/ml 농도에서 67.7 $\pm$ 6.4%, 50 $\mu$ g/ml 농도에서 59.7 $\pm$ 4.3%, 100 $\mu$ g/ml 농도에서 50.6 $\pm$ 4.0%의 세포생존율을 보여 실험 농도에서 세포 독성은 없는 것으로 나타났다 (Table 2).

항염효능에 대해 실험한 결과 改容丸 추출물은 50 $\mu$ g/ml 농도에서 12.2 $\pm$ 14.7%, 100 $\mu$ g/ml 농도에서 41.2 $\pm$ 3.3%의 NO 생성 저해능을 보였으며, 100 $\mu$ g/ml 농도의 NO 생성 저해능은 NMMA 50 $\mu$ g/ml 농도에서 52.9 $\pm$ 4.0%의 NO 생성 저해능과 비슷한 유의 있는 결과를 보였다 (Table 3).

피부과 영역에서 활성산소의 역할을 살펴보면 피부표

면에 상처가 나면 세포의 막이 공기에 노출되고 어떤 자극으로 인하여 산소가 활성산소로 변화하고, 불포화지방산과 결합해서 과산화지질이 만들어지면 조직이나 세포에 해롭게 작용하면서 상처 자리와 궤양면을 폐색시켜 치유를 방해함으로써 상처 자리가 빨리 낫지 못하고 지속적으로 오래가게 된다. 또한 활성산소는 체내의 불포화지방산과 결합하여 과산화지질을 형성하면 보습을 맡고 있는 피부 최상층부의 각층을 이루는 피부의 보습 기능을 빼앗아 보습 기능이 저하되어 피부염을 더욱 악화시키게 된다<sup>5)</sup>.

이와 관련하여 항산화능에 대한 실험한 결과 改容丸 추출물은 20 $\mu$ g/ml 농도에서 12.5 $\pm$ 9.5%, 50 $\mu$ g/ml 농도에서 18.0 $\pm$ 11.4%, 100 $\mu$ g/ml 농도에서 22.4 $\pm$ 16.6%의 DPPH 라디칼 소거능을 보여 항산화능은 낮게 나타났다 (Table 4).

*Propionibacterium acnes*은 그람 양성, 비운동성의 간균으로서 피지선의 모양에 존재하는 균으로 피지가 저류되면 모양을 막아 공기의 순환이 차단되어 잘 자랄 수 있는 환경이 형성되어 여드름의 병인으로서 중요한 역할을 하게 된다.

이와 관련하여 *Propionibacterium acnes*에 대한 改容丸 추출물의 항균력을 실험한 결과 250 $\mu$ g/ml, 500 $\mu$ g/ml 농도에서 항균 효과를 보이지 않았다 (Table 4, Fig. 1).

위와 같은 결과를 종합해보면 개용환 추출물은 여드름의 외용약으로 활용될 경우 *Propionibacterium acnes*에 대한 직접적이 생육 억제 효과에 의존하기 보다는 전반적인 항염증 효과에 의존할 가능성이 높을 것으로 생각된다.

## V. 結論

改容丸 추출물의 세포 독성, NO 생성 저해능을 통한 항염효과, DPPH 라디칼 소거능을 통한 항산화효과, *Propionibacterium acnes*을 통한 항균효과를 측정하는 실험을 하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 改容丸 추출물은 20, 50, 100 $\mu$ g/ml 농도에서 세포 독성은 없었다.
2. 改容丸 추출물의 NO 생성 저해능은 100 $\mu$ g/ml 농도에서 41.2 $\pm$ 3.3%로 나타나 NMMA 50 $\mu$ g/ml 농도의 52.9 $\pm$ 4.0%와 유의한 결과를 보였다.

3. 改容丸 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 20, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$  농도에서 각각  $12.5 \pm 9.5\%$ ,  $18.0 \pm 11.4\%$ ,  $22.4 \pm 16.6\%$ 로 나타났다.

4. 改容丸 추출물은 250, 500 $\mu\text{g/ml}$  농도에서 *Propionibacterium acnes*에 대하여 항균 효과를 보이지 않았다.

## VI. 參考文獻

- Gang YH. Atlas of Skin Disease. Seoul. Hanmibook. 2006:205-73.
- Jeong JY, Han GH. Common Skin Disease in Korea. Seoul. MDworld. 2009:13,443.
- Sohn HY, Kim YS, Kum EJ, Kwon YS, Son KH. Screening of anti-acne activity of natural products against *Propionibacterium acnes*. Kor. J. Microbiol. Biotechnol. 2006;34(3):265-72.
- Min HY, Park EJ, Lee SK, Cho YJ. Effects of grape extracts on free radical scavenging activity and inhibition of pro-inflammatory mediator production in mouse macrophage cells. Korean J. Food Sci. Technol. 2003;35(1):132-7.
- Jeong GP. UiHakSimO. Seoul. JeongDam. 2002:661-2.
- Kim NK, Jung JH, Choi SW, Yoon CS. Studies on the antioxidative effect of the BuckWheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) extract and its Protective Role against Cadmium-mediated stress, J. Soc. Cosmet. Scientists Korea, 2005;31(2):197-206.
- Kim H, Lim H, Kim B, Kim H, Choi S, Yoon C. Studies on the anti-acne effect of *Agrimonia pilosa* Ledeb, J. Soc. Cosmet. Scientists Korea, 2006;32(1):53-8.
- Lee S. Antimicrobial effect of Bamboo(*Phyllosrachys Bambusoides*) Essential Oil on *Trichophyton* and *Pityrosporum*, J. Fd Hyg. Safety, 2003;18(3):113-7.
- T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application of proliferation and cytotoxicity, J. Immunol. Methods, 1983;65:55.
- Han SM, Lee KG, Yeao JH, Kweon HY, Park KK. Anti-inflammatory effect of the venom from asian honeybees(*Apis cerana* L.) on inducible nitric oxide synthase and tumor necrosis factor- $\alpha$  in Raw 264.7 cell line, Korean J. Apiculture, 2004;19:89.
- M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature, 1958;181:1199.
- Lee SE, Son DW, Yoon YP, Lim TY, Kim HS. Screening of Traditional Herbal Medicines to Develop New Materials for Anti-aging and Anti-wrinkle in the skin, J. Soc. Cosmet. Scientists Korea, 2005;31(2):147-52.
- Ahn SK, Jang GH, Song JH, Cheon SH. Common Skin Disease. Seoul. Doctor's Book. 2009;115-45,988.
- Kim MA, Kim MB, Shin SH, Byun SM, Ko WS, Lee HS, Park SG, Yoon HJ. The study on external treatment of oriental medical care on acne. J. Korean Oriental Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology. 2008;21(2):102-11.
- Yukie Niwa. If auto-oxidative be controled, human life will be long without disease. Seoul. Moonye. 2001:140-1, 152-4.

Table 1. Prescription of *GaeYongHwan*

The botanical name of herb	Relative amount(g)
<i>Fritillariae cirrhosae</i> Bulbus	3.57
<i>Typhonii</i> Rhizoma	3.57
<i>Ledebourielae</i> Radix	3.57
<i>Angelicae dahuricae</i> Radix	3.57
<i>Chrysanthemi</i> Flos	3.57
Talcum	3.57
<i>Gleditsiae</i> Fructus	3.57
Total amount	24.9

Table 2. The cytotoxic effect of *GaeYongHwan* extract on macrophage Raw 264.7 cells by MTT assay

Group	Cell viability(%)	D	p-value
Control	100±1.6	a	p < 0.01
GYH 20µg/ml	67.7±6.4	b	
GYH 50 µg/ml	59.7±4.3	c	
GYH 100 µg/ml	50.6±4.0	d	

Statistical significances were tested by oneway ANOVA among groups. D: The same letters indicate non-significant difference between groups based on Duncan's multiple comparison test. GYH: *GaeYongHwan*

Table 3. Inhibitory effects of *GaeYongHwan* extract on NO production in LPS-induced Raw 264.7 cells

Group	Inhibition ability(%)	D	p-value
NMMA 50µg/ml	52.9±4.0	a	p < 0.01
GYH 20µg/ml	-		
GYH 50µg/ml	12.2±14.7	b	
GYH 100µg/ml	41.2±3.3	a	

Statistical significances were tested by oneway ANOVA among groups. NO: Nitric oxide  
LPS: Lipopolysaccharide. D: The same letters indicate non-significant difference between groups based on Duncan's multiple comparison test.  
NMMA: NG-methyl-L-arginineacetatesalt. -: No inhibition. GYH: *GaeYongHwan*

Table 4. DPPH radical scavenging activities of *GaeYongHwan* extract

Group	Scavenging ability (%)	D	p-value
Quercetin 20µg/ml	62.5±5.8	a	p < 0.05
GYH 20µg/ml	12.5±9.5	b	
GYH 50µg/ml	18.0±11.4	b	
GYH 100µg/ml	22.4±16.6	b	

Statistical significances were tested by oneway ANOVA among groups. DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. D: The same letters indicate non-significant difference between groups based on Duncan's multiple comparison test. GYH: *GaeYongHwan*

Table 5. Antibacterial activity of *GaeYongHwan* extracts by paper disc diffusion test against *Propionibacterium acnes*

Group	Concentration( $\mu\text{g}/\text{mL}/\text{disk}$ )	
	250	500
<i>GYH</i> 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-	-
<i>GYH</i> 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-	-

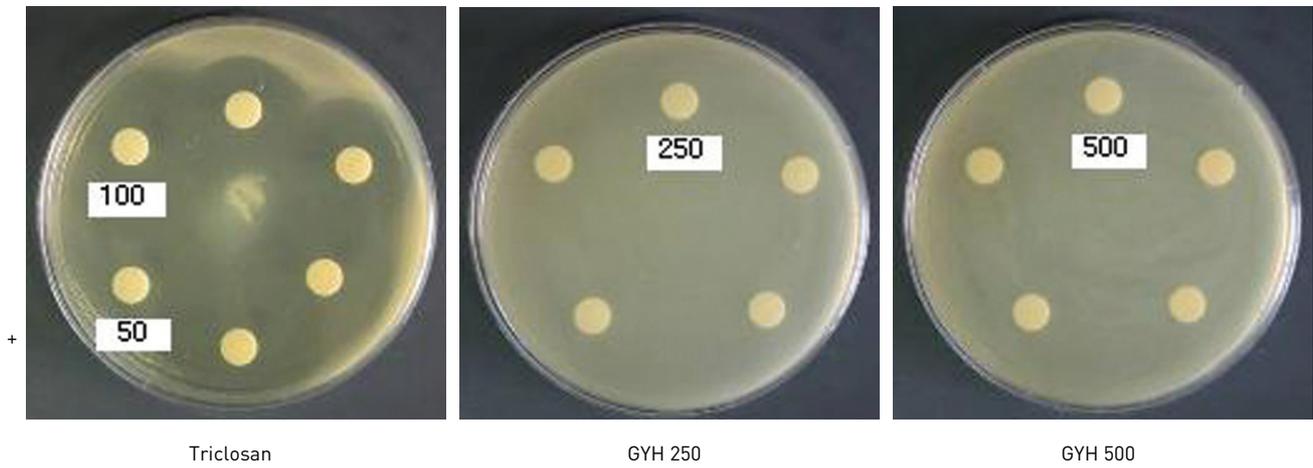


Fig. 1. Antibacterial activity of *GaeYongHwan* extracts by paper disc diffusion test against *Propionibacterium acnes*. Triclosan appears inhibition zone on *Propionibacterium acnes*, but *GaeYongHwan* dose not appear inhibition zone. *GYH*: *GaeYongHwan*