

## 복합처방인 승마갈근탕(升摩葛根湯)의 항산화 및 항균효과

이진영<sup>1</sup> · 배호정<sup>2</sup> · 박태순<sup>3</sup> · 김태완<sup>4</sup> · 문두환<sup>5</sup> · 권오준<sup>6</sup> · 손준호<sup>3</sup> · 이창언<sup>2</sup> · 박근혜<sup>2</sup> · 김한혁<sup>2</sup> · 안봉전<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>호서대학교 한방화장품과학과, <sup>2</sup>대구한의대학교 화장품약리학과, <sup>3</sup>대구경북한방산업진흥원 한방화장품팀,  
<sup>4</sup>안동대학교 식품생명공학과, <sup>5</sup>피오코리아, <sup>6</sup>경북전략산업기획단

## Anti-oxidant and Anti-microbial Activities of Seungmakalgeuntang

Jin-Young Lee<sup>1</sup>, Ho-Jung Bae<sup>2</sup>, Tae-Soon Park<sup>3</sup>, Tae-Wan Kim<sup>4</sup>, Doo-Hwan Moon<sup>5</sup>, O-Jun Kwon<sup>6</sup>,  
Jun-Ho Son<sup>3</sup>, Chang-Eon Lee<sup>2</sup>, Gun-Hye Park<sup>2</sup>, Han-Hyuk Kim<sup>2</sup>, and Bong-Jeun An<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Herbal Cosmetic Science, Hoseo University, Chungnam 336-795, Korea

<sup>2</sup>Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University, Gyeongbuk 712-715, Korea

<sup>3</sup>R&D Hanbang Cosmetic Team, Daegu Gyeongbuk Institute for Oriental Medicine Industry, Gyeongbuk 712-260, Korea

<sup>4</sup>Department of Food Science & Biotechnology, Andong National University, Gyeongbuk 760-749, Korea

<sup>5</sup>PioKorea Co., LTD., Daegu 711-855, Korea

<sup>6</sup>Gyeongbuk Regional Innovation Agency, Gyeongbuk 712-210, Korea

Received May 13, 2009; Accepted December 17, 2009

Biological activities such as anti-oxidative and anti-microbial of the Seungmakalgeuntang, a traditional prescription, were evaluated. The electron donating ability of water, ethanol, supercritical fluid and 1,3-butylene glycol extract of Seungmakalgeuntang showed more than 50% at a 100 ppm concentration. At a 1000 ppm concentration, the superoxide dismutase-like activities of ethanol and supercritical fluid extract of Seungmakalgeuntang showed less than 50%. xanthine oxidase inhibition effect of the supercritical fluid extract showed more than 70% at a 1,000 ppm concentration, which was higher than vitamin C. From the measurement on lipid oxidation, the Fe<sup>2+</sup> chelating abilities of the supercritical fluid extract of Seungmakalgeuntang was more than 60% at a 100 ppm concentration. Also the Cu<sup>2+</sup> chelating abilities of supercritical fluid extract Seungmakalgeuntang showed more than 60% at a 500 ppm concentration. Clear zones formed by sample against the human skin-resident microflora such as *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acne* of ethanol and supercritical fluid extract of Seungmakalgeuntang showed the highest among all the extracts tested using a 4 mg/disc. The minimum inhibitory concentration (MIC) against both *S. epidermidis* and *S. aureus* showed 2,500 ppm in the extract of the supercritical fluid.

**Key words:** anti-microbial, DPPH, lipid oxidation, seungmakalgeuntang, SOD, xanthin oxidase

### 서 론

전 세계적으로 ‘웰빙’과 더불어 동양의 철학이나 문화에 대한 관심이 증대됨에 따라 ‘한국적 감성’을 기반으로 한 한방 브랜드가 인간과 자연의 동양적인 조화를 추구하여 각광받고 있다[Kim, 2005]. 또한 천연물에 대한 인식이 새로워지면서 매우 적은 양으로 현저한 활성을 나타내는 고부가가치의 생리활성 물질에 대한 많은 연구가 보고되고 있으며, 노화나 피부미용에 대한 연구가 천연물인 한방 약재에 초점을 맞추어 진행되고 있다[Chun 등, 2002; Kim 등, 2006].

피부노화는 여러 가지 구조적 기능적 변화를 보이는데 특히, 자외선 등의 내외적인 여러 가지 스트레스는 피부의 탄력성과 윤택성을 감소하여 주름이 생기고, 표면이 거칠어지며 기미, 주근깨 등 피부 색소 침착 등의 피부노화 현상을 촉진한다 [Voegeli, 1996; Kwak 등, 2005]. 이러한 피부노화를 방지하기 위해서 한의학 이론에서는 선천의 신정(腎精)을 자양하지 못하거나 장부(臟腑)의 영양 공급에 이상이 초래되면 인체는 정상적으로 성장발육하지 못한다고 알려져 항산화, 항노화 물질을 이용하여 피부 세포를 보호하려는 노력이 필요하고, 노화 예방 및 방지책으로 한방 원료를 이용한 물질의 연구가 활발히 진행되고 있다[Kim 등, 2006].

한방 의학에 중요한 기초를 두고 있는 천연 약재의 복합처방으로 기와 혈의 흐름을 원활하게 촉진시키는 승마갈근탕[Cho와 Kim, 1984; Jeong 등, 1994]은 방제학(方劑學)에 수록되어 있는 승마, 갈근, 작약, 감초의 4가지 한약재로 구성되어 있다.

\*Corresponding author

Phone: +82-53-819-1429; Fax: +82-53-819-1429

E-mail: anbj@dhu.ac.kr

**Table 1. Composition of Seungmakalgeuntang**

韓藥名	Botanical name	生藥名	重量 (g)
升摩	<i>Cimicifuga heracleifolia</i> Kom	Cimicifuga Rhizome	3.0
葛根	<i>Pueraria lobata</i> Ohwi	Puerariae Radix	3.0
芍藥	<i>Paeonia albiflora</i> Pall	Paeoniae Radix	6.0
甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer	Glycyrrhizae Radix	3.0
總量 15.0			

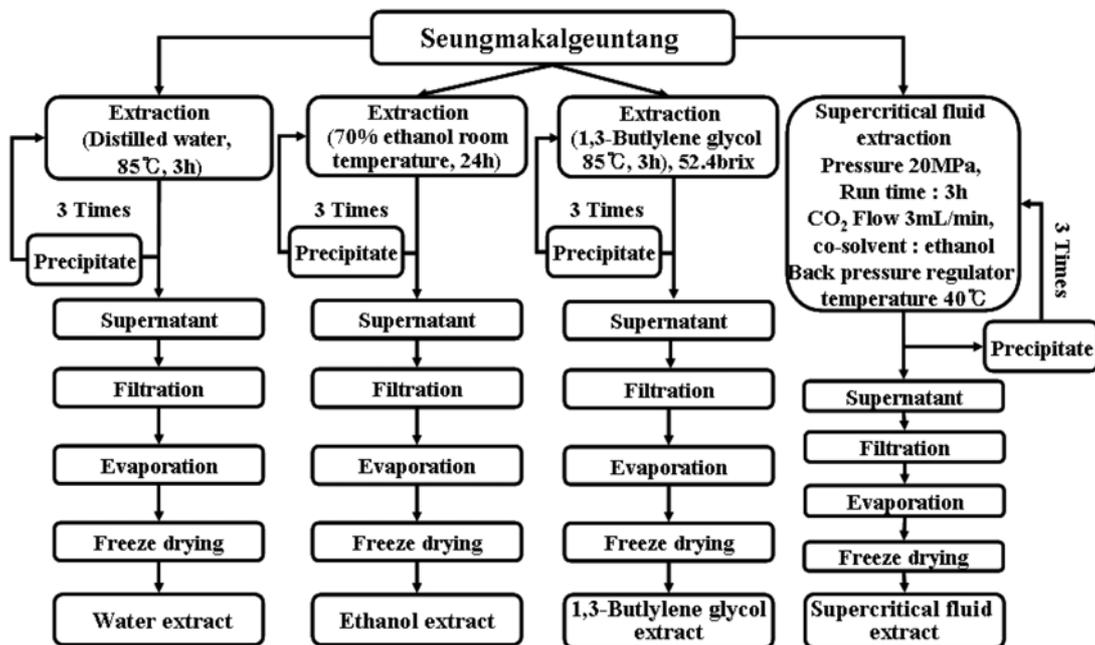
사용된 한약재는 오래 전부터 외부로 나타나는 피부 발진에 응용되어 온 처방을 현재에 맞게 수정보완하여 개발한 처방으로, 최근 항 알레르기 및 면역반응, 항히스타민 효과, 항염증 등이 입증되어 알레르기 질환의 하나인 두드러기에, 외부 인자의 풍열(風熱)을 제거하고 오장육부의 부조화로 인한 허약을 조절, 혈허생풍(血虛生風)하여 기혈상태와 순환을 개선하고 피부에 적절한 영양을 공급할 목적으로 사용하였다. 또한 최근 피부 상재균과 진균에 대한 항균효과가 뛰어난바 있다[Cho와 Kim, 1984]. 이에 한의학의 본질을 담고 있는 천연물 특히 한방약재를 중심으로 항산화물질 및 항균물질에 대한 연구를 진행하기 위하여, 한방 복합처방인 승마갈근탕을 추출방법에 따른 항산화 및 항균 효과를 측정하여 한방화장품 및 식품의 소재로 응용하고자 하였다.

**재료 및 방법**

**실험 재료.** 본 실험에서 사용한 승마갈근탕은 방제학(方劑學)에 기록된 내용에 준하였으며, 시료로 사용된 약재는 경북 경산의 약령시장에서 구입하여 물로 세척하여 음건 후 사용하였다. 시료의 생약명과 학명은 Table 1과 같고, 시료의 추출은 Fig. 1과 같이 추출하였다. 열수 추출물의 경우, 승마갈근탕의

구성 약재인 승마, 갈근, 작약, 감초에 10배 양의 증류수를 가하여 3시간 환류냉각 추출하여 상등액과 침전물을 분리하여 3회 반복 추출하였다. 시료의 에탄올 추출은 70% 에탄올 10배의 양을 가하여 실온에서 24시간 침지하여 상등액과 침전물을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복 추출 하였다. 시료의 1,3-butylene glycol 추출은 화장품에 첨가시 보습력을 높이기 위하여 70% 1,3-butylene glycol 10배의 양을 가하여 85°C에서 3시간 환류냉각 추출하여 상등액과 침전물을 분리하여 3회 반복 추출하였다. 초임계 추출은 유체로 CO<sub>2</sub> 보조 용매로는 ethanol을 사용하였고, 각각의 유속은 3 flow/min, 압력은 20 MPa로 변화를 주었으며, 온도는 40°C로 조절하여 3회 반복 추출하였다. 각 추출물을 원심분리 및 여과, 농축하여 동결건조 후 냉장실에 보관하면서 본 실험의 시료로 사용하였고, 1,3-butylene glycol 추출물은 52.4°brix로 농축하여 시료로 사용하였다.

**시약.** 실험에 사용된 시약인 1-1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), xanthine, xanthine oxidase, pyrogallol 등은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, U.S.A.)에서 구입하여 사용하였으며, 항균력 검색 실험에서 사용한 공시 균주는 피부 상재균으로서 *Staphylococcus aureus* KCTC 1621, *Staphylococcus epidermidis* KCTC 1917, *Escherichia coli* KCTC 1039 및 *Propionibacterium acnes* KCTC 3314를 Korean Cell Line



**Fig. 1.** The procedure for extraction from oriental medicine prescription Seungmakalgeuntang.

Bank(KCLB)에서 구입하여 계대 배양 후 사용하였다. 전 배양 및 본 배양을 위한 액체 배지는 nutrient broth(NB), tryptic soy broth(TSB) 및 GAM(Nissui Co, Tokyo, Japan)를 Difco Lab.(Sparks, MD, U.S.A.)에서 구입하여 사용하였으며, 생육 저해환 및 생균수 측정을 위한 고체배지는 nutrient agar(NA), tryptic soy agar(TSA) 및 GAM agar를 Difco Lab.(Sparks, MD, U.S.A.)에서 구입하여 사용하였다.

**전자공여능 측정.** 전자공여능(EDA; electron donating ability)은 Blois의 방법[1958]을 따라 측정하였다. 각 시료용액 2 mL에 0.2 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 1 mL 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{전자공여능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

**Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정.** SOD 유사활성은 Marklund 등의 방법[1974]에 따라 실시하였다. 각 시료용액 0.2 mL에 Tris-HCl의 완충용액(50 mM Tris+10 mM EDTA, pH 8.5) 2.6 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1.0 N HCl 0.1 mL를 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420 nm에서 측정하였다. SOD 유사활성은 시료용액의 실험구와 대조구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{SOD 유사활성(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

**Xanthine oxidase 저해활성 측정.** Xanthine oxidase 저해활성 측정은 Stirpe와 Corte의 방법[1969]에 따라 측정하였다. 각 시료용액 0.1 mL와 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 mL에 xanthine(2 mM)을 녹인 기질액 0.2 mL를 첨가하고 xanthine oxidase(0.2 U/mL) 0.1 mL를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 종료시킨 다음 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하였다. Xanthine oxidase 저해활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 uric acid 생성량}}{\text{무첨가구의 uric acid 생성량}}\right) \times 100$$

**지방산패 억제능 측정.**

**Fish oil emulsion 조제.** 지방산패 억제능 실험에 사용한 oil emulsion은 실험직전에 만들었으며, 미리 pH 6.5로 보정한 0.1 M maleic acid buffer 8 mL에 유화제인 tween-20을 0.05 mL, 0.25 mL의 fish oil을 넣고 15분간 magnetic bar를 사용하여 교반하였다. 이후 KOH 2 g을 넣고 150 mL까지 정제수를 가한 후 교반 하면서 2 N HCl로 pH 6.5가 되도록 조제하여 사용하였다.

**Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 측정.** Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)는 Buege와 Aust[1978]의 방법에 따라 측정하였다. pH 6.5로 보정한 0.1 M

maleic acid buffer 8 mL를 넣은 다음 50 µL의 tween-20과 0.25 mL의 fish oil을 넣고 15분간 magnetic bar를 사용하여 교반 후 KOH 2 g을 넣고 150 mL까지 물을 가한 후 교반 하면서 2 M HCl로 pH 6.5가 되도록 조제하여 사용한 oil emulsion 용액 1 mL을 37°C 수욕상에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝나자마자 7.2% 50 µL의 dibutylhydroxytoluens(BHT)를 시료에 가하여 산화반응을 정지시켰다. 반응 혼합물을 잘 섞은 다음 2 mL의 TCA/TBA 시약을 가하고 다시 혼합한 후 끓는 물에서 15분간 끓인 다음 원심분리시켜 상등액을 흡광도 531 nm에서 측정하였고, 대조군은 시료대신 증류수를 가하여 같은 방법으로 측정하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

**항균력 측정**

**균배양.** 전 배양 및 본 배양을 위한 액체배지 중 *P. acnes*균은 Gifu anaerobic medium(GAM)을 사용하였고, *E. coli* 및 *S. epidermidis*의 액체배지로는 nutrient broth(NB)를 사용하였고, *S. aureus*의 액체배지로는 tryptic soy broth(TSB)를 사용하였다. 고체배지는 상기 액체배지에 agar를 첨가하여 본 실험에 사용하였다. *P. acnes*균은 5%, CO<sub>2</sub> incubator에서 37°C로 배양하였고, 그 외의 모든 균주는 BOD incubator에서 37°C로 배양하였다.

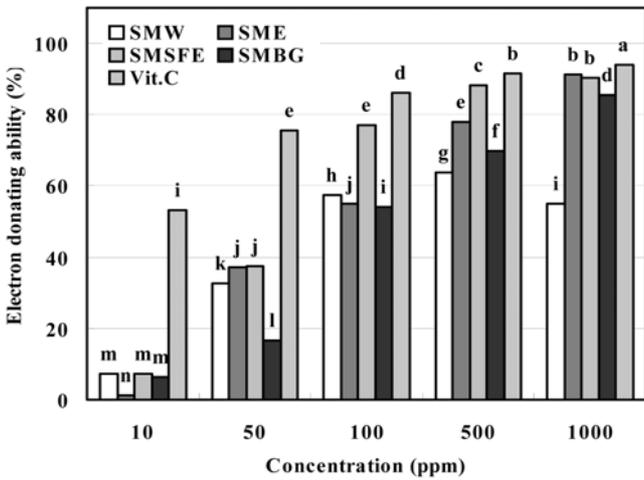
**생육 저해환(Clear zone) 측정.** 항균력 검색실험에서 전 배양 및 본 배양을 위한 액체 배지는 tryptic soy broth를 사용하였으며, 생육 저해환 및 생균수 측정을 위한 고체배지는 tryptic soy agar를 사용하였다. 균액의 희석액으로는 0.1% peptone수를 사용하였다. 추출물의 항균력 측정은 paper disc법[Conner와 Beuchat, 1984]으로 측정하였다. 즉, 평판 배지에 배양된 각 균주를 1 백금이를 취해서 액체배지 10 mL에 18~24시간 배양하여 활성화시킨 후 다시 액체배지 10 mL에 균액을 0.1 mL첨중하여 3~6시간 본 배양한 후 평판배지 1개당 균액을 약 1×10<sup>7</sup> cells되게 접종하여 멸균 면봉으로 균일하게 도말하였다. 멸균된 8mm filter paper disc(Whatman, Japan)를 평판배지에 올려놓은 다음 50 µL/disc가 되도록 추출물을 흡수시켜 35°C에서 18~24시간 배양하여 disc주위의 저해환(mm)의 직경을 측정하였다.

**최소저해농도 결정.** 각 균주에 대한 최소저해농도(MIC: minimum inhibitory concentration)를 측정하기 위하여 각 시료를 농도별로 혼합 분주한 액체배지에 활성화된 각 균주의 전 배양액을 1 백금이량 취하여 접종한 후, 37°C에서 48시간 배양하여 육안으로 미생물의 증식이 확인되지 않은 농도로 결정하였다[Conner와 Beuchat, 1984].

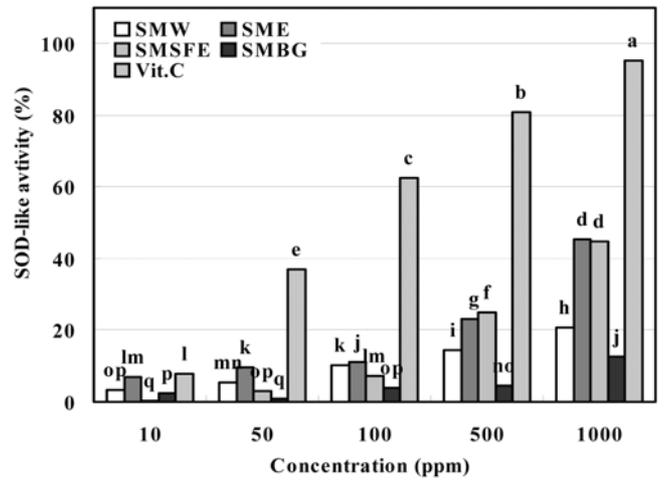
**통계처리.** 통계처리는 SPSS 10.0을 사용하였으며, 유의차 검증은 분산분석(ANOVA:analysis of variance)을 한 후 α=0.05 수준에서 Duncan의 다중검증법(DMRT: Duncan's multiple range test)에 따라 분석하였다.

## 결과 및 고찰

**전자공여능 확인.** 승마갈근탕의 전자공여능을 측정한 결과 Fig. 2와 같이 나타났다. 승마갈근탕 모든 추출물 100 ppm에서



**Fig. 2. Electron donating ability of Seungmakalgeuntang.** SMW: Seungmakalgeuntang extracted with water, SME: Seungmakalgeuntang extracted with ethanol, SMBG: Seungmakalgeuntang extracted with 1,3-butylene glycol, SMSFE: Seungmakalgeuntang extracted with supercritical fluid, Vit. C: Vitamin C. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

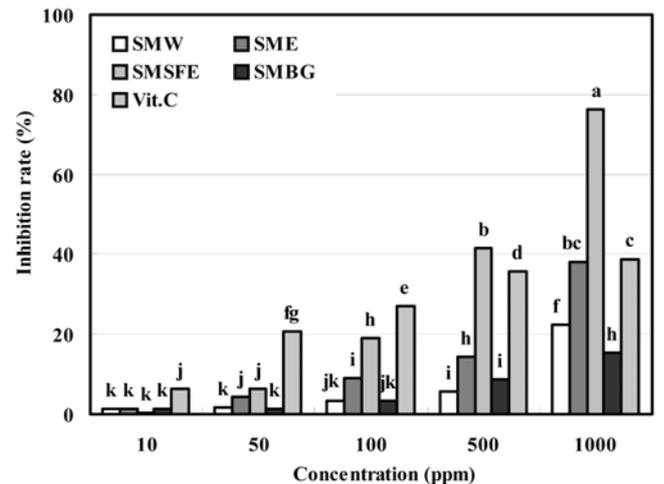


**Fig. 3. SOD-like activity of Seungmakalgeuntang.** SMW: Seungmakalgeuntang extracted with water, SME: Seungmakalgeuntang extracted with ethanol, SMBG: Seungmakalgeuntang extracted with 1,3-butylene glycol, SMSFE: Seungmakalgeuntang extracted with supercritical fluid, Vit. C: Vitamin C. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

55% 이상의 효과를 나타내었고, 특히 초임계 추출물의 경우 500 ppm에서 88%로 가장 높은 효과를 나타내었으며, 대조군인 Vitamin C의 92%와 유사한 전자공여능을 나타내었다. 이는 Yang 등[2006]의 황금과 생강 복합 수용성겔이 10,000 ppm에서 87%, 황금 수용성 겔이 76%를 나타내어 복합처방인 승마갈근탕의 효능이 우수함을 확인할 수 있었다. DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 free radical로서 cystein, glutathione과 같은 유허아미노산과 ascorbic acid, BHA 등에 의해 환원되어 탈색되므로 다양한 천연소재로부터 항산화물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다[Kim 등, 2006; Yu 등, 2006].

**SOD 유사활성 검증.** 승마갈근탕의 SOD 유사활성능을 측정 한 결과 Fig. 3과 같이 나타났다. 승마갈근탕 복합처방의 SOD 유사활성능은 모든 추출물 1,000 ppm에서 50% 이하의 다소 낮은 경향을 보였으나, 에탄올 및 초임계 추출물의 경우 각각 46%, 45%로 열수 및 1,3-butylene glycol 추출물보다 높은 효과가 나타났다. 이는 An 등[2005a]의 한방복합처방인 내소황련탕의 에탄올 추출물이 700 ppm에서 27%로 유사한 효과를 나타내었으며, Lee 등[2005]의 싸리 추출물의 SOD 유사활성능을 측정한 결과 1,000 ppm의 열수, 에탄올 및 압력열수 추출물에서 각각 20, 44, 30%의 유사활성능을 나타내 결과와 비교하여 승마갈근탕 에탄올 및 초임계 추출물의 경우 유의성 있는 결과를 확인할 수 있었다. 이러한 SOD는 다른 종류의 항산화제보다 우수한 효과를 나타내기 때문에 의약품소재로서 많은 관심을 일으키고 있으며, 현재 항염증제나 피부 노화방지를 위한 미용제제로 화장품 등에 이용되고 있다[Kim 등, 1991; Woo 등, 2005; Kim 등, 2006].

**Xanthine oxidase 저해활성 확인.** 승마갈근탕의 xanthine oxidase 저해 활성을 측정한 결과 Fig. 4와 같이 나타났다. 승마갈근탕 초임계 추출물의 경우 1,000 ppm에서 76%의 저해활성을 나타내어 대조군인 Vitamin C의 39% 보다 높은 효과가



**Fig. 4. Inhibition rate of Seungmakalgeuntang on xanthine oxidase.** SMW: Seungmakalgeuntang extracted with water, SME: Seungmakalgeuntang extracted with ethanol, SMBG: Seungmakalgeuntang extracted with 1,3-butylene glycol, SMSFE: Seungmakalgeuntang extracted with supercritical fluid, Vit. C: Vitamin C. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

나타났다. 그 외 승마갈근탕 에탄올 추출물이 1,000 ppm에서 38%의 활성을 나타내어 전반적으로 에탄올 및 초임계 추출물의 활성이 우수함을 확인할 수 있었다. 이는 An 등[2005b]의 청열소독음의 xanthine oxidase 저해활성을 측정한 결과 모든 농도에서 10% 이하의 낮은 효과를 나타낸 결과와 비교하여 승마갈근탕 초임계 추출물의 활성은 유의한 결과를 나타내었다.

**Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> 첨가에 따른 지방산패 억제능 확인.** 승마갈근탕을 산화촉진제인 Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> 이온 첨가에 따른 지방산패능을 측정한 결과 Fig. 5, 6과 같이 나타났다. 승마갈근탕 초임계 추출물의 경우 산화촉진제 Cu<sup>2+</sup> 첨가 시 500 ppm에서 68%의 효과를

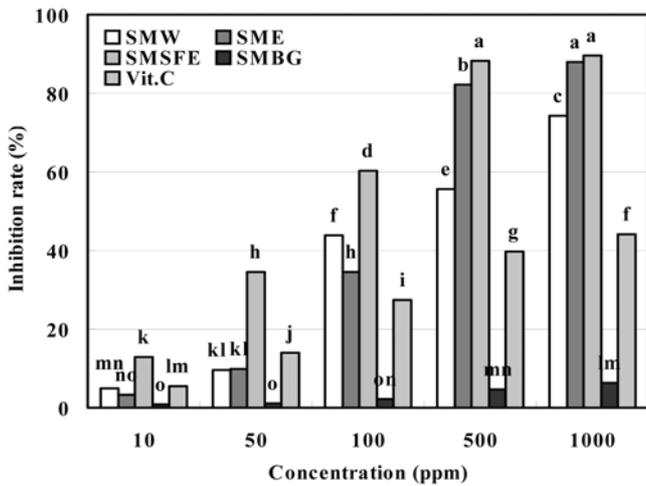


Fig. 5. Effect of Seungmakalgeuntang on lipid oxidation in the presence of ferrous ion (Fe<sup>2+</sup>). SMW: Seungmakalgeuntang extracted with water, SME: Seungmakalgeuntang extracted with ethanol, SMBG: Seungmakalgeuntang extracted with 1,3-butylene glycol, SMSFE: Seungmakalgeuntang extracted with supercritical fluid, Vit. C: Vitamin C. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at *p*<0.05.

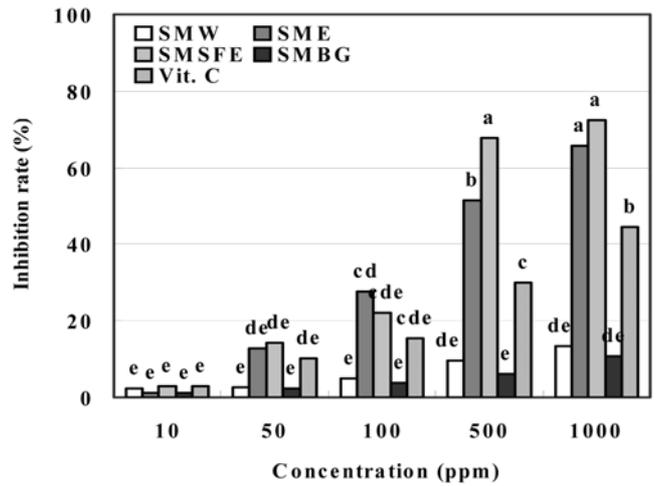


Fig. 6. Effect of Seungmakalgeuntang on lipid oxidation in the presence of Copper ion (Cu<sup>2+</sup>). SMW: Seungmakalgeuntang extracted with water, SME: Seungmakalgeuntang extracted with ethanol, SMBG: Seungmakalgeuntang extracted with 1,3-butylene glycol, SMSFE: Seungmakalgeuntang extracted with supercritical fluid, Vit. C: Vitamin C. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at *p*<0.05.

나타내었고, Fe<sup>2+</sup>를 첨가 시 100 ppm에서 60%의 효과를 나타내어 대조군에 비해 유의한 결과를 나타내었다. 이는 An 등 [2005c]의 황련 추출물에 산화촉진제인 Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> 이온첨가에 따른 지방산패능 측정 결과 전반적으로 Fe<sup>2+</sup> 보다 Cu<sup>2+</sup> 이온의 포집 능력이 뛰어났고, 시료농도가 증가함에 따라 금속이온 포집능이 유의적으로 증가한 경향과 비슷한 경향을 나타내었으며, Kim[2004]의 보고에서 황련 열수 및 에탄올 추출물을 넣고, 보습제를 달리한 화장수의 지방산패능 측정 결과, 1,000 ppm에서 Cu<sup>2+</sup>의 경우 glycerin을 이용한 열수 및 에탄올 추출물이 각각 39, 61%와 butylene glycol을 이용했을 시 70, 81%의 지방산패 억제능과 비교할 때 승마갈근탕 butylene glycol의 활성은 40% 이상의 효과를 나타내어 보습제의 영향에 따른 활성은 높게 나타나지 않았다. 이는 승마갈근탕 구성약재의 플라보노이드 성분이 금속이온과 라디칼의 chelation의 효능을 동시에 가져 비타민 C에 비하여 더 높은 지방산패 억제능을 나타내는 것으로 판단된다[Hein 등, 2002; Kaiserova 등, 2007].

**생육 저해환(Clear zone) 확인.** 승마갈근탕 복합처방의 생육 저해환을 측정하기 위하여 피부상재균인 *S. aureus*, *S. epidermidis* 및 *E. coli*, 여드름균인 *P. acne* 대한 clear zone 형성을 관찰한 결과 Table 2 및 Fig. 7~10과 같이 나타내었다. 승마갈근탕 모든 추출물에서 *E. coli*를 제외한 모든 균주에 대해서 항균효과를 나타내었다. *S. aureus*의 경우, 4 mg/disc에서 열수 추출물에서는 1.14 cm, 에탄올 추출물에서는 1.40 cm, 초임계 추출물에서는 1.45 cm, 1,3-butylene glycol 추출물에서는 1.42 cm의 항균 효과를 나타내었고, *S. epidermidis*의 경우, 4 mg/disc에서 각 추출물이 1.21, 1.82, 1.58 및 1.30 cm의 항균효과를 나타내었으며, *P. acne*의 경우, 4 mg/disc에서 각 추출물이 1.85, 2.05, 2.10 및 1.04 cm의 항균 효과를 나타내었다. 이는 An 등[2005b]의 청열소독음의 생육 저해환 측정에서 *S. aureus*의 경우 2.5 mg/disc에서 열수, 에탄올 추출물 각각 1.35, 1.45 cm의 항균활성을 나타내었고, An 등[2005a]의 내소황련탕의 생육 저해환 측정의 경우 5 mg/disc에서 열수, 에탄올 추출물이

Table 2. Antimicrobial activity of Seungmakalgeuntang on several microorganisms

Strains	Seungmakalgeuntang extracted with water (mg/disc)			Seungmakalgeuntang extracted with ethanol (mg/disc)			Seungmakalgeuntang extracted with supercritical fluid (mg/disc)			Seungmakalgeuntang extracted with 1,3-butylene glycol (mg/disc)		
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1621	- <sup>a</sup>	-	1.14±0.09 <sup>b</sup>	-	1.15±0.07	1.40±0.02	- <sup>a</sup>	1.17±0.09 <sup>b</sup>	1.45±0.19	-	-	1.42±0.22
<i>Staphylococcus epidermidis</i> KCTC 1917	-	1.09±0.10	1.21±0.11	1.23±0.01	1.30±0.09	1.82±0.05	1.12±0.12	1.34±0.16	1.58±0.09	-	-	1.30±0.08
<i>Escherichia coli</i> KCTC 1039	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>propionibacterium acnes</i> KCTC 3314	-	1.25±0.10	1.85±0.07	1.15±0.11	1.44±0.12	2.05±0.15	1.25±0.13	1.65±0.23	2.1±0.15	-	-	1.04±0.11

a: no inhibition, b: inhibition zone diameter(cm).

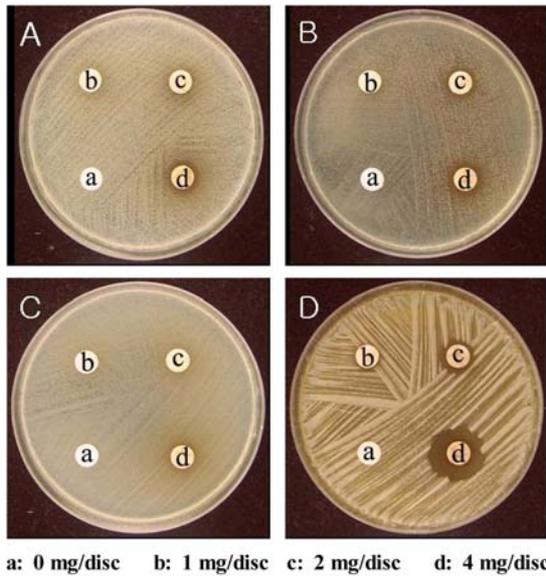


Fig. 7. Antimicrobial activity of Seungmakalgeuntang extracted with water on several microorganisms. A: *Staphylococcus aureus* KCTC 1621, B: *Staphylococcus epidermidis* KCTC 1917, C: *Escherichia coli* KCTC 1039, D: *Propionibacterium acne* KCTC 3314.

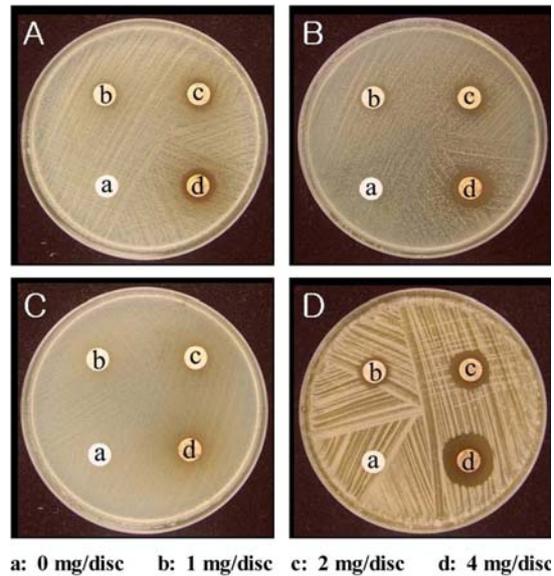


Fig. 9. Antimicrobial activity of Seungmakalgeuntang extracted with supercritical fluid on several microorganisms. A: *Staphylococcus aureus* KCTC 1621, B: *Staphylococcus epidermidis* KCTC 1917, C: *Escherichia coli* KCTC 1039, D: *Propionibacterium acne* KCTC 3314.

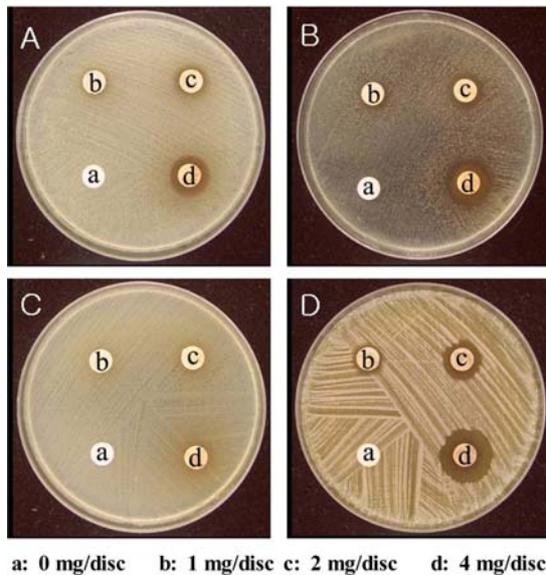


Fig. 8. Antimicrobial activity of Seungmakalgeuntang extracted with ethanol on several microorganisms. A: *Staphylococcus aureus* KCTC 1621, B: *Staphylococcus epidermidis* KCTC 1917, C: *Escherichia coli* KCTC 1039, D: *Propionibacterium acne* KCTC 3314.

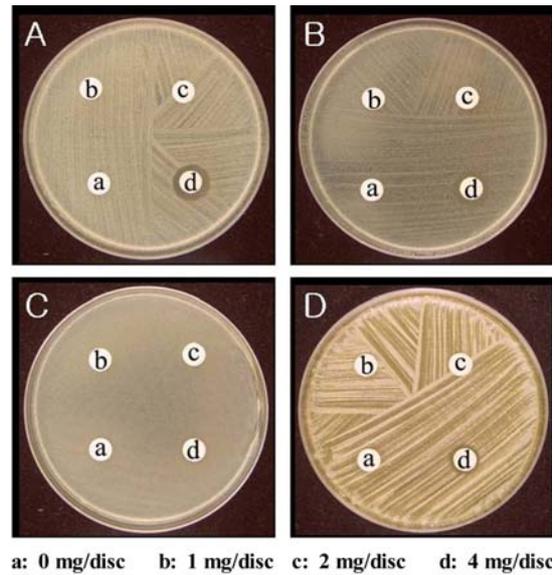


Fig. 10. Antimicrobial activity of Seungmakalgeuntang extracted with 1,3-butylene glycol on several microorganisms. A: *Staphylococcus aureus* KCTC 1621, B: *Staphylococcus epidermidis* KCTC 1917, C: *Escherichia coli* KCTC 1039, D: *Propionibacterium acne* KCTC 3314.

각각 1.80, 2.20 cm를 나타내어, 승마갈근탕 복합처방의 열수, 에탄올 추출물이 다소 낮았으나, 초임계 추출물은 비슷한 항균 활성을 나타내었다. 또한 Do 등[2005]이 보고한 32종의 생약재 추출물의 6종의 미생물에 대한 항균활성검증에서 가자 (*Terminalia chebula*)를 제외한 생약재들이 5 mg/disc에 대한 *S. aureus*와 *P. acne*의 항균활성이 열수, 에탄올 추출물에서 2.0 cm 내외를 나타낸 경우와 비교할 때 승마갈근탕이 *S. aureus*와 *P. acne*에 대한 항균 효과가 더 높은 것을 확인할 수 있었다. 현재 화장품 업계의 글로벌화가 진행되면서 기술적인 능력의 발

전에도 불구하고 화장품 미생물에 의한 오염, 변질, 변패 등의 문제점을 항상 가지고 있어, 최근 천연물로부터 미생물의 증식 억제 및 살균을 목적으로 천연 항균성물질에 대한 탐색이 많이 이루어지고 있다[Nakamura 등, 1991; Hwang 등, 2006]. 이에 복합처방인 승마갈근탕은 한방화장품에 첨가 시 천연 보조 방부제 및 피부 상재균주에 대한 천연 항균제로서 사용이 가능할 것으로 판단된다.

최소저해농도 결정. 최근 식물 등의 천연자원에서 새로운 항

Table 3. Minimum inhibitory concentration(MIC) of Seungmakalgeuntang

Samples	Concentration (ppm)					MIC of <i>Staphylococcus aureus</i> (mg/mL)	Concentration (ppm)					MIC of <i>Staphylococcus epidermidis</i> (mg/mL)
	20,000	10,000	5,000	2,500	1,250		20,000	10,000	5,000	2,500	1,250	
SMW	-	-	-	+	++	5.0	-	-	-	+	++	5.0
SME	-	-	-	+	+	5.0	-	-	-	+	+	5.0
SMSFE	-	-	-	-	+	2.5	-	-	-	-	+	2.5
SMBG	+	+	+	++	++	n.d	-	+	+	++	++	20.0

++: growth, +: weak growth, -: no growth, n.d: not determined

SMW: Seungmakalgeuntang extracted with water.

SME: Seungmakalgeuntang extracted with ethanol.

SMSFE: Seungmakalgeuntang extracted with supercritical fluid.

SMBG: Seungmakalgeuntang extracted with 1,3-butylene glycol

균성 물질을 탐색하려는 연구가 활발히 진행되고 있는데, 이는 소비자들이 합성 첨가물의 안전성에 문제가 있다고 인식하여, 안전한 천연물의 사용을 희망하고 있기 때문이다. 그리하여 천연물의 항균작용에 관한 연구로 복합처방인 승마갈근탕의 최소 저해농도(MIC: minimum inhibitory concentration)를 측정하기 위하여 gram(+) 세균인 *S. aureus*와 *S. epidermidis*를 사용하여 측정된 결과 Table 3과 같이 나타내었다. 승마갈근탕은 각 균주에 대하여 같은 농도에서 MIC를 나타내었다. 즉, *S. aureus*에 대하여 열수, 에탄올 및 초임계 추출물의 MIC는 각각 5.0, 5.0 및 2.5 mg/mL로 초임계 추출물의 MIC가 가장 높게 나타났으며, 1,3-butylene glycol 추출물은 측정할 수 없었다. 또한, *S. epidermidis*에 대하여 각 추출물의 MIC는 5.0, 5.0, 2.5 및 20 mg/mL로 역시 초임계 추출물의 MIC가 가장 높게 나타났다. 이는 Lee 등[2006]의 육상식물인 쇠비름과 대황의 메탄올 추출물에서 최소 저해 농도가 각각 200, 250 mg/mL 결과와 Lee 등[2005]의 동백나무 부위별 메탄올 추출물의 gram(+)균과 gram(-)균의 MIC 측정결과 *Bacillus subtilis*, *S. aureus* 같은 gram(+)균에 대하여 1 mg/mL, 10 mg/mL에서 MIC를 나타내었고, *E. coli*와 *Pseudomonas aeruginosa*와 같은 gram(-)균에 대하여 10, 15 mg/mL로 나타내었다. 이와 같은 결과는 Nakamura 등[1991]이 보고한 바와 같이 gram(+)균의 세포벽은 peptidoglycan이 표면에 노출되어 항균활성 물질의 공격을 받기 쉽지만, gram(-)균은 lipopolysaccharide를 주성분으로 하는 외막이 peptidoglycan을 보호하는 작용을 하기 때문에 사료 된다 [Nielsen 등, 1998; Frauen 등, 2001].

## 초 록

복합처방인 승마갈근탕을 이용하여 화장품 및 식품에 응용하고자 항산화 및 항균효과를 검토하였다. 승마갈근탕의 전자공여능은 모든 추출물 100 ppm에서 50% 이상의 효과를 나타내었고, 특히 초임계 추출물의 경우 500 ppm에서 88%로 가장 높은 효과를 나타내었다. SOD 유사활성은 승마갈근탕 1,000 ppm에서 50% 이하의 다소 낮은 경향을 보였으나, 그 중 에탄올과 초임계 추출물의 경우 각각 46, 45의 효능을 나타내었으며, xanthine oxidase 저해활성의 경우 초임계 추출물 1,000 ppm에서 76%로 대조군인 vitamin C의 39%보다 높은 효과를 나타내

었다. 승마갈근탕의 지방산패 억제능을 측정하기 위해 산화촉진제인 Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> 이온을 첨가하여 측정된 결과 초임계 추출물의 Cu<sup>2+</sup> 첨가 시 500 ppm에서 68%의 효과를 나타내었고, Fe<sup>2+</sup>를 첨가 시 100 ppm에서 60%의 지방산패 억제능을 나타내었다. 승마갈근탕의 clear zone 형성을 관찰한 결과, 추출물 모두 *Escherichia coli*를 제외한 모든 균주에 대해서 항균 효과가 나타내었다. *Staphylococcus aureus*와 *Propionibacterium acnes*의 경우 4 mg/disc에서 초임계 추출물에서는 1.45, 2.10 cm로 가장 높은 항균 효과를 나타내었고, *Staphylococcus epidermidis*의 경우, 에탄올 추출물이 1.82 cm의 항균효과를 나타내었다.

**Key words:** anti-microbial, DPPH, lipid oxidation, seungmakalgeuntang, SOD, xanthin oxidase

## 참고문헌

- An BJ, Lee CE, Son JH, Lee JY, Park TS, Park JM, Bae HJ, and Pyeon JR (2005a) Anti-oxidant, anti-cancer and anti-bacterial activities of Naeso-hwangryntang and its ingredients. *Kor J Herbology* **20**, 17-26.
- An BJ, Lee JT, Son JH, Lee IC, Lee JY, Park TS, Song MA, Cheon SJ, and Jee SY (2005b) Cytotoxicity, antibacterial and antioxidant activities of the prescription Cheongyeolsodokum and its constituent herbs. *Kor J Herbology* **20**, 41-51.
- An BJ, Lee JT, Lee CE, Kim JH, Son JH, Kwak JH, Lee JY, Park TS, Bae HJ, Jang MJ, and Jo CH (2005c) A study on physiological activities of *Coptidis Rhizoma* and application for cosmetic ingredients. *Kor J Herbology* **20**, 83-92.
- Blois MS (1958) Anti-oxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1120.
- Buege JA, and Aust SD (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* **52**, 302-310.
- Cho JS, and Kim KH (1984) The proceedings of 14th annual convention (1983); Studies on the anti-microbial and anti-inflammatory effects of the Sungmagalgun-Tang administered concurrently with tetracycline-HCl. *Kor J Pharmacogn* **15**, 48-49.
- Chun HJ, Hwang SG, Lee JS, Baek SH, Jeon BH, and Woo WH (2002) Inhibitory effects of butyl alcohol extract from *Caesalpinia sappan* L. on melanogenesis in melan-a cells. *Kor*

- J Pharmacogn* **33**, 130-136.
- Conner DE, and Beuchat LR (1984) Sensitivity of heat-stressed yeasts to essential oils of plant. *Appl Environ Microbiol* **47**, 229-233.
- Do JR, Kim KJ, Jo JH, Kim YM, Kim BS, Kim HK, Lim SD, and Lee SW (2005) Anti-microbial, anti-hypertensive and anti-cancer activities of medicinal herbs. *Kor J Food Sci Technol* **37**, 206-213.
- Frauen M, Steinhart H, Rapp C, and Hintze U (2001) Rapid quantification of iodopropynyl butylcarbamate as the preservative in cosmetic formulations using high-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *Jap Pharm Biom Anal* **25**, 965-970.
- Hein KE, Tagliaferro AR, and Bobilya DJ (2002) Flavonoid antioxidants; chemistry, metabolism and structure activity relationships. *J Nutr Biochem* **13**, 572-584.
- Hwang EJ, Lee SY, Kwon SJ, Park MH, and Boo HO (2006) Antioxidative, antimicrobial and cytotoxic activities of *Fagopyrum esculentum* Moench extract in Germinated Seeds. *Kor J Medicinal Crop Sci* **14**, 1-7.
- Jeong JC, Park SD, and Kim HA (1994) An experimental study on the effect of anti-histamine of the Sungmagalkuntang and Sungmagalkuntang plus- samultang. *The Journal of Dong Guk Oriental Medicine* **3**, 207-222.
- Kaiserova H, Simunek T, Van Der Vijgh WJ, Bast A, and Kvasnickova E (2007) Flavonoids as protectors against doxorubicin cardiotoxicity: role of iron chelation, antioxidant activity and inhibition of carbonyl reductase. *Biochem Biophys Acta* **1772**, 1065-1074.
- Kim EJ, Ahn SY, Nam GW, Lee HK, Moon SJ, Kim YM, Oh MS, Kim NS, Chang IS, and Park SK (2006) The anti-aging effects of the cosmetic products containing the needles of red pine on human skin. *Kor J Herbology* **12**, 25-31.
- Kim JH (2004) A study on physiological activities of *Coptidis Rhizoma* and application for cosmetic ingredients. *Daegu Haany University*.
- Kim JY, Lee JA, Yeon JY, Oh DJ, Yong HJ, Lee WJ, and Park SY (2006) Anti-oxidative and anti-microbial activities of *Euphorbia jolkini* Extracts. *Kor J Food Sci Technol* **38**, 699-706.
- Kim KM (2005) Attributes of purchasing herbal cosmetics according to women's interest rates of appearances. *Kor J Soc Cosm* **11**, 265-271.
- Kim MC, Kim MJ, Kim T, Park GT, Son HJ, Kim GY, Choi WB, Oh DC, and Heo MS (2006) Comparison of antibacterial and antioxidant activities of mushroom mycelium culture extracts cultivated in the citrus extracts. *Kor J Biotechnol Bioeng* **21**, 72-78.
- Kim MJ, Kim IJ, Nam SY, Lee CH, Yun T, and Song BH (2006) Effects of drying methods on content of active components, anti-oxidant activity and color values of *Saururus chinensis* Bail. *Kor J Medicinal Crop Sci* **14**, 8-13.
- Kim SW, Lee SO, and Lee TH (1991) Purification and characterization of superoxide dismutase from *Aerobacter aerogenes*. *Kor J Agric Biol Chem* **55**, 101-108.
- Kwak YJ, Lee DH, Kim NM, and Lee JS (2005) Screening and extraction condition of anti-skin aging elastase inhibitor from medicinal plants. *Kor J Medicinal Crop Sci* **13**, 213-216.
- Lee JH, Lee KH, Yoo HI, Zuou XL, Kim YS, Choi HG, and Nam KW (2006) Antimicrobial activity of *Neorhodomela aculeata* extracts against human skin pathogens. *Kor J Fish Soc* **39**, 292-296.
- Lee SY, Hwang EJ, Kim GH, Choi YB, Lim CY, and Kim SM (2005) Anti-fungal and anti-oxidant activities of extracts from leaves and flower of *Camellia japonica* L. *Kor J Medicinal Crop Sci* **13**, 93-100.
- Lee YS, Joo EY, and Kim NW (2005) Anti-oxidant activity of extracts from the lespedeza bicolor. *Kor J Food Sci Technol* **12**, 75-79.
- Marklund S, and Marklund G (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* **47**, 469-474.
- Nakamura S, Kato A, and Kobayashi K (1991) New anti-microbial characteristics of lysozyme-dextran conjugate. *J Agric Food Chem* **39**, 647-650.
- Nielsen MS, Frisvad JC, and Nielsen PV (1998) Protection by fungal starters against growth and secondary metabolite production of fungal spoilers of cheese. *Int J Food Microbiol* **42**, 91-99.
- Stirpe F, and Della Corte E (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol Chem* **244**, 3855-3863.
- Voegeli R (1996) Elastase and trypsin determination on human skin surface. *Cosmetic & Toilettries* **111**, 51-58.
- Woo JY, Paek NS, and Kim YM (2005) Studies on antioxidative effect and lactic acid bacteria growth of *Persimmon* leaf extracts. *Kor J Food & Nutr Sci* **18**, 28-38.
- Yang JH, Kim DK, Yun MY, and Ahn JK (2006) Anti-oxidative activity and therapeutic effect of the hydrogel preparations of *Scutellariae Radix* and *Zingiberis Rhizoma* on dermatitis. *Kor J Pharm Sci Technol* **36**, 253-262.
- Yu MH, Im HG, Lee HJ, Ji YJ, and Lee IS (2006) Components and their anti-oxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zizyphus jujuba* var. *inermis* Rehder. *Kor J Food Sci Technol* **38**, 128-134.