

항생제 내성 *Cutibacterium acnes*에 대한 감태(*Ecklonia cava*) 추출물의 항균 시너지 효과

김은송 · 류주원 · 김효빈 · 송호수¹ · 윤나영² · 심길보³ · 황혜진⁴ · 김영목³ · 엄성환*

동의대학교 식품공학과, ¹영산대학교 조리예술학부, ²국립수산과학원 식품위생가공과, ³부경대학교 식품공학과, ⁴동의대학교 식품영양학과

Addictive Effects of *Ecklonia cava* Methanol and its Solvent-soluble Extract Against Antibiotic-resistant *Cutibacterium acnes* Causing Acne Vulgaris

Eun-Song Kim, Ju-Won Ryu, Hyo-Bin Kim, Ho-Su Song¹, Na-Young Yoon², Kil Bo Shim³, Hye Jin Hwang⁴, Young-Mog Kim³ and Sung-Hwan Eom*

Department of Food Science and Technology, Dong-Eui University, Busan 47303, Republic of Korea

¹Division of Culinary Arts, Youngsan University, Busan 48051, Republic of Korea

²Food safety and Processing Research Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Republic of Korea

³Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan 48513, Republic of Korea

⁴Department of Food and Nutrition, Dong-Eui University, Busan 47303, Republic of Korea

Acne vulgaris is often associated with acne-related bacteria such as *Cutibacterium acnes*. In this study, we investigated the antibacterial effects of the methanol extract of the algae *Ecklonia cava* and its solvent-soluble extract against *C. acnes*. Among five solvent fractions, the ethyl acetate (EtOAc) fraction exhibited the strongest antibacterial activity against *C. acnes*. Furthermore, the EtOAc-soluble extract exhibited the highest total phenolic contents among the five solvent fractions tested. The EtOAc subfraction 07 (Fr. 07) extract showed the highest antibacterial effect against *C. acnes* and isolated *C. acnes* along with minimum inhibitory concentration (MIC) ranging from 32 to 64 µg/mL. Additionally, MICs of antibiotics against antibiotic-resistant *C. acnes* strains were substantially reduced when antibiotics were combined with Fr. 07, suggesting that Fr. 07 restore the antibacterial activity of the antibiotics. The fractional inhibitory concentration indices clearly revealed an additive synergistic effect of Fr. 07 with antibiotics. The results of the present study suggest a potential role for *E. cava* in the control of infections related to acne vulgaris.

Keywords: Antibacterial activity, Antibiotic resistance, *Cutibacterium acnes*, *Ecklonia cava*, Fractional inhibitory concentration

서론

여드름은 얼굴, 목, 가슴 등과 같은 부위에서 발생하는 모피 지성 질환(pilosebaceous disease)으로 구진(papules), 농포(pustules), 낭종(cysts), 결절(nodules)과 같은 다양한 병변이 발생한다(Won et al., 2011). 여드름의 병인으로는 유전적인 원인, 피로와 스트레스, 호르몬 불균형, 과도한 피지 분비, 피지 선의 비정상적인 각질화, 피부상재균의 증식 등 다양한 요인들

의 복합적인 요인에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다(Ko et al., 2018). 피부상재균 중에서 여드름 유발 원인 세균으로 알려진 *Cutibacterium acnes*는 피부의 정상 세균총에 속하지만, 모낭 내에서 과도하게 증식하면 피지의 triglycerides를 가수분해할 뿐만 아니라 모낭 세포를 파괴하여 최종적으로 진피의 염증 반응을 유도함으로써 여드름의 원인 인자로 작용한다(Ko et al., 2018). 현재 여드름 치료에 사용되는 방법은 스테로이드 또는 항생제 및 비타민 A 유도체가 사용되고 있다(Kim et al.,

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 890. 1569 Fax: +82. 505. 182. 6897

E-mail address: shneom@deu.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0293>

Korean J Fish Aquat Sci 56(3), 293-299, June 2023

Received 26 April 2023; Revised 30 May 2023; Accepted 19 June 2023

저자 직위: 김은송(대학원생), 류주원(대학원생), 김효빈(대학원생), 송호수(교수) 윤나영(연구사), 심길보(교수), 황혜진(교수), 김영목(교수), 엄성환(교수)

2006). 주로 benzyl peroxide, clindamycin doxycycline, erythromycin 및 tetracycline과 같은 항생제가 많이 사용되고 있으나, 피부 건조증, 피부 자극성, 접촉성 피부염, 항생제에 대한 내성 발생 등과 같은 부작용이 보고되고 있다(Won et al., 2011). 따라서, 항생제의 남용을 막고 사용량을 최소화하기 위하여 대체 항생제 역할을 할 수 있는 천연물 유래 물질 탐색에 대한 연구가 필요한 실정이다(Lee et al., 2021). 해조류는 다불포화 지방산, 미네랄 및 비타민의 공급원일 뿐만 아니라 phenol/tannin 류, terpen류, 할로젠류, alginate, fucoidan 등의 다당류 기능성 물질을 함유하여 항산화성, 항균성, 항암성, 항당뇨 및 항고혈압성 등과 같은 여러가지 기능성들이 밝혀짐으로써 새로운 신소재 자원으로 주목받고 있다(Athukorala and Jeon, 2005; Heo and Jeon, 2005; Cha et al., 2006; Kim et al., 2006). 해조류 중 감태(*Ecklonia cava*)는 갈조 식물 다시마목(Laminariales) 미역과의 식물로서 우리나라 동해안과 제주도 근해에 널리 자생하고 있다(Cho and Choi, 2010). 현재까지 보고된 감태에 대한 연구로는 lipase저해활성(Jung et al., 2011), tyrosinase 저해활성(Yoon et al., 2009), 항산화(Athukorala et al., 2006), 항염증(Jung et al., 2009), 항암(Kong et al., 2009), 항고혈압 및 항당뇨(Lee et al., 2009) 등의 생리활성이 보고되었지만 여드름균에 대한 연구는 아직 미미한 실정이다. 또한, 최근에는 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* 등의 주요 감염균에 대해 천연물과 항생제 조합에 의한 synergistic antibacterial effect에 대한 보고가 있으나 *C. acnes*의 경우 이에 대한 연구보고가 많지 않다(Eom et al., 2015).

따라서, 본 연구에서는 여드름 원인균인 *C. acnes*의 감태 분획물에 대한 항균활성을 확인하였고, 항생제에 대한 내성을 가지고 있는 분리 균주들에 대한 감태 분획물의 첨가에 의한 항생제의 항균력 회복에 대한 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

시약

본 연구에 사용된 추출시약으로 methanol (MeOH)은 DAEJUNG Chemical & Metals Co., Ltd (Siheung, Korea)의 제품을 사용하였으며, *n*-hexane (hexane), dichloromethane (DCM), ethyl acetate (EtOAc), *n*-butanol (BuOH)은 SK Chemicals Co., Ltd. (Gunpo, Korea)에서 구입하였다. Chloramphenicol, ciprofloxacin, nalidixic acid, oxacillin sodium, penicillin G, tetracycline와 Sephadex LH-20는 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 또한, thin layer chromatography는 silica gel 60 F₂₅₄ (Merck, Darmstadt, Germany)를 사용하였다.

사용균주

한국미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorgan-

isms, KCCM; Seoul, Korea)에서 분양받은 표준균주 *C. acnes* KCCM 41747와 경상대학교병원 병원체자원은행(GNUH-NCCP; Jinju, Korea)에서 분양 받은 2종의 임상 분리균주(*C. acnes* isolate P02875, P04697)를 본 연구에서 사용하였다. *C. acnes* 균주 배양을 위해 GAM (Gifu Anaerobic Medium) 배지 (KisanBio, Seoul, Korea)를 이용하였고, CO₂ incubator (WS-180CA; World Science, Bucheon, Korea)에서 37°C 혐기조건으로 24시간동안 배양하였다. 최적의 성장 조건에서 세균 세포의 생장 곡선을 결정하기 위해 *C. acnes*의 배양액을 GAM agar에 배양하여 colony forming unit (CFU)의 수를 결정하였다(data not shown).

감태 추출물의 용매분획

본 실험에 사용된 건조분말 상태의 감태(*E. cava*)는 장명식품(Seoul, Korea)에서 구매하였다. 건조분말 감태 100 g당 1 L의 MeOH (DAEJUNG Chemical & Metals Co., Ltd)을 가한 후 heating mantle (MS-DM608; MISUNG Scientific Co., Ltd, Seoul, Korea)로 65°C에서 3시간씩 추출하였다. 이 과정을 3회 반복하여 추출액을 모아 40°C에서 감압회전농축기(R-210; Buchi, Flawil, Switzerland)를 이용하여 농축하였다. 농축된 메탄올 추출물에 물 1 L를 넣고 분획깔때기를 이용하여hexane (SK Chemicals Co., Ltd.; 1.0 L×3), DCM (SK Chemicals Co., Ltd.; 1.0 L×3), EtOAc (SK Chemicals Co., Ltd.; 1.0 L×3), 그리고 BuOH (SK Chemicals Co., Ltd.; 1.0 L×3) 용액순으로 용매분획을 실시하였다(Fig. 1). 각각의 용매분획물은 45°C에서 진공회전농축기(Eyela Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 농축시켰다.

Ethyl acetate 분획으로부터 항균성 물질의 분리

가장 항균활성이 높은 감태의 ethyl acetate fraction을 sephadex LH-20 open column chromatography (10×120 cm)를 이용하여 chromatography를 실시하였고, silica gel 60 F₂₅₄ (Merck)를 사용하여 7개의 소분획(sub-fraction)으로 확보하였다. 7개의 fraction을 상기 1종의 표준균주(*C. acnes* KCCM 41747)와 2종의 시험균주(isolated *C. acnes* P02875, P04697)로 항균활성을 확인하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법을 일부 수정하여 측정하였다(Lee et al., 2011). 희석된 추출물 시료 0.1 mL에 0.5 N Folin-Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich)를 0.5 mL을 가하여 혼합한 후 3분간 실온에 반응시켰다. 다음 20% sodium carbonate solution 0.4 mL을 가하여 혼합한 후, 실온에 1시간 방치한 다음 원심 분리를 실시하였다(1600 g, 8 min). 상층액을 취하여 Versamax microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 phloroglucinol (Sigma-Aldrich)의 표준검량곡선을 작성하여

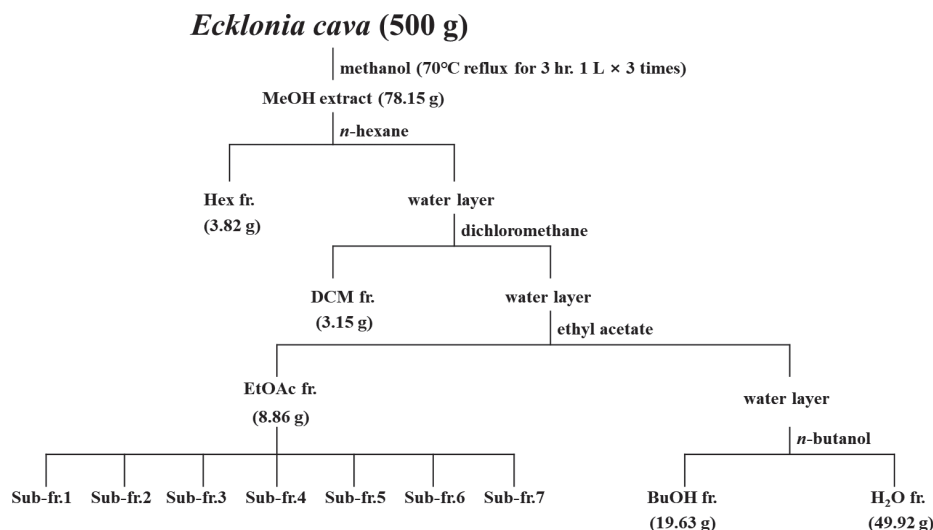


Fig. 1. Isolation and purification procedure of antimicrobial substances from *Ecklonia cava*. MeOH, Methanol; Hex, *n*-hexane; DCM, Dichloromethane; EtOAc, Ethyl acetate; BuOH, *n*-butanol; H₂O, Water.

추출물의 총 폴리페놀 함량을 검량선의 선형방정식을 사용하여 계산되었으며, mg phloroglucinol equivalent (PGE)/g으로 표시하였다.

최소 억제 농도(minimum inhibition concentration, MIC) 결정

여드름균에 대한 해조류 추출물에 대한 최소 억제 농도(minimal inhibitory concentration, MIC) 측정은 clinical laboratory standard institutes (CLSI, 2011; formerly national committee for clinical laboratory standards)의 액체 배지 희석법에 따라 실시하였다. 시료는 각각의 시료는 Mueller-Hinton broth (Difco, Detroit, MI, USA)로 희석하였고, 시험균의 농도는 1 × 10⁴ CFU/mL의 농도로 현탁하여 측정하였으며, Mueller-Hinton broth (Difco)를 이용하여 연속적으로 2배 희석 (broth microdilution method)하여 농도의 범위를 정하였다. 37°C에서 24시간 동안 배양한 뒤, 균의 성장을 관찰할 수 없는 최소 농도를 MIC로 결정하였다.

항균 시너지 효과(antibacterial synergy effect) 측정

*C. acnes*에 대한 sub-fractions (Fr.1–Fr.7)과 항생제 간의 항균 시너지 효과는 fractional inhibitory concentration (FIC) assay (Hsieh et al., 1993)를 이용한 checkerboard 방법(Norden et al., 1979)으로 다음 방정식에 따라 계산하였다.

$$FIC\ index = FIC_A + FIC_B = (C_A / MIC_A) + (C_B / MIC_B)$$

MIC_A와 MIC_B는 각각 A (항생제)와 B (EtOAc sub-fr.)의 단독 MIC 값이며, C_A와 C_B는 A와 B를 병용하였을 때, 대상 균주

에 대해 가지게 되는 A와 B의 생육저해농도를 의미한다. MIC_A와 MIC_B를 합산하여 시너지 효과의 범위를 나타낼 수 있는 FIC index를 결정하였다. 이때 FIC index <0.5는 synergistic, >0.5 to ≤1.0은 additive synergy, >1.0 to ≤4는 indifferent 그리고 >4.0은 antagonistic으로 평가한다(Lee et al., 2008).

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 실시하였으며 그 결과를 SPSS 프로그램(Statistics Package for the Social Science, Ver. 12.0 for Window; SPSS Inc., Chicago, IL, USA)으로 분석하였다. 시료 간 유의성 검정은 one-way ANOVA를 이용하여 분석하였으며 P<0.05에서 Duncan's multiple range test를 실시하여 각 균의 유의차 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

감태 MeOH 추출물 용매 분획물의 총 폴리페놀 함량

육상식물의 페놀성 물질은 gallic acid 또는 ellagic acid로부터 유래하지만, 해양 해조류의 페놀성 물질은 phenolic acid과 같은 단순한 분자부터 phlorotannins 등 매우 복잡한 구조와 분자량을 가지는 화합물까지 다양하다(Gupta and Abu-Ghannam, 2011; Li et al., 2011). 페놀 화합물은 특정 구조인 phenolic hydroxy기를 가지고 있기 때문에 식품의 품질변화와 생체노화의 근원이 되는 산화반응은 이들 물질과 반응 시 산화반응이 지연되면서 항산화 및 항균성을 가지게 되는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2005). 감태 추출물 및 각 용매 분획의 생리활성물질을 확인하기 위해 총 폴리페놀 함량을 Folin-Denis법으

로 측정하였다(Table 1). 총 폴리페놀 함량은 감태 MeOH 추출물이 111.54 mg PGE/g이었으며, 용매 분획별로는 EtOAc 분획이 698.95 mg PGE/g으로 가장 높게 나타났으며 DCM (322.61 mg PGE/g), BuOH (216.45 mg PGE/g), Hex (79.59 mg PGE/g), H₂O (8.45 mg PGE/g) 분획 순으로 나타났다. 이러한 결과는 감태의 분획 중 EtOAc 분획이 가장 높은 총 폴리페놀 함량을 가진다는 기존의 연구 결과들과 일치하는 것으로 확인되었다(Lee et al., 2014). 따라서, EtOAc 분획에서 가장 높은 폴리페놀 함량을 보이는 것을 확인하였으며, 용매의 극성차에 의해 분획된 분획물 중 EtOAc에 용해되는 페놀성 화합물이 함유되었기 때문으로 판단된다

감태 MeOH 추출물의 용매 분획물의 *C. acnes*에 대한 항균활성

감태 MeOH 추출물과 용매 분획물의 여드름균에 대한 최소저해농도를 측정된 결과는 Table 2와 같다. 표준 균주 *C. acnes* KCCM 41747와 임상 분리 2종(isolated *C. acnes* P02875,

Table 1. Total polyphenolic (TP) contents in *Ecklonia cava* methanolic extract and its solvent-soluble fractions

<i>Ecklonia cava</i> extract & its fractions	TP content (mg PGE ¹ /g dry weight)
MeOH extract ²	111.54±5.35 ^d
Hex fr.	79.59±2.33 ^e
DCM fr.	322.61±7.26 ^b
EtOAc fr.	698.95±31.87 ^a
BuOH fr.	216.15±3.75 ^c
H ₂ O fr.	8.45±0.08 ^f

¹PGE, Phloroglucinol equivalents; ²MeOH, Methanol; Hex, *n*-hexane; DCM, Dichloromethane; EtOAc, Ethyl acetate; BuOH, *n*-butanol; H₂O, Water.

Table 2. Antimicrobial activity of solvent fractions from *Ecklonia cava* against *Cutibacterium acnes* and isolated *C. acnes*

<i>E. cava</i> extract & its fractions	MIC ¹ (µg/mL)		
	<i>C. acnes</i> KCCM 41747	Isolated <i>C. acnes</i> P02875	Isolated <i>C. acnes</i> P04697
MeOH extract ²	256	512	256
Hex fr.	128	512	128
DCM fr.	64	256	128
EtOAc fr.	32	128	64
BuOH fr.	64	256	128
H ₂ O fr.	>1,024	>1,024	>1,024

¹MIC, Minimum inhibitory concentration; ²MeOH, Methanol; Hex, *n*-hexane; DCM, Dichloromethane; EtOAc, Ethyl acetate; BuOH, *n*-butanol; H₂O, Water.

P04697)에 대하여 항균활성을 측정된 결과, EtOAc 분획이 32–128 µg/mL의 농도에서 생육을 억제시켜 가장 강한 항균력을 보였으며, DCM 및 BuOH (64–256 µg/mL), Hex (128–512 µg/mL), H₂O (>1,024 µg/mL) 분획 순으로 높은 항균력을 나타냈다. 본 연구에서 감태 MeOH 추출물로부터 용매의 극성차에 의해 Hex, DCM, EtOAc, BuOH, 및 H₂O 분획물을 얻어 항균활성을 측정된 결과, 페놀성 화합물이 용해되는 EtOAc 분획이 가장 높은 항균 활성을 보이는 것을 확인하였다. 이는 가장 높은 토타페놀 함량을 가진 EtOAc 분획이 가장 높은 항균활성으로 가지는 기존 연구 결과에 부합하는 것으로 확인되었다(Lee et al., 2014).

감태 EtOAc 용매분획 추출물 sub-fraction의 *C. acnes* 항균활성

감태 용매 분획물 중 가장 높은 항균력을 나타낸 EtOAc 분획물을 sub-fr. 1–7로 구분하여 여드름 균에 대한 최소저해농도를 측정하였다(Table 3). 표준 균주 *C. acnes* KCCM 41747에 대하여 항균활성을 측정된 결과, sub-fr. 07이 32 µg/mL으로 가장 높은 항균력을 보였으며, 임상 분리 균주 2종(isolated *C. acnes* P02875, P04697)에 대하여 sub-fr. 7이 각각 128 µg/mL, 64 µg/mL의 농도에서 가장 강한 항균력을 보였다. 따라서 감태 EtOAc 용매 분획 추출물 sub-fr. 1–7 중에서 가장 높은 항균력을 가진 sub-fr. 07과 *C. acnes*에 대한 내성을 갖는 항생제와의 시너지 효과를 비교 분석하였다.

C. acnes 분리균주의 항생제 내성

Chloramphenicol, ciprofloxacin, nalidixic acid, oxacillin sodium, penicillin G, tetracycline은 주로 피부 병원균 및 여드름 치료에 사용된다(Ravenscroft, 2005; Han et al., 2010). 하지만, 상용적으로 사용되고 있는 항생제에 대해 피부 병원균이 항생제 내성을 나타내고 있는 것으로 보고되고 있다(Pfaller et al., 2006; Lee et al., 2014). 이에 본 연구에서는 표준 균주 *C.*

Table 3. Antibacterial activities of ethyl acetate sub-fractions from *Ecklonia cava* methanol extracts

Ethyl acetate subfractions	MIC ¹ (µg/mL)		
	<i>C. acnes</i> KCCM 41747	Isolated <i>C. acnes</i> P02875	Isolated <i>C. acnes</i> P04697
Fr. 1	256	256	512
Fr. 2	128	256	256
Fr. 3	64	128	128
Fr. 4	64	256	128
Fr. 5	256	512	512
Fr. 6	256	512	512
Fr. 7	32	128	64

¹MIC, Minimum inhibitory concentration.

acnes KCCM 41747와 임상 분리 균주 2종(isolated *C. acnes* P02875, P04697)에 대한 6종의 항생제 감수성을 확인하고자 하였다(Table 4). 항생제 내성 profile은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2011)와 Sowmiya et al. (2011)를 비교하여 MIC breakpoint를 비교분석하였다. *C. acnes*에 대한 항생제의 MIC breakpoints는 chloramphenicol ($\geq 32 \mu\text{g/mL}$), ciprofloxacin ($\geq 8 \mu\text{g/mL}$), nalidixic acid ($\geq 2 \mu\text{g/mL}$), oxacillin sodium ($\geq 1 \mu\text{g/mL}$), penicillin G ($\geq 2 \mu\text{g/mL}$), 그리고 tetracycline ($\geq 16 \mu\text{g/mL}$)로 확인되었다(CLSI, 2011; Sowmiya et al., 2011; Blaskovich et al., 2019). *C. acnes*와 isolated *C. acnes* P02875, P04697에 대한 항생제의 MIC를 측정된 결과, chloramphenicol (2–4 $\mu\text{g/mL}$), ciprofloxacin (<0.25 $\mu\text{g/mL}$), tetracycline (4–8 $\mu\text{g/mL}$)로 각 항생제의 MIC breakpoint를 충족시킴으로써 항생제에 대한 내성을 가지고 있지 않는 것으로 판단되었다. 하지만, *C. acnes*와 isolated *C. acnes* P02875, P04697에 대한 nalidixic acid의 MIC break point는 8–16 $\mu\text{g/mL}$, oxacillin sodium은 4–8 $\mu\text{g/mL}$, penicillin G은 4 $\mu\text{g/mL}$ 으로 항생제 저항성을 나타냈다. 항생제 내성 병원균을 제어하기 위해 천연 항균제를 병용하여 기존 항생제의 항균활성을 회복시키기 위해, 감태 EtOAc 용매분획 추출물 sub-fr. 07과 *C. acnes*에 대한 내성을 갖는 항생제(nalidixic acid, oxacillin sodium, penicillin G)와의 병용에 의한 항균 활성의 시너지 효과에 대한 연구를 진행하였다(Eom et al., 2013, 2016; Kim et al., 2015).

감태 EtOAc 용매분획 추출물 sub-fr. 07 과 항생제와의 시너지 효과

가장 항균 활성이 높았던 감태 EtOAc 용매 분획 sub-fr. 07

과 *C. acnes*에 내성을 나타낸 항생제(nalidixic acid, oxacillin sodium, penicillin G)와의 병용처리에 의한 시너지 항균효과를 FIC assay로 분석하였다. Table 5에서 나타난 것처럼 표준 균주 *C. acnes* KCCM 41747는 3종의 항생제(nalidixic acid, oxacillin sodium, penicillin G)에 대한 내성을 나타내고 있다. 하지만, 감태 EtOAc 용매분획 sub-fr. 07 (32 $\mu\text{g/mL}$, 64 $\mu\text{g/mL}$)을 병용 사용하였을 때, 표준균주 *C. acnes* KCCM 41747에 대한 nalidixic acid의 값은 8 $\mu\text{g/mL}$ 에서 1 $\mu\text{g/mL}$, 0.25 $\mu\text{g/mL}$ 로 각각 8배, 32배 낮은 농도에서 균의 증식을 억제할 수 있었다. Oxacillin sodium 경우, 감태 EtOAc 용매분획 sub-fr. 07 (32 $\mu\text{g/mL}$, 64 $\mu\text{g/mL}$)을 병용처리에 의해 MIC값이 8 $\mu\text{g/mL}$ 에서 1 $\mu\text{g/mL}$, 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 로 8배, 16배 낮은 농도에서 균의 증식을 억제하였다. Penicillin G의 MIC값은 4 $\mu\text{g/mL}$ 에서 1 $\mu\text{g/mL}$, 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 로 4배, 8배 낮은 농도에서 균의 증식을 억제할 수 있었다. 이러한 결과를 바탕으로 감태 EtOAc 용매분획 sub-fr. 07 (32 $\mu\text{g/mL}$)과 nalidixic acid, oxacillin sodium 그리고 penicillin G의 FIC index를 계산한 결과, 모두 >1.0값을 나타내었기 때문에 *C. acnes*균에 대해 indifference가 나타나는 것으로 확인되었다. 감태 EtOAc 용매분획 sub-fr. 07의 농도를 64 $\mu\text{g/mL}$ 로 하여 FIC assay를 실시하였을 때, 3종의 항생제(nalidixic acid, oxacillin sodium, penicillin G) 모두 >0.5 to ≤ 1.0 의 값을 나타내어 *C. acnes*균에 대해 additive synergy 효과로 확인됐다. 이러한 additive 효과는 표준균주 *C. acnes* KCCM 41747와 분리균주(isolated *C. acnes* P02875, P04697)에서 확인할 수 있었다. 이상의 결과로, 감태 추출물과 항생제 병용 사용으로 항생제 내성을 가진 여드름균이 항생제에 대한 감수성이 회복되었고, 이는 이전의 다른 연구 결과들과도 일치하는 것으로 확인되

Table 4. Minimum inhibitory concentrations (MICs) of chloramphenicol, ciprofloxacin, nalidixic acid, oxacillin sodium, penicillin G, and tetracycline against *Cutibacterium acnes* and isolated *C. acnes*

Strains	MIC ($\mu\text{g/mL}$)					
	Chloramphenicol	Ciprofloxacin	Nalidixic acid	Oxacillin sodium	Penicillin G	Tetracycline
<i>C. acnes</i> KCCM 41747	4	<0.25	8	8	4	8
Isolated <i>C. acnes</i> P02875	4	<0.25	8	8	4	8
Isolated <i>C. acnes</i> P04697	2	<0.25	16	4	4	4

Table 5. Minimum inhibitory concentrations (MICs) and fractional inhibitory concentration (FIC) indices of ethyl acetate sub-fraction 07 in combination with antibiotics against *Cutibacterium acnes*

Strains	Nalidixic acid					Oxacillin sodium					Penicillin G				
	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			FIC index		MIC ($\mu\text{g/mL}$)			FIC index		MIC ($\mu\text{g/mL}$)			FIC index	
	A	B	C	b	c	A	B	C	b	c	A	B	C	b	c
<i>C. acnes</i> KCCM 41747	8	1	0.25	1.13	0.53	8	1	0.5	1.13	0.56	4	1	0.5	1.25	0.63
Isolated <i>C. acnes</i> P02875	8	0.5	0.25	1.06	0.53	8	0.5	0.25	1.06	0.53	4	1	0.5	1.25	0.63
Isolated <i>C. acnes</i> P04697	16	1	0.5	1.06	0.53	4	1	0.5	1.25	0.63	4	1	0.5	1.25	0.63

A, Without sub-fr. 07; B to C and b to c, sub-fr. 07 at 32 and 64 $\mu\text{g/mL}$, respectively. *The FIC index indicated synergism ≤ 0.5 , additive > 0.5 to ≤ 1.0 , indifference >1.0 to ≤ 4 , antagonism >4.0.

었다(Kim et al., 2015; Nshimiyumukiza et al., 2015; Eom et al., 2016).

피부에 흔히 나타나는 여드름의 발생 원인은 명확하게 규명되지 않았으나, 대표적인 피부상재균인 *C. acnes*가 여드름 유발과 밀접한 관련을 가진다고 알려져 있다. 최근 항생제의 대한 내성 발생과 부작용으로 인해 효과적이고 안전한 대체 항생제 역할을 할 수 있는 천연물 유래 물질에 대한 선호도가 증가하고 있다. 이에 식용해조류인 감태 추출물을 대상으로 여드름균에 대한 항균 효과를 실시하였다. 감태 추출물의 용매 분획물 중에서 감태 EtOAc 용매분획 추출물 sub-fr. 07이 *C. acnes* 및 분리균주에 대한 MIC 값이 32–64 µg/mL로 가장 뛰어난 항균 활성을 나타내었다. 또한, *C. acnes*가 내성을 나타내는 항생제 nalidixic acid, oxacillin sodium, penicillin G와 감태 EtOAc 용매분획 추출물 sub-fr. 07과의 병용처리에 의한 항균 시너지 효과를 조사하였다. Nalidixic acid 경우, MIC 값이 8–32배 감소되었고 oxacillin sodium은 8–16배, penicillin G은 4–8배 낮은 농도에서 균을 억제할 수 있었다. 감태 EtOAc 용매분획 추출물 sub-fr. 07과 이들 항생제와의 병용처리시 FIC 값이 >0.5 to ≤1.0의 값을 나타내어 *C. acnes*균에 대해 additive synergy 효과를 나타내었다. 따라서, 본 연구를 통해 여드름과 관련된 질병의 대체 치료제로써 감태 추출물의 가능성을 확인할 수 있었다.

사 사

본 연구는 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구(No. 2018R1C1B504380613)이며, 국립해양생물자원관 연구사업(2022M00500)의 지원을 받아 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

References

- Athukorala Y and Jeon YJ. 2005. Screening for angiotensin 1-converting enzyme inhibitory activity of *Ecklonia cava*. J Food Sci Nutr 10, 134-139. <https://doi.org/10.3746/jfn.2005.10.2.134>.
- Athukorala Y, Kim KN and Jeon YJ. 2006. Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysate from brown alga, *Ecklonia cava*. Food Chem Toxicol 44, 1065-1074. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.01.011>.
- Blaskovich MAT, Elliott AG, Kavanagh AM, Ramu S and Cooper MA. 2019. *In vitro* antimicrobial activity of acne drugs against skin-associated bacteria. Sci Rep 9, 14658. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50746-4>.
- Cha SH, Ahn GN, Heo SJ, Kim KN, Lee KW, Song CB, Kim SM and Jeon YJ. 2006. Screening of extracts from marine green and brown algae in Jeju for potential marine angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory activity. J Korean Soc Food Sci Nutr 35, 307-314. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2006.35.3.307>.
- Cho EK and Choi YJ. 2010. Physiological activities of hot water extracts from *Ecklonia cava* Kjellman. J Life Sci 20, 1675-1682. <https://doi.org/10.5352/JLS.2010.20.11.1675>.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2011. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty First Informational Supplement. CLSI document M100-S2. CLSI, Wayne, PA, U.S.A.
- Eom SH, Kang SK, Lee DS, Myeong JI, Lee J, Kim HW, Kim KH, Je JY, Jung WK and Kim YM. 2016. Synergistic antibacterial effect and antibacterial action mode of chitosan-ferulic acid conjugate against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Microbiol Biotechnol 26, 784-789. <https://doi.org/10.4014/jmb.1511.11046>.
- Eom SH, Kim DH, Lee SH, Yoon NY, Kim JH, Kim TH, Chung YH, Kim SB, Kim YM, Kim HW, Lee MS and Kim YM. 2013. *In vitro* antibacterial activity and synergistic antibiotic effects of phlorotannins isolated from *Eisenia bicyclis* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Phytother Res 27, 1260-1264. <https://doi.org/10.1002/ptr.4851>.
- Eom SH, Santos JA, Kim JH, Jung WK, Kim DH and Kim YM. 2015. *In vitro* antibacterial and synergistic activity of an *Ecklonia cava* extract against anti biotic-resistant *Streptococcus parauberis*. Fish Aquat Sci 18, 241-247. <https://doi.org/10.5657/FAS.2015.0241>.
- Gupta S and Abu-Ghannam N. 2011. Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. Trends Food Sci Tech 22, 315-326. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.03.011>.
- Han SM, Lee KG, Yeo JH, Baek HJ and Park KK. 2010. Antibacterial and anti-inflammatory effects of honeybee (*Apis mellifera*) venom against acne-inducing bacteria. J Med Plants Res 4, 459-464. <https://doi.org/10.5897/JMPR09.427>.
- Heo SJ and Jeon YJ. 2005. Antioxidant effect and protecting effect against cell damage by enzymatic hydrolysates from marine algae. Food Ind Nutr 10, 31-41.
- Hsieh MH, Yu CM, Yu VL and Chow JW. 1993. Synergy assessed by checkerboard. A critical analysis. Diagn Microbiol Infect Dis 16, 343-349. [https://doi.org/10.1016/0732-8893\(93\)90087-N](https://doi.org/10.1016/0732-8893(93)90087-N).
- Jung JY, Kim KBWR, Lee CJ, Kwak JH, Kim MJ, Kim DH, Sun WC, Kim TW and Ahn DH. 2011. Inhibitory effect of *Ecklonia cava* extracts against lipase activity and stability effect of temperature and pH on their activity. J Korean Soc Food Sci Nutr 40, 969-974.
- Jung WK, Ahn YW, Lee SH, Choi YH, Kim SK, Yea SS, Choi IH, Park SG, Seo SK and Choi IW. 2009. *Ecklonia cava* ethanolic extracts inhibit lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression in BV2 microglia via the MAP kinase and NF-κB pathways. Food Chem Toxicol 47, 410-417. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.11.041>.
- Kim JS, Park SW, Ham YS, Jung SK, Lee SH and Chung SK.

2005. Antimicrobial activities and phenolic compounds of pyroligneous liquor. Korean J Food Preserv 12, 470-475.
- Kim KN, Lee KW, Song CB and Jeon YJ. 2006. Cytotoxic activities of green and brown seaweeds collected from Jeju Island against four tumor cell lines. J Food Sci Nutr 11, 17-24. <https://doi.org/10.3746/jfn.2006.11.1.017>.
- Kim SY, Kim YM, Kim EJ and Lee MS. 2015. Synergistic antibacterial activity of *Ecklonia cava* extract against antibiotic resistant *Enterococcus faecalis*. Korean J Fish Aquat Sci 48, 51-57.
- Ko MO, Kang HJ, Hwang JH and Yang KW. 2018. Screening of the antibacterial effects by ethanol extracts from natural plant in Jeju against *Propionibacterium acnes*. J Soc Cosmet Sci Korea 44, 59-66. <https://doi.org/10.15230/SCSK.2018.44.1.59>.
- Kong CS, Kim JA, Yoon NY and Kim SK. 2009. Induction of apoptosis by phloroglucinol derivative from *Ecklonia cava* in MCF-7 human breast cancer cells. Food Chem Toxicol 47, 1653-1658. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.04.013>.
- Lee DS, Kang MS, Hwang HJ, Eom SH, Yang JY, Lee MS, Lee WJ, Jeon YJ, Choi JS and Kim YM. 2008. Synergistic effect between dieckol from *Ecklonia stolonifera* and β -lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Biotechnol Bioprocess E13, 758-764. <https://doi.org/10.1007/s12257-008-0162-9>.
- Lee JH, Eom SH, Lee EH, Jung YJ, Kim HJ, Jo MR, Son KT, Lee HJ, Kim JH, Lee MS and Kim YM. 2014. *In vitro* antibacterial and synergistic effect of phlorotannins isolated from edible brown seaweed *Eisenia bicyclis* against acne-related bacteria. Algae 29, 47-55. <https://doi.org/10.4490/algae.2014.29.1.047>.
- Lee MS, Yim MJ, Lee JM, Lee DS, Kim MY and Eom SH. 2021. *In vitro* antimicrobial activities of edible seaweeds extracts against *Cutibacterium acnes*. Korean J Fish Aquat Sci 54, 111-117. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0111>.
- Lee SH, Li Y, Karadeniz F, Kim MM and Kim SK. 2009. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of phloroglucinol derivatives from edible marine brown alga, *Ecklonia cava*. J Sci Food Agric 89, 1552-1558. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3623>.
- Li YX, Wijesekara I, Li Y and Kim SK. 2011. Phlorotannins as bioactive agents from brown algae. Process Biochem 46, 2219-2224. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.09.015>.
- Norden CW, Wentzel H and Keleti E. 1979. Comparison of techniques for measurement of *in vitro* antibiotic synergism. J Infect Dis 140, 629-633. <https://doi.org/10.1093/infdis/140.4.629>.
- Nshimiyumukiza O, Kang SK, Kim HJ, Lee EH, Han HN, Kim YH, Kim DH, Kim JH, Eom SH and Kim YM. 2015. Synergistic antibacterial activity of *Ecklonia cava* (Phaeophyceae: Laminariales) against *Listeria monocytogenes* (Bacillales: Listeriaceae). Fish Aquat Sci 18, 1-6. <https://doi.org/10.5657/FAS.2015.0001>.
- Pfaller MA, Diekema DJ and Sheehan DJ. 2006. Interpretive breakpoints for fluconazole and *Candida* revisited: A blueprint for the future of antifungal susceptibility testing. Clin Microbiol Rev 19, 435-447. <https://doi.org/10.1128/CMR.19.2.435-447.2006>.
- Ravenscroft J. 2005. Evidence based update on the management of acne. Arch Dis Child Educ Pract Ed 90, ep98-ep101. <http://dx.doi.org/10.1136/adc.2004.071183>.
- Sowmiya M, Malathi J, Madhavan HN, Priya P and Therese KL. 2011. Ocular *Propionibacterium acnes*: A study on antibiotic susceptibility profiling and their epidemiological pattern. Internet J Microbiol 9, 1-7.
- Won JB, Ahn JH and Ma CJ. 2011. Antibacterial activity of some medicinal plants against *Propionibacterium acnes*. Korean J Pharmacogn 42, 59-66.
- Yoon NY, Eom TK, Kim MM and Kim SK. 2009. Inhibitory effect of phlorotannins isolated from *Ecklonia cava* on mushroom tyrosinase activity and melanin formation in mouse B16F10 melanoma cells. J Agric Food Chem 57, 4124-4129. <https://doi.org/10.1021/jf900006f>.