



Investigations of Samwhang-sasimtang Extracts on Biological Activities *In Vitro* and *Vivo*

In-Chul Lee¹, Bae-Hwan Kim^{2*} and Mee-Kyung Kim^{1*}

¹Senior Industry Cluster Agency, Youngdong University, Yeongdong, Korea

²Department of Public Health, Keimyung University, Daegu, Korea

In this study, we investigated the *in vitro* antioxidative effects, antimicrobial activities and single oral dose toxicity of the extracts from Samwhang-sasimtang to evaluate its use as a functional ingredient in cosmetics. In the antioxidative effect, the ethanol extract from Samwhang-sasimtang (SSE) had higher antioxidant values of 91.9% at 1,000 µg/mL than that of water extract from Samwhang-sasimtang (SSW, 77.0%) when evaluated by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical cation decolorization of SSE was 82.2%, higher than that of the SSW (55.0%) and the antioxidant protection factors (APF) of SSW and SSE were 1.64 and 1.62 at 1,000 µg/mL in concentration, respectively. This study was also undertaken to test the *in vitro* antimicrobial activity with the extracts of Samwhang-sasimtang. In general, the SSE showed the significant antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. In single oral dose toxicity study, there were no differences *in vivo* were observed between control and treated groups in clinical signs, body weight gains, and gross finding. The results indicated that SSE did not show any toxic effects at 10 mL/kg in mice, and the LD₅₀ of SSE was found to be higher than 10 mL/kg in this experiment. In conclusion, the extracts from Samwhang-sasimtang may act as a natural subsistence for functional cosmetics.

Key words: Samwhang-sasimtang, antioxidative activity, antimicrobial activity, single oral dose toxicity

(Received 28 January 2010; Revised version received 5 March 2010; Accepted 12 March 2010)

현대인들은 산업발전의 가속화로 인해 발생하는 다양한 환경오염물질에 지속적으로 노출되어 있으며, 이로 인하여 각종 활성산소종의 체내 축적과 생체내의 대사과정 중에 발생되어지는 활성산소종(superoxide, nitric oxide, nitrogen dioxide, hydroxyl, peroxynitrite 등)에 의해 생체 조직의 노화나 악성종양을 비롯한 성인병 발병률이 높아지고 있다(Wiseman, 1996). 노화 및 노화관련 각종 질환의 주요 원인으로 작용하는 활성산소의 생성을 억제하기 위한 항산화 활성물질로서 천연항산화제인 아스코르빈산,

토코페롤, 플라보노이드, 탄닌 등과 합성항산화제인 butylated hydroxyanisole (BHA) 및 butylated hydroxytoluene (BHT) 등이 식품, 화장품 등에 산화제해제로 많이 사용되고 있으며, 최근에는 우수한 항산화활성과 안전성이 확보된 천연물 유래의 항산화제를 개발하기 위한 연구들이 활발히 진행되고 있다(Masaki et al., 1995). 특히 미용을 목적으로 한 천연식물 소재의 연구에서는 한약재로 쓰이는 약초나 민간요법에서 사용되고 있는 여러 가지의 민간약초에서 추출한 추출물 및 분획물의 항산화, 항균, 미백, 보습효과 등에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Masaki et al., 1995; Ham et al., 1997; Ryoo and Cha, 1998; Oh and Whang, 2003).

삼황사심탕(三黃瀉心湯)은 금괴요략(金匱要略)에 처음 기재된 처방으로, 한방에서는 주로 고열압, 동맥경화, 뇌충혈, 불면증, 구내염 등의 치료에 쓰이는 처방중 대표적인 것이다(Oatsuka, 1963). 이 처방은 황금, 황련, 대황으로 이루어진 생약복합제제로써 청열사화(淸熱瀉火)·해독(解毒)·청열화습(淸熱化濕)·사하(瀉下)·지혈(止血) 등의 효능이 있어, 심화상염(心火上炎)으로 인한 실열(實熱)을 치료하는

*Corresponding authors: Bae-Hwan Kim, Department of Public Health, Keimyung University, 2800 Dalgubeoldaero, Dalseo-Gu, Daegu, 704-701, Korea
Tel: +82-53-580-5933
Fax: +82-53-580-5164
E-mail: kim9399@kmu.ac.kr
Mee-Kyung Kim, Senior Industry Cluster Agency, Youngdong University, 12-1, Seolge-ri, Yeongdong-eup, Yeongdong-gun, Chungbuk 370-701, Korea
Tel: +82-43-740-1430
Fax: +82-43-740-1449
E-mail: kim5179@youngdong.ac.kr or kim9399@kmu.ac.kr

기본 처방이다. 대황은 사하(瀉下)의 효과가 있을 뿐만 아니라 황금, 황련과 함께 배합되면 염증, 충혈을 소산시키는 효과가 있고 뇌충혈, 뇌일출의 발작직후 또는 발작 후 시일이 경과되었을 때 사용된다. 이는 지혈작용 외에 소염, 진정의 효과가 있기 때문이다. 동물실험을 통한 대황의 약리효과는 총콜레스테롤의 상승억제효과를, 황금과 황련은 동맥경화의 예방 및 방지효과가 있다고 보고(Suzuki et al., 1991)하였으며 또한 황금의 플라보노이드 성분에 대한 연구에서 실험적 고지혈증, 지방간 형성에 혈청 및 간 콜레스테롤 및 중성지방의 저하 작용을 보고(Suzuki et al., 1991)하였다.

지금까지 한약재에 대한 약리학적 연구와 약효성분에 대한 연구는 많이 보고되어 있으나 생약복합제제의 약효에 대한 연구와 기능성 소재 및 화장품 산업의 응용에 대한 추출물의 안전성에 대한 연구가 진행되어 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 생약복합제제중의 하나인 삼황사심탕의 물추출물과 에탄올추출물을 이용하여 화장품 산업에서의 기능성 소재로서의 적용 가능성을 확인하기 위하여 항산화효과와 항균활성을 검증함과 동시에 추출물에 대한 안전성을 보기 위해 단회경구독성시험도 함께 수행하였다.

재료 및 방법

재료 및 추출 제조

본 실험에 사용한 삼황사심탕은 동의보감에 수록된 내용에 준하여 조제하였으며, 시료로 사용된 약재는 경북 영천 소재의 옴니허브(주)에서 구입하여 물로 세척하여 음건 후 사용하였다. 삼황사심탕의 물추출물은 대황(42.8 g), 황련(28.6 g), 황금(28.6 g)을 구성비로 개량한 다음 시료 중량 대비 10배의 증류수를 가하여 85°C에서 3시간 환류냉각 추출하여 상등액과 침전물을 분리하였으며 동일 조작을 3회 반복 추출하였다. 에탄올추출물은 시료 중량 대비 70% 에탄올 10배의 양을 가하여 실온에서 24시간 동안 교반 추출하고, 추출 후 상등액과 침전물을 분리하였으며, 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 각 추출물을 여과, 농축하여 동결건조 후 냉동실에 보관하면서 시료로 사용하였다.

실험균주 및 배지

항균력 검색 실험에 사용한 공시균주는 피부 상재균으로서 *Staphylococcus aureus* KCTC 1621, *Staphylococcus epidermidis* KCTC 1917 및 *Escherichia coli* KCTC 1039를 선정하였고, 한국생명공학연구원 생물자원센터에서 분양받아 사용하였다. *S. aureus*의 배양에는 최적배지 tryptic soy broth (DB, USA)를, *S. epidermidis*와 *E. coli*는 nutrient broth (DB, USA)를 각각 사용하였다. 고체배지는

상기배지에 agar를 첨가하여 사용하였다. 균주는 slant에 배양된 각각의 균주를 백금으로 취해 10 mL broth 생균 배지에 접종하고 각 균주의 생육적온에서 일정간격으로 계대배양하여 사용하였으며, 균의 활성을 유지하였다.

항산화 효과 측정

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능 측정: DPPH radical에 대한 라디칼 소거활성은 Blois 법 (1958)을 변형하여 측정하였다. 각 시료 0.5 mL에 60 μ M DPPH (Sigma, USA) 3 mL를 넣고 vortex한 후 15분 동안 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical cation decolorization 측정: ABTS (Wako, Japan) 양이온 소거능의 측정은 Pellegrin et al. (1999)의 방법에 의해 측정하였다. 즉, 7 mM ABTS 5 mL과 140 mM, $K_2S_2O_8$ 88 μ L를 섞어 어두운 곳에 14~16시간 방치시킨 후, 이를 absolute ethanol과 1:88 비율로 섞어 734 nm에서 대조구의 흡광도 값이 0.7 ± 0.002 가 되도록 조절한 ABTS solution을 사용하였다. 시료용액 50 μ L와 ABTS solution 1 mL를 혼합하여 30초간 진탕한 후 2.5분간 반응시키고 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Antioxidant protection factor (APF) 측정: Antioxidant protection factor는 Andarwulan과 Shetty의 방법(1999)으로 측정하였다. 10 mg의 β -carotene (Sigma, USA)을 50 mL의 chloroform에 녹인 용액 1 mL를 evaporator용 수기에 넣고 40°C water bath에서 chloroform을 증류시킨 후 20 μ L linoleic acid (Sigma, USA), 184 μ L Tween 40과 50 mL H_2O_2 를 가하여 emulsion을 만들고, 5 mL의 emulsion용액에 시료용액 100 μ L를 혼합하여 vortex로 잘 섞어준 뒤 50°C에서 30분간 반응시켜 냉각시킨 다음 470 nm에서 흡광도를 측정하였다.

항균활성

항균활성 실험은 disc 방법(Higasi, 2000)에 의하여 실시하였다. 즉, 평판최적배지에 균 100 μ L를 분주하여 멸균 유리봉으로 도말한 다음, 멸균된 disc paper (ϕ 8 mm)를 올리고 0.45 μ m membrane filter로 제균한 추출물 50 μ L로 흡수시키고, 대조균은 추출용매를 흡수시킨 후 각 균주별 최적배양조건에서 24시간 동안 배양한 다음 disc 주위의 clear zone 생성 유무를 확인하여 저해활성을 계산하였다.

단회경구독성시험

실험동물 및 사육조건: 본 실험에 사용한 동물은 5주령의 암·수 ICR계 SPF 마우스(효창사이언스, 대구)를 구

입하여 1주일간 검역기간을 거쳐 건강한 동물만 선택하여 실험에 사용하였다. 사육실 환경조건은 온도 $23\pm 3^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50\pm 10\%$, 환기 횟수 15회/시간, 조도 150~300 Lux, 명암주기 12시간(오전 8시~오후 8시)으로 유지하였다. 실험동물은 마우스용 케이지에 5마리씩 각각 암수 분리하여 사용하였으며 실험기간 동안 사료(Purina Korea)와 물은 자유롭게 급식시켰다.

투여용량의 설정: 본 실험에 사용된 시험물질인 삼향사심탕 에탄올추출물은 예비시험을 통해, 용매(10% 에탄올)에 녹일 수 있는 최대 농도인 1%로 녹여 투여할 수 있는 한계액량인 10 mL/kg으로 투여군을 설정하여 암수 각 5마리씩 투여하였으며, 대조군은 용매인 10% 에탄올을 10 mL/kg으로 설정하여 암수 각 5마리씩 투여하였다. 모든 동물은 투여 전 16시간 절식시킨 후, 경구투여용 존데를 이용하여 투여당일 체중을 기준으로 10 mL/kg씩 1회 강제 경구투여 하였다. 실험에 사용한 동물의 평균 체중은 수컷은 20.88 ± 0.58 g, 암컷은 20.21 ± 0.59 g이었다.

관찰 및 검사항목: 임상증상 및 사망 여부의 관찰은 모든 실험동물에 대하여 투여당일은 투여 후 6시간 동안 매 시간마다 관찰하였으며, 투여 다음날부터 14일까지는 1일 1회씩 동물의 일반상태의 변화, 중독증상의 발현 및 사망유무를 관찰하였다. 또한 시험에 사용된 모든 실험동물에 대하여 삼향사심탕 에탄올추출물 투여일, 투여 후 1일, 3일, 7일, 14일째에 체중을 측정하였다. 시험 종료 시 실험동물을 에테르로 마취시킨 후 개복하여 방혈치사하여 안락사 시킨 다음 외관 및 내부 장기의 이상 유무를 육안적으로 관찰하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복하여 평균값과 표준오차를 구하였으며 단회투여독성시험의 경우 최고용량 1개 군만으로 실험하였기 때문에 probit법에 의한 LD_{50} 산출은 행하지 않았다. 대조군과 시험군 간의 체중변화에 있어서는 student's t-test를 이용하여 유의성 여부를 검사하였다.

결 과

삼향사심탕 추출물의 항산화 효과

본 실험에서는 삼향사심탕의 추출물을 농도별(10, 50, 100, 500, 1,000 $\mu\text{g/mL}$)로 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)에 대한 라디칼 소거활성을 측정된 결과 물추출물과 에탄올추출물 모두 농도의존적으로 증가하는 경향을 나타내었으며, 500~1,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 물추출물은

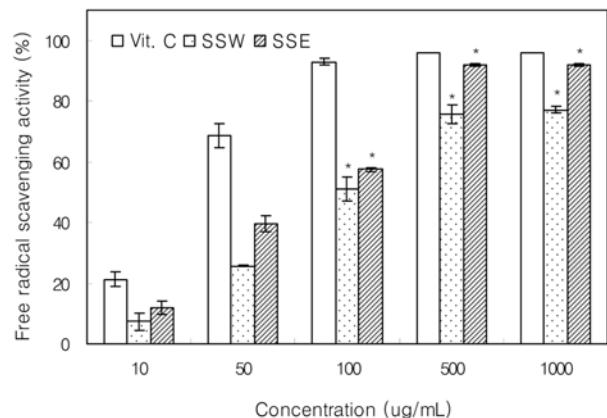


Figure 1. Antioxidative effect of Samwhang-sasimtang extracts on DPPH radical scavenging activity. SSW, Samwhang-sasimtang water extracts; SSE, Samwhang-sasimtang ethanol extracts. Data shown are mean values with SD (n=3). The value of each group statistically significant as compared with control (* $P<0.05$).

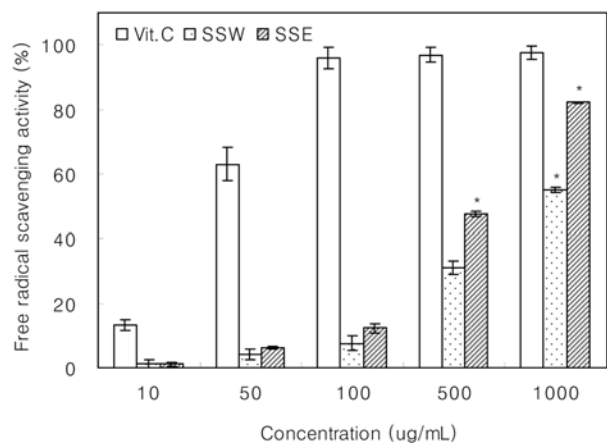


Figure 2. Antioxidative effect of Samwhang-sasimtang extracts measured by ABTS radical cation decolorization. SSW, Samwhang-sasimtang water extracts; SSE, Samwhang-sasimtang ethanol extracts. Data shown are mean values with SD (n=3). The value of each group statistically significant as compared with control (* $P<0.05$).

75.6~77.0%, 에탄올추출물은 91.8~91.9%의 소거능을 나타내었다(Figure 1). 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 양이온 소거능은 Figure 2에서와 같이 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 에탄올추출물은 82.2%로 높은 항산화력을 나타내었으며 물추출물은 55.0%의 낮은 항산화력을 나타내었다. β -carotene을 linoleic acid emulsion에 첨가하여 삼향사심탕 추출물들의 지용성 물질에 대한 항산화력을 측정된 결과, 물추출물과 에탄올추출물은 농도의존적으로 증가하는 경향을 나타내었으며, 10~1,000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 antioxidant protection factor (APF)가 1.20~1.64와 1.21~1.62로 유사한 경향을 나타내었다(Table 1).

Table 1. Antioxidative effect of Samwhang-sasimtang extracts by antioxidant protection factor

Sample	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)				
	10	50	100	500	10,000
BHT	1.55 \pm 0.08 ^a	1.67 \pm 0.07 ^a	1.78 \pm 0.11 ^{ab}	1.78 \pm 0.08 ^{ab}	1.79 \pm 0.07 ^{ab}
SSW	1.20 \pm 0.11 ^a	1.24 \pm 0.13 ^a	1.42 \pm 0.09 ^{ab}	1.53 \pm 0.05 ^{ab}	1.64 \pm 0.05 ^c
SSE	1.21 \pm 0.01 ^a	1.27 \pm 0.07 ^a	1.40 \pm 0.08 ^{ab}	1.56 \pm 0.01 ^{bc}	1.62 \pm 0.02 ^{bc}

BHT, butylated hydroxytoluene; SSW, Samwhang-sasimtang water extracts; SSE, Samwhang-sasimtang ethanol extracts. ^{a,b}Values are mean \pm standard deviations of triplicate determinations, different superscripts within a same row are significant differences at $P<0.05$.

항균활성

Disc diffusion method에 의하여 삼황사심탕 추출물의

Table 2. Antimicrobial activities of Samwhang-sasimtang extracts against several microorganisms

Strains	Concentration (mg/8 mm paper disc)	Clear zone on plate (mm) ¹	
		SSW	SSE
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.5	- ²	-
	1	-	9.0
	2	-	12.0
	4	-	16.3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.5	-	-
	1	-	9.0
	2	-	10.0
	4	-	11.0
<i>Escherichia coli</i>	0.5	-	-
	1	-	-
	2	-	-
	4	-	-

SSW, Samwhang-sasimtang water extracts; SSE, Samwhang-sasimtang ethanol extracts. ¹Diameter. ²No inhibitory zone was formed.

항균 효과를 검토하기 위하여 피부상재균인 *S. aureus*, *S. epidermidis* 및 *E. coli*에 대한 생육 저해환 형성을 관찰한 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 삼황사심탕 물추출물은 3종 균주 모두에 대하여 항균활성을 나타내지 않았다. 에탄올추출물의 경우에는 *S. aureus*와 *S. epidermidis*에 대해 농도의존적으로 항균활성이 크게 나타났으며 *S. aureus*는 1, 2, 4 mg/disc의 에탄올추출물을 주입하였을 때 각각 9.0, 12.0, 16.3 mm의 저해환을, *S. epidermidis*는 에탄올추출물을 주입하였을 때 각각 9.0, 10.0, 11.0 mm의 저해환을 확인할 수 있었다. 그러나 *E. coli*에 대해서는 항균활성을 나타내지 않았다.

단회투여독성의 사망률과 임상증상

삼황사심탕 에탄올추출물을 마우스에 경구투여시 시험 기간 동안 시험군의 암수 동물에서 삼황사심탕 에탄올추출물에 기인한 사망은 관찰되지 않았으며 (Table 3), 독성 증상과 특이할 만한 임상 증상도 나타나지 않았다 (Table 4). 따라서 삼황사심탕 에탄올추출물(1%)을 마우스에 단회 경구투여하였을 때의 최소 치사량은 암수 모두 10 mL/kg 이상이였다.

Table 3. Mortality of male and female mice orally treated with Samwhang-sasimtang ethanol extract (1%)

Material	Sex	Injected volume (mL/kg)	Hours after treatment							Days after treatment				Final mortality
			0	1	2	3	4	5	6	1	3	7	14	
Con ¹	Male	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	Female	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
SSE ²	Male	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	Female	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5

¹Con, 10% ethanol. ²SSE, ethanol extract from Samwhang-sasimtang (1%). Values are expressed as number of dead animals/total animals (n=5).

Table 4. Clinical signs of male and female mice orally treated with 10 mL/kg of Samwhang-sasimtang ethanol extract (1%)

Material	Sex	Clinical signs	Hours after treatment							Days after treatment			
			0	1	2	3	4	5	6	1	3	7	14
Con ¹	Male	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Female	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
SSE ²	Male	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Female	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

¹Con, 10% ethanol. ²SSE, ethanol extract from Samwhang-sasimtang (1%). Values are expressed as number of animals observed clinical signs (n=5).

Table 5. Body weights of male and female mice orally treated with 10 mL/kg of Samwhang-sasimtang ethanol extract (1%)

Material	Sex	Number of animals	Days after treatment				
			0	1	3	7	14
Con ¹	Male	5	20.72±0.65	22.98±0.75	27.05±1.08	29.21±1.35	33.54±1.88
	Female	5	19.83±0.52	20.84±0.95	25.09±1.25	28.11±1.54	30.51±2.43
SSE ²	Male	5	20.88±0.58	22.18±0.93	26.55±1.51	28.05±1.94	32.14±1.89
	Female	5	20.21±0.59	20.89±0.92	24.92±1.35	27.10±1.67	29.39±2.21

¹Con, 10% ethanol. ²SSE, ethanol extract from Samwhang-sasimtang (1%). Values are expressed as means±SD (g).

Table 6. Gross findings of necropsy in male and female mice orally treated with 10 mL/kg of Samwhang-sasimtang ethanol extract (1%)

Material	Sex	Observation	Frequency
Con ¹	Male	NGL ³	5/5
	Female	NGL	5/5
SSE ²	Male	NGL	5/5
	Female	NGL	5/5

¹Con, 10% ethanol. ²SSE, ethanol extract from Samwhang-sasimtang (1%). ³NGL, no gross lesion. Values are expressed as animal numbers.

단회투여독성의 체중변화 및 부검 소견

시험기간을 통한 암수 동물의 체중 측정 결과 삼황사심탕 에탄올추출물의 투여에 기인한 현저한 체중의 감소 또는 증가 등 유의한 차이가 나타나지 않았다(Table 5). 시험 종료 후 생존동물을 부검한 결과 삼황사심탕 에탄올추출물 투여군과 대조군 모두 내부 장기의 육안적 이상소견이 관찰되지 않았다(Table 6).

고 찰

산업의 급격한 발전에 따른 생활수준 향상과 자외선, 오존 및 기타 환경오염물질에 의한 산화적 스트레스에 의한 질환 및 노화 촉진으로 인해 건강과 미용에 대한 관심이 급증하게 되면서 의약품, 화장품, 기능성 식품 등의 관심이 증대되었다. 따라서 현재 장기간의 사용에도 부작용이 적은 식물 유래의 약용 천연물에 대한 연구가 광범위하게 진행되고 있으며(Kim et al., 2006; Shin, 2007) 특히, 미용을 목적으로 한 천연식물 소재의 연구에서는 한약재나 약초에서 추출한 추출물에 대한 생리활성 효능에 대한 연구가 많이 보고되어있다(Masaki et al., 1995; Ham et al., 1997; Ryoo and Cha, 1998; Oh and Whang, 2003). 그러나 생약복합체제의 약리효능에 대한 연구와 기능성 소재 및 화장품 산업의 응용에 대한 추출물의 안전성에 대한 연구가 미흡한 실정이다. 그러므로 본 연구에서는 생약복합체제중의 하나인 삼황사심탕의 추출물을 이용하여 화장품 산업에서의 기능성 소재로서의 적용 가능성을 확인하기 위하여 항산화효과와 항균활성

검증 및 그 추출물에 대한 안전성을 보기 위해 단회급성 독성시험을 실시하였다.

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 양이온 소거능 및 antioxidant protection factor (APF)는 항산화활성을 나타내는 것으로서 DPPH는 짙은 자색을 띄는 비교적 안정한 자유라디칼로 아스코르빈산, 토코페롤, 방향족 아민류 및 BHA 등에 의해 환원되어 탈색되므로 시료의 flavonoids 및 phenolic 물질 등에 대한 항산화 작용의 지표로 이용되고 있다(Jeong et al., 2005). 자유라디칼은 인체 내에서 지질 또는 단백질 등과 결합하여 노화를 일으키기 쉬운데 폐놀성 화합물의 경우 자유라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 강해 인체 내에서 노화를 억제하는 척도로 이용할 수 있다(Torel et al., 1986). 그리고 APF는 lipoprotein과 같은 지방산화성 구조의 내부에 존재하면서 singlet oxygen을 효과적으로 억제하는 것으로 알려져 있는 β -carotene에 linoleic acid emulsion을 첨가하여 지용성 물질에 대한 항산화력을 측정하는 것이다. 본 실험에서는 삼황사심탕 추출물의 항산화 효과를 측정 한 결과 농도 1,000 μ g/mL에서 에탄올추출물이 DPPH에 대한 라디칼 소거능 91.9%로, ABTS 양이온 소거능 82.2%로 물추출물에 비하여 높은 항산화력을 나타내었으며, APF는 물과 에탄올추출물에서 1.64, 1.62의 항산화력을 나타내었다. 이와 같은 항산화효과는 지질의 산화, 활성산소의 소거 및 산화적 스트레스를 막아주므로 인해 노화방지, 암 및 심장질환 등의 예방 및 지연 효과로 오늘날 식품, 의약품, 화장품 등의 분야에서 이들 효과를 활용하고 있다. 따라서 삼황사심탕 에탄올추출물은 항산화 효과를 기초로 하여 판단하면 생체내에서 일어나는 산화적인 스트레스 및 노화의 예방에 유용한 것으로 사료된다.

피부상재균인 *S. aureus*, *S. epidermidis* 및 *E. coli*에 대한 삼황사심탕 추출물의 항균효과를 측정하기 위하여 균의 생육 저해환 형성을 관찰한 결과 물추출물의 경우는 3종 균주 모두에 대하여 항균활성을 나타내지 않았으며, 에탄올추출물의 경우에는 *S. aureus*에 대한 항균활성은 1~4 mg/disc 농도에서 9.0~16.3 mm의 저해환을, *S. epidermidis*에 대한 항균활성은 9.0~11.0 mm의 저해환을 나타내었으나 *E. coli*에 대해서는 항균활성을 나타내지 않

았다. 따라서 삼황사심탕 에탄올추출물은 화장품의 보조 방부제 및 피부상재균주에 대한 항균제로서 사용이 가능할 것으로 사료된다.

오랫동안 사용하여 온 한약재의 경우에도 용매로 추출을 하였을 때 독성이 나타날 수 있으므로 식품 및 화장품의 기능성 소재로서 적용하기 전에 독성에 대한 안전성을 확인할 필요가 있을 것으로 생각된다. 따라서 본 연구에서는 최고 투여용량인 10 mL/kg으로 마우스에 대해 단회경구독성을 실시한 결과 삼황사심탕 에탄올추출물을 투여한 시험군에서 시험기간 동안 삼황사심탕 에탄올추출물에 의한 사망은 관찰되지 않았고 독성증상과 임상증상에서도 아무런 이상이 발견되지 않았으며 대조군과 비교하여 체중변화나 모든 생존 동물의 부검조건에서도 이상이 관찰되지 않았다. 따라서 삼황사심탕 에탄올추출물을 10 mL/kg 용량까지 단회경구독성시험에서 어떠한 독성 소견도 유발하지 않았으므로, LD₅₀는 최소한 10 mL/kg 이상인 것으로 보인다.

이상의 시험결과 삼황사심탕 에탄올추출물은 *in vitro* 효능시험에서 1,000 µg/mL의 농도에서 높은 항산화효과와 피부상재균에 대한 항균활성을 나타내었으며, ICR 계통의 마우스에서 단회경구투여시 10 mL/kg의 용량에서 어떠한 독성 영향도 유발하지 않았으므로 화장품의 기능성 소재로서 적용 가능하리라 생각된다.

참고문헌

- Andarwulan, N. and Shetty, K. (1999) Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and Agrobacterium transformed roots of anise (*Pimpinella anisum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 47(4), 1776-1780.
- Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* 81, 1198-1199.
- Pellegrin, N., Roberta, K., Min, Y. and Catherine, R.E. (1999) Screening of dietary carotenoid and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azino-bis(3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. In *Method in Enzymology*, 299, pp.379-389, Academic Press, New York and London.
- Ham, S.S., Oh, D.H., Hong, J.K. and Lee, J.H. (1997) Antimutagenic effects of juices from edible Korean wild herbs. *J. Food Sci. Nutr.* 2(2), 155-161.
- Higashi, G.S. (2000) Appraisalment of antioxidative activity from vegetables. *Jpn. J. Food Ind.* 57(1), 56-64.
- Jeong, J.H., Wee, J.J., Shin, J.Y., Cho, J.H. and Jung, D.H. (2005) Antioxidative effect of crude saponin fraction prepared from culture product of basidiomycota cultured with fresh ginseng as substrate. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 37(1), 67-72.
- Kim, H.J., Lim, H.W., Choi, S.W. and Yoon, C.S. (2006) Antimicrobial effect of ethanol extract of *Dryopteris crassirhizoma nakai* on *Propionibacterium acnes*. *J. Soc. Cosmet. Scientists Kor.* 32(3), 201-208.
- Masaki, H., Sakaki, S., Atsumi, T. and Sakurai, H. (1995) Active-oxygen scavenging activity of plants extracts. *Biol. Pharm. Bull.* 18(1), 162-166.
- Oatsuka, K. (1963) *Practical treatment of herbal medicine for various symptoms*, pp. 17, 453, 653, 679, Nanjantou, Tokyo, Japan.
- Oh, M.H. and Whang, H.J. (2003) Chemical composition of server herb plants. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 35(1), 1-6.
- Ryoo, J.W. and Cha, B.C. (1998) Mineral content and antioxidative activity in some herb plants. *Kor. J. Med. Crop. Sci.* 6(1), 28-32.
- Shin, H.J. (2007) A trend in research and development of natural gardenia pigments. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* 22(5), 271-277.
- Suzuki, Y., Inoue, T. and Fukuda, H. (1991) *The Japanese pharmacopoeia*, 12th ed., pp. D-116, D-132, D-576, Hirokawa Shyoudden, Tokyo, Japan.
- Torel, J., Gillard, J. and Gillard, P. (1986) Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry* 25, 383-385.
- Wiseman, H. (1996) Dietary influences on membrane function: Important in protection against oxidative damage and disease. *J. Nutr. Biochem.* 7(1), 2-6.