(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0094518
(43) 공개일자 2019년08월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C08K 13/08 (2006.01) *A46D 1/00* (2006.01)
C08K 5/00 (2006.01) *C08K 5/134* (2006.01)
C08K 5/1545 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C08K 13/08 (2013.01)
A46D 1/006 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0013773
(22) 출원일자 2018년02월05일
심사청구일자 2018년02월05일

(71) 출원인
조선대학교산학협력단
광주광역시 동구 필문대로 309 (서석동)
(72) 발명자
이숙영
광주광역시 남구 봉선중앙로 46 삼익아파트 108-201
김수관
광주광역시 동구 필문대로 309(서석동)조선대학교 치과대학 구강악안면외과학교실
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
박윤호

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물과 그 칫솔모 및 그 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물과 그 칫솔모 및 그 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 치주질환 유발균에 대한 항균력과 항염활성, 구취개선능, 잇몸노화 억제능이 있게 하여 구강 청결유지 및 구강 건강증진에 기여할 수 있도록 개선된 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물과 그 칫솔모 및 그 제조방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C08K 5/0058 (2013.01)
C08K 5/134 (2013.01)
C08K 5/1545 (2013.01)

(72) 발명자
이경제
광주광역시 서구 운천로 73
조미래
전라남도 담양군 담양읍 향백동1길 2101
김성렬
인천광역시 계양구 봉오대로743번길 8, 101동 510호(작전동, 현대아파트)
오지수
광주광역시 동구 운림길 27
김재성
전라남도 화순군 화순읍 쌍충로 14, 108동 405호(화순산이고운)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 R0005195
부처명 산업통상자원부
연구관리전문기관 한국산업기술진흥원
연구사업명 지역주력사업육성사업
연구과제명 무독성 구강보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 향균미세모 칫솔 개발
기 여 율 1/1
주관기관 조선대학교 산학협력단
연구기간 2016.03.01 ~ 2017.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

주정알콜에 용해된 1-5%의 농도를 갖는 황련추출물과;

상기 황련추출물이 담지된 폴리에스테르 필라멘트;를 포함하는 것을 특징으로 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 조성물에는 1-100㎎/㎖의 농도를 갖는 로즈마린산(Rosmarinic Acid)이 더 포함된 것을 특징으로 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

상기 조성물에는 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EGCG(Epigallocatechin gallate)가 더 포함된 것을 특징으로 하는 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서,

상기 조성물에는 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EC(Epicatechin)가 더 포함된 것을 특징으로 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물.

청구항 5

청구항 1에 있어서,

상기 조성물에는 1-100㎎/㎖의 농도를 갖는 로즈마린산(Rosmarinic Acid)과, 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EGCG(Epigallocatechin gallate)가 더 포함된 것을 특징으로 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물.

청구항 6

청구항 1에 있어서,

상기 조성물에는 1-100㎎/㎖의 농도를 갖는 로즈마린산(Rosmarinic Acid)과, 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EC(Epicatechin)가 더 포함된 것을 특징으로 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물.

청구항 7

청구항 1에 있어서,

상기 조성물에는 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EGCG(Epigallocatechin gallate)와, 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EC(Epicatechin)가 더 포함된 것을 특징으로 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물.

청구항 8

청구항 1에 있어서,

상기 조성물에는 1-100㎎/㎖의 농도를 갖는 로즈마린산(Rosmarinic Acid)과, 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EGCG(Epigallocatechin gallate)와, 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EC(Epicatechin)가 더 포함된 것을 특징으로 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물.

청구항 9

청구항 1에 있어서,

상기 조성물에서 상기 폴리에스테르 필라멘트에는 주정알콜에 용해된 0.125-0.5%의 농도를 갖는 프로폴리스가 황련추출물과 함께 담지된 것을 특징으로 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물.

청구항 10

청구항 9에 있어서,

상기 조성물에는 1-100㎎/㎖의 농도를 갖는 로즈마린산(Rosmarinic Acid)이 더 포함된 것을 특징으로 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물.

청구항 11

청구항 9에 있어서,

상기 조성물에는 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EGCG(Epigallocatechin gallate)가 더 포함된 것을 특징으로 하는 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물.

청구항 12

청구항 9에 있어서,

상기 조성물에는 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EC(Epicatechin)가 더 포함된 것을 특징으로 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물.

청구항 13

청구항 9에 있어서,

상기 조성물에는 1-100㎎/㎖의 농도를 갖는 로즈마린산(Rosmarinic Acid)과, 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EGCG(Epigallocatechin gallate)와, 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EC(Epicatechin)가 더 포함된 것을 특징으로 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물.

청구항 14

주정알콜에 용해된 1-5%의 농도를 갖는 황련추출물과, 상기 황련추출물이 담지된 폴리에스테르 필라멘트로 이루어진 항균 칫솔모 조성물을 만드는 단계;

상기 항균 칫솔모 조성물에 기능성 첨가물인 로즈마린산(Rosmarinic Acid) 또는 EGCG(Epigallocatechin gallate) 또는 EC(Epicatechin)를 단독 또는 2이상 혼합 첨가한 후 마스터배치(Master Batch)를 만드는 단계;

마스터배치를 용융방사하여 냉각, 절단하여 칫솔모를 제조하는 단계;로 이루어진 것을 특징으로 하는 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물을 이용한 칫솔모 제조방법.

청구항 15

청구항 1 내지 13중 어느 한 항에 기재된 칫솔모 조성물을 이용하여 제조된 칫솔모.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물과 그 칫솔모 및 그 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 치주질환 유발균에 대한 항균력과 항염활성, 구취개선능, 잇몸노화 억제능이 있게 하여 구강 청결유지 및 구강 건강증진에 기여할 수 있도록 개선된 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물과 그 칫솔모 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 일반적으로, 칫솔은 칫솔모와 이를 구비하고 있는 헤드부 및 이 헤드부에 연결된 손잡이부로 이루어져 있고, 이러한 칫솔은 구강 위생을 위한 중요한 도구로서 항상 위생적이어야 한다.

[0003] 특히, 칫솔의 머리부에 있는 칫솔모는 일정한 강도와 탄성을 갖고 있어야 함은 물론 양치되는 부분인 치아를 따라 용이하게 이동되어져야 한다.

[0004] 그러나, 이러한 칫솔모는 항상 습하고 환기가 잘 되지 않은 상태로 있기 때문에 위생적으로 처리 및 보관이 어려워 각종 세균 번식으로 인한 질병 초래 및 위생적인 문제가 종종 발생하곤 한다.

[0005] 이로 인해 세균번식이 쉽게 이루어지며, 이러한 칫솔모를 이용하여 양치할 경우 구강내 염증유발, 구취 발생, 잇몸노화 등 다양한 잇몸질환을 유발하게 된다.

[0006] 따라서, 이러한 문제점을 해결하기 위해 칫솔을 화학적으로 소독하거나 또는 자외선으로 소독하는 방법 등이 개발되어 있으나, 이러한 방법들은 절차가 매우 복잡한 단점이 있다.

[0007] 또한, 칫솔모의 세균번식을 억제하기 위하여 살균장치들이 개발된 바 있고, 이러한 장치의 일예로 살균박스가 개발되었는데 이러한 장치는 가격이 매우 고가이므로 일반가정에서 손쉽게 장만하기가 어려울 뿐만 아니라 작동을 위해서는 지속적인 전력이 공급되어야 하므로 전력소모가 발생되어 경제적으로 비효율적이며, 휴대하기가 어려운 단점 등으로 인해 널리 보급되지 못하고 있는 실정이다.

[0008] 이에 최근 들어 항균칫솔을 개발하기 위한 다른 방안으로 칫솔모 등에 살균 및 항균성을 갖는 재질들을 코팅 및 혼합하는 방법들이 개발되고 있지만, 효능이 있는 것들은 독성이 있어 인체 유해성을 배제할 수 없고, 그 외의 것들은 무독성을 비롯한 항균성, 항염활성, 구취개선능, 잇몸노화 억제능 등이 검증되지 않았기 때문에 부작용에 대한 우려가 높은 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제0784183호(2007.12.04), 비장탄과 토르말린 분말을 함유하는 칫솔모를 갖는 칫솔

(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 제0796574호(2008.01.15), 솔잎가루와 항균성분이 함유된 칫솔 제조방법 및 그 칫솔

(특허문헌 0003) 대한민국 등록특허 제0969854호(2010.07.06), 자염 칫솔 및 자염을 이용한 죽염칫솔

(특허문헌 0004) 대한민국 공개특허 제10-2013-0012535호(2013.02.04), 죽염 성분을 포함하는 미세캡슐이 함유된 칫솔모와 이를 포함하는 칫솔

(특허문헌 0005) 대한민국 등록특허 제1476812호(2014.12.19.), 유기나노 클레이를 함유하는 항균 칫솔모 조성물과 이를 이용한 항균 칫솔모 그리고 이의 제조방법

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 상술한 바와 같은 종래 기술상의 제반 문제점들을 감안하여 이를 해결하고자 창출된 것으로, 치주질환 유발균에 대한 항균력과 항염활성, 구취개선능, 잇몸노화 억제능이 있게 하여 구강 청결유지 및 구강 건강증진에 기여할 수 있도록 개선된 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물과 그 칫솔모 및 그 제조방법을 제공함에 그 주된 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명은 상기한 목적을 달성하기 위한 수단으로, 주정알콜에 용해된 1-5%의 농도를 갖는 황련추출물과; 상기 황련추출물이 담지된 폴리에스테르 필라멘트;를 포함하는 것을 특징으로 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물을 제공한다.

[0012] 이때, 상기 조성물에는 1-100㎎/㎖의 농도를 갖는 로즈마린산(Rosmarinic Acid)이 더 포함된 것에도 그 특징이 있다.

[0013] 또한, 상기 조성물에는 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EGCG(Epigallocatechin gallate)가 더 포함된 것에도 그 특징이 있다.

[0014] 또한, 상기 조성물에는 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EC(Epicatechin)가 더 포함된 것에도 그 특징이 있다.

[0015] 또한, 상기 조성물에는 1-100㎎/㎖의 농도를 갖는 로즈마린산(Rosmarinic Acid)과, 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EGCG(Epigallocatechin gallate)가 더 포함된 것에도 그 특징이 있다.

[0016] 또한, 상기 조성물에는 1-100㎎/㎖의 농도를 갖는 로즈마린산(Rosmarinic Acid)과, 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EC(Epicatechin)가 더 포함된 것에도 그 특징이 있다.

[0017] 또한, 상기 조성물에는 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EGCG(Epigallocatechin gallate)와, 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EC(Epicatechin)가 더 포함된 것에도 그 특징이 있다.

[0018] 또한, 상기 조성물에는 1-100㎎/㎖의 농도를 갖는 로즈마린산(Rosmarinic Acid)과, 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EGCG(Epigallocatechin gallate)와, 1-10㎎/㎖의 농도를 갖는 EC(Epicatechin)가 더 포함된 것에도 그 특징이 있다.

[0019] 또한, 상기 조성물에서 상기 폴리에스테르 필라멘트에는 주정알콜에 용해된 0.125-0.5%의 농도를 갖는 프로폴리스가 황련추출물과 함께 담지된 것에도 그 특징이 있다.

[0020] 또한, 본 발명은 주정알콜에 용해된 1-5%의 농도를 갖는 황련추출물과, 상기 황련추출물이 담지된 폴리에스테르 필라멘트로 이루어진 항균 칫솔모 조성물을 만드는 단계; 상기 항균 칫솔모 조성물에 기능성 첨가물인 로즈마린

산(Rosmarinic Acid) 또는 EGCG(Epigallocatechin gallate) 또는 EC(Epicatechin)를 단독 또는 2이상 혼합 첨가한 후 마스터배치(Master Batch)를 만드는 단계; 마스터배치를 용융방사하여 냉각, 절단하여 칫솔모를 제조하는 단계;로 이루어진 것을 특징으로 하는 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물을 이용한 칫솔모 제조방법도 제공한다.

[0021] 뿐만 아니라, 본 발명은 상술한 칫솔모 조성물을 이용하여 제조된 칫솔모도 제공한다.

발명의 효과

[0022] 본 발명에 따르면, 치주질환 유발균에 대한 항균력과 항염활성, 구취개선능, 잇몸노화 억제능이 있게 하여 구강 청결유지 및 구강 건강증진에 기여할 수 있도록 한 효과를 얻을 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도 1은 본 발명에 따른 조성물을 구성하는 황련추출물 수득예를 보인 예시도이다.

도 2는 본 발명에 따른 조성물을 구성하는 프로폴리스의 수득예를 보인 예시도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 이하에서는, 본 발명에 따른 바람직한 실시예를 보다 상세하게 설명하기로 한다.

[0025] 본 발명 설명에 앞서, 이하의 특정한 구조 내지 기능적 설명들은 단지 본 발명의 개념에 따른 실시예를 설명하기 위한 목적으로 예시된 것으로, 본 발명의 개념에 따른 실시예들은 다양한 형태로 실시될 수 있으며, 본 명세서에 설명된 실시예들에 한정되는 것으로 해석되어서는 아니된다.

[0026] 또한, 본 발명의 개념에 따른 실시예는 다양한 변경을 가할 수 있고 여러 가지 형태를 가질 수 있으므로, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변경물, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0027] 본 발명은 치주질환 유발균에 대한 항균력과 항염활성, 구취개선능, 잇몸노화 억제능이 있게 하여 구강 청결유지 및 구강 건강증진에 기여할 수 있는 천연성분이 담지된 폴리에스테르 필라멘트를 주요 소재로 한 마스터배치(Master Batch)를 만들고, 이 마스터배치를 용융방사하여 냉각, 절단함으로써 미세모, 즉 칫솔모를 제조하며, 제조된 칫솔모를 칫솔대에 식모하여 칫솔을 완성한 것이다.

[0028] 여기에서, 마스터배치란 주원료가 되는 수지에 기능성을 부여하는 첨가제를 혼합하여 믹서기에 의해 혼열 회전시킨 후 적정 온도를 갖는 이축 압출기(twin screw extruder)에 의해 원료를 압출하여 펠렛으로 생산하는 것을 말한다.

[0029] 최근들어 국민들의 생활수준이 높아짐에 따라 구강건강에 대한 관심이 증대되고 있으며, 국민의 평균 1일 잇솔질 횟수는 2.35회로서 구강건강관리에 대한 태도가 변화함에 따라 구강건강관리용품의 소비량도 증가 추세에 있다.

[0030] 이와 관련하여 구강건강관리용품 생산업체인 엘지생활건강, 페리오, 메디안, 오랄비, 이큐맥슨, CJ LION, 메디안, 디오텍코리아, 트리플코리아 등에서는 빠르게 변화하는 시장환경에 맞게 경쟁기업들과 차별화된 구강건강관리용품들을 출시하고 있으며, 일 예로 오랄비의 프로-엑스퍼트 클리니컬 프로-플렉스는 파워팁 칫솔모를 창안하여 입안 닿기 힘든 곳까지 구석 구석 닦아 주면서 움직이는 칫솔모를 통한 뛰어난 세정효과, 빗살모양 칫솔모를 통한 치아 틈새까지 깊숙이 침투하여 플라그를 제거하는 등 잇몸 마사지 케어 기능까지 갖춘 프리미엄급 제품이 출시한 바 있고, 페리오의 슬림터치 흑진주 칫솔, 메디안의 그린티 항균케어 칫솔 등 다양한 예들이 개시되고 있다.

[0031] 그럼에도 불구하고, 매년 치주질환으로 진료를 받는 환자는 연평균 7.3%의 증가율을 보이고 있어 악성 구강질환 예방에 필요한 치약, 칫솔 등의 효과적인 특성을 지닌 기술 개발이 더욱 요구되고 있다.

[0032] 더구나, 최근에는 신종플루나 A형 간염이 유행하면서 항균성을 갖는 칫솔이 칫솔계의 큰 이슈가 되고 있으며, 이러한 문제까지 감안하여 본 발명은 무독성의 천연항균소재를 이용하여 항균성을 높이면서 인체 안전성을 강화시킨 칫솔 관련 기술을 개발하기에 이르렀다.

[0033] 또한, 현재 대부분의 칫솔모 항균제는 유기항균제로서 이는 항균성이 우수하기 때문이다, 하지만, 인체에 미치는 독성으로 인해 규제대상이 되면서 사용이 제한됨으로 인해 무독성 항균기능이 우수한 칫솔모의 개발이 시급한 실정이다.

[0034] 본 발명에 따른 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물은 무독성 천연성분인 황련을 사용하되, 황련은 추출물 형태로 사용된다.

[0035] 보다 구체적으로, 상기 항균 칫솔모 조성물은 주정알콜에 용해된 1-5%의 농도를 갖는 황련추출물과, 상기 황련추출물이 담지된 폴리에스테르 필라멘트로 이루어진다.

[0036] 이때, 황련은 미나리아재비과에 속하는 여러해살이 초본식물로서, 베르베린(Berberine)·콥티신(Coptisine)·워레닌(Worenine)·팔마틴(Palmatine) 등의 약효성분을 포함하며, 특히 베르베린(Berberine)은 구내염, 설염, 구각염에 높은 치유효과가 있는 것으로 알려져 있다.

[0037] 더구나, 이러한 황련은 이질균을 억제하고, 폐결핵이나 토형를 멈추게 하는 특성도 있으며, 살균작용이 강하고, 소염, 해열작용도 있는 것으로 보고되어 있다.

[0038] 이러한 황련으로부터 황련추출물을 수득하는 방법은 도 1의 예시와 같이, 건조된 황련 뿌리를 잘게 세절한 후 1200g을 70%의 메탄올에 상온에서 24시간 동안 침지하면서 총 5회 반복추출하여 추출액을 얻고, 이를 필터 페이퍼로 여과한 다음, 60℃에서 감압 농축하고, 농축된 추출물을 24시간 동안 동결건조하여 분말화시킨 것을 사용하는데, 주정알콜에 용해시켜 1-5%의 농도를 갖도록 한 것을 사용한다.

[0039] 여기에서, 황련추출물의 농도를 한정하는 이유는 상기 범위의 농도일 때 무독성(활성물질인 베르베린이 구강정상세포의 생존에 영향을 미치지 않음)을 유지하면서 항균 억제력이 높은 것으로 확인되었기 때문이다. 이것은 또한 식품의약품안전처 고시 제2006-32호에도 부합되게 하기 위한 것이다.

[0040] 본 발명은 이와 같은 황련의 특성을 더욱 더 연구하던 과정에서 특히, 구강에 다양한 질환을 유발하는 6종의 유해균(ATCC 33384, ATCC 43037, ATCC 25586, ATCC 25611, ATCC 33277, ATCC 2517)에 대한 살균력이 뛰어난 것을 확인하였기에 이를 기반으로 가장 효과적인 살균력을 구현할 수 있도록 기술 개발하였다.

[0041] 본 발명자들은 6종의 유해균에 대한 황련추출물의 살균력을 확인하기 위해 최소살균농도(MBC:Minimun Bactericidal Concentration, mg/mℓ) 테스트를 거쳐 분석하였다.

[0042] 분석 결과, ATCC 33384(Aggregatibacter actinomycetemcomitans)의 경우에는 0.25mg/mℓ, ATCC 43037(Tannerella forsythensis)는 0.03mg/mℓ, ATCC 25586(Fusobacterium nucleatum subsp. nucleatum) 0.0125mg/mℓ, ATCC 25611(Prevotella intermedia) 0.06mg/mℓ, ATCC 33277(Porphyromonas gingivalis) 0.06mg/mℓ, ATCC 2517(Streptococcus mutans) 0.25mg/mℓ로 MBC가 확인되었다.

[0043] 또한, 본 발명은 상기 항균 칫솔모 조성물에 로즈마린산(Rosmarinic Acid)을 더 포함할 수 있다.

[0044] 상기 로즈마린산(Rosmarinic Acid)은 항바이러스능, 항균활성, 항염활성, 항산화능을 극대화시키기 위한 것으로, Streptococcus sobrinus, Candia albicans, Enterobacter spp., Listeria monocytogenes, Pityrosporium ovale, Staphylococcus epidermidis, Propionibacterium acnes 등과 같은 다수의 미생물 균에 대한 증식억제능이 있는 물질이다.

[0045] 다만, 무독성(구강정상세포의 생존에 영향을 미치지 않음)을 유지하기 위해서는 1-100㎍/mℓ의 농도를 가져야 한다.

[0046] 여기에서, 세포생존율, 즉 무독성에 대한 실험은 한국식품의약품안전처의 고시기준에 따른 MTT에 의한 세포독성 분석을 통해 이루어졌는데, 이는 human normal oral keratinocyte(HNOK)를 배양하여 시험군인 황련, 로즈마린산, 이하 설명되는 EGCG(Epigallocatechin gallate), EC(Epicatechin) 및 프로폴리스(Propolis)를 각각 독립적으로 처리하여 MTT 방법에 따른 정량적 세포독성평가를 말하며, 반응시간은 24시간, 48시간, 72시간으로 구분하여 진행하였다.

[0047] 이때, MTT Assay는 밀집 세포의 미토콘드리아 탈수소 효소에 의해 자줏빛 formazan 생성물로 변하는 MTT 환원을 바탕으로 MTT 분석법을 통해 Human-derived oral fibroblast cell의 생존율을 측정했으며, 세포들을 DMEM 배지에서 1×10^4 cells/well의 밀도로 현탁하여 농도별로 약물을 처리하였다. 배양 후 0.5 mg/ml의 농도로 MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenylterazoli-um bromide) 용액을 첨가하고 4시간 동안 배양하였고,

MTT-formazan 생성물은 DMSO 200 ㎕를 첨가함으로써 용해하였다.

[0048] 또한, spectrophotometer(Molecular devices, Palo Alto, USA)를 이용하여 540nm에 흡수되는 양을 측정함으로서 생체안전성 여부를 결정했는데, 세포의 생존율은 어떠한 처치도 가하지 않은 control cells과의 비율로 나타내었다.

[0049] 즉, viability(%) = 100×(absorbance of treated sample)/(absorbance of control)로 계산하였다.

[0050] 아울러, 시료의 조제는 황련, 로즈마린산, EGCG(Epigallocatechin gallate), EC(Epicatechin) 및 프로폴리스(Propolis) 시료를 농도별(1-100㎍/㎖)로 DMEM 배지에 녹여 사용하여 상기 및 후술되는 결과를 얻었다.

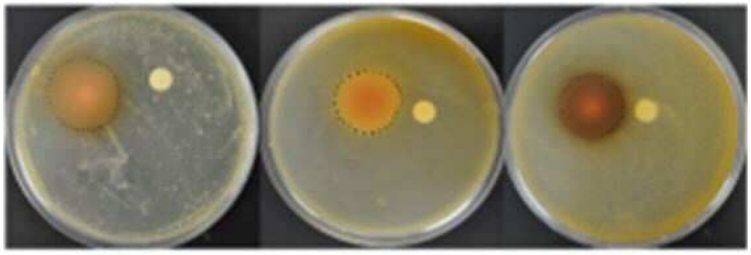
[0051] 또한, 세포주는 Human-derived oral fibroblast cell을 사용하기 위하여 제3대구치 발거시 염증이 없는 부위를 채득하여 1차 배양하였고, 조직은 PBS로 3회 이상 세척하고, 1-2mm 크기로 잘게 잘라 0.15% collagenae-dispase 를 30분간 처리하였다. 그리고, 입체 현미경 하에서 상피와 결체조직을 핀셋으로 분리한 후 상피는 0.25% trysin EDTA 용액에 15분간 처리하여 원심분리하였고, DMEM 배지를 이용하여 배지는 3일마다 교환해 주며 70~80% 풍성하게 자라면 3~4회 계대 배양 후 사용 하였다.

[0052] 아울러, 본 발명은 상기 항균 칫솔모 조성물에 EGCG(Epigallocatechin gallate)를 더 포함할 수 있다.

[0053] 상기 EGCG는 카테킨의 주요성분으로서, 충치예방 및 항균활성, 항바이러스능, 소염작용, 항산화능, 발암억제능이 있으므로 이를 위해 첨가된다.

[0054] 특히, 아래 [그림 1]과 같이, 페이퍼 디스크법으로 확인한 결과, 10mg/mL의 농도로 구강유해균에 처리했을 때 매우 유의할만한 항균활성을 보였으며, 무엇보다도 구내염을 유발하는 원인균인 C. albicans를 매우 효과적으로 억제하는 것으로 확인되었다.

[0055] [그림 1]



[0056] C. albicans S. mutans S. sobrinus

[0057] 다만, 10mg/mL의 농도를 초과하게 되면 구강내 정상세포의 생존율이 70% 이하로 떨어지기 때문에 무독성을 유지할 수 없다고 판단되어 1-10mg/mL의 농도 범위를 유지한 채 첨가되어야 한다.

[0058] 또한, 본 발명은 상기 항균 칫솔모 조성물에 EC(Epicatechin)를 더 포함할 수 있다.

[0059] 상기 EC는 카테킨류에 속하는 물질로서, 충치예방, 항균활성, 항바이러스능, 소염작용, 항산화능 특성을 가지므로 이를 위해 첨가된다.

[0060] 특히, 아래 [그림 2]와 같이, 페이퍼 디스크법으로 확인한 결과, 10mg/mL의 농도로 구강유해균에 처리했을 때 매우 유의할만한 항균활성을 보였으며, 무엇보다도 S. sobrinus를 매우 효과적으로 억제하는 것으로 확인되었다.

[0061] [그림 2]



[0062]

[0063] 다만, 10mg/mL의 농도를 초과하게 되면 구강내 정상세포의 생존율이 70% 이하로 떨어지기 때문에 무독성을 유지할 수 없다고 판단되어 1-10mg/mL의 농도 범위를 유지한 채 첨가되어야 한다.

[0064] 또한, 본 발명은 상기 항균 칫솔모 조성물에 상술한 물질들을 2가지 이상 혼합하여 첨가할 수도 있다.

[0065] 예컨대, 로즈마린산(Rosmarinic Acid)과 EGCG(Epigallocatechin gallate), 로즈마린산(Rosmarinic Acid)과 EC(Epicatechin), EGCG(Epigallocatechin gallate)와 EC(Epicatechin), 로즈마린산(Rosmarinic Acid)과 EGCG(Epigallocatechin gallate)와 EC(Epicatechin)를 혼합 첨가하는 경우도 가능하다. 다만, 농도는 상술한 단독 성분의 농도를 그대로 유지하여야 한다.

[0066] 특히, 이러한 성분들은 기능성 첨가물이 될 수 있으며, 이에 따른 칫솔모 제조방법은 다음과 같다.

[0067] 즉, 본 발명에 따른 칫솔모 제조방법은 주정알콜에 용해된 1-5%의 농도를 갖는 황련추출물과, 상기 황련추출물이 담지된 폴리에스테르 필라멘트로 이루어진 항균 칫솔모 조성물을 만드는 단계; 상기 항균 칫솔모 조성물에 기능성 첨가물인 로즈마린산(Rosmarinic Acid) 또는 EGCG(Epigallocatechin gallate) 또는 EC(Epicatechin)를 단독 또는 2이상 혼합 첨가한 후 마스터배치(Master Batch)를 만드는 단계; 마스터배치를 용융방사하여 냉각, 절단하여 칫솔모를 제조하는 단계;로 이루어질 수 있다.

[0068] 뿐만 아니라, 이렇게 제조된 칫솔모를 칫솔대에 식모하여 칫솔을 완성할 수 있다.

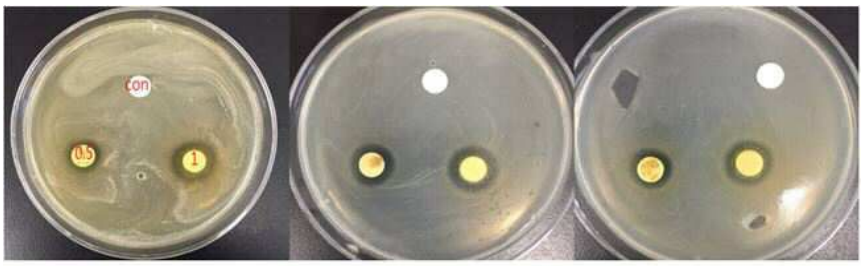
[0069] 이에 더하여, 본 발명에서는 상기 폴리에스테르 필라멘트에 담지되는 성분으로 프로폴리스(Propolis)를 더 포함할 수 있다.

[0070] 또한, 상기 프로폴리스는 상기 기능성 첨가물과 함께 사용될 수도 있다.

[0071] 본 발명에서는 주정알콜에 용해된 0.125-0.5%의 농도를 갖는 프로폴리스를 담지시켜야 하는데, 이또한 상기 범위의 농도일 때 무독성(구강정상세포의 생존에 영향을 미치지 않음)을 유지하면서 항균 억제력이 높은 것으로 확인되었기 때문이다.

[0072] 이러한 프로폴리스는 구강보건과 관련하여 항균, 항염, 항산화능, 면역증강력이 뛰어나며, 구강유해균에 대해 페이퍼 디스크법으로 항균활성을 확인한 결과, [그림 3]에서와 같이 상기 농도 범위내에서 매우 유의할만한 결과를 얻었으며, 특히 치아우식증(Dental caries; 충치질환)을 유발하는 초기 원인균인 S. mutans를 매우 효과적으로 억제하는 것을 알 수 있었다.

[0073] [그림 3]



[0074] C. albicans S. mutans S. sobrinus

[0075] 다만, 구강내세포 생존율에 영향을 미치지 않기 위해서는, 다시 말해 무독성을 유지하기 위해서는 상기 범위의 농도로 유지되어야 함을 식품의약품안전처의 고시기준에 따른 실험을 통해 확인하였다.

[0076] 이때, 상기 프로폴리스는 브라질산으로 (주)라파프로폴리스 부설연구소로부터 제공받아 사용하였으며, 도 2에서와 같이 불순물이 제거된 고체 덩어리 상태의 프로폴리스를 분말화시킨 다음, 분말을 주정알콜 또는 증류수를 용매로 하여 50℃, 초음파분해(sonication) 조건으로 용해시킨 것을 사용한다.

[0077] 이 경우, 주정알콜을 용매로 사용한 경우에는 프로폴리스내의 지용성 물질까지 잘 용해되었으나, 증류수를 용매로 사용한 경우에서는 프로폴리스내의 수용성물질만 용해되고 지용성 물질은 비이커 하층에 침전물로 형성됨을 확인하였는 바, 때문에 본 발명에서는 주정알콜을 용매로 사용한 것을 활용함이 바람직하다.

[0078] 이하, 실시예에 대하여 설명한다.

[0079] 본 발명에 따른 실시예에서는 폴리에스테르 필라멘트에 담지되는 무독성 천연성분인 황련과 프로폴리스를 중심

으로 충치 및 치주질환균을 유발하는 구강유해균에 대한 증식 억제능 여부를 확인하였다.

[0080] 실험에서 사용한 항균활성분석은 paper disc method을 사용하였고, 순수 분리된 각 균주의 단일집락을 취해 10㎖의 균 생육 액체배지에 접종하여 각각 균주의 생육적온에서 18~24시간씩 3회 배양한 후 항균활성 시험균주로 사용하였으며, 항균성 시험용 평판배지의 조제는 각각 균주의 15%의 한천이 첨가된 생육배지를 멸균하여 petri dish에 15㎖씩 분주하여 기층용 배지를 응고시키고, 각각의 시험균 농도를 650㎚에서 optical density(O.D)값이 0.4(10^6 CFU/mL)가 되게 한 후 0.7% 한천이 첨가된 중층용 배지에 무균적으로 가하여 잘 혼합한 다음 기층용 배지 위에 분주한 다음 고르게 응고 시켜 2중의 균 접종 중층배지를 제조하였다.

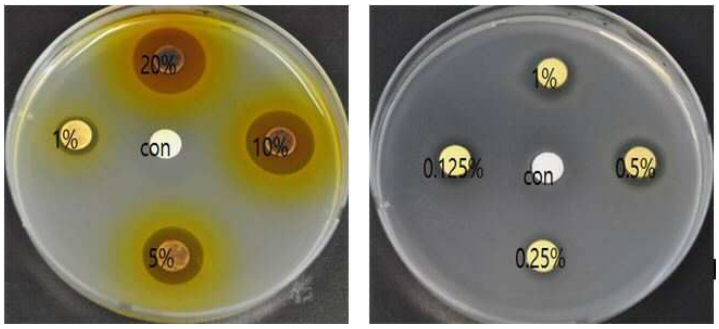
[0081] 아울러, 충분히 굳은 고체배지 위에 멸균된 8㎜ paper disc를 올려놓은 후, propolis 농도 0, 0.125, 0.25, 0.5, 1%의 범위, 황련 농도 0, 1,5, 10, 20%의 범내에서 40㎕씩 disc에 흡수시킨 다음 37℃에서 24시간동안 배양한 후 disc 주변의 clear zone을 관찰하였다.

[0082] (1) 치아우식증을 유발하는 S. mutans에 대한 증식억제능

[0083] 고령자 구강에서 많이 발생하**는** S. mutans는 치아우식증(Dental caries:충치질환)을 유발하는 초기 원인균으로 S. mutans에 의해 설탕, 전분 등이 분해되면서 생성되는 산(acid)에 의해 치아의 법랑질이 손상되므로서 충치가 유발된다.

[0084] 본 발명의 실험결과에 따르면, 하기한 [그림 4]에서와 같이 황련의 경우 1~20% 모든 농도군에서 1.5㎜ 이상의 투명대를 나타냈으며, propolis의 경우 0.125~1% 모든 농도군에서 2㎜ 이상의 투명대를 나타내었고 0.125%와 0.25% 농도간에는 균 억제력에 차이를 보이지 않았다.

[0085] [그림 4]

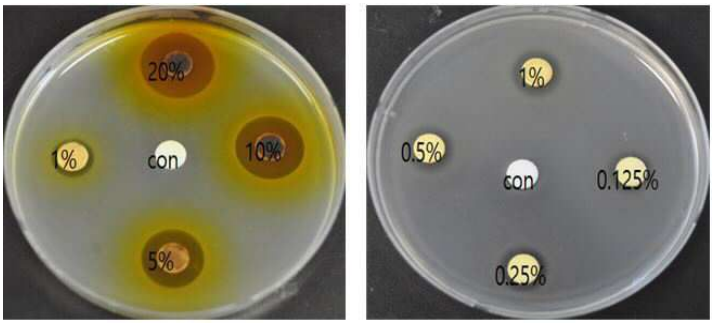
[0086] 

[0087] (2) 치주염, 충지질환을 유발하는 S. sobrinus에 대한 증식억제능

[0088] S. sobrinus는 S. mutans에 의해 치아의 법랑질이 손상되어 충치가 발생되면 2차적으로 작용하여 충치질환을 심화시키는 원인균이다.

[0089] 본 발명의 실험결과에 따르면, 하기한 [그림 5]에서와 같이, 황련의 경우 1~20% 모든 농도군에서 2㎜ 이상의 투명대를 나타내었으며, propolis의 경우는 0.125~1% 모든 농도군에서 1.5㎜ 이상의 투명대를 나타내었고 0.25%와 0.5% 농도간에는 균 억제력에 차이를 보이지 않았다.

[0090] [그림 5]

[0091] 

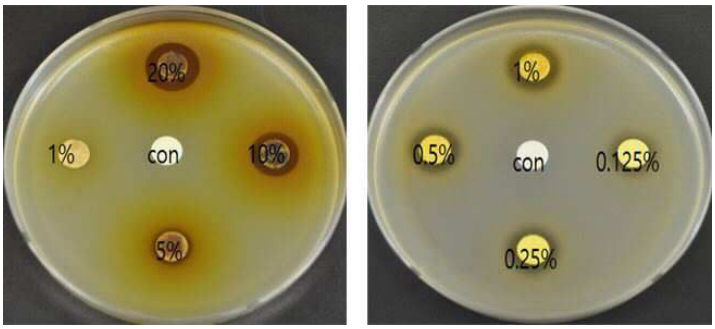
[0092] (3) 구내염을 유발하는 C. albicans에 대한 증식억제능

[0093] 구강 캔디다증 (Candidiasis, Thrush, 아구창, 구내염)의 원인균인 Candida albicans가 감염되면 구강점막의

표면에 회백색 또는 유백색 반점이 발생되며, 특히 고령자들 중 의치 사용자나 소모성 질환 또는 면역질 환자에게 많이 발생한다.

[0094] 본 발명의 실험결과에 따르면, 하기한 [그림 6]에서와 같이, 황련의 경우 5~20% 농도군에서 1mm 이상의 투명대를 나타내었고, propolis의 경우 0.125~1% 모든 농도군에서 1mm 이상의 투명대를 나타내었다.

[0095] [그림 6]

[0096] 

[0097] (4) S. mutans, S. sobrinus, C. *albicans*에 대한 황련, propolis의 항균활성 비교

[0098] 3종의 구강유해균에 대한 항균활성을 비교한 결과, 하기 표 1,2에서와 같이 황련, proplis의 항균활성은 모두 농도 의존적으로 천연물의 농도가 높아질수록 균에 대한 저해활성도 높아짐을 알 수 있었으며, 특히 2종의 추출물은 *S. mutans*와 *S. sobrinus* 에 대해 매우 강한 억제능을 보였다.

[0099] 따라서, 2종 추출물을 사용하였을 경우, 치아우식질환의 주요원인균으로 작용하는 *S. mutans*와 *S. sobrinus* 그리고 구내염을 유발하는 *C. albicans*의 생균억제에 효과가 있을 것으로 사료된다.

표 1

[0100]

Microbial strains	Inhibition zone (Dia, mm) Sample concentration			
	1%	5%	10%	20%
Control	0.0	0.0	0.0	0.0
C. calbicans	0.0	1.0	2.0	3.0
S. mutans	1.5	4.0	5.0	6.0
S. sobrinus	2.0	4.0	5.0	6.0

[0101] (S. mutans, S. sobrinus, C. *albicans*에 대한 황련의 농도별 항균활성 비교)

표 2

[0102]

Microbial strains	Inhibition zone (Dia, mm) Sample concentration			
	0.125%	0.25%	0.5%	1.0%
Control	0.0	0.0	0.0	0.0
C. calbicans	1.0	2.0	2.5	3.0
S. mutans	2.0	2.0	3.0	3.5
S. sobrinus	1.5	2.0	2.0	2.5

[0103] (S. mutans, S. sobrinus, C. *albicans*에 대한 propolis의 농도별 항균활성 비교)

[0104] 또한, 항산화활성 분석을 통해 잇몸조기노화 예방능도 검증하였다.

[0105] (5) SOD(Superoxide dismutase) 유사활성 분석

[0106] SOD 유사활성은 Beauchamp and Fridovich(1971)의 방법을 응용하여 측정하였다. 50mM carbonic buffer (pH 10.2), 0.1 mM EDTA,,0.1mM Xanthine, 0.025 mM nitroblue tetrazolium(NBT), 추출물이 포함된 용액을 25° C에

서 10분간 반응한 후 Xanthine oxidase(3.310-6mM)를 참가하여 반응을 측정하였다. SOD 활성 측정은 550nm에 30초 단위로 5분간 흡광도를 측정하였다.

[0107] 이때, 황련 추출물의 SOD 유사활성은 농도별(0~2.5 mg/mL)로 SOD 유사활성을 분석한 결과, 0.15~2.5 mg/mL의 농도범위에서 표 3과 같이 유효활성을 보였다.

표 3

[0108]

SOD- like activities(%)				
Extract concentration(mg/mL)				
0.156	0.312	0.625	1.25	2.5
17±0.4	20±0.8	22±0.4	30±0.6	41±0.4

[0109] 그리고, 프로폴리스의 SOD 유사활성은 Propolis를 농도별(0~2.5 mg/mL)로 SOD 유사활성을 분석한 결과, 0.15~2.5 mg/mL의 농도범위에서 표 4와 같이 유효활성을 보였다.

표 4

[0110]

SOD- like activities(%)				
Extract concentration(mg/mL)				
0.156	0.312	0.625	1.25	2.5
10±0.2	13±0.6	17±0.5	23±0.2	35±0.6

[0111] (6) DPPH radical 소거능 분석

[0112] 시료의 radical 소거효과를 측정하는 Blois의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 1×10^{-4}M DPPH와 농도별 추출물을 각각 100 ㎕씩 취하여 혼합한 30분간 암상태에서 방치한 후 잔존 radical 농도를 ELISA Reader(Bio-RAD, USA)를 이용하여 517nm에서 측정하였다.

[0113] 이때, 황련 추출물의 DPPH radical 소거능은 황련 추출물에 대한 DPPH radical 소거능을 분석한 결과, 모든 농도(12.5~50 mg/mL)에서 표 5와 같이 유의할만한 활성을 보였다.

표 5

[0114]

DPPH radical scavenging activity(%)					
Extract concentration(ug/mL)					
6.25	12.5	25	50	100	200
32±0.4	41±0.7	55±0.3	67±0.5	71±0.4	68±0.8

[0115] 그리고, 프로폴리스의 DPPH radical 소거능은 propolis 추출물에 대한 DPPH radical 소거능을 분석한 결과, 모든 농도(12.5~50 mg/mL)에서 표 6과 같이 유의할만한 활성을 보였다.

표 6

[0116]

DPPH radical scavenging activity(%)					
Extract concentration(ug/mL)					
6.25	12.5	25	50	100	200
40±0.7	55±0.4	68±0.5	80±0.9	84±0.3	83±0.3

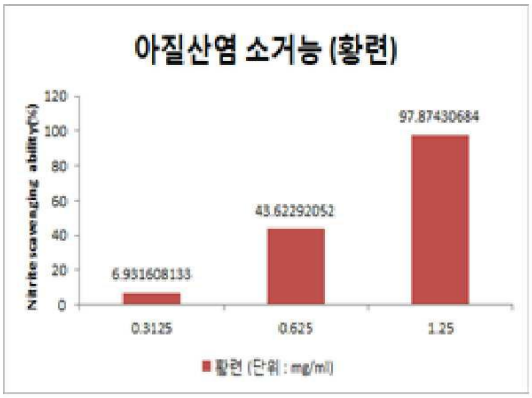
[0117] (7) 아질산염 소거능 분석

[0118] 시료 추출물을 10배 희석한 희석액 2mL에 1mM $NaNO_2$ 용액 1mL을 넣은 다음 0.1 N HCl과 0.2M citrate buffer(pH 6.0) 용액을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2로 조절하여 반응용액 10mL를 제조하였다. 이 용액을 37℃에서 1시간 동안 정치한 후, 이 시료용액 1mL에 2% acetic acid 5 mL과 Griess 시약(1% napthylamine : 1% sulfanilic acid = 1:1 in 30% acetic acid) 0.2mL을 가한 후 실온에서 15분간 정치한 후 517nm에서 흡광도를

측정하여 잔존하는 nitrite을 계산하였다.

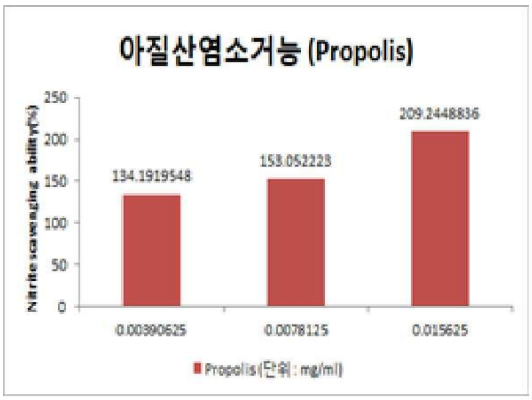
[0119] 이때, 황련추출물의 아질산염 소거능은 하기한 그림 7의 그래프에서와 같이 추출물의 농도 의존적으로 높아짐을 알 수 있었으며, 1.25mg/mL 의 농도에서는 100%에 가까운 탁월한 소거능을 보였다.

[0120] [그림 7]

[0121]


[0122] 그리고, 프로폴리스의 아질산염 소거능은 하기한 그림 8의 그래프에서와 같이 황련과 마찬가지로 추출물의 농도 의존적으로 높아짐을 알 수 있었으며, 매우 저농도(0.004mg/mL)에서도 100% 이상의 소거능을 보이므로서 황련보다 훨씬 높은 소거능을 보였으며, 0.015 mg/mL 의 농도에서는 200% 이상의 매우 놀라운 소거능을 보였다.

[0123] [그림 8]

[0124]


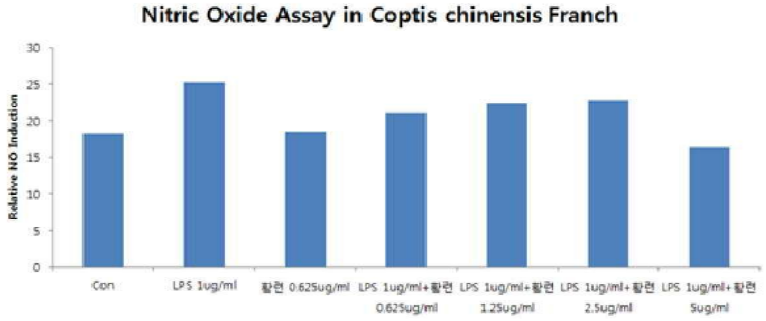
[0125] 또한, 항염활성도 분석하였다.

[0126] (8) Nitric Oxide/Nitrite 생성량 분석

[0127] NO(Nitric oxide) production 는 culture media와 serum에서의 nitrite level을 Griess reagent의 비색법을 통해 간접적으로 측정이 가능하다. NO 측정을 위해 murine macrophage cell line RAW264.7 세포를 사용하였고, Griess reagent는 1% sulfanilamide, 0.1% naphthyl ethylenediamine dihydrochloride, 5% phosphoric acid로 제조. raw264.7을 DMEM (10% FBS, 1% P/S)으로 배양하여, 96-well plate에 $5x10^5$cells/mL로 분주한 후 익일 sample은 농도에 따라 처리하고, 1시간 후 염증반응의 주요 요소로 작용하는 LPS(Lipopolysaccharide)를 처리. 24시간 후 NO level은 Griess reagent를 이용해 sample의 상층액과 Griess reagent를 1:1 비율로 혼합 후 빛을 차단 후 상온에서 10분 방치하고, ELISA reader 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0128] 이때, 황련추출물의 NO 생성 억제능은 하기한 그림 9에서와 같이, LPS와 동시에 처리된 농도군 (0.625~5 ug/mL) 모두에서 대조군에 비하여 NO 생성을 억제하였으며, 농도별로는 특별한 차이를 보이지 않았다.

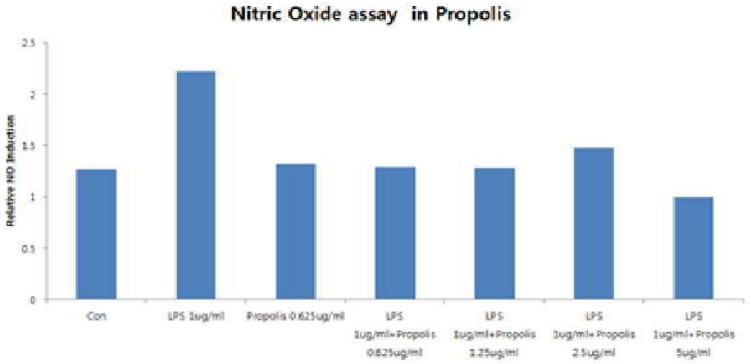
[0129] [그림 9



[0130]

[0131] 그리고, 프로폴리스의 NO 생성 억제능은 하기한 그림 10에서와 같이, LPS와 동시에 처리된 농도군 (0.625~5 ug/mL) 모두에서 대조군에 비하여 NO 생성을 탁월하게 억제하였으며, 황련추출물과 비교하였을 때 매우 높은 항염활성을 보였으며, 농도별로는 특별한 차이를 보이지 않았다.

[0132] [그림 10]



[0133]

[0134] 뿐만 아니라, 본 발명에 따른 마스터배치와, 이를 이용하여 제조된 칫솔모의 구강보건 효능도 검증하였다.

[0135] 이때, 배지는 대부분의 박테리아가 생존 증식할 수 있는 LB 배지를 기본 미생물 배지로 이용하고, LB 배지에 마스터배치를 투여한 후 0일, 1주일, 2주일, 3주일, 4주일 간격으로 박테리아의 집락이 발생하는지의 여부를 한천배지와 Spreading Culture법을 이용하여 확인하였다.

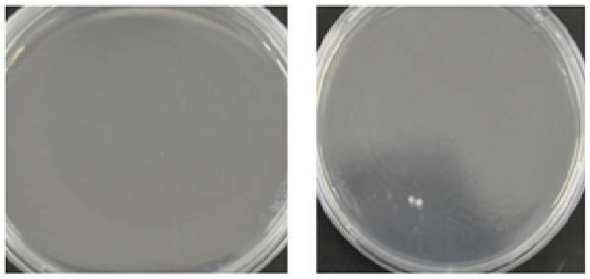
[0136] (9) 마스터배치의 무균력 테스트

[0137] 황련이 담지된 마스테배치(MB)의 경우, 하기한 그림 11에서와 같이 배양 3주일까지는 무균력을 유지하였으나 4주일부터 박테리아 집락이 나타나므로서 마스터배치의 무균성 유지력이 3주까지 안전하게 유지됨을 알 수 있었다.

[0138] [그림 11]



[0139]



3주일 4주일

[0140]

[0141] 프로폴리스가 담지된 마스테배치(MB)의 경우, 하기한 그림 12에서와 같이 배양 2주일까지는 무균력을 유지하였으나 3주일부터 박테리아 집락이 나타나므로서 마스터배치의 무균성 유지력이 2주까지 안전하게 유지됨을 알 수 있었다.

[0142] [그림 12]



0일 1주일 2주일

[0143]



3주일 4주일

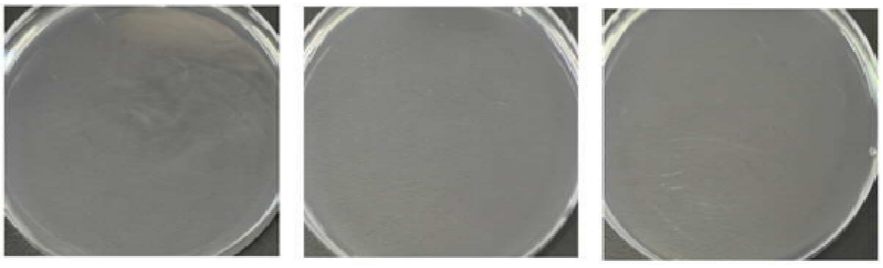
[0144]

[0145] 따라서, 황련과 프로폴리스가 함께 담지된 경우에는 그 효과가 더욱 더 커질 것으로 예상되었다.

[0146] ⑽ 칫솔모의 무균력 테스트

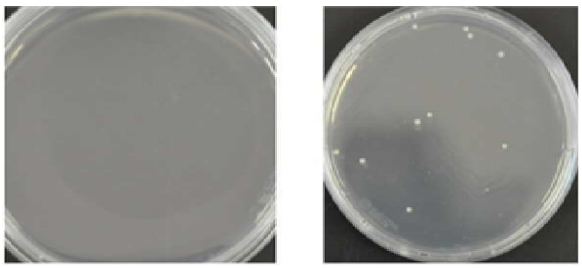
[0147] 황련과 프로폴리스를 함께 담지시킨 마스터배치를 이용하여 제조한 칫솔모의 경우, 하기한 그림 13과 같이 배양 3주까지 완벽한 무균력을 유지하였으나 4주일부터 소수의 박테리아 집락이 나타나기 시작했다. 따라서, 무균력이 3주까지는 안전하게 유지됨을 확인할 수 있었다.

[0148] [그림 13]



0일 1주일 2주일

[0149]



[0150]

[0151] ⑾ 본 발명에 따른 칫솔모를 사용한 치아 표면의 세균막 및 치태 제거능 분석

[0152] 이는 치면세균막 지수를 분석함으로써 확인하였다.

[0153] 구강검사를 위해 치면착색액Chrom-O-Red, Germiphene, Canada)을 면구를 이용하여 피검자 치면에 골고루 적용한 후 물로 가볍게 세정시켰다.

[0154] 그리고, 탐침과 치경을 사용하여 착색상태를 검사하며 치면세균막 지수의 부착정도는 Turesky 등이 변형한 Quigley와 Hein의 치면세균막 평점기준을 적용하고 피검치아의치은을 협면변연부 근심협면 원심협면 설면으로 나누어 측정하고 개인의 치면세균막지수는 각 부위별 측정치의 합계를 검사대상 치아수로 나누어 산출하였으며, 이때 제대구치는 맹출여부에 상관없이 검사에서 제외하였다.

[0155] (착색된 치면수/조사대상 전체 치면수)×100

[0156] 아울러, Turesky 등이 변형한 Quigley와 Hein의 치면세균막지수는 다음과 같이 점수를 부여하였다.

[0157] -0 : 치면세균막 불부착

[0158] -1 : 치은연부에 점상 부착

[0159] -2 : 치은연을 따라서 선상부착 (넓이가 1mm 이하)

[0160] -3 : 치경부측1/3까지 치면세균막이 있는 경우

[0161] -4 : 치경부측2/3까지 치면세균막이 있는 경우

[0162] -5 : 치경부측2/3를 넘어서 치면세균막이 있는 경우

[0163] 관능평가를 위해, 20대 후반 10명을 선정한 후 평가하게 하였으며, 치면 세균막 지수 분석평가는 하기한 표 7과 같이 나타났다.

표 7

[0164]

	일반 칫솔모	황련 칫솔모	propolis 칫솔모
참여자1	25	30	25
참여자2	32	32	30
참여자3	24	26	22
참여자4	12	20	18
참여자5	23	15	32
참여자6	23	19	20
참여자7	35	30	25
참여자8	30	32	12
참여자9	38	13	23
참여자10	39	25	20
치면세균막지수 평균값	12.5	11	10.3

[0165] 분석결과, 치태(plaque)제거능의 경우 대조군에 비해 황련 칫솔모와, propolis 칫솔모의 감소율이 증가하였음을 확인할 수 있었다.

[0166] ⑿ 구취 개선효능 확인(관능평가)

[0167] 20대 후반 남녀 7명씩을 선발하여 혐오성 물질인 황화수소, 메틸메르캅탄, 황화메틸 함량을 구취측정분석기로 측정함으로써 구취개선효능이 있는지 확인하였다.

[0168] 이때, 시험방법은 양치나 어떠한 구강용품을 사용하지 않은 상태에서 1㎖용량의 실린지를 입에 물고, 입을 벌리지 않은 채로 코로만 숨쉬며, 입안에 구취를 모았다. 3분 뒤 실린지를 2~3번 펌핑한 뒤, 1mL을 모아 입 밖으로 꺼내어 1mL 눈금을 정확히 맞추고 구취측정기(Sensor Gas Chromatograph ODSA - FIS Inc.)에 삽입하여 공기를 밀어 넣는 방식으로 4분간 측정하였으며, 측정하는 구취성분은 구취를 유발하는 주요 물질인 이황화메틸[$(CH_3)_2S$], 황화수소(H_2S), 메틸메르캅탄(CH_3SH)을 기준으로 분석하였다.

[0169] 분석결과, 황련 칫솔모의 경우 사용 전보다 사용 후 평균적으로 황화수소는 29.3125 증가하였고, 메틸메르캅탄은 4.0125 감소하였으며, 이황화메틸은 0.2 증가하였다.

[0170] 또한, 프로폴리스 칫솔모의 경우 사용 전보다 사용 후 평균적으로 황화수소는 48.775 증가하였고, 메틸메르캅탄은 2.275 감소하였으며, 이황화메틸 13.0125 증가하였다.

[0171] 종합적으로 판단컨대, 토탈 최대 구취 감소율을 정리하면, 황화수소는 프로폴리스에서 99.98% 감소하였고, 메틸메르캅탄은 황련에서 60.60% 감소하였으며, 이황화메틸 역시 황련에서 14.65% 감소함을 알 수 있었다.

[0172] 결과적으로, 최대 구취 감소율의 평균은 황련에서 2.68%로 나타났다.

[0173] ⑬ 치과병원 임상시험을 통한 구강유해균 억제능 및 구취개선능 확인(임상시험)

[0174] 본 시험을 위해 실제 연구기간 4주 및 연구 준비 및 정리기간을 포함해서 총 6개월간 진행되었다.

[0175] 검사자는 연구대상자가 처음 내원 시 구강검사를 하여 연구적합 대상자 여부를 판단하여 표 8과 같이 31명의 적합 대상자를 선정하였다.

[0176] 모든 피험자는 구강위생 교육을 받고, 개인별로 칫솔 2개와 동일한 치약을 제공한 후 연구기간 동안 칫솔질을 하루 4회 이상, 구강위생교육을 받은대로 하도록 지시하였다.

[0177] 표 8

연구대상자수(명)		31
성별(%)	남자	19 (61.3)
	여자	12 (38.7)
연령(Mean±sd)		20.24 ± 1.18

[0178] 이때, 임상시험 재료는 황련추출물과 프로폴리스가 담지된 칫솔모를 이용한 칫솔 시제품으로 하였다.

[0179] 그리고, 피험자는 매 내원마다 구강유해균 억제능 평가, 구취개선능 평가의 순으로 임상 평가를 받았다.

[0180] 여기에서, 구강유해균 억제능 평가는 피험자를 대상으로 파라핀왁스를 씹으면서 자극성 타액을 발생 시킨 후 타액 채취는 baseline, 2주후 및 4주후, 총 3회에 걸쳐서 측정하였다.

[0181] 또한, 구취개선능 평가는 대조군 칫솔과 항균칫솔 시제품으로 양치질한 후로 3개의 시험군으로 진행하였으며, 1㎖용량의 구취채취용 실린지를 입에 물고, 입을 벌리지 않은 채로 코로만 숨쉬면서 입안의 구취를 포집하고, 3분 뒤 실린지를 2~3회 펌핑한 뒤 1mL을 모아 입 밖으로 꺼내어 1mL 눈금을 정확히 맞추고 구취측정기 (Sensor Gas Chromatograph ODSA-FIS Inc.)에 삽입하여 구취가 포함되어있는 공기를 밀어 넣는 방식으로 측정하였다. 이때, 측정시간은 4분을 기준으로 하였고, 결과값은 그래프와 표로 표기하였으며, 구취 원인물질인 황화수소(H_2S), 메틸메르캅탄(CH_3SH), 이황화메틸[$(CH_3)_2S$]를 대상으로 사용전과 후의 감소정도를 비교 측정하였다.

[0182] 즉, 임상시험 진행과정을 정리하자면, 하기한 표 9와 같다.

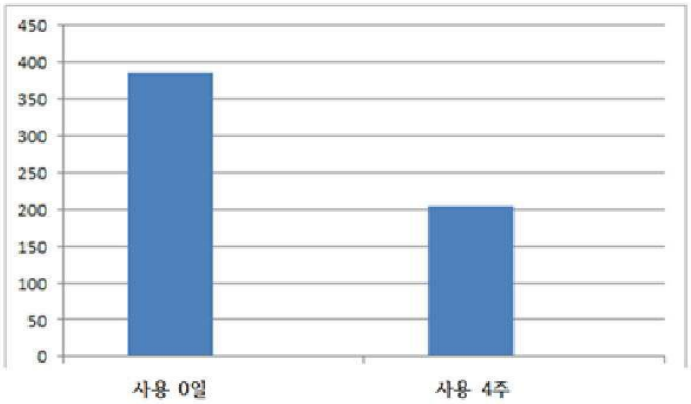
표 9

[0183]

내용	1차	2차	3차
기간	0일	사용 2주	사용 4주
평가	Base-line 구강유해균 억제능 평가 구취개선능 평가	구강유해균 억제능 평가 구취개선능 평가	구강유해균 억제능평가 구취개선능 평가
참여대상자	31명	31명	31명

[0184] 평가결과, 하기한 그림 14-16에 나타난 바와 같이, 구강유해균에 대한 임상평가 결과는 시험용 칫솔을 사용하기 전(사용 0일)과 4주 사용후를 비교할 때 45% 이상의 감소효과가 있었으며, 구취에 대한 임상평가 결과는 3종의 원인물질인 황화수소(H_2S), 메틸메르캅탄(CH_3SH), 이황화메틸[$(CH_3)_2S$] 중에서 황화수소(H_2S), 메틸메르캅탄(CH_3SH)에 대하여 탁월한 감소효과(50% 이상 감소)을 보였다.

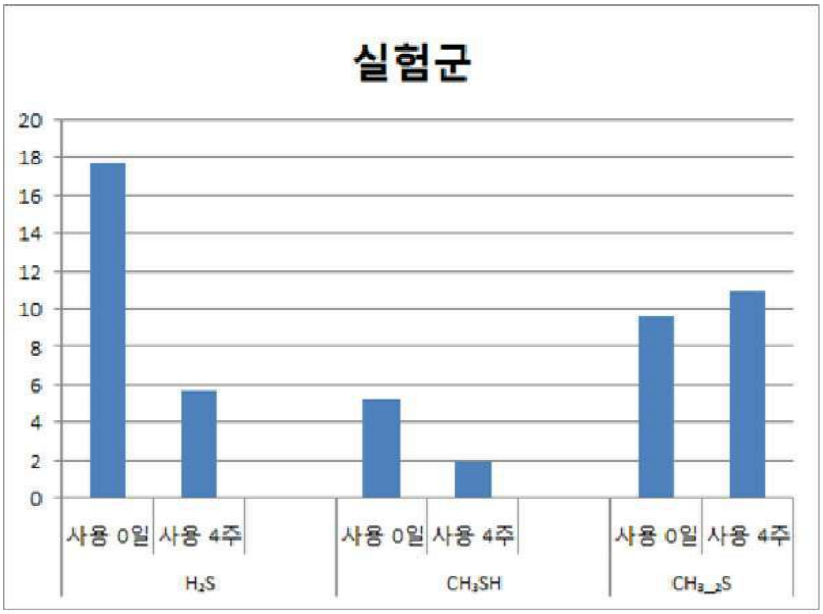
[0185] [그림 14]



[0186]

[0187] 여기에서, 그림 14는 칫솔사용 4주 후 구강유해균에 대한 억제능을 보인 그래프이다.

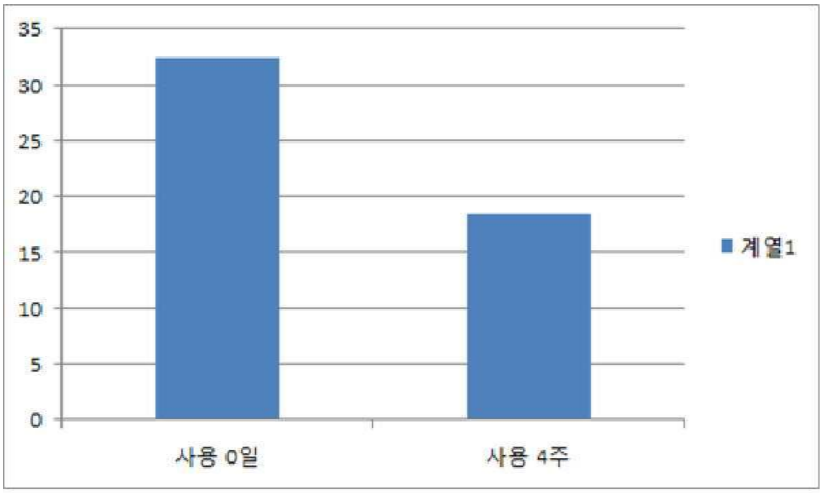
[0188] [그림 15]



[0189]

[0190] 여기에서, 그림 15는 칫솔사용 4주 후 3종의 구취 원인물질별 감소효과를 보인 그래프이다.

[0191] [그림 16]



[0192]

[0193] 여기에서, 그림 16은 칫솔사용 4주 후 전체적인 구취 감소효과를 보인 그래프이다.

[0194] 이와 같이, 본 발명에 따른 무독성 구강 보건 기능을 갖는 천연물을 활용한 항균 칫솔모 조성물과 그 칫솔모 및 그 제조방법은 사용자의 구강건강에 유익한 것으로 확인되었다.

도면

도면1

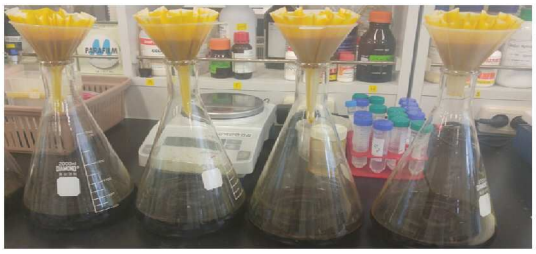


<건조상태의 황련뿌리>



<상온에서 추출>

▼



<액상 추출물의 여과>



<감압농축>

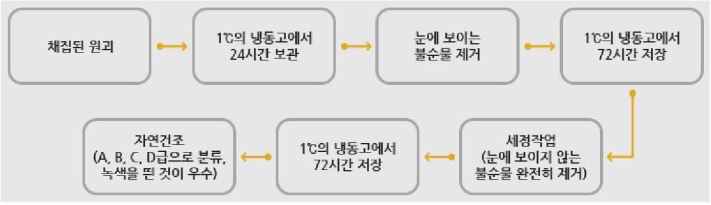


<동결건조>



<분말상태의 황련 추출물>

도면2



▼



< 불순물이 제거된 고체 덩어리상태의 프로폴리스 형상 >

▼



< 분말화된 프로폴리스 >

▼



주정알콜 용매



증류수 용매