



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0018325
(43) 공개일자 2010년02월17일

(51) Int. Cl.

A61K 39/395 (2006.01) A61K 35/48 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0077041

(22) 출원일자 2008년08월06일

심사청구일자 2008년08월06일

(71) 출원인

경상대학교산학협력단

경상남도 진주시 가좌동 900

(72) 발명자

김곤섭

경남 진주시 평거동 들말대경 101-1402

(74) 대리인

이문섭

전체 청구항 수 : 총 10 항

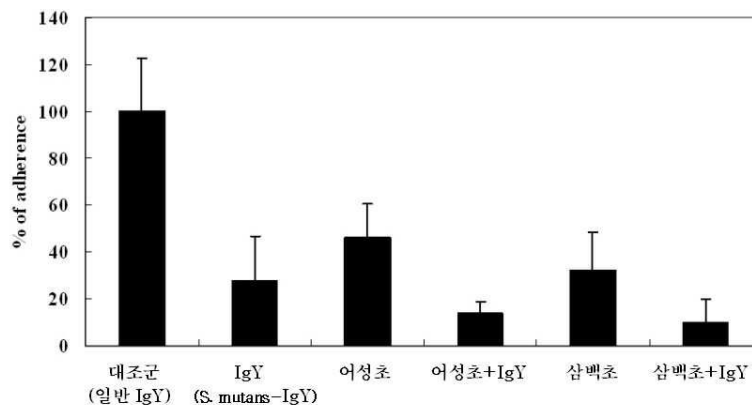
(54) 충치원인균의 치아부착 억제용 조성물

(57) 요약

본 발명은 충치원인균의 치아부착 억제용 조성물에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 충치원인균에 대한 닭 난황유래 IgY를 유효성분으로 함유하는 충치원인균의 치아 표면부착 억제용 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 충치원인균인 스트렙토코커스 뮤탄스에 대하여 특이적인 IgY를 닭 난황으로부터 생산할 수 있으며, 이러한 IgY 및 이를 포함하는 항혈청을 이용하여 충치원인균의 치아부착을 억제할 수 있다. 또한 천연 식물자원인 삼백초 또는 어성초 추출물을 이용하여 충치원인균의 치아부착을 억제시킬 수 있음을 확인하였다. 뿐만 아니라 삼백초 및 어성초 추출물의 항균활성 및 생체 내 면역활성 증가에 효과가 있음을 입증함으로써 약용자원으로서 삼백초와 어성초의 활용 가능성을 확인하였다.

대표도 - 도15



특허청구의 범위

청구항 1

충치원인균에 대한 닭 난황유래 IgY를 유효성분으로 함유하는 충치원인균의 치아 표면부착 억제용 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 충치원인균은 스트렙토코커스 뮤탄스(*Streptococcus mutans*)인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 IgY는 전체 조성물에 대하여 0.1 내지 10중량%로 포함되어 있는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 어성초 또는 삼백초 추출물을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 조성물은 연고, 젤, 스프레이, 패치(patch), 스트립(strip), 필름으로 구성된 군에서 선택된 하나의 제형인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

어성초 또는 삼백초 추출물을 유효성분으로 함유하는 충치원인균의 치아 표면부착 억제용 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 어성초 또는 삼백초 추출물은 전체 조성물에 대하여 0.5 내지 20 중량%로 포함되어 있는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 8

어성초 또는 삼백초 추출물을 유효성분으로 함유하는 살균용 조성물.

청구항 9

제 8항에 있어서, 상기 조성물은 살모넬라 티피뮤리움(*Salmonella typhimurium*)에 대한 살균력을 가지는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 10

어성초 또는 삼백초 추출물을 유효성분으로 함유하는 탐식세포의 활성화 및 면역활성 증가용 조성물.

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 충치원인균의 치아부착 억제용 조성물에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 충치원인균에 대한 닭 난황 유래 IgY를 유효성분으로 함유하는 충치원인균의 치아 표면부착 억제용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 일반적으로 어성초는 다년생 초본으로서 높이는 25~30cm 정도이며 줄기는 가늘고 보라빛색을 지니고 있으며 잎과 줄기에서 고기 비린내 비슷한 특이한 냄새가 나는 자연약초로서 중국과 일본에서는 오래전부터 민간약초로서 널리 이용해 오고 있다. 어성초의 성분은 전초(全草)에 0.0049%의 휘발성분이 함유되어 있으며 이 휘발성분 중

에 데카노일 아세트 알데히드, 메틸엔 노닐케톤, 미르세네, 로우릭 알데히드 등이 함유되어 있고 특히 꽃술에는 이소쿠에르치트린, 잎에는 쿠에르치트린이 함유되어 있으며 뿌리에도 데카노일 아세트 알데히드가 함유되어 있다. 이상의 성분 분석은 어성초의 0.0049% 밖에 함유되어 있지 않는 휘발성분 즉 정유 중에 있는 것이며, 특히 위 성분중 데카노일 아세트 알데히드는 설파민 4만 배의 향균력이 있고 쿠르치트린은 10만 배의 물에 타도 강력한 이노효과가 있다.

[0003] 이러한 성분을 가지는 어성초의 효력은 사람에 해가되는 현대 공해병의 독소를 체내에서 몰아내고 특히 협심증 치료의 신비성과 관절염, 신체에 면역성을 길러내며 혈액순환, 숙취해소 미용 및 피부에 좋은 효능을 가지고 있으며, 특히 고혈압당뇨 이노제에 좋은 효능이 있을 뿐 아니라 항균, 항병독, 지혈, 진통, 조직재생, 혈관확장 등 여러 가지의 작용이 있는 등 건강 증진에 유익한 많은 영양 물질을 매우 많이 함유하고 있는 것으로 알려져 있으며 어성초의 재배단지 내에는 벌레가 접근을 하지 못해 365일 농약을 사용하지 않는 천연 무공해 자연식품으로 매우 유익한 식물이다.

[0004] 또한, 삼백초(Saururus chinensis)는 후추목 삼배초과에 속하는 여러해살이풀로서 우리나라, 중국, 일본에 분포하는 다년초로 일종의 취기가 있고 근경은 회며 줄기는 곧게 서고 높이는 50-100cm이며 잎의 모양은 장란형 또는 타원형으로 길이 6-20cm, 폭 4-10cm이며 다섯 갈래의 맥이 있고 꽃은 양성화로 작은 흰꽃이 많이 달려 있다.

[0005] 삼백초의 성분 중, 정유성분은 메틸노닐케톤(methyl-n-nonyl-ketone), 줄기와 잎에 탄닌, 케르세틴(quercetin), 케르시트린(quercitrin), 이소케르시트린(isoquercitrin), 아비쿠라린(avicularin), 루틴(rutin), 뿌리에 아미노산, 유기산, 당류, 및 가수분해 탄닌(hydrolyzable tannin) 0.48%을 포함하고 있고 한 방에 알려진 약효로 전초(지상부)는 소종해독, 청열이수, 항암, 뿌리는 화농성유선염, 요도통, 성인병, 고혈압 등에 외용한다고 한다.

[0006] 종래 특이적 항체는 동물의 혈액에서 얻어서 임상검사약 및 연구 시약으로서 이용되어 왔다. 계란항체(immunoglobulin in yolk: IgY)는 포유류 IgG와 비교하면 다른 성질이 몇 가지 있으나 항체의 기본적 성질로서 항원 인식 활성의 면에서는 동등하다. 또한 포유동물에서는 항체가 생성되기 어려운 항원에 대해서도 산란계에서는 용이하게 항체가 생성되는 경우가 많다. 따라서, IgY의 특징을 활용하여 특정 병원균에 대한 항활성을 가지는 IgY의 개발과 그 응용이 가능하게 됨에 따라 경구수동면역의 이론에 기초한 IgY를 함유한 식품 또는 의약품 개발에 큰 의의가 있다.

[0007] 그러나, 삼백초와 어성초의 충치원인균에 대한 치아부착 억제효과에 대한 연구는 아직까지 보고 되고 있지 않으며 충치원인균에 대한 IgY의 치아부착 억제효과에 대한 연구는 아직까지 미미한 실정이다.

[0008] 따라서 본 발명에서는 상기와 같이 삼백초 또는 어성초의 항균 및 살균 활성과 면역활성에 대한 증가 효과를 확인하였을 뿐만 아니라, 충치원인균에 대한 IgY의 항체를 이용하여 충치원인균의 치아부착 억제효과를 입증하였고, 나아가 이들의 혼합물을 이용하여 충치원인균의 치아부착 억제에 대한 그 시너지 효과를 연구하였다.

[0009] 이에, 본 발명자들은 상기 종래기술들의 문제점들을 극복하기 위하여 예의 연구노력한 결과, 충치원인균에 대한 담 난황유래 IgY 및 이를 포함하는 항혈청의 경우, 충치원인균의 치아부착 억제효과가 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0010] 따라서, 본 발명의 주된 목적은 충치원인균에 대하여 특이적인 IgY를 포함하는 충치원인균의 치아부착 억제 활성을 갖는 조성물을 제공하는 데 있다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 상기 어성초 또는 삼백초 추출물을 유효성분으로 함유하는 충치원인균의 치아 표면부착 억제 활성을 갖는 조성물을 제공하는데 있다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은 어성초 또는 삼백초 추출물을 유효성분으로 함유하는 살균용 조성물을 제공하는 데 있다.

[0013] 본 발명의 다른 목적은 어성초 또는 삼백초 추출물을 유효성분으로 함유하는 탐식세포의 활성 및 면역활성 증가용 조성물을 제공하는 데 있다.

과제 해결수단

- [0014] 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 충치원인균에 대한 닭 난황유래 IgY를 유효성분으로 함유하는 충치원인균의 치아 표면부착 억제용 조성물을 제공한다.
- [0015] 기존에 알려진 병원성 균에 대한 IgY의 항균효과와는 달리, 본 발명에서는 충치원인균의 치아부착을 억제함으로써 근본적인 충치 치료 및 예방 효과를 얻을 수 있음을 확인하였다.
- [0016] 본 발명의 IgY는 계란항체(immunoglobulin in yolk: IgY)를 말하는 것으로, 항체 IgG, IgM, IgA, IgE 중 immunoglobulin G와 가장 유사한 형태이다. 보통 포유동물과 마찬가지로 닭의 혈청 중에는 IgG (5.0mg/ml), IgM (1.25mg/ml) 및 IgA (0.61mg/ml)이 존재하며 계란에 있어서도 난백에 IgA 및 IgM이 존재하지만, 난황에는 닭의 혈중보다 고농도의 IgG가 존재한다. 특히 이 IgG는 난황(yolk)에서만 발견되어 이를 IgY라 한다. 기존의 상업적 면역단백질은 쥐 혹은 토끼에 항원을 주입하여 생성된 항체를 추출하여야만 한다. 즉, 상기 동물들로부터 항체를 얻기 위해서는 혈청을 채취해 다시 항체만을 분리하여야만 했다. 그러나 IgY를 이용하게 되면 비용과 시간 면에서 비교되지 않을 만큼 손쉽고 경제적이며 혈액과는 달리 매우 위생적이므로 상업적인 응용이 다양해질 수 있다. 따라서, 본 발명에서는 IgY의 특징을 활용하여 충치원인균에 특이적인 IgY를 생산하고 이를 이용하여 충치원인균의 치아표면부착 억제효과에 대하여 다양한 실험을 하고 그 결과 충치원인균의 치아표면부착 억제효과가 탁월함을 확인하였다.
- [0017] 본 발명에서, 상기 IgY는 사멸된 충치원인균을 닭에 접종하여 면역화된 닭에서 생산된 계란으로부터 얻을 수 있다. 계란에서 IgY를 얻는 방법은 당업계에 잘 알려져 있으며 여러 방법들을 이용할 수 있다(Hatta, H., Kim, M. and Yamamoto, T: A novel isolation method for hen egg yolk antibody, IgY. *Agirc. Biol. Chem.*, 54, 2531, 1990).
- [0018] 본 발명에서는 상기 면역화된 계란으로부터 고순도의 IgY를 생산하기 위하여 도 16에서와 같이, 난황과 증류수를 일정비율이 되게 희석하고 최종 pH를 조절하여 원심분리한 후 상등액을 취하고 원심분리하여 침전물을 증류수에 투석한 후 동결건조하는 방법을 이용하였다.
- [0019] 또한 본 발명의 조성물은, 상기 충치원인균을 닭에 접종하여 면역화된 닭의 혈액으로부터 추출한 혈청을 유효성분으로 함유할 수 있다.
- [0020] 본 발명의 조성물에서, 상기 충치원인균은 스트렙토코커스 뮤탄스(*Streptococcus mutans*)인 것을 특징으로 한다.
- [0021] 본 발명의 조성물에서, 상기 IgY는 충치원인균의 치아표면부착 억제효과를 나타내는 범위에서 적절하게 선택될 수 있으나, 바람직하게는 전체 조성물에 대하여 0.1 내지 10 중량%로 포함되어 있는 것이 적당하다.
- [0022] 본 발명의 조성물에서, 어성초 또는 삼백초 추출물을 더 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0023] 본 발명의 실시예에서는, 어성초, 삼백초 또는 IgY를 단독으로 처리하였을 때보다 어성초와 IgY, 그리고 삼백초와 IgY를 혼합한 혼합물에서 현저한 상승효과를 확인할 수 있었으며, 각 물질의 상승작용에 의하여 억제 효과가 더 강하게 나타났다 (도 15 참조).
- [0024] 본 발명의 조성물에서, 상기 조성물은 치아표면에 직접 투여할 수 있는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으나, 바람직하게는 연고, 젤, 스프레이, 패치(patch), 스트립(strip) 및 필름으로 구성된 군에서 선택된 하나의 제형을 갖는 것이 적당하다.
- [0025] 상기 예시된 제형은 당업계에서 공지된 방법으로 다양한 부형제를 첨가함으로써 제조될 수 있는데, 예를 들어 히알루론산(hyaluronic acid), 폴리비닐피롤리돈(polyvinylpyrrolidone), 폴록사머(poloxamer), 카보폴(carbopol)과 같은 생체적합성 고분자를 부형제로서 이용할 수 있다. 구체적으로 폴리비닐피롤리돈과 혼합하여 다양한 제형으로 설계할 수 있으며, 폴리비닐피롤리돈의 양을 조절하여 연고제, 젤, 패치, 액상 제제 등으로 만들 수 있고, 분무용 제제로도 만들 수 있다. 또한 조성물과 폴리비닐피롤리돈을 수용액에 녹여 혼합 조성물을 제조하고 이를 얇게 코팅하고 휘발시키면 얇은 필름형태로의 제조도 가능하다.
- [0026] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 어성초 또는 삼백초 추출물을 유효성분으로 함유하는 충치원인균의 치아 표면부착 억제용 조성물을 제공한다.
- [0027] 본 발명의 실시예에서는 상기 어성초와 삼백초 추출물을 이용하여 충치원인균인 *S. mutans* 균의 슬립커버, 인공 치아 및 돼지치아의 표면부착 억제효과를 실험하였으며, 현저한 억제효과가 있음을 입증하였다.
- [0028] 본 발명에 있어서, 상기 어성초 또는 삼백초 추출물은 충치원인균의 치아표면부착 억제효과를 나타내는 범위에

서 적절하게 선택될 수 있으나, 바람직하게는 0.5 내지 20 중량%로 포함되어 있는 것이 적당하다.

- [0029] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 어성초 또는 삼백초 추출물을 유효성분으로 함유하는 살균용 조성물을 제공한다.
- [0030] 본 발명에서, 상기 어성초 또는 삼백초 추출물은 통상적인 식물 원료의 추출방법으로 추출할 수 있으며, 바람직하게는 물, 유기용매 또는 이들의 혼합용매를 이용하여 추출하는 것이 좋다.
- [0031] 상기 유기용매로는 에탄올, 메탄올, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜, 글리세린, 함수에탄올, 함수부틸렌글리콜, 함수프로필렌글리콜, 헥산, 에틸아세테이트로 구성된 군으로부터 선택된 것을 사용할 수 있으며, 이들 유기용매와 물을 적절히 혼합한 용매도 사용할 수 있다.
- [0032] 본 발명에 있어서, 상기 추출용매를 이용한 추출방법으로는 통상적인 식물추출방법 예컨대, 물을 이용한 추출, 유기용매 추출 등의 방법을 사용할 수 있으며, 구체적으로 어성초 또는 삼백초의 건조물 또는 그 분쇄물을 상기 물 또는 유기용매에 투입하고 필요에 따라 적절히 교반하면서 실온에서 6-24시간 이상 침적시키거나 가열하여 추출할 수 있다. 추출에 사용되는 용매의 양은 추출원료의 통상 5 내지 20배량(중량비)인 것이 적당하다.
- [0033] 본 발명의 살균용 조성물에서, 상기 조성물은 병원성 세균의 살균용으로 사용될 수 있는데, 특히 본 발명의 실시예에서와 같이 살모넬라 티피무리움(*Salmonella typhimurium*)에 대한 살균력이 탁월하다.
- [0034] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 어성초 또는 삼백초 추출물을 유효성분으로 함유하는 탐식세포의 활성 및 면역활성 증가용 조성물을 제공한다.
- [0035] 본 발명의 탐식세포 활성 및 면역활성 증가용 조성물은, 세포독성이 없으면서도 탐식세포의 활성화에 효과적이며(도 3a 참조), 탐식세포의 분화 유도에도 탁월한 효과가 있다(도 3b 참조).
- [0036] 또한 본 발명의 실시예에서는 상기 어성초 또는 삼백초 추출물의 면역활성에 미치는 영향을 실험하였으며, 그 결과 살모넬라(*S. typhimurium*) 균에 감염되지 않은 탐식세포는 면역활성의 지표로 잘 알려져 있는 NO 생산량이 어성초 또는 삼백초 추출물 처리후에도 특별한 변화가 없었으나, 균 감염된 탐식세포에서는 NO 생산량이 현저하게 증가되었으며(도 6a, b) 이는 추출물이 탐식세포의 면역활성 증가에 탁월한 효과가 있음을 보여주는 것이다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- [0037] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.
- [0038] **실시예 1. 삼백초 및 어성초 추출물의 제조**
- [0039] 증류수를 이용한 삼백초 및 어성초 추출물(수용성 추출물)의 제조방법은 다음과 같다.
- [0040] 삼백초와 어성초의 분말 5g을 각각 100ml의 증류수에 첨가하여 실온에서 8시간 동안 교반을 통하여 추출하였다. 추출액을 5000rpm에서 10분간 원심분리 하여 상층액을 여과지(Advantec filter paper number 2, Japan)를 이용하여 여과하였다. 여과된 추출액을 멸균된 용기에 부은 후 57℃에서 48시간 건조를 실시하였으며, 분말 건조된 추출물은 최종 5mg/ml이 되도록 증류수로 용해하고 필터(Corning syringe filter, 0.20 μ m, Japan)를 이용하여 여과한 후 실험에 사용하였다. 시험에 사용하지 않는 건조 추출물은 -30℃에 보관하였다.
- [0041] 또한, 에탄올을 이용한 삼백초 및 어성초 추출물(에탄올 추출물)의 제조방법은 다음과 같다.
- [0042] 삼백초와 어성초의 분말 5g을 100ml의 80% 에탄올에 첨가하여 실온에서 8시간 동안 교반을 통하여 추출하였다. 추출액을 여과지(Advantec filter paper number 2, Japan)를 이용하여 여과하였다. 여과된 추출액을 멸균된 용기에 부은 후 57℃에서 48시간 건조를 실시하였으며, 분말 건조된 추출물은 최종 5mg/ml이 되도록 증류수로 용해하고 필터(Corning syringe filter, 0.20 μ m, Japan)를 이용하여 여과한 후 실험에 사용하였다. 시험에 사용하지 않는 건조 추출물은 -30℃에 보관하였다.
- [0043] **실시예 2. 세균 및 세포의 배양**
- [0044] 본 발명에 사용된 균주는 검역원에서 분양받은 살모넬라 티피무리움(*Salmonella typhimurium*) 표준주(G-B-14-21-62), 한국생명공학연구원 생물자원센터로부터 분양받은 스트렙토코커스 뮤탄스(*Streptococcus mutans*) KCTC3289 및 락토바실러스 액티도필러스(*Lactobacillus acidophilus*) KCTC3164 균주를 이용하였으며, 각 균주

는 -70℃에 글리세롤 스톡(glycerol stock)된 균주를 사용하였다. 각 균주는 LB broth(Luria-Bertani broth; Sigma), BHI agar(Brain heart infusion agar; Sigma), 필요한 경우에는 *S. mutans*의 배양에 2% 수크로오스(sucrose)를 첨가하여 배양하였다.

[0045] 또한, 본 발명에 사용된 세포는 한국생명공학연구원 생물자원센터로부터 분양받은 RAW 264.7 탐식세포(murine derived RAW 264.7 macrophage)를 사용하였으며, 세포의 배양은 10% 우태아혈청(fetal bovine serum)과 1% 글루타민(glutamine)이 함유된 RPMI1640(Gibco)배지에 사용하였다. 또한 필요에 따라 1% 페니실린/스트렙토마이신(penicillin/streptomycin)을 첨가하여 사용하였다.

[0046] **실험예 1. 삼백초 및 어성초 추출물의 살균 효력시험**

[0047] 실시예 1에서 얻어진 삼백초와 어성초의 수용성 추출물 및 에탄올 추출물을 이용하여 병원성 세균의 지표가 되는 살모넬라 티피무리움 균(검역원 소독약품 효력시험 예규)을 이용하여 살균 효력시험을 수행하였다. 실시예 2의 방법으로 하루 동안 배양된 LB agar plate로부터 단일 콜로니(single colony)를 취하여 LB 액체 배지에 넣고 16시간 진탕 배양을 수행하였다. 균수 측정은 흡광도(OD) 값과 단계 희석 후 LB agar plate에 도말하여 균수를 측정하였고, 시험에 사용된 균은 최종 1×10^4 cell/ml이 되도록 PBS(Phosphate Buffered Saline)로 시험관에 희석을 실시하여 살균 효력 시험에 사용하였다.

[0048] 상기 어성초와 삼백초 수용성 및 에탄올 추출물은 0, 25, 50, 100 µg/ml의 농도가 되도록 희석하여 준비된 균액에 첨가하였다. 시험관내 균액을 실온에서 0, 2, 4 및 8시간 반응시킨 후, 반응액의 1000 µl를 취하여 5,000 rpm에서 10분간 원심분리하고, PBS로 3회의 washing 과정을 거친 후 적당히 희석하여 LB agar에 도말하였다. 도말된 배지는 37℃에서 16시간 배양한 후 세균수(bacterial colony forming unit, CFU)를 측정하였다.

[0049] 실험결과, 사용된 모든 농도의 추출물은 균과 반응 2시간 후 살균 작용이 인정되었고, 특히 어성초 수용성 추출물의 경우 8시간 까지 반응에서 대조군과 비교하여 2배 이상의 살균 및 정균 효과가 인정되었다. 그 외의 물질에서는 미약한 살균 및 정균 작용이 인정되었다(도 1).

[0050] **실험예 2. 삼백초 및 어성초 추출물의 세포독성 평가**

[0051] 삼백초 및 어성초의 세포독성 평가를 위하여 어성초와 삼백초의 수용성 및 에탄올 추출물을 0, 25, 50, 100 µg/ml의 농도가 되도록 희석하고, RAW 264.7 세포(탐식세포)에 각각 첨가한 후 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에서 24시간 반응시켰다. 반응이 끝난 세포의 생사 여부는 RAW 264.7 세포를 0.05% trypan blue와 10분간 염색한 후, 도립현미경(400X, Nikon)하에서 관찰하였으며, 무작위로 100개의 탐식세포를 선발하여 trypan blue에 염색된 세포를 측정하였다. 3회 반복 실험을 통하여 평균값을 나타내었다.

[0052] 그 결과 도 2에서와 같이, 대조군(0 µg/ml)과 비교하여 비슷하거나 낮은 세포 사멸효과가 확인되어 모든 추출물의 세포에 대한 안전성을 확인하였다.

[0053] **실험예 3. 삼백초 및 어성초 추출물이 탐식세포의 형태적 변화에 미치는 영향**

[0054] 본 발명에서는 삼백초 및 어성초 추출물이 탐식세포의 형태적 변화에 미치는 영향을 평가하기 위하여, 다음과 같이 수행하였다.

[0055] 배양된 RAW 264.7 세포를 96-well plate에 계대배양(2×10^4 cell/well)한 후, 삼백초와 어성초의 수용성 및 에탄올 추출물을 0, 25, 50, 100 µg/ml이 되도록 희석하고 각각의 well에 첨가하여 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에서 8시간 반응 후 탐식세포의 형태적 변화를 측정하였다. 세포의 형태적 변화는 도립현미경(400X, Nikon)하에서 관찰하였으며, 무작위로 100개의 탐식세포를 선발하여 형태적 변화를 보이는 세포를 측정하였다. 본 시험은 3번의 실험을 수행하여 평균값을 얻었다.

[0056] 도 3a와 3b에서, 추출물과 반응한 탐식세포는 수용성 및 에탄올 추출물 모두에서 높은 형태적 변화를 나타내었다. 특히 어성초와 삼백초의 수용성 추출물이 에탄올 추출물보다 탐식세포의 형태적 변화가 높게 나타났다.

[0057] **실험예 4. 삼백초 및 어성초 추출물이 탐식세포의 탐식능력에 미치는 영향평가**

[0058] 삼백초 및 어성초 추출물이 탐식세포의 탐식능력에 미치는 영향을 분석하기 위하여 *S. typhimurium* 균에 대한 탐식세포의 internalization을 측정하였다.

[0059] Internalization의 변화를 측정하기 위해 삼백초와 어성초의 추출물을 각각의 농도(0, 25, 50, 100 µg/ml)로

탐식세포와 4시간 반응시킨 후, 탐식세포와 *S. typhimurium* 균(1×10^4 cell/ml)을 30분, 60분간 반응시켰다. 탐식되지 않은 세균을 죽이기 위해 30 μ g/ml의 겐타마이신을 첨가한 후, 30분간 더 반응시켜 세포 밖의 세균을 살균하였다. 탐식된 세포 수를 측정하기 위해, PBS로 3회 세척한 후 증류수로 세포를 용해(lysis)시켰다. 세포 용해 후 용출된 살아있는 세균 수를 측정하기 위해 50 μ l의 용출액을 LB agar에 도말(spreading)하여 CFU를 측정하였다.

[0060] 그 결과 도 4에서와 같이, 모든 추출물에서 감염 후 30분에서 대조군과 비교하여 2-3배 이상의 세균 탐식능력이 증가함을 확인하였다. 그러나 60분이 경과한 시점에서는 어성초로부터 분리한 수용성 물질을 제외한 다른 추출물은 대조군에 비해 낮은 균 탐식능이 인정되었다. 어성초로부터 분리한 수용성 물질의 경우 60분 경과한 시점에서 대조군과 비교해 추출물의 농도 의존적으로 많은 균 탐식능력이 관찰되었다.

[0061] **실험예 5. 삼백초 및 어성초 추출물이 탐식세포내 탐식된 균의 사멸능력에 미치는 영향평가**

[0062] 삼백초 및 어성초 추출물이 탐식세포내 탐식된 균의 사멸능력에 미치는 영향을 분석하기 위하여 *S. typhimurium* 균에 대한 탐식세포의 Intracellular growth를 측정하였다.

[0063] Intracellular growth를 측정하기 위해, 삼백초와 어성초의 추출물에 대하여 각각의 농도(0, 25, 50, 100 μ g/ml)로 RAW 세포와 4시간 반응한 후, *S. typhimurium* 균을 탐식세포에 1시간 감염시키고, μ g/ml의 겐타마이신을 첨가하여 탐식되지 않은 세균을 죽이고 2, 4, 8시간 배양하였다. 세포 washing과 lysis 및 이후의 과정은 internalization과 동일한 과정을 반복하였다. 모든 실험은 3번 이상 수행하였으며, 결과는 평균값과 표준편차를 이용하여 나타내었다.

[0064] 그 결과 도 5에서와 같이, 2, 4, 8시간이 경과한 시점에서 탐식세포의 탐식된 균에 대한 사멸효과는, 모든 추출물에서 감염 후 2시간 경과한 시점에서 대조군과 비교하여 1.5-3배 이상의 세균 탐식능이 증가됨을 확인하였으나, 시간의 경과에 따른 탐식균의 사멸능력은 대조군과 비교하여 비슷한 양상을 나타내었다.

[0065] **실험예 6. 삼백초 및 어성초 추출물이 면역활성에 미치는 영향**

[0066] 탐식세포의 NO 산생은 탐식세포의 활성화를 나타내는 지표로 활용되고 있다. 본 발명에서는 어성초와 삼백초의 RAW cell에 대한 NO 산생을 측정하기 위하여, 다음의 방법을 사용하였다.

[0067] 0, 25, 50, 100 μ g/ml의 농도가 되도록 희석한 어성초와 삼백초의 수용성 및 에탄올 추출물을 96-well plate에 계대 배양된 탐식세포(2×10^4 cell/well)에 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 24시간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 탐식세포로부터 분리된 아질산염 농도(nitrite concentration)는 Griess reaction으로 측정하였다. Griess reaction을 설명하면, 반응 후 50 μ l의 상층액과 동량의 Griess reagent(Griess reagent, Sigma)를 96-well plate에 넣고, 10분간 반응시킨 후 Biotrak II Reader(absorbance 450nm)를 이용하여 측정하였고, sodium nitrate(Sigma) standard curve를 이용하여 최종 농도를 확인하였으며 3회 반복실험을 수행하였다.

[0068] 그 결과 도 6a에서와 같이, 반응한 모든 물질에서 탐식세포에 미치는 NO 산생은 대조군과 비교하여 영향을 주지 않거나, 약간 낮은 산생을 보였다.

[0069] 살모넬라 티피무리움 감염 후 탐식세포로부터 분리된 NO양을 측정하기 위하여, 앞선 결과에서 탐식세포의 탐식 능력에 탁월한 증가를 보였던, 수용성 어성초 추출물을 각각의 농도(0, 25, 50, 100 μ g/ml)로 탐식세포(2×10^4 cell/well)에 첨가하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 4시간 반응 후 10% fetal bovine serum(FBS)을 포함한 RPMI1640으로 3회 세척을 하여 수용성 및 에탄올 추출물을 제거하였다. 세균의 감염은 multiplicity of infection(MOI) 20이 되도록 감염을 수행하였고, 감염 30분 후 겐타마이신(gentamicin, 30 μ g/ml)을 첨가한 RPMI-1640(10% FBS)배지를 첨가하여 세포내 침입이 이뤄진 균을 제외한 세포외 균을 살균하였다. 감염 후 8시간, 24시간에 50 μ l의 배지를 취하여 NO 농도를 측정하였고, 3회 반복실험을 수행하였다.

[0070] 그 결과 도 6b에서와 같이, 감염 후 8시간에서 대조군과 비교하여 비슷한 NO 산생이 확인 되었으나, 감염 후 24 시간에서는 대조군과 비교하여 농도에 따라 다소 높게 분비됨이 확인 되었고 100 μ g/ml의 농도에서는 4배 이상의 NO가 분비되어 어성초의 추출물이 탐식세포의 면역활성을 높이는 물질임을 확인하였다.

[0071] **실험예 7. 마우스에서 어성초 추출물 섭취 후 생체 변화**

[0072] 어성초 추출물 섭취 후 생체에 미치는 영향을 분석하기 위하여, 실험동물인 마우스(8주령; female ICR mouse)를 이용하여 어성초의 수용성 추출물을 투여하였을 때의 체중변화를 관찰하였다. 실험군과 대조군 각 5마리를 사용

하였으며, 실험군에는 PBS 1ml, 대조군에는 어성초의 수용성 추출물 1ml(100 µg/ml)을 72시간 간격으로 경구 투여하여 체중변화를 확인하였다.

[0073] 그 결과 도 7에서와 같이, 시험 전 기간 동안 폐사 및 임상증상이 관찰되지 않았으며, 대조군과 실험군 모두에서 뚜렷한 체중변화가 관찰되지 않아 실험동물에의 안전성이 확인되었다.

[0074] **실험예 8. 마우스에서 어성초 추출물의 병원성 세균감염에 대한 치료효과**

[0075] 탐식세포의 세균 탐식능력에 높은 효과를 보인 어성초의 수용성 추출물을 이용하여 병원성 세균감염의 치료효과를 관찰하였다. 이를 위해 8주령의 female ICR mouse 7마리에 *S. typhimurium* 균(1×10^5 cell/ml)을 복강접종을 통하여 감염시킨 후, 실험군에는 어성초의 수용성 추출물 1ml(100 µg/ml)을 72시간 간격으로 투여하고, 대조군에는 PBS 1ml을 경구 투여하였다.

[0076] 그 결과 도 8에서와 같이, 대조군의 경우 감염 3일 후부터 폐사가 발생하였고 7일에 7마리 모두 폐사되었으나, 어성초 수용성 추출물을 투여한 경우 균 감염 후 7일째 1마리 폐사하였고, 그 후 1일 간격으로 폐사하다가 감염 10일째에는 3마리가 생존하여, 시험 전 기간에 걸쳐 병원성 세균 감염에 대한 치료효과가 입증되었다.

[0077] **실시예 3. 충치원인균에 대한 난황유래 IgY 생산**

[0078] 충치원인균인 스트렙토코커스 뮤탄스(*Streptococcus mutans*)를 2%의 수크로오스(sucrose)가 첨가된 BHI 액체배지에 24시간 배양하여 PBS로 3회의 세척을 수행한 후 세균의 사멸을 유도하기 위해 63℃에서 30분간 처리하였다. 처리된 균은 1×10^{12} cell/ml의 농도로 하여 oil adjuvant(adjuvant, Olive oil, Sigma)와 1:1(w/w)의 혼합 비율로 균질기를 이용 균일하게 섞은 후 균질액 1ml을 산란용 닭에 근육 접종을 수행하였고, booster 접종은 2주 후 동일한 방법으로 수행하였다. 항체의 생산 유무를 확인하기 위하여 접종 후 4주째 산란계의 익하정맥(wing vein)으로부터 채혈을 수행하였고, 채혈된 혈액은 원심분리를 통하여 혈장성분을 분리하여 혈청(이하 ‘항혈청’ 또는 ‘anti-*S. mutans* 항혈청’을 말함)을 얻었으며, *S. mutans* 항원에 대한 항체가를 Microplate agglutination test(MAT)를 통하여 측정하였고, 항체가 320이상의 닭에서 생산된 계란을 시험에 사용하였다.

[0079] **실험예 9. 난황유래 IgY, 삼백초 및 어성초를 이용한 충치원인균에 대한 표면 부착 억제효과**

[0080] 1) 난황유래 IgY의 충치원인균 커버슬립 부착 억제효과

[0081] 실시예 3에서 얻은 IgY를 10 µg/ml의 농도가 되도록 PBS로 희석한 후 불순물을 제거하기 위하여 5,000rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 1.5ml tube에 *S. mutans*(1×10^8 cell/ml) 균액 100 µl, PBS 900 µl와 IgY 10 µg/ml를 넣고 37℃에서 2시간 교반하며 반응시켰다. 반응이 끝난 후 균액은 PBS로 3회 세척 과정을 거쳐 균과 반응한 IgY 이외의 물질을 제거하였다. 다음으로, 24-well plate에 균의 부착을 확인하기 위하여 치아 대용으로 가장 일반적으로 사용되는 커버 슬립(therman-OX Cover slip)을 넣고 반응액을 가하여 37℃에서 2시간 세균을 부착시켰다. 대조군으로는 일반 IgY(10 µg/ml)를 사용하였다. 각 well을 PBS로 3회 세척한 후 멸균된 cotton swab으로 동일한 면적(0.5cm x 0.5cm)에 대하여 swab하여 PBS에 세균을 부유시킨 후 적당히 희석하고, BHI agar에 도말하여 CFU 수를 측정하였다.

[0082] 그 결과 도 9a에서와 같이, anti-*S. mutans* IgY A와 B 모두에서 대조군에 비해 부착능이 현저히 감소됨이 확인되었다.

[0083] 2) 항혈청의 충치원인균에 대한 커버슬립 표면부착 억제효과

[0084] 실시예 3에서 얻은 IgY를 포함한 항혈청(anti-*S. mutans* 항혈청, MAT: 320-640)을 10 µg/ml의 농도로 PBS로 희석한 후 8,000rpm에서 5분간 원심분리하였다. 1.5ml tube에 PBS로 3회 세척한 *S. mutans*(1×10^8 cell/ml) 균액 100 µl, PBS 900 µl와 serum 10 µg/ml를 넣고 37℃에서 2시간 교반하며 반응시켰다. 24-well plate에 커버슬립을 넣고, 반응액을 가하여 37℃에서 2시간 세균을 부착시켰다. 대조군으로는 일반 IgY(10 µg/ml)를 사용하였다. 각 well을 PBS로 3회 세척한 후 멸균된 cotton swab으로 swab하여 동일한 면적(0.5cm x 0.5cm)에 대하여 swab하여 PBS에 세균을 부유시킨 후 적당히 희석하고 BHI agar에 도말하여 CFU 수를 측정하였다.

[0085] 그 결과 도 9b에서와 같이, anti-*S. mutans* 항혈청을 이용하였을 때에도 *S. mutans*의 표면 부착억제효과 현저히 증가됨이 확인되었다.

[0086] 3) 어성초 추출물의 충치원인균 커버슬립 표면부착 억제효과

- [0087] 어성초의 수용성 및 에탄올 추출물을 최종농도 5 $\mu\text{g/ml}$ 이 되게 증류수로 희석하고 필터(Corning syringe filter, 0.20 μm , Japan)를 이용하여 제균을 실시하였다. 생리식염수에 적당히 희석한 균액(1×10^4 cell/ml) 100 μl 과 추출액 5 $\mu\text{g/ml}$ 이 포함된 생리식염수 900 μl 를 37°C에서 0, 2, 4, 8시간 교반하며 반응시킨 후 24-well plate에 커버슬립을 넣고, 반응액을 가하여 세균을 부착시켰다. 대조군으로는 일반 IgY(10 $\mu\text{g/ml}$)를 사용하였다. 각 well을 PBS로 3회 세척한 후 멸균된 cotton swab으로 동일한 면적(0.5cm $\times$ 0.5cm)에 대하여 swab하여 PBS에 세균을 부유시킨 후 적당한 희석을 실시하여 BHI agar에 도말하여 CFU 수를 측정하였다.
- [0088] 그 결과 도 9c에서와 같이, 어성초의 수용성 추출물이 *S. mutans* 균과 반응하여 *S. mutans*의 표면부착 억제효과가 있음을 확인하였다. 즉, 어성초 추출물이 균과 반응하였을 때 대조군에 비해 부착능이 현저히 감소됨이 확인되었다(Fig. 1C).
- [0089] 4) 삼백초, 어성초 추출물, IgY 및 항혈청의 충치원인균 커버슬립 표면부착 억제효과에 대한 주사전자현미경적 관찰
- [0090] 상기 1) 내지 3)과 동일한 방법으로, 삼백초와 어성초의 수용성 추출물, 어성초의 에탄올 추출물, IgY 그리고 항혈청을 이용하여 *S. mutans* 균과 반응시켰다. 24-well plate에 커버슬립, 인공치아 및 6개월령 돼지 치아를 넣고, 반응액을 가하여 37°C에서 2시간 세균을 부착시켰다. 대조군으로는 일반 IgY(10 $\mu\text{g/ml}$)를 사용하였다.
- [0091] 2시간 동안 배양 후 각 well에 생리식염수로 부드럽게 한번 세척한 후 0.1M PBS에 3번 세척한 다음 2.5% glutaldehyde에 조직(인공치아)을 냉장상태(4°C)에서 전고정 하였다. 전고정한 조직을 0.1M PBS에 3번 세척한 후 1% OsO₄에 조직을 냉장상태에서 2시간 보관하였다. 조직을 일반적인 탈수과정에 따라 50%-70%-80%-90%-95%-absolute alcohol I, II, III에 각 단계별로 30분 담가둔 다음, acetone I, II 용액에 1시간씩 담가둔 후 HMDS I, II용액에 각각 30분씩 담근 후 임계점 건조기에 보관하였다. Ion sputtering coater로 처리하여 주사전자현미경(JLEOL사, JEM600)으로 가속전압 10KV하에서 촬영하여 사진을 관찰하였다.
- [0092] 그 결과 도 10에서와 같이, 삼백초의 수용성 추출물과 어성초의 에탄올 추출물은 *S. mutans*가 대조군에 비해 약간 감소하였으나(도 10의 B-C), 어성초의 수용성 추출물에서는 대조군에 비해 유의하게 감소함을 확인하였다(도 10의 D). 한편, 배양된 균을 anti-*S. mutans* IgY와 함께 37°C에서 2시간 교반을 통해 반응 시켰으며 그 후 커버슬립에 부착시켜 관찰하였다. 그 결과 anti-*S. mutans* IgY 처리군에서 대조군에 비해 *S. mutans* 균이 현저히 감소됨이 확인되었다(도 10의 E). 또한 anti-*S. mutans* 항혈청에서도 *S. mutans* 균이 현저히 감소됨이 확인되었다(도 10의 F).
- [0093] 5) 어성초 추출물, IgY 및 항혈청의 충치원인균 인공치아 표면부착 억제효과
- [0094] 상기 1) 내지 3)과 동일한 방법으로, 커버슬립 대신에 인공치아(Megadenta, Keracryl)를 사용하여 표면부착 억제효과를 실험하였다. 대조군으로는 일반 IgY(10 $\mu\text{g/ml}$)를 사용하였다.
- [0095] 그 결과 도 11a-c에서와 같이, anti-*S. mutans* IgY는 대조군에 비해 부착능이 현저히 감소됨이 확인되었다(도 11a). Anti-*S. mutans* 항혈청을 이용하였을 때에도 *S. mutans*의 표면부착 억제효과가 현저히 증가됨이 확인되었다(도 11b). 또한 어성초의 수용성 추출물(100 $\mu\text{g/ml}$)을 *S. mutans* 균과 반응하여 *S. mutans*의 표면부착 억제효과를 확인하였다. 그 결과 어성초의 수용성 추출물이 균과 반응하였을 때 대조군에 비해 부착능이 현저히 감소됨이 확인되었다(도 11c).
- [0096] 6) 어성초 추출물, IgY 및 항혈청의 충치원인균 인공치아 표면부착 억제효과에 대한 전자현미경적 관찰
- [0097] 충치원인균인 *S. mutans*에 대한 어성초 추출물, IgY 및 항혈청을 이용하여 *S. mutans* 균이 인공치아의 표면에 부착을 억제하는지를 주사전자현미경으로 확인하였다.
- [0098] 어성초의 수용성 추출물, IgY(10 $\mu\text{g/ml}$), serum(10 $\mu\text{g/ml}$)을 *S. mutans* 균과 반응시켰다. 도 12에서와 같이, 수용성 어성초 추출물(25-100 $\mu\text{g/ml}$)이 대조군에 비해 농도 의존적으로 *S. mutans*가 감소함을 확인하였다(도 12의 B-D). Anti-*S. mutans* IgY에서는 대조군에 비해 *S. mutans* 균이 현저히 감소됨이 확인되었다(도 12의 E). 또한, anti-*S. mutans* 항혈청에서도 *S. mutans* 균이 현저히 감소됨이 확인되었다(도 12의 F).
- [0099] 7) 어성초 추출물, IgY 및 항혈청의 충치원인균 치아 표면부착 억제효과
- [0100] 상기 1) 내지 3)과 동일한 방법으로, 커버슬립 대신에 6개월령 돼지치아를 사용하여 표면부착 억제효과를 실험하였다. 대조군으로는 일반 IgY(10 $\mu\text{g/ml}$)를 사용하였다.

[0101] 그 결과 도 13a-c에서와 같이, Anti-*S. mutans* IgY는 대조군에 비해 부착능이 현저히 감소됨이 확인되었다(도 13a). 또한, anti-*S. mutans* 항혈청을 이용하였을 때에도 *S. mutans*의 표면부착 억제효과 현저히 증가됨이 확인되었다(도 13b). 또한 어성초의 수용성 추출물을 *S. mutans*균과 반응하여 *S. mutans*의 표면부착 억제효과를 확인하였다. 그 결과 수용성 어성초 추출물이 균과 반응하였을 때 대조군에 비해 부착능이 현저히 감소됨이 확인되었다(도 13c).

[0102] 8) 어성초 추출물, IgY 및 항혈청의 충치원인균 치아 표면부착 억제효과에 대한 전자현미경적 관찰

[0103] 충치원인균인 *S. mutans*에 대한 어성초 추출물, IgY 및 항혈청을 이용하여 *S. mutans* 균이 인공치아의 표면에 부착을 억제하는지를 주사전자현미경으로 확인하였다.

[0104] 돼지 치아에서 충치원인균의 부착 억제효과를 검정하기 위하여 어성초의 수용성 추출물(100 μ g/ml), IgY(10 μ g/ml), serum(10 μ g/ml)을 *S. mutans* 균과 반응시켰다. 도 14에서와 같이, 어성초 추출물이 대조군에 비해 *S. mutans*가 감소함을 확인하였다(도 14b). Anti-*S. mutans* IgY에서는 대조군에 비해 *S. mutans* 균이 현저히 감소되었고(도 14c), 그리고 Anti-*S. mutans* 항혈청에서도 *S. mutans* 균이 현저히 감소됨이 확인되었다(도 14d).

[0105] 9) 어성초 추출물 또는 삼백초 추출물과 IgY 혼합물의 치아부착 억제효과

[0106] 상기 실시예로부터 얻어진 어성초 추출물과 IgY, 그리고 삼백초 추출물과 IgY를 각각 1:1(w/w) 비율로 혼합하여, 상기 치아 표면부착 억제효과 실험과 동일한 방법으로 이들 혼합물의 충치원인균에 대한 치아부착 억제효과를 측정하였다. 단, 실험에 사용된 조건으로 천연물은 각각 100 μ g/ml, 대조군(일반 IgY)은 100 μ g/ml, IgY(*S. mutans* 특이 IgY)는 100 μ g/ml의 농도를 사용하였으며 인큐베이션 시간은 8시간이었다.

[0107] 그 결과 도 15에서와 같이, 어성초, 삼백초 또는 IgY를 단독으로 처리하였을 때보다 어성초와 IgY, 그리고 삼백초와 IgY를 혼합한 혼합물에서 현저한 상승효과를 확인할 수 있었다. 특히, 삼백초와 IgY의 혼합물은 삼백초와 IgY 단독 보다 약 3배 정도의 증가된 부착 억제효과를 나타내었다.

산업이용 가능성

[0108] 이상 설명한 바와 같이, 본 발명에 따르면 충치원인균인 스트렙토코커스 뮤탄스에 대하여 특이적인 IgY, 항혈청 및 어성초 또는 삼백초 추출물을 이용하여 충치원인균의 치아부착을 억제시킬 수 있다. 더욱이 어성초와 삼백초 추출물이 병원성 세균에 대한 항균활성, 그리고 섭취 시 생체 내 면역활성 증가에 효과가 있음을 확인함으로써, 충치원인균의 치아부착 억제활성을 갖는 제품 생산과 병원성 세균의 항균 제품 및 면역활성 증가를 위한 제품생산에 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0109] 도 1a 내지 1d는 삼백초 및 어성초 추출물의 *Salmonella typhimurium* 균에 대한 살균효과를 나타낸다.

[0110] 도 2는 삼백초 및 어성초 추출물의 세포 안전성 평가 결과이다.

[0111] 도 3a와 3b는 삼백초 및 어성초 추출물이 탐식세포의 형태적 변화에 미치는 영향을 나타낸 것이다.

[0112] 도 4a와 4b는 삼백초 및 어성초 추출물이 탐식세포의 균 탐식능력에 미치는 영향을 나타낸 것이다.

[0113] 도 5a 내지 5e는 삼백초 및 어성초 추출물이 탐식세포 내 탐식된 균의 사멸능력에 미치는 영향을 나타낸 것이다.

[0114] 도 6a와 6b는 삼백초 및 어성초 추출물이 면역활성에 미치는 영향을 나타낸 것이다.

[0115] 도 7은 어성초의 수용성 추출물을 마우스에 투여한 후 체중변화를 나타낸 것이다.

[0116] 도 8은 어성초의 수용성 추출물을 마우스에 투여한 후 병원성 세균감염에 대한 치료효과를 나타낸 것이다.

[0117] 도 9a 내지 9c는 난황유래 IgY, *S. mutans* 항혈청 및 어성초 수용성 추출물을 이용한 *S. mutans* 균의 표면부착 억제효과를 나타낸 것이다.

[0118] 도 10은 난황유래 IgY, *S. mutans* 항혈청 및 어성초 수용성 추출물을 이용한 *S. mutans* 균의 커버슬립 표면부착 억제효과를 주사전자현미경으로 관찰한 것이다.

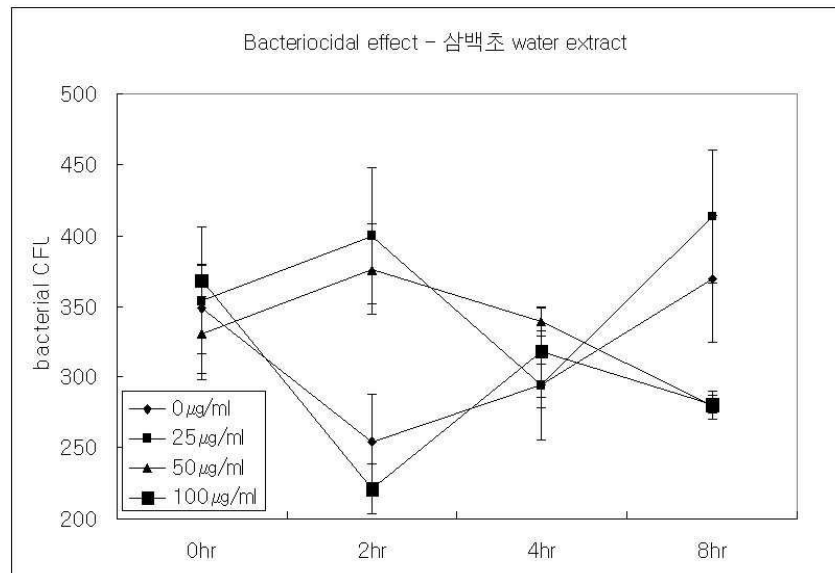
[0119] 도 11a 내지 11c는 난황유래 IgY, *S. mutans* 항혈청 및 어성초 수용성 추출물을 이용한 *S. mutans* 균의 인공치

아 표면부착 억제효과를 나타낸 것이다.

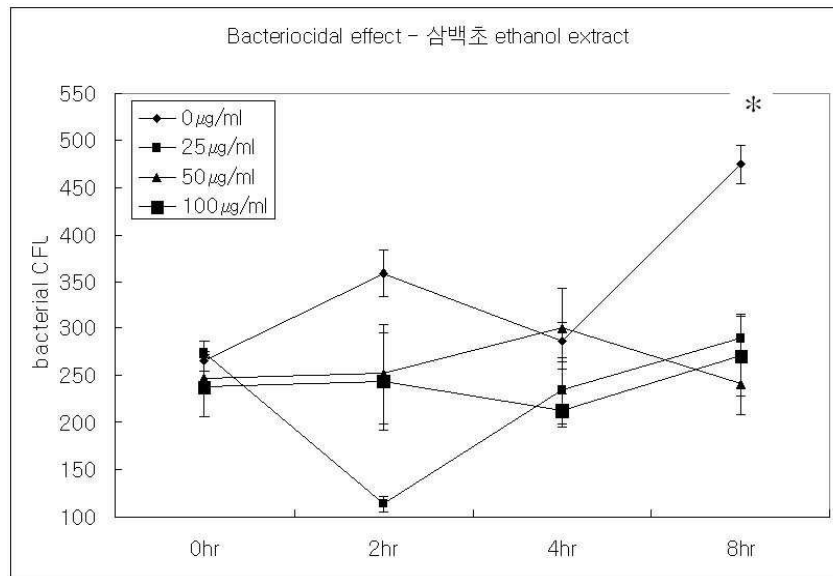
- [0120] 도 12는 난황유래 IgY, *S. mutans* 항혈청 및 어성초 수용성 추출물을 이용한 *S. mutans* 균의 인공치아 표면부착 억제효과를 주사전자현미경으로 관찰한 것이다.
- [0121] 도 13a 내지 13c는 난황유래 IgY, *S. mutans* 항혈청 및 어성초 수용성 추출물을 이용한 *S. mutans* 균의 돼지치아 표면부착 억제효과를 나타낸 것이다.
- [0122] 도 14는 난황유래 IgY, *S. mutans* 항혈청 및 어성초 수용성 추출물을 이용한 *S. mutans* 균의 돼지치아 표면부착 억제효과를 주사전자현미경으로 관찰한 것이다.
- [0123] 도 15는 어성초와 IgY 혼합물, 그리고 삼백초와 IgY 혼합물의 돼지치아 표면부착 억제효과를 나타낸 것이다. 여기서, 대조군은 일반 IgY, IgY는 *S. mutans*에 대한 특이 IgY이다.
- [0124] 도 16은 계란으로부터 IgY를 정제하는 방법의 모식도이다.

도면

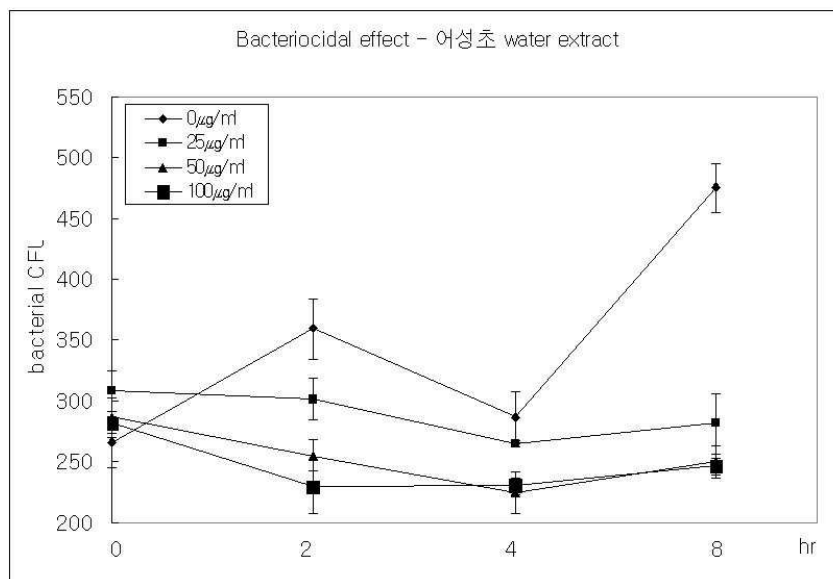
도면1a



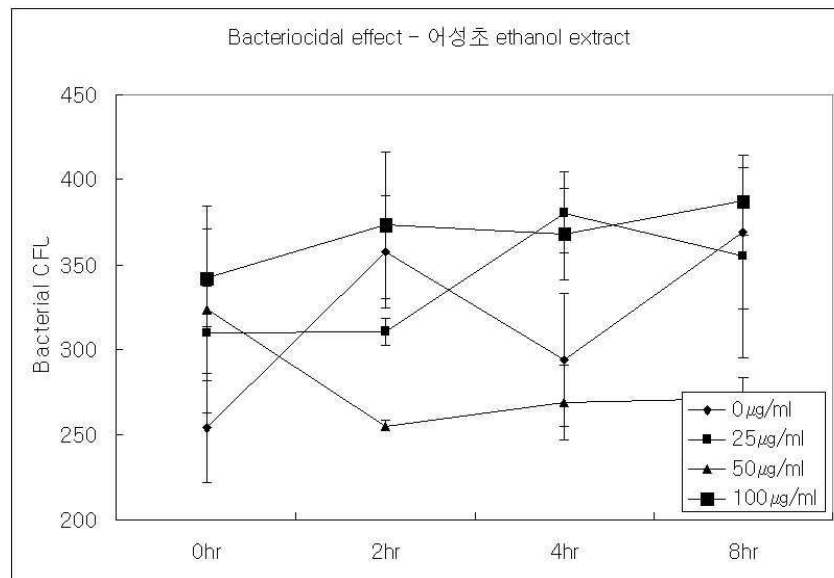
도면1b



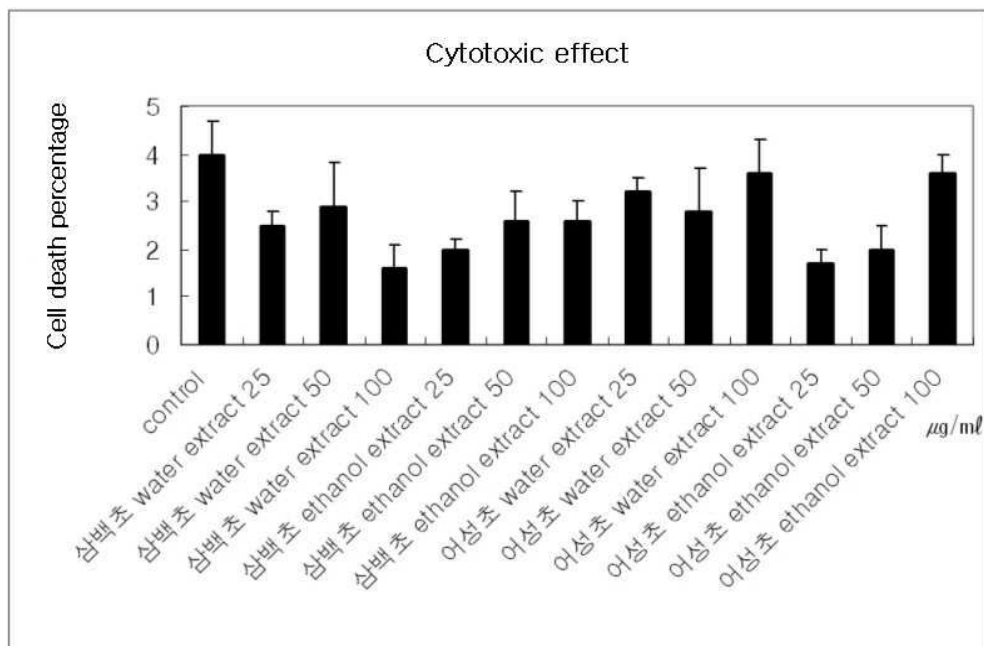
도면1c



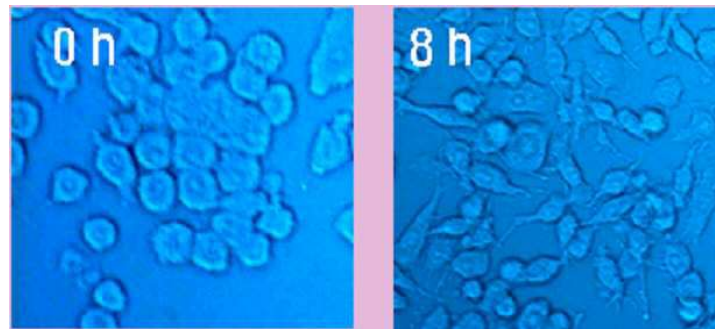
도면1d



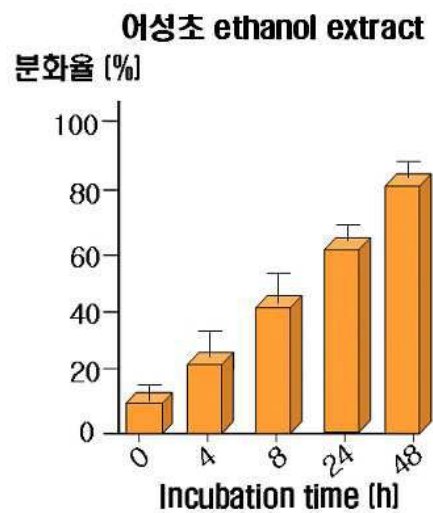
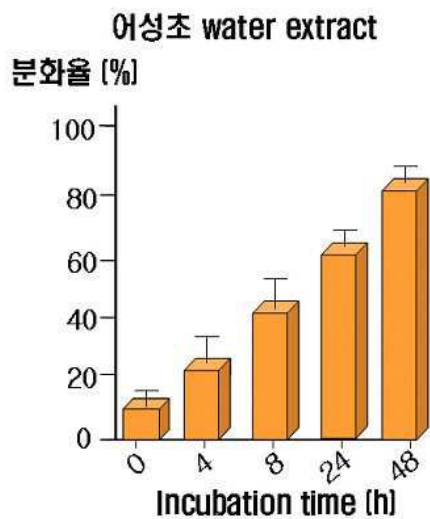
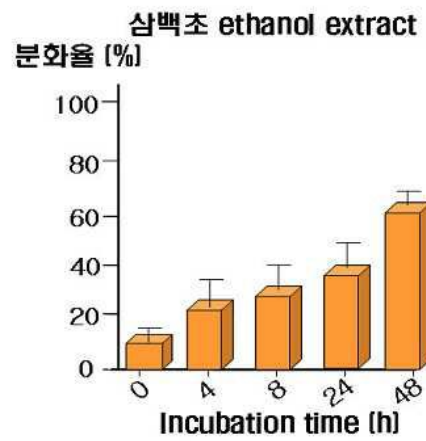
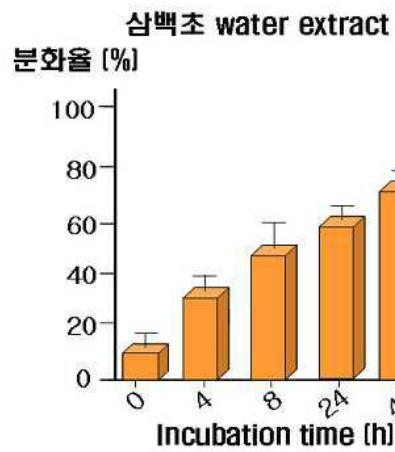
도면2



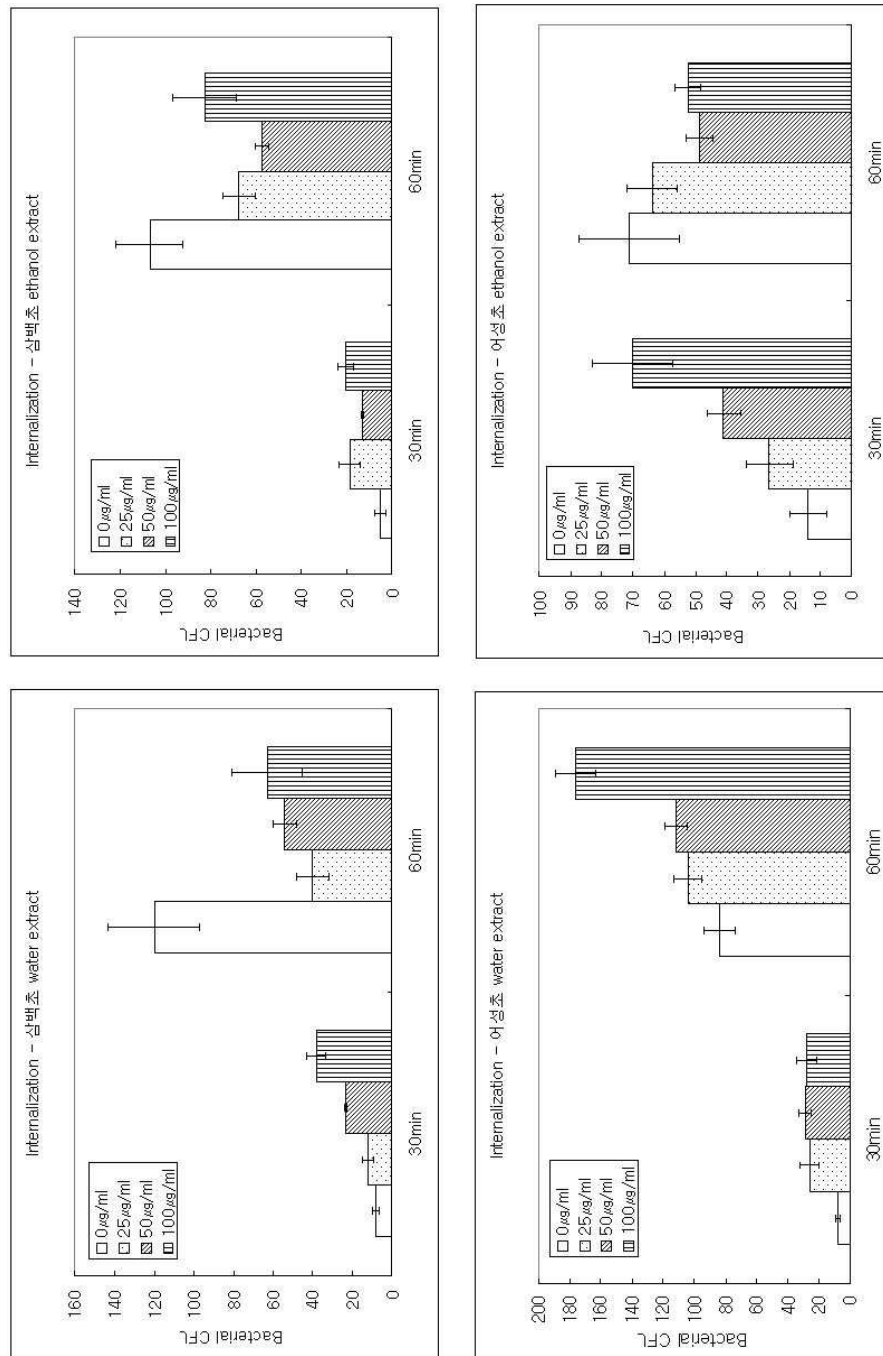
도면3a



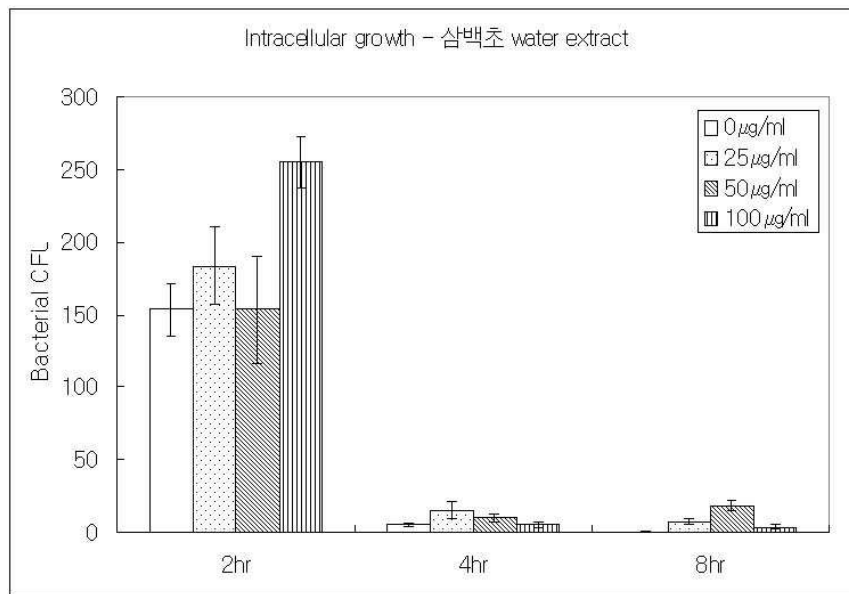
도면3b



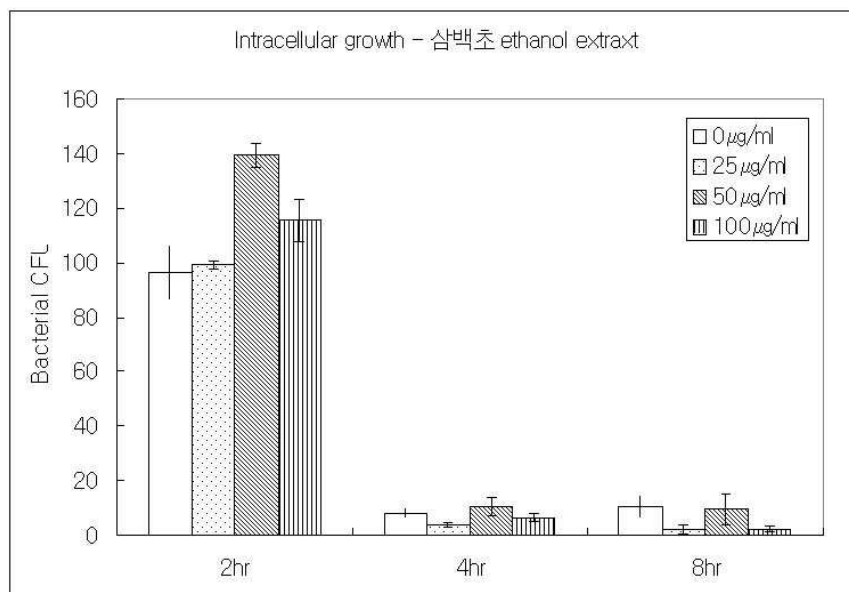
도면4



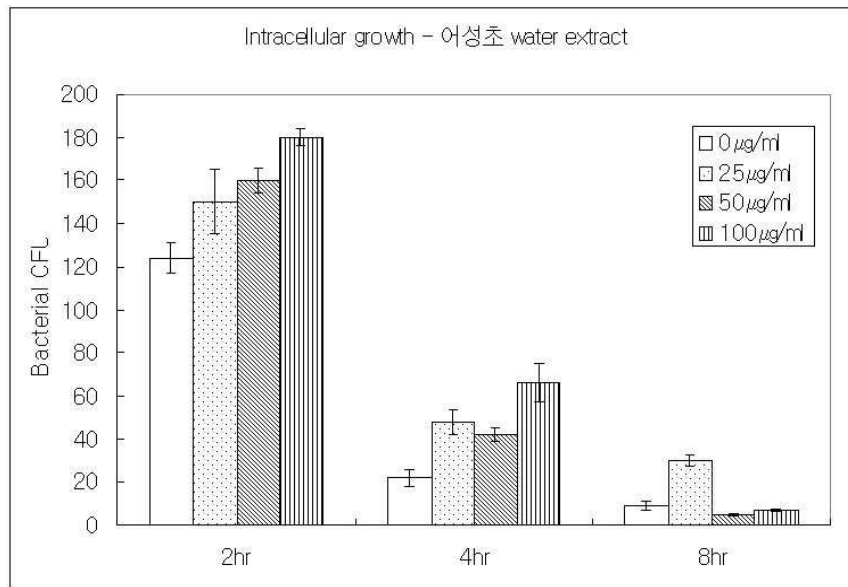
도면5a



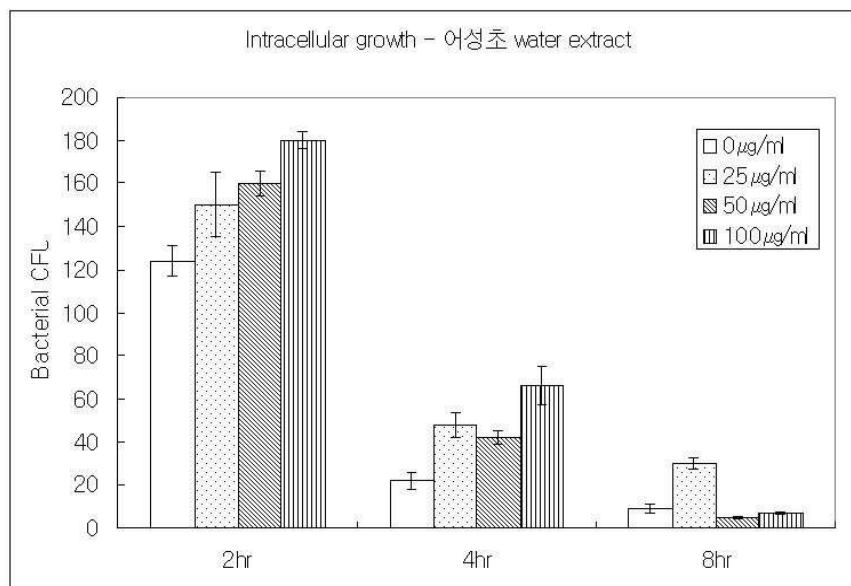
도면5b



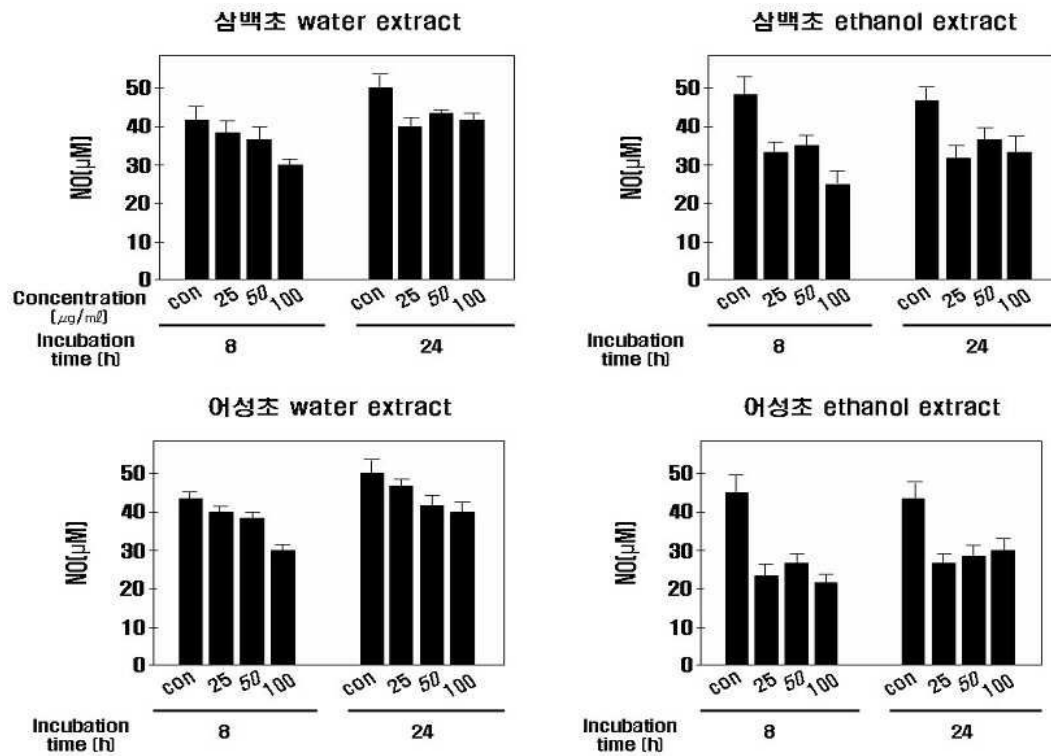
도면5c



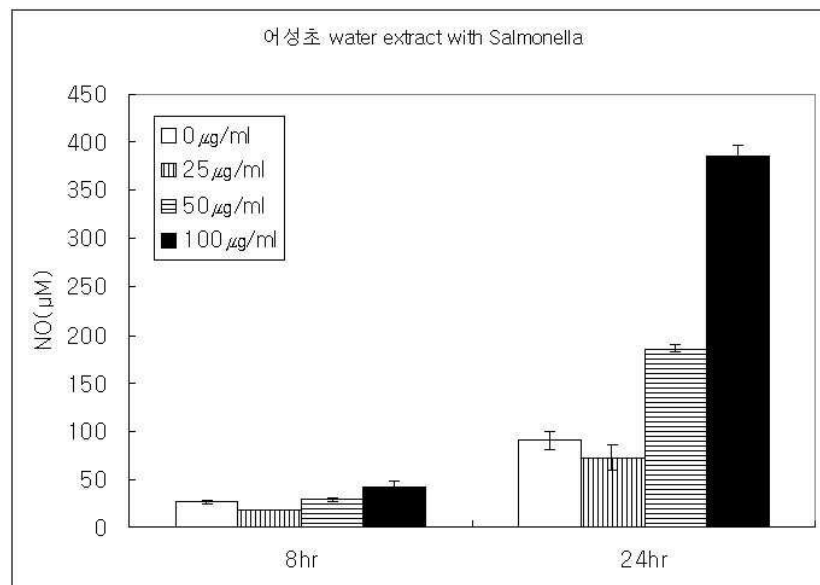
도면5d



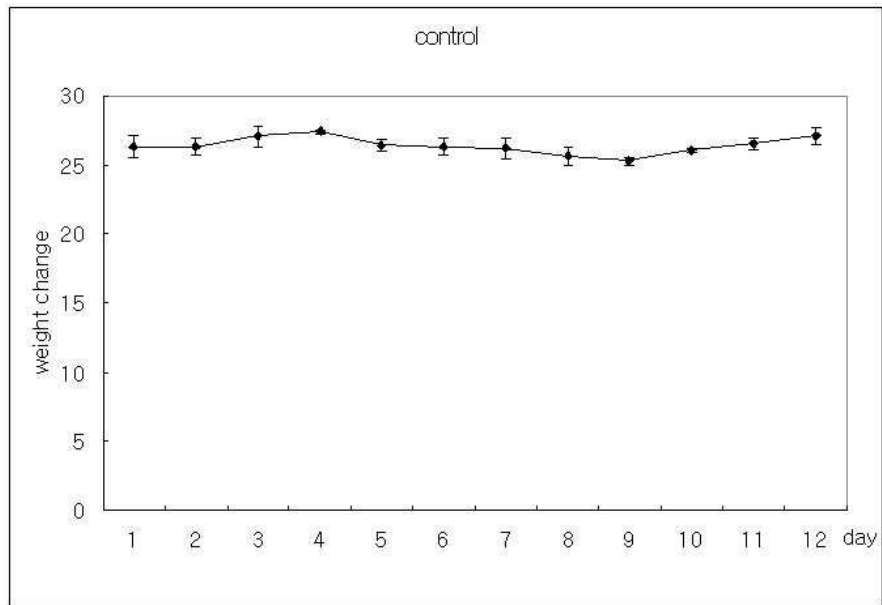
도면6a



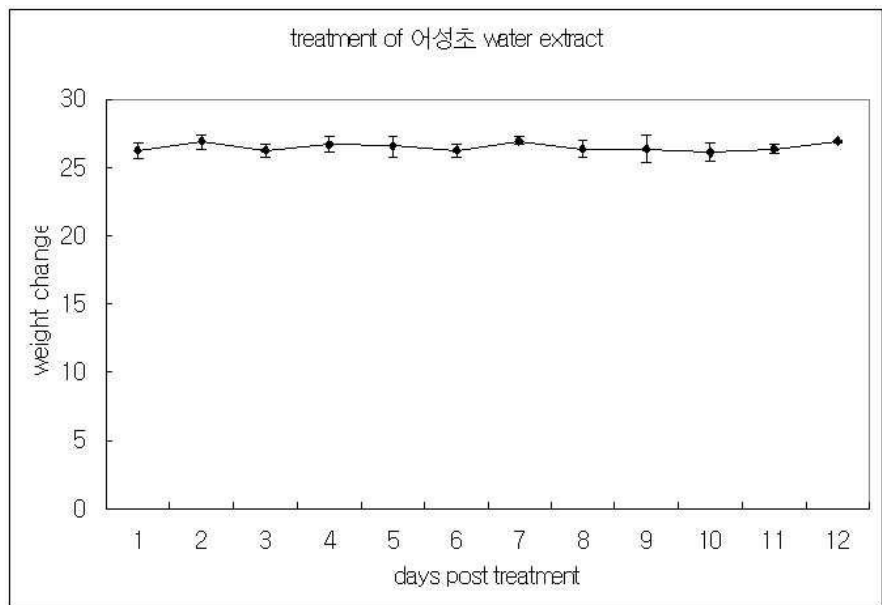
도면6b



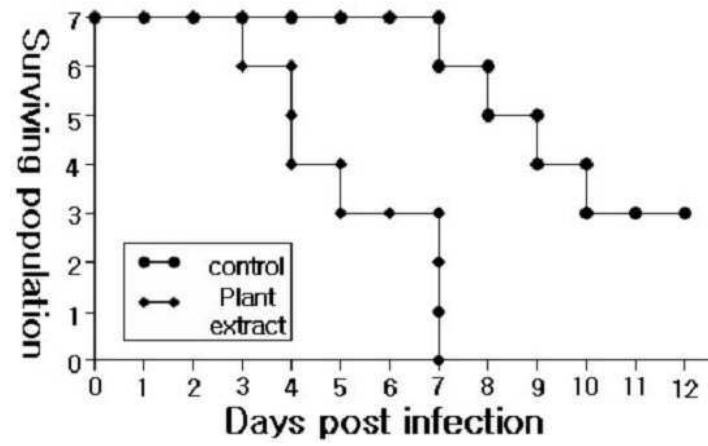
도면7a



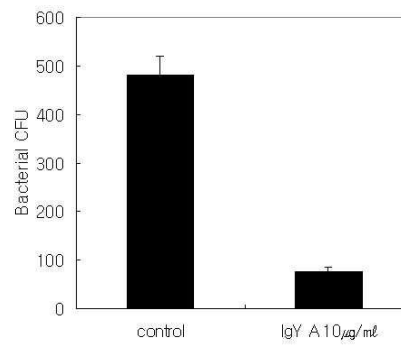
도면7b



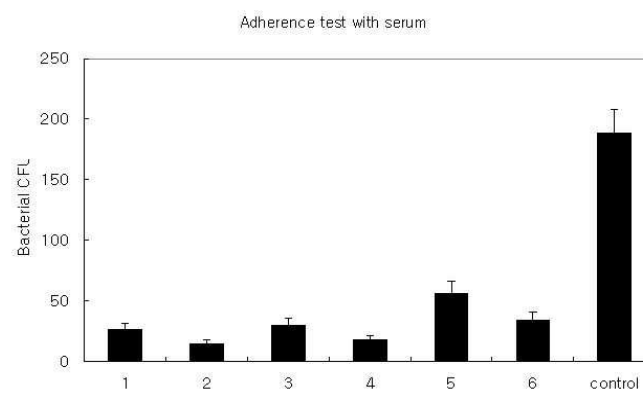
도면8



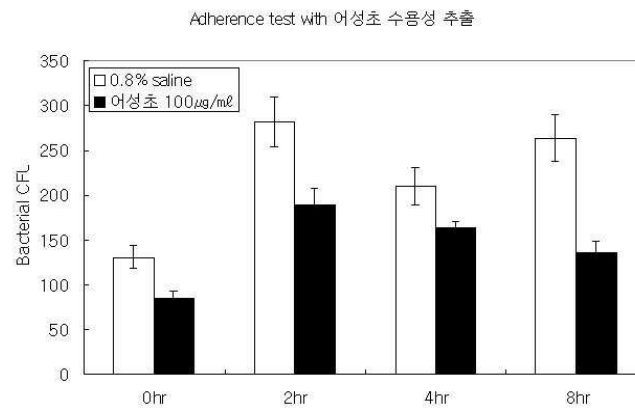
도면9a



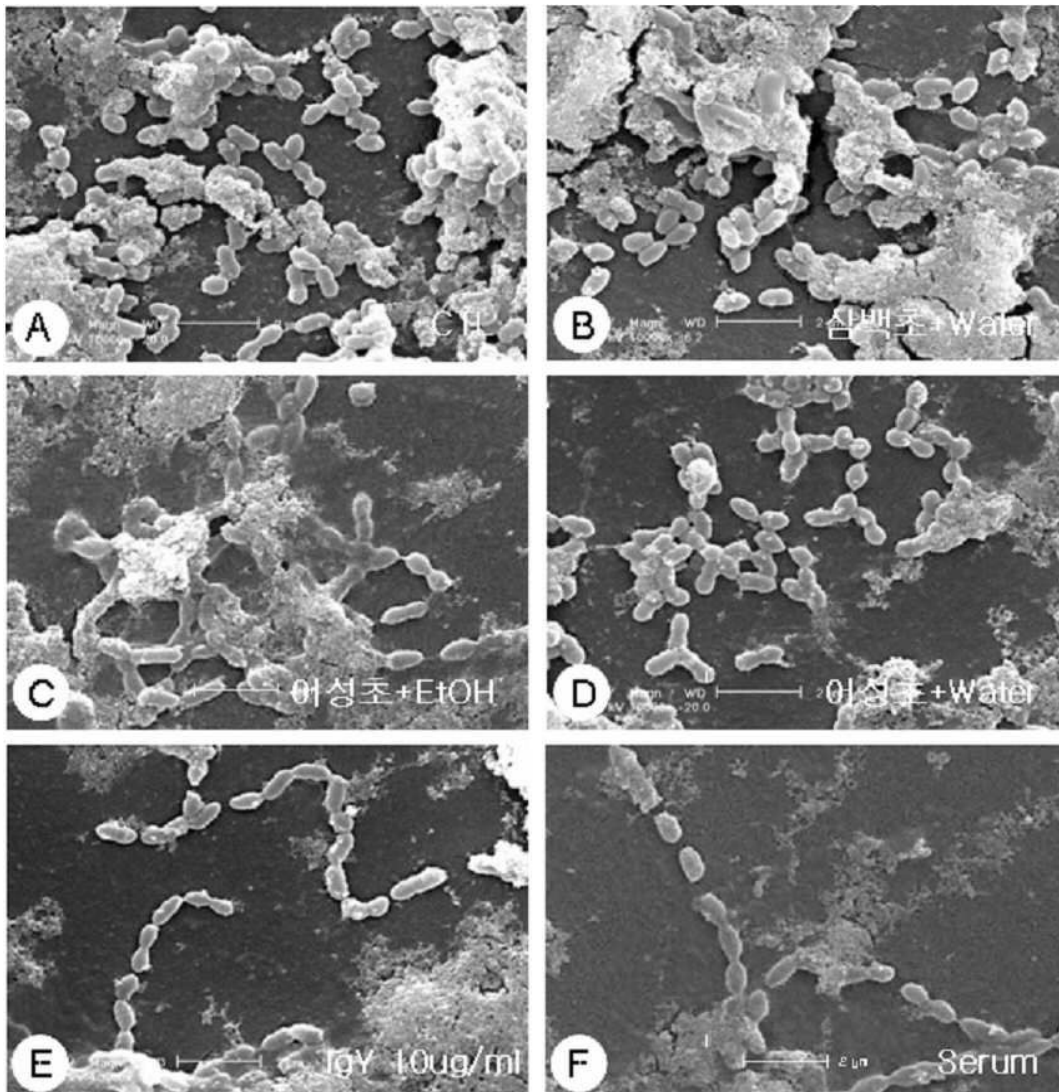
도면9b



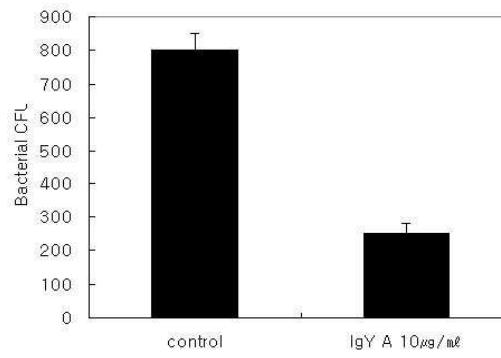
도면9c



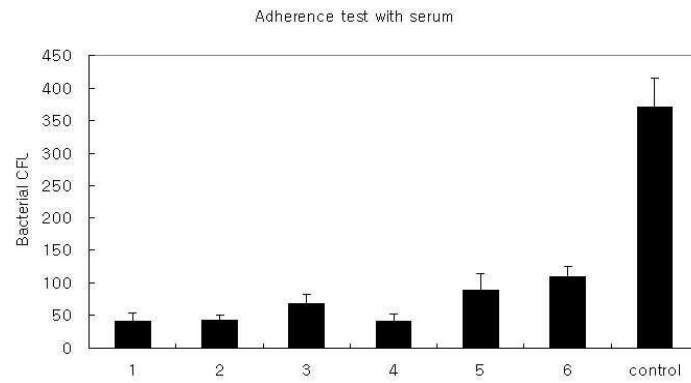
도면10



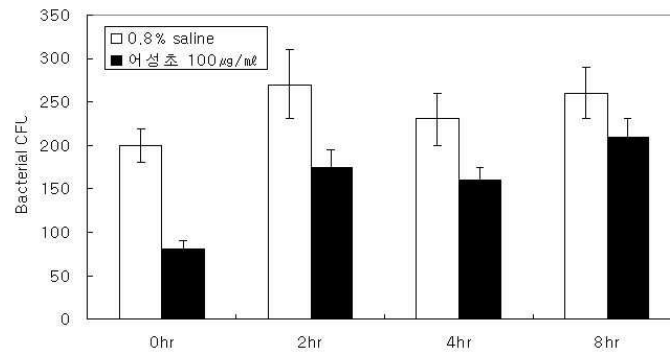
도면11a



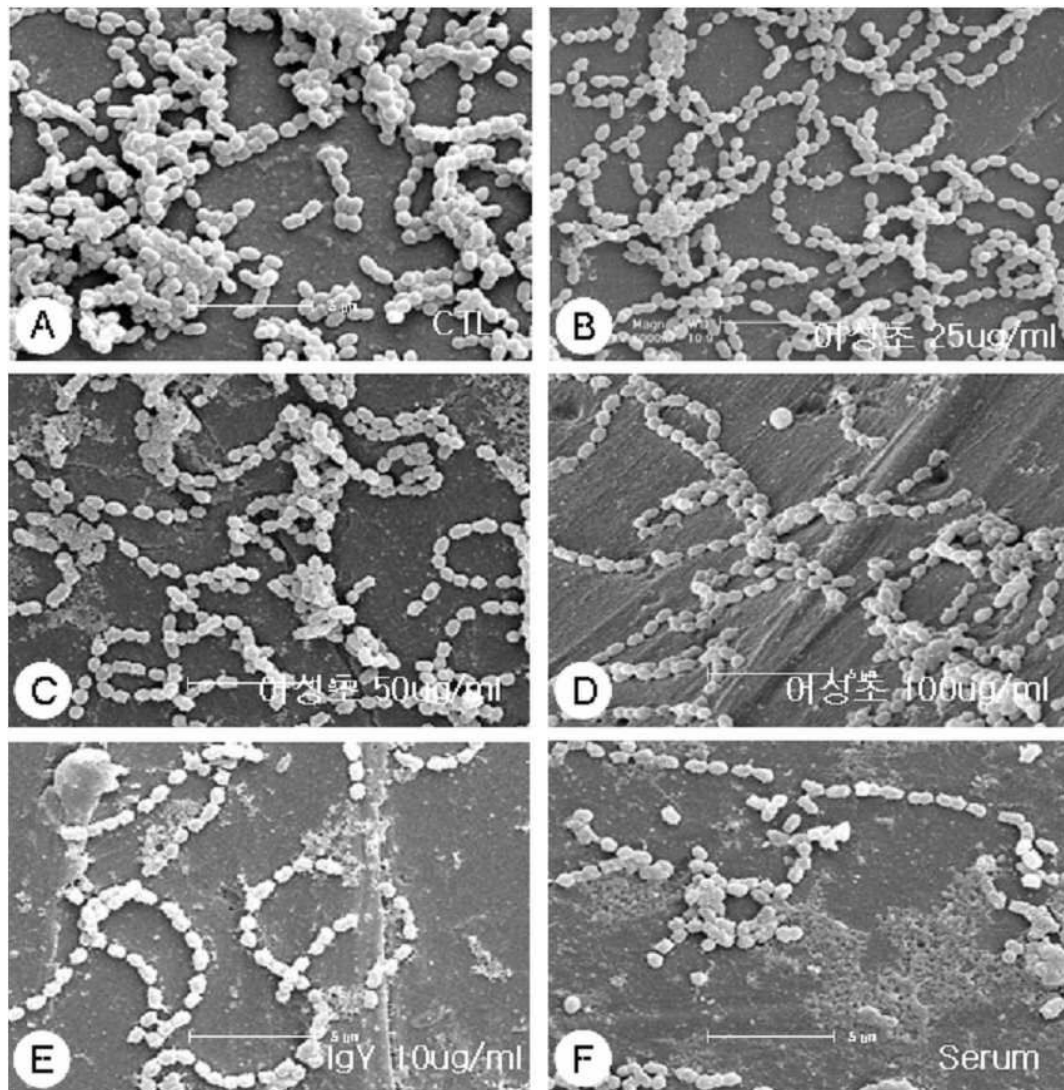
도면11b



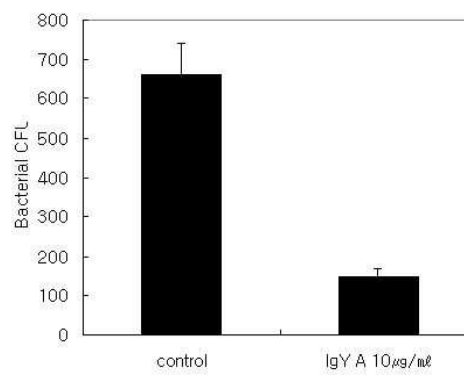
도면11c



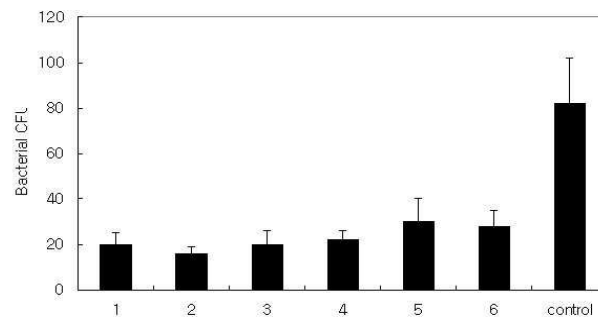
도면12



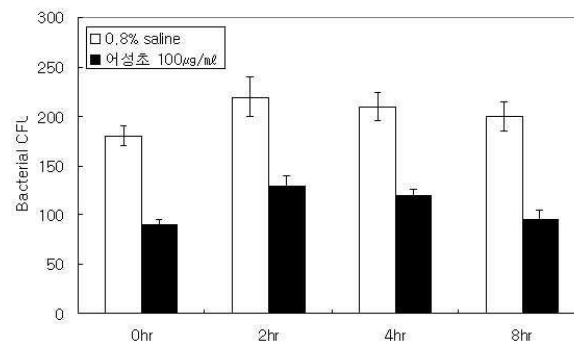
도면13a



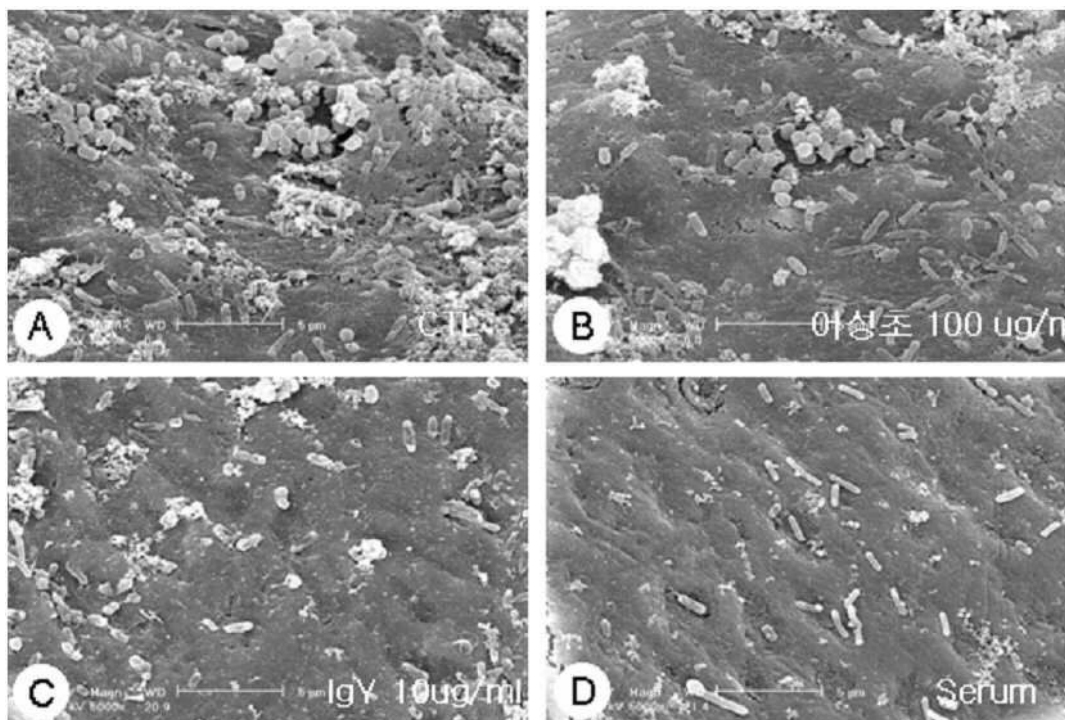
도면13b



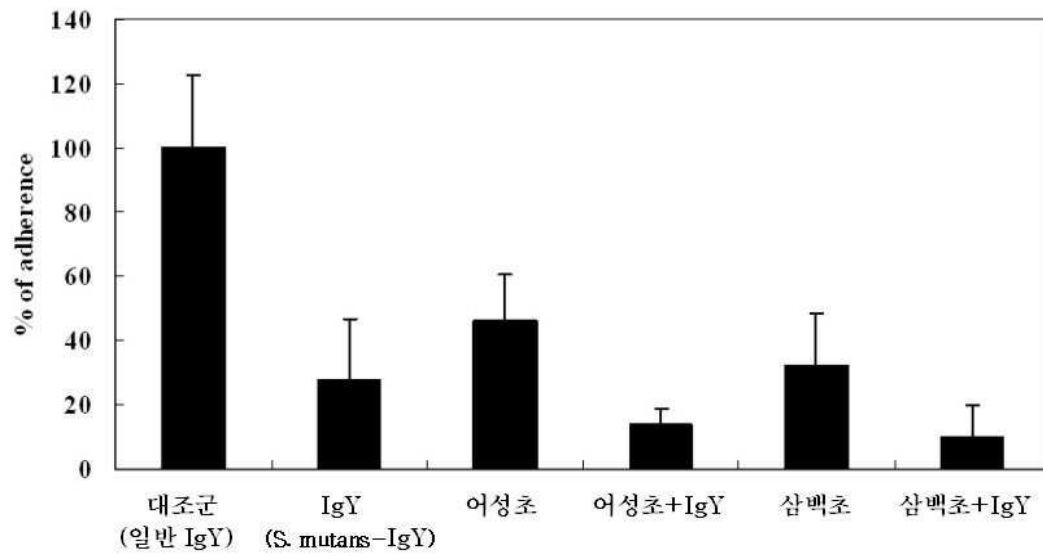
도면13c



도면14



도면15



도면16

