



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl.	(45) 공고일자	2007년06월28일
A61K 8/97 (2006.01)	(11) 등록번호	10-0733503
A61Q 19/00 (2006.01)	(24) 등록일자	2007년06월22일

(21) 출원번호	10-2006-0093936	(65) 공개번호
(22) 출원일자	2006년09월27일	(43) 공개일자
심사청구일자	2006년09월27일	

(73) 특허권자 신라대학교 산학협력단
부산 사상구 패법동 산 1-1 신라대학교내

(72) 발명자 최재석
부산 해운대구 반여1동 삼해대림아파트 109-2003

배희정
부산 부산진구 개금3동 우드빌아파트 111-303

최인순
부산 해운대구 좌동 건영1차아파트 307-902

(74) 대리인 김일성

(56) 선행기술조사문헌	
KR 102003006991 A	KR 1020020069041 A
US 6399105 B1	Thromb Res.1999, 96(1), 37-49.
KR 1020000065613 A	KR 0637324 B1

심사관 : 박영관

전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 검등감태 추출물을 이용한 여드름 피부용 화장료 조성물

(57) 요약

본 발명은 검등감태 추출물을 이용한 여드름 피부용 화장료 조성물에 관한 것으로, 이를 더욱 상세하게 설명하면, 여드름의 주 원인균인 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)의 성장 저해능을 가지며, 장기간 사용해도 부작용이 없는 천연물질인 해조류 중 갈조류에 속하는 다시마과(*Laminariales*), 검등감태(*Ecklonia kurome*)의 추출물이 여드름의 주 원인균인 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)에 대해 특이적인 항균작용을 나타내는 것으로, 이 검등감태 추출물의 여드름 피부용 화장료 조성물을 이용하여 여드름을 예방 및 치료하는 수용성 스킨제, 점도와 경도 조절제, 자외선 흡수제, 안료, 보습, 세정제, 방부제 또는 전기물질의 혼합물 등을 제조하는 것을 특징으로 하여, 여드름에 유효한 화장료 조성물을 제공한다.

대표도

도 1

특허청구의 범위

청구항 1.

여드름 억제 조성물에 있어서,

검둥감태(*Ecklonia kurome*) 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 검둥감태 추출물을 이용한 여드름 피부용 화장품 조성물

청구항 2.

제 1항에 있어서, 검둥감태 추출물은 메탄올 추출물인 것을 특징으로 하는 검둥감태 추출물을 이용한 여드름 피부용 화장품 조성물

청구항 3.

제 1항에 있어서, 검둥감태 추출물은 테르페노이드 화합물과 4차 알칼로이드 화합물임을 특징으로 하는 검둥감태 추출물을 이용한 여드름 피부용 화장품 조성물

청구항 4.

제 2항 또는 제3항에 있어서, 여드름 피부용 화장품 조성물은 수용성 스킨제, 점도와 경도 조절제, 자외선 흡수제, 안료, 보습, 세정제, 방부제 또는 전기물질의 혼합물인 것을 특징으로 하는 검둥감태 추출물을 이용한 여드름 피부용 화장품 조성물

청구항 5.

제 2항 또는 제3항에 있어서, 검둥감태 추출물이 유효성분으로 조성물 전체 중량에 대하여 0.001 내지 20.0 중량% 함유하는 것을 특징으로 하는 검둥감태 추출물을 이용한 여드름 피부용 화장품 조성물

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 검둥감태 추출물을 이용한 여드름 피부용 화장품 조성물에 관한 것으로, 이를 더욱 상세하게 설명하면, 여드름의 주 원인균인 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)의 성장 저해능을 가지며, 장기간 사용해도 부작용이 없는 천연물질인 해조류 중 갈조류에 속하는 다시마과(Laminariales) 검둥감태(*Ecklonia kurome*)의 추출물이 여드름의 주 원인균인 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)에 대해 특이적인 항균작용을 나타내는 것으

로, 이 검등감태 추출물의 여드름 피부용 화장료 조성물을 이용하여 여드름을 예방 및 치료하는 수용성 스킨제, 점도와 경도 조절제, 자외선 흡수제, 안료, 보습, 세정제, 방부제 또는 전기물질의 혼합물 등을 제조하는 것을 특징으로 하여, 여드름에 유효한 화장료 조성물을 제공한다.

일반적으로 여드름은 피부의 모낭피지선에서 일어나는 염증성 질환으로 남성호르몬인 안드로겐, 피부각질 생성, 피지와 세균의 상호작용에 의하여 발생하며 특히 혐기성 상재균인 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)가 주 원인균으로 알려져 있다.

따라서, 상기의 여드름을 치료하기 위해 피지 생성을 억제하는 항안드로겐제, 항염제로 사용하는 비스트로이드 소염제, 및 항균효과가 있는 레조시놀, 유헤 및 벤조일 퍼옥사이드(benzoyl peroxide)와 항생효과가 있는 테트라사이클린, 에리스로마이신, 매크로싸이클린 등에 의한 병산간균 등의 활성억제방법 등이 있다. 또한, 최근에는 레티노익산(retinoic acid) 등의 비타민 A 유도체에 의한 치료방법도 널리 사용되고 있다.

그러나, 상기의 방법들은 여드름 치료와 예방에 있어서 어느 정도 효과를 가지고 있으나, 일반적으로 여드름의 치료는 여드름 간균 또는 화농성 세균에 대한 살균이 문제인데 여드름 간균은 피지의 성분을 유리 지방산으로 분해시키는 지방분해 효소를 만들어 내는 세균이기 때문에 피부안전성 측면에 있어서 부작용을 가지는 문제점이 있다. 즉, 호르몬의 사용은 포피의 성장억제 등의 역효과를 유발할 수 있으며, 레티노익산과 벤조일 퍼옥사이드 등은 피부 자극성과 접촉성 피부염의 우려가 있으며, 국소적 또는 전신적으로 테트라사이클린 계열의 항생제가 사용되고 있으나 테트라사이클린과 같은 항생물질은 내균성과 광과민 작용의 문제점뿐만 아니라, 항생제에 대한 내성이나 안정성에 대한 문제가 대두되어지고 있다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

따라서 본 발명의 목적은 상기와 같은 종래의 여러 가지 문제점을 개선시키기 위하여 안출한 것으로, 여드름의 주 원인균인 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)에 대해 특이적인 항균작용을 갖고 있으면서도 장기간 사용해도 부작용이 없는 천연물질인 해조류 중 갈조류에 속하는 다시마과(Laminariales) 검등감태 추출물이 여드름의 주 원인균인 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)에 대해 특이적인 항균작용을 나타내는 것으로, 전통적인 한방 처방에서 사용되어져 온 해조류인 갈조류에 속하는, 이 검등감태 추출물의 여드름 피부용 화장료 조성물을 이용하여 수용성 스킨제, 점도와 경도 조절제, 자외선 흡수제, 안료, 보습, 방부제 또는 전기물질의 혼합물 등을 제조하는 것을 특징으로 하여, 여드름에 유효한 화장료 조성물을 제공하는데 그 목적이 있다.

발명의 구성

본 발명은 검등감태 추출물을 이용한 여드름 피부용 화장료 조성물에 관한 것으로, 이를 더욱 상세하게 설명하면, 여드름의 주 원인균인 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)의 성장 저해능을 가지며, 장기간 사용해도 부작용이 없는 천연물질인 해조류 중 갈조류에 속하는 다시마과(Laminariales) 검등감태(*Ecklonia kurome*)의 추출물이 여드름의 주 원인균인 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)에 대해 특이적인 항균작용을 나타내는 것으로, 이 검등감태 추출물의 여드름 피부용 화장료 조성물을 이용하여 여드름을 예방 및 치료하는 수용성 스킨제, 점도와 경도 조절제, 자외선 흡수제, 안료, 보습, 세정제, 방부제 또는 전기물질의 혼합물 등을 제조하는 것을 특징으로 하여, 여드름에 유효한 화장료 조성물을 제공한다.

검등감태(흑곤포)는 학명이 *Ecklonia kurome* Okamura로 갈조식물문(Phaeophyta), 갈조강(Phaeophyceae), 다시마목(Laminariales), 다시마과(Laminariales)에 속하는 다년생 대형 갈조류로 우리나라와 일본에 분포하며, 나뭇가지 모양의 가근을 부착기로 가지며 지름이 5-15cm이다. 자루부분은 원기둥 모양이고 길이가 8-100cm, 지름이 10-15mm 이며, 끈끈한 액체를 분비하는 강도(腔道)는 불규칙한 고리모양이고 피층(皮層)속에 흩어져 있다. 엽상부는 편평하고 가죽처럼 단단하고 질기며 약간 주름져 있고 암갈색이며 두께가 2-3mm 이고 1-2회 깃꼴로 깊게 갈라졌으며 양측의 열편은 긴 혀모양이고 밑부분이 췌기꼴이며 잎의 가장자리에 보통 굵은 톱니가 있다. 포자낭은 엽면에서 형성되고 9-11월에 포자가 생성된다. 우리나라에서는 동해안, 남해안 그리고 제주도 해안의 저조선 부근 암반지대에 서식한다[Kang, J. W. (1966) On the geographical distribution of marine algae in Korea. Bull. Pusan Fish. Coll. &: 1-125; Lee, I. K. and Y. H. Kim (1999) Biodiversity and distribution of marine benthic organisms and use of algal resources in the coastal zone of Korea and Japan. 1. Benthic marine algae on the East coast of Korea. Algae. 14: 91-110.]

중의약에서 검등감태는 흑곤포(黑昆布)로 불리며, 갑상선 종양, 연주창, 비뇨기계 질환, 수종, 만성위장 질환, 치질, 부스럼의 치료제로 사용될 뿐만 산모의 부기를 내리고 원기를 회복시키는 약제로 활용되고 있다[Tseng, C. K. and C. F. Chang. (1961) On the botanical names of economic marine algae in old chinese literature. Acta Bot. Sin. 9: 316-336.; Zeng, C. and Zhang, J. (1984) Chinese seaweeds in herbal medicine. Hydrobiologia. 116/117: 152-154.]

이처럼 다양한 생리활성을 가지고 있는 것으로 알려진 검등감태가 프로피오니박테리움 아크네스에 대해 특이적인 항균작용이 있는 것으로 확인되어, 검등감태 추출물을 이용하여 장기간 사용하더라도 부작용이 없는 여드름 피부용 화장료 조성물을 개발하고자 하였다.

본 발명의 구성을 실시예 및 실험예를 통해 설명하면 다음과 같다.

[실시예 1] 재료의 채집 및 준비

1. 재료의 채집 및 준비

시험에 사용한 검등감태는 2006년 5월 경북 포항시 북구 송라면 조사리 앞바다 2km 지점(수심 7m)에서 채집하였으며, 채집한 검등감태의 염상체는 부착생물을 제거한 다음, 깨끗한 담수로 씻어 실온에서 완전히 건조시킨 후, 분쇄하여 사용하였다.

2. 검등감태 부위별 항균 활성 시험

채집해온 검등감태를 부위별로 즉, A(우상엽), B(중상엽), C(자루), 그리고 D(가근)으로 분리하여 완전히 건조한 다음, 분쇄하여 하기의 방법으로 메탄올 및 수용성 분획을 제조하여, 각 부위별 항균활성을 시험하였다(그림 2참조).

[실시예 2] 검등감태의 메탄올 및 수용성 분획 제조

도 2는 검등감태의 메탄올 및 수용성 분획의 분리과정의 흐름도를 나타내는 것으로, 이를 더욱 상세하게 설명하면, 검등감태의 건조분쇄물 100g에 500mL의 메탄올을 가하여 하루 동안 상온에서 추출한 후, 감압증발기를 사용하여 농축한 다음, 0.22 μ m 필터로 제균 처리를 한 후, 추출물의 농도를 40mg/mL로 조정하여 메탄올 분획을 제조하여 다음 실험 시까지 -20℃에 보관하였다(메탄올 분획).

메탄올로 추출하고 남은 잔류물은 메탄올과 동량의 증류수를 가하여 1일 동안 추출한 다음, 0.22 μ m 필터로 제균한 후, 추출물의 농도를 40mg/mL로 조정하여 수용성 분획을 제조하여 다음 실험 시까지 -20℃에 보관하였다(수용성 분획).

이때, 건조 검등감태 건조분쇄물 100g으로부터 얻어진 메탄올추출물과 물추출물(수용성 분획)의 총량은 각각 11.25g과 11.80g이었다.

[실시예 3] 검등감태의 항균 물질의 분리 및 분석

상기의 준비되어진 검등감태의 건조 분쇄물을 Harborne(1998)의 방법에 따라, 도 1과 같은 과정을 거쳐 검등감태의 활성 성분을 분리하였다[Harborne, J. B.(1998). Phytochemical Methods. 3rd ed. Chapman & Hall, London, pp. 302].

먼저, 검등감태의 건조분쇄물(1) 20g에 100mL의 메탄올-물(4:1) 혼합용매를 가하고 1일 동안 추출한 다음 여과하였으며, 잔류된 고상의 잔류물(2)을 건조한 후, 100mL의 에틸아세테이트를 사용하여 추출하고, 이 에틸아세테이트로 추출한 여액(5)의 추출물을 “분획 II”로 하였다.

또 남은 잔류물(4)은 100mL의 100℃ 물로 30분간 추출한 후, 이 물로 추출한 추출물을 “분획 I”으로 하였다.

상기 재료의 건조분쇄물(1) 20g에 100mL의 메탄올-물(4:1)의 혼합용매로 추출한 추출액(3)을 약 1/10로 농축(40℃ 이하)시킨 후, 2M 황산을 가하여 pH 3으로 조절하고 클로로포름(100mL)로 3회 추출하여 얻어진 유기층(6)의 분획물을 “분획 III”으로 하였다. 남아 있는 수용액층(7)은 암모니아용액으로 pH 10 이 되게 조정하고 클로로포름-메탄올(3:1)의 혼합용매(5mL)로 2회 그리고 클로로포름(100mL)으로 1회 추출하여 합친 유기층(8)의 추출물을 “분획 IV”로 하였다. 잔류 수용액(9)은 완전히 증발시킨 후, 메탄올로 추출하고, 이 메탄올로 추출된 추출물을 “분획 V”로 하였다.

이때 얻어진 각 분획 I, II, III, IV 그리고 V의 총량은 각각 8.25g, 0.19g, 2.18g, 0.58g 그리고 7.94g이었다. 이들 추출물은 0.22μm 필터로 제균한 후, 추출물의 농도를 40mg/mL로 조정하여 다음 실험 시까지 -20℃에 보관하였다. 이들 각 분획을 사용하여 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 항균활성을 측정하였다.

[실시예 4] 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 항균활성의 시험

상기의 방법에 의해 분리되어진 각 분획(메탄올 분획, 수용성분획, 분획 I, II, III, IV, V)에 대하여, 평판배지 확산법(Agar diffusion method)을 이용하여 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)에 대한 항균활성을 측정하였다.

본 시험에 사용된 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes* 3314)균주는 한국생명공학연구원 생물자원센터에서 분양받았으며, 1%의 포도당이 함유된 BHI액체배지(Brain-Heart Infusion broth: 3.7%)를 사용하여 배양하였다. 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 항균활성은 종이 디스크(paper disk)법을 사용하여 측정하였으며, 추출물이 함유된 종이 디스크(paper disk)는 다음과 같은 방법으로 준비하였다.

각각의 추출물이 함유된 종이 디스크(paper disk)는 5mg의 검동감태 분획별 추출물을 각각 30μL 용매(“메탄올 분획”은 메탄올, “수용성분획”은 증류수, “분획 I”은 증류수, “분획 II”는 에틸아세테이트, “분획 III”은 클로로포름, “분획 IV”는 클로로포름-메탄올 (3:1), “분획 V”는 메탄올)로 녹인 후, 직경 8mm, 두께 1.5mm의 종이 디스크(paper disk, Advantec Filter Paper, Toyo Roshi Kaisha Ltd, Japan)에 흡수시킨 후, 용매를 완전히 증발시킨 다음, 균주가 도말된 BHI 평판배지에 올려 항균활성을 시험하였다.

배양조건은 혐기성 조건으로 37℃에서 48시간 배양한 다음, 종이 디스크(paper disk) 주변에 형성된 원형 발육 저지환의 크기(mm 단위)를 측정하였으며, 모든 시험은 독립적으로 3회 반복하여 평균값을 구했다.

[실시예 5] 액체배지감수성실험(Broth Microdilution Susceptibility Tests)을 이용한 검동감태 메탄올 추출물과 항균활성을 가진 분획의 최소저지농도(MIC)측정 실험

상기의 실시예 2에서 수득한 검동감태 메탄올 추출물과 실시예 3에서 수득한 활성분획에 대한 항균력을 확인하기 위해 액체배지감수성실험(Broth Microdilution Susceptibility Tests)법을 이용하여 시료의 농도를 2배-연속희석(two-fold serial dilution)하여, 메탄올 추출물과 분획 III와 V 추출물의 각 시료의 최소저지농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)를 측정하였다.

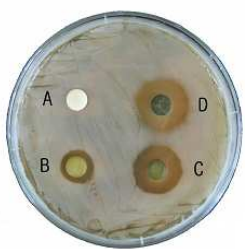
각 시료는 무균 여과하여, 최고 농도 5mg/mL에서 최저 9.76μg/mL에 이르도록 10% DMSO (dimethyl sulfoxide, Sigma, USA) 생리식염수를 용매로 사용하여 단계적으로 희석하였으며, 시험균주인 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)를 활성화시키기 위해 BHI 액체배지에서 24시간 동안 전배양하고, 맥파란(Mcfarland) 0.5로 탁도를 조절한 다음, well 안의 최종농도가 약 1×10^6 CFU/mL가 되도록 broth를 희석하여 접종 균액을 준비하였다. 최종 농도가 약 1×10^6 CFU/mL가 되도록 조절한 BHI broth를 96-well, U-form micro plate(Falcon, USA)의 각 well에 100μL를 넣고, 2배 농도의 시료 희석액을 차례대로 각 well에 100μL씩 넣었다. Well의 한 줄은 blank로서 균액 대신 용매를 주입하였으며, 대조구로서 시료희석액 대신 용매희석액을 100μL씩 넣었다. 37℃ 혐기성 배양기(anaerobic incubator)에서 2일간 배양한 후, 균이 성장 정도를 육안 및 도립현미경(Inverted microscope TMS, Nikon)으로 관찰하여 MIC를 결정하였다. 이외의 모든 실험조건은 NCCLS Guide Line M11-A6(2004)를 따랐다[석귀덕, 이성하, 김경신 (2004)생약학회지 35(4): 375-379; Chomnawang, M. T., S. Surassmo, V. S. Nukoolkarn, W. Gritsanapan (2005) Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bacteria. J. Ethnopharm. 101: 330-333; National Committee for Clinical Laboratory Standards(2004) Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria; Approved Standard. NCCLS Document M11-A6. Villanova, Pa, NCCLS].

실험 예 1. 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 검동감태 메탄올 분획과 수용성 분획의 항균력 시험

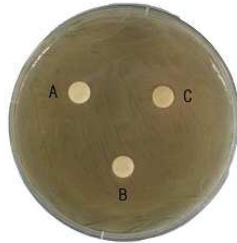
실시에 2에서와 같이 제조된 검동감태 메탄올 추출물과 물 추출물(수용성 추출물)을 각각 1, 3 그리고 5mg을 8mm 종이 디스크에 올려 평판배지 확산법(Agar diffusion method)을 이용하여 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 항균력을 시험한 결과를 표 1과 그림 1에 의해 나타내었으며,

표 1. 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 검등감태 메탄올, 물추출물의 항균 활성

	메탄올 추출물(mg/disc)			물추출물(mg/disc)		
추출물 함량(mg)	1	3	5	1	3	5
저지환 크기(mm)	2.8±0.3	4.3±0.2	5.1±0.2	0.0±0.0	0.0±0.0	0.3±0.2



(가) 메탄올 추출물



(나) 물 추출물

그림 1. 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 검등감태메탄올추출과 물추출물의 항균 활성[(가) A : 대조구, B : 1mg/disc, C : 3 mg/disc 그리고 D : 5mg/disc (나) A : 1mg/disc, B : 3 mg/disc 그리고 C : 5mg/disc.]

상기 표 1과 그림1에 의해 나타난 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 검등감태 메탄올추출과 물추출물(수용성 분획)의 항균 활성 결과에서,

(가) 메탄올 추출물에 의한 실험은, A : 대조구, B : 1mg/disc, C : 3 mg/disc 그리고 D : 5mg/disc에 대한 것으로, 메탄올 추출물에 대한 성장저지환(disk지름 제외)은 각각 2.8, 4.3 그리고 5.1mm로 나타났으며,

(나) 물 추출물에 의한 실험은, A : 1mg/disc, B : 3 mg/disc 그리고 C : 5mg/disc에 대한 것으로, 물 추출물에 대한 성장저지환은 거의 나타나지 않았다(표 1과 그림1).

이 결과를 통해 검등감태 메탄올 추출물이 농도에 비례하여 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 항균활성을 가지는 것으로 나타났으나, 물추출물에서의 항균활성은 미약한 것으로 나타났다.

실험 예 2. 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 검등감태의 부위별 메탄올 분획의 항균력 시험

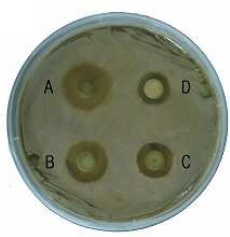
검등감태는 다른 분류군의 해조류와는 다르게 어느 정도 형태적 분화가 진행되어 있는 해조류이며, 부위에 따라 약효가 다르다고 알려져 있어[김세권, 김영태, 김영섭, 손병화, 손민호, 양지영, 정현도, 최재수, 최태진 (2005) 해양자원과 한약. 한글. 부산. pp 193], 검등감태에 대한 부위별 항균활성을 측정하였다. 각 부위는 우상엽(羽狀葉), 중앙엽(中央葉), 자루(stipe), 그리고 가근(rhizoid)으로 구분하여, 각 부위 중 어느 부위에서 가장 강한 항균활성을 지니고 있는지 확인하기 위하여, 부위별 즉, A(우상엽), B(중앙엽), C(자루), 그리고 D(가근) 부위의 메탄올 추출물과 물 추출물 5mg을 8mm disk에 올려 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 항균력을 시험한 결과를 표 2과 그림 2에 나타내었다.

표 2. 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 검등감태의 부위별 메탄올 분획의 항균력 시험

	메탄올 추출물(5mg/disc)				물 추출물(5mg/disc)			
	A	B	C	D	A	B	C	D
저지환 크기(mm)	5.4±0.4	4.0±0.3	3.0±0.0	2.5±0.5	1.2±0.3	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0



(가) 검둥감태의 부위별 명칭



(나) 부위별 메탄올 추출물 활성

그림 2. (가) 검둥감태(*Ecklonia kurome*)의 부위별 명칭.

상기 그림 2에 있어서, (가)검둥감태(*Ecklonia kurome*)의 부위별 명칭은 다음과 같으며, A : 우상엽(羽狀葉), B : 중앙엽(中央葉), C : 자루(stipe), D : 가근(rhizoid)을 나타내고 있으며, (나) 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 검둥감태의 부위별 메탄올 분획의 항균력 시험. A: 우상엽(羽狀葉), B: 중앙엽(中央葉), C: 자루(stipe), D: 가근(rhizoid)을 나타내고 있다.

상기 표 2와 그림 2에 나타난 바와 같이, 검둥감태 부위별 즉, A, B, C, 그리고 D 부위에 대한 메탄올 추출물의 성장저지환(disc지름 제외)은, 각각 5.4, 4.0, 3.0 그리고 2.5mm로 나타나, 우상엽에서 가장 높은 활성을 보였으며, 각 부위에 대한 물추출물로 성장저지환(disc지름 제외)을 측정한 결과 역시 우상엽 부위에서 약간의 항균활성이 나타났다.(표 2와 그림 2)

이 결과를 통해 검둥감태 메탄올 추출물이 우상엽에서 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 가장 높은 항균활성을 보였으며, 이는 엽중량당 세포내용물의 양이 많기 때문인 것으로 추정된다. 물 추출물에서의 성장저지환(disc지름 제외)을 측정한 결과 역시 우상엽 부위에서 약간의 항균활성이 나타났다.

실험 예 3. 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 검둥감태의 분획별 항균력 시험

검둥감태의 어떤 성분이 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 항균활성을 나타내는지 확인하기 위해, Harborne(1998)의 방법에 따라, 도 1와 같은 과정을 거쳐 검둥감태의 활성성분을 분리하였으며,[Harborne, J. B.(1998). Phytochemical Methods. 3rd ed. Chapman & Hall, London, pp. 302]

도 1과 실시예 3과 같은 과정을 통해서 얻어진 5개의 분획 즉, “분획 I (주로 다당류)”, “분획 II (지질, 왁스)”, “분획 III (테르페노이드; 페놀화합물)”, “분획 IV (알칼로이드 화합물)”, 그리고 “분획 V (4차 알칼로이드 화합물; 질소산화물)”의 각각의 분획 추출물을 사용하여 항균활성을 측정하였다.

표 3. 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 검둥감태의 분획별 추출물의 항균력 시험

	분획별 추출물 (5mg/disc)				
분획	I	II	III	IV	V
성상	점액성 반고체	액체	고체	고체	고체
색	갈색	녹갈색	진한 갈색	녹갈색	검은색
저지환 (mm)	0.0±0.0	0.0±0.0	2.1±0.5	0.0±0.0	5.3±1.8

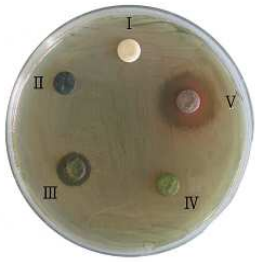


그림 3. 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 검둥감태의 분획별 추출물의 항균력 시험

상기 표 3과 그림 3에 의해 나타난 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 검둥감태의 분획별 추출물의 항균력 시험 결과에서, 각각의 분획 추출물 5mg을 8mm disk에 올려 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 항균력을 시험한 결과를 나타낸 것으로, “분획 III”와 “분획 V”에서 항균활성이 나타났으며, 성장저지환(disc지름 제외)은 각각 2.1과 5.3mm로 나타났으며, “분획 V”가 더 강한 항균활성을 가지는 것으로 확인되었다. 이로서 검둥감태 추출물 중에서 항균활성을 나타내는 물질은 각각 “분획 III”의 테르페노이드 화합물과 “분획 V”의 4차 알칼로이드 화합물로 구성되어진 분획에서 효과적임을 알 수 있었다(표 3과 그림 3).

실험 예 4. 검둥감태 메탄올 추출물과 항균활성을 가진 “분획 III”과 “분획 V”의 최소저지농도(MIC)측정 실험

프로피오니박테리움 아크네스에 대한 검둥감태의 분획별 추출물의 항균력 시험 결과에서 가장 뛰어난 항균활성을 가진 “메탄올 추출물”과, “분획 III”과 “분획 V”에 대한 항균력을 확인하기 위해 액체배지감수성실험(Broth Microdilution Susceptibility Tests)법을 이용하여 시료의 농도를 2배-연속희석(two-fold serial dilution)하여, 최소저지농도(MIC)를 측정할 결과,

표 4. 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 검둥감태 메탄올 추출물과 분획 III과 V의 최소저지농도(MIC) 값.

	메탄올 추출물	분획 III	분획 V
농도 (mg/mL)	0.625	0.3125	0.625
농도 (%)	0.0625	0.0312	0.0625

상기 표 4에서와 같이, 검둥감태 메탄올 추출물과 활성분획에 대한 항균력을 확인하기 위해 최소저지농도(MIC)를 측정한 결과, 검둥감태 메탄올 추출물의 최소저지농도(MIC)는 0.625mg/mL이었으며, “분획 III”과 “분획 V”에 대한 최소저지농도(MIC)는 각각 0.3125와 0.625mg/mL로 나타나(표 4), 두 분획에서 높은 항균활성을 보였으며, 분획 III에서 가장 높은 항균활성을 보였다. 이는 평판배지 확산법(Agar diffusion method)으로 항균활성을 측정했을 때, “분획 V”에서 더 높은 활성을 보인 것으로 나타난 표 3과 그림 3의 결과와는 다소 일치하지 않는데, 이는 두 분획에 함유된 항균물질의 배지(agar plate)상에서의 확산속도와 DMSO에 대한 용해도의 차이 때문인 것으로 여겨진다.

이상의 결과를 종합해 보면, 중의약에서 수종과 부기를 내리고 약제로 활용될 뿐만 아니라, 다양한 생리활성을 가지고 있는 것으로 알려진 검둥감태의 추출물을 평판배지 확산법(Agar diffusion method)과 액체배지감수성실험(Broth Microdilution Susceptibility Tests) 기법을 이용하여 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 항균활성을 확인한 결과, 메탄올 추출물에서 다른 해조류와 비교하여 강력한 항균활성이 확인되었으며, 또한 검둥감태를 부위별 나누어 항균활성을 측정할 결과, 우상엽(羽狀葉)과 중앙엽(中央葉)에서 다른 부위와 비교하여 더 높은 항균활성이 나타났으며, 차후 시료의 대량 생산시에 엽체부위만을 사용하는 방법도 고려할 수 있다.

이처럼 프로피오니박테리움 아크네스에 대해 특이적인 항균활성을 가지고 있는 것으로 확인된 검둥감태 메탄올 추출물 중에서 어떤 성분이 항균물질인가를 확인하기 위해 Harborne(1998)의 방법에 따라, 도 1과 같은 과정을 거쳐 검둥감태의 활성성분을 분획 I, II, III, IV와 V로 분리하여 평판배지 확산법(Agar diffusion method)과 액체배지감수성실험(Broth Microdilution Susceptibility Tests) 기법을 이용하여 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 항균활성을 확인한 결과, 분

획 III과 V에서 항균활성이 확인되었으며, 이 물질은 각각 테르페노이드 화합물과 4차 알칼로이드 화합물이었고, 메탄올 추출물 및 분획 추출물이 유효성분으로 조성물 전체 중량에 대하여 0.001 내지 20.0 중량% 함유하는 것이 바람직한 것으로 이들 추출물을 이용한 여드름 피부용 화장품 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 검둥감태 추출물을 함유하는 화장품으로는 기초제품 화장품(화장수, 크림, 에센스, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 보디 오일), 색조제품 화장품(화운데이션, 립스틱, 마스크라, 메이크업 베이스), 두발제품 화장품(샴푸, 린스, 헤어 콘디셔너, 헤어젤) 등이 있으며, 상기 미백 화장품은 하기 처방예의 조성으로 통상의 화장품 제조방법에 의해 제조될 수 있다.

이상에서와 같이 본 발명은 비록 상기의 실시예에 한하여 설명하였지만 반드시 여기에만 한정되는 것은 아니며 본 발명의 범주와 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 다양한 변형실시가 가능함은 물론이다.

발명의 효과

이상에서 보여준 바와 같이 본 발명은 기존의 항생물질과는 달리 식용으로 사용하고 있는 해조류인 검둥감태(*Ecklonia kurome*)에서 추출된 성분을 이용하여 제조되어진 것으로, 메탄올 추출물에서 다른 해조류와 비교하여 프로피오니박테리움 아크네스에 대해 강력한 항균활성이 확인되었으며, 분획 III과 분획 V에서도 항균활성이 확인되어, 이 검둥감태 추출물을 이용하여 수용성 스킨제, 점도와 경도 조절제, 자외선 흡수제, 안료, 보습, 세정제, 방부제 또는 전기물질의 혼합물 등으로 여드름 피부용 화장품으로 제조되어진 것으로 장기간 섭취하거나 사용하여도 부작용이 없는 효과를 가지고 있다.

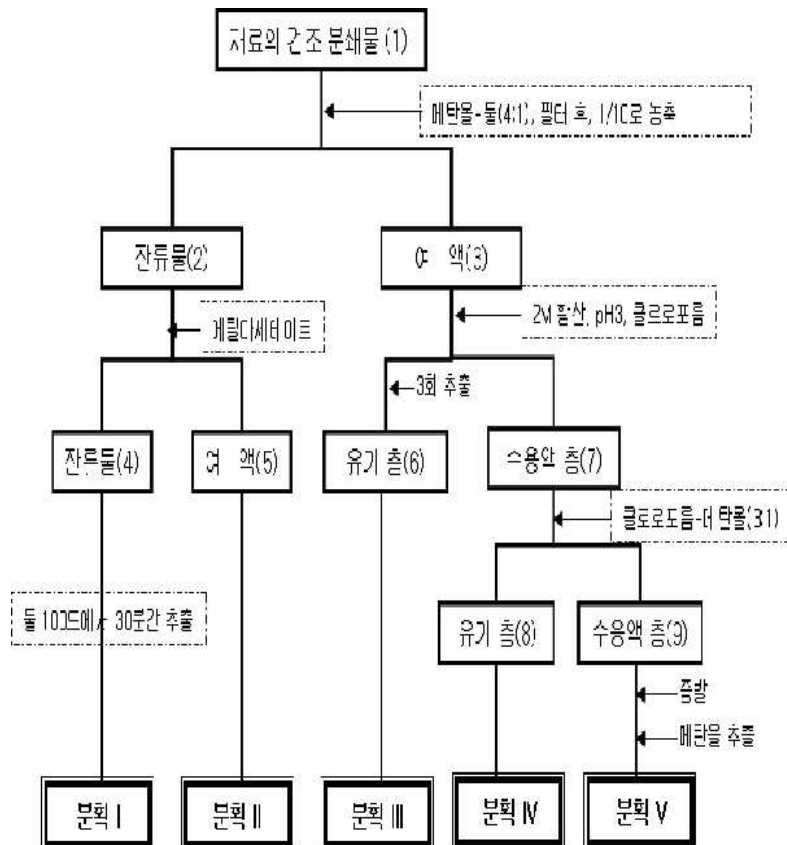
도면의 간단한 설명

도 1는 검둥감태의 건조엽체로부터 활성 분획의 분리과정의 흐름도

도 2는 검둥감태의 메탄올 및 수용성 분획의 분리과정의 흐름도

도면

도면1



도면2

