



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0055621
(43) 공개일자 2020년05월21일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01N 65/40 (2009.01) A01N 65/12 (2009.01)
C11D 3/48 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
A01N 65/40 (2013.01)
A01N 65/12 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2018-0139458(분할)</p> <p>(22) 출원일자 2018년11월13일
심사청구일자 2018년11월13일</p> <p>(62) 원출원 특허 10-2018-0139445
원출원일자 2018년11월13일</p> | <p>(71) 출원인
주식회사 케이바이오랩
대전광역시 유성구 테크노1로 20, 7동(관평동)</p> <p>(72) 발명자
김태종
대전광역시 유성구 배울2로 6, 104동 1302호
함영석
서울특별시 은평구 갈현로37길 7-14
나현정
인천광역시 미추홀구 인주대로418번길 19, 2동 307호</p> <p>(74) 대리인
특허법인 피씨알</p> |
|--|--|

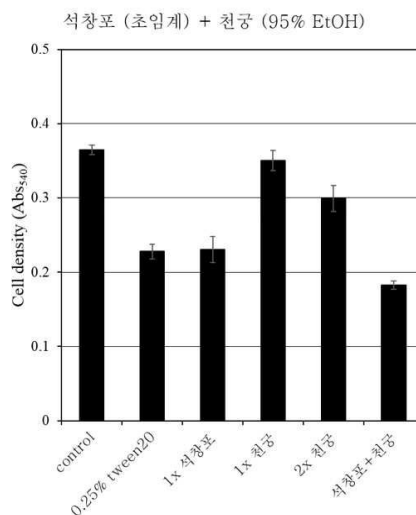
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 석창포 추출물 및 천궁 추출물을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물

(57) 요약

본 발명은 석창포 추출물 및 천궁 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물에 관한 것으로서, 석창포 추출물 및 천궁 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 다양한 미생물에 대해 상승적인 항균 활성을 갖는 바 다양한 세균 및 진균의 증식 또는 생장을 억제하는 항균 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

C11D 3/48 (2013.01)

A01N 2300/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1545016165

부처명 농림축산식품부

연구관리전문기관 농림식품기술기획평가원

연구사업명 농생명산업기술개발

연구과제명 축산업에서 곰팡이와 세균을 동시에 제거하는 경제적 위생관리를 위한 다중효용 천연화합물 활용기술개발

기 여 율 1/1

주관기관 국민대학교 산학협력단

연구기간 2017.12.28 ~ 2018.12.27

명세서

청구범위

청구항 1

석창포 추출물 및 천궁 추출물을 유효성분으로 포함하는 향균용 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 석창포 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4개의 알코올, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜, 글리세린, 아세톤, 에틸 아세테이트, 부틸 아세테이트, 클로로포름, 디에틸에테르, 디클로로메탄, 헥산 및 이들의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 추출 용매를 이용한 용매 추출방법 또는 초임계 추출방법으로부터 얻어지는 것인 향균용 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 천궁 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4개의 알코올, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜, 글리세린, 아세톤, 에틸 아세테이트, 부틸 아세테이트, 클로로포름, 디에틸에테르, 디클로로메탄, 헥산 및 이들의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 추출 용매를 이용한 용매 추출방법 또는 초임계 추출방법으로부터 얻어지는 것인 향균용 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 석창포 추출물 및 상기 천궁 추출물은 2:1 내지 1:2의 중량비로 포함되는 것인 향균용 조성물.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 향균용 조성물은 이스케리키아 속(*Escherichia* sp.), 슈도모나스 속(*Pseudomonas* sp.), 스태필로코쿠스 속(*Staphylococcus* sp.), 칸디다 속(*Candida* sp.), 말라세지아 속(*Malassezia* sp.), 살모넬라 속(*Salmonella* sp.), 아시네토박터 속(*Acinetobacter* sp.), 코리네박테리움 속(*Corynebacterium* sp.), 마이코박테리움 속(*Mycobacterium* sp.), 및 마이크로코커스 속(*Micrococcus* sp.)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 미생물의 생장을 억제하는 것인 향균용 조성물.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 상기 미생물은 대장균(*Escherichia coli*), 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*), 칸디다 트로피칼리스(*Candida tropicalis*), 말라세지아 파키더마티스(*Malassezia pachydermatis*), 살모넬라 티피뮤리움(*Salmonella typhimurium*), 아시네토박터 존소니(*Acinetobacter johnsonii*), 코리네박테리움 아코렌스(*Corynebacterium accolens*), 코리네박테리움 아미콜라툼(*Corynebacterium amycolatum*), 코리네박테리움 크세로시스(*Corynebacterium xerosis*), 코리네박테리움 제이케이움(*Corynebacterium jeikeium*), 스태필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스태필로코쿠스 헤모리티쿠스(*Staphylococcus haemolyticus*), 스태필로코쿠스 와르너리(*Staphylococcus warneri*), 스태필로코쿠스 사프로파이티커스(*Staphylococcus saprophyticus*), 스태필로코쿠스 코흐니(*Staphylococcus cohnii*), 스태필로코쿠스 호미니스(*Staphylococcus hominis*), 스태필로코쿠스 자일로서스(*Staphylococcus xylosus*), 스태필로코쿠스 시뮬란스(*Staphylococcus simulans*), 마이코박테리움 포르투이툼(*Mycobacterium fortuitum*), 및 마이크로코

커스 루테우스(*Micrococcus luteus*)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것인 항균용 조성물.

청구항 7

청구항 1 내지 청구항 6 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항균용 조성물은 보존제, 방부제, 세정제, 또는 청결제로 이용되는 것인 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 석창포 추출물 및 천궁 추출물을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 상승적인 항균 활성을 갖는 석창포 추출물 및 천궁 추출물을 포함하는 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 병원성 미생물에 의한 직접 혹은 간접적인 피해는 경제, 환경, 의학적으로 많은 문제를 야기하고 있다. 예를 들면, 식품 산업에서의 식품 유통 과정 중의 부패로 인한 손실, 농산업에서의 농작물에 대한 과량의 화학 살충제의 사용으로 인한 유해성 및 환경오염, 항생제의 오남용으로 인한 항생제 내성 균주의 출현 등과 같이 사회 전반에서 병원성 미생물에 의한 피해가 발생한다.

[0004] 항균제란 미생물에 대한 항균작용을 하는 물질, 상세하게는 미생물이 세포벽이나 단백질 등을 합성하는 시스템을 저해시킴으로써 항균작용을 하는 물질 또는 이러한 물질로부터 제조된 것을 의미한다. 항균제는 세균 감염에 의한 질병 등을 치료하기 위하여 많이 사용되고 있는데 주로 곰팡이를 비롯한 천연물로부터 분리되거나 화학적으로 합성하는 방법으로 제조되어 왔다. 현재 사용되고 있는 대부분의 항생제는 화학적인 합성을 통해 제조된 것으로서 고비용이 소요되며 부작용을 유발하는 등의 많은 한계를 가지고 있다.

[0005] 최근에는 화학 항균제의 사용으로 인한 각종 문제점을 해결하기 위해, 천연물 추출물을 이용하여 항균용 조성물을 개발하는 것이 주요한 과제로서 이에 대한 연구가 이루어지고 있으나, 대부분의 천연물 추출물의 경우 항균 효과를 갖는 미생물이 한정적이고, 항균 효과가 있을지라도 매우 높은 농도에서 그 기능이 나타나므로, 추가적인 항균제와 복합적으로 사용되어야 하는 경우가 많다. 따라서, 항균제의 가장 큰 단점인 부작용을 줄이고 다양한 균에 대하여 동시에 항균활성을 갖는 천연 유래의 항균 물질 개발이 필요하다.

[0006] 이에 본 발명자들은 부작용이 없으면서 동시에 다양한 미생물에 대한 항균 효과를 가지고, 본 발명의 조성물이 개별적인 석창포 추출물 또는 천궁 추출물 대비 상승적으로 항균 활성을 갖는 것을 확인하여 항균용 조성물에 관한 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-0744947호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 석창포 추출물 및 천궁 추출물을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 본 발명의 일 양상은 석창포 추출물 및 천궁 추출물을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물을 제공한다.
- [0013] 본 발명에서, “석창포(石菖蒲, Acori Gramineri Rhizoma)”는 천남성과 다년생 초본 식물인 석창포(*Acorus gramineus* Solander)의 뿌리줄기(근경, 根莖)로서 소화 문제, 우울증, 뇌전증 및 중추신경계 질환과 같은 다양한 질병을 치료하는데 오랫동안 사용되어 왔다. 한의학적으로, 석창포의 성질은 온(溫)하고 맛은 매우며(辛), 심경(心經)과 위경(胃經)에 귀경한다고 하며, 풍한습사(風寒濕邪)의 비증(痺證)을 주치하고, 건위거풍(健胃祛風) 및 활혈지통(活血止痛) 즉 기의 순환을 조절하고 혈을 운행시키며 풍을 풀어주고 습을 제거하는 효능이 있다고 알려져 있다. 약리학적으로는, β -asarone, caryophyllene, α -humulene, sekishone 등의 성분을 함유하고 있으며, 진정작용이 있으며 소화액의 분비를 촉진하고 위장의 이상 발효를 억제하며 동시에 장 관 평활근의 경련을 완화하는 작용이 있다고 알려져 있다.
- [0014] 본 발명에서 사용되는 석창포는 자연에서 채취하거나, 상업적으로 판매되는 것을 구입할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0016] 본 발명에서, “천궁(川芎, Cnidii Rhizoma)”은 산형과(umbelliferae)에 속한 다년생 초본인 천궁(*Cnidium officinale* Makino)의 뿌리줄기를 의미하는 것으로, 중국이 원산으로 우리나라에서도 흔히 재배되고 있는데, 높이는 30~60cm이고 곧추 자라며 가지가 길다. 천궁은 약성이 온화하고 맛이 시어서 체내에 들어가서는 혈액순환을 왕성하게 해주고, 통증을 가라앉히는 진통 효과가 있는데, 두통에 자주 응용되고, 월경불순, 월경통, 산후복통과 어지러운 증상을 없애준다. 또한, 심장근육의 수축 부전으로 인한 심장 부위의 통증에도 증상을 호전시키고, 허리와 다리의 골격이 약하고, 근육에 경력을 자주 일으키는 사람이 복용하면 증상이 개선된다고 알려져 있다.
- [0017] 본 발명에서 사용되는 천궁은 자연에서 채취하거나, 상업적으로 판매되는 것을 구입할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0019] 본 발명에서, “항균”은 미생물에 저항하는 능력 및 미생물의 성장 또는 증식을 억제하는 능력을 의미하며, 세균이나 곰팡이, 효모 등과 같은 미생물의 작용으로부터 방어하기 위해 이루어지는 모든 기작을 의미한다.
- [0020] 본 발명에서, “세균”은 박테리아에 속하는 생물로서, 생명체들 중에 가장 많이 번성한 종으로 대부분 병원성 균이며 원핵생물의 특징을 그대로 가지고 있으나, 핵막이나 미토콘드리아, 엽록체와 같은 구조는 가지고 있지 않다. 크기는 0.5 μ m 부터 0.5mm까지 다양하다.
- [0021] 본 발명에서, “진균”은 곰팡이, 효모, 버섯을 포함한 72,000종 이상의 균종으로 구성되는 미생물군을 총칭하며, 핵막이 있는 진핵생물에 속하고, 미토콘드리아, 소포체 등의 세포 소기관이 발달해 있으며, 키틴, 글루칸 등으로 구성된 세포벽이 있다. 대부분은 세포성인 균사를 형성하여 신장, 발육하고 유성생식 및 무성생식을 하는 것이 특징이다. 번식체로 포자를 형성하지만 일부 균종은 단세포성 증식을 한다. 주로 부생균으로서 자연계의 유기분해에 관여하지만, 일부는 동식물에 기생 또는 공생한다.
- [0023] 본 발명의 일 구체예에 따른 석창포 추출물 및 천궁 추출물을 포함하는 조성물은, 개별적인 석창포 추출물 또는 천궁 추출물에 비해 우수한 상승적인 항균 활성을 갖고, 세균 및 진균을 포함하는 미생물에 대해 광범위하게 항균 활성을 갖는다.
- [0024] 본 발명에서, “상승적인(synergistic) 항균 활성” 또는 “상승적인(synergistic) 항균 효과”란, 석창포 추출물 및 천궁 추출물을 혼합한 조성물의 효과가 합리적으로 예상되는 단일 추출물의 항균 효과를 합한 것인 상가적(additive) 효과 보다 우수한 항균 활성을 나타내는 것을 의미한다. 따라서, 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물은 석창포 추출물 및 천궁 추출물의 혼합에 의한 상승적인 항균 활성을 갖는 바, 낮은 농도에서도 추가적인 항균제 없이도 효과적으로 미생물의 증식 또는 성장을 억제할 수 있다.

- [0026] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 석창포 추출물 및 천궁 추출물은 당업계에 공지된 통상의 방법에 따라 제조될 수 있다. 예를 들어, 건조된 석창포 및 천궁을 분쇄한 후 추출에 통상적으로 사용되는 용매를 각각 첨가하고, 적절한 온도와 압력으로 추출하여 석창포 추출물 및 천궁 추출물을 제조할 수 있다.
- [0027] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 석창포 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4개의 알코올, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜, 글리세린, 아세톤, 에틸 아세테이트, 부틸 아세테이트, 클로로포름, 디에틸에테르, 디클로로메탄, 헥산 및 이들의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 추출 용매를 이용한 용매 추출방법 또는 초임계 추출방법으로부터 얻어지는 것일 수 있다.
- [0028] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 천궁 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4개의 알코올, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜, 글리세린, 아세톤, 에틸 아세테이트, 부틸 아세테이트, 클로로포름, 디에틸에테르, 디클로로메탄, 헥산 및 이들의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 추출 용매를 이용한 용매 추출방법 또는 초임계 추출방법으로부터 얻어지는 것일 수 있다.
- [0029] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 탄소수 1 내지 4개의 알코올은 에탄올 또는 메탄올일 수 있다.
- [0030] 본 발명에서, "추출물"은 생약재의 추출 처리에 의하여 얻어지는 추출액, 추출액의 회석액이나 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 추출액의 조정제물이나 정제물, 또는 이들의 혼합물 등, 추출액 자체 및 추출액을 이용하여 형성 가능한 모든 제형의 추출물을 포함한다.
- [0031] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 석창포 추출물 및 천궁 추출물은 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.
- [0032] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 석창포 추출물 및 천궁 추출물은 상술한 추출방법에 의한 추출물뿐만 아니라, 통상적인 정제 과정을 거친 추출물도 포함한다. 예를 들어, 일정한 분자량 컷-오프(cut-off) 값을 갖는 한외 여과막을 이용한 분리, 다양한 크로마토그래피(크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등, 추가적으로 실시한 다양한 정제 방법을 통해 얻어진 분획도 본 발명의 추출물에 포함될 수 있다.
- [0033] 본 발명에서, "초임계 추출방법"은 종래의 증류와 추출기술의 원리가 복합된 추출 시스템으로서 물질을 초임계 유체의 용해력을 이용하여 추출하는 것을 말한다. "초임계 유체"란 물질에 열과 압력을 가할 때, 특정 온도(임계 온도)와 압력(임계 압력)을 넘어서면, 그 이상으로 열과 압력을 가해도 그 상태가 변하지 않는 물질로서 초임계 유체는 액체와 기체의 상태를 구별할 수 없는 상태이며, 일반적인 액체나 기체와는 다른 고유의 특성을 가진다. 초임계 유체는 압축성 유체로 기체와 액체의 중간 정도의 물성을 가져 기체처럼 확산이 잘되고 액체처럼 다른 물질을 잘 용해시킬 수 있고, 또한 압력과 온도를 변화시킴으로써 물성을 원하는 상태로 조절할 수 있다.
- [0034] 본 발명의 일 구체예에 따르면 초임계 유체는 이산화탄소, 물, 메탄, 에탄, 프로판, 에틸렌, 프로필렌, 메탄올, 에탄올, 또는 아세톤일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 초임계 유체의 조건으로는 화학적으로 안전하고, 장치에 부식이 없으며, 임계 온도 및 압력이 낮으면서 용해도가 좋아야 한다. 이러한 점에서 공정에서 이산화탄소가 주로 사용되는데 초임계 이산화탄소는 비교적 가격이 저렴하고, 인체에 무해할 뿐 아니라 불연성이고 화학적으로 안정하다. 또한, 낮은 임계점(73.8 bar, 31.1℃)으로 물성 변화가 쉽고, 재순환하여 사용할 수 있다.
- [0035] 본 발명의 일 구체예에 따른 초임계 추출방법은 온도에 민감한 물질을 변성 및 분해없이 추출할 수 있고, 빠른 추출과 상 분리가 가능하다.
- [0036] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 항균용 조성물은 상기 추출방법에 의해 각각 추출된 석창포 추출물 및 천궁 추출물을 포함하거나 석창포 및 천궁의 혼합 생약재를 상기 추출방법에 의해 추출한 추출물을 포함할 수 있다.
- [0038] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 석창포 추출물 및 천궁 추출물은 100:1 내지 1:1000의 중량비, 100:1 내지 1:500의 중량비, 100:1 내지 1:100의 중량비, 50:1 내지 1:50의 중량비, 30:1 내지 1:30의 중량비, 20:1 내지 1:20의 중량비, 20:1 내지 1:15의 중량비, 20:1 내지 1:10의 중량비, 10:1 내지 1:10의 중량비, 2:1 내지 1:10의 중량비, 2:1 내지 2:1의 중량비 또는 1:1의 중량비로 포함되는 것일 수 있다.
- [0039] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 조성물 총 중량에 대하여 석창포 추출물 및 천궁 추출물을 0.001중량% 내지 99.99중량%, 바람직하게는 0.1중량% 내지 99중량%로 포함할 수 있으며, 이는 항균용 조성물의 사용방법 및 사용 목적에 따라 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에게 적절히 선택될 수 있다.

- [0041] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 항균용 조성물은 이스케리키아 속(*Escherichia* sp.), 슈도모나스 속(*Pseudomonas* sp.), 스탕필로코쿠스 속(*Staphylococcus* sp.), 칸디다 속(*Candida* sp.), 말라세지아속(*Malassezia* sp.), 살모넬라 속(*Salmonella* sp.), 아시네토박터 속(*Acinetobacter* sp.), 코리네박테리움 속(*Corynebacterium* sp.), 마이코박테리움 속(*Mycobacterium* sp.), 및 마이크로코커스 속(*Micrococcus* sp.)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 미생물의 생장을 억제하는 것일 수 있다.
- [0043] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 미생물은 대장균(*Escherichia coli*), 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*), 칸디다 트로피칼리스(*Candida tropicalis*), 말레세지아 파키더마티스(*Malassezia pachydermatis*), 살모넬라 티피뮤리움(*Salmonella typhimurium*), 아시네토박터 존소니(*Acinetobacter johnsonii*), 코리네박테리움 아코렌스(*Corynebacterium accolens*), 코리네박테리움 아미콜라툼(*Corynebacterium amycolatum*), 코리네박테리움 크세로시스(*Corynebacterium xerosis*), 코리네박테리움 제이케이 이움(*Corynebacterium jeikeium*), 스탕필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스탕필로코쿠스 헤모리티쿠스(*Staphylococcus haemolyticus*), 스탕필로코쿠스 와르너리(*Staphylococcus warneri*), 스탕필로코쿠스 사프로파이티커스(*Staphylococcus saprophyticus*), 스탕필로코쿠스 코호니(*Staphylococcus cohnii*), 스탕필로코쿠스 호미니스(*Staphylococcus hominis*), 스탕필로코쿠스 자일로서스(*Staphylococcus xylosus*), 스탕필로코쿠스 시물란스(*Staphylococcus simulans*), 마이코박테리움 포르투이툼(*Mycobacterium fortuitum*), 및 마이크로코커스 루테우스(*Micrococcus luteus*)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것일 수 있다.
- [0045] 본 발명에서 "이스케리키아 속(*Escherichia* sp.) 균주"란, 그람 음성 균주로서, 장내세균의 일종으로 식중독 등의 원인 균주이다. 본 발명의 목적상 이스케리키아 속(*Escherichia* sp.) 균주에는 본 발명에서 제공하는 항균용 조성물의 표적으로 사용될 수 있는 미생물은 제한없이 포함된다. 본 발명에서 이스케리키아 속 균주는 예를 들면 대장균일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 대장균은 장내 정상세균총을 구성하고 대개는 비병원성이나 담도염, 방광염, 신우염, 요로감염증의 원인균이 될 수 있다.
- [0046] 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물을 이용하면 이스케리키아 속 균주의 증식 또는 생장을 억제시킬 수 있으므로 에스케리아 속 균주로 인한 상기 질환을 예방 또는 개선할 수 있다.
- [0048] 본 발명에서 "슈도모나스 속(*Pseudomonas* sp.) 균주"란, 그람 음성 균주로서, 병원균이나 부패균이 되는 것도 있으나, 아미노산 발효에 의한 아미노산의 제조에 사용되는 것도 있다. 본 발명의 목적상 슈도모나스 속 균주에는 본 발명에서 제공하는 항균용 조성물의 표적으로 사용될 수 있는 미생물은 제한없이 포함된다. 본 발명의 슈도모나스 속 균주는 예를 들면 슈도모나스 에루지노사일 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 슈도모나스 에루지노사는 그람음성 호기성 간균으로서 인간에 대한 병원성은 약하지만 널리 자연 환경에 분포 하고 있기 때문에 혼합감염, 2차감염을 일으켜 질병 상태를 악화시킨다. 특히 수술, 화상 등 생체 저항력이 저하되어 있는 경우 감염으로 인해 패혈증을 일으키고, 소화기 점막을 침범해서 설사를 일으키기도 한다.
- [0049] 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물을 이용하면 슈도모나스 속 균주의 증식 또는 생장을 억제시킬 수 있으므로 슈도모나스 속 균주로 인한 상기 질환을 예방 또는 개선할 수 있다.
- [0051] 본 발명에서 "스타필로코쿠스 속(*Staphylococcus* sp.) 균주"란, 미크로코쿠스과(Micrococcaceae)에 속하며 사람이나 동물의 장관에, 그 외에 피부나 점막에도 존재한다. 사람의 병에서 분리되는 균종에는 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *S. hominis* 또는 *S. warneri* 등이 있다. 본 발명의 목적상 스탕필로코쿠스 속 균주에는 본 발명에서 제공하는 항균성 조성물의 표적으로 사용될 수 있는 미생물은 제한없이 포함된다. 본 발명의 스탕필로코쿠스 속 균주는 예를 들면 스탕필로코쿠스 아우레우스, 스탕필로코쿠스 헤모리티쿠스, 스탕필로코쿠스 와르너리, 스탕필로코쿠스 사프로파이티커스, 스탕필로코쿠스 코호니, 스탕필로코쿠스 호미니스, 스탕필로코쿠스 자일로서스 또는 스탕필로코쿠스 시물란스일 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 스탕필로코쿠스 아우레우스는 그람 양성, 통성혐기성 세균으로서, 건강한 사람이나 가축의 피부와 비강 표면에 일반적으로 존재하고, 내열성인 외독소를 생산하여 식중독을 일으키며, 피부의 화농, 중이염, 방광염 등 화농성

질환을 일으키는 원인균으로 알려져 있다.

- [0052] 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물을 이용하면 스타필로코쿠스 속 균주의 증식 또는 생장을 억제시킬 수 있으므로 스타필로코쿠스 속 균주로 인한 상기 질환을 예방 또는 개선할 수 있다.
- [0054] 본 발명에서 “칸디다 속(*Candida* sp.) 균주”란 불완전균아문 진균류의 한 속으로 단세포의 구형 또는 난원형이며, 인체나 동물의 입안, 피부 등에 존재하여 정상상태에서는 인체에 무해하나 항생물질을 장기 사용하거나 인체가 면역에 대한 저항력이 약해졌을 때에 체내에서 이상번식을 하여 칸디다증을 일으킨다. 감염빈도가 높은 부위는 입안과 음부(陰部)등의 점막으로 점막이 짓무르는 가려움이나 통증이 일어난다.
- [0055] 본 발명의 목적상 칸디다 속 균주에는 본 발명에서 제공하는 항균성 조성물의 표적으로 사용될 수 있는 미생물은 제한없이 포함된다. 본 발명의 칸디다 속 균주는 예를 들면 칸디다 알비칸스 또는 칸디다 트로피칼리스일 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 칸디다 알비칸스는 그람 양성 진균으로 일종의 피부 곰팡이 균으로서 건강한 사람의 구강, 질, 장 및 소화관에도 존재하고 있으나 면역력이 감소하였을 때 증식이 증가하여 수포성 염증을 발생시키며, 소화관 및 구강에서 염증을 일으키기도 하지만 대표적으로는 여성의 음부에 염증을 일으켜서 칸디다성 질염을 발생시킨다. 약 75%의 여성이 한 번 이상의 질과 외음부에 칸디다성 질염을 겪는 것으로 보고된 바 있고, 여성 인구 중 45%가 1년에 2회 이상 재발을 겪는 흔한 질환이다. 칸디다 트로피칼리스는 림프종, 백혈병 및 당뇨병이 있는 사람들에게서 패혈증 및 전파성 칸디다증의 주요 원인균이고, 보통 위장관과 피부 표면에서 발견된다.
- [0056] 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물을 이용하면 칸디다 속 균주의 증식 또는 생장을 억제시킬 수 있으므로 칸디다 속 균주로 인한 상기 질환을 예방 또는 개선할 수 있다.
- [0058] 본 발명에서 “말라세지아 속(*Malassezia* sp.) 균주”는 주로 지질 친화성 균이며 피부의 정상 균총에 속하여 자연적으로 피부 표면에 존재하는데 가슴, 등 안면과 같이 피지선이 많이 분포되어 있는 피부 부위에 주로 집락을 형성하여 생존한다. 말라세지아균에 의한 집락형성은 출생 직후부터 진행되어 피지선의 활동이 왕성해지는 사춘기 후반에서 성인기 초반까지 가장 많이 이루어지는 것으로 알려져 있다. 말라세지아균은 피부의 지방과 단백질 등을 먹고 자라는데 이에 따라 리파아제 활성이 높고 염증성 사이토카인의 생성 분비를 증가시켜 피트로스포룸 모낭염(*Pityrosporum folliculitis*), 전풍(*pityriasis versicolor*), 지루피부염(*seborrheic dermatitis*) 및 비듬 발생의 원인이 된다.
- [0059] 본 발명의 목적상 말라세지아 속 균주에는 본 발명에서 제공하는 항균성 조성물의 표적으로 사용될 수 있는 미생물은 제한없이 포함된다. 본 발명의 말라세지아 속 균주는 예를 들면 말라세지아 파키더마티스일 수 있으나 이에 제한되지 않는다.
- [0060] 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물을 이용하면 말라세지아 속 균주의 증식 또는 생장을 억제시킬 수 있으므로 말라세지아 속 균주로 인한 상기 질환을 예방 또는 개선할 수 있다.
- [0062] 본 발명에서 “살모넬라 속(*Salmonella* sp.) 균주”란, 그람 음성 균주로서, 저온 및 냉동상태뿐만 아니라 건조에도 강하고 티푸스증, 급성위장염, 또는 식중독 등의 원인 균주이다.
- [0063] 본 발명의 목적상 살모넬라 속 균주에는 본 발명에서 제공하는 항균성 조성물의 표적으로 사용될 수 있는 미생물은 제한없이 포함된다. 본 발명의 살모넬라 속 균주는 예를 들면 살모넬라 티피뮤리움일 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 살모넬라 티피뮤리움은 주로 소장의 내장에서 발견되고 이 박테리아에 의한 독성은 박테리아의 외막에 존재하는 LPS에 의해 유발되게 되고 급성위장염, 식중독 등을 일으킨다.
- [0064] 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물을 이용하면 살모넬라 속 균주의 증식 또는 생장을 억제시킬 수 있으므로 살모넬라 속 균주로 인한 상기 질환을 예방 또는 개선할 수 있다.
- [0066] 본 발명에서 “코리네박테리움 속(*Corynebacterium* sp.) 균주”란, 방선균목(*Actinomycetales*)의 한 속이고, 막대모양의 그람 양성균주로 점막에 기생하고 건강체로부터도 잘 검출되며 보통 병원성과 독소생산을 병행한다.

- [0067] 본 발명의 목적상 코리네박테리움 속 균주에는 본 발명에서 제공하는 항균성 조성물의 표적으로 사용될 수 있는 미생물은 제한없이 포함된다. 본 발명의 코리네박테리움 속 균주는 예를 들면 코리네박테리움 아코렌스, 코리네박테리움 아미콜라툼, 코리네박테리움 크세로시스, 코리네박테리움 제이케이움일 수 있으나 이에 제한되지 않는다.
- [0068] 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물을 이용하면 코리네박테리움 속 균주의 증식 또는 생장을 억제시킬 수 있으므로 살모넬라 속 균주로 인한 상기 질환을 예방 또는 개선할 수 있다.
- [0070] 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물은 세균 및 진균에 대해 광범위하게 항균 활성을 갖고, 천연물질로부터 추출된 유효성분을 포함하여 화학 합성제품에 비해 독성이나 피부 알레르기 유발, 피부자극, 환경 호르몬으로서의 가능성, 내성균 유발 등과 같은 부작용이 적다.
- [0071] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 본 명세서에 개시된 항균용 조성물은 피부용, 두피용, 구강용, 안구용 또는 질(腔)용 조성물일 수 있다. 본 발명의 일 구체예에 따르면, 항균용 조성물은 샴푸, 바디클렌저, 비누, 폼클렌저, 스킨, 로션, 크림, 연고, 스프레이, 치약, 물티슈, 동물용 물티슈, 주방 세척제, 욕실 세척제, 애완동물용 세정제, 섬유용 항균제, 렌즈 세정제, 여성용 청결제 등으로 사용될 수 있다.
- [0073] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 항균용 조성물은 보존제, 방부제, 세정제, 또는 청결제로 이용되는 것일 수 있다.
- [0074] 본 발명에서 보존제는 세균, 곰팡이 및 효모로 이루어진 군중에서 선택된 1종 이상의 위해 미생물 또는 부패 미생물의 증식을 억제하거나 살균하여 식품, 사료, 화장품 및 의약품의 변질이나 부패, 화학변화를 방지하여 영양가와 신선도를 유지시키기 위하여 사용되는 첨가물을 의미한다. 좁은 의미로는 세균, 곰팡이, 효모 등의 부패 미생물의 증식 또는 생장을 저지하거나 살균할 수 있는 물질을 의미한다.
- [0075] 보존제로서 이상적인 조건으로서 조성물은 독성이 없어야 하며, 미량으로도 효과가 있어야 한다. 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물은 천연성분으로 인체에 유해하지 아니하므로 식품, 의약품, 화장품 또는 동물용 사료에 안전하게 적용할 수 있다.
- [0076] 본 발명의 일 구체예에서, 보존제는 그 사용 목적 및 용도에 따라 적의 선택된 추가적인 여타의 첨가물을 추가로 더 포함할 수 있으며, 통상적으로 사용되는 첨가물 등 다른 유효성분이나 색소, 계면활성제, 방부제 등의 첨가물과 혼합하여 사용할 수 있다. 상기 첨가제는 그 사용 목적 및 용도에 따라 분말화, 과립화, 정제화 또는 액상화하여 제조될 수 있으며, 제품화를 위하여 포장을 위해 통상의 방법을 사용할 수 있다.
- [0077] 본 발명의 일 구체예에서, 보존제 중 항균용 조성물의 사용량은 사용목적과 적용형태, 적용부위, 적용대상물품 등에 따라 적절히 사용될 수 있으며, 예를 들면 전체 조성물 기준으로 0.01 중량부 내지 50 중량부를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물은 생약제로부터 추출된 천연성분으로 인체에 유해하지 아니하므로, 그 제품의 특성상 적용목적을 달성할 수 있는 경우라면 다양한 양으로 사용 가능하다.
- [0079] 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물은 다양한 미생물에 대하여 우수한 항균 활성 가지므로 합성 방부제를 대체하여 식품, 의약품 또는 화장품 조성물 등에 첨가되는 방부제로서 이용될 수 있다.
- [0081] 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물은 세정제의 용도로서 이용될 수 있고 세정제는 의류용 세제, 식기 세척제, 식품 세정제, 가전제품 세척제일 수 있다. 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물은 생약제로부터 추출된 천연성분을 포함하여 인체에 유해하지 아니하므로, 주방용품 또는 식품세척 등을 포함하는 각종 생활용품의 세척이나 항균성 부여를 목적으로 사용할 수 있다.
- [0082] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 세정제는 그 사용 목적 및 용도에 따라 적의 선택된 첨가물을 추가로 포함할 수 있으며, 통상적으로 사용되는 세정제 등 다른 유효성분이나 색소, 계면활성제, 방부제 등의 첨가제와 혼합하여 사용할 수 있다.

- [0083] 본 발명의 일 구체예에 따르면 세정제는 그 사용 목적 및 용도에 따라 분말화, 과립화, 정제화 또는 액상화하여 제조될 수 있으며, 제품화를 위하여 포장을 위해 통상의 방법을 사용할 수 있다.
- [0084] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 세정제 중 항균성 조성물의 사용량은 사용목적과 적용형태, 적용부위, 적용대상 물질 등에 따라 적절히 사용될 수 있으며, 예를 들면 전체 조성물 기준으로 0.01 중량부 내지 50 중량부를 포함할 수 있으나, 상기 항균성 조성물의 함량은 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 일 구체예에 따른 항균성 조성물은 천연성분으로 인체에 유해하지 아니하므로, 그 제품의 특성상 적용목적에 달성할 수 있는 경우라면 다양한 양으로 사용 가능하다.
- [0086] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 본 발명은 항균용 조성물은 청결제의 용도로서 적용될 수 있다. 본 발명의 일 구체예에 따른 청결제는 일상 생활에서 흔히 감염되기 쉬운 병원성 미생물의 체내 감염을 예방 차원에서 수행하기 위하여 간단한 방법으로 손, 구강 또는 여성용 청결제 등의 용도로 사용될 수 있다. 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물은 천연성분으로 인체에 유해하지 아니하므로 손, 구강 또는 여성용 청결제로 사용하는 경우에도 안전하게 적용할 수 있다.
- [0087] 본 발명의 일 구체예에 따른 항균용 조성물은 여성의 음부에 염증을 일으켜 질염, 가려움증 및 악취 등 여성 비뇨생식기계 질환을 일으킬 수 있는 유발균, 예를 들면 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*)에 대해 우수한 항균 활성을 갖고, 피부자극을 유발하지 않아 여성용 청결제로서 사용이 가능하다.

발명의 효과

- [0090] 석창포 추출물 및 천궁 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 다양한 미생물에 대해 상승적인 항균 활성을 갖는 바 세균 및 진균의 증식 또는 생장을 억제하는 항균 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0092] 도 1은 석창포 초임계 추출물의 농도에 따른 *C. albicans*에 대한 생장 억제 효과를 평가한 결과를 나타낸다.
- 도 2는 천궁 에탄올 추출물의 농도에 따른 *C. albicans*에 대한 생장 억제 효과를 평가한 결과를 나타낸다.
- 도 3 및 도 4는 석창포 초임계 추출물 및 천궁 에탄올 추출물을 혼합시에 *C. albicans*에 대한 상승적인 항균 효과를 나타낸다. 구체적으로, 도 3은 석창포 초임계 추출물 및 천궁 에탄올 추출물 각각 또는 혼합하여 첨가시 측정된 *C. albicans* 세포 밀도를 나타내고, 도 4는 대조군 대비 각 추출물 첨가시 *C. albicans* 균주의 생장률을 나타낸다.
- 도 5는 석창포 초임계 추출물 및 천궁 에탄올 추출물의 혼합 비율에 따른 *C. albicans*의 생장률을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0093] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0095] 실시예 1. 생약 추출물의 제조

[0096] 1-1. 석창포 초임계 추출물의 제조

- [0097] 석창포(지운당 한약국, 경동시장, 서울, 대한민국)를 EnSNature에 의뢰하여 초임계 추출을 수행하였다. 석창포 3220g을 10L 초임계 추출기(Extractor)에 투입하여, 350bar 및 50℃의 조건에서 초임계 이산화탄소를 이용하여 6시간 동안 추출하였다. 추출 후 여과지(whatman™ grade 4 qualitative filter paper; GE Healthcare Life Sciences)를 이용하여 불순물을 제거하였다. 3,220g의 석창포로부터 수득된 초임계 추출물의 양은 50.4g이었고, 수율은 1.57% 였다. 초임계 추출물 0.1007g을 RPMI 1640 배지에 희석한 50% tween 20 1mL에 용해시켜 100g/L

농도의 스탁을 제조한 후 볼텍싱하여 추출물이 균일하게 용해되도록 하여 추후 실험에 사용하였다.

1-2. 천궁 에탄올 추출물의 제조

천궁(지운당 한약국, 경동시장, 서울, 대한민국)를 1cm 이하의 크기로 파쇄한 후 파쇄된 천궁 30g을 플라스크에 넣고, 300ml의 95% 에탄올을 용매로 하여 3시간 동안 50℃의 항온 수조에서 침지하여 추출하였다. 30분 간격으로 4회 내지 6회 플라스크를 흔들어 용매와 천궁을 혼합해주었다. 추출 후 여과지(Whatman™ No.1 qualitative filter paper; GE Healthcare Life Sciences)를 이용하여 감압장치로 고형분을 여과하여 제거하였다. 여과된 추출물은 회전 농축기를 이용하여 농축하고 60℃ 건조기에서 최대 2주 동안 정치하여, 에탄올을 제거하고 고형분의 추출물을 얻었다. 30g의 천궁로부터 각각 1.69g의 천궁 추출물의 고형분을 수득하였고, 수율은 5.64%였다.

상기에서 수득한 천궁 에탄올 추출물의 고형분 0.02g을 95% 에탄올 2ml에 용해시켜 10g/L 농도의 스탁을 제조한 후 15분간 50℃의 물 중탕을 통해 최대한 추출물이 용매에 용해되도록 하였다. 볼텍싱하여 충분히 용해시킨 후, 13,000rpm에서 10분간 원심분리 후 불용성 물질을 제외한 상등액을 취하여 추후 실험에 사용하였다.

실시예 2. 석창포 추출물 또는 천궁 추출물의 농도에 따른 항균 활성 측정

2-1. 균주 및 배양 배지 준비

생약 추출물들의 항균 효과를 측정하기 위하여 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*, 이하 *C. albicans*) KCTC 7965를 생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, 대한민국)로부터 분양받았다.

실험에 사용된 배지의 조성은 하기 표 1에 기재하였다.

표 1

균주	배지	구성성분	함량
칸디다 알비칸스 KCTC 7965	SDA 배지 (1000ml)	Sabouraud Broth (BD 238230)	30.0 g
		한천	15.0 g
		증류수	총 부피가 1,000ml이 되도록 보충
칸디다 알비칸스 KCTC 7965	RPMI 1640 배지 (1000ml, pH 7.0)	RPMI 1640	10.4 g
		MOPS [3-(N-morpholino)propanesulfonic acid]	34.53 g
		1M Sodium hydroxide	pH 7.0이 되도록 적정량을 사용
		증류수	총 부피가 1,000ml이 되도록 보충

SDA 배지는 -80℃에서 보관하고 있는 *C. albicans* 균을 활발한 생육 상태로 만들기 위해 사용되고, RPMI 1640 배지는 SDA 배지를 통해 활발한 생육 상태가 된 *C. albicans* 균을 배양할 때 사용하였다. 완성된 배지는 4℃에서 보관하였다.

2-2. 석창포 초임계 추출물의 농도에 따른 항균 효과

석창포 초임계 추출물의 농도에 따라 *C. albicans*에 대한 항균 효과를 측정하기 위하여, CLSI M27-A2 방법을 사용하였다.

- [0112] *C. albicans* KCTC 7965 균주 스톱을 SDA 한천 플레이트에 획선도말(streaking)하여 35℃에서 2일간 배양하였다. 이후 단일 균집을 취하여 0.145mol/L 식염수에 현탁하고 15초 동안 불텍싱하였다. 현탁액을 Optizen 2120uv spectrophotometer(Mecasys Co., 대한민국)를 이용해 530nm에서 흡광도를 측정하여 세포 밀도(cell density)가 0.5의 맥팔랜드 탁도(McFarland standard)가 되는지 확인하고, 필요에 따라 0.5의 맥팔랜드 탁도가 되도록 식염수를 첨가하였다. 0.5의 맥팔랜드 탁도를 갖는 현탁액에 식염수를 첨가하여 100배 희석하고, 추가로 RPMI 1640 배지를 이용하여 10배 희석하여, 마이크로플레이트에 처리하기 직전 농도가 1×10^3 내지 5×10^3 CFU/ml가 되도록 희석한 *C. albicans* 균 현탁액을 마이크로플레이트에 각각 100 μ l씩 분주하였다.
- [0113] 실시예 1-1에서 제조한 석창포 초임계 추출물 스톱(100g/L)을 13,000rpm에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 농도가 2g/L가 되도록 RPMI 1640 배지로 50배 희석하였다. 2g/L 농도의 석창포 초임계 추출물을 1% tween 20를 이용하여 2배씩 연속 희석하여 제조한 1g/L, 0.5g/L, 0.25g/L, 0.126g/L, 62.5mg/L, 31.3mg/L 농도의 석창포 초임계 추출물을 *C. albicans* 균 현탁액이 분주되어 있는 마이크로플레이트에 각각 100 μ l씩 분주하고 대조군으로서 천궁 에탄올 추출물이 포함되지 않고 1% tween 20이 포함된 RPMI 1640 배지 100 μ l를 분주하여 최종적으로 배지 내 tween20 농도가 0.5%가 되도록 하였다.
- [0114] 상기와 같이 *C. albicans* 균 및 석창포 초임계 추출물이 분주된 마이크로플레이트를 35℃에서 48시간 두어 배양 후 가라앉은 균을 피펫팅하여 현탁시키고 마이크로플레이트 리더(Dynex Opsys MR™ Microplate Reader)로 540nm에서 흡광도를 측정하여 이를 *C. albicans*의 세포 밀도(cell density)로 나타내었다. 이 세포 밀도 값은 *C. albicans*의 증식 또는 성장 결과를 반영한다.
- [0115] 도 1은 석창포 초임계 추출물의 농도에 따른 *C. albicans*에 대한 성장 억제 효과를 평가한 결과를 나타낸다. 도 1에 나타난 바와 같이, 추출물의 농도가 증가할수록 *C. albicans*의 성장 억제 효과가 증가된다는 것을 확인할 수 있었고 최대 농도인 1g/L 에서는 대조군(control) 대비 약 35%의 억제 효과를 보였다.
- [0117] **2-3. 천궁 에탄올 추출물의 농도에 따른 항균 효과**
- [0118] 상기 실시예 2-2의 방법과 동일하게 마이크로플레이트에 처리하기 직전 농도가 1×10^3 내지 5×10^3 CFU/ml가 되도록 희석한 *C. albicans* 균 현탁액을 마이크로플레이트에 각각 100 μ l씩 분주하였다.
- [0119] 실시예 1-2에서 제조한 천궁 에탄올 추출물 스톱(10g/L)을 RPMI 1640 배지로 5배 희석하여 2g/L의 천궁 에탄올 추출물을 제조하였다. 2g/L 농도의 천궁 에탄올 추출물을 RPMI 1640 배지를 이용하여 2배씩 연속 희석하여 제조한 1g/L, 0.5g/L, 0.25g/L, 0.125g/L, 62.5mg/L 또는 31.25mg/L 농도의 천궁 에탄올 추출물을 *C. albicans* 균 현탁액이 분주되어 있는 마이크로플레이트에 각각 100 μ l씩 분주하고 대조군으로서 천궁 추출물이 포함되지 않은 RPMI 1640 배지 100 μ l를 분주하였다.
- [0120] 상기와 같이 *C. albicans* 균 및 천궁 에탄올 추출물이 분주된 마이크로플레이트를 35℃에서 48시간 두어 배양 후 가라앉은 균을 피펫팅하여 현탁시키고 마이크로플레이트 리더(Dynex Opsys MR™ Microplate Reader)로 540nm에서 흡광도를 측정하여 이를 *C. albicans*의 세포 밀도로 나타내었다.
- [0121] 도 2는 천궁 에탄올 추출물의 농도에 따른 *C. albicans*에 대한 성장 억제 효과를 평가한 결과를 나타낸다. 도 2에 나타난 바와 같이, 0.125g/L 농도 이전에는 *C. albicans*의 성장 억제 효과가 나타나지 않았으나, 0.25g/L 농도의 천궁 에탄올 추출물 첨가시 대조군 대비 약 41%의 *C. albicans*의 성장을 억제하였다.
- [0123] **실시예 3. 석창포 추출물 및 천궁 추출물의 혼합에 따른 *C. albicans*에 대한 상승적인 항균 효과**
- [0125] 실시예 2-2 및 2-3의 결과를 바탕으로 추출물의 농도가 2배가 되어도 성장 억제의 효과가 50% 이상이 되지 않으면서 해당 농도에서도 성장 억제를 보이지 않는 농도로서, 석창포 초임계 추출물 0.125g/L, 천궁 에탄올 추출물 0.125g/L를 사용하여 석창포 초임계 추출물 및 천궁 에탄올 추출물의 혼합에 따른 *C. albicans*에 대한 상승적인 항균 효과가 있는지 여부를 살펴보았다. 실험에 사용한 각 추출물의 농도는 표 2에 기재하였다.

표 2

추출물	농도 (g/L)	<i>C. albicans</i> 성장률(%)
1x 석창포 초임계 추출물	0.125	101.3
1x 천궁 에탄올 추출물	0.125	96.1
2x 천궁 에탄올 추출물	0.25	82
석창포 초임계 추출물 및 천궁 에탄올 추출물의 혼합	0.125(석창포)+0.125(천궁)	80.1

[0126]

[0127]

표 2에 기재된 농도로 각 추출물을 처리하여, 실시예 2-2에 기재된 방법과 동일하게 540nm에서 흡광도를 측정하여 이를 *C. albicans*의 세포 밀도(cell density)로 나타내었다. 0.125g/L의 석창포 초임계 추출물에는 0.25% tween 20이 포함되어 있으므로 0.125g/L의 석창포 초임계 추출물 첨가시 0.25% tween 20이 포함된 RPMI 1640 배지를 대조군(도 3에 0.25% tween 20으로 표시됨)으로 하여 *C. albicans* 성장률을 백분율로 계산하였고, 0.125g/L 및 0.25g/L의 천궁 에탄올 추출물은 RPMI 1640 배지를 대조군(도 3에 control로 표시됨)으로 하여 *C. albicans* 성장률을 백분율로 계산하였고, 0.125g/L의 석창포 추출물 및 0.125g/L의 천궁 추출물의 혼합물에는 0.25% tween 20이 포함되어 있으므로 혼합물 첨가시 0.25% tween 20이 포함된 RPMI 1640 배지를 대조군(도 3에 0.25% tween 20으로 표시됨)으로 하여 *C. albicans* 성장률을 백분율로 계산하였다. 상대적인 균주의 성장률(Relative cell density, %)은 하기 수학적 식 1에 의해 계산하고 그 결과값을 표 2에 기재하였다.

수학적 식 1

$$\text{상대적인 균주의 성장률(\%)} = (\text{추출물 첨가시 세포 밀도} / \text{대조군의 세포 밀도}) \times 100$$

[0128]

[0130]

석창포 추출물을 처리했을 때의 미생물의 성장률(%)을 A라 하고, 천궁 추출물을 처리했을 때의 성장률(%)은 B라 할 때, 석창포 추출물 및 천궁 추출물 혼합시에 예상될 수 있는 균주의 성장률을 의미하는 기대 성장률(%)은 하기 수학적 식 2에 의해 계산되었다.

수학적 식 2

$$\text{기대 성장률(\%)} = (A \times B) / 100$$

[0131]

[0133]

천궁 및 석창포 추출물을 포함하는 조성물을 처리했을 때의 성장률(%)을 A+B라 할 때, A+B의 값이, 상기 수학적 식 2에 의하여 계산된 기대 성장률 보다 낮으면, 미생물의 성장 또는 증식을 예상보다 억제하였으므로, 추출물의 혼합에 의해 상승적인 항균 효과가 있는 것으로 판단된다.

[0134]

도 3 및 도 4은 석창포 초임계 추출물 및 천궁 에탄올 추출물을 혼합시에 *C. albicans*에 대한 상승적인 항균 효과를 나타낸다. 구체적으로, 도 3은 석창포 초임계 추출물 및 천궁 에탄올 추출물 각각 또는 혼합하여 첨가시 측정된 *C. albicans* 세포 밀도를 나타내고, 도 4는 대조군 대비 각 추출물 첨가시 *C. albicans* 균주의 성장률을 나타낸다.

[0135] 도 3 및 도 4에 나타난 바와 같이, 석창포 초임계 추출물은 대조군 대비 *C. albicans*에 대한 상승적인 항균 효과가 나타나지 않았고, 천궁 에탄올 추출물은 *C. albicans*의 성장을 3.9% 억제하였다. 석창포 초임계 추출물 및 에탄올 추출물을 포함하는 조성물 처리시 20%의 *C. albicans*의 성장 억제 효과를 나타냈으며, 이때의 A+B는 80%으로 기대 성장률 97.3% 보다 17.7% 낮으므로, 석창포 초임계 추출물 및 천궁 에탄올 추출물의 혼합에 의하여 *C. albicans*에 대해 우수한 상승적인(synergistic) 항균 효과를 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

[0136] 더욱이, 석창포 초임계 추출물은 대조군 대비 *C. albicans*의 성장 억제효과를 보이지 않고 석창포 초임계 추출물 및 천궁 에탄올 추출물의 혼합에 따른 추출물의 농도 증가에 의하여, 항균활성이 나타날 수 있으나(표 2, 도 3 및 도 4에 나타난 바와 같이 천궁 에탄올 추출물을 2배 농도(0.25g/L)로 처리했을 때보다도 석창포 초임계 추출물(0.125g/L) 및 천궁 에탄올 추출물(0.125g/L)을 포함하는 조성물 첨가시 1.9% 더 우수한 *C. albicans* 성장 억제 효과를 나타낸다. 따라서, 이로부터 본 발명의 조성물은 우수한 상승적인 항균 효과가 존재하고, 낮은 농도에서도 효과적으로 *C. albicans*의 성장 또는 증식 억제 효과를 갖는 것을 알 수 있다.

[0138] 실시예 4. 석창포 추출물 및 천궁 추출물의 혼합 비율에 따른 상승적인 항균 효과

[0139] 석창포 초임계 추출물 및 천궁 에탄올 추출물을 이용하여 혼합비율을 다르게 하였을 때 *C. albicans*에 대한 항균 효과를 살펴보기 위하여, 각 추출물의 혼합 비율을 달리하여 실시예 3에 기재된 바와 같이 *C. albicans*의 성장률을 계산하였다. 구체적인 추출물의 함량 및 *C. albicans*의 성장률을 표 3에 기재하였다.

[0140] 도 5는 석창포 초임계 추출물 및 천궁 에탄올 추출물의 혼합 비율에 따른 *C. albicans*의 성장률을 나타낸다.

[0141] 표 3 및 도 5에 나타난 바와 같이, 천궁 에탄올 추출물 0.25g/L 및 석창포 초임계 추출물 0.25g/L를 포함하는 조성물에서 가장 *C. albicans*의 성장을 가장 우수하게 억제하였다.

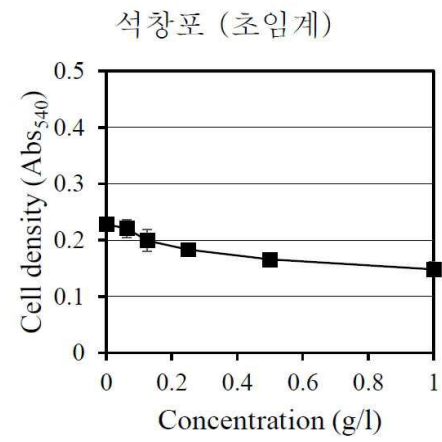
표 3

석창포 추출물의 농도(g/L)	천궁 추출물의 농도(g/L)	<i>C. albicans</i> 성장률(%)
0.25	0	76.7
0.25	0.125	65.3
0.25	0.25	54.9
0.125	0.25	64.1
0	0.25	68.9

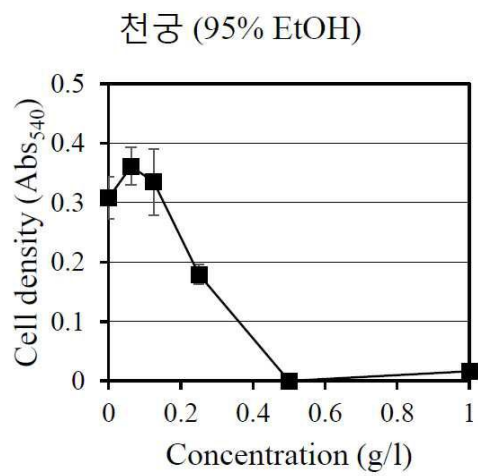
[0142]

도면

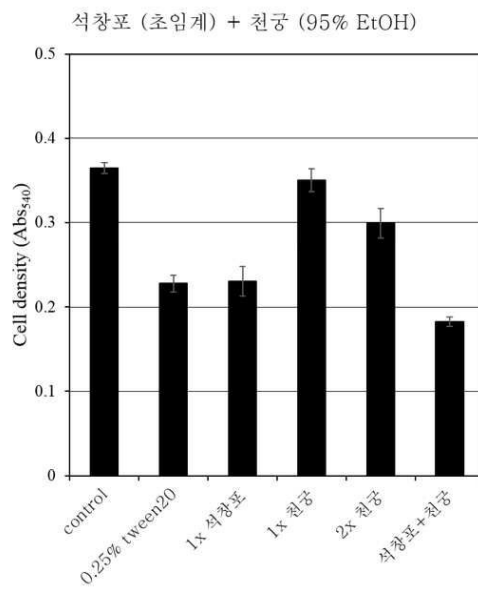
도면1



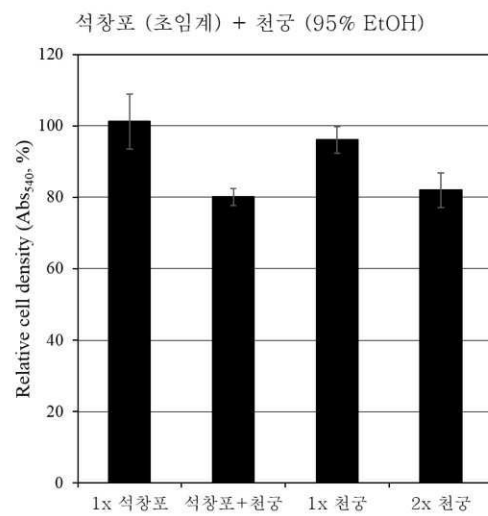
도면2



도면3



도면4



도면5

