



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호

10-2014-0090963

(43) 공개일자

2014년07월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/15 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

(21) 출원번호

10-2014-0003580

(22) 출원일자

2014년01월10일

심사청구일자

2014년01월10일

(30) 우선권주장

1020130002839 2013년01월10일 대한민국(KR)

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교)

(72) 발명자

이수연

충청북도 청주시 상당구 수영로 196번길 21 (금천동)

김선홍

서울특별시 중랑구 면목로42길 31 (면목동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

안소영

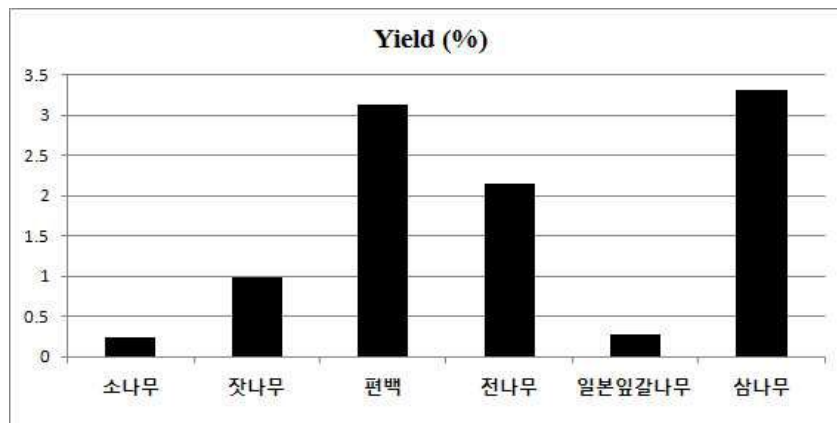
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 전나무 잎 정유를 함유하는, 호흡기질환 관련 박테리아에 대한 항균 조성물

(57) 요약

본 발명은 전나무 잎 정유 또는 전나무 잎 정유 분획물을 유효성분으로 함유하는, 화농성 연쇄구균(*Streptococcus. pyogenes*), 헤모필루스 인플루엔자 b형 균(*Haemophilus influenzae*), 폐렴간균(*Klebsiella pneumoniae*), 또는 폐렴 연쇄상구균(*Streptococcus pneumoniae*) 중에서 선택되는 하나 이상의 호흡기 질환 관련 박테리아에 대한 항균 조성물을 제공한다. 본 발명의 항균 조성물은 상기한 호흡기 질환 관련 박테리아에 대하여 우수한 항균 활성을 나타냄으로써, 화장료, 살균제, 또는 약학 제제에 적용될 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

장수경

부산광역시 동래구 미남로38번길 25-7 (사직동)

홍창영

서울특별시 강서구 강서로17가길 65 (화곡동, 세진빌라)

최인규

서울특별시 관악구 관악로30길 27 (봉천동, 관악푸르지오1단지아파트)

박미진

경기도 부천시 소사구 중동로71번길 39, 106동 1506호 (송내동, 뉴서울송내동아파트)

김호철

서울특별시 동대문구 천장산로11길 17, 204동 1103호 (이문동, 이문삼성래미안아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 S111010L040100

부처명 산림청

연구사업명 산림과학기술개발사업

연구과제명 한의학적 산림치유 개념 정립을 통한 한국형 산림치유 콘텐츠, 프로그램 개발 및 임상효과
규명

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교

연구기간 2012.04.01 ~ 2013.03.31

특허청구의 범위

청구항 1

전나무 잎 정유를 유효성분으로 함유하는, 화농성 연쇄구균(*Streptococcus. pyogenes*), 헤모필루스 인플루엔자 b형 균(*Haemophilus influenzae*), 수막염균(*Neisseria meningitidis*), 폐렴간균(*Klebsiella pneumoniae*), 또는 폐렴 연쇄상구균(*Streptococcus pneumoniae*) 중에서 선택되는 하나 이상의 호흡기 질환 관련 박테리아에 대한 항균 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 전나무 잎 정유는 수증기 증류법으로 추출된 것인 항균 조성물.

청구항 3

전나무 잎 정유 중 박층 크로마토그래피 상에서 체류인자(Retention Factor)가 0.5 미만인 분획물을 유효성분으로 함유하는, 화농성 연쇄구균(*Streptococcus. pyogenes*), 헤모필루스 인플루엔자 b형 균(*Haemophilus influenzae*), 수막염균(*Neisseria meningitidis*), 폐렴간균(*Klebsiella pneumoniae*), 또는 폐렴 연쇄상구균(*Streptococcus pneumoniae*) 중에서 선택되는 하나 이상의 호흡기 질환 관련 박테리아에 대한 항균 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 박층 크로마토그래피는 헥산:에틸아세테이트의 혼합비가 8:1인 용매를 이동상으로 사용하여 수행되는 것인, 항균 조성물.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 박층 크로마토그래피는 실리카겔을 고정상으로 사용하여 수행되는 것인, 항균 조성물.

청구항 6

베타카로필렌, 알파카로필렌, 및 카로필렌 옥사이드를 포함하는 전나무 잎 정유 분획물을 유효성분으로 함유하는, 화농성 연쇄구균(*Streptococcus. pyogenes*), 헤모필루스 인플루엔자 b형 균(*Haemophilus influenzae*), 수막염균(*Neisseria meningitidis*), 폐렴간균(*Klebsiella pneumoniae*), 또는 폐렴 연쇄상구균(*Streptococcus pneumoniae*) 중에서 선택되는 하나 이상의 호흡기 질환 관련 박테리아에 대한 항균 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 전나무 잎 정유 분획물은 베타카로필렌:알파카로필렌:카로필렌 옥사이드가 부피비 5 내지 10:2 내지 8:40 내지 60인 항균 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물에서 유효 성분은 0.005 중량% 이상 함유되는 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 호흡기 질환 관련 박테리아가 화농성 연쇄구균, 헤모필루스 인플루엔자 b형 균 또는 수막염균 중에서 선택되는 하나 이상인 항균 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 살균제, 화장료 또는 약학 제제의 형태로 제형화된 항균 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 살균제는 유체, 분말, 겔, 또는 스프레이의 제형인 항균 조성물.

청구항 12

제10항에 있어서, 화장료는 유연 화장수, 영양 화장수, 마사지 크림, 영양크림, 팩, 젤, 바디 로션, 연고, 겔, 크림, 패취, 분무제, 샴푸, 보디샴푸, 린스, 클렌징, 세안제, 비누, 트리트먼트, 또는 미용액 중 어느 하나의 제형인 향균 조성물.

청구항 13

제10항에 있어서, 약학 제제는 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 제형인 향균 조성물.

청구항 14

- 1) 전나무잎을 세척한 후, 분쇄하는 전나무잎 전처리단계;
- 2) 상기 전처리된 전나무잎에 증류수를 첨가한 후 1 내지 10시간 가열하는 단계;
- 3) 상기 가열로 얻은 증기를 포집하는 단계;
- 4) 상기 포집된 증기를 응축하는 단계;
- 5) 상기 응축된 정유 중 박층 크로마토그래피에서 체류 인자(RF)가 0.5 미만인 분획물을 수득하는 단계를 포함하는, 향균 활성이 있는 전나무 잎 정유 분획물의 제조방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 호흡기 질환 관련 박테리아들에 대하여 선택적인 향균 활성을 갖는 향균 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 최근 국내에서는 산림욕 효과와 피톤치드의 효능간에 긴밀한 연관이 있을 것으로 예상하고 있으나 정확한 과학적 규명은 아직 미비한 수준이었다. 이전의 보고와 연구들을 통해 수목으로부터 얻은 정유의 광범위한 향균 활성 등이 국내외에서 보고되고 있으나, 주로 허브 수종을 이용하고 있으며, 국내 수목 자원을 바탕으로 한 특정 호흡기 질환 관련 박테리아에 대한 향균 활성 연구 자료는 거의 찾아보기 어려운 실정이다.

[0003] 소나무, 잣나무 등의 수종은 국내에 가장 널리 분포하는 침엽수종이고 편백나무는 향균 효과가 뛰어난 수종으로 알려져 있으며 삼나무는 남부지방 및 제주도에 군락을 이루고 있다. 또한 리기다 소나무, 전나무, 낙엽송(일본 잎갈나무)은 국내 휴양림에 식재되어 있는 대표 수종으로 알려져 있다. 그 중 전나무는 겉씨식물 구과식물아강 구과목 소나무과의 상록교목으로써, 잣나무라고도 한다. 높이 40m, 지름 1.5m 에 달하는 고산 식물로서 풍치수로 흔히 심는다. 전나무잎 정유에는 알파 피넨(α -Pinen), 캄펜(Camphen), 베타 피넨(β -Pinen), 미르센(Myrcene), 카렌(Caren), 사비엔(Sabinene), 리모넨(Limonen), 테르핀(Terpinene), 보르네올(Borneol), 캐리필린(Caryophyllene) 등이 함유되어 있으며, 상기 전나무잎 정유는 류머티스성 관절염, 요통, 요도염, 폐결핵, 위염, 위궤양 등의 갖가지 염증성 질환에도 좋은 효과가 있으며, 가려움, 부스럼, 상처, 종기, 종창 등의 피부에 생기는 피부소양증이 있는 피부에 사용하면 완화되는 효과가 있을 뿐 아니라, 피부건조증, 발진 등의 피부트리블, 건선, 백반증, 피부의 신진대사촉진에 뛰어난 것으로 알려져 있다.

[0004] 한편, 화농성 연쇄구균(*Streptococcus. pyogenes*)은 구형의, 그람-양성 박테리아로써, 그룹 A 연쇄상 구균 감염의 원인이 된다. 화농성 연쇄구균은 경증의 얇은 피부 감염으로부터 생명을 위협하는 전신계 질환에 이르는 많은 중요 인간 질환의 원인이 된다. 경증 감염은 인두염, 국소 피부 감염, 농가진(impetigo)를 포함하며, 얇은 연조직염(erysipelas), 연조직염(cellulitis), 근막염(fasciitis) 역시 화농성 연쇄구균의 증식 및 번짐에 의해 야기된다. 또한, 화농성 연쇄구균은 감염후 비화농성 증후군 형태의 질환을 야기할 수 있으며, 이는 류마티스열(rheumatic fever)과 연쇄구균감염후 사구체신염(postinfectious glomerulonephritis)을 포함한다.

[0005] 헤모필루스 인플루엔자 b형 균(*Haemophilus influenzae*)은 그람-음성, 막대-형태의 박테리아로써, 독감이 바이러스에 의해 야기된다는 병인이 명확해진 1933년까지 인플루엔자의 원인으로 잘못 알려져 있었다. 대부분의 헤모필루스 인플루엔자 b형 균 균주들은 기회감염성 병원균으로, 대개 질환을 야기하지 않고 숙주 내에서 생존하나, 다른 인자들이 기회를 만들때에만 문제를 일으킨다. 헤모필루스 인플루엔자 b형 균에 의해 야기되는 자연 획득 질환은 인간에게서만 나타나는 것으로 보이며, 유아나 영아에게 세균혈증(bacteremia), 폐렴(pneumonia), 급성 세균성 수막염을 일으키고, 때때로, 연조직염, 골수염, 후두개염, 감염성 관절염을 야기한다.

- [0006] 수막염균(*Neisseria meningitidis*)은 종종 뇌척수막염균으로도 언급되며, 수막염과 수막염구균균혈증과 같은 다른 형태의 뇌척수막염성 질환을 야기할 수 있는 박테리아이다. 그람 염색시, 그람-음성 쌍구균이며, 박테리아 시험 배양물은 효소 사이토크롬 옥시다제에 대하여 양성을 나타내는 것으로 보인다.
- [0007] 폐렴간균(*Klebsiella pneumoniae*)은 그람-음성, 비-이동성, 캡슐화, 락토즈 발효성, 조건적 혐기성, 막대-모양의, 박테리아이다. 폐렴간균은 클레브시엘라 폐렴(*Klebsiella pneumoniae*)은 일으키며, 인간 폐 염증반응, 세포 괴사를 동반한 출혈을 일으킨다. 폐렴 간균은 또한 비뇨기관, 담관 및 수술 상처 부위에서의 감염을 야기한다. 임상적 질환들에는 폐렴, 혈전정맥염, 요로감염, 쓸개염, 설사, 상부 호흡기 감염, 상처 감염, 골수염, 수막염, 세균혈증, 패혈증을 포함한다.
- [0008] 폐렴 연쇄상구균(*Streptococcus pneumoniae*)은 그람-양성, 알파-용혈성, 내기성 혐기성 박테리아이다. 폐렴 연쇄상구균은 그 명칭에도 불구하고, 폐렴 이외에 많은 종류의 폐렴쌍구균성 감염을 야기한다. 이러한 침습성 폐렴쌍구균성 질환들은 급성 동염(sinusitis), 중이염, 수막염, 세균혈증, 패혈증, 골수염, 화농성 관절염, 심내막염, 복막염, 심장막염, 연조직염, 뇌농양을 포함한다.
- [0009] 위 5종의 박테리아들은 주로 폐렴 등과 같은 호흡기 질환 환자들로부터 분리되는 병원성 박테리아로써, 이를 치료하기 위해 페니실린, β -lactam과 같은 광범위 항생제가 사용되고 있으나 무분별한 항생제의 남용으로 β -lactamase와 같은 내성 물질을 생성하는 항생제 내성 균주인 것으로 알려져 있다.
- [0010] 그러나, 최근 국내에서 식물 정유 관련 다양한 생리활성 연구가 진행되고 있으나, 수목 정유의 호흡기 관련 박테리아에 대한 항균 활성에 대한 보고는 거의 없었던 바, 국내 수목 정유의 새로운 항균 활성을 제시하고자 한다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0011] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허공보 10-2012-0021409 (2012년 3월 9일 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0012] 본 발명은 호흡기 질환 관련 박테리아에 대하여 뛰어난 항균 활성을 나타내는 수종을 밝힘으로써, 호흡기 질환 관련 박테리아들에 대하여 항균 활성을 갖는 항균 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0013] 본 발명자들은 국내 수목으로부터 발생하는 피톤치드의 생리활성을 밝히고, 특히 호흡기 질환 관련 박테리아에 대한 항균 활성을 측정하여 가장 효과가 뛰어난 수종을 밝히고자, 국립 휴양림별 수목자원의 식생 현황 조사를 바탕으로 국내에 가장 널리 분포하고 있는 대표적 7가지 침엽수 수종인 소나무 (*Pinus densiflora*), 편백나무 (*Chamaecyparis obtusa*), 잣나무(*Pinus koraiensis*), 전나무 (*Abies holophylla*), 일본잎갈나무 (*Larix leptolepis*, 낙엽송)를 선정하여, 이들로부터 추출된 정유의 호흡기 관련 박테리아에 대한 억제 효과를 연구하던 중, 상기 수종 정유들이 특정 호흡기 질환 관련 박테리아에 대하여 특이적인 항균 활성을 나타내는 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.
- [0014] 본 발명은 전나무 잎 정유를 유효성분으로 함유하는, 화농성 연쇄구균(*Streptococcus. pyogenes*), 헤모필루스 인플루엔자 b형 균(*Haemophilus influenzae*), 수막염균(*Neisseria meningitidis*), 폐렴간균(*Klebsiella pneumoniae*), 또는 폐렴 연쇄상구균(*Streptococcus pneumoniae*) 중에서 선택되는 하나 이상의 호흡기 질환 관련 박테리아에 대한 항균 조성물을 제공한다.
- [0015] 또한 본 발명은 전나무 잎 정유 중 박층 크로마토그래피 상에서 체류인자(Retention Factor)가 0.5 미만인 분획물을 유효성분으로 함유하는, 화농성 연쇄구균(*Streptococcus. pyogenes*), 헤모필루스 인플루엔자 b형 균(*Haemophilus influenzae*), 수막염균(*Neisseria meningitidis*), 폐렴간균(*Klebsiella pneumoniae*), 또는 폐렴 연쇄상구균(*Streptococcus pneumoniae*) 중에서 선택되는 하나 이상의 호흡기 질환 관련 박테리아에 대한 항균 조성물을 제공한다. 상기 체류인자는 바람직하게는 0.2 내지 0.4, 보다 바람직하게는 0.3이 될 수 있다. 그러나

박층 크로마토그래피의 종류에 따라 채류인자의 수치가 다르게 나타날 수 있다.

- [0016] 상기 박층 크로마토그래피는 실리카 겔 박층 크로마토그래피 또는 탄소 박층 크로마토그래피가 될 수 있으나, 박층 크로마토그래피의 고정상의 종류는 이에 제한되지 않는다.
- [0017] 상기 박층 크로마토그래피는 핵산:에틸아세테이트를 혼합한 혼합용매를 이동상으로 사용하여 수행할 수 있으며, 바람직하게는 핵산:에틸아세테이트의 혼합비가 8:1인 용매를 이동상으로 사용하여 수행될 수 있다.
- [0018] 본 발명은 베타카로필렌, 알파카로필렌, 및 카로필렌 옥사이드를 포함하는 전나무 잎 정유 분획물을 유효성분으로 함유하는, 화농성 연쇄구균(*Streptococcus. pyogenes*), 헤모필루스 인플루엔자 b형 균(*Haemophilus influenzae*), 수막염균(*Neisseria meningitidis*), 폐렴간균(*Klebsiella pneumoniae*), 또는 폐렴 연쇄상구균(*Streptococcus pneumoniae*) 중에서 선택되는 하나 이상의 호흡기 질환 관련 박테리아에 대한 항균 조성물을 제공한다.
- [0019] 상기 전나무 잎 정유 분획물은 베타카로필렌:알파카로필렌:카로필렌 옥사이드를 부피비 5 내지 10: 2 내지 8: 40 내지 60으로 포함할 수 있다.
- [0020] 상기 항균 조성물에서 유효성분에 해당하는 전나무 잎 정유 또는 전나무 잎 정유 분획물의 함량은 그 적용 형태 및 조건 등에 따라서 적절히 조절 가능하며, 예컨대, 전체 조성물 중량을 기준으로 0.005 내지 60 중량%, 바람직하게는 0.01 내지 30 중량% 이나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0021] 바람직한 본 발명의 구현 형태로서, 본 발명은 전나무 잎 정유 또는 전나무 잎 정유 분획물을 유효성분으로 함유하는, 호흡기 질환 관련 박테리아가 화농성 연쇄구균, 헤모필루스 인플루엔자 b형 균 또는 수막염균 중에서 선택되는 하나 이상인 항균 조성물의 호흡기 질환 관련 박테리아에 대한 항균 조성물을 제공한다.
- [0022] 본 발명은
- [0023] 1) 전나무잎을 세척한 후, 분쇄하는 전나무잎 전처리단계;
- [0024] 2) 상기 전처리된 전나무잎에 증류수를 첨가한 후 2 내지 6시간 가열하는 단계;
- [0025] 3) 상기 가열로 얻은 증기를 포집하는 단계;
- [0026] 4) 상기 포집된 증기를 응축하는 단계;
- [0027] 5) 상기 응축된 정유 중 박층 크로마토그래피에서 채류 인자(RF)가 0.5 미만인 분획물을 수득하는 단계를 포함하는, 항균 활성이 있는 전나무 잎 정유 분획물의 제조방법을 제공한다.
- [0028] 또한 본 발명은 또한 소나무 잎 정유, 잣나무 잎 정유, 또는 이들의 혼합물을 유효성분으로 함유하는, 수막염균(*Neisseria meningitidis*)에 대한 항균 조성물을 제공한다.
- [0029] 본 발명은 또한 삼나무 잎 정유를 유효성분으로 함유하는, 화농성 연쇄구균(*Streptococcus. pyogenes*)에 대한 항균 조성물을 제공한다.
- [0030] 본 발명은 또한 일본잎갈나무 잎 정유를 유효성분으로 함유하는, 헤모필루스 인플루엔자 b형 균(*Haemophilus influenzae*)에 대한 항균 조성물을 제공한다.
- [0031] 본 발명은 또한 편백나무 잎 정유를 유효성분으로 함유하는, 화농성 연쇄구균(*Streptococcus. pyogenes*), 헤모필루스 인플루엔자 b형 균(*Haemophilus influenzae*), 또는 헤모필루스 인플루엔자 b형 균(*Haemophilus influenzae*) 중에서 선택되는 하나 이상의 호흡기 질환 관련 박테리아에 대한 항균 조성물을 제공한다.
- [0032] 본 발명의 항균 조성물은 화농성 연쇄구균, 헤모필루스 인플루엔자 b형 균, 수막염균, 폐렴간균 또는 폐렴 연쇄상구균 중에서 선택되는 하나 이상의 호흡기 질환 관련 박테리아에 대하여 우수한 항균 활성을 나타내며, 화장품, 살균제, 또는 약학 제제에 적용될 수 있다.
- [0033] 따라서, 본 발명의 항균 조성물은 화농성 연쇄구균 감염 관련 질환, 예컨대, 인두염, 국소 피부 감염, 농가진, 얇은연조직염, 연조직염, 근막염, 류마티스염, 연쇄구균감염후 사구체신염; 헤모필루스 인플루엔자 b형 균 감염 관련 질환, 예컨대, 세균혈증, 폐렴, 급성 세균성 수막염, 연조직염, 골수염, 후두개염, 감염성 관절염; 수막염균 감염 관련 질환, 예컨대, 수막염, 수막염구균혈증 등 뇌척수막균성 질환; 폐렴간균 감염 관련 질환, 예컨대, 클레브시엘라 폐렴(*Klebsiella pneumoniae*), 인간 폐 염증반응, 세포괴사, 비뇨기관, 담관 및 수술 상처 부위에서의 감염들, 및 이에 의한 임상적 질환들인 폐렴, 혈전정맥염, 요로감염, 쓸개염, 설사, 상부 호흡기

감염, 상처 감염, 골수염, 수막염, 세균혈증, 패혈증; 폐렴 연쇄상구균 감염 관련 질환, 예컨대, 폐렴, 기타 폐렴쌍구균성 감염, 급성 동염, 중이염, 수막염, 세균혈증, 패혈증, 골수염, 화농성 관절염, 심내막염, 복막염, 심장막염, 연조직염, 뇌농양의 예방 내지 치료에 이용될 수 있다.

[0034] 본 발명의 전나무 잎 정유는 전나무 잎을 세척, 건조, 절단 및 분쇄, 추출 및 농축, 숙성단계를 걸쳐 얻을 수 있다. 본 발명에 있어서, 전나무 잎 정유는 통상적인 방법, 예를 들어, 물 추출법, 물+알코올 추출법, 알코올 추출법, 수증기증류 추출법 등에 의하여 전나무 잎으로부터 추출될 수 있다. 채택된 추출방법에 따라 추출물 내에 함유된 성분 및 조성이 상이함은 당업자에게 자명하다. 본 발명에서 바람직한 전나무 잎 정유는 수증기증류 추출법을 통해 얻어진다.

[0035] 수증기증류 추출법은 당 분야에 알려져 있으며, 구체적 실례는 본원의 실시예에 기재된 바와 같다. 수증기증류 추출을 수행하기 위한 전나무 잎과 정제수의 비율은 1:1 내지 1:15 이며, 바람직하게는 1:6 내지 1:10, 더욱 바람직하게는 1:8 이다 (중량 기준). 전나무 잎과 정제수를 증류탱크 내에서 70 °C 내지 500 °C, 바람직하게는 80 °C 내지 150 °C, 더욱 바람직하게는 약 100°C에서, 약 3 시간 내지 수 일, 바람직하게는 4 내지 8 시간 이상, 보다 바람직하게는 6 시간 이상 단회 또는 복수회로 증류시킨다. 이렇게 얻어진 증류물을 냉각 및 응축하여 얻어진 응축물을 획득하여 사용할 수 있다. 또한, 얻어진 응축물을 당 분야의 통상의 방법으로 추가로 농축 및 여과하여 더욱 순도 높은 전나무 잎 정유를 얻을 수 있다.

[0036] 본 발명의 바람직한 구현 형태로서, 본 발명의 항균 조성물은 살균제 형태로 적용될 수 있다. 즉, 본 발명은 식품, 식품 가공 장비, 식품 가공 공장, 선박 및 식품 보관소와 같은 식품과 접촉하게 되는 표면, 및 농약, 의약품, 환경 안전 등 모든 다른 상황에서 상기한 박테리아 오염의 제거, 감소 및/또는 예방을 위한 살균제를 제공한다. 상기한 박테리아들은 식재료, 의료 장치 및 병원과 수술실의 모든 종류의 표면을 잠재적으로 감염시킬 수 있다.

[0037] 본 발명의 살균제는 수술 전 또는 후에 사용될 수 있거나, 예를 들어 혈액투석하는 동안, 조산아 및 면역약화된 환자, 또는 보철장치를 필요로 하는 대상체 등에 대하여 예방적으로 사용될 수 있으며, 식품을 취급하는 환경 등에서도 바람직하게 사용할 수 있다. 구체적으로는, 식품을 취급하는 사람의 손이나 의복, 조리 기구, 조리실 등을 청정하게 유지하기 위한 살균제로서 사용할 수 있다.

[0038] 또한, 본 발명의 살균제는, 예컨대 병원, 치과, 동물병원, 주방 또는 욕실에서 사용을 위하여, 예컨대 유체, 분말, 겔 형태의 조성물, 스프레이, 또는 살균 시트 제품의 성분으로 제조될 수 있다. 상기 조성물은 그의 각 용도 및 형태를 위해 적합한 담체, 첨가제, 희석제 및/또는 부형제 뿐만 아니라 항균 활성을 지지하는 제제를 각각 부가적으로 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 살균제는 의류 또는 천과 같은 임의의 수단에 분무 또는 습윤시켜 적용될 수 있다.

[0039] 본 발명의 바람직한 구현 형태로서, 본 발명의 항균 조성물은 약학적 조성물로서 적용될 수 있다. 즉, 본 발명은 전나무 잎 정유 또는 전나무 잎 정유 분획물은 유효성분으로 함유하는, 화농성 연쇄구균, 헤모필루스 인플루엔자 b형 균, 수막염균, 폐렴간균, 또는 폐렴 연쇄상구균 중에서 선택되는 하나 이상, 보다 바람직하게는, 화농성 연쇄구균, 헤모필루스 인플루엔자 b형 균, 수막염균, 또는 폐렴간균 중에서 선택되는 하나 이상의 호흡기 질환 관련 박테리아의 감염증의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물을 제공한다. 상기한 박테리아 감염과 관련한 질환들은 당업계에 널리 알려져 있으며, 그 대표적 예들이 본 명세서의 배경기술에 기재되어 있다.

[0040] 본 발명의 약학적 조성물 내 유효성분으로 함유되는 전나무 잎 정유 또는 전나무 잎 정유 분획물은 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제 등과 함께 제제화할 수 있으며, 제제화에 관한 내용은 Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA 등의 문헌을 참조할 수 있다.

[0041] 본 발명의 구현형태로서, 본 발명의 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액 등의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0042] 여기에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등을 들 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0043] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희

석제 또는 부형제, 기타 약제학적으로 허용가능한 첨가제를 포함할 수 있다.

- [0044] 경구투여를 위한 고형제제로 제제화되는 경우, 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 가능하며, 이러한 고형 제제는 잣잎 추출물 이외에 적어도 한 가지 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로스 또는 락토즈, 젤라틴 등을 혼합하여 조제될 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다.
- [0045] 경구투여를 위한 액상제제로 제제화되는 경우, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 가능하며, 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0046] 비경구 투여를 위한 제제로 제제화되는 경우, 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 좌제의 기제로는 위텟솔, 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0047] 바람직한 구현예로써 본 발명의 약학적 조성물은 경구투여형 제형일 수 있으며, 구체적인 예로는 연고, 겔, 크림, 로션, 도포제, 외용액제, 틴크제, 외용산제, 분무제, 패치 등의 형태로 제형화될 수 있다. 이러한 제형은 당 분야의 통상적인 방법에 의하여 제조될 수 있다.
- [0048] 본 발명의 약학적 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 연령, 상태 및 체중, 비만의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 바람직한 효과를 위하여, 본 발명의 조성물의 투여량은 유효성분인 전나무 잎 정유 함량을 기준으로 성인 남성 기준 1일 10 mg/kg 내지 1000 mg/kg으로, 바람직하게는 100 mg/kg 내지 1000 mg/kg 이다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다. 그러나, 본 발명의 범주는 상기 투여량 및 투여횟수에 의해 제한되지 않는다.
- [0049] 본 발명의 약학적 조성물은 랫트, 마우스, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로, 예를 들면, 경구로, 또는 복강내, 직장내, 정맥내, 근육내, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내로 주사 등에 의해 투여되거나, 국부적으로 환부에 도말하여 적용될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 바람직한 구현 형태으로써, 본 발명의 항균 조성물은 화장료 조성물으로써 적용될 수 있다. 즉, 본 발명은 전나무 잎 정유를 함유하는, 화농성 연쇄구균, 헤모필루스 인플루엔자 b형 균, 폐렴간균, 또는 폐렴 연쇄상구균 중에서 선택되는 하나 이상, 보다 바람직하게는, 화농성 연쇄구균, 헤모필루스 인플루엔자 b형 균 또는 폐렴간균 중에서 선택되는 하나 이상의 호흡기 질환 관련 박테리아의 감염증의 예방을 위한 화장료 조성물을 제공한다.
- [0051] 본 발명의 화장료 조성물은 상기한 박테리아 감염을 예방하기 위한 임의의 제형일 수 있으며, 그 제형에 있어서 특별히 한정되지 않는다. 구체적으로 예를 들면, 유연화장수, 영양화장수, 영양로션, 마사지크림, 영양크림, 팩, 젤 또는 피부 점착 타입 화장료의 제형을 갖는 화장료 조성물일 수 있으며, 또한, 로션, 연고, 겔, 크림, 패취 또는 분무제와 같은 외용제품일 수 있고, 샴푸, 보디샴푸, 린스, 클렌징, 세안제, 비누, 트리트먼트, 미용액 등에 인공 향균제로 사용이 가능하다.
- [0052] 본 발명의 화장료 조성물에는 상기 성분과 더불어 필요에 따라 통상 화장료에 배합되는 다른 성분을 배합해도 된다. 이외에 첨가해도 되는 배합 성분으로서는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 정제수 등을 들 수 있다.
- [0053] 상기한 침엽수종(전나무)의 잎 정유의 제조, 제형, 구현형태, 제형, 함량 등에 관한 사항은 동일하게, 또는 당업자가 적절히 변경하여 삼나무 잎 정유, 일본잎갈나무 잎 정유, 편백나무 잎 정유에 대하여도 적용될 수 있으며, 다만, 각 수종이 항균활성을 나타내는 대상 박테리아는 각각 특이적이다.
- [0054] 본 발명의 용도, 조성물, 방법에서 언급된 사항은 서로 모순되지 않는 한 동일하게 적용된다.

발명의 효과

- [0055] 본 발명은 전나무 잎 정유 또는 전나무 잎 정유 분획물을 유효성분으로 함유하는 항균 조성물은 화농성 연쇄구균(*Streptococcus. pyogenes*), 헤모필루스 인플루엔자 b형 균(*Haemophilus influenzae*), 수막염균(*Neisseria*

meningitidis), 폐렴간균(*Klebsiella pneumoniae*), 또는 폐렴 연쇄상구균(*Streptococcus pneumoniae*) 중에서 선택되는 하나 이상의 호흡기 질환 관련 박테리아에 대한 활성을 나타내며, 따라서, 화장료, 살균제, 또는 약학 제제에 적용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 수증기 증류법(6 시간)에 의한 6종 침엽수 잎로부터 추출된 정유의 수율을 나타낸 그래프이다.

도 2는 전나무 잎 정유의 화농성 연쇄구균(*Streptococcus pyogenes*), 헤모필루스 인플루엔자 b형 균(*Haemophilus influenzae*), 수막염균(*Neisseria meningitidis*), 폐렴간균(*Klebsiella pneumoniae*)에 대한 항균 활성을 확인한 디스크 확산실험 결과이다.

도 3은 2시간 수증기증류추출된 전나무 잎 정유의 GC MS 크로마토그램 결과를 나타낸 것이다.

도 4는 6시간 수증기증류추출된 전나무 잎 정유의 GC MS 크로마토그램 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 제시한다. 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

<실시예 1> 6 수종 잎 정유의 제조

국립 휴양림에서 채취해 온 소나무(*Pinus densiflora*), 편백나무(*Chamaecyparis obtusa*), 잣나무(*Pinus koraiensis*), 전나무(*Abies holophylla*), 일본잎갈나무(*Larix leptolepis*) 각 수종의 잎을 즉시 2 내지 3 cm로 분쇄하여 증류장치에 잎 500 g과 증류수 4L를 첨가한 뒤 100℃에서 약 6시간 가열시켜 증발하는 수증기를 포집 및 5 내지 10℃의 냉각수로 응축하여 최종적으로 정유를 획득하였다. 이렇게 추출된 정유의 수율을 함수율을 고려하여 측정하였다. 각 수종 정유의 수율을 측정한 결과 기 건조량 500g을 기준으로 하여 소나무 0.25%, 잣나무 0.99%, 편백나무 3.1.3%, 전나무 2.15%, 일본잎갈나무 0.28%, 삼나무 3.3.1%가 잎으로부터 추출되었다(도 1). 정유를 획득하기 위해 사용된 수증기 증류 추출장치는 정유를 추출하기 위한 가장 일반적인 방법으로 열을 이용하였으며, 가열되는 수증기와 더불어 정유는 함께 상승하여 냉각수에 의해 액화되고, 냉각관을 통해 액화된 용액에는 대부분 물보다 비중이 작은 정유가 물 위로 분리되어 최종적으로 오일 형태로 획득된다.

<실시예 2> 디스크 확산법을 이용한 6 수종 잎 정유의 항균 활성 확인

본 발명에 사용된 박테리아 5종은 *Klebsiella pneumoniae* CCARM0015, *Haemophilus influenzae* CCARM 9001, *Neisseria meningitis* CCARM0073, *Streptococcus pyogenes* CCARM0032, *Streptococcus pneumoniae* CCRAM4001으로써, 항생제 내성 균주 은행 (Culture Collection of Antimicrobial Resistant Microbes) 으로부터 구입하여 사용하였으며 이는 국공립 연구소 및 아산병원, 영동세브란스 병원 등의 의료기관으로부터 2000년 내지 2004년도에 분리 및 분양된 균주였다.

상기 실시예 1에서 준비된 각 수목 잎의 정유들을 디스크 확산법을 이용하여 항균 활성 검증을 실시하였다. 항균 활성 검증을 위해 사용된 디스크 확산법은 정성적인 항균 활성 측정법으로 발육 억제대의 크기가 최저발육억제 농도(MIC)와 상관 관계를 유지하고 있다는 원리를 가지며 또한 임상적으로 알고 있는 내성 및 감수성균들의 반응을 조사함으로써 그 실용성이 입증된 방법이다.

Muller Hinton Agar, Nutrient Agar, chocolate agar 배지 위에 0.5 McFarland standard에 맞춘 균 현탁액 (108 CFU/ml) 0.5ml를 떨어뜨린 후 멸균된 면봉을 사용하여 배지 표면에 골고루 접종한 뒤 각 수종의 정유를 10, 5, 2.5ul로 흡수시킨 페이퍼 디스크 (8mm)를 배지 표면에 부착하여 36 내지 37℃, 24시간 동안 배양한 뒤 억제대 직경을 mm 단위로 측정하였다. 그 결과를 아래 표 1에 나타내었으며, 특히 전나무 잎 정유에 대한 실험 결과는 도 2로도 나타내었다.

[0064] [표 1] 디스크 확산법을 이용한 6 수종 잎 정유의 첨가량에 따른 박테리아의 성장 억제 직경(mm)

수종	첨가량 (μl)	박테리아				
		<i>S. pyogenes</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>N. meningitis</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
삼나무	10	10.3±0.06	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0
	2.5	0	0	0	0	0
소나무	10	0	0	18±0.4	0	0
	5	0	0	14±0.7	0	0
	2.5	0	0	11±0.3	0	0
잣나무	10	0	0	18±0.8	0	0
	5	0	0	16±0.9	0	0
	2.5	0	0	12±0.3	0	0
일본잎갈나무	10	0	15.9±0.89	0	0	0
	5	0	0	0	0	0
	2.5	0	0	0	0	0
전나무	10	23.1±0.12	38.2±0.97	-	30.05± 0.5	10±0.15
	5	20.4±0.12	30.8±2.13	-	28.2±0.12	0
	2.5	17.5±	30.5±1.08	-	23.8±0.54	0
편백나무	10	11.17±0.35	18.6±1.01	18±0.4	0	0
	5	10.1±0.32	13.5±0	13±1.2	0	0
	2.5	0	0	0	0	0

Paper disk의 크기: 8mm

- : 억제환이 나타나지 않음

[0065]

[0066]

위 표 및 도 2에 나타난 바와 같이, 디스크 확산법을 이용한 항균 스크리닝 결과 6가지 수종들 간의 활성 차이를 보이고 있으며 대체적으로 정유 첨가량에 따른 colony의 억제직경은 비례적으로 증가하는 경향을 나타냄이 확인되었다.

[0067]

삼나무는 *S. pyogenes*, 일본잎갈나무는 *H. influenzae*, 소나무와 잣나무는 *N. meningitis*에 대해서만 각각 항균 활성을 나타낸 반면, 전나무와 편백나무의 정유는 항균 스펙트럼의 범위가 넓게 관찰되었다. 특히 전나무 정유는 *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*에 대해서 6 수종 중 유일하게 활성을 보였다.

[0068]

특히, 전나무 정유는, 10, 5, 2.5 μl 모든 농도에서 *K. pneumoniae* 와 *H. influenzae*에서 뚜렷한 colony의 억제직경이 관찰되었다. 또한, 전나무 정유에 의한 *N. meningitis*의 성장을 관찰하여 보면 뚜렷한 억제직경이 확인되기 보다는 전체적으로 균의 conoly 수가 무처리 대조군과 뚜렷한 차이를 보이고 있어 박테리아의 성장을 저해시키는 것으로 판단되었다 (도 2).

[0069]

결과적으로, 6종의 수종 모두 적어도 한 개 이상의 박테리아에 대하여 항균 효과를 나타내었으며, 특히 전나무와 편백 정유가 두드러지는 활성을 나타내었다. 특히 전나무는 유일하게 *K. pneumoniae*에 대해서 뚜렷한 성장 억제 직경을 나타내었는데, *K. pneumoniae*는 복강 내 감염을 비롯한 폐렴, 균혈증 등을 유발하는 중요한 원인균이며 주로 ampicillin 항생제가 사용되었으나 내성물질인 extended-spectrum β-lactamase(ESBL)를 최대 35%까지 생성하는 균으로 널리 알려져 있다. 전나무 잎 정유는 *H. influenzae*에 대해서도 상대적으로 넓은 억제직경을 나타내었다. 이는 *Haemophilus* 속에서도 가장 중요한 균으로 인간의 호흡기 기관지 후두에 감염되어 폐렴, 균혈증, 심낭염, 중이염, 후두염 등을 일으킨다고 알려져 있으며 chloramphenicol, ampicillin 내성을 보인다고 밝혀져 있다.

[0070]

<실시예 3> 전나무 잎 정유의 성분 확인

[0071]

상기 실시예 2에서 5종 박테리아에 대하여 항균 활성을 나타낸 전나무 잎 정유의 활성에 주요 역할을 하는 유효성분을 검출하고자 휘발성 화합물 분석에 적합한 가스크로마토그래피(GC MS)를 수행하였다.

[0072]

상기 실시예 1에서 준비된 6시간 추출로 얻어진 전나무 잎 정유를 이용하여 GC MS 분석을 실시하였다. GC (model-Agilent 7890A) 컬럼은 DB-5 (60.0 m × 320 μm × 1.8 μm)를, Hewlett-Packard HP 5973 시리즈 질량검출기(MS)를 사용하였으며 운반 기체는 헬륨을 이용하였다. 온도 조건은 인젝터 220 °C, 디텍터 250 °C 이었으며, 오븐 온도는 초기온도 50 °C에서 5분간 유지시킨 후 5 °C/분씩 승온시켜 최종온도 250 °C까지 상승시킨 후 10분간 유지하였다. 분배율(Split ratio)은 20:1, 질량 범위(mass range)는 35 ~ 350 m/z, 스캔 모드로 분석 조건을 설정하였다. 얻어진 시료 피크의 질량 데이터와 표준 라이브러리 데이터와의 비교를 통하여 최종적으로 피크의 화합물 구조를 확인하였다.

[0073]

비교를 위하여, 추출시간을 2시간으로 한 것을 제외하고 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 얻어진 전나무 잎 정유를 이용하여 상기 가스크로마토그래피를 수행하였다.

[0074] 그 결과를 도 3, 4 및 아래 표 2에 나타내었다.

[표 2] 가스크로마토그래피 분석에 의한 추출시간별 전나무 정유의 성분

	검출 시간	성분	2시간 추출 정유	6시간 추출 정유
1	16.83	α -Pinene	20.68	12.33
2	17.47	Camphene	14.03	10.89
3	18.44	β -Pinene	4.30	0.92
4	18.66	β -Myrcene	11.07	7.64
5	19.50	3-Carene	25.34	16.97
6	20.17	Limonene	4.75	2.79
7	22.09	α -Terpinolene	2.24	1.55
8	25.11	Borneol	-	0.48
9	28.08	Bornyl acetate	7.60	14.86
10	31.97	Caryophyllene α -Caryophyllene	2.05	1.28
11	33.20	ne	0.40	0.91
12	33.33	Murolene	-	0.17
13	34.33	Cubenene	-	0.41
14	34.83	α -Bisabolene	-	0.32
15	35.23	Nerolidol	-	1.52
16	38.73	α -Bisabolol	2.18	17.12
Total			94.64	90.16

[0076]

[0077] 위 표에 나타난 바와 같이, 전나무 잎 정유의 구성 성분을 분석해본 결과, 알파피넨(α -pinene), 캄펜(camphene), 카렌(carene), 베타피넨(β -pinene), 보르네올(borneol), 보르닐 아세테이트(bornyl acetate), 카로필렌(caryophyllene), 카로필렌 옥사이드(caryophyllene oxide), 리모넨(limonene), 알파 비사볼롤(α -bisabolol)이 주성분으로 검출되었다.

[0078] 전나무는 계통적으로 소나무과에 속하는 수종으로 알려져 있으며 두 수종간의 공통 성분으로 알파피넨(α -pinene), 보르닐 아세테이트(bornyl acetate), 캄펜(camphene), 카로필렌(caryophyllene) 등이 검출 되었으나, 위 실시예 2에서 확인된 바와 같이, 활성 면에서는 소나무와 확연한 차이를 나타내었다.

[0079] <실시예 4> 전나무 잎 정유의 분획

[0080] 실시예 1에서 수득한 전나무 잎 정유를 실리카겔 칼럼을 사용하는 오픈 칼럼 크로마토그래피(open column chromatography)를 이용하여 분획하였다. 이동상으로 헥산과 에틸아세테이트를 50:1, 32:1, 16:1, 8:1, 4:1, 2:1(v/v)로 혼합한 용매를 각각 2리터씩 흘려 주어 30 ml 씩 총 180 개의 분획물을 얻었다.

[0081] 상기 180개의 분획물들 각각에 대하여 실리카겔 박층 크로마토그래피(Thin-layer chromatography, TLC)를 수행하였다. 독일의 MERCK 사의 TLC Silica gel 60 F254를 사용하였고, 이동상으로는 헥산과 에틸아세테이트를 8:1로 혼합한 용매를 사용하였다.

[0082] RF(Retention factor, 체류인자)는 총 고정상 길이를 1로 보았을 때 이동한 거리를 의미한다. RF 수치에 따라 총 6가지 분획물 A (RF value 1~0.8), B (RF value 0.6), C (RF value 0.45), D (RF value 0.3), F (RF value 0.1~0)로 분류하였다. TLC상에서 확인된 RF 수치에 따라 상기 180개 분획물들은 6가지 분획물로 분류하고 이하의 실험을 수행하였다.

[0083] <실시예 5> 전나무 잎 정유 분획물의 항균 활성 확인

[0084] 5-1. 디스크 확산법을 이용한 전나무 잎 정유 분획물의 항균 활성 확인

[0085] 상기 실시예 4에서 수득된 6가지 분획물 각 10 μ l의 호흡기 질환 유발 박테리아들에 대한 항균 활성을 디스크 확산법을 이용하여 평가하였다. 사용한 박테리아 및 실험 방법은 상기 실시예 2에 나타난 바와 같다. 결과는 하기 표 3에 나타내었다.

[0086] [표 3] 디스크 확산법을 이용한 6가지 전나무 정유 분획물의 박테리아의 성장 억제 직경(mm)

	S. pyogenes	S. pneumoniae	H. influenzae	K. pneumoniae	N. meningitis
분획물 A	-	-	-	-	-
분획물 B	-	-	-	-	-
분획물 C	-	-	-	-	-
분획물 D	12.04	12.30	12.56	11.59	12.52
분획물 E	-	-	-	-	-
분획물 F	-	-	-	-	-

Paper disk의 크기: 8mm
- : 억제환이 나타나지 않음

[0087]

[0088] 실험 결과, 전나무 잎 정유 분획물 D(RF value 0.3)에 의해서 박테리아의 성장 억제가 확인되었다.

[0089] 억제 정도는 육안으로 확인된 colony의 억제 직경을 측정하였다. 다른 분획물들은 항균 활성을 나타내지 않았으나, 분획물 D는 5종의 박테리아 모두에 대하여 항균 활성을 나타내었다.

[0090] 5-2. 배지 희석법을 이용한 전나무 잎 정유 분획물 D의 항균 활성 확인

[0091] 디스크 확산법에서 가장 우수한 항균 활성을 보인 분획물 D의 항균 활성을 배지 희석법으로 추가적으로 확인하고 전나무 잎 정유의 항균 활성과 비교하였다.

[0092] 실시예 1에서 수득한 전나무 잎 정유 및 분획물 D를 각각 단계별로 희석하여 액체배지에 넣고 배양한 후, 흡광도를 측정하여 최소 발육억제 농도(MIC)를 측정하였다. 그 결과 분획물 D의 최소 발육억제 농도는 S. pyogenes에 대해 0.15 ul/ml 이었고, 그 외의 박테리아에 대해서는 전나무 잎 정유와 동일했다.

[0093] 구체적인 결과는 하기 표 4에 나타내었다. 이로부터 전나무 잎 정유의 항균 활성은 분획물 D에 의한 것임을 알 수 있었다.

[0094] [표 4] 배지 희석법에 의한 전나무 정유 및 분획물 D의 박테리아 억제 농도 (ul/ml)

	S. pyogenes	S. pneumoniae	H. influenzae	K. pneumoniae	N. meningitis
조추출물	0.31	0.62<	0.62<	0.31	0.62
분획물 D	0.15	0.62	0.62	0.31	0.62

[0095]

[0096] <실시예 6> 전나무 잎 정유 분획물 D의 성분 확인 및 단일성분과의 효과 비교

[0097] 6-1. 전나무 잎 정유 분획물 D의 성분 확인

[0098] 상기 실시예 3과 동일한 방법으로 가스크로마토그래피를 수행하여 각 전나무 잎 정유 분획물들의 성분을 분석하였다. 결과는 하기 표 5에 나타내었다. 표 내의 숫자는 각각의 분획물에 대하여 전체를 100%라고 가정하였을 시, 상대적으로 각 성분이 차지하는 비율(%)을 나타낸다.

[0099] [표 5] 가스크로마토그래피 분석에 의한 전나무 정유 및 분획물의 성분 분석

구성 성분	전나무 잎 정유	A	B	C	D	E	F	G
α-Pinene	10.74	94.37		9.61				
β-Pinene	5.31		29.45					
Camphene	1.96			13.83				
3-Carene	14.02			19.51				
Limonene	16.89		70.55	55.17				
Borneol	4.89					81.17		
Bornyl acetate	19.63						93.64	
β-Caryophyllene	1.52				7.51			
α-caryophyllene	0.83				4.87			
Caryophyllene oxide	2.77				53.30			
α-Bisabolol	5.42							100

[0100]

[0101] 분획물 D의 구성성분을 살펴보면, 카로필렌계 화합물이 포함되어 있으며 베타카로필렌(7.51%), 알파카로필렌(4.87%), 카로필렌 옥사이드 (53.3%)가 포함되어 있다. 상기 베타카로필렌, 알파카로필렌, 카로필렌 옥사이드의

총 함이 100%가 아닌 것은 용매 및 기타 물질들이 분획물 내에 포함되어 있기 때문으로 보인다. 이러한 카로필렌 계 화합물들은 분획물 D에만 포함되어 있는데, 이로부터 전나무 잎 정유의 향균 활성은 카로필렌 계 화합물에 의한 것임을 알 수 있다.

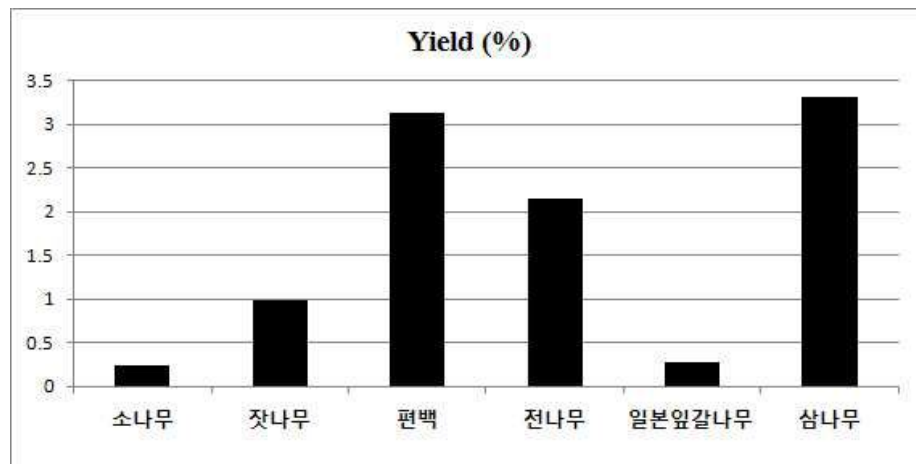
[0102] 6-2. 전나무 잎 정유 분획물 D와 단일성분과의 효과 비교

[0103] 분획물 D의 향균 활성과 비교하기 위하여, 시그마 알드리치로부터 구입한 베타카로필렌, 알파카로필렌, 카로필렌 옥사이드의 표준 시약품 각 10 μ l의 향균 활성을 상기 실시예 2에 기재한 것과 동일하게 디스크 확산법으로 향균 활성을 측정하였다. 그 결과 베타카로필렌, 알파카로필렌, 카로필렌 옥사이드는 *K. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitis*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* 박테리아 모두에 대하여 향균 활성을 나타내지 않았다.

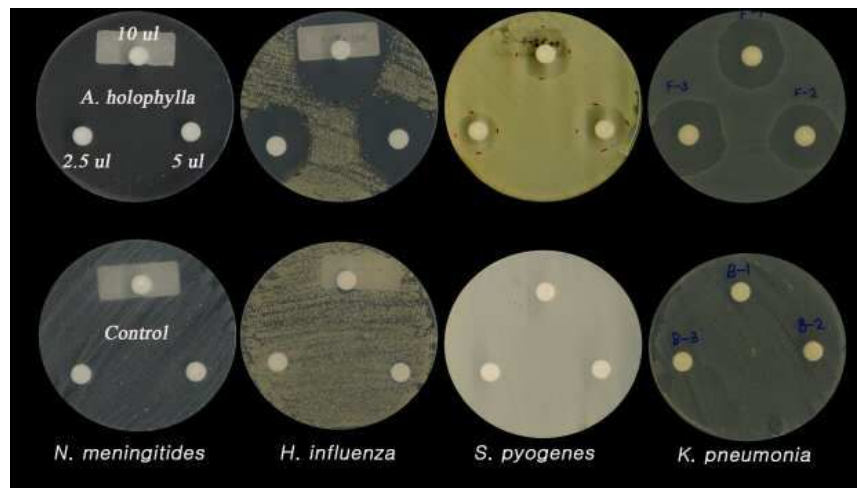
[0104] 따라서 분획물 D의 우수한 향균 활성은 베타카로필렌, 알파카로필렌, 카로필렌 옥사이드 각각에 의한 것이 아니고, 이들 화합물들의 조합에 따른 시너지적 효과라고 판단된다.

도면

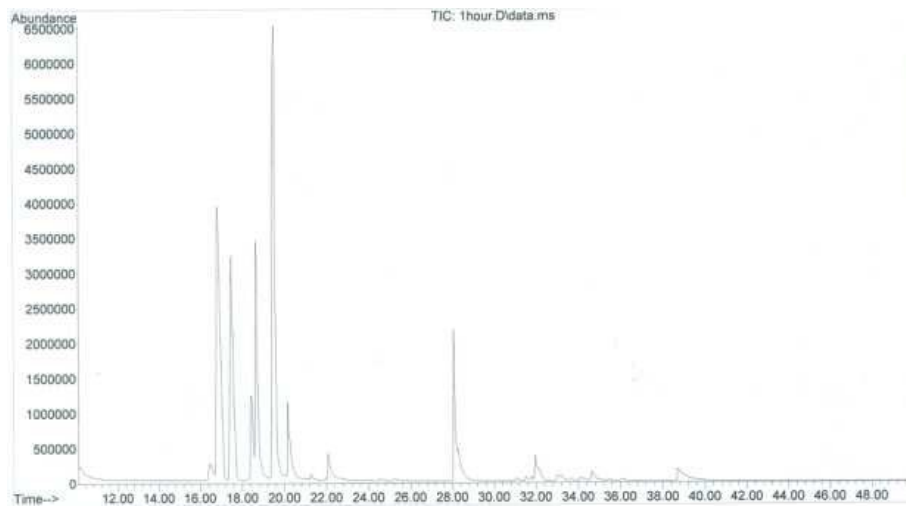
도면1



도면2



도면3



도면4

