



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0071601
(43) 공개일자 2022년05월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/342 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61K 8/9789 (2017.01)
A61P 31/10 (2006.01) A61Q 17/00 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/342 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2020-0158926

(22) 출원일자 2020년11월24일

심사청구일자 2020년11월24일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

주식회사 코스모젠

경기도 수원시 영통구 덕영대로1556번길 16, 비동604호(영통동, 디지털엠피아이)

(72) 발명자

김기영

경기도 용인시 수지구 푸른솔로 49, 706동 1302호 (죽전동, 도담마을7단지뜨리에체아파트)

김지영

서울특별시 서초구 나루터로4길 28, 306동 1204호 (잠원동, 신반포8차아파트)

차윤지

경기도 수원시 영통구 영통로153번길 72-3, A동 201호 (망포동, 태성빌라)

(74) 대리인

특허법인(유한)아이시스

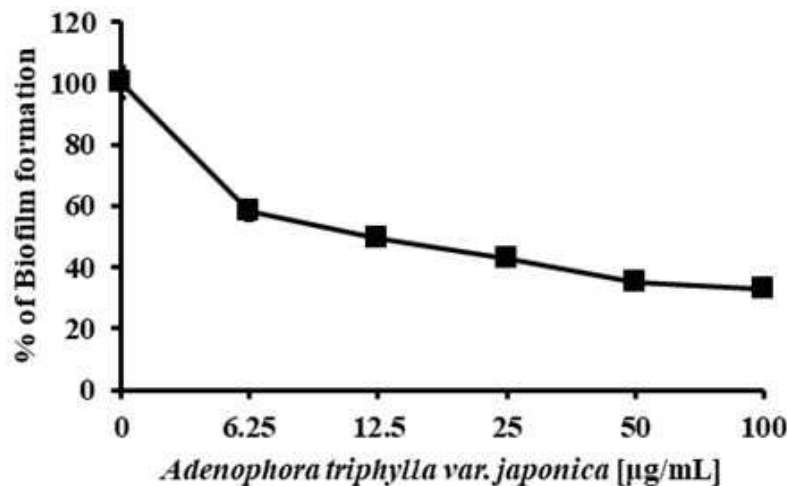
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 잔대 추출물을 유효성분으로 포함하는 캔디다 생물막 형성 억제용 조성물 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 진균, 그 중에서도 캔디다균(*candida* spp.)의 생물막의 형성을 억제하는 잔대(*Adenophora triphylla* var. *janponica*) 추출물을 포함하는 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로 천연 식물인 잔대 유래의 추출물을 사용하기에 인체에 대한 독성이 낮고 항진균제와 병용하여 사용하는 경우 항진균제의 감수성을 증진시킬 수 있어 캔디다균을 비롯한 진균증의 치료 관련 분야에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)

A61K 8/9789 (2017.08)

A61P 31/10 (2018.01)

A61Q 17/005 (2013.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

잔대(*Adenophora triphylla* var. *janponica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 캔디다균(*candida* spp.)의 생물막(Biofilm) 형성 억제 또는 제거용 조성물.

청구항 2

제 1항의 조성물을 포함하는, 항진균 보조제.

청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 항진균 보조제는 항진균제와 병용투여하는 것을 특징으로 하는, 항진균 보조제.

청구항 4

제 3항에 있어서,

상기 병용투여는 동시에(simultaneous), 별도로(separate) 또는 순차적(sequential)으로 투여되는 것을 특징으로 하는, 항진균 보조제.

청구항 5

제 3항에 있어서,

상기 항진균제는 부테나핀-염산, 나프티핀-염산, 테르비나핀-염산, 베토코나졸 질산염, 클로트리마졸, 에코나졸 질산염, 케토코나졸, 미코나졸 질산염, 옥시코나졸 질산염, 이트라코나졸, 플루코나졸, 테르비나핀, 암포테리신 B, 나타마이신, 리모시딘, 필리핀, 니스타틴, 캔디신, 이트라코나졸, 플루시토신, 케토코나졸, 암포테리신 및 미코나졸로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 항진균 보조제.

청구항 6

제 2항에 있어서,

상기 항진균 보조제는 항진균제의 진균에 대한 감수성을 증진시키는 것을 특징으로 하는, 항진균 보조제.

청구항 7

잔대(*Adenophora triphylla* var. *janponica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 캔디다 감염증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 8

잔대(Adenophora triphylla var. janponica) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 캔디다 감염증 개선용 화장료 조성물.

청구항 9

잔대(Adenophora triphylla var. janponica) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 캔디다 감염증 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 캔디다 생물막 억제용 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로 잔대 추출물을 유효성분으로 포함하는 캔디다 생물막 형성 억제용 조성물 및 이를 이용한 건강기능식품 조성물, 화장료 조성물 및 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 생물막이란 고체 표면에 붙어있는 미생물이 대사과정에서 분비한 세포외고분자물질(extracellular polymeric substances, EPS)로, 대부분의 미생물은 생물막의 상태로 다양한 미생물들이 공존하고 있으며, 미생물 감염의 65%는 생물막에 기인하는 것으로 추정되고 있다.

[0003] 생물막 내의 미생물은 온도 또는 습도의 변화, 자외선 노출, 항생제(antibiotics) 노출 등의 미생물에 유해한 외부 환경으로부터 보호를 받는다. 예를 들면, 생물막 내의 세균은 부유 세균(planktonic cells)에 비하여 항균 물질이나 항생제에 대한 저항성이 10~1000배 정도로 높은 것으로 알려져 있다. 또한, 소독이나 살균 등으로도 생물막은 완벽하게 제거되지 않기 때문에, 이에 의한 오염(biofouling)은 수돗물, 음식 및 의료산업 등 많은 분야에 걸쳐 막대한 피해를 입히고 있다.

[0004] 미생물의 감염은 다양한 종류의 항생 물질과 항진균 물질을 활용하고 있으나, 현재 다양한 부작용과 내성균의 발생으로 인하여 새로운 표적을 가진 신규 항생물질과 항진균 물질이 요구되고 있으며, 생물막 형성의 억제는 미생물의 감염을 억제하고 기존의 항진균 또는 항생물질의 효능을 증진 시킬 수가 있어 새로운 표적으로 중요한 후보가 될 수 있다. 이러한 이유로 기존에 생물막의 형성을 억제하기 위해 활용되는 방법은 항생물질을 사용하는 것이지만, 이는 시간이 지나면 자체 분해가 일어나기도 하고, 항생 물질에 대한 내성을 가지는 내성균이 발생하기도 하여 큰 효과를 기대하기는 어려운 실정이다. 따라서 항생물질이 아닌 미생물의 생물막 형성을 특이적으로 저해함으로 부작용이 적고 내성 발생이 적으며 기존의 항생물질의 효능을 증진 시키는 방법이 연구되고 있다.

[0005] 잔대는 전통적으로 가래, 기침 및 기관지를 치료할 때 사용하는 식물로 알려져 있으며, 항진균 효능과 심근효과가 있는 것으로 알려져 있고, 잔대에 의한 항균 효능에 관한 문헌도 있으나(Journal of the Korea Convergence Society Vol. 8. No.12, pp. 109-117, 2017), 잔대 추출물에 의한 생물막 억제효과에 대해서는 아직 연구가 이루어지지 않은 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명자들은 기존에 상기와 같은 문제점을 해결하고 진균, 특히 캔디다의 생물막 형성을 저해하고 전염성을 감소시킬 수 있는 물질을 발굴하고자 노력한 결과, 기존에 한약제로 사용되고 있는 잔대 추출물을 활용하는 경우 캔디다균의 생물막 형성을 억제하고, 항진균제와 같이 사용됨으로서 항진균제의 감수성을 증진시킬 수 있다는 사실을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0007] 이에, 본 발명은 잔대(Adenophora triphylla var. janponica) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 캔디다균(candida spp.)의 생물막(Biofilm) 형성 억제 또는 제거용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

- [0008] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는, 항진균 보조제를 제공하는 것을 다른 목적으로 한다.
- [0009] 또한, 본 발명은 잔대(*Adenophora triphylla* var. *janponica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 캔디다 감염증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것을 또 다른 목적으로 한다.
- [0010] 또한, 본 발명은 잔대(*Adenophora triphylla* var. *janponica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 캔디다 감염증 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것을 또 다른 목적으로 한다.
- [0011] 또한, 본 발명은 잔대(*Adenophora triphylla* var. *janponica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 캔디다 감염증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것을 또 다른 목적으로 한다.
- [0012] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0013] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 잔대(*Adenophora triphylla* var. *janponica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 캔디다균(*candida* spp.)의 생물막(Biofilm) 형성 억제 또는 제거용 조성물을 제공한다.
- [0014] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 항진균 보조제를 제공한다.
- [0015] 본 발명의 일구현예로서, 상기 항진균 보조제는 항진균제와 병용투여하는 것일 수 있다.
- [0016] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 항진균제는 부테나핀-염산, 나프티핀-염산, 테르비나핀-염산, 베토코나졸 질산염, 클로트리마졸, 에코나졸 질산염, 케토코나졸, 미코나졸 질산염, 옥시코나졸 질산염, 이트라코나졸, 플루코나졸, 테르비나핀, 암포테리신 B, 나타마이신, 리모시딘, 필리핀, 니스타틴, 캔디신, 이트라코나졸, 플루시토신, 케토코나졸, 암포테리신 및 미코나졸로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상일 수 있다.
- [0017] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 병용투여는 동시에(simultaneous), 별도로(separate) 또는 순차적(sequential)으로 투여되는 것일 수 있다.
- [0018] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 항진균 보조제는 항진균제의 진균에 대한 감수성을 증진시킬 수 있다.
- [0019] 또한, 본 발명은 잔대(*Adenophora triphylla* var. *janponica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 캔디다 감염증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0020] 또한, 본 발명은 잔대(*Adenophora triphylla* var. *janponica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 캔디다 감염증 개선용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0021] 또한, 본 발명은 잔대(*Adenophora triphylla* var. *janponica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 캔디다 감염증 치료 또는 예방용 약학적 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0022] 본 발명의 잔대(*Adenophora triphylla* var. *janponica*) 추출물은 캔디다균의 생물막 형성을 효과적으로 억제하여 기존 항진균제와 같이 사용되는 경우 항진균제의 감수성을 현저하게 증가시킬 수 있으며, 인체에 대한 독성이 적어 캔디다균에 대한 감염 억제 및 치료에 활용될 수 있다.
- [0024] 단, 본 발명의 효과는 상기 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

- [0025] 도 1은 본 발명에 따른 잔대 추출물의 생물막 형성 억제 효과를 확인한 결과이다.
- 도 2은 본 발명에 따른 잔대 추출물을 항진균제(미코나졸)와 병용하여 처리한 경우 항진균 효과의 증진 정도를 확인한 것이다.
- 도 3은 본 발명에 따른 잔대 추출물의 처리에 의한 캔디다의 이형변환(Dimorphic transition)(Yeast form에서

hyphae form으로 변환되는 정도)의 억제 효과를 확인한 것으로서, 도 3a는 잔대 추출물을 처리한 RPMI 배지에서 현미경으로 사진을 촬영하여 칸디다균의 이형변환 정도를 확인한 것이고, 도 3b는 이를 그래프로 나타낸 것이며, 도 3c는 잔대 추출물을 처리한 FBS를 포함하는 배지에서 현미경으로 사진을 촬영하여 칸디다균의 이형변환 정도를 확인한 것이고, 도 3d는 이를 그래프로 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명에 따른 잔대 추출물에 의한 칸디다의 생물막 형성 및 전염에 관여하는 유전자의 발현 변화를 확인한 결과로서, 도 4a(ALS 3, ECE 1, HWP 1), 도 4b(CYR 1, EFG 1, RAS 1), 도 4c(ADH 5, CSH 1, GSC 1, ZAP1), 도 4d(TEC 1, HST 7)의 발현변화를 관찰한 결과이다.

도 5는 본 발명 잔대 추출물을 처리했을 때 칸디다균의 성장 억제효과를 대조군과 비교하여 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0026] 이하에서는 첨부한 도면을 참조하여 본 발명을 설명하기로 한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며, 하기에서 설명하는 실시예로 한정되는 것은 아니다. 또한, 도면에서 본 발명을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략될 수 있다.
- [0027] 본 명세서에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 관례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의 되어야 한다.
- [0028] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들을 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0029] 수치 범위는 상기 범위에 정의된 수치를 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최대의 수치 제한은 낮은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 낮은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최소의 수치 제한은 더 높은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 높은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 수치 제한은 더 좁은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼, 더 넓은 수치 범위 내의 더 좋은 모든 수치 범위를 포함할 것이다. 본 명세서에 제공된 제목은 다양한 면 또는 전체적으로 명세서의 참조로서, 하기의 구현 예를 제한하는 것으로 이해되어서는 안 된다.
- [0030] 본 발명자들은 잔대 추출물을 활용하는 경우 칸디다균의 생물막 형성을 억제하고, 항진균제와 같이 사용됨으로서 항진균제의 감수성을 증진시킬 수 있다는 사실을 확인하였는바, 이로써 본 발명을 완성하게 되었다.
- [0031] 이에, 본 발명은 잔대(*Adenophora triphylla* var. *janponica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 칸디다균의 생물막(Biofilm) 형성 억제 또는 제거용 조성물을 제공한다.
- [0032] 본 발명에서 사용되는 용어 "추출물"은 물질의 추출 처리에 의하여 얻어지는 추출액, 상기 추출액의 회석액이나 농축액, 상기 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 상기 추출액의 조정제물이나 정제물, 또는 이들의 혼합물 등, 추출액 자체 및 추출액을 이용하여 형성 가능한 모든 제형의 추출물을 포함한다.
- [0033] 본 발명의 추출물을 제조하는 방법은 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 추출할 수 있다. 상기 추출 방법의 비제한적인 예로는, 열수 추출법, 초음파 추출법, 여과법, 환류 추출법, 침지 추출법, 고온 및 고압 증기 추출법 등을 들 수 있으며, 이들은 단독으로 수행되거나 2 종 이상의 방법을 병용하여 수행될 수 있다. 본 발명에서 사용되는 추출 용매의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있고, 물과 메탄올, 에탄올, 부탄올 등과 같은 C1 내지 C4의 저급 알코올과 이들의 혼합용매 등을 포함한 다양한 유기용매일 수 있으며, 바람직하게는 에탄올을 용매로 사용할 수 있고, 더욱 바람직하게는 70% 에탄올을 사용할 수 있다.
- [0034] 본 발명에 있어서, 용어 "칸디다(*candida* spp.)"란, 진균의 일종으로서, 사람에게 정상적으로 존재하는 균이지만, 인체의 면역력이 떨어지며 감염을 일으킬 수 있으며, 칸디다 감염증의 원인이 되는 병원균의 종류는 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*), 칸디다 트로피칼리스(*Candida tropicalis*), 칸디다 글라브라타(*Candida*

glabrata) 등이 있다.

- [0035] 본 발명에 있어서, 용어 "생물막(Biofilm)"은 미생물 또는 생물에 의해 생성된 막 형태의 구조물로, 일반적으로 하나의 구조체로서 기능을 수행할 수 있는 수준의 막을 의미하며, 주로 세포외 다당류, 단백질, 지질 및 DNA 등으로 구성된 세포외 기질(Extracellular polymeric substances, EPS)로 구성되며, 이렇게 생물막을 형성한 미생물의 경우 살균제나 항생제에 대한 저항성을 가지며 오랜시간 생존할 수 있어 지속적인 감염을 일으키고 다른 식품 또는 장비 등에 접촉하는 경우 2차 오염을 일으킬 수 있다. 본 발명의 잔대 추출물은 진균에 처리하는 경우 생물막을 효과적으로 억제하는 것을 확인하였고, 또한 진균의 감염에 중요한 역할을 하는 이형변환(Dimorphic transition)을 억제할 수 있어 다른 항진균제의 감수성을 증진시킬 수 있고, 진균증의 치료에 유용하게 사용될 수 있다.
- [0036] 본 발명에서는 구체적인 실시예를 통해 잔대 추출물의 생물막 억제 효과 및 항진균제의 감수성 증가 효과를 다양한 실험으로 직접적으로 규명하였다.
- [0037] 본 발명의 일실시예에서는, 본 발명의 잔대 추출물을 칸디다균인 *C. albicans*에 처리한 경우, 생물막이 억제되는 것을 확인하였고(실시예 2 참조), 칸디다균의 이형진환을 억제하는 방법을 통해 이러한 생물막을 억제한다는 사실을 확인할 수 있었으며(실시예 4 참조), 구체적으로 유전자 수준에서 생물막 및 전염에 관여하는 유전자의 발현을 관찰한 결과, 본 발명의 잔대 추출물을 처리하는 경우 칸디다균의 생물막 형성 및 전염에 관여하는 유전자의 발현이 감소하는 것을 확인하였다(실시예 5 참조).
- [0038] 본 발명의 다른 실시예에서는, 본 발명의 잔대 추출물을 기존에 항진균제(미코나졸)와 같이 처리하는 경우 각각 단독으로 처리하는 경우보다 현저한 항진균 효과를 보여줌을 확인하였다(실시예 3 참조).
- [0039] 상기 실시예 결과로부터 본 발명에 따른 잔대 추출물을 진균에 처리하는 경우 진균의 생물막이 억제되는 것을 확인할 수 있었으며, 이러한 효과를 통해 생물막에 의해 항진균 효과가 저해되던 기존의 항진균제와 병용하여 사용하는 경우 본 발명의 추출물이 항진균제의 효과를 증진시킬 수 있어 진균증 치료를 위한 항진균 보조제, 약학적 조성물, 건강기능식품 조성물 또는 화장품 조성물로서 유용하게 활용될 수 있다.
- [0040] 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는, 항진균 보조제를 제공한다.
- [0041] 상기 항진균제는 항진균제와 병용투여하여 항진균제의 진균에 대한 감수성을 증진시킬 수 있으며, 병용투여는 동시에(simultaneous), 별도로(separate) 또는 순차적(sequential)으로 투여되는 것일 수 있다. 항진균제는 이에 제한되는 것은 아니지만, 부테나핀-염산, 나프티핀-염산, 테르비나핀-염산, 베토코나졸 질산염, 클로트리마졸, 에코나졸 질산염, 케토코나졸, 미코나졸 질산염, 옥시코나졸 질산염, 이트라코나졸, 플루코나졸, 테르비나핀, 암포테리신 B, 나타마이신, 리모시딘, 필리핀, 니스타틴, 캔디신, 이트라코나졸, 플루시토신, 케토코나졸, 암포테리신 또는 미코나졸일 수 있으며, 바람직하게는 미코나졸일 수 있다.
- [0042] 또한, 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 잔대(*Adenophora triphylla* var. *janponica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 칸디다 감염증 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물 또는 화장품 조성물을 제공한다.
- [0043] 본 발명에 있어서 용어, "개선"이란, 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 진균에 의한 통증 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0044] 상기 조성물을 건강기능식품으로 사용 시, 특정보건용 식품, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학 및 의료효과가 높은 식품으로 제조 될 수 있으며, 상기 식품은 경우에 따라, 기능성식품, 건강식품, 건강보조식품으로 혼용될 수 있으며, 유용한 효과를 얻기 위하여 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 다양한 형태로 제조될 수 있다.
- [0045] 본 발명의 건강기능식품은 식품 조성물에 통상적으로 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트(folate), 판토텐산(panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다. 또한, 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 디히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니솔(BHA), 부틸히드록시 톨루엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(둘신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팡창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제,

용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 첨가할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될 수 있다.

[0046] 본 발명의 건강기능식품을 식품 첨가물로 사용할 경우, 이를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0047] 본 발명의 건강기능식품에 있어서, 잔대 추출물의 함량은 특별히 제한되지 않으며, 투여 대상의 상태, 구체적인 병증의 종류, 진행 정도 등에 따라 다양하게 변경될 수 있다. 필요한 경우, 식품의 전체 함량으로도 포함될 수 있다.

[0048] 상기 조성물을 화장료 조성물로 사용 시, 화장료의 제형에 맞게 물질을 더 첨가할 수 있다. 이에 한정되는 것은 아니나 예를 들어, 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있고, 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있으며, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로폴루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다. 또한 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되는데, 바람직하게는 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소 결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있으며, 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 조성물은 화장료 조성물로 이용되어 유연화장수, 수렴화장수, 영양화장수, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 아이크림, 아이에센스, 클렌징크림, 클렌징폼, 클렌징워터, 팩, 파우더, 바디로션, 바디크림, 바디오일, 바디에센스, 메이크업 베이스, 파운데이션, 염모제, 샴푸, 린스 또는 바디 세정제 등으로 제형화 될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0049] 또한, 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 잔대(*Adenophora triphylla* var. *janponica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 캔디다 감염증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0050] 본 발명에서 사용되는 용어, "예방"이란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 캔디다 감염증을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0051] 본 발명에서 사용되는 용어, "치료"란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 캔디다 감염증에 대한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0052] 본 발명에 따른 상기 예방 또는 치료용 조성물은 잔대 추출물을 유효성분으로 포함하며, 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 사이클로덱스트린, 텍스트로즈 용액, 말토덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올, 리포솜 등을 포함하지만 이에 한정되지 않으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액 등 다른 통상의 첨가제를 더 포함할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제, 운환제 등을 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 적합한 약학적으로 허용되는 담체 및 제제화에 관해서는 레밍턴의 문헌에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 제형에 특별한 제한은 없으나 주사제, 흡입제, 피부 외용제 등으로 제제화할 수 있다.

[0053] 본 발명의 예방 또는 치료용 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으나, 바람직하게는 경구 투여할 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여 경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.

[0054] 본 발명의 예방 또는 치료용 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료 또는 진단에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료 또는 진단하기에 충분한

한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명에 다른 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0055] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 잔대 추출물을 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 캔디다 감염증의 예방, 개선 또는 치료방법을 제공한다.

[0056] 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 상기 조성물의 캔디다 감염증 예방, 개선 및 치료 용도를 제공한다.

[0057] 본 발명에서 "개체"란 질병의 예방, 조절 또는 치료방법을 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는, 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐(mouse), 쥐(rat), 개, 고양이, 말 및 소 등의 포유류를 의미한다.

[0059] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0061] [실시예]

[0062] 실시예 1. 잔대 추출물의 제조

[0063] 잔대 추출물을 제조하기 위해 건조된 잔대(제주도)를 분쇄하여 추출 용기에 넣고 15배수로 정제수를 넣어준 후 60℃에서 3시간 동안 교반한 다음 여과지로 여과한 후 여액이 완전히 증발할 때까지 50℃에서 감압 농축하였으며, 저온 건조하여 잔대 추출물을 제작하였다. 이에 따른 수율은 약 12.0%로 나타났다. 추출된 잔대 추출물은 냉장 보관을 하였으며, DMSO를 사용하여 10mg/ml의 농도로 만들어 실험에 사용하였다.

[0065] 실시예 2. 잔대 추출물의 생물막 형성 억제 효과 확인

[0066] 상기 잔대 추출물에 의한 캔디다의 생물막 형성 저해를 확인하기 위해 잔대 추출물의 농도를 달리해 처리하면서, 캔디다의 생물막 형성 저해 효과를 확인하였다. 구체적으로, 96 well plate에 OD₆₀₀=0.1의 C. albicans(기탁번호: KCTC 7965(Korean Collection for Type of Cultures))를 넣어준 후 화합물을 최대 100g/mL로부터 2배씩 희석하여 처리하였다. 각 플레이트에서 C. albicans를 30℃의 온도에서 24시간 배양 한 다음, 생물막 형성을 억제 정도를 확인한 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 잔대 추출물에 의하여 캔디다의 생물막 형성이 농도 의존적으로 저해됨을 확인하였다.

[0068] 실시예 3. 잔대 추출물의 항진균제 효능 증진 효과 확인

[0069] 상기 실시예 2의 결과를 통해 생물막 형성을 저해하는 것을 확인한 본 발명의 잔대 추출물에 의하여 기존 항진균제의 진균에 대한 감수성에 변화를 줄 수 있는지 확인하고자 C. albicans에 잔대 추출물과 기존의 항진균 물질과 혼합 처리하여 항진균 활성을 확인하였다.

[0070] 구체적으로, 24시간 동안 생물막 형성이 가능한 조건에서 캔디다를 기른 후 6.25 및 25 µg/mL 농도의 잔대 추출물을 잘 알려져 있는 항진균제인 3.125 µg/mL의 미코나졸(miconazole, MCZ)과 같이 처리 한 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 잔대 추출물(Adenophora triphylla var. japonica extract, ATJ)과 미코나졸을 같이 처리하였을 경우 각각 처리한 경우 보다 진균의 성장이 현저히 감소함을 확인하였다.

[0071] 본 발명자들을 이를 통해 잔대 추출물의 생물막 형성 억제에 의하여 기존 항진균 물질의 항진균 효능이 증가하였음을 확인할 수 있었다.

[0073] 실시예 4. 잔대 추출물의 캔디다균 이형전환(dimorphic transition) 억제 효과 확인

[0074] 상기 잔대 추출물이 칸디다의 감염에 중요하게 작용하는 yeast form에서 hyphae form으로의 이형전환(dimorphic transition)을 억제할 수 있는지 여부를 확인하기 위한 실험을 수행하였다. 구체적으로, 상이한 농도의 잔대 추출물을 처리한 다음, RPMI(Rosewell Park Menorial Institute) 또는 10%의 소태아혈청(Fetal bovine serum, FBS)이 있는 YPD(Yeast extract peptone dextrose)배지를 이용하여 C. albicans의 균사(hyphae) 형성을 유도하였다. RPMI가 있는 배지에서의 이형전환을 확인하기 위해 현미경으로 사진을 찍은 결과, 도 3a에 나타난 바와 같이(A(0 μ g/mL), B(1.56 μ g/mL), C(6.25 μ g/mL), D(25 μ g/mL)) 농도 의존적으로 균사 형성을 유의하게 억제하는 것을 확인할 수 있었고, 이러한 결과를 바탕으로 그래프를 작성하여 도 3b에 나타내었다.

[0075] 또한, 10% FBS가 있는 YPD배지에서 이형전환을 확인하기 위해 현미경으로 사진을 찍은 결과, 도 3c에 나타난 바와 같이(A(0 μ g/mL), B(1.56 μ g/mL), C(6.25 μ g/mL), D(25 μ g/mL)) 농도 의존적으로 균사 형성을 유의하게 억제하는 것을 확인할 수 있었고, 이러한 결과를 바탕으로 그래프를 작성하여 도 3d에 나타내었다.

[0076] 상기 결과를 토대로, 본 발명자들은 본 발명의 잔대 추출물이 생물막 형성을 억제하여, 칸디다의 감염에 중요하게 작용하는 yeast form에서 hyphae form으로의 이형전환을 억제함을 확인하였다

[0078] 실시예 5. 잔대 추출물의 칸디다균 생물막 관련 유전자의 발현 조절 확인

[0079] 본 발명의 잔대 추출물의 생물막 저해 효과 및 이를 통한 칸디다균의 독성(virulence) 억제 효과를 유전자 수준에서 확인하기 위하여 hyphal-specific genes, Ras1-cAMP-Efg1 pathway, MAP Kinases pathway, Cph-Tec 1 pathway 및 extracellular matrix에 관여하는 유전자 발현을 qRT-PCR를 수행하여 확인하였다. 구체적으로, 상기 실시예 3과 같은 생물막 형성이 가능한 조건에서 칸디다를 배양한 다음, 본 발명의 잔대 추출물을 농도(0, 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25 μ g/mL)를 달리하여 처리한 뒤, Trizol을 사용하여 RNA를 추출하였고, 이를 Reverse transcriptase(Nanohelix)를 사용하여 cDNA로 합성한 다음, 하기 표 1에 나타난 올리고머를 사용하여 qRT-PCR(CFX Connect Real-Time PCR Detection System, Bio-Rad)을 실시하였다.

표 1

[0080]

qRT-PCR	Primer sequence	Gene function
ACT 1	F: TAGGTTTGAAGCTGCTGG R: CCTGGGAACATGGTAGTAC	Control
ALS 3	F: GGTTATCGTCCATTGTGTG R: TTCTGTATCCAGTCCATCT	Hyphal-specific genes
CYR 1	F: GTTCCCCCACCCTCA R: TTGCGTAATGACACAACAG	Ras-cAMP-Efg1 pathway
ECE 1	F: ACAGTTTCCAGGACGCCAT R: ATTGTTGCTCGTGTGCCA	Hyphal-specific genes
EFG 1	F: TTGAGATGTTGCGGAGGAT R: ACTGGACAGACAGCAGGAC	Ras-cAMP-Efg1 pathway
GSC 1	F: CCCATTCTCTAGGCACGA R: ATCAACAACCACTTGCTTCG	Extracellular matrix
HST 7	F: GCCAGTATGGTCGGAGGAT R: ACATAGGCATCGTCTTCGTC	MAP kinases pathway
HWP 1	F: ACAGGTAGACGGTCAAGG R: GGGTAATCATCAGATGGTTC	Ras-cAMP-Efg1 pathway
RAS 1	F: GAGGTGGTGGTGTGGTA R: TCTTCTGTCCAGCAGTATC	Cph2-Tec1 pathway
TEC 1	F: GCACTGGCTTCAAGCTCAAA R: GCTGCTGCACTCAAGTTCTG	Extracellular matrix
ZAP 1	F: ATCTGTCCAGTGTGTTTGTA R: AGGTCTCTTTGAAAGTTGTG	Extracellular matrix
ADH 5	F: ACCTGCAAGGGCTCATTCTG R: CGGCTCTCAACTTCTCCATA	Extracellular matrix
CSH 1	F: CGTGAGGACGAGAGAGAAT R: CGAATGGACGACAAAAACA	Extracellular matrix

[0082] 상기와 같은 방법으로 qRC-PCR을 수행한 결과, 도 4a(ALS 3, ECE 1, HWP 1), 도 4b(CYR 1, EFG 1, RAS 1), 도 4c(ADH 5, CSH 1, GSC 1, ZAP1) 및 도 4d(TEC 1, HST 7)에 나타난 바와 같이 본 발명의 잔대 추출물을 처리하는 경우 처리한 추출물의 농도를 증가시킴에 따라 농도 의존적으로 생물막 관련한 유전자의 발현 수준이 감소함을 확인할 수 있었다.

[0084] 실시예 6. 잔대 추출물의 캔디다 성장 억제 효과 확인

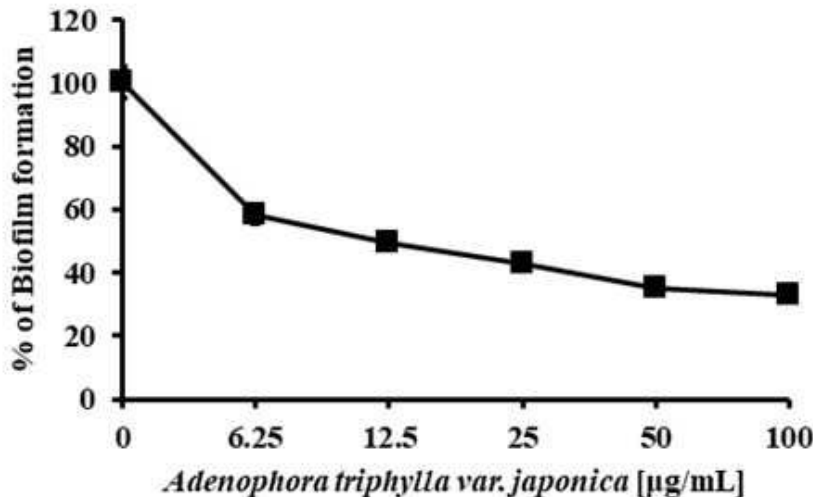
[0085] 생물막 형성 억제 효과는 단순히 캔디다의 성장이 억제 되어도 관찰 될 수 있기에, 본 발명의 잔대 추출물이 특이적으로 생물막 형성을 억제하는 것인지, 단순히 캔디다의 성장 억제의 부수적인 효과로 생물막 형성을 억제하는 것인지 확인하기 위하여 잔대에 의한 캔디다의 성장 억제 효능을 확인하였다. 구체적으로, OD₆₀₀=0.1의 캔디다에 100 µg/ml의 잔대추출물을 처리 한 후 캔디다의 성장을 관찰하였다.

[0086] 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, 100 µg/ml의 잔대 추출물의 처리는 캔디다균의 성장에 영향을 주지 않음을 확인하였다. 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 본 발명의 잔대 추출물이 특이적으로 캔디다의 생물막 형성을 저해할 수 있다는 사실을 확인하였다.

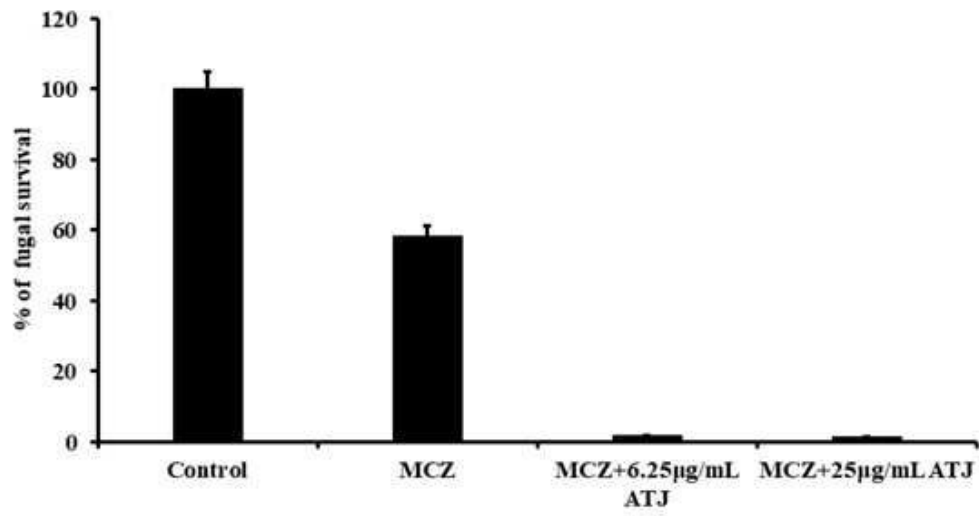
[0088] 상기 진술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

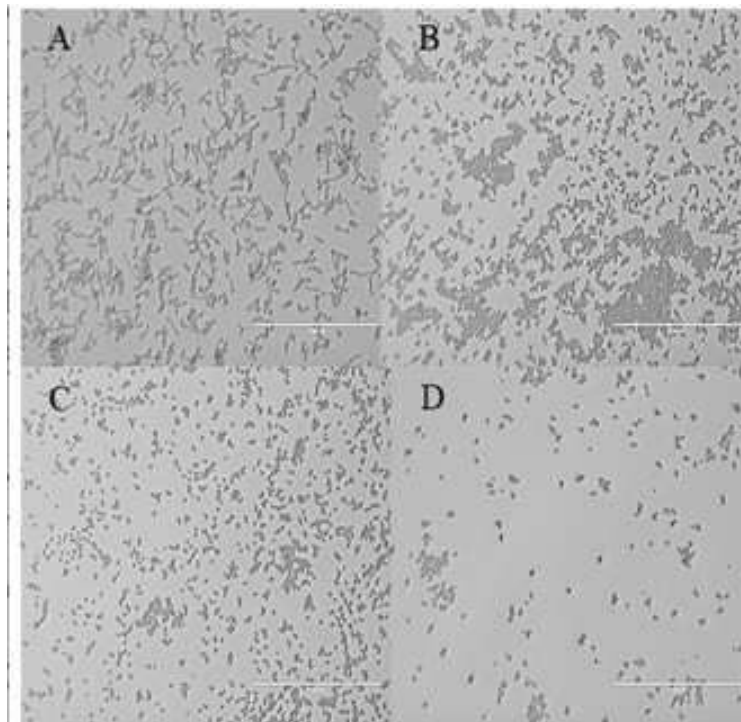
도면1



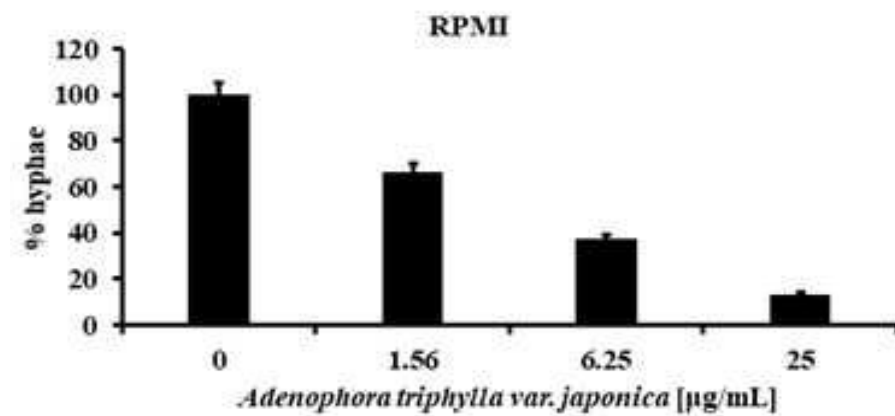
도면2



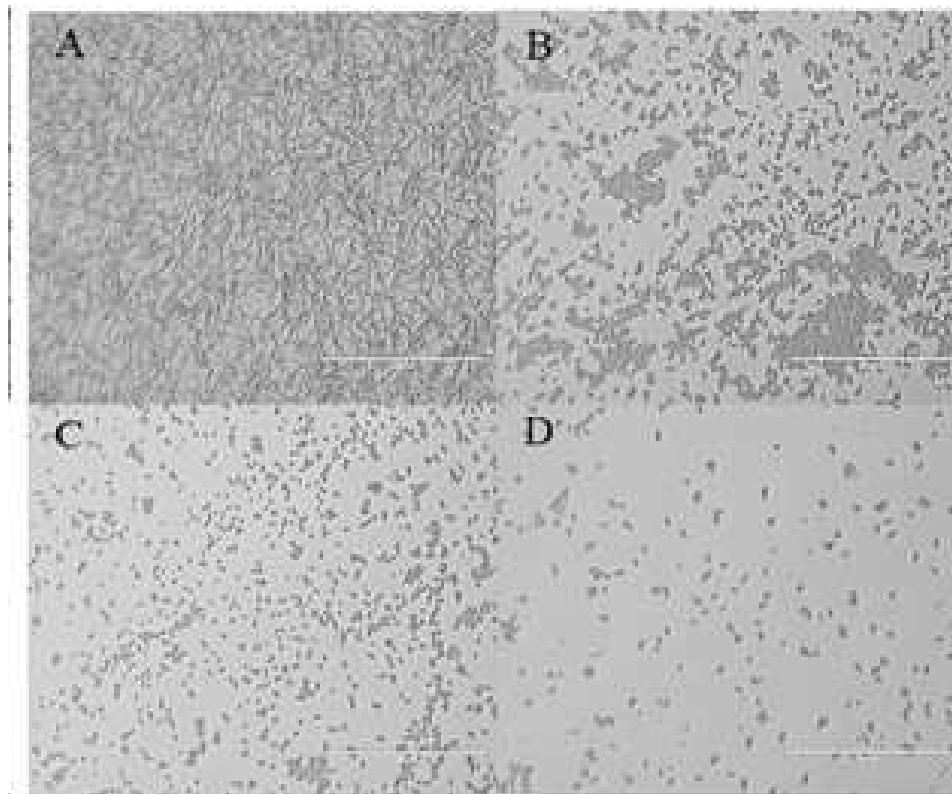
도면3a



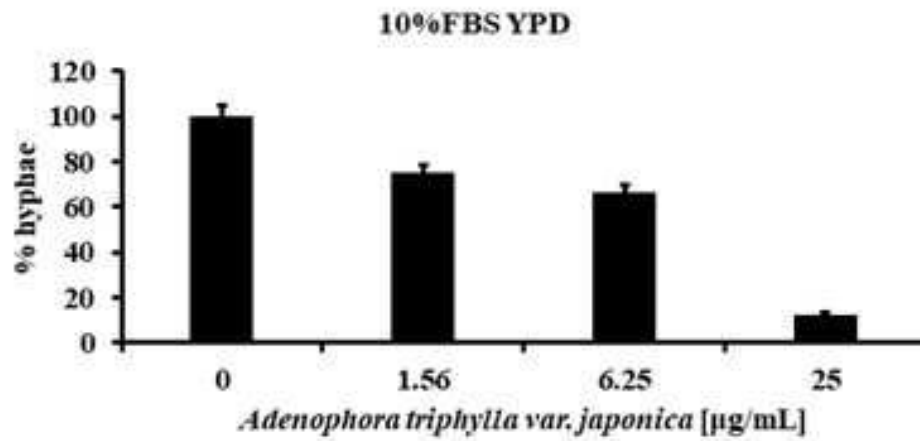
도면3b



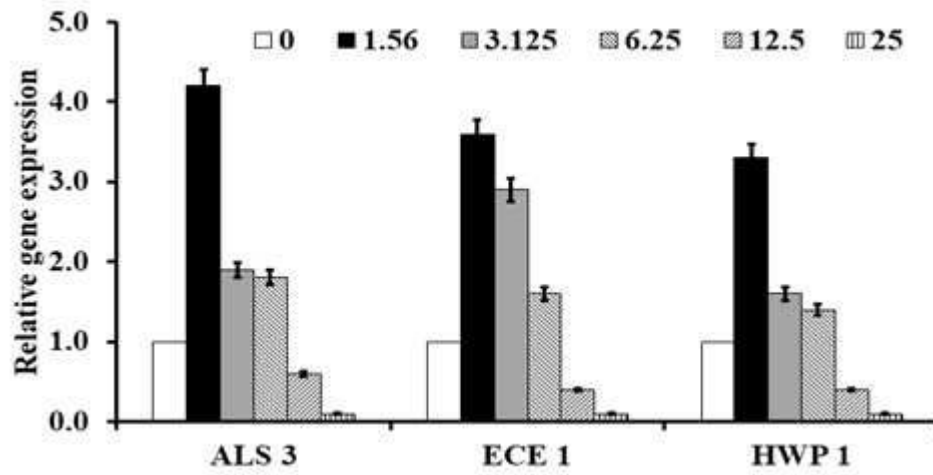
도면3c



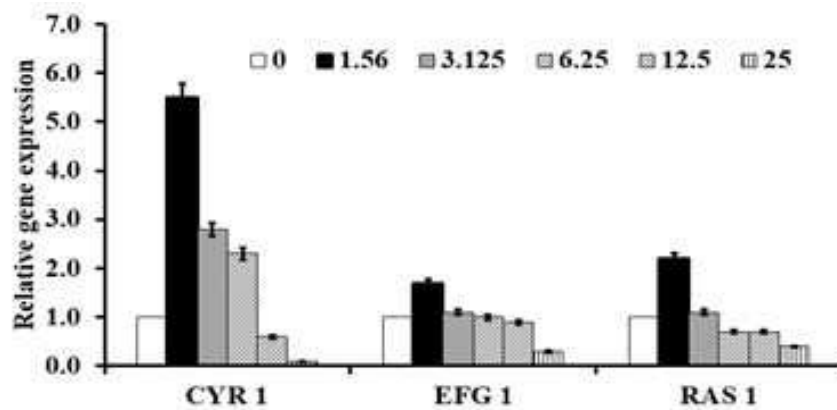
도면3d



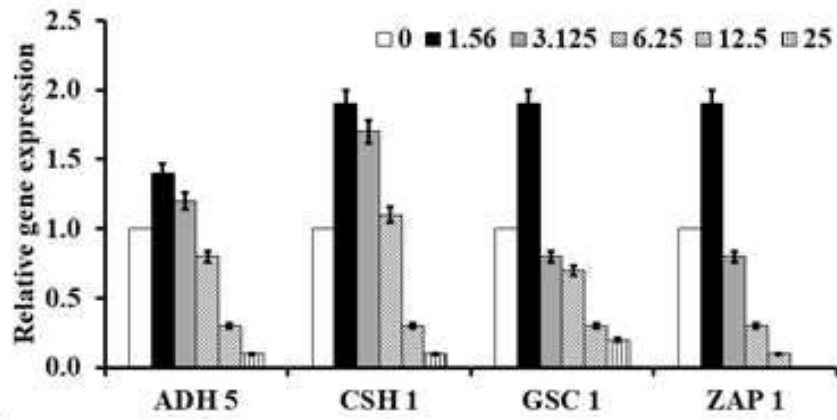
도면4a



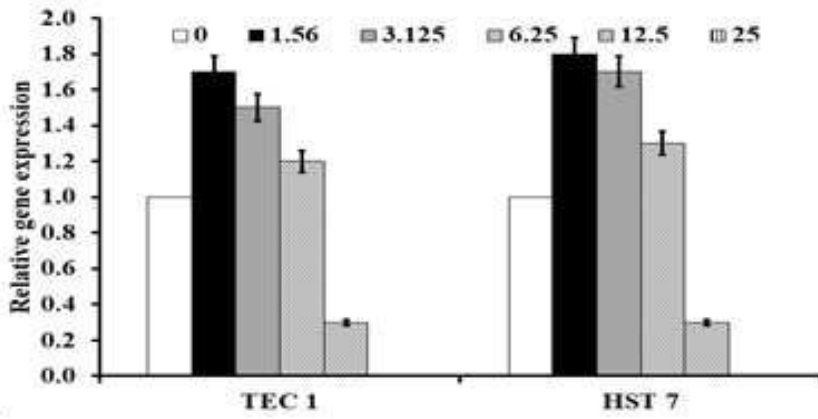
도면4b



도면4c



도면4d



도면5

