

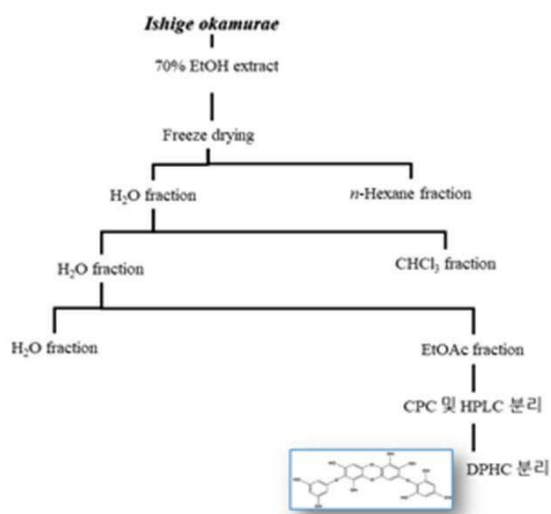
**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)**(11) 공개번호** 10-2020-0102892
(43) 공개일자 2020년09월01일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 319/24 (2006.01) A61K 31/357 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 319/24 (2013.01)
A61K 31/357 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2019-0044522
(22) 출원일자 2019년04월16일
심사청구일자 2019년04월16일
- (30) 우선권주장
1020190021270 2019년02월22일 대한민국(KR)
- (71) 출원인
부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 신선로 365 (용당동, 부경대학교)
- (72) 발명자
김영목
부산광역시 남구 분포로 111, 109동 1103호(용호동, 엘지메트로시티)
- 정원교
부산광역시 남구 분포로 111, 128동 2101호(용호동, 엘지메트로시티)
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
위병갑

전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 그람음성구균 녹농균에 대해 항생제와 상승적 항균효과를 가지는 디플로르에톡하이드록시카르말롤 및 이의 용도**(57) 요약**

본 발명은 디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)을 유효성분으로 포함하는 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 대한 항균 활성을 가지는 항균용 조성물에 관한 것으로서, 상기 디플로르에톡하이드록시카르말롤에 항생물질을 더 포함한 경우 시너지 효과에 의하여 슈도모나스 에루지노사에 대한 항균 활성이 더욱 증가하여, 슈도모나스 에루지노사에 의한 감염성 질환의 예방, 치료 또는 개선에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1

(52) CPC특허분류

A61P 17/00 (2018.01)

(72) 발명자

고석천

제주특별자치도 제주시 선덕로3길 12

김민성

부산광역시 남구 못골변영로71번길 8, 101호(대연동)

김보금

경상남도 창원시 마산합포구 완월남로 45, 106동 705호(완월동, 청구제네스)

장유미

부산광역시 남구 유엔로183번길 52, 305호(대연동, 유니온)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	20150220
부처명	해양수산부
과제관리(전문)기관명	한국해양과학기술진흥원
연구사업명	해양수산생명공학기술개발
연구과제명	해양융복합 바이오닉스 소재 상용화 기술 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	부경대학교 산학협력단
연구기간	2018.01.01 ~ 2018.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 디플로르에톡하이드록시카르말롤은 패(*Ishige okamurae*)의 추출물 또는 분획물에서 유래된 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제 2 항에 있어서,

상기 추출물은 물, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올, 아세톤, 에테르, 벤젠, 클로로포름, 에틸아세테이트, 메틸렌클로라이드, 헥산 및 시클로헥산으로 이루어진 그룹에서 선택되는 용매로 추출된 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제 2 항에 있어서,

상기 분획물은 헥산 분획물, 클로로포름 분획물, 에틸아세테이트 분획물 또는 수용성 분획물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 조성물은 병원성 그람음성균에 대한 항균 활성을 가지는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 병원성 그람음성균은 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 조성물은 젠타마이신(gentamicin), 아미카신(amikacin), 토브라마이신(tobramycin), 시프로플록사신(ciprofloxacin), 레보플록사신(levofloxacin), 세프트지딤(ceftazidime), 세페핌(cefepime), 세포페라존(cefoperazone), 세프피롬(cefpirome), 세프트비프롤(ceftobiprole), 카르베니실린(carbenicillin), 티카르실린(ticarcillin), 메즐로실린(mezlocillin), 아즐로실린(azlocillin), 피페라실린(piperacillin), 메로페넴(meropenem), 이미페넴(imipenem), 도리페넴(doripenem), 폴리믹신(polymyxin B), 콜리스틴(colistin) 또는 아즈트레오남(aztreonam)의 항생물질을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 디플로르에톡하이드록시카르말롤은 항생물질과 16:1 ~ 1:2의 중량비로 혼합되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 9

디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)을 유효성분으로 포함하는 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 의한 감염성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 10

디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)을 유효성분으로 포함하는 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 의한 감염성 질환의 개선용 화장료 조성물.

청구항 11

디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)을 유효성분으로 포함하는 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 의한 감염성 질환의 개선용 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 디플로르에톡하이드록시카르말롤을 포함하는 항균용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 녹농균인 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)는 슈도모나스 속 가운데 인간 감염증과 가장 밀접한 관계가 있으며, 대부분 피오시아닌 색소를 내어 녹색고름으로 보여져 녹농균이라 한다. 이는 자연계에 널리 분포되어 있으며, 인간의 장관 내 정상균 무리에 포함되지만, 건강한 개체의 약 10%에서만 분리되며, 피부 특히, 신체에서도 습한 부위인 겨드랑이 또는 침 등에서 발견되기도 한다. 녹농균은 1차 감염보다는 2차적으로 균교대증, 기회감염으로서 중증화상환자, 창상감염, 요로감염, 호흡기감염, 패혈증, 만성 기저질환이 있거나 스테로이드 또는 면역 억제제, 항암제, 방사선 치료 등 숙주의 저항력을 약화시키는 여러 인자가 작용하면 발병이 촉진되며, 피부감염, 욕창, 폐렴, 균혈증, 패혈증, 수막염 등을 유발하고, 주요 의료관련감염 원인균으로 흔히 요로감염과 인공호흡기 관련 폐렴에 이르기까지 감염부위에 따라 증상은 다양한다. 다제내성 녹농균 감염증은 카바페넴계, 아미노글리코사이드계, 플로로퀴놀론계 항생제에 모두 내성을 나타내는 녹농균으로 인한 감염증을 유발한다. 이러한 다제내성 미생물은 증가하는 추세이며, 이에 새로운 항균 소재에 대한 발굴이 시급한 실정이다.

[0003] 최근 해조류는 다양한 생리활성 물질의 중요한 소재로 각광 받고 있으며, 해조류 유래 화합물의 다양한 생리활성이 보고되어져 있다. 해조류 유래 화합물이 보유하는 다양한 생리활성이 보고되어 있으나, 급성병원균에 대해 미치는 영향에 대한 연구는 미비한 실정이다. 그리하여 본 발명에서는 갈조류 중 하나인 패의 유효성분인 디플로르에톡하이드록시카르말롤을 이용하여 급성병원균에 대한 항균 효능을 확인하고자 하였다.

[0004] 패(*Ishige okamurae*)는 좁은 잎, 두꺼운 외피층 및 뾰족한 정점을 갖는 일종의 갈색 해조류로서, 패과(*Ishigeaceae*)에 속하며, 거친 개방 해안의 상부 및 중간부 간조 지대에 있는 바위에 서식한다. 패 추출물은 항노화, 항당뇨, 항비만, 항암, 항염증 등 다양한 생리활성들을 보유한다고 알려져 있다. 그러나 패의 유효성분인 디플로르에톡하이드록시카르말롤의 급성병원균인 녹농균에 대한 패의 항균 활성에 대해서 보고된 바가 없는 바, 본 발명자는 녹농균에 의한 감염증 치료 약물을 개발하기 위하여 예의 노력한 결과, 디플로르에톡하이드록시카르말롤이 급성병원균인 녹농균에 대하여 항균활성을 및 다른 항생제와의 시너지 효과를 갖는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-0873180호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명의 목적은 디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0008] 본 발명의 또 다른 목적은 디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)을 유효성분으로 포함하는 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 의한 감염성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.
- [0009] 본 발명의 또 다른 목적은 디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)을 유효성분으로 포함하는 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 의한 감염성 질환의 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 또 다른 목적은 디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)을 유효성분으로 포함하는 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 의한 감염성 질환의 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물을 제공한다.
- [0012] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 디플로르에톡하이드록시카르말롤은 패(*Ishige okamurae*)의 추출물 또는 분획물에서 유래된 것일 수 있다.
- [0013] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 추출물은 물, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올, 아세톤, 에테르, 벤젠, 클로로포름, 에틸아세테이트, 메틸렌클로라이드, 헥산 및 시클로헥산으로 이루어진 그룹에서 선택되는 용매로 추출된 것일 수 있고, 상기 분획물은 헥산 분획물, 클로로포름 분획물, 에틸아세테이트 분획물 또는 수용성 분획물인 것일 수 있다.
- [0014] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 병원성 그람음성균에 대한 항균 활성을 가지는 것일 있고, 상기 병원성 그람음성균은 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0015] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 겐타마이신(gentamicin), 아미카신(amikacin), 토브라마이신(tobramycin), 시프로플록사신(ciprofloxacin), 레보플록사신(levofloxacin), 세프트아지딤(ceftazidime), 세페핌(cefepime), 세포페라존(cefoperazone), 세프피롬(cefpirome), 세프트로비프로(ceftobiprole), 카르베니실린(carbenicillin), 티카르실린(ticarcillin), 메즐로실린(mezlocillin), 아즐로실린(azlocillin), 피페라실린(piperacillin), 메로페넴(meropenem), 이미페넴(imipenem), 도리페넴(doripenem), 폴리믹신 B(polymyxin B), 콜리스틴(colistin) 또는 아즈트레오남(aztreonam)의 항생물질을 더 포함하는 것일 수 있고, 바람직하게는 시프로플록사신(ciprofloxacin), 세프트아지딤(ceftazidime) 또는 메로페넴(meropenem)의 항생물질을 더 포함하는 것일 수 있다.
- [0016] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 디플로르에톡하이드록시카르말롤은 항생물질과 16:1 ~ 1:2의 중량비로 혼합되는 것일 수 있다.
- [0017] 또한, 본 발명은 디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)을 유효성분으로 포함하는 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 의한 감염성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0018] 또한, 본 발명은 디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)을 유효성분으로 포함하는 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 의한 감염성 질환의 개선용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0019] 또한, 본 발명은 디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)을 유효성분으로 포함하는 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 의한 감염성 질환의 개선용 식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0021] 본 발명의 디플로르에톡하이드록시카르말롤은 녹농균인 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 대한 항균 활성을 가지고 있으며, 상기 디플로르에톡하이드록시카르말롤에 항생물질을 더 포함한 경우 시너지 효과에 의하여 슈도모나스 에루지노사에 대한 항균 활성이 더욱 증가하여, 슈도모나스 에루지노사에 의한 감염성 질환의 예방, 치료 또는 개선에 유용하게 사용될 수 있다.

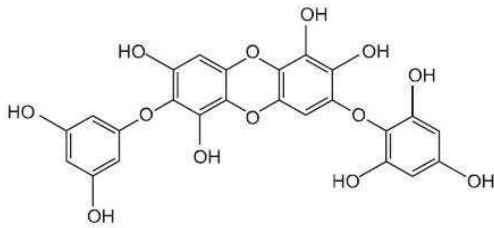
도면의 간단한 설명

- [0023] 도 1은 본 발명의 디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)을 분리하는 과정을 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0024] 본 발명에 따른 화합물인 디플로르에톡하이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol)은 패(*Ishige okamurae*)의 추출물 또는 분획물로부터 유래된 것일 수 있다.
- [0025] 상기 추출물은 당업계에 공지된 추출 및 분리하는 방법을 사용하여 천연으로부터 추출 및 분리하여 수득한 것을 사용할 수 있으며, 본 발명에서 정의된 "추출물"은 적절한 용매를 이용하여 패(*Ishige okamurae*)로부터 추출한 것이며, 예를 들어, 패(*Ishige okamurae*)의 조추출물, 극성용매 가용 추출물 또는 비극성용매 가용 추출물을 모두 포함한다.
- [0026] 상기 패(*Ishige okamurae*)로부터 추출물을 추출하기 위한 적절한 용매로는 약학적으로 허용되는 유기용매라든가 어느 것을 사용해도 무방하며, 물 또는 유기용매를 사용할 수 있으며, 이에 제한되지는 않으나, 예를 들어, 정제수, 메탄올(methanol), 에탄올(ethanol), 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol) 등을 포함하는 탄소수 1 내지 4의 알코올, 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane) 및 시클로헥산(cyclohexane) 등의 각종 용매를 단독으로 혹은 혼합하여 사용할 수 있다. 바람직하게는 70% 에탄올을 사용할 수 있다.
- [0027] 추출 방법으로는 열수추출법, 냉침추출법, 환류냉각추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 방법 중 어느 하나를 선택하여 사용할 수 있다. 또한, 목적하는 추출물은 추가로 통상의 분획 공정을 수행할 수도 있으며, 통상의 정제 방법을 이용하여 정제될 수도 있다. 본 발명의 패(*Ishige okamurae*) 추출물의 제조 방법에는 제한이 없으며, 공지되어 있는 어떠한 방법도 이용될 수 있다.
- [0028] 예를 들면, 본 발명의 구성물에 포함되는 패(*Ishige okamurae*) 추출물은 상기한 열수 추출 또는 용매 추출법으로 추출된 1차 추출물을 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조할 수 있다. 또한, 상기 1차 추출물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등과 같은 다양한 크로마토그래피를 이용하여 추가로 정제된 분획을 얻을 수도 있다.
- [0029] 따라서, 본 발명에 있어서 패(*Ishige okamurae*) 추출물은 추출, 분획 또는 정제의 각 단계에서 얻어지는 모든 추출액, 분획물 및 정제물, 그들의 희석액, 농축액 또는 건조물을 모두 포함하는 개념이다.
- [0030] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 패(*Ishige okamurae*)의 에탄올 추출물을 수득한 후, 순차적으로 헥산, 클로로포름 및 에틸아세테이트를 첨가하여 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 수용성 분획물을 수득한 다음, 에틸아세테이트 분획물에서 고성능액체크로마토그래피를 통해 디플로르에톡하이드록시카르말롤을 수득하였다.
- [0031] 본 발명의 화합물인 디플로르에톡하이드록시카르말롤은 패(*Ishige okamurae*)에서 유래되고, 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 의미한다. 상기 디플로르에톡하이드록시카르말롤은 패(*Ishige okamurae*)와 같은 천연 공급원으로부터 분리할 수 있으나, 이에 한정되지 않고, 당업계에 공지된 방법으로 화학적으로 합성하거나 시판되는 물질을 사용할 수 있다.

[0033] [화학식 1]



[0034]

[0036] 본 발명의 항균용 조성물은 항생물질을 추가로 더 포함할 수 있다. 항생물질은 통상의 항생물질을 의미하는 것으로, 구체적으로 항균력이 우수한 것으로 알려진 겐타마이신(gentamicin), 아미카신(amikacin), 토브라마이신(tobramycin), 시프로플록사신(ciprofloxacin), 레보플록사신(levofloxacin), 세프트아지딴(ceftazidime), 세페팜(cefepime), 세포페라존(cefoperazone), 세프피로뮴(ceftazidime), 세프트비프로롤(ceftobiprole), 카르베니실린(carbenicillin), 티카르실린(ticarcillin), 메즐로실린(mezlocillin), 아즐로실린(azlocillin), 피페라실린(piperacillin), 메로페넴(meropenem), 이미페넴(imipenem), 도리페넴(doripenem), 폴리믹신 B(polymyxin B), 콜리스틴(colistin) 및 아스트레오남(aztreonam) 등이 사용될 수 있다. 특히, 본 발명에서는 상기 항생물질로 세프트아지딴(ceftazidime), 시프로플록사신(ciprofloxacin) 또는 메로페넴(meropenem)이 사용될 수 있다.

[0037] 본 발명에서 용어, "그람음성균"은 그람염색법으로 염색했을 때 적색으로 염색되는 세균으로, 그람음성균의 세포벽은 얇고(약 10nm) 외측에 다량의 리포폴리사카라이드(LPS)를 함유하고 있는 것이 대부분이며, 에스케리시아 콜라이(*Escherichia coli*), 클로스트리듐 디피실리(*Clostridium difficile*), 쉬겔라(*Shigella*), 예르시니아 페스티스(*Yersinia pestis*), 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 및 살모넬라 티피머리움(*Salmonella typhimurium*) 등이 포함되나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0038] 본 발명의 항균용 조성물은 항균 활성이 요구되는 다양한 목적 및 용도로 사용될 수 있으며, 구체적으로는 화장품, 피부 세정제, 모발 세정제, 질 세정제, 구강 세정제, 욕실용 세정제, 주방용 세정제, 화장품 보존제, 화장품 방부제, 식품 보존제, 식품 방부제, 식품첨가제 및 사료첨가제 소재로 사용될 수 있다.

[0039] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명에서 용어, "약학적으로 허용가능한"이란 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다. 상기 담체는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제, 기제, 부형제, 율활제 등 당업계에 공지된 것이라면 제한없이 사용할 수 있다.

[0040] 또한, 본 발명의 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 나아가, 연고제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 크림제, 산제, 현탁제, 겔제 또는 겔의 형태의 피부 외용제의 형태로 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물에 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 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

[0041] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 싸이코트리아 루브라 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 율활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제에는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사

용될 수 있다.

- [0042] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명의 용어 "투여"란 적절한 방법으로 개체에 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며 상기 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0043] 상기 용어, "개체"란 인간을 포함한 쥐, 생쥐, 가축 등의 모든 동물을 의미한다. 바람직하게는, 인간을 포함한 포유동물일 수 있다.
- [0044] 상기 용어, "약학적으로 유효한 양"이란 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 성별, 연령, 체중, 건강 상태, 질병의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로, 및 배출 비율, 치료 기간, 배합 또는 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 투여는 상기 권장 투여량을 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다.
- [0045] 본 발명의 화장료 조성물은 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조할 수 있다. 상기 유화 제형으로는 영양화장수, 크림, 에센스 등이 있으며, 상기 가용화 제형으로는 유연화장수 등이 있다. 적합한 제형은 용액, 겔, 고체 또는 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 마이크로에멀전, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는 이온형(리포솜), 바이온형의 소낭 분산제의 형태, 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실 스틱의 형태일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 포말(foam)의 형태 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태일 수 있다.
- [0046] 상기 화장료 조성물은 추가적으로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제, 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 화장료 조성물에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다.
- [0047] 본 발명의 식품 조성물은 통상적인 의미의 식품을 모두 포함할 수 있으며, 기능성 식품, 건강기능식품 등 당업계에 알려진 용어와 혼용 가능하다.
- [0048] 본 발명의 용어, "기능성 식품"은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.
- [0049] 본 발명의 용어, "건강기능식품"은 건강보조의 목적으로 특정성분을 원료로 하거나 식품 원료에 들어있는 특정성분을 추출, 농축, 정제, 혼합 등의 방법으로 제조, 가공한 식품을 말하며, 상기 성분에 의해 생체방어, 생체리듬의 조절, 질병의 방지와 회복 등 생체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발휘할 수 있도록 설계되고 가공된 식품을 말하는 것으로서, 상기 건강식품용 조성물은 질병의 예방 및 질병의 회복 등과 관련된 기능을 수행할 수 있다.
- [0050] 본 발명의 조성물이 사용될 수 있는 식품의 종류에는 제한이 없다. 아울러 본 발명의 조성물은 당업자의 선택에 따라 식품에 포함될 수 있는 적절한 기타 보조 성분과 공지의 첨가제를 혼합하여 제조할 수 있다. 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 본 발명에 따른 추출물 및 이의 분획물을 주성분으로 하여 제조한 즙, 차, 젤리 및 주스 등에 첨가하여 제조할 수 있다.
- [0051] 또한, 본 발명에 적용될 수 있는 식품에는 예컨대, 특수영양식품(예: 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예: 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예: 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예: 스낵류), 유가공품(예: 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예: 과일, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료(예, 라면스프 등) 등 모든 식품을 포함할 수 있다.
- [0052] 본 발명의 건강기능식품 조성물이 음료의 형태로 사용될 경우에는 통상의 음료와 같이 여러 가지 감미제, 향미

제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 외에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

이하, 본 발명을 실시예를 통하여 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

실시예 1. 실험방법

1.1. 디플로르에톡사이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol, DPHC)의 분리 및 정제

패(*Ishige okamurae*)는 2016년 4월에 제주 성산 지역에서 채집하였다. 패는 흐르는 물에서 불순물 및 염분을 제거하여 건조시킨 후 분말화하여 사용 전까지 -20℃에 보관하였다. 이후, 패 분말 500 g에 70% 에탄올 5 L를 가하여 상온에서 24시간 동안 3회 반복하여 추출하여 여과한 후, 감압농축 및 동결건조하여 패 추출물을 획득하였다. 획득한 추출물을 증류수 1 L에서 재용해하고 여기에 헥산 1 L를 가하여 헥산 분획물 및 수용성 분획물로 구분하여 헥산 분획물을 얻었고, 수용성 분획물은 클로로포름, 에틸아세테이트를 순차적으로 첨가하여 최종적으로 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 수용성 분획물을 획득하였다.

이후, 에틸아세테이트 분획물을 고성능액체크로마토그래피(High performance liquid chromatography)를 통하여 C18 역상 컬럼을 고정상으로하여 정제수(Distilled water)와 아세토나이트릴(Acetonitrile)을 이동상으로 UV 검출기의 230 nm 흡광치를 바탕으로 디플로르에톡사이드록시카르말롤(DPHC)을 분리하였다 (도 1).

1.2. 녹농균 및 배양

본 발명에 사용된 녹농균은 한국생명공학연구원 생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)에서 분양받아 사용하였다. 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*, 슈도모나스 에루지노사)은 기탁번호 KCTC 1637을 사용하였으며, 37℃의 TSB(Tryptic Soy Broth, Difco Inc., Detroit, MI)에서 호기성 배양되었다.

실시예 2. 디플로르에톡사이드록시카르말롤(Diphlorethohydroxycarmalol, DPHC)의 MIC (minimum inhibitory concentration) 및 MBC (minimum bactericidal concentration) 측정 결과

MIC (minimum inhibitory concentration)는 밤새 배양 후에 미생물의 뚜렷한 성장을 저해하는 최저 농도로서, 균이 잘 자라지 않는 최소 저해 농도로 정의되고, MBC (minimum bactericidal concentration)는 초기 접종원 (inoculum)이 99.99% 또는 그 이상 사멸되는 최저 농도로서, 균이 전혀 자라지 않는 최소 살균 농도로 정의된다. 디플로르에톡사이드록시카르말롤에 대한 MIC 및 MBC 측정을 위해, Mueller-Hinton 배지(MHB; Difco Inc.)를 이용한 two-fold serial dilution method를 사용하였으며, 이에 대한 결과는 하기 표 1 및 표 2에 나타내었다.

표 1

Strains	MIC (μg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1927	128
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	64
<i>Propionibacterium acnes</i> KCTC 3314	256
<i>Candida albicans</i> KCTC 7965	128

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KCTC 1637	64
<i>P. aeruginosa</i> isolate 366	64
<i>P. aeruginosa</i> isolate 4068	64
<i>P. aeruginosa</i> isolate 4135	128
<i>P. aeruginosa</i> isolate 4561	128

표 2

Strains	MBC (μg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1927	512
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	256
<i>Propionibacterium acnes</i> KCTC 3314	1,024
<i>Candida albicans</i> KCTC 7965	512
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KCTC 1637	256
<i>P. aeruginosa</i> isolate 366	256
<i>P. aeruginosa</i> isolate 4068	256
<i>P. aeruginosa</i> isolate 4135	512
<i>P. aeruginosa</i> isolate 4561	512

상기 표 1 및 2에 나타낸 바와 같이, 디플로르에톡하이드록시카르말롤이 그람음성균인 슈도모나스 에루지노사(녹농균)에 대한 우수한 항균 활성을 갖는 것으로 확인되었다.

또한, 본 발명자들은 슈도모나스 에루지노사에 대한 항생제(항생물질)의 MIC 값을 측정하는 실험을 수행하였다. 항생제로서는 슈도모나스 균 감염 치료에 사용되는 아미카신(Amikacin), 세프트라지딴(Ceftazidime), 시프로플록사신(Ciprofloxacin) 및 메로페넴(Meropenem)을 사용하였고, 이에 대한 결과는 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

Strains	MIC (μg/mL)			
	Amikacin	Ceftazidime	Ciprofloxacin	Meropenem
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KCTC 1637	1	8	8	16
<i>P. aeruginosa</i> isolate 366	2	4	4	8
<i>P. aeruginosa</i> isolate 4068	1	16	16	16
<i>P. aeruginosa</i> isolate 4135	1	8	16	8
<i>P. aeruginosa</i> isolate 4561	2	16	16	16

[0077] 상기 표 3에서와 같이, 슈도모나스 에루지노사에 대한 항생제들의 MIC 값은 1 내지 16 $\mu\text{g/mL}$ 으로 확인되었다.

[0079] 실시예 3. 디플로르에톡하이드록시카르말롤과 항생제의 시너지 효과

[0080] 본 발명자들은 항균 활성이 우수한 디플로르에톡하이드록시카르말롤과 항생제의 상호 작용을 확인하기 위하여, 디플로르에톡하이드록시카르말롤 및 항생제인 세프트라지딴(Ceftazidime), 시프로플록사신(Ciprofloxacin) 및 메로페넴(Meropenem)을 조합한 후, Checkerboard Method를 이용하여 슈도모나스 에루지노사에 대한 MIC 및 FIC (fractional inhibitory concentration) 지수(index)를 측정하는 실험을 수행하였다. 이에 대한 결과는 하기 표 4에 나타내었다. FIC는 디플로르에톡하이드록시카르말롤 또는 항생제를 단독으로 사용되는 MIC로 계산되었으며, FIC index는 하기와 같을 때 시너지 효과를 나타낸다.

[0082] Synerism < 1, indifference ≥ 1 to ≤ 2 , antagonism > 2

[0083] $\text{FIC}_A = \text{MIC}_A \text{ in combination} / \text{MIC}_A$

[0084] $\text{FIC}_B = \text{MIC}_B \text{ in combination} / \text{MIC}_B$

[0085] FIC Index = $\text{FIC}_A + \text{FIC}_B$

[0086]

표 4

[0087]

Strains	Test compound	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	$\Sigma\text{FIC}_{\text{max}}^{\text{a)}$	$\Sigma\text{FIC}_{\text{min}}^{\text{b)}$	Median FIC ^{c)}	Σ Minimum concentration for observing synergy
<i>P. aeruginosa</i> KCTC 1637	DPHC	64	1.03	0.50	0.63	2
	Ceftazidime	8				2
	DPHC	64	1.50	1.00	1.03	8
	Meropenem	16				8
<i>P. aeruginosa</i> isolate 4068	DPHC	64	1.06	0.38	0.50	16
	Ceftazidime	16				4
	DPHC	64	1.13	0.50	0.57	16
	Ciprofloxacin	16				8
	DPHC	64	1.25	0.52	1.00	16
	Meropenem	16				8
<i>P. aeruginosa</i> isolate 4135	DPHC	128	1.13	0.38	0.50	16
	Ceftazidime	8				1
	DPHC	128	1.06	0.25	0.52	16
	Ciprofloxacin	16				4
<i>P. aeruginosa</i> isolate 4561	DPHC	128	1.00	0.52	0.63	4
	Ceftazidime	16				2
	DPHC	128	1.06	0.50	0.52	4
	Ciprofloxacin	16				4
	DPHC	128	1.50	0.52	0.63	32
	Meropenem	16				8

[0088] Σ FICmax: FIC 최대값; Σ FICmin: FIC 최소값; 및 Median Σ FIC: FIC 중간값.

[0090] 상기 표 4에서와 같이, 디플로르에톡사이드록시카르말롤과 항생제를 병용하여 사용한 경우 단독으로 사용한 것에 비해, 4 내지 32배 낮은 농도로 슈도모나스 에루지노사의 생육을 억제할 수 있음을 확인하였다. 또한, FIC index를 확인한 결과, 디플로르에톡사이드록시카르말롤과 항생제 병용 사용한 경우 FIC 최소값(Σ FICmin)과 FIC 중간값(Median Σ FIC)이 1.0 이하였고, FIC 최대값(Σ FICmax)은 1.0~2.0 이었다. 결론적으로, 디플로르에톡사이드록시카르말롤과 항생제의 병용사용 시 슈도모나스 에루지노사에 대한 항균 활성의 시너지 효과가 나타나는 것으로 확인되었다.

도면

도면1

