



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2008년10월09일  
(11) 등록번호 10-0862211  
(24) 등록일자 2008년10월01일

(51) Int. Cl.

A61K 31/415 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0037851  
(22) 출원일자 2008년04월23일  
심사청구일자 2008년04월23일

(56) 선행기술조사문헌  
KR1020070084186 A  
KR100307187 B1

(73) 특허권자

신라대학교 산학협력단

부산 사상구 폐법동 산 1-1 신라대학교내

주식회사 리오엘리

부산광역시 금정구 남산동 52-31

(72) 발명자

하유미

경남 마산시 구암동 중앙 메트로 하이츠아파트  
103동 704호

최재석

부산 해운대구 반여1동 1199-11번지 삼해대림아파트  
109동 2003호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

유미특허법인

전체 청구항 수 : 총 4 항

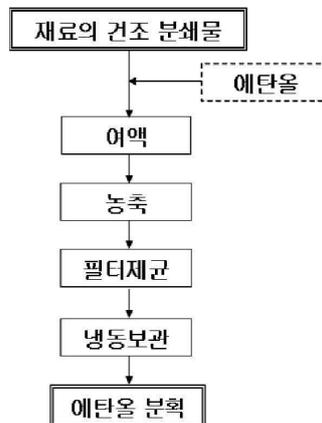
심사관 : 여경숙

(54) 항균제로서 다시마 추출물을 포함하는 질염 예방 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 다시마 추출물을 유효성분으로 포함하는 가드네렐라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)에 대한 항균 조성물, 상기 항균 조성물을 포함하는 질염 치료 또는 예방용 조성물, 상기 항균 조성물을 포함하는 질 세정용 조성물 및 상기 항균 조성물을 포함하는 질염 예방 또는 개선용 식품 조성물에 관한 것으로, 특히 본 발명에 따른 다시마 추출물을 포함하는 조성물은 질염의 주 원인균인 가드네렐라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)에 대한 항균 활성이 우수하여, 질염에 대한 예방 및 치료 효과가 우수하다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

**문주성**

부산 금정구 청룡동 128번지 금정산롯데인베스 84  
1202호

**송명규**

경기 여주군 가남면 신해리 632 현진에버빌 103동  
803호

**최인순**

부산 해운대구 좌동 1414번지 건영1차아파트 307  
동 902호

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

다시마(*Laminaria japonica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 가드네렐라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)에 대한 항균조성물.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 상기 다시마 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알콜, 에틸아세테이트, 핵산, 디클로로메탄 및 이들의 혼합용매로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나를 추출용매로 하여 추출된 조추출물인 항균조성물.

**청구항 3**

제1항의 항균조성물을 유효성분으로 포함하는 질염 예방 또는 치료용 조성물.

**청구항 4**

제1항의 항균조성물을 유효성분으로 포함하는 질 세정용 조성물.

**청구항 5**

삭제

**명세서**

**발명의 상세한 설명**

**기술분야**

<1> 본 발명은 가드네렐라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)에 대한 항균활성을 갖는 조성물에 관한 것이다.

**배경기술**

- <2> 여성의 질은 천연적으로 다양한 세균, 효모 및 미생물에 의해서 균락화된다. 예를 들어, 정상적인 여성의 질에는 일반적으로 질 물질의 밀리리터당 약  $10^4$  이상의 유산균(*Lactobacillus* spp.)이 포함되어 있다. 정상적인 조건 하에서 질 세균총은 병원성 미생물의 침범에 대항하는 보호를 도와주는 약한 산성 환경을 제공한다.
- <3> 그러나, 상기와 같은 정상적인 조건 하에서 질 세균총 즉, 질 평형은 궁극적으로 질 감염을 유도하는 다양한 외부 인자에 의해서 쉽게 전복될 수 있다. 질 감염은 임상적 증후군이며 주로 세균성 질증, 칸디다 질염 및 트리코모나스 질염 등이 보고되어 있는데, 이 중 가장 흔한 질염은 세균성 질염이다.
- <4> 상기 세균성 질증은 주로 질 내에서 유산균의 감소를 수반하는 혐기성 유기체 수의 증가에 의해서 야기되는 것으로 보고되어 있고, 이 외에도 세균이나 바이러스 감염, 항생제 복용이나 피임약 복용, 과다한 질 세정제 사용 등에 의해서도 발병할 수 있는 것으로 보고되어 있다. 질 내에서 유산균의 수가 감소하는 것은 영양소에 대한 경쟁을 감소시키고, 존재하는 락트산의 양을 감소시켜 pH를 상승시키게 되며, 질 내에서 그의 성장이 통상적으로 억제되는 기회감염성 병원체(opportunistic pathogen)의 증식이 일어나게 돼서 발병된다.
- <5> 상기와 같은 병원체의 증식이 일어나게 되어 발병하는 세균성 질증과 연관된 주요 병원체는 가드네렐라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)인 것으로 보고되어 있다. 상기 가드네렐라 바지날리스의 감염에 의한 세균성 질증의 증상은 일반적으로 냉에서 특유의 불쾌한 냄새가 나고, 속옷을 적실 정도로 냉이 많아지며, 질의 분비물 즉, 묽은 균질의 분비물이 많아지고, 질 내 pH의 약 pH 5.0 이상으로의 상승하며, 가려움증이 발생하고, 그람-간병성 간균으로 코팅된 질 상피세포인 가드네렐라 단서세포(*Gardnerella crue cells*)의 존재를 포함하게 된다.
- <6> 상기와 같은 질염을 예방하고 치료하기 위한 질염 치료 방법이 많이 연구되어왔다. 근래에는 질의 세균 감염에 대한 치료 방법으로 메트로니다졸(Metronidazole)과 같은 질염 치료제를 경구 투여하거나 크림 형태로 투여하는 방법을 일반적으로 사용하고 있다. 그런, 상기 메트로니다졸과 같은 광범위 스펙트럼의 항생제의 사용은 항생제 내성이라는 문제점을 내포할 뿐만 아니라, 상기와 같은 항생제의 사용은 유익한 유산균을 포함한 질 내의 광

범위한 정상 세균총을 사멸시킬 수 있기 때문에 바람직하지 않은 것으로 평가되고 있다.

- <7> 구체적으로, 상기와 같은 메트로니다졸 등과 같은 항생제를 이용한 질염의 치료율은 60~70% 정도이기는 하나, 약 30%에서 3개월 이내에 재발된다고 보고되어 있다(Holmes, K.K, Bacterial vaginosis and women and babies, *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, 67 Suppl 1, S9-11(1999)). 한편, 상기와 같은 항생제 치료 직후 질 내에는 83%의 유산균이 있었으나, 1개월간의 항생제 치료 후에는 단지 65%만이 남아 있는 것으로 보고되어 있다. 이러한 유산균을 포함한 질 내 정상 세균총의 사멸은 이차적인 합병증을 야기할 수 있는 것으로 보고되어 있다. 즉, 질 내에서 다양한 기회감염성 병원체를 억제하는 유산균의 감소는 질 내의 pH가 증가 되어 산성 환경의 유지가 힘들어지므로, 혐기성균 증식에 의한 감염을 가속화시켜 추가적인 감염의 원인이 될 수 있다.
- <8> 이와 함께, 항생제의 장기간 사용은 질을 통한 항생제의 흡수로 인하여 전신적 독성을 야기할 수 있다는 문제점도 보고되어 있다.
- <9> 따라서, 질 감염을 억제 및/또는 치료할 수 있는 부작용이 문제되지 아니하는 천연물질 유래의 질염 예방 또는 치료 조성물을 개발하는 것이 시급한 실정이다. 특히, 3면이 바다여서, 해양자원이 풍부한 우리나라의 지리적 환경을 고려하면 해양 동식물을 포함한 해양 천연물질로부터 질염을 예방 또는 치료할 수 있는 조성물을 개발하고자 하는 요구가 증가 되고 있다.

**발명의 내용**

**해결 하고자하는 과제**

- <10> 본 발명은 상기와 같은 종래기술의 문제점을 개선하기 위한 것으로, 해조류추출물을 유효성분으로 포함하는 질염 원인균인 가드네렐라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)에 대한 항균 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

**과제 해결수단**

- <11> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 다시마 추출물을 유효성분으로 포함하는 가드네렐라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)에 대한 항균 조성물을 제공한다.
- <12> 또한, 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 상기 항균 조성물을 유효성분으로 포함하는 질염 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다.
- <13> 또한, 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 상기 항균 조성물을 유효성분으로 포함하는 질 세정용 조성물을 제공한다.
- <14> 또한, 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 상기 항균 조성물을 유효성분으로 포함하는 질염 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다. 본 발명의 식품 조성물의 예로는 식품, 식품첨가제, 음료 또는 음료첨가제를 들 수 있다.
- <15> 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- <16> 본 발명에 있어서, 다시마(*Laminaria japonica*)는 갈조식물문(*Phaeophyta*) 갈조강(*Phaeophyceae*) 다시마목(*Laminariales*) 다시마과(*Laminariaceae*)에 속하는 다년생 대형 갈조류로, 참다시마, 해대 또는 해곤포라고도 불리운다. 외관상 엽상부, 줄기, 뿌리로 구분되며, 엽상부는 띠모양으로 길고, 엽상부의 중앙부분은 두터운 중대부를 이루며, 중대부의 양 가는 세로로 홈이 있다. 줄기는 보통 원주상이며 직립하며, 뿌리는 줄기의 하부에서 차상으로 분지하는 수지상의 형태를 나타낸다. 한대, 아한대의 연안에 분포하는 한행성 해조류로서, 대한민국에서는 동해안 북부, 원산 이북의 함경북도에서 자생하며, 동해안 남부와 남해안의 완도 등지에서 양식을 한다. 상기 다시마는 예로부터 우리나라를 비롯한 일본, 중국에서 식용 또는 약용으로 널리 사용되어 왔다.
- <17> 본 발명의 추출용매는 물, 메탄올, 에탄올 등의 탄소수 1 내지 4의 알콜, 에틸아세테이트 등의 극성용매와 헥산 또는 디클로로메탄의 비극성용매와 같은 유기용매, 이들의 혼합용매일 수 있으며, 바람직하게는 물 및 탄소수 1 내지 4의 알콜로 이루어진 균 중에서 선택된 1종 이상일 수 있고, 더욱 바람직하게는 50%(v/v) 내지 100%(v/v) 에탄올 수용액일 수 있으며, 가장 바람직하게는 80% 내지 99% 에탄올 수용액일 수 있다. 상기 에탄올을 용매로 하는 경우, 추출수율이 떨어날 뿐만 아니라, 상기 에탄올을 추출용매로 사용한 다시마 추출물은 질염, 특히 질염을 유발하는 병원성 미생물인 가드네렐라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)에 대한 항균활성이 우수한 것으로 확인되었다.

- <18> 본 발명의 다시마 추출물은 통상의 해조류 추출물의 제조방법에 따라 제조된 것일 수 있으며, 구체적으로는 냉침추출법, 온침추출법 또는 열추출법 등일 수 있으며, 통상의 추출기기, 초음파분쇄 추출기 또는 분획기를 이용할 수 있다.
- <19> 또한, 상기 용매로 추출한 추출물은 이후, 핵산, 메틸렌클로라이드, 아세톤, 에틸아세테이트, 에틸에테르, 클로로포름, 물 및 이들의 혼합물로 이루어진 균으로부터 선택된 용매로 분획과정을 더욱 실시할 수 있다.
- <20> 상기 제조된 추출물 또는 상기 분획과정을 수행하여 수득한 분획물은 이후 여과하거나 농축 또는 건조과정을 수행하여 용매를 제거할 수 있으며, 여과, 농축 및 건조를 모두 수행할 수 있다. 구체적으로 상기 여과는 여과지를 이용하거나 감압여과기를 이용할 수 있으며, 상기 농축은 감압 농축기, 일예로 회전 증발기를 이용하여 감압 농축할 수 있으며, 상기 건조는 일예로 동결건조법으로 수행할 수 있다.
- <21> 본 발명의 일예로, 상기 다시마 추출물은 도 1에 나타난 과정에 의해 수득될 수 있다. 보다 상세하게는, 다시마의 염분 및 불순물을 제거한 후, 건조하여 건조시료를 제조하고, 상기 건조시료에 에탄올을 가하여 하루 동안 상온에서 추출하여 조추출액을 얻으며, 상기 조추출액을 감압 농축하여 추출물을 제조할 수 있다. 이 때, 상기 다시마의 염분 및 불순물의 제거는 유수를 이용하여 씻어내서 수행할 수 있으며, 상기 건조시료는 상기 염분 및 불순물을 제거한 다시마를 건조한 후에 분쇄하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 수득한 다시마 추출물은 사용 시까지 급속 냉동고(deep freezer)에 보관할 수 있다.
- <22> 또한, 상기 다시마 추출물은 상기 수득된 추출액을 농축 및 동결건조를 통하여 수분을 완전히 제거시킨 것일 수 있으며, 상기 수분을 완전히 제거시킨 다시마 추출물은 분말형태로 사용하거나 상기 분말을 증류수 또는 통상의 용매에 녹여 사용할 수 있다.
- <23> 본 발명의 일예로, 상기 다시마 추출물을 분획하여 수득하는 다시마 분획물은 도 2에 나타난 과정에 의해 수득될 수 있다. 우선, 상기 다시마 건조시료에 에탄올과 물을 중량을 기준으로 1:1 내지 5:1 바람직하게는 3:1 내지 4:1로 혼합한 혼합용매를 가하여 하루 동안 상온에서 추출하여 조추출액을 얻으며, 상기 조추출액을 여과하여, 잔류된 고상의 잔류물을 건조한다. 상기 고상의 잔류물에 에틸아세테이트를 가하고 추출과정을 수행한 후에, 여과하여 에틸아세테이트 분획물을 제조한다. 또한, 상기 여과과정에서 잔류된 고상의 잔류물에 500℃ 내지 150℃, 바람직하게는 80℃ 내지 110℃의 물을 가하고 추출과정을 수행하여 물 분획물을 제조한다.
- <24> 한편, 상기 조추출액을 여과하여 수득한 여과액을 농축하고, 황산을 가하여 pH를 pH 2 내지 pH 6, 바람직하게는 pH 3 내지 pH 4로 조절한 후에, 클로로포름을 가하고 추출과정을 수행하여 유기층의 분획물을 수득하는 과정을 통해 클로로포름 분획물을 제조한다. 상기 유기층을 분리한 수용액층에 암모니아를 가하여 pH를 pH 8 내지 pH 11, 바람직하게는 pH 9 내지 pH 10으로 조절한 후에, 클로로포름과 에탄올을 중량을 기준으로 1:1 내지 5:1 바람직하게는 3:1 내지 4:1로 혼합한 혼합용매를 가하고 추출과정을 수행한 후에, 추가로 클로로포름을 가하고 추출과정을 수행하여 유기층의 분획물을 수득하는 과정을 통해 클로로포름과 에탄올 혼합액의 분획물을 제조한다. 상기 클로로포름과 에탄올 혼합액의 분획물을 수득하고 남은 수용액층을 완전히 증발시켜 건조한 후, 에탄올을 가하고 추출과정을 수행하여 에탄올 분획물을 수득하였다.
- <25> 상기 다시마 추출물은 알콜 추출물일 수 있고, 바람직하게는 50% 내지 100%의 탄소수 1 내지 4의 알콜 추출물일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 80% 내지 100% 에탄올 추출물일 수 있다.
- <26> 본 발명은 다시마 추출물을 유효성분으로 포함하는 가드네렐라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)에 대한 항균 조성물에 관한 것이다. 상기 다시마 추출물은 상기 추출용매에 의해 수득된 추출물이거나 상기 분획용매에 의해 수득된 분획물일 수 있다.
- <27> 본 발명에 있어서, 항균 조성물이란 항미생물제를 총칭하는 의미인 항생제와 같은 의미일 수 있고, 항균제, 살균제, 방부제, 보존제 또는 제균제와 같은 의미일 수 있으며, 일 예로 여성 질염의 원인이 되는 가드네렐라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)를 포함하는 병원성 미생물의 발육과 생활 기능을 저지 또는 억제할 수 있는 물질을 의미한다.
- <28> 상기 항균 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 상기 다시마 추출물을 0.001 내지 99.99중량%, 바람직하게는 0.1 내지 99 중량%로 포함할 수 있으나, 상기 항균 조성물의 사용방법 및 사용목적에 따라 유효성분의 함량을 적절히 조절할 수 있다.
- <29> 본 발명의 항균 조성물은 다시마 추출물 외에 당질, 단백질, 지질, 비타민류 및 미네랄류를 포함할 수 있다. 상기 당질, 단백질, 지질, 비타민류 또는 미네랄류는 그 사용 목적 및 용도에 따라 적의 선택될 수 있으며, 일

예로 상기 당질은 벌꿀, 텍스트린, 수크로오스, 팔라티노스, 포도당, 과당, 물엿, 당알콜(sugar alcohol), 소르비톨, 크실리톨, 말티톨일 수 있고 상기 단백질은 카제인(casein), 유청 단백질(whey protein) 등의 우유 유래 단백질, 대두 단백질, 이들 단백질의 트립신, 펩신 등의 동물 유래 효소 및 뉴트라아제(neutrase), 알칼라아제(alkilase)에 의한 가수분해물일 수 있으며, 상기 지질은 제1가 포화지방산, 다가 불포화지방산을 포함하는 헤바라기유, 채종유(rapeseed oil), 올리브유, 홍화유(safflower oil), 옥수수유, 대두유, 팜유(palm oil), 야자유 등의 각종 식물 유래 유지, 중쇄 지방산(middle-chain fatty acid), EPA, DHA, 대두유래 인지질, 우유 유래 인지질일 수 있고, 상기 미네랄류는 인산칼륨, 탄산칼륨, 염화칼륨, 염화나트륨, 유산칼슘, 글루콘산칼슘, 판토텐산칼슘, 카제인칼슘, 염화마그네슘, 황산제1철, 탄산수소나트륨일 수 있으나, 각각의 예에 의해 특별히 제한되는 것은 아니다.

- <30> 상기 당질, 단백질, 지질, 비타민류 및 미네랄류 중 어느 것에 대해서도, 조성물의 평균성이 유지되는 한 상기 구체예에 한정되지 않고 다른 성분을 포함할 수 있으며, 각각의 함량은 평균성이 유지되는 한 제한되지 아니하고, 바람직하게는 전체 조성물 대비 0.1 내지 15 중량%, 바람직하게는 0.5 내지 10 중량%일 수 있다.
- <31> 본 발명의 상기 평균 조성물은 평균 활성이 요구되는 다양한 목적 및 용도로 사용될 수 있으며, 구체적으로는 병원성 미생물 감염에 의한 질염, 바람직하게는 가드네렐라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)가 원인균인 질염을 포함한 질염의 치료, 예방 또는 개선의 목적으로 사용될 수 있다.
- <32> 본 발명은 또한, 상기 평균 조성물을 유효성분으로 포함하는 질염 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다. 본 발명의 다시마 추출물은 질염의 원인균인 가드네렐라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)에 대한 평균 활성을 가지고 있으므로, 상기 평균 조성물은 질염의 원인균에 의한 질염에 대한 예방 및 치료 효과를 갖는다.
- <33> 본 발명에 있어서, 질염(diseases of vagina)은 세균성 질염(Bacterial Vaginosis), 진균성 질염(Fungal Vaginitis) 및 트리코모나스 질염(*Trichomonas vaginitis*)로 이루어진 균 중에서 선택된 어느 하나일 수 있고, 바람직하게는 세균성 질염일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 가드네렐라 바지날리스의 감염에 의해 발병하는 질염일 수 있다.
- <34> 상기 세균성 질염은 혐기성 세균에 의해 발병하는 것으로 주로 가드네렐라 바지날리스에 의해 발병되는 것으로 알려져 있으며, 상기 세균성 질염을 가진 여성에서 골반염, 유산후 골반염, 자궁 절제술 후 질염증 또는 이상자궁경부세포의 빈도가 높아지는 것으로 알려져 있다.
- <35> 따라서, 상기 질염, 특히 세균성 질염을 치료하기 위해서는 원인균인 가드네렐라 바지날리스에 대한 평균활성이 있는 물질을 처방할 수 있다.
- <36> 본 발명의 질염 예방 또는 치료용 조성물은 인간을 포함한 동물에 직접 적용될 수 있다. 상기 동물은 식물에 대응하는 생물군으로 주로 유기물을 영양분으로 섭취하며, 소화나 배설 및 호흡기관이 분화되어 있는 것을 말하고, 바람직하게는 척추동물, 더욱 바람직하게는 포유류일 수 있다. 상기 포유류는 바람직하게는 인간일 수 있다.
- <37> 상기 질염 예방 또는 치료용 조성물은 상기 평균 조성물을 유효성분으로 단독으로 포함할 수 있고, 이외 제형, 사용방법 및 사용목적에 따라 추가성분 즉, 약제학적으로 허용되거나 영양학적으로 허용되는 담체, 부형제, 희석제 또는 부성분을 추가로 포함할 수 있다.
- <38> 보다 상세하게는 상기 질염 예방 또는 치료용 조성물은 상기 유효성분 외에 추가로 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 중진제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 추가로 함유할 수 있다.
- <39> 또한, 상기 담체, 부형제 또는 희석제는 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자이리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아키시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유, 텍스트린, 칼슘카보네이트, 프로필렌글리콜, 리퀴드 파라핀, 생리식염수로 이루어진 균에서 선택된 1이상 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며 통상의 담체, 부형제 또는 희석제 모두 사용가능하다. 상기 성분들은 상기 유효성분인 평균 조성물에 독립적으로 또는 조합하여 추가될 수 있다.
- <40> 상기 질염 예방 또는 치료용 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 상기 평균 조성물을 0.001 중량% 내지 99.9 중량%, 바람직하게는 0.1 중량% 내지 99 중량%, 더욱 바람직하게는 1중량% 내지 50 중량% 포함될 수 있다. 또한,

상기 추가성분의 함량은 바람직하게는 상기 항균 조성물 100 중량부 당 0.1 내지 20 중량부 범위에서 추가할 수 있다.

- <41> 또한, 상기 질염 예방 또는 치료용 조성물은 약제화하는 경우, 통상의 충전제, 증량제, 결합제, 붕해제, 계면활성제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 또는 방부제 등을 더욱 포함할 수 있으며, 일 예로 경구 또는 비경구로 사용 할 수 있다.
- <42> 구체적으로 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 항균 조성물에 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 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 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.
- <43> 비경구투여를 위한 형태로는 치약, 구강세정제, 국소 투여제(크림, 연고, 드레싱 용액, 분무제, 기타 도포제 등) 등을 들 수 있다. 상기 국소 투여제의 제형의 일예로는, 유효성분인 항균 조성물 또는 질염 예방 또는 치료용 조성물을 천연 섬유 또는 합성 섬유로 만든 거즈 등의 담체에 함침시킨 것일 수 있다.
- <44> 상기 크림 또는 연고의 경우, 질병 환부나 그 주위에 직접 도포하는데 적합할 수 있다. 상기 분무제의 경우, 유효성분으로 항균 조성물을 포함하는 것을 제외하고는 통상적인 분무제 제조방법으로 제조될 수 있고, 압축용기나 기타 분무용기에 충전포장하여 질염 부위에 수시로 분무도포하여 질염을 예방 또는 치료할 수 있다. 상기 드레싱 용액의 경우, 유효성분으로 항균 조성물을 포함하는 것을 제외하고는 통상적인 드레싱 용액의 제조방법으로 제조될 수 있고, 질염 부위에 드레싱이나 기타 세균 감염부위의 드레싱에 사용하여 질염을 예방 또는 치료할 수 있다.
- <45> 또한, 본 발명의 질염 예방 또는 치료용 조성물의 제형은 사용방법에 따라 바람직한 형태일 수 있으며, 특히 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 공지된 방법을 채택하여 제형화할 수 있다. 구체적인 제형의 예로는 경고제, 과립제, 로션제, 리니먼트제, 리모나데제, 산제, 시럽제, 안연고제, 액제, 에어로솔제, 엑스제(EXTRACTS), 엘릭실제, 연고제, 유동엑스제, 유제, 현탁제, 전제, 침제, 점안제, 정제, 좌제, 주사제, 주정제, 캡셀제, 크림제, 환제, 연질 또는 경질 젤라틴 캡셀 등이 있다.
- <46> 더 나아가 본 발명의 질염 예방 또는 치료용 조성물은 당해 기술 분야의 공지된 적절한 방법을 사용하여 또는 레밍턴의 문헌(Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 바람직하게 제형화될 수 있다.
- <47> 본 발명에 따른 질염 예방 또는 치료용 조성물의 투여량은, 투여방법, 복용자의 연령, 성별 및 체중, 및 질환의 중증도 등을 고려하여 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 일예로, 본 발명의 질염 예방 또는 치료용 조성물은 항균 조성물을 기준으로 할 때, 0.0001 mg/kg 내지 1000 mg/kg으로, 보다 효과적이기 위해서는 0.01 mg/kg 내지 100 mg/kg으로 투여할 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- <48> 또한, 본 발명의 질염 예방 또는 치료용 조성물은, 항균조성물 이외에 공지의 질염 억제활성을 갖는 화합물 또는 식물 추출물을 더욱 포함할 수 있으며, 항균조성물 100 중량부에 대하여 각각 5 중량부 내지 20 중량부로 포함될 수 있다.
- <49> 본 발명은 또한 상기 항균조성물을 유효성분으로 포함하는 질 세정용 조성물을 제공한다.
- <50> 상기 질 세정용 조성물은 통상의 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제 등을 더욱 포함하여 다양한 제형 형태로 제조될 수 있다.
- <51> 상기 제형은 비경구 투여를 위한 제제일 수 있고, 일 예로 용액형, 현탁형, 유제형 등의 액상 제형일 수 있으며, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제, 크림, 연고, 젤리, 거품, 세척제 및 질 삽입물이 포함될 것일 수 있다. 상기 제형은 일 예로 멸균수에 용해보조제, 유화제, pH 조절을 위한 완충제 등을 첨가하여 제조할 수 있다.
- <52> 상기 비수성용제 또는 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌글리콜(polyethylene glycol), 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다, 상기 좌제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈 61(tween 61), 카카오지, 라우린지, 글리세로 젤라틴 등이 사

용될 수 있다.

- <53> 보다 상세하게, 상기 질 세정용 조성물은 상기 항균 조성물에 추가하여 이를 제형화하기 위한 담체를 포함할 수 있다. 상기 담체는 결합제, 활탁제, 현탁용제, 가용화제, 완충제, 보존제, 유회제, 등장제, 부형제, 안정화제, 분산제, 현탁화제, 색소, 향료 등을 사용할 수 있다.
- <54> 본 발명은 또한 상기 항균조성물을 유효성분으로 포함하는 질염 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다. 본 발명의 식품 조성물의 예로는 식품, 식품첨가제, 음료 또는 음료첨가제를 들 수 있다.
- <55> 상기 항균조성물을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물은 그 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.
- <56> 본 명세서에서 식품이란 함은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미이고, 상기 식품 조성물은 식품, 식품 첨가제, 건강 기능성 식품 및 음료를 모두 포함하는 의도이다.
- <57> 본 발명의 항균조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 캔디, 차, 비타민 복합제, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 본 발명에서 식품에는 특수영양식품(예, 조제유류, 영,유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 목류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스틱류), 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임 식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과일, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류, 아이스크림류 등), 천연조미료(예, 라면 스프 등), 비타민 복합제, 알코올 음료, 주류 및 그 밖의 건강보조식품류를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 식품, 음료 또는 식품첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.
- <58> 본 발명에서 기능성 식품이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미하며, 바람직하게는 본 발명의 기능성 식품은 질염의 예방 또는 개선에 관한 체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현할 수 있는 식품을 의미한다. 상기 기능성 식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.
- <59> 본 발명에서 음료란 갈증을 해소하거나 맛을 즐기기 위하여 마시는 것의 총칭을 의미하며 기능성 음료를 포함하는 의도이다. 상기 음료는 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 항균조성물을 유효성분으로 포함하는 것 외에 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기의 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어 포도당, 과당 등 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 수크로스 등 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상기한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르트름 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100ml 당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 5 내지 12g이다. 그밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일 주스, 과일 주스 음료, 야채 음료의 제조를 위한 과육을 추가로 함유할 수 있다.
- <60> 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분을 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 상기 첨가제는 본 발명의 항균조성물 100 중량부 당 0 내지 20 중량부, 바람직하게는 0.0001 내지 15 중량부 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- <61> 본 발명에서 기능성 음료란 음료에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 음료의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 음료 군이나 음료 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 음료를 의미한다.
- <62> 상기 기능성음료는 지시된 비율로 필수 성분으로서 본 발명의 항균조성물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어 포도당, 과당 등 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 수크로스 등 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상기한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테

비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 중량부 내지 20 중량부, 바람직하게는 1 중량부 내지 18 중량부, 더욱 바람직하게는 5 중량부 내지 12 중량부 포함될 수 있다.

<63> 또한, 질염의 예방 또는 개선의 효과를 목적으로 하는 식품 조성물에 있어서, 상기 항균조성물의 양은 전체 식품 중량의 0.00001 중량% 내지 50 중량%로 포함될 수 있으며, 음료 조성물의 경우 식품 전체의 부피 100 ml 를 기준으로 0.001 g 내지 50 g, 바람직하게는 0.01 g 내지 10 g의 비율로 포함될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

**효 과**

<64> 본 발명의 다시마 추출물을 유효성분으로 포함하는 항균조성물은 질염의 원인균인 가드네렐라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)에 대한 항균 활성을 갖는 있으므로, 질염에 대한 우수한 예방 또는 치료용 효과가 있을 뿐만 아니라, 기존의 항생물질과는 달리 식품용으로 사용하고 있는 해조류인 다시마에서 추출된 추출물을 유효 성분으로 포함하고 있으므로, 부작용 등이 문제되지 아니하고, 풍부한 해조류인 다시마를 이용하는 것이므로 경제적으로도 유리하여 산업적으로 그 효과가 매우 크다 할 것이다.

**발명의 실시를 위한 구체적인 내용**

<65> 이하, 본 발명의 바람직한 실시예를 기재한다. 다만, 하기의 실시예는 본 발명의 바람직한 일 실시예일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

**<66> 실시예 1: 다시마 추출물의 제조**

<67> 시험에 사용한 다시마는 2006년 6월에 부산시 해운대구 청사포에서 채집하여 사용하였고, 채집한 다시마는 부착물을 제거한 후, 깨끗한 담수로 씻어 실온에서 완전히 건조시킨 다음, 마쇄기를 이용하여 분쇄하였다. 상기 분쇄한 다시마의 추출물은 도 1에 기재된 바와 같은 방법으로 제조하였다.

<68> 보다 상세하게는, 상기 도 1에 기재된 바와 같이, 상기 분쇄한 다시마 분쇄물 20g에 95% 에탄올 1000ml를 가하여 하루 동안 상온에서 추출하여 조추출액을 얻었다. 상기 조추출액을 여과하여, 수득한 여액을 감압증발기를 사용하여 감압 농축하고, 0.22 μm 필터를 이용하여 제균 처리를 수행하였으며, 상기 제균 처리후 6mg/ml의 에탄올 추출물을 수득하였다. 상기 수득한 에탄올 추출물은 사용 시까지 급속 냉동고(deep freezer)에서 -20℃로 보관하였다.

<69> 이때 다시마 건조 분쇄물 20g으로부터 얻어진 에탄올 추출물의 총량은 0.36 g이었다.

**<70> 실시예 2: 다시마 추출물의 항균활성 실험제조**

<71> 상기 실시예 1에서 제조된 다시마 추출물에 대하여, 평판배지 확산법(Agar diffusion method)을 이용하여 여성 질염의 원인균인 가드네렐라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)에 대한 항균활성을 측정하였다.

**<72> 실시예 2-1: 대상 균주와 배양 배지**

<73> 상기 가드네렐라 바지날리스 균주는 KCTC(Korean Collection for Type Cultures)에서 분양받은 *Gardnerella vaginalis* KCTC 5096를 사용하였다. 상기 균주는 모두 37℃로 유지된 혐기성 챔버(Anaerobic chamber)인 Bactron IV Chamber(SHELLAB, USA)에서 배양하였으며, 배양을 위한 혐기조건은 5% CO<sub>2</sub>, 10% H<sub>2</sub>, 및 85% N<sub>2</sub>로 유지하였고, 배양배지는 하기 조성의 배지를 사용하였다.

<74> 배양배지의 조성 : Brucella broth base(B3051, Sigma-Aldrich Inc., USA) with 5% Fetal Bovine Serum(SH30397, HyClone, USA) +2% Agar powder(24440, Junsei Chemical Co., Ltd., 일본).

**<75> 실시예 2-2: 종이 디스크(paper disk)를 이용한 항균 활성의 측정**

<76> 상기 여성질염의 원인 균주인 가드네렐라 바지날리스에 대한 항균활성은 종이 디스크(paper disk)를 사용하여 평판배지 확산법으로 수행하였다.

<77> 상기 항균활성은 항균대상물질인 상기 실시예 1에서 제조된 다시마 에탄올 추출물이 함유된 종이 디스크를 이용하였다. 우선, 상기 실시예 1의 다시마 추출물을 이용하여 상기 실시예 2-1의 배지에서 배양한 *Gardnerella vaginalis* KCTC 5096에 대한 항균활성을 측정하였다.

<78> 보다 상세하게는, 상기 종이 디스크는 상기 실시예 1에서 제조된 에탄올 추출물 각각 1mg, 3mg 및 5mg을 각각 30의  $\mu\text{L}$  에탄올을 이용하여 녹이고, 상기 추출물 용액을 직경 8mm, 두께 1.5mm의 종이 디스크(paper disk, Advantec Filter Paper, Toyo Roshi Kaisha Ltd, 일본)에 흡수시킨 후에, 용매를 완전히 증발시켜 제조하였다.

<79> 상기 제조된 종이 디스크를 병원균, 구체적으로는 상기 실시예 2-1의 *Gardnerella vaginalis* KCTC 5096가 도 말된 상기 실시예 2-1의 조성을 가진 Brucella Agar 평판배지에 올려 놓고, 혐기성 조건으로 37°C에서 24시간 배양하여 평판배지 확산법을 수행하였다.

<80> 상기 항균활성의 측정은 종이 디스크(paper disk) 주변에 형성된 원형 발육 저지환의 크기(mm 단위)를 측정하고 비교하는 방법으로 수행하였고, 모든 시험은 독립적으로 3회 반복하였다.

<81> 상기 여성질염의 원인균인 가드넬라 바지날리스에 대한 다시마 추출물의 항균 활성의 결과를 도 2에 나타내었고, 상기 결과의 평균값을 항균 활성 값으로 하기 표 1에 기재하였으며, 대조예로 추출용매인 에탄올 시료의 상기 병원균에 대한 항균 활성의 결과를 표 1에 같이 기재하였다.

<82> 하기 표에 기재된 수치는 저해환의 직경에서 디스크의 직경 8mm의 크기를 제외한 값((측정값 - 8mm)/2)이다.

<83> [표 1]

	에탄올 추출물(mg)			대조예
	1	3	5	
평균(mm)	2	2.3	3.4	0
오차(mm)	$\pm 0.1$	$\pm 0.3$	$\pm 0.2$	-

<85> 상기 표 1 및 도 1에 나타난 바와 같이, 다시마 에탄올 추출물은 1mg을 첨가한 경우에도 대조예와 비교하여 우수한 항균활성을 나타내는 것으로 확인되었고, 추출물의 함량이 증가함에 따라 항균활성도 증가하는 것으로 확인되었다.

<86> **실시예 3: 다시마 추출물의 최소저지농도(MIC) 측정**

<87> 상기 실시예 2에서 항균 활성이 우수한 것으로 확인된 상기 실시예 1에서 제조된 다시마 에탄올 추출물에 대하여, 각각 액체배지감수성시험(Broth Microdilution Susceptibility Tests)법을 이용하여 상기 시료 즉, 다시마 추출물의 농도를 2배씩 연속희석(two-fold serial dilution)하면서 상기 시료의 최소저지농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)를 측정하는 방법으로 질염의 원인균인 가드넬라 바지날리스(*Gardnerella vaginalis*)에 대한 항균활성 및 최소저지농도를 측정하였다.

<88> 상기 액체배지감수성 시험법은 NCCLS Guide Line M11-A6을 응용하였다(National Committee for Clinical Laboratory Standards, Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria; Approved Standard. NCCLS Document M11-A6. Villanova, Pa, NCCLS(2004)).

<89> 보다 상세하게는, 최소저지농도를 측정하기 위한 시료는 상기 실시예 1에서 제조된 시료 즉, 에탄올 추출물에 대하여 무균 여과처리를 수행한 후에, 최고 농도 1.8mg/mL에서 최저 7.03125  $\mu\text{g/mL}$ 에 이르도록 2배씩 연속희석하여 제조하였다.

<90> 또한, 대상 시험균주인 가드넬라 바지날리스의 대상 균액은 상기 균주를 활성화시키기 위해, Brucella broth base에 5% fetal bovine serum을 첨가한 액체배지에서 72시간 동안 전배양하고, 맥파란(Mcfarland) 0.5로 탁도를 조절한 후에, 상기 균주의 세포수가 약  $1 \times 10^6$  CFU/mL가 되도록 희석액인 상기 액체배지를 이용하여 희석하여 준비하였다.

<91> 상기 최종농도가 약  $1 \times 10^6$  CFU/mL가 되도록 조절한 대상 균액을 96-well U-form micro plate(Falcon, USA)의 각 well에 100  $\mu\text{L}$ 를 넣고, 상기 2배씩 연속희석하여 제조한 각각의 시료를 차례대로 각 well에 100  $\mu\text{L}$ 씩 첨가하였다. 상기 well의 한 줄은 negative control로 균액 대신 배지를 주입하였으며, 실험구의 아래 well은 positive control로 최종농도가 약  $1 \times 10^6$  CFU/mL가 되도록 조절한 대상 균액을 각 well에 100  $\mu\text{L}$ 를 넣고, 추출물이 함유되지 않은 95% 에탄올을 실험구에 사용된 추출물과 동등한 부피비로 연속희석하여 각 well에 첨가하였다.

<92> 상기 각 시료를 첨가한 후, 37°C의 조건에서 혐기성 배양기(anaerobic incubator)를 이용하여 2일간 배양한 후,

균의 성장 정도를 육안 및 도립현미경(Inverted microscope TMS, Nikon)으로 관찰하여 최소저지농도(MIC)를 결정하였고, 모든 시험은 독립적으로 3회 반복하였다. 상기 실험에 의해 측정된 최소저지농도(MIC)의 평균값으로 나타낸 가드네텔라 바지날리스에 대한 최소저지농도를 표 2에 나타내었다.

<93> [표 2]

<94>

	에탄올 추출물
농도(mg/ml)	0.45
농도(%)	7.5

<95>

상기 결과를 종합해 보면, 다시마 추출물을 평판배지 확산법(Agar diffusion method)과 액체배지감수성실험(Broth Microdilution Susceptibility Tests) 기법을 이용하여 질염의 원인균인 가드네텔라 바지날리스에 대한 항균활성을 확인한 결과, 다시마 추출물은 여성질염의 원인균인 가드네텔라 바지날리스에 대하여 우수한 항균활성을 나타내어, 우수한 질염 치료 또는 예방효과가 인정되었으며, 상기 추출대상 및 추출용매는 모두 식용이 가능하여 다양한 용도로 사용될 수 있고, 다시마는 우리나라 해안에서 용이하게 수득할 수 있는 해조류이므로 경제적으로도 유익하여, 산업적으로 그 가치가 매우 클 것으로 평가되었다.

**도면의 간단한 설명**

<96>

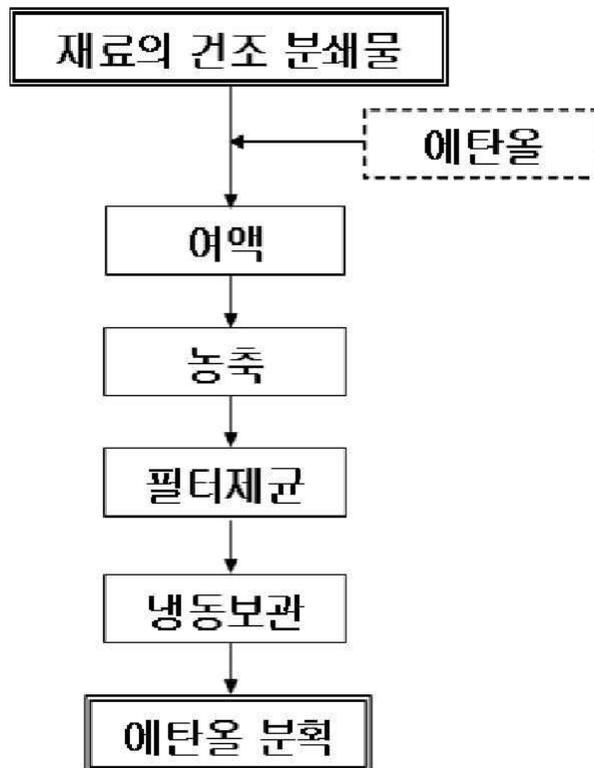
도 1는 본 발명의 일 실시예에 따른 다시마의 추출물을 제조하는 공정을 나타내는 흐름도이다.

<97>

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 다시마 에탄올 추출물의 사용량에 따른 질염의 원인균인 가드네텔라 바지날리스에 대한 항균 활성을 종이 디스크를 이용한 평판배지 확산법으로 측정된 사진이다.

**도면**

**도면1**



도면2

