



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0062615
(43) 공개일자 2012년06월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/03 (2006.01) A61K 36/02 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0109289

(22) 출원일자 2011년10월25일

심사청구일자 2011년10월25일

(30) 우선권주장

1020100123382 2010년12월06일 대한민국(KR)

(71) 출원인

재단법인 제주테크노파크

제주특별자치도 제주시 중앙로 217, 9층 (이도이동, 제주벤처마루)

(72) 발명자

김지영

제주특별자치도 제주시 도남로10길 40, 원명빌라 301호 (도남동)

정용환

제주특별자치도 서귀포시 중앙로101번길 53, A동 201호 (서홍동, 화신빌라)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

강경찬

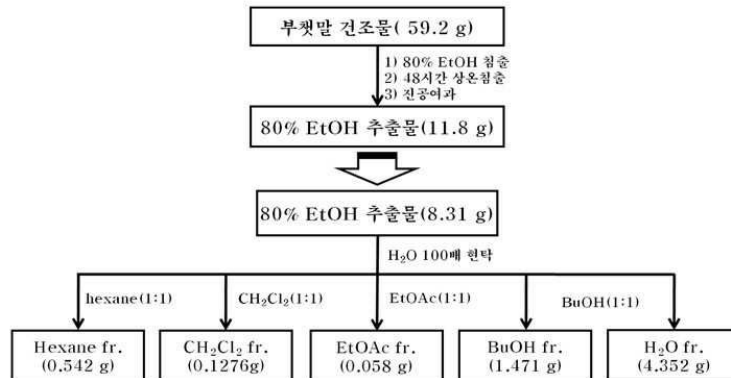
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 부챗말 추출물 또는 분획물을 이용한 피부 외용제 조성물

(57) 요약

본 발명은 스타필로코쿠스 아우레우스, 스타필로코쿠스 에피더미디스 및/또는 프로피오니박테리움 아크네스에 대해 항균 활성 또는 여드름 개선 활성을 나타내는 부챗말(*Padina arborescens*) 추출물 및/또는 그 분획물을 이용한 피부 외용제 조성물을 개시한다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김동삼

제주특별자치도 서귀포시 남원읍 신례동로 338

김영주

제주특별자치도 서귀포시 동홍중앙로52번길 17,
동아빌라 가동 101호 (동홍동)

서인수

제주특별자치도 제주시 화북1동 주공아파트
110-505

박소현

제주특별자치도 제주시 신산로8길 37, 203호 (일
도이동)

윤원중

제주특별자치도 제주시 다랑곶7길 24 (노형동)

특허청구의 범위

청구항 1

부챗말의 에탄올 수용액 추출물, 그 에탄올 수용액 추출물의 헥산 분획물, 그 에탄올 수용액 추출물의 디클로메탄 분획물 및 그 에탄올 수용액 추출물의 에틸아세테이트 분획물로 구성된 군에서 선택된 것을 유효성분으로 하나 이상 포함하는 항균성 피부 외용제 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

항균성은 스타필로코쿠스 아우레우스, 스타필로코쿠스 에피더미디스 및 프로피오니박테리움 아크네로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 미생물에 대한 항균성인 것을 특징으로 하는 항균성 피부 외용제 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 항균성 피부 외용제 조성물은 화장료 조성물, 세정제 조성물 또는 약제학적 조성물인 것을 특징으로 하는 항균성 피부 외용제 조성물.

청구항 4

부챗말의 에탄올 수용액 추출물, 그 에탄올 수용액 추출물의 헥산 분획물, 그 에탄올 수용액 추출물의 디클로메탄 분획물 및 그 에탄올 수용액 추출물의 에틸아세테이트 분획물로 구성된 군에서 선택된 것을 유효성분으로 하나 이상 포함하는 여드름 개선용 피부 외용제 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 여드름 개선용 피부 외용제 조성물은 화장료 조성물, 세정제 조성물 또는 약제학적 조성물인 것을 특징으로 하는 여드름 개선용 피부 외용제 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 부챗말 추출물 또는 분획물을 이용한 피부 외용제 조성물에 관한 것이다. 구체적으로 본 발명은 부챗말 추출물 또는 분획물을 이용한 항균 활성 또는 여드름 개선 활성을 갖는 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 인간의 피부는 주위환경과 직접 접촉하는 기관으로서 각종 피부 질환에 관여하는 세균, 곰팡이 등의 감염이 쉽게 일어난다.

[0003] 예컨대 피부에 화농을 일으키는 황색포도상구균인 스타필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)을 비롯

하여 피부 상재균인 스태필로코쿠스 에피데미디스(*Staphylococcus epidermidis*), 여드름균인 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*) 등이 피부에 존재하며, 이 균들은 피부상에 분비된 피지나 땀을 분해시켜 냄새를 발생시키며, 이와 더불어 그 분해 산물들은 피부에 자극을 주고 염증을 발생시킨다.

- [0004] 특히 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)는 지방산 분해효소인 리파아제(lipase)를 이용하여 피지를 분해시켜서 유리지방산을 생성시킨다. 이들 유리지방산은 피부에 자극을 줄 뿐만 아니라 여드름에서 볼 수 있는 붉은 발진인 구진, 농포, 결절 등의 염증성 병변을 유발시킨다.
- [0005] 이러한 세균들에 대한 항균성 물질로서 트리클로카반(triclocarban), 트리클로산(triclosan) 등 항균성 화합물이 사용되어 왔으나 장기간 사용시 피부 작열감, 화끈거림, 피부 발적 등의 피부 부작용을 유발하는 것으로 알려져 있다.
- [0006] 따라서 최근 피부 부작용이 적은 천연 추출물에 대한 연구가 진행되어 왔으며, 예컨대 녹차 카테킨, 유칼립투스 잎 오일, 레몬 껍질 오일, 조릿대 엑기스, 알로에 베라 껍질 추출물 등이 보고되어 있다(국내 공개특허 제 2010-0088878호, 국내 공개특허 제 2005-0010914호, 국내 공개특허 제 2010-0088296호)
- [0007] 그물바탕말과 부챗말속은 부산에서 Okamura`s (1982)에 의해 *Padina durvillae*가 처음 보고되었으며, 우리나라에서는 *P. arborescens* Holmes, *P. australis* Hauck, *P. boryana* Thivy in Taylor, *P. crassa* Yamada, *P. japonica* Yamada, and *P. minor* Yamada 등 6종이 생육하고 있는 것으로 보고되어 있다(Lee, Y.P. and S. Kang. 2001. A catalogue of the seaweeds in Korea. Cheju National University Press. pp. 662).
- [0008] 부챗말(*Padina arborescens*)은 일본과 우리나라에 분포하고 있는데, 우리나라는 함경도, 부산, 비진도, 거제도, 남해도, 추자도, 제주도 등지에 분포한다고 알려져 있다. 몸은 편평하고 중륵이 없고 부채꼴이다. 단조이거나 또는 노성하면 방사상으로 찢어진다. 크기는 6?7cm, 때로는 25?30cm이다. 하부는 갈색의 모용이 있다. 생식세포의 군은 대체로 몸의 이면, 즉 성장면이 말려 들어간 쪽의 면에 생기고 몸의 모선대와 교호로 환상으로 배열된다. 질은 두꺼운 혁질이고 건조하면 특히 하부는 나무처럼 단단하고 대지에 붙지 않는다(환경부 국립생물자원관. 대한민국 생물지 한국의 조류(Algae). 2010. 제2권 2호. pp 46-48).
- [0009] 부챗말의 생리활성으로는 H₂O₂에 의한 혈관내피세포주인 ECV304 세포의 산화적 스트레스를 억제한다는 항산화 활성이 보고되어 있다(Korean J. Oriental Physiology & Pathology 22(6):1431~1438, 2008).
- [0010] 본 발명은 부챗말 추출물 또는 그 분획물의 피부 세균들에 대한 항균 활성 등을 이용한 피부 외용제 조성물을 개시한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0011] 본 발명의 목적은 부챗말 추출물 또는 그 분획물을 이용한 항균성 피부 외용제 조성물을 제공하는 데 있다.
- [0012] 본 발명의 다른 목적은 부챗말 추출물 또는 그 분획물을 이용한 여드름 개선용 피부 외용제 조성물을 제공하는 데 있다.
- [0013] 본 발명의 구체적인 목적은 이하에서 제시될 것이다.

과제의 해결 수단

- [0014] 일 측면에 있어서, 본 발명은 부챗말 추출물 또는 그 분획물을 이용한 항균성 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.
- [0015] 본 발명자들은 아래의 실시예 및 실험예에서 확인되는 바와 같이, 부챗말 추출물 또는 그 분획물의 항균 활성을 확인하기 위하여 부챗말의 에탄올 수용액 추출물(에탄올과 물의 혼합 용매로서 80%(v/v) 에탄올임)을 제조함과 함께 그것의 핵산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 및 부탄올의 순차적 분획물을 제조하고, 그 추출물과 순차적 분획물의 피부 미생물들 즉 황색포도상구균인 스태필로코쿠스 아우레우스(*S. aureus* KCTC 1927), 스태필로코쿠스 에피데미디스(*S. epidermidis* SK4와, 항생제 내성균인 *S. epidermidis* SK9 및 *S. epidermidis* SK19 포함), 및 프로피오니박테리움 아크네스(*P. acnes* ATCC 3314와 항생제 내성균인 *P. acnes* SKA7 포함)에

대한 항균 활성을 원판 확산법(Disc diffusion assay), 최소저해농도(Minimum inhibitory concentration, MIC) 및 최소세균사멸농도(Minimal bactericidal concentration, MBC)로 평가하였다.

- [0016] 그 결과, 처리 농도가 1 mg/ml인 원판 확산법에 의한 항균 활성 평가 결과에 있어서는, 에탄올 수용액 추출물은 스태필로코쿠스 아우레우스와 스태필로코쿠스 에피더미디스 SK4에 대해서 활성을 보였고, 헥산 분획물, 디클로로메탄 분획물 및 에틸아세테이트 분획물은 항생제 내성균을 포함하여 실험에 사용한 모든 균에 대해서 활성을 보였다. 나머지 분획물인 부탄올 분획물과 잔여 물층은 모든 피부 미생물들에 대해서 항균 활성을 나타내지 않았다.
- [0017] 또한 최소억제농도에 의한 항균 활성 평가 결과에 있어서는, 에탄올 수용액 추출물은 모든 균에 대해서 1 내지 2 mg/ml 범위의 최소저해농도를 나타내었고, 헥산 분획물, 디클로로메탄 분획물 및 에틸아세테이트 분획물은 0.25 내지 2 mg/ml 범위의 최소 저해 농도를 나타내었다. 여기서도 나머지 분획물인 부탄올 분획물과 잔여 물층은 모든 피부 미생물들에 대해서 항균 활성을 나타내지 않았다.
- [0018] 마지막으로 최소사멸농도에 의한 항균 활성 평가 결과에 있어서는, 헥산 분획물이 스태필로코쿠스 아우레우스 및 항생제 내성균인 스태필로코쿠스 에피더미디스 SK9에 대해서만 3 mg/ml의 최소세균사멸농도를 보였고, 에틸아세테이트 분획물은 항생제 내성균인 스태필로코쿠스 에피더미디스 SK9 및 스태필로코쿠스 에피더미디스 SK19에 대해서 각각 3 mg/ml 및 2 mg/ml의 최소세균사멸농도를 보였다.
- [0019] 상기 실험 결과는 부챗살의 에탄올 수용액 추출물과, 그것의 순차적 분획물 중에서 헥산 분획물, 디클로로메탄 분획물 및 에틸아세테이트 분획물이 피부 미생물에 대해서 항균 용도로 사용될 수 있음을 보여주는 것이라 할 수 있으며, 특히 헥산 분획물과 에틸아세테이트 분획물이 피부 미생물에 대한 항균 용도로 유용하게 사용될 수 있음을 보여주는 것이라 할 수 있다.
- [0020] 전술한 바를 고려할 때, 본 발명의 항균성 피부 외용제 조성물은 부챗살의 에탄올 수용액 추출물, 그 에탄올 수용액 추출물의 헥산 분획물, 그 에탄올 수용액 추출물의 디클로로메탄 분획물 및/또는 그 에탄올 수용액 추출물의 에틸아세테이트 분획물을 유효성분으로 포함함을 특징으로 한다.
- [0021] 본 명세서에서, "부챗살 에탄올 수용액 추출물"은 부챗살을 에탄올 수용액에 침지시켜 얻어진 추출물을 의미한다. 부챗살을 에탄올 수용액에 침지시켜 얻는 한, 추출 방법은 냉침, 환류, 가온, 초음파 방사 등 임의의 방식이 모두 적용될 수 있다.
- [0022] 또 본 명세서에서, "부챗살 에탄올 수용액 추출물의 헥산 분획물"은 상기 부챗살 에탄올 수용액 추출물을 헥산과 혼합하고 정치시켜 얻어진 분획물 또는 추출 용매가 제거된 고형상의 부챗살 에탄올 수용액 추출물을 물에 현탁하고 이를 헥산과 혼합하고 정치시켜 얻어진 분획물을 의미한다.
- [0023] 또 본 명세서에서, "부챗살 에탄올 수용액 추출물의 디클로로메탄 분획물"은 상기 부챗살 에탄올 수용액 추출물을 디클로로메탄과 혼합하고 정치시켜 얻어진 분획물, 상기 부챗살 에탄올 수용액 추출물에서 추출 용매를 제거하여 얻은 고형상의 부챗살 에탄올 수용액 추출물을 물에 현탁한 후 이를 디클로로메탄과 혼합하고 정치시켜 얻어진 분획물, 또는 상기 고형상의 부챗살 에탄올 수용액 추출물을 물에 현탁하고 이를 헥산 및 디클로로메탄으로 순차적으로 분획하여 얻은 디클로로메탄층의 분획물을 의미한다. 여기서 "헥산과 디클로로메탄으로 순차적으로 분획한다"는 의미는 고형상의 부챗살 에탄올 수용액 추출물을 물에 현탁하고 이를 헥산과 혼합하고 정치시킨 후 헥산층의 분획물을 제외한 잔여층인 물층을 디클로로메탄과 혼합?정치시켜 분획한다는 의미이다.
- [0024] 또 본 명세서에서, "부챗살 에탄올 수용액 추출물의 에틸아세테이트 분획물"은 상기 부챗살 에탄올 수용액 추출물을 에틸아세테이트와 혼합하고 정치시켜 얻어진 분획물, 상기 부챗살 에탄올 수용액 추출물에서 추출 용매를 제거하여 얻은 고형상의 부챗살 에탄올 수용액 추출물을 물에 현탁한 후 이를 에틸아세테이트와 혼합?정치시켜 얻어진 분획물, 또는 상기 고형상의 부챗살 에탄올 수용액 추출물을 물에 현탁하고 이를 헥산, 디클로로메탄 및 에틸아세테이트로 순차적으로 분획하여 얻은 에틸아세테이트층의 분획물을 의미한다. 여기서 "헥산, 디클로로메탄 및 에틸아세테이트로 순차적으로 분획한다"는 의미는 고형상의 부챗살 에탄올 수용액 추출물을 물에 현탁하고 이로부터 헥산 분획물과 디클로로메탄 분획물을 얻은 후 잔여층인 물층을 에틸아세테이트와 혼합?정치시켜 분획한다는 의미이다.
- [0025] 또 본 명세서에서 "유효성분"이란 단독으로 목적하는 활성을 나타내거나 또는 그 자체는 활성이 없는 담체와 함께 활성을 나타낼 수 있는 성분을 의미한다.
- [0026] 또 본 명세서에서, "항균성"이란 피부 미생물인 스태필로코쿠스 아우레우스, 스태필로코쿠스 에피더미디스 및 프로피오니박테리움 아크네스로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 미생물을 사멸시키거나 그 증식을 억제하

는 성질 또는 용도를 의미한다.

- [0027] 본 명세서에서 특별히 정의되지 아니한 기타의 용어는 국어사전적 의미나 당업계에서 일반적으로 받아들여지고 있는 의미를 따른다.
- [0028] 본 발명의 항균성 피부 외용제 조성물에 있어서, 바람직한 유효성분은 부챗말 에탄올 수용액 추출물의 헥산 분획물, 디클로메탄 분획물 또는 에틸아세테이트 분획물이다. 더 바람직하게는 부챗말 에탄올 수용액 추출물의 헥산 분획물 또는 에틸아세테이트 분획물이다. 또한 최소사멸농도에 대한 아래의 실험예가 보여주듯이, 유효성분이 헥산 분획물일 경우 항균성은 스태필로코쿠스 아우레우스 및 항생제 내성균인 스태필로코쿠스 에피더미디스 SK9에 대한 항균성으로, 또 유효성분이 에틸아세테이트 분획물일 경우 항균성은 항생제 내성균인 스태필로코쿠스 에피더미디스 SK9 및 스태필로코쿠스 에피더미디스 SK19에 대한 항균성으로 이해되는 것이 바람직하다.
- [0029] 다른 측면에 있어서, 본 발명은 여드름 개선용 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.
- [0030] 아래의 실험예는 부챗말 에탄올 수용액 추출물, 그것의 헥산 분획물, 디클로로메탄 분획물, 및 에틸아세테이트 분획물이 여드름균인 프로피오니박테리움 아크네스에 대해서 항균 활성을 보임을 보여주며, 특히 에틸아세테이트 분획물이 포함된 로션을 제조하여 관능평가를 실시한 경우 2/3 이상의 사용자가 여드름이 개선되었다고 응답하였음을 보여준다.
- [0031] 따라서 본 발명의 여드름 개선용 피부 외용제 조성물은 유효성분으로서 부챗말 에탄올 수용액 추출물, 그것의 헥산 분획물, 디클로로메탄 분획물 및/또는 에틸아세테이트 분획물을 포함함을 특징으로 한다.
- [0032] 본 발명의 여드름 개선용 피부 외용제 조성물은 유효성분으로서 바람직하게는 항균 활성이 가장 뛰어나고 관능평가에서도 여드름 개선 활성이 확인된 에틸아세테이트 분획물을 포함하는 경우이다.
- [0033] 본 발명의 여드름 개선용 피부 외용제 조성물에 있어서, 상기 부챗말 에탄올 수용액 추출물의 의미, 상기 헥산 분획물의 의미, 상기 디클로로메탄 분획물의 의미, 상기 에틸아세테이트 분획물의 의미, 상기 유효성분의 의미 등과 관련하여서는 전술한 바가 그대로 유효하다.
- [0034] 한편 본 발명의 항균성 피부 외용제 조성물 또는 여드름 개선용 피부 외용제 조성물(이하 "본 발명의 피부 외용제 조성물")은 그 유효성분인 부챗말 에탄올 수용액 추출물 또는 그 분획물을 항균 활성 또는 여드름 개선 활성을 나타낼 수 있는 한 용도, 제형, 배합 목적 등에 따라 임의의 양(유효량)으로 포함할 수 있는데, 통상적인 유효량은 조성물 전체 중량을 기준으로 할 때 0.001 중량 % 내지 20.000 중량 % 범위 내에서 결정될 것이다. 여기서 "유효량"이란 항균 활성 또는 여드름 개선 활성을 나타낼 수 있는 유효성분의 양을 말한다. 이러한 유효량은 당업자의 통상의 능력 범위 내에서 실험적으로 결정될 수 있다.
- [0035] 본 발명의 피부 외용제 조성물은 구체적인 양태에 있어서 화장료 조성물로 파악할 수 있다.
- [0036] 본 발명의 조성물이 화장료 조성물로서 파악될 경우, 그 화장료 조성물은 다양한 형태로 제조될 수 있는데, 예컨대, 에멀전, 로션, 크림(수중유적형, 유중수적형, 다중상), 용액, 현탁액(무수 및 수계), 무수 생성물(오일 및 글리콜계), 젤, 마스크, 팩, 분말 등의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0037] 본 발명의 조성물은 그 유효성분을 포함하는 이외에 화장료 제제에 있어서 수용가능한 담체를 포함할 수 있다.
- [0038] 여기서 "화장료 제제에 있어서 수용가능한 담체"란 화장료 제제에 포함될 수 있는 이미 공지되어 사용되고 있는 화합물 또는 조성물이거나 앞으로 개발될 화합물 또는 조성물로서 피부와의 접촉시 인체가 적응 가능한 이상의 독성을 지니지 않는 것을 말한다.
- [0039] 상기 담체는 본 발명의 조성물에 그것의 전체 중량에 대하여 약 1 중량 % 내지 약 99.99 중량 %, 바람직하게는 조성물의 중량의 약 50 중량% 내지 약 99 중량 %로 포함될 수 있다.
- [0040] 그러나 상기 비율은 화장료의 전술한 바의 제형에 따라 또 그것의 구체적인 적용 부위(얼굴이나 손)나 그것의 바람직한 적용량 등에 따라 달라지는 것이기 때문에, 상기 비율은 어떠한 측면으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 이해되어서는 안 된다.
- [0041] 한편 상기 담체로서는 알코올, 오일, 계면활성제, 지방산, 실리콘 오일, 습윤제, 보습제, 점성 변형제, 유제, 안정제, 자외선 차단제, 발색제, 향료 등이 예시될 수 있다.
- [0042] 상기 담체로서 사용될 수 있는 알코올, 오일, 계면활성제, 지방산, 실리콘 오일, 습윤제, 보습제, 점성 변형

제, 유제, 안정제, 자외선 차단제, 발색제, 향료 로 사용될 수 있는 화합물/조성물 등은 이미 당업계에 공지되어 있기 때문에 당업자라면 적절한 해당 물질/조성물을 선택하여 사용할 수 있다.

- [0043] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에 알려진 피부 보습 활성 물질, 항아토피 활성 물질, 항여드름 활성 물질, 미백 활성 물질 등 기능성 물질을 추가로 포함할 수도 있다.
- [0044] 본 발명의 조성물은 또 다른 구체적인 양태에 있어 피부 세정제 조성물로 파악할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 피부 세정제 조성물은 고형상 또는 액상으로 제조될 수 있으며, 바디용 비누, 핸드용 비누, 세안제 등으로 제품화될 수 있다.
- [0046] 본 발명의 피부 세정제에는 그 유효성분인 부챗말 에탄올 수용액 추출물 또는 분획물의 항균 활성을 저해하지 않은 한, 당업계에서 세정제의 제조에 사용되는 임의의 성분을 포함할 수 있다.
- [0047] 이러한 임의의 성분으로서는 예컨대, 폴리옥시에틸렌알킬에테르 황산염 등의 음이온 계면활성제, 아민 옥시드, 폴리옥시에틸렌알킬에테르 등의 비이온 계면활성제, 유분, 실리콘류, 저급 또는 고급 알코올 등의 알코올류, 라놀린 유도체, 단백 유도체, 아크릴 수지 분산액, 양이온 성 폴리머, 음이온성 폴리머, 비이온 성 폴리머, 비타민 등의 약제, 살균제, 방부제, pH 조정제, 산화 방지제, 금속 봉쇄제, 자외선 흡수제, 동식물 추출물 또는 그 유도체, 색소, 향료, 안료, 무기물 분체, 점토 광물, 나일론, 폴리에틸렌 등의 수불용성 폴리머 분체, 프로필렌 글리콜, 에틸알콜, 글리세린, 물 등을 들 수 있다.
- [0048] 본 발명의 조성물은 다른 구체적인 양태에 있어서 약제학적 조성물로 파악될 수 있다.
- [0049] 본 발명의 약제학적 조성물은 그 유효성분 이외에 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 등을 포함하여, 국소형 제형 예컨대 크림, 로션, 연고(반고형의 외용약), 마이크로로에멀전, 젤, 페이스트, 경피제제(TTS)(예컨대 패치제, 붕대 등) 등으로 제조될 수 있다.
- [0050] 상기에서 "약제학적으로 허용되는" 의미는 유효성분의 활성을 억제하지 않으면서 적용(처방) 대상이 적응가능한 이상의 독성을 지니지 않는다는 의미이다.
- [0051] 약제학적으로 허용되는 담체의 예로서는 락토스, 글루코스, 슈크로스, 전분(예컨대 옥수수 전분, 감자 전분 등), 셀룰로오스, 그것의 유도체(예컨대 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 등), 맥아, 젤라틴, 탈크, 고체 윤활제(예컨대 스테아르산, 스테아르산 마그네슘 등), 황산 칼슘, 식물성 기름(예컨대 땅콩기름, 면실유, 참기름, 올리브유 등), 폴리올(예컨대 프로필렌 글리콜, 글리세린 등), 알긴산, 유화제(예컨대 TWEENS), 습윤제(예컨대 라우릴 황산 나트륨), 착색제, 풍미제, 안정화제, 향산화제, 보존제, 물, 식염수, 인산염 완충 용액 등을 들 수 있다. 이러한 담체는 본 발명의 약제학적 조성물의 제형에 따라 적당한 것을 하나 이상 선택하여 사용할 수 있다.
- [0052] 부형제도 본 발명의 약제학적 조성물의 제형에 따라 적합한 것을 선택하여 사용할 수 있는데, 예컨대 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 히드로프로필메틸셀룰로오스, 알긴산 나트륨, 폴리비닐피롤리돈 등의 현탁제나 분산제 등을 들 수 있다.
- [0053] 본 발명의 약제학적 조성물은 그 1일 투여량이 통상 0.001 ~ 150 mg/kg 체중 범위이고, 1회 또는 수회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나, 본 발명의 약제학적 조성물의 투여량은 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중, 환자의 중증도 등의 여러 관련 인자에 비추어 결정되는 것이므로 상기 투여량은 어떠한 측면으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 이해되어서는 아니 된다.

발명의 효과

- [0054] 전술한 바와 같이, 본 발명에 따르면 부챗말 추출물 또는 그 분획물을 이용한 피부 외용제 조성물을 제공할 수 있다. 본 발명의 피부 외용제 조성물은 화장료 조성물, 세정제 조성물, 또는 약제학적 조성물 등으로 제품화될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0055] 도 1은 부챗말 추출?분획 공정의 개략도이다.

도 2는 부챗말 추출물 또는 그 분획물의 세포 독성을 나타내지 않음을 보여주는 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0056] 이하 본 발명을 실시예 및 실험예를 참조하여 설명한다. 그러나 본 발명의 범위가 이러한 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0057] <실시예> 부챗말 추출물의 제조

[0058] 제주도 서귀포시 문섬 해안에서 2006년 4월 6에 채집한 부챗말을 부착생물을 제거한 후 시료를 음건한 다음 마쇄기로 분쇄하였다. 부챗말의 미세말 시료를 80% 에탄올에 상온에서 48시간 침출하고 3회 추출하였으며, 그 후 상층액을 회수하고 감압 농축하여 에탄올 추출물을 얻었다. 그리고 에탄올 추출물을 10g을 증류수 1L에 현탁시킨 후, 헥산(1L× 3), 디클로로메탄(1L× 3), 에틸아세테이트(1L× 3), 부탄올(1L× 3)로 각각 순차적으로 추출하여 각각의 분획물을 진공 건조하여 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 및 부탄올 그리고 잔여 물층을 얻었다. 각 분획물은 해당 용매로 용해시켜 0.2 μm membrane filter(Advantec MFS Inc. USA)로 제균하여 4℃에 보관하면서 본 연구에 사용하였다.

[0059] 부챗말은 건조분말 59.2 g을 80 % 에탄올로 추출한 후 여과하여 얻어진 추출액을 감압 농축하여 조추출물 11.87 g을 얻었으며, 추출수율은 20.0 %였다. 순차적 분획물은 부챗말의 에탄올 추출물의 10 g을 증류수 1 L에 현탁시킨 후에 헥산 (1 L× 3), 디클로로메탄 (1 L× 3), 에틸아세테이트 (1 L× 3) 그리고 부탄올 (1 L× 3) 등으로 순차적으로 분획하여 헥산층에서 0.542 g, 디클로로메탄층에서 0.128 g, 에틸아세테이트층에서 0.058 g 및 부탄올층에서 1.470 g 그리고 잔사인 water 층에서 4.353 g의 분획물을 얻었다 추출?분획 공정의 개략도를 도 1에 나타내었다.

[0060] <실험예> 부챗말의 피부균에 대한 항균 활성 실험 및 여드름 개선 활성에 대한 관능평가 실험

[0061] <실험예 1> 항균 활성 실험

[0062] <실험예 1-1> 원관 확산법에 의한 실험

[0063] 본 실험에 사용한 균주는 피부에서 흔히 검출되는 3종의 균주인 스태필로코쿠스 아우레우스, 스태필로코쿠스 에피더미디스, 프로피오니박테리움 아크네스를 사용하였으며, 일부 스태필로코쿠스 에피더미디스 및 프로피오니박테리움 아크네스에 대해서는 항생제 내성균을 함께 사용하였다.

[0064] 혐기성 균인 프로피오니박테리움 아크네스는 anaerobic Jar(Oxoid, USA)에서 배양하였다.

[0065] 균주들의 배지는 Tryptic soy agar(TSA)는 Difco(USA)사, GAM Broth는 Nissui(Japan)사에서 구입하여 사용하였다.

[0066] 아래의 [표 1]에 사용 균주, 배지 등을 정리하였다.

표 1

Microorganisms	Drug-resistant patterns of skin pathogens(MIC;μg/mL)	Temp.(℃)	Media
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1927	Susceptible	37	TSA
<i>Staphylococcus epidermidis</i> SK4	Susceptible	37	TSA
<i>Staphylococcus epidermidis</i> SK9	Erythromycin(>32),Clindamycin(>16),Chloramphenicol(64)	37	TSA
<i>Staphylococcus epidermidis</i> SK19	Tetracycline(>32)	37	TSA
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 3314	Susceptible	37 (anaerobic)	GAM
<i>Propionibacterium acnes</i> SKA7	Clindamycin(64)	37 (anaerobic)	GAM

- [0068] 항균력 측정은 원판 확산법(Disc diffusion assay)을 사용하였다(Hayes, A.J., Markovic, B., 2002. Toxicity of Australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 11. Antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity. *Food. Chem. Toxicol.* 40(4): 535-543).
- [0069] 각 균주는 10 mL의 액체배지에 접종하고 37℃에서 18시간씩 3회 계대 배양하여 항균활성 시험 균주로 사용하였으며, 각각의 시험균 농도를 0.5 McFarland으로 $10^6 - 10^8$ CFU/mL 되게 한 후 pour-plate 방법에 균 접종 평판배지를 만들어 사용하였다.
- [0070] 각각의 시료는 1 mg/ml 농도로 조제하여 농도별로 paper disc(Whatman No.5, 8 mm)에 천천히 흡수시킨 후, 용매를 완전히 증발시켰다. 시험용 평판배지 표면에 디스크를 밀착시키고 최적온도 37℃에서 배양한 후 디스크 주변에 생성된 생육저해환(clear zone, mm)의 크기를 측정하여 항균활성을 비교하였다.
- [0071] 결과를 아래의 [표 2]에 나타내었다.

표 2

microorganisms	Clear zone(mm)					
	EtOH	n-hexane	CH ₂ Cl ₂	EtOAc	BuOH	water
<i>S. aureus</i>	9	15	10	11	— ¹⁾	—
<i>S. epidermidis</i> SK4	9	12	11	12	—	—
<i>S. epidermidis</i> SK9	—	10	12	12	—	—
<i>S. epidermidis</i> SK19	—	10	11	11	—	—
<i>P. acnes</i>	—	10	11	11	—	—
<i>P. acnes</i> SKA7	—	9	10	10	—	—

- [0072] 1) —, No inhibition

- [0073] [표 2]를 참조하여 보면, 에탄올 추출물은 스태필로코쿠스 아우레우스와 스태필로코쿠스 에피더미디스 SK4에 대해서 활성을 보였고, 헥산 분획물, 디클로로메탄 분획물 및 에틸아세테이트 분획물은 항생제 내성균을 포함하여 실험에 사용한 모든 균에 대해서 활성을 보였다. 특히, 헥산 분획물은 스태필로코쿠스 아우레우스에서 15 mm의 높은 생육저해환을 나타내었다. 부탄올 분획물과 잔여 물층은 모든 균에 대해서 활성을 나타내지 않았다.

- [0074] <실험예 1-2> 최소저해농도(Minimum inhibitory concentration, MIC)의 측정

- [0075] 최소저해농도(MIC)는 Micro-well dilution assay 방법(Amster D. 1996. Susceptibility testing of antimicrobial in liquid media, antibiotics in laboratory medicine. 4th ed. Williams and Wikins, MD, USA. p 52-111)에 따라 측정하였다. 각각의 균 농도를 0.5 McFarland으로 $10^6 - 10^8$ CFU/mL가 되게 한 후 96 well plate에 분주하고, 각 시료를 농도별로 10 μ l씩 처리하여 배양하였다. 세균 배양액의 증식 정도를 Microplate reader(Powerwave XS, BioTek)로 650 nm에서 측정하였다. 세균만 접종한 well에서의 흡광도 값도 비교하여 최소억제농도를 정하였다.

- [0076] 결과를 아래의 [표 3]에 나타내었다.

표 3

microorganisms	Minimum inhibitory concentrations(MIC, mg/ml)					
	EtOH	n-hexane	CH ₂ Cl ₂	EtOAc	BuOH	water
<i>S. aureus</i>	1 ≤	0.5 ≤	1 ≤	0.5 ≤	- ¹⁾	-
<i>S. epidermidis</i> SK4	2 ≤	1 ≤	1 ≤	1 ≤	-	-
<i>S. epidermidis</i> SK9	2 ≤	0.5 ≤	1 ≤	0.5 ≤	-	-
<i>S. epidermidis</i> SK19	2 ≤	2 ≤	1 ≤	0.25 ≤	-	-
<i>P. acnes</i>	2 ≤	2 ≤	1 ≤	1 ≤	-	-
<i>P. acnes</i> SK7	2 ≤	1 ≤	1 ≤	1 ≤	-	-

1) -, Growth

[표 3]을 참조하여 보면, 에탄올 추출물은 모든 균에 대해서 1 내지 2 mg/ml 범위의 최소저해농도를 나타내었고, 헥산 분획물, 디클로로메탄 분획물 및 에틸아세테이트 분획물은 0.25 내지 2 mg/ml 범위의 최소 저해 농도를 나타내었다. 특히 에틸아세테이트 분획물은 항생제 내성균인 스태필로코쿠스 에피더미디스 SK9와 스태필로코쿠스 에피더미디스 SK19에 대해서 각각 0.5 mg/ml 및 0.25 mg/ml로 비교적 낮은 농도의 최소저해농도를 나타내었다.

<실험예 1-3> 최소세균사멸농도(Minimal bactericidal concentration, MBC) 측정

MIC로 선정된 농도보다 그 이상의 농도에 해당하는 well의 배양액 100μl 씩을 고체배지에 직접 도말하였다. 각각의 균을 배양 후 plate 상에서 육안으로 관찰되는 colony 수를 직접 계수하였다. 이때 확인되어지는 colony 수가 액체배양액으로부터 접종한 초기 접종균수의 99.9%를 사멸시키는 효과를 나타내는 것으로 확인되어진 경우 이때의 처리농도를 최소세균사멸농도(MBC)로 정하였다(Cohen MA, Huband MD, Yoder SL, Gage JW, Roland GE., 1998, Bacterial eradication by clinafloxacin, CI-990, and ciprofloxacin employing MBC test, in-vitro time-kill and in-vivo time-kill studies. *J Antimicrob Chemother.* 41(6): 605-14).

결과를 아래의 [표 4]에 나타내었다.

표 4

microorganisms	Minimum Bactericidal concentrations(MBC,mg/ml)					
	EtOH	n-hexane	CH ₂ Cl ₂	EtOAc	BuOH	water
<i>S. aureus</i>	- ¹⁾	3	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i> SK4	-	-	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i> SK9	-	3	-	3	-	-
<i>S. epidermidis</i> SK19	-	-	-	2	-	-
<i>P. acnes</i>	-	-	-	-	-	-
<i>P. acnes</i> SK7	-	-	-	-	-	-

1) -, Growth

스타필로코쿠스 아우레우스 및 항생제 내성균인 스태필로코쿠스 에피더미디스 SK9에 대해서는 헥산 분획물이

3 mg/ml의 최소세균사멸농도를 보였고, 에틸아세테이트 분획물은 항생제 내성균인 스타필로코쿠스 에피더미디스 SK9 및 스타필로코쿠스 에피더미디스 SK19에 대해서 각각 3 mg/ml 및 2 mg/ml의 최소세균사멸농도를 보였다.

[0084] <실험예 1-4> MTT 법에 의한 세포 독성 평가

[0085] 부챗살 에탄올 추출물과 분획물의 세포 보호 및 독성 유무를 확인하기 위해 MTT assay를 이용한 세포생존율을 측정하였다. MTT 분석이란 탈수소 효소 작용에 의하여 노란색의 수용성 기질인 MTT 테트라졸리움을 청자색을 띄는 비수용성의 MTT 포르마잔 크리스탈로 환원시키는 세포내 미토콘드리아의 능력을 이용하는 검사법이다.

[0086] RAW 264.7 세포주를 96 well plate에 1×10^5 cell/well의 농도로 DMEM 배지에 12시간 배양한 후, 부챗살의 에탄올 추출물 또는 분획물의 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하여 24시간 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고 200 μl 의 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT; SIGMA, USA) 용액을 각 well에 첨가하여 37°C에서 4시간 배양 한후 상층액을 제거하고 200 μl 의 DMSO를 첨가하여 비수용성의 보라색 formazan을 용해시켰다. 용해된 formazan의 양은 microplate reader(BioTek, USA)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료를 첨가하지 않은 배지만 넣고 배양하였고, 대조군의 흡광도를 기준으로 세포 생존율을 산출하였다.

[0087] 결과를 [도 2]에 나타내었다.

[0088] [도 2]를 참조하여 보면 부챗살의 에탄올 추출물과 분획물은 모두 특별한 세포 독성을 보이지 않음을 알 수 있다.

[0089] <실험예 2> 여드름 개선 활성에 대한 관능평가 실험

[0090] 상기 <실험예 1>에서 여드름균인 프로피오니박테리움 아크네스에 대해서 가장 항균 활성이 우수한 것으로 나타난 에틸아세테이트 분획물이 포함되어 제조된 영양 로션을 이용하여 여드름 개선 활성에 대해 관능평가를 수행하였다.

[0091] 영양 로션의 제조는 아래의 [표 5]의 성분 및 함량으로 제조하였으며, 이 제조예의 영양 로션의 여드름 개선 활성 유무를 검증하기 위하여 비교예의 영양 로션을 제조하여 함께 관능평가에 이용하였는데, 비교예의 영양 로션으로서는 아래의 [표 5]에서 실시예의 에틸아세테이트 분획물 대신에 정제수가 그 함량 만큼 더 포함된 영양 로션을 사용하였다.

표 5

[0092]

번호	성분	함량 (중량%)
1	부챗살의 에틸아세테이트 분획물	2.0
2	스테아린산	2.0
3	세틸알콜	2.0
4	글리세릴모노스테아레이트	2.0
5	폴리옥시에틸렌소르비탄모노스테아레이트	0.5
6	솔비탄세스퀴올레이트	0.5
7	글리세릴모노스테아레이트/글리세릴스테아레이트/폴리옥시에틸렌스테아레이트	1.0
8	왁스	1.0
9	유동과라핀	4.0
10	스쿠알란	4.0
11	카프릴릭/카프릭트리글리세라이드	4.0
12	카르복시비닐폴리머	0.3
13	부틸렌글리콜	5.0
14	글리세린	3.0
15	트리에탄올아민	0.5
16	정제수	잔량

[0093] 관능평가는 여드름 질환을 갖고 있는 10대 내지 20대의 남녀 60명을 2그룹으로 나누고, 각 그룹에 상기 [표 5]의 제조예의 영양 로션과 비교예의 영양 로션을 1일 2회 4주간 사용하도록 하여 설문 조사 형식으로 실시하였으며, 결과를 개선되었다고 응답한 사용자(A)의 수, 변함없다고 응답한 사용자(B)의 수, 악화되었다고 응답

한 사용자(C)의 수로 아래의 [표 6]에 나타내었다.

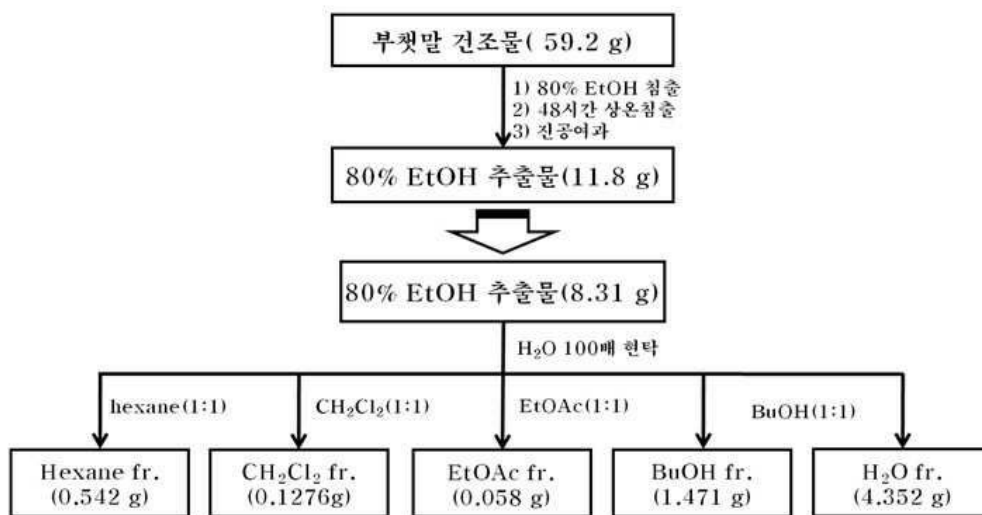
표 6

구분	A	B	C
제조예	22	6	2
비교예	6	17	7

상기 [표 6]의 결과는 제조예의 영양 로션을 사용한 경우 전체적인 사용자의 2/3 이상에서 개선되었다는 응답을 얻었음을 보여준다. 비교예의 영양 로션의 경우 개선되었다고 응답한 사용자가 4명에 불과하여, 부챗살의 에틸아세테이트 분획물이 여드름 개선 활성을 가짐을 뒷받침한다.

도면

도면1



도면2

