



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년07월01일

(11) 등록번호 10-1532833

(24) 등록일자 2015년06월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/14 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0076194

(22) 출원일자 2013년06월30일

심사청구일자 2013년06월30일

(65) 공개번호 10-2015-0003426

(43) 공개일자 2015년01월09일

(56) 선행기술조사문헌

JP07157794 A\*

US06387417 B1\*

Fitoterapia. Vol.78(2), pp.149-152\*

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

재단법인 전남생물산업진흥원

전남 나주시 동수농공단지길 30-5, (동수동)

(72) 발명자

최철용

광주 서구 풍암순환로 14, 105동 203호 (풍암동, 호반아파트)

조승식

전남 무안군 삼향읍 남약4로82번길 31, 103동 910호 (근화베아채)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

최석진

전체 청구항 수 : 총 3 항

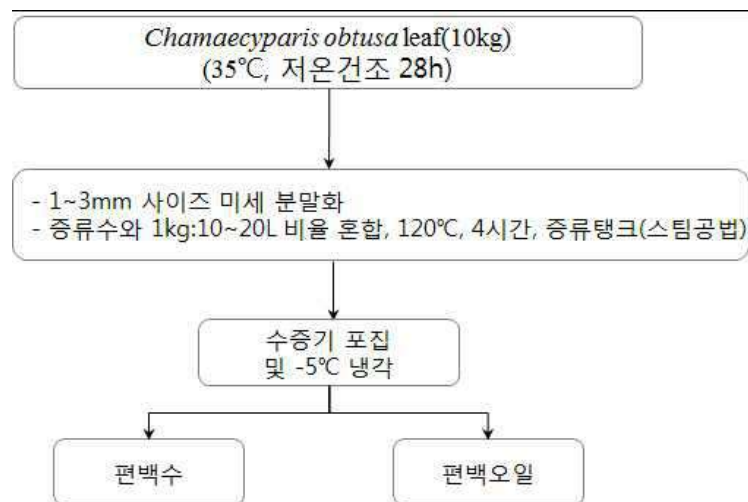
심사관 : 정의준

(54) 발명의 명칭 **편백나무 추출물을 이용한 항생제 내성 균주의 성장 저해기능을 갖는 약학 조성물 및 이를 이용한 항생제 내성 균주 감염질환 예방 치료제**

**(57) 요약**

본 발명은 편백 오일 정유 성분을 유효성분으로 포함하는 항생제 내성 균주에 대한 항균용 조성물에 관한 것으로, 메티실린 저항성 포도상구균(MRSA), 반코마이신 저항성 장구균(VRE) 또는 항생제 내성을 가지는 대장균, 페렴간균, 살모넬라 티피뮤리움 및 엔테로코커스 패칼리스 등에 작용하여 항생제 내성 균주의 성장을 억제시킬 수 있는 편백오일 정유성분을 유효성분으로 포함하는 항생제 내성 균주의 성장을 억제시킬 수 있는 약학 조성물 및 이를 이용한 항생제 내성 균주 감염질환 치료제로서 용액제, 현탁제, 스프레이제, 패취제, 패드제, 크림제, 연고제, 젤제, 정제 또는 환제로 제공될 수 있다.

**대표도** - 도1



(72) 발명자

**배민석**

전남 무안군 삼향읍 남약5로22번길 20, 206동 150  
5호 (근화베아채 스위트)

**반상오**

광주 북구 평교로29번길 23, (문흥동)

**강후원**

전남 나주시 영산포로 205-7, (영산동)

**설희진**

광주 남구 봉선2로 96-14, 203동 806호 (봉선동,  
무등2차아파트)

**이규욱**

전라남도 장흥군 장흥읍 우드랜드길 136 성은연립  
주택 101동 404호

**장옥진**

전남 장흥군 장흥읍 장흥대로 3492, 1005호 (장흥  
계명아파트)

**김희숙**

경남 고성군 개천면 구만로 337-8,

**김재용**

전남 순천시 왕궁길 60, 304동 207호 (조례동, 중  
흥3차아파트)

**이동욱**

전남 장흥군 장흥읍 북부로 39, 203호 (수창아트빌  
아파트)

**김선오**

광주 북구 양일로 52, 201동 1003호 (연제동,  
연제2차대주피오레)

**김재갑**

경기 부천시 소사구 경인로134번길 51, 2동 507호  
(송내동, 삼익아파트)

**유진철**

광주 서구 송풍로 30, 102동 502호 (풍암동, 에스  
케이뷰아파트)

**이순택**

경기 고양시 일산서구 대산로226번길 24-3, (대  
화동)

**조숙현**

전남 장흥군 안양면 우드랜드길 288,

**박세준**

전남 장흥군 안양면 우드랜드길 288,

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

편백나무 잎 추출물로부터 추출된 편백오일 정유성분을 유효성분으로 포함하고, 이미페넴 저항성 카바페넴아제 생성균에 대하여 성장억제 기능을 갖는 것을 특징으로 하는 항생제 내성 균주의 성장 억제용 약학 조성물

**청구항 2**

제1항에 있어서 편백오일 정유성분은 0.0625 내지 5 %(v/v)함량으로 포함되는 것을 특징으로 하는 항생제 내성 균주의 성장 억제용 약학 조성물

**청구항 3**

제2항의 항생제 내성 균주의 성장 억제용 약학 조성물을 포함하고; 용액제, 현탁제, 스프레이제, 패취제, 패드제, 크림제, 연고제, 젤제, 정제 또는 환제 중에서 선택되는 어느 하나로 이루어지는 것을 특징으로 하는 항생제 내성 균주에 의한 감염질환 예방 또는 치료제

**청구항 4**

삭제

**청구항 5**

삭제

**청구항 6**

삭제

**청구항 7**

삭제

**발명의 설명**

**기술분야**

[0001]

본 발명은 편백나무 추출물로서 편백 오일 정유 성분을 유효성분으로 하는 항생제 내성 균주의 성장 저해 기능을 갖는 항균 조성물에 관한 것으로 메티실린 저항성 포도상구균(MRSA), 반코마이신 저항성 장구균(VRE) 또는 항생제 내성을 가지는 대장균, 폐렴간균, 살모넬라 티피뮤리움 및 엔테로코커스 패칼리스 등에 작용하여 항생제 내성 균주의 성장을 억제시킬 수 있는 편백오일 정유성분을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물 및 이를 이용한 항생제 내성 균주 감염질환 예방 치료제에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002]

항생제는 병원균에 의한 감염증을 치료하는 약물로, 감염 증세에 뛰어난 효능을 보인다. 그러나 항생제를 자주 사용하다 보면 항생제에 내성을 가진 균주들이 살아남거나 돌연변이를 통하여 항생제에 대한 저항성을 가진 균주들이 생겨나게 되어 점점 더 항생제에 내성력이 강해진 병원균들이 생겨나게 되며 이 때문에 치료를 위하여 더 강력한 항생제를 사용하게 되는데, 그러다 결국은 어떤 강력한 항생제에도 저항할 수 있는 박테리아가 생겨

나기도 하는데 이를 슈퍼박테리아라고 한다.

- [0003] 슈퍼박테리아란 항생제의 잦은 사용에 저항할 수 있어 강력한 항생제에도 죽지 않는 박테리아를 의미하며, 1961년 영국에서 MRSA(Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus, 메티실린내성황색포도상구균)이, 1996년 일본에서는 VRSA(Vancomycin-Resistant Staphylococcus Aureus, 반코마이신내성황색포도상구균)이 처음으로 보고되었다.
- [0004] MRSA[methicillin resistant staphylococcus aureus]는 메티실린 내성 황색포도상구균이라고 한다. 병원 감염의 주범으로서 항생제를 많이 사용하는 대형 종합병원에서 발견되는데, 공기 중이나 의사·간호사의 신체 부위, 메스, 병원 담요, 튜브 등 의료기구에 붙어 3시간 가량 사는 등 생존능력과 번식력이 강하다. 호흡기 계통과 수술 환자의 환부에 침투해 고열과 오한, 혈압 저하 등의 증상을 일으킨다.
- [0005] 스메그마균[Mycobacterium smegmatis]은 비병원성(非病原性)인 항산균(抗酸菌). 외음부점막표면, 치구(恥垢)에 상재(常在)하고 있는 균인데, 겨드랑이, 귀지, 피부의 때 흙, 물 등에도 존재하고 있다. 가늘고 긴 간균(桿菌)으로서 분기(分岐)나 다형태성(多形態性)을 보인다 결핵균과 비슷하므로 특히 요(尿)에서 검출된 경우에는 감별이 필요하다.
- [0006] 미구균(Micrococcus , 微球菌)이란 호기성, 그람양성의 구상세균의1속(屬). 카탈라아제 양성, 당에서 산화적으로 산을 생성한다. 노란색, 주황색 등의 카로티노이드색소를 생성한다. 비교적 높은염농도의 환경에서 생육하며 건조에도 잘 견딘다. 토양, 하수, 식품, 공기등으로 분리하여 자연계에 널리분포하고 있다. 유연속에는 Staphylococcus가 있고, Micrococcus와 Staphylococcus와의 감별에는 OF(oxidation-fermentation) 시험법을 사용한다. 즉, Micrococcus는 당을 산화적으로 분해하지만Staphylococcus는 발효적으로 분해하며 Micrococcus의 DNA의염기조성은 66~75% 사이에 분포하고 있지만 Staphylococcus의 DNA의 염기조성은 30~40% 사이에 분포하고 있다. 기준종은 *Micrococcus luteus*이다.
- [0007] 반코마이신 내성 장알균 감염 (vancomycin-resistant enterococci infection)이란 장알균 속(genus)은 그람 양성(그람 염색했을 때 짙은 보라색으로 관찰)인 알균(구균)으로, 쌍알균 또는 짧은 사슬의 형태를 하고 있다. 혈액이 들어 있지 않은 배지에서도 잘 자란다.
- [0008] 장알균은 엔테로코쿠스 파이칼리스(E. faecalis), 엔테로코쿠스 페슘(E. faecium), 엔테로코쿠스 아비움(E. avium), 엔테로코쿠스 갈리나룸(E. gallinarum), 엔테로코쿠스 카셀리플라버스(E. casseliflavus) 등 19종(species)이 알려져 있다. 인체에서 검출되는 장알균은 엔테로코쿠스 파이칼리스가 가장 흔하며, 그 다음 엔테로코쿠스 페슘, 엔테로코쿠스 아비움 avium) 순서이다. 엔테로코쿠스 페슘은 엔테로코쿠스 파이칼리스에 비해 항생제 내성 정도가 더 심하여 병원 감염 측면에서 더 중요하다.
- [0009] 황색포도상구균은 포도상구균의 한 종류로 감염을 잘 유발하는 균이다. 이 균은 1941년 페니실린이 발명되면서 치료가 가능해졌다. 이후 페니실린이 듣지 않는 균이 출현하자 더욱 강력한 항생제인 메티실린이 개발되었지만, 또 다시 이 메티실린 뿐 아니라 다른 항생제도 듣지 않는 강력한 황색포도상구균이 출현하였다. 한편, 2006년 한 해 동안 미국에서 9만 4000여 명이 MRSA에 감염되어, 이 중에서 1만 9000명 이상이 사망한 것으로 알려졌다.
- [0010] 개발된 항생제 중 가장 강력하다고 알려진 반코마이신도 1950년대 이후 균 치료에 사용되었지만 1996년 내성을 가진 VRSA가 출현하였다. VRSA는 면역력이 약해진 인체에 들어 올 경우 온갖 감염을 심화시키며, 어떤 항생제도 듣지 않아 결국 패혈증(敗血症)을 유발시켜 생명을 위협하는 초강력 세균이다. 전문가들은 VRSA가 널리 퍼질 경우 맹장염, 제왕절개 같은 간단한 수술도 마음 놓고 할 수 없을 것이라고 경고한다.
- [0011] 병원에는 암환자, 수술환자와 각종 감염 환자가 모여들기 때문에 이 균의 주된 감염 장소는 병원이다. 건강한 사람이라도 환자의 피부나 환자가 만진 물건과 접촉하면 옮을 수 있다. 내성물은 항생제 투여 후 세균 100마리 당 살아남는 세균의 숫자로 표시하며 항생제를 많이 쓸수록 높아진다. 항생제 내성 균주 감염질환을 치료하기 위해서는 항생제가 아닌 천연물로서의 항균 치료제의 개발이 필요하다.
- [0012] 한편 편백나무(*Chamaecyparis obtusa*)는 노송나무라고도 하며, 길쭉식물 구과목 측백나무과의 상록교목으로서, 일본이 원산지이지만 개발을 통해 우리나라 남부 지방에서 조림수종으로 널리 재배되고 있는데, 편백나무 특유의 향으로 인해 탈취제, 향균제 등으로 사용되고 있다.
- [0013] 편백나무에서 생산되는 피톤치드는 식물의 자기방어물질로써, 병원균 및 해충, 곰팡이 등에 저항하기 위해 식물이 내뿜거나 분비하는 물질로 그 자체에 살균, 살충성분이 포함되어 있다. 피톤치드의 구성물질은 테르펜을 비

못한 페놀 화합물, 알칼로이드 성분, 글리코시드 등으로 이루어진 유기화합물이며, 항균작용, 진정작용, 탈취작용, 스트레스 해소작용 등을 하는 것으로 알려져 있다. 이러한 피톤치드는 화학합성 물질이 아닌 천연물질이고, 인간의 신체에 무리 없이 흡수되며, 인간에게 해로운 균들을 선택적으로 살균한다.

[0014] 또한, 피톤치드는 항균작용, 소취작용, 진정작용 및 스트레스 해소 작용 등 수많은 기능을 하는 것으로 알려져 있다. 또한, 피톤치드는 뛰어난 살균, 항균, 세정작용으로 피부를 깨끗하게 하고 보습작용도 하며, 체내의 면역기능을 강화한다.

[0015] 피톤치드를 흡입할 경우, 스트레스 호르몬인 코르티솔의 농도가 획기적으로 줄어든다는 연구결과가 보고되었으며, 숲에서 동물의 사체가 썩어가도 피톤치드로 인해 악취가 심하게 발생하지 않는다고 알려져 있다. 또한, 중추신경계에 진정작용을 하여 쾌적한 느낌을 가지게 하며, 수면시간을 연장하고 편안한 숙면을 취하는데 도움을 준다.

[0016] 그리고 혈액순환계를 개선하여 고지혈증, 혈전 심부전증에도 효능이 있다고 밝혀졌으며, 인체 내에 내성이 생기지 않는 강력한 항균 작용으로도 알려졌다. 천연물질인 피톤치드는 거의 90% 까지 집먼지 진드기 기피효과를 가져와 부작용이 없으면서도 알레르기 예방에 가장 효과적인 것으로 알려져 있다.

[0017] 이처럼 편백나무에는 피톤치드는 항균능력을 갖게 할 뿐만 아니라 스트레스가 해소되고 장과 심폐기능이 강화되며 실내의 살균작용도 가능해지는 것이어서, 최근 피톤치드의 활용에 대한 여러가지 연구가 이루어지고 있다.

[0018] 본 발명은 편백나무로부터 추출된 편백 오일 정유 성분이 항생제 내성을 갖는 메티실린 저항성 포도상구균(MRSA), 반코마이신 저항성 장구균(VRE) 또는 대장균, 폐렴간균, 살모넬라 티피뮤리움 및 엔테로코커스 페칼리스 등에 작용하여 균주의 생장을 억제시킬 수 있는 기능을 확인함으로써 편백나무 추출물을 이용한 항생제 내성 균주의 생장 저해기능을 갖는 약학 조성물 및 이를 이용한 항생제 내성 균주 감염질환 예방 치료제를 제공한다.

**선행기술문헌**

**특허문헌**

[0019] (특허문헌 0001) 국내 공개특허공보 제10-2009-0029431호는 항균활성을 가지는 편백(*Chamaecyparis obtusa*)의 정유 추출물을 포함하는 항균 조성물에 관한 것으로, 편백 정유는 *Legionella pneumophila*에 대하여 강력한 항균활성을 가지고 있어 레지오넬라균에 의한 냉방병 및 폐렴 등의 예방 또는 치료에 매우 유용하게 사용될 수 있는 편백 정유를 포함한 레지오넬라균에 대한 항균 조성물에 관하여 개시되어 있다.

(특허문헌 0002) 국내 등록특허공보 제10-0548501호에는 편백 가지와 잎을 이용하여 정유 및 침출수에 대한 항균, 항진균 효과, 탈취능, 피부 독성 등에 대한 평가를 구명하여 이를 생활화학 제품 등에 응용하고자 하는 무독성 편백정유의 향미생물, 탈취제로의 이용방법에 관하여 개시되어 있다.

(특허문헌 0003) 국내 공개특허공보 제10-2013-023992호에는 편백 정유를 유효성분으로 하는 가축 병원성 세균 억제용 항균 조성물 및 그를 이용한 가축사료에 관한 것으로 편백 정유를 유효성분으로 하는 가축 병원성 세균 억제용 항균 조성물, 특히 가축의 호흡기 질환을 유발하는 세균은 액티노바실러스 플로르뉴모니아(*Actinobacillus pleuropneumoniae*) 또는 파스투렐라 물토시다(*Pasteurella multocida*)를 억제하는 항균 조성물과 이를 이용한 가축사료에 관하여 개시되어 있다.

(특허문헌 0004) 국내 공개특허공보 제10-2009-0039458호는 비듬의 주 원인균인 피티로스포름 오발레(*Pityrosporum Ovale*)의 성장 저해능을 가지며, 장기간 사용해도 부작용이 없는 천연물질인 편백오일이 비듬의 주 원인균인 피티로스포름 오발레(*Pityrosporum Ovale*)에 대해 특이한 항진균 작용을 나타내는 것으로, 이 편백 오일을 두발용 조성물에 첨가하여 샴푸, 린스, 에어로졸 스프레이, 헤어스타일링젤, 비누제 등의 두발용 조성물을 이용하여 비듬을 치료 또는 예방하며, 기존의 항생제 사용으로 인체의 부작용 유발을 억제할 수 있는 편백오일을 함유한 비듬균 예방 또는 치료용 조성물에 관하여 개시되어 있다.

(특허문헌 0005) 그러나 상기 선행 기술은 메티실린 저항성 포도상구균(MRSA), 반코마이신 저항성 장구균(VRE) 또는 항생제 내성을 가지는 대장균, 폐렴 간균, 살모넬라 티피뮤리움 및 엔테로코커스 페칼리스 등에 작용하여 항생제 내성 균주의 생장억제 기능을 갖는 본 발명의 구성과는 차이가 있다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0020]

본 발명은 편백 오일 정유 성분을 유효성분으로 포함하는 항생제 내성 균주에 대한 항균용 조성물에 관한 것으로, 메티실린 저항성 포도상구균(MRSA), 반코마이신 저항성 장구균(VRE) 또는 항생제 내성을 가지는 대장균, 폐렴간균, 살모넬라 티피뮤리움 및 엔테로코커스 패칼리스 등에 작용하여 항생제 내성 균주의 성장을 억제시킬 수 있는 편백오일 정유성분을 유효성분으로 포함하는 항생제 내성 균주의 성장을 억제시킬 수 있는 항균 조성물 및 이를 이용한 항생제 내성 균주 감염질환 예방 치료제를 제공한다.

**과제의 해결 수단**

[0021]

상기 목적을 달성하기 위해 본 발명은 편백나무 잎 용매 추출물로서 분리 제조된 편백 오일 정유 성분을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물을 항생제 내성 균주(슈퍼박테리아)로서 메티실린 저항성 포도상구균 MRSA(Methicillin-resistant Staphylococcus aureus)인 MRSA 693E, MRSA 4-5, MRSA5-3, MRSA S1, MRSA S3, MRSA U4, MRSA P8, MRSA B15, 반코마이신 저항성 장구균 VRSA(Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus)인 MRSA2-32 및 또 다른 반코마이신 저항성 장구균 VRE(Vancomycin-resistant Enterococci)인 VRE 3, VRE 4, VRE 5, VRE 6, VRE 82, VRE 89, VRE 98, 그리고 이미페넴 저항성 카바페넴아제 생성 균(IMP; imipenem ??resistant bacteria proucdng carbapenemase)인 IMP 100, IMP 102, IMP 123, IMP 129, 항생제 내성을 가지는 대장균, 폐렴간균, 살모넬라 티피뮤리움 및 엔테로코커스 패칼리스 등에 적용하여 항생제 내성 균주의 성장 억제 기능을 확인함으로써 편백오일 정유성분을 함유한 항생제 내성 균주의 성장 저해기능을 갖는 약학 조성물 및 이를 이용한 항생제 내성 균주 감염질환 예방 치료제를 제공한다.

[0022]

편백오일 정유성분은 a) 편백나무 잎을 저온건조기에서 건조한 다음, 건조된 편백나무 잎을 약 1 내지 3mm의 입자로 절단하고 절단된 편백나무 잎을 1,000 내지 2,000메시를 통과하도록 분말화하는 단계; b) a) 단계의 절단된 편백나무 잎을 포집망에 넣고 증류탱크에 넣어 증류수를 공급하는 단계; c) 증류탱크를 가열하여 스팀을 공급하여 편백나무 잎을 통과하도록 하여 스팀에서 추출된 정유 성분이 함유된 수증기를 냉각기로 이동시켜 편백 오일과 편백수로 분리하는 단계로 제조되며 항균 조성물은 용액제, 현탁제, 스프레이제, 패취제, 패드제, 크림제, 연고제, 젤제, 정제 또는 환제 중에서 선택되는 어느 하나인 항생제 내성 균주의 성장 저해기능을 갖는 항생제 내성 균주의 감염질환 예방치료제로 제공될 수 있다.

**발명의 효과**

[0023]

본 발명의 항균용 세정제는 반코마이신, 페니실린 또는 메티실린 등의 베타락탐 계열 또는 비-베타락탐 계열 항생제에 대하여 내성을 가지는 그람음성균 및 그람양성균의 성장을 억제함으로써, 항생제 내성 박테리아의 감염으로 인하여 발생하는 각종 감염질환의 예방 및 치료가 가능한 슈퍼박테리아 항생제 내성 균주의 성장을 억제시킬 수 있는 항균 조성물 및 이를 이용한 항생제 내성 균주의 성장 저해기능을 갖는 항생제 내성 균주의 감염질환 치료제로서 유용하게 사용될 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

[0024]

도 1은 편백오일 추출물 모식도를 나타낸다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0025]

본 발명에 따른 편백나무 잎 용매 추출물을 유효성분으로 포함하는 항생제 내성 균주의 성장 저해기능을 갖는 세정제 조성물은 편백오일 정유성분인 것을 특징으로 하며, 편백오일 정유성분은 a) 편백나무 잎을 저온건조기에서 건조한 다음, 건조된 편백나무 잎을 약 1 내지 3mm의 입자로 절단하는 단계; b) 절단된 편백나무 잎을 1,000 내지 2,000메시를 통과하도록 분말화하는 단계; c) a) 단계의 절단된 편백나무 잎을 포집망에 넣고 증류탱크에 넣어 증류수를 공급하는 단계; d) 증류탱크를 가열하여 스팀을 공급하여 편백나무 잎을 통과하도록 하여 스팀에서 추출된 정유 성분이 함유된 수증기를 냉각기로 이동시켜 편백 오일과 편백수로 분리하는 단계로 제조

된다.

- [0026] 상기 항균 조성물의 항생제 내성 균주의 성장 저해기능을 갖는 균주는 대장균, 폐렴간균, 살모넬라 티피뮤리움, 포도상구균 또는 장구균 중에서 선택되는 하나 이상이고, 성장저해기능을 갖는 항생제 내성 균주는 메티실린 저항성 포도상구균 또는 반코마이신 저항성 장구균, 이미페넴 저항성 카바페넴아제 생성 균중에서 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하며, 세정제 조성물은 1 내지 5 % (V/V)로 포함될 수 있다.
- [0027] 항균 조성물을 포함하는 항생제 내성 균주의 성장 저해기능을 갖는 항생제 내성 균주의 감염질환 예방 치료제는 용액제, 현탁제, 스프레이제, 패취제, 패드제, 크림제, 연고제, 겔제, 정제 또는 환제 중에서 선택되는 어느 하나의 형태로 제공될 수 있다. 이하 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예를 상세히 설명한다.
- [0028] 1. 편백나무 열수 추출물(편백수) 제조
- [0029] 도 1은 본 발명의 피톤치드 성분 제조프로세스를 나타낸다. 편백나무 잎과 증류수의 혼합은 1kg : 10 ~ 20L의 비율로 혼합하여 100℃에서 2-3시간 가열하여 추출한다. 본 실시예에서는 편백나무 10kg을 증류수로 수세한 다음, 증류수 200L를 혼합하여, 전기약탕기로 100℃에서 3시간 동안 가열하여 편백나무 추출물을 열수 추출하였다.
- [0030] 추출액은 400 메쉬 여과포로 여과한 다음, 감압회전농축기로 농축하였으며, 여과 후 남은 잔사에 다시 동량의 증류수를 사용하여 동일 과정으로 2번 더 추출, 여과 및 감압 농축하였다. 농축된 열수추출물을 동결건조기 (Freeze dryer)에서 동결건조 하여 편백나무 열수추출물 1kg (10%)을 얻었다.
- [0031] 2. 피톤치드 편백수 및 정유추출물 제조
- [0032] 편백나무 잎을 35℃의 저온건조기에서 28시간 동안 건조하여 수분함량이 최대 5%가 되도록 하였다. 그 다음, 상기 건조된 편백나무 잎을 약 1-3mm 정도의 입자로 절단하였다.
- [0033] 절단된 편백나무 잎은 1,000~2,000메시를 통과하도록 분말화하는 한편 상기 절단된 편백나무 잎 7kg을 포집망에 넣고 증류탱크 내부에 편백나무 잎이 담긴 포집망을 넣은 후 증류탱크 내부에 증류수 20L 를 공급하였다.
- [0034] 증류탱크를 120℃로 가열하여 4시간 동안 스팀을 공급하여 편백나무 잎을 통과하도록 하였다. 이렇게 스팀에 의해 추출된 정유 성분이 함유된 수증기를 -5℃의 냉각기로 이동시켜 편백 오일과 편백수로 분리하였다.
- [0035] 편백나무 잎을 증류수, 저급 알코올 또는 이들 혼합 용매로 열수추출 또는 정유 추출하는 단계 또는 정유 추출물을 정제하여 편백수와 편백 오일로 분리하는 과정에서 사용되는 용매가 증류수인 경우에는 수증기 증류법을 이용하여 70 내지 120℃, 바람직하게는 80 내지 110℃에서 1 내지 6시간 바람직하게는 3 내지 6시간 동안 추출하여 편백수와 편백오일로 분리 정제한다.
- [0036] 또한, 용매가 증류수, 저급 알콜 또는 이들의 혼합 용매인 경우에는 용매추출법, 용출법, 탄산가스 추출법, 저온 압출법을 통해 건조 상태의 편백나무 잎 중량의 5 내지 10배, 바람직하게는 5 내지 15배 (w/v)의 증류수, 메탄올, 에탄올, 부탄올 등의 저급 알콜 또는 이들의 혼합 용매로 처리하여 추출한 후, 포집관의 오일이 용매 층과 완전히 분리될 때까지 약 10분간 방치하여 오일층만을 회수하여 편백 오일을 수득한다.
- [0037] 3. GC/MS를 이용한 편백오일 정유성분 분리
- [0038] 편백오일 정유성분을 분석하기위하여 기체크로마토그래프/질량분석기 (Gas Chromatograph/ Mass Spectrometer: GC/MS, HP agilent GC: 7890A MS: 5975C)를 이용하여 분석하였다. 표 1은 기체 크로마토그래프(GC) 및 질량분석기(MS) 시스템 조건을 나타낸다. 분석은 분석대상 화합물의 분리와 감도를 최적화하는 GC 조건을 파악하여, 이 조건을 모든 시료(바탕시료, 실제시료)에 대해 동일하게 적용하였다.

**표 1**

[0039]

기체 크로마토그래프(GC) 및 질량분석기(MS) 시스템 조건

제어변수	기체 크로마토그래프(GC) 조건 [1]		
컬럼	J&W Scientific, DB-5 crosslinked 5% phenylmethyl silicone		
Lib. Search	Wiley 275		
운반기체	헬륨		
Split / Splitless	Split (1:10)		
시료 주입량	1 $\mu$ L		
검출기	MS 조건		
MS 소스 온도	230( $^{\circ}$ C)		
MS Quad 온도	150( $^{\circ}$ C)		
오븐 온도 프로그램		상승온도	온도
		( $^{\circ}$ C/min)	( $^{\circ}$ C)
	초기		
	1 단계		50
	2 단계	4	250
3 단계			
총 작동시간	59 min		
EL 조건	70 ev		
질량 범위	20500amu		
질량 검색 방법	전체검색 (Full Scan)		
[1]분석기기:HPAgilentGC:7890AMS:5975C			

[0040]

시료의 분석은 1.0  $\mu$ L의 시료를 GC에 주입하여 분석하였고, 시료의 이온화를 위해서는 전자충격 이온화법 (Electron Impact Ionization: EI)을 사용하였다. 정성분석은 full scan mode와 선택이온 머무름 시간을 기초로 하였다. 성분을 분석하기 위해서 Wiley 275 library search 방법을 이용, 주이온(m/z)와의 일치성을 분석하여 최종 성분에 대한 정성 분석을 하였다.

[0041]

4. 편백오일 정유성분의 일반 감염성 균주 및 항생제 내성 균주에 대한 생장억제 항균 효능 평가

[0042]

편백오일 정유성분의 일반 감염성 균주 및 항생제 내성 균주(슈퍼박테리아)에 대한 항균 효능을 평가하였다. 표 2는 편백오일 정유성분의 일반 감염성 균주 및 항생제 내성 균주에 대한 성장이 억제되는 항균제의 최소발육저지농도(MIC) 결과를 나타낸다.

[0043]

본 발명의 실험에서 사용된 균주들은 생물자원센터(KTCT) 또는 ATCC(www.atcc.org)에서 입수할 수 있다. 본 발명의 실험에서 사용된 항생물질 내성균 중 MRSA(methicillin resisitant Staphylococcus aureus), VRE(vancomycin resistant enterococci), IMP (imipenem resistant carbapenemase producing bacteria)는 본 발명의 발명자들이 임상환자에게서 분리하여 동정한 균주를 사용하였다.

[0044]

편백오일 정유성분은 tween 20 적량(1:1)으로 분산하여 2단계 희석법으로 6차례 희석하여 meuller hinton agar 배지 15.0mL과 섞었을 때 최종 배지내의 정유 농도가 각각 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 %(v/v)이 되도록 제조하였다. 편백오일 희석에 사용된 tween 20의 경우, 시험균주의 생장에 대한 영향이 없음을 확인하기 위하여 tween 20 0.3, 0.6ml을 meuller hinton agar배지 15ml과 섞어 대조용 배지를 제조하였다.

[0045]

각 시험균주들은 Mueller hinton agar(DIFCO)배지에 배양하여 각 균주의 배양온도에서 1\*10<sup>6</sup> CFU/mL로 배양하여 사용하였다. 각각의 시험균주들은 검정 plate에 접종하고, 37도에서 18시간 배양 후 육안으로 관찰하여 시험균주들의 성장이 억제되는 항균제의 최소발육저지농도(MIC)를 정하였다.

**표 2**

[0046]

편백오일 정유성분의 일반 감염성 균주 및 항생제 내성 균주에 대한 성장이 억제되는 항균제의 최소발육저지농도(MIC)



NO	Gram	Organisms	MIC(%)
1	+	<i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 29212	0.25
2	+	<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1928	0.125
3	+	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.0625
4	+	<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 9341	0.0625
5	-	<i>Salmonella typhimrium</i> KCTC 1925	1
6	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2
7		MRSA 693E	0.25
8	+	MRSA 4-5	0.0625
9	+	MRSA 5-3	0.0625
10	+	VRE 82	0.25
11	+	VRE 89	0.25
12	+	VRE 98	0.25
13	+	VRSA(MRSA2-32)	0.125
14	+	MRSA S1	0.25
15	+	MRSA S3	0.25
16	+	MRSA U4	0.25
17	+	MRSA P8	0.25
18	+	MRSA B15	0.25
19		IMP 100	0.5
20		IMP 102	0.5
21		IMP 123	2
22		IMP 129	1
23	+	VRE 3	0.125
24	+	VRE 4	0.125
25	+	VRE 5	0.125
26	+	VRE 6	0.25
27	-	<i>Enterococcus cloacea</i>	2
28		<i>Staphylococcus aureus</i> subsp.aureus ATCC 10537	0.5
29		<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC1 1928 (R209)	0.0625
30		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	0.0625

[0047] 표 2에서 나타낸 실험결과에서와 같이 편백 정유 성분은 일반 감염성 균주로서 *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Mycobacterium smegmatis* ATCC 9341, *Salmonella typhimrium* KCTC 1925, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus cloacea*, *Staphylococcus aureus* subsp. aureus ATCC 10537, *Staphylococcus aureus* KCTC 1928 (R209), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P에 대하여 0.0625 내지 2%(v/v)의 범위에서 고른 성장억제 항균 활성을 나타내었다.

[0048] 또한 임상환자에게서 분리한 항생물질 내성균 중 MRSA, VRE, IMP에 대해서도 0.125 내지 2%(v/v)범위에서 우수한 성장억제 항균 활성을 나타내었다. 상기 결과로부터 편백오일 정유성분의 일반 감염성 균주 및 항생제 내성 균주(슈퍼박테리아)에 대한 성장억제 항균 효능을 확인할 수 있었다 .

[0049] 5. 편백오일 정유성분을 이용한 항생제 내성 균주 감염질환 치료제 제조

[0050] 편백오일 정유성분의 세균에 대한 일반 감염성 균주 및 항생제 내성 균주(슈퍼박테리아)에 대한 성장이 억제되는 항균제의 최소발육저지농도(MIC)가 확인됨에 따라 이를 이용한 항생제 내성 균주 감염질환 치료제 제조를 다음과 같이 제조하였다.

[0051] 편백오일 정유성분 1 내지 5 중량부에 글리세린 94 내지 98와 기타 자유 라디칼 제거능이 우수한 비타민, 플라보노이드, 알칼로이드, 다당류 등의 물질 1 중량부를 첨가하여 항생제 내성 균주 감염질환 치료제를 제조한다.

[0052] 본 발명에 따라 제조된 항생제 내성 균주 감염질환 치료제는 용액제, 현탁제, 스프레이제, 패취제, 패드제, 크

림제, 연고제, 겔제, 정제 또는 환제로 제조될 수 있으며, 투여방법은 일반적으로 환부에 도포하는 방법이 사용될 수 있으며, 제형에 따라 바람직한 투여방법을 선택할 수 있다.

[0053]

본 발명의 조성물의 일일 투여량은 투여대상, 투여방법, 증상에 따라 결정되며, 투여회수는 1일 2회 이상이 바람직하나 증상 정도에 따라 투여회수 또한 조절될 수 있다.

**산업상 이용가능성**

[0054]

본 발명의 편백 정유성분을 포함하는 항균용 조성물은 반코마이신, 페니실린 또는 메티실린 등의 베타락탐 계열 또는 비-베타락탐 계열 항생제에 대하여 내성을 가지는 그람음성균 및 그람양성균의 성장을 억제함으로써, 항생제 내성 박테리아의 감염으로 인하여 발생하는 각종 감염질환의 예방 및 치료용으로 사용할 수 있으며, 슈퍼박테리아 항생제로서 유용하게 사용될 수 있다.

**도면**

**도면1**

