

**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2023-0101298
(43) 공개일자 2023년07월06일(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01N 65/08 (2009.01) A61K 8/9789 (2017.01)
A61Q 17/00 (2006.01)(52) CPC특허분류
A01N 65/08 (2013.01)
A61K 8/9789 (2017.08)

(21) 출원번호 10-2021-0191284

(22) 출원일자 2021년12월29일

심사청구일자 2021년12월29일

(71) 출원인
한남대학교 산학협력단
대전광역시 유성구 유성대로 1646 (전민동)(72) 발명자
김운중
대전광역시 서구 청사로 70 누리아파트 109동 90
3호(74) 대리인
특허법인오암

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 단삼 추출물을 함유하는 향균 조성물

(57) 요약

본 발명은 단삼 추출물을 함유하는 향균 조성물에 관한 것이다. 상기 단삼 추출물은 알코올 수용액에 식물 원료를 첨가하여 침지한 시료를 저온 수증기 증류법을 이용하여 유용성 물질을 추출하는 방법을 통해 얻은 것이다. 상기 방법으로 얻은 단삼 추출물은 기존의 알코올 추출물이나 물 추출물, 초음파 처리 추출물 등에 비해 녹농균, 대장균, 및 황색포도상구균에 대한 향균능이 우수하고, 노네날 알데하이드로 유발되는 냄새의 제거 효능이 뛰어난 것으로 확인된다.

(52) CPC특허분류

A61Q 17/005 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711133880
과제번호	2020R1F1A1074571
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	2020년도 기본연구
연구과제명	금속 착물형 탄소기공막을 이용한 유해물질의 흡착특성에 관한 연구
기여율	1/1
과제수행기관명	한남대학교
연구기간	2020.06.01 ~ 2023.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

(제1단계) 단삼을 알코올 수용액에 침지하는 단계;
 (제2단계) 알코올 수용액에 침지된 식물을 저압 수증기 증류법으로 증류하는 단계;
 (제3단계) 증류된 증기를 수집하고 응축하여 액상을 얻는 단계; 및,
 (제4단계) 상기 액상을 감압증류하여 농축물을 얻는 단계;
 를 포함하는 것을 특징으로 하는 단삼 추출물을 함유하는 향균용 조성물의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,
 상기 제1단계에서 60~80(v/v)%의 알코올 수용액을 사용하는 것을 특징으로 하는 향균용 조성물의 제조방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항의 방법으로 제조된 향균 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,
 상기 조성물은 녹농균, 대장균 및 황색포도상구균으로 이루어진 균 중에서 선택되는 세균에 대한 향균 효능이 있는 것을 특징으로 하는 향균 조성물.

청구항 5

제3항에 있어서,
 상기 조성물은 알데하이드류인 노네날로 인해 유발되는 노인성 냄새의 소취 효능이 있는 것을 특징으로 하는 향균 조성물.

청구항 6

제3항의 조성물을 함유하는 것을 특징으로 하는 손소독제 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,
 에탄올 55~75 중량%, 2~4(w/v)% 과산화수소수 0.1~0.2 중량%, 증류수 10~30 중량% 및 제3항의 조성물 0.005~15 중량%가 포함된 것을 특징으로 하는 손소독제 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 단삼 추출물을 함유하는 향균 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 코로나 19가 심각해지며 소독 및 향균에 대한 관심이 늘어나고 있다. 이와 같이 손소독제가 일상 필수품이 되었지만, 손소독제의 사용이 보편화 되면서 소독제 안의 알코올 등과 같은 강한 화학성분으로 인하여 피부손상이 종종 발생한다. 현재 개인 위생용품으로 판매되고 있는 손소독제는 이와 같은 알코올을 기반으로 하여 제조되고 있으며 보습성을 증진시키기 위하여 알로에 베라를 첨가하여 제조된다. 알코올은 보통 60% 이상으로

제조되는데, 이 경우 우리나라의 소방법에 저촉되므로 알콜 농도를 60% 이하로 조정하여 손소독제를 제조할 필요성이 있고, 알콜 농도 저하에 따른 항균력을 보완 및 증진시키기 위한 방법이 필요하다. 또한 손소독제에 함유된 다량의 알코올의 자극적인 향 및 냄새는 소비자의 기호도를 저하시키는 근본적인 원인이 되므로 이를 상쇄할 소취활성의 효과를 가지는 우수한 소재를 선발할 필요성이 있다.

[0003] 단삼은 인삼의 형태를 닮고 빛깔이 붉어서 단삼이라고 하였다. 학명은 *Salvia miltiorrhiza* BUNGE이다. 높이는 40~80cm이고 전체에 털이 많다. 잎은 난형 또는 피침형(披針形)으로 마주 난다. 뒷면에는 털이 밀생하고 둔한 톱니가 있다. 꽃은 자주색으로 5~6월에 피는데 층층으로 달린다. 뿌리는 한약재로 쓰인다. 탄닌과 비타민 E가 함유되어 있다.

[0004] 이에 본 발명자들은 다양한 식물 추출물로부터 항균 소재들을 찾아내어 이들 추출물의 최적의 추출방법을 적용해냄으로써 우수한 항균 활성을 갖는 조성물을 제조하여 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-2269881호 (발명의 명칭 : 관중, 단삼 및 황금 추출물을 포함하는 항균 또는 항진균 활성을 갖는 조성물 및 이의 제조방법, 출원인 : 정연옥, 등록 : 2021년06월22일)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 단삼 추출물을 함유하는 항균 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명은 단삼 추출물을 함유하는 항균용 조성물의 제조방법에 관한 것으로서,

[0008] 바람직하게는 (제1단계) 단삼을 알코올 수용액에 침지하는 단계;

[0009] (제2단계) 알코올 수용액에 침지된 단삼을 저압 수증기 증류법으로 증류하는 단계;

[0010] (제3단계) 증류된 증기를 수집하고 응축하여 액상을 얻는 단계; 및,

[0011] (제4단계) 상기 액상을 감압증류하여 농축물을 얻는 단계;

[0012] 를 포함할 수 있다.

[0013] 상기 단삼은 단삼의 뿌리, 잎, 줄기 등의 어떤 것이라도 사용가능하며, 생것이나 건조된 것 어떤 것이든 사용가능하다.

[0014] 상기 제1단계에서 60~80(v/v)%의 알코올 수용액을 사용할 수 있다. 또한 상기 알코올은 C1~C4 알코올일 수 있고, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올 및 이소부탄올로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 가장 바람직하게는 에탄올을 사용할 수 있다.

[0015] 상기 제1단계에서 단삼의 중량 대비 알코올 수용액이 5~20배 중량이 첨가되어 침지될 수 있다.

[0016] 상기 제2단계에서 저압 수증기 증류는 85~95℃에서 0.05~0.07Mpa, 3~5시간 동안 수행되는 것이 좋다. 이 때 특히 압력이 0.05Mpa보다 미만이거나 0.07Mpa를 초과할 경우, 항균 물질의 추출이 잘 되지 않을 수 있다.

[0017] 본 발명은 상기 제조방법으로 제조된 단삼 추출물을 함유하는 항균 조성물에 관한 것이다. 상기 추출물은 솔잎 추출물 또는 단삼 추출물일 수 있다.

[0018] 상기 단삼 추출물은 3.38 μ g/ml의 농도에서 50% 이상의 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거 활성이 있는 것일 수 있다.

[0019] 상기 항균 조성물은 녹농균, 대장균 및 황색포도상구균으로 이루어진 군 중에서 선택되는 세균에 대한 항균 효능이 있는 것을 특징으로 한다.

[0020] 또 다른 양태에서 상기 조성물은 알데하이드류인 노네날로 인해 유발되는 노인성 냄새의 소취 효능이 있는 것을 특징으로 한다.

[0021] 상기 조성물은 손소독제 조성물일 수 있다. 상기 손소독제 조성물에는 에탄올 55~75 중량%, 2~4(w/v)% 과산화수소수 0.1~0.2 중량%, 증류수 10~30 중량% 및 식물 추출물 0.005~15 중량%가 포함될 수 있고, 상기 식물 추출물은 본 발명의 방법으로 제조한 것으로서, 10~10⁶ µg/ml인 것을 사용할 수 있지만, 항균 효과를 발휘할 수 있는 적절한 비용 면에서 상기 손소독제 조성물의 원료로 사용하는 추출물은 그 농도가 10~1000 µg/ml인 것이 바람직하다.

발명의 효과

[0022] 본 발명은 단삼 추출물을 함유하는 항균 조성물에 관한 것이다. 상기 단삼추출물은 알코올 수용액에 단삼을 첨가하여 침지한 후 저온 증류법 증류법을 이용하여 유용성 물질을 추출하는 방법을 통해 얻은 것이다. 상기 방법으로 얻은 단삼 추출물은 기존의 알코올 추출물이나 물 추출물, 초음파 처리 추출물 등에 비해 녹농균, 대장균 및 황색포도상구균에 대한 항균능이 우수하고, 노네날 알데하이드로 유발되는 냄새의 제거 효능이 뛰어난 것으로 확인된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해지도록, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

<실시예 1. 단삼의 에탄올 수용액 침지 및 증류법에 따른 추출물 제조>

[0024] 하기 표 1의 조건으로, 건조 단삼 각 30g을 농도별 에탄올 수용액 300g에 침지한 후 이를 증류기에 넣고 80℃로 저압 증류하였다. 증류하여 얻은 응축물은 감압증류기를 이용하여 농축하였고, 실험에 사용할 시료들은 10, 100 mg/ml의 농도로 소분하여 최종 실험 농도가 10, 100µg/ml이 될 수 있도록 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 용해하여 -70℃에 얼려두었다.

표 1

	침지 용매	증류기 내 압력 (Mpa)	증류 시간 (hour)
실시예 1-1	70%(v/v) 에탄올 수용액	0.06	4
실시예 1-2	60%(v/v) 에탄올 수용액	0.06	4
실시예 1-3	80%(v/v) 에탄올 수용액	0.06	4
실시예 1-4	70%(v/v) 에탄올 수용액	0.05	4
실시예 1-5	70%(v/v) 에탄올 수용액	0.07	4
실시예 1-6	70%(v/v) 에탄올 수용액	0.06	3
실시예 1-7	70%(v/v) 에탄올 수용액	0.06	5

<비교예 1. 침지용 에탄올 수용액 농도별, 증류 조건별 추출물 제조>

[0028] 하기 표 2의 조건으로 비교 대상 추출물을 제조하였다.

표 2

	침지 용매	증류기 내 압력 (Mpa)	증류 시간 (hour)
비교예 1-1	30%(v/v) 에탄올 수용액	0.06	4
비교예 1-2	50%(v/v) 에탄올 수용액	0.06	4
비교예 1-3	99% 에탄올	0.06	4
비교예 1-4	99% 메탄올	0.06	4
비교예 1-5	70%(v/v) 에탄올 수용액	0.04	4
비교예 1-6	70%(v/v) 에탄올 수용액	0.08	4
비교예 1-7	70%(v/v) 에탄올 수용액	0.06	2
비교예 1-8	70%(v/v) 에탄올 수용액	0.06	6

- [0030] <비교예 2. 단삼의 물 추출물 제조>
- [0031] 건조단삼 각 30g을 증류수 300g에 첨가한 후 80℃에서 48시간 동안 반응시킨 후 액상을 동결건조하여 단삼 물 추출물 분말을 얻었다.
- [0032] <비교예 3. 단삼의 일반 에탄올 수용액 추출물 제조>
- [0033] 건조단삼 30g을 70%(v/v) 에탄올 수용액 300g에 첨가한 후 50℃에서 48시간 동안 반응시킨 후 액상을 감압농축하여 단삼 에탄올 수용액 추출물 농축물을 얻었다.
- [0034] <비교예 4. 단삼의 저압 증류 추출물>
- [0035] 실시예 1-1의 과정에서 에탄올 수용액 침지 조건만 생략하고 그대로 단삼을 증류기에 넣고 저압증류하여 에센셜 오일 상태의 추출물을 얻었다.
- [0036] <비교예 5. 단삼의 초음파 처리 추출물>
- [0037] 비교예 5-1. 에탄올 반응 후 초음파 처리
- [0038] 실시예 1-1의 과정에서 단삼의 에탄올 수용액 침지 상태를 48시간 동안 유지한 후 초음파 분쇄기(LabaX, MA, USA)로 230 jule 30분간 처리하여 액상만을 수득하고 이를 감압증류하였고 최종 농축물을 얻었다.
- [0039] 비교예 5-2. 증류수 반응 후 초음파 처리
- [0040] 건조 단삼 30g을 증류수 300g에 첨가한 후 40℃에서 48시간 동안 반응시킨 후 초음파 분쇄기(LabaX, MA, USA)로 230 jule로 30분간 처리하여 액상만을 수득하고 이를 동결건조하여 분말을 얻었다.
- [0041] <실험예 1. 항균 효능 확인>
- [0042] 항균 효능을 확인하기 위해, 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)은 NA(nutrient agar) plate, 대장균(*Escherichia coli*)은 LA(Luria-Bertani agar) plate, 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)은 NA(nutrient agar) plate 에 준비하여 배양하였다.
- [0043] 각 세균 plate의 중앙에 6mm paper disc를 올린 후, 10 μ g/ml로 희석된 각 추출물을 10 μ g씩 점적하였다.
- [0044] 이 후 37℃에서 3일간 배양한 후 항균환의 지름을 확인하였다.

표 3

추출물	녹농균 (mm)	대장균 (mm)	황색포도상구균 (mm)
실시예 1-1	20	18	40
실시예 1-2	25	21	45
실시예 1-3	21	24	31
실시예 1-4	25	19	34
실시예 1-5	23	24	36
실시예 1-6	31	23	36
실시예 1-7	28	21	41
비교예 1-1	10	15	9
비교예 1-2	9	19	15
비교예 1-3	12	13	17
비교예 1-4	11	12	15
비교예 1-5	13	11	12
비교예 1-6	15	14	15
비교예 1-7	12	12	12
비교예 1-8	14	13	15
비교예 2	12	13	15
비교예 3	9	12	21
비교예 4	9	15	24
비교예 5-1	13	12	21
비교예 5-2	12	12	11

[0046] 그 결과 실시예 1의 단삼 추출물의 항균 효능의 우수성을 확인할 수 있었다.

[0047] <실험예 2. 노네날 제거 효능 확인>

[0048] 노인성 냄새의 주원인이 되는 알데하이드 물질인 노네날 제거 효과를 평가하기 위해 다음과 같이 실험을 진행하였다. 구체적으로, 25 μ l의 트랜스-2-노네날(trans-2-nonenal)에 각 추출물을 475 μ l 처리해 준 뒤 3시간 교반시키고, 에탄올을 5ml 처리한 후 펠링솔루션I 150 μ l, 펠링솔루션II 150 μ l(동량 혼합)에 첨가하여 60 $^{\circ}$ C의 조건으로 15분 반응시킨 뒤에 흡광도를 측정하였다. 상기 추출물들은 농도별로 실험하여 실험의 정확성을 확인하였다.

[0049] 표 4는 트랜스-2-노네날에 각 추출물을 처리하여 펠링반응을 한 결과이다. 각 결과는 오직 트랜스-2-노네날만 처리하여 펠링반응을 한 결과 대비 흡광 정도를 계산하여 트랜스-2-노네날의 농도(trans-2-nonenal activity, %)를 나타냈다. 이에 표 4의 수치값이 적을수록 노네날로 인해 유발되는 냄새가 줄어들었음을 확인할 수 있다.

표 4

[0050]

추출물	trans-2-nonenal activity (%)
실시예 1-1	42
실시예 1-2	43
실시예 1-3	34
실시예 1-4	38
실시예 1-5	29
실시예 1-6	43
실시예 1-7	37
비교예 1-1	59
비교예 1-2	68
비교예 1-3	59
비교예 1-4	56
비교예 1-5	89
비교예 1-6	78
비교예 1-7	91
비교예 1-8	89
비교예 2	69
비교예 3	68
비교예 4	63
비교예 5-1	61
비교예 5-2	58

[0051] 측정 결과, 표 4에 나타난 바와 같이, 실시예 1의 추출물을 처리했을 때 트랜스-2-노네날의 농도가 줄어든 것으로 나타나, 노인성 냄새를 효과적으로 제거할 수 있음을 확인하였다.

[0052] <실험예 3. DPPH 라디칼 소거능 확인>

[0053] DPPH(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능은 Cho 등(2011)의 방법을 이용하여 측정하였다. 먼저 동결건조된 시료를 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 녹여 100,000 μ g/ml로 stock solution을 제작한 후, 최종 농도에 맞추어 에탄올에 용해하여 사용하였다. 시료 10 μ l과 150 μ M DPPH 용액 190 μ l를 혼합한 뒤, 30분 동안 차광조건에서 반응한 후 Microplate reader(Tecan, Switzerland)의 517 nm 조건에서 흡광도 값을 측정하였다. 실험에 사용한 시료의 최종 농도는 1~100 μ g/ml이 되게 하였고, 양성대조군으로는 퀘르세틴(Quercetin 10 μ M, QC10)을 사용하였다. 결과값은 IC₅₀으로 나타내었고, 이를 표 5에 기재하였다.

표 5

[0054]

추출물	IC ₅₀ (μ g/ml)
실시예 1-1	3.38
실시예 1-2	3.02
실시예 1-3	2.45
실시예 1-4	3.05

실시예 1-5	2.83
실시예 1-6	2.45
실시예 1-7	2.13
비교예 1-1	24.65
비교예 1-2	24.32
비교예 1-3	25.23
비교예 1-4	22.34
비교예 1-5	26.45
비교예 1-6	20.56
비교예 1-7	29.63
비교예 1-8	26.24
비교예 2	23.85
비교예 3	18.63
비교예 4	23.64
비교예 5-1	22.35
비교예 5-2	19.46

[0055] 그 결과 실시예 1 추출물의 항산화 효능이 매우 우수함을 확인할 수 있다.

[0056] <제형예 1. 손소독제 제조>

[0057] 순도 99% 에탄올 55g, 3(w/v)% 과산화수소수 0.2g, 1000 μ g/ml 실시예 1-1 술잎 추출물 10g을 혼합하고, 증류수를 넣어 총 100g이 되게 하고 분무기에 담아 스프레이용 손소독제 조성물을 제조하였다.

[0058] <실험예 4. 손소독제 조성물의 항균 효과>

[0059] 제형예 1의 손소독제 제조 후, 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)이 배양된 NA(nutrient agar) plate, 대장균(*Escherichia coli*)이 배양된 LA(Luria-Bertani agar) plate, 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)이 배양된 NA(nutrient agar) plate에 상기 손소독제 조성물을 스프레이 하고 24시간 후 세균을 스크레치하여 새로운 agar plate에 옮겨담았다.

[0060] 그 결과, 모든 plate에서 세균이 자라지 않았고, 이를 통해 손소독제 조성물의 뛰어난 항균 효과를 알 수 있었다. 상기 손소독제 조성물은 에탄올의 함량이 기존 소독제 조성물보다 적지만 본 발명에서 제조된 술잎 추출물이 포함되어 항균효과가 증강된 것임을 확인할 수 있다.