



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년06월08일
(11) 등록번호 10-1151861
(24) 등록일자 2012년05월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/74 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2012-0002844
(22) 출원일자 2012년01월10일
심사청구일자 2012년01월10일

(56) 선행기술조사문헌
KR1020110138110 A
KR100522667 B1
US7491698 B2
KR100836207 B1

(73) 특허권자
㈜엠알이노베이션
경북 고령군 쌍림면 함가리 681-1

(72) 발명자
김태완
부산광역시 연제구 연산9동 469-13 라인빌라트 1001호
김애정
대구광역시 북구 읍내동 보성3차아파트 101동 305호
남옥호
대구광역시 북구 칠성동2가 침산1차푸르지오아파트 105동 1302호

(74) 대리인
나동규

전체 청구항 수 : 총 7 항

심사관 : 김은희

(54) 발명의 명칭 여드름 피부개선용 조성물

(57) 요약

본 발명은 여드름 피부개선용 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 여드름 피부개선용 조성물은 포토랍두스 템프라타 종 템프라타 균주(*Photorhabdus temperata subsp. temperata*)를 유효성분으로 함유하는 것이 특징이다.

본 발명에 의해, 포토랍두스 템프라타 종 템프라타(*Photorhabdus temperata subsp. temperata*)균주가 함유됨으로써, 피부에 발생하는 여드름 유발 미생물인 프로피오니박테리움 아크네스 세균의 생장을 억제하고, 피부에 안전하며, 보습효과도 뛰어난 여드름 피부개선용 조성물이 제공된다.

대표도 - 도1

```
CGACGGGAGCTTGCTCCCTTAGGTTAGGGGGACGGGTGAGTAACA
CGTGGGTAACCTGCTGTGAAGCTGGGATACTCCGGGAACCGGGG
CTAATACCGGATGCTTGATTGAACCGCATGGTCAAATTATAAAGGT
GGCTTTTAGTACCCTTACAGATGGACCCGGCGCATTAGCTAGT
TGGTGAGGTAACGGCTACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAG
AGGGTGATCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACG
GGAGGCAAGTGGGAATCTCCGCAATGGACGAAAGCTGACGGA
GCAACCCCGGTGAGTATGAGGTTTCGGATCGTAAACTCTGTT
GTTAGGGAAGAACAGTACCCTTGACACAGGCGGTGCTGAGGGT
ACCTAACAGAAAGCCAGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAAT
ACGTAGGTGGCAAGCTGTGCGGAATATTGGGCTAAAGCCGGGG
CAGGCGTTTCTAAGTCTGATGTGAAAGCCCGGCTCAACCGGGG
AGGGTCATTGGAAGTGGGAACTTGAGTGCAGAGGAGAGTGGGA
ATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACCCAG
TGCGAAGCGACTCTTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCGCGAAAG
CGTGGGAGGCAACGATTAAGTACCCCTGATAGTCCAGCCGTAATA
CGATGAGTGTAAAGTGTAGAGGGTTTCGCGCTTTAGTGTCTGAGC
AAACGCATTAAAGACTCCGCTGGGGAGTACGGTCCGAAGACTGAAA
CTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCAAGCGGTGGAGCATGTGTT
TAATTCGAAGCAACCGGAAGAACCTTACCAGGCTTGACATCCCTG
ACACCCCTAGAGATAGGCTTCCCTTCGGGGCAGAGTGACAGGTG
GTGATGGTTGTGTCAGCTCGTGTGATGATGTTGGGTTAAGTCC
CGCAAGAGCAACCTTGATCTTAGTTGGCAGCATTCAGTTGGGC
ACTTAAGGTGACTGCCGTGACAAACCGGGAAGTGGGATGAC
GTCAAATCATGCCCCCTATGACCTGGGCTACACAGTGTACAA
TGGGAGAACAAAGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGCAATCCAC
AAATCTGCTCAGTTCCGATCGGACTGCAACTCGCATGCGGTGAA
GCTGGAATCGTAGTAATCGGGATCAGCATGCCGGTGAATACGT
TCCGGGCTTTGTACACACCCCGCTCACACAGGAGTTTGTAAACA
CCCGAAGTCGGTGAGGTA//
```

특허청구의 범위

청구항 1

포토라부두스 템프라타 종 템프라타 균주(*Photorhabdus temperata* subsp. *temperata*)를 유효성분으로 함유하는, 여드름 피부개선용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,
상기 균주는 균체 또는 배양액 중 어느 하나 이상의 형태인,
여드름 피부개선용 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,
상기 균주 배양액은 상기 균주를 25~30℃에서 20~25시간 동안 배양한 후, 2-이소프로판올을 첨가한 다음, 초음파처리한 후, 0~4℃에서 20~25시간 동안 방치한 다음, 원심분리하여 다당류와 세포는 제거하고 남은 배양액인,
여드름 피부개선용 조성물.

청구항 4

제2항에 있어서,
상기 균주 배양액은 상기 여드름 피부개선용 조성물 총중량에 대하여 10~40 중량%를 함유하는,
여드름 피부개선용 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,
상기 여드름 피부개선용 조성물은 여드름 유발 미생물인 프로피오니박테리움 아크네스 세균의 성장을 억제하는,
여드름 피부개선용 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,
상기 여드름 피부개선용 조성물은 피부에 안정적이고, 보습효과를 갖는,
여드름 피부개선용 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 여드름 피부개선용 조성물은 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 중 선택된 어느 하나의 제형을 갖는,

여드름 피부개선용 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 여드름 피부개선용 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 포토랍두스 템프라타 종 템프라타 (*Photorhabdus temperata subsp. temperata*) 균주를 함유하는 여드름 피부개선용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 여드름은 모낭 및 피지선에 발생하는 만성, 난치성, 염증성 피부 질환을 의미하는 것으로서, 이 여드름의 발생의 원인은 인체 호르몬 중 남성 호르몬인 테스토스테론의 이상 작용에서부터 시작되는데, 이 테스토스테론은 혈액을 타고 피부에 있는 피지선으로 흘러들어가 오일의 생산을 촉진시켜, 과도하게 분비된 이 오일이 피지 모공 안을 가득 채우게 된다.

[0003] 이때 오일의 과도한 생산과 더불어 모공 입구에서는 과각화 현상이 촉진되어 모공의 입구가 더욱 좁혀지거나 막히게 되는데, 이러한 현상이 모공 안을 가득 채우고 있는 오일들은 밖으로의 흐름을 멈추고 모공 안에 갇혀 정체되는데 이 갇힌 오일 덩어리들과 불순물들이 서로 엉켜 여드름 덩어리(Comedo)를 이루게 된다.

[0004] 모공 안에 정체되어 있는 오일의 양이 많아지면, 박테리아인 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)가 활동하게 되고, 오일성분들을 탐식하고 난 후 생긴 부산물인 자유지방산이 모공을 심하게 자극하면서 염증을 유발시킨다.

[0005] 일반적으로, 세균에 의한 여드름이나 염증과 같은 피부 질환의 치료에 있어서, 에르스로마이신(erythromycin), 테트라사이클린(tetracycline), 신다마이신(cindamycine)과 같은 항균물질들이 주로 사용되어 왔으나, 이러한 항균물질은 장기간 사용시 여드름 원인균이 내성을 가지게 되고, 광과민작용과 같은 부작용을 일으키는 등의 많은 문제점을 야기해 왔다.

[0006] 또한, 여드름 원인균인 프로피오니박테리움 아크네스는 인공적인 배양이 어렵기 때문에, 약제를 선정하는 것이 어려우며, 특히 항생물질이 추가되는 약제는 화장품으로서의 이용이 불가능한 문제가 있다.

[0007] 이에 현재 상기 문제를 해소하기 위해 하기와 같이 미생물을 이용한 화장료 조성물에 관한 여러 연구들이 시행되고 있다.

[0008] 다시 말해, 미생물이 생산하는 항균물질은 광범위한 미생물에 대한 저해능력을 가지면서 고등생물에 대한 선택 독성이 낮은 장점을 가지고 있다.

[0009] 따라서 하기에 기술된 바와 같이, 피부 질환 치료를 위하여 항균활성을 가진 유산균의 대사 산물을 이용하는 방법이 모색되고 있다.

[0010] 일본특허 특개2003-259860호에는 락토코카스 락토스 및 이를 이용한 항균 배양액이 함유된 화장료 조성물이 공개되어 있다.

[0011] 대한민국특허 제0536522호에는 엔테로코코스 파시에움 및 이를 이용한 박테리오신이 함유된 화장료 조성물이 공개되어 있다.

[0012] 그러나, 현재 유산균 및 이의 배양액을 이용한 화장료 조성물은 유산균 대사 산물을 얻기 위한 공정에 있어 사용 배지의 단가가 높고, 대사 산물의 분리 정제에 대한 공정 비용이 매우 높은 단점이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0013] (특허문헌 0001) 일본특허 특개2003-259860호 "락토코카스 락토스 및 이를 이용한 항균 배양액이 함유된 화장품 조성물"이 공개되어 있다.
- (특허문헌 0002) 대한민국특허 제0536522호 "엔테로코코스 파시에움 및 이를 이용한 박테리오신이 함유된 화장품 조성물"

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0014] 본 발명의 목적은 포토랍두스 템프라타 종 템프라타(*Photorhabdus temperata subsp. temperata*)균주를 함유하여 피부에 발생하는 여드름 유발 미생물인 프로피오니박테리움 아크네스 세균의 성장을 억제하고, 피부에 안전하며, 보습효과도 뛰어난 여드름 피부개선용 조성물을 제공하는데 있다.
- [0015] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제들은 이상에서 언급한 기술적 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 다른 기술적 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0016] 본 발명의 여드름 피부개선용 조성물은 포토랍두스 템프라타 종 템프라타 균주(*Photorhabdus temperata subsp. temperata*)를 유효성분으로 함유하는 것이 특징이다.
- [0017] 상기 균주는 균체 또는 배양액 중 어느 하나 이상의 형태인 것이 특징이다.
- [0018] 또한, 상기 균주 배양액은 상기 균주를 25~30℃에서 20~25시간 동안 배양한 후, 2-이소프로판올을 첨가한 다음, 초음파처리한 후, 0~4℃에서 20~25시간 동안 방치한 다음, 원심분리하여 다당류와 세포는 제거하고 남은 배양액인 것이 특징이다.
- [0019] 상기 균주 배양액은 상기 여드름 피부개선용 조성물 총중량에 대하여 10~40 중량%를 함유하는 것이 특징이다.
- [0020] 상기 여드름 피부개선용 조성물은 여드름 유발 미생물인 프로피오니박테리움 아크네스 세균의 성장을 억제하며, 피부에 안정적이고, 보습효과도 갖는 것이 특징이다.
- [0021] 상기 여드름 피부개선용 조성물은 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 중 선택된 어느 하나의 제형을 갖는 것이 특징이다.

발명의 효과

- [0022] 본 발명에 의해, 포토랍두스 템프라타 종 템프라타(*Photorhabdus temperata subsp. temperata*)균주가 함유됨으로써, 피부에 발생하는 여드름 유발 미생물인 프로피오니박테리움 아크네스 세균의 성장을 억제하고, 피부에 안전하며, 보습효과도 뛰어난 여드름 피부개선용 조성물이 제공된다.

도면의 간단한 설명

- [0023] 도 1은 본 발명의 유효성분인 포토랍두스 템프라타 종 템프라타 균주(*Photorhabdus temperata subsp. temperata*)의 염기서열을 나타낸 도면이다.
- 도 2는 *Photorhabdus temperata subsp. temperata*와의 상동성 비교를 나타낸 도면이다.
- 도 3은 본 발명의 유효성분인 포토랍두스 템프라타 종 템프라타 균주(*Photorhabdus temperata subsp.*

temperata)의 분류계통학적 분류도를 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0024] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명하도록 한다.
- [0025] 본 발명의 여드름 피부개선용 조성물의 유효성분으로 사용되는 상기 균주는 포토랍두스 템프라타 종 템프라타 균주(*Photorhabdus temperata subsp. temperata*)이다.
- [0026] 다시 말해, 본 발명의 유효성분으로 사용된 균주를 16S rRNA 유전자를 통한 염기서열을 분석한 결과, 도 1과 도 2에 나타나 있듯이 *Photorhabdus temperata subsp. temperata* 와 100% 상동성을 나타내었다.
- [0027] 이러한 포토랍두스 템프라타 종 템프라타 균주(*Photorhabdus temperata subsp. temperata*)는 보통 곤충 면역 억제물질 생성에 이용되는 공지된 균주로써, 본 발명에서는 이러한 상기 균주에 대해 피부에 상비하는 여드름의 원인균인 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)의 생육을 저해하여 여드름 발생을 억제할 수 있음을 밝혀내어, 본 발명의 여드름 피부개선용 조성물의 유효성분으로 사용하게 된다.
- [0028] 이러한 상기 균주는 균주의 균체 또는 배양액 중 어느 하나 이상의 형태로 사용되는 것을 특징으로, 특히 상기 균주의 배양액을 사용할 경우에는 상기 균주를 25~30℃에서 20~25시간 동안 배양한 후, 2-이소프로판올을 첨가한 다음, 초음파처리한 후, 0~4℃에서 20~25시간 동안 방치한 다음, 원심분리하여 다당류와 세포는 제거하고 남은 균주 배양액을 사용하는 것이 화장료의 유효성분의 상태로 가장 적합하다.
- [0029] 또한, 상기 균주의 배양액은 상기 여드름 피부개선용 조성물 총중량에 대하여 10~40 중량%를 함유하는 것을 특징으로, 상기 균주의 배양액이 전체중량대비 10중량% 미만으로 함유될 경우에는 여드름 피부개선 효과가 미흡하여 여드름 피부개선용 조성물로 사용하기에 적합하지 않으며, 40 중량%를 초과하여 함유될 경우에는 여드름 피부개선 효과가 더 이상 증가하지 않고 오히려 피부자극을 유발할 가능성이 높다.
- [0030] 또한, 본 발명의 여드름 피부개선용 조성물을 포함하여 화장료로 제조할 경우, 추가하는 성분으로 피부 여드름 생성을 억제에 도움을 주면서, 피부자극의 부작용이 없어 화장료 자체의 안정성이 우수하면서 보습효과를 갖는데 도움을 주는 통상의 성분들은 모두 포함할 수 있는 것으로서, 상기 화장료 제형의 사용방법 및 목적에 따라 달리 적용할 수 있으며, 바람직하게는 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체 중 어느 하나 이상이 포함되어 화장료로 제조하게 된다.
- [0031] 본 발명의 여드름 피부개선용 조성물은 통상적으로 화장료에서 제조되는 제형으로서, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 중 선택된 어느 하나의 제형으로 될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0032] 구체적으로 설명하면, 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 프라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0033] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리ケート 또는 폴리암이드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0034] 본 발명의 제형이 용액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁제가 이용되고, 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [0035] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르, 미소 결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 셀페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설페옥신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아마이드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성유, 라놀린 유도체, 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0037] 이와 같이 본 발명의 여드름 피부개선용 조성물을 이용하여 상기와 같이 여드름 피부개선에 효과적인 여러형

태의 화장료를 제조하여 제공할 수 있다.

[0038] 이하에서는 실시예 및 실험예를 들어 본 발명에 관하여 더욱 상세하게 설명할 것이나, 이들 실시예 및 실험예는 단지 설명의 목적을 위한 것으로 본 발명의 보호 범위를 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0039] <실시예 1> 포토랍두스 템프라타 종 템프라타 균주(*Photorhabdus temperata subsp. temperata*) 분리

[0040] 분양받은 곤충병원성선충(*Heterorhadtis bacteriophora*) 감염태(500마리 이상)를 300ppm 스트렙토마이신이 포함된 0.06% NaCl 용액에서 30분간 표면소독한 후 균질기를 이용 선충 전체를 마쇄한 후, 이 추출물을 하기의 표 1의 MacConkey agar 배지를 사용하여 형광을 발하는 밝은 핑크색의 균주를 분리하였다.

표 1

배지성분	조성
펩톤(Bacto Peptone)	17g
프로테오스 펩톤(Bacto Proteose Peptone)	3g
락토오스(Bacto lactose)	10g
소듐 클로라이드(Sodium chloride)	5g
담즙산염(Bacto Bile salte no.3)	1.5g
아가(Bacto agar)	13.5g
뉴트랄레드(Neutral red)	0.03g
크리스탈바이올렛(Bacto Crystal Violet)	0.001g
증류수	1 l

[0042] 상기와 같이 분리된 균주를 하기의 표 2의 NBTA 배지에 올려놓은 후 콜로니를 둘러싸는 흰색띠를 형성하는 녹색 콜로니를 다시 분리하였다.

표 2

배지성분	조성
비프추출물(Bacto beef extract)	3g
펩톤(Bacto peptone)	5g
아가(Bacto agar)	15g
브로모치몰블루(Bromothymol blue)	0.025g
트리페닐테트라졸리움클로라이드 (Triphenyltetrazolium chloride)	0.04g
증류수	1 l

[0044] 상기 분리된 균주를 16S rRNA 유전자를 통한 염기서열을 분석한 결과, 도 1과 같이 나타났으며, 도 2에서 *Photorhabdus temperata. subsp. temperata*와의 상동성을 비교한 결과 100% 상동성을 나타내었으며, 도 3에 나타나 있듯이 분류계통학적 분류도에서 확인한 바, 상기 분리된 균주는 포토랍두스 템프라타 종 템프라타 균주(*Photorhabdus temperata subsp. temperata*)임을 알 수 있었다.

[0045] <실시예 2> 포토랍두스 템프라타 종 템프라타 균주(*Photorhabdus temperata subsp. temperata*) 배양액 제조

[0046] (1) 배양액의 생산

[0047] 상기 실시예 1에서 분리된 균주의 배양액을 생산하기 위해, 1l의 삼각플라스크에 2.0%로 하기 전술된 배지에 접종한 후 25℃에서 250rpm으로 4일간 배양한 배양액을 생산하였다.

[0048] 이때, 기본배지로는 5% YS배지를 사용하였으며, 그 조성으로는 식용유, 난황분, 콜레스테롤, 라드(Lard), 레시틴(Lecithin), 전지분유, 염화나트륨(NaCl), 제1인산 칼륨, 효모추출물(Yeast extract)을 사용하였다.

[0049] (2) 배양액의 분리

[0050] 상기 (1)에서 생산된 포토랍두스 템프라타 템프라타 균주의 배양액을 분리하기 위하여 배양액 1ℓ에 2-이소프로판올을 상기 배양액의 2배양으로 첨가한 후 초음파로 1시간 처리하고, 4℃에서 24시간동안 방치하여 배양액으로부터 다당류를 제거하였다. 그 후 이 배양액은 원심분리기를 12,000×g, 40분의 조건으로 원심분리하고 GF/F(Whatmann, 47mm)로 여과하여 세포를 제거한 후 분리하였다.

[0051] <실시예 3 내지 6> 본 발명의 여드름 피부개선용 조성물을 함유하는 화장료 제형 제조

[0052] 하기 표 3과 같이 상기 실시예 2의 균주 배양액의 조성비율별로 함유하는 본 발명의 여드름 피부개선용 조성물을 각각 포함하여 실시예 3 내지 6의 화장료 제형을 제조하였으며, 비교대상으로 상기 실시예 2의 균주 배양액을 첨가하지 않은 대조에 1을 함께 제조하였다.

표 3

성분	함량(중량%)				
	실시예 3	실시예 4	실시예 5	실시예 6	대조에 1
실시예 2의 균주 배양액	10	20	30	40	-
에리스로마이신	-	-	-	-	0.2
글리세린	2.0				
페놀시에탄올	1.2				
스테아린산	1.5				
밀납	1.0				
코코글루코사이드	1.0				
폴리쿼터늄-10	1.7				
솔비탄스테아레이트	0.5				
스쿠알렌	3.0				
경화식물유	1.0				
소듐마그네슘 시리케이트	0.1				
베타인	3.0				
트리에탄올 아민	1.0				
향	0.01				
증류수	잔량				
합계	100				

[0054] <실험예 1> 포토랍두스 템프라타 템프라타 균주 배양액의 함량에 따른 여드름 균주의 성장 저해 효과측정

[0055] 상기 실시예 2에서 얻은 포토랍두스 템프라타 템프라타 균주 배양액을 이용하여 함량에 따른 여드름균주에 대한 성장저해효과를 실험하였다.

[0056] 여드름 균주에 대한 성장저해 실험은 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acne*, ATCC 6919)를 여드름 원인균으로 사용하고, 함량별 포토랍두스 템프라타 템프라타 배양액을 각각 페이퍼 디스크 방법(Paper disk method)으로 실험을 수행하였다.

[0057] 이를 상세히 기술하면, 우선, 2%의 RCM 고체배지(Reinforced clostridial medium, Difco)를 만들어 87×15 mm 펠트리디쉬에 넣고, 프로피오니박테리움 아크네스 1×10⁷ 세포를 도말한 후 페이퍼 디스크(8mm)를 올려놓고, 디스크에 포토랍두스 템프라타 종 템프라타 균주 배양액을 100μl씩 접종하였다.

[0058] 접종한 고체배지를 혐기성 배양기에 넣고 35℃에서 5일간 배양한 후 클리어존(Clear zone)을 관찰하였으며, 그 결과를 하기 표 4와 같이 나타냈다.

[0059] 대조구로는 에르스로마이신(0.2%)를 사용하였다.

표 4

함량	프로피오니박테리움 아크네스 생육저지환 (지름, mm)
10 % 포토랍두스 템프라타 중 템프라타	16
20 % 포토랍두스 템프라타 중 템프라타	18
30 % 포토랍두스 템프라타 중 템프라타	28
40 % 포토랍두스 템프라타 중 템프라타	30
에르스로마이신(0.2%)	32

[0060]

[0061]

[0062]

[0063]

[0064]

[0065]

[0066]

상기 표 4의 결과에서 알 수 있듯이, 희석농도와 상관없이 포토랍두스 템프라타 중 템프라타 균주 배양액 모두 여드름 원인균에 대한 성장 억제 효과가 나타났으며, 특히 배양액의 농도가 높아질수록 더 높게 나타남을 확인하였다.

이것은 배양액 모두에서 농도 의존적으로 성장저해 효과를 나타낸다는 것을 알 수 있다.

<실험예 2> 포토랍두스 템프라타 중 템프라타균주 배양액을 함유하는 화장료 제형의 온도 변화 안정성 확인

상기 화장료 제형의 온도 변화에 따른 안정성을 시험하기 위하여 상기 실시예 3 내지 6의 화장료 제형을 준비하였다.

상기 실시예 3 내지 6의 화장료 제형에는 실시예 2의 포토랍두스 템프라타 중 템프라타 균주 배양액이 함량별로 함유되어 있으며, 나머지 성분들은 당업계에서 보편적으로 사용되는 조성을 이용한 것으로서 본 평가를 실시하였다.

상기와 같이 준비된 본 발명의 실시예 3 내지 6의 화장료 제형 및 대조 예1은 각각 유리용기에 담아 50℃로 일정하게 항온유지되는 항온수조에서 2주일 동안 보관한 후, 불투명 유리용기에 담아 0℃로 일정하게 유지되고 완전히 차단된 상태하에 냉장고 내에서 1주 동안 보관한 다음 변색 정도를 하기 표 5의 제품변색 평가 기준에 따라 비교 측정하였다.

표 5

점수	평가기준
0	변화 없음
1	극히 조금 변함
2	조금 변함
3	조금 심하게 변함
4	심하게 변함
5	극히 심하게 변함

[0067]

[0068]

상기 제형 안정성에 대해 비교 측정한 결과, 하기 표 6과 같이 나타났다.

표 6

온도	실험 물질 변색 정도				
	실시예 3	실시예 4	실시예 5	실시예 6	대조예 1
50℃	0	0	0	0	0
0℃	0	0	0	0	0

[0069]

[0070]

상기 표 6의 결과에서 알 수 있듯이, 포토랍두스 템프라타 중 템프라타 균주 배양액이 함유한 모든 제형에서 변색이 되지 않아 40% 미만으로 함유한 제형의 안정성이 매우 우수함을 알 수 있었다.

- [0071] <실험예 3> 포토랍두스 템프라타 종 템프라타 균주 배양액을 함유하는 제형의 인체 안정성 확인
- [0072] 현재 피부병 내지 피부 알레르기 증상이 없는 20~50대 여성 100명을 대상으로 상기 실시예 3의 화장료 제형의 피부 안정성을 인체 피부 첩포 시험을 통하여 확인하였다.
- [0073] 대조구로는 에리스로마이신 0.2% 중량을 함유한 대조에 1을 함께 시험하였다.
- [0074] 우선 시험부위를 70% 에탄올로 닦아내고 건조한 후 준비된 시험물질을 20 μ g씩 시험자의 전박(forearm) 안쪽 부위에 첩포 하였다.
- [0075] 24시간 동안 첩포하고 첩포를 제거한 후 표시펜으로 시험부위를 표시하였고 확대경을 이용하여 시험부위를 관찰하여 홍반 및 부종 유무를 관찰하였다.
- [0076] 피부반응은 하기 표 7에 나타나 있는 국제접촉피부염연구회(ICDRG: International Contact Dermatitis Research Group)의 피부 반응 평가 기준 및 점수의 규정에 따라 판정하였다.

표 7

기호	점수	평가 기준
-	0	무반응, 정상 피부
±	0.5	희미한 또는 가벼운 홍반
+	1.0	경계가 뚜렷하나 약한 홍반, 부종 및 구진
++	2.0	뚜렷한 홍반, 구진 및 소수포
+++	3.0	심한 홍반 및 소포형성
++++	6.0	대수포 형성

[0078] 상기 제형의 인체 안정성에 대해 비교 측정된 결과, 하기 표 8과 같이 나타났다.

표 8

실험대상	피부 반응정도					
	24시간			48시간		
	±	+	-	±	+	-
대조에 1	2	2	-	1	-	-
실시예 3	2	-	-	-	-	-

[0080] 상기 표 8의 결과에서 알 수 있듯이, 0.2% 에르로마이신을 함유한 대조에 1의 제형은 피부 안정성은 낮은 반면, 본 발명의 실시예 3의 포토랍두스 템프라타 종 템프라타 배양액이 함유된 제형은 피부에 안전성을 나타냄으로써 인체에 사용하여도 안전함을 알 수 있었다.

- [0081] <실험예 4> 포토랍두스 템프라타 종 템프라타 균주 배양액을 함유하는 제형의 보습 효과 확인
- [0082] 20~50대 여성 100명을 대상으로 상기 실시예 3과 대조에 1 제형의 보습효과를 측정하였다.
- [0083] 각 50명씩 2개조로 나누어 실시예 3과 대조에 1의 제형을 임의로 나누어주고, 매일 5회 2개월간 얼굴 및 전단부에 도포하여 피부의 수분량의 변화를 측정하였다.
- [0084] 피부 수분량의 변화 측정은 실시예 3과 대조에 1의 제형을 도포하기 전에 항온, 항습조건(온도 20℃, 습도 50%)에서 코네오미터를 이용하여 피부 전도를 미리 측정하여 기본 값(0)으로 삼고, 1주 단위로 경과 후의 반응을 측정하여 평가하였다.

[0085] 그 결과, 하기 표 9와 같이 나타났다.

표 9

	피부 수분 증가율(%)							
	1주	2주	3주	4주	5주	6주	7주	8주
대조예 1	10	14	19	23	28	30	32	37
실시예 3	35	40	44	49	53	61	65	69

[0087] 상기 표 9의 결과에서 알 수 있듯이, 대조예 1에 비해 본 발명인 실시예 3의 제형에서 피부 보습 효과가 훨씬 우수함을 알 수 있었다.

[0088] 이에, 본 발명의 여드름 피부개선용 조성물에는 포토랍두스 템프라타 종 템프라타(*Photorhabdus temperata subsp. temperata*)균주를 함유함으로써 피부에 발생하는 여드름 유발 미생물인 프로피오니박테리움 아크네스 세균의 성장을 억제하고, 피부에 안전하며, 보습효과도 뛰어난 여드름 피부개선용 조성물을 제공할 수 있게 되는 것이다.

[0089] 상기의 본 발명은 바람직한 실시예 및 실험예를 중심으로 살펴보았으며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 본질적 기술 범위 내에서 상기 본 발명의 상세한 설명과 다른 형태의 실시예 들 및 실험예를 구현할 수 있을 것이다. 여기서 본 발명의 본질적 기술범위는 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

도면1

```
CGACGGGAGCTTGCTCCCTTAGGTTAGCGGGGACGGGTGAGTAACA
CGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACGGGG
CTAATACCGGATGCTTGATTGAACCGCATGGTTCAATTATAAAAGGT
GGCTTTTAGCTACCACCTTACAGATGGACCCCGCGGCATTAGCTAGT
TGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAG
AGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACG
GGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGA
GCAACGCCCGGTGAGTGATGAAGGTTTTCCGGATCGTAAAACCTGTGT
GTTAGGGGAAGAACAAGTACCGTTCGAACAGGGCGGTGCCTTGACGGT
ACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAAT
ACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCG
CAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGG
AGGGTCAATTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGA
ATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAG
TGCGCAAGGGGACTCTCTGGTCTGTAAC TGACGCTGAGGCGGAAAG
CGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCC TGGTAGTCCACGCCGTA
CGATGAGTGC TAAGTGT TAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGC
AAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAA
CTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTT
TAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCTTTGACATCCTCTG
ACACCCCTAGAGATAGGGCTTCCCTTCCGGGGCAGAGTGACAGGTG
GTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCC
CGAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTGAGTTGGGC
ACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGAC
GTCAAATCATATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGGCAGAACAAAGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGCCAATCCAC
AAATCTGCTCTCAGTTCCGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAA
GCTGGAATCGGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGT
TCCCGGGCCTTGATACACACCGCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAA
CCGAAGTCGGTGAGGTA//
```

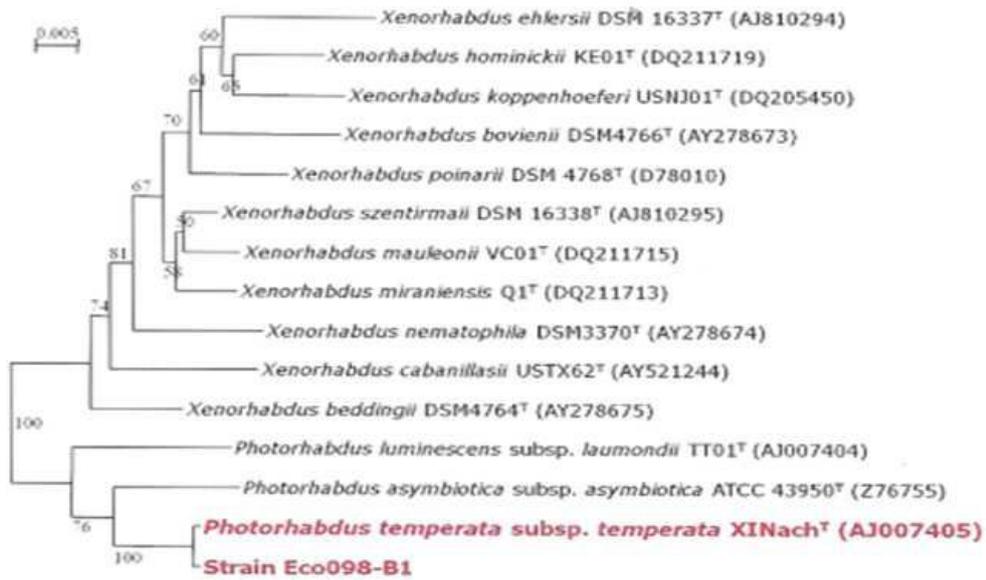
도면2

© *Photobabdu* *temperata* subsp. *temperata* Eco098-B1/Eco098-B2 상동성 비교

Score = 1230 bits (666). Expect = 0.0
 Identities = 666/666 (100%). Gaps = 0/666 (0%)
 Strand=Plus/Plus

Eco098-B1	2	GACGGGAGCTTGCCTCCCTTAGGTTAGCGGGGACGGGTGAGTAACACGTGGTAACTGC	61
Eco098-B2	1	GACGGGAGCTTGCCTCCCTTAGGTTAGCGGGGACGGGTGAGTAACACGTGGTAACTGC	60
Eco098-B1	62	CTGTAAAGACTGGGATAACTCCGGAAACCGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAACCGC	121
Eco098-B2	61	CTGTAAAGACTGGGATAACTCCGGAAACCGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAACCGC	120
Eco098-B1	122	ATGGTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACCTACAGATGGACCCGGCGCATT	181
Eco098-B2	121	ATGGTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACCTACAGATGGACCCGGCGCATT	180
Eco098-B1	182	AGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTACCAAGGCGADGATGCGTAGCCGACTGAGAGGGTG	241
Eco098-B2	181	AGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTACCAAGGCGADGATGCGTAGCCGACTGAGAGGGTG	240
Eco098-B1	242	ATDGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAAT	301
Eco098-B2	241	ATDGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAAT	300
Eco098-B1	302	CTTCCGCAATGGADGAAAGTCTGACGGAGCAACGGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTCGA	361
Eco098-B2	301	CTTCCGCAATGGADGAAAGTCTGACGGAGCAACGGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTCGA	360
Eco098-B1	362	TGATAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTTCAACAGGGCGGTGCCTTGAAG	421
Eco098-B2	361	TGATAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTTCAACAGGGCGGTGCCTTGAAG	420
Eco098-B1	422	GTAOCTAACCAAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATADGTAGGTGG	481
Eco098-B2	421	GTAOCTAACCAAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATADGTAGGTGG	480
Eco098-B1	482	CAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGGCGCAAGCGGTTTCTTAAGTCTGATG	541
Eco098-B2	481	CAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGGCGCAAGCGGTTTCTTAAGTCTGATG	540
Eco098-B1	542	TGAAAGCCDCCGGCTCAACCGGGAGGGTCATTGGAACTGGGAACTTGAATGCAGAAAG	601
Eco098-B2	541	TGAAAGCCDCCGGCTCAACCGGGAGGGTCATTGGAACTGGGAACTTGAATGCAGAAAG	600
Eco098-B1	602	AGGAGAGTGGAAATTCACGTGTAGCGGTGAAATGGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGT	661
Eco098-B2	601	AGGAGAGTGGAAATTCACGTGTAGCGGTGAAATGGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGT	660
Eco098-B1	662	GCGAAG 667	
Eco098-B2	661	GCGAAG 666	

도면3



Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequence showing the position of strain Eco098-B1 and related bacterial taxa. Numbers at branches are bootstrap values, derived only for the nodes supported by greater than 50% (1,000 replicates). Bar, 0.005 substitutions per site.