



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년12월15일
(11) 등록번호 10-2339984
(24) 등록일자 2021년12월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/05 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A61P 31/04 (2006.01) A61P 31/10 (2006.01)
A61P 39/06 (2006.01)

(52) CPC특허분류
A61K 36/05 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2018-0167704
(22) 출원일자 2018년12월21일
심사청구일자 2019년12월23일
(65) 공개번호 10-2020-0078109
(43) 공개일자 2020년07월01일
(56) 선행기술조사문헌
KR100983023 B1*
Davoodbasha MubarakAli, et al., RSC Advances, 2012. Vol.2(30): pp.11552-11556 (2012.10.31. 공개)*
Maria E A Pinto, et al., An Acad Bras Cienc. Jul-Sep 2017*
KR1020170021958 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
인천대학교 산학협력단
인천광역시 연수구 아카데미로 119 (송도동)

(72) 발명자
김정완
서울특별시 서초구 방배로26길 41, 103동 303호(방배동, 방배동롯데캐슬로제)
이상율
서울특별시 서초구 방배로26길 41, 103동 303호(방배동, 방배동롯데캐슬로제)
다부드바사 무바락알리
인천광역시 연수구 아카데미로 119, 29동 517호

(74) 대리인
특허법인이름리온

전체 청구항 수 : 총 9 항

심사관 : 최홍석

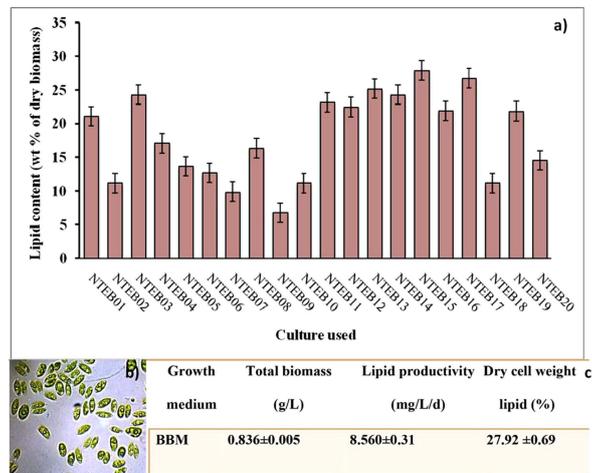
(54) 발명의 명칭 **세넨데스무스 인터메디우스 가공 추출물을 유효성분으로 하는 항균 및 항산화 조성물**

(57) 요약

본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 그람 양성균(*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* 및 *Bacillus cereus*) 그람 음성균(*Escherichia coli* 및 *Pseudomonas aeruginosa*) 박테리아와 진균류(*Aspergillus parasiticus* 및 *Candida albicans*)에 대하여 항균제로써 작용하는

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



지의 효능을 평가하였고, 그 결과 그람 음성 박테리아에 대한 최소 억제 농도(minimal inhibitory concentration, MIC)는 12-24 µg/mL, 그람 양성균에 대한 MIC는 24-48 µg/mL, 진균에 대한 MIC는 60-192 µg/mL를 나타내며 이와 동시에 우수한 항산화 활성도 가지고 있음을 확인하였으므로, 미생물 감염에 의해 유도되는 질환에 있어서 우수한 효과를 나타낼 수 있음을 알 수 있다. 따라서 본 발명의 조성물은 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균과 같은 미생물에 의해 유도된 감염 질환 예방 및 치료용 또는 항균 및 항산화 조성물의 유효성분으로 효과적이다.

(52) CPC특허분류

A61P 31/04 (2018.01)

A61P 31/10 (2018.01)

A61P 39/06 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

A23V 2250/202 (2013.01)

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 하는 향균 조성물에 있어서, 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 총 건조중량을 기준으로 20~25 중량% 팔미틴산 메틸 에스테르(C16:0), 0.1~0.5 중량% 시스-10-헵타데칸산 메틸 에스테르(C17:1), 2~10 중량% 스테아리돈산 메틸 에스테르(C19:2) 및 1~5 중량% 리놀렌산 메틸 에스테르(C18:3)를 포함하는 것을 특징으로 하고,

Staphylococcus aureus, *Bacillus cereus* 및 *Streptococcus mutans*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 그람 양성균;

Escherichia coli 및 *Pseudomonas aeruginosa*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 그람 음성균; 또는 *Aspergillus parasiticus* 및 *Candida albicans*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 진균에 대해 향균 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 향균 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 물, C1 내지 C4의 저급 알코올, 헥산 및 클로로포름으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 용매로 추출된 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 균체 또는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 배양액에 물, C1 내지 C4의 저급 알코올, 헥산 및 클로로포름으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 용매로 추출물을 얻은 후, 상기 추출물에 알코올 및 염기촉매를 첨가하여 트랜스에스테르 반응을 시켜 제조되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 균체 또는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 배양액 1 중량부를 기준으로 용매 0.5 내지 5 중량부가 첨가되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 하는 향균 및또는 항산화 식품 조성물에 있어서,

상기 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 총 건조중량 대비 20 내지 30 중량%의 팔미테이트(*palmitate*, C16:0)를 포함하는 것을 특징으로 하고,

상기 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* 및 *Streptococcus mutans*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 그람 양성균;

Escherichia coli 및 *Pseudomonas aeruginosa*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 그람 음성균; 또는

Aspergillus parasiticus 및 *Candida albicans*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 진균에 대해 항균 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 물, C1 내지 C4의 저급 알코올, 헥산 및 클로로포름으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 용매로 추출된 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 균체 또는 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 배양액에 물, C1 내지 C4의 저급 알코올, 헥산 및 클로로포름으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 용매로 추출물을 얻은 후, 상기 추출물에 알코올 및 염기촉매를 첨가하여 트랜스에스테르 반응을 시켜 제조되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 균체 또는 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 배양액 1 중량부를 기준으로 용매 0.5 내지 5 중량부가 첨가되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 하는 *Escherichia coli* 및 *Pseudomonas aeruginosa*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 그람 음성균, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* 및 *Streptococcus mutans*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 그람 양성균 및 *Aspergillus parasiticus* 및 *Candida albicans*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 진균으로 이루어진

균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균에 의해 유발된 감염성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 세넨데스무스 인터메디우스 추출물을 함유하는 향균 및 항산화 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 세넨데스무스 인터메디우스 추출물을 함유하는 향균 및 항산화 효과를 갖는 화장료, 식품 및 사료 조성물 및 천연 방부제에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 항생제(antibiotics)는 미생물이 생산하는 대사산물로 소량으로 다른 미생물의 발육을 억제하거나 사멸시키는 물질이다. 병원균에 의한 감염증을 치료하는 약물로 감염 증세에 뛰어난 효능을 보이기 때문에 전 세계적으로 사용되고 있다.

[0003] 하지만 현재까지 개발된 향균 화합물 중 상당수는 오남용으로 인하여 병원균 스스로가 항생제에 저항할 수 있는 힘을 기르게 되고 그 내성이 점차 강해지고 실정이다, 이와 같이 다양한 약물에 대하여 내성을 갖고 있는 박테리아를 치료 또는 제거하는 것이 어려워짐에 따라, 세계적인 문제로 대두되고 있다. 따라서 종래 항생제들을 대체할 수 있는 새로운 항생제 제품을 위한 새로운 물질과 개발이 시급한 실정이다.

[0004] 대부분의 약제들의 주요성분은 천연물로부터 유래된 것들이 대부분이다. 특히 미생물이나 식물로부터 회수한 향균 화합물들이 차지하고 있다. 최근에는 항생제의 개발을 위해 생물학적 제제, 생물학적 나노입자, 바이오 나노복합체 등을 스크리닝 하는데 많은 노력들이 이루어지고 있는 실정이다. 이러한 맥락에서 미세조류 역시 음식이나 안료 및 사료와 같은 다양하고 광범위한 분야에 활용되고 있으나, 향균 또는 항산화 활성에 대해서는 놀랄 정도로 조사나 연구가 이뤄지지 않았다.

[0005] 본 발명자들은 우수한 향균 및 항산화 활성을 가지는 지방산 메틸 에스테르(FAME)의 재생가능한 천연자원으로써, 미세조류를 개발하고자 노력한 결과, 세넨데스무스 인터메디우스로부터 추출된 추출물이 그람 양성균 그람 음성균, 박테리아 및 진균류에 대하여 항균제로써 우수한 효과를 나타내며, 특히 가장 낮은 MIC와 매우 강한 항산화 호라성을 가지고 있음을 확인한 바, 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스 추출물은 향균 및 항산화 조성물의 유효성분으로 사용할 수 있음을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 이에 본 발명자들은 우수한 향균 활성 및 항산화 활성을 가지며 안전하게 적용될 수 있는 천연물질을 탐색한 결과, 미세조류 중에서도 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)가 향균 및 항산화 활성이 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0007] 따라서, 본 발명의 목적은, 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 하는 향균 및 항산화 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은, 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 함유한 향균 및 항산화 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은, 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 하는 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균에 의해 유발된

감염성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

과제의 해결 수단

- [0010] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 하는 항균 및 항산화 조성물을 제공한다.
- [0011] 또한, 본 발명은 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 하는 항균 및 항산화 식품 조성물을 제공한다.
- [0012] 본 발명의 또 다른 목적은, 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 하는 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균에 의해 유발된 감염성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0013] 상기 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 물, C1 내지 C4의 저급 알코올, 헥산 및 클로로포름으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 용매로 추출된 것일 수 있다.
- [0014] 상기 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 균체 또는 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 배양액에 물, C1 내지 C4의 저급 알코올, 헥산 및 클로로포름으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 용매로 추출물을 얻은 후, 상기 추출물에 알코올 및 염기촉매를 첨가하여 트랜스에스테르 반응을 시켜 제조되는 것일 수 있다.
- [0015] 상기 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 균체 또는 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 배양액 1 중량부를 기준으로 용매 0.5 내지 5 중량부가 첨가되는 것일 수 있다.
- [0016] 상기 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 GC로 분석한 결과, 추출물의 총 건조중량을 기준으로 20~25 중량% 팔미탄산 메틸 에스테르(C16:0), 0.1~0.5 중량% 시스-10-헵타데칸산 메틸 에스테르(C17:1), 2~10 중량% 스테아리돈산 메틸 에스테르(C19:2) 및 1~5 중량% 리놀렌산 메틸 에스테르(C18:3)를 포함하는 것일 수 있다.
- [0017] 상기 조성물은 상기 조성물은 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균의 성장을 억제하는 항균활성을 갖는 것으로, 상기 조성물은 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* 및 *Bacillus cereus*의 그람 양성균과 *Escherichia coli* 및 *Pseudomonas aeruginosa*의 그람 음성균 *Aspergillus parasiticus* 및 *Candida albicans*의 진균에 대해 항균활성을 갖는 것일 수 있다.

발명의 효과

- [0018] 따라서 본 발명은 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 포함하는, 항균 및 항산화 조성물, 식품 조성물 및 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균에 의해 유발된 감염성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0019] 본 발명의 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 그람 양성균(*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* 및 *Bacillus cereus*) 그람 음성균(*Escherichia coli* 및 *Pseudomonas aeruginosa*) 박테리아와 진균류(*Aspergillus parasiticus* 및 *Candida albicans*)에 대하여 항균제로써 작용하는지의 효능을 평가하였고, 그 결과 그람 음성 박테리아에 대한 최소 억제 농도(minimal inhibitory concentration, MIC)는 12-24 $\mu\text{g/mL}$, 그람 양성균에 대한 MIC는 24-48 $\mu\text{g/mL}$, 진균에 대한 MIC는 60-192 $\mu\text{g/mL}$ 를 나타내며 이와 동시에 우수한 항산화 활성도 가지고 있음을 확인하였으므로, 미생물 감염에 의해 유도되는 질환에 있어서 우수한 효과를 나타낼 수 있음을 알 수 있다. 따라서 본 발명의 조성물은 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균과 같은 미생물에 의해 유도된 감염 질환 예방 및 치료용 또는 항균 및 항산화 조성물의 유효성분으로 효과적이다.

도면의 간단한 설명

- [0020] 도 1은 총 20개의 미확인 미세조류들의 추출물에서 총 지질함량을 각각 측정하여 비교하여 나타낸 것이다. 도 1a는 NTEB01부터 NTEB20의 추출물 각각에 대한 총 균체 중량 대비 지질함량을 분석하여 나타낸 그래프이다. 이는 총 3회 실험의 평균값이고, 평균 \pm SE로 표시하였다.

도 2는 가스 크로마토그래피를 통해 확인한 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 조성을 분석하여 나타낸 것이다.

도 3은 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물과 다른 공지의 종래 미세조류 추출물의 항균활성 및 조성을 비교하여 나타낸 것이다.

도 4는 다양한 병원체에 대한 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 한천 확산 분석 결과이다.

도 4(a)는 대장균에 대한 것이고, 도 4(b)는 *P. aeruginosa*에 대한 것이며, 도 4(c)는 *S. aureus*에 대한 것이다. 도 4(d)는 *B. cereus*, 도 4(e)는 *C. albicans*, 도 4(f)는 *A. parasiticus*에 대한 것이다.

도 5는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 다양한 인간 병원균에 대한 억제활성을 나타낸 결과 그래프이다.

도 5a는 각 병원균에 대한 억제 구역을 측정하여 퍼센트로 표기한 것이고, 도 5b는 각 병원균에 대한 MIC를 측정하여 나타낸 것이다.

도 6은 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 항산화 활성을 측정한 결과로, DPPH 라디칼 소거활성(굵은 글씨) 히드록실 라디칼 소거활성(점선)을 나타낸 그래프이다. 총 3회의 실험의 평균값이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0021] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0022] 상술한 바와 같이, 우수한 항균 및 항산화 활성을 가지며 안전하게 적용될 수 있는 물질의 탐색이 계속 요구되고 있으나, 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물이 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균의 성장을 억제하는 항균 효과와 더불어 우수한 항산화 효과를 가지고 있다는 것에 관한 연구는 아직까지 보고된 바 없다.
- [0023] 따라서 본 발명의 일 측면은 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 하는 항균 및 항산화 조성물에 관한 것이다.
- [0024] 또한 본 발명의 다른 측면은 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 하는 항균 및 항산화 식품 조성물에 관한 것이다.
- [0025] 또한 본 발명의 또 다른 측면은 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 하는 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균에 의해 유발된 감염성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.
- [0026] 본 발명에 따른 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 그람 양성균 (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* 및 *Bacillus cereus*) 그람 음성균(*Escherichia coli* 및 *Pseudomonas aeruginosa*) 박테리아와 진균류(*Aspergillus parasiticus* 및 *Candida albicans*)에 대하여, 낮은 농도로 현저히 우수한 항균활성을 달성할 수 있을 뿐만 아니라, 매우 강한 항산화 효과를 동시에 나타내는 것으로, 항균 및 항산화 조성물, 식품 조성물 및 감염성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물의 유효성분으로 효과적이다.
- [0027] 본 발명에서 사용되는 가공 추출물은 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)로부터 추출물을 얻고 이를 트랜스에스테르화시켜 가공하여 만들어진 것을 말한다.
- [0028] 본 발명에서 사용되는 FAME는 fatty acid methyl esters로 메틸 에스테르화된 지방산 모두를 지칭하는 것을 의미한다.
- [0029] 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)는 항균 및 항산화 활성이 우수한 FAME 생산능력을 갖는 신규한 균주로, 인도 담수로부터 분리된 총 20종의 미세조류들 중에서 가장 높은 지질함량을 나타내는 균주로 선정되었다.
- [0030] 나아가 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)로부터 추출물을 얻고, 이를 트랜스에스테르화하여 가공 추출물을 회수한 결과, 종래 미세조류로부터 얻은 가공 추출물에 비하여 현저히 우수하고 광범위한 범위의

균(그람 음성, 그람 양성 및 진균과 같은 인간 병원균)에 대해 항균활성을 나타내는 것을 확인하였다, 또한 가장 높은 항산화 효과를 갖는 것으로 알려진 아스코르브산(양성 대조군)과 동등한 수준의 항산화 활성도 가지고 있음을 확인하였다.

- [0031] 또한 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)는 인도의 담수 서식지로부터 분리한 것으로, 이의 형태학적 특징은 단일 세포 엽상체(thalli), 구형(spherical)에서 타원형(ellipsoidal), 가늘고 긴(elongate) 또는 가늘고 긴 방추형에서 방추형(fusiform), 세포 극 두형(cell poles capitates), 둔각(obtuse) 또는 길이가 길고 끝이 뾰족하며(long tapering), 단일 pyrenoid를 갖는 단일핵 세포(uninucleate cell)를 갖고 있다.
- [0032] 이처럼 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 그람 음성 박테리아에 대한 최소 억제 농도(minimal inhibitory concentration, MIC)는 12-24 µg/mL, 그람 양성균에 대한 MIC는 24-48 µg/mL, 진균에 대한 MIC는 60-192 µg/mL를 나타내며 이와 동시에 우수한 항산화 활성도 가지고 있음을 확인하였으므로, 미생물 감염에 의해 유도되는 질환에 있어서 우수한 효과를 나타낼 수 있다. 따라서 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 항균 및 항산화 조성물로, 각종 식품에 천연방부제로 활용이 가능하다. 동시에 우수한 항산화 기능을 가지고 있기 때문에, 이를 함유하는 조성물은 산화 및 세균에 의한 감염증의 예방 또는 완화시킬 수 있는 화장품 조성물, 식품, 건강기능식품, 식품 첨가물, 동물사료의 활성성분으로 개발될 수 있다.
- [0033] 미세조류는 품종이나 자생하는 지역 환경, 추출과정에 따라 가공 추출물에 포함되는 지방산 혹은 지방산 메틸 에스테르(FAME) 성분의 종류와 함량이 현저히 달라지고, 이는 추출물의 효과를 상이하게 한다. 이에 대한 구체적인 비교는 도 3에 나타내었다.
- [0034] 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물로부터 확인된 주요 화합물은 팔미틴산 메틸 에스테르(C16 : 0)(23.08 % w/w), 시스-10-헵타 데칸산 메틸 에스테르(C17 : 1)(0.44 % w/w), 스테아리돈산 메틸 에스테르(C19 : 2)(5.04 % w/w) 및 리놀렌산 메틸 에스테르(C18 : 3)(3.76 % w/w)를 함유하는 것을 확인되었다.
- [0035] 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 물, C1 내지 C4의 저급 알코올, 헥산 및 클로로포름으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 용매로 추출된 것일 수 있는데, 바람직하게는 메탄올과 클로로포름의 혼합 용매일 수 있다. 상기 혼합 용매는 메탄올 1 중량부를 기준으로 클로로포름이 1-3 중량부 혼합된 것이 가장 바람직하며, 상기 범위를 벗어나는 경우에는 추출물에 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 유효성분(지방산)이 적은 양으로 추출될 수 있다.
- [0036] 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 균체 또는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 배양액에 물, C1 내지 C4의 저급 알코올, 헥산 및 클로로포름으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 용매로 추출물을 얻은 후, 상기 추출물에 알코올 및 염기촉매를 첨가하여 트랜스에스테르 반응을 시켜 제조된 것일 수 있다.
- [0037] 상기 염기촉매로는 무수 황산나트륨, 황산하이드록사이드 또는 포타슘하이드록사이드 중에서 선택되는 어느 1종 이상일 수 있고, 상기 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올 및 이들의 혼합물로 이루어진 균으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.
- [0038] 상기의 트랜스에스테르반응은 50 내지 70℃에서 1 내지 5시간 동안 반응시키는 것이 바람직하다.
- [0039] 또한 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 균체 또는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 배양액 1 중량부를 기준으로 용매 0.5 내지 5 중량부 혼합되는 것이 바람직한데, 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 균체 또는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 배양액과 용매의 중량비가 상기 범위를 벗어나는 경우에는 추출물에 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 유효성분이 적은 양으로 추출될 수 있다.
- [0040] 본 명세서에서 사용되는 용어 '가공 추출물'은 가공 추출물을 추가적으로 분획(fractionation)한 분획물도 포함한다. 즉, 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 추출물은 상술한 용매를 이용하여 추출한 후, 트랜스에스테르화 반응을 통해 얻은 것뿐만 아니라, 여기에 정제과정을 추가적으로 적용하여 얻은 것도 포함한다. 또한, 상기 가공 추출물을 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한의 여과막을 통과시켜 얻은 분획, 다양한 크로마토그래피(크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등, 추가적으로 실

시된 다양한 정제 방법을 통해 얻어진 분획도 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물에 포함된다.

- [0041] 본 명세서에서 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 을 언급하면서 사용되는 용어 '가공 추출물'은 이의 분획물뿐만 아니라 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.
- [0042] 또한, 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 광의로는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 동물에게 투여할 수 있도록 제형화된 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물, 예컨대, 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 분말도 포함하는 의미를 갖는다. 비록 본 발명에서 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물로 실험을 진행하긴 하였으나, 제형화된 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물과 같은 형태로도 목적하는 효과를 달성할 수 있음은 당업자라면 예상 가능할 것이다.
- [0043] 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 성분분석은 박층크로마토그래피, 고성능액체크로마토그래피 및 가스크로마토그래피를 이용해서 분석하는 것이 바람직하고, 더욱 바람직하게는 박층크로마토그래피-불꽃이온화검출기(TLC-FID)와 가스크로마토그래피-불꽃이온화검출기(GCFID)를 이용하여 조성 분석을 하는 것이 바람직하다.
- [0044] 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 GC 또는 GCFID로 분석한 결과, 추출물의 총 건조중량을 기준으로 20~25 중량% 팔미틴산 메틸 에스테르(C16:0), 0.1~0.5 중량% 시스-10-헵타데칸산 메틸 에스테르(C17:1), 2~10 중량% 스테아리돈산 메틸 에스테르(C19:2) 및 1~5 중량% 리놀렌산 메틸 에스테르(C18:3)를 포함할 수 있고, 구체적인 구성성분은 도 3에 나타난 바와 같다. 이와 같은 구성성분을 갖는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 종래 미세조류 가공 추출물에 비하여 현저히 우수한 항균활성과 더불어 항산화 효과까지 가지고 있음을 후술하는 실험예를 통해 확인할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 “감염성 질환”은 그람 음성균, 그람양성균 및 진균으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나에 감염된 것을 특징으로 하나 이에 한정되지 않는다. 본 발명의 목적상 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균에 의해 유발되는 모든 감염성 질환을 의미한다. 예를 들어, 본 발명의 감염성 질환에는 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균에 의해 유발되는 호흡기 질환, 소화기 질환, 염증성 질환 등이 포함되고, 구체적으로 폐렴, 복막염, 뇌막염, 창상감염, 골관절염, 담낭염, 요로감염증, 뇌수막염, 심내막염, 심근염, 심외막염, 관절염, 인구염, 임질, 세균성 이질, 장염, 결막염, 위염, 중이염, 방광염, 림프관염, 폐혈증 등이 포함되나, 이에 제한되지 않는다
- [0046] 상기 그람 음성균은 에스케리아(*Escherichia*) 속, 슈도모나스(*Pseudomonas*) 속, 아시네토박터(*Acinetobacter*) 속, 살모넬라(*Salmonella*) 속, 크렙시엘라(*Klebsiella*) 속, 나이세리아(*Neisseria*) 속, 엔테로박터(*Enterobacter*) 속, 시겔라(*Shigella*) 속, 모락셀라(*Moraxella*) 속, 헬리코박터(*Helicobacter*) 속, 스테노트로포모나스(*Stenotrophomonas*) 속, 브델로비브리오(*Bdellovibrio*) 속 및 레지오넬라(*Legionella*) 속으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것일 수 있고, 바람직하게는 *Escherichia coli* 및 *Pseudomonas aeruginosa* 로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.
- [0047] 상기 그람 양성균은 스태필로코커스(*Staphylococcus*) 속, 스트렙토코커스(*Streptococcus*) 속, 뉴모코커스(*Pneumococci*) 속, 바실루스(*Bacilli*) 속, 코리네박테리움(*Corynebacteria*) 속, 리스테리아(*Listeria*) 속, 클로스트리디아(*Clostridia*) 속 및 트레포네마(*Treponema*) 속으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것일 수 있고, 바람직하게는 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* 및 *Bacillus cereus*로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.
- [0048] 상기 진균은 칸디다(*Candida*) 속, 아스페르길루스(*Aspergillus*) 속 및 크립토코커스(*Cryptococcus*) 속으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있고, 바람직하게는 *Aspergillus parasiticus* 및 *Candida albicans*로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.
- [0049] 본 발명에 있어서, "예방"은 상기 조성물의 투여에 의해 감염성 질환을 억제하거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미하며, "치료"는 상기 조성물의 투여에 의해 감염성 질환에 의한 증세가 호전되거나 이렇게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0050] 본 발명의 식품 조성물은 기능성 식품(functional food), 영양 보조제(nutritional supplement), 건강식품(health food), 식품 첨가제(food additives) 및 사료 등의 모든 형태를 포함하며, 인간 또는 가축을 비롯한 동

물을 취식대상으로 한다. 상기 유형의 식품 조성물은 당 업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다.

[0051] 본 발명에 따른 식품 조성물은 당업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다. 일반 식품으로는 이에 한정되지 않지만 음료(알콜성 음료 포함), 과일 및 그의 가공식품(예: 과일통조림, 병조림, 잼, 마야말레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(예: 햄, 소시지 콘비이프 등), 빵류 및 면류(예: 우동, 메밀국수, 라면, 스파게이트, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 옛, 유제품(예: 버터, 치즈 등), 식용 식물 유지, 마아가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료(예: 된장, 간장, 소스 등) 등에 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 영양보조제로는 이에 한정되지 않지만 캡슐, 타블렛, 환 등에 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물 자체를 차, 주스 및 드링크의 형태로 제조하여 음용(건강음료)할 수 있도록 액상화, 과립화, 캡슐화 및 분말화하여 섭취할 수 있다. 또한, 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 식품 첨가제의 형태로 사용하기 위해서는 분말 또는 농축액 형태로 제조하여 사용할 수 있다. 또한, 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물과 항균 및 항산화 효과가 있다고 알려진 공지의 활성 성분과 함께 혼합하여 조성물의 형태로 제조할 수 있다.

[0052] 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 건강음료로 이용하는 경우, 상기 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스과 같은 디사카라이드; 텍스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드; 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g 이다.

[0053] 또한, 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 항균 및 항산화 조성물 또는 식품 조성물의 유효성분으로 함유될 수 있는데, 그 양은 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균의 생장을 억제하거나 사멸시키는 항균활성 및 항산화 작용을 달성하기에 유효한 양으로 특별히 한정되는 것은 아니나, 전체 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 100 중량%인 것이 바람직하다. 본 발명의 식품 조성물은 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물과 함께 항균 및 항산화 조성물에 효과가 있는 것으로 알려진 다른 활성 성분과 함께 혼합하여 제조될 수 있다.

[0054] 상기 외에 본 발명의 건강식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산, 펙트산의 염, 알긴산, 알긴산의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강식품은 천연 과일주스, 과일주스 음료, 또는 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0055] 본 발명의 항균 및 항산화 조성물, 식품 조성물, 감염성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 단독으로 함유하거나 또는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물과 그의 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다. 추가적인 성분을 포함하게 되면 본 발명의 조성물의 근 기능 개선 효과가 더욱 증진될 수 있을 것이다. 상기 성분 추가 시에는 복합 사용에 따른 피부 안전성, 제형화의 용이성, 유효성분들의 안정성을 고려할 수 있다.

[0056] 따라서, 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물이 그람 음성균, 그람양성균 및 진균으로 구성된 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상에 대하여 우수하고 광범위한 항균활성을 가지며, 이와 더불어 현저한 항산화 효과도 나타내므로, 그람 음성균, 그람양성균 및 진균으로 구성된 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상에 감염으로부터 유도된 감염성 질환에 있어서 예방 또는 치료 효과를 나타낼 수 있어, 이의 약학적 조성물의 유효성분으로 사용할 수 있다.

[0057] 본 발명의 약학 조성물은 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 용어"약제학적으로 허용 가능한"이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 것을 말하며, 상기 염으로는 약제학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의하여 형성된 산 부가염이 바람직하다.

- [0058] 또한, 본 발명의 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균에 의해 유발된 감염성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다.
- [0059] 약학적으로 허용되는 담체로는 예컨대, 경구 투여용 담체 또는 비경구 투여용 담체를 추가로 포함할 수 있다. 경구 투여용 담체는 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등을 포함할 수 있다. 또한 비경구 투여용 담체는 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코스 및 글리콜 등을 포함할 수 있다. 또한, 안정화제 및 보존제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 안정화제로는 아황산수소나트륨, 아황산나트륨 또는 아스코르브산과 같은 항산화제가 있다. 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 메틸- 또는 프로필-파라벤 및 클로로부탄올이 있다. 그 밖의 약학적으로 허용되는 담체로는 다음의 문헌에 기재되어 있는 것을 참고로 할 수 있다 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995).
- [0060] 본 발명의 약학 조성물은 인간을 비롯한 포유동물에 어떠한 방법으로도 투여할 수 있다. 예를 들어, 경구 또는 비경구로 투여할 수 있으며, 비경구적인 투여방법으로는 이에 제한되는 것은 아니나, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장내 투여될 수 있다.
- [0061] 본 발명의 약학 조성물은 상술한 바와 같은 투여 경로에 따라 경구 투여용 또는 비경구 투여용 제제로 제형화할 수 있다. 제형화할 경우에는 하나 이상의 완충제(예를 들어, 식염수 또는 PBS), 항산화제, 정균제, 킬레이트화제(예를 들어, EDTA 또는 글루타치온), 충전제, 증량제, 결합제, 아췌반트(예를 들어, 알루미늄 하이드록사이드), 현탁제, 농후제 습윤제, 봉해제 또는 계면활성제, 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [0062] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 액제, 겔제, 시럽제, 슬러리제, 현탁액 또는 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 약학 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분(옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분 등 포함), 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose), 텍스트로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨 말티톨, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필메틸-셀룰로오스 또는 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 예컨대, 활성성분을 고체 부형제와 배합한 다음 이를 분쇄하고 적합한 보조제를 첨가한 후 과립 혼합물로 가공함으로써 정제 또는 당의 정제를 수득할 수 있다.
- [0063] 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁액, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물 또는 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 또는 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0064] 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨 알기네이트 등을 봉해제로 첨가할 수 있으며, 향응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0065] 비경구적으로 투여하는 경우 본 발명의 약학 조성물은 적합한 비경구용 담체와 함께 주사제, 경피 투여제 및 비강 흡입제의 형태로 당 업계에 공지된 방법에 따라 제형화될 수 있다. 상기 주사제의 경우에는 반드시 멸균되어야 하며 박테리아 및 진균과 같은 미생물의 오염으로부터 보호되어야 한다. 주사제의 경우 적합한 담체의 예로는 이에 한정되지는 않으나, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 이들의 혼합물 및/또는 식물유를 포함하는 용매 또는 분산매질일 수 있다. 보다 바람직하게는, 적합한 담체로는 헵크스 용액, 링거 용액, 트리에탄올 아민이 함유된 PBS (phosphate buffered saline) 또는 주사용 멸균수, 10% 에탄올, 40% 프로필렌 글리콜 및 5% 텍스트로오스와 같은 등장 용액 등을 사용할 수 있다. 상기 주사제를 미생물 오염으로부터 보호하기 위해서는 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르빈산, 티메로살 등과 같은 다양한 항균제 및 항진균제를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 상기 주사제는 대부분의 경우 당 또는 나트륨 클로라이드와 같은 등장화제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0066] 경피 투여제의 경우 연고제, 크림제, 로션제, 겔제, 외용액제, 파스타제, 리니먼트제, 에어로졸제 등의 형태가 포함된다. 상기에서 '경피 투여'는 약학 조성물을 국소적으로 피부에 투여하여 약학 조성물에 함유된 유효한 양의 활성성분이 피부 내로 전달되는 것을 의미한다.
- [0067] 흡입 투여제의 경우, 본 발명에 따라 사용되는 화합물은 적합한 추진제, 예를 들면, 디클로로플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 기체를 사용하여, 가압 펌프 또는 연무기로부터 에어로졸 스프레이 형태로 편리하게 전달 할 수 있다. 가압 에어로졸의 경우, 투약 단위는 계량된 양을 전달하는 밸브를 제공하여 결정할 수 있다. 예를 들면, 흡입기 또는 취입기에 사용되는 젤라틴 캡슐 및 카트리지는 화합물, 및 락토즈 또는 전분과 같은 적합한 분말 기체의 분말 혼합물을 함유하도록 제형화할

수 있다. 비경구 투여용 제형은 모든 제약 화학에 일반적으로 공지된 처방서인 문헌(Remington's Pharmaceutical Science, 15th Edition, 1975. Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania 18042, Chapter 87: Blaug, Seymour)에 기재되어 있다.

- [0068] 본 발명의 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균에 의해 유발된 감염성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효량으로 포함 할 때 바람직한 감염성 질환 예방 및 치료 효과를 제공할 수 있다. 본 명세서에서, '유효량'이라 함은 음성 대조군에 비해 그 이상의 반응을 나타내는 양을 말하며 바람직하게는 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균의 생장 또는 기능을 억제시키기에 충분한 양을 말한다. 본 발명의 약학 조성물에 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물이 0.01 내지 99.99% 포함될 수 있으며, 잔량은 약학적으로 허용 가능한 담체가 차지할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물에 포함되는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 유효량은 조성물이 제품화되는 형태 등에 따라 달라질 것이다.
- [0069] 본 발명의 약학 조성물의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법(fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 상술한 요소들은 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0070] 본 발명의 약학 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있다. 비경구 투여시는 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 기준으로 하루에 체중 1 kg당 바람직하게 0.01 내지 50 mg, 더 바람직하게는 0.1 내지 30 mg의 양으로 투여되도록, 그리고 경구 투여시는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 기준으로 하루에 체중 1 kg당 바람직하게 0.01 내지 100 mg, 더 바람직하게는 0.01 내지 10 mg의 양으로 투여되도록 1 내지 수회에 나누어 투여할 수 있다. 그러나 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 용량은 약학 조성물의 투여 경로 및 치료 횟수뿐만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환의 중증도, 식이 및 배설을 등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정되는 것이므로, 이러한 점을 고려할 때 당 분야의 통상적인 지식을 가진 자라면 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 근육 질환 예방 및 치료를 위한 특정한 용도에 따른 적절한 유효 투여량을 결정할 수 있을 것이다. 본 발명에 따른 약학 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지 아니한다.
- [0071] 본 발명의 감염성 질환 예방 및 치료용 약학 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 또는 생물학적 반응조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0072] 본 발명의 감염성 질환 예방 및 치료용 약학 조성물은 또한 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 포함하는 외용제의 제형으로 제공할 수 있다.
- [0073] 본 발명의 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균에 의해 유발된 감염성 질환 예방 및 치료용 약학 조성물을 피부외용제로 사용하는 경우, 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 향산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 유화제, 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 활성제, 친유성 활성제 또는 지질 소낭 등 피부 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.
- [0074] 본 발명의 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균에 의해 유발된 감염성 질환 예방 및 치료용 약학 조성물이 피부 외용제로 제공될 경우, 이에 제한되는 것은 아니나, 연고, 패취, 겔, 크림 또는 분무제 등의 제형일 수 있다.
- [0075] 또한, 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 그람 양성균, 그람 음성균 및 진균의 생장을 억제하거나 사멸시키는 높은 수준의 항균 활성뿐만 아니라 항산화 효과도 나타낼 수 있으므로, 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균에 의해 유발된 감염성 질환에 있어서 효과를 나타낼 수 있어, 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균으로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 균에 의해 유발된 감염성 질환 개선용 식품 조성물의 유효성분으로 사용할 수 있다.
- [0076] 상기 본 발명의 또 다른 측면은 하기 단계를 포함하는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가

공 추출물의 제조방법에 관한 것이다.

- [0077] 1) 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)를 배양하여 이의 배양액 또는 균체를 얻는 단계;
- [0078] 2) 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 배양액 또는 균체에 용매를 첨가하여 추출물을 제조하는 단계; 및
- [0079] 3) 상기 추출물을 트랜스에스테르반응을 시켜 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 제조하는 단계.
- [0080] 상기 1) 단계 이후, 1a) 건조 또는 동결건조를 통해 분말화하는 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 동결건조는 영하 100 내지 영하 60 °C에서 이루어지는 것이 바람직하다.
- [0081] 상기 용매는 물, C1 내지 C4의 저급 알코올, 헥산 및 클로로포름으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 용매일 수 있는데, 바람직하게는 메탄올과 클로로포름의 혼합 용매일 수 있다. 상기 혼합 용매는 메탄올 1 중량부를 기준으로 클로로포름이 1-3 중량부 혼합된 것이 가장 바람직하며, 상기 범위를 벗어나는 경우에는 추출물에 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 유효성분(지방산)이 적은 양으로 추출될 수 있다.
- [0082] 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 균체 또는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 배양액 1 중량부를 기준으로 용매 0.5 내지 5 중량부 혼합되는 것이 바람직한데, 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 균체 또는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 배양액과 용매의 중량비가 상기 범위를 벗어나는 경우에는 추출물에 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)의 유효성분이 적은 양으로 추출될 수 있다.
- [0083] 상기 1) 및 2) 단계를 통해 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*)로부터 지방성분을 포함하는 추출물을 제조한 후, 상기 추출물의 지방 성분을 트랜스에스테르반응을 시켜 가공 추출물을 제조한다.
- [0084] 상기 추출물로부터 수용성 성분을 제거하기 위하여 증류수로 1~5회 세척하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0085] 상기 3) 단계에서 트랜스에스테르반응은 추출물에 알코올 및 염기촉매를 첨가하여 트랜스에스테르반응을 시키는 것이 바람직하다.
- [0086] 상기 염기촉매로는 무수 황산나트륨, 황산하이드록사이드 또는 포타슘하이드록사이드 중에서 선택되는 어느 1종 이상일 수 있고, 상기 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.
- [0087] 상기의 트랜스에스테르반응은 50 내지 70°C에서 1 내지 5시간 동안 반응시키는 것이 바람직하다.
- [0088] 이하, 실시예 및 제조예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예 및 제조예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예 및 제조예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.
- [0089] **실시예 1. 다양한 미세조류 추출물에 대한 지질함량 분석**
- [0090] 본 발명에서 사용할 20 개의 미확인 미세조류(NTEB01~NTEB20)는 미세조류(microalgae)와 남세균(Cyanobacteria)관련 국가기관(National Repositor)인 인도의 Bharathidasan University(Fresh water(NRMC-F))로부터 제공받아 사용하였다. 상기 미세조류를 각각 배양하고, 회수한 배양액을 10,000 rpm에서 10 분간 원심분리(TGL-20MC, PINGFAN, China)하여 균체(biomass, 바이오매스)를 수확하였다. 상기 균체를 동결건조하고, 여기에 1:2의 중량비로 혼합된 메탄올:클로로포름 용매를 첨가하여 혼합물을 제조하였다. 이때 동결건조된 균체 100 mg 당 100 mg의 용매(1:1의 중량비)를 처리하였다, 상기 혼합물은 막자 사발과 유봉을 사용해 추출하였고, 이후 상기 추출물로부터 수용성 불순물을 제거하기 위하여 증류수를 처리한 다음, 분액 깔대기를 사용하여 두층을 분리하고, 하부 지질층을 수집하였다, 상기 수집된 지질층은 회전식 진공 증발기를 통해 용매를 증발시킴으로써, 상기 20개의 미세조류 균체로부터 각각 추출물을 제조하였다. 상기 각 추출물에서의 총 지질 함량은 중량 측정법(AUY 220, Shimadzu, Japan)으로 측정하였다.
- [0091] 도 1은 총 20개의 미확인 미세조류들의 추출물에서 총 지질함량을 각각 측정하여 비교하여 나타낸 것이다. 도 1a는 NTEB01부터 NTEB20의 추출물 각각에 대한 총 균체 중량 대비 지질함량을 분석하여 나타낸 그래프이다. 이는 총 3회 실험의 평균값이고, 평균 ± SE로 표시하였다.

- [0092] 도 1b는 NTEB15의 추출물의 현미경 사진이고, 우측의 표는 Scenedesmus sp.의 총 바이오매스 중량, 건조 바이오매스 중량 및 지질 생산성을 나타낸 것이다. 이때 수치는 총 3회의 실험 평균값을 나타낸 것이다.
- [0093] 도 1에 나타난 바와 같이, 임의로 20 종의 미세조류들을 선택하고, 이로부터 추출물을 얻어 분석한 결과 균체 총중량 대비 20% 이상의 지질함량을 나타내는 미세조류의 추출물은 약 10 종인 것으로 확인되었다.
- [0094] 특히, NTEB15 추출물은 건조된 균체의 총 중량 대비 평균 지질 함량이 27.9 ± 0.69%로, 가장 우수한 지질 생산자인 것으로 확인되었다. 게다가 NTEB15 미세조류의 형태학적 특징은 단일 세포 엽상체(thalli), 구형(spherical)에서 타원형(ellipsoidal), 가늘고 긴(elongate) 또는 가늘고 긴 방추형에서 방추형(fusiform), 세포 극 두형(cell poles capitates), 둔각(obtuse) 또는 길이가 길고 끝이 뾰족하며(long tapering), 단일 pyrenoid를 갖는 단일핵 세포(uninucleate cell)를 갖고 있는 것으로 확인되었고, 이는 담수 서식지로부터 분리한 고지질 축적균인 Scenedesmus intermedius와 형태학적으로 매우 유사함을 확인하였다. 따라서 총 20종의 미확인 미세조류들 중에서 가장 많은 지질을 생산하면서, 형태학적으로 Scenedesmus intermedius인 것으로 확인된 NTEB15를 선정하였다.
- [0095] **실시예 2. 세네테스무스 인터메디우스(Scenedesmus intermedius) 가공 추출물의 조성 분석**
- [0096] 실시예 1을 통해 선정된 NTEB15 균주인 세네테스무스 인터메디우스(Scenedesmus intermedius) 유래 추출물을 GC 분석을 통해 조성물을 분석하고자 하였다.
- [0097] 구체적으로, 세네테스무스 인터메디우스(Scenedesmus intermedius) 미세조류를 배양하고, 회수한 배양액을 10,000 rpm에서 10 분간 원심분리(TGL-20MC, PINGFAN, China)하여 균체(biomass, 바이오매스)를 수확하였다. 상기 균체를 동결건조하고, 여기에 1:2의 중량비로 혼합된 메탄올:클로로포름 용매를 첨가하여 혼합물을 제조하였다. 이때 동결건조된 균체 100 mg 당 100 mg의 용매(1:1의 중량비)를 처리하였다, 상기 혼합물은 막자 사발과 유봉을 사용해 추출하였고, 이후 상기 추출물로부터 수용성 불순물을 제거하기 위하여 증류수를 처리한 다음, 분액 깔대기를 사용하여 두층을 분리하고, 하부 지질층을 수집하였다, 상기 수집된 지질층은 회전식 진공 증발기를 통해 용매를 증발시킴으로써, 세네테스무스 인터메디우스(Scenedesmus intermedius) 가공 추출물을 제조하였다.
- [0098] 상기 추출물을 트랜스에스테르반응을 통해 메틸 에스테르화시키기 위해, 상기 추출물에 촉매역할을 하기 위한 무수 황산나트륨(anhydrous sodium sulphate)dl 함유된 메탄올을 10~20배 첨가하였다, 반응물을 10 분 동안 볼텍싱(KMC-1300 V)하고, 100 °C에서 3 시간동안 항온기에 넣어 트랜스에스테르화 반응을 실시한 후, 실온에서 식힌 후 증류수 1 mL와 혼합하고, 원심분리(4000 g)하여 상층과 하층으로 분리된 층 중에서 하층의 바닥을 실린저를 사용하여 제거하고, 상층을 회수하였다. 상층의 세네테스무스 인터메디우스(Scenedesmus intermedius) 가공 추출물에서의 FAME 조성을 분석하기 위해 FID(Flame Ionization Detector)가 장착된 가스 크로마토그래피(GC 2014, Shimadzu, Japan)를 사용하였다. 준비된 세네테스무스 인터메디우스(Scenedesmus intermedius) 가공 추출물 샘플 1 µL를 FAME WAX 칼럼(Restek, USA)에 넣었다(30 m × 32 mm ID x 25 µm 필름 두께). 프로그램의 온도 조건은 다음과 같다 : 초기 140 °C에서 5 분간 유지하고, 이후 램프 2 °C/min로, ~ 230 °C에서 5 분간 유지하였다. 칼럼 흐름은 22.2 mL/min으로 설정하였다. 기기 조건은 다음과 같다 : 운반 기체 질소 : FID는 260 °C로 설정하고, 분할 비율은 10 : 1. 단일 시료의 런 타임(실행시간)은 55분으로 수행하였다.
- [0099] 세네테스무스 인터메디우스(Scenedesmus intermedius) 가공 추출물의 조성분석에는 FAME-MIX(C4-C24, Supelco Analytical, USA)를 표준물질로 사용하여 GC-FID를 통해 측정하였다.
- [0100] 도 2는 가스 크로마토그래피를 통해 확인한 세네테스무스 인터메디우스(Scenedesmus intermedius) 가공 추출물의 조성을 분석하여 나타낸 것이다.
- [0101] 도 2에 나타난 바와 같이 세네테스무스 인터메디우스(Scenedesmus intermedius) 가공 추출물로부터 확인된 주요 화합물은 팔미틴산 메틸 에스테르 (C16 : 0)(23.08 % w / w), 시스-10-헵타 데칸산 메틸 에스테르(C17 : 1)(0.44 % w / w), 스테아리돈산 메틸 에스테르(C19 : 2)(5.04 % w / w) 및 리놀렌산 메틸 에스테르(C18 : 3)(3.76 % w / w)를 함유하는 것을 확인되었다. 상기 추출물에는 주요 FAME 외에도 다양한 약리학적 활성을 갖는 FAME이 상대적으로 낮은 농도로 존재하고 있음을 확인하였다.
- [0102] 본 발명에서의 세네테스무스 인터메디우스(Scenedesmus intermedius) 가공 추출물은 GC 분석에서, 팔미틴산은 FAME의 총 중량퍼센트의 23.08%를 차지하는 것으로, 다량의 팔미틴산(C16 : 0)이 존재함을 확인하였다.
- [0103] 상술한 사항들을 근거로, 본 발명의 세네테스무스 인터메디우스(Scenedesmus intermedius) 가공 추출물과 다른

공지의 종래 미세조류 추출물의 항균활성 및 팔미트산 중량을 비교하였고, 그 결과는 도 3에 나타내었다. 상기 공지의 종래 미세조류 추출물 역시, 본원발명과 동일한 가공 추출물(FAME)을 기준으로 비교하였다.

- [0104] [S.No 1] L.A. Meireles, A.C. Guedes, F.X. Malcata, Lipid class composition of the microalga *Pavlova lutheri*: Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids, *Agri. Food Chem.* 51(2003) 2237-2241.
- [0105] [S.No 2] Y. Ghasemi, A. Moradian, A. Mohagheghzadeh, S. Shokravi, M.H. Morowvat, Antifungal and antibacterial activity of the microalgae collected from paddy fields of Iran: characterization of antimicrobial activity of *Chroococcus disperses*, *J. Biol. Sci.* 7 (2007) 904-910.
- [0106] [S.No 3] D. MubarakAli, R. PraveenKumar, T. Shenbagavalli, T. MariNivetha, A. ParveezAhamed, A. NaifAbdullah, N. Thajuddin, New reports on anti-bacterial and anti-candidal activities of fatty acid methyl esters (FAME) obtained from *Scenedesmus bijugatus* var. *bicellularis* biomass, *RSC Adv.* 2 (2012) 11552-11556.
- [0107] [S.No 4] H.M. Najdenski, G. GigovaLiliana, I. Iliev Ivan, S. Pilarski Plamen, T. Lukavsky Jaromir, V. Iva, S. Ninova Mariana, K. Kussovski Vesselin, Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and Cyanobacteria, *Int. J. Food Sci. Technol.* 48 (2013) 1533-1540.
- [0108] [S.No 5] R. Thangam, V. Suresh, W. Asenath Princy, M. Rajkumar, N. Senthilkumar, P. Gunasekaran, R. Rengasamy, C. Anbazhagan, K. Kaveri, S. Kannan, CPhycocyanin from *Oscillatoria tenuis* exhibited an antioxidant and in vitro antiproliferative activity through induction of apoptosis and G0/G1 cell cycle arrest, *Food Chem.* 140 (2013) 262-272.
- [0109] [S.No 6] D. Surendhiran, M. Vijay, Exploration on bioflocculation of *Nannochloropsis oculata* using response surface methodology for biodiesel production, *Sci. World J.* 2014 (2014) Article ID 202659, 9 pages <https://doi.org/10.1155/2014/202659>.
- [0110] [S.No 7] Y.S. Cakmak, M. Kaya, M. Asan-Ozusaglam, Biochemical composition and bioactivity screening of various extracts from *Dunaliella salina*, a green microalga, *EXCLI J.* 13 (2014) 679-690.
- [0111] [S.No 8] O.M.A. Salem, E.M. Hoballah, M. SafiaGhazi, N. Suzy, N. Hanna, Antimicrobial activity of microalgal extracts with special emphasize on *Nostoc* sp, *Life Sci. J.* 11 (2014) 752-758.
- [0112] [S.No 9] E. Baldev, D. MubarakAli, M. Dhivya, M. Kanimozhi, T. ShakenaFathima, N.S. Alharbi, C. Arunachalam, S.A. Alharbi, N. Thajuddin, Facile and novel strategy for methods of extraction of biofuel grade lipids from microalgae- an experimental report, *Int. J. Biotechnol. Wellness Ind.* 3 (2014) 121-127.
- [0113] [S.No 10] G. Sibi, Inhibition of lipase and inflammatory mediators by *Chlorella* lipid extracts for antiacne treatment, *J. Adv. Pharm. Technol. Res* 6 (2015) 7-12.
- [0114] [S.No 11] V.R. Sushanth, M. Rajasekar, Antioxidant and Antimicrobial activities in the four species of marine microalgae isolated from Arabian Sea of Karnataka coast, *Indian J. Geo Mar. Sci.* 44 (2015) 69-75.
- [0115] [S.No 12] 본 발명의 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물
- [0116] 미세조류(Microalgae)는 천연 FAME(Fatty acid methyl esters)의 주요 재생가능자원으로 여겨져 왔으나, 각 유기체(organism)로부터 얻을 수 있는 FAME 프로파일은 서로 상이하며, 상기 사용 가능한 지방산의 특성에 따라 유기체로부터 수득한 FAME 화합물의 기능적 특성이 결정되는 것을 확인할 수 있다. 도 3 외에도 녹조류 *H. pluvialis*와 *S. obliquus*에는 짧은 사슬과 긴 사슬의 지방산 메틸 에스테르가 존재하는 것으로 알려져 있으나, 이는 대장균과 *S. aureus*에 대해서만 항균 활성을 갖고 있다. 앞서 살펴본 바와 같이, 동일한 세넨테스무스 속의 추출물이라고 하더라도 팔미트산의 함량이 전혀 상이하며, 특히 균에 대한 MIC의 효과 역시 매우 제각각임을 알 수 있다.
- [0117] 따라서, 팔미트산의 함량뿐만 아니라, 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 전체 구성에 따라 그 영향과 효과 달라지며, 본 발명에서 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 종래 다른 미세조류들에 비해 그람 음성균, 그람 양성균 뿐만 아니라 진균에 대해서도 현저히 우

수한 MIC를 나타내는, 통계적으로 현저히 우수한 항균활성을 가짐을 알 수 있다.

[0118] **실시예 3. 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 항균 효능 분석**

[0119] **1) 항균활성 평가를 위한 인간 병원균 배양**

[0120] 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 항균활성은 *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus mutans*(박테리아), *Candida albicans*(단세포성 효모) 및 *Aspergillus parasiticus*(mycelial fungus)를 포함하는 다양한 인간 병원균에 대하여 분석하였다. 이를 위해 상기 인간 병원균을 각각 다음과 같이 배양하여 준비하였다. 우선 박테리아는 37 °C에서 Luria-Bertani 배지(LB; 효모 추출물 0.5 %, NaCl 0.5 %, 트립톤 1 %)에서 배양하고, *C. albicans*는 yeast peptone 배지(YPD; 효모 추출물 1 %, 펩톤 2 %, 텍스트로오즈 2 %)에서 30 °C로 배양하였다. *A. parasiticus*는 potato dextrose 배지(PD; potato dextrose 2.4 %), 24 °C에서 배양하였다. 상기 고체 배양을 실시할 경우, 각각의 배지에 한천(1.5 %)을 첨가하여 고체배지를 제조한 후 이를 사용하여 배양하였다.

[0121] **2) 한천 확산 분석**

[0122] 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 항균활성은 Kirby-Bauer agar diffusion method를 사용하여 평가하였다. 간략하게 muller-hinton 아가 플레이트(beef xtract 0.2%, casein 1.75%, starch 0.15%, agar 1.7%) 상에 새롭게 배양한 상기 인간 병원균 약 10⁴ 콜로니 form unit(CFUs)을 균일하게 spread 하였다. 두 웰을 멸균 코르크 보어를 사용하여 만들고, 약 35 µl의 FAME을 하나의 우물에 넣고, 메탄올은 다른 우물에 넣어 대조군으로 사용하였다. 박테리아가 넓게 배양되어 있는 아가 플레이트는 37 °C, 24 시간 동안 배양하고, *C. albicans*의 경우에는 30 °C에서 48 시간 동안 배양하며, *A. parasiticus*의 경우에는 25 °C에서 3-5일동안 배양하였다. 배양하기 전과 후에 성장 억제 구역을 측정하여 비교한다.

[0123] **3) 최소 억제 농도 (MIC) 분석**

[0124] 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 항균활성은 병원균에 대한 MIC를 측정하여 정량적으로 분석하였다. 모든 상기 병원균(*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S.aureus*, *S. mutans*, *B. cereus*, *C. albicans* 및 *A. parasiticus*)으로부터의 배양액(50 mL)에 LB, YPD 또는 PD 액체배지 5 mL에 혼합한 다양한 농도의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물(13.5 mg mL⁻¹) 용액을 첨가하여 시료 분석 용기에 넣었다. 밤새 배양한 후, 성장이 없는 가장 낮은 FAME 농도(탁도 없음)는 적절한 조건하에서 배양된 각 병원체에 대한 MIC로 결정하였다.

[0125] **4) 분석 결과**

[0126] 도 4는 다양한 병원체에 대한 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 한천 확산 분석 결과이다. 도 4(a)는 대장균에 대한 것이고, 도 4(b)는 *P. aeruginosa*에 대한 것이며, 도 4(c)는 *S. aureus*에 대한 것이다. 도 4(d)는 *B. cereus*, 도 4(e)는 *C. albicans*, 도 4(f)는 *A. parasiticus*에 대한 것이다.

[0127] 도 4에 나타난 바와 같이 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 상기 다양한 인간 병원균에 대하여 테스트하였고, 그 결과 앞선 억제 구역의 형성을 통해 항박테리아 및 항균 활성을 모두 가지고 있음을 확인하였다. 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 그람 양성균(*S. aureus* 및 *B. cereus*), 그람 음성균(*E. coli* 및 *P. aeruginosa*) 박테리아 및 곰팡이(*A. parasiticus* 및 *C. albicans*)에 대한 항균제로서의 매우 우수한 활성을 가지고 있다고 분석되었다. 특히 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 그람 양성균보다 그람 음성균에 대한 저해 활성이 현저히 높았다. 한천배지 확산분석(agar diffusion assay)에서, *E. coli* 및 *P. aeruginosa*(그람 음성 박테리아)는 각각 약 21 및 17 mm의 억제 영역을 나타냈고, 그람 양성균인 *S. aureus*, *B. cereus* 및 *S. mutans*는 각각 16.5, 15 및 22 mm의 억제 구역을 갖는 것으로 확인되었다. 특히 *S. mutans*는 *E. coli*만큼의 큰 억제 구역을 갖고 있음을 확인하였다. 종래 *Scenedesmus* sp.로부터의 추출물에서는 매우 약하거나 항균 활성이 없다고 보고되었으나 본 연구에서 얻은 결과를 바탕으로 살펴보면 *S. intermedius*는 약리학적 활성 분자를 생산하는 종 중에서 가장 우수한 후보임과 동시에 그람 음성균, 그람 양성균 및 진균과 같은 인간 병원균들에 대해 매우 우수한 항균활성을 가지고 있음을 알 수 있다.

[0128] 도 5는 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 다양한 인간 병원균에 대한 억제활성을 나타낸 결과 그래프이다. 도 5a는 각 병원균에 대한 억제 구역을 측정하여 퍼센트로 표기한 것이고, 도 5b

는 각 병원균에 대한 MIC를 측정하여 나타낸 것이다.

[0129] 도 5에 나타난 바와 같이 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 그람 음성균에 대한 MIC는 12-24 $\mu\text{g/mL}$ 이었고, 그람 양성균에 대한 MIC는 24-48 $\mu\text{g/mL}$ 이었다. 진균에 대한 MIC는 60-192 $\mu\text{g/mL}$ 로 높게 측정되었다.

[0130] 지방산 메틸 에스테르(FAME)는 지질 또는 유리 지방산과 비교할 때 강력한 항균 활성을 나타내는 것으로 확인되었다. 이는 지방산에서 카르보닐 종의 변형을 통해 영향을 받은 특유의 기능에서 비롯된 것이다. 이와 더불어 상기 변형에서는 transesterification을 통해 생물학적 활성이 증가되는 다가 알콜도 형성되는 것으로 알려져있다. 그럼에도 불구하고 대부분의 미세조류(microalga)로부터 추출한 가공 추출물(FAME)에서는 세균에 대한 MIC가 50,000 $\mu\text{g/mL}$ 인 것을 확인하였다(S. NO 8 참조). 또한 *D. salina*는 박테리아에 대해 1250-2500 $\mu\text{g/mL}$ 의 MIC를 가지고, 균류에 대해 2500 $\mu\text{g/mL}$ 이상의 MIC를 가지고 있었다(S. NO 7 참조).

[0131] 항생제 개발이후, 인류는 세균성 감염 질환을 쉽게 정복할 수 있을 것으로 예상하였으나, '항생제 내성'이라는 새로운 문제에 직면하게 되었고, 특히 3 가지 계열 이상의 항생제에 내성을 보이는 다제내성균의 출현은 효과적인 항생제 치료를 어렵게 만들었다. 특히 대장균, 폐렴 감균 등의 장내세균에서 3세대 cephalosporin 계열 항생제에 내성을 나타내는 주된 내성기전은 ESBL(extended-spectrum beta-lactamase)을 생성하는 것이다. ESBL은 세균이 만들어내는 효소로, ESBL의 종류와 생성 정도에 따라 MIC가 달라질 수 있음을 주의해야 한다.

[0132] 대장균, 녹농균 등의 그람음성균은 요로 감염, 복강 감염, 폐렴 등을 일으킬 수 있는 중요한 병원균이며 최근 다제내성균이 증가추세이다. 특히 녹농균, *Acinetobacter* 균은 carbapenem에도 내성을 보이는 경우가 흔해서 임상적으로 큰 문제가 되고 있다. 이에 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 상기 병원균들에 대하여 매우 우수한 항균 활성을 가지고 있는 것이 확인된 바, 그람양성균, 그람음성균, 진균 등 복합감염의 치료에 사용할 수 있는 광범위 항생제로 활용할 수 있음을 알 수 있다. 또한 우수한 항균활성을 갖고 있는 것으로 알려진 지방산 메틸 에스테르(FAME)와 이를 포함하는 종래 다양한 미세조류 추출물에 대해 거의 효과가 나타나지 않는 ESBL 또는 다제내성 균에 대해서도 현저히 우수한 항균활성을 나타내고 있음을 알 수 있다.

[0133] **실시예 4. 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 항산화 활성 분석**

[0134] **1) DPPH 소거능 분석**

[0135] DPPH 라디칼에 대한 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 효과는 DPPH 라디칼 소거능 분석을 통해 평가하였다. 메탄올 용액에 0.135mM DPPH를 첨가한 DPPH 용액을 제조하고, 메탄올 용액에 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 다양한 농도로 분산시킨 시료 1.0 mL(1.2, 2.5, 5, 10, 20, 40 μg / mL)을 제조한 후, 상기 DPPH 용액 1 mL와 시료 1 mL를 1:1 혼합하여 반응액을 제조하였다. 상기 반응액을 충분히 볼텍싱하고, 실온의 어두운 장소에서 30분 동안 방치하였다. 상기 반응액의 흡광도를 517 nm에서 분광 광도계로 측정하였다. DPPH 라디칼을 제거하는 능력은 하기 식 1을 통해 계산하였다.

[0136] [식 1]

[0137]
$$\text{DPPH 소거 활성(\%)} = (\text{대조군의 흡광도(Abs Control)} - \text{실험군의 흡광도(Abs Test)}) / (\text{대조군의 흡광도(Abs Control)}) \times 100$$

[0138] **2) 히드록실 라디칼 소거능 시험**

[0139] 히드록실 라디칼 소거능은 deoxyribose 방법으로 측정하였다. 구체적으로 2.8 mM 2-데옥시-2-리보스(2-deoxy-2-ribose), 0.1 mM 인산 완충액(pH 7.4), 20 μM 염화제2철(ferric chloride), EDTA 100 μM , 과산화수소 500 μM , 아스코르빈산(ascorbic acid) 100 μM 및 세넨테스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 다양한 농도(1.25 내지 40 $\mu\text{g/mL}$)로 혼합하되, 이의 최종 용적은 1 mL가 되도록 제조하였다. 이후, 상기 혼합물을 실온에서 45 분 동안 반응시켰다. 상기 반응물 중에서 800 μL 를 회수하고, 1.5 mL의 TCA 용액(2.8%), 1 mL의 TBA 용액(50 mM NaOH에서 1%) 및 200 μL 의 sodium dodecyl sulphate를 첨가하였다. 최종적으로 상기 반응액을 90 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30 분 동안 가열하여 발색시킨 후, 냉각시키고 532 nm에서 블랭크 용액에 대한 흡광도를 측정하였다. 히드록실 자유 라디칼 소거 활성(%)은 하기 식 2에 따라 계산하였다.

[0140]
$$\text{히드록실 라디칼 소거 활성(\%)} = (\text{대조군의 흡광도(Abs Control)} - \text{실험군의 흡광도(Abs Test)}) / (\text{대조군의 흡광도(Abs Control)}) \times 100$$

[0141] **3). 분석 결과**

- [0142] 도 6은 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 항산화 활성을 측정한 결과로, DPPH 라디칼 소거활성(붉은 글씨) 히드록실 라디칼 소거활성(점선)을 나타낸 그래프이다. 총 3회의 실험의 평균 값이다.
- [0143] 도 6에 나타난 바와 같이, 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 DPPH 라디칼에 대한 우수한 소거 활성을 가지는 것으로 확인되었다. 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 농도가 증가함에 따라 DPPH 소거 활성이 지속적으로 증가하였으며, 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물이 최대 농도 40 µg/mL로 처리되었을 때에는 DPPH 소거활성이 80 %인 것을 확인하였다. 이는 종래 가장 우수한 천연 항산화 물질인 아스코르브 산의 최대 활성 수준(80~82%)과 매우 유사한 수치라 할 수 있다.
- [0144] 도 7에 나타난 바와 같이, 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 농도가 1.25 에서 40 µg/mL로 증가함에 따라 히드록실 라디칼 소거능도 지속적으로 증가하였다. 즉, 히드록실 라디칼 소거 활성을 2-deoxyribose의 감소를 통해 평가한 결과, 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 농도가 20 µg/mL일 때 히드록실 라디칼 소거활성이 60%이었고, 40 µg/mL 일 때는 가장 높은 히드록실 라디칼 소거활성(70 %)을 나타내는 것으로 확인되었다. 히드록실 라디칼은 DNA, 지질 및 단백질에 산화적 손상을 유발하는 것으로, 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 데옥시 리보스의 감소를 통해 히드록실 라디칼 소거능을 평가한 결과 낮은 농도에서 매우 현저히 우수한 항산화 효과를 가지고 있음을 알 수 있었다.
- [0145] 상술한 실험결과를 종합하면 본 발명에서의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물은 미세조류 중에서 가장 우수한 항균 및 항진균 활성을 나타냄을 확인하였다. 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 가스 크로마토그래피로 조성을 분석한 결과, 높은 비율로 팔미트산(C16 : 0)이 존재함을 확인하였고, 이외 다른 지방산 메틸 에스테르(FAME)들이 적절한 비율로 존재하고 있음을 확인하였다. 미세조류에 따라 서로 다른 함량으로 지방산이 존재하고 이에 따라 지방산 메틸 에스테르(FAME)의 조성이 형성되는데, 이러한 조성성분들의 조합을 통해 다양한 효과들을 발휘하게 된다. 팔미트산은 강한 항균활성을 가지는 것으로 알려져 있으나, 다량의 팔미트산만 존재하는 다른 미세조류 추출물과 비교하였을 때, 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물이 더 높고, 더 광범위한 균(그람 음성, 그람 양성 및 진균)에 대해 현저한 항균활성과 더불어 항산화 효과를 달성함을 살펴보면 추출물의 지질 성분들의 함량과 그 조합이 매우 중요하게 작용함을 알 수 있다.
- [0146] 본 발명을 통해 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물이 항균제의 새로운 공급원으로 인간 병원균과 나아가 다제내성 병원체를 치료하는데 우수한 효과를 나타냄을 알 수 있다.
- [0147] 이하, 본 발명에 따른 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 함유하는 의약품 또는 식품의 제조예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다. 상기 항균활성 및 항산화 효과가 우수한 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 가지고 하기와 같은 조성성분 및 조성비에 따라 제조예 1 내지 2의 의약품 또는 식품 조성물을 통상적인 방법에 따라서 제조하였다.
- [0148] <제조예 1> 약학적 제제의 제조
- [0149] <1-1> 산제의 제조
- [0150] 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물
0.1 g
- [0151] 유당 1.5 g
- [0152] 탈크 0.5 g
- [0153] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.
- [0154] <1-2> 정제의 제조
- [0155] 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물
0.1 g

- [0156] 락토오스 7.9 g
- [0157] 결정성 셀룰로오스 1.5 g
- [0158] 마그네슘 스테아레이트 0.5 g
- [0159] 상기의 성분들을 혼합한 후 직타법(direct tableting method)으로 정제를 제조하였다.
- [0160] <1-3> 캡슐제의 제조
- [0161] 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물 0.1 g
- [0162] 옥수수전분 5 g
- [0163] 카르복시 셀룰로오스 4.9 g
- [0164] 상기의 성분들을 혼합하여 분말을 제조한 후, 상기 분말을 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라 경질 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.
- [0165] <1-4> 주사제의 제조
- [0166] 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물 0.1 g
- [0167] 주사용 멸균 증류수 적량
- [0168] pH 조절제 적량
- [0169] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플 당(2 mL) 상기의 성분 함량으로 제조하였다.
- [0170] <1-5> 액제의 제조
- [0171] 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물 0.1 g
- [0172] 이성화당 10 g
- [0173] 만니톨 5 g
- [0174] 정제수 적량
- [0175] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고, 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합하였다. 그 다음 정제수를 가하여 전체 100 로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조하였다.
- [0176] <제조예 2> 식품의 제조
- [0177] <2-1> 밀가루 식품의 제조
- [0178] 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물 0.5 ~ 5.0 중량부를 밀가루에 첨가하고, 이를 혼합한 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하였다.
- [0179] <2-2> 스프 및 육즙(gravies)의 제조
- [0180] 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물 0.1 ~ 5.0 중량부를 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.
- [0181] <2-3> 그라운드 비프(ground beef)의 제조
- [0182] 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물 10 중량부를 그라운드 비프에 첨가하여 건강 증진용 그라운드 비프를 제조하였다.
- [0183] <2-4> 유제품(dairy products)의 제조
- [0184] 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물 5 ~ 10 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0185] <2-5> 건강보조식품의 제조

[0186] 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물
100 mg

[0187]	비타민 혼합물	적량
[0188]	비타민 A 아세테이트	70 μ g
[0189]	비타민 E	1.0 mg
[0190]	비타민 B1	0.13 mg
[0191]	비타민 B2	0.15 mg
[0192]	비타민 B6	0.5 mg
[0193]	비타민 B12	0.2 μ g
[0194]	비타민 C	10 mg
[0195]	비오틴	10 μ g
[0196]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0197]	엽산	50 μ g
[0198]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0199]	무기질 혼합물	적량
[0200]	황산제1철	1.75 mg
[0201]	산화아연	0.82 mg
[0202]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0203]	제1인산칼륨	15 mg
[0204]	제2인산칼슘	55 mg
[0205]	구연산칼륨	90 mg
[0206]	탄산칼슘	100 mg
[0207]	염화마그네슘	24.8 mg

[0208] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였으나, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0209] <2-6> 건강 음료의 제조

[0210] 본 발명의 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물
100 mg

[0211]	구연산	100 mg
[0212]	올리고당	100 mg
[0213]	매실농축액	2 mg
[0214]	타우린	100 mg
[0215]	징제수를 가하여 전체	500 mL

[0216] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1 시간 동안 85°C에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 1 L용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관하여 본 발명의 건강음료 조성물 제

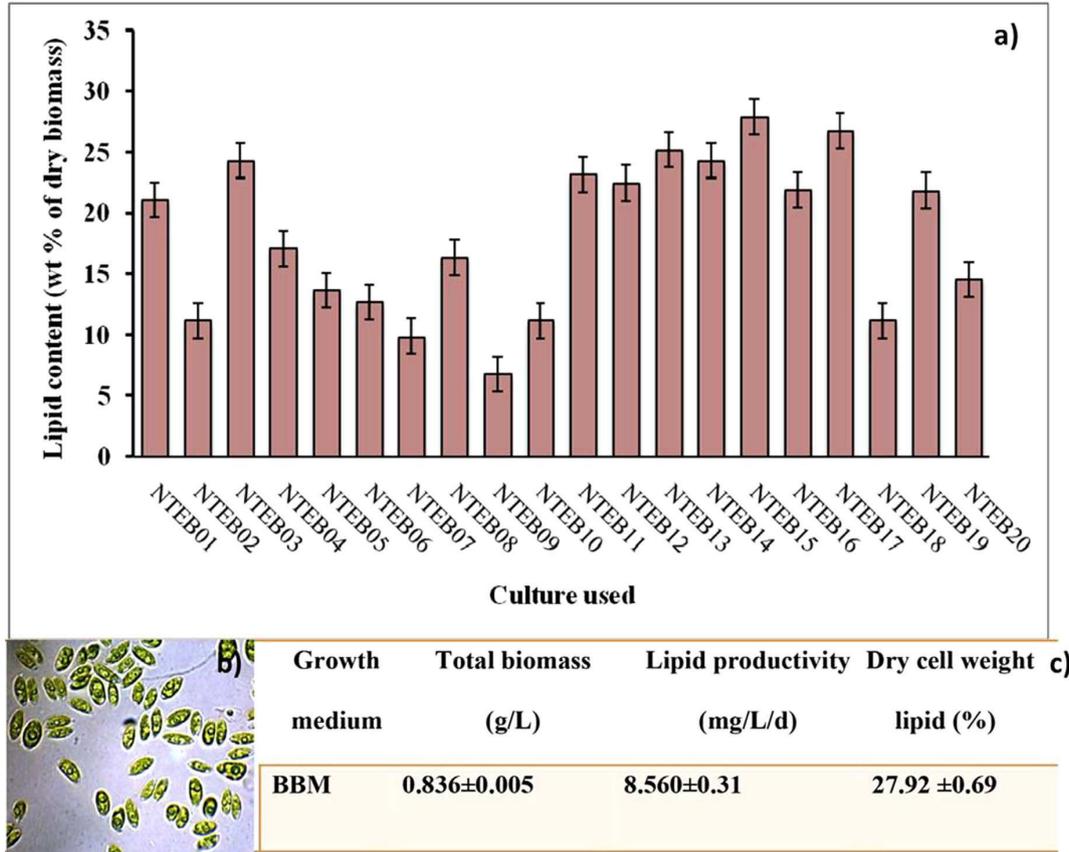
조에 사용한다.

[0217]

상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였으나, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

도면1



도면2

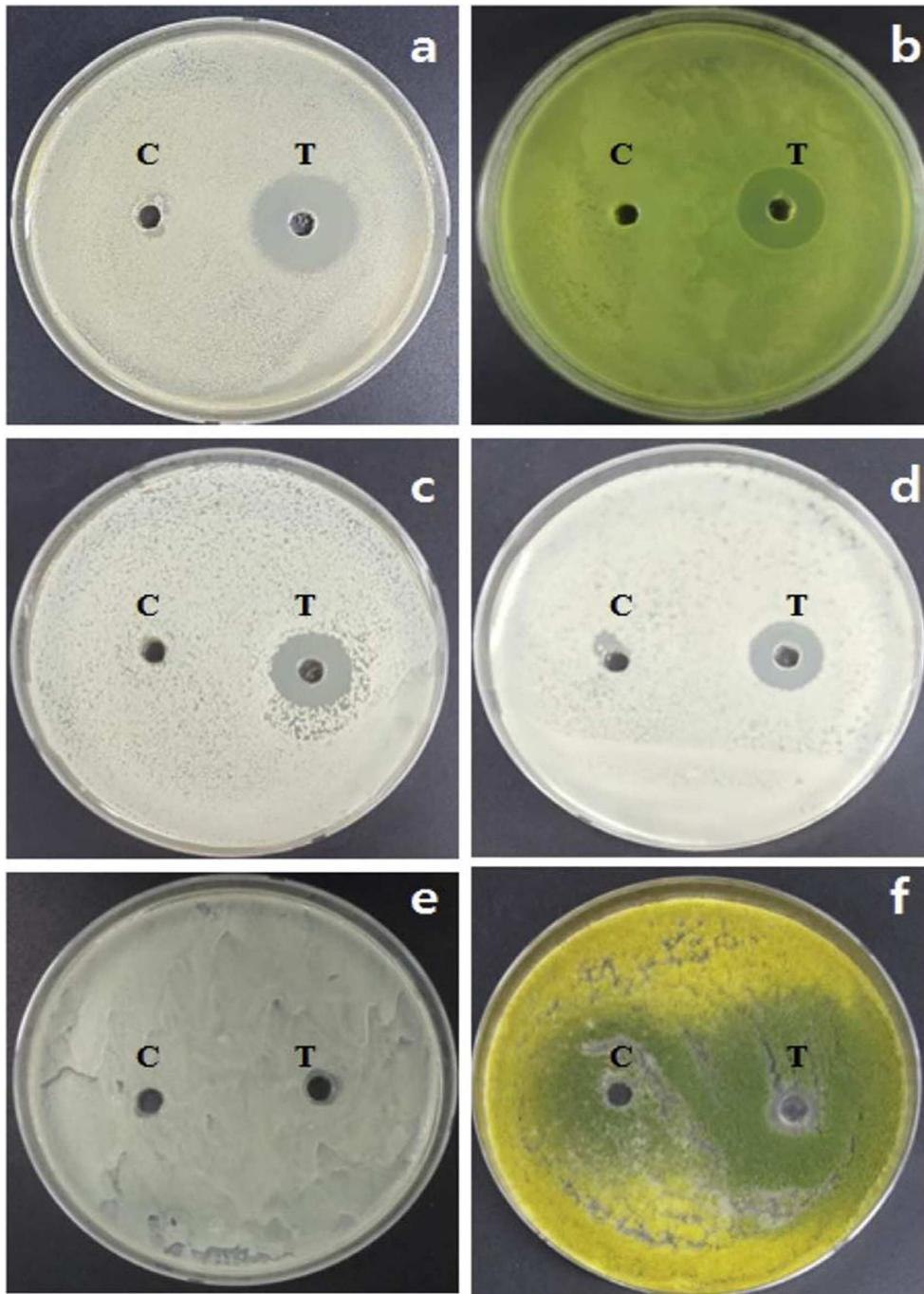
Name of the fractions	Chemical formula	Area %
D- Glucose 2,3,4,6- tetra O methyl	C ₁₀ H ₂₀ O ₆	0.67
Citric acid, trimethyl ester	C ₉ H ₁₄ O ₇	1.11
2,4-di-t-Butylphenol	C ₁₄ H ₂₂ O	0.91
Myristic acid, methyl ester	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	0.55
3-Methyl-5 (1,4,4- trimethylcyclohex-2-enyl) pentan-1-ol	C ₁₅ H ₂₈ O	0.53
Linolenic acid methyl ester	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	3.67
cis-9-Octadecen-1-ol	C ₁₈ H ₃₆ O	0.51
1,2-Epoxy-nonadecane	C ₁₉ H ₃₈ O	0.40
Palmitic acid, methyl ester	C₁₇H₃₄O₂	23.08
Cyclopentane	C ₂₆ H ₅₂	0.37
Stearidonic Acid Methyl Ester	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	5.04
11-trienoic acid methyl ester	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	0.00
Stearic acid methyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	0.00
4, 7, 10-Hexadecatrienoic acid, methyl ester	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	0.44
Heptadecanoic acid	C ₁₉ H ₃₄ O ₃	0.31
Eicosanoic acid	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	0.39
Octadecanoic acid	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	0.73
Methyl 5, 11, 14- Eicosatrienoate	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	0.55
6, 9, 12, 15-Docosatetraenoic acid methyl ester	C ₂₃ H ₃₈ O ₂	0.70
Docosanoic acid, Methyl ester	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	0.24

도면3

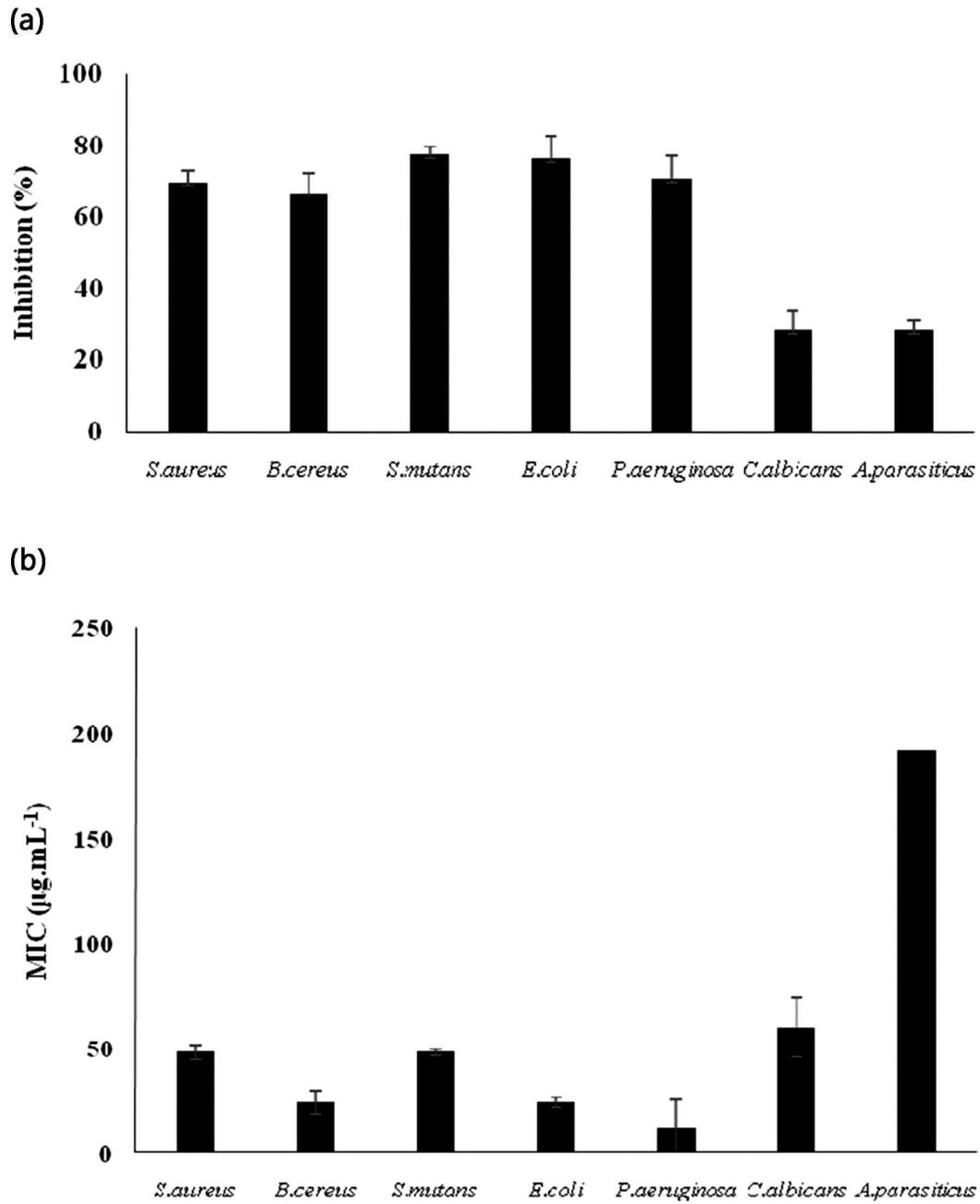
S.No.	Strains	C16:0 (%)	Minimal Inhibitory Concentrations
1.	<i>Pavlova lutheri</i>	29.2%	None of the activity reported
2.	<i>Chlorella vulgaris</i>	NR ^a	35 μL.well ⁻¹ - 0 mm - <i>E.coli</i> ; 12 mm - <i>S.aureus</i>
3.	<i>Scenedesmus bijugatus</i>	0.89%	35 μL.well ⁻¹ - 12 mm - <i>E.coli</i> ; 21 mm - <i>S.aureus</i>
4.	<i>Scenedesmus incrassatulus</i>	NR ^a	30 μL.disc ⁻¹ - 0 mm - <i>E.coli</i> & <i>S.aureus</i>
5.	<i>Oscillatoria tenuis</i>	17.94%	35 μL.well ⁻¹ - 12 mm - <i>E.coli</i> ; 11 mm - <i>S.aureus</i>
6.	<i>Nannochloropsis oculata</i>	19.39%	30 μL.disc ⁻¹ - 26 mm - <i>E.coli</i> ; 20 mm - <i>S.aureus</i>
7.	<i>Dunaliella salina</i>	45.41%	1250-2500 μg mL ⁻¹ - Bacteria; > 2500 μg mL ⁻¹ - Fungi
8.	<i>Scenedesmus</i> sp	NR ^a	50,000 μg mL ⁻¹ - Bacteria
9.	<i>Scenedesmus</i> sp.	0.61%	NR ^a
10.	<i>Chlorella vulgaris</i>	11.31%	10-80 μg mL ⁻¹ - Bacteria
11.	<i>Nannochloropsis oceanica</i>	NR ^a	30 μL.disc ⁻¹ - 0 mm - <i>E.coli</i> & <i>S. aureus</i>
12.	<i>Scenedesmus intermedius</i>	32.01%	12-48 μg mL ⁻¹ - Bacteria; 60-192 μg mL ⁻¹ - Fungi

^a NR: Not Reported.

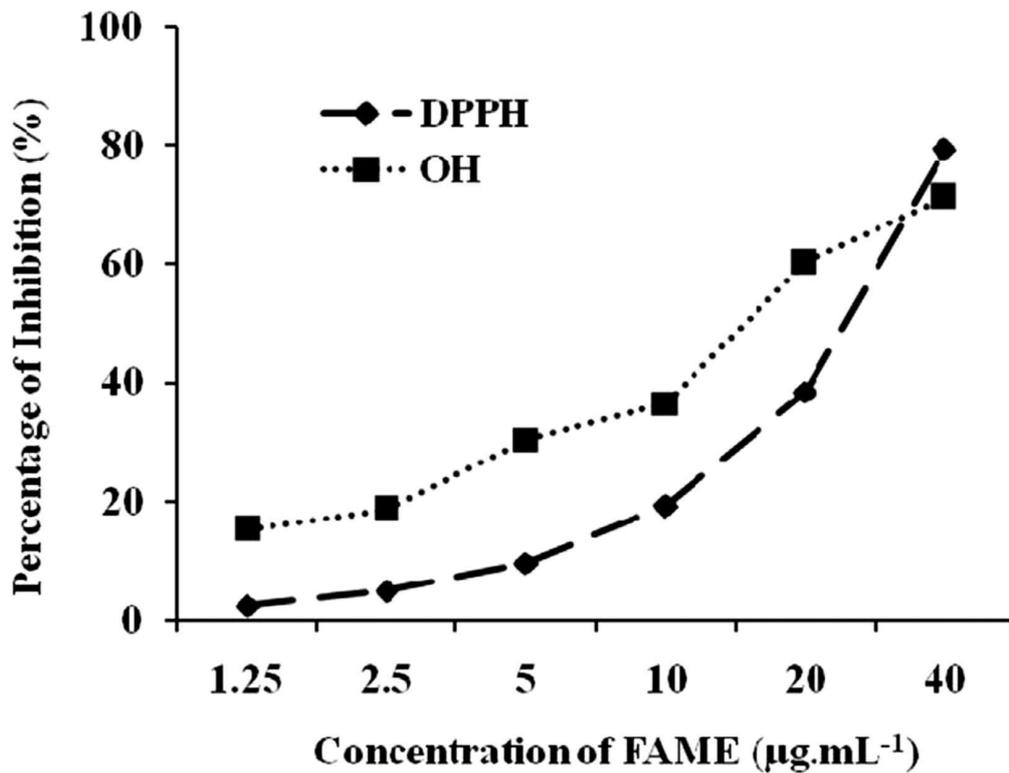
도면4



도면5



도면6



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 1

【변경전】

세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 하는 향균 조성물에 있어서, 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 총 건조중량을 기준으로 20~25 중량% 팔미틴산 메틸 에스테르(C16:0), 0.1~0.5 중량% 시스-10-헵타데칸산 메틸 에스테르(C17:1), 2~10 중량% 스테아리돈산 메틸 에스테르(C19:2) 및 1~5 중량% 리놀렌산 메틸 에스테르(C18:3)를 포함하는 것을 특징으로 하고,

상기 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* 및 *Streptococcus mutans*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 그람 양성균;

Escherichia coli 및 *Pseudomonas aeruginosa*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 그람 음성균; 또는

Aspergillus parasiticus 및 *Candida albicans*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 진균에 대해 향균 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 향균 조성물.

【변경후】

세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물을 유효성분으로 하는 향균 조성물에 있어서, 상기 세넨데스무스 인터메디우스(*Scenedesmus intermedius*) 가공 추출물의 총 건조중량을 기준으로 20~25 중량% 팔미틴산 메틸 에스테르(C16:0), 0.1~0.5 중량% 시스-10-헵타데칸산 메틸 에스테르(C17:1), 2~10 중량% 스테아리돈산 메틸 에스테르(C19:2) 및 1~5 중량% 리놀렌산 메틸 에스테르(C18:3)를 포함하는 것을 특징으로 하고,

Staphylococcus aureus, *Bacillus cereus* 및 *Streptococcus mutans*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 그람 양성균;

Escherichia coli 및 *Pseudomonas aeruginosa*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 그람 음성균; 또는

Aspergillus parasiticus 및 *Candida albicans*로 이루어진 균으로부터 선택되는 1종 이상의 진균에 대해 항균 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 항균 조성물.