

솔잎 추출물이 삽입된 마그네슘-층상규산염 샌드위치 나노입자의 합성과 피부 상재균에 대한 항균 특성에 관한 연구

김성열 · 최유성[†]

(주)럭키산업 연구개발팀
(2019년 2월 15일 접수, 2019년 2월 22일 심사, 2019년 3월 8일 채택)

Study on Synthesis of Pine Leaf Extract Intercalated Mg-Phyllosilicate Sandwich Nanoparticles and Antimicrobial Activity against Cutaneous Microorganisms

Seong Yeol Kim and Yoo-Sung Choi[†]

Lucky Research and Development Center (LRDC), Lucky Industry Co., Ltd., Gwangsan-gu, Gwangju 62230, Korea
(Received February 15, 2019; Revised February 22, 2019; Accepted March 8, 2019)

초 록

본 연구에서는 마그네슘-층상규산염(MgP) 층간에 솔잎 추출물(PLE)이 삽입되어 겹겹이 쌓여있는 샌드위치 구조의 나노입자(PLE/MgP)를 one-pot으로 합성하였다. XRD 분석을 통해 팔면체와 사면체 구조로 MgP가 성공적으로 합성되었으며, PLE가 층간에 삽입되어 MgP 간의 층간거리(d-spacing)가 벌어진 것을 확인하였다. HR-TEM을 통해 모폴로지 변화를 관찰하였으며, 열중량분석법을 통해 PLE가 MgP 대비 10%까지 함유된 것을 확인하였다. 최소저해농도(MIC) 및 최소사멸농도(MBC) 분석을 통해 피부 상재균에 대한 항균 활성을 검토한 결과 MgP 또는 PLE보다 PLE/MgP의 항균 활성이 더욱 향상된 것을 확인하였다. 이러한 결과는 본 연구에서 개발한 PLE/MgP 유기/무기 복합 소재가 화장품 소재, 의약품 소재 등의 다양한 분야에 적용 가능함을 확인하였다.

Abstract

In this study, we synthesized the pine leaf extract intercalated layered Mg-phyllsilicate nanoparticles (PLE/MgP) via one-pot synthesis. MgP was successfully synthesized with the octahedral and tetrahedral structure by XRD analysis and a gap of inter-layer distance (d-spacing) between MgP sheets by the intercalation of PLE was confirmed. As a result of the investigation of antimicrobial activity against cutaneous microorganisms by the minimum inhibitory concentration (MIC) and bactericidal concentration (MBC) analyses, the antimicrobial activity of PLE/MgP was more improved than that of MgP or PLE. The prepared sandwich-structured PLE/MgP organic/inorganic hybrid materials will be useful in the field of numerous applications containing cosmetic and biomedical materials.

Keywords: Pine leaf extract, Mg-phyllsilicate, Intercalation, Antimicrobial, Cutaneous microorganism

1. 서 론

사람의 피부는 자외선이나 유해 화학물질과 같은 외부의 자극물질들이 신체 내부로 들어올 수 없도록 보호하는 역할을 한다. 반면, 피부 표면은 수많은 미세주름으로 이루어져 있고 피부 위에 다양한 유기물질들이 미세하게 축적됨에 따라 그 안에서 미생물들이 증식할 수 있는 환경을 제공해 준다[1]. 다양한 피부 미생물 중에서도 아토피 피부염을 유발하는 *Staphylococcus aureus*[2,3], 여드름 염증을 유발하는 *Propionibacterium acnes*[4] 등 피부에 유해한 균들이 지속적으로 보

고되고 있으며, 학문 및 산업 분야 전반에 걸쳐 피부 상재균에 대한 다양한 항균 소재들이 개발되어 일상생활에까지 기능성 화장품 등으로 상용화되어 있다.

현재 화장품 소재 분야에서는 피부 표면의 유해균의 증식을 막고 및 기타 세균들에 의한 화장품의 변질을 방지하기 위해 다양한 항균제가 사용된다[5-8]. 산업 분야에서 주로 사용되는 항균 소재는 액상으로 이루어진 유기 항균제가 대부분이며, 그 외에는 은 나노입자와 같은 무기 항균제가 사용된다. 하지만 현재 상용화된 대부분의 항균제는 독성을 가지고 있어 피부 알레르기과 같은 부작용을 일으킬 뿐만 아니라 섭취나 흡입 시 복통, 구토 등의 부작용도 있어 점차 사용량을 제한하는 추세이다. 이러한 수많은 문제점들로 인해 최근에는 인체에 해가 없는 천연 성분들을 이용한 항균제의 개발이 대두되고 있다. 최근에는 솔잎[9], 녹차[10], 강황[11], 황련[12], 프로폴리스[13] 등과 같은 천연물을 추출하여 항균제로 사용하는 연구가 활발히 진행되

[†] Corresponding Author: Lucky Industry Co., Ltd.
Lucky Research and Development Center (LRDC), Gwangsan-gu, Gwangju 62230, Korea
Tel: +82-62-951-7881 e-mail: usung12@luckyind.com

Table 1. Components of Pine Leaf Extract Intercalated Mg-phyllsilicate Sandwich Nanoparticles

Sample	MgCl ₂ · 6H ₂ O (g)	APTES (g)	PLE (g)	Ethanol (mL)
MgP	6.10	8.84	0	100
PLE/MgP-1	6.10	8.84	0.075	100
PLE/MgP-2	6.10	8.84	0.150	100
PLE/MgP-3	6.10	8.84	0.300	100

고 있으나, 보고된 천연유래 항균제의 경우 특유의 냄새와 색, 제형상의 문제점, 낮은 수율 및 열과 환경에 의한 불안정성 등으로 인해 상용화되기에는 어려움이 많다. 이러한 단점들을 보완하기 위해 항균 물질들을 나노 크기의 전달체에 담아 입자화하는 연구가 활발하게 수행되고 있다. 항균 활성의 보호와 저장 안정성 효율을 높이기 위해 나노캡슐화(nanoencapsulation)하는 방법이 가장 일반적이며, 물리적인 외피를 제공함으로써 외부환경으로부터 생리적 활성을 보호할 수 있다[14].

소나무(*Pinus densiflora*)는 소나무과(*Pinaceae*)에 속하는 상록성 침엽수로 한국, 일본 중국 및 러시아 전역에 분포하며 한반도 전체 수목의 1/3을 차지하고 있는 대표적인 수종이다. 특히 솔잎은 camphene, α -pinene, β -pinene과 같은 정유(essential oil) 성분과 quercetin, kaempferol과 같은 플라보노이드(flavonoid) 성분이 다량 함유되어 있으며[15-17], 이러한 성분들은 다양한 방법으로 추출되어 소재화된다. 솔잎 추출물의 항균 효과에 대해서는 광범위하게 연구되고 있으며 [9,16], 그 외에도 항산화, 항염 등의 효과가 우수하고 피부에 자극이 없는 천연 소재로 밝혀져 있다[17-19].

최근, 유/무기 복합 소재는 매우 간단하고 편리하게 합성할 수 있을 뿐만 아니라, 다기능성을 부여하기에 적합하여 많은 연구자들에게 흥미를 불러일으키고 있다. 특히, 금속 수산화물(metal hydroxide)은 다양한 기능을 하는 첨가제로서 많은 연구가 이루어지고 있고, 그중에서도 Mg, Cu, Ni, Fe, Co 등의 금속 이온을 함유하는 이중 층상 수산화물(layered double hydroxide)은 표면 작용기를 원하는 대로 조절할 수 있으며 특유의 넓은 표면적으로 인해 화합물 전달체[20], 전기 화학적 촉매[21], 유해물질 흡착제[22] 등의 연구에 있어 많은 관심을 받고 있으며, 인체에 대해 독성이 없어[23] 최근 화장품 소재 및 생체재료로 활발하게 연구가 진행되고 있다. 특히 화합물 전달체 연구의 경우, 층과 층 사이에 DNA[24], 단백질[25] 또는 약물[26] 등을 탑재할 수 있으며, 탑재하는 화합물의 성질에 따라 표면 작용기를 선택하여 조절할 수도 있다[27]. 하지만 이전 연구들의 경우 약물의 탑재를 위해서는 층과 층간의 바리 또는 팽윤 단계가 필요하다. 층간의 반 데르 발스 인력이 강하게 작용하고 경우에 따라서는 수소결합 또한 이루어져 있어, 이를 극복하고 약물을 탑재하기 위해서는 용매 내에 장시간 팽윤시켜 탑재하거나[28], 계면활성제를 사용한 층상 구조물의 바리가 필수적이다[29].

본 연구에서는 천연 항균 소재인 솔잎 추출물이 마그네슘-층상규산염 층간에 삽입된 샌드위치 구조의 나노 항균 소재를 합성하였다. 합성된 물질은 층간의 바리 또는 팽윤 단계 없이 한 단계로 합성되어 제조 공정을 단축시켰으며 피부염을 일으키는 피부 상재균에 대해 항균 활성을 보여, 화장품, 생체재료 및 플라스틱 소재 등에 항균 첨가제로서 다양한 응용이 가능할 것으로 보인다.

2. 실험

2.1. 실험 재료

마그네슘-층상규산염을 합성하기 위한 magnesium chloride hexahydrate (MgCl₂ · 6H₂O)는 Duksan Pure Chemicals (Korea)의 시약을 사용하였으며, (3-aminopropyl)triethoxysilane (APTES)는 Sigma-Aldrich (USA)의 제품을 구매하여 추가의 정제 과정 없이 사용하였다. 에탄올은 솔잎의 추출, 마그네슘-층상규산염의 합성 및 세척 용매로서 Duksan Pure Chemicals사의 제품을 사용하였다.

2.2. 솔잎의 추출 및 수율

마그네슘-층상규산염의 층간 사이로 삽입할 솔잎 추출물(PLE)은 다음과 같은 방법으로 추출되었다. 건조된 솔잎 200 g을 95% 에탄올 2.0 L에 넣어 60 °C에서 3 h 동안 100 rpm으로 진탕하여 추출하였다. 솔잎 에탄올추출액은 여과 후 여액을 동결건조하여 솔잎 추출물 파우더를 얻었다. 수율은 솔잎 건조 중량인 200 g을 기준으로 계산되었으며, 솔잎 추출물의 수율은 11.0%이었다.

2.3. 솔잎 추출물이 삽입된 마그네슘-층상규산염(PLE/MgP)의 합성

Table 1에서 보여준 것처럼 솔잎 추출물이 삽입된 마그네슘-층상규산염(PLE/MgP)을 합성하기 위해서 에탄올 100 mL에 MgCl₂ · 6H₂O 6.10 g (30 mmol)과 동결건조한 솔잎 추출물(PLE)을 각각 0.075, 0.150, 0.300 g을 녹인 후, APTES 8.84 g (40 mmol)을 넣고 12 h 동안 상온에서 100 rpm으로 교반하여 합성하였다. 합성한 PLE/MgP는 원심분리와 에탄올을 사용하여 세척을 3회 반복한 후, 동결건조하여 수득하였다. 솔잎 추출물이 삽입되지 않은 마그네슘-층상규산염(MgP)은 솔잎 추출물을 첨가하지 않고 동일한 방법으로 합성 및 수득하였다.

2.4. 분석

합성된 PLE/MgP 샌드위치 나노입자에서 마그네슘-층상규산염의 결정 구조를 분석하기 위해서 X-ray diffractometer (XRD, X'Pert³ Powder, PANalytical)를 사용하였고, nickel-filtered Cu K α ($\lambda = 0.154$ nm) 광원을 사용하여 0~70°/2 theta의 주사 범위를 4.0°/min의 스캔 속도로 분석하였다. 또한 층간거리를 더욱 명확하게 확인하기 위해 4~8°/2 theta의 주사 범위를 0.4°/min의 스캔 속도로 분석하였다. 시료 내 작용기 분석을 위해 Fourier-transform infrared spectrometer (FT-IR, Nicolet iS10, Thermo)를 사용하여 800~4,000 cm⁻¹의 범위를 32번의 스캔(resolution = 4 cm⁻¹)을 통해 분석하였다. PLE/MgP 내에 솔잎 추출물의 함량을 확인하기 위해 thermogravimetric analysis (TGA, Q50, TA Instrument)를 사용하여 승온속도 10 °C/min으로 25 °C부터 800 °C 까지 대기 조건하에서 분석하였다. 합성한 PLE/MgP의 모폴로지를 확인하기 위해 high-resolution transmission electron microscope (HR-TEM, Tecnai F20 UT)을 사용하여 입자의 크기 및 입자 내부의 intercalant를 확인하였다. 합성한 PLE/MgP 샌드위치 나노입자의 항균 활성을 분석

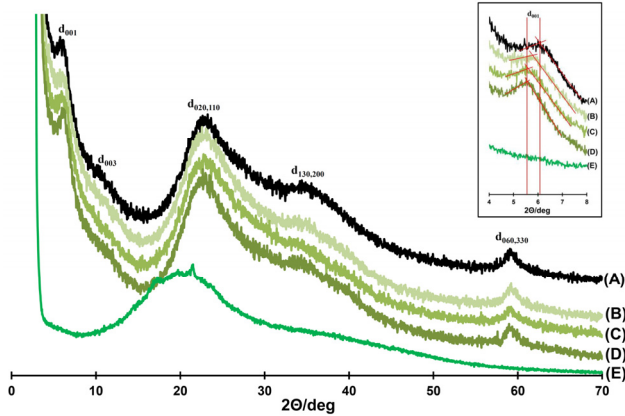


Figure 1. X-ray diffraction (XRD) patterns of (A) MgP, (B) PLE/MgP-1, (C) PLE/MgP-2, (D) PLE/MgP-3 and (E) PLE in the range from 0 to 70 2θ/deg (the right upper inset, range from 4 to 8 2θ/deg).

하기 위해 최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 및 최소사멸농도(minimum bactericidal concentration, MBC)를 측정하였다. 대장균(*Escherichia coli*, KCTC 2571), 포도상구균(*Staphylococcus aureus*, KCTC 3881) 및 여드름균(*Propionibacterium acnes*, KCTC) 세 가지 균주를 시험균주로 선택해서 각각의 배지에 접종해 16 h 동안 37 °C의 미생물 배양기에서 150 rpm으로 진탕 배양 후 OD₆₆₀에서 흡광도를 측정하여 1 × 10⁶ CFU/mL이 되도록 희석을 하였다. 시료 농도는 2,000, 1,500, 1,000, 500, 250, 125 ppm의 농도가 되도록 균배양액에 처리하였으며 16 h 동안 37 °C의 미생물 배양기에서 150 rpm으로 진탕 배양한 후 고체배지에 도말하여 MIC 및 MBC 시험을 하였다.

3. 결과 및 고찰

본 연구에서는 솔잎 추출물이 삽입된 마그네슘-층상규산염 샌드위치 구조의 나노입자를 합성하였으며 합성된 물질의 화학적 구조를 XRD 분석을 통해 확인하였다. Figure 1은 one-pot silylation으로 솔잎 추출물이 삽입된 샌드위치 나노입자 각각의 XRD 구조 분석 스펙트럼이다. Figure 1(A)는 솔잎 추출물을 사용하지 않고 one-pot으로 합성한 MgP 나노입자의 XRD 패턴이다. 각각 6.00, 10.07, 22.50, 34.47, 58.97°에서 팔면체와 사면체 구조를 가진 마그네슘-층상규산염의 참조 피크인 d₀₀₁, d₀₀₃, d_{020,110}, d_{130,200} 그리고 d_{060,330} 부분이 동일한 것을 확인하였다[30]. Figure 1(B), (C) 그리고 (D)는 솔잎 추출물이 삽입된 MgP 나노입자의 화학적 구조를 분석한 데이터이다. 층간거리(d-spacing)를 나타내는 d₀₀₁을 제외하고는 합성 이후에도 화학적 구조가 변하지 않고 동일한 구조의 화합물이라는 것을 참조 피크들을 통해 확인하였다. 층간거리를 좀 더 명확하게 비교 확인하기 위해 Figure 1의 오른쪽 위에 나타내었듯이 4~8/2 theta의 주사 범위로 세밀하게 분석하였다. 분석 결과 MgP 나노입자의 경우 5.997°, PLE/MgP-1은 5.764°, PLE/MgP-2는 5.513° 그리고 PLE/MgP-3는 5.463°로 확인되었다. 솔잎 추출물이 삽입된 마그네슘-층상규산염의 샌드위치 구조 및 층간 거리에 대한 모식도는 Figure 2에 나타내었으며, Table 2에 브래그 법칙을 적용해 층간거리(d-spacing)를 계산한 결과를 나타내었다. MgP의 경우 1.474 nm로 상대적으로 짧은 층간거리를 나타내었으나, 합성 시 사용되는 솔잎 추출물의 비율이 증가함에 따라 층간거리 또한 증가하는 경향을 보였고, PLE/MgP-3의 경우 1.616 nm로 상대적으로 긴 층

Table 2. Calculations of d-spacing values to Measure the Interlayer Distance

Sample	2θ/deg	d-spacing (nm)
MgP	5.997	1.474
PLE/MgP-1	5.764	1.531
PLE/MgP-2	5.513	1.601
PLE/MgP-3	5.463	1.616

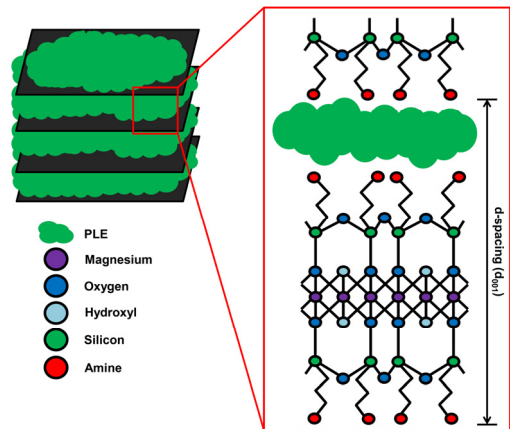


Figure 2. Schematic demonstration for sandwich-like chemical structure and intercalation of pine leaf extracts.

간거리를 가지는 것으로 확인하였다. XRD를 통한 구조 분석 결과를 통해 솔잎 추출물이 마그네슘-층상규산염의 합성 과정 동안 구조 형성에 방해가 되지 않으며, 이와 동시에 층간에 삽입되었다는 것을 확인하였다.

Figure 3(A), (B)는 합성된 MgP 나노입자 및 솔잎 추출물이 삽입된 PLE/MgP 샌드위치 나노입자의 HR-TEM 이미지이다. MgP의 경우 여러 층이 조밀하게 겹겹이 쌓여 있으며 대략 100 nm 전후의 입자 크기를 가지는 것을 확인하였다. 솔잎 추출물이 삽입된 PLE/MgP 샌드위치 나노입자의 경우에도 여러 층이 겹겹이 쌓여 있으며 입자의 크기는 약 100 nm로 MgP와 유사한 것으로 보아 합성 시에 솔잎 추출물이 MgP의 구조 형성 및 입자 크기에 큰 영향을 미치지 않는다는 것을 보여주고 있다. 하지만 PLE/MgP의 경우 솔잎 추출물이 층간에 삽입된 내부 모폴로지를 명확하게 비교하여 확인할 수 있으며 상대적으로 거친 모폴로지를 보여주었다. Figure 3(C), (D)는 MgP 및 PLE/MgP의 HR-SEM 이미지이다. HR-TEM과 비교하였을 때 명확하게 모폴로지를 확인할 수 없으나, 균일한 입자 분포를 확인할 수 있다. Figure 3(E)는 PLE/MgP의 EDX 스펙트럼으로 Figure 2의 화학 구조 모식도와 동일한 원소를 가지고 있으며, 표면에 형성된 amine기(-NH₂)를 포함해 PLE/MgP 샌드위치 나노입자가 성공적으로 합성되었음을 확인하였다.

MgP는 MgCl₂ · 6H₂O 및 APTES의 silylation 반응을 통하여 합성하였고, 층상 구조의 형성과 동시에 층과 층 사이에 솔잎 추출물이 삽입되어 샌드위치 구조의 PLE/MgP 나노입자를 제조하였다. MgP 표면에 형성된 amine기(-NH₂)를 확인하기 위해 FT-IR 분광법을 이용하였다. Figure 4에서 보여준 것처럼, MgP의 스펙트럼에서는 Figure 2의 화학적 구조 모식도와 같이 MgP 골격의 Si-C stretch (1,110 cm⁻¹), Si-O-Si bend (1,015 cm⁻¹) 및 O-H stretch (3,300~3,450 cm⁻¹)를 확인하였으며,

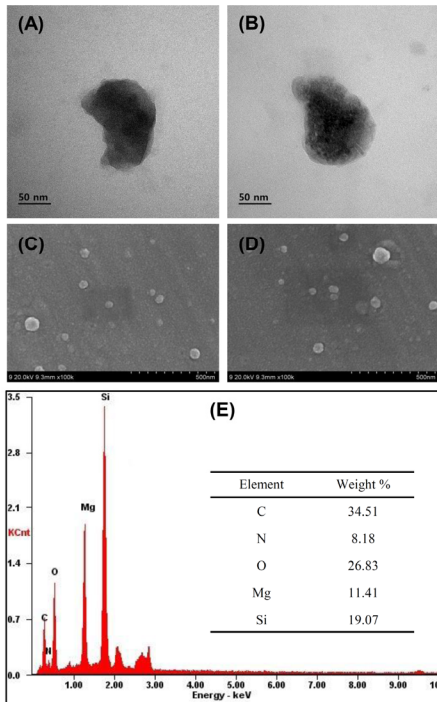


Figure 3. Transmission electron microscopy (TEM) and scanning electron microscopy (SEM) images of (A), (C) MgP and (B), (D) PLE/MgP, respectively. Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) spectrum of (E) PLE/MgP.

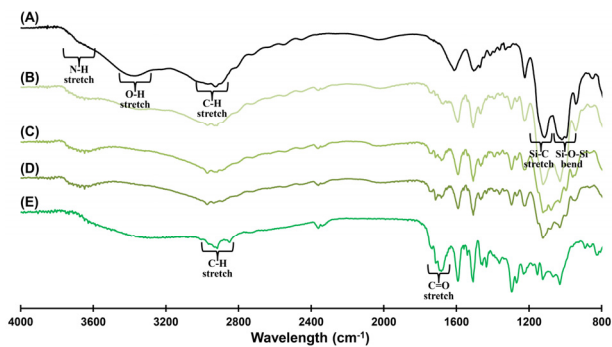


Figure 4. Fourier transform infrared (FT-IR) spectra of (A) MgP, (B) PLE/MgP-1, (C) PLE/MgP-2, (D) PLE/MgP-3 and (E) PLE.

MgP 표면의 propylamine moiety의 존재를 확인할 수 있는 C-H stretch (2,950~3,100 cm⁻¹) 및 N-H stretch (3,700 cm⁻¹)를 확인하였다. PLE의 경우에는 다양한 화합물이 혼합되어 있어, 모든 화학 작용기를 일일이 구분하는 것은 매우 어려우나, 3,200~3650 cm⁻¹에 넓게 걸쳐있는 -OH 관련 peak와 1,630~1,750 cm⁻¹에서 C=O stretch를 확인할 수 있었다. PLE/MgP의 경우, 삽입된 PLE에 의해 MgP의 고유한 N-H, Si-C, Si-O-Si peak의 강도가 상대적으로 감소하는 경향을 보였으며, 특히 PLE의 비율이 증가함에 따라 C=O stretch peak 또한 1,630~1,750 cm⁻¹에서 증가함을 보였다. FT-IR 분광법을 통한 이러한 결과들을 종합하면 MgP가 모식도대로 성공적으로 합성되었으며 그 표면에는 amine기를 함유하고 있는 것으로 확인되며, 천연 항균제인 솔잎 추출물 또한 MgP에 성공적으로 함유되었다는 결과를 예상할 수 있다.

합성된 PLE/MgP 내에 PLE와 MgP의 무게 비율을 확인하기 위해 열

Table 3. The Loading Capacity Values of PLE/MgP Nanoparticles as determined by TGA

Sample	Residue (wt%)	Loading capacity (%)
MgP	58.60	0
PLE/MgP-1	54.71	4.05
PLE/MgP-2	51.44	7.71
PLE/MgP-3	49.66	9.82
PLE	0	100

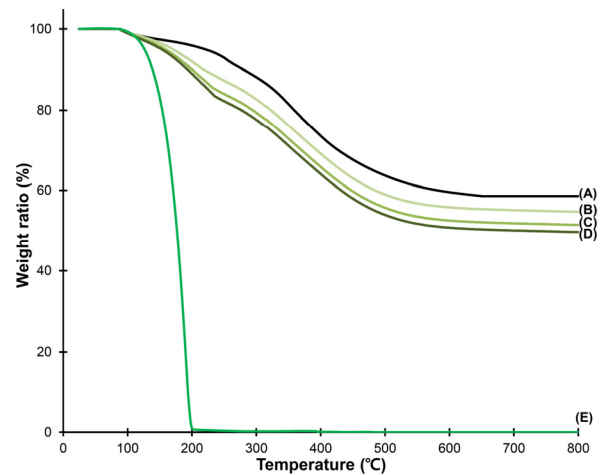


Figure 5. Thermal gravimetric analysis (TGA) of (A) MgP, (B) PLE/MgP-1, (C) PLE/MgP-2, (D) PLE/MgP-3 and (E) PLE.

중량 분석법을 이용하여 분석하였다(Figure 5). 합성 후 동결건조를 통해 최종 수득된 MgP, PLE/MgP-1, PLE/MgP-2, PLE/MgP-3 및 PLE 시료들을 각각 10 mg씩 25~800 °C의 온도 범위를 분당 10 °C의 승온속도로 열분해에 의한 중량 분석을 진행하였다. MgP의 경우 100 °C 이상부터 무게의 감소를 보이다가 300 °C를 기준으로 급격한 감소를 보였으며, 650 °C에 이르러서 유기물 부분이 완전히 연소되고 Mg, Si와 같은 무기물 부분만 연소되지 못하고 58.60 wt% 가량 남은 것을 확인할 수 있었다. PLE의 경우 유기물뿐만 아니라 100~200 °C 사이에서 전부 연소되는 것을 확인하였다. PLE/MgP 시료들의 열분해 패턴을 확인하면, MgP와는 다르게 100~250 °C구간에서 급격한 무게 감소를 보이고 있으며 합성 시 PLE의 비율이 증가할수록 더욱 무게 감소율이 커진다. 또한 열분해 후의 잔여물 또한 PLE의 비율이 커질수록, 즉 100~250 °C구간에서의 무게 감소율에 따라 감소하여, PLE/MgP-1, PLE/MgP-2 및 PLE/MgP-3의 잔여물의 무게비는 각각 54.71, 51.44 및 49.66 wt%로 확인되었다. MgP 내의 PLE의 열 분해온도가 약 250 °C까지 고온방향으로 이동한 이유는 MgP 층간에 삽입된 영향으로 열안정성이 소폭 증가한 것으로 해석된다. 열분해 후의 잔여물의 wt%를 통해 MgP에 함유된 PLE의 loading capacity를 아래 식을 통해 계산할 수 있다.

$$\text{Loading capacity (\%)} = \frac{R_{\text{MgP}} - R_s}{100 - (R_{\text{MgP}} - R_s)} \times 100$$

이 식에서 R_{MgP}는 MgP의 열분해 후 잔여물(residue)이며, R_s는 각 샘플의 열분해 후 잔여물이다. 계산 결과를 Table 3에 나타내었으며,

Table 4. Minimum Inhibitory Concentration (MIC, ppm) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC, ppm) of PLE/MgP Nanoparticles

	MIC (ppm)			MBC (ppm)		
	<i>E. Coli</i>	<i>S. Aureus</i>	<i>P. Acnes</i>	<i>E. Coli</i>	<i>S. Aureus</i>	<i>P. Acnes</i>
MgP	1,000	1,000	1,000	1,000	1,500	1,500
PLE/MgP-1	1,000	500	1,000	1,500	1,000	1,000
PLE/MgP-2	1,500	500	500	2,000	500	1,000
PLE/MgP-3	1,500	250	125	2,000	500	250
PLE	> 2,000	500	500	> 2,000	500	1,000

결과적으로 열중량 분석을 통해서 실제 함유량이 MgP 대비 최대 10% 가량까지 함유되어 있는 것을 확인하였다.

솔잎 추출물은 다양한 세균에 대한 천연 항균제로서 널리 알려져 있으며[9], 표면에 amine기를 가지는 마그네슘-층상규산염 또한 우수한 항균 활성을 가진다는 연구[30,31]가 보고된 바 있다. 본 연구에서는 MgP와 PLE 및 PLE/MgP 시료들에 대해서 보통 산업에서 흔히 사용되는 대장균(*E. coli*)과 피부 상재균인 포도상구균(*S. aureus*) 및 여드름균(*P. acnes*)에 대한 항균 활성을 MIC법 및 MBC법을 통해 검토하였으며 그 결과를 Table 4에 나타내었다. MgP의 항균 활성은 MIC 농도와 MBC 농도 모두 약 1,000~1,500 ppm으로 확인되어 그 자체로도 뛰어난 항균력을 가지는 것을 확인하였다. PLE의 경우 그람 음성균인 *E. coli*에서는 2,000 ppm 이상의 농도에서 항균 활성이 나타남을 확인하였고, 그람 양성균인 *S. aureus* 및 *P. acnes*에 대해서는 500~1,000 ppm의 항균 활성을 확인하였다. 흥미롭게도 PLE/MgP 복합 소재의 경우에는 MgP 또는 PLE 각각의 항균 활성보다 더욱 우수한 항균 활성을 보여주었다. 특히 PLE/MgP-3의 경우 피부 상재균인 *S. aureus*에 대해 250 ppm의 MIC 농도와 500 ppm의 MBC 농도를 나타내었으며, *P. acnes*에 대해 125 ppm의 MIC 농도와 250 ppm의 MBC 농도로 매우 낮은 농도로도 효율적인 항균 활성을 보여준다. 이는 분자 단위로 세포질막을 통과해 균의 성장을 억제하며 세포막과 세포벽에 손상을 주는 솔잎 추출물의 항균 활성 메커니즘[32,33]과, 표면의 amine기를 사용하여 세포막에 탈분극을 가해 균의 표면 모폴로지를 변화시켜 최종적으로 균을 사멸에 이르게 하는 마그네슘-층상규산염의 항균 활성 메커니즘[31]이 복합적으로 이루어져 각각의 소재들보다 더욱 향상된 항균 활성을 가지는 것으로 해석된다.

4. 결 론

본 논문은 one-pot silylation법을 이용하여 마그네슘-층상규산염(MgP)과 솔잎 추출물(PLE)이 함유되어 있는 샌드위치 구조의 유/무기 복합 나노입자를 성공적으로 합성하였다. 합성된 물질의 결정 구조를 XRD를 통해 분석한 결과 팔면체와 사면체 구조의 MgP가 합성되었음을 확인하였고, 층간거리(d-spacing)가 PLE의 비율에 따라 변화한다는 결과를 통해 PLE가 MgP의 층간에 삽입되어 있다는 것을 확인하였다. HR-TEM을 통해 입자 크기가 100 nm 가량임을 확인하였고, PLE의 삽입에 따른 입자의 모폴로지 변화를 관찰하였다. FT-IR 분광법을 통하여 MgP의 화학 구조가 예상했던 모식도대로 합성되었는지를 확인하였으며 표면의 amine기에 대한 peak 또한 확인하였다. 열중량 분석을 통해 MgP 내에 함유되어 있는 PLE의 열안정성이 약 50 °C 가량 증가한 것을 확인하였으며, PLE의 함유량이 MgP 대비 10%까지 함유되어 있는 것을 확인하였다. MIC법 및 MBC법을 통해 대장균(*E. coli*)과 포도상구균(*S. aureus*) 및 여드름균(*P. acnes*)에 대한 항균 활성을 검토

한 결과, PLE와 MgP의 항균 활성 메커니즘이 복합적으로 발현되어 MgP 또는 PLE 각각의 소재들의 항균 활성들보다 PLE/MgP의 항균 활성이 더욱 낮은 농도에서 나타나는 것으로 확인되었다. 특히 PLE/MgP-3의 경우 MIC 농도가 피부상재균인 *S. aureus*에 대해 250 ppm, *P. acnes*에 대해 125 ppm로 낮은 농도로도 매우 효율적인 항균 활성을 보였다. 화장품 소재 분야에서 피부 상재균에 대한 높은 항균 활성을 고려할 때 이 소재의 적용이 가능할 것으로 보인다. 또한, 솔잎 추출물 외에도 다양한 기능성 천연물 및 약물들을 사용하여 기능성 화장품 소재, 의약품 소재, 공업용 첨가제 등의 다양한 분야로 적용이 가능하다고 사료된다.

감 사

본 연구는 중소벤처기업부와 한국산업기술진흥원의 지역특화산업육성(R&D) 기술개발사업(P0002346) 및 중소벤처기업부의 산학연협력도약기술개발사업(C0531821)으로 수행된 연구결과입니다.

References

1. E. A. Grice and J. A. Segre, The skin microbiome, *Nat. Rev. Microbiol.*, **9**, 244-253 (2011).
2. T. Nakatsuji, T. H. Chen, S. Narala, K. A. Chun, A. M. Two, T. Yun, F. Shafiq, P. F. Kotol, A. Bouslimani, A. V. Melnik, H. Latif, J. N. Kim, A. Lockhart, K. Artis, G. David, P. Taylor, J. Streib, P. C. Dorrestein, A. Grier, S. R. Gill, K. Zengler, T. R. Hata, D. Y. M. Leung, and R. L. Gallo, Antimicrobials from human skin commensal bacteria protect against *Staphylococcus aureus* and are deficient in atopic dermatitis, *Sci. Transl. Med.*, **9**, eaah4680 (2017).
3. T. Kobayashi, M. Glatz, K. Horiuchi, H. Kawasaki, H. Akiyama, D. H. Kaplan, H. H. Kong, M. Amagai, and K. Nagao, Dysbiosis and *Staphylococcus aureus* colonization drives inflammation in atopic dermatitis, *Immunity*, **42**, 756-766 (2015).
4. C. Dessinioti and A. Katsambas, *Propionibacterium acnes* and antimicrobial resistance in acne, *Clin. Dermatol.*, **35**, 163-167 (2017).
5. A. Aditya, S. Chattopadhyay, D. Jha, H. K. Gautam, S. Maiti, and M. Ganguli, Zinc oxide nanoparticles dispersed in ionic liquids show high antimicrobial efficacy to skin-specific bacteria, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **10**, 15401-15411 (2018).
6. M. Comune, A. Rai, K. K. Cherredy, S. Pinto, S. Aday, A. F. Ferreira, A. Zonari, J. Bleresch, R. Cunha, R. Rodrigues, J. Lerma, P. N. Simoes, V. Preat, and L. Ferreira, Antimicrobial peptide-gold nanoscale therapeutic formulation with high skin regenerative potential, *J. Control. Release*, **262**, 58-71 (2017).

7. I. A. Aljuffali, C. H. Huang, and J. Y. Fang, Nanomedical strategies for targeting skin microbiomes, *Curr. Drug Metab.*, **16**, 255-271 (2015).
8. V. Dhanalakshmi, T. R. Nimal, M. Sabitha, R. Biswas, and R. Jayakumar, Skin and muscle permeating antibacterial nanoparticles for treating *Staphylococcus aureus* infected wounds, *J. Biomed. Mater. Res. B*, **104**, 797-807 (2016).
9. M. H. Yim, T. G. Hong, and J. H. Lee, Antioxidant and antimicrobial activities of fermentation and ethanol extracts of pine needles (*Pinus densiflora*), *Food Sci. Biotechnol.*, **15**, 582-588 (2006).
10. W. Si, J. Gong, R. Tsao, M. Kalab, R. Yang, and Y. Yin, Bioassay-guided purification and identification of antimicrobial components in Chinese green tea extract, *J. Chromatogr. A*, **1125**, 204-210 (2006).
11. B. Wilson, G. Abraham, V. S. Manju, M. Mathew, B. Vimala, S. Sundaresan, and B. Nambisan, Antimicrobial activity of *Curcuma zedoaria* and *Curcuma malabarica* tubers, *J. Ethnopharmacol.*, **99**, 147-151 (2005).
12. D. Yan, C. Jin, X. H. Xiao, and X. P. Dong, Antimicrobial properties of berberines alkaloids in *Coptis chinensis* Franch by microcalorimetry, *J. Biochem. Biophys. Methods*, **70**, 845-849 (2008).
13. H. Koo, B. P. F. A. Gomes, P. L. Rosalen, G. M. B. Ambrosano, Y. K. Park, and J. A. Cury, *In vitro* antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens, *Arch. Oral Biol.*, **45**, 141-148 (2000).
14. Y. Han, P. Li, Y. Xu, H. Li, Z. Song, Z. Nie, Z. Chen, and S. Yao, Fluorescent nanosensor for probing histone acetyltransferase activity based on acetylation protection and magnetic graphitic nanocapsules, *Small*, **11**(7), 877-885 (2015).
15. P. K. Koukos, K. I. Papadopoulou, D. T. Patiaka, and A. D. Papagiannopoulos, Chemical composition of essential oils from needles and twigs of balkan pine (*Pinus peuce* Grisebach) grown in Northern Greece, *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 1266-1268 (2000).
16. Y. S. Lim, M. J. Bae, and S. H. Lee, Antimicrobial effects of *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. ethanol extract on *Listeria monocytogenes*, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **31**, 333-337 (2002).
17. W. C. Zeng, Z. Z. Zhang, H. Gao, L. R. Jia, and Q. He, Chemical composition, antioxidant, and antimicrobial activities of essential oil from pine needle (*Cedrus deodara*), *J. Food. Sci.*, **77**, C824-C829 (2012).
18. Y. P. Wu, X. Liang, X. Y. Liu, K. Zhong, B. Gao, Y. N. Huang, and H. Gao, *Cedrus deodara* pine needle as a potential source of natural antioxidants: Bioactive constituents and antioxidant activities, *J. Funct. Foods*, **14**, 605-612 (2015).
19. G. C. Yen, P. D. Duh, D. W. Huang, C. L. Hsu, and T. Y. C. Fu, Protective effect of pine (*Pinus morrisonicola* Hay.) needle on LDL oxidation and its anti-inflammatory action by modulation of iNOS and COX-2 expression in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages, *Food Chem. Toxicol.*, **46**, 175-185 (2008).
20. J. H. Choy, J. S. Jung, J. M. Oh, M. Park, J. Jeong, Y. K. Kang, and O. J. Han, Layered double hydroxide as an efficient drug reservoir for folate derivatives, *Biomaterials*, **25**, 3059-3064 (2004).
21. J. S. Kim, I. Park, E. S. Jeong, K. Jin, W. M. Seong, G. Yoon, H. Kim, B. Kim, K. T. Nam, and K. Kang, Amorphous cobalt phyllosilicate with layered crystalline motifs as water oxidation catalyst, *Adv. Mater.*, **29**(21), 1606893 (2017).
22. P. Gu, S. Zhang, X. Li, X. Wang, T. Wen, R. Jehan, A. Alsaedi, T. Hayat, and X. Wang, Recent advances in layered double hydroxy-based nanomaterials for the removal of radionuclides from aqueous solution, *Environ. Pollut.*, **240**, 493-505 (2018).
23. H. K. Han, Y. C. Lee, M. Y. Lee, A. J. Patil, and H. J. Shin, Magnesium and calcium organophyllosilicates: Synthesis and *in-vitro* cytotoxicity study, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **3**, 2564-2572 (2011).
24. L. M. Liu, L. P. Jiang, F. Liu, G. Y. Lu, E. S. Abdel-Halim, and J. J. Zhu, Hemoglobin/DNA/layered double hydroxide composites for biosensing applications, *Anal. Methods*, **5**, 3565-3571 (2013).
25. M. P. Schmidt and C. E. Martinez, Kinetic and conformational insights of protein adsorption onto montmorillonite revealed using in situ ATR-FTIR/2D-COS, *Langmuir*, **32**, 7719-7729 (2016).
26. J. H. Yang, J. H. Lee, H. J. Ryu, A. A. Elzatahry, Z. A. Allothman, and J. H. Choy, Drug-clay nanohybrids as sustained delivery systems, *Appl. Clay Sci.*, **130**, 20-32 (2016).
27. Y. Zhang, M. Long, P. Huang, H. Yang, S. Chang, Y. Hu, A. Tang, and L. Mao, Emerging integrated nanoclay-facilitated drug delivery system for papillary thyroid cancer therapy, *Sci. Rep.*, **6**, 33335 (2016).
28. K. Haraguchi, Synthesis and properties of soft nanocomposite materials with novel organic/inorganic network structures, *Polym. J.*, **43**, 223-241 (2011).
29. H. He, Y. Ma, J. Zhu, P. Yuan, and Y. Qing, Organoclays prepared from montmorillonites with different cation exchange capacity and surfactant configuration, *Appl. Clay Sci.*, **48**, 67-72 (2010).
30. Y. Lee, Y. Choi, M. Choi, H. Yang, K. Liu, and H. Shin, Dual-end functionalized magnesium organo-(phyllo)silicates via co-condensation and its antimicrobial activity, *Appl. Clay Sci.*, **83-84**, 474-485 (2013).
31. G. Chandrasekaran, H. K. Han, G. J. Kim, and H. J. Shin, Antimicrobial activity of delaminated aminopropyl functionalized magnesium phyllosilicates, *Appl. Clay Sci.*, **53**, 729-736 (2011).
32. R. A. Holley and D. Patel, Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials, *Food Microbiol.*, **22**, 273-292 (2005).
33. W. C. Zeng, Q. He, Q. Sun, K. Zhong, and H. Gao, Antibacterial activity of water-soluble extract from pine needles of *Cedrus deodara*, *Int. J. Food Microbiol.*, **153**, 78-84 (2012).