

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2020년 12월 3일 (03.12.2020)



(10) 국제공개번호

WO 2020/242010 A1

(51) 국제특허분류:

A61K 36/185 (2006.01) A23L 29/00 (2016.01)
A61P 17/00 (2006.01) A61K 8/9789 (2017.01)
A23L 33/105 (2016.01) A61Q 19/00 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2020/001739

(22) 국제출원일: 2020년 2월 7일 (07.02.2020)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2019-0062668 2019년 5월 28일 (28.05.2019) KR

(71) 출원인: 서울대학교 산학협력단 (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION) [KR/KR]; 08826
서울시 관악구 관악로 1, Seoul (KR).

(72) 발명자: 조명행 (CHO, Myung Haing); 06766 서울시 서초구 송동길 37, Seoul (KR). 이아영 (LEE, Ah Young); 06291 서울시 강남구 압정로 151, 110동 1004호, Seoul (KR).

(74) 대리인: 김순웅 (KIM, Soon Woong); 08381 서울시 구로구 디지털로29길 38, 505, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

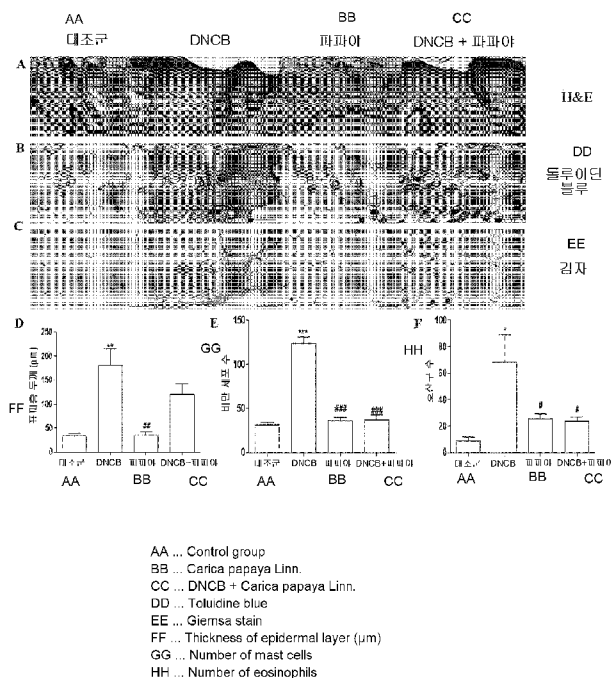
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING ATOPIC DERMATITIS, CONTAINING FERMENTATION PRODUCT OF CARICA PAPAYA LINN.

(54) 발명의 명칭: 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물



(57) Abstract: The present invention relates to a pharmaceutical composition for preventing or treating atopic dermatitis, and a quasi-drug composition, a food composition or a cosmetic composition for preventing or alleviating atopic dermatitis, all of which contain a fermentation product of Carica papaya Linn. A fermentation product of Carica papaya Linn. according to the present invention, uses Carica papaya Linn., which is a natural product, and thus has few side effects and effectively reduces skin lesions and the number of mast cells, and significantly reduces the levels of intracytoplasmic NF-κB and IκBα, which are involved in the expression of inflammatory genes, and thus is expected to be effectively used in the development of pharmaceuticals, health functional foods, cosmetics and the like for the prevention, alleviation or treatment of atopic dermatitis.

(57) 요약서: 본 발명은 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 아토피 피부염의 예방 또는 개선용 의약품 조성물, 식품 조성물 또는 화장품 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 파파야 발효물은 천연물인 파파야를 이용하여 부작용이 거의 없을 뿐만 아니라, 피부 병변 및 비만 세포 수를 효과적으로 감소시키고, 염증 유발 유전자의 발현에 관여하는 세포질 내의 NF-κB 및 IκBα 수준을 유의하게 감소시켜, 아토피 피부염의 예방, 개선 또는 치료를 위한 의약품, 건강기능식품 및 화장품 등의 개발에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

명세서

발명의 명칭: 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 아토피 피부염의 예방 또는 개선용 의약품 조성물, 식품 조성물 또는 화장품 조성물에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 아토피 피부염 (Atopy dermatitis, AD)은 흔하게 발생하는 만성 염증성 피부 질환으로, 호산구의 수를 증가시키고, 혈청 IgE 수준을 증가시키며, TNF- α , 케모카인 (chemokine) 등을 포함하는 전염증 사이토카인 (proinflammatory cytokine)을 증가시키는 것이 특징이다. 상기 IgE는 비만세포 활성화 (mast cells activation)를 유도하는데, 이에 따라 히스타민 (histamine), IL-4, IL-5, IL-13과 같은 Th2 사이토카인 등을 포함하는 염증매개물질 (inflammatory mediator)이 비만세포로부터 방출된다. IgE의 분비는 아토피 피부염의 가장 중요하며 즉각적인 과민 반응에 해당한다.
- [4] 현재 우리나라 아토피 피부염 환자 수는 2017년 기준 약 100만명 정도로 집계되며, 전세계 아토피 피부염 치료제 시장은 2017년 47억 130만 달러에서 연평균 성장률 4.20%로 증가하여, 2023년에는 55억 5,672만 달러에 이를 것으로 전망된다 (TechNavio, Global Atopic Dermatitis Drugs Market, 2017). 뿐만 아니라, 인간의 아토피 피부염에 해당하는 과민성 피부염을 가진 개, 고양이 등의 반려동물 개체 수 역시 증가하는 추세이다. 개와 고양이의 아토피피부염은 생후 한 살 무렵 긁는 증상으로 시작돼 3세에 이르면 긁는 증상과 더불어 피부발적, 농포와 가피형성 등 전형적인 증상으로 발전하며, 이때 대부분 꾹병이 동반된다고 알려져 있다.
- [5] 한편, 일반적으로 널리 사용되고 있는 스테로이드계 아토피치료제의 경우 그 효과에 비해 높은 부작용 때문에 시장규모가 축소되고 있다. 미국 FDA는 아토피 치료제인 엘리델 (Elidel) 및 프로토픽 (Protopic)에 대해 발암성을 우려하는 경고문 부착을 조치하였으며, 한국 식약처 또한 사용제한 조치를 실시하고 있다. 이에, 스테로이드제제 및 항히스타민제제를 사용하지 않는 천연물 아토피 피부염 치료제의 개발 필요성이 대두되고 있는 실정이다.
- [6] 파파야 (*Carica papaya* Linn.)는 가장 널리 보급되고 널리 재배된 열대 식물 중 하나이며, 전통적으로 영양 및 의약 용도로 사용되어왔다. 문헌에 따르면, 파파야는 심혈관 질환, Dengue fever, 소화 장애, 염증성 질환, 상처 치료, 말라리아 (malaria), 저혈당증 (hypoglycaemia), 고지혈증 (hyperlipidaemia) 등에

효과가 있다고 보고되어 있다. 또한, 파파야는 α -토코페롤 (α -tocopherol), 플라보노이드 (flavonoid), 벤질이소티오시아네이트 (benzylisothiocyanate) 및 라이코펜 (lycopene) 등의 항암 활성을 가진 활성 화합물이 포함되어 있다.

[7]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[8] 이러한 배경 하에, 본 발명자들은 천연물을 이용한 아토피 피부염 치료제를 개발하기 위하여 연구한 결과, 파파야를 유산균으로 발효시켜 수득한 파파야 발효물이 면역반응을 억제함으로써 아토피 피부염을 치료할 수 있음을 확인하여, 본 발명을 완성하였다.

[9] 따라서, 본 발명의 목적은 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 아토피 피부염의 예방 또는 개선용 의약품 조성물, 식품 조성물 및 화장품 조성물을 제공하는 데에 있다.

[10]

과제 해결 수단

[11] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[12] 또한, 본 발명은 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염의 예방 또는 개선용 의약품 조성물을 제공한다.

[13] 또한, 본 발명은 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[14] 또한, 본 발명은 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염 예방 또는 개선용 화장품 조성물을 제공한다.

[15] 또한, 본 발명은 파파야 발효물을 포유동물에 처리하는 단계;를 포함하는 아토피 피부염 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[16] 또한, 본 발명은 파파야 발효물을 포함하는 조성물을 제조하는 단계;를 포함하는 아토피 피부염 예방 또는 치료용 의약품 제조방법을 제공한다.

[17]

발명의 효과

[18] 본 발명에 따른 파파야 발효물은 천연물인 파파야를 이용하여 부작용이 거의 없을 뿐만 아니라, 피부 병변 및 비만 세포 수를 효과적으로 감소시키고, 염증 유발 유전자의 발현에 관여하는 세포질 내의 NF- κ B 및 I κ B α 수준을 유의하게 감소시켜, 아토피 피부염의 예방, 개선 또는 치료를 위한 의약품, 건강기능식품 및 화장품 등의 개발에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

[19]

도면의 간단한 설명

[20] 도 1은 본 발명의 파파야 발효물을 이용한 마우스 실험의 전체적인 실험

프로토콜을 나타낸 도이다.

[21] 도 2는 각 그룹 별 아토피 피부염 개선 정도의 관찰 결과를 사진으로 나타낸 도이다.

[22] 도 3은 각 그룹 별 아토피 피부염 개선 정도의 관찰 결과를 임상 피부 심각도 점수로 정량화하여 나타낸 그래프이다(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs. 대조군; #### $P < 0.001$ vs. DNCB군; \$\$\$ $P < 0.01$ vs. 파파야 발효물 및 DNCB+파파야 발효물군).

[23] 도 4는 본 발명의 파파야 발효물 처리에 따른 아토피 피부염 개선 정도를 조직학적 분석을 통해 관찰한 결과를 나타낸 도이다. 도 4의 A, B 및 C는 각각 H&E, 톨루이딘 블루, 김자 (Giemsa) 염색 결과를 나타낸 도이며, 도 4의 D는 표피층 두께 측정 결과를 나타낸 도이며, 도 4의 E 및 F는 마우스 진피에서의 비만 세포 및 호산구 수를 계수한 결과를 나타낸 도이다(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs. 대조군; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ vs. DNCB군).

[24] 도 5는 본 발명의 파파야 발효물 처리에 따른 마우스의 IgE, IgG 수치변화를 관찰한 결과를 나타낸 도이다. 도 5의 A 및 B는 혈청 IgE, IgG 수치 변화를 나타낸 도이며, 도 5의 C 및 D는 비장 세포의 IgE, IgG 분비량 변화를 나타낸 도이다(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs. 대조군; # $P < 0.05$, #### $P < 0.001$ vs. DNCB군; \$ $P < 0.05$, \$\$\$ $P < 0.001$ vs. 파파야 발효물 및 DNCB+파파야 발효물군).

[25] 도 6은 본 발명의 파파야 발효물 처리에 따른 IL-10, IFN- γ 및 염증성 단백질 발현량 변화를 관찰한 결과를 나타낸 도이다. 도 6의 A, B, D 및 E는 각각 IL-10, IFN- γ , NF- κ B 및 I κ B α 발현량 변화를 나타낸 도이며, 도 6의 C는 NF- κ B 및 I κ B α 에 대한 웨스턴 블롯 결과를 나타낸 도이다(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. 대조군; # $P < 0.05$, ### $P < 0.01$ vs. DNCB군).

[26]

발명의 실시를 위한 형태

[27] 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.

[28] 본 발명은 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[29] 본 발명에 있어서, "아토피 피부염" 또는 "아토피 피부질환"이란 주로 유아기 혹은 소아기에 시작되는 만성적이고 재발성의 염증성 피부질환으로 소양증(가려움증)과 피부건조증, 특징적인 습진을 동반하는 피부질환을 일컫는다. 유아기에는 얼굴과 팔다리의 펼쳐진 쪽 부분에 습진으로 시작되지만, 성장하면서 특징적으로 팔이 굽혀지는 부분과 무릎 뒤의 굽혀지는 부위에 습진의 형태로 나타나게 되며, 많은 경우에 성장하면서 자연히 호전되는 경향을 보인다. 성인의 경우 접히는 부위 피부가 두꺼워지는 태선화(lichenification)가 나타나고, 유소아기에 비해 얼굴에 습진이 생기는 경우가 많다.

[30] 본 발명에서 용어 "치료"란 조성물의 투여 또는 도포로 아토피 피부염 증세를

호전시키거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다. 본원이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면, 대한의학협회 등에서 제시된 자료를 참조하여 아토피 피부염 또는 본원의 조성물이 효과가 있는 질환의 정확한 기준을 알고, 개선, 향상 및 치료된 정도를 판단할 수 있을 것이다.

- [31] 본 발명에서 용어 "예방"은 본원에 따른 조성물의 투여로 본 조성물이 효과가 있는 질환의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다. 아토피 피부염 치료에 효과가 있는 본원의 조성물은 관련 질환의 초기 증상, 또는 나타나기 전에 복용할 경우 이러한 질환을 예방할 수 있다는 것은 당업자에게 자명할 것이다.
- [32] 아토피 피부염이 환경 오염, 스트레스 및 주거환경 등의 변화로 성인으로 확산될 뿐만 아니라 피부 건조증을 호소하는 노인 인구의 증가로 인해 아토피 시장은 급속도로 커지고 있다. 또한, 현재 다양한 종류의 피부질환 치료제가 시판되고 있으나, 이러한 약제의 대부분은 그 약용성분이 인공적으로 합성된 것으로 장기간 사용 시 심각한 부작용을 초래하거나 병원균의 내성을 유발하여 기대하는 치료효과를 얻지 못하는 한계가 있어, 천연물 소재로부터 피부질환 개선용 기능성 제품을 제조하는 기술의 경제적, 산업적 중요성은 매우 크다고 할 것이다. 이에, 본 발명자들은 천연물인 파파야 및 석류열매를 유산균으로 발효시켜 파파야 발효물을 제조하고, 이의 아토피 피부염에 대한 우수한 치료 효과를 확인하여 본 발명을 완성하였다.
- [33] 본 발명에 있어서, 상기 파파야 발효물은 파파야 추출물 및 석류열매 혼합물의 발효물일 수 있으며, 파파야 추출물 및 석류열매 혼합물 100 중량부에 대하여 유산균을 1 내지 10 중량부, 바람직하게는 1 내지 5 중량부, 보다 바람직하게는 1 내지 3 중량부, 가장 바람직하게는 2 중량부로 접종하고, 이를 발효시켜 제조된 것을 특징으로 할 수 있다.
- [34] 또한, 상기 파파야 추출물 및 석류열매 혼합물은 파파야 추출물 및 석류열매를 혼합한 후, 상기 혼합된 파파야 추출물 및 석류열매와 동일한 무게로 프락토올리고당을 첨가하여 고르게 섞어 제조한 것일 수 있다. 즉, 상기 파파야 추출물 및 석류열매 혼합물은 파파야 추출물, 석류열매 및 프락토올리고당을 1:1:2 (w/w)의 비율로 혼합하여 제조한 것일 수 있다.
- [35] 상기 발효는 25°C 내지 40°C에서 1일 내지 5일간 수행하는 것일 수 있으며, 바람직하게는 30°C 내지 40°C에서 2일 내지 4일간 수행하는 것일 수 있고, 본 발명의 일 실시예에서는 37°C에서 3일간 발효시켜 본 발명에 따른 파파야 발효물을 제조하였다.
- [36] 본 발명에서 용어 "파파야 추출물"은 파파야, 바람직하게는 파파야 잎과 열매를 추출하여 수득한 추출물을 의미하는데, 본 발명의 목적상, 상기 파파야 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출된 것을 특징으로 한다. 이때, 상기 물은 90°C 내지 130°C의 열수일 수 있고, 바람직하게는 100°C 내지 120°C, 보다 바람직하게는 105°C 내지 115°C의 열수일 수 있다. 열수

추출법은 스테로이드 계열과 지용성 비타민, 단백질 계열 물질의 추출을 피할 수 있고, 추출 과정 또한 유기용매에 비해 간단하고 소요되는 시간 또한 짧아 유기용매 추출법에 비해 이점이 매우 많다. 또한, 본 발명에 있어서, 상기 추출물에는 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 또는 이들 조정제물 또는 정제물 중 어느 하나도 포함될 수 있다.

- [37] 본 발명에 있어서, 상기 파파야 추출물은 파파야의 잎, 줄기, 뿌리 및 열매로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상으로부터 추출된 것일 수 있으며, 바람직하게는 파파야의 잎, 열매 또는 잎과 열매의 혼합으로부터 추출된 것을 사용할 수 있다.
- [38] 본 발명에 있어서, 상기 파파야 추출물 및 식류열매에 접종하는 상기 유산균은 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 카제이 (*Lactobacillus casei*), 락토바실러스 플란타룸 (*Lactobacillus plantarum*), 락토바실러스 불가리쿠스 (*Lactobacillus bulgaricus*), 락토바실러스 락티스 (*Lactobacillus lactis*), 락토바실러스 퍼멘텀 (*Lactobacillus fermentum*), 비피도박테리움 비피덤 (*Bifidobacterium bifidum*), 사카로마이세스 세레비지에 (*Saccharomyces cerevisiae*) 및 사카로마이세스 보울라디 (*Saccharomyces boulardii*)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 할 수 있으며, 바람직하게는 상기 유산균 모두를 접종하여 본 발명에 따른 파파야 발효물을 수득할 수 있다.
- [39] 본 발명에 따른 파파야 발효물을 포함하는 조성물은 식물성 글리세린을 더 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다. 상기 식물성 글리세린은 당업자가 발명의 목적에 맞추어 적당량 추가할 수 있으며, 예컨대 파파야 발효물 94 내지 96 중량부 및 식물성 글리세린 4 내지 6 중량부로 혼합하여 사용할 수 있다. 식물성 글리세린 외에도, 본 발명에 따른 파파야 발효물을 포함하는 조성물은 여러가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등의 첨가제를 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있으며, 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 파파야 발효물 100 중량부 당 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [40] 또한, 상기 약학적 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있다. 바람직하게 상기 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 경피흡수제, 겔제, 로션제, 연고제, 크림제, 첩부제, 카타플라스마제, 페이스트제, 스프레이, 피부 유화액, 피부 현탁액, 경피 전달성 패치, 약물 함유 붕대 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있으며, 경구 또는 비경구의

여러 가지 제형일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [41] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스 (sucrose) 또는 락토오스 (lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜 (propyleneglycol), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔 (witepsol), 마크로콜, 트윈 61 (tween 61), 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [42] 본 발명의 약학적 조성물은 개, 고양이, 쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 경구 또는 비경구 등의 다양한 경로로 투여할 수 있으며, 예컨대 경구, 직장, 정맥, 근육, 피하, 자궁 내, 경막하, 뇌 내 또는 뇌실 내 주사에 의해 투여할 수 있다. 상기 약학적 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 보다 효과적인 예방 또는 치료를 위하여, 본 발명의 파파야 발효물은 1일 0.0001 내지 100 mg/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 100 mg/kg으로 투여함이 바람직하고, 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다.
- [43] 한편, 본 발명에 따른 약학적 조성물은 특히 아토피 피부염 (또는 과민성 피부염)을 가진 개, 고양이 등 반려동물에 적용될 수 있음을 특징으로 한다.
- [44] 또한, 본 발명은 파파야 발효물을 포유동물에 처리하는 단계;를 포함하는 아토피 피부염 예방 또는 치료방법을 제공한다.
- [45] 또한, 본 발명은 파파야 발효물을 포함하는 조성물을 제조하는 단계;를 포함하는 아토피 피부염 예방 또는 치료용 의약품 제조방법을 제공한다.
- [46] 또한, 본 발명은 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염의 예방 또는 개선용 의약외품 조성물을 제공한다.
- [47] 본 발명에 있어서, "의약외품"은 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용하는 물품 중 기구, 기계 또는 장치가 아닌 것 및 사람이나 동물의 구조와 기능에 약리학적 영향을 줄 목적으로 사용하는 물품 중 기구, 기계 또는 장치가 아닌 것을 제외한 물품을 의미한다.
- [48] 상기 의약외품 조성물은 특별히 이에 제한되지는 않으나, 바람직하게는

소독청결제, 샤워폼, 가그린, 물티슈, 세제비누, 핸드워시, 가슴기 충전제, 마스크, 연고제 또는 필터충진제일 수 있다. 또한, 상기 의약외품 조성물은 피부 외용제 및 개인위생용품을 포함할 수 있다. 상기 피부 외용제는 특별히 이에 제한되지 않으나, 바람직하게는 연고제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 크림제, 산제, 현탁제, 겔제 또는 젤의 형태로 제조되어 사용될 수 있으며, 상기 개인위생용품은 특별히 이에 제한되지 않으나, 바람직하게는 비누, 화장품, 물티슈, 휴지, 샴푸, 피부 크림, 얼굴 크림, 치약, 립스틱, 향수, 메이크-업, 파운데이션, 볼터치, 마스크라, 아이섀도우, 선스크린 로션, 모발 손질 제품, 에어프레쉬너 젤, 세정 젤 등이 될 수 있다.

- [49] 또한, 본 발명은 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [50] 본 발명에 있어서, "식품 조성물"은 통상적인 의미의 식품을 모두 포함할 수 있으며, 기능성 식품, 건강기능식품 등 당업계에 알려진 용어와 혼용 가능하다.
- [51] 본 발명의 파파야 발효물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 파파야 발효물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상의 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 사용 목적 (예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적절하게 결정될 수 있으며, 식품학적으로 허용가능한 식품 보조 첨가제를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 천연물로부터 유래한 물질을 유효성분으로 하므로 안정성 면에서 문제가 없어 혼합량에 큰 제한은 없다.
- [52] 본 발명에 있어서, "기능성 식품"은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.
- [53] 또한, 본 발명에 있어서, "건강기능식품"은 건강보조의 목적으로 특정성분을 원료로 하거나 식품 원료에 들어있는 특정성분을 추출, 농축, 정제, 혼합 등의 방법으로 제조, 가공한 식품을 말한다.
- [54] 본 발명의 파파야 발효물이 사용될 수 있는 식품의 종류에는 제한이 없다. 아울러 본 발명의 파파야 발효물을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물은 당업자의 선택에 따라 식품에 함유될 수 있는 적절한 기타 보조 성분과 공지의 첨가제를 혼합하여 제조할 수 있다. 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 본 발명에 따른 파파야 발효물을 주성분으로 하여 제조한 즙, 차, 젤리 및 주스 등에 첨가하여 제조할 수 있다.
- [55] 또한, 본 발명에 적용될 수 있는 식품에는 예컨대, 특수영양식품 (예: 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류 (예: 라면류, 국수류

등), 건강보조식품, 조미식품 (예: 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류 (예: 스낵류), 유가공품 (예: 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품 (각종 김치류, 장아찌 등), 음료 (예: 과일, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료 (예, 라면스프 등) 등 모든 식품을 포함할 수 있다.

[56] 본 발명의 건강기능식품 조성물이 음료의 형태로 사용될 경우에는 통상의 음료와 같이 여러 가지 감미제, 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 외에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[57] 또한, 본 발명은 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[58] 본 발명에 따른 파파야 발효물은 체내에 안전한 천연물질로, 유연화장수, 수렴화장수, 영양화장수, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 아이크림, 아이에센스, 클렌징크림, 클렌징폼, 클렌징 워터, 팩, 파우더, 바디로션, 바디크림, 바디오일, 바디에센스, 메이크업 베이스, 파운데이션, 염모제, 샴푸, 린스 또는 바디 세정제 등으로 제형화 될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[59] 화장료 조성물로 사용시, 피부 외용제 또는 화장료의 제형에 맞게 물질을 더 첨가할 수 있다. 예를 들어, 이에 한정되는 것은 아니나 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있고, 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있으며, 특히, 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드록카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다. 또한 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되는데, 바람직하게는 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리오시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리오시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소 결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있으며, 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트,

이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아마이드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[60]

[61] 상술한 본 발명의 내용은 상호 모순되지 않는 한, 서로 동일하게 적용되며, 당해 기술분야의 통상의 기술자가 적절한 변경을 가해 실시하는 것 또한 본 발명의 범주에 포함된다.

[62]

[63] 이하 본 발명을 실험에 및 실시예를 통해 상세하게 설명하나 본 발명의 범위가 하기 실험에 및 실시예로만 한정되는 것은 아니다. 모든 데이터는 평균±표준 오차(SEM)로 나타내었다.

[64]

[65] **실시예 1. 실험 준비 및 방법**

[66] **1-1. 파파야 발효물의 제조**

[67] 파파야 추출물 및 식류열매를 각각 1:1 (w/w)의 비율로 혼합하고, 프락토올리고당을 상기 혼합된 파파야 추출물 및 식류열매와 동일한 무게로 첨가하여 고르게 섞어주었다. 상기 혼합물을 분쇄기로 잘게 분쇄하여 파파야 청을 제조하였다. 이후, 제조한 파파야 청 100 중량부에 대하여 유산균을 2 중량부로 접종하고, 유산균은 총 9종 유산균을 동량으로 혼합하여 6×10^8 cfu/mL가 되도록 37°C에서 3일간 배양하여 파파야 발효물을 제조하였다. 상기 파파야 발효물은 동결 건조한 후 사용하기 전까지 4°C에 보관하였다. 파파야 발효물의 제조에 사용된 유산균은 다음과 같다: 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*; KCCM 32820), 락토바실러스 카제이 (*Lactobacillus casei*; KCCM 12452), 락토바실러스 플란타룸 (*Lactobacillus plantarum*; KCCM 11322), 락토바실러스 불가리쿠스 (*Lactobacillus bulgaricus*; KCCM 35463), 락토바실러스 락티스 (*Lactobacillus lactis*; KCCM 34717), 락토바실러스 퍼멘텀 (*Lactobacillus fermentum*; KCCM 40400), 비피도박테리움 비피덤 (*Bifidobacterium bifidum*; KCCM12096), 사카로마이세스 세레비지에 (*Saccharomyces cerevisidae*; KCCM 11215) 및 사카로마이세스 보울라디 (*Saccharomyces boulardii*; ATCC MYA-796).

[68]

파파야 추출물은 파파야 잎과 열매의 추출물로, STRAYA NATURAL Pharm (Sydney, Australia)에서 구매하였다. 식류 열매는 시중에서 구매하여 사용하였다. 한편, 상기 제조한 파파야 발효물은 식물성 글리세린을 더 포함한 형태로 사용될 수 있다. 예를 들어, 파파야 발효물 94 내지 96 중량부 및 식물성 글리세린 4 내지 6 중량부로 혼합하여 파파야 발효물을 제품화할 수 있다. 상기와 같이 제조된 파파야 발효물을 이하 실험에 사용하였다.

[69]

[70] **1-2. 동물군 설정 및 아토피 피부염 유도**

[71] 동물 실험은 서울대학교 동물실험윤리위원회 (Seoul National University Institutional Animal Care of Use Committee)의 승인을 받아 수행하였다 (SNU-160322-6). 6주령의 암컷 BALB/c 마우스를 중앙실험동물 (Jungang Lab Animal, Inc.)에서 구입하여 $22 \pm 20^{\circ}\text{C}$ 에서 12시간의 명암 주기로 사육하고 물과 음식을 자유급여하였다. 마우스들은 실험 시작하기 앞서 1주일간 상기 조건으로 적응시켰다. DNCB (2,4-Dinitrochlorobenzene, 2,4-디니트로클로로벤젠)는 Sigma-Aldrich Co. (St.Louis, MO, USA)에서 구입하고 PBS에 용해시켜 사용하였다.

[72] 마우스를 정상 (그룹 1), DNCB (그룹 2), 파파야 발효물 (그룹 3) 및 DNCB + 파파야 발효물 100 μl (그룹 4)의 4그룹으로 나누어 실험을 수행하였다. 아토피 피부염 (AD) 동물모델을 제조하기 위하여, 2 x 2cm 패치를 사용하여 2주 동안 면도된 마우스의 등쪽 피부에 2% DNCB 100 μl 를 반복적으로 처리하였다. AD 유도 3주 후, 2% DNCB 100 μl 를 한번 더 처리하였다. 마지막으로, DNCB 처리와 함께 파파야 발효물을 2주 동안 급여하였다. 파파야 발효물은 음수에 녹여 급여하였다. 전체적인 실험 프로토콜을 도 1에 나타내었다.

[73] 임상 피부의 심각도는 4가지 증상인 홍반/출혈 (erythema/hemorrhage), 부종 (edema), 깃무름 (erosion) 및 건조 (dryness)에 대하여 0-3점으로 각각 부여된 점수의 합으로 정의하였다(0, 없음; 1, 약함; 2, 보통; 3, 심각함). 각 그룹 별 아토피 피부염 개선 정도의 관찰 결과 및 임상 피부 심각도 점수를 도 2 및 도 3에 나타내었다.

[74]

[75] **1-3. 조직학 및 면역조직화학 (immunohistochemistry, IHC)적인 관측**

[76] 병리조직학적 관측을 위하여 각 군의 등 쪽 피부 샘플을 Tissue-Tek optimal cutting temperature (OCT) 용액 (Leica, USA)에 담근 후 냉장 보관하였다. 20 μm 두께로 절편을 제작하고 염증성 세포 (inflammatory cells) 또는 비만 세포(mast cells)를 각각 검출하기 위하여 헤마톡실린 및 에오신 (Hematoxylin & Eosin, H&E) 또는 톨루이딘 블루 (toluidine blue, TB) 및 김자 염색약 (Giemsa stain)으로 염색하였다. 염증성 세포 및 비만 세포는 총 10 구역의 40x, 400x 및 1000x의 고배율 시야 (high-power fields, HPF)(250 μm x 250 μm)에서 계수하여 cells/HPFs로 나타내었다. 또한, image analyzer를 사용하여 표피층의 두께를 측정하였다. 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[77]

[78] **1-4. 효소면역측정법(Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA)**

[79] 희생된 마우스로부터 수집한 혈액 샘플을 5000 rpm으로 30분 동안 원심분리하여 상층액을 분리하고 사용시까지 -80 $^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다. 혈청 IgE, IgG의 양은 샌드위치 ELISA (eBioscience, San Diego, CA, USA)를 이용하여 측정하였다. 구체적으로, 마이크로타이터 플레이트 (microtiter plate)에

모노클로날 항-마우스 IgE, IgG 1차 항체를 분주한 후 단계적으로 희석된 마우스 IgE, IgG, HRP (horseradish peroxidase) 결합된 모노클로날 항-마우스 IgE, IgG 2차 항체 및 마우스에서 채혈한 혈청을 차례대로 첨가하여 배양시켰다. Bio-Rad 마이크로플레이트 리더를 사용하여 OD를 450nm에서 측정하였다. 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[80]

[81] **1-5. 실시간 중합효소 연쇄반응(Real-time Polymerase Chain Reaction, qPCR)**[82] 총 RNA는 제조사의 지시에 따라 TRIzol 시약 (Invitrogen Life Technologies, Grand Island, NY, USA)을 사용하여 수집하였다. 총 RNA의 양 및 정제는 나노드롭 리더 (Nanodrop reader)를 사용하여 수행되었다. cDNA 합성 키트 (TaKaRa, Japan)를 사용하여 각 샘플의 총 세포 RNA 1 μ g을 역전사시키고, SYBR green iMaster 및 CFX 96 Real-Time System을 사용하여 정량적 PCR을 수행하였다. 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[83]

[84] **1-6. 웨스턴 블롯 분석(Western blot analysis)**[85] 비장 조직을 균질화하고 용해시켰다. 단백질 농도는 Pierce®BCA 단백질 분석 키트 (Thermo scientific, Rockford, IL 61101 USA)를 사용하여 측정하였다. 각 웰에 단백질 25 μ g을 로딩하고, 1-2시간 동안 100-250V 조건으로 10-15% SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) 젤을 사용하여 단백질을 분리한 후 i-Blot (Life Technology, Carlsbad, CA)을 사용하여 7분 동안 막으로 이동시켰다. 그 후, 5% 탈지유에서 1시간 동안 블로킹 (blocking) 후, 막을 IkB α 및 p65 NF- κ B (Santa Cruz Biotech., Santa Cruz, CA)의 1차 항체와 함께 배양한 다음 실온에서 2시간 동안 HRP (horseradish peroxidase) 결합된 2차 항체 (5% skimmed milk 용액에서 1:1000로 희석)와 함께 배양시켰다. 막을 세척한 후, ATTO CS image analyzer 3.0(ATTO, Tokyo, Japan)을 사용하여 단백질 밴드(band)의 강도를 정량화하였다. 대조군으로는 GAPDH (Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase)를 사용하였다. 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[86]

[87] **실시예 2. 결과**[88] **2-1. DNCB에 의해 유발된 BALB/c 마우스의 아토피 피부염 증상에 대한 파파야 발효물의 효과**

[89] 2주 동안 마우스의 등쪽 피부에 DNCB를 반복적으로 적용한 결과, 아토피 피부염 (Atopy dermatitis, AD) 유사한 피부 병변이 발생함을 확인하였다 (도 2). DNCB에 의해 유발된 BALB/c 마우스의 AD 증상에 대한 파파야 발효물의 효과를 평가하기 위하여 피부염 점수를 계산하였다. 대조군과 비교해 보았을 때, DNCB 처리군에서 피부염 점수 (dermatitis score)가 평균 5점에 가까워짐에 따라 홍반/출혈, 부종, 빗무름 및 건조와 같은 임상 증상이 확실해짐을 확인하였다.

한편, DNCB+파파야 발효물 처리군의 경우 AD 대조군과 비교하여 AD 유사한 피부 병변의 발생이 유의하게 개선되고, 홍반/출혈, 부종, 빗무름 및 건조에 대한 피부염 점수 또한 현저히 감소된 것을 확인하였다 (도 3).

- [90] 조직학적 분석 결과 DNCB 처리군의 피부는 대조군과 비교하여 아토피성 피부염에서 나타나는 현저한 표피 과각화증 (epidermal hyperplasia)을 나타냄을 확인하였다. DNCB+파파야 발효물을 처리한 군에서는 확연한 표피층 두께 감소를 나타내어, 본 발명에 따른 파파야 발효물은 표피 과각화증을 효과적으로 개선시킬 수 있음을 확인하였다(도 4의 D). 또한, H&E, 톨루이딘 블루 및 Giemsa 염색 결과에서는 DNCB 처리된 마우스의 진피 (dermis)에서 비만 세포 (mast cell) 수 및 호산구 (eosinophils)의 수가 대조군에 비하여 현저히 증가하며, 이와 같은 염증성 세포의 증가는 본 발명에 따른 파파야 발효물 처리에 따라 유의하게 억제됨을 확인하였다 (도 4의 E, F). 비만 세포의 탈과립에 의하여 분비되는 히스타민은 소양감의 주요한 원인으로 작용하여 피부장벽을 손상시키고 피부 염증을 유발함으로써 아토피성 피부염의 진행에 주요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 따라서, 상기 결과를 통해 본 발명에 따른 파파야 발효물은 비만 세포의 수를 감소시킴으로써 소양감을 감소시키는데 현저한 효과가 있음을 확인하였다.

[91]

- [92] **2-2. DNCB에 의해 유발된 BALB/c 마우스의 IgE, IgG 수치에 대한 파파야 발효물의 효과**

- [93] 아토피성 피부염은 IgE 항체 반응을 증가시키고, 이는 IgE 의존성 히스타민 유리체의 활동성을 증가시켜 히스타민 분비를 촉진시키며, 히스타민 등은 호산구의 침윤을 유도하고 급성 과민반응과 소양감을 유발하게 된다. 이에, 혈청 IgE 수치는 아토피 피부염 지표로 알려져 있으며, 특히 IgE는 임상적 중증도와 밀접한 상관관계를 가진 것으로 알려져 있다. 나아가, 혈청 IgE 및 IgG 수치는 Th1 또는 Th2 면역과 관련이 있다고 알려져 있다.

- [94] 아토피 피부염에 대한 본 발명에 따른 파파야 발효물의 효과를 평가하기 위하여 혈청 및 비장 세포에서의 IgE 및 IgG 수치를 측정하였다. 혈청 IgE 및 IgG의 수치는 대조군에 비하여 DNCB 처리군에서 현저하게 증가하였으며, 반면 비장 세포에서 파파야 발효물 처리군은 DNCB 처리군 대비 IgE 및 IgG 수치가 현저히 감소됨을 확인하였다 (도 5). 상기 결과를 통해, 본 발명에 따른 파파야 발효물은 비장 세포에서 IgE 및 IgG 분비량을 현저히 감소시킬 수 있으며, 이를 통해 아토피 피부염 억제에 효과가 있음을 확인하였다.

[95]

- [96] **2-3. IL-10, IFN- γ 및 염증성 단백질 발현에 대한 파파야 발효물의 효과**

- [97] 본 발명에 따른 파파야 발효물이 Th1 및 Th2 면역에 미치는 영향을 평가하기 위하여 비장에서의 IL-10 및 IFN- γ mRNA의 발현 정도를 관찰하였다. 그 결과, DNCB 처리에 의해 IL-10 mRNA의 발현이 현저히 증가하였고, IFN- γ mRNA는

대조군에 비해 DNCB 처리군에서 현저히 감소함을 확인하였다 (도 6의 A, B). NF- κ B 및 I κ B α 의 경우, DNCB 처리에 의해 발현량이 현저히 증가하였다가 파파야 발효물 처리에 의해 발현량이 현저히 감소함을 확인하였다 (도 6의 D, E). 또한, 웨스턴 블롯 결과, DNCB 처리군은 대조군에 비해 NF- κ B 및 I κ B α 수치가 높았으며 ($p < 0.01$), DNCB+파파야 발효물 투여군은 AD 대조군에 비하여 NF- κ B 및 I κ B α 수치가 유의하게 감소함을 확인하였다 (도 6의 C). NF- κ B 및 I κ B α 의 활성화는 전염증성 케모카인 (proinflammatory chemokine)의 발현을 유도하는 바, 상기 결과를 통해 본 발명에 따른 파파야 발효물은 전염증성 케모카인 발현을 억제시켜 아토피 피부염을 개선 또는 치료할 수 있음을 확인하였다.

[98]

[99] 상기와 같이, 본 발명자들은 본 발명에 따른 파파야 발효물이 피부 병변 및 비만 세포 수를 효과적으로 감소시키고, 염증 유발 유전자의 발현에 관여하는 세포질 내의 NF- κ B 및 I κ B α 수준을 유의하게 감소시킴을 실험을 통해 확인하였다. 특히, 아토피 피부염 마우스 모델을 사용하여 *in vivo*에서 상기 파파야 발효물이 세포 독성 없이 아토피 피부염을 효과적으로 개선할 수 있음을 확인하였다. 따라서 본 발명에 따른 파파야 발효물은 아토피 피부염의 예방, 개선 또는 치료를 위한 의약품, 건강기능식품 및 화장품 등의 개발에 유용하게 이용될 수 있다.

[100]

[101] 이하 본 발명의 파파야 발효물을 유효성분으로 포함하는 아토피 피부염 예방 또는 치료용 약학적 조성물 또는 아토피 피부염 개선용 식품 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[102]

[103]

[104] 제제예 1. 약학적 제제의 제조

[105] **1-1. 산제의 제조**

[106] 파파야 발효물 200 mg

[107] 유당 100 mg

[108] 탈크 10 mg

[109] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

[110]

[111] **1-2. 정제의 제조**

[112] 파파야 발효물 100 mg

[113] 옥수수전분 100 mg

[114] 유당 100 mg

[115] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[116] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[117]

[118] **1-3. 캡슐제의 제조**

[119] 파파야 발효물 100 mg

[120] 결정성 셀룰로오스 3 mg

[121] 락토오스 14.8 mg

[122] 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

[123] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

[124]

[125] **1-4. 주사제의 제조**

[126] 파파야 발효물 100 mg

[127] 만니톨 180 mg

[128] 주사용 멸균 증류수 2974 mg

[129] $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 26 mg

[130] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2mℓ) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

[131]

[132] **1-5. 액제의 제조**

[133] 파파야 발효물 200 mg

[134] 이성화당 10 g

[135] 만니톨 5 g

[136] 정제수 적량

[137] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 100mℓ로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.

[138]

[139] **제제예 2. 식품 제제의 제조**[140] **2-1. 건강식품의 제조**

[141] 파파야 발효물 100 mg

[142] 비타민 혼합물 적량

[143] 비타민 A 아세테이트 70 g

[144] 비타민 E 1.0 mg

[145] 비타민 B1 0.13 mg

[146] 비타민 B2 0.15 mg

[147] 비타민 B6 0.5 mg

[148] 비타민 B12 0.2 g

[149] 비타민 C 10 mg

[150] 비오틴 10 g

- [151] 니코틴산아미드 1.7 mg
- [152] 엽산 50 g
- [153] 판토텐산 칼슘 0.5 mg
- [154] 무기질 혼합물 적량
- [155] 황산제1철 1.75 mg
- [156] 산화아연 0.82 mg
- [157] 탄산마그네슘 25.3 mg
- [158] 제1인산칼륨 15 mg
- [159] 제2인산칼슘 55 mg
- [160] 구연산칼륨 90 mg
- [161] 탄산칼슘 100 mg
- [162] 염화마그네슘 24.8 mg
- [163] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 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.

[164]

[165] **2-2. 건강음료의 제조**

- [166] 파파야 발효물 100 mg
- [167] 비타민 C 15 g
- [168] 비타민 E (분말) 100 g
- [169] 젖산철 19.75 g
- [170] 산화아연 3.5 g
- [171] 니코틴산아미드 3.5 g
- [172] 비타민 A 0.2 g
- [173] 비타민 B1 0.25 g
- [174] 비타민 B2 0.3 g
- [175] 물 정량
- [176] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85°C에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

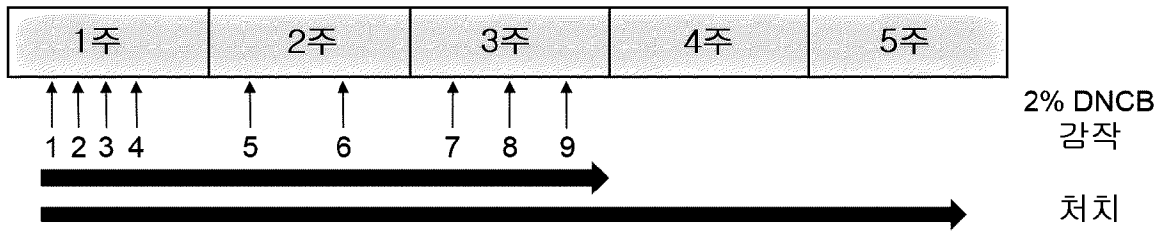
[177]

- [178] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

청구범위

- [청구항 1] 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 파파야 발효물은 파파야 추출물 및 석류열매 혼합물의 발효물인 것을 특징으로 하는, 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 파파야 발효물은 파파야 추출물 및 석류열매 혼합물 100 중량부에 대하여 유산균을 1 내지 10 중량부로 접종하고, 이를 발효시켜 제조된 것을 특징으로 하는, 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 파파야 추출물 및 석류열매 혼합물은 파파야 추출물, 석류열매 및 프락토올리고당을 1:1:2 (w/w)의 비율로 혼합한 것을 특징으로 하는, 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 5] 제3항에 있어서, 상기 발효는 25 내지 40°C에서 1일 내지 5일 동안 이루어지는 것을 특징으로 하는, 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 6] 제3항에 있어서, 상기 유산균은 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 카제이 (*Lactobacillus casei*), 락토바실러스 플란타룸 (*Lactobacillus plantarum*), 락토바실러스 불가리쿠스 (*Lactobacillus bulgaricus*), 락토바실러스 락티스 (*Lactobacillus lactis*), 락토바실러스 퍼멘텀 (*Lactobacillus fermentum*), 비피도박테리움 비피둠 (*Bifidobacterium bifidum*), 사카로마이세스 세레비지에 (*Saccharomyces cerevisidae*) 및 사카로마이세스 보울라디 (*Saccharomyces boulardii*)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 7] 제1항에 있어서, 상기 조성물은 식물성 글리세린을 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 8] 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염의 예방 또는 개선용 의약품 조성물.
- [청구항 9] 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 10] 파파야 발효물을 포함하는 아토피 피부염 예방 또는 개선용 화장품 조성물.
- [청구항 11] 파파야 발효물을 포유동물에 처리하는 단계;를 포함하는 아토피 피부염 예방 또는 치료방법.

[도1]

면도
↓희생
↓

[도2]

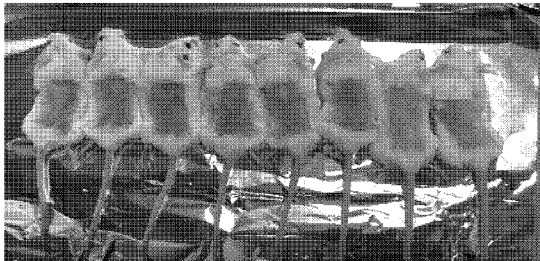
대조군

DNCB

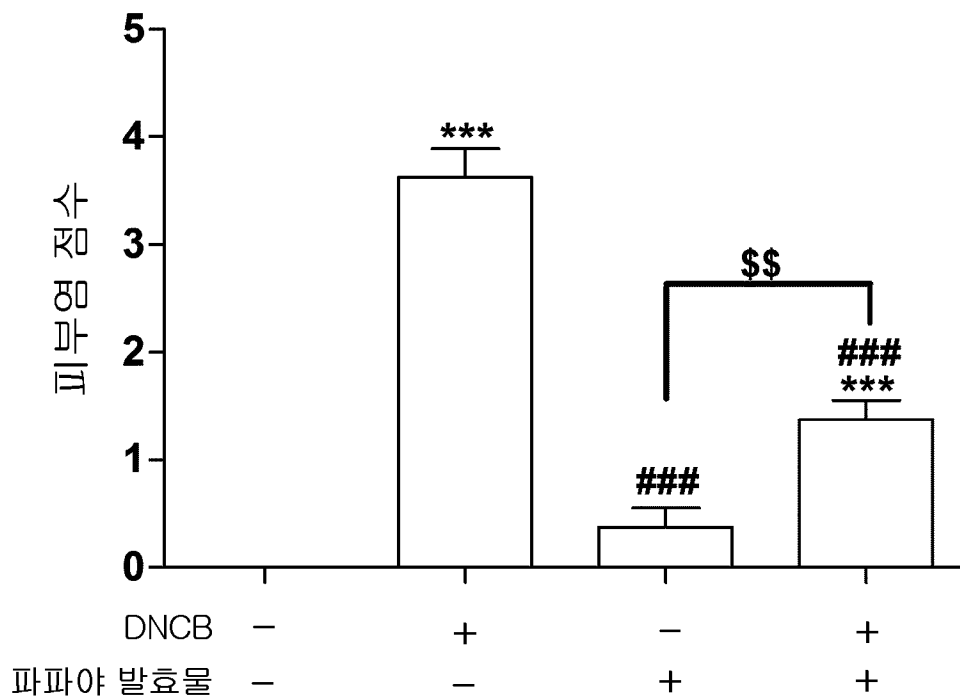


파파야 잎

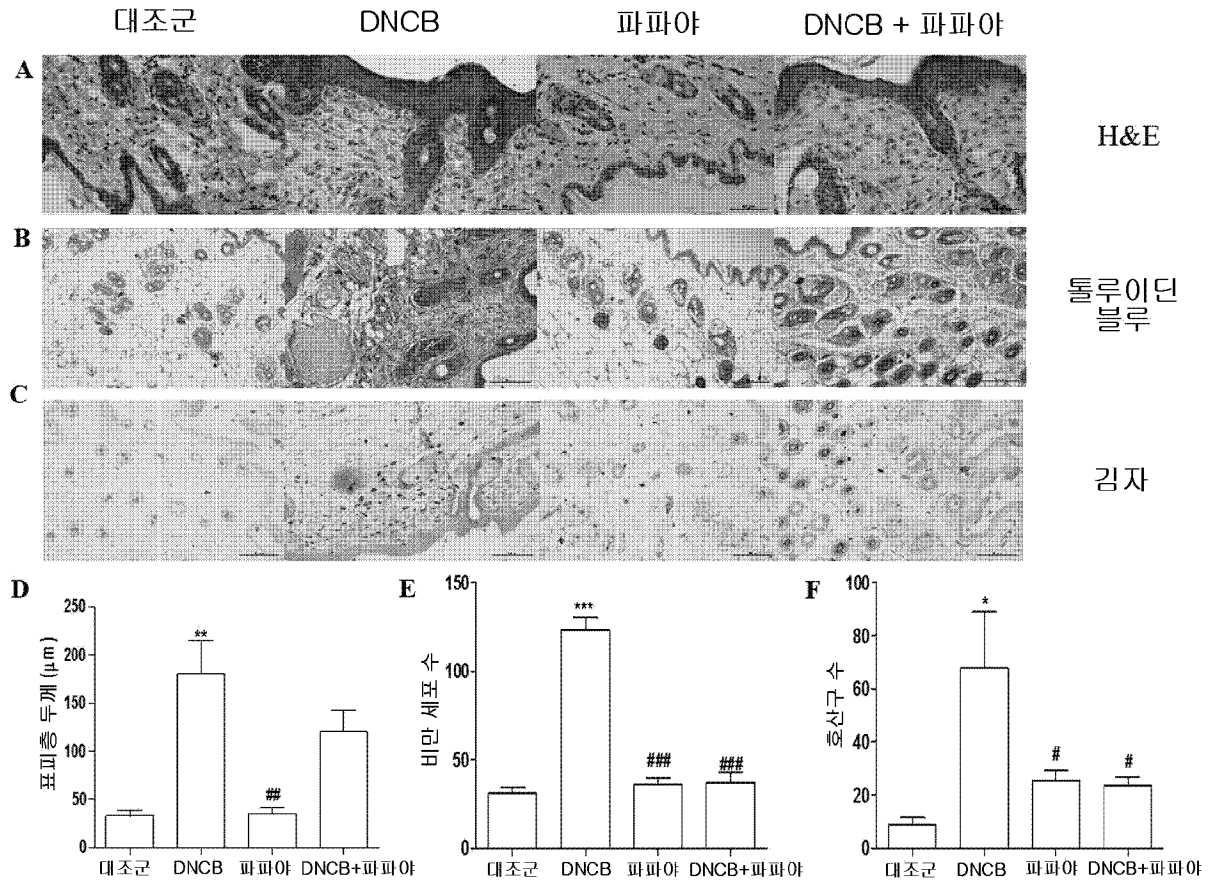
DNCB + 파파야 잎



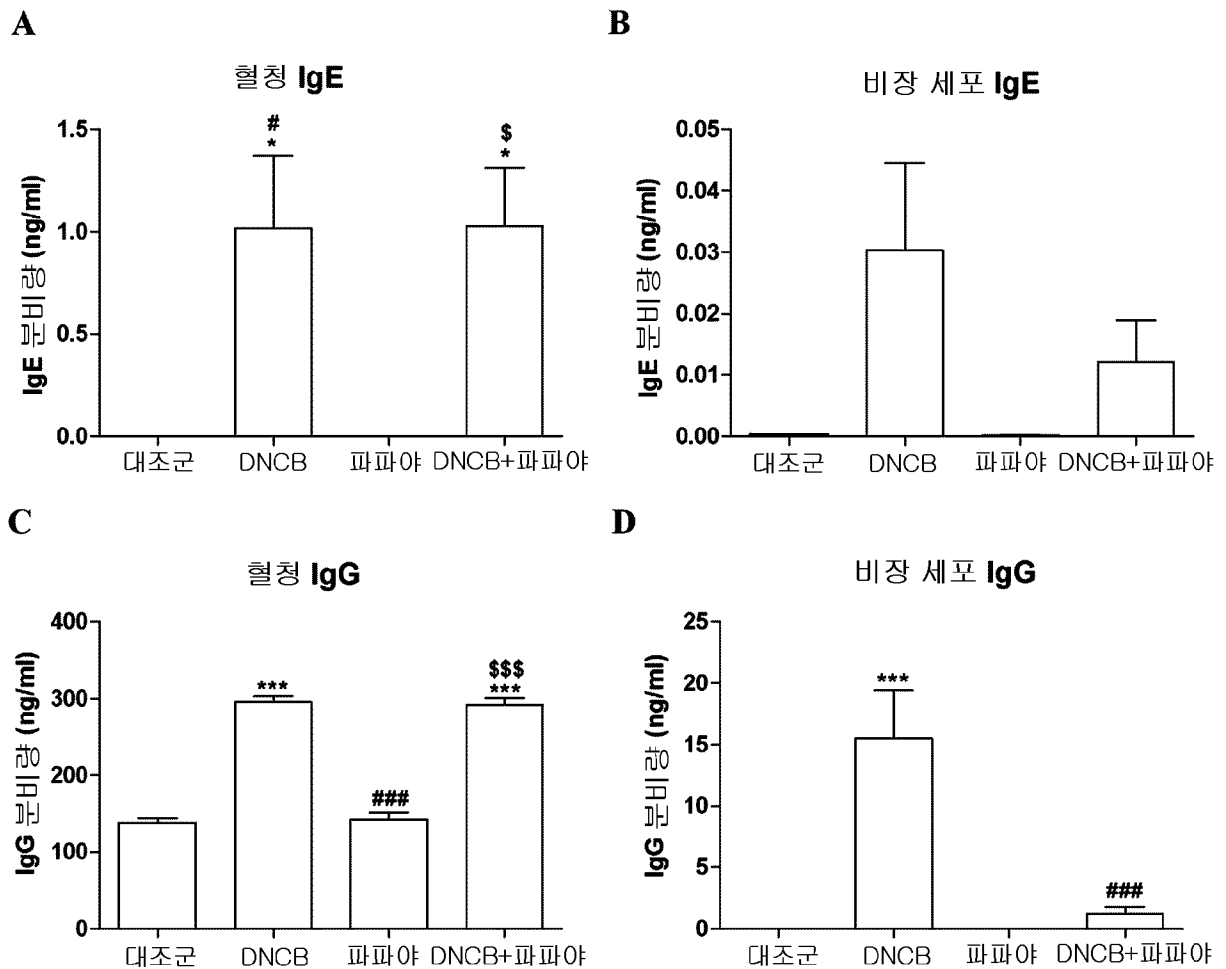
[도3]



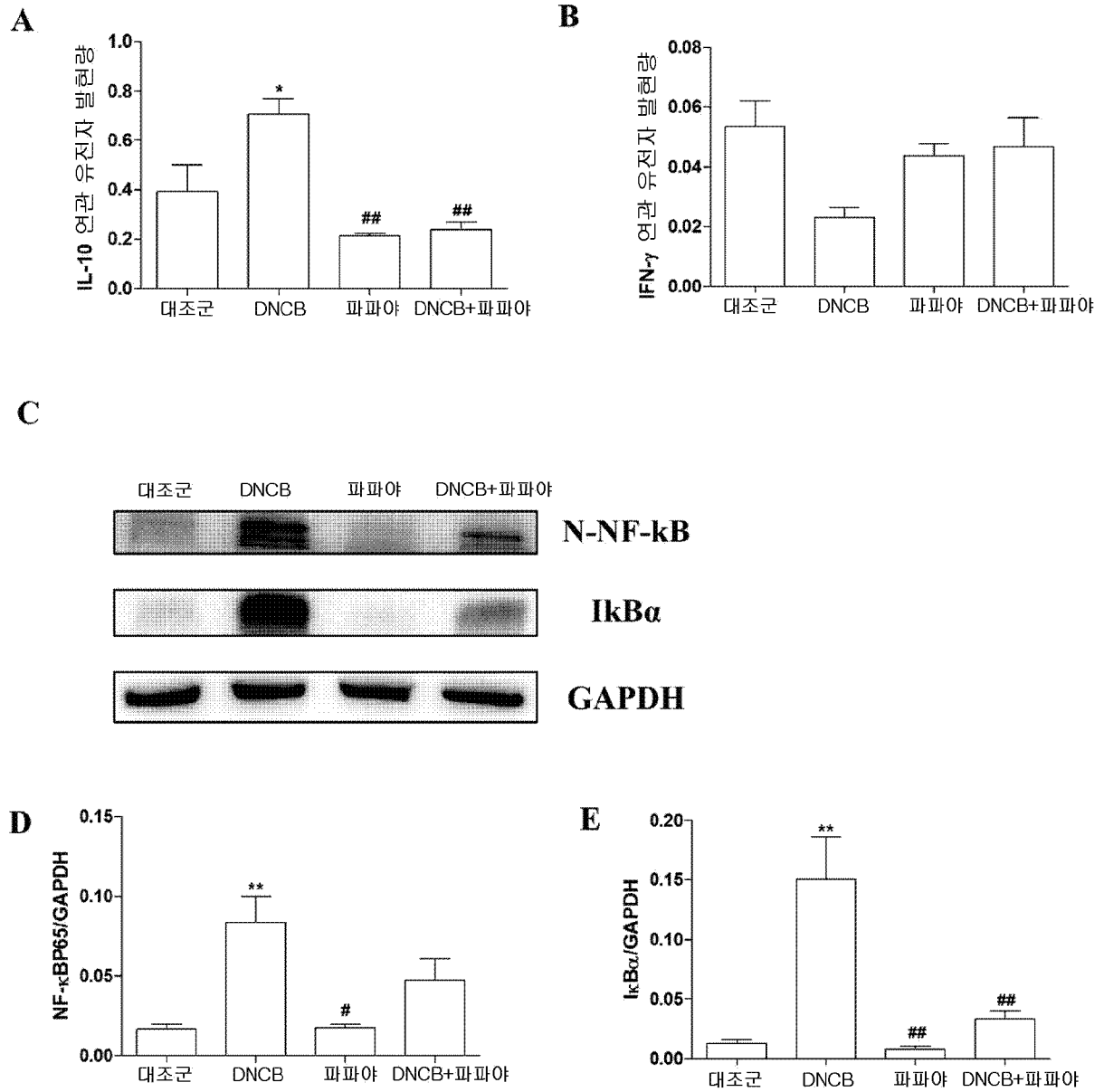
[도4]



[도5]



[도6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2020/001739

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 36/185(2006.01)i, A61P 17/00(2006.01)i, A23L 33/105(2016.01)i, A23L 29/00(2016.01)i, A61K 8/9789(2017.01)i, A61Q 19/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 36/185; A61K 36/00; A61K 36/02; A61K 8/97; A61K 8/99; A61Q 19/00; A61P 17/00; A23L 33/105; A23L 29/00; A61K 8/9789

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above

Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: papaya, fermentation, atopic dermatitis

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MURAKAMI, S. et al. Anti-Tumor and Immunoregulatory Effects of Fermented Papaya Preparation (FPP: SAIDO-PS501). Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2016, vol. 17, no. 7, pages 3077-3084 See abstract; and page 3081.	1,8-10
Y		2-7
Y	JP 2013-245170 A (NIPPON MENAAGE KESHOHIN KK.) 09 December 2013 See abstract; and paragraphs [0009], [0027].	2-7
Y	KR 10-2018-0082057 A (AMI COSMETIC CO., LTD.) 18 July 2018 See claims 1-3.	2-7
X	JP 2007-284398 A (YASUDA, T. et al.) 01 November 2007 See abstract; claim 1; and paragraph [0005].	1,8-10
X	Papaya: 비타민 함유량 높고 소화효소 풍부. non-official translation (Papaya: Rich in Vitamin and Digestive Enzyme). Yakup.com. 30 September 2005, pages 1-2. Retrieved from [URL: http://www.yakup.com/news/index.html?mode=view&id=103195] See page 2.	1,8-10
X	천기누설 파파야의 파는곳, 아토피에 좋은 파파야 효능 요리방법. 블로그: 헬스다이어리. non-official translation (Revealing The Secrets of Nature, Where to Sell Papaya Leap, Efficacy of Papaya Good for Atopy, How to Cook. blog: Health Diary). 15 June 2014, pages 1-8. Retrieved from [URL: https://bonbon1004.tistory.com/92] See pages 1, 6.	1,8-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 JUNE 2020 (19.06.2020)

Date of mailing of the international search report

19 JUNE 2020 (19.06.2020)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2020/001739

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **11**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 11 pertains to a method for treatment of the human body, and thus pertains to a subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17 (2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2020/001739

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
JP 2013-245170 A	09/12/2013	JP 5972667 B2	17/08/2016
KR 10-2018-0082057 A	18/07/2018	KR 10-1908976 B1	17/10/2018
JP 2007-284398 A	01/11/2007	None	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 36/185(2006.01)i, A61P 17/00(2006.01)i, A23L 33/105(2016.01)i, A23L 29/00(2016.01)i, A61K 8/9789(2017.01)i, A61Q 19/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 36/185; A61K 36/00; A61K 36/02; A61K 8/97; A61K 8/99; A61Q 19/00; A61P 17/00; A23L 33/105; A23L 29/00; A61K 8/9789

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 파파야(papaya), 발효(fermentation), 아토피 피부염(atopic dermatitis)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	MURAKAMI, S. 등, `Anti-Tumor and Immunoregulatory Effects of Fermented Papaya Preparation (FPP: SAIDO-PS501)`, Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2016, 17권, 7호, 페이지 3077-3084 초록; 및 페이지 3081	1,8-10
Y		2-7
Y	JP 2013-245170 A (NIPPON MENA ADE KESHOHIN KK) 2013.12.09 요약; 및 단락 [0009], [0027]	2-7
Y	KR 10-2018-0082057 A (주식회사 아미코스메틱) 2018.07.18 청구항 1-3	2-7
X	JP 2007-284398 A (YASUDA, T. 등) 2007.11.01 요약; 청구항 1; 및 단락 [0005]	1,8-10
X	`Papaya: 비타민 함유량 높고 소화효소 풍부`, Yakup.com, 2005.09.30, 페이지 1-2 [URL: http://www.yakup.com/news/index.html?mode=view&nid=103195] 페이지 2	1,8-10
X	`천기누설 파파야잎 파는곳, 아토피에 좋은 파파야 효능 요리방법`, 블로그: 헬스다이어리, 2014.06.15, 페이지 1-8 [URL: https://bonbon1004.tistory.com/92] 페이지 1, 6	1,8-10

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후 “X”에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2020년 06월 19일 (19.06.2020)

국제조사보고서 발송일

2020년 06월 19일 (19.06.2020)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



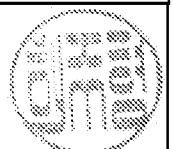
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: 11
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 11은 인체의 치료방법에 관한 것이므로 PCT 제17조(2)(a)(i) 및 규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 2013-245170 A	2013/12/09	JP 5972667 B2	2016/08/17
KR 10-2018-0082057 A	2018/07/18	KR 10-1908976 B1	2018/10/17
JP 2007-284398 A	2007/11/01	없음	