



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년10월19일
(11) 등록번호 10-1787247
(24) 등록일자 2017년10월11일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/722 (2006.01) A61K 31/192 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61K 9/08 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01) A61K 9/20 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/722 (2013.01)
A61K 31/192 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2016-0045664
(22) 출원일자 2016년04월14일
심사청구일자 2016년04월14일
- (56) 선행기술조사문헌
KR1020110028891 A
Food Chemistry. 2014. Vol.148, pp.97-104.*
AMB Express. 2013. Vol.3, Article 37.*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 신선로 365 (용당동, 부경대학교)
- (72) 발명자
정원교
부산광역시 남구 분포로 111 128동 2101호 (용호동, LG메트로시티1차)
김영목
부산광역시 남구 분포로 111 LG메트로시티1차아파트 109동 1103호
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
위병갑

전체 청구항 수 : 총 2 항

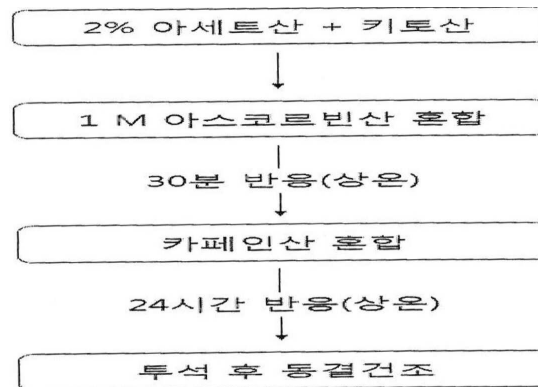
심사관 : 허명숙

(54) 발명의 명칭 키토산-카페인산 유도체를 유효성분으로 하는 항균성 조성물

(57) 요약

본 발명은 키토산-카페인산 유도체를 유효성분으로 함유하는 조성물에 관한 것이다. 상기 조성물은 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 항균효과를 나타내므로, 이를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물을 제공하는 효과가 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)
A61K 9/08 (2013.01)
A61K 9/14 (2013.01)
A61K 9/20 (2013.01)
A61K 9/48 (2013.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

고석천

제주특별자치도 제주시 선덕로3길 12

(72) 발명자

제재영

부산광역시 남구 신선로 566 GS하이츠자이 304동
 1006호

오정환

부산광역시 남구 분포로 111 106동 1006호 (용호동, LG메트로시티1차아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJT200673
 부처명 해양수산부
 연구관리전문기관 한국해양과학기술진흥원
 연구사업명 수산실용화기술개발사업
 연구과제명 해조류 기능성 소재를 융합한 의료공학용 바이오 신소재 개발
 기 여 율 35/100
 주관기관 부경대학교 산학협력단
 연구기간 2014.08.24 ~ 2015.08.23

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20150220
 부처명 해양수산부
 연구관리전문기관 한국해양과학기술진흥원
 연구사업명 해양수산생명공학기술개발사업
 연구과제명 해양융복합 바이오닉스 소재 상용화 기술 개발
 기 여 율 65/100
 주관기관 부경대학교 산학협력단
 연구기간 2015.04.21 ~ 2015.12.31

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

키토산을 초산 용액에 녹이는 단계와; 상기 단계의 용액에 ascorbic acid가 포함되어 있는 H_2O_2 용액을 첨가하여 상온에 방치하는 단계와; 상기 단계의 용액에 카페인산을 첨가하여 24시간 동안 반응시키는 단계와; 상기 단계의 키토산-카페인산 화합물을 투석막을 이용하여 반응하지 않은 카페인산을 제거하는 단계와; 상기 단계의 키토산-카페인산 화합물을 동결건조를 통해 분말화시키는 단계;를 포함하여 제조되는 키토산-카페인산 유도체와,

테트라사이클린(tetracycline), 에리트로마이신(erythromycin) 및 린코마이신(lincomycin)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종의 항생제를 병용하여 함유하는 프로피오니박테리움 아크네(*Propionibacterium acnes*) 억제용 향균 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

키토산을 초산 용액에 녹이는 단계와; 상기 단계의 용액에 ascorbic acid가 포함되어 있는 H_2O_2 용액을 첨가하여 상온에 방치하는 단계와; 상기 단계의 용액에 카페인산을 첨가하여 24시간 동안 반응시키는 단계와; 상기 단계의 키토산-카페인산 화합물을 투석막을 이용하여 반응하지 않은 카페인산을 제거하는 단계와; 상기 단계의 키토산-카페인산 화합물을 동결건조를 통해 분말화시키는 단계;를 포함하여 제조되는 키토산-카페인산 유도체와,

테트라사이클린(tetracycline), 에리트로마이신(erythromycin) 및 린코마이신(lincomycin)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종의 항생제를 병용하여 함유하는 프로피오니박테리움 아크네(*Propionibacterium acnes*)에 의한 여드름 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 키토산-카페인산 유도체를 포함하는 향균성 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 여드름균인 프로피오니박테리움 아크네(*Propionibacterium acnes*)에 의한 질병의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 키토산은 D-글루코사민 부분과 N-아세틸-D-글루코사민 부분으로 된 분자량 80만-100만 정도인 염기성 폴리사카라이드로 2-아미노-2-데옥시-D-글루코오스가 β -1,4 결합한 다당류로, 게나 가재, 새우 껍질에 들어 있는 키틴을 탈아세틸화하여 얻어낸 물질을 말한다. 특성은 노폐해진 세포를 활성화하여 노화를 억제하고 면역력을 강화해주며 질병을 예방해준다. 또한, 생체의 자연적인 치유 능력을 활성화하는 기능과 함께 생체 리듬을 조절해준

다. 병에 대한 효능은 첫째, 체내에 과잉된 유해 콜레스테롤을 흡착, 배설하는 역할 즉 탈콜레스테롤 작용을 한다. 둘째, 암 세포의 증식을 억제하는 항암 작용을 한다. 셋째, 혈압 상승의 원인이 되는 염화물 이온을 흡착, 장에서의 흡수를 억제한 뒤 체외로 배출시킴으로써 혈압 상승 억제 작용 및 장내의 유해 세균을 증식시키고 세포를 활성화시킨다. 그 밖에도 혈당 조절과 간 기능 개선 작용, 체내 중금속 및 오염 물질 배출 등의 효과가 있다. 인체에 가장 흡수되기 쉬운 키토산의 형태는 키토산올리고당이며, 키토산 산성염의 경우 키토산의 아미노기 대신에 염이 들어가 있어 효능이 크게 저하된다.

[0003] 카페인은 커피콩 속에 퀴닌산과의 결합물(쿨로로겐산)로서 다량으로 함유되는 페닐프로파노이드의 1종. 일반적으로 고등식물에 유리산, 메틸에스테르, 퀴닌산, 드물게는 글루코오스와 결합물로서 널리 존재한다. 페놀 산화효소로서 산화되기 쉬우며 조직 갈변의 한 요인이다. 식물의 생장을 저해하는 작용이 있다. 과산화효소, 인돌 아세트산 산화효소의 작용을 저해한다. 생체에서는 L-페닐알라닌의 탈아미노에서 생긴 트랜스신남산이 단계적으로 수산화하여 합성한다.

[0004] 항생제란 통상적으로 항미생물제를 총칭하는 것으로, 특히 세균에 대한 항균작용을 하는 물질, 상세하게는 세균이 세포벽이나 단백질을 합성하는 시스템을 저해시킴으로써 뛰어난 항균작용을 하는 물질 또는 이러한 물질로부터 제조된 것을 의미한다. 항생제의 성분은 주로 곰팡이로부터 추출된 것이 주를 이루었으며, 오늘날 세균 감염에 의한 질병 등을 치료하기 위해 많이 사용되고 있다. 가장 대표적인 항생제로는 영국인 의사 알렉산더 플레밍이 1928년에 제조한 페니실린이다. 페니실린은 인류가 세균에 본격적으로 대응하기 위해 제조한 최초의 항생제였다. 페니실린 이후에 개발된 대표적인 항생제로는 페니실린보다 효과가 탁월한 것으로 인정되는 메티실린(methicillin)이 있다. 메티실린은 페니실린의 화학구조를 일부 변경하여 제조한 것이다. 상기 메티실린은 베타-락탐계 항생제(beta-lactam class of antibiotics)로 분류되며, 상기 베타-락탐계 항생제는 페니실린-결합 단백질(penicillin-binding proteins, PBPs)과 결합을 형성한 후 이 단백질의 활성을 제거함으로써 약효를 발휘하는 것이다.

[0005] 여드름의 원인 중 하나는 피지성분이 하얀 덩어리 또는 빨간색 덩어리로 축적되면서 혐기성 세균인 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)가 증가한다. 상기 프로피오니박테리움 아크네스는 혐기성 세균으로 모공둘레나 누두부에 주로 분포하며, 피지를 영양분으로 증식하는 세균으로 리파아제를 분비하여 피지의 주성분인 트리글리세라이드(triglyceride)를 분해하여 유리지방산으로 만든다. 상기 유리지방산은 피부 상피에 작용하여 각종의 효소를 생산하고 모낭벽을 파괴하여 모낭 주위의 결합조직에 염증을 유발한다. 이와 같이 상기 프로피오니박테리움 아크네스의 생육을 억제하는 것만으로 여드름을 줄일 수 있다.

[0006] 본 발명의 선행기술이 대한민국 공개특허 제 10-2000-0047003호에 공지되어 있으나 이는 방사전 조사된 키토산을 이용한 생체친화성 항균기능 의약품 함유 제조에 관한 것이고, 또 다른 선행기술로는 대한민국 등록특허 제 10-1120161호에 공지되어 있으나 이는 키토산을 유효성분으로 함유하는 항균 조성물에 관한 것이다. 그러나 현재까지 키토산-카페인산 유도체를 유효성분으로 함유하는 항균성 조성물에 대하여는 공지된 바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 따라서, 본 발명의 목적은 키토산-카페인산의 유도체를 포함하는 항균성 조성물을 제공하는 데 있다. 본 발명의 다른 목적은 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*) 감염에 의한 여드름의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명의 상기 목적은 (a) 키토산-카페인산 유도체 합성 단계와; (b) 상기 단계에서 얻은 키토산-카페인산 유도체를 분석하는 단계와; (c) 상기 (a) 단계에서 얻은 키토산-카페인산 유도체를 프로피오니박테리움 아크네스 최소억제농도 측정 단계와; (d) 프로피오니박테리움 아크네스에 의한 질병의 항균효과를 상기 (a) 단계에서 얻은 키토산-카페인산 유도체와 항생제(테트라사이클린, 에리스로마이신 및 린코마이신)로 확인하는 단계로 이루어지고 프로피오니박테리움 아크네스에 의한 여드름 예방 및 치료용 조성물을 제공함으로써 달성하였다.

발명의 효과

[0009] 본 발명은 키토산-카페인산 유도체를 유효성분으로 함유하는 항균성 조성물에 관한 것이다. 상기 키토산-카페인산 유도체는 프로피오니박테리움 아크네스에 의한 여드름 예방 및 치료에 뛰어난 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0010] 도 1은 본 발명의 키토산-카페인산 유도체를 합성하는 과정을 나타낸 모식도이다.

도 2는 본 발명에 따라 제조된 키토산-카페인산 유도체의 H-NMR spectrum 분석 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 본 발명은 키토산-카페인산 유도체를 유효성분으로 함유하는 항균성 조성물에 관한 것이다.

[0012] 본 발명에 따르면 상기 키토산-카페인산 유도체는 프로피오니박테리움 아크네스에 의한 여드름 예방 및 치료 효과가 있으므로 이를 유효성분으로 함유하는 여드름 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있다.

[0013] 본 발명에 따르면 상기 키토산-카페인산 유도체를 유효성분으로 하는 약학적으로 용인 가능한 담체, 첨가제, 식용 담체 또는 식품 첨가제를 선택적으로 포함하는 제형으로 제조할 수 있다. 상기 담체 또는 첨가제는 희석제, 감미제, 안정제, 향료, 비타민류, 향산화제 등이 사용될 수 있다.

[0014] 상기 담체 또는 첨가제는 약학적으로 용인 가능한 것은 모두 가능하며, 예를 들어 희석제는 유당, 곡물 전분 등이 사용될 수 있으며, 감미제로는 설탕, 액상과당, 결정과당, 슈크랄로스, 솔비톨 또는 아스파탐이, 그리고 안정제로는 카르복시메틸셀룰로오스나트륨, 베타-사이클로덱스트린 또는 잔탄검 등이 사용될 수 있다. 또한, 조성물의 미각을 개선시키기 위해 과일향, 허브향 등 천연향료, 천연과즙, 플라보노이드 등 천연색소가 그리고 과당, 벌꿀, 설탕등 감미성분 및 구연산, 구연산나트륨등 산미제를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 보조성분으로서 비타민 B, C, E 또는 베타카로틴, Ca, Mg, Zn 등의 무기질 성분 또는 레시틴 등 인지질 성분, 또는 올리고당, 아미노산, 타우린 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0015] 또, 본 발명에 따르면 상기 조성물은 하기의 형태로 제형 될 수 있으나 사용방법에 따라 달라질 수 있으므로 이에 한정되는 것은 아니다. 제형의 예로는 산재(POWDERS), 액제(LIQUIDS AND SOLUTIONS), 정제(TABLETS) 및 캡슐제(CAPSULES) 등이 있다.

[0016] 본 발명은 하기의 구체적인 실시예, 실험예 및 제조예에 의해 보다 구체적으로 설명되나, 하기 실시예, 실험예 및 제조예는 본 발명을 예시하기 위한 것으로 본 발명의 권리범위가 이에 한정하는 것으로 의도되지는 않는다.

[0017] 실시예1. 키토산-카페인산(chitosan and caffeic acid; CCA) 유도체 합성.

[0018] 키토산-카페인산 유도체의 제조는 키토산을 2% 초산 용액 25mL에 녹인 다음 0.054g의 ascorbic acid가 포함되어 있는 1.0M H₂O₂ 용액 0.5mL을 첨가하여 30분 동안 상온에 방치시켰다. 이후 카페인산을 첨가하여 24시간 동안 반응시켰고 반응하지 않은 카페인산을 투석막을 사용하여 제거하였다. 이를 통해 제조한 키토산-카페인산 합성물을 동결건조 후 분말화하였다(도1).

[0019] 실험예1. 키토산-카페인산 유도체 합성 확인.

[0020] 본 발명에 따른 상기 실시예1에서 얻은 키토산-카페인산 유도체를 분석하기 위하여 H-NMR spectrum을 이용하였다.

[0021] 이를 평가하기 위해 2% CD₃COOD/D₂O(v/v) 용액을 이용하여 70℃에서 NMR spectrometer(JEOL JNM ECP-400, 400MHz)를 이용하여 측정하였다. 키토산-카페인산을 자유라디칼 매개 컨쥬게이션 방법으로 제조한 후, 컨쥬게이션 여부를 ¹H-NMR을 이용하여 확인하였다.

[0022] 실험 결과, NMR 스펙트럼에서 대조구로 제조된 plain 키토산의 경우 1번 수소는 5.0ppm, 2번 수소는 3.14 ppm, 3~6번 수소는 3.41~4.30ppm 부근에서 관찰되었다. 반면 키토산-카페인산 컨쥬게이션의 스펙트럼은 plain 키토산과 동일 ppm에서 1~6번 수소가 관찰되었으나, 6.32~8.22 부근에서 방향족 수소에 의한 새로운 peaks들이 관찰되었다. 이러한 결과들을 통하여 키토산에 카페인산이 성공적으로 도입되었음을 확인하였다.

[0023] 실험예2. 키토산-카페인산 유도체의 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 최소억제농도(Minimum inhibitory concentration; MIC)

[0024] 본 발명에 따른 상기 실시예1을 통해 제조된 키토산-카페인산 유도체의 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 최소억제농도를 측정하였다. 이를 위해 프로피오니박테리움 아크네스는 KCTC 미생물자원센터(KCTC 3314)와 경상대학교병원(p 2874, p 2875)에서 분양받아 사용하였다. 최소억제농도 측정에는 MHB 배지를 이용하여 Clinical and laboratory standards institute(CLSI)에 따라 측정하였다. 대조군으로 테트라사이클린(Tetracycline), 에리스로마이신(Erythromycin) 및 린코마이신(Lincomycin)을 사용하였다.

[0025] 실험 결과, 하기 표1과 표2에서 알 수 있듯이 키토산-카페인산 유도체는 프로피오니박테리움 아크네스에 대하여 각각 256ug/mL(KCTC 3314), 256ug/mL(p 2874) 및 128ug/mL(p 2875)의 농도에서 최소억제농도를 나타내었다. 또한, 키토산-카페인산 유도체는 KCTC 3314 및 p 2875에서 항생제인 에리스로마이신과 린코마이신보다 우수한 효과를 나타내었다.

표 1

[0026] 키토산-카페인산 유도체의 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 최소억제농도.

피부병원균	최소억제농도(ug/mL)	
	키토산-카페인산 유도체	키토산
<i>Propionibacterium acnes</i> (KCTC 3314)	256	512
<i>Propionibacterium acnes</i> (p 2874)	256	512
<i>Propionibacterium acnes</i> (p 2875)	128	256

표 2

[0027] 항생제의 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 최소억제농도.

피부병원균	최소억제농도(ug/mL)		
	테트라사이클린	에리스로마이신	린코마이신
<i>Propionibacterium acnes</i> (KCTC 3314)	32	1024	1024
<i>Propionibacterium acnes</i> (p 2874)	16	1024	1024
<i>Propionibacterium acnes</i> (p 2875)	< 1	< 1	1
Soussy's MIC breakpoints	4~8	1~4	2~8

[0028] 실험예3. 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 키토산-카페인산 유도체와 항생제와의 시너지 효과

[0029] 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 상기 실시예1을 통해 제조된 키토산-카페인산 유도체와 항생제와의 항균 시너지효과는 fractional inhibitory concentration(FIC) assay를 이용하여 확인하였고, 하기 계산식에 따라 계산하였다.

[0030]
$$\sum FIC = FICa + FICb = (Ca/MICa) + (Cb/MICb)$$

[0031] MICa와 MICb는 각각 A와 B의 단독 MIC 값이며, Ca와 Cb는 A와 B를 병용하였을 때 대상 균주에 대해 가지게 되는 A와 B의 생육저해 농도를 의미한다. 두 물질 간의 항균 시너지 효과는 최소 $\sum FIC(\sum FIC_{min})$ 와 최대 $\sum FIC(\sum FIC_{max})$ 값을 고려한 FIC index에 의해 평가된다. 이때의 Ca와 Cb의 농도는 병용되었을 때 가장 효과적으로 생육을 억제시키는 농도를 의미한다. $\sum FIC_{max}$ 는 시너지를 나타내는 가장 높은 $\sum FIC$ 값이며, $\sum FIC$ 와 함께 시너지 효과의 범위를 나타낸다. FIC index는 < 0.5는 synergistic, 0.5 ~ < 1.0은 weak synergy, 1.0 ~ < 2.0 은

indifferent이고, > 2.0은 antagonistic으로 평가된다.

[0032] 이를 평가하기 위해 128 내지 256ug/mL 키토산-카페인산 유도체와 16 내지 32ug/mL 테트라사이클린, 1024ug/mL 에리스로마이신 및 1024ug/mL 린코마이신을 병행하여 사용하였다.

[0033] 실험 결과, 하기 표3에서 알 수 있듯이 키토산-카페인산 유도체와 상기 항생제를 병용하여 사용하였을 때 단독으로 사용했을 때보다 2 내지 4배 낮은 농도로 프로피오니박테리움 아크네스의 생육을 억제할 수 있었다.

[0034] 또한, FIC value 계산 결과 키토산-카페인산 유도체와 항생제 병용사용시 Σ FICmin과 Σ FIC 중간값이 1.0 이하였고, Σ FICmax 값은 1.0 ~ 2.0이었다. 결론적으로 키토산-카페인산 유도체와 항생제의 병용사용시 프로피오니박테리움 아크네스에 대해 시너지 효과가 나타나는 것으로 확인된다.

표 3

[0035] 프로피오니박테리움 아크네스에 대한 키토산-카페인산 유도체와 항생제와의 시너지 효과

Stains	Test compound	MIC (ug/mL)	Median FIC	FICmax	FICmin	minimum conc. for observing synergy
<i>Propionibacterium acnes</i> (KCTC 3314)	CCA	256	0.533	1.016	0.188	64.0
	Tetracycline	32				4.0
	CCA	256	0.502	1.004	0.188	32.0
	Erythromycin	1024				64.0
	CCA	256	0.504	1.016	0.375	64.0
	Lincomycin	1024				256.0
<i>Propionibacterium acnes</i> (P 2874)	CCA	256	0.502	1.004	0.375	64.0
	Tetracycline	16				4.0
	CCA	256	0.502	1.016	0.313	64.0
	Erythromycin	1024				128.0
	CCA	256	0.502	1.016	0.313	64.0
	Lincomycin	1024				256.0

[0036] 제조예1. 산제의 제조

표 4

[0037] 산제의 조성

본 발명 키토산-카페인산 유도체	20mg
유당	100mg

[0038] 상기의 성분을 혼합하고 통상의 산제의 제조방법에 따라서 제조한다.

[0039] 제조예2. 정제의 제조

표 5

[0040] 정제의 조성

본 발명 키토산-카페인산 유도체	10mg
옥수수전분	100mg
유당	100mg
스테아린산마그네슘	2mg

[0041] 상기의 성분을 혼합하고 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0042] 제조예3. 캡슐제의 제조

표 6

캡슐제의 조성

본 발명 키토산-카페인산 유도체	100mg
유당	125mg
옥수수전분	125mg
스테아린산마그네슘	적량
탈크	적량

[0044] 상기의 성분을 혼합하고 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

[0045] 제조예4, 액제의 제조

표 7

액제의 조성

본 발명 키토산-카페인산 유도체	1,000mg
이성화당	10g
만니톨	6g
정제수	적량

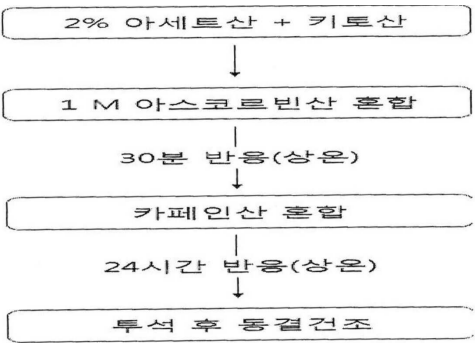
[0047] 정제수를 가하여 전체 1,000mL로 맞추었다. 통상의 액제의 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하여 액제를 제조한다.

산업상 이용가능성

[0048] 이상 설명한 바와 같이 본 발명은 키토산-카페인산 유도체를 유효성분으로 함유하는 항균성 조성물에 관한 것이다. 상기 키토산-카페인산 유도체는 여드름균인 프로피오니박테리움 아크네스에 의한 여드름 예방 및 치료에 사용될 수 있으므로 의약품 산업상 매우 유용한 발명일 것이다.

도면

도면1



도면2

