(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0063267
(43) 공개일자 2024년05월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/258 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
A23L 33/125 (2016.01) *A61K 31/704* (2006.01)
A61K 8/60 (2006.01) *A61K 8/9789* (2017.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/258 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2022-0142376
(22) 출원일자 2022년10월31일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
아레즈 주식회사
대전광역시 유성구 테크노11로 55-8, 2층 (탑립동)
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
송규용
대전광역시 유성구 상대복용로29번길 51, 208동 3301호(상대동, 대전아이파크시티 2단지)
이지현
대전광역시 서구 청사로 281, 201동 506호(둔산동, 샘머리아파트2단지)
조수현
대전광역시 서구 둔산북로 215, 8동 102호(둔산동, 가람아파트)
(74) 대리인
특허법인 공간

전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 **진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물(PPDmix) 및 이의 제조 방법**

(57) 요 약

본 발명은 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물 및 이의 제조 방법에 관한 것으로, 구체적으로는 인삼 지상부를 용매 추출 및 합성흡착제를 통한 크로마토그래피를 통해 PPD계열의 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 혼합물만으로 88.5% 이상의 고농도로 혼합조성물을 대량 생산할 수 있다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A23L 33/125 (2020.05)
A61K 31/704 (2013.01)
A61K 8/602 (2013.01)
A61K 8/9789 (2017.08)
A61Q 19/00 (2013.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2250/2124 (2013.01)
A23V 2300/02 (2013.01)
A61K 2236/39 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	미부여
과제번호	121015-3
부처명	농림축산식품부
과제관리(전문)기관명	농림식품기술기획평가원
연구사업명	고부가가치식품기술개발사업
연구과제명	질환*대상별 맞춤형 기능성 소재 발굴 및 대량생산 기술 개발
과제수행기관명	아레즈 주식회사
연구기간	2021.04.01 ~ 2023.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

건조 인삼 지상부를 건조 인삼 지상부의 6 내지 7배 무게의 유기용매에 침지시키고 하고, 60 내지 80℃에서 3시간 동안 추출하여 여액을 모으는 단계 (1);

상기 (1) 단계의 건조 인삼 지상부 잔사를 건조 인삼 지상부 잔사의 6 내지 7배 무게의 유기용매에 침지시키고 하고, 60 내지 80℃에서 3시간 동안 추출하여 여액을 모으는 단계 (2);

상기 (2) 단계를 1 내지 2회 반복하여 여액을 모으는 단계 (3);

상기 (1) 내지 (3) 단계의 여액을 합쳐서 감압농축하여 농축액을 제조하는 단계 (4);

상기 (4) 단계의 농축액을 합성흡착제가 충진된 컬럼에서 물과 에탄올을 이동상으로 하여 크로마토그래피로 진세노사이드 분획물을 모으는 단계 (5); 및

상기 (5) 단계의 진세노사이드 분획물을 농축 건조하는 단계 (6);를 포함하는 것을 특징으로 하는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물의 제조 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 유기 용매는 물, C1-C4의 알콜 및 물과 C1-C4의 알콜과의 혼합용매로 이루어진 군으로부터 선택된 용매인 것을 특징으로 하는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물의 제조 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 인삼 지상부는 인삼의 꽃, 열매, 줄기, 잎으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물의 제조 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 합성흡착제는 Trilite GSH-20, GSP-07, GSP-25, GSP-50, Diaion HP-10, HP-20, HP-21, HP-30, HP-40, HP-50, SP800, SP825, SP850, SP875, SP205~207, HP1MG, HP2MG로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물의 제조 방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물은 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd 만으로 88.5 중량% 이상이 포함된 것을 특징으로 하는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물의 제조 방법.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd는 각각 진세노사이드 Rb1 7.5 중량%, Rb2 18.9 중량%, Rc 23.7 중량% 및 Rd 38.4 중량%을 포함하는 것을 특징으로 하는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물의 제조 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항의 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물의 제조 방법에 의하여 제조된 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물은 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd 만으로 88.5 중량% 이상이 포함된 것을 특징으로 하는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd는 각각 진세노사이드 Rb1 7.5 중량%, Rb2 18.9 중량%, Rc 23.7 중량% 및 Rd 38.4 중량%을 포함하는 것을 특징으로 하는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 프로토파낙사디올(protopanaxadiol, PPD)계열의 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물(PPDmix) 및 이의 제조 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 인삼(*Panax ginseng*)은 오가피나무과 (Araliaceae) Panax 속에 속하는 다년생 식물로, 동아시아에서 각종 질병의 예방 또는 치료에 이용되어 왔다. 특히 한국에서 생산되는 고려인삼은 다량의 사포닌을 함유하고 있으며, 함유하고 있는 사포닌의 종류 또한 다양하여 각종 질병의 예방 또는 치료에 그 효과가 뛰어난 것으로 알려져 있다.

[0003] 인삼의 주요 효능을 나타내는 인삼 사포닌(saponin)은 진세노사이드(ginsenoside)로 불리며, 다른 식물에서 발견되는 사포닌과는 다르게 특이한 화학구조와 약리효능을 가진다. 진세노사이드는 트리테르페노이드(triterpenoid) 계열의 담마란(dammarane) 골격에 글루코즈(glucose), 아라비노즈(arabinose), 자일로즈(xylose), 람노즈(rhamnose) 등이 결합되어 있는 중성배당체이며, 현재 약 30종의 화학 구조가 밝혀졌다. 이들은 당분자들의 결합위치와 화학 구조의 특성에 따라 프로토파낙사디올(protopanaxadiol, PPD)계(19종), 프로토파낙사트리올(protopanaxatriol, PPT)계(10종) 및 올레안(oleanane)계(1종)로 구분되며, 체내에서 각각 구분되는 약리작용을 갖는 것으로 알려져 있다.

[0004] 현재까지 다양한 진세노사이드들의 생리 활성에 대한 연구가 활발한 가운데, Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 프로토파낙사디올(protopanaxadiol, PPD)계열은 테스토스테론의 합성을 증진시키고, 피부조직의 재생을 촉진시키며, 뇌혈관 재생 및 재구축을 통해 혈류 개선을 촉진시키고 또한 신경조직 이차변성을 억제하는 등 매우 우수한 약리활성을 갖고 있는 것이 알려져 있다.

[0005] 또한, 프로토파낙사디올(protopanaxadiol, PPD)계열의 Rg3는 유방암(Kim Heejoo et al., 2021), 직장암(Renna Qiu et al., 2019), 최장암(Jin Jiang et al., 2017), 간암(Qiyu Zheng et al., 2021), 폐암(Tianhua Liua et al., 2019) 이외 난소암, 피부암, 골암 등에 효과를 갖는 것으로 보고되고 있으며, 이 외에도 알츠하이머 모델에서 인지 능력 개선, 신생혈관 억제 및 항염증 작용을 갖는 것으로 알려져 있다. 또다른 PPD 계열의 진세노사이드 Rg5는 유방암(Yannan Liu and Daidi Fan, 2020), 식도암(Daoming Zhang et al., 2019) 및 위암, 간암, 폐암, 난소암 등의 치료 효과가 알려져 있으며, 항염증과 골관절염 치료 활성이 알려져 있다. 역시 PPD 계열의 진세노사이드 Rk1은 유방암(Yinan Hong and Daidi Fan, 2019), 간암(Jun-Nan Hu et al., 2019), 폐암에 대한 효과 및 항염증 작용이 알려져 있다.

[0006] 그러나 이들 진세노사이드는 인삼 내 매우 소량 함유된 희귀 진세노사이드로, 증숙, 발효 및 산처리 등의 가공에 의한 화학적 변환을 거쳐 홍삼, 발효홍삼, 흑삼 등으로 제조한 후에야 생성되는 이차적 물질이다. 원료삼 자체가 고가인데다 이러한 가공과정에 많은 인력과 시간, 비용이 소요되면서 희귀 진세노사이드는 매우 고가에 거래되고 있으며, 아직 이들의 소재화를 위한 새로운 분리 및 비율조절 기술은 아직도 미흡한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-2182238호, 진세노사이드 Rd를 강화한 효소처리 홍삼추출물을 포함하는 안구건조증 개선용 조성물 및 이의 제조방법, 2020년11월18일 등록.

(특허문헌 0002) 한국등록특허 제10-1564487호, 저분자 진세노사이드의 제조방법, 2015년10월23일 등록.

(특허문헌 0003) 한국등록특허 제10-1198266호, 양성자 빔 조사를 통해 진세노사이드 Ｒｂ１ 및 Ｒｃ의 함량을 증진시킨 홍삼, 2012년10월31일 등록.

(특허문헌 0004) 한국등록특허 제10-1819418호, 진세노사이드 Rb1, Rc, Rh1 및 Rg3 복합물을 유효성분으로 포함하는 육모촉진 및 탈모방지용 화장료 조성물, 2018년01월10일 등록.

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) Heejoo Kim, Hwee Won Ji, Hyeon Woo Kim, Sung Hwan Yun, Jae Eun Park, Sun Jung Kim, Ginsenoside Rg3 Prevents Oncogenic Long Noncoding RNA ATXN8OS from Inhibiting Tumor-Suppressive microRNA-424-5p in Breast Cancer Cells, Biomolecules 2021, 11(1), 118; https://doi.org/10.3390/biom11010118

(비특허문헌 0002) Renna Qiu, Qian, Feng,; Wang, Xiaofeng, Li, Hongjun, Wang, Lizhe, Targeted delivery of 20(S)-ginsenoside Rg3-based polypeptide nanoparticles to treat colon cancer, Biomedical Microdevices; New York Vol. 21, Iss. 1, (Mar 2019): 1-13. DOI:10.1007/s10544-019-0374-0

(비특허문헌 0003) Jin Jiang, Zuguo Yuan, Yiqing Sun, Yuan Bu, Wenfeng Li, Zhenghua Fei, Ginsenoside Rg3 enhances the anti-proliferative activity of erlotinib in pancreatic cancer cell lines by downregulation of EGFR/PI3K/Akt signaling pathway, Biomedicine & Pharmacotherapy Volume 96, December 2017, Pages 619-625; https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.043

(비특허문헌 0004) Qiyu Zheng, Zhidong Qiu, Zhiyuan Sun, Lingling Cao, Fuqiang Li, Da Liu liuda_1986@163.com, and Donglu Wu, In Vitro Validation of Network Pharmacology Predictions: Ginsenoside Rg3 Inhibits Hepatocellular Carcinoma Cell Proliferation via SIRT2, Natural Product CommunicationsVolume 16, Issue 4, April 2021; https://doi.org/10.1177/1934578X21100482

(비특허문헌 0005) Tianhua Liua, Ling Zuo, Dongqing Guo, Xinlou Chai, Jie Xu, Zhaorui Cui, Zhiyi Wang, Chunying Hou, Ginsenoside Rg3 regulates DNA damage in non-small cell lung cancer cells by activating VRK1/P53BP1 pathway, Biomedicine & Pharmacotherapy Volume 120, December 2019, 109483; https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109483

(비특허문헌 0006) Yannan Liu and Daidi Fan, The Preparation of Ginsenoside Rg5, Its Antitumor Activity against Breast Cancer Cells and Its Targeting of PI3K, Nutrients 2020, 12(1), 246; https://doi.org/10.3390/nu12010246

(비특허문헌 0007) Daoming Zhang, Aifu Wang, Jueping Feng, Qi Zhang, Linlin Liu, Hui Ren, Ginsenoside Rg5 induces apoptosis in human esophageal cancer cells through the phosphoinositide-3 kinase/protein kinase B signaling pathway, Molecular Medicine Reports, March 27, 2019 https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10093

(비특허문헌 0008) Yinan Hong and Daidi Fan, Ginsenoside Rk1 induces cell cycle arrest and apoptosis in MDA-MB-231 triple negative breast cancer cells, Toxicology Volume 418, 15 April 2019, Pages 22-31; https://doi.org/10.1016/j.tox.2019.02.010

(비특허문헌 0009) Jun-Nan Hu, Xing-Yue Xu, Wei Li, Yi-Ming Wang, Ying Liu, Zi Wang, Ying-Ping Wang, Ginsenoside Rk1 ameliorates paracetamol-induced hepatotoxicity in mice through inhibition of inflammation, oxidative stress, nitrative stress and apoptosis, Journal of Ginseng Research Volume 43,

Issue 1, January 2019, Pages 10-19, https://doi.org/10.1016/j.jgr.2017.07.003

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물 및 이의 제조 방법을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 과제를 해결하기 위하여 본 발명은 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물 및 이의 제조 방법을 제공한다.

[0011] 본 발명은 건조 인삼 지상부를 건조 인삼 지상부의 6 내지 7배 무게의 유기용매에 침지시키고 하고, 60 내지 80℃에서 3시간 동안 추출하여 여액을 모으는 단계 (1);

[0012] 상기 (1) 단계의 건조 인삼 지상부 잔사를 건조 인삼 지상부 잔사의 6 내지 7배 무게의 70% 주정에 침지시키고 하고, 60 내지 80℃에서 3시간 동안 추출하여 여액을 모으는 단계 (2);

[0013] 상기 (2) 단계를 1 내지 2회 반복하여 여액을 모으는 단계 (3);

[0014] 상기 (1) 내지 (3) 단계의 여액을 합쳐서 감압농축하여 농축액을 제조하는 단계 (4);

[0015] 상기 (4) 단계의 농축액을 합성흡착제가 충진된 컬럼에서 물과 에탄올을 이동상으로 하여 크로마토그래피로 진세노사이드 분획물을 모으는 단계 (5); 및

[0016] 상기 (5) 단계의 진세노사이드 분획물을 농축 건조하는 단계 (6);를 포함하는 것을 특징으로 하는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물의 제조 방법을 제공한다.

[0017] 상기 유기 용매는 물, C1-C4의 알콜 및 물과 C1-C4의 알콜과의 혼합용매로 이루어진 군으로부터 선택된 용매일 수 있으며, C1-C4의 알콜은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, n-부탄올, t-부탄올을 포함한다. 바람직하게는 메탄올 또는 에탄올 또는 이의 수용액일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 70% 에탄올이다.

[0018] 상기 인삼 지상부는 인삼의 꽃, 열매, 줄기, 잎으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으며, 바람직하게는 인삼의 꽃, 열매, 줄기, 잎의 혼합물이며, 더욱 바람직하게는 인삼 열매이다.

[0019] 상기 합성흡착제는 Trilite GSH-20, GSP-07, GSP-25, GSP-50, Diaion HP-10, HP-20, HP-21, HP-30, HP-40, HP-50, SP800, SP825, SP850, SP875, SP205~207, HP1MG, HP2MG로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으며, 바람직하게는 Trilite GSH-20이며, 다공성 이온교환수지이면 제한되지 않는다.

[0020] 상기의 제조 방법에 따라 제조된 본 발명의 상기 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물은 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd 만으로 88.5 중량% 이상이 포함된 것을 특징으로 하며, 보다 구체적으로는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd 각각은 진세노사이드 Rb1 7.5 중량%, Rb2 18.9 중량%, Rc 23.7 중량% 및 Rd 38.4 중량%을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0021] 본 발명은 상기 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물의 제조 방법에 의하여 제조된 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물을 제공한다. 이때 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물은 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd 만으로 88.5 중량% 이상이 포함된 것일 수 있다. 또한 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd 각각은 진세노사이드 Rb1 7.5 중량%, Rb2 18.9 중량%, Rc 23.7 중량% 및 Rd 38.4 중량%을 포함하는 것일 수 있다.

[0022] 상기 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd가 일정 비율로 고농도 혼합물을 수득함으로써, 상기 혼합 조성물은 약리학적 활성이 높은 각 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd 활성의 상승 작용을 나타낼 수 있다.

[0023] 상기 조성물은 상기 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물로 제공될 수 있다.

[0024] 상기 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물은 전체 약학 조성물 총 중량에 대하여 바람직하게

는 0.001~50중량%, 더 바람직하게는 0.001~40중량%, 가장 바람직하게는 0.001~30중량%로 하여 첨가될 수 있다.

[0025] 상기 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 액제, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 약학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제, 감미제, 산미제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스 또는 락토즈, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제, 산미제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween)-61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0026] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 치료받을 대상의 연령, 성별, 체중과, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여 경로 및 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 일반적으로 투여량은 0.01㎎/㎏/일 내지 대략 500㎎/㎏/일의 범위이다. 바람직한 투여량은 0.1㎎/㎏/일 내지 200㎎/㎏/일이며, 더 바람직한 투여량은 1㎎/㎏/일 내지 200㎎/㎏/일이다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0027] 본 발명의 약학적 조성물은 쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 주사 및 피부 도포에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물은 독성 및 부작용이 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.

[0028] 상기 조성물은 상기 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 건강기능식품으로 제공될 수 있다.

[0029] 상기 건강기능식품은 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물이 전체 식품 총 중량에 대하여 바람직하게는 0.001~50중량%, 더 바람직하게는 0.001~30중량%, 가장 바람직하게는 0.001~10중량%로 하여 첨가될 수 있다.

[0030] 상기 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성식품류 등이 있다.

[0031] 상기 조성물은 상기 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물 및 가능한 부형제, 향료, 보존제, 생리활성 물질을 포함하는 화장품 조성물로 제공될 수 있다. 본 발명의 화장품 조성물에 포함되는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물은 화장품의 총 중량에 대해서 0.001 내지 20.0 중량%, 바람직하게는 0.001 내지 10.0 중량%, 가장 바람직하게는 0.001 내지 5.0 중량% 범위로 포함될 수 있으나, 이러한 비율로 제한되는 것은 아니다.

[0032] 본 발명의 화장품 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분으로서 상기의 조성물 이외에 화장품에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함한다. 예를 들어 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 및 담체 등을 포함한다. 본 발명의 화장품은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있다. 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 구체적으로, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 포옴, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다. 본 발명의 구체적 실시에서는 영양크림, 수렴 화장수, 유연 화장수, 에센스, 영양젤, 로션 또는 마사지 크림을 제

조할 수 있다.

[0033] 본 발명의 화장품 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 있다.

[0034] 본 발명의 화장품 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0035] 본 발명의 화장품 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.

[0036] 본 발명의 화장품 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0037] 본 발명의 화장품 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

발명의 효과

[0038] 본 발명은 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물 및 이의 제조 방법에 관한 것으로, 구체적으로는 인삼 지상부를 용매 추출 및 합성흡착제를 통한 크로마토그래피를 통해 PPD계열의 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 혼합물만으로 88.5% 이상의 고농도로 혼합조성물을 대량 생산할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0039] 도 1은 본 발명에 따라 인삼 지상부 추출물로부터 분리된 진세노사이드 혼합 분획물의 박막크로마토그래피 사진이다.

도 2는 본 발명의 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합물의 제조방법에 의하여 제조된 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합물의 사진이다.

도 3은 본 발명의 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합물의 HPLC 결과이다.

도 4는 본 발명의 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 분자구조를 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0040] 인삼류는 대개 뿌리인삼을 이용하고 있으며 잎, 꽃, 열매, 줄기 등은 인삼부산물로 폐기되는 경우가 많다. 그러나 이들 인삼 부산물은 뿌리에 비해 특정 진세노사이드를 다량 함유하고 있다고 알려지고 있다. 본 발명자들은 인삼의 잎, 꽃, 열매, 줄기 등의 인삼 지상부로부터 유용한 진세노사이드의 분리, 이용에 대한 연구를 진행하는 과정에서 PPD계열의 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합물을 대량으로 생산하는 방법을 수립하고 본 발명을 완성하게 되었다.

[0041] 상기와 같은 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합 조성물은 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd 각각 항암, 항염증, 골관절염 개선 등 뛰어난 약리 활성이 알려져 있다. 그러나 종래에는 상기 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd를 고농도 혼합 조성물로 분리하는 것은 매우 어려웠다. 특히 이들 진세노사이드는 일정 비율 혼합물로서 각각의 진세노사이드의 활성에 대하여 상승 효과를 나타낼 수 있다는 점에서 고농도 혼합 조성물로 제조할 수 있는 점은 매우 중요하다.

[0042] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있으며, 여기서 소개되는 내용은 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하

는 것이다.

[0043] **<실시예 1. PPDmix의 제조>**

[0044] **1.1 인삼지상부의 용매 추출**

[0045] 2019년 금산에서 수확한 인삼열매를 5 Kg을 측량하여 물로 세척한 후 면주머니에 넣는다. 상기 인삼열매가 든 면주머니를 70% 주정 35리터가 든 통에 넣고 60 내지 80℃, 바람직하게는 70℃에서 3시간 동안 추출하였다. 이를 여과하여 여액은 따로 모으고 다시 70% 주정 30리터를 넣고 동일한 조건에서 추출하여 여액을 모았다. 이후, 다시 70% 주정 30리터를 넣고 동일한 조건에서 추출하여 여액을 모았다. 모아진 여액은 합쳐서 50 Brix 정도로 감압농축하였다.

[0046] **1.2 컬럼 분리**

[0047] 상기 실시예 1.1에서 수득한 농축액은 합성흡착제를 이용하여 물과 에탄올을 이동상으로 하여 컬럼분리하였다. 합성흡착제로는 Trilite GSH-20, GSP-07, GSP-25, GSP-50, Diaion HP-10, HP-20, HP-21, HP-30, HP-40, HP-50, SP800, SP825, SP850, SP875, SP205~207, HP1MG, HP2MG 등을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 GSH-20, HP-20, SP825를 사용할 수 있다.

[0048] 먼저 컬럼에 합성흡착제 HP-20 30kg을 넣고 물로 충분히 세정하였다. 이후 주정 40L로 흘려준 후, 다시 물 40L로 흘려주어 컬럼을 준비하였다. 이후, 상기에서 수득한 인삼열매 추출물의 감압농축 농축액을 물과 희석하여 10 Brix 내외로 만들어 컬럼에 넣고 흘려준 후 물을 100L 이상 흘려주었다. 이후 20%, 30%, 50%, 65% 에탄올로 순차적 흘려 이물을 제거한 후, 최종 70~80%의 주정을 용매로 흘려주면서 이때 용출액을 박막크로마토그래피(Thin Layer Chromatography, TLC)를 통해 확인하며 목표하는 진세노사이드 함유 분획을 얻었다. 도 1과 같이 진세노사이드 Rd의 RP C18 TLC 의 Rf값은 0.15 (MeOH:H2O=3:1)로 0.11<Rf<0.16 사이의 분획을 모두 모은다. 상기 수득한 분획을 완전히 감압농축하여 모은 다음, 최종 건조기에서 완전히 건조하여 연갈색의 진세노사이드 혼합물 300g (수율 6.0%)을 얻었으며, 이를 도 2에 나타내었다.

[0049] **<실시예 2. PPDmix의 함량 분석>**

[0050] 상기 실시예 1에서 분리한 진세노사이드 혼합물의 함량을 HPLC를 이용하여 분석하였다. HPLC(Agilent Technologies 1290 infinity)를 사용하여 ACE 5-C_{18} 컬럼(250×4.6mm)으로 40℃에서 유속 1.0 ml/min, 10 μl을 주입하여 이동상 조건은 용매 A로 물, 용매 B로 아세토니트릴을 사용하여 다음과 같이 구배 용리를 실시하였다: 0-35분, 80% 용매 A 및 20% 용매 B로 시작; 0-3 분, 용매 A를 20%에서 40%로; 3-15분, 용매 B를 20%에서 23%로; 15-20분, 용매 B를 23%에서 33%로; 20-45분, 용매 B를 33%에서 40%로; 45-60분 용매 B를 40%에서 68%로; 60-65분, 용매 B를 68%를 85%로; 65-70분, 용매 B는 85%; 70-73분, 용매 B를 80%에서 20%로; 73-75분, 용매 B를 20%의 순서로 변경하여 사용하였다. 이를 UV 검출기를 이용하여 205 nm에서 검출하고 그 결과를 도 3 및 표 1에 나타내었다.

표 1

[0051]

Ginsenoside	mg/g	%
Rb1	75	7.5
Rc	237	23.7
Rb2	189	18.9
Rd	384	38.4
합계	885	88.5

[0052] 상기 도 3 및 표 1에서 보는 바와 같이, 상기 실시예 1의 방법으로 인삼 지상부로부터 추출한 진세노사이드 혼합물은 Rb1 7.5 중량%, Rb2 18.9 중량%, Rc 23.7 중량% 및 Rd 38.4 중량%으로 전체 추출물 중량 중 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd 만으로 88.5 중량%를 이루는 고농도의 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd 혼합물임을 확인하였다. 이에 따라 상기 과정으로 얻은 PPD계열의 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd의 고농도 혼합물을 PPDmix로 명명하였다.

[0053] 본 발명에 따른 PPDmix는 **도 4**과 같이 PPD계열의 진세노사이드 20번 탄소에 연결된 글루코스(Glc), 이와 연결된 글루코스(Glc), 알파-L-아라비노피라노실(α-L-arabinopyranosyl, arap), 알파-L-아라비노푸라노실(α-L-

arabinofuranosyl, araf)이 더 포함된 진세노사이드의 혼합물임을 알 수 있다.

[0054] 상기와 같이, 본 발명에 의한 제조 방법에 의하여 인삼 지상부로부터 용매 추출 및 컬럼 크로마토그래피를 통하여 PPD계열의 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc 및 Rd를 이들 혼합물만으로 88.5% 이상의 고농도로 포함된 혼합 조성물을 제조할 수 있음을 확인하였다.

[0055] **<제제예 1. 약학적 제제>**

[0056] **제제예 1-1. 정제의 제조**

[0057] 본 발명의 PPDmix 200㎎을 락토즈 175.9g, 감자전분 180g 및 콜로이드성 규산 32g과 혼합하였다. 이 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄하여 14 메쉬체를 통과시켰다. 이것을 건조시키고 여기에 감자전분 160g, 활성 50g 및 스테아린산 마그네슘 5g을 첨가해서 얻은 혼합물을 정제로 만들었다.

[0058] **제제예 1-2. 주사액제의 제조**

[0059] 본 발명의 PPDmix 100㎎, 염화나트륨 0.6g 및 아스코르브산 0.1g을 증류수에 용해시켜서 100㎖를 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20℃에서 30분간 가열하여 멸균시켰다.

[0060] **<제제예 2. 건강기능식품의 제조>**

[0061] **제제예 2-1. 건강기능식품의 제조**

[0062] 본 발명의 PPDmix 2g, 비타민 혼합물 적량, 비타민 A 아세테이트 70㎍, 비타민 E 1.0㎎, 비타민 B1 0.13㎎, 비타민 B2 0.15㎎, 비타민 B6 0.5㎎, 비타민 B12 0.2㎍, 비타민 C 10㎎, 비오틴 10㎍, 니코틴산아미드 1.7㎎, 엽산 50㎍, 판토텐산 칼슘 0.5㎎, 무기질 혼합물 적량, 황산제1철 1.75㎎, 산화아연 0.82㎎, 탄산 마그네슘 25.3㎎, 제1인산칼륨 15㎎, 제2인산칼슘 55㎎, 구연산칼륨 90㎎, 탄산칼슘 100㎎, 염화마그네슘 24.8㎎을 섞어 과립으로 제조하였으나, 용도에 따라 다양한 제형으로 변형시켜 제조할 수 있다. 또한, 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하여 제조할 수 있다.

[0063] **제제예 2-2. 건강기능성 음료의 제조**

[0064] 본 발명의 PPDmix 1g, 구연산 0.1g, 프락토올리고당 100g, 정제수 900g을 섞어 통상의 음료 제조방법에 따라 교반, 가열, 여과, 살균, 냉장하여 음료를 제조하였다.

[0065] **<제제예 3. 화장품의 제조>**

[0066] **제제예 2-1. 영양크림의 제조**

[0067] 본 발명의 PPDmix 200㎎, 호호바 오일 500㎎, 유동 파라핀 700㎎, 세틸아릴 알코올 200㎎, 폴리글리세릴-3 메틸 글루코스 디스테아레이 200㎎, 글리세릴 스테아레이트 50㎎, 스쿠알란 300㎎, 프로필렌 글리콜 400㎎, 프로필렌 글리콜 400㎎, 글리세린 500㎎, 토코페린 아세테이트 20㎎, 방부제 및 향 미량, 잔부 정제수를 혼합하여 영양크림을 제조하였다.

[0068] **제제예 2-2. 팩의 제조**

[0069] 본 발명의 PPDmix 500㎎, 벤조페논-5 10㎎, 1,3 부틸렌 글라이콜 500㎎, 카보머 100㎎, 트리에탄올아민 850㎎, 글리세린 400㎎, 알란토인 10㎎, DL-판테놀 50㎎, 방부제, 향, 색소 미량 잔부 정제수를 혼합하여 팩을 제조하였다.

도면

도면1



RP C18 TLC

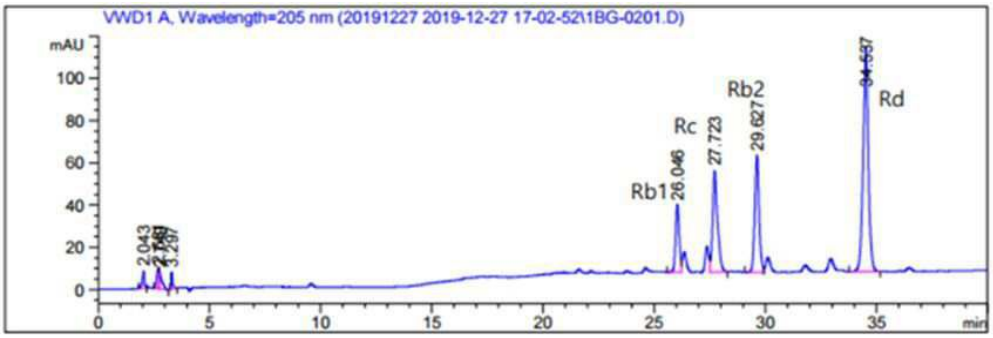
MeOH:H_2O =3:1

진세노사이드 Rd : R_f = 0.15

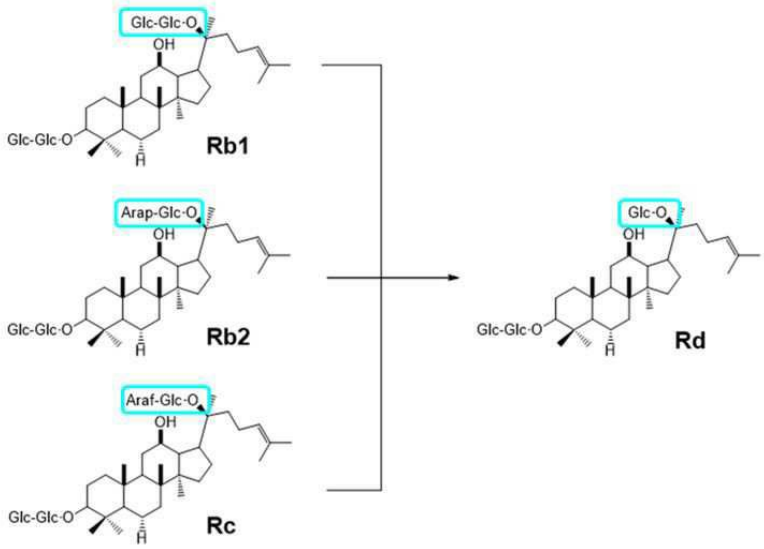
도면2



도면3



도면4


Glc-Glc-O
OH
Glc-Glc-O
Rb1
Arap-Glc-O
OH
Glc-Glc-O
Rb2
Araf-Glc-O
OH
Glc-Glc-O
Rc
Glc-O
OH
Glc-Glc-O
Rd