

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2021-0081489
(43) 공개일자 2021년07월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/192 (2006.01) A61K 31/43 (2006.01)
A61K 31/65 (2006.01) A61K 31/7048 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61K 8/368 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01) A61P 17/08 (2006.01)
A61P 17/10 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/192 (2013.01)
A61K 31/43 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-0173121

(22) 출원일자 2019년12월23일

심사청구일자 2019년12월23일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

김기영

경기도 용인시 수지구 푸른솔로 49, 706동 1302호(죽전동, 도담마을7단지뜨리에체아파트)

무영 안트

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제경영대학 지하 102호(서천동)

(74) 대리인

특허법인 하나

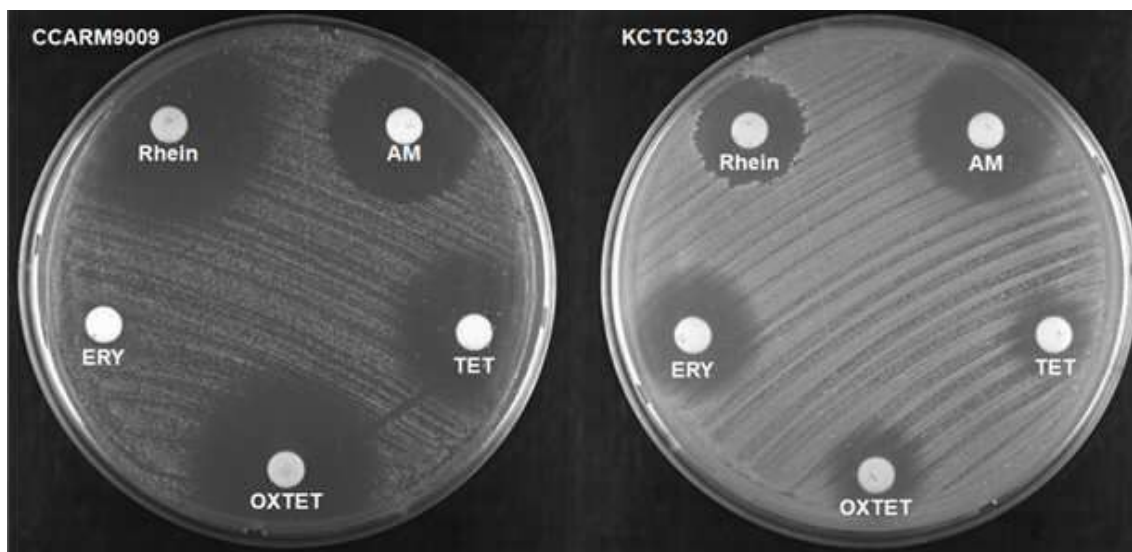
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 레인을 포함하는 피부 상재균에 대한 항균용 조성물

(57) 요약

본 발명은 레인(Rhein)을 포함하는 피부 상재균에 대한 항균용 조성물, 이를 포함하는 피부 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/65 (2013.01)
A61K 31/7048 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 8/368 (2019.05)
A61P 17/00 (2018.01)
A61P 17/08 (2018.01)
A61P 17/10 (2018.01)
A61P 31/04 (2018.01)
A61Q 19/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	GRRC 경희 2018-B4
부처명	경기도
과제관리(전문)기관명	경기도
연구사업명	글로벌의약품소재개발연구센터
연구과제명	미토콘드리아 특이 질환 치료제 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경희대학교 산학협력단
연구기간	2018.07.01 ~ 2020.06.30

명세서

청구범위

청구항 1

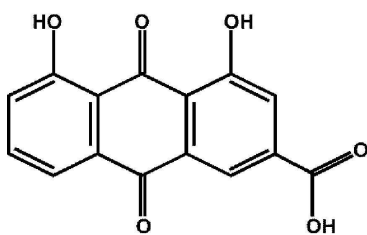
레인(Rhein)을 포함하는, 피부 상재균에 대한 항균용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 레인은 하기 화학식 1의 구조로 이루어진 것인, 피부 상재균에 대한 항균용 조성물.

[화학식 1]



청구항 3

제1항에 있어서,

상기 피부 상재균은 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*), 스타필로코커스 에피더미스(*Staphylococcus epidermis*), 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스타필로코커스 사프로파이티커스(*Staphylococcus saprophyticus*), 슈도모나스 아에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 엔테로코커스 패칼리스(*Enterococcus faecalis*), 액티노마이세스 바우마니(*Actinomyces baumannii*), 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 바실러스 서브틸리스 아종 스피지제니(*Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*), 클렙시엘라 뉴모니아(*Klebsiella pneumonia*), 클렙시엘라 옥시토카(*Klebsiella oxytoca*) 및 마이크로코커스 루테우스(*Micrococcus luteus*)로 구성된 군에서 선택된 하나 이상인 것인, 피부 상재균에 대한 항균용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 조성물은 항생제를 더욱 포함하는 것인, 항균용 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 항생제는 테트라사이클린(tetracycline), 옥시테트라사이클린(oxytetracycline), 암피실린(ampicillin) 및 에리트로마이신(erythromycin)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것인, 항균용 조성물.

청구항 6

제1항의 조성물을 포함하는, 염증성 피부 질환에 대한 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 염증성 피부 질환은 피부 상재균에 기인한 것인, 약학적 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 염증성 피부 질환은 여드름, 봉와직염, 모낭염, 지루성 피부염 및 종기로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것인, 약학적 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 항생제를 더욱 포함하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 항생제는 테트라사이클린(tetracycline), 옥시테트라사이클린(oxytetracycline), 암피실린(ampicillin) 및 에리트로마이신(erythromycin)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것인, 약학적 조성물.

청구항 11

제7항의 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 인간을 제외한 개체에 대한 염증성 피부 질환의 치료방법.

청구항 12

제1항의 조성물을 포함하는, 염증성 피부 질환에 대한 예방 또는 개선용 화장품 조성물.

청구항 13

제1항의 조성물을 포함하는, 염증성 피부 질환에 대한 예방 또는 개선용 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 라인(Rhein)을 포함하는, 피부 상재균에 대한 항균용 조성물, 이를 포함하는 피부 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인체의 피부는 신체를 구성하는 기관 중에서도 가장 큰 기관으로 보통 표피층, 진피층, 피하지방층으로 구분한다. 피부는 늘 외부환경에 직접적으로 노출되어 있어서 환경 변화에 따라 다양한 자극을 받을 수 있으며, 그에 따른 스트레스나 방어기작으로 인하여 다양한 피부 질환이 발생되기도 한다. 피부는 인체의 최외곽 기관으로서 제1차 생체 보호막의 기능을 담당하는데, 인체 내의 수분 손실을 막아주고, 그와 동시에 외부로부터 유입될 수 있는 각종 유해물질이나 오염물질의 침투를 차단하고, 자외선으로부터 보호해주며, 추운 환경에서는 수축을 통해서 열손실을 낮춰주고, 더운 환경에서는 땀을 배출하여 체열을 발산함으로써 인체의 항상성을 유지하는데 중요한 역할을 수행한다.

[0003] 이러한 피부는 세균성 미생물 감염, 심각한 미세먼지나 다양한 공해물질 또는 급격한 온도변화와 같은 외부환경적 요인, 찰과상이나 강한 태양 자외선과 같은 물리적 요인, 모기, 벌, 진드기와 같은 벌레물림 또는 옷나무 수액접촉과 같은 생물학적 요인 등과 같은 다양한 요인들로 인하여 내분비계의 이상이나, 피부면역체계의 과민반응으로 인해 피부 트러블, 건조증, 소양증(가려움증), 자극, 버닝(Burning), 염증, 부종 등의 여러 가지 피부 질환들이 표출될 수 있다.

[0004] 이 중 여드름, 종기, 모낭염 등과 같은 피부의 염증 질환이 증가되는 추세이며, 이러한 피부 염증성 질환의 주된 요인 중 하나로 호르몬 변화 외에 피부 상재균의 증식으로 인한 염증 반응이 있다.

[0005] 이러한 염증 반응의 치료 방법은 다양하며, 이 중 하나로 항생제로 테트라사이클린, 미노사이클린, 독시사이클린, 에리트로마이신, 클린다마이신, 아젤라익산, 트리클로산, 레조시놀, 유황 등을 사용하기도 한다. 그러나, 이러한 항생제나 항생제 등은 피부 발적, 부종, 홍반 등의 부작용을 유발할 수 있는 바, 이러한 부작용을 줄이기 위한 항균 물질의 개발 노력이 지속되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1985657호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 레인(Rhein)을 포함하는 항균용 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 상기 항균용 조성물을 포함하는 염증성 피부 질환에 대한 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 항균용 조성물을 포함하는 염증성 피부 질환에 대한 예방 또는 개선용 화장품 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 항균용 조성물을 포함하는 염증성 피부 질환에 대한 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

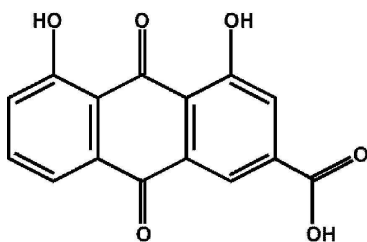
[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 염증성 피부 질환의 치료방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 측면은, 레인(Rhein)을 포함하는, 피부 상재균에 대한 항균용 조성물에 관한 것이다.

[0013] 구체적으로, 본 발명에서 상기 “레인(Rhein)”은 하기 화학식 1의 구조를 가지며, 카스 산(Cassic acid) 또는 4,5-디히드록시-9,10-디옥소-9,10-디히드로안트라센-2-카르복시릭산(4,5-dihydroxy-9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracene-2-carboxylic acid)으로도 명명될 수 있다.

[0014] [화학식 1]



[0015]

[0016] 상기 레인은 루바브(rhubarb) 등의 식물에서 추출하여 얻을 수 있으며, 구입하여 사용할 수도 있다.

[0017] 본 발명에서 상기 “피부 상재균”은 피부에 존재하는 균을 의미하는 것으로, 일정기간 동안 피부에 부착해 생착하다가 곧 사멸되는 비상재균과 달리 피부에 존재하여 미생물의 집단인 피부세균총을 구성한다. 이러한 피부 상재균은 인체 상태에 따라 균형을 유지하며 공존하기도 하나, 충분한 세정이 이루어지지 않는 등의 원인으로 피부의 피지선이 노폐물로 막히고, 피부에 존재하는 상재균이 이러한 노폐물에 의해 급격히 증식함으로써 균형이 깨지는 경우가 생긴다.

[0018] 이러한 균형이 깨지는 경우, 체내에서는 면역 반응 및 염증 반응이 일어나게 되며 이로 인해 염증성 피부 질환이 발생하게 된다.

[0019] 구체적으로, 본 발명의 피부 상재균은 피부 표피, 점막 등에 존재하는 상재균으로 인체와의 균형이 깨지면 염증 반응의 원인이 되는 원인균인 것일 수 있다.

[0020] 더욱 구체적으로, 상기 피부 상재균은 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*), 스타필로코커스

에피더미스(*Staphylococcus epidermis*), 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스타필로코커스 사프로파이티커스(*Staphylococcus saprophyticus*), 슈도모나스 아에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 엔테로코커스 패칼리스(*Enterococcus faecalis*), 액티노마이세스 바우마니(*Actinomyces baumannii*), 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 바실러스 서브틸리스 아종 스피지제니(*Bacillus subtilis subsp. spizizenii*), 클렙시엘라 뉴모니아(*Klebsiella pneumonia*), 클렙시엘라 옥시토카(*Klebsiella oxytoca*) 및 마이크로코커스 루테우스(*Micrococcus luteus*)로 구성된 군에서 선택된 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0021] 또한 구체적으로, 상기 조성물은 상기 피부 상재균의 NADH 탈수소효소(dehydrogenase)의 활성을 억제함으로써, 피부 상재균의 성장을 억제하는 것일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는 레인이 *P. acnes*의 NADH 탈수소효소의 활성을 저해하는 것을 확인하였다(도 3).
- [0022] 본 발명에서, “항균(antibiotic)”은 미생물의 성장 또는 생존을 감소, 방지, 억제 또는 제거하는 것을 말하며, “항균용 조성물”은 세균과 같은 미생물의 생육을 저해하는 활성을 가진 조성물로서, 항미생물제를 총칭하는 의미인 항생제와 같은 의미일 수 있고, 항균 효과가 요구되는 다양한 분야에 사용되는 모든 형태가 포함될 수 있으며, 예를 들어, 의약품, 의약외품, 식품 첨가제 또는 사료 첨가제 등의 형태일 수 있다. 특히, 본 발명의 항균용 조성물은 피부 상재균에 대한 항균 효과를 나타내는 것일 수 있다.
- [0023] 또한 구체적으로, 상기 항균용 조성물은 항생제를 더욱 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 항생제는 테트라사이클린(tetracycline), 옥시테트라사이클린(oxytetracycline), 암피실린(ampicillin) 및 에리트로마이신(erythromycin)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 본 발명 일 실시예에서는 레인 및 기존의 항생제인 테트라사이클린(tetracycline), 옥시테트라사이클린(oxytetracycline), 암피실린(ampicillin) 및 에리트로마이신(erythromycin)과의 복합 투여에 따른 효과를 확인하였으며, 특히 시너지 효과에 의해 종래 사용되는 항생제의 양을 줄일 수 있어 목적하는 수준에 요구되는 항생제의 양을 현저히 저감시킬 수 있음을 확인하였다(표 4 내지 표 7).
- [0025] 본 발명의 다른 측면은 상기 항균용 조성물을 포함하는, 염증성 피부 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0026] 구체적으로, 상기 염증성 피부 질환은 피부 상재균에 기인한 것일 수 있으며, 더욱 구체적으로 상기 염증성 피부 질환은 여드름, 봉와직염, 모낭염, 지루성 피부염, 염증성 피부염 및 종기로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0027] 즉, 본 발명의 염증성 피부 질환은 피부 상재균에 의해 발생된 것으로서, 본 발명의 조성물을 통해 피부 상재균에 대한 항균 효과에 기인하여 예방 또는 치료될 수 있는 피부 질환을 모두 포함한다.
- [0028] 본 발명에서, “여드름”은 피부의 모피지선, 모낭 및 주변 조직에서 발생하는 여드름 원인균 또는 피부 상재균 등에 의해 감염되는 염증성 질환을 의미한다. 여드름 원인균으로는 프로피오니박테리움(*Propionibacterium*) 속 균주, 더욱 상세하게는 프로피오니박테리움 아크니스(*Propionibacterium acnes*)가 알려져 있으며, 용어 “여드름 피부” 여드름 원인균 또는 피부 상재균 등에 의해 여드름이 발생한 피부 또는 여드름 발생의 우려가 있는 피부를 의미한다. 피부 상재균은 염증 발생 부위를 더욱 확장시켜 여드름이 악화되는데 영향을 줄 수 있는 바, 본 발명의 여드름은 화농성 여드름 등 여드름의 중증정도, 종류에 관계없이 적용될 수 있다.
- [0029] 본 발명에서, “봉와직염”은 진피와 피하 조직에 나타나는 급성 화농성 염증을 의미하며, 진피와 피하 조직에 A군 용혈성 사슬알균이나 황색 포도알균이 침범한 부위에 홍반, 열감, 부종, 통증이 있는 것이 특징이다.
- [0030] 본 발명에서, “모낭염”은 세균에 의해 모낭에 발생한 염증 질환을 의미하며, 황색포도알균이 가장 흔한 원인균으로 알려져 있다. 장기간 항생제를 사용한 여드름 환자의 경우에는 그람음성균이 원인될 수 있고, 뜨거운 욕조에서 목욕한 후에는 녹농균에 의한 모낭염이 발생하기도 한다.
- [0031] 본 발명에서, “지루성 피부염”은 피지의 분비가 많은 머리, 이마, 가슴, 겨드랑이 등에 발생하기 쉬운 염증성 피부 질환으로서 피지 분비량이 증가함에 따라 세균의 증식이 늘어나면서 발생하는 염증이다. 치료방법 중 하나로 지루성 피부염의 원인이 되는 균주를 제거하는 것이 제시되고 있다.
- [0032] 본 발명에서, “종기”는 모낭에서 발생한 염증성 결절로서, 낭염이 심해지고 커져서 결절이 생긴 것을 종기라 한다. 종기의 주된 원인은 세균 감염으로서, 가장 큰 원인균은 포도상구균(*staphylococcus*)이다.
- [0033] 본 발명의 조성물은 염증성 피부 질환의 원인이 되는 피부 상재균들에 대한 항균 효과가 우수함을 확인하였는

바, 상기와 같은 염증성 피부 질환의 치료에 적용될 수 있다.

- [0034] 구체적으로, 본 발명의 약학적 조성물은 항생제를 더욱 포함하는 것일 수 있다. 더욱 구체적으로, 상기 항생제는 테트라사이클린(tetracycline), 옥시테트라사이클린(oxytetracycline), 암피실린(ampicillin) 및 에리트로마이신(erythromycin)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0035] 본 발명의 약학적 조성물은 어떠한 제형으로도 적용가능하며, 구체적으로 경구용 제형 또는 비경구용 제형으로 적용될 수 있다. 경구용 제형으로 액제, 정제 형태를 적용할 수 있으며, 비경구용 제형으로는 주사용, 도포용, 에어로졸 등의 스프레이 형일 수 있다. 더욱 구체적으로는 주사제 형태일 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성 용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.
- [0036] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 적용될 수 있으며, "약학적으로 유효한 양"은 의학 적 치료에 적용가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 성별, 연령, 질병의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0037] 나아가, 본 발명의 약학적 조성물은 또 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 다른 치료제와 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있다. 또한 본 발명의 약학적 조성물은 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 필요에 따라 용이하게 결정될 수 있다.
- [0038] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 인간을 제외한 개체에 대한 염증성 피부 질환의 치료방법에 관한 것이다.
- [0039] 본 발명에서 상기 "개체"는 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 증상이 호전될 수 있는 질환을 가진 동물 또는 인간을 포함한다. 본 발명에 따른 치료용 조성물을 개체에게 투여함으로써, 염증성 피부 질환, 피부 상재균에 기인하는 질환 등을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있다.
- [0040] 본 발명에서 상기 "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 인간 또는 동물에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명에 따른 치료용 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 경구 또는 비경구 투여될 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 치료용 조성물은 유효성분이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.
- [0041] 상기한 바와 같이, 본 발명의 조성물의 바람직한 투여량은 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 본원발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 구체적으로 본 발명의 레인의 양을 기준으로 1일 0.0001 내지 1000mg/kg으로, 보다 효과적이기 위해서는 0.01 내지 100mg/kg으로 투여하는 것이 바람직하다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량과 투여횟수는 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0042] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 항균용 조성물을 포함하는, 염증성 피부 질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물에 관한 것이다.
- [0043] 구체적으로 상기 염증성 피부 질환은 여드름, 봉와직염, 모낭염, 지루성 피부염, 염증성 피부염 및 종기로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것일 수 있으며, 더욱 구체적으로 여드름인 것일 수 있다.
- [0044] 본 발명의 화장료 조성물은 용액, 외용 연고, 크림, 폼, 영양 화장수, 유연 화장수, 팩, 유연수, 유액, 메이크업 베이스, 에센스, 비누, 액체 세정료, 입욕제, 선 스크린 크림, 선 오일, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 로션, 파우더, 비누, 계면 활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 패취 및 스프레이로 구성된 군으로부터 선택되는 제형으로 제조할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0045] 본 발명의 상기 화장료 조성물은 일반 피부 화장료에 배합되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체를 1 종 이상 추가로 포함할 수 있으며, 통상의 성분으로 예를 들면 유분, 물, 계면 활성제, 보습제, 저급 알코올, 증점제, 킬레이트제, 색소, 방부제, 향료 등을 적절히 배합할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0046] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체는 화장료 조성물의 제형에 따라 다양하다.

- [0047] 본 발명의 제형이 연고, 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는, 담체 성분으로서 동물성 유, 식물성 유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화 아연 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0048] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는, 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실케이트, 폴리아미드 파우더 등이 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로하드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진제를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0049] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는, 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제 등이 이용될 수 있으며, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일 등이 이용될 수 있고, 특히, 목화씨 오일, 땅콩 오일, 옥수수 배종 오일, 올리브 오일, 피마자 오일 및 참깨 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 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 메타하이드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0051] 또한, 본 발명의 조성물은 피부에 직접 도포하거나 살포하는 등의 경피 투여 방법으로 사용될 수 있으며, 본 발명 조성물의 투여 경로는 목적조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다.
- [0052] 본 발명의 조성물의 사용량은 연령, 병변의 정도 등의 개인 차이나 제형에 따라 적절하게 조절될 수 있으며, 1 일 1회 내지 수회 적당량을 피부에 도포하여 1 주일 내지 수개월 사용될 수 있다.
- [0053] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 항균용 조성물을 포함하는, 염증성 피부 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물에 관한 것이다.
- [0054] 본 발명에서 식품이라 함은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 건강기능식품, 음료, 식품 첨가제 및 음료 첨가제를 모두 포함하는 의도이다. 구체적으로, 건강기능식품일 수 있다.
- [0055] 본 발명에서 건강기능식품이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미한다. 상기 건강기능식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 건강기능식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.
- [0056] 상기 외에 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분을 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.

발명의 효과

- [0057] 본 발명에 따르면, 본 발명의 레인을 포함하는 조성물은 항균 활성이 우수하며, 특히 여드름 원인균에 대한 항균 효과가 뛰어나다. 또한, 본 발명의 조성물은 독성이 없으며, 인체에 적용하여도 부작용을 유발하지 않아 피부 상재균 유래의 질환 치료용 약학적 조성물, 화장품 조성물 및 식품 조성물로서의 활용도가 높다.
- [0058] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

- [0059] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 여드름 유발균(CCARM 9009 및 KCTC3320)을 대상으로, 레인 및 상용 항생제의 감수성을 비교한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 레인의 농도별 처리에 따른 세포 독성을 평가한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 여드름 유발균(KCTC 3314)의 NADH 탈수소화 효소(dehydrogenases)에 대한 레인의 저해효과를 확인한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 4는 기존에 알려져 있는 NDH의 유전자와 유사성이 높은 유전자를 확인한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0060] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0061] **실험예 1. 상용 항생제와 레인의 항균 최소 농도 비교 확인**
- [0062] 레인의 항균 최소 농도를 확인하기 위하여, 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*, *P. acnes*)를 대상으로 EUCAST(The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)에서 제시한 배지미량희석법(Broth microdilution assay)을 사용하여 항균 최소 농도를 평가하였다.
- [0063] 구체적으로, 레인 외에도 시판되어 상용중인 항생제인 암피실린, 테트라사이클린, 옥시테트라사이클린 및 에리트로마이신의 *P. acnes*에 대한 항균 최소 농도를 확인하였다. 각 물질은 10mg/ml의 농도로 디메틸 설펍사이드(Dimethyl sulfoxide, DMSO)에 녹인 다음 사용하였다. 실험에 사용한 *P. acnes*는 생물자원센터(KCTC, Korea), 국립농업과학원미생물은행(KACC, Korea) 또는 항생제내성균주은행(CCARM, Korea)에서 분양을 받아 사용하였다. 배지로는 RCB(Reinforced Clostridial Broth, USA), MHA(Mueller-Hinton Agar, USA) 또는 MHB(Mueller-Hinton Broth, USA)를 사용하여 유지하였으며, 혐기성 패키지(Anaerobic package, Dickinson and Company)를 이용하여 혐기성 상태로 37°C에서 배양한 후 최소 1회 계대 배양하여 활성이 회복된 균주를 사용하였다.
- [0064] 각 화합물은 DMSO 농도가 2.5% 보다 높지 않도록 하여 2배씩 계속 희석한 후 96-웰 마이크로티트리 플레이트(microtitre plate)에 100 μ l 첨가하였으며, 100 μ l의 *P. acnes* 균주 현탁액(OD₆₀₀=0.1)을 각각의 웰에 투입한 후 37°C 혐기성 조건에서 지정된 시간 동안 배양하였다. 각 화합물의 농도는 최대 200 mg/l에서 최소 0.2 mg/l이 되게 하였으며, 물질에 대한 최소억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC) 값은 각각의 플레이트에서 균주가 자라지 않는 최소 농도로 하여 확인하였고, 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

[0065]

<i>P. acnes</i> 균주	최소억제농도 (μ g/ml)				
	레인	암피실린	테트라사이클린	옥시테트라사이클린	에리트로마이신
CCARM0081	12.5	3.125	1.5625	1.5625	12.5
CCARM9009	6.25	3.125	1.5625	3.125	3.125
KACC11946	6.25	6.25	1.5625	1.5625	12.5
KCTC3320	6.25	6.25	1.5625	1.5625	3.125

- [0066] 상기 표 1에 나타난 바와 같이, 레인의 MIC 값을 측정한 결과 *P. acnes*에 대하여 성장 저해 효과가 있음을 확인하였으며, 기존에 널리 사용되고 있는 항생제인 테트라사이클린과 옥시테트라사이클린보다는 낮지만 임상에 많이 적용되어 사용되고 있는 에리트로마이신 및 암피실린과는 유사한 정도의 효과를 보이는 것을 확인하였다.
- [0067] 즉, 본 발명에 따른 레인은 여드름 질병을 유발하는 *P. acnes*에 대하여 기존에 사용되고 있는 항생제와 비교하여 그 활성이 유사한 정도를 나타내는 것을 확인하였으므로, 레인이 *P. acnes*에 대하여 항균 활성이 있음과 동시에, 천연물 유래의 물질로서 안전성이 우수한 장점이 있음을 확인하였다.

[0068] 실험예 2. 피부 상재균에 대한 레인의 항균 최소 농도 확인

- [0069] 본 발명의 레인이 *P. acnes*를 제외한 다른 피부 상재균에 대해 어느정도의 항균 활성을 갖는지 확인하기 위하여 사람의 피부에 존재하는 것으로 알려진 피부 상재균을 대상으로 항균 최소 농도 확인 실험을 진행하였다.

[0070] 본 실험에서 사용된 피부 상재균은 실험에 1에서 항균 최소 농도를 확인한 *P. acnes* 외에 스타필로코커스 에피더미스(*Staphylococcus epidermis*), 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) CCARM 3506 및 KACC10768, 스타필로코커스 사프로파이티커스(*Staphylococcus saprophyticus*), 슈도모나스 아에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 엔테로코커스 패칼리스(*Enterococcus faecalis*) KACC 13807, CCARM 5511, KACC11954 및 CCARM 5506, 액티노마이세스 바우마니(*Actinomyces baumannii*), 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 바실러스 서브틸리스 아종 스피지제니(*Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*), 클렙시엘라 뉴모니아(*Klebsiella pneumonia*), 클렙시엘라 옥시토카(*Klebsiella oxytoca*) 및 마이크로코커스 루테우스(*Micrococcus luteus*)을 사용하였고, 상기 실험에 1과 동일한 조건 하에서 항균 최소 농도를 확인하고, 표 2에 나타내었다.

표 2

피부 상재균 종(species)	레인의 항균 최소 농도(MIC: ug/ml)
스타필로코커스 에피더미스	25
스타필로코커스 아우레우스 CCARM 3506	50
스타필로코커스 아우레우스 KACC10768	100
스타필로코커스 사프로파이티커스	50
슈도모나스 아에루지노사	25
엔테로코커스 패칼리스 KACC 13807	25
엔테로코커스 패칼리스 CCARM 5511	6.25
엔테로코커스 파에시움 KACC11954	25
엔테로코커스 파에시움 CCARM 5506	50
액티노마이세스 바우마니	>100
바실러스 세레우스	12.5
바실러스 서브틸리스 아종 스피지제니	25
클렙시엘라 뉴모니아	50
클렙시엘라 옥시토카	>100
마이크로코커스 루테우스	50

[0072] 상기 표 2에 나타난 바와 같이, 본 발명의 레인은 *P. acnes*뿐 아니라 다른 피부 상재균 대부분에도 항균 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 특히 엔테로코커스 패칼리스 CCARM 5511 및 바실러스 세레우스에는 현저히 우수한 항균효과를 나타내는 반면, 스타필로코커스 아우레우스는 균주에 따라 상당한 효과 차이가 발생하고, 액티노마이세스 바우마니 및 클렙시엘라 옥시토카는 상당히 높은 수준의 레인을 처리해야 항균 효과가 나타나는 것을 확인하였다.

[0073] 즉, 상기 실험결과로부터 레인이 대부분의 피부 상재균에 항균 효과를 나타내고 있으며, 특히 *P. acnes*를 비롯한 특정 균주에서 우수한 효과를 보이며, 균주에 따라서 레인의 항균 효과가 상이하게 나타날 수 있음을 확인하였다.

[0074] 실험예 3. *P. acnes*에 대한 항균물질 감수성 확인

[0075] 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)에 대한 레인의 감수성을 평가하였다.

[0076] 구체적으로, 레인 및 각 항생제에 대하여 *P. acnes*에 대한 감수성을 확인하고자 미국 미생물 학회(The American Society for Microbiology)에서 제시한 디스크 확산법(Disk diffusion assay)을 수행하였다. 각 화합물은 10mg/ml의 농도로 DMSO에 녹인 다음 DMSO 농도는 2.5% 보다 높지 않도록 하여 100ug을 사용하였으며, 배지는 MHA(Mueller-Hinton Agar, USA)를 사용하였으며, 평판 배지는 사용하기 전 1-2시간 37℃에서 배양하여 오염이 없음을 확인한 후 사용하였다.

[0077] 로그 페이스(log phase) 성장 상태의 *P. acnes* 균주 현탁액($OD_{600} = 0.1$ 또는 0.5 McFarland standard 혼탁도 측정; 1.5×10^8 CFU/ml)을 상기 배지에 멸균된 면봉을 이용하여 평면 도말하였으며, 각 화합물은 각 멸균된 8mm 지름의 페이퍼 디스크(paper disk; Advantec, 일본)에 10mg/ml의 농도로 10ul를 첨가하고 건조시킨 상태로 도말된 배지 위에 적용하였다. *P. acnes* 균주 현탁액 도말 후 혐기성 환경 37℃에서 24 시간 배양하였으며, 이후 반사광을 이용하여 항균 활성 구역의 지름을 측정하고, 그 결과를 하기 표 3 및 도 1에 나타내었다.

표 3

<i>P. acnes</i> 균주	저해환(Zone of inhibition)(mm)				
	레인	암피실린	테트라사이클린	옥시테트라사이클린	에리트로마이신
CCARM0081	20.1±1.2	20.3±1.21	28.1±2.12	32.3±2.48	25.2±2.35
CCARM9009	33.4±1.27	25.2±0.95	25.2±2.14	31.2±2.52	25.1±2.11
KACC11946	20.3±0.72	15.5±.78	29.9±2.22	32.8±2.87	26.7±2.12
KCTC3320	21.7±0.22	22.8±1.22	12.8±1.57	15.4±1.11	25.5±1.18

상기 표 3 및 도 1에 나타난 바와 같이, *P. acnes*에 대한 레인의 감수성을 확인한 결과, 기존에 잘 알려져 있는 항생제인 테트라사이클린과 옥시테트라사이클린, 암피실린과 임상에 많이 적용되어 사용되고 있는 에리트로마이신과 유사한 정도의 항균 활성을 나타내는 것을 확인하였다.

즉, 본 발명에 따른 레인은 여드름 질병을 유발하는 *P. acnes*에 대한 항균 활성이 있음을 다시 확인하였으며, 기존에 사용되고 있는 항생제와 유사한 정도의 활성을 나타낼 뿐만 아니라, 천연물 유래의 물질로서 안전성이 우수한 장점이 있다.

실험예 4. 기존 항생제와의 복합 처방에 따른 항균 효과

본 발명의 레인을 기존의 항생제인 테트라사이클린, 옥시테트라사이클린, 암피실린 및 에리트로마이신과 같이 사용하였을 경우 상호 보완적인 효과가 있는지 확인하기 위하여, 레인에 대하여 기존 항생제와의 복합 처방에 따른 항진균 활성을 평가하였다.

구체적으로, 레인과 테트라사이클린 및 각 항생제의 복합 처방에 따른 *P. acnes*에 대한 항균 효과를 확인하고자 상기한 배지미량희석법(Broth microdilution assay)을 체커보드(chesquerboard) 방식으로 사용하였다. 각 화합물의 농도는 최대 200mg/l에서 최소 0.2mg/l이 되도록 계속적으로 2배 희석한 후 96-웰 마이크로티트리 플레이트(microtitre plate)에 100 μ l 첨가하였으며, 100 μ l의 각 균주 현탁액(OD600=1)을 각각의 웰에 투입한 후 37°C에서 24시간 배양하였다. 각 화합물에 대한 최소억제농도(MIC) 값은 각 플레이트에서 균주가 자라지 않는 최소 농도로 하여 다시 확인하였다.

상기 복합 처방에 따른 상승효과는 $FICI = (Ac/Aa) + (Bc/Ba)$ 공식을 사용하여 부분 억제 농도 지수(Fractional inhibitory concentration indexes, FICIs)로 표시하여 하기 표 4 내지 7에 나타내었다. 상기 공식은 Ac와 Bc는 혼합 사용한 경우 A 물질 및 B 물질 각각의 MIC 값이며, Aa와 Ba는 단독으로 사용한 경우 A 물질 및 B 물질 각각의 MIC 값이다. 상기 FICI값이 0.5이하인 경우 상승효과가 있는 것으로 평가하며, 0.5 내지 4일 경우 상승효과가 없거나 미약한 것으로 평가한다.

구체적으로, 레인과 암피실린을 복합 처방한 결과는 표 4에, 레인과 테트라사이클린을 사용한 결과는 표 5에, 레인과 옥시테트라사이클린을 사용한 결과는 표 6에, 레인과 에리트로마이신을 함께 사용한 결과는 표 7에 나타내었다.

표 4

<i>P. acnes</i> 균주	최소억제농도 (μ g/ml)				
	레인 단독	레인+암피실린	암피실린 단독	암피실린+레인	FICI
CCARM0081	12.5	6.25	3.125	1.5625	1
CCARM9009	6.25	3.125	3.125	1.5625	1
KACC11946	6.25	3.125	6.25	3.125	1
KCTC3320	6.25	3.125	6.25	3.125	1

표 5

<i>P. acnes</i> 균주	최소억제농도 (μ g/ml)				
	레인 단독	레인+테트라사이클린	테트라사이클린 단독	테트라사이클린+레인	FICI
CCARM0081	12.5	3.125	1.5625	0.7813	0.75
CCARM9009	6.25	3.125	1.5625	0.7813	1

KACC11946	6.25	3.125	1.5625	0.7813	1
KCTC3320	6.25	3.125	1.5625	0.7813	1

표 6

<i>P. acnes</i> 균주	최소억제농도 (μg/ml)				
	레인 단독	레인+ 옥시 테트라사이클린	옥시테트라 사이클린 단독	옥시테트라사이클린 +레인	FICI
CCARM0081	12.5	1.5625	1.5625	0.7813	0.625
CCARM9009	6.25	3.125	3.125	0.7813	0.75
KACC11946	6.25	3.125	1.5625	0.7813	1
KCTC3320	6.25	3.125	1.5625	0.7813	1

표 7

<i>P. acnes</i> 균주	최소억제농도 (μg/ml)				
	레인 단독	레인+ 에리트로마이신	에리트로마이신 단독	에리트로마이신 +레인	FICI
CCARM0081	12.5	3.125	12.5	3.125	0.5
CCARM9009	6.25	3.125	3.125	1.5625	1
KACC11946	6.25	3.125	3.125	3.125	1.5
KCTC3320	6.25	3.125	3.125	3.125	1.5

상기 표 4 내지 표 7에서 나타난 바와 같이, 레인은 기존에 잘 알려져 있는 항생제와 혼합 사용을 할 경우 *P. acnes* CCARM0081 균주에 대하여는 복합 처방에 따른 시너지 효과가 있음을 확인하였다. 반면, 다른 균주의 경우에도 약 2배 이상의 항균 효과를 나타내는 것을 확인하였다.

즉 기존에 사용되는 항생제와 본 발명의 레인을 같이 사용할 경우, 특정 균주에 대해서는 시너지 효과를 기대할 수 있을 뿐만 아니라, 기타 균주에 대해서도 종래 사용되는 항생제의 양을 줄일 수 있어 목적하는 수준에 요구되는 항생제의 양을 현저히 저감시킬 수 있음을 의미하는 것이다.

실험예 5. 세포 독성 평가

레인의 인체 유래 세포에 대한 독성을 확인하기 위해 인체 유래의 케라틴 세포인 HaCaT 세포에 레인을 농도에 따라 각각 처리하고 세포의 성장을 저해하는지 측정하였다.

2×10^3 cells/ml의 세포를 96-웰 조직 배양 플레이트(tissue culture plates, Falcon)의 각 웰에 넣은 후 레인을 표시된 농도로 배양 플레이트에 추가하였다. DMSO는 최대 농도가 0.2%를 초과하지 않도록 투입하였다. 48시간 경과 후 100ul 5mg/ml MTT (sigma Cat. M2128)를 넣은 다음 ELISA reader(Epoch, BioTek, USA)를 이용하여 540nm 흡광도에서 활성을 측정하고, 그 결과를 하기 도 2에 나타내었다. 모든 실험은 3회 이상 반복 수행하였다.

도 2에 나타난 결과와 같이, 레인을 고농도(50 μg/ml)로 처리하였을 경우 $56.40 \pm 4.68\%$ 의 세포 성장이 관찰되었지만, 10 μg/ml을 처리하였을 경우에는 $97.40 \pm 2.25\%$ 의 성장율을 확인하였다.

레인의 항균 효과를 확인한 실험예 1 내지 4에서는 레인을 10mg/ml의 농도로 처리하여 충분한 항균 효과를 확인하였다. 즉, 이러한 실험 결과는 항균 작용을 할 정도로 레인을 처리하는 경우에는 사람의 세포의 성장에 거의 영향을 주지 않고, 생체에 대한 독성이 거의 없음을 의미하는 것이다.

실험예 6. 항균 효과 기전 확인

레인이 어떻게 항균 효능을 보이는지 확인하기 위하여 레인의 항균 작용 기전을 확인하였다. 레인이 사람의 NADH 탈수소효소(dehydrogenase)의 활성을 억제할 수 있음이 알려져 있으므로, 레인이 *P. acnes*에서도 동일하게 NADH 탈수소효소(dehydrogenase)의 활성을 저해하는지 확인하였다.

본 실험에 앞서, *P. acnes*의 NADH 탈수소효소(NADH dehydrogenase, NDH)를 암호화하고 있는 유전자가 알려져

있지 않기 때문에 우선 이를 클로닝 하였다.

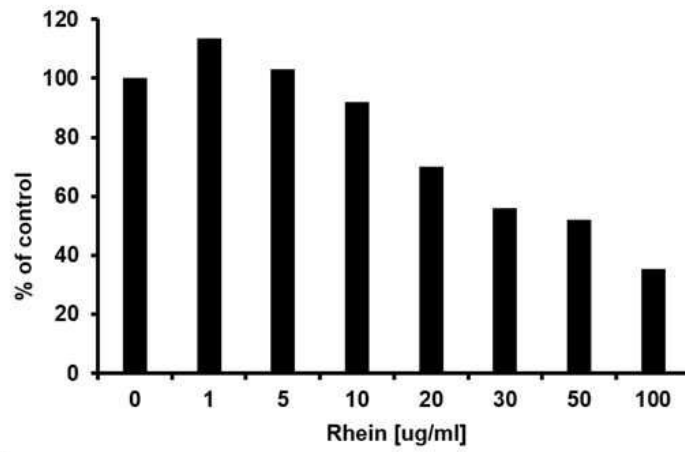
- [0100] *P. acnes*의 유전체(genomic) DNA를 확보하여 서열번호 1로 표시되는 5'_AACATCATTCGGAGGATTA_3' 및 서열번호 2로 표시되는 5'_GGGCTTA CTCATCTTTTC_3'를 사용하여 첫번째 PCR을 수행한 후 서열번호 3으로 표시되는 5'_ATCGCCATGGGCATCAATAACCTGTTGT_3' 및 서열번호 4로 표시되는 5'_ATCGAAGCTTCTCTTCCCATCAATGGGTT_3'를 사용하여 *P. acnes*의 NADH 탈수소효소 유전자를 확보하였다.
- [0101] NDH 유전자는 기존에 알려져 있는 NDH와의 유사성이 높은 유전자를 찾아 클로닝을 수행하였으며, 유사성은 도 4에 나타내었다. 제한효소인 NcoI 와 HindIII (Takana Chemical Co.)를 사용하여 pET28a 벡터에 NDH를 클로닝하여 pET28a-NDH-2를 제조하고, 이를 *E. coli*에 형질전환 시켰다.
- [0102] pET28a-NDH-2를 도입시킨 *E. coli*를 37° C에서 16시간 배양한 후, OD₆₀₀=0.8로 나눈 다음 0.4mM의 이소프로필 β-D-1-티오갈락토피라노사이드(Isopropyl β IPTG)를 6시간 동안 처리하여 NDH-2의 발현을 유도하였다. 소니케이터(Sonicator)를 이용하여 박테리아를 깨 다음, His-tagged NDH-2를 Ni-NTA resin (Qiagen, Germany)를 이용하여 확보하였다.
- [0103] 이렇게 확보한 단백질을 사용하여 효소 활성을 확인하였다. 효소 활성은 20mM Tris.HCl pH 7.0에 1mM의 페리시아나이드 옥시도리덕테이즈(ferricyanide oxidoreductase)(K₃Fe(CN)₆)(Sigma), 1mM의 (NAD(P)H)(TCI, 일본) 및 1mM의 FAD(TCI, 일본)와 각 표시된 양의 단백질을 넣어 수행한 후 활성은 OD₄₂₀에서의 흡광도 변화로 확인하고, 그 결과를 도 3에 나타내었다. 각 실험은 3회 이상 반복하였다.
- [0104] 그 결과 도 3에 나타낸 바와 같이, 레인은 *P. acnes*의 NADH 탈수소화 효소(dehydrogenase)의 활성을 억제하는 것을 확인하였으며, 이때 레인의 IC₅₀=3.52uM임을 확인하였다.
- [0105] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.
- [0106] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

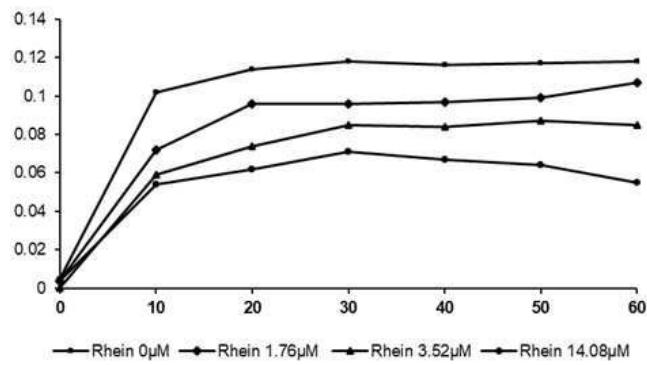
도면1



도면2



도면3



도면4

E.coli	-----TFLKQIVIVGGGAGGLMATQLGKLGKGGK
A.vinelandii	-----HSRIVIVGGGAGGLMATRLGKTMGGNFQ
P.acnes	-----P-----GLGCKPVLTOGSKPVTIVGAGFOGLAAERTFAA-----G
A.nidulans	LNPRGGGPNLPFAEVLIDDDSEAMQAGKDKPRLVILGTGWSIALLEKLNFG-----D
N.crassa	LNPRGGGPNLPFAEVLIDDDSEAMQAGKDKPRLVILGTGWSIALLEKLNFG-----D
S.tuberosum	LQFTFQYSTN-----DMVVQLEATSDQKPRIVVLSQWAGDRLMKDIDTN-----I
T.brucei	-----RQFKVWVVGTMAGCYFVRDTKQP-----L
S.cerevisiae	VENSQAGPFS-----FKDMKVIDFQHSDFNVTMTGSGWGLSFLRHIDTK-----K
H.sapiens	-----GSQSVESGALERVIVVGGGPGGLAAASQLQAL-----N
	-1-2-3-4-5-6-7-8-9-10-11-12-13-14-15-16-17-18-19-20-
E.coli	AKCITLVDSNH-----SHLWKPILLHEVATGSLDEG--VDALSYL--AHANSGGQFQLGVSVIDI
A.vinelandii	AKCITLVDSNH-----THLWKPILLHEVATGSLNST--GDELNTV--AQAGNNFEPQYGRMGGL
P.acnes	CDVTLIDSNF--YTTFPFLYQVATOGINFGDVTYRLRSP--AASNGPHTFPRACVTGII
A.nidulans	YEVTVVSETH--YFLFTFMLPSATVGTGLGLSLVSEVRR--VQR--VHGDFLKGDAVDV
N.crassa	YEVTVVSETH--YFLFTFMLPSATVGTGLGLSLVSEVRR--VQR--VHGDFLKGDAVDV
S.tuberosum	YDVVVSFPH--IDVFTFLASTCVGTLEFRSVAEIGRIQPAVSTQPASTFFLAMGNAI
T.brucei	AELEVLSTRN--HNVLTFLPQTITGTLEFRSICEPIIRIQPALAH--LPNRFSSCFVYDI
S.cerevisiae	YVNSIISFRS--YFLFTFLPSAPFATVDEKSLIEPIVNF--ATGKGNVTTYEASATSI
H.sapiens	VFMFLVMKDSFHEHVAALRASVETGFADKTFISYVT-----PKDNFRQGLVVGII
	-1-2-3-4-5-6-7-8-9-10-11-12-13-14-15-16-17-18-19-20-
E.coli	DREAKTITIAELRDEKUEL-----LVFERCIAYDTLVMAIGSTMDPNTFGVGGNC
A.vinelandii	DRAGQILRLAAGPAGEDRA-----FLPERLEYDTLVLSVGSTNDPOTFGAAENC
P.acnes	DPENHLEVEVDNG-----PISYDTLVLSQGVANFPOTFGAAENS
A.nidulans	DFSKRLVEITQIN-----HGGKGGQFYLPTDKLVIGVGVNTPSGVGGI--ENC
N.crassa	DFSSRLVEVSQKD-----PRGNEVRFPVPTDKLVIAVGUSTNPSGVGGI--ENC
S.tuberosum	DFDNEMIECETVTEGVETL-----EAMKPNVSYDKLVIASGAHALTPGIRGVNHEA
T.brucei	NPEQRVDCCISVONTSVGP-----HALVNTFDVYDKLVLAGAGPNTFPGVAVERA
S.cerevisiae	NPEQRVTVMGSLSAVSQTYQFENHTGTGAEPAIKYDYLSAVGAKPNTFPGVAVDYG
H.sapiens	DLRQMVLLQGE-----ALFPSHLLIATOSTOP--PFQK----
	1-2-3-4-5-6-7-8-9-10-11-12-13-14-15-16-17-18-19-20-
E.coli	IFLQNFQARRFQKMLNLFKYS-----ANLGANGEVNIAIVGGGATGVELSAELHNAVX
A.vinelandii	IFLEHQDAERFRPLLSYLRAH-----ASNDGGHQVVAIVGAGATGVELAAELHBAK
P.acnes	YTIYTRASSLRARDAIFTYLEDLD-----TQDRTFPIVIVGGGPTGVEMAGTLADGCS
A.nidulans	HFLESIDGARRIKMQLDMMELACLPTTDEKSKLLSFVVCQGGPTGVFAKELFDLLN
N.crassa	HFLESIDGARRIKMQLDMMELACLPTTDEKSKLLSFVVCQGGPTGVFAKELFDLLN
S.tuberosum	TFLEGVHBAQIRIKLLNLMLSDVGVSEKSKLLHCVVVGQGGPTGVFSGELSDFIL
T.brucei	CFLERVNEARTIRKQLVQIMTANLPVTSVEKGGULLHTVVGQGGPTGVFSAELAEFLR
S.cerevisiae	HTFKGINSLSGRTFAANTEKANLFPEDPERKRTTSVVGQGGPTGVFAAGETQGYVH
H.sapiens	-----PFGVSSQAAAIQAYEDMV-----RQVQRSRFIVVVGQGSAGVEMAAIKT----
	1-2-3-4-5-6-7-8-9-10-11-12-13-14-15-16-17-18-19-20-
E.coli	QLNSYCYKLTNKAALNVTLVAGSRILPALFPRISAAANKELYKLOWVILQTMTVSADR
A.vinelandii	ELVAYQLERIFFENLSITLIESSEFVLAALPERISRSAHATLESLOWVILVSTAVSEVTA
P.acnes	IGFPAIFPQVSTDRVNTLVEMANHELMFPDPAIRHYTRRQLSGRGVQVTHNTALAEVRE
A.nidulans	EDLLSFFKILRNEISVHIIQSRSEILNTYDZALSQFAESRFAQDDVILTNARVQGVRE
N.crassa	EDLTLEFPALLRNEISVHIIQSRSEILNTYDZAVSKYARDPSSDQGVVILNVRVAVRVP
S.tuberosum	KDVHQSAYAV--EDYINVTLEA--NEILSSPDRLRVYATNQLTKSGVRL--VRGLVQIVQP
T.brucei	DDVKNINFEL--VQFCVTVLEA--GEVFTFDLVKREMGKRLDALGVRI--VRGNVAVQE
S.cerevisiae	QDTRKETPAL--AKEVQIHLVEATFIVLNMPEKRTSSYAQSHELENTSIRVETRTAVAKVEE
H.sapiens	-----EYPEREVTILRSQVALADKELL-----PSVGRQEVKEILURKVQILLSEKVSNLEE
	1-2-3-4-5-6-7-8-9-10-11-12-13-14-15-16-17-18-19-20-
E.coli	-----GGLHT-----KDG-----YIADLMVWAGVAFDFLQIO-----GLETHRI
A.vinelandii	-----EGVCT-----KDDQ-----FIFADLMVWAGVAFDFLQIO-----GLETHRI
P.acnes	-----NSVLL-----KDDQ-----TIFADLMVWAGVAGDSVTNW-----GFEQGRG
A.nidulans	-----DRVVTQL-----EDGE--TVTKELPMDFLWSTGVRSDFCSRLSRL--EAQNNK
N.crassa	-----ESILFTQRTDGGCTTVTKCPMDFLWSTGVRSQAEFCGRISRLQFPAQTNR
S.tuberosum	-----DHILL-----SDGT-----NVFTGLLVWSTGVGPSFVNSL-----DIFPAK-
T.brucei	-----KEVIT-----KSGE-----VFSTGLVWSTGVGPSFLTKEL-----KVDRTQ
S.cerevisiae	-----KGLAKTGGEDGK--MTEETIFVGTLLWATGKGAIPVITDTKKIIEQNSSK
H.sapiens	LFLNEYRYIRVQT-----DRODT-----EVATNVLILCTGIEHNSAYARA--FESRLASS
	1-2-3-4-5-6-7-8-9-10-11-12-13-14-15-16-17-18-19-20-
E.coli	NGLVVEPTLQTTED-----PDIYAIGDCASCPRPEGGE
A.vinelandii	NGLVVRQTLQTTED-----DDIFAFGDCASCQPGOTR
P.acnes	GRATNGTLVVGQ-----DRIFAVGDDA-----INTED
A.nidulans	HALETDSHLRLIGAP--LGEVYAIGDCATVQMKVADHIVSLRTIAMEKGGDPQKVHLTF
N.crassa	HALETDSHLRLIGAP--LGEVYAIGDCSTIQMKVADHIIITFLINLAKKGGKDPESLELEF
S.tuberosum	GRIGIDENLVKFSV--QGVYSIGDCSOFLESTGRQ
T.brucei	GRISVDHLQVLRDGVFIPVYAIGDCA--THESN
S.cerevisiae	ROLAVNDFLQVGS--NNIFAIGDCA
H.sapiens	GALSVNEHLQVEG--SNVYAIGDCADV
	1-2-3-4-5-6-7-8-9-10-11-12-13-14-15-16-17-18-19-20-

서열 목록

- <110> University-Industry Cooperation Group of Kyung Hee University
- <120> COMPOSITION AGAINST SKIN PATHOGENS COMPRISING RHEIN AGAINST SKIN PATHOGENS
- <130> 19PP31039
- <160> 4
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1

<211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> P. acnes_NADH dehydrogenase_primer_1
 <400> 1
 aacatcattc ggaggatta 19
 <210> 2
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> P. acnes_NADH dehydrogenase_primer_2
 <400> 2
 gggcttactc atcttttc 18
 <210> 3
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> P. acnes_NADH dehydrogenase_primer_3
 <400> 3
 atcgccatgg gcatcaataa cctgttgt 28
 <210> 4
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> P. acnes_NADH dehydrogenase_primer_4
 <400> 4
 atcgaagctt ctctttccca tcaatgggtt 30