



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호

10-2013-0122066

(43) 공개일자

2013년11월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/258 (2006.01)

A61K 35/74 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

(21) 출원번호

10-2012-0045101

(22) 출원일자

2012년04월30일

심사청구일자

2012년04월30일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

남명수

대전광역시 유성구 노은서로 222 열매마을아파트 102동 402호

송규용

대전광역시 유성구 대학로 99, 약학과 (궁동, 충남대학교)

(74) 대리인

백경업

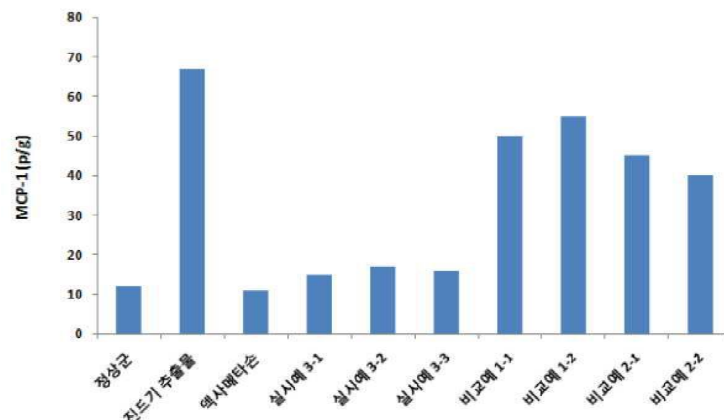
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 락토바실러스 플랜타럼 시알엔비-22를 이용한 발효인삼의 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22(*Lactobacillus plantarum* CRNB-22, 미생물 수탁번호 : KCTC11931BP)를 이용한 발효인삼의 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 상기 조성물은 MCP-1(monocyte chemoattractant protein-1), IL-8(interleukin-8) 및 IL-6(interleukin-6)의 활성을 억제하는 효과가 탁월하여 아토피 피부염과 같은 각종 피부질환의 증세를 치료 또는 경감시키는 치료제로 이용될 수 있다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	110060-3
부처명	농림수산식품부
연구사업명	농림기술개발과제
연구과제명	금산 발효홍삼 개발 및 발효공정 표준화
기 여 율	1/1
주관기관	충남대학교
연구기간	2010.07.01 ~ 2013.06.30

특허청구의 범위

청구항 1

락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22(*Lactobacillus plantarum* CRNB-22, 미생물 수탁번호 : KCTC11931BP)를 이용한 발효인삼의 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 추출물은 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼을 물, C1 내지 C4의 저급 알코올, 또는 이들의 혼합용매로 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22(*Lactobacillus plantarum* CRNB-22, 미생물 수탁번호 : KCTC11931BP)를 이용한 발효인삼은 인삼 100 중량부에 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22 균주 0.001~1.0 중량부를 접종하고, 20~50℃에서 5~9일간 발효하여 제조하는 것을 특징으로 하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 4

락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22(*Lactobacillus plantarum* CRNB-22, 미생물 수탁번호 : KCTC11931BP)를 이용한 발효인삼의 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 추출물은 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼을 물, C1 내지 C4의 저급 알코올, 또는 이들의 혼합용매로 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는 아토피 피부염의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22(*Lactobacillus plantarum* CRNB-22, 미생물 수탁번호 : KCTC11931BP)를 이용한 발효인삼은 인삼 100 중량부에 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22 균주 0.001~1.0 중량부를 접종하고, 20~50℃에서 5~9일간 발효하여 제조하는 것을 특징으로 하는 아토피 피부염의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22(*Lactobacillus plantarum* CRNB-22, 미생물 수탁번호 : KCTC11931BP)를 이용한 발효인삼의 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0002] 더욱 상세하게는, 본 발명은 MCP-1(monocyte chemoattractant protein-1), IL-8(interleukin-8) 및 IL-6(interleukin-6)의 활성을 억제하는 효과가 뛰어난 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22(*Lactobacillus plantarum* CRNB-22, 미생물 수탁번호 : KCTC11931BP)를 이용한 발효인삼의 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0003] 아토피 피부염의 병인기전은 아직 완전하게 밝혀지지 않았지만 환경 내에서 흔한 물질(알레르겐)에 대한 과민한 면역반응(알레르기반응)으로 인하여 피부에 만성적인 염증반응을 유발하여 아토피 피부염이 발생한 것으로 알려져 왔다. 또한, 아토피 피부염(atopic dermatitis)은 천식과 알레르기성 질환의 발달 전에 발생하는 만성적인

염증질환으로, 케모카인의 농도, 양적변화나 활성 정도에 따라 그 증상에 차이가 있으며(Curr. Allergy Asthma Rep., 2005, 5, 284-290), Th2 타입의 림프구가 병변부(lesional skin)로 침입하는 현상을 말하기도 한다.

[0004] 현재 세계 인구의 0.5%~1%, 특히, 어린이의 경우 5~10%가 아토피 피부염으로 고생하는 것으로 알려져 있으며, 그 발증과 악화에는 환경인자가 크게 관여하고 있는 것으로 알려져 있다. 그 예로서, 아토피 피부염의 발병 빈도는 집먼지 진드기에 노출된 양과 상관성을 보이며 아토피 피부염의 중증도와도 유의한 상관관계를 보인다고 알려져 있다. 또한 환경 내에서 집먼지 진드기에 대한 노출을 줄임으로써 아토피 피부염의 중증도를 감소시킬 수 있다고 알려져 있다. 그 외에 아토피 피부염은 건조한 피부, 정상인에 비해 쉽게 피부 가려움증을 느끼는 특성, 세균·바이러스·곰팡이 등에 의한 감염, 정서적 요인, 환경적 요인 등이 서로 복합적으로 작용하여 일어나는 것으로 보인다. 최근 수십 년 동안 아토피 피부염의 발병률이 상승하고 있으며, 우리나라 또한 그 환자 수가 크게 늘고 있는 현실이다.

[0005] 아토피 피부염을 일으키는 사이토카인 중의 하나인 IL-8(interleukin-8)은 기도 상피세포에서 분비되는 중요한 염증성 케모카인(chemokine)으로서 염증 초기에 주로 발현되며, IL-8에 의해 기관지 과민성이 유발되고 알레르기 비염이나 기관지 천식에서도 증가되는 것으로 알려져 있다. 이에 대한 예로서, 아토피 피부염을 유발하는 집먼지진드기 추출물을 THP-1 세포나 EoL-1 세포에 처리하면 아토피 피부염을 유발하는 사이토카인(cytokine)인 IL-8의 양이 증가하게 된다.

[0006] 한편, 아토피 피부염을 일으키는 다른 종류의 사이토카인으로는 MCP-1(monocyte chemoattractant protein-1)이 있는데, 상기 MCP-1은 CCR2(chemokine receptor)에 결합하며 MCP-1 유전자가 제거된 생쥐는 단핵구(monocytes)에 대한 화학주성이 손상을 받고, 특정 균의 감염에 저항성이 약화되는 것이 관찰되었으며, 이러한 현상은 CCR2 유전자가 제거된 동물에서 관찰되는 증상과 유사하다고 보고된 바 있다. 이 밖에도 MCP-1은 시험관에서 Th0 세포를 Th2 사이토카인을 분비하는 세포로 전환시키며, MCP-1을 정맥주사 하였을 때 IL-12의 생성이 감소되고 IL-4의 생성이 증가하는 것이 보고된 바 있다.

[0007] 한편, 기존에 아토피 피부염의 치료제로 가장 널리 이용되어 왔던 것은 주로 스테로이드제, 항히스타민제, 항생제 등과 같은 치료제이다. 이 중, 스테로이드제는 기관지천식 등의 염증성 질환에서 가장 널리 사용되는 치료제이지만, 아직까지도 스테로이드제가 체내에서 반응하는 기전이 다 알려져 있지 않은 실정이다. 한편, 기관지 천식이나 류마티스 관절염 등의 환자들 중 일부는 스테로이드제에 반응하지 않는 스테로이드 저항성을 보인다. 또한, 아토피 피부염은 스테로이드 계열의 약제를 통해 완전히 치료가 되기보다 만성화되면서 조직의 변성 및 섬유화가 일어나는 부작용이 종종 발생한다. 한편, 스테로이드제에 대한 저항성이 커지면, 만성 염증성 반응에서 다양한 세포를 통해 섬유화에 관련된 TGF- β (tumor growth factor- β), IL-4, IL-13 등의 다양한 사이토카인이 분비되고, 이를 통해 섬유모세포(fibroblast)를 활성화시키는 IL-6의 분비가 증가되어 많은 섬유모세포의 분화증식이 초래되며, 세포외 기질(extra cellular matrix)이 과생산되어 세포 및 조직의 변형과 섬유화가 야기될 수도 있다.

[0008] 따라서, 스테로이드제와 같은 아토피 피부염의 치료제들은 상기와 같은 여러 가지 부작용으로 인해 그 사용을 점차 제한하고 있는 추세이며, 아토피 피부염에 효과가 있으면서도 부작용이 없는 새로운 개념의 아토피 피부염의 치료용 조성물이 요구되고 있다.

[0009] 인삼(*Panax ginseng*)은 오갈피나목과(*Araliaceae*) 인삼 속에 속하는 다년생 초본류로 과거 수천년 전부터 우리나라를 비롯한 동양에서 약제 또는 건강식품으로 널리 사용되어 왔다. 또한 인삼은 수삼, 홍삼 등의 다양한 형태로 이용이 가능하며, 특히 수삼을 증기로 찌서 가공한 홍삼이 인체에 유용한 다양한 진세노사이드를 함유하고 있는 것으로 알려져 있다.

[0010] 인삼의 주요 효능을 나타내는 사포닌(saponin)은 30종류 이상의 진세노사이드(ginsenoside)로 구성되는데, 진세노사이드는 면역력강화, 항염증작용, 항알러지작용, 항암효과, 발기부전에 대한 효과, 혈압강화작용, 항콜레스테롤작용, 항혈전작용, 성인병 및 노화에 대한 예방 및 치료효과가 있다고 알려져 있다.

[0011] 인삼의 사포닌은 트리테페노이드(triterpenoid) 계열의 다마란(dammarane) 골격에 글루코즈(glucose), 아라비노스(arabinose), 자일로즈(xylose) 그리고 람노스(rhamnose) 등이 결합되어 있는 중성배당체이다. 인삼을 물과 알코올로 추출할 때 인삼 사포닌의 진세노사이드 중에서 20-O- β -D-글루코피라노실-20(S)-프로토파낙사디올(20-O- β -D-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol; R_{B1}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B2}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B3}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B4}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B5}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B6}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B7}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B8}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B9}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B10}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B11}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B12}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B13}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B14}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B15}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B16}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B17}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B18}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B19}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B20}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B21}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B22}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B23}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B24}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B25}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B26}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B27}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B28}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B29}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B30}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B31}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B32}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B33}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B34}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B35}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B36}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B37}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B38}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B39}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B40}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B41}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B42}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B43}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B44}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B45}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B46}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B47}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B48}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B49}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B50}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B51}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B52}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B53}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B54}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B55}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B56}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B57}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B58}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B59}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B60}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B61}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B62}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B63}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B64}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B65}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B66}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B67}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B68}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B69}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B70}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B71}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B72}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B73}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B74}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B75}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B76}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B77}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B78}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B79}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B80}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B81}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B82}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B83}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로토파낙사디올(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; R_{B84}), 20-O-[α -L-아라비노피라노실(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-글루코피라노실]-20(S)-프로

O-[α -L-arabinofuranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol; Rc), 20(S)-프로토파낙사트리올(20(S)-protopanaxatriol; Rg₁) 등이 다량 존재하는 것이 확인된다.

[0012] 한편, 사포닌은 체내에서 장내 미생물에 의해 분해되어 흡수되는데(Planta. Med., 1996, 62(5), 453~457), 진세노사이드 Rb₁의 경우, 장내 미생물에 의해 진세노사이드 Rd, 화합물 K(compound K)와 프로토파낙사디올로 순차적으로 전환되어 흡수된다. 하지만 인삼 사포닌을 분해하는 장내 미생물은 사람의 체질과 식습관에 따라 그 존재의 유무와 보유하고 있는 정도가 다르며, 대사 산물로 전환하는데 차이가 있어서 인삼을 복용한 후의 효능의 차이가 나타날 수 있다. 즉, 장내 미생물 군종이 사람마다 다르기 때문에 진세노사이드의 전환율과 생체이용률이 달라지게 된다(J. Pharm. Pharmacol. 1998, 50(10), 1155~1160).

[0013] 따라서 장내 미생물의 차이로 인한 인삼 내의 진세노사이드의 흡수율의 차이를 없애기 위해, 다양한 미생물을 이용하여 인삼을 미리 발효함으로써 진세노사이드의 체내 흡수율을 제고하고, 또한 새로운 형태의 유용한 인삼 발효물을 제공하고자 하는 시도가 지속적으로 이루어지고 있다.

[0014] 그러나, 상기 미생물들을 이용해 발효된 인삼 내의 진세노사이드의 성분 및 함량을 확인했을 때, 진세노사이드의 전환능이 기대했던 것만큼 아주 높지는 않은 것으로 확인되고 있어 새로운 진세노사이드 전환 활성을 갖는 미생물을 개발하는 것에 대한 필요성이 제기되고 있다.

[0015] 한편, 본 발명자들은 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22(*Lactobacillus plantarum* CRNB-22, 미생물 수탁번호 : KCTC11931BP) 균주가 진세노사이드의 전환능이 우수함으로써 장내 흡수율이 높은 진세노사이드를 다량으로 포함하는 고기능성을 갖는 발효인삼을 제조할 수 있음을 확인한 바 있다(특허출원 제10-2010-0029649호). 이에, 본 발명자들은 상기 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22을 이용한 발효인삼의 활성을 연구하던 중, 상기 발효인삼의 추출물이 아토피 피부염의 예방 또는 치료 효과가 우수함을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0016] (비특허문헌 0001) Pivarcsi, A. et al., Chemokine networks in atopic dermatitis : traffic signals of disease., Curr. Allergy Asthma Rep., 2005, 5, 284~290.

(비특허문헌 0002) Hasegawa, H. et al., Main ginseng saponin metabolites formed by intestinal bacteria., Planta. Med., 1996, 62(5), 453~457.

(비특허문헌 0003) von Moltke L.L. et al., Intestinal bacterial hydrolysis is required for the appearance of compound K in rat plasma after oral administration of ginsenoside Rb₁ from Panax ginseng., J. Pharm. Pharmacol. 1998, 50(10), 1155~1160.

(비특허문헌 0004) Lee J.S. et al., House dust mite, Dermatophagoides pteronissinus increases expression of MCP-1, IL-6, and IL-8 in human monocytic THP-1 cells., Cytokine, 2008, 42(3), 365~371.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0017] 본 발명의 목적은 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22(*Lactobacillus plantarum* CRNB-22, 미생물 수탁번호 : KCTC11931BP)를 이용한 발효인삼의 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 데에 있다.

[0018] 더욱 상세하게는, 본 발명의 목적은 MCP-1(monocyte chemoattractant protein-1), IL-8(interleukin-8) 및 IL-6(interleukin-6)의 활성을 억제하는 효과가 뛰어난 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22(*Lactobacillus plantarum* CRNB-22, 미생물 수탁번호 : KCTC11931BP)를 이용한 발효인삼의 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

- [0019] 본 발명은 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.
- [0020] 상기 추출물은, 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼을 물, C1 내지 C4의 저급 알코올, 또는 이들의 혼합용매로 추출한 추출물일 수 있다.
- [0021] 상기 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼은 인삼 100 중량부에 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22 균주 0.001~1.0 중량부를 접종하고 20~50℃에서 5~9일간 발효하여 제조할 수 있다.
- [0022] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.
- [0023] 이하, 본 발명을 더 자세하게 설명한다.
- [0024] 상기 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물은 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼에, 상기 발효인삼 중량의 2~20배(w/w)의 물, 탄소수 1 내지 4개의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매를 가하여 제조할 수 있다.
- [0025] 상기 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물은 필요에 따라, 유기용매(알코올, 에테르, 아세톤 등)에 의한 추출, 유기용매(n-헥산, 에틸아세테이트, n-부탄올)와 물의 분배, 컬럼크로마토그래피에 의한 방법, 식물체 성분의 분리 추출에 이용되는 공지의 방법 등을 단독 또는 적합하게 조합하여 더욱 정제할 수 있으며, 필요에 따라 상법에 따라서 더욱 정제할 수 있다.
- [0026] 본 발명에서 사용하는 크로마토그래피에는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 엘에이취-20 컬럼 크로마토그래피(LH-20 column chromatography), 이온교환수지 크로마토그래피(ion exchange resin chromatography), 박층크로마토그래피(TLC; thin layer chromatography), 중압크로마토그래피(medium pressure liquid chromatography) 및 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등이 이용될 수 있다.
- [0027] 본 발명의 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼은 인삼 100 중량부에 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22 균주 0.001~1.0 중량부를 접종하고, 20~50℃, 바람직하게는 25~45℃에서 5~9일간 발효하여 제조할 수 있으며, 필요에 따라 쌀겨, 옥수수, 전분, 포도당, 서당, 과당, 유당 등의 탄소원을 추가하여 발효할 수도 있다.
- [0028] 상기 발효인삼의 제조에 이용되는 인삼은 파낙스(*Panax*) 속에 속하는 다년생 식물로, 고려인삼(*Panax ginseng*), 화기삼(*Panax quinquefolia*), 전칠삼(삼칠, *Panax notoginseng*), 죽절삼(*Panax japonicus*), 히말라야삼(*Panax pseudoginseng*), 베트남삼(*Panax vietnamensis*), 파낙스 엘레가티오르(*Panax elegatior*), 파낙스 완지아누스(*Panax wangianus*) 및 파낙스 비핀라티피두스(*Panax bipinratifidus*), 파낙스 안구스티폴리움(*Panax angustifolium*)에서 선택되는 1종 이상의 인삼을 이용할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 아울러 이들 인삼은 단독으로 또는 2종 이상 조합하여 사용할 수도 있다.
- [0029] 한편, 상기 인삼은 4~6년근의 인삼 뿌리를 이용하는 것이 바람직하다.
- [0030] 또한, 본 발명은 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다. 상기 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물을 함유하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화 할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제에는 상기 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 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. 비경

구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0031] 상기 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물의 투여량은 치료받을 대상의 연령, 성별, 체중과, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여경로 및 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 일반적으로 투여량은 0.01mg/kg/일 내지 대략 2000mg/kg/일의 범위이다. 더 바람직한 투여량은 0.1mg/kg/일 내지 500mg/kg/일이다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수 회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명의 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물은 쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 주사에 의해 투여될 수 있다. 또한 본 발명의 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물은 천연물 유래의 조성물이기 때문에, 독성 및 부작용은 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.

[0032] 또한, 본 발명은 상기 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다. 상기 건강기능식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제가 첨가될 수 있다. 또한, 상기 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 상기 건강기능식품으로는 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 캔디류, 스펙류, 면류, 아이스크림을 포함한 낙농제품, 스프, 이온음료를 포함한 음료수, 알코올 음료 및 비타민 복합제를 포함한 영양 공급용 제품이 포함될 수 있다.

[0033] 또한 상기 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼 추출물은 그대로 건강기능식품으로 제품화할 수도 있고, 풍미나 향취를 높이기 위해 다양한 첨가물을 배합하여 제품화할 수 있다. 첨가물의 예로서는 각종 당질, 유화제, 감미료, 산미료, 과즙 등이 있다. 구체적으로는 포도당, 서당, 과당, 봉밀 등의 당질과 솔비톨, 키실리톨, 에레스리콜, 락티톨, 파라티니드 등의 당알코올, 글리세린지방산에스테르와 같은 지방산에스테르, 레시틴 등의 유화제 등이 사용될 수 있으며, 이외에도 비타민A, 비타민B, 비타민C, 비타민E 등의 각종 비타민류나 식물 엑기스, 곡물성분, 야채성분 등도 첨가제로 사용가능하다.

발명의 효과

[0034] 본 발명은 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22(*Lactobacillus plantarum* CRNB-22, 미생물 수탁번호 : KCTC11931BP)를 이용한 발효인삼의 추출물을 함유하는 아토피 피부염의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 상기 조성물은 MCP-1(monocyte chemoattractant protein-1), IL-8(interleukin-8) 및 IL-6(interleukin-6)의 활성을 억제하는 효과가 탁월하여 아토피 피부염과 같은 각종 피부질환의 증세를 치료 또는 경감시키는 치료제로 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물의 MCP-1 활성 억제 효과를 확인한 결과이다.

도 2는 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물의 IL-6 활성 억제 효과를 확인한 결과이다.

도 3은 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물의 IL-8 활성 억제 효과를 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해질 수 있도록 그리고 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

[0037] <실시예 1. 미생물의 분리 및 동정>

[0038] 실시예 1-1. 미생물의 분리

[0039] 본 발명의 미생물은 김치와 콩고의 마유로부터 분리하였다. 김치 시료 및 마유를 멸균수에 희석하고, 희석액 1 ml을 BCP 아가 플레이트(agar plate, 표 1의 조성 참조)에 분주하여 30℃와 37℃에서 3일간 배양하였다. 배양

후 BCP 아가 플레이트상에서 콜로니(colony) 주위에 노란색의 환을 형성하는 균주를 선발하여 BCP 아가 상에서 5회 계대 배양하여 순수 분리하였다.

[0040] 사포닌 분해능력을 가진 균주를 분리하기 위하여 분리된 균주를 에스컬린-아가(Esculin-agar, 표 2의 조성 참조) 배지에 접종하여 배지 내의 색깔 변화를 관찰하였다. 사포닌 분해능력을 가진 균주는 β -글루코시다제(glucosidase)를 생성하고 에스컬린(esculin)에 β -글루코스(glucose)가 반응하여 생성된 에스컬레틴(esculetin)은 배지 내에서 페릭 암모늄 시트레이트(ferric ammonium citrate)와 반응하여 콜로니 주위에 검정색 환을 형성하게 된다. 따라서 콜로니 주위에 검정색 환이 형성된 균주들을 β -글루코시다제 활성을 가지는 균주라고 판단하고, 사포닌 분해능력이 있을 것으로 판단되어 사포닌 분리 균주로서 선발하였다. 이러한 과정을 거쳐 김치로부터 6개, 콩고 마유로부터 10개의 미생물을 분리하였다.

표 1

[0041]

물질	함량 (g/ℓ)
효모 추출물(Extract Yeast Dried)	2.5
펩톤(Peptide)	5.0
포도당	1.0
L-시스테인(Cysteine)	0.1
트윈(Tween) 80	1.0
브로모크레졸 퍼플(Bromocresol purple)	0.04
아가 분말	15.0

표 2

[0042]

물질	함량 (g/ℓ)
카제인 추출물(Pancreatic digest of casein)	13.0
NaCl	5.0
효모 추출물	5.0
에스컬린	1.0
페릭 암모늄 시트레이트(Ferric ammonium citrate)	0.5
아가 분말	15.0

[0043] 실시예 1-2. 분리된 미생물의 동정

[0044] 상기 실시예 1-1에서 선발된 균주 중 β -글루코시다제 활성 및 사포닌 분해능력 우수한 균주를 선택하여 사포닌 분해 미생물로 선발된 균주 중 β -글루코시다제 활성이 가장 뛰어난 미생물에 대하여 16S rDNA 염기서열에 기초한 분자계통 분류학적 분석을 이용하여 동정을 실시하였다. 이 후, 상기 균주 DNA를 추출하고, 범용 프라이머(universal primer) (5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', 5'-AGAAAGGAGGTGATCCAGCC-3')를 이용하여 PCR을 행하여 16S rDNA(16S rRNA 코딩 유전자)를 증폭하였다. 증폭조건은 96℃에서 2분간 반응한 다음 96℃에서 변성 10초, 50℃에서 annealing 5초, 60℃에서 extension을 4분간 25회 반복하고, 60℃에서 2분간 최종 extension을 실시하였다. 증폭된 16S rDNA는 PCR 산물 정제 키트(Product Purification Kit, Qiagen)를 사용하여 정제한 후, Genetic analyzer 377(Perkin-Elmer)을 사용하여 결정하였다.

[0045] 그 결과 β -글루코시다제 활성 및 사포닌 분해능력이 가장 우수한 균주를 락토바실러스 플랜타리움 CRNB-22(*Lactobacillus plantarum* CRNB-22)로 명명하였으며, 한국미생물자원센터(수탁번호 KCTC11931BP)에 기탁하였다(특허출원 제10-2010-0029649호).

[0046] <실시예 2. 발효인삼의 제조>

[0047] 6년근 수삼 100g에 상기 실시예 1에서 분리한 락토바실러스 플랜타리움 CRNB-22 균주 배양물 0.1g을 넣고 37℃에서 7일간 발효하여 발효인삼을 제조하였다.

[0048] <실시예 3. 발효인삼 추출물의 제조>

- [0049] **실시예 3-1. 발효인삼 물 추출물**
- [0050] 상기 실시예 2의 발효인삼을 수분 14%가 되도록 건조하고, 물 10kg에 상기 발효인삼 건조물 1kg을 넣고 90℃에서 8시간 동안 추출한 후, 고형분을 제거한 여액을 동결건조하여 발효인삼 물 추출물을 제조하였다.
- [0051] **실시예 3-2. 발효인삼 70% 에탄올 수용액 추출물**
- [0052] 상기 실시예 2의 발효인삼을 수분 14%가 되도록 건조하고, 70% 에탄올 수용액 4kg에 상기 발효인삼 건조물 1kg을 넣고 50℃에서 8시간 동안 추출한 후, 고형분을 제거한 여액을 감압증류 및 동결건조하여 발효인삼 70% 에탄올 수용액 추출물을 제조하였다.
- [0053] **실시예 3-3. 발효인삼 100% 에탄올 추출물**
- [0054] 상기 실시예 2의 발효인삼을 수분 14%가 되도록 건조하고, 100% 에탄올 4kg에 상기 발효인삼 건조물 1kg을 넣고 50℃에서 8시간 동안 추출한 후, 고형분을 제거한 여액을 감압증류하여 발효인삼 100% 에탄올 추출물을 제조하였다.
- [0055] **<비교예 1. 인삼 추출물의 제조>**
- [0056] **비교예 1-1. 인삼 물 추출물의 제조**
- [0057] 실시예 3-1과 동일하게 추출물을 제조하되, 발효인삼 건조물 대신에 6년근 백삼(수분 14% 이하)을 사용하였다.
- [0058] **비교예 1-2. 인삼 70% 에탄올 추출물의 제조**
- [0059] 실시예 3-2와 동일하게 추출물을 제조하되, 발효인삼 건조물 대신에 6년근 백삼(수분 14% 이하)을 사용하였다.
- [0060] **<비교예 2. 홍삼 추출물의 제조>**
- [0061] **비교예 2-1. 홍삼 물 추출물의 제조**
- [0062] 실시예 3-1과 동일하게 추출물을 제조하되, 발효인삼 건조물 대신에 수분이 14% 이하로 건조된 홍삼(6년근 인삼으로 제조한 것)을 사용하였다.
- [0063] **비교예 2-2. 홍삼 70% 에탄올 추출물의 제조**
- [0064] 실시예 3-2와 동일하게 추출물을 제조하되, 발효인삼 건조물 대신에 수분이 14% 이하로 건조된 홍삼(6년근 인삼으로 제조한 것)을 사용하였다.
- [0065] **<실험예 1. 세포배양 및 발효인삼 추출물의 처리>**
- [0066] 사람의 단핵구(monocyte)인 THP-1 세포(human acute monocytic leukemia cell)를 RPMI 1640 배지, 항생제(penicillinm 10^4 U/ml, streptomycin 10mg/ml, amphotericin B $25\mu\text{g}/\text{ml}$)와 10% FBS(fetal bovine serum)를 넣고, 37℃, 5% CO_2 조건에서 3일간 배양하였다. 이 후, MCP-1, IL-6, IL-8의 활성을 측정하기 위해 상기 THP-1 세포를 트립신-EDTA를 이용하여 $2.0 \times 10^6/\text{ml}$ 의 농도로 24웰 플레이트에 분주한 후 0.5% FBS가 포함된 RPMI에서 37℃, 5% CO_2 조건에서 16시간 동안 배양하였다. 배양 후 실시예 3의 발효인삼 추출물($200\mu\text{g}/\text{ml}$), 비교예 1의 인삼 추출물($200\mu\text{g}/\text{ml}$) 및 비교예 2의 홍삼 추출물($200\mu\text{g}/\text{ml}$), 덱사메타손(dexamethasone, $50\mu\text{g}/\text{ml}$), 진드기 추출물(연세대학교 의과대학에서 구입, $1\mu\text{g}/\text{ml}$)을 14시간 동안 처리한 후 ELISA(enzyme-linked immunospecific assay; Cytokine. 2008, 42(3), 365~371)를 이용하여 상층액에서 MCP-1, IL-6, IL-8의 양을 측정하여 도 1~3에 나타내었다. 또한 정상군에는 물 추출물의 용매인 생리식염수를 처리하였다(에탄올 처리군의 용매인 DMSO를 처리해도 결과는 동일하게 나옴).
- [0067] 도 1~3에서와 같이 THP-1 세포에 아토피를 유발한다고 알려진 진드기 추출물을 처리하면 MCP-1, IL-6 및 IL-8의 분비가 증가됨을 알 수 있었다. 양성대조군으로 사용한 덱사메타손은 MCP-1의 분비를 거의 정상수준으로 떨어뜨리는 것으로 확인되었으며, 본 발명의 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼 추출물을 처리한 세포에서는 MCP-1, IL-6 및 IL-8의 분비가 현저하게 감소되는 것으로 확인되어, 상기 발효인삼 추출물이 아토피 피부염의 치료 효과가 우수함을 알 수 있었다. 반면, 발효과정을 거치지 않은 인삼이나 홍삼의 추출물은 본 발명의 추출물보다는 MCP-1, IL-6 및 IL-8의 분비를 억제하는 효과가 높지 않은 것으로 나타났다.
- [0068] **<실험예 2. 독성실험>**

- [0069] **실험예 2-1. 급성독성**
- [0070] 본 발명의 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼 추출물을 단기간에 과량을 섭취하였을 시 급성적 (24시간 이내)으로 동물체내에 미치는 독성을 조사하고, 치사율을 결정하기 위하여 본 실험을 수행하였다. 일반적인 마우스인 ICR 마우스 계통 20마리를 대조군에 10마리, 실험군에 30마리씩 배정하였다. 대조군에는 아무것도 투여하지 않았으며, 실험군은 각 10마리 당 실시예 3-1 내지 3-3에서 제조한 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물 2.0g/kg(일반적인 동물실험에서 사용되는 양의 50배 정도)을 경구 투여하였다. 투여 24시간 후에 각각의 치사율을 조사한 결과, 대조군과 2.0g/kg 농도의 실시예 3-1 내지 3-3에서 제조한 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물을 투여한 실험군은 모두 생존하였다.
- [0071] **실시예 5-2. 실험군 및 대조군의 장기 및 조직 독성 실험**
- [0072] C57BL/6J 생쥐를 대상으로 동물의 각 장기(조직)에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실시예 3에서 제조한 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물을 투여한 실험군과 용매만을 투여한 대조군의 동물들로부터 8주 후 혈액을 채취하여 GPT(glutamate-pyruvate transferase) 및 BUN(Blood Urea Nitrogen)의 혈액 내 농도를 Select E(Vital Scientific NV, Netherland) 기기를 이용하여 측정하였다. 그 결과, 간독성과 관계있는 것으로 알려진 GPT와 신장독성과 관계있는 것으로 알려진 BUN의 경우, 대조군과 비교하여 실험군은 별다른 차이를 보이지 않았다. 또한, 각 동물로부터 간과 신장을 절취하여 통상적인 조직절편 제작과정을 거쳐 광학현미경으로 조직학적 관찰을 시행하였으며 특이한 이상이 관찰되지 않았다.
- [0073] **<사용예 1. 약학적 제제예>**
- [0074] **사용예 1-1. 정제의 제조**
- [0075] 실시예 3-1에서 제조한 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물 20g을 락토오스 175.9g, 감자전분 180g 및 콜로이드성 규산 32g과 혼합하였다. 이 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄해서 14 메쉬체를 통과시켰다. 이것을 건조시키고 여기에 감자전분 160g, 활석 50g 및 스테아린산 마그네슘 5g을 첨가해서 얻은 혼합물을 정제로 만들었다.
- [0076] **사용예 1-2. 주사액제의 제조**
- [0077] 실시예 3-1에서 제조한 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물 2g을 증류수에 용해시켜서 100ml를 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20℃에서 30분간 가열하여 멸균시켰다.
- [0078] **<사용예 2. 식품 제제예>**
- [0079] **사용예 2-1. 조리용 양념의 제조**
- [0080] 실시예 3-1에서 제조한 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물을 0.2~10 중량%로 하여 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였다.
- [0081] **사용예 2-2. 밀가루 식품의 제조**
- [0082] 실시예 3-1에서 제조한 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물을 0.1~5.0 중량%로 하여 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.
- [0083] **사용예 2-3. 스프 및 육즙(gravies)의 제조**
- [0084] 실시예 3-1에서 제조한 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물을 0.1~1.0 중량%로 하여 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.
- [0085] **사용예 2-4. 유제품(dairy products)의 제조**
- [0086] 실시예 3-1에서 제조한 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물을 0.1~1.0 중량%로 하여 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.
- [0087] **<사용예 3. 음료 제제예>**
- [0088] **사용예 3-1. 야채쥬스 제조**
- [0089] 실시예 3-1에서 제조한 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물 0.5g을 토마토 또는 당근

주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 야채주스를 제조하였다.

[0090]

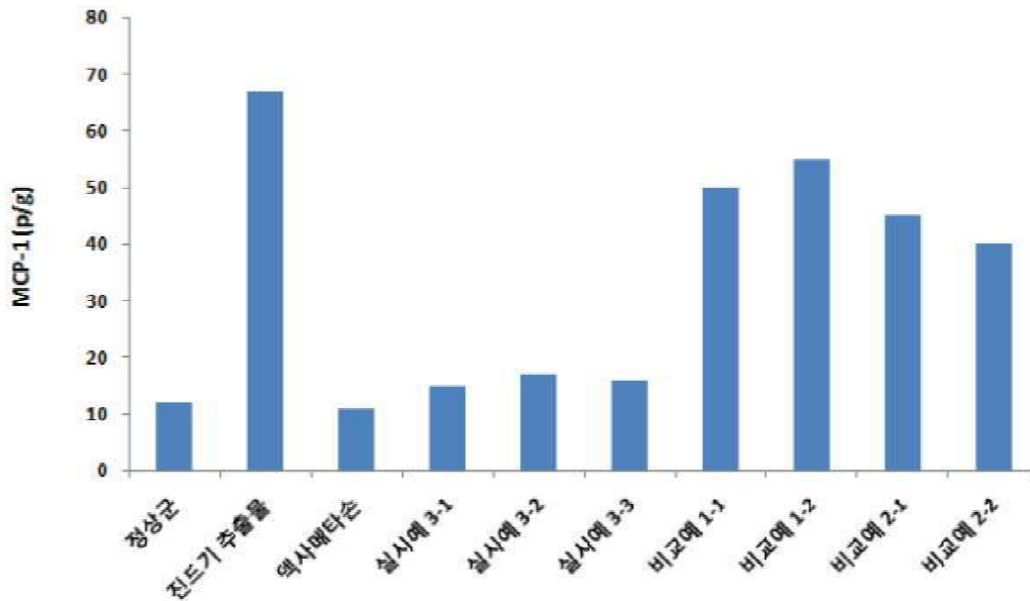
사용예 3-2. 과일주스 제조

[0091]

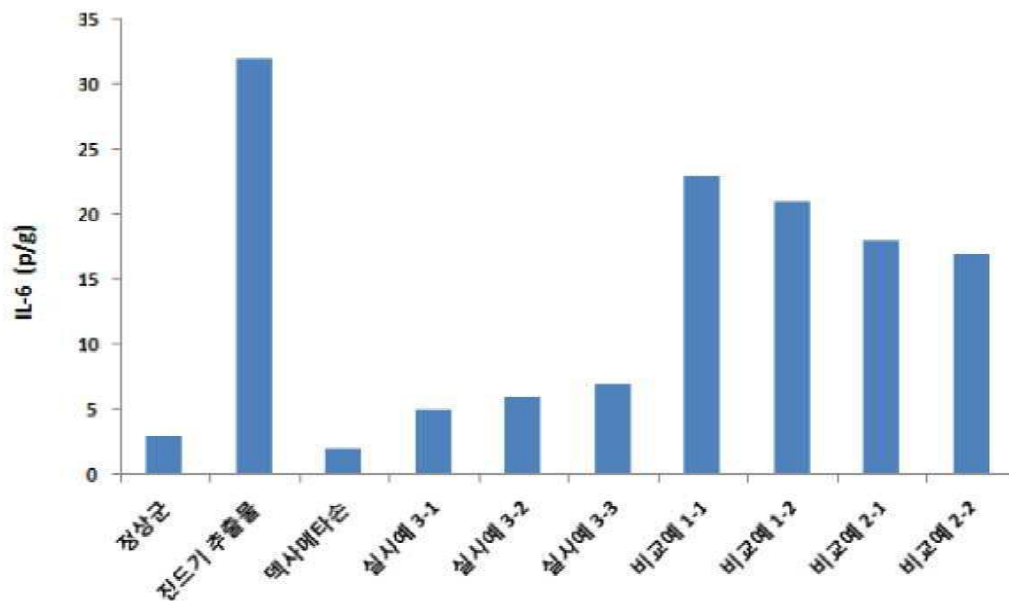
실시예 3-1에서 제조한 락토바실러스 플랜타럼 CRNB-22를 이용한 발효인삼의 추출물 0.1g을 사과 또는 포도 주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조하였다.

도면

도면1



도면2



도면3

