

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2013년 6월 27일 (27.06.2013)



(10) 국제공개번호
WO 2013/095027 A1

- (51) 국제특허분류:
A61K 31/343 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61K 31/045 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2012/011219
- (22) 국제출원일: 2012년 12월 21일 (21.12.2012)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2011-0139005 2011년 12월 21일 (21.12.2011) KR
- (71) 출원인: (재)제주테크노파크 (JEJU TECHNOPARK)
[KR/KR]; 690-787 제주도 제주시 중앙로 217, 제주벤처
처마루 9층, Jeju-do (KR).
- (72) 발명자: 윤원종 (YOON, Weon Jong); 690-803 제주도
제주시 노형동 1047-10, Jeju-do (KR). 함영민 (HAM,
Young Min); 697-826 제주도 서귀포시 강정동 178 현
대 2 차 205-105, Jeju-do (KR). 정용환 (JUNG, Yong
Hwan); 697-851 제주도 서귀포시 서홍동 446-13 화신
빌라 A/201, Jeju-do (KR). 박수영 (PARK, Soo Yeong);
690-121 제주도 제주시 아라 1 동 2802-1 방선문빌리지
105-401, Jeju-do (KR). 오대주 (OH, Dae Ju); 690-801 제
주도 제주시 건입동 1226-6, Jeju-do (KR).
- (74) 대리인: 특허법인태웅 (TW INTERNATIONAL PAT-
ENT AND LAW FIRM); 135-936 서울시 강남구 역삼
동 832-41 현죽빌딩 13층, Seoul (KR).

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

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

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))
- 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접
수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

(54) Title: ANTI-INFLAMMATION COMPOSITION USING VLADINOL F

(54) 발명의 명칭 : 블라디놀 F를 이용한 항염증성 조성물

(57) Abstract: The present invention relates to an anti-inflammation composition using Vladinol F which is an active material isolated from *Ficus erecta* var. *sieboldii* (Miq.) King. Vladinol F, which is an active material, has an activity of inhibiting the generation of NO, an activity of inhibiting the generation of PGE₂, and an activity of inhibiting the generation of inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β and IL-6), INOS and COX-2.

(57) 요약서: 본 발명은 좁은잎천선과로부터 분리한 활성물질인 블라디놀 F를 이용한 항염증성 조성물을 개시한다. 상기 활성물질인 블라디놀 F는 NO 생성 억제 활성, PGE₂ 생성 억제 활성 및 염증성 사이토카인(TNF- α , IL-1 β 및 IL-6)과 INOS와 COX-2의 생성 억제 활성을 갖는다.



WO 2013/095027 A1

명세서

발명의 명칭: 블라디놀 F를 이용한 항염증성 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 블라디놀 F를 이용한 항염증성 조성물에 관한 것이다.
[2]

배경기술

- [3] 염증은 외부의 물리·화학적 자극, 박테리아, 곰팡이, 바이러스, 각종 알레르기 유발 물질 등 외부 감염원의 감염에 대한 생체의 방어 반응이다.
- [4] 염증 반응은 선천성 면역 반응의 일부이며, 다른 동물에서처럼 인간의 선천성 면역 반응은 대식세포가 병원체에 특이적으로 존재하는 세포 표면의 패턴을 통해 비자기(non-self)로 인식하고 공격함으로써 시작된다. 염증 반응 시에는 염증 부위에 혈장이 축적되어 세균이 분비한 독성을 희석시키며, 혈류가 증가하고, 홍반, 통증, 부종, 발열 등의 증상이 수반되게 된다.
- [5] 이러한 염증 반응에는 다양한 생화학적 현상이 관여하는데, 특히 산화질소 합성효소(nitric oxide synthase, NOS)와 다양한 프로스타글란딘(prostaglandins)의 생합성과 관련되는 사이클로옥시제나제(cyclooxygenase, COX)가 염증 반응의 중요한 매개체로 알려져 있다.
- [6] NOS는 세 가지 이성질체가 존재하는데, 칼슘이나 카모듈린 의존성인 eNOS(내피성 NOS)와 nNOS(신경성 NOS), 그리고 LPS(lipopolysaccharide)와 같은 세균의 내독소나 IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, IL-12과 같은 여러 염증성 사이토카인에 의해 유도되는 iNOS(유도성 NOS)가 있으며, L-아르기닌(L-arginine)으로부터 산화질소(NO)를 생성한다.
- [7] eNOS나 nNOS에 의해 생성되는 NO는 혈압 조절 작용, 신경 전달 작용, 학습, 기억 등과 관련된 다양한 생리 반응을 수행함으로써 인체의 항상성 유지에 중요한 역할을 하지만, iNOS에 의해 생성되는 NO는 관절염, 패혈증, 조직이식거부반응, 자가면역질환, 신경세포의 사멸 등 다양한 염증성 질환에 관여하는 것으로 알려져 있다(Moncade S. et al, Pharmacol. Rev., 1991, 43, 109; Nature Medicine, 2001, 7, 1138; Mu, M. M., J. Endotoxic Res. 7, p341, 2001).
- [8] COX 효소는 COX의 기능과 함께 하이드로퍼옥시다제(hydroperoxidase, HOX) 활성을 가지고 아라키돈산으로부터 중간체인 PGG₂와 PGH₂를 합성하며, 이들 화합물로 PGE₂, PGF₂, PGD₂, 프로스타시클린 및 트롬복신A₂(thromboxane A₂, TxA₂)를 만든다. COX의 기능 중 PGH 합성효소의 기능은 PGE₂의 합성을 통해 통증과 염증 반응에 관여한다.
- [9] COX에는 두 가지 아형이 있고 COX-1은 대부분의 조직에 항상 발현되는데

비해, COX-2는 염증성 사이토카인에 의해 신속히 발현이 유도되어 염증 반응에서 중요한 역할을 한다.

[10] 따라서 NO, PGE₂, 염증성 사이토카인 등의 억제제나 iNOS 억제제 그리고 COX-2 억제제는 염증질환 치료제로서 활용될 수 있다.

[11] 본 발명은 NO 생성 억제 활성, PGE₂의 생성 억제 활성 및 염증성 사이토카인의 생성 억제 활성을 가지는 좁은잎천선과로부터 분리한 활성물질인 블라디놀 F를 개시한다.

[12]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[13] 본 발명의 목적은 좁은잎천선과로부터 활성물질인 블라디놀 F를 이용한 항염증성 조성물을 제공하는 데 있다.

[14] 본 발명의 다른 목적이나 구체적인 목적은 이하에서 제시될 것이다.

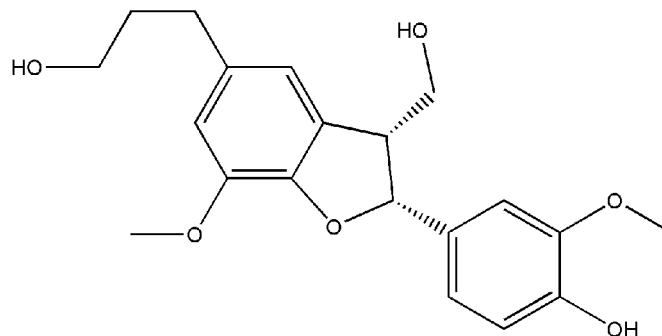
[15]

과제 해결 수단

[16] 본 발명은 좁은잎천선과 추출물의 항염증 활성에 기초하여(대한민국 특허출원 제2009-0113113호 참조), 좁은잎천선과 추출물로부터 활성물질인 블라디놀 F를 분리·동정하고, 그것들이 NO, PGE₂ 및 염증성 사이토카인(TNF- α , IL-1 및 IL-6)의 생성 억제 활성을 확인함으로써 완성된 것이다.

[17] 상기 활성물질은 공지의 물질이며(CAS Registry Number:133318-48-6; *Planta medica*, 56 475-477, 1990; *Biol. Pharm. Bull.* **29**(6) 1271-274, 2006), 그 구조식과 IUPAC 명칭은 아래의 [화학식 1]에서 확인할 수 있다.

[18] 화학식 1



4-((2R,3R)-3-(hydroxymethyl)-5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-2,3-dihydrobenzofuran-2-yl)-2-methoxyphenol

[19] 본 발명의 항염증성 조성물은 전술한 바의 실험 결과에 기초하여 완성된 것으로서, 블라디놀 F를 유효성분으로 포함함을 특징으로 한다.

[20] 본 명세서에서, 상기 "유효성분"의 의미는 단독으로 목적하는 활성을 나타내거나 또는 그 자체는 활성이 없는 담체와 함께 활성을 나타낼 수 있는 성분을 의미한다.

- [21] 또 본 명세서에서, "항염증"은 아래에서 정의되는 염증성 질환의 개선, 치료, 그러한 질환의 발병 억제 또는 지연을 포함하는 의미이다.
- [22] 또 본 명세서에서, 상기 "염증성 질환"이란 외부의 물리·화학적 자극 또는 박테리아, 곰팡이, 바이러스, 각종 알레르기 유발 물질 등 외부 감염원의 감염에 대한 국부적 또는 전신적 생체 방어 반응으로 특징되는 어떠한 상태로서 정의될 있다. 이러한 반응은 각종 염증 매개 인자와 면역세포와 관련된 효소(예컨대 iNOS, COX-2 등) 활성화, 염증 매개 물질의 분비(예컨대, NO, TNF- α , IL-6, IL-1 β , PGE₂의 분비), 체액 침윤, 세포 이동, 조직 파괴 등의 일련의 복합적인 생리적 반응을 수반하며, 홍반, 통증, 부종, 발열, 신체의 특정 기능의 저하 또는 상실 등의 증상에 의해 외적으로 나타난다. 상기 염증성 질환은 급성, 만성, 궤양성, 알레르기성 또는 괴사성을 띌 수 있으므로, 어떠한 질환이 상기와 같은 염증성 질환의 정의에 포함되는 한 그것이 급성이든지, 만성이든지, 궤양성이든지, 알레르기성이든지 또는 괴사성이든지 불문한다. 구체적으로 상기 염증성 질환에는 천식, 알레르기성 및 비-알레르기성 비염, 만성 및 급성 비염, 만성 및 급성 위염 또는 장염, 궤양성 위염, 급성 및 만성 신장염, 급성 및 만성 간염, 만성 폐쇄성 폐질환, 폐섬유증, 과민성 대장 증후군, 염증성 통증, 편두통, 두통, 허리 통증, 섬유 근육통, 근막 질환, 바이러스 감염(예컨대, C형 감염), 박테리아 감염, 곰팡이 감염, 화상, 외과적 또는 치과적 수술에 의한 상처, 프로스타글라딘 E 과다 증후군, 아테롬성 동맥 경화증, 통풍, 관절염, 류머티스성 관절염, 강직성 척추염, 호지킨병, 췌장염, 결막염, 홍채염, 공막염, 포도막염, 피부염(아토피성 피부염 포함), 습진, 다발성 경화증 등이 포함될 것이다.
- [23] 본 발명의 <화합식 1>의 화합물은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용될 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염을 사용될 수 있다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류와 같은 무독성 유기산, 아세트산, 안식향산, 구연산, 젖산, 말레인산, 글루콘산, 메탄설폰산, 4-톨루엔설폰산, 주석산, 푸마르산과 같은 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로젠 포스페이트, 디하이드로젠 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트,

메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명에서의 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, <화학식 1>의 화합물을 유기용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤, 메틸렌클로라이드, 아세토니트릴 등에 녹이고 유기산 또는 무기산을 가하여 생성된 침전물을 여과, 건조하여 제조되거나, 용매와 과량의 산을 감압 증류한 후 건조하거나 유기용매 하에서 결정화시켜서 제조할 수 있다.

- [24] 또한, 본 발명의 <화학식 1>의 화합물은 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속 염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.
- [25] 또한, 본 발명의 상기 <화학식 1>의 화합물은 이의 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 이로부터 제조될 수 있는 가능한 용매화물, 수화물, 입체이성질체 등의 형태로도 사용될 수 있다.
- [26] 본 발명의 조성물은 그 유효성분을 용도, 제형, 배합 목적 등에 따라 치료를 의도하는 염증성 질환의 개선 활성을 나타낼 수 있는 한 임의의 양(유효량)으로 포함할 수 있는데, 통상적인 유효량은 조성물 전체 중량을 기준으로 할 때 0.001 중량 % 내지 15 중량 % 범위 내에서 결정될 것이다. 여기서 "유효량"이란 그 적용 대상인 포유동물 바람직하게는 사람에게서, 염증성 질환의 개선, 치료, 또는 이러한 병리적 증상의 발병 억제/지연을 유도할 수 있는 유효성분의 양을 말한다. 이러한 유효량은 당업자의 통상의 능력 범위 내에서 실험적으로 결정될 수 있다.
- [27] 본 발명의 조성물이 적용(처방)될 수 있는 대상은 포유동물 및 사람이며, 특히 사람인 경우가 바람직하다.
- [28] 본 발명의 조성물은 구체적인 양태에 있어서는 약제학적 조성물로 이용될 수 있다.
- [29] 본 발명의 약제학적 조성물은 그 유효성분을 포함하는 이외에 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 등을 포함하여, 경구용 제형(정제, 현탁액, 과립, 에멀전, 캡슐, 시럽 등), 비경구용 제형(멸균 주사용 수성 또는 유성 현탁액), 국소용 제형(용액, 크림, 연고, 젤, 로션, 패치) 등으로 제조될 수 있다.
- [30] 상기에서 "약제학적으로 허용되는" 의미는 유효성분의 활성을 억제하지

않으면서 적용(치방) 대상이 적응가능한 이상의 독성(충분히 낮은 독성)을 지니지 않는다 의미이다.

- [31] 약제학적으로 허용되는 담체의 예로서는 락토스, 글루코스, 슈크로스, 전분(예컨대 옥수수 전분, 감자 전분 등), 셀룰로오스, 그것의 유도체(예컨대 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 등) 맥아, 젤라틴, 탈크, 고체 윤활제(예컨대 스테아르산, 스테아르산 마그네슘 등), 황산 칼슘, 식물성 기름(예컨대 땅콩 기름, 면실유, 참기름, 올리브유 등), 폴리올(예컨대 프로필렌 글리콜, 글리세린 등), 알긴산, 유화제(예컨대 TWEENS), 습윤제(예컨대 라우릴 황산 나트륨), 착색제, 풍미제, 정제화제, 안정화제, 항산화제, 보존제, 물, 식염수, 인산염 완충 용액 등을 들 수 있다. 이러한 담체는 본 발명의 약제학적 조성물의 제형에 따라 적당한 것을 하나 이상 선택하여 사용할 수 있다.
- [32] 부형제도 본 발명의 약제학적 조성물의 제형에 따라 적합한 것을 선택하여 사용할 수 있는데, 예컨대 본 발명의 약제학적 조성물이 수성 현탁제로 제조될 경우에 적합한 부형제로서는 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 히드로프로필메틸셀룰로오스, 알긴산 나트륨, 폴리비닐피롤리돈 등의 현탁제나 분산제 등을 들 수 있다. 주사액으로 제조되는 경우 적합한 부형제로서는 링거액, 등장 염화나트륨 등을 들 수 있다.
- [33] 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여될 수 있고, 아토피성 피부염 조성물처럼 경우에 따라서는 국소적으로 투여될 수 있다.
- [34] 본 발명의 약제학적 조성물은 그 1일 투여량이 통상 0.001 ~ 150 mg/kg 체중 범위이고, 1회 또는 수회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나, 본 발명의 약제학적 조성물의 투여량은 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중, 환자의 중증도 등의 여러 관련 인자에 비추어 결정되는 것이므로 상기 투여량은 어떠한 측면으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 이해되어서는 아니 된다.
- [35] 본 발명의 조성물은 구체적인 양태에 있어서, 기능성 음료 등의 식품 조성물로 파악할 수 있다.
- [36] 본 발명의 식품 조성물에는 그 유효성분 이외에 감미제, 풍미제, 생리활성 성분, 미네랄 등이 포함될 수 있다.
- [37] 감미제는 식품이 적당한 단맛을 나게 하는 양으로 사용될 수 있으며, 천연의 것이거나 합성된 것일 수 있다. 바람직하게는 천연 감미제를 사용하는 경우인데, 천연 감미제로서는 옥수수 시럽 고형물, 꿀, 수크로오스, 프룩토오스, 락토오스, 말토오스 등의 당 감미제를 들 수 있다.
- [38] 풍미제는 맛이나 향을 좋게 하기 위하여 사용될 수 있는데, 천연의 것과 합성된 것 모두 사용될 수 있다. 바람직하게는 천연의 것을 사용하는 경우이다. 천연의 것을 사용할 경우에 풍미 이외에 영양 강화의 목적도 병행할 수 있다. 천연 풍미제로서는 사과, 레몬, 감귤, 포도, 딸기, 복숭아 등에서 얻어진 것이거나 녹차잎, 둥굴레, 대잎, 계피, 국화 잎, 자스민 등에서 얻어진 것일 수 있다. 또 인삼(홍삼), 죽순, 알로에 베라, 은행 등에서 얻어진 것을 사용할 수 있다. 천연

풍미제는 액상의 농축액이나 고형상의 추출물일 수 있다. 경우에 따라서 합성 풍미제가 사용될 수 있는데, 합성 풍미제는 에스테르, 알콜, 알데하이드, 테르펜 등이 이용될 수 있다.

- [39] 생리 활성 물질로서는 카테킨, 에피카테킨, 갈로가테킨, 에피갈로카테킨 등의 카테킨류나, 레티놀, 아스코르브산, 토코페롤, 칼시페롤, 티아민, 리보플라빈 등의 비타민류 등이 사용될 수 있다.
- [40] 미네랄로서는 칼슘, 마그네슘, 크롬, 코발트, 구리, 불소화물, 게르마늄, 요오드, 철, 리튬, 마그네슘, 망간, 몰리브덴, 인, 칼륨, 셀레늄, 규소, 나트륨, 황, 바나듐, 아연 등이 사용될 수 있다.
- [41] 또한 본 발명의 식품 조성물은 상기 감미제 등 이외에도 필요에 따라 보존제, 유향제, 산미료, 점증제 등을 포함할 수 있다.
- [42] 이러한 보존제, 유향제 등은 그것이 첨가되는 용도를 달성할 수 있는 한 극미량으로 첨가되어 사용되는 것이 바람직하다. 극미량이란 수치적으로 표현할 때 식품 조성물 전체 중량을 기준으로 할 때 0.0005중량% 내지 약 0.5중량% 범위를 의미한다.
- [43] 사용될 수 있는 보존제로서는 소듐 소르브산칼슘, 소르브산나트륨, 소르브산칼륨, 벤조산칼슘, 벤조산나트륨, 벤조산칼륨, EDTA(에틸렌디아민테트라아세트산) 등을 들 수 있다.
- [44] 사용될 수 있는 유향제로서는 아카시아검, 카르복시메틸셀룰로스, 잔탄검, 펙틴 등을 들 수 있다.
- [45] 사용될 수 있는 산미료로서는 연산, 말산, 푸마르산, 아디프산, 인산, 글루콘산, 타르타르산, 아스코르브산, 아세트산, 인산 등을 들 수 있다. 이러한 산미료는 맛을 증진시키는 목적 이외에 미생물의 증식을 억제할 목적으로 식품 조성물이 적정 산도로 되도록 첨가될 수 있다.
- [46] 사용될 수 있는 점증제로서는 현탁화 구형제, 침강제, 겔형성제, 팽화제 등을 들 수 있다.
- [47] 또한 향미나 기호성을 향상시키고 다른 기능성(예컨대 관절염 또는 골다공증 예방)을 추가하기 위하여 한약제가 추가될 수 있는데, 추가될 수 있는 한약제로서는 두충 추출물, 숙단 추출물, 녹용 추출물, 홍화인 추출물, 토사자 추출물, 숙지황 추출물, 별갑 추출물, 산수유 추출물, 구기자 추출물, 감초 추출물, 당귀 추출물, 갈근 추출물, 강진향 추출물, 합환피 추출물, 산두근 추출물, 괴화 추출물, 고삼 추출물 등이 예시될 수 있다.
- [48] 본 발명은 또 다른 측면에 있어서, 화장품 조성물로 파악할 수 있다.
- [49] 본 발명의 조성물이 화장품 조성물로서 파악될 경우, 그 화장품 조성물은 다양한 형태로 제조될 수 있는데, 예컨대, 에멀전, 로션, 크림(수중유적형, 유중수적형, 다중상), 용액, 현탁액(무수 및 수계), 무수 생성물(오일 및 글리콜계), 젤, 마스크, 팩 또는 분말 등의 제형으로 제조될 수 있다.
- [50] 본 발명의 조성물은 그 유효성분 이외에 화장품 제제에 있어서 수용가능한

담체를 포함할 수 있다.

- [51] 여기서 "화장품 제제에 있어서 수용가능한 담체"란 화장품 제제에 포함될 수 있는 이미 공지되어 사용되고 있는 화합물 또는 조성물이거나 앞으로 개발될 화합물 또는 조성물로서 피부와의 접촉시 인체가 적응 가능한 독성 이상의 독성이 없는 것을 말한다.
- [52] 상기 담체는 본 발명의 조성물에 그것의 전체 중량에 대하여 약 1 중량 % 내지 약 99.99 중량 %, 바람직하게는 조성물의 중량의 약 50 중량% 내지 약 99 중량 %로 포함될 수 있다.
- [53] 그러나 상기 비율은 화장품의 전술한 바의 제형에 따라 또 그것의 구체적인 적용 부위(얼굴이나 손)나 그것의 바람직한 적용량 등에 따라 달라지는 것이기 때문에, 상기 비율은 어떠한 측면으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 이해되어서는 안 된다.
- [54] 한편, 상기 담체로서는 알코올, 오일, 계면활성제, 지방산, 실리콘 오일, 습윤제, 보습제, 점성 변형제, 유제, 안정제, 자외선 차단제, 발색제, 향료 등이 예시될 수 있다.
- [55] 상기 담체로서 사용될 수 있는 알코올, 오일, 계면활성제, 지방산, 실리콘 오일, 습윤제, 보습제, 점성 변형제, 유제, 안정제, 자외선 차단제, 발색제, 향료 로 사용될 수 있는 화합물/조성물 등은 이미 당업계에 공지되어 있기 때문에 당업자라면 적절한 해당 물질/조성물을 선택하여 사용할 수 있다.
- [56] 본 발명은 다른 측면에 있어서, 좁은잎천선과로부터 블라디놀 F를 분리하는 방법에 관한 것이다.
- [57] 본 발명의 분리 방법은 (a) 좁은잎천선과 잎, 줄기 또는 이들의 혼합물을 에탄올과 물의 혼합용매에 침지시켜 분말상의 추출물을 제조하는 단계, (b) 그 분말상의 추출물을 증류수에 현탁시킨 후 헥산(n-Hexane), 디클로로메탄(methylene chloride), 에틸아세테이트(EtOAc) 및 부탄올(butanol)을 이용하여 순차적으로 분획한 후 디클로로메탄 분획물을 수득하는 단계, (c) 그 디클로로메탄 분획물을 셀라이트 표면에 코팅시킨 후 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 및 메탄올 각각을 이동상으로 하여 컬럼크로마토그래피를 실시하여 총 4개의 정제물을 얻는 단계, (d) 그 총 4개의 정제물 중 2번 정제물에 대해서 헥산:에틸아세테이트:메탄올(1:2:0.2, v/v)을 이동상으로 하고 순상실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하여 총 20개의 정제물을 얻는 단계, (e) 그 20개의 정제물 중 16번 정제물에 대해서 클로로포름:메탄올(10:1, v/v)을 이동상으로 하여 순상실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하여 총 18개의 정제물을 얻는 단계, (f) 그 18개의 정제물 중 9번 정제물을 수득하는 단계를 포함하여 구성된다.
- [58] 본 발명의 방법에서, 상기 (a) 단계의 에탄올과 물의 혼합용매는 70 내지 80%(v/v)의 에탄올이 바람직하다. "%(v/v)"는 부피 백분율에 의한 농도 표현으로서, 당업계에 알려진 바와 같이 일정 부피의 용액 중에 녹아 있는 일정

부피의 용질을 의미한다. 예컨대 30%(v/v)는 용액 100ml에 용질 30ml가 용해되어 있다는 것이 된다.

- [59] 또 본 발명의 방법에 있어서, 상기 (b) 단계의 순차적으로 분획한다는 것은 증류수층의 분획물을 분획 후에도 계속 사용하여 상기 열거된 순서의 용매로 분획한다는 의미이다.

[60]

발명의 효과

- [61] 전술한 바와 같이, 본 발명에 따르면 항염증성 조성물을 제공할 수 있다.

- [62] 본 발명의 항염증성 조성물은 약품이나 식품으로 제품화될 수 있다.

[63]

도면의 간단한 설명

- [64] [도 1]은 좁은잎천선과 추출물로부터 활성물질인 블라디놀 F의 분리 과정의 모식도이다.

- [65] [도 2]는 블라디놀의 ^1H NMR 스펙트럼이다.

- [66] [도 3]은 블라디놀 F의 ^{13}C NMR 스펙트럼이다.

- [67] [도 4]는 블라디놀 F의 DEPT NMR 스펙트럼이다.

- [68] [도 5]는 블라디놀 F의 HSQC(2D) NMR스펙트럼이다.

- [69] [도 6]은 블라디놀 F의 HMBC(2D) NMR스펙트럼이다.

- [70] [도 7]은 블라디놀 F의 LC-MS/MS 스펙트럼이다.

- [71] [도 8]은 블라디놀 F의 NO 생성 억제 활성과 특별한 세포독성이 없음을 보여주는 결과이다.

- [72] [도 9]는 블라디놀 F의 PGE_2 의 생성 억제 활성을 보여주는 결과이다.

- [73] [도 10] 내지 [도 12]는 블라디놀 F의 사이토카인($\text{TNF-}\alpha$, IL-1 및 IL-6) 생성 억제 활성을 보여주는 결과이다.

- [74] [도 13]은 블라디놀 F의 INOS와 COX-2 생성 억제 활성을 보여주는 결과이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [75] 이하 본 발명을 실시예 및 실험예를 참조하여 설명한다. 그러나 본 발명의 범위가 이러한 실시예 및 실험예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[76]

- [77] <실시예> 좁은잎천선과 추출물로부터 항염증 활성을 갖는 활성물질의 분리, 정제 및 동정

- [78] <실시예 1> 좁은잎천선과 80% 에탄올 추출물로부터 항염증 활성물질의 분리 및 정제

- [79] 좁은잎천선과 잎과 줄기 혼합 분말을 80% 에탄올에 24시간 동안 침지시켜 3회 반복 추출한 후 여과하여 얻어진 추출액을 감압 농축하여 용매를 제거하여 분말상의 추출물을 얻었다.

- [80] 이렇게 얻어진 좁은잎천선과 80% 에탄올 추출물을 10 배량의 증류수에

현탁시킨 후 헥산(n-Hexane), 디클로로메탄(methylene chloride), 에틸아세테이트(EtOAc) 및 부탄올(butanol)을 이용하여 순차적으로 분획하고, 분획 후 얻어진 디클로로메탄 분획물 11.2g을 셀라이트 표면에 코팅시킨 후 컬럼크로마토그래피를 실시하여 총 4개의 정제물을 얻었다. 컬럼의 크기는 7cm × 20cm 이며 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트, 메탄올을 각각을 이동상으로 사용하였다. 그 중 2번(FEM-M)의 정제물 6.6g에 대해 순상실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하였다. 컬럼의 크기는 5cm × 60cm 이며 헥산:에틸아세테이트:메탄올(1:2:0.2, v/v)을 이동상으로 사용하였다. 분당 1.5ml의 속도로 이동상을 흘려주었으며 총 20개의 정제물을 얻었다. 상기 총 20개의 정제물 중 16번(FEM-MC-16)에 대해서 다시 순상실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하였다. 컬럼의 크기는 2cm × 50cm 이며 클로로포름:메탄올(10:1, v/v)을 이동상으로 사용하였다. 분당 1.5ml의 속도로 이동상을 흘려주었으며 총 18개의 정제물을 얻었다. 상기 총 18개의 정제물 중 9번(FEM-MC-16-9) 정제물을 TLC(실리카겔 60 F 254, 클로로포름:메탄올=10:1, v/v)에 전개했을 때 Rf는 0.3 이며 단일 스팟으로 나타났다.

[81] [도 1]에 활성물질의 분리 과정을 나타내었다.

[82] <실시에 2> 물질의 동정

[83] 분리된 활성물질의 구조를 분석하기 위해 9번 정제물 10mg을 클로로포름-d에 녹여 NMR spectrum을 측정하였다. ¹H NMR 스펙트럼(도 2)에서 2개의 메틸기를 확인했으며 모두 산소와 연결된 메틸기(δ 3.88ppm, 3.86ppm, s)임을 확인했다. 또한 6.6-6.9ppm 부근의 시그널들로 미루어 2개 이상의 벤젠고리가 있음을 예상하였다. ¹³C, DEPT NMR 스펙트럼(도 3 및 도 4)에서 총 20개 이상의 탄소가 존재함을 예측하였고 146.8-127.9ppm 부근의 시그널들로 미루어 2개의 벤젠고리 탄소 중 7개의 탄소가 산소(δ 146.8, 146.7, 145.8, 144.4ppm)와 탄소(δ 135.6, 133.3, 127.9ppm)로 치환되어 있음을 확인하였다. 또한 64.1, 62.2ppm이 CH₂임에도 저자장으로 이동한 것으로 보아 산소와 결합하고 있음을 예상하였으며 두 개의 메톡시 탄소도 (δ 56.21, 56.22ppm) 분석되었다. 그리고 2D NMR분석 기법인 HSQC(도 5) 및 HMBC(도 6)을 통하여 9번 정제물은 탄소 20개로 구성된 리그난 형태임을 예상하였고 이상의 결과들을 문헌(*Planta medica*, 56 475-477, 1990)과 비교한 결과 Vladinol F로 동정하였다.

[84] 동정된 물질의 분자량을 측정하기 위해 LC-MS/MS 분석을 실시했다. Vladinol F의 분자량은 360.15이며 LC-MS/MS 분석 결과 소듬이 결합된 형태인 383.18로 분석되었다. 좀 더 정확한 구조 확인을 위해 MS/MS를 수행한 결과 블라디놀 F(Vladinol F) 고유의 쪼개짐 패턴을 얻을 수 있었다(도 7).

[85]

[86] <실험예> 블라디놀 F의 항염증 활성 실험

[87] <실험예 1> 세포 배양

[88] American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA)로부터

생쥐(murine) 대식세포주인 RAW 264.7을 구입하여, 10% fetal bovine serum (FBS), penicillin (100 units/mL), 및 streptomycin (100 g/mL)을 첨가하여 Dulbeccos Modified Eagles Medium (DMEM; GIBCO Inc.)에서 보관하였다. 이들 세포들은 37°C 에서 95% air, 5% CO₂가습 공기 조건 하 포화 상태(subconfluence)에서 배양하였으며, 3일마다 계대배양하였다. 혈구계를 이용하여 세포의 수를 측정하였으며, trypan blue dye exclusion을 통하여 생세포의 수를 확인하였다.

[89] <실험예 2> 블라디놀 F의 질소화합물(Nitric oxide) 생성 억제 효능 평가

[90] RAW 264.7 세포를 10% FBS가 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 1.5×10^5 cells/mL로 조절한 후 24 well plate에 접종하고, 시료와 LPS (1 μ g/mL)를 동시에 처리하여 24시간 배양하였다. 생성된 NO의 양은 Griess 시약 [1% (w/v) sulfanilamide, 0.1% (w/v) naphylethylenediamine in 2.5% (v/v) phosphoric acid]을 이용하여 세포배양액 중에 존재하는 NO²의 형태로 측정하였다. 세포배양 상등액 100 L와 Griess 시약 100 L를 혼합하여 96 well plates에서 10분 동안 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 생성된 NO의 양은 sodium nitrite (NaNO₂)를 standard로 비교하였다.

[91] 결과를 [도 8]에 나타내었다. [도 8]을 참조하여 보면 블라디놀 F(처리 농도 25, 50 및 100 μ g/mL)가 농도 의존적으로 LPS 처리에 의해 유발된 NO 생성을 억제함을 알 수 있다($P < 0.05$; **, $P < 0.01$). [도 8]에서 A, B 및 C는 양성대조군으로 각각 2-amio-4-methyl pyridine(20 μ M), dexamethason(20 μ M) 및 NS-398(20 μ M)(COX-2 inhibitor, Sigma-Aldrich Corporation)이다.

[92] <실험예 3> 블라디놀 F의 세포독성 평가 - LDH assay

[93] RAW 264.7 세포 (1.5×10^5 cells/mL)를 DMEM 배지에 시료와 LPS (1 μ g/mL)를 동시 처리하여 24시간 배양 한 후 배양 배지를 얻어 3,000 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. LDH (lactate dehydrogenase) assay는 non-radioactive cytotoxicity assay kit (Promega)를 이용하여 측정했으며, 96 well plate에 원심 분리하여 얻은 배양 배지 50 L와 reconstituted substrate mix를 50 L를 넣고, 실온에서 30분 반응시킨 후 50 L의 stop solution을 넣은 후 microplate reader (Bio-TEK Instruments Inc., Vermont, WI, USA)를 사용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료군에 대한 평균 흡광도 값을 구하였으며, 대조군 (LDH control, 1:5000)의 흡광도 값과 비교하여 세포독성을 평가하였다.

[94] 결과를 [도 8]에 함께 나타내었다. 블라디놀 F(처리 농도 25, 50 및 100 μ g/mL)를 처리할 경우 약간의 세포 독성을 보였으나, 그 이상으로 NO 생성 억제 활성을 보임을 알 수 있다.

[95] <실험예 4> 블라디놀 F의 PGE₂(Prostaglandin E₂) 생성 억제 효능 평가

[96] RAW 264.7 세포를 DMEM 배지를 이용하여 1.5×10^5 cells/mL로 조절한 후 24 well plate 에 접종하고, 5% CO₂항온기에서 18시간 전 배양 하였다. 이후 배지를 제거하고 시료와 LPS (1 g/mL)를 동시 함유한 새로운 배지를 처리하여 전배양과 동일 조건에서 배양하였다. 24시간 후 PGE₂를 측정하기 위해 배양 배지를

원심분리 (12,000 rpm, 3 min)하여 상층액을 얻었다. PGE₂의 측정은 PGE₂ELISAKit(R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 정량하였으며 standard에 대한 표준곡선의 r²값은 0.99 이상이었다.

- [97] 결과를 [도 9]에 나타내었다. [도 9]를 참조하여 보면 블라디놀 F(처리 농도 25, 50 및 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)를 처리할 경우 농도 의존적으로 PGE₂의 생성이 억제되었음을 알 수 있다($P < 0.05$; **, $P < 0.01$). [도 8]에서 A, B 및 C는 양성대조군으로 각각 2-amio-4-methyl pyridine(20 μM), dexamethason(20 μM) 및 NS-398(20 μM)(COX-2 inhibitor, Sigma-Aldrich Corporation)이다.

- [98] <실험예 5> 블라디놀 F의 사이토카인(TNF- α , IL-1 및 IL-6) 생성 억제 효능 평가

- [99] RAW 264.7 세포 (1.5×10^5 cells/mL)를 DMEM 배지를 이용하여 24 well plate에 접종하고, 5% CO₂ 항온기에서 18 시간 전 배양하였다. 이후 배지를 제거하고 시료와 LPS (1 g/mL)를 동시 함유한 새로운 배지를 처리하여 전 배양과 동일 조건에서 배양하였다. 24 시간 후 배양 배지를 원심분리 (12,000 rpm, 3 분)하여 얻어진 상층액의 pro-inflammatory cytokines 생성 함량을 측정하였다. 모든 시료는 정량 전까지 -20°C 이하에 보관하였다. pro-inflammatory cytokines 정량은 mouse enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 정량하였으며 standard에 대한 표준곡선의 r²값은 0.99 이상이었다.

- [100] 결과를 [도 10] 내지 [도 12]에 나타내었다. [도 10] 내지 [도 12]의 결과는 블라디놀 F(처리 농도 25, 50 및 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)가 농도 의존적으로 TNF- α , IL-1 및 IL-6의 생성을 억제함으로 보여준다($P < 0.05$; **, $P < 0.01$). 여기서도 A, B 및 C는 양성대조군으로 각각 2-amio-4-methyl pyridine(20 μM), dexamethason(20 μM) 및 NS-398(20 μM)(COX-2 inhibitor, Sigma-Aldrich Corporation)이다.

- [101] <실험예 6> iNOS 및 COX-2 발현 억제 효능 평가(western-blotting)

- [102] 배양이 끝난 세포를 수집하여 2~3회 phosphate buffered saline (PBS)로 세척 한 후 세포 용해 버퍼 [50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 150 mM NaCl, 1% Nonidet P-40, 2 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM NaVO₃, 10 mM NaF, 1 mM dithiothreitol, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ aprotinin, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ leupeptin]를 첨가하여 30분간 4°C에서 용해시킨 후 4, 15,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 세포막 성분 등을 제거하였다. 단백질 농도는 bovine serum albumin (BSA)를 표준화하여 Bio-Rad Protein Assay Kit를 사용하여 정량하였다. 분리된 단백질을 20~30 μg 를 8~12% mini gel SDS-PAGE로 변성 분리하여, 이를 PVDF (polyvinylidene difluoride) membrane (BIO-RAD, Richmond, CA, USA)에 200 mA로 2시간 동안 transfer하였다. 그리고 membrane의 blocking은 5% skim milk가 함유된 TTBS (0.1% Tween 20 + TBS) 용액에서 상온에서 2시간 동안 실시하였다. iNOS의 발현 양을 검토했기 위한 항체로는 anti-mouse iNOS (Calbiochem, La Jolla, CA, USA)를 COX-2의 발현 양을 검토했기 위한 항체로는 anti-mouse COX-2 (BD Biosciences Pharmingen, San Jose, CA, USA)를 TTBS 용액에서 1:1000으로 희석하여

상온에서 2시간 반응시킨 후 TTBS로 3회 세정하였다. 2차 항체로는 HRP (horse radish peroxidase)가 결합된 anti-mouse IgG (Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, UK)를 1:5000으로 희석하여 상온에서 30분 간 반응시킨 후, TTBS로 3회 세정하여 ECL 기질 (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA)과 1~3분 간 반응 후 X-ray 필름에 감광하였다.

[103] 결과를 [도 13]에 나타내었다. [도 13]의 결과는 블라디놀 F(처리 농도 25, 50 및 100 $\mu\text{g/ml}$)가 대체로 농도 의존적으로 iNOS 및 COX-2 발현 억제 활성을 보임을 보여준다.

[104] 통계처리

[105] 실험결과는 3번 이상의 독립적인 실험의 데이터를 $\text{mean} \pm \text{standard error}$ 값으로 나타내었다. 실험군 사이의 통계적 유의성 검정은 student's t-test 분석방법을 사용하였다(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$).

[106]

[107]

청구범위

- [청구항 1] 블라디놀 F 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항염증성 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 항염증은 염증성 질환의 개선, 치료, 발병 억제 또는 발병 지연을 의미하며,
상기 염증성 질환은 천식, 알레르기성 및 비-알레르기성 비염, 만성 및 급성 비염, 만성 및 급성 위염 또는 장염, 궤양성 위염, 급성 및 만성 신장염, 급성 및 만성 간염, 만성 폐쇄성 폐질환, 폐섬유증, 과민성 대장 증후군, 염증성 통증, 편두통, 두통, 허리 통증, 섬유 근육통, 근막 질환, 바이러스 감염(예컨대, C형 감염), 박테리아 감염, 곰팡이 감염, 화상, 외과적 또는 치과적 수술에 의한 상처, 프로스타글라딘 E 과다 증후군, 아테롬성 동맥 경화증, 통풍, 관절염, 류머티스성 관절염, 강직성 척추염, 호지킨병, 췌장염, 결막염, 홍채염, 공막염, 포도막염, 피부염, 아토피성 피부염, 습진 및 다발성 경화증 중 하나인 것을 특징으로 하는 항염증성 조성물.
- [청구항 3] 제1항 또는 제2항에 있어서,
상기 조성물은 약제학적 조성물인 것을 특징으로 하는 항염증성 조성물.
- [청구항 4] 제1항 또는 제2항에 있어서,
상기 조성물은 식품 조성물인 것을 특징으로 하는 항염증성 조성물.
- [청구항 5] 제1항 또는 제2항에 있어서,
상기 조성물은 화장품 조성물인 것을 특징으로 하는 항염증성 조성물.
- [청구항 6] (a) 좁은잎천선과 잎, 줄기 또는 이들의 혼합물을 에탄올과 물의 혼합용매에 침지시켜 분말상의 추출물을 제조하는 단계,
(b) 그 분말상의 추출물을 증류수에 현탁시킨 후 헥산(n-Hexane), 디클로로메탄(methylene chloride), 에틸아세테이트(EtOAc) 및 부탄올(butanol)을 이용하여 순차적으로 분획한 후 디클로로메탄 분획물을 수득하는 단계,
(c) 그 분획물을 셀라이트 표면에 코팅시킨 후 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 및 메탄올 각각을 이동상으로 하여 컬럼크로마토그래피를 실시하여 총 4개의 정제물을 얻는 단계,
(d) 그 총 4개의 정제물 중 2번 정제물에 대해서 헥산:에틸아세테이트:메탄올(1:2:0.2, v/v)을 이동상으로 하고 순상실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하여 총 20개의

정제물을 얻는 단계,

(e) 그 20개의 정제물 중 16번 정제물에 대해서

클로로포름:메탄올(10:1, v/v)을 이동상으로 하여 순상실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하여 총 18개의 정제물을 얻는 단계,

(f) 그 18개의 정제물 중 9번 정제물을 수득하는 단계를 포함하는 좁은잎천선과으로부터 블라디놀 F를 분리하는 방법.

FIG. 1

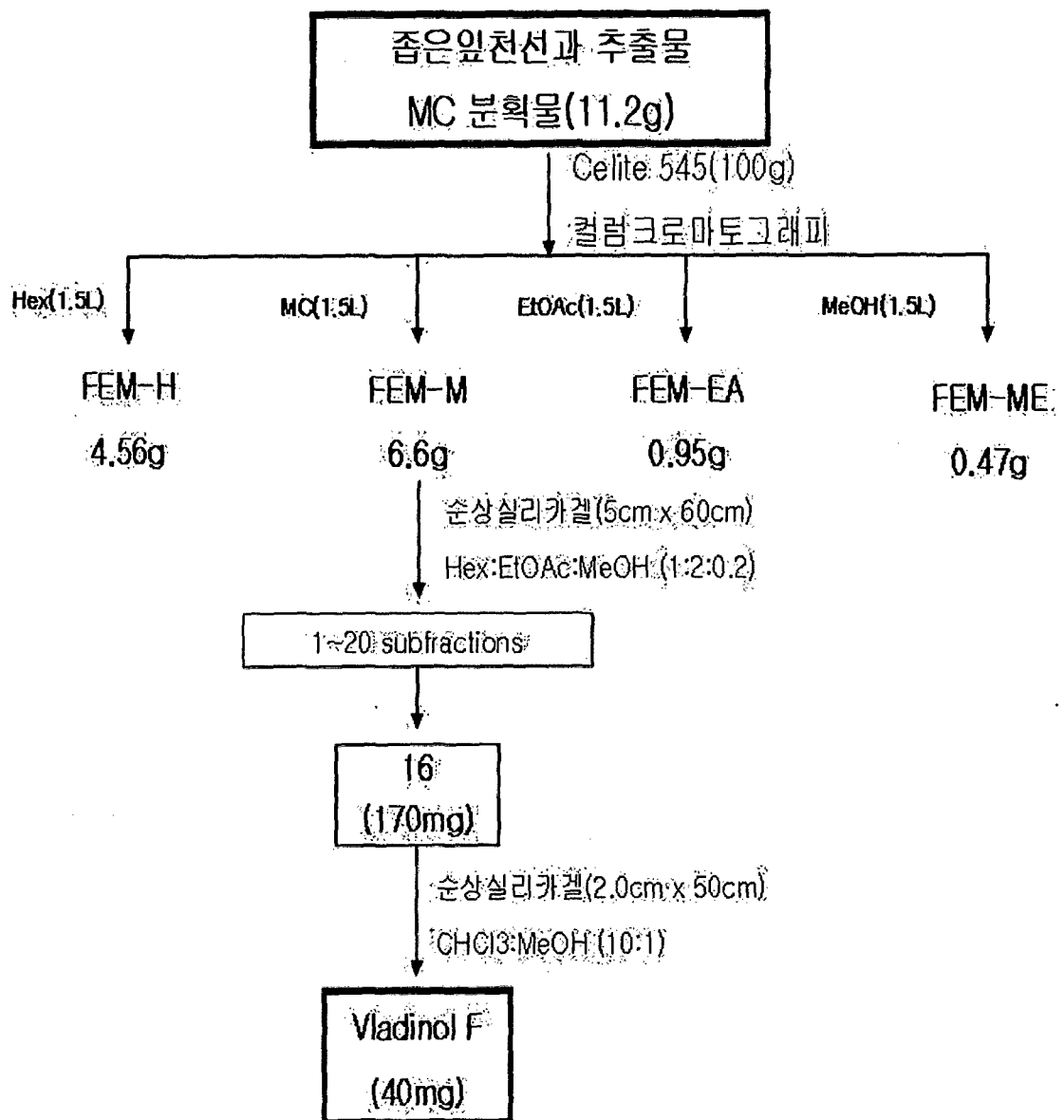


FIG. 2

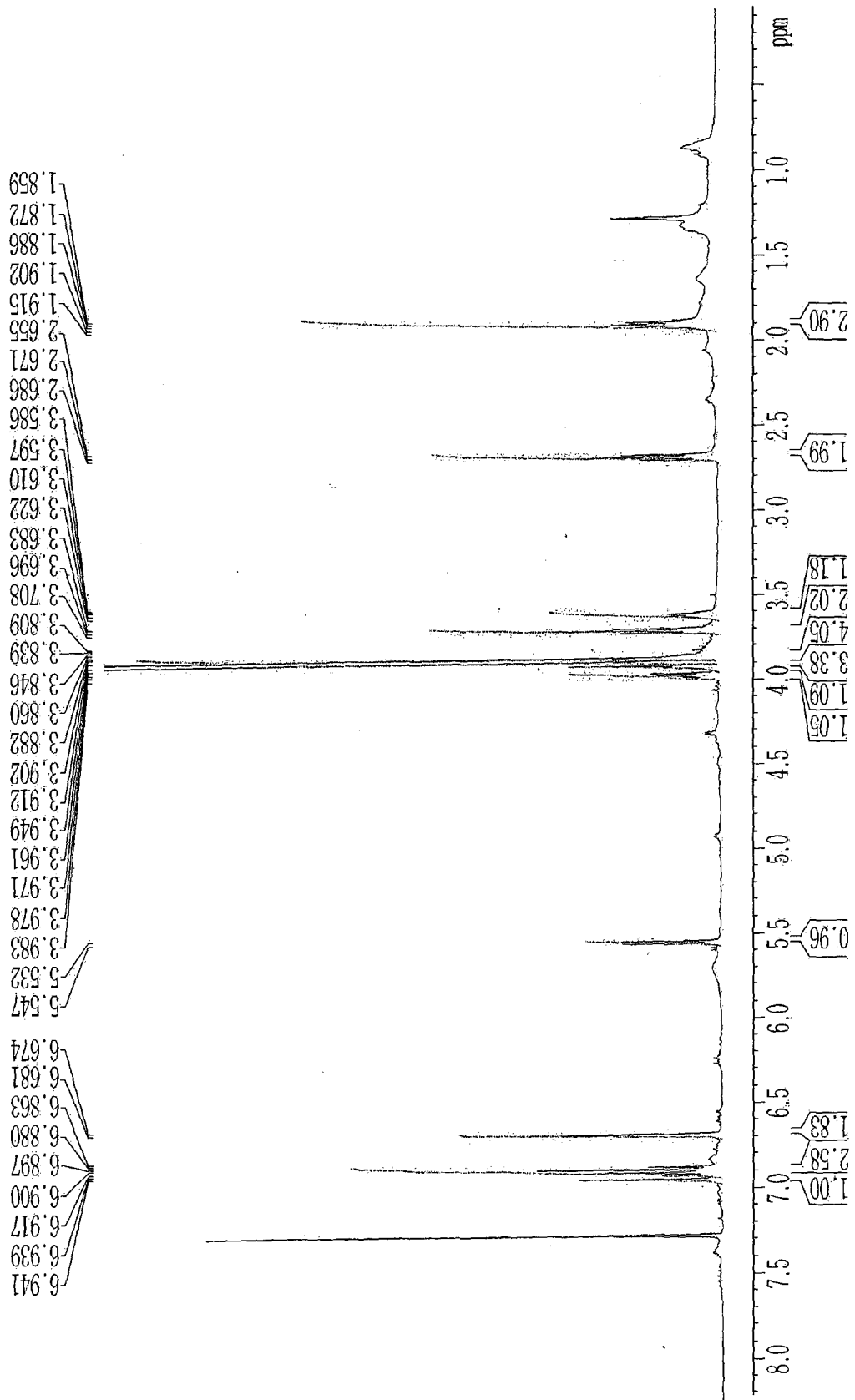


FIG. 3

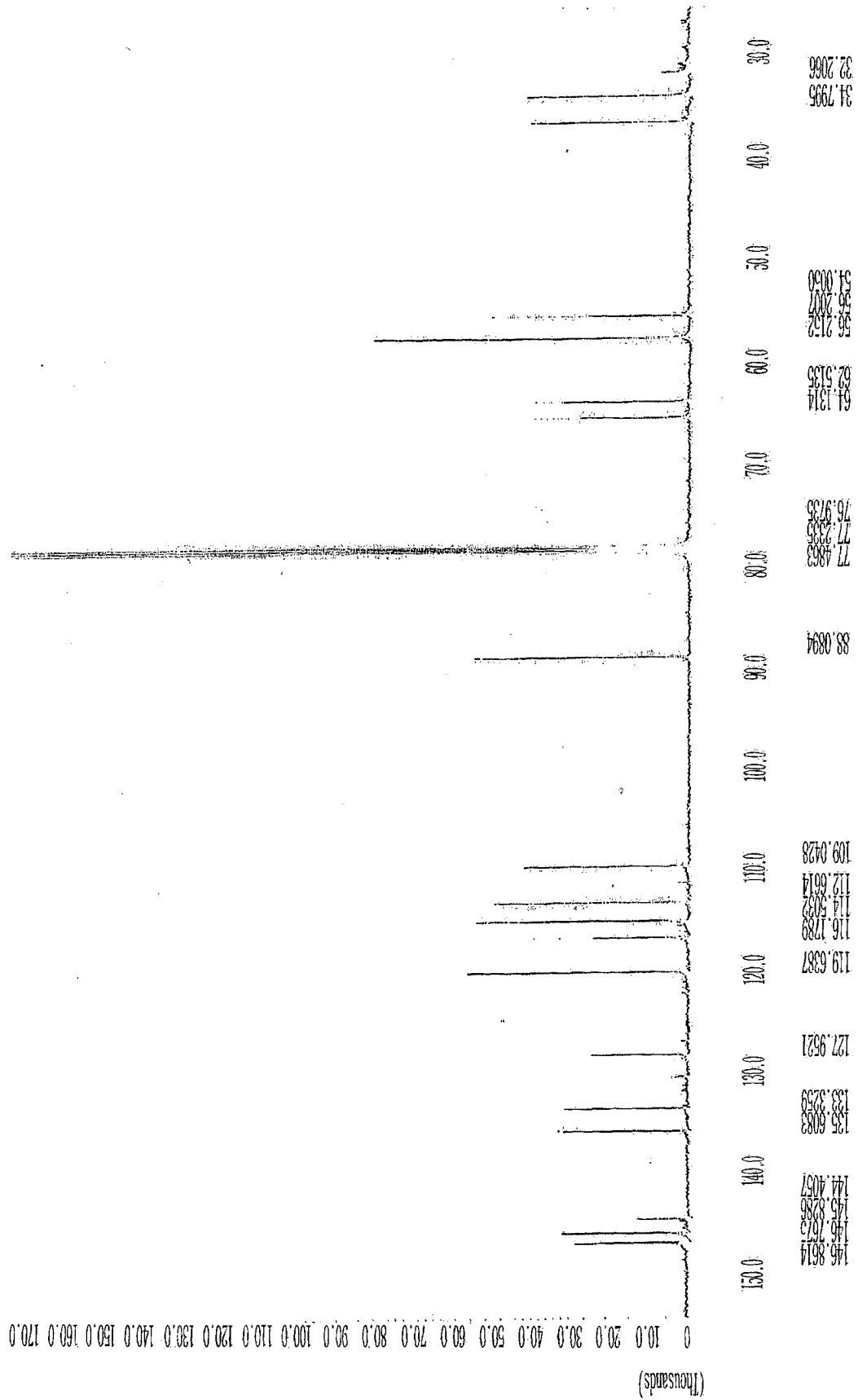


FIG. 4

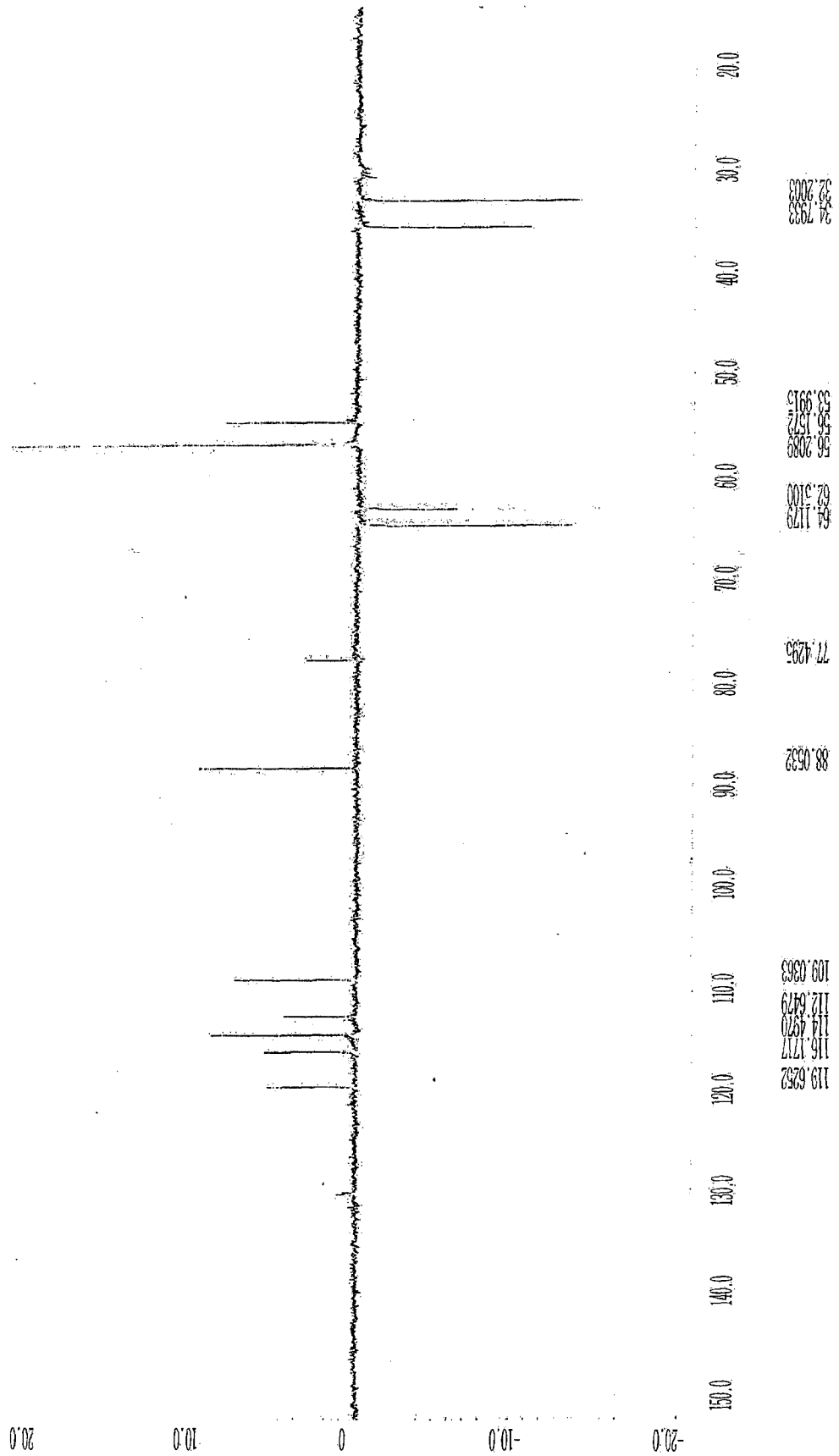


FIG. 5

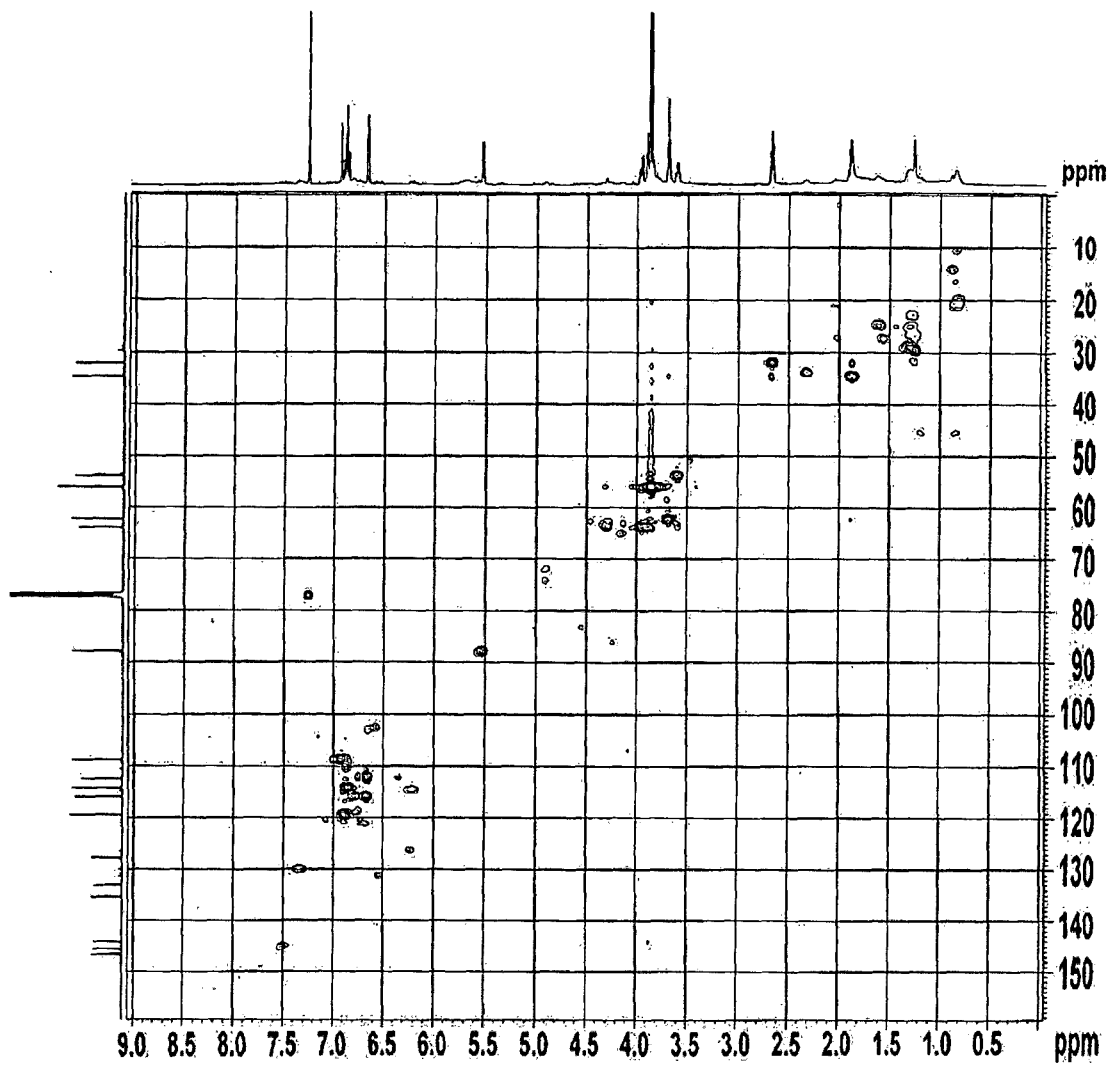


FIG. 6

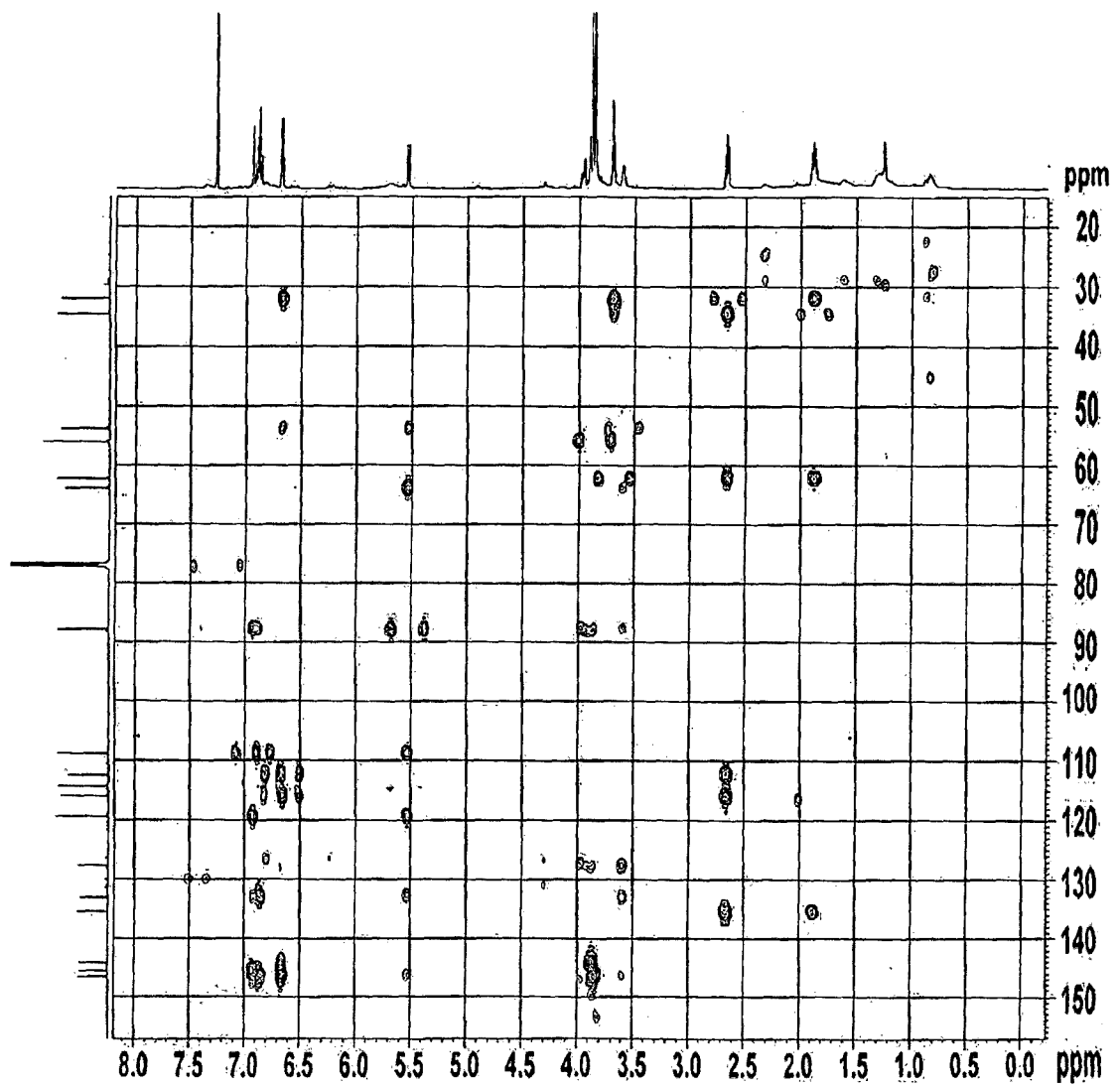


FIG. 7

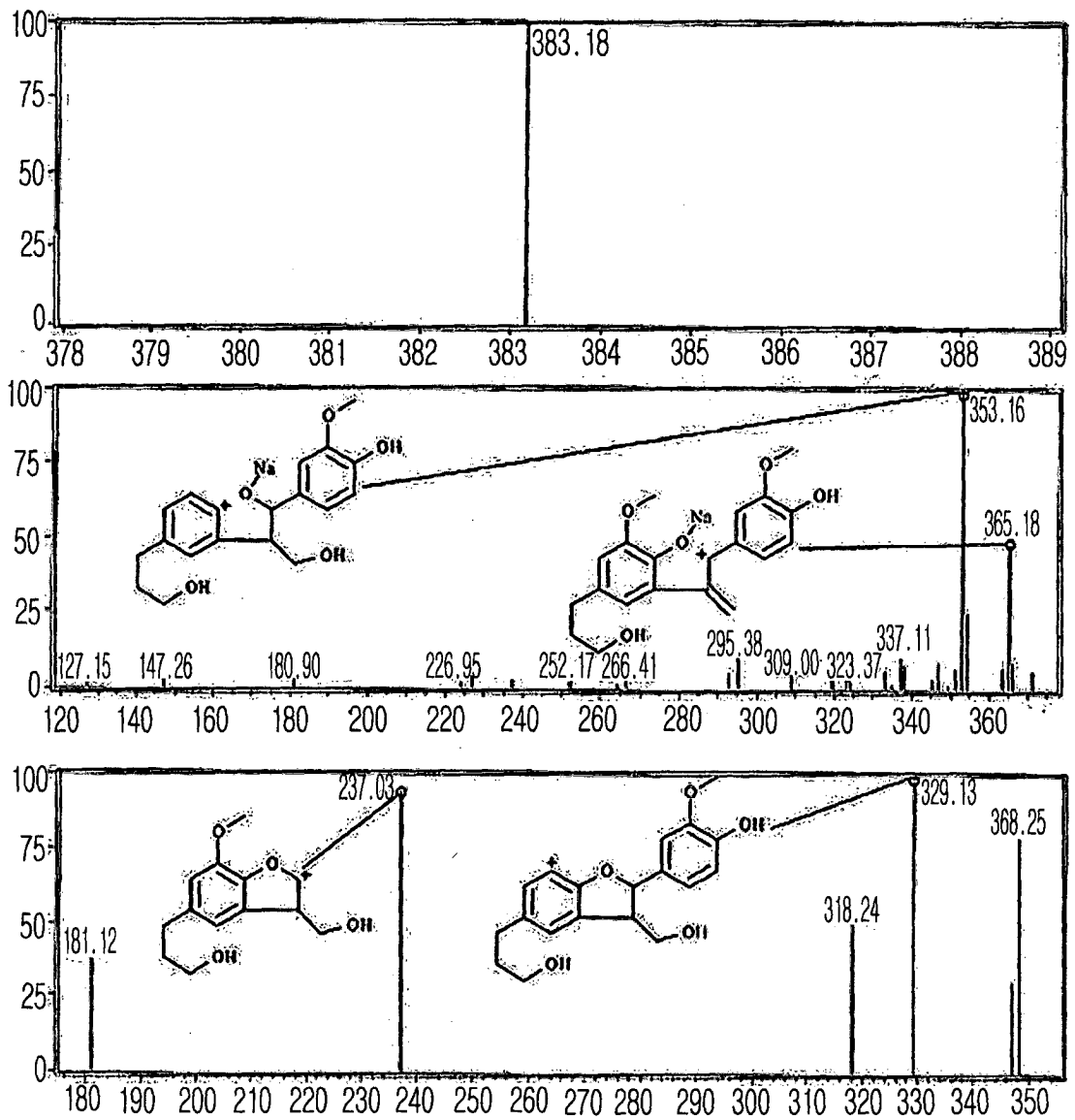


FIG. 8

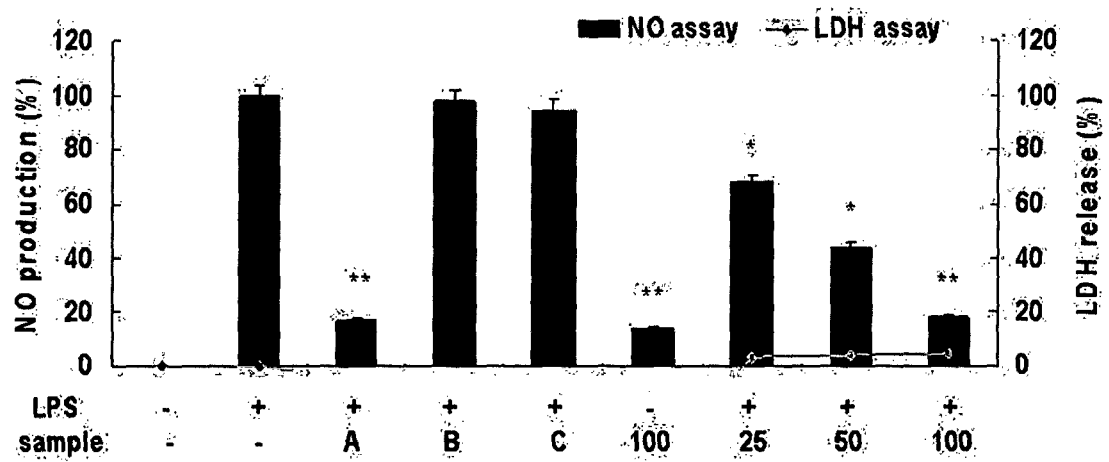


FIG. 9

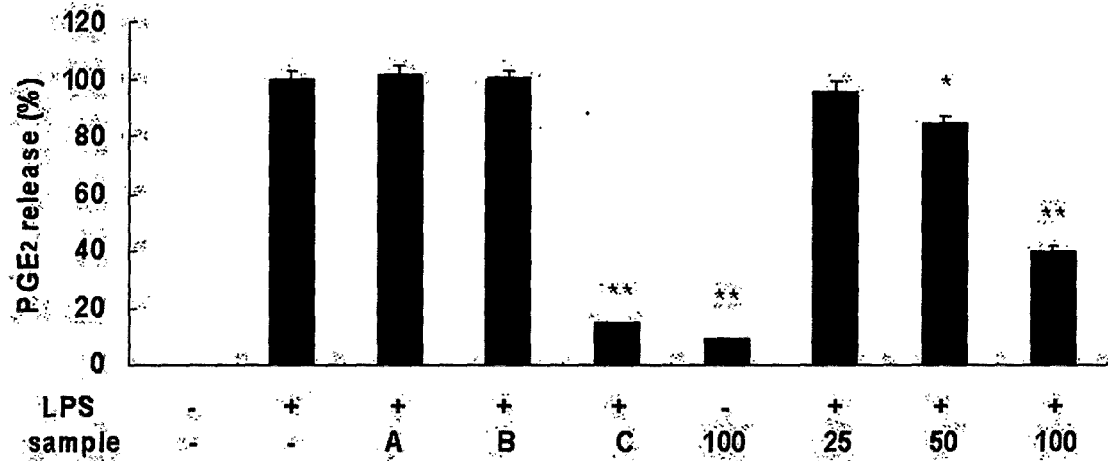


FIG. 10

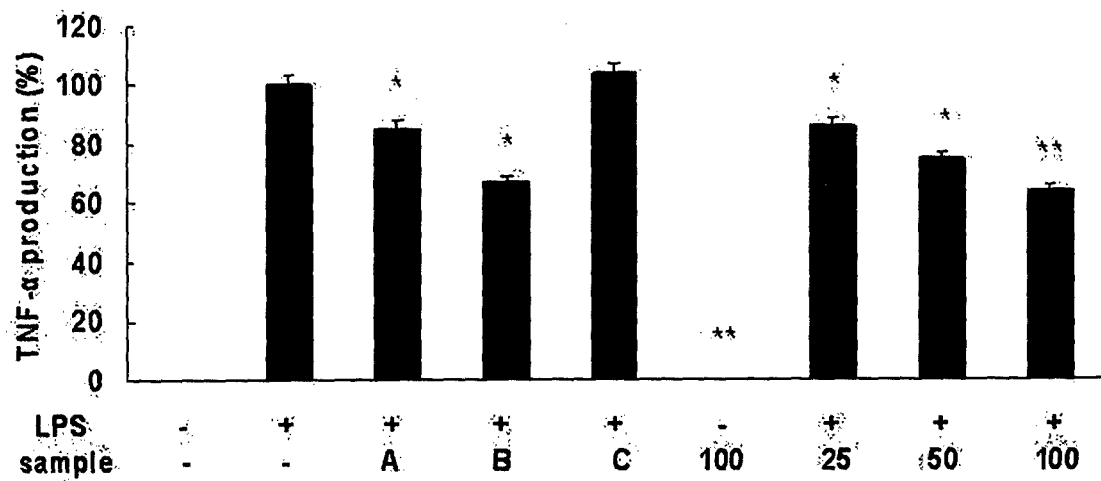


FIG. 11

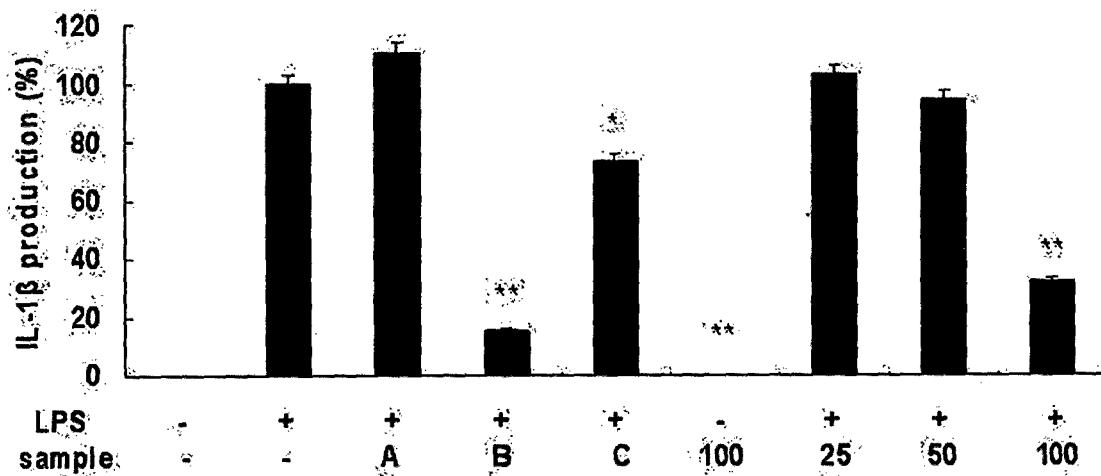


FIG. 12

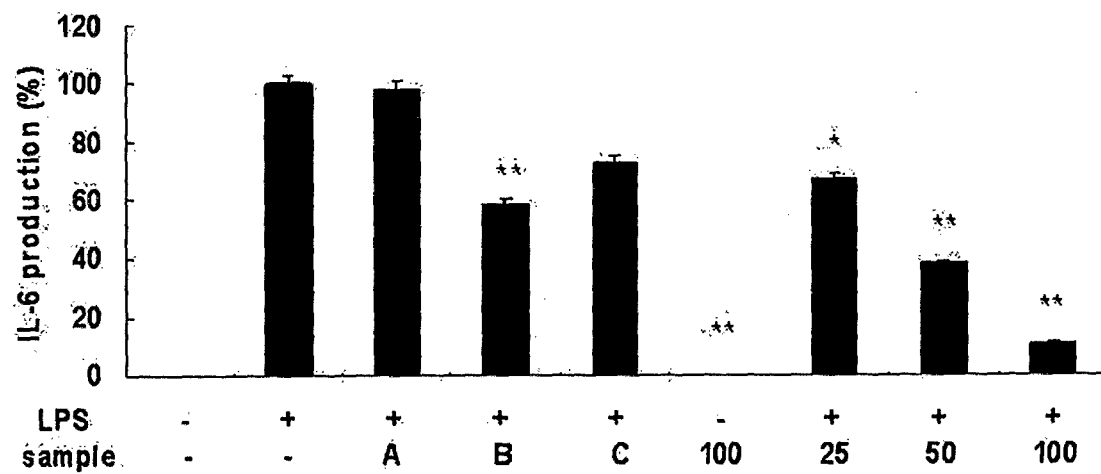
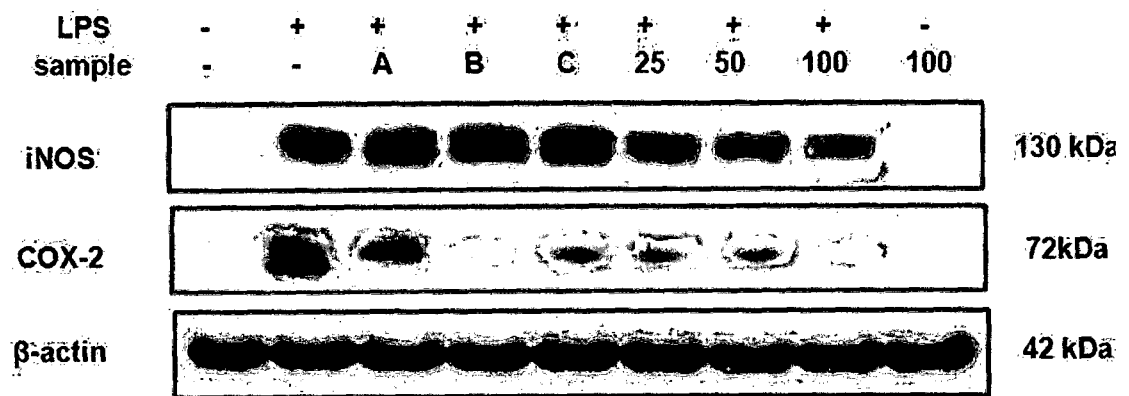


FIG. 13



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2012/011219**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER****A61K 31/343(2006.01)i, A61K 31/045(2006.01)i, A61P 29/00(2006.01)i**

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 31/343; A61P 29/00; A61K 36/60

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

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

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

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

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: vladinol F, F. erecta var. sieboldii, anti-inflammation

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KR 10-2011-0056684 A (JEJU TECHNOPARK) 31 May 2011 See abstract and claims 1-8	1-6
Y	HU et al., Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 01 November 2011, Vol. 59(11), pp. 1421-1424. See abstract and figure 1	1-6
A	SHIMAMURA, N. et al., Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2006, Vol. 29(6), pp. 1271-1274.	1-5
Y	See abstract and page 121	6



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 APRIL 2013 (15.04.2013)

Date of mailing of the international search report

16 APRIL 2013 (16.04.2013)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2012/011219

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2011-0056684 A	31.05.2011	NONE	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 31/343(2006.01)i, A61K 31/045(2006.01)i, A61P 29/00(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 31/343; A61P 29/00; A61K 36/60 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 블라디슬 F, 좁은잎천선과, 항염증		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KR 10-2011-0056684 A (재단법인 제주테크노파크) 2011.05.31 요약 및 청구항 1-8 참조	1-6
Y	HU et al. , Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 01.11.2011, Vol.59(11), pp. 1421-1424. 초록 및 그림 1 참조	1-6
A	SHIMAMURA, N. et al., Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2006, Vol.29(6), pp. 1271-1274.	1-5
Y	초록 및 페이지 121 참조	6
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2013년 04월 15일 (15.04.2013)		국제조사보고서 발송일 2013년 04월 16일 (16.04.2013)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 82-42-472-7140		심사관 나영민 전화번호 82-42-481-8466 

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

KR 10-2011-0056684 A

2011.05.31

없음