



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년07월12일
 (11) 등록번호 10-1999273
 (24) 등록일자 2019년07월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 C12P 19/40 (2006.01) C07H 1/08 (2006.01)
 C07H 19/167 (2006.01) C12N 1/14 (2018.01)
 C12R 1/645 (2006.01)
 (52) CPC특허분류
 C12P 19/40 (2013.01)
 C07H 1/08 (2013.01)
 (21) 출원번호 10-2018-0003187
 (22) 출원일자 2018년01월10일
 심사청구일자 2018년01월10일
 (56) 선행기술조사문헌
 Mycobiology, Vol. 45, pp. 31-38 (2017.)*
 KR1020140004270 A*
 KR1020170049353 A*
 KR1020170121866 A
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
 한국과학기술연구원
 서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)
 농업법인(주)이안
 경기도 성남시 수정구 복정로158번길 1 ,B02호 (복정동)
 (72) 발명자
 차주환
 서울특별시 성북구 화랑로14길 5
 심영보
 경기도 성남시 수정구 복정로158번길 1
 권경욱
 세종특별자치시 연동면 매바위길 8-16
 (74) 대리인
 김영철, 김 순 영

전체 청구항 수 : 총 6 항

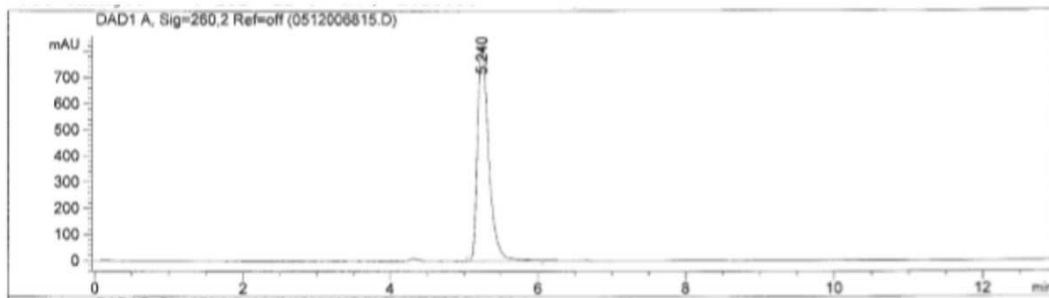
심사관 : 황상필

(54) 발명의 명칭 **고순도 코디세핀의 제조 방법, 고함량의 코디세핀을 함유하는 동충하초 및 그로부터 얻어지는 고순도 코디세핀**

(57) 요약

본 발명은 고함량의 코디세핀을 함유한 동충하초(*Cordyceps militaris*) 균주를 이용하여 동충하초를 생산하고, 그로부터 고순도 코디세핀(Cordycepin)을 추출 및 정제하는 방법에 관한 것으로, 상기 추출 단계에서는 추출 용매를 사용하여 동충하초 추출물을 획득하고, 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 통해 상기 동충하초 추출물로부터 코디세핀을 신속하게 분리할 수 있다. 이렇게 분리된 코디세핀을 재결정 방법을 사용하여 고순도의 코디세핀을 대량 생산할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C07H 19/167 (2013.01)

C12N 1/14 (2013.01)

C12R 1/645 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

(s1) 기탁번호 KACC 83013BP로 기탁된 *Cordyceps militaris* sejeong001 변이주로부터 고함량의 코디세핀을 함유하는 동충하초를 얻는 동충하초 획득 단계; (s2) 상기 획득된 동충하초를 분쇄한 후 물로 추출하여 물 추출물을 얻고, 감압 농축하여 물 용매를 제거한 후 노르말 부탄올로 추출하여 노르말 부탄올 추출물을 얻는 추출 단계; (s3) 상기 노르말 부탄올 추출물을 정제하여 고순도의 코디세핀을 얻는 정제 단계를 포함하는 고순도 코디세핀의 제조방법.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

제 1 항에서,

상기 추출 단계(s2) 에서는 동충하초를 분쇄한 후 물에서 1 내지 10 시간 동안 환류하여 물 추출물을 얻는 것을 특징으로 하는 고순도 코디세핀의 제조방법.

청구항 6

제 1 항에서,

상기 정제 단계(s3) 에서는 에칠아세테이트와 에탄올을 2 내지 7 : 0.5 내지 3의 부피비로 혼합한 용매를 사용하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 실시하는 것을 특징으로 하는 고순도 코디세핀의 제조방법.

청구항 7

제 1 항에서,

상기 정제 단계(s3) 에서는 상기 노르말 부탄올 추출물로부터 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 사용하여 코디세핀 화합물을 분리하고, 최종적으로 물을 사용하여 재결정하는 것을 특징으로 하는 고순도 코디세핀의 제조방법.

청구항 8

제 7 항에서,

상기 재결정은 분리된 코디세핀 화합물을 30~90℃에서 용해시킨 후, 0~10℃에서 냉각하는 것을 특징으로 하는 고순도 코디세핀의 제조방법.

청구항 9

제 8 항에서,

상기 재결정은 분리된 코디세핀 화합물을 수소이온농도(pH)가 4미만 또는 12.5를 초과하는 상태에서 30~90℃로 용해시킨 후, pH를 4~12.5로 하고 0~10℃에서 냉각하여 코디세핀을 석출시키는 것을 특징으로 하는 고순도 코디세핀의 제조방법.

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 고순도 코디세핀(Cordycepin)의 제조를 위한 대량 추출 및 정제 방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 고품량 코디세핀 동충하초(*Cordyceps militaris*) 균주를 이용하여 고순도의 코디세핀을 대량으로 신속하게 제조할 수 있는 방법에 관한 것이다.

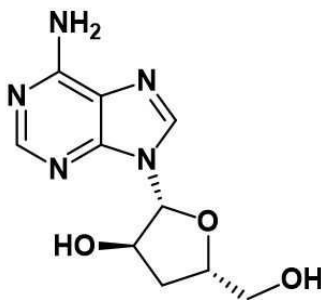
[0002] 아울러 본 발명은 고품량의 코디세핀을 함유하는 동충하초 및 그로부터 얻어지는 고순도 코디세핀에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 동충하초(vegetable worms)는 곤충을 기주로 하여 자실체를 발생하는 버섯으로 현재 전 세계적으로 수백여종이 존재하며, 국내에서는 약 80여종의 있다고 알려져 있다. 그 중에서도 특히 자낭균강 맥각균과 코디셉스속(*Cordyceps* sp.)의 동충하초가 고대로부터 결핵, 천식, 마약중독해독, 자양강장제 등의 한약재로 사용된 것으로 보고된 바 있다. 약용으로 이용되는 대표적인 동충하초는 코디셉스 시넨시스(*Cordyceps sinensis*), 코디셉스 밀리타리스(*Cordyceps militaris*), 코디셉스 오피오글로쏘이테스(*Cordyceps ophioglossoides*), 코디셉스 소보리페라(*Cordyceps sobolifera*), 코디셉스 베아우베리아(*Cordyceps beauveria*) 또는 코디셉스 바씨아나(*Cordyceps bassiana*) 등이 있다.

[0004] 동충하초에는 코디세핀(Cordycepin: 3'-deoxyadenosine)이라는 아주 중요한 물질이 들어 있는데, 이것을 핵산 물질로서 세포의 유전정보에 관여하면서 저하된 면역기능을 활성화하여 정상세포가 암세포로 되는 것을 방지하는 작용을 한다. 코디세핀(Cordycepin)은 아래와 같은 화학식을 갖는다:

[0005] [화학식 1]



[0006]

[0007] CAS No.: 73-03-0

[0008] 분자식: C₁₀H₁₃N₅O₃

[0009] 분자량: 251.25

[0010] 서울대 농업생명과학대와 산림청 임업연구원의 공동 연구 결과에 따르면 동충하초 배양액에서 분리한 코디세핀이 실제로 사람의 장내에서 대장암과 인체노화 등을 유발하는 가스괴저균(*clostridium perfringens*)에 대해 강한 살균력을 나타내 성장효과도 탁월한 것으로 밝혀졌다.

[0011] 또한, 식품안전처(KFDA)에 코디세핀은 면역기능 증진에 도움을 줄 수 있는 기능성 식품으로 지정되어 있다 (2014).

[0012] 항암작용으로 널리 알려져 있는 동충하초의 지표성분인 코디세핀(Cordycepin)은 천연 항생물질이면서 면역증강

물질로 알려져 있다. 코디세핀에 관한 연구는 1951년 쿠닝햄(Cunningham) 교수를 시작으로 국제적으로 수많은 학술 논문들이 발표되었다(Cunningham, K. G., et al., *J. Chem. Soc.*, pp. 2299-2300, 1951). 코디세핀 구조가 확인된 후 다양한 생물학적 효과가 연구되어 왔으며, 폴리아데닐화 저해제, 세포독성을 갖는 함암제, 항바이러스제, 항염증제로 널리 알려져 있고, 또한 코디세핀은 m-RNA의 합성을 저해하고 항세균, 항진균, 면역증강 및 항암효과가 있는 것으로 주로 알려져 있다. 또한 최근 미국 FDA에서는 급성 림프성 백혈병에 대한 희귀 의약품으로 지정 하였다(New FDA Orphan Drugs: 3'-Deoxyadenosine(Cordycepin, OncoVista, Inc) for Acute Lymphocytic Leukemia, 2007. 07. 05). 최근에는 코디세핀의 혈소판 응집억제 작용에 관한 연구가 많이 진행되고 있는데, 이에 대한 예로, 한국등록특허 제464876호에서는 동충하초의 코디세핀을 함유하는 항혈전제 조성물이 개시되어 있다. 코디세핀 성분을 분리 정제하는 방법으로는, 한국공개특허 제2001-0054264호에 동충하초로부터 분리 추출된 함암제용 코디세핀과 그 제조방법이 개시되어 있다. 지금까지 알려진 바로는, 코디세핀 성분을 고함량 함유하는 동충하초로부터 고순도의 코디세핀을 대량으로 신속하게 추출하는 방법에 대해서는 아직까지 알려진 바가 없다.

[0013] 본 발명자들은 상기 종래기술의 문제점을 극복하기 위하여 연구 노력한 결과, 본 발명과 같이 고함량의 코디세핀을 함유하는 동충하초 균주로부터 동충하초를 얻고, 이 동충하초를 사용하여 추출물을 추출하고, 이를 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 통해 정제함으로써 고순도의 코디세핀을 신속하게 추출하고 정제하는 방법을 발견하여 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0014] (특허문헌 0001) 1. 한국등록특허 제464876호
 (특허문헌 0002) 2. 한국공개특허 제2001-0054264호

비특허문헌

[0015] (비특허문헌 0001) Cunningham, K. G., et al., *J. Chem. Soc.*, pp. 2299-2300, 1951
 (비특허문헌 0002) New FDA Orphan Drugs: 3'-Deoxyadenosine(Cordycepin, OncoVista, Inc) for Acute Lymphocytic Leukemia, 2007. 07. 05

발명의 내용

해결하려는 과제

[0016] 본 발명은 고함량의 코디세핀을 함유하는 동충하초(*Cordyceps militaris*) 균주를 사용하여 단 시간에 고순도의 코디세핀을 대량으로 얻기 위한 추출 및 정제 방법을 제공하는 것이다. 아울러 본 발명은 고함량의 코디세핀을 함유하는 동충하초 및 그로부터 얻어지는 고순도의 코디세핀을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0017] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 (s1) *Cordyceps militaris* sejeong001 변이주(수탁번호: KACC 83013BP)로부터 고함량의 코디세핀을 함유하는 동충하초를 얻는 동충하초 획득 단계; (s2) 상기 획득된 동충하초를 추출하여 추출물을 얻는 추출 단계; (s3) 상기 추출물을 정제하여 고순도의 코디세핀을 얻는 정제 단계를 포함하는 고순도 코디세핀의 제조방법을 제공한다.

[0018] 또한 본 발명은 상기 제조방법에서 얻어지는 고함량의 코디세핀을 함유하는 동충하초 및 고함량의 코디세핀을 함유하는 동충하초를 제공한다.

발명의 효과

[0019] 본 발명에 의하면 자연으로부터 채집된 동충하초로부터 고함량의 코디세핀을 함유하는 동충하초를 생산하고, 그것을 추출 용매를 사용하여 추출하고, 그 추출물로부터 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 통해 고순도의 코디세

핀을 신속하게 대량으로 제조할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0020] 도 1은 본 발명으로부터 얻어진 코디세핀의 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이다.
- 도 2는 본 발명으로부터 얻어진 코디세핀의 ¹H-NMR 스펙트럼을 나타낸 것이다.
- 도 3은 본 발명으로부터 얻어진 코디세핀의 ¹³C-NMR 스펙트럼을 나타낸 것이다.
- 도 4는 본 발명으로부터 얻어진 코디세핀의 HRMS 스펙트럼을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 본 발명에 있어서, 상기 (s1) 단계의 고함량 코디세핀을 함유하는 동충하초(*Cordyceps militaris*)를 얻는 방법은 자연으로부터 동충하초(*Cordyceps militaris*)를 채집하고, 채집된 동충하초의 포자를 받기 위해 PDA(Potato Dextrose Agar) 고체배지를 사용한다. PDA 고체배지에 동충하초 포자를 받고, 이로부터 단포자(single spore)를 분리하여, PDA 고체배지에 25℃ 배양기(incubator)에서 21~25일 군사배양한다. 군사 배양된 단포자를 교배실험(mating test)한다. 교배실험은 상기 단포자를 PDB(Potato Dextrose Broth) 액체배지에서 배양하여 액체종균으로 사용하고, 현미배지(1000cc pp병에 현미와 첨가물질과 물이 혼합된 영양분)에 상기 배양된 동충하초 액체종균을 접종한다. 접종된 동충하초는 25℃ 배양실에서 3~7일 암조건 상태에서 군사배양기간을 거쳐, 20℃ 생육실에서 광조건 상태로 40~50일이면 완전히 자라게 되어, 이를 코디세핀 추출을 위해 50℃ 건조기를 이용하여 24시간 열풍건조시킨다. 위의 다양한 조합들로부터 형성된 동충하초들의 코디세핀을 추출하여 비교분석하고, 고함량의 코디세핀을 함유하는 *Cordyceps militaris* sejeong001 변이주(수탁번호: KACC 83013BP)을 획득한다. 이렇게 획득된 *Cordyceps militaris* sejeong001 균주를 이용한 동충하초 생산 과정은 상기 교배실험 방법과 동일한 과정으로 진행한다.

[0022] 본 발명에 있어서, 상기 (s2) 단계의 추출 용매는 물, 유기 용매, 또는 이들의 혼합물이 사용될 수 있다. 바람직하게는, 상기 (s2) 단계의 추출 용매는 물이 사용될 수 있으며, 유기 용매로서는 메탄올, 에탄올, 프로판올 및 부탄올 등으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상을 사용할 수 있다. 바람직하게, 상기 유기 용매로는 메탄올, 에탄올 또는 이들의 혼합물이 사용될 수 있으며, 이러한 경우 물만을 사용하였을 경우에 비해 추출물 내 코디세핀 함량을 현저하게 높일 수 있다.

[0023] 본 발명에 있어서, 상기 (s2) 단계의 추출은 동충하초를 분쇄하여 추출 용매에 1~10시간, 바람직하게는 2~5시간 동안 환류(Reflux)하여 추출할 수 있다. 동충하초 추출물을 여과지를 사용하여 여과하고, 감압 농축한 후 용매를 제거하고 동충하초 추출물을 얻을 수 있다. 또 다른 방법으로는 동충하초 분쇄물을 여과포에 넣고 이를 추출 용매를 사용하여 2~5시간 환류(Reflux) 후 감압 농축하여 물이 함유된 동충하초 추출물을 얻을 수 있다. 이렇게 얻은 잔유물을 노르말 부탄올(n-Butanol)로 여러 번 추출하여, 바람직하게는 2~3번 추출하여 대부분의 코디세핀을 노르말 부탄올 층으로 분리하고 이 용매를 감압 농축하여 코디세핀 추출물을 얻을 수 있다.

[0024] 본 발명에 있어서, 상기 (s3) 단계는 에칠아세테이트/에탄올을 2~7/0.5~3, 바람직하게는 2~5/0.5~1(에틸아세테이트/에탄올)의 부피비로 혼합된 용매를 사용하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 실시할 수 있다. 상기와 같은 부피비로 혼합된 용매를 사용할 경우, 다른 용매를 사용할 경우에 비해 코디세핀의 분획을 보다 정확하게 분리할 수 있어 보다 높은 순도의 코디세핀을 정제할 수 있다.

[0025] 바람직하게 (s3) 단계에서 사용될 수 있는 실리카겔(Silica gel)은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 실리카겔이 사용될 수 있다. 예를 들면, 상기 실리카겔은 Merck No. 109385 또는 Merck No. 107734 등이 사용될 수 있으며, 상기 Merck No. 109385는 입자 크기가 0.040~0.063 mm인 실리카겔로 230~400 메쉬(mesh) ASTM 칼럼 크로마토그래피에 대해 사용될 수 있다. 상기 Merck No. 109385는 입자 크기가 0.063~0.200 mm인 실리카겔로 70~230 메쉬(mesh) ASTM 칼럼 크로마토그래피에 대해 사용될 수 있다.

[0026] 상기 (s3) 단계의 실리카겔 컬럼 크로마토그래피 실시 후 나뉘어진 소분획은 얇은 막 크로마토그래피(TLC)를 통해 코디세핀이 함유된 분획을 확인할 수 있다. 코디세핀이 함유된 소분획을 감압 농축하고 재결정 방법을 통해 얻은 고체를 여과하는 과정을 통해 최종적으로 고순도의 코디세핀을 수득할 수 있다. 상기 추출방법으로 추출된 코디세핀은 98% 이상의 높은 순도를 가질 수 있다.

[0027] 상기 (s3) 단계의 재결정 정제 방법은 30 ~ 90℃로 코디세핀을 용해한 후, 0 ~ 10℃에서 코디세핀을 석출시키는

방법, 수소이온농도(pH)가 4미만 또는 12.5를 초과하는 상태에서 코디세핀을 용해시킨 후 pH를 4 ~ 12.5로서 코디세핀을 석출시키는 방법, 코디세핀을 분리한 후 동결건조 시키고 수소이온농도(pH)가 4미만의 산성 또는 12.5를 초과하는 알칼리성 수용액에 30 ~ 90℃로 재용해해, 이어서 수용액의 pH를 4 ~ 12.5로 하고, 0 ~ 10℃에 냉각하고 석출하는 코디세핀을 분리 정제하는 방법 등을 사용할 수 있다.

[0028] 본 발명에 의하면 순도 98% 이상의 고순도의 코디세핀을 대량으로 제조할 수 있다.

[0029] 본 발명의 이해를 돕기 위해 실시예 등을 들어 상세하게 설명한다. 그러나 본 발명에 따른 실시예들은 여러가지 다른 형태로 변형 될 수 있으며, 본 발명의 범위가 실시예들에 한정되는 것으로 해석되어서는 안된다. 본 발명의 실시예들은 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명은 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0030] 실시예

[0031] <코디세핀 고함량 동충하초(Cordyceps militalis) 균주를 이용하여 동충하초 획득>

[0032] 자연으로부터 동충하초(*Cordyceps militaris*)를 채집하였고, 채집된 동충하초의 포자를 받기 위해 PDA(Potato Dextrose Agar) 고체배지를 제조하였다. PDA 고체배지는 BD difco사에서 제조된 PDA(cat. 213400) 시약을 사용하였다. PDA 고체배지를 만들기 위해, 1000L 삼각 플라스크에 500ml 증류수와 PDA 시약 19.5g을 넣어주고, 121℃ 1.2기압의 고온고압 멸균기(Auto-clave)를 이용하여 20분간 멸균하여 식힌 후, 90mm Petri-dish에 분주하였다. 제조된 PDA 고체배지에 동충하초 포자를 받았고, 실제 현미경을 이용하여 단포자(single spore)를 10개 분리하여, 제조된 PDA 고체배지에 25℃ 배양기(incubator)에서 23일간 균사배양하여 사용하였다. 균사 배양된 10개의 단포자를 각각 1번~10번까지 균주번호를 부여하였고, 각각 1번 X 1번, 1번 X 2번, 1번 X 3번, ..., 10번 X 10번의 조합으로 교배실험(mating test)하였다.

[0033] 교배실험은 121℃ 1.2기압의 고온고압 멸균기를 이용하여 20분간 멸균한 삼각 플라스크(Erlenmeyer flask) PDB(Potato Dextrose Broth) 액체배지에서 3일간 배양하여 액체종균으로 사용하였다. 상기와 동일한 멸균조건으로 제조한 현미배지(1000cc pp병에 현미와 첨가물질과 물이 혼합된 영양분)에 배양된 동충하초 액체종균을 접종하였다. 접종된 동충하초는 25℃ 배양실에서 5일간 암조건 상태에서 균사배양기간을 거쳐, 20℃ 생육실에서 광조건 상태로 45일 동안 완전히 자라, 이를 코디세핀 추출을 위해 50℃ 건조기를 이용하여 24시간 열풍건조시켰다. 위의 다양한 조합들로부터 형성된 동충하초들의 코디세핀을 추출하여 비교분석하였고, 고함량의 코디세핀을 함유하는 *Cordyceps militaris* sejeong001 변이주(수탁번호: KACC 83013BP)을 획득하였다. 이렇게 획득된 *Cordyceps militaris* sejeong001 균주를 이용하여 상기 교배실험에서와 동일한 과정을 거쳐 동충하초를 생산하였다.

[0034] <코디세핀의 추출>

[0035] 상기 생산된 동충하초 100g을 분쇄한 후 1리터의 물에 가하고 약 3시간 환류(Ref lux)하였다. 추출물을 여과지를 사용하여 여과하고, 여과액을 감압 농축하여 약 0.2리터의 물 추출물을 얻고, 이 추출물을 노르말 부탄올 0.2리터로 각각 3번 추출하고 0.6리터의 노르말 부탄올 추출물을 얻었다. 부탄올 추출물을 감압 농축하고 얻어진 분획으로부터 고순도의 코디세핀을 얻기 위해 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 실시하였다.

[0036] 실리카겔(Merck No. 109385)을 에틸아세테이트/에탄올(4/1 내지 2/1)의 조성으로 변화를 주어 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 여러 개의 소분획을 얻었다. 얇은 막 크로마토그래피(TLC)를 통해 코디세핀이 함유된 분획을 확인하여 감압 농축하여 코디세핀을 얻었다.

[0037] <재결정의 정제 과정을 통한 고순도 코디세핀의 획득>

[0038] 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 얻은 코디세핀 분획을 다음과 같은 방법으로 정제하여 고순도의 코디세핀을 얻었다.

[0039] 상기 추출된 코디세핀 0.7g을 물 30mL를 가하고 60도 항온조에 넣어 완전히 용해시켰다. 미세한 불용물은 여과지를 사용하여 제거하고 여과액을 저온에서 24시간 방치한 후 여과하여 고순도의 코디세핀을 얻었다. 여기서,

여과물을 냉각시킨 증류수를 사용하여 씻어주면 불순물을 제거할 수 있다. 이렇게 얻은 코디세핀 순도를 HPLC를 통해 분석하였다.

[0040] 하기 표에서와 같이 시그마사에서 구입한 코디세핀 표준품과 함량을 비교했을 때, 본 발명에 의하면 99% 이상의 고순도 코디세핀을 수득할 수 있음을 확인하였다.

표 1

시료	코디세핀 함량(%)
코디세핀 제조품	99.1
코디세핀 표준품(Sigma)	99.9

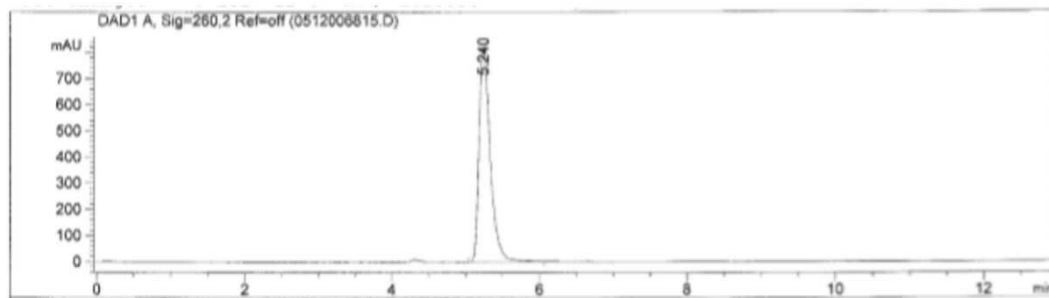
[0042] 평가예

[0043] <스펙트럼에 의한 구조 분석>

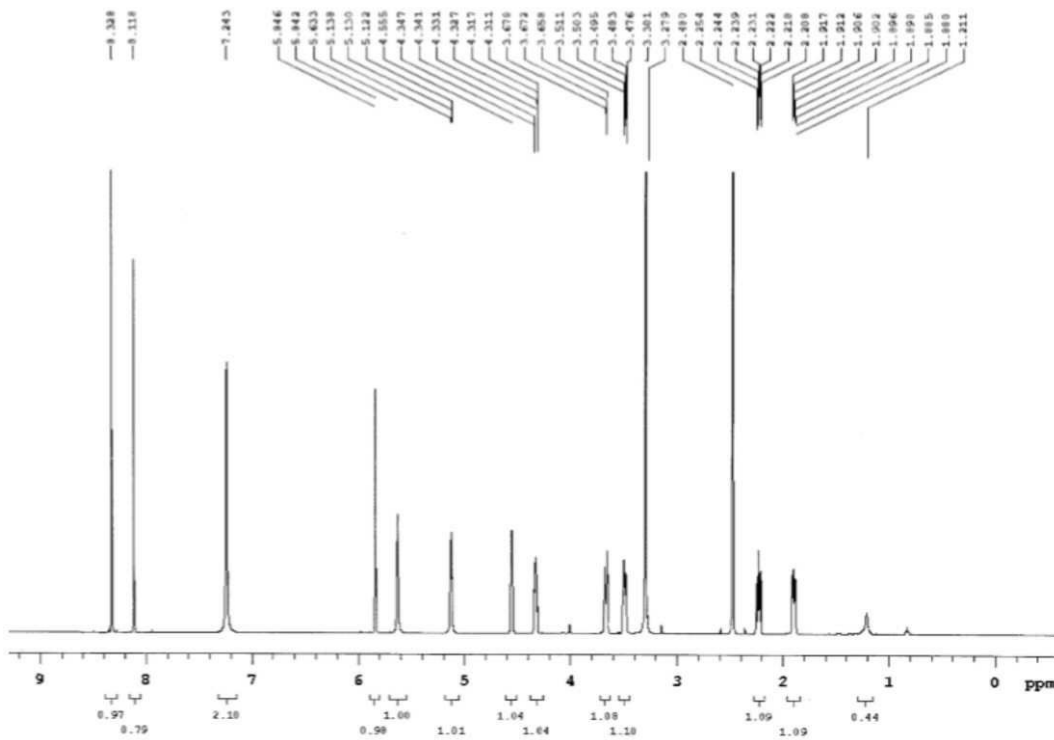
[0044] 상기 실시예에서 최종적으로 얻어진 코디세핀의 구조결정을 스펙트럼 분석에 의하여 행하였다. 도 1은 활성물질의 HPLC 크로마토그램을 나타내고, ¹H-NMR 과 ¹³C-NMR 스펙트럼은 Bruker AMX-600 분광계(내부표준으로 TMS)로 기록되었고 용매로는 DMSO를 사용하였으며 케미칼 시프트는 δ (ppm)로 주어졌다. 각각은 도면 2와 3에 나타내었다. 또한, 도면 4에는 Water ACQUITY™ UPLC 고분해능질량분광기(HRMS) 스펙트럼으로 분석하였다. HRMS for C₁₀H₁₃N₅O₃ [M + H]⁺: 이론치: 251.1018, 실험치: 252.1086를 얻었다.

도면

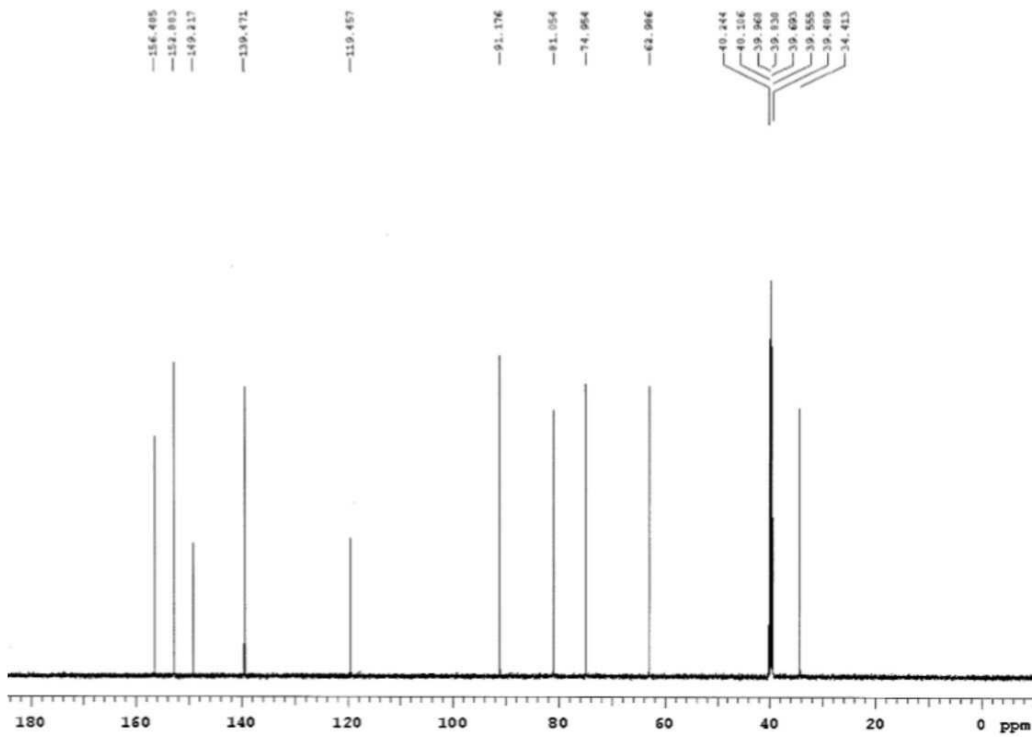
도면1



도면2



도면3



도면4

