(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2017 년 8 월 17 일 (17.08.2017)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2017/138788 A1

(51) 국제특허분류:
A61K 8/64 (2006.01) *A61K 36/48* (2006.01)
A61K 8/97 (2006.01) *A61K 36/66* (2006.01)
A23L 33/18 (2016.01) *A61K 36/14* (2006.01)
A23L 33/105 (2016.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
A61K 38/01 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2017/001510

(22) 국제출원일: 2017 년 2 월 10 일 (10.02.2017)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2016-0016182 2016 년 2 월 12 일 (12.02.2016) KR

(71) 출원인: **호서대학교 산학협력단 (HOSEO UNIVERSITY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION)** [KR/KR]; 31499 충청남도 아산시 배방읍 호서로 79 번길 20 (호서대학교), Chungcheongnam-do (KR). **에이앤펩주식회사 (A&PEP INC.)** [KR/KR]; 28118 충청북도 청주시 청원구 오창읍 양청송대길 128 (오창읍), Chungcheongbuk-do (KR).

(72) 발명자: **강상문 (KANG, Sang Moon)**; 34010 대전시 유성구 구즉로 16,108-401 (송강동, 한마을 아파트), Daejeon (KR). **김한복 (KIM, Han Bok)**; 61072 광주시 북구 양산택지로 34 번길 22, 지에스그린자이 2 차아파트 201-1101, Gwangju (KR). **이기영 (LEE, Kee Young)**; 28117 충청북도 청주시 청원구 오창읍 2 산단로 160, 107-302 (오창읍, 대성베르힐아파트), Chungcheongbuk-do (KR). **정혁광 (JUNG, Hyuk Kwang)**; 30098 세종시 보람로 96, 2006-404, Sejong (KR). **신은진 (SHIN, Eun Jin)**; 28319 충청북도 청주시 청원구 율량로 174 201, Chungcheongbuk-do (KR). **차상주 (CHA, Sang Joo)**; 10235 경기도 고양시 일산서구 하이파크 3 로 61, 409-503, Gyeonggi-do (KR).

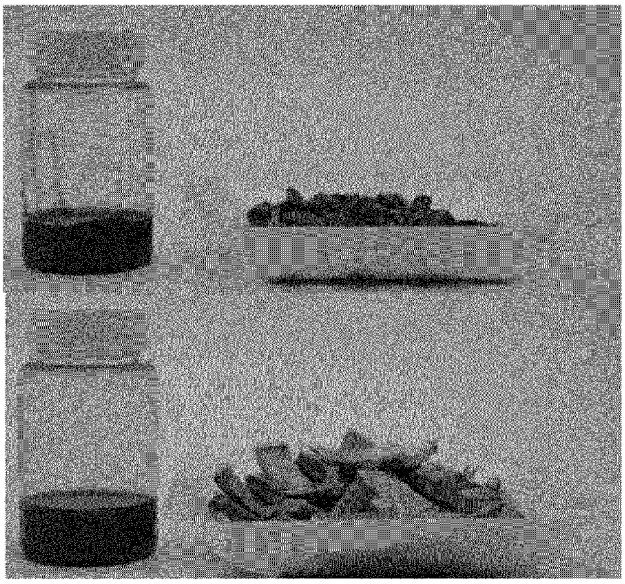
(74) 대리인: **박상훈 (PARK, Sang Hoon)**; 06170 서울시 강남구 봉은사로 610, 308 (삼성동, 수도빌딩), Seoul (KR).

(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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, 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.

[다음 쪽 계속]

(54) **Title**: ANTI-INFLAMMATORY AND ANTIBACTERIAL COMPOSITION CONTAINING, AS ACTIVE INGREDIENTS, PEPTIDE DERIVED FROM CHUNGKUKJANG EXTRACT AND NATURAL EXTRACT OR FERMENTATION PRODUCT, AND COSMETIC COMPOSITION FOR PREVENTING OR ALLEVIATING IMMUNE SKIN DISEASES, CONTAINING SAME

(54) **발명의 명칭** : 청국장 추출물 유래 펩타이드와 천연 추출물 또는 발효물을 유효성분으로 함유하는 항염 및 항균 조성물 및 그를 포함하는 면역성 피부질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물



(57) **Abstract**: The present invention relates to an anti-inflammatory, antibacterial, and immunity skin disease prevention or alleviation cosmetic composition containing, as active ingredients, a peptide derived from a chungkukjang (thick soybean paste) extract, and a natural extract or fermentation product. More specifically, the present invention relates to an anti-inflammatory and antibacterial composition containing: an inflammatory cell inhibitory peptide derived from a chungkukjang extract; and an extract or fermentation product of one or more plants selected from the group consisting of *Chelidonium majus* Linne, *Symplocos prunifolia*, *Thuja orientalis*, *Nymphaea tetragona*, phellodendron barks and *Paeonia suffruticosa* Andrew roots. It was ascertained that the composition containing, as active ingredients, a peptide derived from a chungkukjang extract, and a natural extract or fermentation product, of the present invention, has excellent anti-inflammatory and antibacterial effects, and the composition of the present invention can be useful as an anti-inflammatory and antibacterial composition and can be useful in a cosmetic composition for preventing and alleviating immune skin diseases.

(57) **요약서**:

[다음 쪽 계속]

WO 2017/138788 A1

(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, ST, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

본 발명은 청국장 추출물 유래 펩타이드와 천연 추출물 또는 발효물을 유효성분으로 함유하는 항염, 항균 및 면역성 피부질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게 본 발명은 청국장 추출물에서 유래한 염증 세포 억제용 펩타이드; 및 백굴채 (Chelidonium majus Linne), 검은재 나무 (Symplocos prunifolia), 측백 (Thuja orientalis), 수련 (Nymphaea tetragona), 황백 (phellodendron bark) 및 목단피 (Paeonia suffruticosa Andrew roots)로 이루어지는 군으로부터 1 종 이상 선택되는 식물 추출물 또는 발효물을 포함하는 항염 및 항균 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 청국장 추출물 유래 펩타이드와 천연 추출물 또는 발효물을 유효성분으로 함유하는 조성물은 항염 및 항균 효과가 우수함을 확인하였으며, 본 발명의 조성물은 항염 및 항균 조성물로서 유용하게 사용할 수 있으며, 면역성 피부질환의 예방 및 개선용 화장료 조성물에 유용하게 사용할 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 청국장 추출물 유래 펩타이드와 천연 추출물 또는 발효물을 유효성분으로 함유하는 항염 및 항균 조성물 및 그를 포함하는 면역성 피부질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물

기술분야

[1] 본 발명은 청국장 추출물 유래 펩타이드와 천연 추출물 또는 발효물을 유효성분으로 함유하는 항염 및 항균 조성물에 관한 것으로서, 더 상세하게는 상기 조성물을 유효성분으로 함유하는 항염 및 항균용 화장료 조성물 또는 식품 조성물, 면역성 피부질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물, 염증 및 감염성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[2] 염증 관련 질환은 치주염, 관절염, 위염, 장염, 비염, 부비동염, 인후염, 편도염, 폐렴 등 다양하다. 염증에는 병원균의 침범에 대비하는 급성염증과 만성염증이 있다. 염증반응은 면역반응의 일종으로 인체를 보호하는 역할을 하나, 과도하고 장기적인 만성염증은 인체에 해가 되며 이러한 질환으로는 자가면역, 알러지 등을 들 수 있다. 또한 만성염증은 심혈관계 질환, 암, 치매, 성인병 등과도 관련이 있다. iNOS (inducible nitric oxide synthase, 유도성 일산화질소합성효소), NO (일산화질소), 전사인자 NF-κB, 사이토카인 TNF-α, IL-6 등은 세포의 염증을 촉진시키는 인자이다.

[3] 염증치료제로써 스테로이드, 아스피린 등의 약제가 개발되어 있으나, 이것들은 면역억제, 위장질환, 출혈, 간독성 등이 부작용이 알려져 있다. 이에 따라, 새롭거나 개선된 치료제 개발은 필수적이고 시급한 실정이다. 염증치료제의 개발은 염증물질의 분비 억제, 염증세포의 부착 방지등의 분야에서 진행되고 있고, 상기한 부작용을 극복하는 문제와 관련지어 천연물에서 그 활성 성분을 찾으려는 연구들이 활발히 진행되고 있다.

[4] 청국장은 콩을 원료로 한 우리나라의 대표적인 발효식품으로서, 간장, 된장, 고추장 등과 함께 오늘날까지 상용되어 온 전통 장류 중의 하나이며, 곡류를 주식으로 하는 우리민족에게 결핍되기 쉬운 필수아미노산 및 지방산을 공급시켜 주는 식품으로서 중요한 역할을 담당하여 왔다. 청국장은 삶은 콩을 볏짚에 붙어있는 고초균(枯草菌)이라 부르는 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis)를 이용하여 띄워만든 것으로서, 발효과정 중에 고초균이 생산하는 효소에 의해서 그 특유의 맛과 냄새를 내는 동시에, 원료콩의 당질과 단백질에서 유래된 레반형 프룩탄(levan form fructan)과 폴리글루타메이트(polyglutamate)의 혼합물질인 점질물을 다량 생성하며, 이렇게 발효 제조된 청국장은 영양면에서 된장이나 고추장보다 단백질과 지방함량이 높은 양질의 콩 발효식품인 것이다.

[5] 최근, 많은 연구자들에 의하여 청국장 내에 포함된 활성성분 및 그 역할이

밝혀지고 있는바, 청국장은 콩에서 기인된 이소플라본(isoflavone), 피트산(phytic acid), 사포닌(saponin), 트립신 저해제(trypsin inhibitor), 불포화지방산, 식이섬유, 올리고당, γ-글루타밀트랜스펩티다제(γ-glutamyltranspeptidase; γ-GTP) 등의 각종 생리활성물질, 항산화물질 및 혈전용해 효소를 다량 함유하고 있기 때문에 기능성 식품으로서 그 중요성이 재조명되고 있다.

[6] 그 중에서, 콩에서 발견되는 이소플라본류는 이들 인자의 발현을 억제하는 항염증 효과를 갖고 있다. 대두발효식품인 청국장에는 제니스테인(genistein), 다이드제인(daidzein)과 같은 이소플라본과 단백질 분해산물인 아미노산 중합체, 펩타이드(peptide)류가 풍부하다.

[7] 한편, 피지는 피지선 (Sebaceous gland)으로부터 털의 표면, 표피의 표면에 분비되는 유성(油性)분비물이며 주된 화학성분으로는 콜레스테롤, 지방산 및 에스테르 화합물로 구성되어 있다.

[8] 피지는 보호막 역할을 해 피부를 보호하는 데 도움을 주나, 주로 남성 호르몬(테스토스테론)의 분비에 의해 생성되며, 그 밖에 나이, 계절, 여성의 생리주기, 임신, 스트레스등에 의해 과다 생성될 수 있다. 피지가 과다하게 생성되면 모공이 넓어지거나 피부에 사는 세균이 피지를 분해해 염증을 일으켜 다양한 피부 질환을 유발하는 대표적 피부질환인 여드름 역시 피지 분비 과다, 혹은 여드름 균의 증식이 원인이 되어 발생한다. 특히 지루성 피부염은 피지 샘의 활동이 증가되어 피지 분비가 왕성한 두피와 얼굴, 그 중에서도 눈썹, 코, 입술 주위, 귀, 겨드랑이, 가슴, 서혜부 등에 발생하는 만성 염증성 피부 질환으로 많은 환자수를 보유하고 있는 피부질환이다. 지루성 피부염을 치료, 예방하는 가장 좋은 방법은 피지 분비억제, 염증반응 조절, 여드름균 제거가 중요하다.

[9] 그러나, 청국장 펩타이드를 활용한 항염 및 항균 효과에 관한 보고는 많지 않으며, 특히, 피부질환의 효과적인 예방 및 치료를 위하여 청국장 펩타이드를 활용한 사례는 전무하다.

[10] 이에, 본 발명자들은 청국장 추출물 유래 펩타이드와 천연 추출물 또는 발효물을 유효성분으로 함유하는 조성물이 항염 및 항균 활성이 뛰어남을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[11] 본 발명은 상기한 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 하나의 목적은 청국장 추출물에서 유래한 염증 세포 억제용 펩타이드, 및 식물 추출물 또는 발효물을 포함하는 항염 및 항균 조성물을 제공하는 것이다.

[12] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 항염 및 항균 조성물을 유효성분으로 함유하는 항염 및 항균용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[13] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 항염 및 항균 조성물을 유효성분으로 함유하는 면역성 피부질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[14] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 항염 및 항균 조성물을 유효성분으로 함유하는 항염 및 항균용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[15] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 항염 및 항균 조성물을 유효성분으로 함유하는 염증 및 감염성 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

[16] 상술한 바와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 항염 및 항균 조성물은, 청국장 추출물에서 유래한 염증 세포 억제용 펩타이드; 및 백굴채 (Chelidonium majus Linne), 검은재 나무 (Symplocos prunifolia), 측백 (Thuja orientalis), 수련 (Nymphaea tetragona), 황백 (phellodendron bark) 및 목단피 (Paeonia suffruticosa Andrew roots)로 이루어지는 군으로부터 1종 이상 선택되는 식물 추출물 또는 발효물을 포함한다.

[17] 상기 청국장 추출물에서 유래한 염증 세포 억제용 펩타이드는 알라닌(Alanine, Ala)-페닐알라닌(Phenylalanine, Phe)-프롤린(Proline, Pro)-글리신(Glycine, Gly)의 서열이 순서대로 배열된 염증 세포 억제용 펩타이드 또는 글루탐산(Glutamic acid, Glu)-발린(Valine, Val)-타이로신(Tyrosine, Tyr)-타이로신(Tyrosine, Tyr)-메티오닌(Methionine, Met)-타이로신(Tyrosine, Tyr)의 서열이 순서대로 배열된 염증 세포 억제용 펩타이드인 것이 바람직하다.

[18] 여기서, 상기 펩타이드와 상기 식물 추출물의 혼합비율은 중량기준 1:100 ~ 100:1인 것이 바람직하다.

[19] 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 항염 및 항균용 화장료 조성물은 상기 항염 및 항균 조성물을 유효성분으로 함유한다.

[20] 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 면역성 피부질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물은 상기 항염 및 항균 조성물을 유효성분으로 함유한다.

[21] 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 항염 및 항균용 식품 조성물은 상기 항염 및 항균 조성물을 유효성분으로 함유한다.

[22] 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 염증 및 감염성 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물은 상기 항염 및 항균 조성물을 유효성분으로 함유한다.

발명의 효과

[23] 본 발명의 청국장 추출물 유래 펩타이드와 천연 추출물 또는 발효물을 유효성분으로 함유하는 조성물은 항염 및 항균 효과가 우수함을 확인하였다.

[24] 따라서, 본 발명의 조성물은 항염 및 항균 조성물로서 유용하게 사용할 수 있으며, 이를 화장료나 식품에 이용할 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 면역성 피부질환의 예방 및 개선용 화장료 조성물에 유용하게 사용할 수 있으며, 염증 및 감염성 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물에도 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[25] 도 1은 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따른 식물 2종 (위; 목단피, 아래; 황백)의 원물과 70% 에탄올로 추출 후 농축물에 대한 사진이다.

[26] 도 2는 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따른 펩타이드 및 식물 추출물의 혼합물에 대한 NO 생성 저해능을 확인한 항 염증 효과 실험결과이다.

[27] 도 3는 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따른 여드름균(Propionibacterium Acnes)에 대한 항균 활성을 실험한 사진이다.

[28] 도 4는 청국장 펩타이드의 여드름균(Propionibacterium Acnes)에 대한 항균 활성을 실험한 사진이다.

발명의 실시를 위한 형태

[29] 본 발명은 다양한 변경을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는바, 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술범위에 포함되는 모든 변경, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[30] 제1, 제2 등과 같이 서수를 포함하는 용어는 다양한 구성요소들을 설명하는데 사용될 수 있지만, 해당 구성요소들은 이와 같은 용어들에 의해 한정되지는 않는다. 이 용어들은 하나의 구성요소들을 다른 구성요소로부터 구별하는 목적으로만 사용된다.

[31] 이하의 설명에 있어, 당업자에게 주지 저명한 기술에 대해서는 그 상세한 설명을 생략 할 수 있다. 또한, 본 발명을 설명함에 있어서, 관련된 공지 기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어(terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다.

[32] 따라서, 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[33] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[34] 본 발명의 일 실시예로서, 본 발명은 청국장 추출물에서 유래한 염증 세포 억제용 펩타이드; 및 백굴채 (Chelidonium majus Linne), 검은재 나무 (Symplocos prunifolia), 측백 (Thuja orientalis), 수련 (Nymphaea tetragona), 황백 (phellodendron bark) 및 목단피 (Paeonia suffruticosa Andrew roots)로 이루어지는 군으로부터 1종 이상 선택되는 천연 추출물 또는 발효물을 포함하는 항염 및 항균 조성물을 제공한다.

[35] 상기 청국장 추출물에서 유래한 염증 세포 억제용 펩타이드는 알라닌(Alanine, Ala)-페닐알라닌(Phenylalanine, Phe)-프롤린(Proline, Pro)-글리신(Glycine, Gly)의 서열이 순서대로 배열된 염증 세포 억제용 펩타이드 또는 글루탐산(Glutamic

acid, Glu)-발린(Valine, Val)-타이로신(Tyrosine, Tyr)-타이로신(Tyrosine, Tyr)-메티오닌(Methionine, Met)-타이로신(Tyrosine, Tyr)의 서열이 순서대로 배열된 염증 세포 억제용 펩타이드인 것이 바람직하다.

[36] 여기서, 상기 펩타이드와 상기 식물 추출물 및 발효물의 혼합비율은 중량기준 1:100 ~ 100:1인 것이 바람직하다.

[37] 본 발명에 따른 청국장 추출물은 하기와 같이 수득할 수 있다.

[38] 먼저, 대두를 세척하고, 물에 침지시킨 다음 가압증자기를 이용하여 삶는다. 이렇게 삶은 대두에 바실러스 리케니포미스(Bacillus licheniformis), 바람직하게는 바실러스 리케니포미스 B1 균을 접종하고 30~50℃에서 2~4일간, 바람직하게는 40에서 3일간 발효시키는 단계; 상기 발효시킨 발효물을 동결건조해서 분말화하는 단계; 상기 분말화한 분말을 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로부터 선택된 용매, 바람직하게는 물, 에탄올, 부탄올 또는 이들의 혼합용매, 더욱 바람직하게는 에탄올에 녹이는 단계; 상기 에탄올에 녹인 분말을 감압증류하는 단계; 및 상기 감압증류한 분말을 동결건조시키는 단계;를 거친다.

[39] 상기 대두는 한국산 및 중국산, 일본산 등의 외국산 대두를 포함한다.

[40] 일반적으로, 대두를 이용하여 청국장 제조시에는 대부분 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis) 균을 사용하지만, 본 발명은 특별히 바실러스 리케니포미스(Bacillus licheniformis), 더욱 바람직하게는 바실러스 리케니포미스 B1 균을 이용하는 것이 특징이다.

[41] 그리고, 본 발명은 대두 발효물로부터 추출물을 얻기 위하여, 열수추출, 냉침추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 추출방법을 사용할 수 있지만, 특별히 용매로는 물, 에탄올, 부탄올 또는 이들의 혼합용매, 바람직하게는 에탄올, 더욱 바람직하게는 80% 에탄올을 이용함으로써, 염증에 효과적인 추출물을 얻을 수 있었다.

[42] 본 발명자들은 상기 펩타이드를 분리하기 위하여, 하기 실시예 2에 기재된 바와 같이 상기 청국장 추출물로부터 HPLC를 수행하여 상기 펩타이드를 분리하였다.

[43] 상기 펩타이드는 상술한 바와 같이 청국장 추출물로부터 분리할 수도 있으며, 또한 공지의 펩타이드 합성법에 의해 용이하게 제조될 수 있다.

[44] 상기 펩타이드는 염증 세포 억제용 펩타이드일 수 있다. 이때, 상기 염증 세포는 지질다당류(Lipopolysaccharide, LPS)에 의해 활성화된 대식세포(macrophage)일 수 있다. 또한, 본 발명은 유도성 일산화질소합성효소(inducible nitric oxide synthase, iNOS), 일산화질소(NO), 전사인자 NF-κB, 사이토카인 TNF-α, 및 IL-6로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 발현 또는 활성을 감소시키는 것을 특징으로 하는 염증 세포 억제용 펩타이드인 것이 가능하다.

[45] 본 발명자들은 상기 펩타이드의 항염 활성을 확인하기 위하여, 염증을 유발하는 물질인 LPS (lipopolysaccharide)를 면역세포인 Raw264.7 세포에 처리하여 세포내 일산화질소(NO)의 농도를 증가시킨 후 펩타이드와 추출물이

염증반응을 억제시켜 줄어드는 NO의 농도를 Griess reagent를 이용하여 측정하였다. 그 결과 본 발명의 펩타이드가 항염 활성이 우수함을 확인하였다(도 2 참조).

[46] 대식세포(macrophage)에 LPS (Lipopolysaccharide)를 처리하면 대식세포가 활성화되면서, 염증지표인 iNOS의 단백질과 NO 생산, iNOS mRNA 발현은 증가하고, NF-κB의 활성이 크게 증가하며, TNF-α와 IL-6의 발현 역시 크게 증가한다. 그런데, 본 발명의 실시예에 나타난 바와 같이, 에탄올로 추출한 청국장 추출물을 LPS 처리된 대식세포에 반응시키면 청국장 추출물의 농도에 의존적으로 iNOS의 단백질, NO 생산, iNOS mRNA 발현이 감소하고, NF-κB의 활성이 크게 감소하며, TNF-α와 IL-6의 발현 역시 뚜렷하게 감소함을 확인하였다. 그리고, 상기 청국장 추출물로부터 분리한 본 발명에 따른 서열번호 1로 표시되는 펩타이드 및 서열번호 2로 표시되는 펩타이드를 이용하는 경우에도 iNOS의 단백질, iNOS와 TNF-α mRNA의 발현 수준 역시 감소함을 확인하였다. 이에 따라, 본 발명은 염증 관련 세포 또는 표지인자의 증식 또는 전이를 포함하는 염증 질환의 치료, 개선 및/또는 예방을 위해 사용될 수 있다.

[47] 본 발명에서 용어, "염증" 질환은 염증을 주병변으로 하는 질병을 총칭하는 의미로서, 이에 제한되지는 않으나 바람직하게는 아토피, 건선, 피부염, 알레르기, 관절염, 비염, 중이염, 인후염, 편도염, 방광염, 신장염, 골반염, 크론병, 궤양성 대장염, 강직성 척추염, 전신 홍반성 낭창 (systemic lupus erythematodes, SLE), 죽상동맥경화, 천식, 동맥경화, 부종, 류마티스 관절염, 지연성 알레르기 (IV형 알레르기), 이식거부, 이식편 대 숙주 질환, 자가면역 뇌척수염, 다발성 경화증, 염증성 장질환, 관절염, 낭포성 섬유증, 당뇨성 망막증, 비염, 허혈성-재관류 손상, 혈관 재협착, 사구체신염 또는 위장관 알레르기일 수 있으며, 보다 바람직하게는 부종, 류마티스 관절염, 전신 홍반성 낭창, 죽상 동맥경화, 골반염, 천식, 아토피, 피부염, 건선, 염증성 장질환, 강직성 척수염, 다발성 경화증, 이식편 대 숙주 질환일 수 있다.

[48] 본 발명의 일 실시예로서, 상기 천연 추출물 또는 발효물은 식물 유래 추출물 또는 발효물일 수 있다.

[49] 상기 식물 추출물 또는 발효물은 백굴채 (Chelidonium majus Linne), 검은재나무 (Symplocos prunifolia), 측백 (Thuja orientalis), 수련 (Nymphaea tetragona), 황백 (phellodendron bark) 및 목단피 (Paeonia suffruticosa Andrew roots)로 이루어지는 군으로부터 1종 이상 선택되는 것이 바람직하다.

[50] 본 발명의 식물 추출물은 상기 식물에 추출 용매를 처리하여 수득하는 경우에, 다양한 추출 용매가 이용될 수 있다. 본 발명의 실시예에 따르면, 극성 용매 또는 비극성 용매를 이용할 수 있다. 극성 용매로서 적합한 것은, 물, 알코올, 바람직하게는, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 노말-프로판올, 이소-프로판올, 노말-부탄올, 1-펜탄올, 2-부톡시에탄올 또는 에틸렌글리콜을 포함하며 비극성 용매로서 적합한 것은, 아세톤, 아세토나이트릴, 에틸 아세테이트, 메틸

아세테이트, 플루오로알칸, 펜탄, 헥산, 2,2,4-트리메틸펜탄, 데칸, 사이클로헥산, 사이클로펜탄, 디이소부틸렌, 1-펜텐, 1-클로로부탄, 1-클로로펜탄, o-자일렌, 디이소프로필 에테르, 2-클로로프로판, 톨루엔,1-클로로프로판, 클로로벤젠, 벤젠, 디에틸 에테르, 디에틸 설파이드, 클로로포름, 디클로로메탄, 1,2-디클로로에탄, 어닐린, 디에틸아민, 에테르, 사염화탄소 및 THF를 포함한다.

[51] 여기서, 상기 식물의 추출은 물과 에탄올을 이용한 열수 추출 및 초음파 추출이 바람직하며, 이때, 에탄올의 농도는 30 ~ 90%가 적합하다. 식물과 용매의 비율은 중량기준 10:100 ~ 10:800이 바람직하며, 추출 시간은 1시간에서 48시간 사이가 적합하다.

[52] 본 발명의 식물 추출물은 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.

[53] 또한 상기 식물 발효물은 상기 식물에 상기 식물을 발효시킬 수 있는 미생물을 접종하여 수행할 수 있으며, 이때 사용되는 미생물은 상기 식물을 발효시킬 수 있는 것이라면 제한없이 사용 가능하다. 일반적인 식물 발효시 사용되는 바실러스 균이 사용될 수 있으며, 일반적으로는 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis) 균을 사용하지만, 본 발명은 특별히 락토바실러스 악시도필루스(Lactobacillus acidophilus), 더욱 바람직하게는 락토바실러스 악시도필루스 S1-76(Lactobacillus acidophilus S1-76)을 사용할 수 있다.

[54] 본 발명에서 용어, "항균"은 구체적으로 피부질환 관련균, 특히 여드름균(Propionibacterium Acnes)에 대해 항균 활성을 가지는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[55] 본 발명의 식물을 70% 에탄올로 추출한 식물 추출물 또는 락토바실러스 악시도필루스 S1-76을 이용한 식물 발효물의 1:1혼합물을 1mg/ml, 0.5mg/ml, 0.25mg/ml로 희석하여 농도별 여드름 균에 대한 항균 활성을 실험하였다(하기 실험예 1 참조). 그 결과, 목단피 (Paeonia suffruticosa Andrew roots), 수련 (Nymphaea tetragona), 황백 (phellodendron bark)의 70% 에탄올 추출물 및 발효물의 혼합물의 경우, 여드름 원인균인 프로피오니박테리움 아크네(Propionibacterium acne)에 대하여 양성 대조군 대비 우수한 항균활성을 확인하였다.

[56] 또한 식물 추출물 및 발효물과 청국장 펩타이드 중 1종 (알라닌-페닐알라닌-프롤린-글리신)을 포함한 혼합물의 실험 역시 동일한 방법으로 진행하였다. 펩타이드의 경우 펩타이드 단독의 항균력은 확인되지 않았으나(도 4 참조), 펩타이드와 식물 추출물을 혼합한 혼합물의 경우 단순 식물 추출물 또는 발효물의 항균력보다 우수한 항균활성을 보였으며, 특히 황백, 목단피의 경우 청국장 펩타이드가 식물 추출물 또는 발효물의 항균력을 향상시키는 상승효과를 유도하는 것을 확인하였다.

[57] 본 발명의 일 실시예로서, 본 발명은 상기 항염 및 항균 조성물을 유효성분으로 함유하는 항염 및 항균용 화장료 조성물을 제공한다.

[58] 본 발명의 화장료 조성물은 상기 항염 및 항균 조성물 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들이 포함되며, 예컨대 황산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함한다.

[59] 본 발명의 화장료 조성물에 있어서, 통상적으로 함유되는 화장료 조성물에 본 발명의 펩타이드 및 식물추출물은 0.1 내지 50 중량%, 바람직하게는 1 내지 10 중량%의 양으로 첨가될 수 있다.

[60] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수(스킨), 영양 화장수(밀크로션), 영양 크림, 맛사지 크림, 에센스, 아이크림, 클렌징 크림, 클렌징 포옴, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

[61] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성 유, 식물성 유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라가칸타, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연등이 이용될 수 있다.

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

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

[64] 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, 미소 결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라가칸타 등이 이용될 수 있다.

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

[66] 본 발명의 일 실시예로서, 본 발명은 상기 항염 및 항균 조성물을 유효성분으로

포함하는 면역성 피부질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[67] 본 발명에서 용어, "예방"은 상기 조성물의 투여로 염증성 질환의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미하며, "치료"는 상기 조성물의 투여로 염증성 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위를 의미한다.

[68] 본 발명에서 용어, "면역성 피부질환"은 면역과 관련된 피부질환을 총칭하는 것으로, 구체적으로 아토피, 지루성 피부염, 건선 등일 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

[69] 본 발명의 일 실시예로서, 본 발명은 상기 항염 및 항균 조성물을 유효성분으로 포함하는 항염 및 항균용 식품 조성물을 제공한다.

[70] 본 발명에 따른 식품조성물은 염증성 질환의 예방 및 치료에 효과가 있다고 알려진 공지의 활성성분과 함께 혼합하여 조성물 형태로 제조할 수 있으며 기능성 식품(functional food), 영양보조제(nutritional supplement), 건강식품(health food) 및 식품 첨가제(food additives) 등의 모든 형태를 포함한다. 상기 유형의 식품 조성물은 당 업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다.

[71] 본 발명의 식품 조성물에는 상기 펩타이드 및 식물 추출물 또는 발효물과 함께 보조성분으로 비타민 B, C, E나 베타카로틴, Ca, Mg, Zn 등의 미네랄 함유 화합물이나 레시틴 등의 인지질 또는 말톨, 올리고당, 아미노산 등의 화합물을 사용할 수 있으며, 이 중에서도 비타민 C, E나 베타카로틴, 말톨 등 중에서 2 내지 3 성분을 혼합하여 사용하면 생체 활성효과를 보강할 수 있기 때문에 더욱 바람직하다.

[72] 또한, 상기 성분 이외에도 공지의 첨가제로서 미각을 돋우기 위하여 매실, 레몬향, 파인애플향 또는 허브향과 같은 천연향료나 천연과즙, 클로르필린(Chlorophyllin), 또한, 상기 성분 이외에도 공지의 첨가제로서 미각을 돋우기 위하여 매실, 레몬향, 파인애플향 또는 허브향과 같은 천연향료나 천연과즙, 클로르필린(Chlorophyllin), 플라보노이드(Flovonoid) 등의 천연색소 및 감미 성분인 과당, 벌꿀, 당알코올, 설탕 등과 구연산, 구연산나트륨 같은 산미제를 혼합하여 사용할 수 있다.

[73] 본 발명의 식품 조성물 중 상기 펩타이드와 상기 식물 추출물 및 발효물의 바람직한 함유량으로는 식품의 전체 중량에 대하여 약 0.01 내지 10중량 %를 포함할 수 있다.

[74] 본 발명은 상기 식품 조성물을 포함하는 정제, 과립제, 및 액제로 구성된 그룹에서 선택된 형태의 기능성 식품을 제공한다. 기능성 식품이란 식품성분이 가지는 생체방어, 생체리듬의 조절, 질병의 예방과 회복 등 생체 조절 기능을 생체에 대하여 충분히 발휘할 수 있도록 설계되고 가공된 식품을 말한다.

[75] 상기 기능성 식품 제조는 본 발명의 식품 조성물이 포함되는 것 이외 다른 특별한 제한이 없으며, 통상의 식품학적으로 허용 가능한 식품보조첨가제로써 식품별로 필요한 성분을 추가로 함유할 수 있다.

[76] 정제는 가루나 결정성 물질을 뭉쳐서 눌러 둥글넓적한 원판이나 원추 모양으로 만든 제형으로 복용하기 쉽고 투여량이 정확하다. 본 발명의 기능성 식품 정제는 이에 제한되지는 아니하나 유당, 전분, 백당, 만니톨, 소르비톨, 무기염 등의 부형제를 포함 할 수 있으며, 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로즈 및/또는 폴리비닐피롤리딘과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨염과 같은 붕해제 또는 비등 혼합물 및/또는 흡수제, 착색제, 향미제, 및 감미제를 함유할 수 있다. 상기 제형은 통상적인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 의해 제조될 수 있다.

[77] 과립제는 둥글고 잔 알갱이 모양의 제형을 말하며, 혼합제제의 경우 항상 일정한 비율을 취할 수 있고 복용하기 쉽다. 본 발명의 과립제에는 필요에 따라 착색제, 방향제 등이 첨가 될 수 있으며, 적당한 제피제 등으로 제피를 할 수 있다.

[78] 액제는 액체로 된 제형을 말하며, 본 발명의 필요에 따라 안정제, 교미제, 보존제 등이 첨가 될 수 있다. 또한 본 발명의 기능성 음료조성물은 풍미개선을 위해 과실추출물을 추가로 포함할 수 있다. 과실추출물은 풍미 개선과 함께 과실이 지니는 각종 유효성분을 함께 이용할 수 있는 장점을 준다. 상기 과실추출물에 사용되는 과실로는 이에 한정되는 것은 아니나 파인애플, 레몬, 감귤, 오렌지, 사과, 배, 그레이프후르츠, 살구, 딸기, 복숭아, 멜론, 구아바, 레몬, 자두에서 선택된 적어도 1종을 포함 할 수 있다. 기타 본 발명의 기능성 음료조성물에는 공지의 첨가물을 포함할 수 있다. 이들 공지의 첨가물로는 비타민류로는 니코틴산아마이드, 비타민 A, B, C, D, E, 엽산 등이 사용 될 수 있고, 아미노산류로는 L-글리신, L-라이신, DL-메치오닌, L-발린, 비오틴, L-시스테인, L-시스틴, L-트립토판, L-트레오닌, L-페닐알라닌 등이 사용 될 수 있고, 생약제제로는 구기자, 오가피, 백출, 백작약, 녹곽, 홍삼, 인삼, 음양곽, 우황, 황정 등이 사용 될 수 있고, 착향제로는 혼합과일향, 사과향, 요구르트향, 드링크향 등이 사용 될 수 있고, 감미제류는 정백당, 포도당, 과당, 프락토올리고당, 이소말토올리고당, 말토올리고당, 키토산올리고당, 키토올리고당, 대두올리고당, 자일로올리고당, 이성화당(고과당), 전화당, 아스파탐, 스테비오사이드, 솔비톨, 만니톨 등이 사용될 수 있고, 산미제로는 구연산, DL-사과산, 호박산 등이 사용 될 수 있고, 안정화제로는 소르베이트류 중 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 80 등이 사용 될 수 있고, 보존제류로는 안식향산 및 그의 유도체, 데히드로초산 및 그의 염류, 소르빈산 및 그의 염류 등이 사용될 수 있다.

[79] 본 발명의 일 실시예로서, 본 발명은 상기 항염 및 항균 조성물을 유효성분으로 포함하는 염증 및 감염성 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[80] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 본 발명에서 용어, "약학적으로 허용"이란 치료효과를

나타낼 수 있을 정도의 충분한 양과 부작용을 일으키지 않는 것을 의미하며, 질환의 종류, 환자의 연령, 체중, 건강, 성별, 환자의 약물에 대한 민감도, 투여 경로, 투여 방법, 투여횟수, 치료 기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물 등 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[81] 본 발명에서 사용 가능한 담체로는 리포좀, 다당, 폴리락트산, 폴리글리콜산,중합체성아미노산, 및 아미노산 공중합체와 같이 천천히 대사되는 거대분자를 들 수 있다. 예를 들면, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 포스페이트 및 설페이트와 같이 무기산의 염; 아세테이트, 프로피오네이트, 말로네이트 및 벤조에이트와 같은 유기산의 염과 같은 약제학적으로 허용 가능한 염; 물, 염수, 글리세롤 및 에탄올과 같은 액체, 및 수화제, 유화제 또는 pH 완충 물질과 같은 보조적 물질을 사용할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체에 관해서는 문헌[Remingtion's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, 1991]에 기재되어 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함될 수 있으며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스 (sucrose) 또는 락토오스 (lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함될 수 있다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테로 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔 (witepsol), 마크로골, 트윈 (tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[82] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있다.

[83] 또한, 상기 조성물은 약학적 분야에서 통상의 방법에 따라 환자의 신체 내 투여에 적합한 단위투여형의 제제, 바람직하게는 펩타이드 의약품의 투여에 유용한 제제 형태로 제형화시켜 당업계에서 통상적으로 사용하는 투여 방법을 이용하여 경구, 또는 피부, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 수막강내, 심실내, 폐, 경피, 피하, 복내내, 비강내, 소화관내, 국소, 설하, 질내 또는 직장 경로를 포함하는 비경구투여 경로에 의하여 투여될 수 있으나, 이들에 한정되는 것은

아니다.

[84] 본 발명의 조성물의 총 유효량은 단일 투여량 (single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법 (fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지 아니한다.

[85] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명에 따른 바람직한 일실시예를 상세히 설명한다.

[86] 단, 하기 실시예 및 제조예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 제조예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[87]

[88] <실시예 1> 청국장 추출물의 제조

[89] 삶은 대두에 Bacillus licheniformis B1균을 접종하고, 40℃에서 3일간 발효시킨 후, 진공동결 건조시켜서 분말로 만들었다. 그런 다음, 상기 분말을 80% 에탄올에 녹이고, 이를 감압증류시킨 후 다시 진공동결 건조시켜서 청국장 추출물을 얻었다.

[90]

[91] <실시예 2> 청국장 추출물로부터 펩타이드의 분리

[92] 상기 실시예 1에서 얻은 청국장 에탄올 추출물에 존재하는 펩타이드를 얻기 위해 ODS(제조회사 Waters, 5C18-AR-300 (4.6mm))칼럼을 이용하고, 0.1% TFA가 포함되어 있는 CH3CN (20-50%)를 용매로 하여, 유속 0.5 ml/분의 조건에서 HPLC를 수행하였다.

[93] 그 결과, 아래와 [0067] 같은 4종류의 펩타이드를 얻었다.

[94] - 제1펩타이드 : 아미노기말단-Ala-Phe-Pro-Gly-카르복실기말단

[95] - 제2펩타이드 : 아미노기말단-Glu-Val-Tyr-Tyr-Met-Tyr-카르복실기말단

[96] - 제3펩타이드 : 아미노기말단-Lys-Pro-카르복실기말단

[97] - 제4펩타이드 : 아미노기말단-Gln-Lys-카르복실기말단

[98]

[99] <실시예 3> 식물 추출물 제조

[100] 도 1에 나타난 바와 같이, 잘 건조된 전초근 (Rubia cordifolia var. pratensis), 때죽나무 (Styrax japonica), 좀비비추 (Hosta minor), 백굴채 (Chelidonium majus Linne), 검은재 나무 (Symplocos prunifolia), 측백 (Thuja orientalis), 수련 (Nymphaea tetragona),황백 (phellodendron bark), 목단피 (Paeonia suffruticosa Andrew roots) 원물에 70% 에탄올을 1:10 비율로 넣고 3일 동안 3회 반복하여 추출한 후, 380 메쉬로 여과하고 0.45㎛ 멤브레인 필터로 여과하였다. 상기 여과된 여과액을 냉각 콘덴서가 달린 증류장치에서 50℃로 감압 축한 후 감압 증발하여 농축물을 얻었다. 얻은 농축물을 동결건조하여 건조물을 얻었다.

[101] <실시예 4> 식물 발효물 제조

[102] 잘 건조된 전초근 (Rubia cordifolia var. pratensis), 때죽나무 (Styrax japonica), 좀비비추 (Hosta minor), 백굴채 (Chelidonium majus Linne), 검은재 나무 (Symplocos prunifolia), 측백 (Thuja orientalis), 수련 (Nymphaea tetragona),황백 (phellodendron bark), 목단피 (Paeonia suffruticosa Andrew roots) 원물에 물을 1:10 비율로 넣고, 락토바실러스 악시도빌러스 S1-76을 접종한 다음. 37도에서 3일간 발효하였다. 이후, 380 메쉬로 여과하고 0.2㎛ 멤브레인 필터로 여과하였다. 상기 여과된 여과액을 냉각 콘덴서가 달린 증류장치에서 40℃로 감압 축한 후 감압 증발하여 농축물을 얻었다. 얻은 농축물을 동결건조하여 건조물을 얻었다.

[103]

[104] <실시예 5> 펩타이드, 식물 추출물 및 발효물의 혼합물 제조 및 항염증 효과 확인

[105] 염증을 유발하는 물질인 LPS (lipopolysaccharide)를 면역세포인 Raw264.7 세포에 처리하여 세포내 NO의 농도를 증가 시킨 후 펩타이드와 추출물 및 발효물이 염증반응을 억제시켜 줄어드는 NO의 농도를 Griess reagent를 이용하여 측정하였다(도 2 참조). 자세한 실험방법은 아래에 기술한 바와 같이 진행하였다.

[106] 1. Raw cell을 해동 후, DMEM-FBS10%에서 HDFn을 배양하여 cell을 준비한다. (1.5X106cells /100mm dish)

[107] 2. 배양된 Raw264.7 을 seeding 한다. (1.5X105 cells/48well)

[108] 3. DMEM-FBS10% 배지를 사용, 0.5ml/48well 후 DMEM-FBS10% 배지에서 24h 동안 배양한다. 약물처리 및 washing에 사용할 DMEM을 CO2-37C-incubation하여 준비한다. (O/N)

[109] 4. Washing: DMEM-FBS10%를 완전히 제거하고 DMEM으로 교환한 후 incubator에 넣는다.

[110] 5. 약물처리 (DMSO 0.2% in DMEM): 0.3ml/48well

[111] 1) 1ug/ml LPS 처리: 10ug/ml LPS in DMEM-FBS10%를 30ul/48well(0.3ml) 첨가

[112] 2) 청국장 펩타이드 중 1종 (알라닌-페닐알라닌-프롤린-글리신)과 펩타이드와 추출물 및 발효물 혼합물을 적당한 농도범위(최소 3개의 농도범위)로 희석하여 test sample을 준비한다.

[113] 3) Raw264.7 이 seeding된 48well을 꺼내어 DMEM을 제거하고, 3)에서 준비된 test sample이 첨가된 DMEM와 교환한다. (0.5ml/48well)

[114] 4) 24h 배양한다.

[115] 6. NO 측정

[116] 1) 회수한 배지 상등액 100ul에 Griess reagent R1 50ul를 섞은 후 5분 동안 상온에서 반응시킨다.

[117] 2) 5분 후 50ul의 R2 용액을 혼합한 후 상온에서 10분간 반응 시킨다.

[118] 3) 540nm 파장에서 흡광도를 측정한다.

[119]

[120] <실험예 1> 페이퍼 디스크 (paper disc) 항균 실험

[121] 상기 실시예 3의 70% 에탄올로 추출한 식물 추출물을 1mg/ml, 0.5mg/ml, 0.25mg/ml로 희석하여 농도별 여드름 균에 대한 항균 활성을 실험하였다. 이때, 상기 추출물들의 항균 활성을 비교 및 대조하기 위하여 양성대조군(positive control)으로서 페녹시에탄올 (phenoxy ethanol)을 사용하였다. 그 결과를 하기 표 1 및 도 3에 기재하였다.

[122] [표1]
70% 에탄올 식물추출물의 여드름균에 대한 항균활성 생육저해환(clear zone) 크기(cm)

구분		농도 (mg/ml)		
		1	0.5	0.25
식물 추출물	효	1.5	1.2	0
	목단피	1.9	1.4	0.9
	측백	1.6	1.2	0.7
	검은재 나무	1.7	1	0
	수련	1.9	1.1	0
	황백	2.2	1.6	1.1
	페녹시 에탄올	1.8	1.3	0.8
식물 발효물	효	1.4	1.3	0.1
	목단피	2.1	1.6	1.0
	측백	1.7	1.4	0.9
	검은재 나무	1.3	1.1	0.2
	수련	2.0	1.3	0
	황백	2.1	1.7	1.0
식물 추출물 및 발효물+ peptide	백굴채 추출물 및 발효물+peptide	1.5	1.2	0
	목단피 추출물 및 발효물 +peptide	2.3	1.7	1.2
	측백 추출물 및 발효물 +peptide	1.6	1.2	0.7
	검은재 나무 추출물 및 발효물 +peptide	1.7	1	0
	수련 추출물 및 발효물 +peptide	1.9	1.1	0
	황백 추출물 및 발효물 +peptide	2.6	1.8	1.3

[123]

[124] 구체적인 실험 방법은 아래에 기술한 바와 같이 진행하였다.

[125] 1. 배양한 여드름 균 (Propionibacterium Acnes; P acne)을 평판배지에 일정한 균수로 도말한다.

[126] 2. 도말한 평판배지에 페이퍼 디스크를 떨어뜨린 후 실험 용액을 페이퍼 디스크에 도포한다.

[127] 3. 72시간 배양 후 생육저해환 (clear zone)의 직경 (cm)을 측정하여 항균력을 확인한다.

[128] 상기 표 1의 결과로부터, 실시예 3의 목단피 (Paeonia suffruticosa Andrew roots), 수련 (Nymphaea tetragona), 황백 (phellodendron bark)의 70% 에탄올 추출물 및 발효물의 경우, 여드름 원인균인 프로피오니박테리움 아크네(Propionibacterium acne)에 대하여 양성 대조군 대비 우수한 항균활성을 확인하였다.

[129] 또한 청국장 펩타이드 중 1종 (알라닌-페닐알라닌-프롤린-글리신)의 농도를 희석하여 페이퍼 디스크 시험법을 실시하였다. 그리고 식물 추출물 및 발효물과 청국장 펩타이드 중 1종 (알라닌-페닐알라닌-프롤린-글리신) 1mg/ml을 포함한 혼합물의 실험 역시 동일한 방법으로 진행하였다.

[130] 펩타이드의 경우 펩타이드 단독의 항균력은 확인되지 않았으나 펩타이드와 식물 추출물 및 발효물을 혼합한 혼합물의 경우 단순 식물 추출물 및 발효물의 항균력보다 우수한 항균활성을 보였다. 특히 황백, 목단피의 경우 청국장 펩타이드가 식물 추출물 및 발효물의 항균력을 향상시키는 상승효과를 유도하는 것으로 파악된다.

[131] 도 3은 본 발명의 식물 추출물 및 발효물, 식물 추출물 및 발효물과 펩타이드 혼합물의 여드름 원인균인 프로피오니박테리움 아크네(Propionibacterium acne)에 대한 항균활성 결과에 대한 사진으로서, 식물 추출물 및 발효물 농도에 비례하여 항균 효과가 구현되는 결과를 확인할 수 있다.

[132]

[133] <실험예 2> 최소 저해농도(MIC) 측정

[134] 상기 병솔꽃나무 잎 추출물에 의한 여드름 원인균에 대한 항균 활성을 추가 입증하기 위하여, 여드름 원인균에 대한 MIC(minimal inhibitory concentration, 최소저해농도) 측정 실험을 수행하였다.

[135] 실시예 1에서 제조된 백굴채 (Chelidonium majus Linne), 검은재 나무 (Symplocos prunifolia), 측백 (Thuja orientalis), 수련 (Nymphaea tetragona),황백 (phellodendron bark), 목단피 (Paeonia suffruticosa Andrew roots) 추출물 및 발효물과 펩타이드와의 혼합물을 RCM(reinforced clostridial broth)에 알맞은 농도로 제균 여과하여 첨가하였으며, 역시 활성화시킨 여드름 균주 배양액을 각각 실험구에 1%씩 접종한 후, 시료를 각각의 농도로 넣어준 후, 37℃, CO_2 조건하에서 72시간 혐기 배양한 후, RCA(reinforced clostridial agar)에 100㎕씩 분주한 후 혐기 배양하여 여드름 균주의 성장 여부를 확인하였다. 이에 얻은 결과를 확인하기 위하여 위의 실험을 3번 반복 실험하였다. 그 결과를 하기 표 2에 기재하였다.

[136] [표2]
70% 에탄올 식물 추출물의 여드름균에 대한 MIC(minimal inhibitory concentration, 최소저해농도) 측정 실험

구분		최저 저해 농도 (%)
식물 추출물	백굴채	0.05
	목단피	0.03
	측백	0.05
	검은재 나무	0.08
	수련	0.06
	황백	0.02
	페녹시 에탄올	1.8
식물 발효물	백굴채	0.03
	목단피	0.02
	측백	0.05
	검은재 나무	0.07
	수련	0.04
	황백	0.02
식물추출물 및 발효물 +peptide	백굴채 추출물 및 발효물 +peptide	0.04
	목단피 추출물 및 발효물 +peptide	0.02
	측백 추출물 및 발효물 +peptide	0.05
	검은재 나무 추출물 및 발효물 +peptide	0.08
	수련 추출물 및 발효물 +peptide	0.05
	황백 추출물 및 발효물 +peptide	0.01

[137]

[138] 상기 식물 추출물의 대부분이 여드름 항균효과가 우수함을 최소 저해 농도 실험을 통해 확인하였으며, 특히 황백, 목단피가 우수하였다. 그리고 식물 추출물 및 발효물과 청국장 펩타이드 중 1종 (알라닌-페닐알라닌-프롤린-글리신)을 0.1mg/ml을 혼합한 혼합물이 최소 저해 농도 실험에서도 상승효과가 있음을 확인하였다.

청구범위

[청구항 1] 청국장 추출물에서 유래한 염증 세포 억제용 펩타이드; 및
백굴채 (Chelidonium majus Linne), 검은재 나무 (Symplocos prunifolia), 측백 (Thuja orientalis), 수련 (Nymphaea tetragona), 황백 (phellodendron bark) 및 목단피 (Paeonia suffruticosa Andrew roots)로 이루어지는 군으로부터 1종 이상 선택되는 식물 추출물 또는 발효물;
을 포함하는 항염 및 항균 조성물.

[청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 펩타이드는 알라닌(Alanine, Ala)-페닐알라닌(Phenylalanine, Phe)-프롤린(Proline, Pro)-글리신(Glycine, Gly)의 서열이 순서대로 배열된 염증 세포 억제용 펩타이드 또는 글루탐산(Glutamic acid, Glu)-발린(Valine, Val)-타이로신(Tyrosine, Tyr)-타이로신(Tyrosine, Tyr)-메티오닌(Methionine, Met)-타이로신(Tyrosine, Tyr)의 서열이 순서대로 배열된 염증 세포 억제용 펩타이드인 것을 특징으로 하는 항염 및 항균 조성물.

[청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 펩타이드와 상기 식물 추출물 또는 발효물의 혼합비율은 중량기준 1:100 ~ 100:1인 것을 특징으로 하는 항염 및 항균 조성물.

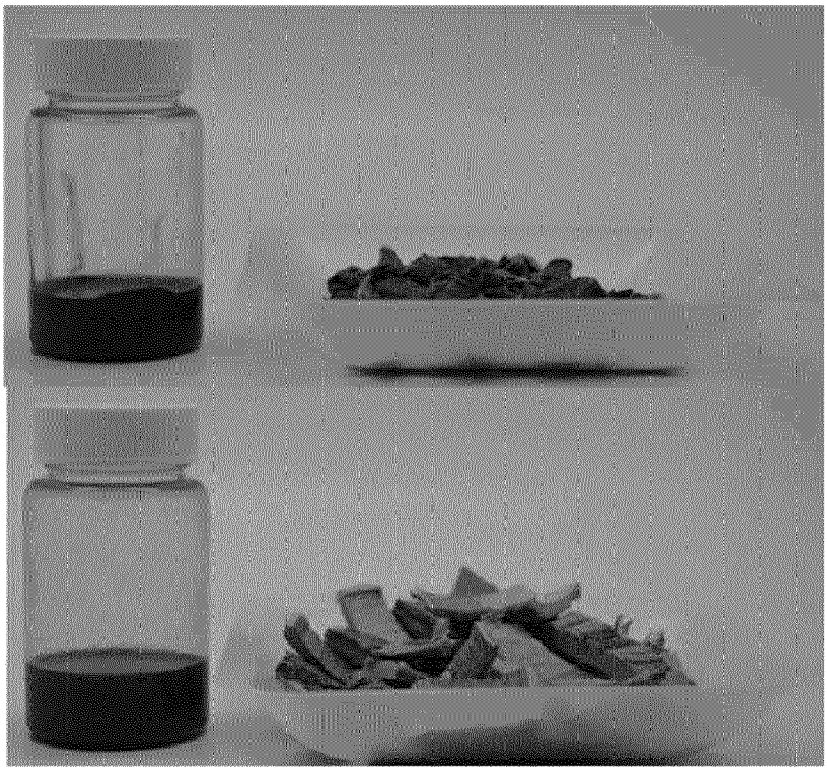
[청구항 4] 제1항 내지 제3항의 조성물을 유효성분으로 함유하는 항염 및 항균용 화장료 조성물.

[청구항 5] 제1항 내지 제3항의 조성물을 유효성분으로 함유하는 면역성 피부질환의 예방 또는 개선용 화장료 조성물.

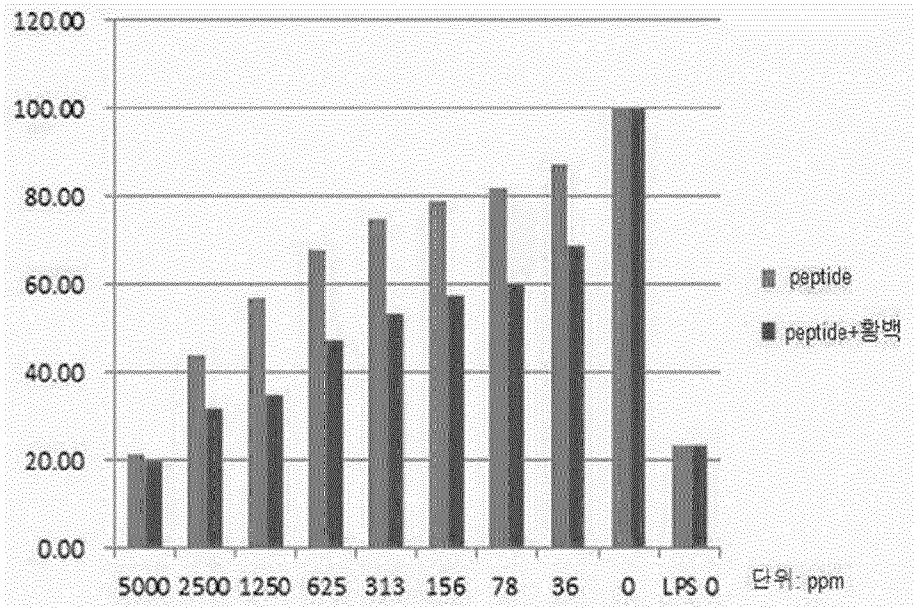
[청구항 6] 제1항 내지 제3항의 조성물을 유효성분으로 함유하는 항염 및 항균용 식품 조성물.

[청구항 7] 제1항 내지 제3항의 조성물을 유효성분으로 함유하는 염증 및 감염성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

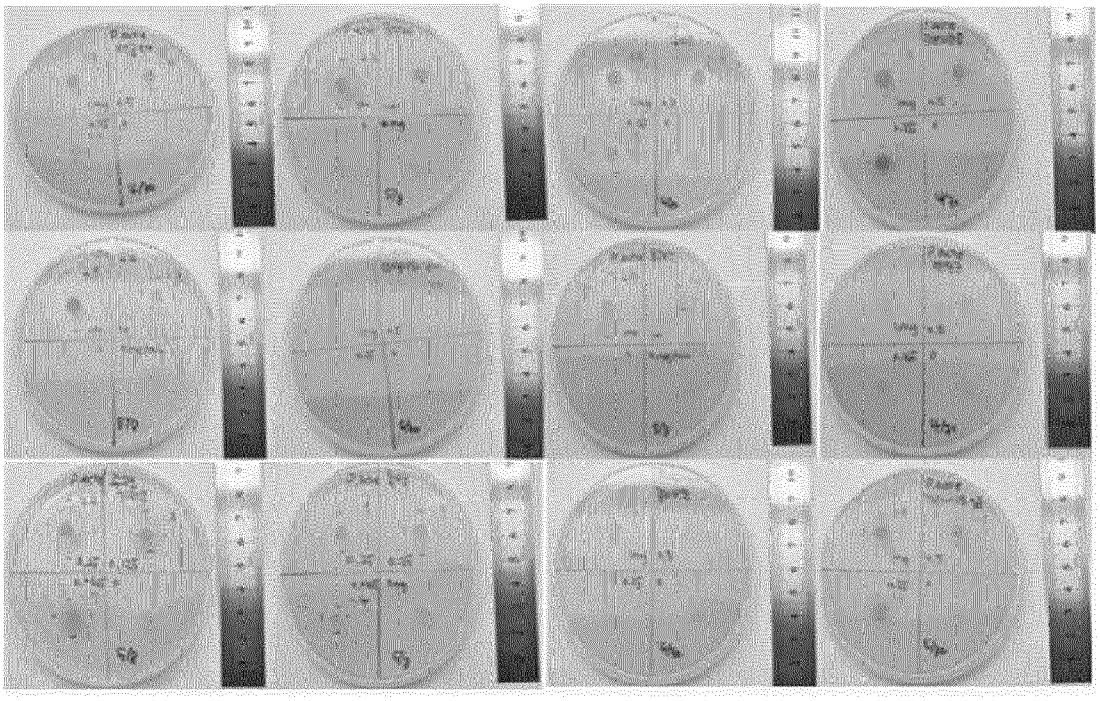
[도1]



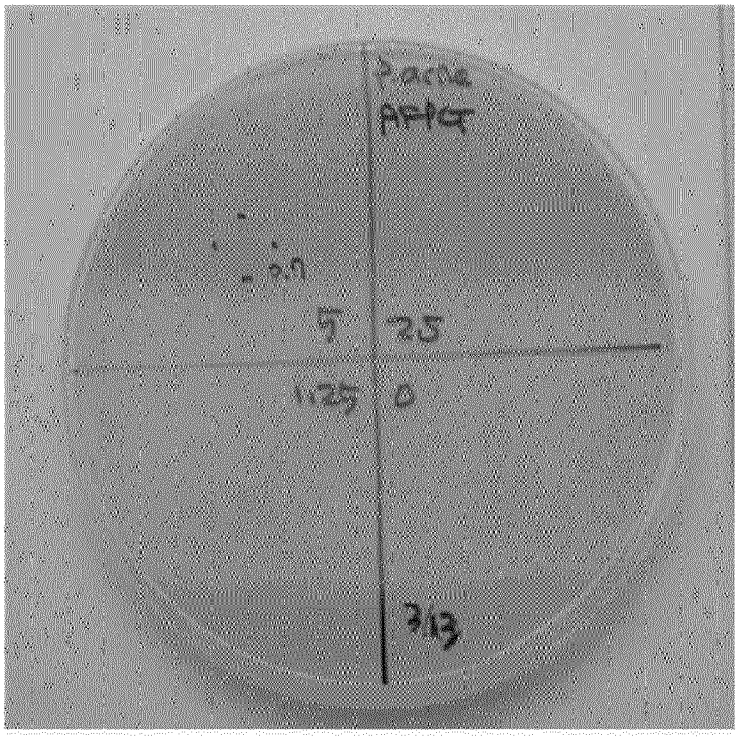
[도2]


120.00
100.00
80.00
60.00
40.00
20.00
0.00
5000 2500 1250 625 313 156 78 36 0 LPS 0
peptide
peptide+황백
단위: ppm

[도3]



[도4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2017/001510

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 8/64(2006.01)i, A61K 8/97(2006.01)i, A23L 33/18(2016.01)i, A23L 33/105(2016.01)i, A61K 38/01(2006.01)i, A61K 36/48(2006.01)i, A61K 36/66(2006.01)i, A61K 36/14(2006.01)i, A61Q 19/00(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 8/64; A61K 36/65; A61K 36/31; A23L 11/20; A61K 35/74; A61K 8/97; A61K 36/24; A61K 36/48; A23L 33/18; A23L 33/105; A61K 38/01; A61K 36/66; A61K 36/14; A61Q 19/00

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: cheonggukjang, peptide, plant extract, anti-inflammation, antimicrobial

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	LEE, Woo Hyung et al., "Specific Oligopeptides in Fermented Soybean Extract Inhibit NF-kappa-dependent iNOS and Cytokine Induction by Toll-like Receptor Ligands", Journal of Medicinal Food, 2014, vol. 17, no. 11, pages 1239-1246 See abstract; page 1239, left column, lines 4-5; page 1241, right column, lines 15-18; page 1243, left column, lines 13-14, right column, lines 1-2; figures 1, 5.	1-3
Y	KR 10-2012-0061725 A (SINIL PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 13 June 2012 See abstract; claim 1; paragraph [0029].	1-3
A	KR 10-1393978 B1 (HOSEO UNIVERSITY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) 12 May 2014 See the entire document.	1-3
A	KR 10-2014-0012964 A (LABORATOIRES EXPANSCIENCE) 04 February 2014 See the entire document.	1-3
A	KR 10-0742185 B1 (REPUBLIC OF KOREA) 27 July 2007 See the entire document.	1-3

☐ 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	Date of mailing of the international search report
28 APRIL 2017 (28.04.2017)	**28 APRIL 2017 (28.04.2017)**

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. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2017/001510

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 4-7
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2017/001510

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2012-0061725 A	13/06/2012	CN 103327992 A	25/09/2013
		CN 103327992 B	12/10/2016
		EP 2658561 A1	06/11/2013
		JP 2013-545767 A	26/12/2013
		KR 10-1298243 B1	22/08/2013
		KR 10-1330142 B1	18/11/2013
		US 2014-0010899 A1	09/01/2014
		WO 2012-074183 A1	07/06/2012
KR 10-1393978 B1	12/05/2014	KR 10-2014-0000727 A	06/01/2014
KR 10-2014-0012964 A	04/02/2014	CA 2822182 A1	28/06/2012
		CN 103282041 A	04/09/2013
		EP 2654765 A1	30/10/2013
		US 2013-0177513 A1	11/07/2013
		WO 2012-085226 A1	28/06/2012
KR 10-0742185 B1	27/07/2007	NONE	

국제조사보고서

국제출원번호
PCT/KR2017/001510

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 8/64(2006.01)i, A61K 8/97(2006.01)i, A23L 33/18(2016.01)i, A23L 33/105(2016.01)i, A61K 38/01(2006.01)i, A61K 36/48(2006.01)i, A61K 36/66(2006.01)i, A61K 36/14(2006.01)i, A61Q 19/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
A61K 8/64; A61K 36/65; A61K 36/31; A23L 11/20; A61K 35/74; A61K 8/97; A61K 36/24; A61K 36/48; A23L 33/18; A23L 33/105; A61K 38/01; A61K 36/66; A61K 36/14; A61Q 19/00

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: 청국장, 펩타이드, 식물 추출물, 항염, 항균

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	LEE, WOO HYUNG 등, 'Specific oligopeptides in fermented soybean extract inhibit NF-kappa-dependent iNOS and cytokine induction by toll-like receptor ligands', Journal of Medicinal Food, 2014, 17권, 11호, 페이지 1239-1246 요약; 페이지 1239, 왼쪽 컬럼, 라인 4-5; 페이지 1241, 오른쪽 컬럼, 라인 15-18; 페이지 1243, 왼쪽 컬럼, 라인 13-14, 오른쪽 컬럼, 라인 1-2; 도면 1, 5 참조	1-3
Y	KR 10-2012-0061725 A (신일제약주식회사) 2012.06.13 요약; 청구항 1; 단락 [0029] 참조.	1-3
A	KR 10-1393978 B1 (호서대학교 산학협력단) 2014.05.12 전체 문헌 참조.	1-3
A	KR 10-2014-0012964 A (라보라토이레즈 익스펜사이언스) 2014.02.04 전체 문헌 참조.	1-3
A	KR 10-0742185 B1 (대한민국) 2007.07.27 전체 문헌 참조.	1-3

☐ 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	국제조사보고서 발송일
2017년 04월 28일 (28.04.2017)	2017년 04월 28일 (28.04.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관
허주형
전화번호 +82-42-481-8150

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2017/001510

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☐ 청구항:
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,

2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,

3. ☒ 청구항: 4-7
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.

2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.

3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.

4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에 관한 기재

☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.

☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.

☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2017/001510

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2012-0061725 A	2012/06/13	CN 103327992 A	2013/09/25
		CN 103327992 B	2016/10/12
		EP 2658561 A1	2013/11/06
		JP 2013-545767 A	2013/12/26
		KR 10-1298243 B1	2013/08/22
		KR 10-1330142 B1	2013/11/18
		US 2014-0010899 A1	2014/01/09
		WO 2012-074183 A1	2012/06/07
KR 10-1393978 B1	2014/05/12	KR 10-2014-0000727 A	2014/01/06
KR 10-2014-0012964 A	2014/02/04	CA 2822182 A1	2012/06/28
		CN 103282041 A	2013/09/04
		EP 2654765 A1	2013/10/30
		US 2013-0177513 A1	2013/07/11
		WO 2012-085226 A1	2012/06/28
KR 10-0742185 B1	2007/07/27	없음	