

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2017-0037545 (43) 공개일자 2017년04월04일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>A61K 8/98</i> (2006.01) <i>A23L 1/30</i> (2006.01) <i>A61K 8/02</i> (2006.01) <i>A61K 8/66</i> (2006.01) <i>A61Q 19/02</i> (2006.01) <i>A61Q 19/08</i> (2006.01)		(71) 출원인 경상대학교산학협력단 경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(52) CPC특허분류 <i>A61K 8/987</i> (2013.01) <i>A23L 33/10</i> (2016.08)		(72) 발명자 최영준 경상남도 통영시 미수해안로 36, 103동 805호 (미수동, 현대아파트)
(21) 출원번호	10-2016-0122024	정세영 서울특별시 동대문구 천장산로11길 17, 204동 1503호(삼성 래미안아파트)
(22) 출원일자	2016년09월23일	박시향 경상남도 통영시 운하1길 46, 711호(미수동, 대영유토피아)
심사청구일자	2016년09월23일	
(30) 우선권주장		
	1020150136345 2015년09월25일 대한민국(KR)	(74) 대리인 위병갑

전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **굴 가수분해물의 제조방법 및 이로부터 분리된 펩타이드**

(57) 요약

본 발명은 굴 가수분해물 제조방법 및 이로부터 분리된 펩타이드를 제공하는 것으로서, 상기 제조방법에 의해 제조된 굴 가수분해물은 멜라닌세포의 세포수를 감소시키고 멜라닌세포 주변 또는 피부의 표피층에 존재하는 멜라닌 과립의 분포를 감소시키는 효과가 있어 피부 미백용 건강기능식품 또는 화장품 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도11



(52) CPC특허분류

A61K 8/02 (2013.01)

A61K 8/66 (2013.01)

A61Q 19/02 (2013.01)

A61Q 19/08 (2013.01)

A23V 2200/318 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 D11414014H480000110

부처명 해양수산부

연구관리전문기관 한국해양과학기술진흥원

연구사업명 해양수산생명공학기술개발사업

연구과제명 (해양바이오 지역특화 선도기술개발 사업) 해양무척추동물 소재 기능성 식품의 상용화 기술개발

기 여 율 1/1

주관기관 경상대학교 산학협력단

연구기간 2014.10.15 ~ 2019.07.31

명세서

청구범위

청구항 1

굴에 단백질분해효소를 넣고 가수분해 반응을 시키는 단계를 포함하는 굴 가수분해물의 제조방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 단백질분해효소는 프로타멕스(protamex), 뉴트라아제(neutrase) 또는 AMG(Glucoamylase)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제 2 항에 있어서,

상기 프로타멕스(protamex)는 35℃ 내지 45℃에서 30분 내지 2시간 동안 가수분해 반응을 시키고, 상기 뉴트라아제(neutrase)는 45℃ 내지 55℃에서 30분 내지 2시간 동안 가수분해 반응을 시키고, 상기 AMG(Glucoamylase)는 55℃ 내지 65℃에서 1시간 내지 3시간 동안 가수분해 반응을 시키는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 단백질분해효소를 불활성화시키는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

굴 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 건강기능식품.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 굴 가수분해물은 제 1 항 내지 제 4 항으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 항에 따른 방법에 의하여 제조된 것을 특징으로 하는 건강기능식품.

청구항 7

굴 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물.

청구항 8

제 7항에 있어서,

상기 굴 가수분해물은 제 1 항 내지 제 4 항으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 항에 따른 방법에 의하여 제조된 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 9

굴 가수분해물에서 정제된 S(Ser)-S(Ser)-D(Asp)-N(Asn) 펩타이드, D(Asp)-G(Gly)-E(Glu) 펩타이드 또는 A(Ala)-K(Lys) 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 건강기능식품.

청구항 10

굴 가수분해물에서 정제된 S(Ser)-S(Ser)-D(Asp)-N(Asn) 펩타이드, D(Asp)-G(Gly)-E(Glu) 펩타이드 또는 A(Ala)-K(Lys) 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 굴 가수분해물의 제조방법 및 이로부터 분리된 펩타이드에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 다양한 생물종을 가진 해양생물은 종에 따라 생리활성을 나타내는 화합물의 종류에 차이가 있으며, 해양생물에서 유래한 화합물의 기능적 특성과 관련하여 해조 다당류, 미네랄, 비타민, 항산화제, 효소 및 생리 활성 펩티드 등에 관하여 많은 연구가 이루어졌다. 특히 펩타이드는 영양을 공급하고, 용해 및 유화 특성을 가지고 있을 뿐만 아니라 항암효능 및 면역증강 등의 광범위한 생리활성을 나타내고 있다. 이러한 생리활성을 가지는 펩타이드는 동식물 및 어류 추출물로부터 얻을 수 있으며, 화학적 합성을 통해서, 혹은 단백질 효소 가수분해에 의한 단백질 가수분해물 및 미생물 발효 공정을 통해 얻을 수 있다.

[0003] 천연물 유래의 기능성 펩타이드는 해양생물의 단백질이 갖는 특이적인 1차 결합에 근거하여 많은 연구가 진행되고 있다. Abel은 해면동물, 연체동물 및 해조로부터 펩타이드의 기능적 특성 및 분리 기술에 관하여 연구하였고, Guadalupe 등은 해면동물과 연체동물 가수분해물의 항산화 효능과 항암효능에 관하여 연구하였다. 이외에도 Sacoglossan mollusk와 Elysia rufescens로부터 항암 효능과 항균 효능이 있는 cyclic depsipeptides 인 Kahalalides를 분리하기도 하였다.

[0004] 우리나라의 노령인구는 2014년 12.7%였으며, 2026년이면 20.8%로 초고령 사회로 진입한다고 예상하였다(통계청, 장래인구추계, 2012). 노령인구의 증가로 노화를 지연시킬 수 있는 약물에 관한 관심도 크게 증가하였고, 피부를 젊게 유지하기 위한 화장품 개발도 함께 빠르게 진행되고 있다. 피부의 노화 현상을 예방하거나 지연하기 위한 연구로는 피부의 수분 균형을 조절하기 위한 보습인자, 미백 및 주름 개선에 도움을 주는 물질에 관한 연구가 있다.

[0005] 굴은 바다에서 사는 굴과의 연체동물로 옛 부터 전 세계 여러 사람들이 즐겨 먹고 있는 맛이 좋고 영양가가 높은 수산식품이다. 굴은 고형물 함량 중 60~70%가 단백질로 이루어져 있으며, 비타민 A, B1, B2, C 및 철, 칼슘, 인, 아연, 셀레늄, 구리 등의 무기질 등의 기능성 성분을 다량 함유하고 있다. 단백질이 풍부한 굴을 단백질 가수분해 효소로 가수분해한 굴 가수분해물은 유리아미노산이 풍부하고 저분자의 펩타이드가 다량 함유되어 있다. 저분자의 화합물은 피부 침투력이 좋을 뿐만 아니라 물에 대한 용해도가 증가하여, 수용성 형태의 원료로 다양한 화장품 소재 적용이 가능하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 1. 한국등록특허 제10-0810134호
(특허문헌 0002) 2. 한국공개특허 제10-2013-0023326호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 굴에 단백질분해효소를 넣고 가수분해 반응을 시키는 단계를 포함하는 굴 가수분해물의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 굴에 단백질분해효소를 넣고 가수분해 반응을 시키는 단계를 포함하는 굴 가수분해물의 제조방법을 제공한다.

[0009] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 단백질분해효소는 프로타멕스(protamex), 뉴트라아제(neutrase) 또는

AMG(Glucoamylase)인 것을 특징으로 하는 방법.

- [0010] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 프로타멕스(protamex)는 35℃ 내지 45℃에서 30분 내지 2시간 동안 가수분해 반응을 시키고, 상기 뉴트라아제(neutrased)는 45℃ 내지 55℃에서 30분 내지 2시간 동안 가수분해 반응을 시키고, 상기 AMG(Glucoamylase)는 55℃ 내지 65℃에서 1시간 내지 3시간 동안 가수분해 반응을 시키는 것일 수 있다.
- [0011] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 단백질분해효소를 불활성화시키는 단계를 더 포함하는 것일 수 있다.
- [0013] 또한, 본 발명은 굴 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 건강기능식품을 제공한다.
- [0014] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 굴 가수분해물은 굴 가수분해물의 제조방법에 의하여 제조된 것일 수 있다.
- [0015] 또한, 본 발명은 굴 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물을 제공한다.
- [0016] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 굴 가수분해물은 굴 가수분해물의 제조방법에 의하여 제조된 것일 수 있다.
- [0018] 또한, 본 발명은 굴 가수분해물에서 정제된 S(Ser)-S(Ser)-D(Asp)-N(Asn) 펩타이드, D(Asp)-G(Gly)-E(Glu) 펩타이드 또는 A(Ala)-K(Lys) 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 건강기능식품을 제공한다.
- [0019] 또한, 본 발명은 굴 가수분해물에서 정제된 S(Ser)-S(Ser)-D(Asp)-N(Asn) 펩타이드, D(Asp)-G(Gly)-E(Glu) 펩타이드 또는 A(Ala)-K(Lys) 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0020] 본 발명에 따른 굴 가수분해물 및 이로부터 분리된 펩타이드는 멜라닌세포의 세포수를 감소시키고 멜라닌세포 주변 또는 피부의 표피층에 존재하는 멜라닌 과립의 분포를 감소시키는 효과가 있는 것으로서, 굴 가수분해물 및 이로부터 분리된 펩타이드는 피부 미백용 건강기능식품 또는 화장품 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0021] 도 1은 굴 가수분해물(PNA)의 멜라닌세포에 대한 세포독성을 분석한 결과이다.
- 도 2는 굴 가수분해물(PNA)에 대한 멜라닌 생합성 저해 효과를 나타낸 결과이다.
- 도 3은 굴 가수분해물(PNA)에 대한 티로시나아제 저해 효과를 나타내는 결과이다.
- 도 4는 굴 가수분해물(PNA)로부터 Q-Sepharose column 을 수행한 후 크로마토그래피를 나타낸 것이다.
- 도 5는 Q-31_35 분획물(Q-31_35 Fr)에서 Superdex 30 column을 수행한 후 크로마토그래피를 나타낸 것이다.
- 도 6은 Q31-35_S20 분획물(Q31-35_S20 Fr)에서 Source 5 RPC ST column을 수행한 후 크로마토그래피를 나타낸 것이다.
- 도 7은 정제된 펩타이드에 대한 LCMS(Liquid Chromatography Mass Spectrometry)에 대한 결과이다.
- 도 8은 정제된 펩타이드에 대한 정보를 나타낸 것이다.
- 도 9는 정제된 펩타이드에 대한 정보를 나타낸 것이다.
- 도 10은 정제된 펩타이드에 대한 MS/MS(Mass Spectrometry/Mass Spectrometry)에 대한 결과이다.
- 도 11는 굴 가수분해물(PNA)을 C57b1/6J 마우스에 경구투여한 후, 마우스의 조직을 DOPA 염색한 결과를 나타낸 것이다(x100).
- 도 12는 굴 가수분해물(PNA)의 각 농도(35mg/kg, 70mg/kg, 140mg/kg)를 마우스에 경구투여한 후, 3, 6 및 9주에 마우스의 귀 조직을 분리하여 DOPA 염색 및 Fontana- Masson 염색한 결과이다.
- 도 13는 굴 가수분해물(PNA)의 각 농도(35mg/kg, 70mg/kg, 140mg/kg)를 마우스에 경구투여한 후, 3, 6 및 9주에 마우스의 귀 조직을 분리하여 image pro premier 9.1. 프로그램을 이용하여 멜라닌세포의 세포수를 측정한 결과이다.

도 14는 굴 가수분해물(PNA)의 각 농도(35mg/kg, 70mg/kg, 140mg/kg)를 마우스에 경구투여한 후, 3, 6 및 9주에 마우스의 귀 조직을 분리하여 image pro premier 9.1. 프로그램을 이용하여 멜라닌 과립의 분포를 측정한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0022] 본 발명의 굴 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물은 그 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.
- [0023] 본 명세서에서 식품이란 함은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 식품, 식품 첨가제, 건강 기능성 식품 및 음료를 모두 포함하는 의도이며, 바람직하게는 껌 또는 캔디일 수 있다.
- [0024] 본 발명의 펩타이드를 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 캔디, 차, 비타민 복합제, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 본 발명에서 식품에는 특수영양식품(예, 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 목류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스낵류), 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과일, 채소류, 음료, 두유류, 발효음료류, 아이스크림류 등), 천연조미료(예, 라면 스프 등), 비타민 복합제, 알코올 음료, 주류 및 그 밖의 건강보조식품류를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 식품, 음료 또는 식품첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.
- [0025] 본 발명에서 기능성 식품이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 생체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미하며, 바람직하게는 본 발명의 기능성 식품은 피부 주름 개선용 및 미백 효과에 관한 생체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현할 수 있는 식품을 의미한다. 상기 기능성 식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.
- [0026] 본 발명에서 음료란 갈증을 해소하거나 맛을 즐기기 위하여 마시는 것의 총칭을 의미하며 기능성 음료를 포함하는 의도이다. 상기 음료는 지시된 비율로 필수 성분으로서 본 발명의 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 것 외에 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기의 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어 포도당, 과당 등 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 수크로스 등 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상기한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100ml 당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 5 내지 12g일 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일 주스, 과일 주스 음료, 야채 음료의 제조를 위한 과육을 추가로 함유할 수 있다.
- [0027] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분을 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 상기 첨가제는 본 발명의 펩타이드 100 중량부 당 0 내지 100,000 중량부, 바람직하게는 0.00001 내지 10,000 중량부 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0028] 본 발명에서 기능성 음료란 음료에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 음료의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 음료 군이나 음료 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 생체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 음료를 의미한다.
- [0029] 상기 기능성음료는 지시된 비율로 필수 성분으로서 본 발명의 굴 가수분해물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어 포도당, 과당 등 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 수크로스 등 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상기한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추

출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 중량부 내지 20 중량부, 바람직하게는 1 중량부 내지 18 중량부, 더욱 바람직하게는 5 중량부 내지 12 중량부 포함될 수 있다.

[0030] 또한, 피부 주름 개선 또는 미백의 효과를 목적으로 하는 식품 조성물에 있어서, 상기 본 발명의 굴 가수분해물의 양은 전체 식품 중량의 0.00001 중량% 내지 50 중량%로 포함될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0031] 본 발명의 화장료 조성물을 첨가할 수 있는 제품으로는, 예를 들어, 수렴화장수, 유연화장수, 영양화장수, 각종 크림, 에센스, 팩, 파운데이션 등과 같은 화장품류와 클렌징, 세안제, 비누, 트리트먼트, 미용액 등이 있다.

[0032] 본 발명의 화장료 조성물의 구체적인 제형으로는 유연 화장수, 젤, 수용성 리퀴드, 밀크로션, 영양크림, 마사지 크림, 에센스, 수중유형 에멀전, 유중수형 에멀전, 페이스크림, 무수 생성물, 고체 무수 생성물, 소구체를 사용한 수성 상에서의 오일 분산물, 이온성 지질 소포체, 비이온성 지질 소포체, 연고, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 보디오일, 수중유형 메이크업베이스, 유중수형 메이크업베이스, 파운데이션, 스킨커버, 립스틱, 립그로스, 페이스파우더, 투웨이케익, 아이섀도우, 마스크라, 치크칼라 및 아이브로우펜슬류로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종의 제형을 포함한다.

[0033] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 유효성분(굴 가수분해물)의 함량은 조성물 총 중량에 대하여 0.0001-40중량%이며, 바람직하게는 0.5-40%이며, 보다 바람직하게는 1.0-30중량%이다. 상기 유효성분(굴 가수분해물)의 함량이 0.0001중량% 미만이면 피부 주름개선 또는 미백 효과가 크게 감소되고, 40중량%를 초과하는 경우에는 피부 자극을 초래할 수 있으며, 제형상의 문제점이 발생할 수 있다.

[0034] 본 발명에 따른 상기 화장료 조성물은 유효성분(굴 가수분해물)을 나노리포좀 내부에 함유시켜 안정화하여 제형화할 수도 있다. 상기 유효성분(굴 가수분해물)을 나노리포좀 내부에 함유시키면, 유효성분이 안정화되어 제형화시 침전형성, 변색, 변취 등의 문제점을 해결할 수 있으며, 성분의 용해도 및 경피흡수율을 높일 수 있어 상기 추출물로부터 기대되는 효능을 최대로 발현시킬 수 있다.

[0035] 본 발명에서 나노리포좀은 통상적인 리포좀의 형태를 갖는 것으로서 평균 입자 지름이 10~500nm인 리포좀을 의미한다. 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 나노리포좀의 평균 입자 지름은 50~300nm이며, 더욱 바람직하게는 100~200nm이다. 나노리포좀의 평균 입자 지름이 500nm를 초과하는 경우에는 본 발명에서 달성하고자 하는 기술적 효과 중 피부침투의 개선 및 제형 안정성의 개선이 매우 미약하다.

[0036] 본 발명에 따라 상기 추출물을 안정화하는데 사용되는 나노리포좀은 폴리올, 유성성분, 계면활성제, 인지질, 지방산 및 물을 포함하는 혼합물에 의해 제조될 수 있다.

[0037] 본 발명의 나노리포좀에 이용되는 폴리올은 특히 제한되지 않으며, 바람직하게는 프로필렌글리콜, 디프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 글리세린, 메틸프로판디올, 이소프로필렌글리콜, 펜틸렌글리콜, 에리스리톨, 자일리톨, 솔비톨 및 이의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상이다. 그 사용량은 나노리포좀 총 중량에 대하여 10~80중량%, 바람직하게는 30~70중량%이다.

[0038] 본 발명의 나노리포좀의 제조에 이용되는 유성(oil) 성분은 당업계에 공지된 다양한 오일이 이용될 수 있으며, 바람직하게는 헥사데칸 및 파라핀 오일과 같은 하이드로카본계 오일, 에스테르계의 합성오일, 디메치콘 및 사이크로메치콘계와 같은 실리콘 오일, 해바라기유, 옥수수유, 대두유, 아보카도유, 참깨유 및 어유와 같은 동물성 오일, 에톡시레이티드 알킬에테르계오일, 프로폭시레이티드 알킬에테르계오일, 피토스핑고신, 스펅고신 및 스펅가닌과 같은 스펅고노이드 지질, 세레브로사이드 콜레스테롤, 시토스테롤 콜레스테릴설페이트, 시토스테릴설페이트, C₁₀₋₄₀ 지방알콜 및 이의 혼합물이다. 그 사용량은 나노리포좀 총 중량에 대하여 1.0~30.0중량%일 수 있으며, 바람직하게는 3.0~20.0중량%이다.

[0039] 본 발명의 나노리포좀의 제조에 이용되는 계면활성제는 당업계에 공지된 어떠한 것도 사용할 수 있다. 예를 들어, 음이온성 계면활성제, 양이온성 계면활성제, 양성 계면활성제 및 비이온성 계면활성제가 사용될 수 있다. 바람직하게는 음이온성 계면활성제 및 비이온성 계면활성제이다. 음이온성 계면활성제의 구체적인 예는 알킬아실글루타마이트, 알킬포스페이트, 알킬락타레이트, 디알킬포스페이트 및 트리알킬포스페이트를 포함한다. 비이온성 계면활성제의 구체적인 예는 알콕시레이티드 알킬에테르, 알콕시레이티드 알킬에스테르, 알킬폴리글리코사이드, 폴리글리세릴에스테르 및 슈가에스테르를 포함한다. 특히 바람직한 계면활성제는 비이온성 계면활성제에 속하는 폴리솔베이트류이다. 그 사용량은 나노리포좀 총 중량에 대하여 0.1~10중량%일 수 있으며, 바람직하게는 0.5~5.0중량%이다.

- [0040] 본 발명의 나노리포좀의 제조에 이용되는 또 다른 성분인 인지질은 양쪽친화성 지질이 이용되며, 천연 인지질(예를 들어, 난황 레시틴 또는 대두 레시틴, 스펡고마이엘린) 및 합성 인지질(예를 들어, 디팔미토일포스파티딜 콜린 또는 수첨 레시틴)을 포함하며, 바람직하게는 레시틴이다. 특히, 대두 또는 난황에서 추출한 천연 유래의 불포화 레시틴 또는 포화 레시틴이 바람직하다. 통상적으로 천연 유래의 레시틴은 포스파티딜콜린의 양이 23~95%, 그리고 포스파티딜에탄올아민의 양이 20% 이하이다. 본 발명의 나노리포좀의 제조에 있어서, 인지질의 사용량은 나노리포좀 총 중량에 대하여 0.5~20.0중량%이며, 바람직하게는 2.0~8.0중량%이다.
- [0041] 본 발명의 나노리포좀 제조에 이용되는 지방산은 고급 지방산으로서, 바람직하게는 C_{12-22} 알킬 체인의 포화 또는 불포화 지방산으로서, 예컨대, 라우린산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아린산, 올레산 및 리놀레산을 포함한다. 그 사용량은 나노리포좀 총 중량에 대하여 0.05~3.0중량%일 수 있으며, 바람직하게는 0.1~1.0중량%이다.
- [0042] 본 발명의 나노리포좀의 제조에 이용되는 물은 일반적으로 탈이온화된 증류수이며, 그 사용량은 나노리포좀 총 중량에 대하여 5.0~40중량%일 수 있다.
- [0043] 나노리포좀의 제조는 당업계에 공지된 다양한 방법을 통해 이루어질 수 있으나, 가장 바람직하게는 상기 성분들을 포함하는 혼합물을 고압 호모게나이저에 적용하여 제조된다. 고압 호모게나이저에 의한 나노리포좀의 제조는 소망하는 입자 크기에 따라 다양한 조건(예: 압력, 횟수 등)으로 실시할 수 있으며, 바람직하게는 600~1200bar의 압력 하에서 1~5회 고압 호모게나이저를 통과하도록 하여 나노리포좀을 제조할 수 있다.
- [0044] 본 발명의 화장료 조성물을 단독 또는 중복 도포하여 사용하거나, 본 발명 이외의 다른 화장료 조성물과 중복 도포하여 사용할 수 있다. 또한 본 발명에 따른 주름개선 효과가 우수한 화장료 조성물은 통상적인 사용방법에 따라 사용될 수 있으며, 사용자의 피부 상태 또는 취향에 따라 그 사용횟수를 달리할 수 있다.
- [0046] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0048] **실시예 1. 재료 및 방법**
- [0049] **1.1. 재료**
- [0050] 참굴(*Crassostrea gigas*)은 경남 통영 연안의 양식장에서 채취하여 알굴의 형태로 급속 동결한 냉동굴로 1~2년 정도 냉동 보관한 제품(대원식품, 통영)을 구입하여 사용하였다. 굴의 가수분해를 위한 단백질 분해 효소는 식품 첨가물로 인정된 Protamex(Protease(Subtilisin)) 및 Neutrase(Protease(neutral))는 (주)바이오시스(Busan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. B16-F10 세포(mouse melanoma cell, ATCC, USA)가 실험에서 사용되었고, 배지는 Hyclone 사(Thermo Fisher Scientific Inc. Kansas, USA)의 제품을 사용하였다.
- [0052] **1.2. 통계처리**
- [0053] 본 연구의 모든 실험 결과는 3회 이상 반복하여 얻은 측정값의 평균값으로 나타내었다. 통계분석은 Student's *t*-test를 이용하였고, 대조군에 대한 통계적 유의성은 $P < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.
- [0055] **실시예 2. 굴 효소 가수분해물(PNA)의 제조**
- [0056] 굴 효소 가수분해물을 제조하기 위하여, 우선 100kg의 냉동굴을 해동하고 수세한 후, 가열(blanching)하는 과정을 거친다. 블랜칭된 굴(37.3 kg)은 분쇄기로 분쇄되고, 상기 분쇄된 굴 8kg에 3배의 양인 24kg의 물을 넣은 후, 분쇄된 굴에 1% 프로타멕스(Protamex, 80g)를 넣고 40℃에서 1시간 동안 가수분해 반응을 시키고, 1% 뉴트라아제(Neutrase, 80g)를 넣고 50℃에서 1시간 동안 가수분해 반응을 시킨다. 이후, 효소 불활성화를 위해 100℃에서 30분 동안 가열하고, 60℃로 온도를 조절한 후 0.8% AMG(Glucoamylase, 64g)를 넣고 60℃에서 2시간 동안 반응을 시킨 후, 다시 효소 불활성화를 위해 100℃에서 30분 동안 가열하였다. 가수분해물은 200 메쉬(mesh) 여과체로 여과하였고(brix 4.8), 여과액은 90℃에서 5시간 동안 농축시켰다(brix 28.3). 이후, 농축액은 동결 건조되었고, 최종적으로 1.2 kg의 굴 가수분해물(본 발명에서 PNA로 명명하였음)을 제조하였다.

[0058] 실시예 3. *in vitro* 실험 결과

[0059] 3.1. 굴 가수분해물(PNA)에 대한 세포독성 여부 분석

[0060] 굴 가수분해물(PNA)에 대한 세포독성 여부를 확인하기 위하여 마우스 흑색종 세포인 B16-F10 세포에 굴 가수분해물을 농도별로 처리하여 세포의 생존율을 Cell Counting Kit-8(CCK-8, Dojindo, Kumamoto, Japan)을 이용하여 측정하였다. 그 결과, 굴 가수분해물(PNA)에 대하여 어떠한 세포 독성이 나타나지 않음을 확인하였다 (도 1).

[0062] 3.2. 굴 가수분해물(PNA)의 멜라닌 생합성 저해능 효과

[0063] 굴 가수분해물(PNA)이 멜라닌 생합성을 저해하는 활성 효과가 있는지 분석하는 실험이 진행되었다. B16-F10 세포에 각 농도(25, 50 및 100 μ g/ml)에 따른 굴 가수분해물(PNA)를 처리한 후 3일 간 배양하고, 세포를 수거하여 lysis buffer(5 mM EDTA, 0.1 M SPB(pH 6.8), 1% Triton X-100)로 세포를 용해하고, 원심분리하여 얻은 세포 침전물을 알로올로 세척한 후 10% DMSO가 첨가된 1N NaOH 용액으로 90℃ 에서 1시간 용해하여 405 nm로 흡광도를 측정하였다.

[0064] 그 결과, 굴 가수분해물(PNA)은 멜라닌의 생합성을 저해하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다(도 2).

[0066] 3.3. 굴 가수분해물(PNA)의 티로시나아제 활성 저해능 효과

[0067] 굴 가수분해물(PNA)이 티로시나아제 활성을 저해하는지 분석하는 실험이 진행되었다. 티로시나아제(tyrosinase)는 멜라닌의 생성을 조절하는 옥시다아제(oxidase)로 알려져 있다. B16-F10 세포에 각 농도(25, 50 및 100 μ g/ml)에 따른 굴 가수분해물(PNA)를 처리한 후 3일 동안 배양한 후, 세포를 수거하여 -70℃에서 급속 냉동시킨 후 해동하는 것을 3번 반복하여 세포막을 파괴하였다. 이후, 원심분리하여 상층액에서 bio-rad protein kit를 사용하여 단백질을 정량하고, 10 mM L-dopa, 0.1 M PBS(pH 6.8), 상층액을 첨가한 후 35℃에서 1시간 동안 반응시킨 후 475nm 에서 흡광도를 측정하였다.

[0068] 그 결과, 실시예 4의 결과와 마찬가지로, 굴 가수분해물(PNA)은 멜라닌의 생성에 관계되는 티로시나아제의 활성을 저해하는 효과가 있음을 확인하였다 (도 3).

[0070] 실시예 4. 굴 가수분해물(PNA)로부터 미백에 유효한 펩타이드의 정제

[0071] 4.1. 펩타이드의 정제 방법

[0072] 굴 가수분해물(PNA)에서 미백에 효과가 있을 것으로 보여지는 펩타이드를 정제하기 위한 실험이 진행되었다. 굴 가수분해물(PNA)에서 단백질을 제거하기 위하여 에탄올을 넣은 후 상온에서 1 시간 동안 나둔 후, 6000xg에서 20분 동안 원심분리하여 상층액을 얻고, 40℃ 이하에서 회전증발기(rotary evaporator)를 이용하여 농축시킨다. 이후 25 mM Tris-Cl(pH 7.5)에 녹이고 0.45 μ m에서 필터링을 한 후, Q-Sepharose column(4.6x30 cm, GE Health Life Science)을 이용하여 크로마토그래피를 수행하였고, 수행조건은 하기와 같으며, 그 결과는 도 4와 같다.

[0073] < Q-Sepharose column 조건 >

[0074] sample injection vol: 5 mL

[0075] solvent A: 25 mM Tris-Cl (pH 7.5)

[0076] solvent B: 1 M NaCl-25 mM Tris-Cl (pH 7.5)

[0077] gradient: A 100%(0-75 min), 0-100%(75-230 min), A 0%(230-320 min), A 100%(320-985 min)

[0078] flow rate: 1 mL/min

[0079] detection: 254 nm

- [0080] fraction volume: 5 mL
- [0082] 상기에 의한 Q31-35 분획물(Q31-35 Fr)은 40℃ 이하에서 회전증발기(rotary evapaporator)를 이용하여 농축시키고, 증류수에 녹인 후, Superdex 30 column (1.6x60 cm, GE Healthcare Life Science)을 이용하여 크로마토그래피를 수행하였고, 수행조건은 하기와 같으며, 그 결과는 도 5와 같다.
- [0083] < Superdex 30 column 조건 >
- [0084] sample injection: 1 mL
- [0085] eluent: distilled water
- [0086] flow rate: 1.0 mL/min
- [0087] detection: 254 nm
- [0088] fraction volume: 5 mL
- [0090] 상기에 의한 Q31-35_S20 분획물(Q31-35_S20 Fr)은 40℃ 이하에서 회전증발기(rotary evapaporator)를 이용하여 농축시키고, 0.1% TFA/DW에 녹인 후, Source 5 RPC ST column (4.6x150 mm, 5 μm, GE Healthcare Life Science)을 이용하여 크로마토그래피를 수행하였고, 수행조건은 하기와 같으며, 그 결과는 도 6과 같다.
- [0091] < Source 5 RPC ST column 조건 >
- [0092] sample injection: 50 μL
- [0093] solvent A: 0.1% TFA/DW
- [0094] solvent B: 0.1% TFA/Acetonitrile
- [0095] gradient: 5-55% (0-50 min), 55-95%(50-62.5 min), 95-5%(62.5-67.5 min), 5% (67.5-82 min)
- [0096] flow rate: 1 mL
- [0097] detection: 220 nm
- [0098] fraction volume: 1 mL
- [0100] 상기에 의한 Q31-35_S20_R27 분획물은 40℃ 이하에서 회전증발기(rotary evapaporator)를 이용하여 농축시키고, 0.1% formic acid에 녹인 후, ACQUITY UPLC@BEH 130 C18 column (Thermo (Dionex)UHPLC Ulitmate 3000)을 이용하여 크로마토그래피를 수행하였고, 수행조건은 하기와 같다.
- [0101] < ACQUITY UPLC@BEH 130 C18 column 조건 >
- [0102] solvent A; 0.1% formic acid/DW
- [0103] solvent B: 0.1% Formic acid/ACN
- [0104] sample injection: 10 μL
- [0105] gradient: B% 10-90%(0-12 min), 90%(12-13 min), 90-10%(13-15 min)
- [0106] flow rate: 300 μL/min
- [0108] 상기에 의해 정제된 펩타이드의 아미노산 서열을 분석하였고, 이에 대한 결과는 도 7 내지 도 10에 나타내었다.
- [0110] **4.2. 정제된 펩타이드에 대한 미백 효과**
- [0111] 유효한 펩타이드의 아미노산 서열은 S(Ser)-S(Ser)-D(Asp)-N(Asn)-N(Asn)-D(Asp)-G(Gly)-E(Glu)-A(Ala)-K(Lys)

로 나왔다. 이로부터, S(Ser)-S(Ser)-D(Asp)-N(Asn) 펩타이드, D(Asp)-G(Gly)-E(Glu) 펩타이드 및 A(Ala)-K(Lys) 펩타이드 각각에 대하여 분자량, 수소공여체수, 수소수용체수, 고리갯수, 회전가능결합수, 극성표면적, LogS (pH=7.0), LogP 및 멜라닌 생성 억제(%)를 측정하였다. 이에 대한 결과는 표 1과 같다.

표 1

펩타이드	분자량, Da	수소공여체수	수소수용체수	고리갯수	회전가능결합수	극성표면적	LogS, pH=7.0	LogP	멜라닌생성억제(%)
SSDN	421.36	11	15	0	13	271.47	0.38	-7.94	55.7
DEG	319.27	7	11	0	10	196.12	0.5	-3.94	40.5
AK	217.27	6	6	0	7	118.44	0.66	-2.1	68.0

상기 각 펩타이드에 대한 독성 여부를 예측하였고, 이에 대한 결과는 표 2와 같다.

표 2

펩타이드	LD50(rat)		Ames test, 확률(%)	돌연변이, 확률(%)	Clastogenicity		DNA 손상(확율)	Carcinogenicity (확율)	반복복성(확율)
	OR(mg)	RI			확률(Chromosome)	확률(Micronucleus)			
SSDN	2.09	0.3803	0.24	0.30	0.32	0.25	0.18	0.07	0
DEG	3.54	0.4794	0.02	0.06	0.10	0.08	0.11	0.04	0
AK	3.83	0.7686	0.09	0.23	0.12	0.09	0.13	0.05	0

실시예 5. 동물실험 결과

5.1. 굴 가수분해물(PNA)의 투여 용량 설정

C57b1/6J 마우스를 이용하여 10일 동안 UVB를 조사해 색소형성(pigmentation)을 유도한 후, 굴 가수분해물(PNA)의 용량을 설정하기 위한 실험을 진행하였다. 양성대조군으로 널리 사용되는 아스코르브산(ascorbic acid)이 70 mg/kg인 것을 감안하여, 본 발명에서의 굴 가수분해물(PNA)은 140 mg/kg으로 용량을 설정하였고, 정상군, 유도군 및 굴 가수분해물(PNA)을 각각 9주간 경구투여한 후, 표피층의 DOPA(3,4-dihydroxylphenylalanine) 염색을 통해 미백 효능 정도를 확인하였다.

그 결과, UVB 만을 조사한 유도군에서는 멜라닌세포(melanocyte)의 세포수 및 멜라닌 과립(melanin granule)이 증가하였고, 굴 가수분해물(PNA)을 투여한 군에서는 유도군에 비해 멜라닌세포의 세포수 및 멜라닌 과립이 정상군과 비슷한 정도로 현저하게 감소되었음을 확인하였다(도 11).

따라서, 상기 결과를 바탕으로 굴 가수분해물(PNA)의 투여 용량을 저(35mg/kg), 중(70mg/kg), 고(140mg/kg) 용량으로 설정하였고, 양성대조군은 아스코르브산(70mg/kg)으로 설정하였다.

5.2. 굴 가수분해물의 미백 효능 검증

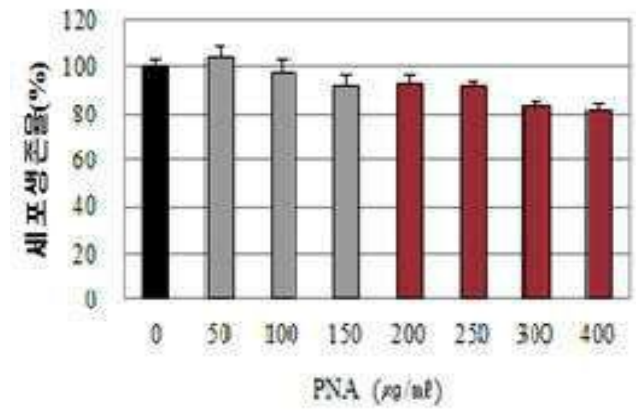
굴 가수분해물(PNA)의 미백 효능을 확인하기 위하여, 마우스에 굴 가수분해물(PNA)를 경구투여하였고, 3주, 6주 및 9주가 경과한 후, 귀 조직을 분리하여 DOPA 염색 및 Fontana-Masson 염색을 수행하였다. 그 결과, 농도 의존적으로 멜라닌세포의 세포수와 주변 멜라닌 과립이 감소하는 것을 확인하였다. 동일한 조직에서의 Fontana-Masson 염색을 통해 정상군에 비해 유도군에서 표피층 전반에 멜라닌이 생성되었음을 확인하였고, 굴 가수분해물(PNA)를 처리한 경우 농도 의존적으로 멜라닌의 생성이 감소되었음을 확인할 수 있었다(도 12).

- [0128] 굴 가수분해물(PNA)의 미백 효능 정도를 수치로 검증하기 위하여, Image pro premier 9.1(media cybernetic inc., USA) 프로그램을 이용해 DOPA 염색한 사진을 정량 분석하였다. 투여 기간에 따른 멜라닌세포의 세포수를 측정하여 멜라닌세포의 활성과 그에 따른 주변 멜라닌 과립의 생성 차이를 비교해 보았다. 그 결과, 굴 가수분해물(PNA)는 농도 의존적으로 멜라닌세포의 세포수와 주변 멜라닌 과립을 감소시켰음을 확인하였다.
- [0129] 구체적으로, 3주차에서는 유도군은 정상군에 비해 114% 증가를 보였고, 굴 가수분해물(PNA)은 유도군에 비해 저 용량(35mg/kg) 용량에서 9%, 중(70mg/kg) 용량에서 26%, 고(140mg/kg) 용량에서 54% 감소를 보였고, 양성대조군은 40% 감소를 보였다. 양성대조군은 중(70mg/kg) 용량군과 고(140mg/kg) 용량군 사이의 효능이 있는 것으로 나타났다. 고(140mg/kg) 용량군에서는 정상군과 같은 수준으로 멜라닌세포의 세포수를 감소시키는 결과를 보였다(도 13).
- [0130] 또한, 6주차에서는 유도군은 정상군에 비해 100% 증가를 보였고, 굴 가수분해물(PNA)은 유도군에 비해 저 용량에서 19%, 중 용량에서 43%, 고 용량에서 51% 감소를 보였고, 양성대조군은 40% 감소를 보였다. 양성대조군은 저 용량군과 중 용량군 사이의 효능을 나타내고 있었다. 고 용량군에서는 3주차와 마찬가지로 정상군과 같은 수준의 멜라닌세포의 세포수를 감소시키는 결과를 보였다(도 13).
- [0131] 또한, 9주차에서는 유도군은 정상군에 비해 95% 증가를 보였고, 굴 가수분해물(PNA)은 유도군에 비해 저 용량에서 15%, 중 용량에서 41%, 고 용량에서 48% 감소를 보였고, 양성대조군은 37% 감소를 보였다. 양성대조군은 저 용량군과 중 용량군 사이의 효능을 나타내고 있었다. 고 용량군에서는 3, 6주차와 마찬가지로 정상군과 같은 수준의 멜라닌세포의 세포수를 감소시키는 결과를 보였다(도 13).
- [0133] 굴 가수분해물(PNA)의 미백 효능 정도를 수치로 검증하고 DOPA 염색과의 경향성을 비교하기 위하여, Image pro premier 9.1(media cybernetic inc., USA) 프로그램을 이용해 Fontana-Masson 염색 사진을 정량 분석하였다. 그 결과, 굴 가수분해물(PNA)는 농도 의존적으로 표피층 전반에 걸쳐 멜라닌 과립을 감소시키는 것으로 확인되었다(도 14).
- [0134] 구체적으로, 3주차에서는 유도군은 정상군에 비해 126% 정도로 멜라닌 과립의 분포가 증가하였고, 굴 가수분해물(PNA)은 유도군에 비해 저 용량에서 3%, 중 용량에서 40%, 고 용량에서 58% 감소를 보였고, 양성대조군은 43% 감소를 보였고, 양성대조군은 멜라닌 과립의 분포에서 중 용량군과 고 용량군 사이의 효능을 보였다. 멜라닌 과립의 분포는 3주차 DOPA 염색의 정량 결과의 경향성과 일치하였다(도 14).
- [0135] 또한, 6주차에서는 유도군은 정상군에 비해 281% 정도로 멜라닌 과립의 분포가 증가하였고, 굴 가수분해물(PNA)은 유도군에 비해 저 용량에서 32%, 중 용량에서 54%, 고 용량에서 73% 감소를 보였으며, 양성대조군은 46% 감소를 보였다. 양성대조군은 멜라닌 과립의 분포에서 저 용량군과 중 용량군 사이의 효능을 보였다. 멜라닌 과립의 분포는 6주차 DOPA 염색 정량 결과의 경향성과 일치하였다(도 14).
- [0136] 또한, 9주차에서는 유도군은 정상군에 비해 316% 정도로 멜라닌 과립의 분포가 증가하였고, 굴 가수분해물(PNA)은 유도군에 비해 저 용량에서 33%, 중 용량에서 60%, 고 용량에서 75% 감소를 보였고, 양성대조군은 41% 감소를 보였다. 양성대조군은 멜라닌 과립의 분포에서 저 용량군과 중 용량군 사이의 효능을 보였다. 멜라닌 과립의 분포는 9주차 DOPA 염색 정량 결과의 경향성과 일치하였다(도 14).
- [0138] DOPA 염색과 Fontana-Masson 염색의 정량 분석 결과, 3주차에서는 고 용량군에서만 양성대조군보다 좋은 효능을 보였지만, 6주차에서는 전체적으로 효능이 좋아졌고, 중용량군과 고용량군에서는 양성대조군에서보다 더 좋은 효능을 보였다. 특히, 저 용량군은 3주차에 비해 크게 효능이 증가하여 투여 기간이 길어짐에 따라 미백 효능이 크게 개선됨을 볼 수 있었다. 9주차에서는 모든 용량군에서 6주차와 거의 동일한 미백 효능을 보여 각 용량군이 나타낼 수 있는 효능 최고치에서 saturation 되는 경향을 볼 수 있었다.
- [0140] 상기와 같은 *in vivo* 실험을 통해, 굴 가수분해물(PNA)은 표피층의 멜라닌세포의 활성화를 억제하고, 그 주변의 멜라닌 과립의 생성을 억제뿐만 아니라 표피층 전반에 걸친 멜라닌 과립의 생성을 억제하는데 관여함으로써 뛰어난 미백 효능이 있음을 확인할 수 있었다. 이는 양성대조군인 아스코르브산보다 약 1.5 배의 효능이 있는 것

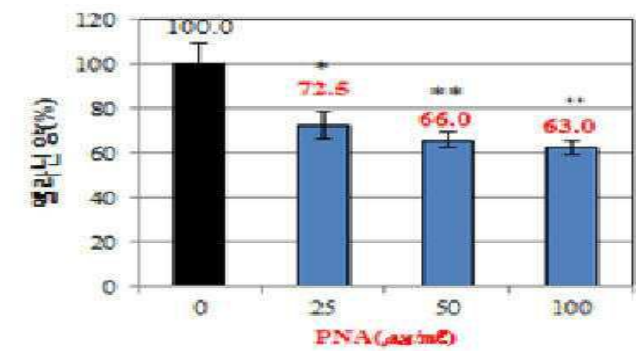
으로 확인되었다.

도면

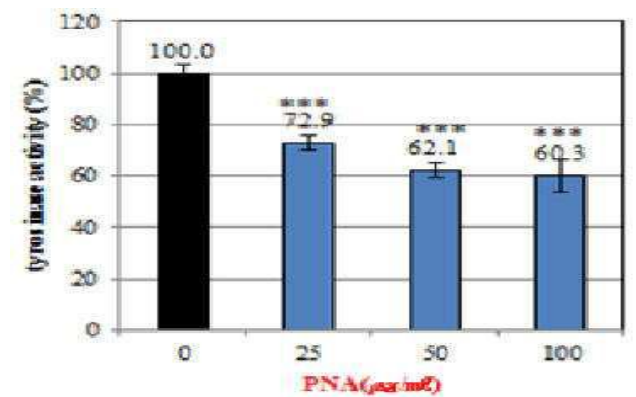
도면1



도면2

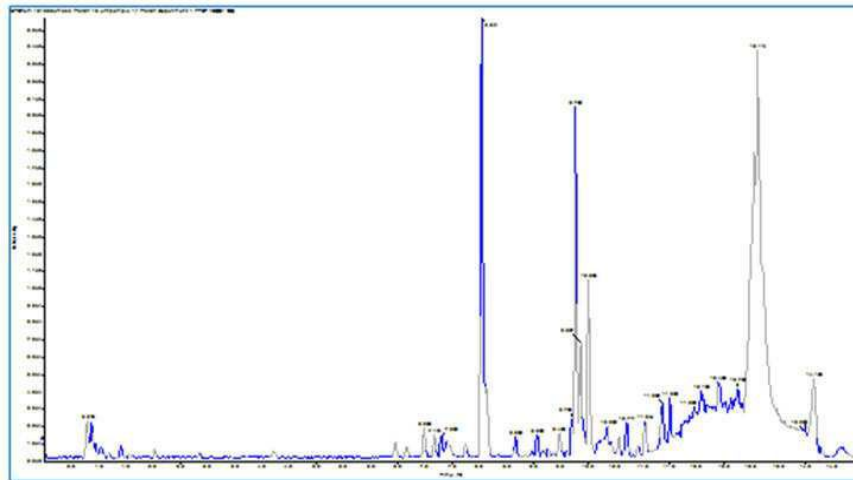


도면3



도면7

LCMS chromatogram (BPC) for PNA 27



도면8

Peptide ID for PNA 27

Protein ID

Protein

Summary Statistics

Protein Detected

#	Accession	Total	% Ion	Accession ID	Name	Species	Protein/Protein	Biological Process	Molecular Function	Interact ID
1	1.1	1.1	100	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1
2	1.2	1.2	100	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2

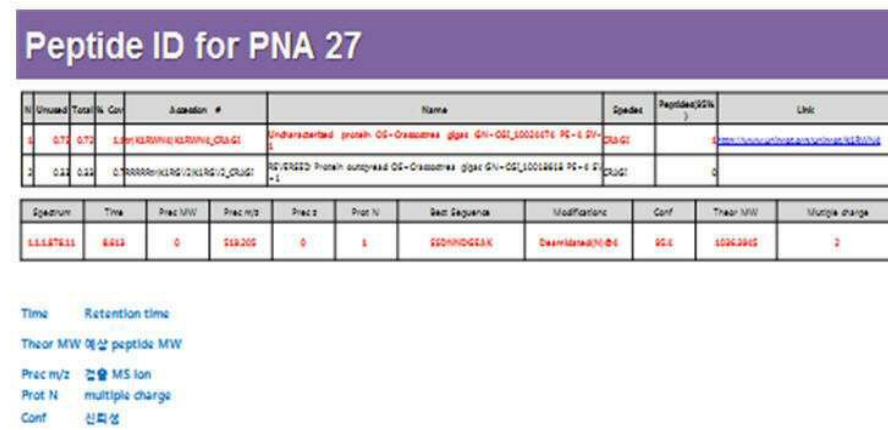
Protein Group 1: Individual protein ID: Chromatogram (BPC) for PNA 27

Protein ID					Protein					
#	Accession	Total	% Ion	Accession ID	Name	Species	Protein/Protein	Biological Process	Molecular Function	Interact ID
1	1.1	1.1	100	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1
2	1.2	1.2	100	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2

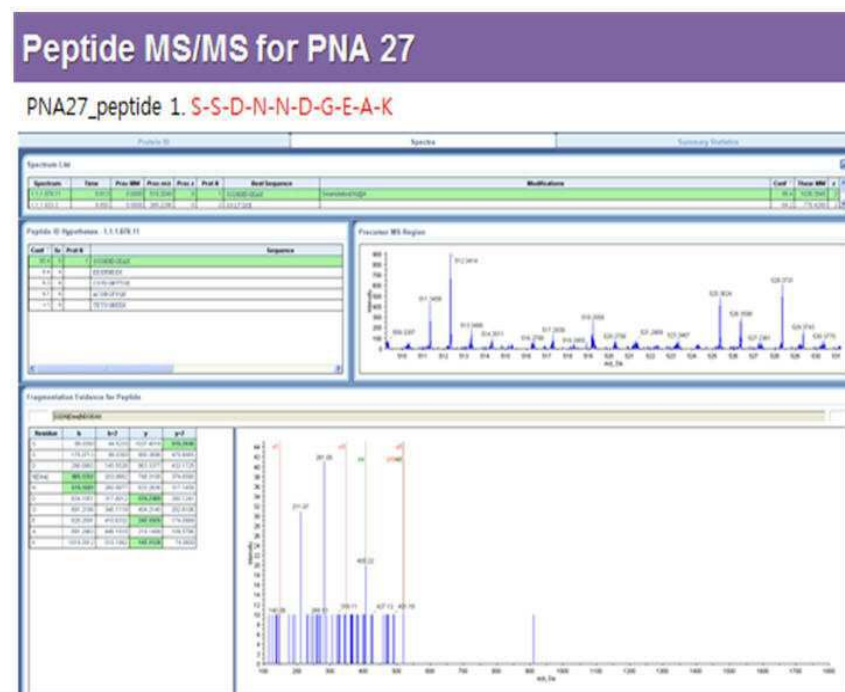
Protein Sequence Coverage: Individual protein ID: Chromatogram (BPC) for PNA 27

#	Accession	Total	% Ion	Accession ID	Name	Species	Protein/Protein	Biological Process	Molecular Function	Interact ID
1	1.1	1.1	100	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1
2	1.2	1.2	100	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2

도면9



도면10



도면11

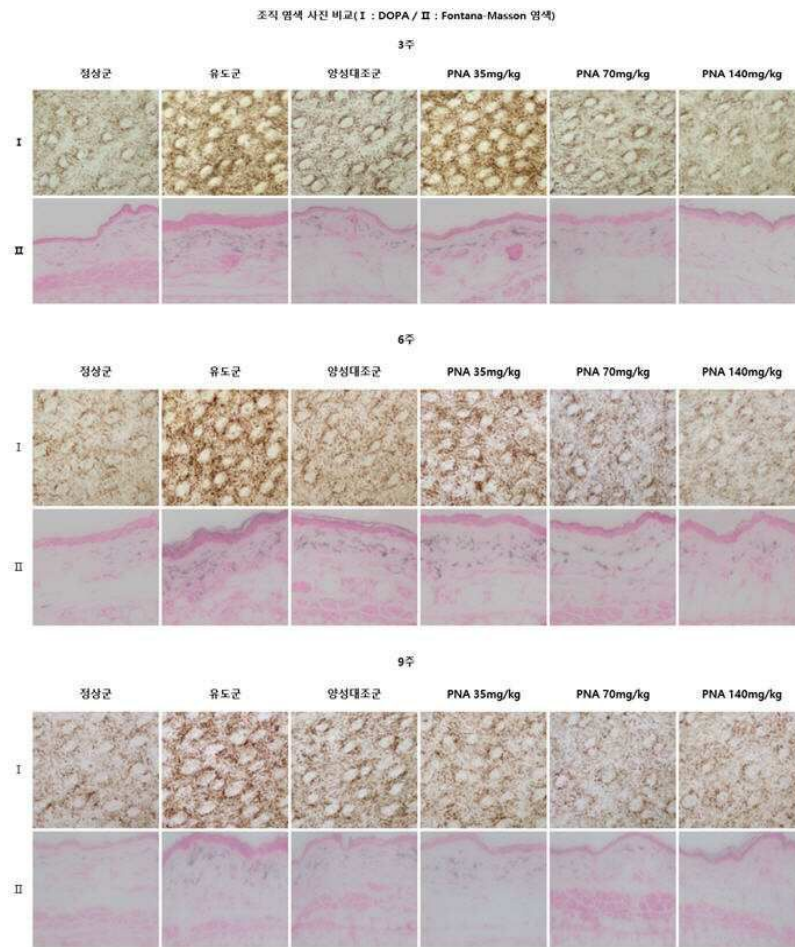
정상군

유도군

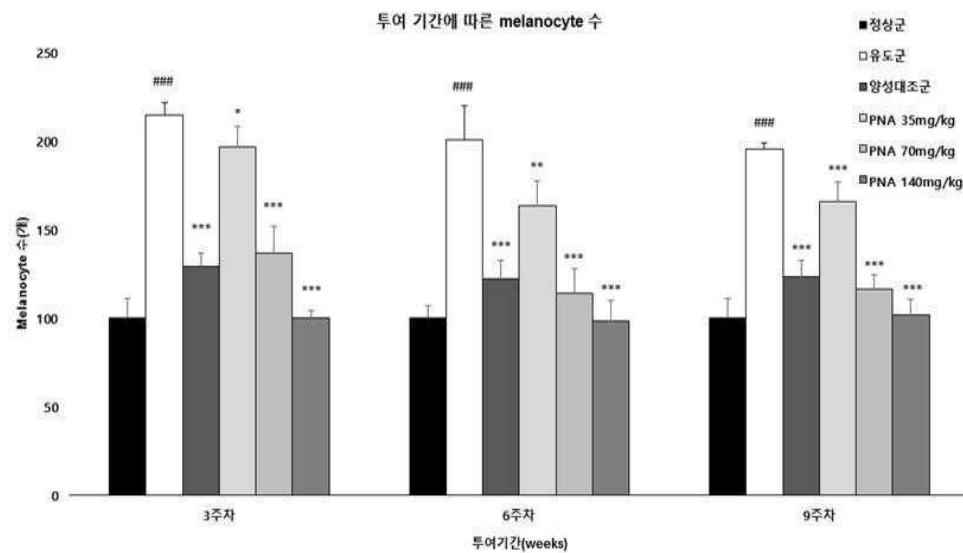
PNA 140mg/kg



도면12



도면13



도면14

