

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2020년 3월 26일 (26.03.2020)



(10) 국제공개번호
WO 2020/060277 A1

(51) 국제특허분류:

A61K 36/899 (2006.01) A61K 36/11 (2006.01)
A61P 1/02 (2006.01) A61K 36/888 (2006.01)
A61P 19/10 (2006.01) A61P 19/08 (2006.01)
A23L 33/105 (2016.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2019/012220

(22) 국제출원일: 2019년 9월 20일 (20.09.2019)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:

10-2018-0114242 2018년 9월 21일 (21.09.2018) KR
10-2018-0114243 2018년 9월 21일 (21.09.2018) KR
10-2018-0114244 2018년 9월 21일 (21.09.2018) KR

(71) 출원인: 원광대학교산학협력단 (WONKWANG UNIVERSITY CENTER FOR INDUSTRY-ACADEMY) [KR/KR]; 54538 전라북도 익산시 익산대로 460, Jeollabuk-do (KR). 한국화학연구원 (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF CHEMICAL TECHNOLOGY) [KR/KR]; 34114 대전시 유성구 가정로 141, Daejeon (KR).

(72) 발명자: 배지명 (BAE, Ji Myung); 34955 대전시 중구 계백로 1716번길 39 202동 1102호, Daejeon (KR). 김성환 (KIM, Seong Hwan); 34120 대전시 유성구 가정로 65, 101동 801호, Daejeon (KR).

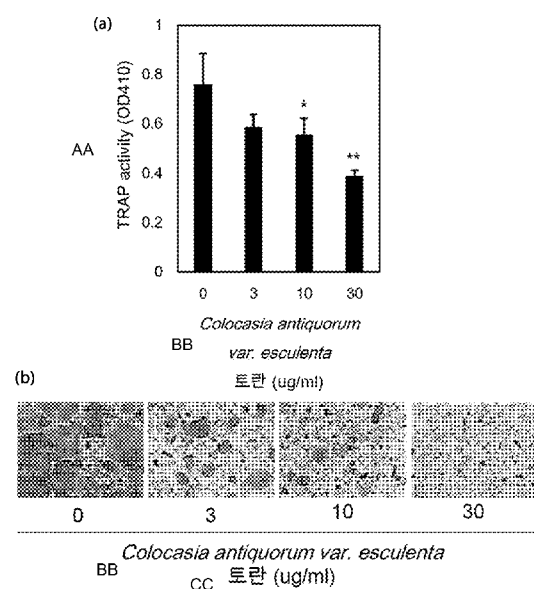
(74) 대리인: 손민 (SON, Min); 05836 서울시 송파구 법원로 135 대명타워 6층 한얼국제특허사무소, Seoul (KR).

(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, JO, 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.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 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,

(54) Title: COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING ORAL DISEASES OR BONE DISEASES

(54) 발명의 명칭: 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료용 조성물



(57) Abstract: The present invention pertains to: a pharmaceutical composition, a food composition, a quasi-drug composition, and a dental composition, which are for preventing or treating oral diseases or bone diseases and contain, as an active ingredient, any one or more selected from the group consisting of a taro extract, a long-tail spleenwort extract, and a slender false brome extract. Specifically, the taro extract, the long-tail spleenwort extract, and the slender false brome extract in the present invention significantly inhibit the activity of the oral disease-causing bacteria, *Porphyromonas gingivalis*, and significantly inhibit the formation or differentiation of osteoclasts, while having low toxicity due to being derived from natural products, and can thus be useful for preventing or treating oral diseases or bone diseases.

(57) 요약서: 본 발명은 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 식품 조성물, 의약품 조성물 및 치과용 조성물에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명의 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물은 천연물에서 유래되어 독성이 적으면서도, 구강질환 유발 균인 포르피로모나스 진지발리스(*Porphyromonas gingivalis*)의 활성을 현저하게 억제하고 파골세포의 형성 또는 분화를 현저하게 억제함으로써 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

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 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료용 조성물 기술분야

- [1] 본 발명은 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 식품 조성물, 의약품 조성물 및 치과용 조성물에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 파골세포는 마우스의 RAW264.7 단핵구 세포가 RANKL(receptor activator of nuclear factor κ B(RANK) ligand)에 의해 다핵 파골세포(multinucleated osteoclasts)로 분화된다. 이러한 분화 과정은 세포 외부의 RANKL이 RANK에 결합하여 미토겐 활성화 단백질 키나아제(mitogen-activated protein kinase, MAPK)의 활성을 촉진하고, 이는 NF- κ B라는 전사 인자가 핵 내로 들어가서 파골세포 분화와 관련된 TRAP(tartrate-resistant acid phosphatase), MMP-9(matrix metalloproteinase-9), c-Src 티로신 키나아제(tyrosine kinase) 등의 발현을 증가시킴으로써 가능한데, 이러한 과정으로 형성된 다핵 파골세포는 무기질골(mineralized bone)을 흡수하는 역할을 한다. 또한, RANKL이 RANK에 결합하면 TRAF6(tumor necrosis factor receptor-associated factor 6)의 활성을 촉진시켜 MARK, 또는 NF- κ B, AP-1, NFATc1과 같은 전사인자들의 활성을 촉진시킨다(LEE ZH, KIM HH. Signal transduction by receptor activator of nuclear factor kappa B in osteoclasts. Biochem Biophys Res Commun. 2003 May 30, 305, 211-4). 따라서 RANKL에 의해 활성화되는 신호전달 경로의 차단은 파골세포의 분화와 관련된 질병의 치료에 있어서 치료적 접근 방법 중의 하나로 인지되고 있다.
- [4] 파골세포는 골 내에서 조골세포와의 불균형으로 인하여 비정상적인 골조직의 파괴 및 흡수를 유발하고 이로 인하여, 뼈의 질량 및 골밀도가 감소하는 골다공증(osteoporosis), 뼈에서 석회가 탈실되는 골연화증(osteomalacia), 정상적인 골조직이 섬유성 결합조직과 미성숙한 골소주로 대체되는 섬유이형성증(fibrous dysplasia), 치조골이 소실되는 치주질환(periodontal disease), 관절의 파괴 및 변형을 초래하는 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis) 등의 원인이 되는 것으로 알려져 있다. 이와 같이, 파골세포의 분화와 치주질환 및 골질환은 밀접한 관련성이 존재한다.
- [5] 포르피로모나스 진지발리스의 경우 리포다당류(lipopolysaccharide; LPS)나

섬모를 매개로 하여 숙주매개 염증반응에 의해 조골세포의 분화를 억제하여 골생성을 감소시키는 것으로 알려져 있으며(Wilson, 1998; Kadono 등, 1999), 상기 LPS는 세균외막에 존재하는 병원성 성분으로 염증성 사이토카인이나 에이코사노이드 합성의 잘 알려진 자극인자로서, 조골세포를 자극하여 골용해성 인자, 즉 IL-1, IL-6, PGE2, 산화질소를 분비하여 치주조직을 파괴하는 주요 구조물로 알려져 있다. 또한, LPS 자체에 의해 직접적으로 파골세포의 분화가 촉진되고 활성화되어 이는 궁극적으로 골 소실을 유도할 수 있다 (Koide 등, 2000; Taubman 등, 2005; Islam 등, 2007; Hou 등, 2013; Teramachi 등 2017). 이와 같이 치주질환 유발 균주의 조골세포 또는 파골세포의 분화에 대한 영향력을 연구한 자료가 다수 존재하며, 또한 골관절염과 치주질환을 함께 치료할 수 있는 치료제가 존재하는 등 치주질환과 골질환 사이에는 밀접한 연관성이 존재한다.

- [6] 현재 치주질환을 포함하는 구강질환을 치료하기 위해 항생제 및 생구이나린(Sanguinarine), 리스테린(Listerine), 퍼록사이드(Peroxide), 클로르헥시딘(Chlorhexidine) 등과 같은 항균제제가 치료제로 널리 이용되고 있다. 그러나 항생제는 우리 몸에 대한 전신적인 부작용과 함께 구강내 내성균의 출현 및 균교대증(superinfection)을 유발할 수 있기 때문에 장기적인 사용이 곤란하여 단지 치료제로만 이용될 수 있는 단점이 있다. 또한 생구이나린은 구강 내에서 세균에 대한 효과가 불분명하고 치주질환에 대한 치료 효과가 더욱 불분명할 뿐만 아니라 가격도 비싼 단점이 있고, 리스테린은 알코올이 주성분으로 약간의 정균 작용이 있으나 실제 구강 내에서는 일시적인 효과를 나타낼 뿐, 장기간 사용 시 조직에 대해 위해 작용도 나타날 수 있는 단점이 있다. 아울러, 최근 미백 효과를 위해 첨가되고 있는 퍼록사이드는 세균에 대한 독성이 있으나 동시에 인체 조직에도 독성을 나타내어 안전성에 문제가 있을 뿐 아니라 간혹 세균에서 퍼록사이드에 대한 내성균이 출현하기도 한다. 또한 클로르헥시딘은 치태 형성 억제와 더불어 치주질환 예방 및 치료제로써 현재까지 알려진 제제 중에서 가장 우수한 것으로 알려져 있으나, 조직에 대한 자극, 조직의 착색 및 변성을 유발하고, 특히 자극적인 맛이 강하고 냄새가 심한 부작용을 나타내는 문제점이 있을 뿐 아니라, 균교대증이 유발될 수 있고, 발암성이 있어 임신부의 경우 사용이 제한되는 등 치료나 특히 예방의 목적으로 장기간 사용할 수 없는 단점이 있다. 따라서 상기와 같은 부작용에 대한 우려가 없으면서 구강질환을 야기하는 균주의 성장을 효과적으로 억제할 수 있는 의약품 개발이 요구되고 있는 실정이다.

- [7] 현재 골다공증과 같은 파골세포에 의한 골 손상을 치료하기 위해 비스포스포네이트(bisphosphonate) 계열의 치료제가 널리 이용되고 있다. 그러나 최근 비스포스포네이트 계열의 약제들을 복용하는 환자들에게서 턱뼈 괴사(osteonecrosis), 중증 심방 세동, 뼈 또는 관절의 무력화, 근골격의 통증 등 다양한 부작용이 발생하는 사례가 해마다 증가하고 있다(Br J Cancer

98:1736-1740(2008)). 따라서, 기존의 비스포스포네이트 계열의 약제들의 단점을 보완하고, 독성이 적으며 파골세포의 형성 및 분화를 효과적으로 억제할 수 있는 의약품 개발이 요구되고 있는 실정이다.

[8]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[9] 본 발명의 하나의 목적은 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[10] 본 발명의 다른 하나의 목적은 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[11] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 개선용 의약품 조성물을 제공하는 것이다.

[12] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환의 예방 또는 개선용 치과용 조성물을 제공하는 것이다.

[13]

과제 해결 수단

[14] 이러한 배경하에, 본 발명자들은 천연물로부터 유래하여 독성이 적으며, 구강질환 유발균의 활성을 억제하고 파골세포의 형성 또는 분화를 억제할 수 있는 화합물을 찾고자 예의 노력 연구한 결과, 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상이 구강질환 유발균인 포르피로모나스 진지발리스(*Porphyromonas gingivalis*)의 활성을 현저하게 억제하고 파골세포의 형성 또는 분화를 현저하게 억제함으로써 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있음을 확인하여, 본 발명을 완성하였다.

[15]

발명의 효과

[16] 본 발명의 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 조성물은 천연물에서 유래되어 독성이 적으면서도, 구강질환 유발균인 포르피로모나스 진지발리스(*Porphyromonas gingivalis*)의 활성을 현저하게 억제하고 파골세포의 형성 또는 분화를 현저하게 억제함으로써 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[17]

도면의 간단한 설명

- [18] 도 1a는 토란 추출물의 처리 농도에 따른 세포 독성(세포 생존률)을 나타낸 그래프이다.
- [19] 도 1b는 꼬리고사리 추출물의 처리 농도에 따른 세포 독성(세포 생존률)을 나타낸 그래프이다.
- [20] 도 1c는 숲개밀 추출물의 처리 농도에 따른 세포 독성(세포 생존률)을 나타낸 그래프이다.
- [21] 도 2a는 토란 추출물의 처리 농도에 따른 산화질소의 생성 억제 효과를 나타낸 그래프이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여 수행하였고, 대조군에 대비한 LPS 처리군의 유의성 #는 $p < 0.001$ 이다. LPS 처리군에 대비한 토란 추출물 처리군의 유의성 *는 $p < 0.05$, **는 $p < 0.01$, ***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [22] 도 2b는 꼬리고사리 추출물의 처리 농도에 따른 산화질소의 생성 억제 효과를 나타낸 그래프이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여 수행하였고, 대조군에 대비한 LPS 처리군의 유의성 #는 $p < 0.001$ 이다. LPS 처리군에 대비한 꼬리고사리 추출물 처리군의 유의성 *는 $p < 0.05$, **는 $p < 0.01$, ***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [23] 도 2c는 숲개밀 추출물의 처리 농도에 따른 산화질소의 생성 억제 효과를 나타낸 그래프이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여 수행하였고, 대조군에 대비한 LPS 처리군의 유의성 #는 $p < 0.001$ 이다. LPS 처리군에 대비한 숲개밀 추출물 처리군의 유의성 *는 $p < 0.05$, **는 $p < 0.01$, ***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [24] 도 3a는 토란 추출물의 처리 농도에 따른 염증성 사이토카인, (a) IL-6 및 (b) TNF- α 생성 억제 효과를 나타낸 그래프이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여 수행하였고, 대조군에 대비한 LPS 처리군의 유의성 #는 $p < 0.001$ 이다. LPS 처리군에 대비한 토란 추출물 처리군의 유의성 *는 $p < 0.05$, **는 $p < 0.01$, ***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [25] 도 3b는 꼬리고사리 추출물의 처리 농도에 따른 염증성 사이토카인, (a) IL-6 및 (b) TNF- α 생성 억제 효과를 나타낸 그래프이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여 수행하였고, 대조군에 대비한 LPS 처리군의 유의성 #는 $p < 0.001$ 이다. LPS 처리군에 대비한 꼬리고사리 추출물 처리군의 유의성 *는 $p < 0.05$, **는 $p < 0.01$, ***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [26] 도 3c는 숲개밀 추출물의 처리 농도에 따른 염증성 사이토카인, (a) IL-6 및 (b) TNF- α 생성 억제 효과를 나타낸 그래프이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여 수행하였고, 대조군에 대비한 LPS 처리군의 유의성 #는 $p < 0.001$ 이다. LPS 처리군에 대비한 숲개밀 추출물 처리군의 유의성 *는 $p < 0.05$, **는 $p < 0.01$, ***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [27] 도 4a는 토란 추출물의 처리 농도에 따른 포르피로모나스 진지발리스의 성장 억제 효과를 나타낸 그래프이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여

- 수행하였고, 대조군에 대비한 유의성 *는 $p < 0.05$, **는 $p < 0.01$, ***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [28] 도 4b는 꼬리고사리 추출물의 처리 농도에 따른 포르피로모나스 진지발리스의 성장 억제 효과를 나타낸 그래프이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여 수행하였고, 대조군에 대비한 유의성 *는 $p < 0.05$, **는 $p < 0.01$, ***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [29] 도 4c는 숲개밀 추출물의 처리 농도에 따른 포르피로모나스 진지발리스의 성장 억제 효과를 나타낸 그래프이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여 수행하였고, 대조군에 대비한 유의성 *는 $p < 0.05$, **는 $p < 0.01$, ***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [30] 도 5a는 대조군, 불소바니쉬 처리군, 불소바니쉬+토란 처리군에 따른 포르피로모나스 진지발리스의 성장 억제 지속 효과를 나타낸 그래프이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여 수행하였고, 대조군에 대비한 불소바니쉬 처리군의 유의성 ####는 $p < 0.001$ 이다. 불소바니쉬 처리군에 대비한 불소바니쉬+토란 처리군의 유의성***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [31] 도 5b는 대조군, 불소바니쉬 처리군, 불소바니쉬+꼬리고사리 처리군에 따른 포르피로모나스 진지발리스의 성장 억제 지속 효과를 나타낸 그래프이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여 수행하였고, 대조군에 대비한 불소바니쉬 처리군의 유의성 ####는 $p < 0.001$ 이다. 불소바니쉬 처리군에 대비한 불소바니쉬+꼬리고사리 처리군의 유의성***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [32] 도 5c는 대조군, 불소바니쉬 처리군, 불소바니쉬+숲개밀 처리군에 따른 포르피로모나스 진지발리스의 성장 억제 지속 효과를 나타낸 그래프이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여 수행하였고, 대조군에 대비한 불소바니쉬 처리군의 유의성 ####는 $p < 0.001$ 이다. 불소바니쉬 처리군에 대비한 불소바니쉬+숲개밀 처리군의 유의성***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [33] 도 6은 토란 추출물의 처리 농도에 따른 (a) TRAP 양성 세포 수를 나타낸 그래프, 및 (b) 분화된 파골세포의 TRAP 염색 결과를 나타낸 사진이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여 수행하였고, 대조군에 대비한 유의성 *는 $p < 0.05$, **는 $p < 0.01$, ***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [34] 도 7은 꼬리고사리 추출물의 처리 농도에 따른 (a) TRAP 양성 세포 수를 나타낸 그래프, 및 (b) 분화된 파골세포의 TRAP 염색 결과를 나타낸 사진이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여 수행하였고, 대조군에 대비한 유의성 *는 $p < 0.05$, **는 $p < 0.01$, ***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [35] 도 8은 숲개밀 추출물의 처리 농도에 따른 (a) TRAP 양성 세포 수를 나타낸 그래프, 및 (b) 분화된 파골세포의 TRAP 염색 결과를 나타낸 사진이다. 유의성 검정은 student t-test를 통하여 수행하였고, 대조군에 대비한 유의성 *는 $p < 0.05$, **는 $p < 0.01$, ***는 $p < 0.001$ 을 나타낸다.
- [36]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [37] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 하나의 양태는 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [38] 구체적으로, 본 발명의 구강질환 또는 골질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 토란, 꼬리고사리 또는 숲개밀의 추출물; 또는 이들의 분획물을 포함할 수 있다.
- [39]
- [40] 본 발명의 용어, "토란(*Colocasia Antiquorum* Var. *Exculenta*)"은 천남성과에 속하는 다년생 초본으로 토련이라고도 한다. 잎, 줄기 등은 식용이 가능하며 일반적으로 땅속부분의 알줄기를 식용한다. 본초명은 우두라고 하며, 허한 비장의 기운을 더하고 해독작용을 하며, 각종 피부병, 화상 등에 응용되었다고 전해진다.
- [41] 토란은 지방간, 당뇨 합병증, 우울증 치료 효과 등의 다양한 약리학적 특성을 가지고 있다고 알려져 있으나, 이의 구강질환 또는 골질환의 예방, 치료 또는 개선 효과는 아직 알려진 바 없다.
- [42] 본 발명의 용어, "꼬리고사리(*Asplenium incisum*)"는 꼬리고사리과에 속하는 여러해살이 풀로 짧은 뿌리줄기가 있는 소형 양치식물이다. 전초가 해독 등과 같은 다양한 효능을 갖고 있어 생즙을 약용으로 사용한다. 피부질환 원인균에 대한 항균 활성, 기관지 확장 활성 등이 보고되었다.
- [43] 꼬리고사리는 간염, 이명, 만성망간중독 치료 효과 등의 다양한 약리학적 특성을 가지고 있다고 알려져 있으나, 이의 구강질환 또는 골질환의 예방, 치료 또는 개선 효과는 아직 알려진 바 없다.
- [44] 본 발명의 용어, "숲개밀(*Brachypodium sylvaticum*)"은 벼과(*Gramineae*), 숲개밀속(*Brachypodium*)에 속하는 다년초 식물로, 국내 남부지방, 특히 해안 도서지방에 서식하고 있다.
- [45] 숲개밀은 가축의 사료로 활용되고 있음이 알려져 있으나, 다양한 약리학적 특성이나, 이의 구강질환 또는 골질환의 예방, 치료 또는 개선 효과는 아직 알려진 바 없다.
- [46]
- [47] 본 발명자들은 천연에 존재하는 천연자원들로부터 우수한 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료 효과를 나타내는 물질에 대한 다양한 연구 수행 결과, 토란 추출물, 꼬리고사리추출물 또는 숲개밀추출물이 구강질환 유발 균인 포르피로모나스 진지발리스(*Porphyromonas gingivalis*)의 활성을 억제하고 파골세포의 형성 또는 분화를 억제함으로써 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다. 이를 통해 토란 추출물,

꼬리고사리추출물 또는 숲개밀추출물이 구강질환 또는 골질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 사용될 수 있음을 알 수 있었다. 상기 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료 효과를 가지는 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 조성물은 지금까지 알려진 바 없으며, 본 발명자에 의해 최초로 개발되었다는 점에서 그 의의가 매우 크다고 할 수 있다.

[48]

[49] 본 발명의 목적상 토란, 꼬리고사리 또는 숲개밀은 그 종류에 제한되지 않으며, 재배한 것을 사용하거나 시중에서 구입한 것을 사용하거나 그 출처에 제한 없이 사용할 수 있다.

[50]

[51] 본 발명에서 용어, "추출물"은 상기 토란, 꼬리고사리 또는 숲개밀에서 선택되는 어느 하나 이상을 추출 처리한 것을 의미하는 것이고, 이에 제한되지는 않으나, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 회석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 이들의 조정제물, 정제물 또는 이들의 혼합물 등, 추출액 자체 및 추출액을 이용하여 형성 가능한 모든 제형의 추출물을 포함할 수 있다. 또한 상기 토란, 꼬리고사리 또는 숲개밀의 천연, 잡종, 변종식물의 다양한 기관, 예를 들어 뿌리, 근경, 지상부, 줄기, 잎, 열매 등으로부터 추출될 수 있다.

[52]

본 발명의 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물은 당업계에 공지된 일반적인 추출방법, 분리 및 정제방법을 이용하여 제조할 수 있다. 상기 추출방법으로는, 이에 제한되지는 않으나, 침지추출, 열수추출, 냉침추출, 환류냉각추출 또는 초음파추출 등의 방법을 이용할 수 있다.

[53]

상기 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물은 물, 탄소수 1(C_1) 내지 탄소수 4(C_4)의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니며, 추출하는 유기용매에 따라 유효성분의 추출 정도와 손실 정도가 차이가 날 수 있으므로, 적절한 유기용매를 선택하여 사용할 수 있다. 구체적으로 물, 유기용매 또는 이들의 혼합용매를 사용하여 추출할 수 있다. 보다 구체적으로 에탄올을 사용할 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[54]

또한, 상기 용매 추출물은 부유하는 고체 입자를 제거하기 위하여 추출물을 여과시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일 예로, 먼, 나일론 등을 이용하여 입자를 걸러내거나 한외여과, 냉동여과법, 원심분리법 등을 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[55]

추출액의 농축에는 감압농축, 역삼투압 농축 등의 방법이 사용될 수 있다.

[56]

농축 후 건조단계는 동결건조, 진공건조, 열풍건조, 분무건조, 감압건조, 포말건조, 고주파건조 또는 적외선건조 등이 방법을 사용할 수 있다. 경우에 따라, 최종 건조된 추출물을 분쇄하는 공정을 추가로 포함할 수 있다.

[57]

본 발명에서 용어, "분획물"은 여러 다양한 구성성분들을 포함하는

혼합물로부터 특정 성분 또는 특정 성분 그룹을 분리하기 위하여 분획을 수행하여 얻어진 결과물을 의미한다.

- [58] 본 발명에서 상기 분획물을 얻는 분획 방법은 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료 효과를 나타낼 수 있는 한 특별히 이에 제한되지 않으나, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 수행될 수 있다. 예를 들어, 다양한 용매를 처리하여 수행하는 용매 분획법, 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 통과시켜 수행하는 한외여과 분획법, 다양한 크로마토그래피(크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)를 수행하는 크로마토그래피 분획법, 및 이의 조합 등이 될 수 있다.
- [59] 본 발명에서 상기 분획물을 얻는 데에 사용되는 분획 용매의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있다. 상기 분획 용매의 비제한적인 예로는 물, 증류수, 알코올 등의 극성용매; 헥산, 에틸 아세테이트, 클로로포름, 디클로로메탄 등의 비극성용매 등을 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상 혼합하여 사용될 수 있다. 상기 분획 용매 중 알코올을 사용하는 경우에는 바람직하게는 탄소수 1(C_1) 내지 탄소수 4(C_4)의 알코올을 사용할 수 있다.
- [60] 또한, 상기 추출물 또는 분획물은 추출 후 건조 분말 형태로 제조되어 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [61]
- [62] 본 발명에 있어서, "구강질환"이란 구강영역에서 발생하는 여러 가지 질환을 말하며, 상기 구강영역은 앞쪽 입술부터 뒤쪽 구협에서 인두와 연결되는 입 안의 공간을 의미한다. 본 발명에서 상기 구강질환은 구강에 발생하는 질환이라면 그 병증에 관계없이 모두 포함하는 개념이며, 상기 구강질환의 비제한적인 예로는 치아 우식증, 치주질환(치주염 또는 치은염), 치통, 시린이, 구취 등을 들 수 있다.
- [63]
- [64] 본 발명의 용어, "치주질환"은 흔히 풍치라고도 하는데, 병의 정도에 따라 치은염(gingivitis)과 치주염(periodontitis)으로 나뉜다. 비교적 가볍고 회복이 빠른 형태의 구강질환으로 잇몸 즉, 연조직에만 국한된 형태를 치은염이라고 하고, 이러한 염증이 치은(gingiva)과 치조골(alveolar bone) 주변까지 진행된 경우를 치주염이라고 한다.
- [65] 치은(잇몸)과 치아 사이에는 V자 모양의 틈이 있는데, 이 치은 열구(gingival sulcus)의 치은 아래 부분을 박테리아가 공격하여 치주인대와 인접조직을 손상시키는 것이 치주질환이다. 염증이 진행되어 더 많은 조직이 손상되면서 홈이 치주낭(periodontal pocket)으로 발전하게 되며, 치주염이 심할수록 치주낭의 깊이가 깊어지게 된다. 치주낭이 깊어지면서 치주인대에 염증이 생기게 되고, 포르피로모나스 진지발리스에 의해 분비되는 리포다당류(lipopolysaccharide; LPS)에 의해 파골세포 분화가 촉진되어 치조골 소실이 일어나게 되는 것이 치주질환이다.

[66]

[67] 본 발명에서 용어, "구취"는 구강 및 인접기관으로부터 유래되는 냄새로 구취의 85 ~ 90%가 구강에서 유래하며, 특히, 혀의 뒷쪽에서 유래하고 있다. 구취의 주요 성분은 휘발성 황화합물인데, 휘발성 황화합물의 전체량 중 90%가 시스테인으로부터 만들어지는 황화수소(hydrogen sulfide)와 메티오닌으로부터 만들어지는 메틸머캡탄(methyl mercaptan) 및 디메틸설파이드(dimethyl sulfide)이다. 이러한 성분들은 주로 혐기성 세균이 분비하는 단백질 효소에 의해서 생성되며, 혀의 뒷쪽이 가장 중요한 서식지가 된다. 이 부위는 타액에 의해 세정작용이 잘 되지 않고, 많은 작은 함몰이 있어 세균이 지속적으로 살아가는 장소가 된다. 혐기성 세균에 의한 휘발성 황화합물 생성이 구취의 원인으로 가장 중요하지만, 그 외 치아 우식증, 치주염, 구강 건조증 등과 같은 구강질환에 의해서도 발생한다. 구취를 발생시키는데 많은 종류의 혐기성 세균이 관여하며, 구취 발생 원인균의 비제한적인 예로 많은 종류와 많은 양의 효소를 분비하는 포르피로모나스 진지발리스(*Porphyromonas gingivalis*)를 들 수 있다.

[68]

[69] 본 발명에서 용어, "포르피로모나스 진지발리스(*Porphyromonas gingivalis* 또는 *P.gingivalis*)"는 구강질환을 일으키는 몇 가지 대표적인 원인균 중 하나이다. 상기 포르피로모나스 진지발리스는 박테로이드 유연균의 일종으로 그람 음성균이고, 혐기성균이다. 상기 포르피로모나스 진지발리스는 치주질환이 발생한 구강 내에서 발생되며, 그 외에도 위장관 상부, 호흡기 및 결장에서도 발견된다. 그에 따라, 포르피로모나스 진지발리스에 대한 항균 활성을 통해 구강질환을 예방, 개선 또는 치료할 수 있다.

[70]

[71] 본 발명의 일 실시예에서는 포르피로모나스 진지발리스에 본 발명의 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물을 투여한 결과, 농도 의존적으로 포르피로모나스 진지발리스에 대한 항균 활성을 나타냄을 확인하였으며(도 4a,4b,4c), 본 발명의 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물이 항균 지속 효과도 나타냄을 확인하였다(도 5a,5b,5c). 이를 통해, 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물이 포르피로모나스 진지발리스에 대한 항균 활성 및 항균 지속 활성을 통한 구강질환의 예방 또는 치료에 효과적임을 확인할 수 있었다.

[72]

[73] 본 발명에서 용어, "골질환"은 조골세포와 파골세포의 생성과 분화 등의 균형이 상실되어 나타나는, 골손실 또는 골밀도 감소에 의해 유도되는 모든 질환을 포함하는 것을 의미한다. 구체적으로는 골다공증(osteoporosis), 골연화증(osteomalacia), 골감소증(osteopenia), 골위축(bone atrophy), 골관절염(osteoarthritis), 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis),

치주질환(periodontal disease), 골용해(osteolysis), 섬유이형성증(fibrous dysplasia), 파제트병(Paget's disease), 골형성부전증(osteogenesis imperfect), 고칼슘혈증(hypercalcemia) 등을 포함할 수 있으며, 보다 구체적으로는 파골세포의 분화에 의한 골다공증(osteoporosis)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[74]

[75] 본 발명에서 용어, "파골세포(osteoclast)"는 대식 세포 전구체(macrophage precursor)로부터 파생되는 세포로서 파골세포 전구 세포들은 대식 세포 콜로니 자극 인자(macrophage colony stimulating factor, M-CSF), NF- κ B의 수용체 활성화 인자 리간드(RANKL) 등에 의해 파골세포로 분화되며 융합을 통해 다핵 파골세포(multinucleated osteoclast)를 형성하는 것을 의미한다. 파골세포는 α v β 3 인테그린(integrin) 등을 통해 골(bone)에 결합하며 산성 환경을 조성하는 한편 각종 콜라게네이즈(collagenase) 및 프로테아제(protease)를 분비하여 골 흡수(bone resorption)를 일으킨다. 파골세포는 완전히 분화된 세포로 증식하지 않으며 약 2주간의 수명이 다하면 세포 사멸(apoptosis)을 일으킨다.

[76]

[77] 본 발명의 일 실시예에서는 파골세포로 분화한 마우스 단핵구 세포에 본 발명의 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물을 투여한 후, 파골세포 분화 표지 인자인 TRAP(tartrate-resistant acid phosphate) 염색을 실시한 결과, 농도 의존적으로 TRAP 활성을 현저하게 저해시킴으로써, 파골세포 형성을 억제함을 확인하였다(도 6, 도 7, 도 8). 이를 통해, 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물이 파골세포 형성 억제 활성을 통한 골질환, 예컨대 골다공증 또는 구강질환의 예방 또는 치료에 효과적임을 확인할 수 있었다.

[78]

[79] 본 발명에서 용어, "예방"은 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 골질환의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미하며, "치료"는 상기 약학적 조성물의 투여에 의해 골질환 의심 및 발병 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[80]

[81] 본 발명의 약학적 조성물은, 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있는데, 상기 담체는 비자연적 담체(non-naturally occurring carrier)를 포함할 수 있다. 구체적으로, 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 폴리카프로락톤(polycaprolactone),

폴리락틱엑시드(Poly Lactic Acid), 폴리-L-락틱엑시드(poly-L-lactic acid), 광물유 등을 들 수 있다.

- [82] 상기 약학 조성물은 구강질환 또는 골질환을 예방하고 치료하기 위한 통상의 방법에 따라 환제, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 특히 본 발명의 약학적 조성물이 구강질환 예방 또는 치료용일 경우, 구체적으로 구강용 스프레이, 구강용 연고제 또는 구강용 바니쉬의 제형을 가질 수 있다. 담체의 형태로는 각종 부정형의 담체, 마이크로 스피어, 나노파이버, 로진 등을 포함할 수 있다.
- [83] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [84] 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 상기 추출물과 이의 분획물들에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다.
- [85] 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당 되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [86] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제 등이 포함될 수 있다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.
- [87] 본 발명의 약학적 조성물에 포함된 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상 또는 이들의 분획물의 함량은 특별히 이에 제한되지 않으나, 최종 조성물 총 중량을 기준으로 0.01 내지 100 중량%, 0.01 내지 50 중량%, 보다 구체적으로 0.01 내지 20 중량%의 함량으로 포함될 수 있다.
- [88]
- [89] 본 발명은 상기 약학적 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.
- [90] 본 발명의 약학적 조성물은 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료 효과를 나타내므로, 이를 개체에 투여하는 단계를 포함하는 본 발명의 방법은 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료에 유용하게 활용될 수 있다.
- [91]
- [92] 본 발명에서 용어, "개체"는 구강질환 또는 골질환이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 모든 동물, 예를 들어, 원숭이, 개, 고양이, 토끼, 모르모트,

랫트, 마우스, 소, 양, 돼지, 염소, 조류, 어류 등을 의미하고, 구체적인 예로, 인간을 포함한 포유동물일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[93]

[94] 본 발명에서 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 개체에게 상기 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있다. 구체적으로, 본 발명의 약학적 조성물은 경구, 정맥 내, 피하, 피 내, 비강 내, 복강 내, 근육 내, 경피 등으로 투여될 수 있고, 국부적 치료를 위해 필요하다면 병변 내 투여를 포함하는 적합한 방법 및 경로에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관 내 주사에 의해 투여될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[95]

[96] 본 발명의 치료방법으로 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물을 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다.

[97]

본 발명에서 용어, "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료 또는 예방에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료 또는 예방하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 질환의 중증도, 약물의 활성, 환자의 연령, 체중, 건강, 성별, 환자의 약물에 대한 민감도, 사용된 본 발명 조성물의 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율 치료기간, 사용된 본 발명의 조성물과 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 단독으로 투여하거나 공지된 의약품 치료제와 병용하여 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하다.

[98]

또한, 상기 약학적 조성물의 투여량은 사용목적, 질환의 중독도, 환자의 연령, 체중, 성별, 기왕력, 또는 유효성분으로서 사용되는 물질의 종류 등을 고려하여 당업자가 결정할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 약학적 조성물은 성인 1인당 1mg/kg 내지 200mg/kg, 구체적으로 1mg/kg 내지 100mg/kg, 더욱 구체적으로 20 내지 40mg/kg로 투여할 수 있고, 본 발명의 조성물의 투여빈도는 특별히 이에 제한되지 않으나, 1일 1회 투여하거나 또는 용량을 분할하여 수회 투여할 수 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[99]

[100] 또 다른 하나의 양태로서, 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[101]

구체적으로, 본 발명의 구강질환 또는 골질환 예방 또는 개선용 식품 조성물은 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상 또는 이들의 분획물을 포함할 수 있다.

[102]

이때, 상기 "토란", "꼬리고사리", "숲개밀", "추출물", "분획물", "구강질환",

"골질환", 및 "예방"에 대한 설명은 전술한 바와 같다.

[103]

[104] 본 발명에서 용어, "개선"은 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상 또는 이들의 분획물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 이용하여 예방 또는 치료되는 구강질환 또는 골질환의 의심 및 발병 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위를 말한다.

[105]

[106] 본 발명에서 용어, "식품"은 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료, 비타민 복합제, 건강기능식품 등의 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함하며, 본 발명의 토란 추출물 또는 이의 분획물을 포함할 수 있는 한, 이에 제한되지 않는다. 또한 환제, 분말, 과립, 침제, 정제, 캡슐 또는 액제 등의 형태를 포함할 수 있다.

[107]

본 발명에서 용어, "건강기능식품"은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, '기능성'은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 한편, 건강식품은 일반식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, 건강보조식품은 건강 보조 목적의 식품을 의미하는데, 경우에 따라, 건강기능식품, 건강식품, 건강보조식품의 용어는 혼용될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품은 당 업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조 가능하다. 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고 휴대성이 뛰어나다.

[108]

상기 식품 조성물 제조 시에는 당 업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있으며, 그 종류는 특별히 제한되지 않는다. 예를 들어, 통상의 식품과 같이 여러 가지 생약 추출물, 식품학적으로 허용 가능한 식품보조첨가제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 포함할 수 있으며, 이에 제한되지 않는다.

[109]

[110] 또 다른 하나의 양태로서, 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 개선용 의약품 조성물을 제공한다.

[111]

구체적으로, 본 발명의 구강질환 또는 골질환 예방 또는 개선용 의약품 조성물은 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상 또는 이들의 분획물을 포함할 수 있다.

[112]

이때, 상기 "토란", "꼬리고사리", "숲개밀", "추출물", "분획물", "구강질환",

"굴절환", "예방" 및 "개선"에 대한 설명은 전술한 바와 같다.

[113]

[114] 본 발명에서 용어, "의약외품"은 사람이나 동물의 질병을 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 섬유, 고무제품 또는 이와 유사한 것, 인체에 대한 작용이 약하거나 인체에 직접 작용하지 아니하며, 기구 또는 기계가 아닌 것과 이와 유사한 것, 감염형 예방을 위하여 살균, 살충 및 이와 유사한 용도로 사용되는 제제 중 하나에 해당하는 물품으로서, 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용하는 물품 중 기구, 기계 또는 장치가 아닌 것 및 사람이나 동물의 구조와 기능에 약리학적 영향을 줄 목적으로 사용하는 물품 중 기구, 기계 또는 장치가 아닌 것을 제외한 물품을 의미한다. 또한 상기 의약외품은 피부외용제 또는 개인위생용품을 포함할 수 있다.

[115] 상기 피부외용제는 특별히 이에 제한되지 않으나, 구체적으로는 연고제, 로션제, 스프레이제, 패치제, 크림제, 산제, 헤파제, 젤제 또는 젤의 형태로 제조되어 사용될 수 있으며, 상기 개인위생용품에는 특별히 이에 제한되지 않으나, 구체적으로는 비누, 화장품, 물티슈, 휴지, 샴푸, 피부 크림, 얼굴 크림, 치약, 립스틱, 향수, 메이크업, 파운데이션, 볼터치, 마스크라, 아이섀도우, 선스크린 로션, 모발 손질 제품, 에어프레쉬너 젤 또는 세정젤일 수 있다. 또한 본 발명의 의약외품 조성물의 또 다른 예로 소독청결제, 샤워폼, 구강 양치용액, 구강용 스프레이, 물티슈, 세제비누, 핸드워시, 가습기 충전제, 마스크, 연고제 또는 필터충진제가 있다.

[116] 본 발명의 토란 추출물 또는 이의 분획물을 의약외품 첨가물로 사용할 경우, 상기 추출물 또는 분획물을 그대로 첨가하거나 다른 의약외품 또는 의약외품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있으며 유효성분 혼합량은 사용목적에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[117]

[118] 또 다른 하나의 양태로서, 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환의 예방 또는 개선용 치과용 조성물을 제공한다.

[119] 구체적으로, 본 발명의 구강질환 예방 또는 개선용 치과용 조성물은 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상 또는 이들의 분획물을 포함할 수 있다.

[120] 이때, 상기 상기 "토란", "꼬리고사리", "숲개밀", "추출물", "분획물", "구강질환", "예방" 및 "개선"에 대한 설명은 전술한 바와 같다.

[121]

[122] 발명에서 용어, "치과용"은 치아와 그 지지조직 및 구강 내 질병이나 손상을 예방하거나 치료하기 위한 용도를 의미할 수 있다.

[123] 상기 치과용 조성물은 불소바니쉬에 첨가하여 항균성 불소바니쉬와 같은 치과용 제품으로 응용이 가능하며, 구강 양치용액, 치과용 지각과민처리제,

항균성 치과용 접착제, 치과용 충전재, 치과용 수복재, 치과용 근관충전재, 치과용 근관 실러(*sealer*), 소와열구봉쇄재, 치과용 코팅제 및 치과용 시멘트 등과 같은 치과용 재료에 응용되어 사용될 수 있다.

[124] 또한, 상기 치과용 조성물은 구강의 건강을 위하여 사용되는 모든 물품에 사용될 수 있다. 상기 물품의 예로는 치실, 칫솔, 치간칫솔, 전동칫솔, 혀클리너, 구강세정기, 칫솔살균기 등과 같은 구강용품, 교정기, 임플란트 등과 같은 치과용 장치, 또는 치과 진료에 사용되는 모든 치과용 도구 및 기기를 들 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[125] 구체적으로, 상기 물품을 상기 치과용 조성물에 침지시키거나, 상기 치과용 조성물을 상기 물품의 표면에 도포 또는 분무하거나, 상기 치과용 조성물로 상기 물품의 표면을 수회 세척하거나, 상기 치과용 조성물이 스며든 타올 등으로 상기 물품의 표면을 닦는 등의 방법으로 물품에 사용할 수 있으며, 상기 물품과 상기 치과용 조성물이 소정의 시간 동안 접촉할 수 있는 방법이라면 특별히 제한되지 않는다. 또한, 상기 방법을 수행하는 시간도 상기 치과용 조성물이 상기 물품의 표면과 충분히 반응할 수 있는 시간이면 제한되지 않으며, 당업자가 이를 적절하게 선택할 수 있다.

[126]

발명의 실시를 위한 형태

[127] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

[128]

[129] 실시예 1. 각 식물 추출물의 제조

[130] 국내 식물분류학자, 재배전문가, 생약감별전문가의 협력을 통해 국내에서 자생하는 토란, 꼬리고사리 및 숲개밀을 수집하여, 전초를 건조 후 99.9% 메탄올에 넣어 45°C에서 3일 동안 추출하였다. 추출 시 15분의 소니케이션(*sonication*) 후, 2시간 정지과정을 10회/1일 과정을 거쳤다. 이후, 무형광 흡 필터를 이용하여 여과를 하고, 45°C에서 회전 증발기(*rotary evaporator*; N-1000SWD; EYELA)를 활용하여 농축을 하고, 모듈 스핀 40(*module spin 40*; Biotron co.)을 활용하여 24시간 동안 건조하였다. 이후, 추출물은 20 mg/tube 형태로 용매를 제거한 뒤 -4°C 저온실에 보관하였다. 상기 과정은 한국식물추출물은행에서 수행하였고, 20 mg/tube의 시료는 세포 실험에 사용하기 위하여 DMSO로 녹여 50 mg/ml의 농도로 만들었으며, 이를 세포배양배지로 희석하여 사용하였다.

[131]

[132] 실시예 2. 각 추출물의 항염 효과

[133] RAW264.7 세포를 ATCC(Rockville, MD)에서 구입하여, 10% 태아소혈청(*fetal*

bovine serum; FBS, HyClone Logaa, UT), 스트렙토마이신(100 µg/mL), 및 페니실린(100 U/mL)이 첨가된 성장 배지(CM, DMEM)에 37°C, 5% CO₂ 습한 공기에서 배양하였다.

[134] 실시예 2-1. 세포독성 평가

[135] 4X10³ 개의 RAW264.7 세포를 GM의 96-웰플레이트에 도말하였다. 24시간 배양 후, 세포에 리포다당류(lipopolysaccharide; LPS, 1 µg/mL) 존재 하에 1일 동안 실시예 1에서 제조한 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물을 각각 농도별(0, 3, 10 및 30 µg/mL)로 처리하였다. 세포 생존률(cell viability, %)은 제조사의 매뉴얼에 따라 Cell Counting Kit-8(CCK-8, Dojindo, Rockville, ML, USA)를 이용하여 3회 측정하였다. 흡광도는 마이크로플레이트 판독기(VERSA max™, Molecular Devices, Sunnyvale, CA)로 측정하였으며, 표준 곡선을 이용하여 세포 수로 전환하였다.

[136] 그 결과, 도 1a, 1b, 1c에 나타난 바와 같이, 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물을 각각 처리하는 경우, 모든 농도에서 100%에 가까운 세포 생존률을 나타내어 세포독성이 나타나지 않음을 확인하였다. 이러한 결과는 추후에 확인할 항균 효과 또는 파골세포 생성 억제 효과가 세포 상에서의 독성 효과 때문이 아니라, 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물에 의한 항균 효과 또는 파골세포 생성 억제 효과임을 보여주는 것이다.

[137]

[138] 실시예 2-2. 산화질소 생성 억제 활성

[139] 세포는 60 mm 디쉬에 1X10⁶ 세포를 도말한 후, 2시간 동안 실시예 1에서 제조한 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물 각각을 농도별(0, 3, 10 및 30 µg/mL)로 처리하였다. 이후, LPS(1 µg/mL)를 첨가하였다. 24시간 배양 후, 산화질소(Nitric oxide; NO) 수준을 그리스 반응(Griess reaction)을 이용하여 분석하였다. 세포 배양 배지(100µL)를 그리스 시약과 혼합하고, 10분 동안 실온에서 배양하였다. 흡광도는 540 nm에서 마이크로플레이트 판독기로 측정하였다. 모든 실험에서 블랭크(blank)로서, 새로운 배양 배지를 사용하였다. 아질산염(nitrite; NO₂)은 아질산 나트륨(sodium nitrite; NaNO₂)을 이용한 표준 곡선으로 측정하였다.

[140] 그 결과, 도 2a, 2b, 2c에 나타난 바와 같이, LPS만 첨가한 경우 대조군에 비해 산화질소 수준이 현저히 증가하나, 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물 처리 후 LPS를 첨가한 경우 LPS만 첨가한 경우 보다 산화질소 수준이 현저히 감소하는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물이 세포 내 염증 매개 물질인 산화질소 생성을 억제하여 항염 효과를 나타냄을 보여주는 것이다.

[141]

[142] 실시예 3. 각 추출물의 항균 효과

[143] 실시예 3-1. 각 추출물의 항균 활성

- [144] 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물의 구강 항균 활성을 평가하기 위해, 포르피로모나스 진지발리스(*Prophyromonas gingivalis*; *P. gingivalis*, ATCC33277) 균을 사용하였다. 헤민(hemin)과 메나디온(menadione)을 포함한 BHI broth를 배지로 사용하여 포르피로모나스 진지발리스 균을 활성화시키고, 37°C CO₂ 인큐베이터에서 72시간 동안 배양 후, 96-웰플레이트의 각 웰(well)에 균을 90 µL씩 넣고, 실시예 1에서 제조한 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물을 각각 10 µL을 넣었다. 대조군은 세균만 100 µL를 넣은 것을 사용하였으며, 각각의 웰에 BHI broth를 100 µL를 추가로 넣어 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물의 최종 농도가 125 µg/mL, 250 µg/mL 및 500 µg/mL가 되도록 하였다. 이후, 시료를 72시간 동안 배양하였다. 흡광도는 600 nm에서 ELISA 키트(Spectra MAX250, Molecular Devices Co.)로 측정하여 균의 성장이 억제된 농도를 결정하였다.
- [145] 그 결과, 도 4a, 4b, 4c에 나타난 바와 같이, 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물을 처리하는 경우 농도 의존적으로 포르피로모나스 진지발리스의 성장을 억제하는 것을 확인하였다. 구체적으로, 125 µg/ml 및 250 µg/ml의 농도의 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물을 각각 처리하는 경우 포르피로모나스 진지발리스의 성장이 약 20% 억제되고, 500 µg/ml의 각 추출물을 처리하는 경우 포르피로모나스 진지발리스의 성장이 약 40% 억제됨을 확인하였다.
- [146]
- [147] 실시예 3-2. 각 추출물의 항균 지속 활성
- [148] 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물의 포르피로모나스 진지발리스에 대한 항균 지속 활성의 평가는 다음과 같이 수행하였다. 직경 5 mm 디스크 형태의 필름(OHP 필름)을 멸균포장지에 담아 EO 가스로 소독한 후, 표 1과 같이 시료를 준비하여, 필름 표면에 골고루 편평하게 같은 두께로, 전면적에 딱 차도록 도포하였다. 이때, 시료 당 3개의 필름을 만들어 직경 35 mm의 페트리디쉬에 넣고, 클린벤치에서 UV를 켜 둔 상태에서 30분간 건조하였다. 시료가 도포된 필름이 있는 페트리디쉬에 멸균된 증류수 2000 µL씩을 넣은 후, 시료가 물에 용출될 수 있도록 도포된 면이 아래를 향하도록 하였다. 3일 동안 37°C 진탕항온조(shaking water bath)에서 80 rpm으로 보관 후, 페트리디쉬에서 필름을 꺼내 한천확산법(agar diffusion test)을 이용하여 항균력을 평가하였다.

[149] [표1]

시료 1(대조군)	필름자체
시료 2	불소바니쉬 KR610
시료 3	토란 50 mg/ml(50 μ L) + 불소바니쉬 KR610 (50 μ L)
시료 4	꼬리고사리 50 mg/ml(50 μ L) + 불소바니쉬 KR610 (50 μ L)
시료 5	숯개밀 50 mg/ml(50 μ L) + 불소바니쉬 KR610 (50 μ L)

[150] 한천확산법은 다음과 같이 수행하였다. 포르피로모나스 진지발리스를 BHI broth 배지에 72시간 동안 37°C CO₂ 인큐베이터에서 배양한 후, base agar가 깔린 한천배지 위에 접종하였다.

[151] Top agar가 굳고 난 후, 3일 동안 37°C 진탕항온조에서 80 rpm으로 보관된 필름을 한천배지 위에 올려 놓았다. 이 때, 시료가 도포된 필름의 면이 아래로 향해 한천배지와 접합될 수 있도록 하였다. 이후, 72시간 동안 37°C, CO₂ 인큐베이터에서 배양 후 OHP 필름 주변에 형성된 포르피로모나스 진지발리스 억제대의 직경을 직각 방향으로 측정하여 그 평균을 억제존(inhibition zone, mm)으로 판단하였다.

[152] 그 결과, 도 5a, 5b, 5c에 나타난 바와 같이, 불소바니쉬 처리군의 경우 대조군에 비해 현저한 항균 지속 효과를 나타내며, 불소바니쉬+토란 처리군, 불소바니쉬+꼬리고사리 처리군 및 불소바니쉬+숯개밀 처리군의 경우 모두 불소바니쉬 처리군에 비해서 현저한 항균 지속 효과를 나타내는 것을 확인하였다.

[153]

[154] 상기 결과를 통해 본 발명의 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숯개밀 추출물은 구강질환을 야기하는 균주에 대하여 우수한 항균 효과 및 항균 지속 효과를 나타내므로 상기 추출물 중 어느 하나 이상을 포함하는 조성물은 구강질환의 치료에 효과적으로 사용될 수 있음을 알 수 있었다.

[155] 대조군에 비하여 불소바니쉬 처리군의 경우 약 60% 증가된 것을 보였으며, 불소바니쉬 및 각 추출물의 조합의 처리군의 경우 대조군에 비해서는 약 150% 증가되었으며, 불소바니쉬 처리군에 비해서는 약 50% 증가됨을 확인하였다.

[156]

[157] 실시예 4. 각 추출물의 파골세포 분화 억제 효과

[158] 5주령의 수컷 ICR 마우스를 구입하여 대퇴골(femur) 및 경골(tibia)을 취하고 항생제(100 units/mL 페니실린 및 100 μ g/mL 스트렙토마이신)를 포함하는 α -MEM으로 세척하여 골수세포(bone marrow cell)를 획득하였다. 상기 골수세포를 10% 소태아혈청(fetal bovine serum; FBS) 및 M-CSF(macrophage colony-stimulating factor; 10 ng/mL)를 포함하는 α -MEM에 1일 동안 배양하였다. 비부착(non-adherent) 골수세포를 페트리접시에 분주하고 M-CSF(30 ng/mL) 존재

하에 3일 동안 배양하였다. 비부착세포를 세척한 후 부착세포(adherent cell)를 골수-유래 마크로파지(bone marrow-derived macrophage; BMM)로 사용하였다. BMM 세포를 파골세포로 분화시키기 위해서, RANKL(10 ng/mL) 및 M-CSF(30 ng/mL) 존재 하에 BMM 세포(1×10^4 cells/well)를 96-웰플레이트에 도포하고, 실시예 1에서 제조한 각 추출물을 농도별(0, 3, 10 및 30 $\mu\text{g/mL}$)로 처리하여, 최종 농도가 125, 250 및 500 $\mu\text{g/mL}$ 가 되도록 하여 4일 동안 배양하였다. 음성대조군은 RANKL만을 처리한 세포를 사용하였다. 4일 동안 배양 후, 다핵성 파골세포(multinucleated osteoclast)를 3.7% 포르말린으로 10분간 고정하고 0.1% 트리톤 X-100으로 10분간 처리하여 투과성을 갖도록 하였다. TRAP 용액(Sigma Aldrich, USA)을 처리하여 파골세포를 붉게 염색하였다. 이후, 파골세포의 분화 마커인 TRAP(tartrate-resistant acid phosphatase) 활성도를 측정하고자, TRAP 완충용액(100 mM sodium citrate pH 5.0, 50 mM sodium tartrate, 3 mM p-nitrophenyl phosphate)을 100 μL 를 넣고 37°C에서 5분간 반응시킨 후, 100 μL 의 0.1 N NaOH 넣어 반응을 종결시켰다. 이후, 405 nm에서의 흡광도를 측정하여, TRAP 활성도를 측정하였다.

[159] 그 결과, 도 6, 도 7 및 도 8에 나타낸 바와 같이, RANKL에 의하여 유도된 파골세포에 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물을 각각 처리하는 경우 농도 의존적으로 TRAP 활성도를 억제하면서 붉게 염색된 파골세포 수를 현저하게 감소시키는 것을 확인하였다.

[160] 구체적으로, 토란 추출물을 30 $\mu\text{g/mL}$ 처리시 약 50%의 TRAP 활성도 억제율을 보였고, 꼬리고사리 추출물을 30 $\mu\text{g/mL}$ 처리하는 경우 약 25%의 TRAP 활성도 억제율을 보였으며, 숲개밀 추출물 30 $\mu\text{g/mL}$ 처리시 약 14%의 TRAP 활성도 억제율을 보임을 확인할 수 있었다.

[161]

[162] 이상, 상기 결과를 통해 본 발명의 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 또는 숲개밀 추출물은 우수한 파골세포를 분화 생성 억제 효과를 나타내므로 상기 추출물 중 어느 하나 이상을 포함하는 조성물은 구강질환 및 골질환의 치료에 효과적으로 사용될 수 있음을 알 수 있었다.

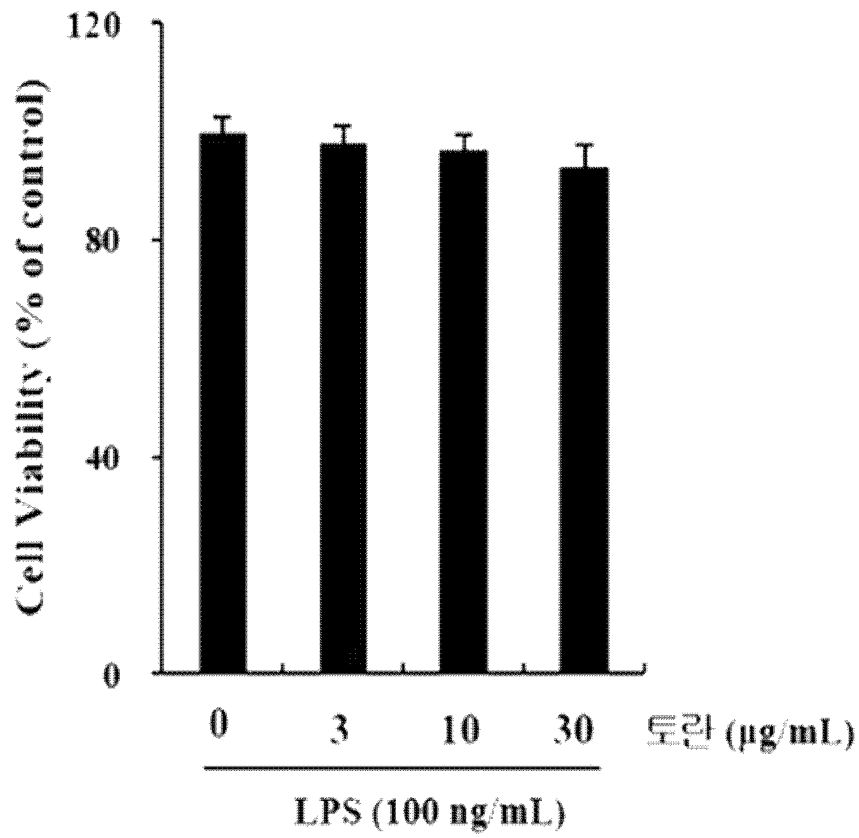
[163]

[164] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

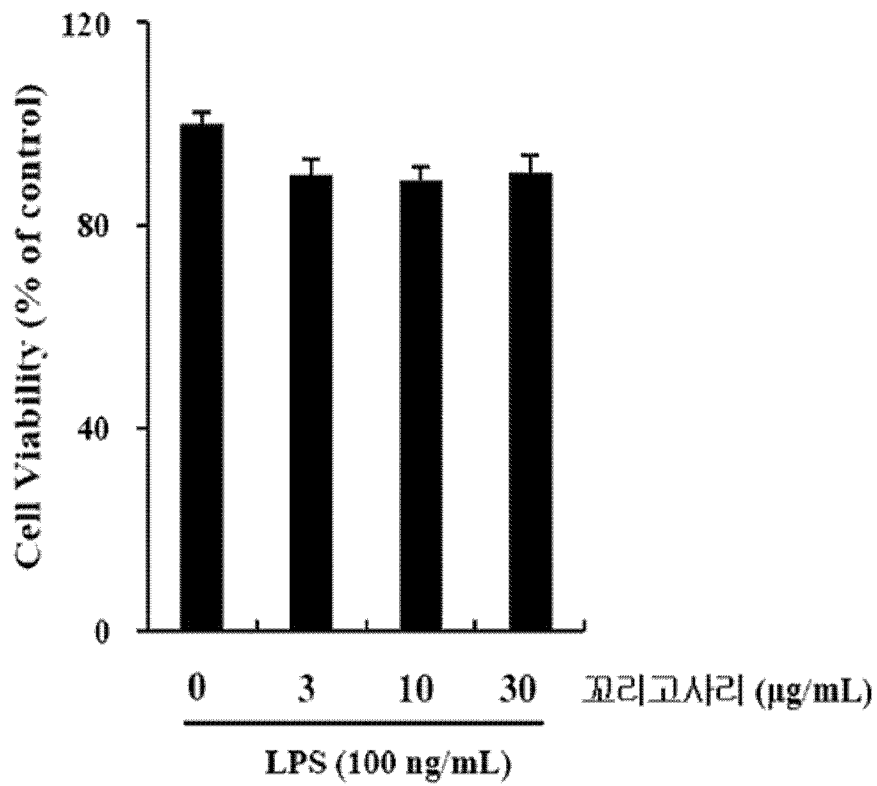
청구범위

- [청구항 1] 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 구성되는 군으로부터 선택되는 용매로 추출되는 것인, 약학적 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 구강질환은 치주질환 또는 구취인 것인, 약학적 조성물.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 치주질환은 치주염, 치은염 또는 이들의 조합인 것인, 약학적 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 골질환은 골다공증(osteoporosis), 골연화증(osteomalacia), 골감소증(osteopenia), 골위축(bone atrophy), 골관절염(osteoarthritis), 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis), 치주질환(periodontal disease), 골용해(osteolysis), 섬유이형성증(fibrous dysplasia), 파제트병(Paget's disease), 골형성부전증(osteogenesis imperfect), 고칼슘혈증(hypercalcemia)으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것인, 약학적 조성물.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 골질환은 골다공증(osteoporosis)인 것인, 약학적 조성물.
- [청구항 7] 제1항에 있어서, 상기 구강질환의 예방 또는 치료는 포르피로모나스 진지발리스(*Porphyromonas gingivalis*) 활성의 억제를 통해 달성되는 것인, 약학적 조성물.
- [청구항 8] 제1항에 있어서, 상기 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 치료는 파골세포 분화의 억제를 통해 달성되는 것인, 약학적 조성물.
- [청구항 9] 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.
- [청구항 10] 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환 또는 골질환의 예방 또는 개선용 의약품 조성물.
- [청구항 11] 토란 추출물, 꼬리고사리 추출물 및 숲개밀 추출물로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 구강질환의 예방 또는 개선용 치과용 조성물.

[도 1a]

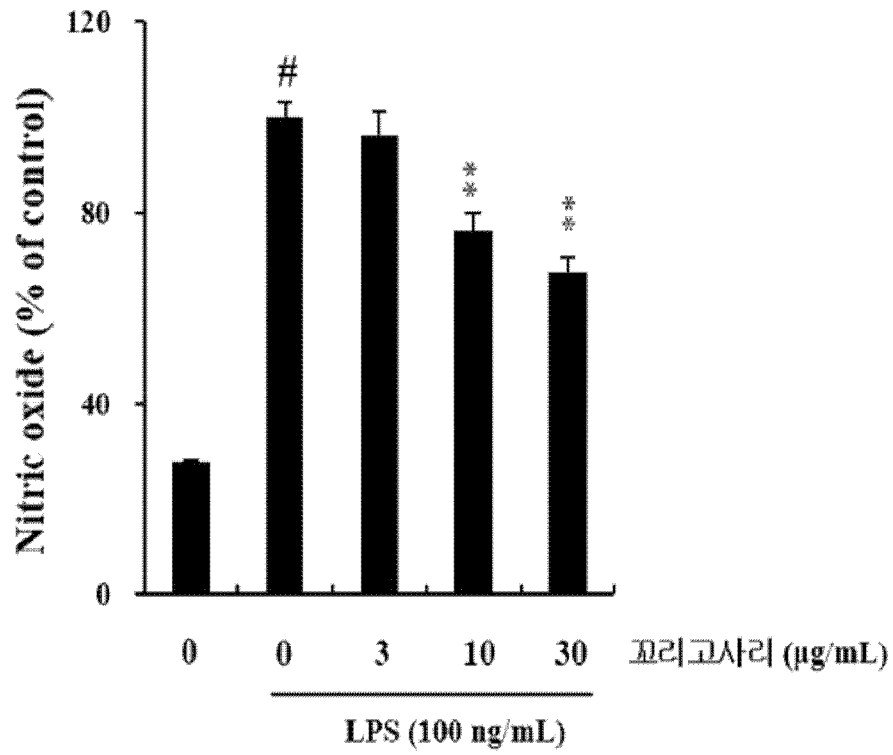


[도 1b]

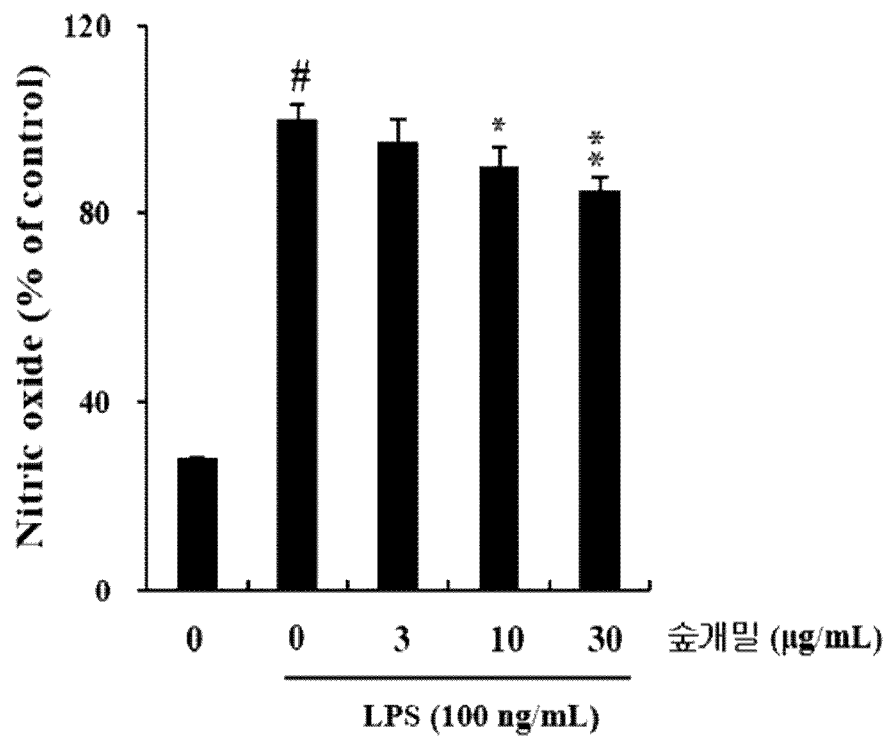


Toran (µg/mL)	Nitric oxide (% of control)	Significance
0	~28	
0	~100	#
3	~98	
10	~95	
30	~82	**

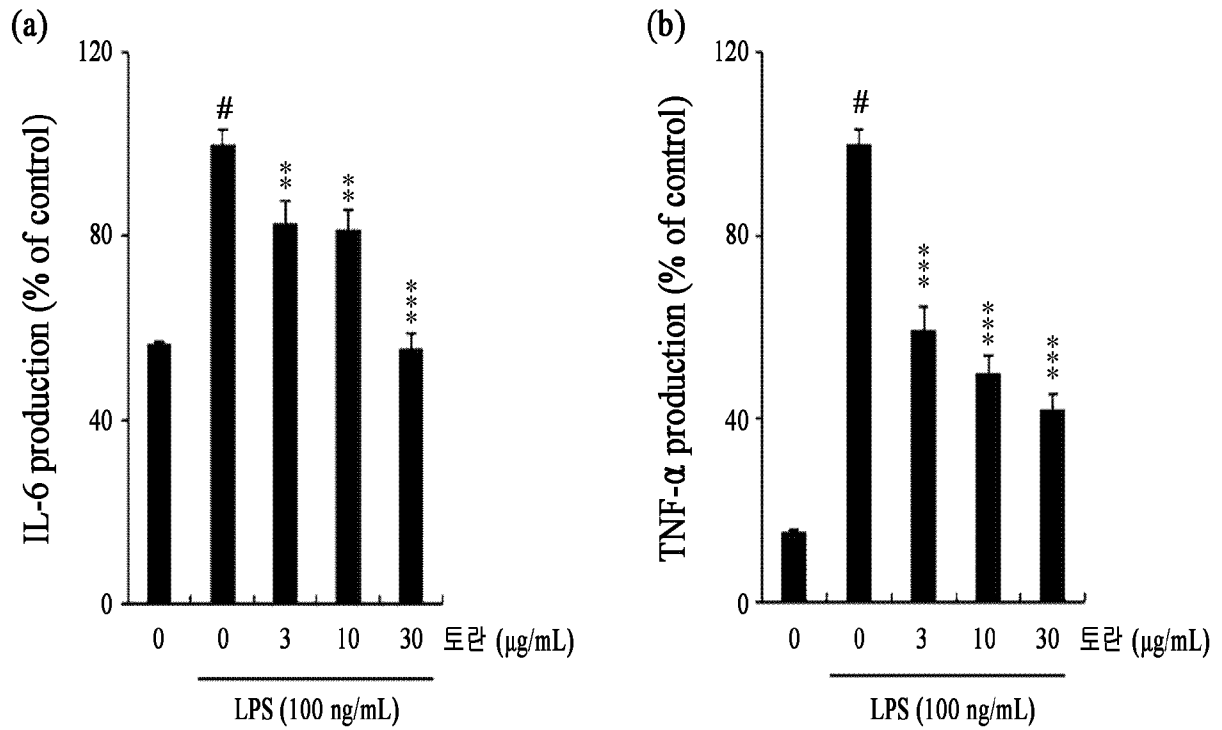
[도2b]



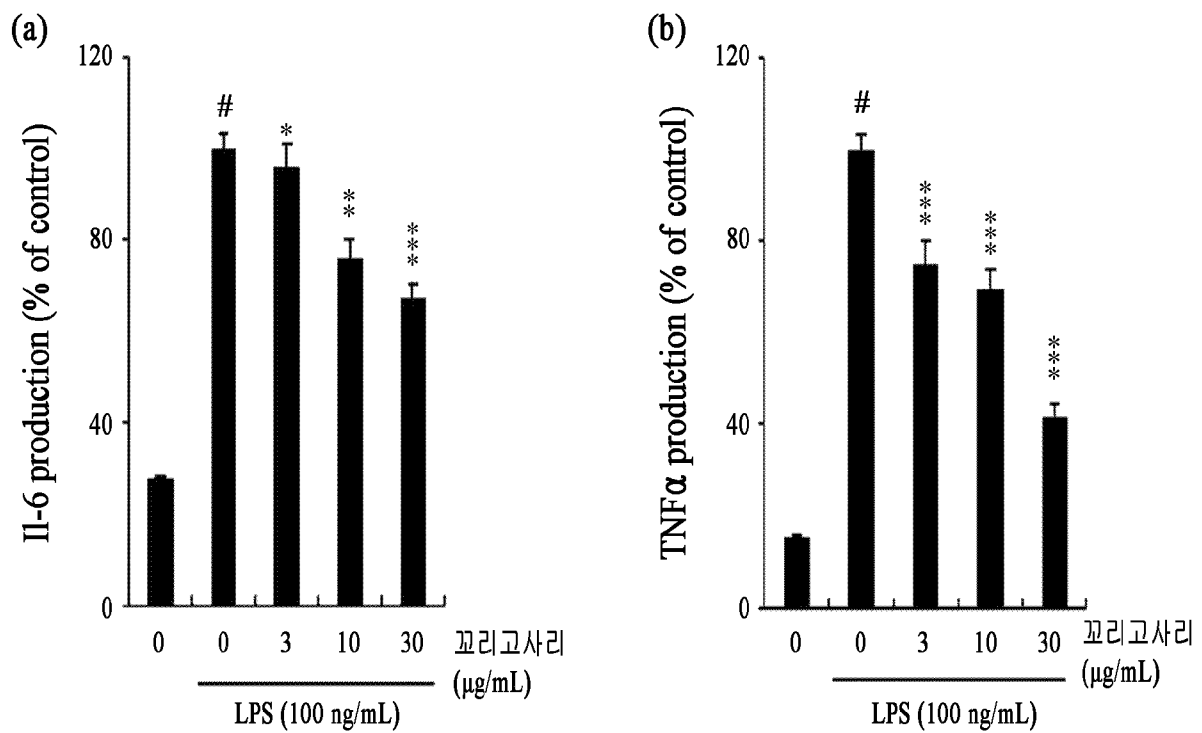
[도2c]



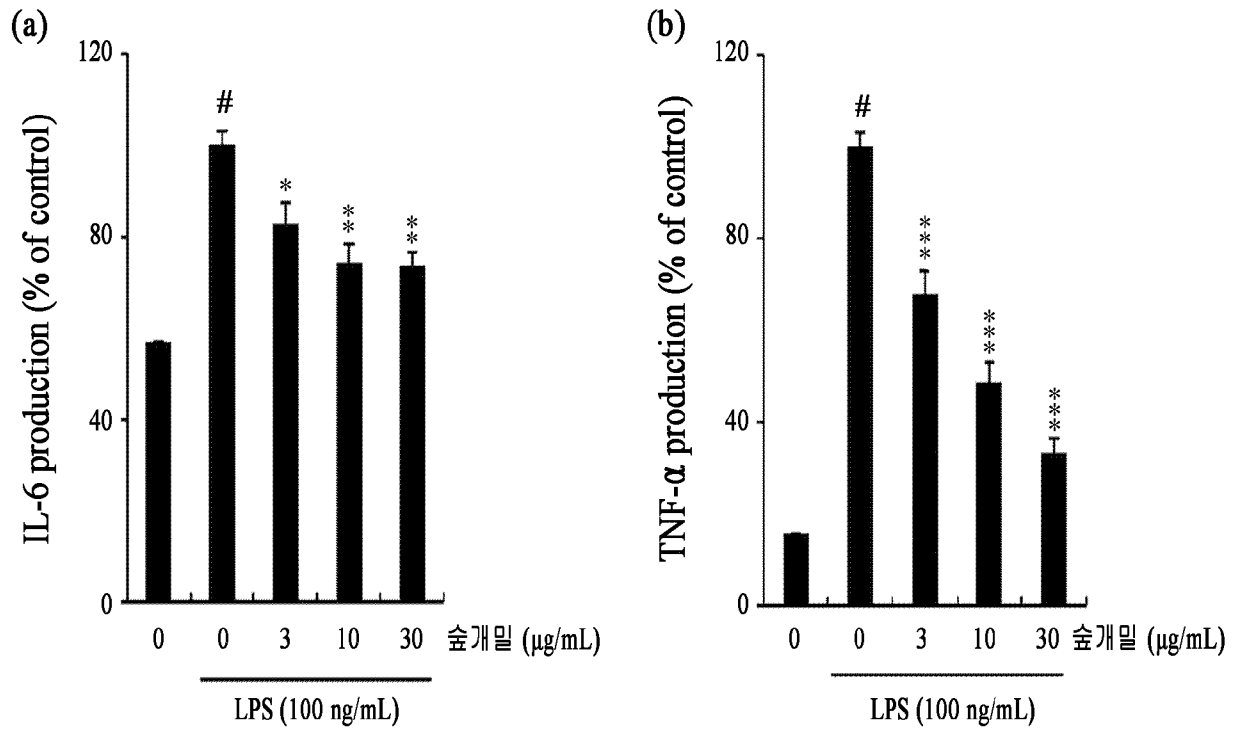
[도3a]



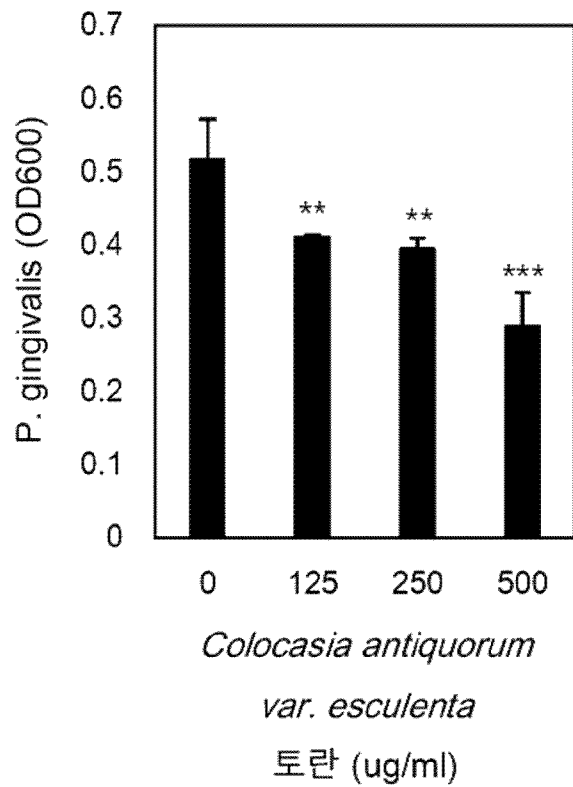
[도3b]



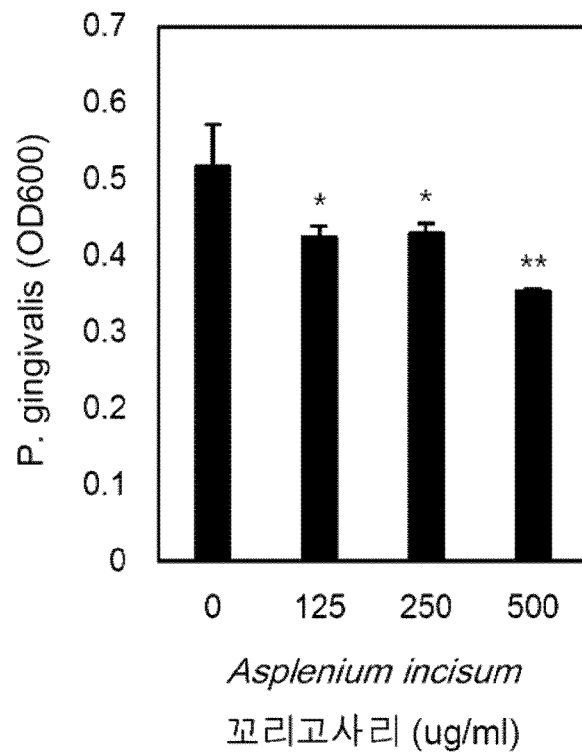
[도3c]



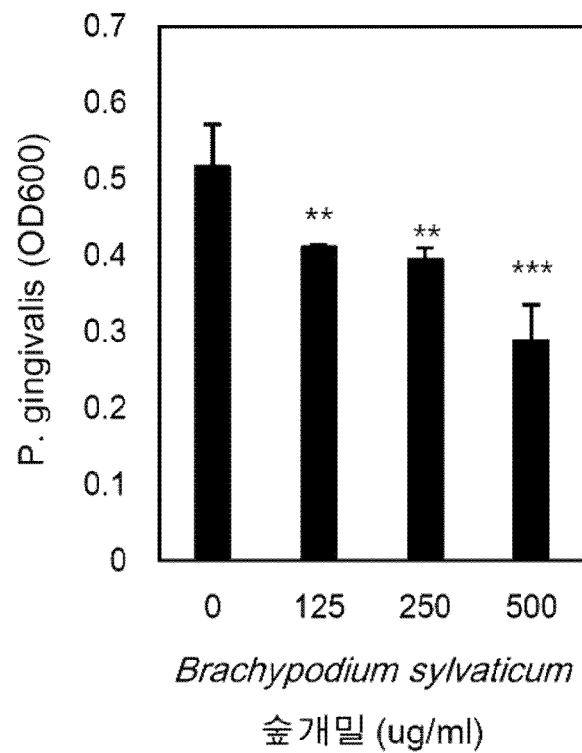
[도4a]



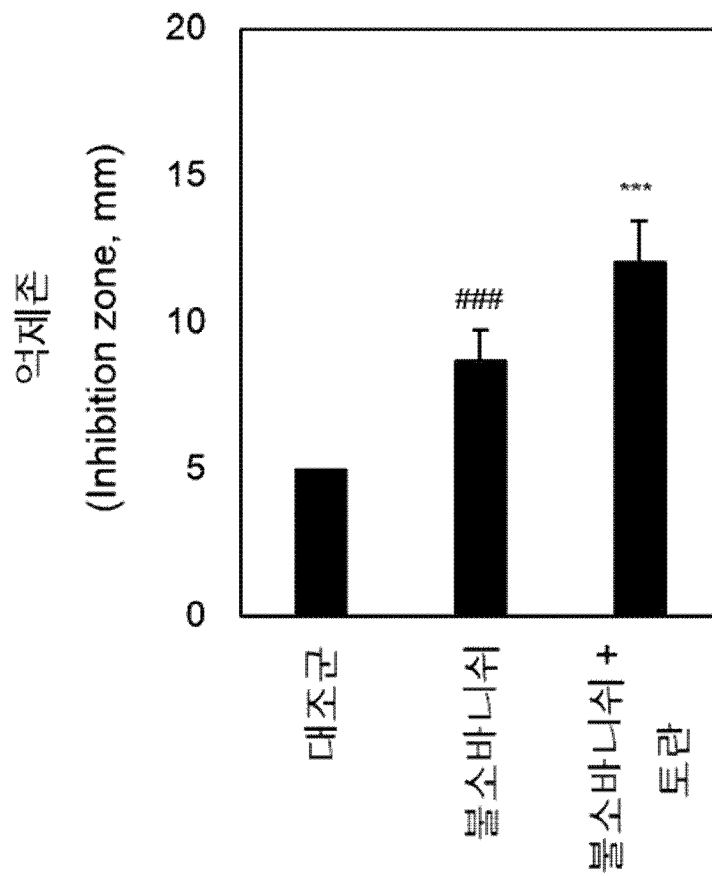
[도4b]



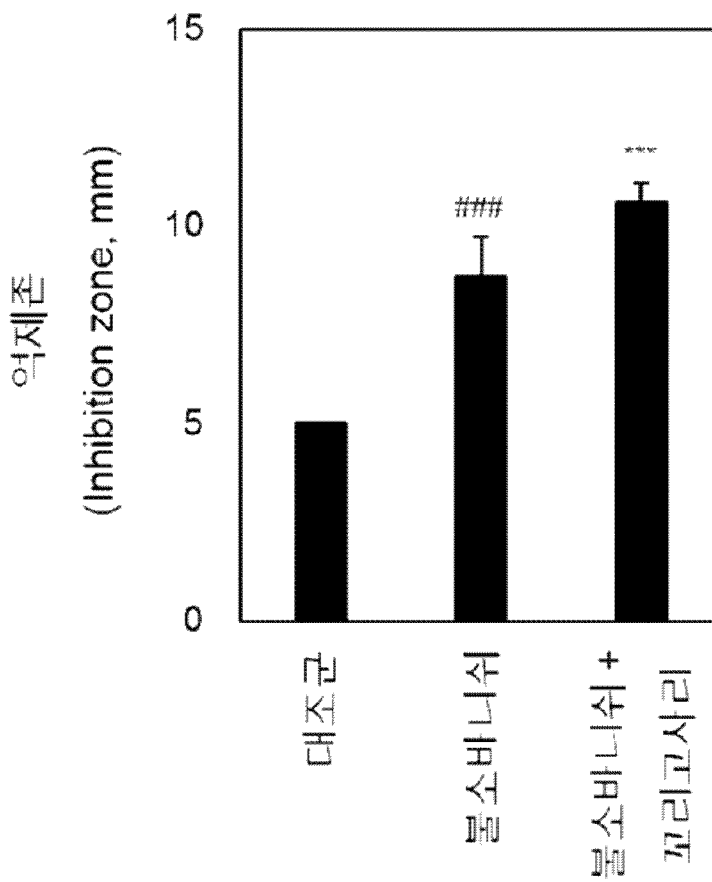
[도4c]



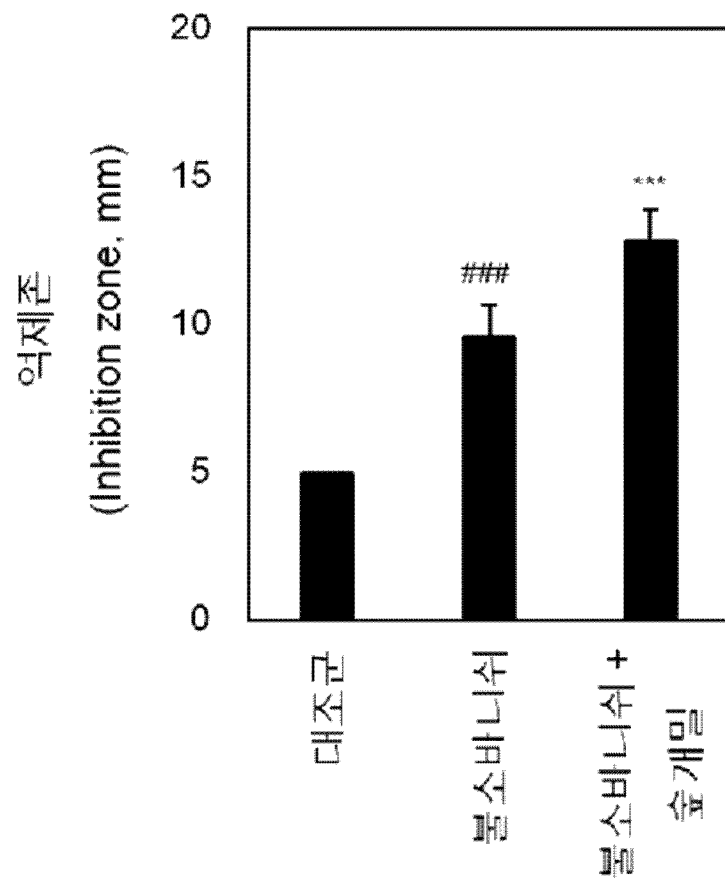
[도5a]



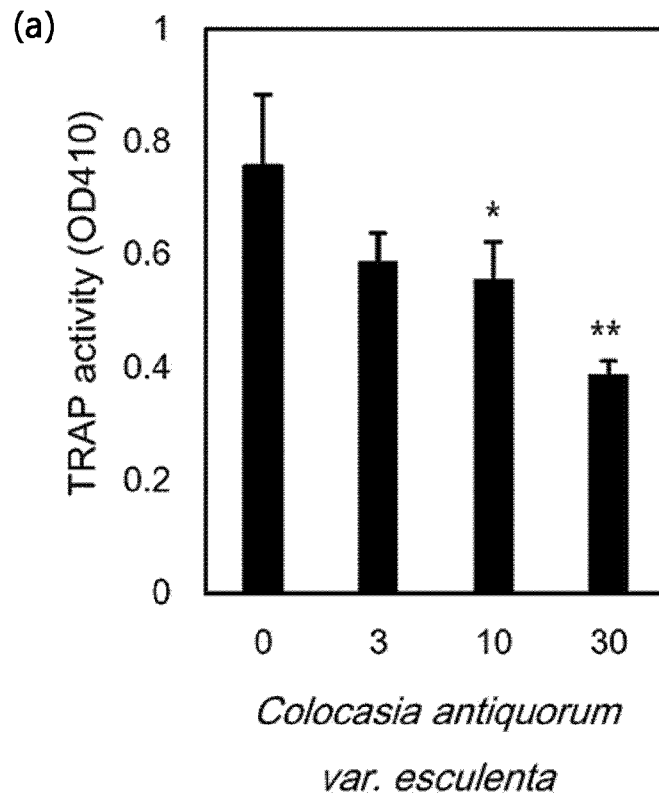
[도5b]



[도5c]

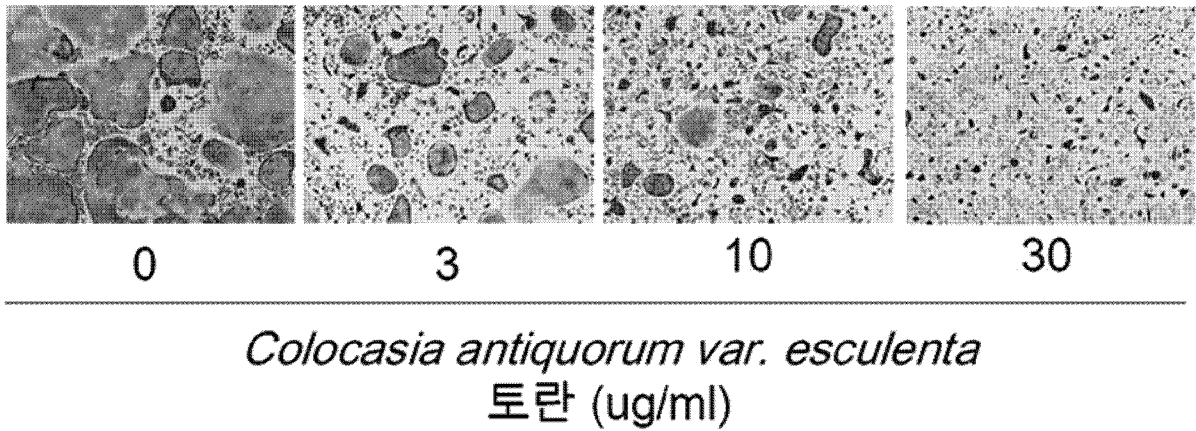


[도6]

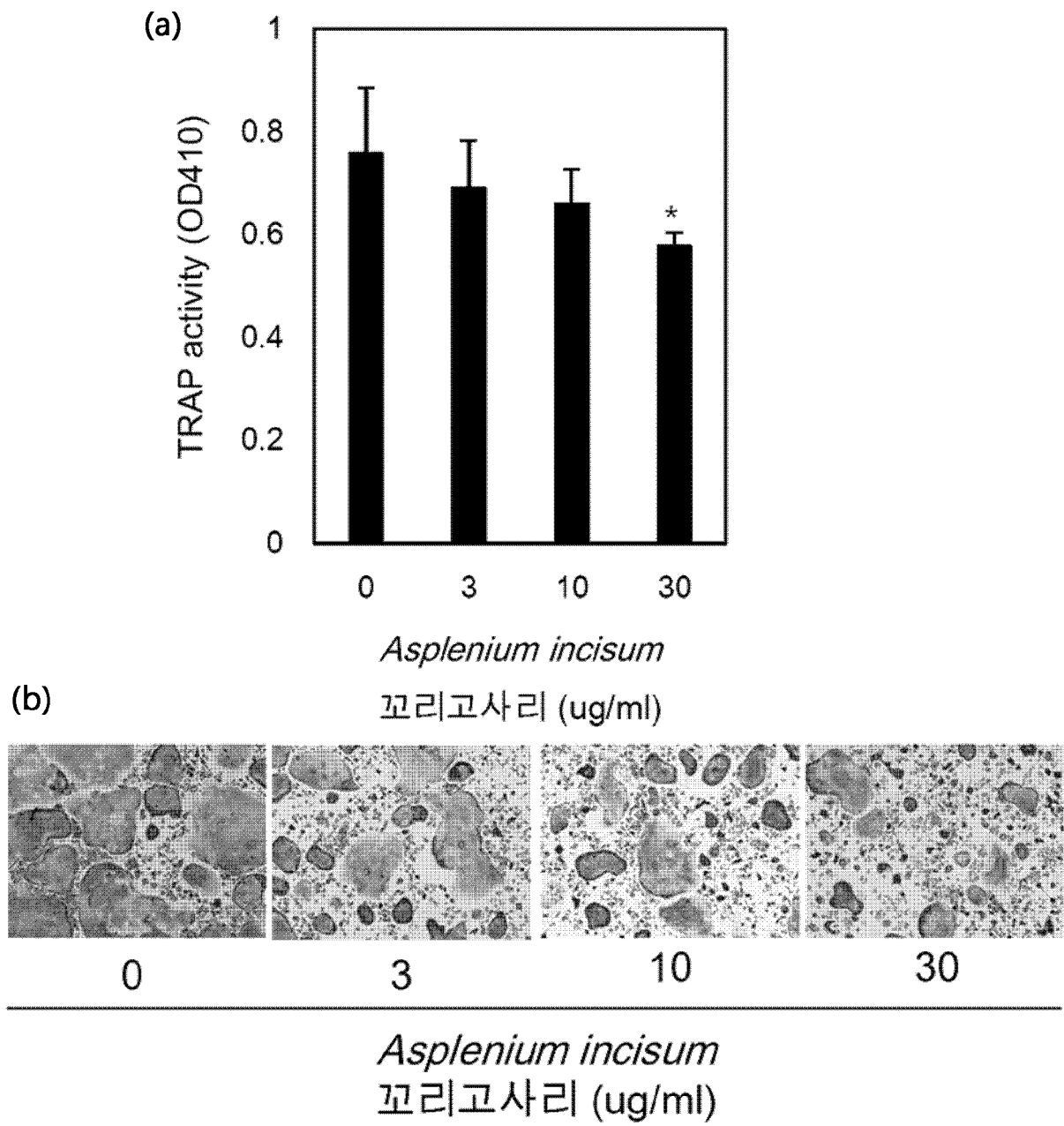


(b)

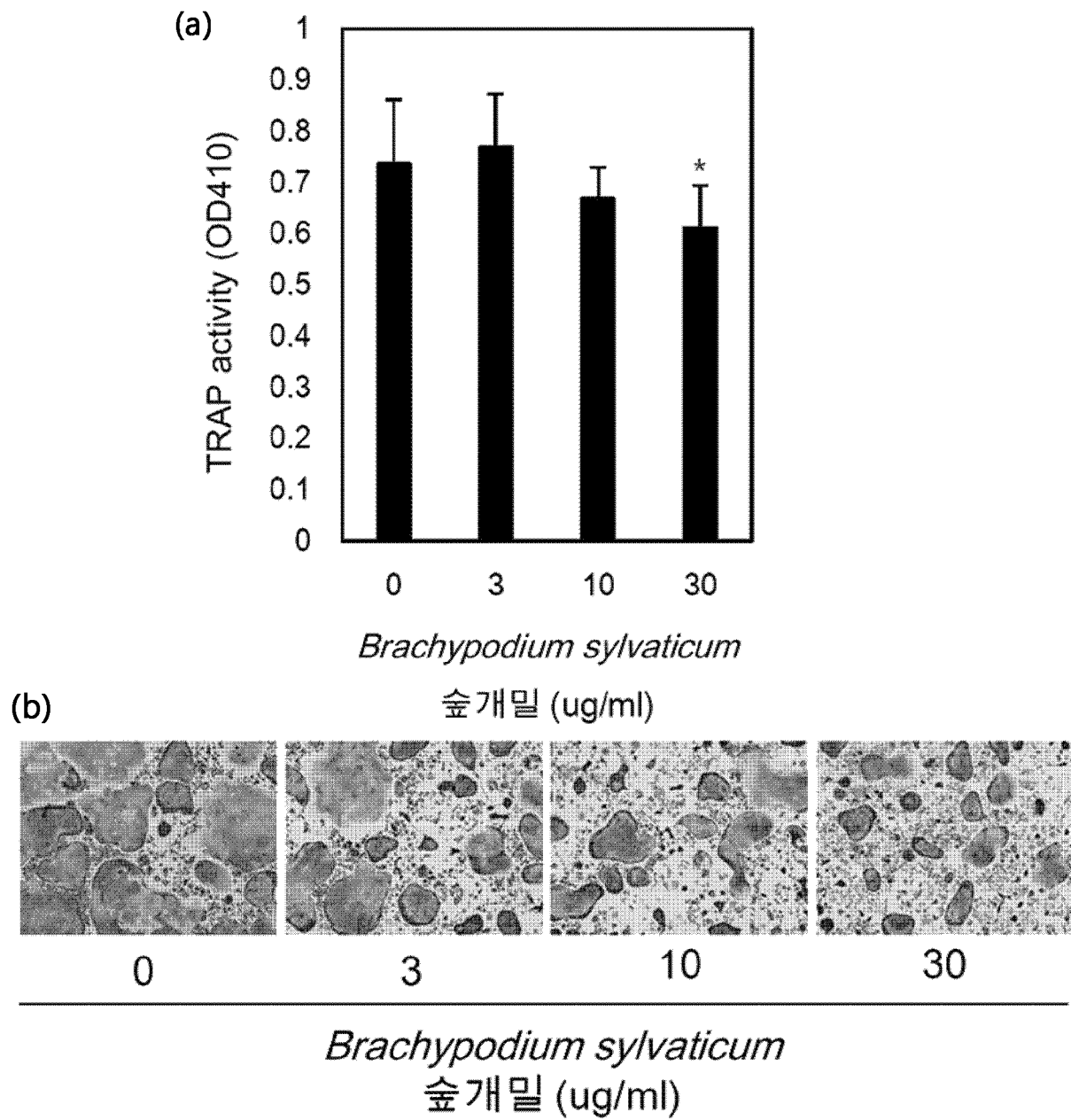
토란 (ug/ml)



[도7]



[도8]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/012220

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 36/899(2006.01)i, A61P 1/02(2006.01)i, A61P 19/10(2006.01)i, A23L 33/105(2016.01)i, A61K 36/11(2006.01)i, A61K 36/888(2006.01)i, A61P 19/08(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 36/899; A61K 31/35; A61K 31/352; A61P 1/02; A61P 19/10; A23L 33/105; A61K 36/11; A61K 36/888; A61P 19/08

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: Colocasia esculenta, Asplenium incisum, Brachypodium sylvaticum, osteoporosis, periodontitis, gingivitis

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PAWAR, H. A. et al. an overview of traditionally used herb, colocasia esculenta, as a phytomedicine. Medicinal & Aromatic Plants. 30 August 2018, vol. 7, no. 4, pages 1-7 See abstract; pages 2-4.	1-11
X	인터넷 블로그. 잇몸 민간요법. 20 June 2018, non-official translation (Internet blog. Folk Remedy for Gum). Retrieved from <https://blog.naver.com/angel42195/221302712929> See the entire document.	1-11
X	KR 10-2015-0094958 A (JINAN HONGSAM RESEARCH INSTITUTE) 20 August 2015 See abstract; claims 1-5; tables 1, 3; paragraph [0023]; figures 1-2.	1-11
X	인터넷 자료. 무등일보. 불포화지방산 뇌세포 활성화. 28 September 2016, non-official translation (Retrieved from the Internet. MOODEUNGILBO. Unsaturated Fatty Acid Activating Brain Cell). Retrieved from <http://mdilbo.com/article.php?aid=1474988400596106311> See the entire document.	1-11
X	인터넷 블로그. 골다공증을 예방하는 토란줄기 볶음밥. 22 November 2012, non-official translation (Internet blog. Taro Stem Fried Rice Preventing Osteoporosis). Retrieved from <https://blog.naver.com/yy2she/100172269466> See the entire document.	1-2,5-6,8-10



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

30 DECEMBER 2019 (30.12.2019)

Date of mailing of the international search report

30 DECEMBER 2019 (30.12.2019)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

Information on patent family members

PCT/KR2019/012220

25/02/2016

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 36/899(2006.01)i, A61P 1/02(2006.01)i, A61P 19/10(2006.01)i, A23L 33/105(2016.01)i, A61K 36/11(2006.01)i, A61K 36/888(2006.01)i, A61P 19/08(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 36/899; A61K 31/35; A61K 31/352; A61P 1/02; A61P 19/10; A23L 33/105; A61K 36/11; A61K 36/888; A61P 19/08

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: 토란(Colocasia esculenta, Colocasia antiquorum), 꼬리고사리(Asplenium incisum), 숲개밀(Brachypodium sylvaticum), 골다공증(osteoporosis), 치주염(periodontitis), 치은염(gingivitis)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	PAWAR, H. A. 등, `an overview of traditionally used herb, colocasia esculenta, as a phytomedicine`, Medicinal & Aromatic Plants, 2018.08.30, 7권, 4호, 페이지 1-7 초록; 페이지 2-4	1-11
X	인터넷 블로그, `잇몸 민간요법`, 2018.06.20, https://blog.naver.com/angel42195/221302712929 전체 문헌	1-11
X	KR 10-2015-0094958 A (재단법인 진안홍삼연구소) 2015.08.20 요약; 청구항 1-5; 표 1, 3; 단락 [0023]; 도면 1-2	1-11
X	인터넷 자료, 무등일보, `불포화지방산 뇌세포 활성화`, 2016.09.28, http://mdilbo.com/article.php?aid=1474988400596106311 전체 문헌	1-11
X	인터넷 블로그, `골다공증을 예방하는 토란줄기 볶음밥`, 2012.11.22, https://blog.naver.com/yy2she/100172269466 전체 문헌	1-2, 5-6, 8-10

☐ 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 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
- “D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌
- “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
- “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
- “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌
- “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2019년 12월 30일 (30.12.2019)

국제조사보고서 발송일

2019년 12월 30일 (30.12.2019)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



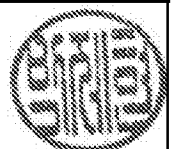
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

박제현

전화번호 +82-42-481-3349



국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

KR 10-2015-0094958 A

2015/08/20

KR 10-1597645 B1

2016/02/25