



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0076328  
(43) 공개일자 2011년07월06일

(51) Int. Cl.

A61K 36/074 (2006.01) A61K 36/07 (2006.01)

A61P 17/18 (2006.01) A61P 39/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0133010

(22) 출원일자 2009년12월29일

심사청구일자 2009년12월29일

(71) 출원인

조선대학교산학협력단

광주광역시 동구 서석동 375 조선대학교 내

전라남도

전라남도 무안군 삼향면 남악리 1000

(72) 발명자

신현재

광주광역시 남구 봉선동 삼익@ 107동 1304호

오득실

광주광역시 남구 주월동 1163-18번지

(74) 대리인

허수준

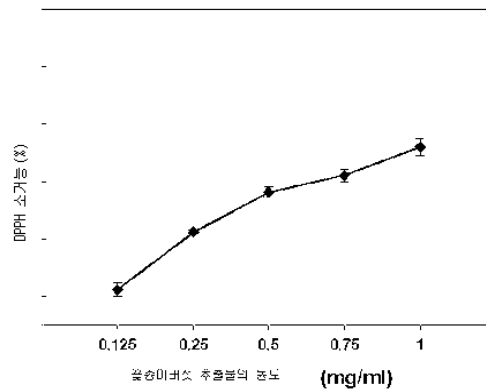
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 꽃송이버섯 추출물을 포함하는 항산화 활성을 갖는 조성물

### (57) 요약

본 발명은 꽃송이버섯 추출물을 포함하는 항산화 활성을 갖는 조성물에 관한 것으로, 꽃송이버섯 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 본 발명의 항산화 효과를 갖는 조성물은 우수한 DPPH 소거능 및 수퍼옥사이드 음이온 라디칼 소거능을 가질 뿐만 아니라 리놀레인산 과산화 저해율도 월등하며 총페놀 함량이 높아 탁월한 항산화 효능을 가지며, 이를 이용하여 다양한 분야, 예를 들어, 약학분야, 식품분야, 화장품 분야에서 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 S110909L020120

부처명 산림청

연구관리전문기관

연구사업명 임업기술연구개발사업(임업특정연구)

연구과제명 기능성 버섯류를 이용한 건강증진 식품 개발 및 산업화

기여율

주관기관 조선대학교 산학협력단

연구기간 2009년03월12일~2013년03월11일(4년)

---

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

꽃송이버섯 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 효과를 갖는 조성물.

### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

꽃송이버섯이 꽃송이버섯 자실체인 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 3

제 1 항에 있어서,

꽃송이버섯 열수 추출물이 꽃송이버섯 자실체를 물을 용매로 사용하여 95 ℃에서 2시간 30분 동안 열수 추출한 후 감압농축함으로써 제조된 것임을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 4

제 1 항에 있어서,

꽃송이버섯 열수 추출물이 100 내지 3000 ppm의 농도로 함유된 조성물.

### 청구항 5

제 4 항에 있어서,

꽃송이버섯 열수 추출물이 2000 ppm의 농도로 함유된 조성물.

### 청구항 6

제 1 항에 있어서,

꽃송이버섯 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 효과를 갖는 약학 조성물.

### 청구항 7

제 1 항에 있어서,

꽃송이버섯 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 효과를 갖는 건강식품 조성물.

### 청구항 8

제 1 항에 있어서,

꽃송이버섯 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 효과를 갖는 화장품 조성물.

## 명 세 서

### 발명의 상세한 설명

#### 기술 분야

[0001] 본 발명은 꽃송이버섯(*SPARASSIS CRISPA*) 추출물을 포함하는 항산화 활성을 갖는 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 꽃송이버섯 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 활성을 갖는 약학 조성물, 건강식품 조성물 및 화장품 조성물에 관한 것이다.

#### 배 경 기 술

[0002] 버섯은 그의 엄청난 건강상의 유익함으로 인해 고대부터 식품 뿐만 아니라 의약으로 소비되었다. 지구상에는

140,000 버섯 종이 있다고 추정되며, 대략 10%가 알려져 있다. 버섯은 눈에 보이는 자실체를 갖는 거대진균류로 알려져 있고, 필라 바시디오마이코타(Phyla Basidiomycota)에서 진균류의 생식 구조가 지표 가까이에 있다. 일부 식용 산림 진균류(forest fungi)는 부생성인데, 진균류는 광합성을 하지 않으므로 생존을 위해 유기물질을 분해하고, 이로써 친환경 특성을 갖는다. 꽃송이버섯(스파라시스 크리스파) 버섯은 자연에서 희귀하고, 최근에는 일본 및 한국에서 널리 알려졌다. 꽃송이버섯은 영어로는 컬리플라워 버섯으로, 일본어로는 하나비라다케(Hanabiratake)로, 한국어로는 꽃송이(꽃을 의미한다)로 명명된다. 꽃송이버섯은 식용 부생성 버섯의 가장 좋은 예로, 톱밥이 기질로서 작용하여 바로 사용될 수 있다[데이비드 필즈(David Pilz.), 알. 몰리나(R. Molina), 2002년].

[0003] 데이비드 필즈 등은 2002년에 퍼시픽 노쓰웨스트 유나이티드 스테이츠(PNW-US) 산림에서 야생 식용 버섯의 상업적 수확이 약 10 내지 15년 전에 시작되었고, 이들의 서식지가 산림청(미국 농림부) 및 토지관리국(미국 내무부)에서 관리된다고 보고하였다. 20종 이상의 진균류가 PNW-US 산림에서 상업적으로 수확되고 있다. 퍼시픽 노쓰웨스트내의 종 다양성의 보존은 버섯 등의 산림 식물을 수확함으로써 비목재 임산물(NTFP)에 의해 개선되었다. 퍼시픽 노쓰웨스트 수확 데이터의 조사는 스파라시스 라디카타를 비롯하여 매해 수확되는 35 종의 상업용 식용버섯이 있음을 보여주었다. 이로써, 이들은 수확을 지속하기 위하여 생산을 증가시키고 소규모 관리를 발전시켰다[러브(Love) 등, 1998년, 존스(Jones) 및 린츠(Lynch), 2002년].

[0004] 2001년에 하나코 마츠모토(Hanako Matsumoto) 등은 꽃송이버섯을 비롯한 다양한 버섯으로부터 독특한 펙틴을 스크리닝하는데 이중(hybrid) 당단백질 및 네오프로테오글리칸 프로브가 이용될 수 있다고 보고하였다. 담자균 또는 자낭균(Ascomycetes)의 자실체로부터 단리된 펙틴은 당포합체 분리 및 조직화학적 검출에서 유용한 특이성을 갖는다. 꽃송이버섯은 이중 당단백질 및 네오프로테오글루칸 프로브 둘다에서 반응성을 나타내며, 이는 HRP와 같은 프로브-당단백질 프로브(AST) 아시알로트랜스페린(Asialotransferrin)을 분리시키는데 반응성인 복합 펙틴 또는 복합특이적 펙틴의 존재를 나타낸다.

[0005] 버섯은 단백질의 좋은 공급원이고, 이들의 단백질 범위는 건조 중량 기준으로 9.62 내지 5.27%이었다[크리산(Crisan) 및 샌즈(Sands), 1978년]. 한국 식용 및 약용 버섯에서의 유리 아미노산 및 탄수화물 농도가 2009년에 보고되었다(김민영). 이들은 스파라시스 크리스파에서의 단당류 및 이당류를 보고하였다(리보오스(nd), 크실로오즈 5.80 ± 1.21, 프럭토오즈 7.16 ± 1.55, 만노오즈 4.42 ± 0.95, 글루코오즈 9.34 ± 1.82, 수크로오즈 및 트레할로오즈 7.34 ± 1.05). 모든 탄수화물 함량은 mg g<sup>-1</sup>의 농도이었다. 아미노산 함량이 표 1에 기재되어 있고, 필수 아미노산중 일부가 또한 스파라시스 크리스파에서 보고되었다. 1979년에 야마구치(Yamaguchi)는 감칠맛을 내는 아스파르트산 및 글루탐산(글루탐산 모노나트륨)과 같은 구성성분으로 인해 전형적인 감칠맛을 가짐을 밝혀냈다.

[0006] 버섯은 향을 내므로, 음식 재료로서 유용하다. 버섯의 맛은 주로 5'-뉴클레오타이드, 유리 아미노산 및 탄수화물과 같은 수용성 물질로 인한 것이라고 보고되었다. 필수 아로마(aroma) 구성 성분중 하나는 8-탄소 화합물 시리즈, 특히 1-옥텐-3-올이다. 이 화합물은 버섯의 대부분에서 가장 흔하고[마우(Mau) 등, 1994년], 1997년에 마우는 또한 이들 화합물이 버섯의 구체적인 속, 종 또는 균주에 따라 다르다고 보고하였다. 2007년에 네클라 카글라리르마크(Necla Caglarirmak)는 버섯의 질감(texture), 영양가 및 휘발성 화합물에 대하여 연구하였다. 버섯은 또한 비타민과 미네랄의 좋은 공급원이다. 버섯은 전형적인 에스터인 아로마 휘발성 구성성분을 함유하고, 이들의 탄수화물 및 지방산 유도체는 기체 크로마토그래피 및 질량 크로마토그래피에 의해 분석된다.

[0007] 2008년에 카비슈리(Kavishree) 등은 인도의 산림 지역으로부터 채집된 다양한 버섯 자실체 중에서 전체 지방 및 지방산의 함량(건조 중량)을 조사하였다. 불포화 지방산, 버섯 알코올의 전구체인 리놀레산, 및 이들의 C8 케톤과의 결합물이 버섯 향의 원인 인자이다. 펜타데카노산이 스파라시스 크리스파 종에서 발견되었다고 관찰되었다. 모노-불포화 지방산중에서는 팔미톨산이 스파라시스 크리스파 종에서 발견되었다. 다포화 지방산의 경우에는 리놀레산이 존재하였다. 리놀레산:올레산의 비는 동일 속의 종을 구별하는데 매우 중요하고, 스파라시스 크리스파에서 상기 비는 1 미만으로 밝혀졌다. 따라서, 이들은 상기 야생 식용 버섯 종을 건강 식품으로 간주하였고, 필수 지방산의 함량이 보다 많아서 인간의 높은 혈중 콜레스테롤을 제어한다.

[0008] 바넷트(Barnett)는 1999년에 방사성세균 활성 농도가 스파라시스 크리스파를 비롯한 식용 버섯의 자실체 일부에서 보다 높다고 보고하였다. 영국에서 흔히 소비되는 종에 대하여 다양한 영양균 연구가 실시되어서 방사성세균 오염을 밝혀냈다. 조사는 소비자를 대상으로 실시되었다. 이 조사에서, 스파라시스 크리스파는 기생 영양균으로 연구되었다. 기생 종의 소비자는 거의 없었고, 이들은 모든 영양균으로부터의 종을 소비하였다. 방사성세균이 진균류 자실체로 이동한다는 보고가 많이 있다. 그러나, 이러한 연구에서는 흙의 방사성세균이 진균류 자실체로

이동하는 것이 각각의 종에 따라 매우 다양함이 시사되었다. 영양군에 따르면, 흙의  $^{137}\text{Cs}$ 가 선택 종의 진균류 자실체로 이동하는 것이 이동 비(TF) 및 이동 파라미터(Tag)에 의해 추정되었다. 방사성세균의 활성, Tag 및 TF 농도는 기생 및 부생영양 종보다 균근 종에서 유의하게 높았다 ( $P < 0.01$ ).

[0009] 스파라시스 크리스파의 자실체로부터의 고온수 추출물에 대한 NMR, HPLC-PAD-MS 및 GC-MS로부터 밝혀진 분석방법 데이터는 전통적인 자연 치유법의 적용시에 특히 유용하다. 스파라시스 크리스파 Wulf.: Fr은 항바이러스 및 항암 특성을 갖는 생물활성 천연물의 좋은 공급원이다. 고분자량 화합물은 메탄올 용액에 의해 조질의 물 추출물로부터 침전되었다. 고온수 추출물에 대한 스파라시스 크리스파의 NMR 연구에서 프로톤 신호는 방향족, 탄수화물 및 지방족 영역에서 나타났다. 당(sugar) NMR 분석에 따르면, 여러 다당류, 주로  $\beta$ -글루칸 함량이 높은 것으로 밝혀졌다. 이러한 분석방법에 의해, 스파라시스 크리스파 버섯으로부터의 천연물의 20가지 상이한 주요 구성성분의 다양한 분류가 밝혀졌으며, 이는 의약 조사에서 적용될 수 있다[마테오 폴리티(Matteo politi) 등, 2007년].

[0010] 스파라시스 크리스파의 건조 자실체는 펠라닌 및 MRSA (메티실린-내성 황색포도상구균)을 억제하는 신규한 화합물을 갖는다. 펠라닌 생성 억제 분석에 대한 IC50 값은  $12 \mu\text{M}$ 이었고, 항-MRSA 분석에서의 MIC 값은  $1.0\text{mM}$ 이었다 [히로카즈 가와기시(Hirokazu kawagishi) 등, 2007년].

[0011] 모든 담자균 버섯이 해당되지는 않으나, 많은 담자균 버섯이 자실체, 배양 균사체, 배양액중에 생물학적 활성 다당류를 함유한다. 마하즈나(Mahajna), 도탄(Dotan), 자이드만(Zaidman), 페트로자(Petroza), 와서(Wasser) 등은 2009년에 담자균의 진균류가 다당류, 당단백질, 트리테르펜 및 항생물질과 같은 많은 생물학적 활성 화합물을 갖는 것으로 밝혀졌다고 보고하였다. 와서는 2002년에 다당류가 광범위하게 연구되어 온 주요 생물활성 화합물임을 제시하였다. 이들 다당류는 화학 조성에서 차이를 갖고, 베타 글루칸이 공통된다. 이 때문에, 항종양 활성은 베타 글루칸(1-3) 분지 잔기에서 주로 연구되었다. 수 용해도, 분자 크기 및 이들의 분지 형태와 같은 많은 요인이 항종양 활성의 원인이 된다. 그러나, 항종양 활성은 스미스 분해(Smith degradation), 포름산 첨가 분해(formolysis) 및 카복시메틸화와 같은 화학적 변형에 의해 향상될 수 있다[와서, 20002년]. 버섯 다당류 및 /또는 글루칸의 항종양 활성에 대한 임상 증거의 대부분은 시판 다당류 렌티난, PSK(크레스틴) 및 시조필란(schizophyllan)에서 비롯되지만, 일부 다른 가능성있는 약용 버섯 종의 다당류가 또한 좋은 결과를 나타내었다 [와서 및 와서, 2000년].

[0012] 최근, 다양한 질환, 특히 암 및 감염성 질환을 치료하기 위하여 면역요법이 이용되고 있다. 그래서,  $\beta$ -글루칸과 같은 생물학적 반응 변형체((BIOLOGICAL RESPONSE MODIFIER, BRM)가 의약 및 식품의 좋은 공급원이다. 나노입자는 표면 기능의 변형 특성을 가지며, 선택적 샘플 추출에 이용된다. WC(텅스텐 카바이드) 나노입자가  $\beta$ -글루칸 추출의 입자 크기를 감소시키는데 이용되어서, 생물학적 활성을 증가시켰다. 알칼리 추출 및 고온수 추출법에 의하면,  $\beta$ -글루칸 함량은 70.2 % [박(Park) 등, 2009년]인 반면, 오나(Ohna) 등은 고온수, 차가운 알칼리 및 고온 알칼리 추출에 의해 52.0 %의  $\beta$ -글루칸을 보고하였다. 스파라시스 크리스파 버섯에는 94.2%의 포도당 함량이 있었다. 일반적으로, 100 내지 200 kDa 보다 큰 분자량의 다당류는 면역원으로 간주되고, 면역조정 활성을 나타낸다. 추출된 스파라시스 크리스파 다당류의 분자량은 510 kDa이었고, 입자 크기는  $150 \pm 14.1 \text{ nm}$ 의 평균 직경이었다. 이들 미세 입자는 산업 용도 뿐만 아니라 인간 창자에 의해 쉽게 흡수되어 약물 운반에 유용하다. 스파라시스 크리스파의 다당류의 NMR 구조는 4.78 ppm에서 6-분지형  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-글루칸임이 밝혀졌고,  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-D-글루칸은 4.55 ppm에 있는 것으로 밝혀졌다. 스파라시스 크리스파는 우수한 식이 섬유로서 작용하는  $\beta$ -글루칸을 수 용해성 내용물중에 나타내는 것으로 보고되었다. 면역조정 다당류를 갖는 버섯이 다양한 지역에서 식품 뿐만 아니라 건강-증진 식품 보조제(기능 식품) 및 약물로서 이용될 수 있다.

[0013] 임상 실험은 암 환자에 대한 스파라시스 크리스파 분말에 대하여 보고서이다. 스파라시스 크리스파 (Wulfen): Fr. (1일에 300 mg)가 림프구 전가 면역요법 1코스 이후에 여러 암 환자에게 경구 제공되었고, 총 14명의 환자가 관찰되었으며, 여러 달 이후에 이중 9명의 환자가 호전되었다[오노 등, 2003년]. 버섯의 다당류는 면역조정 특성, 항종양 활성 및 항암 활성을 나타내는 것으로 보고되었기 때문에 버섯 추출물을 식품에 혼입시키는 것은 큰 이점이 있다.

[0014] 2007년에 루이 타다(Rui Tada) 등은 NMR에 의한 스파라시스 크리스파 자실체로부터  $\beta$ -글루칸의 구조에 대하여 보고하였다. 정제된  $\beta$ -D-글루칸은 항종양 효과, 사이클로포스파미드-유도된 백혈구감소성 마우스에서의 조혈 반응의 증가, 및 사이토카인 생성의 유도를 비롯한 생물학적 활성을 나타내고, 주쇄 구조 단위인 스파라시스 크리스파의 정제  $\beta$ -글루칸의 일차 구조가 3개 잔기마다 1개의  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-D-글루코실 측쇄 분지 단위를 갖는  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-글루칸임을 밝혀냈다. 이들 구조 단위는 NMR 분광학 뿐만 아니라 포름산 첨가분해 및 자이몰리아제

(zymolyase) 분해를 이용하여 확인되었다. 이에 의해, 스파라시스 크리스파 베타 글루칸은 음식 요법에 적용될 수 있다.

- [0015] 광(Kwang) 등은 2006년에 스파라시스 크리스파를 비롯한 버섯으로부터 혈소판 응집 억제 펩타이드의 추출 및 특징을 연구하였다. 스파라시스 크리스파 균사체로부터의 에탄올계 추출물은 혈소판 응집 억제 활성(52.8 %)을 나타냈다.
- [0016] 버섯은 건강을 상당히 증진시킬 수 있다고 알려져 있다. 이는 이들이 저 칼로리, 나트륨, 지방 및 콜레스테롤을 가지면서, 높은 비율의 단백질, 탄수화물, 섬유, 비타민 및 미네랄을 함유하기 때문이다. 이러한 모든 영양적 특성으로 인해 버섯은 매우 우수한 식이요법 식품이 되어, 균형잡힌 식이요법에 기여할 수 있다[만지(Manzi), 갬벨리(Gambelli), 마르코니(Marconi), 비반티(Vivanti) 및 피조페라토(Pizzoferrato), 1999년].
- [0017] 버섯은 또한 프리바이오틱(prebiotic)으로도 작용할 수 있는데, 이들이 탄수화물 등의 풍부한 공급원이기 때문이다. 포유동물 체장에서 분비되는 소화효소는  $\beta$ -글루코사이드 결합을 가수분해할 수 없다. 이로 인해 위에서 산 가수분해되지 않고, 인간의 소화 효소에 의해 소화되지 않은 채로 있다[반 루(Van Loo), 2006년]. 버섯 탄수화물의 이러한 비-소화 특성으로 인해 프리바이오틱의 잠재적 공급원이 된다. 프리바이오틱은 클로스트리디아(clostridia) 및 박테로이드(bacteroides)의 증식을 억제하는 프로바이오틱, 비피도박테리아 및 락토바실리[왕(Wang), 2009년]의 증식 및 활성화에 특히 적합하다고 보고되었다. 최근, 프리바이오틱을 함유하는 식품이 사람들에게 의해 매우 흔하게 소비되고 있다. 요즘에는 프로바이오틱 빵, 씨리얼, 과자류, 소스, 유아 우유제품, 음료수 및 건강 드링크제와 같은 다양한 제품이 시장에서 판매된다. 장차, 버섯으로부터 신규한 잠재 프리바이오틱의 생산은 식품 산업에서 좋은 공급원이 되어 인간 건강에 유용할 것이다.
- [0018] 최근 논문을 살펴보면, 몇몇 저자는 버섯의 약물학적 잠재성에 대하여 개괄하였다[와서 및 와서, 2002년; 린데퀴스트(Lindequist), 니더메이어(Niedermeyer) 등, 2005년]. 와서 및 와서(2002년)는 보다 높은 헤테로- 및 호모-담자균의 182 속으로부터 7 하종 분류군 및 651종으로부터 버섯 다당류에 대한 의약 데이터를 모았다고 보고하였다. 린데퀴스트 등은 2005년에 항균, 항바이러스, 항종양, 항알러지, 면역조정, 항염증, 항죽종형성, 저혈당, 간보호 및 중추 활성을 갖는 화합물 및 작용물을 기재하였다.
- [0019] 스파라시스 크리스파 약용 버섯의 경구 투약은 스트렙토조토신(streptozotocin) 유발된 당뇨병 래트에서 상처 치유 특성을 갖는다. 당뇨병 유발된 래트에서 대식세포 및 섬유모세포 이동, 콜라겐 재생 및 상처 형성이 증가하였음이 밝혀졌다. 진피 섬유모세포에서 I형 콜라겐은 스파라시스 크리스파 베타 글루칸에 의해 증가하였고, 100 $\mu$ g/ml 이상에서 유의한 농도가 관찰되었다[혼 권(Hon Kwon) 등, 2009년]. 많은 연구 및 조사가 인간에 도움이 되는 상처 및 상처 치유 시스템에 대한 연구에 관한 것이다. 당뇨병 환자의 경우에, 손상된 상처 치유는 주요한 임상 과제이다. 글루칸은 포도당 중합체이고, 상처 치유 과정을 강화하는 면역 자극 활성을 갖는다. 스파라시스 크리스파에서 발견된 다당류 분획물인 1,3- $\beta$ -글루칸은 마우스에서 육종 고체 형태를 억제하는 강한 항종양 활성을 갖는 것으로 밝혀졌다[오노 등, 2000년]. 하라다(Harada) 등은 2002년 및 2000년에 스파라시스 크리스파가 사이클로포스파미드-유발된 백혈구감소성 마우스에서 조혈 반응 및 비세포에서 다량의 인터페론- $\gamma$  유도를 증가시키는데 도움이 된다고 보고하였다.
- [0020] 지금까지, 스파라시스 크리스파의 프로테오믹스 분석에 대하여 하나의 예비 보고서만이 있었다[호리에(Horie), 라왈(Rakwal) 등, 2008년]. 저자들은 1- 및 2-차원 겔 전기영동(1-DGE 및 2-DGE)에 근거한 보충적 프로테오믹스 접근법을 이용하여 스파라시스 크리스파 자실체의 프로테오믹스 분석을 보고하였다. 액체 크로마토그래피 및 질량 분광광도법에 연결된 1-DGE에 의하면, 스파라시스 크리스파로부터 77개(60개의 비-과잉성(non-redundant) 단백질) 단백질이 밝혀졌다. 2-DGE 분석에 의하면, 스파라시스 크리스파에서 콜로이드성 쿠마시에 브릴리언트 블루(Coomassie brilliant blue)에 의해 염색된 480개의 단백질 스폿이 밝혀졌다.
- [0021] 폴리비닐다이하플루오라이드(PVDF) 막위의 스파라시스 크리스파 2D 겔 블롯으로부터 71개의 선택 단백질 스폿 중에서, 29개의 비-과잉성 단백질이 N-말단 아미노산 서열분석에 의해 확인되었다. 1- 또는 2-DGE로부터 확인된 비-과잉성 단백질은 19 기능 카테고리에 속하였다. 14-3-3 단백질 및 쉐핀을 비롯한 12개의 단백질이 스파라시스 크리스파에서 발견되었다. 상기 연구는 2개의 경제적으로 중요한 버섯인 스파라시스 크리스파 자실체에서 발견되는, 많은 기능적으로 다양한 단백질 존재에 대한 증거를 제공한다. 1-DGE 및 2-DGE 분석으로부터 수득된 프로테오믹스 데이터는 버섯 프로테오믹스 포털인 <http://foodfunc.agr.ibaraki.ac.jp/mushprot.html>을 통해 얻을 수 있다.
- [0022] 버섯은 강력한 신규 약학 생성물의 방대하지만 대부분 아직 알려지지 않은 공급원을 포함한다. 특히, 현대 의

학에서 가장 중요하게, 이들은 항종양 및 면역자극 특성을 갖는 다당류의 무한한 공급원을 대표한다. 모든 담자균 버섯이 해당하는 것은 아니지만, 많은 담자균 버섯이 자실체, 배양 균사체, 배양액중에 생물학적 활성 다당류를 함유한다. 이들 다당류는 상이한 화학 조성을 가지며, 대부분은 항종양 작용에 필요한 부가적인 1,6-분지점을 갖는  $\beta$ -(1,3) D-글루칸 그룹에 속한다. 고분자량 글루칸은 저분자량 글루칸에 비해 더 효과적인 것으로 보인다. 버섯 다당류 및/또는 글루칸의 항종양 활성에 대한 임상 증거의 대부분은 시판되는 다당류 렌티난, PSK(크레스틴) 및 시조필란에서 비롯되지만, 일부 다른 유망한 약용 버섯종의 다당류도 또한 양호한 결과를 나타낸다[와서 및 와서, 2002년].

[0023] 이러한 꽃송이버섯의 인간에 관련된 다양한 질환에서의 잠재적인 용도로 인해, 당분야에서는 이들로부터의 신규 구성 성분에 대하여 심도있게 연구가 이루어지고 있다. 그러나, 아직까지 꽃송이버섯의 항산화 효과에 대해서는 보고된 바가 없다. 이에 본 발명자들은 꽃송이버섯을 보다 심도있게 연구하던 중 꽃송이버섯 추출물이 항산화 효능을 갖는다는 사실을 발견함으로써 본 발명을 완성하였다.

## 발명의 내용

### 해결 하고자하는 과제

[0024] 본 발명의 목적은 꽃송이버섯 추출물을 포함하는 항산화 활성을 갖는 조성물을 제공하기 위한 것이다.

### 과제 해결수단

[0025] 상기한 목적을 달성하기 위하여, 본 발명에서는 꽃송이버섯 열수 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 활성을 갖는 조성물을 제공한다.

### 효 과

[0026] 본 발명의 꽃송이버섯 추출물은 우수한 DPPH 소거능 및 수퍼옥사이드 음이온 라디칼 소거능을 가질 뿐만 아니라 리놀레인산 과산화 저해율도 월등하며 총페놀 함량이 높아 탁월한 항산화 효능을 가지며, 이를 이용하여 다양한 분야, 예를 들어, 약학분야, 식품분야, 화장품 분야에서 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

### 발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0027] 본 발명에서 사용되는 기술 용어 및 과학 용어에 있어서 다른 정의가 없다면, 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하고 있는 의미를 갖는 것으로 해석될 수 있다.

[0028] 본 발명의 꽃송이버섯의 열수 추출물을 포함하는 조성물은 항산화 효능을 갖는다.

[0029] 본 발명에서 꽃송이버섯은 꽃송이버섯의 자실체를 사용한다.

[0030] 본 발명의 꽃송이버섯 추출물은 꽃송이버섯 자실체를 물을 용매로 사용하여 95 °C에서 2시간 30분 동안 열수 추출한 후 감압농축함으로써 제조될 수 있다.

[0031] 본 발명의 조성물에서 꽃송이버섯 추출물의 함량은 조성물의 총 중량을 기준으로 하여 100 내지 3000 ppm이다.

[0032] 본 발명의 조성물 중 꽃송이버섯 추출물의 함량이 100 ppm 미만이면 첨가효과가 미미하며, 3000 ppm을 초과하여 첨가하는 경우 효과 대비 비경제적인 문제가 있다.

[0033] 또한, 본 발명은 상기 꽃송이버섯 추출물을 유효성분으로 하는 항산화 활성이 있는 약학적 조성물을 제공한다.

[0034] 본 발명의 꽃송이버섯 추출물은 우수한 항산화 활성을 나타낸다. 구체적으로, DPPH는 화학적으로 안정된 유리 라디칼을 가지고 있는 수용성 물질로서 517 nm에서 흡광도를 가지며 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 전자를 내주어 라디칼이 소멸되고 본래의 색깔인 보라빛에서 노란색으로 반응을 하는데 이는 육안으로도 확인할 수 있는데, 본 발명의 꽃송이버섯 추출물 1000 ppm에서 52 %의 소거능을 보이는 등 꽃송이버섯 추출물의 농도가 증가

함에 따라 활성도가 증가되는 것으로 나타났다.

- [0035] 또한, 사람은 하루에 500 g이상의 산소를 마시는데 이중 4~5 %는 활성산소가 되어 스트레스나 질병, 노화의 원인이 된다고 1950년대부터 제기되어 왔다(<http://emcenter.or.kr>). 활성산소의 대표적인 물질로는 수퍼옥사이드라고 부르는 라디칼 형태의 불안정한 것으로 산소보다 산화력이 크다. 이러한 초과산화물은 생체 내에서 유리이온과 반응하여 과산화수소나 하이드록시기를 만들어내서 수퍼옥사이드 보다 훨씬 더 인체에 직접적인 피해를 준다. 이러한 수퍼옥사이드는 560 nm에서 흡광도를 가지는데 본 발명의 꽃송이버섯 추출물을 농도별 처리를 한 결과 2000 ppm에서 21.3%의 수퍼옥사이드 소거율을 보였고 처리농도가 증가함에 따라 소거율도 증가되는 것으로 나타났다.
- [0036] 또한, 리놀레인산은 유화제로서 피부의 보습을 유지시켜 주는 필수 불포화지방산으로서, 비타민-E(토코페롤)에 해당되며 비누의 원료로 사용되기도 하고, 리놀레인산은 티로시나아제의 활성력을 줄이고 멜라노솜 내의 멜라닌 생성을 막아주는 역할도 한다. 그래서 이러한 리놀산의 리놀레인산 산화 억제를 꽃송이버섯 추출물 2000 ppm으로 처리하여 반응 혼합물을 이용해 자동 산화를 유발하여 시간이 지남에 따른 산화 억제를 관찰한 결과, 시간이 지남에 따라 증가하다가 27시간 이후에는 급격히 감소하는 경향이 있었으나 이는 비타민 C 1000 ppm 처리구가 6시간 이후부터 급격히 감소되는 경향보다는 양호한 결과임을 알 수 있다.
- [0037] 또한, 페놀성 물질은 항산화효과, 항미생물효과, 항산화작용에 의한 함암효과, 유해 중금속의 제거 등 체내에서 다양한 효과를 기대할 수 있다. 페놀함량은 탄닌산을 표준물질로 사용하여 검량선에 근거하여 산출하였으며, 이를 토대로 꽃송이버섯의 처리농도별 총페놀 함량을 분석한 결과, 꽃송이버섯 1g내에 46.7mg의 총페놀이 함유된 것을 알 수 있다.
- [0038] 본 발명에 따른 조성물의 경구투여 경우 기존의 모든 다양한 형태로 제조가능하며 예를 들어 정제, 분말제, 건조시럽, 씹을 수 있는 정제, 과립제, 츄잉정, 캡슐제, 연질캡슐제, 환제, 드링크제, 설하정 등의 여러 가지 형태로 존재할 수 있다. 치료하려는 질병 상태의 특성, 질병의 단계, 및 그밖의 관련 사정에 따라 적합한 투여 형태 또는 방식을 용이하게 선택할 수 있으며, 본 발명에 따른 조성물이 정제인 경우 하나 이상의 약학적으로 허용되는 부형제를 포함할 수 있으며, 이러한 부형제의 비율 및 성질은 선택된 정제의 용해도 및 화학적 특성, 선택된 투여경로 및 표준 약제 실무에 의해 결정된다.
- [0039] 더욱 상세하게는, 본 발명에 따른 조성물은 치료적 유효량의 상기 기술된 활성성분을 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제와 함께 필수 성분으로 포함할 수 있다. 부형제 물질은 활성성분의 비히클 또는 매체로서 기능할 수 있는 고형 또는 반고형 물질일 수 있으며, 적합한 부형제는 당분야에 널리 공지되어 있다. 부형제 물질은 의도된 투여 형태와 관련하여 선택될 수 있으며, 구체적으로는 정제, 분말제, 씹을 수 있는 정제, 과립제, 츄잉정, 캡슐제, 연질캡슐제, 환제, 설하정 또는 시럽형태의 경우, 치료학적 활성 약물 성분은 락토오스 또는 전분과 같은 임의의 경구 비독성의 약제학적으로 허용되는 비활성 부형제와 배합될 수 있다. 임의로, 본 발명의 약제학적 정제는 비정질 셀룰로오스, 검 트라가칸트 또는 젤라틴과 같은 결합제, 알긴산과 같은 붕해제, 마그네슘 스테아레이트와 같은 윤활제, 콜로이드성 실리콘 디옥사이드와 같은 글라이덴트(glidant), 수크로오스 또는 사카린과 같은 감미제, 페퍼민트 또는 메틸 살리실레이트와 같은 착색제 또는 착향제를 또한 함유할 수 있다.
- [0040] 투여가 용이하기 때문에 정제는 가장 유리한 경구용 단위 제형이 될 수 있으며, 필요에 따라 정제는 표준 수성 또는 비수성 기술에 의해 당, 셀락(shellac) 또는 그 밖의 장용 코팅제로 코팅될 수 있다.
- [0041] 본 발명의 꽃송이버섯 추출물을 유효성분으로 하는 약학적 조성물은 식용식품으로 구성되어져 부작용이 없고 안전성이 뛰어나다.
- [0042] 본 발명은 꽃송이버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 효과를 갖는 건강식품 조성물을 제공한다.
- [0043] 본 발명의 건강식품 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 추출물을 함유하는 외에는 액체성분에는 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 여러가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등), 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 용이하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml당 일반적으로 약 1 ~ 20 g, 바람직하게는 약 5 ~ 12 g이다.
- [0044] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미

제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

- [0045] 건강식품 개발을 위하여 본 발명의 꽃송이버섯 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어 각종 식품류, 음료류, 껌류, 비타민 복합제, 건강보조식품류 등이 있다.
- [0046] 또한, 본 발명의 꽃송이버섯 추출물은 우수한 항산화 효능으로 화장품 조성물로도 사용될 수 있다.
- [0047] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의거하여 보다 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 구체적인 실험방법 및 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0048] 실시예 1: 꽃송이버섯 추출물 제조
- [0049] 버섯의 신선한 자실체 200 g을 취하여 건조시킨 후 물 2 L를 용매로 사용하여 95 ℃에서 2시간 30분 동안 열수 추출한 다음, 감압농축함으로써 꽃송이버섯 추출물을 얻었다.
- [0050] 시험예 1: 꽃송이버섯 추출물의 DPPH 소거능 측정
- [0051] DPPH 라디칼 소거능은 Lee 등(1994)의 방법에 따라 실시하였다.  $1.5 \times 10^{-4}$  M의 농도로 에탄올에 녹여 조제한 DPPH 반응액과 일정농도의 시료를 30  $\mu$ l를 첨가해 최종 부피가 3 ml가 되게 혼합하고 3분 후에 517 nm에서 흡광도를 측정하여 소거능(%)을 산출하였다.
- [0052] 즉, 건조 꽃송이버섯을 열수 추출하여 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm의 농도로 조제하여 DPPH 반응액으로 반응을 시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH 소거능을 측정해본 결과 도 1에서 보듯이 꽃송이버섯 추출물 1000 ppm에서 52 %의 소거능을 보이는 등 꽃송이버섯 추출물의 농도가 증가함에 따라 활성도가 증가되는 것으로 나타났다.
- [0053] 시험예 2: 꽃송이버섯 추출물의 수퍼옥사이드 음이온 라디칼 소거능 측정
- [0054] 수퍼옥사이드 음이온 라디칼 소거능은 Nishikimi 등(1972)의 방법에 따라 실시하였다. 시료 500  $\mu$ l, 0.1 M Tris-HCl 완충액 (pH 8.5) 100  $\mu$ l, 100  $\mu$ M PMS 200  $\mu$ l, 500  $\mu$ M NBT 200  $\mu$ l 및 500  $\mu$ M NADH 400  $\mu$ l를 가해 560 nm에서 흡광도 측정하고 시료를 함유하지 않은 용매에 대한 소거율(%)로 결과를 나타내었다.
- [0055] 이러한 수퍼옥사이드는 560 nm에서 흡광도를 가지는데 꽃송이버섯 시료를 도 2와 같이 농도별 처리를 한 결과 2000 ppm에서 21.3 %의 수퍼옥사이드 소거율을 보였고 처리농도가 증가함에 따라 소거율도 증가되는 것으로 나타났다.
- [0056] 시험예 3: 꽃송이버섯 추출물의 리놀레인산 과산화 저해율 측정
- [0057] 리놀레인산 과산화 저해율은 Haraguchi 등(1992)의 방법에 따라 실시하였다. 25 mg/ml 농도의 시료용액 30  $\mu$ l, 리놀레인산 400  $\mu$ l, 인산완충액 800  $\mu$ l, 증류수 770  $\mu$ l를 가해 반응 혼합물을 만들어 40℃에서 자동산화를 유발하였다. 이 반응액 0.1ml를 24시간 후 취해 0.1ml의 30%  $\text{NH}_4\text{SCN}$  및 75% ethanol 2.7ml와 혼합한 액에 2.45 mg/ml 농도의 염화 제1철 0.1ml를 가해 혼합하고 3분 후 500 nm에서 흡광도 측정하여 용매를 사용한 대조군의 흡광도에 대한 저해율(%)로서 항산화 효과를 나타내었다.
- [0058] 리놀산의 리놀레인산 산화 억제제를 꽃송이버섯 추출물 2000 ppm으로 처리하여 반응 혼합물을 이용해 자동 산화를 유발하여 시간이 지남에 따른 산화 억제를 관찰하였으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다. 도 3에서 보듯이, 시간이 지남에 따라 증가하다가 27시간 이후에는 급격히 감소하는 경향이 있었으나 이는 비타민 C 1000 ppm 처리구가 6시간 이후부터 급격히 감소되는 경향보다는 양호한 결과였다

- [0059] 시험예 4: 꽃송이버섯 추출물의 총페놀 함량
- [0060] 페놀함량 측정은 Kim 등(1993)의 방법에 따라 실시하였다. 시료액 100  $\mu\text{l}$ 와 2 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2 ml 및 50 % 폴린-치오칼토(Folin-Ciotalteau) 시약 100  $\mu\text{l}$ 를 혼합하고 30분 후 흡광도를 750 nm에서 측정한 후 얻어진 흡광도를 탄닌산을 표준물질로 사용한 검량선에 근거하여 산출하였다.
- [0061] 페놀함량은 탄닌산을 표준물질로 사용하여 검량선에 근거하여 도 4에 나타낸 바와 같이 산출하였다. 이를 토대로 꽃송이버섯의 처리농도별 총페놀 함량을 분석한 결과를 도 5에 나타내었다. 도 5에서 보듯이, 꽃송이버섯 1 g내에 46.7 mg의 총페놀이 함유된 것으로 파악할 수 있었다.

### 산업이용 가능성

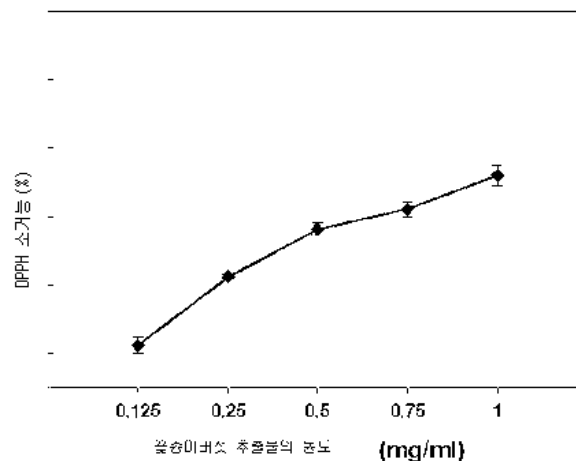
- [0062] 본 발명의 꽃송이버섯 추출물은 우수한 DPPH 소거능 및 수퍼옥사이드 음이온 라디칼 소거능을 가질 뿐만 아니라 리놀레인산 과산화 저해율도 월등하며 총페놀 함량이 높아 탁월한 항산화 효능을 가지며, 이를 이용하여 다양한 분야, 예를 들어, 약학분야, 식품분야, 화장품 분야에서 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

### 도면의 간단한 설명

- [0063] 도 1은 꽃송이버섯 추출물의 DPPH 소거능을 나타낸 것이다.
- [0064] 도 2는 꽃송이버섯 추출물의 수퍼옥사이드 음이온 라디칼 소거능을 나타낸 것이다.
- [0065] 도 3은 꽃송이버섯 추출물의 시간에 따른 리놀레인산 산화 억제율을 나타낸 것이다.
- [0066] 도 4는 탄닌산에 대한 흡광도간의 보정곡선을 나타낸 것이다.
- [0067] 도 5는 꽃송이버섯의 페놀 함량을 나타낸 것이다.

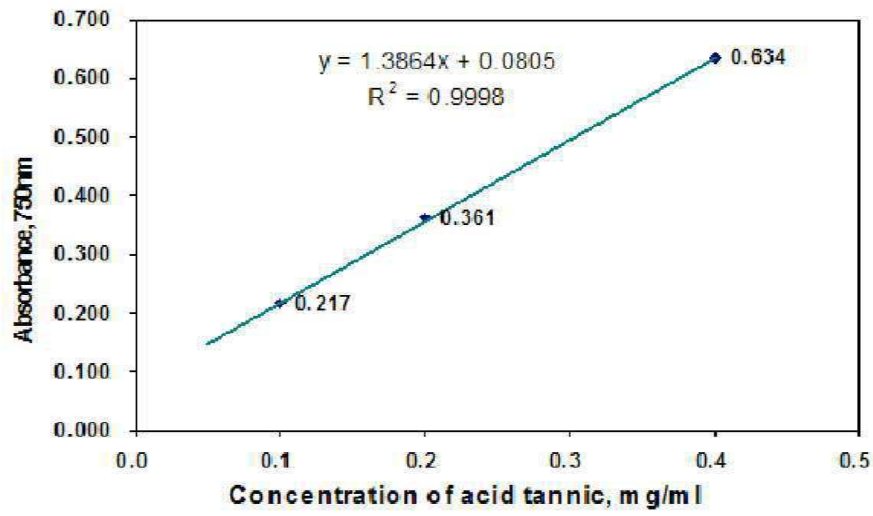
### 도면

#### 도면1





도면4



도면5

