

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2019-0129528
(43) 공개일자 2019년11월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 35/616 (2014.01) A23L 33/10 (2016.01)

A61K 8/98 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)

A61P 39/06 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 35/616 (2013.01)

A23L 33/10 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2018-0054320

(22) 출원일자 2018년05월11일

심사청구일자 2018년05월11일

(71) 출원인

부경대학교 산학협력단

부산광역시 남구 신선로 365 (용당동,
부경대학교)

(72) 발명자

정원교

부산광역시 남구 분포로 111, 128동 2101호(용호
동, 엘지메트로시티)

고석천

제주특별자치도 제주시 선덕로3길 12(연동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이준성

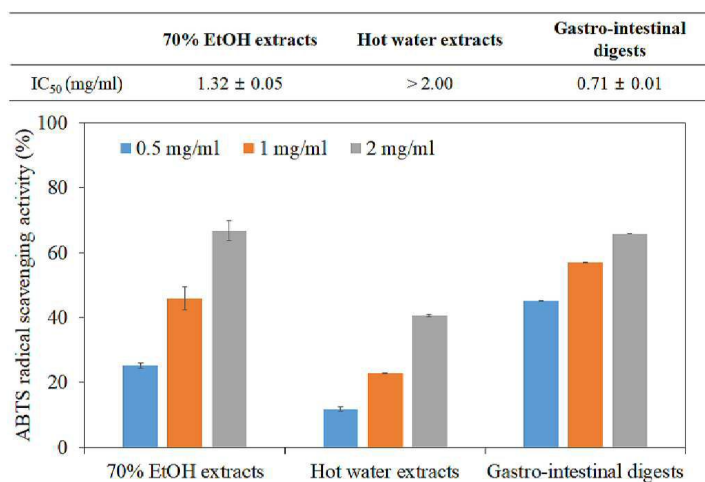
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 왜주름불가사리 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 및 항염증용 조성물 및 그 제조 방법

(57) 요약

본 발명은 왜주름불가사리(*Crossaster papposus japonicus*) 추출물을 유효성분으로 함유하여 우수한 항산화 및 항염증 효과를 나타내는 항산화 및 항염증용 조성물 및 그 제조 방법을 제공하는 바, 이를 포함하여 식품 조성물, 화장품 조성물 또는 약학적 조성물 용도로 이용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 8/987 (2013.01)

A61P 29/00 (2018.01)

A61P 39/06 (2018.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

A23V 2250/2042 (2013.01)

A61K 2800/85 (2013.01)

(72) 발명자

박현호

경상남도 창원시 의창구원이대로222번길 28-1

오건우

부산광역시 남구 유엔로157번나길84, 프리빌 205호

김근형

대구광역시 수성구달구벌대로501길 11, 삼성연립주
택가동3호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20170326

부처명 해양수산부

연구관리전문기관 해양수산과학기술진흥원

연구사업명 해양수산생명공학기술개발사업

연구과제명 용암해수 기반 청정원료소재 융합 기술개발

기 여 율 1/1

주관기관 부경대학교 산학협력단

연구기간 2018.01.01 ~ 2018.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

왜주름불가사리(*Crossaster papposus japonicus*) 추출물을 유효 성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 항산화 및 항염증용 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 왜주름불가사리 추출물의 폴리페놀 함량은 10 mg/g 이상인 것을 특징으로 하는 항산화 및 항염증용 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 왜주름불가사리 추출물은 물, 메탄올, 헥산, 클로로포름, 주정, 위장 가수분해효소 및 이들의 혼합물에서 선택된 어느 하나의 용매로 추출된 것을 특징으로 하는 항산화 및 항염증용 조성물

청구항 4

제 3 항에 있어서, 상기 왜주름불가사리 추출물은,

왜주름불가사리의 건조 분말과 60 내지 80% 에탄올을 1 : 5 ~ 15 (w/w) 비율로 혼합한 후, 상온에서 20 내지 28 시간 동안 수 회 추출하고 감압여과 및 동결 건조하는 과정을 포함하여 제조되는 것을 특징으로 하는 항산화 및 항염증용 조성물.

청구항 5

제 3 항에 있어서, 상기 왜주름불가사리 추출물은,

왜주름불가사리의 건조 분말과 물을 1 : 5 ~ 15 (w/w) 비율로 혼합한 후, 70 내지 110℃에서 2 내지 4시간 동안 수 회 추출하고 감압여과 및 동결 건조하는 과정을 포함하여 제조되는 것을 특징으로 하는 항산화 및 항염증용 조성물.

청구항 6

제 3 항에 있어서, 상기 왜주름불가사리 추출물은,

(가) 왜주름불가사리의 건조 분말과 물을 1 : 40 ~ 60 (w/w) 비율로 혼합하는 단계;

(나) 상기 단계(가)의 혼합물과 제 1 위장 가수분해 효소를 pH 1 내지 3의 조건에서 1: 200 ~ 300 (w/w) 비율로 혼합 후 2 내지 4 시간 동안 처리하는 단계;

(다) 상기 단계(나)의 처리물과, 제 2 위장 가수분해 효소 및 제 3 위장 가수분해 효소를 각각 pH 7.5 내지 8.5의 조건에서 1 : 400 ~ 600 (w/w) 비율로 혼합 후 2 내지 4 시간 동안 처리하는 단계; 및,

(라) 상기 단계(다)의 처리물을 여과 후 동결 건조하는 과정을 포함하여 제조되는 것을 특징으로 하는 항산화 및 항염증용 조성물.

청구항 7

제 6 항에 있어서, 상기 제 1 위장 가수분해 효소는 펩신(pepsin), 제 2 위장 가수분해 효소는 트립신(trypsin), 및 제 3 위장 가수분해 효소는 알파키모트립신(α -chymotrypsin)인 것을 특징으로 하는 항산화 및 항염증용 조성물.

청구항 8

제 1 항의 항산화 및 항염증용 조성물을 포함하는 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 9

제 1 항의 항산화 및 항염증용 조성물을 포함하는 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 10

제 1 항의 항산화 및 항염증용 조성물을 포함하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 11

제 1 항에 따른 왜주름불가사리(*Crossaster papposus japonicus*) 추출물을 유효 성분으로 함유하는 항산화 및 항염증용 조성물의 제조 방법.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 상기 왜주름불가사리 추출물은 물, 메탄올, 헥산, 클로로포름, 주정, 위장 가수분해효소 및 이들의 혼합물에서 선택된 어느 하나의 용매로 추출된 것을 특징으로 하는 항산화 및 항염증용 조성물의 제조 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 왜주름불가사리(*Crossaster papposus japonicus*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 및 항염증용 조성물 및 그 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 우리나라 동해는 서해나 남해와 달리 해안선이 단조롭고 대륙붕이 좁아 외측으로 급경사를 이루며, 북한한류와 대마난류가 유입되는 강한 열전선이 형성되는 해역이다. 평균 수심이 약 1,700m인 동해에서 심해는 수심 200m 보다 깊은 곳으로 저수온, 고염분과 무광층의 안정적인 해양환경적 특성을 가지며 광합성에 의한 산소가 만들어 지지 않기 때문에 산소 대사율이 낮은 생물들이 서식한다고 알려져 있다. 이러한 동해 심해에 대한 수산업은 최근 적극적인 개발을 통해 심해어장의 개발, 관리, 보존이 이루어지고 있으며 대게, 붉은대게, 북쪽분홍새우 등의 갑각류와 기름가자미, 뽕지, 꼼치 등의 어류 생산량 또한 증가하고 있다.

[0003] 그러나 우리나라 동해 심해생물에 관한 산업과 연구가 대부분 식품으로 이용되는 갑각류 및 어류의 생태학적 특성, 분류 및 자원역학적 특성에 국한되어 있는 실정이다 보니 다양한 생리활성물질이 생산되는 무척추동물에 대한 연구는 미비한 실정이다.

[0004] 무척추 동물은 자기 자신들을 보호하기 위한 선천면역(Innate immunity)체계가 잘 발달되어 있어서 노폐물의 배설과 미생물 감염에 저항하기 위한 많은 종류의 이차 대사산물을 생산한다. 이러한 이차 대사산물은 항바이러스, 항세균, 항암, 항염증성 효과를 나타내 다양한 생물의약품으로 활용된다.

[0005] 특히, 우리가 가장 흔하게 접할 수 있는 해양동물 중의 하나인 불가사리는 대표적인 무척추 동물로, 전국 연안에 30여종이 서식하고 있으며 번식률은 대단히 높아서 마리당 200만~ 300만개를 산란하는 것으로 알려져 있다.

[0006] 이러한 불가사리를 이용하여 최근 사람이 먹을 수 있는 건강식품, 의약품, 공업용 성분 물질 등으로 사용하는 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 특히 의약품에 대한 연구는 가장 활발한 분야로 불가사리의 칼슘 성분을 이용한 칼슘 보충제, 추출방법을 다양한 항콜레스테롤제, 항균 조성물 등에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

[0007] 예를 들어, 공개특허공보 제10-2017-0097822호는 버섯 균사체로 발효한 불가사리 추출물을 항산화 조성물로 이용하고 있다. 그러나, 상기 특허는 불가사리 추출물의 항산화 효과를 얻기 위하여 동충하초를 이용한 발효 과정이 추가로 필요하여 충분한 수득율을 확보하기 어려운 문제점이 있다.

[0008] 이 외 다양한 종류의 불가사리 추출물의 항산화 및 항염증 효과에 대한 연구는 미흡한 실정이며, 이를 식품, 화장품, 의약 용도를 활용하기 위한 연구도 아직 부족한 상황이다.

선행기술문헌

[0009] 공개특허공보 제10-2017-0097822호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 우수한 항염증 활성과 동시에 항산화 활성을 가지는 왜주름불가사리(*Crossaster papposus japonicus*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 조성물 및 그 제조 방법을 제공하기 위한 것으로, 왜주름불가사리의 추출물이 ABTS radical, 및 Hydrogen peroxide(H_2O_2) 제거 활성이 우수하고 일산화 질소(NO) 생성 억제 활성도를 갖는다는 점을 확인하여 이를 함유하는 식품 조성물, 화장품 조성물 및 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 본 발명은 왜주름불가사리(*Crossaster papposus japonicus*) 추출물을 유효 성분으로 함유하는 항산화 및 항염증용 조성물을 제공한다.
- [0012] 상기 왜주름불가사리 추출물의 폴리페놀 함량은 10 mg/g 이상일 수 있다.
- [0013] 상기 왜주름불가사리 추출물은 물, 메탄올, 헥산, 클로로포름, 주정, 위장 가수분해효소 및 이들의 혼합물에서 선택된 어느 하나의 용매로 추출될 수 있다.
- [0014] 하나의 예로, 상기 왜주름불가사리 추출물은,
- [0015] 왜주름불가사리의 건조 분말과 60 내지 80% 에탄올을 1 : 5 ~ 15 (w/w) 비율로 혼합한 후, 상온에서 20 내지 28 시간 동안 수 회 추출하고 감압여과 및 동결 건조하는 과정을 포함하여 제조될 수 있다.
- [0016] 다른 예로, 상기 왜주름불가사리 추출물은,
- [0017] 왜주름불가사리의 건조 분말과 물을 1 : 5 ~ 15 (w/w) 비율로 혼합한 후, 70 내지 110℃에서 2 내지 4시간 동안 수 회 추출하고 감압여과 및 동결 건조하는 과정을 포함하여 제조될 수 있다.
- [0018] 또 다른 예로, 상기 왜주름불가사리 추출물은,
- [0019] (가) 왜주름불가사리의 건조 분말과 물을 1 : 40 ~ 60 (w/w) 비율로 혼합하는 단계;
- [0020] (나) 상기 단계(가)의 혼합물과 제 1 위장 가수분해 효소를 pH 1 내지 3의 조건에서 1: 200 ~ 300 (w/w) 비율로 혼합 후 2 내지 4 시간 동안 처리하는 단계;
- [0021] (다) 상기 단계(나)의 처리물과, 제 2 위장 가수분해 효소 및 제 3 위장 가수분해 효소를 각각 pH 7.5 내지 8.5의 조건에서 1 : 400 ~ 600 (w/w) 비율로 혼합 후 2 내지 4 시간 동안 처리하는 단계; 및,
- [0022] (라) 상기 단계(다)의 처리물을 여과 후 동결 건조하는 과정을 포함하여 제조될 수 있다.
- [0023] 상기 제 1 위장 가수분해 효소는 펩신(pepsin), 제 2 위장 가수분해 효소는 트립신(trypsin), 및 제 3 위장 가수분해 효소는 알파키모트립신(α -chymotrypsin)일 수 있다.
- [0024] 본 발명은, 상기 항산화 및 항염증용 조성물을 포함하는 식품 조성물을 제공한다.
- [0025] 본 발명은, 상기 항산화 및 항염증용 조성물을 포함하는 화장품 조성물을 제공한다.
- [0026] 본 발명은, 상기 항산화 및 항염증용 조성물을 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.
- [0027] 또한, 본 발명은 상기 왜주름불가사리(*Crossaster papposus japonicus*) 추출물을 유효 성분으로 함유하는 항산화 및 항염증용 조성물의 제조 방법을 제공한다.
- [0028] 상기 왜주름불가사리 추출물은 물, 메탄올, 헥산, 클로로포름, 주정, 위장 가수분해효소 및 이들의 혼합물에서 선택된 어느 하나의 용매로 추출된 것일 수 있다.

발명의 효과

[0029] 본 발명에 따른 항산화 및 항염증용 조성물은 왜주름불가사리(*Crossaster papposus japonicus*) 추출물을 유효성

분으로 함유하여, ABTS radical, 및 Hydrogen peroxide(H_2O_2) 제거 활성이 우수하고 높은 일산화 질소(NO) 생성 억제 활성도를 나타내는 바 항산화 및 항염증 효과가 매우 뛰어나다. 또한, 세포에 대한 독성이 없는 것으로 확인된 바 이를 함유하여 식품 조성물, 화장품 조성물 또는 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0030] 도 1은 실험예 2의 ABTS radical 소거 활성 측정 결과를 나타낸 그래프이다;

도 2는 실험예 3의 Hydrogen peroxide(H_2O_2) 소거능 측정 결과를 나타낸 그래프이다;

도 3은 실험예 4의 세포독성 평가 결과를 나타낸 그래프이다; 및,

도 4는 실험예 5의 일산화 질소(NO) 생성 억제 활성 측정 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] 본 발명은,

[0032] 왜주름불가사리(*Crossaster papposus japonicus*) 추출물을 유효 성분으로 함유하는 항산화 및 항염증용 조성물을 제공한다.

[0033] 상기 왜주름불가사리는 우리나라 동해 연안에 분포하고 있으며, 수심 100m 전후의 다소 깊은 곳에서 간혹 발견되는 팔을 포함한 몸통길이 7cm 전후의 비교적 흔치 않은 중형 불가사리 류이다. 단백질, 칼슘, 인 등의 무기질 및 비타민을 함유하고 있으며, 특히 다양한 질병에 대한 효능을 가지는 페놀성 물질을 다량 함유하고 있다.

[0034] 본 발명에서 "유효성분"은 내재된 약리작용에 의해 조성물의 효능·효과, 예를 들어 항산화 및 항염증 효과를 직접 또는 간접적으로 발현하는 것으로 기대되는 물질 또는 물질 군(약리학적 활성성분 등이 밝혀지지 않은 생약 등을 포함한다)으로서 주성분을 포함하는 것을 의미한다.

[0035] 본 발명에서 "항산화 및 항염증용 조성물"은 항산화 효과 및 항염증 효과를 동시에 나타내는 조성물을 의미한다.

[0036] 본 발명의 항산화 및 항염증용 조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 왜주름불가사리 추출물을 0.0001 중량% 내지 99.99 중량%, 상세하게는 0.1 중량% 내지 99 중량%로 포함할 수 있으며, 상기 항산화 및 항염증용 조성물의 사용방법 및 사용목적에 따라 유효성분의 함량을 적절히 조절할 수 있다.

[0037] 상기 왜주름불가사리 추출물의 폴리페놀 함량은 10 mg/g 이상일 수 있으며, 상세하게는, 10 mg/g 이상 내지 30 mg/g 이하일 수 있다.

[0038] 상기 왜주름불가사리 추출물은 다양한 추출 용매를 이용하여 제조할 수 있다. 예를 들어, 상기 추출 용매는 물, 메탄올, 헥산, 클로로포름, 주정, 위장 가수분해효소 및 이들의 혼합물에서 선택된 어느 하나일 수 있고, 상세하게는, 물, 주정, 위장 가수분해 효소 및 이들의 혼합물에서 선택된 하나 이상일 수 있다.

[0039] 상기 물은, 예를 들어 증류수, 또는 초 순수일 수 있고, 또한 이들의 냉수 또는 열수 상태로 이용할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0040] 상기 주정은 일종의 에탄올로, 예를 들어 60 내지 80%의 에탄올일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0041] 상기 위장 가수분해 효소는 위 또는 장에서 분비되는 단백질 가수분해 효소로, 예를 들어 펩신(pepsin), 트립신(trypsin), 또는 알파키모트립신(α -chymotrypsin)일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0042] 상기 왜주름불가사리 추출물을 얻는 방법은 제한이 없으나, 본 발명의 발명자들은 이하 실험예들에서 보는 바와 같이 특정 추출 조건에서 얻은 추출물이 우수한 항산화 및 항염증 효과를 나타내는 것을 확인하였다.

[0043] 하나의 예로, 상기 왜주름불가사리 추출물은,

[0044] 왜주름불가사리의 건조 분말과 60 내지 80% 에탄올을 1 : 5 ~ 15 (w/w) 비율로 혼합한 후, 상온에서 20 내지 28 시간 동안 수 회 추출하고 감압여과 및 동결 건조하는 과정을 포함하여 제조될 수 있다.

[0045] 상세하게는, 왜주름불가사리의 건조 분말과 60 내지 80% 에탄올을 1 : 8 ~ 12 (w/w) 비율로 혼합한 후, 상온에서 22 내지 26시간 동안 3회 내지 5회 추출하고 감압여과 및 동결 건조하는 과정을 포함하여 제조될 수 있다.

- [0046] 상기 왜주름불가사리의 건조 분말은 당업계에 공지된 통상의 방법에 따라 제조될 수 있으며, 구체적으로 왜주름불가사리를 세척, 건조 및 분쇄하여 얻을 수 있다.
- [0047] 다른 예로, 상기 왜주름불가사리 추출물은,
- [0048] 왜주름불가사리의 건조 분말과 물을 1 : 5 ~ 15 (w/w) 비율로 혼합한 후, 70 내지 110℃에서 2 내지 4시간 동안 수 회 추출하고 감압여과 및 동결 건조하는 과정을 포함하여 제조될 수 있다.
- [0049] 상세하게는, 상기 왜주름불가사리의 건조 분말과 물을 1 : 8 ~ 12 (w/w) 비율로 혼합한 후, 80 내지 100℃에서 3시간 동안 3회 내지 5회 추출하고 감압여과 및 동결 건조하는 과정을 포함하여 제조될 수 있다.
- [0050] 또 다른 예로, 상기 왜주름불가사리 추출물은,
- [0051] (가) 왜주름불가사리의 건조 분말과 물을 1 : 40 ~ 60 (w/w) 비율로 혼합하는 단계;
- [0052] (나) 상기 단계(가)의 혼합물과 제 1 위장 가수분해 효소를 pH 1 내지 3의 조건에서 1: 200 ~ 300 (w/w) 비율로 혼합 후 2 내지 4 시간 동안 처리하는 단계;
- [0053] (다) 상기 단계(나)의 처리물과, 제 2 위장 가수분해 효소 및 제 3 위장 가수분해 효소를 각각 pH 7.5 내지 8.5의 조건에서 1 : 400 ~ 600 (w/w) 비율로 혼합 후 2 내지 4 시간 동안 처리하는 단계; 및,
- [0054] (라) 상기 단계(다)의 처리물을 여과 후 동결 건조하는 과정을 포함하여 제조될 수 있다.
- [0055] 상기 단계(나)는 상세하게는, 상기 단계(가)의 혼합물과 제 1 위장 가수분해 효소를 pH 2의 조건에서 1: 250 ~ 300 (w/w) 비율로 혼합 후 2 내지 4 시간 동안 처리하여 진행할 수 있다.
- [0056] 상기 단계(다)는 상세하게는, 상기 단계(나)의 처리물과, 제 2 위장 가수분해 효소 및 제 3 위장 가수분해 효소를 각각 pH 8의 조건에서 1 : 500 ~ 600 (w/w) 비율로 혼합 후 2 내지 4 시간 동안 처리하여 진행할 수 있다.
- [0057] 상기 단계(나)의 제 1 위장 가수분해 효소는 펩신(pepsin), 상기 단계(다)의 제 2 위장 가수분해 효소는 트립신(trypsin), 및 제 3 위장 가수분해 효소는 알파키모트립신(α -chymotrypsin)일 수 있다.
- [0058] 한편, 본 발명은 상기 항산화 및 항염증용 조성물을 포함하는 것을 특징으로 하는 식품 조성물을 제공한다.
- [0059] 상기 식품 조성물은 왜주름불가사리 추출물을 함유하여 항산화 및 항염증 기능을 가지며, 상기 항산화 및 항염증용 조성물은 천연성분으로 이하 실험예에서 볼 수 있는 바와 같이 세포 독성이 없는 것으로 확인되어 인체에 유해하지 아니하므로 식품에 안전하게 적용할 수 있다.
- [0060] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분으로서 왜주름불가사리 추출물 이외에 식품 조성물에 통상적으로 이용되는 첨가물들을 포함할 수 있으며, 예컨대 통상적으로 사용되는 첨가물 등 다른 유효성분이나 색소, 계면활성제, 방부제 등의 첨가물과 혼합하여 사용할 수 있다. 상기 첨가제는 그 사용 목적 및 용도에 따라 분말화, 과립화, 캡슐화, 정제화 또는 액상화하여 건강기능식품, 영양 보조제, 건강식품, 또는 식품첨가물의 형태로 활용될 수 있다.
- [0061] 상기 식품 조성물은 적용 대상, 형태 등에 따라 왜주름불가사리 추출물의 함량을 적절히 조절할 수 있으며, 상세하게는 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 50 중량%일 수 있다.
- [0062] 또한, 본 발명은 상기 항산화 및 항염증용 조성물을 포함하는 것을 특징으로 하는 화장품 조성물을 제공한다.
- [0063] 상기 화장품 조성물은 왜주름불가사리 추출물을 함유하여 항산화 및 항염증 기능을 가지며, 상기 항산화 및 항염증용 조성물은 천연성분으로 이하 실험예에서 볼 수 있는 바와 같이 세포 독성이 없는 것으로 확인되어 인체에 유해하지 아니하므로 화장품에 안전하게 적용할 수 있다.
- [0064] 본 발명의 화장품 조성물은 유효성분으로서 왜주름불가사리 추출물 이외에 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예컨대 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함할 수 있다.
- [0065] 상기 화장품 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 반드시 한정되는 것은 아니며, 상세하게는, 유연 화장수, 젤, 수용성 리퀴드, 밀크로션, 크림, 에센스, 스킨토너, 수중유형(oil-in-water) 에멀전, 유중수형(water-in-oil) 에멀전, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 바디오일, 바디로션, 수중유형

메이크업베이스, 유중수형 메이크업베이스 및 파운데이션의 제형으로 제조될 수 있다.

- [0066] 상기 화장료 조성물은 적용 대상, 형태 등에 따라 왜주름불가사리 추출물의 함량을 적절히 조절할 수 있으며, 상세하게는 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 50 중량%일 수 있다.
- [0067] 또한, 본 발명은 상기 항산화 및 항염증용 조성물을 포함하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물을 제공한다.
- [0068] 상기 약학적 조성물은 왜주름불가사리 추출물을 함유하여 항산화 및 항염증 기능을 가지며, 상기 항산화 및 항염증용 조성물은 천연성분으로 이하 실험예에서 볼 수 있는 바와 같이 세포 독성이 없는 것으로 확인되어 인체에 유해하지 아니하므로 의약품에 안전하게 적용할 수 있다.
- [0069] 상기 약학적 조성물은 추가 성분들을 더 포함할 수 있고, 예를 들어 담체, 부형제, 및 희석제 중에서 적어도 하나를 더 포함할 수 있다.
- [0070] 본 발명의 약학적 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있으나 이에 제한 되는 것은 아니다.
- [0071] 상기 약학적 조성물은 적용 대상, 형태 등에 따라 왜주름불가사리 추출물의 함량을 적절히 조절할 수 있으며, 상세하게는 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 50 중량%일 수 있다.
- [0072] 한편, 본 발명은, 상기 왜주름불가사리 추출물을 유효 성분으로 함유하는 항산화 및 항염증용 조성물의 제조 방법을 제공한다.
- [0073] 상기 왜주름불가사리 추출물은 물, 메탄올, 헥산, 클로로포름, 주정, 위장 가수분해효소 및 이들의 혼합물에서 선택된 어느 하나의 용매로 추출될 수 있고, 상세하게는, 물, 주정, 위장 가수분해효소를 이용하여 앞서 설명한 방법을 이용할 수 있다.
- [0076] 이하, 본 발명의 실시예를 들어 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0078] **실시예 1 (70% 에탄올 추출)**
- [0079] 왜주름불가사리의 건조 분말을 70% 에탄올과 1 : 10 (w/w) 비율로 혼합 한 후 상온에서 24시간 동안 3회 반복 추출 하였다. 추출용액을 20분 동안 원심분리 하여 잔사를 제거하고 감압여과 하였다. 획득한 여과액을 회전진공농축기를 이용하여 에탄올을 휘발시켰으며, 농축액을 동결 건조하여 추출시료를 획득하였다.
- [0081] **실시예 2 (열수 추출)**
- [0082] 왜주름불가사리의 건조 분말을 증류수와 1 : 10 (w/w) 비율로 혼합 한 후 90℃ 중탕기에서 3시간 동안 3회 반복 추출 하였다. 추출용액을 20분 동안 원심분리 하여 잔사를 제거하고 감압여과 하였다. 획득한 여과액을 동결 건조하여 왜주름불가사리 추출물을 획득하였다.
- [0084] **실시예 3 (위장 가수분해 효소 추출)**
- [0085] 왜주름불가사리의 건조 분말을 증류수와 1:50 (w/w) 비율로 혼합 한 후 37℃ 중탕기에서 pH 2에서 Pepsin 가수분해 효소를 1 : 250 비율로 3시간 동안 처리 후, pH 8에서 Trypsin, α-chymotrypsin 가수분해 효소를 각각 1 : 500 비율로 3시간 동안 처리하였다. 추출용액을 20분 동안 원심분리 하여 잔사를 제거하고 탁상형 전기투석장치를 사용하여 탈염과정을 통해서 얻어진 여과액을 동결 건조하여 왜주름불가사리 추출물을 획득하였다.

[0087] **실험예 1 (성분 조성 측정)**

[0088] (1) 시험방법

[0089] 실시예 1 내지 3에서 얻은 왜주름불가사리 추출물에 대하여 각각 단백질 함량, 총 폴리페놀 함량 및 총 당 함량을 각각 하기 방법으로 조사하여 하기 표 1에 나타내었다.

[0090] **단백질 함량**

[0091] 각각의 시료 20 μ L를 96 well plate에 분주하고 BCA assay reagent 180 μ L를 가하여 37℃ 에서 30분간 반응시킨 후 micro plate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

[0092] **총 폴리페놀 함량**

[0093] 각 시료 100 μ L에 7.5% Na_2CO_3 250 μ L를 가한 후 5분간 상온에서 반응 시켰다. 여기에 1N Folin-Ciocalteu reagent 300 μ L를 가하여 30분 동안 암실조건에서 반응시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid를 사용하였다.

[0094] **총 당 함량**

[0095] 각 시료 100 μ L에 5% phenol 100 μ L과 H_2SO_4 500 μ L를 혼합하여 상온에서 20분간 반응 시켰다. 그 후, 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 glucose를 사용하였다.

[0097] (2) 검토

[0098] <표 1>

Scientific name	Extract methods	Protein content (mg/g)	Polyphenol content (mg/g)	Carbohydrate content (mg/g)
<i>Crossaster papposus japonicus</i>	70% EtOH extracts	204.67	29.53	32.65
	Hot water extracts	356.89	35.36	40.41
	Gastro-intestinal digestion	425.88	11.49	52.43

[0099]

[0100] 에탄올은 생물의 페놀성 물질을 추출하는 최적의 용매로 알려져 있는 바 실시예 1의 주정추출은 다양한 질병에 대한 효능을 가지는 페놀성 물질을 추출하기 위해 70% 에탄올을 이용하여 추출을 진행하였다. 실시예 2의 열수 추출은 한 가지에 국한되지 않고 생물 내에 함유되어 있는 다양한 거대분자들을 추출할 수 있는 방법이다. 실시예 3의 위장 가수분해 효소 추출은 해양 무척추 동물의 단백질을 가수분해하여 추출할 수 있는 방법이다.

[0101] 상기 표 1에 따르면, 실시예 1 내지 3에 따른 조성물은 각각 다양한 질병에 대한 효능을 가지는 페놀성 물질을 포함하는 것을 확인할 수 있다. 실시예 1의 주정 추출물과 실시예 2의 열수 추출물간의 폴리페놀의 함량의 차이가 거의 없는 것을 보아 심해 생물내에 함유되어 있는 페놀성 물질은 미량인 것으로 판단되며, 단백질 함량이 폴리페놀과 당 함량보다 압도적으로 높은 것을 보아 심해 무척추 동물의 주성분은 단백질로 판단된다.

[0103] **실험예 2 (ABTS radical 소거 활성 측정)**

[0104] (1) 시험방법

[0105] 실시예 1 내지 3에서 얻은 왜주름불가사리 추출물에 대하여 각각 2.45 mM potassium persulphate와 7 mM 2,2'-azino-bis(ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) 혼합한 후 16시간 동안 실온에서 반응시켜 ABTS radical을 형성시키고 실험 직전에 ABTS radical 용액을 735 nm의 흡광도에서 $0.7^{\circ}\text{C} \pm 0.02$ 인 값이 되도록 증류수로 희석하였다. 그리고 96-well plate에 각 시료 100 μL 와 ABTS radical 용액 100 μL 를 상온에서 10분간 반응시켜 735 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 증류수를 가하여 시료의 흡광도를 측정하였으며 아래의 식에 의해 계산하였다. IC_{50} 값은 각농도별 ABTS radical 소거활성에 대한 검량선에서 ABTS radical 소거능이 50%가 되는 농도값을 구하여 하기 도 1에 나타내었다.

[0107] $\text{ABTS radical 소거활성 (\%)} = [1 - (\text{대조구 흡광도} - \text{시료첨가 흡광도}) / \text{대조구흡광도}] \times 100 (\%)$

[0109] (2) 검토

[0110] ABTS radical 소거 활성 측정은 ABTS 시약이 potassium persulfate와 반응하여 생성된 ABTS radical이 시료의 항산화 활성에 의해 양이온이 소거되면서 ABTS radical이 소멸되는 것을 측정하는 실험이다. 이러한 ABTS radical 소거 활성 측정은 친수성과 소수성 모두 적용이 가능한 실험으로써 천연항산화제 연구에 적합한 실험 방법이다.

[0111] 왜주름불가사리 3가지 추출물의 ABTS radical 소거능 결과를 나타낸 하기 도 2에 따르면, 실시예 3의 ABTS radical 위장가수분해추출물에서 50% 소거되는 값인 IC_{50} 값이 0.71 mg/ml로 가장 낮은 값을 나타내는 것을 확인하였다.

[0113] 실험예 3 (Hydrogen peroxide(H_2O_2) 소거능 측정)

[0114] (1) 시험방법

[0115] 0.1 M phosphate buffer (pH 5.0) 100 μL 와 실시예 1 내지 3에서 얻은 왜주름불가사리 추출물을 각각 혼합한 뒤 96 well plate에 분주한다. 20 μL 과산화수소 용액을 혼합하여 첨가 해주고, 37°C 에서 5분간 반응 시킨다. 반응 시킨 후, 1.25 mM ABTS용액 30 μL 와 peroxidase (1 unit/ml)용액 30 μL 를 혼합물에 첨가해준다. 그리고 37°C 에서 10분간 반응 시킨 후 micro plate reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하여 하기 도 2에 나타내었다.

[0117] (2) 검토

[0118] 생체에서 생성된 hydroxyl radical 같은 활성산소종은 반응성이 대단히 높다. 생체내의 superoxide dismutase(SOD)가 superoxide를 hydrogen peroxide로 변화시키고, catalase는 hydrogen peroxide를 제거한다. 한편 glutathione transferase와 glutathione peroxidase들은 친전자성 이물을 포함하여 해독하며 SOD에 의해 생성된 peroxide를 제거한다. 그러나 생체 내에서 완화된 oxidative stress가 일어나면 세포들은 이러한 항산화화기전을 가동하여 반응하지만 심한 oxidative stress는 세포상해를 일으키며 necrosis와 apoptosis로 발전된다.

[0119] 실시예 1 내지 3에 따른 왜주름불가사리 3가지 추출물의 H_2O_2 소거능 활성을 측정한 결과를 나타낸 하기 도 2에 따르면, 실시예 3의 위장가수분해추출물이 50% 소거되는 값인 IC_{50} 값이 1.73 mg/ml로 가장 낮은 값을 나타내므로 가장 우수한 항산화 효과를 나타내는 것을 확인하였다.

[0121] 실험예 4 (세포독성 평가)

[0122] (1) 시험방법

[0123] 독성평가는 Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT)assay를 수행하였다. RAW 264.7 대식세포는 4×10^5

cells/mL로 24-well-plate에 분주한 후 5% CO₂와 37℃ 조건에서 24시간 동안 배양한 후, 실시예 1 내지 3에서 얻은 왜주름불가사리 추출물들을 각각 100, 200 및 400 ug/mL의 농도로 전처리 하여 동일한 조건에서 배양하였다. 1시간 후 lipopolysaccharide (LPS, 0.25 ug/mL)를 처리하여 추가적으로 24시간 배양하였다. 배양 후 100 uL의 MTT 용액을 각 well에 첨가하여 생존세포에서 formazan을 형성할 수 있도록 하기 위해서 4시간 동안 추가 배양 실시하였다. 그리고 MTT 용액을 제거하고 100 uL dimethyl sulfoxide를 첨가하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 하기 도 3에 나타내었다.

(2) 검토

왜주름불가사리 추출물들의 항염증 실험을 진행하기 위하여 RAW 264.7에 실시예 1 내지 3에 따른 왜주름불가사리 추출물들의 다양한 농도(100, 200, 400 ug/mL)와 LPS를 처리한 후, MTT assay를 통하여 세포독성을 확인하였다.

하기 도 3에 따르면 실시예 1 내지 3에 따른 왜주름불가사리 추출물은 각각 LPS 무처리군, LPS 처리군과 비교하여 세포에 대한 독성이 없는 것을 확인하였다

실험예 5 (일산화 질소(NO) 생성 억제 활성 측정)

(1) 시험방법

RAW 264.7은 4×10⁵ cells/mL로 24-well-plate에 분주한 후 5% CO₂와 37℃ 조건에서 24시간 동안 배양한 후, 실시예 1 내지 3에서 얻은 왜주름불가사리 추출물들을 각각 100, 200 및 400 ug/mL의 농도로 전 처리하여 동일한 조건에서 배양하였다. 1시간 후 LPS를 처리하여 추가적으로 24시간 배양시킨 후, 배양배지 100 uL와 griess reagent 100 uL를 10분간 반응 시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하여 하기 도 4에 나타내었다.

(2) 검토

정상적인 상태에서 분비되는 소량의 NO (10⁻¹² mole)는 신경전달이나 혈관 평활근의 이완, 혈소판응집의 억제 등 여러 생리적 역할을 한다. 하지만 비정상적인 상태에서 고농도로 분비되는 NO (10⁻⁹ mole)는 체내에서 강한 hydroxyl radical 및 유해물질을 생성하여 세포내 DNA를 탈아미노화시켜 손상을 일으키거나 세포자살을 유도한다고 알려져 있다.

RAW 264.7에 그람음성균 막에 존재하는 다당류인 LPS를 처리하여 일산화질소를 유도하여 심해 무척추동물의 추출물들의 항염증 효능을 분석하였다.

하기 도 4에 따르면, LPS 처리군(+)은 LPS 무처리군(-)보다 NO가 약 5배정도 높게 생성되어 LPS 처리에 따른 NO 생성이 잘 유도된 것을 확인할 수 있었다. 또한, NO 생성 억제를 확인한 결과, 실시예 1의 주정추출물이 특히, 400 ug/mL의 농도에서 가장 우수한 일산화 질소(NO) 생성 억제 효과를 나타내므로 우수한 항염증 효과를 확인하였다.

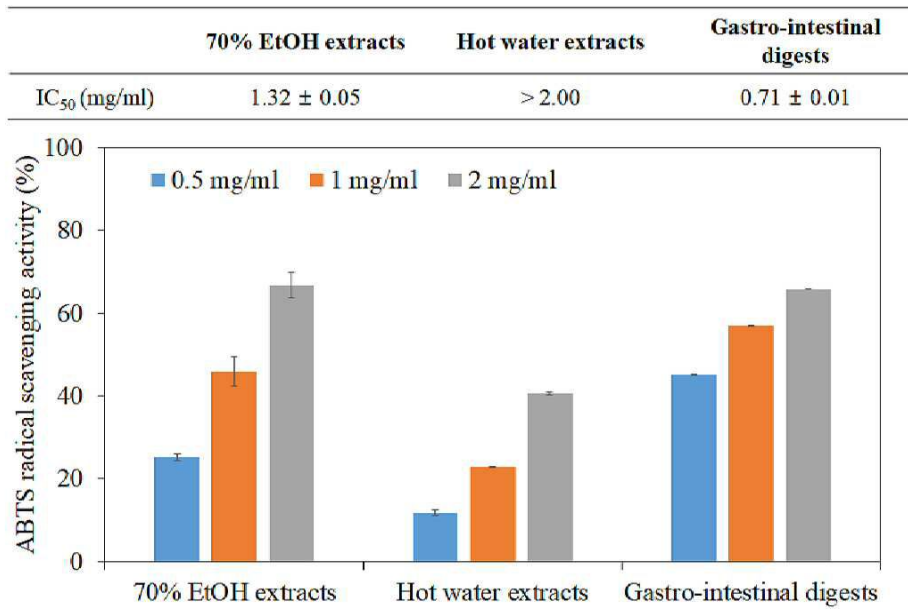
[0137]

통계분석

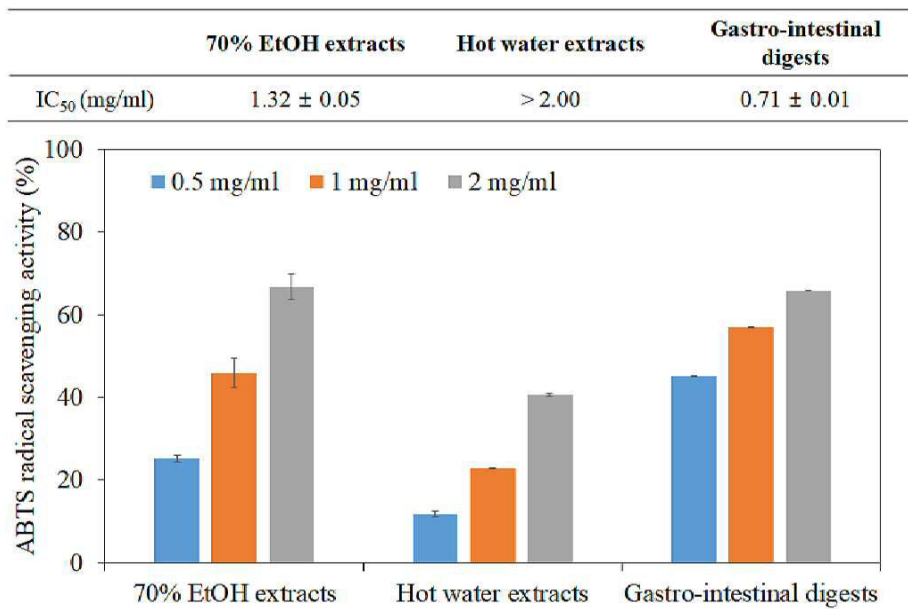
상기 본 연구 결과는 모두 평균(Mean)±표준편차(Standard deviation)로 나타내었다. 통계 및 분석은 SPSS 프로그램(SPSS Inc. Ver12.0)의 One-way ANOVA-test를 사용하여 유의성을 평가하였다.

도면

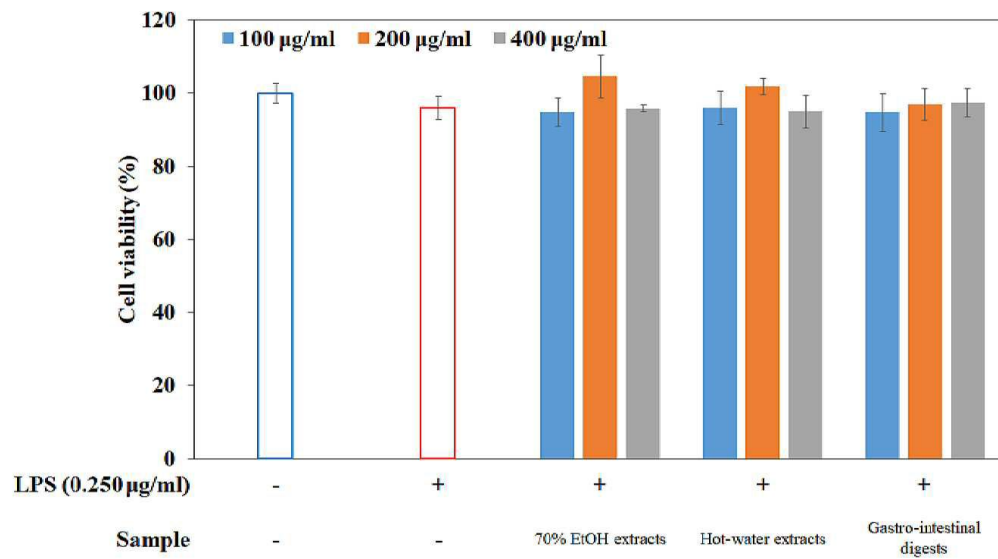
도면1



도면2



도면3



도면4

