



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0059221  
(43) 공개일자 2017년05월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 36/73 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)  
A61K 8/97 (2017.01) A61Q 19/00 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A61K 36/73 (2013.01)  
A23L 33/105 (2016.08)  
(21) 출원번호 10-2015-0163297  
(22) 출원일자 2015년11월20일  
심사청구일자 없음

(71) 출원인  
한양대학교 산학협력단  
서울특별시 성동구 왕십리로 222(행당동, 한양대학교내)  
(72) 발명자  
엄애선  
서울특별시 동작구 신대방1가길 38, 101-1201 (신대방동, 동작상떼빌아파트)  
곽신혜  
인천광역시 부평구 장제로380번길 38-6 604-302 (삼산동, 삼산타운)  
송유나  
서울특별시 중랑구 신내로 225 디아뜨갤러리 238 (신내동)  
(74) 대리인  
정은열

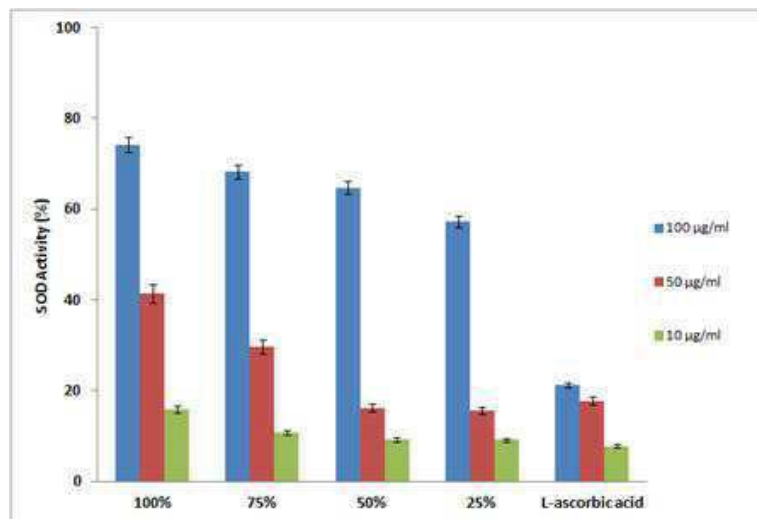
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 항노화용 조성물

(57) 요약

본 발명은 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 항노화용 조성물에 관한 것으로, 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물은 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높고, 슈퍼옥사이드 디스뮤타제 (superoxide dismutase, SOD) 및 제2철 감소(Ferric reducing/antioxidant power, FRAP)에서 높은 활성을 나타낼 뿐만 아니라 비소와 같은 산화적 스트레스 조건에서 세포를 보호하는 효과가 있으므로 항산화 또는 항노화용 약학적 조성물, 화장품 조성물, 및 식품으로 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

*A61K 8/97* (2013.01)

*A61Q 19/00* (2013.01)

*A23V 2002/00* (2013.01)

*A23V 2300/14* (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ0105012015

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관 농촌진흥청

연구사업명 농축산물부가가치향상 기술개발

연구과제명 식품원료의 신규등록을 위한 안전성 평가 연구

기여율 1/1

주관기관 한양대학교산학협력단

연구기간 2015.01.01 ~ 2015.12.31

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 항노화용 약학적 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물은 물, C<sub>1</sub> 내지 C<sub>2</sub>의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 사용하여 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는, 항산화 또는 항노화용 약학적 조성물.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물은 물 및 에탄올의 혼합물을 용매로 사용하여 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는, 항산화 또는 항노화용 약학적 조성물.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 슈퍼옥사이드 디스무타제(superoxide dismutase, SOD) 활성, 제2철염 감소(Ferric reducing/antioxidant power, FRAP) 활성 및 비소(As) 독성 억제 활성 중 적어도 하나 이상의 활성을 나타내는 것을 특징으로 하는 항산화 또는 항노화용 약학적 조성물.

#### 청구항 5

복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 항노화용 화장료 조성물.

#### 청구항 6

제5항에 있어서,

복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물은 물, C<sub>1</sub> 내지 C<sub>2</sub>의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 사용하여 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는, 항산화 또는 항노화용 화장료 조성물.

#### 청구항 7

제5항에 있어서,

복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물은 물 및 에탄올의 혼합물을 용매로 사용하여 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는, 항산화 또는 항노화용 화장료 조성물.

**청구항 8**

제5항에 있어서,

상기 화장료 조성물은 수퍼옥사이드 디스뮤타제(superoxide dismutase, SOD) 활성, 제2철염 감소(Ferric reducing/antioxidant power, FRAP) 활성 및 비소(As) 독성 억제 활성 중 적어도 하나 이상의 활성을 나타내는 것을 특징으로 하는 항산화 또는 항노화용 화장료 조성물.

**청구항 9**

복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 항노화용 식품.

**청구항 10**

제9항에 있어서,

복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물은 물, C<sub>1</sub> 내지 C<sub>2</sub>의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 사용하여 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는, 항산화 또는 항노화용 식품.

**청구항 11**

제9항에 있어서,

복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물은 물 및 에탄올의 혼합물을 용매로 사용하여 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는, 항산화 또는 항노화용 식품.

**청구항 12**

제9항에 있어서,

상기 식품은 수퍼옥사이드 디스뮤타제(superoxide dismutase, SOD) 활성, 제2철염 감소(Ferric reducing/antioxidant power, FRAP) 활성 및 비소(As) 독성 억제 활성 중 적어도 하나 이상의 활성을 나타내는 것을 특징으로 하는 항산화 또는 항노화용 식품.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 항산화 또는 항노화용 조성물에 관한 것으로, 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 항노화용 약학적 조성물, 화장료 조성물, 및 식품에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0003] 공기 중에 일반적으로 존재하는 안정한 분자상태인 기체 삼중항산소가 체내 효소계, 환원대사, 화학약품, 공해 물질, 광화학 반응과 같은 환경 및 생화학적 요인 등에 의하여 반응성이 매우 큰 자유라디칼(free radical)인 활성산소(active oxygen)로 전환되어 세포의 구성성분을 비가역적으로 파괴한다.

[0004] 활성산소는 체내 방어기구인 수퍼옥사이드 디스뮤타제(superoxide dismutase, SOD), 카탈라아제(catalase), 퍼옥시다아제(peroxidase), 글루타치온(glutathione) 등의 항산화성 효소 및 비타민 C(vitamin C, ascorbic acid), 비타민 E(tocopherol) 등의 항산화 물질의 작용에 의하여 최소화 될 수 있다. 하지만 과도한 활성산소에 노출되거나 생체 방어력에 이상이 생기게 될 경우 균형이 깨어져서 활성산소가 생체에 치명적인 산소독성을 일

크게 된다.

- [0005] 체내 과도한 활성산소는 세포구성 성분들인 지질, 단백질, 당, DNA 등과 반응하여 파괴작용을 함으로써 노화는 물론 암을 비롯하여 뇌졸중, 파킨슨씨병 등의 뇌질환과 심장질환, 허혈, 동맥경화, 피부손상, 염증, 류마티스, 자가면역질환 등의 각종 질병을 일으키는 원인이 되고 있다.
- [0006] 이와 같은 산화적 스트레스가 노화를 비롯하여 각종 질환을 일으키는 중요한 원인임이 밝혀지면서 생체 내 활성산소를 제거하는 항산화제를 개발하려는 연구가 활발히 진행되고 있다.
- [0007] 합성 항산화제로 널리 사용되고 있는 BHA(butylated hydroxy anisol)와 BHT(butylated hydroxy toluene)는 그 효과와 경제성 그리고 안전성 때문에 많이 사용해 왔지만 합성 첨가물의 일반적인 기피 현상뿐만 아니라 장기간 과량 복용 시 위장점막, 폐, 신장, 순환계 등에 심각한 독성작용을 일으키는 것으로 알려져 그 사용량이 법적으로 규제되어 있다.
- [0008] 또한 인체에 무해하고 항산화력이 우수한 천연 항산화제 관한 연구가 오래전부터 진행되어 왔으나 토코페롤과 같은 천연 항산화제는 인체에 대하여 안전하기는 하나 단독으로는 산화 연쇄반응 저지 능력이 있고, 가격이 비싼 단점이 있다.
- [0009] 따라서 보다 안전하고 항산화 효능이 탁월하면서도 경제성이 있는 새로운 항산화제 개발이 절실히 요구되어 진다.
- [0010] 복분자딸기는 장미과에 속하는 낙엽관목으로 학명은 *Rubus coreanus* Miquel 이다. 꽃은 5~6월 즈음에 피고, 열매는 7~8월 즈음에 맺으며 처음에는 붉은색을 띠다가 점점 흑색으로 변한다. 주로 우리나라의 남부지방에 많이 야생하며 남부 및 중부지방에서 재배된다. 복분자의 열매는 안토시아닌계 화합물질을 함유하여 항산화 기능이 뛰어나고, 비타민 A, C 등과 각종 미네랄이 풍부하여 피로회복에 좋을 뿐만 아니라 항암, 동맥경화예방, 혈전예방, 및 살균효과 등이 있는 것으로 밝혀졌다. 상설한 바와 같이 복분자딸기의 열매는 동의보감, 당본초 등 여러 고문헌에 그 효능이 언급되어 있고 현대의학의 약리작용 분석에서도 복분자 열매의 효능이 밝혀져 다양한 분야에서 널리 활용되고 있다. 그러나 복분자딸기의 잎과 줄기에 대한 효용성은 널리 알려져 있지 않다. 비록 복분자딸기의 줄기 및 잎으로부터 분리한 탄닌 화합물이 항산화 활성을 나타낸다는 것이 보고(대한약학회지 제44권 제4호 pp. 354-357)된 바 있으나 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있지 않아 복분자딸기의 줄기 및 잎은 널리 활용되지 않고 있다. 실제로 복분자딸기의 잎은 식품 재료로서 한시적 기준으로 우리나라 식품공전에 등록되어 있지만 줄기는 국내 섭취 근거가 부족하다는 이유로 등록되어 있지 않은 실정이다.
- [0011] 본원 발명자들은 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물이 높은 페놀 및 플라보노이드 함량을 나타낼 뿐만 아니라 수퍼옥사이드 디스뮤타제(superoxide dismutase, SOD) 및 제2철염 감소(Ferric reducing/antioxidant power, FRAP) 활성이 높고, 세포독성을 나타내지 않아 안전하며, 산화적 스트레스로서 비소를 처리한 사람의 신장세포주에서 항산화 시스템에서 주요 역할을 하는 헴 옥시게나제-1(Heme Oxygenase-1, HO-1) 단백질 발현이 감소되는 세포 보호효과를 나타낸다는 점을 규명하였다. 따라서 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물은 천연물 유래로 안전하면서 용이한 추출방법으로, 알려진 추출물 보다 현저히 뛰어난 항산화 활성 나타내어 높은 경제성을 갖는 항산화 조성물로 활용할 수 있는 바, 본 발명을 완성하기에 이르렀다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0013] 본 발명의 목적은 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 항노화용 약학적 조성물, 화장료 조성물, 및 식품을 제공하는 것이다.

**과제의 해결 수단**

- [0015] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물이 페놀 및 폴리페놀의 함량이 높고, 수퍼옥사이드 디스뮤타제(superoxide dismutase, SOD) 및 제2철 감소(Ferric reducing/antioxidant power, FRAP) 활성 또한 높다는 점, 및 산화적 스트레스로서 비소를 처리한 사람의 신장세포주에서의 세포보호 효과를 나타낸다는 점을 실험을 통해 확인함으로써 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화

또는 항노화용 약학적 조성물, 화장품 조성물, 및 식품을 제공한다.

### 발명의 효과

[0017] 본 발명의 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물이 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높고, 슈퍼옥사이드 디스뮤타제 (superoxide dismutase, SOD) 및 제2철염 감소(Ferric reducing/antioxidant power, FRAP) 활성이 높을 뿐만 아니라 세포독성이 없어 안전하며, 비소와 같은 산화적 스트레스 조건에서 세포 보호효과를 나타낸다는 것을 확인하였으므로 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물은 항산화 또는 항노화용 약학적 조성물, 화장품 조성물, 및 식품의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0019] 도 1은 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물의 총 폴리페놀 함량을 그래프로 나타낸 것이다.  
 도 2는 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물의 총 플라보노이드 함량을 그래프로 나타낸 것이다.  
 도 3은 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물에 의한 슈퍼옥사이드 디스뮤타제(superoxide dismutase, SOD) 활성을 나타낸 그래프이다.  
 도 4는 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물에 의한 제2철염 감소(Ferric reducing/antioxidant power, FRAP) 활성을 나타낸 그래프이다.  
 도 5는 2.5  $\mu\text{M}$  비소(As) 처리 조건에서 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물에 의한 HK-2 세포의 세포 생존율을 나타낸 그래프이다.  
 도 6은 5  $\mu\text{M}$  비소(As) 처리 조건에서 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물에 의한 HK-2 세포의 세포 생존율을 나타낸 그래프이다.  
 도 7은 2.5  $\mu\text{M}$  비소(As) 처리 조건에서 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물에 의한 HEK 293 세포의 세포 생존율을 나타낸 그래프이다.  
 도 8은 5  $\mu\text{M}$  비소(As) 처리 조건에서 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물에 의한 HEK 293 세포의 세포 생존율을 나타낸 그래프이다.  
 도 9는 비소(As) 처리 조건에서 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물에 따른 HO-1 단백질 발현을 웨스턴 블롯을 통해 측정된 결과를 나타낸 것이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 본 발명은 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 항노화용 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0021] 본 발명의 일 양태에서, 상기 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물은 하기 단계들을 포함하는 제조방법에 의해 제조될 수 있다.

[0022] a) 복분자딸기의 잎 및 줄기를 절단하여 건조한 후 분말화 하는 단계;

[0023] b) 상기 분말 시료에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;

[0024] c) 상기 b) 단계의 추출물을 여과하는 단계; 및

[0025] d) 상기 단계 c)의 여과한 추출물을 감압 농축한 후 건조하여 여주 추출물을 제조하는 단계.

[0026] 본 발명의 일 양태에서, 상기 제조방법에 있어 a)단계의 복분자딸기의 잎 및 줄기는 야생의 것, 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다.

[0027] 본 발명의 일 양태에서, 상기 제조방법에 있어 b) 단계의 추출용매는 물, 알코올, 또는 이들이 혼합물을 사용하는 것이 바람직하다.

- [0028] 본 발명의 일 양태에서, 상기 제조방법에 있어 알코올은 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>2</sub> 저급 알코올일 수 있으며, 바람직하게 에탄올 또는 메탄올일 수 있고, 보다 더 바람직하게 에탄올일 수 있다.
- [0029] 본 발명의 일 양태에서, 상기 약학적 조성물은 수퍼옥사이드 디스뮤타제(superoxide dismutase, SOD) 활성, 제2 철염 감소(Ferric reducing/antioxidant power, FRAP) 활성 및 비소(As) 독성 억제 활성 중 적어도 하나 이상의 활성을 가진다.
- [0030] 상기 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 상기 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 진분, 탄산칼슘, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌 글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween)61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0031] 상기 약학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있다.
- [0032] 상기 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다.
- [0033] 본 발명에서 용어 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 증정도, 연령, 성별, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 추출물은 1일 1 내지 100 mg/kg으로, 바람직하게는 1 내지 10 mg/kg으로 투여될 수 있다.
- [0034] 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 항산화 효과 또는 항노화 효과를 나타내는 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 치료제와 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0035] 본 발명에서 용어 "개체"란 항산화 효과 또는 항노화 활성을 통해 예방 또는 치료할 수 있는 질환이 이미 발병되었거나, 발병될 수 있는 인간을 포함한 모든 동물을 의미하고 본 발명의 추출물을 포함하는 조성물을 개체에 투여함으로써, 상기 질환을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있다.
- [0036] 상기 약학적 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물은 목적하는 바에 따라 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한 상기 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.
- [0038] 본 발명은 또한 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 항노화용 화장료 조성물에 관한 것이다.
- [0039] 본 발명의 일 양태에서, 상기 화장료 조성물의 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물은 물, C<sub>1</sub> 내지 C<sub>2</sub>의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 사용하여 추출한 추출물일 수 있고, 보다 바람직하게는 물 및 에탄올의 혼합물을 용매로 사용하여 추출한 추출물일 수 있다.
- [0040] 본 발명의 일 양태에서, 상기 화장료 조성물은 수퍼옥사이드 디스뮤타제(superoxide dismutase, SOD) 활성, 제2 철염 감소(Ferric reducing/antioxidant power, FRAP) 활성 및 비소(As) 독성 억제 활성 중 적어도 하나 이상

의 활성을 가진다.

- [0041] 상기 화장료 조성물은 예를 들면 용액, 겔, 고체 또는 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 마이크로에멀전, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는 이온형(리포솜), 비이온형의 소낭 분산제의 형태, 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실 스틱의 형태로 제공될 수 있다. 또한, 포말(foam)의 형태 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로도 제조될 수 있다.
- [0042] 또한 상기 화장료 조성물은 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물에 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제 및 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 화장품에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 화장품 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다.
- [0043] 본 발명의 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 함유하는 화장료 조성물에 있어서, 통상적으로 함유되는 화장료 조성물에 본 발명의 추출물이 0.1 내지 50 중량%, 바람직하게는 1 내지 10 중량%의 양으로 첨가될 수 있다.
- [0044] 본 발명의 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 피부 외용제로 사용하는 경우, 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온 봉쇄제 및 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 피부용 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한, 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.
- [0046] 본 발명은 또한 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 항노화용 식품에 관한 것이다.
- [0047] 본 발명의 일 양태에서, 상기 식품의 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물은 물, C<sub>1</sub> 내지 C<sub>2</sub>의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 사용하여 추출한 추출물일 수 있고, 보다 바람직하게는 물 및 에탄올의 혼합물을 용매로 사용하여 추출한 추출물일 수 있다.
- [0048] 본 발명의 일 양태에서, 상기 식품은 수퍼옥사이드 디스무타제(superoxide dismutase, SOD) 활성, 제2철염 감소(Ferric reducing/antioxidant power, FRAP) 활성 및 비소(As) 독성 억제 활성 중 적어도 하나 이상의 활성을 가진다.
- [0049] 본 발명에 따른 식품은, 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 포함하되 적절한 식품보조첨가제가 포함될 수 있다.
- [0050] 본 발명에서 용어 "식품보조첨가제"란 식품에 보조적으로 첨가될 수 있는 구성요소를 의미하며, 각 제형의 건강기능식품을 제조하는데 첨가되는 것으로서 당업자가 적절히 선택하여 사용할 수 있다. 식품보조첨가제의 예로는 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 충전제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등이 포함되지만, 상기 예들에 의해 본 발명의 식품보조첨가제의 종류가 제한되는 것은 아니다.
- [0051] 본 발명의 일 양태에서, 상기 식품은 건강기능식품일 수 있다.
- [0052] 본 발명에서 용어 "건강기능식품"이란 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상 및 환 등의 형태로 제조 및 가공한 식품을 말한다. 여기서 기능성이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 본 발명의 건강기능식품은 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조 시에는 당업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나, 본 발명의 건강기능식품은 항산화 또는 항노화 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.
- [0053] 유효성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품의 제조 시에 본 발명에 따른 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물은 원료 조성물 중 1 ~ 10 중량%, 바람직하게는 5 ~ 10 중량%의 양으로 첨가된다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는

장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하로도 사용될 수 있다.

[0054] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0055] 본 발명의 건강식품에는 통상의 식품과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유될 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 수크로스과 같은 디사카라이드 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 g당 일반적으로 약 0.1 ~ 10 g, 바람직하게는 약 0.01 ~ 0.1 g 이다.

[0057] 이하, 하기 실시예, 실험예, 및 제조예를 통하여 본 발명에 대하여 보다 상세히 설명하고자 한다. 다만 이는 본 발명에 대한 이해를 돕기 위한 것이지, 본 발명의 권리범위를 이로 한정하려는 의도는 아니다.

[0059] **[실시예] 시료의 추출**

[0060] 고창북분자연과학연구소에서 2014년에 채취하여 상온 보관한 북분자딸기(*Rubus coreanus* Miquel)의 잎 및 줄기를 제공받아 시료로 사용하였다. 북분자딸기 잎과 줄기의 용량은 1 : 1로 하여, 약 2 cm 정도로 절단한 뒤 드라이 오븐(dry oven)에서 24시간 건조하였고 핀밀(fin mill)을 이용하여 분말화 하였다. 분말 시료 각 50 g에 용매(25, 50, 75, 100% 에탄올) 450 ml를 각각 첨가하여 상온에서 24시간동안 3회 반복 추출하였다. 추출물은 여과지(Whatman No. 5)가 깔려 있는 흡인여과기(Buchner funnel)를 통과시켜 감압 여과하였다. 추출물은 50 °C 수온의 회전 진공 농축기(rotary vacuum evaporator)로 감압 농축한 후 동결 건조하였다. 추출물은 디메틸 설펝사이드(dimethyl sulphoxide, DMSO)에 용해시킨 후 배지에 필요한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

[0062] **[실험예]**

[0063] **○ 실험결과의 통계 처리**

[0064] 실험을 통해 얻어진 모든 결과는 3회 이상 반복 분석하였으며, 자료는 평균±표준오차(mean ± SD)로 나타내었고, 통계학적 분석은 스튜던트티검정(Student's t-test)으로 행하였으며, 유의성 검증은 대조군과 비교하여 결정하였다.

[0066] **실험예 1: 폴리페놀 함량 측정**

[0067] 총 폴리페놀 함량은 폴린-덴시스 법(Folin-Densis; Singleton V.L. & Rossi J. 1965)을 응용하여 측정하였다. 1 mg/ml 농도의 시료 용액 0.2 ml에 폴린-시오칼토 시약(Folin-Ciocalteu's reagent) 0.2 ml, 증류수 3.2 ml를 첨가하여 실온에서 3분 동안 방치시켰다. 3분 후 포화 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액(w/v) 0.4 ml를 넣고 1시간 실온에서 방치한 후 725 nm에서 흡광도를 측정 하였다. 갈산(Gallic acid)을 표준물질로 사용하여 작성한 표준곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

[0068] 그 결과, 총 페놀 함량은 25%, 50%, 75%, 및 100% 에탄올(EtOH)로 환류 추출한 추출물에서 각각 206.27 ± 18.18, 226.60 ± 10.77, 220.2 ± 10.9, 및 212.27 ± 17.11 mg GAE/g으로 나타났으며, 50%에서 가장 높은 함량을 보였다(표 1 및 도 1).

표 1

단위:mg GAE/g				
에탄올	25%	50%	75%	100%
총 페놀	206.2667 ±18.17507	226.600 ±10.76847	220.200 ±10.85864	212.2667 ±17.11442

[0069]

[0071]

**실험예 2: 플라보노이드 함량 측정**

[0072]

총 플라보노이드 함량은 데이비스 방법(Davis; hang CC, 2002)등의 방법을 이용하여 측정하였다. 0.9 ml 시료용액에 80% 에탄올에 0.1 ml 시료를 가하여 혼합하였다. 이 중 0.5 ml 혼합액에 10% 질산알루미늄(aluminum nitrate) 0.1 ml, 1 M 아세트산칼륨(potassium acetate) 0.1 ml 및 에탄올 4.3 ml를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 30분간 방치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 퀘르세틴(querctetin)을 표준물질로 사용하여 얻은 표준곡선을 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

[0073]

그 결과, 총 플라보노이드 함량은 5%, 50%, 75%, 및 100% 에탄올 추출물에서 각 32.3±3.44, 38.75±0.28, 42.98±2.5, 및 53.10±3.11 mg/g로 높은 함량을 나타냈다. 에탄올 농도에 따른 부위별 추출물의 총 플라보노이드 함량은 100% 에탄올 추출물이 가장 높은 것으로 나타나 에탄올 추출 농도가 높아짐에 따라 총 플라보노이드 함량이 유의적으로 증가하는 경향을 보였다(도 2).

[0075]

**실험예 3: 수퍼옥사이드 디스무타제(superoxide dismutase, SOD) 활성**

[0076]

SOD의 활성은 SOD 분석키트(assay kit; WST (Donjindo, Japan))를 이용하여 지시대로 측정하였다. 96-웰 플레이트에 추출물을 넣고 WST-1(2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium, mono-sodium salt)과 크산틴 옥시다제 용액(xanthine oxidase working solution)을 첨가한 후 37 °C에서 20분간 인큐베이션(incubation)한 후, 엘리사 마이크로 플레이트 리더(ELISA microplate reader: Thermo scientific, USA)에서 450 nm 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로 아스코르브산(L-ascorbic acid)을 이용하였다.

[0077]

그 결과, 추출물 100 µg/ml에서는 SOD의 활성이 57.32 내지 74.2%의 범위로 분석되었으며, SOD의 활성은 추출물 농도에 따른 유의적 증가현상을 보였다. 25, 50, 및 75% 추출물에서는 대조군 아스코르브산(L-ascorbic acid)보다 약간 높은 활성을 나타내었으나, 100 µg/ml 농도의 100% 추출물에서는 같은 농도의 대조군 보다 월등히 높은 SOD 활성을 나타내었다(도 3). 복분자딸기 열매를 미숙과 중간숙과 성숙과로 나누어 SOD 유사활성을 측정한 결과 59.15, 80.05, 및 95.03% (미숙과, 중간숙과, 성숙과)의 활성을 나타낸다는 것이 보고된 바 있으며 (차완수, 윤예리, 박필재, 최혜란, 김병삼. 복분자딸기의 성숙 단계별 생리활성 비교. J Korean Soc Food Sci Nutr. 36(6) : 683-688), 복분자딸기 열매 농축액은 80.01%의 SOD 유사활성을 나타낸다고 보고(Park YS, Chang HG. 2003. Latic acid fermentation and biological activities of Rubus coreanus. Korean J Soc Agric Chem Biotechnol 46: 367-375.)된 바 있다. 또한, 한국산 약용식물을 대상으로 한 SOD 활성 측정 결과(임정대, 유창연, 김명조, 윤성중, 이선주, 김나영, 정일민. 한국산 약용식물로부터의 SOD 활성 및 Phenolic Compounds 함량 비교. Korean J. Medicinal Crop Sci. 12(3) : 191-202)와 비교할 때 복분자딸기의 잎 및 줄기는 기존에 보고된 여러 천연물보다 높은 활성을 나타냄을 확인할 수 있었다. 따라서 복분자딸기의 열매 외에 잎 및 줄기도 열매의 중간숙과 및 미숙과와 비슷하게 우수한 항산화 활성을 나타낸다는 것을 확인하였다.

[0079]

**실험예 4: 제2철 감소(Ferric reducing/antioxidant power, FRAP) 활성(환원력)**

[0080]

FRAP 분석은 풀리도(Pulido et al.(2000))의 방법을 사용하였다. FRAP 실험을 위해 반응액은 아세트산 완충액 (acetate buffer: pH 3.6, 300 mM) : 10 mM의 2,4,6-트리스(2-피리딜)-s-트리아진(2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine, TPTZ) : 20 mM의 염화제이철(FeCl<sub>3</sub>)·증류수(6H<sub>2</sub>O)를 10 : 1 : 1의 비율로 섞어 실험 직전에 만들어

사용하였다. 반응용액과 추출물을 혼합한 후 4분 후 593 nm에서 측정하였다. 시료의 환원력은 황산제일철 철수염( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )으로 표준곡선을 작성하여 2가 철( $\text{Fe}^{2+}$  (ferrous)) mmole로 표시하였다. FRAP 수치와 환원력은 비례하며 FRAP 수치가 높을수록 항산화능이 높다.

[0081] 그 결과, 100% 에탄올 추출물의 FRAP 수치( $0.52 \pm 0.02\%$ )가 가장 높았으며 전반적으로 농도 유의적인 결과를 보였다. 또한, 이 결과는 항산화 활성이 총 폴리페놀 함량과 관련이 있다는 보고와 일치하는 결과로 나타나 항산화 활성과 총 폴리페놀 함량이 밀접한 관련이 있음을 확인하였다. 반면 SOD 활성과는 다르게 FRAP 수치에서는 같은 농도군의 대조군과 비슷하거나 다소 낮은 FRAP 수치를 나타냈다(도 4). 종래 연구(Jun HI, Kim YA, Kim YS. 2014. Antioxidant activities of *Rubus coreanus* Miquel and *Morus alba* L. fruits. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 381-388. 및 김이선 윤상혁, 김지연. 토종 복분자 *Rubus coreanus*와 외래종 복분자 *Rubus occidentalis* 추출물의 항산화능 비교. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 43(9) 1357-1362)에서 밝혀진 복분자딸기 열매의 FRAP 수치를 비교해 본 결과 복분자딸기 잎 및 줄기의 FRAP 수치가 다소 높은 경향을 보였다.

[0083] **실험예 5: 인간 신장세포(HEK-293, HK-2)에 대한 비소 독성 억제 효과**

[0084] 세포주와 세포배양

[0085] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물의 항산화 능력과 비소 소거능을 알아보기 위해 인간 신장 세포주(human kidney cell line) HEK-293, HK-2 세포를 실험에 사용하였다. 인간 신장 세포주는 모두 한국세포주은행에서 분양받았으며, HEK-293 세포는 10% 소태아혈청(fetal bovine serum, FBS) 및 5 ml 페니실린(penicillin)을 첨가한 DMEM 배지(Welgene, Daegu, Korea)(1 X))로, HK-2 세포는 10% FBS 및 5 ml 페니실린을 첨가한 DMEM/F12 (1 : 1) (1 X) 배지로 37 °C, 습도 90%, 5%  $\text{CO}_2$  배양기(Sanyo Electric Biochemical Co., Sanyo, Japan)에서 배양하였다.

[0087] **(1) 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물의 비소에 의한 신장세포 사멸 억제효과**

[0088] 인간 신장 세포주인 HEK-293, HK-2와 중금속 오염물질 중 하나인 비소(Arsenic)을 이용하여 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물의 신장세포 사멸 억제효과를 알아보기 위해 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 분석을 통해 실험하였다. HEK-293 및 HK-2 세포를 각각 96 웰 플레이트에  $1 \times 10^4$  cells/well이 되도록 180  $\mu\text{l}$ 씩 분주하여 24시간 동안 37 °C, 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 배양한 후, 100, 50, 10  $\mu\text{l/ml}$  농도의 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 각각 20  $\mu\text{l}$ 씩 첨가하여 24시간 동안 배양하였다. 다시 5  $\mu\text{M}$  및 2.5  $\mu\text{M}$  농도의 비소를 24시간 동안 처리하였고 배양 종료 후, 각 웰 마다 5 mg/ml MTT를 10  $\mu\text{l}$ 씩 분주한 다음 4시간 동안 배양하였다. MTT가 들어있는 배지를 제거한 후 150  $\mu\text{l}$  DMSO를 가하고 30분간 발색시킨 후 엘리사 마이크로 플레이트 리더(ELISA microplate reader: Thermo scientific, USA)를 이용하여 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 세포의 생존율은 다음과 같이 계산하였다.

[0089] **세포 생존율(%) = (샘플의 흡광도/대조군의 흡광도) X 100**

[0090] 그 결과, HEK 293 및 HK-2 모두 추출물 저농도 (10  $\mu\text{g/ml}$ )에서는 세포 생존율이 낮은 것으로 나타났다. 2.5  $\mu\text{M}$ 의 비소를 처리한 군보다 5  $\mu\text{M}$  비소 처리를 한 군이 세포 생존율이 낮았다. HK-2 세포에 비해 HEK 293 세포의 세포 생존율이 전반적으로 높은 경향을 보였다(도 5, 6, 및 8).

[0091] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물 농도에 따라 비례적으로 생존율이 증가하였으므로 복분자딸기의 잎 및 줄기가 비소에 대하여 보호 효과를 나타낸다는 것을 확인하였다(도 5, 6, 및 8).

[0092] 또한 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물 100  $\mu\text{g/ml}$ 을 넣은 세포 생존율은 모든 농도에서 세포 생존율이 100% 이상 나타남에 따라, 각 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물은 세포 독성이 없음을 확인하였다(도 5, 6, 및 8).

[0094] **(2) 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물의 비소능 억제능 측정을 위한 HO-1 단백질 발현 측정**

[0095] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물의 첨가로 인한 비소 억제능을 측정하기 위하여 인간 신장세포주인 HEK 293 및 HK-2 세포를 100 파이( $\pi$ ) 조직 배양 배지(tissue culture dish)에 각 웰 당  $1 \times 10^4$  cells/ml로 가한 후 24시간

동안 배양하여 세포를 안정화시켰다. 그 후 복분자딸기의 잎 및 줄기 시료를 농도별(10, 50, 100 µg/ml)로 처리한 배지로 24시간 배양하였다. 농도별로 비소를 처리한 뒤 다시 24시간을 배양하였다. 배양을 완료한 뒤 배지를 제거하고 인산완충식염수(phosphate buffer, PBS)로 2번 세척해 준 후, 100 µg의 RIPA 용해 완충액(lysis buffer: 500 mM Tris-HCl (pH 7.4), 150 mM NaCl, 0.25% deoxycholic acid, 1% NP-40, 1 mM EDTA (pH 8.0), protease inhibitor cocktail)을 이용하여 용해시킨 뒤, 4 °C 12,000 rpm에서 20분간 원심분리 하였다. 상층액만을 모아 새 튜브(tube)로 옮겨 실험에 사용하였다. 원심분리 하여 얻은 상층액은 BCA 단백질 분석 키트 (protein assay kit: pierce, IL)를 사용하여 정량화하였으며, 단백질질액 30 µg을 2 × SDS 샘플 완충액 (20 mM Tris-HCl (pH6.8), 20% glycerol 0.04% bromophenol blue, 2% β-mercaptoethanol, 4% SDS)에 넣은 다음 95 °C 이상에서 5분간 변성(denaturation) 한 후 4 °C에서 5분간 방치한 뒤 10%의 SDS-PAGE에서 전기 영동하여 분리하였다. 분리된 단백질은 세미드라이 이동 세포(semidry transfer cell) 기기(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 폴리불화비닐리덴(polyvinylidene fluoride, PVDF) 막(membrane)에 옮긴 다음 실온에서 1시간 동안 블로킹 완충액(blocking buffer)(5% skim milk in trisBuffered Saline Tween-20(TBST))에서 반응시켰다. 10분 간격으로 TBST로 3회 세척하고 항(Anti)-HO-1(1:1,000, Anti-HO-1 (MOUSE)) 모노클로날 항체(Monoclonal Antibody: - 200-301-F47, Rackland Immunochemicals Inc., Rockland, USA) 1차 항체를 희석하여 4 °C에서 하룻밤 방치한 다음, 다시 10분 간격으로 TBST로 3회 세척하고 염소 항-마우스(goat anti-mouse) IgG (H+L)-HRP(1:1,000, Bio-Rad Laboratories, Inc., Bio-Rad, USA)의 2차 항체를 1:1,000으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 배양하였다. 5회 세척한 ECL 키트(kit) (Millipore, Bedford, MA, USA)를 이용하여 발색시킨 후, 엑스-레이 필름(X-ray film)에 노출시켜 각각의 밴드(band)를 분자 영상기(Molecular Imager: Bio-Rad)를 이용하여 정량화 하였다.

[0096] 그 결과, 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 처리하지 않은 비소(As) 2.5 µM 에서 가장 많은 단백질 발현이 있었으며, 에탄올 추출 농도가 낮아질수록 HO-1 단백질 발현이 유의적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다(도 9). 본 실험에 사용된 베타-액틴(β-Actin)은 내부 대조군(internal control)으로 그 발현은 거의 동일하였다(도 9).

[0097] 헴 옥시게나제-1(Heme oxygenase-1, HO-1)은 헴(heme)의 분해 대사과정에 관여하는 유도성 효소로 헴을 분해하여 빌리베르딘(biliverdin), 자유 철(free iron), 일산화탄소 등을 생성시킨다. 이렇게 생성된 물질들은 항산화 작용, 항염증반응, 그리고 항세포 사멸작용과 같은 중요한 생리적 기능들이 있다. HO-1의 발현은 저산소상태, UV 방사선, 비소, 카드뮴, 납, 수은과 같은 중금속 등 다양한 스트레스성 자극에 반응하여 생체방어 기능을 갖는 것으로 보고되어 있으며, 현재 신장암, 전립선암, 간암, 육종 등의 고형암에서 HO-1 발현됨이 알려져 있다.

[0098] 상기 실험에서 비소 단일 처리군에 비해 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 처리한 군에서의 HO-1 발현이 의미 있게 감소된다는 것을 확인하였다(도 9). 이는 본 발명에 따른 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물이 비소와 같은 산화적 스트레스로부터 세포를 보호한 결과에 따른 것으로서 본 발명의 추출물의 세포 보호 효과를 입증하고 있다.

[0100] [제조예]

[0101] 제조예 1. 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 항노화용 약학적 제제의 제조

[0102] 1-1. 산제의 제조

[0103] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물..... 500 mg

[0104] 수크로스..... 100 mg

[0105] 탈크..... 10 mg

[0106] 상기 성분들을 분말화하여 혼합한 후 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

[0108] 1-2. 정제의 제조

[0109] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물..... 100 mg

[0110] 유당..... 100 mg

- [0111] 전분..... 100 mg
- [0112] 스테아린산 마그네슘..... 2 mg
- [0113] 상기의 성분을 혼합하고 통상의 정제의 제조 방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.
  
- [0115] **1-3. 캡슐의 제조**
- [0116] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물..... 100 mg
- [0117] 유당..... 100 mg
- [0118] 전분..... 100 mg
- [0119] 탈크..... 2 mg
- [0120] 스테아린산마그네슘..... 적량
- [0121] 상기의 성분을 혼합하고 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.
  
- [0123] **1-4. 과립의 제조**
- [0124] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물..... 150 mg
- [0125] 대두 추출물..... 50 mg
- [0126] 포도당..... 200 mg
- [0127] 전분..... 500 mg
- [0128] 상기 성분들을 혼합한 후 30% 에탄올 100 mL를 첨가하여 60 °C에서 건조시켜 과립을 형성한 후 포에 충전하여 과립제를 제조한다.
  
- [0130] **1-5. 환제의 제조**
- [0131] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물..... 20 mg
- [0132] 유당..... 1,500 mg
- [0133] 글리세린..... 1,500 mg
- [0134] 전분..... 980 mg
- [0135] 상기 성분들을 혼합한 후 통상의 환제의 제조방법에 따라 1환 당 4 g이 되도록 제조한다.
  
- [0137] **1-6. 액제의 제조**
- [0138] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물..... 100 mg
- [0139] 설탕..... 20 g
- [0140] 이성화당..... 20 g
- [0141] 레몬향..... 적량
- [0142] 정제수를 가하여 전체..... 100 ml
- [0143] 상기의 성분을 통상의 액제의 제조방법에 따라서 혼합하고 100 ml의 갈색병에 충전하고 멸균시켜서 액제를 제조한다.

[0145] 1-7. 주사제의 제조

[0146] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물..... 0.1 mg

[0147] 소듐 메타비설파이트..... 0.5 mg

[0148] 메틸파라벤..... 0.8 mg

[0149] 프로필파라벤..... 0.1 mg

[0150] 주사용 멸균증류수..... 적량

[0151] 상기의 성분을 혼합하고 통상의 방법으로 3 ml로 한 후, 3 ml 용량의 앰플에 충전하고 멸균하여 주사제를 제조한다.

[0153] 제조예 2. 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 항노화용 화장료의 제조

[0154] 2-1. 유연 화장수의 제조

[0155] 분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 유연 화장수는 하기 표 2와 같이 제조한다.

표 2

원료	함량(중량부)
복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물	10.00
1,3-부틸렌글리콜	1.00
디소듐이디티에이	0.05
알란토인	0.10
디포타솜글리시리제이트	0.05
시트릭애씨드	0.01
소듐시트레이트	0.02
글리세레스-20	1.00
알부틴	2.00
하이드로제네이티드캐스터오일	1.00
에탄올	30.00
보존제	미량
착색제	미량
착향제	미량
정제수	잔량

[0156]

[0157] 2-2. 영양 크림의 제조

[0158] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 영양크림은 하기 표 3과 같이 제조한다.

표 3

원료	함량(중량부)
복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물	10.0
1,3-부틸렌글리콜	7.0
글리세린	1.0
D-판테놀	0.1
식물 추출물	3.2
마그네슘알루미늄실리케이트	0.3
PEG-40 스테아레이트	1.2
스테아릭애씨드	2.0
폴리소르베이트 60	1.5
천유형 글리세릴스테아레이트	2.0
소르비탄세스퀴올리에이트	1.5
세테아릴알코올	3.0
미네랄오일	4.0
스쿠알란	3.8
카르릴릭/카프릭트리글리세라이드	2.8
식물성 오일	1.8
디메치콘	0.4
디포타슘글리시리제이트	미량
알란토인	미량
소듐 히아루로네이트	적량
토코페릴아세테이트	적량
트리에탄올아민	적량
보존제	적량
착향제	적량
정제수	잔량

[0159]

[0161] 제조예 3. 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 항노화용 식품의 제조

[0162] 3-1. 밀가루 식품의 제조

[0163] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물 0.5 내지 5.0 중량부를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조한다.

[0165] 3-2. 스프 및 육즙의 제조

[0166] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물 0.1 내지 5.0 중량부를 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조한다.

[0168] 3-3. 유제품의 제조

[0169] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물 5 내지 10 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0171] 3-4. 건강기능 식품의 제조

[0172] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물 20 mg, 비타민 혼합물 적량, 비타민 A 아세테이트 70 µg, 비타민 E 1.0 mg, 비타민 B1 0.13 mg, 비타민 B2 0.15 mg, 비타민 B6 0.5 mg, 비타민 B12 0.2 µg, 비타민 C 10 mg, 비오틴 10 µg, 니코틴산아미드 1.7 mg, 엽산 50 µg, 판토텐산 칼슘 0.5 mg, 무기질 혼합물 적량, 황산제 1철 1.75 mg, 산화아연 0.82 mg, 탄산마그네슘 25.3 mg, 제1인산칼륨 15 mg, 제2인산칼슘 55 mg, 구연산칼륨 90 mg, 탄산칼슘 100

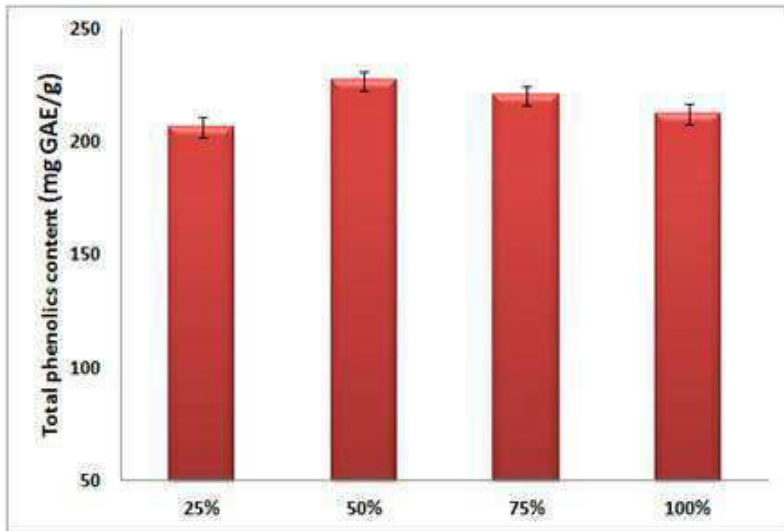
mg, 염화마그네슘 24.8 mg을 혼합하여 통상의 건강식품 제조방법에 따라 제조한다.

[0174] 3-5. 건강 음료의 제조

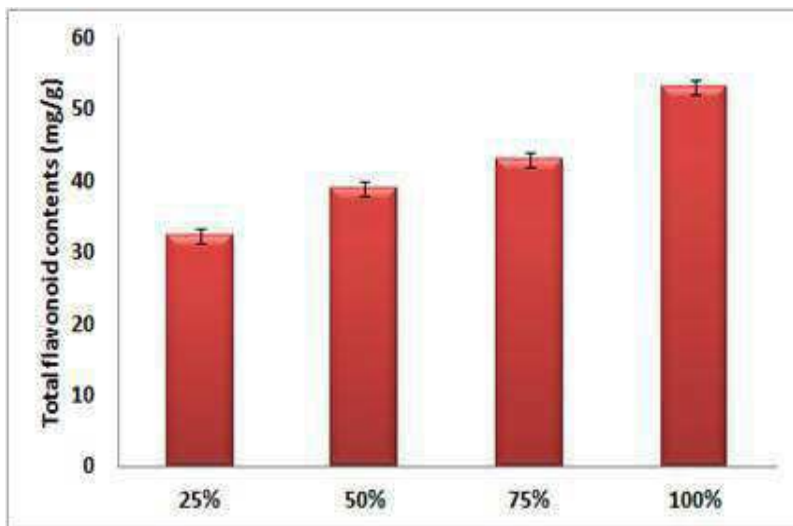
[0175] 복분자딸기의 잎 및 줄기 추출물 20 mg, 구연산 1000 mg, 올리고당 100 g, 매실농축액 2 g, 타우린 1 g, 정제수 적량을 혼합하여 통상의 건강 음료의 제조방법에 따라 제조한다.

도면

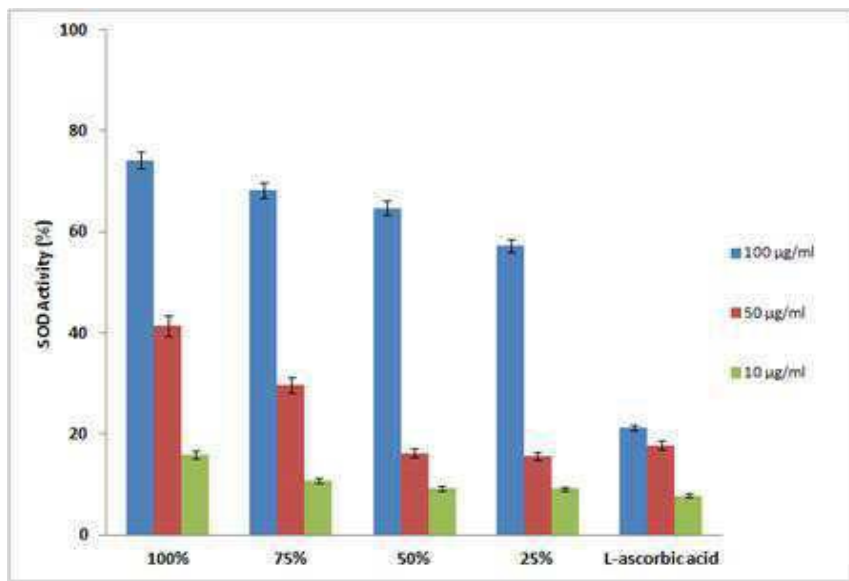
도면1



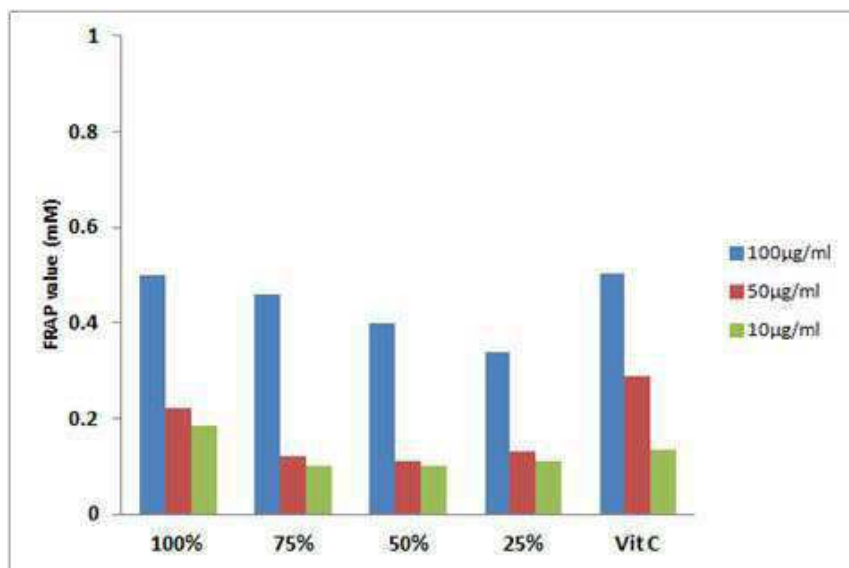
도면2



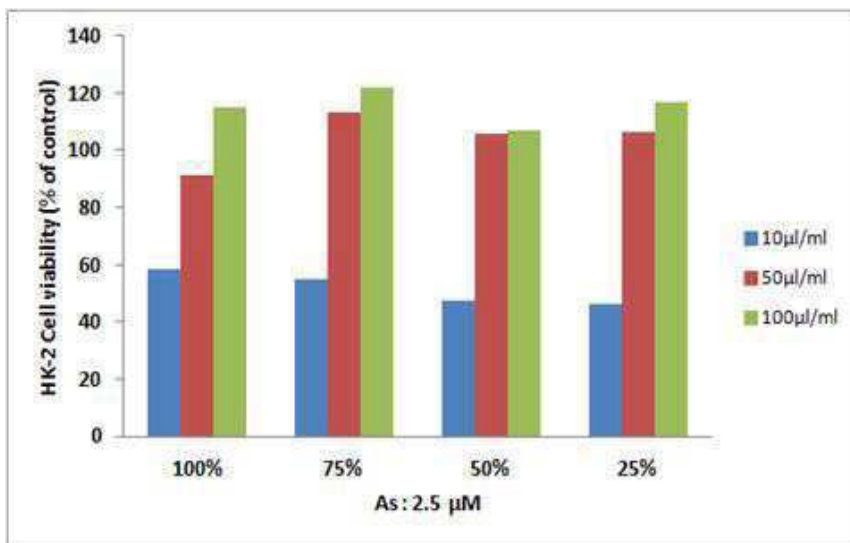
도면3



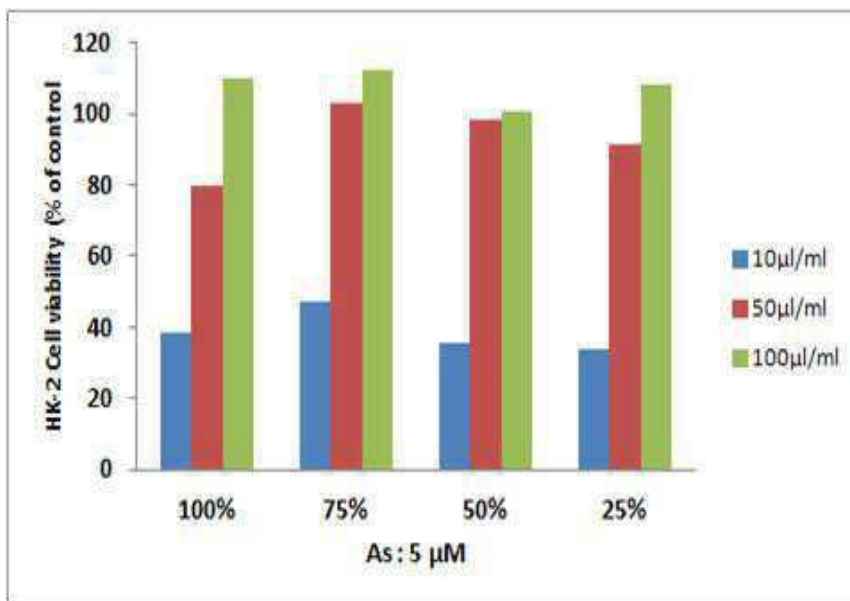
도면4



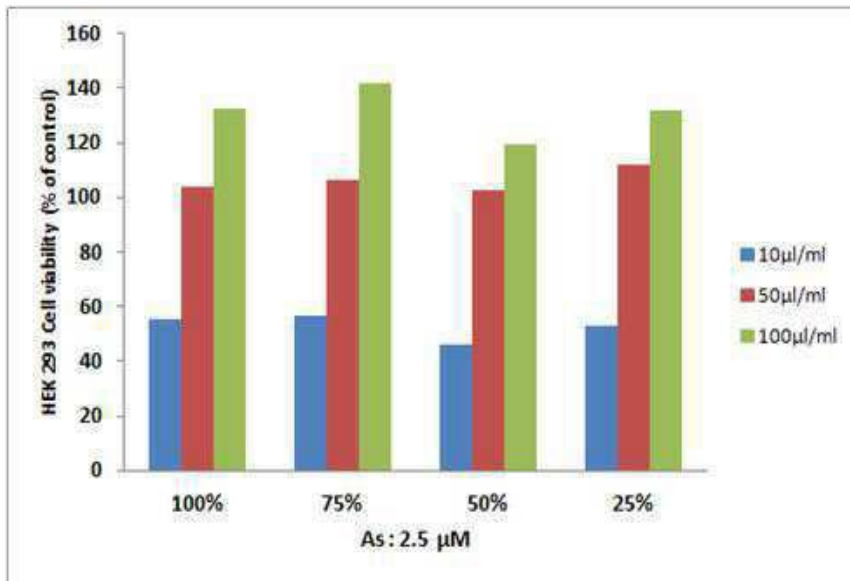
도면5



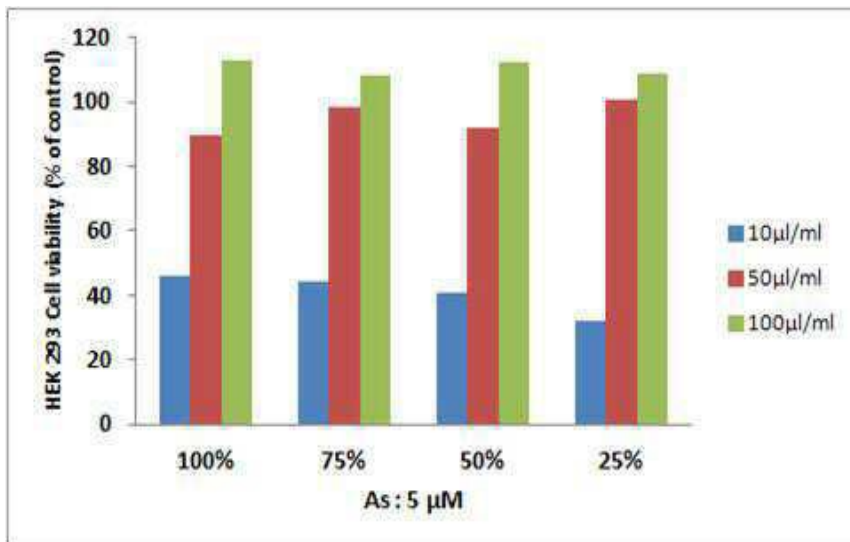
도면6



도면7



도면8



도면9

