(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0169526
(43) 공개일자 2024년12월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01G 7/04 (2006.01) *A01G 9/24* (2006.01)
A23L 33/105 (2016.01) *A61K 8/9789* (2017.01)
A61Q 17/00 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A01G 7/045 (2013.01)
A01G 9/24 (2019.05)
(21) 출원번호 10-2024-0063899
(22) 출원일자 2024년05월16일
심사청구일자 2024년05월16일
(30) 우선권주장
1020230066343 2023년05월23일 대한민국(KR)

(71) 출원인
충북대학교 산학협력단
충청북도 청주시 서원구 충대로 1 (개신동)
권성필
서울특별시 송파구 동남로 193, 205동 2105호 (가락동, 가락쌍용아파트 28동)
경상국립대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
조주성
충청북도 청주시 흥덕구 서현로 30, 102동 1704호 (가경동, 가경자이)
권성필
서울특별시 송파구 동남로 193, 205동 2105호 (가락동, 가락쌍용아파트 28동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인위더피플

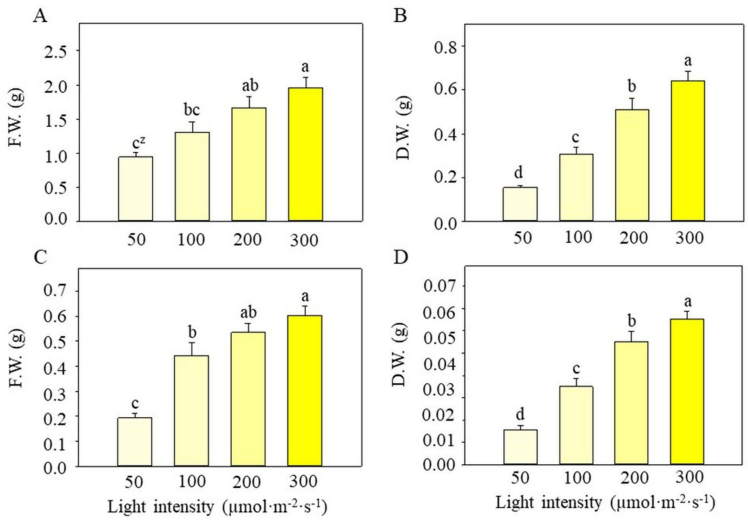
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **애기땅빈대의 생리활성증진 방법, 상기 방법으로 생리활성이 증진된 애기땅빈대 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 애기땅빈대의 생리활성증진 방법, 상기 방법으로 생리활성이 증진된 애기땅빈대 및 이의 용도에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명에 따른 방법으로 재배된 애기땅빈대는 특정 광도하에서 재배되어 총 폴리페놀 및 플라보노이드의 함량이 증대될뿐 아니라, 항산화, 항균 및 항염증 활성과 같은 생리활성이 유의하게 증진됨으로써, 이와 같은 효과에 기초한 건강기능식품이나 화장료 조성물 등의 새로운 기능성 소재로서 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A01G 9/246 (2013.01)
A01G 9/249 (2019.05)
A23L 33/105 (2016.08)
A61K 8/9789 (2017.08)
A61Q 17/005 (2013.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/302 (2013.01)
A61K 2800/522 (2013.01)
(72) 발명자
김유진
전라북도 익산시 동천로 25, 202동 303호 (동산동, 그린팰리스)
박경태
충청북도 청주시 흥덕구 신율로 153번길 3, 다솜빌 402호
이하민
충청북도 청주시 흥덕구 신율로 154번길 18, 204호
지보란
대전광역시 서구 도안동로 183, 1506동 804호 (도안동, 대전 도안 아이파크)
박소연
전라남도 곡성군 옥과면 죽림2길 45, 906호
손기호
경상남도 진주시 선학산길17번길 5-1, 302호 (상대동)
이준수
충청북도 청주시 상당구 중흥로 71, 1011동 901호

명 세 서

청구범위

청구항 1

애기땅빈대를 10 내지 500 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$의 광도에서 재배하는 단계를 포함하는 애기땅빈대의 생리활성증진 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 재배는 20 내지 40℃의 온도에서 수행되는, 애기땅빈대의 생리활성증진 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 재배는 50 내지 60%의 습도에서 수행되는, 애기땅빈대의 생리활성증진 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 애기땅빈대는 애기땅빈대의 묘인, 애기땅빈대의 생리활성증진 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 재배는 원예상토, 무비상토, 유비상토, 마사상토 및 펄라이트로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상을 사용하여 수행되는, 애기땅빈대의 생리활성증진 방법.

청구항 6

제1항의 방법으로 재배되어 생리활성이 증진된 애기땅빈대.

청구항 7

제6항에 따른 애기땅빈대로부터 수득된 추출물을 유효성분으로 포함하는 기능성 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 추출물은 물, C_1 내지 C_2의 저급 알코올 또는 이의 혼합물로 추출된, 기능성 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 조성물은 항산화, 항염증 또는 항균 용도로 사용되는, 기능성 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 항균은 대장균 또는 스타필로코커스 오레우스(*Staphylococcus aureus*) 균주에 대한 항균

활성인, 기능성 조성물.

청구항 11

제7항에 있어서, 상기 기능성 조성물은 화장료 조성물 또는 건강기능식품인, 기능성 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 애기땅빈대의 생리활성증진 방법, 상기 방법으로 생리활성이 증진된 애기땅빈대 및 이의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 최근 건강 및 웰빙에 대한 관심이 증가하면서 천연소재를 활용한 기능성 소재에 대한 수요가 증가하고 있다. 특히, 자생식물은 예로부터 약용으로 사용되었고, 다양한 연구를 통해 다수의 식물에서 우수한 생리활성이 입증되었다. 그러나, 자생식물은 주로 야생에서 수집되어 수요가 증가하면 서식지 파괴 및 불안정한 공급과 같은 문제가 발생할 수 있다. 이에, 이와 같은 자생식물을 안정적으로 공급할 수 있고 환경제어가 용이한 시설 재배 방법의 개발이 요구된다.

[0004] 이와 같은 자생식물 중 하나인, 애기땅빈대(*Euphorbia maculata*)는 밭이나 들에서 자라는 대극과(Euphorbiaceae)에 속하는 일년생 초본으로 원줄기는 지면을 따라 퍼지며 길이 10 내지 25 ㎝이다. 애기땅빈대는 털이 다소 있고, 중앙부에 붉은 빛이 도는 갈색 반점이 있는데 여기에는 백색의 유액이 함유되어 있다. 풀밭이나 마당, 길옆에 더러 자라지만 작아서 별로 눈에 띄지 않으며, 줄기가 땅바닥을 기면서 자란다. 애기땅빈대는 밑동에서부터 많은 가지가 갈라져서 땅을 덮는 형태이고, 가지는 보통 두개씩 갈라지며, 잎은 길이 5 내지 10 ㎜, 및 너비 4 내지 6 ㎜ 크기의 긴 타원형으로 마주난다. 또한, 잎의 윗면은 진한 녹색으로 윤이 나고 뒷면은 녹백색이며 잎자루는 몹시 짧다.

[0005] 애기땅빈대는 우리나라, 중국, 일본, 동남아시아, 남북미 지역 등 온대와 열대지방에 널리 분포하며, 지금초, 초혈갈, 혈견수, 오공초, 선도초라고도 불리고, 항균, 항기생충, 해독, 지혈, 암, 염증 등에 효과가 있다고 보고되어 있다. 애기땅빈대의 성분으로는 탄닌, 페놀성 화합물, 플라보노이드, 테르페노이드 등이 알려져 있고, 항암 및 항산화 활성 등이 보고되어 있다.

[0006] 이와 관련하여, 대한민국 등록특허 제10-1743521호는 애기땅빈대 추출물 또는 분획물을 유효성분으로 포함하는 혈전 질환의 예방 또는 치료용 조성물, 항혈전용 조성물, 또는 혈행 개선용 조성물에 관한 것으로, 상기 애기땅빈대 추출물 또는 분획물이 혈소판 응집을 억제시켜 혈액 응고 시간과 출혈 시간을 지연시키는 효과를 나타냄으로써, 혈행 개선 및 혈전 질환의 예방 또는 치료에 사용할 수 있음을 개시하고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-1743521호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 애기땅빈대의 생리활성증진 방법, 상기 방법으로 생리활성이 증진된 애기땅빈대 및 이의 용도를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 애기땅빈대를 10 내지 500 μmol · m^{-2} · s^{-1}의 광도에서 재배하는 단계를 포함하는 애기땅빈대의 생리활성증진 방법을 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 재배되어 생리활성이 증진된 애기땅빈대를 제공한다.

[0013] 나아가, 본 발명은 애기땅빈대로부터 수득된 추출물을 유효성분으로 포함하는 기능성 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명에 따른 방법으로 재배된 애기땅빈대는 특정 광도하에서 재배되어 총 폴리페놀 및 플라보노이드의 함량이 증대될뿐 아니라, 항산화, 항균 및 항염증 활성과 같은 생리활성이 유의하게 증진됨으로써, 이와 같은 효과에 기초한 건강기능식품이나 화장료 조성물 등의 새로운 기능성 소재로서 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 본 발명의 일 실시예에서 다양한 광도하에서 재배된 애기땅빈대 지상부의 생체중(A), 지상부의 건체중(B), 지하부의 생체중(C) 및 지하부의 건체중(D)을 확인한 결과 그래프이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에서 다양한 광도하에서 재배된 애기땅빈대의 총 폴리페놀 함량을 확인한 결과 그래프이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에서 다양한 광도하에서 재배된 애기땅빈대의 총 플라보노이드 함량을 확인한 결과 그래프이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에서 다양한 광도하에서 재배된 애기땅빈대의 DPPH 라디칼 소거능을 확인한 결과 그래프이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에서 다양한 광도하에서 재배된 애기땅빈대의 ABTS 라디칼 소거능을 확인한 결과 그래프이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에서 다양한 광도하에서 재배된 애기땅빈대의 대장균에 대한 항균활성을 24시간(A) 또는 48시간(B) 동안 확인한 결과 그래프이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에서 다양한 광도하에서 재배된 애기땅빈대의 스타필로코커스 오레우스에 대한 항균활성을 24시간(A) 또는 48시간(B) 동안 확인한 결과 그래프이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에서 다양한 광도하에서 재배된 애기땅빈대의 산화질소 억제 활성을 확인한 결과 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0019] 본 발명은 애기땅빈대를 10 내지 500 μmol · m^{-2} · s^{-1}의 광도에서 재배하는 단계를 포함하는 애기땅빈대의 생리활성증진 방법을 제공한다.

[0020] 본 명세서에서 사용된 용어, "애기땅빈대(*Euphorbia maculata*)"는 쌍떡잎식물, 쥐손이풀목, 대극과의 한해살이 풀로서, 북아메리카가 원산지이고 밭이나 들에서 자란다. 애기땅빈대의 줄기는 밑 부분에서 가지가 갈라지도 땅 위를 기며 길이가 10 내지 20 ㎝인데, 흰색털이 빽빽이 있다. 한편, 잎은 길이 5 내지 10 ㎜의 긴 타원형으로 마주나고 양끝이 둥글며 가장자리에 둔한 톱니가 있는 형태이며 표면 가운데에 붉은 빛이 도는 갈색 반점이 있다. 애기땅빈대의 꽃은 여름에 붉은색으로 피며 열매는 삭과로서 둔하게 세포진 타원모양이다. 애기땅빈대는 혈액순환을 돕고 지혈작용을 하여 생약재로서 사용된다. 본 발명에 따른 방법에서 사용되는 애기땅빈대는 애기땅

빈대의 묘일 수 있다.

[0021] 상기 애기땅빈대는 10 내지 500 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 10 내지 400 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 10 내지 300 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 10 내지 250 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 50 내지 500 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 50 내지 400 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 50 내지 300 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 50 내지 250 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 100 내지 500 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 100 내지 400 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 100 내지 300 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 100 내지 250 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 150 내지 500 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 150 내지 400 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 150 내지 300 μmol·m^{-2}·s^{-1} 또는 150 내지 250 μmol·m^{-2}·s^{-1} 광도에서 재배될 수 있다. 또한, 상기 애기땅빈대는 적절한 온도 및 습도 조건하에서 재배될 수 있다. 애기땅빈대를 재배하기 위한 적절한 온도, 습도, 토양, 기간 등과 같은 조건은 통상의 기술분야에 잘 알려져 있으며, 필요에 따라 통상의 기술자에 의해 적절히 변형될 수 있다.

[0022] 일례로, 상기 재배는 20 내지 40℃, 20 내지 37℃, 20 내지 34℃, 20 내지 31℃, 20 내지 28℃, 23 내지 40℃, 23 내지 37℃, 23 내지 34℃, 23 내지 31℃ 또는 23 내지 28℃의 온도에서 재배될 수 있다. 또한, 상기 재배는 50 내지 60%, 50 내지 58%, 50 내지 56%, 52 내지 60%, 52 내지 58%, 52 내지 56%, 54 내지 60%, 54 내지 58% 또는 54 내지 56%의 습도에서 재배될 수 있다. 뿐만 아니라, 상기 재배는 통상의 기술분야에 잘 알려진 토양을 사용하여 수행될 수 있다. 구체적으로, 애기땅빈대의 재배에 사용될 수 있는 토양의 종류는 통상의 기술자에게 잘 알려져 있으며, 이는 필요에 따라 적절히 변형될 수 있다. 예를 들면, 상기 재배는 원예상토, 무비상토, 유비상토, 마사상토 및 펄라이트로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상을 사용하여 수행될 수 있다.

[0023] 상기 재배에서, 애기땅빈대에 물을 주는 방식, 주기, 또한 통상의 기술분야에 잘 알려진 방법으로 수행될 수 있고, 이는 필요에 따라 통상의 기술자에 의해 적절히 변형될 수 있다. 일례로, 상기 애기땅빈대는 저면관수, 두상관수 및 점적관수로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 방법으로 물을 줄 수 있다.

[0024] 본 발명에 따른 방법으로 재배된 애기땅빈대는 항산화, 항균 및 항염증 활성으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 활성이 증진된 것일 수 있다. 즉, 상기 애기땅빈대는 항산화, 항염증 또는 항균 활성을 기초로 하는 기능성 조성물의 유효성분으로 사용될 수 있다. 이때, 상기 항균 활성은 대장균 및 스타필로코커스 오레우스 균주에 대한 항균 활성일 수 있다.

[0026] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 재배되어 생리활성이 증진된 애기땅빈대를 제공한다.

[0027] 본 발명에 따른 애기땅빈대는 상기 서술한 바와 같은 방법으로 재배된 것일 수 있다. 일례로, 상기 애기땅빈대는 10 내지 500 μmol·m^{-2}·s^{-1}의 광도에서 재배된 것일 수 있다. 또한, 상기 생리활성은 항산화, 항염증 및 항균 활성으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상일 수 있다. 즉, 상기 애기땅빈대는 항산화, 항염증 또는 항균 활성을 기초로 하는 기능성 조성물의 유효성분으로 사용될 수 있다. 이때, 상기 항균 활성은 대장균 및 스타필로코커스 오레우스 균주에 대한 항균 활성일 수 있다.

[0029] 나아가, 본 발명은 애기땅빈대로부터 수득된 추출물을 유효성분으로 포함하는 기능성 조성물을 제공한다.

[0030] 본 발명에 따른 조성물에 포함되는 추출물은 상기 서술한 바와 같은 방법으로 재배된 애기땅빈대로부터 수득된 것일 수 있다. 일례로, 상기 애기땅빈대는 10 내지 500 μmol·m^{-2}·s^{-1}의 광도에서 재배된 것일 수 있다.

[0031] 상기 추출물은 하기의 단계를 포함하는 제조방법에 의해 제조될 수 있다:

[0032] 1) 본 발명에 따른 애기땅빈대에 추출용매를 가하여 추출물을 제조하는 단계;

[0033] 2) 단계 1)의 추출물을 여과하는 단계; 및

[0034] 3) 단계 2)의 여과된 여과물을 감압농축한 후 건조하는 단계.

[0035] 또한, 상기 추출용매는 물, 알코올 또는 이의 혼합물일 수 있다. 상기 알코올은 C_1 내지 C_2의 저급 알코올 수 있고, 구체적으로, 상기 알코올은 에탄올, 메탄올 또는 주정일 수 있다. 상기 추출용매는 본 발명에 따른 애기땅빈대 질량의 1 내지 100배, 1 내지 90배, 1 내지 80배, 1 내지 70배, 1 내지 60배, 1 내지 55배, 10 내지 100배, 10 내지 90배, 10 내지 80배, 10 내지 70배, 10 내지 60배, 10 내지 55배, 20 내지 100배, 20 내지 90배,

20 내지 80배, 20 내지 70배, 20 내지 60배, 20 내지 55배, 30 내지 100배, 30 내지 90배, 30 내지 80배, 30 내지 70배, 30 내지 60배, 30 내지 55배, 40 내지 100배, 40 내지 90배, 40 내지 80배, 40 내지 70배, 40 내지 60배 또는 40 내지 55배로 첨가될 수 있다. 상기 추출용매는 10% 이상, 10 내지 99%, 20 내지 99%, 30 내지 99%, 40 내지 99%, 50 내지 99%, 60 내지 99%, 10 내지 80%, 20 내지 80%, 30 내지 80%, 40 내지 80%, 50 내지 80% 또는 60 내지 80%의 농도로 물에 희석된 추출용매일 수 있다.

[0036] 상기 추출방법은 진탕추출, Soxhlet 추출, 환류추출 또는 초음파 추출일 수 있다. 이때, 추출 시간은 1분 내지 10시간, 1분 내지 5시간, 1분 내지 3시간, 1분 내지 1시간, 10분 내지 10시간, 10분 내지 5시간, 10분 내지 3시간 또는 10분 내지 1시간일 수 있다. 상기 추출은 1회 이상 반복 추출할 수 있다.

[0037] 한편, 상기 단계 3)의 감압농축은 진공감압농축기 또는 진공회전증발기를 이용할 수 있다. 또한, 상기 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조일 수 있다.

[0038] 상기 기능성 조성물은 항산화, 항염증 및 항균 활성으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 활성을 나타낼 수 있다. 이때, 상기 항균 활성은 대장균 및 스타필로코커스 오레우스 균주에 대한 항균 활성일 수 있다. 즉, 상기 기능성 조성물은 항산화, 항염증 또는 항균 활성을 필요로하는 다양한 기능성 조성물의 유효성분으로 사용될 수 있다. 일례로, 상기 기능성 조성물은 화장료 조성물 또는 건강기능식품일 수 있다.

[0039] 본 발명에 따른 기능성 조성물이 화장료 조성물로 사용되는 경우, 상기 화장료 조성물은 이의 유효성분인 본 발명에 따른 애기땅빈대 추출물을 0.1 내지 50 중량%, 구체적으로 1 내지 10 중량%로 포함할 수 있다. 상기 화장료 조성물은 피부개선을 목적으로 피부에 직접 도포될 수 있다.

[0040] 상기 화장료 조성물은 통상적으로 제조되는 화장료 제형으로 제제화될 수 있다. 상기 화장료 조성물은 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 로션, 크림, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있다. 구체적으로는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더일 수 있다.

[0041] 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라가칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화아연 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다. 또한, 상기 화장료 조성물의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 하이드록시드, 칼슘 실리케이트, 폴리아미드 파우더 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다. 특히, 스프레이인 경우에는 추가로 클로로플루오로하이드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸에테르 등을 더 포함할 수 있다.

[0042] 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체로서 용매, 용매화제, 유탁화제 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다. 이의 예로는, 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸카보네이트, 에틸아세테이트, 벤질알코올, 벤질벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌글리콜, 소르비탄 지방산 에스테르 등이 있다.

[0043] 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 현탁액인 경우에는 담체로서 물, 에탄올 또는 프로필렌글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미세결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가, 트라가칸트 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다. 또한, 상기 화장료 조성물의 제형이 계면활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르설페이트, 알칼아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성유, 라놀린 유도체, 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다.

[0044] 본 발명의 화장료 조성물은 담체 성분 이외에도, 보조제로서 항산화제, 안정화제, 용해화제, 보습제, 안료, 향료, 자외선 차단제, 발색제, 계면활성제 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다. 상기 보조제는 화장료 조성물의 제조에 통상적으로 사용되는 물질이라면 모두 사용가능하다.

[0045] 한편, 상기 기능성 조성물이 건강기능식품으로 사용되는 경우, 본 발명에 따른 애기땅빈대 추출물은 식품에 그대로 첨가하거나, 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있다. 이때, 첨가되는 유효성분의 함량은 목적에 따라 결정될 수 있고, 일반적으로는 전체 식품 중량의 0.01 내지 90 중량부일 수 있다.

[0046] 건강기능식품의 형태 및 종류는 특별히 제한되지 않는다. 구체적으로, 상기 건강기능식품은 정제, 캅셀, 분말, 과립, 액상 및 환의 형태일 수 있다. 상기 건강기능식품은 추가성분으로서 여러 가지 향미제, 감미제 또는 천연 탄수화물을 포함할 수 있다. 상기 감미제는 천연 또는 합성 감미제일 수 있고, 천연 감미제의 예로는 타우마틴, 스테비아 추출물 등이 있다. 한편, 합성 감미제의 예로는 사카린, 아스파르탐 등이 있다. 또한, 상기 천연 탄수화물은 모노사카라이드, 디사카라이드, 폴리사카라이드, 올리고당 및 당알코올 등일 수 있다.

[0047] 본 발명의 건강기능식품은 상기 서술한 추가성분 외에, 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 등을 더 포함할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합으로 사용될 수 있다. 상기 첨가제의 비율은 본 발명의 조성물의 100 중량부당 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택될 수 있다.

[0049] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의해 상세히 설명한다, 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 이들에 의해 본 발명이 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 청구범위에 기재된 기술적 사상과 실질적으로 동일한 구성을 갖고 동일한 작용 효과를 이루는 것은 어떠한 것이라도 본 발명의 기술적 범위에 포함된다.

[0051] **실시예 1. 애기땅빈대의 묘 생산**

[0052] 애기땅빈대(*Euphorbia maculata*)의 종자로부터 다음과 같은 방법으로 묘를 생산하였다.

[0053] 구체적으로, 애기땅빈대(환경부, 한국)의 종자를 60℃에서 24시간 동안 건열처리하고, 4℃에서 사용전까지 보관하였다. 한편, 원예상토가 충진된 50구 트레이에 셀당 2-3립씩 상기 열처리된 종자를 파종하고 3주 동안 재배하였다. 재배는 25℃의 온도, 55%의 습도, 및 250 μmol·m^{-2}·s^{-1}의 광도 조건에서 수행되었다. 재배가 끝난 후, 생산된 애기땅빈대 묘의 줄기 길이, 가지 수, 1차 가지 길이, 마디사이 길이(internode length), 마디 수(No. of nodes), 및 지상부의 생체중 및 건체중을 측정한 결과를 표 1에 나타내었다.

표 1

[0054]

줄기 길이(㎝)		3.72±0.21
가지 수(ea)		1.8±0.29
1차 가지 길이(㎝)		3.3±0.17
마디사이 길이(㎝)		0.93±0.15
마디 수(ea)		4.6±0.43
지상부	생체중(g)	0.11±0.008
	건체중(g)	0.02±0.002

[0056] 표 1에 나타난 바와 같이, 생산된 애기땅빈대의 묘는 정상적으로 생육되었다.

[0058] **실시예 2. 재배 온도에 따른 애기땅빈대의 생육**

[0059] 상기에서 생산된 애기땅빈대의 묘를 다양한 온도에서 재배하여 최적의 재배온도를 확인하였다.

[0060] 구체적으로, 실시예 1에서 생산된 묘를 원예상토가 충진된 7 ㎝ 포트에 이식하였다. 이를 20, 25, 30 또는 35℃의 온도에서, 55%의 습도, 및 130 μmol·m^{-2}·s^{-1}의 광도, 및 주 1회 1 ℓ의 물을 저면관수하는 환경에서 재배하였다. 재배 4주 후, 애기땅빈대의 줄기 길이, 가지 수, 1차 가지 길이, 마디사이 길이, 마디 수, 및 지상부의 생체중 및 건체중을 측정하여 생육을 평가하고, 그 결과를 표 2에 나타내었다.

표 2

[0061]

재배온도(℃)	20	25	30	35
줄기 길이(㎝)	9.0±0.90	28.4±1.69	30.4±1.88	31.3±2.61
가지 수(ea)	5.6±0.24	10.2±1.11	8.4±1.40	8.2±0.66

1차 가지 길이(㎝)		5.6±1.04	24.0±1.61	23.5±1.25	27.3±2.10
마디사이 길이(㎝)		1.2±0.08	2.6±0.19	2.9±0.94	3.2±0.13
마디 수(ea)		7.6±0.24	14.4±1.08	14.6±0.40	14.4±0.75
지상부	생체중(g)	0.41±0.046	1.50±0.117	1.06±0.153	1.30±0.055
	건체중(g)	0.07±0.008	0.20±0.012	0.10±0.016	0.13±0.004

[0063] 표 2에 나타난 바와 같이, 애기땅빈대 표는 25℃ 이상의 온도에서 생육이 더욱 활발하였다.

[0065] **실시예 3. 재배 광도에 따른 애기땅빈대의 생육**

[0066] 상기에서 생산된 애기땅빈대의 묘를 다양한 광도에서 재배하여 최적의 재배광도를 확인하였다.

[0067] 구체적으로, 실시예 1에서 생산된 묘를 원예상토가 충진된 7 ㎝ 포트에 이식하였다. 이를 50, 100, 200 또는 300 μmol·m^{-2}·s^{-1}의 광도가 되도록 LED(white light emitting diode) 조명을 사용하여 재배하였다. 한편, 온도는 25℃, 습도는 55%의 환경에서 재배하였고, 주 1회 1 ℓ의 물을 저면관수하였다. 재배 4주 후, 애기땅빈대의 줄기 길이, 가지 수, 1차 가지 길이, 마디사이 길이 및 마디 수를 측정하여 생육을 평가하고, 그 결과를 표 3에 나타내었다. 또한, 지상부 및 지하부의 생체중과 건체중을 각각 측정하고, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

표 3

[0068]

광도(μmol·m^{-2}·s^{-1})	50	100	200	300
줄기 길이(㎝)	17.3±0.87	18.2±0.75	21.3±0.75	24.5±1.20
가지 수(ea)	9.1±0.38	9.1±0.66	7.0±0.26	11.3±0.47
1차 가지 길이(㎝)	15.3±0.79	15.9±3.32	18.1±1.28	20.3±1.23
마디사이 길이(㎝)	3.1±0.14	3.1±0.06	3.1±0.10	3.5±0.25
마디 수(ea)	8.9±0.23	8.0±0.30	8.2±0.25	9.5±0.31

[0070] 표 3에 나타난 바와 같이, 300 μmol·m^{-2}·s^{-1} 이상의 광도에서 생육이 더욱 활발하였다.

[0072] **실시예 4. 애기땅빈대 추출물의 제조**

[0073] 상기에서 다양한 광도에서 재배한 애기땅빈대를 사용하여 다음과 같은 방법으로 애기땅빈대 추출물을 제조하였다.

[0074] 먼저, 수확한 애기땅빈대의 지상부를 액체 질소에 넣어 동결건조 후 분쇄하고, 이를 -80℃에서 사용전까지 보관하였다. 1 g의 분쇄된 애기땅빈대 지상부에 50 ㎖의 70% 에탄올을 첨가하고 30분 동안 초음파 추출하였다. 추출된 추출물을 여과지로 여과하고, 37℃에서 회전감압농축기를 사용하여 농축하였다. 수득된 농축물에 DMSO(dimethyl sulfoxide)를 첨가하여 100 ㎎/㎖의 농도가 되도록 현탁하고, 0.45 μM의 실린지 필터로 여과하여 최종적으로 애기땅빈대 추출물을 제조하였다.

[0076] **실시예 5. 총 폴리페놀 함량**

[0077] 상기 제조된 애기땅빈대 추출물에 포함된 총 폴리페놀 함량이 재배 광도에 따라 달라지는지 비색법으로 확인하였다.

[0078] 구체적으로, 100 ㎕의 실시예 4에서 제조된 추출물 각각에 2 ㎖의 2% Na_2CO_3를 첨가하고, 3분 후, 100 ㎕의 50% 폴린-시오칼투 용액을 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 30분 동안 반응시키고, 750 ㎚의 파장에서 분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도 값과 타닌산(tannic acid)을 표준물질로서 작성한 표준곡선

을 이용하여 총 폴리페놀 함량을 계산하고, 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0079] 도 2에 나타난 바와 같이, 100 μmol·m^{-2}·s^{-1} 이상의 광도에서 재배된 애기땅빈대 추출물에서 총 폴리페놀 함량이 유의적으로 증가하였다.

[0081] **실시예 6. 총 플라보노이드 함량**

[0082] 상기 제조된 애기땅빈대 추출물에 포함된 총 플라보노이드 함량이 재배 광도에 따라 달라지는지 비색법으로 확인하였다.

[0083] 구체적으로, 200 ㎕의 실시예 4에서 제조된 추출물 각각에 2 ㎖의 DEG(diethylene glycol) 및 200 ㎕의 1N NaOH를 혼합하고, 37℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후, 반응물의 흡광도를 420 ㎚의 파장에서 측정하였다. 측정된 흡광도 값과 나린진(naringin)을 사용하여 수득된 표준곡선을 사용하여 총 플라보노이드 함량을 계산하고 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0084] 도 3에 나타난 바와 같이, 300 μmol·m^{-2}·s^{-1}의 광도에서 재배된 애기땅빈대 추출물 내 총 플라보노이드 함량이 가장 높았으며, 광도에 의존적으로 총 플라보노이드 함량이 증가하는 추세를 보였다.

[0086] **실시예 7. 항산화 활성**

[0087] 상기에서 제조된 애기땅빈대 추출물의 항산화 활성을 ABTS 라디칼 소거능 및 DPPH 라디칼 소거능을 통해 확인하였다.

[0089] 7-1. DPPH 라디칼 소거능

[0090] 구체적으로, 200 ㎕의 실시예 4에서 제조된 추출물 각각에 800 ㎕의 0.2 ㎜ DPPH 용액을 첨가하고 30분 동안 암조건에서 반응시켰다. 반응이 끝난 후, 반응물의 흡광도를 517 ㎚의 파장에서 측정하고, 하기 수학식 1을 이용하여 EDA(electron donating ability)를 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도를 계산하여 도 4에 나타내었다.

[0091] [수학식 1]

[0092] $$EDA(\%) = (1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{공시험의 흡광도}}) \times 100$$

[0094] 도 4에 나타난 바와 같이, 100 μmol·m^{-2}·s^{-1}이상의 광도에서 재배된 애기땅빈대 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 우수하였고, 특히 200 μmol·m^{-2}·s^{-1}의 광도에서 재배된 애기땅빈대 추출물이 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다.

[0096] 7-2. ABTS 라디칼 소거능

[0097] 구체적으로, 50 ㎕의 실시예 4에서 제조된 추출물 각각에 950 ㎕의 7.4 ㎜ ABTS 용액을 첨가하고, 이를 10분 동안 암조건으로 반응시켰다. 반응이 끝난 후, 732 ㎚의 파장에서 흡광도를 측정하고, 측정된 흡광도 값으로부터 상기 수학식 1을 이용하여 EDA를 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도를 계산하여 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0098] 도 5에 나타난 바와 같이, 100 μmol·m^{-2}·s^{-1}이상의 광도에서 재배된 애기땅빈대 추출물의 ABTS 라디칼 소거능이 우수하였다.

[0100] **실시예 8. 항균 활성**

[0101] 상기에서 제조된 애기땅빈대 추출물의 항균 활성을 한천배지 확산법(agar diffusion assay)으로 확인하였다.

[0102] 먼저, 대장균(KCTC 1039, 한국) 및 스타필로코커스 오레우스(KCTC 1916, 한국) 균주를 각각 9 ㎖의 TBS(tryptic soy broth) 배지에 접종하고, 37℃에서 배양하였다. 24시간 간격으로 배지를 교체하면서 3회 계대 배양한 후, 분광광도계를 사용하여 O.D값을 1.0으로 조절하였다. O.D값을 조절한 균주를 TBA(tryptic soy agar) 배지에 1%v/v 농도로 접종하고, 이를 멸균된 배양접시에 12 ㎖씩 분주하였다. 한편, 종이디스크에 상기 실시예 4에서 제조된 추출물 각각을 처리하고, 이를 상기 배양접시의 배지위에 올리고 4℃에서 1시간 동안 응고시켰다. 이를 다시 37℃의 배양기에 넣고, 24 또는 48시간 동안 배양하였다. 배양이 완료된 후, 종이디스크 주위에 형성된 클리어 존(clear zone)의 직경을 측정하여 항균 활성을 확인하였다. 그 결과, 측정된 클리어 존의 크기를 도 6 및 7에 나타내었다. 이때, 스타필로코커스 오레우스 균주의 대조군으로서 10% 페녹시에탄올(phenoxyethanol, C1) 및 5% 메틸파라벤(methylparaben, C2)을, 대장균의 대조군으로서 0.005% 트리클로산(triclosan, C1) 및 10% 락트산(lactic acid, C2)을 사용하였다.

[0103] 도 6 및 7에 나타난 바와 같이, 애기땅빈대 추출물이 대장균이나 스타필로코커스 오레우스 균주에 대한 유의적인 항균활성을 나타내었고, 특히 100 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$이상의 광도에서 재배된 애기땅빈대 추출물이 더 우수한 항균 활성을 나타내었다.

[0105] **실험예 9. 항염증 활성**

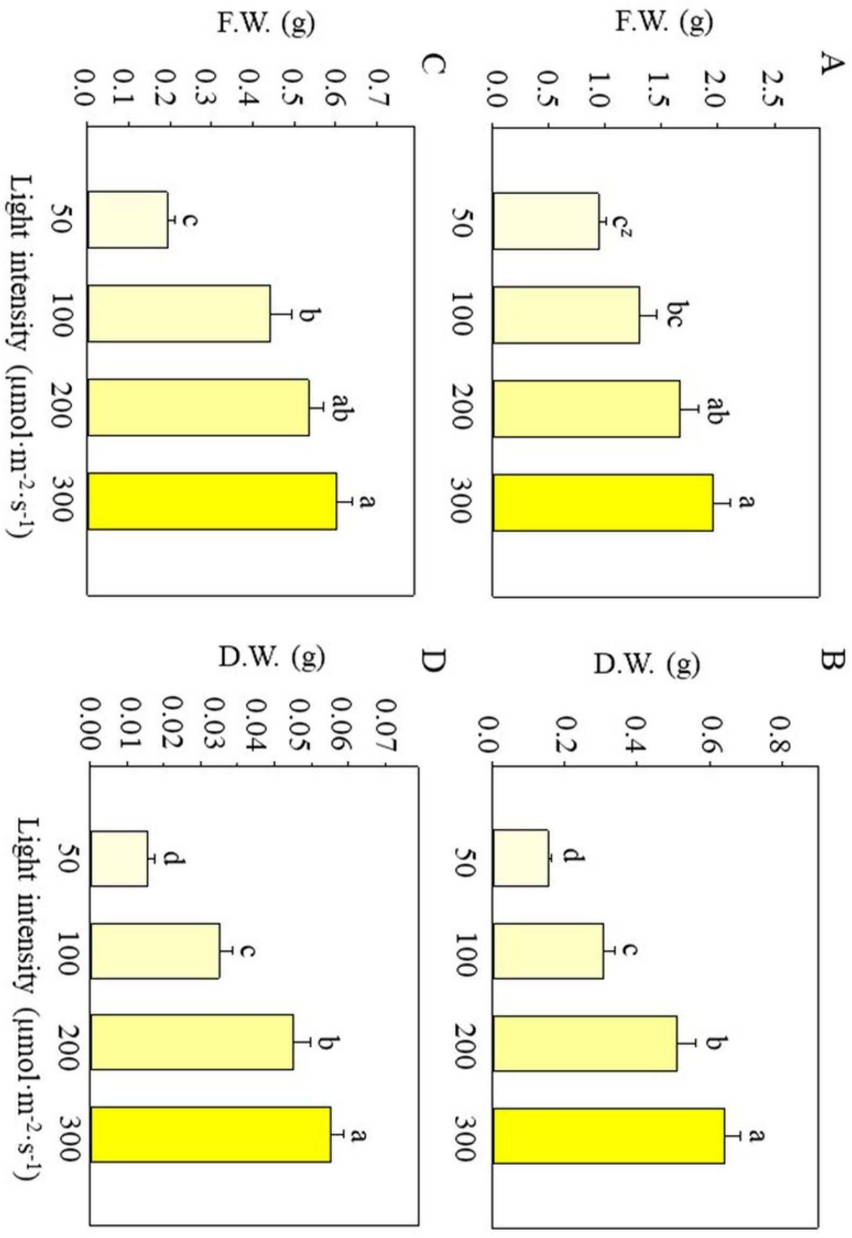
[0106] 상기에서 제조된 애기땅빈대 추출물의 항염증 활성을 산화질소 억제 효과를 통해 확인하였다.

[0107] 먼저, RAW 264.7 대식세포(한국세포주은행, 한국)는 100 unit/㎖의 페니실린, 100 ㎍/㎖의 스트렙토마이신 및 10% FBS가 포함된 DMEM 배지를 사용하여 37℃ 및 5% CO_2 조건하에서 배양하였다. 배양된 세포주를 웰당 1.5×10^5개가 되도록 96웰 플레이트에 분주하고, 24시간 동안 배양하였다. 여기에 100 ㎍/㎖의 상기 실시예 4에서 제조된 추출물 각각을 1 ㎍/㎖의 LPS(lipopolysaccharide)와 함께 첨가하고, 18시간 동안 동일한 조건에서 배양하였다. 배양이 끝난 후, 100 ㎕의 배양액을 취하여 100 ㎕의 그리스(griess) 시약을 첨가하고 10분 동안 상온에서 반응시켰다. 반응이 끝난 후, 550 ㎚의 파장에서 흡광도를 측정하고, 측정된 흡광도 값으로부터 산화질소(NO) 생성량을 계산하여 도 8에 나타내었다. 이때, 질산나트륨(sodium nitrate)의 표준곡선을 사용하여 NO 생성량을 계산하였고, 양성 대조군으로서 25 또는 50 ㎛M의 퀘르세틴(quercetin, QCT)을 사용하였다.

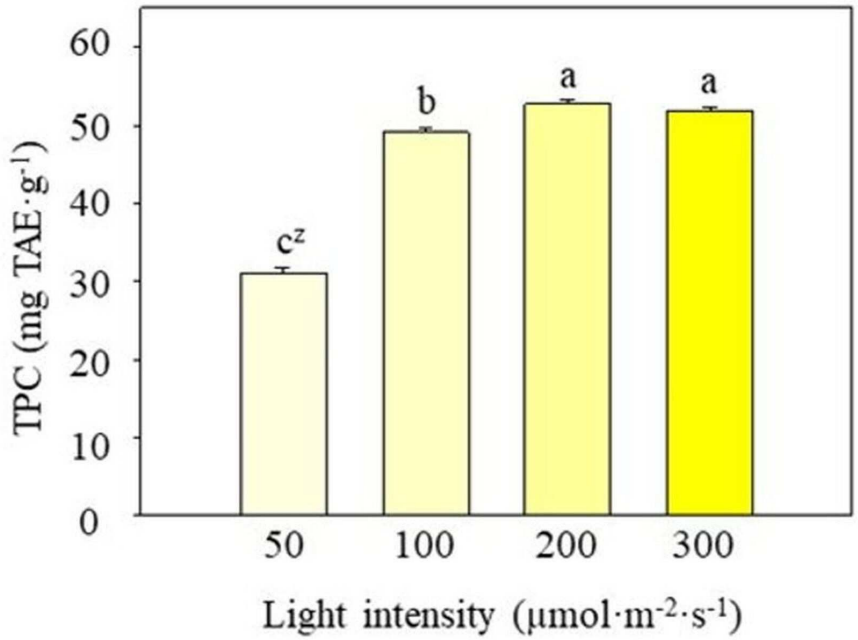
[0108] 도 8에 나타난 바와 같이, 100 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$이상의 광도에서 재배된 애기땅빈대 추출물이 우수한 산화질소 억제 활성을 나타내었다.

도면

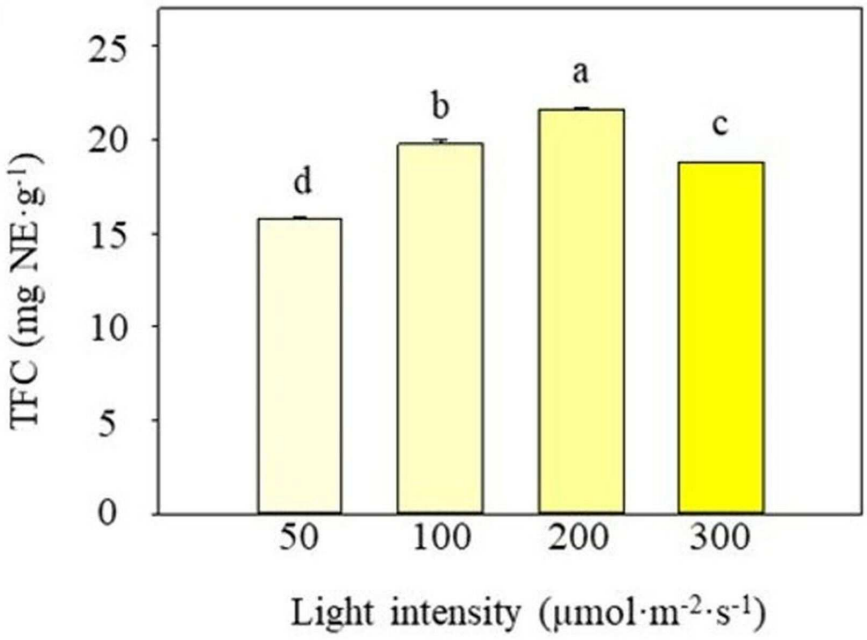
도면1


A
F.W. (g)
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
50
100
200
300
c^z
bc
ab
a
B
D.W. (g)
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
d
c
b
a
C
F.W. (g)
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
c
b
ab
a
Light intensity (μmol·m-2·s-1)
D
D.W. (g)
0.00
0.01
0.02
0.03
0.04
0.05
0.06
0.07
d
c
b
a
Light intensity (μmol·m-2·s-1)

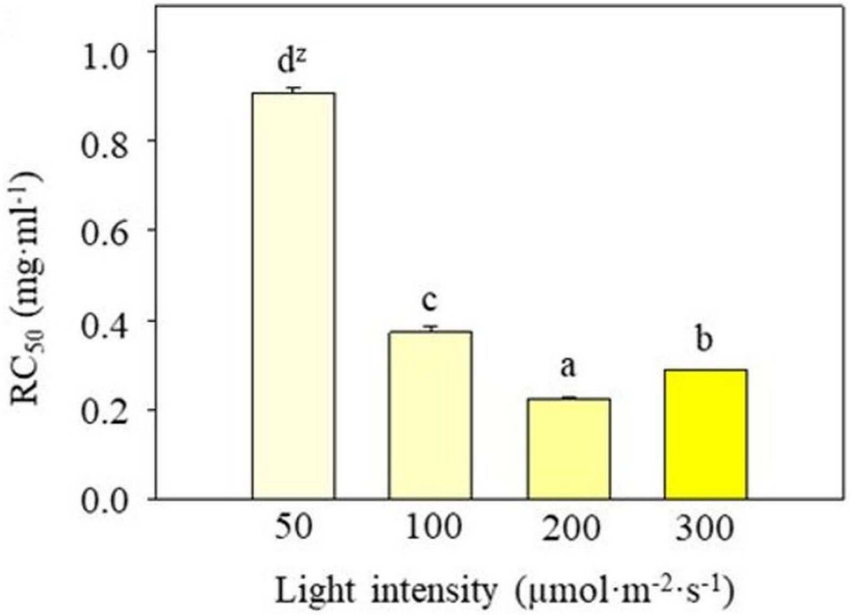
도면2


60
50
40
30
20
10
0
TPC (mg TAE·g-1)
cz
b
a
a
50
100
200
300
Light intensity (μmol·m-2·s-1)

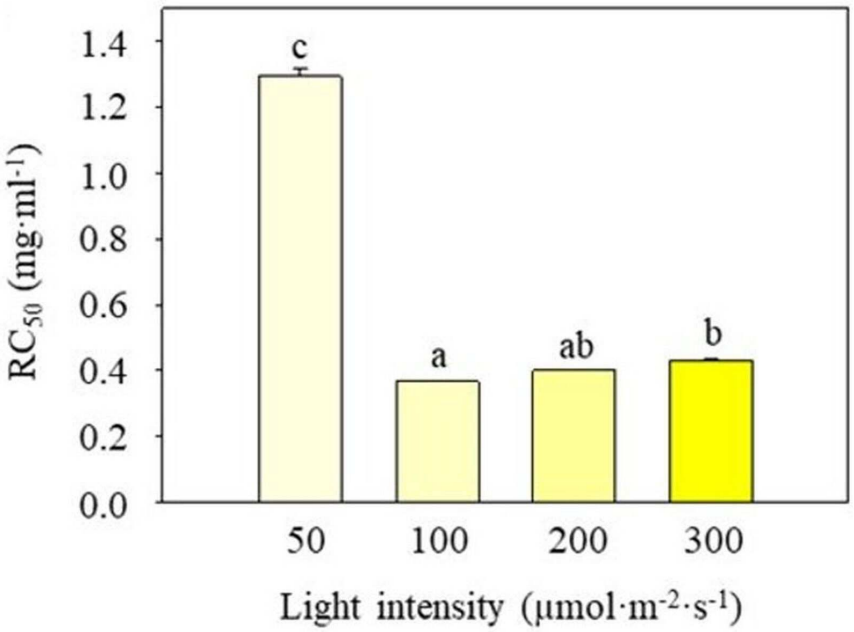
도면3


25
20
15
10
5
0
TFC (mg NE·g-1)
d
b
a
c
50
100
200
300
Light intensity (μmol·m-2·s-1)

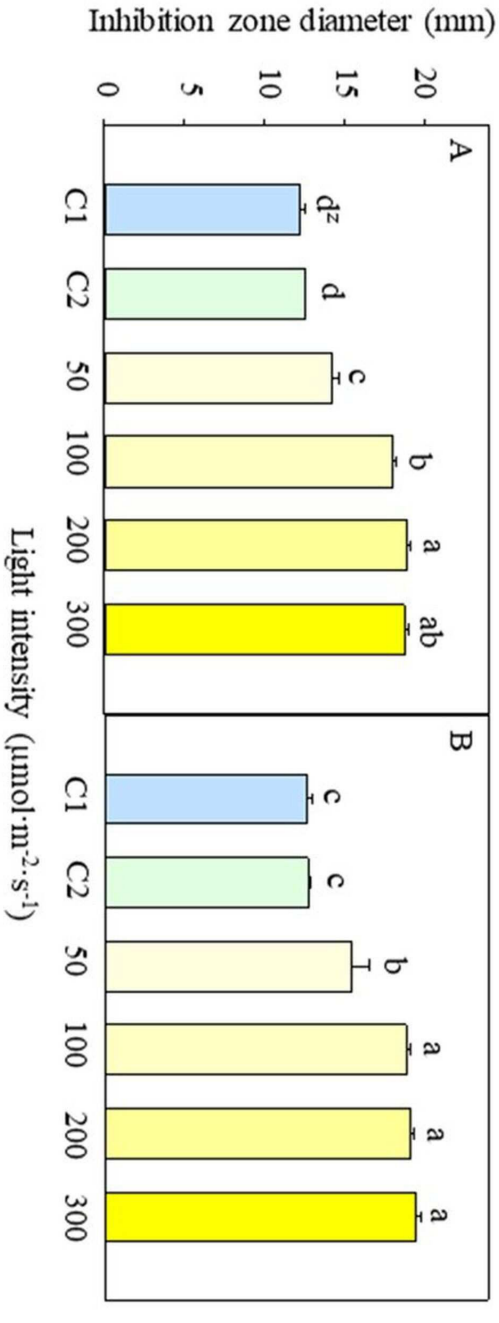
도면4


1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
RC50 (mg·ml-1)
dz
c
a
b
50
100
200
300
Light intensity (μmol·m-2·s-1)

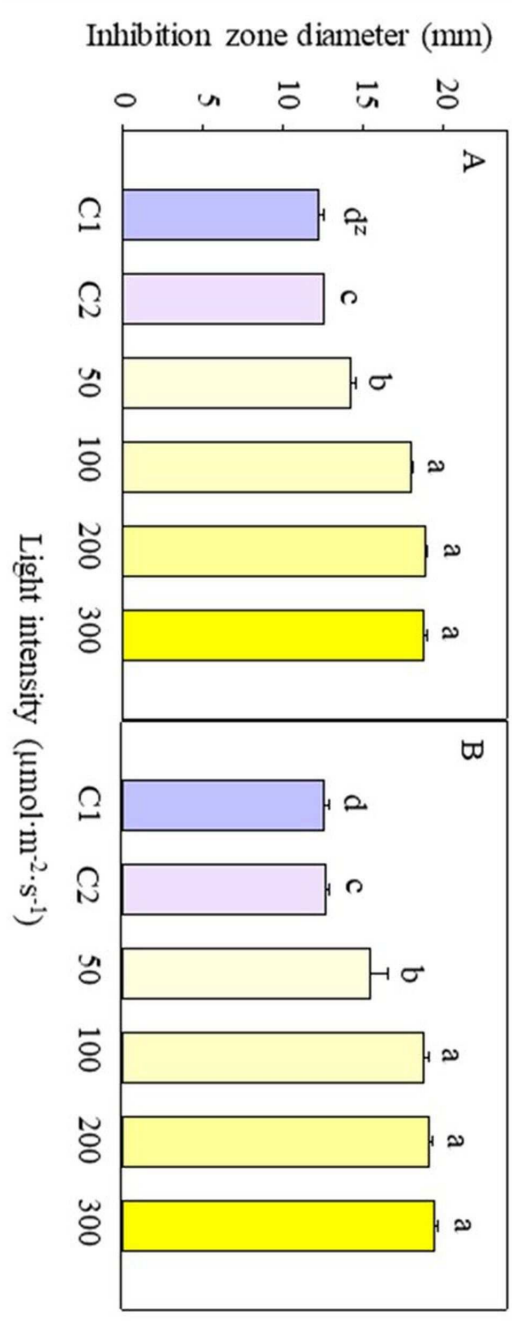
도면5


1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
RC50 (mg·ml-1)
c
a
ab
b
50
100
200
300
Light intensity (μmol·m-2·s-1)

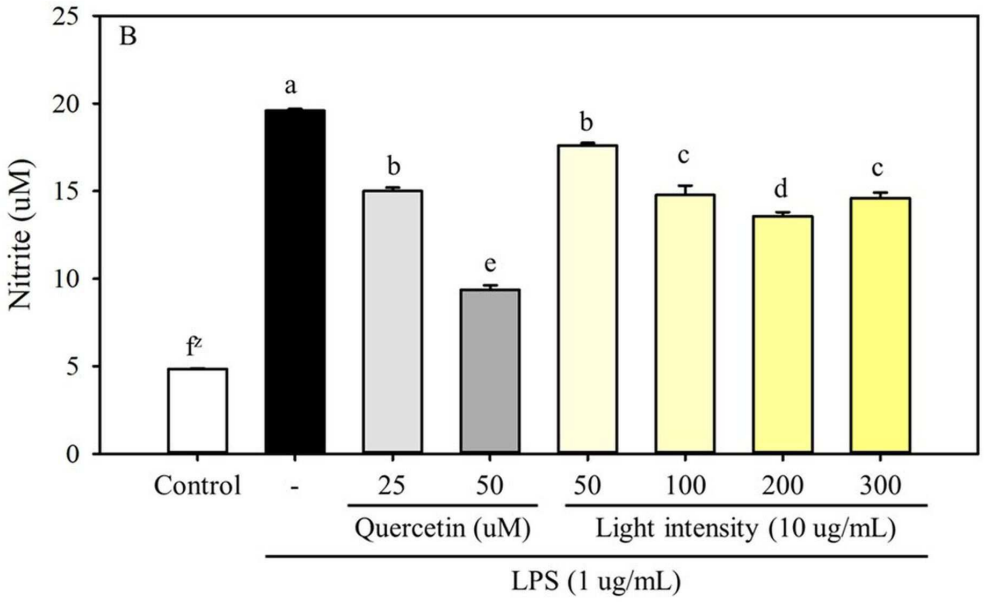
도면6


Inhibition zone diameter (mm)
0
5
10
15
20
A
B
C1
C2
50
100
200
300
dz
d
c
b
a
ab
Light intensity (μmol·m-2·s-1)

도면7


Inhibition zone diameter (mm)
0
5
10
15
20
A
B
C1
C2
50
100
200
300
d
c
b
a
a
a
d
c
b
a
a
a
Light intensity (μmol·m-2·s-1)

도면8


B
Nitrite (uM)
25
20
15
10
5
0
a
b
c
d
e
f
Control
-
25
50
50
100
200
300
Quercetin (uM)
Light intensity (10 ug/mL)
LPS (1 ug/mL)