

특허증

CERTIFICATE OF PATENT



특허

Patent Number

제 10-1789516 호

출원번호

Application Number

제 10-2016-0023562 호

출원일

Filing Date

2016년 02월 26일

등록일

Registration Date

2017년 10월 18일

발명의 명칭 Title of the Invention

마테, 어성초, 팔각 및 미역 복합발효추출물을 유효성분으로 포함하는 향산화 조성물 및 이의 제조방법

특허권자 Patentee

등록사항란에 기재

발명자 Inventor

등록사항란에 기재

위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록되었음을 증명합니다.

This is to certify that, in accordance with the Patent Act, a patent for the invention has been registered at the Korean Intellectual Property Office.



특허청

Korean Intellectual
Property Office

2017년 10월 18일

특허청장

COMMISSIONER,

KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE

성 문 보

등 록 사 항

특 허

등록 제 10-1789516 호

Patent Number

특허권자 Patentees

주식회사 뉴트리사이언스(110111-*****)
서울특별시 강남구 테헤란로 145, 401호 (역삼동, 우신빌딩)

(주)뉴트리바이오텍(110111-*****)
서울특별시 강남구 테헤란로 145, 1001호(역삼동, 우신빌딩)

발명자 Inventors

권진혁(671230-*****)
서울특별시 송파구 올림픽로 435, 304동 904호 (신천동, 파크리오)

윤만석(650802-*****)
경기도 용인시 기흥구 동백죽전대로527번길 80, 101동 2503호 (중동, 신동백롯데캐슬에코1단지)

이진우(670810-*****)
경기도 고양시 일산서구 일산로635번길 21, 1405동 104호 (대화동, 성저마을14단지건영빌라)

임재연(691005-*****)
경기도 수원시 장안구 덕영대로417번길 33-4, 2층 (율전동)

심재석(750419-*****)
경기도 성남시 중원구 도촌북로 78, 502동 805호 (도촌동, 휴먼시아섬마을5단지아파트)

박영민(770630-*****)
경기도 고양시 일산서구 강성로 270, 305동 905호 (대화동, 성저마을3단지아파트)

특허증

CERTIFICATE OF PATENT



특허

Patent Number

제 10-1789516 호

출원번호

Application Number

제 10-2016-0023562 호

출원일

Filing Date

2016년 02월 26일

등록일

Registration Date

2017년 10월 18일

발명의 명칭 Title of the Invention

마테, 어성초, 팔각 및 미역 복합발효추출물을 유효성분으로 포함하는 향산화 조성물 및 이의 제조방법

특허권자 Patentee

등록사항란에 기재

발명자 Inventor

등록사항란에 기재

위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록되었음을 증명합니다.

This is to certify that, in accordance with the Patent Act, a patent for the invention has been registered at the Korean Intellectual Property Office.



특허청

Korean Intellectual
Property Office

2017년 10월 18일

특허청장

COMMISSIONER,

KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE

성 윤 보

등 록 사 항

특 허

등록 제 10-1789516 호

Patent Number

특허권자 Patentees

주식회사 뉴트리사이언스(110111-*****)
서울특별시 강남구 테헤란로 145, 401호 (역삼동, 우신빌딩)

(주)뉴트리바이오텍(110111-*****)
서울특별시 강남구 테헤란로 145, 1001호(역삼동, 우신빌딩)

발명자 Inventors

권진혁(671230-*****)
서울특별시 송파구 올림픽로 435, 304동 904호 (신천동, 파크리오)

윤만석(650802-*****)
경기도 용인시 기흥구 동백죽전대로527번길 80, 101동 2503호 (중동,
신동백롯데캐슬에코1단지)

이진우(670810-*****)
경기도 고양시 일산서구 일산로635번길 21, 1405동 104호 (대화동,
성저마을14단지건영빌라)

임재연(691005-*****)
경기도 수원시 장안구 덕영대로417번길 33-4, 2층 (율전동)

심재석(750419-*****)
경기도 성남시 중원구 도촌북로 78, 502동 805호 (도촌동,
휴먼시아섬마을5단지아파트)

박영민(770630-*****)
경기도 고양시 일산서구 강성로 270, 305동 905호 (대화동,
성저마을3단지아파트)

테라아이피씨 특허법률사무소

서울특별시 강남구 테헤란로 322 한신인터밸리 동관 1301호
T. 02-556-3451 F. 070-8823-3451
E. teraiplaw@teraiplaw.kr http://www.teraiplaw.kr

TEIRA
Intellectual Property & Consulting

수 신 : (주)뉴트리사이언스 김진학 선임연구원님

발 신 : 테라아이피씨특허법률사무소

제 목 : 특허증 송부의 건

2017년 11월 8일

1. 귀사의 일익 번창하심을 기원합니다.

2. 당소에 의뢰하신 바 있는 하기 특허출원이 별첨과 같이 등록되었음을 알려드립니다.

발명의 명칭	마테, 어성초, 팔각 및 미역 복합발효추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 조성물 및 이의 제조방법
등록권리자	주식회사 뉴트리사이언스 (주)뉴트리바이오텍
발명자	권진혁/윤만석/이진우/임재연/심재석/박영민
출원번호	10-2016-0023562
출원일자	2016년 2월 26일
등록번호	10-1789516
등록일자	2017년 10월 18일
특허 존속기간	2036년 2월 26일까지 (특허출원일 이후 20년까지)
4년차료 납부 마감일	<u>2020년 10월 18일까지</u> (본 특허의 경우에는 최초 3년분 등록 료만을 납부하였기 때문에 제4년차료 부터는 매년 연차 등록 료를 납부하여야 하며, 연차 등록료를 납부하지 않으면 특허 권은 자동 소멸 됩니다.)

3. 아울러, 주소이전 등의 연락처 변동이 있을 시에는 당소에 필히 연락을 주시기 바랍니다.

붙임 : 1. 특허증 2부.
2. 등록공보 1부. 끝.

테라IPC특허법률사무소

대표변리사 김애라





(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년10월30일

(11) 등록번호 10-1789516

(24) 등록일자 2017년10월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 8/97 (2017.01) A23L 1/30 (2006.01)
A61K 35/747 (2014.01) A61K 36/03 (2006.01)
A61K 36/18 (2006.01) A61K 36/185 (2006.01)
A61K 36/78 (2006.01) A61K 8/99 (2017.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 8/97 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2016-0023562

(22) 출원일자 2016년02월26일

심사청구일자 2016년02월26일

(65) 공개번호 10-2017-0100977

(43) 공개일자 2017년09월05일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020150105679 A*

(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 7 항

(73) 특허권자

주식회사 뉴트리사이언스

서울특별시 강남구 테헤란로 145, 401호 (역삼동, 우신빌딩)

(주)뉴트리바이오텍

서울특별시 강남구 테헤란로 145, 1001호(역삼동, 우신빌딩)

(72) 발명자

권진혁

서울특별시 송파구 올림픽로 435, 304동 904호 (신천동, 파크리오)

윤만석

경기도 용인시 기흥구 동백죽전대로527번길 80, 101동 2503호 (중동, 신동백롯데캐슬에코1단지)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김애라

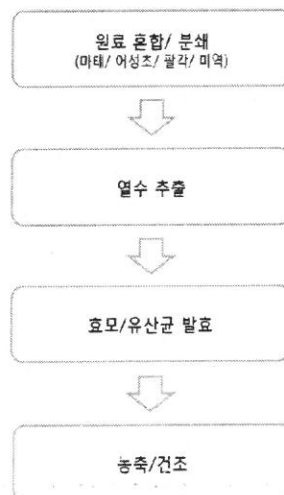
심사관 : 이현석

(54) 발명의 명칭 마테, 어성초, 팔각 및 미역 복합발효추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 조성물 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 마테, 어성초, 팔각 및 미역 복합 추출물을 효모를 이용한 발효를 통해 항산화 효소의 발현을 증진시켜 항산화 활성을 향상시킨 항산화 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것으로, DPPH 라디칼 및 ABTS 라디칼 소거활성을 나타내며, SOD-1, SOD-2 및 카탈라아제의 발현을 증진시켜 줌으로써, 뛰어난 항산화 활성을 나타내므로 새로운 화장품 조성물, 약학적 조성물 및 식품 제조에 효과적이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/135 (2016.08)
A61K 35/747 (2013.01)
A61K 36/03 (2013.01)
A61K 36/18 (2013.01)
A61K 36/185 (2013.01)
A61K 36/78 (2013.01)
A61K 8/99 (2013.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
A61K 2800/85 (2013.01)

(72) 발명자

이진우

경기도 고양시 일산서구 일산로635번길 21, 1405동
104호 (대화동, 성저마을14단지건영빌라)

임재연

경기도 수원시 장안구 덕영대로417번길 33-4, 2층
(율전동)

심재석

경기도 성남시 중원구 도촌북로 78, 502동 805호
(도촌동, 휴먼시아섬마을5단지아파트)

박영민

경기도 고양시 일산서구 강성로 270, 305동 905호
(대화동, 성저마을3단지아파트)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020090123458 A*

KR101331227 B1*

Korean J. Food Preserv Vol.17, No.5. pp720-726
(2010.10)*

Journal of the Saudi Society of Agricultural
Sciences vol. 15, pp. 20-27 (2014.05.29.)*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명세서

청구범위

청구항 1

- (A) 마테 30~70중량%, 어성초 10~40 중량%, 팔각 10~40 중량% 및 미역 0.1~10 중량%를 혼합 및 분쇄하는 단계;
(B) 상기 단계(A)의 혼합 분쇄 산물을 열수 추출하는 단계;
(C) 상기 단계(B)의 열수 추출물에 유산균인 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus Plantarum*) 및 효모인 사카로마이세스 세레비지에 113-4(KCTC12092BP)를 각각 접종하고,
30~37℃에서 3~24시간동안 유산균 발효를 시킨 후,
15~25℃에서 3~24시간동안 효모 발효를 시키는 단계; 및
(D) 상기 단계(C)의 발효 산물을 농축 및 건조하는 단계를 포함하는, 복합발효추출물의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 농축된 발효산물의 당도가 5~30 브릭스(Brix)인, 복합발효추출물의 제조방법.

청구항 3

마테, 어성초, 팔각 및 미역의 발효추출물을 포함하는, 제1항에 따른 제조방법에 의해 제조된 복합발효추출물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 복합발효추출물은 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성을 나타내는 것인, 복합발효추출물.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 복합발효추출물은 항산화 효소인 과산화물 제거효소-1, 과산화물 제거효소-2 및 카탈라아제의 발현을 증진시키는 것인, 복합발효추출물.

청구항 6

제3항 내지 제5항 중 어느 한 항의 복합발효추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 화장품 조성물.

청구항 7

제3항 내지 제5항 중 어느 한 항의 복합발효추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 식품.

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

발명의 설명

기술분야

- [0001] 본 발명은 복합발효추출물 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 마테, 어성초, 팔각 및 미역 복합발효추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 조성물 및 이를 이용한 화장품 조성물, 약학적 조성물 및 식품에 관한 것이다.

배경기술

- [0002] 공기 중에 일반적으로 존재하는 안정한 분자상태인 기저 산중항 산소가 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.
- [0003] 활성산소는 체내 방어기구인 과산화물제거효소(superoxide dismutase, SOD), 카탈라아제(catalase), 퍼옥시다아제(oxidase), 글루타치온(glutathione) 등의 항산화 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 방어력이 이상이 생기게 될 경우 균형이 깨어져 활성산소가 생체에 치명적인 산소 독성을 일으키게 된다.
- [0004] 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.
- [0005] 이와 같은 산화적 스트레스가 노화를 비롯하여 각종 질환을 일으키는 중요한 원인임이 밝혀지면서 생체 내 활성산소를 제거하는 항산화제를 개발하려는 연구가 활발히 진행되고 있다.
- [0006] 항산화제에 대한 연구는 1969년 McCord와 Fridovich가 수퍼옥사이드 라디칼을 소거하는 효소인 SOD를 발견한 것을 계기로 본격적으로 진행되었으며, 최근에는 노화나 성인병 등의 질환이 활성산소와도 관련되어 있는 것으로 밝혀져 활성산소를 조절할 수 있는 항산화제에 대한 연구가 활발히 진행 중에 있고, 합성 항산화제의 잠재적인 부작용 위험으로 인해 천연물로부터 추출한 추출물을 이용한 천연 항산화제에 대한 연구가 많은 관심을 받고 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 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 본 발명에서 해결하고자 하는 과제는, 보다 안전하고 항산화 효능이 탁월한 복합발효추출물 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명은,
 [0012] (A) 마테, 어성초, 팔각 및 미역을 혼합 및 분쇄 하는 단계;
 [0013] (B) 상기 단계(A)의 혼합 분쇄 산물을 열수 추출하는 단계;
 [0014] (C) 상기 단계(B)의 추출물을 효모 및 유산균을 이용하여 발효시키는 단계; 및
 [0015] (D) 상기 단계(C)의 발효 산물을 농축 및 건조하는 단계를 포함하는, 복합 발효추출물의 제조방법을 제공한다.
 [0016] 본 발명은 또한, 마테, 어성초, 팔각 및 미역의 발효추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 조성물을 제공한다.
 [0017] 본 발명은 또한, 상기 복합 발효추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 화장품 조성물을 제공한다.
 [0018] 본 발명은 또한, 상기 복합 발효추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 약학적 조성물을 제공한다.
 [0019] 본 발명은 또한, 상기 복합 발효추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 식품을 제공한다.

발명의 효과

- [0020] 본 발명은 항산화 활성을 가지는 마테, 어성초, 팔각 및 미역 복합 추출물을 효모를 이용한 발효를 통해 항산화 효소의 발현을 증진시켜 항산화 활성을 향상시킨 항산화 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 조성물은 DPPH 라디칼 및 ABTS 라디칼 소거활성을 나타내며, SOD-1, SOD-2 및 카탈라아제의 발현을 증진시켜 줌으로써, 뛰어난 항산화 활성을 나타내어 새로운 화장품 조성물, 약학적 조성물 및 식품 제조에 효과적이다.

도면의 간단한 설명

- [0021] 도 1은 마테, 어성초, 팔각 및 미역 복합발효추출물의 제조방법을 나타내는 공정도이다.
 도 2는 실시예 1 및 비교예 1의 DPPH 라디칼 활성을 측정한 결과를 나타내는 그래프이다.
 도 3은 실시예 1 및 비교예 1의 ATBS 라디칼 활성을 측정한 결과를 나타내는 그래프이다.
 도 4는 Raw 264.7 마우스 대식세포에서 실시예 1 및 비교예1의 처리에 의한 항산화 효소 SOD-1, SOD-2 및 카탈라아제의 mRNA 발현의 실험결과를 나타내는 이미지이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0022] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는바, 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에서 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.
 [0023] 이하에서 본 발명을 구체적으로 설명한다.
 [0024] 본 발명의 복합발효추출물은 마테, 어성초, 팔각 및 미역의 발효추출물을 포함하는 것을 특징으로 한다.
 [0025] 마테(Ilex paraguariensis, mate)는 감탕나무과의 상록 소고목으로 감탕나무과에 속하는 높이 6 m 정도의 식물로 남아메리카의 파라과이나 브라질 지역에 분포한다. 야생 상태에서는 본래 윗부분이 둥근 형태를 하고 있지만 재배할 경우에는 그 형태가 변형되어 줄기가 많은 관목이 되고 야생 상태보다 양질의 차이를 재배할 수 있게 되며, 추수는 2년에 1번씩 한다. 마테의 꽃은 작고 잎겨드랑이에 달리며 4수이며 녹색이고, 열매는 적색 또는 적

갈색이고 둥글며 지름 6 mm 정도이다. 마테의 잎은 이미 수천년 전부터 남미 사람들의 음료로 애용되고 있으며, 차나무과(Thea sinensis L.)인 녹차와 비슷한 향을 갖는 차(tea)의 원료이다(Wikipedia, 2011). 잎에는 카페인 성분이 함유되어 있고(2% 내외) 향기가 좋으며, 잎은 따로 추수하고 말려서 물에 우려낸 차로 음용된다.

[0026] 마테는 칼슘과 철분 등 무기질이 많은 토양에서 자라기 때문에 철분 칼슘 마그네슘 등의 무기질이 많이 포함되어 있으며, 특히 철 함유량이 매우 높고, 녹차의 5배에 달하는 철 함유량을 가진다. 특히나 다른 차에는 철의 흡수를 방해하는 탄닌 성분이 들어있는데 반해 마테에는 탄닌이 거의 들어 있지 않다. 마테차는 마테의 잎을 말려서 부수어 만든 것으로서, 트리테르펜, 카페인 및 카페인-유사 화합물을 함유한다. 마테차는 변비, 비만, 어깨 결림, 두통 등의 치료에 효과가 있다고 알려져 있으며, 이러한 마테의 약학 활성은 카페오일퀸산 및 카페인-유사 폴리페놀에 기인한다. 마테의 주요성분은 주로 클로로겐산, 루틴, 케르세틴 등과 같은 플라보노이드 성분이 다량 함유되어 있고(SONIA CHANDRA et al., 2004), 항산화 및 항염증 작용, 혈관 이완 및 혈중 지질 억제작용, 항암 작용, 혈당강하 작용, 체중 감소 효능 등과 같은 다양한 약리 효능이 알려져 있다(Bracesco et al., 2011).

[0027] 어성초(Houttuynia cordata Thunberg)는 삼백초과에 속하는 다년생 초본으로서, 약모밀, 십약, 집채, 중약초 등으로 불리며 그 잎과 뿌리에서 생선 비린내와 같은 독특한 냄새를 발산한다. 어성초는 체내독소제거에 탁월한 작용을 하고, 설파민의 40,000배가 넘는 항염 작용을 한다고 알려져 있다. 어성초의 데카노일 아세트알데히드는 각종 염증성 질환치료에 효과를 나타내며, 어성초가 함유한 플라보노이드의 혈액정화작용은 은행잎보다 뛰어나다고 한다. 어성초는 요도염, 방광염, 자궁염, 폐렴, 축농증, 기관지염, 치루, 악창 등 갖가지 염증질환에 매우 탁월한 효험을 내는 것으로 알려져 있으며, 고혈압, 당뇨, 해독작용에 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

[0028] 팔각(Illicium verum)은 붓순나무과(Illiciaceae)에 속하는 열매로서 별 모양의 과육을 가진다. 대부분이 중국과 베트남에서 자생하며, 중국의 전통약재로서 매우 널리 사용되었다. 팔각회향은 향신료로서 매우 널리 이용되고 있으며 이런 향의 대부분은 휘발성 오일에 함유되어 있다. 팔각회향의 열매의 구성성분으로는 (E)-아네톨(anethole)이 70-94%, 에스트라골(estragole), 리모넨(limonene), (Z)-아네톨(anethole), 피넨(pinene), β -펠란드렌(phellandrene) 그리고 α -테르피네올(terpineol) 등이 있다. 특히 팔각회향은 오일 성분에 유용 물질이 많이 함유되어 있고, 항곰팡이 활성(antifungal activity)이 많이 보고되어 있으며, 오일의 주요 성분인 아네톨(anethole)에 대한 연구도 진행되고 있다. 또한 팔각회향과 아네톨(anethole)은 항산화 활성, 진통제, 진정제, 발작진정 등의 용도로 이용되고 있다. 팔각회향 오일은 다양한 유용성분을 가진 물질로서 다양한 방면에 연구가 필요하다.

[0029] 미역(Undaria pinnatifida)은 다시마과(Laminariaceae)에 속하는 갈조류(brown algae)로서 주로 극동 아시아에 서식하는 해양식물이다. 최근에는 기능성 식품으로 미역에 대한 관심이 높아지면서 비만 방지효과와 당뇨 예방, 대장염 및 항암 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 또한, 칼슘을 비롯한 인체에 필요한 40여 종의 무기질, 식이섬유, DHA, 리놀산, 비타민 등이 풍부한 알칼리성의 건강식품으로 특유의 색과 기호성이 강한 풍미, 독특한 식감을 가지고 있어 국거리로 이용하거나 다양한 조리 형태로서 즐겨 애용해 왔고 특히 출산 후 산모의 회복을 위해서는 필수 식품으로 섭취하고 있다.

[0030] 본 발명의 복합발효추출물의 제조방법은,

[0031] (A) 마테, 어성초, 팔각 및 미역을 혼합 및 분쇄 하는 단계;

[0032] (B) 상기 단계(A)의 혼합 분쇄 산물을 열수 추출하는 단계;

[0033] (C) 상기 단계(B)의 추출물을 효모 및 유산균을 이용하여 발효시키는 단계; 및

[0034] (D) 상기 단계(C) 발효 산물을 농축 및 건조하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0035] 바람직한 구현예에 따르면, 상기 마테, 어성초, 팔각 및 미역은 마테 30-70 중량%, 어성초 10-40 중량%, 팔각 10-40 중량% 및 미역 0.1-10 중량% 혼합될 수 있다. 바람직하게는, 마테 35-55 중량%, 어성초 20-30 중량%, 팔각 20-30 중량% 및 미역 1-5 중량%로 혼합될 수 있다.

[0036] 본 발명의 복합발효추출물의 제조방법에 있어서, 일 구현예에 따르면,

[0037] 상기 발효 단계(C)는,

[0038] (i) 상기 단계(B)의 추출물에 효모 및 유산균을 접종하는 단계;

[0039] (ii) 상기 단계(i)의 의 균집중 추출물을 유산균 발효시키는 단계; 및

- [0040] (iii) 상기 단계(ii)의 유산균 발효 추출물을 효모 발효시키는 단계;를 포함하는 것일 수 있다.
- [0041] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 효모균과 유산균을 동시에 접종한 후 1차 유산균 발효와 2차 효모 발효를 진행할 수 있다. 즉 각각의 균이 발효할 수 있는 적정 조건을 제공함으로써 향산화 효과가 뛰어난 복합발효추출물을 얻을 수 있다.
- [0042] 바람직한 구현예에 따르면, 상기 유산균은 락토바실러스 플란타룸(*L.plantarum*)일 수 있다.
- [0043] 또한, 상기 유산균 발효는 0.1% 유산균 접종, 30~37℃에서 3~24시간 동안 발효하는 것일 수 있다.
- [0044] 본 발명의 방법에서 효모 발효에 이용하는 효모는 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*)일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 사카로마이세스 세레비지애 113-4 (KCTC12092BP) 일 수 있다.
- [0045] 효모는 단단한 세포벽을 가지고 있는데 이 세포벽은 노단백질(mannoprotein)과 글루칸(glucan) 및 소량의 키틴과 지방으로 구성되어 있다. 효모의 세포벽은 3가지 성분으로 층구조를 이루고 있으며, 세포내측은 주성분의 베타 1,3 과 1,6 글루칸, 소량의 키틴과 마노단백질로 되어 있으며, 외측은 만난(mannan)이 단백질과 연결돼 있는 마노단백질로 되어 있다(Fleet, G. H., The yeasts, Academic Press, London, 4; 199-277, 1991; Klis, F.M., Yeast, 10:851-869, 1994). 이러한 세포벽의 다당류는 수용성 만난, 알칼리 용해성 글루칸, 알칼리 비용해성 글루칸 및 키틴으로 나누는데, 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*)는 만난(mannan)과 글루칸 함량이 거의 같고 알칼리 용해성과 비용해성 글루칸 함량이 비슷하다고 보고되었다 (Fleet, G. H., et. al., J.Gen. Microbiol. 94: 315-327, 1977).
- [0046] 또한, 상기 효모 발효는 1% 효모 접종, 15~25℃에서 3~24 시간 동안 발효하는 것일 수 있다.
- [0047] 바람직한 구현예에 따르면, 상기 농축된 발효산물의 당도가 5~30 브릭스(Brix)일 수 있다.
- [0048] 본 발명은 또한 마테, 어성초, 팔각 및 미역의 발효추출물을 유효성분으로 포함하는 향산화 복합발효추출물을 제공한다.
- [0049] 바람직한 구현예에 따르면, 상기 복합발효추출물은 마테 발효추출물 30~70중량%, 어성초 발효추출물 10~40 중량%, 팔각 발효추출물 10~40 중량% 및 미역 발효추출물 0.1~10 중량%를 포함하는 것일 수 있으며, 바람직하게는, 마테 발효추출물 35~55 중량%, 어성초 발효추출물 20~30 중량%, 팔각 발효추출물 20~30 중량% 및 미역 발효추출물 1~5 중량%로 포함하는 것일 수 있다.
- [0050] 바람직한 구현예에 따르면, 상기 복합발효추출물은 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성을 나타내는 것일 수 있다.
- [0051] 바람직한 구현예에 따르면, 상기 복합발효추출물은 향산화 효소인 과산화물제거효소-1, 과산화물 제거효소-2 및 카탈라아제의 발현을 증진시키는 것일 수 있다.
- [0052] 본 발명은 또한 상기 복합발효추출물을 유효성분으로 포함하는 향산화 화장료 조성물을 제공한다.
- [0053] 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.
- [0054] 또한 상기 화장료 조성물은 향산화 복합발효추출물에 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 향산화제, 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 계면 활성제, 지질 소낭 또는 화장품에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 보조제를 함유할 수 있다.
- [0055] 또한, 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.
- [0056] 본 발명은 또한 상기 복합발효추출물을 유효성분으로 포함하는 향산화 약학적 조성물을 제공한다.
- [0057] 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, 봉쇄제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합

물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 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 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈61(tween 61), 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

- [0058] 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.
- [0059] 상기 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다.
- [0060] 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 중증도, 연령, 성별, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에서 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0061] 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.
- [0062] 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.
- [0063] 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.
- [0064] 본 발명은 또한 상기 복합발효추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화 식품을 제공한다.
- [0065] 본 발명에 따른 식품은 복합발효추출물에 적절한 식품보조첨가제가 포함될 수 있다.
- [0066] 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.
- [0067] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 식품은 건강기능식품일 수 있다.
- [0068] 본 발명에서 용어 '건강기능식품'은 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.
- [0069] 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 신생혈관형성 억제 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.
- [0070] 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, 음료

수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강보조식품을 모두 포함한다.

[0071] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 제시하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범주 및 기술사상 범위 내에서 다양한 변경 및 수정이 가능함은 본 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속하는 것도 자명한 것이다.

[0072] <비교예 1> 마테, 어성초, 팔각 및 미역 복합추출물의 제조

[0073] 마테, 어성초, 팔각 및 미역을 총 중량 100g을 기준으로 48:25:25:2의 비율로 혼합 및 분쇄하여 준비한 후, 준비한 상기 혼합물의 10배의 물을 넣고 98℃에서 4시간동안 열수 추출 하여 마테, 어성초, 팔각 및 미역 복합추출물을 제조하였다.

[0074] <실시예 1> 마테, 어성초, 팔각 및 미역 복합발효추출물의 제조.

[0075] 상기 비교예 1에서 얻은 복합추출물에 사카로마이세스 세리비지에 113-4 (*Saccharomyces cerevisiae*) 및 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus Plantarum*)를 각각 1% 및 0.1%를 접종한 후, 37℃에서 24시간동안 1차 발효(유산균 발효)하고, 25℃에서 24시간 동안 2차 발효(효모 발효)하였다.

[0076] 그 후, 시료를 80℃ 수욕조에서 30분간 가열하여 발효를 중지하였다. 그 후, 50℃에서 농축/건조 하여 10~20 브릭스(brix)의 복합발효추출물을 제조하였다.

[0077] 상기에서 사용된 미생물 사카로마이세스 세리비지에 113-4(KCTC12092BP)는 한국식품연구원에서 기술이전계약을 통해 균주를 받아 배양하여 사용하였으며, 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus Plantarum*)은 Institut-Rosell(캐나다) 제조사로 (주)비전바이오캡에서 받은 것을 사용하였다.

[0078] <실험예 1> DPPH 라디칼 소거 활성

[0079] DPPH(2,2-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 라디칼 소거 활성을 확인하기 위하여 블루아(Blois) 방법을 이용하여 측정하였다.

[0080] 먼저, 여러 농도의 시료를 메탄올 용매로 용해하여 900 μ l의 DPPH 용액(150 μ M)과 각 시료 100 μ l를 혼합하여 교반하였다. 이 혼합 시료를 암소에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, DPPH 라디칼 소거 활성은 각 실험을 3회 반복하여 평균을 낸 다음 대조군에 대한 흡광도의 감소 정도를 하기 수학적 식 1에 의하여 계산하여 시료가 DPPH 라디칼을 50% 소거하는데 필요한 시료의 농도(IC₅₀)을 측정하였다.

[0081] [수학적 식 1]

[0082] DPPH 라디칼 소거 활성(%) = (A-B)/A × 100

[0083] A : 시료 대신 메탄올을 첨가한 DPPH의 흡광도

[0084] B : 시료를 첨가한 DPPH의 흡광도

[0085] 상기 실험 결과는 하기 표 1 및 도 2에 나타난 바와 같이 실시예 1과 비교예 1의 DPPH 라디칼 소거 활성은 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였으며, 비교예 1의 IC₅₀은 306.6 μ g/mL이고 실시예 1의 IC₅₀은 266.1 μ g/mL으로 비교예 1과 비교하여 실시예 1에서 26.2% 낮은 IC₅₀을 나타내었다.

[0086]

시 료	DPPH 라디칼 소거 활성 (IC ₅₀ ppm)
비교예 1	306.6
실시예 1	266.1

[0087] <실험예 2> ABTS 라디칼 소거 활성

[0088] ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) 라디칼 소거 활성을 확인하기 위하여 로베르트(Roberta)등의 방법을 이용하였다.

[0089] ABTS 라디칼 용액의 제조는 증류수에 7 mM ABTS와 2.45 mM 황산칼륨(potassium persulphate)를 첨가하고, 상온에서 16시간 반응하여 ABTS 양이온을 생성시킨 후 734 nm에서 흡광도의 값이 0.7 이하가 되도록 희석하여 제조하였다. 그 다음 여러 농도의 시료를 제조하여 900 μ l의 ABTS 라디칼 용액과 각 시료 100 μ l를 혼합하여 교반하였다. 이 혼합 시료를 30℃에서 6분간 반응시킨 후 흡광도 값을 측정하였으며, ABTS 라디칼 소거능은 각 실험을 3회 반복하여 평균을 낸 다음 대조군에 대한 흡광도의 감소 정도를 하기 수학식 2에 의하여 계산하여 시료가 ABTS 라디칼을 50% 소거하는데 필요한 시료의 농도(IC₅₀)을 측정하였다.

[0090] [수학식 2]

[0091] ABTS 라디칼 소거 활성(%)= (A-B)/A x100

[0092] A : 시료 대신 메탄올을 첨가한 ABTS의 흡광도

[0093] B : 시료를 첨가한 ABTS의 흡광도

[0094] 상기 실험 결과는 하기 표 2 및 도 3에 나타난 바와 같이 실시예 1과 비교예 1의 ABTS 라디칼 소거활성은 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였으며, 비교예 1의 IC₅₀은 612.6 μ g/mL이고 실시예 1의 IC₅₀은 504.3 μ g/mL으로 비교예 1과 비교하여 실시예 1에서 17.7% 낮은 IC₅₀을 나타내었다. 이러한 결과는 본 발명의 실시예 1이 비교예 1에 비하여 ABTS 라디칼 소거활성이 월등히 우수한 것을 확인하였다.

표 2

[0095]	시 료	ABTS 라디칼 소거 활성 (IC ₅₀ ppm)
	비교예 1	612.6
	실시예 1	504.3

[0096] <실험예 3> 항산화 효소의 발현 증진

[0097] 항산화 효소인 과산화물제거효소-1(superoxide dismutase-1, SOD-1, Cu-Zn SOD), 과산화물제거효소-2(superoxide dismutase-2, SOD-2, Mn SOD) 및 카탈라아제(Catalase)의 발현 증진을 확인 하기 위하여 하기 와 같은 실험을 하였다.

[0098] RAW 264.7 마우스 대식세포(American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA, USA;ATCC[®] TIB-71[™])를 10%의 우태아 혈청(FBS)이 함유된 DMEM(Dulbecco's modified eagle's medium)배지에서 배양한 후, 6-웰 평판배 양기(6-well microtiter plate)에 1x10⁵ cells/well이 되도록 넣은 다음 37℃, 5% 이산화탄소(CO₂) 조건에서 24 시간 동안 배양하였다. 50 μ M 과산화수소(hydrogen peroxide)를 실시예 1 및 비교예 1의 시료(각각 10ppm 및 25ppm)와 함께 24시간 처리한 후, RAW 264.7 마우스 대식세포로부터 TRIzol시약(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 사용하여 총 RNA를 수확하여 역전사 시킨 후, RT-PCR 분석을 다음과 같이 수행하였다. 먼저 cDNA 합성을 위해 상기 RNA를 reverse transcriptase로 역전사 시켰다. RT-PCR은 하기의 특정 프라이머 쌍을 이용하여 수행 하였다.

[0099] β -Actin

[0100] Forward primer: 5' - CAGCTCAGTAACAGTCCGCC - 3'

[0101] Reverse primer: 5' - TCACTATTGGCAACGAGCGG - 3'

[0102] SOD-1

[0103] Forward primer: 5' - AAGGCCGTGTGCGTGCTGAA - 3'

[0104] Reverse primer: 5' - CAGGTCTCCAACATGCCTCT - 3'

[0105] SOD-2

[0106] Forward primer: 5' - GCACATTAACGCGCAGATCA - 3'

[0107] Reverse primer: 5' - AGCCTCCAGCAACTCTCCTT - 3'

[0108] Catalase

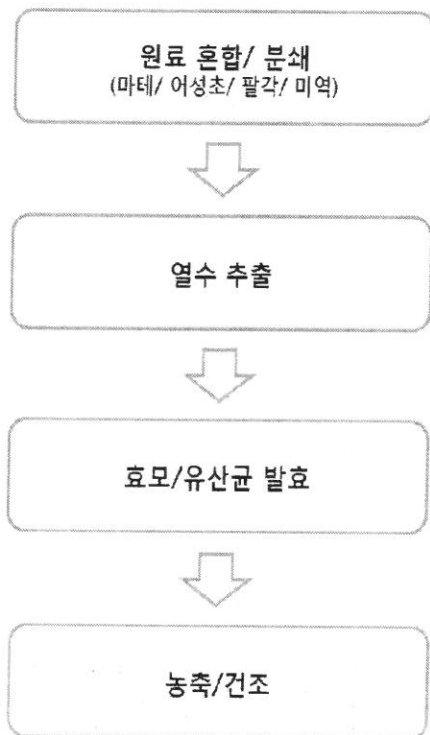
[0109] Forward primer: 5' - GCAGATACCTGTGAACTGTC - 3'

[0110] Reverse primer: 5' - GTAGAATGTCCGCACCTGAG - 3'

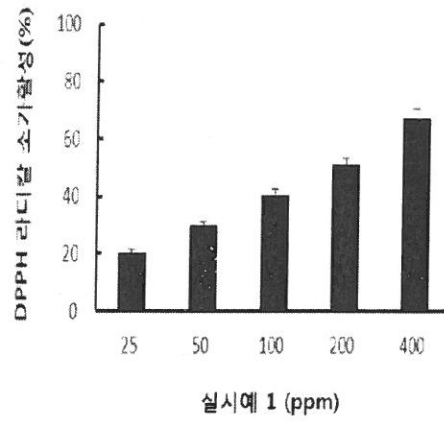
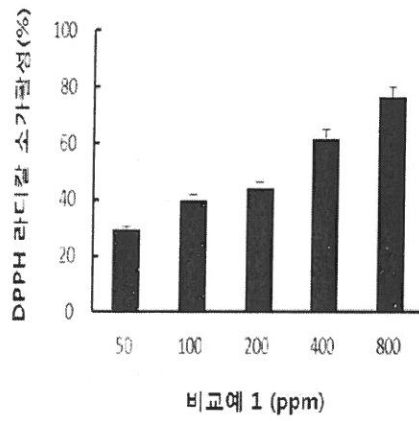
[0111] 상기 실험 결과는 도 4 및 도 5에 나타난 바와 같이, 비교예 1과 실시예 1은 과산화수소의 처리에 의해 감소된 SOD-1, SOD-2, Catalase의 mRNA 발현을 농도 의존적으로 증가시켰으며, 비교예 1과 비교하여 실시예 1에서 항산화 효소들의 mRNA 발현을 더 효과적으로 증진시켰다. 이러한 결과는 본 발명의 발효물을 처리한 실시예 1이 발효처리하지 않은 비교예 1에 비하여 산화적 스트레스에 의해 감소된 항산화 효소를 더 효과적으로 증진시켜 대식세포 보호 기능이 월등히 우수한 것을 확인하였다.

도면

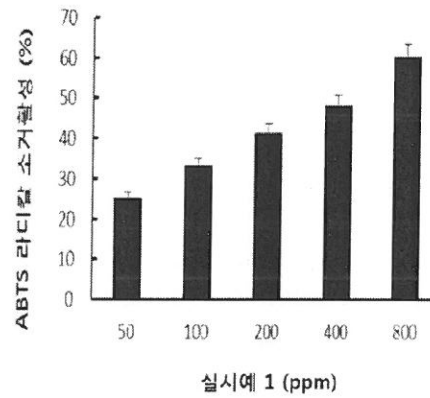
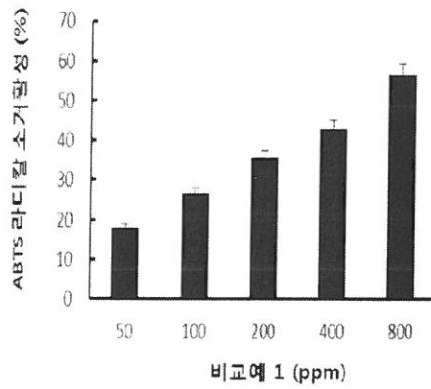
도면1



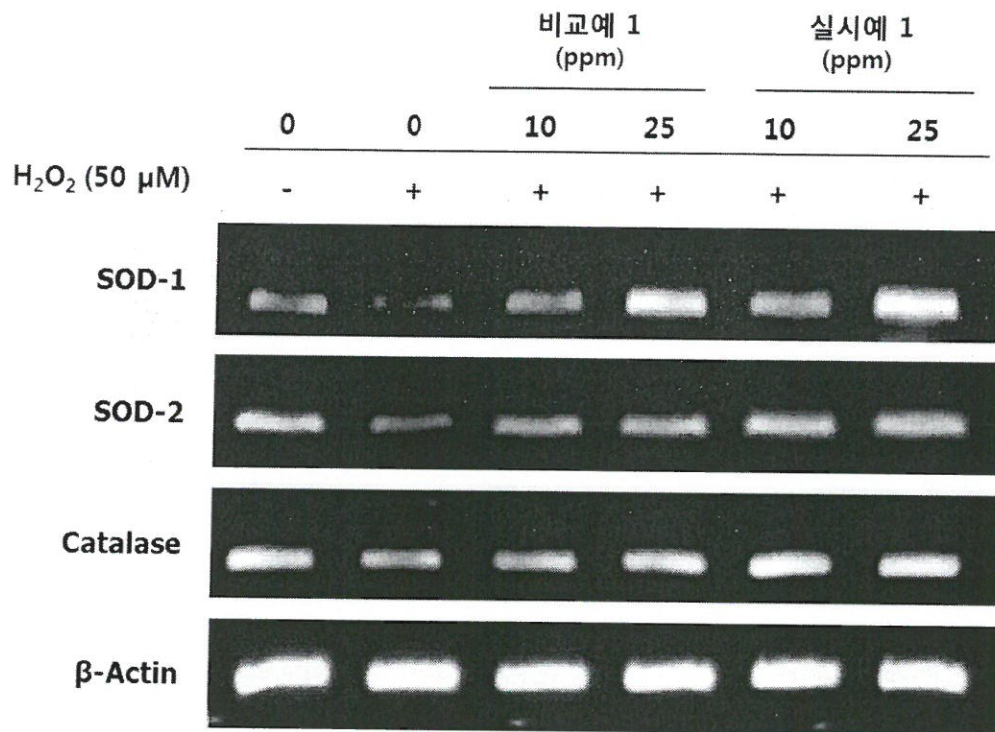
도면2



도면3



도면4



도면5

