



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2009년10월28일  
 (11) 등록번호 10-0923974  
 (24) 등록일자 2009년10월21일

(51) Int. Cl.  
 A61K 36/185 (2006.01) A61P 39/06 (2006.01)  
 A61P 1/16 (2006.01) A23L 1/29 (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2007-0102233  
 (22) 출원일자 2007년10월10일  
 심사청구일자 2007년10월10일  
 (65) 공개번호 10-2009-0036930  
 (43) 공개일자 2009년04월15일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 논문1: 한국원자력연구원\*  
 논문2: 한국원자력연구원  
 KR1020030021921 A  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
 한국원자력연구원  
 대전 유성구 덕진동 150-1  
 (72) 발명자  
 정병엽  
 전북 정읍시 시기동 메이플APT 101동 605호  
 김재성  
 대전광역시 유성구 전민동 464-1, 엑스포아파트  
 410동 607호  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
 이원희

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 이선화

**(54) 방사선을 이용한 지치 추출물의 생리활성 증진 방법**

**(57) 요약**

본 발명은 방사선을 이용한 지치(*Lithospermum erythrorhizon* S. et Z.) 추출물의 생리활성 증진 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 본 발명은 천연색소인 시코닌(shikonin) 및 그의 유도체들이 함유된 지치 추출물에 방사선을 조사하여 지치 추출물의 항산화능 향상, 피부미백에 관여하는 티로시나아제(tyrosinase) 효소활성저해 및 피부주름개선에 관여하는 엘라스타아제(elastase) 효소활성저해 등의 다양한 생리활성을 증진시키는 방법에 관한 것이다. 따라서 복잡한 처리 과정 없이 방사선 조사기술을 이용하여 지치 추출물을 화장품, 식품 또는 의약품 등 여러 분야에 유용하게 이용할 수 있다.

**대표도 - 도2**



(72) 발명자

**김진홍**

전북 정읍시 수성동 부영2차아파트 207동 1007호

**이민희**

전북 전주시 덕진구 인후1가 삼호아파트 3동 610호

**이승식**

전북 정읍시 시기동 100 센트럴카운티 105동 1004호

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

지치(*Lithospermum erythrorhizon* S. et Z.) 추출물에 500 ~ 600 Gy의 감마선을 조사하여 항산화 활성, 티로시나아제(tyrosinase) 저해 활성 및 엘라스타아제(elastase) 저해 활성을 증진시키는 방법.

**청구항 2**

삭제

**청구항 3**

삭제

**청구항 4**

삭제

**청구항 5**

제 1항에 있어서, 상기 감마선은 코발트(Co)-60, 크립톤(Kr)-85, 스트론튬(Sr)-90 및 세슘(Cs)-137로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 방사성 동위원소로부터 방출되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 6**

제 1항에 있어서, 상기 감마선은 코발트(Co)-60 방사성 동위원소로부터 방출되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 7**

삭제

**청구항 8**

삭제

**청구항 9**

제 1항의 방법에 의해 제조된, 항산화 활성, 티로시나아제(tyrosinase) 저해 활성 및 엘라스타아제(elastase) 저해 활성이 증진된 지치 추출물.

**청구항 10**

삭제

**청구항 11**

삭제

**청구항 12**

삭제

**청구항 13**

삭제

**청구항 14**

삭제

**청구항 15**

삭제

**청구항 16**

제 9항의 지치 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부미백용 화장품.

**청구항 17**

제 9항의 지치 추출물을 유효성분으로 함유하는 주름개선용 화장품.

**명세서**

**발명의 상세한 설명**

**기술분야**

<1> 본 발명은 방사선을 이용한 지치(*Lithospermum erythrorhizon* S. et Z.) 추출물의 생리활성 증진 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 본 발명은 시코닌(shikonin) 및 그의 유도체들이 함유된 지치 추출물에 방사선을 조사하여 지치 추출물의 다양한 생리활성을 증진시키는 방법에 관한 것이다.

**배경기술**

<2> 방사선 조사기술은 국내에서 일반적으로 살균목적으로 많이 사용되고 있는데 이외에도 물성개선, 불순물제거 등의 다양한 효과가 검증되고 있다. 감마선 조사는 코발트-60 방사성 동위원소에서 나오는 단파장 빛인 감마선을 식품이나 의약품 등에 쬐여 치명적인 전염병 세균들이나 기생충 및 해충들을 완전히 사멸시킬 수 있는 유익하고 효과적인 방법이 감마선 조사기술이다. 감마선은 수 센티미터의 콘크리트를 투과할 정도로 고(高)침투력을 가진 파장이기 때문에 보건의료제품을 완전 밀봉한 상태로 조사 처리하여도 무균제품을 생산할 수 있다. 코발트-60에서 방출되는 감마선은 전자와 같은 하전입자에 비하면 투과력이 강하기 때문에 액체나 고체의 내부까지 조사하는 데 적합하다. 의리기구 살균이나 식품조사 목적에는 코발트-60 선원이 이용되고 있다.

<3> 지치(*Lithospermum erythrorhizon* Shiebold et. Zuccarini)는 지치과(Borraginaceae) 지치속(*Lithospermum*)에 속하는 다년생 식물로서 도 1에서와 같은 구조식으로 표현되는 시코닌(shikonin) 및 그 유도체를 뿌리에 함유하는 대표적 식물로서 한국, 일본 및 중국에 주로 자생하는 식물이다. 지치의 노화된 근부조직의 코르크층(도 2, 3)에서 합성되는 붉은 색소는 1,4-나프토크논(naphthoquinone)인 시코닌이 주성분이라고 1922년 Tajima와 Kuroda에 의해 밝혀진 이래 이 물질에 대한 관심이 높아져 시코닌과 그 계열 화합물인 디옥시시코닌(deoxyshikonin), 아세틸시코닌(acetylshikonin), 이소부틸시코닌(isobutylshikonin), 디메틸아크릴시코닌(dimethylacrylshikonin), 아세틸시코닌(acetylshikonin), 이소발레릴시코닌(isovalerylshikonin), 하이드록시 이소발레릴시코닌(hydroxyisovalerylshikonin)등이 합성되고 있는 것으로 밝혀지고 있다. 이와 같은 시코닌 유도체는 이미 소염, 해독, 해열 목적으로 처방제에 배합하여 사용하고 있으며 살균 및 항염증 작용이 있어 종창, 화상, 동상, 습진 및 치질 등에 연고로서 외용되고 있으며 최근에는 화장품 원료 및 고급 천연염료로 사용되고 있다.

<4> 상기와 같은 다양한 생리활성을 가지는 시코닌 유도체들의 기능성으로 인해 시코닌 유도체들을 조직배양을 통한 대량생산에 관한 연구들이 다수 진행되어 왔지만 추출한 시코닌 유도체들의 생리활성을 증진시키는 기술은 현재 까지 보고된 바가 없다.

<5> 이에, 본 발명자들은 천연색소인 시코닌 및 그의 유도체들이 함유된 지치 추출물에 방사선을 조사한 결과, 지치 추출물의 항산화능 향상, 피부미백에 관여하는 티로시나아제 효소활성저해 및 주름개선에 관여하는 엘라스타나아제 효소활성저해 등의 다양한 생리활성이 증진되는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

**발명의 내용**

**해결하고자하는 과제**

<6> 본 발명의 목적은 지치 추출물에 방사선을 조사하여 생리활성을 증진시키는 방법 및 이를 이용한 생리활성이

증진된 지치 추출물을 제공하는 것이다.

**과제 해결수단**

- <7> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 지치 추출물에 방사선을 조사하여 생리활성을 증진시키는 방법을 제공한다.
- <8> 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조되는 생리활성이 증진된 지치 추출물을 제공한다.
- <9> 또한, 본 발명은 상기 생리활성이 증진된 지치 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 기능을 갖는 약학적 조성물을 제공한다.
- <10> 또한, 본 발명은 생리활성이 증진된 지치 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 기능을 갖는 건강기능식품을 제공한다.
- <11> 또한, 본 발명은 생리활성이 증진된 지치 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부미백용 화장품을 제공한다.
- <12> 아울러, 본 발명은 생리활성이 증진된 지치 추출물을 유효성분으로 함유하는 주름개선용 화장품을 제공한다.

**효 과**

- <13> 본 발명의 방사선을 조사하여 천연색소인 시코닌(shikonin) 및 그의 유도체들이 함유된 지치 추출물의 항산화능 향상, 피부미백에 관여하는 티로시나아제(tyrosinase) 효소활성저해 및 피부주름개선에 관여하는 엘라스타아제(elastase) 효소활성저해 등의 다양한 생리활성을 증진시키는 방법은 지치 추출물을 복잡한 처리 과정 없이 생리활성을 증진시켜 화장품, 식품 또는 의약품 등 부가가치를 높일 수 있는 다양한 분야에 유용하게 이용할 수 있다.

**발명의 실시를 위한 구체적인 내용**

- <14> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- <15> 본 발명은 지치 추출물에 방사선을 조사하여 생리활성을 증진시키는 방법을 제공한다.
- <16> 상기 방법은 하기와 같은 단계로 이루어진다.
- <17> 1) 지치를 용매로 추출하는 단계; 및
- <18> 2) 단계 1)의 추출물을 방사선으로 조사하는 단계,
- <19> 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 지치는 재배한 것 또는 시판하는 것 모두 사용될 수 있으며, 뿌리를 이용하는 것이 바람직하다.
- <20> 상기 용매는 물, 알코올 또는 알코올 수용액을 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 알코올은 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>4</sub> 저급 알코올을 이용하는 것이 바람직하며, 저급 알코올로는 에탄올 또는 메탄올을 이용하는 것이 바람직하다. 추출시 용매를 건조된 지치 분량의 5 내지 15배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하며, 10배 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하다. 상온에서 추출하는 것이 바람직하나 이에 한정하는 것은 아니다. 아울러 추출 회수는 1 내지 5회인 것이 바람직하며, 3회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다.
- <21> 상기 제조 방법에 있어서, 단계 2)의 방사선은 감마선, 전자선 또는 X-선을 모두 사용할 수 있으며, 감마선을 사용하는 것이 바람직하다.
- <22> 상기 감마선은 코발트(Co)-60, 크립톤(Kr)-85, 스트론튬(Sr)-90 또는 세슘(Cs)-137 등의 방사성 동위원소로부터 방출되는 감마선을 사용하여 조사하는 것이 바람직하며, 코발트(Co)-60 방사선 동위원소로부터 방출되는 것이 더 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 방사선의 흡수선량은 100 Gy ~ 1 kGy인 것이 바람직하며, 500 Gy인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 흡수선량의 범위는 시코닌 유도체들의 변화를 최소화하고 기타 불순물을 제거함으로써 다양한 생리활성을 증가시킬 수 있음을 기준으로 설정하였다.
- <23> 본 발명에서는 지치 추출물에 방사선을 조사한 후 다양한 생리활성을 가지는 시코닌 유도체들의 함량의 변화를 알아보기 위해, 분광광도계(spectrophotometer)를 이용하여 측정하였다. 그 결과, 표 1에서 보는 바와 같이 방사선 조사 후의 시코닌 유도체들의 함량은 조사선량이 높아지면서 조금씩 낮아지는 결과를 나타냈지만 감마선 1

kGy를 조사한 후에도 시코닌 유도체들이 70% 이상 존재하는 것을 알 수 있었다. 따라서 상기 흡수선량의 방사선은 시코닌 유도체들의 함량 변화를 최소화한다는 것을 알 수 있다.

- <24> 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조되는 생리활성이 증진된 지치 추출물을 제공한다.
- <25> 상기 생리활성은 항산화능인 것을 특징으로 한다.
- <26> 본 발명에서는 방사선 조사 후의 지치 추출물의 항산화능의 변화를 알아보기 위해, 방사선 조사 전후 추출물에 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)로 반응시킨 후 분광광도계(spectrophotometer)를 이용하여 전자공여능을 측정하였다. 그 결과, 표 2에서 보는 바와 같이 방사선 조사구가 비조사구에 비해 500 Gy까지 흡수선량 의존적으로 전자공여능이 증가하는 것을 알 수 있었고, 500 Gy 조사구(8.9%)가 100 ~ 400 Gy 조사구(0.5 ~ 2.7%) 및 600 ~ 1000 Gy 조사구(6.2 ~ 0.9 %)에 비해 높은 전자공여능이 증가하는 것을 알 수 있었다. 따라서, 방사선 조사에 의해 지치 추출물의 항산화능을 증진시킬 수 있음을 알 수 있다.
- <27> 상기 생리활성은 티로시나아제(tyrosinase) 저해활성인 것을 특징으로 한다.
- <28> 본 발명에서는 방사선 조사 후의 지치 추출물의 티로시나아제(tyrosinase) 저해 효과의 변화를 알아보기 위해, 인산 칼륨 완충용액(potassium phosphate buffer)으로 녹인 기질 도파민(Dioxyphenylalanin, DOPA)에 방사선 조사 전후 추출물을 넣고 효소 티로시나아제(tyrosinase)를 넣어준 후 스펙트로미터(spectrophotometer)를 이용하여 티로시나아제를 측정하였다. 그 결과, 표 3에서 보는 바와 같이 방사선 조사구가 비조사구에 비해 500 Gy까지 흡수선량 의존적으로 증가하는 경향을 보였고, 500 Gy 조사구(39.9%)가 100 ~ 400 Gy 조사구(8.4 ~ 15.0%) 및 600 ~ 1000 Gy 조사구(35.2 ~ 13.0%)에 비해 높은 티로시나아제(tyrosinase) 저해율을 나타내었다. 따라서 방사선 조사에 의해 지치 추출물의 티로시나아제 효소의 저해 효과를 증진시킬 수 있음을 알 수 있고, 이는 지치 추출물의 피부미백효과를 향상시킬 수 있음을 알 수 있다.
- <29> 상기 생리활성은 엘라스타아제(elastase) 저해활성인 것을 특징으로 한다.
- <30> 본 발명에서는 방사선 조사 후의 지치 추출물의 엘라스타아제(elastase) 저해 효과의 변화를 알아보기 위해, 엘라스타아제에 트리스 완충용액(Tris buffer)과 방사선 전후의 추출물을 넣은 후, 기질 N-Succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide를 넣고 반응시킨 후 스펙트로미터(spectrophotometer)를 이용하여 엘라스타아제(elastase)를 측정하였다. 그 결과, 표 4에서 보는 바와 같이 방사선 조사구가 비조사구에 비해 500 Gy까지 흡수선량 의존적으로 증가하는 경향을 보였다. 또한, 500 Gy 조사구(43.1%)가 100 ~ 400 Gy 조사구(8.4 ~ 18.1%) 및 600 ~ 1000 Gy 조사구(28.8 ~ 10.9 %)에 비해 높은 엘라스타아제(elastase) 저해율을 나타내었다. 따라서 방사선 조사에 의해 지치 추출물의 엘라스타아제 효소의 저해 효과를 증진시킬 수 있음을 알 수 있고, 이는 지치 추출물의 피부주름개선 효과를 향상시킬 수 있음을 알 수 있다.
- <31> 또한, 본 발명은 상기 생리활성이 증진된 지치 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 기능을 갖는 약학적 조성물을 제공한다.
- <32> 상기 약학적 조성물은 활성산소가 과량으로 축적되어 발병되는 질환의 예방 및 치료용인 것을 특징으로 한다.
- <33> 상기 활성산소가 과량으로 축적되어 발병하는 질환은 간장 질환, 뇌졸중, 심근경색, 당뇨병성 혈관장애, 고지혈증, 급성염증, 류마티스, 암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 한다.
- <34> 상기 생리활성이 증진된 지치 추출물을 의약품으로 사용하는 경우, 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- <35> 상기 생리활성이 증진된 지치 추출물은 임상 투여 시에 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있다.
- <36> 즉, 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물은 실제 임상 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제에는 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여

를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

- <37> 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 증증도에 따라 그 범위가 다양하며, 일일 투여량은 생리활성이 증진된 지치 추출물의 양을 기준으로 0.1 내지 100 mg/kg이고, 바람직하게는 30 내지 86 mg/kg이고, 더욱 바람직하게는 50 내지 60 mg/kg이며, 하루 1 ~ 6 회 투여될 수 있다.
- <38> 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- <39> 또한, 본 발명은 생리활성이 증진된 지치 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 기능을 갖는 건강기능식품을 제공한다.
- <40> 본 발명의 상기 생리활성이 증진된 지치 추출물을 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 생리활성이 증진된 지치 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물은 원료에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- <41> 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.
- <42> 본 발명의 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스나 같은 디사카라이드, 및 벡스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g 이다.
- <43> 상기 외에 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물은 여러가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 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. 그밖에 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- <44> 아울러, 본 발명은 생리활성이 증진된 지치 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부미백 또는 주름개선용 화장품을 제공한다.
- <45> 본 발명의 상기 생리활성이 증진된 지치 추출물을 화장품으로 사용하는 경우, 상기 생리활성이 증진된 지치 추출물을 유효성분으로 함유하여 제조되는 화장품은 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조할 수 있다. 유화 제형의 화장품으로는 영양화장수, 크림, 에센스 등이 있으며, 가용화 제형의 화장품으로는 유연화장수가 있다.
- <46> 적합한 화장품의 제형으로는 예를 들면 용액, 겔, 고체 또는 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 마이크로에멀전, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는 이온형(리포솜), 비이온형의 소나 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.
- <47> 또한, 상기 화장품은 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물에 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온

형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제 및 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소나방 또는 화장품에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 화장품학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다.

<48> 이하, 본 발명을 실시예, 실험예에 의하여 상세히 설명한다.

<49> 단, 하기 실시예, 실험예는 본 발명을 구체적으로 예시하는 것이며, 본 발명의 내용이 실시예, 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

<50> <실시예 1> 지치 추출물의 제조

<51> 지치는 뿌리 형태로 판매되는 것으로(도 2 및 도 3 참조) 충남 금산에서 구입하였다. 지치 뿌리 100 g을 100% 메탄올 1000 mL에 침지하여 24시간 진탕시킨 후 추출하였으며 이 과정을 3번 반복하여 추출농축액 20 g을 수득하였다.

<52> <실시예 2> 지치 추출물의 방사선 조사

<53> 상기 실시예 1에서 추출한 추출농축액(20 g)을 용기에 담은 후 한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소 내에 비치되어 있는 선원 10만 Ci의 코발트(Cobalt)-60 감마선 조사 시설(Point source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, ON, Canada)을 이용하여 실온에서 각각 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800 및 1000 Gy를 조사하였으며 총 흡수선량의 오차는 ±0.2 Gy였다.

<54> <실험예 1> 방사선 조사 후의 시코닌(shikonin) 유도체 함량 조사

<55> 방사선 조사를 실시한 전후 시료들을 증발기(evaporator)를 이용하여 40℃에서 진공농축시킨 후 일정량을 채취하여 약 30분간 진공건조시킨 다음 2.5% KOH 1 mL를 첨가하고 약 15분간 강하게 흔들어 용해시킨 후 분광광도계(spectrophotometer, UV-Vis)로 622 nm 및 520 nm에서 시코닌 유도체의 함량을 측정하였다.

<56> 상기 결과, 표 1에서 보는 바와 같이 방사선 조사 후의 시코닌 유도체들의 함량은 조사선량이 높아지면서 조금씩 낮아지는 결과를 나타내지만 감마선 1000 Gy를 조사한 후에도 시코닌 유도체들이 70% 이상 존재하는 것을 알 수 있었다.

**표 1**

<57> 방사선 조사 후의 시코닌 유도체 함량

조사선량(Dose)	시코닌(mg/ml)
대조구	0.049
100 Gy	0.048
200 Gy	0.047
300 Gy	0.044
400 Gy	0.042
500 Gy	0.040
600 Gy	0.039
800 Gy	0.037
1000 Gy	0.035

<58> <실험예 2> 방사선 조사 후의 지치 추출물의 항산화능 측정

<59> 시료(1 mg/mL) 400 μL에 0.2 mM DPPH 400 μL를 첨가한 후 교반한다. 상온에서 약 30분간 반응시킨 후 분광광도계(spectrophotometer, UV-Vis)로 517 nm에서 흡광도를 측정하여 항산화능을 계산하였다.

<60> 상기 결과, 표 2에서 보는 바와 같이 방사선 조사구가 비조사구에 비해 전자공여능이 높게 나타나는 결과를 알 수 있다. 이는 지치 추출물의 항산화능이 방사선조사 후에 500 Gy까지 선량 의존적으로 증가하는 경향을 보였고, 500 Gy 조사구(8.9%)가 100 ~ 400 Gy 조사구(0.5 ~ 2.7%) 및 600 ~ 1000 Gy 조사구(6.2 ~ 0.9 %)에 비해 높은 전자공여능이 증가하는 것을 알 수 있었다.

**표 2**



<61> 방사선 조사 후의 지치 추출물의 전자공여능

조사선량(Dose)	DPPH 라디칼(%)
대조구	77.7
100 Gy	78.1(0.5)
200 Gy	78.6(1.2)
300 Gy	79.3(2.1)
400 Gy	79.8(2.7)
500 Gy	84.6(8.9)
600 Gy	82.5(6.2)
800 Gy	80.2(3.2)
1000 Gy	78.4(0.9)

<62> ( )는 대조구 대비 증가효과를 %로 나타낸 것이다.

<63> <실험예 3> 방사선 조사 후의 지치 추출물의 티로시나아제(tyrosinase) 저해 효과

<64> 0.1M 인산 칼륨 완충용액(potassium phosphate buffer)(pH 6.8)으로 녹인 기질 10 mM DOPA 0.4 mL에 시료 0.2 mL를 넣고 효소 티로시나아제(tyrosinase)(100 unit/mL) 0.2 mL를 넣어준 후 25°C에서 약 15분간 반응시킨 후 스펙트로미터(spectrophotometer)(UV-Vis)로 475 nm에서 흡광도를 측정하여 티로시나아제(tyrosinase) 저해효과를 계산하였다.

<65> 상기 결과, 표 3에서 보는 바와 같이 방사선 조사구가 비조사구에 비해 500 Gy까지 선량 의존적으로 증가하는 경향을 보였다. 또한, 500 Gy 조사구(39.9%)가 100 ~ 400 Gy 조사구(8.4 ~ 15.0%) 및 600 ~ 1000 Gy 조사구(35.2 ~ 13.0 %)에 비해 높은 티로시나아제(tyrosinase) 저해율을 나타내었다.

**표 3**

<66> 방사선조사 후의 지치 추출물의 티로시나아제(tyrosinase) 저해율

조사선량(Dose)	티로시나아제(%)
대조구	66.7
100 Gy	72.3(8.4)
200 Gy	73.3(9.9)
300 Gy	73.5(10.2)
400 Gy	76.7(15.0)
500 Gy	93.3(39.9)
600 Gy	90.2(35.2)
800 Gy	82.5(23.7)
1000 Gy	75.4(13.0)

<67> ( )는 대조구 대비 증가효과를 %로 나타낸 것이다.

<68> <실험예 4> 방사선 조사 후의 지치 추출물의 엘라스타아제(elastase) 저해효과

<69> 엘라스타아제(Elastase)(unit/mL) 0.25 mL에 트리스 완충용액(Tris buffer)(0.4 M, pH 8.6) 0.25 mL과 시료 0.25 mL를 넣고 교반한 후 37°C에서 약 5분간 반응시킨다. 반응 후 기질 N-Succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide(0.5 mg/mL) 0.5 mL를 넣고 교반한 후 다시 37°C에서 약 30분간 반응시킨 후 스펙트로미터(spectrophotometer)(UV-Vis)로 445 nm에서 흡광도를 측정하여 엘라스타아제(elastase) 저해효과를 계산하였다.

<70> 상기 결과, 표 4에서 보는 바와 같이 방사선 조사구가 비조사구에 비해 500 Gy까지 선량 의존적으로 증가하는 경향을 보였다. 또한, 500 Gy 조사구(43.1%)의 경우가 100 ~ 400 Gy 조사구(8.4 ~ 18.1%) 및 600 ~ 1000 Gy 조사구(28.8 ~ 10.9 %)에 비해 높은 엘라스타아제(elastase) 저해율을 나타내었다.

**표 4**

<71> 방사선 조사 후의 지치추출물의 엘라스타아제(elastase) 저해율

조사선량(Dose)	엘라스타아제(%)
대조구	32
100 Gy	34.7(8.4)
200 Gy	35.2(10)
300 Gy	35.7(11.6)
400 Gy	37.8(18.1)
500 Gy	45.8(43.1)
600 Gy	41.2(28.8)
800 Gy	37.4(16.9)
1000 Gy	35.5(10.9)

<72> ( )는 대조구 대비 증가효과를 %로 나타낸 것이다.

<73> 하기에 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물을 위한 제제예를 예시한다.

<74> <제제예 1> : 약학적 제제의 제조

<75> 1. 산제의 제조

<76> 생리활성이 증진된 지치 추출물 2 g

<77> 유당 1 g

<78> 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

<79> 2. 정제의 제조

<80> 생리활성이 증진된 지치 추출물 100 mg

<81> 옥수수전분 100 mg

<82> 유 당 100 mg

<83> 스테아린산 마그네슘 2 mg

<84> 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

<85> 3. 캡슐제의 제조

<86> 생리활성이 증진된 지치 추출물 100 mg

<87> 옥수수전분 100 mg

<88> 유 당 100 mg

<89> 스테아린산 마그네슘 2 mg

<90> 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

<91> 4. 환의 제조

<92> 생리활성이 증진된 지치 추출물 1 g

<93> 유당 1.5 g

<94> 글리세린 1 g

<95> 자일리톨 0.5 g

<96> 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 방법에 따라 1 환 당 4 g이 되도록 제조하였다.

<97> 5. 과립의 제조

<98> 생리활성이 증진된 지치 추출물 150 mg

- <99> 대두 추출물 50 mg
- <100> 포도당 200 mg
- <101> 전분 600 mg
- <102> 상기의 성분을 혼합한 후, 30% 에탄올 100 mg을 첨가하여 섭씨 60℃에서 건조하여 과립을 형성한 후 포에 충전하였다.
- <103> <제제예 2> : 식품의 제조
- <104> 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물을 포함하는 식품들을 다음과 같이 제조하였다.
- <105> 1. 조리용 양념의 제조
- <106> 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물 20~95 중량부로 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였다.
- <107> 2. 밀가루 식품의 제조
- <108> 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물 0.5~5.0 중량부를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.
- <109> 3. 스프 및 육즙(gravies)의 제조
- <110> 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물 0.1~5.0 중량부를 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.
- <111> 4. 그라운드 비프(ground beef)의 제조
- <112> 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물 10 중량부를 그라운드 비프에 첨가하여 건강 증진용 그라운드 비프를 제조하였다.
- <113> 5. 유제품(dairy products)의 제조
- <114> 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물 5~10 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.
- <115> 6. 선식의 제조
- <116> 현미, 보리, 찹쌀, 울무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- <117> 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- <118> 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물을 진공 농축기에서 감압농축하고, 분무, 열풍건조기로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60 메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.
- <119> 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 생리활성이 증진된 지치 추출물의 건조분말을 다음의 비율로 배합하여 제조하였다.
- <120> 곡물류(현미 30 중량부, 울무 15 중량부, 보리 20 중량부),
- <121> 종실류(들깨 7 중량부, 검정콩 8 중량부, 검정깨 7 중량부),
- <122> 생리활성이 증진된 지치 추출물의 건조분말(3 중량부),
- <123> 영지(0.5 중량부),
- <124> 지황(0.5 중량부)
- <125> <제제예 3> : 음료의 제조
- <126> 1. 건강음료의 제조
- <127> 생리활성이 증진된 지치 추출물 1000 mg

<128>	구연산	1000 mg
<129>	올리고당	100 g
<130>	매실농축액	2 g
<131>	타우린	1 g
<132>	정제수를 가하여 전체	900 ml

<133> 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

<134> 상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

<135> 2. 야채주스의 제조

<136> 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물 5 g을 토마토 또는 당근 주스 1,000 ml에 가하여 건강 증진용 야채주스를 제조하였다.

<137> 3. 과일주스의 제조

<138> 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물 1 g을 사과 또는 포도 주스 1,000ml 에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조하였다.

<139> <제제예 4>: 화장품의 제조

<140> 본 발명의 생리활성이 증진된 지치 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부미백 또는 주름개선용 기능성 화장품을 제조할 수 있다. 본 발명자들은 생리활성이 증진된 지치 추출물을 함유하는 피부미백 또는 주름개선용 기능성 화장품으로 영양화장수, 크림, 에센스 등의 유화 제형의 화장품 및 유연화장수 등의 가용화 제형의 화장품을 제조하였다.

<141> <4-1> 유화 제형의 화장품 제조

<142> 표 5에 기재된 조성으로 유화제형의 화장품을 제조하였다. 제조 방법은 하기와 같다.

- <143> 1) 1 내지 9의 원료를 혼합한 혼합물을 65~70℃로 가열하였다.
- <144> 2) 10의 원료를 상기 단계 1)의 혼합물에 투입하였다.
- <145> 3) 11 내지 13의 원료의 혼합물을 65~70℃로 가열하여 완전히 용해시켰다.
- <146> 4) 상기 단계 3)을 거치면서, 상기 2)의 혼합물을 서서히 첨가하여 8,000 rpm에서 2~3분간 유화시켰다.
- <147> 5) 14의 원료를 소량의 물에 용해시킨 후 상기 단계 4)의 혼합물에 첨가하고 2분간 더 유화시켰다.
- <148> 6) 15 내지 17의 원료를 각각 평량한 후 상기 단계 5)의 혼합물에 넣고 30초간 더 유화시켰다.
- <149> 7) 상기 단계 6)의 혼합물을 유화 후 탈기과정을 거쳐 25~35℃로 냉각시킴으로서 유화제형의 화장품을 제조하였다.

**표 5**

<150> 유화 제형 1, 2, 3의 조성

조성		유화제형 1	유화제형 2	유화제형 3
1	스테아린 산	0.3	0.3	0.3
2	스테알리 알콜	0.2	0.2	0.2
3	글리세릴 모노스테아레이트	1.2	1.2	1.2
4	밀납	0.4	0.4	0.4
5	폴리옥시에틸렌솔비탄 모노라우린산 에스테르	2.2	2.2	2.2

6	파라옥시안식향산 메틸	0.1	0.1	0.1
7	파라옥시안식향산 프로필	0.05	0.05	0.05
8	세틸에틸헥사노에이트	5	5	5
9	트리글리세라이드	2	2	2
10	사이클로메티콘	3	3	3
11	증류수	~ 100	~ 100	~ 100
12	농글리세린	5	5	5
13	트리에탄올아민	0.15	0.15	0.15
14	폴리아크릴산 중합체	0.12	0.12	0.12
15	색소	0.0001	0.0001	0.0001
16	향	0.10	0.10	0.10
17	생리활성이 증진된 지치 추출물	0.0001	1	10

<151> <4-2> 가용화 제형의 화장품 제조

<152> 표 6에 기재된 조성으로 가용화 제형의 화장품을 제조하였다. 제조 방법은 하기와 같다.

<153> 1) 2 내지 6의 원료를 1의 원료(정제수)에 넣고 믹서를 이용하여 용해시켰다.

<154> 2) 8 내지 11의 원료를 7의 원료(알코올)에 넣고 완전용해시켰다.

<155> 3) 상기 단계 2)의 혼합물을 상기 단계 1)의 혼합물에 서서히 첨가하면서 가용화시켰다.

**표 6**

<156> 가용화 제형 1, 2, 3의 조성

조성		가용화 제형 1	가용화 제형 2	가용화 제형 3
1	정제수	~ 100	~ 100	~ 100
2	농글리세린	3	3	3
3	1,3-부틸렌글리콜	2	2	2
4	EDTA-2Na	0.01	0.01	0.01
5	색소	0.0001	0.0002	0.0002
6	생리활성이 증진된 지치 추출물	0.1	5	5
7	알코올(95%)	8	8	8
8	파라옥시안식향산 메틸	0.1	0.1	0.1
9	폴리옥시에틸렌 하이드로제네이디트에스테르	0.3	0.3	0.3
10	향	0.15	0.15	0.15
11	사이클로메티콘	-	-	0.2

**도면의 간단한 설명**

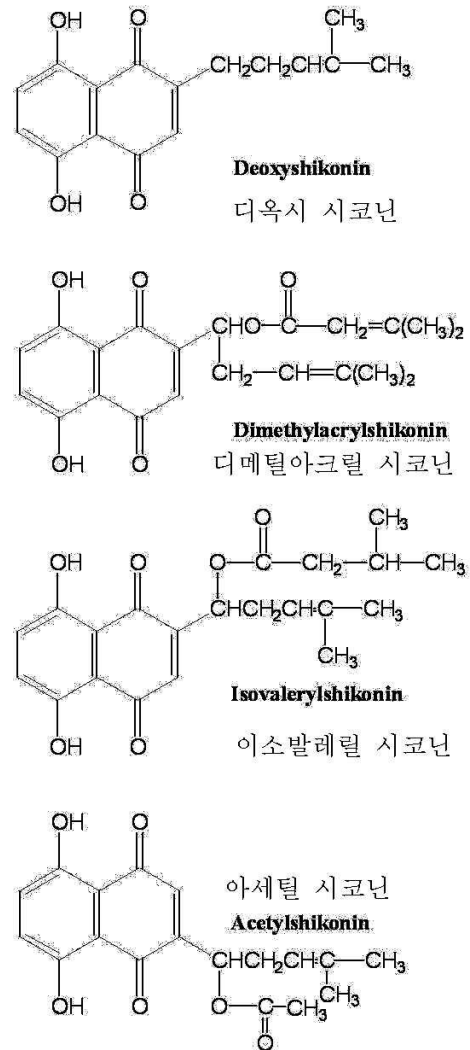
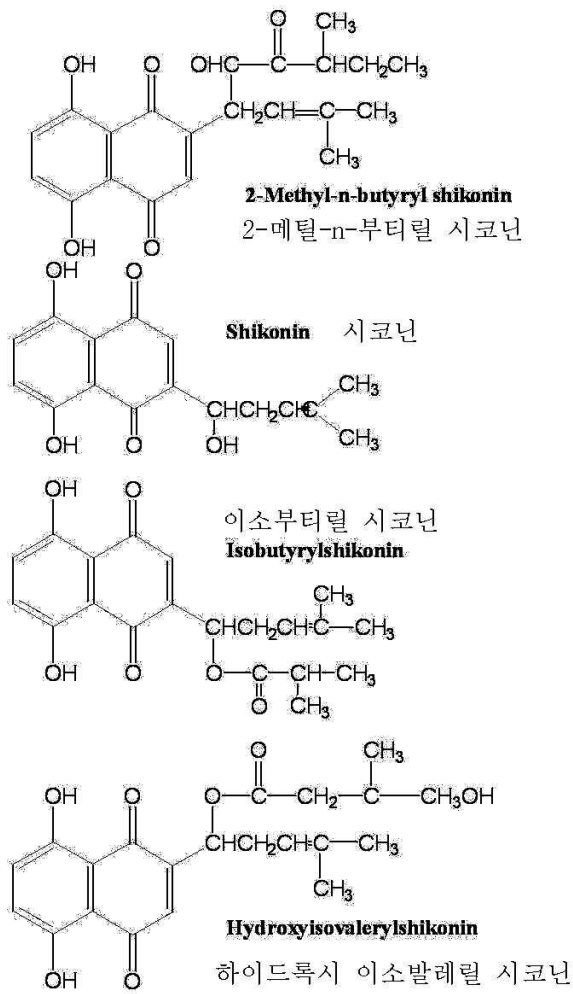
<157> 도 1은 시코닌 및 이의 유도체들의 화학구조식을 나타내는 그림이고,

<158> 도 2는 지치 뿌리를 나타내는 사진이고,

<159> 도 3은 지치 뿌리의 종단면 사진이다.

도면

도면1



도면2



도면3

