



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2011년07월06일
 (11) 등록번호 10-1046688
 (24) 등록일자 2011년06월29일

(51) Int. Cl.
A61K 36/06 (2006.01) *C12P 1/02* (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2008-0118125
 (22) 출원일자 2008년11월26일
 심사청구일자 2008년11월26일
 (65) 공개번호 10-2010-0059375
 (43) 공개일자 2010년06월04일
 (56) 선행기술조사문헌
 Xuemei Niu 외 7명, J.Nat. Prod.,
 Butyrolactone I Derivatives from *Aspergillus*
terreus Carrying an Unusual Sulfate Moiety,
 71, 689-692, 2008

(73) 특허권자
 한국생명공학연구원
 대전 유성구 어은동 52번지
 (72) 발명자
 김종평
 대전시 유성구 장대동 푸르지오 아파트 106동 40
 3호
 안중석
 대전시 유성구 어은동99 한빛아파트 117동 1102호
 김보연
 대전시 유성구 어은동 99 한빛아파트 115동 1104
 호
 (74) 대리인
 이원희

전체 청구항 수 : 총 13 항

심사관 : 박종일

(54) 아스퍼질러스 테리우스 추출물, 신규 부티로락톤 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 제조 방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 항산화용 조성물

(57) 요약

본 발명은 화학식 1로 표시되는 신규 부티로락톤 유도체 또는 아스퍼질러스 테리우스 추출물, 이들의 제조방법, 이들을 유효성분으로 함유하는 항산화용 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 화학식 1의 부티로락톤 유도체 화합물 또는 아스퍼질러스 테리우스 추출물은 종래의 라디칼 소거활성을 갖는 항산화 물질, 예를 들면 부틸레이트 하이드록시아니솔(BHA), 트롤록스(Trolox) 등과 비교하여 우수한 라디칼 소거활성을 나타낼 뿐만 아니라, 종래 항산화 물질과 달리 천연물로부터 분리하여 사용할 수 있으므로 안전성을 크게 향상시킬 수 있어, 항산화용 조성물, 건강식품 조성물, 화장품 조성물 등에 유용하게 사용할 수 있다.

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 FGM0010813

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관

연구사업명 과학기술국제사업

연구과제명 생리활성 대사산물 연구센터

기여율

주관기관 한국생명공학연구원

연구기간 2008년 10월 01일 ~ 2009년 9월 30일

특허청구의 범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

1) 에틸 4-하이드록시-2-(4-하이드록시-3-(3-메틸부트-2-에닐)벤질)-3-(4-하이드록시페닐)-5-옥소-2,5-디하이드로퓨란-2-카르복실레이트;

2) 메틸 2-((2,2-디메틸-2H-크로멘-6-일)메틸)-4-하이드록시-3-(4-하이드록시페닐)-5-옥소-2,5-디하이드로퓨란-2-카르복실레이트; 및

3) 에틸
4-하이드록시-2-(4-하이드록시벤질)-3-(4-하이드록시페닐)-5-옥소-2,5-디하이드로퓨란-2-카르복실레이트;

로 이루어지는 군으로부터 선택되는 부티로락톤 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 7

아스퍼질러스 테리우스 균사체 배양물을 물, C₁-C₄의 저급알콜, 이들의 혼합용매, 또는 유기용매로 추출하는 단계(단계 1);

상기 단계 1의 추출물을 클로로포름과 메탄올 혼합용매를 용출용매로 하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 수행하여 제1분획물을 얻는 단계(단계 2);

상기 단계 2의 제1분획물을 메탄올을 용출용매로 하여 세파덱스(Sephadex LH-20) 컬럼크로마토그래피를 수행하여 제2분획물을 얻는 단계(단계 3); 및

상기 단계 3의 제2분획물을 아세트나이트릴을 용출용매로 하여 역상 크로마토그래피를 수행하는 단계(단계 4);
를 포함하는 제6항의 부티로락톤 유도체의 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 단계 1의 알콜은 메탄올, 에탄올 또는 부탄올이고, 상기 유기 용매는 클로로포름 또는 에틸아세테이트인 것을 특징으로 하는 부티로락톤 유도체의 제조방법.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 단계 2의 클로로포름과 메탄올 용출용매는 부피비로 25:1에서 1:1의 범위에서 농도구배를 갖는 것을 특징으로 하는 부티로락톤 유도체의 제조방법.

청구항 10

제7항에 있어서, 상기 단계 3에서 사용되는 단계 2에서 얻은 제1분획물은 자유라디칼 소거 활성을 나타내는 분획물만을 선별하여 사용하는 것을 특징으로 하는 부티로락톤 유도체의 제조방법.

청구항 11

제7항에 있어서, 상기 단계 3의 메탄올 용매의 농도는 100%인 것을 특징으로 하는 부티로락톤 유도체의 제조방법.

청구항 12

제7항에 있어서, 상기 단계 4의 아세트나이트릴 용매의 농도는 40%인 것을 특징으로 하는 부티로락톤 유도체의 제조방법.

청구항 13

아스피질러스 테리우스 추출물을 유효성분으로 함유하는 라디칼 소거 활성을 갖는 항산화용 조성물.

청구항 14

제6항의 부티로락톤 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 라디칼 소거 활성을 갖는 항산화용 조성물.

청구항 15

아스피질러스 테리우스 추출물을 유효성분으로 함유하는 라디칼 소거 활성을 갖는 건강식품 조성물.

청구항 16

제6항의 부티로락톤 유도체 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 라디칼 소거 활성을 갖는 건강식품 조성물.

청구항 17

아스피질러스 테리우스 추출물을 유효성분으로 함유하는 라디칼 소거 활성을 갖는 화장품 조성물.

청구항 18

제6항의 부티로락톤 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 라디칼 소거 활성을 갖는 화장품 조성물.

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 우수한 라디칼 소거활성을 갖는 아스피질러스 테리우스 추출물, 신규 부티로락톤 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 항산화용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 일반적으로 생체 내에서 생성되는 활성산소와 자유라디칼 등의 산화성 물질들은 세포 구성물질에 대하여 비가

역적, 비선택적인 산화적 손상을 가하여 노화를 비롯한 각종 질환을 야기한다. 즉, 각종 산화반응, 화학약품, 식품, 인체질환, 방사선 등의 물리적, 화학적, 환경적 요인을 비롯하여 생체 내 생화학적 반응에 의해서도 슈퍼 옥사이드(superoxide, O₂), 하이드록실라디칼(hydroxyl radical, ·OH), 과산화수소(H₂O₂) 등과 같은 반응성이 큰 활성산소와 자유 라디칼(free radical) 등이 생성되면, 이들에 의해 불포화 지방산이 다량 함유된 세포막의 지질이 산화되어 세포막에 지질 과산화물이 생성되게 된다. 세포막에 지질과산화물이 축적되면 세포막의 유동성과 기능이 저하되어 세포의 전체적인 기능이 억제되고 세포의 구조도 변화하는 등 장애가 발생하면서 노화를 비롯한 각종 질환이 유발된다. 특히 피부에서는 자외선 등에 의하여 생성된 활성산소에 의한 피부의 노화가 촉진되는 것으로 알려져 있다.

[0003] 암을 비롯하여 간장질환, 뇌혈관 장애로 인한 뇌졸중, 심근경색, 당뇨병성 혈관장애, 고지혈증, 급성염증, 류마티스 질환 등 각종 질환의 발병에 활성산소와 자유 라디칼이 세포 구성성분인 핵산, 당, 단백질 등을 변형 또는 파괴함으로써 직간접적으로 깊이 관련되어 있음이 알려져 있다. 따라서 강력하면서도 독성이 없는 항산화물질은 산화스트레스와 관련된 각종 질병에 대한 예방 또는 치료제를 비롯하여 각종 노화방지용 화장품첨가제, 식품첨가제 등으로 매우 유용하게 활용되고 있다.

[0004] 종래, 부틸 하이드록시 톨루엔(butylated hydroxy toluene:BHT) 및 부틸 하이드록시 아니솔(butylated hydroxy anisol:BHA) 등과 같은 합성 항산화제가 식품의 첨가제 등으로 주로 사용되어 왔으나, 이들 합성 항산화제는 최근 안전성 등에 문제가 제기되고 있어 사용에 한계를 가지고 있는 단점이 있다. 따라서 천연물로부터 새로운 항산화 물질을 창출하여 독성이나 부작용이 없는 안전한 항산화제를 개발하는 것이 필요하다.

[0005] 미생물 및 천연물로부터 신규 활성산소 소거작용을 나타내는 생리활성물질의 탐색연구는 비교적 최근에 이루어졌다. 즉 유칼리나무 추출물로부터 화장품 및 의약품으로 이용 가능한 신규 후라보노이드 배당체(일본특허 특개평6-65278, 1994.3.8), 활성산소 소거활성을 나타내는 항산화제(일본등록특허 제05186768호, 1993.7.27), 식품 및 화장품에 사용할 수 있는 항산화제(일본등록특허 제05186769호, 1993.7.27) 등이 알려져 있으나, 이들보다 더 강력하면서도 독성이 없는 활성산소 소거활성을 갖는 새로운 물질이 요구되고 있으며 이러한 물질이 발견된다면 각종 질병의 치료제 개발이나 노화방지용 화장품첨가제 및 식품첨가제 등으로 매우 유용하게 활용될 것이다.

[0006] 이에, 본 발명자들은 아스퍼질러스 테리우스 추출물 및 신규 부티로락톤 유도체 화합물이 종래의 라디칼 소거활성을 갖는 항산화 물질, 예를 들면 부틸레이트 하이드록시아니솔(BHA), 트롤록스(Trolox) 등과 비교하여 우수한 라디칼 소거활성을 나타낼 뿐만 아니라, 종래 항산화 물질과 달리 천연물로부터 분리하여 사용할 수 있으므로 안전성을 크게 향상시킬 수 있음 알아내고, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 아스퍼질러스 테리우스(*Aspergillus Terreus*) 균사체 배양물로부터 추출된 아스퍼질러스 테리우스(*Aspergillus Terreus*) 추출물 및 이의 제조방법을 제공하는데 있다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 신규 부티로락톤 유도체 화합물 및 이의 제조방법을 제공하는데 있다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 아스퍼질러스 테리우스 추출물 또는 화학식 1로 표시되는 신규 부티로락톤 유도체 화합물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 조성물, 건강식품 조성물 및 화장품 조성물을 제공하는데 있다.

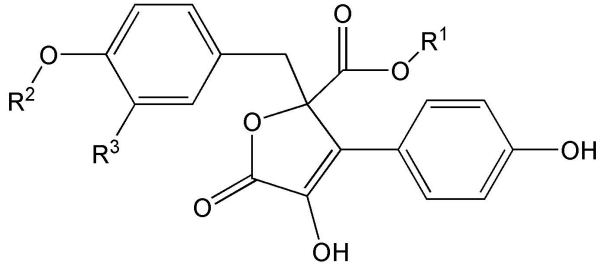
과제 해결수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위하여,

[0011] 본 발명은 아스퍼질러스 테리우스 추출물과, 이를 아스퍼질러스 테리우스 균사체 배양물을 물, C₁-C₄의 저급알콜, 이들의 혼합용매, 또는 유기용매로 추출하여 얻는 방법을 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 신규 부티로락톤 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염과, 이를 아스퍼질러스 테리우스 균사체 배양물 추출물로부터 분리/정제하여 얻는 방법을 제공한다:

[0013] [화학식 1]



[0014] (상기 식에서, R¹, R² 및 R³는 명세서 내에서 정의한 바와 같다).

[0016] 나아가, 본 발명은 우수한 라디칼 소거활성을 갖는 상기 신규 부티로락톤 유도체 화합물 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 함유하는 향산화용 조성물, 건강식품 조성물 및 화장품 조성물을 제공한다.

효과

[0017] 본 발명에 따른 화학식 1의 부티로락톤 유도체 화합물 또는 아스퍼질러스 테리우스 추출물은 종래의 라디칼 소거활성을 갖는 항산화 물질, 예를 들면 부틸레이트 하이드록시아니솔(BHA), 트롤록스(Trolox) 등과 비교하여 우수한 라디칼 소거활성을 나타낼 뿐만 아니라, 종래 항산화 물질과 달리 천연물로부터 분리하여 사용할 수 있으므로 안전성을 크게 향상시킬 수 있어, 향산화용 조성물, 건강식품 조성물, 화장품 조성물 등에 유용하게 사용할 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

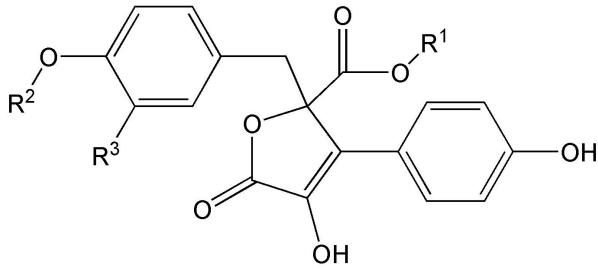
[0018] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0019] 본 발명은 아스퍼질러스 테리우스(*Aspergillus Terreus*) 균사체 배양물로부터 추출된 아스퍼질러스 테리우스(*Aspergillus Terreus*) 추출물을 제공한다.

[0020] 상기 추출물은 아스퍼질러스 테리우스 균사체 배양물을 물, C₁-C₄의 저급알콜, 이들의 혼합용매, 또는 유기용매로 추출하여 얻을 수 있다. 바람직하게는, 상기 알콜은 메탄올, 에탄올 또는 부탄올을 사용할 수 있고, 상기 유기 용매는 클로로포름 또는 에틸아세테이트를 사용할 수 있다.

[0021] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 부티로락톤 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

화학식 1



[0022]

[0023]

본 발명에 따른 상기 화학식 1에서,

[0024]

R¹은 C₁-C₄의 저급알킬이고,

[0025]

R² 및 R³는 산소 원자를 포함하여 서로 고리를 이루되, 1 이상의 C₁-C₄의 저급알킬로 치환된 사이클로 헥센이거나; 서로 독립적으로, R²는 수소이고, R³는 수소 또는 3-메틸부텐-2-에닐이다.

[0026]

바람직하게는,

[0027]

상기 R¹은 메틸 또는 에틸이고,

[0028]

R² 및 R³는 산소 원자를 포함하여 서로 고리를 이루되, 1 이상의 메틸로 치환된 사이클로 헥센이거나; 서로 독립적으로, R²는 수소이고, R³는 수소 또는 3-메틸부텐-2-에닐이다.

[0029]

본 발명에 따른 상기 화학식 1의 부티로락톤 유도체의 구체적인 예는 다음과 같다:

[0030]

1) 에틸 4-하이드록시-2-(4-하이드록시-3-(3-메틸부텐-2-에닐)벤질)-3-(4-하이드록시페닐)-5-옥소-2,5-디하이드로퓨란-2-카르복실레이트(부티로스캐빈 A);

[0031]

2) 메틸 2-((2,2-디메틸-2H-크로멘-6-일)메틸)-4-하이드록시-3-(4-하이드록시페닐)-5-옥소-2,5-디하이드로퓨란-2-카르복실레이트(부티로스캐빈 B); 및

[0032]

3) 에틸 4-하이드록시-2(4-하이드록시벤질)-3-(4-하이드록시페닐)-5-옥소-2,5-디하이드로퓨란-2-카르복실레이트(부티로스캐빈 C).

[0033]

또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 부티로락톤 유도체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 이의 이성질체 또는 이로부터 제조될 수 있는 가능한 용매화물 또는 수화물을 모두 포함한다.

[0034]

본 발명의 화학식 1의 부티로락톤 유도체는 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설페이트, 바이설페이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로젠 포스페이트, 디하이드로젠 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부텐-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β-하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트,

프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.

[0035] 본 발명에 따른 상기 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 화학식 1의 유도체를 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수산화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다. 또한 이 혼합물에서 용매나 과량의 산을 증발시킨 후 건조시키거나 또는 석출된 염을 흡입 여과시켜 제조할 수도 있다.

[0036] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속 염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 은 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

[0037] 나아가, 본 발명은:

[0038] 아스피질러스 테리우스 균사체 배양물을 물, C₁-C₄의 저급알콜, 이들의 혼합용매, 또는 유기용매로 추출하는 단계(단계 1);

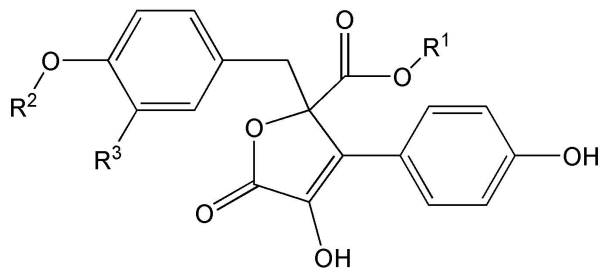
[0039] 상기 단계 1의 추출물을 클로로포름과 메탄올 혼합용매를 용출용매로 하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 수행하여 제1분획물을 얻는 단계(단계 2);

[0040] 상기 단계 2의 제1분획물을 메탄올을 용출용매로 하여 세파덱스(Sephadex LH-20) 컬럼크로마토그래피를 수행하여 제2분획물을 얻는 단계(단계 3); 및

[0041] 상기 단계 3의 제2분획물을 아세토나이트릴을 용출용매로 하여 역상 크로마토그래피를 수행하는 단계(단계 4);

[0042] 를 포함하는 하기 화학식 1로 표시되는 부티로락톤 유도체의 제조방법을 제공한다:

[0043] [화학식 1]



[0044]

[0045] (상기 화학식 1에서, R¹, R² 및 R³는 제 1항에서 정의한 바와 같다).

[0046] 본 발명에 따른 상기 화학식 1의 부티로락톤 유도체는 아스피질러스 테리우스 균사체배양물로부터 추출, 분리, 정제 과정을 통해 제조될 수 있으나, 유기합성분야에서 사용되는 통상의 방법에 의해 합성되는 것을 배제하는 것은 아니다.

[0047] 이하, 상기 제조방법을 단계별로 구체적으로 설명한다.

[0048] 먼저, 단계 1은 아스피질러스 테리우스 추출물을 추출하는 단계이다.

[0049] 상기 추출물은 아스피질러스 테리우스 균사체 배양물을 물, C₁-C₄의 저급알콜, 이들의 혼합용매, 또는 균사체 추

출물 분야에서 통상적으로 사용되는 유기용매를 사용하여 추출될 수 있다.

- [0050] 추출용매로서, 상기 알콜은 메탄올, 에탄올, 부탄올 등을, 상기 유기 용매는 클로로포름, 에틸아세테이트 등을 선택하여 사용하는 것이 바람직하다.
- [0051] 다음으로, 상기 단계 2는 단계 1로부터 얻은 아스퍼질러스 테리우스 추출물의 분획물(제1분획물)을 얻는 단계이다.
- [0052] 상기 제1분획물을 분획하는 데 사용되는 용출용매로는 클로로포름과 메탄올 혼합용매를 사용하는 것이 바람직하다. 이때, 상기 용출용매는 부피비로 25:1에서 1:1의 범위에서 농도구배를 갖도록 조절되는 것이 더욱 바람직하다.
- [0053] 다음으로, 상기 단계 3은 단계 2로부터 얻은 제1분획물을 추가적으로 분획하여 제2분획물을 얻는 단계이다.
- [0054] 제2분획물을 얻기 위해 사용되는 제1분획물은 각 분획 중 자유라디칼 소거 활성을 나타내는 분획만을 선별하여 모은 것을 사용하는 것이 바람직하다. 용출용매로는 메탄올을 사용하는 것이 바람직하며, 이때 메탄올의 농도는 100%인 것을 사용하는 것이 더욱 바람직하다. 컬럼크로마토그래피를 수행하기 위해 사용되는 컬럼으로는 세파텍스 LH-20이 바람직하다.
- [0055] 다음으로, 상기 단계 4는 단계 3에서 얻은 제2분획물로부터 상기 화학식 1로 표시되는 부티로락톤 유도체를 얻는 단계이다.
- [0056] 이를 위해, 단계 4에서의 용출용매로는 아세트나이트릴을 사용하는 것이 바람직하고, 이때 용매의 농도는 40%인 것이 더욱 바람직하다. 컬럼크로마토그래피로는 역상 고성능액체컬럼크로마토그래피가 바람직하다.
- [0057] 또한, 본 발명은 상기 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 조성물을 제공한다.
- [0058] 나아가, 상기 화학식 1로 표시되는 부티로락톤 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항산화용 조성물을 제공한다.
- [0059] 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 부티로락톤 유도체의 라디칼 소거능을 알아보는 실험에서, 부티로스캐빈 A, 부티로스캐빈 B 및 부티로스캐빈 C는 (2,2-아지노-비스(3-에틸벤조씨알로진셀폰산) 라디칼(이하, "ABTS⁺")에 대하여 각각 4.71 ± 0.51 , 8.42 ± 1.02 , 6.23 ± 2.11 μM 의 EC₅₀ 값을 나타내었다(실험예 1 참조). 이는 비교예로 사용된 부티레이트하이드록시아니솔(이하, "BHA")과 대비하여 약 1.2~2.1배, 트롤록스(Trolox)와 대비하여 약 1.7~3.0배의 우수한 라디칼 소거능을 나타냄을 알 수 있다. 특히, 부티로스캐빈 A는 이들 중 가장 우수한 라디칼 소거능을 나타냄을 알 수 있다.
- [0060] 또한, 2,2-디페닐-1-피크릴하이드라질(이하, "DPPH") 라디칼에 대한 소거능을 측정한 실험을 참조하면, 부티로스캐빈 A, 부티로스캐빈 B 및 부티로스캐빈 C는 DPPH 라디칼에 대하여 각각 8.15 ± 1.11 , 14.22 ± 1.67 , 11.26 ± 1.49 μM 의 EC₅₀ 값을 나타내었다(실험예 2 참조). 이는 비교예 1로 사용된 BHA와 대비하여 약 2.1~3.6배, 비교예 2로 사용된 트롤록스와 대비하여 약 1.5~2.7배의 우수한 라디칼 소거능을 나타냄을 알 수 있다. 특히, 부티로스캐빈 A는 ABTS⁺에 대한 라디칼 소거능을 알아본 실험에 1에서와 마찬가지로, DPPH에 대해서도 가장 우수한 라디칼 소거능을 나타냄을 알 수 있다.
- [0061] 따라서, 본 발명에 따른 화학식 1의 부티로락톤 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하

는 아스퍼질러스 테리우스 추출물은 우수한 항산화 효과를 나타내므로, 항산화용 조성물로서 유용하게 사용할 수 있다.

- [0062] 본 발명의 상기 화학식 1의 유도체 또는 약학적으로 허용되는 이의 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 조성물은 하기의 다양한 경구 또는 비경구 투여 형태로 제형화할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0063] 경구 투여용 제형으로는 예를 들면 정제, 환제, 경/연질 캡셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제, 엘릭시르제(elixirs) 등이 있는데, 이들 제형은 상기 유효성분 이외에 통상적으로 사용되는 충진제, 증량제, 습윤제, 붕해제, 활택제, 결합제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 1종 이상 사용할 수 있다. 붕해제로는 한천, 전분, 알긴산 또는 이의 나트륨염, 무수인산일수소 칼슘염 등이 사용될 수 있고, 활택제로는 실리카, 탈크, 스테아르산 또는 이의 마그네슘염 또는 칼슘염, 폴리에틸렌 글리콜 등이 사용될 수 있으며, 결합제로는 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로오스, 나트륨 카복시메틸셀룰로오스, 폴리비닐피롤리딘, 저치환도 하이드록시프로필셀룰로오스 등이 사용될 수 있다. 이외에도 락토즈, 텍스트로오스, 수크로오스, 만니톨, 소르비톨, 셀룰로오스, 글리신 등을 희석제로 사용할 수 있으며, 경우에 따라서는 일반적으로 알려진 비등 혼합물, 흡수제, 착색제, 향미제, 감미제 등을 함께 사용할 수 있다.
- [0064] 또한, 상기 화학식 1의 유도체 또는 약학적으로 허용되는 이의 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 조성물은 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여는 피하주사제, 정맥주사제, 근육 내 주사제 또는 흉부 내 주사제를 주입하는 방법에 의한다. 이때, 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위하여 상기 화학식 1의 유도체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 안정제 또는 완충제와 함께 물에서 혼합하여 용액 또는 현탁액으로 제조하고, 이를 앰플 또는 바이알의 단위 투여형으로 제조할 수 있다.
- [0065] 상기 조성물은 멸균되거나 또는 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염, 완충제 등의 보조제, 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 함유할 수 있으며, 통상적인 방법인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 따라 제제화할 수 있다.
- [0066] 필요한 경우, 본 발명에 따른 화학식 1의 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 조성물은 기타의 약제, 예를 들면, 다른 당뇨 치료제와 조합하여 투여할 수도 있다.
- [0067] 본 발명의 화학식 1의 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 조성물을 단위 용량 형태로 제형화하는 경우, 유효성분으로서 화학식 1의 유도체 또는 상기 추출물은 약 0.1 ~ 1,500 mg의 단위 용량으로 함유되는 것이 바람직하다. 투여량은 환자의 체중, 나이 및 질병의 특수한 성질과 심각성과 같은 요인에 따라 의사의 처방에 따른다. 그러나, 성인 치료에 필요한 투여량은 투여의 빈도와 강도에 따라 하루에 약 1 ~ 500 mg 범위가 보통이다. 성인에게 근육 내 또는 정맥 내 투여 시 일 회 투여량으로 분리하여 하루에 보통 약 5 ~ 300 mg의 전체 투여량이면 충분할 것이나, 일부 환자의 경우 더 높은 일일 투여량이 바람직할 수 있다.
- [0068] 또한, 본 발명은 우수한 항산화 효과를 갖는 상기 화학식 1의 부티로락톤 유도체 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 유효성분으로 함유하는 건강식품 조성물을 제공한다.
- [0069] 본 발명의 화학식 1의 유도체 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 함유하는 건강식품으로는 이를 유효성분으로 하는 차, 젤리, 즙, 액기스, 음료 등의 항산화 효과를 목적으로 하는 민간요법제를 들 수 있다. 이와 같이 다양한 형태로 가공된 본 발명의 건강식품은 인체에 부작용이 없으면서 해독 작용이 우수할 뿐 아니라 복용이 용이하고 장기간 보관이 가능하므로 항산화 효과를 목적으로 하는 건강식품에 유용하게 사용될 수 있다.

- [0070] 본 발명의 화학식 1의 유도체 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물은 항산화 효과를 목적으로 건강식품에 첨가될 수 있다. 본 발명의 화학식 1의 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 유도체 화합물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에는 본 발명의 화학식 1의 유도체가 원료 100 중량부에 대하여 80 중량부 이하, 바람직하게는 50 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 없으므로 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0071] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 본 발명의 화학식 1의 유도체 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함하는 낙농제품, 각종 수프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강 식품을 모두 포함한다.
- [0072] 본 발명의 건강 음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스, 슈크로오스와 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 화학식 1의 유도체 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물 100 ml당 일반적으로 0.01 내지 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 내지 0.03 g이다.
- [0073] 상기 외의 본 발명의 화학식 1의 유도체 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 화학식 1의 유도체 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물은 천연 과일 주스, 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하지 않지만 본 발명의 화학식 1의 유도체 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물 100 중량부 당 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0074] 또한, 본 발명은 우수한 항산화 효과를 갖는 상기 화학식 1의 부티로락톤 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물을 제공한다.
- [0075] 본 발명의 화학식 1의 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물로 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. 또한, 본 발명의 화학식 1의 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 함유하는 화장품 이외에도 피부 과학적으로 허용 가능한 매질 또는 기체를 함유함으로써 피부과학 분야에서 통상적으로 사용되는 국소 적용 또는 전신 적용할 수 있는 보조제 형태로 제조될 수 있다.
- [0076] 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 스틱(conceal stick)의 형태로 제공될 수 있다. 또한, 포말(foam)의 형태 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로도 제조될 수 있다.
- [0077] 또한, 본 발명의 화장품 조성물은 화학식 1의 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이를 포함하는

아스퍼질러스 테리우스 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, 금속이온 봉쇄제 및 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 화장품에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 화장품학 또는 피부과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 그리고, 상기의 성분들은 피부과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.

[0078] 본 발명의 화장품 조성물의 구체적인 제형으로는 스킨로션, 스킨 소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처 크림, 핸드크림, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 샴푸, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션, 바디클렌저, 유액, 프레스파우더, 루스파우더, 아이섀도 등의 제형을 포함한다.

[0079] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 더욱 상세히 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[0080] <실시예 1> 아스퍼질러스 테리우스 추출물의 제조

[0081] 확보된 미생물 균주를 배양하여 준비한 배양액 및 균사체의 추출물의 활성산소 소거능을 조사하여 활성 균주를 선발하고, 선발된 균주 중에서 유기용매로 추출되는 활성물질을 갖는 균주 중 활성이 우수한 곰팡이 *Aspergillus Terreus* 균주를 선발하였다.

[0082] 상기 아스퍼질러스 테리우스 균주를 모아 효모-맥아 추출(yeast-malt extract, YM) 배지 및 삼각 플라스크 또는 발효기에 상기 YM 배지를 채우고 여기에 접종하여 7일간 배양하였다. 배양액을 에틸아세테이트로 분액 추출하여 유기용매 추출물을 제조하였다.

[0083] <실시예 2> 본 발명의 화학식 1의 유도체인 부티로스캐빈 A, 부티로스캐빈 B 및 부티로스캐빈 C의 제조

[0084] 아스퍼질러스 테리우스의 균사체 배양물을 에틸아세테이트와 물로 분액추출하였다. 이렇게 얻어진 에틸아세테이트 추출물을 감압하에서 농축하여 용매를 제거한 후 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 수행하였다. 이때, 용출용매 조건은 클로로포름(CHCl₃)과 메탄올(MeOH)의 혼합용매의 농도구배를 부피비로 25:1에서 시작하여 메탄올의 비율을 높여 극성을 증가시켜 혼합비율이 1:1이 될 때까지 용출하여 분획하였다(제1분획물). 제1분획물의 각 분획 중 자유라디칼 소거 활성을 나타내는 분획만을 모아 메탄올 100% 용매로 포화시킨 세파덱스 LH-20(Sephadex LH-20) 컬럼크로마토그래피를 수행하여 활성분획만을 모았다(제2분획물). 제2분획물의 각 활성분획을 40% 아세토나이트릴(acetonitrile)을 용매로 하여 역상(ODS) 고성능액체크로마토그래피(HPLC)를 실시하여 활성산소 소거능을 갖는 신규 항산화물질 부티로스캐빈 A, 부티로스캐빈 B 및 부티로스캐빈 C를 분리하여 얻었다.

[0085] 부티로스캐빈 A

[0086] 성상: 노란색 분말

[0087] 분자량: 438

[0088] 분자식: C₂₅H₂₆O₇

[0089] 질량분석: ESIMS m/z 437.7 [M-H]⁻, m/z 461.6 [M+Na]⁺ (계산치: C₂₅H₂₆O₇, 438.1679).

[0090] 자외선 흡수 스펙트럼 UV (Acetonitrile) λ_{max} (log ε): 203.7(4.54), 305.8 (4.18)nm

[0091] 적외선 흡수 스펙트럼 IR (KBr) ν_{max}: 3417, 1740 cm⁻¹

[0092] 수소핵자기 공명 스펙트럼 δ ppm (CD₃OD-d₆, 500 MHz): δ 1.21(3H, t, J=7.0 Hz, H-8), 1.58(3H, s, H-4'), 1.67(3H, s, H-5'), 3.07(2H, dd, J=3.5 Hz, H-1'), 3.43(2H, dd, J=7.5 Hz, H-5), 4.25(2H, q, J=2.0 Hz, H-7), 5.07(1H, m, J=7.5 Hz, H-2'), 6.42(1H, d, J=2.0 Hz, H-2"), 6.50(1H, d, J=8.5 Hz, H-5"), 6.54(1H,

dd, J=6.5 Hz, H-6"), 6.87(1H, d, J=8.5 Hz, H-3', 5'), 7.60(1H, d, J=9.0 Hz, H-2', 6')

- [0093] 탄소핵자기 공명 스펙트럼 δ ppm ($\text{CD}_3\text{OD}-d_6$, 500 MHz): δ 14.4(C-8), 17.9(C-5"), 26.1(C-4"), 28.8(C-1"), 39.8(C-5), 63.8(C-7), 87.1(C-4), 115.2(C-5"), 116.7(C-3', 5'), 123.4(C-1'), 123.7(C-2"), 125.3(C-1"), 128.6(C-3"), 128.8(C-3), 129.9(C-6"), 130.6(C-2', 6'), 132.5(C-2"), 133.1(C-3"), 140.1(C-2), 155.2(C-4"), 159.4(C-4'), 170.7(C-1), 171.2(C-6)
- [0094] 부티로스캐빈 B
- [0095] 성상: 노란색 분말
- [0096] 분자량: 422
- [0097] 분자식: $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{O}_7$
- [0098] 질량분석: ESIMS m/z 421.6 $[\text{M}-\text{H}]^-$, m/z 445.6 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (계산치: $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_7$, 422.1366).
- [0099] 자외선 흡수 스펙트럼 UV (Acetonitrile) λ_{max} ($\log \epsilon$): 203.6(4.39), 222.7(4.47), 225.0(4.26), 304.8(4.16)nm
- [0100] 적외선 흡수 스펙트럼 IR (KBr) ν_{max} : 3421, 1742 cm^{-1}
- [0101] 수소핵자기 공명 스펙트럼 δ ppm ($\text{CD}_3\text{OD}-d_6$, 500MHz): δ 1.32(3H, s, H-4"), 1.33(3H, s, H-5"), 3.44(2H, s, H-5), 3.75(2H, s, 7-OCH₃), 5.57(1H, d, J=10.0 Hz, H-2"), 6.11(1H, d, J=10.0 Hz, H-1"), 6.43(1H, d, J=8.0 Hz, H-5"), 6.46(1H, s, H-2"), 6.56(1H, d, J=8.0 Hz, H-6"), 6.84(1H, d, J=7.5 Hz, H-3', 5'), 7.62(1H, d, J=7.5 Hz, H-2', 6')
- [0102] 탄소핵자기 공명 스펙트럼 δ ppm ($\text{CD}_3\text{OD}-d_6$, 500MHz): δ 28.3(C-4", 5"), 39.8(C-5), 53.8(C-7), 77.3(C-3'), 86.7(C-4), 116.5(C-5"), 116.6(C-3', 5'), 122.0(C-3"), 123.4(C-1"), 124.6(C-1'), 127.4(C-1"), 129.7(C-2", 2', 6'), 129.9(C-3), 131.8(C-2"), 132.3(C-6"), 140.1(C-2'), 153.3(C-4"), 158.5(C-4'), 170.6(C-1), 172.7(C-6)
- [0103] 부티로스캐빈 C
- [0104] 성상: 노란색 분말
- [0105] 분자량: 370
- [0106] 분자식: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_7$
- [0107] 질량분석: ESIMS m/z 369.5 $[\text{M}-\text{H}]^-$, m/z 393.6 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (계산치: $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_7$, 370.1053).
- [0108] 자외선 흡수 스펙트럼 UV (Acetonitrile) λ_{max} ($\log \epsilon$): 202.7(4.05), 221.3(3.93), 306.3(3.96)nm
- [0109] 적외선 흡수 스펙트럼 IR (KBr) ν_{max} : 3366, 1736 cm^{-1}
- [0110] 수소핵자기 공명 스펙트럼 δ ppm ($\text{CD}_3\text{OD}-d_6$, 500 MHz): δ 1.21(3H, t, J=7.0 Hz, H-8), 3.46(2H, s, H-5), 4.25(2H, q, J=7.2 Hz, H-7), 6.51(1H, d, J=8.8 Hz, H-3", 5"), 6.64(1H, d, J=8.8 Hz, H-2", 6"), 6.87(1H, d, J=8.8 Hz, H-3', 5'), 7.60(1H, d, J=8.8 Hz, H-2', 6')
- [0111] 탄소핵자기 공명 스펙트럼 δ ppm ($\text{CD}_3\text{OD}-d_6$, 500 MHz): δ 13.0(C-8), 38.3(C-5), 62.5(C-7), 85.7(C-4), 114.4(C-3", 5"), 115.4(C-3', 5'), 121.9(C-1'), 124.1(C-1"), 128.0(C-3), 129.2(C-2', 6'), 131.3(C-2", 6"), 138.6(C-2), 156.3(C-4"), 158.2(C-4'), 169.6(C-1), 169.8(C-6)

[0112] <실험예 1> 본 발명에 따른 부티로락톤 화합물의 라디칼 소거능 측정 1

[0113] 7mM ABTS 수용액을 2.45 mM 포타슘퍼셀레이트와 혼합하여 ABTS⁺ 라디칼을 생성시킨 후, 이를 734 nm에서 약 0.7의 흡광도를 갖도록 희석하여 ABTS⁺ 라디칼 수용액을 만들었다. ABTS⁺ 라디칼 수용액 180 μl와 메탄올에 상기 부티로스캐빈 A, B 및 C와 대조물질 시료 20 μl를 혼합한 후 7분간 방치한 다음, 734 nm에서의 광흡수도와 시료를 넣지 않고 메탄올만을 넣은 대조군의 광흡수도를 측정하여 하기 수학적 식 1에 따라 ABTS⁺ 라디칼 소거능을 산출하고 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다. 양성 대조군으로는 부틸레이트하이드록시아니솔(BHA, 비교예 1)와 트롤록스(Trolox, 비교예 2)를 사용하였다.

[0114] <수학적 식 1>

[0115] 라디칼소거율(%) = (A-B)/A × 100

[0116] A: 시료대신 메탄올을 첨가하여 ABTS⁺와 반응시킨 대조군의 흡광도

[0117] B: 시료와 ABTS⁺를 반응시킨 실험군의 흡광도

표 1

[0118]

시료	EC ₅₀ (μ M ± SD)
부티로스캐빈 A	4.71 ± 0.51
부티로스캐빈 B	8.42 ± 1.02
부티로스캐빈 C	6.23 ± 2.11
비교예 1	10.06 ± 1.32
비교예 2	14.15 ± 2.03

[0119] 표 1을 참조하면, ABTS⁺ 라디칼 50%를 소거하는 농도(EC₅₀)를 지표로 나타낸 본 발명에 따른 화학식 1의 유도체인 부티로스캐빈 A, 부티로스캐빈 B 및 부티로스캐빈 C는 ABTS⁺ 라디칼에 대하여 각각 4.71 ± 0.51, 8.42 ± 1.02, 6.23 ± 2.11 μM의 EC₅₀ 값을 나타내었다. 이는 비교예 1로 사용된 BHA와 대비하여 약 1.2~2.1배, 비교예 2로 사용된 트롤록스(Trolox)와 대비하여 약 1.7~3.0배의 우수한 라디칼 소거능을 나타냄을 알 수 있다. 특히, 부티로스캐빈 A는 이들 중 가장 우수한 라디칼 소거능을 나타냄을 알 수 있다.

[0120] <실험예 2> 본 발명에 따른 부티로락톤 화합물의 라디칼 소거능 측정 2

[0121] 에탄올에 녹인 150 μM의 1,1-디페닐-2-피크릴하이드라질(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH) 용액 80 μl와 메탄올에 녹인 본 발명의 화학식 1의 유도체 부티로스캐빈 A, B 및 C와 대조물질 20 μl를 혼합한 후 20분간 실온에서 반응시킨 다음, 517 nm에서의 광흡수도와 시료를 넣지 않고 메탄올만을 넣은 대조군의 광흡수도를 측정하여 하기 수학적 식 2에 따라 DPPH 라디칼 소거능을 산출하고 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다. 양성 대조군으로는 BHA(비교예 1)와 트롤록스(비교예 2)를 사용하였다.

[0122] <수학적 식 2>

[0123] 라디칼 소거율(%) = (A-B)/A × 100

[0124] A: 시료 대신 메탄올을 DPPH와 반응시킨 대조군의 흡광도

[0125] B: 시료와 DPPH를 반응시킨 후의 실험군의 흡광도

표 2

[0126]

시료	EC ₅₀ (μ M ± SD)
부티로스캐빈 A	8.15 ± 1.11
부티로스캐빈 B	14.22 ± 1.67
부티로스캐빈 C	11.26 ± 1.49

비교예 1	29.43±1.83
비교예 2	21.88±2.27

[0127] 표 2를 참조하면, DPPH 라디칼 50%를 소거하는 농도(EC₅₀)를 지표로 나타낸 본 발명에 따른 화학식 1의 유도체인 부티로스캐빈 A, 부티로스캐빈 B 및 부티로스캐빈 C는 DPPH 라디칼에 대하여 각각 8.15±1.11, 14.22±1.67, 11.26±1.49 μM의 EC₅₀ 값을 나타내었다. 이는 비교예 1로 사용된 BHA와 대비하여 약 2.1~3.6배, 비교예 2로 사용된 트롤록스와 대비하여 약 1.5~2.7배의 우수한 라디칼 소거능을 나타냄을 알 수 있다. 특히, 부티로스캐빈 A는 ABTS⁺에 대한 라디칼 소거능을 알아본 실험에 1에서와 마찬가지로, DPPH에 대해서도 가장 우수한 라디칼 소거능을 나타냄을 알 수 있다.

[0128] 하기에 본 발명에 따른 화학식 1의 유도체 또는 이를 포함하는 아스피질러스 테리우스 추출물을 활성성분으로 함유하는 향산화용 조성물, 건강식품 조성물, 화장품 조성물을 위한 제제에 및 제조예를 예시한다.

[0129] <제제예 1> 정제의 제조(직접 가압)

[0130]	활성성분	5.0 mg
[0131]	락토오스	14.1 mg
[0132]	크로스포비돈 USNF	0.8 mg
[0133]	마그네슘 스테아레이트	0.1 mg

[0134] 통상적인 정제의 제조 방법에 따라, 상기 성분들을 제시된 함량으로 첨가하여 균일하게 혼합하고 가압하여 정제를 제조하였다.

[0135] <제제예 2> 정제의 제조(습식 조립)

[0136]	활성성분	5.0 mg
[0137]	락토오스	16.0 mg
[0138]	녹말	4.0 mg
[0139]	프리슐베이트 80	0.3 mg
[0140]	실리콘 다이옥사이드	2.7 mg
[0141]	마그네슘 스테아레이트	2.0 mg

[0142] 활성성분을 체로 친 후, 락토오스와 녹말을 혼합하였다. 이후, 폴리슐베이트를 순수한 물에 녹인 녹인 후, 적당량을 활성성분, 락토오스 및 녹말 혼합물에 첨가한 다음 미립화하였다. 건조 후에 미립을 제질한 후, 콜로이달 실리콘 다이옥사이드 및 마그네슘 스테아레이트와 혼합하였다. 미립을 가압하여 정제를 제조하였다.

[0143] <제제예 3> 캡셀제의 제조

[0144]	활성성분	5.0 mg
[0145]	락토오스	14.8 mg
[0146]	폴리비닐피롤리돈	10.0 mg
[0147]	마그네슘 스테아레이트	0.2 mg

[0148] 통상적인 캡셀제의 제조 방법에 따라, 상기 성분들을 제시된 함량으로 첨가하여 균일하게 혼합한 후 적절한 크기의 젤라틴 캡셀에 충전하여 목적하는 캡셀제를 제조하였다.

[0149]	<제제예 4> 주사제의 제조	
[0150]	활성성분	100 mg
[0151]	만니톨	180 mg
[0152]	Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O	26 mg
[0153]	증류수	2974 mg
[0154]	통상적인 주사제의 제조 방법에 따라, 상기 성분들을 제시된 함량으로 함유시켜 주사제를 제조하였다.	
[0155]	<제제예 5> 건강식품 제조	
[0156]	5-1. 음료의 제조	
[0157]	꿀	522 mg
[0158]	치옥토산아미드	5 mg
[0159]	니코틴산아미드	10 mg
[0160]	염산리보플라빈나트륨	3 mg
[0161]	염산피리독신	2 mg
[0162]	이노시톨	30 mg
[0163]	오르트산	50 mg
[0164]	활성성분	0.48~1.28 mg
[0165]	물	200 ml
[0166]	상기 조성 및 함량으로 하여 통상적인 방법을 사용하여 음료를 제조하였다.	
[0167]	5-2. 츄잉껌의 제조	
[0168]	껌베이스	20 %
[0169]	설탕	76.36~76.76 %
[0170]	활성성분	0.24~0.64 %
[0171]	후르츠향	1 %
[0172]	물	2 %
[0173]	상기 조성 및 함량으로 하여 통상적인 방법을 사용하여 츄잉껌을 제조하였다.	
[0174]	5-3. 캔디의 제조	
[0175]	설탕	50~60 %
[0176]	물엿	39.26~49.66 %
[0177]	활성성분	0.24~0.64 %
[0178]	오렌지향	0.1 %
[0179]	상기 조성 및 함량으로 하여 통상적인 방법을 사용하여 캔디를 제조하였다.	

- [0180] 5-4. 밀가루 식품의 제조
- [0181] 본 발명에 따른 활성성분 0.5 내지 5 중량부를 밀가루 100 중량부에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.
- [0182] 5-5. 유제품(dairy products)의 제조
- [0183] 본 발명에 따른 활성성분 5 내지 10 중량부를 우유 100 중량부에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.
- [0184] 5-6. 선식의 제조
- [0185] 현미, 보리, 찹쌀, 울무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입고 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- [0186] 검은콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입고 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- [0187] 상기에서 제조한 곡물류 및 종실류와 본 발명에 따른 활성성분을 다음과 같은 비율로 배합하여 제조하였다.
- [0188] 현미 30 %
- [0189] 울무 15 %
- [0190] 보리 20 %
- [0191] 들깨 7 %
- [0192] 검은콩 7 %
- [0193] 검은깨 7 %
- [0194] 활성성분 3 %
- [0195] 영지 0.5 %
- [0196] 지황 0.5 %
- [0197] <제제예 6> 화장품의 제조
- [0198] 6-1. 유연 화장수의 제조
- [0199] 화학식 1의 유도체 또는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 활성성분으로 함유하는 유연 화장수의 제제예를 다음 표 3과 같이 제조하였다.

표 3

원료	함량(중량부)
활성성분	10.00
1,3-부틸렌글리콜	1.00
디소듐이디티에이	0.05
알란토인	0.10
디포타슘글리시리제이트	0.05
시트릭애씨드	0.01
소듐시트레이트	0.02
글리세레스-26	1.00
알부틴	2.00
하이드로제네이티드캐스터오일	1.00
에탄올	30.00

보존제	미량
착색제	미량
착향제	미량
정제수	잔량

[0201] 6-2. 영양 크림의 제조

[0202] 화학식 1의 유도체 또는 아스퍼질러스 테리우스 추출물을 활성성분으로 함유한 영양크림의 제제에는 다음 표 4의 조성파 같이 제조하였다.

표 4

[0203]

원료	함량(중량부)
활성성분	10.0
1,3-부틸렌 글리콜	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
친유형글리세릴스테아레이트	2.0
소르비탄세스퀴올리에이트	1.5
세테아릴알코올	3.0
미네랄오일	4.0
스쿠알란	3.8
카르틸릭/카프릭트리글리세라이드	2.8
식물성 오일	1.8
디메치콘	0.4
디포타슘글리시리제이트	미량
알란토인	미량
소듐 히아루로네이트	미량
토코페릴아세테이트	적량
트리에탄올아민	적량
보존제	적량
착향제	적량
정제수	잔량