



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

(45) 공고일자 2014년08월29일  
 (11) 등록번호 10-1433726  
 (24) 등록일자 2014년08월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 8/97* (2006.01) *A61Q 19/08* (2006.01)  
*A61Q 19/00* (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2011-0130178  
 (22) 출원일자 2011년12월07일  
 심사청구일자 2011년12월07일  
 (65) 공개번호 10-2012-0063448  
 (43) 공개일자 2012년06월15일  
 (30) 우선권주장  
 1020100124308 2010년12월07일 대한민국(KR)  
 (56) 선행기술조사문헌  
 Research Journal of Agriculture and  
 Biological Sciences, 6권, 4호, 472-475  
 면(2010.8.)\*  
 US20040001897 A1  
 US20080199533 A1  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
 한국생명공학연구원  
 대전광역시 유성구 과학로 125 (어은동)  
 (72) 발명자  
 이형규  
 대전광역시 유성구 과학로 125 (어은동)  
 안경섭  
 대전광역시 유성구 과학로 125 (어은동)  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
 이원희

전체 청구항 수 : 총 4 항

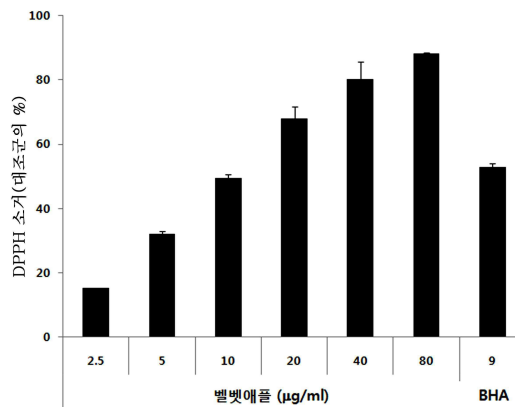
심사관 : 박정민

(54) 발명의 명칭 **벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 노화방지용 조성물**

**(57) 요약**

본 발명은 벨벳애플(*Diospyros blancoi* A. DC.) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 노화방지 및 지연용 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로 본 발명의 벨벳애플 추출물은 농도의존적으로 DPPH 자유라디칼 소거 효과 및 ABTS 자유라디칼 소거 효과를 나타내었으며, 특히 벨벳애플 에틸아세테이트 및 부탄올 분획물이 탁월한 항산화 효과를 나타내었으므로, 노화방지 및 지연용 화장품 조성물, 약학적 조성물 및 건강식품용 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

**대표도 - 도1**



(72) 발명자  
**권옥경**  
대전광역시 유성구 과학로 125 (어은동)  
**오세량**  
대전광역시 유성구 과학로 125 (어은동)  
**김정희**  
대전광역시 유성구 과학로 125 (어은동)

**박지원**  
대전광역시 유성구 과학로 125 (어은동)  
**이중구**  
대전 유성구 과학로 125  
**정혁**  
대전 유성구 과학로 125

이 발명을 지원한 국가연구개발사업  
과제고유번호 FGM1001025  
부처명 교육과학기술부  
연구사업명 과학기술국제화사업  
연구과제명 지구적 생물다양성 협력네트워크 구축사업  
기 여 율 1/1  
주관기관 한국생명공학연구원  
연구기간 2010.10.01 ~ 2011.09.30

---

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

벨벳애플(*Diospyros blancoi* A. DC.) 메탄올 추출물을 n-헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, n-부탄올 및 물로 순차적으로 분획하여 얻은 벨벳애플 에틸아세테이트 분획물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 화장품 조성물.

### 청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 벨벳애플 메탄올 추출물은 벨벳애플 잎 메탄올 추출물인 것을 특징으로 하는 항산화용 화장품 조성물.

### 청구항 3

삭제

### 청구항 4

삭제

### 청구항 5

삭제

### 청구항 6

삭제

### 청구항 7

삭제

### 청구항 8

삭제

### 청구항 9

벨벳애플 메탄올 추출물을 n-헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, n-부탄올 및 물로 순차적으로 분획하여 얻은 벨벳애플 에틸아세테이트 분획물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 건강식품용 조성물.

### 청구항 10

제 9항에 있어서, 상기 벨벳애플 메탄올 추출물은 벨벳애플 잎 메탄올 추출물인 것을 특징으로 하는 항산화용 건강식품용 조성물.

### 청구항 11

삭제

## 명세서

## 기술분야

[0001] 본 발명은 노화방지용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 벨벳애플 추출물(*Diospyros blancoi* A. DC.) 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 노화방지 및 지연용 화장품 조성물, 약학적 조성물 및 건강식품용 조성물에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 인체의 노화와 질병을 유발하는 자유라디칼은 인체 내에서 정상적인 대사과정 중 생물학적 반응으로 형성되며, 세포와 조직에 해로운 독성을 일으켜 여러 가지 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다(Folin O & Denis W, 1912, J Biol Chem 12: 239-249). 이러한 유해 자유라디칼을 억제하는 생리작용으로는 산화성 자유라디칼에 전자를 공여하여 산화를 억제하는 전자공여능과 슈퍼옥사이드 디스무타제(superoxide dismutase; SOD)와 유사한 역할로서 반응성과 파괴성이 매우 큰 슈퍼옥사이드 음이온 라디칼(superoxide anion radical)을 정상상태의 산소로 전환 시켜주는 역할이 있다. 강력한 항산화 효과를 가지는 여러 가지 생리활성 성분들은 산화적 스트레스에 의해 발생하는 케양과 경련의 예방, 위장관의 위액 분비조절과 설사예방, 당뇨예방, 암, 심장병 및 퇴행성 질병들의 예방과 감소에 크게 기여한다고 보고되고 있다(Azuma K *et al.*, 1999, J Agric Food Chem 47: 3963-3966, Ham SS *et al.*, 1997, J Food Sci Nutr 2:155-161). 그리고, 최근 건강에 대한 관심이 높아지면서 다양한 식물자원에서 항암, 항알러지, 항비만, 항산화 및 항균 등의 효과가 있는 기능성 물질을 다량 함유하는 자원을 선별하여, 약으로, 식품첨가제로, 또는 화장품의 원료로 개발하려는 연구가 전 세계적으로 진행되고 있다(Shin DB, *et al.*, 2006, Food Sci Biotechnol., 15: 357-362, Park *et al.*, 2004, Korean J Nutr, 37: 364-372, Kim *et al.*, 2006, Kor J Food Sci. Technol. 38: 799-804, Ali KA *et al.*, 2005, Food Chem., 89: 27-36).

[0003] 항산화제인 슈퍼옥사이드 디스무타제는 세포의 호흡과정에서 발행한 활성산소 즉, 슈퍼옥사이드 라디칼을 과산화수소와 산소로 분해시킨다. 과산화수소는 철이나 동이온과 같은 금속이온과 결합하여 반응을 하게 되면 하이드록시 라디칼이라는 보다 강력한 활성산소가 발생하게 된다. 과산화수소가 금속이온과 반응하기 전에 이를 제거해주는 항산화제인 카탈라아제와 글루타치온 퍼옥시다제가 과산화수소를 물과 이산화탄소로 분해를 시켜준다. 과산화수소를 제거해주는 항산화제가 5 %의 과산화수소를 완벽하게 제거를 못 한 나머지 이것이 체내의 금속이온에 반응하여 하이드록시 라디칼로 변해 우리의 몸을 노화시키고 병들어 죽게 하는 것이다. 방사선이나 자외선의 잦은 노출은 과산화수소를 하이드록시 라디칼로 변하게 하여 노화를 촉진시키는데, 이를 지연시키는 방법으로는 항산화제의 복용이 있다. 슈퍼옥사이드 라디칼(Superoxide radical,  $O_2^-$ ) 자체는 반응성이 비교적 약하지만, 쉽게  $H_2O_2$ 로 변환되어 결국, 반응성이 강한 하이드록실 라디칼을 생성하거나, 나이트릭 옥사이드(nitric oxide, NO)와 반응하여 반응성이 강한 퍼옥시나이트라이트(peroxy nitrite, ONOO)를 생성하여 SH-그룹의 산화, 단백질 티로신의 질산화(nitration), 지질과산화, DNA 손상 등을 일으키는 원인이 된다.

[0004] 항산화 물질은 동, 식물계에 널리 분포되어 있는데, 과일과 채소에 많은 페놀성 화합물, 플라보노이드, 토코페롤, 비타민 C, 셀레늄과 같은 항산화 물질은 지방의 산화를 지연시키거나 방지하며 암 및 심장혈관계 질환 등을 예방, 지연시킴으로써 노화방지에도 중요한 역할을 한다. 식물계에 존재하는 천연 항산화 물질인 토코페롤과 비타민 C는 식품, 의약품 및 화장품 등에 널리 이용되고 있다. 유지 또는 유지함유 식품의 산패는 주로 공기 중의 산소와 결합에 의해 일어나는데, 이를 방지하기 위하여 많은 합성 또는 천연 항산화 물질이 개발되어 왔으나, 그 효과와 경제성 때문에 실제로 많이 사용되고 있는 것은 합성 항산화제이다. 합성 항산화제로는 BHT(Butylated Hydroxy Toluene), BHA(Butylated Hydroxy Anisole), 프로필갈레이트(Propyl Gallate) 등이 있다. 합성 항산화제는 항산화력이 뛰어나고 가격이 저렴하여 상업용 식품에 많이 사용되고 있으나, 인체 부작용 등 안정성에 대한 우려로 그 사용량이 법적으로 규제되어 있다. 토코페롤과 같은 천연 항산화제는 인체에 대하여 안전하기는 하나 단독으로는 산화 연쇄반응 저지 능력이 있고, 가격이 비싼 단점이 있다. 따라서, 최근에는 보다 안전하고 항산화 효과가 뛰어난 천연 항산화제를 개발하기 위한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

[0005] 벨벳애플은 감나무과(Ebenaceae)에 속하며, 마블로 혹은 까마공이라고 불리며 흑단나무속에 속하는 식물이다. 주로 필리핀에서 자생하며, 벨벳애플 나무는 짙은 색을 띠며, 그 조직이 단단하고, "iron-wood"라고도 불린다. 벨벳애플의 열매는 벨벳 같은 적갈색 껍질로 둘러싸여 있으며, 그 맛과 향은 과일크림치즈와 유사하다고 한다

(Benedikt Mandl, Jimmy Wales, Wikimedia Foundation, 2004). 미국특허 20080199533에서 피부개선용 화장품의 성분으로 사용한다는 보고가 있으며 벨벳애플의 열매를 다양한 식품원료로 사용한다는 보고는 있으나 벨벳애플 추출물의 항산화 효능에 대해서는 보고된바 없었다.

[0006] 이에, 본 발명자들은 항산화 효과가 우수한 식물을 스크리닝하던 중, 벨벳애플 추출물이 우수한 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 자유라디칼을 소거 효과, ABTS(2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) 자유라디칼 소거 효과 및 수퍼옥사이드 라디칼 소거 효과를 나타내었으며, 벨벳애플 에틸아세테이트 및 부탄올 용해분획물이 탁월한 라디칼 소거 효과를 나타내었기에 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물이 노화방지 및 지연용 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있음을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 벨벳애플(*Diospyros blancoi* A. DC.) 추출물 또는 이의 분획물 유효성분으로 함유하는 노화방지 및 지연용 화장품 조성물, 약학적 조성물 및 건강식품용 조성물을 제공하는 것이다.

#### 과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 벨벳애플(*Diospyros blancoi* A. DC.) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 노화방지 및 지연용 화장품 조성물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 노화방지 및 지연용 약학적 조성물을 제공한다.

[0010] 아울러, 본 발명은 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 노화방지 및 지연용 건강식품용 조성물을 제공한다.

### 발명의 효과

[0011] 본 발명의 벨벳애플(*Diospyros blancoi* A. DC.) 추출물 또는 이의 분획물은 농도의존적으로 DPPH 자유라디칼 생성 억제 효과, ABTS 자유라디칼 생성 억제 효과 및 수퍼옥사이드 라디칼 억제 효과를 나타내어 우수한 항산화 효과를 가지고 있음을 확인함으로써, 노화방지 및 지연용 화장품 조성물, 약학적 조성물 및 건강식품용 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 벨벳애플 추출물(*Diospyros blancoi* A. DC.)의 자유라디칼 소거 효과를 나타낸 그래프이다.

도 2는 벨벳애플 추출물의 ABTS 소거 효과를 나타낸 그래프이다.

도 3은 벨벳애플 추출물의 SOD(superoxide dismutase) 활성 효과를 나타낸 그래프이다.

도 4는 벨벳애플 메탄올 추출물에서 용매별 분획물을 제조하는 방법을 나타내는 그래프이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0014] 본 발명은 벨벳애플(*Diospyros blancoi* A. DC.) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 노화방지 및

지연용 화장료 조성물을 제공한다.

- [0015] 상기 노화는 피부노화인 것인 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0016] 또한, 본 발명은 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 향산화용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0017] 상기 벨벳애플 추출물은 하기의 단계들을 포함하는 제조방법에 의해 제조되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다:
- [0018] 1) 벨벳애플(*Diospyros blancoi* A. DC.)에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;
- [0019] 2) 단계 1)의 추출물을 여과하는 단계;
- [0020] 3) 단계 2)의 여과한 추출물을 감압 농축한 후 건조하여 벨벳애플의 추출물을 제조하는 단계; 및
- [0021] 4) 단계 3)의 벨벳애플 추출물을 추가적으로 유기용매로 추출하여 벨벳애플 분획물을 제조하는 단계.
- [0022] 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 벨벳애플(*Diospyros blancoi* A. DC.)은 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다. 상기 벨벳애플은 잎, 줄기 또는 뿌리가 모두 이용가능하고, 잎인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0023] 상기 방법에 있어서, 상기 단계 1)의 추출용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 사용하는 것이 바람직하다. 상기 알코올로는 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>2</sub> 저급 알코올을 이용하는 것이 바람직하며, 저급 알코올로는 에탄올 또는 메탄올을 이용하는 것이 바람직하다. 추출방법으로는 진탕추출, Soxhlet 추출 또는 환류 추출을 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 추출용매를 건조된 벨벳애플 분량에 1 내지 10배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하고, 2 내지 3배 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하다. 추출온도는 20℃ 내지 100℃ 인 것이 바람직하고, 20℃ 내지 40℃인 것이 더욱 바람직하고, 실온인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 또한, 추출시간은 10 내지 48시간인 것이 바람직하며, 15 내지 30시간인 것이 더욱 바람직하고, 24시간인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 아울러, 추출 회수는 1 내지 5회인 것이 바람직하며, 3 내지 4회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하고, 3회인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0024] 상기 방법에 있어서, 단계 3)의 감압농축은 진공감압농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0025] 상기 방법에 있어서, 단계 4)의 유기용매는 노르말-헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 또는 부탄올인 것이 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 상기 분획물은 벨벳애플 추출물을 물에 현탁시킨 후 노르말-헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 노르말-부탄올 및 물로 순차적으로 계통 분획하여 수득한 노르말-헥산 분획물, 클로로포름 분획물, 에틸아세테이트 분획물, 노르말-부탄올 분획물 또는 물 분획물 중 어느 하나인 것이 바람직하며, 에틸아세테이트 분획물임이 더욱 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 상기 분획물은 상기 벨벳애플 추출물로부터 분획 과정을 1 내지 5회, 바람직하게는 3회 반복하여 수득할 수 있고, 분획 후 감압 농축하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0026] 본 발명자들은 벨벳애플 추출물의 항산화 효과를 확인하기 위하여, DPPH 자유라디칼 소거 효과를 1,1-디페닐-2-피크릴-히드라질(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl, DPPH, Sigma) 방법으로 측정된 결과, 벨벳애플 추출물 2.5, 5, 10, 20, 40 및 80 µg/ml 농도에서 각각 18, 32, 49, 68, 79 및 84%의 현저한 DPPH 자유라디칼 소거 효과를 나타내는 것을 확인하였다(도 1 참조).
- [0027] 또한, 본 발명자들은 벨벳애플 추출물의 항산화 효과를 확인하기 위하여, 벨벳애플 추출물의 다양한 농도에 따른 ABTS 자유라디칼 소거 효과를 측정된 결과, 각각의 벨벳애플 추출물 2.5, 5, 10, 20, 40 및 80 µg/ml 농도에서 각각 17, 25, 39, 62, 83 및 97%의 현저한 ABTS 자유라디칼 소거 효과를 나타내는 것을 확인하였다(도 2 참조).
- [0028] 또한, 본 발명자들은 벨벳애플 추출물의 SOD(Superoxide Dismutase)활성을 확인하기 위해, SOD 키트를 이용하여 벨벳애플 추출물의 농도별 수퍼옥사이드 라디칼 소거 효과를 측정된 결과, 벨벳애플 추출물 2.5, 5, 10, 20, 40 및 80 µg/ml 농도에서 각각 12, 16, 24, 37 및 46%의 현저한 수퍼옥사이드 라디칼 소거 효과를 나타내는 것을 확인하였다(도 3 참조).

- [0029] 또한, 본 발명자들은 벨벳애플 분획물의 항산화 효과를 확인하기 위하여, DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거 효과를 측정된 결과, 벨벳애플 분획물은 DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거 효과가 뛰어나함을 확인하였고, 특히 벨벳애플 에틸아세테이트 분획물 및 부탄올 분획물은 DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거 효과가 현저히 높은 것을 확인하였다. 또한, 천연물 유래의 양성대조군인 비타민 C와 비교하였을 때 클로로포름층, 에틸아세테이트층, 부탄올층 분획물에서 월등히 우수한 활성을 나타냄을 확인하였다(표 1 참조).
- [0030] 따라서, 벨벳애플 추출물은 우수한 DPPH 자유라디칼을 소거 효과, ABTS 자유라디칼 소거 효과 및 수퍼옥사이드 라디칼 소거 효과를 나타내었으며, 벨벳애플 용해분획물은 탁월한 라디칼 소거 효과를 나타내었기에 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 노화방지 및 지연용 화장품료 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있음을 알 수 있다.
- [0031] 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, 폼(foam)의 형태 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로도 제조될 수 있다.
- [0032] 또한, 상기 화장료 조성물은 본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물에 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.
- [0033] 본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 함유하는 화장료 조성물에 있어서, 통상적으로 함유되는 화장료 조성물에 본 발명의 추출물 또는 이의 분획물이 0.1 내지 50 중량%, 바람직하게는 1 내지 10 중량%의 양으로 첨가될 수 있다.
- [0034] 본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 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, 금속이온봉쇄제 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.
- [0035] 또한, 본 발명은 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 노화방지 및 지연용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0036] 상기 노화는 피부노화인 것인 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0037] 또한, 본 발명은 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0038] 본 발명의 벨벳애플 추출물은 우수한 DPPH 자유라디칼을 소거 효과, ABTS 자유라디칼 소거 효과 및 수퍼옥사이드 라디칼 소거 효과를 나타내었으며, 벨벳애플 용해분획물은 탁월한 라디칼 소거 효과를 나타내었기에 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 노화방지용 약학적 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있음을 알 수 있다.
- [0039] 본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 함유하는 조성물은 상기 성분에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- [0040] 본 발명의 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 첨가제를 더 포함할 수 있으며, 이때 약제학적으로 허용 가능한 첨가제로는 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈, 콜로이달실리콘디옥사이드, 인산수소칼슘, 락토스, 만니톨, 엿, 아라비아고무, 전호화전분, 옥수수전분, 분말셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 오파드라이, 전분글리콜산나트륨, 카르나우바 납, 합성규산알루미늄, 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산알루미늄, 스테아린산칼슘, 백당, 텍스트로스, 소르비톨 및 탈크 등이 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 약제학

적으로 허용 가능한 첨가제는 상기 조성물에 대해 0.1 ~ 90 중량부 포함되는 것이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0041] 즉, 본 발명의 조성물은 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 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose), 락토오스(Lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함될 수 있다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0042] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여시 피부 외용 또는 복강내주사, 직장내주사, 피하주사, 정맥주사, 근육내 주사 또는 흉부내 주사 주입방식을 선택하는 것이 바람직하다. 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다.
- [0043] 본 발명의 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하며, 일일 투여량은 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물의 양을 기준으로 0.0001 내지 100 mg/kg이고, 바람직하게는 0.001 내지 10 mg/kg이며, 하루 1 ~ 6 회 투여될 수 있다.
- [0044] 본 발명의 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0045] 또한, 본 발명은 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 노화방지 및 지연용 건강식품용 조성물을 제공한다.
- [0046] 상기 노화는 피부노화인 것인 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0047] 또한, 본 발명은 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 건강식품을 제공한다.
- [0048] 벨벳애플 추출물은 우수한 DPPH 자유라디칼을 소거 효과, ABTS 자유라디칼 소거 효과 및 수퍼옥사이드 라디칼 소거 효과를 나타내었으며, 벨벳애플 용해분획물은 탁월한 라디칼 소거 효과를 나타내었기에 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 노화방지용 건강식품의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있음을 알 수 있다.
- [0049] 본 발명의 건강식품은 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.
- [0050] 상기 건강식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [0051] 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, 슈크로스과 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 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.
- [0052] 상기 외에 본 발명의 건강식품은 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, 탄산음료에



사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 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 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0053] 이하, 본 발명을 실시예, 실험예 및 제조예에 의하여 상세히 설명한다.

[0054] 단, 하기 실시예, 실험예 및 제조예는 본 발명을 구체적으로 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 실시예, 실험예 및 제조예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0055] <실시예 1> 벨벳애플 추출물의 제조

[0056] 본 발명자들은 벨벳애플(*Diospyros blancoi* A. DC.) 추출물을 한국생명공학연구원에 위치한 해외생물소재 허브센터에서 구입하였다. 추출과정을 살펴보면, 잎 10 kg을 건조 및 분쇄하여 분말화한 후, 벨벳애플 잎에 메탄올 20 l를 가한 후 상온에서 순환시키면서 24시간 동안 추출하여 여과 상층액을 회수하였다. 이 과정을 3회 반복하여 상층액을 모은 후, 감압농축하여 벨벳애플 메탄올 추출물 1.2 kg을 수득하였다.

[0057] <실시예 2> 벨벳애플 용매 분획물 제조

[0058] 상기 <실시예 1>에서 얻어진 벨벳애플 메탄올 추출물 중 1,068 mg에 물을 첨가하여 현탁시키고, 동량의 100% 헥산을 가하여 진탕 방치하기를 3회 실시하여 헥산 분획물 363.5 mg을 수득하였다. 그런 다음, 상기 헥산 분획물을 제거하고 남은 물층에 클로로포름을 동량 가하여 진탕 방치하기를 3회 반복하여 클로로포름 분획물 195.9 mg을 수득하였으며, 다시 남은 물층에 에틸아세테이트를 동량 가하여 같은 방법으로 에틸아세테이트 분획물 97.8 mg을 수득하였으며, 또 다시 남은 물층에 부탄올을 동량 가하여 동일한 방법으로 부탄올 분획물 199.9 mg을 수득하였으며, 남은 물층을 농축하여 물 분획물 130.3 mg을 수득하였다(도 4).

[0059] <실험예 1> 벨벳애플 추출물의 DPPH 자유라디칼 소거 효과 확인

[0060] 상기 <실시예 1>에서 수득한 벨벳애플 추출물에 대하여 자유라디칼 소거 효과를 1,1-디페닐-2-피크릴-히드라질(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl, DPPH, Sigma) 방법으로 측정하였다. 자유라디칼 소거 효과 측정에는 에탄올에 잘 녹인 0.15 mM의 DPPH 용액 90 μl을 96 웰 플레이트에 넣고, 상기 추출물을 2.5, 5, 10, 20, 40 및 80 μg/ml의 농도로 각각 분주하여, 상온에서 20분간 방치한 후, ELISA 리더(reader)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 자유라디칼 소거 효과(%)는 하기의 수학적 식 1로 산출하였다. 이때, DMSO를 처리한 군을 음성대조군으로, 합성 항산화제인 BHA를 처리한 군을 양성대조군으로 사용하였다.

수학적 식 1

$$\text{자유라디칼소거활성(\%)} = 100 - \frac{B}{A} \times 100$$

[0061] A: 본 발명의 벨벳애플 추출물을 처리하지 않은 음성대조군의 흡광도;

[0063] B: 본 발명의 벨벳애플 추출물을 처리한 실험군의 흡광도.

[0064] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이 벨벳애플 추출물에 대한 DPPH 자유라디칼 소거 효과를 측정된 결과, 각각의 벨벳애플 추출물 2.5, 5, 10, 20, 40 및 80 μg/ml 농도에서 각각 18, 32, 49, 68, 79 및 84%의 DPPH 자유라디

칼 소거 효과를 나타내었으며, 양성대조군인 BHA와 유사한 활성을 나타내는 것을 확인하였다(도 1).

[0065] <실험예 2> 벨벳애플 추출물의 ABTS 자유라디칼 소거 효과 확인

[0066] 상기 <실시예 1>에서 수득한 벨벳애플 추출물을 이용하여 ABTS 자유라디칼 소거 효과를 확인하였다. ABTS 자유라디칼 소거 효과는 ABTS와 포타슘 퍼설페이트(potassium persulfate)를 각각 7 mM과 2.45 mM의 최종농도가 되도록 혼합한 후, 암소에서 12시간 방치하여 ABTS 라디칼을 형성시켰다. 이를 734 nm에서 흡광도가 0.7이 되도록 증류수로 희석한 후 96 웰 플레이트에 분주하고, 여기에 시료를 2.5, 5, 10, 20, 40 또는 80 µg/ml의 농도로 분주한 후, 상온의 암소에서 7분간 반응시켰다. 흡광도는 734 nm에서 마이크로플레이트 측정기를 이용하여 측정하였다. 이때, DMSO를 처리한 군을 음성대조군으로, 합성 항산화제인 BHA를 처리한 군을 양성대조군으로 사용하였다.

[0067] 그 결과, 도 2에서 나타낸 바와 같이 벨벳애플 추출물에 대한 ABTS 자유라디칼 소거 효과를 측정한 결과, 벨벳애플 추출물 2.5, 5, 10, 20, 40 및 80 µg/ml 농도에서 각각 17, 25, 39, 62, 83, 97%의 현저한 ABTS 자유라디칼 소거 효과를 나타내는 것을 확인하였다(도 2).

[0068] <실험예 3> 벨벳애플 추출물의 SOD 활성

[0069] 상기 <실시예 1>의 추출물의 항산화 효과를 확인하기 위하여 다른 유해활성산소류의 전구물질로 작용하는 수퍼옥사이드 라디칼의 소거 효과를 측정하였다. 상기 수퍼옥사이드 라디칼 소거 효과는 수퍼옥사이드를 디스뮤테이션(dismutation) 시킴으로써 수퍼옥사이드를 소거하는 효소인 수퍼옥사이드 디스뮤타제(SOD)의 활성을 측정하여 검색할 수 있는데, 본 발명에서는 SOD 키트(kit)(Dojindo사)를 이용하였다. 구체적으로 각 농도별 시료를 96 웰 플레이트에 분주하고, 수퍼옥사이드 라디칼과 반응하는 수용성 WST-1(2-(4-인도페닐)-3-(4-나이트로페닐)-5-(2,4-디설포페닐)-2H-테트라졸리움)을 넣은 후, SOD효소용액을 넣고 37도에서 20분간 반응시킨 후, 반응액의 흡광도를 마이크로플레이트 측정기로 450nm에서 측정하였다. 각 시료의 수퍼옥사이드 라디칼 소거 효과를 대조군에 대한 WST의 환원 감소 정도로써 산출하였으며, 수퍼옥사이드 라디칼을 50% 소거시키는 시료의 농도를 IC50으로 하였다. 이때, DMSO를 처리한 군을 음성대조군으로, 합성 항산화제인 BHA를 처리한 군을 양성대조군으로 사용하였다.

[0070] 그 결과, 도 3에서 나타낸 바와 같이, 벨벳애플 추출물에 대한 수퍼옥사이드 라디칼 소거 효과를 측정한 결과, 각각의 벨벳애플 추출물 2.5, 5, 10, 20, 40 및 80 µg/ml 농도에서 각각 12, 16, 24, 37 및 46%의 현저한 수퍼옥사이드 라디칼 소거 효과를 확인하였고, 또한 수퍼옥사이드 라디칼을 양성대조군인 BHA는 10 µg/ml 농도에서 20.5 ± 1.03% 저해하였고, 벨벳애플 추출물은 같은 농도에서 23.4 ± 2.36% 저해하는 것을 확인하여 그 활성이 우수함을 확인하였다(도 3).

[0071] <실험예 4> 벨벳애플 분획물의 DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능

[0072] 상기 <실시예 1>에서 분획한 용매별 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물에 대해 <실험예 1> 및 <실험예 2>와 동일한 방법으로 DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능을 측정하였다. 각 분획물은 40 µg/ml의 농도로 각각 분주하여, 상온에서 반응시킨 후, 마이크로플레이트 흡광기로 흡광도를 측정하였다. 이때, DMSO를 처리한 군을 음성대조군으로, 천연항산화제인 비타민 C 를 처리한 군을 양성대조군으로 사용하였다.

[0073] 그 결과, 표 1에서 나타난 바와 같이, 벨벳애플 분획물은 DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거 효과가 뛰어난 것을 확인하였고, 특히 벨벳애플 에틸아세테이트 분획물 및 부탄올 분획물은 DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거 효과가 현저히 높은 것을 확인하였다. 또한, 천연물 유래의 양성대조군인 비타민 C와 비교하였을 때 클로로포름층, 에틸아세테이트층, 부탄올층 분획물에서 월등히 우수한 활성을 나타냄을 확인하였다(표 1).

표 1

시료(40µg/ml)	DPPH 라디칼 소거능(%)	ABTS 라디칼 소거능(%)
벨벳애플 헥산 분획물	28.21±0.07	28.63±0.96

벨벳애플 클로로포름 분획물	55.68±0.71	63.35±3.22
벨벳애플 에틸아세테이트 분획물	89.18±2.00	99.97±0.26
벨벳애플 부탄올 분획물	83.04±1.42	99.81±0.12
벨벳애플 물 분획물	29.81±0.88	45.47±1.40
비타민 C	37.14±1.47	61.00±3.61

[0075]

[0076]

<제조예 1> 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 노화방지용 화장료의 제조

[0077]

<1-1> 유연 화장수의 제조

[0078]

상기 <실시예 1>의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 유연 화장수는 하기 [표 2]와 같이 제조하였다.

표 2

[0079]

원료	함량(중량부)
본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물	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

[0080]

<1-2> 영양 크림의 제조

[0081]

상기 <실시예 1>의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유한 영양크림은 하기 [표 3]의 조성과 같이 제조하였다.

표 3

[0082]

원료	함량(중량부)
본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물	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
도코페틸아세테이트	적량
트리에탄올아민	적량
보존제	적량
착향제	적량
정제수	잔량

[0083] <제조예 2> 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 약학적 제제의 제조

[0084] <2-1> 산제의 제조

[0085] 본 발명의 벨벳애플 추출물 2 g

[0086] 유당 1 g

[0087] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0088] <2-2> 정제의 제조

[0089] 본 발명의 벨벳애플 에틸아세테이트 분획물 100 mg

[0090] 옥수수전분 100 mg

[0091] 유 당 100 mg

[0092] 스테아린산 마그네 2 mg

[0093] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0094] <1-3> 캡슐제의 제조

[0095] 본 발명의 벨벳애플 추출물 100 mg

[0096] 옥수수전분 100 mg

[0097] 유 당 100 mg

[0098] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0099] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0100] <1-4> 환의 제조

[0101] 본 발명의 벨벳애플 추출물 1 g

[0102] 유당 1.5 g

[0103] 글리세린 1 g

[0104] 자일리톨 0.5 g

[0105] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 방법에 따라 1환 당 4 g이 되도록 제조하였다.

- [0106] <1-5> 과립의 제조
- [0107] 본 발명의 벨벳애플 추출물 150 mg
- [0108] 대두추출물 50 mg
- [0109] 포도당 200 mg
- [0110] 전분 600 mg
- [0111] 상기의 성분을 혼합한 후, 30% 에탄올 100 mg을 첨가하여 섞서 60 ℃에서 건조하여 과립을 형성한 후 포에 충전하였다.
- [0112] <제조예 3> 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 노화방지용 건강식품의 제조
- [0113] <3-1> 밀가루 식품의 제조
- [0114] 본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물 0.5~5.0 중량부를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하였다.
- [0115] <3-2> 스프 및 육즙(gravies)의 제조
- [0116] 본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물 0.1~5.0 중량부를 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.
- [0117] <3-3> 그라운드 비프(ground beef)의 제조
- [0118] 본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물 10 중량부를 그라운드 비프에 첨가하여 건강 증진용 그라운드 비프를 제조하였다.
- [0119] <3-4> 유제품(dairy products)의 제조
- [0120] 본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물 5~10 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.
- [0121] <3-5> 전식의 제조
- [0122] 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- [0123] 감정콩, 감정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- [0124] 본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 진공 농축기에서 감압농축하고, 분무, 열풍건조기로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60 메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.
- [0125] 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 다음의 비율로 배합하여 제조하였다.
- [0126] 곡물류(현미 30 중량부, 율무 15 중량부, 보리 20 중량부),
- [0127] 종실류(들깨 7 중량부, 감정콩 8 중량부, 감정깨 7 중량부),
- [0128] 본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물(3 중량부),
- [0129] 영지(0.5 중량부),

[0130] 지황(0.5 중량부)

[0131] <제조예 4> 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 노화방지용 음료의 제조

[0132] <4-1> 건강음료의 제조

[0133] 액상과당(0.5%), 올리고당(2%), 설탕(2%), 식염(0.5%), 물(75%)과 같은 부재료와 본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물 5 g을 균질하게 배합하여 순간 살균을 한 후 이를 유리병, 페트병 등 소포장 용기에 포장하여 제조하였다.

[0134] <4-2> 야채 주스의 제조

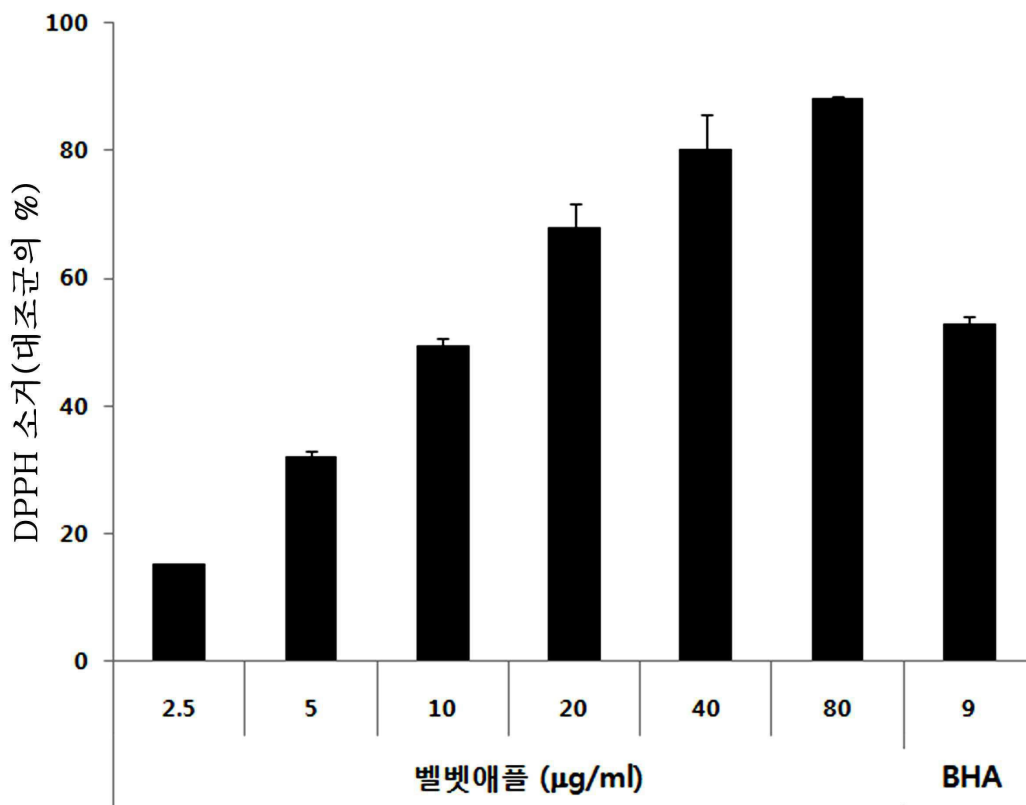
[0135] 본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물 5 g을 토마토 또는 당근 주스 1,000 ml에 가하여 야채 주스를 제조하였다.

[0136] <4-3> 과일 주스의 제조

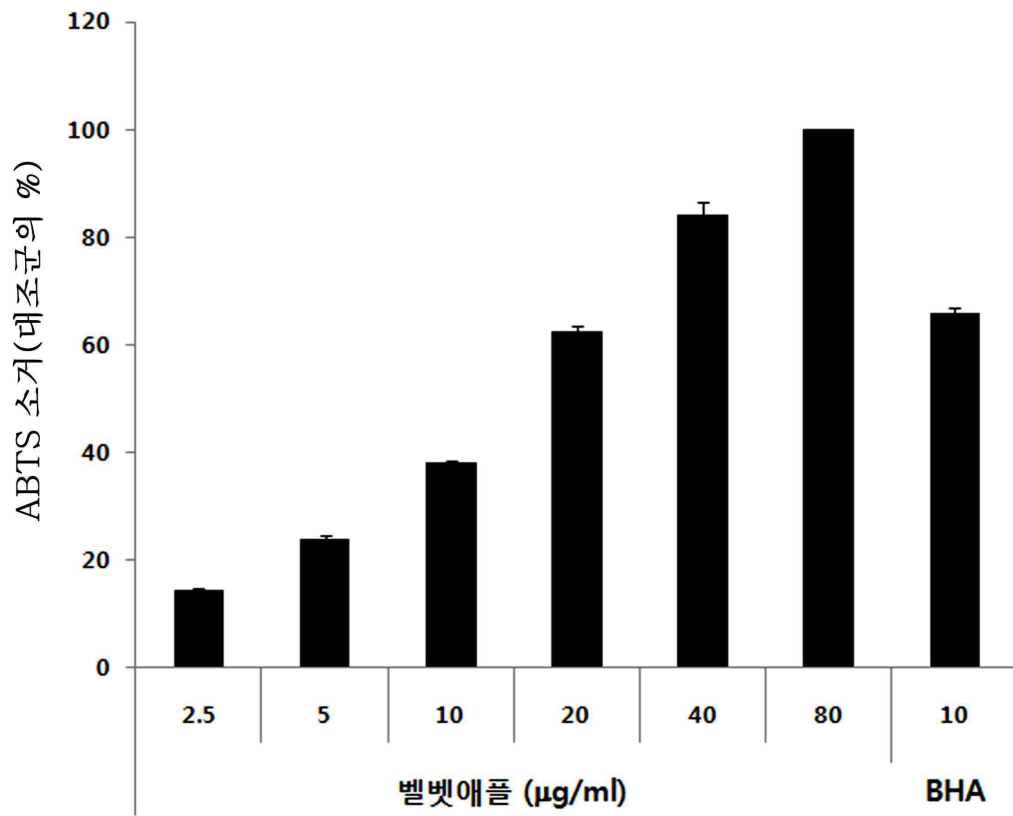
[0137] 본 발명의 벨벳애플 추출물 또는 이의 분획물 1 g을 사과 또는 포도 주스 1,000 ml 에 가하여 과일 주스를 제조하였다.

**도면**

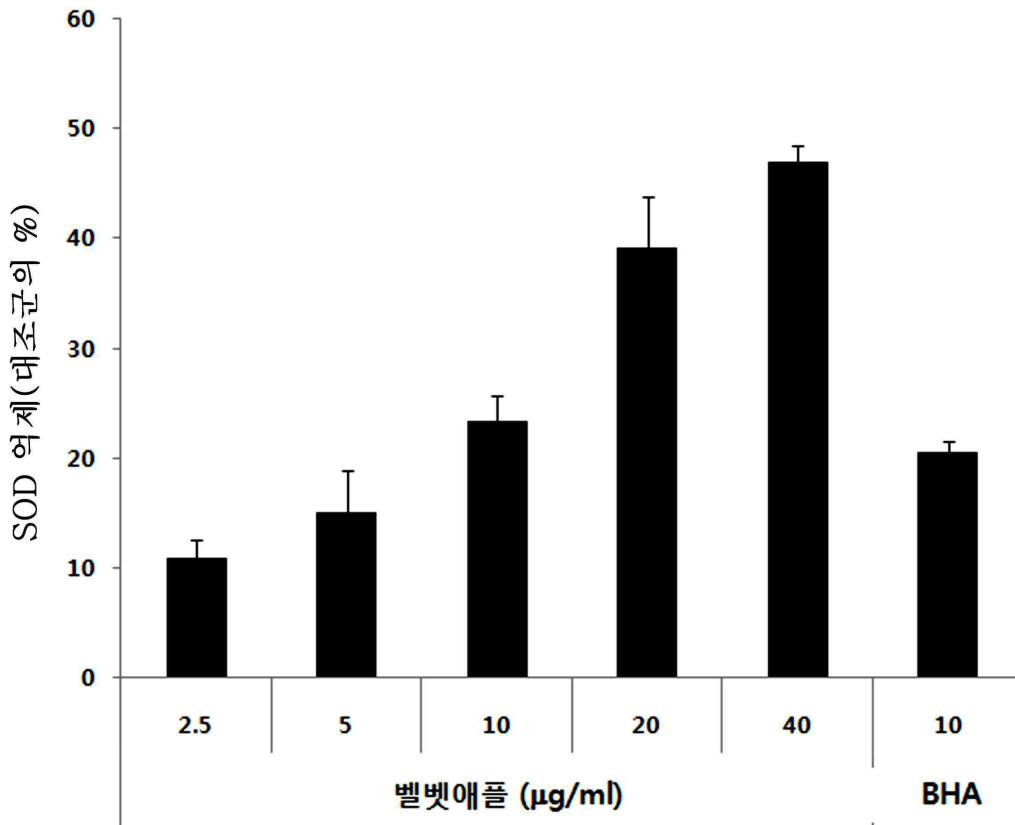
**도면1**



도면2



도면3



도면4

