



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

(45) 공고일자 2018년09월19일  
 (11) 등록번호 10-1900480  
 (24) 등록일자 2018년09월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A23L 33/10* (2016.01) *A61K 36/70* (2006.01)  
*A61K 8/97* (2017.01) *A61Q 19/00* (2006.01)  
*A61Q 19/08* (2006.01)

(52) CPC특허분류  
*A23L 33/10* (2016.08)  
*A61K 36/70* (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0173698  
 (22) 출원일자 2016년12월19일  
 심사청구일자 2016년12월19일  
 (65) 공개번호 10-2018-0071010  
 (43) 공개일자 2018년06월27일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 권성호. 수생관속식품의 남세균 생장억제 활성과 활성물질 탐색에 관한 연구. 아주대학교 대학원, 석사학위 논문, 2010년\*  
 Bangladesh Journal of Medical Science. 2015, Vol.14, No.01, pp.9-13  
 Trop J Pharm Res, 2014, Vol.13, No.10, pp.1749-1759\*  
 KR1020060018219 A  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
 국립낙동강생물자원관  
 경상북도 상주시 도남2길 137 (도남동)

(72) 발명자  
**한웅**  
 경상북도 상주시 신봉학마루1길 29-12, 101동 806호 (신봉동, 세영첼시빌아파트)

**황혜진**  
 경기도 부천시 부천로57번길 31, 402호(심곡동, 영아트빌)  
 (뒷면에 계속)

(74) 대리인  
**특허법인 태웅**

전체 청구항 수 : 총 5 항

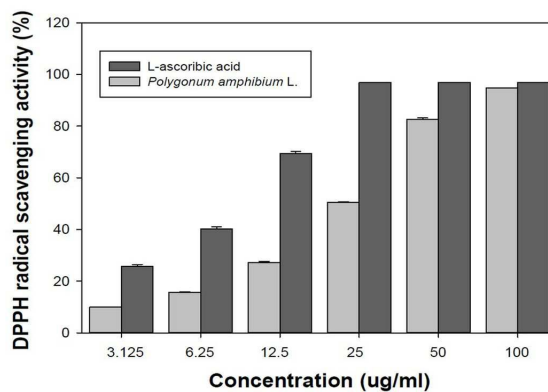
심사관 : 한지혜

(54) 발명의 명칭 **물여뀌 추출물을 이용한 항산화용 조성물**

**(57) 요약**

본 발명은 DPPH 법 및 Potassium ferricyanide 법에 의하여 항산화 활성이 확인된 물여뀌 추출물을 이용한 항산화용 조성물을 개시한다.

**대표도** - 도1



(52) CPC특허분류

**A61K 8/97** (2013.01)  
**A61Q 19/00** (2013.01)  
**A61Q 19/08** (2013.01)  
**A23V 2002/00** (2013.01)  
**A23V 2200/308** (2013.01)  
**A23V 2200/324** (2013.01)  
**A23V 2250/21** (2013.01)

(72) 발명자

**강창희**

경상북도 상주시 삼백로 88, 1106호 (무양동, 대림  
다미아s)

**유상미**

경상북도 상주시 토성로 22, 101동 701호 (낙양동,  
해오름 아파트)

**이승영**

대구광역시 달성군 다사읍 서재로27길 42, 106동  
1205호 (신성서화성파크드림아파트)

**진현미**

경상북도 상주시 경상대로 3025-9, 303호 (무양동,  
다사랑 A)

**강혜경**

경북 상주시 동수4길 33, 808동 204호 (무양동, L  
H천년나무)

**김영수**

경상북도 상주시 북룡3길 7, 103동 407호 (북룡동,  
상주1차우방타운)

**이한솔**

경상북도 상주시 낙양3길 30-2, C동 205호 ( 낙양동)

**김상철**

경상북도 상주시 봉양1길 126, 103동 906호( 무양동, 지엘리베라움 아파트)

**정상철**

경상북도 포항시 북구 천마로 123, 305동 2003호 (양덕동, 양덕삼구트리니언3차)

**박진희**

경상북도 상주시 문필로 155 (오대동)

**안영희**

서울특별시 서초구 신반포로19길 10, 24동 902호( 반포동, 신반포3지구아파트)

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

물여뀌 진초 추출물을 유효성분으로 포함하는 진립선암에 대한 항암용 조성물.

**청구항 2**

제1항에 있어서,

상기 물여뀌 진초 추출물은 물여뀌 진초를 물, 에탄올 또는 이들의 혼합용매로 추출하여 얻어진 것을 특징으로 하는 항암용 조성물.

**청구항 3**

제1항에 있어서,

상기 물여뀌 진초 추출물은 물여뀌 진초를 에탄올로 추출하여 얻어진 것을 특징으로 하는 항암용 조성물.

**청구항 4**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 식품 조성물인 것을 특징으로 하는 항암용 조성물.

**청구항 5**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 약제학적 조성물인 것을 특징으로 하는 항암용 조성물.

**청구항 6**

삭제

**청구항 7**

삭제

**청구항 8**

삭제

**청구항 9**

삭제

**청구항 10**

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 물여뀌(*Polygonum amphibium*) 추출물을 이용한 항산화용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 생체 내 정상적인 세포대사과정에서 생성되거나 여러 환경오염 및 화학물질의 노출 등에 의해 생성되는 과산화 라디칼(superoxide radical,  $O_2 \cdot^-$ ), 수산화 라디칼(hydroxyl radical,  $OH \cdot$ ), 과산화수소(hydrogen peroxide,  $H_2O_2$ ), 단일체 산소(singlet oxygen,  $^1O_2$ ) 등을 총칭하여 활성산소종(ROS: reactive oxygen species)이라고 한다.

[0003] 이들 활성 산소는 반응성 매우 커서 생체 분자들과 빠르게 반응하여 생체막의 지질 산화, 단백질 변성, DNA 손상 등을 초래하며, 암, 동맥경화증, 당뇨병, 자가면역질환, 노화, 뇌졸중, 파킨슨병 등 각종 질환의 발병 위험성을 증가시키는 것으로 알려져 있다(*Chem. Res.* 14: 393 (1981); *Arch. Biophys.* 247: 1-11 (1986); *Science* 221: 1256-1264 (1983)).

[0004] 생명체는 지속적으로 발생하는 이러한 산화적 스트레스에 대응하기 위한 항산화 체계를 갖추고 있는데, 이러한 항산화 체계는 크게 슈퍼옥사이드 디스무타아제, 카탈라아제, 글루타티온 퍼옥시다아제, 글루타티온 환원효소, 글루타티온 S-전이효소 등에 의한 효소적 체계와 식이에 의하여 섭취되는 비타민 A, 비타민 C, 비타민 E, 항산화 무기질 등의 항산화제에 의한 비효소적 체계로 구분된다(*Annu. Rev. Nutr.*, 16, pp33-50 (1996)). 효소적 체계와 비효소적 체계는 상호 보완적으로 작용하여 생체에서 생성되는 산화성 물질을 무독화시킨다.

[0005] 항산화제는 활성 산소와 반응함으로써 활성 산소에 의한 생체 손상을 억제하거나 최소화하는 것으로, 부틸화 하이드록시아니솔(BHA, Butylated hydroxyanisole), 부틸화 하이드록시톨루엔(BHT, Butylated hydroxytoluene), 프로필 갈레이트(PG, Propyl galate), 터셔리부틸 하이드로퀴논(TBHQ, Teritiarybutyl hydroquinone) 등의 합성 항산화제와 엽록소, 녹차 추출물, 프로폴리스 추출물, 클로렐라, 비타민 E, 비타민 C, 스쿠알레, 플라보노이드, 대나무 잎 추출물 등의 천연 항산화제로 구분될 수 있는데, 합성 항산화제의 경우 발암 및 심혈관 계열에 부작용을 유발하는 것으로 알려지면서 보다 안전하고 뛰어난 효과를 가지는 식물 유래 항산화제에 관한 연구가 활발하게 수행되고 있다(*Korean J. Food Sci. Technol.* 34:889-892 (2002)).

[0006] 식물은 항산화성 물질인 폴리페놀, 플라보노이드 등을 함유하고 있어 대부분의 식물 추출물은 항산화 활성을 나타내지만, 식물 유래의 항산화제는 항산화 효과가 일반적으로 합성 항산화제에 비하여 매우 낮기 때문에 실효성이 있는 항산화 효과를 나타내기 위해서는 다량으로 사용하여야 하고 결국 원료 가격의 상승으로 경제성과 실용성이 떨어지는 문제점이 있다. 이러한 이유로 식물 유래 항산화제의 발굴은 합성 항산화제에 버금가는 활성을 나타내는 물질을 찾는 데 집중되어 있다.

[0007] 최근 항산화 활성을 보이는 물질을 탐색하기 위한 항산화 활성 측정 기법으로서 TRAP 법(*Anal Biochem.*, 28, pp300-306. 1989), DPPH 법(*Nature* 181:1198-1200 (1958)), ABTS 법(*Methods Enzymol.* 234: 279-293 (1994); *Clin. Sci.* 84: 407-412 (1993); *Free Rad. Biol. Med.* 20: 933-956 (1996)), ORAC 법(*Free Rad. Biol. Med.* 18:29-36 (1995)), TOSC 법(*Free Rad. Biol. Med.* 24(3):480-493 (1998); *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 156(2):96-105 (1999)), Potassium ferricyanide 법(*Jpn. J. of Nutr.* 44:307-315, 1986), SOD 유사활성 측정 법(*Eur J Biochem* 47:469-474, 1974) 등 다양한 방법이 개발되어 있다.

[0008] 물여뀌(*Polygonum amphibium*)는 마디풀목 마디풀과 여뀌속에 해당하는 여러해살이풀로서 물속이나 물가에 사는 것으로 알려져 있다.

[0009] 본 발명은 DPPH 법 및 Potassium ferricyanide 법에 의하여 항산화 활성이 확인된 물여뀌 추출물을 개시한다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0010] 본 발명의 목적은 물여뀌 추출물을 이용한 항산화용 조성물을 제공하는 데 있다.

[0011] 본 발명의 다른 목적이나 구체적인 목적은 이하에서 제시될 것이다.

**과제의 해결 수단**

[0012] 본 발명자들은 아래의 실시예 및 실험예에서 확인되는 바와 같이, DPPH 법과 Potassium ferricyanide 법에 의해 물여뀌 추출물의 항산화 활성을 측정하였을 때, 물여뀌 추출물이 뚜렷하게 농도 의존적으로 항산화 활성을 보임을 확인하였다. 나아가 본 발명자들은 물여뀌 추출물이 세균 외막 지질다당류인 LPS(lipopolysaccharide)로 염증반응을 유도한 BV2 소교세포(BV2 Microglial Cells)에 처리될 때 NO 생성을 억제하고 염증성 사이토카인인 TNF- $\alpha$ 의 생성을 억제함을 확인하였으며, 또한 물여뀌 추출물이 PC-3 전립선암 세포에 대해서 높은 세포사멸 활성(세포독성 활성)을 보임을 확인하였다.

[0013] 본 발명은 이러한 실험 결과에 의하여 제공되는 것으로, 본 발명은 일 측면에 있어서 물여뀌 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화용 조성물에 관한 것이고, 다른 측면에 있어서 물여뀌 추출물을 유효성분으로 포함하는 항염증용 조성물에 관한 것이며, 또 다른 측면에 있어서는 물여뀌 추출물을 유효성분으로 포함하는 전립선암에 대한 항암용 조성물에 관한 것이다.

[0014] 본 명세서에서, "물여뀌 추출물"이란 추출 대상인 물여뀌 전초, 잎, 줄기, 지상부, 뿌리, 근경, 지하부 또는 이들의 혼합물을 물, 탄소수 1 내지 4의 저급 알콜(메탄올, 에탄올, 부탄올 등), 메틸렌클로라이드, 에틸렌, 아세톤, 헥산, 에테르, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트, N,N-디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO), 1,3-부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 또는 이들의 혼합 용매를 사용하여 침출하여 얻어진 추출물, 이산화탄소, 펜탄 등 초임계 추출 용매를 사용하여 얻어진 추출물 또는 그 추출물을 분획하여 얻어진 분획물을 의미하며, 추출 방법은 활성물질의 극성, 추출 정도, 보존 정도를 고려하여 냉침, 환류, 가온, 초음파 방사, 초임계 추출 등 임의의 방법을 적용할 수 있다. 분획된 추출물의 경우 추출물을 특정 용매에 현탁시킨 후 극성이 다른 용매와 혼합·정지시켜 얻은 분획물, 상기 조추출물을 실리카겔 등이 충전된 칼럼에 흡착시킨 후 소수성 용매, 친수성 용매 또는 이들의 혼합 용매를 이동상으로 하여 얻은 분획물을 포함하는 의미이다. 또한 상기 추출물의 의미에는 동결건조, 진공건조, 열풍건조, 분무건조 등의 방식으로 추출 용매가 제거된 농축된 액상의 추출물 또는 고형상의 추출물이 포함된다. 바람직하게는 추출용매로서 물, 에탄올 또는 이들의 혼합 용매를 사용하여 얻어진 추출물을 의미한다.

[0015] 또 본 명세서에서 "유효성분"이란 단독으로 목적하는 활성을 나타내거나 또는 그 자체는 활성이 없는 담체와 함께 활성을 나타낼 수 있는 성분을 의미한다.

[0016] 또 본 명세서에서, "항염증"은 아래에서 정의되는 염증성 질환의 개선(증상의 경감), 치료, 그러한 질환의 발병 억제 또는 지연을 포함하는 의미이다.

[0017] 또 본 명세서에서, 상기 "염증성 질환"이란 외부의 물리·화학적 자극 또는 박테리아, 곰팡이, 바이러스, 각종 알레르기 유발 물질 등 외부 감염원의 감염 또는 자가면역에 대한 국부적 또는 전신적 생체 방어 반응으로 특정되는 염증 반응이 일으키는 병리적 증상으로서 정의될 있다. 이러한 염증 반응은 각종 염증 매개 인자와 면역세포와 관련된 효소(예컨대 iNOS, COX-2 등) 활성화, 염증 매개 물질의 분비(예컨대, NO, TNF- $\alpha$ , IL-6 등의 분비), 체액 침윤, 세포 이동, 조직 파괴 등의 일련의 복합적인 생리적 반응을 수반하며, 홍반, 통증, 부종, 발열, 신체의 특정 기능의 저하 또는 상실 등의 증상에 의해 외적으로 나타난다. 상기 염증성 질환은 급성, 만성, 궤양성, 알레르기성 또는 괴사성을 띌 수 있으므로, 어떠한 질환이 상기와 같은 염증성 질환의 정의에 포함되는 한 그것이 급성이든지, 만성이든지, 궤양성이든지, 알레르기성이든지 또는 괴사성이든지를 불문한다. 구체적으로 상기 염증성 질환에는 천식, 알레르기성 및 비-알레르기성 비염, 만성 및 급성 비염, 만성 및 급성 위염 또는 장염, 궤양성 위염, 급성 및 만성 신장염, 급성 및 만성 간염, 만성 폐쇄성 폐질환, 폐섬유증, 과민성 대장 증후군, 염증성 통증, 편두통, 두통, 허리 통증, 섬유 근육통, 근막 질환, 바이러스 감염(예컨대, C형 감염), 박테리아 감염, 곰팡이 감염, 화상, 외과적 또는 치과적 수술에 의한 상처, 프로스타글라딘 E 과다 증후군, 아테롬성 동맥 경화증, 통풍, 관절염, 류머티스성 관절염, 강직성 척추염, 호지킨병, 췌장염, 결막염, 홍채염, 공

막염, 포도막염, 피부염(아토피성 피부염 포함), 습진, 다발성 경화증 등이 포함될 것이다.

- [0018] 또 본 명세서에서, "항암"이란 암세포의 사멸, 암세포의 증식 억제, 암이 가지는 병리적 증상의 개선, 치료 또는 그러한 병리적 증상의 발병 억제/지연을 포함하는 의미이다.
- [0019] 본 발명의 항산화용 조성물, 항염증용 조성물 및 항암용 조성물(이하 "본 발명의 조성물")에서 그 유효성분은 그것이 항산화 활성, 항염증 활성, 항암 활성 등을 나타낼 수 있는 한, 용도, 제형, 배합 목적 등에 따라 임의의 양(유효량)으로 포함될 수 있는데, 통상적인 유효량은 조성물 전체 중량을 기준으로 할 때 0.001 중량 % 내지 20.0 중량 % 범위 내에서 결정될 것이다. 여기서 "유효량"이란 그 적용 대상인 포유동물 바람직하게는 사람에게 의료 전문가 등의 제언에 의한 투여 기간 동안 본 발명의 조성물이 투여될 때, 항산화 효과, 항염증 효과, 항암 효과 등 의도한 의료적·약리학적 효과를 나타낼 수 있는, 본 발명의 조성물에 포함되는 유효성분의 양을 말한다. 이러한 유효량은 당업자의 통상의 능력 범위 내에서 실험적으로 결정될 수 있다.
- [0020] 본 발명의 조성물은 구체적인 양태에 있어서 식품 조성물로서 파악할 수 있다.
- [0021] 본 발명의 식품 조성물은 어떠한 형태로도 제조될 수 있으며, 예컨대 차, 주스, 탄산음료, 이온음료 등의 음료류, 우유, 요구르트 등의 가공 유류(乳類), 껌류, 떡, 한과, 빵, 과자, 면 등의 식품류, 정제, 캡슐, 환, 과립, 액상, 분말, 편상, 페이스트상, 시럽, 젤, 젤리, 바 등의 건강기능식품 제제류 등으로 제조될 수 있다. 또 본 발명의 식품 조성물은 법률상·기능상의 구분에 있어서 제조·유통 시점의 시행 법규에 부합하는 한 임의의 제품 구분을 떨 수 있다. 예컨대 한국 "건강기능식품에관한법률"에 따른 건강기능식품이거나, 한국 "식품위생법"의 식품공전(식약처 고시 "식품의 기준 및 규격"임)상 각 식품유형에 따른 과자류, 두류, 다류, 음료류, 특수용도식품 등일 수 있다.
- [0022] 본 발명의 식품 조성물에는 그 유효성분 이외에 식품첨가물이 포함될 수 있다. 식품첨가물은 일반적으로 식품을 제조, 가공 또는 보존함에 있어 식품에 첨가되어 혼합되거나 침윤되는 물질로서 이해될 수 있는데, 식품과 함께 매일 그리고 장기간 섭취되므로 그 안전성이 보장되어야 한다. 식품의 제조·유통을 규율하는 각국 법률(한국에서는 "식품위생법"임)에 따른 식품첨가물공전에는 안전성이 보장된 식품첨가물이 성분 면에서 또는 기능 면에서 한정적으로 규정되어 있다. 한국 식품첨가물공전(식약처 고시 "식품첨가물 기준 및 규격")에서는 식품첨가물이 성분 면에서 화학적 합성품, 천연 첨가물 및 혼합 제제류로 구분되어 규정되어 있는데, 이러한 식품첨가물은 기능 면에 있어서는 감미제, 풍미제, 보존제, 유효제, 산미료, 점증제 등으로 구분된다.
- [0023] 감미제는 식품에 적당한 단맛을 부여하기 위하여 사용되는 것으로, 천연의 것이거나 합성된 것 모두 본 발명의 식품 조성물에 사용할 수 있다. 바람직하게는 천연 감미제를 사용하는 경우인데, 천연 감미제로서는 옥수수 시럽 고형물, 꿀, 수크로오스, 프룩토오스, 락토오스, 말토오스 등의 당 감미제를 들 수 있다.
- [0024] 풍미제는 맛이나 향을 좋게 하기 위한 용도로 사용되는 것으로, 천연의 것과 합성된 것 모두 사용될 수 있다. 바람직하게는 천연의 것을 사용하는 경우이다. 천연의 것을 사용할 경우에 풍미 이외에 영양 강화의 목적도 병행할 수 있다. 천연 풍미제로서는 사과, 레몬, 감귤, 포도, 딸기, 복숭아 등에서 얻어진 것이거나 녹차잎, 둥굴레, 대잎, 계피, 국화 잎, 자스민 등에서 얻어진 것일 수 있다. 또 인삼(홍삼), 죽순, 알로에 베라, 은행 등에서 얻어진 것을 사용할 수 있다. 천연 풍미제는 액상의 농축액이나 고형상의 추출물일 수 있다. 경우에 따라서 합성 풍미제가 사용될 수 있는데, 합성 풍미제로서는 에스테르, 알콜, 알데하이드, 테르펜 등이 이용될 수 있다.
- [0025] 보존제로서는 소르브산칼슘, 소르브산나트륨, 소르브산칼륨, 벤조산칼슘, 벤조산나트륨, 벤조산칼륨, EDTA(에틸렌디아민테트라아세트산) 등이 사용될 수 있고, 또 유효제로서는 아카시아검, 카르복시메틸셀룰로스, 잔탄검, 펙틴 등이 사용될 수 있으며, 산미료로서는 연산, 말산, 푸마르산, 아디프산, 인산, 글루콘산, 타르타르산, 아스코르브산, 아세트산, 인산 등이 사용될 수 있다. 산미료는 맛을 증진시키는 목적 이외에 미생물의 증식을 억제할 목적으로 식품 조성물이 적정 산도로 되도록 첨가될 수 있다. 점증제로서는 현탁화 구현제, 침강제, 겔형성제, 팽화제 등이 사용될 수 있다.
- [0026] 본 발명의 식품 조성물은 전술한 바의 식품첨가물 이외에, 기능성과 영양성을 보충·보강할 목적으로 당업계에 공지되고 식품첨가물로서 안정성이 보장된 생리활성 물질이나 미네랄류를 포함할 수 있다.
- [0027] 그러한 생리활성 물질로서는 녹차 등에 포함된 카테킨류, 비타민 B1, 비타민 C, 비타민 E, 비타민 B12 등의 비타민류, 토코페롤, 디벤조일티아민 등을 들 수 있으며, 미네랄류로서는 구연산칼슘 등의 칼슘 제제, 스테아린산 마그네슘 등의 마그네슘 제제, 구연산철 등의 철 제제, 염화크롬, 요오드칼륨, 셀레늄, 게르마늄, 바나듐, 아연



등을 들 수 있다.

- [0028] 본 발명의 식품 조성물에는 전술한 바의 식품첨가물이 제품 유형에 따라 그 첨가 목적을 달성할 수 있는 적량으로 포함될 수 있다.
- [0029] 본 발명의 식품 조성물에 포함될 수 있는 기타의 식품첨가물과 관련하여서는 각국 법률에 따른 식품공전이나 식품첨가물공전을 참조할 수 있다.
- [0030] 본 발명의 조성물은 다른 구체적인 양태에 있어서는 약제학적 조성물로 파악될 수 있다.
- [0031] 본 발명의 약제학적 조성물은 유효성분 이외에 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하여 당업계에 공지된 통상의 방법으로 투여 경로에 따라 경구용 제형 또는 비경구용 제형으로 제조될 수 있다. 여기서 투여 경로는 국소 경로, 경구 경로, 정맥 내 경로, 근육 내 경로, 및 점막 조직을 통한 직접 흡수를 포함하는 임의의 적절한 경로일 수 있으며, 두 가지 이상의 경로를 조합하여 사용할 수도 있다. 두 가지 이상 경로의 조합의 예는 투여 경로에 따른 두 가지 이상의 제형의 약물이 조합된 경우로서 예컨대 1차로 어느 한 약물은 정맥 내 경로로 투여하고 2차로 다른 약물은 국소 경로로 투여하는 경우이다.
- [0032] 약학적으로 허용되는 담체는 투여 경로나 제형에 따라 당업계에 주지되어 있으며, 구체적으로는 "대한민국약전"을 포함한 각국의 약전을 참조할 수 있다.
- [0033] 본 발명의 약제학적 조성물이 경구용 제형으로 제조될 경우, 적합한 담체와 함께 당업계에 공지된 방법에 따라 분말, 과립, 정제, 환제, 당의정제, 캡슐제, 액제, 겔제, 시럽제, 현탁액, 웨이퍼 등의 제형으로 제조될 수 있다. 이때 적합한 담체의 예로서는 락토스, 글루코스, 슈크로스, 텍스트로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨 등의 당류, 옥수수 전분, 감자 전분, 밀 전분 등의 전분류, 셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 나트륨 카복시메틸셀룰로오스, 하이드록시프로필메틸셀룰로오스 등의 셀룰로오스류, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 마그네슘 스테아레이트, 광물유, 맥아, 젤라틴, 탈크, 폴리올, 식물성유, 에탄올, 그리세롤 등을 들 수 있다. 제제화할 경우 필요에 따라적절한 결합제, 윤활제, 붕해제, 착색제, 희석제 등을 포함시킬 수 있다. 적절한 결합제로서는 전분, 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분페리스트, 젤라틴, 메틸셀룰로스, 소듐 카복시메틸셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 글루코스, 옥수수 감미제, 소듐 알지네이트, 폴리에틸렌 글리콜, 왁스 등을 들 수 있고, 윤활제로서는 올레산나트륨, 스테아르산나트륨, 스테아르산마그네슘, 벤조산나트륨, 초산나트륨, 염화나트륨, 실리카, 탈콰, 스테아르산, 그것의 마그네슘염과 칼슘염, 폴리데틸렌글리콜 등을 들 수 있으며, 붕해제로서는 전분, 메틸 셀룰로스, 아가(agar), 벤토나이트, 잔탄 검, 전분, 알긴산 또는 그것의 소듐 염 등을 들 수 있다. 또 희석제로서는 락토즈, 텍스트로스, 슈크로스, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로스, 글라이신 등을 들 수 있다.
- [0034] 본 발명의 약제학적 조성물이 비경구용 제형으로 제조될 경우, 적합한 담체와 함께 당업계에 공지된 방법에 따라 주사제, 경피 투여제, 비강 흡입제 및 좌제의 형태로 제제화될 수 있다. 주사제로 제제화할 경우 적합한 담체로서는 수성 등장 용액 또는 현탁액을 사용할 수 있으며, 구체적으로는 트리에탄올 아민이 함유된 PBS(phosphate buffered saline)나 주사용 멸균수, 5% 텍스트로스 같은 등장 용액 등을 사용할 수 있다. 경피 투여제로 제제화할 경우 연고제, 크림제, 로션제, 겔제, 외용액제, 파스타제, 리니먼트제, 에어로졸제 등의 형태로 제제화할 수 있다. 비강 흡입제의 경우 디클로로플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 등의 적합한 추진제를 사용하여 에어로졸 스프레이 형태로 제제화할 수 있으며, 좌제로 제제화할 경우 그 담체로는 위텡솔(witepsol), 트윈(tween) 61, 폴리에틸렌글리콜류, 카카오지, 라우린지, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르류, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트류, 소르비탄 지방산 에스테르류 등을 사용할 수 있다.
- [0035] 약제학적 조성물의 구체적인 제제화와 관련하여서는 당업계에 공지되어 있으며, 예컨대 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences(19th ed., 1995)] 등을 참조할 수 있다. 상기 문헌은 본 명세서의 일부로서 간주된다.
- [0036] 본 발명의 약제학적 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태, 체중, 성별, 연령, 환자의 중증도, 투여 경로에 따라 1일 0.001mg/kg ~ 10g/kg 범위, 바람직하게는 0.001mg/kg ~ 1g/kg 범위일 수 있다. 투여는 1일 1회 또는 수회로 나누어 이루어질 수 있다. 이러한 투여량은 어떠한 측면으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 아니 된다.
- [0037] 본 발명의 조성물은 다른 구체적인 양태에 있어서는 화장품 조성물로 파악될 수 있다. 본 발명의 조성물 중 산화용 조성물이 화장품 조성물로 파악될 경우 그 용도는 "안티에이징"이 용도로도 이해될 수 있으며, 항염증용

조성물의 경우는 "피부 자극 완화"의 용도로도 이해될 수 있다.

- [0038] 본 발명의 조성물이 화장료 조성물로 파악될 경우에도 그 화장료 조성물은 그 용도상, 법률상 임의의 제품 구분을 떨 수 있으며, 구체적으로 피부 주름 개선 등의 용도를 가진 기능성 화장품, 비기능성 일반 화장품 등일 수 있다. 제품 형태에 있어서도 임의의 제품 형태를 떨 수 있는데, 구체적으로 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 스프레이 등으로 제형화될 수 있다. 구체적인 제품 형태에 있어서는 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형 등일 수 있다.
- [0039] 본 발명의 화장료 조성물은 그 유효성분 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들, 예컨대, 안정화제, 용해화제, 계면활성제, 비타민, 색소 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 및 담체를 포함할 수 있다.
- [0040] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 진분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0041] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0042] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜, 소르비탄의 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0043] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록사이드, 벤토나이트, 아가 등이 이용될 수 있다.
- [0044] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0045] 본 발명의 화장료 조성물은 그 유효성분을 포함하는 것을 제외하고는 당업계에 통상적으로 행하여지는 화장료 조성물의 제조방법에 따라 제조할 수 있다.

**발명의 효과**

- [0046] 전술한 바와 같이, 본 발명에 따르면 물여귀 추출물을 이용한 항산화용 조성물을 제공할 수 있다. 더불어 본 발명에 따르면 물여귀 추출물을 이용한 항염증용 조성물과 항암용 조성물을 제공할 수 있다. 이러한 본 발명의 조성물들은 식품, 화장품, 약품 등으로 제품화될 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

- [0047] 도 1은 DPPH 법에 의해 물여귀 추출물의 항산화 활성을 측정한 결과이다.
- 도 2는 Potassium ferricyanide 법에 의해 물여귀 추출물의 항산화 활성을 측정한 결과이다.
- 도 3은 LPS로 처리된 BV2 소교세포에서 물여귀 추출물이 NO 생성을 억제함을 보여주는 결과이다.
- 도 4는 LPS로 처리된 BV2 소교세포에서 물여귀 추출물이 TNF- $\alpha$  생성을 억제함을 보여주는 결과이다.
- 도 5는 물여귀 추출물의 BV2 소교세포에 대한 세포독성 결과이다.
- 도 6은 물여귀 추출물의 전립선암세포주인 PC-3에 대한 세포독성 결과이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0048] 이하 본 발명을 실시예 및 실험예를 참조하여 설명한다. 그러나 본 발명의 범위가 이러한 실시예 및 실험예에



한정되는 것은 아니다.

- [0049] <실시예> 물여뀌 추출물의 제조
- [0050] 경상북도 낙동강 유역(칠곡)에서 채집한 물여뀌(전초)를 음건세절하고 여기에 20배 중량의 에탄올(100% ethanol, HPLC grade)을 첨가하여 24시간 침출한 뒤 와트만(whatman paper) 여과지 No.2로 여과하고 그 여과액을 감압농축하여 물여뀌 추출물을 제조하였다.
- [0051] <실험예> 물여뀌 추출물의 항산화 활성 실험, 항염증 활성 실험 및 항암 활성 실험
- [0052] <실험예 1> 항산화 활성 실험
- [0053] <1-1> DPPH radical 소거 활성
- [0054] 준비된 시료를 메탄올에 녹여 농도별로 조제한 시료에 0.2 mM DPPH를 가하고 실온에서 30분간 반응시켰다. 반응이 끝난 뒤 515nm에서 흡광도(Multiplater spectrophotometer ELx800TM, BioTek, USA)를 측정하고, DPPH 라디칼 소거 활성을 시료 무처리군과 비교하여 백분율로 구하고 결과를 [도 1]에 나타내었다. 양성대조군은 아스코빅산(ascorbic acid)을 사용하였다.
- [0055] [도 1]을 참조하여 보면, 물여뀌 추출물이 처리 농도에 비례하여 DPPH 라디칼 소거 활성을 보임을 알 수 있으며, 50%의 소거 활성에 해당하는 농도 IC<sub>50</sub>은 27.64 $\mu$ g/ml로 나타났다.
- [0056] <1-2> 환원력 측정 - Potassium ferricyanide 법
- [0057] 농도별로 조제한 시료에 0.2mM의 sodium phosphate buffer(pH 6.6) 1% potassium ferricyanide[K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>]를 넣은 다음 50 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시켰다. 반응 후 10% TCA(Trichloroacetic acid) 용액을 넣은 뒤 실온에서 10분간 놓아두고 상층액을 취해 3차 증류수와 0.1%의 염화제이철(FeCl<sub>3</sub>)을 넣어 발색반응을 유도시킨 다음, 700nm에서 흡광도(Multiplater spectrophotometer ELx800TM, BioTek, USA)를 측정하고 결과를 [도 2]에 나타내었다. 양성대조군은 여기서도 아스코빅산(ascorbic acid)을 사용하였다.
- [0058] [도 2]을 참조하여 보면 농도 의존적으로 환원력이 증가함을 알 수 있다.
- [0059] <실험예 2> 항염증 활성의 측정
- [0060] <실험예 2-1> NO 생성 억제 활성의 평가
- [0061] BV2 소교세포(ATCC 구입)는 10% 소태아혈청(fetal bovine serum)(FBS) 및 항생제(100 $\mu$ g/ml 스트렙토마이신(streptomycin)과 100U/ml 페니실린(penicillin))가 첨가된 DMEM 배지(Dulbecco's modified eagle's medium)으로 37 $^{\circ}$ C, 7% CO<sub>2</sub> 배양기에서 100 mm 배양조로 배양하였고 2일에서 3일에 한 번씩 분주함과 동시에 배양액을 갈아주었다.
- [0062] 다음 BV2 소교세포를 24 well plate에 1 $\times$ 10<sup>6</sup> cells/well의 세포 수로 분주하고 시료(100 $\mu$ g/mL)만을 처리하거나 LPS(1 $\mu$ g/mL)만을 처리하거나 또는 시료(100 $\mu$ g/mL)와 LPS(1 $\mu$ g/mL)를 동시에 처리하여 24시간 배양하였다. 생성된 NO의 양은 Griess 시약 1 % (w/v)(sulfanilamide, 0.1% (w/v) naphylethylenediamine in 2.5% (v/v) phosphoric acid)을 이용하여 세포배양액 중에 존재하는 NO<sup>2-</sup>의 형태로 측정하였다. 세포배양 상등액 100 $\mu$ l와 Griess 시약 100 $\mu$ l를 혼합하여 96 well plates에서 10분 동안 반응시킨 후 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 생성된 NO의 양은 sodium nitrite (NaNO<sub>2</sub>)를 standard로 비교하여 정량하였고 결과를 [도 3]에 나타내었다.
- [0063] [도 3]을 참조하여 보면 물여뀌 추출물이 뚜렷하게 NO 생성을 억제함을 알 수 있다.
- [0064] <실험예 2-2> TNF- $\alpha$  생성 억제 활성의 평가
- [0065] 상기 <실험예 2-1>과 같이 BV2 소교세포를 24 well plate에 1 $\times$ 10<sup>6</sup> cells/well의 세포 수로 분주하고 시료(100 $\mu$ g/mL)만을 처리하거나 LPS(1 $\mu$ g/mL)만을 처리하거나 또는 시료(100 $\mu$ g/mL)와 LPS(1 $\mu$ g/mL)를 동시에 처리하여 24시간 배양하였다. 24시간 후 배양 배지를 원심분리(12,000rpm, 3분)하여 얻어진 상층액의 TNF- $\alpha$ 의 함량을 ELISA kit(R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 정량하고 그 결과를 [도 4]에 나타내었다.
- [0066] [도 4]을 참조하여 보면 물여뀌 추출물이 뚜렷하게 TNF- $\alpha$ 의 생성을 억제함을 알 수 있다.

[0067] <실험예 2-3> 세포독성 평가

[0068] 6 well plate에  $1 \times 10^6$  세포(cells)/ml로 BV2 소교세포를 분주하고 24시간 동안 배양한 후 DMEM 배지에 희석한 시료( $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ )만을 처리하거나 LPS( $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ )만을 처리하거나 또는 시료( $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ )와 LPS( $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ )를 동시에 처리하였다. 24시간이 지난 후 MTT시약을 넣고 4시간 동안 어두운 곳에서 배양한 후 상등액을 제거하고 형성된 MTT 포르마잔(formazan)을 이소프로판올(isopropanol) 1 ml에 첨가하여 녹였다. 10분 후 540nm에서 흡광도 (Multiplater spectrophotometer ELx800TM, BioTek, USA)를 측정하여 세포독성을 평가하였다. 세포독성을 시료 무처리군과 비교하여 백분율로 구하고 결과를 [도 5]에 나타내었다.

[0069] [도 5]를 참조하여 보면  $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 세포독성을 보이지 않음을 알 수 있다.

[0070] <실시예 3> 전립선암에 대한 항암 활성 실험

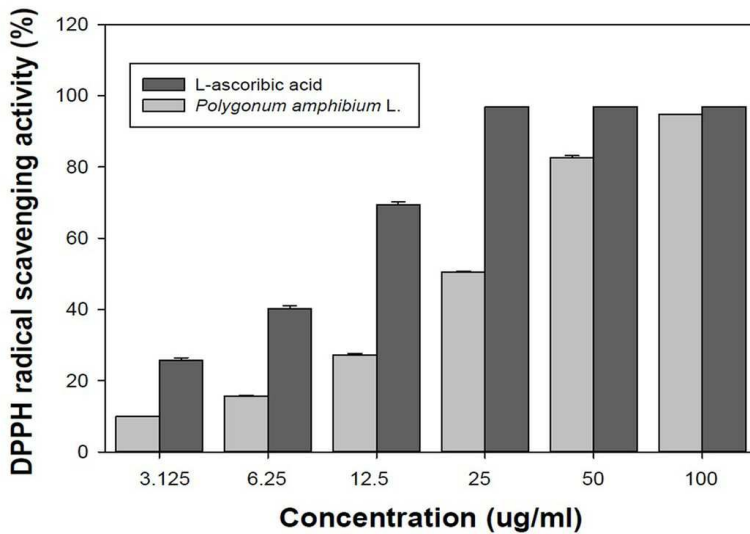
[0071] 상기 <실험예 2-3>과 동일한 방법으로 시료의 전립선암세포주인 PC-3(ATCC 구입)에 대한 세포독성을 평가하였다. 결과를 마찬가지로 시료 무처리군과 비교하여 백분율로 구하여 [도 6]에 나타내었다.

[0072] [도 6]을 참조하여 보면 물여끼 추출물이 대체로 농도 의존적으로 전립선암세포주에 대해 세포사멸효과를 보임을 알 수 있다.

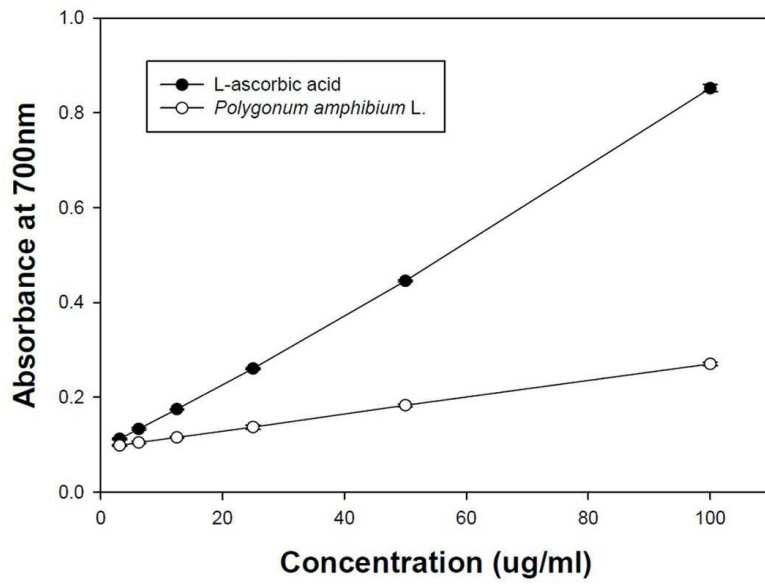
[0073] .

도면

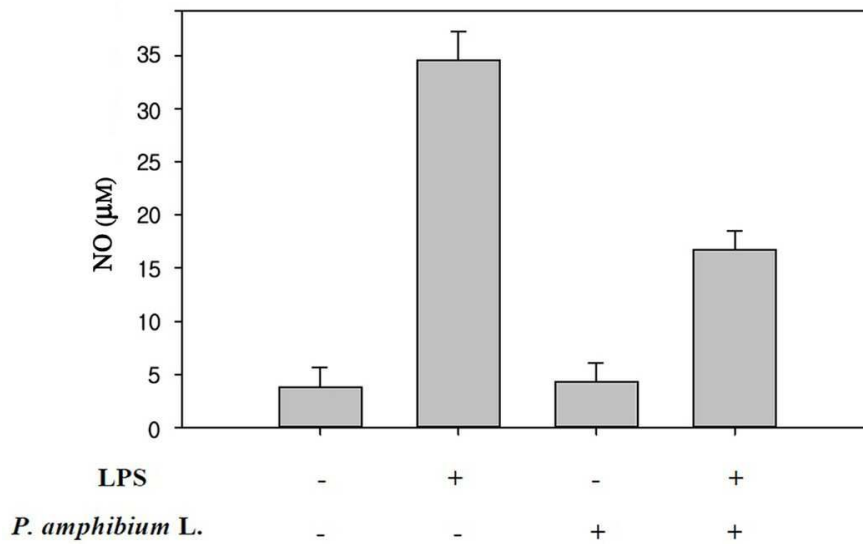
도면1



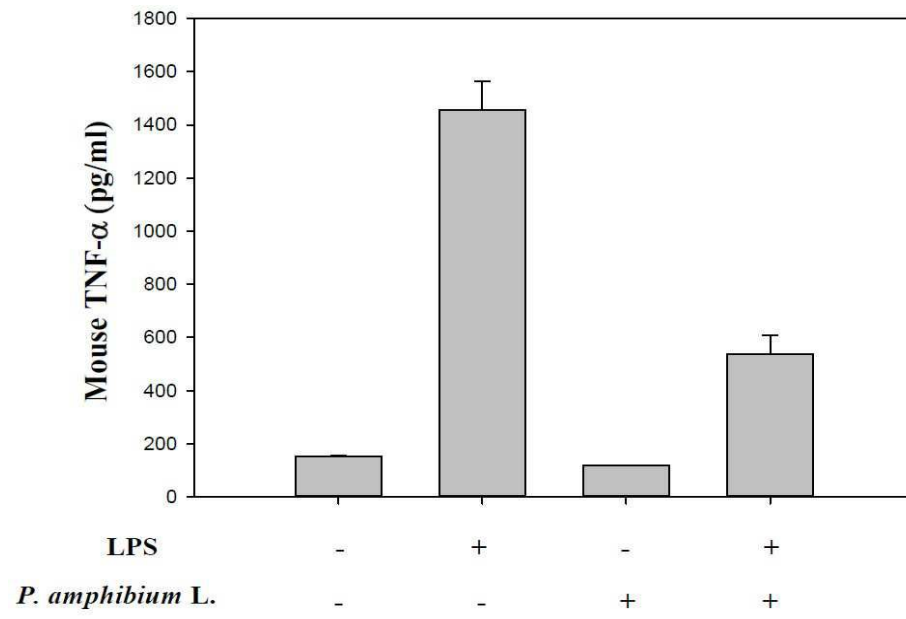
도면2



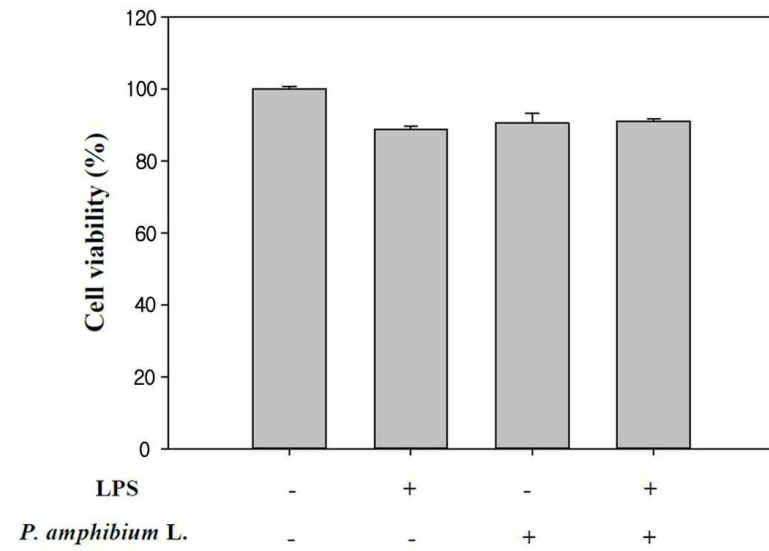
도면3



도면4



도면5



도면6

