



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0021734

(43) 공개일자 2016년02월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/82 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)

A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/82 (2013.01)

A23L 1/3002 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0188094(분할)

(22) 출원일자 2015년12월29일

심사청구일자 없음

(62) 원출원 특허 10-2014-0001449

원출원일자 2014년01월06일

심사청구일자 2014년01월06일

(71) 출원인

연세대학교 원주산학협력단

강원도 원주시 흥업면 연세대길 1

대구대학교 산학협력단

경상북도 경산시 진량읍 대구대로 201 (대구대학교)

(72) 발명자

박인식

강원도 원주시 시청로 64, 109동 303호 (무실동, 요진보네르카운티아파트)

서동근

강원도 원주시 흥업면 연세대길 1, 연세대학교원주캠퍼스 미래관 516호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인미주

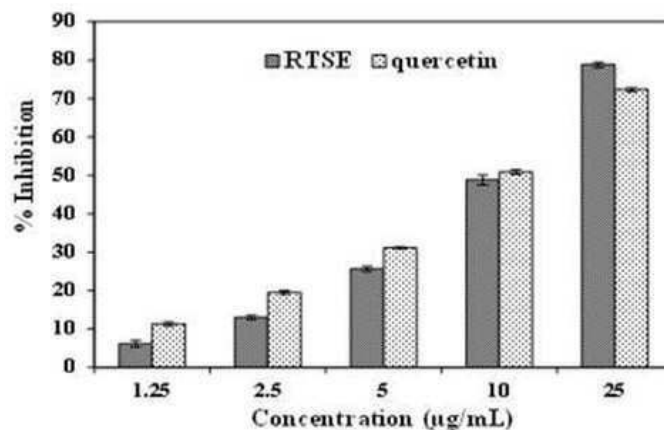
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 홍차줄기 추출물을 함유하는 항산화성 조성물

(57) 요약

본 발명은 홍차부산물인 홍차줄기로부터 추출하여 얻어진 홍차줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화성 조성물에 관한 것으로서, 본 발명에 따른 홍차줄기 추출물은 산소 자유라디칼에 의하여 원인이 될 수 있는 암, 심혈관계 질환, 관절염, 파킨슨씨병 등의 질병 예방 또는 치료, 건강기능식품 또는 식품의 산화방지를 위한 첨가제, 피부노화 방지용 또는 자외선에 의한 피부손상 방지용 화장품 등으로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61K 8/97 (2013.01)

A61Q 19/08 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/302 (2013.01)

A23V 2200/318 (2013.01)

A23V 2300/14 (2013.01)

(72) 발명자

박송용

강원도 원주시 흥업면 복원로 1600, 103동 1305호
(남원주 두산위브)

강선철

대구광역시 수성구 달구벌대로 3280, 102동 1402호
(신매동, 시지효성백년가약1단지아파트)

아닐야답

경상북도 경산시 진량읍 대구대로 359-2, 103호 (영일만원룸)

명세서

청구범위

청구항 1

홍차 줄기의 메탄올 또는 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 노화방지용 약학적 조성물.

청구항 2

홍차 줄기의 메탄올 또는 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 노화방지용 건강기능식품.

청구항 3

홍차 줄기의 메탄올 또는 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 또는 노화방지용 화장품 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001]

본 발명은 홍차의 부산물인 홍차줄기로부터 추출하여 얻어진 홍차줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 성 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002]

각종 산화반응, 화학약품, 식품, 인체질환 및 방사선 등에 의해 슈퍼옥사이드(superoxide, O_2^- , 하이드록실 라디칼(hydroxyl radical, $\cdot OH$) 및 과산화수소 (H_2O_2) 등과 같은 반응성이 큰 강한 활성산소와 프리 라디칼(free radical) 등이 생체 내에 생성되면 이들에 의해서 불포화 지방산이 다량 함유된 세포막의 지질이 산화되어 세포막에 지질 과산화물이 생성되게 된다. 세포막에 지질과산화물이 축적되면 세포막의 유동성과 기능성이 저하되어 세포의 전체적인 기능이 억제되고 세포의 구조도 변화하는 등 조직상에 국소적인 장애가 생기면서 각종 질환이 유발된다. 또한 활성산소와 프리 라디칼은 세포 구성성분인 핵산, 당 등을 변형 또는 파괴함으로써 암을 비롯하여 알코올성 간염 등의 간장 질환, 뇌혈관 장애로 인한 뇌졸중, 심근경색, 당뇨병성 혈관장애, 고지혈증, 급성염증, 류마티스 질환 등 각종 인체 질환의 원인이 되고 있다. 산소 자유라디칼에 의하여 원인이 될 수 있는 질환에는 암, 고혈압, 동맥경화 또는 심근경색과 같은 심혈관계 질환, 관절염, 류마티스성관절염, 파킨슨씨병, 뇌졸중, 아토피성 피부염, 당뇨병, 백내장, 노화, 자가면역질환, 간염, 신장염, 통풍, 뇌장애 등을 들 수 있다. 예를 들어 활성산소는 세포를 손상시켜 신체 노화를 촉진하고 자외선을 쏘이게 되면 멜라닌 색소가 형성되는데, 신진대사가 잘 이루어지지 않으면 기미, 주근깨가 생기게 되고, 콜라겐도 산화시키면서 피부탄력이 약해진다. 또한 활성산소가 지방질과 결합하여 과산화지질이 형성되고 이 과산화지질이 혈관에 축적되어 혈류장애가 발생할 수 있다. 또한 간 및 신장에 과산화지질이 쌓이는 경우 염증이 발생할 수 있고, 과산화지질이 피부 각층에 작용하여 아토피성 피부염을 발생시키기도 한다.

[0003]

또한 활성산소는 식품에 다량으로 존재하는 불포화 지방산 등과 반응하여 산패의 원인이 되어 식품의 안전성 및 고품질 유지에 결정적인 결함을 초래하기도 하며 각종 산화물에 의한 동식물의 산화적 스트레스, 미생물 발효시 발생하는 활성산소에 의한 수율저하 등 많은 분야에서 활성산소에 의한 문제가 야기되고 있다.

[0004]

따라서 강력하면서도 독성이 없는 항산화 활성을 갖는 새로운 물질의 발견은 각종 질병의 치료제 개발이나 노화방지용 화장품 첨가제 및 식품첨가제 등으로 매우 유용하게 활용될 것이다.

[0005]

지금까지 지질과산화 저해제로는 BHT(butylated hydroxy toluene) 및 BHA(butylated hydroxy anisol) 등과 같

은 합성 항산화제가 사용되어 왔으나, 이들 BHT나 BHA는 지질과산화 저해활성은 우수하나 암 또는 기형을 유발할 수 있는 가능성이 매우 높아 계속적으로 사용할 수 없는 단점이 있었다. 이에 천연 식물로부터 항산화 효과가 있는 물질을 분리하여 이용하려는 연구가 활발히 진행되고 있으며(Natural antioxidant from residual sources, Food Chem, 72, 145~171, 2001), 대표적인 천연 식물 유래 항산화제로는 로즈마리 추출물, 녹차 추출물 등이 있다. 또한, 감자껍질 추출물, 올리브박 및 포도씨 등이 항산화력을 나타낸다는 보고가 있다(Food Chem, 85, 215~220, 2004, Food Chem, 93, 197~204, 2005, Food Chem, 97, 472~479, 2006).

[0006] 그러나 이와 같이 다양한 천연 식물로부터 유래한 항산화제 물질에 대한 사회적, 기술적 필요성이 대두되고 있음에도 불구하고, 시장 내에서 안정적으로 공급되고 있는 천연 식품 유래 항산화제는 녹차 추출물, 로즈마리 추출물 등 몇 개에 국한되어 있는 실정이고, 제조단가가 높아 대중이 사용하기에는 부적절한 측면이 있었다.

[0007] 따라서 천연물로부터 새로운 항산화 활성물질을 창출하여 독성이나 부작용이 전혀 없는 동시에, 우수한 항산화 활성을 나타내면서도, 버려지는 폐자원을 활용하여 친환경적이고, 제조단가가 낮아 경제적인 천연 항산화제의 개발이 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 홍차줄기 추출물(RTSE)을 유효성분으로 함유하는 항산화성 조성물, 노화방지용 약학적 조성물, 항산화성 건강기능식품, 항산화성 화장품 조성물 및 식품변패 방지용 식품첨가제를 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명에서는 홍차줄기 추출물(RTSE)을 유효성분으로 함유하는 조성물을 제공함으로써, 항산화성 조성물, 노화방지용 약학적 조성물, 항산화성 건강기능식품, 항산화성 화장품 조성물 및 식품변패 방지용 식품첨가제로 활용될 수 있다.

발명의 효과

[0010] 본 발명은 홍차 부산물인 홍차줄기로부터 추출하여 얻어진 홍차줄기 추출물(RTSE)을 유효성분으로 함유하는 항산화성 조성물에 관한 것으로서, 본 발명에 따른 홍차줄기 추출물은 산소 자유라디칼에 의하여 원인이 될 수 있는 암, 심혈관계 질환, 관절염, 파킨슨씨병 등의 질병 예방 또는 치료, 건강기능식품 또는 식품의 산화방지를 위한 첨가제, 피부노화 방지용 또는 자외선에 의한 피부손상 방지용 화장품, 식품변패 방지용 식품 첨가제 등으로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 홍차줄기 추출물 및 표준물질 퀴세틴의 DPPH · 라디칼 소거활성을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.
 도 2는 홍차줄기 추출물 및 표준물질 퀴세틴의 ABTS ·⁺ 라디칼 소거활성을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.
 도 3은 홍차줄기 추출물 및 표준물질 퀴세틴의 NO 프리 라디칼 소거활성을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.
 도 4는 홍차줄기 추출물 및 표준물질 퀴세틴의 수퍼옥사이드 프리 라디칼 소거활성을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.
 도 5는 홍차줄기 추출물의 산화적 DNA 손상 보호효과 실험결과를 나타낸 것으로서 (A)는 서로 다른 농도의 홍차줄기 메탄올 추출물이 있거나, 없는 조건에서 과산화수소(33 mM)를 처리하였을 때의 pUC19 DNA UV 광분해의 전기영동패턴을 나타낸 것이고, lane 1은 무처리군, lane 2는 처리군(UV & H₂O₂), lane 3-7은 홍차줄기 추출물(각각 50, 100, 200, 400 및 800 µg/mL), lane 8은 양성대조군으로서 퀴세틴(50 µg/mL) 처리군을 나타낸 것이며,

(B)는 서로 다른 농도의 홍차줄기 추출물(50-800 $\mu\text{g/ml}$)의 존재 및 부존재 하 H_2O_2 의 UV-광분해 후 수퍼코일 및 오픈 서클러 DNA를 덴시토메트리(Densitometry)로 분석한 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0012] 본 발명은 홍차의 줄기 추출물(RTSE)을 유효성분으로 함유하는 항산화성 조성물을 제공한다.
- [0013] 본 발명의 일 양태에서, 상기 홍차의 줄기는 홍차(*Camellia sinensis*) 부산물로부터 수득된 것으로서 일반적으로 홍차의 재료로 사용되는 잎이 아닌 줄기(stem)부위를 말한다. 이러한 홍차 줄기는 그 자체로 식용하기가 매우 불편하여 대부분 부산물로 폐기되고 있으나, 본 발명에서는 이러한 홍차줄기 추출물이 홍차, 녹차와 대등하거나 더욱 우수한 수준의 항산화능 및 DNA 보호효과를 가지고 있는 것으로 나타나, 홍차줄기 추출물을 함유하는 조성물은 항산화성 조성물로 매우 유용하게 사용될 수 있다.
- [0014] 본 발명의 일 양태에서, 상기 추출물은 물, C_{1-4} 의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출할 수 있고, 보다 구체적으로 메탄올 또는 에탄올로 추출할 수 있다.
- [0015] 앞서 배경기술에서 언급한 바와 같이 산소 자유라디칼에 의하여 원인이 될 수 있는 질환에는 암, 고혈압, 동맥경화 또는 심근경색과 같은 심혈관계 질환, 관절염, 류마티스성관절염, 파킨슨씨 병, 뇌졸중, 아토피성 피부염, 당뇨병, 백내장, 노화, 자가면역질환, 간염, 신장염, 통풍, 뇌장애 등을 들 수 있다. 예를 들어 활성산소는 세포를 손상시켜 신체 노화를 촉진하고 자외선을 쬌리게 되면 멜라닌 색소가 형성되는데, 신진대사가 잘 이루어지지 않으면 기미, 주근깨가 생기게 되고, 콜라겐도 산화시키면서 피부탄력이 약해진다. 또한 활성산소가 지방질과 결합하여 과산화지질이 형성되고 이 과산화지질이 혈관에 축적되어 혈류장애가 발생할 수 있다. 또한 간 및 신장에 과산화지질이 쌓이는 경우 염증이 발생할 수 있고, 과산화지질이 피부각층에 작용하여 아토피성 피부염을 발생시키기도 한다. 따라서 본 발명에 따른 항산화성 조성물은 상기 질환의 예방, 완화, 개선 또는 치료 목적으로 활용될 수 있다.
- [0016] 본 발명은 홍차줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 노화방지용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0017] 본 발명의 일 양태에서, 상기 홍차의 줄기는 홍차(*Camellia sinensis*) 부산물로부터 수득된 것으로서 일반적으로 홍차의 재료로 사용되는 잎이 아닌 줄기(stem)부위를 말한다.
- [0018] 본 발명의 일 양태에서, 상기 추출물은 물, C_{1-4} 의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출할 수 있고, 보다 구체적으로 메탄올 또는 에탄올로 추출할 수 있다.
- [0019] 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, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스 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 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween)61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0020] 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.
- [0021] 상기 본 발명의 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다.
- [0022] 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, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 추출물은 1일 1 내

지 200 mg/kg으로, 바람직하게는 10 내지 100 mg/kg으로 투여될 수 있다.

- [0023] 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 노화 예방 또는 치료효과를 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.
- [0024] 본 발명에서 용어, "개체"란 항노화 활성을 통해 예방 또는 치료할 수 있는 질환이 이미 발병되었거나, 발병될 수 있는 인간을 포함한 모든 동물을 의미하고 본 발명의 추출물을 포함하는 조성물을 개체에게 투여함으로써, 상기 질환을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있다.
- [0025] 상기 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.
- [0026] 본 발명은 또한 홍차의 줄기 추출물을 함유하는 항산화성 식품을 제공한다.
- [0027] 본 발명의 식품 조성물에는 건강기능식품이 포함될 수 있다.
- [0028] 본 발명의 일 양태에서, 상기 홍차의 줄기는 홍차(*Camellia sinensis*) 부산물로부터 수득된 것으로서 일반적으로 홍차의 재료로 사용되는 잎이 아닌 줄기(stem)부위를 말한다.
- [0029] 본 발명의 일 양태에서, 상기 추출물은 물, C₁₋₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출할 수 있고, 보다 구체적으로 메탄올 또는 에탄올로 추출할 수 있다.
- [0030] 본 발명의 건강기능식품은, 홍차줄기 추출물을 포함하되, 적절한 식품보조첨가제가 포함될 수 있다.
- [0031] 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.
- [0032] 본 발명에서 용어 "건강기능식품"이란 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. 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 항산화 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.
- [0033] 유효 성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품의 제조 시에 본 발명에 따른 홍차줄기 추출물은 원료 조성물 중 1 ~ 10 중량%, 바람직하게는 5 ~ 10중량%의 양으로 첨가된다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하로도 사용될 수 있다.
- [0034] 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.
- [0035] 본 발명의 건강식품 조성물은 통상의 식품과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스 및 같은 디사카라이드 및 텍스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파탐과 같은 합성 감미제

등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g 이다.

[0036] 본 발명은 홍차의 줄기 추출물을 함유하는 항산화성 화장품 조성물을 제공한다.

[0037] 본 발명은 또한 홍차의 줄기 추출물을 함유하는 항산화성 건강기능식품을 제공한다.

[0038] 본 발명의 일 양태에서, 상기 홍차의 줄기는 홍차(*Camellia sinensis*) 부산물로부터 수득된 것으로서 일반적으로 홍차의 재료로 사용되는 잎이 아닌 줄기(stem)부위를 말한다.

[0039] 본 발명의 일 양태에서, 상기 추출물은 물, C₁₋₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출할 수 있고, 보다 구체적으로 메탄올 또는 에탄올로 추출할 수 있다.

[0040] 본 발명의 일 양태에서, 상기 화장품 조성물은 자외선에 의한 피부 DNA 손상 방지용인 것을 특징으로 한다.

[0041] 본 발명의 일 양태에서, 상기 화장품 조성물은 자외선차단제, 스킨, 로션, 크림, 에센스, 유액, 젤, 립스틱, 클렌징 폼, 클렌징 크림, 클렌징 워터, 분무제, 샴푸, 린스, 트리트먼트, 바디클렌저, 비누, 팩, 마사지제, 페이스파우더, 콤팩트, 파운데이션, 투웨이케이크 및 메이크업베이스로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 어느 하나로 제형화될 수 있으나, 이로 한정되는 것은 아니다.

[0042] 본 발명은 홍차줄기 추출물을 함유하는 식품변패 방지용 식품첨가제 조성물을 제공한다.

[0043] 본 발명은 또한 홍차의 줄기 추출물을 함유하는 항산화성 건강기능식품을 제공한다.

[0044] 본 발명의 일 양태에서, 상기 홍차의 줄기는 홍차(*Camellia sinensis*) 부산물로부터 수득된 것으로서 일반적으로 홍차의 재료로 사용되는 잎이 아닌 줄기(stem)부위를 말한다.

[0045] 본 발명의 일 양태에서, 상기 추출물은 물, C₁₋₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출할 수 있고, 보다 구체적으로 메탄올 또는 에탄올로 추출할 수 있다.

[0046] 이하, 본 발명에 따르는 실시예 및 본 발명에 따르지 않는 비교예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하나, 본 발명의 범위가 하기 제시된 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[0047] < 실험준비 > 실험재료의 구입

[0048] DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid), 염화제이철(ferric chloride), 그리스시약(Griess reagent), 니트로 블루 테트라졸리움(nitro blue tetrazolium, NBT), 잔틴(xanthine), 잔틴 옥시다아제(xanthine oxidase), 2,4,6-트리스(2-피리딜)-s-트리아진(2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine, TPTZ), 퀘세틴(quercetin), 소듐 니트로프루사이드(sodium nitroprusside, SNP) 및 과산화수소(hydrogen peroxide)는 시그마-알드리치(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

[0049] pUC19 플라스미드 DNA는 뉴잉글랜드 바이오랩(New England Biolabs, UK)으로부터 수득하였다. 추출물 제조에 사용된 메탄올은 최고 분석등급(highest analytical grade)을 사용하였다.

[0050] 실시예 1. 홍차줄기 추출물의 제조

[0051] 홍차줄기(*Camellia sinensis*)는 특수차 판매처에서 구입하였다(경북 경산시 하양읍 하양전통시장, 대한민국, 2013년). 홍차줄기 200 g을 분쇄하고, 95% 에탄올을 사용하여 실온에서 셰이커에서 24시간동안 3회 추출하였다. 여과 후 용매를 50℃에서, 로터리 진공농축기(rotary vacuum evaporator, Laborota 4000, Heidolph, Germany)를 사용하여 감압하에 농축하였다. 동결건조된 홍차줄기 추출물을 수득한 후, 각각의 용매에 용해시켰으며, 이를 다양한 분석 및 산화적 DNA 손상에 대한 보호 효과 측정을 통한 항산화능 평가에 사용하였다.

[0052]

실험예 1. DPPH 라디칼 소거능의 측정

[0053]

홍차줄기 추출물의 DPPH 프리 라디칼 소거활성을 Liyana-Pathirana, and Shahid(2005)의 다소 변형된 방법을 사용하여 측정하였다. 각기 다른 농도(5, 10, 25, 50, 100 및 200 $\mu\text{g/mL}$)의 홍차줄기 추출물 100 μl 를 각기 다른 테스트튜브에 넣었다. 0.1 mM DPPH 메탄올 용액을 준비하여 이 용액 900 μl 를 각 튜브에 첨가하고 세계 흔들어주었다. 각 튜브를 37℃의 암실에서 20분 간 정치하였다. 홍차줄기 추출물을 넣지 않은 것을 대조군으로 하였고, 다른 조건은 동일하게 하여 준비하였다. 각 샘플의 흡광도를 517 nm에서 측정하였다. 라디칼 소거활성은 홍차줄기 추출물에 의한 프리 라디칼 저해율로 표현하였고, 다음 식을 이용하여 계산되었다:

[0054]

라디칼 소거 활성(%) =

[0055]

$$[(\text{대조군의 흡광도} - \text{샘플의 흡광도}) / \text{대조군의 흡광도}] \times 100$$

[0056]

퀴세틴이 표준 항산화제로 사용되었다. 모든 농도에서 3회 실험되었고, 평균값으로 그래프를 작성하였다. 실험결과 도 1에 나타낸 바와 같다.

[0057]

DPPH · 라디칼은 항산화 분자에 의해 쉽게 환원되는, 517 nm에서 최대 흡광도를 가지는 안정한 라디칼이다. 홍차줄기 추출물의 라디칼 소거능은 도 1에 나타낸 바와 같으며, 각기 다른 농도의 홍차줄기 추출물로 인한 초기 DPPH 라디칼 흡수의 감소율로 나타났다. 본 실험에서, 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 홍차줄기 추출물은 68.84 %의 DPPH 라디칼 소거활성을 나타냈으며, 농도의존적으로 소거율이 증가하였다. 결과적으로 홍차줄기 추출물의 경우, 수소원자 또는 전자공여능 면에서 흡광도가 빨리 감소할수록 더욱 항산화능이 우수한 것으로 나타났다. 양성대조군으로 사용된 퀴세틴의 경우 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 81.4%의 DPPH 라디칼 저해활성을 나타냈으며, 농도의존적으로 소거율이 증가하였다. 그러므로 생활성 활성 분자의 존재로 인하여, 홍차줄기 추출물은 프리 라디칼, 특히 지질의 체인 자동산화(chain autoxidation)의 주요 증식자(propagator)인 지질과산화물(lipid peroxides) 또는 하이드로퍼옥사이드 라디칼에 수소(hydrogen)를 제공할 수 있으며, 지질과산화의 증식단계를 억제할 수 있다(Bamforth et al. 1993).

[0058]

실험예 2. ABTS 라디칼 소거활성 측정

[0059]

홍차줄기 추출물의 농도별 ABTS 라디칼 소거활성을 Re et al.(1999)법을 일부 수정한 방법에 따라 측정하였다.

[0060]

$\text{ABTS} \cdot ^+$ 를 7 mM의 농도로 물에 용해하였다. $\text{ABTS} \cdot ^+$ 라디칼 양이온은 ABTS 스톡 용액(stock solution)과 2.45 mM의 포타시움 퍼설페이트(potassium persulfate, final concentration)을 반응시켜 제조하였고, 이 혼합물을 사용 전 12-16시간 동안 상온 조건의 암실에 방치하였다. 분석에 앞서 용액을 에탄올로 희석하고(약 1:89 v/v), 30℃에서 평형을 유지하도록 하였고, 1 cm 큐벳에 넣어 734 nm에서 0.700 ± 0.02 의 흡광도를 나타내도록 하였다. 1.25, 2.5, 5, 10 및 20 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 홍차줄기 추출물 100 μl 를 900 μl $\text{ABTS} \cdot ^+$ 프리 라디칼 용액에 첨가하고, 30분간 배양하였다. OD값은 초기 혼합 후 정확히 30분 뒤에 측정되었다. 각 분석 시에는 적절한 용매 블랭크를 사용하였다.

[0061]

라디칼 소거활성은 홍차줄기 추출물에 의한 프리 라디칼 저해율로 표현하였고, 다음 식을 사용하여 계산하였다:

[0062]

라디칼 소거 활성(%) =

[0063]

$$[(\text{대조군의 흡광도} - \text{샘플의 흡광도}) / \text{대조군의 흡광도}] \times 100$$

[0064]

퀴세틴이 표준 항산화제로 사용되었다. 모든 농도에서 3회 실험되었고, 평균값으로 그래프를 작성하였다. 실험결과 도 2에 나타낸 바와 같다. 도 2에서 알 수 있듯이, 홍차줄기 추출물은 25 $\mu\text{g/mL}$ 에서 78.83%의 프리 라디칼 억제효과를 나타냈다. 홍차줄기 추출물은 25 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 직접적으로 프리 라디칼을 없애는 역할을 하였고, ABTS 라디칼 양이온의 우수한 소거 활성은 농도의존적으로 나타났다. 퀴세틴은 $12.08 \pm 0.65 \text{ IC}_{50}$ 및 72.53%의 억제율을 나타냈다(표 2 참조).

[0065]

상기 결과는 홍차줄기 추출물이 체인 브레이킹 반응을 통해 프리 라디칼을 소거하는 데에 있어 중요한 역할을 담당한다는 점, 매우 우수한 기능식품으로 사용될 수 있다는 점을 시사한다.

실험예 3. NO 프리 라디칼 소거활성 측정

NO(nitric oxide) 라디칼은 신경신호전달, 혈관 확장, 혈압 조절과 같은 여러 가지 생리 과정에 관여하는 중요한 분자 중 하나이다(Afanasev 2007). 산화적 스트레스 동안 NO 라디칼이 발생하는 경우 다양한 종양 및 관절염, 궤양성 대장염, 청소년 당뇨 및 다발성 경화증과 같은 감염질환의 주요 원인이 될 수 있다. 호기성 대사과정 동안 NO(nitric oxide) 분자는 산소 분자와 반응하여 NO₂, N₂O₄ 및 N₃O₄ 같은 중간체를 생성한다. 이러한 생성물은 유전독성이 매우 강하기 때문에 퓨린, 피리미딘의 탈아미노화 및 DNA 리가아제 및 DNA 알킬트랜스퍼라아제와 같은 효소의 변성을 유도한다(Lundberg et al. 2008). 생리적 pH에서 수용액 중의 SNP(sodium nitroprusside)는 자발적으로 NO(nitric oxide)를 생성하고(Marcocci et al. 1994), 산소와 반응하여 질산이온(nitric ion)을 발생시키는데, 이는 그리스시약을 사용하여 측정할 수 있다. NO 소거제는 산소와 경쟁하여 NO 생성을 최소화한다.

0.1 mM 인산완충액(PBS) 중의 SNP(10 mM)를 각기 다른 농도(25, 50, 100, 200, 및 400 µg/mL)의 홍차줄기 추출물과 혼합한 후 25°C에서 150분 동안 배양하였다. 배양한 후 그리스시약 A(4% H₃PO₄ 중의 2% 설파닐아마이드) 및 그리스시약 B(0.2% 나프틸에틸렌디아민 디하이드로클로라이드)를 첨가하고 10분간 배양하였다.

설파닐아마이드의 니트라이트(nitrite)의 디아조화(diazotization) 및 나프틸에틸렌디아민과의 순차적 커플링 동안 생성된 발색단, 즉 크로마포어(chromophore)의 OD값을 540 nm에서 측정하였다.

라디칼 소거 활성은 홍차줄기 추출물에 의한 프리 라디칼의 저해율로 표현하였고 다음 식을 사용하여 계산하였다:

라디칼 소거 활성(%) =

$$[(\text{대조군의 흡광도} - \text{샘플의 흡광도}) / \text{대조군의 흡광도}] \times 100$$

퀴세틴이 표준 항산화제로 사용되었다. 모든 농도에서 3회 실험되었고, 평균값으로 그래프를 작성하였다. 실험결과는 도 3에 도시된 바와 같다.

본 실험에서, 홍차줄기 추출물은 NO 라디칼과 반응하는 데 있어 산소와 경쟁하여 나이트라이트(nitrite)의 레벨을 감소시켰고, 따라서 산화적 손상으로부터 보호하는 효과를 나타낸다. 도 3에 나타난 바와 같이, 홍차줄기 추출물은 400 µg/mL에서 47.92%의 NO 라디칼 저해율을 나타냈고, 그 효과는 농도의존적 양상을 나타냈다. 표 2에 나타난 바와 같이 홍차줄기 추출물은 404.38 ± 1.6의 IC₅₀값을 나타냈다. 표준물질인 퀴세틴은 400 µg/mL에서 90.98%의 억제율을 보였다.

표 1

홍차줄기 추출물 및 표준물질 퀴세틴의 FRAP 활성

샘플	FRAP mmol fe(II)/mg 추출물
홍차줄기 추출물	2606.85 ± 18.7
퀴세틴	8326 ± 115.2

* FRAP-Ferric reducing antioxidant power (Concentration of substance having ferric-TPTZ reducing ability as equivalent to 1 µmol Fe (II)).

실험예 4. 슈퍼 옥사이드 프리 라디칼 소거활성 측정

살아있는 생물에서 슈퍼 옥사이드 라디칼과 같이, 독성이 강한 종은 신진대사와 생리학적 과정에서 지속적으로 생산된다. 슈퍼 옥사이드 프리 라디칼은 하이드록실 라디칼, 일중항 산소(singlet oxygen)와 같은 더 독성을 가진 반응성 프리 라디칼을 생성할 수 있다. DNA, 지질 및 단백질과 같은 생물 분자는 이러한 산소 종의 확실한 타겟이 되며, 신진대사와 세포장해를 야기한다(Martinez-Cayuela, 1995).

홍차줄기 추출물의 슈퍼옥사이드 음이온 라디칼 보호활성을 일부 수정한 Kuthan et al., (1986) 방법을 사용하

여 측정하였다.

[0080] 반응 혼합물은 0.1 mM 포타시움 포스페이트(pH 7.8) 완충용액에 0.8 mM 잔틴 0.25 mL, 0.5 mM 니트로-블루 테트라졸리움(NBT) 0.15 mL 및 각기 다른 농도(25, 50, 100, 200 및 400 $\mu\text{g/mL}$)의 홍차줄기 추출물 0.09 mL를 함유한다. 15분 동안 25°C에서 배양한 후, 0.5 U/mL의 잔틴 옥시다아제를 첨가하여 반응을 시작하고, 반응 혼합물을 25°C에서 30분 간 정치하였으며, 그 후 1 N HCl 0.5 mL를 첨가하여 샘플의 반응을 정지시켰다. 흡광도는 560 nm에서 측정하였다.

[0081] 라디칼 소거 활성은 홍차줄기 추출물에 의한 프리 라디칼의 저해율로 표현하였고 다음 식을 사용하여 계산하였다:

[0082] 라디칼 소거 활성(%) =

[0083]
$$[(\text{대조군의 흡광도}-\text{샘플의 흡광도})/\text{대조군의 흡광도}] \times 100$$

[0084] 퀴세틴이 표준 항산화제로 사용되었다. 모든 농도에서 3회 실험되었고, 평균값으로 그래프를 작성하였다. 실험결과 는 도 4에 도시된 바와 같다.

[0085] 도 4를 보면, 홍차줄기 추출물은 농도의존적으로 수퍼옥사이드 라디칼을 소거하는 활성을 나타냈고, 400 $\mu\text{g/mL}$ 에서 91.57%의 수퍼옥사이드 라디칼 소거능을 나타냈다. 홍차줄기 추출물은 93.67 \pm 2.7 $\mu\text{g/mL}$ 의 IC₅₀을 나타냈고, 표준물질인 퀴세틴의 경우 4.32 \pm 0.8 $\mu\text{g/mL}$ 였다(표 2 참조). 실험결과를 통해, 홍차줄기 추출물이 수퍼옥사이드 프리 라디칼을 소거할 수 있는 생활성 물질을 함유하여 라디칼 체인 반응을 종료시킬 수 있다는 점을 알 수 있다.

표 2

[0086] 홍차줄기 추출물 및 표준물질 퀴세틴의 DPPH, ABTS, NO 및 수퍼옥사이드 라디칼 소거에 대한 IC₅₀값

샘플	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)			
	DPPH	ABTS	NO(Nitric oxide)	수퍼 옥사이드
홍차줄기추출물	68.88 \pm 1.1	12.08 \pm 0.65	404.38 \pm 1.6	93.6 \pm 2.7
퀴세틴	48.41 \pm 0.7	13.62 \pm 0.4	29.34 \pm 1.3	4.32 \pm 0.8

[0087] **실험예 5. FRAP(Ferric-reducing/antioxidant power) 분석**

[0088] 항산화제는 환원제, 산화 촉진제의 불활성화제(in-activator)로 설명될 수 있다. 일부 이전 연구에서 환원력이 항산화 활성을 가질 수 있다는 가능성의 중요한 지표로 사용될 수 있다는 점에 대해 보고된 바 있다. 항산화 활성은 환원력과 관련되어 있다고 제안된바 있다. 그러므로 홍차줄기 추출물의 항산화제로서의 가능성은 TPTZFe (III) 콤플렉스를 환원시켜 TPTZFe (II)로 하는 능력을 평가함으로써 측정 가능하다. 한편 FRAP 분석법은 다양한 식품 샘플의 항산화 활성을 측정하는데 사용된다(Pellegrini et al. 2003). Halvorsen et al. (2006)에서는 이차 대사산물의 대부분은 산화환원반응이 활발한(redox-active) 화합물이며, FRAP 분석에 의해 측정할 수 있다고 제시되어 있다.

[0089] 홍차줄기 추출물의 항산화 활성은 Pulido et al. (2000)방법에 의해 측정되었다. 반응 혼합물의 흡광도를 593 nm에서 판독하였다. 수치는 mmol Fe (II)/g 추출물로 표현하였다.

[0090] 홍차줄기 추출물의 철 환원력(ferric reducing ability)이 2606.85 mmol Fe (II)/g 추출물로 나타나, 현저한 FRAP 활성을 갖는 것으로 나타났다(표 1 참조).

[0091] **실험예 6. 홍차줄기 추출물의 in vitro DNA 손상 보호 효과 측정**

[0092] 홍차줄기 추출물의 DNA 손상 보호활성은 pUC19 플라스미드 DNA(*E. coli* ER2272, New England Bio labs, UK)를 이용하여 체크하였다. 플라스미드 DNA를 각기 다른 농도의 홍차줄기 추출물의 존재 하에 H₂O₂ + UV 처리하여 산화시켰고, Russo et al. (2000)에 의한 방법을 다소 수정하여 1% 아가로스 상에서 체크하였다.

- [0093] 마이크로퓨즈 튜브에 1 X TE 완충용액 (10 mM 트리스-Cl 및 1 mM EDTA), pH 8.0 중에 pUC19 플라스미드 DNA 186 ng을 함유하는 10 μ L 부피에서 실험을 수행하였고, 홍차줄기 추출물이 없는 튜브 및 3 μ L의 홍차줄기 추출물이 있는 튜브에 H₂O₂를 최종 농도 33 mM로 첨가하였다. 반응은 UV-C 조사에 의해 시작되었고, 트랜스-일루미네이터의 표면, 상온 하, 280 nm에서, 22500 W/cm²로 35초간 계속 조사하였다. 조사 후, 반응 혼합물(10 μ L)을 겔 로딩 다이(6X)와 함께 1% 아가로스 겔상에 로딩하여 1 X TBE 완충용액, 50 V에서 전기영동하였고, 무처리 pUC19 플라스미드 DNA를 대조군으로 사용하였다. 겔을 에티디움 브로마이드 수용액으로 염색하여 UV 트랜스 일루미네이터로 비주얼화하였다.
- [0094] 퀴세틴(50 μ g/ml)을 양성대조군으로 사용하였다. 겔을 겔 다큐멘테이션 시스템(Gel documentation system, Gel Doc-XR, Bio-rad, CA, USA)으로 스캐닝하였다. 밴드를 겔-프로 분석기(Gel-Pro Analyzer, Media Cybernetics, USA)를 사용하여 정량하였다.
- [0095] 하이드록실 라디칼은 본 실험에 사용된 H₂O₂ 및 UV에 의한 분해 등의 다양한 반응에 의해 세포 내에서 생성될 수 있고, 지질, 단백질 및 DNA와 같은 마크로분자를 손상시켜 피부암과 같은 피부질환을 야기할 수 있다(Halliwell and Gutteridge 1990). 본 실험에서는 홍차줄기 추출물의 H₂O₂ 및 UV 광분해에 의해 생성되는 하이드록실 라디칼에 의한 pUC19 플라스미드 DNA에 대한 DNA 손상 보호능을 측정하였다.
- [0096] 도 5는 각기 다른 농도(50, 100, 200, 400 및 800 μ g/mL)의 홍차줄기 추출물 존재 및 부존재 하 pUC19 플라스미드 DNA의 전기영동 패턴을 나타낸다. 겔 전기영동에서, pUC19 플라스미드 DNA는 lane 1에 두 개의 밴드가 나타났는데, 빠르게 움직이는 선명한 밴드는 네이티브 수퍼코일 서클러(native supercoiled circular, Sc) DNA에 해당하고, 느리게 움직이는 매우 희미한 밴드는 오픈 서클러(open circular) DNA (Oc)에 해당한다.
- [0097] H₂O₂의 존재 하에서 UV에 노출된 후, H₂O₂ 및 UV 광분해에 의해 생성되는 \cdot OH 프리 라디칼에 의해 수퍼코일 DNA가 절단되면서 오픈 서클러 DNA 밴드로 선명하게 변환된다(lane 2).
- [0098] 생물학 시스템에서, O₂ \cdot 와 H₂O₂사이의 반응에 의해 생성되는 \cdot OH 라디칼은 산화적 손상의 주요 원인이다(Gutteridge,1984). 그러나 각기 다른 농도의 홍차줄기 추출물을 플라스미드 DNA pUC19와 함께 전배양하는 경우, H₂O₂의 UV 광분해에 의해 유도되는 DNA 손상 정도가 감소하며(lane 3-7), 농도의존적으로 네이티브 수퍼코일 서클러(super coiled circular, Sc) DNA를 현저히 보호하는 효과를 나타냈다. 퀴세틴(50 μ g/mL)이 양성대조군으로 사용되었으며(lane 8), 오픈 서클러 DNA 양을 감소시키는 것으로 나타났다. 수퍼코일 및 선형 DNA 밴드의 양을 정량적으로 덴시토메트리로 분석한 결과는 도 7에 나타냈으며, 무처리군의 경우 수퍼코일 서클러 (Sc) DNA의 덴시토메트리 유닛은 694.78 \pm 4.12이고, H₂O₂ 및 UV에 노출시킨 후 275.53 \pm 3.78으로 감소하였다. 그러나 수퍼코일(Sc) DNA의 덴시토메트리 유닛은 각기 다른 농도의 홍차줄기 추출물(0, 100, 200, 400 및 800 μ g/mL)의 존재 하에서 증가하였다. 800 μ g/mL 홍차줄기 추출물의 경우 수퍼코일 DNA(Sc)의 덴시토메트리 유닛은 631.76 \pm 2.45였고, 퀴세틴 처리된 수퍼코일 DNA의 경우 662.98 \pm 1.59로 나타났다. 상기 실험 결과를 통해 홍차줄기 추출물이 태양 UV 조사로 인한 해로운 영향에서 기인하는 산화적 DNA 손상으로부터 보호하는 효과를 나타낼 것이라는 점을 알 수 있다.
- [0099] < 통계분석 >
- [0100] 실험값은 ANOVA(one-way analysis of variance) 분석을 실시하였고, 평균값 사이의 편차(significance of the difference)는 statistica (Statsoft Inc., Tulsa, USA)를 이용하여 던컨의 다중검정(P<0.05)에 의해 결정되었다. 나타낸 실험치는 3회 실험된 측정치 \pm 표준편차의 평균값이다.
- [0101] < 제조예 >
- [0102] 제조예 1. 산재의 제조
- | | | |
|--------|----------|-------|
| [0103] | 홍차줄기 추출물 | 10mg |
| [0104] | 수크로즈 | 100mg |

[0105]	탈크	10mg
[0106]	상기 성분들을 분말화하여 혼합한 후 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.	
[0107]	제조예 2. 정제의 제조	
[0108]	홍차줄기 추출물	10mg
[0109]	전분	100mg
[0110]	수크로즈	100mg
[0111]	스테아린산 마그네슘	2mg
[0112]	통상의 정제의 제조방법에 따라 상기 성분들을 혼합한 후 이를 타정하여 정제를 제조한다.	
[0113]	제조예 3. 캡셀제의 제조	
[0114]	홍차줄기 추출물	10mg
[0115]	결정성 셀룰로오즈	3mg
[0116]	락토오즈	15mg
[0117]	스테아린산 마그네슘	1mg
[0118]	통상의 캡셀제의 제조방법에 따라 상기 성분들을 혼합한 후 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡셀제를 제조한다.	
[0119]	제조예 4. 과립제의 제조	
[0120]	홍차줄기 추출물	10mg
[0121]	대두 추출물	50mg
[0122]	포도당	200mg
[0123]	전분	500mg
[0124]	상기 성분들을 혼합한 후 30% 에탄올 100mL를 첨가하여 60℃에서 건조시켜 과립을 형성한 후 포에 충전하여 과립제를 제조한다.	
[0125]	제조예 5. 환제의 제조	
[0126]	홍차줄기 추출물	20mg
[0127]	유당	1,500mg
[0128]	글리세린	1,500mg
[0129]	전분	980mg
[0130]	상기 성분들을 혼합한 후 통상의 환제의 제조방법에 따라 1환 당 4g이 되도록 제조한다.	
[0131]	제조예 6. 주사제의 제조	
[0132]	홍차줄기 추출물	10mg
[0133]	만니톨	180mg
[0134]	주사용 멸균 증류수	2,780mg

- [0135] $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 30mg
- [0136] 통상의 주사제 제조방법에 따라 1 앰플당 (3 mL)가 되도록 상기 성분을 혼합하여 제조한다.
- [0137] 제조예 7. 액제의 제조
- [0138] 홍차줄기 추출물 10mg
- [0139] 이성화당 10,000mg
- [0140] 만니톨 5,000mg
- [0141] 정제수 적량
- [0142] 통상의 액제 제조방법에 따라 정제수에 상기 성분을 용해시키고, 적절한 향을 가한 다음 병에 충전하여 멸균시켜 제조한다.
- [0143] 제조예 8. 노화방지 스킨 제조

표 3

[0144]	홍차줄기 추출물	0.001 (v/v)%
	파라옥시안식향산메칠	0.2 %
	에틸렌디아민테트라초산나트륨	0.02 %
	1,3-부틸렌글리콜	0.02 %
	알란토인	3 %
	소듐히아루노닉에씨드	5 %
	카보머	0.1 %
	세토스테아릴알코올	0.7 %
	파라옥시안식향산프로필	0.1 %
	소르비탄올리베이트	1.5 %
	소이레스틴	0.2 %
	디메치콘	0.2 %
	세칠옥타노에이트	0.2 %
	웨어버터	0.2 %
	소듐플리아크릴레이트	3 %
	트리에탄올아민	0.1 %
	이미다졸리디닐우레아	0.3 %
	향료	적량
	색소	적량
	정제수	잔량

- [0145] 상기 성분들을 사용하여 스킨 제조를 위한 화장품 제조분야에서의 통상적인 방법에 따라 제조한다.

- [0146] 제조예 9. 노화방지 세럼 제조

표 4

[0147]	홍차줄기 추출물	0.001 (v/v)%
	호호바	5 %
	블랙썬서미	2 %
	스윗아몬드	3 %
	이멸성파잉왁스	1 %
	비타민E	1 %
	글리세린	2 %
	히아루론산	1 %

마린 엘라스틴	1 %
정제수	잔량

[0148] 상기 성분들을 사용하여 세럼 제조를 위한 화장품 제조분야에서의 통상적인 방법에 따라 제조한다.

[0149] 제조예 10. 노화방지 로손 제조

표 5

[0150]	홍차줄기 추출물	0.001 (v/v)%
	파라옥시안식향산메칠	0.2 %
	에틸렌디아민테트라초산나트륨	0.02 %
	1,3-부틸렌글리콜	0.02 %
	알란토인	3 %
	소듐히아루로닉에씨드	5 %
	카보머	0.1 %
	세토스테아릴알코올	0.7 %
	파라옥시안식향산프로필	0.1 %
	소르비탄올리베이트	1.5 %
	소이레스틴	0.2 %
	디메치콘	0.2 %
	세칠옥타노에이트	0.2 %
	웨어버터	0.2 %
	소듐폴리아크릴레이트	3 %
	트리에탄올아민	0.1 %
	이미다졸리디닐우레아	0.3 %
	향료	적량
	색소	적량
	정제수	잔량

[0151] 상기 성분들을 사용하여 로손 제조를 위한 화장품 제조분야에서의 통상적인 방법에 따라 제조한다.

[0152] 제조예 11. 노화방지 에센스 제조

표 6

[0153]	홍차줄기 추출물	0.001 (v/v)%
	알란토인	0.05 %
	에틸렌디아민테트라초산나트륨	0.02 %
	트리에탄올아민	0.2 %
	소듐히아루로닉에씨드	7 %
	이미다졸리디닐우레아	0.15 %
	소듐폴리아크릴레이트	0.4 %
	카보머	0.2 %
	에탄올	3 %
	모노스테아린산폴리옥시에틸렌소르비탄	0.2 %
	파라옥시안식향산메칠	0.2 %
	향료	적량
	색소	적량
	정제수	잔량

[0154] 상기 성분들을 사용하여 에센스 제조를 위한 화장품 제조분야에서의 통상적인 방법에 따라 제조한다.

[0155] 제조예 12. 노화방지 크림 제조

표 7

[0156]	홍차줄기 추출물	0.001 (v/v)%
	에틸렌디아민테트라초산나트륨	0.02 %
	알란토인	0.1 %
	글리세린	5 %
	파라옥시안식향산메칠	0.2 %
	소듐하이루로닉에씨드	6 %
	카보머	0.1 %
	세토스테아릴알코올	1.7 %
	폴리데센	2 %
	스쿠알란	2 %
	파라옥시안식향산프로필	0.1 %
	부틸렌글리콜디카프릴레이트	3 %
	세틸옥타노이에이트	5 %
	마이크로크리스탈린납	0.1 %
	트리에칠펜탄디올	0.1 %
	쉐어버터	0.2 %
	소르비탄올리베이트	0.3 %
	사이클로메치콘	0.3 %
	스테아릴디메치콘	0.5 %
	이미다졸리디닐우레아	0.15 %
	향료	적량
	색소	적량
	정제수	적량

[0157] 상기 성분들을 사용하여 크림 제조를 위한 화장품 제조분야에서의 통상적인 방법에 따라 제조한다.

[0158] 제조예 13. 노화방지 팩 제조

표 8

[0159]	홍차줄기 추출물	0.001 (v/v)%
	에틸렌디아민테트라초산나트륨	0.02 %
	베타인	3 %
	글리세릴폴리메타크릴레이트	2 %
	알란토인	0.1 %
	소듐하이루로닉에씨드	2 %
	글리세린	3 %
	디프로필렌글리콜	5 %
	파라옥시안식향산메칠	0.2 %
	폴리비닐알코올	10 %
	모노올레인산폴리옥시에틸렌소르비탄	0.9 %
	세스퀴올레인산	0.3 %
	호호바에스테르	2 %
	세테아릴알코올	1.5 %
	페트로라툼	0.5 %
	향료	적량
	색소	적량
	정제수	적량

[0160] 상기 성분들을 사용하여 팩제조를 위한 화장품 제조분야에서의 통상적인 방법에 따라 제조한다.

[0161] 제조예 14. 노화방지 마사지크림 제조

표 9

[0162]	홍차줄기 추출물	0.001 (v/v)%
	정제수	적량
	글리세린	4.0 %
	바셀린	3.5 %
	트리에탄올 아민	0.5 %
	유동 파라핀	24.5 %
	스쿠알란	2.5 %
	밀납	2.1 %
	토코페릴아세테이트	0.1 %
	카바폴	1.0 %
	솔비탄세스퀴올레이트	3.1 %
	향	미량
	방부제	미량

[0163] 상기 성분들을 사용하여 마사지크림 제조를 위한 화장품 제조분야에서의 통상적인 방법에 따라 제조한다.

[0164] 제조예 15. 자외선 차단 및 노화방지 메이크업 베이스 제조

표 10

[0165]	홍차줄기 추출물	0.001 (v/v)%
	정제수	적량
	코팅실리카	1 %
	실리카	10 %
	이산화티탄	8 %
	산화아연	3 %
	색소	1 %
	판상파우더	잔량

[0166] 상기 성분들을 사용하여 메이크업 베이스 제조를 위한 화장품 제조분야에서의 통상적인 방법에 따라 제조한다.

[0167] 제조예 16. 자외선 차단 및 노화방지 파우더 팩트 제조

표 11

[0168]	홍차줄기 추출물	0.001 (v/v)%
	정제수	적량
	마이카	15 %
	이산화티탄	7 %
	실리콘오일	3 %
	에스터계오일	3 %
	색소	적량
	향료	적량
	탈크	잔량

[0169] 상기 성분들을 사용하여 파우더 팩트 제조를 위한 화장품 제조분야에서의 통상적인 방법에 따라 파우더 팩트를 제조한다.

[0170] 제조예 17. 자외선 차단 및 노화방지 투웨이 케이크 제조

표 12

[0171]

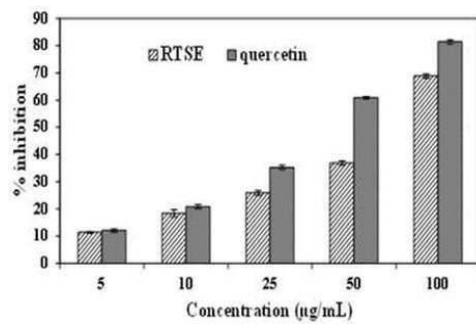
홍차줄기 추출물	0.001 (v/v)%
정제수	적량
마이카	15 %
이산화티탄	12 %
실리콘오일	3 %
에스터계 오일	5 %
색소	적량
향료	적량
탈크	잔량

[0172]

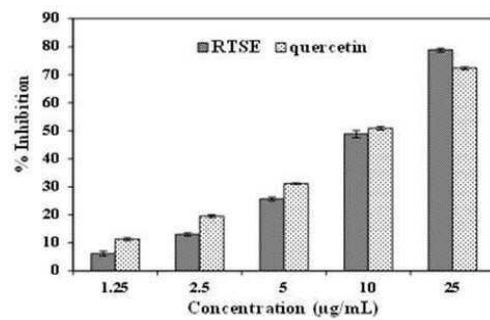
상기 성분들을 사용하여 투웨이 케이크 제조를 위한 화장품 제조분야에서의 통상적인 방법에 따라 제조한다.

도면

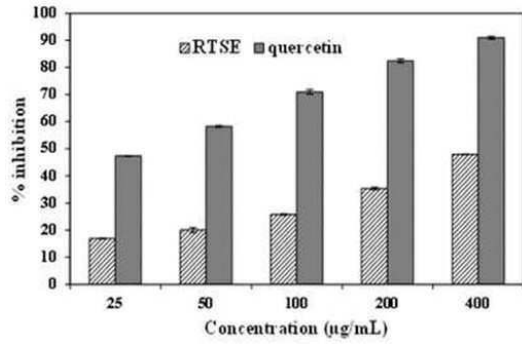
도면1



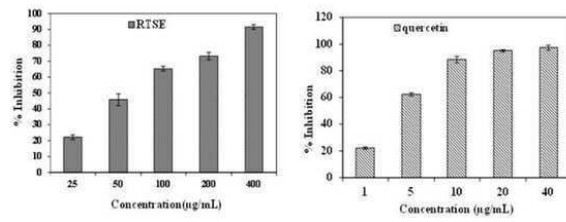
도면2



도면3



도면4



도면5

