

출원번호통지서

출원일자 2025.07.31
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(0189)
출원번호 10-2025-0105474 (접수번호 1-1-2025-0874813-79)
(DAS접근코드5D3B)
출원인명칭 주식회사 현대바이오랜드(1-1998-103294-5) 외 2명
대리인성명 특허법인오암(9-2018-100021-5)
발명자성명 김예향 차소윤 김하연 남연경 정은영 김소연 박진성 신송석 박준태 박지호 이윤행 권형욱
변영주
발명의명칭 세노몰픽 및 세놀리틱 효능을 갖는 하동작설 유래 역노화 조성물

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허로
홈페이지(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가
까운 은행 또는 우체국에 납부하여야 합니다.
※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고객번호 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하
여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
4. 기타 심사 절차(제도)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고객상담센터(☎ 1544-8080)에
문의하여 주시기 바랍니다.
※ 심사제도 안내 : <https://www.kipo.go.kr-지식재산제도>

【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【참조번호】	0189
【출원구분】	특허출원
【출원인】	
【명칭】	주식회사 현대바이오랜드
【특허고객번호】	1-1998-103294-5
【지분】	50.00/100
【출원인】	
【명칭】	인천대학교 산학협력단
【특허고객번호】	2-2004-021729-6
【지분】	40.00/100
【출원인】	
【명칭】	고려대학교 세종산학협력단
【특허고객번호】	1-2016-058872-3
【지분】	10.00/100
【대리인】	
【명칭】	특허법인오암
【대리인번호】	9-2018-100021-5
【지정된변리사】	이성렬, 이한욱, 이성준, 민병조
【포괄위임등록번호】	2018-013473-5

【발명의 국문명칭】 세노몰픽 및 세놀리틱 효능을 갖는 하동작설 유래 역노화 조성물

【발명의 영문명칭】 Reverse-aging composition derived from Hadong Jakseol of Camellia sinensis with senomorphic and senolytic activities

【발명자】

【성명】 김예향

【성명의 영문표기】 KIM, Ye Hyang

【국적】 KR

【주민등록번호】 870315-2XXXXXX

【우편번호】 30098

【주소】 세종특별자치시 보듬2로 42, 1401동 2501호 (도담동, 도람마을14단지)

【거주국】 KR

【발명자】

【성명】 차소윤

【성명의 영문표기】 CHA, So Yoon

【국적】 KR

【주민등록번호】 910112-2XXXXXX

【우편번호】 30062

【주소】 세종특별자치시 마음안1로 139, 1814동 404호 (고운동, 가락마을18단지)

【거주국】 KR

【발명자】

【성명】 김하연

【성명의 영문표기】 KIM, Ha Yeon

【국적】 KR

【주민등록번호】 930701-2XXXXXX

【우편번호】 28165

【주소】 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명3로 111, 603동
2001호 (오송호반베르디움아파트)

【거주국】 KR

【발명자】

【성명】 남연경

【성명의 영문표기】 NAM, Yeon Kyung

【국적】 KR

【주민등록번호】 941209-2XXXXXX

【우편번호】 18479

【주소】 경기도 화성시 동탄기흥로 393-15, 1501동 702호 (오산동,
동탄역 반도유보라 아이비파크 5.0)

【거주국】 KR

【발명자】

【성명】 정은영

【성명의 영문표기】 JEONG, Eun Young

【국적】 KR
【주민등록번호】 840909-2XXXXXX
【우편번호】 28166
【주소】 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 만수1길 40-18, 301호(예그
 리나)

【거주국】 KR

【발명자】

【성명】 김소연
【성명의 영문표기】 KIM, So Yeon

【국적】 KR

【주민등록번호】 960226-2XXXXXX

【우편번호】 28221

【주소】 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명7로 102, 503동
 701호 (오송역제일풍경채아파트)

【거주국】 KR

【발명자】

【성명】 박진성
【성명의 영문표기】 PARK, Jin Seong

【국적】 KR

【주민등록번호】 910131-1XXXXXX

【우편번호】 28115

【주소】 충청북도 청주시 청원구 오창읍 양청택지1길 50-22, 204호

【거주국】 KR

【발명자】

【성명】 신송석

【성명의 영문표기】 SHIN, Song Seok

【국적】 KR

【주민등록번호】 670305-1XXXXXX

【우편번호】 17103

【주소】 경기도 용인시 기흥구 서그내로16번길 14, 102동 503호(서천동, 서그내마을 서천아이파크)

【거주국】 KR

【발명자】

【성명】 박준태

【성명의 영문표기】 PARK, Joon Tae

【국적】 KR

【주민등록번호】 750404-1XXXXXX

【우편번호】 22000

【주소】 인천광역시 연수구 해송로 143, 101동 703호 (송도동, 송도웰카운티1단지)

【거주국】 KR

【발명자】

【성명】 박지호

【성명의 영문표기】 PARK, Ji Ho

【국적】 KR

【주민등록번호】 980512-1XXXXXX

【우편번호】 06906

【주소】 서울특별시 동작구 매봉로 134, 8동 601호 (본동, 신동아아파트)

【거주국】 KR

【발명자】

【성명】 이윤행

【성명의 영문표기】 LEE, Yun Haeng

【국적】 KR

【주민등록번호】 950308-1XXXXXX

【우편번호】 06943

【주소】 서울특별시 동작구 여의대방로44길 10, 111동 801호 (대방동, 대림아파트)

【거주국】 KR

【발명자】

【성명】 권형욱

【성명의 영문표기】 KWON, Hyung Wook

【국적】 KR

【주민등록번호】 681082-1XXXXXX

【우편번호】 06701

【주소】 서울특별시 서초구 효령로4길 56-16, 201호 (방배동, 로얄
그린빌라트)

【거주국】 KR

【발명자】

【성명】 변영주

【성명의 영문표기】 BYUN, Young Joo

【국적】 KR

【주민등록번호】 700622-1XXXXXX

【우편번호】 34049

【주소】 대전광역시 유성구 엑스포로 448, 206동 408호 (전민동, 엑
스포아파트)

【거주국】 KR

【출원언어】 국어

【우선권 주장】

【출원국명】 KR

【출원번호】 10-2024-0180561

【출원일자】 2024.12.06

【증명서류】 미첨부

【심사청구】 청구

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 1345366487

【과제번호】 2020R1A6A1A03041954

【부처명】 교육부
 【과제관리(전문)기관명】 한국연구재단
 【연구사업명】 이공학학술연구기반구축
 【연구과제명】 매개곤충자원융복합연구센터
 【과제수행기관명】 인천대학교 산학협력단
 【연구기간】 2020.06.01 ~ 2024.02.29

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 1345362117
 【과제번호】 2019R1A6A1A03031807
 【부처명】 교육부
 【과제관리(전문)기관명】 한국연구재단
 【연구사업명】 대학중점연구소지원사업
 【연구과제명】 약과학연구소
 【과제수행기관명】 고려대학교세종산학협력단
 【연구기간】 2019.06.01 ~ 2028.02.29

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 1711185822
 【과제번호】 2021R1A2C1004298
 【부처명】 과학기술정보통신부
 【과제관리(전문)기관명】 한국연구재단
 【연구사업명】 중견연구자지원사업
 【연구과제명】 미토콘드리아 대사 기반 통합적 노화 제어

【과제수행기관명】 인천대학교 산학협력단

【연구기간】 2021.03.01 ~ 2024.02.29

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 1465041030

【과제번호】 HP23C0024000023

【부처명】 보건복지부

【과제관리(전문)기관명】 한국보건산업진흥원

【연구사업명】 혁신성장피부건강기반기술개발사업

【연구과제명】 활성 산소 억제를 통한 피부 역노화 기술 개발

【과제수행기관명】 인천대학교 산학협력단

【연구기간】 2023.07.01 ~ 2023.12.31

【취지】 위와 같이 특허청장에게 제출합니다.

대리인 특허법인오암

(서명 또는 인)

【수수료】

【출원료】 0 면 46,000 원

【가산출원료】 53 면 0 원

【우선권주장료】 1 건 18,000 원

【심사청구료】 11 항 727,000 원

【합계】 791,000원

【첨부서류】

1.지분약정서_1통 2.기타첨부서류[개별위임장 : 인천대-고려대세종]_1통

1 : 지분약정서

[PDF 파일 첨부](#)

2 : 기타첨부서류

[PDF 파일 첨부](#)

【발명의 설명】

【발명의 명칭】

세노몰픽 및 세놀리틱 효능을 갖는 하동작설 유래 역노화 조성물 {Reverse-aging composition derived from Hadong Jakseol of Camellia sinensis with senomorphic and senolytic activities}

【기술분야】

【0001】 본 발명은 세노몰픽 및 세놀리틱 효능이 있는 하동작설 추출물, EGCG(Epigallocatechin gallate), EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin Gallate) 화합물을 함유하는 역노화 조성물에 관한 것이다. 상기 하동작설 추출물, EGCG(Epigallocatechin gallate), EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin Gallate) 화합물은 세포 노화 및 노화로 인한 대사 기능 이상을 회복시키고 노화된 세포의 증식을 억제하는 효능을 갖는다.

【0002】

【발명의 배경이 되는 기술】

【0003】 노화는 나이가 들면서 피부의 질이 저하되는 과정이다. 피부 노화는 세포 소기관의 기능 변화, 특히 미토콘드리아 변성으로 나타난다. 피부가 노화됨에 따라 결함 있는 미토콘드리아가 축적되고 구조적 변화가 발생하여 미토콘드리아의 부피와 크기가 크게 증가한다. 또한 기능이 저하된 미토콘드리아는 세포 노화를 가속화한다.

【0004】 최근에는 미토콘드리아 기능을 개선하는 노화 방지제에 대한 연구가 많아지고 있다. 예를 들어, 한 연구에서는 옥사졸 유도체가 미토콘드리아 내막 단백질인 ATP 합성 효소의 합성을 자극하는 것으로 나타났다. ATP 합성 효소 활성을 촉진하면 미토콘드리아 내막 기능을 회복시켜 노화를 개선하는 데 도움이 된다고 제안하였다. 다만 합성 단일 화합물의 미토콘드리아 기능 개선을 위한 후보 물질에 대한 연구들은 많으나, 천연물 유래 후보 물질에 대한 연구는 미미한 상태다.

【0005】 한편 노화 세포는 세포 주기 정지를 통한 세포 분열 저하 및 증식을 중단시키고 궁극적으로 조직 재생 능력 저하 및 유기적 기능 장애를 유발시킨다. 이와 같은 배경에서 노화 세포의 관리와 제거를 통해 노화를 제어하는 세노몰픽과 세놀리틱 개념이 주목받고 있다. 세노몰픽은 노화된 세포의 형태와 기능을 정상 세포와 비슷하게 유지하거나 개선하는 작용을 하며, 주변 조직과 세포의 건강을 유지하는 데 기여한다. 반면, 세놀리틱은 노화된 세포를 선택적으로 제거하여 유해한 영향을 줄이고, 건강한 세포 재생과 조직 회복을 촉진한다. 이러한 두 가지 접근법은 노화로 인한 피부 및 미토콘드리아 기능 저하를 완화하거나 역전시키는 데 중요한 역할을 할 수 있다. 특히 천연물 유래 물질을 활용한 연구가 활발히 이루어진다면, 미토콘드리아 기능 개선과 함께 피부 노화 방지 효과를 높이는 새로운 가능성을 열어갈 것으로 기대된다.

【0006】 하동작설(Hadong Jakseol, Hadong of *Camellia sinensis*)은 한국의 대표적인 전통 녹차로, 하동 지역의 독특한 자연 환경과 오랜 역사에서 비롯된 전통적인 제조 방식으로 만들어진다. 하동은 지리산과 섬진강 사이에 위치하여 온화

한 기후, 비옥한 토양, 풍부한 강수량 덕분에 차 재배에 이상적인 환경을 제공한다. 이 지역은 한국에서 최초로 차 재배가 시작된 곳으로, 1200년 이상의 전통을 자랑한다.

【0007】 하동작설이라는 이름은 찻잎의 형태가 참새의 혀를 닮은 데서 유래했으며, 찻잎은 얇고 날렵한 모양과 균일한 크기를 가지고 있다. 전통적으로 찻잎은 수제 방식으로 정성스럽게 가공되며, 증제나 뒤음 방식으로 만들어져 산화를 최소화하고 찻잎의 신선한 녹색과 고유한 향을 보존한다.

【0008】 하동작설은 떫은맛이 적고 부드러운 맛이 특징이며, 달콤한 뒷맛과 함께 깊고 풍부한 감칠맛(우마미)을 제공한다. 또한 잔잔한 풀향과 꽃향이 어우러진 섬세한 향미는 마시는 동안 지속적으로 은은하게 퍼진다. 이러한 맛과 향은 하동 지역의 자연 환경과 전통적인 제조 방식이 조화를 이루며 탄생한 결과다. 이 차는 건강에도 많은 이점을 제공한다. 카테킨, 아미노산, 비타민 등 다양한 항산화 물질과 영양소가 풍부하며, 항산화 효과를 통해 면역력 강화, 피부 개선, 노화 방지 등 건강 증진에 도움을 준다. 하동작설은 단순히 차의 범주를 넘어 하동 지역의 문화적, 역사적 자산으로 여겨진다. 한국 전통 차 문화와 깊은 연관이 있으며, FAO(유엔 식량농업기구)로부터 세계중요농업유산(GIAHS)으로 지정되기도 했다. 이처럼 하동작설은 자연, 전통, 품질, 그리고 문화적 가치가 어우러진 한국을 대표하는 명차로 세계적으로 인정받고 있다.

【0009】 한편, 녹차와 관련된 다양한 연구들이 진행되고 있으나, 하동작설과 같은 지역 특이적인 차에 대해서는 구체적으로 이의 효능이 연구되고 있지 않으며,

게다가 녹차류에 대한 세노몰픽 및 세놀리틱 효능 또한 자세한 메커니즘도 아직 밝혀지지 않았다.

【0010】

【선행기술문헌】

【특허문헌】

【0011】 (특허문헌 0001) KR 10-1473017

(특허문헌 0002) KR 10-2024-0099758

【비특허문헌】

【0012】 (비특허문헌 0001) Isa Nuryana et al., ANNALES BOGORIENSES 2020 2(2):106-113.

【발명의 내용】

【해결하고자 하는 과제】

【0013】 본 발명의 목적은 EGCG(Epigallocatechin gallate), EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin Gallate)를 유효성분으로 포함하는 하동작설 추출물을 함유하여 세노몰픽 및 세놀리틱 효능을 갖는 것이 특징인 노화세포의 역노화 조성물을 제공하는 데에 있다. 바람직하게는, 본 발명을 통해 상기 하동작설 추출물, 이로부터 유래된 각 화합물을 통해 노화가 진행된 세포를 다시 젊은 세포

처럼 에너지 대사를 할 수 있도록 회복시키는 세노몰픽 및 세놀리틱 효능을 갖는 조성물로 제공할 수 있다.

【0014】

【과제의 해결 수단】

【0015】 본 발명은 하동작설 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 역노화 조성물에 관한 것이다.

【0016】 상기 추출물은 바람직하게는 노화세포의 기능을 젊은 세포 상태로 회복시키는 세노몰픽 효능이 있는 것이다. 보다 바람직하게는 상기 하동작설 추출물이 노화가 진행된 세포의 에너지 대사를 젊은 세포의 에너지 대사 수준으로 회복시킬 수 있다.

【0017】 더 바람직하게는, 상기 하동작설 추출물은 노화세포 내 미토콘드리아의 막 전위 레벨 증가 및 산소소비율을 증가시켜, 노화세포의 에너지 대사 효율을 개선할 수 있다.

【0018】 상기 하동작설 추출물은 노화 세포의 리포푸신 축적을 억제하여 자가포식 시스템을 활성화한다.

【0019】 또한, 상기 하동작설 추출물은 노화 세포에서 피부 재생, 주름 개선 및 탄력 효능을 증강시키는데, 바람직하게는, 상기 추출물 처리 시, 노화 세포에서 세포 간의 콜라겐 섬유에 대한 장력이 증가되거나, 콜라겐 타입 I (collagen type I), 콜라겐 타입 III (collagen type III) 또는 콜라겐 타입 IV (collagen type

IV)의 유전자 발현이 증가되는 특징이 있다.

【0020】 상기 추출물은 노화 세포의 염증 인자를 감소시키며, 바람직하게는 IL-1 β 의 발현을 억제하며, 피부장벽을 강화하는 효능이 있는데, 칼페인-1 (Calpain-1), 라미닌-5 (Laminin 5), 또는 콜라겐 타입 XVII (collagen type XVI I)의 발현을 증가시킨다.

【0021】 상기 추출물은 또한 노화세포의 증식을 저해하고, 노화세포에 대해 아포토시스를 일으키나, 젊은세포에는 세포증식 또는 아포토시스를 일으키지 않는 세놀리틱 효능이 있는 것일 수 있다.

【0022】 상기 하동작설 추출물은 에피갈로카테킨 갈레이트 (Epigallocatechin gallate, EGCG)를 유효 성분으로 포함하며, 바람직하게는 4.3~4.6 중량%를 포함할 수 있다. 또한 상기 하동작설 추출물은 에피카테킨 (Epicatechin, EC) 및 에피카테킨 갈레이트 (Epicatechin Gallate, ECG)를 포함하며, 더 바람직하게는 에피카테킨 (Epicatechin, EC) 1.8~2.0 중량%, 에피카테킨 갈레이트 (Epicatechin Gallate, ECG) 1.2~1.5 중량%를 포함할 수 있다.

【0023】 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 역노화용 화장품 조성물일 수 있다.

【0024】 또한 상기 조성물을 포함하는 역노화용 건강기능식품을 제공한다.

【0025】 본 발명은 또한 상기 조성물을 포함하는 역노화용 약학 조성물에 관한 것이다.

【0026】 또 다른 양태에서 본 발명은 에피갈로카테킨 갈레이트 (Epigallocatechin gallate, EGCG)를 포함하는 역노화용 조성물; 또는 에피카테킨 (Epicatechin, EC) 및 에피카테킨 갈레이트 (Epicatechin Gallate, ECG)의 혼합물을 포함하는 역노화용 조성물;일 수 있다.

【0027】 상기 조성물에 에피갈로카테킨 갈레이트(Epigallocatechin gallate, EGCG)가 0.1 ~ 20.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 포함될 수 있다. 또는 상기 혼합물에는 에피카테킨 (Epicatechin, EC)이 0.1 ~ 3.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이면서, 에피카테킨 갈레이트 (Epicatechin Gallate, ECG)는 0.1~4.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 인 상태로 포함될 수 있다. 보다 바람직하게, 상기 혼합물의 구성은, EC 10 μM 기준 ECG 5~15 μM 로 포함될 수 있고, 즉, 1:0.5 내지 1:1.5의 몰비로 포함되는 것이 더 좋다.

【0028】 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

【0029】 본 발명의 하동작설 추출물은 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 노화세포의 증식을 억제 하며, 이는 아토포시스로 유도되는 것으로 확인되나, 젊은세포에는 세포 증식을 억제하지 않는 것으로 나타난다.

【0030】 또한 상기 추출물은 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 노화세포의 미토콘드리아 막전위 레벨을 1.15~1.20배 증가하여, 노화 세포의 미토콘드리아의 기능이 회복되며, 노화 세포 내의 미토콘드리아의 산소소비율이 20~30 pmol/min 증가하고, ATP(Adenosine Triphosphate) 생성이 1.2~1.4배 생성이 증강되어 미토콘드리아의 에너지 대사 효율이 개선된다.

【0031】 상기 추출물 10 μ g/ml로 인해 리소좀 활성화로 인해 노화세포 내의 리포푸신의 축적이 30~40% 억제되며, 세포주기 정지 인자인 p21 발현 또한 65~75% 감소된다.

【0032】 상기 추출물 10 μ g/ml 처리 시, 세포간의 콜라겐 섬유에 대한 장력이 증가하여 피부 재생 및 탄력 효능이 증강되며, 콜라겐 타입 I은 1.9~2.1배, 콜라겐 타입 III는 1.4~1.6배, 콜라겐 타입 IV는 1.2~1.3배로 유전자 발현도 증강된다.

【0033】 이 외 상기 추출물 10 μ g/ml 처리로 인해 노화세포가 생성하는 염증성 사이토카인 IL-1 β 의 발현을 35~40% 감소시킬 수 있고, 피부장벽 인자인 칼페인-1(Calpain-1)은 2.5~2.7배, 라미닌 5(Laminin 5)는 1.2~1.3배, 콜라겐(Collagen type XVII)는 1.3~1.5배로 발현이 증강되며, 특히, 이들 인자는 노화세포의 손상이 유도되기 전 상태로 회복되는 효능이 매우 뛰어나다.

【0034】 상기 추출물 처리로 인해 노화세포에서 CXCL12(C-X-C motif chemokine ligand 12) 및 SLIT2(slit guidance ligand 2)와 같은 젊은 세포 마커의 발현이 또한 증가한다. 콜라겐 함량은 피부손상군 대비 1.8~2.0배 증가한다. 또한 피부손상군에서 증가된 활성산소수치를 손상 이전값으로 회복시킬 수 있다.

【0035】 또한 에피갈로카테킨 갈레이트(Epigallocatechin gallate, EGCG) 4.58 μ g/ml에서 노화세포의 증식을 15~25% 억제하고 MMP 레벨을 1.10~1.15배 증가시킨다. 콜라겐 함량은 피부손상군 대비 1.8~2.0배 증가한다. 또한 피부손상군에서 증가된 활성산소수치를 손상 이전값으로 회복시킬 수 있다. 노화세포에서의 리포푸

신 축적은 55~60% 감소한다.

【0036】 에피카테킨 (Epicatechin, EC) 2.90 $\mu\text{g/ml}$ 및 에피카테킨 갈레이트 (Epicatechin Gallate, ECG)의 4.42 $\mu\text{g/ml}$ 혼합물 또한 노화세포에서의 리포푸신 축적을 55~60% 감소시키며, 산소소비율 또한 20~30 pmol/min 증가시킨다. 이 때, 동일 조건에서 ATP 생성율은 2.5~3.0배 증가한다. 상기 혼합물 처리시, MMP 레벨은 노화세포에서 1.15~1.20배 증가되며, 미토콘드리아 중량은 18~23% 감소한다. 리소좀 중량은 30~35% 감소한다. 같은 조건의 혼합물 처리시, COL3A1 유전자는 노화세포에서 1.15~1.20배 증가되고, IL-8은 노화세포에서 15~25% 감소한다. 또한 이들 혼합물로 인해 MMP-1은 노화세포에서 55~60% 감소하고, MMP-9은 30~35% 감소한다.

【0037】 상기 하동작설 추출물은 하동작설 원료를 물, C1~C4 알코올, 1,3-부틸렌글리콜 또는 이들의 혼합용액을 용매로 하여 추출할 수 있으며, 상기 C1~C4 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올 및 이소부탄올로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 상기 추출물은 또한 물, 20~90(v/v)% 알코올 수용액 추출물, 20~90(v/v)% 1,3-부틸렌글리콜 수용액 추출물일 수 있다. 바람직하게는 물 추출물, 50~80(v/v)% 알코올 수용액 추출물, 20~50(v/v)% 알코올 수용액 추출물, 50~80(v/v)% 1,3-부틸렌글리콜 수용액 추출물, 20~50(v/v)% 1,3-부틸렌글리콜 수용액 추출물 일 수도 있다.

【0038】 상기 하동작설 추출물의 제조시 사용되는 물, C1~C4 알코올, 1,3-부틸렌글리콜 또는 이들의 혼합용액은 하동작설 사용 중량 기준 1~40배 부피(1kg 기준 1~40 l) 또는 1~40배 중량을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 5~40배 부피 또는

5~40배 중량을 사용할 수 있다. 상기 하동작설 추출물의 추출온도는 30~90℃, 또는, 50~90℃, 70~90℃일 수 있고, 추출시간은 1~28시간, 1~12시간 또는 1~6시간 일 수도 있다. 상기 과정은 1~4번까지 반복할 수 있다.

【0039】 상기 추출 이후, 부직포, 종이, 천 등으로 전처리 여과하거나, 각 다양한 기공크기를 갖는 필터를 이용하여 여과할 수 있으며, 예를 들어, 10, 5, 2, 1, 0.6, 0.5, 0.2 μ m의 기공크기를 갖는 필터를 이용하여 여과할 수 있고, 이는 필요에 따라 다른 필터를 이용하거나 더 추가되거나 또는 생략될 수 있다.

【0040】 상기 하동작설 추출물의 추출용 기기로는 통상의 추출기기, 초음파 분쇄추출기 또는 분획기를 이용할 수 있다. 이렇게 제조된 하동작설 추출물은 열풍 건조, 감압건조 또는 동결건조하여 용매를 제거할 수 있다. 또한, 상기 하동작설 추출물은 컬럼크로마토그래피를 이용하여 정제하여 사용할 수 있다.

【0041】 상기 하동작설 추출물은 상법에 따라, 유기용매(알코올, 에테르, 아세톤 등)에 의한 추출, 헥산과 물의 분배, 컬럼크로마토그래피에 의한 방법 등, 식물체 성분의 분리 추출에 이용되는 공지的方法을 단독 또는 적합하게 조합한 방법을 이용하여 분획 또는 정제하여 사용할 수 있다.

【0042】 상기 크로마토그래피는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 엘에이취-20 컬럼 크로마토그래피(LH-20 column chromatography), 이온교환수지 크로마토그래피(ion exchange resin chromatography), 중압 액체 크로마토그래피(medium pressure liquid chromatography), 박층 크로마토그래피(TLC; thin layer chromatography), 실리카

겔 진공 액체 크로마토그래피(silica gel vacuum liquid chromatography) 및 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 중에서 선택될 수 있다.

【0043】 또한, 본 발명은 하동작설 추출물 및 약제학적 부형제를 함유하는 역노화용 약학 조성물을 제공한다. 상기 하동작설 추출물은 본 발명의 약학 조성물에 0.001~100 중량%, 바람직하게는 0.001~30 중량%로 첨가될 수 있다.

【0044】 상기 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당

되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 액체 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기재로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

【0045】 본 발명의 약학 조성물의 투여량은 치료받을 대상의 연령, 성별, 체중과, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여경로 및 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 일반적으로 투여량은 0.01mg/kg/일 내지 대략 2000mg/kg/일의 범위이다. 더 바람직한 투여량은 1mg/kg/일 내지 500mg/kg/일이다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

【0046】 본 발명의 약학 조성물은 쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 주사에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물은 독성 및 부작용이 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.

【0047】 또한, 본 발명은 하동작설 추출물 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 역노화용 건강기능식품을 제공한다. 상기 하동작설 추출물은 본 발명의 건강기능식품에 0.001~100 중량%, 바람직하게는 0.001~30 중량%로 첨가될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 캔디류, 스넥류, 면류, 아이스크림, 유제품, 스프, 이온음료, 음료수, 알코올 음료, 껌, 차 및 비타민 복합제 등이 있다.

【0048】 상기 화장료 조성물의 제형으로는 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 에센스, 로션, 크림, 에멀전, 팩, 핸드크림, 풋크림, 바디로션, 립밤, 립스틱, 아이섀도우, 아이라이너, 아이브로우펜슬, 블러셔, 하이라이터, 일반화장수, 스킨, 크림, 세럼, 미용비누, 유연화장수, 약용화장수, 전신세정제, 클렌징폼, 클렌징로션, 젤, 클렌징오일, 클렌징크림, 클렌징티슈, 클렌징워터, 마스크팩, 그 외의 기타 헤어용 제품 등일 수 있으며, 특히, 발모, 탈모개선, 두피개선 등을 위한 다양한 헤어용 화장료 제품일 때, 바람직하게는 그 제형 또한, 특별히 제한되지 않는데, 보다 상세히는, 헤어비누, 헤어샴푸, 헤어린스, 헤어세럼, 헤어트리트먼트, 헤어에센스, 헤어워터, 헤어토닉, 헤어로션, 헤어에멀전, 헤어크림, 헤어맛사지크림, 헤어왁스, 헤어팩, 헤어오일, 모발건조제, 모발보존처리제, 모발염색제, 모발탈색제, 헤어젤, 헤어글레이즈, 헤어무스, 헤어스프레이, 헤어앰플 등의 그 어떤 제형 중에서도 선택될 수 있다.

【0049】 보다 더 자세하게는, 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라가칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다. 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판-부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다. 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 용액 또는 유탁액의 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다. 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시 에틸렌 소르비톨 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타 히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다. 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 아세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지

방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다. 본 발명의 화장료 조성물은 형광물질, 살진균제, 굴수성 유발물질, 보습제, 방향제, 방향제 담체, 단백질, 용해화제, 당 유도체, 일광차단제, 비타민, 식물 추출물 등을 포함하는 부형제를 추가로 함유할 수 있다. 상기 성분들은 제형 또는 사용목적에 따라 그 첨가량을 화장료 조성물 고유의 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 선택할 수 있다. 상기 성분들의 첨가량은 예를 들어 조성물 총 중량에 대하여 0.1~10 중량%, 바람직하게는 0.1~6 중량%일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

【발명의 효과】

【0050】 본 발명은 하동작설 추출물, EGCG(Epigallocatechin gallate), EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin Gallate) 화합물을 함유하는 역노화 조성물에 관한 것이다. 상기 하동작설 추출물 또는 이의 유효성분인 EGCG, EC 및 ECG 화합물은 노화 세포의 미토콘드리아의 기능을 회복하며 에너지 대사를 개선하고 자가포식 시스템을 활성화하며, 염증 인자 감소, 주름 개선 및 탄력 인자 증강, 세포 장벽 강화 등을 통해 노화 세포를 젊은 세포 상태로 회복시킴으로 세노몰픽 및 세놀리틱 조성물로 적용할 수 있다. 이에 상기 하동작설 추출물, EGCG, EC 및 ECG 화합물은 노화를 억제하는 다기능성 화장료 조성물, 약학 조성물 또는 건강기능식품으로 용이하게 이용될 수 있다.

【도면의 간단한 설명】

【0051】 도 1a, 및, 도 1b 내지 도1e는 하동작설을 비롯한 제주 녹차 추출물과 이들 유래 EGCG 등의 피크 위치를 나타내는 HPLC 결과, 하동작설 추출물 및 표준품 화합물의 대비 결과를 나타내는 HPLC 결과다.

도 2a는 하동작설 추출물이 노화세포에 대해 proliferation 저해 및 apoptosis 유도 효능이 있음을 나타내는 결과다.

도 2b는 하동작설 추출물의 미토콘드리아 기능 회복 효능을 MMP 레벨 (mitochondrial membrane potential level)을 통해 확인한 결과다.

도 3은 하동작설 추출물의 미토콘드리아 에너지 대사 개선 효능을 확인한 결과다.

도 4는 하동작설 추출물의 노화 마커 발현 억제 효능을 확인한 결과다.

도 5는 하동작설 추출물의 피부 재생 및 탄력 효능을 확인한 결과다.

도 6은 하동작설 추출물의 anti-inflammation 효능을 확인한 결과다.

도 7은 하동작설 추출물의 skin barrier 강화 효능을 확인한 결과다.

도 8은 하동작설 추출물의 damaged collagen uptake 효능을 확인한 결과다.

도 9는 하동작설 추출물의 young cell markers 발현 증가 효능을 확인한 결과다.

도 10은 EGCG(Epigallocatechin gallate)의 cell proliferation 저해 효능을 확인한 결과다.

도 11은 EGCG의 미토콘드리아 기능 회복 효능을 확인한 결과다.

도 12는 하동작설과 유효성분인 EGCG의 collagen fiber 증가 효능을 확인한 결과다.

도 13은 하동작설 추출물과 유효성분인 EGCG의 ROS 감소 효능을 확인한 결과다.

도 14는 EGCG의 리포푸신 축적 억제 효능을 확인한 결과다.

도 15는 EC(Epicatechin; 에피카테킨), ECG(Epicatechin gallate; 에피카테킨 갈레이트), 또는 이들의 혼합물에 대해 ROS 소거능과 리포푸신 축적률을 노화 세포 및 어린 세포에서 확인한 결과다.

도 16은 EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin gallate) 혼합물의 산소소비율, Spare respiratory capacity, ATP 생성율을 측정된 결과다.

도 17은 EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin gallate) 혼합물의 MMP 레벨, 미토콘드리아 중량에 미치는 영향을 확인한 결과다.

도 18은 EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin gallate) 혼합물의 리소좀 중량 측정 결과다.

도 19는 EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin gallate) 혼합물의 COL3A1(collagen type III)와 IL-8 (Interleukin-8) 유전자 발현에 미치는 영향을 확인한 결과다.

도 20은 EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin gallate) 혼합물이 콜라겐 분해효소인 MMP-1 및 MMP-9의 유전자 발현에 미치는 영향을 확인한 결과다.

【발명을 실시하기 위한 구체적인 내용】

【0052】 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해지도록, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

【0053】 <실시예 1. 하동작설 추출물 제조 및 품질 확인>

【0054】 하동작설(Hadong Jakseol; Hadong of *Camellia sinensis*, 경남 하동, 한국)을 20배 중량의 정제수에 첨가한 후 80℃에서 5시간 동안 가열하여 추출액을 얻었다. 상온(℃)으로 식힌 추출액을 5 μm 필터를 사용하여 여과한 다음 0.5 μm 필터를 사용하여 추가로 여과하였고, 최종 얻은 여과액을 진공 증발기로 농축한 다음 진공 건조기에서 건조하여 하동작설 추출물을 수득하였다.

【0055】 <실시예 2. 하동작설 추출물의 분석>

【0056】 하동작설 추출물의 확인 및 유효성분 실험을 위한 표준품 EGCG(Epigallocatechin gallate, E4143, Sigma), EC(Epicatechin, SBP01579, Biopurify Phytochemicals Ltd.), ECG(Epicatechin gallate, 03950590, Sigma)을 구입하여 사용하였다.

【0057】 하동작설 추출물의 표기는 각 도면에 녹차의 학명인 *C. sinensis* 로 기재하였으나, 이는 다른 지방에서 재배된 녹차 또는 다른 방법으로 가공된 찻잎의 추출물과는 구별된다.

【0058】 하동작설 추출물 내 EGCG 함량 분석은 HPLC(Agilent 1200, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)와 HPLC 컬럼(Capcell Pak C₁₈ 4.6 × 250mm, Shiseido, Osaka, Japan)을 사용하였다. 하동작설 추출물 파우더 20.0 mg을 메탄올(99.9%)을 사용하여 용해한 후, 0.45 μm 필터로 여과하여 분석하였다. EGCG 표준 용액은 5.0 mg을 50 ml의 메탄올(99.9%)에 용해하여 제조하였다.

【0059】 하동작설 추출물과 표준품 (-)-Epigallocatechin gallate (EGCG), (-)-Epicatechin (EC), (-)-Epicatechin gallate (ECG) 등을 하기 조건으로 확인한 HPLC 결과는 도 1a, 및, 도 1b 내지 도 1e에 나타내었고, 이를 통해 하동작설 추출물 내의 EGCG는 4.48중량%로 확인되었고, EC 1.85중량%, ECG 1.22 중량%로 확인되었다.

- Column : CAPCELL PAK C₁₈ 4.6 x 250 mm
 - Mobile Phase : A -0.05% phosphoric acid (pH2.4)
 B - MeOH: ACN = 3:2

Time (min)	A pump	B pump
0	90	10
15	75	25
25	40	60
40	90	10
60	90	10

- Flow Rate : 1.0 ml/min
 - Detection : 284 nm
 - Injection Volume : 10 μl
 - Column Temp. : 35°C

【0060】

【0061】 비교용 추출물로서, 시중에 유통되는 일반 제주 녹차 삼각 티백을 이용하여 하동작설 추출물 제조방법과 동일한 방법으로 추출물을 제조한 바, EGCG, EC, ECG 등의 함량에 다음과 같은 차이가 있음을 확인하였다.

【0062】 이를 수치로 나타내면, EGCG/EC/ECG 순으로, 하동작설 추출물에는 EGCG 4.48 중량%, EC 1.85 중량%, ECG 1.22 중량%가 포함되는 것으로 나타났고, 제주 녹차 추출물에는 EGCG 4.47 중량%, EC 3.70 중량%, ECG 0.77 중량%가 포함되어, EGCG의 함량은 거의 유사하였지만, EC의 함량은 하동작설 추출물이 보다 낮고, ECG의 함량은 제주 녹차 추출물이 더 높았다.

【0063】 추가적으로 하동작설 추출물 내의 화합물 분포를 확인한 바, EGCG 4.3~4.6 중량%, EC 1.8~2.0 중량%, ECG 1.2~1.5 중량%가 포함됨을 파악할 수 있었다.

【0064】 <실시예 3. 세포의 준비>

【0065】 본 실험을 위한 노화세포(Human senescent dermal fibroblast cell)로서, 계대배양을 통해 doubling time이 12일 이상인 세포(ATCC PCS-?201-010)를 사용하였고, 실험 결과 표기는 Senescent cell, Senescent fibroblasts, HDFa 등으로 간략히 기재하였다. (정상세포나 암세포의 일반적인 doubling time은 적어도 72시간 이내이고 빠르면 16시간이다.)

【0066】 상기 노화세포의 대조군으로 사용된 어린/젊은 세포로는, doubling time이 2일 이하인 Human neonatal dermal fibroblast cell(ATCC CRL-2076, CCD-1064Sk)을 사용하였으며, 실험 결과 표기는 Young cell, Young fibroblasts, HDFn 등으로 간략히 기재하였다.

【0067】 이 외, 세포의 기저막 강화능/피부장벽개선 효능을 확인하기 위해서는 Human neonatal normal keratinocyte, A431 cell을 사용하였다.

【0068】 각 세포의 배양은 기본적으로 모두 37℃, 5% CO₂ 배양기에서 수행하였다.

【0069】 또한 세포의 종류에 따라, Iscove's Modified Dulbecco's Medium(IMDM, Welgene, Korea), EpiLife(Gibco, USA), Dulbecco's modified Eagle's Medium(DMEM, Welgene, Korea) 등을 적절한 농도의 우태아혈청을 혼합하여 사용하였다.

【0070】 <실험예 1. 하동작설 추출물의 노화 세포의 증식 억제 및 아폽토시스 작용 확인>

【0071】 젊은 진피 섬유아세포 또는 노화된 진피 섬유아세포에 하동작설 추출물(10 μg/ml)을 4일 간격으로 12일 후 세포 증식 정도를 EZ-cytox reagent (DoGenBio, Korea)로 측정하였다.

【0072】 도 2a를 확인하면, 하동작설 추출물은 노화세포의 proliferation을 저해하였고 젊은세포에는 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 또한, 노화된 세포에서만 apoptosis 작용을 하는 것으로 확인된다.

【0073】 즉, 하동작설 추출물이 정상/젊은 세포가 아닌 노화된 세포에만 작용하여 이의 세포의 증식을 억제하거나 apoptosis 를 유도하는 것을 알 수 있다. 노화된 세포는 정상적인 활동은 하지 못하면서 주변에 정상/젊은 세포까지 노화되

도록 만드는 물질을 분비하는데, 이 때문에 노화된 세포만 apoptosis 시킨다면 주변의 정상/젊은 세포를 보호할 수 있게 되고 노화의 가속화를 방지할 수 있다.

【0074】 <실험예 2. 하동작설 추출물의 미토콘드리아 기능 회복 효능 확인>

【0075】 노화된 진피 섬유아세포에 하동작설 추출물(10 $\mu\text{g/ml}$)을 4일 간격으로 총 12일간 처리하였다. JC-10 (Enzo Life Science, USA)을 0.6 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 처리하여 37°C, 30분 동안 염색하고 유세포 분석기(FACS analysis)를 이용하여 이를 측정하였다.

【0076】 그 결과, 도 2b와 같이 하동작설 추출물이 노화 세포에서 미토콘드리아 막 전위(MMP) 레벨을 증가시켜 미토콘드리아 기능을 회복시키는 효능이 있음이 확인된다.

【0077】 <실험예 3. 하동작설 추출물의 미토콘드리아 에너지 대사 개선 효능 확인>

【0078】 노화된 진피 섬유아세포에 하동작설 추출물(10 $\mu\text{g/ml}$)을 4일 간격으로 총 12일간 처리하였다. 산소 소비율 측정을 위해 Seahorse XF Cell Mito stress test kit(Aglient Technology, USA)를 사용하였고, ATP(Adenosine Triphosphate) 생성을 측정을 위해 Seahorse XF Real-Time ATP Rate assay kit(Aglient Technology, USA)를 사용하였다. 다음으로 Seahorse XFe24 analyzer(Aglient Technology, USA)를 제조사 매뉴얼에 따라 사용하여 각 결과를 분석하였다.

【0079】 도 3을 확인하면, 하동작설 추출물이 노화 세포의 산소소비율 (oxygen consumption rate, OCR) 및 ATP(Adenosine Triphosphate) 생성을 증강시키는 것으로 나타나 미토콘드리아의 에너지 대사 효율을 개선함을 알 수 있다.

【0080】

【0081】 <실험예 4. 하동작설 추출물의 노화 마커 개선 효능 확인>

【0082】 실험예 4-1. 리포푸신(Lipofuscin)의 발현 확인

【0083】 기능 장애가 있는 소기관을 제거하는 것은 세포 내부의 중요한 과정 중 하나이다. 전통적으로 세포는 자가포식 시스템을 통해 기능 장애가 있는 소기관을 제거한다. 그러나 세포 노화가 진행됨에 따라 리소좀과 자가포식 시스템에 문제가 발생하여 정상적인 기능을 하지 못하게 된다. 예를 들어, 리소좀 활성의 감소는 감소된 활성을 보상하기 위해 리소좀 중량의 증가로 이어진다. 이와 같이 기능 장애가 있는 세포 소기관의 축적으로 인해 세포 노화가 가속화된다. 리포푸신은 리소좀 내의 고분자 물질로, 주로 철 촉매 산화 과정으로 인해 형성된 가교 단백질 잔기로 구성되는데 분해되지 않아 노화가 되는 동안 세포 내에 축적되기에 리포푸신 축적의 개선은 노화 개선의 지표로 볼 수 있다.

【0084】 상기 리포푸신의 활성을 확인하기 위해, 노화된 진피 섬유아세포에 하동작설 추출물(10 $\mu\text{g/ml}$)을 4일 간격으로 총 12일간 처리하였다. 이 후, 하동작설 추출물이 처리된 노화 세포를 수거하여 별도의 염색 없이 유세포 분석(FACS)으로 리포푸신(Lipofuscin) 축적 정도를 분석하였다.

【0085】 이에 도 4의 좌측 그래프를 확인하면, 하동작설 추출물은 노화된 세포 내에 축적되는 지표인 리포푸신(Lipofuscin)의 발현을 억제하는 효과가 뛰어난 것을 알 수 있다.

【0086】 실험예 4-2. 세포 주기 정지 제어 인자의 발현 확인 - p21

【0087】 노화세포는 세포 주기 정지를 통한 세포 분열 저하 및 증식을 중단시키고 궁극적으로 조직 재생 능력 저하 및 유기적 기능 장애를 유발시킨다. 이에 세포 주기 정지를 제어하는 경로 중 하나인 p53/p21의 p21 유전자를 또 다른 노화 개선 지표로 설정하고 확인하였다.

【0088】 리포푸신 축적 확인 실험과 동일하게 하동작설 추출물이 처리된 노화 세포를 수거하여 총 RNA를 RNase Mini Kit(QIAGEN, Germany)를 사용하여 분리하고, DiaStar™ RT Kit(SolGent, Korea)를 사용하여 역전사하여 cDNA를 얻었다. p21 gene expression은 CFX Connect™ Real Time PCR Detection System (Bio-Rad, USA)에서 Solg™ 2× Real Time PCR smart mix (Solgent)를 사용하여 결과값을 측정하였다.

【0089】 확인한 바, 도 4의 우측 그래프 결과는 하동작설 추출물 처리군에서 세포 주기 정지를 제어하는 경로 중 하나인 p53/p21의 p21 유전자의 발현이 감소되는 것을 제시한다.

【0090】 <실험예 5. 하동작설 추출물의 피부 재생 및 탄력 증강 효능 확인>

【0091】 실험예 5-1. 콜라겐 겔 수축 분석(Collagen Gel Contraction Assay)

【0092】 피부의 진피 섬유아세포는 단순히 콜라겐을 만들어내는 역할을 하는 것 외에도 주변 콜라겐 섬유(기질)에 붙어, 콜라겐을 끊임없이 잡아당기면서 피부의 장력과 탄력을 유지하는 능동적인 세포다. 이에 실험용 세포들이 콜라겐 섬유를 잡아당기면, 이 힘들이 모여 겔 전체의 부피가 줄어들고 겔이 수축하게 된다.

【0093】 즉, 콜라겐 겔이 많이 수축할수록, 다시 말해, 원형 홀의 지름이 작아질수록, 섬유아세포의 수축력이 강하다는 것을 의미하며, 이는 섬유아세포가 더 건강하고 재생성, 피부 탄력이 강한 활성 상태에 있음을 나타낸다.

【0094】 이러한 작용을 확인하기 위해, 노화된 진피 섬유아세포를 액체 형태의 collagen type I(Sigma, USA)과 10X DMEM(Sigma, USA)에 넣고 37°C incubator에서 gel 형태로 굳힌다. 이 후 spatula를 사용하여 gel을 floating시키고 하동작설 추출물을 처리하여 2일 동안 배양한다. Collagen gel을 촬영한 후 Image J 프로그램으로 각 시료 처리된 원형 gel의 지름을 비교 분석하였다.

【0095】 이 결과를 도 5의 상단 사진 및 그래프를 통해 확인하면, 하동작설 추출물 처리 시, 대조군과 비교하여, collagen gel 내에서 노화된 세포의 이동성이 증가되는 것을 확인할 수 있고, 이는 하동작설 추출물이 갖는 재생/탄력 효과를 입증하는 결과라고 할 수 있다.

【0096】

【0097】 실험예 5-2. 재생/탄력 인자 발현 확인

【0098】 다음으로, 재생/탄력 인자의 발현을 직접적으로 확인하기 위해, 노화된 진피 섬유아세포에 하동작설 추출물을 처리하여 1일 동안 배양하였다. 이후 QIAzol lysis reagent(QIAGEN)을 넣고 제조사의 방법에 따라 RNA를 분리하고 cDNA 합성(Thermo)을 하였다. Collagen type I, III, IV의 gene expression은 Power SYBR Green Master Mix(Thermo)와 7500 Real Time PCR System(Applied Biosystems)를 이용하여 분석하였다.

【0099】 이에, 도 5의 하단 결과를 통해, 상기 추출물이 처리된 세포에서 collagen type I, III, IV의 유전자 발현이 모두 증가함을 알 수 있고, 이를 통해 본 발명의 하동작설 추출물이 노화로 인해 감소되는 피부의 재생 및 탄력 개선에 효과적임을 설명할 수 있다.

【0100】 <실험예 6. 하동작설 추출물의 항염증 효능 확인>

【0101】 노화세포는 염증성 인자들을 유도 및 분비하기도 한다. 이 인자들은 사이토카인, 케모카인, ECM 분해 프로테아제, 성장인자로서, 노화세포 주위의 세포나 조직에 만성 염증성 질환을 유발시키거나 증상을 악화 및 가속화시킨다. 이러한 염증성 노화의 개념은 면역 기능의 감소로 이어지게 된다.

【0102】 이에 본 발명의 하동작설 추출물이 노화세포에서 항염증 효능이 있는지 확인하기로 하였다. 이를 위해 노화된 진피 섬유아세포에 하동작설 추출물(10 μ g/ml)을 4일 간격으로 총 12일간 처리하였다. 세포를 수거하여 총 RNA를 RNase Mini Kit(QIAGEN, Germany)를 사용하여 분리하고, DiaStar™ RT Kit(SolGent,

Korea)를 사용하여 역전사하여 cDNA를 얻었다. IL-1 β gene expression은 CFX Connect™ Real Time PCR Detection System (Bio-Rad, USA)에서 Solg™ 2 \times Real Time PCR smart mix (Solgent)를 사용하여 테스트하였다.

【0103】 도 6을 확인하면, 하동작설 추출물은 노화세포에서 증가되는 IL-1 β 의 발현을 감소시켜 항염 효과가 있음을 알 수 있다.

【0104】 <실험예 7. 하동작설 추출물의 피부 장벽 (skin barrier) 강화 효능 확인>

【0105】 실험예 7-1. 피부 건조 세포 모델에서의 피부 장벽 강화 효능 확인

【0106】 인간표피각질형성세포(HEKn, human epidermal keratinocyte, neonatal)에 IL-17 α 를 처리한 후 하동작설 추출물(10 μ g/ml)을 처리하여 3일 동안 배양하였다. 다음으로, 배양된 세포에 RIPA buffer를 이용하여 protein을 추출하고 western blot을 수행하였다. Calpain-1 (Abcam) 또는 β -actin (Santa cruz) 항체로 반응시킨 후 2차 항체를 반응시키고 ECL solution을 처리하여 Chemi Doc(ATTO)으로 Calpain-1 단백질 발현을 분석하였다.

【0107】 그 결과, 도 7의 좌측 그래프와 같이 IL-17 α 로 인해 keratinocyte에서 감소된 칼페인-1(Calpain-1)이 하동작설 추출물 처리로 인해 증가되어 상기 추출물이 피부 장벽을 강화하는 효능이 있음을 알 수 있다.

【0108】 실험예 7-2. 세포 손상 모델에서의 피부 장벽 강화 효능 확인

【0109】 또한, 편평상피암세포(A431)에 UVB 50 mJ/cm²을 조사한 후 하동작설 추출물(10 μg/ml)을 처리하여 1일 동안 배양하였다. 그런 다음 Proprep. buffer를 이용하여 protein을 추출하고 western blot을 수행하였다. Laminin 5 (Santa cruz) 또는 collagen type XVII (Thermo) 또는 β-actin (Santa cruz) 항체로 반응시킨 후 2차 항체를 반응시키고 ECL solution을 처리하여 Chemi Doc(ATTO)으로 laminin 5와 collagen type XVII 단백질 발현을 분석하였다.

【0110】 그 결과, 도 7의 중앙 및 우측 그래프와 같이 UVB 조사로 인해 keratinocyte에서 감소된 라미닌 5(Laminin 5), 콜라겐(Collagen type XVII)의 발현이 하동작설 추출물 처리로 인해 증가되어 상기 추출물이 피부 장벽을 강화하는 효능이 있음을 알 수 있다.

【0111】 <실험예 8. 하동작설 추출물의 손상된 콜라겐의 세포 내 유입 (damaged collagen uptake) 효능 확인>

【0112】 Endo180 (엔도180, 다른 이름: uPARAP, MRC2)은 주로 피부 섬유아세포의 표면에 존재하는 단백질 수용체이며, 피부의 주요 구성 성분인 콜라겐을 세포 안으로 끌어들이 분해하고 재활용한다. 즉, 낡거나 손상된 콜라겐을 처리하는 '청소부' 역할을 수행하여 피부의 건강한 구조와 항상성을 유지하는 데 중요하다. 그러나 피부가 지속적으로 자외선에 노출되면 광노화가 진행되면서, 이 과정에서 섬유아세포가 손상을 입게 되고, 그 결과 Endo180 단백질을 만들어내는 유전자의 발현이 줄어들게 된다.

【0113】 이에, 젊은 상태의 인간 섬유아세포 (HDFn, human neonatal dermal

fibroblast)에 UVA 25 J/cm²을 조사한 후 하동작설 추출물(10 µg/ml)을 처리하여 1 일 동안 배양하였다. 그런 다음 세포 고정 및 투과성을 높인 후 endo180 (Abcam) 항체로 반응시킨다. 2차 항체를 반응시킨 다음 DAPI(Sigma)를 처리하고 형광현미경 (Leica)로 촬영 후 Image J 프로그램으로 분석하였다.

【0114】 그 결과, 도 8을 통해 하동작설 추출물이 광노화 시 감소되는 Endo180의 발현이 증가되는 것을 확인할 수 있다. 즉, 하동작설 추출물은 이와 같은 기작을 통해 손상된 콜라겐의 세포 내 유입을 증가시키며, 새로운 콜라겐이 생산되도록 촉진하는 효능을 향상시킨다.

【0115】

【0116】 <실험예 9. 하동작설 추출물의 young cell markers 발현 증가 효능 확인>

【0117】 C-X-C motif chemokine ligand 12(CXCL12), slit guidance ligand 2(SLIT2)는 노화된 세포에서 그 발현이 감소한다. CXCL12는 피부의 항상성 유지와 피부 미백 촉진, 세포 이동, 재생에 중요한 역할을 하며, SLIT2는 피부 조직의 구조적 완전성을 유지하고 세포 간 상호작용을 조절하여 피부 탄력과 회복을 유지시키는 역할을 한다. 최근 재조합 인간 SLIT2 단백질(rhSLIT2)을 중년 섬유아세포에 처리 시, 세포 형태가 젊은 세포와 같이 작고 방추 모양의 형태로 되돌아갔으며, 증식 능력이 회복되었다고 보고되었다. 따라서 CXCL12, SLIT2는 어린/젊은 세포 기 능 식별 인자로 사용될 수 있다.

【0118】 CXCL12, SLIT2의 발현 여부 확인을 위해, 노화된 진피 섬유아세포에 하동작설 추출물(10 μ g/ml)을 2일씩 총 4일간 처리하였다. 세포를 수거하여 QIAzol lysis reagent(QIAGEN)를 넣고 제조사의 방법에 따라 RNA를 분리하고 cDNA 합성(Thermo)을 하였다.

【0119】 SLIT2와 CXCL12의 gene expression은 Power SYBR Green Master Mix(Thermo)와 7500 Real Time PCR System(Applied Biosystems)를 이용하여 분석하였다.

【0120】 그 결과, 도 9와 같이, 노화세포에서 발현이 감소된 상태인 SLIT2(slit guidance ligand 2), CXCL12(C-X-C motif chemokine ligand 12)가 하동작설 추출물 처리로 인해 증가되며, 상기 추출물이 young cell markers의 발현에도 영향을 주는 것이 입증되었다.

【0121】 <실험예 10. EGCG(Epigallocatechin gallate)의 cell proliferation 저해 효능 확인>

【0122】 노화된 진피 섬유아세포, 젊은 진피 섬유아세포에 표준품 EGCG(4.58 μ g/ml)를 4일 간격으로 12일 후 세포 증식 정도를 EZ-cytox reagent (DoGenBio, Korea)로 측정하였다.

【0123】 도 10을 확인하면, EGCG는 하동작설 추출물처럼 노화된 진피 섬유아세포의 proliferation을 저해하였고 젊은 진피 섬유아세포에는 영향을 주지 않는 것으로 나타난다.

【0124】 <실험예 11. EGCG(Epigallocatechin gallate)의 미토콘드리아 기능 회복 효능 확인>

【0125】 노화된 진피 섬유아세포에 EGCG(4.58 $\mu\text{g/ml}$)를 4일 간격으로 총 12일간 처리하였다. 미토콘드리아 활성 확인을 위해 JC-10 (Enzo Life Science, USA)을 0.6 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 처리하여 37°C, 30분 동안 염색하고 유세포 분석기(FACS analysis)를 이용하여 측정된 결과를 분석하였다.

【0126】 도 11을 확인하면, EGCG 화합물 또한 하동작설 추출물과 같이 노화 세포에서 미토콘드리아의 membrane potential (MMP)를 증가시켜, 상기 화합물이 미토콘드리아 기능을 회복시키는 것을 알 수 있다.

【0127】 <실험예 12. 하동작설 추출물 및 EGCG(Epigallocatechin gallate)의 Collagen fiber 증가 효능 확인>

【0128】 본 실험에서는 마송 삼색 염색(Masson's Trichrome Staining)을 통해 피부 자체에서 하동작설 추출물 및 EGCG가 콜라겐 자체를 증강시킬 수 있는지를 확인하기로 하였다. 마송 삼색 염색(Masson's Trichrome Staining)은 주로 콜라겐 섬유를 근육이나 세포질 등과 구분하고, 조직의 섬유화를 평가하는 실험이며, 콜라겐(Collagen)은 파란색 또는 초록색으로 염색되고, 근육섬유와 세포질(Muscle fibers, Cytoplasm)은 붉은색, 세포핵(Cell Nuclei)은 검은색이나 진한 보라색으로 염색된다.

【0129】 실험을 위해, 인공피부 KeraSkin-FT™ (바이오솔루션)에 UVA 20 J/cm²을 조사하고, 하동작설 추출물(10 µg/ml) 또는 EGCG(4.58 µg/ml)를 처리하였으며, 해당 과정을 3번 반복하였다. 다음으로, 각 시료가 처리된 인공피부에 대해 조직 고정을 하고 탈수 및 embedding 과정을 수행하였고, 수득된 조직 파라핀 블록을 section 하였다. 절편을 슬라이드에 올린 후 Masson's trichrome staining kit (Abcam)로 Collagen fiber 염색을 수행하였다.

【0130】 이 후, 광학 현미경(Leica)으로 각 시편을 촬영하고 Image J 프로그램으로 분석하였다.

【0131】 그 결과, 도 12와 같이 하동작설 추출물 및 EGCG 처리를 통해 인공 피부에서 UVA로 감소된 collagen fiber가 다시 증가 및 생성되었고, 피부 회복 효능이 있음을 알 수 있다.

【0132】 <실험예 13. EGCG의 노화 마커 개선 효능 확인 - Lipofuscin>

【0133】 다음으로 EGCG의 리포푸신(Lipofuscin) 축적 억제 효능을 확인하였다. 이를 위해 노화된 진피 섬유아세포에 EGCG를 4일 간격으로 총 12일간 처리하였다.

【0134】 수거된 세포를 별도의 염색 없이 유세포 분석(FACS)으로 확인한 바, 도 13과 같이 EGCG 또한 리포푸신 축적 감소 효과가 매우 우수함을 확인할 수 있다.

【0135】 <실험예 14. EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin gallate) 혼합물의 역노화 효능 확인>

【0136】 EC(Epicatechin; 에피카테킨) 및 ECG(Epicatechin gallate; 에피카테킨 갈레이트), 또는 이들의 혼합물에 대해 ROS 소거능과 리포푸신 축적물을 노화된 진피 섬유아세포 및 젊은/어린 섬유아세포에서 확인하였고, 도 14 및 도 15에 그 결과를 확인하였다.

【0137】 그 결과, 도 14와 같이, EC(Epicatechin; 에피카테킨) 및 ECG(Epicatechin gallate; 에피카테킨 갈레이트), 또는 이들의 혼합물에 대해 ROS 소거능은 약하게 나타날 뿐이었고, 그 차이가 거의 없었으나, 도 15의 결과에서 노화 세포에서의 리포푸신 축적 억제율이 보다 우수함을 확인하여, 이들 화합물의 혼합물이 역노화/항노화 조성물로서의 가치가 있음을 파악하였다.

【0138】 또한 EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin gallate) 혼합물의 산소 소비율, Spare respiratory capacity, ATP 생성율을 측정하여 도 16에 나타내었다.

【0139】 MMP 레벨, 미토콘드리아 중량 측정 결과는 도 17에, 리소좀 중량은 도 18에 개시하였다.

【0140】 이러한 EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin gallate) 혼합물의 실험 결과는 역시 역노화와 관련된 뛰어난 효능을 제시한다.

【0141】 이 외에, 도 19 및 도 20을 통해 EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin gallate) 혼합물이 노화 세포에서의 COL3A1(collagen type III)의

유전자 발현이 증가되고, 피부의 면역성 인자인 IL-8, 즉, MMP-9에 영향을 주는 사이토카인의 유전자 발현을 억제하여, 직접적으로 콜라겐 분해효소인 MMP-1 및 MMP-9이 억제되어 주름개선을 완화하는 인자임을 확인할 수 있다.

【0142】 위 각 실험들은 대부분 하동작설 추출물 또는 EGCG를 이용한 실험 조건과 동일하게 실시하였다.

【0143】 ROS(Reactive oxygen species) 소거능 실험을 위해서는 각 세포에 각 화합물 시료를 4일 간격으로 총 12일간 처리하고 ROS 염색을 위해 DHE 용액 (dihydroethidium solution, MedChemExpress)을 30분간 처리하였다. 마지막으로 DAPI mounting solution 처리 후 형광 현미경(Leica)으로 촬영하고 Image J 프로그램으로 분석하였다. Spare respiratory capacity는 리포푸신 축적을 실험조건과 동일하게 세포를 준비한 후, Seahorse XF Cell Mito stress test kit(103015-100; Aglient Technolngy, USA)를 사용하여 산소 소비율 측정을 하고 Seahorse XFe24 analyzer (Aglient Technolngy, USA)를 제조사의 메뉴얼에 따라 사용하여 분석하였다.

【0144】 리소좀 중량은 리포푸신 축적을 실험조건과 동일하게 세포를 준비한 후, 노화세포를 100nM LysoTracker™ RED가 포함된 배지에서 30분 동안 37°C에서 배양하여 염색한 후, 유세포분석기를 통해 분석하는 방법으로 확인하였다.

【0145】 미토콘드리아 중량 또한 동일 조건으로 화합물이 처리된 세포를 50 nM MitoTracker green (M7514; Invitrogen)으로 37°C에서 30분간 염색하고, 세포 고정화 후, 유세포 분석(FACS analysis)을 통해 측정하였다.

【청구범위】**【청구항 1】**

EGCG(Epigallocatechin gallate), EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin Gallate)를 포함하는 하동작설 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 역노화 조성물.

【청구항 2】

제1항에 있어서,

상기 추출물은 노화세포의 기능을 젊은 세포 상태로 회복시키는 세노몰릭 효능이 있는 것을 특징으로 하는 역노화 조성물.

【청구항 3】

제1항에 있어서,

상기 추출물은 노화세포 내 미토콘드리아의 막 전위 레벨 증가시키거나 산소 소비율을 증가시켜, 노화세포의 에너지 대사 효율을 개선하는 효능이 있는 것을 특징으로 하는 역노화 조성물.

【청구항 4】

제1항에 있어서,

상기 추출물은 노화 세포의 리포푸신 축적을 억제하여 자가포식 시스템을 활성화하는 효능이 있는 것을 특징으로 하는 역노화 조성물.

【청구항 5】

제1항에 있어서,

상기 추출물은 노화 세포에서 세포 간의 콜라겐 섬유에 대한 장력을 증가시키거나, 노화 세포의 콜라겐 타입 I (collagen type I), 콜라겐 타입 III (collagen type III) 또는 콜라겐 타입 IV (collagen type IV)의 유전자 발현을 증가시켜, 피부 재생, 주름 개선 및 탄력 효능을 증강시키는 것을 특징으로 하는 역노화 조성물.

【청구항 6】

제1항에 있어서,

상기 추출물은 IL-1 β 의 발현을 억제하여 노화 세포의 염증 인자를 감소시키는 효능이 있는 것을 특징으로 하는 역노화 조성물.

【청구항 7】

제1항에 있어서,

상기 추출물은 칼페인-1 (Calpain-1), 라미닌-5 (Laminin 5), 또는 콜라겐 타입 XVII (collagen type XVII)의 발현을 증가시켜 피부장벽을 강화하는 효능이 있는 것을 특징으로 하는 역노화 조성물.

【청구항 8】

제1항에 있어서,

상기 추출물은 노화세포의 증식을 저해하고, 노화세포에 대해 아포토시스를

일으키나, 젊은세포에는 세포증식 또는 아폽토시스를 일으키지 않는 세놀리틱 효능이 있는 것을 특징으로 하는 역노화 조성물.

【청구항 9】

제1항의 조성물을 포함하여 세노몰픽 및 세놀리틱 효능을 갖는 것을 특징으로 하는 역노화용 화장료 조성물.

【청구항 10】

제1항의 조성물을 포함하여 세노몰픽 및 세놀리틱 효능을 갖는 것을 특징으로 하는 역노화용 약학 조성물.

【청구항 11】

(i) EGCG(Epigallocatechin gallate); 또는;

(ii) EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin Gallate)의 혼합물;에서 선택되는 하동작설 유래 화합물을 함유하는 것을 특징으로 하는 역노화 조성물.

【요약서】**【요약】**

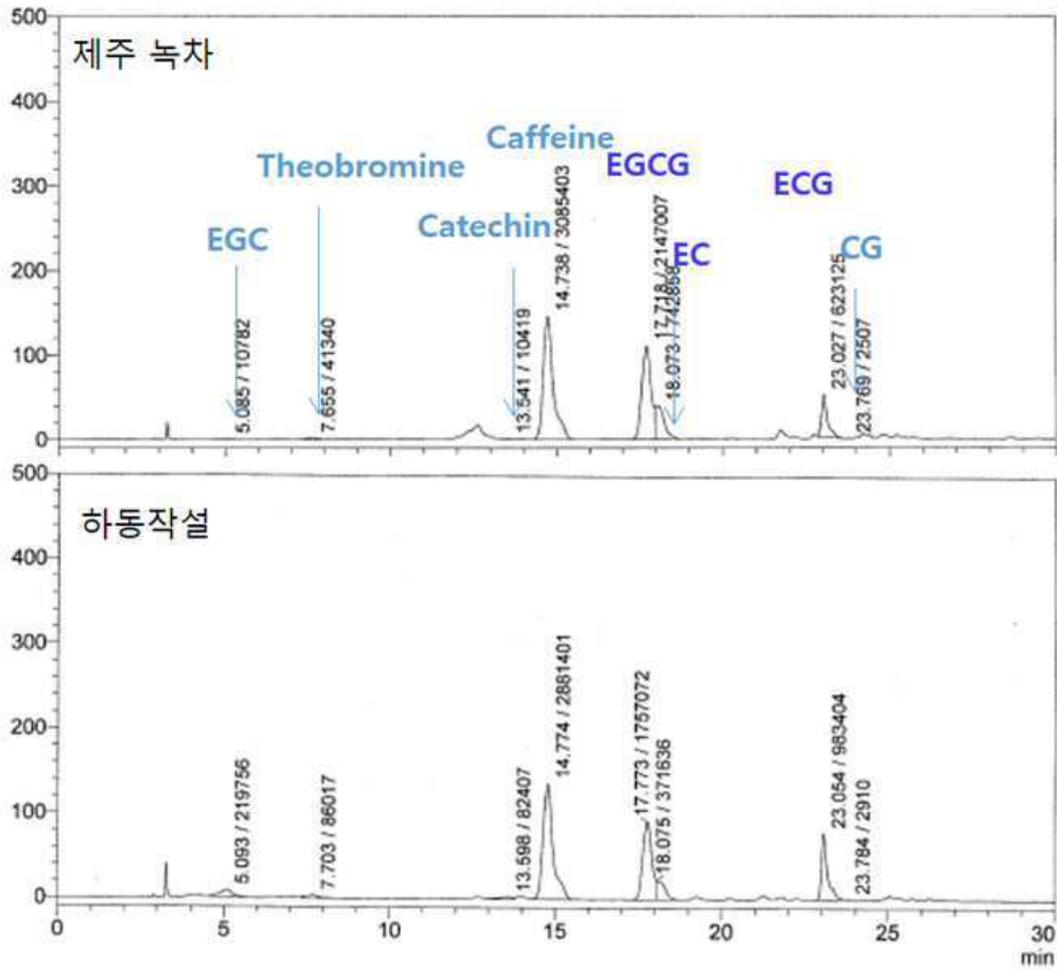
본 발명은 하동작설 추출물, EGCG(Epigallocatechin gallate), EC(Epicatechin) 및 ECG(Epicatechin Gallate) 화합물을 함유하는 역노화 조성물에 관한 것이다. 상기 하동작설 추출물 또는 이의 유효성분인 EGCG, EC 및 ECG 화합물은 노화 세포의 미토콘드리아의 기능을 회복하며 에너지 대사를 개선하고 자가포식 시스템을 활성화하며, 염증 인자 감소, 주름 개선 및 탄력 인자 증강, 세포 장벽 강화 등을 통해 노화 세포를 젊은 세포 상태로 회복시킴으로 세노몰픽 및 세놀리틱 조성물로 적용할 수 있다. 이에 상기 하동작설 추출물, EGCG, EC 및 ECG 화합물은 노화를 억제하는 다기능성 화장품 조성물, 약학 조성물 또는 건강기능식품으로 용이하게 이용될 수 있다.

【대표도】

도 4

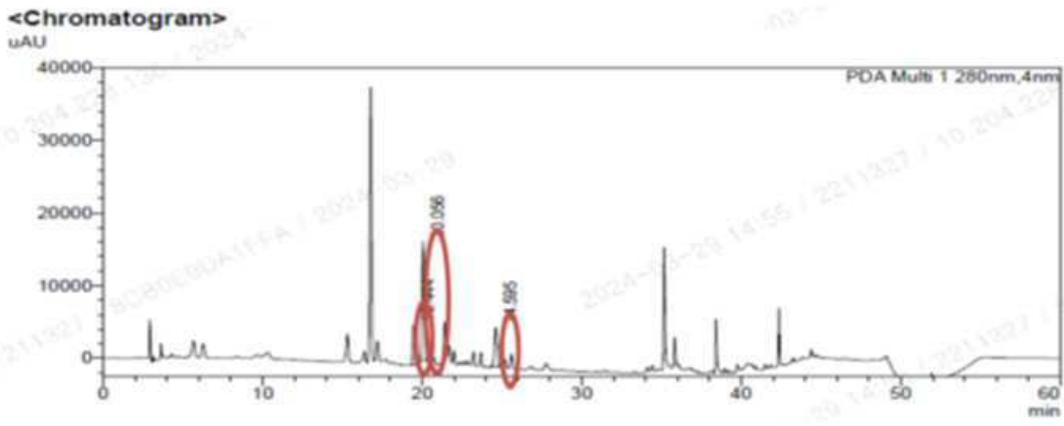
【도면】

【도 1a】



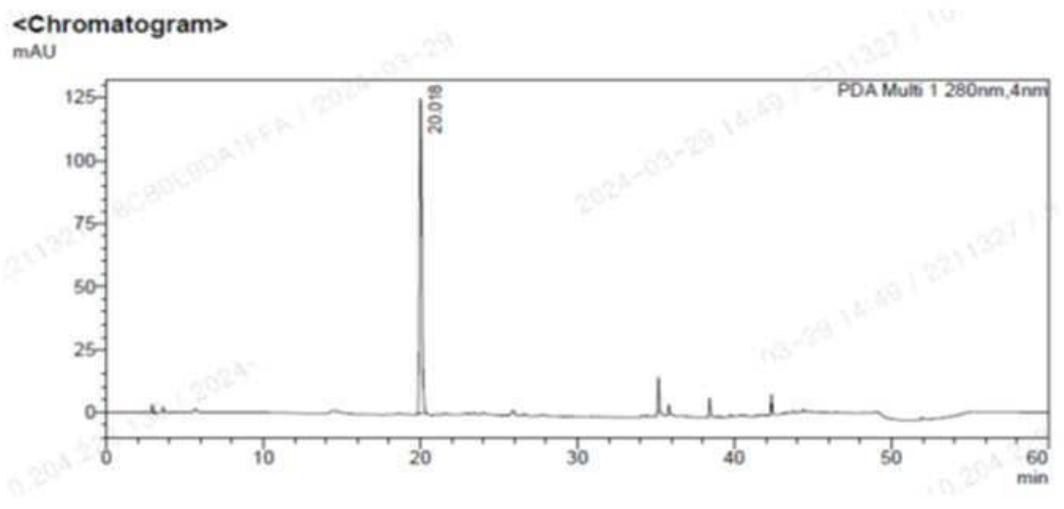
【도 1b】

하동작설 추출물



【도 1c】

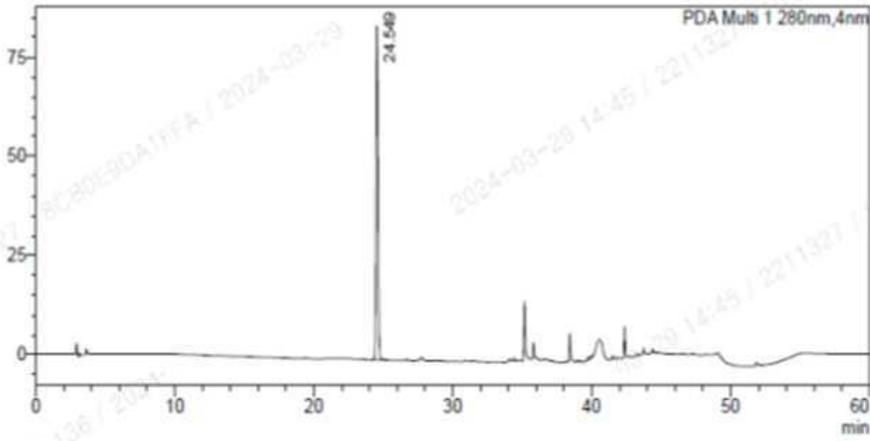
EGCG (Epigallocatechin gallate)



【도 1d】

ECG (Epicatechin gallate)

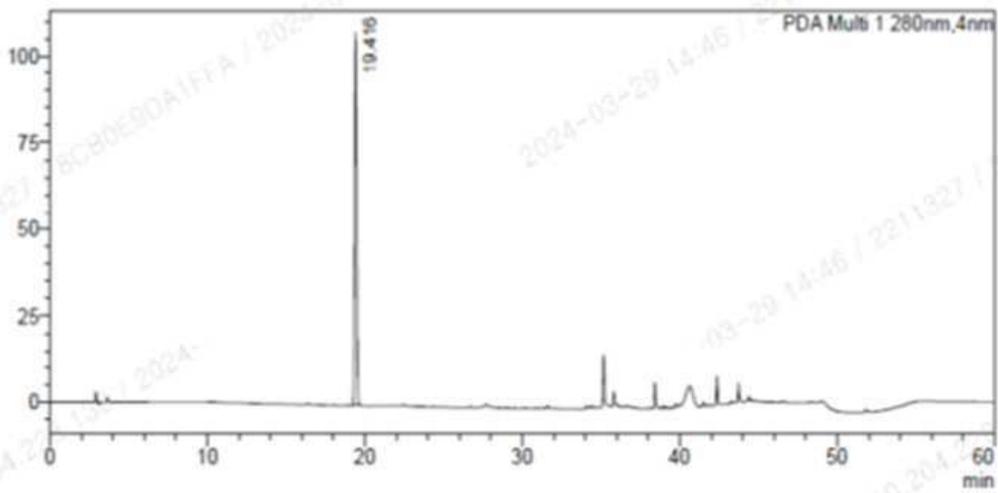
<Chromatogram>
mAU



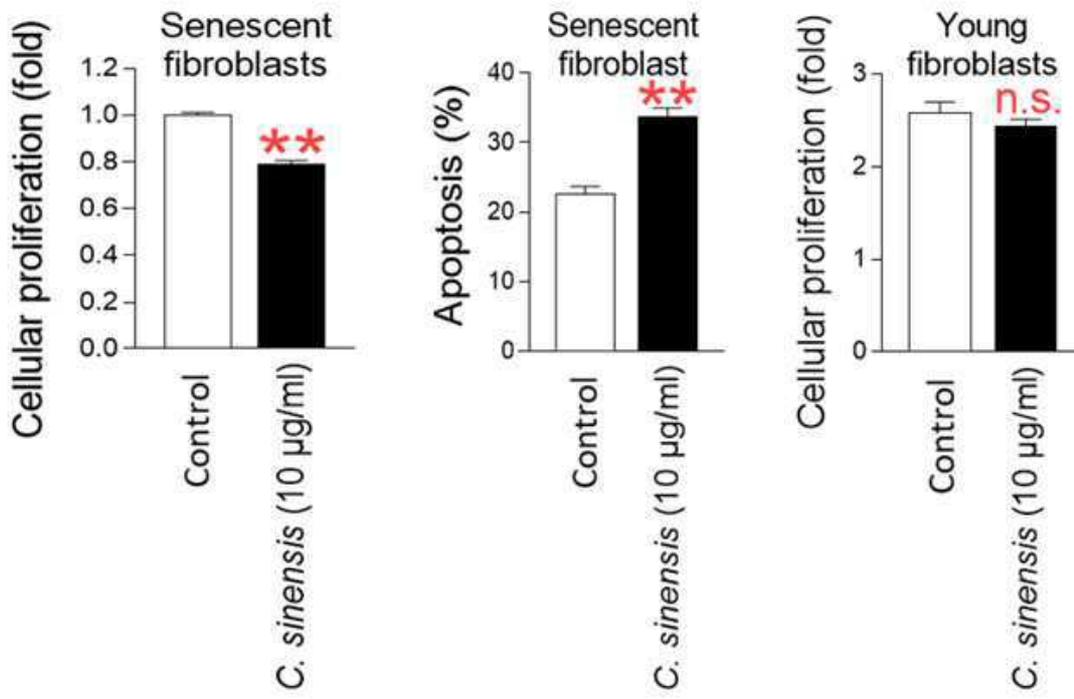
【도 1e】

EC (Epicatechin)

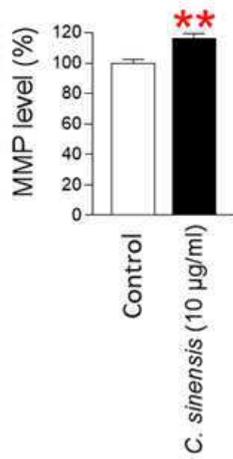
<Chromatogram>
mAU



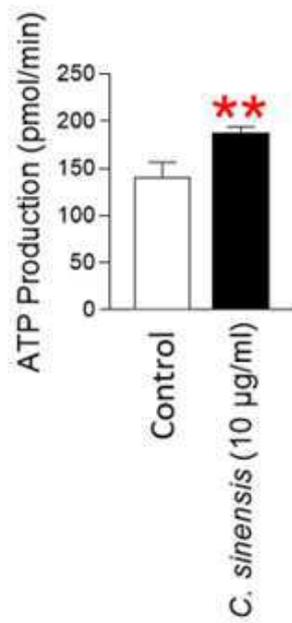
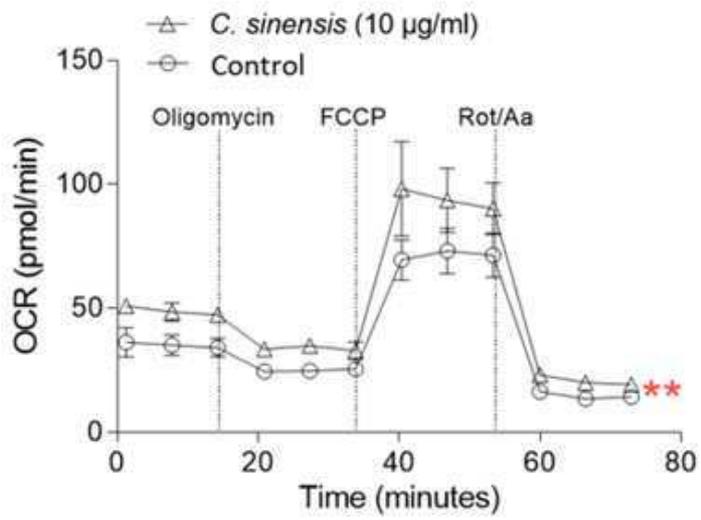
【Fig 2a】



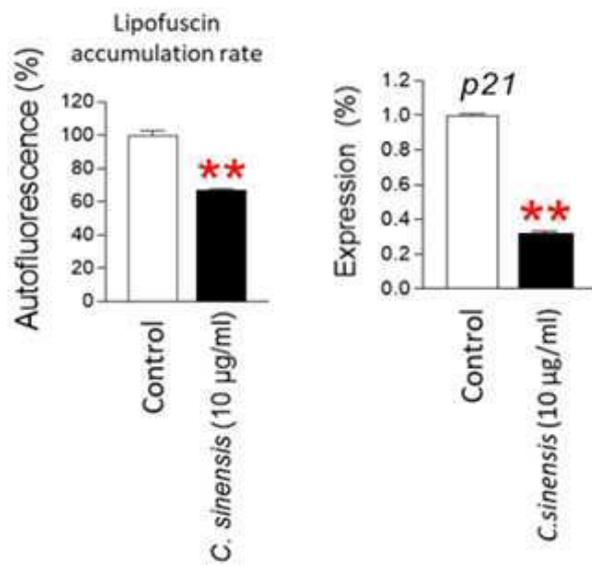
【Fig 2b】



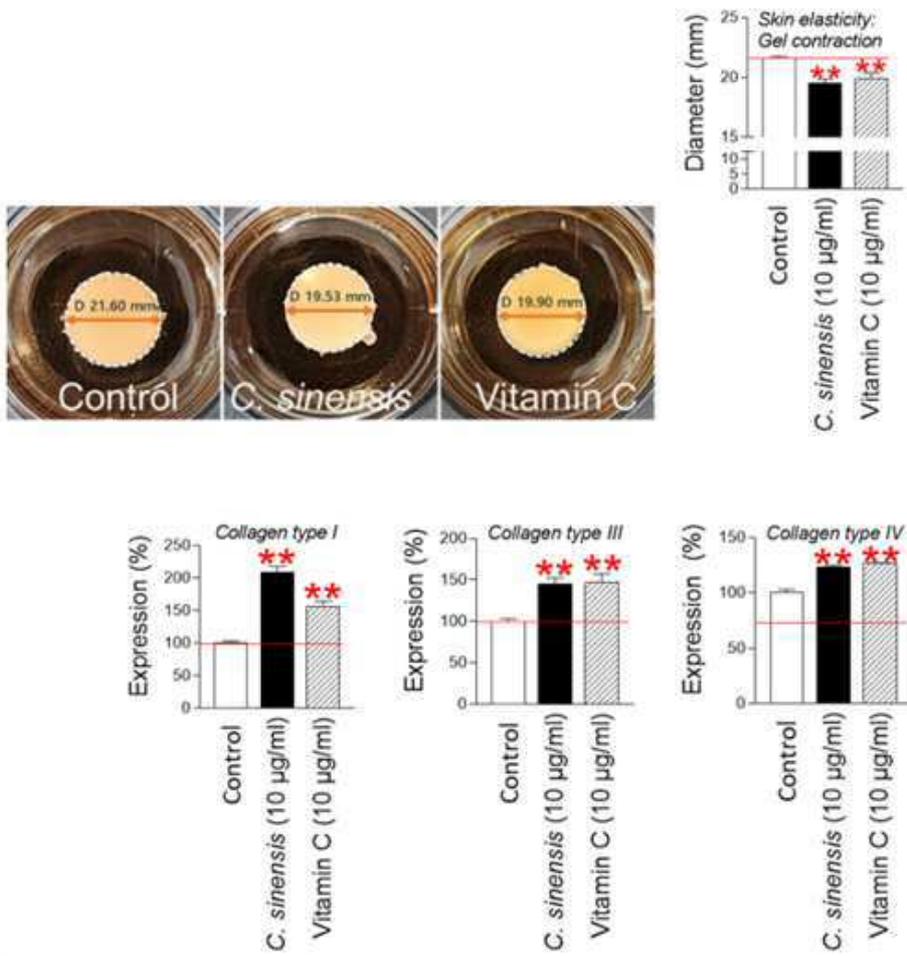
【표 3】



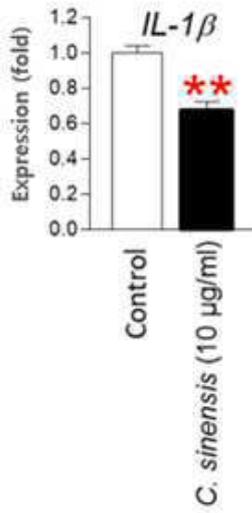
【F 4】



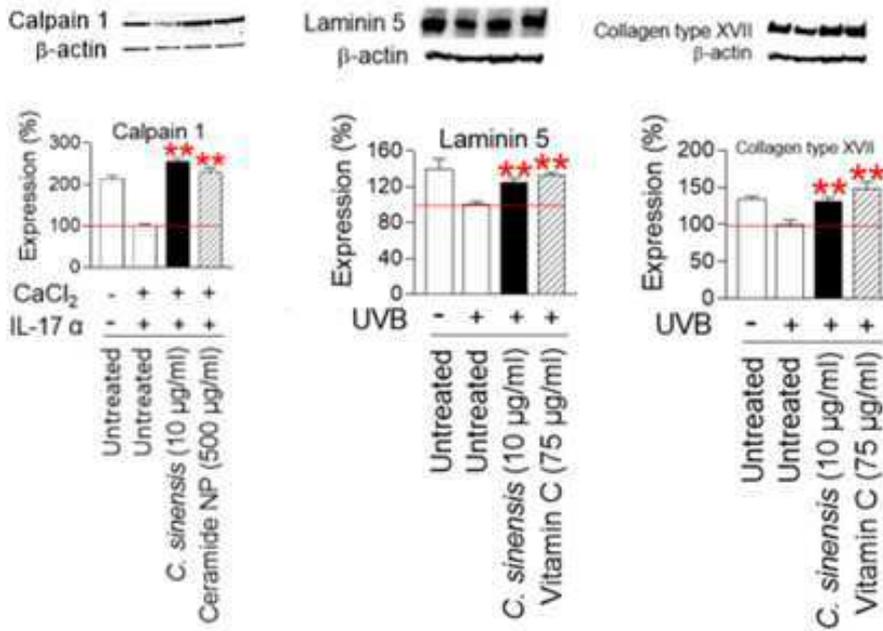
【도 5】



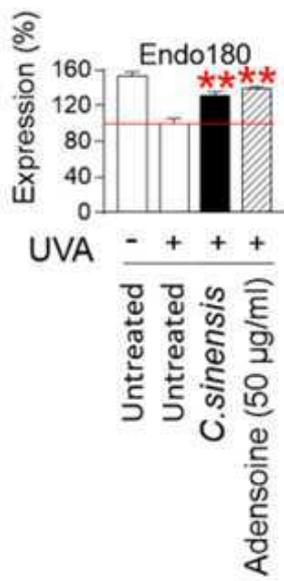
【도 6】



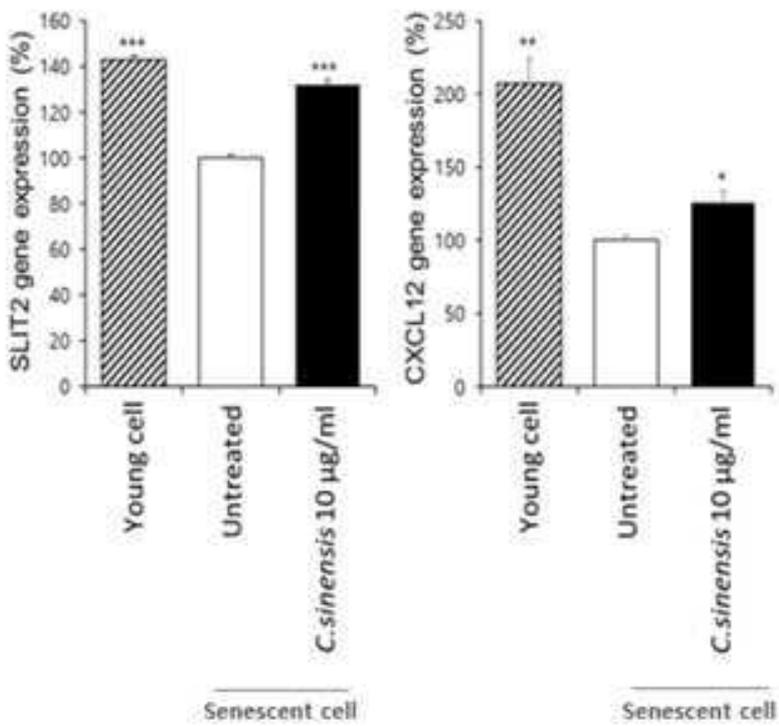
【도 7】



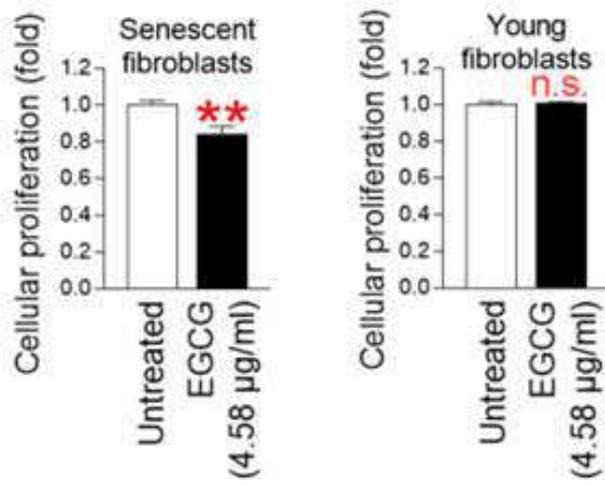
【표 8】



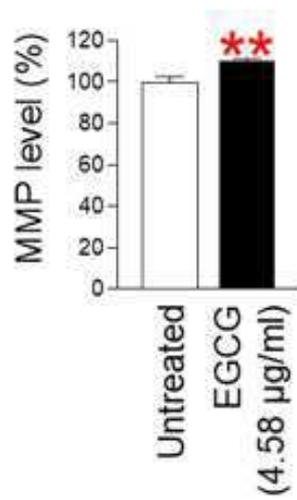
【표 9】



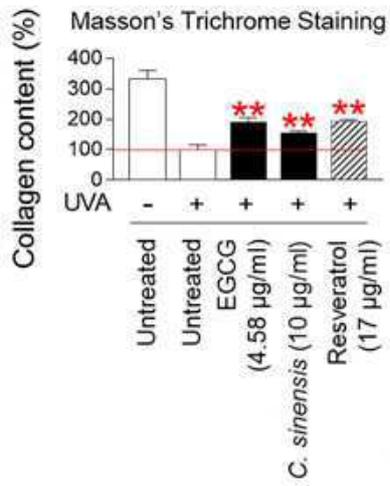
【표 10】



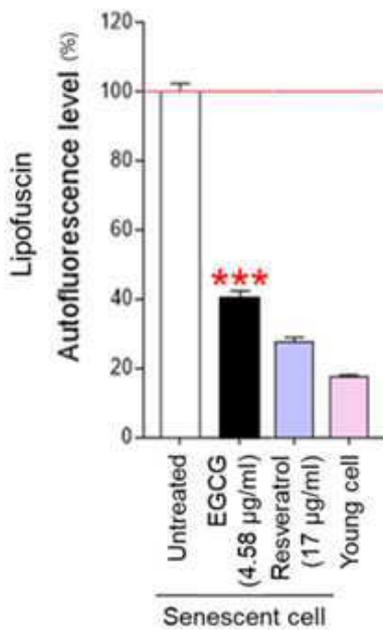
【표 11】



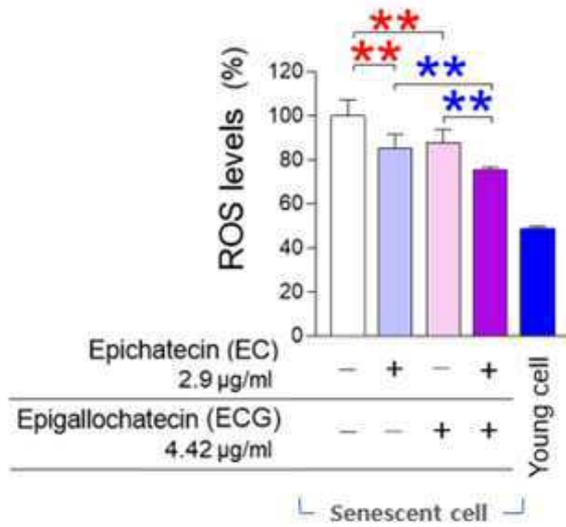
【Fig 12】



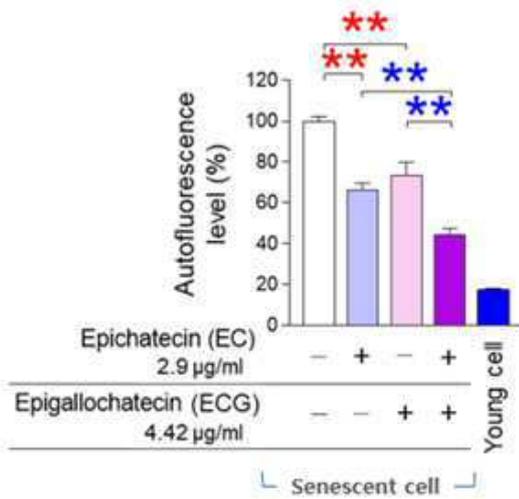
【Fig 13】



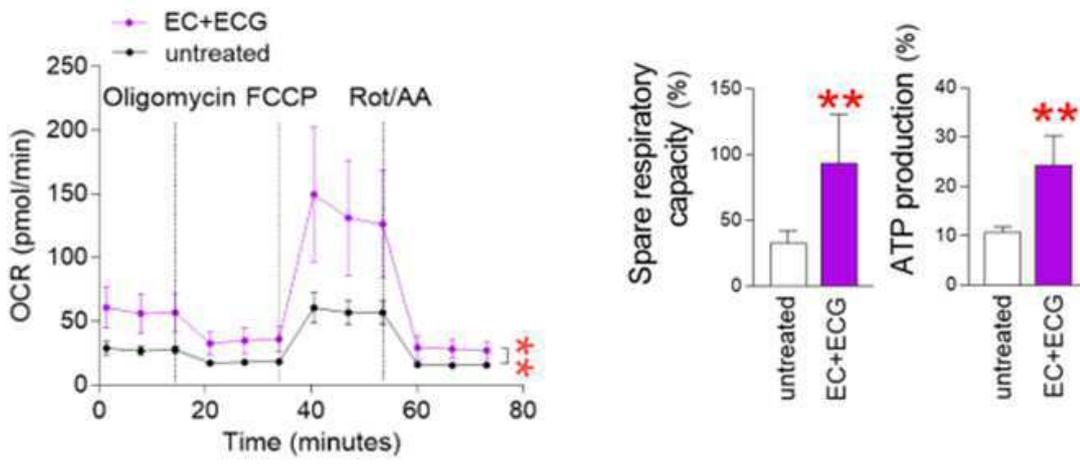
【도 14】



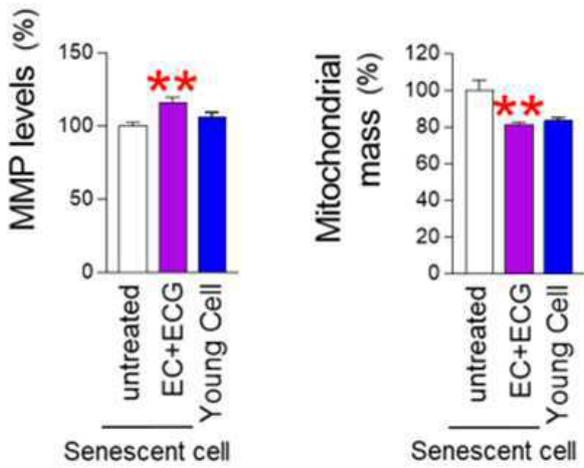
【도 15】



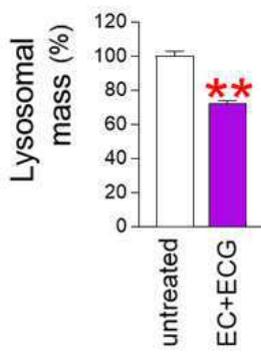
【도 16】



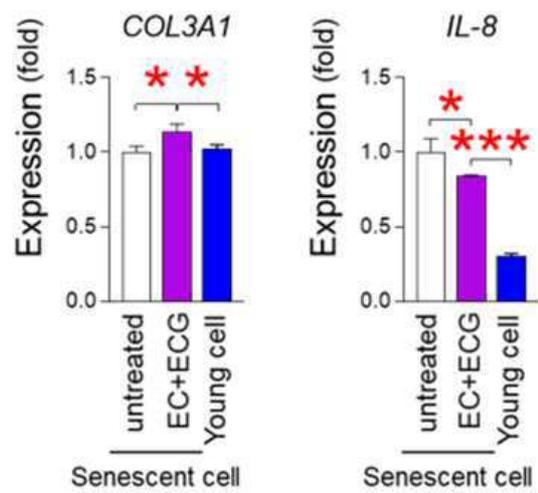
【도 17】



【F 18】



【F 19】



【E 20】

