



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0072545
(43) 공개일자 2017년06월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A01G 7/06 (2006.01) A01G 1/00 (2006.01)
A23F 3/34 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
A23L 11/00 (2016.01) A61K 36/48 (2006.01)
A61K 8/97 (2017.01) A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A01G 7/06 (2013.01)
A01G 1/001 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0180827

(22) 출원일자 2015년12월17일

심사청구일자 2015년12월17일

(71) 출원인

경상대학교산학협력단

경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)

(72) 발명자

박기훈

경상남도 진주시 초장로 14번길 29, 206동 1303호
(초전동, 진주초전푸르지오2단지)

조계만

경상남도 진주시 진주대로 829번길 21 103동 250
1호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이원희

전체 청구항 수 : 총 12 항

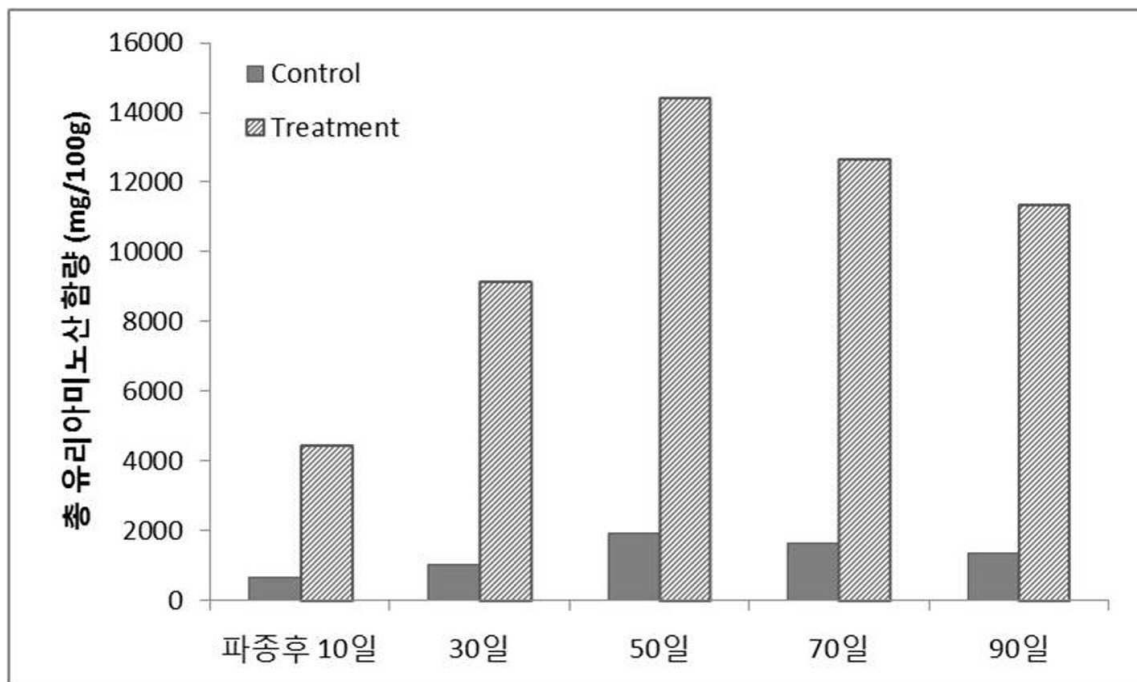
(54) 발명의 명칭 콩잎의 하이드록시프롤린 및 아르기닌 함량을 증가시키는 방법

(57) 요약

본 발명은 콩잎의 하이드록시프롤린(hydroxyproline) 및 아르기닌(arginine)의 함량을 증가시키는 방법에 관한 것으로, 파종 후 40일이 경과한 콩잎에 에틸렌을 200 ppm의 농도로 처리한 결과, 처리 후 1일부터 유리아미노산의 함량은 현저히 증가하여 처리 후 3 ~ 7일경에 최대치가 됨을 확인하였고, 또한, 에틸렌을 처리하지 않은 콩잎

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



에 비해 에틸렌을 처리한 콩잎에서 필수아미노산은 약 10배 및 비필수아미노산은 약 7배 이상 증가 하였으며, 특히, 대표적인 기능성 소재인 감마-아미노부티르산(γ -aminobutylic acid)은 약 2배 증가하였고, 하이드록시프롤린은 약 10배 이상 및 아르기닌은 약 30배 이상 증가하였으며, 상기 콩잎 추출물이 피부주름 생성과 관련이 있는 엘라스테이즈(elastase)의 활성을 현저하게 저해함을 확인함으로써, 본 발명의 에세폰 또는 에틸렌을 콩잎에 처리하는 방법은 콩잎의 하이드록시프롤린 및 아르기닌의 함량을 증가시키는 방법으로써 유용하게 사용될 수 있고, 또한 상기 콩잎, 콩잎 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 조성물은 피부미용소재 및 식의약 소재로써 사용될 수 있다.

(52) CPC특허분류

A23F 3/34 (2013.01)
A23L 11/00 (2016.08)
A23L 33/105 (2016.08)
A61K 36/48 (2013.01)
A61K 8/97 (2013.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/318 (2013.01)

송영훈

경상남도 창원시 의창구 용지로 229, 15동 202호
 (용호동, 롯데 아파트)

(72) 발명자

육홍주

경상남도 사천시 문선3길 51(벌리동, 삼우아파트)
 B동 201호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	3150320-4-1-SB010
부처명	농림축산식품부
연구관리전문기관	농림수산식품기술기획평가원
연구사업명	농생명산업기술개발
연구과제명	두과 작물에서 기능성 생물소재 생산 및 표준화 기술
기 여 율	50/100
주관기관	경상대학교 산학협력단
연구기간	2015.08.14 ~ 2019.08.13이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호	PJ01107001
부처명	농촌진흥청
연구관리전문기관	농촌진흥청 시스템합성농생명공학사업단
연구사업명	시스템합성농생명공학사업
연구과제명	주요작물의 대사체 Flux 규명 및 유용물질 생산
기 여 율	50/100
주관기관	경상대학교 산학협력단
연구기간	2015.01.15 ~ 2017.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

에틸렌(ethylene), 에틸렌 공여체 또는 에틸렌 발생제를 처리하여, 콩잎의 하이드록시프롤린(hydroxyproline) 및 아르기닌(arginine) 함량을 증가시키는 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 에틸렌 공여체는 에세폰(ethephon)인 것을 특징으로 하는 콩잎의 하이드록시프롤린 및 아르기닌 함량을 증가시키는 방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 에틸렌은 100 내지 1000 ppm의 농도로 처리하고, 에틸렌 공여체 또는 발생제는 5 내지 500 ppm의 농도로 처리하는 것을 특징으로 하는 콩잎의 하이드록시프롤린 및 아르기닌 함량을 증가시키는 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 콩잎은 파종 후 10 내지 90일경과 한 콩에 에틸렌, 에틸렌 공여체 또는 에틸렌 발생제를 처리하는 것을 특징으로 하는 콩잎의 하이드록시프롤린 및 아르기닌 함량을 증가시키는 방법.

청구항 5

제 1항의 방법으로 제조된 하이드록시프롤린 및 아르기닌의 함량이 증가된 콩잎.

청구항 6

제 5항의 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 조성물.

청구항 7

제 5항의 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 피부미용 개선용 조성물.

청구항 8

제 7항에 있어서, 상기 조성물은 약학적 조성물 또는 화장품 조성물인 것을 특징으로 하는 피부미용 개선용 조성물.

청구항 9

제 5항의 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 건강기능식품.

청구항 10

제 5항의 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 피부미용 개선용 건강기능식품.

청구항 11

제 5항의 콩잎을 이용한 차(tea).

청구항 12

- 1) 에틸렌을 100 내지 1000 ppm, 또는 에틸렌 공여체 또는 에틸렌 발생체를 5 내지 500 ppm의 농도로 콩잎에 처리하는 단계; 및
- 2) 상기 단계 1)의 콩잎을 추출하여 하이드록시프롤린 및 아르기닌을 분리하는 단계를 포함하는 콩잎의 하이드록시프롤린 및 아르기닌의 대량생산방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 콩잎의 아미노산 함량, 특히 하이드록시프롤린(hydroxyproline)과 아르기닌(arginine)의 함량을 증가시키는 방법, 또는 이들을 포함하는 조성물 및 이들의 이용에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 아미노산은 인체를 구성하는 단백질의 구성성분으로 약 20종이 존재한다. 아미노산은 생명체에 필수이고 대사 과정에 여러 가지 역할을 수행하며, 20종의 아미노산은 효소, 면역계의 항체, 근육, 호르몬의 주요 성분 또는 전구체이다. 아미노산은 알파(α) 위치에 아미노기와 카르복시기를 갖고 있으며 또한 알파 탄소에 서로 다른 작용기가 붙어있어 다양한 생리 작용을 나타낸다.

[0004] 본 발명의 주요 목표 아미노산인 하이드록시프롤린(hydroxyproline)은 콜라겐을 구성하는 핵심아미노산으로 콜라겐 생합성과정에서 3차 나선구조를 유지하는데 필수적인 역할을 한다. 따라서, 하이드록시프롤린이 결핍되면 3차나선구조를 형성하지 못하여 정상적인 콜라겐 생성을 기대 할 수 없다.(참고문헌) 피부조직에 있어서 콜라겐은 진피층의 세포간 기질(extracellular matrix)을 채우고 있으며, 노화에 의한 주름생성 및 탄력저하 등 피부 상태와 밀접한 관계가 있다. 이러한 이유로 콜라겐은 오래전부터 피부미용의 목적으로 화장품 원료로 사용되어 왔다. 특히 콜라겐의 주요성분요소인 하이드록시프롤린은 KFDA(대한민국 식약처)등 많은 나라에서 화장품 원료로 등재되어 있다.

[0005] 한편, 콜라겐은 기능성 식품 소재로 개발되어 다양한 제품으로 판매되고 있지만 고분자 단백질인 콜라겐은 섭취하여도 장에서 거의 흡수가 되지 않아 효능에 대한 문제가 제기되고 있다. 따라서 저분자화된 콜라겐 또는 주요 구성아미노산인 하이드록시프롤린 단독으로 판매되고 있다. 시판되는 콜라겐 제품들은 돈피 또는 어류 비늘에서부터 추출하여 제조된다. 콜라겐의 주요 구성아미노산인 하이드록시프롤린이 고함유된 식물체 개발은 다양한 건강기능성식품으로 활용될 것이다. 특히 피부 미용에 도움을 주는 기능성 차(tea)등으로 활용될 것이다.

[0006] 한편, 또 다른 목표 아미노산인 아르기닌(arginine)은 필수 아미노산으로 상피세포, 뇌신경세포, 중성구(neutrophil), 산화질소(nitrioxide)생성에 반드시 필요하다. 생물학적으로는 혈압, 장운동의 조절, 혈소판 응고, 산화질소(NO)의 전구체로서 중요한 역할을 하고 있다. 아르기닌이 생성하는 산화질소(NO)는 강력한 혈관팽창물질로서 작용한다. 따라서 동맥을 이완시켜 혈액의 흐름을 원활하게 해주며 협심증 같은 관상동맥심장질환, 간혈성 파행 및 고혈압 등과 같은 순환 관련 질환 개선에 도움을 줄 수 있다고 보고되고 있다. 또한 아르기닌은 LDL 산화 및 지질과산화를 저해하고 슈퍼옥사이드 같은 라디칼을 제거하는 항산화능력도 보고되고 있다.

- [0008] 피부에서 필라그린(filaggrin) 단백질이 표피층을 분해할 때 방출되는 유리아미노산은 천연보습인자(natural moisturizing factor, NMF)로 역할을 수행한다. 성인 체중의 약 70%는 수분이 차지하며, 피부는 바이러스나 박테리아의 침투를 막을 뿐만 아니라 수분의 증발을 억제한다. 피부의 보습에서 중요한 역할을 담당하는 물질은 피부각질층에 있는 천연보습인자(NMF)인데, 이 NMF의 약 40%는 아미노산이다. 따라서 아미노산은 보습 뿐만 아니라 피부를 부드럽고 아름답게 하는 핵심활성물질로 화장품 소재로 응용되고 있다.
- [0009] 결론적으로, 현재 아미노산의 함량으로 인한 식품의 맛과 영양 뿐만 아니라 생리활성이 특히 주목을 받고 있다. 이에 따라 아미노산 함량이 증가된 식물체 개발은 아미노산 함량을 특징으로 하는 여러 가지 상품의 개발에 응용될 수 있다.
- [0010]
- [0011] 식물호르몬인 에틸렌(ethylene)은 전구체인 메티오닌(methionin)으로부터 생합성되며 식물의 성숙을 촉진하는데, 옥신(auxin) 또는 여러 가지 스트레스를 주면 생성량이 급격히 증가함이 보고되었다. 또한, 에틸렌에 의해 아미노산, 당, 단백질 생산에 영향을 미치고, 에틸렌을 사용함으로써 식물의 아미노산 함량에 변화가 있다는 보고가 있다(Plant Physiol. 1985, 77, 891-895).
- [0013] 한편, 본 발명의 에틸렌 처리를 통한 하이드록시프로린(hydroxyproline) 및 아르기닌(arginine) 고함유 콩잎 제조방법과 관련한 선행기술로서, 일본 특허공개 2003-125661호에는 식물의 재배 조건에 따라 아미노산 함량이 변화함에 대해 개시하였으나, 아미노산 함량이 높아진 콩잎을 얻으려면 상기에 기재된 생육관리에 의해서만은 아미노산 함량 증가에 효과가 적었고, 또한, 국제 공개 공보 W02013/088956호는 글루타치온(glutathione) 및 이들의 유도체를 처리함으로써 아미노산 함량이 증가된 식물체 제조 공정을 개시하였으나, 글루타치온을 이용하는 기술은 아르기닌 함량 증가에 효과적이지 못하고 고가의 글루타치온을 이용한 제조방법으로는 경제성이 좋지 않다는 문제점이 있다. 또한, 대한민국 공개특허 10-2009-0022599에는 디팔미토일 하이드록시프로린(Dipalmitoyl Hydroxyproline)을 함유하고 병풀 정량 추출물(Centella Asiatica) 및 팔미토일 피지-리놀레아마이드(Palmitoyl PGLinoleamide) 중 하나 이상을 더 함유하는 튜브 완화용 화장품 조성물에 대해 개시하였고, 대한민국 등록특허 10-0544159에는 아스코르빌 테트라이스팔미테이트(ascorbyl tetraisopalmitate)와 디팔미토일 하이드록시프로린(dipalmitoyl hydroxyproline)을 함유한 나노 에멀전 및 이를 함유한 화장품 조성물에 대해 개시하였으나, 본 발명의 하이드록시프로린 및 아르기닌의 함량이 증가된 콩잎을 제조하여 이를 피부개선용 조성물에 사용함에 대해서는 현재까지 알려진 바가 없다.
- [0015] 이에, 본 발명자들은 콩잎의 아미노산 함량을 증가시키고자 노력하던 중, 파종 후 40일이 경과한 콩잎에 에틸렌을 200 ppm의 농도로 처리한 결과, 처리 후 1일부터 유리아미노산의 함량은 현저히 증가하여 처리 후 3 ~ 7일경에 최대치가 됨을 확인하였고, 또한, 에틸렌을 처리하지 않은 콩잎에 비해 에틸렌을 처리한 콩잎에서 필수아미노산은 약 10배 및 비필수아미노산은 약 7배 이상 증가 하였으며, 특히, 대표적인 기능성 소재인 감마-아미노부티르산(gamma-aminoibutylic acid)은 약 2배 증가하였고, 하이드록시프로린 10배 이상 및 아르기닌 약 30배 이상 증가하였으며, 상기 콩잎 추출물이 피부주름 생성과 관련이 있는 엘라스테이즈(elastase)의 활성을 현저하게 저해함을 확인함으로써, 본 발명의 에세폰 또는 에틸렌을 콩잎에 처리하는 방법은 콩잎의 하이드록시프로린 및 아르기닌의 함량을 증가시키는 방법으로써 사용될 수 있고, 또한 상기 콩잎, 콩잎 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 조성물은 피부미용소재 및 식의약 소재로써 유용하게 사용될 수 있음을 밝힘으로써, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0017] 본 발명의 목적은 콩잎의 하이드록시프로린 및 아르기닌의 함량을 증가시키는 방법을 제공하는 것이다.
- [0018] 아울러, 아미노산 고함량 콩잎의 제조방법뿐만 아니라 이를 함유하는 콩잎, 콩잎 추출물, 추출분획물을 아미노

산이 주요 구성으로 요구되는 피부미용소재 및 식의약 소재를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0020] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 에틸렌(ethylene), 에틸렌 공여체 또는 에틸렌 발생제를 처리하여, 콩잎의 하이드록시프롤린(hydroxyproline) 및 아르기닌(arginine) 함량을 증가시키는 방법을 제공한다.
- [0021] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 하이드록시프롤린 및 아르기닌의 함량이 증가된 콩잎을 제공한다.
- [0022] 또한, 본 발명은 상기 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 조성물을 제공한다.
- [0023] 또한, 본 발명은 상기 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 피부미용 개선용 조성물을 제공한다.
- [0024] 또한, 본 발명은 상기 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 건강기능식품을 제공한다.
- [0025] 또한, 본 발명은 상기 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 피부미용 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [0026] 또한, 본 발명은 상기 콩잎을 이용한 차(tea)를 제공한다.
- [0027] 아울러, 본 발명은
- [0028] 1) 에틸렌을 100 내지 1000 ppm, 에틸렌 공여체 또는 에틸렌 발생체를 5 내지 500 ppm의 농도로 콩잎에 처리하는 단계; 및
- [0029] 2) 상기 단계 1)의 콩잎을 추출하여 하이드록시프롤린 및 아르기닌을 분리하는 단계를 포함하는 콩잎의 하이드록시프롤린 및 아르기닌의 대량생산방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0031] 본 발명에서 과종 후 40일이 경과한 콩잎에 에틸렌(ethylene)을 200 ppm의 농도로 처리한 결과, 처리 후 1일부터 유리아미노산의 함량은 현저히 증가하여 처리 후 3 ~ 7일경에 최대치가 됨을 확인하였고, 또한, 에틸렌을 처리하지 않은 콩잎에 비해 에틸렌을 처리한 콩잎에서 필수아미노산은 약 10배 및 비필수아미노산은 약 7배 이상 증가 하였으며, 특히, 대표적인 기능성 소재인 감마-아미노부티르산(γ -aminobutylic acid)은 약 2배 증가하였고, 하이드록시프롤린 10배 이상 및 아르기닌 약 30배 이상 증가하였으며, 또한, 상기 콩잎 추출물은 농도의 존적으로 엘라스테이즈 활성을 저해하였고, IC_{50} (the half maximal inhibitory concentration) 농도가 현재 표준물질로 이용되는 올레아노익산(oleanoic acid), 우르솔산(ursolic acid) 및 다우코스테롤(daucosterol) 보다 2~3배 이상 현저하게 높은 활성을 나타냄을 확인함으로써, 본 발명은 콩잎의 하이드록시프롤린 및 아르기닌의 함량을 증가시키는 방법으로써 유용하게 사용될 수 있고, 또한 상기 콩잎, 콩잎 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 조성물은 피부미용소재 및 식의약 소재로써 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0033] 도 1은 에틸렌(ethylene) 200 ppm 농도 처리에 의한 생육시기별 총 유리아미노산 함량 변화를 나타낸 도이다.
- 도 2는 에틸렌 처리 농도별 총 유리아미노산 함량 변화를 나타낸 도이다.
- 도 3은 에틸렌 처리에 의한 콩잎에서의 하이드록시프롤린 및 아르기닌의 함량 변화를 나타낸 도이다.
- 도 4는 에틸렌 처리에 의한 콩잎에서 필수아미노산의 함량 변화를 나타낸 도이다.
- 도 5는 에틸렌 처리에 의한 콩잎에서 비필수아미노산의 함량 변화를 나타낸 도이다.
- 도 6은 에틸렌 처리에 의한 콩잎 순수물추출물의 농도별 엘라스테이즈 저해 활성을 나타낸 도이다.
- 도 7은 에틸렌 처리에 의한 콩잎 순수물추출물의 엘라스테이즈 IC_{50} 평가를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0035] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0037] 본 발명은 에틸렌(ethylene), 에틸렌 공여체 또는 에틸렌 발생체를 처리하여, 콩잎의 하이드록시프롤린(hydroxyproline) 및 아르기닌(arginine) 함량을 증가시키는 방법을 제공한다.
- [0038] 또한, 본 발명은
- [0039] 1) 에틸렌을 100 내지 1000 ppm, 에틸렌 공여체 또는 에틸렌 발생체를 5 내지 500 ppm의 농도로 콩잎에 처리하는 단계; 및
- [0040] 2) 상기 단계 1)의 콩잎을 추출하여 하이드록시프롤린 및 아르기닌을 분리하는 단계를 포함하는 콩잎의 하이드록시프롤린 및 아르기닌의 대량생산방법을 제공한다.
- [0041] 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 에틸렌, 에틸렌 공여체 또는 에틸렌 발생체는 콩잎 수확 전 또는 수확 후 처리 가능하다.
- [0042] 상기 에틸렌 공여체는 에세폰(ethephon, 2-chloroethylphosphonic acid)인 것이 바람직하고, 에틸렌을 유도하거나 발생시키는 물질을 모두 사용가능하다.
- [0043] 상기 에틸렌은 100 내지 1000 ppm의 농도로 처리하고, 에틸렌 공여체 또는 발생체는 5 내지 500 ppm의 농도로 처리하는 것이 바람직하며, 에틸렌을 100 내지 500 ppm의 농도로 처리하고, 에틸렌 공여체 또는 발생체는 5 내지 300 ppm의 농도로 처리하는 것이 더욱 바람직하며, 에틸렌을 200 ppm의 농도로 처리하는 것이 가장 바람직하다.
- [0044] 상기 에틸렌은 가장 간단한 올레핀계 탄화수소 (화학식: C_2H_4)로 무색이며, 감미가 있는 기체이다. 식물호르몬의 일종으로서 청과물의 수확 뒤의 생리변화, 특히 원예작물의 성숙이나 엽채류의 황색화 등 식물조직의 성숙을 촉진하는 작용을 갖는다. 또한, 상기 에세폰은 에틸렌 발생체의 일종으로, pH 4.1 이상의 중성 및 알칼리성의 조건하에서 에틸렌을 발생하며, 액상으로 1000-2000 배의 수용액을 과실, 과채에 살포하면 분해하고, 에틸렌을 발생하여 성숙, 추숙이나 착색을 촉진하는 것이 특징이다.
- [0045] 또한, 상기 콩잎은 과종 후 10 내지 90일경과 한 것이 바람직하고, 40일 된 것이 더욱 바람직하다.
- [0047] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 과종 후 40일이 경과한 콩잎에 에틸렌을 200 ppm의 농도로 처리한 결과, 처리 후 1일부터 유리아미노산의 함량은 현저히 증가하여 처리 후 3 ~ 7일경에 최대치가 됨을 확인하였고, 또한, 에틸렌을 처리하지 않은 콩잎에 비해 에틸렌을 처리한 콩잎에서 필수아미노산은 약 10배 및 비필수아미노산은 약 7배 이상 증가 하였으며, 특히, 대표적인 기능성 소재인 감마-아미노부티르산(gamma-aminobutylic acid)은 약 2배 증가하였고(도 4 및 도 5 참조), 하이드록시프롤린은 약 10배 및 아르기닌은 약 30배 이상 증가함을 확인하였다(도 3 참조).
- [0049] 상기 유리아미노산은 트레오닌(Thr), 발린(Val), 메티오닌(Met), 이소류신(ILE), 류신(Leu), 페닐알라닌(Phe), 라이신(Lys), 히스티딘(His), 아르기닌(Arg), 포스포세린(Phser), 타우린(Taur), 아스파르트산(Asp), 세린(Ser), 아스파라긴(Asn), 글루탐산(Glu), 사르코신(Sarc), 글라이신(Gly), 알라닌(Ala), 시트룰린(Citr), 알파-아미노부티르산(aaba), 시스틴(Cys), 시스타티오닌(Cysth), 타이로신(Tyr), 베타-알라닌(β -ala), 3-아미노이소부티르산(β -Aiba), 감마-아미노부티르산(Gaba), 1-메틸히스티딘(1-Mhis), 카르노신(Car)을 포함한다.
- [0050] 따라서, 본 발명의 에세폰 또는 에틸렌을 콩잎에 처리하는 방법은 콩잎의 하이드록시프롤린 및 아르기닌의 함량을 증가시키는 방법으로써 유용하게 사용될 수 있다.
- [0052] 또한, 본 발명은 상기 제조방법으로 제조된 하이드록시프롤린 및 아르기닌의 함량이 증가된 콩잎을 제공한다.

- [0053] 또한, 본 발명은 상기 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 조성물을 제공한다.
- [0054] 또한, 본 발명은 상기 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 피부미용 개선용 조성물을 제공한다.
- [0055] 상기 콩잎의 추출물 또는 이의 분획물은 하기의 단계들을 포함하는 제조방법에 의해 제조되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다:
- [0056] 1) 콩잎에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;
- [0057] 2) 단계 1)의 추출물을 여과하는 단계;
- [0058] 3) 단계 2)의 여과한 추출물을 감압 농축한 후 건조하여 콩잎 추출물을 제조하는 단계; 및
- [0059] 4) 단계 3)의 콩잎 추출물에 추가적으로 유기용매로 추출하여 콩잎 분획물을 제조하는 단계.
- [0060] 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 콩잎은 에틸렌 처리 후 유리아미노산이 높은 농도로 축적된 콩 식물체에서 채취하여 사용한다. 상기 에틸렌 처리는 식물체를 채취하고난 후에도 가능하나 채취하기 전에 처리하는 것이 더욱 바람직하다. 상기 에틸렌을 처리한 콩 식물체는 잎, 줄기 또는 뿌리 모두 이용가능하고 이에 한정하지 않으나, 본 발명의 바람직한 실시 예에 의하면 콩잎을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0061] 상기 방법에 있어서, 상기 단계 1)의 추출용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 사용하는 것이 바람직하다. 상기 알코올로는 C_1 내지 C_2 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 콩잎 분량에 1 내지 10배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하고, 4 내지 6배 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 횟수는 1 내지 5회인 것이 바람직하며, 3 내지 4회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하고, 3회인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0062] 상기 방법에 있어서, 단계 3)의 감압 농축은 진공 감압 농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0063] 상기 방법에 있어서, 단계 4)의 콩잎 추출물은 감압 농축된 콩잎 추출물인 흑갈색 조추출물을 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않으며, 또한, 유기용매는 n-헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 또는 부탄올인 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 상기 분획물은 콩잎 추출물을 물에 현탁시킨 후 n-헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물로 순차적으로 계통 분획하여 수득한 n-헥산 분획물, 클로로포름 분획물, 에틸아세테이트 분획물, 부탄올 분획물 또는 물 분획물인 것이 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 상기 분획물은 상기 콩잎 추출물로부터 분획 과정을 1 내지 5회, 바람직하게는 3회 반복하여 수득할 수 있고, 분획 후 감압 농축하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0064] 엘라스테이즈는 피부구조와 탄력을 유지하는 역할을 하는 주요 단백질인 엘라스틴을 분해하거나 콜라겐을 비특이적으로 가수분해하는 효소이다. 피부주름은 연령이 증가함에 따라 콜라겐 생성이 감소하고 분해속도가 증가하여 일어나는 현상으로 알려져 있다(Phytochem. Photobiol., 74, 283-290). 따라서 엘라스테이즈 저해활성 효과는 주름개선의 주요 지표이다.
- [0065] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 에틸렌을 처리한 콩잎 추출물은 농도의존적으로 엘라스테이즈 활성을 저해하였고(도 6 참조), 또한, IC_{50} (the half maximal inhibitory concentration) 농도가 35 $\mu g/ml$ 였으며(도 7 참조), 이는 현재 표준물질로 이용되는 올레아노익산(oleanoic acid) ($IC_{50} = 89 \mu g/ml$), 우르솔산(ursolic acid) ($IC_{50} = 100 \mu g/ml$) 및 다우코스테롤(daucosterol) ($IC_{50} = 86 \mu g/ml$) 보다 2~3 배 이상의 현저히 높은 활성임을 확인함으로써, 본 발명의 에틸렌을 처리한 콩잎 추출물은 기존에 사용되는 물질보다 현저한 엘라스테이즈 저해 활성을 나타내므로 피부주름을 개선 시킬 수 있는 피부미용 개선용 조성물로써 유용하게 사용될 수 있다.
- [0067] 상기 피부미용 개선용 조성물은 로션, 연고, 젤, 크림, 패치 또는 분무제 등이 있으나 여기에 국한되는 것은 아

니다. 본 발명의 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 상기 추출물의 분획물을 함유하는 피부미용 개선용 조성물을 제조함에 있어서, 통상적으로 함유되는 피부미용 개선용 조성물에 본 발명의 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 상기 추출물의 분획물이 3 내지 30 중량부, 바람직하게는 5 또는 20 중량부로 첨가할 수 있다.

[0068] 본 발명의 피부미용 개선용 조성물에는 본 발명의 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 상기 추출물의 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 소나 또는 피부미용 개선용 조성물에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다.

[0069] 또한 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.

[0071] 또한, 본 발명은 상기 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 건강기능식품을 제공한다.

[0072] 또한, 본 발명은 상기 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 이의 분획물을 포함하는 피부미용 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0073] 본 발명의 건강기능식품은 상기 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 상기 추출물의 분획물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0074] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 식품의 예로는 기능성 혼합차, 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

[0075] 본 발명에 따른 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 상기 추출물의 분획물은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강기능식품 중의 상기 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 상기 추출물의 분획물의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량으로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02 내지 5 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0076] 본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 상기 추출물의 분획물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.

[0077] 상기 외에 본 발명의 식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 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 본 발명의 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 상기 추출물의 분획물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎, 상기 콩잎의 추출물, 또는 상기 추출물의 분획물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

- [0079] 또한, 본 발명은 상기 콩잎을 이용한 차(tea)를 제공한다.
- [0080] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎, 및 향미를 갖는 허브 식물체를 혼합한 혼합차를 제공한다.
- [0081] 상기 콩잎을 이용한 차는
- [0082] 1) 본 발명에 따른 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎을 세척한 후 파쇄하는 단계;
- [0083] 2) 상기 파쇄된 잎을 볶는 단계; 및
- [0084] 3) 상기 볶은 잎을 건조하는 단계를 포함하는 제조방법으로 제조될 수 있다.
- [0085] 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 분쇄는 파쇄기를 이용하여 1 내지 5 mm로 잘게 파쇄 하는 것이 바람직하나 상기 크기는 이에 한정되지 않는다.
- [0086] 상기 방법에 있어서, 단계 2)의 볶음은 볶음 기에서 250 내지 300℃의 온도로 30 내지 60분 동안 타지 않게 볶는 것이 바람직하나 상기 온도 및 시간은 이에 한정되지 않는다.
- [0087] 상기 방법에 있어서, 단계 3)의 건조는 자연건조 또는 건조기를 이용하여 건조시킬 수 있으며, 30 내지 50℃의 온도로 24 내지 36시간 동안 건조하는 것이 바람직하나 상기 온도 및 시간은 이에 한정되지 않는다.
- [0088] 상기 허브 식물체는 케모마일, 레몬그라스, 로즈힙, 라벤다, 페퍼민트, 펜넬, 로즈마리, 자스민, 히비스커스, 로즈플라워, 애플후르츠, 스트로베리후르츠, 레몬후르츠 및 오렌지 플라워로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상인 것이 바람직하고 차로 사용되는 허브는 모두 사용가능하다.
- [0089] 상기 차 또는 혼합차는 착향차(着香茶), 티백(tea bag), 인스턴트(instant tea) 및 캔(can)으로 구성된 군으로부터 선택된 형태로 가공될 수 있다.
- [0091] 이하, 본 발명을 실시예, 실험예 및 제조예에 의해서 상세히 설명한다.
- [0092] 단, 하기 실시예, 실험예 및 제조예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예, 실험예 및 제조예에 의해서 한정되는 것은 아니다.
- [0094] <실시예 1> 에틸렌 처리를 통한 유리 아미노산 고함량 콩잎의 제조
- [0095] 농촌진흥청에서 콩 종자(Soybean seed, Glycine max)를 분양받아 재배하여 파종 후 10일에서 90일 된 콩 식물체(soybean plant)에 5-300 ppm 농도의 에세폰(ethephon, 2-chloroethylphosphonic acid) 또는 100-500 ppm의 에틸렌을 처리하여 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함유된 콩잎을 제조하였다. 유리아미노산이 콩잎에 축적되는 양상은 처리하는 에세폰 또는 에틸렌의 농도 및 처리하는 식물체의 생육시기에 따라 다르게 나타날 수 있다.
- [0096] 구체적으로, 파종 후 10일부터 90일까지의 콩식물체(soybean plant)에 200ppm의 에틸렌을 처리하였을 때 모든 시기의 콩잎에서 높은 수준의 아미노산이 축적됨을 확인하였다. 특히 파종 후 40-50일 된 콩 식물체에 보다 많은 아미노산이 축적되었다(도 1).
- [0097] 또한, 에틸렌의 처리 농도에 따른 효과를 확인하기 위하여, 에틸렌을 50, 100, 200, 300, 및 400 ppm의 농도로 파종 후 40일 된 식물체에 처리한 결과, 200 ppm의 농도에서 가장 높은 수준의 아미노산이 축적됨을 확인하였다(도 2). 보다 높은 농도의 에틸렌을 처리 했을 때도 아미노산이 고농도로 축적 되었지만 콩잎이 낙화되는 등 생산되는 콩잎의 바이오매스를 감소시켰다.
- [0098] 구체적인 실시예로 하기 두 개의 방법과 같이 파종 후 50일 (생육시기 R3)된 콩식물체에 에틸렌 또는 에세폰(에틸렌 공여체)를 처리하였다:
- [0099] 방법 1) 밀폐된 비닐하우스에 에틸렌을 200 ppm 수준으로 처리하여 24시간 후 비닐하우스를 개방하여 신선한 공기를 환기시킨 후 5일 후 콩잎을 수확하였다;
- [0100] 방법 2) 에세폰 200ppm의 수용액을 콩식물체에 살포하여 5일 후 콩잎을 수확하였다.

[0101] 그 결과, 방법 1) 및 방법 2) 모두에서 아미노산이 고함유된 콩잎을 얻을 수 있다.

[0103] <실시에 2> 유리 아미노산 고함량 콩잎 추출물의 제조

[0104] 유리 아미노산의 함량이 증가된 콩잎 추출물을 제조하기 위하여, 상기 <실시에 1>의 방법으로 수득한 콩잎을 건조 후 순수한 물 또는 50~100% 알코올로 2~5일간 20~100℃ 조건에서 추출하였다.

[0105] 구체적으로, 상기 <실시에 1>에 기재된 방법으로 콩잎을 건조하고, 상기 건조된 콩잎 1 kg을 순수한 물로 12시간 80℃에서 추출한 다음, 추출한 용매를 감압농축 후 218g의 추출물을 얻었다. 또한, 건조한 콩잎을 80% 알코올로 40℃ 조건에서 추출하였다. 상기 추출한 용매를 감압 농축하여 166g의 추출물을 얻었다.

[0107] <실험예 1> 에틸렌 처리 후 콩잎의 유리 아미노산 함량 확인

[0108] 상기 <실시에 1>에 기재된 방법으로 에세폰 및 에틸렌 공여체를 처리한 콩잎의 아미노산 함량 변화를 분석하기 위하여, 하기 실험을 수행하였다.

[0109] 구체적으로, 건조 콩잎 시료 100 mg 과 HPLC 등급의 증류수 5ml을 팔콘 튜브에 넣고 60℃ 교반기에서 1시간 동안 추출하였다. 여기에 10% 5-설포살리실산(5-sulfosalicylic acid dihydrate) 용액 1ml을 가하고 4℃에서 2시간 방치하여 단백질을 응고시켰다. 그런 다음, 15000rpm, 4℃, 15~20분의 조건으로 원심분리하여 단백질을 침전시킨 후, 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 60℃ 항온수조에서 진공감압농축기로 시료를 완전히 농축하였다. 초산리튬완충용액 2ml을 농축시킨 시료에 넣어 완전히 용해시킨 후, 다시 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하였다. 그 후, 아미노산 자동분석기(Bio chrom 30 amino acid analyzer, Biochrom Ltd. 영국)로 아미노산 함량을 분석하였다.

[0110] 그 결과, 표 1, 표 2 및 도 3 내지 도 5에 나타난 바와 같이, 콩잎의 필수 유리 아미노산 및 비필수유리아미노산의 농도가 에틸렌의 처리에 의해 증가함을 확인하였고(표 1 및 표 2), 특히 하이드록시프롤린 및 아르기닌의 함량은 약 10배 및 약 30배로 현저하게 증가함을 확인하였으며(도 3), 또한, 콩잎의 색은 식물노화호르몬인 에틸렌의 영향으로 점점 노랗게 변화함을 확인하였다.

표 1

[0111]

Ethylene 처리시의 필수아미노산의 함량 (mg/100g)			
아미노산	무처리구 (A)	처리구 (B)	증감률B/A (%)
발린 (Val)	32.70	254.34	677.8
메티오닌 (Met)	5.60	15.85	183.1
이소루신 (Ile)	6.34	145.86	△2200.6
루신 (Leu)	15.13	159.92	956.9
페닐알라닌 (Phe)	31.4	164.76	424.7
라이신 (Lys)	5.39	122.84	2179.1
히스티딘 (His)	8.73	83.18	852.8
아르기닌 (Arg)	9.36	334.58	3474.6
합계	114.65	1281.33	1017.6

표 2

[0112]

Ethylene 처리시의 비필수아미노산의 함량 (mg/100g)			
아미노산	무처리구 (A)	처리구 (B)	증감률B/A(%)
포스포세린 (Phser)	16.46	30.07	82.7
타우린 (Taur)	N.D.	N.D.	N.D.
포스포에탄올아민(Pea)	N.D.	N.D.	N.D.
유레아	69.40	370.63	434.1
아스파르트산 (Asp)	71.29	368.43	△416.8
하이드록시프롤린	862.59	10229.76	△1085.9
세린 (Ser)	40.28	134.06	232.8
아스파라진 (Asn)	58.69	645.59	1000

글루탐산 (Glu)	56.25	233.76	315.6
사르코신 (Sarc)	5.55	8.33	50.1
Apparent amino acid availability (AAAA)	7.24	40.95	465.6
프롤린(Pro)	21.83	313.39	1335.6
글라이신 (Gly)	4.70	31.69	574.3
알라닌 (Ala)	50.70	191.94	278.6
시트룰린 (Citr)	N.D.	N.D.	N.D.
?-아미노부티르산 (aaba)	0.52	10.04	1830.8
시스틴 (Cys)	1.83	3.36	83.6
시스타티오닌 (Cysth)	N.D.	N.D.	N.D.
타이로신 (Tyr)	39.62	97.30	145.6
?-알라닌 (B-ala)	11.22	34.65	208.8
호모시스테인(Homocys)	1.11	2.75	147.7
?-아미노부티르산 (Gaba)	195.70	291.16	48.7
에틸아민(Ethamine)	14.42	18.92	31.2
암모니아 (NH ₃)	75.93	137.79	81.5
수산화-L-라이신 (HyLys)	1.44	9.75	577.1
오르니틴 (Orn)	0.43	4.08	848.8
1-메틸히스티딘 (1-Mhis)	1.57	5.68	261.8
3-메틸히스티딘 (3-Mhis)	N.D.	N.D.	N.D.
안세린 (Ans)	N.D.	N.D.	N.D.
카르노신 (Car)	N.D.	N.D.	N.D.
합계	1608.77	13214.08	721.4

[0113] N.D.: 측정 불가, △: 증가함(수치 비교는 불가).

[0115] <실험예 2> 에틸렌 처리 후 콩잎 추출물의 엘라스테이즈(elastase) 저해 활성 측정

[0116] 상기 <실시예 2>에 기재된 방법으로 에세폰 및 에틸렌 공여체를 처리한 콩잎 추출물의 엘라스테이즈 저해 활성을 측정하기 위하여, 하기 실험을 수행하였다.

[0117] 구체적으로, 엘라스테이즈 저해효과는 Lyu 등의 방법을 이용하여 측정하였다(Nat. Prod. Sci., 2003, 9, 278-285). 활성측정에 사용한 엘라스테이즈와 기질인 methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Val-p-nitroanilide는 시판되는 시그마알드리치사 제품(미국)을 이용하였다. 측정은 96 well plate 와 Spectra Max M3 Multi-Mode Microplate Reader(Molecular Device, 미국)을 이용하여 수행하였다. 측정에 이용된 시료는 에틸렌 처리 후 얻어진 콩잎을 80℃ 물에서 추출하여 동결건조 후 확보하였다. 확보된 시료에 증류수를 넣어 20,000 µg/ml 농도가 되도록 용액(stock solution)을 만들고, 이들을 실험 목적에 맞도록 희석하여 사용하였다.

[0118] 96 well plate에 0.02 M Tris-HCl 완충용액(PH 8) 130µl 와 완충용액에 녹인 효소 (0.01unit/ml) 20µl 및 10µl 의 측정시료(콩잎추출물)을 넣고 5분간 37℃에서 인큐베이션 하였다. 준비된 well plate에 40µl의 기질을 넣고 Micro Plate Reacoder로 405nm에서 가수분해된 p-nitroanilide 를 측정하였다. 기질농도(Km)는 1.5mM이 되도록 하였고, 이때 Vmax는 3.9mM/s 로 측정되었다. 효소의 저해 활성은 농도별 저해 비율 또는 50% 저해하는 농도를 내삽에 의하여 구하고, 이를 IC₅₀ 값으로 하였다. 저해 비율은 다음과 같이 계산하였다:

[0119] 엘라스테이즈 활성(%) = 100[1/(1+([I]/IC₅₀))].

[0120] 그 결과, 도 6에 나타난 바와 같이 에틸렌을 처리한 콩잎 추출물은 농도의존적으로 엘라스테이즈 활성을 저해하였다. 또한, 도 7에 나타난 바와 같이 이들의 저해 활성 평가에서 에틸렌 처리 콩잎 추출물의 35 µg/ml 에서 IC₅₀을 나타내었다. 이것은 현재 표준물질로 이용되는 올레아노익산(oleanoic acid) (IC₅₀ = 89 µg/ml), 우르솔산(ursolic acid) (IC₅₀ = 100 µg/ml) 및 다우코스테롤(daucosterol) (IC₅₀ = 86 µg/ml) 보다 2~3 배 이상의 현저히 높은 활성임을 확인하였다(도 6 및 도 7).

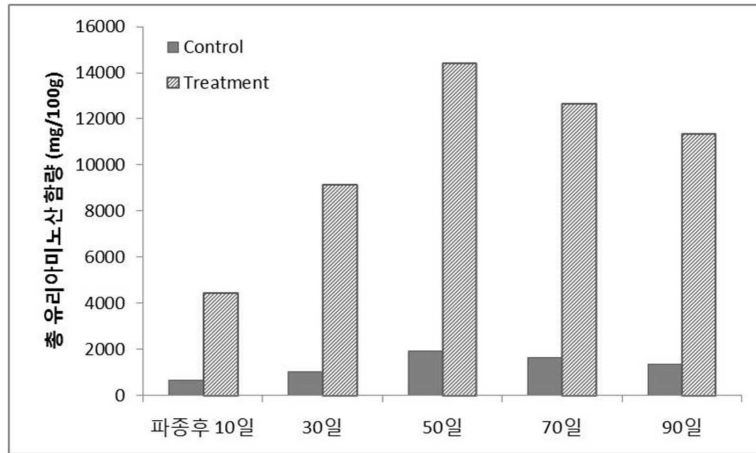
- [0122] 하기에 본 발명의 조성물을 위한 제조예를 예시한다.
- [0124] <제조예 1> 건강식품의 제조
- [0125] <1-1> 혼합차의 제조
- [0126] 본 발명의 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎, 이의 추출물 또는 추출물의 분획물과 향미를 갖는 허브 식물체를 혼합하여, 혼합차를 제조하였다.
- [0128] <1-2> 선식의 제조
- [0129] 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화한 후 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- [0130] 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- [0131] 본 발명의 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎, 이의 추출물 또는 추출물의 분획물을 진공 농축기에서 감압농축하고, 분무, 열풍건조기로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60 메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.
- [0132] 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및, 본 발명의 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎, 이의 추출물 또는 추출물의 분획물을 하기의 비율로 배합하여 제조하였다:
- [0133] 곡물류(현미 30 중량부, 율무 15 중량부, 보리 20 중량부),
- [0134] 종실류(들깨 7 중량부, 검정콩 8 중량부, 검정깨 7 중량부),
- [0135] 본 발명의 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎, 이의 추출물 또는 추출물의 분획물(3 중량부),
- [0136] 영지(0.5 중량부), 및
- [0137] 지황(0.5 중량부).
- [0139] <제조예 2> 건강 음료의 제조
- [0140] 본 발명의 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎,
- [0141] 이의 추출물 또는 추출물의 분획물 100 mg
- [0142] 구연산 100 mg
- [0143] 올리고당 100 mg
- [0144] 매실농축액 2 mg
- [0145] 타우린 100 mg
- [0146] 정제수를 가하여 전체 500 ml
- [0147] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1 시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 1 ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관하여 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.
- [0148] 상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였으나, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.
- [0150] <제조예 3> 피부미용 개선용 조성물의 제조

[0151]	<3-1> 크림의 제조	
[0152]	본 발명의 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎,	
[0153]	이의 추출물 또는 추출물의 분획물	4.6 중량부
[0154]	세토스테아릴알코올	2.8 중량부
[0155]	밀납	2.6 중량부
[0156]	스테아린산	1.4 중량부
[0157]	친유형모노스테아린산글리세린	2 중량부
[0158]	피이지-100 스테아레이트	1 중량부
[0159]	세스퀴올레인산소르비탈	1.4 중량부
[0160]	호호바오일	4 중량부
[0161]	스쿠알란	3.8 중량부
[0162]	폴리소르베이트 60	1.1 중량부
[0163]	마카다이어아오일	2 중량부
[0164]	초산토코페롤	0.2 중량부
[0165]	메칠폴리실록산	0.4 중량부
[0166]	에칠파라벤	0.1 중량부
[0167]	프로필파라벤	0.1 중량부
[0168]	Euxyl K-400	0.1 중량부
[0169]	1,3-부틸렌글리콜	7 중량부
[0170]	메칠파라벤	0.05 중량부
[0171]	글리세린	6 중량부
[0172]	d-판테놀	0.2 중량부
[0173]	트리에탄올아민	0.2 중량부
[0174]	pt 41891	0.2 중량부
[0175]	p-H2O	46.05 중량부
[0177]	<3-2> 로션의 제조	
[0178]	본 발명의 하이드록시프롤린, 아르기닌 등의 유리아미노산 고함량 콩잎,	
[0179]	이의 추출물 또는 추출물의 분획물	3.5 중량부
[0180]	세토스테아릴알코올	1.6 중량부
[0181]	스테아린산	1.4 중량부
[0182]	친유형모노스테아린산글리세린	1.8 중량부
[0183]	피이지-100 스테아레이트	2.6 중량부
[0184]	세스퀴올레인산소르비탈	0.6 중량부
[0185]	스쿠알렌	4.8 중량부
[0186]	마카다이어아오일	2 중량부

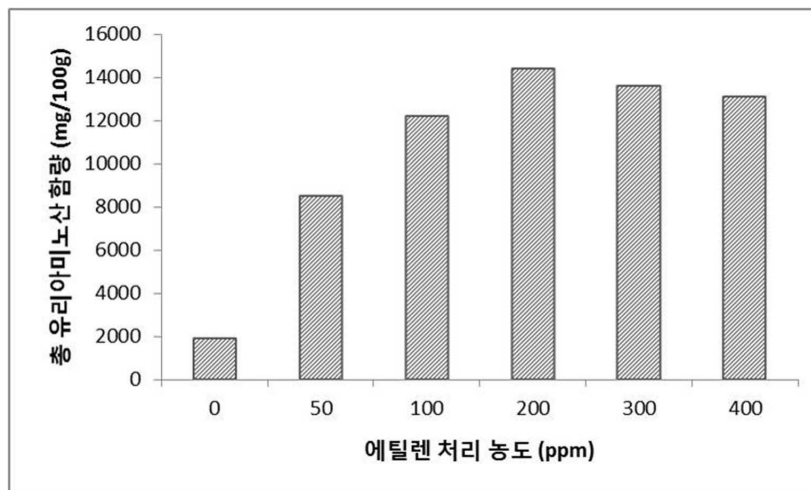
[0187]	호호바오일	2 중량부
[0188]	초산토코페롤	0.4 중량부
[0189]	메칠폴리실록산	0.2 중량부
[0190]	에칠파라벤	0.1 중량부
[0191]	프로필파라벤	0.1 중량부
[0192]	1,3-부틸렌글리콜	4 중량부
[0193]	메칠파라벤	0.1 중량부
[0194]	산탄검	0.1 중량부
[0195]	글리세린	4 중량부
[0196]	d-판테놀	0.15 중량부
[0197]	알란토인	0.1 중량부
[0198]	카르보내(2% aq. Sol)	4 중량부
[0199]	트리에탄올아민	0.15 중량부
[0200]	에탄올	3 중량부
[0201]	pt 41891	0.1 중량부
[0202]	p-H ₂ O	48.3 중량부

도면

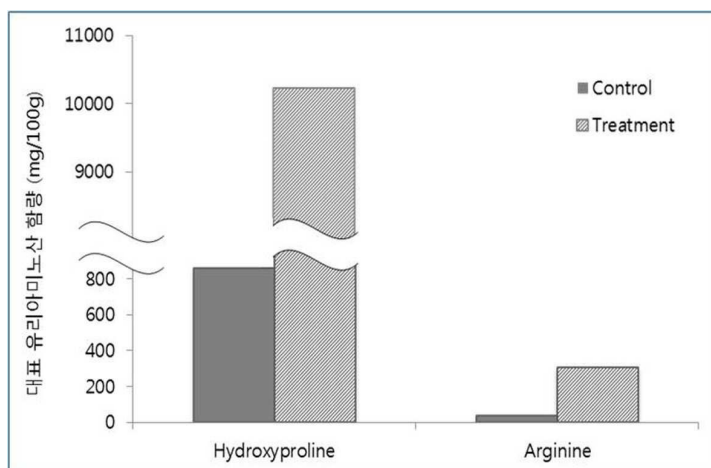
도면1



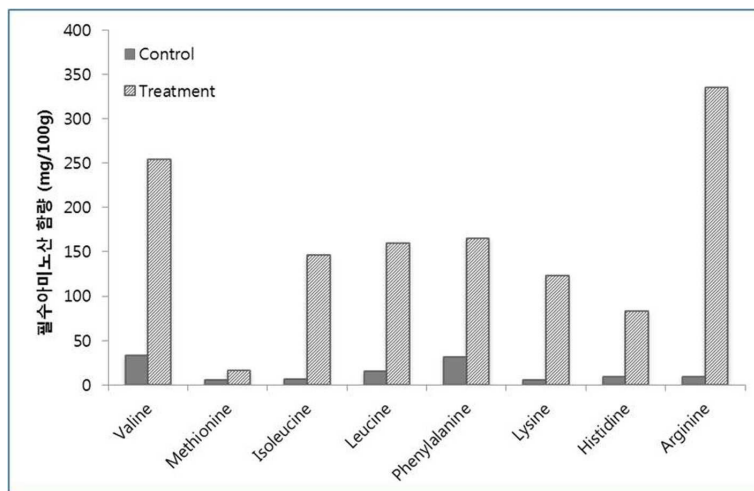
도면2



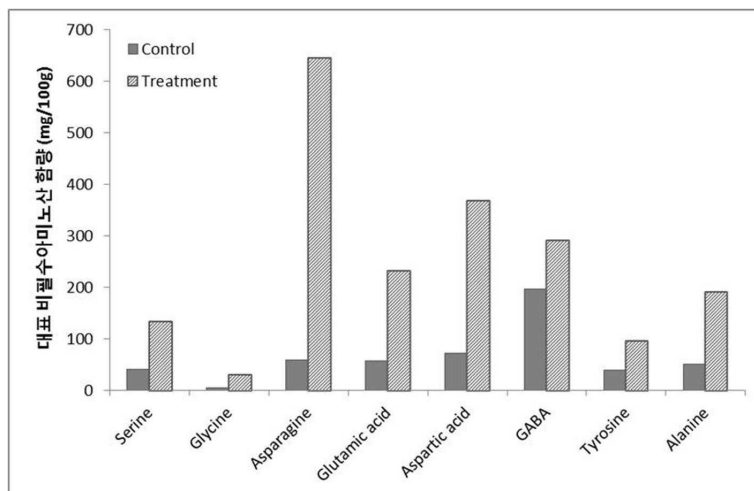
도면3



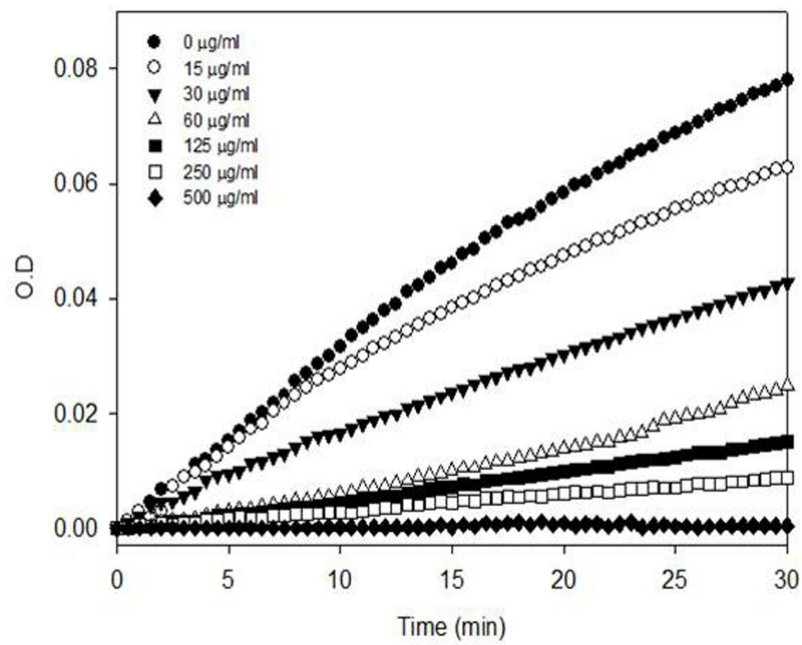
도면4



도면5



도면6



도면7

