



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0162619
(43) 공개일자 2024년11월18일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 8/9794</i> (2017.01) <i>A23L 33/105</i> (2016.01)
 <i>A61K 36/8945</i> (2006.01) <i>A61P 17/00</i> (2006.01)
 <i>A61Q 19/00</i> (2006.01) <i>A61Q 19/02</i> (2006.01)
 <i>A61Q 19/08</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61K 8/9794</i> (2017.08)
 <i>A23L 33/105</i> (2016.08)</p> <p>(21) 출원번호 10-2023-0059051
 (22) 출원일자 2023년05월08일
 심사청구일자 2023년05월08일</p> | <p>(71) 출원인
 충남대학교산학협력단
 대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)</p> <p>(72) 발명자
 육홍선
 대전광역시 서구 둔산남로 127, 305동 307호 (둔산동, 목련아파트)
 김윤희
 대전광역시 중구 유천로17번길 10, 401호 (유천동)</p> <p>(74) 대리인
 최규환</p> |
|--|--|

전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선용 조성물에 관한 것으로, 참마 껍질 추출물은 참마 과육 추출물에 비해 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높고, DPPH 라디칼 소거 활성 및 ABTS 라디칼 소거 활성이 우수하며, FRAP 값 및 환원력이 높아 항산화 효과가 우수하고, 티로시나아제 저해 활성, 엘라스타아제 저해 활성, 콜라게나아제 저해 활성 및 히알루로니다아제 저해 활성이 우수하여 미백, 보습 및 주름개선 효과가 현저하므로, 참마 껍질 추출물을 유효성분으로 포함하는 본 발명의 조성물은 항산화, 미백, 보습 및 주름개선용 기능성 화장품, 건강기능식품 또는 멜라닌 색소 과다 침착 질환의 치료제로 유용하게 사용할 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61K 36/8945 (2013.01)

A61P 17/00 (2018.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

A61Q 19/007 (2013.01)

A61Q 19/02 (2013.01)

A61Q 19/08 (2013.01)

A23V 2002/00 (2023.08)

A61K 2800/522 (2013.01)

A61K 2800/782 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 향산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선용 화장품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 참마 껍질 추출물은 물, C₁~C₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 이용하여 추출한 것을 특징으로 하는 향산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선용 화장품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 참마 껍질 추출물은 티로시나아제 저해 활성, 엘라스타아제 저해 활성, 콜라게나아제 저해 활성 및 히알루로니다아제 저해 활성을 나타내는 것을 특징으로 하는 향산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선용 화장품 조성물.

청구항 4

참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 향산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 5

참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 색소 과다 침착 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 멜라닌 색소 과다 침착 질환은 주근깨, 노인성 반점, 간반, 기미, 갈색 또는 흑점, 일광 색소반, 푸른흑피증(cyanic melasma), 약물 사용 후의 과다 색소 침착; 찰상, 화상 또는 피부염으로 인한 염증 후 과다 색소 침착; 및 임신성 갈색반(gravidic chloasma) 중에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 멜라닌 색소 과다 침착 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 향산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 경제 성장에 따라 평균 수명이 증가하면서 미용에 대한 관심이 꾸준히 증가하고 있으며, 노화 방지와 건강 유지를 위한 기능성 생리활성 물질에 대한 연구가 광범위하게 수행되고 있다.

[0003] 노화는 나이가 들어감에 따라 호르몬 분비 감소, 면역 세포의 기능 및 활성 감소에 따른 피부의 구조와 생리적인 기능 쇠퇴로 인한 내인적 노화(intrinsic aging)와 환경오염, 약물 및 지속적인 자외선 노출에 의한 광노화로 구분된다. 최근 환경오염으로 인해 피부의 자외선 노출이 증가하고 있어 피부 노화에 의한 피부 색소의 침착과 주름이 심해지고 있다.

[0004] 또한, 피부의 구조를 보면 표피, 진피, 피하지방의 3개 층으로 구성되고 표피는 3개 층 중 가장 얇은 층으로 피부의 보습 및 보호를 담당하는 중요한 기능을 한다. 특히 표피의 각질층에 존재하는 수분에 의하여 피부가 탄력 있고 부드럽게 되는데, 각질층의 탄력이 유지되려면 10~20%의 수분함유가 필수적인 것으로 알려져 있다.

[0005] 인체와 외부를 구분하는 최외각층으로 존재하는 피부의 각질층은 약 10~20% 정도의 수분을 함유하고 수분 유지를 통해 피부의 유연성, 탄력성 및 보습감을 부여한다. 각질층에는 자유지방산, 글리세롤리피드, 세라마이드 등의 지질 성분과 친수성의 흡습성 물질인 천연보습인자 NMF(Natural Moisturizing Factor)가 피부의 유연성과 수분유지에 중요한 역할을 한다. 그러나 각질층의 수분 함유량이 저하될 경우(보통 10% 이하) 피부가 건조해지고

가려움, 아토피, 피부염 등의 직,간접적인 원인이 된다. 따라서 건조한 환경에서도 수분손실을 억제해주는 장벽을 마련함으로써 각질층의 충분한 수분유지를 도모하여 건강하고 탄력있는 피부를 만드는 것에 관한 중요성은 점점 더 커지고 있다.

[0006] 또한, 생물체는 대사과정 중 생화학 반응과 외부 환경에 의해 인체 내 유해한 활성산소종(reactive oxygen species)이 생성되며, 이는 산화적 스트레스로 작용하여 세포조직의 심각한 손상을 일으키며 염증, 피부 노화 및 암 등 다양한 질환의 원인이 된다. 그러므로 활성 산소종을 제거하는 항산화 활성의 중요성이 강조되고 있으며, 산화적 스트레스 및 피부 노화를 예방 및 개선하기 위한 강력한 항산화 활성, 피부 미백, 보습 및 주름개선 효과를 가지는 기능성 소재 개발을 위한 연구가 필요하다.

[0007] 이에 본 발명은 보다 안전하고 효과적인 항산화, 미백, 보습 및 주름개선용 소재를 발견하고자 하였으며, 특히 합성물질의 안정성 문제를 극복할 수 있고, 다양한 생리활성 기능을 가지고 있어 최근 의약품 및 기능성 제품의 원료로 많이 사용되고 있는 천연물 소재에 주목하였다.

[0008] 한편, 한국등록특허 제2011639호에 해방풍 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백 및 주름개선용 조성물이 개시되어 있고, 한국공개특허 제2022-0082192호에 오이풀 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화, 피부 미백 및 피부 주름 개선용 화장료 조성물이 개시되어 있지만, 본 발명의 참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선용 조성물에 대해서는 개시된 바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로, 참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선용 조성물을 제공하고, 참마 과육에 비해 참마 껍질 추출물의 항산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선 효과가 현저한 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 색소 과다 침착 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0013] 본 발명은 참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선용 조성물에 관한 것으로, 참마 껍질 추출물은 참마 과육 추출물에 비해 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높고, DPPH 라디칼 소거 활성 및 ABTS 라디칼 소거 활성이 우수하며, FRAP 값 및 환원력이 높아 항산화 효과가 우수하고, 티로시나아제 저해 활성, 엘라스타아제 저해 활성, 콜라게나아제 저해 활성 및 히알루로니다아제 저해 활성이 우수하여 미백, 보습 및 주름개선 효과가 현저하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명의 일 구현 예에서, 상기 참마 껍질 추출물은 물, C₁~C₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 이용하여 추출한 것이 바람직하고, 보다 바람직하게는 에탄올을 용매로 이용하여 추출하는 것이지만, 이에 제한되지 않는다.

[0016] 상기 참마 껍질 추출물의 티로시나아제 저해 활성, 엘라스타아제 저해 활성, 콜라게나아제 저해 활성 및 히알루로니다아제 저해 활성은 참마 과육에 비해 증진되는 효과가 있다.

[0017] 본 발명의 일 구현 예에 따른 화장료 조성물에 있어서, 상기 항산화, 미백, 보습 및 주름개선용 화장료 조성물

은 스킨, 스킨 소프트너, 스킨 토너, 로션, 밀크로션, 모이스처로션, 영양로션, 마사지크림, 영양크림, 아이크림, 모이스처크림, 핸드크림, 에센스, 영양에센스, 팩, 클렌징폼, 클렌징워터, 클렌징크림, 바디로션, 바디클렌저, 비누 및 파우더 중에서 선택된 어느 하나의 제형을 가질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 이들 각 제형으로 이루어진 화장료 조성물은 그 제형의 제제화에 필요하고 적절한 각종의 기재와 첨가물을 함유할 수 있으며, 이들 성분의 종류와 양은 당업자에 의해 용이하게 선정될 수 있다.

[0018] 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라카칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0019] 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.

[0020] 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 용액 또는 유탁액인 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.

[0021] 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0022] 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, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0023] 본 발명의 화장료 조성물은 형광물질, 살진균제, 금속성 유발물질, 보습제, 방향제, 방향제 담체, 단백질, 용해화제, 당 유도체, 일광차단제, 비타민, 식물 추출물 등을 포함하는 부형제를 추가로 함유할 수 있다.

[0024] 또한, 본 발명은 참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 향산화, 피부 미백, 보습 및 주름개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0025] 본 발명의 건강기능식품 조성물을 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 건강기능식품 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 양은 그의 사용 목적(예방 또는 개선)에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0026] 상기 건강기능식품의 종류에 특별한 제한은 없다. 상기 건강기능식품 조성물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 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.

[0027] 또한, 본 발명의 건강기능식품 조성물은 식품, 특히 기능성 식품으로 제조될 수 있다. 본 발명의 기능성 식품은 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소 및 조미제를 포함한다. 예컨대, 드링크제로 제조되는 경우에는 유효성분 이외에 천연 탄수화물 또는 향미제를 추가 성분으로서 포함할 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 모노사카라이드(예컨대, 글루코오스, 프럭토오스 등), 디사카라이드(예컨대, 말토스, 수크로오스 등), 올리고당, 폴리사카라이드(예컨대, 텍스트린, 시클로텍스트린 등) 또는 당알코올(예컨대, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등)인 것이 바람직하다. 상기 향미제는 천연 향미제(예컨대, 타우마틴, 스테비아 추출물 등)와 합성 향미제(예컨대, 사카린, 아스파르탐 등)를 이용할 수 있다.

[0028] 상기 건강기능식품 조성물 이외에 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 더 함유할 수 있다. 이러한 상기 첨가되는 성분의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 건강기능식품 조성물 100 중량부에 대하여, 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이

일반적이다.

- [0029] 또한, 본 발명은 참마 껍질 추출물을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 색소 과다 침착 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0030] 본 명세서에서 사용되는 용어 "멜라닌 색소 과다 침착(hyperpigmentation)"은 피부 또는 손발톱의 특정 부위에서 멜라닌의 과도한 증가에 의해 다른 부위에 비해 검게 또는 어둡게 되는 것을 의미한다. 상기 멜라닌 색소 과다 침착 질환은 주근깨, 노인성 반점, 간반, 기미, 갈색 또는 흑점, 일광 색소반, 푸른흑피증(cyanic melasma), 약물 사용 후의 과다 색소 침착; 찰상, 화상 또는 피부염으로 인한 염증 후 과다 색소 침착; 또는 임신성 갈색반(gravidic chloasma) 등을 포함하나 이에 한정되지 않는다.
- [0031] 본 발명의 약학 조성물은 유효성분 이외에 약학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있으며, 이러한 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0032] 본 발명의 약학 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0033] 본 발명에 따른 약학 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다.
- [0034] 본 발명의 약학 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있으며, 비경구 투여의 경우, 피부에 국소적으로 도포, 정맥 내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물이 멜라닌 색소 과다 침착 질환의 치료 또는 예방을 위해 적용되는 점을 감안하면, 피부에 국소적으로 도포되어 이루어지는 것이 바람직하다.
- [0035] 본 발명의 조성물에 포함되는 유효성분의 농도는 치료 목적, 환자의 상태, 필요기간 등을 고려하여 결정할 수 있으며, 특정 범위의 농도로 한정되지 않는다.
- [0036] 본 발명의 약학 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 주사제, 크림, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니멘트제, 파스타제 및 카타플라스마제 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조될 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0038] 이하, 제조에 및 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 제조에 및 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 자명한 것이다.
- [0040] **제조예 1. 참마 과육 또는 참마 껍질 추출물의 제조**
- [0041] 본 발명의 참마(*Dioscorea japonica*)는 경상북도 안동에서 2021년에 재배된 것을 구매하여 사용하였다. 수세 및 박피 후, 과육(flesh)과 껍질(peel) 부분으로 나눴다. 과육은 0.3~0.5cm 크기로 썰어 준비하였고, 참마 과육 또는 껍질을 45℃에서 24시간 동안 열풍건조한 후, -24℃에서 냉동보관하면서 실험의 시료로 사용하였다.
- [0042] 상기 열풍건조한 참마 과육 또는 껍질을 믹서기로 각각 분쇄한 다음, 각각의 분말 25g에 95%(v/v) 에탄올 500mL를 첨가한 후, 24시간 동안 추출하였고, 분말에 용매를 첨가한 후 추출하는 과정을 총 3회 반복하여 획득한 추출물을 모아 여과지로 여과한 후, 40℃ 수욕상에서 감압·농축하여 용매를 제거하였다. 그 후, 용매가 제거된 시료를 동결건조한 후, 4℃ 이하의 온도에서 냉장 보관하였고, 95%(v/v) 에탄올을 이용하여 원하는 농도로 용해한 후, 이후 실험에 사용하였다.
- [0043] 참마 과육 추출물 또는 참마 껍질 추출물의 추출 수율 확인을 위해, 추출물을 감압·농축 및 동결건조하여 획득한 고형분 중량을 추출물 제조에 사용한 원료 분말 중량에 대한 백분율로 나타내어 확인하였고, 그 결과, 참마

과육 추출물의 수율은 1.67%(w/w), 참마 껍질 추출물의 수율은 2.85%(w/w)였다.

[0045] 실시예 1. 항산화 활성 평가

[0046] 1) 총 폴리페놀 함량 측정

[0047] 총 폴리페놀 함량은 폴린-데니스 방법(Folin과 Denis, 1912)을 이용하여 측정하였다. 1mg/mL의 농도로 용해시킨 시료 10 μ l와 폴린-시오칼투 용액(Folin-Ciocalteu' reagent, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 10 μ l를 혼합한 후, 진탕한 다음 3분 동안 방치한 후, 10%(w/v) Na₂CO₃ 용액(Duksan Pure Chemical Co., Ltd., Ansan, Korea) 150 μ l를 섞어 1시간 반응시켰다. 그 후, 765nm에서 흡광도(xMarkTM Microplate Absorbance Spectrophotometer, Bio-Rad Laboratories, Inc., an Francisco, CA, USA)를 측정하였다.

[0048] 결과 값은 표준물질인 갈릭산(gallic acid, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하여 검량선을 작성한 후, g 중 mg 갈릭산(GAE, dry basis)으로 표시하였다.

[0049] 그 결과, 하기 표 1에 개시된 바와 같이 참마 과육 추출물 대비 참마 껍질 추출물의 총 폴리페놀 함량이 약 1.7배 더 높았다.

표 1

추출물	총 폴리페놀 함량 (mg GAE/g)
참마 과육	22.17 $\pm$ 0.79
참마 껍질	37.82 $\pm$ 0.43

[0052] 2) 총 플라보노이드 함량 측정

[0053] 총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등(1999)의 방법을 사용하여 측정하였다. 1mg/mL의 농도로 용해시킨 시료 125 μ l와 증류수 500 μ l를 혼합한 다음, 5% NaNO₂(Thermo Fisher Scientific Co., Ltd., Waltham, MA, USA) 37.5 μ l를 넣어 교반한 후, 5분간 방치하였고, 10% 염화알루미늄(Junsei Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan) 75 μ l를 넣고 6분간 방치한 다음 1M NaOH(Samchun Pure Chemical Co., Ltd., Paeongtaek, Korea) 250 μ l를 가하여 11분 동안 반응시킨 후, 510nm에서 흡광도를 측정(xMarkTM Microplate Absorbance Spectrophotometer, Bio-Rad Laboratories, Inc.)하였다.

[0054] 표준물질로 카테킨 수화물(catechin hydrate, Sigma-Aldrich Co.)을 사용하여 검량선을 작성한 후, g 중 mg 카테킨 수화물(CE, dry basis)로 나타내었다.

[0055] 그 결과, 하기 표 2에 개시된 바와 같이 참마 과육 추출물 대비 참마 껍질 추출물의 총 플라보노이드 함량이 약 6배 높았다.

표 2

추출물	총 플라보노이드 함량 (mg CE/g)
참마 과육	5.63 $\pm$ 0.37
참마 껍질	33.58 $\pm$ 0.39

[0058] 3) DPPH 라디칼 소거 활성

[0059] DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능은 Blois (1958)의 방법을 참고하여 측정하였다. 1mg/mL의 농도로 용해시킨 시료 100 μ l에 0.2mM DPPH(Sigma-Aldrich Co.) 용액 100 μ l를 혼합하여 암실에서 30분간 반응시

킨 다음, 517nm에서 흡광도(xMarkTM Microplate Absorbance Spectrophotometer, Bio-Rad Laboratories, Inc.)를 측정하였다. 이때 대조군은 시료 대신 시료를 녹인 용매를 사용하였다.

DPPH 라디칼 소거능은 하기 식 1에 의해 산출하였고, 반응한 결과 값을 50% 감소시키는 시료의 농도를 IC₅₀ 값 (mg/mL)으로 나타내었다.

[식 1]

DPPH 소거 활성(%)={1-(시료 흡광도/대조군 흡광도)}X100

그 결과, 하기 표 3에 개시된 바와 같이 참마 과육 추출물 대비 참마 껍질 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 현저히 우수하였다.

표 3

추출물	DPPH IC ₅₀ 값 (mg/mL)
참마 과육	1.57±0.35
참마 껍질	0.24±0.01

4) ABTS 라디칼 소거 활성

ABTS[2,2 -Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) 라디칼 소거활성은 Fellegrini 등(1999)의 방법을 이용하여 측정하였다. ABTS 용액은 5mL의 증류수에 140mM K₂S₂O₈(Samchun Pure Chemical Co., Ltd., Ansan, Korea) 88μL, ABTS 디암모늄염(ABTS diammonium salt; Sigma-Aldrich Co.) 2알을 첨가한 후, 암실에서 12시간 동안 방치한 다음, 이를 95% 에탄올(Samchun Pure Chemical Co.)과 1:88 부피 비율로 혼합한 후, 734nm에서 흡광도(xMarkTM Microplate Absorbance Spectrophotometer, Bio-Rad Laboratories, Inc.) 값이 0.7±0.02가 되도록 조절하여 제조하였다.

1mg/mL의 농도로 용해시킨 시료 50μL에 ABTS 용액 1mL를 가한 다음, 30초간 진탕하고 2분 30초 동안 암반응시켜 734nm에서 흡광도(xMarkTM Microplate Absorbance Spectrophotometer, Bio-Rad Laboratories, Inc.)를 측정하였으며, 이때 대조군으로서 시료 대신 시료를 녹인 용매를 사용하였다.

ABTS 라디칼 소거능은 하기 식 2에 의해 산출하였고, 각 시료의 반응 결과 값을 50% 감소시키는 시료의 농도를 IC₅₀ 값(mg/mL)으로 나타내었다.

[식 2]

ABTS 소거 활성(%)={1-(시료 흡광도/대조군 흡광도)}X100

그 결과, 하기 표 4에 개시된 바와 같이 참마 과육 추출물 대비 참마 껍질 추출물의 ABTS 라디칼 소거능이 현저히 우수하였다.

표 4

추출물	ABTS IC ₅₀ 값 (mg/mL)
참마 과육	5.04±0.01
참마 껍질	0.75±0.01

[0077] 5) FRAP(Ferric reducing antioxidant power) 측정

[0078] FRAP 측정은 Benzie 및 Strain의 방법을 참고하여 측정하였다. FRAP 시약(FRAP reagent)은 300mM 아세트이트 버퍼(pH 3.6); 40mM HCl에 용해한 10mM TPTZ[2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine]; 및 20mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 를 각각 10:1:1 부피비로 혼합한 다음 37℃ 인큐베이터에서 10분 동안 반응시켜 제조하였다.

[0079] 상기 제조된 FRAP 시약 900 μL 에 1mg/mL의 농도로 용해시킨 시료 30 μL 및 증류수 90 μL 를 혼합한 후, 37℃ 인큐베이터에서 10분 동안 반응시킨 다음 593nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0080] FRAP 활성은 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5 및 5mM의 농도로 반복하여 작성한 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 의 검량선에 대입하여 환산하였으며, 시료 1g에 대한 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 의 mM로 나타냈다.

[0081] 그 결과, 하기 표 5에 개시된 바와 같이 참마 과육 추출물 대비 참마 껍질 추출물의 FRAP 값이 높게 나타났다.

표 5

추출물	FRAP 값 (mM FE/g)
참마 과육	87.01±1.15
참마 껍질	170.83±1.68

[0084] 5) 환원력(Reducing power) 측정

[0085] 1mg/mL의 농도로 용해시킨 각 시료 1mL에 200mM 소듐 포스페이트 버퍼(sodium phosphate buffer, pH 6.6) 1mL와 페리시안화칼륨(potassium ferricyanide, Sigma) 1mL를 혼합한 다음 교반한 후, 50℃의 수욕상에서 20분간 반응시킨 다음 10분간 냉각시켰다.

[0086] 상기 혼합액에 트리클로로아세트산(trichloroacetic acid, 10%, w/v) 용액 1mL를 첨가한 후, 원심분리(3000rpm, 5분)한 다음 상등액 0.5mL를 취한후, 증류수 0.5mL 및 0.1% 염화제2철(ferric chloride) 0.1mL를 첨가한 후, 10분 동안 반응시킨 다음 700nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0087] 시료의 환원력은 흡광도 값으로 나타내었으며, 흡광도 값을 %로 환산하여 흡광도 0~1의 범위를 0~100%의 범위로 보아 50%의 환원력을 나타내는 시료의 농도인 EC_{50} (effective concentration)값을 구하였다.

[0088] 그 결과, 하기 표 6에 개시된 바와 같이 참마 과육 추출물 대비 참마 껍질 추출물의 환원력이 높았다.

표 6

추출물	환원력 EC_{50} 값 (mg/mL)
참마 과육	0.60±0.00
참마 껍질	0.43±0.00

[0091] 실시예 2. 티로시나아제(Tyrosinase) 저해 활성 평가

[0092] 티로시나아제 저해능 측정을 위해, 0.1M 인산 칼륨 완충액(potassium phosphate buffer; pH6.8) 25 μL 에, 기질인 10mM L-DOPA(3,4-dihydroxy-L-phenylalanine) 50 μL , 1mg/mL의 농도로 용해시킨 시료 50 μL 및 완충액(buffer)에 용해시킨 효소액(mushroom tyrosinase, 100 units/mL) 25 μL 를 첨가하여 37℃ 인큐베이터에서 15분간 반응시킨 후 475nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0093] 티로시나아제 저해 활성은 하기 식 3에 의하여 계산되었으며, 티로시나아제 효소를 50% 저해할 수 있는 시료의 농도인 IC_{50} (inhibitory concentration, mg/mL)으로 나타내었다. 양성대조군으로는 코지산을 사용하였다.

[0094] [식 3]

- [0095] 티로시나아제 저해 활성($\%$)= $[1-\{(A-B)/C\}]\times 100$
- [0096] A: 시료 첨가구의 475nm에서의 흡광도
- [0097] B: 티로시나아제 대신 완충액이 첨가된 샘플의 475nm에서의 흡광도
- [0098] C: 시료 대신 완충액이 첨가된 샘플의 475nm에서의 흡광도

[0100] 그 결과, 하기 표 7에 개시된 바와 같이 참마 과육 추출물 대비 참마 껍질 추출물의 티로시나아제 저해 활성이 현저하게 높았다.

표 7

추출물	티로시나아제 억제 활성
	IC ₅₀ 값(mg/mL)
참마 과육	4.51±0.78 ^a
참마 껍질	0.42±0.08 ^b
코지산	0.30±0.01 ^c

[0102] - 표의 열 내 서로 다른 문자 a-c는 서로 통계적으로 유의미한 차이가 있다는 것을 의미하며, p<0.05이다.

[0104] 실시예 3. 엘라스타아제(Elastase) 저해 활성 평가

[0105] 엘라스타아제 저해능 측정은 Kraunsoe 등(1996)의 방법을 참고하여 측정하였다. 0.2M Tris-HCl(pH 8.0) 완충액 350 μ l에 N-숙시닐-(Ala)3-p-니트로아닐리드[N-succinyl-(Ala)3-p-nitroanilide, Sigma-Aldrich Co.] 125 μ l와 1mg/mL의 농도로 용해시킨 시료 125 μ l를 첨가한 후, 0.01units/mL 엘라스타아제(돼지 췌장 유래, PPE, Sigma-Aldrich Co.) 20 μ l를 가하여 37℃ 배양기에서 20분간 반응시킨 다음 410nm에서 흡광도를 측정(Bio-Rad Laboratories, Inc.)하였다.

[0106] 엘라스타아제 저해 활성은 하기 식 4에 의하여 계산되었으며, 아스코르브산(Samchun Pure Chemical Co. Ltd.)을 양성대조군으로 사용하여 비교하였다.

[0107] [식 4]

- [0108] 엘라스타아제 저해 활성($\%$)= $[1-\{(A-B)/C\}]\times 100$
- [0109] A: 시료 첨가구의 410nm에서의 흡광도
- [0110] B: 엘라스타아제 대신 완충액이 첨가된 샘플의 410nm에서의 흡광도
- [0111] C: 시료 대신 완충액이 첨가된 샘플의 410nm에서의 흡광도

[0113] 그 결과, 하기 표 8에 개시된 바와 같이 참마 과육 추출물 대비 참마 껍질 추출물의 엘라스타아제 저해 활성이 현저히 우수하였다.

표 8

추출물	엘라스타아제 저해 활성
	IC ₅₀ 값(mg/mL)
참마 과육	7.36±0.36 ^b
참마 껍질	2.97±0.18 ^c
아스코르브산	78.36±0.53 ^a

[0115] - 표의 열 내 서로 다른 문자 a-c는 서로 통계적으로 유의미한 차이가 있다는 것을 의미하며, $p<0.05$ 이다.

[0117] **실시예 4. 콜라게나아제(Collagenase) 저해 활성 평가**

[0118] 0.1M Tris-HCl 완충액(pH 7.5)에 4mM CaCl_2 를 첨가하여, 4-phenylazobenzyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-Arg(0.3mg/ml)를 녹인 기질액 0.25mL 및 1mg/mL의 농도로 용해시킨 시료 0.1mL의 혼합액에 콜라게나아제(0.2mg/mL) 0.15mL를 첨가하여 실온에서 20분간 방치한 후, 6% 시트르산(citric acid) 0.5mL를 넣어 반응을 정지시킨 다음, 아세트산에틸 1.5mL를 첨가한 후, 상등액을 취하여 320nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0119] 콜라게나아제 저해 활성은 하기 식 5에 의하여 계산되었으며, 아스코르브산(Samchun Pure Chemical Co. Ltd.)을 양성대조군으로 사용하여 비교하였다.

[0120] [식 5]

[0121] 콜라게나아제 저해 활성(%)=[1-(A/B)]X100

[0122] A: 시료 첨가구의 320nm에서의 흡광도

[0123] B: 시료 무첨가구의 320nm에서의 흡광도

[0125] 그 결과, 하기 표 9에 개시된 바와 같이 참마 과육 추출물 대비 참마 껍질 추출물의 콜라게나아제 저해 활성이 현저히 우수하였다.

표 9

추출물	콜라게나아제 저해 활성
	IC ₅₀ 값(mg/mL)
참마 과육	28.46±0.37 ^a
참마 껍질	21.85±0.08 ^c
아스코르브산	27.52±0.15 ^b

[0127] - 표의 열 내 서로 다른 문자 a-c는 서로 통계적으로 유의미한 차이가 있다는 것을 의미하며, $p<0.05$ 이다.

[0129] **실시예 5. 히알루로니다아제(hyaluronidase) 저해 활성 평가**

[0130] 0.1M 아세트이트 완충액(acetate buffer, pH 3.5)에 녹인 히알루로니다아제(hyaluronidase; 7,900U/mL) 12.5 μL 에 1mg/mL의 농도로 용해시킨 시료 5 μL , 12.5mM CaCl_2 50 μL 를 첨가하여 혼합한 후, 37°C에서 20분간 반응시켰다. 그 후, 0.1M 아세트이트 완충액(acetate buffer, pH 3.5)에 녹인 히알루론산(hyaluronic acid; 2.4mg/mL) 62.5 μL 를 첨가하여 수욕상에서 40분간 반응시킨 다음, 0.4N 사붕산칼륨(potassium tetraborate) 25 μL 와 0.4N NaOH 용액 25 μL 를 상기 반응 혼합물에 첨가하여 3분 동안 가열한 후 완전히 냉각시켰고, 냉각시킨 반응물에 발색제로 DMAB 시약 820 μL 를 가하여 37°C 수욕상에서 20분간 반응시킨 다음 585nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0131] 히알루로니다아제 저해 활성은 하기 식 6에 의하여 계산되었으며, 아스코르브산(Samchun Pure Chemical Co. Ltd.)을 양성대조군으로 사용하여 비교하였다.

[0132] [식 6]

[0133] 히알루로니다아제 저해 활성(%) = [1-(A/B)]X100

[0134] A: 시료 첨가구의 585nm에서의 흡광도

[0135] B: 시료 무첨가구의 585nm에서의 흡광도

[0137] 그 결과, 하기 표 10에 개시된 바와 같이 참마 과육 추출물 대비 참마 껍질 추출물의 히알루로니다아제 저해 활성이 현저히 우수하였다.

표 10

[0138]

추출물	히알루로니다아제 저해 활성 IC ₅₀ 값(mg/mL)
참마 과육	22.60±0.04 ^a
참마 껍질	13.36±0.08 ^c
아스코르브산	20.19±0.09 ^b

[0139] - 표의 열 내 서로 다른 문자 a~c는 서로 통계적으로 유의미한 차이가 있다는 것을 의미하며, p<0.05이다.