(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0082880
(43) 공개일자 2017년07월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A23L 1/30* (2006.01) *A61K 8/97* (2017.01)
*A61Q 19/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*A23L 33/105* (2016.08)
*A61K 8/97* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0002165
(22) 출원일자 2016년01월07일
심사청구일자 2016년01월07일

(71) 출원인
**경희대학교 산학협력단**
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
**조윤희**
서울특별시 강남구 압구정로 151, 126동 1205호(압구정동, 현대아파트)
**이보민**
광주광역시 서구 풍암신흥로50번길 31, 402호(풍암동)
**최수민**
경기도 남양주시 수동면 남가로 1576-3
(74) 대리인
**김연권**

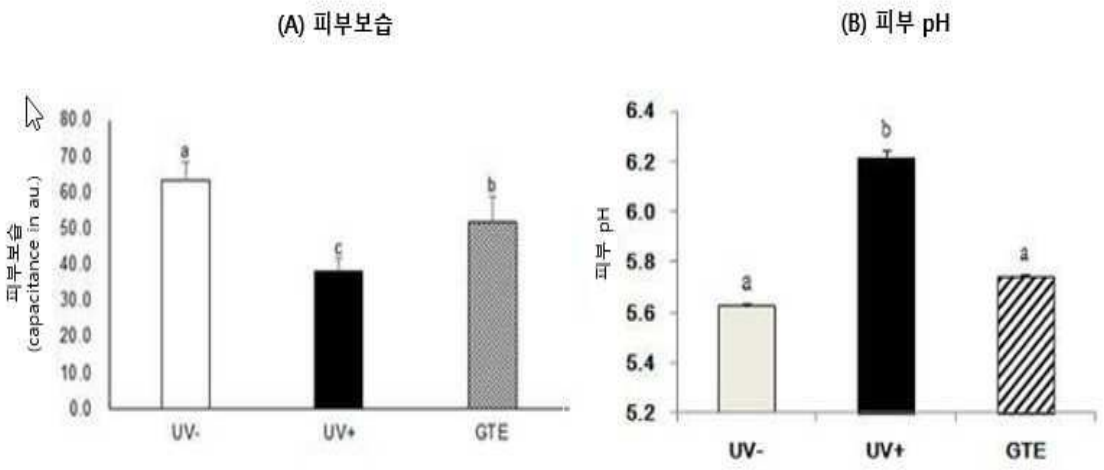
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 **녹차 추출물을 포함하는 피부 산도 개선용 조성물**

## (57) 요 약

본 발명의 목적은 녹차 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 산도 개선용 식품 조성물 및 경구 섭취용 화장료 조성물에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명의 녹차 추출물을 경구 섭취시, 젖산 및 유리 아미노산의 함량이 증가됨으로써, 자외선 조사로 인해 증가된 피부의 산도가 정상수준으로 개선되는 효과가 우수한, 바, 본 발명의 조성물은 뉴트리코스메틱으로 유용히 사용할 수 있다.

*대 표 도* - 도1



(52) CPC특허분류
***A61Q 19/00*** (2013.01)
*A23V 2002/00* (2013.01)
*A23V 2200/318* (2013.01)
*A23V 2250/042* (2013.01)
*A23V 2250/06* (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 HN13C0076
부처명 보건복지부
연구관리전문기관 글로벌코스메틱연구개발사업단
연구사업명 글로벌화장품신소재.신기술연구개발지원
연구과제명 녹차 추출물 및 보라지유 섭취의 피부 효능 규명: 신규 생체지표 개발 및 오믹스 기법을 이용한 기전 연구
기 여 율 1/1
주관기관 경희대학교 산학협력단
연구기간 2013.11.01 ~ 2016.10.31

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

녹차 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 산도 개선용 식품 조성물.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 녹차 추출물의 섭취시 피부의 pH를 감소시키는 것인 조성물.

### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 녹차 추출물의 섭취시 자외선 조사로 인해 증가된 피부의 pH를 감소시키는 것인 조성물.

### 청구항 4

제1항에 있어서, 상기 녹차 추출물 섭취시 표피 내 젖산 및 유리 아미노산으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 인자의 함량을 증가시키는 것인 조성물.

### 청구항 5

제1항에 있어서, 상기 녹차 추출물 섭취시 표피 내 젖산 탈수소효소의 발현 및 활성을 증가시키는 것인 조성물.

### 청구항 6

제1항에 있어서, 상기 녹차 추출물은 카테킨 및 에피갈로카테킨-3-갈레트를 포함하는 것인 조성물.

### 청구항 7

제1항에 있어서, 상기 조성물은 녹차 추출물만을 유효성분으로 포함하는 것인 조성물.

### 청구항 8

제1항에 있어서, 상기 조성물은 정제, 과립, 분말, 캅셀, 액상의 용액 및 환으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형으로 제조된 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 9

녹차 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 산도 개선용 화장료 조성물로서, 상기 화장료 조성물은 경구 섭취용인 것인 조성물.

## 발명의 설명

### 기 술 분 야

[0001] 본 발명은 녹차 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 산도 개선용 조성물에 관한 것으로서, 녹차 추출물의 뉴트리코스메틱으로서의 신규 용도에 관한 것이다.

### 배 경 기 술

[0002] 미용과 영양의 교차 영역에서 피부 미용 기능성이 강조된 식품을 총칭하는 뉴트리코스메틱은 최근 피부의 건강과 아름다움의 유지는 화장품 등의 외적인 영양공급에 의한 아우터 뷰티(outer beauty) 뿐 아니라, 식품을 통한 체내의 영양 공급을 충분히 받아야 한다는 이너 뷰티(inner beauty)의 개념 확대에 따라 2000년 이후 피부 미용 시장의 한 축을 형성하고 있다.

[0003] 뉴트리코스메틱 시장은 세계 경제 불황에도 불구하고 유럽과 일본을 중심으로 꾸준한 성장세를 보이고 있으며,

향후 멕시코, 브라질 등과 같은 주요 개발도상국뿐 아니라 중국에서도 관련 시장이 크게 형성될 것으로 전망되고 있다. 이는 소비자들의 지속적인 건강과 아름다움 지향 뿐 아니라, 가중되고 있는 환경 오염으로 부터 피부의 근본적인 건강을 지키고 바쁜 일상에서의 간편한 피부 관리법에 대한 요구의 증대에서 기인한 것이다.

[0004] 단일 국가로 뉴트리코스메틱 시장이 가장 크게 형성되어 있는 일본과 달리 우리나라는 관련 시장이 형성되는 초기이나 최근 뉴트리코스메틱 소재에 대한 관심이 건강기능 식품뿐 아니라 일반식품에까지 확대되어 식품, 화장품, 건강식품 제조업체 모두 관련 소재 연구 개발에 상당한 투자를 하고 있다. 특히 2003년 식품의약안전청의 "건강기능식품법" 발효 이후 피부 관련 기능성을 직접 표시할 수 있는 개별인정형 건강 기능식품 소재 개발이 활성화되고 있다.

[0005] 2013년 국내 건강기능식품 생산액은 약 1조 4천억원으로, 이 중 개별인정형 식품 생산액은 약 16%를 차지한다. 개별인정형 건강기능식품의 피부 건강 기능성은 남녀노소 모두의 관심 분야로, 2011년 기능성 4순위로 크게 순위가 상승하였으며, 2012-2013년에도 꾸준히 6-8위의 순위를 유지하고 있다.

[0006] 이러한 배경하에, 현재는 소나무껍질 추출물 복합물, 쌀겨 추출물 등의 10여개 이상의 건강기능 식품 소재가 피부 보습 증진이나 자외선에 의한 피부 보호에 국한되어 피부 건강의 기능성을 인정받아 제품화되어 있다. 최근 여러 뉴트리코스메틱 소재들의 다양한 피부 기능성이 보고되고 있기는 하나, 여전히 대부분 기존의 바르는 코스메틱의 피부 기능성인 주름, 미백, 보습 등과 같은 end-point 생체 지표들의 개선 효과 수준에서 이루어지고 있어 뉴트리코스메틱 소재들의 차별화된 생체지표나 작용기전 규명 등의 과학적 근거가 미비하여 소비자들의 신뢰가 부족한 실정이다.

[0007] 뉴트리코스메틱은 기존의 코스메틱과 적용 용량, 기간, 방법, 효능 부위, 효능 이론 및 기대 효능 등의 여러 면에서 차이가 있다. 구체적으로, 코스메틱은 고용량의 기능성 소재를 단기간 피부에 도포함으로써 도포한 부위에 부분적으로 소재의 효능이 발생함에 따라 건강보다는 미용을 중심으로 효능이 발생하나, 뉴트리코스메틱은 적은 용량의 소재를 장기간 섭취함으로써 소재가 체내의 흡수대사 이후 전신적으로 효능이 발생함에 따라 미용보다는 피부 건강을 근본적으로 개선시킨다는 점에서 큰 차이가 있다.

[0008] 이를 기준으로 뉴트리코스메틱의 효능은 부분적, 지엽적인 피부 부위보다는 전신적 피부에 미치는 효능으로 여겨지면서, 피부 건강을 근본적으로 개선시키는 효능(예: 피부 산도 개선 등)을 포함시키는 것이 소비자의 뉴트리코스메틱에 대한 기대 부응과 함께 향후 먹고 바르는 코스메틱에 의한 시너지 효과에 도움이 될 것으로 여겨진다. 따라서 기존 코스메틱의 피부 기능성과 차별화하여, 뉴트리코스메틱 소재 섭취 후 소화-흡수-대사 과정을 거쳐 간접적(indirect), 전신적(systemic)으로 피부 건강 및 영양 상태 개선을 반영하는 신규 피부 효능에 대한 생체 지표 개발이 뉴트리코스메틱 산업의 성장 및 활성화를 위해 절대적으로 필요하다.

[0009] 바르는 화장품의 기존의 효능인 안티에이징, 미백 등의 효능과 구분하여 뉴트리코스메틱 소재들의 피부 건강 개선을 반영하는 간접적, 전신적 효능 지표로 피부 산도(pH) 등이 파악되는데, 이러한 생체 지표는 기존의 코스메틱의 생체 지표와는 큰 차별성을 나타낸다. 특히, 피부 산도는 특정대사 경로보다는  탄수화물, 지방, 단백질 등의 대사와 관련되어 최종적으로 나타나는 생체지표로서, 전신 피부에 영향을 미치며, 피부 질병 발생 전 준건강 상태에서도 예민하게 상승하는 피부 건강 지표로 기존의 바르는 화장품의 생체지표와는 차이가 있는 바, 피부 산도를 개선할 수 있는 뉴트리코스메틱의 새로운 소재의 개발이 필요한 상태이다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) 1. 한국 공개특허 제1999-0056976호

(특허문헌 0002) 2. 한국 등록특허 제0727743호

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0011] 기존의 바르는 화장품이 가지는 생체 지표와는 다른, 섭취 후 인체 내 대사과정을 거친 후에도 전신적인 피부 건강 및 영양 상태를 개선할 수 있는 뉴트리코스메틱의 신규 소재에 대한 개발이 필요한 상태이다.

[0012] 이에, 본 발명자들은 녹차 추출물을 포함하는 조성물의 섭취 시, 자외선 등에 의해 증가된 피부 pH를 정상 수준으로 감소시켜, 피부 산도 개선을 통한 피부 건강에 도움을 줄 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

[0013] 따라서, 본 발명의 목적은 피부 산도를 개선할 수 있는 식품 조성물을 제공하고자 한다.

[0014] 본 발명의 다른 목적은 피부 산도 개선을 위한 경구 섭취용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

## 과제의 해결 수단

[0015] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 녹차 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 산도 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0016] 또한, 본 발명은 녹차 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 산도 개선용 화장료 조성물로서, 본 화장료 조성물은 경구 섭취용인 조성물을 제공한다.

[0017] 본 발명의 조성물에 포함되는 녹차 추출물은 섭취시 피부의 pH를 감소시키는 것을 특징으로 한다.

[0018] 본 발명의 조성물에 포함되는 녹차 추출물은 섭취시 자외선 조사로 인해 증가된 피부의 pH를 감소시키는 것을 특징으로 한다.

[0019] 본 발명의 조성물에 포함되는 녹차 추출물은 섭취시 표피 내 젖산 및 유리 아미노산으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 인자의 함량을 증가시키는 것을 특징으로 한다.

[0020] 또한, 본 발명의 조성물에 포함되는 녹차 추출물은 섭취시 표피 내 젖산 탈수소효소의 발현 및 활성을 증가시키는 것을 특징으로 한다.

[0021] 본 발명의 조성물에 포함되는 녹차 추출물은 카테킨 및 에피갈로카테킨-3-갈레트를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0022] 또한, 본 발명의 조성물에는 녹차 추출물만을 유효성분으로 포함할 수 있다.

[0023] 본 발명의 조성물은 정제, 과립, 분말, 캅셀, 액상의 용액 및 환으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형으로 제조된 것을 특징으로 한다.

## 발명의 효과

[0024] 본 발명의 녹차 추출물을 섭취할 시 자외선으로 인해 증가된 피부 pH를 정상 수준으로 증가시키는 효과를 최초로 연구하였는 바, 본 발명의 조성물은 피부 산도를 개선시킬 수 있는 뉴트리코스메틱으로 유용히 사용될 수 있다. 또한, 기존의 바르는 화장품이 가지는 피부 개선 효능에서 벗어나, 피부 전체의 산도를 정상화시킴으로써 피부 건강 및 영양상태를 개선시켜줄 수 있다.

## 도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 각 군간의 피부 보습 및 pH 변화량을 나타낸 것이다. UV-군은 10주간 UV 조사 없이 일반 식이를 공급받은 무모생쥐 군이고, UV+군은 10주간 UV 조사를 하면서 일반 식이를 공급받은 군이며, GTE군은 10주간 UV 조사를 하면서 1.0% 녹차 추출물(GTE)을 포함한 식이를 공급받은 무모생쥐 군이다. 값은 평균 ± 평균오차(mean ± SEM)(n=5)로 나타냈다. 동일문자가 아닌 값은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA) 및 던컨의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)을 사용하여 $p<0.05$ 에서 유의성을 나타내는 것이다.

도 2는 각 군간의 표피 내 젖산 탈수소효소(lactate dehydrogenase (LDH))의 단백질 발현 및 활성 변화량을 나타낸 것이다. UV-군은 10주간 UV 조사 없이 일반 식이를 공급받은 무모생쥐 군이고, UV+군은 10주간 UV 조사를 하면서 일반 식이를 공급받은 군이며, GTE 군은 10주간 UV 조사를 하면서 1.0% 녹차 추출물(GTE)을 포함한 식이를 공급받은 무모생쥐 군이다. 도 2A는 각 군의 표피 내 LDH 및 액틴의 대표적 발현을 나타낸 것이다. 도 2B는 도 2A의 실험의 다중 실험으로부터 얻어진 신호 강도를 측정하였고, 축적 부분은 액틴(로딩 대조군)의 값에 대응하도록 정규화시켰다. 값은 평균 ± 평균오차(mean ± SEM) (n=5)로 나타냈다. 도 2C에서 LDH의 활성은 각 군간 표피 내 NADH 발생을 기초로 한 LDH 활성 비색 분석 키트에 의한 각 군간 표피 내에서 결정되었다. 값은 평균 ± 평균오차(mean ± SEM) (n=5)로 나타냈다. 동일한 문자가 없는 값들은 일원배치 분산분석 및 던컨의 다중범위 검정을 사용하여 $p<0.05$에서 유의성을 나타내는 것이다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0026] 본 발명은 일 형태로서, 녹차 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 산도 개선용 식품 조성물에 관한 것이다.

[0027] 본 발명에서 녹차(Green Tea)는 그 종류 및 재배 일수에 제한 없이 사용가능하며, 말리거나 말리지 않은 녹차를 모두 사용할 수 있다. 또한, 본 발명에서 녹차는 그 부위에 제한 없이 사용할 수 있다.

[0028] 본 발명의 녹차 추출물은 통상적으로 추출에 사용될 수 있는 용매이면 특별히 제한되지 않으며, 정제수를 포함한 물, 탄소수 1 내지 탄소수 4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로부터 선택된 용매로 가용한 추출물일 수 있다. 또한, 상기 추출물은 통상적으로 적용할 수 있는 추출방법을 사용할 수 있으며, 교반추출, 열수추출, 냉침추출, 가온추출, 환류냉각추출 또는 초음파추출 등의 추출방법을 사용할 수 있다. 또한, 교반 추출한 후 수득한 추출액을 여과, 감압농축 또는 건조하여 수득할 수 있으며, 시중에서 판매되는 녹차 추출물을 구입하여 사용할 수 있다.

[0029] 본 발명의 녹차 추출물은 카테킨 및 에피갈로카테킨-3-갈레트(epigallocatechin-3-gallate(EGCG))을 포함할 수 있다. 바람직하게, 녹차 추출물에는 카테킨이 40% 이상, 에피갈로카테킨-3-갈레트가 20% 이상이 포함될 수 있다. 보다 바람직하게는 카테킨 50%, 에피갈로카테킨-3-갈레트 28%가 함유된 녹차 추출물을 사용할 수 있다.

[0030] 본 발명에 있어서, 용어 "유효성분으로 포함하는"은 피부 산도의 개선 효과를 가져오는 용량 범위로 함유하는 것을 의미하고, 중증도 및 제형에 따라 용량범위는 변할 수 있으며, 적용횟수도 적용 대상의 연령, 체중 및 체질에 따라 변할 수 있다.

[0031] 본 발명에 있어서, 용어 "개선"은 본 발명의 식품 조성물 또는 화장료 조성물을 피부 산도 개선이 필요한 개체에게 투여, 섭취 또는 적용하여 피부 산도의 개선, 바람직하게는 증가된 pH를 감소시키는 것을 의미한다.

[0032] 기존의 녹차 추출물은 주로 추출물 형태나 녹차 추출물의 주요 성분인 카테킨의 미백 등의 효능 보고 및 화장품 제품으로의 제조법만이 연구되어 왔으나, 녹차 추출물을 섭취할 시 인체의 소화, 흡수, 대사 과정을 모두 거쳐 피부의 산도를 개선시킬 수 있는 용도는 전혀 알려진 바가 없다. 또한, 기존의 바르는 화장품은 바르는 부위에서만 피부 보습, 미백 등의 생체 지표들의 개선 효과가 이루어지고 있을 뿐, 인체의 전신적인 피부 산도의 신규 생체 지표가 개선되는 효과는 알려진 바가 없었다. 본 발명에서는 녹차 추출물을 섭취할 경우, 체내에 흡수 대사 이후 전신적으로 피부의 산도가 개선되는 효과를 최초로 확인하였다. 특히, 피부에 자외선을 조사할 경우 피부 pH가 증가되는데, 녹차 추출물 섭취시 pH가 자외선 조사를 하지 않은 pH 범위로 감소되는 것을 확인하였다.

[0033] 따라서, 본 발명의 녹차 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 섭취시 피부의 pH를 감소시키는 것을 특징으로 한다.

[0034] 피부의 산도는 뉴트리코스메틱의 주요 생체 지표로서, 특정대사 경로보다는  탄수화물, 지방, 단백질 등의 대사와 관련되어 최종적으로 나타나는 것을 특징으로 한다. 또한 전신 피부에 영향을 미치며, 피부 질병이 발생전인 준건강 상태에서 예민하게 피부 pH가 증가할 수 있으므로 기존에 바르는 화장품의 주요 효능으로 알려진 피부 보습, 미백 등의 생체 지표와는 차별성을 갖는다.

[0035] 피부의 산도는 피부의 보호 장벽 역할을 하므로, 정상 범위인 pH 4-6의 범위를 유지하는 것이 건강한 피부에 있어서 매우 중요하다. 특히, 자외선 조사 등으로 인해 피부 pH가 증가하게 되는데, 증가된 pH를 정상 범위인 pH 4-6의 범위로 감소시켜주는 것이 바람직한데, 본 발명의 일 실시예에서는 녹차 추출물을 섭취할 경우, 자외선으로 인해 증가된 피부 pH가 자외선을 조사하지 않은 정상상태로 감소됨을 확인하였다. 구체적으로, 녹차 추출물을 섭취시 피부의 pH가 0.43 내지 0.51 수준으로 감소함을 특징으로 한다. pH는 log sclae의 수치로 본 발명의 녹차 추출물 섭취는 피부의 산도를 $10^{0.43}$ 내지 $10^{0.51}$ 수준으로 크게 감소시키는 것을 특징으로 한다.

[0036] 또한, 본 발명의 조성물은 섭취시 체내의 젖산 및 유리 아미노산으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 인자의 함량을 증가시킴으로써, 피부 산도 개선 효과를 지속적으로 유지시킬 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는 UV를 조사한 군의 젖산의 함량은 UV를 조사하지 않은 군에 비해 현저히 감소한 반면, UV를 조사하고 녹차 추출물을 섭취한 군은 UV를 조사한 군에 비해 젖산의 함량이 높을 뿐만 아니라, 유리 아미노산의 함량이 UV를 조사하지 않은 군에 비해서도 현저히 증가됨을 확인하였다.

[0037] 또한, 본 발명은 녹차 추출물 섭취시 표피 내 젖산 탈수소효소(lactate dehydrogenase, LDH)의 발현 및 활성을 증가시키는 것을 특징으로 한다. 본 발명의 일 실시예에서는 UV를 조사한 군의 LDH 단백질 발현 및 활성은 UV를 조사하지 않은 군에 비해 유의적으로 감소한 반면, UV를 조사하고 녹차 추출물을 섭취한 군은 UV를 조사한 군보

다 증가하였으며 특히 LDH 활성의 증가 정도는 UV를 조사하지 않은 군과 유사하였다.

[0038] 상기 본 발명의 실시예를 통해서, 지속적인 자외선 조사로 인해 피부 pH는 증가되는데, 자외선 조사와 함께 녹차 추출물을 섭취할 경우 LDH 발현과 활성 증가에 의한 젖산 함량 및 유리 아미노산의 함량을 증가시켜 궁극적으로 자외선 조사에 의해 증가된 피부 pH를 정상화시킬 수 있음을 확인하였는 바, 녹차 추출물을 피부 pH를 개선시킬 수 있는 새로운 뉴트리코스메틱의 소재로서 사용할 수 있다. 즉, 본 발명의 녹차 추출물은 피부 pH를 정상화시키고, 자외선 조사로 증가된 피부 pH를 감소시킬 수 있는 새로운 용도를 가진다.

[0039] 본 발명의 녹차 추출물은 기존의 식품으로 많이 사용되어 왔기 때문에, 인체에 부작용 및 거부반응 없이 안전하게 섭취할 수 있다.

[0040] 본 발명의 조성물에 포함되는 녹차 추출물은 피부 산도를 개선하는데 충분한 양으로 섭취된다. 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 녹차 추출물의 활성, 녹차 추출물에 대한 민감도 등에 따라 결정될 수 있다. 상기 요소들을 고려하여 당업자는 섭취시 부작용 없이 피부의 산도가 개선될 수 있는 최적의 용량을 결정할 수 있다.

[0041] 본 발명의 조성물에는 본 발명이 목적으로 하는 주 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 주 효과의 상승 효과를 줄 수 있는 다른 성분 등을 포함할 수도 있다. 또한 본 발명의 조성물에는 유효성분으로서 녹차 추출물을 포함하는 것일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는 일반 식이에서 녹차 추출물만을 추가로 포함시켰을 때 자외선 조사로 인해 증가된 피부 pH를 정상화시킬 수 있음을 확인하였는 바, 녹차 추출물만을 단독으로 섭취하여도 본 발명이 목적하는 주 효과가 충분히 나타남을 확인하였다.

[0042] 본 발명의 경구용 식품 조성물은 식품학 또는 약제학적 분야에서 공지된 다양한 방법에 의해 제조될 수 있으며 그 자체 또는 식품학적으로 허용되는 담체, 부형제, 희석제 등과 혼합하여 경구로 섭취할 수 있는 어떤 식품 형태로도 제조될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose), 락토오스(Lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 담체, 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0043] 바람직하게는 본 발명의 식품 조성물은 정제, 과립, 분말, 캅셀, 액상의 용액 및 환으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형으로 제조될 수 있다.

[0044] 본 발명의 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 녹차 추출물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 쵸코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있고, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함할 수 있으며, 동물을 위한 사료로 이용되는 식품을 포함한다.

[0045] 상기 외에 본 발명의 식품 조성물은 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 탄 산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 천연 과일쥬스, 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 본 발명에 의한 녹차 추출물을 유효성분으로 포함하는 것 이외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며, 통상의 여러가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가성분으로 포함할 수 있다.

[0046] 본 발명의 식품 조성물은 건강기능식품을 포함한다.

[0047] 본 발명에서 건강기능식품이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체 방어 리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미한다. 본 발명에 따른 식품 조성물은, 그 제형에 있어 일반적으로 식품(특히 건강기능식품)에 적용되는 제형이면 특정 제형에 제한되지 않고, 상기 추출물을 주원료로 하여 제형 구성에 일반적으로 사용되는 보조제나 첨가제 등을 더욱 함유하여 다양한 제형을 제공할 수 있다. 보다 바람직하게는 캡슐, 정제, 분말, 과립, 액상, 환, 편상, 페이스트상, 시럽, 겔, 젤리 및 바로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 제형인 것을 특징으로 한다.

[0048] 본 발명의 다른 형태로서, 녹차 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 산도 개선용 화장료 조성물로서, 상기 화장료 조성물은 경구 섭취용인 것인 조성물을 제공한다.

[0049] 본 발명의 녹차 추출물은 피부에 바르는 화장품이 아닌, 경구 섭취용으로 제공되는 뉴트리코스메틱의 형태로서 개발되며, 녹차 추출물 섭취시 기존에 알려지지 않은 피부 산도가 개선되는 것을 특징으로 한다. 바람직하게는 녹차 추출물을 포함하는 경구 섭취용 화장료 조성물은 자외선 조사로 인해 증가된 피부 pH를 자외선을 조사하지 않은 정상범위로 감소시킬 수 있다.

[0050] 본 발명의 화장료 조성물에는 본 발명이 목적으로 하는 주 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 주 효과의 상승 효과를 줄 수 있는 다른 성분 등을 포함할 수도 있으며, 예를 들어 물성개선을 위하여 향료, 색소, 살균제, 산화방지제, 방부제, 보습제, 점증제, 무기염류, 유화제, 합성 고분자 물질 등의 첨가제를 더 포함할 수도 있으며, 상기 첨가제의 첨가량은 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 선택될 수 있다.

[0051] 상기 성분들은 제형 또는 사용 목적에 따라서 당업자가 어려움 없이 적의 선정하여 배합할 수 있으며, 바람직하게는 우수한 피부 산도 및 민감도 개선 효능을 갖도록 하기 위하여 경구형 화장료 조성물, 보다 바람직하게는 분말제, 과립제, 캅셀제 또는 액상제 중 선택된 어느 하나의 타입으로 이루어져 식이용으로 사용되도록 함으로써 섭취를 통해 피부 산도 및 민감도 개선효과를 증진시킬 수 있다.

[0052] 또 다른 형태로서 본 발명은 녹차 추출물을 피부 산도의 개선이 필요한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 피부 산도 개선 방법을 제공한다.

[0053] 피부 산도의 개선이 필요한 개체는 외부 자극 및 내부 요인에 의하여, 피부 산도가 증가된 개체로서, 인간을 포함한 동물이 포함된다.

[0054] 상기 투여하는 단계는 피부 산도의 개선이 필요한 개체가 녹차 추출물을 섭c취하는 단계가 바람직하다.

[0055] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[0056] **실험예 1: 실험동물**

[0057] 생후 6주령 암컷 무모생쥐 [Albino hairless mouse (SKH-1)]를 ㈜오리엔트바이오에서 공급받아 1주 동안 일반 고형배합 사료로 적응시켰다. 실험군은 체중에 따라 난괴법을 이용해 자외선 조사를 하지 않은 정상 대조군 (UV-군, n=5), 자외선 조사군 (UV+군, n=5), 자외선 조사와 함께 녹차 추출물 (Green Tea Extract: GTE)을 전체 식이의 1% 수준에서 식이 공급한 실험군 (GTE군, n=5)으로 나누었다. 사육 기간 중 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였고 온도 24 ± 2℃, 습도 55±10%로 최적 환경 조건을 유지시킨 실험실에서 12hr/day 명암주기로 사육하였다. 본 동물 실험 프로토콜은 경기과학기술진흥원에서 운영하는 동물윤리위원회에서 승인을 득하였다 (승인번호: 2013-12-0006).

[0058] **실험예 2: 자외선 조사 및 실험식이**

[0059] UVB 램프(약 30% UVA 함유: TL 20W/12RS SLV, 파장 290 에서 390nm, Phillips, Netherlands)를 사용하여 무모생쥐의 등 부위를 조사하였고 자외선 조사량은 UV 미터 (VARIOCONTROL, Waldmann ver. 2.03, Germany)로 측정하였다. 식이 공급 개시일로부터 1주일에 3회 조사하였고 1주차에는 1 최소 홍반양(minimal erythema dose (MED; 75mJ/$cm^2$, 15분))으로 시작하여 2주차 2 MED (150mJ/$cm^2$, 30분), 3주차 3MED (225mJ/$cm^2$, 45분), 4주차부터 10주차까지 4 MED (250mJ/$cm^2$, 50분)로 조사하였다.

[0060] UV-군 및 UV+군은 GTE가 함유되지 않은 일반식이 (AIN-93G 식이)를 공급하였고, GTE군은 전체 식이 무게의 1.0%에 상응하는 GTE를 식이에 혼합하여 10주간 공급하였다. GTE 시료 첨가에 의해 발생하는 건분 식이 무게 차이는 옥수수 전분을 감하여 조정하였다. GTE 시료 [카테킨 50%, 에피갈로카테킨-3-갈레트(epigallocatechin-3-gallate(EGCG)) 28% 함유]는 ㈜아모레퍼시픽 (South Korea)에서 공급받았다. 각 실험군의 식이 조성은 표 1과 같았다.

*표 1*

[0061] 실험군의 식이 조성 및 UV 조사(g/kg)

| 성분 | 실험군[1] | | |
|---|---|---|---|
| | UV- | UV+ | GTE[2] |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 옥수수 전분 | 372 | 372 | 362 |
| 수크로스 | 200 | 200 | 200 |
| 셀룰로스 | 50 | 50 | 50 |
| 옥수수유 | 100 | 100 | 100 |
| 비타민 혼합[3)] | 10 | 10 | 10 |
| 미네랄 혼합[4)] | 35 | 35 | 35 |
| L-시스테인 | 3 | 3 | 3 |
| 카세인[5)] | 230 | 230 | 230 |
| GTE | - | - | 10 |
| UV 조사 | - | + | + |

[0062] [1)] UV-군 및 UV+군: 10주간 UV를 조사하지 않고 일반 식이를 공급한 무모생쥐(UV-군)과 UV를 조사하면서 일반 식이를 공급한 무모 생쥐(UV+군); GTE군: 10주간 UV를 조사하면서 녹차 추출물(GTE)를 포함하는 식이를 공급한 무모 생쥐

[0063] [2)] GTE : 녹차 추출물

[0064] [3)] AIN-93 비타민 혼합 #310025 (Dyets Inc., Bethlehem, PA)

[0065] [4)] AIN-93G 염 혼합 #210025 (Dyets Inc., Bethlehem, PA)

[0066] [5)] 카세인 (nitrogen x 6.25), 870g/kg

[0067] **실험예 3: 통계 분석**

[0068] 모든 실험의 결과는 SPSS 18.0 프로그램 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 통계 처리하였다. 결과는 각 실험군 별 평균(mean) 및 표준오차(standard error mean, SEM)로 나타냈으며, 각 군간의 비교는 일원 배치 분산분석(one-way ANOVA)으로 분석 후 $p<0.05$ 수준에서 던컨의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)으로 검증하였다. 또는 자외선 조사군 (UV+군)을 기준으로 독립 표본 t-검정(independent student's t-test)로 분석해 $p<0.05$ (*) 수준에서 유의성을 나타냈다.

[0069] **실험예 4: 자외선 조사 및 녹차 식이 공급에 의한 피부 보습 및 피부 pH 변화**

[0070] 실험 동물의 피부 보습은 코르네오미터(Corneometer) (CM825, Courage-Khazaka, Germany)를 이용하여 희생 전날 측정하였다. 측정시 실험 동물 등 부위의 중앙 부분을 가볍게 눌러 총 5회 측정하여 평균값을 기록하였다. 그 결과, 10주간 자외선을 조사한 UV+군의 피부 보습은 UV-군에 비해 현저히 감소하였는데 이는 장기간의 자외선 조사가 피부의 보습 감소를 초래함을 의미한다. 10주간 자외선 조사와 병행하여 녹차 추출물을 식이 공급한 GTE군의 피부 보습은 UV+군에 비해 증가하였으나 그 증가 정도는 UV-군에 미치지 못하였다(도 1A).

[0071] 실험 동물의 피부 pH는 pH 미터 (PH905, Courage-Khazaka, Germany)를 이용하여 희생 전날 측정하였다. 측정시 실험 동물 등 부위의 중앙 부분을 가볍게 눌러 총 5회 측정하여 평균값을 기록하였다. 그 결과, UV+군의 피부 pH는 UV-군보다 유의적으로 증가하였는데 이는 자외선 조사가 피부 보습 감소뿐 아니라 pH의 증가를 초래함을 의미한다(도 1B). 반면 GTE군의 피부 pH는 UV+군에 비해 감소하였는데 그 감소 정도는 UV-군과 유사하였다. 이 결과는 자외선 조사와 병행된 GTE의 식이 공급은 자외선 조사에 의해 증가되는 피부 pH를 정상화시킴으로써 피부 pH가 피부 건강의 조기 생체 지표의 가능성을 제안한다.

[0072] **실험예 5: 자외선 조사 및 녹차 식이 공급에 의한 표피 젖산, 유리 아미노산 및 유리 지방산의 총 함량 변화**

[0073] 표피의 젖산, 유리 아미노산, 유리 지방산은 피부 pH를 결정하는 주요 인자이다. 표피 내 상기 인자들의 함량 변화를 확인하기 위하여, 먼저 10주간의 실험식이 공급 후 경추탈골 방법으로 희생시키고 피부 조직을 취하였다. 피부 조직은 한스 평형 염류 용액(Hank's Balanced Salt Solution)(HBSS, Gibco BRL, USA)과 디스파아제 Ⅱ(Dispase Ⅱ) (2.4 unit/㎖, Roche, Germany)가 1:1 (v/v)로 혼합된 용액에 담가 4℃에서 16시간 동안 처리한 후 표피를 분리하였다.

[0074] **표피의 젖산 함량 분석**

[0075] 표피에 증류수를 가하고 폴리트론(polytron) (P-8340, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 이용해 4℃에서 20분간 초음파 분쇄하였다. 분쇄한 조직을 12,000g, 4℃에서 15분간 원심분리 후 상층액을 취하였다. 젖산 함량은 단기간에 대량 분석이 가능한 EnzyChrom™ L-Lactate Assay Kit (ECLC-100, BioAssay Systems, Hayward, CA, USA)을 사용하여 측정하였다. 96 웰 플레이트에 LDH 효소와 함께 NAD가 함유된 완충용액 및 표피 시료를 1 ㎕/웰의 농도로 분주하고 30분간 상온에서 방치한 후, LDH에 의해 젖산이 피루브산으로 전환시 생성되는 NADH에 비례하여 환원되는 포르마잔(formazan)의 양을 엘라이자 판독기(Elisa Reader)를 이용하여 595 nm에서 측정하여 간접적으로 젖산의 함량을 파악하였다. 표피 시료의 단백질 정량과 함께 젖산 함량을 nmole/mg 단백질로 나타내었다.

[0076] **표피 총 유리 아미노산 함량 분석**

[0077] 표피 조직을 15% 트리클로로아세트산(Trichloroacetic acid (TCA)) 용액과 함께 폴리트론(polytron)으로 분쇄하고 4℃에서 16시간 동안 방치하였다. 산침전 단백질을 제거하기 위해 12,000g에서 10분간 원심분리 후 상층액을 취하여 0.45 ㎛ 필터(Millipore, USA)로 여과하였다. 총 유리 아미노산의 농도는 고속능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography (HPLC))를 이용하여 분석하였으며, 분석 조건은 피코 태크 칼럼(Pico Tag column) (3.9 X 300 mm, 4 ㎛, WAT088131, Waters, USA)에서 아세토니트릴: 메탄올: 물(Acetonitrile: Methanol: Water (45: 45: 10, v/v/v)) 용액을 이동상으로 유속 1.0㎖/분을 유지하면서 254nm에서 흡광도를 측정하였다. 표피 시료의 무게값과 함께 총 유리아미노산 함량을 ㎍/g 습량으로 나타내었다.

[0078] **표피 총 유리 지방산 함량 분석**

[0079] 표피에 증류수를 가하고 폴리트론을 이용하여 분쇄하고 12,000g, 4℃에서 15분간 원심분리 후 상층액의 일부를 취하여 단백질 정량을 하였다. 남은 용액에 Folch 용액 ($CHCl_3$:MeOH=2:1,v/v)를 가하여 지질을 추출하고 질소 가스로 건조시킨 후 100 ㎕의 Folch 용액에 다시 녹였다. HP-TLC (고속능 얇은-막 크로마토그래피, High performance thin-layered chromatography: 실리카겔, 60, 200 ㎛ 두께, Whatman, USA)에 점적하고 전개액 [헥산: 디에틸 에테르: 아세트산 (Haxane: Diethyl ether: Acetic acid) (14:16:0.2, v/v/v)]을 이용하여 유리 지방산을 분획하였다. 모든 샘플은 automatic multiple development (AMD) apparatus (linomat 5, CAMAG, Muttenz, Switzerland)를 이용하여 분석되었고, 분획된 유리지방산의 함량은 아세트산 제이구리-인산(cupric acetate-phosphoric acid) 처리 및 160℃에서 15분간 가열 후 해당 표준물질과 함께 TLC III scanner (DigiStore2, CAMAG, Muttenz, Switzerland)를 이용하여 정량하였다. 표피 시료의 단백질 정량과 함께 유리지방산 함량을 mg/㎍ 단백질로 나타내었다.

[0080] 이들 인자들의 함량을 각 군의 표피에서 측정한 결과, UV+군의 젖산 함량이 UV-에 비해 유의적으로 감소한 반면 GTE군의 젖산 함량은 UV+군에 비해 증가하였다 (표 2). UV+군의 총 유리 아미노산 함량은 UV-군과 유사하였으나 GTE군의 총 유리아미노산 함량은 UV+군 보다 유의적으로 증가하였으며 (t-test, $p<0.05$) 그 증가 정도는 UV-군보다 현저히 높았다. UV+군 총 유리 지방산 함량은 UV-군에 비해 감소하였으며 GTE군의 총 유리 지방산 함량은 UV+군과 유사하였다. 이 결과는 자외선 조사는 젖산 및 유리 지방산 함량 감소와 함께 피부 pH를 증가시킨 반면, 자외선 조사와 병행된 GTE의 식이 공급은 젖산 및 총 유리 아미노산의 증가와 함께 피부 pH를 정상화시켰음을 의미한다. 반면 GTE 식이 공급은 자외선 조사에 의해 감소하는 총 유리 지방산의 함량을 개선시키지는 않는 것으로 여겨진다.

*표 2*

[0081] 무모생쥐 표피 내에서 락테이트, 총 유리 아미노산 및 총 유리 지방산 함량

| 피부 pH 관련 인자 | 실험군 | | |
|---|---|---|---|
| | UV- | UV+ | GTE |
| 락테이트(Lactate) (nmole/mg 단백질) | 209.1 ± 12.74[a] | 91.5 ± 6.64[b] | 157.2 ± 5.94[a] |
| 총 유리 아미노산 (㎍/g 습량) | 55.1 ± 3.97[b] | 69.2 ± 2.29[ab] | 84.6 ± 1.22[a*] |
| 총 유리 지방산 (mg/㎍ 단백질) | 16.5 ± 0.55[a] | 9.8 ± 0.88[b] | 11.0 ± 1.03[b] |

[0082] [1)] 데이터는 평균 ± 평균오차(mean ± SEM)(n=5)로 나타내었다. 동일문자가 아닌 값은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA) 및 던컨의 다중범위검정(Duncans multiple range test)을 사용하여 $p<0.05$ 에서 유의성을 나타내는 것이다. *는 비-대응표본 스튜던트 t- 검정에 의해 UV+군에 비해 $p<0.05$.

[0083] [2)] UV-군은 10주간 UV 조사 없이 일반 식이를 공급받은 무모생쥐 군이고, UV+군은 10주간 UV 조사를 하면서 일반 식이를 공급받은 군이며, GTE 군은 10주간 UV 조사를 하면서 1.0% 녹차 추출물(GTE)을 포함한 식이를 공급받은 무모생쥐 군이다.

[0084] **실험예 6: 자외선 조사 및 녹차 식이 공급에 의한 표피 LDH 발현 및 활성 변화**

[0085] LDH는 피루브산과 젖산 사이의 상호 전환을 촉매하는 효소로써 피부에서는 호기적인 상태에서도 강한 활성을 나타낸다.

[0086] LDH 단백질의 발현 분석을 위하여, 먼저 표피에 0.5% 노니뎃 P-40(nonidet P-40) (TE-NP40 완충용액 추출), 10mM EDTA, 프로테아제 억제제(protease inhibitor), 40 mM Tris-HCL (pH 7.5)가 함유된 Tris-EDTA Buffer (P-8340, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, USA)를 가하고 폴리트론을 이용하여 분쇄하였다. 분쇄한 표피 조직을 12,000g, 4℃에서 15분간 원심분리 후 얻어진 상층액의 일부를 취하여 단백질 정량을 하였다. 준비된 단백질 시료 (20㎍/웰)를 8% SDS/PAGE 겔에 전기영동 후 니트로셀룰로오스 멤브레인(nitrocellulose membrane)에 흡착시켰다. 멤브레인을 1차 항체 [anti-rabbit LDH antibody (sc-33781, Santa Cruz Biotech, Inc. USA)]와 함께 4℃에서 17시간 동안 반응시키고 이어서 2차 항체 [anti rabbit IgG-HRP (Cell Signaling Technology Inc. USA)]와 상온에서 1시간 동안 반응시킨 후 ECL 하이퍼필름(hyperfilm)을 이용하여 발색하였다. 해당 밴드의 강도(intensity)는 영상 농도계(imaging densitometer) (Labwork version 4,6 UVP.CA, USA)를 사용해 정량하였다.

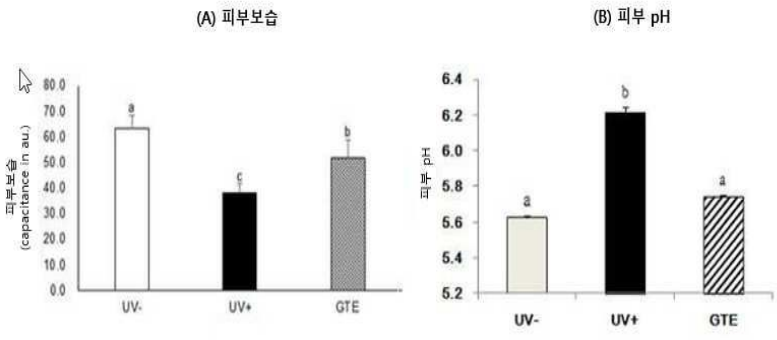
[0087] 또한, 표피 LDH 활성 분석은 LDH 활성 비색 분석 키트(Activity Colorimetric Assay Kit (K726-500)) (BioVision, Milpitas, CA, USA)를 이용하여 측정하였다. 표피에 LDH 분석 완충용액를 가하고 폴리트론을 이용해 분쇄한 후 12,000 g, 4℃에서 15분간 원심분리하여 상층액을 취하였다. 96 웰 플레이트에 젖산과 NAD를 함유한 완충용액 및 표피 시료를 1㎕/웰씩 분주하고 30분간 상온에서 방치한 후, 생성되는 NADH의 양을 엘라이자 판독기(Elisa Reader)의 450nm에서 측정하여 간접적으로 LDH 활성을 파악하였다. 표피 시료의 단백질 정량과 함께 LDH 활성을 mU/mg 단백질로 나타내었다.

[0088] 그 결과, UV+군의 LDH 단백질 발현은 정상대조군인 UV-군에 비해 유의적으로 감소하였으나, GTE군에서는 UV+군보다 증가하였다(도 2A, 2B). 이는 자외선 조사에 의해 LDH 단백질 발현이 감소하는 반면 자외선 조사와 병행된 녹차 추출물의 식이 공급은 LDH 단백질 발현을 증가시킴을 의미한다.

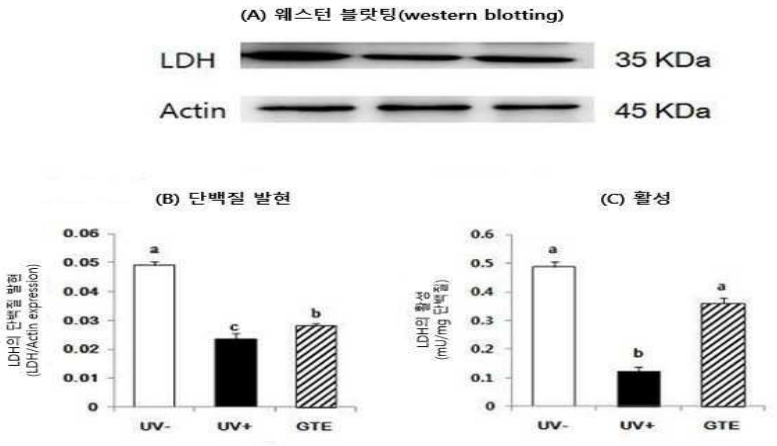
[0089] LDH의 활성 또한 UV+군에서 감소한 반면 GTE군에서는 UV-군과 유사한 수준으로 증가하였다(도 2C). 이는 10주간 자외선 조사가 LDH 단백질 발현과 활성을 감소시키는 반면 자외선 조사와 병행된 녹차 추출물 공급은 LDH의 단백질 발현 및 활성을 증가시켜 궁극적으로 젖산 함량을 증가시킴을 의미한다.

## 도면

### 도면1


(A) 피부보습
피부보습 (capacitance in au.)
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
a
c
b
UV-
UV+
GTE
(B) 피부 pH
피부 pH
6.4
6.2
6.0
5.8
5.6
5.4
5.2
b
a
a
UV-
UV+
GTE

### 도면2


(A) 웨스턴 블랏팅(western blotting)
LDH
35 KDa
Actin
45 KDa
(B) 단백질 발현
LDH의 단백질 발현 (LDH/Actin expression)
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
a
c
b
UV-
UV+
GTE
(C) 활성
LDH의 활성 (mU/mg 단백질)
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
a
b
a
UV-
UV+
GTE