(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0080181
(43) 공개일자 2021년06월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/9789 (2017.01) *A23L 33/105* (2016.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 8/9789 (2017.08)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2020-0138344
(22) 출원일자 2020년10월23일
심사청구일자 2020년10월23일
(30) 우선권주장
1020190172128 2019년12월20일 대한민국(KR)

(71) 출원인
대구한의대학교산학협력단
경상북도 경산시 어봉지길 285-10, 대구한의대학교 내(여천동)
(72) 발명자
이경하
대구광역시 수성구 노변로 55, 106동 1106호(노변동, 수성 월드메르디앙)
김완일
대구광역시 수성구 달구벌대로647길 16, 104동 703호(신매동, 시지태왕하이츠)
(74) 대리인
위병갑

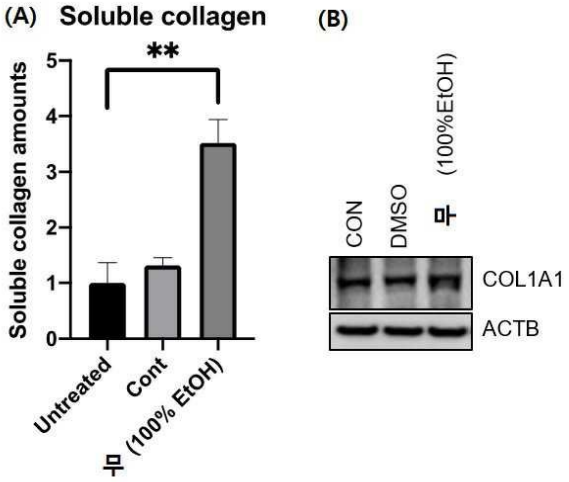
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **무 추출물을 포함하는 피부 주름 및 탄력 개선용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 추출물을 포함하는 피부 주름 및 탄력 개선용 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 무 추출물은 피부섬유아세포에서 콜라겐 생성을 촉진하는 효능이 우수하여, 피부 주름 및 탄력 개선에 유용한 효과가 있다.

대 표 도 - 도4



(52) CPC특허분류
A61Q 19/08 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/318 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2019060010
과제번호	2019DG060010104
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	LINC+ 산학공동기술개발과제
연구과제명	무, 금화규 유래 복합 추출물의 분자세포생물학적 효능분석
기 여 율	1/1
과제수행기관명	대구한의대학교 산학협력단
연구기간	2019.07.01 ~ 2019.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 추출물을 포함하는 피부 주름 개선용 화장료 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

금화규(*Hibiseu Smanihot L.*) 뿌리 추출물을 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 피부 주름 개선용 화장료 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 글리세린, 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 n-부탄올 중 1종 이상의 추출용매를 이용하여 수득된 것을 특징으로 하는, 피부 주름 개선용 화장료 조성물.

청구항 4

무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 추출물을 포함하는 피부 탄력 개선용 화장료 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

금화규(*Hibiseu Smanihot L.*) 뿌리 추출물을 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 피부 탄력 개선용 화장료 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 글리세린, 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 n-부탄올 중 1종 이상의 추출용매를 이용하여 수득된 것을 특징으로 하는, 피부 탄력 개선용 화장료 조성물.

청구항 7

무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 추출물을 포함하는 피부 주름 개선용 건강식품 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

금화규(*Hibiseu Smanihot L.*) 뿌리 추출물을 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 피부 주름 개선용 건강식품 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 글리세린, 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 n-부탄올 중 1종 이상의 추출용매를 이용하여 수득된 것을 특징으로 하는, 피부 주름 개선용 건강식품 조성물.

청구항 10

무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 추출물을 포함하는 피부 탄력 개선용 건강식품 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서,

금화규(*Hibiseu Smanihot L.*) 뿌리 추출물을 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 피부 탄력 개선용 건강식품 조성물.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 글리세린, 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 n-부탄올 중 1종 이상의 추출용매를 이용하여 수득된 것을 특징으로 하는, 피부 탄력 개선용 건강식품 조성물.

청구항 13

무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 추출물을 포함하는 피부 주름 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서,

금화규(*Hibiseu Smanihot L.*) 뿌리 추출물을 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 피부 주름 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 15

제13항에 있어서,

상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 글리세린, 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 n-부탄올 중 1종 이상의 추출용매를 이용하여 수득된 것을 특징으로 하는, 피부 주름 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 16

무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 추출물을 포함하는 피부 탄력 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서,

금화규(*Hibiseu Smanihot L.*) 뿌리 추출물을 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 피부 탄력 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 18

제16항에 있어서,

상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 글리세린, 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 n-부탄올 중 1종 이상의 추출용매를 이용하여 수득된 것을 특징으로 하는, 피부 탄력 개선용 건강기능식품 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 무 추출물을 포함하는 피부 주름 및 탄력 개선용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 화장품은 우리 일상 생활과 깊이 관련되어 있으며 많은 사람들이 사용하고 있다. 인류의 문명이 발달하기 전 화장의 목적은 자연으로부터 신체를 보호하는 것이었으나, 과학과 문명의 발달과 더불어 화장의 목적은 신체를 청결하게 하고 아름답게 하며, 또한 노화를 지연시켜 아름답고 쾌적한 생활을 하게 하는 것으로 바뀌었다. 화장품의 기능은 청결과 미적 기능뿐만 아니라, 공해 물질과 스트레스, 자외선 등의 외적인 요인과 면역세포의 기능저하, 세포 활성의 저하 등의 내적 요인에 기인한 자유 라디칼(Free Radical), 활성산소, 과산화물 등에 의한 단백질, 핵산, 세포막 지질 파괴 등의 피부 노화의 원인을 제거하거나 억제하는 것이다. 또한, 소비자의 고기능 화장품에 대한 욕구를 충족시키기 위한 미백, 피부주름 개선 및 억제, 그리고 자외선 차단 기능을 갖는 화장품들이 계속해서 개발되고 있다. 그 중에서도 특히 주름 개선 및 억제 제품은 보다 젊음을 유지하려는 소비자의 많은 관심을 받는 대상이다.

[0005] 원래 노화 현상에 의한 주름은 피부 진피층의 콜라겐과 탄력 섬유의 소실로 인해 피부 표면에 생기는 골이라고 정의할 수 있다. 피부 주름은 진피층에 존재하는 콜라겐 교원섬유에 의해 결정되는데, 콜라겐 분자는 섬유 아세포에서 생성되어 진피층으로 분비된 후, 자동회합에 의해 콜라겐 섬유로 형성된다(Implant dentistry. 2002. 11(3):280-285). 콜라겐 섬유는 피부 진피층에서 피부의 기계적 견고성, 조직의 결합력, 세포와의 부착 및 세포분화 등에 관여한다 (Journal of the American Academy of Dermatology, 2001, 17(4):610-613). 이러한 콜라겐이 내적 요인 및 외적 요인에 의해 생성이 감소하거나 변형이 지속적으로 축적되게 되면 주름생성의 원인이 된

다 (Clinics in geriatric medicine, 2001, 17(4):617-630).

[0007] 콜라겐은 연령이 증가할수록, 그리고 자외선에 노출이 많이 될수록 양적 감소를 보인다. 콜라겐은 형태와 구조적 특징에 따라서 분류되는데 이들 중에서, 가장 특징이 잘 알려진 것은 타입 I, II, III 그리고 IV이다. 콜라겐 타입 I과 III는 진피층의 세포간질의 구성성분을 이루고 콜라겐 타입 IV는 DEJ (Dermal Epidermal Junction)의 주요 구성물질이 된다. DEJ는 피부의 표피층과 진피층 사이에 위치하여 두 층간의 물질 투과와 수송을 조절해주며 인접한 피부세포의 분화를 조절하며 피부의 견고성을 유지시켜준다. 피부의 주요 구조적 성분인 콜라겐과 엘라스틴은 자연적 또는 외부 자극에 의해 구조가 변성되거나 생합성량이 감소하게 되는데 이로 인해 피부 노화가 가속화된다. 또한 콜라게네이즈의 발현량과 활성 역시 피부 노화를 가속화시키는 주요 요인이다.

[0009] 콜라겐 합성 촉진물질로 기존에 레티노인산(retinoic acid), 표피성장인자(Epidermal growth factor: EGF), TGF(trans forming growth factor, 형질전환성장인자; Cardinale G. et al., Adv. Enzymol., 41, p. 425, 1974), 동물 태반 유래의 단백질(JP8-231370), 베툴린산(betulinic acid(JP8-208424)), 클로렐라 추출물 등이 알려져 있다. 특히 표피성장인자는 상피세포, 내피세포 및 섬유아세포 세포증식의 강력한 촉진제로 작용하며, 상피세포 결손 시 상피세포의 이동과 증식을 촉진시키기 때문에 상처치유 효과가 우수하다. 또한 레티놀은 콜라겐 합성과 분해억제에 매우 효과적으로 피부주름 개선 효과는 미국 특허 제4,603,146호 및 제4,877,805호 등에 명시되어 있다. 그러나 레티노인산의 경우 불안정하고, 피부 적용 시 자극, 발적 등의 안전성 문제로 사용량의 제한이 있으며, 클로렐라 추출물 등은 효과가 미미하여 실질적으로 피부의 콜라겐 합성을 촉진하여 피부 기능 개선 효과를 기대할 수 없다. 따라서, 생체에 안전하고 기존의 콜라겐 합성능 촉진 물질보다 효과가 높은 새로운 콜라겐 합성 촉진제의 개발이 절실히 요망되고 있다.

[0011] 한편, 나복자는 십자화과에 속한 식물로 무(Raphanus sativus L)의 여문 종자이다. 말린 종자는 타원형이거나 둥근 난형과 비슷한데 조금 편평하며 길이는 약 3㎜, 너비는 25㎜이다. 표면은 적갈색이며 한쪽에 세로 홈이 몇 개 있고 한쪽 끝에 밑씨가 있다. 밑씨는 갈색이고 둥근 점 모양으로 도드라져 있다. 확대경으로 관찰하면 씨 전체에 그물무늬가 촘촘히 있다. 질은 단단하고 쪼개면 황백색 혹은 누런 알맹이가 보이고 알맹이에 정유가 있다. 여름과 가을에 종자가 여물면 포기를 베어 햇볕에 말렸다가 손으로 비벼 씨를 빼내어, 잡물을 제거한 후 햇볕에 말린 후 한약재로 사용한다 (중약대사전, 김창민 외, pp715, 1997) 나복자에는 항균물질이 들어 있어 포도상구균과 대장균에 대하여 뚜렷한 억제 작용을 하고 동심성, 백선균 등의 피부 진균에 대한 항진균작용 등의 약리작용을 가지고 있다. 그리고 기가 치밀어 오르는 증세를 치료하고 호흡을 가라앉히며 소화를 돕고 가래를 삭히는 효능이 있으며 해수로 인한 기관지 천식, 식적기체(食積氣滯), 가슴이 답답하고 더부룩한 증상, 이질에 의한 이급후중을 치료하는데 나복자가 처방된다(중약대사전, 김창민 외, pp716-718, 1997) 근래에 들어, 나복자 추출물 또는 일부 구성 성분이 강력한 항돌연변이 활성, 항균, 항고혈압 및 항염작용을 나타내는 것으로 보고된 바 있다.

[0013] 그러나, 현재까지 무(나복자)의 콜라겐 생성 증대 효능에 관해 연구된 바는 없다.

선행기술문헌

특허문헌

[0015] (특허문헌 0001) 공개특허공보 제10-2012-0033552호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0016] 본 발명의 목적은 피부 주름 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[0017] 본 발명의 목적은 피부 탄력 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[0018] 본 발명의 목적은 피부 주름 개선용 건강식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0019] 본 발명의 목적은 피부 탄력 개선용 건강식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0020] 본 발명의 목적은 피부 주름 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0021] 본 발명의 목적은 피부 탄력 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0023] 상기 목적을 달성하기 위하여,

[0024] 본 발명은 무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 추출물을 포함하는 피부 주름 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0025] 본 발명은 무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 추출물을 포함하는 피부 탄력 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0026] 본 발명은 무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 추출물을 포함하는 피부 주름 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0027] 본 발명은 무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 추출물을 포함하는 피부 탄력 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.

[0028] 본 발명은 무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 추출물을 포함하는 피부 주름 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0029] 본 발명은 무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 추출물을 포함하는 피부 탄력 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0031] 본 발명에 따른 조성물에 있어서, 상기 무 추출물은 추출용매로 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 글리세린, 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트, n-부탄올 등을 단독으로 또는 2종 이상 혼합하여 사용할 수 있다. 바람직하게는, 추출용매로 에탄올을 100%농도로 사용하거나 다양한 농도의 에탄올 수용액으로 희석하여 사용할 수 있다.

발명의 효과

[0033] 본 발명에 따른 무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 추출물은 피부섬유아세포에서 콜라겐 생성을 촉진하는 효능이 우수하여, 피부 주름 및 탄력 개선에 유용한 효과가 있고, 무 추출물과 금화규(*Hibiseu Smanihot L.*) 뿌리 추출물을 혼합하여 사용할 경우 피부 주름 및 탄력 개선에 상승효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 무 추출물의 추출부위, 추출용매 및 처리농도에 따른 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에서의 세포독성을 평가한 결과이다.

도 2는 무 추출물 처리에 따른 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에서의 콜라겐 생성 관련 유전자 발현량을 real-time PCR을 통해 정량평가한 결과이다(****p<0.0001, ***p<0.0005, **p<0.005, *p<0.05).

도 3은 무 추출물 처리에 따른 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에서의 콜라겐 분해 단백질(MMP1, MMP6) 발현량을 real-time PCR을 통해 정량평가한 결과이다(****p<0.0001, ***p<0.0005, **p<0.005, *p<0.05).

도 4 (A)는 무 추출물 처리에 따른 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에서의 콜라겐 생성량을 평가한 결과이다 (*p<0.05).

도 4 (B)는 무 추출물 처리에 따른 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에서 COL1A1 유전자의 발현량을 western blotting 기법으로 확인한 결과이다.

도 5는 금화규 뿌리 및 무 혼합 추출물 처리에 따른 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에서 COL1A1 유전자의 발현량을 western blotting 기법으로 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0038] **화장료 조성물**

[0039] 본 발명은 유효물질을 포함하는 화장료 조성물을 제공한다.

[0040] 상기 화장료 조성물은, 예를 들면 용액, 겔, 고체 또는 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀젼, 현탁액, 마이크로에멀젼, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는 이온형(리포좀), 비이온형의 소낭 분산제의 형태, 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실 스틱의 형태로 제공될 수 있다. 또한, 포말(foam)의 형태 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로도 제조될 수 있다.

[0041] 또한, 상기 화장료 조성물은 본 발명의 유효물질에 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 소낭 또는 화장품에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 화장품 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다.

[0042] 본 발명의 유효물질을 함유하는 화장료 조성물에 있어서, 통상적으로 함유되는 화장료 조성물에 본 발명의 유효물질이 0.1 내지 50 중량%, 바람직하게는 1 내지 10 중량%의 양으로 첨가될 수 있다.

[0043] 본 발명의 유효물질을 피부 외용제로 사용하는 경우, 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 소낭 또는 피부용 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한, 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.

[0045] **건강식품 및 건강기능성식품 조성물**

[0046] 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 본 발명의 유효물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 드링크제, 육류, 소시지, 빵, 비스킷, 떡, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 알코올 음료 및 비타민 복합제, 유제품 및 유가공 제품 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품 및 건강기능성식품을 모두 포함한다.

[0047] 본 발명에 따른 유효물질을 함유하는 건강식품 및 건강기능성식품 조성물은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효물질의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강식품 및 건강기능성식품 중의 상기 조성물의 양은 전체 식품 중량의 0.1 내지 90 중량부로 가할 수 있다. 그러나 건강 유지를 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.

[0048] 본 발명의 건강식품 및 건강기능성식품 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 본 발명 유효물질을 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 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같

은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트라이톨 등의 당알코올이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 건강기능성 식품 조성물 100 당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

[0049] 상기 외에 본 발명의 유효물질을 함유하는 건강식품 및 건강기능성식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(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 건강식품 및 건강기능성식품 조성물은 천연 과일쥬스 및 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0050] 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 유효물질을 함유하는 건강식품 및 건강기능성식품 조성물 100 중량부 당 0.1 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0052] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0054] **<실시예 1> 무(*Raphanus sativus* var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO) 추출물의 준비**

[0055] 국내에서 재배한 무 뿌리를 건조한 후 100%, 70%, 50%, 30% 에탄올을 추출용매로 하여 추출하였다. 상기에서 얻은 추출물은 동결건조한 다음 DMSO 용매에 녹여 다양한 농도(0.01, 0.1, 1, 10, 100 ㎍/mL)의 시료로 준비하여 다음의 실험에 사용하였다.

[0057] **<실험예 1> 무(*Raphanus sativus* var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO) 추출물의 세포독성 평가**

[0058] 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에 상기 실시예 1에서 준비한 시료를 농도별로 24시간 처리 후 CCK-8 assy를 통해 추출물의 피부세포에서의 독성을 평가하였고, 그 결과를 도 1에 나타내었다. 여기서, 대조군(Cont)은 시료를 처리하지 않았다.

[0060] 도 1은 무 추출물의 추출용매 및 처리농도에 따른 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에서의 세포독성을 평가한 결과이다.

[0062] 도 1에 나타난 바와 같이, 모든 시료에서 세포독성이 나타나지 않아, 무 추출물은 피부에 안전한 것으로 확인하였다.

[0064] **<실험예 2> 무 추출물이 콜라겐 유전자 발현에 미치는 영향 평가**

[0065] 무 추출물 처리에 따른 피부 콜라겐에서 가장 많은 부분을 차지하고 이는 COL1A1(Collagen, type I, alpha 1) 유전자와 그 외에 COL5A1(Collagen, type V, alpha 1) 유전자, COL6A1(Collagen, type VI, alpha 1) 유전자, 그리고 COL16A1(Collagen, type XVI, alpha 1) 유전자 발현량 증대 효과를 알아보기 위하여 실험을 하였다.

[0066] 구체적으로, 상기 실시예 1에서 준비한 무 추출물 시료 10 ㎍/mL을 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에 처리한 24시간 후 콜라겐 유전자들의 발현에 미치는 영향을 real-time PCR을 통해 확인하였고, 그 결과를 도 2에 나타내었다. 여기서, 대조군(Cont)은 시료를 처리하지 않았다.

[0068] 도 2는 무 추출물 처리에 따른 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에서의 콜라겐 생성 관련 유전자 발현량을 real-time PCR을 통해 정량평가한 결과이다(****p<0.0001, ***p<0.0005, **p<0.005, *p<0.05).

[0070] 도 2 (A)에 나타난 바와 같이, 30%, 100% EtOH 용매로 추출된 무 추출물은 COL1A1 유전자의 발현을 대조군 대비 2배 이상 증가시킴을 확인하였다.

[0071] 도 2 (B)에 나타난 바와 같이, 30%, 100% EtOH 용매로 추출된 무 추출물은 COL5A1 유전자의 발현을 대조군 대비 약 1.5배 이상 증가시킴을 확인하였다.

[0072] 도 2 (C)에 나타난 바와 같이, 70% EtOH 용매로 추출된 무 추출물은 COL6A1 유전자의 발현을 대조군 대비 약 1.5배 이상 증가시킴을 확인하였다.

[0073] 도 2 (D)에 나타난 바와 같이, 30%, 100% EtOH 용매로 추출된 무 추출물은 COL16A1 유전자의 발현을 대조군 대비 약 1.5배이상 증가시킴을 확인하였다.

[0075] 상기 도 2의 결과를 종합하여 보면, 30% 및 100% EtOH로 추출된 무 추출물은 피부 콜라겐에서 가장 많은 비중을 차지하는 COL1A1 뿐만 아니라 COL5A1, COL6A1, COL16A1의 유전자 발현을 증가시켜 콜라겐 합성을 증가시킬 가능성이 높음을 알 수 있었다.

[0077] **<실험예 3> 무 추출물의 MMP 단백질 발현에 미치는 영향 평가**

[0078] MMP(matrix metalloproteinase) 단백질은 콜라겐을 분해하는 단백질로서 무 추출물이 MMP 유전자 발현량 감소에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험을 하였다.

[0079] 구체적으로, 상기 실시예 1에서 준비한 무 추출물 시료 10 ㎍/mL을 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에 처리한 24시간 후 MMP1, MMP14 유전자들의 발현에 미치는 영향을 real-time PCR을 통해 확인하였고, 그 결과를 도 3에 나타내었다. 여기서, 대조군(Cont)은 시료를 처리하지 않았다.

[0081] 도 3은 무 추출물 처리에 따른 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에서의 콜라겐 분해 단백질(MMP1, MMP14) 발현량을 real-time PCR을 통해 정량평가한 결과이다(****p<0.0001, ***p<0.0005, **p<0.005, *p<0.05).

[0083] 도 3 (A)에 나타난 바와 같이, 30%, 100% EtOH 용매로 추출된 무 추출물은 MMP1 유전자의 발현을 유의미 있게 감소시키는 것으로 나타났으나, 50%, 70% EtOH 용매로 추출된 무 추출물의 경우는 반대로 MMP1 유전자의 발현을 증가시키는 것으로 나타났다.

[0084] 도 3 (B)에 나타난 바와 같이, 모든 실험군에서 MMP14 유전자의 발현에 통계적으로 유의미한 차이를 확인할 수 없었다.

[0086] 상기 도 3의 결과를 종합하여 보면, 30%, 100% 용매로 추출된 무 추출물은 콜라겐 유전자 COL1A1 발현을 증가시키는 동시에 MMP1 유전자의 발현을 억제시키는 것으로 확인됨. 50%, 70% EtOH로 추출된 무 추출물의 경우 콜라겐 유전자의 발현을 크게 증가시키지 못하는 동시에 MMP1 유전자의 발현은 증가시키기에 화장품 원료로서는 30%, 100% EtOH로 추출된 무 추출물이 적합한 것을 확인하였다.

[0088] **<실험예 4> 무 추출물의 콜라겐 합성 증가량 평가**

[0089] 무 추출물이 인간 피부섬유아세포에서 실제로 콜라겐의 생성량 증가시키는지 알아보기 위하여 실험을 하였다.

[0090] 구체적으로, 상기 실시예 1에서 준비한 무 추출물 시료 10 ㎍/mL을 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에 처리한 48시간 후 soluble 콜라겐의 양을 Sirius red 염색법을 이용하여 측정하였고, 그 결과를 도 4 (A)에 나타내었다. 또한, 상기 실시예 1에서 준비한 물 추출물 시료 10 ㎍/mL을 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에 처리한 48시간 후 COL1A1 유전자의 발현량을 western blotting 기법으로 확인한 결과를 도 4 (B)에 나타내었다.

[0092] 도 4 (A)는 무 추출물 처리에 따른 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에서의 콜라겐 생성량을 평가한 결과이다 (**p<0.005).

[0093] 도 4 (B)는 무 추출물 처리에 따른 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에서 COL1A1 유전자의 발현량을 western blotting 기법으로 확인한 결과이다.

[0095] 도 4 (A)에 나타난 바와 같이, 100% EtOH로 추출된 무 추출물의 경우 대조군에 비해 약 3.5배 이상 soluble 콜라겐의 양을 증가시킴을 확인하였다.

[0096] 도 4 (B)에 나타난 바와 같이, 100% EtOH로 추출된 무 추출물의 경우 대조군에 비해 COL1A1 유전자 발현량이 증가하는 것을 확인하였다.

[0098] 도 4의 결과를 종합해 보면, 100% EtOH로 추출된 무 추출물은 COL1A1 유전자의 발현을 증가시킴과 동시에 전체적인 soluble 콜라겐 합성을 증가시킴을 확인할 수 있었다.

[0100] **<실험예 5> 금화규 뿌리 및 무 혼합 추출물의 콜라겐 합성 상승효과 평가**

[0101] 국내산 유기농 무(*Raphanus sativus var. hortensis for. Acanthiformis MAKINO*) 및 금화규(*Hibiseu Smanihot L.*) 뿌리를 건조 후 각각 100% 에탄올 (EtOH) 용매로 추출한 다음, 동결건조된 각각의 추출물을 DMSO 용매에 녹인 후 도 5에 명시된 중량 비율로 혼합 추출물 시료를 준비하였다.

[0102] 이렇게 준비된 혼합 추출물 용액을 인간 피부섬유아세포 Hs68 세포에 10ug/ml 농도로 24시간 처리 후 COL1A1 유전자 발현 양상을 확인하였고, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0104] 도 5는 금화규 뿌리 및 무 혼합 추출물 처리에 따른 인간 피부섬유아세포(Hs68 cell)에서 COL1A1 유전자의 발현량을 western blotting 기법으로 확인한 결과이다.

[0106] 도 5에 나타난 바와 같이, 무 추출물 및 금화규 뿌리 추출물을 80:20 중량비로 혼합한 시료에서만 선택적으로 유의미한 상승효과가 관찰되었고, 다른 비율로 혼합한 시료에서는 상승효과가 관찰되지 않았다.

[0107] 한편, 특이하게도 금화규의 뿌리 이외의 다른 부위 추출물과 무 추출물의 혼합 추출물에서는 이러한 상승효과가 관찰되지 않았는데, 이는 금화규 뿌리 부위의 특정 성분과 무의 특정 성분이 상승효과를 내는 것으로 예상된다.

[0109] **화장료의 제조예**

[0110] 본 발명에 따른 유효물질은 목적에 따라 여러 형태의 화장료로 제조 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 유효물질을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 화장료의 제조방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0112] **<화장료 제조예 1> 유연 화장수의 제조**

[0113] 유효물질 10.0 중량부

[0114] 1,3-부틸렌글리콜 1.00 중량부

[0115] 디소듐이디티에이 0.05 중량부

[0116] 알란토인 0.10 중량부

[0117] 디포타슘글리시리제이트 0.05 중량부

[0118] 시트르산 0.01 중량부

[0119] 소듐시트레이트 0.02 중량부

[0120] 글리세레스-26 1.00 중량부

[0121] 알부틴 2.00 중량부

[0122] 하이드로제네이티드캐스터오일 1.00 중량부

[0123] 에탄올 30.0 중량부

[0124] 보존제 미량

[0125] 착색제 미량

[0126] 착향제 미량

[0127] 정제수 잔량

[0129] **<화장료 제조예 2> 영양 크림의 제조**

[0130] 유효물질 10.0 중량부

[0131] 1,3-부틸렌글리콜 7.00 중량부

[0132] 글리세린 1.00 중량부

[0133] D-판테놀 0.10 중량부

[0134] 식물 추출물 3.20 중량부

[0135] 마그네슘알루미늄실리케이트 0.30 중량부

[0136] PEG-40 스테아레이트 1.20 중량부

[0137] 스테아르산 2.00 중량부

[0138] 폴리소르베이트 60 1.50 중량부

[0139] 친유형글리세릴스테아레이트 2.00 중량부

[0140] 소르비탄세스퀴올리에이트 1.50 중량부

[0141] 세테아릴알코올 3.00 중량부

[0142] 미네랄오일 4.00 중량부

[0143] 스쿠알란 3.80 중량부

[0144] 카르릴릭/카프릭트리글리세라이드 2.80 중량부

[0145] 식물성오일 1.80 중량부

[0146] 디메치콘 0.40 중량부

[0147] 디포슘글리시리제이트 미량

[0148] 알란토인 미량

[0149] 소듐 히아루로네이트 미량

[0150] 토코페릴아세테이트 적량

[0151] 트리에탄올아민 적량

[0152] 보존제 적량

[0153] 착향제 적량

[0154] 정제수 잔량

[0156] **건강식품의 제조예**

[0157] 본 발명에 따른 유효물질은 목적에 따라 여러 형태의 건강식품으로 제조 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 유효물질을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 건강식품의 제조방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0159] **<건강식품 제조예 1> 유제품(dairy products)의 제조**

[0160] 본 발명의 유효물질 0.01-1 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0162] **<건강식품 제조예 2> 선식의 제조**

[0163] 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다. 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 쪄서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다. 본 발명의 유효물질을 진공 농축기에서 감압농축하고 건조분말을 얻었다. 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 유효물질의 건조분말을 다음의 비율로 배합하여 제조하였다.

[0164] 곡물류(현미 34 중량부, 율무 19 중량부, 보리 20 중량부),

[0165] 종실류(들깨 7 중량부, 검정콩 8 중량부, 검정깨 7 중량부),

[0166] 유효물질 (2 중량부),

[0167] 영지(1.5 중량부), 및

[0168] 지황(1.5 중량부).

[0170] **건강기능식품의 제조예**

[0171] 본 발명에 따른 유효물질은 목적에 따라 여러 형태의 건강기능식품으로 제조 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 유효물질을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 건강기능식품의 제조방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0173] **<건강기능식품 제조예 1> 건강기능식품의 제조**

[0174] 유효물질 100 mg

[0175] 비타민 혼합물 적량

[0176] 비타민 A 아세테이트 70 μg

[0177] 비타민 E 1.0 mg

[0178] 비타민 B1 0.13 mg

[0179] 비타민 B2 0.15 mg

[0180] 비타민 B6 0.5 mg

[0181] 비타민 B12 0.2 μg

[0182] 비타민 C 10 mg

[0183] 비오틴 10 μg

[0184] 니코틴산아미드 1.7 mg

[0185] 엽산 50 μg

[0186] 판토텐산 칼슘 0.5 mg

[0187] 무기질 혼합물 적량

[0188] 황산제1철 1.75 mg

[0189] 산화아연 0.82 mg

[0190] 탄산마그네슘 25.3 mg

[0191] 제1인산칼륨 15 mg

[0192] 제2인산칼슘 55 mg

[0193] 구연산칼륨 90 mg

[0194] 탄산칼슘 100 mg

[0195] 염화마그네슘 24.8 mg

[0196] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강기능성 식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능성 식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강기능성 식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0198] **<건강기능식품 제조예 2> 건강 기능 음료의 제조**

[0199] 유효물질 100 mg

[0200] 구연산 100 mg

[0201] 올리고당 100 mg

[0202] 매실농축액 2 mg

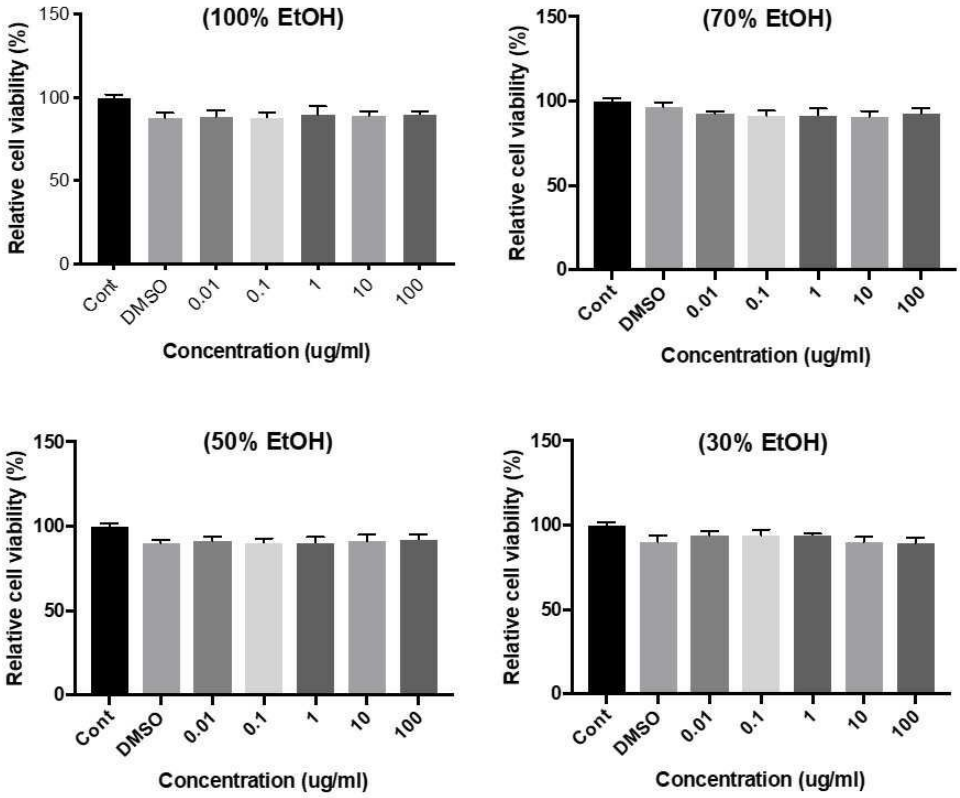
[0203] 타우린 100 mg

[0204] 정제수를 가하여 전체 500 mL

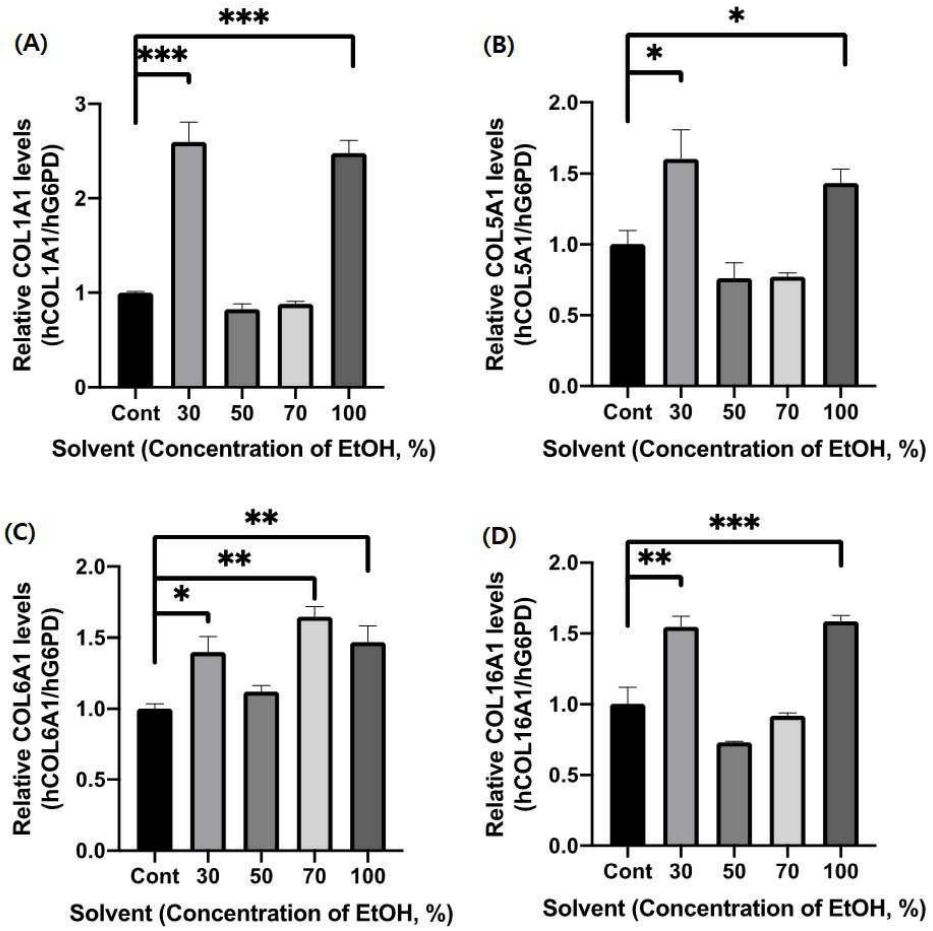
[0205] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 1 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다. 상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

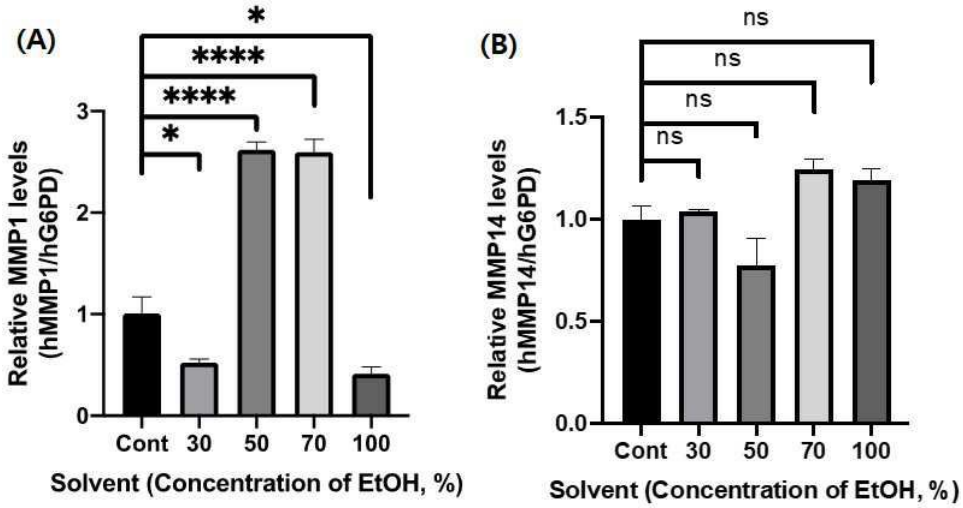
도면1


(100% EtOH)
(70% EtOH)
(50% EtOH)
(30% EtOH)
Relative cell viability (%)
150
100
50
0
Cont
DMSO
0.01
0.1
1
10
100
Concentration (ug/ml)

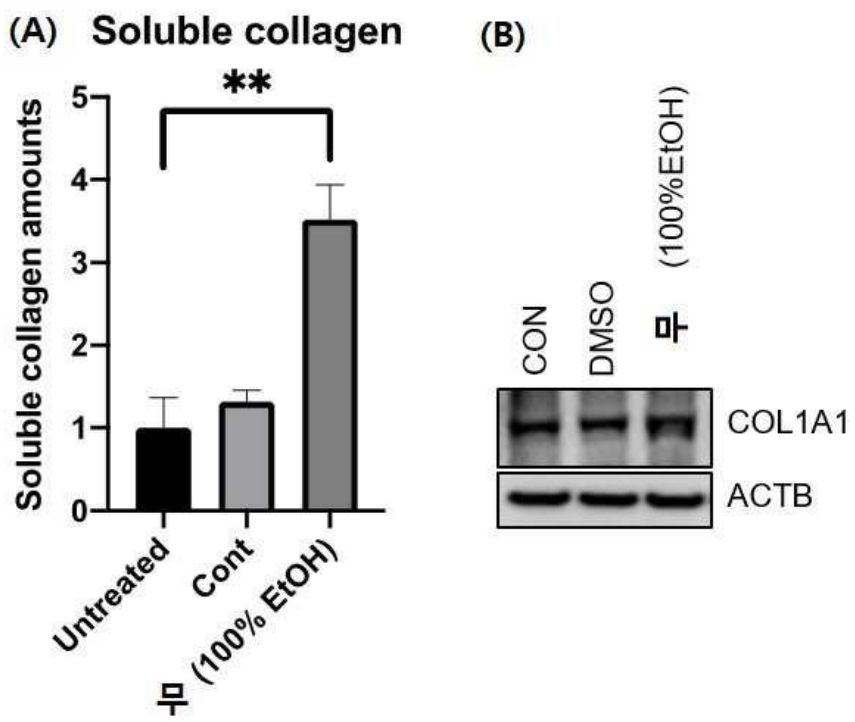
도면2


(A)
***
***
Relative COL1A1 levels (hCOL1A1/hG6PD)
Cont 30 50 70 100
Solvent (Concentration of EtOH, %)
(B)
*
*
Relative COL5A1 levels (hCOL5A1/hG6PD)
Cont 30 50 70 100
Solvent (Concentration of EtOH, %)
(C)
**
**
*
Relative COL6A1 levels (hCOL6A1/hG6PD)
Cont 30 50 70 100
Solvent (Concentration of EtOH, %)
(D)
***
**
Relative COL16A1 levels (hCOL16A1/hG6PD)
Cont 30 50 70 100
Solvent (Concentration of EtOH, %)

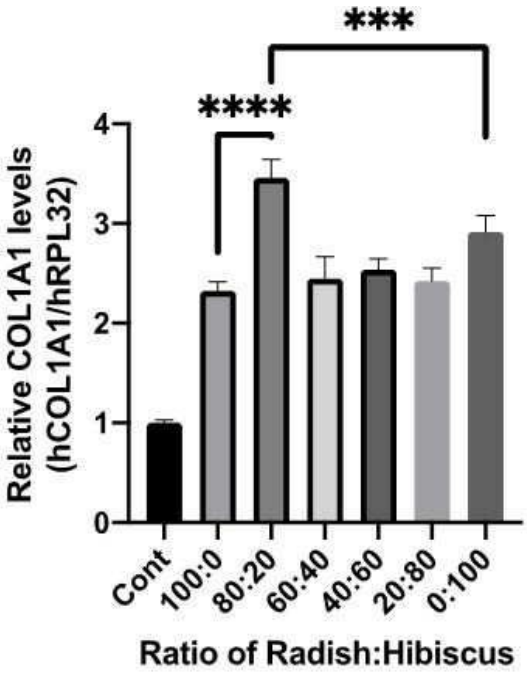
도면3


(A)
*
****
****
*
Relative MMP1 levels (hMMP1/hG6PD)
Cont 30 50 70 100
Solvent (Concentration of EtOH, %)
(B)
ns
ns
ns
ns
Relative MMP14 levels (hMMP14/hG6PD)
Cont 30 50 70 100
Solvent (Concentration of EtOH, %)

도면4


(A) Soluble collagen
**
Soluble collagen amounts
0
1
2
3
4
5
Untreated
Cont
무 (100% EtOH)
(B)
CON
DMSO
마 (100%EtOH)
COL1A1
ACTB

도면5


***
****
Relative COL1A1 levels
(hCOL1A1/hRPL32)
0
1
2
3
4
Cont
100:0
80:20
60:40
40:60
20:80
0:100
Ratio of Radish:Hibiscus