

RS-
2021-
IP821030

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(O)
기술사업화지원사업 2023년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-004695-01

울무미강
발효추출
물로부터
기능성
향장소재
개발

최
종
보
고
서

2023

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

울무미강 발효추출물로부터 기능성 향장소재개발

2024.07.09

주관연구기관 / 경기도경제과학진흥원
공동연구기관 / (주)에스아이바이오
공동연구기관 / 부경대학교 산학협력단

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “울무미강 발효추출물로부터 기능성 향장소재개발”(개발기간 : 2021.04.01 ~ 2023.12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2024.07.09.

주관연구기관명 : 경기도경제과학진흥원 강성천
공동연구기관명 : 쥐에스아이바이오 최종환
공동연구기관명 : 부경대학교 산학협력단 오정환

주관연구책임자 : 최춘환
공동연구책임자 : 박도영
공동연구책임자 : 이봉기



국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

최종보고서							보안등급					
							일반[✓], 보안[]					
중앙행정기관명	농림축산식품부			사업명	사업명		기술사업화지원사업					
전문기관명 (해당 시 작성)	농림식품기술기획평가원				내역사업명 (해당 시 작성)		[공공기술 사업화 촉진] 지원분야 융복합					
공고번호	농축2021-41호			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)								
				연구개발과제번호		821030-03						
기술분류	국가과학기술 표준분류	1순위 LB0404	50%	2순위 LB1703	30%	3순위 LB0107	20%					
	농림식품과학기술분류	1순위 CA0105	50%	2순위 c403036	30%	3순위 a105005	20%					
총괄연구개발명 (해당 시 기재)		국문										
		영문										
연구개발과제명		국문		올무미강 발효추출물로부터 기능성 향장소재개발								
		영문		Development of functional cosmetic material using fermented extract of adlay bran								
주관연구개발기관		기관명	경기도경제과학진흥원		사업자등록번호		124-82-08755					
		주소	(16229)경기도 수원시 영통구 광고로 107		법인등록번호		154311-0004420					
연구책임자		성명		최춘환		직위		책임연구원				
		연락처	직장전화	031-888-6131		휴대전화		010-4543-0531				
			전자우편	choi78@gmail.com		국가연구자번호		10897107				
연구개발기간		전체		2021. 04. 01. ~ 2023. 12. 31.(2년 9개월)								
		단계	1단계[1년차]		2021. 04. 01. ~ 2021. 12. 31.(0년 9개월)							
			1단계[2년차]		2022. 01. 01. ~ 2022. 12. 31.(1년 0개월)							
			2단계[1년차]		2023. 01. 01. ~ 2023. 12. 31.(1년 0개월)							
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원	기관부담		그 외 기관 등의 지원금			합계		연구개발비 외		
		연구개발비	연구개발비		지방자치단체		기타()		지원금			
		현금	현금	현물	현금	현물	현금	현물	현금	현물	합계	
총계		732,000	11,650	124,850					743,650	124,850	868,500	
1단계	1년차	200,000	5,000	45,000					205,000	45,000	250,000	
	2년차	266,000	-	20,000					266,000	20,000	286,000	
2단계	1년차	266,000	6,650	59,850					272,650	59,850	332,500	
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명	책임자		직위		휴대전화		전자우편		비고	
공동연구개발기관		(주)에스아이 바이오		박도영	연구소장		010-8820-3201	pppdy@naver.com		수요	중소기업	
		부경대학교		이봉기	부교수		010-5370-0955	bong3257@gmail.com		공동	대학	
연구개발과제 실무담당자		성명		최윤혁		직위		선임연구원				
		연락처	직장전화	031-888-6149		휴대전화		010-8893-0259				
			전자우편	choiyh1400@gsa.or.kr		국가연구자번호		10917829				

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2024 년 02 월 20일

연구책임자: 최 춘 환

주관연구개발기관의 장 : 경기도경제과학진흥원 황성진 (직인)

공동연구개발기관의 장 : 부경대학교 최춘환 (직인)

위탁연구개발기관의 장 : (주)에스아이바이오 최춘환 (직인)

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하



< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명		울무미강 발효추출물로부터 기능성 향장소재개발				총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)	
내역사업명 (해당 시 작성)		[공공기술 사업화 촉진] 지원분야 융복합				연구개발과제번호	821030-03
기술 분류	국가과학기술 표준분류	1순위 LB0404	50 %	2순위 LB1703	30 %	3순위 LB0107	20 %
	농림식품 과학기술분류	1순위 CA0105	50 %	2순위 c403036	30 %	3순위 a105005	20 %
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명		울무미강 발효추출물로부터 기능성 향장소재개발					
전체 연구개발기간		2021. 04. 01. ~ 2023. 12. 31.(2년 9개월)					
총 연구개발비		총 868,500천원 (정부지원연구개발비: 732,000천원, 기관부담연구개발비 : 136,500천원)					
연구개발단계		기초[] 응용[] 개발[<input checked="" type="checkbox"/>]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준() 종료시점 목표()	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							
연구개발 목표 및 내용		최종 목표		울무미강 발효추출물의 향장기능에 대한 과학적 입증 및 결과를 바탕으로 안전한 기능성 화장품 개발			
		전체 내용		울무미강에 유산균을 접종하고 배양시켜 얻어진 배양물, 즉 울무미강 발효물을 화장품 소재로서 가능성을 검토하고, 기능성 원료로 개발하고자 하며, 이를 통해 제품화하고자 함.			
		1단계 (해당 시 작성)	목표	주관(1세부) 1. 기능성 향장소재 원료의 유전자 판별기술 확립 2. 지표성분 설정 및 표준함량 설정 3. 울무미강 발효추출물로부터 유효성분 특성분석 4. 원료 제조공정 표준화 •공동1(2세부) 1. 화장품 소재 상용화를 위한 기능성 원료 ICID 등재 및 대한화장품 협회 한글명 등재 2. 원료 공정 간소화 시스템 확보 및 구축 3. 제품 트렌드 분석을 위한 국내외 마케팅 조사 및 시장성 확보를 위한 컨셉 조사 실시 4. 미백 기능성 화장품 라인업 연구 5. 인체피부안전성 평가 6. 제형기술 개발 연구 (액정유화공법, 나노복합소재 응용 등) 7. 화장품 제형개발 및 안정성 평가 8. 기능성 화장품 개별인증에 대한 허가서류 구비 및 KFDA 의뢰 •공동2(3세부): 1. 울무 미강 발효물의 피부노화 관련 핵심 효소 제어 효과 증명			

			<p>2. 울무 미강 발효물의 빅데이터 도출 다중기능성 표적 분자제어 확인</p> <p>3. 울무 미강 발효물의 세포모델 항염증 효과 확인</p> <p>4. 울무 미강 발효물의 항산화 효과 확인</p> <p>5. 울무 미강 발효물의 세포모델 미백효과 확인</p> <hr/> <ul style="list-style-type: none"> • 주관(1세부) • 표적유전자 확보 및 유전자감별법 확립 • ITS(Internal transcribed spacer)마커를 활용한 DNA barcoding 확립 • 지표성분 분리/정제 및 구조를 규명 • HPLC 분석을 통해 지표물질의 함량 조사 • 원료표준화, 지표물질의 함량 분석을 통해 원제품의 안정성과 QC 수행 • 조추출물 및 용매분획물의 제조 • 추출물로부터 활성가이드 분획법으로 유효성분 분리정제 • 분리화합물의 spectrum data를 이용한 구조규명 <ul style="list-style-type: none"> • 공동1(2세부) • 원료선정을 위한 기초자료조사 및 선정 • 국내외 연구결과(문헌 등) 조사 • 문헌조사를 통한 기능이 높은 원료선정 및 제조방법 설정 • 기원 및 개발 경위에 관한 정보자료 수집 • 기능성원료 ICID 등재 • 대한화장품협회 한글명 등재 • 국내외 마케팅조사 및 시장성 확보를 위한 트렌드 컨셉 제안 • 미백기능성 화장품 라인업 연구 • 인체피부안전성평가 (인체접포시험) • 화장품제형개발연구, 안정성평가 • 라인별 품평진행 및 보완 • 주성분에 대한 확인, 함량시험 (기시법작성) • 기능성화장품 허가서류 구비 및 KFDA 의뢰 <ul style="list-style-type: none"> • 공동2(3세부): • 세포모델에 울무미강을 처리 후 total RNA를 추출 후, RNA sequencing을 진행함 • Differential Expression Gene 분석, KEGG pathway 분석, Heat Map 분석 및 protein-protein network 분석을 실시, 피부노화 관련 적응증 예측 • 피부세포(melanocyte, keratinocyte, fibroblast 또는 면역세포 등) 선별 및 관련 신호전달체계 분석 • 울무 미강 성분들의 구조적인 특성에 근거, 표적 단백질 및 단백질 네트워크 예측 • 티로시나아제 저해효과 와 B16F10 세포를 이용한 세포의 멜라닌 생성 정도 측정
	<p>2단계 (해당 시 작성)</p>	<p>목표</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 울무미강 발효의 제조공정 표준화 및 기준규격 설정 • 최종 제품의 품질관리 규격 • 기능성화장품 시제품 출시 및 마케팅 • 지표성분의 독성 분석 • 지표성분의 In silico 분석 • 세포모델에서 울무미강 지표물질의 피부노화 제어 효과 및 독성 검증

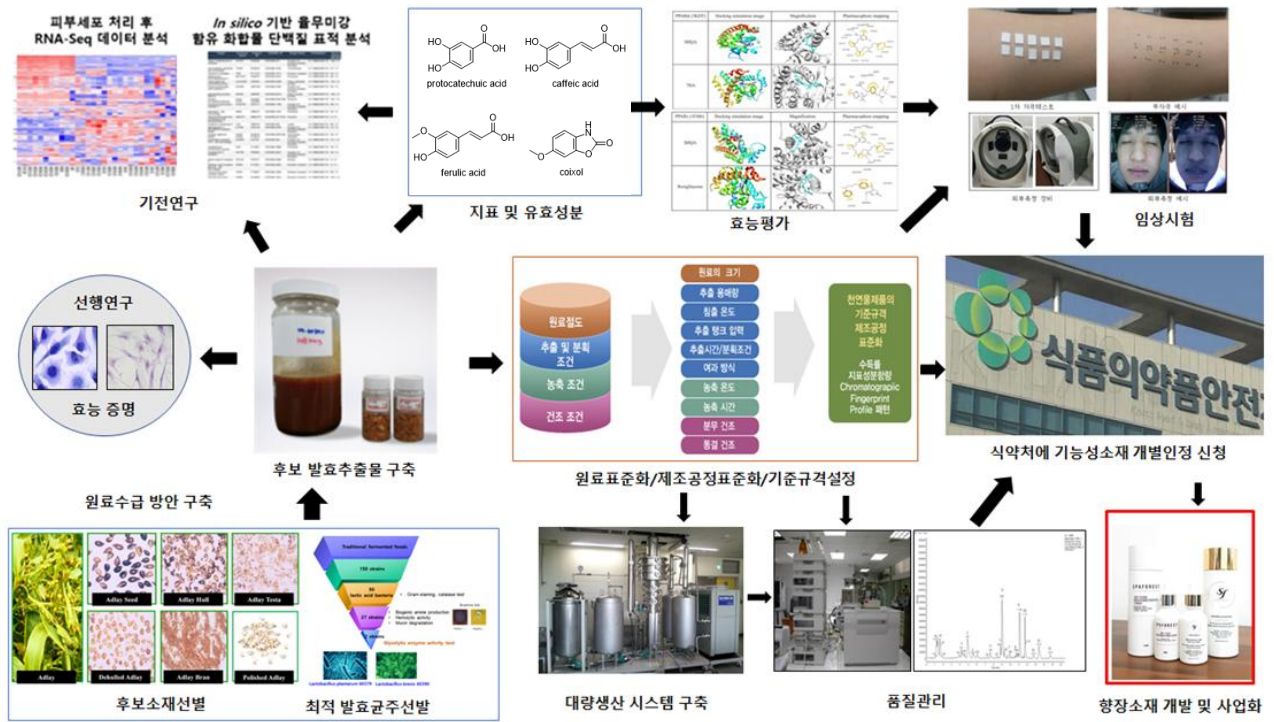
		내용	<ul style="list-style-type: none"> • 제조공정표준화 • 제품의 기준규격 항목은 성상, 기능/지표성분의 함량, 기준규격 설정 • 최종 제품 품질관리 규격 기능성 성분 검출 실험 방법 • 기능성 성분 검출 실험 방법 및 안전성 및 유효성 평가 연구 • 용기, 단상자등 패키지 개발 • 마케팅자료연구(리플렛작성, 교육자료, 필드테스트 등) • 홍보작업, 교육실시 • 언론사, 프레스 투어 등 • 유통망 구축 및 홈페이지 리뉴얼작업 • 울무 미강 지표물질들의 피부세포에 대한 독성 평가 • 울무 미강 함유 지표 물질들이 인체유래 어떤 단백질들에 결합할 수 있는 지 예측 • 울무미강 다량 함유 화합물들의 피부노화 제어 효능 및 독성을 세포 주에서 시험후, 독성을 나타내지 않는 범위 내에서 피부노화 관련 호르몬 분비 및 신호전달체계에 미치는 영향을 ELISA Kit, QPCR 또는 western blotting을 이용해서 측정
--	--	----	---

연구개발성과	SCIE 논문 3건, 비SCIE 논문 1건, 학술발표 1건, 인력양성 3건
연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<p>○ 과학적 측면</p> <ul style="list-style-type: none"> - 울무미강발효추출물을 식품의약품안전처로부터 <기능성화장품>에 기능성 원료로 개별인정을 받게 되면, 기능성 원료로의 판매뿐만 아니라 다양한 종류의 향장제형으로 개발에 활용할 계획임. - 지금까지 향장기능 소재들과 달리 본 연구를 통해 개발하고자하는 소재는 부작용을 최소화한 안정성이 확보된 울무미강 발효추출물이며, 향후 효능성분 (active component)을 활용한 고성능 소재개발의 기초 자료로 활용 가능. <p>○ 기술적 측면</p> <ul style="list-style-type: none"> - 본연구의 결과는 그간 향장소재로 이용되지 않고 있던 울무미강 발효추출물을 이용하여 고부가가치화 했다는데 의의가 있다. - 선행연구에서 울무미강 발효추출물은 기존의 기능성원료보다 뛰어난 효과가 있어, 본 연구를 통해 부작용이 적고 효능이 우수한 개별 인정형 기능성화장품 원료 개발이 기대. - 국내산 천연자원인 울무미강 발효추출물을 이용해 향장소재가 개발되면 장기 사용에도 부작용이 적은 고기능 향장소재개발을 기대됨. - 향장기능 개선 효과를 보이는 기능성 화장품소재에 대한 선점화 및 특허 확보 - 기능성이 입증된 화장품소재를 다양한 향장상품 개발에 활용하게 되어, 향장소재로서 고부가 가치를 창출할 수 있을 것으로 기대됨. <p>○ 경제적·산업적 측면</p> <ul style="list-style-type: none"> - 생물다양성협약이후 국내 바이오산업 특히 해외생물소재를 이용하는 화장품 기업들의 막대한 손실이 예상된다. 하지만 농생명소재인 울무미강 이용하여 기능성 향장 소재가 개발될 경우 경제적 부가가치가 클 것으로 예상됨. - 국내 농림자원의 고부가가치화를 통해 재배농가의 소득 증대에 기여하고 농촌 경제 활성화에도 큰 도움이 될 것으로 기대됨. - 천연물(식품등록 약용작물)기원 향장소재를 응용한 신상품의 개발로 인한 새로운 사업 창출과 국내외 향장관련 산업의 활성화와 고용창출에 기여할 것으로 기대됨. <p>○ 고용 창출 및 인력 양성 측면</p> <ul style="list-style-type: none"> - 새로운 개별 인정형 기능성 원료가 개발되어 기능성향장품으로 상품화되면 국내 기능성 화장품산업의 활성화와 더불어 관련 산업(화장품 제조회사, 유통기업 등)의 활성화에 따른 고용창출에도 크게 기여할 것으로 기대됨.

	- 산연 및 산산 연계연구를 통해 융합적인 사고와 연구를 할 수 있는 우수한 전문 인력의 양성에 기여할 것으로 기대됨.											
연구개발성과의 비공개여부 및 사유												
연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설·장비	기술 요약 정보	소프트웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
	5	4										
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
국문핵심어 (5개 이내)	울무미강		발효추출물		원료표준화		기능성화장품		개별인정			
영문핵심어 (5개 이내)	Adlay bran		Fermented extract		Standardization		Functional cosmetic material		Individually recognized			

1. 연구개발과제의 개요

1.1 연구개발과제의 목표 및 내용



<그림> 연구개발과제 흐름도

1-2. 연구개발과제의 최종 목표

○ 최종목표

최종목표	
울무미강 발효추출물의 향장기능에 대한 과학적 입증 및 결과를 바탕으로 안전한 기능성 화장품 개발	

1-3. 연구개발과제의 단계별 목표

○ 연차/단계별 목표 및 내용 총괄

구 분	목 표	주요 연구개발 내용
1년차 ('21년)	기능성 향장소재 원료의 유전자 판별기술 확립	○ 표적유전자 확보 및 유전자감별법 확립 ○ ITS(Internal transcribed spacer)마커를 활용한 DNA barcoding 확립
	지표성분 설정 및 표준함량 설정	○ 지표성분 분리/정제 및 구조를 규명 ○ HPLC 분석을 통해 지표물질의 함량 조사 ○ 원료표준화, 지표물질의 함량 분석을 통해 완제품의 안정성과 QC 수행
	울무미강 발효추출물로부터 유효성분 특성분석 I	○ 조추출물 및 용매분획물의 제조 ○ 추출물로부터 활성가이드 분획법으로 유효성분 분리정제 ○ 분리화합물의 spectrum data를 이용한 구조규명
	소재화 기반 구축	○ 원료선정을 위한 기초자료조사 및 선정 ○ 국내외 연구결과(문헌 등) 조사 ○ 문헌조사를 통한 기능성이 높은 원료선정 및 제조방법 설정

		<ul style="list-style-type: none"> ○ 기원 및 개발 경위에 관한 정보자료 수집 ○ 기능성원료 ICID 등재 ○ 대한화장품협회 한글명 등재
	제품화 기반 구축	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내외 마케팅조사 및 시장성 확보를 위한 트렌드 컨셉 제안 ○ 미백기능성 화장품 라인업 연구
	소재의 피부안전성 평가	<ul style="list-style-type: none"> ○ 인체피부안전성평가 (인체첨포시험)
	세포실험 기반 울무미강 피부노화 제어 빅데이터 분석	<ul style="list-style-type: none"> ○ 세포모델에 울무미강을 처리 후 total RNA를 추출 후, RNA sequencing 실시 ○ Differential Expression Gene 분석, KEGG pathway 분석, Heat Map 분석 및 protein-protein network 분석을 실시, 피부노화 관련 적응증 예측
	울무미강 활성기전연구	<ul style="list-style-type: none"> ○ 피부세포(melanocyte, keratinocyte, fibroblast 또는 면역세포 등) 선별 및 관련 신호전달체계 분석
	구조기반 활성예측	<ul style="list-style-type: none"> ○ 울무 미강 성분들의 구조적인 특성에 근거, 표적 단백질 및 단백질 네트워크 예측
2년차 ('22년)	유효성분 특성분석 II	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성 생리활성물질 분리정제 및 구조결정 ○ 기준 및 시험방법에 관한 자료
	원료 제조공정 표준화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 원료 분쇄도에 따른 지표성분 함량비교 ○ 발효조건의 변화에 따른 지표성분 함량비교 ○ 추출조건에 따른 지표성분 함량비교
	기능성화장품 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 화장품제형개발연구, 안정성평가 ○ 라인별 품평진행 및 보완 ○ 주성분에 대한 확인, 함량시험 (기시법작성) ○ 기능성화장품 허가서류 구비 및 KFDA 의뢰
	울무 미강 발효물 미백효능 검증	<ul style="list-style-type: none"> ○ 티로시나아제 저해효과 와 B16F10 세포를 이용한 세포의 멜라닌 생성 정도 측정 ○ QPCR 또는 Westurn blotting을 이용해서 멜라닌 생성관련 유전자의 발현 정도를 분석함(MITF, CREB, tyrosinase 등)
	울무미강 발효물의 주름개선 효과 검증	<ul style="list-style-type: none"> ○ 피부 탄력 유지 및 주름생성과 관련된 유전자(Collagen/Elastin/MMPs 등) mRNA 발현정도 측정 ○ 피부 탄력 유지 및 주름생성과 관련된 유전자(Collagen/Elastin/MMPs 등) 단백질 발현정도 측정함
	울무미강 발효물의 항염증 효과 검증	<ul style="list-style-type: none"> ○ Macrophage 와 Keratinocyte세포주 (또는 PBMC)를 이용한 효력시험
		울무미강 발효의 제조공정 표준화 및 기준규격 설정
3년차 ('23년)	최종 제품의 품질관리 규격	<ul style="list-style-type: none"> ○ 최종 제품 품질관리 규격 기능성 성분 검출 실험 방법 ○ 기능성 성분 검출 실험 방법 및 안전성 및 유효성 평가 연구
	기능성화장품 시제품 출시 및 마케팅	<ul style="list-style-type: none"> ○ 용기, 단상자등 패키지 개발 ○ 마케팅자료연구(리플렛작성, 교육자료, 필드테스트 등) ○ 홍보작업, 교육실시 ○ 언론사, 프레스 투어 등 ○ 유통망 구축 및 홈페이지 리뉴얼작업
	지표성분의 독성 분석	<ul style="list-style-type: none"> ○ 울무 미강 지표물질들의 피부세포에 대한 독성 평가
	지표성분의 In silico 분석	<ul style="list-style-type: none"> ○ 울무 미강 함유 지표 물질들이 인체유래 어떤 단백질들에 결합할 수 있는지 예측
	세포모델에서 울무미강 지표물질의 피부노화 제어 효과 및 독성 검증	<ul style="list-style-type: none"> ○ 울무미강 다량 함유 화합물들의 피부노화 제어 효능 및 독성을 세포 주에서 시험후, 독성을 나타내지 않는 범위 내에서 피부노화 관련 호르몬 분비 및 신호전달체계에 미치는 영향을 ELISA Kit, QPCR 또는 western blotting을 이용해서 측정

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

2.1. 경기도경제과학진흥원(1세부)

가. 울무미강 추출물, 발효물 기능성 검증

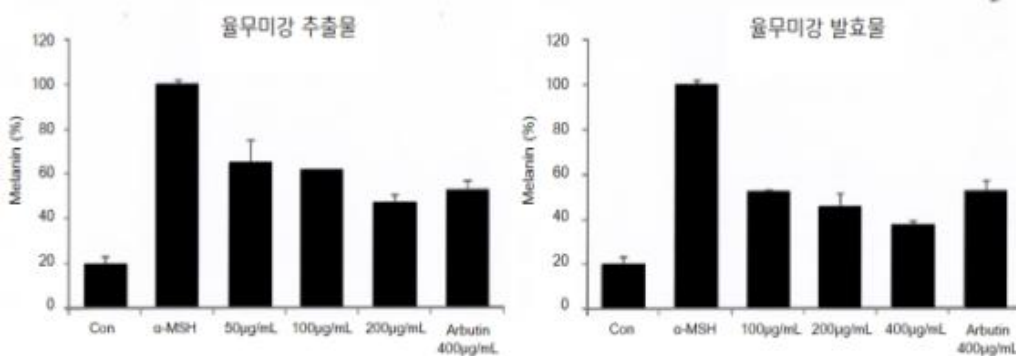
1) 미백기능성 검증

- 울무미강 추출물과 그 유산균 발효물이 B16F10 멜라노마 Cell 에서 멜라닌 생합성 저해 활성을 가짐을 확인하였으며, 대조군 인 Arbutin(식약처 미백 고시성분)에 비해 효능이 우수함을 확인하였음.
- 울무미강 추출물의 IC50값 177.64 μ g/mL, 울무미강 유산균 발효물의 IC50값 138.65 μ g/mL로 추출물과 발효물 모두 대조군 인 Arbutin (IC50 399.26 μ g/mL) 에 비해 높은 활성을 보였으며, 특히 울무미강 발효물의 경우 대조군과 비교하여 약 3배의 활성을 나타냄.



멜라닌 생합성 저해활성

구분	Tyrosinase inhibition assay (IC50, μ g/mL)
울무미강 추출물	177.64
울무미강 발효물	138.65
Arbutin	399.26



울무미강 추출물의 멜라닌 생합성 저해활성

2) NO(Nitric oxide) 기능성 검증

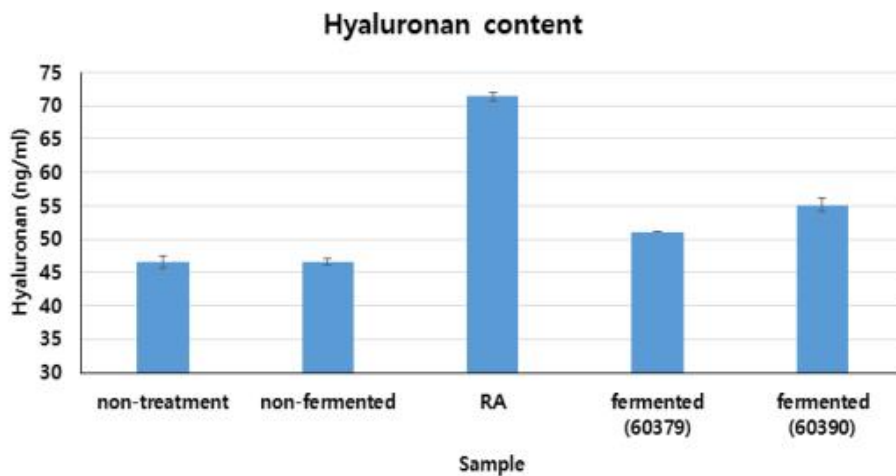
- LPS로 염증반응을 유발시킨 RAW264.7 Cell에서 NO생성을 억제 활성을 검증함.

Nitric oxide 소거 활성

구분	Nitric oxide inhibition assay (IC50, µg/mL)	MTT assay
울무미강 추출물	69.85	> 100
울무미강 발효물	6.01	> 100
L-NMMA	19.14µM	> 100µM

3) 울무미강발효추출물의 보습효능 및 주름개선효과

- 히아루론산은 세포 진피층에 존재하는 다당류이다. 수산화기가 많기 때문에 친수성 물질이며, 인체에서는 보습 인자로 존재한다. 피부속의 히아루론산의 함량이 높으면 피부가 탱탱하고 주름개선에 도움이 된다. 진피세포에서 분비된 히아루론산의 함량은 효소 면역 분석법 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) kit로 분석하였음



제조된 추출물의 히아루론산 증대 효능

- 히아루론산의 분비가 미발효 미강 추출물을 처리 하였을때는 증가하지 않았으나, MJM60390으로 발효 하였을 때 1.3~1.5배 정도 증가함을 확인하였음, 특히 60379보다는 60390으로 발효 할 때 그 효과가 더 큼

나. 지표 및 유효성분 확인을 위한 분리정제 및 구조결정

1) 추출물, 용매 분획물 제조 및 유효성분의 분리정제방법

가) 추출 및 분획 - 건조된 시료를 70% EtOH로 상온 냉침 시킨 후 추출액을 감압 농축하여 EtOH 추출물을 얻는다. 이를 증류수로 현탁시키고 methylene chloride, ethyl acetate, 수포화 n-Butanol를 사용하여 solvent partition 함.

나) 화합물의 분리 - 각 분획물을 silica column chromatography를 실시하여 분획하여 나누고, 각각의 분획물에 대하여 silica gel, ODS C-18 등을 이용하여 분리정제를 실시

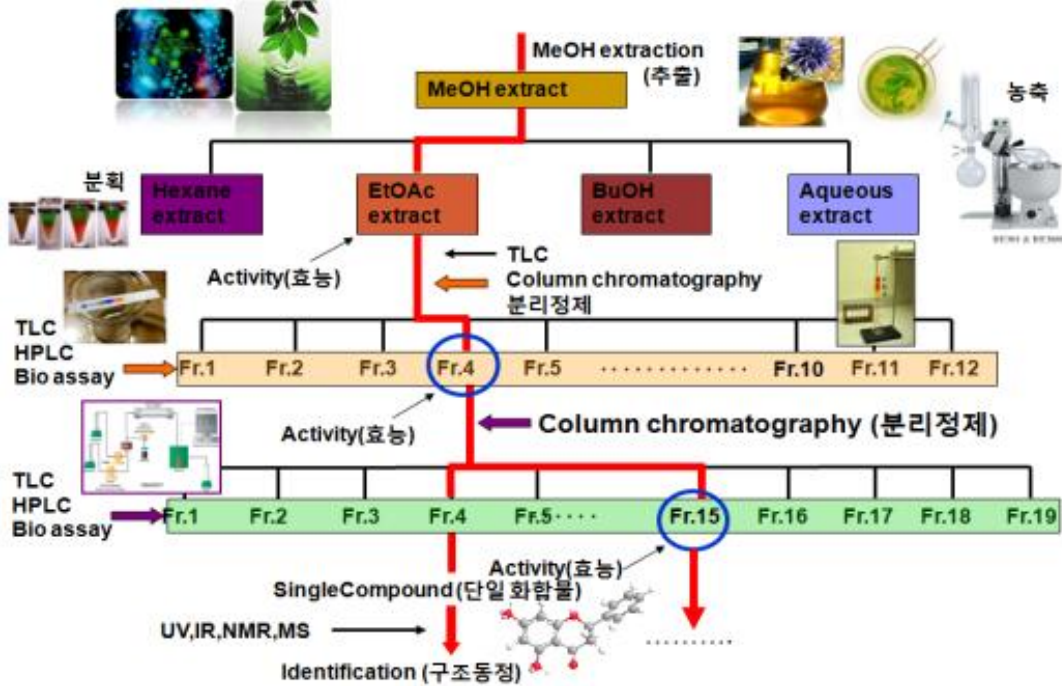
다) 분광학적 분석 data를 통한 분리정제 단일화합물의 구조 규명

라) 본 연구소에 구축된 700 MHz NMR (cryo probe)을 이용하여 분석한 NMR data를 통한 proton과 carbon의 connectivity에 대한 정보 및 mass data를 이용한 molecular formula를 확인하여 구조분석 진행

2) 기능/지표물질 설정

- 추출물에 존재하는 지표물질을 HPLC 등 분석기기를 이용한 최적 분리 및 분석 조건을 확립한다. 지표성분으로는 주위 피크로부터 간섭 없이 양호한 HPLC 분리능과 특이성 및 상대적으로 많은 함유량을 보이는 화합물을 선택함.

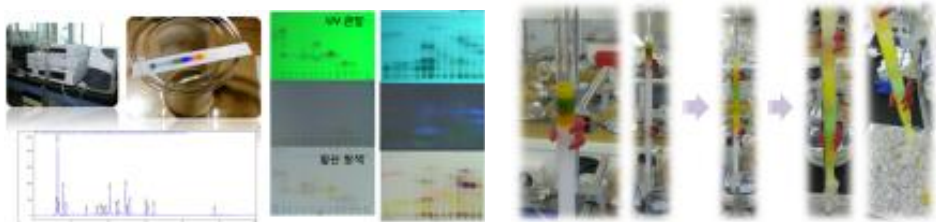
성분 분리정제 및 구조분석 과정 모식도



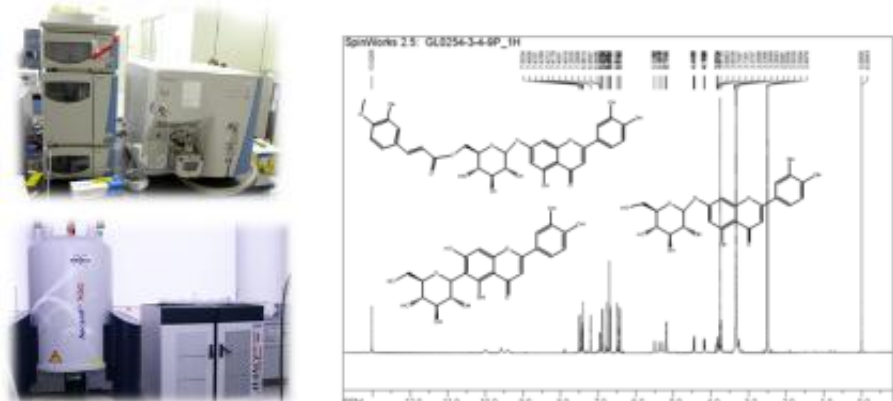
추출물 및 분획물 제조



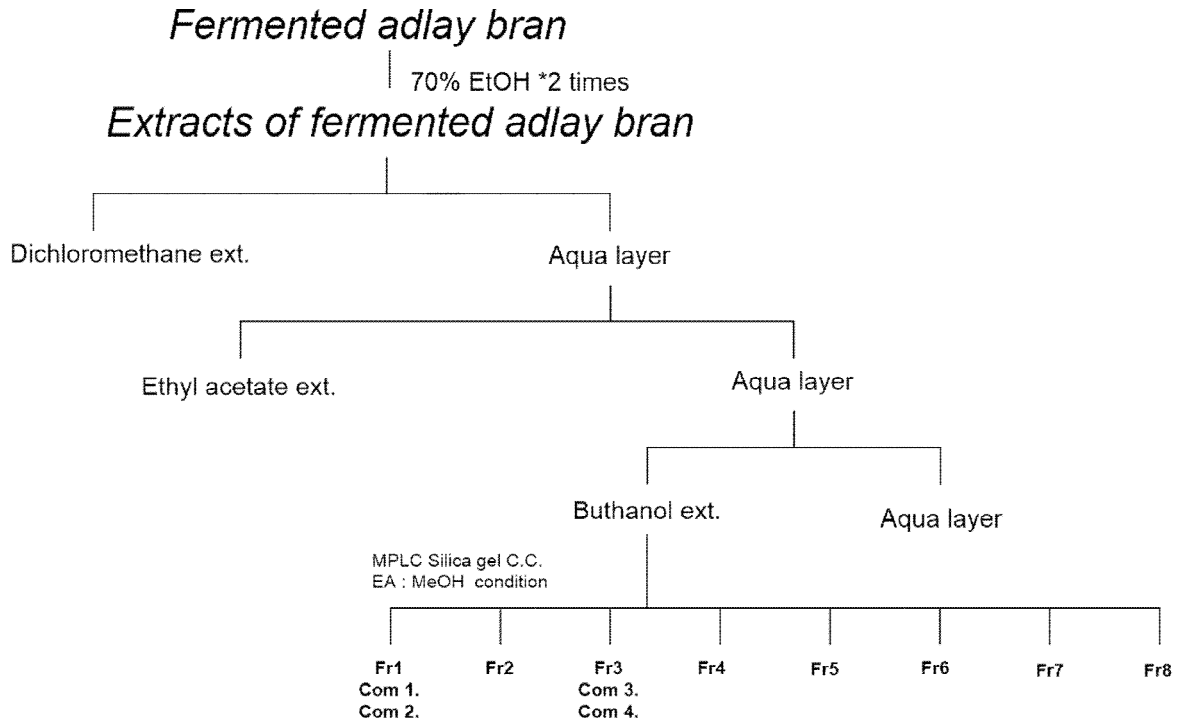
지표 및 기능성 성분의 분석 및 분리정제



기능성 성분의 구조분석



- 율무미강 발효추출물(No.60390) 1.16kg을 디클로로메탈, 에틸아세테이트, 수포화 부탄올로 분획하여 각각 275.87g, 11.6g, 28.27g, 958.3g의 분획물을 얻음.



- 이 중 부탄올 분획을 실리카겔 컬럼크로마토 그래피를 실시하여 8개의 분획으로 나눔. fraction 1을 RP18 컬럼크로마토그래피를 실시하여 화합물 1과 화합물 2을 얻었으며, fraction 3을 RP18 컬럼크로마토그래피를 실시하여 화합물 3과 화합물 4을 얻음. 분리한 화합물의 구조결정은 NMR(1D, 2D)등의 분광데이터와 문헌 분석을 통해 결정하였음.

3) 화합물 분리 및 분광데이터

가) HPLC 분석조건과 분리한 화합물의 profiles

- HPLC 분석조건

Time	A	B
0	100	0
10	100	0
60	0	100
70	0	100
78	100	0
85	100	0

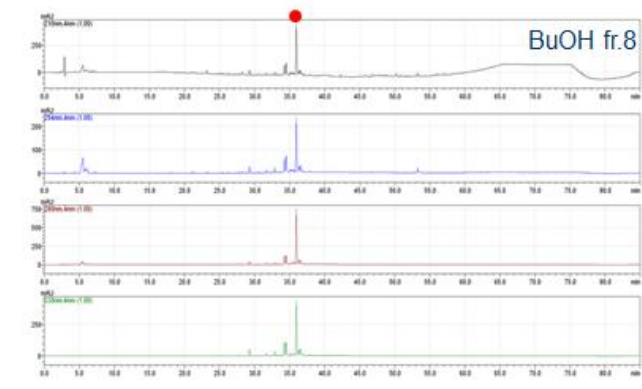
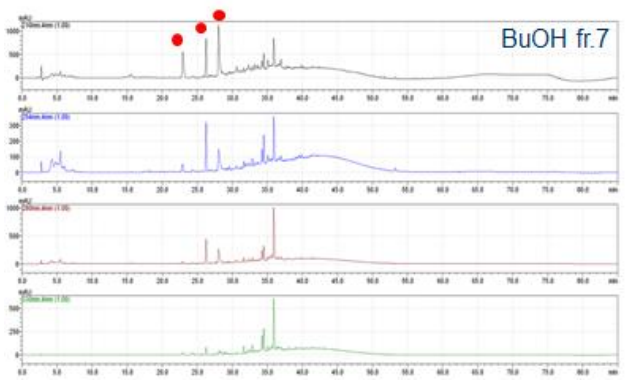
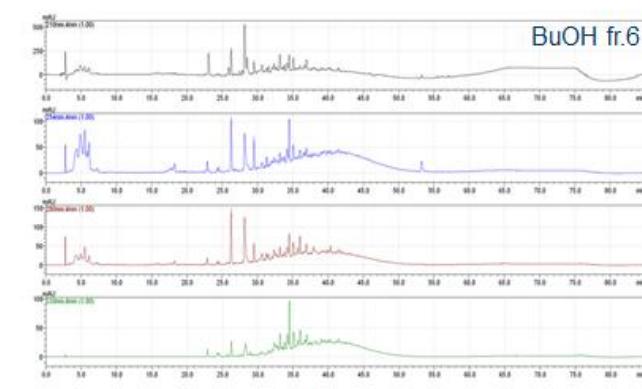
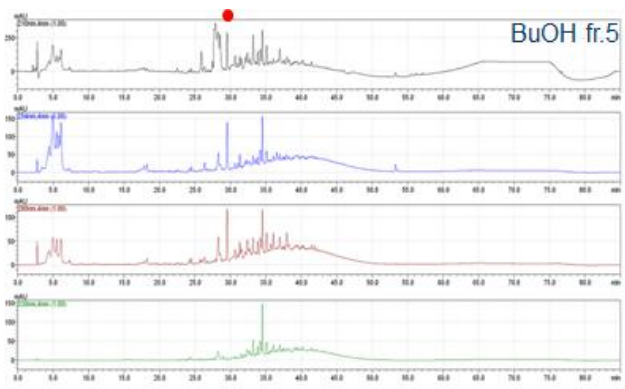
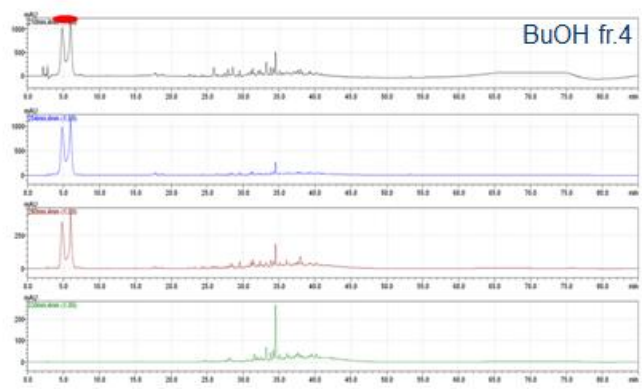
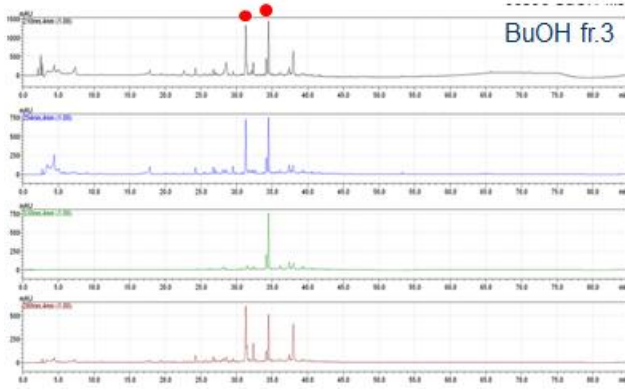
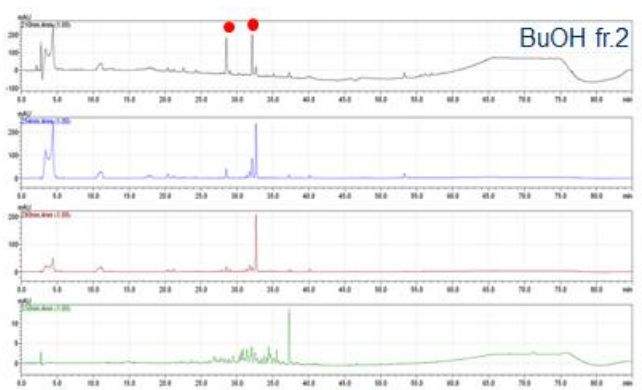
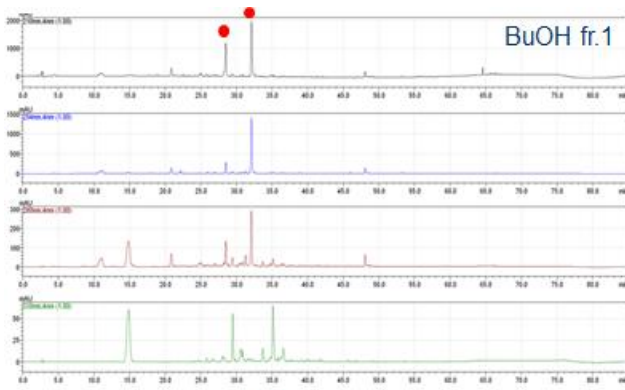
Solvent gradient system

- HPLC system : SHIMADZU LC-20A
- Column: Kormasil (250 × 4.6 mm)
- Mobile phase:
 - (A) 0.05% TFA in water
 - (B) Acetonitrile
- Flow rate: 1 mL/min
- Detection : UV

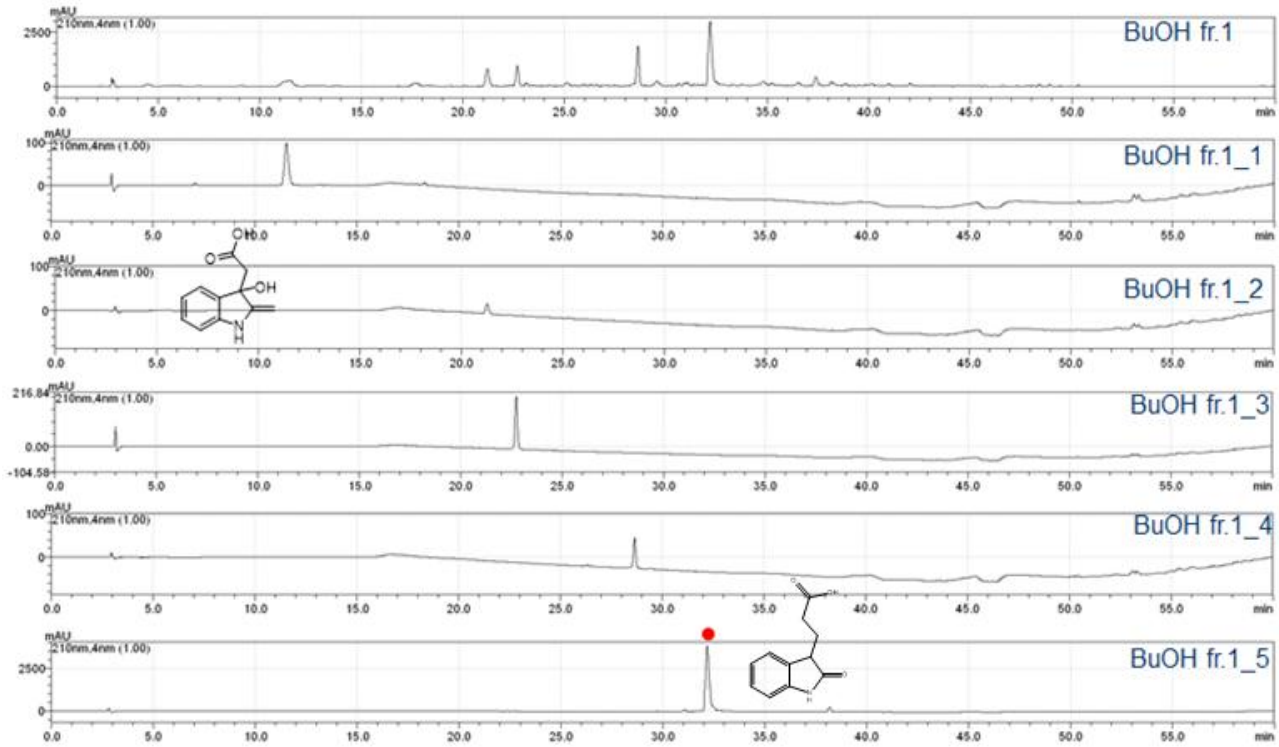
기기조건

나) 분리한 화합물의 HPLC profiles

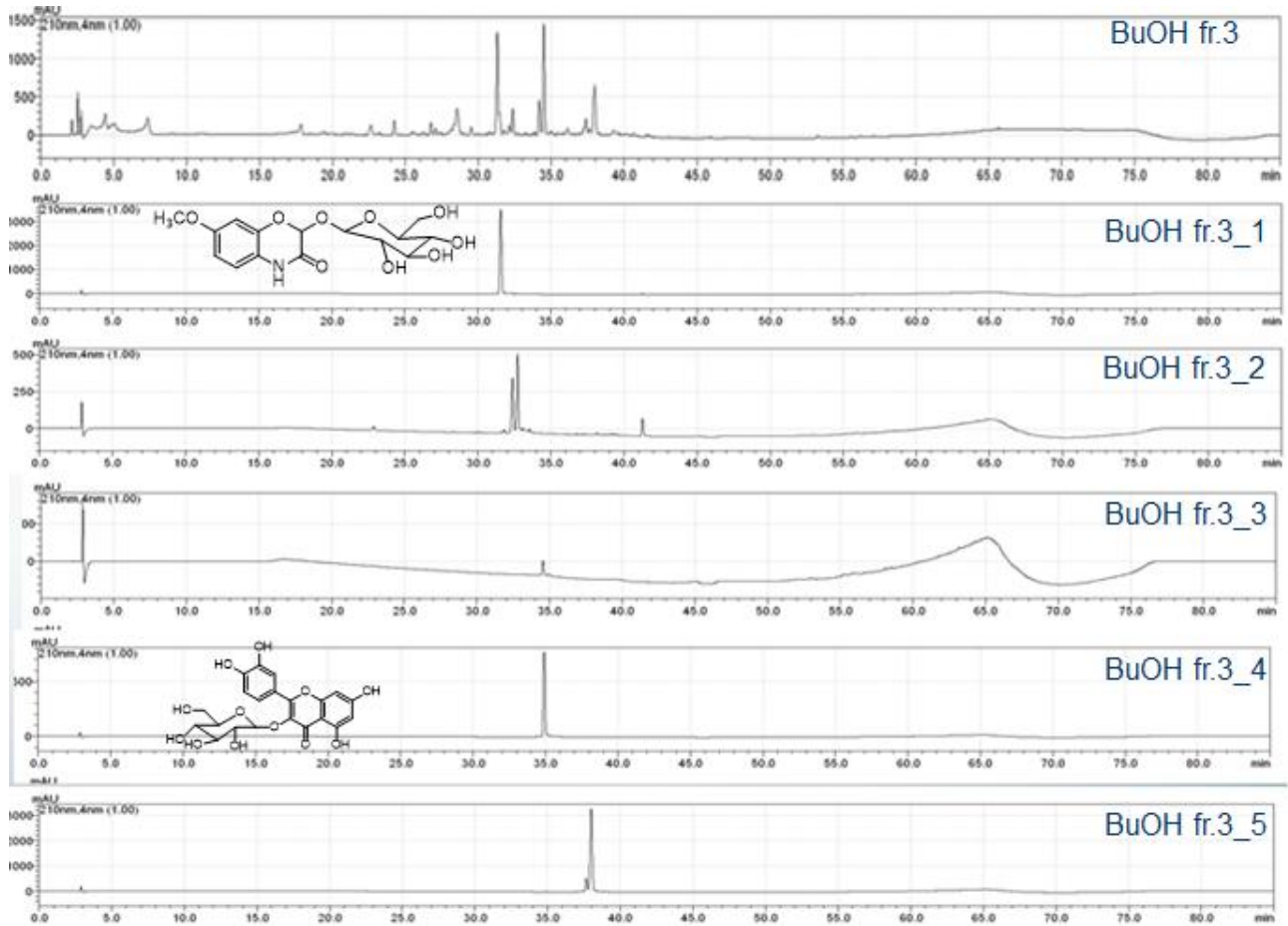
울무미강 발효추출물 BuOH Fraction HPLC profiles



울무미강 발효추출물 BuOH Fraction 1의 HPLC profiles



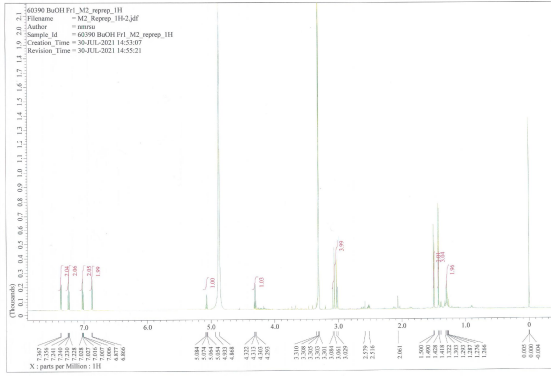
울무미강 발효추출물 BuOH Fraction 3의 HPLC profiles



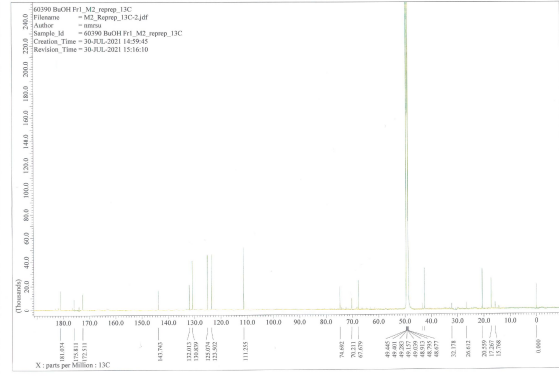
다) 분리한 화합물의 분광데이터 측정

- 분리한 화합물들의 분광데이터 측정은 1D, 2D NMR을 측정하였으며, 분석용매는 CD₃OD를 사용함.

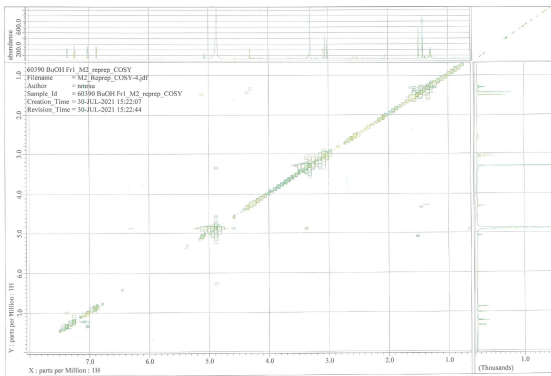
화합물 1의 분광데이터



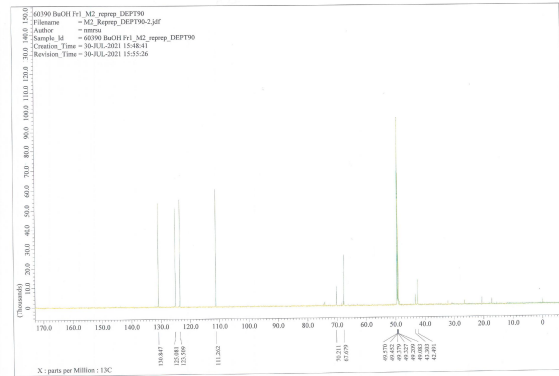
1H_NMR data



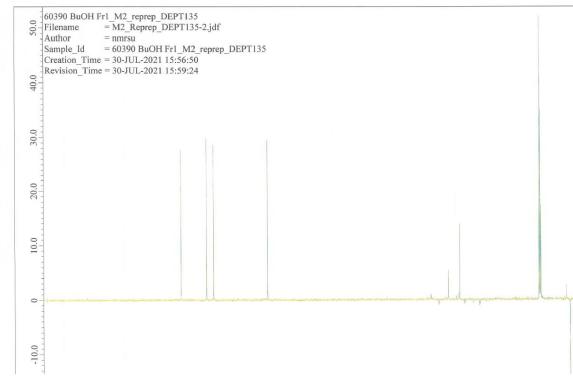
13C_NMR data



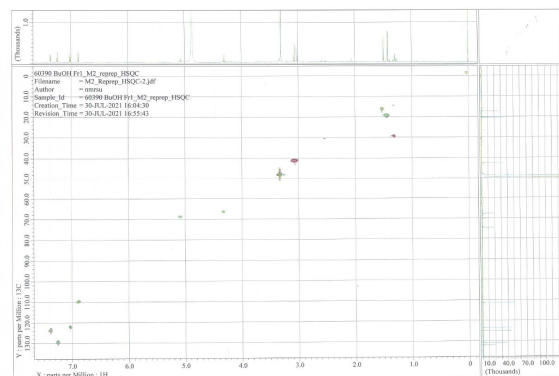
COSY



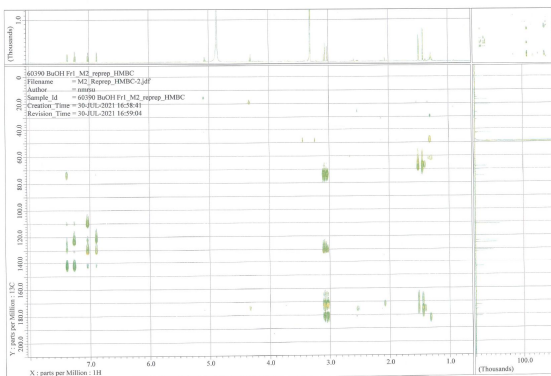
DEPT90



DEPT135

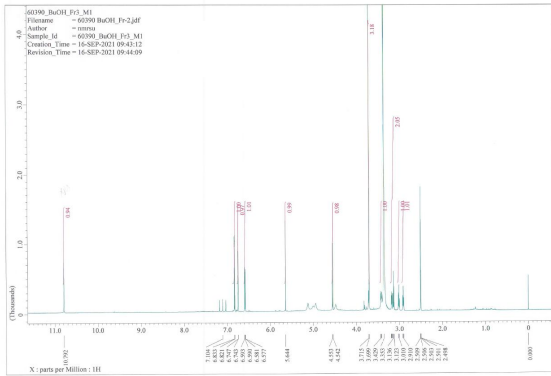


HSQC

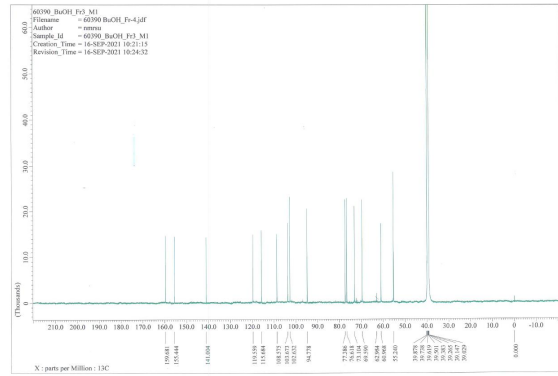


HMBC

화합물 3의 분광데이터

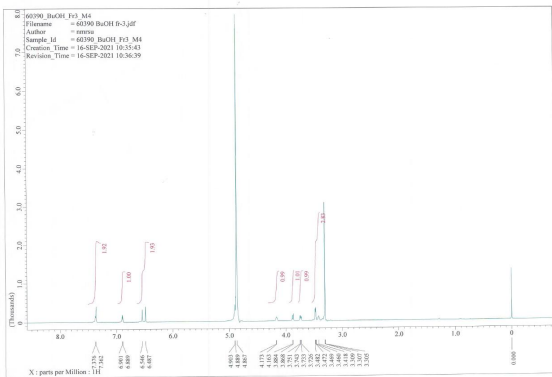


1H-NMR data

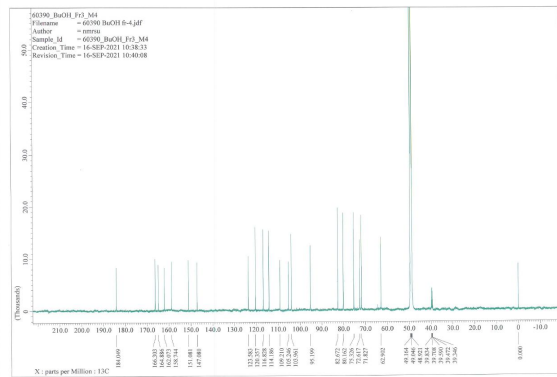


13C-NMR data

화합물 4의 분광데이터



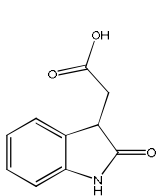
1H-NMR data



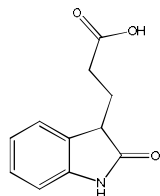
13C-NMR data

라) 분리한 화합물의 구조결정

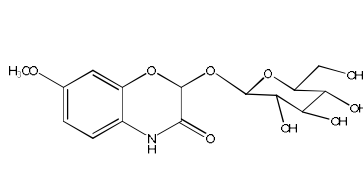
- 분리한 화합물의 구조결정은 NMR(1D, 2D) 등의 분광데이터와 문헌 분석을 통해 결정함.



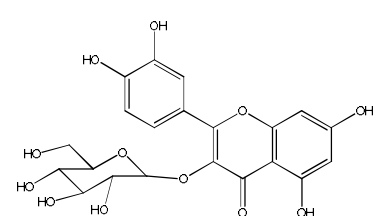
Compound 1



Compound 2



Compound 3



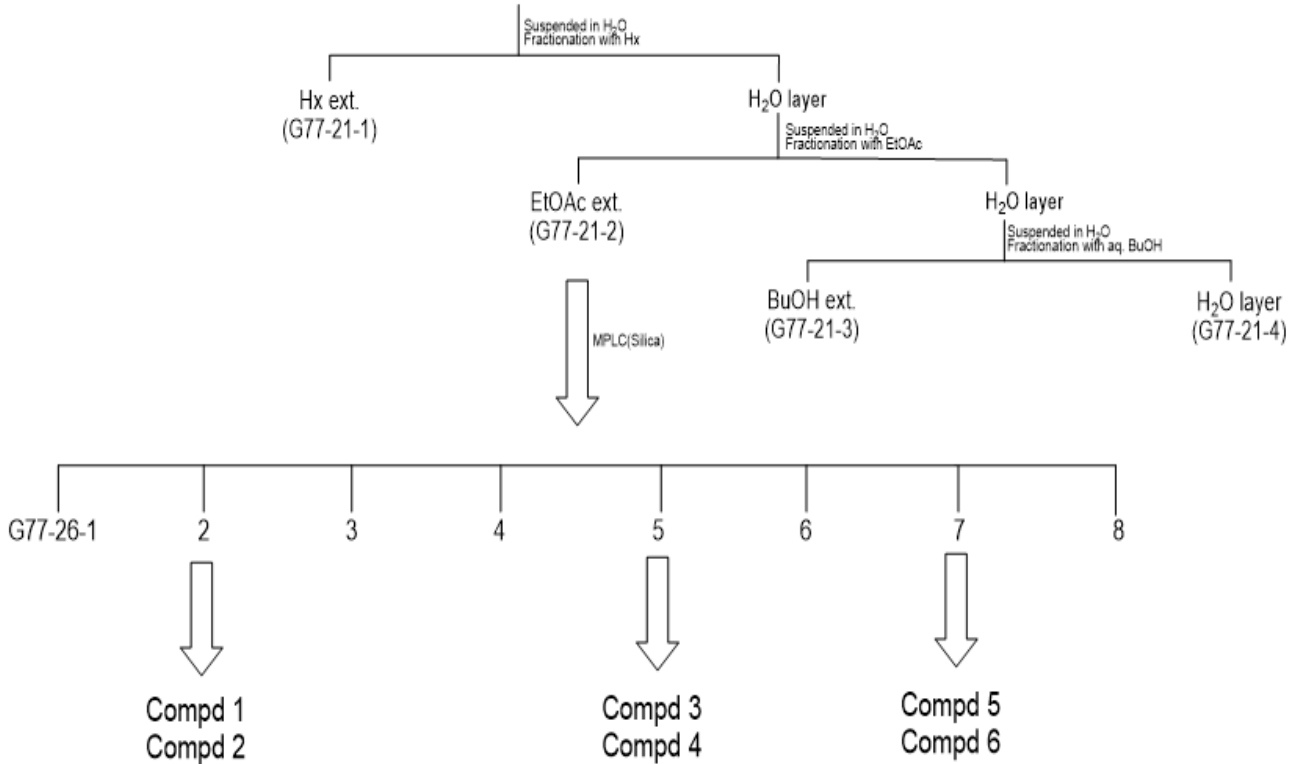
Compound 4

다. 원료 표준화를 위한 지표 및 유효성분 검증

1) 울무미강슬리지발효추출물 성분연구

- 울무미강슬리지발효추출물 145.5g을 헥세인, 에틸아세테이트, 수포화 부탄올로 분획하여 각 750mg, 3.35g, 15.56g, 5.82g의 분획물을 얻음.

울무미강 슬러지발효추출물 from KMF



- 이중 에틸아세테이트 분획을 실리카겔 컬럼크로마토 그래피를 실시하여 8개의 분획으로 나눔. fraction 2을 RP18 컬럼크로마토그래피를 실시하여 화합물 1과 화합물 2을, fraction 5을 RP18 컬럼크로마토그래피를 실시하여 화합물 3과 화합물 4을, fraction 7을 RP18 컬럼크로마토그래피를 실시하여 화합물 5과 화합물 6을 얻음. 분리한 화합물의 구조결정은 NMR(1D, 2D)등의 분광데이터와 문헌 분석을 통해 결정하였음.

2) 화합물 분리정제 및 분광데이터

가) HPLC 분석조건과 분리한 화합물의 profiles

① HPLC 분석조건

Time	A	B
0	100	0
10	100	0
60	40	60
61	0	100
70	0	100

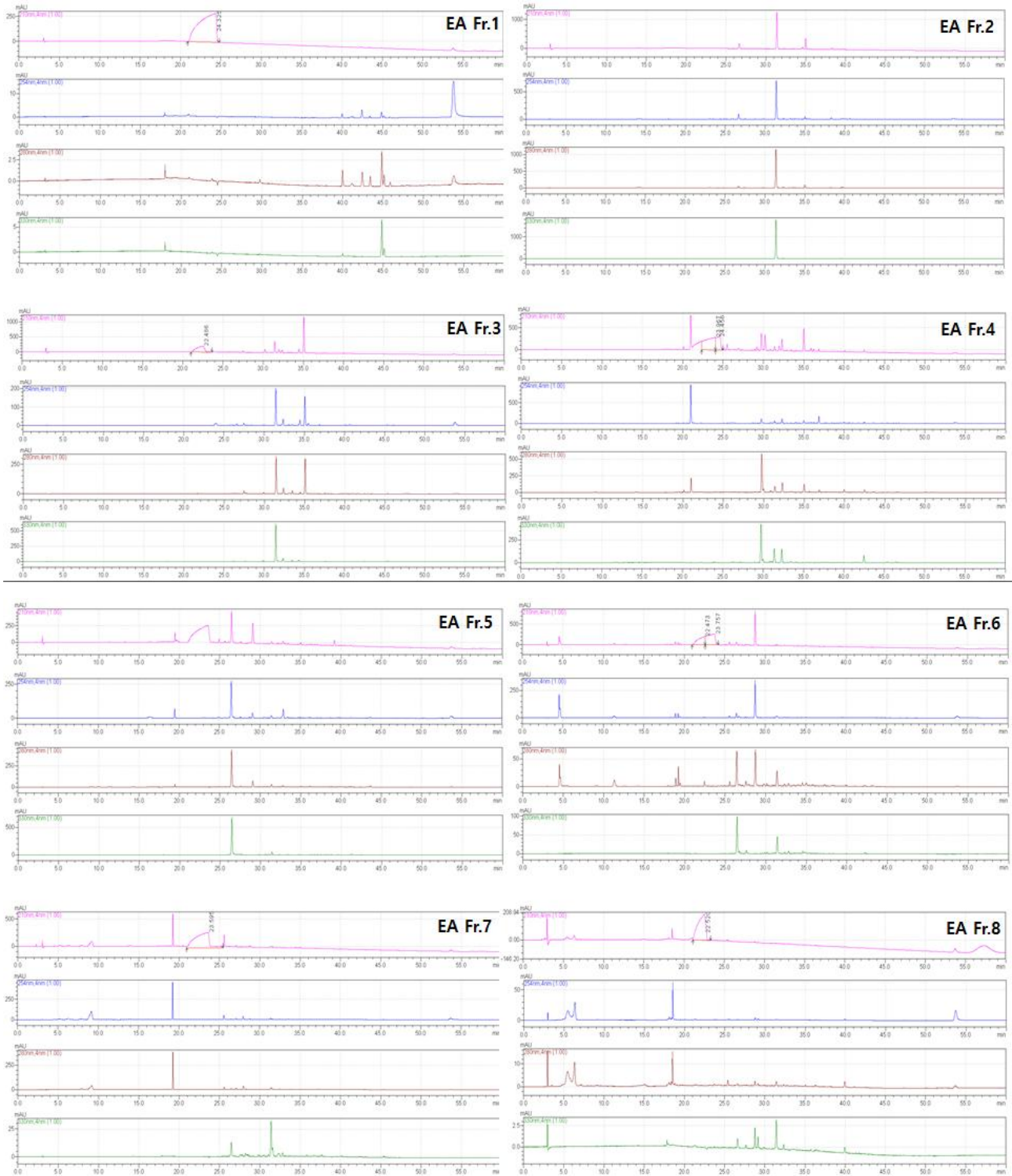
Solvent gradient system

- HPLC system : SHIMADZU LC-20A
- Column: Kormasil (250 × 4.6 mm)
- Mobile phase:
 - (A) 0.05% TFA in water
 - (B) Acetonitrile
- Flow rate: 1 mL/min
- Detection : UV

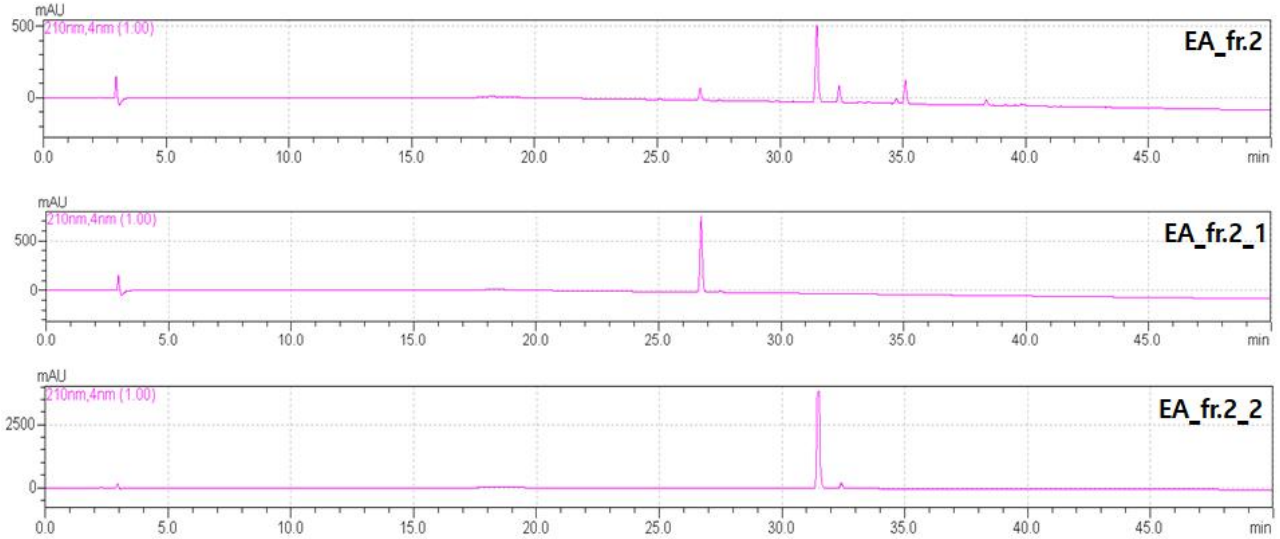
기기조건

② 분리한 화합물의 HPLC profiles

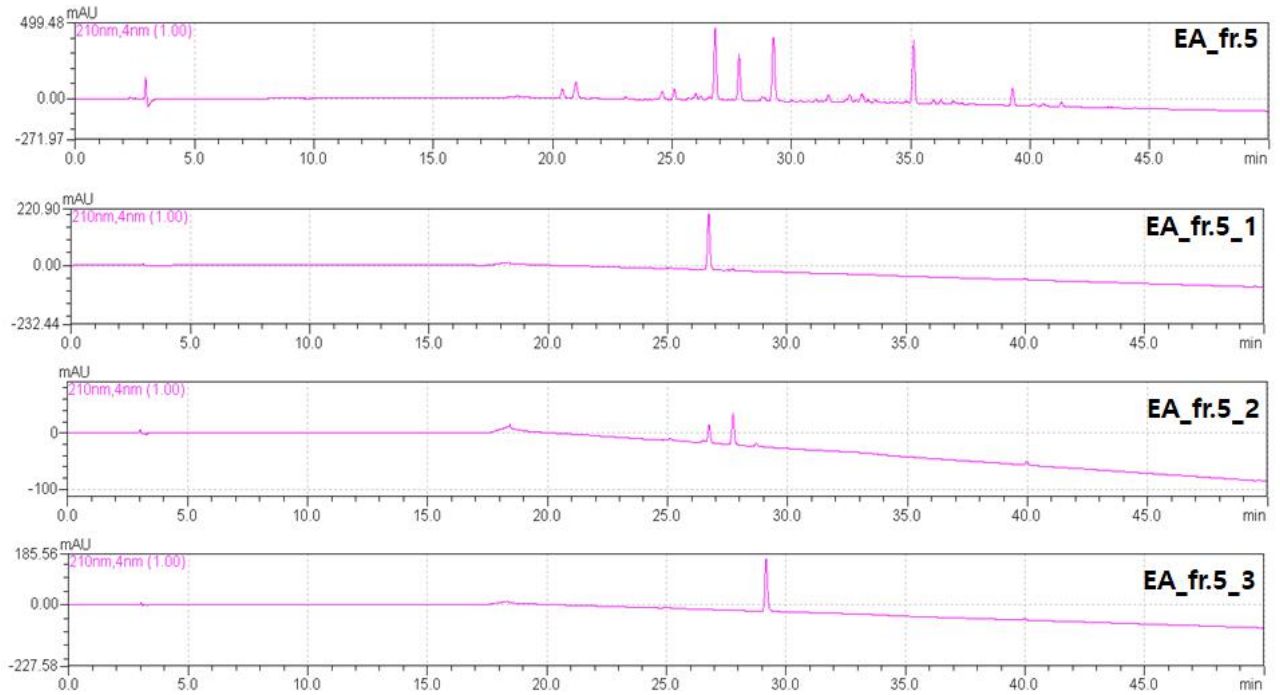
▪ 울무미강슬리지발효추출물 EA Fraction HPLC profiles



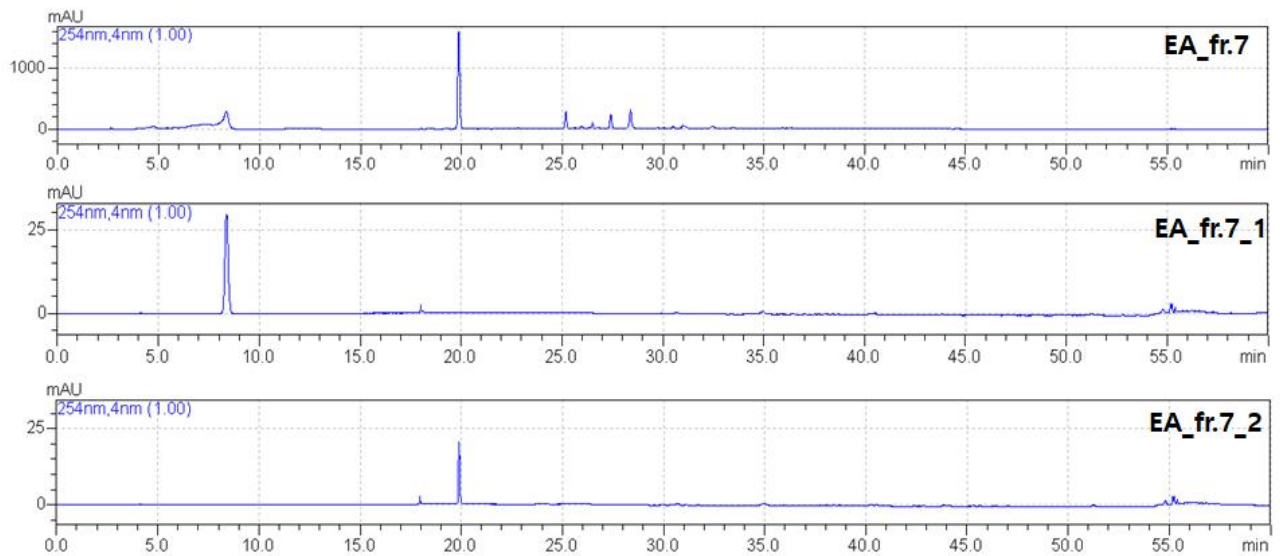
을무미강슬리지발효추출물 EA Fraction 2의 HPLC profiles



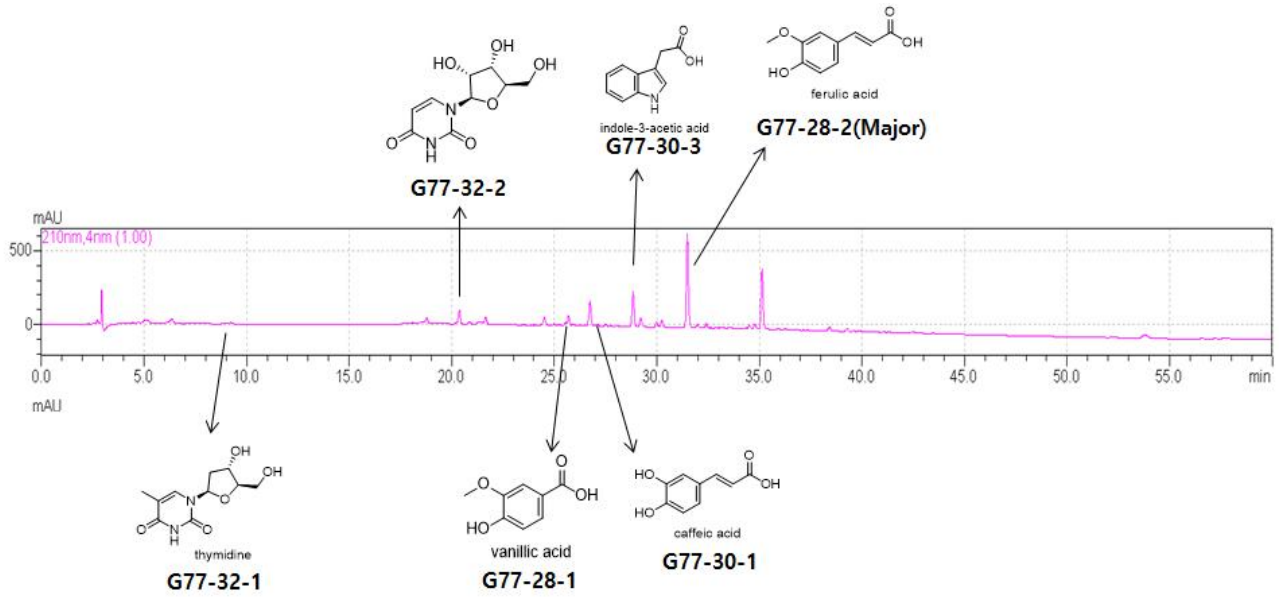
을무미강슬리지발효추출물 EA Fraction 5의 HPLC profiles



을무미강슬리지발효추출물 EA Fraction 7의 HPLC profiles



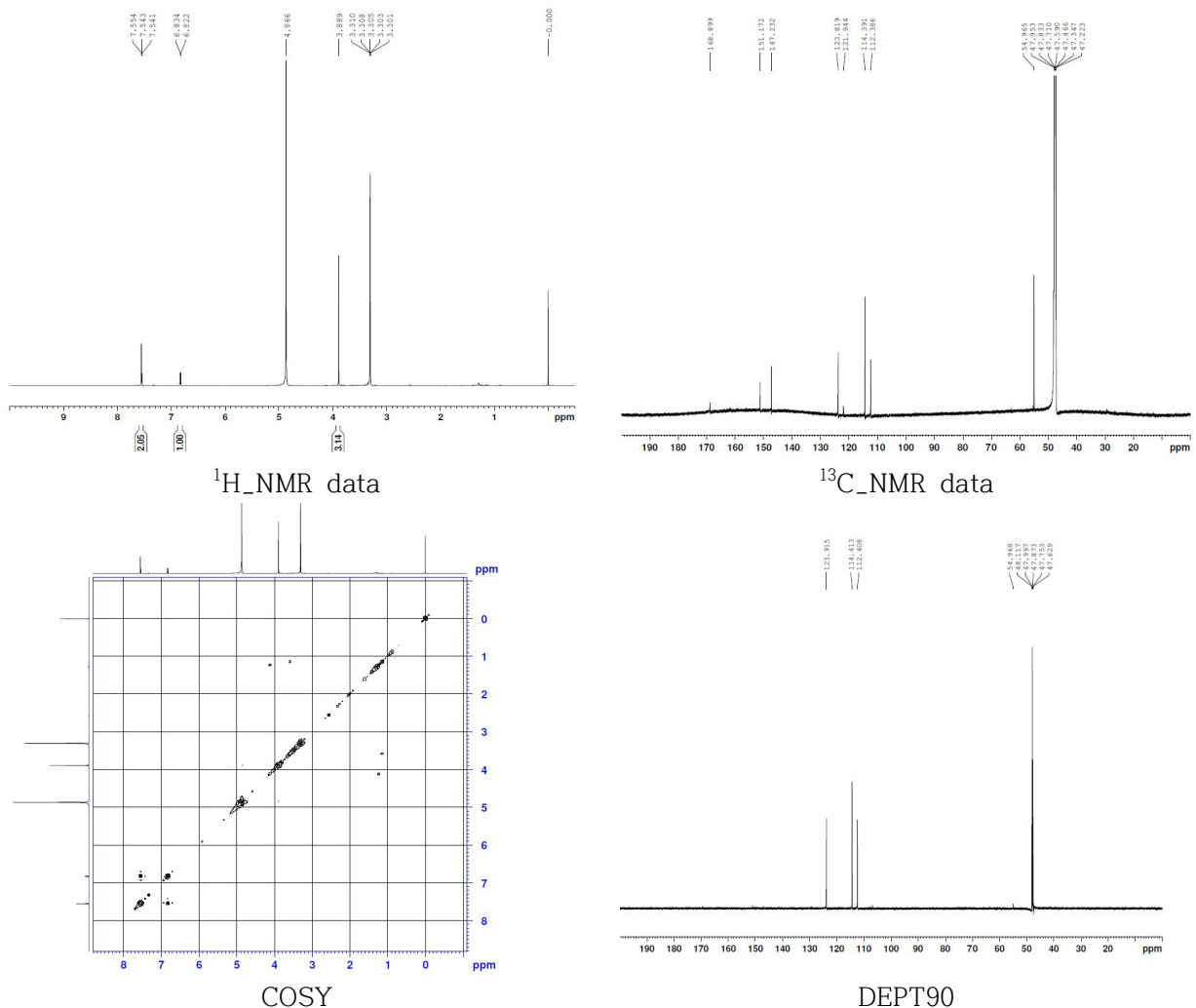
울무미강슬리지발효추출물 EA Fraction에서 분리한 화합물의 HPLC profiles

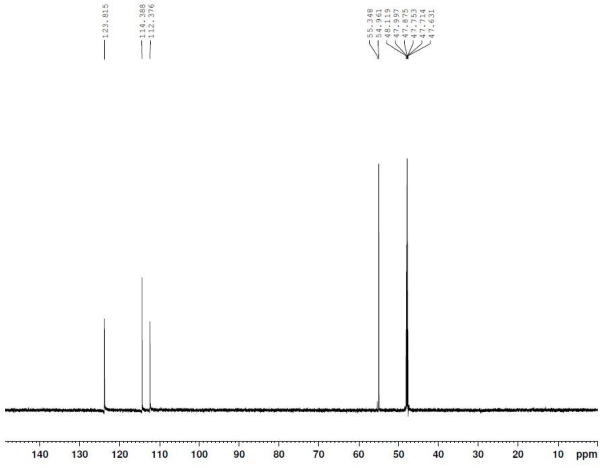


3) 울무미강슬리지발효추출물 지표 및 유효성분 분광데이터 측정

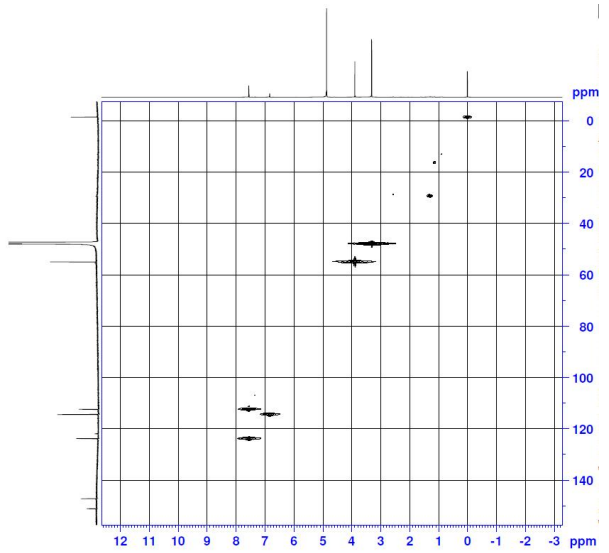
- 분리한 화합물들의 분광데이터 측정은 1D, 2D NMR을 측정하였으며, 분석용매는 CD₃OD를 사용함.

화합물 1의 분광데이터

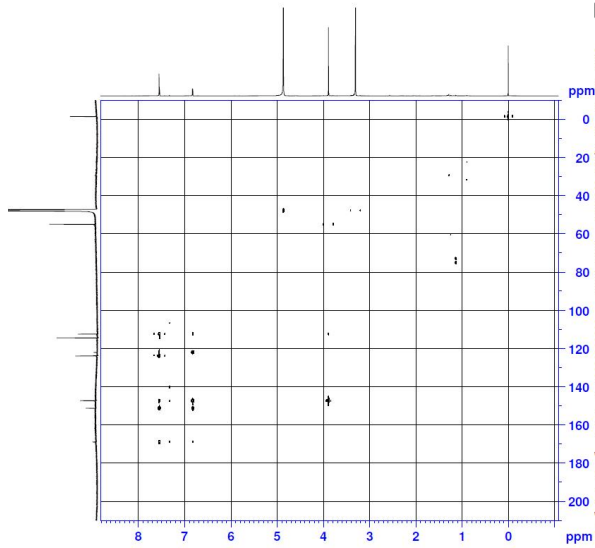




DEPT135

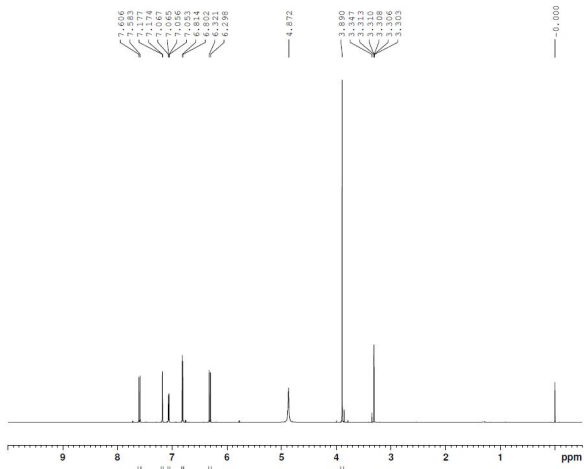


HSQC

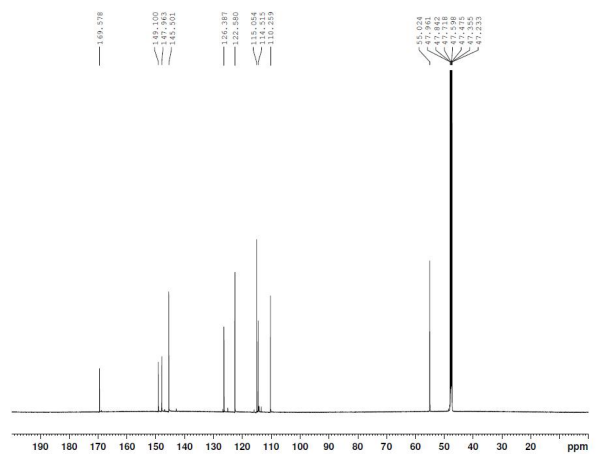


HMBC

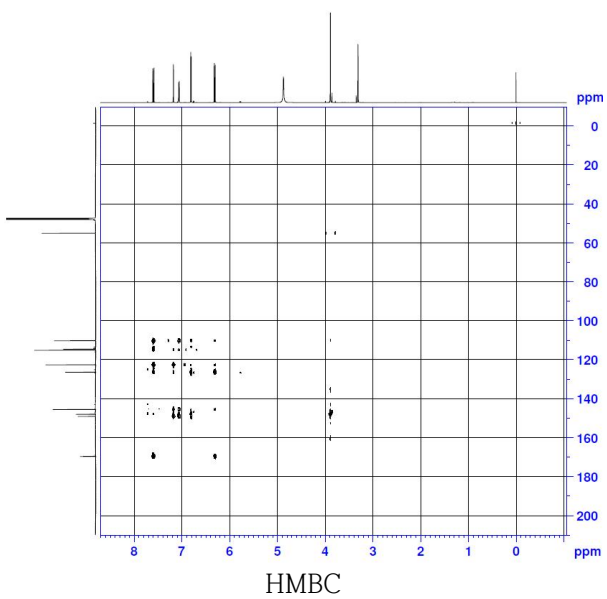
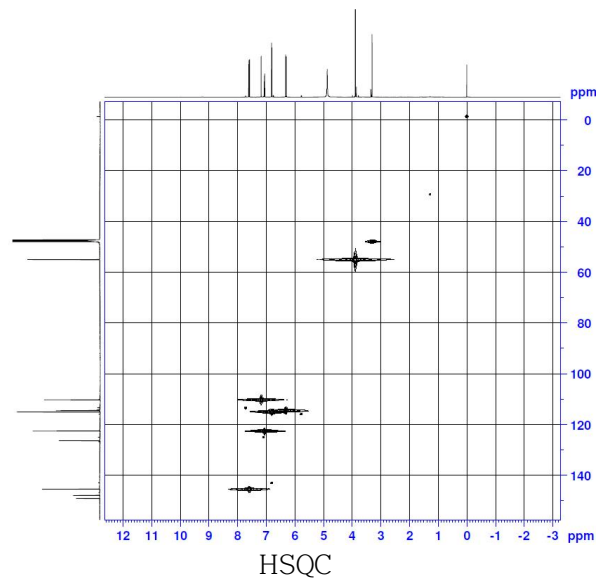
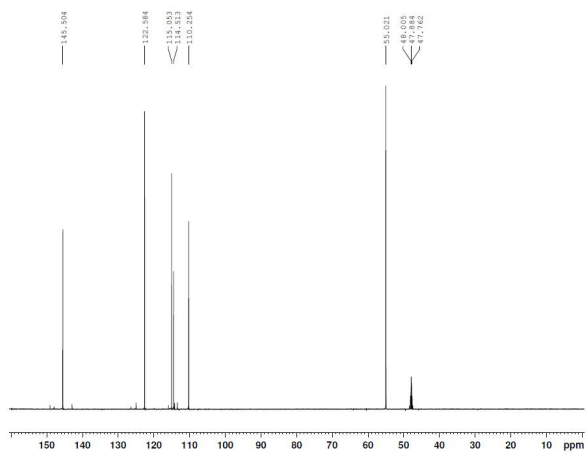
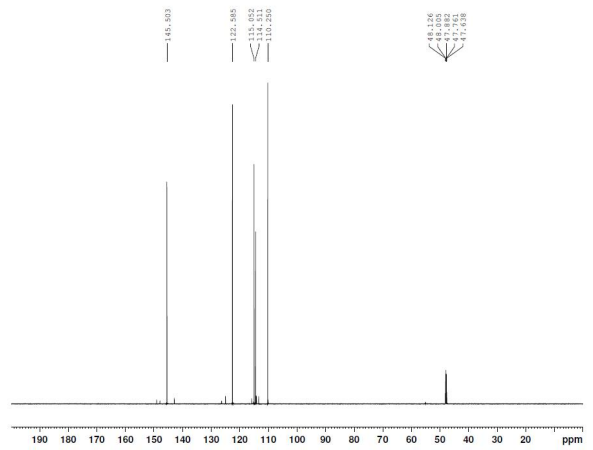
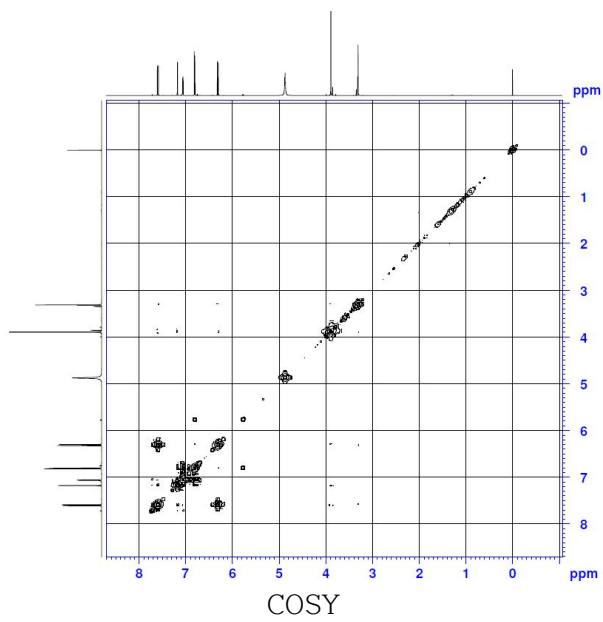
화합물 2의 분광데이터

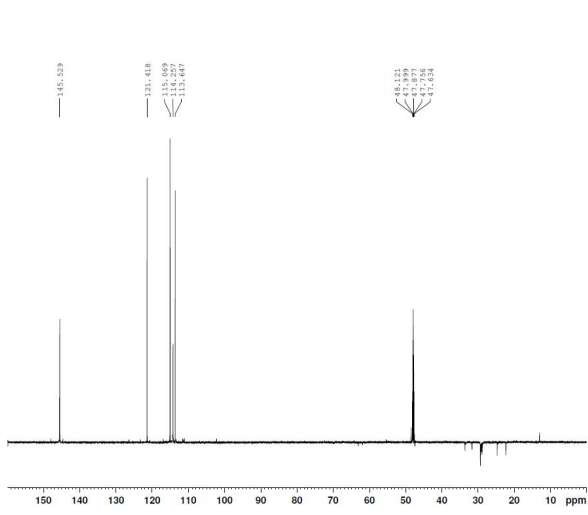


¹H_NMR data

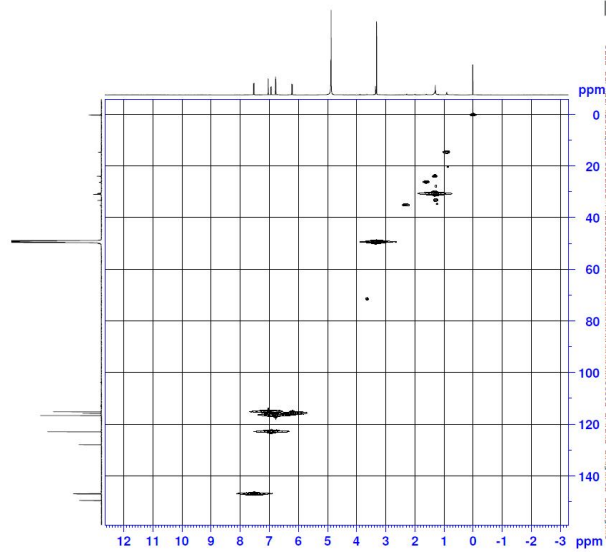


¹³C_NMR data

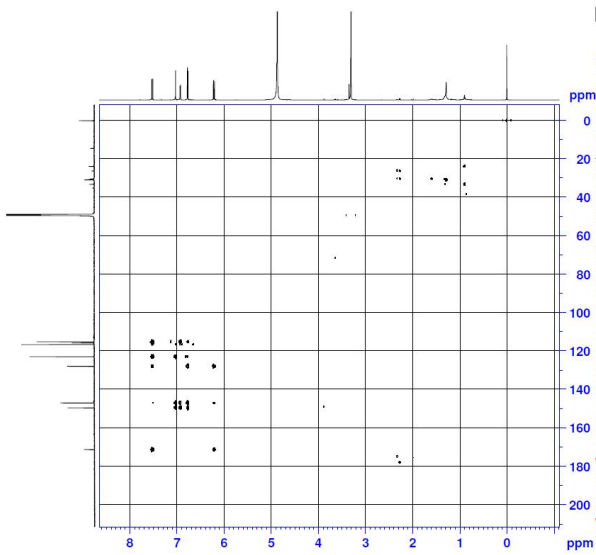




DEPT135

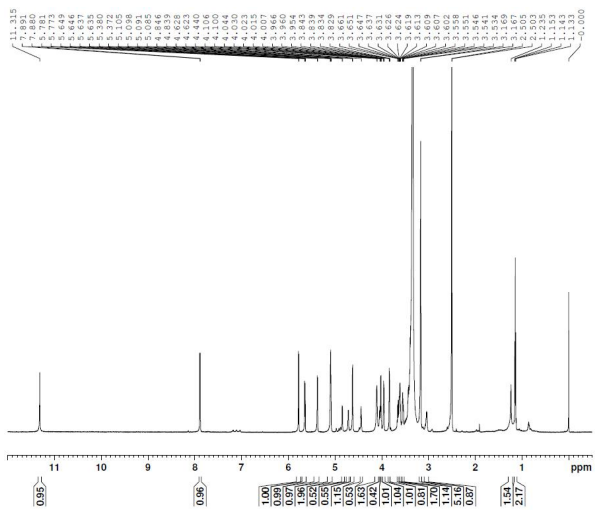


HSQC

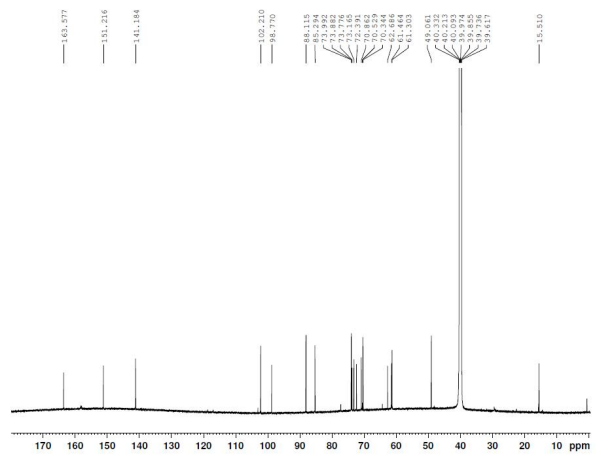


HMBC

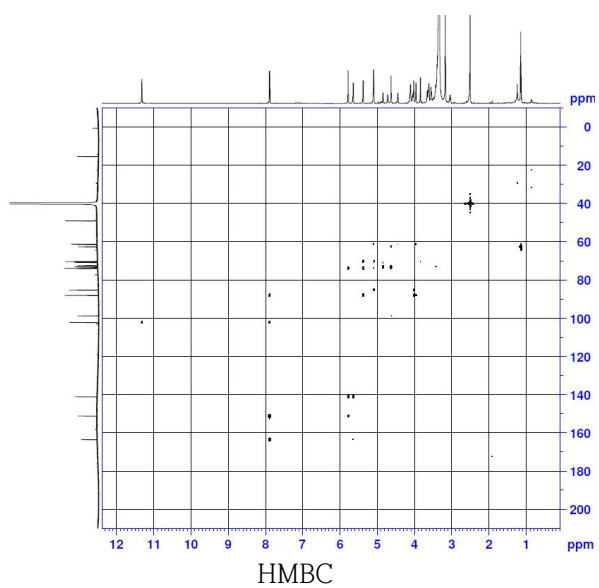
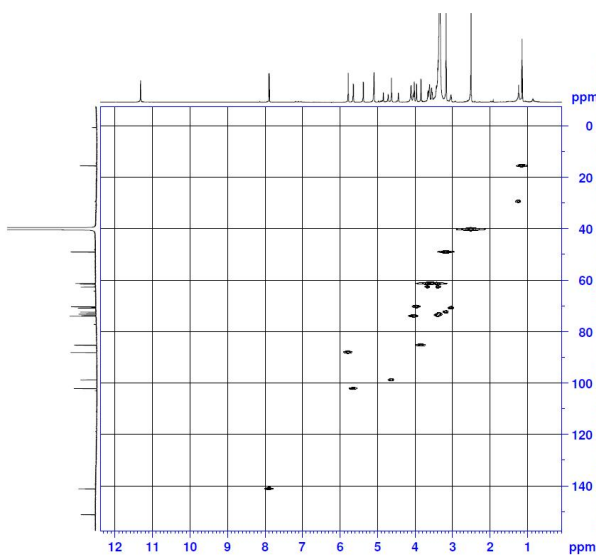
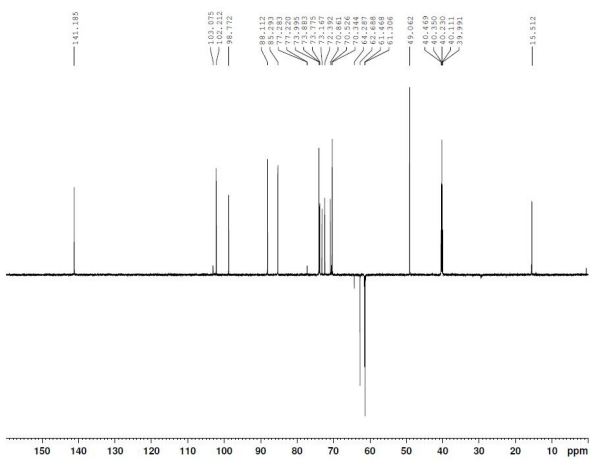
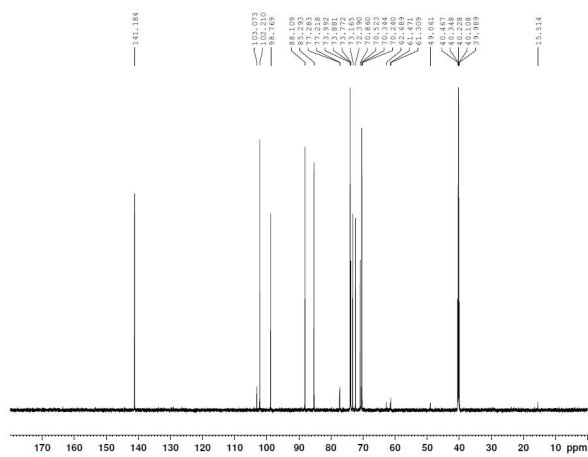
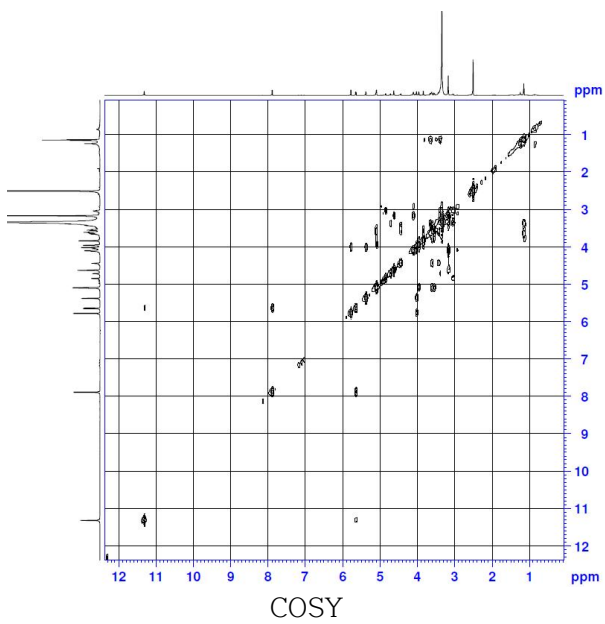
화합물 5의 분광데이터



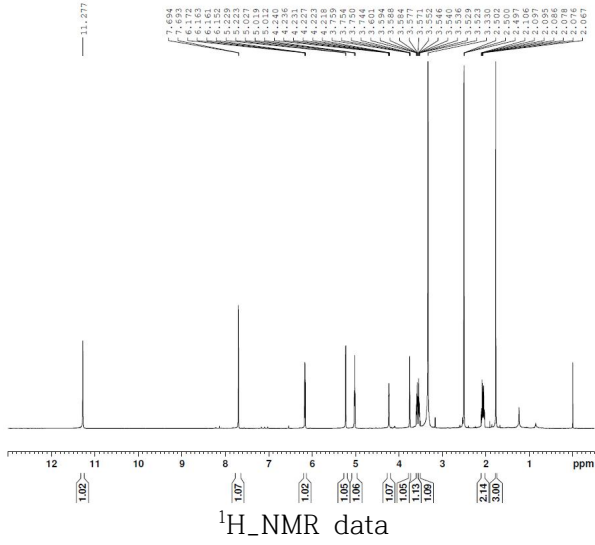
¹H-NMR data

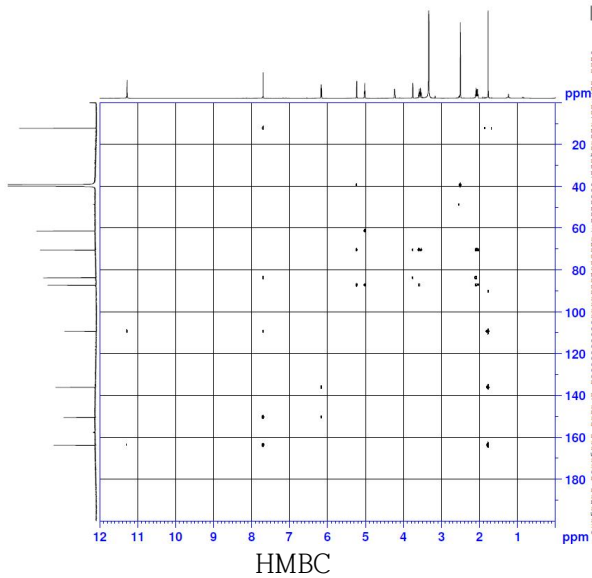


¹³C-NMR data



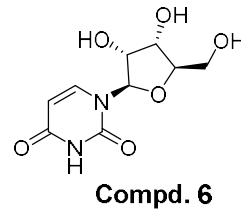
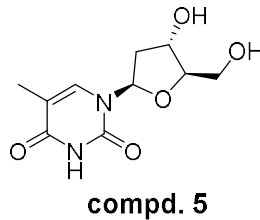
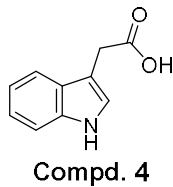
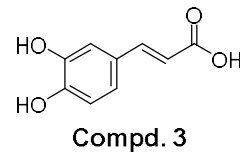
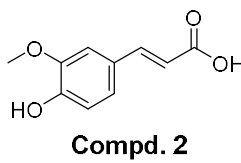
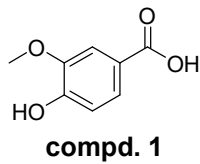
화합물 6의 분광데이터





3) 분리한 화합물의 구조결정

- 분리한 화합물의 구조결정은 NMR(1D, 2D) 등의 분광데이터와 문헌 분석을 통해 결정함.



라. 울무미강슬러지발효추출물 및 시제품 표준화

1) 시험 목적

- 울무멜라 크림 중 지표성분인 trans-ferulic acid 함량 분석방법 및 시료 전처리 방법의 타당성을 검증하고 평가하고자 한다.

2) 시험 내용

- 울무멜라 크림 중 지표성분인 trans-ferulic acid 함량 분석방법 및 시료 전처리방법의 타당성 검증을 실시하였다. 해당 분석법의 특이성, 직선성, 범위, 정확성, 정량한계를 시험하여 확인하였다.

3) 재료

가) 시료

- 울무미강발효추출물(주정:잔사발효추출물=1:5) [제조사: KMF]
- 울무멜라 크림 (제조사: 에스아이바이오, 제조일: 2022/08/23)

나) 표준품

- Trans-ferulic acid 상용표준품 (제조사: Sigma Aldrich, Lot No.: BCBK8910V 순도: 99%)

다) 시약 및 초자

Reagent & Apparatus

Reagent & Apparatus	Manufacture, Grade
Methanol	B&J Honeywell / HPLC grade
0.05% TFA water	Daejung / HPLC grade

라) 기기

Instrument

Instrument	Specification
HPLC systems	SHIMADZU LC-20A
- Detector	UV

4) 분석방법

가) 분석준비

- ① 이동상 조제
 - 이동상은 0.05% TFA Water은 A용매로, Methanol은 B 용매로 사용한다.
- ② 표준용액 조제
 - Trans-ferulic acid 상용표준품 10mg을 정밀하게 취하여 Methanol 1ml로 녹인 후, 10배 희석하여 1000 µg/ml 용액을 제조한다. 이 용액을 membrane syringe filter (pore size 0.45 µm)로 여과하고, 여과한 용액을 표준용액으로 사용한다.
- ③ 시험용액 조제
 - 시료 200 mg을 정밀하게 취하여 Methanol 1 ml에 녹여 30분간 초음파 추출한 후, 이 용액을 membrane syringe filter (pore size 0.45 µm) 로 여과하고, 여과한 용액을 시험용액으로 사용한다.

나) HPLC 분석조건

- 표준용액 및 시험용액을 각각 20 μ l씩 주입하여 다음 조건에 따라 시험한다.

Method of Analysis (HPLC)

Module	Condition
Instrument	HPLC
	A : 0.05% TFA Water
	B : Methanol
	- Gradient elution
	A B
	init. 100 0
Mobile Phase	0 100 0
	30 40 60
	30.01 0 100
	40 0 100
	40.01 100 0
	50 100 0
Column	Kromasil 100-5-C18 (250 x 4.6 mm I.D)
Detector(Wavelength)	UV 330 nm
Flow rate	1.0 ml/min
Injection Volumn	20 μ l
Column Oven Temperature	40°C
Run Time	50 min

다) 정량시험

- 각 표준용액에서 얻은 trans-ferulic acid의 피크면적을 이용하여, 다음 계산식에 대입해 시료 중 trans-ferulic acid 함량을 계산한다.

$$\text{trans-ferulic acid 함량(mg/g)} = \frac{A_T \times W_S \times D_T}{A_S \times W_T \times D_S} \times 1000$$

A_T : 시험용액 중 trans-ferulic acid 피크면적

A_S : 표준용액 중 trans-ferulic acid 피크면적

W_T : 시료를 취한 양 (mg)

W_S : trans-ferulic acid 표준품을 취한 양 (mg)

D_T : 시험용액 희석배수

D_S : 표준용액 희석배수

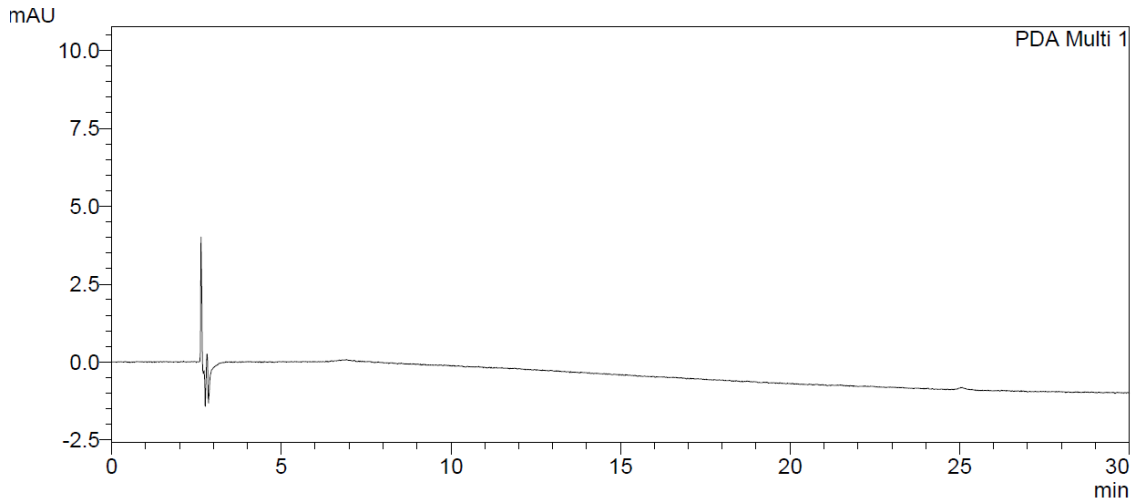
5) 특이성(Specificity)

가) 절차 및 평가기준

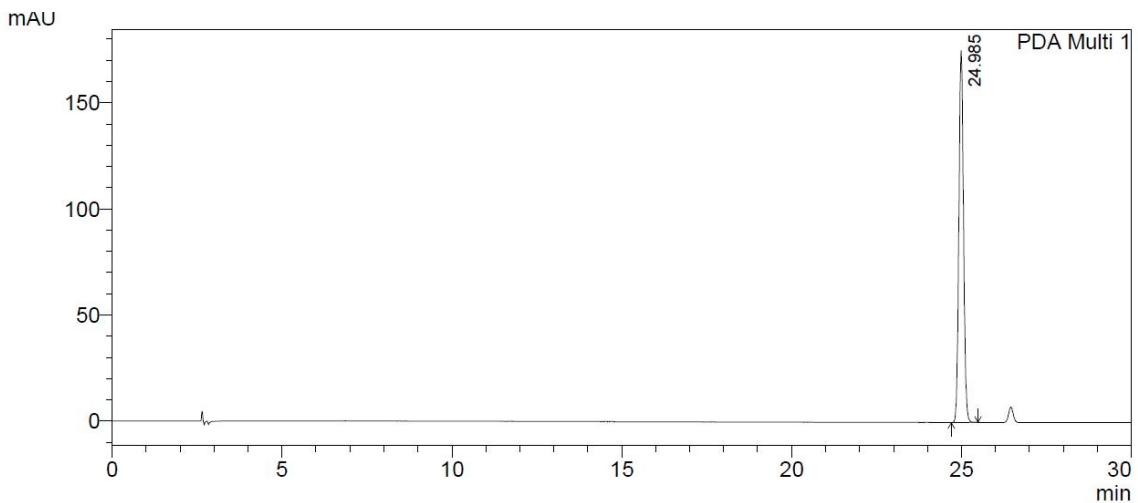
- 특이성이란 불순물, 분해물, 배합성분 등의 혼재 상태에서 분석대상물질을 선택적으로 정확하게 측정할 수 있는 능력을 말한다. Blank와 표준용액, 시험용액의 크로마토그램을 비교하여 특이성을 확인하였다.
- 시험결과 표준용액과 시험용액 중 지표 성분의 피크는 분리시간이 일치하여야 하며, Blank에서는 지표성분의 피크가 검출되지 않아야 한다.

나) 결과

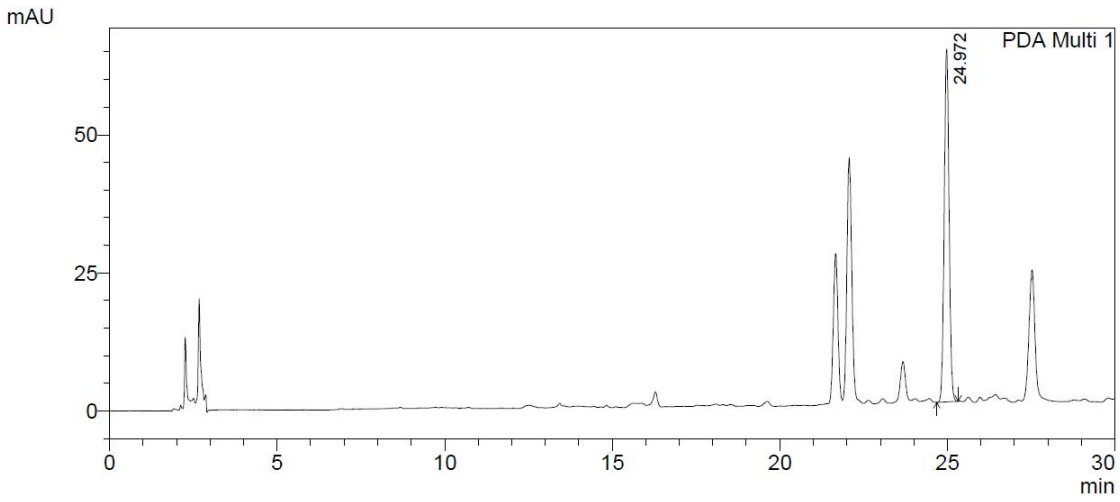
- HPLC 분석 결과 trans-ferulic acid 피크와 기타 성분의 피크가 양호한 분리를 보였으며 trans-ferulic acid 피크의 검출시간(Retention Time)은 약 24.985분이었다. Blank의 크로마토그램에서는 trans-ferulic acid의 피크는 검출되지 않았으며, 표준용액과 시험용액의 크로마토그램에서 trans-ferulic acid의 피크가 일치함을 확인하였다. Blank, 표준용액, 시험용액의 크로마토그램은 아래와 같다.
- 또한 PDA spectrum 분석결과, trans-ferulic acid의 시험물질 및 표준물질의 패턴이 동일함을 나타내어, trans-ferulic acid 특이성은 입증되었다.



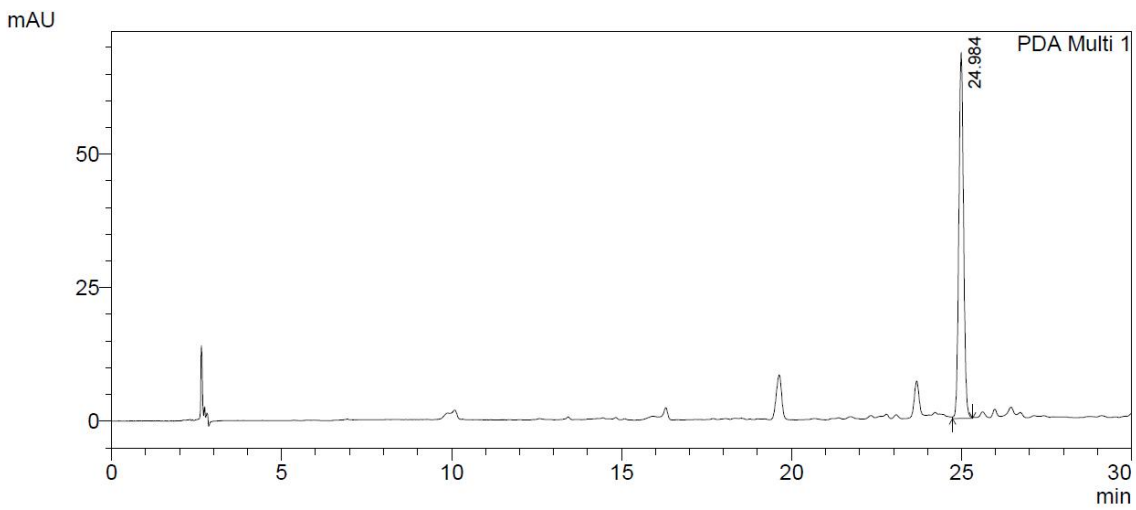
공시험액(Blank) 크로마토그램 - Methanol



표준액(Standard) 크로마토그램 - trans-ferulic acid



울무미강 주정 + 잔사발효 (1:5) 크로마토그램



시험용액(Sample) 크로마토그램

trans-ferulic acid에 대한 표준물질 및 시험물질의 PDA spectrum 분석결과 비교

		울무미강 주정 + 잔사발효 (1:5)	
		크로마토그램	PDA spectrum
trans-ferulic acid	<p>This is a chromatogram of the trans-ferulic acid standard. It shows a major peak at 24.972 minutes, consistent with the sample chromatogram above. The y-axis is mAU (0-50) and the x-axis is time in minutes (0-30).</p>	<p>This is the PDA spectrum of the trans-ferulic acid standard. The y-axis is mAU (0-225) and the x-axis is wavelength in nm (200-350). The spectrum shows a sharp peak at 209 nm (mAU ~225) and a broader peak at 323 nm (mAU ~80). Other labeled peaks are at 224 nm and 236 nm.</p>	

		시험물질	
		크로마토그램	PDA spectrum
trans-ferulic acid			

6) 범위(Range)

가) 절차 및 평가기준

- 분석방법의 범위는 분석 방법이 정밀성, 정확성, 직선성이 적절한 수준임이 밝혀진 상태에서, 검체 내 분석대상물 상하한 농도(량) 사이의 구간(이들 농도를 포함하여)을 의미한다.
- trans-ferulic acid 직선성 시험 시 지표성분 농도 $1 \mu\text{g/ml} \sim 20 \mu\text{g/ml}$ 범위에서 분석하였으며, 정확성 및 정밀성 시험 시 직선성 농도 범위 내에서 시험하였다.
- 직선성, 정밀성, 정확성에서 신뢰성 있는 결과를 얻으면, 분석방법의 범위는 직선성의 지표성분 농도로 정한다.

나) 결과

- 선성 시험 시 지표성분 농도 $1 \mu\text{g/ml} \sim 20 \mu\text{g/ml}$ 범위에서 분석하였으며, 정확성 및 정밀성 시험 시 직선성 농도 범위 내에서 시험하여 신뢰성 있는 결과를 얻었으므로, 범위는 직선성의 지표성분 농도인 trans-ferulic acid $1 \mu\text{g/ml} \sim 20 \mu\text{g/ml}$ 로 정하였다.

7) 직선성(Linearity)

가) 절차 및 평가기준

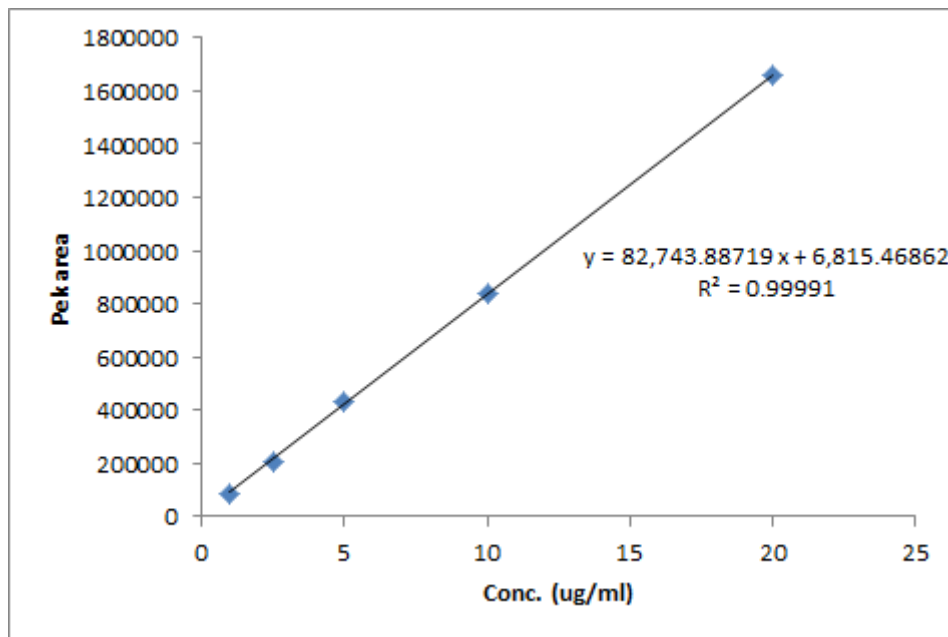
- 직선성이란 실험방법이 일정 범위에 있는 시료 중 분석대상물질의 양 (또는 농도)에 대하여 직선적인 측정값을 얻어낼 수 있는 능력을 말한다. 표준품을 시험법에 따라 농도별(최소 5농도)로 조제하여 해당범위에서 회귀직선을 작성하였을 때 직선성($R^2 \geq 0.999$)을 나타내어야 한다.
- 표준용액은 trans-ferulic acid 표준품 혼합액을 $1 \mu\text{g/ml}$, $2.5 \mu\text{g/ml}$, $5 \mu\text{g/ml}$, $10 \mu\text{g/ml}$ 및 $20 \mu\text{g/ml}$ 농도로 조제하여 HPLC 분석조건에 따라 분석한다. 5회 반복 시험한 후 회귀직선으로부터 상관결정계수(Coefficient of Determination, R^2)를 구한다.
- 회귀직선으로부터 얻은 상관결정계수(R^2)는 0.999 이상이어야 한다.

나) 결과

- trans-ferulic acid의 직선성을 5회 반복 시험한 결과 각각 0.99990, 0.99991, 0.99990, 0.99992, 0.99992 의 상관결정 계수(R^2)를 나타내었으며 평균 상관결정계수(R^2)는 0.99991로 기준에 적합하였다.
- trans-ferulic acid의 직선성 5회 농도, 피크면적과 회귀직선은 아래와 같다.

직선성시험 1회 -trans-ferulic acid

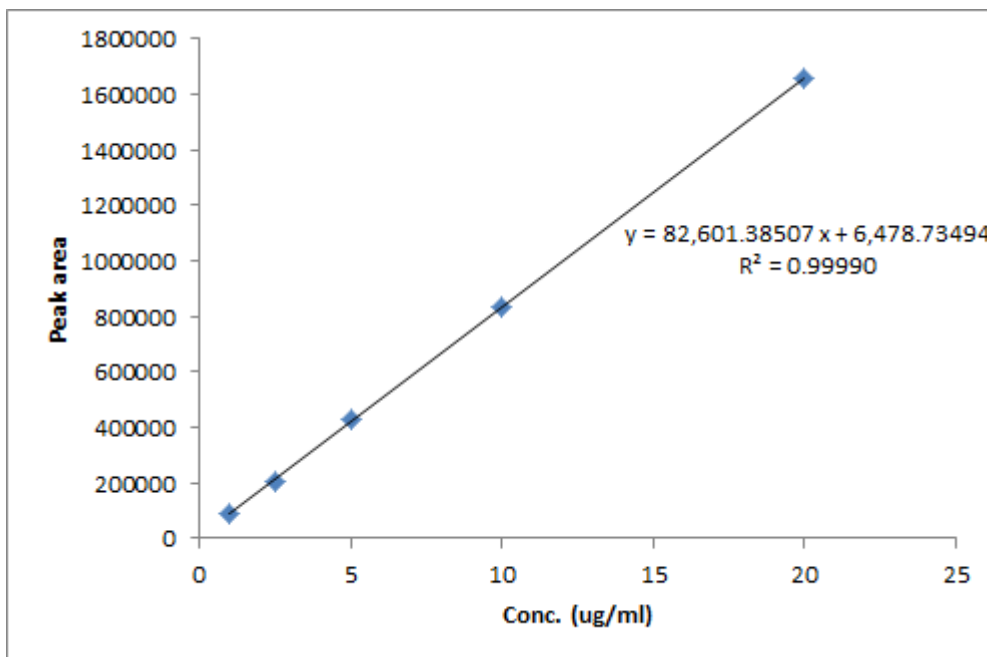
No.	지표성분 농도($\mu\text{g}/\text{ml}$)	지표성분 피크면적
1	1	88712
2	2.5	205869
3	5	429319
4	10	836349
5	20	1659468
기울기		83743.88719
y절편		6815.46832
R^2		0.99991



직선성 1회(Linearity-1) - trans-ferulic acid

직선성시험 2회 - trans-ferulic acid

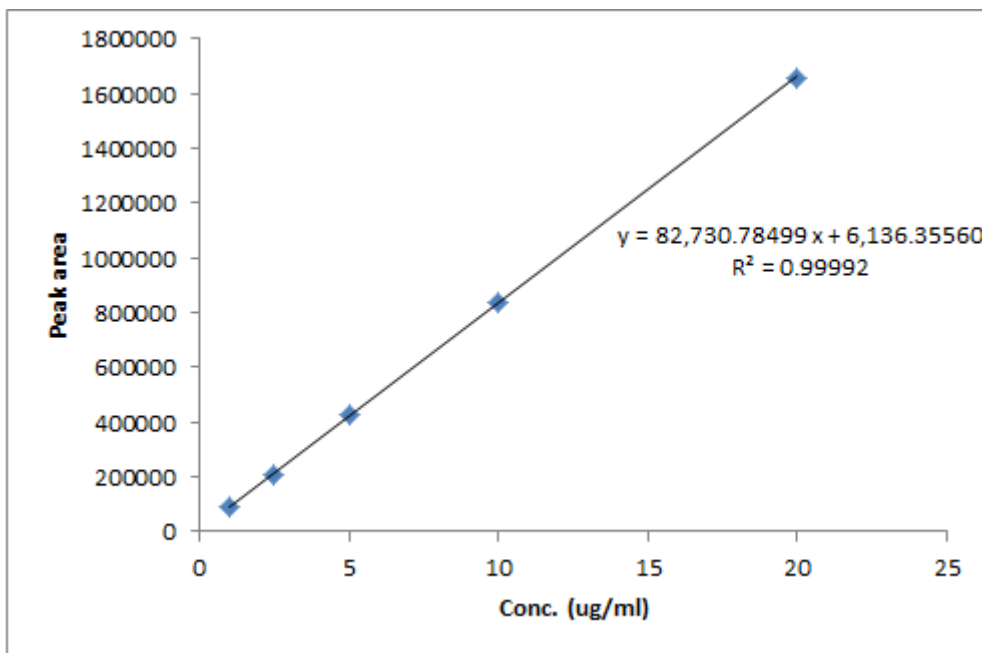
No.	지표성분 농도($\mu\text{g}/\text{ml}$)	지표성분 피크면적
1	1	89316
2	2.5	204235
3	5	428081
4	10	834459
5	20	1656456
기울기		82601.38507
y절편		6478.73494
R^2		0.99990



직선성 2회(Linearity-2) - trans-ferulic acid

직선성시험 3회 - trans-ferulic acid

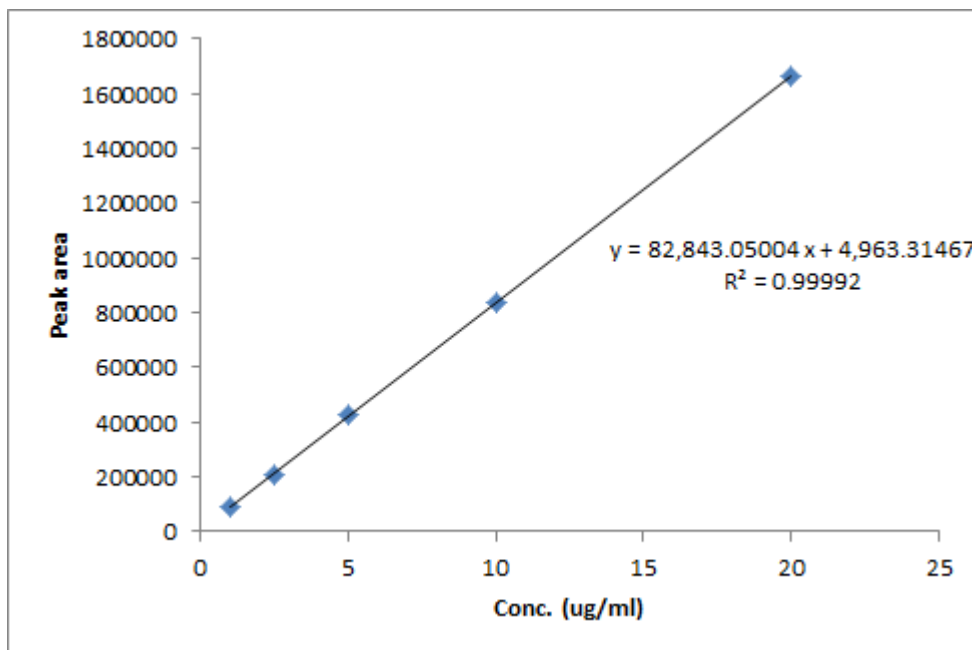
No.	지표성분 농도($\mu\text{g}/\text{ml}$)	지표성분 피크면적
1	1	89135
2	2.5	205050
3	5	427844
4	10	834703
5	20	1659085
기울기		82730.748499
y절편		6136.35560
R^2		0.99992



직선성 3회(Linearity-3) - trans-ferulic acid

직선성시험 4회 - trans-ferulic acid

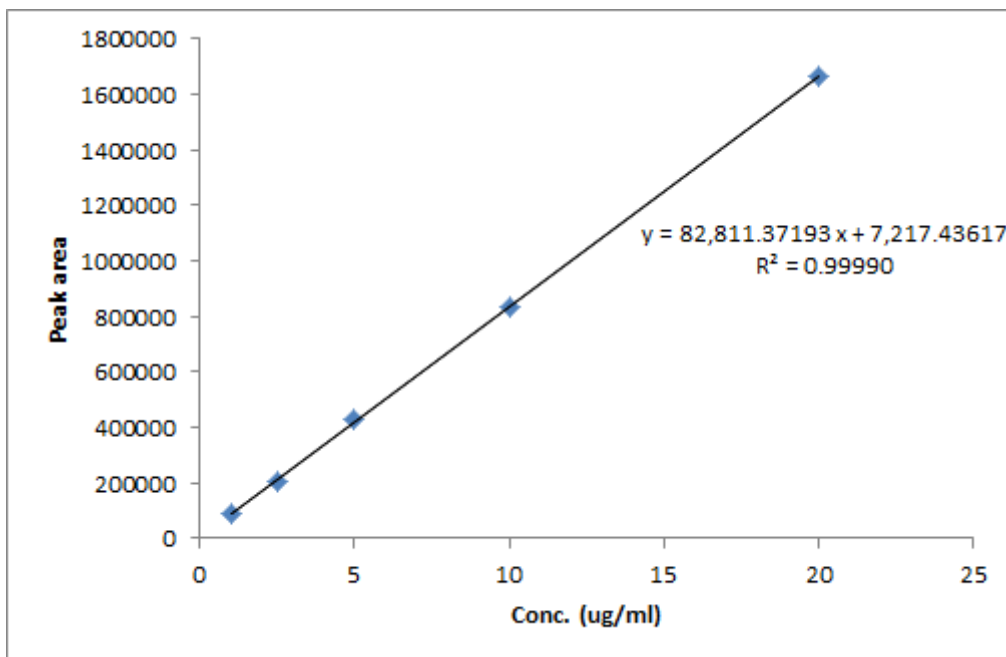
No.	지표성분 농도($\mu\text{g}/\text{ml}$)	지표성분 피크면적
1	1	88251
2	2.5	204484
3	5	427834
4	10	832843
5	20	1660862
기울기		82843.05004
y절편		4963.31467
R ²		0.99992



직선성 4회(Linearity-4) - trans-ferulic acid

직선성시험 5회 - trans-ferulic acid

No.	지표성분 농도($\mu\text{g}/\text{ml}$)	지표성분 피크면적
1	1	88334
2	2.5	207072
3	5	431654
4	10	835536
5	20	1661729
기울기		82811.37193
y절편		7217.43617
R ²		0.99990



직선성 5회(Linearity-5) - trans-ferulic acid

8) 정량한계(Limit of Quantitation)

가) 절차 및 평가기준

- 정량한계란 적절한 정밀성과 정확성을 가진 정량 값으로 표현할 수 있는 시료 중 분석 대상물질의 최소농도를 말한다.
- 3회 직선성 시험에서 얻은 회귀직선식에서 Y절편과 기울기를 가지고 다음과 같이 계산한다.
- 정량한계 (LoQ) = $10 \times \delta / S$
 δ = 회귀직선에서 Y절편의 표준편차
 S = 회귀직선 기울기의 평균
- 정량한계는 직선성 시험의 최저 시험농도 이하이어야 한다.

나) 결과

- 이 시험법의 trans-ferulic acid 정량한계는 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 직선성 시험의 최저농도인 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이하이며 검증된 범위(Range)의 모든 시험결과를 신뢰할 수 있다.

정량 한계 - trans-ferulic acid

항목	y절편	기울기
직선성 1	6815.46862	83743.88719
직선성 2	6478.73494	82601.38507
직선성 3	6136.35560	82730.78499
직선성 4	4963.31467	82843.05004
직선성 5	7217.43617	82811.37193
y절편 평균	6322.262	
기울기 평균	82946.096	
정량한계($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.1	

마. 울무와 염주의 유전자 판별기술개발

1) 유전자판별기술 연구 배경 및 목적

- 우리나라의 우수 품종 개발 및 보존을 위해서 생물의 형태 및 진화의 모든 정보를 보유하고 있는 유전적 특성을 파악하는 과정이 필수적임
- 최근 급속히 발전하는 유전체 연구방법으로 근연종 간의 유전적 분석을 통해 국내 우수 품종의 활용성 증진을 위한 분자마커 개발이 요구됨
- 본 연구는 산업적 이용을 위한 울무와 근연종(염주 포함)을 대상으로 형태 및 유전학적 특성을 이용하여 이들의 차이를 구명하고 판별기술을 확립하고자 함

2) 연구 내용

가) 울무

① 분석대상종 개요

울무[*Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* (Rom.Caill.) Stapf]는 벼과(Poaceae Barnhart) 울무속(*Coix* L.)에 속하는 초본으로 기본종은 염주(*Coix lacryma-jobi* L.)이다. 주요 분포지는 아시아이며, 중국을 비롯하여 베트남, 태국, 필리핀, 인도에 이르기 까지 광범위하게 자라고 있으며, 우리나라는 1078년에 송나라에서 들어왔다는 기록과 함께 조선 중기에 많이 재배되었던 것으로 추정

되고 있다. 이 식물은 약용 또는 식량자원으로 사용되어 왔으며, 높은 단백질 함량과 바이오매스로 유용함이 알려짐으로써 가축의 사료로 이용되고 있다. 최근 약리학 연구에 따르면 울무 추출물은 항암, 항산화, 항염증에 효과를 보일뿐만 아니라, 지방 대사 조절 등 다양한 약리학적 효능을 보이는 것으로 확인되었다.



그림. 울무 재배지(좌)와 열매(우)

울무는 1년생 식물로 농작물로 재배하며, 국내 생산의 대부분은 경기도 연천과 충청북도 제천에서 생산된다. 줄기의 높이는 100~160 cm이고, 마디는 10개 이상이다. 잎집은 마디사이보다 짧고 털이 없다. 잎몸은 길이 20~50 cm, 너비 1.5~4.0 cm이고 중앙맥이 굵고 눈에 띈다. 잎혀는 막질로 길이 0.6~1.2 mm이다. 꽃은 7~9월에 피며, 꽃차례는 줄기 위쪽 잎겨드랑이에서 2~5개의 수상꽃차례가 나오며, 아래쪽은 암꽃차례가 위치하고 위쪽은 수꽃차례가 달린다. 암꽃차례는 잎집이 변해서 생긴 향아리모양의 꽃싸개에 싸여 있고 꽃싸개는 지름 5~9 mm, 길이 10~13 mm, 긴달걀 모양으로, 단단하고 세로로 주름이 있고, 그 속에 3개의 작은 꽃이 있으나 2개는 퇴화되어 열매를 맺지 못하고, 1개의 작은 꽃만 열매로 성숙한다. 암술머리는 꽃싸개 밖으로 나오고, 1개 영과가 익는다. 수꽃차례는 긴 자루가 있어 암꽃차례의 꽃싸개로부터 나와 밑으로 늘어지며 한 마디마다 1~3개의 수꽃이 배열된다. 울무와 유사한 염주는 열매가 달걀 모양 또는 동그란 모양으로 꽃싸개가 단단하고 표면에 흠이 파이지 않는다.

울무의 연구는 대부분 생리활성에 대한 연구가 주를 이루었으며, 위암 세포 성장을 억제하는 기능, 혈당 조절 효과, 항비만 활성 효과등이 있다. 분류학적 연구는 형태학적 특성에 따른 분류와 핵형학적 연구등이 있으며, 계통연구는 5 분류군의 엽록체 유전체를 분석한 연구가 있으나, 단순히 엽록체 유전체를 밝히고, 변이 정도만 제시했을 뿐, 종 식별을 위한 DNA 바코드 및 분자마커에 대한 정보는 제공하지 않았다.

따라서 본 연구는 기존 연구의 한계점을 파악하고 형태 및 유전적 데이터를 융합하여 종특이적인 마커를 발굴할 것이다.

3) 연구 방법

가) 울무 및 근연종의 형태 및 유전적 분석

① 개체군 선정 및 생태 특성 조사

문헌 조사를 통해 연구대상종의 분포를 파악한 후, 연구에 적합한 분포지를 선정한다. 이후 현장조사를 통해 연구대상종의 현황을 조사하고, 종을 대표할 수 있는 개체를 파악한다.

② 시료 채취 및 DNA 추출

현장에서는 식물의 어린잎을 중심으로 채취한다. 채취한 시료는 냉동 박스에 담아 실험실로 운반 후 액체질소를 이용하여 급속 냉동한 뒤 -70℃ 냉동고에 보관하거나, 실리카겔을 이용하여 급속 건조 후 연구에 사용한다. 채취한 시료로부터 DNA를 추출하고, 연구대상종에 적합한 DNA 추출 키트 또는 실험법을 적용한다. 추출된 DNA는 Nanodrop Spectrophotometer 또는 Qubit Fluorometer 등으로 흡광도를 측정하여, 일정 농도로 희석하여 냉동고에 보관한다. 차세대 염기서열 분석 기술을 활용하는 방법의 특성상 양질의 고농도 DNA를 확보할 수 있도록 생체시료 채집 및 보관 단계부터 주의를 기울인다.

③ 분석방법

(가) 형태 형질 비교 분석

- 학명 검증 및 기재 확보
 - 국가표준식물목록(산림청), 국가생물종목록(환경부) 및 최근 연구보고 등 국제식물명명규약에 부합하는 식물명(학명)을 부여한다.
 - 국내외 식물지와 논문 등을 참고하여 식물 기재를 확보한다.



그림. 학명 검증 예시

- 형태 형질 분석을 위한 표 작성 및 표본 관찰
 - 벼과식물의 형태 형질을 선정한다.
 - 직접 채집한 표본을 비롯하여 다양한 시기에 확보된 표본을 관찰하고 분석한다.
 - 형태 분석을 완료한 후, 기재를 작성하여 종의 차이를 분석한다.



그림. 형태 형질 분석표와 관찰 표본 예시

(나) 차세대 유전체 분석 기술을 이용한 엽록체 유전체 완전 해독

- NGS 차세대 염기서열 분석 장비를 이용한 염기서열 분석
 - 울무 및 근연종의 DNA는 정량 및 정성적 품질을 체크한 후 라이브러리를 제작한다. 제작된 라이브러리는 Illumina 시퀀싱 (Hiseq 2500 또는 Hiseq Ten X)를 이용하여, pair-end 방식으로 염기서열 정보를 확보한다.

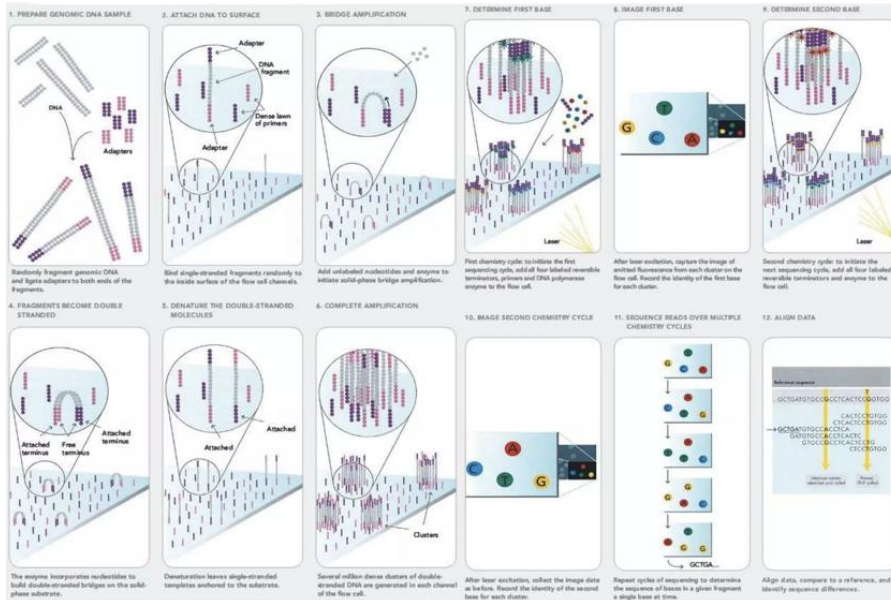


그림. Illumina 분석 과정 모식도

- 생산된 대량의 염기서열 정보 중 식물 유전체 크기의 0.5~1X의 low coverage에 해당하는 데이터를 이용하여 엽록체 유전체 정보를 완성한다.

• 엽록체 염기서열 분석 과정

- Illumina 분석 장비로 얻은 raw data는 quality value가 20이상인 데이터를 필터링한 후 어셈블을 수행하고, 생성된 데이터셋은 이미 공개된 레퍼런스 엽록체 염기서열과 비교하여, 엽록체 염기서열로 확인되는 contig를 추출하고 이들의 순서를 결정한다.
- 이후 유사종 혹은 이미 연구된 엽록체 염기서열을 이용하여 raw data의 엽록체 염기서열 분포를 측정한다.
- 엽록체 염기서열이 약 100~120X의 양이 되도록 랜덤하게 서열을 추출하여 적은 양의 염기서열을 생성한다.

• 엽록체 염기서열 완성 과정

- Geneious Prime 프로그램을 이용하여, de novo assembler 과정을 수행하여, 1차 어셈블된 엽록체 염기서열 정보를 확보한다.
- 확보된 1차 엽록체 염기서열 정보를 레퍼런스 엽록체 염기서열과 비교하여 각 contig의 순서 및 방향을 결정한다.
- 초기 엽록체 유전체 서열에 raw read를 mapping 하여 mapping distribution을 얻고 이를 근거로 gap filling 및 assembly error, junction, species-specific gap 부위를 확인한다.
- 추가로 의심되는 유전자 구간은 각각 프라이머를 제작하여 PCR을 수행하고, 염기서열을 확인 후에 최종적으로 완전한 엽록체 유전체를 완성한다.

• 엽록체 유전체를 이용한 분자마커 개발

- 엽록체는 식물의 DNA 바코딩 시스템의 가장 효율적인 유전자 구간이다.
- 울무 및 근연종의 엽록체 유전체 완전 분석으로 확인할 수 있는 변이 구간을 대상으로 특이적인 프라이머를 제작 및 적용하여 종간 다형성을 확인하고, 이를 종 특이적 분자 마커로 개발할 수 있다.

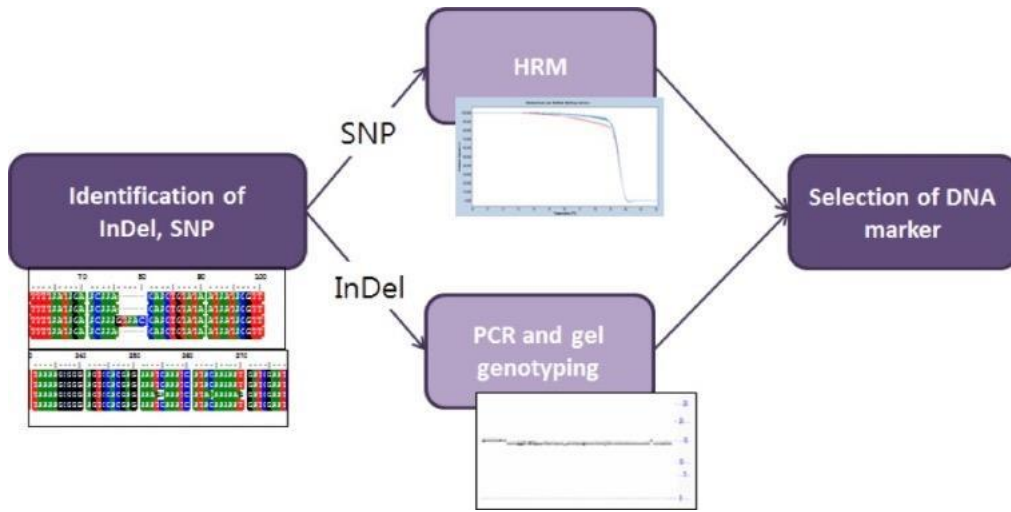


그림. SNP, InDel을 활용한 DNA 마커 개발 과정

4) 연구 결과

가) 울무 및 근연종의 샘플 결과

- 문헌 조사 및 자생지 조사 결과, 울무는 주요 생산지인 경기도 연천, 충청북도 제천의 재배지에서 확보하였으며, 근연종인 염주는 제주도에 자생하고 있는 집단을 확보하였다.
- 울무: 경기도 연천 집단 5개체, 충청북도 제천 집단 5개체
- 염주: 제주도 서귀포 집단 6개체

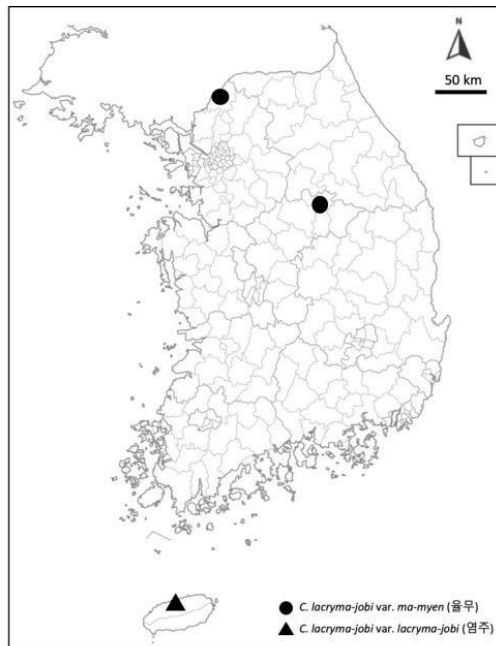


그림. 울무와 염주의 채집 지역

나) 울무와 염주의 형태 분석 결과

① 울무 기재

- 울무 [*Coix lacymajobi* var. *mayuen* (Rom. Caill.) Stapf ex Hook. f.]

초본으로 일년생 식물이며, 줄기는 높이 100~150 cm, 마디는 열개 이상이다. 엽초는 절간보다 짧고 털이 없다. 엽신은 길이 20~50cm, 너비 1.5~4.0cm, 중악맥이 굵고 눈에 띈다. 엽설은 길이 0.6~1.2 mm, 막질이다. 꽃은 7~9월에 피며 화서는 줄기 위쪽 엽액에서 2~5개의 길고 짧은 수상화서가 나오며 아래쪽에 자화수 위쪽에 웅화수가 달린다. 자화수는 엽초가 변해서 생긴 향아리모양의 총포엽에 싸여 있고 총포엽은 지름 5~9mm, 길이 13mm, 장난형, 단단하고 세로로 주름이 있으며 그 속에 3개의 소화가 있으나 2개는 퇴화되어 불임성이고 1개 소화가 임성이며 암술머리가 총포엽 밖으로 나오고, 1개의 영과가 익는다. 웅성소수가 모여서 만든 웅화수는 긴 자루가 있어서 자화수의 총포엽으로부터 나와 밑으로 늘어지며 한 마디마다 1~3개 웅소수가 배열된다.

② 엽주 기재

- 엽주 (*Coix lacymajobi* L.)

초본으로 일년생 식물이며, 줄기는 높이 80~250 cm, 마디는 열개 이상이다. 엽초는 절간보다 짧고 털이 없다. 엽신은 길이 20~50cm, 너비 1.5~3.5cm, 중악맥이 굵고 눈에 띈다. 엽설은 길이 0.6~1.1 mm, 막질이다. 꽃은 7~9월에 피며 화서는 줄기 위쪽 엽액에서 1~6개의 길고 짧은 수상화서가 나오며 아래쪽에 자화수 위쪽에 웅화수가 달린다. 자화수는 엽초가 변해서 생긴 향아리모양의 총포엽에 싸여 있고 총포엽은 지름 8~12mm, 길이 13mm, 난형, 단단하고 광택이 있으며 그 속에 3개의 소화가 있으나 2개의 측소화는 퇴화되어 불임성이고 1개 소화가 임성이며 암술머리가 총포엽 밖으로 나온다. 웅성소수가 모여서 만든 웅화수는 긴 자루가 있어서 자화수의 총포엽으로부터 나와 밑으로 늘어지며 웅소수는 유병소수와 무병소수가 짝지어 빈틈없이 화축에 배열된다.

주요 형질 차이: 율무는 열매가 엽주에 비해 향아리 모양의 총포엽이 장난형이며 부서지기 쉽고, 열매 표면에 세로로 홈이 있다. 또한, 화서는 비스듬히 위를 향하거나 늘어지는 경향이 있음.

다) DNA 분석 및 판별 마커 개발 결과

① 엽록체 유전체 결과

- 엽록체 유전체 크기는 율무가 140,765 bp, 엽주가 140,758bp로 확인되었다.

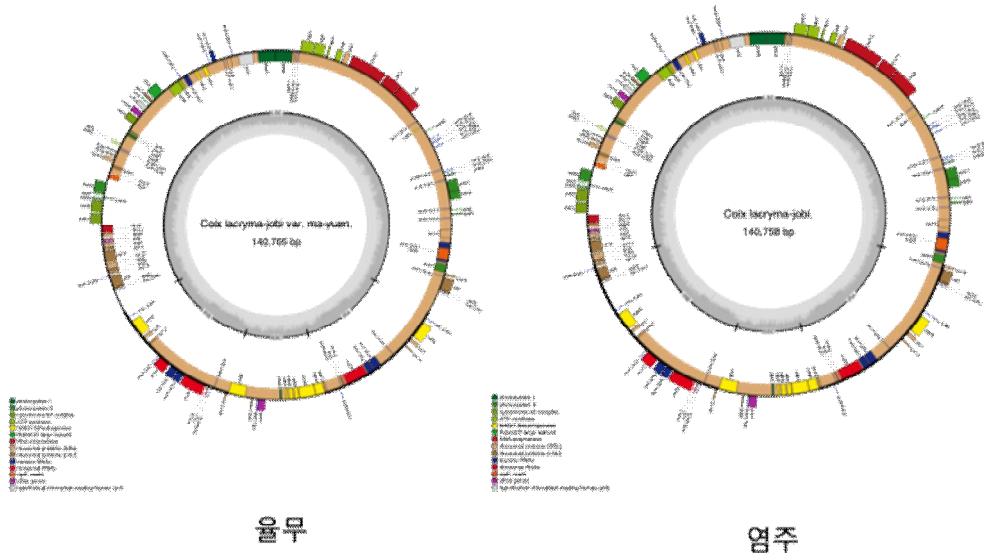


그림. 율무와 엽주의 엽록체 유전자 지도

② 판별 마커 결과

(가) DNA 추출 및 변이 구간 확인

- 울무 5개체와 염주 6개체에 대한 DNA 추출 완료

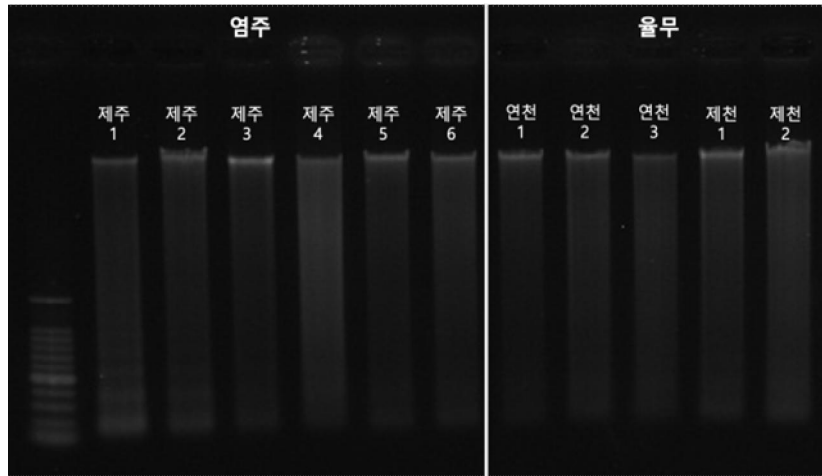


그림. 울무와 염주의 total DNA 추출 결과

- 울무와 염주의 변이 구간을 비교 분석하여 판별 마커 후보 확인
- 코딩 지역인 *ndhF*와 *matK*, 논코딩 지역인 *petA-psbJ* 총 3개 마커 적용

Primer name	sequence information	product size
<i>ndhF</i> _65F	CGCCCTCCCCCTACATATTT	936 bp
<i>ndhF</i> _1000R	TCCACCTCTTGCTTGCTTCT	
<i>petA</i> _699F	GGATGGACGCCAAGTGATTG	1188 bp
<i>psbJ</i> _34R	CGGTTCGTATTCTGGATTGGG	
<i>matK</i> _27F	AAAACAGAAATCTCGTCAACT	1110 bp
<i>matK</i> _1136R	AAGGATCCAACGAGGGGAGT	

그림. 울무와 염주 판별 프라이머 정보

- 제작된 판별 프라이머는 PCR 성공률이 높았음

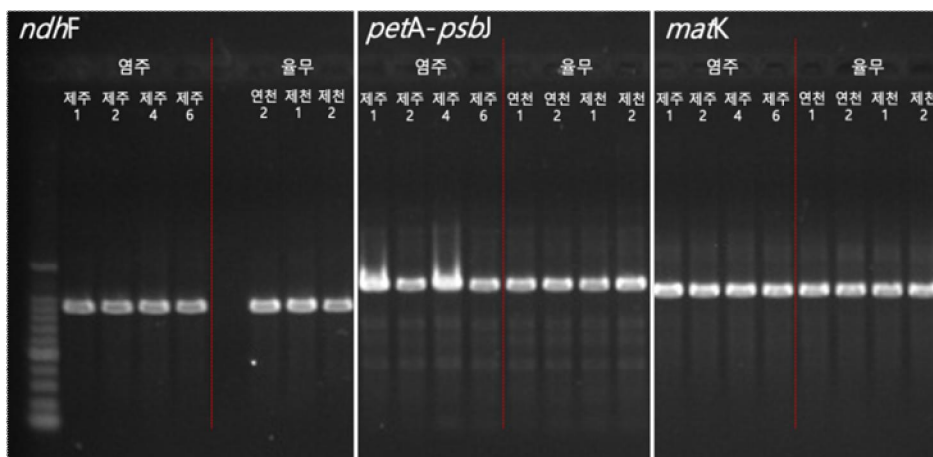


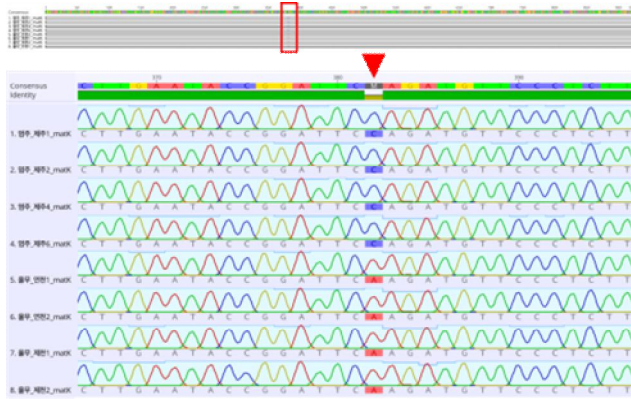
그림. 울무와 염주의 PCR 결과

(나) 울무와 염주의 염기서열 차이 결과

- *ndhF* 마커는 3 bp가 차이남
- *matK* 마커는 1 bp가 차이남
- *petA-psbJ* 마커는 2 bp가 차이남

표. 울무와 염주에 대한 종 판별 마커의 염기서열 차이

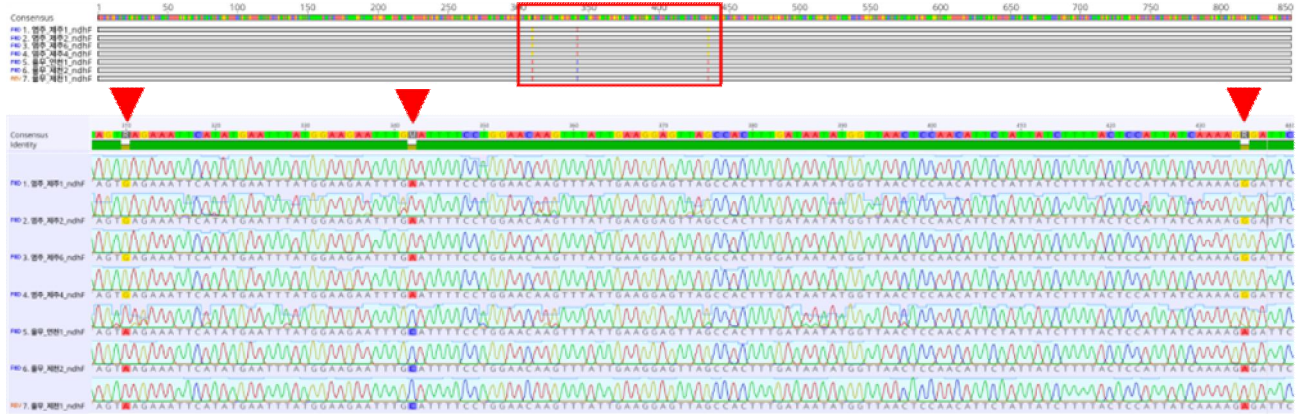
	<i>ndhF</i>			<i>matK</i>	<i>petA-psbJ</i>	
염기위치	310	342	435	382	605	640
울무	A	C	A	A	C	A
염주	G	A	G	G	A	C



matK 마커의 염기서열 차이



petA-psbJ 마커의 염기서열 차이



ndhF 마커의 염기서열 차이

5). 연구 결론

- 울무와 염주의 형태는 매우 유사하지만, 울무의 열매는 염주에 비해 항아리 모양의 총포엽이 장난형이며 부서지기 쉽고, 열매 표면에 세로로 홈이 있다는 점과 화서가 비스듬히 위를 향하거나 늘어지는 경향이 있으므로 구별이 가능하였다.
- 울무와 염주의 엽록체 유전체를 모두 분석하였으며, 이 두 분류군 간에 차이가 나는 특정 구간을 확인하였고, 이를 구분하기 위한 특이적 프라이머를 제작하였다.
- 울무와 염주가 구분되는 3개 마커(*ndhF*, *matK*, *petA-psbJ*)를 개발하였으며, 총 6bp의 차이를 비교함으로써 종을 구별 할 수 있다.

6). 유전자판별기술 개발 결과 및 활용

- 본 연구를 통해 파악한 울무와 근연종의 형태 및 유전적 연구는 그동안 중간 불확실한 차이점을 분명하게 제시하고, 구별 마커를 개발함으로써 약용 및 식품 시장에서 종구별 시스템의 본격화를 위한 분자마커로 활용할 수 있을 것으로 기대한다.

2.2. 에스아이바이오(주) (2세부)

가. 기능성원료 ICID 등재

1) Assigned INCI 등재 완료

- Lactobacillus/Coix Lacryma-Jobi Ma-yuen Bran Ferment Extract

ICID검색

전체검색 ▼ 10줄 ▼ Lactobacillus/Coix Lacryma 검색

번호	INCI Name	영문	국문	비고	배합한도
1	Lactobacillus/Coix Lacryma-Jobi Ma-yuen Bran Ferment Extract	Lactobacillus/Coix Lacryma-Jobi Ma-yuen Bran Ferment Extract	락토바실러스/율무겨발효추출물	ICID	없음

2) 대한화장품협회 한글명 등재 완료

- 성분명: 락토바실러스/율무겨발효추출물
- 영문명: Lactobacillus/Coix Lacryma-Jobi Ma-yuen Bran Ferment Extract



성분사전 이용안내 성분명 표준화 신청 성분명 검색 원료사 정보검색 알림마당



성분 기본정보

성분코드	22632	
성분명	락토바실러스/율무겨발효추출물	구명칭
영문명	Lactobacillus/Coix Lacryma-Jobi Ma-yuen Bran Ferment Extract	
기원 및 정의	이 원료는 Lactobacillus 속의 미생물로 율무 Coix lacryma-jobi ma-yuen의 겨를 발효하여 추출한 것이다.	

나. 소재의 안전성평가 실시

- 인체접포시험을 통한 [율무미강발효추출물(30%)]의 피부 안전성 평가
- 본 인체적용시험은 에스아이바이오(주)와 오라클피부임상시험센터(주)가 협의된 시험계획서 및 GCP (Good Clinical Practice) guideline, 식품의약품안전처 (MFDS, Ministry of Food and Drug Safety)의 관련 규정 및 오라클피부임상시험센터(주) 표준작업지침서(SOP)에 따라 시험 수행
- 율무미강발효추출물(30%)은 인체 피부 일차 자극측면에서 약한 자극성 물질로 판정됨

▷ 시험대상자

: 선정 기준을 만족하고 제외 기준에 해당하지 않는 만 19세 이상의 건강한 성인 남녀 30명 이상


▷ 평가 방법

: 24시간 단회 철폐 시험, Frosch & Kligman (1979), CTFA guideline (2007) 및 Draize 방법을 응용함

➢ 시험 부위: 등 부위

➢ 철폐 기간: 24시간 폐쇄 철폐

➢ 판독과 해석: 철폐 24시간 후 패치를 제거한 시점으로부터 30분 후와 24시간 후에 피부 반응을 평가함. 각 반응을 종합하여 평균 피부 반응도를 산출하고 자극 수준을 분석함.


Oracle Skin Clinical Trial Center Co., Ltd.

Confirmation certificate

Sponsor

Name: SIBIO Co., Ltd.
Address: 19, Omokcheon-ro 132beon-gil, Gwonseon-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do, Republic of Korea
President: Jonghwan Choi

Investigational product

Designation: Coix Lacryma-Jobi Ma-yuen Bran Ferment Extract (30%)
Formulation: Brown viscous liquid
Identification code: IP-2109-004

Inform of the study


Title: Assessment of a primary skin irritation potential for the investigational product by human patch test.
Study period: From 7th September 2021 to 9th September 2021
Evaluation methods: 24-hours occlusive single patch test, as modified by Frosch & Kligman (1979), CTFA guideline (2007) and Draize methods.

Results

Index:	0.00	0.25	1.00	2.5	4.00
Determination:	No irritation	Mild irritation	Medium irritation	Strong irritation	
Result:	0.41				
Definition:	Mild irritation				

■ Study report code: OSCTC-R-2021-005-05_signed V0

10th September 2021

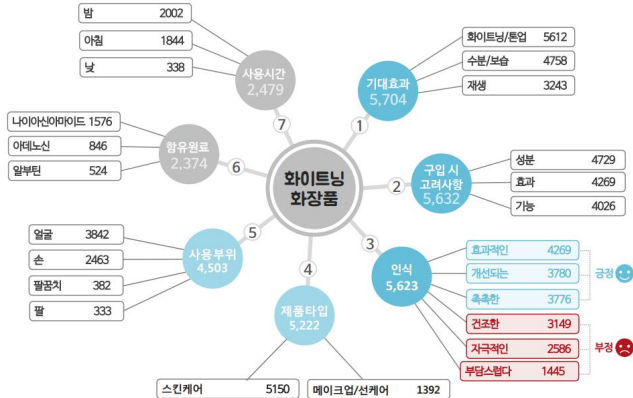
Oracle Skin Clinical Trial Center Co., Ltd.


4F, Hanil Building, Seolleung-ro, Gangnam-gu, Seoul, Republic of Korea,
<https://oracle-center.imweb.me/>, Tel. 010-3689-3340, E-mail. oracleclinicaltrials@gmail.com

다. 제품화 기반 구축 연구 진행

- 화장품은 수시로 변하는 트렌드 및 다양성 반영이 필요하며, 시제품 개발 전까지 꾸준히 연구되어야하는 부분임 (2022년 중순 보고서 형태로 업데이트 예정)

화이트닝 화장품 연관어



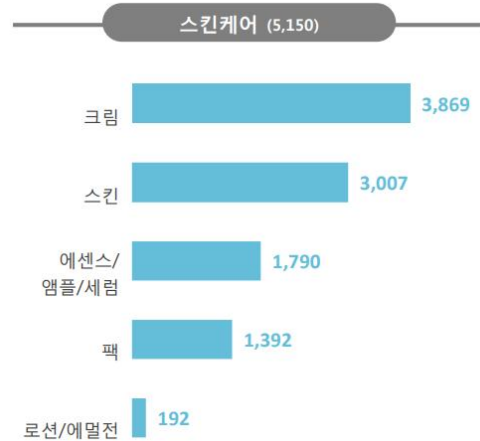
화이트닝 화장품 구매 시 고려사항



화이트닝 화장품 기대효과



화이트닝 화장품 관심품목



인사이트코리아 Deep MininG 화이트닝 화장품 상위 언급량 기준, 단위 : 건

라. 울무미강 발효물 기능성 원료 상용화 생산 공정 확립

1) 기능성 원료 상용화를 위해 간소화 생산 공정으로 수정 및 확립

- 울무미강 (원산지: 경기도 연천군) 1ton 이상 확보 및 추후 안정적 공급망 확보
- 기능성 원료 대량 생산 시 추출수율 확인하여 효율적인 기능성 원료 최적비를 조성함
- 원료에 대한 물질안전보건(MSDS) 자료 작성



<울무미강 계량 및 전처리>



<추출탱크 원료 투입 및 주정추출>



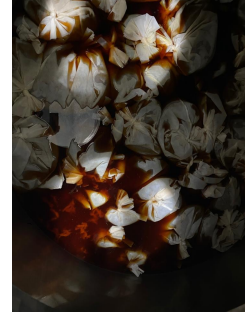
<주정추출 Brix>



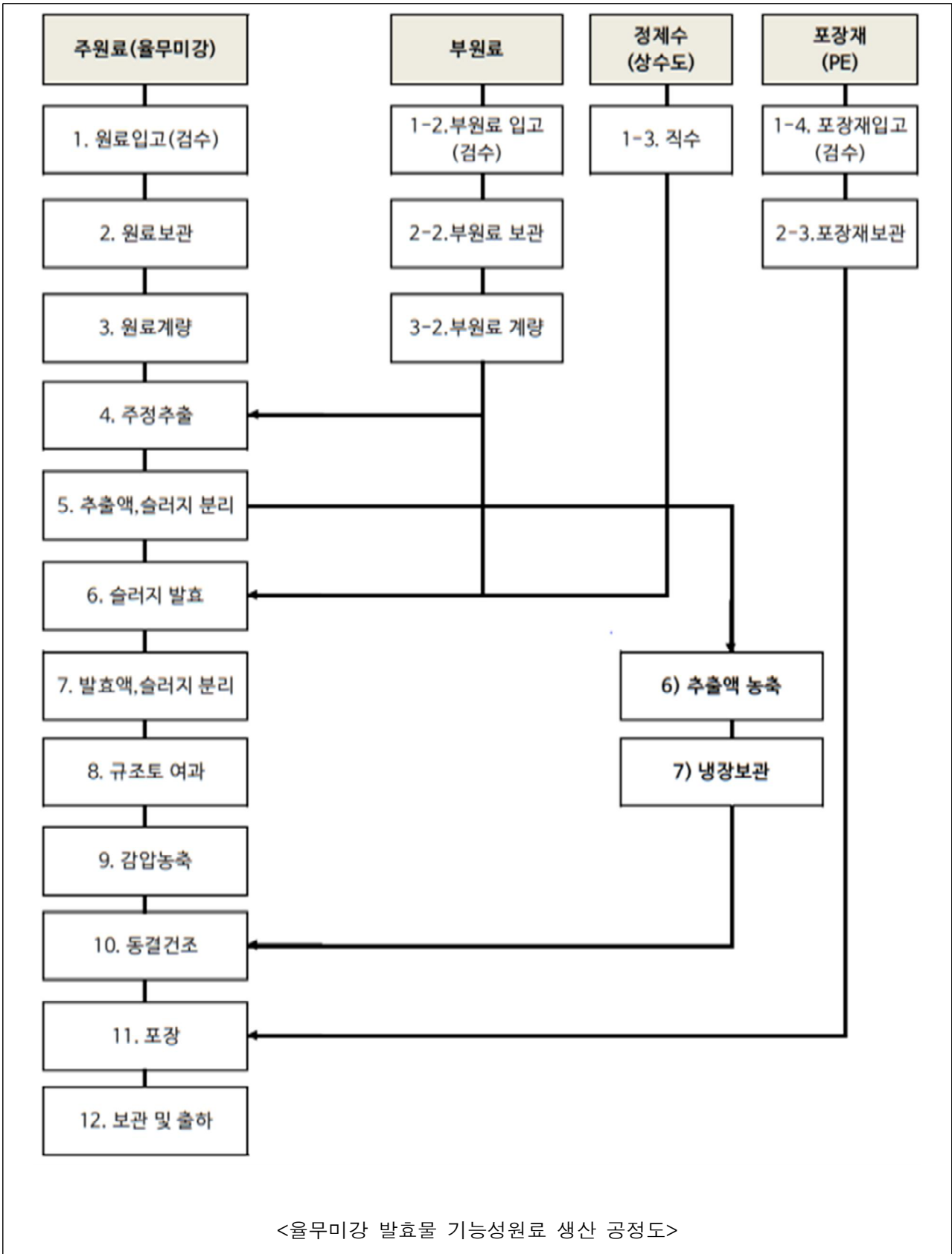
<주정 추출액 여과>



<주정 추출액 농축>



<울무미강 발효>



1. PRODUCT AND COMPANY INFORMATION

- Product Name : Lactobacillus/Coix Lacryma-Jobi Ma-yuen Bran Ferment Extract
- Product No. :
- Company : SLBIO Inc.
- Address : 19, Omokcheon-ro 132beon-gil, Gwonseon-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do
Republic of Korea
- Telephone : +82 31 8007 3201
- FAX : +82 31 462 7400
- E-mail : pppdy@naver.com
- Recommended use of the chemical and restrictions on use
 - Recommended use : Food and Cosmetic Material
 - Restrictions on use : except Recommended use

2. HAZARDS IDENTIFICATION

- **GLOBALLY HARMONIZED SYSTEM OF CLASSIFICATION AND LABELLING OF CHEMICAL(GHS)**
 - Physical hazard : Not applicable
 - Health hazard : Not applicable
 - Environment hazard : Not applicable
- **LABEL ELEMENTS INCLUDING PRECAUTIONARY STATEMENTS**
 - Symbol / Signal word : Not applicable
 - Hazard statements / Precautionary statements : Not applicable
- **NFPA RATING**
 Health : 0 Flammability : 0 Reactivity : 0 Water reactivity : 0

3. COMPOSITION / INFORMATION ON INGREDIENTS

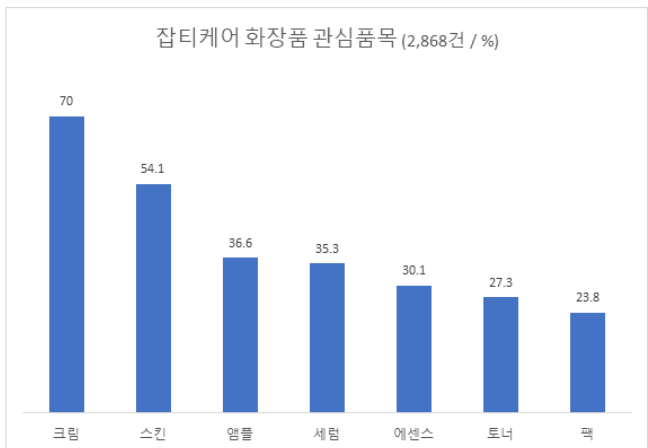
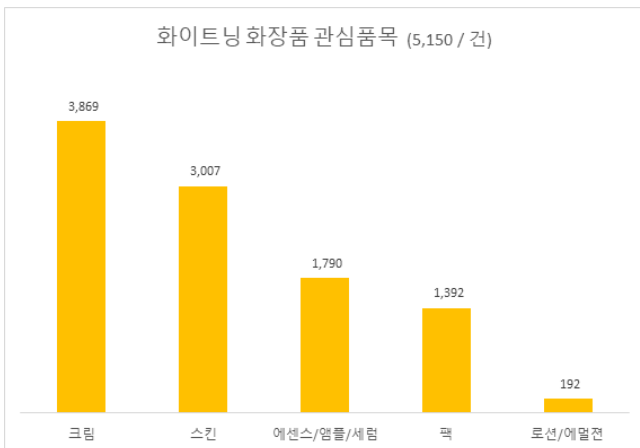
INCI Name	CAS No.	EC No.	Conc.(%)
COIX LACRYMA-JOBI MA-YUEN BRAN EXTRACT	-	-	33.3
LACTOBACILLUS PLANTARUM/COIX LACRYMA-JOBI MA-YUEN BRAN FERMENT EXTRACT	-	-	66.7

4. FIRST AID MEASURES

- **DESCRIPTION OF FIRST AID MEASURES**

마. 화장품 제형 개발 연구

1) 기능성 화장품 트렌드 컨셉 파악



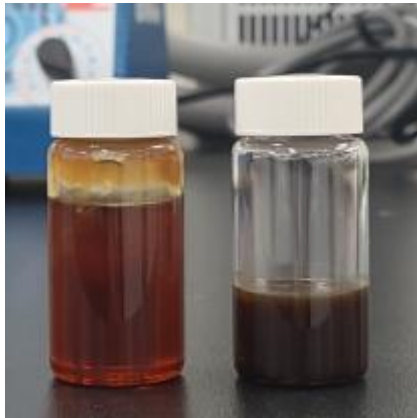
- 시장조사 자료 취합 결과 화이트닝 화장품의 소비자들의 기대효과로 화이트닝/톤업 23.7%, 수분/보습 20.1%, 기미잡티개선 10% 등으로 나타남. 잡티케어 화장품에 대

한 소비자의 기대효과로는 미백이 70.5%, 톤 54.0%, 광채 23.0% 등으로 미백 화장품과 잡티케어 화장품의 기대효과는 비슷한 형태를 보임.

- 두 집단의 화장품 관심 품목으로 크림이 가장 높았으며, 스킨, 앰플(에센스, 세럼 포함) 타입순으로 나타남.

2) 울무미강 발효물을 주성분으로 하는 제형 개발 연구

- 울무미강 발효물 1~10% 함유 세럼제형, 크림제형, 부착형 마스크, 스킨 토너 타입의 제품 시제품 개발 진행



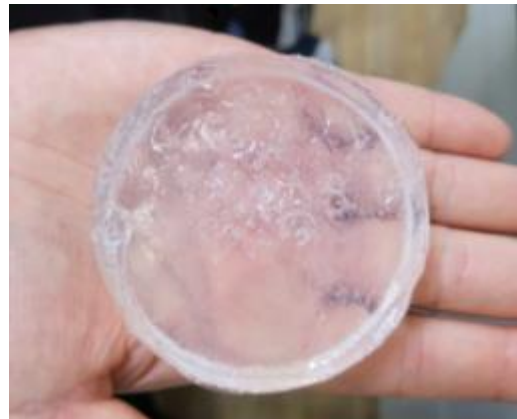
<울무미강 발효물 2차 가공>



<발효물 함유 크림 타입>



<발효물 함유 세럼 타입>



<발효물 함유 겔 타입>



<발효물 함유 시트지 타입 (마스크/토너)>

- 크림타입의 제형 품평회 총 60명 대상으로 진행
- 내부 품평회 진행 후 결정된 제형에 대해서 20대 이상의 성인 남녀를 대상으로 일주

일간 사용 후 설문조사 진행
 - 향취 및 발림성 등 보완 및 개선 내용 확인 후 추가진행 예정



<품평 진행 샘플>

신제품 품평 만족도 조사

올무멜라크림(생물) 품평 만족도 조사에 참여해 주셔서 진심으로 감사합니다. 본 샘플은 올무미강 발효물을 함유한 기능성 화장품(크림 타입)입니다. 사용 후 아래의 질문에 해당하는 답변을 선택해 주세요.
 *는 필수항목입니다.

기본정보

사용자 성명

닉네임으로 기재해주시도 됩니다

성별 *

여성 0 / 14 응답 (0%)
 남성

피부타입 및 문제점 *

복수 선택 가능

전체 선택

- 건조성
- 지성
- 복합성
- 민감성
- 주름
- 색소침착
- 여드름
- 갈라짐
- 흉조
- 기타:

만족도 조사

1. 색상 만족도

- 만족
- 약간만족
- 보통
- 약간불만족
- 불만족
- 기타:

3. 발림성은 적당한가 *

- 만족
- 약간만족
- 보통
- 약간불만족
- 불만족
- 기타:

4. 흡수력은 적당한가 *

- 만족
- 약간만족
- 보통
- 약간불만족
- 불만족
- 기타:

5. 끈적임은 적당한가 *

- 만족
- 약간만족
- 보통
- 약간불만족

<온라인 설문조사 진행>



올무멜라크림 (NO. 221012 SBC) 올무멜라크림(생물) 품평 만족도 조사에 참여해 주셔서 진심으로 감사합니다. 본 샘플은 올무미강 발효물을 함유한 기능성 화장품(크림 타입)입니다. 사용 후 아래의 질문에 해당하는 답변을 선택해 주세요.

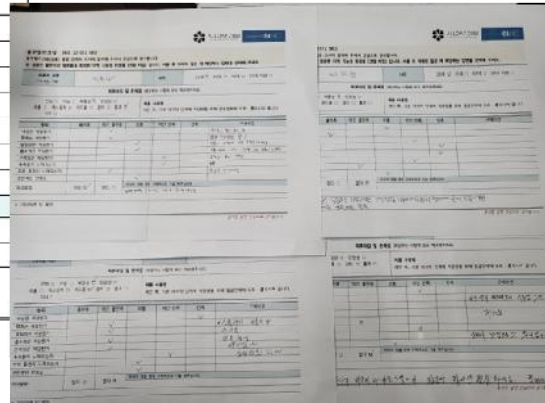
사용자 성명	나이	20대 <input type="checkbox"/> 30대 <input type="checkbox"/> 40대 <input type="checkbox"/> 50대 이상 <input type="checkbox"/>
--------	----	--

피부타입 및 문제점 (해당하는 사항에 모두 체크해주세요)

건조성 <input type="checkbox"/> 지성 <input type="checkbox"/> 복합성 <input type="checkbox"/> 민감성 <input type="checkbox"/> 주름 <input type="checkbox"/> 색소침착 <input type="checkbox"/> 여드름 <input type="checkbox"/> 갈라짐 <input type="checkbox"/> 흉조 <input type="checkbox"/> 기타 : _____	제품 소개 및 사용법 본 제품은 올무미강 발효물을 함유한 기능성 화장품입니다. 세안 후, 기초 마지막 단계에 적당량을 취해 얼굴전체에 도포·흡수시켜 줍니다.
---	--

항목	불만족	약간 불만족	보통	약간 만족	만족	구체 의견
색상은 적당한가						
향취는 적당한가						
발림성은 적당한가						
흡수력은 적당한가						
끈적임은 적당한가						
촉촉함이 느껴지는가						
피부 톤업이 느껴지는가						
전반적인 만족도						
자극유무	있다 <input type="checkbox"/>	없다 <input type="checkbox"/>	사극이 있을 경우 구체적으로 기술했습니다			

※ 기타의견 및 제안



<품평 설문지 및 답변지>

3) 울무미강 발효물 함유 제형의 안정성 시험

- 울무미강 발효물 5% 함유 크림 제형 및 10% 함유 세럼 제형의 안정성 평가 진행

NO. 221021-p1

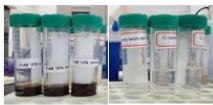
안정성 시험 결과서

NO. 221021-p1

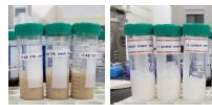
시험명	울무 발효물 첨가 화장품의 안정성 평가
평가기간	2022년 9월 1일 ~ 2022년 10월 10일 (40일간)
연구책임자	박도영

시험방법

- [화장품 안정성시험 가이드라인 : 2011.06] 의 가속시험을 준용하여 평가 진행
- 보존조건 : 실온보관 시료 (40 ± 2 °C / 상대습도 75 ± 5 %)
- 시험기간 : 40일간 (0, 20, 40일)
- 측정회수 : 총 3회, 1회 측정 시 N=3
- 측정시료 : 세럼 제형 (10%, 무첨가), 크림 제형 (5%, 무첨가)



세럼 제형



크림 제형

- 평가항목 : 질량 및 pH 변화, 색상, 향취, 분리도
- 측정장비 : Constant Temp. & Humid Chamber (TH500, Y.M.RTQ Korea)
pH meter (pH-200L, Istek, Korea)
High-Precision Balance (WBA-320, DAIHAN Scientific, Korea)



Constant Temp. & Humid Chamber



pH meter

- 1 -

측정결과

○ serum 제형의 질량 및 pH 측정

항목	계형	0일		20일		40일	
		10%	(-)con.	10%	(-)con.	10%	(-)con.
질량 (g)	10%	25.34	26.83	25.13	26.56	24.96	26.40
				-0.21	-0.27	-0.17	-0.16
	26.26	25.41	26.08	25.26	25.94	25.12	
pH	10%	4.86	5.19	4.76	5.55	4.86	5.40
				-0.1	+0.36	+0.1	-0.15
	4.86	5.19	4.63	5.55	4.79	5.68	
(-)con.	10%	4.86	5.19	4.68	5.57	4.77	5.69
				-0.18	+0.38	+0.09	+0.12
	4.86	5.19	4.63	5.55	4.79	5.68	

○ 색상_색상 및 분리도 육안적 평가

항목	0일		40일	
	10%	(-)con.	10%	(-)con.
10%				
(-)con.				

- 2 -

NO. 221021-p1

○ cream 제형의 질량 및 pH 측정

항목	계형	0일		20일		40일	
		5%	(-)con.	5%	(-)con.	5%	(-)con.
질량 (g)	5%	25.08	25.16	24.88	25.16	24.68	24.96
				-0.2	-	-0.2	-0.2
	26.13	25.20	26.13	25.08	25.96	24.78	
pH	5%	5.99	6.15	5.89	6.10	5.89	6.10
				-0.07	-0.05	-	-
	5.94	6.15	5.94	6.10	5.94	6.09	
(-)con.	5%	5.99	6.15	5.94	6.10	5.94	6.10
				-0.05	-0.05	-	-0.01
	5.94	6.15	5.94	6.10	5.94	6.10	

○ 색상_색상 및 분리도 육안적 평가

항목	0일		40일	
	5% <th>(-)con.</th> <th>5% <th>(-)con.</th> </th>	(-)con.	5% <th>(-)con.</th>	(-)con.
5%				
(-)con.				

- 3 -

NO. 221021-p1

종합평가

1. 질량

구분	시험기간			비고
	0일	20일	40일	
10% serum	25.66	25.50	25.33	(n=3)에 대한 측정 평균값
5% cream	25.43	25.37	25.24	

2. pH

구분	시험기간			비고
	0일	20일	40일	
10% serum	4.86	4.69	4.81	(n=3)에 대한 측정 평균값
5% cream	5.99	5.92	5.92	

3. 외관

구분	시험기간			비고
	0일	20일	40일	
10% serum	이상없음	이상없음	이상없음	
5% cream	이상없음	이상없음	이상없음	

울무미강 발효 추출물을 10% 첨가한 세럼과 5% 첨가한 크림을 제조하여 총 40일간 40±2°C, 상대습도 75±5%의 조건에서 질량 및 pH 변화, 육안적 평가를 실시하였다. 세럼 제형의 질량 측정 결과 울무미강 발효물 10% 첨가 세럼과 무첨가 세럼은 각각 질량 0.33g 씩 감소하였으며, pH변화는 각각 pH 4.86에서 4.81, pH 5.19 에서 5.49를 나타내었다. 크림 제형의 경우, 5% 첨가 크림과 무첨가 크림은 각각 질량 0.19g, 0.25g 감소하였으며, pH 변화는 각각 pH 5.99에서 5.92, pH 6.15에서 6.10을 나타내었다. 세럼 제형과 크림 제형 모두 시간에 따라 질량이 감소하였으며, 울무미강 발효추출물 첨가군과 무첨가군에서 큰 차이를 보이지 않았다. pH 변화에서는 세럼 제형의 경우 울무미강 발효물 첨가군은 감소하였고, 무첨가군은 증가하였으며, 크림제형에서는 모두 감소하였다. 세럼, 크림 제형 모두 첨가군과 무첨가군의 질량 변화 및 pH 변화 형태가 비슷한 양상을 보였다. 성상에 대한 평가(변색, 변취, 분리)에서도 모든 제형 및 제품군에서 차이가 없음을 확인하였다. 안정성 시험 관찰 결과, 울무미강 발효 추출물을 함유한 세럼 및 크림 제형은 40일의 보존기간 동안 안정적으로 유지되고 있음을 확인하였다.

- 4 -

<안정성 시험 결과서>

바. 울무미강 발효물 중금속 함량시험 완료

- 식품의약품안전처 고시 “화장품 안전기준 등에 관한 규정”에 따라 중금속 성분 (비소, 납, 수은)에 대한 함량시험 실시
- 중금속 성분 함량 비소, 납, 수은에 대하여 기준이하 결과 확인

시험·검사성적서

발행번호	R20230105-0030	접수번호	C221227-00005
검사완료일	2023-01-05	접수연월일	2022-12-27
제품명	락토바실러스/울무겨발효추출물		
(통목)제조번호	01-220501-1p	통목제조신그번호	
유한책임공무원	윤영		
제조(수입)일	2022-05-01	유통(유통유지)기한	2023-12-31
의뢰자	성명	업체명	에스아이바이오 주식회사
	소재지 (16642)	전화번호	@naver.com
	소재지	팩스번호	
제조원	업체명	소재지	제조국
시험·검사목적	화장품 기능성제품용		

시험·검사 항목 및 결과

시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	판정	비고
납-1	20 이하(µg/g)	0	적합	LOQ=0.022 8 µg/g
납-2	20 이하(µg/g)	0	적합	LOQ=0.022 8 µg/g
납-3	20 이하(µg/g)	0	적합	LOQ=0.022 8 µg/g
비소-1	10 이하(µg/g)	0	적합	LOQ=0.017 1 µg/g
비소-2	10 이하(µg/g)	0	적합	LOQ=0.017 1 µg/g
비소-3	10 이하(µg/g)	0	적합	LOQ=0.017 1 µg/g
수은-1	1 이하(µg/g)	불검출	적합	LOQ=0.002 3 µg/g
수은-2	1 이하(µg/g)	불검출	적합	LOQ=0.002 3 µg/g
수은-3	1 이하(µg/g)	불검출	적합	LOQ=0.002 3 µg/g

1) 함량시험

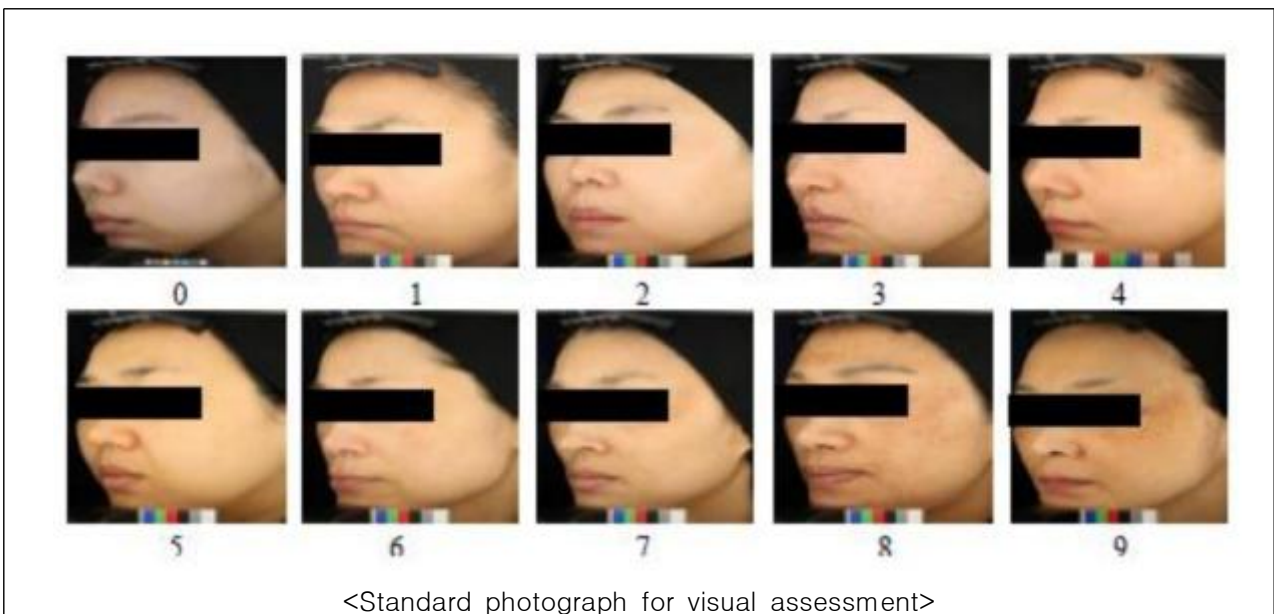
시험항목	검체번호	기준	시험결과	판정
1) 비소	C221227-00005	10 µg/g 이하	0	적합
	C221227-00006		0	적합
	C221227-00007		0	적합
2) 납	C221227-00005	20 µg/g 이하	0	적합
	C221227-00006		불검출	적합
	C221227-00007		0	적합
3) 수은	C221227-00005	1 µg/g 이하	불검출	적합
	C221227-00006		불검출	적합
	C221227-00007		불검출	적합

10. 종합의견
에스아이바이오 주식회사에서 의뢰한 [락토바실러스/울무겨발효추출물]에 대한 중금속 성분의 함량 시험 결과, 비소, 납, 수은에 대하여 기준 이하의 결과를 도출하였다.
따라서, “화장품 안전기준 등에 관한 규정”에 따라 시험할 때 품질관리에 적정을 기할 수 있을 것으로 사료된다.

<중금속 함량 시험검사 성적서>

사. 울무미강 발효물 함유 제품의 MFDS 가이드라인에 따른 미백 효능 인체적용시험 완료

- 락토바실러스/울무겨 발효추출물 1% 함유 에멀전 제조
- 울무안티멜라의 일차자극시험 및 과색소침착증에서의 피부미백 효과 평가 시험
- ① 과색소침착증의 육안평가

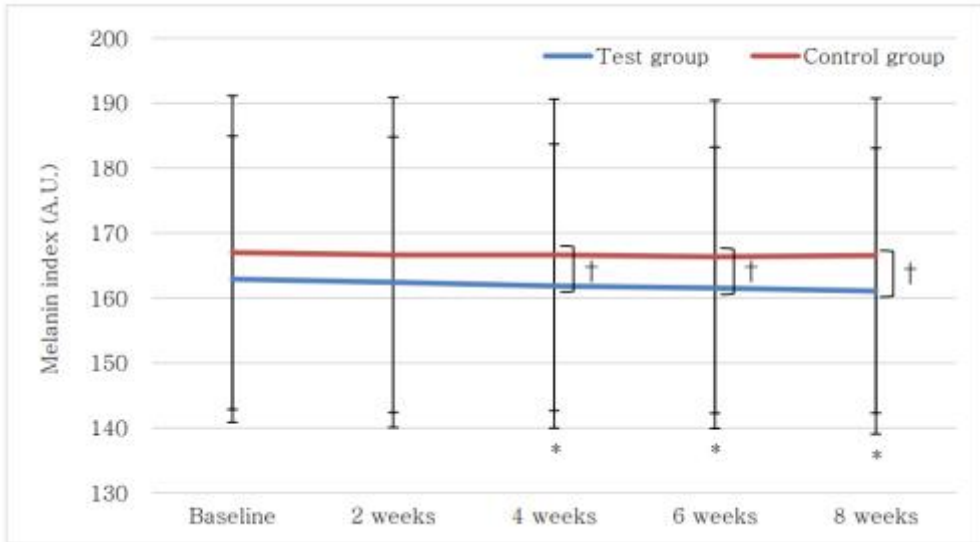


② 멜라닌 지수 측정

<Statistical analysis of melanin index between test and control groups>

Group	Baseline	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
Test vs. Control	0.190	0.758	0.014*	0.041*	0.002*

*Significantly different at $p < 0.05$ compared with control group



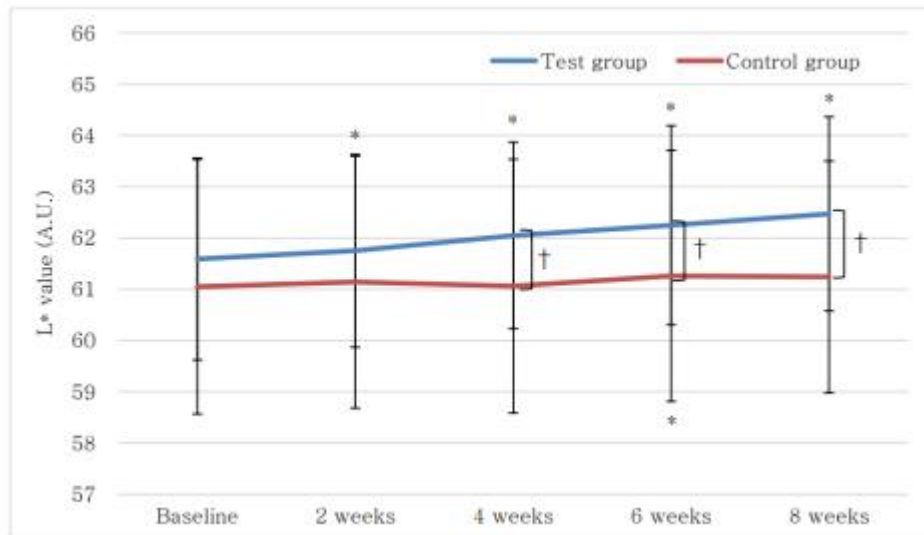
<Changes of melanin index following 8 consecutive weeks application of test and control products>

③ 피부 밝기(L* value) 분석

<Statistical analysis of skin lightness (L* value) between test and control groups>

Group	Baseline	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
Test vs. Control	0.164	0.454	0.003*	0.004*	0.001*

*Significantly different at $p < 0.05$ compared with control group



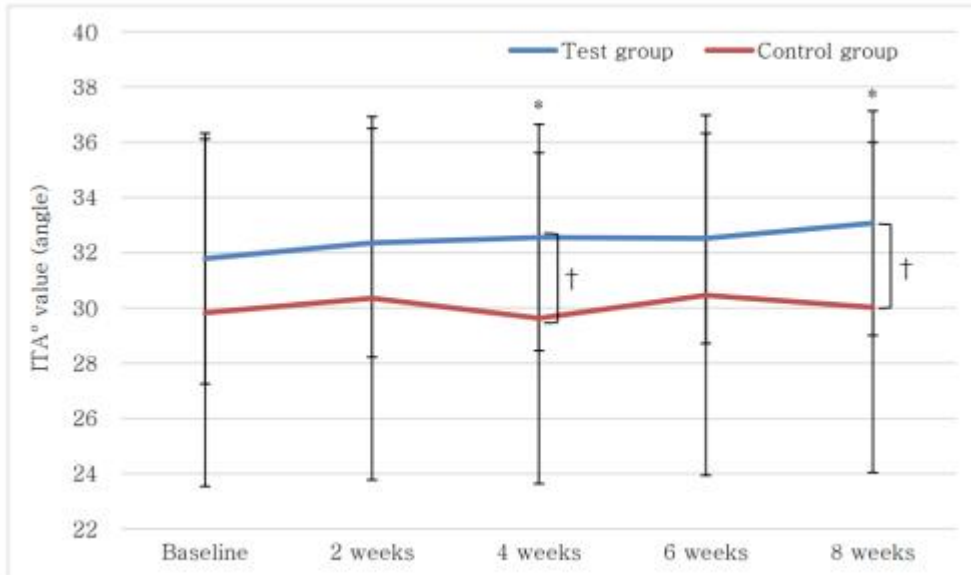
< Changes of skin lightness (L* value) following 8 consecutive weeks application of test and control products >

④ 피부색(ITA° value) 분석

<Statistical analysis of skin color (ITA° value) between control and test groups >

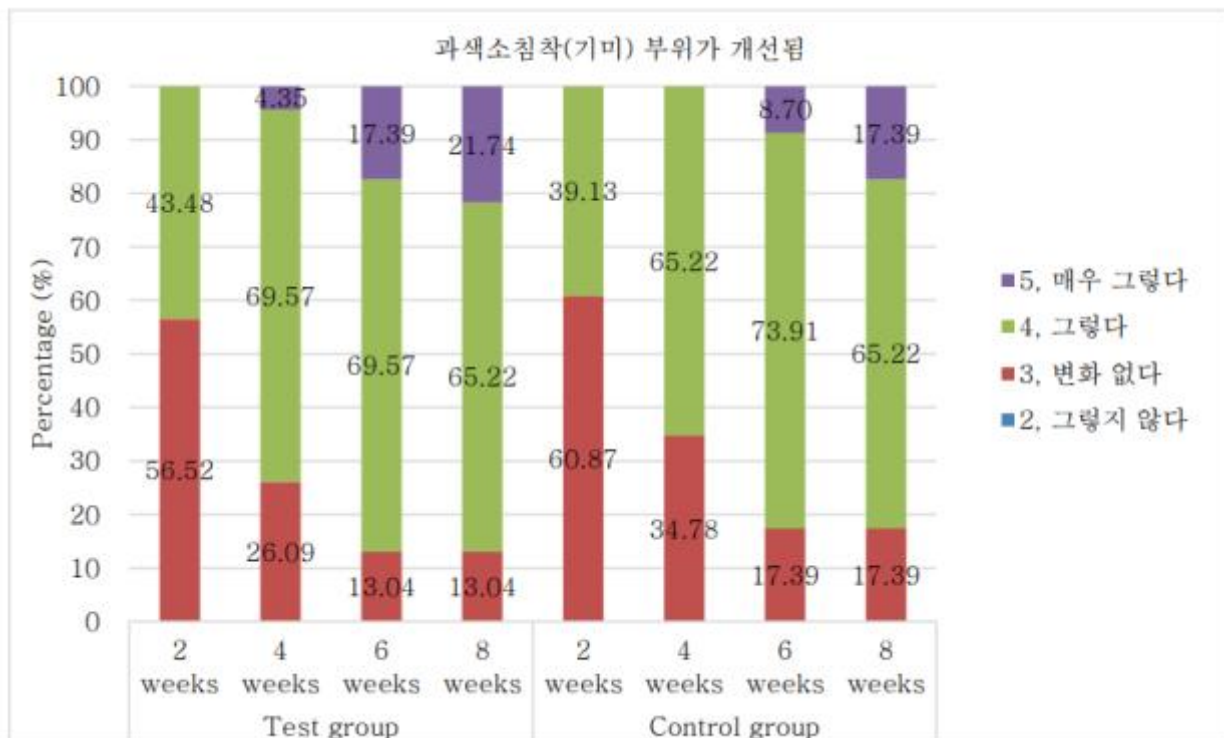
Group	Baseline	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
Test vs. Control	0.075	0.782	0.021*	0.645	0.023*

*Significantly different at $p < 0.05$ compared with control group

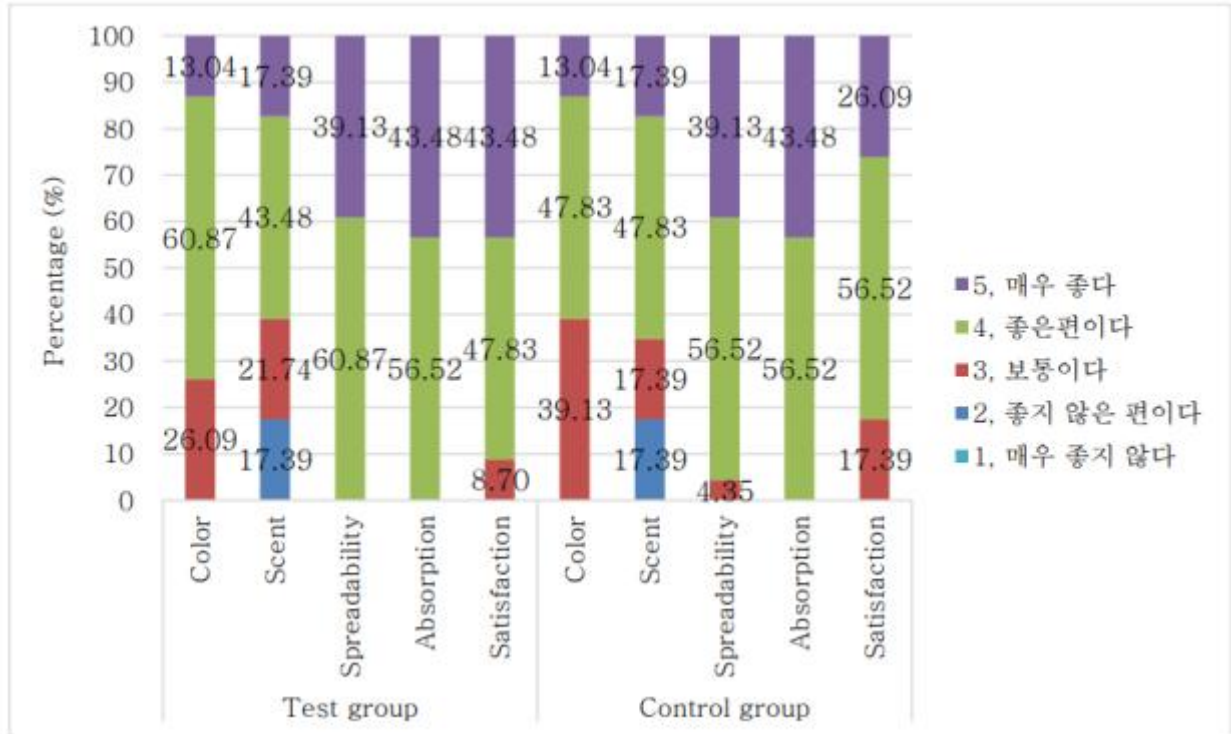


< Changes of skin color (ITA° value) following 8 consecutive weeks application of test and control products >

⑤ 효능 및 사용성에 관한 설문 평가



<과색소침착(기미) 부위가 개선됨 항목에 대한 평가>



<사용성에 관한 설문평가>

아. 기능성화장품 MFDS 심사 진행중

- 심사요건 필요 시험 완료 및 기능성화장품 허가(심사) MFDS 의뢰

번호	기재항목	원료	제제
1	명칭	○	×
2	구조식 또는 시성식	△	×
3	분자식 및 분자량	○	×
4	기원	△	△
5	함량기준	○	○
6	성상	○	○
7	확인시험	○	○
8	시성치	△	△
9	순도시험	○	△
10	건조감량, 강열감량 또는 수분	○	△
11	강열잔분, 회분 또는 산불용성회분	△	×
12	기능성시험	△	△
13	기타 시험	△	△
14	정량법(제제는 함량시험)	○	○
15	표준품 및 시약시액	△	△

기능성화장품 심사요건서 [/] 제호 [] 수입

신청인	성명	1982.11.17	간호사
소재지	경기도 수원시 권선구		

심사요건서 항목

제출명	물무연지젤라
제조 방법 및 제조 비율	직접제조(리시)물무연지젤라 1%
제형	제형없음
유형-호기	시험 자체에 도움을 받음
종류-용량	직접정량을 위하여 10g에 10g 제조함

사용량 대의 주석사항

기준 및 시험방법

제출자료

비고

「화장품법」 제4조 및 같은 법 시행규칙 제30조제1항에 따라 저의 같이 기능성화장품자 심사용 저의 합니다.

2023년 11월 20일

신원진 케소사(주) 대표이사
담당자 성명
담당자 직책

식품의약품안전평가원장 귀하

<식품의약품안전처 고시 기준 및 시험방법 항목 / 심사의뢰서>

인체적용시험 보고서 요약문

시험제목	울무안티멜라의 과색소침착증에서의 피부 미백효과 평가시험		
의뢰기관	에스아이바이오 주식회사	평가기간	2023. 03. 13 ~ 2023. 05. 26
시험기관	주식회사 더마프로	보고일	2023. 07. 21
시험목적	본 시험은 안면에 과색소침착증이 있는 여성 피험자들 대상으로 시험제품에 대한 피부 미백효과를 평가하기 위함이다.		
시험방법	<ol style="list-style-type: none"> 1. 시험대상자 및 수: Fitzpatrick skin type 분류에 따라 광 피부 타입이 II,III 또는 IV이고 기미 또는 일광흑자 등 과색소침착증이 있는 43~59 세 (평균 51.04±4.34 세)의 여성 피험자 23 명 2. 평가 기간: 10주(스크리닝(-2주), 사용 전, 사용 2주, 4주, 6주 및 8주 후) 3. 시험 제품 <ol style="list-style-type: none"> (1) 시험군(S, 울무안티멜라, Lab No. SI230303-P1) : 락토바실러스/울무겨 발효추출물 1% 함유 (2) 대조군(P, 울무안티멜라 컨트롤, Lab No. SI230303-P2) : 락토바실러스/울무겨 발효추출물 미함유 4. 제품의 성상: 에멀전 5. 평가 방법: 본 시험목적에 적합한 피험자들을 선정 후 이중맹검과 무작위 배정에 따라 시험제품과 대조제품을 각각 과, 우측 시험부위에 사용하도록 하였다. 평가는 사용 전과 사용 2주, 4주, 6주 및 8주 후 시점에서 육안평가, 멜라닌 지수, 피부 밝기(L* value) 및 피부색(ITA° value) 측정, 피험자에 의한 설문평가 및 피부 이상반응 평가를 실시하였다. 		
시험결과	<ol style="list-style-type: none"> 1. 사전 동질성 검정 두 군 사이의 사전동질성 검정은 제품 사용 전 시점에서 paired t-test 방법을 이용하여 분석하였으며, 분석 결과 육안평가, 멜라닌 지수, 피부 밝기(L* value) 파라미터는 유의수준이 0.1 이상으로 동질성을 만족하였고, 피부색(ITA° value) 파라미터는 유의수준이 0.1 미만으로 동질성을 만족하지 못하는 것으로 판단하였다. 2. 과색소침착증의 육안평가 분석 <ol style="list-style-type: none"> (1) 평가자간 신뢰성 분석 두 연구자의 신뢰도 분석은 Intraclass correlation coefficient(ICC) 분석을 이용하였으며, 분석 결과 시험군의 경우 0.985, 대조군의 경우 0.980로서 0.8 이상으로 확인되었기에 시험자간의 신뢰도를 인정하였다. (2) 정규성 분석 정규성 분석은 Shapiro-Wilks test 방법을 이용하였으며, 분석 결과 시험군과 대조군 모두 유의수준이 0.05 이상으로 확인되어 정규성을 만족하는 것으로 판단하였다. (3) 각 시점별 전후 변화 비교 각 시점별 전후 변화 비교는 데이터가 반복측정되는 모수일 경우 사용하는 RM-ANOVA 방법을 이용하여 분석하였다. 분석 결과, 시험군은 제품 사용 8주 후 시점에서 과색소 침착정도가 유의하게 개선되었으며($p<0.05$), 개선율은 5.23%였다. 대조군의 경우 유의한 변화는 없었다. 		

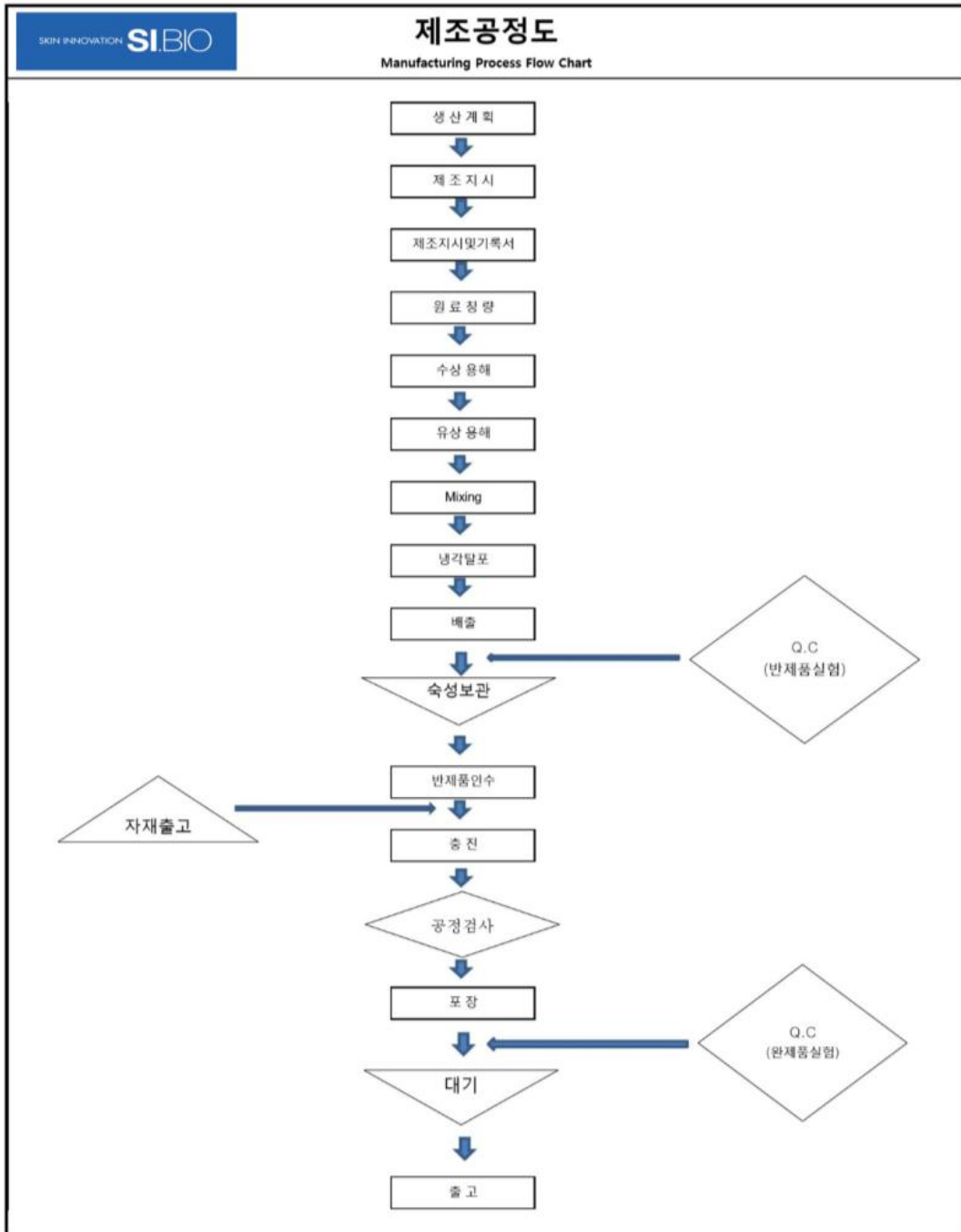
	<p>(4) 각 시점별 군간 비교 각 시점별 군간 비교는 제품 사용 전 시점에서 유의수준이 0.377로서 0.1 이상으로 확인되었기에 데이터가 반복측정되는 모수일 경우 사용하는 RM-ANOVA 방법을 이용하여 분석하였다. 분석 결과, 제품 사용 8주 후 시점에서 시험군의 과색소침착정도가 대조군에 비해 유의하게 개선되었다($p < 0.05$).</p> <p>3. 멜라닌 지수 분석</p> <p>(1) 정규성 분석 정규성 분석은 Shapiro-Wilks test 방법을 이용하였으며, 분석 결과 시험군의 유의수준이 0.05 이상으로 확인되어 정규성을 만족하는 것으로 판단하였고, 대조군의 경우 유의수준이 0.05 미만으로 확인되어 정규성을 만족하지 못하는 것으로 판단하였다.</p> <p>(2) 각 시점별 전후 변화 비교 각 시점별 전후 변화 비교는 시험군의 경우 정규성을 만족하므로 데이터가 반복측정되는 모수일 경우 사용하는 RM-ANOVA 방법을 이용하여 분석하였고, 대조군의 경우 정규성을 만족하지 못하였기에 Wilcoxon signed-ranks test(사후보정: Bonferroni correction)를 적용하였다. 분석 결과, 시험군은 제품 사용 4주, 6주 및 8주 후 시점에서 멜라닌 지수가 유의하게 개선되었으며($p < 0.05$), 개선율은 각각 0.66%, 0.83% 및 1.12%였다. 대조군의 경우 유의한 변화는 없었다.</p> <p>(3) 각 시점별 군간 비교 각 시점별 군간 비교는 제품 사용 전 시점에서 유의수준이 0.190로서 0.1 이상으로 확인되었기에 RM-ANOVA 방법을 이용하여 분석하였다. 분석 결과, 제품 사용 4주, 6주 및 8주 후 시점에서 시험군의 멜라닌 지수가 대조군에 비해 유의하게 개선되었다($p < 0.05$).</p> <p>4. 피부 밝기(L* value) 분석</p> <p>(1) 정규성 분석 정규성 분석은 Shapiro-Wilks test 방법을 이용하였으며, 분석 결과 시험군의 유의수준이 0.05 미만으로 확인되어 정규성을 만족하지 못하는 것으로 판단하였고, 대조군의 경우 유의수준이 0.05 이상으로 확인되어 정규성을 만족하는 것으로 판단하였다.</p> <p>(2) 각 시점별 전후 변화 비교 각 시점별 전후 변화 비교는 시험군의 경우 정규성을 만족하지 못하였기에 Wilcoxon signed-ranks test(사후보정: Bonferroni correction)를 적용하였고, 대조군의 경우 정규성을 만족하므로 데이터가 반복측정되는 모수일 경우 사용하는 RM-ANOVA 방법을 이용하여 분석하였다. 분석 결과, 시험군은 제품 사용 2주, 4주, 6주 및 8주 후 시점에서 피부 밝기가 유의하게 개선되었으며($p < 0.05$), 개선율은 각각 0.26%, 0.75%, 1.07% 및 1.43%였다. 대조군의 경우 제품 사용 6주 후 시점에서 피부 밝기가 유의하게 개선되었으며($p < 0.05$), 개선율은 0.34%였다.</p> <p>(3) 각 시점별 군간 비교 각 시점별 군간 비교는 제품 사용 전 시점에서 유의수준이 0.164로서 0.1 이상으로 확인되었기에 RM-ANOVA 방법을 이용하여 분석하였다. 분석 결과, 제품 사용 4주, 6주 및 8주 후 시점에서 시험군의 피부 밝기가 대조군에 비해 유의하게 개선되었다($p < 0.05$).</p>
--	---

	<p>5. 피부색(ITA° value) 분석</p> <p>(1) 정규성 분석 정규성 분석은 Shapiro-Wilks test 방법을 이용하였으며, 분석 결과 시험군과 대조군 모두 유의수준이 0.05 이상으로 확인되어 정규성을 만족하는 것으로 판단하였다.</p> <p>(2) 각 시점별 전후 변화 비교 각 시점별 전후 변화 비교는 데이터가 반복측정되는 모수일 경우 사용하는 RM-ANOVA 방법을 이용하여 분석하였다. 분석 결과, 시험군은 제품 사용 4주 및 8주 후 시점에서 피부색이 유의하게 개선되었으며($p<0.05$), 개선율은 각각 2.39% 및 4.03%였다. 대조군의 경우 유의한 변화는 없었다.</p> <p>(3) 각 시점별 구간 비교 각 시점별 구간 비교는 제품 사용 전 시점에서 0.075로서 0.01 미만으로 확인되었기에 ANCOVA 방법을 이용하여 분석하였다. 분석 결과, 제품 사용 4주 및 8주 후 시점에서 시험군의 피부색이 대조군에 비해 유의하게 개선되었다($p<0.05$).</p> <p>6. 피험자에 의한 설문평가</p> <p>(1) 효능에 관한 설문평가는 두 군의 비모수적 평균값을 비교하기 위해 Chi-Square test 를 사용하였고, 기대빈도가 5보다 작은 셀이 전체의 20% 이상인 경우 Fisher's exact test 를 적용하여 Pearson Chi-Square 의 유의 수준을 확인하였다. 평가 결과, '과색소침착(기미) 부위가 개선됨' 항목에 대해 제품 사용 4주, 6주 및 8주 후 시점에서 시험군은 약 74%~87%, 대조군은 약 65%~83%가 긍정적으로 응답하였으며, 구간 통계적 유의차는 없었다.</p> <p>(2) 사용성 설문평가는 두 군의 비모수적 평균값을 비교하기 위해 Chi-Square test 를 사용하였고, 기대빈도가 5보다 작은 셀이 전체의 20% 이상인 경우 Fisher's exact test 를 적용하여 Pearson Chi-Square 의 유의 수준을 확인하였다. 평가 결과, 모든 항목에 시험군과 대조군 모두 피험자의 약 61%~100%가 긍정적으로 응답하였고, 모든 항목에서 구간 통계적 유의차는 없었다.</p> <p>7. 순응도 분석 제품사용 순응도 분석 결과, 제품 사용 2주차 및 4주차 시점에는 100%, 6주차 및 8주차 시점에는 약 96%~100%였으며, 전체 피험자의 총 순응도는 약 99%~100%였다.</p> <p>8. 이상반응 평가 본 시험기간 동안 모든 피험자에게서 피부 이상반응은 관찰되지 않았다.</p>
결론	<p>본 시험제품에 대해 과색소침착증에서의 피부 미백효과 평가 결과, 1차 유효성 평가변수인 멜라닌 지수, 피부 밝기, 피부 색 파라미터에서 유의한 개선효과를 보였고, 2차 유효성 평가변수인 육안평가에서도 1차 평가변수들 뒷받침할 만한 효과를 확인하였다. 또한, 시험기간동안 모든 피험자에게서 이상반응이 관찰되지 않았다.</p> <p>따라서, 에스아이바이오 주식회사에서 의뢰한 울무안티멜라는 피부미백에 도움을 주는 제품으로 사료된다.</p>
별첨	<p>프로토콜, 시험참여 동의서 서식, 시험제품 무작위 배정표, 시험제품정보, 데이터 표, 통계자료, 사진자료, 연구인력 및 시설</p>



<인체적용시험 결과 보고서 요약>

① 제조공정 수립



② 안정화 제형 개발 및 전성분 배합



<C 제품/울무 안티멜라 브라이트닝 세럼 Formula sheet>

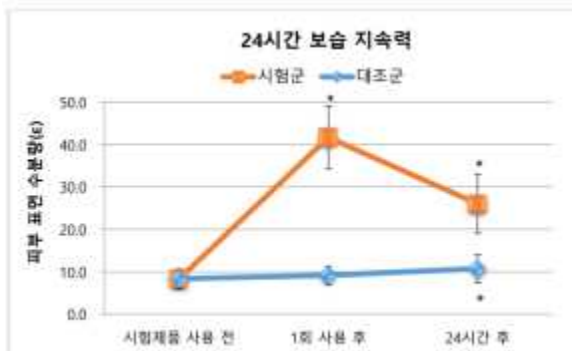
No.	Ingredients(EC)	Ingredients	Actual in Formulation(%)	CAS No.	Function
1	Water	정제수	49.315000	7732-18-5	Solvent
2	Glycerin	글리세린	12.804000	56-81-5	Humectant
3	Dipropylene Glycol	다이프로필렌글라이콜	8.000000	110-98-5	Solvent
4	Methyl Gluceth-20	메틸글루세스-20	7.000000	68239-42-9	Humectant
5	Butylene Glycol	부틸렌글라이콜	6.160000	107-88-0	Solvent
6	Dimethicone	다이메티콘	3.810900	63148-62-9	Skin-Conditioning Agent
7	Caprylic/Capric Triglyceride	카프릴릭/카프릭트라이글라이세라이드	2.096000	63381-09-1	Skin-Conditioning Agent
8	Niacinamide	나이아신아마이드	2.000000	98-92-0	Skin-Conditioning Agent
9	Hydrogenated Lecithin	하이드로제네이티드레시틴	1.126000	92128-87-5	Surfactant
10	Heptyl Undecylenate	헵틸운데실렌네이트	1.000000	68141-27-5	Skin-Conditioning Agent
11	Bacillus/Coix Lacryma-Jobi Ma-yuen Bran Ferment Ex	박토세실러스/물우거발효주황물	1.000000	-	Skin-Conditioning Agent
12	Cyclopentasiloxane	사이클로펜타실록세인	0.975000	541-02-6	Skin-Conditioning Agent
13	Polypropylsilsesquioxane	폴리프로필실세스퀴옥세인	0.783800	36088-62-7	Film Former
14	Glycosyl Tetrahyose	글라이코실테트라하오스	0.658000	INCI Monograph ID : 17989	Humectant
15	Cyclohexasiloxane	사이클로헥사실록세인	0.525000	540-97-6	Skin-Conditioning Agent
16	1,2-Hexanediol	1,2-헥산다이올	0.424000	6920-22-5	Solvent
17	Hydrogenated Starch Hydrolysate	하이드로제네이티드스타치하이드롤라이제이트	0.378000	68425-17-2	Skin-Conditioning Agent
18	Glyceryl Stearate	글리세릴스테아레이트	0.300000	123-94-4	Surfactant
19	Sodium Polyacryloyldimethyl Taurate	소듐폴리아크릴로일디메틸타우레이트	0.280000	INCI Monograph ID : 11855	Viscosity Increasing Agent
20	Dimethicone/Vinyl Dimethicone Crosspolymer	다이메티콘/비닐다이메티콘크로스폴리머	0.216200	156065-02-0	Viscosity Increasing Agent
21	Hydroxyacetophenone	하이드록시아세토페논	0.200000	99-83-4	Antioxidant
22	Lavandula angustifolia (lavender) oil	라벤더오일	0.150000	8000-28-0	Skin-Conditioning Agent
23	Hydrogenated Polydecene	하이드로제네이티드폴리데센	0.126000	68037-01-4	Skin-Conditioning Agent
24	Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer	아크릴레이트/C10-30알킬아크릴레이트크로스폴리머	0.100000	INCI Monograph ID: 4663	Viscosity Increasing Agent
25	Polysilicone-11	폴리실리콘-11	0.090000	63394-02-5	FILM FORMING
26	Tromethamine	트롬에타민	0.080000	77-86-1	pH Adjuster
27	Xanthan Gum	잔탄검	0.070000	11138-66-2	Viscosity Increasing Agent
28	Ceramide NP	세라미드엔피	0.064800	100403-19-8	Skin-Conditioning Agent
29	Adansonia Digitata Seed Oil	넵오밤나무씨오일	0.060000	91745-12-9	Skin-Conditioning Agent
30	Sodium Polyacrylate	소듐폴리아크릴레이트	0.057000	9003-04-7	Viscosity Increasing Agent
31	Cananga Odorata Flower Oil	캄캄알랑꽃오일	0.050000	8026-81-3	Fragrance Ingredient
32	Adenosine	아데노신	0.040000	58-81-7	Skin-Conditioning Agent
33	Trideceth-10	트라이데세스-10	0.014000	24938-91-8	Surfactant
34	Centella Asiatica Extract	벚물추출물	0.012000	84696-21-9	Skin-Conditioning Agent
35	Disodium EDTA	다이소듐이디티에이	0.010900	139-33-3	Chelating Agent
36	Fragrance	향료	0.010000	INCI Monograph ID : 11085	Fragrance Ingredient
37	Polyglucuronic Acid	폴리글루쿠루로닉애씨드	0.008000	36655-86-4	Skin-Conditioning Agent
38	Ceramide NS	세라미드엔엑스	0.002400	INCI Monograph ID : 21815	Skin-Conditioning Agent
39	Ceramide AS	세라미드에이엑스	0.002400	INCI Monograph ID : 24051	Skin-Conditioning Agent
40	Ceramide EOP	세라미드에이오피	0.001200	INCI Monograph ID : 22290	Skin-Conditioning Agent
41	Ceramide AP	세라미드에이피	0.001200	INCI Monograph ID : 22430	Skin-Conditioning Agent
Total			100.000000		

③ 시제품의 효능 검증 인체적용시험 및 품평 실시

- 시제품 A : 안티멜라 브라이트닝 앰플패드

시제품 A 24시간 보습력 지속 평가

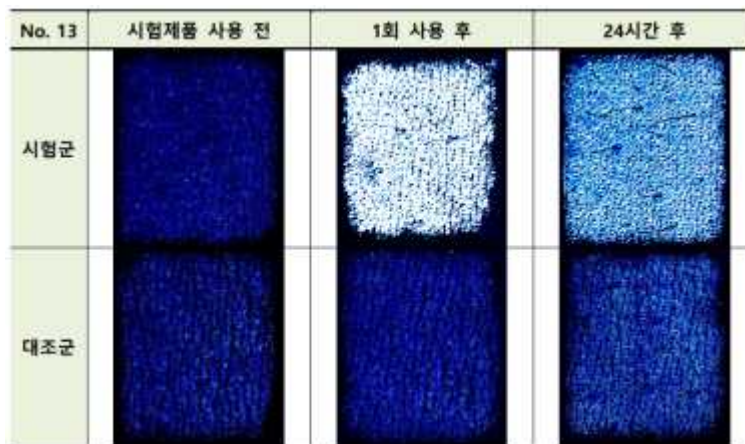
N=21 (No. 01~21), (Mean±Standard deviation)			
시점	위치, 평가인자	전박, 시험군 피부 표면 수분량(ε)	전박, 대조군 피부 표면 수분량(ε)
시험제품 사용 전	시험제품 사용 전	8.28±2.36	8.36±1.64
	1회 사용 후	41.66±7.42	9.16±2.16
	24시간 후	26.01±7.00	10.74±3.28
군내비교 유의확률 ^{*)}	시험제품 사용 전 대비 1회 사용 후	<0.001	0.063
	시험제품 사용 전 대비 24시간 후	<0.001	0.009
개선율	시험제품 사용 전 대비 1회 사용 후	403.43%	N/A
	시험제품 사용 전 대비 24시간 후	214.33%	28.44%
군간비교 유의확률 ^{*)}	시험군-대조군		<0.001
	시험제품 1회 사용 후 24시간 후		<0.001 ^{^)}
개선율	1회 사용 후 대조군 대비 시험군		303.43%
	24시간 후 대조군 대비 시험군		114.33%
	1회 사용 후 대조군 100% 대비 시험군		403.43%
	24시간 후 대조군 100% 대비 시험군		214.33%



*Significant difference ($p < 0.025$, comparison to initial value(시험제품 사용 전 대비)).



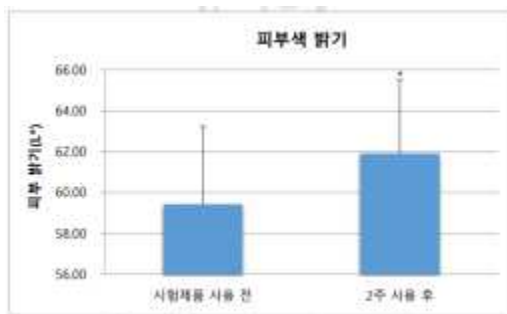
**Significant difference ($p < 0.05$, comparison between groups).



시제품 A 피부색 밝기 개선 효능 평가

N=21 (No. 01~21), (Mean±Standard deviation)		
시점	위치, 평가인자	뺨, 피부 밝기(L*)
	시험제품 사용 전	59.42±3.82
	2주 사용 후	61.91±3.59
유의확률 ¹⁾	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	<0.001
개선율	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	4.18%
	시험제품 사용 전 100% 기준 대비 2주 사용 후	104.18%

¹⁾p-value: Significant probability, Paired t-test ($p < 0.05$, comparison to initial value).

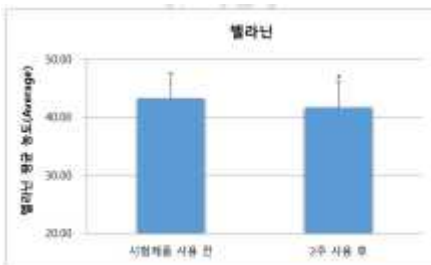


*Significant difference ($p < 0.05$, comparison to initial value).

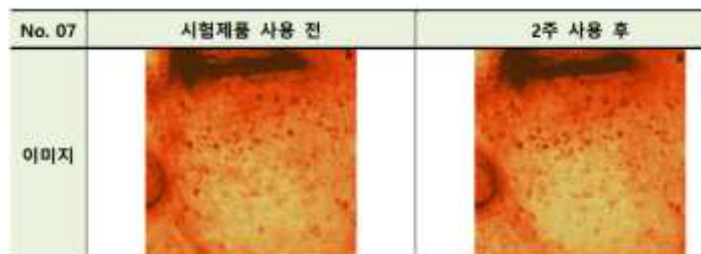


시제품 A 멜라닌 완화 효능 평가 결과

N=21 (No. 01~21), (Mean±Standard deviation)		
시점	위치, 평가인자	뺨, 멜라닌 평균 농도(Average)
	시험제품 사용 전	43.22±4.29
	2주 사용 후	41.63±4.44
유의확률 ¹⁾	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	<0.001
개선율	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	3.83%
	시험제품 사용 전 100% 기준 대비 2주 사용 후	103.83%



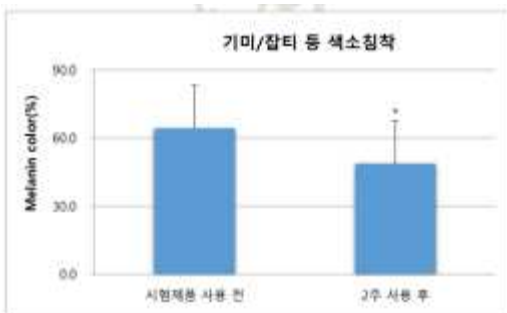
*Significant difference ($p < 0.05$, comparison to initial value).



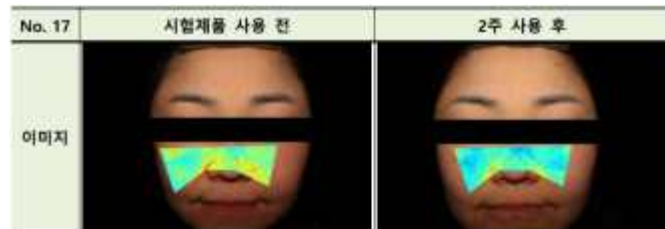
시제품 A 멜라닌 완화 효능 평가 결과

N=21 (No. 01~21), (Mean±Standard deviation)		
시점	위치, 평가인자	기미 잡티 부위, Melanin color(%)
	시험제품 사용 전	64.3±18.8
	2주 사용 후	48.7±18.8
유의확률 ¹⁾	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	0.002
개선율	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	31.97%
	시험제품 사용 전 100% 기준 대비 2주 사용 후	131.97%

¹⁾p-value: Significant probability; Paired t-test ($p < 0.05$, comparison to initial value).



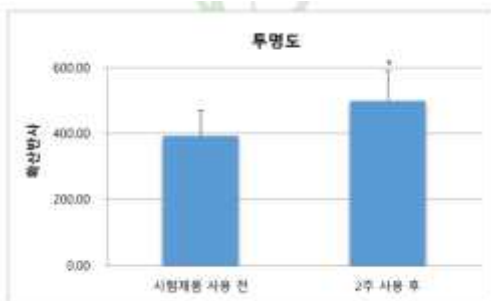
*Significant difference ($p < 0.05$, comparison to initial value).



시제품 A 투명도 개선 효능 평가

N=21 (No. 01~21), (Mean±Standard deviation)		
시점	위치, 평가인자	뺨, 확산반사
	시험제품 사용 전	392.43±76.96
	2주 사용 후	498.33±90.65
유의확률 ¹⁾	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	<0.001
개선율	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	26.99%
	시험제품 사용 전 100% 기준 대비 2주 사용 후	126.99%

¹⁾p-value: Significant probability; Paired t-test ($p < 0.05$, comparison to initial value).



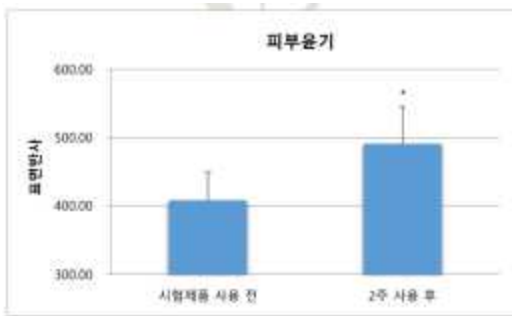
*Significant difference ($p < 0.05$, comparison to initial value).



시제품 A 윤기 개선 효능 평가

N=21 (No. 01~21), (Mean±Standard deviation)		
시점	위치, 평가인자	범, 표면반사
	시험제품 사용 전	408.29±40.35
	2주 사용 후	490.76±54.05
유의확률 ¹⁾	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	<0.001
개선율	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	20.20%
	시험제품 사용 전 100% 기준 대비 2주 사용 후	120.20%

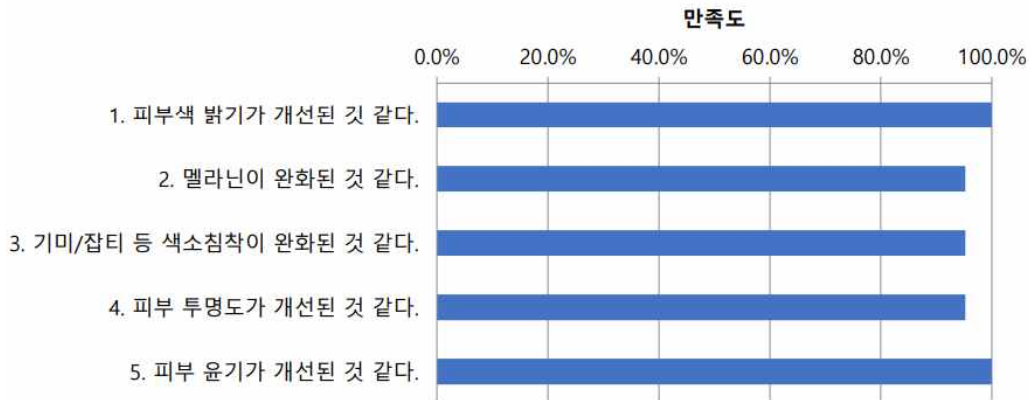
¹⁾p-value: Significant probability; Paired t-test (p<0.05, comparison to initial value).



*Significant difference (p<0.05, comparison to initial value).



시제품 A 2주 사용 후 효능 및 품질 평가

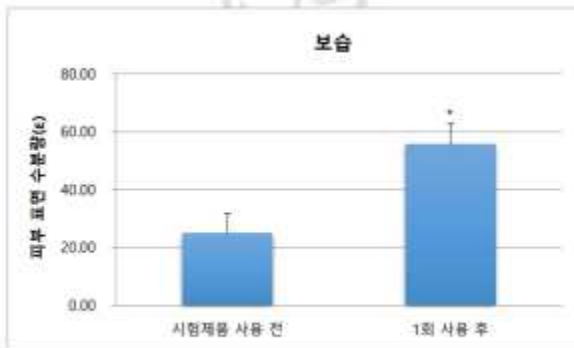


- 시제품 B : 안티드라이 쿨카밍 앰플패드

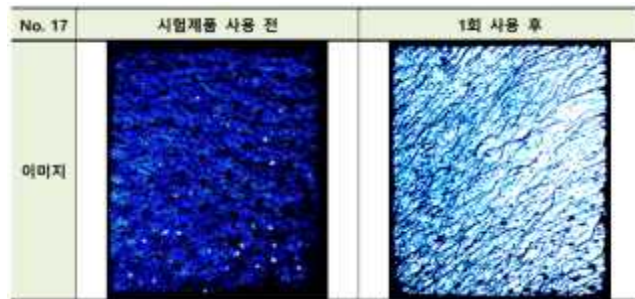
시제품 B 보습 개선 효능 평가

N=21 (No. 01~21), (Mean±Standard deviation)		
시점	위치, 평가인자	뺨, 피부 표면 수분량(ε)
	시험제품 사용 전	24.87±6.88
	1회 사용 후	55.56±7.26
유의확률 ¹⁾	시험제품 사용 전 대비 1회 사용 후	<0.001
개선율	시험제품 사용 전 대비 1회 사용 후	123.42%
	시험제품 사용 전 100% 기준 대비 1회 사용 후	223.42%

¹⁾p-value: Significant probability Paired t-test (p<0.05, comparison to initial value).



*Significant difference (p<0.05, comparison to initial value).



시제품 B 피부진정(쿨링) 효능평가

N=21 (No. 01~21), (Mean±Standard deviation)			
시점	위치, 평가인자	뺨, 시험군 피부 표면 온도(°)	뺨, 대조군 피부 표면 온도(°)
	안면 가온 전	32.73±0.78	32.66±0.81
	안면 가온 후	36.60±1.05	36.66±1.01
	시험제품 1회 사용 후	31.57±1.20	35.89±0.56
군내비교	안면 가온 전 대비 안면 가온 후	<0.001 [^]	<0.001
유의확률 ¹⁾	안면 가온 후 대비 시험제품 1회 사용 후	<0.001 [^]	<0.001
개선율	안면 가온 후 대비 시험제품 1회 사용 후	15.93%	2.14%
	안면 가온 후 100% 기준 대비 시험제품 1회 사용 후	115.93%	102.14%
군간비교	안면 가온 후 시험군-대조군	0.242 [^]	
유의확률 ²⁾	시험제품 1회 사용 후	<0.001	
개선율	1회 사용 후 대조군 대비 시험군	84.07%	
	1회 사용 후 대조군 100% 기준 대비 시험군	184.07%	

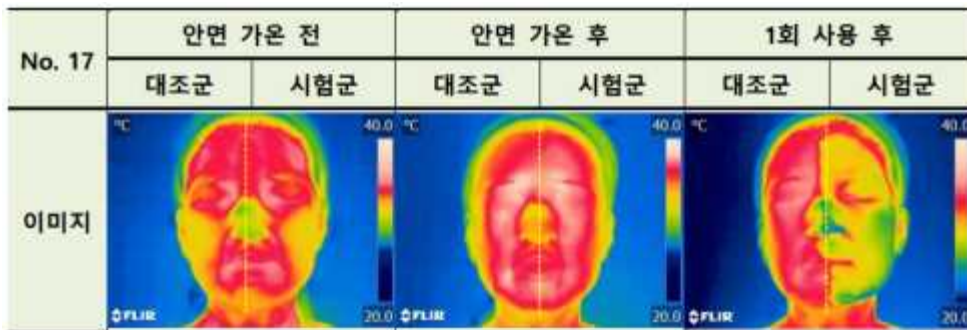
¹⁾ p-value: Significant probability, Paired t-test (p<0.05, comparison to initial value), [^]Wilcoxon signed rank test.

²⁾ p-value: Significant probability, Paired t-test (p<0.05, comparison to initial value), [^]Wilcoxon signed rank test.



*Significant difference ($p < 0.05$, comparison to initial value(안면 가온 전 대비)).

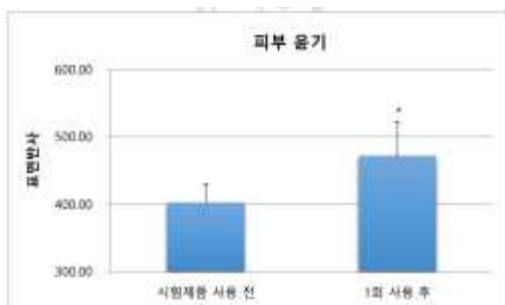
**Significant difference ($p < 0.05$, comparison to initial value(안면 가온 후 대비)).



시제품 B 피부 윤기 개선 효능평가

N=21 (No. 01~21), (Mean±Standard deviation)		
시점	위치, 평가인자	값, 표면반사
시험제품 사용 전	위치, 평가인자	401.95±27.45
	1회 사용 후	471.29±50.53
유의확률 ¹⁾	시험제품 사용 전 대비 1회 사용 후	<0.001
개선율	시험제품 사용 전 대비 1회 사용 후	17.25%
	시험제품 사용 전 100% 기준 대비 1회 사용 후	117.25%

¹⁾p-value: Significant probability Paired t-test ($p < 0.05$, comparison to initial value).



*Significant difference ($p < 0.05$, comparison to initial value).



시제품 B 효능 및 품질 평가



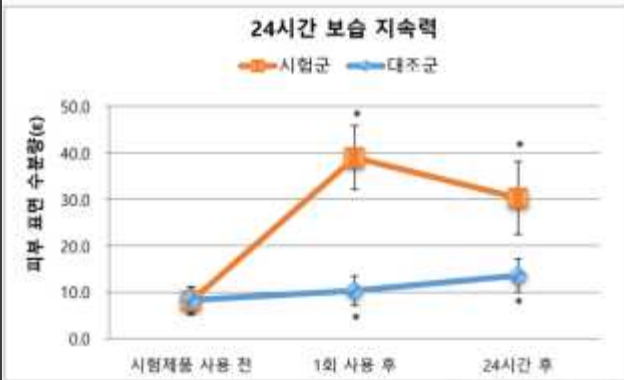
- 시제품 C : 울무 안티멜라 브라이트닝 세럼

시제품 C 24 시간 보습 지속력 효능평가

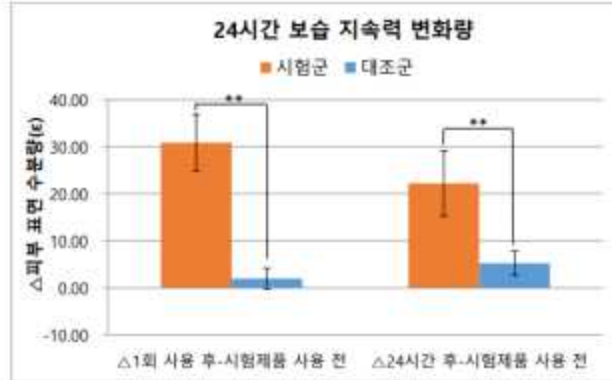
N=22 (No. 01~22), (Mean±Standard deviation)			
시점	위치, 평가인자	전박, 시험군	전박, 대조군
		피부 표면 수분량(ε)	피부 표면 수분량(ε)
	시험제품 사용 전	8.06±2.91	8.31±2.74
	1회 사용 후	38.92±6.90	10.31±3.17
	24시간 후	30.24±7.84	13.57±3.58
군내비교	시험제품 사용 전 대비 1회 사용 후	<0.001	0.001
유의확률 ²⁾	시험제품 사용 전 대비 24시간 후	<0.001	<0.001
개선율	시험제품 사용 전 대비 1회 사용 후	382.79%	24.03%
	시험제품 사용 전 대비 24시간 후	275.18%	63.34%
군간비교	시험군-대조군		<0.001
유의확률 ²⁾	시험제품 1회 사용 후		<0.001
	24시간 후		<0.001
개선율	1회 사용 후 대조군 대비 시험군		282.79%
	24시간 후 대조군 대비 시험군		175.18%
	1회 사용 후 대조군 100% 대비 시험군		382.79%
	24시간 후 대조군 100% 대비 시험군		275.18%

¹⁾p-value: Significant probability. Friedman test, post hoc analysis with Wilcoxon signed-rank test was conducted with a Bonferroni correction(p<0.025, comparison to initial value).

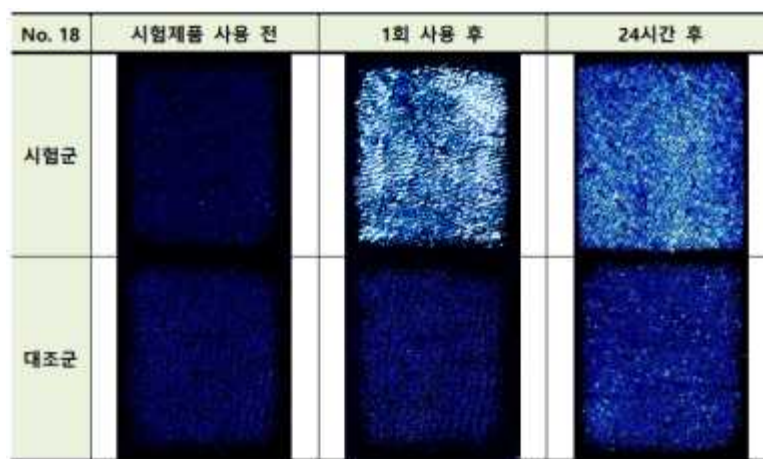
²⁾p-value: Significant probability. Paired t-test (p<0.05, comparison to initial value).



*Significant difference ($p < 0.025$, comparison to initial value(시험제품 사용 전 대비)).



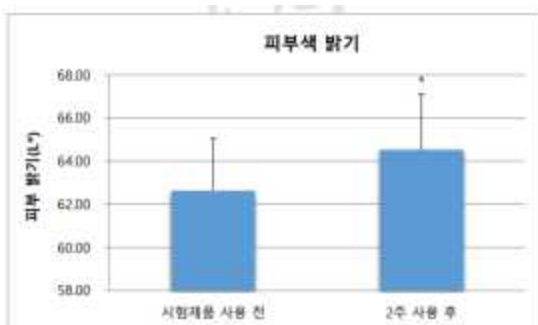
**Significant difference ($p < 0.05$, comparison between groups).



시제품 C 피부밝기 개선 효능 평가

N=22 (No. 01-22), (Mean±Standard deviation)		
시점	위치, 평가인자	범, 피부 밝기(L*)
	시험제품 사용 전	62.63±2.42
	2주 사용 후	64.53±2.57
유의확률 ¹⁾	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	<0.001
개선율	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	3.04%
	시험제품 사용 전 100% 기준 대비 2주 사용 후	103.04%

¹⁾p-value: Significant probability; Paired t-test ($p < 0.05$, comparison to initial value).



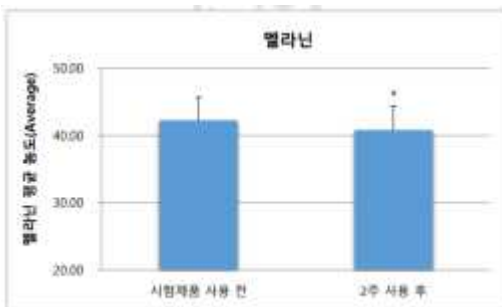
*Significant difference ($p < 0.05$, comparison to initial value).



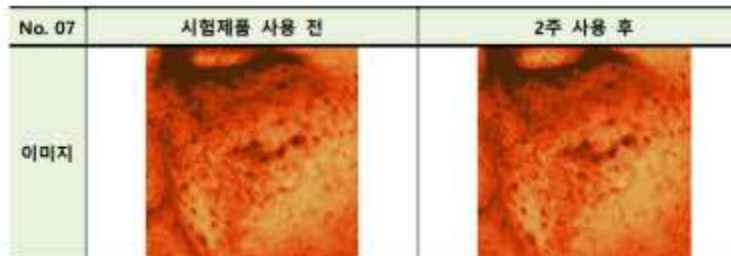
시제품 C 멜라닌 완화 효능 평가

N=22 (No. 01~22), (Mean±Standard deviation)		
시점	위치, 평가인자	범, 멜라닌 평균 농도(Average)
	시험제품 사용 전	42.23±3.46
	2주 사용 후	40.76±3.55
유의확률 ¹⁾	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	<0.001
개선율	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	3.60%
	시험제품 사용 전 100% 기준 대비 2주 사용 후	103.60%

¹⁾p-value: Significant probability, Paired t-test ($p < 0.05$, comparison to initial value).



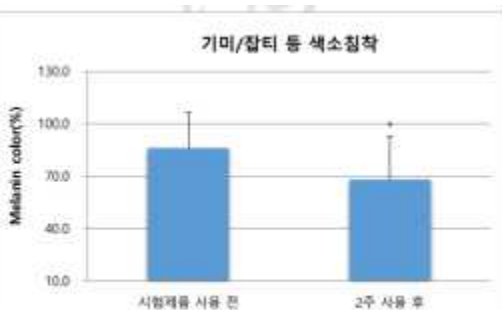
*Significant difference ($p < 0.05$, comparison to initial values).



시제품 C 기미/잡티 등 색소침착 완화 효능평가

N=22 (No. 01~22), (Mean±Standard deviation)		
시점	위치, 평가인자	기미 잡티 부위, Melanin color(%)
	시험제품 사용 전	85.9±20.4
	2주 사용 후	68.2±24.4
유의확률 ¹⁾	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	<0.001
개선율	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	26.01%
	시험제품 사용 전 100% 기준 대비 2주 사용 후	126.01%

¹⁾p-value: Significant probability, Wilcoxon signed rank test ($p < 0.05$, comparison to initial value).



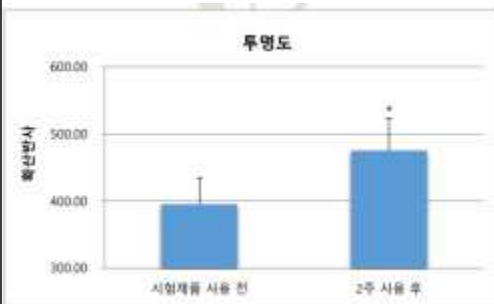
*Significant difference ($p < 0.05$, comparison to initial values).



시제품 C 투명도 개선 효능 평가

N=22 (No. 01~22), (Mean±Standard deviation)		
시점	위치, 평가인자	값, 확산반사
	시험제품 사용 전	395.41±39.47
	2주 사용 후	475.45±47.96
유의확률 ^{*)}	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	<0.001
개선율	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	20.24%
	시험제품 사용 전 100% 기준 대비 2주 사용 후	120.24%

^{*)}p-value: Significant probability; Paired t-test (p<0.05, comparison to initial value).



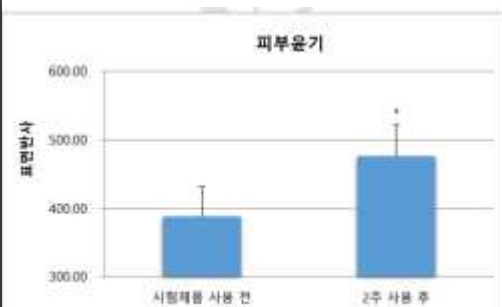
^{*)}Significant difference (p<0.05, comparison to initial value).



시제품 C 피부윤기 개선 효능 평가

N=22 (No. 01~22), (Mean±Standard deviation)		
시점	위치, 평가인자	값, 표면반사
	시험제품 사용 전	388.32±43.51
	2주 사용 후	476.41±45.27
유의확률 ^{*)}	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	<0.001
개선율	시험제품 사용 전 대비 2주 사용 후	22.69%
	시험제품 사용 전 100% 기준 대비 2주 사용 후	122.69%

^{*)}p-value: Significant probability; Wilcoxon signed-rank test (p<0.05, comparison to initial value).



^{*)}Significant difference (p<0.05, comparison to initial value).



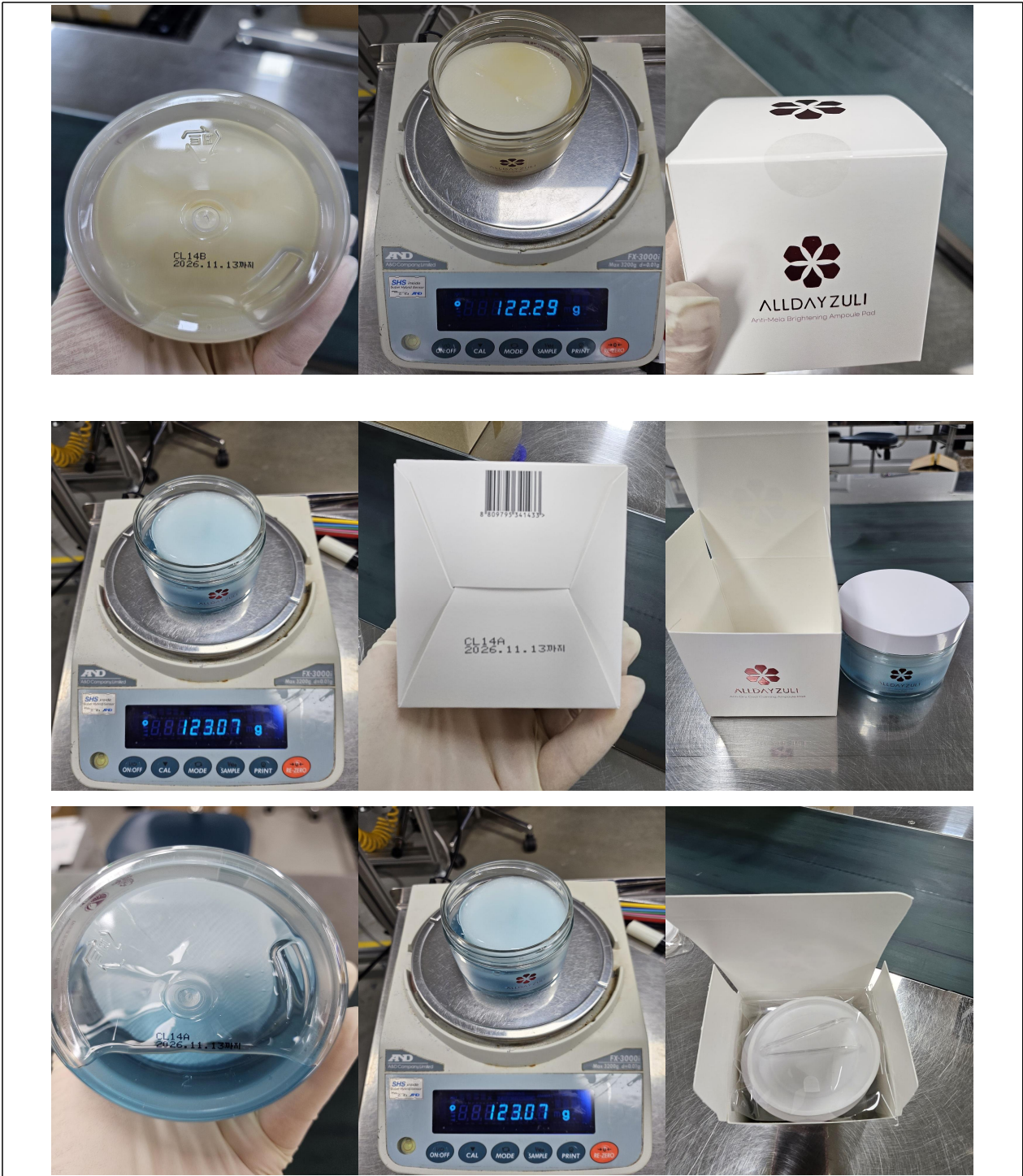
시제품 C 2주 사용 후 효능 및 품질 평가



차. 락토바실러스/울무겨발효추출물 함유 제품 개발

- 시제품 A : 안티멜라 브라이트닝 앰플패드 (주름미백 이중기능성 화장품)
- 시제품 B : 안티드라이 쿨카밍 앰플패드 (주름미백 이중기능성 화장품)

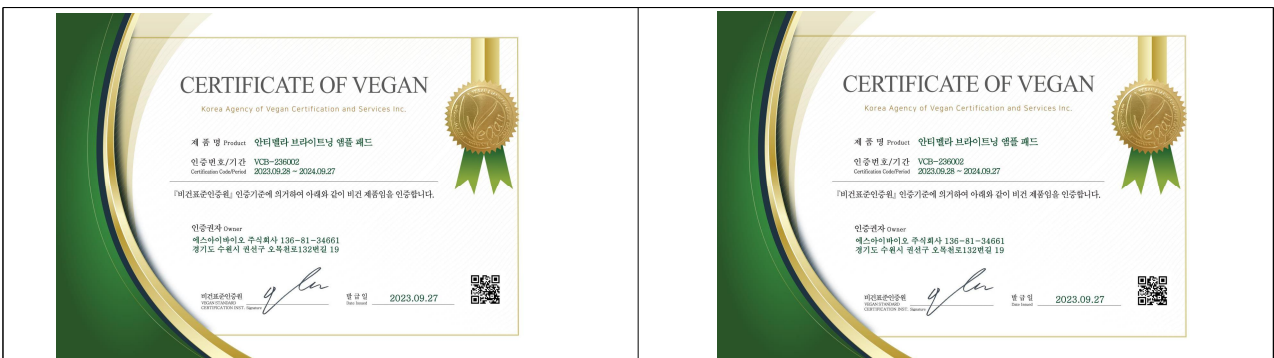




카. 마케팅 및 홍보 진행

① 2종의 제품에 대한 비건 인증 완료

- 동물성 원료&유래성분 금지 및 동물실험금지, 교차오염방지 인증 완료



② 언론사 홍보



③ 마케팅 자료 제작

- 사진 및 영상 촬영
- 상세페이지 제작



④ 마케팅 전문 기업과 계약 체결 및 전략 수립

계약일자 : 2024년 01월 16일

마케팅 대행 계약서

경기도에 웨스아이바이오 주식회사(이하 "갑"이라 한다)의 미국판 대행사 원제이비주식회사(이하 "을"이라 한다)은 아래와 같이 마케팅 대행계약을 체결한다.

제 1조 【 목적 】
본 계약은 "갑"이 "을"에게 회사의 와이드 랜딩 기획을 위탁하고 "을"이 기획의 수행 및 이와 관련된 관리업무 사항의 규율을 목적으로 한다.

제 2조 【 마케팅 】
1. 본 계약상 "을"이 수행하는 기획 대상은 본사의 편의에 준하여 수정하며 본계약상에서 이루어지는 일체의 방법을 지칭한다. 다만, 사전에 "갑"의 사전 동의를 받은 것에 한한다.
2. 본 계약은 따른 개별 업무의 진행은 별도의 사유가 없는 한 대형 계약서에 대한 상호 확인서 없으로 대신하여 실행 업무의 기본 계약서의 관련 조항에 따른다.

(경) 주 소: 경기도 수원시 권선구 오목천로 132번길 19
회사명: 웨스아이바이오 주식회사
대표자: 최 중 현
사업자등록번호 : 136-81-34661

(을) 주 소: 경기도 부천시 조마루로385번길 92 11센터 1216~1217호
회사명: 원제이비주식회사
대표자: 김 인
사업자등록번호 : 555-88-02923

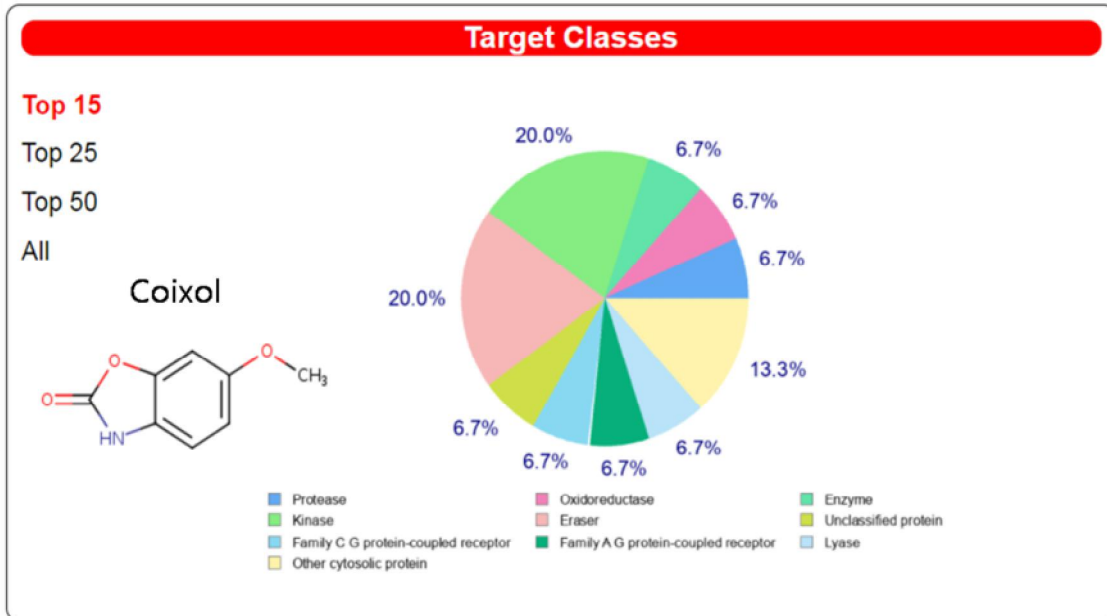
■ SIBIO 온라인 운영 계획

No.	구분/항목	2월		3월		4월		5월		6월				
		1주	2주	1주	2주	1주	2주	1주	2주	1주	2주			
1. 신규 기획														
1	최종 작업 시용	○												
2	지문구내 홈페이지 탑재													
3	상용 페이지 기획													
4	지문구내 운영													
5	뉴스리터 스포터 상용 운영													
6	지문구내 운영													
7	지문구내 소개 설치													
8	주요도 PPT의 분석													
9	이동매체 노출 1일개(뉴스, 블로그, 카페, 지식인)													
2. 전사적 노후 및 신규 기획														
1	간접 PPT의 분석													
2	블로그 배포													
3	카페 게시물 배포													
4	블로그 채널단													
5	카페 신규 노출													
6	노후도 작업													
7	내사적 상용 광고 운영													
8	뉴스리터 스포터 상용 운영													
9	상용화하기 기획													
10	상용화하기 디자인													
11	내사적 및 후진용 적용													
12	구내 후기 분석													
3. 전사적 노후														
1	구내의 이벤트 (할인쿠폰, 후기 수집 / 스포터)													
2	내사적 스포터 구매 요건은 직접 상담/상담													
3	채널안내, 할인 이벤트 배너 변경(실내/외부)													
4	채널안내 채널 - 인스타그램													
5	채널안내 채널 - 페이스북													
6	뉴스리터 페이지의 순서 변경													
7	SMS 광고 소재 기획													
8	뉴스리터 광고 소재 제작 - 페이스북, 인스타그램													
9	내사적 채널도 광고 집행													
10	내사적 인스타그램 광고 집행													
11	내사적 상용 광고 후속 분석 (연말)													
12	후진, 자문, 책임금 시스템 운영													
13	지문구내 운영 배포													
14	이동매체 노출 1일개(뉴스, 블로그, 카페, 지식인)													
4. 이벤트 및 채널안내														
1	최종 PPT 상용 운영													
2	지문구내 후속 분석 (채널/간접)													
3	구내 고객 만족도 설문 조사 (구내/외부)													
4	이동매체 이벤트 - 인스타그램													
5	지문구내 기획 (뉴스리터 or 카카오톡/이메일)													
6	지문구내 / 운영 담당자 상담 회담													
7	이동매체 SNS 채널 운영													
5. 기타 업무														
1	지문구내, 소셜을, 사용자간 분석 (노후/채널)													
2	고객 상담 문의, 채널도 분석 (실내/외부)													
3	이동매체 채널에 대한 설문 (사용 형태 분석)													
4	이동매체 사용 방법 가이드 제작 (안내서)													
5	이동매체 SNS 채널 운영													

2.3. 부경대학교 (3세부)

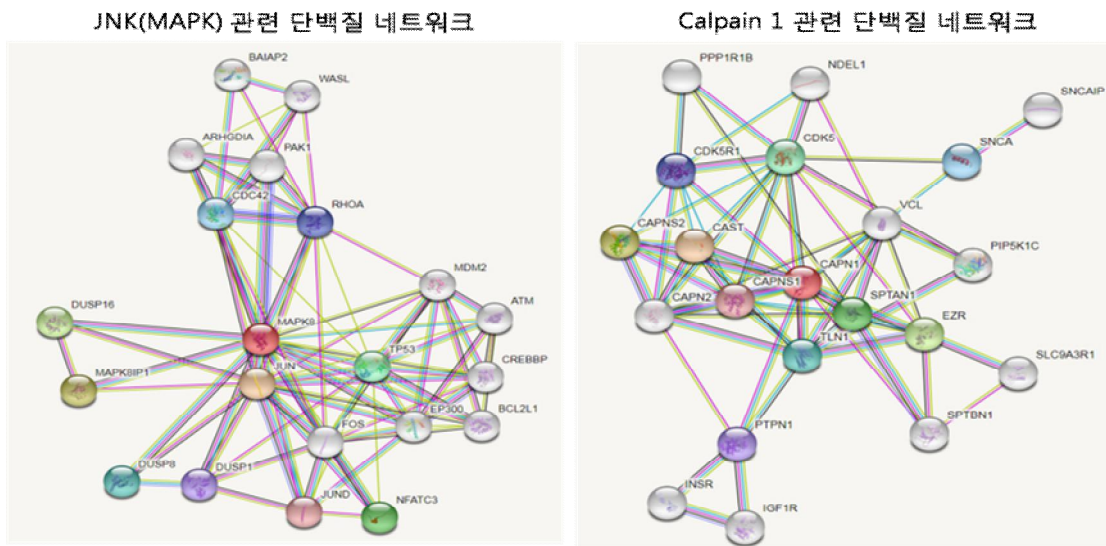
가. *In silico* 분석을 이용한 Human 단백질 표적 분석

- 1) *In silico* 분석을 이용한 울무 미강 함유 물질의 Human 단백질 표적 분석(Coixol)
 - 울무미강에 함유된 coixol이 화합물의 구조적 특성에 근거해서 특정 단백질 표적을 조절할 가능성이 있는 지 *in silico* protein target prediction을 이용해서 분석함

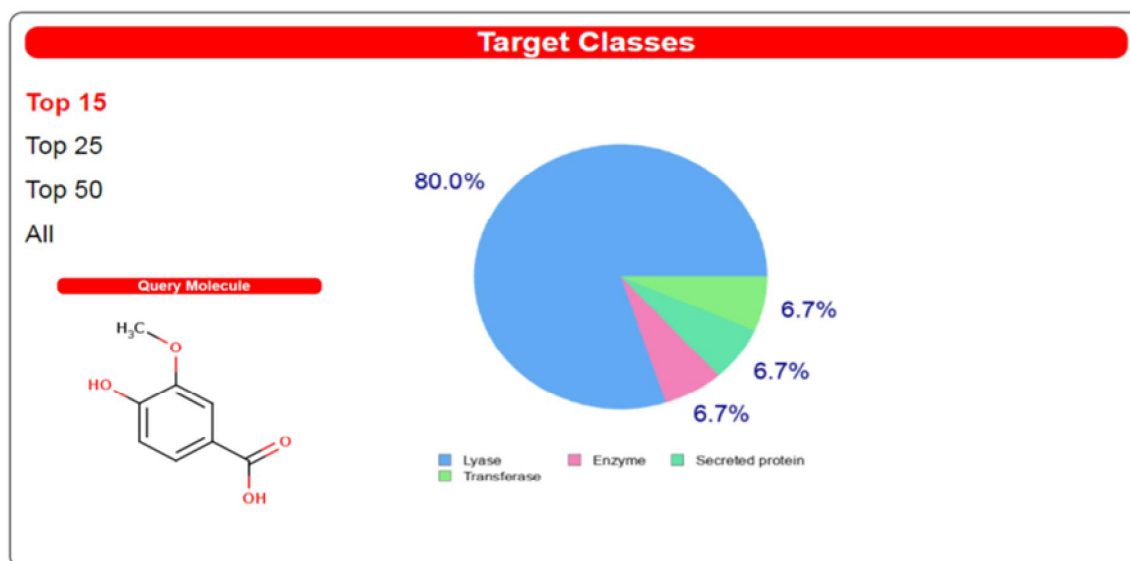


Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Calpain 1	CAPN1	P07384	CHEMBL3891	Protease	0.125075959828	1 / 0
Dihydrofolate reductase (by homology)	DHFR	P00374	CHEMBL202	Oxidoreductase	0.125075959828	29 / 0
Leukocyte common antigen	PTPRC	P08575	CHEMBL3243	Enzyme	0.125075959828	16 / 0
c-Jun N-terminal kinase 1	MAPK8	P45983	CHEMBL2276	Kinase	0.125075959828	52 / 0
c-Jun N-terminal kinase 3	MAPK10	P53779	CHEMBL2637	Kinase	0.125075959828	27 / 0
Histone deacetylase 3	HDAC3	O15379	CHEMBL1829	Eraser	0.125075959828	2 / 0
Histone deacetylase 2	HDAC2	Q92769	CHEMBL1937	Eraser	0.125075959828	3 / 0
Histone deacetylase 1	HDAC1	Q13547	CHEMBL325	Eraser	0.125075959828	7 / 0
CDGSH iron-sulfur domain-containing protein 1	CISD1	Q9NZ45	CHEMBL1795168	Unclassified protein	0.125075959828	1 / 0
Metabotropic glutamate receptor 4	GRM4	Q14833	CHEMBL2736	Family C G protein-coupled receptor	0.125075959828	23 / 0
Adenosine A2a receptor	ADORA2A	P29274	CHEMBL251	Family A G protein-coupled receptor	0.116739032206	52 / 0
Carbonic anhydrase II	CA2	P00918	CHEMBL205	Lyase	0.116739032206	102 / 0
Cyclin-dependent kinase 2/cyclin A	CDK2 CCNA1 CCNA2	P24941 P78396 P20248	CHEMBL2094128	Other cytosolic protein	0.116739032206	20 / 0
CDK9/cyclin T1	CDK9 CCNT1	P50750 O60563	CHEMBL211389	Other cytosolic protein	0.116739032206	7 / 0
Serine/threonine-protein kinase Aurora-A	AURKA	O14965	CHEMBL4722	Kinase	0.116739032206	9 / 0

- Coixol에 의해서 조절 될 수 있는 단백질을 그룹화 한 결과 kinase family와 eraser family에 가장 많은 영향을 미칠 것으로 예측됨
- Coixol이 조절할 가능성이 있는 단백질 들 중 calpain 1의 경우, 피부의 상처 치유에 필수적인 단백질로 알려져 있음
- c-JUN-N-terminal kinase (JNK) 1/3의 경우 melanocyte 및 keratinocyte에서 tyrosinase의 발현과 염증관련 유전자 발현을 유도한다고 알려져 있음. 단백질 표적분석에 의하면 Coixol은 JNK1 및 JNK3을 조절할 가능성이 있는 것으로 예측됨
- Coixol이 조절할 가능성이 있는 단백질 들 중 대표적인 JNK 및 calpain 1의 단백질 신호 전달체계 분석을 실시함(human protein database에서 실시)
- 피부노화 관련 CAST (Calpastatin) EZR (Ezrin)을 포함한 기존에 알려진 분자 및 다양한 신규 표적 분자들이 확인됨
- 울무미강에 Coixol이 함유되어 있기 때문에 위에서 분석된 신호전달체계 및 피부노화 제어 핵심표적들에 대한 효과를 unbiased approach(빅데이터 분석)으로 광범위하게 분석하고 각 피부세포모델에서 예측된 효과를 검증할 필요가 있음



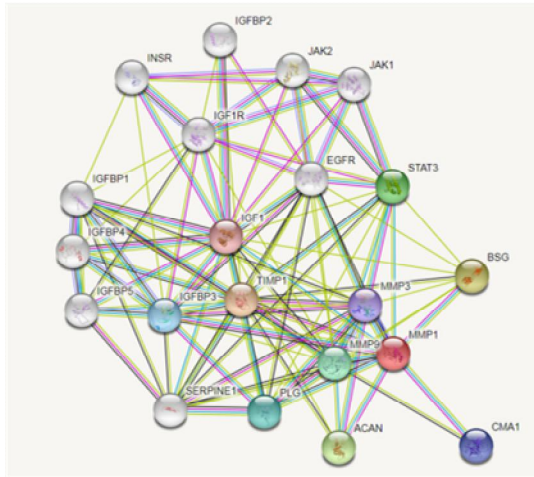
- 2) *In silico* 분석을 이용한 울무 미강 함유 물질의 Human 단백질 표적 분석(Vanillic acid)
- 울무미강에 함유된 vanillic acid이 화합물의 구조적 특성에 근거해서 특정 단백질 표적을 조절할 가능성이 있는 지 *in silico* protein target prediction을 이용해서 분석함 (human protein database 이용)
 - Vanillic acid에 의해서 조절 될 수 있는 단백질을 그룹화 한 결과 lyase family에 많은 영향을 미칠 것으로 예측됨
 - Vanillic acid가 조절할 가능성이 있는 단백질 들 중 피부노화와 직접적인 연관성이 있는 단백질을 선별했을 때, 피부 콜라겐 파괴로 인한 주름생성과 밀접한 연관성이 있는 Matrix metallo proteinase (MMP) family로 나타남(MMP1, MMP2, MMP8, MMP9).



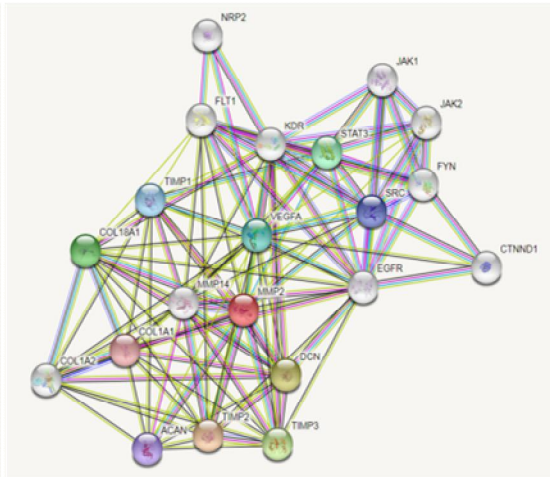
Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Lysine-specific demethylase 4D-like	KDM4E	B2RXH2	CHEMBL1293226	Eraser	0.133391037839	4 / 0
Lysine-specific demethylase 4A	KDM4A	O75164	CHEMBL5896	Eraser	0.133391037839	4 / 0
Lysine-specific demethylase 3A	KDM3A	Q9Y4C1	CHEMBL1938209	Eraser	0.133391037839	2 / 0
Lysine-specific demethylase 6B	KDM6B	O15054	CHEMBL1938211	Eraser	0.133391037839	2 / 0
Alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenase FTO	FTO	Q9C0B1	CHEMBL2331065	Oxidoreductase	0.133391037839	2 / 0
Lysine-specific demethylase 4C	KDM4C	Q9H3R0	CHEMBL6175	Eraser	0.133391037839	4 / 0
Tyrosine-protein kinase FYN	FYN	P06241	CHEMBL1841	Kinase	0.125075959828	2 / 1
Tyrosine-protein kinase LCK	LCK	P06239	CHEMBL258	Kinase	0.125075959828	2 / 2
Fructose-1,6-bisphosphatase	FBP1	P09467	CHEMBL3975	Enzyme	0.125075959828	13 / 0
Aldo-keto-reductase family 1 member C3	AKR1C3	P42330	CHEMBL4681	Enzyme	0.125075959828	5 / 18
Lysine-specific demethylase 2A	KDM2A	Q9Y2K7	CHEMBL1938210	Eraser	0.125075959828	3 / 0
Matrix metalloproteinase 9	MMP9	P14780	CHEMBL321	Protease	0.125075959828	2 / 0
Matrix metalloproteinase 1	MMP1	P03956	CHEMBL332	Protease	0.125075959828	2 / 0
Matrix metalloproteinase 2	MMP2	P08253	CHEMBL333	Protease	0.125075959828	2 / 0
Matrix metalloproteinase 8	MMP8	P22894	CHEMBL4588	Protease	0.125075959828	1 / 0

- Vanillic acid가 조절할 가능성이 있는 단백질 들 중 피부노화와 직접적인 연관성이 있는 MMP1과 MMP2의 단백질 신호전달체계 분석을 실시함(human protein database에서 실시)
- 피부노화 관련 COL1A1, COL1A2, IGF 관련 단백질을 포함한 기존에 알려진 분자 및 다양한 신규 표적 분자들이 확인됨
- 울무미강에 Vanillic acid가 함유되어 있기 때문에 위에서 분석된 신호전달체계 및 피부노화제어 핵심표적들에 대한 효과를 다양한 방법으로 검증할 필요가 있음

MMP1 관련 human 단백질 네트워크



MMP2 관련 human 단백질 네트워크



3) *In silico* 분석 데이터 종합

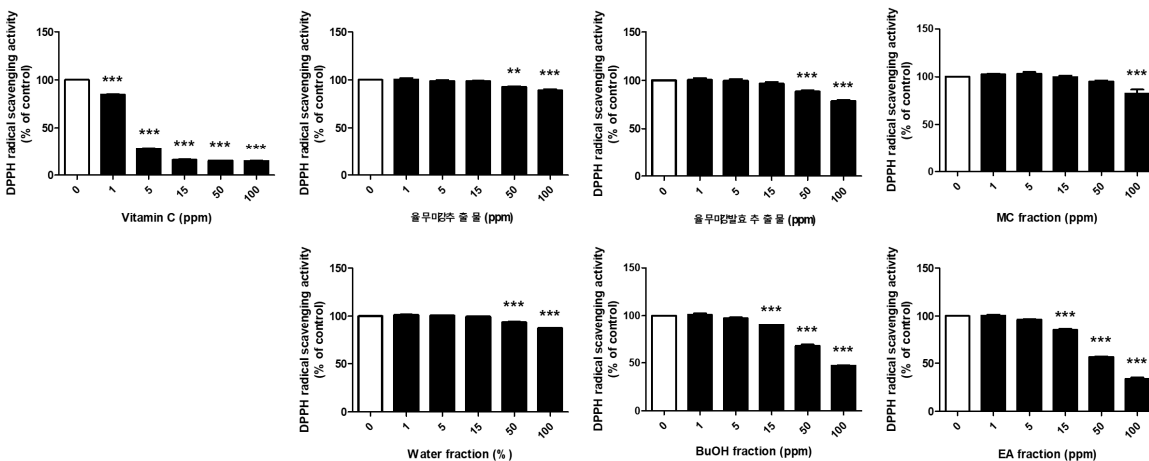
- 울무미강에 포함된 성분 중 coixol과 vanillic acid의 human 단백질 표적 분석 및 단백질 네트워크 분석을 실시한 결과 피부노화 제어 관련 핵심 단백질을 조절할 가능성이 있음

▶ 추후 연구를 통해서 울무미강의 다량함유 성분 및 지표 성분들을 자세히 밝히고 성분들의 특성에 따른 피부노화관련 신호전달체계 및 핵심단백질을 제어할 수 있는 지 *in silico* 분석 및 세포모델에서 검증하는 것은 울무미강의 피부노화제어 적응증을 확장시킬 수 있음

나. 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물의 기능성 확인(cell-free 실험)

1) DPPH 라디칼 소거능 측정

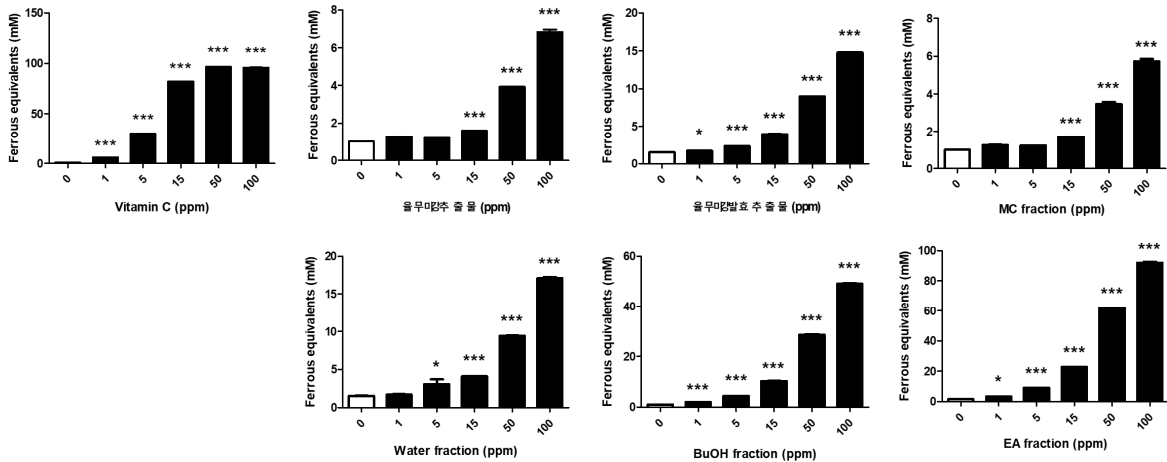
- 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물들의 항산화 특성을 DPPH 라디칼을 사용하여 라디칼 소거 활성에 대해 분석하였다. DPPH 라디칼 소거능은 대표적인 항산화 활성 측정 방법으로 항산화 물질에 의한 양이온 라디칼 소거로 인해 화합물이 탈색되는 원리를 이용한다. DPPH 라디칼 소거능은 EA fraction이 100 ppm에서 53% 소거능을 보이면서 가장 높은 활성을 보였고 BuOH fraction이 67%의 소거능으로 두 번째로 높은 항산화 활성을 보였다



[울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물의 DPPH 라디칼 소거 활성]

2) Ferric reducing antioxidant power(FRAP) 환원능 측정

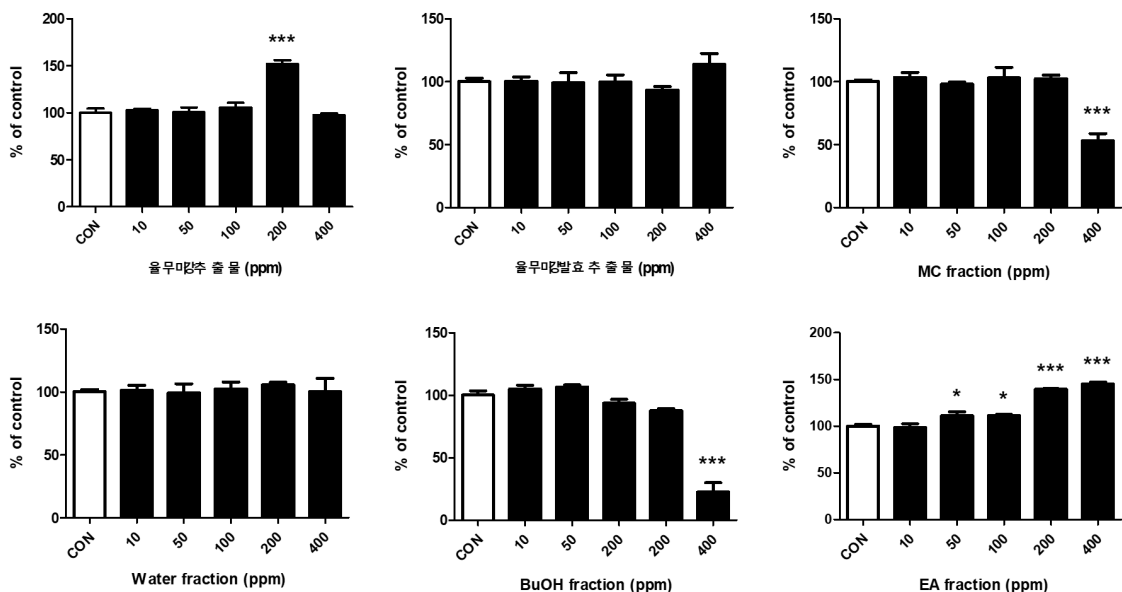
- 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물들의 항산화 활성을 FRAP 환원능 측정을 통하여 분석하였다. FRAP 환원능은 EA fraction이 유의적으로 가장 높은 활성을 나타내었고 그다음으로는 BuOH fraction, Water fraction, 울무미강발효추출물, 울무미강추출물 순으로 확인되었으며 MC fraction이 가장 낮은 활성을 나타내었다. 전반적으로 DPPH 라디칼 소거능과 FRAP 환원능은 매우 유사한 경향을 나타내는 것을 확인하였다.



[울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물의 FRAP 환원 활성]

3) Mushroom tyrosinase 저해 활성 측정

- Tyrosinase는 멜라닌 생합성에 관여하는 효소로서 tyrosine을 기질로 하여 DOPA로 전환시키며 나아가 DOPA quinone으로 산화시키는 등의 일련의 효소 반응을 통하여 멜라닌을 생성한다. 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물에 의한 tyrosinase 저해 활성을 측정하기 위하여 mushroom tyrosinase에 의한 L-tyrosine의 산화 정도를 측정하였다. 그 결과 BuOH fraction과 MC fraction의 400 ppm 농도에서 각각 78%, 47%로 유의적인 저해 효과를 나타냈다. 이러한 결과를 바탕으로 BuOH fraction 및 MA fraction은 tyrosinase 활성을 저해시킴으로써 멜라닌 생합성 저해에 영향을 주는 것으로 해석할 수 있다.

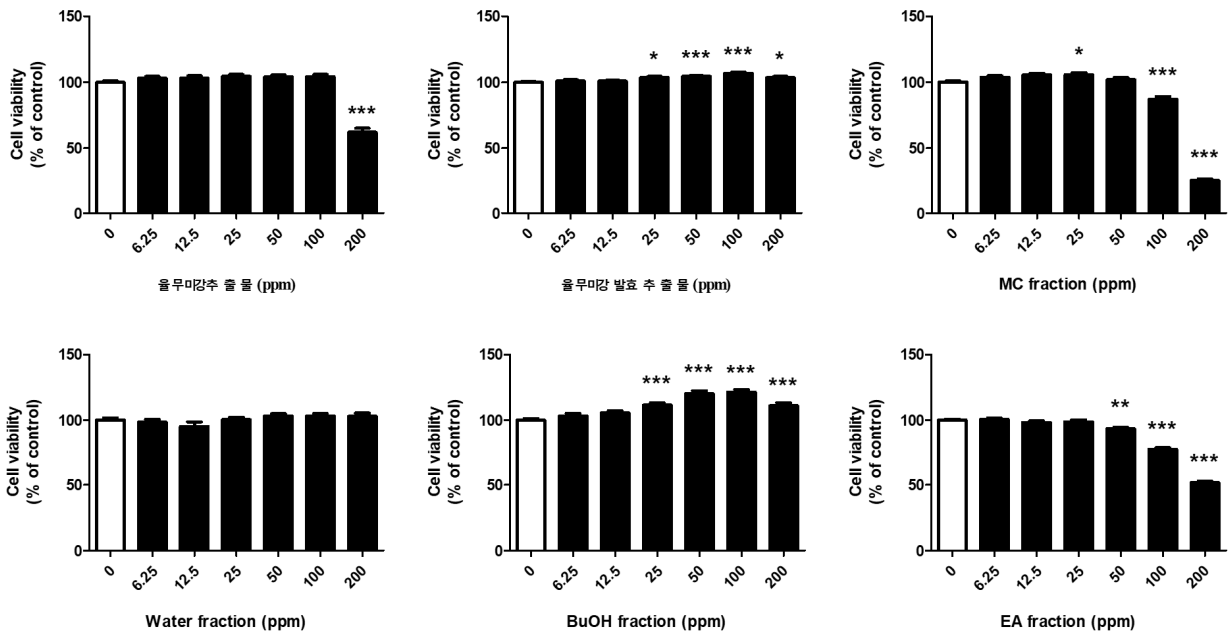


[Cell-free system을 이용한 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물의 mushroom tyrosinase 억제 효과]

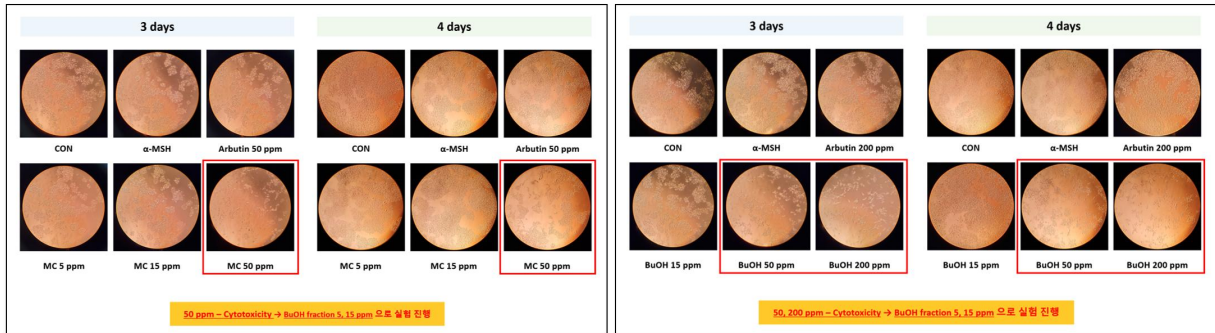
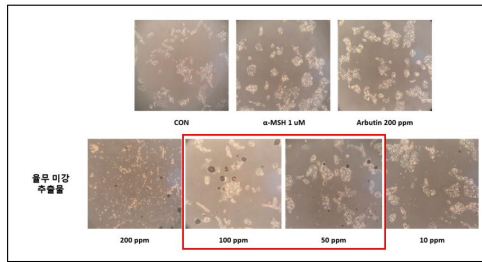
다. α -MSH에 의해 자극된 B16F10 melanoma cells에서 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물의 멜라닌 합성 억제 효능 확인

1) MTS assay를 이용한 B16F10 세포 독성 측정

- 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물들이 B16F10 세포에 독성을 나타내는지 여부를 조사하기 위해 MTS assay를 시행하였다. B16F10 세포를 96-well에 1×10^4 cells/well로 seeding 한 후 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물들을 농도별로 24시간 동안 처리하여 세포 생존율을 확인한 결과, 울무미강추출물은 200 ppm, MC fraction은 100 ppm, EA fraction은 50 ppm 이상으로 처리하였을 때 세포 생존율이 유의적으로 감소하였고, 울무미강발효추출물, Water fraction 및 BuOH fraction은 최대 200 ppm까지 세포 독성을 나타내지 않음을 확인하였다. 또한 6-well에 B16F10을 1×10^4 cells/well로 seeding 한 후 시료들과 α -MSH를 함께 처리하였을 때 울무미강추출물, BuOH 및 MC fraction은 50 ppm에서 세포 독성을 나타냄을 확인하였다. 이러한 결과를 토대로 각 추출물과 분획물들의 농도를 세포 생존율 및 증식에 큰 영향을 미치지 않는 농도 즉, 울무미강추출물 15 ppm, 울무미강발효추출물 200 ppm, MC fraction 15 ppm, Water fraction 200 ppm, BuOH fraction 15 ppm 및 EA fraction 50 ppm 이내로 설정하여 추가 실험을 진행하였다.



[B16F10 세포에서 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물의 세포 생존율]

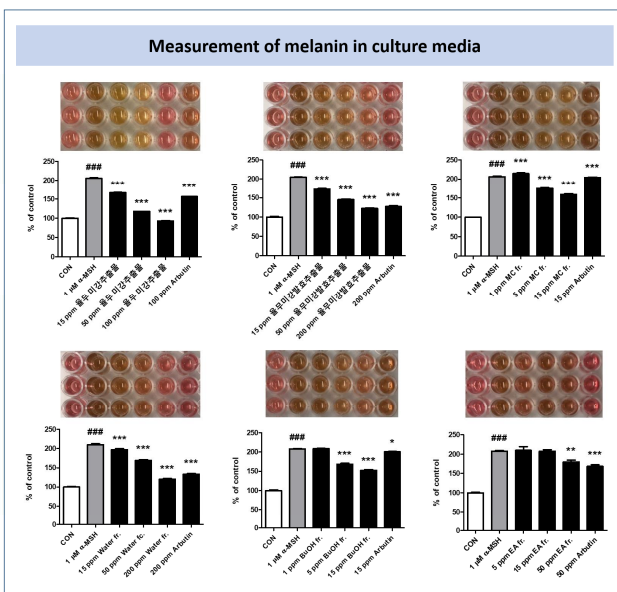


[울무미강추출물, MC, BuOH fraction 세포 독성 사진]

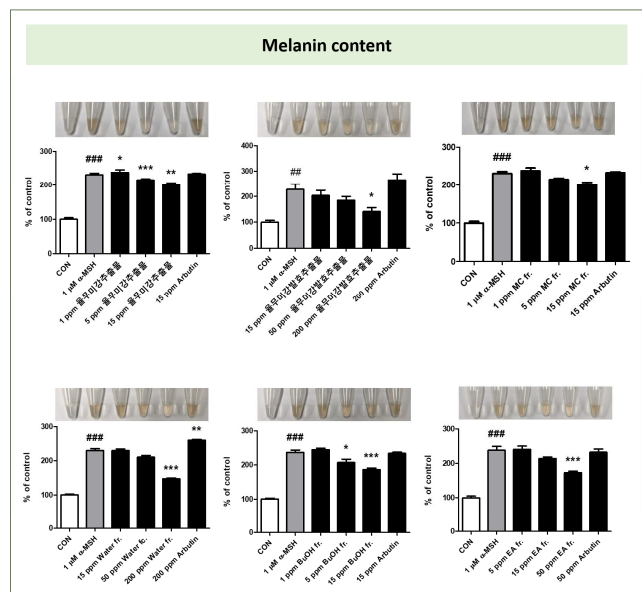
2) B16F10 melanoma 세포에서의 멜라닌 생합성 저해를 측정

- 멜라닌은 tyrosinase 효소의 생합성을 통해 세포 소기관인 ribosome에서 합성되기 시작하며 tyrosinase 효소를 통해 아미노산의 일종인 tyrosine에서 몇 단계의 합성을 통해 흑화된 멜라닌 입자가 생성된다. 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물이 멜라닌 생합성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 B16F10 세포에 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물을 농도별로 1시간 동안 전처리한 후 α-MSH를 5일 동안 처리하여 세포 내에 생성된 멜라닌의 함량을 측정한 결과, 15 ppm의 농도에서 BuOH fraction이 유의적으로 가장 높은 멜라닌 생합성 억제 활성을 보였고 그다음으로는 MC fraction, 울무미강추출물의 순으로 유의적인 억제 활성을 나타냈다. BuOH fraction, MC fraction 및 울무미강추출물의 억제 활성은 현재 tyrosinase 저해제로써 사용되는 arbutin에 비해 효능이 우수함을 확인하였다.

(a)



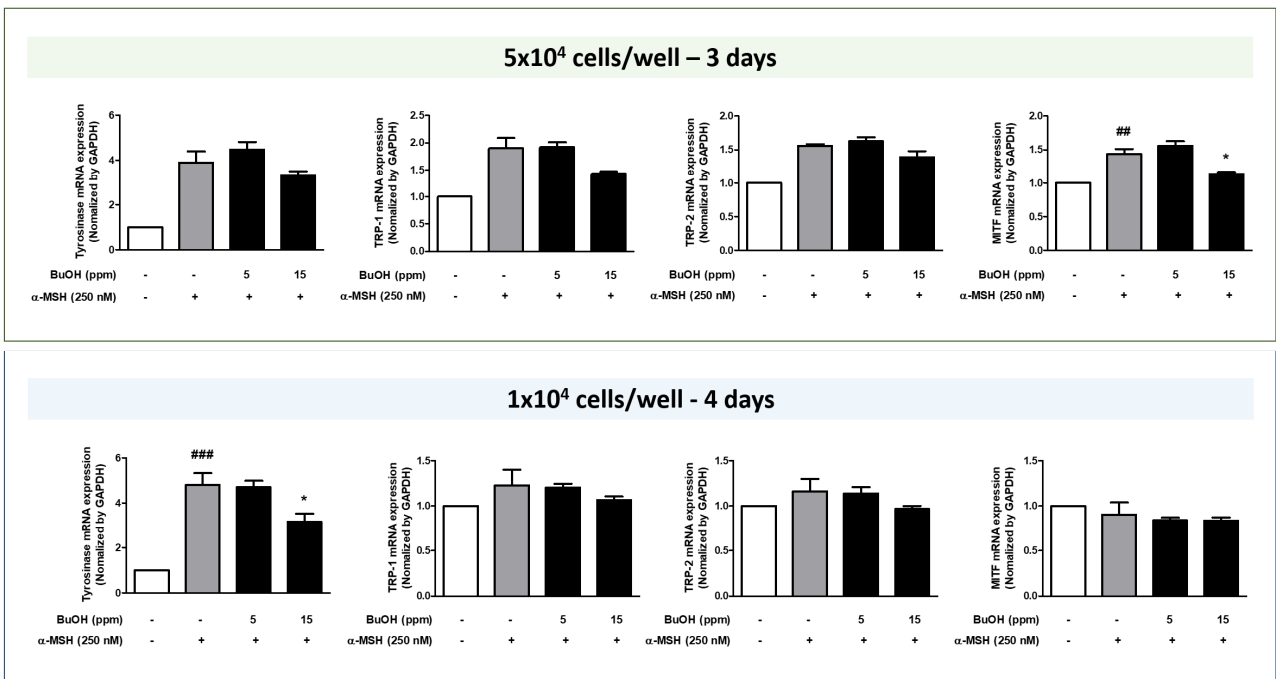
(b)



[α-MSH로 자극된 B16F10 세포에서 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물이 멜라닌 생합성에 미치는 영향]

3) α -MSH로 자극된 B16F10 melanoma 세포에서 BuOH fraction의 melanogenesis 관련 mRNA 발현 분석

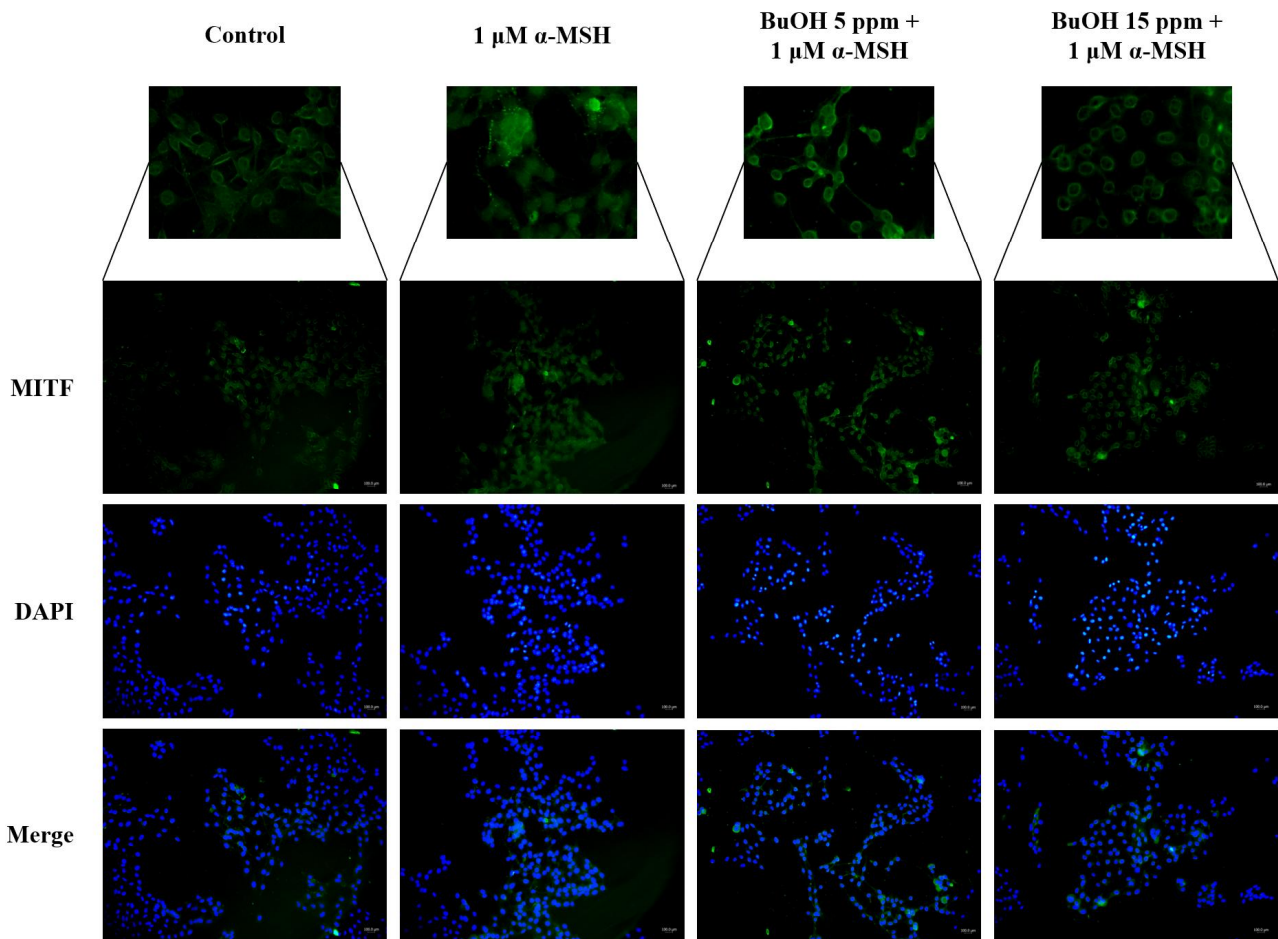
- 멜라닌 생합성은 melanocyte에서 특이적으로 발현되는 tyrosinase, TRP-1, TRP-2, MITF에 의해 조절되는 복잡한 생리적 작용을 통해 유발된다. 따라서 B16F10 세포에 BuOH fraction을 1시간 동안 전처리한 후 α -MSH를 3일 또는 4일 동안 처리하여 tyrosinase, TRP-1, TRP-2 및 MITF의 mRNA 발현에 미치는 영향을 확인하였다. B16F10 세포에 BuOH fraction과 α -MSH를 3일 동안 처리한 결과 MITF mRNA 발현이 15 ppm에서 α -MSH 단독 처리군에 비해 유의적으로 감소하였고, BuOH fraction과 α -MSH를 4일 동안 처리한 결과 tyrosinase mRNA 발현이 15 ppm에서 α -MSH 단독 처리군에 비해 유의하게 감소함을 확인하였다.



[α -MSH로 자극된 B16F10 melanoma cells에서 tyrosinase, TRP-1, TRP-2 및 MITF의 mRNA 발현 수준에 대한 BuOH fraction의 효과]

4) Immunofluorescence staining을 통한 MITF translocation activity 분석

- B16F10 세포에 α -MSH를 처리하면 cAMP의 양이 증가하게 되며, 이는 PKA를 매개로 하여 CREB를 활성화시키고 활성화된 CREB는 MITF의 발현을 유도한다. MITF는 tyrosinase를 비롯한 멜라닌 생성 관련 효소 발현의 전사인자로서 멜라닌 생성효소의 발현을 자극함으로써 흑화에 기여한다. BuOH fraction이 B16F10 세포에서 α -MSH로 자극된 MITF mRNA 발현을 억제하는 것을 확인하였다. BuOH fraction이 세포질에서 핵으로 MITF의 translocation을 억제하는지 평가하기 위해 immunofluorescence staining을 수행하였다. 그 결과 대조군에서 MITF는 대부분 세포질에서 관찰된 반면 α -MSH 처리에 의해 MITF가 핵으로 translocation 되었으며 BuOH 처리 후 MITF는 세포질에서 대부분 검출된 것을 확인하였다. 이러한 결과는 BuOH fraction이 세포질에서 핵으로의 MITF translocation을 억제함을 나타내며, 이는 BuOH fraction이 MITF 활성화의 억제를 통해 멜라닌 생성효소의 발현을 억제함을 시사한다.



[BuOH fraction이 $\alpha\text{-MSH}$ 로 자극된 B16F10 melanoma cells에서 MITF의 translocation에 미치는 영향]

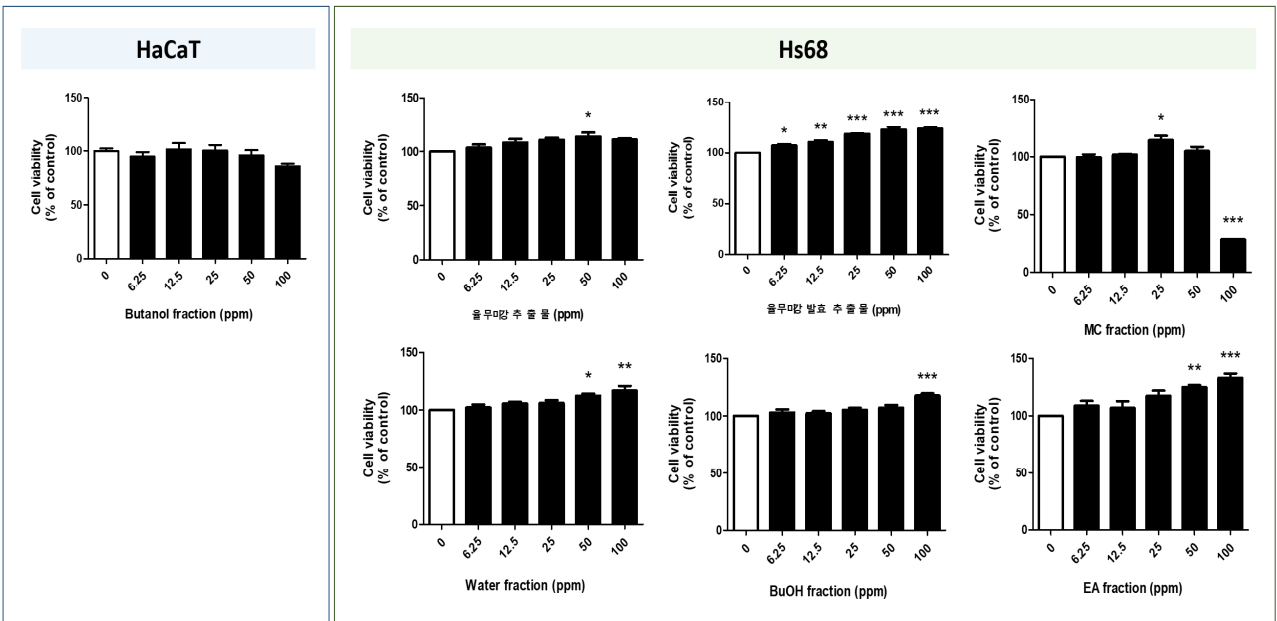
바. UVB에 의해 자극된 HaCaT keratinocytes 및 Hs68 fibroblasts에서 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물의 주름 억제 효능 확인

1) MTS assay를 이용한 HaCaT 및 Hs68 세포 독성 측정

- 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물들이 HaCaT keratinocytes 및 Hs68 fibroblasts에 독성을 나타내는지 여부를 조사하기 위해 HaCaT keratinocytes 및 Hs68 fibroblasts에 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물들을 농도 별로 24시간 동안 처리한 후 MTS assay를 통해 세포 생존율을 확인하였다. HaCaT 세포에서 BuOH fraction은 최대 100 ppm까지 독성을 나타내지 않았다. Hs68 세포에서 MC fraction은 100 ppm 이상으로 처리하였을 때 세포 생존율이 유의적으로 감소하였고, 울무미강추출물, 울무미강발효추출물, Water fraction, BuOH fraction 및 EA fraction은 최대 100 ppm 까지 독성을 나타내지 않았다. 이러한 결과를 토대로 각 추출물과 분획물들의 농도를 세포 생존율 및 증식에 큰 영향을 미치지 않는 농도 즉, HaCaT 세포에서 BuOH fraction은 100 ppm 이내, Hs68 세포에서 MC fraction은 50 ppm, 울무미강추출물, 울무미강발효추출물, Water fraction, BuOH fraction 및 EA fraction은 500 ppm 이내로 설정하여 추가 실험을 진행하였다.

(a)

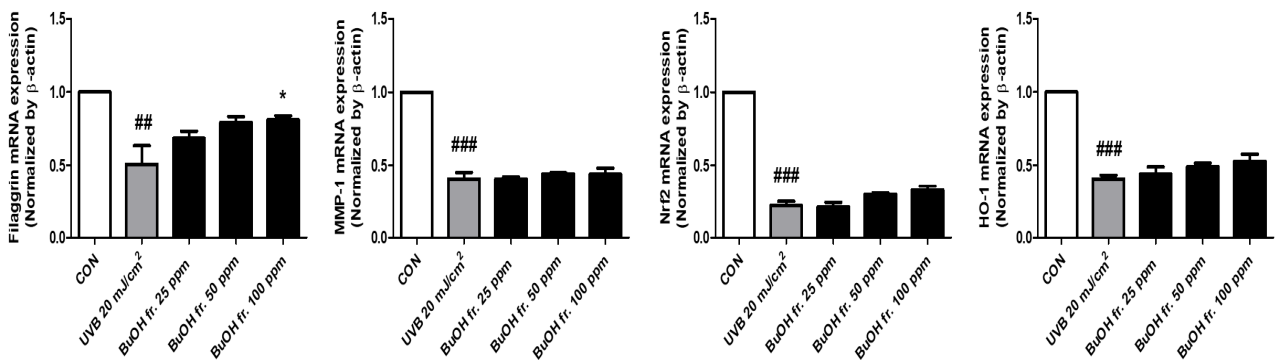
(b)



울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 분획물이 (a) HaCaT keratinocytes와 (b) Hs68 fibroblasts의 생존율에 미치는 영향

2) UVB로 자극된 HaCaT keratinocytes에서 BuOH fraction의 filaggrin, MMP-1, Nrf2, HO-1 mRNA 발현 분석

- Type I, III형 콜라겐을 분해하는 collagenase인 MMP-1, 항산화 유전자인 Nrf2, HO-1의 mRNA 발현을 real-time PCR을 통해 측정된 결과 유의적인 발현 변화를 확인할 수 없었다. (그림 7). 피부 장벽의 주요한 인자인 filaggrin은 BuOH fraction 100 ppm의 농도에서 UVB 조사군에 비해 1.6배 정도 mRNA 발현이 증가하는 것을 확인하였다 (그림 7). 이러한 결과는 BuOH fraction이 각질형성세포층에서 filaggrin 발현을 증가시킴으로써 피부의 수분 함유 능력 증강, 피부 건조의 방지 등의 표피 보호 효능을 가질 수 있음을 의미한다.

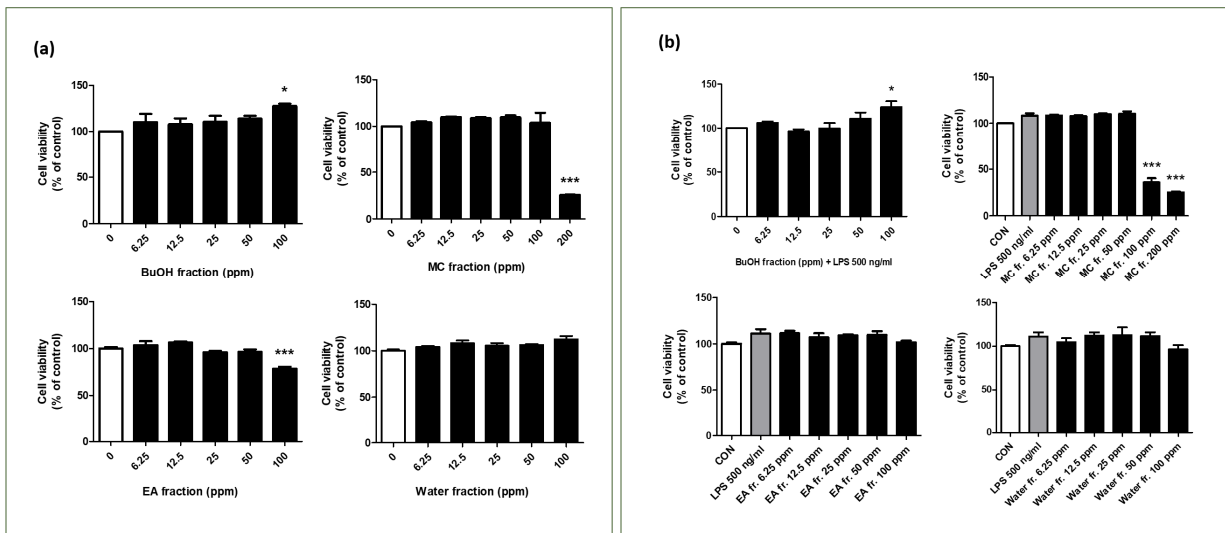


[BuOH fraction이 UVB로 자극된 HaCaT keratinocytes에서 filaggrin, MMP-1, Nrf2 및 HO-1의 mRNA 발현에 미치는 영향]

아. LPS에 의해 자극된 RAW264.7 macrophage에서 울무미강추출물, 울무미강발효추출물 및 그 fraction의 항염증 효능 확인

1) MTS assay를 이용한 RAW264.7 세포 독성 측정

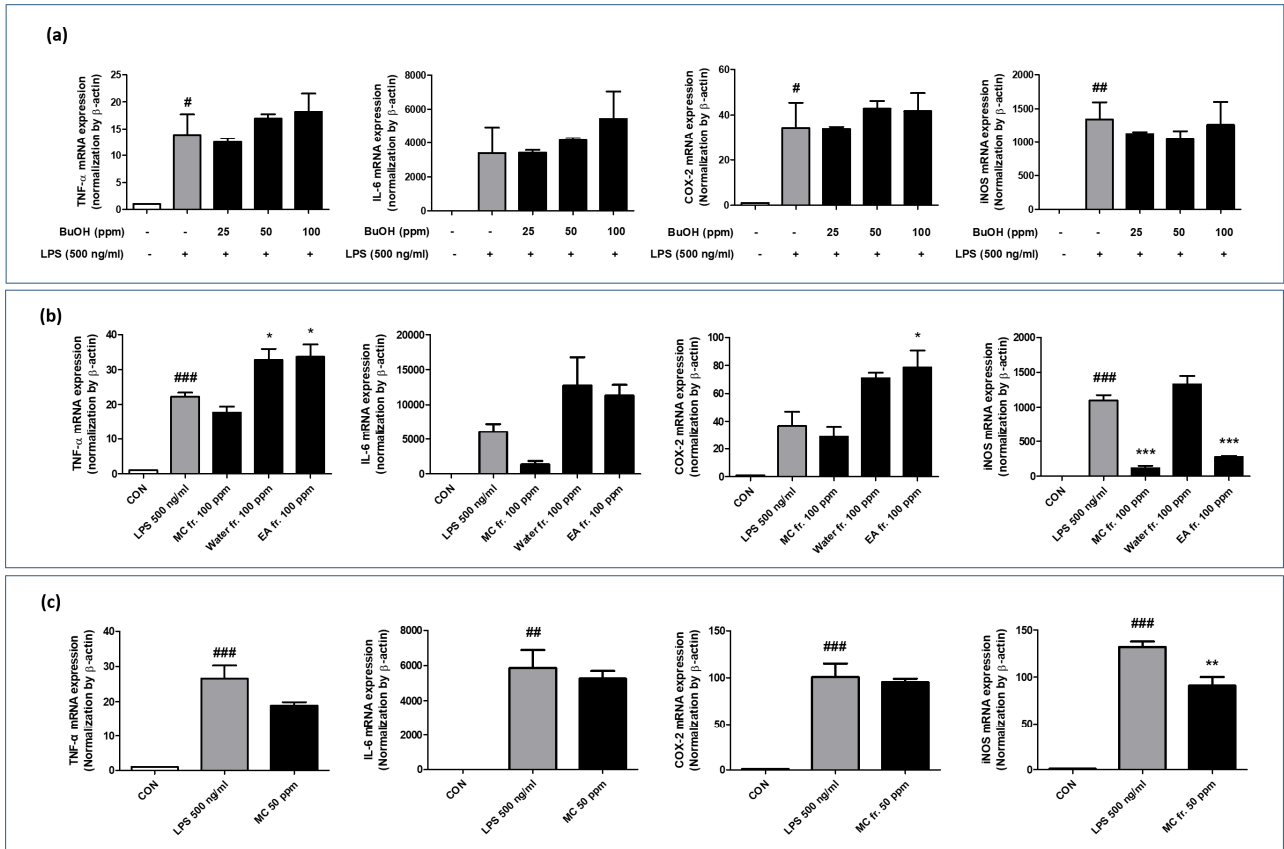
- BuOH, MC, EA 및 Water fraction이 RAW264.7 세포에 미치는 세포 독성을 확인하기 위해 MTS assay를 이용하여 세포 생존율을 측정하였다. BuOH 및 Water fraction은 100 ppm 까지 세포 생존율이 감소하지 않았으며, MC fraction은 200 ppm, EA fraction은 100 ppm으로 처리 시 세포 생존율이 감소하는 것으로 나타났다. 또한, LPS로 자극된 RAW264.7 세포에서 BuOH, MC, EA 및 Water fraction의 세포보호 효능을 확인하기 위해 세포 생존율의 변화를 측정하였다. 그 결과, BuOH, EA, Water fraction은 100 ppm 까지 세포 생존율이 감소하지 않았으며, MC fraction은 100 ppm으로 처리 시 세포 생존율이 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 결과를 토대로 분획물들의 농도를 세포 생존율 및 증식에 큰 영향을 미치지 않는 농도 즉, BuOH fraction 100 ppm, MC fraction 50 ppm, EA fraction 100 ppm 및 Water fraction 100 ppm 이내로 설정하여 추가 실험을 진행하였다.



[울무미강발효추출물 분획물들이 RAW264.7 macrophage의 생존율에 미치는 영향]

2) UVB로 자극된 RAW264.7 세포에서 BuOH, MC, Water, EA fraction의 TNF- α , IL-6, COX-2, iNOS mRNA 발현 분석

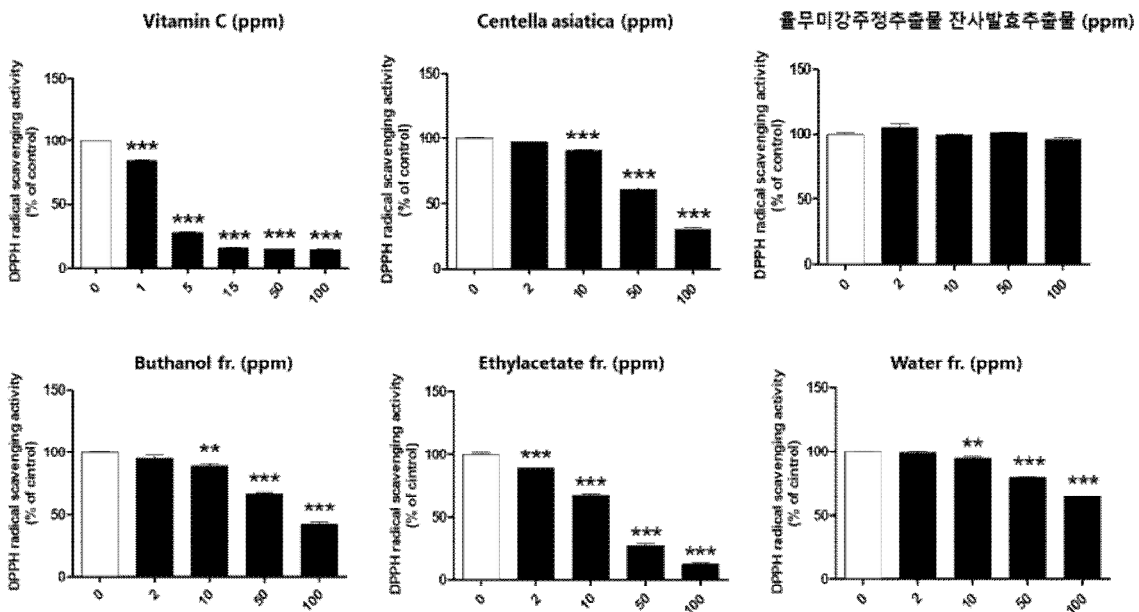
- 체내의 산화환원의 불균형은 NF- κ B의 활성화를 일으키고 활성화된 NF- κ B는 iNOS, COX-2, TNF- α , IL-6, IL-8 등과 같이 여러 노화와 관련된 유전자 및 사이토카인을 발현시켜 이로 인해 염증반응이 유발되며 노화로 진행된다. 따라서 BuOH, MC, Water, EA fraction이 TNF- α , IL-6, COX-2, iNOS의 발현에 미치는 영향을 확인해 보았다. RAW264.7 세포에 BuOH, MC, Water, EA fraction을 1시간 동안 전처리한 후 LPS를 6시간 동안 처리하여 TNF- α , IL-6, COX-2, iNOS 유전자 발현을 확인한 결과, MC fraction에서만 이들 유전자의 유의적인 억제 효과를 확인할 수 있었다. 이를 통하여 MC fraction이 염증을 억제하는 효과가 있을 것으로 사료된다.



[BuOH, MC, Water, EA fraction] LPS로 자극된 RAW264.7 macrophage에서 TNF- α , IL-6, COX-2, iNOS의 mRNA 발현에 미치는 영향]

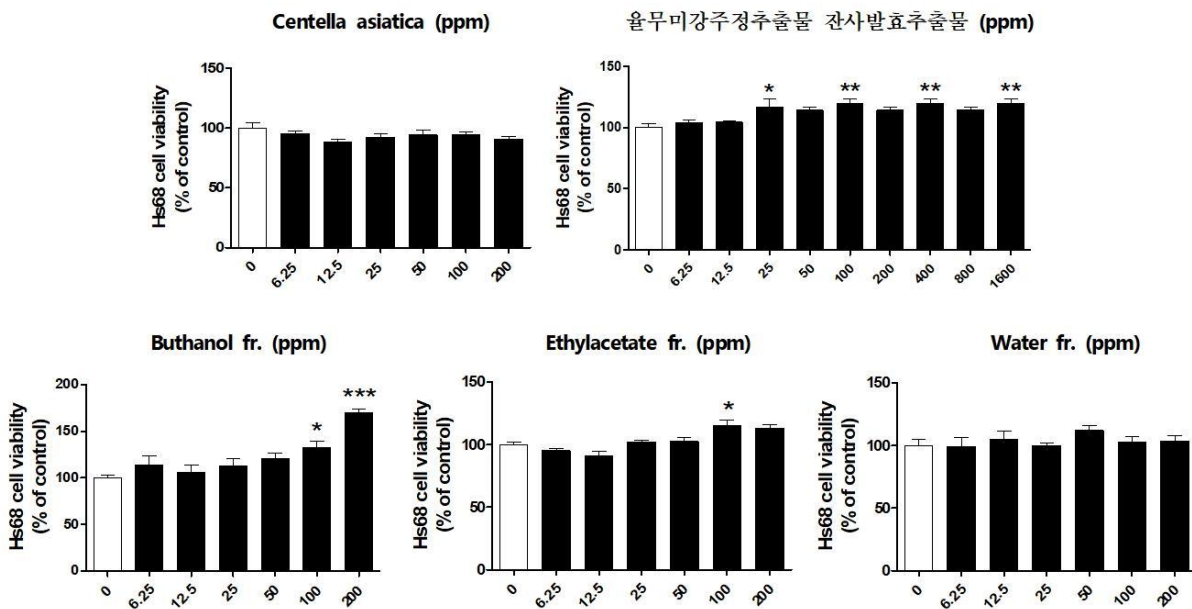
자. 울무미강의 잔사를 발효시켜 제조한 발효추출물의 분획물의 피부재생 효과

1) 울무미강 잔사 발효추출물 또는 이의 분획물의 DPPH 라디칼 소거 활성



-96-well plate에 병풀(*Centella asiatica*) 추출물, 울무미강잔사 발효추출물 또는 이의 분획물 3종을 농도별 (2-100 ppm)로 well당 5 μ l씩 분주 후 microplate reader 장비 (AMR-100, Allsheng, Hangzhou, China)를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 1M DPPH 0.004 g + 80% MeOH 100 ml로 제작한 0.1 mM DPPH 용액 245 μ l 분주 후 광차단하여 30분 동안 RT (실온)에서 방치하였다. 30분 후 microplate reader 장비를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하고 Optical density (광학 밀도) 값을 산출하였다. 그 결과, 위 그림에 나타나는 바와 같이 병풀 (*Centella asiatica*) 추출물, 울무미강잔사 발효추출물 분획물 각각 10 ppm 에서 농도 의존적으로 DPPH 자유라디칼 생성을 유의성 있게 억제하는 것을 확인할 수 있었음. 특히, 울무미강잔사 발효추출물의 부탄올 분획물과 울무미강잔사 발효추출물의 에틸아세테이트 분획물은 100 ppm 에서 50% 이상의 항산화효과를 보였으며 항산화 및 항염증 기능이 이미 입증되어 있는 병풀 (*Centella asiatica*) 추출물과 유사한 효능을 확인할 수 있었음.

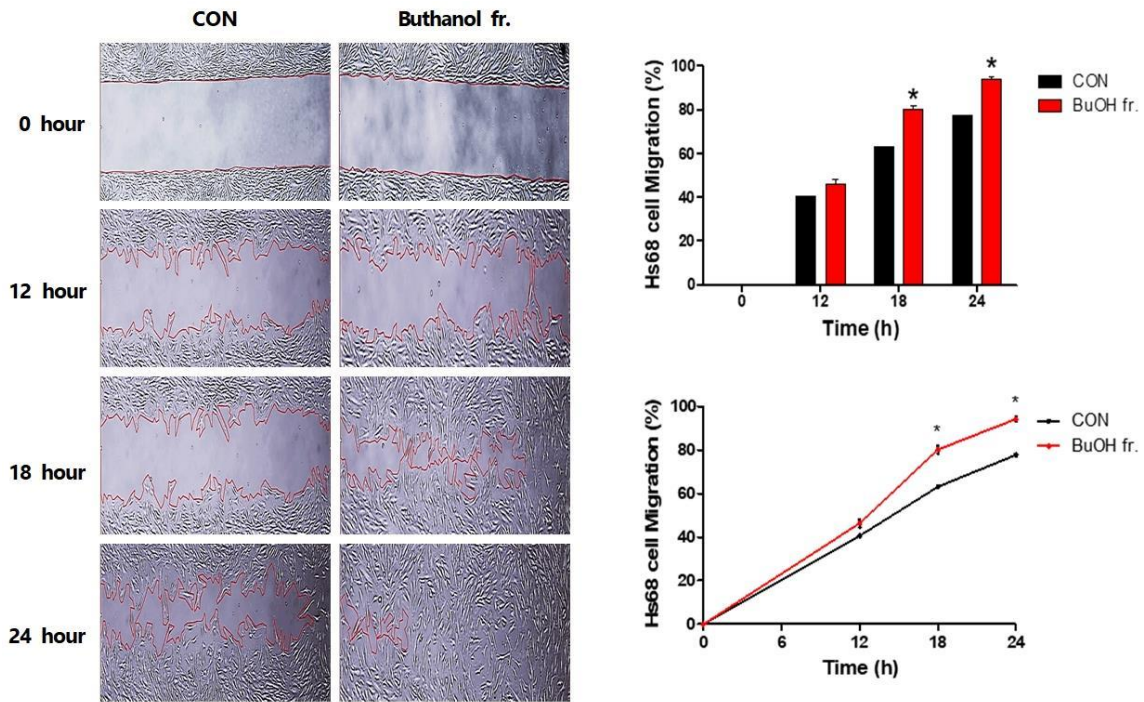
2) 울무미강 잔사 발효추출물 또는 이의 분획물이 Hs68 세포의 생존을 및 증식을



-Hs68 세포를 96-well plate에 8×10^3 cells/well로 분주하고 세포 밀도가 약 70-80%에 도달했을 때 serum free DMEM을 이용하여 병풀(*Centella asiatica*) 추출물, 울무미강잔사 발효추출물 또는 이의 분획물 3종을 농도별 (6.25-200 ppm)로 희석한 후 각 웰에 각각 처리하여 24시간 동안 배양함. 24시간 후 MTS solution을 well 당 5 μ l씩 넣고 1시간 동안 37°C 인큐베이터에 방치하였다. 1시간 후 microplate reader 장비 (AMR-100, Allsheng, Hangzhou, China)를 이용하여 492 nm에서 흡광도를 측정함.

그 결과, 위 그림에 나타나는 바와 같이 울무미강잔사 발효추출물 25 ppm에서 농도 의존적으로 세포 증식이 증가하는 것을 확인할 수 있었음. 특히, 울무미강잔사 발효추출물의 부탄올 분획물(Buthanol fraction)은 100 ppm에서 농도 의존적으로 세포 증식이 증가하였고 200 ppm 농도에서 유의성 있게 50% 이상 증식이 증가하였음. 하지만 병풀 추출물의 경우 피부 세포 증식에 유의적인 영향을 미치지 않았음.

3) 울무미강잔사 발효추출물의 부탄올 분획물(Buthanol fraction)에 의한 Hs68 세포의 증식 속도 및 이동 면적 확인



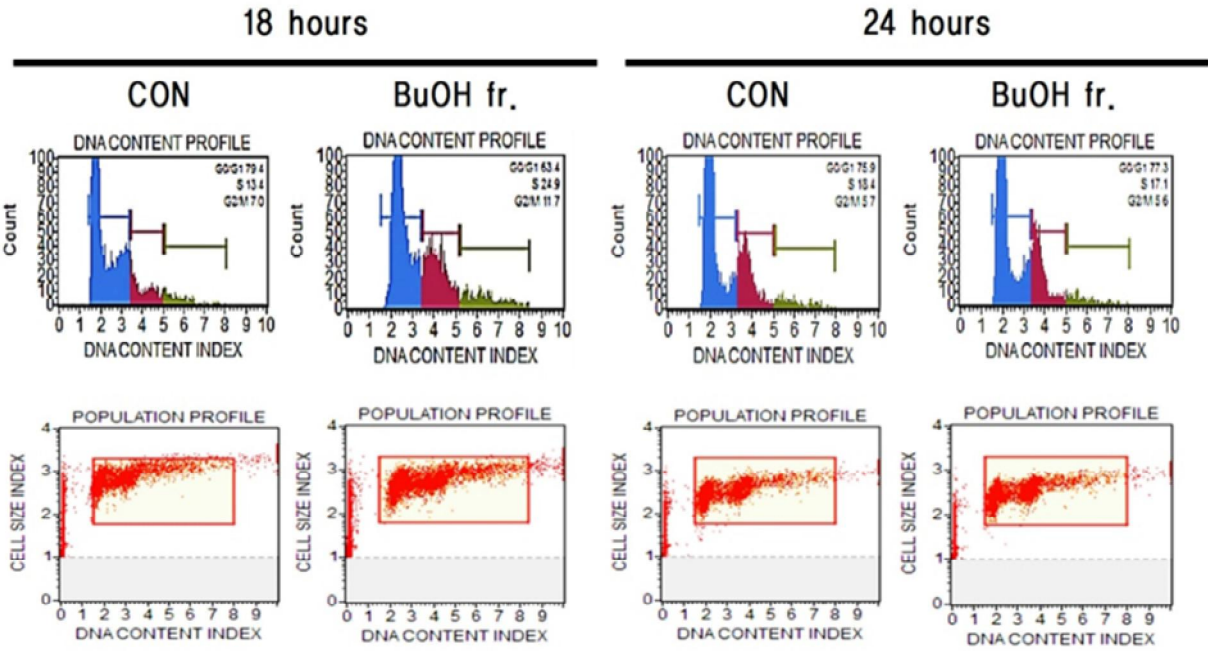
-Hs68 세포를 35 mm μ -Dish (Ibidi, Martinsried, Germany)의 가운데 위치한 배양 삽입물 2 well에 6×10^3 cells/well로 분주함. 세포 밀도가 약 70-80%에 도달했을 때 배양 삽입물을 제거하여 500 μ m의 무세포 간격을 생성함. 간격이 생성된 35 mm μ -Dish에 10% FBS를 첨가한 DMEM과 그에 희석된 울무미강잔사 발효추출물의 부탄올 분획물(Buthanol fraction) 200 ppm을 각각 분주한 후 24시간 동안 배양함. 배양하는 동안 6시간마다 이동하는 Hs68 세포 면적을 microscope 통해 확인하고, image J를 이용하여 시간별 면적 넓이를 측정함.

그 결과, 위 그림에 나타나는 바와 같이 울무미강잔사 발효추출물의 부탄올 분획물 200 ppm이 처리된 Hs68 세포의 이동 면적이 처리 후 18시간부터 유의성 있게 증가하는 것을 확인할 수 있었고, 이후 24시간에서 Hs68 세포가 전체적으로 증식하는 것으로 나타남.

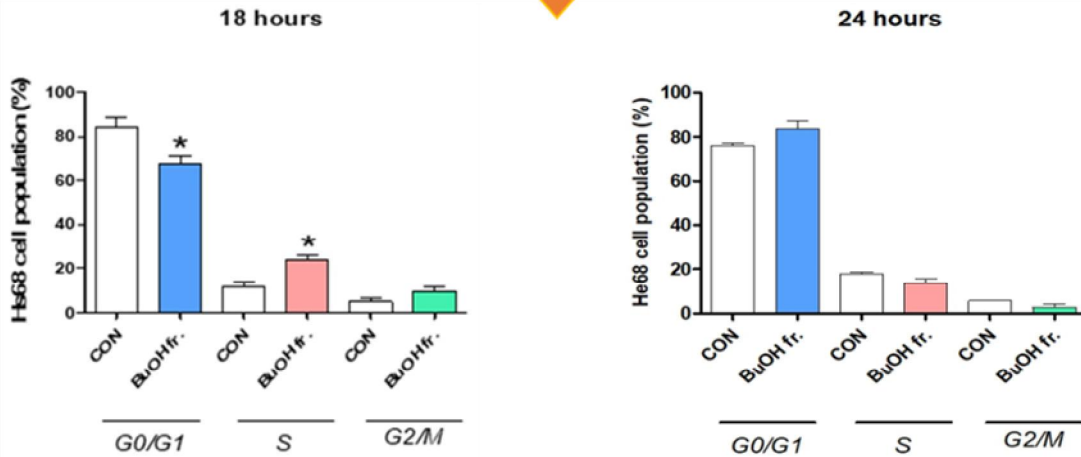
4) Hs68 세포의 증식 주기(proliferation cycle) 중 세포 이주(migration) 속도 증가에 영향을 미치는 특정 구간을 확인하기 위한 세포 주기 분석(Cell cycle assay)

-Hs68 세포를 100mm well plate에 배양하여 세포 밀도가 약 70-80%에 도달했을 때 10% FBS를 첨가한 DMEM과 그에 희석된 울무미강잔사 발효추출물의 부탄올 분획물(Buthanol fraction) 200 ppm을 각각 분주한 후 배양함. 배양 시간은 상처 치유 분석(wound healing assay)에 의해 이동 면적이 가장 큰 결과를 확인한 18시간과 24시간을 비교군으로 배양함. 배양 18시간 및 24시간 후, 1×10^6 cell/mL 씩 1.5 mL tube에 옮겨 담았음. Hs68 세포가 담긴 tube를 300 xg 원심분리 5분 진행 후, 상층액을 제거하고 DPBS 1mL씩 분주하여 피펫팅하였음. 이 과정은 세포를 washing하는 단계이며 총 2회 반복하였음. 마지막 반복 시 상층액 제거 후, 70% EtOH 1mL 분주하여 -20°C 에서 3시간 동안 cell cycle을 고정하였음. 3시간 후, washing 단계를 거쳐 상층액을 제거하고 Muse™ Cell Cycle Reagent 200 μ L 씩 분주하여 피펫팅하였음. Cell Cycle Reagent가 잘 반응할 수 있도록 광차단하여 30분 동안 방치한 후, Muse Cell Cycle Kit (cat. no. MCH100106, Merck Millipore, Billerica, MA, USA)를 이용하여 세포 주기를 측정함.

그 결과, 아래 그림에 나타나는 바와 같이 울무미강잔사 발효추출물의 부탄올 분획물 (Buthanol fraction) 200 ppm이 처리된 18시간 후, 대조군에 비해 DNA 복제 기점인 세포 주기의 S기가 유의성 있게 증가하는 것을 확인할 수 있었음.



위 결과를 아래 그래프로 나타냄



차. RNA Sequencing 빅데이터 분석

1) RNA Sequencing



Original Sample QC

General Information

Order Number	HN00162897	Name of Customer	이봉기	Date of Order	2021-12-01
--------------	------------	------------------	-----	---------------	------------

Final QC Result of DNA sample(s)					
Arrival Date	Experiment Date	Sample count	Pass	Fail	Hold
N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

Final QC Result of RNA sample(s)					
Arrival Date	Experiment Date	Sample count	Pass	Fail	Hold
2021-12-01	2021-12-07	3	3	0	0

The QC criteria refer to the specification requirements of a single run. In any cases, we may encounter the shortage of sample volume or amount due to various reasons such as a library construction failure. In these cases a request of an additional sample will be inevitable.

Therefore, we recommend double the amount to be supplied at first place to minimize any delay of the whole procedure.

* Pass : Proceed with the library construction.

* Fail : Further processes are on hold until the replacement samples received.

We do not recommend in proceeding further steps until a specific instruction was given from the client.

* Hold : A specific instruction should be given by the client for further processing as the QC pattern may be triggered by the sample nature.

Macrogen does not proceed the next step until we have received your permission.

As 3 ul was taken from the sample for sample (library) QC purposes, the indicated volume represents 3ul less than the total volume received.

- 위 결과에 근거해서 울무미강 MC fraction을 RAW264.7 macrophagy 세포에 LPS와 함께 처리 후, 전체적인 유전자 발현의 변화를 조사하기 위해 RNA를 추출 후 sequencing을 진행함
- RNA quality 분석 결과 sequencing 진행조건에 부합함을 확인함

2) Sequencing을 진행하기 위한 sample quality 분석

- RNA sequencing을 진행하기 위해서 샘플에 대한 전사체 서열분석 결과, 모든 샘플이 정상적인 범위에 들어감을 확인(샘플별 raw 데이터와 전처리 과정을 거친 trimmed read를 총 데이터 량과 Q30(phred score, base quality 30이상 %) 값으로 각각을 비교

Raw data vs. Trimmed data (Throughput)

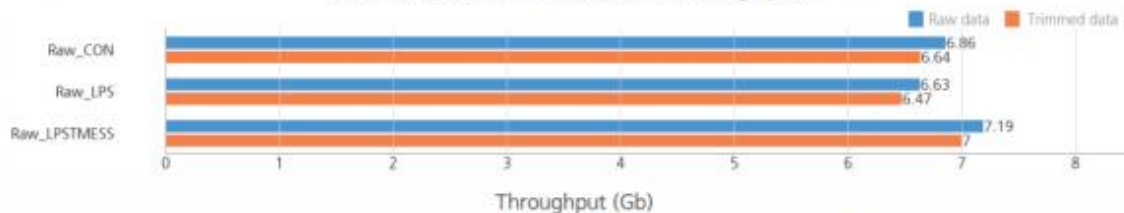


그림 1. Raw data와 Trimmed data의 데이터량 비교

Raw data vs. Trimmed data (≥Q30)

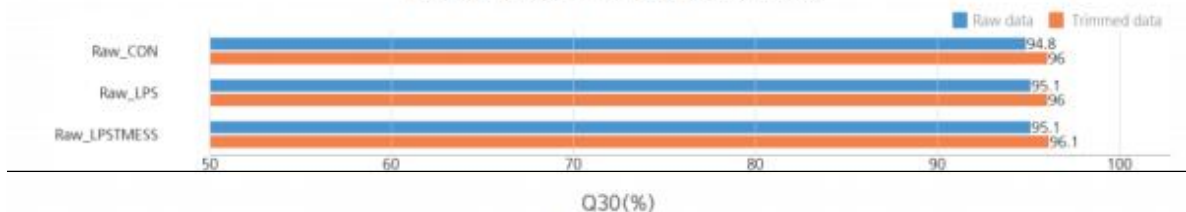
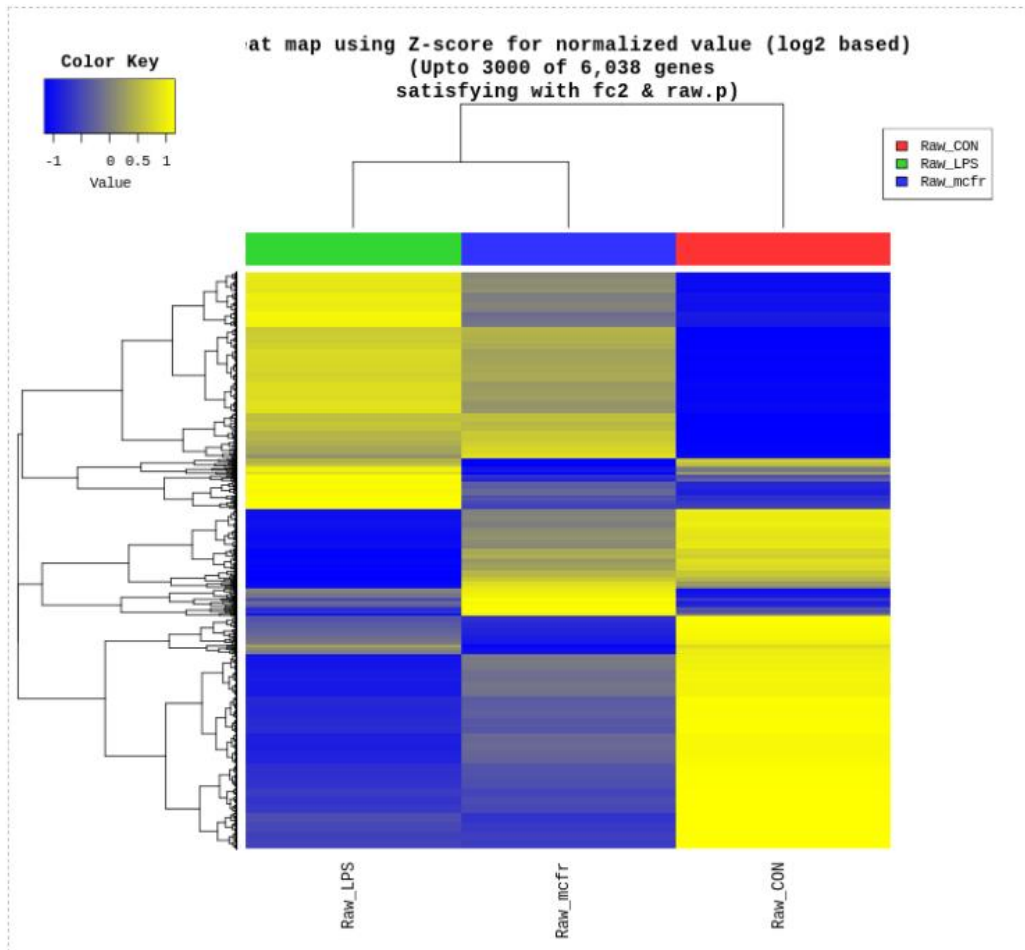


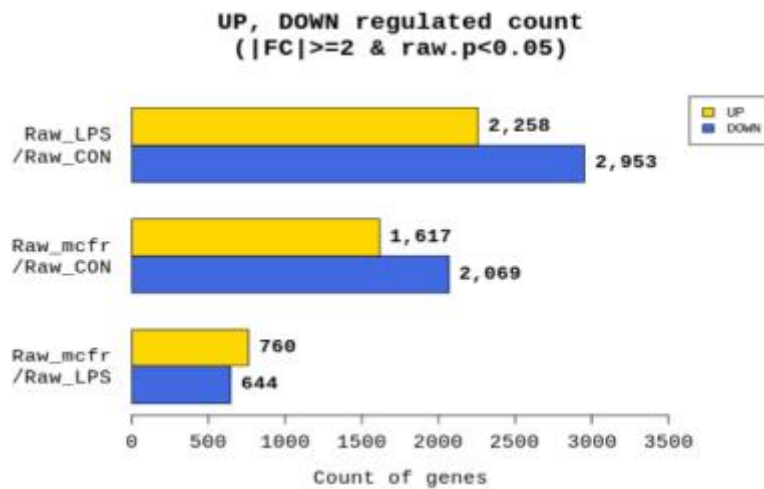
그림 2. Raw data와 Trimmed data의 Q30값 비교

- Sample이 sequencing 진행조건을 만족했기 때문에 TruSeq Stranded Total RNA LT Sample Prep Kit (Gold)를 이용해서 분석.

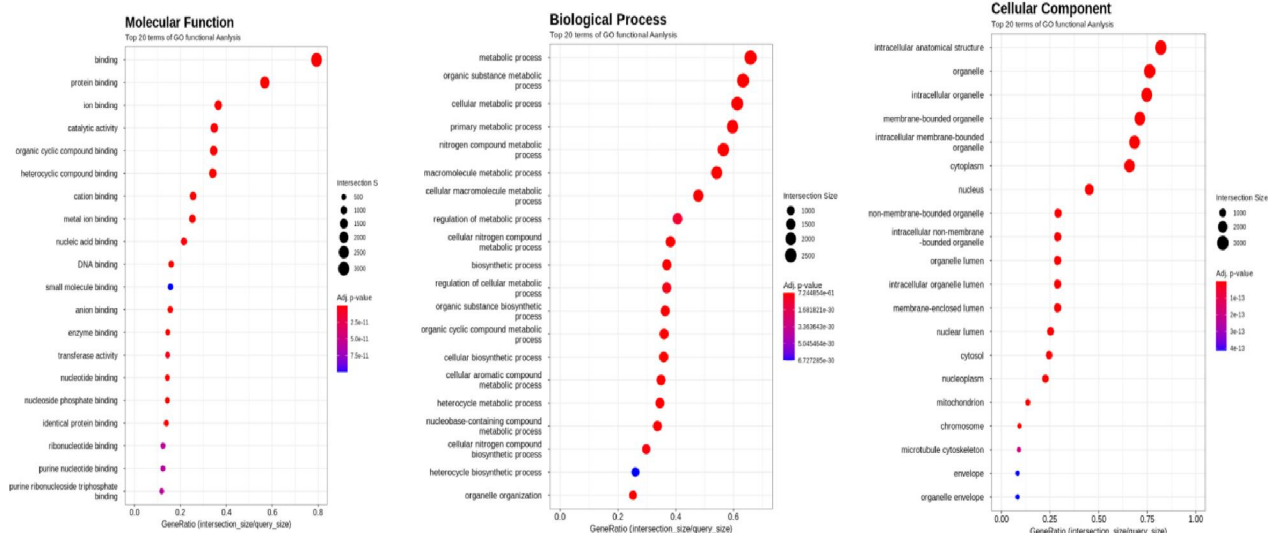
3) RNA Sequencing 결과 분석



- RAW264.7 매크로파지 세포에 LPS를 처리한 군과 처리하지 않은 군 및 울무미강 발효추출물 MC fraction을 처리한 군을 비교했을 때, LPS에 의해서 변화된 유전자 패턴이 울무미강 발효추출물에 의해서 어느 정도 회복됨이 확인됨

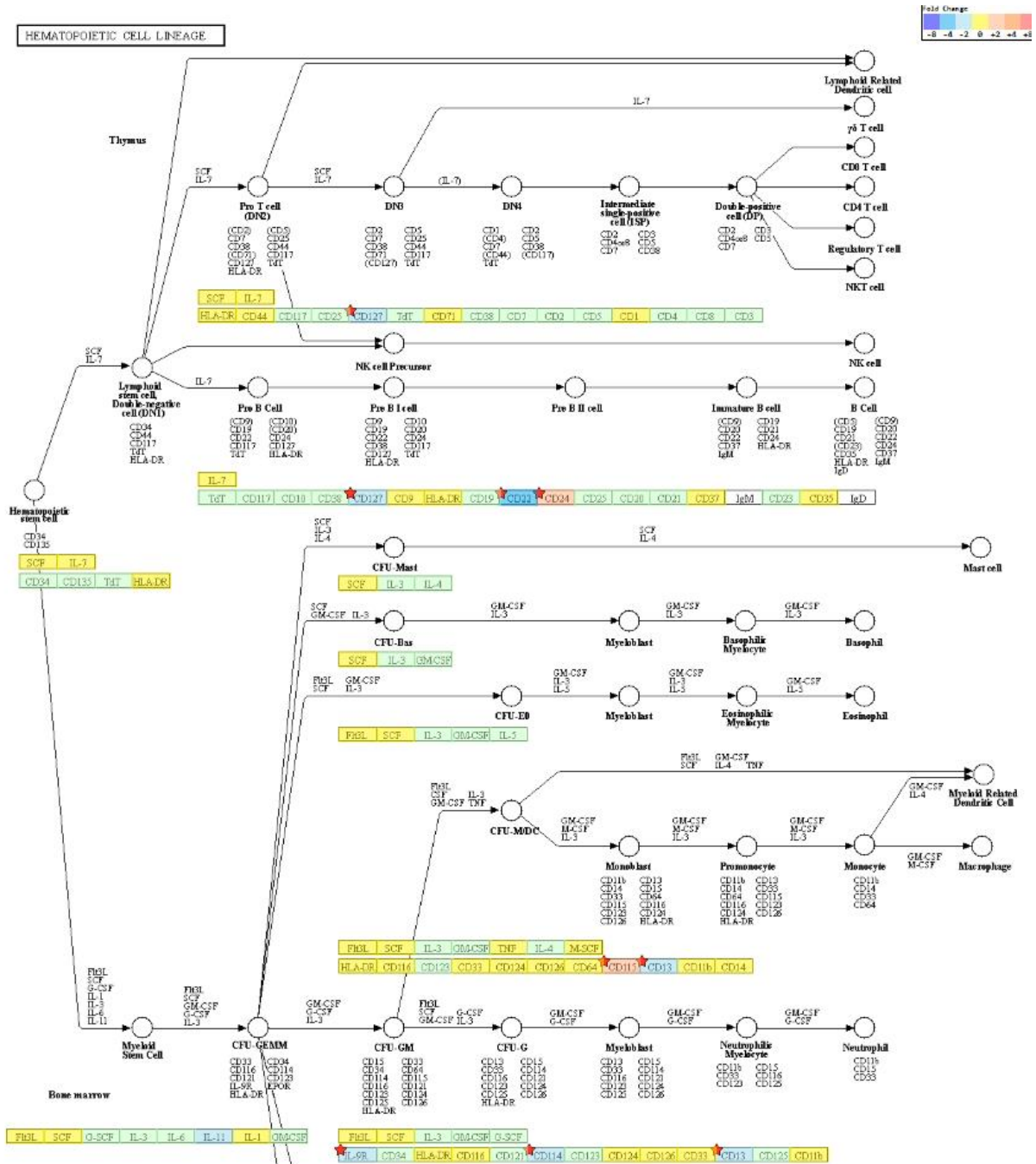


- 해당 비교 조합별 fold change 및 p-value기준으로 유의한 gene의 개수를 산출함
- LPS 처리 매크로파지 세포와 비교했을 때, MC fraction 처리 시, 약 760개의 유전자가 상향조절 되었으며, 644개의 유전자가 하향 조절되었음을 확인함



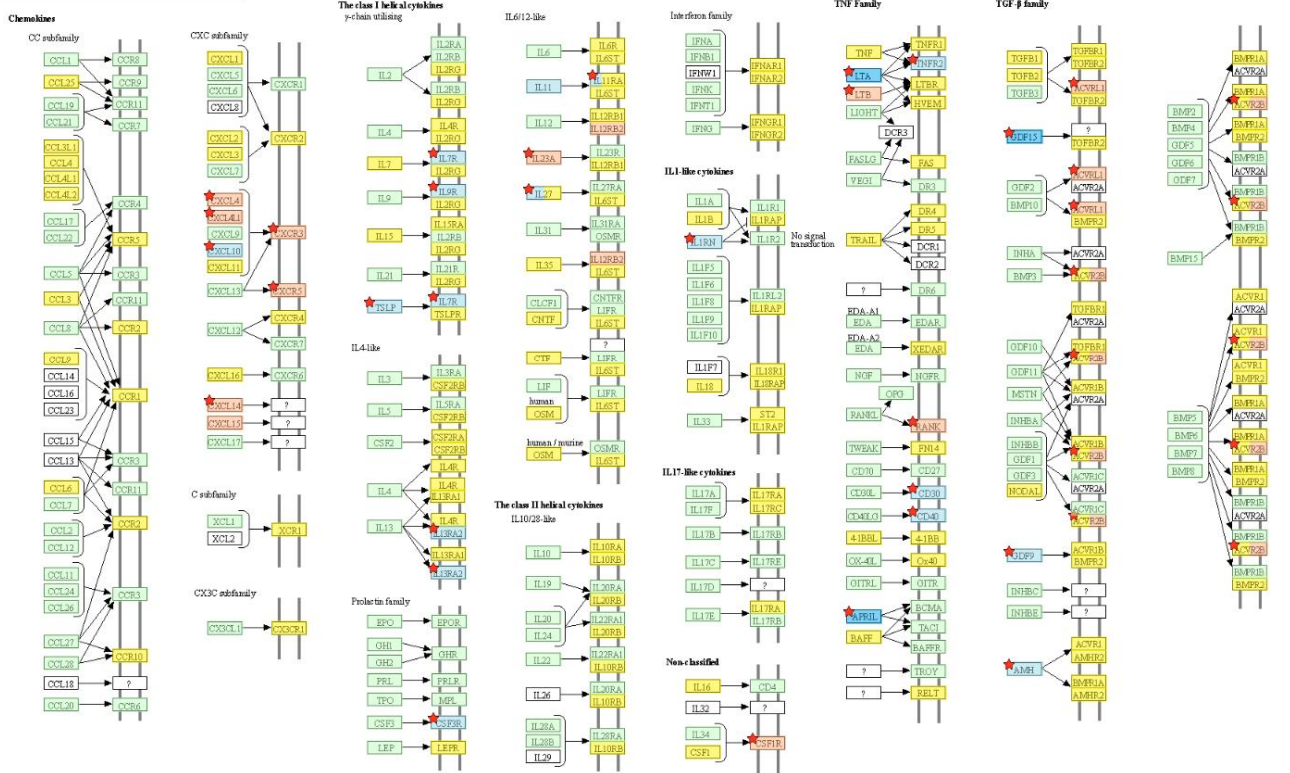
- [GO_category]_gprofiler.png : 해당 분석에서 요청된 모든 비교조합에서, 각 비교조합 조합별 가장 유의했던 GO term을 선별 후 비교조합간 enrichment 결과를 한눈에 비교할 수 있게 dot plot 으로 나타냄.
- 비교조합이 5개 이하라면, adjusted p-value < 0.05 를 만족하는 각 조합별 top 10 term을 사용하고, 이보다 많은 경우 top 5 term을 사용하여 해당 dot plot이 생성됨.
- 해당 분석에서 요청된 모든 비교조합에서, 각 비교조합 조합별 선별 기준에 따른 가장 유의했던 GO term을 선별 후 비교조합간 enrichment 결과를 한눈에 비교할 수 있게 dot plot 으로 나타냄.
- 비교조합이 5개 이하라면, 각 조합별 adjusted p-value < 0.05를 만족하면서, term_size 가 10이상, 500이하를 만족하는 top 10 term을 사용하고, 이보다 많은 경우 같은 조건으로 top 5 term을 사용하여 해당 dot plot이 생성됨.
- 위 그림은 울무미강발효추출물에 의해서 변화된 유전자를 Molecular/biological process/cellular component로 카테고리화 했을 때 가장 많이 변화된 유전자 조합을 나타냄

4) KEGG 신호전달 pathway 분석

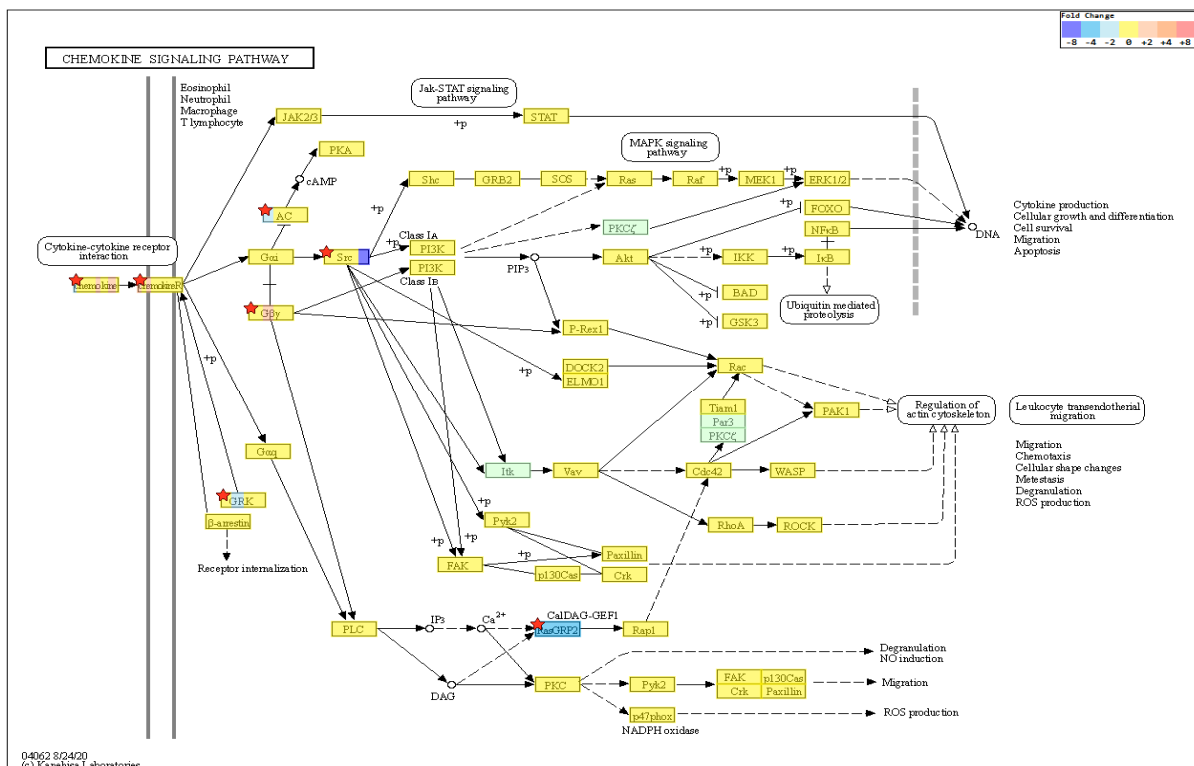


- RAW264.7 매크로파지 세포에 LPS를 처리한 군과 처리하지 않은 군 및 울무미강 발효 추출물 MC fraction을 처리한 군을 비교했을 때, LPS에 그룹에 비해서, Hematopoietic cell lineage 관련 신호전달체계가 뚜렷한 변화를 나타냈으며, 세부적으로 추출물 처리 그룹에서 CD13, CD22, CD114, CD127, IL-9R 등의 유전자 발현이 감소하는 경향을 나타냈으며, CD24, CD115 유전자는 증가하는 경향을 나타냄

CYTOKINE-CYTOKINE RECEPTOR INTERACTION

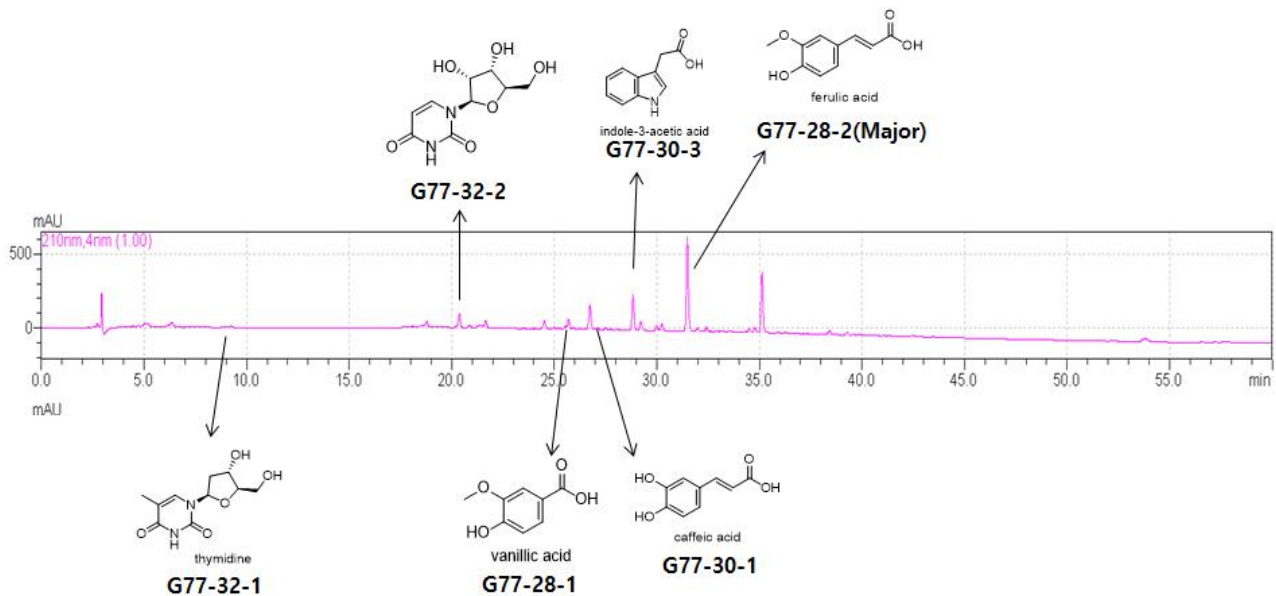


- RAW264.7 매크로파지 세포에 LPS를 처리한 군과 처리하지 않은 군 및 울무미강 발효추출물 MC fraction을 처리한 군을 비교했을 때, LPS에 그룹에 비해서, cytokine-cytokine receptor interaction 관련 신호전달체계가 뚜렷한 변화를 나타냈으며, 세부적으로 추출물 처리 그룹에서 CXCL10, TSLP, IL-7R, IL-9R, IL13RA2, CSF34, IL11, IL1RN, APRIL, LTA, GDF15, GDF9, AMH 등의 유전자 발현이 감소하는 경향을 나타냈으며, CXCL4, CXCL14, CXCL15, CXCR3, CXCR5, IL-23A, IL12RB2, LTB, RANK, ACVRL1, CSF1R 등의 유전자는 증가하는 경향을 나타냄(추가 분석 및 추후 연구 필요).



- 위 그림은 RAW264.7 마크로파지 세포에 LPS를 처리한 군과 처리하지 않은 군 및 울무미강 발효추출물 MC fraction을 처리한 군을 비교했을 때, LPS에 그룹에 비해서, chemokine signaling 관련 신호전달체계가 뚜렷한 변화를 나타냈으며, 세부적으로 추출물 처리 그룹에서 RasGRP2 등의 유전자 발현이 감소하는 경향을 나타냈으며, GB-gamma등의 유전자는 증가하는 경향을 나타냄.

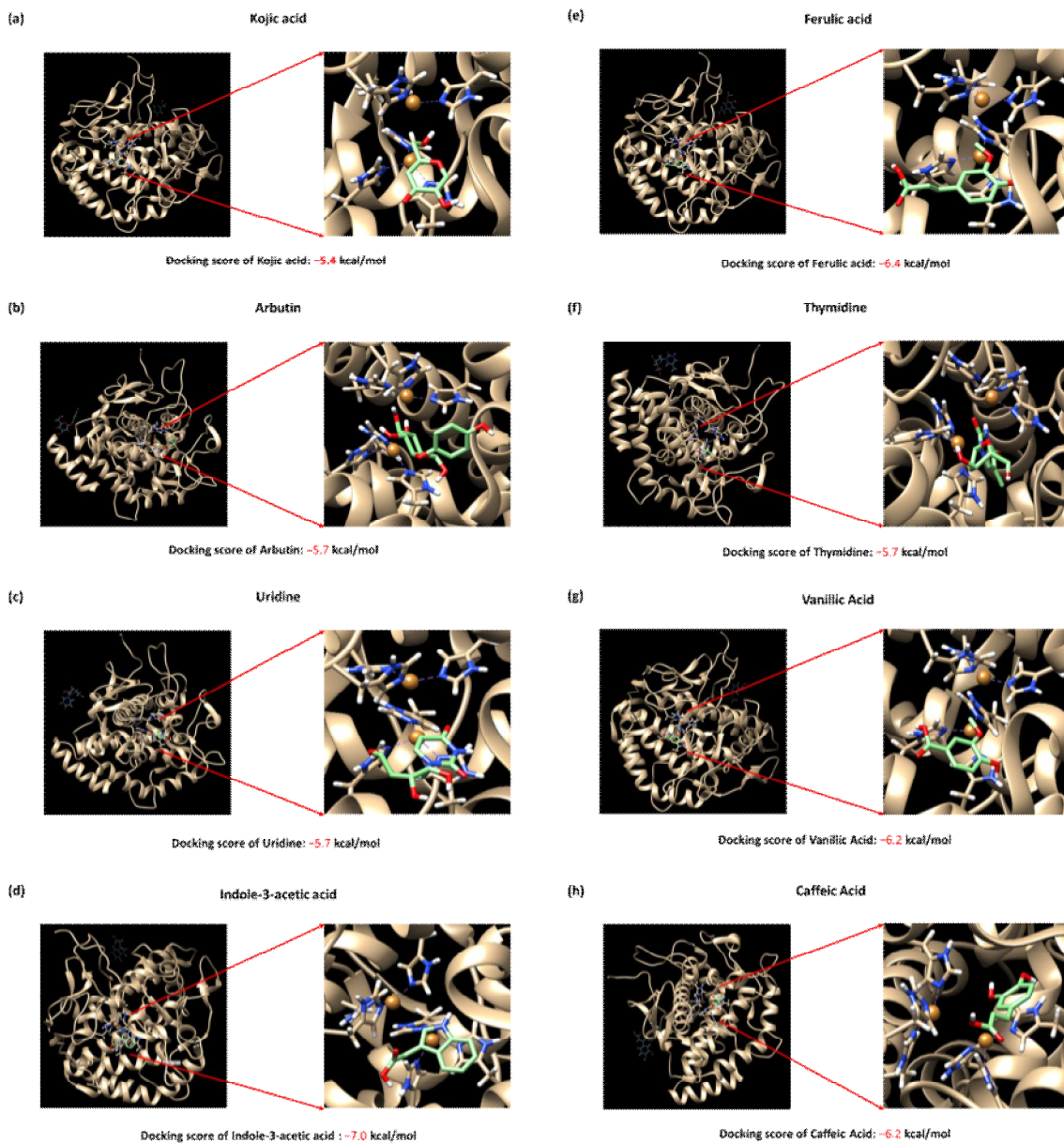
카. *In silico* 분석을 이용한 울무미강 잔사 발효추출물 EA 분획의 지표 성분 특성 분석



울무미강슬러지발효추출물 EA fraction에서 나타난 대표적인 화합물 6가지(Uridine, Indole-3-acetic acid, Ferulic acid, Thymidine, Vanillic Acid, Caffeic Acid)를 *In silico* 분석을 통해 아래와 같이 나타냄.

1) Docking simulation을 이용한 protein-ligand 결합력 예측

울무미강슬러지발효추출물 EA fraction 내 포함된 여섯 가지 주요 화합물 6가지를 Tyrosinase와의 결합 친화도를 예측하기 위해 Autodock Vina를 이용하였음. 이 화합물들은 Tyrosinase의 억제제로 잘 알려진 Kojic acid와 Arbutin과 함께 분석됨. Tyrosinase의 결합 부위에서 이 화합물들의 결합 강도를 예측하고 도킹 점수를 비교하였음.

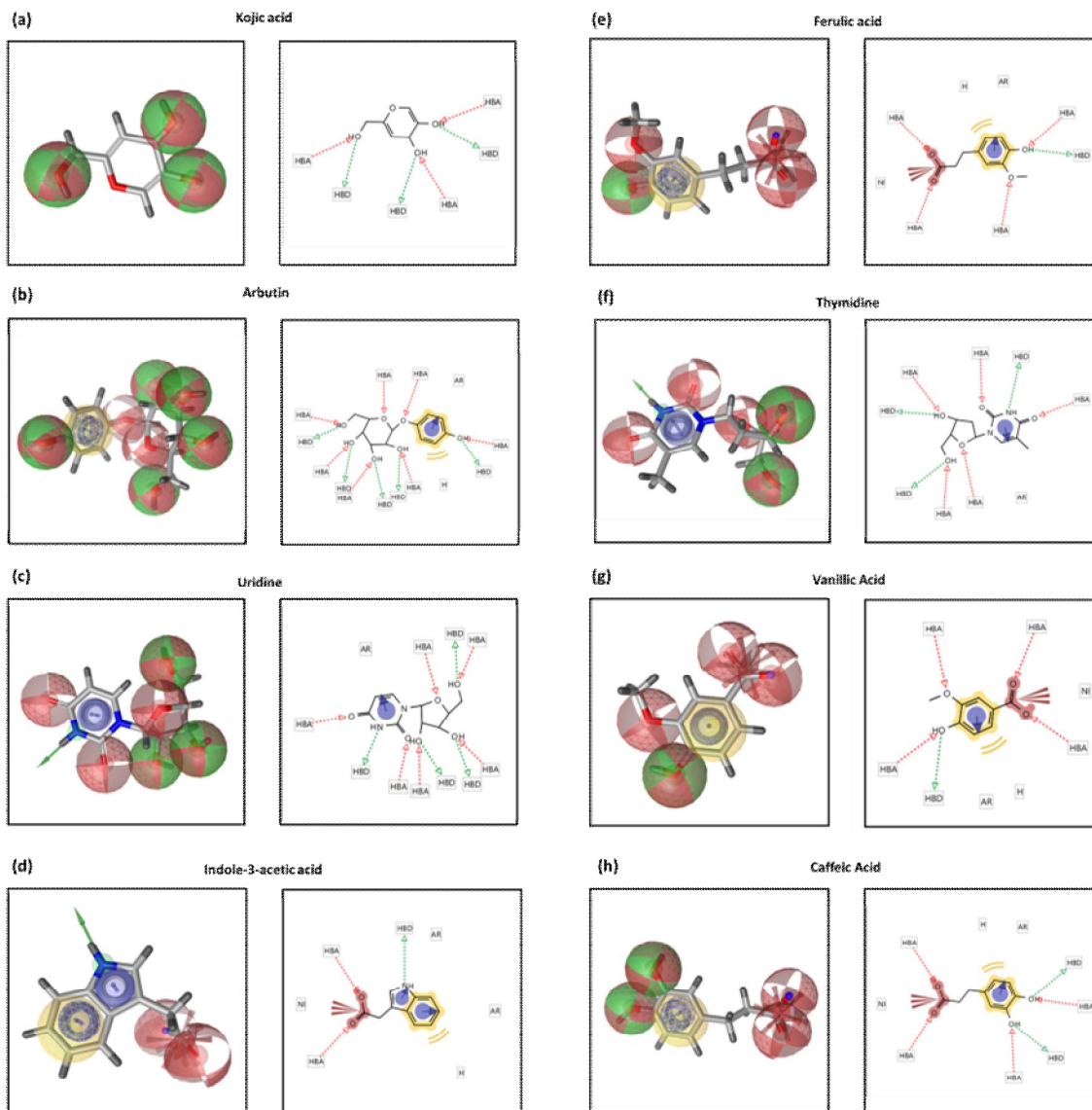


Docking simulation. (a) Kojic acid, (b) Arbutin, (c) Uridine, (d) Indole-3-acetic acid, (e) Ferulic acid, (f) Thymidine, (g) Vanillic Acid, (h) Caffeic Acid

Tyrosinase의 결합 부위에서 이 화합물들의 결합 강도를 예측하고 도킹 점수를 비교하였음. 결과적으로, Kojic acid는 -5.4 kcal/mol, Arbutin은 -5.7 kcal/mol, Uridine은 -5.7 kcal/mol, Indole-3-acetic acid은 -7.0 kcal/mol, Ferulic acid은 -6.4 kcal/mol, Thymidine은 -5.7 kcal/mol, Vanillic Acid은 -6.2 kcal/mol, Caffeic Acid은 -6.2 kcal/mol의 결합 친화도를 나타내었으며, 이는 Kojic acid와 Arbutin보다 높거나 비슷한 결과를 보여줌. 이는 울무미강 분획의 화합물들이 강력한 Tyrosinase 억제제로 작용할 수 있음을 시사함.

2) Pharmacophore 분석

Tyrosinase와 울무미강슬리지발효추출물 EA fraction의 화합물 간의 결합 잔여물 분석은 Ligand Scout 4.4 소프트웨어를 이용하여 진행되었음.



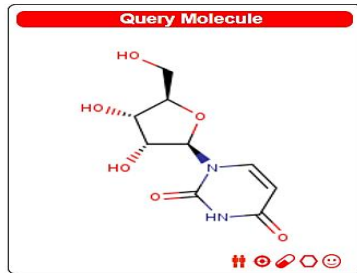
Pharmacophore 분석. (a) Kojic acid, (b) Arbutin, (c) Uridine, (d) Indole-3-acetic acid, (e) Ferulic acid, (f) Thymidine, (g) Vanillic Acid, (h) Caffeic Acid

- Tyrosinase의 억제제로 잘 알려진 Kojic acid는 Tyrosinase 결합에 관여할 수 있는 3개의 수소 결합 수용체와 3개의 수소 결합 공여자를 가짐.
- Tyrosinase의 억제제로 잘 알려진 Arbutin은 Tyrosinase 결합과 관련된 7개의 수소 결합 수용체, 5개의 수소 결합 공여자, 1개의 방향족 상호작용 및 1개의 소수성 상호작용을 형성함.
- Uridine은 6개의 수소 결합 수용체, 4개의 수소 결합 공여자, 1개의 방향족 상호작용을 나타냄
- Indole-3-acetic acid는 2개의 수소 결합 수용체, 1개의 수소 결합 공여자, 1개의 방향족 상호작용 및 1개의 소수성 상호작용을 형성함.
- Ferulic acid는 4개의 수소 결합 수용체, 1개의 수소 결합 공여자, 1개의 방향족 상호작용 및 1개의 소수성 상호작용을 형성함.
- Thymidine은 5개의 수소 결합 수용체, 3개의 수소 결합 공여자, 1개의 방향족 상호작용을 형성함.

- Vanillic Acid는 4개의 수소 결합 수용체, 1개의 수소 결합 공여자, 1개의 방향족 및 1개의 소수성 상호작용을 형성함.
- Caffeic Acid는 4개의 수소 결합 수용체, 2개의 수소 결합 공여자, 1개의 방향족 및 1개의 소수성 상호작용을 형성할 수 있음을 나타냄.

파. Swissdock을 이용한 특정 단백질 표적 예측 분석

1) Uridine



Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Cytidine deaminase	CDA	P32320	CHEMBL4502	Enzyme	██████████	27 / 2 ↓
Adenosine deaminase (by homology)	ADA	P00813	CHEMBL1910	Hydrolase	██████████	9 / 5 ↓
Muscle glycogen phosphorylase	PYGM	P11217	CHEMBL3526	Enzyme	██████████	6 / 3 ↓
Thymidine kinase, cytosolic	TK1	P04183	CHEMBL2883	Transferase	██████████	8 / 18 ↓
Thymidylate synthase (by homology)	TYMS	P04818	CHEMBL1952	Transferase	██████████	1 / 23 ↓
Adenosine A1 receptor	ADORA1	P30542	CHEMBL226	Family A G protein-coupled receptor	██████████	72 / 582 ↓
Thymidine kinase, mitochondrial (by homology)	TK2	O00142	CHEMBL4580	Enzyme	██████████	0 / 24 ↓
Pyrimidnergic receptor P2Y6	P2RY6	Q15077	CHEMBL4714	Family A G protein-coupled receptor	██████████	0 / 33 ↓
UDP-N-acetylglucosamine--peptide N-acetylglucosaminyltransferase 110 kDa subunit	OGT	O15294	CHEMBL5955	Enzyme	██████████	0 / 2 ↓
Beta-hexosaminidase subunit alpha	HEXA	P06865	CHEMBL1250415	Enzyme	██████████	1 / 0 ↓
Beta-N-acetyl-D-hexosaminidase-A/B	HEXB	P07686	CHEMBL5877	Enzyme	██████████	1 / 0 ↓
Bifunctional protein NCOAT	OGA	O60502	CHEMBL5921	Enzyme	██████████	31 / 0 ↓
Carbonic anhydrase II	CA2	P00918	CHEMBL205	Lyase	██████████	47 / 0 ↓
Carbonic anhydrase XII	CA12	O43570	CHEMBL3242	Lyase	██████████	36 / 0 ↓
Carbonic anhydrase IX	CA9	Q16790	CHEMBL3594	Lyase	██████████	37 / 0 ↓

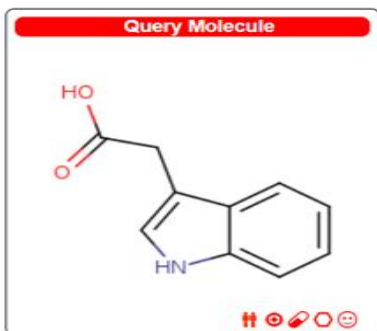
Showing 1 to 15 of 100 entries

Previous 1 2 3 4 5 6 7 Next

*Probability for the query molecule - assumed as bioactive - to have this protein as target.

- Uridine이 조절할 가능성이 있는 단백질들 중 Cytidine deaminase을 표적으로 작용할 가능성이 가장 높음.
- Cytidine deaminase (CDA)는 핵산 대사에 관여하는 효소로, 특히 RNA와 DNA의 핵산을 구성하는 뉴클레오티드에 영향을 미침. CDA의 억제는 여러 생리적 및 병리적 상황에서 중요한 역할을 할 수 있으며 특히, CDA 억제와 암 간의 관계는 다양한 선행연구가 진행되어있음.
- CDA는 항암제 중 플루오로우라실(FU)과 관련된 약물을 빠르게 대사시켜 비활성 대사물로 변환시켜 항암제의 농도가 감소하고, 항암 효과가 제한되며 CDA 억제제를 통해 항암제의 농도를 높이고 내성을 감소시키는 치료 메커니즘 연구에 Uridine의 Cytidine deaminase 표적 작용은 암 치료 전략에 긍정적인 영향을 미칠 수 있음.

2) Indole-3-acetic acid



Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Dual specificity phosphatase Cdc25A	CDC25A	P30304	CHEMBL3775	Phosphatase	<input type="checkbox"/>	0 / 1 ↓
Tryptophan 2,3-dioxygenase (by homology)	TDO2	P48775	CHEMBL2140	Enzyme	<input type="checkbox"/>	1 / 0 ↓
Hydroxycarboxylic acid receptor 2 (by homology)	HCAR2	Q8TDS4	CHEMBL3785	Family A G protein-coupled receptor	<input type="checkbox"/>	41 / 0 ↓
Cyclooxygenase-2	PTGS2	P35354	CHEMBL230	Oxidoreductase	<input type="checkbox"/>	13 / 38 ↓
Poly [ADP-ribose] polymerase 2 (by homology)	PARP2	Q9UGN5	CHEMBL5366	Enzyme	<input type="checkbox"/>	4 / 0 ↓
Palmitoleyl-protein carboxylesterase NOTUM	NOTUM	Q6P988	CHEMBL3714531	Hydrolase	<input type="checkbox"/>	42 / 0 ↓
Heat shock protein HSP 90-alpha	HSP90AA1	P07900	CHEMBL3880	Other cytosolic protein	<input type="checkbox"/>	2 / 0 ↓
Calpain 2	CAPN2	P17655	CHEMBL2382	Protease	<input type="checkbox"/>	2 / 0 ↓
Calpain 1	CAPN1	P07384	CHEMBL3891	Protease	<input type="checkbox"/>	2 / 0 ↓
Serine/threonine-protein kinase PLK1	PLK1	P53350	CHEMBL3024	Kinase	<input type="checkbox"/>	0 / 7 ↓
Lysine-specific demethylase 2A	KDM2A	Q9Y2K7	CHEMBL1938210	Eraser	<input type="checkbox"/>	6 / 0 ↓
Histone lysine demethylase PHF8	PHF8	Q9UPP1	CHEMBL1938212	Eraser	<input type="checkbox"/>	4 / 0 ↓
Egl nine homolog 1	EGLN1	Q9GZT9	CHEMBL5697	Oxidoreductase	<input type="checkbox"/>	5 / 0 ↓
Casein kinase II alpha	CSNK2A1	P68400	CHEMBL3629	Kinase	<input type="checkbox"/>	9 / 2 ↓
Mast cell carboxypeptidase A	CPA3	P15088	CHEMBL2645	Protease	<input type="checkbox"/>	3 / 0 ↓

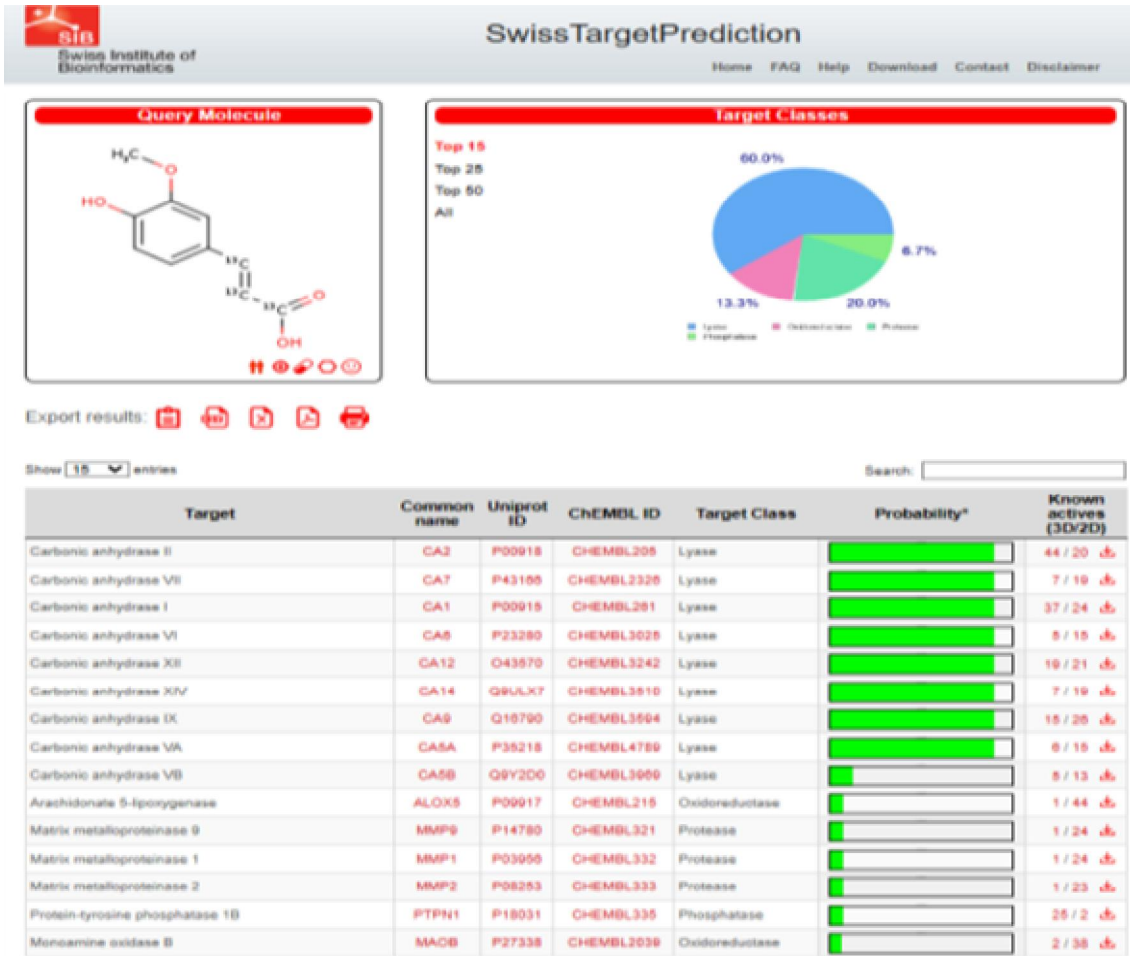
Showing 1 to 15 of 100 entries

Previous 1 2 3 4 5 6 7 Next

*Probability for the query molecule - assumed as bioactive - to have this protein as target.

- Indole-3-acetic acid에 의해서 조절 될 수 있는 단백질을 그룹화 한 결과 protease family, kinase family, eraser family 등의 순서로 영향을 미칠 것으로 예측됨
- Indole-3-acetic acid이 조절할 가능성이 있는 단백질들 중 Calpain은 Nassar의 연구에 의하면 피부 상처 치유의 단계 동안 억제되었을 경우 혈관신생재생과 염증작용이 저하되었으며 결과적으로는 조직 재생 속도 또한 저하 되었다고 보고되었음.
- Cyclooxygenase-2 (COX-2)는 상처 치유가 필요할 시 유도되는 것을 확인하고, 피부 상처 치유에 중요할 수 있다는 Futagami의 연구가 있으며, Lee의 연구에서는 COX-2 억제제가 I procollagen와 caveolin-1의 발현을 조절함으로써 피부노화를 조절할 수 있다는 등 피부에 대한 다양한 연구가 있음.
- Heat shock protein HSP 90-alpha (Hsp90 α)는 정상세포의 경우 조직에 상처를 입었을 경우에만 분비되는 물질로 이는 국소적인 적용은 급성 및 만성 상처 치유를 촉진할 수 있다는 Li의 연구가 있음.
- Serine/threonine-protein kinase PLK1의 경우 Bu Y et al (2008), Weiss L and Efferth T (2012), Reagan-Shaw S and Ahmad N (2005), Benoit DS et al (2010) 등의 연구에 의하면 결여된 마우스에서 암세포의 생존을 감소시키고, 세포사멸을 일으켰으며 약물에 대한 민감성을 높이는 등의 효과를 보였음. 또한 많은 연구들에서 PLK1을 억제시켰을 때 암세포 전이에서 효과적으로 보였음.
- 울무미강슬러지 발효추출물에 Indole-3-acetic acid가 함유되어 있기 때문에 *In silico* 분석을 통해 분석된 단백질 표적들에 대한 효과를 추가적으로 검증할 필요가 있음

3) ferulic acid



- ferulic acid에 의해 조절될 수 있는 단백질을 그룹화한 결과, carbonic anhydrase family에 가장 큰 영향을 미칠 것으로 예측되었음.
- Ferulic Acid이 조절할 가능성이 있는 단백질들 중에는 Carbonic Anhydrase family가 가장 많은 영향을 미칠 것이라 예측됨. 이 family는 여러 서브타입으로 구성되어 있으며, 각각이 다른 역할을 수행함.
- Carbonic Anhydrase I (CA I)는 주로 적혈구에서 발견되며, 이산화탄소를 탄산으로 변환한다고 알려져 있음.
- Carbonic Anhydrase IV (CA IV)와 Carbonic Anhydrase XII (CA XII)는 주로 신장과 폐, 소장에서 발견되며, 이산화탄소 전송과 산-염기 균형 유지에 관여하며 특히, Carbonic Anhydrase IX (CA IX)는 암 세포에서 많이 발견되며, 암 세포가 산성 환경에서도 생존하도록 돕는 역할을 함.
- Ferulic Acid가 Carbonic Anhydrase family에 미치는 영향을 광범위하게 분석하고, 이와 관련된 예측 효과를 검증하는 것이 필요함. 이 분석과 검증 과정은 다양한 조직 및 세포 모델에서 진행되어야 하며, 이를 위해 unbiased approach(빅데이터 분석)를 사용하는 것이 적절함.

4) thymidine



This website allows you to estimate the most probable macromolecular targets of a small molecule, assumed as bioactive. The prediction is founded on a combination of 2D and 3D similarity with a library of 370'000 known actives on more than 3000 proteins from three different species.

The webtool is described in detail here: [SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules, *Nucl. Acids Res.* \(2019\)](#). For technical information about the prediction algorithm, you can refer to: [Shaping the interaction landscape of bioactive molecules, *Bioinformatics* \(2013\) 29:3073-3079](#).

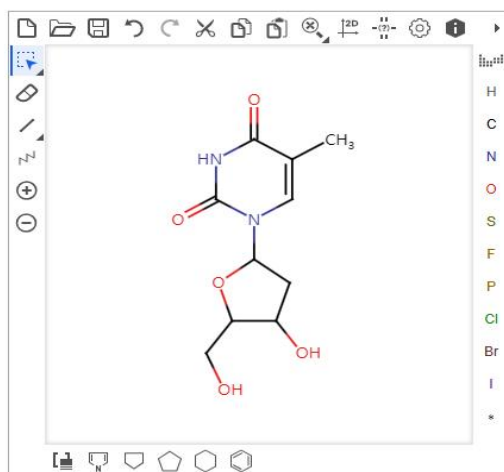
Select a species

- Homo sapiens
- Mus musculus
- Rattus norvegicus

Paste a SMILES in this box, or draw a molecule

Examples:

(Can take up to one minute)



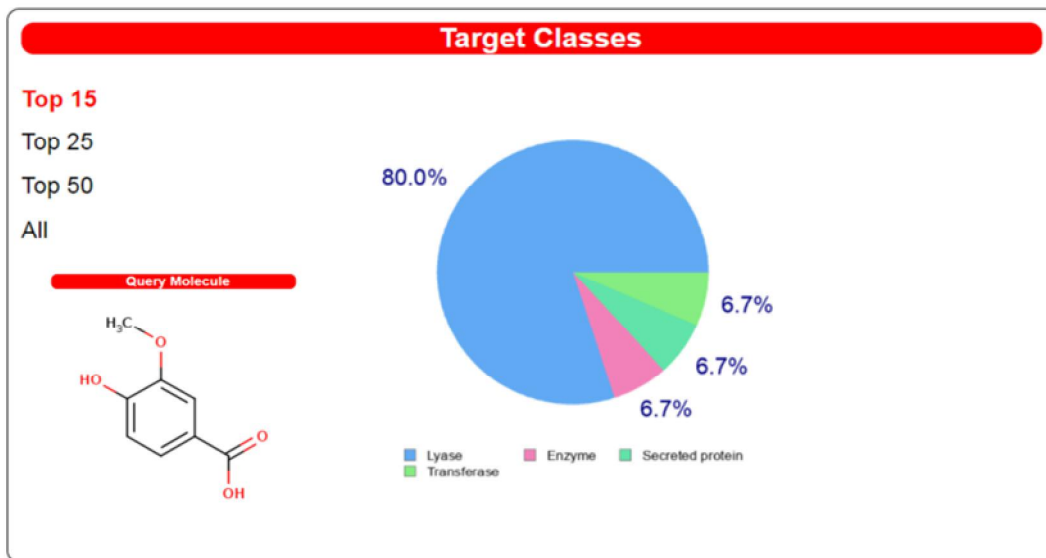
POWERED BY ChemAxon

www.swisstargetprediction.ch의 메시지

No similar actives found. No target predicted.

Thymidine은 SwissTargetPrediction 분석에서 예측 결과가 도출되지 않음.

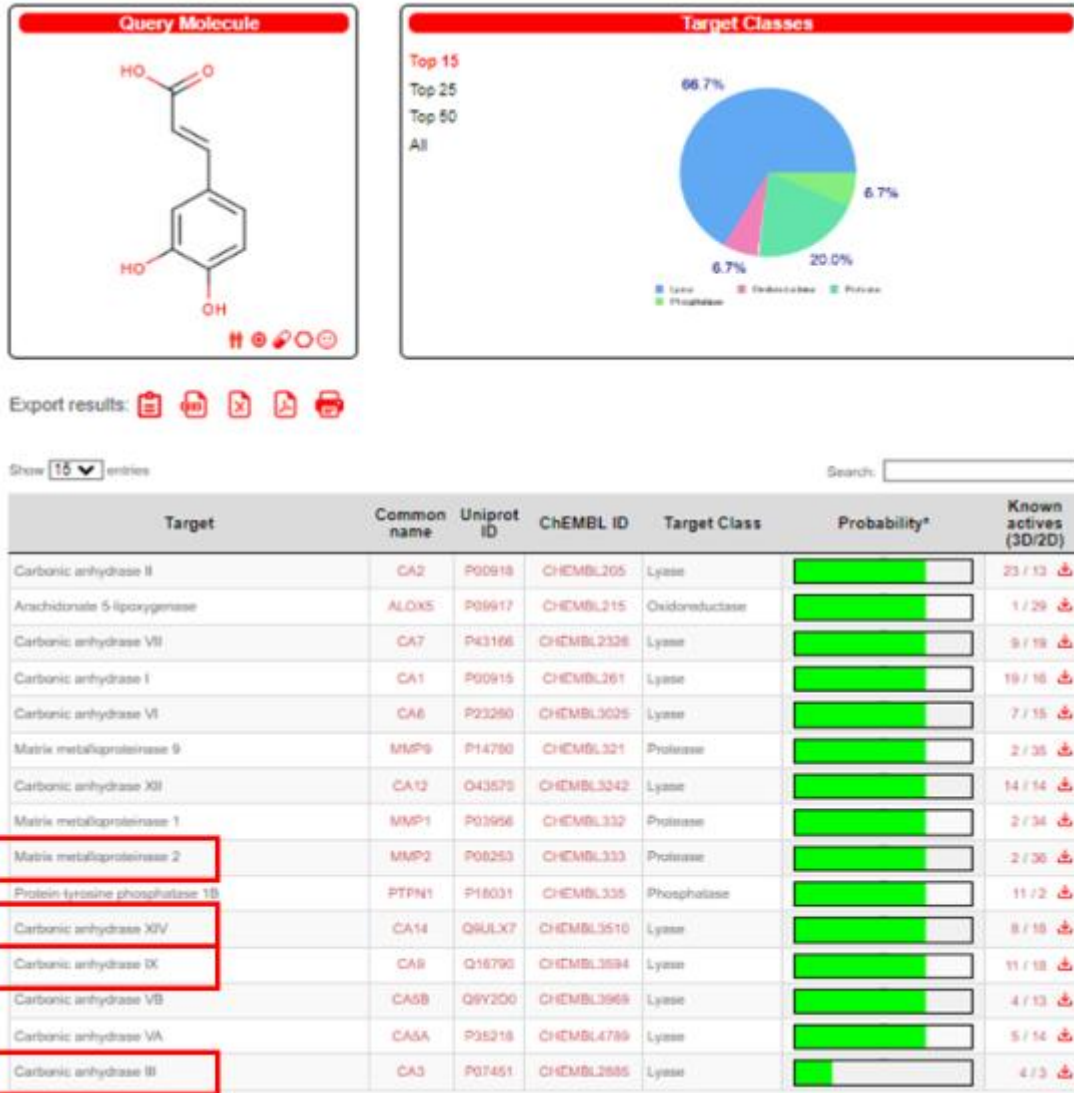
5) Vanillic acid (기존에 포함된 내용)



Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Lysine-specific demethylase 4D-like	KDM4E	B2RXH2	CHEMBL1293226	Eraser	0.133391037839	4 / 0
Lysine-specific demethylase 4A	KDM4A	O75164	CHEMBL5896	Eraser	0.133391037839	4 / 0
Lysine-specific demethylase 3A	KDM3A	Q9Y4C1	CHEMBL1938209	Eraser	0.133391037839	2 / 0
Lysine-specific demethylase 6B	KDM6B	O15054	CHEMBL1938211	Eraser	0.133391037839	2 / 0
Alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenase FTO	FTO	Q9C0B1	CHEMBL2331065	Oxidoreductase	0.133391037839	2 / 0
Lysine-specific demethylase 4C	KDM4C	Q9H3R0	CHEMBL6175	Eraser	0.133391037839	4 / 0
Tyrosine-protein kinase FYN	FYN	P06241	CHEMBL1841	Kinase	0.125075959828	2 / 1
Tyrosine-protein kinase LCK	LCK	P06239	CHEMBL258	Kinase	0.125075959828	2 / 2
Fructose-1,6-bisphosphatase	FBP1	P09467	CHEMBL3975	Enzyme	0.125075959828	13 / 0
Aldo-keto-reductase family 1 member C3	AKR1C3	P42330	CHEMBL4681	Enzyme	0.125075959828	5 / 18
Lysine-specific demethylase 2A	KDM2A	Q9Y2K7	CHEMBL1938210	Eraser	0.125075959828	3 / 0
Matrix metalloproteinase 9	MMP9	P14780	CHEMBL321	Protease	0.125075959828	2 / 0
Matrix metalloproteinase 1	MMP1	P03956	CHEMBL332	Protease	0.125075959828	2 / 0
Matrix metalloproteinase 2	MMP2	P08253	CHEMBL333	Protease	0.125075959828	2 / 0
Matrix metalloproteinase 8	MMP8	P22894	CHEMBL4588	Protease	0.125075959828	1 / 0

- Vanillic acid에 의해서 조절 될 수 있는 단백질을 그룹화 한 결과 lyase family에 많은 영향을 미칠 것으로 예측됨
- Vanillic acid가 조절할 가능성이 있는 단백질 들 중 피부노화와 직접적인 연관성이 있는 단백질을 선별했을 때, 피부 콜라겐 파괴로 인한 주름생성과 밀접한 연관성이 있는 Matrix metalloproteinase (MMP) family로 나타남(MMP1, MMP2, MMP8, MMP9).
- Vanillic acid가 조절할 가능성이 있는 단백질 들 중 피부노화와 직접적인 연관성이 있는 MMP1과 MMP2의 단백질 신호전달체계 분석을 실시함(human protein database에서 실시)
- 피부노화 관련 COL1A1, COL1A2, IGF 관련 단백질을 포함한 기존에 알려진 분자 및 다양한 신규 표적 분자들이 확인됨
- 울무미강에 Vanillic acid가 함유되어 있기 때문에 위에서 분석된 신호전달체계 및 피부 노화 제어 핵심표적들에 대한 효과를 다양한 방법으로 검증할 필요가 있음

6) Caffeic acid

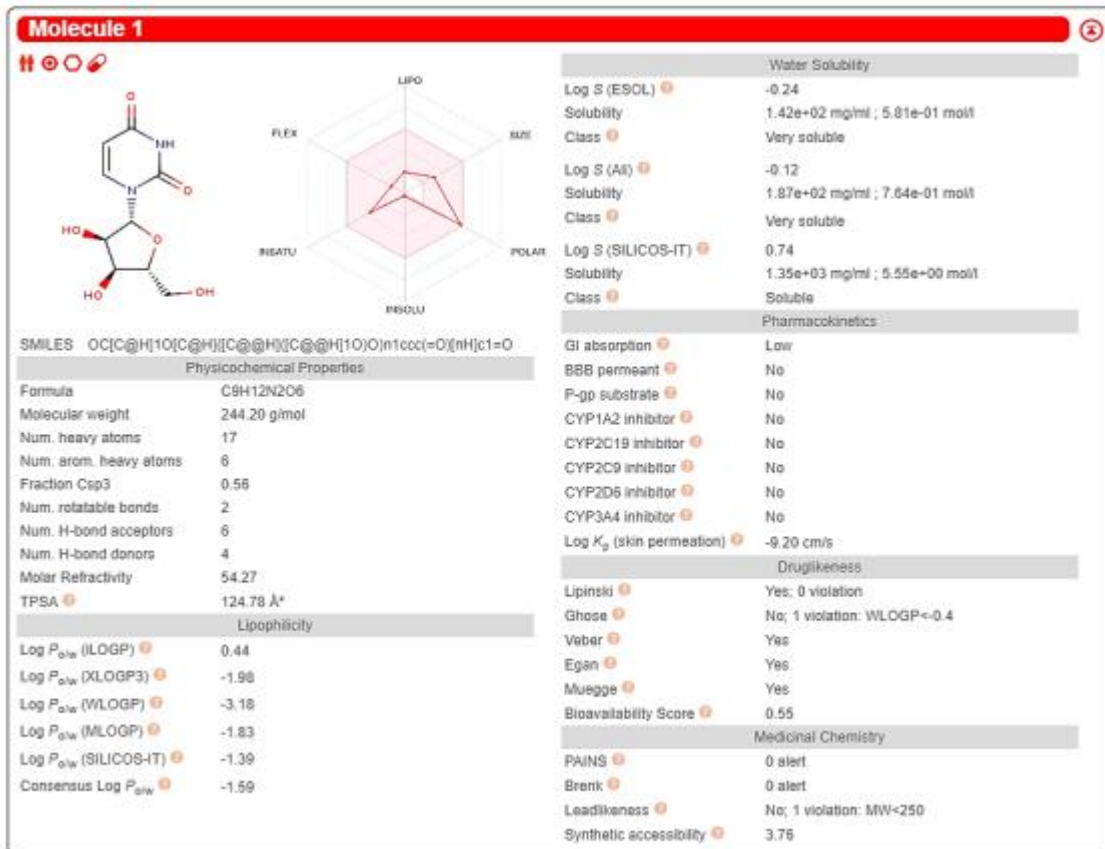


- Caffeic acid에 의해서 조절 될 수 있는 단백질을 그룹화 한 결과 lyase family와 Protease family에 많은 영향을 미칠 것으로 예측됨
- Caffeic acid이 조절할 가능성이 있는 단백질들 중 Carbonic anhydrases IX (CA9)의 경우 피부 상처 치유의 단계 동안 호중구가 생존하고 이동하는 표피가 상처를 닫을 수 있도록 기여하여 조직 재생을 촉진한다고 알려져 있음.
- Matrix metallo proteinase (MMP)는 UV로 인한 피부 노화에 가장 중요한 효소군으로 콜라겐과 탄력 섬유 등의 손상과 관련되어 있다고 알려져 있음. 단백질 표적분석에 의하면 Caffeic acid이 MMP family(MMP1, MMP2, MMP9)를 조절할 가능성이 있는 것으로 예측됨
- 울무미강슬러지 발효추출물에 Caffeic acid가 함유되어 있기 때문에 위에서 분석된 노화제어 핵심표적들에 대한 효과를 추가적으로 검증할 필요가 있음

아. Drug-likeness 및 투과성 예측 분석(ADME)

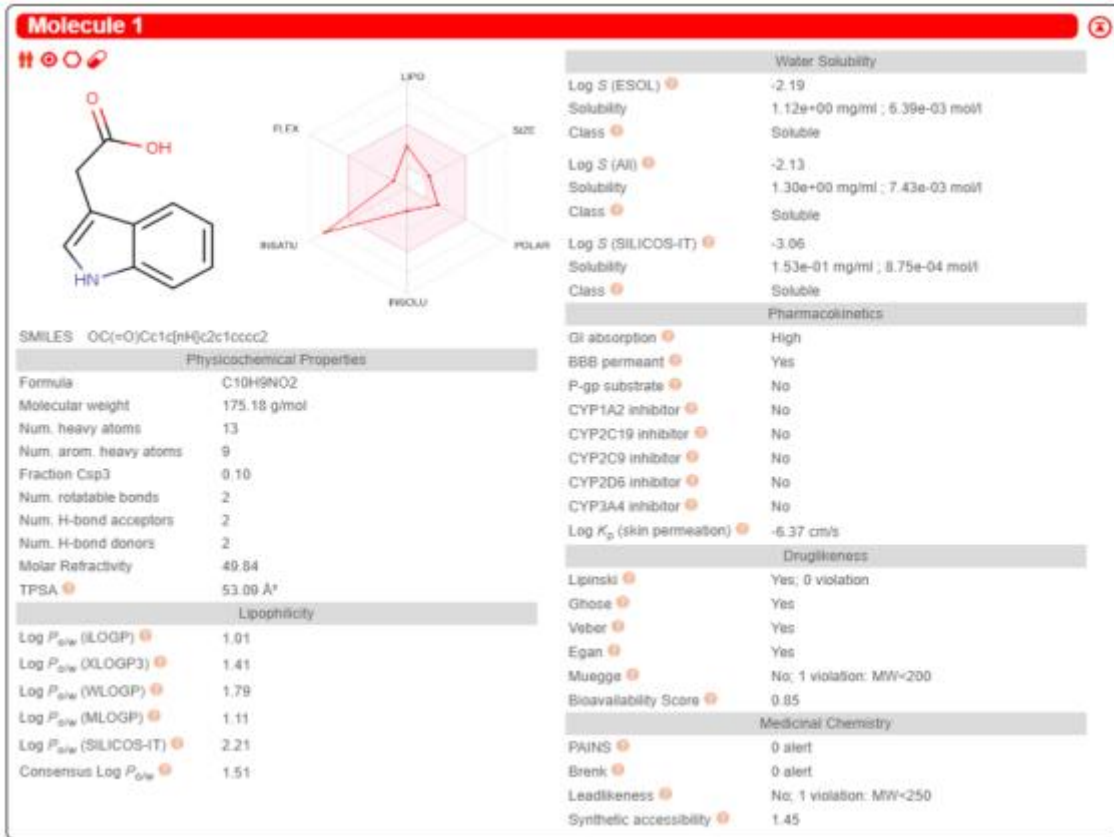
ADME는 분자의 생물학적 가용성과 약동학적 특성을 예측하기 위한 계산 도구로서 약물의 흡수(Absorption), 분포(Distribution), 대사(Metabolism), 배설(Excretion)에 대한 특성을 평가하여 의약품으로서의 잠재적 가치를 고려하는 중요한 요소임. 올무미강에 함유된 화합물들의 구조적 특성에 근거하여 의약품으로서 잠재적 가치를 확인하기 위해 필수적인 ADME 특성을 SWISSDOCK ADME를 이용하여 분석함.

1) Uridine



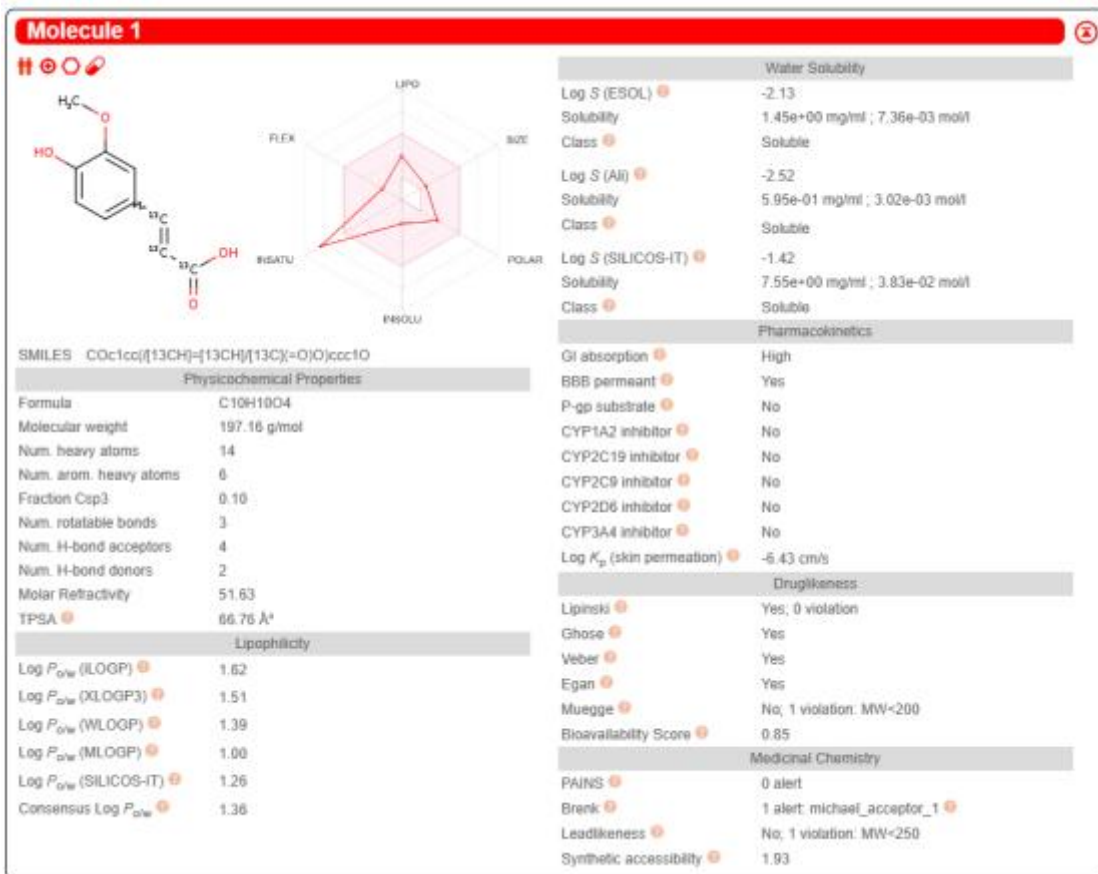
- 약물의 흡수(Absorption) 정도를 예측할 수 있는 Water Solubility는 화합물이 물에 얼마나 잘 녹아들어갈 수 있는지를 확인하는 데 사용되는 물리화학적 계산법을 (logarithm of the aqueous solubility)을 통해 측정되었음. 그 결과 Uridine은 음의 값으로 "Soluble" Class로 확인되었고 이는 화합물이 물에 용해되기 적합하며 체내로 흡수된 약물이 혈액으로 이동하여 다양한 조직과 기관으로 원활하게 전달될 가능성이 있음으로 예측됨.
- Lipophilicity를 통해 Uridine의 지방수용성을 확인할 결과 모든 지표에서 지방수용성을 나타냄. 지방수용성은 약물이 지방층으로 이루어진 세포막을 통과하고 혈액 순환에 들어가기 위한 필수적인 특성이며 지방수용성이 높은 Uridine은 세포막을 더 쉽게 통과하여 흡수될 것이라 기대됨.
- 의약품 후보물질 식별을 위한 Druglikeness 평가를 통해 의약품으로서의 기본적인 특성들을 갖추었는지를 확인한 결과, Uridine은 총 5가지의 규칙 중 Lipinski, Veber, Egan과 Muegge 규칙을 모두 만족하여 경구용으로 적합한 치료제임을 기대할 수 있으나 Ghose 규칙에서 WLOGP 값이 -0.4 미만으로 측정되어 Uridine의 지방수용성이 높고 1에 가까울수록 이용 가능성이 높은 Bioavailability Score는 0.55으로 전반적인 생체 이용 가능성은 뚜렷하지 않음.

2) Indole-3-acetic acid



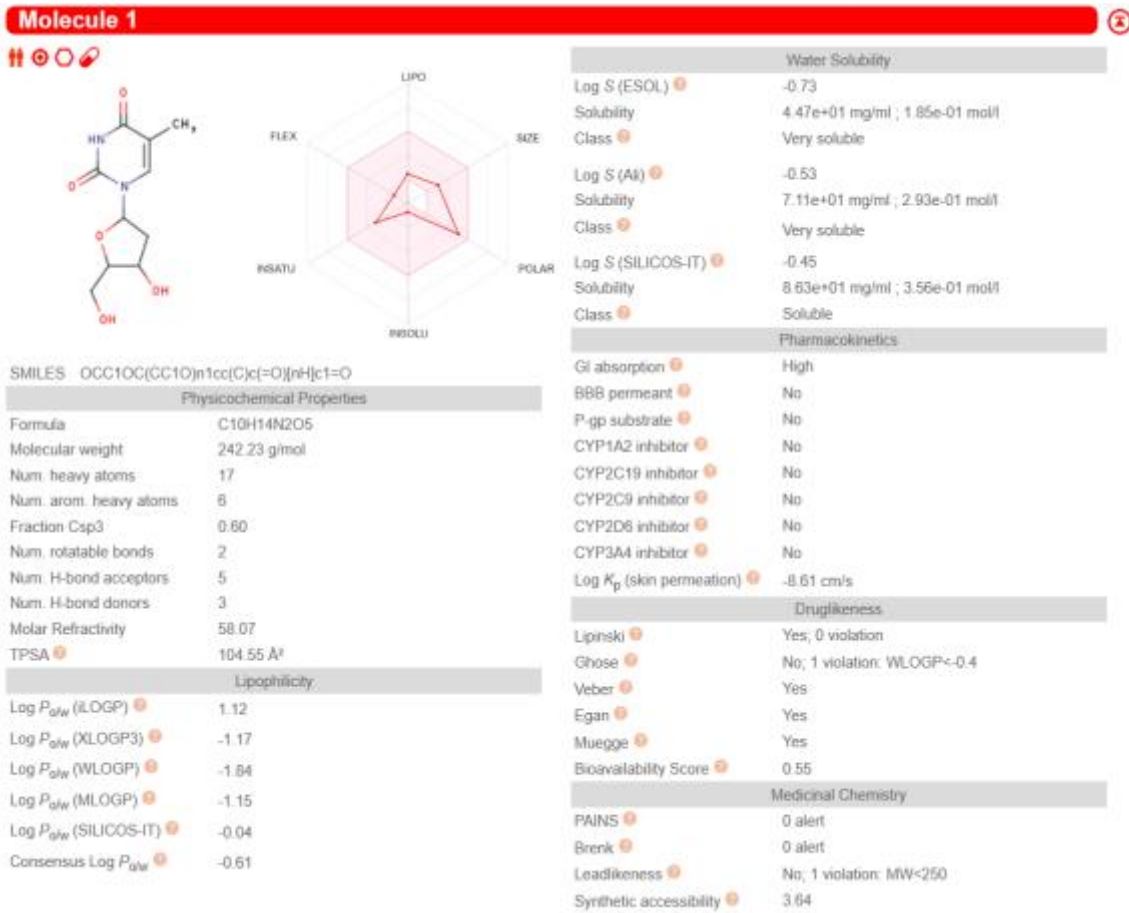
- Indole-3-acetic acid의 *pharmacokinetics* section에서 위장관 투과성은 높음으로 예측되었으며 혈액과 뇌, 중추신경계를 분리하는 반투과성 막으로 혈액뇌장벽을 투과할 수 있는 것으로 예측됨. 또한 피부 투과 계수 Log*K*_p -6.58 cm/s 으로 낮은 피부 투과성을 가진다고 예측 분석됨.
- 분자나 화합물이 안전하고 효과적인 약물로 개발될 가능성을 평가하는 druglikeness에서 Indole-3-acetic acid는 5가지의 평가 척도 중 Muegge에서 하나의 위반사항이 확인되었으며 Bioavailability Score 0.85점으로 적절한 경구 생체 이용률을 보이며 Indole-3-acetic acid는 약물로서 사용 가능성이 있을 것으로 평가됨

3) ferulic acid



- 체내로 흡수된 약물이 혈액으로 이동하여 다양한 조직과 기관으로 원활하게 전달되도록 하는데 흡수(Absorption) 중요한 것으로 알려짐. Ferulic Acid의 구조적 특성에 근거한 분석에 의하면 Ferulic Acid의 Water Solubility는 Soluble에 속하며, 피부 투과 계수 LogKp -6.43 cm/s으로 낮은 피부 투과성을 가진다고 예측됨.
- 특정 화합물이 약물 후보로서 적합한 특성을 가지고 있는지를 평가하는 Druglikeness에 의하면, Ferulic Acid는 5가지 평가 척도 중 4가지의 평가 기준에서 약물로서 이용 가능성이 있을 것으로 평가됨
- 분자나 화합물이 안전하고 효과적인 약물로 개발될 가능성을 평가하는 druglikeness에서 Ferulic Acid는 5가지의 평가 척도 중 Muegge에서 하나의 위반사항이 확인되었으며 Bioavailability Score 0.85점으로 적절한 경구 생체 이용률을 보이며 Ferulic Acid는 약물로서 사용 가능성이 있을 것으로 평가됨

4) thymidine

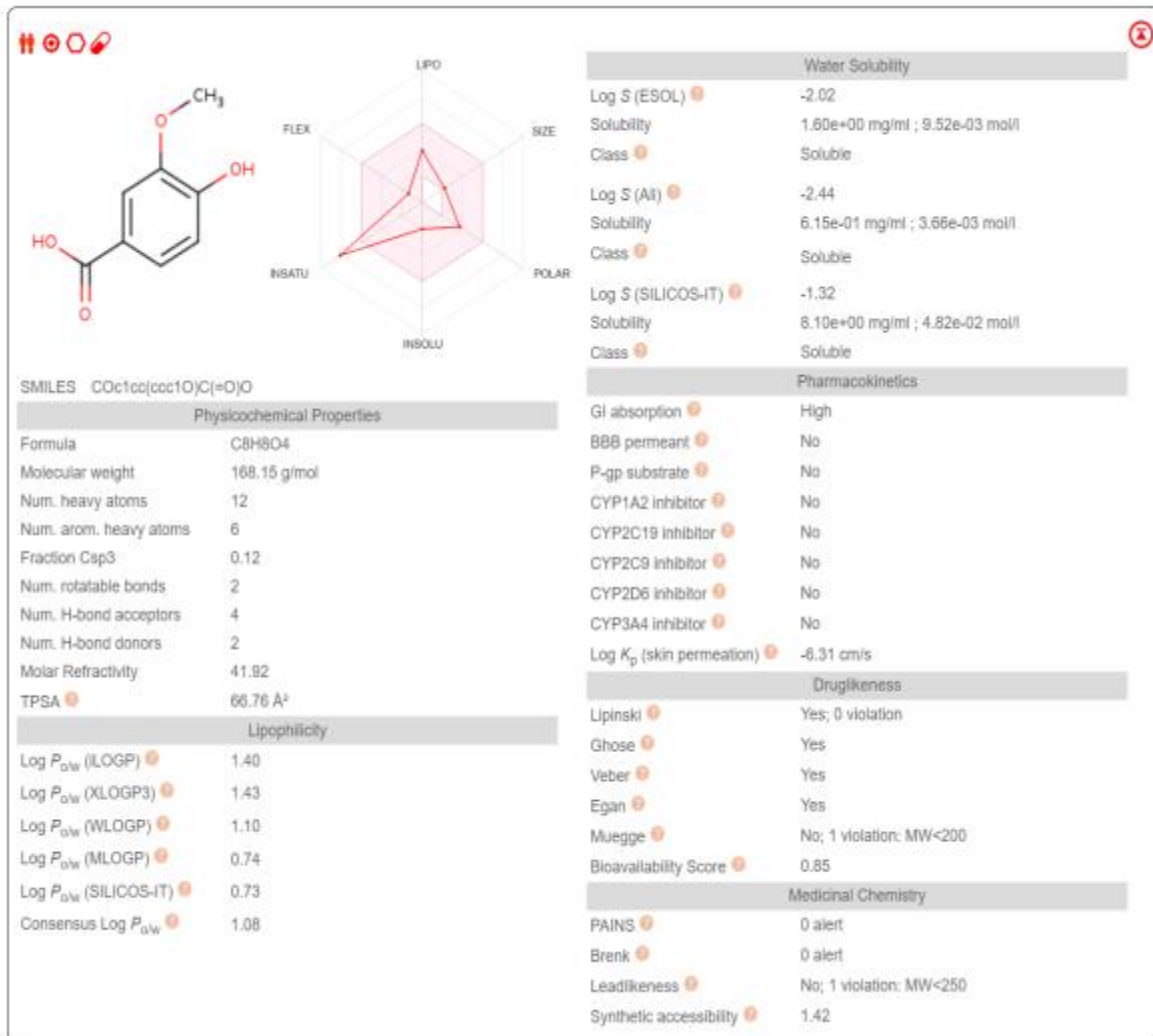


- 물리학적 특성(Physicochemical Properties) 분석을 통해 물질의 위상학적 극성 표면적 (TPSA)을 판단함. 위상학적 극성 표면적(TPSA)의 기준은 TPSA 값이 작을수록 (100Å² 이하) 흡수 잘 이루어지고, TPSA 값이 크면 (140Å² 이상) 화합물의 흡수가 적고, 세포막 투과성이 낮아짐. Thymidine의 TPSA는 66.76 Å²으로 상대적 좋은 흡수성 및 세포막 투과성을 가질 것으로 예상됨.
- 물질의 친유성 (Lipophilicity)은 n-octanol과 물 사이의 분배계수 (Log P_{o/w})를 이용하여 판단됨. 물질이 n-octanol과 같은 지방성 용매에 더 잘 녹는다면 그 값은 1보다 크고, 물에 더 잘 녹는다면 1보다 작은 값을 가짐. 물질의 수용성 (Water solubility)에서 Log S값은 화합물의 용해도를 나타내는 값으로 solubility class: Log S scale 기준 Thymidine은 수용성으로 나타남.

Solubility class: Log S scale
 Insoluble < -10 < Poorly < -6 < Moderately < -4 < Soluble < -2 Very < 0 < Highly

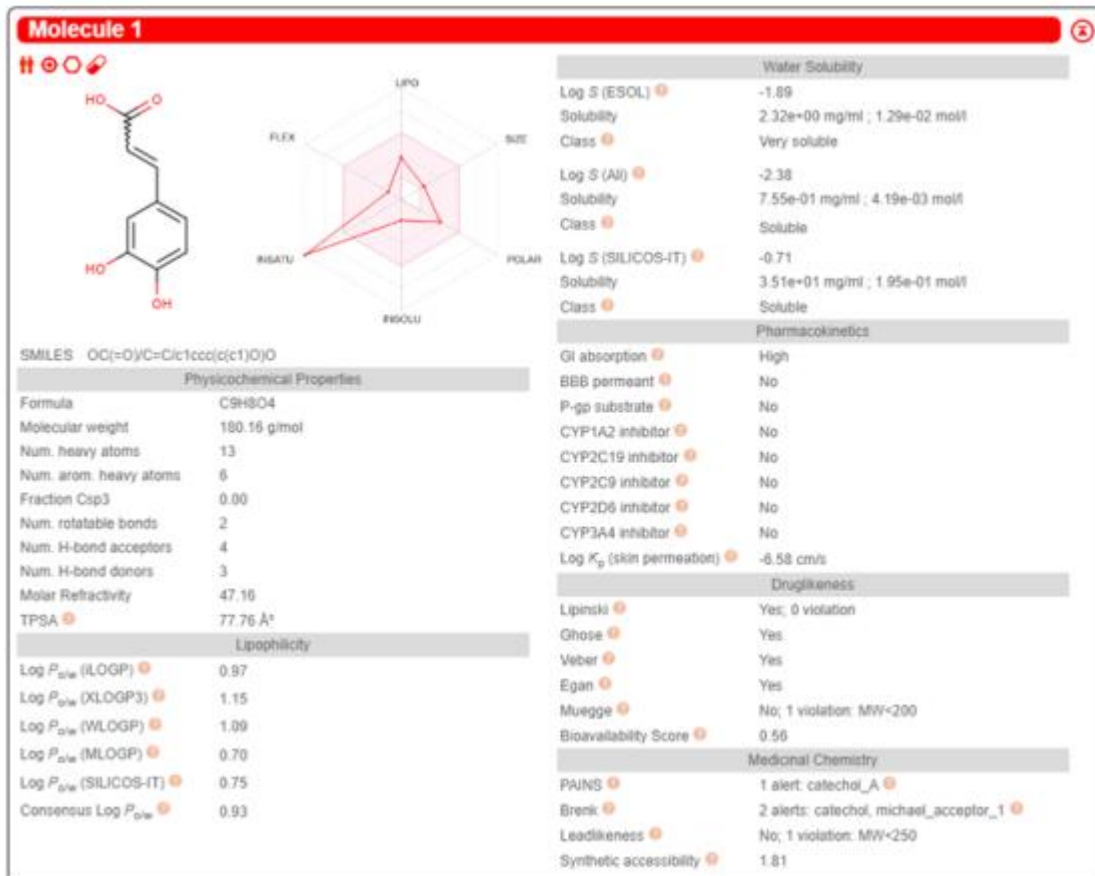
- Thymidine의 약물동태학적 결과는 피부 투과율에서 LogK_p -8.81 cm/s로 낮은 수치를 보였지만 Gastrointestinal (GI) absorption 높은 것으로 예측됨.

5) Vanillic acid



- 체내로 흡수된 약물이 혈액으로 이동하여 다양한 조직과 기관으로 원활하게 전달되도록 하는데 흡수(Absorption)는 중요한 특성으로 알려짐. Vanilic acid의 구조적 특성에 근거한 분석에 의하면 Vanilic acid의 Water Solubility는 Soluble에 속함. 또한, Log K_p 값은 -6.31 cm/s 로 Vanilic acid의 피부 투과성은 낮으나 위장관 흡수율(GI absorption)은 높을 것으로 예측됨.
- 특정 화합물이 약물 후보로서 적합한 특성을 가지고 있는지를 평가하는 Druglikeness에 의하면, Vanilic Acid는 5가지 평가 척도 중 4가지의 평가 기준에서 약물로서 이용 가능성이 있을 것으로 평가되었으며, Bioavailability score는 0.85로 예측됨.
- ADME 평가를 종합하면, Vanilic acid의 구조적 특성이 약물로서 체내 효과적으로 흡수되고 대사되는데 기여할 가능성이 있음

6) Caffeic acid

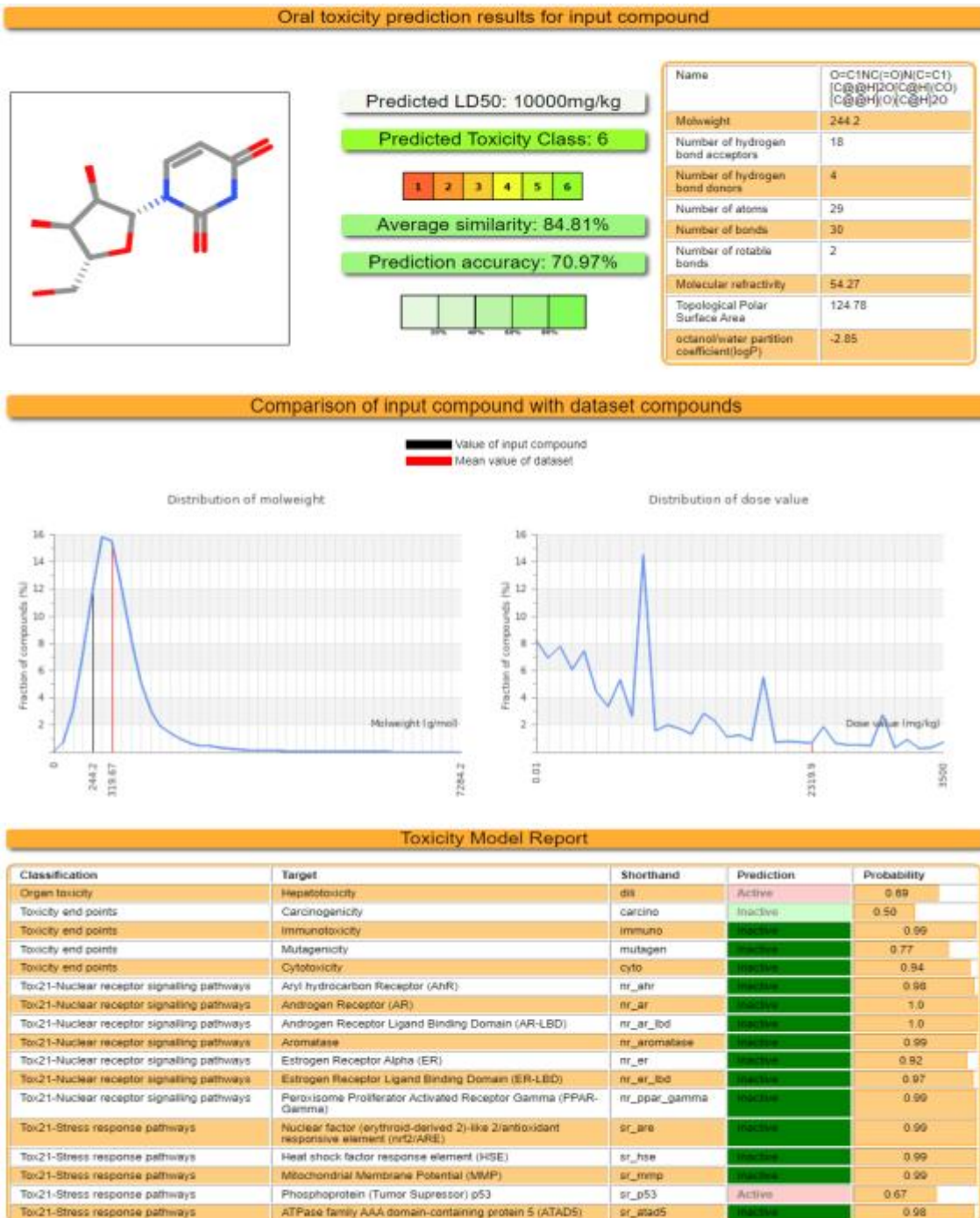


- Caffeic acids의 *pharmacokinetics* section에서 위장관 투과성은 높음으로 예측되었으며 피부 투과 계수 LogKp -6.58 cm/s 으로 낮은 피부 투과성을 가진다고 예측됨.
- 분자나 화합물이 안전하고 효과적인 약물로 개발될 가능성을 평가하는 druglikeness에서 caffeic acid는 5가지의 평가 척도 중 Muegge에서 하나의 위반사항이 확인되었으며 Bioavailability Score 0.56점으로 적절한 경구 생체 이용률을 보이며 caffeic acid는 약물로서 사용 가능성이 있을 것으로 평가됨

자. ProTox-II – Prediction Of Toxicity Of Chemicals 을 이용한 독성 평가

proTox-II를 이용한 독성학적 평가를 통해 율무미강 지표 성분들의 안전성에 대한 평가를 실시함. proTox-II는 약물의 잠재적 독성을 예측하는 데 사용되는 도구로, 화합물들의 안전한 사용범위와 가능한 부작용에 대한 예측이 가능함.

1) Uridine



Uridine의

LD50(Lethal Dose 50%)은 10000 mg/kg으로 추정됨. 이는 GHS(화학물질의 분류, 표시의 세계 조화 시스템)의 독성 등급에서 “낮은 독성 (000 mg/kg ≤ LD50)”에 속하며, 독성이 매우 낮음을 의미함. 독성 평가는 특정 상황과 노출 경로에 따라 달라질 수 있으므로 추가적인 세포 실험 및 연구가 필요함.

2) Indole-3-acetic acid

Oral toxicity prediction results for input compound



Predicted LD50: 1200mg/kg

Predicted Toxicity Class: 4

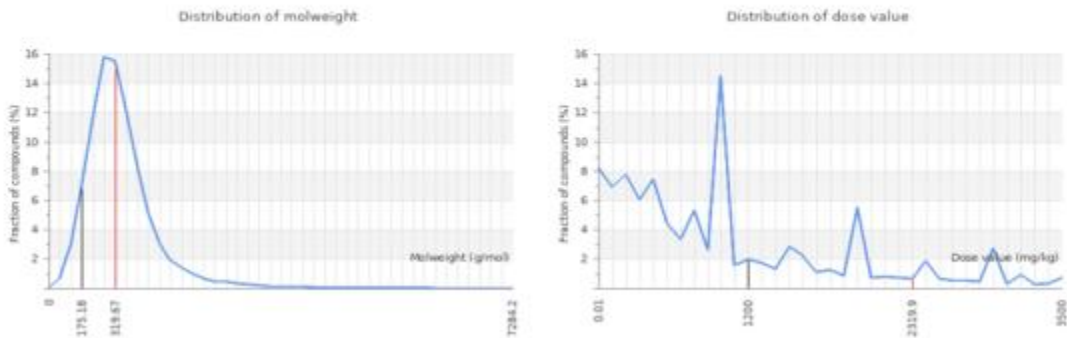
Average similarity: 62.24%

Prediction accuracy: 68.07%

Name	C1=CC=C2C(=C1)C(=C2
Molweight	175.18
Number of hydrogen bond acceptors	11
Number of hydrogen bond donors	2
Number of atoms	22
Number of bonds	23
Number of rotatable bonds	2
Molecular refractivity	49.84
Topological Polar Surface Area	53.00
octanol/water partition coefficient(logP)	1.8

Comparison of input compound with dataset compounds

Value of input compound
Mean value of dataset



Toxicity Model Report

Classification	Target	Shorthand	Prediction	Probability
Organ toxicity	Hepatotoxicity	dtl	Active	0.56
Toxicity and points	Carcinogenicity	carcino	Inactive	0.89
Toxicity and points	Immunotoxicity	immune	Inactive	0.99
Toxicity and points	Mutagenicity	mutagen	Inactive	0.97
Toxicity and points	Cytotoxicity	cyto	Inactive	0.81
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aryl hydrocarbon Receptor (AHR)	nr_ahr	Active	1.0
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor (AR)	nr_ar	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD)	nr_ar_lbd	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aromatase	nr_aromatase	Inactive	0.97
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Alpha (ER)	nr_er	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD)	nr_er_lbd	Inactive	1.0
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-Gamma)	nr_ppar_gamma	Inactive	0.97
Tox21-Stress response pathways	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/antioxidant responsive element (nrf2/ARE)	nr_nrf2	Inactive	0.99
Tox21-Stress response pathways	Heat shock factor response element (HSE)	nr_hse	Inactive	0.99
Tox21-Stress response pathways	Mitochondrial Membrane Potential (MMP)	nr_mmp	Inactive	0.89
Tox21-Stress response pathways	Phosphoprotein (Tumor Suppressor) p53	nr_p53	Inactive	0.99
Tox21-Stress response pathways	ATPase family AAA domain-containing protein 5 (ATAD5)	nr_atad5	Inactive	0.99

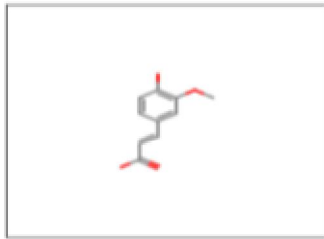


The toxicity radar chart is intended to quickly illustrate the confidence of positive toxicity results compared to the average of its class. Click the thumbnail to access the plot once it has finished loading.

- Indole-3-acetic acid의 독성 예측 결과, LD50(Lethal Dose 50%)은 1200 mg/kg, predicted toxicity class 4로 물질의 안정성을 확인함.
- Toxicity model report 결과, Indole-3-acetic acid는 간독성에서 약 56%, 발암성, 면역독성, 변이원성 그리고 세포독성에서 모두 80% 이상의 비활성화에 대한 안정성 결과가 나타났음.

3) ferulic acid

Oral toxicity prediction results for input compound



Predicted LD50: 1772mg/kg

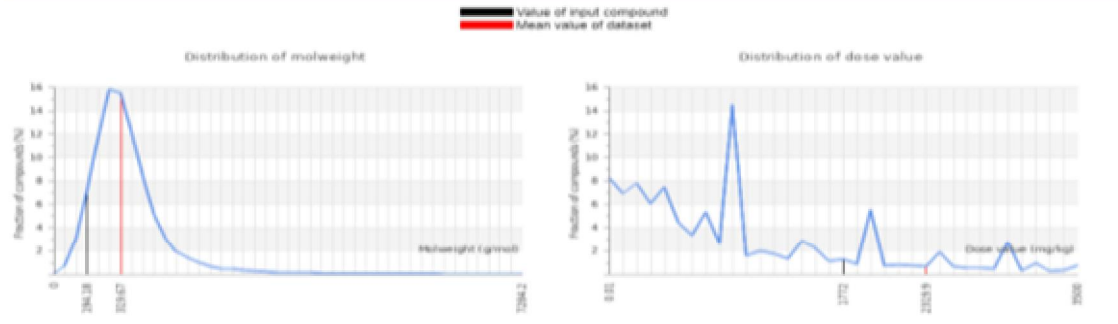
Predicted Toxicity Class: 4

Average similarity: 86.1%

Prediction accuracy: 70.97%

Name	COc1ccc(O)(c13O4=13C4)(13C3O)O
Molweight	194.18
Number of hydrogen bond acceptors	14
Number of hydrogen bond donors	2
Number of atoms	24
Number of bonds	24
Number of rotatable bonds	3
Molecular refractivity	51.63
Topological Polar Surface Area	66.76
Octanol/water partition coefficient(logP)	1.5

Comparison of input compound with dataset compounds



Similar compounds

Toxicity Model Report

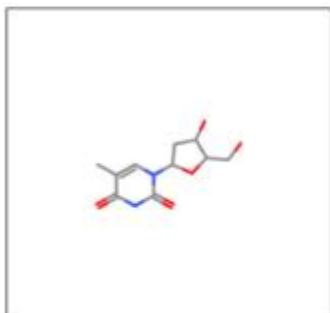
Classification	Target	Shorthand	Prediction	Probability
Organ toxicity	Hepatotoxicity	dlil	Inactive	0.51
Toxicity end points	Carcinogenicity	carcino	Inactive	0.61
Toxicity end points	Immunotoxicity	immuno	Active	0.91
Toxicity end points	Mutagenicity	mutagen	Inactive	0.96
Toxicity end points	Cytotoxicity	cyto	Inactive	0.88
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aryl hydrocarbon Receptor (AHR)	nr_ahr	Inactive	0.94
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor (AR)	nr_ar	Inactive	0.83
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD)	nr_ar_lbd	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aromatase	nr_aromatase	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Alpha (ER)	nr_er	Inactive	0.96
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD)	nr_er_lbd	Inactive	0.96
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-Gamma)	nr_ppar_gamma	Inactive	0.94
Tox21-Stress response pathways	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/antioxidant responsive element (nr2/ARE)	sr_are	Inactive	0.90
Tox21-Stress response pathways	Heat shock factor response element (HSE)	sr_hse	Inactive	0.90
Tox21-Stress response pathways	Mitochondrial Membrane Potential (MMP)	sr_mmp	Inactive	0.92
Tox21-Stress response pathways	Phosphoprotein (Tumor Suppressor) p53	sr_p53	Inactive	0.93
Tox21-Stress response pathways	ATPase family AAA domain-containing protein 5 (ATAD5)	sr_atad5	Inactive	0.93

- Ferulic Acid의 LD50(Lethal Dose 50%)은 1772 mg/kg으로 추정됨. 이는 GHS(화학물질의 분류, 표시의 세계 조화 시스템)의 독성 등급에서 “삼킬 경우 유해함 (300 < LD50 ≤ 2000 mg/kg)”에 속하며, 독성이 있지만 치명적이지는 않음을 의미함.
- Toxicity model report 결과, Ferulic Acid는 간독성, 면역독성, 변이원성 그리고 세포독성에서 모두 50% 이상의 비활성화에 대한 안정성 결과가 나타났으며, 발암성 부분에서 활동적이며 61% 개연성이 예측되므로 이에 대한 추가적인 분석이 필요함
- 율무미강에 Ferulic Acid가 함유되어 있으므로 위에서 분석된 독성 평가를 기반으로 세포 실험 등과 같은 다양한 방법으로 독성을 검증할 필요가 있음

4) thymidine

Toxicity Model Computation
 If you want to close this window, you can get your results later with this link :
[Access results](#) (please copy link location)
 Model computation is complete. You can view the toxicity radar chart here (opens a new tab) : [Open Toxicity Radar Chart](#)

Oral toxicity prediction results for input compound



Predicted LD50: 10000mg/kg

Predicted Toxicity Class: 6

1
2
3
4
5
6

Average similarity: 85.08%

Prediction accuracy: 70.97%

Name	CC1=CN(C(=O)NC1=O)K
Molweight	233.16
Number of hydrogen bond acceptors	10
Number of hydrogen bond donors	1
Number of atoms	22
Number of bonds	23
Number of rotatable bonds	2
Molecular refractivity	50.36
Topological Polar Surface Area	64.09
octanol/water partition coefficient(logP)	-0.74

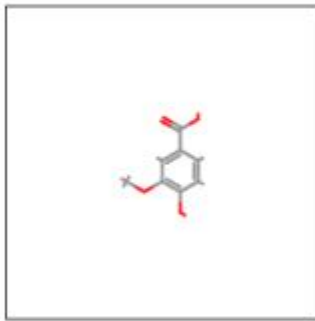
Toxicity Model Report

Classification	Target	Shorthand	Prediction	Probability
Organ toxicity	Hepatotoxicity	hepato	Inactive	0.61
Toxicity end points	Carcinogenicity	carcino	Inactive	0.59
Toxicity end points	Immunotoxicity	immuno	Inactive	0.99
Toxicity end points	Mutagenicity	mutagen	Inactive	0.97
Toxicity end points	Cytotoxicity	cyto	Inactive	0.89
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aryl hydrocarbon Receptor (AHR)	nr_ahr	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor (AR)	nr_ar	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD)	nr_ar_lbd	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aromatase	nr_aromatase	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Alpha (ER)	nr_er	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD)	nr_er_lbd	Inactive	1.0
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-Gamma)	nr_ppar_gamma	Inactive	1.0
Tox21-Stress response pathways	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/antioxidant responsive element (nr2/ARE)	sr_are	Inactive	0.99
Tox21-Stress response pathways	Heat shock factor response element (HSE)	sr_hse	Inactive	0.99
Tox21-Stress response pathways	Mitochondrial Membrane Potential (MMP)	sr_mmp	Inactive	1.0
Tox21-Stress response pathways	Phosphoprotein (Tumor Suppressor) p53	sr_p53	Inactive	0.91
Tox21-Stress response pathways	ATPase family AAA domain-containing protein 5 (ATAD5)	sr_atad5	Inactive	0.99

- Thymidine의 독성 예측 결과, LD50(Lethal Dose 50%)은 10000 mg/kg, predicted toxicity class 6로 물질의 안정성을 확인함.
- Toxicity model report 결과, Thymidine은 간독성 및 발암성에서 50% 이상의 비활성화에 대한 안정성 결과가 나타났으며, 면역독성, 돌연변이원성 및 세포독성 등 모든 항목에서의 비활성화 될 확률이 약 89% 이상으로 예측됨. 이러한 결과를 바탕으로 Thymidine은 신체에 안전한 물질임을 예측 할 수 있음.

5) Vanillic acid

Oral toxicity prediction results for input compound



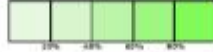
Predicted LD50: 2000mg/kg

Predicted Toxicity Class: 4



Average similarity: 79.35%

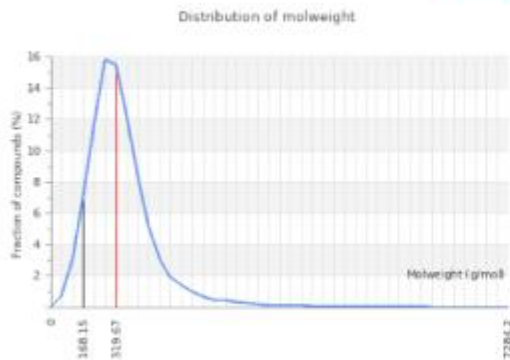
Prediction accuracy: 69.26%



Name	Vanillic acid
Molweight	166.15
Number of hydrogen bond acceptors	12
Number of hydrogen bond donors	2
Number of atoms	20
Number of bonds	20
Number of rotatable bonds	2
Molecular refractivity	41.62
Topological Polar Surface Area	66.76
octanol/water partition coefficient(logP)	1.1

Comparison of input compound with dataset compounds

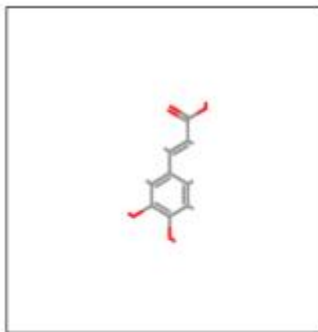
■ Value of input compound
■ Mean value of dataset



- Vanillic acid의 LD50(Lethal Dose 50%)은 2000 mg/kg으로 추정됨. 이는 GHS(화학물질의 분류, 표시의 세계 조화 시스템)의 독성 등급에서 “삼킬 경우 해로움(2000 < LD50 ≤ 5000 mg/kg)”에 속하며, 독성이 있지만 치명적이지는 않음을 의미함.
- 울무미강에 Vanillic acid가 함유되어 있으므로 위에서 분석된 독성 평가를 기반으로 세포 실험 등과 같은 다양한 방법으로 독성을 검증할 필요가 있음

6) Caffeic acid

Oral toxicity prediction results for input compound



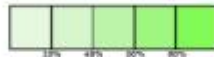
Predicted LD50: 2980mg/kg

Predicted Toxicity Class: 5



Average similarity: 88.59%

Prediction accuracy: 70.97%

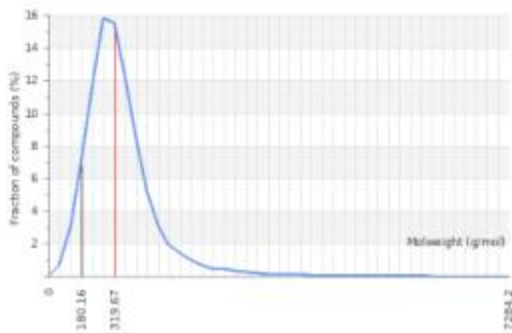


Name	Caffeic Acid
Molweight	180.16
Number of hydrogen bond acceptors	12
Number of hydrogen bond donors	3
Number of atoms	21
Number of bonds	21
Number of rotatable bonds	2
Molecular refractivity	47.10
Topological Polar Surface Area	77.76
octanol/water partition coefficient(logP)	1.2

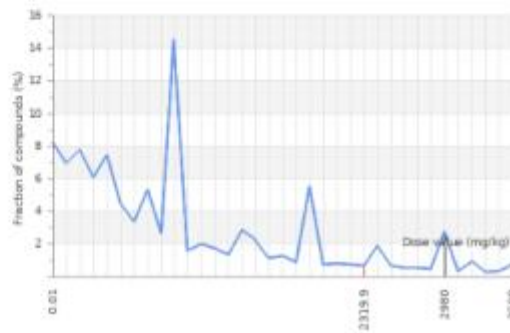
Comparison of input compound with dataset compounds

■ Value of input compound
■ Mean value of dataset

Distribution of molweight



Distribution of dose value



Toxicity Model Report

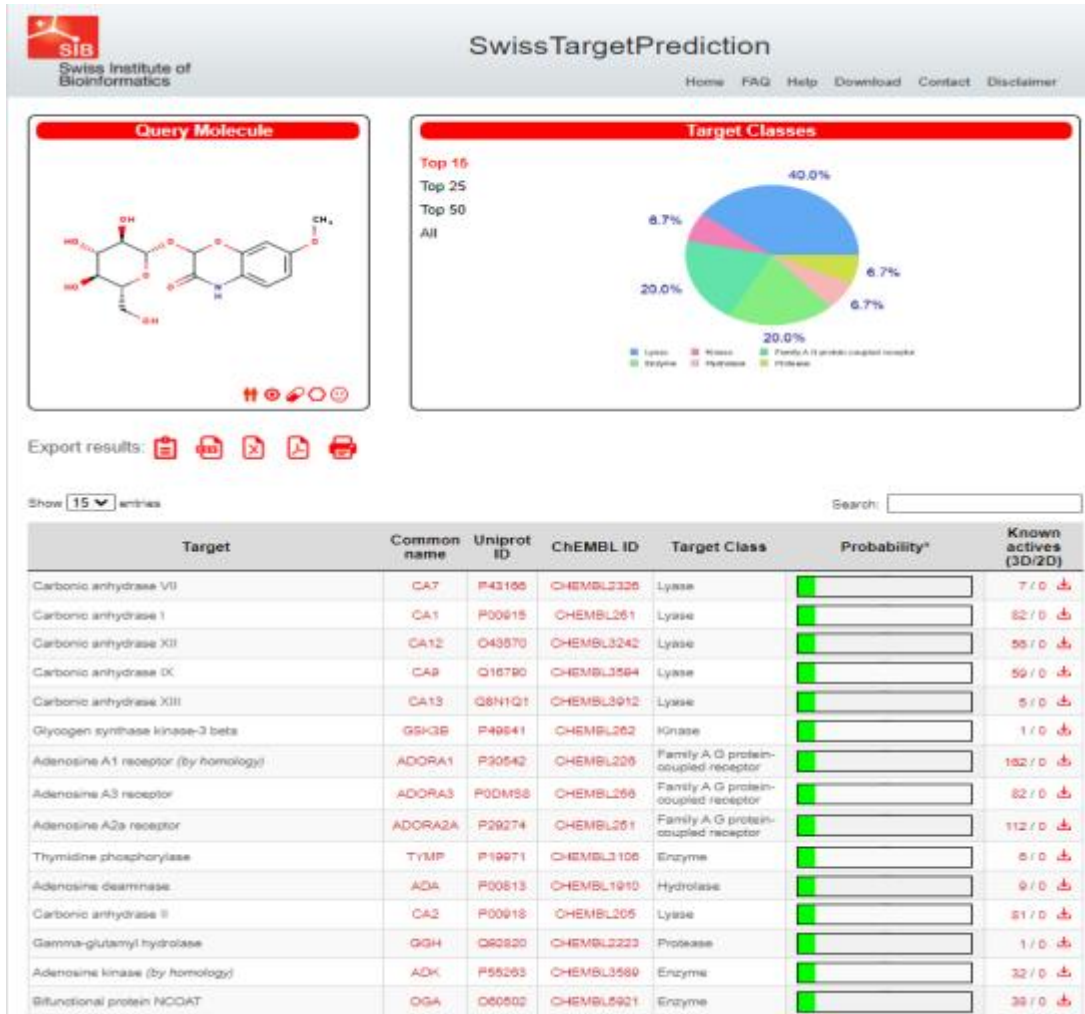
Classification	Target	Shorthand	Prediction	Probability
Organ toxicity	Hepatotoxicity	dlr	Inactive	0.57
Toxicity end points	Carcinogenicity	carcino	Active	0.78
Toxicity end points	Immunotoxicity	immuna	Inactive	0.50
Toxicity end points	Mutagenicity	mutagen	Inactive	0.98
Toxicity end points	Cytotoxicity	cyto	Inactive	0.88
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aryl hydrocarbon Receptor (AhR)	nr_ahr	Inactive	0.97
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor (AR)	nr_ar	Active	1.0
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD)	nr_ar_lbd	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aromatase	nr_aromatase	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Alpha (ER)	nr_er	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD)	nr_er_lbd	Inactive	0.98
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-Gamma)	nr_ppar_gamma	Inactive	0.99
Tox21-Stress response pathways	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/antioxidant responsive element (nr2/ARE)	sr_are	Inactive	0.97
Tox21-Stress response pathways	Heat shock factor response element (HSE)	sr_hse	Inactive	0.97
Tox21-Stress response pathways	Mitochondrial Membrane Potential (MMP)	sr_mmp	Inactive	0.98
Tox21-Stress response pathways	Phosphoprotein (Tumor Suppressor) p53	sr_p53	Inactive	0.97
Tox21-Stress response pathways	ATPase family AAA domain-containing protein 5 (ATAD5)	sr_atad5	Inactive	0.98

- Caffeic acid의 독성 예측 결과, LD50(Lethal Dose 50%)은 2980 mg/kg, predicted toxicity class 5로 물질의 안정성을 확인함.
- Toxicity model report 결과, Caffeic acid는 간독성, 면역독성, 변이원성 그리고 세포독성에서 모두 50% 이상의 비활성화에 대한 안정성 결과가 나타났으며, 발암성 부분에서 활동적이며 78% 개연성이 예측되므로 이에 대한 추가적인 분석이 필요함

차. *In silico* 분석을 이용한 울무미강 Butanol 분획(HMBOA-Glc, Isoquercitrin)의 지표 성분 특성 분석

(1) Swissdock을 이용한 특정 단백질 표적 예측 분석

1) HMBOA-Glc

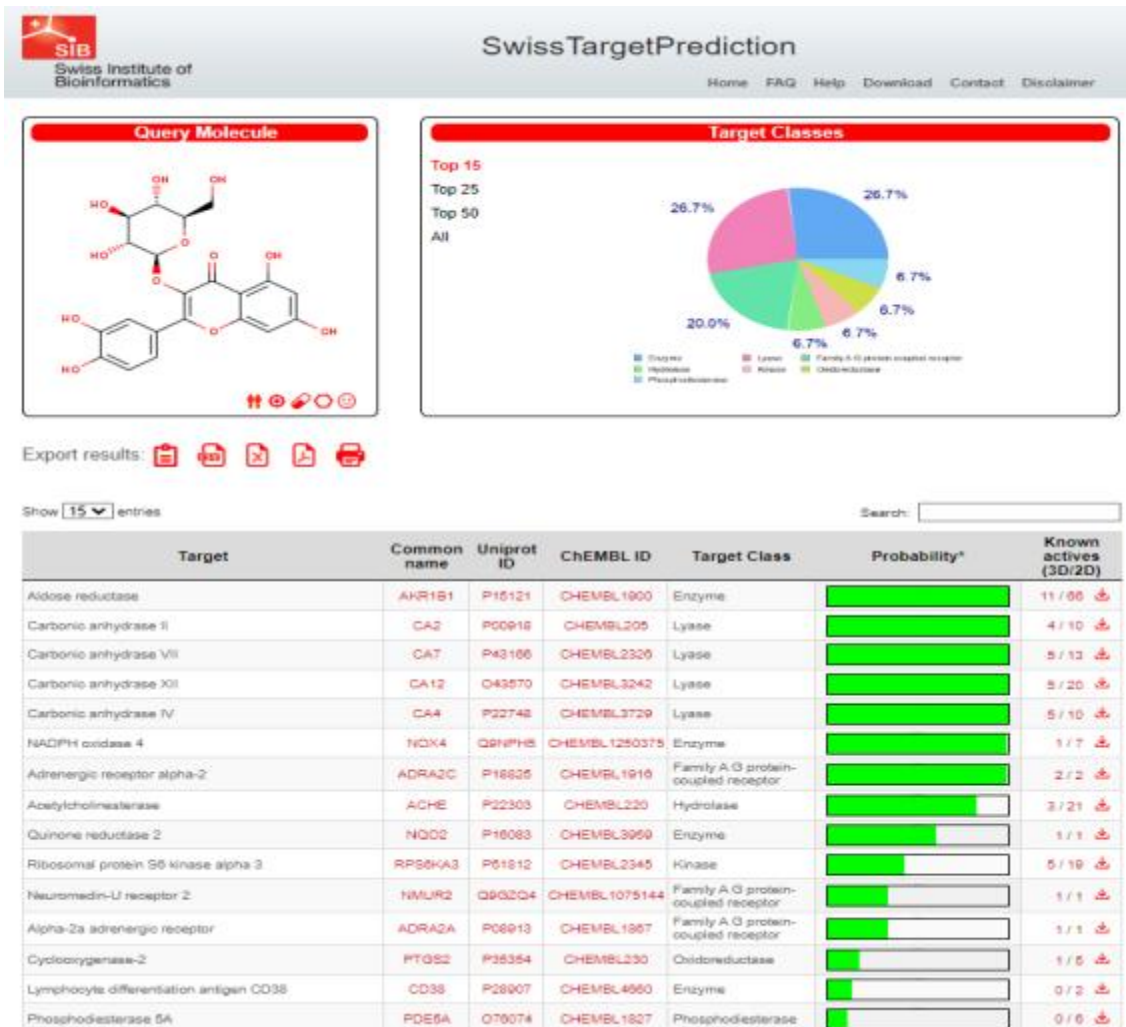


- HMBOA-Glc에 의해 조절될 수 있는 단백질을 그룹화한 결과, carbonic anhydrase family에 가장 큰 영향을 미칠 것으로 예측되었음.
- HMBOA-Glc이 조절할 가능성이 있는 단백질들 중에는 Carbonic Anhydrase family가 가장 많은 영향을 미칠 것이라 예측됨. 이 family는 여러 서브타입으로 구성되어 있으며, 각각이 다른 역할을 수행함.
- Carbonic Anhydrase VII (CA VII)는 주로 신경세포에서 발현되며, 간질 발작 및 기타 중추신경계 장애 치료를 위한 유망한 분자 표적으로 알려져 있음.
- Carbonic Anhydrase I (CA I)는 주로 적혈구에서 발견되며, 이산화탄소를 탄산으로 변환한다고 알려져 있음.
- Carbonic Anhydrase XII (CA XII)는 주로 신장과 폐, 소장에서 발견되며, 이산화탄소 전송과 산-염기 균형 유지에 관여하며 특히, 암 세포에서 많이 발견되며, 암 세포가 산성 환경에서도 생존하도록 돕는 역할을 함.
- Carbonic Anhydrase IX (CA IX)는 피부 상처 치유의 단계 동안 호중구가 생존하고 이동하는 표피가 상처를 닫을 수 있도록 기여하여 조직 재생을 촉진한다고 알려져 있음.
- Carbonic Anhydrase XIII (CA XIII)는 주로 흉선, 소장, 비장, 전립선, 난소, 결장 및 고환에서

발견되며, pH 및 이온 균형 조절을 제어하여 적절한 수정 조건을 유지하는 역할을 함.

- HMBOA-Glc가 Carbonic Anhydrase family에 미치는 영향을 광범위하게 분석하고, 이와 관련된 예측 효과를 검증하는 것이 필요함. 이 분석과 검증 과정은 다양한 조직 및 세포 모델에서 진행되어야 하며, 이를 위해 unbiased approach(빅데이터 분석)를 사용하는 것이 적절함.

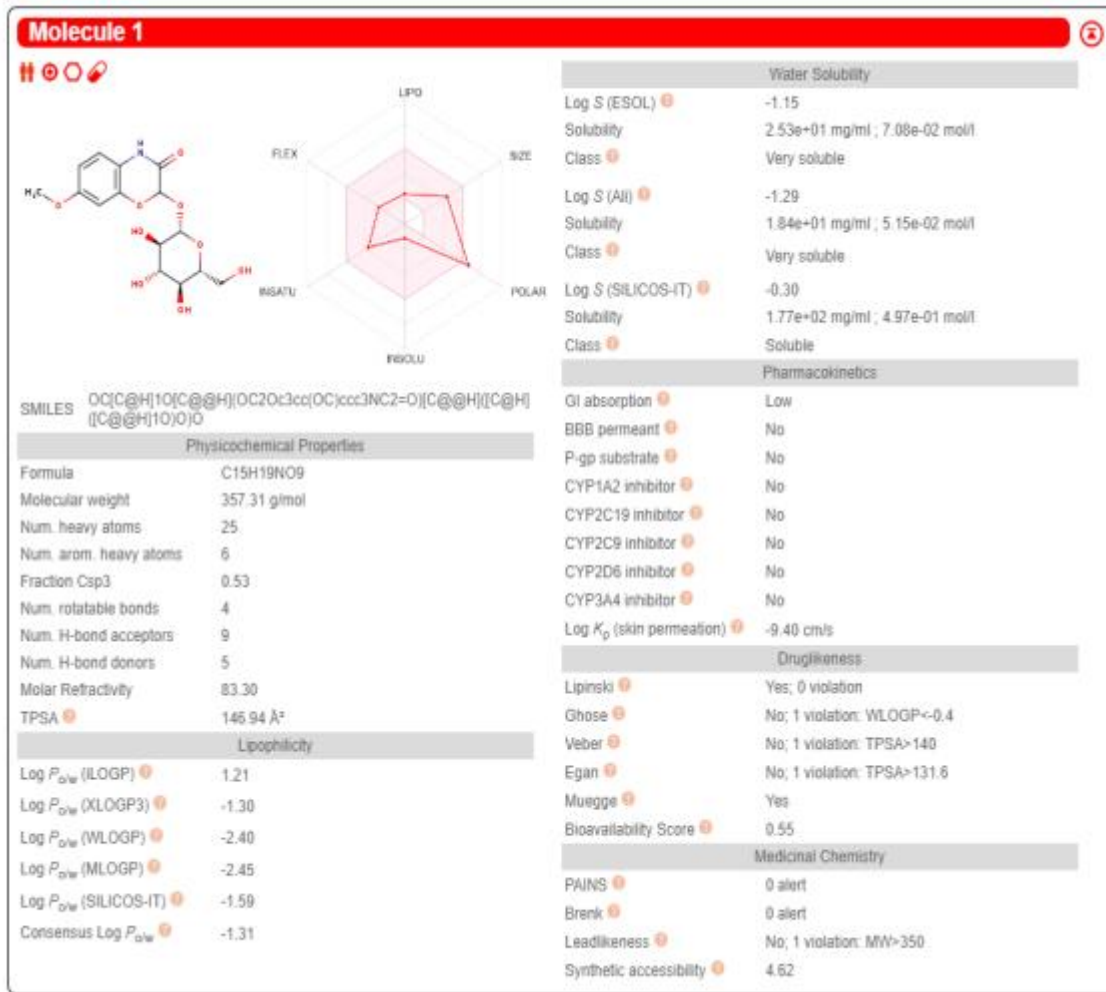
2) Isoquercitrin



- Isoquercitrin에 의해 조절될 수 있는 단백질을 그룹화한 결과, Aldose reductase 및 carbonic anhydrase family에 가장 큰 영향을 미칠 것으로 예측되었음.
- Isoquercitrin이 조절할 가능성이 있는 단백질들 중에는 Aldose reductase가 가장 많은 영향을 미칠 것이라 예측됨. Aldose reductase는 단당류를 포함한 다양한 알데히드와 카르보닐의 환원을 촉매 하는 세포질 NADPH 의존성 산화 환원효소로, 포도당 대사의 폴리올 경로의 첫 번째 단계인 포도당이 소르비톨로 환원되는 것을 촉매하는 것으로 알려짐.
- Carbonic Anhydrase II (CA II)은 Th2 사이토카인에 의해 유도되며, 아토피 피부염이 유발된 피부 내 각질세포층에서의 발현이 높다고 알려져있음.
- Carbonic Anhydrase IV (CA IV)은 표피와 호흡구가 생존할 수 있는 산성 환경을 제공함으로써 상처 치유에 기여한다고 알려져있음.
- Isoquercitrin가 Carbonic Anhydrase family에 미치는 영향을 광범위하게 분석하고, 이와 관련된 예측 효과를 검증하는 것이 필요함. 이 분석과 검증 과정은 다양한 조직 및 세포 모델에서 진행되어야 하며, 이를 위해 unbiased approach(빅데이터 분석)를 사용하는 것이 적절함.

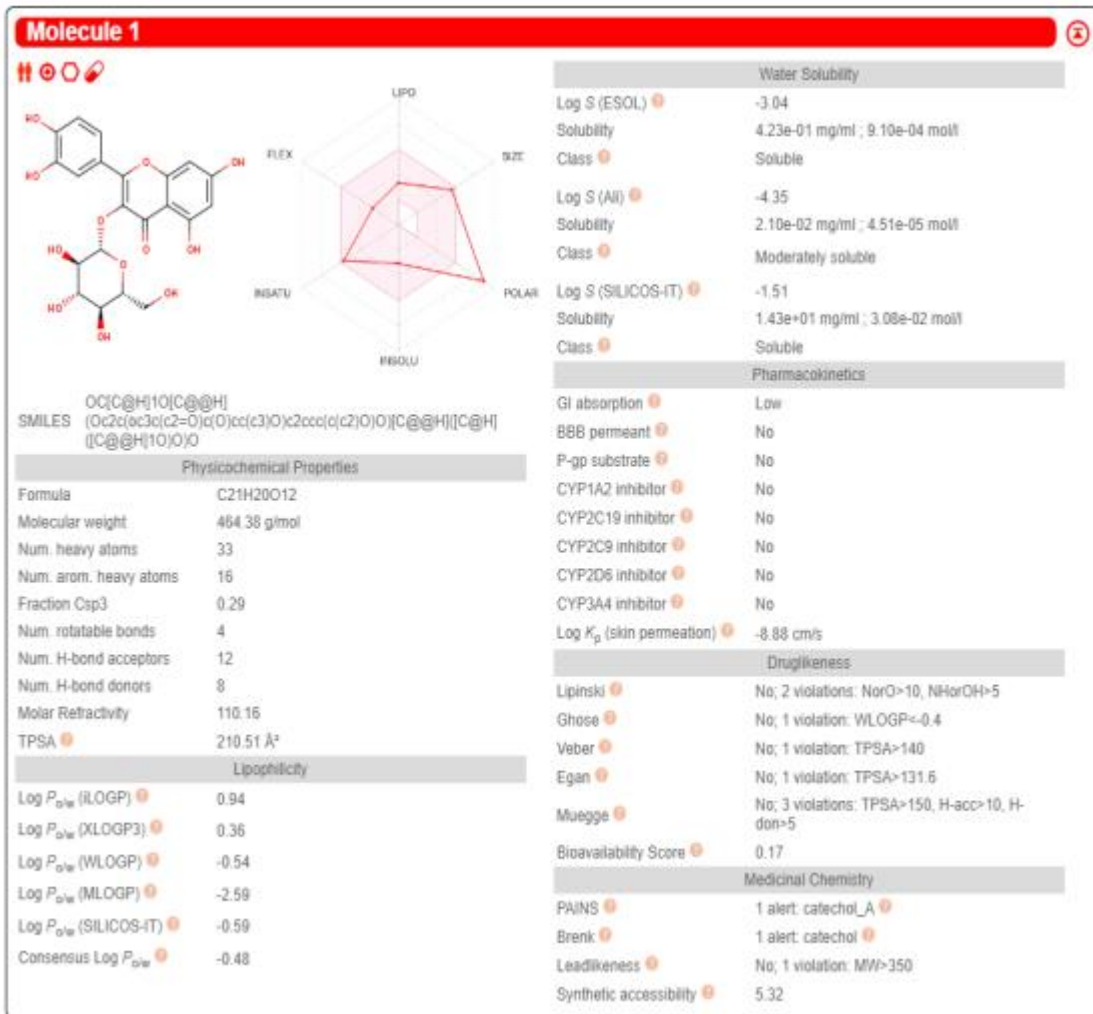
(2) Drug-likeness 및 투과성 예측 분석(ADME)

1) HMBOA-Glc



- 체내로 흡수된 약물이 혈액으로 이동하여 다양한 조직과 기관으로 원활하게 전달되도록 하는데 흡수(Absorption)는 중요한 특성으로 알려짐. HMBOA-Glc의 구조적 특성에 근거한 분석에 의하면 HMBOA-Glc의 Water Solubility는 Soluble에 속함. 또한, Log K_p 값은 -9.40 cm/s로 HMBOA-Glc의 피부 투과성은 낮으며 위장관 흡수율(GI absorption) 역시 낮을것으로 예측됨.
- 특정 화합물이 약물 후보로서 적합한 특성을 가지고 있는지를 평가하는 Druglikeness 에 의하면, HMBOA-Glc는 5가지 평가 척도 중 2가지의 평가 기준에서 약물로서 이용 가능성이 있을 것으로 평가되었으며, Bioavailability score는 0.55로 예측됨.
- ADME 평가를 종합하면, HMBOA-Glc의 구조적 특성이 약물로서 체내 효과적으로 흡수되고 대사되는데 기여할 가능성이 낮음.

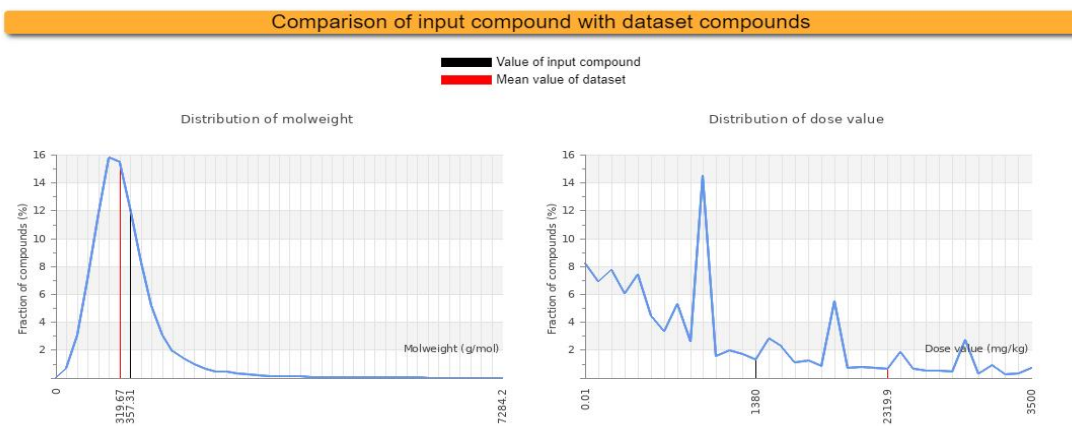
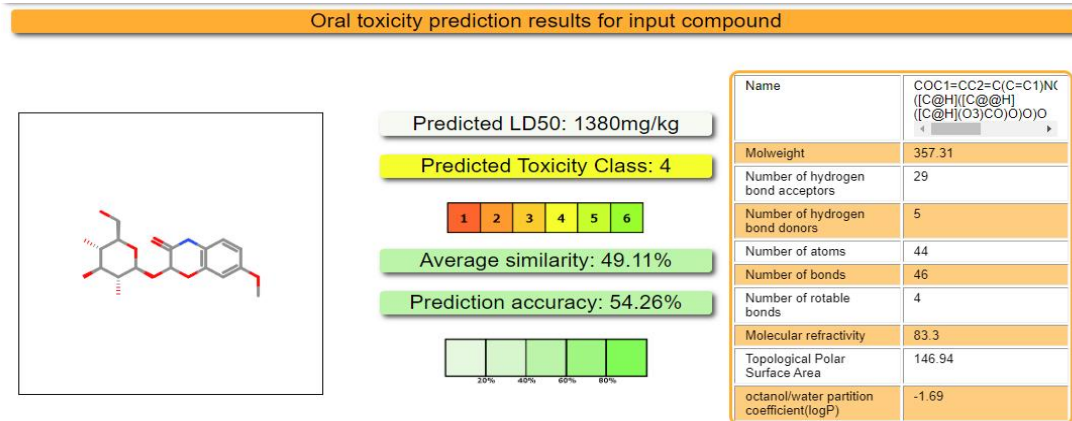
2) Isoquercitrin



- Isoquercitrin의 구조적 특성에 근거한 분석에 의하면 Isoquercitrin의 Water Solubility는 Soluble에 속함. 또한, Log K_p 값은 -8.88 cm/s로 Isoquercitrin의 피부 투과성은 낮으며 위장관 흡수율(GI absorption) 역시 낮을것으로 예측됨.
- 특정 화합물이 약물 후보로서 적합한 특성을 가지고 있는지를 평가하는 Druglikeness 에 의하면, Isoquercitrin는 5가지 평가 척도 중 모든 평가 기준에서 약물로서 이용 가능성이 없을 것으로 평가되었으며, Bioavailability score는 0.17로 예측됨.
- ADME 평가를 종합하면, HMBOA-Glc의 구조적 특성이 약물로서 체내 효과적으로 흡수되고 대사되는데 기여할 가능성이 낮음.

(3) ProTox-II – Prediction Of Toxicity Of Chemicals 을 이용한 독성 평가

1) HMBOA-Glc



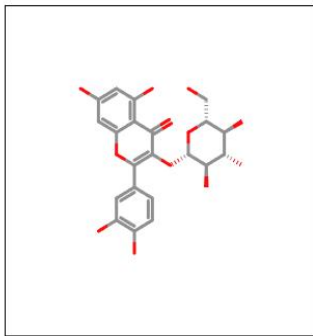
Toxicity Model Report

Classification	Target	Shorthand	Prediction	Probability
Organ toxicity	Hepatotoxicity	dtl	Inactive	0.71
Toxicity end points	Carcinogenicity	carcino	Inactive	0.71
Toxicity end points	Immunotoxicity	immuno	Inactive	0.90
Toxicity end points	Mutagenicity	mutagen	Inactive	0.69
Toxicity end points	Cytotoxicity	cyto	Inactive	0.60
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aryl hydrocarbon Receptor (AhR)	nr_ahr	Inactive	0.78
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor (AR)	nr_ar	Inactive	0.96
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD)	nr_ar_lbd	Inactive	0.98
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aromatase	nr_aromatase	Inactive	0.93
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Alpha (ER)	nr_er	Inactive	0.91
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD)	nr_er_lbd	Inactive	0.95
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-Gamma)	nr_ppar_gamma	Inactive	0.98
Tox21-Stress response pathways	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/antioxidant responsive element (nr2/ARE)	sr_are	Inactive	0.97
Tox21-Stress response pathways	Heat shock factor response element (HSE)	sr_hse	Inactive	0.97
Tox21-Stress response pathways	Mitochondrial Membrane Potential (MMP)	sr_mmp	Inactive	0.82
Tox21-Stress response pathways	Phosphoprotein (Tumor Suppressor) p53	sr_p53	Inactive	0.80
Tox21-Stress response pathways	ATPase family AAA domain-containing protein 5 (ATAD5)	sr_atad5	Inactive	0.95

- HMBOA-Glc의 LD50(Lethal Dose 50%)은 1380 mg/kg으로 추정됨. 이는 GHS(화학물질의 분류, 표시의 세계 조화 시스템)의 독성 등급에서 “삼킬 경우 유해함 (300 < LD50 ≤ 2000 mg/kg)”에 속하며, 독성이 있지만 치명적이지는 않음을 의미함.
- 울무미강 발효추출물 BuOH fraction에 HMBOA-Glc가 함유되어 있으므로 위에서 분석된 독성 평가를 기반으로 세포 실험 등과 같은 다양한 방법으로 독성을 검증할 필요가 있음

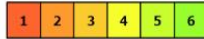
2) Isoquercitrin

Oral toxicity prediction results for input compound



Predicted LD50: 5000mg/kg

Predicted Toxicity Class: 5



Average similarity: 97.3%

Prediction accuracy: 72.9%

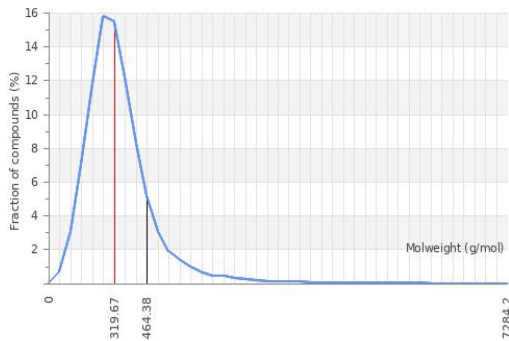


Name	C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=C(C=C2)O)O)O)O)O
Molweight	464.38
Number of hydrogen bond acceptors	31
Number of hydrogen bond donors	8
Number of atoms	53
Number of bonds	56
Number of rotatable bonds	4
Molecular refractivity	110.16
Topological Polar Surface Area	210.51
octanol/water partition coefficient(logP)	-0.54

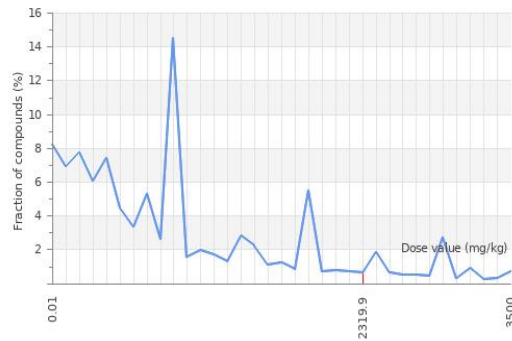
Comparison of input compound with dataset compounds

■ Value of input compound
■ Mean value of dataset

Distribution of molweight



Distribution of dose value



Toxicity Model Report

Classification	Target	Shorthand	Prediction	Probability
Organ toxicity	Hepatotoxicity	dtl	Inactive	0.82
Toxicity end points	Carcinogenicity	carcino	Inactive	0.85
Toxicity end points	Immunotoxicity	immuno	Active	0.66
Toxicity end points	Mutagenicity	mutagen	Inactive	0.76
Toxicity end points	Cytotoxicity	cyto	Inactive	0.69
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aryl hydrocarbon Receptor (AhR)	nr_ahr	Inactive	0.92
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor (AR)	nr_ar	Inactive	0.90
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD)	nr_ar_lbd	Inactive	0.98
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aromatase	nr_aromatase	Inactive	1.0
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Alpha (ER)	nr_er	Inactive	0.91
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD)	nr_er_lbd	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-Gamma)	nr_ppar_gamma	Inactive	0.99
Tox21-Stress response pathways	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/antioxidant responsive element (nr2f2/ARE)	sr_are	Inactive	0.98
Tox21-Stress response pathways	Heat shock factor response element (HSE)	sr_hse	Inactive	0.98
Tox21-Stress response pathways	Mitochondrial Membrane Potential (MMP)	sr_mmp	Inactive	0.98
Tox21-Stress response pathways	Phosphoprotein (Tumor Suppressor) p53	sr_p53	Active	0.50
Tox21-Stress response pathways	ATPase family AAA domain-containing protein 5 (ATAD5)	sr_atad5	Inactive	1.0

- Isoquercitrin의 LD50(Lethal Dose 50%)은 5000 mg/kg으로 추정됨. 이는 GHS(화학물질의 분류, 표시의 세계 조화 시스템)의 독성 등급에서 “삼킬 경우 유해할 수 있음 (2000 < LD50 ≤ 5000 mg/kg)”에 속하며, 독성이 있지만 치명적이지는 않음을 의미함.

- 울무미강 발효추출물 BuOH fraction에 Isoquercitrin가 함유되어 있으므로 위에서 분석된 독성 평가를 기반으로 세포 실험 등과 같은 다양한 방법으로 독성을 검증할 필요가 있음

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

1 세부 : 경기도경제과학진흥원

- 기능성 생리활성 물질 분리정제 및 구조결정
- 원료와 제품에서 지표 및 유효성분 함량확인
- 기준 및 시험법 확립

2 세부 : 에스아이바이오(주)

- 원료 상용화 생산 공정 확립
- 울무미강 발효추출물 2차 가공 공정 확립
- 울무미강 발효추출물 함유 기능성 제형 개발
- 시제품 품평 진행 및 안정성 시험 완료
- 울무미강 발효물 중금속 시험 완료
- 과색소침착증에서의 피부미백효과 평가시험 완료
- 기능성화장품 허가(심사)요건 완료 및 식품의약품안전처 접수
- 시제품 3종 인체적용시험 완료
- 제품화 2종

3 세부 : 부경대학교

- 울무 미강추출물 및 발효물의 테스트 튜브 및 세포 모델을 이용한 미백효능 검증
 - 세포모델에서 울무미강 발효물의 주름개선 효과 검증
 - 세포모델에서 울무미강 발효물의 항염증 효과 분석
 - 세포모델에서 울부미강 발효물의 피부재생 효과 검증
 - 울무미강 발효물에 포함된 단일 성분의 다양한 특성 분석
 - 울무미강 발효물에 의해서 제어되는 신호전달체계 RNA sequencing 분석
-

(2) 정량적 연구개발성과(해당 시 작성, 연구개발과제의 특성에 따라 수정 가능합니다)

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명			단계	1단계 (2021~2022)	2단계 (2023)	계	가중치(%)	
전담기관 등록·기탁지표	지식재산권	특허출원	목표(단계별)	1	1	2	5	
			실적(누적)	-	2	2	5	
		특허등록	목표(단계별)	-	1	1	5	
			실적(누적)	1	-	1	5	
	기술이전	목표(단계별)	-	1	1	10		
		실적(누적)	-	1	1	10		
	사업화 제품화	목표(단계별)	-	2	2	10		
		실적(누적)	-	2	2	10		
	고용창출	목표(단계별)	1	-	1	10		
		실적(누적)	1	-	1	10		
	논문	SCI	목표(단계별)	1	1	2	-	
			실적(누적)	5	1	6	-	
		비SCI	목표(단계별)	-	-	-	-	
			실적(누적)	1	-	1	-	
	학술발표	목표(단계별)	1	1	2	5		
		실적(누적)	4	4	8	5		
	인력양성	목표(단계별)	2	-	2	5		
		실적(누적)	3	3	3	5		
	홍보전시	목표(단계별)	5	5	10	10		
		실적(누적)	-	17	17	10		
연구개발과제 특성 반영 지표	성분분리정제 및 구조결정	목표(단계별)	10	-	10	5		
		실적(누적)	10	-	10	5		
	단백질표적분석	목표(단계별)	2	3	5	5		
		실적(누적)	2	-	5	5		
	향상효능평가	목표(단계별)	10	-	10	5		
		실적(누적)	22	-	22	5		
	기전연구	목표(단계별)	1	-	1	5		
		실적(누적)	1	-	1	5		
	임상시험	목표(단계별)	1	-	1	10		
		실적(누적)	1	-	1	10		
	제조공정확립	목표(단계별)	1	-	1	10		
		실적(누적)	1	-	1	10		
	계			목표(단계별)	36	15	51	100
				실적(누적)	52	30	82	100

* 1] 전담기관 등록·기탁 지표: 논문[에스시아이 Expanded(SCIE), 비SCIE, 평균Impact Factor(IF)], 특허, 보고서원문, 연구시설·장비, 기술요약정보, 저작권(소프트웨어, 서적 등), 생명자원(생명정보, 생물자원), 표준화(국내, 국제), 화합물, 신물질 등을 말하며, 논문, 학술발표, 특허의 경우 목표 대비 실적은 기재하지 않아도 됩니다.

* 2] 연구개발과제 특성 반영 지표: 기술실시(이전), 기술료, 사업화(투자실적, 제품화, 매출액, 수출액, 고용창출, 고용효과, 투자유치), 비용 절감, 기술(제품)인증, 시제품 제작 및 인증, 신기술지정, 무역수지개선, 경제적 파급효과, 산업지원(기술지도), 교육지도, 인력양성(전문 연구인력, 산업연구인력, 졸업자수, 취업, 연수프로그램 등), 법령 반영, 정책활용, 설계 기준 반영, 타 연구개발사업에의 활용, 기술무역, 홍보(전시), 국제화 협력, 포상 및 수상, 기타 연구개발 활용 중 선택하여 기재합니다.

(연구개발과제 특성별로 고유한 성과지표를 추가할 수 있습니다.)

< 연구개발성과 성능지표 >

평가 항목 (주요성능 ¹⁾)	단위	전체 항목에서 차지하는 비중 ²⁾ (%)	세계 최고수준 보유국/보유기관	연구개발 전 국내 수준	연구개발 목표치			목표 설정 근거
			성능수준	성능수준	1단계(21년)	2단계(22년)	3단계(23년)	
추출공정 및 발효조건 확립	건	10	미국	80	추출공정·발효조건 최적화 / 기능성 추출물 제조			추출공정·발효조건 최적화 / 기능성 추출물 제조
			100	90				
지표성분 분석 및 표준화	건	10	미국	80	지표성분 분리 / 구조 규명	원료표준화		지표성분, 표준함량, 유효성분 설정
			100	90				
피부세포 빅데이터 분석	건	5	미국	80	울무미강 피부건강 증진 핵심 신호 전달체계 및 표적 도출	-		Melanocyte 또는 Keratinocyte 세포에서 피부노화 관련 신호전달체계 도출
			100	90				

유효성분 단백질 표적 분석 (in silico)	건	5	미국	80	지표성분 단백질 표적 도출	-	-	지표성분에 의해서 조절되는 핵심 단백질 도출
			100	90				
세포모델 미백효능 평가 및 기전 분석	건	5	미국	80	-	세포모델 미백효능 검증	-	Melanocyte 세포모델
			100	90				
세포모델 주름개선 효능 평가 및 기전 분석	건	5	미국	80	-	세포모델 주름개선 효능 검증	-	Fibroblast 또는 Keratinocyte 세포모델
			100	90				
세포모델 항염증 효능 평가 및 기전 분석	건	5	미국	80	-	세포모델 항염증 효과 검증	-	RAW 264.7 또는 Keratinocyte 세포모델
			100	90				
지표물질 독성 평가 및 in silico 분석	건	5	미국	80	-	-	지표물질 독성 농도 도출 및 단백질 표적 도출	울무미강 지표물질의 피부세포 독성 검증 및 단백질 표적 도출
			100	90				
지표물질 피부 노화 제어 효능 평가	건	5	미국	80	-	-	지표물질 세포모델 피부노화 제어 효능평가	Melanocyte/keratinocyte 세포모델
			100	90				
제형안정성 평가	개월	5	미국	80	개발제형에 대한 식약처 가이드라인기준 안정성 적합		-	울무미강 발효물을 포함하는 제형의 안정성 평가
			100	90				
인체적용시험	명	10	미국	80	-	유효성 및 안전성 입증 (식약처가이드라인기준)	-	기능성화장품 심사규정에 따른 인체적용시험
			100	90				
제품제조공정 확립	건	10	미국	80	생산 공정 확립 / 제품의 품질관리 규격 설정		-	생산 공정 확립 / 제품의 품질관리 규격 설정
			100	90				
기능성화장품 개발	품목	20	미국	80	3 품목 이상 개발		-	미백기능성을 포함하는 복합 기능성 화장품 개발
			100	90				

* 1」 정밀도, 인장강도, 내충격성, 작동전압, 응답시간 등 기술적 성능판단기준이 되는 것을 의미합니다.

* 2」 비중은 각 구성성능 사양의 최종목표에 대한 상대적 중요도를 말하며 합계는 100%이어야 합니다.

(3) 세부 정량적 연구개발성과(해당되는 항목만 선택하여 작성하되, 증빙자료를 별도 첨부해야 합니다)

[과학적 성과]

□ 논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	The multi-functional roles of forkhead box protein O in skin aging and diseases	Redox Biology	문경미, 이봉기	46	네덜란드	ELSEVIER	SCIE	2021.10.01	2213-2317	20
2	Maclurin Exhibits Antioxidant and Anti-Tyrosinase Activities, Suppressing Melanogenesis	Antioxidants	문경미, 이봉기	6	스위스	MDPI	SCIE	2022.06.14	2076-3921	30
3	Enhanced Anti-melanogenic Effect of Adlay Bran Fermented with Lactobacillus brevis MJM60390	Applied Microbiology	Huong T. Nguyen, Mingkun Gu	2	스위스	MDPI	비SCIE	2022.07.20	502-515	10

4	Potential Beneficial Effects of <i>Sargassum</i> spp. in Skin Aging	Marine Drug	이민경, 이봉기	8	스위스	MDPI	SCIE	2022.08.22	1660-3397	20
5	Enhanced anti-wrinkle activity of adlay bran fermented with <i>Lactobacillus brevis</i> MJM60390	Journal of Cosmetic Dermatology	Huong Thi Nguyen	11	미국	WILEY	SCIE	2022.08.09	1473-2130	10
6	LPS-Induced Modifications in Macrophage Transcript and Secretion Profiles Are Linked to Muscle Wasting and Glucose Intolerance	Journal of Microbiology and Biotechnology	류희연, 정현학, 이봉기	34	한국	한국미생물생명공학회	SCIE	2023.12.01	1017-7825	10

[성과증빙]

Redox Biology 46 (2021) 102011

Contents lists available at ScienceDirect

Redox Biology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/redoxbio

The multi-functional roles of forkhead box protein O in skin aging and disease

Kyung Mi Moon¹*, Min-Kyong Lee¹, Taehyok Hwang¹, Chun Wan Choi¹, Min-Soo Kim¹, Hyung-Rak Kwon¹, Bonggi Lee¹

¹ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

² College of Pharmacy and Research Institute of Pharmaceutical Science, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

³ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

⁴ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

⁵ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

⁶ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

⁷ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

⁸ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

⁹ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

¹⁰ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

¹¹ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

¹² School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

¹³ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

¹⁴ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

¹⁵ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

¹⁶ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

¹⁷ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

¹⁸ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

¹⁹ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

²⁰ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

antioxidants

MDPI

Article

Macurin Exhibits Antioxidant and Anti-Tyrosinase Activities, Suppressing Melanogenesis

Kyung Mi Moon¹*, Ju-Hye Yang¹, Min-Kyong Lee¹, Eun-Bin Kwon², Jiwon Bae³, Taehyok Hwang¹, Jo-Il Kim⁴, and Bonggi Lee¹

¹ College of Pharmacy and Research Institute of Pharmaceutical Science, Pukyong National University, Busan, Korea, Republic of Korea

² Korea Medicines (KMD) Application Center, Korea Institute of Oriental Medicine (KIOM), 70 Cheongrye-dong, Yongsu-gu, Seoul 05315, Korea

³ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁴ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁵ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁶ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁷ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁸ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁹ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁰ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹¹ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹² Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹³ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁴ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁵ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁶ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁷ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁸ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁹ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

²⁰ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

applied microbiology

MDPI

Article

Enhanced Anti-Melanogenic Effect of Adlay Bran Fermented with *Lactobacillus brevis* MJM60390

Huong T. Nguyen¹*, Mingkun Gu¹, Chun Wan Choi², Yun-Hyeok Choi³, Jo-Won Suh³ and Jinhua Cheng^{3,4,5}

¹ Interdisciplinary Program of Biotechnology, Myungji University, Yongin 17090, Korea

² Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

³ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁴ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁵ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁶ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁷ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁸ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁹ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁰ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹¹ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹² School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹³ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁴ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁵ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁶ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁷ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁸ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁹ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

²⁰ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

Abstract

Forkhead box, class O (FOXO) family members are multifunctional transcription factors that are involved in various biological processes, including energy metabolism, apoptosis, DNA damage, and autophagy. However, their roles in skin health have not been well-investigated. Herein, we investigated whether FOXO is important in skin aging and whether the activation or downregulation of FOXO family members is closely related to melanogenesis, wrinkle formation, and extracellular matrix (ECM) degradation. We have demonstrated the findings that demonstrate the relationship between FOXO and skin health as well as the underlying mechanisms associated with these functions.

Introduction

Forkhead box, class O (FOXO) family members are multifunctional transcription factors that regulate various signaling pathways in transcriptional networks, ensuring the control of cell fate during homeostasis over time and in response to environmental challenges [1]. Physiologically, FOXO family members are primarily transcriptionally repressed by FOXO inhibitors, but are not limited to oxidative stress, apoptosis, cell cycle, energy metabolism (PMI) [2]. FOXO is regulated by numerous and physiological conditions, including oxidative stress, insulin-like growth factors (IGFs), endocrine stress, and other stressors [3]. FOXO is involved in both intrinsic and extrinsic aging processes. Therefore, numerous efforts have been made to reduce oxidative stress to multiple organs and cells. FOXOs have been reported to enhance the oxidative stress produced by multiple stimuli, including oxidative stress, inflammation, and oxidative damage, having a variety of roles in the regulation of FOXO in regulating the cellular redox

Abstract

Macurin is rich in some edible fruits such as Morin (apple mulberry) and Garcinia mangostana. Although macurins showed antioxidant and anti-tyrosinase activities, their roles in melanogenesis (UV)-induced melanogenesis have not been studied. Here, we investigated the effects of macurins in melanogenesis using skin cells and a three-dimensional human skin model. When the cytotoxicity of macurins was examined in BEAS-21 cells, no cytotoxicity was found up to 20 μ M. Macurins suppressed UVB-induced tyrosinase activity and melanin accumulation in BEAS-21 cells without changing in mRNA levels of melanogenesis-related genes including tyrosinase, TYRP2, TYRP3, and MITF. Moreover, macurins reduced melanin contents in melanoma cells, a cell line for normal melanocytes. When applied to a human skin model consisting of the epidermis and melanocytes, macurins significantly reduced UVB-induced melanin accumulation ($p < 0.05$) in a concentration-dependent manner based on microscopic observation and Fourier-Masson staining. Protein-ligand docking simulation followed by binding studies analysis showed that macurins may bind to tyrosinase tyrosinase by forming multiple hydrogen bonds and hydrophobic and aromatic interactions with the residues of tyrosinase. Together, our study suggests that macurins may be applied as an anti-melanogenic agent.

Keywords: macurins; melanogenesis; tyrosinase; human skin

1. Introduction

Although skin aging is a natural and inescapable process due to continuous exposure to deleterious environmental factors containing ultraviolet (UV), pollutants, and micro dust, the skin is an essential protective barrier against the environmental factors. Therefore, delaying skin aging has got a special interest in the field of anti-aging research. Especially, UV irradiation can result in damage to connective tissue, immune cells, and skin cells [1,2] and chronic UV exposure may ultimately induce photoaging and skin cancer by generating a substantial amount of oxidative stress [3,4]. Thus, various *in vitro* and *in vivo* studies have been performed to find cytotoxic and/or photochemicals to elevate intracellular antioxidant defense systems or directly scavenge reactive oxygen species (ROS) by delaying skin aging.

Of several characteristics, excessive melanin accumulation is a feature of photoaging. Although melanin synthesis is a defense mechanism underlying UV-mediated skin damage [5], chronic and repeated UV exposure promotes premature aging of the skin [6]. Moreover, excessive melanin synthesis is closely related to pigmentation disorders such as melasma, freckles, and sunken [7,8]. Melanocytes are located in the basal layer of the epidermis and secrete melanin through dendrites. Tyrosinase is an essential enzyme for melanogenesis in mammals [9], which catalyzes two rate-limiting steps in melanogenesis:

Abstract

Macurins is rich in some edible fruits such as Morin (apple mulberry) and Garcinia mangostana. Although macurins showed antioxidant and anti-tyrosinase activities, their roles in melanogenesis (UV)-induced melanogenesis have not been studied. Here, we investigated the effects of macurins in melanogenesis using skin cells and a three-dimensional human skin model. When the cytotoxicity of macurins was examined in BEAS-21 cells, no cytotoxicity was found up to 20 μ M. Macurins suppressed UVB-induced tyrosinase activity and melanin accumulation in BEAS-21 cells without changing in mRNA levels of melanogenesis-related genes including tyrosinase, TYRP2, TYRP3, and MITF. Moreover, macurins reduced melanin contents in melanoma cells, a cell line for normal melanocytes. When applied to a human skin model consisting of the epidermis and melanocytes, macurins significantly reduced UVB-induced melanin accumulation ($p < 0.05$) in a concentration-dependent manner based on microscopic observation and Fourier-Masson staining. Protein-ligand docking simulation followed by binding studies analysis showed that macurins may bind to tyrosinase tyrosinase by forming multiple hydrogen bonds and hydrophobic and aromatic interactions with the residues of tyrosinase. Together, our study suggests that macurins may be applied as an anti-melanogenic agent.

Keywords: macurins; melanogenesis; tyrosinase; human skin

1. Introduction

Although skin aging is a natural and inescapable process due to continuous exposure to deleterious environmental factors containing ultraviolet (UV), pollutants, and micro dust, the skin is an essential protective barrier against the environmental factors. Therefore, delaying skin aging has got a special interest in the field of anti-aging research. Especially, UV irradiation can result in damage to connective tissue, immune cells, and skin cells [1,2] and chronic UV exposure may ultimately induce photoaging and skin cancer by generating a substantial amount of oxidative stress [3,4]. Thus, various *in vitro* and *in vivo* studies have been performed to find cytotoxic and/or photochemicals to elevate intracellular antioxidant defense systems or directly scavenge reactive oxygen species (ROS) by delaying skin aging.

Of several characteristics, excessive melanin accumulation is a feature of photoaging. Although melanin synthesis is a defense mechanism underlying UV-mediated skin damage [5], chronic and repeated UV exposure promotes premature aging of the skin [6]. Moreover, excessive melanin synthesis is closely related to pigmentation disorders such as melasma, freckles, and sunken [7,8]. Melanocytes are located in the basal layer of the epidermis and secrete melanin through dendrites. Tyrosinase is an essential enzyme for melanogenesis in mammals [9], which catalyzes two rate-limiting steps in melanogenesis:

1. Redox Biology 2. Antioxidants 3. Applied Microbiology

marine drugs

MDPI

Article

Potential Beneficial Effects of *Sargassum* spp. in Skin Aging

Min-Kyong Lee¹*, Hyeon Ryea¹, Ji Yan Lee¹, Hyun Hak Jung¹, Jiwon Bae³, Ji Fan Van¹, Myoung-Jin Kim¹, Won-Kyo Jung¹, and Bonggi Lee¹

¹ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Daejeon-dong, Nam-gu, Busan 48519, Korea

² Division of Biomedical Engineering and Research Center for Marine Integrated Biotechnology, Pukyong National University, Daejeon-dong, Nam-gu, Busan 48519, Korea

³ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁴ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁵ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁶ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁷ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁸ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁹ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁰ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹¹ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹² Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹³ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁴ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁵ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁶ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁷ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁸ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁹ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

²⁰ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

Abstract: Sargassum are receiving much attention as a rich source of bioactive compounds with nutraceutical potential. Recent studies have revealed that *Sargassum* spp. is a genus of brown algae in the family Sargassaceae. It has multiple functions in preventing and improving skin aging. *Sargassum* spp. contains many bioactive compounds, such as furanones, furostanols, terpenoids, flavonoids, and monoterpenes. These *Sargassum* spp. extracts and derivative compounds have excellent potential in skin care, as they exhibit skin health-promoting properties, including antioxidant, anti-inflammatory, whitening, skin barrier repair, and restructuring. Therefore, searching for bioactive compounds in marine resources such as *Sargassum* spp. could be an attractive approach to preventing and improving skin aging. The current review focused on the various biological activities of *Sargassum* extracts or derived compounds for anti-aging.

Keywords: brown seaweeds; *Sargassum* spp.; skin aging; nutraceutical

1. Introduction

Sargassum is a genus of brown algae in the Sargassaceae family, with more than 400 species distributed in tropical and subtropical coastal areas, with more than 800 species distributed in the Atlantic Ocean to the Caribbean Sea [1]. In particular, numerous *Sargassum* biomass found from the Atlantic Ocean to the Caribbean Sea is called the Greater Atlantic *Sargassum* Belt and is responsible for stranding numerous algae in coastal areas, causing severe environmental, ecological, and economic problems [1,2]. The massive influx of *Sargassum* and subsequent decaying algae on the beach could directly impact the affected area as it has harmful effects on the health of the beach and traveling visitors (recreatory, skin, and neurological diseases caused by the release of hydrogen sulfide and ammonia), tourism, and fishing activities [1,3]. Also, removing *Sargassum* biomass from beach problems because it is expensive. Therefore, reorganizing attention to increase the value of *Sargassum* biomass reaching the coast could not only reduce *Sargassum* waste an economic opportunity but also solve their related environmental problems.

Sargassum spp. are known to have a wide range of bioactive metabolites with potential applications in the food, nutraceutical, pharmaceutical, and cosmetic industries [1,4]. Of the more than 400 species of *Sargassum*, only 78 species were investigated for their functional and phytochemical properties, of which most studies focused on *Sargassum* [5]. The main *Sargassum* spp. include *S. horneri*, *S. flabellum*, *S. muticum*, *S. pinnatifidum*, *S. siliculosum*, *S. vulgatum*, and *S. muticum*, and have been investigated as food or traditional medicine in many countries to prevent or treat a variety of diseases [Table 1] [6]. *Sargassum* spp. are rich in carbohydrates, proteins, amino acids, vitamins, minerals, dietary fiber, and carotenoids. Additionally, approximately 200 biologically active compounds in *Sargassum* spp. have been reported, which include but are not limited to monoterpenes, terpenoids, flavonoids, sulfated polysaccharides, polyphenols,

antioxidants

MDPI

Article

Enhanced anti-wrinkle activity of adlay bran fermented with *Lactobacillus brevis* MJM60390

Huong Thi Nguyen BS¹*, Yun-Hyeok Choi BD, PhD² | Chun Wan Choi BD, PhD² | Jo-Won Suh BS, PhD³ | Jinhua Cheng PhD^{3,4,5}

¹ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Daejeon-dong, Nam-gu, Busan 48519, Korea

² Division of Biomedical Engineering and Research Center for Marine Integrated Biotechnology, Pukyong National University, Daejeon-dong, Nam-gu, Busan 48519, Korea

³ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁴ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁵ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁶ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁷ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁸ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁹ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁰ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹¹ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹² School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹³ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁴ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁵ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁶ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁷ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁸ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁹ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

²⁰ School of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

Abstract: The aim of this study was to screen the lactic acid bacteria for fermentation of adlay bran and evaluate the anti-wrinkle effect of fermented and non-fermented adlay bran. Methods: Adlay bran was fermented with candidate LAB and extracted with 70% ethanol. The extracts from LAB-fermented adlay bran and non-fermented adlay bran were evaluated for the anti-wrinkle effects by measuring the hyaluronan, collagen, and elastin production in cells using ELISA kit. The molecular anti-wrinkle mechanism was investigated by RT-PCR. Results: The antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content were also determined. Results: Among the tested LAB, *Lactobacillus brevis* MJM60390 was selected for the highest glycolytic activity. Both extracts from adlay bran (FAB) and L. *brevis* MJM60390-fermented adlay bran (LFAB) showed anti-wrinkle effect, and LFAB showed higher activity. Compared with control, hyaluronan production was increased by 24.72% and 58.89%, collagen production was increased by 13.08% and 34.19%, and the elastin production was increased by 29.78% and 52.73% by FAB and LFAB, respectively. Investigation on the mRNA expression showed that LFAB upregulated the expression of the 2 and 3 and downregulated PPAR1 and PPAR2. LFAB also upregulated the mRNA expression of COL1A1, COL2A1, ELN and inhibited the expression of collagenase and elastase. However, not all of these genes were regulated by FAB. Furthermore, the antioxidant activity was significantly increased after fermentation, and the content of the phenolic and flavonoid compounds also increased by the LFAB. Conclusions: In this study, we demonstrated that fermentation of adlay bran with L. *brevis* MJM60390 enhanced the anti-wrinkle activity through increasing the hyaluronan synthesis in keratinocytes and improving collagen and elastin production in dermal fibroblasts.

KEYWORDS: Adlay bran; anti-wrinkle; cell culture; fermentation; microbiology

applied microbiology

MDPI

Article

LPS-Induced Modifications in Macrophage Transcript and Secretion Profiles Are Linked to Muscle Wasting and Glucose Intolerance

Hyeon Ryea¹*, Hyeon Hak Jung¹, Seungjun Lee¹, Min-Kyong Lee¹, Myoung-Jin Kim¹, and Bonggi Lee¹

¹ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

² Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

³ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁴ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁵ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁶ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁷ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁸ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

⁹ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁰ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹¹ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹² Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹³ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁴ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁵ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁶ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁷ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁸ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

¹⁹ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

²⁰ Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48519, Korea

Abstract: Macrophages are versatile immune cells that play crucial roles in tissue repair, immune defense, and the regulation of immune responses. The content of skeletal muscle, they are vital for maintaining muscle mass and function. However, the accumulation of macrophages in skeletal muscle is associated with muscle wasting and glucose intolerance. In this study, we investigated the effects of LPS on macrophages and muscle wasting and glucose intolerance. Methods: Macrophages were cultured with LPS and the effects on macrophage transcript and secretion profiles were investigated. Results: LPS treatment significantly increased the expression of macrophage-associated genes and the secretion of macrophage-derived factors. Furthermore, LPS treatment significantly increased the expression of macrophage-associated genes and the secretion of macrophage-derived factors. These findings offer valuable insights into the regulatory mechanisms of macrophage secreted factors and their contribution to muscle-related diseases.

Keywords: Macrophages; skeletal muscle; cytokines; RNA seq; proteomics array

1. Introduction

Macrophages are versatile immune cells that play crucial roles in tissue repair and immune defense, and the regulation of immune responses. The content of skeletal muscle, they are vital for maintaining muscle mass and function. However, the accumulation of macrophages in skeletal muscle is associated with muscle wasting and glucose intolerance. In this study, we investigated the effects of LPS on macrophages and muscle wasting and glucose intolerance. Methods: Macrophages were cultured with LPS and the effects on macrophage transcript and secretion profiles were investigated. Results: LPS treatment significantly increased the expression of macrophage-associated genes and the secretion of macrophage-derived factors. Furthermore, LPS treatment significantly increased the expression of macrophage-associated genes and the secretion of macrophage-derived factors. These findings offer valuable insights into the regulatory mechanisms of macrophage secreted factors and their contribution to muscle-related diseases.

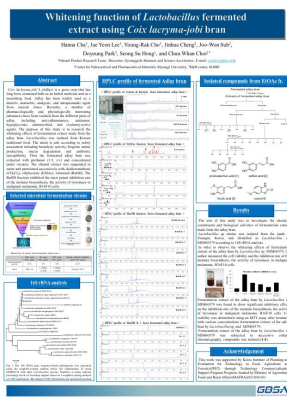
Keywords: Macrophages; skeletal muscle; cytokines; RNA seq; proteomics array

4. Potential Beneficial Effects of *Sargassum* spp. in Skin Aging 5. Enhanced anti-wrinkle activity of adlay bran fermented with *Lactobacillus brevis* MJM60390 6. LPS-Induced Modifications in Macrophage Transcript and Secretion Profiles Are Linked to Muscle Wasting and Glucose Intolerance

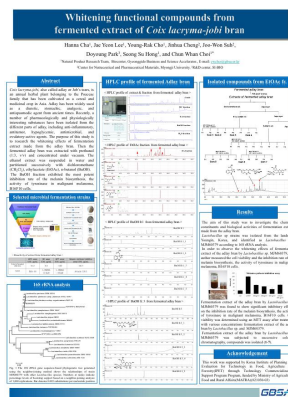
□ 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	한국미생물학회	차한나	2021.08.25	창원	한국
2	한국식품저장유통학회	이봉기	2021.08.26	무주	한국
3	2021 대한약학회	최춘환	2021.12.20	전주	한국
4	한국미생물 생명공학학회	최춘환	2022.06.23	경주	한국
5	한국응용생명화학학회	최춘환	2023.06.20	부산	한국
6	한국응용생명화학학회	최춘환	2023.09.14	강릉	한국
7	한국식품영양과학회	이봉기	2023.10.20	서울	한국
8	한국식품영양과학회	이봉기	2023.10.20	서울	한국

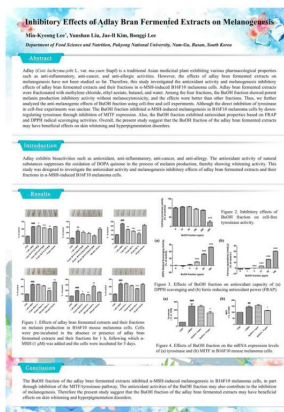
[성과증빙]



한국미생물학회



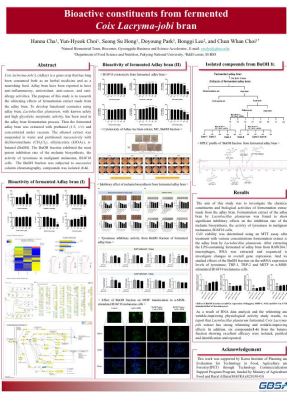
2021 대한약학회



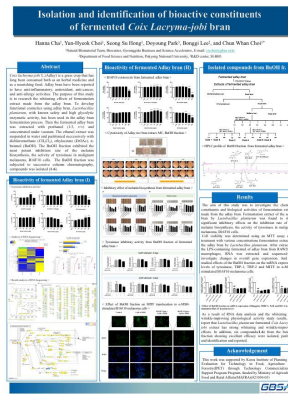
한국식품저장유통학회



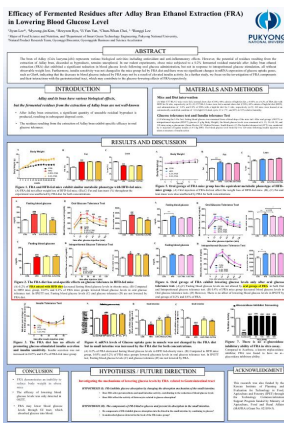
한국미생물 생명공학학회



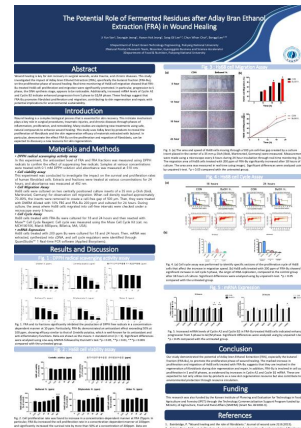
한국응용생명화학학회



한국응용생명화학학회



한국식품영양과학회



한국식품영양과학회

[기술적 성과]

□ 지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

[성과증빙]

특허지분 양도계약서

"부경대"(기술보유자)		"(주)에스아이바이오"(양수기업)	
성명:	부경대학교 산학협력단 담당 오정환 (인)	성명:	에스아이바이오 대표 최종환 (인)
주소:	부산광역시 남구 풍곡로 45 부경대학교 내	주소:	경기도 수원시 원천구 오목천 로 132번길 19
연구자:	식물과학부 식품영양학전공 이영기 교수		
담당자:	부경대학교 산학협력단 이경준		
	T. _____		
	M. _____		
"진흥원"(기술보유자)		담당자	
성명:	경기도경제과학진흥원 원장 강성환 (인)	성명:	에스아이바이오 박도영
주소:	경기도 수원시 영통구 영교 로 107	연락처:	T. _____
연구자:	천안공소제임 최승환 책임		M. _____
담당자:	경기도경제과학진흥원 최승환		
	T. _____		
	M. _____		

2023년 11월 2일

GBCSA

기술이전계약서



기술이전 언론홍보

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		
1	기술이전	신제품 개발	국내	안티드라이 쿨카밍앰플패드	보습기능성 향장제 품 출시	(주)에스아이바이오	-	-	2023	13
2	기술이전	신제품 개발	국내	안티멜라브라이트닝 앰플패드	미백기능성 향장제 품 출시	(주)에스아이바이오	350	-	2023	10

- * 1) 기술이전 또는 자기실시
- * 2) 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등
- * 3) 국내 또는 국외

[성과증빙]

<첨부>

농림축산식품 연구개발과제 제품출시 확인서

과제명	울무미강 발효수출물로부터 기능성 향장소재개발		
주관연구기관	(재단)경기도경제과학진흥원	참여기관	에스아이바이오(주)
연구책임자	최준환	연구기간	21년 04월 ~ 23년 12월 (총 29년)
총 정부출연금	732,000,000 원		
해당 기술의 제품출시 유형			
신제품(제품출시 예정)	()	기존 제품 공정개선	()
신제품(제품출시 완료)	(○)	기타	()
제품 출시 실적			
제품명	제품사진	제품용도	제품출시일
안티드라이 콜카밍 앰플패드		기능성 화장품	2023. 12.23
			해당 기술의 제품출시 기여율(%)
			50%

* 첨부 : 당해연도 제품출시 여부를 확인할 수 있는 자의(제조년월일 표기)사진, 제품등록번호 등
 **식품R&D는 품목제조보고서 제출 필수

상기와 같이 R&D 기술을 제품화한 실적을 보고합니다.

2023년 12월 29일

연구책임자 : 최준환



안티드라이콜카밍앰플패드

<첨부>

농림축산식품 연구개발과제 제품출시 확인서

과제명	울무미강 발효수출물로부터 기능성 향장소재개발		
주관연구기관	(재단)경기도경제과학진흥원	참여기관	에스아이바이오(주)
연구책임자	최준환	연구기간	21년 04월 ~ 23년 12월 (총 29년)
총 정부출연금	732,000,000 원		
해당 기술의 제품출시 유형			
신제품(제품출시 예정)	()	기존 제품 공정개선	()
신제품(제품출시 완료)	(○)	기타	()
제품 출시 실적			
제품명	제품사진	제품용도	제품출시일
안티멜라 브라이트닝 앰플패드		기능성 화장품	2023. 12.23
			해당 기술의 제품출시 기여율(%)
			50%

* 첨부 : 당해연도 제품출시 여부를 확인할 수 있는 자의(제조년월일 표기)사진, 제품등록번호 등
 **식품R&D는 품목제조보고서 제출 필수

상기와 같이 R&D 기술을 제품화한 실적을 보고합니다.

2023년 12월 29일

연구책임자 : 최준환



안티멜라
브라이트닝앰플패드

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
안티드라이 콜카밍 앰플패드	2023	-	-	-	매출액
안티멜라 브라이트닝 앰플패드	2023	350	-	350	매출액
합계		350	-	350	매출액

□ 사업화 계획 및 무역 수치 개선 효과

성과		국내 자생 소재인 울무미강을 활용한 기능성 화장품 개발			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	3			
	소요예산(천원)	100,000			
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
		해당없음	300,000	700,000	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
			국내	해당없음	0.01
국외			해당없음	0.003	
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획	울무미강 발효물을 이용한 미백기능성 화장품과 복합기능성 화장품의 제품화가 계획중이고, 기능성 식품까지 확장계획. 기능성 원료 자체의 고부가가치화 및 수출계획				
무역 수치 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
		-	-	100,000	
	수출	-	150,000	300,000	

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2021년	2022년	
1	기술사업화지원사업	에스아이바이오(주)	1	-	1
	합계		1	-	1

□ 고용 효과

구분			고용 효과(명)
고용 효과	개발 전	연구인력	2
		생산인력	-
	개발 후	연구인력	3 (1차년도 종료시점 현재)
		생산인력	-

□ 경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

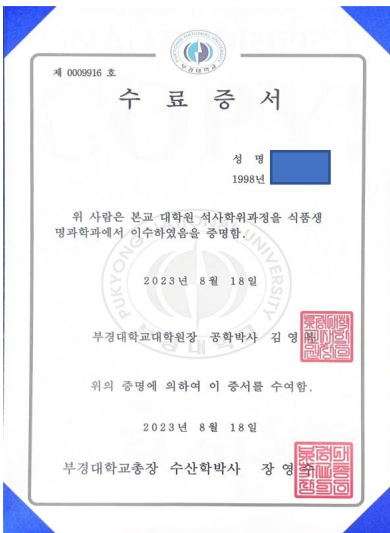
구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
2021	-	-	-	-	-	1	-
2022	안티드라이 쿨카밍 엠펙패드	1,000	-	-	-	-	-
2023	안티멜라 브라이트닝 엠펙패드	1,000	-	350	-	-	-
기대 목표		2,000	-	100,000	-	1	-

[사회적 성과]

□ 전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1		2022		3				3			○		

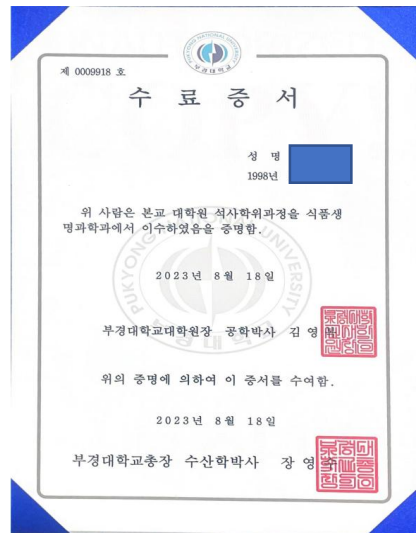
[성과증빙]



김OO 석사수료증



류OO 석사수료증



백OO 석사수료증

□ 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일
1	중앙TV방송	KBS	'바이오기술'제품화 추진 ...경기도, 기술이전	2023.11.02
2	지방일간지	CNB뉴스	경기도-경기도경제과학진흥원, 경기도 우수 바이오 기술 도내 기업에서 제품으로 개발	2023.11.02
3	지방일간지	아주경제	경기도 우수 바이오 기업, 도내 기업에서 제품으로 개발된다.	2023.11.02
4	지방일간지	UPI뉴스	경과원, 천연물-합성물 이용 개발 3가지 원천기술 바이오기업에 이전	2023.11.02
5	지방일간지	경기신문	경기도표 바이오기술 제품 개발된다...도, 도내기업과 기술이전협약 체결	2023.11.02
6	지방일간지	한국정경신문	경기도, 2일 경기바이오센터에서 '바이오 우수기술 기술이전 협약식'개최	2023.11.02

7	중앙일간지	국민일보	경기도 지원 개발 바이오 기술, 기업 이전 제품으로	2023.11.02
8	지방일간지	아시아경제	경과원 바이오산업본부, 바이오기술 민간기업 이전	2023.11.02
9	지방일간지	인천일보	경기도-국내 기업3사, 바이오 기술이전연구협력 협약 체결	2023.11.02
10	지방일간지	시민일보	경기도, 도내 기업에 우수 바이오 기술 이전	2023.11.02
11	지방TV방송	OBS	경기도 우수 바이오 기술, 도내 기업이전 제품화	2023.11.02
12	지방일간지	뉴데일리	경기도, 우수 바이오 기술 도내 기업에 이전	2023.11.02
13	지방전문지	디지털타임스	경기도 우수 바이오 기술, 도내 기업에 기술이전	2023.11.02
14	중앙전문지	매일경제	비만치료/피부재생...똥똥한 바이오 기업 키우는 경기도	2023.11.02
15	중앙TV방송	YTN	경기도 개발 바이오기술 제품화추진...기술 이전	2023.11.02
16	중앙TV방송	아리랑TV	Supporting biotech firms	2023.11.02
17	중앙TV방송	MBC	MBC 생방송 오늘저녁	2023.12.26

□ 포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관
1	수상	캡스톤 디자인 발표 최우수상	올무미강 잔사발효추출물 및 그 분획물의 멜라닌 생합성 저해 활성 평가	부경대 인력양성학생	2022.08.18	한국식품저장유통학회

[성과증빙]

KBS NEWS
 '비만치료 바이오기술' 제품화 추진...경기도, 기술 이전
 2023-11-02 11:30 | 9분20초 | 11-02-11-04

경기도가 개발을 지원한 비만치료용 바이오 기술이 도내 민간기업에 이전돼 제품으로 개발됩니다.

경기도와 경기도경제과학진흥원 바이오산업본부는 2일 수원 경기바이오센터에서 라플레, 에스아이바이오, 넥스팜코리아 등 국내 3개 바이오기업과 '바이오 기술이전 및 연구 협력을 위한 업무협약'을 체결했습니다.

협약은 경기도가 지원하고 경기도경제과학진흥원 바이오산업본부가 개발한 바이오 기술을 도내 기업에 이전하고, 신약 및 건강기능제품 개발 연구에 협력하는 내용입니다.

이전 기술은 지방세포 리모델링 항비만치료 후보물질, 피부재생 활성 올무미강 발효추출물, 이상지질혈증 관리를 통한 혈당개선 효과의 항가시당류 추출물 등 총 3가지입니다.

특히 지방세포 리모델링 항비만치료 후보물질은 에너지 축적을 억제지방을 연소할 잠재적방법으로 전환해 체내의 과다한 에너지를 열로 소모하게 해 체중을 조절하는 의약품 소재로, 2016년 과학저널지(Nature Chemical Biology)에 게재돼 감동받았습니다.

식약 규제 및 흡수 억제 부작용에서 벗어난 차세대 항비만 치료시장을 선점할 수 있을 것으로 기대됩니다. 경기도는 설명했습니다.

원문구 기사: <https://www.kbs.com>

KBS

cnb NEWS
 경기도-경기도경제과학진흥원, 경기도 우수 바이오 기술 도내 기업에서 제품으로 개발
 '신약·건강기능·도약 개발' 사업 등으로 개발된 3가지 원천기술 이전

경기도 (주)경기도경제과학진흥원 바이오산업본부는 2일, 경기바이오센터에서 라플레, 넥스팜코리아, 에스아이바이오 등 국내 바이오기업 3개 사와 '바이오 기술이전 및 연구협력을 위한 업무협약'을 체결했다.

협약은 경기도가 지원하고 경제과학진흥원 바이오산업본부가 개발한 바이오 우수기술을 도내 바이오 기업에게 이전하는 한편, 신약 및 건강기능제품 개발을 위한 연구 협력을 위한 업무협약이다.

[사진=경기도]

CNB뉴스

아주경제
 경기도 우수 바이오 기술, 도내 기업에서 제품으로 개발된다

경기도, 2일 경기바이오센터에서 '바이오 우수기술 기술이전 협약식' 개최
 '국내외 천연물 및 합성물 소재 개발' 사업 등으로 개발된 3가지 원천기술 이전

수원=강대용 기자 (dwkang@ajunews.com) | 입력 : 2023-11-02 11:03
 | 수정 : 2023-11-03 07:56

[사진=경기도]

경기도와 경기도경제과학진흥원 바이오산업본부는 2일 경기바이오센터에서 라플레, 에스아이바이오, 넥스팜코리아 등 국내 3개 바이오 기업과 '바이오 기술 이전과 연구 협력'을

아주경제

경과원, 천연물-합성물 이용 개발 3가지 원천기술 바이오 기업에 이전

김영욱 기자 | 기사작성 2023-11-02 07:48:28

경기도-경과원, '2023 바이오 우수기술 기업이전 협약식' 개최

경기도와 경기도경제과학진흥원(GBSA) 바이오산업분부는 2일 경기바이오센터에서 ㈜과플레, ㈜에스아이바이오, ㈜엑스팜코리아 등 국내 바이오 3개 사와 바이오 기술이전 및 연구협력을 위한 업무협약을 체결했다.



▲ 경기도청 전경. (경기도 제공)

협약은 경기도가 지원하고 경제과학진흥원 바이오산업분부가 개발한 바이오 우수기술을 이들 기업에게 이전하는 한편, 신약 및 건강기능식품 개발을 위한 연구 협력을 하기 위해 마련됐다.

경기도 지원 개발 바이오 기술, 기업 이전제품으로

라클레, 에스아이바이오, 엑스팜코리아 등

김영욱 기자 | 2023.11.02 10:08



경기도가 지원해 개발한 바이오 우수기술이 도내 바이오 기업에 이전돼 제품으로 개발된다.

경기도와 경기도경제과학진흥원 바이오산업분부는 2일 경기바이오센터에서 라클레, 에스아이바이오, 엑스팜코리아 등 국내 바이오기업 3곳과 바이오 기술이전 및 연구협력을 위한 업무협약을 체결했다고 밝혔다.

협약에 따른 이전 대상 기술은 지방세포 리모델링 항비만치료 후보물질, 피부재생 활성 율유미강 발효추출물, 이상지질혈증 완화용 통한 혈행개선 효과의 장기시달용 추출물 등 총 3가지다.

특히 지방세포 리모델링 항비만치료 후보물질은 에너지 축적용 백색지방을 연소할 잠재력으로 전환해 체내의 과다한 에너지를 열로 소모시켜 체중을 조절하는 의약품 소재로 2018년 세계 최고 과학저널(Nature Chemical Biology)에서 기술의 우수성을 검증받은 바 있다. 이어 2019년에는 경기도 바이오 신소재 개발사업으로 선정됐다. 기존 식이요법 및 운동요법 부족을 보완하는 차세대 항비만 치료시달용을 개발할 수 있을 것으로 기대되는 이 기술은 안정성이 뛰어난 추출물에 기술이전하게 됐다.

피부재생 활성 율유미강 발효추출물은 피부재생효과를 가지는 조성을 개발한 것으로 에스아이바이오에, 이상지질혈증 완화를 통한 혈행개선 효과의 장기시달용 추출물은 엑스팜코리아에 각각 이전된다.

한편, 경기도 바이오산업협회는 "바이오산업 발전을 위해서는 연구개발이 가장 중요하지만, 시간과 비용이 많이 들기 때문에 개발 기업의 노력만으로는 연구개발이 이어 나가기 어렵다"며 "이번 협약은 경기도 바이오산업 발전을 위해 도내 기업과의 지속

경기도, 도내 기업에 우수 바이오 기술 이전

김영욱 기자 | 기사작성 2023-11-02 15:03:38



3곳과 업무협약 체결, 제품 개발 연구 협력

[수원=채홍수 기자] 경기도와 (재)경기도경제과학진흥원 바이오산업분부는 2일 경기바이오센터에서 ㈜과플레, ㈜에스아이바이오, ㈜엑스팜코리아 등 국내 바이오기업 3개 사와 '바이오 기술이전 및 연구협력'을 위한 업무협약을 체결했다.

협약은 도가 지원하고 경과원 바이오산업분부가 개발한 바이오 우수기술을 도내 바이오 기업에게 이전하는 한편, 신약 및 건강기능식품 개발을 위한 연구 협력을 하기 위해 마련됐다.

경기도표 바이오기술 제품 개발된다...도, 도내기업과 '기술이전 협약' 체결

㈜과플레, 에스아이바이오, 엑스팜코리아 등 3개사 대상 지방세포 리모델링 항비만치료 후보물질 등 3개 기술이전

이진 기자 | kjournal@knews.co.kr

등록 2023.11.02 16:06:33



▲ 경기도청 전경. (사진:경기도 제공)

경기도와 도경제과학진흥원은 2일 ㈜과플레, 에스아이바이오, ㈜엑스팜코리아 등 국내 바이오기업 3개사와 바이오 기술이전 및 연구협력을 위한 업무협약을 체결했다고 밝혔다.

이번 협약은 도가 지원하고 도경제과학진흥원 바이오산업분부가 개발한 우수기술을 도내 기업에 이전하고 신약, 건강기능식품 등 개발을 위한 연구 협력을 목적으로 마련됐다.

이전 대상 기술은 ▲지방세포 리모델링 항비만치료 후보물질 ▲피부재생 활성 율유미강 발효추출물 ▲이상지질혈증 완화를 통한 혈행개선 효과의 장기시달용 추출물 등 총 3가지다.

경과원바이오산업분부, 바이오기술 민간기업이전

이진 기자

등록 2023.11.02 08:16 수정 2023.11.02 08:16



경기도청

경기도가 바이오기술 민간기업 이전을 추진한다.

경기도경제과학진흥원 바이오산업분부는 2일 수원 캠프테크노밸리 내 경기바이오센터에서 ㈜과플레, 에스아이바이오, 엑스팜코리아 등 국내 바이오기업 3개 사와 '바이오 기술이전 및 연구협력'을 위한 업무협약을 체결했다고 밝혔다.

이번 협약은 경기도가 지원하고 경제과학진흥원 바이오산업분부가 개발한 바이오 우수기술을 도내 바이오 기업에 이전하고, 신약 및 건강기능식품 개발을 위한 연구 협력을 위해 마련됐다.

이전 대상 기술은 ▲지방세포 리모델링 항비만치료 후보물질 ▲피부재생 활성 율유미강 발효추출물 ▲이상지질혈증 완화를 통한 혈행개선 효과의 장기시달용 추출물 등 3가지다.

경기도 바이오기술 민간기업에 이전...제품화 추진

이진 기자 | 2023.11.02 10:10

경기도가 개발을 지원한 비만치료물질 바이오 기술이 도내 민간기업에 이 전해 제품화 됩니다.

경기도와 경기도경제과학진흥원은 오늘 오후 경기바이오센터에서 라클레, 에스아이바이오, 엑스팜코리아 등 바이오기업과 '바이오 기술이전 및 연구협력'을 위한 업무협약을 체결했다.

협약에 따라 경기도는 지방세포 리모델링 항비만치료 후보물질과 피부재생 활성 율유미강 발효추출물, 이상지질혈증 완화를 통한 혈행개선 효과의 장기시달용 추출물 등 3가지 기술을 이전하게 됩니다.

김영욱 기자 | kbs@obs.co.kr

저자권리 © OBS-TV 무단 전재 및 재배포 금지

경기도, 2일 경기바이오센터에서 '바이오 우수기술 기업이전 협약식' 개최

'국대역 천연물 및 합성물 소재 개발' 사업 등으로 개발된 3가지 원천기술 이전

김영욱 기자 | 2023.11.02 17:00

이진



2일 경기도는 경기바이오센터에서 ㈜과플레, 에스아이바이오, 엑스팜코리아 등 국내 바이오기업 3개 사와 '바이오 기술이전 및 연구협력'을 위한 업무협약을 체결하고 기념촬영을 하고 있다. (사진:경기도 제공)

[한국경제신문(수원)=김영욱 기자] 비만치료물질 등 경기도의 우수 바이오 기술이 도내 기업에 제품으로 개발하는 데 손을 잡는다.

경기도와 (재)경기도경제과학진흥원 바이오산업분부는 2일 경기바이오센터에서 ㈜과플레, 에스아이바이오, 엑스팜코리아 등 국내 바이오기업 3개 사와 '바이오 기술이전 및 연구협력'을 위한 업무협약을 체결했다.

협약은 경기도가 지원하고 경제과학진흥원 바이오산업분부가 개발한 바이오 우수기술을 도내 바이오 기업에게 이전하는 한편, 신약 및 건강기능식품 개발을 위한 연구 협력을 하기 위해 마련됐다.

민천일보

경기 > 경제 > 경기

경기도-국내 기업 3사, 바이오 기술이전-연구협력 협약 체결

김영욱 기자 | 2023.11.02



▲ 경기도청 전경. (사진:경기도 제공)

경기도가 국내 바이오기업 3개 사와 '바이오 기술이전-연구협력'을 위한 업무협약을 체결했다.

2일 도에 따르면 이 협약은 도가 지원하고 경제과학진흥원 바이오산업분부가 개발한 바이오 우수기술을 기업들에게 이전, 신약·건강기능식품 개발을 위한 연구 협력을 하기 위해 마련됐다.

이전 대상 기술은 ▲지방세포 리모델링 항비만치료 후보물질 ▲피부재생 활성 율유미강 발효추출물 ▲이상지질혈증 완화를 통한 혈행개선 효과의 장기시달용 추출물 등 총 3가지다.

지방세포 리모델링 항비만치료 후보물질은 에너지 축적용 백색지방을 연소할 잠재력으로 전환해 체내의 과다한 에너지를 열로 소모시켜 체중을 조절하는 의약품 소재다. 이는 2018년 세계 최고 과학저널(Nature Chemical Biology)에서 기술 우수성을 검증받았고, 2018년 경기도 바이오 신소재 개발사업으로 선정됐다.

경기도, 우수 바이오 기술 도내 기업에 이전

글로벌 경쟁력 갖는 제품 탄생 기대

기사일락 2023.11.02 09:35:18 | 홈페이지 | bus@newdaily.co.kr



▲ 경기도청 전경. (제공:경기도 제공)

경기도가 바이오산업 활성화를 위해 도내 기업에 우수기술을 이전한다.

도와 경기도경제과학진흥원 바이오산업분부는 2일 경기바이오센터에서 ㈜과플레, 에스아이바이오, 엑스팜코리아 등 국내 바이오기업 3개 사와 '바이오 기술이전 및 연구협력'을 위한 업무협약을 체결했다.

협약은 도가 지원하고 경과원 바이오산업분부가 개발한 바이오 우수기술을 도내 바이오 기업에게 이전하는 한편, 신약 및 건강기능식품 개발을 위한 연구 협력을 하기 위해 마련됐다.

이전 대상 기술은 ▲지방세포 리모델링 항비만치료 후보물질 ▲피부재생 활성 율유미강 발효추출물 ▲이상지질혈증 완화를 통한 혈행개선 효과의 장기시달용 추출물 등 총 3가지다.

디지털타임스

기사 주소: http://www.dt.co.kr/contents.html?article_no=2023110221006880001

경기도 우수 바이오 기술, 도내 기업에 기술이전

김종연 기자 kes@dt.co.kr | 입력: 2023-11-02 09:56

비만치료물질 등 국내 최첨단 기술이전 '사업' 등으로 개발된 3가지 최첨단 기술이전



디지털타임스

**비만치료·피부재생...똥똥한 바이오 기업
키우는 경기도**

정현욱 기자 top@mk.co.kr

입력: 2023-11-02 10:38:43 수정: 2023-11-02 10:52:46

경기도 내 기업을 제품 개발 위해
'바이오 우수기술 기술이전 협약식'
비만치료물질 등 최첨단 기술 3개 이전



경기도청 관공(경기도 제공)

경기도와 (재)경기도경제과학진흥원 바이오산업본부는 2일 경기바이오센터에서 ㈜라블레, ㈜에스아이바이오, ㈜네스팜코리아 등 국내 바이오기업 3개사와 '바이오 기술이전 및 연구협력'을 위한 업무협약'을 체결했다고 밝혔다.

이번 협약은 경기도가 지원하고 경제과학진흥원 바이오산업본부가 개발한 바이오 우수기술을 도내 바이오 기업에게 이전하는 한편, 신약 및 건강기능식품 개발을 위한 연구 협력을 하기 위해 마련됐다.

매일경제

방송화면 캡처



MBC 방송캡처

YTN

[경기] 경기도 개발 '비만치료 바이오기술' 제품화 추진...기술 이전

2023년 11월 02일 12시 50분



경기도가 개발을 지원한 비만치료물질 바이오 기술이 도내 민간기업에 이전돼 제품으로 개발됩니다.

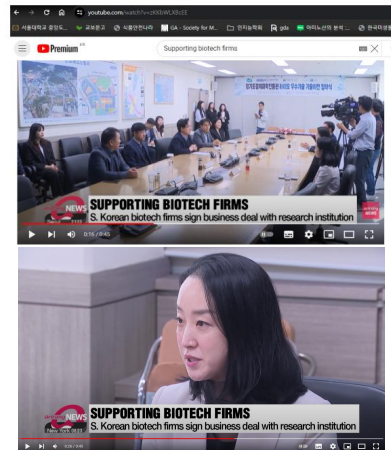
경기도와 경기도경제과학진흥원 바이오산업본부는 수원 경기바이오센터에서 라블레, 에스아이바이오, 네스팜코리아 등 국내 3개 바이오기업과 '바이오 기술이전 업무협약'을 체결했습니다.

이전 기술은 지방세포 리모델링 항비만치료 후부 물질과 피부재생 활성 유효미량 발효 추출물, 이상지질혈증 완화를 통한 혈행개선 효과의 정가당밀 추출물 등 총 3가지입니다.

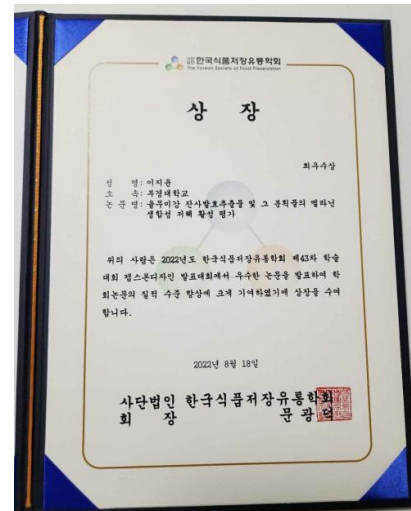
특히 지방세포 리모델링 항비만치료 후부 물질은 에너지 축적을 억제지방을 연소할 잠재력으로, 천연해 체내의 과도한 에너지를 열로 소모하게 해 체중을 조절하는 의약품 소재로, 2016년 과학저널지(Nature Chemical Biology)에 게재돼 검증받았습니다.

도는 식의 억제 및 흡수 억제 부작용에서 벗어난 자체대 항비만 치료시장을 선점할 수 있을 것으로 기대된다고 설명했습니다.

YTN



아리랑TV 방송캡처



캡스톤 디자인 발표 최우수상

2) 목표 달성 수준

<ul style="list-style-type: none"> - 울무부산물 확보 및 추출물제조 - 유전자판별법확립 - 유효성분분리정제/구조규명 - 표준최적추출물제조 - 지표물질 설정에 따른 원료표준화 	<p style="text-align: center;">완료</p> <p style="text-align: center;">완료</p> <p style="text-align: center;">완료</p> <p style="text-align: center;">완료</p> <p style="text-align: center;">완료</p>	
<ul style="list-style-type: none"> - 소재화 기반 구축 : ICID 등재 및 대한 화장품 협회 등재 - 소재의 안전성 평가 실시 - 제품화 기반 구축 - 기능성 제형개발 : 안정성 시험 및 품평 진행 및 보완 - 개발 제형의 식품의약품 안전처 기능성 화장품 인허가 의뢰 	<p style="text-align: center;">완료</p> <p style="text-align: center;">완료</p>	
<ul style="list-style-type: none"> - 울무미강 발효추출물에 존재하는 화합물이 영향을 미칠 것으로 예상되는 신호전달체계 예측(In silico 분석 진행) - 울무미강 발효추출물의 피부노화제어 효능 관련 RNA sequencing - 울무미강 발효추출물에 의해서 조절되는 유전자 빅데이터 분석 - 울무미강의 티로시나제 저해효과, 항산화효과, 염증제어 효과 관련 실험 완료 - 울무 미강추출물 및 발효물의 테스트 튜브 및 세포 모델을 이용한 미백효능 검증 - 세포모델에서 울무미강 발효물의 주름개선 효과 검증 - 세포모델에서 울무미강 발효물의 항염증 효과 검증 	<p style="text-align: center;">분석 완료</p> <p style="text-align: center;">실험 완료</p> <p style="text-align: center;">RNA sequencing 분석 완료</p> <p style="text-align: center;">실험 완료</p> <p style="text-align: center;">미백 효능 검증 완료</p> <p style="text-align: center;">주름관련 실험 완료</p> <p style="text-align: center;">항염 효과 관련 실험 완료</p>	

4. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

- 본 연구 성과로 울무미강 발효 추출물의 미백 효과가 뛰어 났을 뿐만 아니라 각 Fraction 별 효능의 정도도 평가되었기에 추후 기능성 화장품 또는 코스메슈티컬 제품에 적용할 수 있을 것으로 판단됨

5. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

- 미백관련 연구성과를 기능성 화장품 시제품을 만드는 데 활용할 수 있을 것으로 사료됨
- 빅데이터 분석 결과를 활용해서 추후에 울무미강 또는 발효추출물을 이용한 확장 연구를 기획할 수 있을 것이라 판단됨
- 울무미강 추출 과정 중 생성되는 찌꺼기(잔사)를 고부가가치화 하는 연구도 진행할 예정

< 연구개발성과 활용계획표(예시) >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내	
국외논문	SCIE	3	
	비SCIE		
	계	3	
국내논문	SCIE		
	비SCIE		
	계		
특허출원	국내		
	국외		
	계		
특허등록	국내	1	
	국외		
	계	1	
인력양성	학사		
	석사	2	
	박사		
	계	2	
사업화	상품출시	2	
	기술이전		
	공정개발		
제품개발	시제품개발		
비임상시험 실시			
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상	
		2상	
		3상	
	의료기기		
진료지침개발			
신의료기술개발			
성과홍보			
포상 및 수상실적			
정성적 성과 주요 내용			

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1. 공통 요구자료	1) 자체평가의견서
	2) 연구성과 활용계획서
	3) 연구부정행위 예방 확인서
2. 증빙자료 첨부	1) 논문증빙
	2) 학술발표증빙
	3) 언론홍보증빙

[뒷면지]

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 공공기술 사업화 촉진 연구개발사업 율무미강 발효추출물로부터 기능성 향장소재개발 연구개발과제 최종보고서이다.
2. 이 연구개발내용을 대외적으로 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부(농림식품기술기획평가원 전문기관)에서 시행한 공공기술 사업화 촉진 연구개발사업의 결과임을 밝혀야 한다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 된다.