

821018
-03

장미꽃잎
추출물을
활용한
이너뷰티
건강기능식품
연구
및
제품
개발

2024

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

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

발간등록번호

11-1543000-004683-01

장미꽃잎 추출물을 활용한 이너뷰티 건강기능식품 연구 및 제품 개발

2024.07.09.

주관연구기관 / (주)노바웰스

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “장미꽃잎 추출물을 활용한 이너뷰티 건강기능식품 연구 및 제품 개발”(개발기간 : 2021. 04. ~ 2023. 12.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2024. 07. 09.

주관연구기관명 : (주)노바웰스 (대표자) 이 정 래



주관연구책임자 : 이 정 래



국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명	기술사업화지원사업	총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)	-				
내역사업명 (해당 시 작성)	[공공기술 사업화]지원 분야 식품	연구개발과제번호	821018-03				
기술분류	국가과학기술 표준분류	1순위 LA0906	70 %	2순위 LA0904	25 %	3순위 LA0905	5%
	농림식품 과학기술분류	1순위 PA0201	80 %	2순위 PA0103	15 %	3순위 C309053	5%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)	<i>장미꽃잎추출물을 활용한 이너뷰티 건강기능식품 연구 및 제품 개발</i>						
연구개발과제명	<i>장미꽃잎추출물을 활용한 이너뷰티 건강기능식품 연구 및 제품 개발</i>						
전체 연구개발기간	<i>2021.04.01. - 2023.12.31. (2년 9개월)</i>						
총 연구개발비	총 903,000 천원 (정부지원연구개발비: 693,000 천원, 기관부담연구개발비 : 210,000 천원)						
연구개발단계	기초[] 응용[] 개발[<input checked="" type="checkbox"/>] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]	기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준 (20%) 종료시점 목표 (100%)			
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)	-						
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)	-						
연구개발 목표 및 내용	최종 목표	<input type="checkbox"/> 최종 목표 장미꽃잎을 이용한 <u>국내 최초 피부 건강 개선용 복합기능성 건강기능식품 개별인정형 기능성 원료 개발 및 사업화</u>					
	전체 내용	<input type="checkbox"/> 세부 목표 및 전략 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 국내 · 외 천연자원인 장미꽃잎추출물 원료 표준화 ▪ 국내 최초 피부건강 개선용 복합기능성 원료 개별인정 신청 ▪ 건강기능식품 제품화로 인한 건강기능식품 산업 활성화 및 국내 화훼 농가 소득 확대 ▪ 글로벌 인허가를 통한 국가 경쟁력 확보 <input type="checkbox"/> 사업화에 최적화 된 표준 제조공정 개발 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 사업화에 최적의 추출조건 확립 후 대량생산 제조공정 확립 하여 3 Lot 생산 원료를 바탕으로 기준 규격 설정 완료함 <input type="checkbox"/> 지표(유효)성분 시험법 표준화 연구 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 원료의 일정한 품질관리를 위해 지표(유효)성분의 분석법을 설정하고 시험법의 타당성을 입증하기 위해 밸리데이션 자료를 확보함 ▪ 공인분석기관에 의뢰하여 분석법 검증 및 지표(유효)성분 함량 확인함 <input type="checkbox"/> 장미꽃잎추출물 전임상 유효성 검증 및 작용기전 규명 연구 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 피부손상 개선 효능 검증: 자외선 조사 유도 피부손상 세포/동물모델에서의 장미꽃잎추출물의 피부 개선 효능 평가 및 기전을 연구하여 자료를 확보함 ▪ 피부보습 효능 검증: 자외선 조사 유도 피부손상 세포/동물모델에서의 장미꽃잎추출물의 피부 보습 효능 평가 및 기전을 연구하여 자료를 확보함 					

		<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 장미꽃잎추출물 피부건강 인체적용시험 수행 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 인체적용시험 수행을 위하여 전문기관인 CRO와 시험기관을 선정하여 프로토콜을 수립하여 IRB심의를 진행함 ▪ 장미꽃잎추출물의 피부건강 기능성 및 안전성 확인을 위해 무작위배정, 위약대조연구를 기본으로 인체적용시험을 수행함 <input type="checkbox"/> 제품화를 위한 제형 및 제제 최적화 기술 연구 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 소비자들이 일반적으로 선호하는 제형을 기반으로 최적화된 제형 및 제제 연구를 통한 제품화를 진행함 <input type="checkbox"/> 안전성 연구 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 장미꽃잎추출물의 안전성 확보를 위하여 OECD에서 정한 시험법에 따라 우수실험실운영규정(GLP)을 준수하는 시험기관에서 안전성 연구를 수행함 <input type="checkbox"/> 원산지별(국내산, 수입산) 장미꽃잎추출물의 효능 비교 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 피부손상 개선 및 피부보습 효능 검증: 자외선 조사 유도 세포모델에서의 원산지별 장미꽃잎추출물의 피부 개선 효능 비교 평가 <input type="checkbox"/> 피부건강 개선용 복합기능성 개별인정 신청 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 개별인정 원료신청에 필요한 자료를 구비하여 식품의약품안전처에서 제공하는 피부 건강 기능성인 ‘자외선에 의한 피부손상으로부터 피부 유지에 도움을 줌’ 과 ‘피부 보습에 도움을 줌’ 의 복합기능성 개별인정을 신청하고자 함
	<p style="text-align: center;">1단계 (해당 시 작성)</p>	<p style="text-align: center;">목표</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 주관연구기관 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 사업화 최적 표준화 공정 개발 및 인체적용시험 프로토콜 개발 ▪ 장미꽃잎추출물의 지표(유효)성분 밸리데이션 분석법 검증 및 피부건강 인체적용시험 수행 <input type="checkbox"/> 위탁연구기관 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 사업화 최적 추출공정으로 획득된 장미꽃잎추출물의 피부미용개선 효능 규명(In vitro) ▪ 동물 섭취모델을 활용한 최적 추출공정으로 얻어진 장미꽃잎추출물의 피부미용개선 효능 규명(In vivo)
	<p style="text-align: center;">내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 주관연구기관 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 장미꽃잎추출물 최적화 표준화 공정 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 용매 조성 설정 - 대량생산 공정 확립 - 시제품 제작 및 품질검사 ▪ 장미꽃잎추출물의 원료 표준화 <ul style="list-style-type: none"> - 기준 규격 설정 ▪ 장미꽃잎추출물의 안전성(독성) 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 공인분석기관의 안전성(독성) Database 구축 ▪ 장미꽃잎추출물 피부건강 인체적용시험 자료집 확보 및 인체시험 프로토콜 개발 ▪ 지표(유효)성분 밸리데이션 자료 확보 ▪ 제제 및 제형연구

	2단계 (해당 시 작성)	목표	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 장미꽃잎추출물의 제품화 추진 ▪ 인체적용시험 수행 <input type="checkbox"/> 위탁연구기관 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 인체유래 세포주를 활용하여 장미꽃잎추출물의 자외선에 의한 주름형성 억제효능 평가 ▪ 인체유래 세포주를 활용하여 장미꽃잎추출물의 보습기능개선 효능 평가 ▪ Hairless mouse 모델을 활용하여 장미꽃잎추출물의 피부미용개선 효능 및 섭취안전성 평가
		내용	<input type="checkbox"/> 주관연구기관 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 장미꽃잎추출물의 안전성(독성) 자료 구축 및 식약처 개별 인정 피부건강개선 기능성 원료 심의 신청 <input type="checkbox"/> 위탁연구기관 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 원산지별 장미꽃잎추출물 세포시험을 활용한 피부기능성 효능 비교 평가 <input type="checkbox"/> 주관연구기관 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 피부 건강 인체적용시험 결과 통계 및 최종보고서 확보 ▪ 원산지(국·외)별 장미꽃잎추출물 표준화 Data 확보 ▪ 장미꽃잎추출물의 식약처 개별인정 신청 ▪ 장미꽃잎추출물의 제품화 추진 <input type="checkbox"/> 위탁연구기관 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 인체유래 세포주를 활용하여 국내산과 수입산 원재료로 제작한 장미꽃잎추출물의 자외선에 의한 주름형성 억제 효능 비교 평가

연구개발성과	<input type="checkbox"/> 주요 성과 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 최적화 표준화 공정 확보 ▪ 원료 표준화를 통한 기준 규격 확보 ▪ 안전성(독성) Data 확보 ▪ 전임상(자외선에 의한 피부손상/피부보습) 기능성 자료 및 기전 확보 ▪ 피부건강 인체적용시험 기능성 및 안전성 결과 확보 ▪ 지표성분 분석법 밸리데이션 자료 구축 ▪ 원료의 특징점을 강조한 시제품 확보 ▪ 장미꽃잎추출물의 제품화 추진 ▪ 국내산 장미꽃잎추출물의 피부건강 세포시험 기능성 및 기전 확보 ▪ 피부건강 개선용 복합기능성 원료 개별인정 인허가 자료 구축 및 신청
연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<input type="checkbox"/> 연구개발성과 활용계획 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 국내 최초의 피부건강 개선용 복합기능성 원료로 개별인정 획득하고자 함 ▪ 기능성 및 안전성 자료를 바탕으로 글로벌 인허가를 획득하여 본격적인 글로벌 사업화 전략에 활용할 예정임 ▪ 국내·외 용도특허를 출원/등록함으로써 국내 및 글로벌 사업화시 법적 보호에 활용할 예정임 <input type="checkbox"/> 연구개발성과 기대효과 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 기술적 측면: 과학적 기반을 갖춘 원료 개발로 국내에서 인정받은 건강기능식품 개발 및 기능성원료에 대해 국제적 신뢰를 향상시키고자 함 ▪ 경제·산업적 측면: 기능성 원료 개발시 건강기능식품 산업뿐만 아니라 모든 산업에 직·간접적으로 약 3배의 부가가치 유발효과가 발생할 것으로 기대함 ▪ 사회적 측면: 피부건강 개선용 기능성 원료 개발 시 질병 예방을 선호하는 소

	비자들의 니즈를 충족시킴과 더불어 삶의 질을 개선하고자 함 ▪ 개발원료를 다양한 형태의 유통경로로 판매하여 매출을 창출 하고, 회사 브랜드 가치를 상승 시키고자 함 ▪ 국내 화훼 농가는 계약 재배 시스템을 도입하여 안정적으로 우수한 원료를 공급하며 서로 상생하며 농가의 소득 증대 시키고자 함 ▪ 기능성원료 사업화는 건강기능식품 산업의 확대에 관련 원료생산업체, 유통업체 등의 고용증가 되는 선순환 효과 를 발생시키고자 함											
연구개발성과의 비공개여부 및 사유	-											
연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허 (출원)	보고서 원문	연구 시설·장비	기술 요약 정보	소프트웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
	3	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
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)	장미꽃잎추출물		건강기능식품		이너뷰티식품		기능성 원료		피부 건강			
영문핵심어 (5개 이내)	Rose petals extract		Health functional food		Inner beauty food		Functional ingredient		Skin health			

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성)
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

최종보고서										보안등급			
중앙행정기관명		농림축산식품부				사업명		일반[<input checked="" type="checkbox"/>], 보안[]					
전문기관명 (해당 시 작성)		농림식품기술기획평가원				내역사업명 (해당 시 작성)		기술사업화지원사업					
공고번호		농축2021-41호				총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)		821018-03					
						연구개발과제번호							
기술분류	국가과학기술 표준분류	1순위 LA0906	70%	2순위 LA0904	25%	3순위 LA0905	5%						
	농림식품과학기술분류	1순위 PA0201	80%	2순위 PA0103	15%	3순위 C307053	5%						
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		국문	장미꽃잎추출물을 활용한 이너뷰티 건강기능식품 연구 및 제품 개발										
		영문	Research and Product Development of Beauty Health Functional using										
연구개발과제명		국문	장미꽃잎추출물을 활용한 이너뷰티 건강기능식품 연구 및 제품 개발										
		영문	Research and Product Development of Beauty Health Functional using										
주관연구개발기관		기관명	(주)노바웰스				사업자등록번호	411-81-91165					
		주소	(우) 충청북도 청주시 청원구 오창읍 양청택지 3길 35, 1층				법인등록번호	1601110-434300					
연구책임자		성명	이 정 래				직위	대표이사					
		연락처	직장전화	-				휴대전화	-				
			전자우편	-				국가연구자번호	-				
연구개발기간		전체	2021. 04. 01 - 2023. 12. 31(2년 9개월)										
		단계	1단계	2021. 04. 01 - 2022. 12. 31(1년 9개월)									
			2단계	2023. 01. 01 - 2023. 12. 31(12개월)									
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비	그 외 기관 등의 지원금				합계			연구개발 외 지원금		
		현금	현금	현물	현금	현물	현금	현물	현금	현물	합계		
총계		693,000	14,700	195,300					707,700	195,300	903,000		
1단계		1년차	189,000	6,300	56,700				195,300	56,700	252,000		
		2년차	252,000	-	63,000				252,000	63,000	315,000		
		3년차	252,000	8,400	75,600				260,400	75,600	336,000		
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명	책임자	직위	휴대전화	전자우편	비고						
		한국 식품연구원	이은정	선임 연구원	-	-	역할	기관유형					
							위탁	정부 출연연					
연구개발담당자 실무담당자		성명	김하나				직위	선임					
		연락처	직장전화	-				휴대전화	-				
			전자우편	-				국가연구자번호	-				

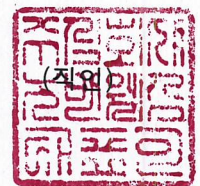
이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2024 년 07 월 09 일

연구책임자: 이 정 래



주관연구개발기관의 장: (주)노바웰스 이 정 래



농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

1. 연구개발과제의 개요

1) 과제의 개요(개발기술 사업화의 중요성 및 필요성)

○ 기술개발 사업화의 배경

- 노화를 자연스러운 현상을 받아들였던 이전과는 달리 ‘삶의 질’의 중요성에 대한 인식이 보편화됨에 따라 더불어 고령화에 따른 노인성 질환을 대비하고자 하는 셀프메디케이션(Self-Medication) 트렌드가 형성되고 있음
- 다양한 방면으로 건강을 지키려는 소비자들의 인식이 날로 증가하고 있으며, 최근 들어 건강을 잃기 전 미리 평상시의 생활 속에서 건강을 지키고 예방하려는 노력이 증가하고 있음. 운동을 통한 신체 관리뿐만 아니라 ‘식품을 이용한 건강증진’과 관련하여서 관심이 폭발적으로 증가하고 있음. 특히 천연소재를 활용한 고부가가치 기능성 원료에 대한 안정성과 기능성이 보장되는 건강기능식품에 대한 관심과 수요가 확대되는 추세임
- (국내 건강기능식품 시장 현황) 최근 국내 건강기능식품 시장은 TV광고, 인터넷 쇼핑, 지인이나 주변 사람들의 권유를 통한 인지도가 상승하고 있으며, 그에 따라 2020년에는 4조 9000억원 규모로 전년 대비 시장규모가 6.6% 증가하였으며, 지속적인 성장에 예측되고 있음 (출처: 2020년 건강기능식품 시장현황 및 소비자 실태 조사 보고서)

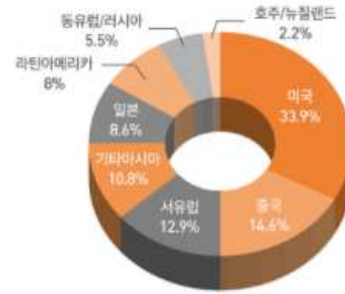
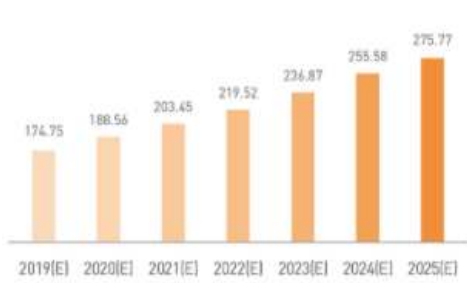


<그림1. 국내 건강기능식품 시장 규모>



<그림2. 셀프메디케이션 트렌드 확산 추세>

- (해외 건강기능식품 시장 현황) 세계인의 건강에 관한 관심이 꾸준히 증대되고 건강관리 수단으로 건강기능식품 섭취가 주목받으면서 세계 건강기능식품 시장 성장이 긍정적으로 전망됨에 따라, 2020년 및 2021년에는 5.9%, 2022년에는 5.8%의 꾸준한 성장세를 기반으로 2022년에는 1,700억 달러 시장 규모가 형성될 것으로 예측되고 있음 (출처: 2020년 건강기능식품 시장현황 및 소비자 실태 조사 보고서)



<그림3. 건강기능식품 글로벌 시장 추이 예측> <그림4. 글로벌 건강기능식품 시장 지역별 점유>

*출처: (좌)Statista, Global functional food market revenue 2019-2025

(우)리딩투자 증권: 한국건강기능식품협회 보고서 재인용

- **(코로나바이러스감염증-19 확산 이후 건강기능식품 시장 현황)** 코로나 확산세가 지속되고 있는 가운데 글로벌 경기는 전반적으로 소비 위축으로 인한 경기침체가 가시화되고 있음. 반면에 코로나 19 사태가 시작된 2020년 1분기 국내 건강기능식품 상위 5개 업체의 매출은 3,350억원으로 전년동기대비 19.6% 확대된 것으로 나타남 (출처: 코로나 19에 따른 소비재산업 영향 분석)
- 또한, 건강기능식품에 대한 인식조사에서 건강기능식품을 섭취하면서 효능뿐만 아니라 건강을 지킬 수 있다는 심리적인 안정감을 얻고 있다는 응답이 약 70%를 육박했으며, 코로나19를 계기로 '건강기능식품에 대해 더 많은 수요를 할 것 같다' 라는 응답이 약 60%로 건강기능식품에 대해 지속적으로 관심이 증가할 것으로 전망됨

○ 사업화 대상기술 개요

1-1 한국식품연구원 기술이전 기술 소재

- 본 연구개발과제를 통해 개발하고자 하는 기술은 주관기관인 (주)노바웰스가 출연연인 한국식품연구원에서 기술이전 받은 「장미꽃잎 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부노화 방지용 조성물」 기술을 활용하여 피부건강 개선용 기능성 원료 개발 및 상용화를 최종목표로 함
- 기술이전 받은 기술을 활용하여 본 사업을 통해 안전성 및 우수기능성이 확보된 건강기능식품으로 상용화하여 관련 산업분야의 발전과 국민 건강에 증진에 기여하고자 함

[표1. 장미꽃잎 관련 기술이전 내용]

기술이전 기술명		장미꽃잎추출물을 유효성분으로 포함하는 피부노화 방지용 조성물
기술보유자 (연구원)	기관명	한국식품연구원
	기술이전책임자	조장원
기술실시자 (실시권자)	기관명	(주)노바웰스
	대표이사	이정래
기술이전 일시		2020년 3월

- 주관기관인 (주)노바웰스는 한국식품연구원 기술이전 기술을 국내 특허 출원하여 확보하고 있음

[표2. (주)노바웰스 전용실시권 특허(출원) 보유 현황]

특허명	장미꽃잎추출물을 유효성분으로 포함하는 피부노화 방지용 조성물	비고 노바웰스 전용실시권
등록번호	제 10-2420544호 (출원번호 : 제 10-2020-0114174호)	
등록일자	2022년 7월 8일 (출원일 : 2020년 9월 7일)	

1-2 장미꽃잎추출물 원물 소개

- 본 연구개발과제를 통해 개발하고자 하는 장미는 유럽에서 서식하는 식물로 차, 음료, 케이크 등의 첨가제 용도로 전세계 각지에서 널리 사용되어지고 있는 천연 식물성 소재임

원재료명	장미꽃잎	비고(참고)
학명	<i>Rosa chinensis</i>	
사용부위	꽃잎	



<그림5. 장미(*Rosa chinensis*)>

- *Rosa chinensis*종의 장미꽃잎은 식품공전에 식품원료 목록에 장미(*Rosa spp.*)로 등재되어 있으며 사용 가능 부위는 순, 꽃잎, 열매로 되어있음. 또한, 한의학 고전에 장미를 섭취하였던 사례가 있음
- 국내에서는 장미차, 장미청, 장미잼으로 해외에서는 장미 음료, 장미꽃추출물 일반식품 등으로 예전부터 사용되어 섭취 안전성이 확보되어 있음

식품원료목록

원재료명	장미	
이명	Rose	
학명	<i>Rosa spp.</i>	
생약명		
원재료 분류	식물	
식품원료 사용가능 여부	가능	순,꽃잎,열매
	제한적	-
	사용조건	-

<그림6. 장미(*Rosa spp.*) 식품원료 목록>

*출처: 식품안전나라



<그림7. 국내·외 사용현황>

- *Rosa chinensis*종의 장미꽃잎에는 항산화 및 항염증 효과가 입증된 생리활성 기능성분인 안토시아닌계 물질이 함유되어 있음. 그 외 감기, 기관지염, 위염, 설사, 피부염, 우울증 및 무기력증 문제를 완화하기 위해 사용된다고 알려져 있으나 피부 기능성 관련 연구된 과학적인 자료는 보고된 바 없으며 한국식품연구원에서 개발한 기술이 유일함
- 따라서, 본 연구개발과제를 통해 천연소재인 *Rosa chinensis* 장미종을 이용해 국내 최초의 복합기능성 피부 기능성 원료로 개발 및 사업화를 진행하고자 함

○ 사업화 필요성

1-1 미래지향적 기능성 원료 개발 및 제품화 요구 증대

- 초고령화 사회로 접어드는 국내외의 시대적 흐름과 함께 자연스럽고 건강한 피부에 대한 관심이 높아지면서 바르는 것뿐만 아니라 피부노화를 예방하고 피부 노화 속도를 더디게 하여 노화를 개선하도록 건강하게 관리할 수 있는 이너뷰티(Inner beauty) 건강기능식품에 대한 소비자들의 니즈가 증가하고 있음
- 또한, 최근 코로나바이러스감염증-19(COVID-19) 확산으로 마스크 착용이 지속되는 불가피한 상황에 따라 마스크로 인한 날숨에 의해 내부 온도와 습도가 올라가면서 피부 트러블 증가로 피부건강에 대한 관심이 증대되고 있음
- 심지어 국내에서는 마스크로 인한 여드름 일명 ‘마드름’으로 인한 고통을 호소하는 이들

이 급증하고 있으며, 영어권 나라에서는 마스크(mask)와 여드름(acne)을 합쳐 ‘마스크네(maskne)’ 라는 신조어가 생길 정도로 많은 사람들이 피부 트러블로 인한 스트레스가 심해지고 있는 상황임



<그림8. 신종 코로나바이러스로 인한 마스크 착용 트러블>

*출처: 시슨드시

- (코로나19 이후 피부건강기능식품 관심 증가) 면역력 이슈로 높아진 건강기능식품에 대한 관심이 셀프메디케이션으로 옮겨가면서 피부 건강기능식품인 콜라겐, 히알루론산 등의 상품이 2019년 대비 2020년에 5배 넘는 증가된 판매량을 보이며 소비가 증가함
- 지속적인 마스크 착용의 장기화는 잦은 자극으로 인해 피부 장벽을 약하게 만들며, 입 주변은 체온에 의해 데워진 입김의 영향을 받아 건조해지는 것으로 나타남. 피부 장벽이 얇아지고 피부 건조가 지속되면 탄력이 떨어지고 주름이 생기는 노화로 연결될 수 있음. 따라서, 이러한 탄력저하, 주름 증가로 인한 피부 노화의 문제는 바르는 기초화장품으로 해결될 수 있는 것이 아니므로, 더욱더 섭취하여 체내에 흡수함으로써 **피부의 적절한 보습과 탄력의 밸런스를 맞춰줄 수 있는 피부 건강기능식품의 개발과 상용화가 필요함**

1-2 기존 피부 건강 건강기능식품 효능의 한계 극복 필요

- 피부 노화는 내인성 요인(Intrinsic factor)과 외인성 요인(Extrinsic factor)으로 나눌 수 있음. 그중 내인성 요인은 나이, 유전적 특징, 개인적 특성 등 결정적이며 조작이 불가능하다는 특징이 있음. 하지만, 외인성 요인은 외부에서 유래된 요인으로 얼마든지 예방에 의해 사전에 피할 수 있는데, 피부 노화를 촉진 시키는 대표적인 요인인 만성적인 자외선 노출이 이에 해당함
- 피부 노화 예방을 위해 바르는 화장품의 경우 외인성 노화 요인을 일부분 제거 또는 예방하여 일시적으로 효과를 보이지만, **피부 기능성 물질의 섭취(이너뷰티식품)**는 근본적인 피부 노화 요인을 체내에서부터 해결할 수 있을 것으로 인식되어 이너뷰티식품에 대한 수요도가 매우 증가하는 추세임
- (**피부 건강기능식품 한계**) 하지만, 국내 이너뷰티식품 대부분은 피부 주름 개선 또는 피부 보습 등 단일기능성으로 제품화되어 있음. 단일기능성 건강기능식품으로는 피부 건강에 대한 수요자의 다양한 욕구를 해결하고 개선하기에 한계가 있으며, 피부 노화 개선을 위해 기능적 요소가 함유된 단일기능성 건기식을 한꺼번에 다량 섭취해야 하는 불편함을 가져올 수 있음. 따라서, 피부 내부로부터 탄력을 증강시키고, 잔주름부터 깊은 주름에 이르기까지 주름 생성 속도를 더디게 하며, 건조하지 않게 피부 속부터 보습 상태를 유지할 수 있도록 요구하는 수요자들의 구체적이고 현실적인 다양한 니즈를 만족시킬 수 있는 복합기능성의 피부 건강기능제품이 필요함



<그림9. 향후 이너뷰티에 대한 기대사항 및 주요 피부 고민>

*출처: 유로저널 [아름다움에 대한 욕망, 피부관리에 관심 높아져] 발취

1-3 국내 및 글로벌 건강기능식품 시장 사용화 추진 필요

- 한국을 포함하는 아시아 시장 및 글로벌 시장에서는 장미꽃잎 소재에 대한 연구개발 및 제품화가 미비한 실정임. 특히 국내의 경우 식품공전에 등재되어 있으나 제품화된 사례가 없으며, 더욱이 건강기능식품 기능성 원료로 개발된 사례도 없음
- 이로 인해 아시아 및 글로벌 시장에서 유통 및 관련 제품의 출시가 거의 이루어지고 있지 않아 소비자가 화장품 및 허브류(티백) 등으로 구매하지 않은 이상 제품구매가 어려우며, 특히 관련 기능성이 잘 알려지지 않은 실정임

1.4 국내 화훼산업 활성화 필요

- 국내 화훼산업은 1990년대 중반부터 정부의 시설화 정책과 더불어 고소득 작목으로 알려지면서 매년 생산이 크게 증가했으며 2005년에는 판매액이 1조원을 달성함



<그림10. 그림 화훼 농장 사진>

*출처: 농업회사법인 로즈피아 제공

- (국내 화훼산업의 지속적인 침체) 하지만 경제 상황 악화로 소비가 둔화되어 2014년부터 2018년까지 최근 5년간 화훼산업의 생산 및 수출입 하락세를 보임
- 화훼 재배면적은 2014년 6.244ha에서 2018년 4.535ha로 30.1% 감소하였으며 화훼류 생산액은 2014년 7.019억 원에서 2018년 5.357억 원으로 23.7%나 감소함
- 화훼 수출액은 2014년 4,062만 달러에서 2018년 1,869만 달러로 54% 감소함
- 이에 반해 화훼 수입액은 2014년 5,721만 달러에서 2018년 8,080만 달러로 41.2% 증가하여 국내 화훼 생산의 위축과는 큰 대비를 보이고 있는 실정임

[표3. 화훼 재배면적, 생산액, 수출입액 변화]

(단위: ha, 억 원, 만 달러)

	2014	2015	2016	2017	2018	'18/'14증가율
면적	6,224	5,831	5,365	4,936	4,353	-30.1%
농업 생산액	486,692	484,709	472,757	481,704	500,513	2.8%
화훼류 생산액	7,019	6,298	5,576	5,631	5,357	-23.7%
수출액	4,062	2,846	2,643	2,363	1,869	-54.0%
수입액	5,721	6,077	6,297	6,536	8,080	41.2%

*출처: 농림축산식품부 「화훼재배현황」, 「농림축산식품 주요통계」, 한국농수산물유통공사 농식품수출정보

- (코로나로 인한 화훼산업 피해) 코로나19 확산 방지 차원에서 학교의 졸업식, 오리엔테이션과 같은 집단 행사가 소규모로 치러지거나 연기되면서 생산 및 수출 감소로 화훼산업의 피해 규모가 가중되고 있음
- 보다 구체적으로 꽃다발로 많이 사용되는 장미, 튤립, 안개, 백합의 화훼공판장(양재동) 평균경락단가의 경우 장미는 14% 하락, 튤립은 43%, 안개는 22%, 백합은 21% 하락한 양상을 보임
- 정부는 2020년 2월 14일 화훼 산업의 피해가 극심하다는 인식하에 코로나19에 대응하는 화훼 소비 확대 추진 방안을 마련하여 발표한 바 있음
- 향후 코로나19와 같은 재난 사태 등에 의한 수요 감소뿐만 아니라 화훼농가 및 화훼산업의 발전을 위해서는 장기적인 관점에서 화훼 수요 증대 대책이 필요함

[표4. 코로나19에 따른 화훼류 평균경락단가 변화](단위: 원)

		장미	튤립	안개	백합
1월 기준	2019년	7,085	4,845	8,489	3,572
	2020년	7,347	5,182	9,324	6,012
	전년동월대비 증가율	4%	7%	10%	68%
2월 기준	2019년	7,712	5,684	7,311	5,560
	2020년	6,602	3,227	5,690	4,408
	전년동월대비 증가율	-14%	-43%	-22%	-21%

*출처: 한국농수산물유통공사 화훼유통정보

- (국내 화훼산업 발전을 위한 방향) 장기적으로 화훼 수요를 진작하고 화훼산업의 전반적인 발전을 이루기 위해서는 꽃다발 등으로 직접 소비자에게 판매하는 소비 촉진뿐만 아니라, 지속적으로 발전 가능성이 있는 건강기능식품 산업을 접목하여 기능성 원물로 사용함으로써 화훼 수요를 증대하여 산업을 중장기적으로 발전시킬 필요가 있을 것으로 전망함

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

1) 연구개발과제의 최종 목표

구분	내용
최종 목표	장미꽃잎을 이용한 국내 최초 피부 건강 개선용 복합기능성 건강기능식품 개별인정형 기능성 원료 개발 및 사업화
세부 목표	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내·외 천연자원인 장미꽃잎추출물 원료 표준화 ○ 장미꽃잎 추출물을 이용한 피부건강 개선 효능 및 기전연구 ○ 피부건강 개선 기능성 원료로 개별인정 신청 ○ 건강기능식품 제품화로 인한 건강기능식품 산업 활성화 및 국내 화훼 농가 소득 확대 ○ 글로벌 인허가를 통한 국가 경쟁력 확보



<그림11. 연구개발과제 최종 목표>

2) 연구개발과제의 단계별 목표



<그림12. 연구개발과제의 단계별(연차별) 목표>

■ 1단계 개발 목표

○ 1차년도 (2021년)

- 개발목표
- 주관기관(노바웰스): 원료에 대한 최적의 추출조건 검토 및 대량생산 공정 확립, 안전성 평가, 피부건강 인체적용시험 프로토콜 개발
- 위탁연구개발기관(한국식품연구원): 세포시험 유효성 평가 및 기전연구

○ 2차년도 (2022년)

- 개발목표

- **주관기관(노바웰스):** 지표(유효)성분 밸리데이션 확보, 제제 및 제형연구, 피부 건강인체 적용시험 수행
- **위탁연구개발기관(한국식품연구원):** 동물시험 유효성 평가 및 기전연구

■ 2단계 개발 목표

○ 3차년도 (2023년)

- 개발목표

- **주관기관(노바웰스):** 인체적용시험 결과 통계, 원산지별(국내산, 수입산) 장미꽃잎추출물 표준화 data 확보, 제품화, ‘피부건강’ 개별인정 신청
- **위탁연구개발기관(한국식품연구원):** 원산지별(국내산, 수입산) 장미꽃잎추출물 피부건강 개선 효능 비교
 - 국내산과 수입산 원재료로 제작한 장미꽃잎추출물의 자외선에 의한 주름형성 억제 효능 비교 평가(세포시험)
 - 국내산과 수입산 원재료로 제작한 장미꽃잎추출물의 자외선에 의한 보습기능 개선 효능 비교 평가(세포시험)

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

<주관연구기관: 노바웰스>

<장미꽃잎추출물의 최적화 표준 공정 개발>

- 최적 용매 조성 비율 확인 완료
- 대량 생산 공정 확립 및 3lot 대량 생산 완료
- 시제품 제작 및 품질검사 완료

○ 장미꽃잎추출물의 표준화 공정 개발 연구

• 추출 공정 최적화 연구

추출조건	추출용매	추출조건1	추출조건2	추출조건3		
		30% 주정	50% 주정	70% 주정		
	추출배수	20배수	20배수	20배수		
		50배수	50배수	50배수		
100배수		100배수	100배수			
제조공정 (lab scale)	칭량	추출	여과	농축	건조	
	10g	70℃, 3h	Filter paper NO. 2 (5~8μm)	감압농축 Brix 10 이하	동결건조	
- 동일한 제조공정으로 진행						
회수율	30% 주정		50% 주정		70% 주정	
	20배수	28.5%	20배수	36.6%	20배수	31.4%
	50배수	37.3%	50배수	36.8%	50배수	45.9%
	100배수	34.4%	100배수	38.7%	100배수	52.9%

○ 대량 생산 공정 확보

• 대량 생산 제조 공정 1차 테스트 진행 (동결건조)

추출 기관	에스앤디		
제조공정 테스트 (1차)	원재료	공정	수율
		5kg	
	추출	50% 주정(20배수) 70℃/3시간/여과포 추출	40.15%
	여과	1 micron filter	
	농축	8~9 brix	39.7%
	건조	동결건조	38.7%
결과	- lab scale 추출의 재현성을 확인하고자 50% 주정 20배수 여과포 추출, 동결건조를 진행하였으며, 지표성분 함량 재현성은 확인되나, 추후 사업성을 고려한 건조 방법의 재설정이 필요하다고 판단함		



<그림13. 1차 테스트로 확보된 동결건조 장미꽃잎추출물>

• 대량 생산 제조 공정 2차 테스트 진행 (분무 건조)

추출 기관	에스앤디		
제조공정 테스트 (2차)		공정	수율
	원재료	5kg	
	추출	50% 주정(20배수) 70℃/3시간/케이지 추출	39.85%
	여과	1 micron filter	
	농축	8~9 brix	25.6%
	건조	분무 건조	24.6%
결과	<p>- 사업성을 고려하여 건조 방법 재설정(분무건조), 부유 성질을 가지고 있는 꽃잎류의 특성을 고려하여 케이지 추출을 진행하였음. 동결건조 대비 낮은 수율이 확인되어 2차 제조공정의 재현성 확인이 필요하다고 판단함</p>		

<그림14. 2차 테스트로 확보된 분무건조 장미꽃잎추출물>

• 대량 생산 제조 공정 3차 테스트 진행 (분무 건조)

추출 기관	에스앤디		
제조공정 테스트 (3차)		공정	수율
	원재료	20kg	
	추출	50% 주정(20배수) 70℃/3시간/케이지 추출	39.16%
	여과	1 micron filter	
	농축	8~9 brix	24.8%
	건조	분무건조	23.7%
결과	<p>- 2차 제조공정의 재현성은 확인되었으며, 분무건조 특성상 회수율이 낮아 동결건조 대비 낮은 수율을 나타내는 것으로 확인되었음. 20kg 시생산을 진행하여 원료 약 4.74kg을 확보하였으며, 이는 추후에 진행 안전성(독성) 시료, 전임상 자료 확보를 위한 시료로 활용 예정</p>		



<그림15. 3차 테스트로 확보된 분무건조 장미꽃잎추출물>

• 1차 대량 생산 진행


생산기관	에스앤디	
제조일자	2022.09.29. (lot. 220929-001)	
1차 대량생산	원재료	작업 공정 140kg
	추출	50% 주정(20배수) 75℃±5/3시간/교반
	여과	10~25 μm
	농축	15 brix
	건조	분무건조
	성상	- 고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 적자색의 분말
결과	<p>- 최적의 생산 공정 확립을 위해 테스트 결과를 바탕으로 추출 조건 및 흐름성 개선 후 1차 대량생산을 진행함</p> <p>- 꽃잎 특성상 추출 시 부유하는 성질 개선을 위하여 교반 추출을 실시하였으며, 분무건조 시 흐름성 증대를 위하여 부형제(덱스트린)를 첨가하였음</p> <p>- 140kg 대량생산을 진행하여 원료 약 59kg (추출 수율 42.1%)을 확보하였으며, 이는 추후에 인체적용시험 시제품 생산 시료, 안정성 자료 확보를 위한 시료로 활용 예정</p>	
	<p><그림16. 1차 대량생산으로 확보된 장미꽃잎추출물></p>	

• 2차 대량 생산 진행

생산기관	에스앤디	
제조일자	2023.08.01. (lot. 2300801-001)	
2차 대량생산	원재료	작업 공정 88kg
	추출	50% 주정(20배수) 75℃±5/3시간/교반
	여과	10~25 μm
	농축	15 brix
	건조	분무건조
	성상	

성상	- 고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 적자색의 분말
결과	<p>- 2차 대량생산을 진행하여 원료 약 40kg (추출 수율 45.45%)을 확보하였으며, 이는 추후에 시제품 제작을 위한 시료로 활용 예정</p>  <p><그림17. 2차 대량생산으로 확보된 장미꽃잎추출물></p>

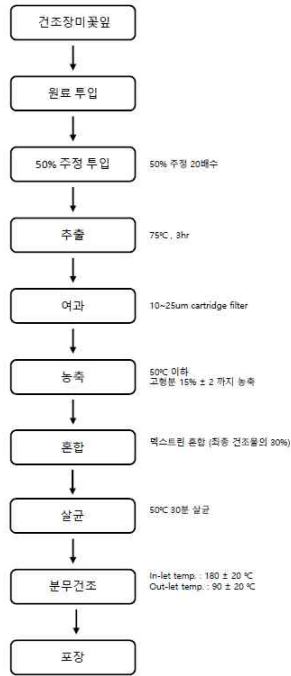
• 3차 대량 생산 진행

생산기관	에스앤디	
제조일자	2023.08.02. (lot. 2300802-002)	
3차 대량생산	원재료	작업 공정 90kg
	추출	50% 주정(20배수) 75°C ±5/3시간/교반
	여과	10~25 μm
	농축	15 brix
	건조	분무건조
	성상	- 고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 적자색의 분말
결과	<p>- 3차 대량생산을 진행하여 원료 약 38.5kg (추출 수율 42.7%)을 확보하였으며, 이는 추후에 제품화 연구를 위한 시료로 활용 예정</p>  <p><그림18. 3차 대량생산으로 확보된 장미꽃잎추출물></p>	

• 대량 생산 표준 공정 확립 및 원료 확보

- 장미꽃잎추출물은 GMP 인증 생산 시설에서 3lot 대량생산을 진행하였으며, 평균 수율 40% 이상의 표준 생산 공정을 확보하였음. 또한 공인분석기관 (한국기능식품연구원) 성상 분석 결과, '고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 적자색의 분말'의 공통적인 성상 결과를 확보하였으며 해당 원료는 인체적용시험 시제품 제작, 안정성 연구, 제품화 연구 등으로 활용 예정임

장미꽃잎추출물 제조공정도



<그림19. 표준 생산 공정도>

페이지(1)/(총 1)

제 D2023110599 호
문서파일 7922-KOVS-6235

참고용 시험성적서

본 성적서는 식품의약품안전처 『식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률』에 따른 것이 아닙니다.

제품명	장미꽃잎추출물(NOVAROSE)	제조일자	(유통기한, 품질유지 기한 또는 소비기한)
업체명	주식회사노바로스	성명	이정래
피뢰인	주소	충청북도 청주시 청원구 오창읍 양당면서3리 35, 1층	시험일자
제조번호	23329+001	접수년월일	2023-11-07
시험목적	세용용	접수번호	D2023110599

귀사가 주의 연구원에 시험의뢰한 결과는 다음과 같습니다.

시험·검사 완료일: 2023-11-14
 시험·검사 책임자: 정은숙
 시험관련 총 책임자: 김원희

시험 항목	시험 결과	시험-검사원
상상	고유의 향미가 있고 아이, 어취가 없는 타원 지퍼의 분말	이정래

본 이 시험 결과는 피뢰자가 제시한 시료 및 시료량에만 한정됩니다.
 본 성적서는 문과용 성적서입니다. 시험 결과는 시험 목적 이외의 정보 및 홍보, 허가신청자료 등에 사용될 수 없습니다.
 법적 효력에 원스레, 영수증을 제출 후도만 사용할 수 없습니다.
 본 성적서는 KS Q ISO/IEC 17025 및 ISO/IEC 17025 인증과 관련이 없습니다.
 본 시험이 부족한 경우 시험 및 결과에는 별개로收費 가능합니다.

2023년 11월 14일

한국기능식품연구원

(사)한국기능식품연구원 부산 원서기는이용연구원 http://www.khff.co.kr 연락처 051-629-4100-1



<그림20. 정상 공인분석 성적서>

1차 시제품 테스트 완료

- 3차 대량생산 테스트를 통해 확보된 장미꽃잎추출물을 활용하여 1차 시제품을 확보하였으며, 표준 생산 공정 확립 후 3lot 대량 생산 원료로 추가 제제·제형 개발을 통해 다양한 제형의 시제품 개발을 진행함



<장미꽃잎추출물의 원료 표준화>

- 3lot 대량 생산 원료 유해물질 공인성적 확보 및 기준규격 설정 완료

3lot 대량 생산 원료 공인기관 유해물질 등 품질 검사 결과 확보

- 확립된 표준생산공정으로 생산된 3lot 장미꽃잎추출물의 성상, 영양성분, 유해물질(중금속, 잔류농약, 대장균군, 곰팡이독소) 품질검사를 진행하였으며, 유해물질에 대한 안전성을 확보함. 공인분석기관(한국기능식품연구원) 성적서를 바탕으로 최종적으로 유해물질에 대한 장미꽃잎추출물의 기준규격을 설정하였음



<장미꽃잎추출물의 안전성(독성)평가>

- 국내외 섭취근거 현황 확보
- 장미꽃잎추출물 및 기능성분의 안전성(부작용/독성) DB 검색 결과 확보
- 인체적용시험 안전성 결과 확보
- 공인분석기관 안전성(독성) Database 구축 완료

• 안전성에 관한 자료 확보

- 장미꽃잎추출물의 식품원료 사용가능 여부 확인을 위하여 '식품의약품안전처 식품기준과'에 질 의한 내용을 바탕으로 독성이나 부작용이 없고, 식욕억제, 약리효과 등을 목적으로 섭취 및 국내에서 전래적으로 식품으로 섭취한 근거를 확보함

<p>섭취 근거 정보</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 근거자료 1 <ul style="list-style-type: none"> i) 출처: 식품공전 ii) 요약: 대한민국 '식품원료목록'에 '장미'로 등재되어 있으며 식품원료로 사용 제한이 없음 - 근거자료 2 <ul style="list-style-type: none"> i) 출처: 한국전통지식포탈 ii) 요약: 한국전통지식포탈에 장미의 꽃을 해독소종(解毒消腫) 및 활혈조경(活血調經)약으로 이용하였다'라고 등재되어 있음 - 근거자료 3 <ul style="list-style-type: none"> i) 출처: 식품의약품안전처 ii) 요약: 2009년 기 인정 받은 원료(제 2009-16호)인 '구아바잎추출물등복합물 (과민반응에 의한 코상태 개선에 도움을 줄 수 있음)'의 구성성분으로 '장미꽃잎'이 함유되어 있음 - 근거자료 4 <ul style="list-style-type: none"> i) 출처: 캐나다 Health Canada ii) 요약: 캐나다 보건복지부 'Health Canada Drugs and Health products' 에 등재되어 있음 - 근거자료 5 <ul style="list-style-type: none"> i) 출처: 중국 약전 ii) 요약: 중국 약학 서적인 중약대사전(中藥大辭典)에 등재되어 있음
----------------------------	---

• 전통적 사용기록 확인




- 보건복지부 고시 한약서 10개 중 1개(본초강목, 1596) 및 그 외 한약서 2개에서 사용기록 확인

한약서 (년도)	내용	처방
본초강목 (1596)	나력이 터지지 않을 때	장미꽃 원화 3돈 (11.25g) 복용
수진경험신방 (1913)	넘어지거나 맞아서 뼈가 다치고 끊어진 경우	장미꽃 1푼 (0.375g) 복용
	맞거나 넘어져서 근육이 상하고 끊어진 경우	장미꽃 복용
양무신편 (1928)	나력(림프절에 생긴 멍울)이 터지지 않을 때	장미꽃 꽃봉오리 2돈 (7.5g) 복용

• 국내외 '장미꽃' 함유 제품 유통 현황

제품사진	제품명	제조사	일일섭취량	표시내용	섭취시 주의사항	식품의 유형	기타
	장미꽃차	호미자루	제품 100g	종이컵 기준으로 따듯한물 1컵에 꽃송이 3개정도를 우려내서 드시면 됩니다.	-	침출차	원산지 중국
	별꽃달 장미꽃차	쭈푸른도 시협동조합	제품 6g	장미꽃잎 3-4잎을 끓인 물 200ml에 2-3분간 우려냅니다.	-	침출차	원산지 한국
	티리얼 로즈플라워	GDG Schutte	제품 45g	로즈플라워 99% 로즈힙 1%	-	침출차	원산지 파키스탄
	프리미엄 장미꽃차	Herb forte corporation	제품 45g	장미꽃(로즈버드) 100%	-	침출차	원산지 이란
	로즈 플라워	Ravah international	제품 7g	로즈플라워 99% 로즈힙 1%	-	침출차	원산지 미국
	장미꽃 식초종경	쭈아내가 있는풍경	40ml	원액과 물(우유)=1:5비율로 희석	-	음료 베이스	
	장미식초	다음	제품 270ml	장미꽃잎 40%	-	발효식초	
	장미한송이	블루원	제품 900ml	식용장미꽃잎추출물 21.5% (꽃잎(국산))	-	과, 채음료	
	장미꽃청	몸사랑영농조합법인	제품 350ml	장미꽃 30%(국산)	-	액상차	
	장미청	꽃담청	제품 250ml	건조 장미꽃(국산) 0.82%	-	액상차	
	코박사 코티	쭈올데이티	제품 15g	장미꽃잎100% (파키스탄산)	-	침출차	

	<p>코박사 에스</p>	<p>(주)알피 바이오</p>	<p>제품 1,300mg/일</p>	<p>160mg 구아바인추출물등복합 물 800mg 중 장미꽃잎추출물 (모로코산) 20%함유</p>	<p>특이체질, 알레르기체질의 경우에는 간혹 개인에 따라 과민반응을 나타낼수 있으므로 원료를 확인한 수 섭취하십시오. 임산부, 수유여성. 어린이는 섭취에 주의하십시오. 유통기한이 경과된 제품은 섭취하지 마십시오. 설사, 위통, 복부팽만 등의 위장관계 장애가 나타나는 경우 섭취에 주의하십시오. 캡슐이 목에 걸릴수 있으니 충분한 물과 함께 섭취하십시오. 고칼슘혈증이 있거나 의약품 복용 시 전문가와 상담하십시오. 이상사례 발생시 섭취를 중단하고 전문가와 상담하십시오.</p>	<p>건강기능식품</p>	
	<p>코비그린</p>	<p>(주)한국씨 엔에스팜</p>	<p>제품 1,300mg/일</p>	<p>160mg 구아바인추출물등복합 물 800mg 중 장미꽃잎추출물 (파키스탄산) 20%함유</p>	<p>특이체질,알레르기 체질의 경우에는 간혹 개인에 따라 과민반응을 나타낼 수 있으므로 원료를 확인한 후 섭취하십시오. 임산부, 수유여성, 어린이는 섭취에 주의하십시오. 유통기한이 경과된 제품은 섭취하지 마십시오. 설사, 위통, 복부팽만 등의 위장관계 장애가 나타나는 경우 섭취에 주의하십시오. 캡슐이 목에 걸릴 수 있으니 충분한 물과 함께 섭취하십시오. 고칼슘혈증이 있거나 의약품 복용 시 전문가와 상담하십시오. 이상 사례 발생 시 섭취를 중단하고 전문가와 상담하십시오.</p>	<p>건강기능식품</p>	
	<p>코비365</p>	<p>(주)알피 바이오</p>	<p>제품 1,000mg/일</p>	<p>160mg 구아바인추출물등복합 물 800mg 중 장미꽃잎추출물 (모로코산) 20%함유</p>	<p>-</p>	<p>건강기능식품</p>	
	<p>코박사 알지</p>	<p>코스맥스 바이오 (주)</p>	<p>제품 1,000mg/일</p>	<p>160mg 구아바인추출물등복합 물 800mg 중 장미꽃잎추출물 (파키스탄산) 20%함유</p>	<p>섭취 시 목에 걸리거나 불편할 수 있으므로 반드시 물과 함께 섭취 하십시오. 섭취 시 위장장애, 소화불량의 증상이 있을 경우 섭취를 중단하십시오. 개인의 신체 상태에 따라 이상 증상이 생길 경우 섭취를 중단하십시오. 섭취 전 제품에 이상이 있는 경우 섭취를 금하십시오. 특정 원료 성분에 알레르기 체질은 원료 성분을 확인 후 섭취하십시오. 영 유아 어린이는 섭취 전 의사와 상담한 후 섭취하십시오.</p>	<p>건강기능식품</p>	
	<p>코박사키 즈</p>	<p>(주)서흥</p>	<p>제품 60g/일</p>	<p>160mg 구아바인추출물등복합 물 800mg 중 장미꽃잎추출물 (파키스탄산) 20%함유</p>	<p>임산부, 수유부, 질병치료 중인 분은 섭취 전 의사와 상담 후 섭취하십시오. 특정성분에 알레르기가 있으신 분은 원료명을 확인 후 섭취하십시오. 개봉 또는 섭취 시 포장재에 의해 상처를 입을 수 있으니 주의하시기 바랍니다.</p>	<p>건강기능식품</p>	

	Honey wine Rose et épines	Miel Nature	제품 750ml	-	-	주류	
	Mei Kwei Lu Wine	AAA	제품 750ml	-	-	주류	
	Mei Kwei Chiew Chinese Rose Wine	CINOUE STELLE	제품 500ml	-	-	주류	

• **장미꽃잎추출물 및 기능성분의 안전성(부작용/독성) DB 검색 정보**

- 장미꽃잎추출물의 독성시험 및 부작용에 관한 자료 확인을 위해 국내외 검색 데이터베이스에 *Rosa chinensis*, isoquercitrin에 대하여 Safety / Toxic을 검색하여 안전성 및 부작용을 확인하였으며, Pubmed, PDR Health, Medine plus, Health Canada, WedMD, Natural medicine, Tox-info, EFSA journal, KISS, AHRQ, American botanical council에서 **임산부, 수유부, 어린이 섭취 등에 대한 검색결과, 독성 또는 부작용 정보 없음을 확인함**
- 장미꽃잎추출물 300 mg/일은 원재료 장미(사용부위 : 꽃잎)로서 1일 약 0.71 g을 섭취하는 것에 해당하며 관련 유통 판매 제품의 섭취량은 0.06 mg/일, 국내·외 일반식품(침출차, 기타가공품 등), 유사원료로서 평균적으로 0.04 ~ 450 g으로 판매되고 있는 것으로 확인됨. 최종적으로 **장미꽃잎추출물의 일일섭취량 300 mg/일은 국내외 유통 판매 섭취량보다 적으며, 전통적인 섭취량보다 3배 이상 증가하지 않아 안전함을 확인함**

검색 데이터베이스	검색어	검색 결과	안전성 관련 정보 여부
Pubmed	Isoquercitrin and safety	46	해당사항 없음
	Isoquercitrin and toxic	108	해당사항 없음
	<i>Rosa chinensis</i> and safety	4	해당사항 없음
	<i>Rosa chinensis</i> and toxic	4	해당사항 없음
PDR Health	<i>Rosa chinensis</i>	-	검색결과 없음
	Isoquercitrin	-	검색결과 없음
Medline plus	<i>Rosa chinensis</i>	1	해당사항 없음
	Isoquercitrin	-	검색결과 없음
Health Canada	<i>Rosa chinensis</i> and safety	52	해당사항 없음
	<i>Rosa chinensis</i> and toxic	5	해당사항 없음
	Isoquercitrin and safety	-	검색결과 없음
	Isoquercitrin and toxic	-	검색결과 없음
WebMD	<i>Rosa chinensis</i>	14	해당사항 없음
	Isoquercitrin	-	검색결과 없음

Natural medicine	<i>Rosa chinensis</i>	1,000	해당사항 없음
	Isoquercitrin	51	해당사항 없음
Tox-info	<i>Rosa chinensis</i>	-	검색결과 없음
	Isoquercitrin	-	검색결과 없음
EFSA journal	<i>Rosa chinensis</i>	88	해당사항 없음
	Isoquercitrin	1	해당사항 없음
KISS	<i>Rosa chinensis</i> and safety	-	검색결과 없음
	<i>Rosa chinensis</i> and toxic	-	검색결과 없음
	Isoquercitrin and safety	1	해당사항 없음
	Isoquercitrin and toxic	2	해당사항 없음
AHRQ	<i>Rosa chinensis</i> and safety	-	검색결과 없음
	<i>Rosa chinensis</i> and toxic	-	검색결과 없음
	Isoquercitrin and safety	-	검색결과 없음
	Isoquercitrin and toxic	-	검색결과 없음
American botanical council	<i>Rosa chinensis</i>	20	해당사항 없음
	Isoquercitrin	7	해당사항 없음

• 장미꽃잎추출물 인체적용시험 안전성 확보

- 장미꽃잎추출물 인체적용시험 섭취 대상자의 안전성 지표와 이상 반응 확인 결과, 이상 반응 관찰되지 않음

* 혈액학적/혈액생화학적 검사(Albumine, T. Protein, T. Bil, AST, ALT, Glucose, BUB, Creatinine, T. Cholesterol, Triglyceride, WBC, RBC, Hb, Platelet) 및 뇨 검사(pH, Specific gravity), 피부 안전성(이상반응) 평가, 전신 안전성(이상반응) 평가, 신체계측, 이상 사례 등

• 조제물 분석 결과 확보

측정기관	바이오독스텍
시험항목	직선성, 특이성, 일내 재현성, 표준원액 안정성, 균질성
시험결과	<p>• 직선성 : 표준용액 0.0986 ~ 1.972 µg/ml 의 농도 범위에서 측정된 검량선의 상관계수 R²은 0.9997 이상으로 나타났으며, 각 범위에서의 정확성은 0일째 측정 시 87.58 ~ 105.88%로, 8일째 측정 시 88.95 ~ 108.32%로 확인됨</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="375 801 813 1198"> <p>(A) Day 0</p> </div> <div data-bbox="869 801 1308 1198"> <p>(B) Day 8</p> </div> </div> <p>• 특이성 : 표준물질 피크는 분석에 충분한 형상을 나타내었으며, 이동상. 희석용매 및 부형제가 표준물질의 피크에 영향을 주는 성분은 검출되지 않음</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="375 1305 813 1702"> <p>(A) Mobile phase A</p> </div> <div data-bbox="869 1305 1308 1702"> <p>(B) Mobile phase B</p> </div> </div> <p>• 일내 재현성 : 조제물 0.2 및 500 mg/ml 농도에서 시험물질의 정밀성은 0.48 및 1.00%로, 정확성은 104.85 및 117.60%로 확인되었음</p>

Table 3. Intra-day Variation

Concentration of dosing formulation (mg/mL)	¹⁾ Actual concentration of Cyanin chloride (mg/mL)	Measured concentration (mg/mL)			Mean (mg/mL)	SD	Precision (%)	Accuracy (%)
		No.1	No.2	No.3				
0.2	0.0006820	0.0007163	0.0007112	0.0007177	0.0007151	0.0000034	0.48	104.85
500	1.705	1.990	1.996	2.028	2.005	0.020	1.00	117.60

¹⁾ Actual concentration of Cyanin chloride = Concentration of dosing formulation × Content of Cyanin chloride (3.41 mg/g)

- **표준원액 안정성** : 표준원액을 실온 4시간 및 냉장에서 8일간 보관 후, QC 농도로 조제하여 안정성을 확인한 결과, 정밀성은 3.31 및 1.7%로, 정확성은 88.13 및 103.71%로 확인됨

(A) 4 Hours at Room Temperature

Time (hr)	Concentration of standard solution (µg/mL)	Measured concentration (µg/mL)			Mean (µg/mL)	SD	Precision (%)	Accuracy (%)
		No.1	No.2	No.3				
4	0.493	0.4465	0.4185	0.4385	0.4345	0.0144	3.31	88.13

(B) 8 Days under Refrigeration

Time (day)	Concentration of standard solution (µg/mL)	Measured concentration (µg/mL)			Mean (µg/mL)	SD	Precision (%)	Accuracy (%)
		No.1	No.2	No.3				
8	0.493	0.5035	0.5171	0.5132	0.5113	0.0070	1.37	103.71

- **균질성** : 조제물 0.2 및 500mg/ml 농도에서 상층, 중층 및 하층의 균질성을 확인한 결과, 정밀성은 2.43 및 0.85%로, 정확성은 105.01 및 117.36%로 확인됨

Table 6. Homogeneity

Concentration of dosing formulation (mg/mL)	¹⁾ Actual concentration of Cyanin chloride (mg/mL)	Measured concentration (mg/mL)			Mean (mg/mL)	SD	Precision (%)	Accuracy (%)
		No.1	No.2	No.3				
0.2	0.0006820	Upper	0.0006971	0.0007208	0.0006976	0.0000174	2.43	105.01
		Middle	0.0007163	0.0007112	0.0007177			
		Lower	0.0007251	0.0007546	0.0007057			
500	1.705	Upper	1.990	2.022	2.013	0.017	0.85	117.36
		Middle	1.990	1.996	2.028			
		Lower	2.004	1.978	1.992			

¹⁾ Actual concentration of Cyanin chloride = Concentration of dosing formulation × Content of Cyanin chloride (3.41 mg/g)

- **시험결과** : 장미꽃잎추출물 시료 0.493 µg/ml 의 농도를 분석 종료 시에 3회 측정된 결과, 정밀성 및 정확성은 0일째 측정시 2.89 및 86.47%로, 8일째 측정시 30.03 및 96.41%로 확인됨

Table 9. Quality Control							
(A) Day 0							
Concentration of QC sample (µg/mL)	Measured concentration (µg/mL)			Mean (µg/mL)	SD	Precision (%)	Accuracy (%)
	No.1	No.2	No.3				
0.493	0.4405	0.4195	0.4188	0.4263	0.0123	2.89	86.47
(B) Day 8							
Concentration of QC sample (µg/mL)	Measured concentration (µg/mL)			Mean (µg/mL)	SD	Precision (%)	Accuracy (%)
	No.1	No.2	No.3				
0.493	0.4917	0.4693	0.4649	0.4753	0.0144	3.03	96.41

• 일반독성(단회 투여)

- 시험 목적 : 암수 Sprague-Dawley 랫드에 시험물질인 **장미꽃잎추출물**을 단회 경구투여 시 나타나는 독성반응을 관찰하고, 대략의 치사량을 구하기 위하여 실시함

검사 항목	<ul style="list-style-type: none"> • 일반 증상 관찰: 통상 2주 (자연성 독성 또는 증상이 지속될 경우) • 체중측정 : 최종 투여 1, 3, 7 및 14일 • 부검: 관찰기간 종료 후 부검 • 조직병리학적 검사 : 필요시 실시 (물질에 의한 육안소견이 관찰될 경우) 																																																																																																																																																																										
결과 및 고찰	<ul style="list-style-type: none"> • 사망 유무 : 관찰기간 동안, 암수 대조군 및 5,000mg/kg 투여군에서 사망례 없음 <p>Table 1. (Continued)</p> <p>Sex: Female</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Group</th> <th rowspan="2">No. of animals</th> <th colspan="15">Day</th> <th rowspan="2">Mortality</th> </tr> <tr> <th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th><th>5</th><th>6</th><th>7</th><th>8</th><th>9</th><th>10</th><th>11</th><th>12</th><th>13</th><th>14</th><th>15</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>G1</td> <td>5</td> <td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0/5</td> </tr> <tr> <td>G2</td> <td>5</td> <td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0/5</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> • 일반 증상 : 관찰기간 동안, 암수 대조군에서 일반증상의 이상은 관찰되지 않음 <p>Table 2. (Continued)</p> <p>Sex: Female</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Group</th> <th rowspan="2">No. of Animals</th> <th rowspan="2">Clinical</th> <th rowspan="2">Sign</th> <th colspan="5">Day 1 (hr)</th> </tr> <tr> <th>0.5</th><th>1</th><th>2</th><th>4</th><th>6</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>G1</td> <td>5</td> <td>NOA</td> <td></td> <td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td> </tr> <tr> <td>G2</td> <td>5</td> <td>NOA T20</td> <td></td> <td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>3</td><td>5 2</td> </tr> </tbody> </table> <p>NOA No Observable Abnormality T20 Mucous stool</p> <p>Sex: Female</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Group</th> <th rowspan="2">No. of Animals</th> <th rowspan="2">Clinical</th> <th rowspan="2">Sign</th> <th colspan="15">Day</th> </tr> <tr> <th>2</th><th>3</th><th>4</th><th>5</th><th>6</th><th>7</th><th>8</th><th>9</th><th>10</th><th>11</th><th>12</th><th>13</th><th>14</th><th>15</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>G1</td> <td>5</td> <td>NOA</td> <td></td> <td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td> </tr> <tr> <td>G2</td> <td>5</td> <td>NOA</td> <td></td> <td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td> </tr> </tbody> </table> <p>NOA No Observable Abnormality</p> <ul style="list-style-type: none"> • 체중 변화 : 5,000mg/kg 투여군에서 대조군과 비교시, 수컷은 투여 2일, 암컷은 투여 2 및 4일에 유의성 있는 체중감소가 관찰되었으나 이는 시험물질 투여에 의한 일시적인 변화로 판단됨 	Group	No. of animals	Day															Mortality	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	G1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	G2	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	Group	No. of Animals	Clinical	Sign	Day 1 (hr)					0.5	1	2	4	6	G1	5	NOA		5	5	5	5	5	G2	5	NOA T20		5	5	5	3	5 2	Group	No. of Animals	Clinical	Sign	Day															2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	G1	5	NOA		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	G2	5	NOA		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Group	No. of animals			Day																Mortality																																																																																																																																																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15																																																																																																																																																											
G1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5																																																																																																																																																										
G2	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5																																																																																																																																																										
Group	No. of Animals	Clinical	Sign	Day 1 (hr)																																																																																																																																																																							
				0.5	1	2	4	6																																																																																																																																																																			
G1	5	NOA		5	5	5	5	5																																																																																																																																																																			
G2	5	NOA T20		5	5	5	3	5 2																																																																																																																																																																			
Group	No. of Animals	Clinical	Sign	Day																																																																																																																																																																							
				2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15																																																																																																																																																										
G1	5	NOA		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5																																																																																																																																																										
G2	5	NOA		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5																																																																																																																																																										

Table 3. (Continued)							Table 5. (Continued)								
Sex: Female		Day					(g)	Sex: Male		Day					(g)
Group		1	2	4	8	15	Day 1 - 15 gain	Group	Animal ID	1	2	4	8	15	Day 1 - 15 gain
G1	Mean	133.9	154.3	169.2	190.0	216.0	82.1	G2	1201	155.5	171.9	190.8	237.2	297.5	142.0
	S.D.	4.4	7.3	7.6	10.0	8.6	8.4		1202	169.4	189.8	214.4	259.2	318.7	149.3
	N	5	5	5	5	5	5		1203	155.6	162.9	190.4	233.7	302.5	146.9
G2	Mean	130.2	134.6 **	154.8 *	178.5	206.4	76.2		1204	161.4	154.0	181.5	225.9	297.8	136.4
	S.D.	3.3	10.1	6.3	5.4	6.7	5.6		1205	158.3	167.6	194.2	238.3	301.3	143.0
	N	5	5	5	5	5	5								

Significantly different from control by Student's t-test: * p<0.05, ** p<0.01.
Significantly different from control by Aspin-Welch t-test: # p<0.05, ## p<0.01.

- **육안적 부검소견** : 부검 시, 암수 대조군 및 5,000mg/kg 투여군에서 육안적 이상 소견은 관찰되지 않음
- **결론** : 본 시험의 조건 하에서 장미꽃잎추출물을 랫드에 단회 경구 투여한 결과, 대략의 치사량은 암수 모두 5,000mg/kg 이상으로 판단됨

• **복귀돌연변이시험(In vitro reverse mutation study)**

- 시험 목적 : 살모넬라균(Salmonella typhimurium)과 대장균(Escherichia coli)을 이용하여 시험물질인 **장미꽃잎추출물**의 유전자돌연변이(gene mutation) 유발성 평가

시험계	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537(히스티딘 요구성) E.coil WP2uvrA(pKM101) (트리토판 요구성)											
시험군 구성	음성대조군, 용량군 1-5(5군), 양성대조군											
시험방법	- 예비시험(본 시험의 최고농도결정시험) TA100군주에 대해서만 시험물질의 5단계 농도로 시험 - 본시험 S9 mix 무처리시(S9 mix-), S9 mix 처리시(S9 mix+) 각 군주 마다 음성 대조군, 용량군 1-5, 양성대조군을 설정하고, 시험물질 투여 후 48시간째에 콜로니 형성을 관찰한다.											
관찰항목	- 콜로니 형성능 및 계수 자료의 통계처리(시험물질이 양성의 경향을 나타낼 경우) 양성판정 : 1개 이상의 군주에서 복귀돌연변이 콜로니수가 음성 대조군에 비해 2배 이상 증가 및 증가에 따른 용량 의존성이 있거나, 재현성이 있을 때											
결과 및 고찰	<ul style="list-style-type: none"> • 본시험 용량 <table border="1"> <thead> <tr> <th>군주명</th> <th>S9 mix</th> <th>본시험의 용량 (µg/plate)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>TA98, TA100, TA1535, TA1537</td> <td>-/+</td> <td>5,000, 2,500, 1,250, 625, 313</td> </tr> <tr> <td>WP2uvrA</td> <td>-/+</td> <td>5,000, 2,500, 1,250, 625, 313, 156</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> • 생육저해 : 있음 - WP2uvrA(S9-/+): 5,000, 2,500 µg/plate • 시험물질의 침전 : 없음 • 본 시험의 결과 : 음성(Negative)으로 확인됨 			군주명	S9 mix	본시험의 용량 (µg/plate)	TA98, TA100, TA1535, TA1537	-/+	5,000, 2,500, 1,250, 625, 313	WP2uvrA	-/+	5,000, 2,500, 1,250, 625, 313, 156
군주명	S9 mix	본시험의 용량 (µg/plate)										
TA98, TA100, TA1535, TA1537	-/+	5,000, 2,500, 1,250, 625, 313										
WP2uvrA	-/+	5,000, 2,500, 1,250, 625, 313, 156										

• **염색체이상시험(In vitro Chromosome aberration test)**

- 시험 목적 : 포유류 배양세포주 (Chinese hamster (CHL/IU) cell line)를 이용하여 시험물질인 **장미꽃잎추출물**의 염색체 이상 유발성 평가

시험계	CHL 또는 CHO cell									
시험군 구성	음성대조군, 저용량군, 중용량군, 고용량군, 양성대조군									
시험방법	<ul style="list-style-type: none"> - 예비시험(농도결정시험) 대조군, 시험물질군(약 10단계)으로 실험하여 본시험의 최고농도를 결정 - 본시험 6+18hr (S9 mix-), 6+18hr (S9 mix+), 24+24hr (S9 mix-) 음성 대조군, 저용량군, 중용량군, 고용량군, 양성대조군을 시험물질 투여 후 1~2째에 세포를 수거해서 슬라이드 검체를 제작하고, 제작된 검체에서 염색체이상 유무를 판독 									
관찰항목	세포독성, 검체 판독, 자료의 통계처리									
결과 및 고찰	<ul style="list-style-type: none"> • RPD측정 : 단시간처리법의 대사 활성화비존재하의 0, 19.5, 39.1, 78.1 및 156µg/ml 의 용량에서 81.0% 이상, 존재하의 0, 19.5, 39.1, 78.1 및 156 µg/ml의 용량에서 74.4%이상, 연속처리법의 대사활성화비존재하의 0, 19.5, 39.1, 78.1 및 156µg/ml의 용량에서 70.7% 이상 • 시험물질의 침전 및 염색체 이상 관찰대상 용량 : 단시간처리법의 대사활성화비존재하 및 존재하, 연속처리법의 대사활성화비존재하의 모든 용량에서는 RPD는 70.7%이상으로 관찰되었고 300개 이상의 분열중기상 세포수도 관찰 가능하였음. 따라서, 단시간처리법의 대사활성화비존재하 및 존재하, 연속처리법의 대사활성화비존재하는 최고용량을 포함한 3용량을 염색체 이상 관찰대상 용량으로 설정함 <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <thead> <tr> <th>계역</th> <th>S9 mix</th> <th>염색체이상 관찰대상 용량 (µg/ml)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>단시간처리법</td> <td>-/+</td> <td>156, 78.1, 39.1</td> </tr> <tr> <td>연속처리법</td> <td>-/+</td> <td>156, 78.1, 39.1</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> • 염색체이상 출현빈도 : 단시간처리법의 대사활성화비존재하 및 존재하, 연속처리법의 대사활성화비존재하에서 염색체이상을 가진 세포의 출현빈도는 음성대조군과 비교하여 통계적 유의차 확인되지 않음 (각처리계역에 대한 양성대조군에서는 구조이상을 가진 세포의 출현빈도는 음성대조군과 비교하여 통계학적으로 유의한 증가 확인(p<0.01)) • 결론 : 음성대조군에서 염색체 구조 이상을 가진 세포의 출현빈도가 historical control data의 관리범위 내에 있고, historical control data의 95% 범위 내에 있음. 양성대조군에서 염색체 구조이상을 가진 세포의 출현빈도가 historical control data의 관리범위 내에 있고, 음성대조군과 비교하여 통계학적으로 유의한 증가가 확인됨. 또한 대조군 및 시험물질군이 한 용량당 분열중기상이 300개 이상 관찰되었으며, 판독 가능한 용량이 3단계 이상 확보됨. 음성대조군 내의 세포증식 기준이 충족되었고, 3개월 실험 조건인 단시간처리법의 대사활성화비존재하 및 존재하, 연속처리법의 대사활성화비존재하에서 양성을 나타내지 않아 3개월 시험을 모두 염색체 이상 유발성 없음 	계역	S9 mix	염색체이상 관찰대상 용량 (µg/ml)	단시간처리법	-/+	156, 78.1, 39.1	연속처리법	-/+	156, 78.1, 39.1
	계역	S9 mix	염색체이상 관찰대상 용량 (µg/ml)							
단시간처리법	-/+	156, 78.1, 39.1								
연속처리법	-/+	156, 78.1, 39.1								

• **소핵시험(Micronucleue test)**

- 시험 목적 : 염색체이상시험의 In vivo 시험으로서 설치류 Hematopoietic cells을 이용하여 시험물질인 장미꽃잎추출물의 염색체 이상 유발 가능성 검토

시험계	ICR Mouse, 7~8주령
시험군 구성	음성대조군, 저용량군, 중용량군, 고용량군, 양성대조군

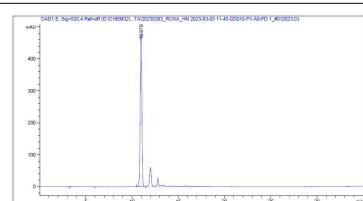
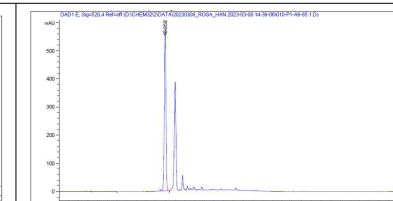
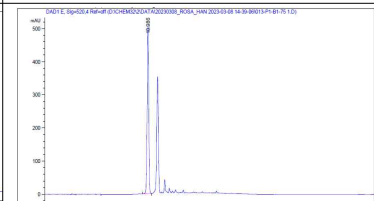
시험방법	<ul style="list-style-type: none"> - 예비시험(농도결정시험) 시험물질군(5단계)으로 시험 물질투여 후 일반증상관찰 및 최고농도 결정 - 소핵유발빈도시험 일정농도에 대한 시험물질 투여후 16,24,48,72시간별로 골수를 채취하여 본 시험에서의 골수채취시간 결정 - 본시험 음성대조군, 저용량군, 중용량군, 고용량군, 양성대조군을 시험물질 투여 후 소핵 유발빈도시험에서 결정된 시간에 골수를 채취하여 슬라이드 검체를 제작하여 소핵형성 유무 판독
관찰항목	일반증상, 검체판독, 자료의 통계처리
결과 및 고찰	<ul style="list-style-type: none"> • 결과 : 통계학적 처리(Kastenbaim & Bowman의 추정학적 통계방법)로 결과 판정 결과, 소핵을 가진 PCE(MNPCE)의 수가 용량의존적으로 증가하지 않고, 하나 이상의 용량단계에서 음성반응이 확인되어 세포독성이 없다고 판단됨

<장미꽃잎추출물의 분석법 검증 및 밸리데이션 자료 확보>

- 안정화된 지표물질 재설정 완료 (Isoquercitrin)
- 최적의 분석법 확립 완료
- 분석법 검증 및 밸리데이션 자료 확보 완료
- 공인분석기관(한국기능식품연구원) 동등성 확인 및 지표성분 규격 설정 완료

• 안정화된 지표물질 재설정 완료

- 기존에 지표물질로 설정된 ‘Cyanidin-3,5-diglucoside’는 식물에서 발견되는 안토시아닌 (플라보이드계) 종류 중 하나로, 보라색 또는 청색을 띠는 과일, 꽃 등에 함유되어 있음. 하지만 대부분의 안토시아닌 화합물은 산소, 빛, 열 등의 외부 조건에 민감하여 안정성이 낮은 것으로 알려져 있으며, 고온 추출로 진행되는 장미꽃잎추출물의 Cyanidin-3,5-diglucoside 안정성 확인을 위하여 고온 장시간 추출 및 1개월 이상 고온 보관 후 함량 분석을 진행함
- 장기간 고온 추출 및 고온 보관 등에 따른 안정성 확인 결과, 지표성분 ‘Cyanidin-3,5-diglucoside’의 함량이 감소 하는 것을 확인하였으며, 추후 안정적인 제품연구를 위하여 화학적 안정성이 높은 지표물질 개선점이 필요한 것을 확인함

대량 표준 생산 추출법	70±5℃, 3시간 추출	
장미꽃잎추출물 Cyanidin-3,5-diglucoside 함량		5.77 mg/g (dex 미포함)
고온 조건 ①	65℃, 8시간 추출	
고온 조건 ① 장미꽃잎추출물 Cyanidin-3,5-diglucoside 함량		5.08 mg/g (dex 미포함) - 12 % 감소
고온 조건 ②	75℃, 8시간 추출	
고온 조건 ② 장미꽃잎추출물 Cyanidin-3,5-diglucoside 함량		4.86 mg/g (dex 미포함) - 16 % 감소
		

<표5. 고온 조건 추출에 의한 Cyanidin-3,5-diglucoside 안정성 변화>

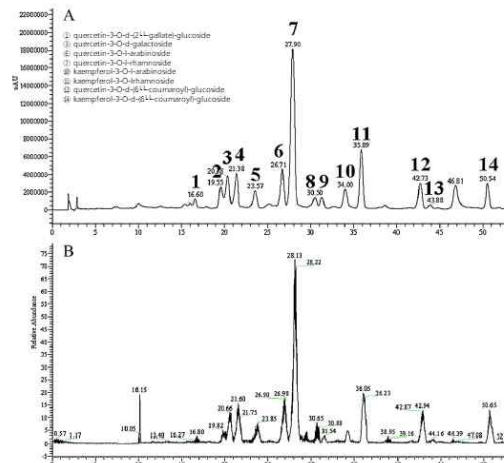
기준 규격		3.4 ~ 5.1 mg/g	
시험식품 (시생산)	0개월	1개월	2개월
상온 보관	4.01 mg/g	4.15 mg/g	4.11 mg/g
40℃ 보관	-	3.37 mg/g	2.81 mg/g
결과		규격 부적합	

<표6. 2개월 고온 보관에 의한 Cyanidin-3,5-diglucoside 안정성 변화>

기준 규격		5.48 ~ 8.22 mg/g			
시험식품 (시생산)	0개월	1개월	2개월	3개월	4개월
상온 보관	7.56 mg/g	7.59 mg/g	7.50 mg/g	7.60 mg/g	7.59 mg/g
40℃ 보관	7.06 mg/g	6.92 mg/g	6.85 mg/g	6.89 mg/g	6.77 mg/g
결과		규격 적합			

<표7. 고온 보관에 의한 Isoquercitrin 안정성 변화>

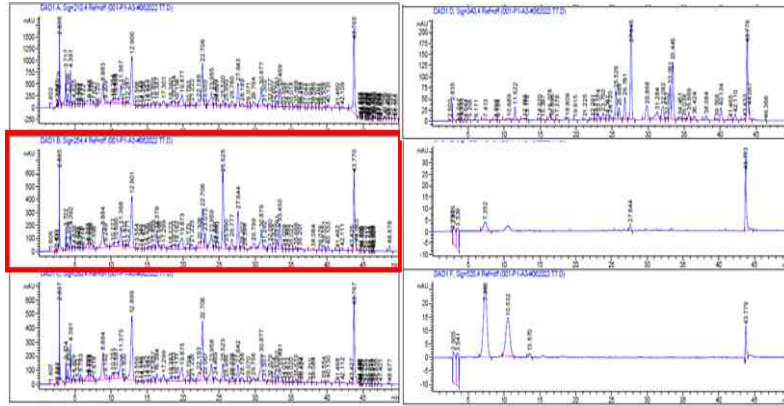
- 장미에서 대표적으로 분리되는 물질 확인을 위하여 국내외 선행 자료 조사를 실시하였으며, 장미에서 분리되는 대표적인 물질(Kaempferol, Quercetin, Isoquercitrin, Afzelin 등)을 확인하였음



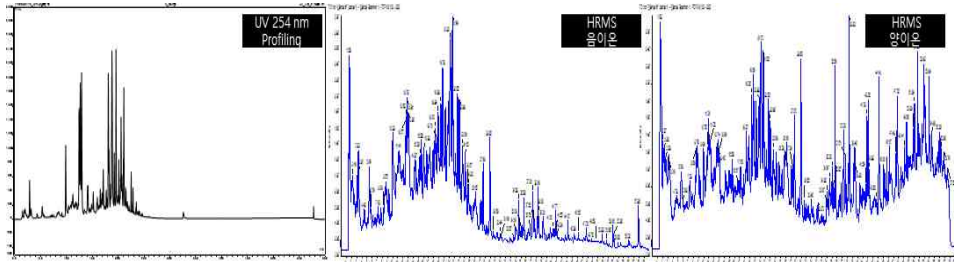
<그림23. 연구·보고된 월계화 함유 물질 patten>

(출처:L.-S. Qing et al. / J. Chromatogr. A 1249 (2012) 130- 137)

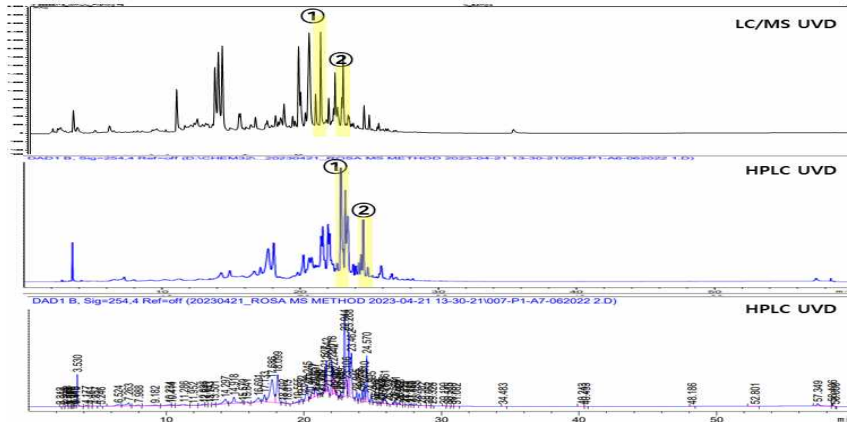
- 자사 원재료에서 해당 물질 검출을 확인하기 위해 HPLC-DAD를 통해 210, 254, 280, 340, 420, 520 nm 파장에서 Profiling을 실시하였으며, 6개의 파장에서 스크리닝을 진행한 결과, 플라보노이드계 물질이 검출되는 최적의 파장(254 nm)을 확인하였음
- 검출된 예상 후보 물질의 정확한 성분명 확인을 위하여 HPLC MS/MS(고분해능 탠덤질량분석기)을 활용하여 정성 분석을 진행하였으며, 정성 분석 결과, 254 nm 파장에서 55개의 물질을 확인하였으며, 그중 Kaempferol, Quercetin 계열의 후보 물질로 추정되는 5개의 peak를 선정하여 HPLC-DAD를 통해 스크리닝을 진행함
- 스크리닝을 통해 자사에서 보유하고 있는 Kaempferol, Quercetin 계열의 표준물질과 자사 시료와의 재현성 및 정확도 확인을 진행하였으며, 최종적으로 머무름시간(RT), 정확도(Spiking)가 일치하고 항염증, 항산화 효능이 보고된 Isoquercitrin으로 지표(유효)물질을 선정함



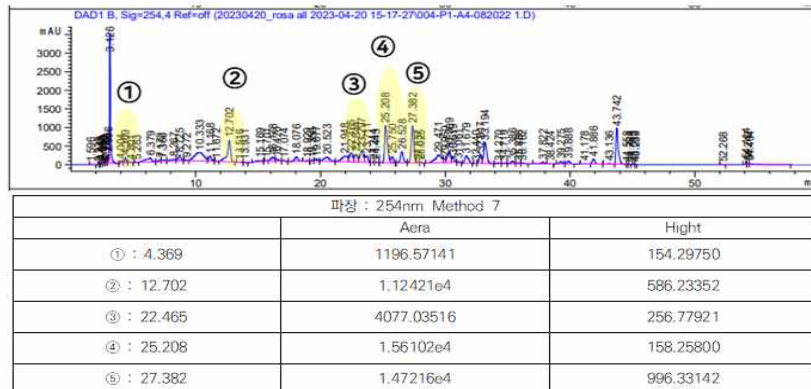
<그림24. 월계화 추출물 파장별 profiling 결과>



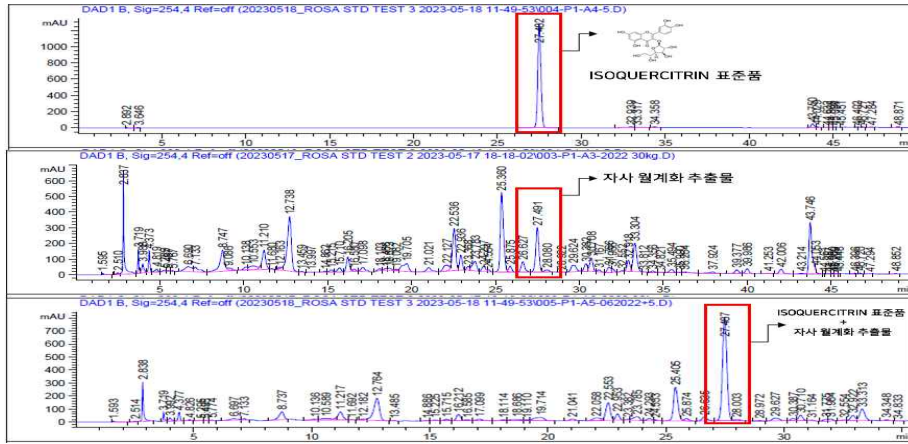
<그림25. 후보 물질 확인을 위한 월계화 추출물 HPLC MS/MS 분석 결과>



<그림26. HPLC MS/MS 결과와 HPLC-DAD 분석 Pattern 비교>



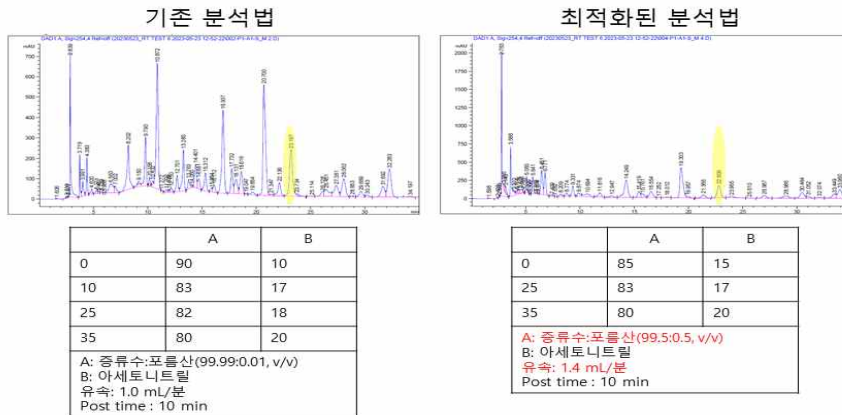
<그림27. 후보 물질 확인을 위해 HPLC-DAD 254nm에서 선정된 peak>



<그림28. 지표(유효)성분 Isoquercitrin과 머무름시간(RT), 정확도 동등성 확인>

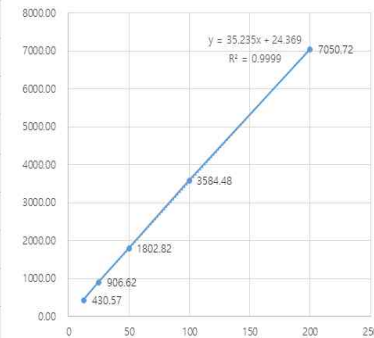
• 최적의 분석법 확립 완료

- 최종 지표물질로 선정된 'Isoquercitrin' 의 HPLC-DAD 최적의 분석법 확립을 위하여 이동상(Mobile Phase), 유속, 이동상 조성(Isocratic, Gradient) 등 조건별 테스트를 통해 Isoquercitrin의 최적의 분석법을 개발함



<그림29. 지표성분(Isoquercitrin) 최적 분석법 개발>

Isoquercitrin(254nm)			
	RT	농도	Aera
S1 (3.125)	15.985	3.125	113.13
S2 (6.25)	15.95	6.25	224.58
S3 (12.5)	15.976	12.5	430.57
S4 (25)	15.963	25	906.62
S5 (50)	15.957	50	1802.82
S6 (100)	15.948	100	3584.48
S7 (200)	15.919	200	7050.72



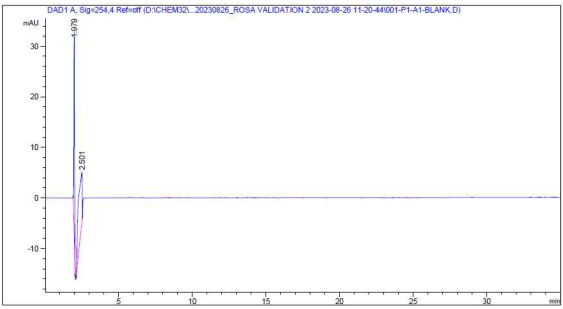
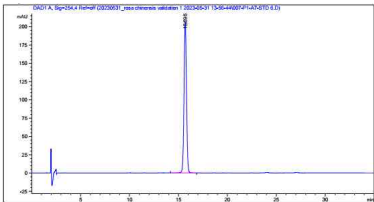
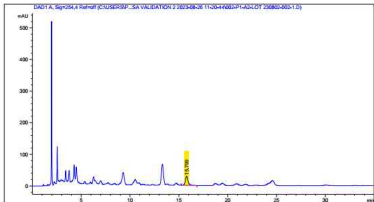
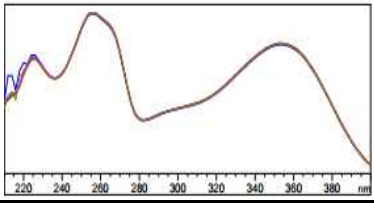
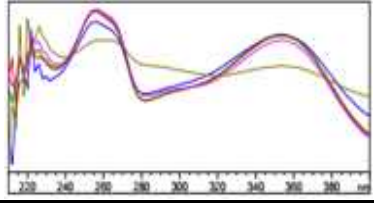
<그림30. 지표물질(Isoquercitrin) 직선성 확인>

• 식약처 시험방법 밸리데이션 기준 자사 분석자료 확보

- 지표성분 분석 시험방법 밸리데이션 항목인 특이성, 정확도, 정밀도, 정량한계 및 직선성을 확인하여 분석법 밸리데이션을 수행하였으며, 이에 장미꽃잎추출물 분석법의 타당성 근거 마련을 완료함

밸리데이션 항목		내용
특이성 (Specificity)		<ul style="list-style-type: none"> HPLC 크로마토그램(Isoquercitrin 254 nm)에서 명확한 피크분리가 확인됨 표준용액과 시험용액에서 동일한 스펙트럼 및 머무름시간(isoquercitrin 약 15분대)이 확인됨
직선성 (Linearity)		<ul style="list-style-type: none"> Isoquercitrin 5개 농도(약 6.25~100 µg/mL) 범위에서 R²=0.99 이상
정확도 (Accuracy)		<ul style="list-style-type: none"> Isoquercitrin 회수율(%) : 99.983 ~ 102.651 %
정밀도 (Precision)	반복성 (Repeatability)	<ul style="list-style-type: none"> Isoquercitrin 평균함량(mg/g) : 7.462, RSD(%) : 0.2581~0.5696
	재현성 (Reproducibility)	<ul style="list-style-type: none"> Isoquercitrin 평균함량(mg/g) : 7.462, RSD(%) : 1.8473

① 특이성

특이성 (Specificity)	<ul style="list-style-type: none"> 불순물, 분해물, 배합성분 등의 혼재 상태에서 분석 대상물질을 선택적으로 정확하게 측정할 수 있는 능력
시험방법	<ol style="list-style-type: none"> 공시험 용액 조제 : 공시료를 전처리 방법에 따라 제조한 시험용액을 공시험 용액으로 함 시험용액 조제 : 시료를 공시험 용액의 전처리 방법과 동일한 방법으로 시험 용액을 제조함 표준용액 : 시험용액 제조에 사용된 동일한 용매를 이용하여 표준용액을 제조하였고, 시료 중 함유 된 분석대상물질의 농도범위로 제조함
실험결과	<p>- 공시험용액을 분석하여 표준용액, 시험용액의 분석에 간접현상이 없음을 확인하였고, 표준용액, 시험용액의 머무름시간 등이 일치함을 확인함</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p style="text-align: center;">HPLC 크로마토그램 및 스펙트럼 공시험용액</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">크로마토그램</div>  </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;"> <p>표준용액 (isoquercitrin)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">크로마토그램</div>  </div> <div style="text-align: center;"> <p>시험용액 (장미꽃잎추출물)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">스펙트럼</div>  </div> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;">  </div> <div style="text-align: center;">  </div> </div> </div> </div>

② 직선성

직선성 (Linearity)	<ul style="list-style-type: none"> 적절한 정밀도, 정확도 등을 충분히 제시할 수 있는 검체 중 분석대상물질의 양(또는 농도)에 대하여 직선적인 측정값을 얻어낼 수 있는 능력 <ul style="list-style-type: none"> 분석대상물질의 함량을 5개 이상으로 하며, 측정하고자 하는 함량 범위에 고르게 분포하도록 하고, 3회 이상 반복 측정 정확도 및 정밀도를 확인할 수 있는 범위를 포함해야 함 결정계수(R²)가 0.990 이상이어야 함 																																																																							
시험방법	1) 표준용액 : 6.25~100 µg/ml 농도 범위를 갖도록 표준용액을 제조 2) 검량선 작성 : 위에서 제시한 농도로 3회 분석한 후 각각의 검량선 작성 - 결정계수(Coefficient of determination) R ² : 0.9999 ~ 1.0000 이었음																																																																							
실험결과	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">반복수</th> <th colspan="2">1</th> <th colspan="2">2</th> <th colspan="2">3</th> </tr> <tr> <th>농도 (µg/mL)</th> <th>피크 면적</th> <th>농도 (µg/mL)</th> <th>피크 면적</th> <th>농도 (µg/mL)</th> <th>피크 면적</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1</td><td>6.25</td><td>202.02</td><td>6.25</td><td>202.99</td><td>6.25</td><td>211.65</td></tr> <tr><td>2</td><td>12.5</td><td>405.76</td><td>12.5</td><td>409.55</td><td>12.5</td><td>427.94</td></tr> <tr><td>3</td><td>25</td><td>826.47</td><td>25</td><td>835.56</td><td>25</td><td>857.84</td></tr> <tr><td>4</td><td>50</td><td>1675.44</td><td>50</td><td>1651.04</td><td>50</td><td>1713.59</td></tr> <tr><td>5</td><td>100</td><td>3399.81</td><td>100</td><td>3369.67</td><td>100</td><td>3436.05</td></tr> <tr><td>기울기</td><td colspan="2">34.152</td><td colspan="2">33.743</td><td colspan="2">34.379</td></tr> <tr><td>y절편</td><td colspan="2">21.476</td><td colspan="2">13.771</td><td colspan="2">2.7799</td></tr> <tr><td>R²</td><td colspan="2">1</td><td colspan="2">0.9999</td><td colspan="2">1</td></tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="text-align: center;">검량선</td> <td> </td> </tr> </table>	반복수	1		2		3		농도 (µg/mL)	피크 면적	농도 (µg/mL)	피크 면적	농도 (µg/mL)	피크 면적	1	6.25	202.02	6.25	202.99	6.25	211.65	2	12.5	405.76	12.5	409.55	12.5	427.94	3	25	826.47	25	835.56	25	857.84	4	50	1675.44	50	1651.04	50	1713.59	5	100	3399.81	100	3369.67	100	3436.05	기울기	34.152		33.743		34.379		y절편	21.476		13.771		2.7799		R ²	1		0.9999		1		검량선	
반복수	1		2		3																																																																			
	농도 (µg/mL)	피크 면적	농도 (µg/mL)	피크 면적	농도 (µg/mL)	피크 면적																																																																		
1	6.25	202.02	6.25	202.99	6.25	211.65																																																																		
2	12.5	405.76	12.5	409.55	12.5	427.94																																																																		
3	25	826.47	25	835.56	25	857.84																																																																		
4	50	1675.44	50	1651.04	50	1713.59																																																																		
5	100	3399.81	100	3369.67	100	3436.05																																																																		
기울기	34.152		33.743		34.379																																																																			
y절편	21.476		13.771		2.7799																																																																			
R ²	1		0.9999		1																																																																			
검량선																																																																								

③ 정확도

정확도 (Accuracy)	<ul style="list-style-type: none"> 측정값이 이미 알고 있는 참값이나 표준값에 근접한 정도 																				
시험방법	1) 표준용액 제조 및 검량선 작성 : 정확성 측정을 위해 3개 이상의 농도 범위의 표준용액을 제조하고, 이에 대해 아래와 같이 검량선을 작성함 2) 표준물질 spiking : 검체 100 mg을 취한 후 시료 중의 함유된 지표(기능)성분 함량의 50%, 100%, 150%의 농도가 되도록 Stock 표준용액을 첨가함 3) 시험용액의 조제 : 표준용액이 첨가된 검체와 표준용액이 첨가되지 아니한 검체를 동일한 실험방법으로 전처리하여 HPLC 분석을 위한 시험용액을 제조함																				
실험결과	- 회수율은 99.983 ~ 102.651 %로 나타남 - AOAC 기준 (≥0.1% 1mg/g)일 때 90 ~ 108%)에 적합함 <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px 0;"> <p>*회수율 계산식</p> <p>회수율(%) = Cf / Cu × 100</p> <p>Cf: 분석한 분석대상물질의 함량</p> <p>Cu: 첨가한 분석대상물질의 함량</p> </div> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 5px;"> <thead> <tr> <th>항 목</th> <th>시료</th> <th>첨가한</th> <th>시험용액</th> <th>첨가된</th> <th>회석</th> <th>회수율</th> <th>평균</th> <th>표준</th> <th>상대</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </tbody> </table>	항 목	시료	첨가한	시험용액	첨가된	회석	회수율	평균	표준	상대										
항 목	시료	첨가한	시험용액	첨가된	회석	회수율	평균	표준	상대												

		채취량 (mg)	표준물질의 농도 (이론치, A) (ng/mL)	(분석값)		표준물질의 농도 (실측치, C-B) (μg/mL)	배수	(C-B)/A (%)	회수율 (%)	편차 (SD)	표준편차 (%RSD)
				피크 면적	농도 (C) (μg/mL)						
Spiking 시료	저 농도	100	8.5	847.74	24.74	8.46	-	99.5146	99.983	0.6359	0.6360
		100	8.5	847.85	24.74	8.46	-	99.5525			
		100	8.5	851.74	24.86	8.57	-	100.8820			
	중 농도	100	17	1140.76	33.26	16.98	-	99.8934	100.187	0.2113	0.2109
		100	17	1143.08	33.33	17.05	-	100.2896			
		100	17	1143.60	33.35	17.06	-	100.3797			
	고 농도	100	25	1442.35	42.04	25.75	-	103.0181	102.651	0.2682	0.2612
		100	25	1436.91	41.88	25.60	-	102.3844			
		100	25	1438.34	41.92	25.64	-	102.5513			
Blank 검체		100	-	550.687	16.10	-	-	-	-	-	-
		100	-	560.357	16.38	-	-	-	-	-	-
		100	-	559.777	16.36	-	-	-	-	-	-
				평균(B)	16.28						

④ 정밀도

정밀도 (Precision)	<ul style="list-style-type: none"> 균일한 검체로부터 여러번 채취하여 얻은 시료를 정해진 조건에 따라 측정하였을 때 각각의 측정값들 사이의 근접성(분산정도) 																																																																																																																				
시험방법	1) 제시된 시료방법과 동일하게 시료량을 정량하여 실험실(혹은 실험자)을 달리 하여 5회 이상 반복 측정하여 상대표준편차를 구함																																																																																																																				
실험결과	<p>- 반복성 : 상대표준편차(RSD%)는 0.2581~0.5696 %로 나타나, AOAC 기준 (0.1%(1 mg/g) 일 때, 3%)범위 이내에 있음</p> <p>- 재현성 : 상대표준편차(RSD%)는 1.8473%로 나타나, AOAC 기준(0.1(1 mg/g) 일 때, 6%)범위 이내에 있음</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="4">실험실 A (혹은 시험자 A)</th> <th colspan="4">실험실 B (혹은 시험자 B)</th> </tr> <tr> <th>시료량 (mg)</th> <th>피크 면적</th> <th>분석 농도 (μg/mL)</th> <th>함량 (mg/g)</th> <th>시료량 (mg)</th> <th>피크 면적</th> <th>분석 농도 (μg/mL)</th> <th>함량 (mg/g)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>100</td> <td>550.557</td> <td>16.10</td> <td>7.566</td> <td>100</td> <td>535.217</td> <td>15.65</td> <td>7.305</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>100</td> <td>551.441</td> <td>16.12</td> <td>7.585</td> <td>100</td> <td>528.021</td> <td>15.44</td> <td>7.301</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>100</td> <td>555.764</td> <td>16.25</td> <td>7.614</td> <td>100</td> <td>532.400</td> <td>15.57</td> <td>7.281</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>100</td> <td>554.491</td> <td>16.21</td> <td>7.619</td> <td>100</td> <td>539.673</td> <td>15.78</td> <td>7.395</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>100</td> <td>553.678</td> <td>16.19</td> <td>7.593</td> <td>100</td> <td>533.645</td> <td>15.60</td> <td>7.356</td> </tr> <tr> <td>실험실내 평균분석값(mg/g)</td> <td colspan="4">7.588</td> <td colspan="4">7.328</td> </tr> <tr> <td>표준편차</td> <td colspan="4">0.0196</td> <td colspan="4">0.0417</td> </tr> <tr> <td>RSD(%)_반복성</td> <td colspan="4">0.2581</td> <td colspan="4">0.5696</td> </tr> <tr> <td>실험실간 평균 분석값(mg/g)</td> <td colspan="8">7.462</td> </tr> <tr> <td>실험실간 표준편차</td> <td colspan="8">0.1378</td> </tr> <tr> <td>RSD(%)_재현성</td> <td colspan="8">1.8473</td> </tr> </tbody> </table>		실험실 A (혹은 시험자 A)				실험실 B (혹은 시험자 B)				시료량 (mg)	피크 면적	분석 농도 (μg/mL)	함량 (mg/g)	시료량 (mg)	피크 면적	분석 농도 (μg/mL)	함량 (mg/g)	1	100	550.557	16.10	7.566	100	535.217	15.65	7.305	2	100	551.441	16.12	7.585	100	528.021	15.44	7.301	3	100	555.764	16.25	7.614	100	532.400	15.57	7.281	4	100	554.491	16.21	7.619	100	539.673	15.78	7.395	5	100	553.678	16.19	7.593	100	533.645	15.60	7.356	실험실내 평균분석값(mg/g)	7.588				7.328				표준편차	0.0196				0.0417				RSD(%)_반복성	0.2581				0.5696				실험실간 평균 분석값(mg/g)	7.462								실험실간 표준편차	0.1378								RSD(%)_재현성	1.8473							
	실험실 A (혹은 시험자 A)				실험실 B (혹은 시험자 B)																																																																																																																
	시료량 (mg)	피크 면적	분석 농도 (μg/mL)	함량 (mg/g)	시료량 (mg)	피크 면적	분석 농도 (μg/mL)	함량 (mg/g)																																																																																																													
1	100	550.557	16.10	7.566	100	535.217	15.65	7.305																																																																																																													
2	100	551.441	16.12	7.585	100	528.021	15.44	7.301																																																																																																													
3	100	555.764	16.25	7.614	100	532.400	15.57	7.281																																																																																																													
4	100	554.491	16.21	7.619	100	539.673	15.78	7.395																																																																																																													
5	100	553.678	16.19	7.593	100	533.645	15.60	7.356																																																																																																													
실험실내 평균분석값(mg/g)	7.588				7.328																																																																																																																
표준편차	0.0196				0.0417																																																																																																																
RSD(%)_반복성	0.2581				0.5696																																																																																																																
실험실간 평균 분석값(mg/g)	7.462																																																																																																																				
실험실간 표준편차	0.1378																																																																																																																				
RSD(%)_재현성	1.8473																																																																																																																				

• **공인분석기관(한국기능식품연구원) 동등성 확인 및 지표성분 규격 설정 완료**

- 자사에서 개발한 분석법의 타당성과 분석 결과의 동등성 확인을 위하여 대량생산으로 확보한 장미꽃잎추출물 3 Lot(220929-001, 230801-001, 230802-002)의 Isoquercitrin 공인분석을 진행하였음. 자사 분석법을 활용하여 한국기능식품연구원 3 Lot, 3 반복 시험 결과, Isoquercitrin 함량은 7.53, 6.45, 6.56 mg/g으로 확인하였음
- 자사 분석 분석법을 활용하여 자사 분석 결과(3 Lot, 3 반복 시험 결과 6.93 mg/g)와 동등성 확인을 완료하였으며, **공인 성적을 바탕으로 지표성분 Isoquercitrin 함량 규격을 6.85 mg/g (약 80~120% 범위인 5.48 ~ 8.22 mg/g)으로 최종 설정함**

(단위 : mg/g)

반복수 \ Lot No.	1 (Lot 220929-001)	2 (Lot 230801-001)	3 (Lot 230802-002)	평균
1	7.77	6.32	6.67	/
2	7.88	6.22	6.74	
3	7.76	6.41	6.67	
평균	7.81	6.28	6.7	

<표8. 자사 분석 결과>

(단위 : mg/g)

반복수 \ Lot No.	1 (Lot 220929-001)	2 (Lot 230801-001)	3 (Lot 230802-002)	평균
1	7.47	6.45	6.61	/
2	7.58	6.48	6.60	
3	7.55	6.41	6.48	
평균	7.53	6.45	6.56	

<표9. 공인 분석 결과>

<장미꽃잎추출물의 제제·제형 연구>

- 1차 제제 및 제형 개발 완료 (과립, 캡슐, 정제)
- 2차 제제 및 제형 개발 완료 (액상, 젤리)

• **1차 제제 및 제형 개발 완료**

- 장미꽃잎추출물의 특성(색, 냄새 등 외향적인 특성)을 연구하여 최적의 배합비율 검증 및 여러 가지 제형의 시제품 제작을 진행함

① 과립 제형

개발 내용	1) 분말화된 시제품의 흐름성이 저하되어, 과립 제형 제작의 가능성을 확인함 2) 과립 과정 중 응집 현상 발생으로 인하여 부형제, 주정 및 정제수 첨가 시 주의가 필요한 것으로 확인됨 3) 시제품 제작 시 원료의 인습을 고려한 활택제 첨가가 필요한 것으로 확인됨
--------------	---



<그림31. 과립 스틱>

② 캡슐 제형

<p>개발 내용</p>	<p>1) 하드 캡슐 : 인습 및 제품 안정성을 고려하여 부형제 비율이 50% 이상일 경우 적합한 것으로 판단됨</p> <p>2) 소프트 캡슐 : 시제품 입자크기를 고려하여 소프트 캡슐 충전 원료로도 적합한 것으로 확인되며, 캡슐의 색 조정은 추가적으로 필요한 것으로 판단됨</p>
---------------------	---



<그림32. 하드 캡슐>



<그림33. 소프트 캡슐>

③ 정제 제형

<p>개발 내용</p>	<p>1) 섭취와 보관이 용이한 정제 제형에 대한 타정성 연구를 진행함</p> <p>2) 타정 시 부피를 채워주기 위한 부형제 첨가 조건을 확인하였음</p> <p>3) 과립과 관능을 위하여 말토덱스트린, 포도당, 결정 셀룰로오스 및 유당 등으로 제형화가 필요한 것을 확인함 또한, 향, 색 관련 부원료를 첨가할 경우 정제 관능 문제를 개선할 수 있는 것으로 확인되며, 시제품 원료 특성인 인습을 고려하여 활택제 첨가가 필요한 것으로 판단됨</p> <p>4) 추가적으로 1차년도에 개발한 시제품의 섭취 용이성 증가를 위하여 정제의 크기를 축소하였음 (1.7 cm → 0.9 cm)</p>
---------------------	---



<그림34. 1차년도 시생산 정제>



<그림35. 2차년도 시생산 정제>



<그림36. 다양한 테스트 정제>

• 2차 제제 및 제형 개발 완료

- 개발하고자 하는 장미꽃잎추출물은 전 세계적으로 아름다움의 상징으로 여겨지고 있는 장미를 활용한 원료로서 장미 고유의 색과 향미를 가지고 있는 원료임. 따라서 아름다움을 위해 섭취하는 '이너뷰티 건강기능식품' 소재로서 활용도가 매우 높으며, 기존에 개발했던 정제 형태의 제형 외 원료의 장점을 극대화할 수 있는 추가 제형 연구를 진행함
- 추가 제형으로는 체내 흡수가 빠르고 물 없이도 복용할 수 있는 액상과 젤리 제형을 선정하여 배합비 검토를 진행하였으며, 개발된 배합비를 통해 소량의 시제품을 생산하였음
- 생산된 시제품은 지표물질 분석 시 일일섭취량 300mg에 해당하는 지표물질이 함유된 것을 확인함. 따라서 추후 해당 제형의 정제 안정성 검토를 통해 제품개발 또한 진행할 예정임

<p>개발 내용</p>	<p>1) 섭취 용이성 및 휴대 편의성 증가를 위하여 액상 제형 제작의 가능성을 확인함</p> <p>2) 당의 함유가 높지 않도록 과당 첨가 시 주의가 필요한 것으로 확인됨</p>																																				
	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="3">스틱 액상 제형 배합비 (19.8 g)</th> </tr> <tr> <th>원료명</th> <th>배합비율(%)</th> <th>함량(mg)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>정제수</td> <td>67.1648</td> <td>13298.65</td> </tr> <tr> <td>믹스베리농축액</td> <td>10.00</td> <td>1980.00</td> </tr> <tr> <td>결정과당</td> <td>10.00</td> <td>1980.00</td> </tr> <tr> <td>프락토올리고당 (액상)</td> <td>10.00</td> <td>1980.00</td> </tr> <tr> <td>블루베리향</td> <td>1.00</td> <td>198.00</td> </tr> <tr> <td>장미꽃잎추출물</td> <td>1.5152</td> <td>300.00</td> </tr> <tr> <td>구연산(무수)</td> <td>0.20</td> <td>39.60</td> </tr> <tr> <td>황금복합추출물 액상</td> <td>0.10</td> <td>13.80</td> </tr> <tr> <td>수크랄로스 (미국산)</td> <td>0.20</td> <td>3.96</td> </tr> <tr> <td>총 합</td> <td>100</td> <td>19,800</td> </tr> </tbody> </table>	스틱 액상 제형 배합비 (19.8 g)			원료명	배합비율(%)	함량(mg)	정제수	67.1648	13298.65	믹스베리농축액	10.00	1980.00	결정과당	10.00	1980.00	프락토올리고당 (액상)	10.00	1980.00	블루베리향	1.00	198.00	장미꽃잎추출물	1.5152	300.00	구연산(무수)	0.20	39.60	황금복합추출물 액상	0.10	13.80	수크랄로스 (미국산)	0.20	3.96	총 합	100	19,800
스틱 액상 제형 배합비 (19.8 g)																																					
원료명	배합비율(%)	함량(mg)																																			
정제수	67.1648	13298.65																																			
믹스베리농축액	10.00	1980.00																																			
결정과당	10.00	1980.00																																			
프락토올리고당 (액상)	10.00	1980.00																																			
블루베리향	1.00	198.00																																			
장미꽃잎추출물	1.5152	300.00																																			
구연산(무수)	0.20	39.60																																			
황금복합추출물 액상	0.10	13.80																																			
수크랄로스 (미국산)	0.20	3.96																																			
총 합	100	19,800																																			

<그림37. 액상 스틱>

개발 내용	1) 간식처럼 맛있고 간편하게 섭취가 가능한 젤리 제형 제작의 가능성을 확인함 2) 젤리 제형 당의 함유가 높지 않도록 과당 첨가 시 주의가 필요한 것으로 확인됨
-------	---



스티크 젤리 제형 배합비 (20.0 g)		
원료명	배합비율(%)	함량(mg)
정제수	64.999	12999.8
석류농축액	10.00	2000.0
결정과당	10.00	2000.0
프락토올리고당	10.00	2000.0
푸드젤	2.00	400.0
석류향	1.00	200.0
장미꽃잎추출물	1.50	300.0
구연산(무수)	0.30	60.0
효소처리 스테비아	0.10	20.0
황금복합추출물 액상	0.10	20.0
옥수수전분	0.001	0.2
총 합	100	20,000

<그림38. 젤리 스틱>

<장미꽃잎추출물의 제품화 연구>

- 1차 개발 배합비를 활용한 홍보용 시제품 제작 완료
- 2차 개발 배합비를 활용한 홍보용 시제품 제작 완료
- 1차년도 제작된 시제품의 제품 안정성 시험을 통한 제품화 연구 완료
- 대량생산 테스트를 통해 제작된 원료의 원료 안정성 시험을 통한 제품화 연구 완료
- 확립된 대량 생산 원료의 원료 안정성 시험을 통한 제품화 연구 완료
- 인체적용시험 시험식품 및 대조식품 유통기한 설정시험을 통한 제품화 연구 완료

• 1차 홍보용 시제품 제작

- 장미꽃잎추출물을 일일 최대 300 mg 섭취할 수 있도록 배합비 검토를 진행하였으며, 1일 1회, 1회 1정을 물과 함께 섭취하도록 섭취방법을 설정함
- 포장방법은 섭취와 보관이 용이한 병타입으로 휴대성을 높였으며, 병 케이스 안쪽에 제습제와 완충비닐을 넣어 제품의 손상과 변경을 방지함
- 홍보용 시제품의 디자인 컨셉은 장미꽃잎추출물의 원재료인 장미 꽃잎으로 하였고, 식품의 '이너'와 피부건강에 도움을 줌의 '플러스' 강조하여 제작함
- 한글 표시사항을 고려하여 부자재 인쇄를 진행하였으며, 향후 제품 홍보를 위한 시제품으로 활용할 계획임



<그림39. 홍보용 시제품 시안>



<그림40. 홍보용 시제품>

• 2차 홍보용 시제품 제작

- 주로 장년층 위주로 형성되어 있던 건강기능식품 시장의 소비자는 2030세대를 넘어, 최근 MZ 세대까지 넓어지고 있음. 2022년 말 한국건강기능식품협회 자료에 따르면 국내 건강기능식품 시장은 6조원을 넘은 것으로 나타났으며, 시장이 커지는 만큼 소비자 폭이 넓어지며 그 니즈 또한 다양해지고 있는 추세임
- 젊고 건강한 삶을 지향하는 소비자들의 니즈를 반영하여 아름다움과 우아함의 상징으로 여겨지고 있는 장미로 휴대가 편리하고, 알약에 대한 거부감 없이 물 없이 바로 섭취가 가능한 젤리, 액상 제형을 추가 검토하였음. 본 연구개발을 통해 검토한 젤리와 액상 제형은 장미 고유의 색과 향미를 극대화 할 수 있는 제형으로 해당 시제품을 활용하여 향후 마케팅 활동 및 제품화에 적극 활용할 계획임
- 생산된 시제품은 지표물질 분석 시 일일섭취량 300mg에 해당하는 지표물질이 함유된 것을 확인하였으며, 해당 제형으로 최종 제품화를 위해 실측, 가속 조건에서 장기간 보관 후 지속적으로 지표물질 안정성 검사를 실시 할 예정임



<그림41. 스틱 액상/젤리 시제품>

• 1차년도 제작된 시제품을 통한 유통기한 설정시험 결과 확보 완료

- 유통기한 확인을 위한 수분, 미생물, 지표(유효)성분 등 식품 위생 규격 안정성 평가 완료
- 보관조건 온도 45℃, 습도 70%에서 6개월 (2021.11 ~ 2022.04)동안 가속시험을 통해 장미꽃잎추출물 정제에 대한 성상, 수분함량, 대장균군, 지표(유효)성분에 대한 안정성을 확인하였으며, 추후 시제품의 유통기한 설정에 필요한 자료로 활용하고자 함

① 시제품 성상 : 연분홍빛을 띠는 타원형 타블렛 형태의 정제

측정 일자	21.11.29 (1차)	21. 12. 30 (2차)	22. 1. 28 (3차)	22. 02. 28 (4차)	22. 03. 31 (5차)	22. 04. 29 (6차)
성상	연분홍빛을 띠는 타원형 타블렛 형태의 정제	연분홍빛을 띠는 타원형 타블렛 형태의 정제	연분홍빛을 띠는 타원형 타블렛 형태의 정제	연분홍빛을 띠는 타원형 타블렛 형태의 정제	연분홍빛을 띠는 타원형 타블렛 형태의 정제	연분홍빛을 띠는 타원형 타블렛 형태의 정제
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합	적합

② 시제품 수분 함량 : 8% 이하

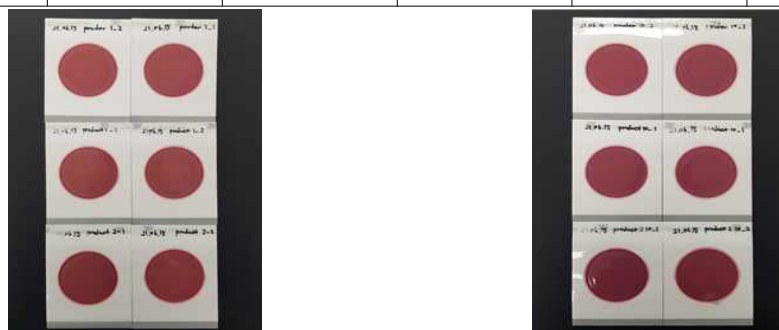
측정 일자	21.11.29 (1차)	21. 12. 30 (2차)	22. 1. 28 (3차)	22. 02. 28 (4차)	22. 03. 31 (5차)	22. 04. 29 (6차)
수분 함량	5.7 %	6.1 %	6.3 %	5.9 %	6.4 %	6.0 %
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합	적합



<그림42. 수분함량 측정>

③ 시제품 대장균군 측정 : 음성

측정 일자	21.11.29 (1차)	21. 12. 30 (2차)	22. 1. 28 (3차)	22. 02. 28 (4차)	22. 03. 31 (5차)	22. 04. 29 (6차)
대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합	적합



<그림43. 대장균군 측정>

④ 시제품 지표성분 함량 : 4.3 mg/g (3.4 ~ 5.1 mg/g)

측정 일자	21.11.29 (1차)	21. 12. 30 (2차)	22. 1. 28 (3차)	22. 02. 28 (4차)	22. 03. 31 (5차)	22. 04. 29 (6차)
지표성분	4.2 mg/g	4.3 mg/g	4.0 mg/g	4.4 mg/g	4.4 mg/g	4.2 mg/g
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합	적합
크로마토그램						

• 대량생산 테스트를 통해 확보한 원료 안정성 평가 완료

- 2022년 8월 대량생산 된 원료를 활용하여 5개월 (2022.08 ~ 2022.12)동안 장미꽃잎추출물 원료에 대한 색상(성상), 수분함량, 지표(유효)성분에 대한 안정성을 확인하였으며, 이 결과를 바탕으로 자사 규격 설정을 완료하였음

① 색상(성상)

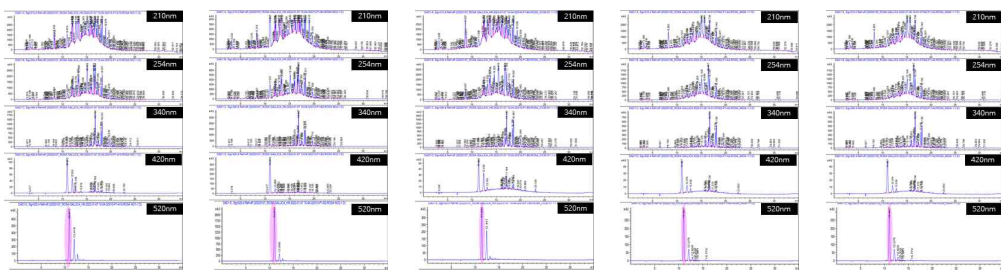
측정 일자	22.08 (1차)	22.09 (2차)	22.10 (3차)	22.11 (4차)	22.12 (5차)
성상	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 자주색 분말	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 자주색 분말	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 자주색 분말	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 자주색 분말	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 자주색 분말
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합
결과	3개월 동안 원료의 성상 변화 없는 것으로 확인됨				

② 수분 함량

측정 일자	22.08 (1차)	22.09 (2차)	22.10 (3차)	22.11 (4차)	22.12 (5차)
수분함량	1.62 %	1.82 %	1.79 %	1.80 %	1.81 %
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합

결과	3개월 동안 원료 수분함량 변화(1.2 ~1.9 %) 없는 것으로 확인됨
----	--

③ 원료 지표성분 함량 (덱스트린 30% 함유)

측정 일자	22.08 (1차)	22.09 (2차)	22.10 (3차)	22.11 (4차)	22.12 (5차)
지표성분 함량	4.23 mg/g	4.17 mg/g	4.34 mg/g	4.41 mg/g	4.39 mg/g
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합
결과	 <p>3개월 동안 원료 지표성분 함량, 파장별 크로마토 그래프 변화(3.4 ~5.1 mg/g) 없는 것으로 확인됨</p>				

• 확립된 표준 대량 공정을 통해 제작된 원료의 원료 안정성 평가 완료

- 확립된 표준 대량 공정으로 2022년 9월 대량생산 된 원료 1lot를 활용하여 14개월 (2022.10 ~ 2023.12)동안 장미꽃잎추출물 원료에 대한 색상(성상), 수분함량, 지표(유효)성분에 대한 안정성을 확인하였으며, 이 결과를 바탕으로 1년 이상 원료 안정성이 유효함을 확인함

① 색상(성상)

측정 일자	22.10 (1차)	22.11 (2차)	22.12 (3차)	23.01 (4차)	23.02 (5차)
성상	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 자주색 분말	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 자주색 분말	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 자주색 분말	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 자주색 분말	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 자주색 분말
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합

② 수분 함량

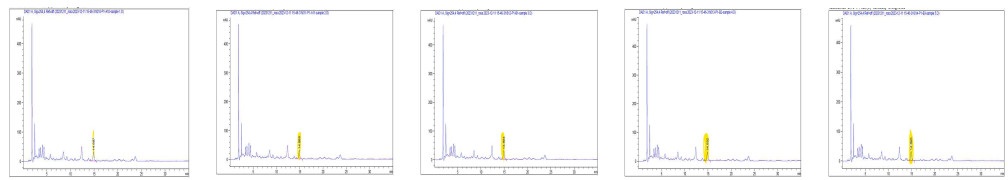
측정 일자	22.10 (1차)	22.11 (2차)	22.12 (3차)	23.01 (4차)	23.02 (5차)
수분함량	11.70%	12.70%	12.83%	11.98%	12.10%
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합

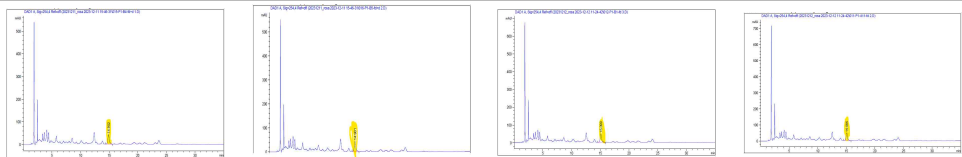
측정 일자	23.03 (6차)	23.06 (7차)	23.09 (8차)	23.12 (9차)
성상	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 자주색 분말	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 자주색 분말	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 자주색 분말	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 자주색 분말
적합 여부	적합	적합	적합	적합
결과	14개월 동안 원료의 성상 변화 없는 것으로 확인됨			

측정 일자	23.03 (6차)	23.06 (7차)	23.09 (8차)	23.12 (9차)
수분함량	12.03%	11.94%	11.02%	11.33%
적합 여부	적합	적합	적합	적합
결과	14개월 동안 원료 수분함량에 큰 변화가 없는 것으로 확인됨			

③ 원료 지표성분(Isoquercitrin) 함량 (덱스트린 30% 함유)

- 화학적으로 안정된 지표물질 재탐색 후 확립된 분석법(2023.04)을 활용하여 2023년 4월부터 9개월(2023.04 ~ 2023.12) 동안 지표물질 안정성을 확인하였으며, 추후 제품 개발시 유통기한 설정에 필요한 자료로 활용하고자 함

Isoquercitrin 기준규격 6.85 mg/g (5.48~8.22 mg/g)					
측정 일자	23.04 (1차)	23.05 (2차)	23.06 (3차)	23.07 (4차)	23.08 (5차)
지표성분 함량	7.60 mg/g (RT 14.867)	7.58 mg/g (RT 14.888)	7.70 mg/g (RT 14.894)	7.42 mg/g (RT 14.892)	7.41 mg/g (RT 14.895)
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합
결과					

측정 일자	23.09 (6차)	23.10 (7차)	23.11 (8차)	23.12 (9차)
지표성분함량	7.50 mg/g (RT 14.902)	7.60 mg/g (RT 14.901)	7.58 mg/g (RT 15.099)	7.70 mg/g (RT 15.085)
적합 여부	적합	적합	적합	적합
결과	 <p>9개월 동안 원료 지표성분 함량 변화(5.48 ~ 8.22 mg/g) 없는 것으로 확인됨</p>			

• 인체적용시험 시험식품 유통기한 설정시험을 통한 제품화 연구

- 인체적용시험용 시제품(시험식품)을 활용하여 6개월 (2023.05 ~ 2023.10)동안 가속 조건 (40 ℃에)서 보관 후 봉해도, 수분함량, 지표(유효)성분에 대한 안정성을 확인하였으며, 이 품질한계를 고려하여 2년 이상 유통기한을 확보가능 할것으로 예상함

① 봉해도

- 시험식품

측정 일자	23.04 (0차)	23.05 (1차)	23.06 (2차)	23.07 (3차)	23.08 (4차)	23.09 (5차)	23.10 (6차)
봉해도	39분	41분	40분	42분	41분	40분	40분
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합

- 대조식품

측정 일자	23.04 (0차)	23.05 (1차)	23.06 (2차)	23.07 (3차)	23.08 (4차)	23.09 (5차)	23.10 (6차)
봉해도	37분	36분	39분	39분	36분	39분	39분
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합

② 수분 함량

- 시험식품

측정 일자	23.04 (0차)	23.05 (1차)	23.06 (2차)	23.07 (3차)	23.08 (4차)	23.09 (5차)	23.10 (6차)
수분 함량	5.51%	7.48%	7.41%	7.39%	7.67%	7.63%	7.70%
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합

- 대조식품

측정 일자	23.04 (0차)	23.05 (1차)	23.06 (2차)	23.07 (3차)	23.08 (4차)	23.09 (5차)	23.10 (6차)
수분 함량	6.13%	7.76%	7.70%	7.86%	7.88%	7.76%	7.50%
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합

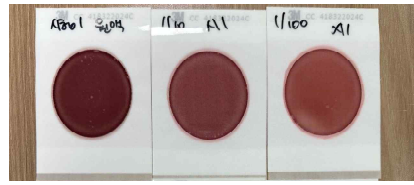
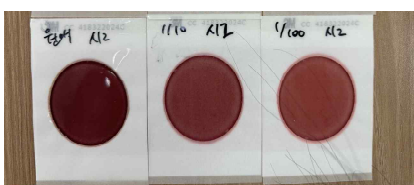
③ 원료 지표성분(Isoquercitrin) 함량 (1일 1회, 1회 장미꽃잎추출물로서 300 mg/g)

- 시험식품


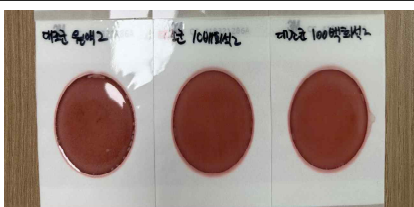
측정 일자	23.04 (0차)	23.05 (1차)	23.06 (2차)	23.07 (3차)	23.08 (4차)	23.09 (5차)	23.10 (6차)
지표 성분 함량	7.06 mg/g	6.92 mg/g	6.85 mg/g	6.89 mg/g	6.77 mg/g	6.80 mg/g	6.76 mg/g
적합 여부	적합	적합	적합	적합	적합	적합	적합

④ 미생물

- 시험식품

측정 일자	23.04 (0차)	23.10 (6차)
대장균군		
적합 여부	적합	적합


- 대조식품

측정 일자	23.04 (0차)	23.10 (6차)
대장균군		
적합 여부	적합	적합

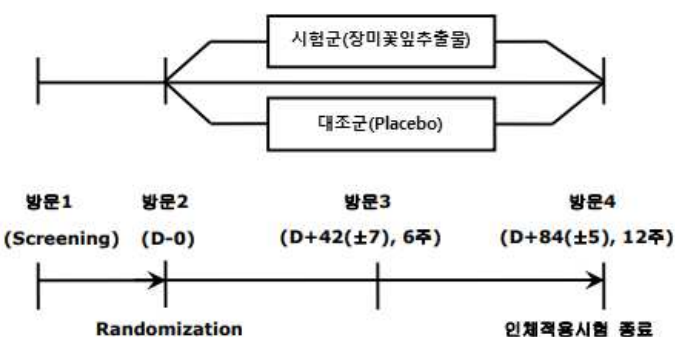
<장미꽃잎추출물의 피부 건강 기능성 인체적용시험 수행>

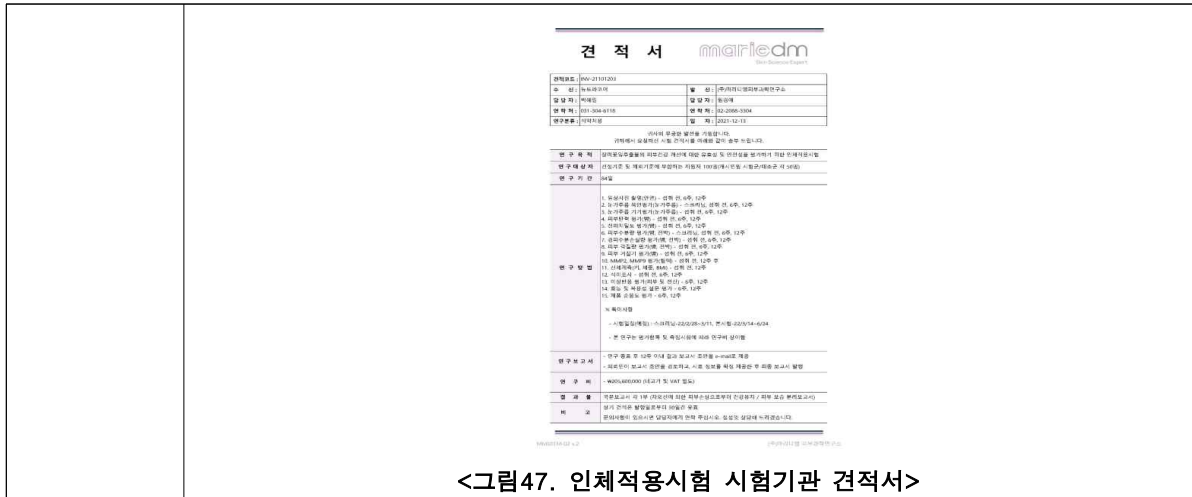
- 인체적용시험자 자료집(IB) 구축 완료
- 인체적용시험 프로토콜 개발 완료
- 인체적용시험 시험기관 선정 및 계약 체결 완료
- 시험/대조 식품 배합비 연구 및 제조를 통한 제형 평가 완료
- 시험/대조 식품 제작 및 포장 완료
- 인체적용시험윤리위원회(IRB) 승인 획득
- 인체적용시험 개시 및 수행
- 인체적용시험 종료에 따른 통계 및 최종 결과보고서 확보

• 인체적용시험자 자료집 (Investigator's Brochure) 구축

<p>IB 자료집</p>	<ul style="list-style-type: none"> 구축 목적 : 인체적용시험 개시 전 기관생명윤리위원회(Institutional Review Board)의 해당 연구 승인을 위하여 인체적용시험용 식품에 관련된 정보를 정리하여 시험자에게 제공하기 위함  <p style="text-align: center;"><그림 44. 장미꽃잎추출물 피부건강 IB 자료집></p>
<p>결과</p>	<ul style="list-style-type: none"> 결과 : 인체적용시험자 자료집 (Investigator's Brochure) 구축 완료

• 인체적용시험 프로토콜 개발 완료

<p>프로토콜</p>	<ul style="list-style-type: none"> 연구 목적 : 장미꽃잎추출물 피부건강 개선에 대한 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 인체적용시험 연구대상자 : 선정기준 및 제외기준에 부합하는 지원자 100명 (시험군50명/대조군50명) 섭취기간 : 12주(84일)  <ul style="list-style-type: none"> 프로토콜 : 1) 임상사진 촬영(안면) : 섭취 전, 6주, 12주
-------------	---



<그림 47. 인체적용시험 시험기관 견적서>

• 시험식품 및 대조식품 배합비 연구 및 제조

- 시험식품 및 대조식품은 연구대상자가 섭취하는데 용이해야 하며 색, 무게 및 냄새 등 외형적인 특성으로 구분되지 않도록 제작하여야 함
- 이를 고려하여 제형은 정제(Tablet)로 선택하였으며, 주성분인 장미꽃잎추출물 함유 유무 외에 다른 차이가 발생하지 않도록 제작함
- 섭취량은 일일섭취량(300mg) 기준 1일 1회, 1회 1정으로 설정하였음

시험식품 배합비		
원료명	배합비율(%)	함량(mg)
장미꽃잎추출물	50.00	300.00
엔-졸빋 2144 디지	28.30	169.80
말토덱스트린	15.50	93.00
비트레드색소	0.46	2.76
히드록시프로필 메틸셀룰로오스	2.44	14.64
스테아린산마그네슘	1.00	6.00
이산화규소(18µm) 이하	1.00	6.00
이산화티타늄	0.58	3.48
미바셋-액상 (글리세린지방산 에스테르혼합제)	0.58	3.48
치자적색소-에이	0.14	0.84
총 합	100	600

대조식품 배합비		
원료명	배합비율(%)	함량(mg)
결정셀룰로오스	45.00	270.00
말토덱스트린	47.00	282.00
비트레드색소	1.96	11.76
히드록시프로필 메틸셀룰로오스	1.44	8.64
스테아린산마그네슘	1.00	6.00
이산화규소(18µm) 이하	1.00	6.00
카민칼라-엠지	0.60	3.60

이산화티타늄	0.58	3.48
미바셋-액상 (글리세린지방산 에스테르혼합제)	0.58	3.48
카카오색소	0.45	2.70
치자청색소-50	0.25	1.50
치자적색소-에이	0.14	0.84
총 합	100	600

• 시험식품 및 대조식품 제형 평가

- 시험식품 및 대조식품의 배합비 연구 후 시제품을 제작하여 관능시험 및 봉해도 시험을 진행하였음
- 외형적인 특성으로 구분되지 않음을 확인하였으며, 봉해도 시험 진행을 통해 40분 이내에 과립이나 분말 크기의 입자로 부서지는 것을 확인하였음



<그림48. 시생산한 시험식품 및 대조식품>

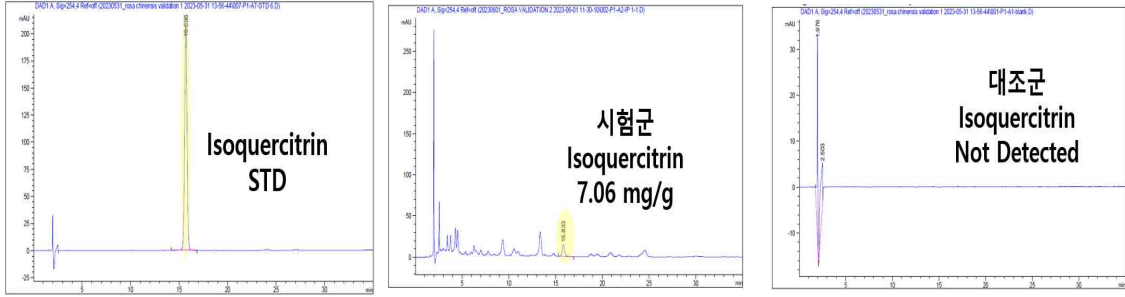


<그림49. 시험식품 및 대조식품 봉해도 시험>

- 장미꽃잎추출물의 지표성분인 Isoquercitrin은 시험식품 외에는 불검출이 원칙으로, 장미꽃잎추출물 외 부원료에 대하여 Isoquercitrin검출 여부를 확인하기 위하여 HPLC를 이용하여 분석을 진행함
- 대조식품의 경우 Blank와 동일한 Peak area를 확인하였으며, 시험식품의 경우 장미꽃잎추출물 함유량에 해당하는 Peak area를 확인함
- 시험식품과 대조식품의 분석결과는 아래와 같으며, 해당결과를 통해 시험식품 및 대조식품 지표성분 기준규격에 이상없음을 확인함

• 인체적용시험용 시험식품 및 대조식품 제작 및 포장

- 시생산을 통해 시험식품 및 대조식품의 배합비 설정 및 제형평가를 통해 최종적으로 인체적



<그림50. 시생산한 시험식품 지표물질 검출 여부>

용시험 대상자가 섭취하는 시험식품 및 대조식품의 본 생산을 진행함

- 1일 1회, 1회 1정 (장미꽃잎추출물로서 300 mg)을 물과 함께 섭취하도록 섭취방법을 설정하였으며, 섭취와 휴대성이 간편한 삼면포로 포장하고 박스 케이스에 제품을 넣어 제품의 손상과 변형을 방지함
- 연구대상자는 시험기간 12주 중 2차 및 3차 방문시에 시험식품 또는 대조식품을 각 6주 분량씩 제공받게 되며, 여유분이 포함되도록 1정/삼면포 x 18포 (42일분 + 여유분)를 박스 케이스에 넣어 1인 1회 배포함
- 각 박스케이스는 Randomization 방법에 따라 작성된 무작위 배정표를 이용하여 연구 담당자도 내용물을 알지 못하도록 고유코드가 명시된 라벨을 부착하였으며, 섭취방법, 유통기한, 보관방법 등의 정보를 표기함



<그림51. 시험식품 및 대조식품 정제 제형>

Protocol No. MS-PF-Q5MO-004		인체적용시험용
인체적용시험용식품: 장미꽃잎추출물 또는 대조식품		
무작위배정번호	R112	
방 문	방문 2	
섭 취 방 법	1일 1회, 1정을 충분한 물과 함께 섭취	
유효 기 간	2025년 2월	
IP Lot No.	230224-01 또는 230224-02	
보 관 방 법	습기가 적고 직사광선 받지 않는 서늘한 곳에 보관	
의뢰자/제조사 명칭	(주)노바헬스 / (주)노바텍스	
주 소	충북 청주시 청원구 오창읍 양창택지3길 35, 1층	
본 제품은 "인체적용시험" 외의 목적으로 사용할 수 없습니다.		



Protocol No. MS-PF-Q5MO-004		인체적용시험용
인체적용시험용식품: 장미꽃잎추출물 또는 대조식품		
무작위배정번호	R112	
방 문	방문 3	
섭 취 방 법	1일 1회, 1정을 충분한 물과 함께 섭취	
유효 기 간	2025년 2월	
IP Lot No.	221017-01 또는 221017-02	
보 관 방 법	습기가 적고 직사광선 받지 않는 서늘한 곳에 보관	
의뢰자/제조사 명칭	(주)노바헬스 / (주)노바텍스	
주 소	충북 청주시 청원구 오창읍 양창택지3길 35, 1층	
본 제품은 "인체적용시험" 외의 목적으로 사용할 수 없습니다.		



<그림52. 시생산 제품 라벨>

<그림53. 시생산 제품 삼면포 박스 포장>

- 인체적용시험윤리위원회(Institutional review board; IRB) 승인
 - 인체적용시험 시험계획서 개발 완료 후 IRB 심의 신청서를 인체적용시험윤리위원회에 제출

함

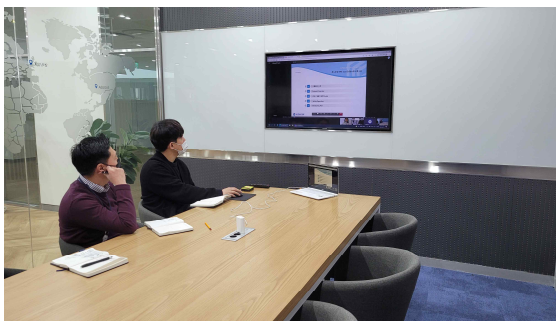
- 인체적용시험은 시험수행기관별로 구성되어 있는 IRB로부터 승인을 받아야 하며, 시험수행 기관 내부 일정에 따라 심사를 진행함
- IRB 심의를 위한 제출 서류는 다음과 같으며, 이들 서류와 함께 심의 신청서를 제출하여 최종적으로 IRB 승인을 획득함

<IRB 심의를 위한 서류>

번호	서류명	비고
1	연구계획서	
2	설명문 및 동의서	연구참여 대상자용
3	연구자윤리준수서약서	연구책임자 및 담당자용
4	이해상충 서약서	
5	피해자 보상에 대한 규약	
6	보험증서	
7	인체적용연구자자료집	
8	증례기록서	
9	연구비산정내역서	
10	식약처승인 제외사유서	
11	약제 관리비산정내역서	연구기관 시험식품 및 대조식품 관리 비용
12-1	신체 활동설문지	
12-2	식이습관설문지	
12-3	식이 및 생활습관 지침	
12-4	식이 및 생활습관 일지	

• 인체적용시험 개시

- 인체적용연구 계획서 작성, IRB 승인, 시험식품 및 대조식품 생산으로 모든 인체적용시험 준비가 완료된 후 연구기관인 마리디엠피부과학연구소, CRO 기관인 뉴트라코어, 시험 의뢰사인 노바웰스 3사가 인체적용시험 개시미팅을 진행함
- 시험물질 소개, 연구 방향 및 연구 방법 소개, 연구대상자 모집방안 등을 논의하였으며, 2023년 2월 16일 대상자 모집을 시작함
- 이너뷰티 인체적용시험 특성상 연구 대상자 간의 화장품 및 세안제의 형평성 유지를 위하여 기능성 원료가 포함되지 않은 동일한 세안제를 제공하였으며, 스킨 및 로션 등 관련 화장품의 경우 기능성 원료가 포함되지 않은 화장품 사용을 권고함



<그림54. 인체적용시험 시험기관/CRO/의뢰사 화상 개시 미팅>



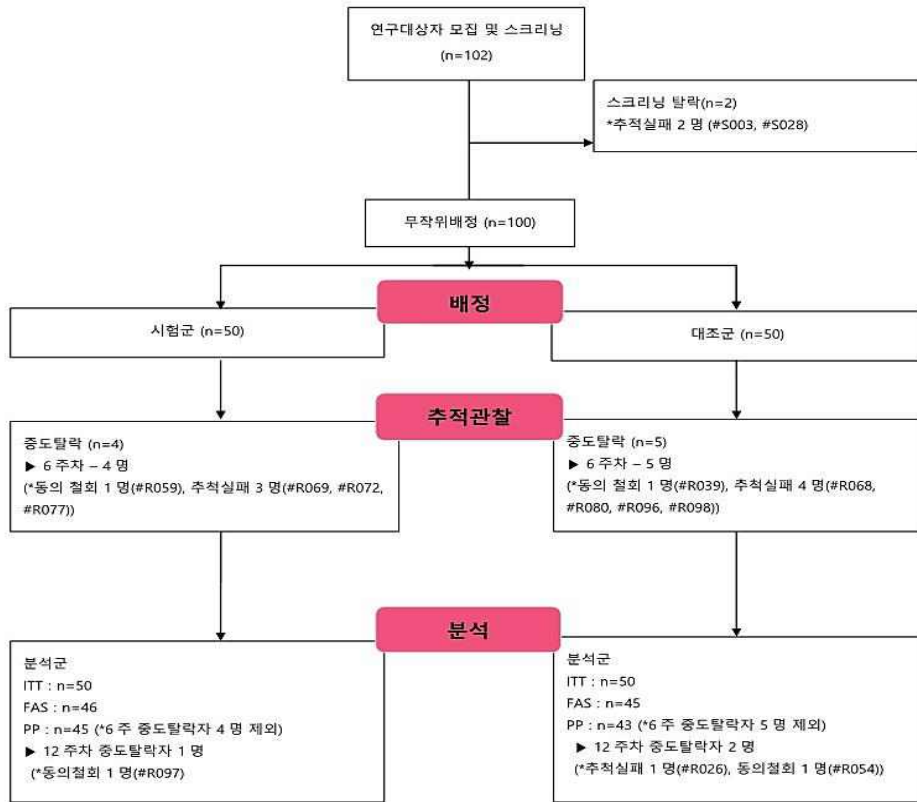
<그림55. 인체적용시험 대상자 제공용 세안제>

• **인체적용시험 수행**

- 인체적용시험 대상자 등록 목표는 100명이며, 2023년 3월 6일 스크리닝을 시작하여 2023년 3월 24일 첫 대상자가 등록되었음. 월 1~2회 CRO 연구책임자 및 연구 담당자, 시험기관 연구담당자 및 연구원, 의뢰사가 대면으로 대상자 모집 현황 및 협의 사항에 대하여 논의하였으며, 2023년 3월 31일 100명 중 마지막 대상자 모집이 완료됨
- 2023년 6월 23일 마지막 대상자의 섭취가 종료됨에 따라 대상자들의 혈액 분석을 위해 분석기관(GCCL)에 혈액 분석을 요청하였고, 맹검 해제 전 사전 미팅을 진행하여 대상자들의 인체적용시험계획서 준수 여부, 이상반응 여부, 통계 처리 방법 등에 대해 논의함
- 인체적용시험 맹검 해제 이후 기저치 기준 구간 유의성 확인을 위한 인체적용시험 통계처리 및 결과 확인 후 최종 결과보고서를 확보함

• **인체적용시험 종료에 따른 통계 분석 진행**

- 장미꽃잎추출물의 ‘자외선에 의한 피부 손상으로부터 피부 건강 개선’과 ‘피부 보습에 도움’에 대한 유효성 및 안전성 평가를 위해 군당 50명으로 총 100명의 연구대상자를 모집하여 12주간 시험식품(장미꽃잎추출물로서 300 mg/일) 또는 대조식품을 섭취하였음
- 제품 복용 중 6주 후 시점에서 9명이 중도 탈락하여 총 91명의 연구대상자가 시험에 참여하였으며, 이를 FAS 군으로 설정하였음. 이후 연구 종료 후 분석 단계에서 3명이 인체적용시험 계획서 상 위반상이 확인되어 분석군에서 제외하고 최종 88명의 연구대상자를 PP군으로 설정 및 최종 분석하였음



<그림56. 인체적용시험 연구대상자 분석군 모식도>

- 제품 복용 6주 및 12후 시점에서 확인한 연구대상자의 제품 복용 순응도는 시험군과 대조군 모두 99% 이상이었으며, 두 군간에 유의한 차이가 없었음

표. 시험식품 및 대조식품 복용 순응도¹⁾ 분석 결과

복용기간	시험군(n=45)	대조군(n=43)
0주~6주	99.37%	99.17%
6주~12주	100.00%	99.89%
전체(0주~12주)	99.68%	99.35%

¹⁾ 순응도(%) = (실제 복용 횟수(개수) / 총 복용해야 하는 횟수(개수)) × 100

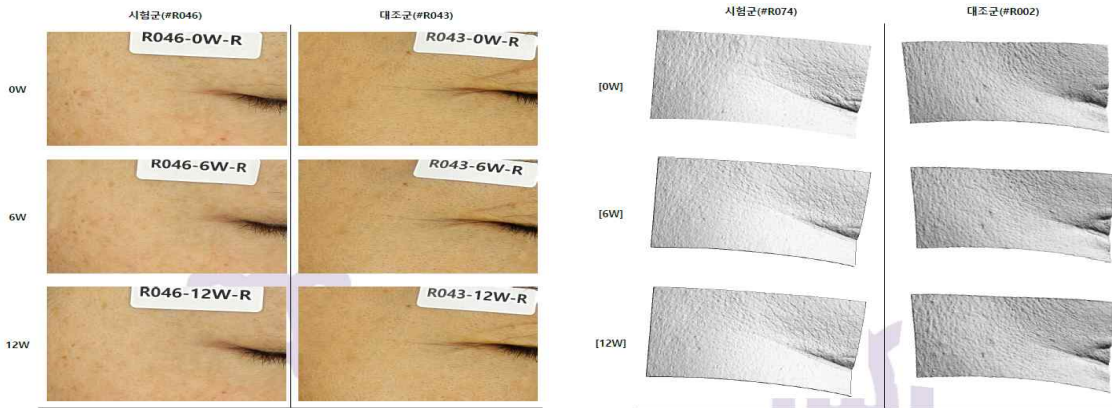
- 유효성 평가를 위해 복용 전, 6주 및 12주 복용 후 시점에서 연구대상자의 피부 수분량, 경피수분손실량, 피부 각질량, 피부 거칠기 및 피부 탄력 측정 및 평가, 임상사진촬영, 연구 대상자에 의한 설문, 식이조사 및 안전성 평가를 실시하였음
- **인체적용시험 최종 결과보고서 확보 (자외선에 의한 피부 보호 및 피부 보습)**
 - 산출된 모든 데이터는 SPSS[®] Package Program version 26(IBM, USA)을 이용하여 통계 분석하였으며, 식이조사 데이터는 한국영양학회 분석 프로그램 CAN-Pro 5.0 (Web ver.)을 이용하여 영양분석 하였음. 모든 데이터는 분석군의 표본(샘플) 수가 30 이상으므로 중심극한정리에 따라 정규분포로 간주하고 모수적인 방법으로 분석하였음. 기기측정 및 설문 결과는 모든 데이터에 PP(Per-Protocol)로 분석하였으며, 안전성 평가는 무작위 배정되어 제품을 1회 이상 복용한 ITT(Intention-To-Treat principle)로 분석하였음

① 눈가 주름 육안 평가

- 연구자 간의 눈가주름 육안평가 일치도 검정 결과, 모든 측정시점에서 두 연구자 간의 일치도는 0.96 이상으로 매우 높았으며, 분석 결과 제품 복용 전과 비교 시 복용 12주 후 시점에 시험군의 눈가 주름 육안평가 점수가 유의하게 감소하였음(p<0.05). **군간 비교 시 제품**



<그림57. 장미꽃잎추출물 시험식품 및 대조식품 복용에 따른 눈가주름 육안평가 변화량>



<그림58. 장미꽃잎추출물 시험식품 및 대조식품 복용에 따른 눈가주름 육안평가 변화>
12주 복용 후 시점에 눈가주름 육안평가 점수가 대조군에 비해 시험군에서 유의하게 감소하였음(p<0.05)

② 눈가 주름 측정

- 제품 복용 전과 비교 시 복용 12주 후 시점에 시험군의 모든 주름 파라미터(Ra, Rmax, Rz, Rv, Rp)가 유의하게 감소하였고(p<0.05) 대조군은 유의한 변화가 없었음. **군간 비교 시 제품 12주 복용 후 시점에 Ra, Rmax, Rz, Rp가 대조군에 비해 시험군에서 유의하게 감소하였음**



<그림59. 눈가 주름 산술 평균 거칠기(Ra) 변화량>



<그림60. 눈가 주름 최대 높이 (Rmax) 변화량>



<그림61. 눈가 주름 10점 평균 거칠기(Rz) 변화량>



<그림62. 눈가 주름 최대 단면 산 높이(Rp) 변화량>

② 피부 탄력 측정

- 제품 복용 전과 비교 시 복용 12주 후 시점에 시험군의 탄력 파라미터(R2, R7)가 유의하게 증가하였고(p<0.05) 대조군은 탄력 파라미터(R5, R7)가 유의하게 감소하였음. 군간 비교 시 제품 12주 복용 후 시점에 모든 탄력 파라미터(R2, R5, R7)가 대조군에 비해 시험군에서 유의하게 증가하였음(p<0.05)



<그림63. 점탄성(R2) 변화량>



<그림64. 순탄성(R5) 변화량>



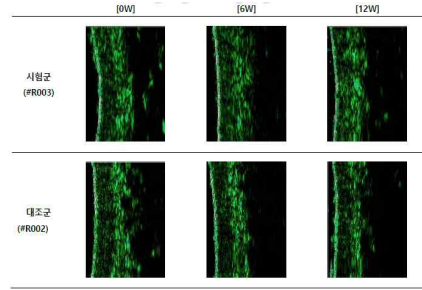
<그림65. 흡입 후 진폭과 비교한 즉각적인 회복 비율(R7) 변화량>

③ 진피치밀도 측정

- 제품 복용 전과 비교 시 복용 12주 후 시점에 시험군의 진피 치밀도 파라미터(Density)가 유의하게 증가하였고(p<0.05) 대조군은 진피 치밀도 파라미터(Distance)가 유의하게 감소하였음. 군간 비교 시 제품 12주 복용 후 시점에서 진피 치밀도 파라미터(Density)가 대조군에 비해 시험군에서 유의하게 증가하였음(p<0.05)



<그림66. Density 변화량>



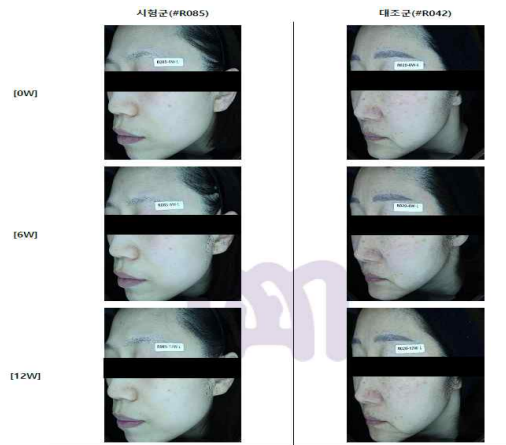
<그림67. 진피 치밀도 변화 이미지>

④ 피부색 육안 평가

- 제품 복용 전과 비교 시 복용 12주 후 시점에 시험군의 피부색 육안평가 점수가 유의하게 감소하였음($p < 0.05$). 군간 비교 시 제품 12주 복용 후 시점에서 피부색 육안평가 점수가 대조군에 비해 시험군에서 유의하게 감소하였음($p < 0.05$)



<그림68. 피부색 육안 평가 점수 변화량>



<그림69. 피부색 변화 임상사진>

④ 피부색 측정

- 제품 복용 전과 비교 시 복용 12주 후 시점에 시험군과 대조군의 비색소침착과 색소 침착부위 피부색 밝기(L^* value) 값이 증가하였음($p < 0.05$). 군간 비교 시 제품 12주 복용 후 시점에서 비색소침착 및 색소침착부위의 피부색 밝기(L^* value) 값이 대조군에 비해 시험군에서 유의하게 증가하였음($p < 0.05$)



<그림70. 비색소침착부위 피부색 밝기 변화량>



<그림71. 색소침착부위 피부색 밝기 변화량>

⑤ 피부 리프팅(피부 처짐) 측정

- 제품 복용 전과 비교 시 복용 12주 후 시점에 시험군의 등고선 각도가 유의하게 증가하였고, 대조군은 유의한 변화가 없었음. 군간 비교 시 제품 12주 복용 후 시점에서 등고선의 각도가 대조군에 비해 시험군에서 유의하게 증가하였음(p<0.05)



<그림 72. 피부 리프팅(피부 처짐) 변화량>



<그림 73. 피부 리프팅 (피부 처짐) 변화 이미지>

⑥ 피부 수분량 측정

- 제품 복용 전과 비교 시 복용 12주 후 시점에 시험군의 뺨 및 전박 부위에서 수분량이 유의하게 증가하였고, 대조군은 뺨 부위의 피부 수분량이 유의하게 감소하였음(p<0.05). 군간 비교 시 제품 12주 복용 후 시점에서 뺨 및 전박 부위 피부 수분량이 대조군에 비해 시험군에서 유의하게 증가하였음(p<0.05)



<그림 74. 피부 수분량(뺨) 변화량>



<그림 75. 피부 수분량(전박) 변화량>

⑦ 경피수분손실량 측정

- 제품 복용 전과 비교 시 복용 12주 후 시점에 시험군의 뺨 및 전박 부위에서 경피수분손실량이 유의하게 감소하였음(p<0.05), 대조군은 유의한 변화가 없었음. 군간 비교 시 제품 12주 복용 후 시점에서 뺨 및 전박 부위 경피수분손실량이 대조군에 비해 시험군에서 유의하게 감소하였음(p<0.05)



<그림 76. 경피수분손실량(뺨) 변화량>



<그림 77. 경피수분손실량(전박) 변화량>

⑧ 피부 각질량 측정

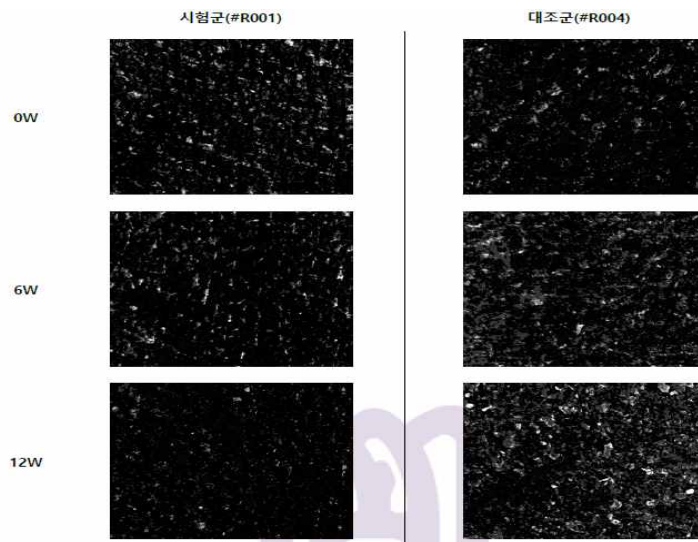
- 제품 복용 전과 비교 시 복용 12주 후 시점에 시험군의 뺨 및 전박 부위에서 피부 각질량이 유의하게 감소하였고($p < 0.05$), 대조군은 뺨 부위에서 유의하게 증가함($p < 0.05$). 군간 비교 시 제품 12주 복용 후 시점에서 뺨 및 전박 부위 피부 각질량이 대조군에 비해 시험군에서 유의하게 감소하였음($p < 0.05$)



<그림 78. 피부 각질량(뺨) 변화량>



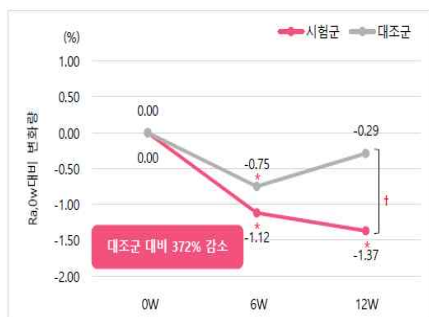
<그림 79. 피부 각질량(전박) 변화량>



<그림 80. 피부 각질량(전박) 변화 이미지>

⑨ 피부 거칠기 측정

- 제품 복용 전과 비교 시 복용 12주 후 시점에 시험군의 모든 거칠기 파라미터(R_a , R_{max} , R_z , R_p , R_v)가 유의하게 감소하였음($p < 0.05$). 군간 비교 시 제품 12주 복용 후 시점에서 모든 거칠기 파라미터(R_a , R_{max} , R_z , R_p , R_v)이 대조군에 비해 시험군에서 유의하게 감소하였음($p < 0.05$)



<그림 81. 산술 평균 거칠기(R_a) 변화량>



<그림 82. 최대 높이(R_{max}) 변화량>



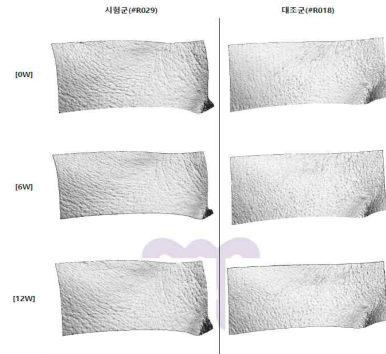
<그림83. 10점 평균 거칠기(Rz) 변화량>



<그림84. 최대 단면 산 높이(Rp) 변화량>



<그림85. 최대 단면 골 깊이(Rv) 변화량>



<그림86. 피부 거칠기 변화 이미지>

<장미꽃잎추출물의 차별성 확보>

- 독보적인 인체적용시험 마커 확보를 통한 기존 피부 건강 제품과의 차별성 확보

• 피부 건강 기인성 원료와 비교 진행

- 본 연구개발을 통해 확보된 장미꽃잎추출물은 피부 건강 기인성 원료와의 차별성 확보를 위해 인체적용시험 프로토콜 설계 시부터 진피 치밀도(Density), 피부색(색소 침착, 비 색소 침착 부위 밝기), 피부 리프팅(처짐) 등의 유효성 마커를 추가하여 연구개발을 진행하였으며, 해당 마커에서 유의적인 결과를 확보하였음
- 장미꽃잎추출물과 피부 건강 기인성 원료 3종 비교 결과, 장미꽃잎추출물은 기존 원료 대비 낮은 섭취량(300mg)으로 피부 건강 최다 지표(21개) 개선이 확인되었음. 특히 진피 치밀도, 피부색 밝기, 피부 리프팅(처짐) 개선과 같은 독보적인 마커를 확보를 통해 기존 원료와는 차별화된 마케팅 소구점 확보하였으며, 해당 연구 결과를 활용하여 국내외 마케팅 자료로 활용할 계획임




	장미꽃잎추출물(NOVAROSE®) (신청 원료)	저분자피쉬콜라겐펩타이드 (제2023-33호)	수국인엽수추출물 (리세린지®) (제2020-7호)	석류 농축액 (제2014-22호)	
일일섭취량	300 mg	2,000 mg	300-600 mg	13.3 g	
섭취기간	12주	8주	12주	8주, 12주	
주요 인체 시험 결과	피부수름	• 눈가 주름 육안평가 (6, 12주) • 눈가 주름 파라미터 (Ra, Rmax, Rz, Rp, 12주)	• 좌우측 눈꼬리 부위 평균 거칠기 (4주) • 좌우측 평균 눈꼬리 부위 평균 거칠기 (4주) • 좌측 눈꼬리 부위 최대 단면 산높이 (4주) • 좌우측 눈꼬리 부위 평균 거칠기 (4주) • 눈 주름 볼륨 (4주)	• 피부 주름 파라미터(R1, R2, R3, R4, R5, 8, 12주)	• 눈가 주름 (12주)
	피부탄력	• 피부 탄력 파라미터 (R2, R5, R7, 12주)	• 좌우측 피부 탄력 파라미터(R2, 4주) • 좌우측 피부 탄력 파라미터(R5, R7, 8주)	• 좌측 및 피부 탄력 파라미터 (R2, 12주) • 우측 및 피부 탄력 파라미터 (R2, R5, R7, 12주)	• 피부 탄력 (4, 8, 12주)
	피부수분량	• 뱀, 전박 수분량 (12주)	• 이마, 전박, 뺨, 눈 및 수분량 (4주)	• 우측 뺨 수분량 (12주)	• 안면 수분량 (8주)
	경피수분손실량	• 뺨, 전박 경피수분손실량 (12주)	-	-	• 전박 경피수분손실량 (4, 8주)
	피부 거칠기	• 피부 거칠기 파라미터 (Ra, Rmax, Rz, Rp, Rv, 12주)	-	• 좌우측 및 피부 거칠기 (4, 8, 12주)	-
	피부 각질량	• 뺨, 전박 각질량 (6, 12주)	-	-	• 피부각질량 (4, 8주)
	기타	• 진피 치밀도 (6, 12주) • 피부색 육안 평가 (12주) • 색소/비색소 부위 밝기 (12주) • 피부 리프팅(피부차짐) (12주)	• 미백 파라미터 좌우측 미백 알려진 지수 변화, 좌우측 미백 흡인 지수(4주)	• 피부 질감 (4, 8, 12주)	• 진피 치밀도 (8, 12주) • 피부 리프팅 (4, 8, 12주) • 피부색 밝기 (4, 8, 12주)
총 지표	21개	10개	12개	8개	
특장점	❖ 낮은 섭취량(300mg) ❖ 경피수분손실량 및 각질량 개선 ❖ 피부 차짐 및 진피 치밀도 개선 ❖ 색소/비색소 부위 밝기 개선 ❖ 최대 지표 개선 (21개)	❖ 콜라겐 중 최대 지표 개선 ❖ 피부 미백 개선	❖ 낮은 섭취량(300-600 mg) ❖ 피부질감 개선 ❖ 3중 기능성(제자랑, 피부보호, 보습)	❖ 경피수분손실량 및 각질량 개선 ❖ 피부차짐, 진피치밀도 및 미백 개선 ❖ 3중 기능성 (경년기여성, 피부보호, 보습)	

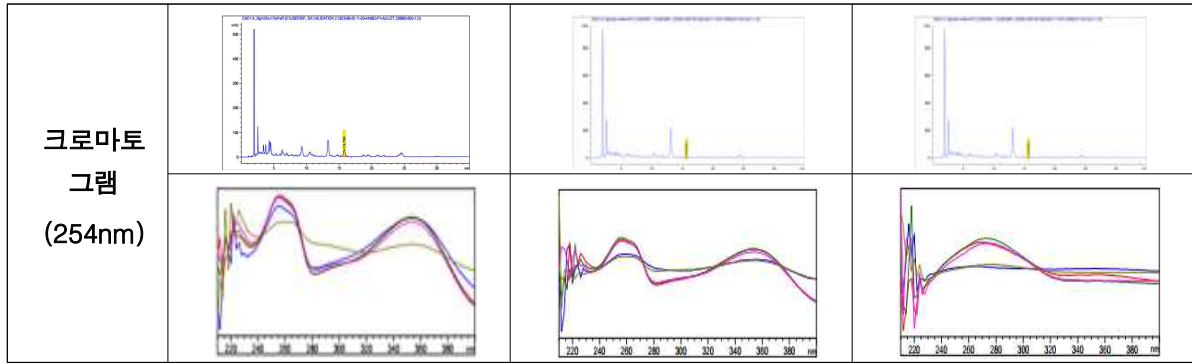
<장미꽃잎추출물의 원산지별 표준화 Data 확보>

- 국내산 장미 2종과 원재료 비교를 통한 표준화 Data 확보 완료

• 국내산 장미 2종과 원재료 비교 진행

- 국내에서 주로 재배되어 유통되고 있는 장미(*Rosa hybrida*)중에서 ‘울포러브’와 ‘푸에고’ 두 가지 품종의 장미와 단가, 추출 수율, 색상, 지표성분 함량 등의 이화학적 비교 실험을 통하여 표준화 data를 확보하였음
- 국내산 장미(*Rosa hybrida*) 품종인 ‘울포러브’와 ‘푸에고’의 경우, 낮은 수율 대비 높은 단가로 인하여 개별인정형 건강기능식품 원료로 활용에는 경제성이 다소 낮다고 사료되며, 확보된 이화학적 비교 실험 프로토콜은 국내산 장미 비교 분석에 적용하여 추후 원재료의 국산화 검토에 활용할 예정임

구분	장미	울포러브	푸에고
학명	<i>Rosa chinensis</i> jacq.	<i>Rosa hybrida</i>	<i>Rosa hybrida</i>
사진			
단가	19,000원/kg (건화)	34,000원/kg (생화)	60,000원/kg (생화)
추출 수율	48%	24%	27.8%
성상	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 탁한 적자색 분말	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 어두운 갈색 분말	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 적자색 분말
지표성분 함량	7.59 mg/g	3.09 mg/g	0.61 mg/g



<장미꽃잎추출물의 식약처 개별인정 신청>

- 유전자 분석을 통한 명확한 학명 확인 완료
- 개별인정 기능성 원료 신청을 위한 자료 구비 및 식약처 제출 완료

• 유전자 분석을 통한 명확한 학명 확인

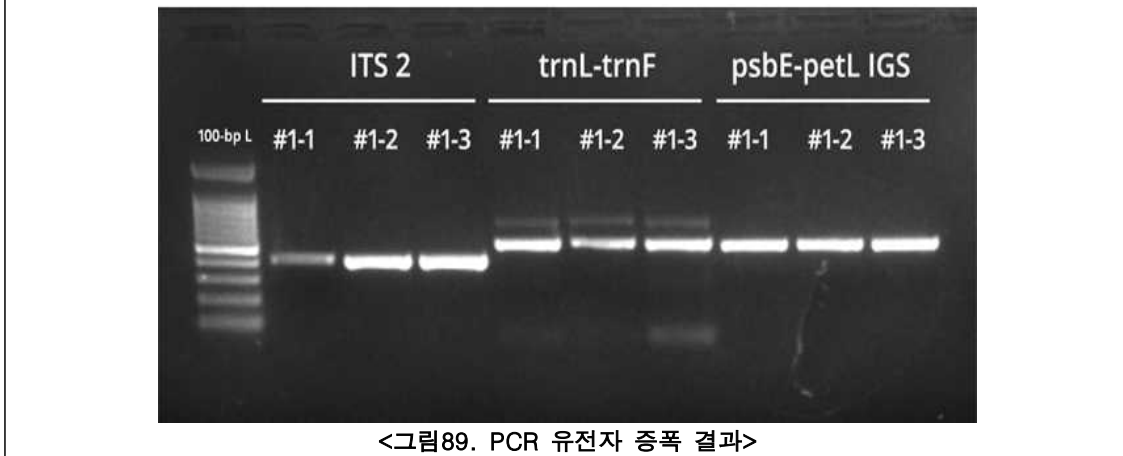
- 식약처에서는 2015년 ‘가짜 백수오 파동’ 이후 개별인정 신청 원료의 명확한 원재료 구분을 위하여 염기서열 등 유전자 분석을 통한 자료 제출을 요구하고 있음
- 장미꽃잎추출물의 원재료 장미는 전 세계 약 90속 2,500여종이 분포하고 있으며 수백 년 동안 다양한 종이 교배되어 많은 종류의 교잡 장미가 유통되고 있음. 따라서 육안으로는 유사한 색상과 꽃 모양을 가지고 있는 다른 장미와 명확한 구별에 어려움이 있으므로 유전학적 분석을 실시함
- 해당 기술은 한국식품연구원에서 기술이전 받은 기술로 유전학적 분석은 한국식품연구원에서 제공받은 시료와 자사에서 확보한 시료로 진행(2022.05.10.)하였으며, 원재료의 종별 특이성을 나타내는 핵 속의 ITS DNA와 엽록체의 trnL-trnF DNA, psbE-petL DNA를 증폭하여 염기서열을 분석하였음
- 염기서열은 유전자은행의 OL454778.1번 *Rosa chinensis*와 99.62% 일치, 엽록체의 trnL-trnF DNA(MH332770.1번) 및 psbE-petL DNA(PDCK01000046.1번) 또한 *Rosa chinensis*와 100% 일치하는 것을 확인하였으며, **최종적으로 2건 모두 ‘*Rosa chinensis*’ 학명의 장미로 최종 판정되었음**
- **최종적으로 장미꽃잎추출물은 ‘*Rosa gallica*’가 아닌 ‘*Rosa chinensis*’ 로 기술사업화지원사업 연구수행 및 식약처 개별인정원료 신청을 진행**하였으며, 해당 기술은 한국식품연구원에서 기술이전 받은 기술로 한국식품연구원을 통해 ‘기술이전 특허 기술의 권리 보호’에 대한 권리 범위를 확보(2022.10.04.)완료하였음

시료 A(1, 2, 3)의 BlastN 검색결과							
BlastN	Description	Scientific name	Max score	Total score	Query cover	E value	% identity
ITS	Rosa lucidissima isolate rh21 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Rosa lucidissima	508	508	100%	1E-139	98.59%
	Rosa chinensis var. spontanea isolate rh19 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Rosa chinensis var. spontanea	508	508	100%	1E-139	98.59%
	Rosa chinensis var. spontanea isolate rh18 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Rosa chinensis var. spontanea	508	508	100%	1E-139	98.59%
	Rosa chinensis var. spontanea isolate rh15 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Rosa chinensis var. spontanea	508	508	100%	1E-139	98.59%
	Rosa chinensis var. spontanea isolate rh12 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Rosa chinensis var. spontanea	508	508	100%	1E-139	98.59%
trnL-trnF	Rosa rugosa chloroplast, complete genome	Rosa rugosa	881	881	100%	0	100%
	Rosa luciae cultivar NG plastid, complete genome	Rosa luciae	881	881	100%	0	100%
	Rosa luciae cultivar Basye's Thornless plastid, complete genome	Rosa luciae	881	881	100%	0	100%
	Rosa lucidissima chloroplast, complete genome	Rosa lucidissima	881	881	100%	0	100%
	Rosa chinensis cultivar Old Blush chloroplast, complete genome	Rosa chinensis	881	881	100%	0	100%
psbE-petL	Rosa chinensis cultivar Old Blush chloroplast, complete genome	Rosa chinensis	857	857	100%	0	100%
	Rosa chinensis var. spontanea chloroplast, complete genome	Rosa chinensis var. spontanea	857	857	100%	0	100%
	Rosa chinensis var. spontanea chloroplast, complete genome	Rosa chinensis var. spontanea	857	857	100%	0	100%
	Rosa hybrid cultivar Bajie Meigui voucher exsiccated chloroplast, complete genome	Rosa hybrid cultivar	857	857	100%	0	100%
	Rosa rugosa chloroplast, complete genome	Rosa rugosa	852	852	100%	0	99.78%

<그림87. 한국식품연구원 제공 장미 분석 결과>

시료 B(1, 2, 3)의 BlastN 검색결과							
BlastN	Description	Scientific name	Max score	Total score	Query cover	E value	% identity
ITS	Rosa lucidissima isolate rh21 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Rosa lucidissima	520	520	100%	5E-143	99.65%
	Rosa chinensis var. spontanea isolate rh19 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Rosa chinensis var. spontanea	520	520	100%	5E-143	99.65%
	Rosa chinensis var. spontanea isolate rh15 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Rosa chinensis var. spontanea	520	520	100%	5E-143	99.65%
	Rosa chinensis var. spontanea isolate rh12 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Rosa chinensis var. spontanea	520	520	100%	5E-143	99.65%
	Rosa hybrid cultivar Zuiangrong 16S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	Rosa hybrid cultivar	520	520	100%	5E-143	100%
trnL-trnF	Rosa rugosa chloroplast, complete genome	Rosa rugosa	881	881	100%	0	100%
	Rosa luciae cultivar NG plastid, complete genome	Rosa luciae	881	881	100%	0	100%
	Rosa luciae cultivar Basye's Thornless plastid, complete genome	Rosa luciae	881	881	100%	0	100%
	Rosa lucidissima chloroplast, complete genome	Rosa lucidissima	881	881	100%	0	100%
	Rosa chinensis cultivar Old Blush chloroplast, complete genome	Rosa chinensis	881	881	100%	0	100%
psbE-petL	Rosa chinensis cultivar Old Blush chloroplast, complete genome	Rosa chinensis	857	857	100%	0	100%
	Rosa chinensis var. spontanea chloroplast, complete genome	Rosa chinensis var. spontanea	857	857	100%	0	100%
	Rosa chinensis var. spontanea chloroplast, complete genome	Rosa chinensis var. spontanea	857	857	100%	0	100%
	Rosa hybrid cultivar Bajie Meigui voucher exsiccated chloroplast, complete genome	Rosa hybrid cultivar	857	857	100%	0	100%
	Rosa rugosa chloroplast, complete genome	Rosa rugosa	852	852	100%	0	99.78%

<그림88. 자사 확보 장미 분석 결과>



<그림89. PCR 유전자 증폭 결과>

DNA	유전자은행 번호	동정 된 학명	염기서열 유사도
ITS	OL454778.1	<i>Rosa chinensis</i>	481/481 (99.62%)
trnL-trnF	MH332770.1		881/881 (100%)
psbE-petL	PDCK01000046.1		761/761 (100%)

• 개별인정 기능성 원료 신청을 위한 자료 구비 및 식약처 제출

- 장미꽃잎추출물은 연구개발을 통해 부족했던 표준화, 섭취안전성, 전임상 및 인체적용시험 기능성 입증, 작용기전 규명을 완료하였으며, ‘피부 건강 개선용 복합기능성 건강기능식품 개별인정형 기능성 원료 개발’의 기술 완성에 필요한 자료를 모두 확보함. 최종적으로 확보된 자료는 2023년 12월 26일 식약처 영양기능연구과에 신청 자료 제출 및 기능성 요건 검토 신청을 완료함

개별인정형 원료 개발 요구사항		장미꽃잎추출물 개발시 필요사항	
요구항목	요구수준	현재 기술개발 달성 수준	기술 완성을 위한 요구사항
제조방법	제조사 발행 자료	완료	대량생산 공정 확립 후 3 LOT 대량생산 완료
지표(기능)성분	1종 선정	완료	안정성 높은 지표물질 선정 완료 (Isoquercitrin)
지표(기능)성분 분석법	자기/공인분석법	완료	최적 분석법 개발 완료

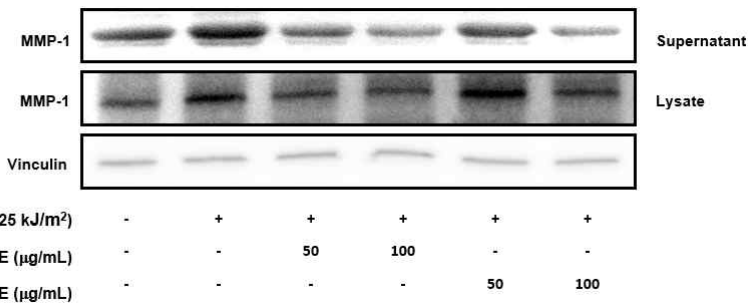
지표(기능)성분 분석법 밸리데이션	밸리데이션 자료	완료	식약처 기준 밸리데이션 자료 확보 완료
유해성분규격	기준치 이하/불검출	완료	국내 공인기관 분석 결과 확보
안전성	안전성	완료	섭취근거 자료 확보
세포 기능성 자료	1건 이상	완료	기능성 자료 확보
동물 기능성 자료	1건 이상	완료	기능성 자료 확보
작용기전	과학적 근거자료	완료	작용기전 규명 완료
인체 기능성 자료	1건 이상	완료	인체적용시험 기능성 입증 완료

<장미꽃잎추출물의 자외선에 의한 주름형성억제 효능 평가>

- 인체피부표피세포(HaCaT)에서 콜라겐 분해효소 억제 효능 확보
- 인체피부표피세포(HaCaT)에서 주름형성 작용 기전 규명 완료
- 인체피부표피세포(HaCaT)에서 피부 염증 관련 Cytokine 전사 수준 측정 완료
- 인체피부섬유아세포(HDFs)에서 콜라겐 분해효소 발현 억제 효능 확보
- 인체피부섬유아세포(HDFs)에서 콜라겐 전구체 측정 완료
- 인체피부섬유아세포(HDFs)에서 주름형성 작용 기전 규명 완료

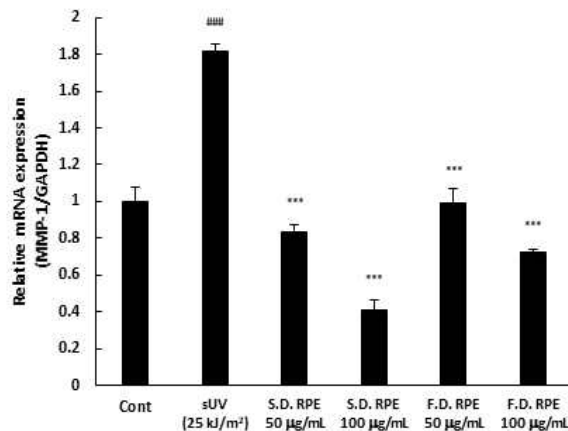
• 인체피부표피세포(HaCaT)에서 콜라겐 분해효소(Matrix metalloproteinase-1, MMP-1) 억제효능 확인

세포주	인체유래 피부표피세포 (Human keratinocyte, HaCaT)
측정시료	분무 건조 장미꽃잎 추출물(S.D. RPE), 동결건조 장미꽃잎추출물(F.D., RPE)
실험방법	<ol style="list-style-type: none"> 60 mm cell culture dish에서 인체피부표피세포(HaCaT)를 3×10^5 cells/dish seeding 24 시간 배양 이후 Serum free 배지로 교체 24 시간 배양 이후 분무건조 및 동결건조 장미꽃잎 추출물을 각 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 1시간 처리 태양광자외선(Solar ultraviolet, sUV) 25 kJ/m^2 처리 24 시간 배양 이후 단백질 추출을 이용한 Western blot 및 RNA추출을 이용한 qPCR 진행



<그림90. 인체피부표피세포 (HaCaT)내의 콜라겐 분해효소(MMP-1) 단백질의 발현량 측정>

- 태양광자외선(Solar ultraviolet, sUV) 처리시 콜라겐 분해효소(MMP-1)의 단백질 발현증가를 장미꽃잎추출물이 억제



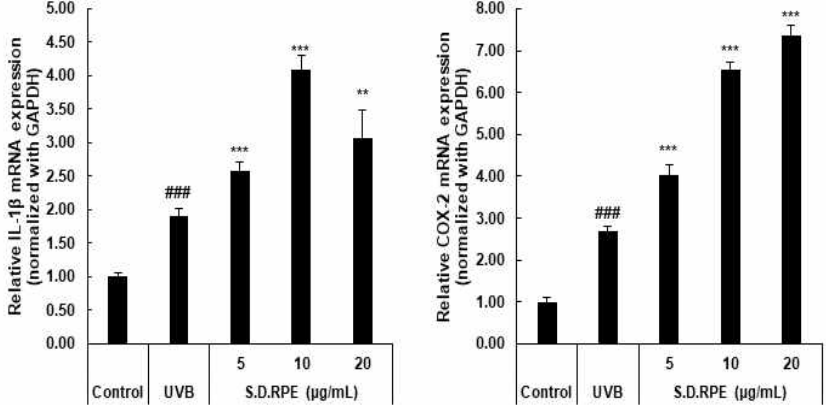
<그림91. 인체피부표피세포(HaCaT) 내의 콜라겐 분해효소(MMP-1) mRNA 발현량 측정>

	<ul style="list-style-type: none"> 태양광자외선(Solar ultraviolet, sUV) 처리시 콜라겐 분해효소(MMP-1)의 mRNA 발현 증가를 동결건조 장미꽃잎추출물(F.D. RPE)보다 분무건조 장미꽃잎추출물(S.D. RPE)이 더 감소시킨 것을 확인
--	---

• 인체피부표피세포(HaCaT)에서 주름형성 기전연구 (MAPK 신호경로)

세포주	인체유래 피부표피세포 (Human keratinocyte, HaCaT)
측정시료	분무 건조 장미꽃잎 추출물(S.D. RPE)
실험방법	<ol style="list-style-type: none"> 60 mm cell culture dish에서 인체피부표피세포(HaCaT)를 3×10^5 cells/dish seeding 24 시간 배양 이후 Serum free 배지로 교체 24 시간 배양 이후 분무건조 장미꽃잎 추출물(S.D. RPE)을 각 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 1시간 처리 태양광자외선(Solar ultraviolet, sUV) $25 \text{ kJ}/\text{m}^2$ 처리 24 시간 배양 이후 단백질 추출을 이용한 Western blot 진행
실험결과	<p style="text-align: center;"><그림94. 인체피부표피세포 (HaCaT)내의 MAPK 신호경로 측정></p> <ul style="list-style-type: none"> 태양광자외선(Solar ultraviolet, sUV) 처리시 분무건조 장미꽃잎추출물은 MAPK 신호경로에서 MEK1/2-ERK 경로를 억제하는 것을 확인 <p style="text-align: center;"><그림95. 인체피부표피세포 (HaCaT)내의 c-Jun 측정></p> <ul style="list-style-type: none"> 태양광자외선(Solar ultraviolet, sUV) 처리시 분무건조 장미꽃잎추출물시 c-Jun의 활성을 억제하지 않음

• 인체유래 피부표피세포주 (HaCaT)에서 피부염증 관련 cytokine 전사수준 확인

세포주	인체유래 피부표피세포주 (Human keratinocyte, HaCaT)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 60 mm cell culture dish에서 인체피부표피세포 (HaCaT)를 3×10^5 cells/dish seeding • 24시간 배양 이후 serum free 배지로 교체 • 24시간 배양 이후 분무건조 장미꽃잎추출물을 각 5, 10, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 1시간 처리 • 자외선(UVB) $0.025 \text{ J}/\text{cm}^2$ 처리 • 12시간 배양 이후 RNA를 추출하여 quantitative real-time PCR 진행
실험결과	 <p><그림96. 인체 피부 표피세포주에서 염증성 마커의 mRNA 수준 확인 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> • 자외선 조사에 장기적으로 노출된 피부는 염증성 cytokine의 과다 분비로 인해 여드름, 모낭염, 피부염 등이 발생함 • 분무건조 장미꽃잎추출물은 인체 피부 표피세포주에서 자외선 조사에 의한 염증성 cytokine 분비 억제 효능이 확인되지 않았음. • 하지만, 세포시험에서 자외선 유도성 염증 완화에 대한 분무건조 장미꽃잎추출물의 효과를 확인하기에는 한계점이 있음. 따라서, 자외선 조사에 의해 발생하는 염증성 cytokine의 분비에 대한 분무건조 장미꽃잎추출물의 효과를 추후 동물 시험을 통해 확인할 필요성이 제기되었음

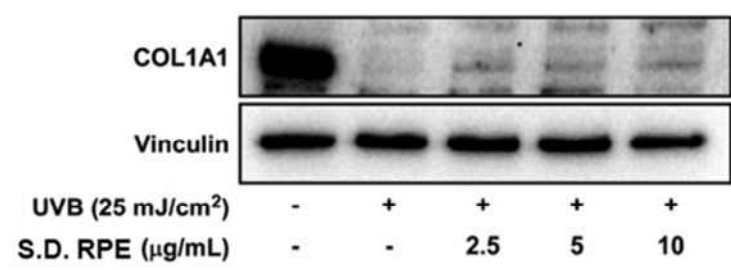
• 인체피부섬유아세포(Human Dermal Fibroblasts, HDFs)에서 콜라겐 및 콜라겐 전구체 측정

세포주	인체피부섬유아세포 (Human Dermal Fibroblasts, HDFs)
측정시료	분무 건조 장미꽃잎 추출물(S.D. RPE)
실험방법	<ol style="list-style-type: none"> 60 mm cell culture dish에서 인체피부섬유아세포(HDFs)를 3×10^5 cells/dish seeding 24 시간 배양 이후 분무건조장미꽃잎 추출물을 각 25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 1시간 처리 태양광자외선(Solar ultraviolet, sUV) 25 kJ/m^2 처리 24 시간 배양 이후 단백질 추출을 이용한 Western blot 진행
실험결과	<p style="text-align: center;"><그림92. 인체피부섬유아세포(HDFs)내의 콜라겐 및 콜라겐 전구체 확인></p> <ul style="list-style-type: none"> 태양광자외선(Solar ultraviolet, sUV) 처리시 감소한 콜라겐 및 콜라겐 전구체 단백질을 분무건조 장미꽃잎추출물(S.D. RPE)이 회복시키는 것을 확인

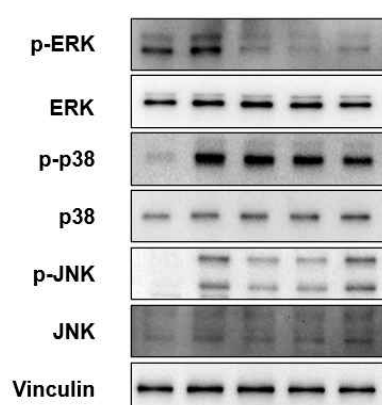
• 인체피부섬유아세포(Human Dermal Fibroblasts, HDFs)에서 콜라겐 분해효소(Matrix metalloproteinase-1, MMP-1) 억제효능 확인

세포주	인체유래 피부섬유아세포 (Human dermal fibroblasts, HDFs)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물(S.D. RPE)
실험방법	<ol style="list-style-type: none"> 60 mm cell culture dish에서 인체피부섬유아세포(HDF)를 3×10^5 cells/dish seeding 24시간 배양 이후 Serum free 배지로 교체 24시간 배양 이후 분무건조 장미꽃잎 추출물을 각 2.5, 5, 10 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 1시간 처리 자외선(Ultraviolet B, UVB) 25 mJ/cm^2 처리 24 시간 배양 이후 단백질 추출을 이용한 Western blot 진행
실험결과	<p style="text-align: center;"><그림93. 인체피부표피세포(HaCaT) 내의 콜라겐 분해효소(MMP-1) mRNA 발현량 측정></p> <ul style="list-style-type: none"> 자외선B(Ultraviolet B, UVB) 처리시 콜라겐 분해효소(MMP-1)의 증가된 단백질 발현을 장미꽃잎추출물이 억제

• 인체피부섬유아세포(Human Dermal Fibroblasts, HDFs)에서 콜라겐 전구체 측정

세포주	인체피부섬유아세포 (Human Dermal Fibroblasts, HDFs)
측정시료	분무건조 장미꽃잎 추출물(S.D.RPE)
실험방법	<ol style="list-style-type: none"> 60 mm cell culture dish에서 인체피부섬유아세포(HDFs)를 3×10^5 cells/dish seeding 24 시간 배양 이후 분무건조 장미꽃잎 추출물을 각 2.5, 5, 10 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 1시간 처리 자외선(Ultraviolet B, UVB) 25 mJ/cm^2 처리 24 시간 배양 이후 단백질 추출을 이용한 Western blot 진행
실험결과	 <p>UVB (25 mJ/cm^2) - + + + + S.D. RPE ($\mu\text{g/mL}$) - - 2.5 5 10</p> <p><인체피부섬유아세포(HDFs)내의 콜라겐 전구체 확인></p> <ul style="list-style-type: none"> 자외선B(Ultraviolet B, UVB) 처리시 감소한 콜라겐 및 콜라겐 전구체 단백질을 분무건조 장미꽃잎추출물이 회복시키는 것을 확인

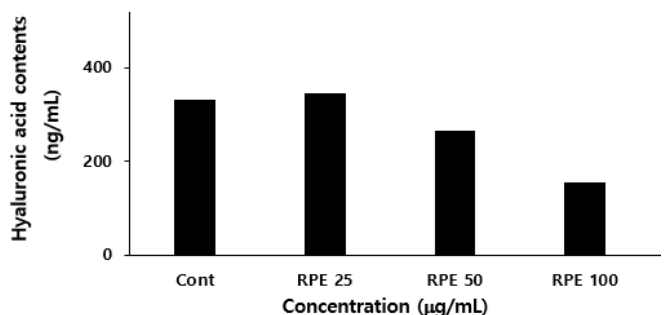
• 인체피부섬유아세포(Human Dermal Fibroblasts, HDFs)에서 주름형성 기전연구 (MAPK 신호경로)

세포주	인체피부섬유아세포 (Human Dermal Fibroblasts, HDFs)
측정시료	분무건조 장미꽃잎 추출물(S.D.RPE)
실험방법	<ol style="list-style-type: none"> 60 mm cell culture dish에서 인체피부섬유아세포(HDFs)를 3×10^5 cells/dish seeding 24 시간 배양 이후 분무건조 장미꽃잎 추출물을 각 2.5, 5, 10 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 1시간 처리 자외선B(Ultraviolet B, UVB) 25 mJ/cm^2 처리 3 시간 배양 이후 단백질 추출을 이용한 Western blot 진행
실험결과	 <p>UVB (25 mJ/cm^2) - + + + + S.D. RPE ($\mu\text{g/mL}$) - - 2.5 5 10</p> <p><인체피부섬유아세포 (HDFs)내의 MAPK 신호경로 측정></p> <ul style="list-style-type: none"> 자외선B(Ultraviolet B, UVB) 처리시 분무건조 장미꽃잎추출물은 MAPK 신호경로에서 ERK 경로를 억제하는 것을 확인

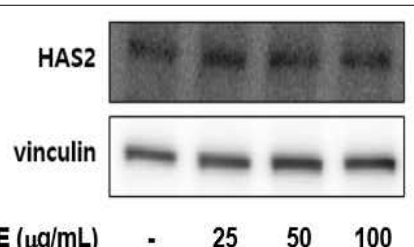
<장미꽃잎추출물의 보습기능개선 효능 평가>

- 인체피부표피세포(HaCaT)에서 히알루론산(HA) 측정 완료
- 인체피부표피세포(HaCaT)에서 히알루론산 합성효소(HAS) 측정 완료
- 장미꽃잎추출물의 엘라스틴 분해효소, 히알루론산 및 콜라겐 분해효소 억제 효능 평가
- 인체피부섬유아세포(HDFs)에서 탄력마커(LCB1, DEGS1) 측정 완료
- 인체피부섬유아세포(HDFs)에서 엘라스틴 측정 완료
- 인체피부섬유아세포(HDFs)에서 보습 관련 마커(HAS2) 측정 완료

• 인체피부표피세포(HaCaT)에서 히알루론산(Hyaluronic acid, HA) 측정

세포주	인체유래 피부표피세포 (Human keratinocyte, HaCaT)
측정시료	분무 건조 장미꽃잎 추출물(S.D. RPE)
실험방법	<ol style="list-style-type: none"> 60 mm cell culture dish에서 인체피부표피세포(HaCaT)를 3×10^5 cells/dish seeding 24 시간 배양 이후 Serum free 배지로 교체 24 시간 배양 이후 분무건조 장미꽃잎 추출물(S.D. RPE)을 각 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 1시간 처리 24 시간 배양 이후 Supernatant를 이용하여 Hyaluronic acid ELISA 진행
실험결과	 <p><그림97. 인체피부표피세포 (HaCaT)내의 히알루론산(Hyaluronic acid, HA) 측정></p> <ul style="list-style-type: none"> 분무건조 장미꽃잎추출물은 히알루론산(Hyaluronic acid, HA)의 함량에 영향을 주지 않음

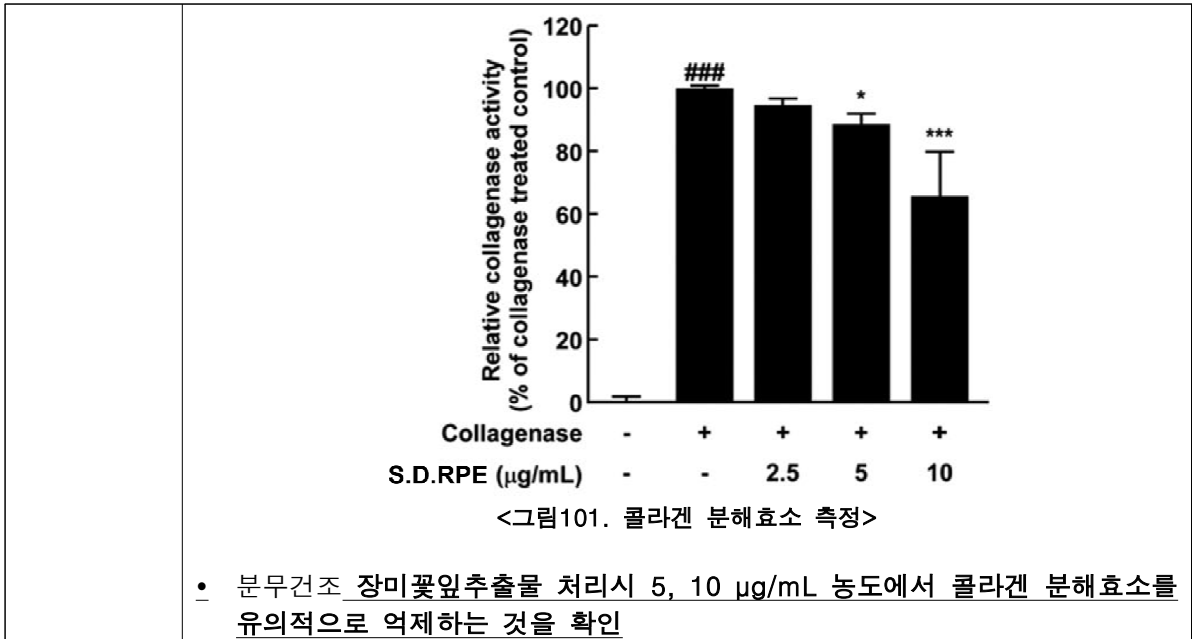
• 인체피부표피세포(HaCaT)에서 히알루론산 합성효소(Hyaluronic acid synthase, HAS) 측정

세포주	인체유래 피부표피세포 (Human keratinocyte, HaCaT)
측정시료	분무 건조 장미꽃잎 추출물(S.D. RPE)
실험방법	<ol style="list-style-type: none"> 60 mm cell culture dish에서 인체피부표피세포(HaCaT)를 3×10^5 cells/dish seeding 24 시간 배양 이후 Serum free 배지로 교체 24 시간 배양 이후 분무건조 장미꽃잎 추출물(S.D. RPE)을 각 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 1시간 처리 24 시간 배양 이후 단백질 추출을 이용한 Western blot 진행
실험결과	 <p><그림98. 인체피부표피세포 (HaCaT)내의 히알루론산 합성효소(HAS) 측정></p>

	<ul style="list-style-type: none"> 분무건조 장미꽃잎 추출물은 히알루론산 합성효소(HAS) 단백질 발현에 영향을 주지 않음
--	--

• 분무건조 장미꽃잎 추출물의 엘라스틴 분해효소 및 콜라겐 분해효소 억제 효능 평가

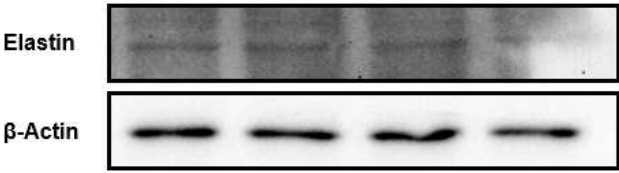
측정시료	분무 건조 장미꽃잎 추출물(S.D. RPE)
실험방법	① Elastase assay kit: EnzChek E-12056 사용 ② MMP-1 Inhibitor Assay Kit: abcam_ab118973 사용
실험결과	<p style="text-align: center;"><그림99. 엘라스틴 분해효소 측정></p> <ul style="list-style-type: none"> 분무건조 장미꽃잎추출물 처리시 200, 400 µg/mL 농도에서 엘라스틴 분해효소를 유의적으로 억제하는 것을 확인
	<p style="text-align: center;"><그림100. 히알루론산 분해효소 측정></p> <ul style="list-style-type: none"> 분무건조 장미꽃잎추출물 처리시 2.5, 5, 10 µg/mL 농도에서 히알루론산 분해효소를 유의적으로 억제하는 것을 확인



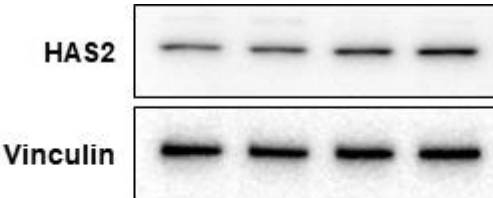
• 인체피부섬유아세포(Human Dermal Fibroblasts, HDFs)에서 탄력마커(LCB1, DEGS1) 측정

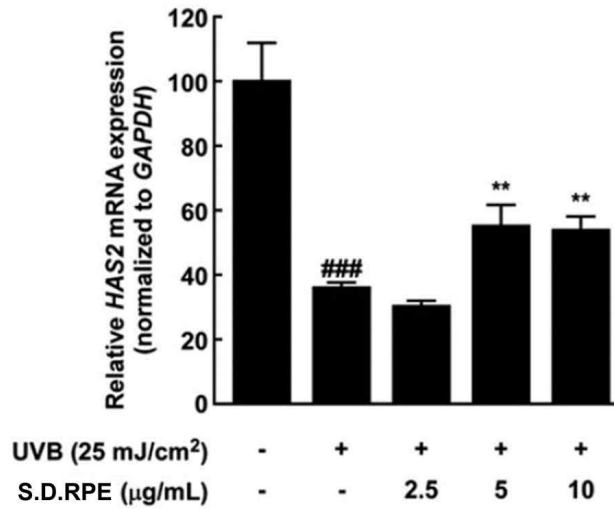
세포주	인체피부섬유아세포 (Human Dermal Fibroblasts, HDFs)
측정시료	분무 건조 장미꽃잎 추출물(S.D. RPE)
실험방법	<ol style="list-style-type: none"> 60 mm cell culture dish에서 인체피부섬유아세포(HDFs)를 3×10^5 cells/dish seeding 24 시간 배양 이후 분무건조장미꽃잎 추출물을 각 25, 50, 100 µg/mL 농도로 1시간 처리 태양광자외선(Solar ultraviolet, sUV) 25 kJ/m² 처리 24 시간 배양 이후 RNA를 추출을 이용한 qPCR 진행
실험결과	<p><그림102. 분무건조 장미꽃잎추출물 처리시 탄력마커의 증감 측정></p> <ul style="list-style-type: none"> 태양광자외선(Solar ultraviolet, sUV) 및 분무건조 장미꽃잎 추출물 처리시 각 탄력 마커는 유의적으로 증감하지 않음

• 인체피부섬유아세포(Human Dermal Fibroblasts, HDFs)에서 엘라스틴 측정

세포주	인체 피부섬유아세포 (Human Dermal Fibroblasts, HDFs)										
측정시료	분무 건조 장미꽃잎 추출물(S.D. RPE)										
실험방법	<ol style="list-style-type: none"> 60 mm cell culture dish에서 인체피부섬유아세포(HDFs)를 3×10^5 cells/dish seeding 24 시간 배양 이후 분무건조장미꽃잎 추출물을 각 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 1시간 처리 태양광자외선(Solar ultraviolet, sUV) 25 kJ/m^2 처리 24 시간 배양 이후 단백질 추출을 이용한 Western blot 진행 										
실험결과	 <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td>sUV (25 kJ/m^2)</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>S.D. RPE ($\mu\text{g}/\text{mL}$)</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>50</td> <td>100</td> </tr> </table> <p style="text-align: center;"><그림103. 인체피부섬유아세포(HDFs)내의 엘라스틴 단백질 발현량 측정></p> <ul style="list-style-type: none"> 태양광자외선(Solar ultraviolet, sUV) 및 분무건조 장미꽃잎추출물 처리시 엘라스틴 단백질 발현량의 차이는 나타나지 않음 	sUV (25 kJ/m^2)	-	+	+	+	S.D. RPE ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	-	-	50	100
sUV (25 kJ/m^2)	-	+	+	+							
S.D. RPE ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	-	-	50	100							

• 인체유래 피부섬유아세포 (HDFs)에서 보습 관련 HAS2 발현 확인

세포주	인체유래 피부섬유아세포 (Human fibroblast, HDFa)										
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D.RPE)										
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> 60 mm cell culture dish에서 인체피부진피세포 (HDFa)를 3×10^5 cells/dish seeding 24시간 배양 이후 serum free 배지로 교체 24시간 배양 이후 분무건조 장미꽃잎추출물을 각 5, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 1시간 처리 자외선(UVB) 0.025 J/cm^2 처리 24시간 배양 이후 단백질 및 RNA를 추출하여 Western blot 및 Quantitative Real-Time PCR을 진행 										
실험결과	 <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td>UVB (0.025 J/cm^2)</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>S.D.RPE ($\mu\text{g}/\text{mL}$)</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>5</td> <td>10</td> </tr> </table> <p style="text-align: center;"><그림104. 인체 피부 섬유아세포에서 보습 관련 단백질 확인 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> 기존 결과에서 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사로부터 피부 보습 개선 효능을 나타내었음. 따라서, 이에 대한 분자 기전을 확인하고자 히알루론산합성효소의 발현을 확인하였음 	UVB (0.025 J/cm^2)	-	+	+	+	S.D.RPE ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	-	-	5	10
UVB (0.025 J/cm^2)	-	+	+	+							
S.D.RPE ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	-	-	5	10							



<그림105. 인체피부표피세포 (HaCaT)내의 히알루론산 합성효소(HAS) 측정>

- 분무건조 장미꽃잎추출물은 히알루론산 합성효소(HAS2) 전사 발현을 회복 효능 확인
- 그 결과, 분무건조 장미꽃잎추출물은 HAS2의 발현 증가를 통해 피부 보습 개선 효능을 나타내는 것으로 사료됨

<1차 마우스 섭취 모델에서 장미꽃잎추출물 피부 미용 효능 평가>

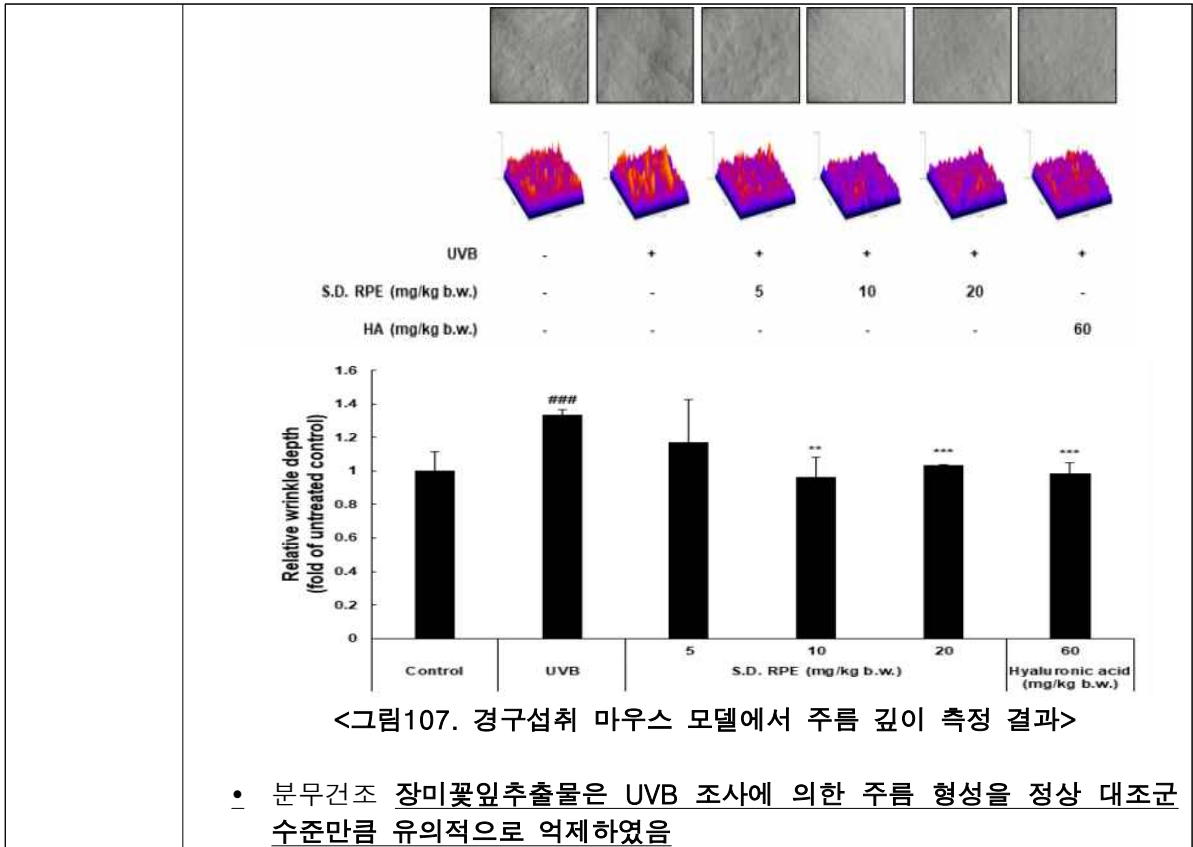
- SKH-1 Hairless 마우스 모델을 통한 자외선에 의한 피부 주름 억제효능 평가 완료
- SKH-1 Hairless 마우스 모델을 통한 피부 보습 효능 평가 완료
- SKH-1 Hairless 마우스 모델에서 장미꽃잎추출물의 섭취 안전성 평가 완료

• 마우스 섭취모델을 활용한 장미꽃잎추출물의 피부미용개선 효능 평가

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물(5, 10, 20 mg/kg) 히알루론산(양성대조군, 60 mg/kg)
실험방법	<p>① 시료는 투여 농도에 맞춰 최종 0.2 mL씩 경구투여를 수행</p> <p>② 자외선 조사는 주3회로 하되 1주차에는 1 MED (0.05 J/cm²), 2주차에는 2 MED (0.1 J/cm²), 3주차에는 3 MED (0.15 J/cm²), 4주차 이후로는 4 MED (0.2 J/cm²)로 진행. MED는 최소홍반량 (Minimum Erythema Dose) 로 피부 조사 이후 16~24시간 범위 내에 조사영역의 전 영역에 홍반을 나타낼 수 있는 최소한의 자외선 조사량을 의미함. 기존의 선행연구와 타연구 결과 해당 strain (SKH-1)의 마우스의 MED는 0.04~0.06 J/cm²로 해당 실험에서는 0.05 J/cm²로 수행</p> <p>③ 주 1회 food intake과 무게 측정</p> <p>④ 월(4주) 1회 skin hydration/TEWL/skin elasticity/skin roughness 등 측정</p>
실험결과	<p><그림106. 동물모델에서의 장미꽃잎추출물 섭취에 의한 무게 및 식이섭취량 변화></p> <ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물 투여에 의하여 무게변화나 식이섭취량 변화는 나타나지 않았으며 추가적인 피부미용개선 지표는 탐색 중에 있음

• SKH-1 hairless mouse의 피부 조직에서 주름형성 확인

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행함 • 분무건조 장미꽃잎추출물을 주 3 회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스 등 피부에서 silicone replica를 제작 후 Image J 프로그램을 통해 주름깊이를 정량함
실험결과	

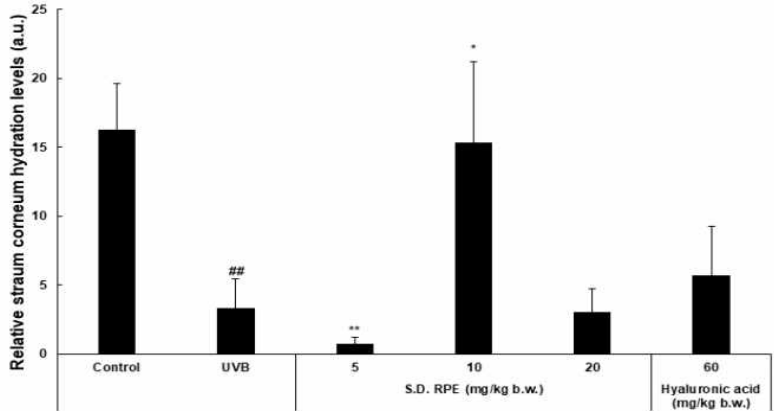


• SKH-1 hairless mouse의 피부 조직에서 탄력 확인

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)														
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)														
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 분무건조 장미꽃잎 추출물을 주 3회 경구투여함 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 12주차에 마우스 등 피부에서 SDM 장비를 활용하여 피부 탄력을 측정함 														
실험결과	<table border="1"> <caption>Relative elasticity levels</caption> <thead> <tr> <th>Condition</th> <th>Relative elasticity levels</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Control</td> <td>~8</td> </tr> <tr> <td>UVB</td> <td>~11 (*)</td> </tr> <tr> <td>S.D. RPE RL</td> <td>~18 (*)</td> </tr> <tr> <td>S.D. RPE RM</td> <td>~17</td> </tr> <tr> <td>S.D. RPE RH</td> <td>~25 (**)</td> </tr> <tr> <td>Hyaluronic acid 60</td> <td>~38 (***)</td> </tr> </tbody> </table> <p><그림108. 경구섭취 마우스 모델에서 피부 탄력성 측정 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> 분무건조 장미꽃잎추출물은 대조군에 비해 피부 탄력성을 유의적으로 증가시키는 것을 확인하였음 UVB 단독 조사군과 정상 대조군 간의 피부 탄력성 차이는 없었음 	Condition	Relative elasticity levels	Control	~8	UVB	~11 (*)	S.D. RPE RL	~18 (*)	S.D. RPE RM	~17	S.D. RPE RH	~25 (**)	Hyaluronic acid 60	~38 (***)
Condition	Relative elasticity levels														
Control	~8														
UVB	~11 (*)														
S.D. RPE RL	~18 (*)														
S.D. RPE RM	~17														
S.D. RPE RH	~25 (**)														
Hyaluronic acid 60	~38 (***)														

	<ul style="list-style-type: none"> 따라서, 상기 두 결과는 지속적인 <u>자외선 조사에 의한 피부 주름 형성 및 탄력 감소 현상에 대해 분무건조 장미꽃잎추출물 섭취가 효과적으로 억제함을 증명하였음</u>
--	--

• SKH-1 hairless mouse의 피부수분도 측정

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 분무건조 장미꽃잎 추출물을 주 3 회 경구투여함 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 12주차에 마우스 등 피부에서 GP Skin Barrier Light (GPower 社) 장비를 활용하여 피부수분도를 측정함
실험결과	 <p style="text-align: center;"><그림109. 경구섭취 마우스 모델에서 피부수분도 측정 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> 분무건조 장미꽃잎추출물은 10 mg/kg b.w. 농도 투여군에서 자외선 조사에 의해 감소되는 피부 각질층 내 수분도를 유의적으로 회복시켰음 피부의 최외각층인 각질층 (stratum corneum)에 대한 수분량은 피부장벽 기능과 생물학적 특성에 대한 피부건강함, 유연함, 부드러움 등과 연관됨 따라서, 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선에 의한 주름 형성 뿐 만 아니라 수분 손실에 대한 억제 효과가 있음을 확인하였음

• SKH-1 hairless mouse의 경피수분손실도 측정

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 • 분무건조 장미꽃잎추출물을 주 3회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스 등 피부에서 GP Skin Barrier Light (GPower 社) 장비를 활용하여 피부수분손실도 (TEWL)를 측정함
실험결과	<p style="text-align: center;"><그림110. 경구섭취 마우스 모델에서 경피수분손실도 측정 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사에 의한 경피수분손실도를 농도 의존적으로 억제하였음 • 특히, 분무건조 장미꽃잎추출물은 이너뷰티 소재로 각광받고 있는 히알루론산에 비해 자외선 조사에 의한 피부 수분손실 억제 효과가 높게 나타남으로써 피부 보습 개선 효능이 탁월한 것으로 사료됨

• SKH-1 hairless mouse의 피부 조직에서 주름형성관련 MMP-1 발현 확인

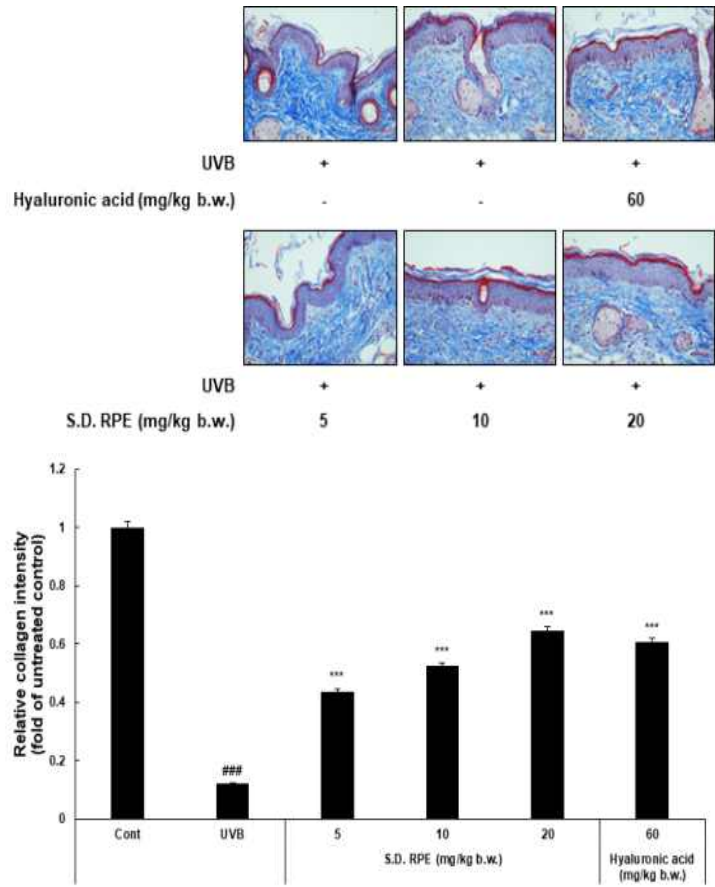
실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 • 분무건조 장미꽃잎추출물을 주 3회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스 희생 이후 등 조직을 분리하여 콜라겐 분해효소 (MMP-1) 항체를 이용하여 Immunohistochemistry 염색을 진행함

	<ul style="list-style-type: none"> • 콜라겐 분해 효소 (MMP-1)의 염색정도를 Image J 프로그램을 이용하여 정량함 																														
실험결과	<div style="text-align: center;"> <table border="1" style="margin: 10px auto;"> <tr> <td>UVB</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Hyaluronic acid (mg/kg b.w.)</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>60</td> </tr> </table> <table border="1" style="margin: 10px auto;"> <tr> <td>UVB</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>S.D. RPE (mg/kg b.w.)</td> <td>5</td> <td>10</td> <td>20</td> </tr> </table> <table border="1" style="margin: 10px auto;"> <tr> <th>Group</th> <th>Relative MMP-1 expression (fold of untreated control)</th> </tr> <tr> <td>Cont</td> <td>1.0</td> </tr> <tr> <td>UVB</td> <td>~2.45^{###}</td> </tr> <tr> <td>S.D. RPE 5</td> <td>~1.9^{***}</td> </tr> <tr> <td>S.D. RPE 10</td> <td>~1.0^{***}</td> </tr> <tr> <td>S.D. RPE 20</td> <td>~0.8^{***}</td> </tr> <tr> <td>Hyaluronic acid 60</td> <td>~0.55^{***}</td> </tr> </table> <p><그림111. 경구섭취 마우스 모델에서 MMP-1의 발현 측정 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사에 의해 증가되는 MMP-1의 발현을 농도의존적으로 저해하였음 • 따라서, 분무건조 장미꽃잎추출물은 MMP-1의 발현 조절을 통해 주름 형성을 억제하는 것으로 판단됨 </div>	UVB	+	+	+	Hyaluronic acid (mg/kg b.w.)	-	-	60	UVB	+	+	+	S.D. RPE (mg/kg b.w.)	5	10	20	Group	Relative MMP-1 expression (fold of untreated control)	Cont	1.0	UVB	~2.45 ^{###}	S.D. RPE 5	~1.9 ^{***}	S.D. RPE 10	~1.0 ^{***}	S.D. RPE 20	~0.8 ^{***}	Hyaluronic acid 60	~0.55 ^{***}
UVB	+	+	+																												
Hyaluronic acid (mg/kg b.w.)	-	-	60																												
UVB	+	+	+																												
S.D. RPE (mg/kg b.w.)	5	10	20																												
Group	Relative MMP-1 expression (fold of untreated control)																														
Cont	1.0																														
UVB	~2.45 ^{###}																														
S.D. RPE 5	~1.9 ^{***}																														
S.D. RPE 10	~1.0 ^{***}																														
S.D. RPE 20	~0.8 ^{***}																														
Hyaluronic acid 60	~0.55 ^{***}																														

• SKH-1 hairless mouse의 피부 조직에서 collagen 함량 확인

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 • 분무건조 장미꽃잎 추출물을 주 3 회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스 희생 이후 등 조직을 분리하여 Masson's trichrome 염색 방법을 통해 콜라겐을 염색함 • 콜라겐의 염색정도를 Image J 프로그램을 이용하여 정량함

실험결과



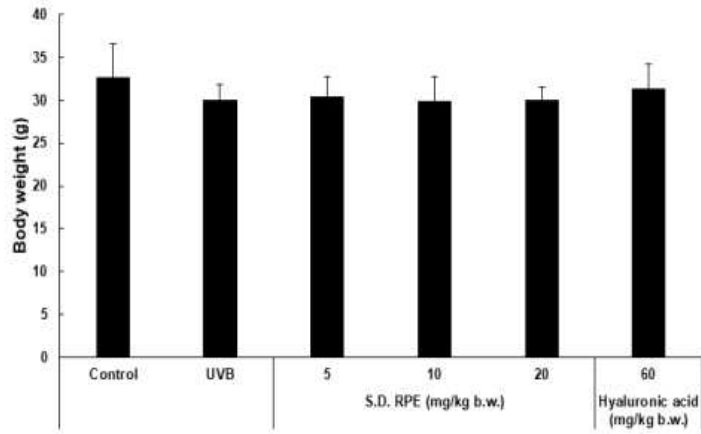
<그림112. 경구섭취 마우스 모델에서 콜라겐 단백질 측정 결과>

- 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사에 의해 감소되는 콜라겐 함량을 유의적으로 억제하였음
- 상기 결과를 통해 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사로부터 **MMP-1의 발현 조절을 통한 콜라겐 분해 억제를 통해 항주름 효능**을 갖는 것으로 사료됨

• 마우스 섭취모델을 활용한 장미꽃잎추출물의 섭취안전성 평가

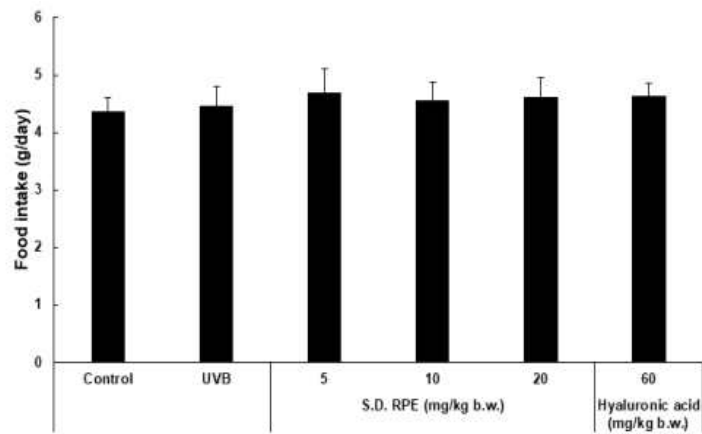
세포주	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D.RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 • 분무건조 장미꽃잎 추출물을 주 3 회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²) 에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스의 체중 및 식이섭취 변화를 측정함

실험결과



<그림113. 마우스 경구섭취모델에서 체중변화 확인 결과>

- 분무건조 장미꽃잎추출물은 실험동물의 체중변화에 영향을 주지 않았음



<그림114. 마우스 경구섭취모델에서 식이섭취량 확인>

- 분무건조 장미꽃잎추출물은 실험동물의 식이섭취량에 영향을 주지 않았음
- 따라서, 동물시험 수준에서 분무건조 장미꽃잎추출물의 섭취는 안전함을 확인하였음

<2차 마우스 섭취 모델에서 장미꽃잎추출물 피부 미용 효능 평가>

- SKH-1 Hairless 마우스 모델을 통한 자외선에 의한 피부 주름 억제효능 평가 완료
- SKH-1 Hairless 마우스 모델을 통한 자외선에 의한 피부 주름 기전 분석 완료
- SKH-1 Hairless 마우스 모델을 통한 피부 보습 효능 평가 완료
- SKH-1 Hairless 마우스 모델을 통한 항산화 및 염증 효능 평가 완료
- SKH-1 Hairless 마우스 모델에서 장미꽃잎추출물의 섭취 안전성 평가 완료

• 마우스 섭취모델을 활용한 장미꽃잎추출물의 피부미용개선 효능 평가

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물(20, 40 mg/kg)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> ① 시료는 투여 농도에 맞춰 최종 0.2 mL씩 경구투여를 수행 ② 자외선 조사는 주3회로 하되 1주차에는 1 MED (0.05 J/cm²), 2주차에는 2 MED (0.1 J/cm²), 3주차에는 3 MED (0.15 J/cm²), 4주차 이후로는 4 MED (0.2 J/cm²)로 진행. MED는 최소홍반량 (Minimum Erythema Dose) 로 피부 조사 이후 16~24시간 범위 내에 조사영역의 전 영역에 홍반을 나타낼 수 있는 최소한의 자외선 조사량을 의미함. 기존의 선행연구와 타연구 결과 해당 strain (SKH-1)의 마우스의 MED는 0.04~0.06 J/cm²로 해당 실험에서는 0.05 J/cm²로 수행 ③ 주 2회 food &waster intake과 무게 측정 ④ 주 1회 skin hydration/TEWL/sebum contents//skin roughness 등 측정
실험결과	<p><그림115. 동물모델에서의 장미꽃잎추출물 섭취에 의한 무게 및 수분 및 식이섭취량 변화></p> <ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물 투여에 의하여 무게변화나 식이섭취량 변화는 나타나지 않았으며 추가적인 피부미용개선 지표는 탐색 중에 있음

• SKH-1 hairless mouse의 피부 조직에서 주름형성 확인

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행함 • 분무건조 장미꽃잎추출물을 주 3 회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스 등 피부에서 silicone replica를 제작 후 Image J 프로그램을 통해 주름깊이를 정량함
실험결과	<p><그림116. 경구섭취 마우스 모델에서 피부 거칠기 측정 결과></p>

	<p>UVB - + + +</p> <p>S.D.RPE (mg/kg b.w.) - - 20 40</p>
	<p>UVB - + + +</p> <p>S.D.RPE (mg/kg b.w.) - - 20 40</p>
	<ul style="list-style-type: none"> 분무건조 장미꽃잎추출물은 UVB 조사에 의한 주름 형성을 정상 대조군 수준만큼 유의적으로 억제하였음

• SKH-1 hairless mouse의 피부 조직에서 collagen 함량 확인

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 분무건조 장미꽃잎 추출물을 주 3 회 경구투여함 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 12주차에 마우스 희생 이후 등 조직을 분리하여 Masson's trichrome 염색 방법을 통해 콜라겐을 염색함 콜라겐의 염색정도를 Image J 프로그램을 이용하여 정량함 또한 콜라겐 전구체의 단백질 및 전사 발현을 Western blot 및 quantitative Real-Time PCR을 통해 확인함
실험결과	<p style="text-align: center;"><그림117. 경구섭취 마우스 모델에서 콜라겐 단백질 측정 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사에 의해 감소되는 콜라겐 함량을 유의적으로 억제하였음
	<div style="text-align: center;"> <p>COL1A1</p> <p>Vinculin</p> <p>UVB - + + +</p> <p>S.D.RPE (mg/kg b.w.) - - 20 40</p> </div> <p style="text-align: center;"><그림118. 경구섭취 마우스 모델에서 콜라겐 단백질 및 전사 발현 측정 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사에 의한 콜라겐 전구체의 단백

	<p>질 및 전사 발현 수준을 회복시켰음</p> <ul style="list-style-type: none"> • 상기 결과를 통해 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사로부터 MMP-1의 발현 조절을 통한 콜라겐 분해 억제를 통해 항주름 효능을 갖는 것으로 사료됨
--	---

• SKH-1 hairless mouse의 피부 조직에서 과각질화 확인

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 • 분무건조 장미꽃잎 추출물을 주 3회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스 희생 이후 등 조직을 분리하여 H&E 염색방법을 통해 콜라겐을 염색함 • 콜라겐의 염색정도를 Image J 프로그램을 이용하여 정량함
실험결과	<div style="text-align: center;"> <p style="text-align: center;"><그림119. 경구섭취 마우스 모델에서 과각질화 측정 결과></p> </div> <ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사에 의해 증가하는 과각질화를 유의적으로 억제하였음

• SKH-1 hairless mouse의 피부 조직에서 주름형성관련 MMP-1 발현 확인

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 • 분무건조 장미꽃잎 추출물을 주 3회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스 희생 이후 등 조직을 분리하여 콜라겐 분해효소 (MMP-1) 항체를 이용하여 Immunohistochemistry 염색을 진행함 • 콜라겐 분해효소 (MMP-1)의 염색정도를 Image J 프로그램을 이용하여 정량함
실험결과	<div style="text-align: center;"> <p style="text-align: center;"><그림120. 경구섭취 마우스 모델에서 MMP-1의 발현 측정 결과></p> </div>

	<ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사에 의해 증가되는 MMP-1의 발현을 농도의존적으로 저해하였음 • 따라서, 분무건조 장미꽃잎추출물은 MMP-1의 발현 조절을 통해 주름형성을 억제하는 것으로 판단됨
--	--

• SKH-1 hairless mouse의 피부 조직에서 주름형성 기전연구 (ERK 신호경로)

세포주	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 • 분무건조 장미꽃잎 추출물을 주 3회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스 희생 이후 등 조직을 분리하여 ERK 항체를 이용하여 Immunohistochemistry 염색을 진행함 • 콜라겐 분해효소 ERK의 염색정도를 Image J 프로그램을 이용하여 정량함
실험결과	<p style="text-align: center;"><그림121. 인체피부표피세포 (HaCaT)내의 ERK 신호경로 측정></p> <ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사에 의해 증가되는 MMP-1의 발현을 농도의존적으로 저해하였음

• SKH-1 hairless mouse의 피부 수분도 측정

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 • 분무건조 장미꽃잎 추출물을 주 3회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스 등 피부에서 Corneometer[®] CM 825 장비를 활용하여 피부수분도를 측정함

실험결과	<p style="text-align: center;"> UVB - + + + S.D.RPE (mg/kg b.w.) - - 20 40 </p>
<p><그림122. 경구섭취 마우스 모델에서 피부수분도 측정 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물은 24, 40 mg/kg b.w. 농도 투여군에서 자외선 조사에 의해 감소되는 피부 각질층 내 수분도를 유의적으로 회복시켰음 • 피부의 최외각층인 각질층 (stratum corneum)에 대한 수분량은 피부장벽 기능과 생물학적 특성에 대한 피부건강함, 유연함, 부드러움 등과 연관됨 • 따라서, 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선에 의한 주름형성뿐만 아니라 수분 손실에 대한 억제 효과가 있음을 확인하였음 	

• SKH-1 hairless mouse의 경피수분손실도 측정

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 • 분무건조 장미꽃잎추출물을 주 3 회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스 등 피부에서 Tewameter[®] TM300 장비를 활용하여 피부수분손실도 (TEWL)를 측정함

실험결과	<p style="text-align: center;"> UVB - + + + S.D.RPE (mg/kg b.w.) - - 20 40 </p> <p style="text-align: center;"><그림123. 경구섭취 마우스 모델에서 경피수분손실도 측정 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사에 의한 경피수분손실도를 농도 의존적으로 억제하였음 • 특히, 분무건조 장미꽃잎추출물은 이너뷰티 소재로 각광받고 있는 히알루론산에 비해 자외선 조사에 의한 피부 수분손실 억제 효과가 높게 나타남으로써 피부 보습 개선 효능이 탁월한 것으로 사료됨
------	---

• SKH-1 hairless mouse의 피부 유분도 측정

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 • 분무건조 장미꽃잎추출물을 주 3 회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스 등 피부에서 Multi probe adapter[®] MPA580 장비를 활용하여 피부 유분도(sebum contents)를 측정함

실험결과	<p style="text-align: center;"> UVB - + + + S.D.RPE (mg/kg b.w.) - - 20 40 </p> <p style="text-align: center;"><그림124. 경구섭취 마우스 모델에서 피부 유분도 측정 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사에 의한 유분도 감소를 농도 의존적으로 회복시켰음
------	---

• SKH-1 hairless mouse의 피부 조직에서 피부보습관련 히알루론산 및 합성효소 발현 확인

실험동물	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 • 분무건조 장미꽃잎 추출물을 주 3회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스 희생 이후 등 조직을 분리하여 히알루론산 합성효소 (HAS) 항체를 이용하여 Immunohistochemistry 염색을 진행함 • 히알루론산 합성효소 (HAS)의 염색정도를 Image J 프로그램을 이용하여 정량함
실험결과	<p style="text-align: center;"> UVB - + + + S.D.RPE (mg/kg b.w.) - - 20 40 </p> <p style="text-align: center;"><그림125. 경구섭취 마우스 모델에서 히알루론산의 발현 측정 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사에 의해 감소하는 히알루론산의 합량을 농도 의존적으로 증가시킴

실험결과	<p style="text-align: center;"> <그림126. 경구섭취 마우스 모델에서 히알루론산 합성효소의 전사 발현 측정 결과> </p> <ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사에 의해 감소하는 히알루론산 합성효소의 전사 발현량을 농도의존적으로 증가시킴
-------------	---

• SKH-1 hairless mouse의 피부 조직에서 염증 및 항산화 관련 바이오마커 확인

실험동물 측정시료	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female) 분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D. RPE)
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 • 분무건조 장미꽃잎 추출물을 주 3회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²)에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스 희생 피부 조직의 염증 및 항산화 관련 마커를 Quantitative Real-time PCR 및 Western blot을 통해 확인함
실험결과	<p style="text-align: center;"> <그림127. 경구섭취 마우스 모델에서 염증관련 바이오마커 측정 결과> </p> <ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사에 의해 증가하는 염증관련 바이오마커의 전사 및 단백질 발현량을 농도의존적으로 억제함

실험결과	<p>Relative GPx-1 mRNA expression (normalized to GAPDH)</p> <table border="1"> <tr><th>UVB</th><th>-</th><th>+</th><th>+</th><th>+</th></tr> <tr><th>S.D.RPE (mg/kg b.w.)</th><th>-</th><th>-</th><th>20</th><th>40</th></tr> <tr><td>Relative GPx-1 mRNA expression</td><td>1.0</td><td>0.45###</td><td>1.05**</td><td>1.6***</td></tr> </table> <p>Relative SOD1 mRNA expression (normalized to GAPDH)</p> <table border="1"> <tr><th>UVB</th><th>-</th><th>+</th><th>+</th><th>+</th></tr> <tr><th>S.D.RPE (mg/kg b.w.)</th><th>-</th><th>-</th><th>20</th><th>40</th></tr> <tr><td>Relative SOD1 mRNA expression</td><td>1.0</td><td>0.35###</td><td>0.55**</td><td>0.65***</td></tr> </table> <p>SOD1 Vinculin</p> <p>UVB - + + + S.D.RPE (mg/kg b.w.) - - 20 40</p> <p><그림128. 경구섭취 마우스 모델에서 항산화관련 바이오마커 측정 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물은 자외선 조사에 의해 감소하는 항산화관련 바이오마커의 전사 및 단백질 발현량을 농도의존적으로 증가시킴 	UVB	-	+	+	+	S.D.RPE (mg/kg b.w.)	-	-	20	40	Relative GPx-1 mRNA expression	1.0	0.45###	1.05**	1.6***	UVB	-	+	+	+	S.D.RPE (mg/kg b.w.)	-	-	20	40	Relative SOD1 mRNA expression	1.0	0.35###	0.55**	0.65***
	UVB	-	+	+	+																										
S.D.RPE (mg/kg b.w.)	-	-	20	40																											
Relative GPx-1 mRNA expression	1.0	0.45###	1.05**	1.6***																											
UVB	-	+	+	+																											
S.D.RPE (mg/kg b.w.)	-	-	20	40																											
Relative SOD1 mRNA expression	1.0	0.35###	0.55**	0.65***																											
<ul style="list-style-type: none"> • 마우스 섭취모델을 활용한 장미꽃잎추출물의 섭취안전성 평가 																															

세포주	SKH-1 hairless mouse (5주령, Female)																																																																											
측정시료	분무건조 장미꽃잎추출물 (S.D.RPE)																																																																											
실험방법	<ul style="list-style-type: none"> • 5주령 마우스를 1주 동안 순화과정을 진행 • 분무건조 장미꽃잎 추출물을 주 3 회 경구투여함 • 자외선 (UVB)은 1 MED (0.5 J/cm²) 에서 4 MED 까지 점진적으로 증가시켜 주 3회 조사함 • 분무건조 장미꽃잎추출물 경구투여 및 자외선 (UVB) 조사는 12주 동안 진행함 • 12주차에 마우스의 조직무게 변화 및 간독성을 평가함 																																																																											
실험결과	<p>Kidney weight (g)</p> <table border="1"> <tr><th>UVB</th><th>-</th><th>+</th><th>+</th><th>+</th></tr> <tr><th>S.D.RPE (mg/kg b.w.)</th><th>-</th><th>-</th><th>20</th><th>40</th></tr> <tr><td>Kidney weight (g)</td><td>0.55</td><td>0.55</td><td>0.55</td><td>0.55</td></tr> </table> <p>Liver weight (g)</p> <table border="1"> <tr><th>UVB</th><th>-</th><th>+</th><th>+</th><th>+</th></tr> <tr><th>S.D.RPE (mg/kg b.w.)</th><th>-</th><th>-</th><th>20</th><th>40</th></tr> <tr><td>Liver weight (g)</td><td>2.2</td><td>2.0##</td><td>2.0</td><td>2.0</td></tr> </table> <p>Spleen weight (g)</p> <table border="1"> <tr><th>UVB</th><th>-</th><th>+</th><th>+</th><th>+</th></tr> <tr><th>S.D.RPE (mg/kg b.w.)</th><th>-</th><th>-</th><th>20</th><th>40</th></tr> <tr><td>Spleen weight (g)</td><td>2.0</td><td>1.7</td><td>1.7</td><td>1.9</td></tr> </table> <p>ALT (U/L)</p> <table border="1"> <tr><th>UVB</th><th>-</th><th>+</th><th>+</th><th>+</th></tr> <tr><th>S.D.RPE (mg/kg b.w.)</th><th>-</th><th>-</th><th>20</th><th>40</th></tr> <tr><td>ALT (U/L)</td><td>48</td><td>48</td><td>48</td><td>52</td></tr> </table> <p>AST (U/L)</p> <table border="1"> <tr><th>UVB</th><th>-</th><th>+</th><th>+</th><th>+</th></tr> <tr><th>S.D.RPE (mg/kg b.w.)</th><th>-</th><th>-</th><th>20</th><th>40</th></tr> <tr><td>AST (U/L)</td><td>62</td><td>62</td><td>72</td><td>72</td></tr> </table> <p><그림129. 마우스 경구섭취모델에서 체중변화 확인 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> • 분무건조 장미꽃잎추출물은 실험동물 조직의 무게 변화 및 간독성은 나타나지 않았음. • 따라서, 동물시험 수준에서 분무건조 장미꽃잎추출물의 섭취는 안전함을 확인하였음 	UVB	-	+	+	+	S.D.RPE (mg/kg b.w.)	-	-	20	40	Kidney weight (g)	0.55	0.55	0.55	0.55	UVB	-	+	+	+	S.D.RPE (mg/kg b.w.)	-	-	20	40	Liver weight (g)	2.2	2.0##	2.0	2.0	UVB	-	+	+	+	S.D.RPE (mg/kg b.w.)	-	-	20	40	Spleen weight (g)	2.0	1.7	1.7	1.9	UVB	-	+	+	+	S.D.RPE (mg/kg b.w.)	-	-	20	40	ALT (U/L)	48	48	48	52	UVB	-	+	+	+	S.D.RPE (mg/kg b.w.)	-	-	20	40	AST (U/L)	62	62	72	72
UVB	-	+	+	+																																																																								
S.D.RPE (mg/kg b.w.)	-	-	20	40																																																																								
Kidney weight (g)	0.55	0.55	0.55	0.55																																																																								
UVB	-	+	+	+																																																																								
S.D.RPE (mg/kg b.w.)	-	-	20	40																																																																								
Liver weight (g)	2.2	2.0##	2.0	2.0																																																																								
UVB	-	+	+	+																																																																								
S.D.RPE (mg/kg b.w.)	-	-	20	40																																																																								
Spleen weight (g)	2.0	1.7	1.7	1.9																																																																								
UVB	-	+	+	+																																																																								
S.D.RPE (mg/kg b.w.)	-	-	20	40																																																																								
ALT (U/L)	48	48	48	52																																																																								
UVB	-	+	+	+																																																																								
S.D.RPE (mg/kg b.w.)	-	-	20	40																																																																								
AST (U/L)	62	62	72	72																																																																								

<장미꽃잎추출물의 원산지별 효능 비교 평가>

- 원산지별 장미꽃잎추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 비교
- 원산지별 장미꽃잎추출물의 DPPH radical 소거능 비교
- 원산지별 장미꽃잎추출물의 Tyrosinase 활성 억제 효능 비교
- 인체피부표피세포(HaCaT)에서 히알루론산 합성효소 단백질 발현 비교
- 인체피부표피세포(HaCaT)에서 콜라겐분해효소 단백질 발현 비교
- 마우스유래 흑색종세포(B16F10)에서 멜라닌 억제 효능 비교
- 마우스유래 흑색종세포(B16F10)에서 Tyrosinase 활성 억제 효능 비교

• 원산지별 장미꽃잎추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

측정시료	장미꽃잎 추출물 3종 (Rosa chinensis, 울퍼러브, 푸에고)																														
실험방법	<p><총 폴리페놀 함량></p> <ol style="list-style-type: none"> ① 원산지별 장미꽃잎추출물을 40 μL씩 96-well plate에 주입 ② FC reagent를 20 μL 씩 주입 ③ Na₂CO₃를 60 μL씩 주입 ④ 암실에서 30분 동안 반응시킴 ⑤ 700 nm에서 흡광도 측정 <p><총 플라보노이드 함량></p> <ol style="list-style-type: none"> ① 원산지별 장미꽃잎추출물을 25 μL씩 96-well plate에 주입 ② DW를 125 μL 씩 주입 ③ NaNO₂를 8 μL씩 주입 ④ 교반기에서 5분 동안 반응 후 AlCl₃를 15 μL 씩 주입 ⑤ NaOH를 50 μL, DW를 27 μL씩 주입하고 510 nm 파장에서 흡광도 측정 																														
실험결과	<table style="margin-left: auto; margin-right: auto; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="3" style="text-align: center;">총 폴리페놀 함량</th> </tr> <tr> <th style="width: 30%;"></th> <th style="text-align: center;">Mean (mg GAE/g)</th> <th style="text-align: center;">STDEV (±)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;"><i>Rosa chinensis</i></td> <td style="text-align: center;">112.29</td> <td style="text-align: center;">4.58</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">울포러브</td> <td style="text-align: center;">119.02</td> <td style="text-align: center;">5.09</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">푸에고</td> <td style="text-align: center;">181.47</td> <td style="text-align: center;">12.36</td> </tr> </tbody> </table> <table style="margin-left: auto; margin-right: auto; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="3" style="text-align: center;">총 플라보노이드 함량</th> </tr> <tr> <th style="width: 30%;"></th> <th style="text-align: center;">Mean (mg QE/g)</th> <th style="text-align: center;">STDEV (±)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;"><i>Rosa chinensis</i></td> <td style="text-align: center;">97.87</td> <td style="text-align: center;">9.67</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">울포러브</td> <td style="text-align: center;">107.69</td> <td style="text-align: center;">18.69</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">푸에고</td> <td style="text-align: center;">117.64</td> <td style="text-align: center;">9.13</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;"><그림130. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량></p> <ul style="list-style-type: none"> • <u>3종의 장미 중 푸에고 장미꽃잎추출물이 가장 높은 폴리페놀 및 플라보노이드가 검출됨</u> 	총 폴리페놀 함량				Mean (mg GAE/g)	STDEV (±)	<i>Rosa chinensis</i>	112.29	4.58	울포러브	119.02	5.09	푸에고	181.47	12.36	총 플라보노이드 함량				Mean (mg QE/g)	STDEV (±)	<i>Rosa chinensis</i>	97.87	9.67	울포러브	107.69	18.69	푸에고	117.64	9.13
총 폴리페놀 함량																															
	Mean (mg GAE/g)	STDEV (±)																													
<i>Rosa chinensis</i>	112.29	4.58																													
울포러브	119.02	5.09																													
푸에고	181.47	12.36																													
총 플라보노이드 함량																															
	Mean (mg QE/g)	STDEV (±)																													
<i>Rosa chinensis</i>	97.87	9.67																													
울포러브	107.69	18.69																													
푸에고	117.64	9.13																													

• 원산지별 장미꽃잎추출물의 DPPH radical 소거능 확인

측정시료	장미꽃잎 추출물 3종 (Rosa chinensis, 울퍼러브, 푸에고)
실험방법	<ol style="list-style-type: none"> ① 원산지별 장미꽃잎추출물을 농도별로 준비함 ② 농도별 장미꽃잎추출물과 0.2 mM DPPH radical을 각각 80 μL 96-well plate에 주입 ③ 암실에서 30분 동안 반응시킴

	④ 517 nm에서 흡광도 측정
실험결과	<p style="text-align: center;"><그림131. DPPH radical 소거능></p> <ul style="list-style-type: none"> 3종의 장미 중 푸에고 장미꽃잎추출물이 가장 높은 라디칼 소거 효능을 나타냄

• 원산지별 장미꽃잎추출물의 Tyrosinase 활성 억제효능

측정시료	장미꽃잎 추출물 3종 (Rosa chinensis, 울퍼러브, 푸에고)
실험방법	<p><Tyrosinase 활성 측정></p> <ol style="list-style-type: none"> 원산지별 장미꽃잎추출물을 농도별로 준비함 장미꽃잎 추출물과 0.02 µg/mL Tyrosinase를 각각 40, 20 µL씩 주입함 10분 동안 반응 뒤 1 mM L-DOPA를 40 µL 주입함 암실에서 30분 동안 반응시킴 475 nm에서 흡광도 측정
실험결과	<p style="text-align: center;"><그림132. Tyrosinase 활성 억제 효능 평가></p> <ul style="list-style-type: none"> 3종의 장미 중 <i>Rosa chinensis</i> 장미꽃잎추출물이 가장 Tyrosinase 활성 억제 효능을 나타냄

• 인체유래 피부표피세포주 (HaCaT)에서 히알루론산 합성효소 발현 확인

세포주	인체유래 피부표피세포 (Human keratinocyte, HaCaT)
측정시료	장미꽃잎 추출물 3종 (Rosa chinensis, 울퍼러브, 푸에고)
실험방법	① 60 mm cell culture dish에서 인체피부표피세포(HaCaT)를 3×10^5

	cells/dish seeding ② 24시간 배양 이후 Serum free 배지로 교체 ③ 24시간 배양 이후 장미꽃잎 추출물 3종을 각 20, 40 µg/mL 농도로 처리 ④ 24시간 배양 이후 단백질 추출을 이용한 Western blot 진행																								
실험결과	<div style="text-align: center;"> </div> <table style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td><i>Rosa chinensis</i> (µg/mL)</td> <td>-</td> <td>20</td> <td>40</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>올퍼러브 (µg/mL)</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>20</td> <td>40</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>푸에고 (µg/mL)</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>20</td> <td>40</td> </tr> </table> <p style="text-align: center;"><그림133. 인체 피부 섬유아세포에서 보습 관련 단백질 확인 결과></p> <ul style="list-style-type: none"> 3종의 장미 중 푸에고 장미꽃잎추출물이 가장 높은 HAS2 단백질 발현 증가 효능을 나타냄 	<i>Rosa chinensis</i> (µg/mL)	-	20	40	-	-	-	-	올퍼러브 (µg/mL)	-	-	-	20	40	-	-	푸에고 (µg/mL)	-	-	-	-	-	20	40
<i>Rosa chinensis</i> (µg/mL)	-	20	40	-	-	-	-																		
올퍼러브 (µg/mL)	-	-	-	20	40	-	-																		
푸에고 (µg/mL)	-	-	-	-	-	20	40																		

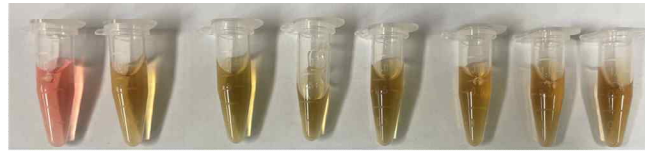
- 인체유래 피부표피세포주 (HaCaT)에서 콜라겐 분해효소(Matrix metalloproteinase-1, MMP-1) 의 억제능 확인

세포주	인체유래 피부표피세포 (Human keratinocyte, HaCaT)																																				
측정시료	장미꽃잎 추출물 3종 (<i>Rosa chinensis</i> , 올퍼러브, 푸에고)																																				
실험방법	① 60 mm cell culture dish에서 인체피부섬유아세포(HDF)를 3×10^5 cells/dish seeding ② 24시간 배양 이후 Serum free 배지로 교체 ③ 24시간 배양 이후 장미꽃잎 추출물 3종을 20, 40 µg/mL 농도로 1시간 처리 ④ 자외선(Ultraviolet B, UVB) 25 mJ/cm ² 처리 ⑤ 24시간 배양 이후 단백질 추출을 이용한 Western blot 진행																																				
실험결과	<div style="text-align: center;"> </div> <table style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td>UVB (25 mJ/cm²)</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td><i>Rosa chinensis</i> (µg/mL)</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>20</td> <td>40</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>올퍼러브 (µg/mL)</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>20</td> <td>40</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>푸에고 (µg/mL)</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>20</td> <td>40</td> </tr> </table> <p style="text-align: center;"><그림134. 인체피부표피세포 (HaCaT)내의 콜라겐 분해효소(MMP-1) 단백질의 발현량 측정></p> <ul style="list-style-type: none"> 자외선B(Ultraviolet B, UVB) 처리시 콜라겐 분해효소(MMP-1)의 증가된 단백질 발현을 <i>Rosa chinensis</i>, 올퍼러브가 효과적으로 억제함 	UVB (25 mJ/cm ²)	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Rosa chinensis</i> (µg/mL)	-	-	20	40	-	-	-	-	올퍼러브 (µg/mL)	-	-	-	-	20	40	-	-	푸에고 (µg/mL)	-	-	-	-	-	-	20	40
UVB (25 mJ/cm ²)	-	+	+	+	+	+	+	+																													
<i>Rosa chinensis</i> (µg/mL)	-	-	20	40	-	-	-	-																													
올퍼러브 (µg/mL)	-	-	-	-	20	40	-	-																													
푸에고 (µg/mL)	-	-	-	-	-	-	20	40																													

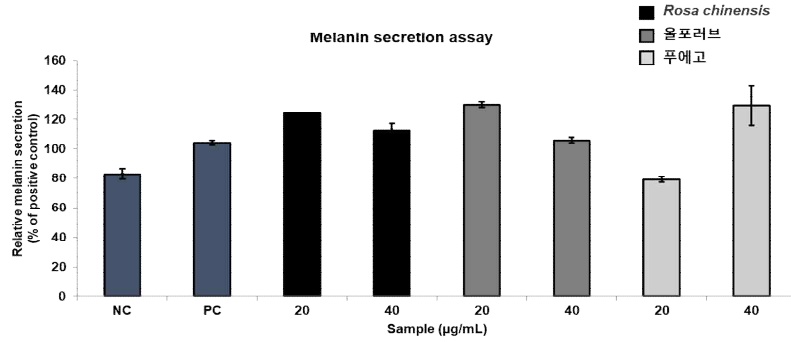
- 마우스유래 흑색종세포(B16F10)에서 멜라닌 억제능 확인

세포주	마우스유래 흑색종세포 (B16F10)
측정시료	장미꽃잎 추출물 3종 (<i>Rosa chinensis</i> , 올퍼러브, 푸에고)
실험방법	① 60 mm cell culture dish에서 마우스흑색종세포(B16F10)를 2×10^4 cells/dish seeding ② 24 시간 배양 이후 장미꽃잎 추출물 3종을 20, 40 µg/mL 농도로 처리하고 1시간 뒤 100 nM α-MSH를 처리

- ③ 72시간 배양 후 배지의 Melanin을 490 nm 파장으로 측정
- ④ 세포 단백질을 추출 후 SDS-PAGE 및 L-DOPA 기질과 반응시켜 확인



sample NC PC 20 40 20 40 20 40
Rosa chinensis 울포러브 푸에고



<그림135. 마우스흑색종세포 (B16F10)의 멜라닌 분비 억제 효능평가>

실험결과

- 장미꽃잎추출물 3종은 유의적인 멜라닌 억제 효능이 확인되지 않았음

L-DOPA staining



CBB



α-MSH	-	+	+	+	+	+	+	+
Rosa chinensis (μg/mL)	-	-	20	40	-	-	-	-
울포러브 (μg/mL)	-	-	-	-	20	40	-	-
푸에고 (μg/mL)	-	-	-	-	-	-	20	40

<그림136. 마우스흑색종세포 (B16F10)의 Tyrosinase 활성 평가>

- 3종의 장미 중 푸에고 장미꽃잎추출물이 가장 높은 세포내 Tyrosinase 억제 효능을 나타내었음
- 위 결과를 토대로 추후 장미꽃잎추출물의 멜라닌 분비 효능은 검증해볼 수 있을 것으로 사료됨

(2) 정량적 연구개발성과

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명		연도	1단계 (2021~2022)	2단계 (2023)	계	가중치 (%)
사업화 지표	특허 [출원]	목표(단계별)	-	2	2	5
		실적(누적)	-	2	2	5
	사업화 [제품화]	목표(단계별)	1	2	3	5
		실적(누적)	1	1	2	3.33
	사업화 [매출액]	목표(단계별)	20,000	50,000	70,000	30
		실적(누적)	7,000	42,580	49,580	21.33
	사업화 [고용창출]	목표(단계별)	2	2	4	15
		실적(누적)	3	2	5	15
기술인증	목표(단계별)	-	1	1	25	
	실적(누적)	-	-	-	0	
연구기반지표	학술성과 [논문SCI]	목표(단계별)	2	1	3	-
		실적(누적)	2	-	2	-
	학술성과 [논문IF]	목표(단계별)	5	5	5	10
		실적(누적)	4.6155	-	4.6155	9.23
	학술성과 [학술발표]	목표(단계별)	1	1	2	5
		실적(누적)	-	2	2	5
	정책활용 홍보 [홍보전시]	목표(단계별)	1	1	2	5
		실적(누적)	1	1	2	5
계		-	-	-	-	100
		-	-	-	-	63.90

(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	Rosa gallica and its active compound, cyanidin-3,5-O-diglucoside, improve skin hydration via the GLK signaling pathway	BIOFACTORS	서지원 조성인 변상균 임태규	-	영국	WILEY	SCIE	2022.11.21	0951-6433	33
2	Oral administration of collagen peptide in SKH-1 mice suppress UVB-induced wrinkle and dehydration through MAPK and MAPKK signaling pathways, in vitro and in vivo evidence	Food Science and Biotechnology	조철현 임원철 심우진 임태규	-	대한민국	Springer	SCIE	2023.01.03	1226-7708	33

Received: 30 September 2022 | Accepted: 21 November 2022
DOI: 10.1002/biot.4102

RESEARCH ARTICLE

Rosa gallica and its active compound, cyanidin-3,5-O-diglucoside, improve skin hydration via the GLK signaling pathway

Ji-Won Seo¹ | Seongin Jo² | Young Sung Jung³ | Mohammad-Al Mijan⁴ | Joy Cha⁵ | Seungpyo Hong⁶ | Sangmin Byun⁷ | Tae-Gyu Lim^{1,2*}

¹Department of Agricultural Biotechnology and Research Institute of Agriculture and Life Science, Seoul National University, Seoul, Republic of Korea
²Department of Biotechnology, Yonsei University, Seoul, Republic of Korea
³Korea Food Research Institute, Wonju-gu, Republic of Korea
⁴Department of Food Science and Biotechnology, Sjeung University, Seoul, Republic of Korea
⁵Division of Bioprocessing, Incheon National University, Incheon, Republic of Korea
⁶Department of Molecular Biology, Jeonbuk National University, Jeonju, Republic of Korea
⁷Takva Center, SKOL Co., Ltd., Cheongju, South Korea
^{*}Department of Food Science and Biotechnology, and Carbohydrate Bioprocess Research Center, Sejong University, Seoul, Republic of Korea

Abstract
Rosa gallica has been previously reported to display anti-inflammatory, anti-oxidative, and anti-skin wrinkle activities. However, the effect of Rosa gallica on skin hydration and its active components are largely unknown. Herein, we aimed to investigate the skin hydration effect of rose petal extract (RPE) in humans and elucidate the underlying molecular mechanism. A double-blinded clinical study was performed to investigate the effect of RPE on skin hydration. Stratum corneum moisture analysis demonstrated that RPE treatment significantly improved hydration levels in human skin. Furthermore, HANS and hyaluronic acid levels were notably increased by RPE in keratinocytes and 3D human skin equivalent model. By comparing the modulatory effect on HANS expression, cyanidin-3,5-O-diglucoside (CDG) was identified as the most potent compound in RPE likely responsible for skin hydration. The kinase activity of GLK, an upstream regulator of MAPK signaling, was increased by CDG in a dose-dependent manner. Importantly, silencing GLK reversed CDG-mediated HANS upregulation, further supporting the involvement of GLK in the CDG-mediated effects. Binding of CDG to GLK was confirmed by pull-down assay and computer modeling. These findings suggest that RPE and its active

Keywords: Collagen · Human Skin · MAPKK · MMPs · UV

Introduction
The human skin is the largest organ in the body and can be divided into the epidermis, dermis, and hypodermis. The epidermis is the outermost layer and the first tissue in which the body contacts the outside environment. Therefore, it is the primary defense against environmental stressors such as chemicals, pathogens, and ultraviolet (UV) radiation. The dermis is under the epidermis; it contains fibroblasts and

participates in physiological activities such as protecting the skin and deeper layers, supporting to regulate body temperature, and assisting with sensation (Brown and Krishnamoorthy, 2013). There are various types of collagens, depending on their location and characteristics. Fibrous collagen is the most abundant structural component of the human connective tissue. Fibroblasts synthesize and secrete collagen in a soluble form and accumulate them in the extracellular space (Cho et al., 2013). A reduction in collagen levels is the leading cause of skin aging. Type I collagen is the dominant collagen found in dermis, being responsible for skin tensile strength (Zager et al., 2011). As a result, a decrease in collagen levels could lead to reduced skin elasticity and wrinkled skin (Park et al., 2018). Several factors are associated with skin aging, such as wrinkles and photoaging. Photoaging refers to skin damage caused by exposure to UV radiation. Each component of UV can have various effects on cells, tissues, and molecules. Long wavelengths of UVA (320–400 nm) can penetrate deep into the skin and reach the dermal layer. In contrast, UVB (280–320 nm) is completely absorbed from the epidermis and reaches the dermal layer to a lesser extent. Thus, UVA causes DNA damage through an indirect photooxidizing

Abbreviations: CDG, cyanidin-3,5-O-diglucoside; DMEM, Dulbecco's Modified Eagle Medium; ECM, extracellular matrix; FBS, fetal bovine serum; GLK, geranyl-specific kinase-like kinase; HA, hyaluronic acid; HANS, hyaluronic acid synthase; IEC, immunohistochemistry; MAPKs, mitogen-activated protein kinase; RPE, Rosa gallica petal extract.

Ji-Won Seo and Seongin Jo contributed equally to this study.

© 2023 International Union of Biochemistry and Molecular Biology

<그림 137. 논문 초록 1>

Food Science and Biotechnology
https://doi.org/10.1002/biot.4102

RESEARCH ARTICLE

Oral administration of collagen peptide in SKH-1 mice suppress UVB-induced wrinkle and dehydration through MAPK and MAPKK signaling pathways, in vitro and in vivo evidence

Cheol Hyeon Cho¹ · Wonchal Lim² · Woo-Jin Sim³ · Tae-Gyu Lim^{1,2*}

Received: 10 April 2023 | Revised: 10 May 2023 | Accepted: 29 May 2023
© The Korean Society of Food Science and Technology 2023

Abstract
Skin aging is induced by exposure to extrinsic factors, causing various diseases and adversely affecting aesthetics. Studies have suggested that as the quality of life improves, demand for beauty and nutritional cosmetics increases. Here, the protective effects of collagen peptide against UV-induced skin damage were evaluated in vitro and in vivo. Collagen peptide inhibited water loss and UVB irradiation-induced HA degradation in the skin of SKH-1 mice. Additionally, collagen peptide dose-dependently inhibited UVB-induced wrinkle formation, epidermal thickness, and elastase activity. These results suggest that collagen peptide regulates collagen degradation through the MAPK and MAPKK pathway. In addition, collagen peptide administration did not affect changes in weight of the liver, spleen, and kidney, or enzymatic indicators of liver damage. Taken together, oral administration of collagen peptide improved the effects of UV-induced skin aging without toxicity. Therefore, this study supports the development of collagen peptide for skin aging prevention in nutraceutical products.

Keywords: Collagen · Human Skin · MAPKK · MMPs · UV

Introduction
The human skin is the largest organ in the body and can be divided into the epidermis, dermis, and hypodermis. The epidermis is the outermost layer and the first tissue in which the body contacts the outside environment. Therefore, it is the primary defense against environmental stressors such as chemicals, pathogens, and ultraviolet (UV) radiation. The dermis is under the epidermis; it contains fibroblasts and

participates in physiological activities such as protecting the skin and deeper layers, supporting to regulate body temperature, and assisting with sensation (Brown and Krishnamoorthy, 2013). There are various types of collagens, depending on their location and characteristics. Fibrous collagen is the most abundant structural component of the human connective tissue. Fibroblasts synthesize and secrete collagen in a soluble form and accumulate them in the extracellular space (Cho et al., 2013). A reduction in collagen levels is the leading cause of skin aging. Type I collagen is the dominant collagen found in dermis, being responsible for skin tensile strength (Zager et al., 2011). As a result, a decrease in collagen levels could lead to reduced skin elasticity and wrinkled skin (Park et al., 2018). Several factors are associated with skin aging, such as wrinkles and photoaging. Photoaging refers to skin damage caused by exposure to UV radiation. Each component of UV can have various effects on cells, tissues, and molecules. Long wavelengths of UVA (320–400 nm) can penetrate deep into the skin and reach the dermal layer. In contrast, UVB (280–320 nm) is completely absorbed from the epidermis and reaches the dermal layer to a lesser extent. Thus, UVA causes DNA damage through an indirect photooxidizing

Abbreviations: CDG, cyanidin-3,5-O-diglucoside; DMEM, Dulbecco's Modified Eagle Medium; ECM, extracellular matrix; FBS, fetal bovine serum; GLK, geranyl-specific kinase-like kinase; HA, hyaluronic acid; HANS, hyaluronic acid synthase; IEC, immunohistochemistry; MAPKs, mitogen-activated protein kinase; RPE, Rosa gallica petal extract.

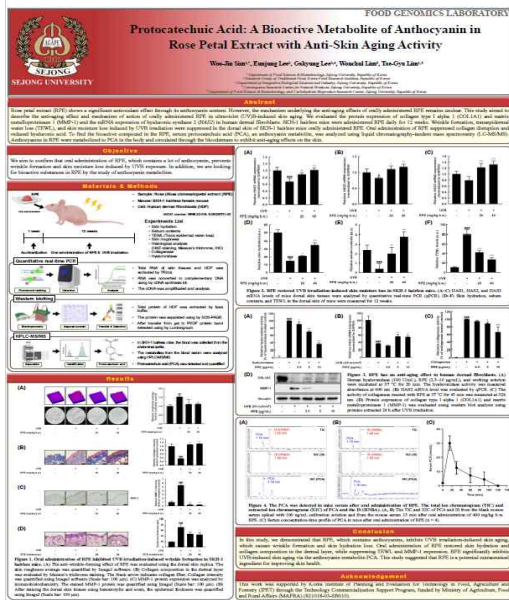
Ji-Won Seo and Seongin Jo contributed equally to this study.

© 2023 International Union of Biochemistry and Molecular Biology

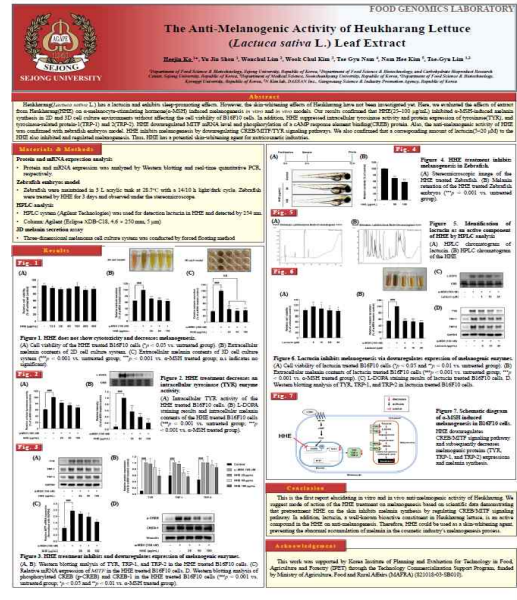
<그림 138. 논문 초록 2>

□ 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	2023 KFN International Symposium and Annual Meeting	심우진	2023.10.20	부산 (BEXCO)	장미꽃잎추출물(RPE)의 자외선에 의한 피부 보호 및 보습 효과
2	2023 KFN International Symposium and Annual Meeting	고희진	2023.10.20	부산 (BEXCO)	흑하량(Lactuca sativa L.)의 피부 미백 효과



<그림139. 학술발표 포스터 1>



<그림140. 학술발표 포스터 2>

□ 기술 요약 정보 (해당 없음)

연도	기술명	요약 내용	기술 완성도	등록 번호	활용 여부	미활용사유	연구개발기관 외 활용여부	허용방식

□ 보고서 원문 (해당 없음)

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

□ 생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 (해당 없음)

번호	생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 명	등록/기탁 번호	등록/기탁 기관	발생 연도

[기술적 성과]

□ 지식재산권(특허)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	특허	대한민국	노바웰스	2023.04.12	10-2023-0048424	-	-	-	50	50	
2	특허	대한민국	노바웰스	2023.04.13	10-2023-0049034	-	-	-	50	50	

관인생략

출원번호통지서

출원일자 2023.04.12
 특허사항 심사통기(특) 공개신청(무)
 출원번호 10-2023-0048424 (출원번호 1-1-2023-0413714-3)
 (DAS출원번호0946)
 출원인명칭 주식회사 노바웰스(1-2017-016714-6)
 대리인성명 특허법인 무한(9-2007-100061-6)
 발명자성명 이창래 김태욱 이철재 김진희 김민희
 발명명칭 갈변현상 억제용 약제 또는 건강기능식품 조성물

특허청장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허포털페이지(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.
 2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음달까지 통보된 납입일수중에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 은행 또는 우체국에 납부하여야 합니다.
 3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (특허고객번호 정보변경(광정), 정정신고서)를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 4. 기한 외 신청(재심)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고객상담센터☎ 1544-8000에 문의하여 주시기 바랍니다.
 본 사무처도 안내 : https://www.patent.go.kr/공지사항/제도

관인생략

출원번호통지서

출원일자 2023.04.13
 특허사항 심사통기(특) 공개신청(무)
 출원번호 10-2023-0049034 (출원번호 1-1-2023-0419264-3)
 (DAS출원번호0946)
 출원인명칭 주식회사 노바웰스(1-2017-016714-6)
 대리인성명 특허법인 무한(9-2007-100061-6)
 발명자성명 이창래 김태욱 이철재 김진희 김민희
 발명명칭 자가유화 전달시스템을 이용한 지용성 생리활성성분의 흡수력 증대를 위한 조성물

특허청장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허포털페이지(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.
 2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음달까지 통보된 납입일수중에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 은행 또는 우체국에 납부하여야 합니다.
 3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (특허고객번호 정보변경(광정), 정정신고서)를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 4. 기한 외 신청(재심)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고객상담센터☎ 1544-8000에 문의하여 주시기 바랍니다.
 본 사무처도 안내 : https://www.patent.go.kr/공지사항/제도

<그림141. 특허 출원 명세서 1>

<그림142. 특허 출원 명세서2>

○ 지식재산권 활용 유형 (활용 예정)

※ 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타

□ 저작권(소프트웨어, 서적 등) (해당 없음)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록 번호	저작권자명	기여율

□ 신기술 지정 (해당 없음)

번호	명칭	출원일	고시일	보호 기간	지정 번호

기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		

표준화

○ 국내표준 (해당 없음)

번호	인증구분 ¹⁾	인증여부 ²⁾	표준명	표준인증기구명	제안주체	표준종류 ³⁾	제안/인증일자

- * 1) 한국산업규격(KS) 표준, 단체규격 등에서 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 2) 제안 또는 인증 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 3) 신규 또는 개정 중 해당하는 사항을 기재합니다.

○ 국제표준 (해당 없음)

번호	표준화단계구분 ¹⁾	표준명	표준기구명 ²⁾	표준분과명	의장단 활동여부	표준특허 추진여부	표준개발 방식 ³⁾	제안자	표준화 번호	제안일자

- * 1) 국제표준 단계 중 신규 작업항목 제안(NP), 국제표준초안(WD), 위원회안(CD), 국제표준안(DIS), 최종국제표준안(FDIS), 국제표준(IS) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 2) 국제표준화기구(ISO), 국제전기기술위원회(IEC), 공동기술위원회1(JTC1) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 3) 국제표준(IS), 기술시방서(TS), 기술보고서(TR), 공개활용규격(PAS), 기타 중 해당하는 사항을 기재합니다.

[경제적 성과]

시제품 제작 (해당 없음)

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)

기술 실시(이전) (해당 없음)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황

- * 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

사업화 투자실적 (해당 없음)

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*

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	기존업체-상품화	국내	일반식품 원료 제작	원물 판매	에스앤디	7,000	-	2022	-
2	기술이전	기존업체-상품화	국내	일반식품 원료 제작	원료판매	노바렉스	35,000	-	2023	-

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

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
기술사업화지원사업	2023	49,580		49,580	
합계		49,580		49,580	

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과 (해당 없음)

성과					
사업화 계획	사업화 소요기간(년)				
	소요예산(천원)				
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
		국내 국외			
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획					
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
	수출				

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)			합계
			2021년	2022년	2023년	
1	기술사업화 지원사업	(주)노바웰스	1	2	2	5
합계			1	2	2	5

□ 고용 효과

구분		고용 효과(명)	
고용 효과	개발 전	연구인력	7
		생산인력	-
	개발 후	연구인력	6
		생산인력	3

□ 비용 절감(누적) (해당 없음)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

□ 경제적 파급 효과 (해당 없음)

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도							
기대 목표							

산업 지원(기술지도) (해당 없음)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

기술 무역 (해당 없음)

(단위: 천원)

번호	계약 연월	계약 기술명	계약 업체명	계약업체 국가	기 징수액	총 계약액	해당 연도 징수액	향후 예정액	수출/수입

[사회적 성과]

법령 반영 (해당 없음)

번호	구분 (법률/시행령)	활용 구분 (제정/개정)	명 칭	해당 조항	시행일	관리 부처	제정/개정 내용

정책활용 내용 (해당 없음)

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용

설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영 (해당 없음)

번호	구분 (설계 기준/설명서/지침/안내서)	활용 구분 (신규/개선)	설계 기준/설명서/지침/안내서 명칭	반영일	반영 내용

전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	연구인력	2023	2	4	3	-	4	5	3	6	-	-	-

산업 기술 인력 양성 (해당 없음)

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최 횟수	총 교육 시간	총 교육 인원

다른 국가연구개발사업에의 활용 (해당 없음)

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

국제화 협력성과 (해당 없음)

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

□ 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일
1	전시회	CPHI	세계제약·바이오·건강기능산업 전시회	2022.09.28.~ 2022.09.30
2	박람회	HNC	Healthplex Expo 2023·Natural & Nutraceutical Products China 2023	2023.06.17.~ 2023.06.23

□ 포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관
1	수상	제 18회 디지털 이노베이션 대상	BT분야 혁신적 경제력을 갖춘 우수 기업 및 기술 선정	BT부문	2023.11.10	한국일보사 후원 : 과학기술정보통신부

장미 등 천연물소재로 기능성 원료 개척

【노바웰스】

노바웰스(대표 이정래)는 식품 기능성 원료 연구 개발 전문 기업으로 기술 및 사업화 전문 서비스를 제공하고 있다. 대표적으로 레몬비베나추출물 등 복합물, 해국추출물, 난각막분말, 장미꽃잎추출물 등의 국내의 최상 품질의 원료를 취급하고 있다.



는 차, 음료, 케이크 등으로 세계 각지에서 널리 사용되고 있는 안전성이 확보된 천연 식물성 소재이다. 항산화 및 항염증 효과가 입증된 생리활성 기능성분인 안토시아닌계 물질이 함유되어 있어 감기, 기관지염, 위염, 설사, 피부염, 우울증 및 무기력증에 효과가 있다고 알려져 있다.

노바웰스는 건강기능식품 트렌드를 선도하는 기업으로 나아가기 위해 최고의 전문성을 추구하며, 과학적 효능 검증을 거친 천연물 소재를 활용한 기능성 원료 개발에 주력하고 있다. 독자적인 기술을 바탕으로 지난해 2건의 개별인정을 획득하였고, 올해에도 다양한 기능성으로 개별인정 획득을 앞두고 있다. 노바웰스의 대표적인 원료 중 장미

노바웰스는 국내 최초로 장미꽃잎을 활용한 피부 건강 복합기능성 원료 개발을 통해 국내의 시장을 선도하고자 한다.



<그림143. 과학기술정보통신부 후원 기술인증 관련 기사 및 명패>

[인프라 성과]

□ 연구시설·장비 (해당 없음)

구축기관	연구시설/연구장비명	규격(모델명)	개발여부(○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자(YY.MM.DD)	구축비용(천원)	비고(설치 장소)

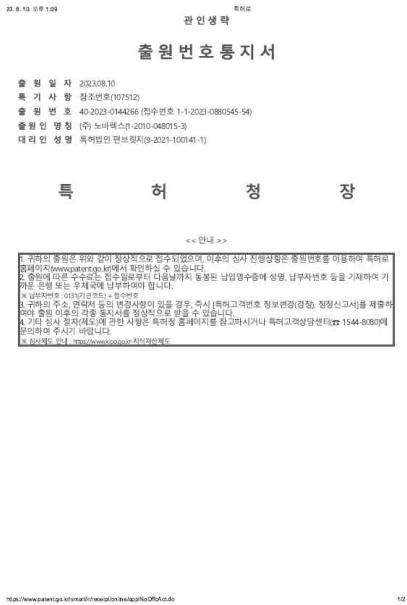
* 「과학기술기초법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설·장비 종합정보시스템을 의미합니다.

[그 밖의 성과]

□ 상표권 출원

- 장미꽃잎추출물(원료)의 브랜드 상표권 확보를 통한 법적 보호 권리를 획득하기 위하여 장미꽃잎추출물의 원료 특성을 나타낼 수 있는 국문 및 영문 브랜드명 상표권 출원을 진행함

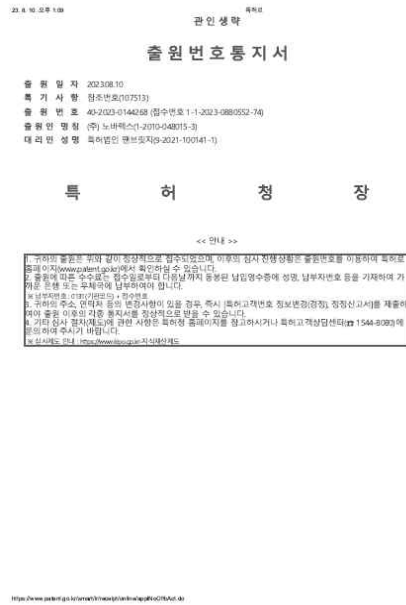
번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	상표권(국문)	노바로즈	노바웰스	2023.08.10	40-2023-0144266	-	-	-	-	50	100
2	상표권(영문)	NOVAROSE	노바웰스	2023.08.10	40-2023-0144268	-	-	-	-	50	100



【상표견본】

노바로즈

<그림144. 국문 상표권>



【상표견본】

NOVAROSE

<그림145. 영문 상표권>

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

해당없음

2) 목표 달성 수준

구분	개발 내용	개발 실적	달성도 (%)
(주)노바 웰스 (주관)	○ 장미꽃잎추출물의 표준화 공정 개발 연구	<ul style="list-style-type: none"> • 용매 조성 설정 완료 : 추출 공정 최적화 연구 완료 • 대량 생산 공정 확립 완료 : 생산업체(에스앤디)를 통한 대량 생산 공정 확립 완료 • 시제품 제작 및 품질검사 완료 : 테스트 시제품 제작 완료 : 지표성분 안전성 결과 확보 완료 	100
	○ 장미꽃잎추출물 원료 표준화	<ul style="list-style-type: none"> • 기준 규격 설정 완료 : 공인분석기관 자료 확보 : 자사 기준 규격 설정 완료 	100
	○ 장미꽃잎추출물 안전성(독성) 평가	<ul style="list-style-type: none"> • 공인분석기관 건강기능식품 안전성(독성) Database 구축 완료 : 일반독성(단회경구) 결과 확보 : 유전독성 결과 확보 (소핵, 복귀돌연변이, 염색체이상) 	100
	○ 장미꽃잎추출물 피부건강 인체적용시험 자료집(IB) 및 인체시험 프로토콜 개발	<ul style="list-style-type: none"> • 인체적용시험자 자료집(IB) 구축 완료 • 인체적용시험 프로토콜 개발 완료 • 인체적용시험 시험기관 확보 완료 	100
	○ 지표(유효)성분 분석법 검증 수행	<ul style="list-style-type: none"> • 지표물질 최적 분석조건 확보 • 시험방법 밸리데이션 완료 : 특이성, 정확도, 정밀도, 정량한계, 직선성 결과 확보 	100
	○ 제제·제형연구	<ul style="list-style-type: none"> • 제품화 특성 연구를 통한 정제, 젤리, 액상 제형 배합비 연구 및 시제품 제작 완료 	100
	○ 인체적용시험 일일섭취량 선정	<ul style="list-style-type: none"> • 전임상 결과를 바탕으로 일일섭취량 설정 완료 : 300 mg/day 선정 완료 	100
	○ 인체적용시험 시험식품 및 대조식품 유통기한 설정 시험을 통한 제품화 연구	<ul style="list-style-type: none"> • 유통기한 확인을 위한 식품 위생 규격 안정성 평가 • 수분, 미생물, 유해물질 등 6개월 가속시험 평가 • 지표(유효)성분 안정성 6개월 가속시험 평가 	100
	○ 장미꽃잎추출물의 피부 건강 기능성 확인을 위한 인체적용시험 수행	<ul style="list-style-type: none"> • 인체적용시험 연구개시 및 대상자 모집 진행 : 인체적용시험 경과 모니터링 후 인체적용시험 완료 	100

	○ 인체적용시험 통계	• 인체적용시험 완료 후 통계 진행	100
	○ 식약처 개별인정 피부 건강 기능성 원료 자료 구비 및 제출	• 개별인정 기능성 원료 신청을 위한 자료 구비 완료 : 비임상 효능시험, 기전연구, 원료 표준화, 임상시험 및 안전성 자료 확보 완료 : 식약처 개별인정신청 프로세스에 의거하여 요건 검토 제출 완료	100
	○ 원산지별 장미꽃잎추출물 표준화 data 확보	• 국내산 원재료와 비교 진행 : 국내산 장미 2종과 단가, 지표성분 함량, 추출 수율, 성상, 수분함량 등 표준화 비교 data 확보 완료	100
	○ 장미꽃잎추출물의 제품화	• 소재의 장점을 극대화한 제품 개발 완료	100
한국 식품 연구원 (위탁)	○ 사업화 최적 추출공정으로 획득된 장미꽃잎추출물의 피부미용개선 효능 규명	• 장미꽃잎추출물의 자외선에 의한 주름형성 억제 효능 평가 완료 • 장미꽃잎추출물의 보습기능개선 효능 평가 완료	100
	○ 동물 섭취모델을 활용한 사업화 최적 추출공정으로 얻어진 장미꽃잎추출물의 피부 미용 개선 효능 규명	• 마우스 섭취모델을 활용한 장미꽃잎추출물 피부 미용 개선 효능 평가 완료	100
	○ 원산지별 장미꽃잎추출물 세포 시험을 활용한 피부 기능성 효능 비교 평가	• 인체유래 세포주를 활용하여 국내산 장미꽃잎추출물의 피부 보습 자외선에 의한 피부 주름 억제 및 보습기능 효능 평가 완료	100

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성합니다)

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

해당없음

2) 자체 보완활동

해당없음

3) 연구개발 과정의 성실성

해당없음

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

□ 연구개발성과 활용계획

- 국내 최초의 피부건강 개선용 복합기능성 원료로 개별인정 획득하고자 함
- 기능성 및 안전성 자료를 바탕으로 글로벌 인허가를 획득하여 본격적인 글로벌 사업화 전략에 활용할 예정임
- 국내·외 용도특허를 출원/등록함으로써 국내 및 글로벌 사업화시 법적 보호에 활용할 예정임

□ 연구개발성과 기대효과

- **기술적 측면:** 과학적 기반을 갖춘 원료 개발로 국내에서 인정받은 건강기능식품 개발 및 기능성원료에 대해 국제적 신뢰를 향상시키고자 함
- **경제·산업적 측면:** 기능성 원료 개발시 건강기능식품 산업뿐만 아니라 모든 산업에 직·간접적으로 약 3배의 부가가치 유발효과가 발생할 것으로 기대함
- **사회적 측면:** 피부건강 개선용 기능성 원료 개발 시 질병 예방을 선호하는 소비자들의 니즈를 충족시킴과 더불어 삶의 질을 개선하고자 함
- 개발원료를 다양한 형태의 유통경로로 판매하여 **매출을 창출하고, 회사 브랜드가치를 상승**시키고자 함
- 국내 화훼 농가는 계약 재배 시스템을 도입하여 안정적으로 우수한 원료를 공급하며 서로 상생하며 **농가의 소득 증대**시키고자 함
- 기능성원료 사업화는 건강기능식품 산업의 확대에 관련 원료생산업체, 유통업체 등의 **고용증가** 되는 **선순환 효과**를 발생시키고자 함

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내	
국외논문	SCIE	1	
	비SCIE	-	
	계	1	
국내논문	SCIE	-	
	비SCIE	-	
	계	-	
특허출원	국내	3	
	국외	-	
	계	3	
특허등록	국내	3	
	국외	-	
	계	3	
인력양성	학사	5	
	석사	5	
	박사	5	
	계	15	
사업화	상품출시	5	
	기술이전	-	
	공정개발	-	
제품개발	시제품개발	-	
비임상시험 실시		3	
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상	-
		2상	-
		3상	-
	의료기기	-	
진료지침개발		-	
신의료기술개발		-	
성과홍보		5	
포상 및 수상실적		-	
정성적 성과 주요 내용		-	

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화지원 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화지원 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.