

117070-3

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(O)

고부가가치식품기술개발사업 2019년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003060-01

국내 자생식물을 이용한 이너뷰티 기능성 소재 및 제품
개발 최종보고서

2020

농림축산식품부

농림식품기술기획평가원

국내 자생식물을 이용한 이너뷰티 기능성 소재 및 제품 개발

최종보고서

2020. 3. 26.

주관연구기관 / 코스맥스바이오(주)

협동연구기관 / 한국과학기술연구원

경희대학교 산학협력단

위탁연구기관 / 네오뉴트라(주)

농림축산식품부

(전문기관) 농림식품기술기획평가원

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “국내 자생식물을 이용한 이너뷰티 기능성 소재 및 제품 개발”(개발기간 : 2017. 06. ~ 2019. 12.) 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2020 . 02 . 10 .

주관연구기관명 : 코스맥스바이오(주) (대표자) 김 경 수 (인)

협동연구기관명 : 한국과학기술연구원 (대표자) 이 병 권 (인)

협동연구기관명 : 경희대학교 산학협력단 (대표자) 이 재 열 (인)

위탁연구기관명 : 네오뉴트라(주) (대표자) 강 재 학 (인)

주관연구책임자 : 코스맥스바이오(주) 이 선 희

협동연구책임자 : 한국과학기술연구원 김 형 자

협동연구책임자 : 경희대학교 이 경 태

위탁기관책임자 : 네오뉴트라(주) 박 상 옥

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	117070-3	해 당 단 계 연 구 기 간	2019.01.01. ~2019.12.31	단 계 구 분	3차년도/3년
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	고부가가치식품기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	국내 자생식물을 이용한 이너뷰티 기능성 소재 및 제품 개발			
연구책임자	이 선 희	해당단계 참여연구원 수	총: 20 명 내부: 20 명 외부: 0 명	해당단계 연구개발비	정부: 275,000천원 민간: 91,670천원 계: 366,670천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 38 명 내부: 38 명 외부: 0 명	총 연구개발비	정부: 760,000천원 민간: 253,340천원 계: 1,013,340천원
연구기관명 및 소속 부서명	코스맥스바이오(주) 한국과학기술연구원 경희대학교 산학협력단 네오뉴트라(주)			참여기업명: 코스맥스바이오(주) 네오뉴트라(주)	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명: 네오뉴트라(주)			연구책임자: 박상옥	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	일반과제
-------------------------	------

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호	4	8	1								

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약

보고서 면수
144

1. 바이오마커 검색을 통해 국내 자생 식물 중 “수국”을 피부건강 활성 소재로 선정
2. 수국(*Hydrangea serrata* Seringe) 유전자원 분석을 통해 품종 확보
3. 전국 자생지별 수국 분포도 확인 및 시범 재배 실시
4. 수국잎열수추출물 대량생산 공정 개발 및 표준화 완료
5. 수국잎열수추출물 내 단일화합물 분리 및 구조분석
6. 바이오마커 검색을 통해 유효지표물질 ‘하이드란제놀’ 결정
7. 유효지표물질(하이드란제놀) 및 활성물질(필로둘신) 대량 생산 공정 확립
8. 정제, 겔, 젤리 등 건강기능식품 제형 개발 및 파일럿 생산
9. 동물 및 인체적용시험용 수국잎열수추출물 표준화원료 대량 생산
10. 수국잎열수추출물 안전성 확인을 위한 단회경구투여 독성시험 완료
11. 세포실험을 통해 피부건강 활성 기전 규명 및 논문 게재 완료
12. 자외선 조사 동물 모델에서 피부건강 활성 효능 및 기전연구를 통해 논문 게재
13. 임상적용 건강기능식품 완제품 대량생산
14. 인체적용시험 프로토콜 개발, IRB 승인, 모니터링, DM 및 통계분석, 결과보고서 작성 및 승인을 통해 인체적용시험 완료
15. 국제 화장품 원료 규격집(ICID) 2건 등록, 특허 6건 출원 및 2건 등록
16. 학술발표 4건 및 논문게재 4편 완료
17. 국내(Health Ingredient Korea 2019)와 국외(Health Ingredient Japan 2019) 전시회를 통한 홍보
18. 수국잎열수추출물 정제 및 젤리 제품화
19. 개별인정 “자외선에 의한 피부 손상으로부터 피부 건강을 유지하는데 도움을 줄 수 있음”, “피부 보습에 도움을 줄 수 있음” 2건 기능성 신청 완료 및 “수국잎열수추출물” 품목설명회 발표

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p><연구 목적></p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 국내 자생식물의 활용을 통한 농촌의 고부가가치를 창출함에 따라 6차 산업화 모델 구축 ■ 피부 활성 소재의 제조 공정 및 품질관리 기준 지표 확립을 통한 품질 규격화 ■ 제품 적용 가능한 원료 가공기술 개발 및 조건 확립 (수용화, 가용화, 분말화 등) ■ 인체적용시험을 통한 과학적인 데이터를 확보한 피부건강 소재로서의 건강기능지향성 제품의 다양한 개발 ■ 판매의 다각화를 위해 On/Off 유통망 확보와 국내 및 해외 관계사의 유통망을 통한 해외 판로 개척 <p><연구 내용></p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 수국으로부터 유효성분 분리, 구조 규명 및 대량생산공정 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 국내 자생 식물로부터 바이오마커 검색을 통해 수국잎의 최적 추출조건 확립 - 유효물질(기능성 성분)의 분리 정제 및 활성 확인을 통해 기능성 유효지표물질 설정 - 원재료 표준화(유전자원 분석을 통해 품종 확보/재배지역/채취시기) 확립 - 제조공정 표준화를 통해 소재의 대량 생산 - GLP기관에서 단회투여 경구 독성시험을 통해 안전성 확보 ■ 수국과 지표물질의 피부건강 효능검증 및 기전 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 인간 섬유아세포(Hs68)에서 수국잎열수추출물과 하이드란제놀의 피부건강 활성에 대한 분자기전 연구: ROS 생성 저해 및 MAPKs, AP-1 활성 조절을 통해 MMPs의 기능을 억제하여 콜라겐 생성 회복 활성 연구 - 자외선 조사 동물모델에서 수국잎열수추출물과 하이드란제놀의 피부건강 활성에 대한 기능성 및 분자기전 연구: 피부 주름 감소 및 피부 보습인자 증가에 대한 활성 평가 및 신호전달 기전 연구 ■ 이너뷰티 소재의 제품화 및 산업화 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 표준화된 소재를 이용해 인체적용시험용 시제품 개발 및 제조 (GMP 시설) - 임상시험 프로토콜 개발 및 인체적용시험 실시 - 인체적용시험을 통해 소재의 안전성 및 이너뷰티 기능성 확인 - 건강기능식품(개별인정) 기능성원료 신청 - 건강기능식품 제품 개발 및 홍보, 마케팅 전략 수립
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ■ 바이오마커 검색을 통해 국내 자생 식물 중 “수국” 을 피부건강 활성 소재로 선정 ■ 수국(<i>Hydrangea serrata</i> Seringe) 유전자원 분석을 통해 품종 확보

	<ul style="list-style-type: none"> ■ 전국 자생지별 수국 분포도 확인 및 시범 재배 실시 ■ 수국잎열수추출물 대량생산 공정 개발 및 표준화 완료 ■ 수국잎열수추출물 내 단일화합물 분리 및 구조분석 ■ 바이오마커 검색을 통해 유효지표물질 ‘하이드란제놀’ 결정 ■ 유효지표물질(하이드란제놀) 및 활성물질(필로둘신) 대량 생산 공정 확립 ■ 정제, 젤, 젤리 등 건강기능식품 제형 개발 및 파일럿 생산 ■ 동물 및 인체적용시험용 수국잎열수추출물 표준화원료 대량 생산 ■ 수국잎열수추출물 안전성 확인을 위한 단회경구투여 독성시험 완료 ■ 세포실험을 통해 피부건강 활성 기전 규명 및 논문 게재 완료 ■ 자외선 조사 동물 모델에서 피부건강 활성 효능 및 기전연구를 통해 논문 게재 ■ 임상적용 건강기능식품 완제품 대량생산 ■ 인체적용시험 프로토콜 개발, IRB 승인, 모니터링, DM 및 통계분석, 결과보고서 작성 및 승인을 통해 인체적용시험 완료 ■ 국제 화장품 원료 규격집(ICID) 2건 등록, 특허 6건 출원 및 2건 등록 ■ 학술발표 4건 및 논문게재 4편 완료 ■ 국내(Health Ingredient Korea 2019)와 국외(Health Ingredient Japan 2019) 전시회를 통한 홍보 ■ 수국잎열수추출물 정제 및 젤리 제품화 ■ 개별인정 “자외선에 의한 피부 손상으로부터 피부 건강을 유지하는 데 도움을 줄 수 있음”, “피부 보습에 도움을 줄 수 있음” 2건 기능성 신청 완료 및 “수국잎열수추출물” 품목설명회 발표
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p><나고야의정서 대비 국내 자생 수국을 활용한 제품 생산 판매></p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 2010년 채택된 ‘유전자원에 대한 접근 및 이익의 이용으로 발생하는 이익의 공정하고 공평한 공유 (Access and Benefit-Sharing, ABS)에 나고야 의정서’가 2014년 발효되었고 2016년 10월 기준 총 86개국에 비준하였음 ■ 나고야 의정서는 의약품, 화장품 등의 전반적인 바이오산업 분야에서 파급효과가 클 것으로 예상되며, 특히 국내 바이오 기업들은 해외 유전자원에 크게 의존하고 있어서 나고야 의정서는 부담이 되고 있는 실정 ■ OECD는 2030년 경 ‘바이오경제시대’가 도래할 것으로 예측하고 있으며, 생물자원은 바이오산업의 핵심 소재로서 무한한 환경적, 경제적 가치를 지니고 있는 중요한 국가 자산 ■ 국내에서 자생하고 있는 수국의 잎을 활용한 피부건강 기능성 소재를 개발함에 따라 국내 재배 농가와 대단위 계약 재배지 확보로 원료 수급과 품질관리 비용절감 뿐만 아니라 해외 원료 사용에 따르는 로얄티 지불이 없으므로 경제적 가치는 증대 ■ 수국잎열수추출물은 수용성의 원료로서 다양한 건강기능식품 제형에 활용할 수 있을 뿐만 아니라, 할랄 시장까지 진출 계획

<최근 한류열풍으로 인한 한국산 제품 소비 증가를 통해 수출 전략상품으로 활용>

- 신규 기능성을 갖는 국내 자원 활용 및 생산기술의 국산화
- 국내의 자원 활용 뿐만 아니라 국내 연구진의 기능성 규명으로 수입 대체 효과와 더불어 수출 시 국내 연구의 국제적 위상 상승
- 2018년도 건강기능식품 생산 실적기준 피부건강과 체지방 감소의 이너뷰티 시장은 2,300억 기준으로 당사 최초 5% 시장 점유 달성 (피부건강) 목표로 복합기능성으로 체지방 감소 기능성 획득 시 매출 규모는 2배의 시장 형성 가능
- 제천시와 계약재배를 통해 안정적인 원물 공급과 농가는 안정적인 고소득으로 5차년에는 총 소득 기여금액이 180억 예상
- 코스맥스그룹은 중국의 많은 고객사를 확보하고 있으며, 세계 건강기능식품 시장 2위를 차지하고 있는 중국은 2017년도에 이너뷰티 시장이 100억 위안 (한화 약 1조 7000억원) 판매액을 돌파했으며, 이 중 수국잎열수출물 이너뷰티 제품으로서 5%의 시장 점유율 목표 계획

<국내의 기술력을 바탕으로 국내 및 해외 판매망을 통한 매출 증대로 신규 일자리 창출>

- 농가에서 계약재배를 통한 소재확보로 피부건강에 유용한 기능성 식품 원료를 생산하여 농가 소득증대가 기대됨
- 한류열풍으로 한국산 제품 소비 증가에 따라 수출 전략상품으로 활용
- 국내 자생식물을 이용하여 기능성 소재를 자체 개발을 함으로서 농촌 활성화를 통한 고부가가치로 농가소득 증대
- 국내의 기술력을 바탕으로 국내 및 해외 판매망을 통한 매출로 산업체는 인력을 보강하기 위한 청년들의 일자리를 창출

국문핵심어	이너뷰티 소재	국내 자생식물	수국잎	농촌활성화	일자리창출
영문핵심어	Inner beauty materials	Domestic native plants	Leaves of Korean hydrangea	Revitalizing the rural economy	Job creation

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	8
(1) 연구개발 목표	8
(2) 연구개발의 필요성	8
(3) 연구개발 범위	14
(4) 연구개발 추진체계	16
(5) 연구개발 추진일정	17
2. 연구수행 내용 및 결과	19
(1) 주관기관 연구수행 내용 및 결과	19
(2) 제1협동 기관 연구수행 내용 및 결과	76
(3) 제2협동 기관 연구수행 내용 및 결과	87
(4) 위탁기관 연구수행 내용 및 결과	109
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	131
4. 연구결과의 활용 계획	139
붙임. 참고 문헌	143

1. 연구개발과제의 개요

(1) 연구개발 목적

국내 자생식물의 피부건강 소재로서의 기능성 이너뷰티 제품 개발

- 국내 자생식물의 활용을 통한 농촌의 고부가가치를 창출함에 따라 6차 산업화 모델 구축
- 피부 활성 소재의 제조 공정 및 품질관리 기준 지표 확립을 통한 품질 규격화
- 제품 적용 가능한 원료 가공기술 개발 및 조건 확립 (수용화, 가용화, 분말화 등)
- 인체적용시험을 통한 과학적인 데이터를 확보한 피부건강 소재로서의 건강기능지향성 제품의 다양한 개발
- 판매의 다각화를 위해 On/Off 유통망 확보와 국내 및 해외 관계사의 유통망을 통한 해외 판로 개척

(2) 연구개발의 필요성

(가) 연구개발 개요

피부건강 소재로서 수국과 손바닥 선인장 개발 가능성 및 필요성

- 수국 (*Hydrangea serrata*)은 범의귀과 (Saxifragaceae)에 속하는 화목류로서 그 영명은 코리안 하이드렌지아 (Korean hydrangea)임.
- 수국의 꽃말은 ‘진심’, ‘변덕’, ‘처녀의 꿈’이다. 관심을 가져주면 금세 다시 활짝 피고, 적합한 환경에서는 다른 어느 꽃보다도 오랜 시간 피어 있다. 환경에 따라 변화하고 변화속에 진심을 담은 꽃임. 현재 강진군에는 17농가에서 4.9ha의 수국을 재배하고 있음. 전남의 61%, 전국의 32.7%를 차지할 정도로 비중이 큼.



- 농촌진흥청과 강진군농업기술센터, 전라남도농업기술원 및 재배 농가와의 협력을 통

해 재배 기술 및 일본으로 수출을 진행하고 있음. 현재까지는 화훼의 목적으로만 국내 및 일본으로 수출을 진행하고 있으나, 수국의 잎을 이용한 이너뷰티 기능성 소재로서 고부가가치를 창출할 수 있는 소재 개발을 활용한 건강기능식품으로의 제품 개발이 필요할 것으로 사료됨.

- **손바닥선인장 (*Opuntia ficus-indica* var. *Saboten*)**은 백년초라 불리며, 1976. 9. 9. 제주도 기념물 제 35호로 지정하였고, 북제주군에서 중앙정부에 요청하여 2001. 9. 11. 천연기념물 제 429호로 군락지 (월령리 359-2 번지 외)가 지정되어 보호되고 있음.

- 손바닥선인장의 재배면적은 1992년 1ha에서 1995년 22.5ha로 확대 된 이후 1998년 322.8ha를 기점으로 1999년 285.7ha, 2000년 199.7ha로 급격히 감소하였고 2013년에는 150ha가 재배되고 있음.



제주 손바닥선인장 자생지

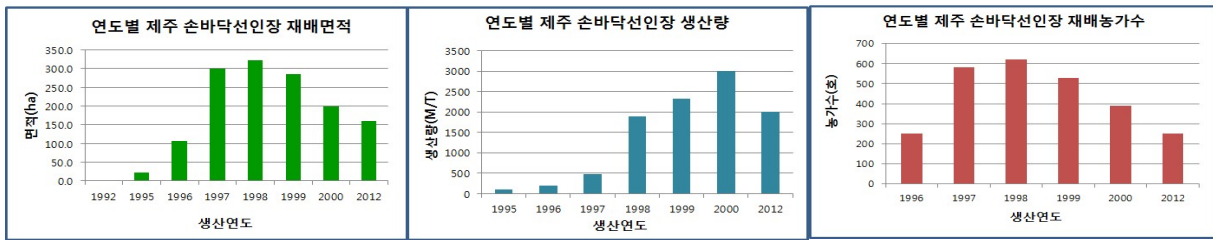
제주 선인장 마을

제주 한림읍 재배지

- 손바닥선인장 재배현황에 나타난 바와 같이 재배면적, 생산량, 재배 농가수는 열매의 가격 하락으로 인하여 재배 농가 스스로 폐원한 것으로 농가 소득 증대를 위한 기능성 식품개발로 농가의 고부가가치 창출이 시급한 상황임.

- 손바닥선인장은 제주도 지역 특산물로 발전시키기 위해 농업기술센터에서는 재배기술 개발, 약리효능관련 연구는 약학대학, 천연물과학연구소에서 수행을 했으며 식품관련 연구는 한국식품연구원에서 진행하여 다수의 제품들이 출시가 되고 특히 등록도 이루어졌으나, 손바닥선인장의 이너뷰티 기능성 소재로서 고부가가치 창출할 수 있는 제품은 개발되지 않은 상황임.

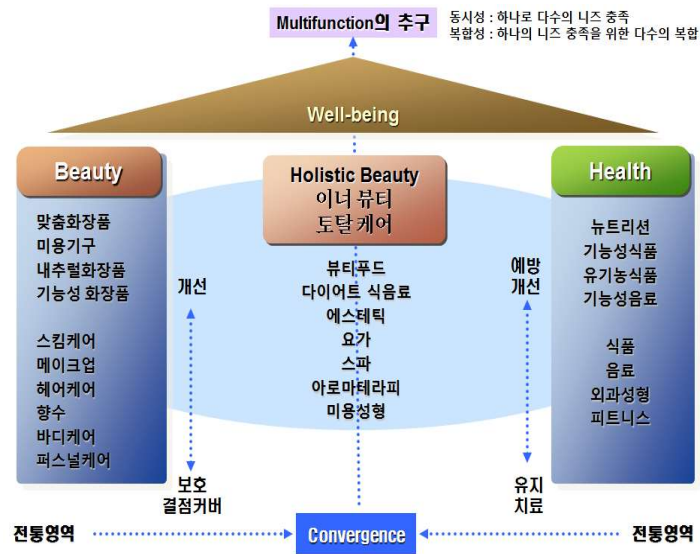
- 국내 뿐만 아니라 해외에서 건강기능성 제품을 판매하기 위해서는 임상의 과학적인 데이터를 기반한 피부건강의 이너뷰티 개별인정형 소재를 개발하여 다양한 건강기능성 식품 개발이 시급한 상황임.



이너뷰티(Inner Beauty) 코스메슈티컬(Cosmeceuticals) 화장품 시장의 성장성 확대

- **이너뷰티 (Inner Beauty)**는 ‘먹는 화장품’을 말하며, 식습관과 생활습관을 바꾸어 피부 속 건강을 향상시키고 피부 자체를 좋아지게 하는 것을 말함. 글로벌 인더스트리 애널리스트 보고서에서 ‘먹는 화장품’ 또는 ‘미용식품’ 등을 의미하는 ‘뉴트리코스메틱스 (Nutricosmetics)’의 글로벌 시장 규모가 2013년에는 41억 달러였으나, 오는 2020년에는 74억 달러 규모 (연평균 성장률 8.6%)로 성장할 것으로 예측하고 있음 [Global Industry Analysts Research Report, 2016].
- 국내 이너뷰티 시장은 지난 2011년부터 지난해까지 5년간 연평균 68.2% 급성장을 이뤘으며, 지난해 시장 규모는 전년도보다 21% 증가한 4000억원으로 추정되며 내년에는 5300억원 규모로 성장할 것으로 업계 관계자들은 예상하고 있다. 이처럼 이너뷰티 시장이 국내 뿐만 아니라 전 세계적으로 성장세를 보이며, 이너뷰티가 뷰티업계의 화두로 떠오르고 있음 [신한금융투자, 2016].
- 국내 화장품 업체들이 최근 신사업에 대한 투자를 본격화 하고 있음. 이미 성숙기에 접어든 국내 화장품 시장에서 이전의 고성장을 기대하기 힘들어졌기 때문임. 이에 따라 화장품 업체들은 기존 사업과 연계해 시너지를 극대화 할 수 있는 다양한 신사업을 준비하고 있음.
- 또한, 고령화사회로 진입하면서 안티에이징에 대한 수요가 빠르게 급증하고 있는 추세라며 향후 성장성이 높은 산업인 만큼 화장품업체들은 신성장 동력으로 건강기능식품 외에 새롭게 주목하는 분야는 ‘코스메슈티컬 (Cosmeceuticals)’ 임. 코스메슈티컬은 화장품 (Cosmetics)과 의약품 (Pharmaceuticals)을 합성한 것으로 주로 피부과나 병원 등에서 유통되는 화장품을 의미함.
- 그동안 국내시장에서는 해외브랜드나 일부 제약사들이 주도해 왔지만 국내 대기업이 본격적으로 뛰어들면서 변화의 흐름이 감지되고 있음. 미국의 코스메슈티컬 시장이 화장품 전체에서 약 20% 가량을 차지하는데 반해 우리나라는 5%도 채 안 될 정도로 아직은 규모가 크지 않은 상황이나, 최근 몇 년간 연 15% 이상의 성장세를 이어가면서 향후 성장성이 상당히 커지고 있음.

- 국내에 출시된 동국제약의 셀렐리안 24의 ‘마데카크림’은 출시한지 1년 만에 판매량 100만개를 돌파한데 이어 꾸준히 급성장을 하며 기록적인 판매고를 올리고 있음. 이 ‘셀탈라아시아티카’의 약효성분은 TECA 성분은 세계 유수의 논문에서 찾아볼 수 있으며, 상처치료제 마데카솔 등 의약품에 사용될 정도로 효과를 인정받고 있음. 활성 성분인 TECA는 콜라겐의 생합성을 촉진해 손상된 진피와 표피 재생에 도움을 주고, 무너진 피부에 탄력 회복에 도움을 준다고 알려져 있음.



[기능성 소재의 Multifunction 구도]



[국내 및 해외 산업계의 사업 다각화]

이너뷰티(Inner Beauty) 시장의 지속적인 성장과 한정적인 주원료 현황

- 이너뷰티의 시장 규모는 해외뿐만 아니라 국내에서도 지속적으로 성장하고 있지만, 생산된 제품의 주원료로 콜라겐, 히알루론산, 비타민군 등 기존의 화장품과 연결된 한정적 원료만 사용되고 있음.
- 본 연구에서는 이러한 주원료의 한계점을 극복하고, 향후 강화될 나고야 의정서 발효에 대비하여 성장하는 이너뷰티시장의 주원료로 사용하기 위한 국내 자생식물을 이용한 이너

뷰티소재 개발이 목표임.

- 따라서 본 연구의 결과물은 이너뷰티 소재의 주원료를 다양화 시킬 수 있으며 국내식품 소재의 사업화를 통해 6차 산업을 실현 할 수 있음.



< 해외 피부건강 제품 >

판매사	Shiseido	NEOCELL	Adiva	ORGANIKA
원산지	일본	미국	독일	캐나다
주원료	콜라겐	콜라겐	콜라겐	히알루론산
제품				



< 국내 피부건강 제품 >

판매사	야모레 퍼시픽	LG생활건강	CJ제일제당	한국야쿠르트
제품명	V=B 슈퍼콜라겐	하나미 비점	이너비	죽
주원료	저분자 콜라겐	비타민군/톤태반등	히알루론산	판도라타 추출물
제품				

[이너뷰티 시장의 지속적 성장 가능성과 출시제품의 주원료 현황]

(나) 핵심기술

- 현재 연구 개발하고자하는 국내 자생 소재의 수국과 손바닥선인장은 중국기사용의 화장품 소재 뿐만 아니라 식품의약품안전처의 식품원료 목록에 식품원료로서 등록이 되어 있음. 즉, 건강기능성 식품의 다양한 제품에 활용할 수 있도록 초기부터 사업화를 목적으로 개발하게 된 것임. 또한 이 추출물에 함유되어 있는 활성성분 (Active compound)은 피부건강에 효능을 갖고 있는 것을 확인하였음.

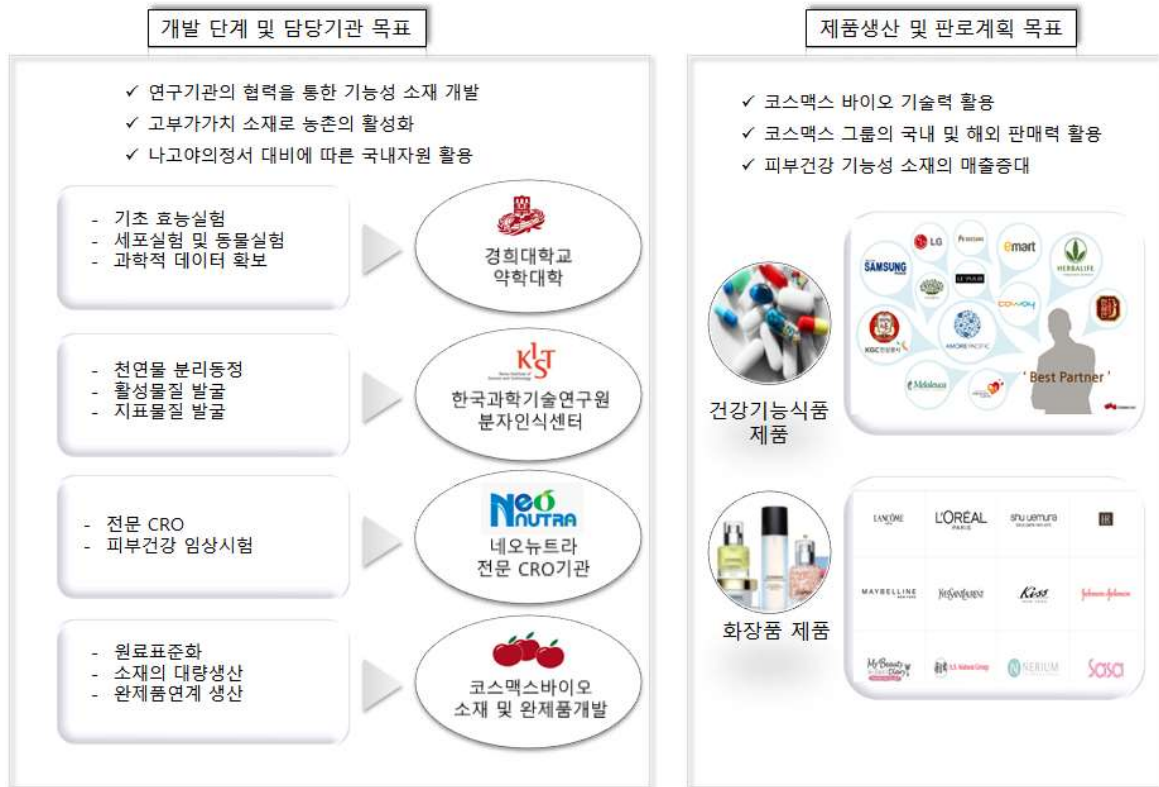
- 본 연구진은 수국, 손바닥선인장 소재의 피부건강 효능을 바탕으로 특허를 출원한 상태 임.

10-2016-0062854	애기수영 또는 산수국의 추출물을 유효성분으로 함유하는 주름개선 또는 피부미백조성물
10-1164-0200000	손바닥선인장 추출물을 함유하는 약학 조성물

- 이는 국내·국외에서 시장성이 확대되고 있는 이너뷰티 및 코스메슈티컬의 복합적기능성으로 동시성 (하나로 다수의 니즈 충족)과 복합성 (하나의 니즈충족을 위한 다수의 복합)의 소재로서 무한한 가능성을 갖고 있음.
- 한편 지난 2014년 10월 발효된 나고야 의정서에 따라 해외 생물자원을 이용해 만든 국내의 제약·화장품·식품 회사들은 해당 자원을 소유한 국가에 로열티로 인한 비용 증가 문제와 원가 상승으로 인한 원료 수급 불안정 문제가 발생할 수 있음.

⇒ 이에 국산 생물자원을 통한 제품 개발은 국가의 이익 뿐 만 아니라 농가 소득으로까지 확대할 수 있는 계기가 마련이 될 것이라 사료됨.

목표 : 국내 자생식물을 이용한 이너뷰티 기능성 제품의 글로벌 산업화



[피부건강 기능성소재의 개발과 다양한 판매망을 통한 사업화]

(3) 연구개발 범위

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
1차 년도	2017	[주관기관] <ul style="list-style-type: none"> 진보특허를 출원 	<ul style="list-style-type: none"> 수국 및 손바닥선인장 등의 해외 사용 사례 문헌 조사 이너뷰티에 대한 국내 및 해외 시장 조사 진보특허를 출원하기 위한 피부 관련 조사
		<ul style="list-style-type: none"> 원료 파일럿 스케일 생산 	<ul style="list-style-type: none"> 수국 및 손바닥선인장 파일럿 추출 생산 - 원료를 파일럿 스케일로 생산 공정 개발
		<ul style="list-style-type: none"> 대량생산 원료공정 개발 및 표준화 추출 확립 	<ul style="list-style-type: none"> 제조방법 개발 및 표준화 <ul style="list-style-type: none"> - 지표 or 효능물질 설정 - 설정 물질 분석 밸리데이션 생산 체제 구축 : Pilot scale and Large scale <ul style="list-style-type: none"> - 각 process 별 validation test 및 대량생산 - 대량 생산 구축에 따른 조건 확립
		<ul style="list-style-type: none"> 건강기능식품 제품 적용 제형 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 기능성 추출소재의 가공기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 효율적 원료 가공기술 개발 - 불용성 추출물의 가용화, 수용화 및 분말화 - 젤리 및 타정 등 완제품 적용의 다양한 제품 적용 개발 제품의 안정성 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 소재 첨가에 따른 품질 평가 - 가공공정을 통한 조건 확립 제품 적용 제형 연구 : Scale up <ul style="list-style-type: none"> - 각 process 별 최적 배합비 연구 - 지표성분 단계별 수율 및 함량 평가 - 유통기한 시험
		[제1협동] <ul style="list-style-type: none"> 손바닥선인장(901-15) 줄기와 열매의 에탄올 추출물의 지표성분 설정 수국(392-45) 에탄올 추출물의 성분연구 및 지표물질 설정 	<ul style="list-style-type: none"> 에탄올 추출물의 유효성분 연구 식약처 가이드라인에 따라 작성한 표준물질의 검량곡선으로부터 특이성, 직선성, 정밀성, 정확성, 회수율, LOD, LOQ 분석 HPLC-UV를 이용한 에탄올추출물의 HPLC profiling 실시 표준물질의 검량곡선에 기초한 에탄올추출물의 지표물질 함량 측정
		[제2협동] <ul style="list-style-type: none"> 바이오마커 검색을 통한 피부건강 활성 소재 선정 	<ul style="list-style-type: none"> 섬유아세포에 대한 세포 독성 평가 Pro-collagen 합성에 대한 활성 평가 MMP-1 생성에 대한 활성 평가 Hyaluronic acid 생성에 대한 평가 Elastase 억제 활성 평가 타깃 단백질 유전자 발현 분석

2차 년도	2018	[주관기관] • 동물 및 임상 적용 표준화 추출물 대량생산	<ul style="list-style-type: none"> 표준화 원료 대량 생산 - 지표 or 효능물질의 표준화 된 추출물 대량생산
		• 동물 및 임상 적용 표준화 추출물 독성 시험	<ul style="list-style-type: none"> 단회투여 경구 독성 시험(GLP 기관 의뢰)
		• 임상적용 건강기능식품 완제품 대량 생산	<ul style="list-style-type: none"> 피부건강 기능성 소재 함유 건강기능식품 대량 생산 - 피부건강 기능성함유 추출물 함유 완제품 대량 생산
		[제1협동] • 피부건강 활성 기전 연구	<ul style="list-style-type: none"> Collagen 합성 유전자 발현 기전 연구 MMP 단백질 억제 기전 연구 피부 염증 억제 기전 연구
		• 자외선 조사 동물 모델에서 피부건강 활성 및 기전 연구	<ul style="list-style-type: none"> 주름생성, 피부두께, 및 홍반에 대한 활성 평가 - Collagen, MMP 단백질 생성에 대한 활성 평가 - 타깃 신호전달 단백질 연구를 통한 기전 연구
		[주관 위탁기관] • 인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 인체적용시험 자료 검색 및 정리 - 인체적용시험 계획서 개발 - 프로토콜 IRB 승인
	• 인체적용시험 수행	<ul style="list-style-type: none"> - 실시기관 계약 - 개시모임 실시 - 인체적용시험 모니터링 	
3차 년도	2019	[주관기관] • 마케팅 전략 수립 • 판매의 다각화	<ul style="list-style-type: none"> 마케팅 전략 수립 - 상표/특허 출원 - 개별인정형 건강기능식품 출시 추진 - 주름(또는 미백) 기능성 비교시 성분 인증 - 제품 발표회 및 국내·외 박람회 참가 - 제품 마케팅, 홍보를 위한 자료 확립 판매의 다각화 - On/Off 유통망 확보 - 언론 홍보 - 국내 및 해외 관계사의 유통망을 통한 수출 판매
		[주관 위탁기관] • 인체적용시험 종료	<ul style="list-style-type: none"> - 모니터링 실시 및 인체적용시험 종료 - DM(Data management) 및 통계분석 - 결과보고서 작성 - 결과보고 IRB 승인
		• 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청 및 과제 종료 후 등록	<ul style="list-style-type: none"> - 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청서 작성 및 신청

(4) 연구개발 추진체계

연구개발과제		총 참여 연구원	
과제명	국내 자생식물을 이용한 이너뷰티 기능성 소재 및 제품 개발	이선희 외 20명	
기관별 참여 현황			
구분	연구기관수	참여연구원수	
중소기업	2	13	
대학	1	3	
국공립(연)	1	5	

코스맥스바이오(주) (주관)	한국과학기술연구원 (제1협동)	경희대학교 (제2협동)	네오뉴트라(주) (주관 위탁기관)
국내 자생식물의 피부건강 소재의 산업화	국내 자생식물을 이용한 피부건강 소재의 표준화 연구	바이오마커 검색을 통한 피부건강 활성 검색	피부건강에 대한 인체적용시험 및 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청
이선희 외 8명	김형자 외 4명	이경태 외 2명	박상욱 외 5명
담당기술개발내용	담당기술개발내용	담당기술개발내용	담당기술개발내용
<ul style="list-style-type: none"> 이너뷰티 소재로서의 6차 산업화 유효성 소재의 제조 공정 및 품질 규격화 이너뷰티 기능성 소재의 다양한 상품의 사업화 	<ul style="list-style-type: none"> 손바닥선인장 줄기, 열매 추출물의 표준화 수국 추출물의 지표 물질 설정 및 표준화 	<ul style="list-style-type: none"> 피부건강 활성 기전연구 자외선 조사 동물 모델에서 피부건강 활성 기전 연구 	<ul style="list-style-type: none"> 피부건강에 대한 인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발 피부건강에 대한 인체적용시험 수행 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청

(5) 연구개발 추진일정

1차년도																
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정												연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	이너뷰티 시장조사 및 진보특허출원														7,000 (현금) 6,580 (현물)	이선희 (코스맥스바 이오주)
2	원료수급 및 파일럿 스케일 생산														20,000 (현금) 18,810 (현물)	
3	대량생산 원료공정 개발 및 확립														30,000 (현금) 28,210 (현물)	
4	건강기능식품 제품 적용 제형 개발														10,000 (현금) 9,400 (현물)	
5	에탄올 추출물 제조														20,000 (현금)	김형자 (한국과학기술 술연구원)
6	성분연구														30,000 (현금)	
7	에탄올추출물 HPLC profiling														20,000 (현금)	
8	지표성분설정														20,000 (현금)	
9	함량분석 및 보고서 작성														10,000 (현금)	
10	섬유아세포의 세포증식능 측정														10,000 (현금)	이경태 (경희대)
11	Pro-collagen 합성 활성 평가														15,000 (현금)	
12	MMP 생성에 대한 활성 평가														15,000 (현금)	
13	타킷 단백질 유전자 발현 분석														10,000 (현금)	
2차년도																
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정												연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	동물 및 임상 시 표준화 원료 대량생산														30,000 (현금) 16,054 (현물)	이선희 (코스맥스바 이오주)
2	임상적용 건기식 제품 생산														20,000 (현금) 10,703 (현물)	
3	기능성 및 제형 특허출원														4,167 (현금) 2,226 (현물)	
4	인체적용시험 의뢰														100,000	

	(피부건강 평가시험)													(현금) 53,520 (현물)	
5	collagen 합성 신호전달 연구													15,000 (현금)	이경태 (경희대)
6	MMP 단백질 발현 신호전달 연구												15,000 (현금)		
7	자외선 피부손상 모델 활성 연구												25,000 (현금)		
8	동물모델 지표 평가												25,000 (현금)		
9	인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발 및 IRB승인												50,000 (현금)	박상옥 (네오뉴트라 ㈜)	
3차년도															
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정												연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
1	규격화 가능성 소재 대량 추출 생산													50,000 (현금) 19,260 (현물)	이선희 (코스맥스바 이오㈜)
2	건강기능식품 다양한 제형 완제품 확립													40,000 (현금) 15,410 (현물)	
3	상표/특허 출원													10,000 (현금) 3,852 (현물)	
4	전시회 및 마케팅 자료 확립													25,000 (현금) 9,631 (현물)	
5	국내 및 해외 전시회													70,000 (현금) 26,966 (현물)	
6	국내 및 해외 판매 홍보													19,167 (현금) 7,384 (현물)	
7	인체적용시험 모니터링 및 종료													70,000 (현금)	
8	DM/통계분석														
9	결과보고서 작성 및 IRB승인														
10	개별인정 신청서 작성 및 신청														

2. 연구개발 수행 내용 및 결과

[주관기관: 코스맥스바이오(주)]

(1) 이너뷰티 기능성 소재로서의 스토리텔링

현재 연구 개발하고자하는 국내 자생 소재인 수국과 손바닥선인장은 중국 기사용의 화장품 소재일 뿐만 아니라 식품의약품안전처의 식품원료 목록에 식품원료로서 등록이 되어 있다.

본 연구진은 수국, 손바닥선인장 소재의 피부건강 효능을 바탕으로 과제 개시 전 특허 출원을 통해 지식재산권을 선점하였다.

10-2016-0062854	애기수영 또는 산수국의 추출물을 유효성분으로 함유하는 주름개선 또는 피부미백조성물
10-1164-0200000	손바닥선인장 추출물을 함유하는 약학 조성물

한편 지난 2014년 10월 발효된 나고야 의정서에 따라 해외 생물자원을 이용하는 국내의 제약·화장품·식품 회사들은 해당 자원을 소유한 국가에 로열티 지불 필요하다. 그로 인한 비용 증가 및 원가 상승으로 원료 수급 불안정 문제가 발생할 수 있다.

⇒ 이에 국산 생물자원을 통한 제품 개발은 국가의 이익 뿐만 아니라 농가 소득으로까지 확대할 수 있는 계기가 마련이 될 것이라 사료된다.

(2) 수국 및 손바닥선인장 원료 파일럿 스케일 생산

(가) 수국 (Korean hydrangea)

- 제주도 재배지 : 제주특별자치도 농업기술원과의 협력을 통해 제주도농가의 안정적인 물량공급과 연간 수확량에 따른 원료 공급 가격 확보 (최종 기능성 제품의 산업화를 위한 적정 가격 책정)
- 전라남도 재배지
 - ① 전라남도농업기술원과의 MOU 체결을 함으로서 상호간의 협력을 통한 체계적인 재배 시스템 구축과 계약 재배 농가와와의 협력 네트워크 형성.
 - ② 완도군-코스맥스바이오(주)-전남식품산업연구센터-(주)고마미지”의 업무협약을 통해 사업추진에 원활함을 기함
- 충청북도 재배지
 - ① 충북테크노파크 한방천연물센터와 코스맥스바이오(주)의 공동 업무 협력체계 구축을 통해 차세대 한방, 바이오분야 선도에 기여
 - ② 산림약용자원연구소 발아모종의 시범재배를 통해 수국 성장 및 지표물질 함량 분석

(나) 손바닥선인장 (보검선인장)

- 제주도 재배지 : 제주도 기념물 제 35호로 지정되었으며, 월령리에 대단위 재배단지 형성으로 안정적인 원료 공급업체와의 협력을 통해 연간 대량 수확량에 따른 안정적인 공급량 및

가격 협상

⇒ 수국 및 손바닥선인장 원료의 산지별에 따른 원료 확보 및 이에 따른 원료 추출 조건 확립에 따라 지표 및 활성성분의 최적 추출 조건을 확인하며 대량 생산 시 공정 개발 표준화 추출을 확립 (산업성 소재 타진)

(다) 열수추출물의 제조

건조된 수국잎 20 g을 증류수 140 mL(7배, w/v)을 사용하여 98 °C에서 2, 3, 4, 5시간 동안 환류 추출하였으며 종료시점에 상층액을 취하여 0.45 µm PVDF syringe filter로 여과하여 HPLC 분석에 사용하였다. 추출 여액은 각각 농축하여 진공 상태로 완전 건조시켜 추출수율을 측정하였다.

손바닥선인장 분말 30 g을 증류수 150 mL(5배, w/v)을 사용하여 98 °C에서 3시간, 5시간 동안 환류 추출하였으며 종료시점에 상층액을 취하여 0.45 µm PVDF syringe filter로 여과하여 HPLC 분석에 사용하였다. 추출 여액은 농축하여 진공 상태로 완전 건조시켜 추출수율을 측정하였다.

(라) 주정추출물의 제조

수국잎 20 g을 30%, 50%, 70% 주정 140 mL(7배, w/v)을 사용하여 50 °C와 60 °C에서 2, 3, 4, 5시간 동안 환류 추출하였으며 종료시점에 상층액을 취하여 0.45 µm PVDF syringe filter로 여과하여 HPLC 분석에 사용하였다. 추출 여액은 각각 농축하여 진공 상태로 완전 건조시켜 추출수율을 측정하였다.

손바닥선인장 분말 30 g을 30%, 50%, 70% 주정 150 mL(5배, w/v)을 사용하여 50 °C와 60 °C에서 3시간, 5시간 동안 환류 추출하였으며 종료시점에 상층액을 취하여 0.45 µm PVDF syringe filter로 여과하여 HPLC 분석에 사용하였다. 추출 여액은 농축하여 진공 상태로 완전 건조시켜 추출수율을 측정하였다.

(마) 각 조건 별 추출물의 활성검색을 통해 추출조건 확정

각 조건 별 추출물의 세포보호 활성, pro-collagen type I 생성회복 활성, MMP-1 생성 감소 활성, HA 생성 조절 효소(HAS와 HYAL)의 유전자 발현에 대한 활성을 검색하였다.

그 결과 수국잎열수추출물이 이너뷰티 소재로 적합함을 확인할 수 있었다.

- 추출 온도 조건 : 98 °C

- 추출 조건 : 정제수

- 추출 시간 조건 : 3 ~ 5 hr

(3) 수국잎열수추출물의 안정성 확인을 위한 설치류에서의 단회경구투여독성 확인

(가) 수국잎의 식품 원료로서의 근거

수국의 잎은 [식품의 기준 및 규격](제2019-89호, 2019.10.14.)에 의하면 식용 가능하다고 명시되어 있으며, 잎은 현재 국내 및 해외에서 차로 마시고 있는 안전한 원료로서 2018년도

표 1. 수국잎열수추출물의 독성시험자료 요약

시험종류	시험계	시험물질	결과	결론	비고
단회경구투여 독성시험 (설치류)	SD rat (M 20, F 20) / 단회 투여 후 15 일 관찰	수국잎열수추출물 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg bw/day	1. 시험기간 동안 사망동물 및 이상 증상은 관찰되지 않았음. 2. 일반증상 결과, 연변 및 하복부의 오염이 관찰되었으나, 시험물질에 의한 영향은 인정되지 않음. 3. 체중측정 및 부검결과, 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았음.	신청원료의 개략의 치사량은 암수 모두에서 시험물질 5,000 mg/kg bw/day을 상회하는 것으로 보고됨.	(주)캠온 (GLP기관)

(4) 수국 유전자원 분석 및 수국 종자 확보

(가) 세명대학교 강신호 교수님 연구팀 의뢰 수국 유전자원 분석

수국속의 식물인 수국(*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.) 및 수국(*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. subsp. *serrata* (Thunb.) Makino, 「식품의 기준 및 규격」(식약처 고시 제2019-65호, '19.7.25.) “식품에 사용할 수 있는 원료” 중 수국 *Hydrangea serrata* Seringe)에 관한 형태적 및 유전적 특징을 분류해보기 위해서 수행되었다. 두 분류군을 비교해보기 위하여 수국(*H. macrophylla*) 및 수국(*H. serrata*)의 각각 3지점 총 6지점 10개체 총 60개체를 측정하였다. 형태학적 분석결과는 엽저, 엽연 및 잎의 털의 유무에서 상이한 차이가 나타나 수국(*H. macrophylla*) 및 수국(*H. serrata*) 두 종간에 차이가 뚜렷하게 나타났다. 또한, 유전학적 특징을 파악해 보고자 6지점에서 채집한 분석시료를 DNA 염기서열을 비교 분석하였다. 분석구간 De Smet et al.(2015) 등의 선행연구를 기초하여 선정하여 분석 결과는 수국(*H. macrophylla*) 및 수국(*H. serrata*)은 유전적으로 상이한 것으로 나타났다.

① 형태학적 특징 분류

▶ 종검색표

1. 산방상화서이다.

2. 1/2~2/3의 씨방상위이다; 관목이다; 잎의 톱니는 10~20개, 길이는 2 mm이다; 전국적으로 분포한다.

3. 잎은 달걀꼴이거나 넓은 달걀꼴, 길이 15 cm, 잎 표본에는 털이 거의 없다; 꽃과 열매가 대부분 크다(꽃잎 3~4 mm, 암술 2 mm, 열매 6~8 mm); 일본산이다.

.....1. *H. macrophylla* (Thunb.) Ser. 수국

3. 잎은 긴 타원형, 길이 10 cm 잎 양쪽으로 털이 발달한다; 꽃과 열매가 상대적으로 작다(꽃잎 2~3 mm, 암술 1~2 mm, 열매 2.5~6 mm); 전국에 자생한다.

.....2. *H. macrophylla* (Thunb.) Ser. subsp. *serrata* (Thunb.) Makino 수국

▶ 분류군의 기재

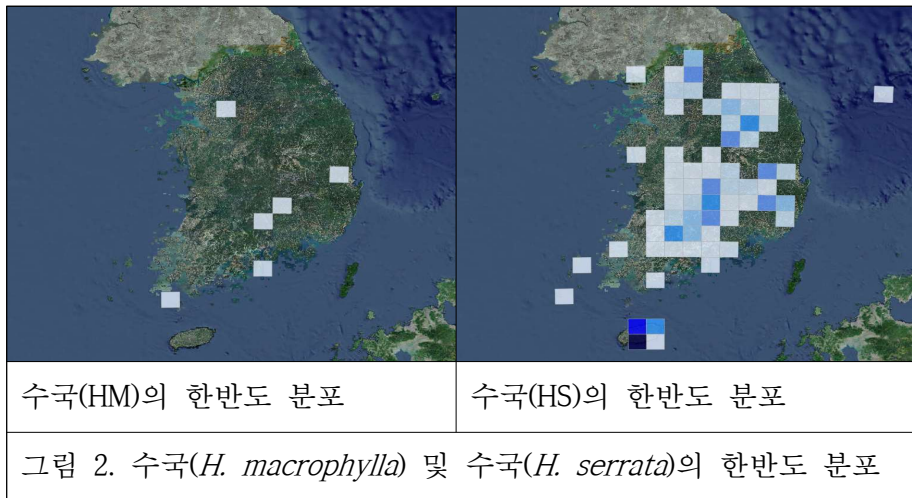
· 수국(*H. macrophylla*)

- 생활형: 낙엽성 활엽 관목이다.

- 줄기: 겨울동안 윗부분이 고사한다.

- 잎: 대생하며 달걀꼴 또는 넓은 달걀꼴이고 두꺼우며 짙은 녹색이다. 길이와 폭이 각 7~15 cm x 5~10 cm로 점첨두이고 넓은 예저이며 가장자리에 톱니가 있다.
- 꽃: 무성화가 6~7월에 개화하고, 편평꽃차례는 크고 둥글며 지름 10~15 cm로, 꽃받침조각은 4~5개이고, 꽃잎모양이며 하늘색 또는 연한 붉은색으로 변한다. 암술은 퇴화되어 결실은 하지 못한다.
- 수국(*H. serrata*)
 - 생활형: 낙엽성 활엽 관목이다.
 - 줄기: 1년생 가지에 털이 없거나 약간 있으며, 간혹 벗겨진다.
 - 잎: 대생하며 타원형 또는 달걀모양이다. 밑부분이 원저 또는 예저이며 길이와 폭이 5~15 cm x 2~10 cm로 예첨두이고 가장자리에 날카로운 톱니가 있으며 측맥과 뒷면 맥 위에 털이 나 있다.
 - 꽃: 양성화는 7~8월에 당해 자란 가지 끝에 큰 편평 꽃차례로 달리며 털이 있고 그 둘레에 있는 무성꽃은 지름 2~3 cm이며 꽃받침조각은 꽃잎같고 3~5개이며 백홍벽색이거나 벽색이다. 양성의 꽃은 꽃받침조각이 작고 꽃잎과 함께 각각 5개이다. 암술은 1개이고 암술머리는 3~4개이다.
 - 열매: 9~10월에 익으며 거꿀달걀모양의 삭과이다.

▶ 자생지 분포



▶ 형태학적 특성

표 2. 수국(*H. macrophylla*) 및 수국(*H. serrata*)의 질적 및 양적 특징

특징		분류군	수국 (<i>H. macrophylla</i>)	수국 (<i>H. serrata</i>)
생활형			관목	관목
근형			사상근	사상근
화서	형태		산방화서	산방화서
	소화경 털		X	X
열매	형태		X	X

	모양 씨방	x 씨방중위	난형, 타원형 씨방중위
잎	배열 엽선 엽저 엽연 엽병 털	대생 둔두 둔저 둔거치 o x	대생 점첨두 예저 예거치 o o
중성화	꽃잎 개화기	3~4 6~8월	3~5 6~7월
양성화	화서 꽃잎 수술 암술	윤생 4~5 10 퇴화	윤생 5 10 3~4 암술머리
잎길이	(mm)	143.39-153.62	52.94-97.33
잎 넓이	(mm)	94.31-109.49	28.49-73.43
엽병 길이	(mm)	15.28-45.34	6.97-17.04
화경 길이	(mm)	22.97-26.37	9.48-20.48
소화경 길이	(mm)	7.43-11.68	6.26-33.66

▶ 수국(*H. macrophylla*) 및 수국(*H. serrata*) 형태학적 주요형질



그림 3. 수국(*H. macrophylla*) 및 수국(*H. serrata*) 형태학적 주요형질
 1. 수국(HM) 생육환경 2. 수국(HS) 생육환경 3. 수국(HM) 꽃(붉은색)
 4. 수국(HS) 꽃(연한 자주색) 5. 수국(HM) 잎 6. 수국(HS) 잎

▶ 생육환경 특성

· 수국(*H. macrophylla*)

추위에 약하여 월동중 대부분의 지상부가 해를 입는다. 중성의 토양에서 잘 자라며, 강산 산성토양에서는 푸른 꽃을 알칼리성 토양에서는 붉은 꽃을 피운다. 반음지 식물로서 습기가 많고 비옥한 곳을 좋아하며 내공해성이 강하고 병충해가 없어 관리하기가 쉽다.

· 수국(*H. serrata*)

산골짜기나 전석지에서 자란다. 그늘진 계곡에서 다수가 군집을 이루고 건조한 바위틈이나 습한 계곡에서도 잘 자란다. 내음과 내한성, 내공해성이 강하다. 비옥하고 보습성이 충분한 사양토를 좋아한다.

▶ 활용 및 관리방법

· 수국(*H. macrophylla*)

관상가치가 높아 정원의 침경수서 하목이나 군식하여 조경수로 사용하고 꽃꽂이용으로도 많이 사용한다. 뿌리, 잎, 꽃을 ‘팔선화’라 하여 약용한다.

· 수국(*H. serrata*)

상록성 교목의 하부식재용으로 좋으며, 도시 조경용수, 생태용으로 식재할 수 있다.

② 유전학적 특징 분류

▶ 분석 재료 및 연구 방법

· 분석 재료

수국(*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.)과 수국(*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. subsp. *serrata* (Thunb.) Makino, 「식품의 기준 및 규격」(식약처 고시 제2019-65호, '19.7.25.) “식품에 사용할 수 있는 원료” 중 수국 *Hydrangea serrata* Seringe)의 유전적 특성을 비교 분석함

· 연구방법

- DNA 염기서열 비교 분석 (Sequencing)

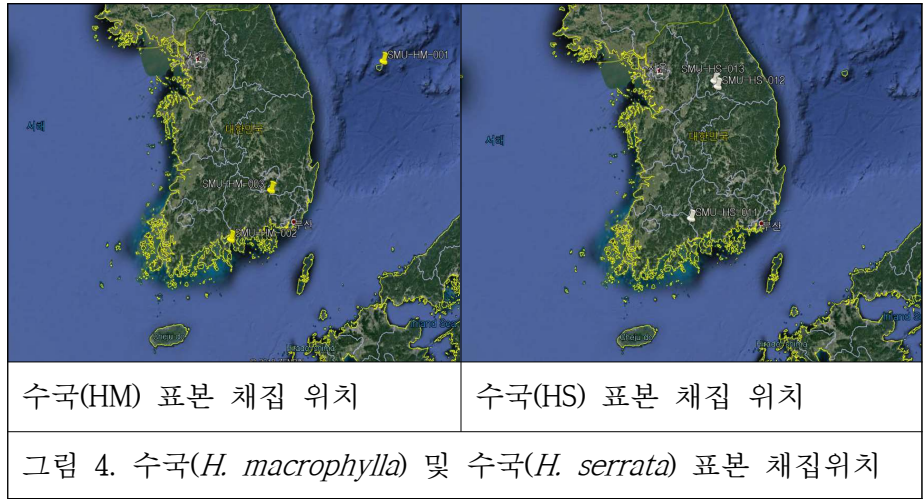
- 분석 구간: 총 3구간 - 핵 유전자의 한 구간(nrDNA ITS)과 엽록체 DNA 두 구간(trnL-trnL-F, trnC-ycf6). NCBI(National Center for Biotechnology Information), De Smet et al. (2015) 등 선행연구를 기초하여 선정함

- 분석 시료: 표 3 및 그림 4 참조

표 3. 수국(*H. macrophylla*) 및 수국(*H. serrata*) 표본 채집 위치

종명	관리번호	채집지	좌표
수국 (<i>H. macrophylla</i>)	SMU-HM-001	경북 울릉군	37° 29'00.33"N 130° 54'23.19"E
	SMU-HM-002	전남 여수시	34° 46'33.49"N 127° 44'33.60"E
	SMU-HM-003	경남 창녕군	35° 31'55.72"N 128° 33'12.00"E

수국 (<i>H. serrata</i>)	SMU-HS-011	전남 광양시	35° 08'39.75"N 127° 36'18.26"E
	SMU-HS-012	충북 제천시	37° 12'13.11"N 128° 8'46.13"E
	SMU-HS-013	강원 원주시	37° 17'30.93"N 128° 4'44.89"E



· 1-nrDNA ITS 결과

NCBI GenBank data를 포함하여 5시료를 분석한 결과 정렬(Alignment)된 605bp의 결과를 얻었다. GenBank data를 포함하여 모든 수국(*H. macrophylla*)과 수국(*H. serrata*)은 각 분류군 내에서 동일한 염기서열을 가지고 있으며, 수국(*H. macrophylla*)과 수국(*H. serrata*)은 1-nrDNA ITS 유전정보가 서로 상이한 것으로 나타났다. 아래 정렬된 염기서열에서 45번, 83, 116, 170, 434, 435, 574등에서 삽입(insertion)/삭제(deletion), 치환(substitution) 등에 의한 염기서열의 변이가 나타난 것으로 보인다. 코스맥스바이오(주)에서 상품화하려는 수국(*H. serrata*)은 수국(*H. macrophylla*)과 유전적으로 상이한 것으로 나타났다.

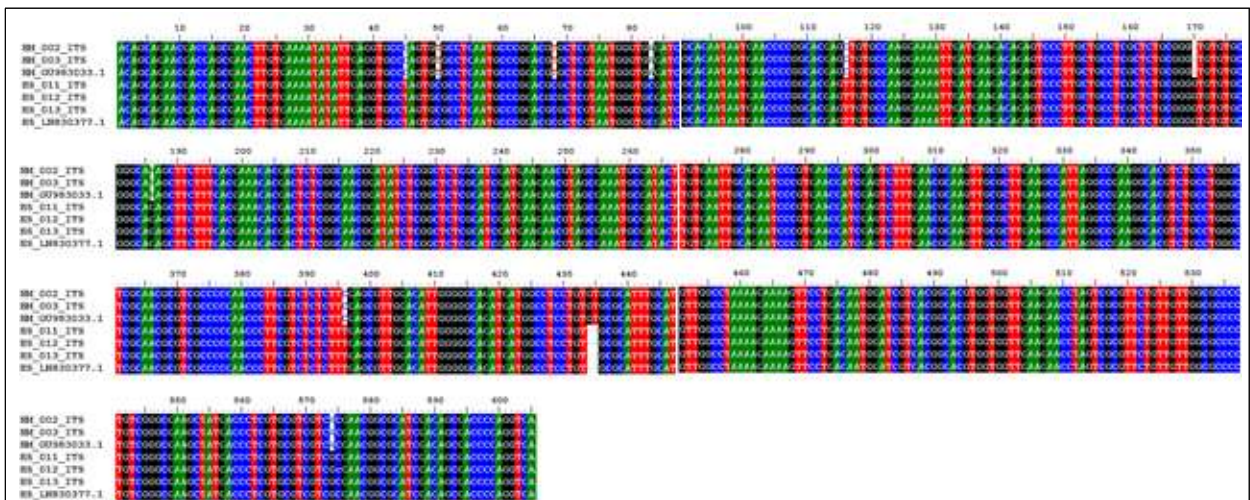
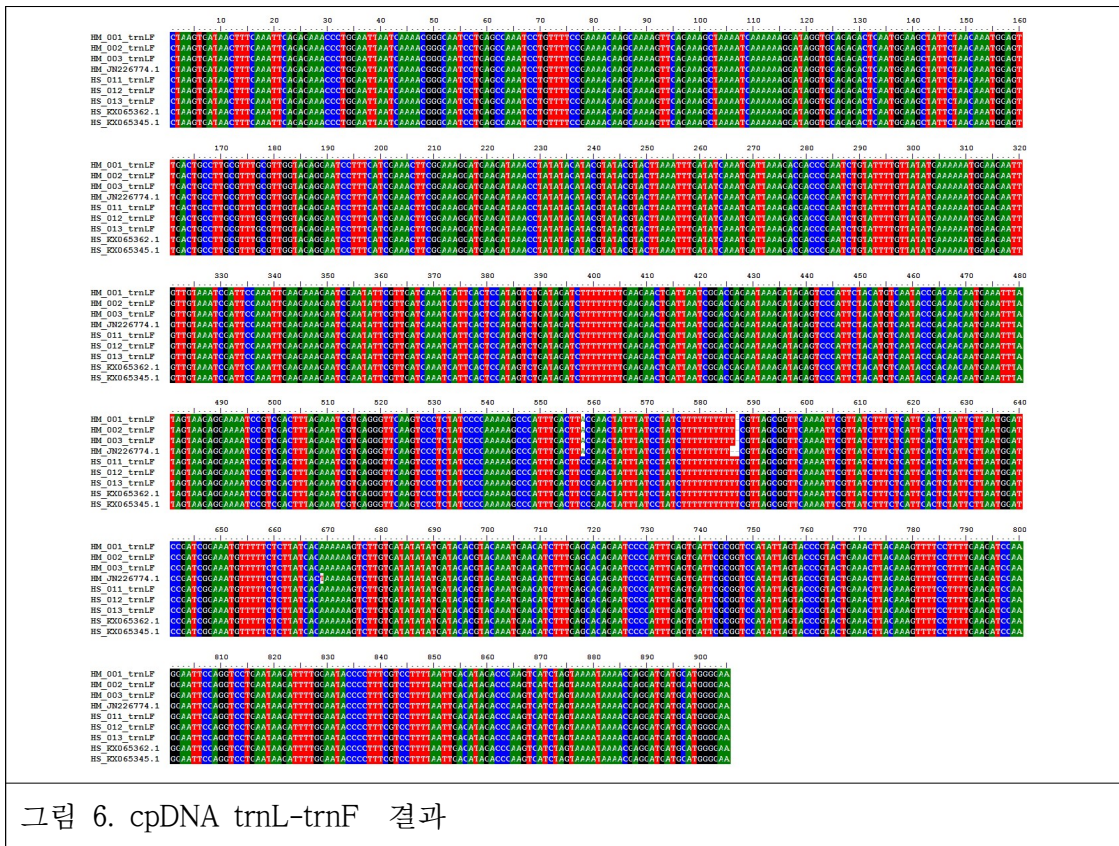


그림 5. 1-nrDNA ITS 결과

· cpDNA trnL-trnF 결과

NCBI GenBank data를 포함하여 6시료를 분석한 결과 정렬(Alignment) 후 905bp의 결과를 얻었다. GenBank data를 포함하여 모든 수국(*H. macrophylla*)과 수국(*H. serrata*)은 모두 동일한 염기서열을 가지고 있으며, 558번 및 587번에서 삽입(insertion)/삭제(deletion), 치환(substitution) 등에 의한 염기서열의 변이가 나타난 것으로 보인다. 코스맥스바이오(주)에서 상품화하려는 수국(*H. serrata*)은 수국(*H. macrophylla*)과 유전적으로 상이한 것으로 나타났다.



· cpDNA trnC-ycf6 결과

NCBI GenBank data를 포함하여 6시료를 분석한 결과 정렬(Alignment)된 817bp의 결과를 얻었다. 수국(*H. macrophylla*)과 수국(*H. serrata*)은 각 분류군 내에서 동일한 염기서열을 가지고 있으며, 529번 자리에서 하나의 변이가 나타났다.

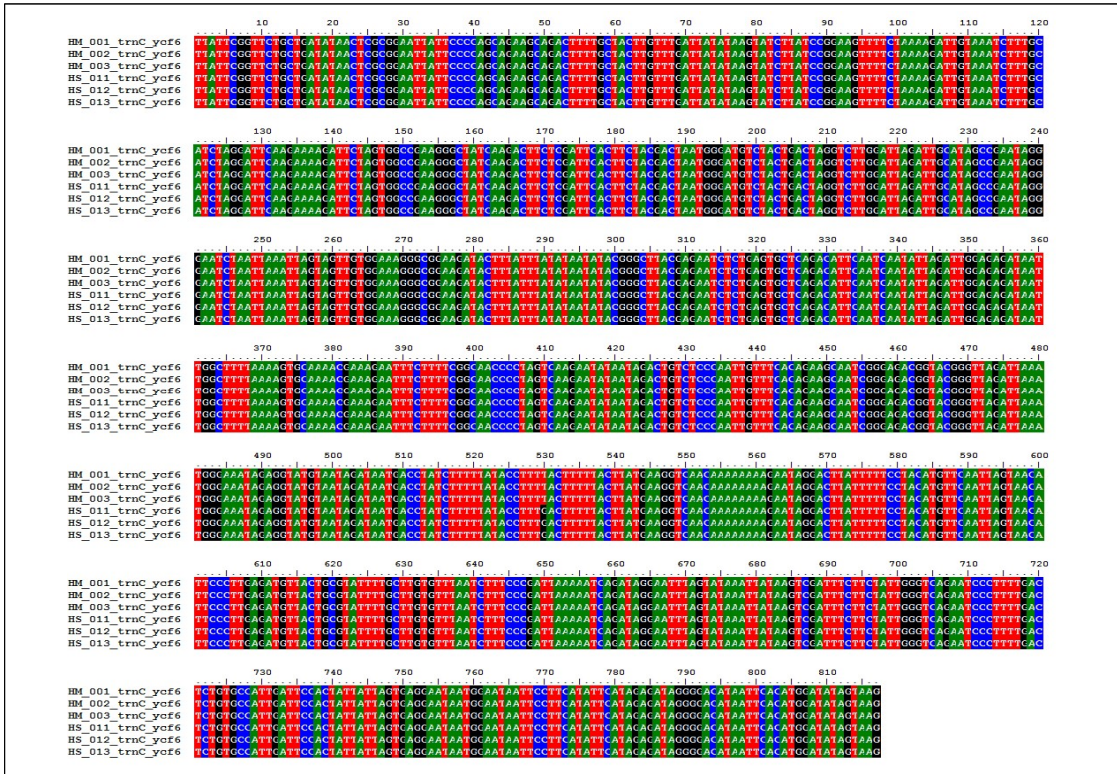


그림 7. cpDNA trnL-trnF 결과

▶ 연구 결과

3종류 유전자의 염기서열을 조사한 결과 수국(*H. macrophylla*)과 수국(*H. serrata*)은 유전적으로 상이한 것으로 나타났다. 연구에 사용한 3 유전자의 유전적, 진화적 차이(진화속도 등)에 의하여 수국(*H. macrophylla*)과 수국(*H. serrata*)은 1-nrDNA ITS 유전정보 및 cpDNA trnL-trnF 유전정보가 서로 상이한 것으로 나타나는 것을 볼 때 수국(*H. macrophylla*)과 수국(*H. serrata*)은 유전적으로 상이하다.

(나) 수국 종자 확보를 통한 보급

국립산림과학원 산림약용자원연구소 김현준 연구사가 수국(*Hydrangea serrata*)을 동정하고 종자를 채집한 뒤 발아묘 재배. 산지 별 수국씨를 채취한 후 수국씨 파종 방법별로 발아상태 및 생육상태를 확인하여 시범재배 임업후계자 임가에 보급하였다.

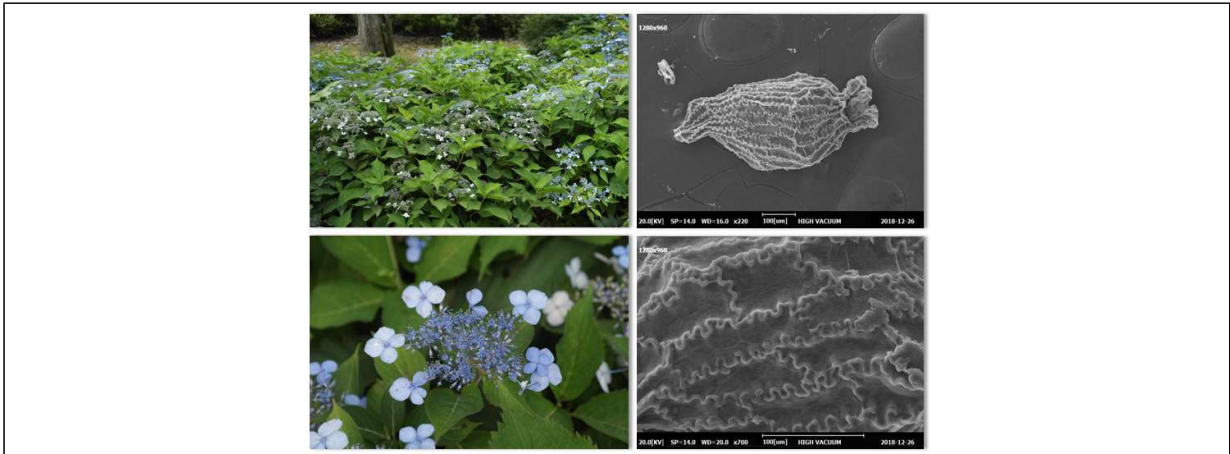


그림 8. 수국 종자

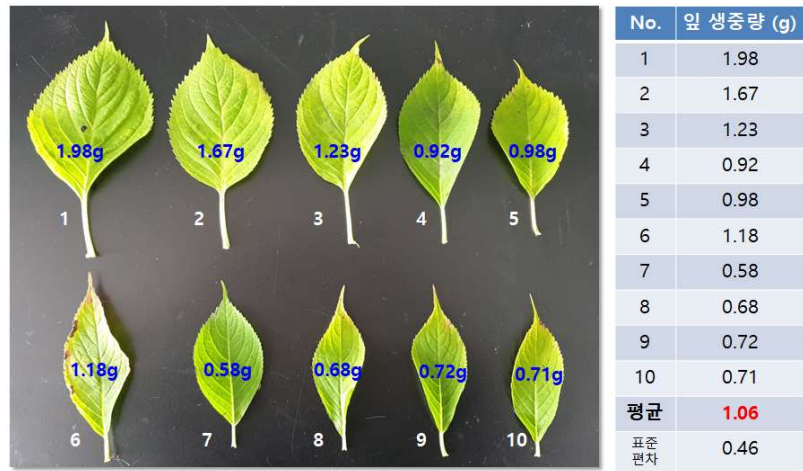


그림 9. 수국 잎 생중량



그림 10. 산지 별 수국 씨 채취 및 발아 상태

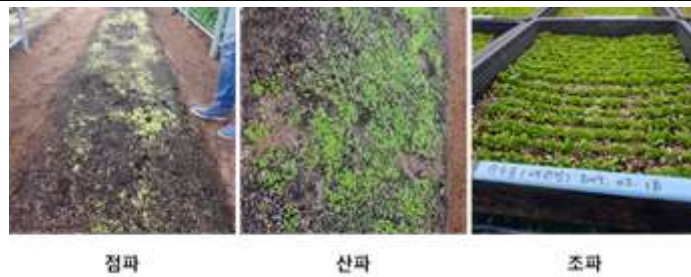


그림 11. 수국 씨 파종 방법 별 발아 상태



그림 12. 강원도 대관령 채취 수국 씨 2월 18일 파종 후 2개월 재배

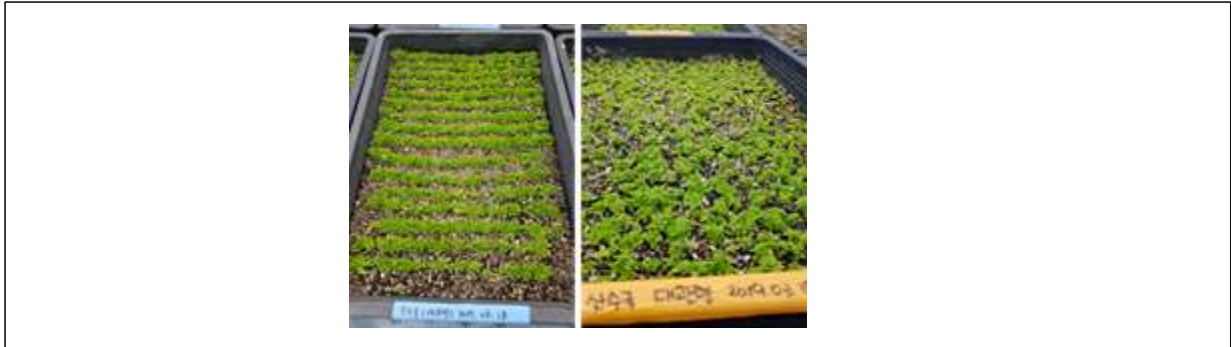


그림 13. 강원도 대관령 수국 씨 3월 18, 19일 파종 후 2개월 재배



그림 14. 2월 18일 파종한 수국 모종 5개월 재배 후 노지 및 산지 이식



그림 15. 2월 18일 파종한 수국 모종 8개월 재배

5개월 재배 수국 모종(그림 14)과 8개월 수국 모종(그림 15)은 현재 시범 재배지인 제천에 이식 후 성장 중.

(5) 전국 자생지 별 수국 분포도 확인 및 수국잎 채취

(가) 수국잎열수추출물 내 유효성분 분석 및 지표물질 대량 추출용 수국잎 채취

표 4. 채취 지역별 원물 무게 및 추출수율

	일시	채취지역	원물무게(kg)	추출수율(%)
1	2017.09.	제주도	185	21.5
2	2018.06.	제주도 소길리	8	24.7
3	2018.07.	경상북도 영주시	3.69	21.6
4	2018.07.	강원도 강릉시	2.69	16.6
5	2018.07.	강원도 강릉시	1	21.2

6	2018.09.	전라도 나주시	307	16.0
7	2018.09.	강원도 강릉시	629	27.6
8	2018.05.	완도군 청산도	0.41	20.8
9	2019.06.	경상북도 울릉도	0.67	30.4
		원물 무게 합계 (kg)	1,137.46	

(나) 수국(*H. macrophylla*) 및 수국(*H. serrata*)의 유전자원을 분석한 세명대학교 강신희교수님 연구팀에 의뢰하여 전국에 분포한 자생 수국(*H. serrata*)잎 채취

표 5. 자생지 별 수국잎 채취 원물 무게 및 추출수율

	일시	채취지역	원물무게(kg)	추출수율(%)
1	2019.05.	안양시 관악산	7.2	22.8
2	2019.05.	영주시 소백산	9.6	26.4
3	2019.06.	제천시 덕동계곡	18.8	28.4
4	2019.06.	원주시 치악산	10.4	26.4
5	2019.06.	의정부시 수락산	6.8	25.6
6	2019.06.	서울특별시 불암산	12.2	20.0
7	2019.06.	파주시 감악산	8.8	22.4
8	2019.06.	중평군 좌구산	15.7	20.4
9	2019.06.	괴산군 속리산	5.7	19.6
10	2019.06.	음성군 미타사	6.8	21.2
11	2019.06.	구례 지리산	5.5	34.0
12	2019.06.	제천 봉황산	10.3	30.0
13	2019.06.	원주 치악산	7.4	32.0
14	2019.06.	가평 명지산	18.3	23.5
15	2019.06.	가평 어비산	5.7	28.0
16	2019.06.	담양 무등산	6.7	25.0
17	2019.06.	구례 봉애산	8.4	34.0
18	2019.06.	밀양 금오산	8.6	25.0
19	2019.06.	밀양 백운산	12.9	23.5
20	2019.06.	창녕 관룡산	9.9	24.5
21	2019.06.	고성 벽방산	8.2	25.5
22	2019.06.	산청 둔철산	6.5	30.0
23	2019.06.	거창 금원산	6.2	27.0
24	2019.06.	대구 팔공산	5.2	21.5
25	2019.06.	칠곡 가산	13.7	20.0
26	2019.06.	군위 팔공산	7.6	24.5
27	2019.06.	대구 비슬산	5.7	26.0
28	2019.06.	대전 만인산	6.9	24.5

29	2019.06.	세종 매봉	9.3	21.5
30	2019.06.	예산 덕숭산	7.8	24.5
31	2019.06.	논산 대둔산	9.7	22.5
32	2019.06.	태안 큰댕골산	6.5	24.0
33	2019.06.	서천 희리산	18.6	22.0
34	2019.06.	임실 성수산	12.5	27.0
35	2019.06.	군산 월명호수	14.2	22.5
36	2019.06.	장수 선각산	14.7	25.5
38	2019.07.	문경 주흘산	17.7	25.0
39	2019.07.	김천 수도산	16.2	19.5
40	2019.07.	영주 흰봉산	16.3	26.5
41	2019.07.	영주 소백산	18.4	28.5
42	2019.07.	포항 덕동마을	18.7	21.5
43	2019.07.	영양 울연산	17.6	27.5
44	2019.07.	청도 가지산	13.2	22.5
45	2019.07.	울진 통고산	19.3	23.5
46	2019.10.	전남 곡성	500	23.5
원물 무게 합계 (kg)			986.4	

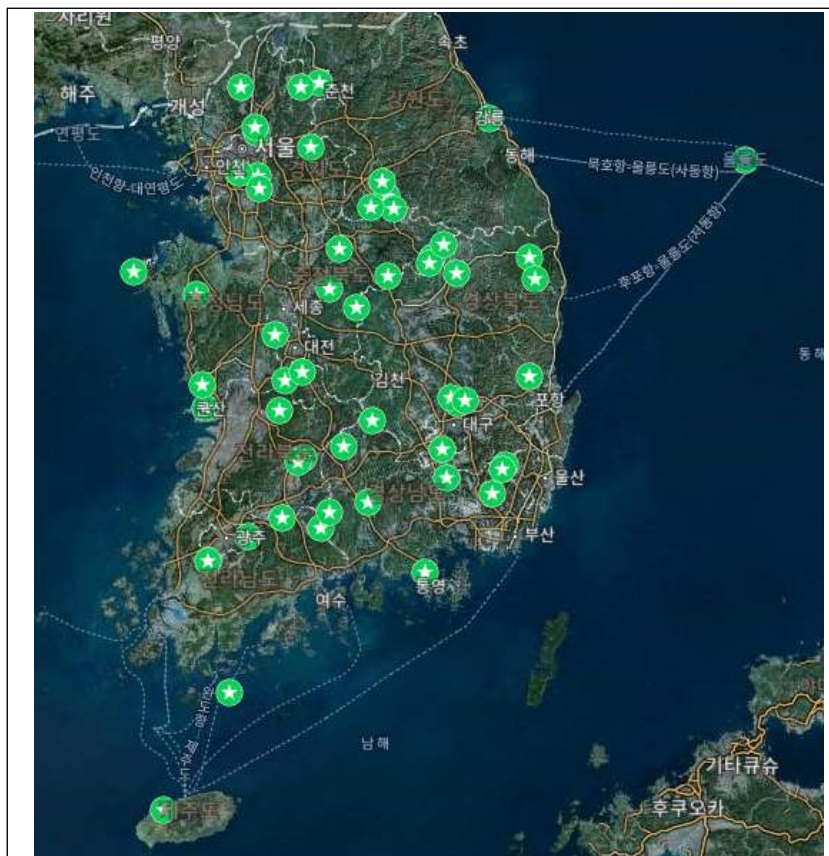


그림 16. 전국 수국옆 채취 지역

- 지역별 채취 시기별 수국잎에서 유효지표물질인 하이드란제놀을 분석한 결과, 중부 지역을 기준으로 이남 지역에서 대체적으로 하이드란제놀의 함량이 높은 것을 알 수 있었으며, 동일지역이라도 시기에 따라 함량의 변화가 있음.
- 위의 53군데 지역 별 채취 수국 자료를 이용하여 규격화 기능성 소재 대량 추출생산에 기초 자료로 활용.

(6) 수국 (*Hydrangea serrata*) 원료의 열수추출물 대량생산 및 소재의 제형 조건 확립

(가) 유효지표물질(하이드란제놀) 표준화 된 수국잎열수추출물 (WHS) 대량생산

수국잎 건조물 100 kg에 정제수 15~20배인 1,500 kg을 투입하여 90~100 ℃, 5시간 동안 환류 추출 후 감압여과 (10~50 μm)를 통해 추출액을 얻었다. 추출여과액은 원심박막 농축 (60 ℃)을 하여 수국잎열수추출 농축물 69 kg을 확보하였으며, 분말화 (Inlet temp. 180~200 ℃, Outlet temp. 80~100 ℃) 과정을 통해 수국잎열수추출물(WHS)을 획득하였다(수율: 23%). 대량생산된 열수추출물은 협동기관인 경희대 약대에서 연구 진행을 위한 동물실험에 사용할 표준화 된 수국(*Hydrangea serrata*) 열수추출물로 공급 및 인체적용시험을 위한 식품으로 사용되었다.

표 6. 인체적용시험 수국잎열수추출물 대량생산 공정도

제조공정	공정, 식품, 식품첨가물	Hydrangenol (mg/g)	수율(kg)
원재료(수국)	-학명: <i>Hydrangea serrata</i> Seringe -기원: 국내 -사용부위: 잎 (dry)	2.45	100
↓			
추출	열수 15~20 배수, 90~100 ℃, 5 시간 추출	0.12	1,500
↓			
여과	감압여과 (카트리지원통형필터 10~50 μm 여과)		
↓			
농축	감압농축 또는 박막농축, 40~60 ℃	2.61	69
↓			
건조	분무건조 In temp: 180~200 ℃ Out temp: 80~100 ℃		
↓			
원료	수국잎열수추출물	7.68	23

(나) 수국잎열수추출물을 이용한 건강기능식품의 다양한 제형 개발

① 정제의 제조

정제는 건강기능식품 원료를 일정한 형상으로 압축하여 만든 것으로 1개의 계량 단위로서 취급하기 쉽고 섭취하기 용이하며 제법이 비교적 간단할 뿐만 아니라 식품원료의 안정화 등이 타 제형에 비해 용이하다. 수국잎열수추출물 정제는 추출물 300 mg과 600 mg을 이용하여 제조하였으며 붉은 갈색 코팅을 통해 인체적용시험에 사용 시 두 용량에 구분이 없도록 하였다.

표 7. 300 mg 수국잎열수추출물 정제 배합

원료명	배합비 (%)	단위 중량 (mg)
수국잎열수추출물	33.3334	300.0006
이산화규소	1.7000	15.3000
스테아린산마그네슘	1.2000	10.8000
결정셀룰로오스	56.6105	509.4945
히드록시프로필메틸셀룰로오스	3.2300	29.0700
카르복시메틸셀룰로오스칼슘	3.0000	27.0000
글리세린지방산에스테르	0.0770	0.6930
이산화티타늄	0.1633	1.4697
홍국적색소	0.4898	4.4082
분말카라멜색소	0.1960	1.7640
합계	100.0000	900.0000

표 8. 600 mg 수국잎열수추출물 정제 배합

원료명	배합비 (%)	단위 중량 (mg)
수국잎열수추출물	66.6667	600.0003
이산화규소	1.7000	15.3000
스테아린산마그네슘	1.2000	10.8000
결정셀룰로오스	23.2772	209.4948
히드록시프로필메틸셀룰로오스	3.2300	29.0700
카르복시메틸셀룰로오스칼슘	3.0000	27.0000
글리세린지방산에스테르	0.0770	0.6930
이산화티타늄	0.1633	1.4697
홍국적색소	0.4898	4.4082
분말카라멜색소	0.1960	1.7640
합계	100.0000	900.0000



그림 17. 수국잎열수추출물 정제 사진

② 인체적용시험에 사용 된 코팅정제에서의 제형 안정성을 확인하기 위한 붕해도 확인 (붕해기준 : 60분) 결과 적합 확인

표 9의 결과와 같이 수국잎열수추출물(WHS)를 포함하는 정제물이 적합 붕해 시간내에 모두 붕해 된 것을 확인할 수 있었다. [식품의약품안전처의 식품공전 제 7.1.1.6 붕해시험법]

표 9. 제피제로 제피된 WHS 정제 붕해도시험 결과

	온도(℃)	RPM	용매	붕해 기준	붕해시간	적합도
제피제로 제피된 WHS 300mg 정제	37	30	시험액1	60분	40분 57초 ± 2분 6초	적합
제피제로 제피된 WHS 600 mg 정제	37	30	시험액1	60분	47분 24초 ± 6분 16초	적합

③ 완제품 코팅정제에서의 하이드란제놀(Hydrangenol) 함량 분석

그림 18에서 도출된 추세공식에 따라 적분값을 계산하여 위와 같은 값을 계산하였다. 그 결과, 정제의 지표성분은 같은 농도의 수국잎열수추출물보다 약 1.79% 높은 수준으로 확인되었으며, 건강기능식품 지표성분의 기준치인 80%~120% 내 포함되는 것을 확인할 수 있었다.

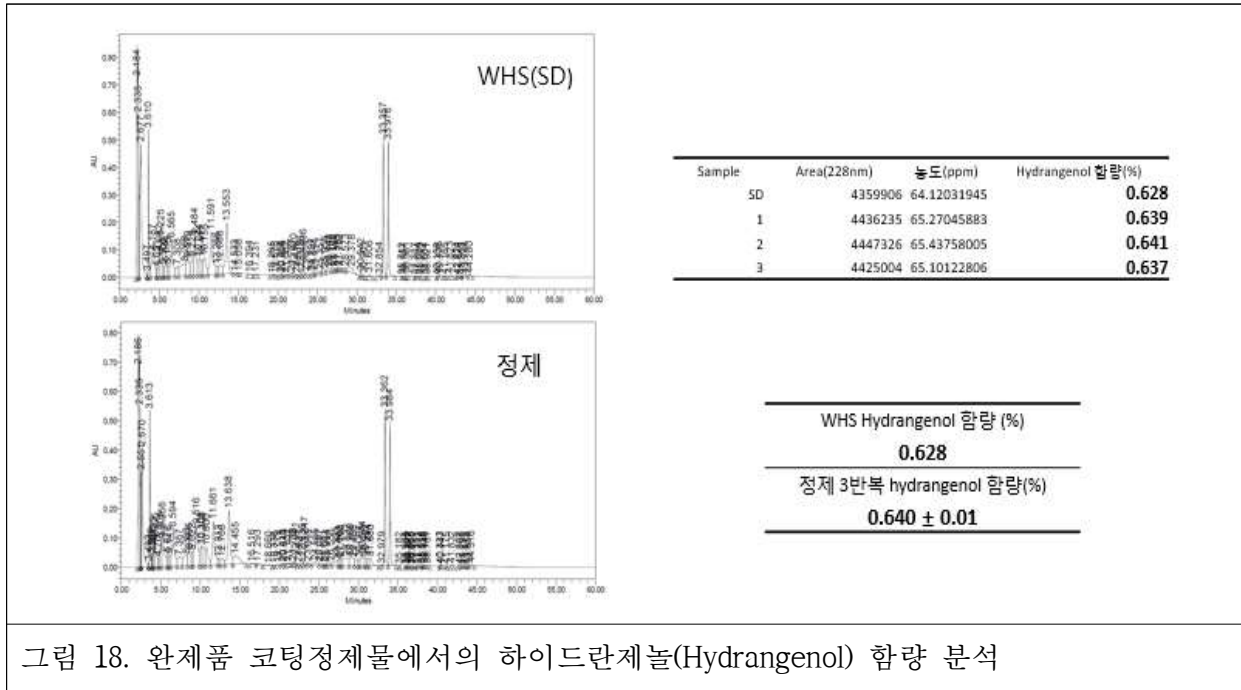


그림 18. 완제품 코팅정제물에서의 하이드란제놀(Hydrangenol) 함량 분석

(다) 완제품 제형의 겔 제형 조건 설정

① 겔 제조

겔(gel)은 콜로이드 용액이 일정한 농도 이상으로 진해져서 튼튼한 그물조직으로 굳어진 것으로 유동성이 있는 고체나 반 고체의 상태를 말한다. 액상에 겔화제를 첨가하여 만들게 되는데, 수국잎열수추출물 겔은 이미 확립된 분말화 및 수용화 제형조건에 따라 수국잎열수추출물을 정제수에 녹인 후 산탄검을 첨가하여 제조하였다.

표 10. 300 mg 수국잎열수추출물 겔 배합

원료명	배합비 (%)	단위중량 (g)
수국잎열수추출물	3.0000	0.3000
프락토올리고당액	25.0000	2.5000
무수구연산	0.2000	0.0200
산탄검	0.0500	0.0050
정제수	72.7500	72.7500
합계	100.0000	10.0000

표 11. 600 mg 수국잎열수추출물 겔 배합

원료명	배합비 (%)	단위중량 (g)
수국잎열수추출물	6.0000	0.6000
프락토올리고당액	25.0000	2.5000
무수구연산	0.2000	0.0200
산탄검	0.0500	0.0050
정제수	68.7000	6.8700
합계	100.0000	10.0000



그림 19. 수국잎열수추출물 겔 사진

② 완제품 겔에서의 유효지표물질 하이드란제놀(Hydrangenol) 함량 분석

그림 20에서 도출된 추세공식에 따라 적분값을 계산하여 위와 같은 값을 계산하였다. 그 결과, gel의 지표성분은 같은 농도의 수국잎열수추출물보다 약 6.27% 높은 수준으로 확인되었으며, 건강기능식품 지표성분의 기준치인 80%~120% 내 포함되는 것을 확인할 수 있었다.

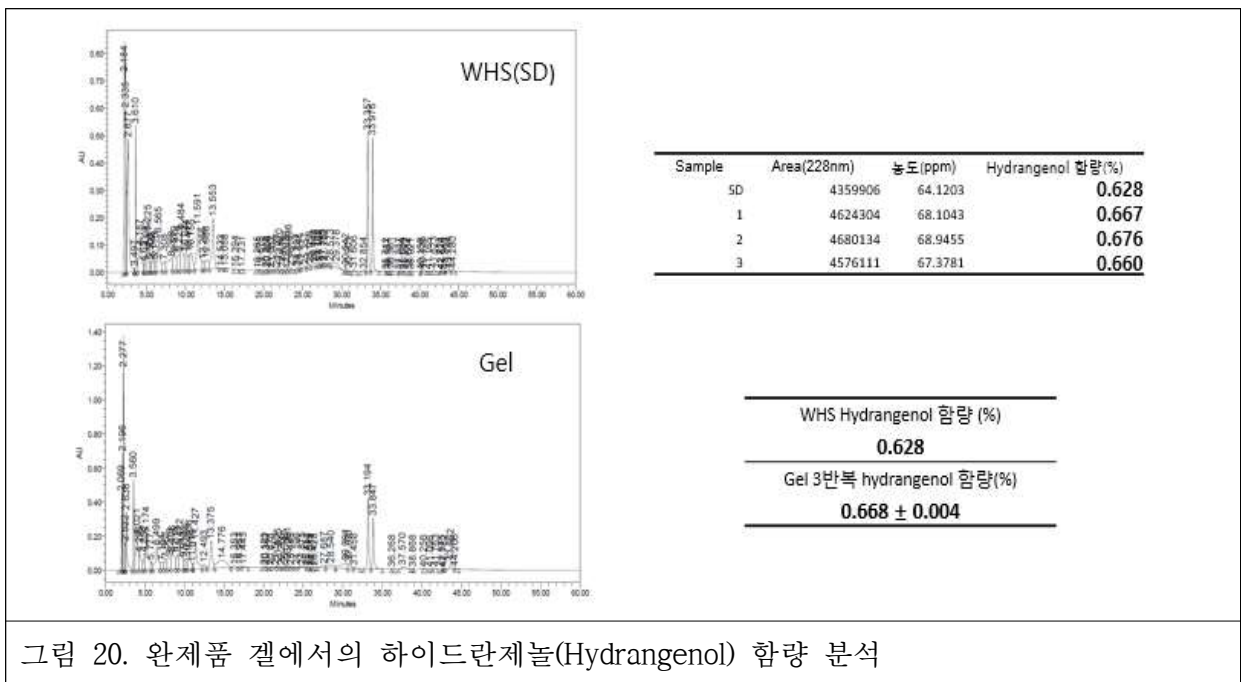


그림 20. 완제품 겔에서의 하이드란제놀(Hydrangenol) 함량 분석

(라) 완제품 제형의 젤리 제형 조건 설정

① 젤리 제조

젤리는 불쾌한 맛이 있는 건강기능식품을 섭취 용이하게 하여 어린이 제품과 여성들이 선호하는 건강기능식품 제형이다. 300 mg의 수국잎열수추출물을 정제수에 녹인 후 겔화제인 카라젠을 첨가하여 유동성이 없는 반고체 상태의 젤리를 제조하였다.

표 12. 300 mg 수국잎열수추출물 젤리 배합

원재료	배합비율 (%)
수국잎열수추출물	1.500
말톨	0.500
D-솔비톨액(70%)	0.350
프락토올리고당액	1.250
푸드젤A/한국카라겐	1.500
무수구연산	1.000
스테이올배당체(레바텐97)	0.500
젯살칼슘(Puracal PP/FCC)	1.000
구연산삼나트륨(구연산나트륨)	1.000
열대과일농축액(트로피칼후르츠믹스, 65B)	1.350
천연오렌지향(AI-F-0213)	0.500
천연자몽향(SH11-11102)	0.500
정제수	89.050
합계	100



② 완제품 젤리에서의 유효지표물질 하이드란제놀(Hydrangenol) 함량 분석

그림 22에서 도출된 추세공식에 따라 적분값을 계산하여 위와 같은 값을 계산하였다. 그 결과, 젤리의 지표성분은 같은 농도의 수국잎열수추출물보다 약 0.13% 높은 수준으로 확인되었으며, 건강기능식품 지표성분의 기준치인 80%~120% 내 포함되는 것을 확인할 수 있었다.

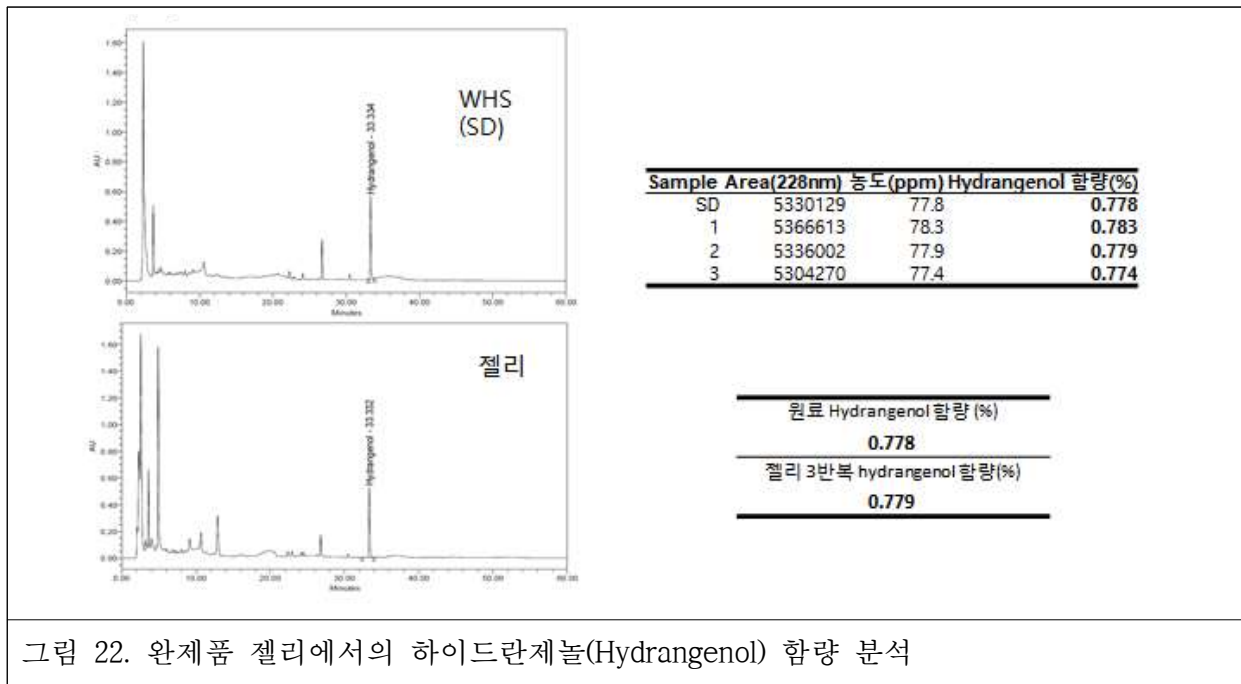


그림 22. 완제품 젤리에서의 하이드란제놀(Hydrangenol) 함량 분석

(7) 수국 (*Hydrangea serrata*)의 유효지표물질인 하이드란제놀 대량생산 공정 조건 확립 및 생산

(가) 유효지표물질 하이드란제놀(Hydrangenol)의 대량생산 공정 확립 및 구조분석 확인

① 하이드란제놀 대량생산 공정

수국잎열수추출물 3.6 kg을 Silica gel 60 (0.04-0.063 nm)을 이용하여 분획물 제조를 실시하였다. 동량의 증류수에 수국 잎 열수 추출물을 현탁시키고, Silica gel 60 (0.04-0.063 nm)에 흡착 후에, 용매조성 [CH_2Cl_2 : MeOH = 10 : 1 (v/v)]로 추출을 진행하였다. Filter paper를 이용하여 추출액을 filter하였고, vacuum evaporator를 사용해 농축을 진행하였다. 해당 DCM : MeOH 추출물(180 g)은 Silica gel 60 (0.04-0.063 nm)을 이용하여 column chromatography를 실시하였다. 전개용매는 [CH_2Cl_2 : MeOH = 1 : 0 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.2 (v/v)]의 혼합용액을 사용하여 4개의 소분획으로 나누었다(Fr.1~4). 소분획3은 Sephadex LH-20를 이용하여 75% MeOH를 전개용매로 정제를 진행하였다. Fr.3-1~4로 총 4개의 소분획으로 나누었으며 그 중 Fr.3-3에서 MeOH 재결정을 통하여 무정형 화합물 (Hydrangenol 15 g)을 수득하였다(그림 23).

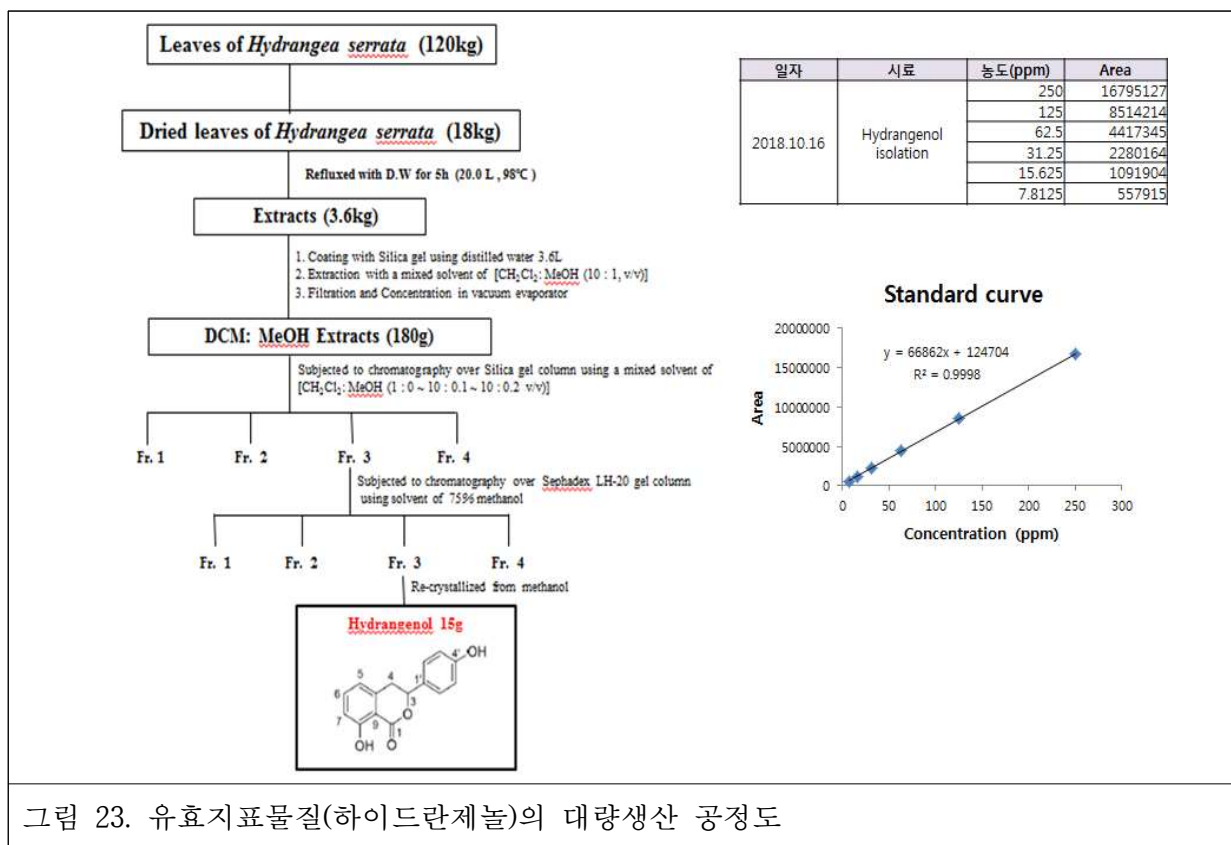


그림 23. 유효지표물질(하이드란제놀)의 대량생산 공정도

② 하이드란제놀 구조분석 및 순도 확인

수국잎열수추출물로부터 수득한 화합물은 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HPLC 분석을 통하여 구조분석을 진행하였다. 1차년도 결과에 기인하여 $^1\text{H-NMR}$ spectrum과 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum, HPLC chromatogram을 비교하여 볼 때, hydrangenol과 일치하는 것을 확인할 수 있었다. [Yoshikawa et al., 1996] (그림 24, 25, 26)

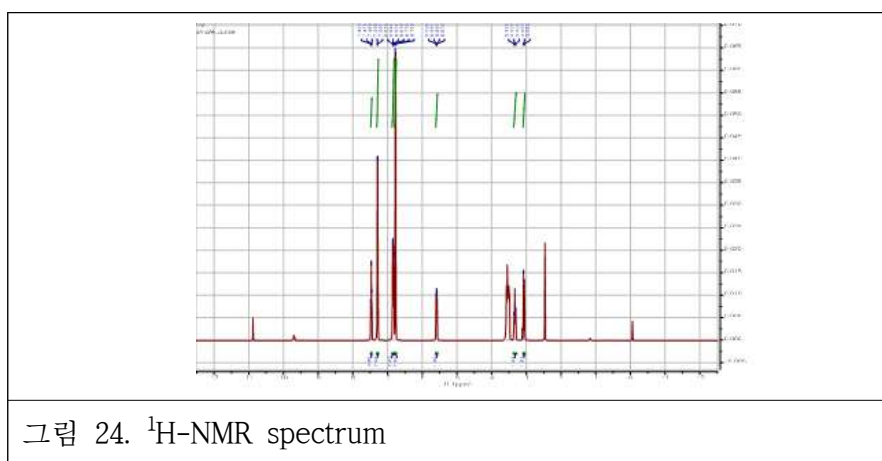


그림 24. $^1\text{H-NMR}$ spectrum

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$)

δ : 7.47 (1H, dd, $J = 7.2, 8.4$ Hz, H-6), 7.29 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.85 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 6.83 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-5), 6.77 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 5.50 (1H, dd, $J = 3.6, 12.0$ Hz, H-3), 3.33 (1H, dd, $J = 12.0, 15.6$ Hz, H-4a), 3.07 (1H, dd, $J = 3.6, 15.6$ Hz, H-4b).

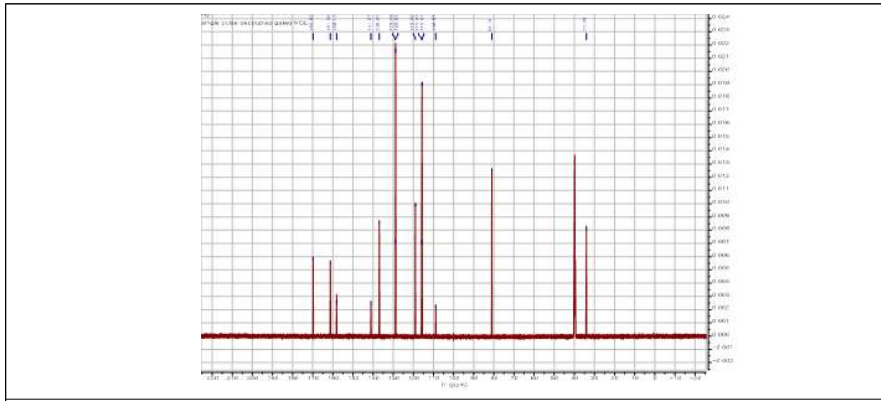


그림 25. ^{13}C -NMR spectrum

^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$)

δ : 34.0 (C-4), 81.0 (C-3), 108.9 (C-9), 115.7 (C-3', 5'), 115.9 (C-7), 119.0 (C-5), 128.8 (C-2', 6'), 129.0 (C-1'), 136.9 (C-6), 141.1 (C-10), 158.1 (C-4'), 161.3 (C-8), 169.8 (C-1).

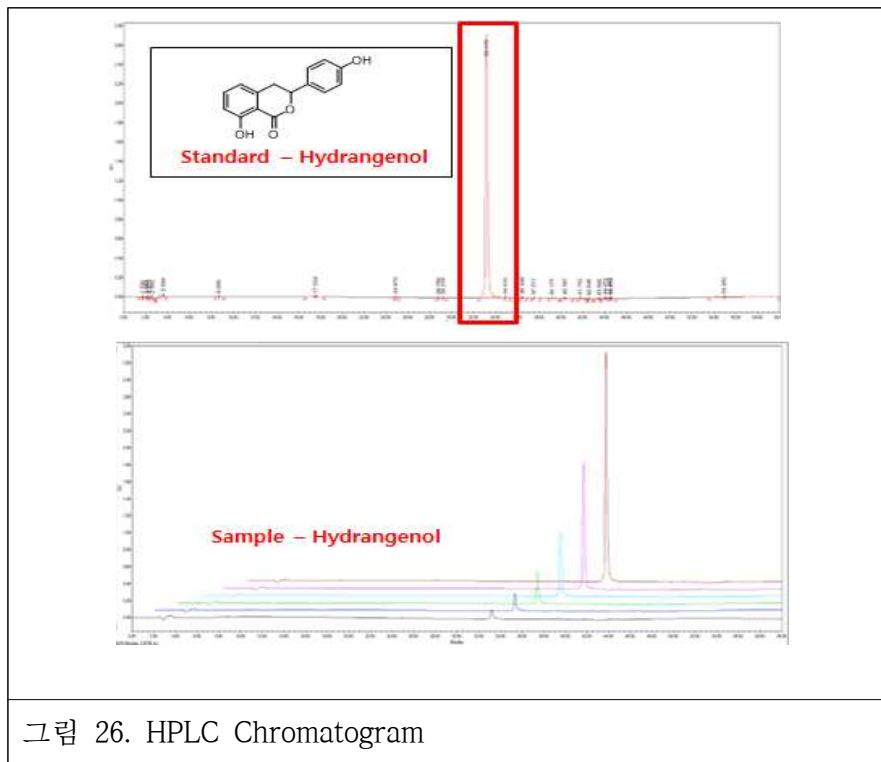


그림 26. HPLC Chromatogram

(나) 대량생산 된 유효지표물질 하이드란제놀(Hydrangenol) 동물실험용으로 공급

- 지표물질인 하이드란제놀은 시중에 판매되고 있는 가격은 100,000원/1 mg의 고가로서 코스맥스바이오에서 자체 공정 개발을 통해 순도 99% 이상(^1H -NMR, ^{13}C -NMR 확인) 하이드란제놀 15 g을 분리 정제하여 수득하였으며, 이중 4 g은 활성 확인(동물실험)을 위해 제2협동기관인 경희대학교에 공급하였다.

(8) 하이드란제놀 자사 시험법 완료

(가) 실험용액 제조

- 표준용액 제조

Hydrangenol 표준품(순도 98% 이상 또는 이와 동등한 것) 5 mg을 정밀하게 달아 이를 50 ml 용량 플라스크에 넣고 Methanol 20 ml로 녹인다. 이를 표준 원액으로 한다(0.25 mg/ml). 상기 표준원액을 각 단계별(0.0078125, 0.015625, 0.03125, 0.0625, 0.125 및 0.25 mg/ml)로 희석 후 여과하여 검량선 작성용 표준용액으로 한다.

- 시료용액 제조

수국잎열수추출물 약 100-1,000 mg(유효지표성분 Hydrangenol로서 약 0.768-7.68 mg)을 100 ml 용량 플라스크에 넣고 Methanol 10-100 ml로 녹인 후 0.45 µm 필터로 여과하여 시험용액으로 사용한다(10 mg/ml).

(나) HPLC분석 조건

사용한 HPLC 장치는 Waters e2695, Waters 2489 UV/Vis Detector (미국)이었으며, 컬럼은 HPLC column (Luna C18 (5 µm, 250 × 4.6 mm, Phenomenex)을 사용하였다. 전개온도는 30 °C였으며, 유속을 1.0 ml/min으로 하여 Hydrangenol은 표 13의 조건으로 분석하였으며 사용된 모든 시약은 HPLC등급을 이용하였다. Waters 2489 UV/Vis Detector를 이용하여 228 nm에서 검출하였다.

표 13. HPLC 분석 조건

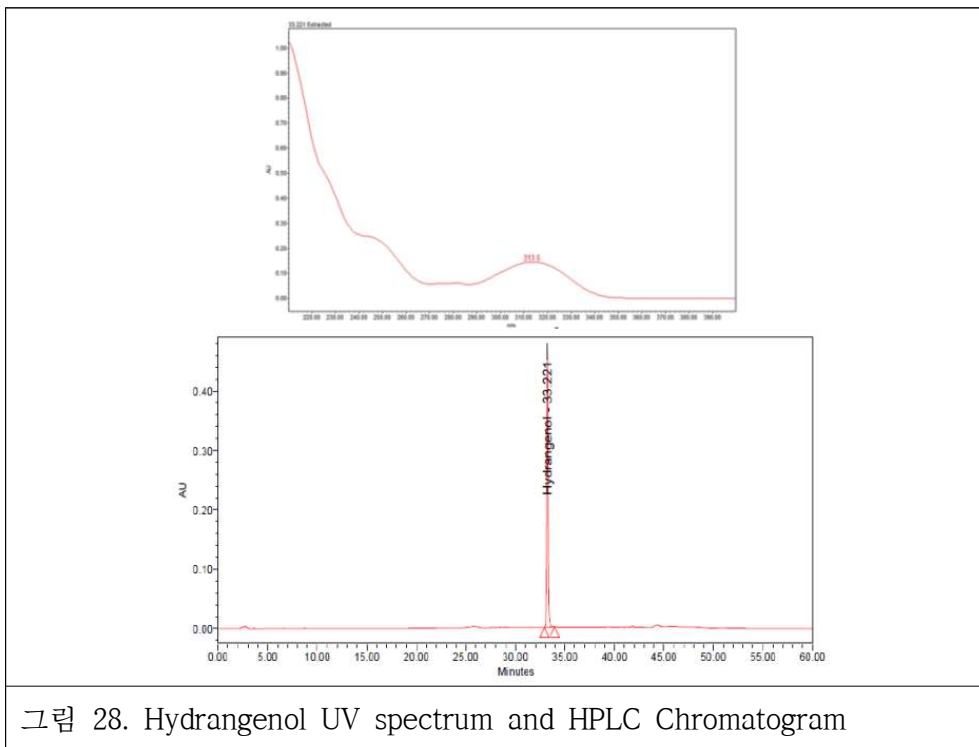
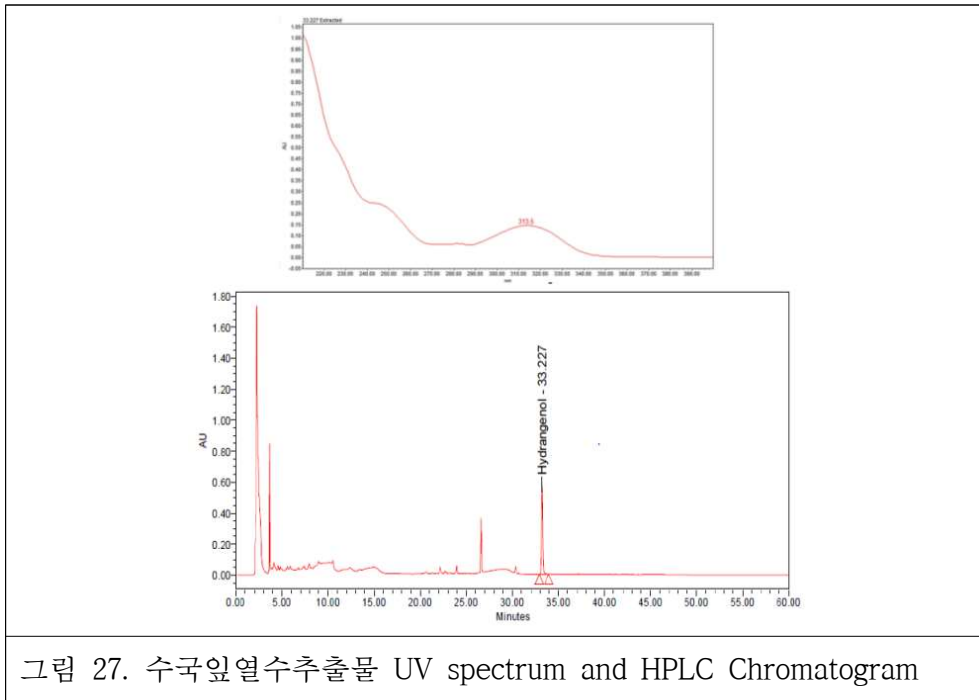
Hydrangenol analysis condition					
Mobile phase	0 min	15 min	30 min	40 min	50 min
Solvent A (ACN)	20	25	50	100	20
Solvent B (D.W)	80	75	50	0	80
Flow rate	1 ml/min				
UV wavelength	228 nm				
Injection volume	20 mL				
Retention time	33.2 min				

HPLC Condition	
HPLC system	Waters 2489 UV/Vis Detector , Waters e2695
Column	Luna C18 (5 µm, 250 × 4.6 mm, Phenomenex)
Column temperature	30 °C
Solvent system	Gradient system (linear gradient system)
Mobile phase	A : Acetonitrile B : Distilled water

(다) 특이성

표준원액, 시험용액 및 기능(또는 표준)물질의 크로마토그램을 확인한 결과 peak은 모양 및 대칭성이 양호하였고 분석 방해인자가 없음이 확인되었고, 표준원액과 시험용액의

Retention time이 동등함이 입증되었다. 따라서 특이성이 확보되었다(그림 27, 28).



(라) 직선성

직선성은 6가지 농도의 용액을 2회 반복 분석하여 평가하였다. 성분의 함량 농도로서 0.0078125 ~0.25 mg/mL 의 범위에서 직선성을 나타내었으며, 추세선의 R²값은 0.9998였다 (그림 29).

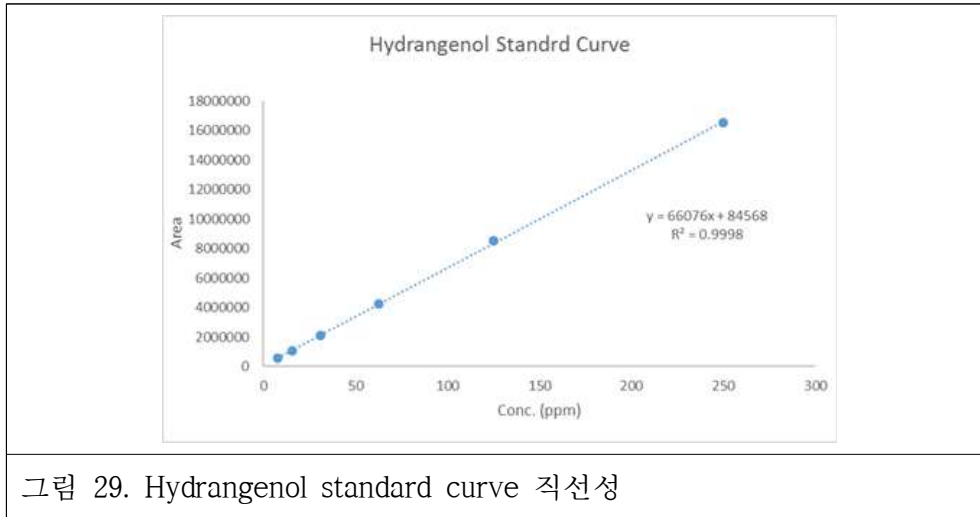


그림 29. Hydrangenol standard curve 직선성

(마) 정확성(Accuracy/Recovery)

정확성시험은 이미 알고 있는 양의 유효지표성분 Hydrangenol을 시험용액에 3가지 단계의 농도로 첨가하여 분석한 후 회수된 두 물질의 회수율로서 평가하였다. 3 단계의 농도의 평균 회수율은 98.60%에 해당한다. 상세한 결과는 아래 표에 나타내었다.

표 14. 정확성 데이터

구분	평균회수율 (%)	표준편차
Hydrangenol	98.60	0.798

No	이론농도 (%)	실측농도 (%)	회수율 (%)
62.5 µg/ml	1.004	1	0.997
		2	0.999
		3	0.999
	Mean	0.998	99.43
	STDEV	0.140	0.139
31.25 µg/ml	0.6915	1	0.676
		2	0.683
		3	0.671
	Mean	0.677	97.86
	STDEV	0.531	0.664
15.625 µg/ml	0.53525	1	0.524
		2	0.525
		3	0.525
	Mean	0.525	98.53
	STDEV	0.051	0.892
Mean		98.60	
STDEV		0.798	

(바) 정밀성(Precision)

정밀성은 동일하고 균질한 샘플을 반복적으로 분석하여 시험하였다. 이렇게 얻은 시험 결과로부터 % RSD 를 계산하여 평가하였다. 그 결과는 표시량 기준으로 하였으며, 아래 표와 같다.

표 15. 반복성 데이터

	검체량		
	100 mg	200 mg	300 mg
1	0.758	0.758	0.764
2	0.761	0.757	0.767
3	0.771	0.757	0.767
4	0.762	0.758	0.768
5	0.760	0.759	0.766
Mean	0.763	0.758	0.766
Stdev	0.005	0.001	0.001
RSD (%)	0.663	0.106	0.194
Mean	0.762		
Stdev	0.005		
RSD (%)	0.616		
RSD 구간 (%)	0.663~0.194		

표 16. 재현성 데이터

	실험 일자별	
	DAY1	DAY2
1	0.764	0.760
2	0.767	0.761
3	0.767	0.746
4	0.768	0.759
5	0.766	0.763
Mean	0.766	0.758
Stdev	0.001	0.007
RSD (%)	0.194	0.865
Mean	0.762	
Stdev	0.006	
RSD (%)	0.833	

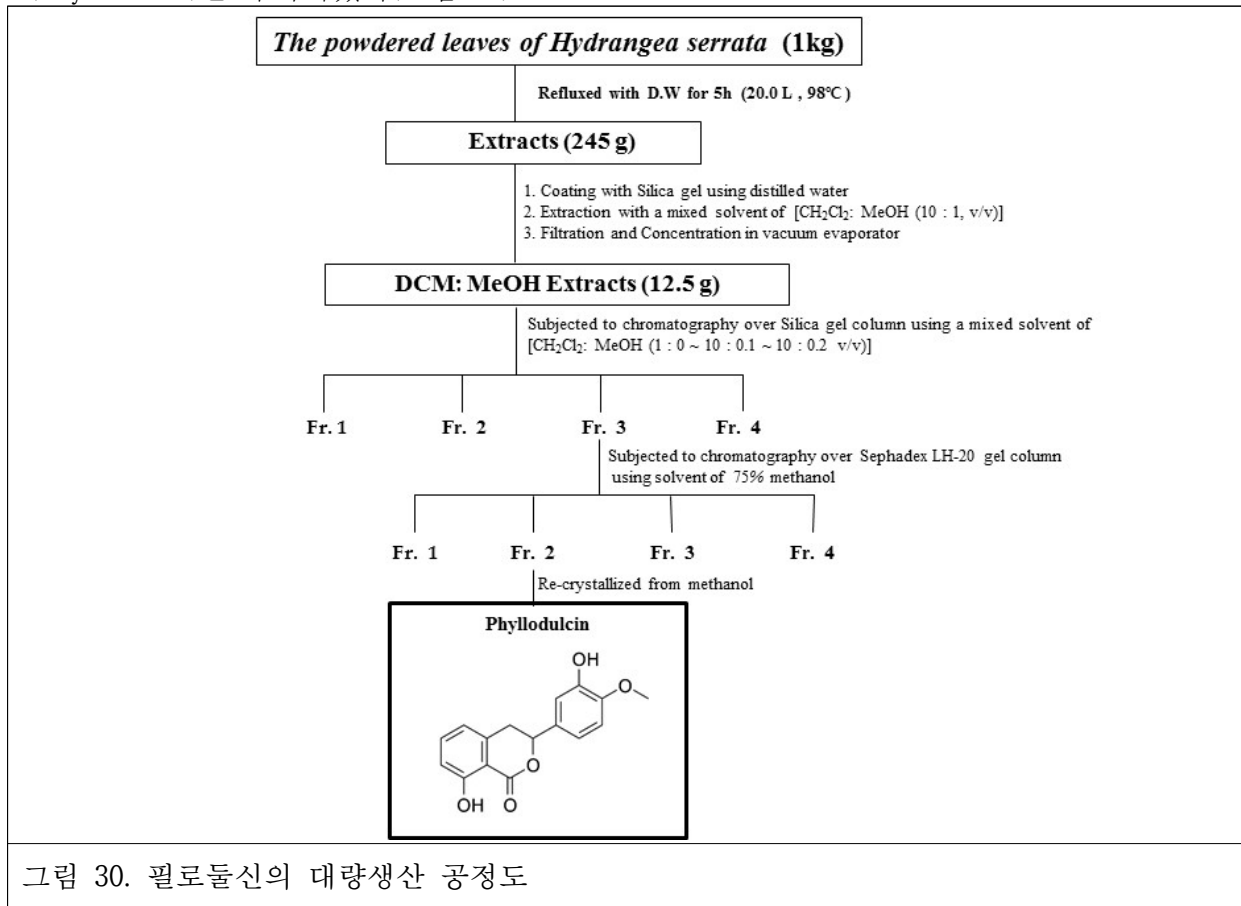
(사) 범위(Range)

정밀성, 정확성 및 직선성을 충분히 제시할 수 있는 시험용액 중 하이드란제놀의 농도의 범위는 0.0078125 mg/ml ~ 0.25 mg/ml 이다.

(9) 수국(*Hydrangea serrata*)의 활성물질인 필로둘신(Phyllodulcin)의 대량생산 공정 확립 및 구조 분석

(가) 필로둘신 대량생산 공정

수국잎열수추출물 245 g을 Silica gel 60 (0.04-0.063 nm)을 이용하여 분획물 제조를 실시하였다. 동량의 증류수에 수국잎열수추출물을 현탁시키고, Silica gel 60 (0.04-0.063 nm)에 흡착 후에, 용매조성 [CH₂Cl₂ : MeOH = 10 : 1 (v/v)]로 추출을 진행하였다. Filter paper를 이용하여 추출액을 filter하였고, vacuum evaporator를 사용해 농축을 진행하였다. 해당 DCM:MeOH 추출물(12.5 g)은 Silica gel 60 (0.04-0.063 nm)을 이용하여 column chromatography를 실시하였다. 전개용매는 [CH₂Cl₂ : MeOH = 1 : 0 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.2 (v/v)]의 혼합용액을 사용하여 4개의 소분획으로 나누었다(Fr.1~4). 소분획3은 Sephadex LH-20를 이용하여 75% MeOH를 전개용매로 하여 정제를 진행하였다. Fr.3-1~4로 총 4개의 소분획으로 나누었으며 그 중 Fr.3-2에서 MeOH 재결정을 통하여 무정형 화합물 (Phyllodulcin)을 수득하였다(그림 30).



(나) 필로둘신 구조분석 및 순도 확인

수국잎열수추출물로부터 수득한 화합물은 ¹H-NMR, ¹³C-NMR, LC/MS, HPLC 분석을 통하여 구조분석을 진행하였다. 선행문헌과 비교하여 볼 때, Phyllodulcin과 일치하는 것을 확인할 수 있었다. [Suzuki, H. et al., 1977] (그림 31, 32, 33, 34)

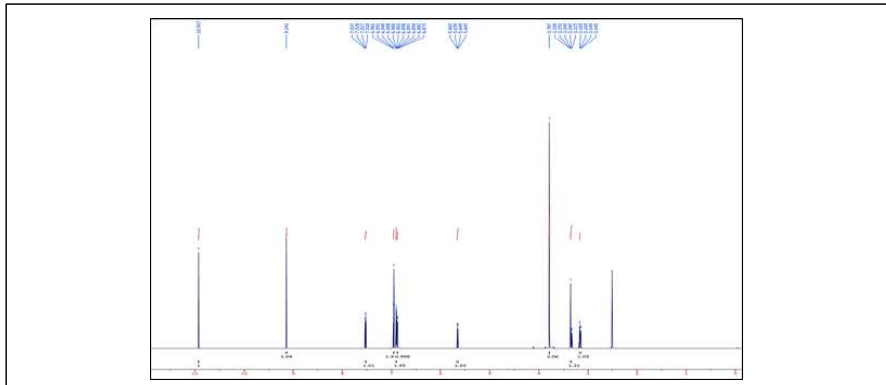


그림 31. $^1\text{H-NMR}$ spectrum

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6 + \text{D}_2\text{O}$)

δ 3.10 (dd, $J = 3.0$ and 16.2 Hz, 1H, H-4b), 3.29 (dd, $J = 12.0$ and 16.2 Hz, 1H, H-4a), 3.73 (s, OCH₃), 5.50 (dd, $J = 3.2$ and 12.1 Hz, 1H, H-3), 6.83 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-5), 6.85 (dd, $J = 2.4$, 8.4 Hz, 1H, H-6'), 6.85 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-7), 6.90 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H-2'), 6.90 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-5'), 7.48 (t, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-6)

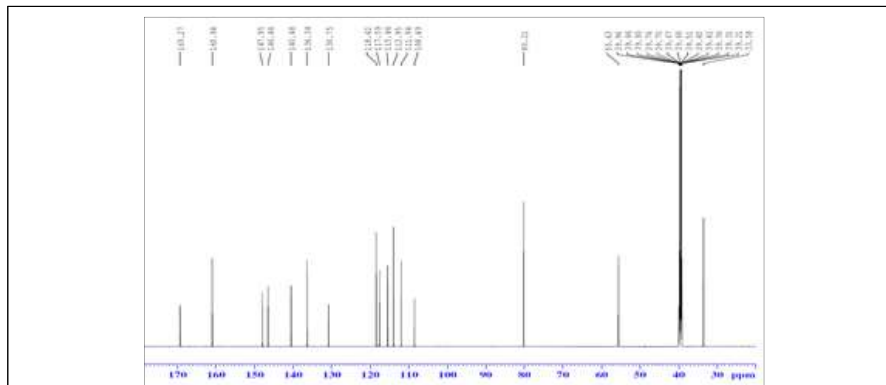


그림 32. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6 + \text{D}_2\text{O}$)

δ : 34.1 (C-4), 56.1 (OCH₃), 80.7 (C-3), 108.9 (C-9), 112.4 (C-5'), 114.3 (C-2'), 115.9 (C-7), 118.2 (C-6'), 119.0 (C-5), 131.2 (C-1'), 136.9 (C-6), 141.0 (C-10), 146.8 (C-3'), 148.4 (C-4'), 161.2 (C-8), 169.7 (C-1).

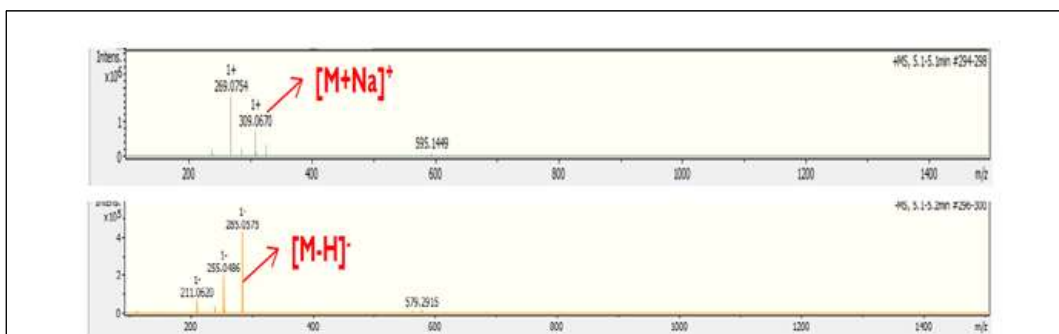


그림 33. LC/MS data

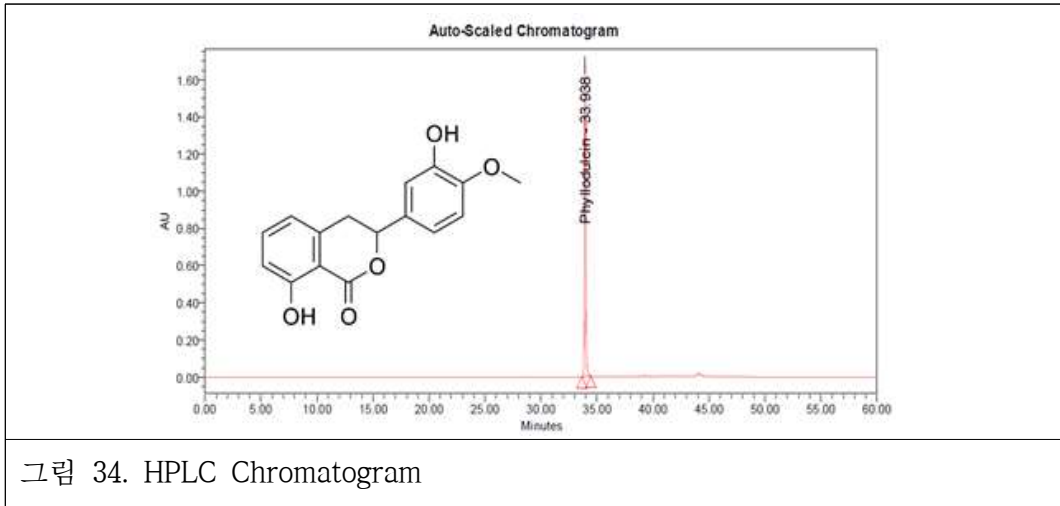


그림 34. HPLC Chromatogram

(10) 수국잎열수추출물(WHS)의 기준 규격 설정

(가) 원료를 특징지을 수 있는 성상 및 물성

수국잎열수추출물은 이미, 이취가 없고 고유의 향미가 있는 연한 황갈색의 분말이다.

(나) 지표성분

일반명	Hydrangenol
화학식	8-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-3,4-dihydroisochromen-1-one
분자식	C ₁₅ H ₁₂ O ₄
분자량	256.257 g/mol
CAS No.	480-47-7
Hydrangenol구조	

① 설정근거

- ㉠ Hydrangenol은 수국 고유의 성분이다. Hydrangenol을 자외선으로 손상시킨 HR-1 hairless mice에 처리한 결과, 프로콜라겐, Filaggrin mRNA 발현 및 히알루론산 함량을 증가시켰고 염증 사이토카인의 발현을 감소시켜 피부 건강에 도움을 주는 것을 확인하였다.
- ㉡ 수국잎열수추출물의 제조공정 및 규격은 Hydrangenol로 표준화 되었으며, Hydrangenol의 분석방법은 자사시험법으로서 HPLC를 이용하여 분석하는 방법을 정립하였고 분석방법의 타당성(Validation) 또한 입증되었다.
- ㉢ Hydrangenol의 표준품은 상용화 되어 있고, 공급이 용이하여 신청원료를 균일하고 안

정적으로 관리할 수 있다.

→ 이에 Hydrangenol은 “수국잎열수추출물”을 균일하고 안정적으로 생산 및 관리 할 수 있는 성분이라고 판단하여, 유효지표성분으로 설정하였다.

② 지표성분의 규격

㉠ Hydrangenol로써 6.1 ~ 9.3 mg/g

㉡ 수국잎열수추출물의 기능 및 지표성분 함량은 한국기능식품연구원의 3 lot 3 반복 시험 성적서 상에서 각 평균 8.03, 7.50 및 7.51 mg/g의 함량으로 검출되었으며, 평균함량은 약 7.68 mg/g이었다. 이에 따라서 수국잎열수추출물의 Hydrangenol 규격을 평균함량의 약 80 ~ 120% 범위로 하여 약 6.1 ~ 9.3 mg/g으로 설정하였다.

[검사기관명 : 한국기능식품연구원]

Lot No.	1	2	3	평균
반복수				
1반복	8.08	7.55	7.51	
2반복	8.00	7.42	7.54	
3반복	8.00	7.54	7.49	
평균	8.03	7.50	7.51	

(다) 영양성분정보자료

[검사기관명 : 한국기능식품연구원]

성분	함량	성분	함량
열량(Kcal/100g)	329.72	수분(%)	3.06
탄수화물(%)	62.44	회분(%)	19.81
조지방(%)	4.24	나트륨(mg/100g)	149.05
조단백질(%)	10.45		

(라) 유해물질(납, 카드뮴, 총비소, 총수은)의 기준 규격 설정

① 규격 및 근거 - 건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정 [식품의약품 안전처고시 제2019-69호, 2019.8.5.] 제14조 제6호 가목 및 중금속 규격]에 따라 원재료 또는 제조과정으로 인한 유해물질의 오염 또는 잔류 가능성을 막고 안전성을 확보할 수 있도록 표 17에 따라 설정하였다. 이 경우 원료의 특성을 고려하여 3룻트 이상의 제품에 대한 시험결과를 근거로 하였다.

표 17. 유해물질규격설정항목(제14조 제6호 가목)

원료	항목	규격	비고
모든 원료	납	< 10.8 ug/일	
	총비소	< 150 ug/일	
	카드뮴	< 3.0 ug/일	
	총수은	< 2.1 ug/일	

② 납

건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정(제2019-69호)의 중금속 규격을 참고로 수국잎열수추출물의 60 kg 성인 1인 1일 섭취량(600 mg*)에 따른 규격 상한선을 환산하였다. 환산 값은 18.0 mg/kg이었으나, “수국잎열수추출물”의 한국기능식품연구원 시험성적서 상 평균 0.0745 mg/kg으로 검출 되었다. 이에 안전성을 고려하여 납의 규격은 환산 값보다 낮은 1.0 mg/kg 이하로 설정하였다.

*인체적용시험에서 수국잎열수추출물의 섭취량은 300 ~ 600 mg/일이다. 이에 중금속 규격 상한 값을 계산 시에는 신청원료의 최대 일일섭취량인 600 mg을 기준으로 산출하였다.

③ 총비소

총비소의 규격 상한선을 환산한 결과 환산 값은 250 mg/kg이었으나, “수국잎열수추출물”의 한국기능식품연구원 시험성적서 상 평균 0.2219 mg/kg으로 검출 되었다. 이에 안전성을 고려하여 총비소의 규격은 환산 값보다 낮은 1.0 mg/kg 이하로 설정하였다.

④ 카드뮴

카드뮴의 규격 상한선을 환산한 결과 환산 값은 5 mg/kg이었으나, “수국잎열수추출물”의 한국기능식품연구원 시험성적서 상 평균 0.0086 mg/kg으로 검출 되었다. 이에 안전성을 고려하여 카드뮴의 규격은 환산 값보다 낮은 0.3 mg/kg 이하로 설정하였다.

⑤ 총수은

총수은의 규격 상한선을 환산한 결과 환산 값은 3.5 mg/kg이었으나, “수국잎열수추출물”의 한국기능식품연구원 시험성적서 상 평균 0.0089 mg/kg으로 검출 되었다. 이에 안전성을 고려하여 총수은의 규격은 환산 값보다 낮은 0.5 mg/kg 이하로 설정하였다.

(마) 잔류농약 및 대장균군의 기준 규격 설정

수국잎열수추출물의 원료인 수국은 국내에서 자연 상태의 야산의 반그늘에서 재배 되므로, 어떠한 농약도 사용하지 않는다. 위의 내용을 증명하기 위해 ‘미에치씨, 디디티, 알드린, 디엘드린, 엔드린’ 등 농약검사 58종 항목에서 불검출의 결과를 얻었다. 또한 대장균군 불검출 및 총 아플라톡신 불검출 결과를 얻었다(표 18).

표 18. 시험성적서 요약표

[시험기관명 : 한국기능식품연구원]

제안 기준 및 규격	시험항목	제안 기준 및 규격	실측치 (시험성적서)			
규격항목	성상	이미, 이취가 없는 고유의 향미가 있는 연한 황갈색의 분말	이미, 이취가 없는 고유의 향미가 있는 연한 황갈색의 분말			
	기능성분(지표성분)(mg/g)	6.1-9.3	8.03	7.50	7.51	
	중금속 (mg/kg)	납	1.0 이하	0.0645	0.0781	0.0808
		총비소	1.0 이하	0.1896	0.1867	0.2894
카드뮴		0.3 이하	0.0084	0.0081	0.0094	

		총수은	0.5 이하	0.0129	0.0087	0.0050
	미생물	대장균군	음성	음성	음성	음성
	잔류용매	용매명 : 열수	불검출	불검출	불검출	불검출
규격 미설정 항목	잔류농약	58종:	불검출			
	총 아플라톡신		불검출			

(11) 인체적용시험용 건강기능식품 완제품 대량 생산

- 수국잎열수추출물의 유효지표성분의 시험방법(제조사 시험법)
- 하이드란제놀의 밸리데이션: 특이성, 직선성, 직선성, 정확도, 정밀도, 정량한계에 대해 HPLC 데이터로 확인
- 수국잎열수추출물의 공인시험 성적서 시험 실시(기능성분, 영양성분, 중금속, 대장균군, 잔류농약 58종, 총아플라톡신)
- 수국잎열수추출물의 피부건강 개별인정 신청 허가를 위해 인체적용시험 실시: 글로벌의학 연구센터 의뢰

(가) 인체적용시험용 건강기능식품 완제품 제조



(나) 시험식품

- ① 주성분명 : 수국잎열수추출물
- ② 성상 및 제형 : 적색의 필름코팅 정제
- ③ 수국잎열수추출물 함량 : 300 mg, 600 mg
- ④ 보관방법 : 실온
- ⑤ 용법 및 용량 : 1일 1회 1정을 물과 함께 섭취
- ⑥ 원재료 및 배합비율

표 19. 300 mg 수국잎열수추출물 정제 배합

원료명	배합비(%)	단위 중량(mg)
수국잎열수추출물	33.3334	300.0006
이산화규소	1.7000	15.3000
스테아린산마그네슘	1.2000	10.8000
결정셀룰로오스	56.6105	509.4945

히드록시프로필메틸셀룰로오스	3.2300	29.0700
카르복시메틸셀룰로오스칼슘	3.0000	27.0000
글리세린지방산에스테르	0.0770	0.6930
이산화티타늄	0.1633	1.4697
홍국적색소	0.4898	4.4082
분말카라멜색소	0.1960	1.7640
합계	100.0000	900.0000

표 20. 600 mg 수국잎열수추출물 정제 배합

원료명	배합비(%)	단위 중량(mg)
수국잎열수추출물	66.6667	600.0003
이산화규소	1.7000	15.3000
스테아린산마그네슘	1.2000	10.8000
결정셀룰로오스	23.2772	209.4948
히드록시프로필메틸셀룰로오스	3.2300	29.0700
카르복시메틸셀룰로오스칼슘	3.0000	27.0000
글리세린지방산에스테르	0.0770	0.6930
이산화티타늄	0.1633	1.4697
홍국적색소	0.4898	4.4082
분말카라멜색소	0.1960	1.7640
합계	100.0000	900.0000

(다) 대조식품

- ① 주성분명 : 결정셀룰로오스, 유당혼합분말
- ② 성상 및 제형 : 적색의 필름코팅 정제
- ③ 수국잎열수추출물 함량 : 0 mg
- ④ 보관방법 : 실온
- ⑤ 용법 및 용량 : 1일 1회 1정을 물과 함께 섭취
- ⑥ 원재료 및 배합비율

표 21. 대조식품 정제 배합

원료명	배합비(%)	단위 중량(mg)
이산화규소	1.7000	13.6000
스테아린산마그네슘	1.2000	9.6000
결정셀룰로오스	30.7439	245.9512
유당	60.0000	480.0000
히드록시프로필메틸셀룰로오스	2.4300	19.4400
카르복시메틸셀룰로오스칼슘	3.0000	24.0000
글리세린지방산에스테르	0.0770	0.6160
이산화티타늄	0.1633	1.3064
홍국적색소	0.4898	3.9084
분말카라멜색소	0.1960	1.5680
합계	100.0000	800.0000

(12) 수국잎열수추출물(WHS)의 유통기한 설정

식품의약품안전처에서 고시한 제 2019-56호 식품, 식품첨가물, 축산물 및 건강기능식품의 유통기한 설정 기준에 따라 수국잎열수추출물의 유통기한 설정 시험을 진행 하였다.

25±2 °C/60±5 %RH, 40±2 °C/75±5 %RH 조건의 항온,항습 챔버 및 상온에서 수국잎열수추출물을 장기 보관 후 지표성분인 Hydrangenol 의 함량 변화 추이를 36주 동안 관찰 하였다.

25±2 °C/60±5 %RH 조건 및 상온에서 보관된 수국잎열수추출물 내의 지표성분인 Hydrangenol의 함량은 일정하게 유지되는 것을 확인할 수 있었으며, 40±2 °C/75±5 %RH 조건에서는 Hydrangenol의 함량이 4주차의 시기부터 일정량 증가하였으나, 이후 12주차~36주차에는 일정하게 유지되는 것을 확인할 수 있었다(그림 35).

해당 실험은 추후 장기적으로 진행 하여, 유통기한 설정의 근거자료로 사용할 예정이다.

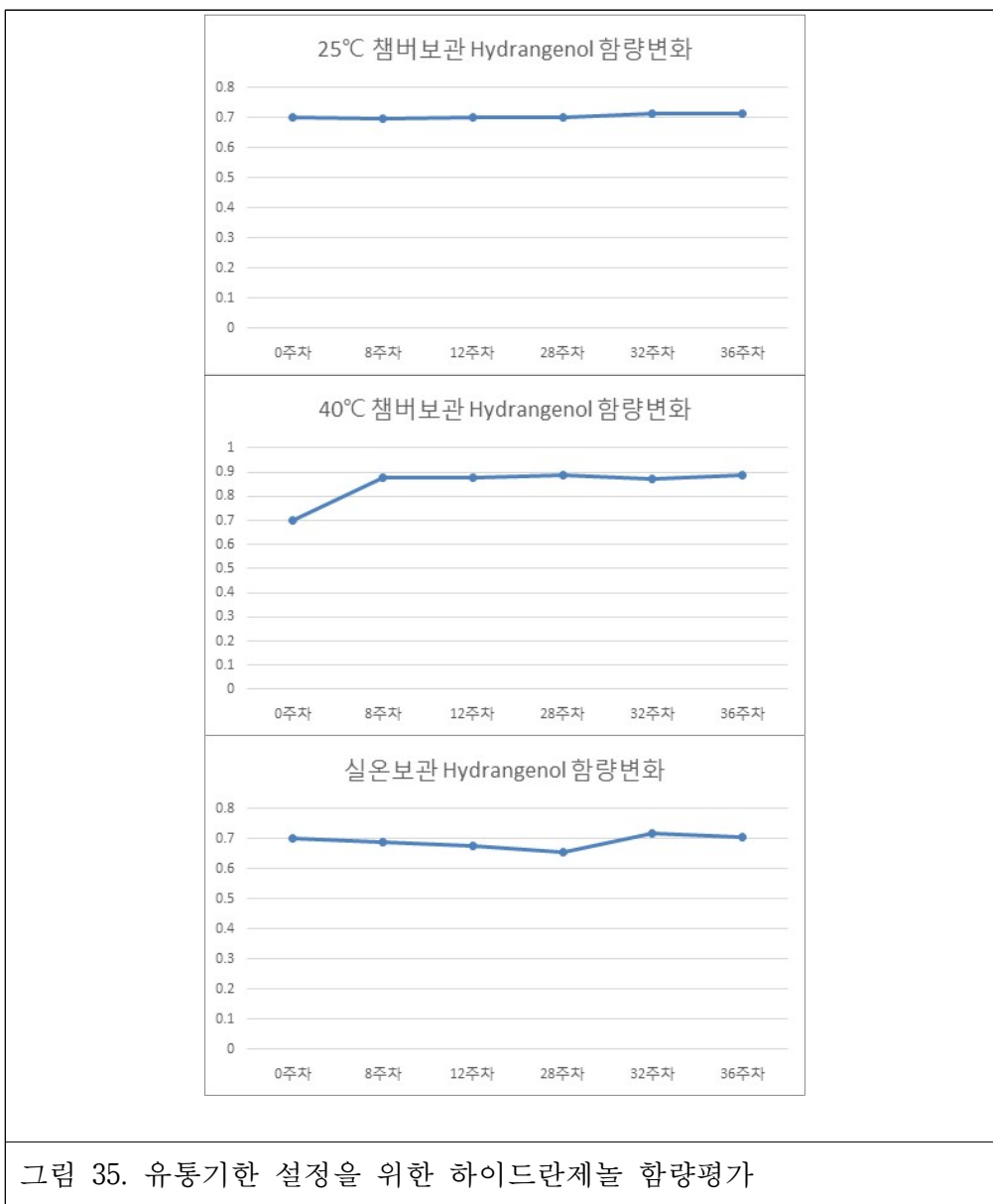


그림 35. 유통기한 설정을 위한 하이드란제놀 함량평가

(13) 업무 협약을 통한 재배단지 및 원료 가공기관 확보

(가) 완도군-코스맥스바이오(주)-전남식품산업연구센터-고마미지(주)의 업무협약

- ① 수국잎열수추출물 활용 제품개발 산업화에 따른 “완도군-코스맥스바이오(주)-전남식품산업연구센터-고마미지(주)”의 업무협약을 통해 사업추진에 원활함을 기함.
- ② 완도군 청산도는 아시아 최초 슬로시티 선정과 2013년 농림축산식품부로부터 국가중요농업유산으로 지정, 2014년에는 세계중요농업으로 등재되어 세계적인 가치 인정받은 지역으로 수국잎열수추출물의 제품에 있어 마케팅 홍보 활용 가능. 완도군 체도권 및 도서(청산도)에 2020년까지 30만평 규모의 수국 주산단지 조성예정.
- ③ 전남식품산업연구센터는 지역 친환경 농수산 자원을 활용한 고부가가치 식품 개발 및 시생산 지원을 위해 설립된 기관. 기능성식품 및 소재생산을 위한 우수건강기능식품제조(GMP) 시설을 운영하고 있으며 농식품산업 육성지원에 오랜 경력과 노하우를 지니고 있음. 특히 식품소재 제품화 기술 및 식품소재가공에 특화된 기술을 보유 및 개발하고 있어 수국의 고부가가치 식품 소재로의 사업 추진에 중요함.



(나) 충북테크노파크와 천연물 소재의 연구개발과 산업화를 위해 업무협약 체결

제천에 위치한 충북테크노파크 한방천연물센터와 코스맥스바이오(주)의 공동 업무 협력체계 구축을 통해 차세대 한방, 바이오분야 선도에 기여

충북테크노파크 '한방·바이오 천연물 소재 산업화' 한다

충청비즈 승인 2019.06.14 21:54



충북테크노파크 한방천연물센터(제천시 소재)는 13일 코스맥스바이오(주)와 천연물 소재의 연구개발과 산업화를 위해 업무협력 협약을 체결했다.

코스맥스바이오(주) 본사에서 진행된 이날 협약을 통해 양 기관은 천연물 소재를 활용한 공동연구, 기술정보 교류 및 장비활용 등 천연물산업 발전에 관한 협력을 추진할 계획이다.

특히 이번 협약은 충북 제천에 구성중인 천연물 산업 클러스터와 지역기업에 천연물 관련 산업활동을 지원하여 충북이 세계적인 차세대 한방, 바이오분야에 선도적 역할을 수행할 것으로 전망된다.

또한 충북테크노파크 한방천연물센터는 올해 건강기능식품GMP 인증 획득에 이어 HACCP 적합 판정에 따라 8월부터 본격적으로 지역 내의 한방천연물 기반 식품업체의 원료생산 지원 활동이 활발해질 것으로 기대되고 있다.

충북테크노파크 김진태 원장은 "이번 협약으로 지역기업과 공동 업무 협력체계를 구축하여 천연물 산업의 성장을 도모하고, 이와 더불어 관련 기업들의 경쟁력 제고에 큰 도움이 되기를 기대한다"고 밝혔다.

그림 37. 코스맥스바이오(주)-충북테크노파크 업무협약

(14) 수국 시범재배 실시

- 수국은 전국에 분포지를 가지고 있기 때문에 지역별 및 시기별 지표물질의 함량 확인이 중요하다. 특정 시기(5.23 ~ 7.18) 내 전국 수국 자생지의 지표물질 함량 분석을 완료함에 따라 수국 시범재배를 통해 시기 별 수국 성장 확인 및 hydrangenol 함량 분석이 필요하다.
- 제천시 봉양읍 삼거리 산32-1, 산32-5(임업후계자 임가)에 수국 유기농 시범재배 실시. 산림약용자원연구소에서 받아모종 무료 공급 및 제천 채취 자생 수국(세명대학교에서 공급) 삼목 후 매달 생육상황을 확인하였다.

(가) 2019년 6월 재배일지

- 제천시 백운면 덕동리 자생지(표 5. 3번)에서 실생묘 70주 채취 후 재배지에 식재함.
- 실생묘에서 줄기를 채취하여 14주 삼목함.

(재배일지) 2019. 8. 10

일	작업 및 관찰한 사항	비고
7월 19일	화분 5개소 양분조사. 취관	
7월 19일	양분조사 결과 2cm 정도 성장 <ul style="list-style-type: none"> • 물주기 20% 이상 • 물주기 20% 	
7월 19일	취관수관수 <ul style="list-style-type: none"> • 겹과 10cm 이상 성장 • 물주기 20% 이상 • 물주기 20% 이상 	
7월 19일	취관수관수 <ul style="list-style-type: none"> • 겹과 물주기 20% 이상 	
7월 19일	취관수관수 <ul style="list-style-type: none"> • 겹과 물주기 20% 이상 	

2019. 9. 10
재배자 김재봉 (농부)
농업진흥청 산하 연구기관
이화여자대학교
010-3777-1444



그림 40. 2019년 8월 재배 일지

(라) 2019년 9월 재배일지

- 식재지 5개소 잡초 제거 및 성장 관찰.
- 화분 식재 묘목 및 삽목묘 성장 관찰.
- 전체적으로 생장은 좋은 편이나, 직사광선에 많이 접하는 묘는 일부 마르는 것이 있음. 따라서, 어린 묘목은 반음지 재배가 적합함.

(재배일지) 2019. 9. 10

일	작업 및 관찰한 사항	비고
9월 10일	화분 5개소 양분조사. 취관	
9월 10일	양분조사 결과 2cm 정도 성장 <ul style="list-style-type: none"> • 물주기 20% 이상 • 물주기 20% 	
9월 10일	취관수관수 <ul style="list-style-type: none"> • 겹과 10cm 이상 성장 • 물주기 20% 이상 • 물주기 20% 이상 	
9월 10일	취관수관수 <ul style="list-style-type: none"> • 겹과 물주기 20% 이상 	
9월 10일	취관수관수 <ul style="list-style-type: none"> • 겹과 물주기 20% 이상 	

2019. 10. 7
재배자 김재봉 (농부)
농업진흥청 산하 연구기관
이화여자대학교
010-3777-1444

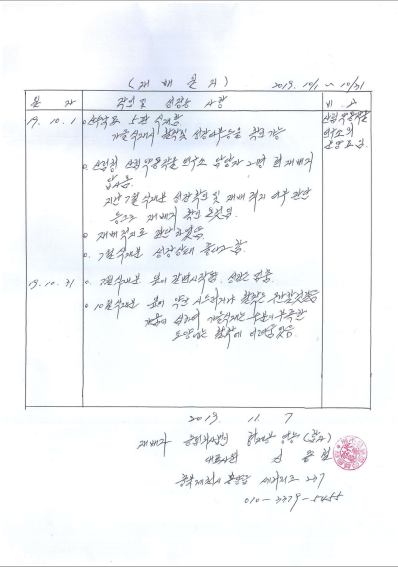


그림 41. 2019년 9월 재배 일지

(마) 2019년 10월 재배일지

- 가을 식재 시 활착 확인을 위해 산림약용자원연구소 수국 묘 5판 식재.
- 7월 식재묘: 성장이 멈추고 잎의 갈변 시작.
- 하이드란제놀 함량 분석을 위해 수국잎 채취 및 건조.


- 10월 식재묘: 활착 진행 중.



(재배일지) 2019. 10. ~ 11월


일	장소	활동 내용	비고
10. 1	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 2	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 3	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 4	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 5	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 6	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 7	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 8	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 9	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 10	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 11	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 12	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 13	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 14	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 15	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 16	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 17	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 18	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 19	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 20	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 21	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 22	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 23	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 24	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 25	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 26	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 27	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 28	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 29	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
10. 30	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구

2019. 11. 7
재배장 관리반 장대순 (주)
김민희
관리반 운영 책임자 237
010-2277-5444



2019. 10. 01 산수국묘 5만 식재

2019. 10. 31 7월에 식재한 수국



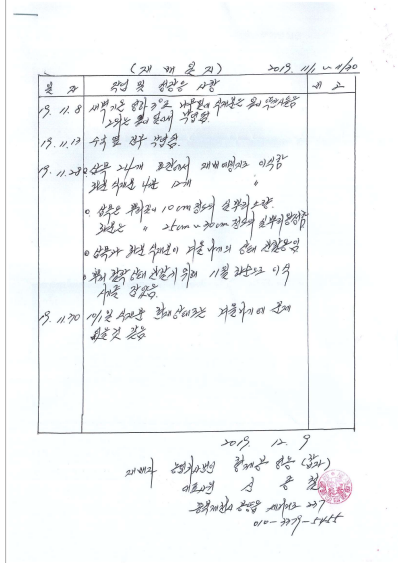
2019. 10. 31 10월에 식재한 수국

2019. 10. 31 7월 식재 수국묘 재취

그림 42. 2019년 10월 재배 일지

(바) 2019년 11월 재배일지


- 수국묘 모두 낙엽으로 떨어짐.
- 화분식재 수국묘 12개 및 삼목 묘 24개 재배예정지로 이식.
- 10월 채취 수국묘 내 지표성분 함량 분석 완료.
- 추출수율 20.67%, 하이드란제놀 0.116%. 수국씨 발아 모종을 재배하여 처음으로 하이드란제놀 함량을 분석한 결과로 자연산 다년생 수국과 함량에 차이가 있는 것으로 사료됨.
- 모종의 성장에 따라 지속적인 하이드란제놀 함량을 분석할 예정임.



(재배일지) 2019. 11. ~ 12월

일	장소	활동 내용	비고
11. 8	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 9	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 10	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 11	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 12	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 13	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 14	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 15	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 16	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 17	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 18	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 19	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 20	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 21	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 22	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 23	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 24	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 25	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 26	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 27	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 28	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 29	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구
11. 30	산수국 묘장	산수국 묘장 점검 및 화분식재 묘장 점검	산수국 묘장 100여구

2019. 12. 9
재배장 관리반 장대순 (주)
김민희
관리반 운영 책임자 237
010-2277-5444



2019. 11. 8 7월에 식재한 수국 - 수국묘 모두 낙엽으로 떨어지고 줄기만 남음

2019. 11. 13 10월에 식재한 수국 - 수국묘 모두 낙엽으로 떨어짐

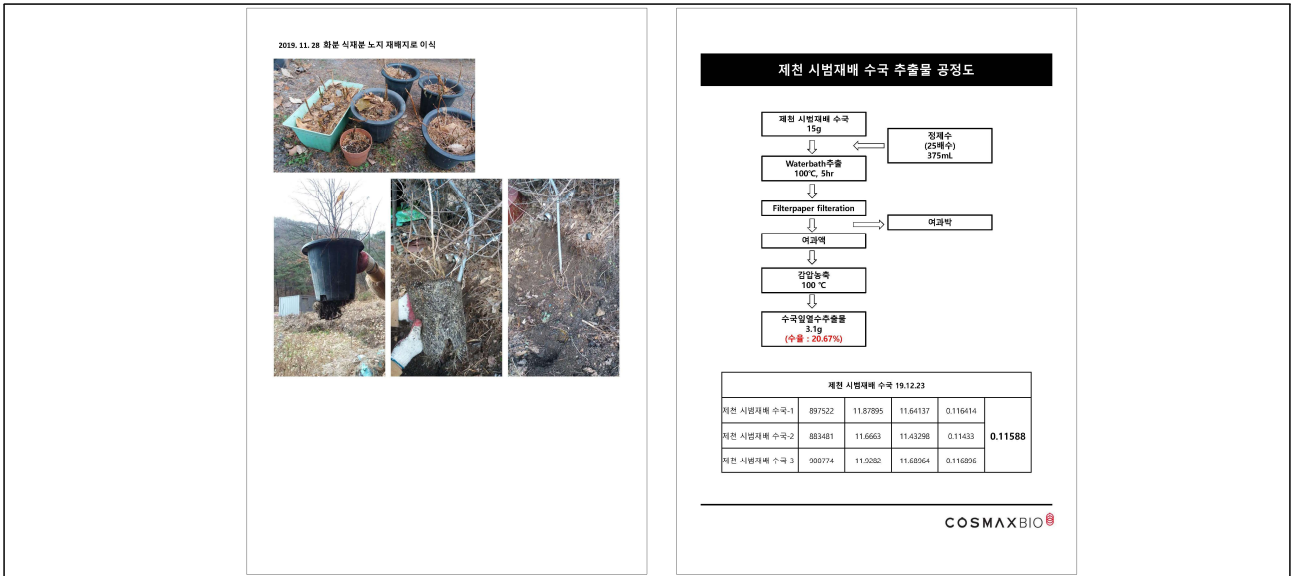


그림 43. 2019년 11월 재배 일지

(사) 2019년 12월 재배일지

- 지역별 유전자 분석이 검증된 수국을 활용하여 모종 및 삽목묘 재배.
- 온실에서 겨울을 난 뒤 시범재배지에 4월경 이식 예정.

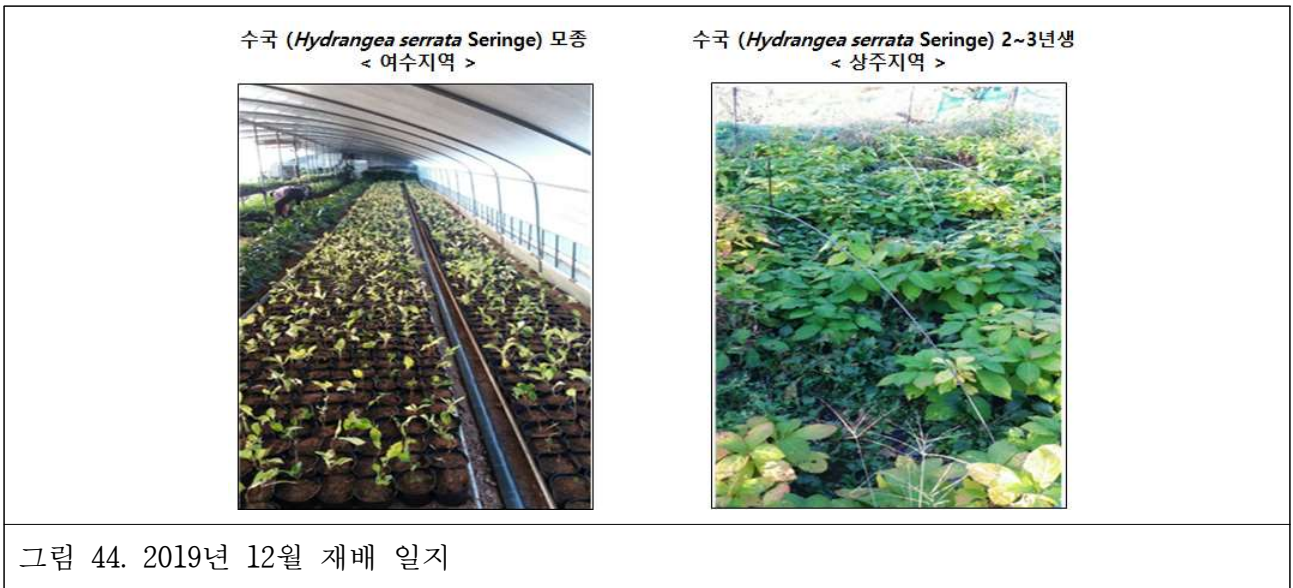


그림 44. 2019년 12월 재배 일지

(15) 상표/특허 출원

(가) 기술력 선점을 위한 국내 특허 출원 및 등록

- ① 특허명: 산수국 추출물을 함유하는 자외선에 의한 인간 피부세포 손상 개선용 조성물
 - 출원번호: 10-2017-0145193 (2017.11.02.)
 - 등록번호: 10-1902911-0000 (2019.01.02.)

- ② 특허명: 하이드란제놀을 유효성분으로 하는 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 개선을 위한 조성물
 - 출원번호: 10-2017-0175385 (2017.12.19.)
 - 등록번호: 10-1946526-0000 (2018.09.20.)

- ③ 특허명: 필로둘신(Phyllodulcin)을 유효성분으로 하는 피부 또는 모발의 멜라닌 색소 조절용 조성물
 - 출원번호: 10-2019-0131394 (2019.10.22.)

- ④ 특허명: 하이드란제놀 또는 필로둘신을 유효성분으로 하는 피부장벽 강화 및 아토피 피부염 개선용 조성물
 - 출원번호: 10-2019-0131395 (2019.10.22.)

(나) 국내 자생 수국의 기능성 소재로서 해외 판매를 추진하기 위해 국제특허 PCT 출원

- ① 발명의 명칭 : 하이드란제놀을 유효성분으로 하는 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 개선을 위한 조성물
 - 출원번호 : PCT/KR2018/004922 (2018.04.27.)
- ② 발명의 명칭 : 산수국 추출물을 함유하는 자외선에 의한 인간 피부세포 손상 개선용 조성물
 - 출원번호 : PCT/KR2018/011130 (2018.09.19.)

(16) 이너뷰티 소재 뿐만 아니라 화장품의 cosmeceutical 소재의 영역을 확대하기 위해 국제 화장품 원료 규격집 등재

수국 유래 하이드란제놀(Hydrangenol)의 국제 화장품 원료 규격집(International Cosmetics Ingredient Dictionary, ICID) 등재 완료

- *Hydrangea macrophylla* 유래 Hydrangenol : Trade name “HYDRANCOSMAX” 등재
- *Hydrangea serrata* 유래 Hydrangenol : Trade name “HYDRACOSMAX” 등재



그림 45. 국제 화장품 원료 규격집(ICID) 등재

(17) 마케팅 자료 확립 및 전시회 개최

(가) 국내 전시회 부스 개최

- 전시회: Health Ingredients Korea 2019
- 일자 : 2019년 8월 21일 ~ 23일
- 장소 : 코엑스, 한국



그림 46. Health Ingredients Korea 2019 전시회 부스 사진

표 22. Health Ingredients Korea 2019 미팅 주요 내용

	회사	이름	메모
1	(유)골든바이오 테크놀로지코리아	장성일 과장	일본, 대만 소재 연계. 해외에 소재를 소개하고자 함.
2	서일이앤엠(주)	정에녹 대리	반도체 일본 수출회사, 사업 확장을 위한 소재를 찾기 위해 전시회 방문
3	(주)이노맥스글로벌	홍성수 부장	소재에 관심, 이종환이사님과 업무 진행 중
4	Cogit Corporation	서민근 이사	에버 콜라겐 유통업체, 유통 팀 구성해서 마케팅 및 영업 고려. 23일 재방문
5	DK 에코팜	이효진 수석	소재에 대한 소개
6	에스티팜	임중혁 주임	소재에 관심
7	피앤씨코리아	이상인 대표	계약보다 저렴한 견식에 관심
8	(주)에빅스젠	김재규 부사장	개별인정 소재에 관심. 개별인정 신청 및 허가에 대한 세미나 요청
9	NS 홈쇼핑	김진태 팀장	건강기능식품 소재 관심. 소재 개발을 위한 투자개발 등 funding 고려
10	(주)노바렉스	김재승 이사	

11	(주)노바렉스	조은아 차장	
12	KGC 인삼공사	임동빈	음료에 첨가할 소재로 관심
13	중외제약	박성혁	소재에 관심
14	한국쇼코츠쇼주식회사	신용훈	일본 무역회사로 소재에 관심
15	성한일렉트로닉스	김경환 대표	소재 소개 이메일 요청
16	Quratis	정형남 이사	소재에 관심. 미국 및 서울대 교수 재직 후 회사연구소 이사로 재직 중
17	(주)에이치엘엠씨	서광희 차장	소재에 관심
18	(주)비티씨	송영석 상무	피부 건강 소재에 관심. 피부 건강 소재 출시 예정
19	(주)이룸	이순장	소재에 관심 많음. 자료 요청
20	동구바이오제약	김은혜 선임	소재에 많은 관심
21	PlatinKimya	Esra Saracoglu	소재에 관심 있으나, 관절염 쪽에 접목 가능한지 질문
22	BioXera Pharma Pvt. Ltd.	Santosh Khanna	소재에 관심
23	Ar-Ex Laboratories Pvt. Ltd.	Ajit N. Gunjkar	소재에 관심
24	BDR Pharmaceuticals Int'l. Pvt. Ltd.	Raheel D Shah	소재에 관심
25	BDR Pharmaceuticals Int'l. Pvt. Ltd.	Trushit Mehta	소재에 관심
26	Cadchem	Aashank Ganeriwala	소재에 관심
27	Siam Pharmaceutical Co., Ltd.	Ponsuk Jithavech	Acne 원료에 관심
28	Venkatasai Life Sciences	M. Subhankar	소재에 관심
29	Wendy International Ltd.	Wendy	소재에 관심 많음

(나) Health Ingredient Korea 2019 전시회 후속 결과

- ① 파닉스상사 문리화 팀장: 콜라겐 앰플 타입에 관심이 있으며, 제품의 시장성 파악 및 코스맥스 바이오 제품 소개를 통해 비즈니스 진행에 관심
- ② Co git(코지트) 서민근 이사: 추후 정보 업데이트 요청
- ③ 한국 쇼코츠쇼 신용훈: 일본 화장품 및 건기식 관련 부서에 회람 후 미팅 요청
→ 10월 14일 미팅 예정
- ④ (주)디케이에코팜 이효진: 개별인정신청 소재에 대한 자료 요청
- ⑤ Quratis 정형남 대표이사: 소재에 대한 자료 요청
- ⑥ Venkatasai M. Shubhankar: 소재에 대한 업데이트 요청
- ⑦ BDR Pharmaceuticals Raheel Shah: Vegetable softgel, Jelly & Gel technology 에 관심
→ 전략마케팅 팀에 내용 전달
- ⑧ Cadchem Lab Aashank Ganeriwala: 9월 26일 소재에 대한 정보 업데이트 요청

(다) 해외 전시회 부스 개최

- 전시회: Health Ingredients Japan 2019
- 일자 : 2019년 10월 2일 ~ 4일
- 장소 : Tokyo Big Sight Exhibition Center, Tokyo, Japan



그림 47. Health Ingredients Japan 2019 전시회 부스 사진

표 23. Health Ingredients Japan 2019 미팅 주요 내용

	회사	이름	나라	메모
1	Amicogen	조영민	한국	
2	NBS Logisol Co., Ltd.	Masafumi Sahashi	일본	
3	Toyo Sugar Refining Co., Ltd.	Mahamadou Tandia	일본	
4	GreenField	Pawel Gucajtis	폴란드	
5	ChemAdvice	Masayuki Suzuki	일본	CosmaxNBT와 거래 중
6	Kinry Food Ingredients Co., Ltd.	Rika Zhang	중국	
7	Atogen		한국	유산균 관련 제품 회사
8	Standard Foods Coporation	Arthur Wu	대만	

9	DH Solution	홍재영	한국	
10	Servicetec Japan Corp.	Yasukazu Kusayama	일본	소재에 관심
11	Teazen	윤여상	한국	고시형 이외의 개별인정형 피부원료에 관심. 타업체 건강기능식품까지 진출
12	Unify Chemical	Taywin Thummasorn	태국	향료회사
13	InformaMarkets	sinen Zeybek	네덜란드	전시회 주최
14	Shoko Co., Ltd.	Yoshiteru Taniguchi	일본	한국기업(한국 쇼코츠쇼) 연계회사. Hi Korea에서 관심. 14일 한국기업과 미팅예정
15	Shoko Co., Ltd.	Motoki Noguchi	일본	
16	Matsumoto Trading Co., Ltd.	Takatsugu Koga	일본	코스맥스와 거래 중
17	iBeauty	makako Yoshida	일본	원료에 관심
18	A.T.P. Co., Ltd.	Henry Sun	대만	대만 OEM 회사, 원료에 관심
19	바이오코리아 (주)	이영성	한국	간 개별인정 추진 중. 네오뉴트라 소개 요청
20	바이오코리아 (주)	Young-Seo	중국	한국 근무 중인 중국인으로 중국에서 신약개발 2상 진행 중
21	Sumitomo Shoji Chemicals Co., Ltd.	Christina Chang	일본	원료에 관심
22	Shiono Chemical Co., Ltd.	Aiko Tasaka	일본	자료 이메일 요청
23	HealthTake Corporation	Shunya Lin	대만	OEM에 관심
24	Diana Food	박주연	한국	자체 소재 보유. 인지건강소재 임상완료. 천연소재에 관심
25		Kusanagi Shuko	일본	한국 또는 일본에서 구입 요청
26	Toyond Industry Limited	baileys Chou	중국	
27	Advanced Connecting Technologies, Inc.	Sylvere Riguard	일본	일본 거주 외국인, 원료에 관심
28	Zhejiang Nutrasis Biotech Co., Ltd.	Bill Chen	중국	원료회사
29	Inventia	Uday Patil	인도	코스맥스와 연관. 화장품 원료에 관심
30	Ikata Service	Ayuma Kadota	일본	
31	(주) 빅솔	정솔이	한국	현재 코스맥스바이오와 거래중
32		이한솔	한국	

33		선윤경	한국	
34	Fordays Co., Ltd.	Yuko Jankunas	일본	원료에 관심
35	Naturopathx	Bob Wootton	호주	공장보유 확인
36	Nikko Chemicals	Koki Takamaeda	일본	화장품 원료에 관심
37	Diana Food	Stephanie Pretesacque	프랑스	
38	Diana Food	Ferry Zhao	중국	
39	Nitta Gelatin	Yusyke Yamazaki	일본	
40	Zhejiang NHU Co., Ltd.	Samuel Huang	중국	
41	AstaReal (Fuji Chemical Group)	Carlo Alberto Muratore	일본	Hi Korea 참여. 아스타잔틴을 활용한 건강기능식품 회사
42	Naturex	최광선	한국	
43		Sang Hoon Oh	일본	
44	Effepharm Ltd.	Sherry Li	중국	중국원료회사, 수국원료에 관심
45	Sunsho Pharmaceutical Co., Ltd.	Lu Yi	일본	중국인, 수국 연구 및 원료에 관심
46	MIKI Corporation	Masaji Murata	일본	이경수 회장님과 오랜 친분
47	The Food Chemical News	Rie Tahira	일본	ifia Japan, HEF Japan 개최 주최
48	Amicogen	김애향	한국	소재 소개
49	Kao Corporation	Tochiaki Ishitama	일본	코스맥스 화장품 원료 거래 중
50	Noble Corporation	Hiroshi Inaba	일본	수국젤리 가격 문의, 이메일로 연락주기로 함.

(18) 수국잎열수추출물 개별인정 신청 시 수국에 대한 안전성 검토

(가) 수국잎열수추출물 활용 제품 생산을 위한 시장 조사 - 국내·외 인정 및 허가 현황

① 국내

원재료 수국(*Hydrangea serrata* Seringe)의 잎은 식품공전(제2019-89호), [별표1] “식품에 사용할 수 있는 원료의 목록” A가107400로 등재되어 있다.

② 국외

㉠ 일본-일본약전(THE JAPANESE PHARMACOPEIA)

일본약전(SEVENTEENTH EDITION)상에 생약명 Sweet Hydrangea Leaf(アマチャ), 학명 *Hydrangea macrophylla* Seringe var. *thunbergii* Makino 으로 등재되어 있다.

㉡ 미국-미농무성(USDA)

수국(*Hydrangea serrata*)은 USDA의 GRIN(Germplasm Resources Information Network)에 등재되어 있으며, USDA PLANTS DATABASE에도 등재되어 있다.

㉔ 중국-전국중초약휘편(全国中草药汇编)

중국 전국중초약휘편에는 수국(*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Seringe)의 추출물이 항말라리아에 효과가 있으며 장과 자궁에 효능이 있다고 기록되어 있다. 하루 3 ~ 4 돈 사용을 권장한다(약 11.25 ~ 15 g/일).

㉕ 일본 - Specification and Standards for food additives, JSSFA

수국(*Hydrangea*) 및 추출물인 아마차(*Amacha extract*)가 식품첨가물로 등재되어 있다.

㉖ 미국 - FDA GRAS

미국의 FDA GRAS 데이터베이스에 아마차(*Amacha extract; Hydrangea macrophylla* var. *thunbergii* extract)가 등재되어 있다.

(나) 국내·외 사용 현황

신청원료의 원재료 ‘수국’은 국내·외에서 여러 제조사(한농원, 더 리퍼블릭 오브 티, 감로 700(주) 및 연우제다 등)를 통해 제품화되어 침출차 및 다류(일반식품)로 판매되고 있다.

표 24. ‘수국잎’ 관련 국내·외 제품 유통판매 현황

유통국	제품사진	제품명	제조사	일일섭취량	표시내용	섭취시 주의사항	섭취용도
국내		이슬차	한농원	4 g/1 L (<i>Hydrangea serrata</i> 잎 100%)	-	-	침출차
국외		스위트티 트로피칼 그린	더 리퍼블릭 오브 티	1.5 g/티백 (<i>Hydrangea serrata</i> 잎 함유)	-	-	침출차
국외		로터스 딜라이트	수로차	1.2 g/티백 (<i>Hydrangea serrata</i> 잎 함유)	수분 충전 및 에너지 향상에 도움	-	침출차

국내		수국차	한국차	0.5 g/티스푼 (<i>Hydrangea serrata</i> 잎 함유)	구취 제거, 기침, 열을 멈추고 심장병 완화에 효과적	-	침출차
국외		감차	우찌다(주)	수국으로서 2~3 g/l L	-	체질이나 컨디션에 따라 맞지 않는 경우는 섭취 중단	다류
국내		지리산 수국차	(주)쌍계명차	수국잎으로서 2 g/일	-	-	침출차
국내		이슬차	연우제다	수국잎으로서 1.2 g/300 mL	피부 관리, 머리가 아플 때, 목이 칼칼할 때, 체중 조절, 변비, 건강관리에 도움	-	침출차
국내		평창의 향기 수국차	(주)티젠	수국으로서 1.04 g/티백	-	-	침출차
국내		정선산수국	유정농원	1 g/티백	-	-	침출차

국내		감로차	감로700(주)	수국잎으로 서 0.3 g/티백	-	-	침출차
국내		유기농 오리지날 감로차	감로700(주)	수국잎으로 서 0.3 g/티백	-	-	침출차
국내		김동곤 명인이 만든 수국차	쌍계명차(주)	수국잎으로 서 0.144 g/티백	-	-	침출차
국내		수국차	허브라	수국잎 1~2 개	-	-	침출차
국내		이슬차	오가뷰	수국잎 1/3~1 개/200 ~ 250 mL	피부 관리, 머리가 아플 때, 목이 칼칼할 때, 체중 조절, 변비, 건강관리에 도움	-	침출차

(다) 수국잎열수추출물의 안전성에 대한 자료

- ① 기능성분 및 관련물질의 안전성(부작용·독성 등) DB 검색 정보
- ② 원재료 “수국(*Hydrangea serrata* Seringe)” 및 이의 유효지표성분 “Hydrangenol”의 국내·외 보고서, 국제기구 보고서 및 관련 데이터베이스의 검색결과, 이와 관련된 중대한 이상반응 및 독성자료는 검색되지 않았다.
- ④ 검색어: 수국, Hydrangea, *Hydrangea serrata* Seringe 및 Hydrangenol

표 25. 수국 및 하이드란제놀의 안전성 DB 검색 결과

검색 데이터베이스	안전성 관련 정보 여부
PDR for Herbal Medicine	해당사항 없음
WHO Monographs	
AHPA's Botanical Safety Handbook	
The Longwood herbal Task Force	
FDA GRAS	
American Botanical Council	
Natural Health Products Ingredients Database(NHPID)	
Natura Health Canada	
Drug Digest	
PubMed	
TOXNET	

② 섭취량 평가 정보

※ 수국잎의 제안 섭취량

- 수국잎열수추출물로서 300 ~ 600 mg/일
- 근거내용 : 수국잎열수추출물 300 ~ 600 mg/일을 12 주간 섭취한 인체적용시험에서 피부 주름, 피부 탄력, 피부결, 피부 수분량 및 시험자의 개선도 평가가 섭취 12 주 후에 유의적으로 개선되었으며, 임상적으로 이상반응, 혈액 및 소변검사 등의 안전성 평가에서도 수국잎열수추출물의 안전성을 확인할 수 있었다. 이에 수국잎열수추출물의 일일섭취량은 유효성과 안전성을 입증한 300 ~ 600 mg/일로 설정하였다.
- 원재료 수국잎 일일 섭취량 : 0.9 ~ 2.6 g/일

- ㉠ 수국잎열수추출물은 원재료 수국잎 100 kg을 열수 추출/여과한 후 농축 및 건조하여 23 kg을 생산한다. 따라서 고품분 수율은 약 23 %(약 4.3 배)이며, 수국잎열수추출물의 일일 섭취량 300 ~ 600 mg을 감안하면 수국잎의 원물 섭취량은 약 1.3 ~ 2.6 g이다.
- ㉡ 또한, 원재료 수국잎의 Hydrangenol 함량은 2.4528 mg/g이며, 수국잎열수추출물의 Hydrangenol 함량은 7.68 mg/g이다. 이에 따라서 지표물질의 농축률은 약 3.13 배로 인체적용시험에서의 섭취량 300 ~ 600 mg/일을 감안하여 원재료 수국잎의 원물 섭취량을 산출하면 약 0.9 ~ 1.9 g이다.

이에 수국잎열수추출물의 수율 및 Hydrangenol의 농축률을 감안하면 원재료 수국잎의 일일 섭취량은 0.9 ~ 2.6 g이다.

- ㉢ 한농원의 시판제품 이슬차의 경우 수국잎(*Hydrangea serrata*) 4 g(8 잎)/일을 일일섭취량으로 제시하고 있으며, 이는 원재료 수국잎의 일일 섭취량인 약 0.9 ~ 2.6 g보다 약 1.5 ~ 4.4 배 높은 수치이다. 이슬차의 일상섭취량의 3 배수는 12 g/일이며, 이는 수국잎열수

추출물의 원재료 일일섭취량 보다 월등히 높아 안전하다고 판단되었다.

- ㉔ 우찌다(주)의 시판제품 감차의 경우 수국잎 2 ~ 3 g을 섭취량으로 제시하고 있으며, 이는 수국잎열수추출물의 원재료 일일 섭취량인 약 0.9 ~ 2.6 g보다 약 0.8 ~ 3.3 배 높은 수치이다. 감차의 일상섭취량의 3 배수는 6 ~ 9 g/일이며, 이는 수국잎열수추출물의 원재료 일일섭취량 보다 월등히 높아 안전하다고 판단되었다.
- ㉕ (주)쌍계명차의 시판제품 지리산 수국차의 경우 수국잎 2 g을 섭취량으로 제시하고 있으며, 이는 수국잎열수추출물의 원재료 일일 섭취량인 약 0.9 ~ 2.6 g보다 약 0.8 ~ 2.2 배 높은 수치이다. 지리산 수국차의 일상섭취량의 3 배수는 6 g/일이며, 이는 수국잎열수추출물의 원재료 일일섭취량 보다 월등히 높아 안전하다고 판단되었다.
- ㉖ 연우제다사의 시판제품 이슬차의 경우 수국잎 1.2 g/300 mL를 섭취량으로 제시하고 있으며, 이를 일일섭취량으로 환산할 경우 약 3.6 g/일(하루 300 mL 씩 3 잔 섭취할 경우)이다. 이는 수국잎열수추출물의 원재료 일일 섭취량인 약 0.9 ~ 2.6 g/일보다 약 1.4 ~ 4 배 높은 수치로 수국잎열수추출물의 원재료 섭취량은 안전하다고 판단되었다.
- ㉗ 이외에도 시판제품 수국잎 침출차의 경우 수국 0.144 ~ 1.04 g/1티백을 1회 섭취량으로 제시하고 있으며, 이를 일일 섭취량으로 환산할 경우 약 0.43 ~ 3.1 g/일(하루 3 회 섭취할 경우)이다. 일상섭취량의 3 배수는 1.3 ~ 9.3 g/일이며, 이는 수국잎열수추출물의 원재료 일일섭취량인 약 0.9 ~ 2.6 g/일과 비교하면 월등히 높은 일일섭취량이다.
- ㉘ 중국의 전통 의학 서적인 전국중초약휘편의 “수국” 에 대한 정보에 따르면 수국 3 ~ 4 돈/일(약 11.25 ~ 15.00 g/일)을 섭취 권장하고 있다. 이는 수국잎열수추출물의 원재료 일일 섭취량인 약 0.9 ~ 2.6 g/일보다 4.3 ~ 16.7 배 높은 수치로 수국잎열수추출물의 원재료 섭취량은 안전하다고 판단되었다.

상기와 같은 근거를 바탕으로 수국잎열수추출물의 원재료 일일섭취량은 안전하다고 판단되었다.

표 26. 수국잎열수추출물의 섭취량 평가자료

	일일 섭취량	전국중초 약휘편	시판제품				평창의 향기 수국차 (주)티젠
			이슬차 (한농원)	감차 (주)우찌 다)	지리산 수국차 (주)쌍계 명차)	이슬차 (연우제다)	
수국잎 열수 추출물	300 ~ 600 mg/일	-	-	-	-	-	-
건조 수국잎	1.3 ~ 2.6 g/일	11.25~15 g/일 (1일 3회 섭취)	12 g/일 (일상섭취 량의 3배수)	6~9 g/일 (일상섭취 량의 3배수)	6 g/일 (일상섭취 량의 3배수)	3.6 g/일 (1일 3회 섭취 시)	3.1 g/일 (1일 3회 섭취 시)

③ 안전성 평가를 위한 인체적용시험

표 27. 인체적용시험 안전성 평가 결과 요약

디자인	대상자(탈락율)	시험물질 섭취량 /섭취기간	안전성지표	결과	비고
R, DB, PL	<p>선정기준</p> <p>1. 만 35 세 이상 ~ 만 60 세 이하의 성인 남녀</p> <p>2. 눈가주름 grade 3 등급 이상인 자</p> <p>3. 양측 뺨의 수분보유량(Corneometer)을 측정하여, 평균점수가 49 점 이하인 자</p> <p>4. 인체적용시험이 시작되기 전에 본 인체적용시험의 참여를 동의하고, 서면 동의서(Informed consent)에 서명한 자</p> <p>n=150→146</p> <p>탈락률 2.7%</p> <p>주 분석(PP set) 대상 기준</p>	<p>수국잎열수추출물</p> <p>300 ~ 600 mg/일</p> <p>/12주</p>	<p>1. 이상반응</p> <p>2. 임상병리 검사 (혈액학적검사, 혈액화학적검사 및 뇨검사)</p> <p>3. 활력징후(혈압 및 맥박)</p> <p>4. 신체계측(체중)</p>	<p>1. 이상반응 검사 결과 대조군에서 총 2 명의 인체적용시험 대상자에게서 2 건의 이상반응이 있었으며, 세 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았으며 중도탈락도 발생하지 않았음.</p> <p>2. 이상반응의 증상정도 조사에서 대조군은 경도(Mild) 2 건으로 ‘명확히 관련이 없음’ 이 2 건으로 시험자에 의해 판단되었으며, 세 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았음.</p> <p>3. 본 인체적용시험에서는 중대한 이상반응은 발생하지 않았음.</p> <p>4. 혈액학적 검사 중 Hb 변화량, Hct 변화량, T.Protein 및 T.Bilirubin 변화량에서 유의한 차이가 나타났으나 임상적 의미가 없다고 판단되었음.</p>	<p>인체적용시험 보고서 ((주)글로벌의학연구소, 이광훈의학박사)</p> <p>IRB 승인</p>

안전성 평가 결과, 150 명의 시험대상자 중 146 명이 시험을 완료하여 2.7%의 탈락률을 보였다. 이상반응은 대조군에서 2 건이 발생하였으나, 섭취 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았으며 중대한 이상반응으로 인한 중도탈락은 없었다.

증상정도 및 인체적용시험용 식품과의 관련성 분석 결과, 대조군에서만 경도(Mild)의 이상반응 2 건이 보고되었다. 이상반응은 시험자(연구책임자)에 의해 ‘명확히 관련이 없다고 생각됨’ 으로 판단되었다(대조군 2 건). 이 외의 혈액학적/혈액화학적, 활력징후 및 신체계측에서 임상적 의미가 있는 안전성 결과는 보고되지 않았다.

수국잎열수추출물의 일일섭취량 300 ~ 600 mg은 안전성이 확보되었다고 판단된다.

‘수국잎열수추출물’ 원재료의 일일 섭취량 약 0.9 ~ 2.6 g은 일상적인 시판제품의 일일섭취량 보다 동등하거나 낮은 수준이며, 인체적용시험을 통해 안전성이 확보되었으므로 수국잎열수추출물 원재료의 일일 섭취량은 안전하다고 판단되었다.

(19) 이너뷰티 건강기능식품 소재로서의 사업화

(가) 제품 제작을 위한 원재료 제조 공정 확립

표 28. 제조공정표

제조공정	공정, 식품, 식품첨가물	Hydrangenol (mg/g)	수율(kg)
원재료(수국)	-학명: <i>Hydrangea serrata</i> Seringe -기원: 국내 -사용부위: 잎 (dry)	2.45	100
↓			
추출	열수 15~20 배수, 90~100℃, 5 시간 추출	0.12	1,500
↓			
여과	감압여과 (카트리지원통형필터 10~50 μm 여과)		
↓			
농축	감압농축 또는 박막농축 40~60℃	2.61	69
↓			
건조	분무건조 In temp: 180~200℃ Out temp: 80~100℃		
↓			
원료	수국잎열수추출물	7.68	23

① 수율 : 약 23% [약 4.3 배: 100 kg → 23 kg]

② 농축률 : Hydrangenol 약 3.1 배 (기능성분 함량: 수국잎 2.45 mg/g → 수국잎열수추출물 7.68 mg/g)

(나) 건강기능식품 제품의 제작

- ① 제품 유형 - 건강기능식품 정제 및 젤리
- ② 기능성 - 자외선에 의한 피부 손상으로부터 피부 건강을 유지하는데 도움을 줄 수 있음
피부 보습에 도움을 줄 수 있음
- ③ 제작업체 - 코스맥스바이오(주) 자체 생산
- ④ 시제품제작 배합비 설정 및 원가 계산 견적서

견 적 서		견 적 서		견 적 서	
제품명 : 수국잎열수추출물 정제 (300 mg)		제품명 : 수국잎열수추출물 정제 (600 mg)		제품명 : 수국잎열수추출물 젤리	
원재료	배합비율(%)	원재료	배합비율(%)	원재료	
수국잎열수추출물	33.3334	수국잎열수추출물	66.6667	수국잎열수추출물	
이산화규소	1.7000	이산화규소	1.7000	말뭉	
스테아린산마그네슘	1.2000	스테아린산마그네슘	1.2000	D-솔비톨액(70%)	
결정셀룰로오스	56.6105	결정셀룰로오스	23.2772	프락토올리고당액	
히드록시프로필메틸셀룰로오스	3.2300	히드록시프로필메틸셀룰로오스	3.2300	푸드젤/한국카라겐	
카르복시메틸셀룰로오스칼슘	3.0000	카르복시메틸셀룰로오스칼슘	3.0000	무수구연산	
글리세린지방산에스테르	0.0770	글리세린지방산에스테르	0.0770	스테이올배당체(레버린97)	
이산화티타늄	0.1633	이산화티타늄	0.1633	궤산알슘(Puracal PP/FCC)	
홍국적색소	0.4898	홍국적색소	0.4898	구연산나트륨(구연산나트륨)	
분말카라멜색소	0.1960	분말카라멜색소	0.1960	열대과일농축액(트로피칼푸르츠믹스, 65B)	
기타비용 (제조비 및 일반관리비 등)		기타비용 (제조비 및 일반관리비 등)		천연오렌지향(AI-F-0218)	
합계	100.000	합계	100.000	천연자몽향(SH11-11102)	
총 금액 (부가세 별도) ₩2,408,278		총 금액 (부가세 별도) ₩4,111,278		정제수	
추출물 0.3 g/ 900 mg (1ea 기준), 5000알 기준		추출물 0.6 g/ 900 mg (1ea 기준), 5000알 기준		기타비용 (제조비 및 일반관리비 등)	
				합계	
				총 금액 (부가세 별도) ₩2,527,650	
				추출물 0.3 g/ 20 ml (1포 기준), 5,000포 생산	

그림 48. 수국잎열수추출물 정제 및 젤리 제품생산 견적서

⑤ 시제품 제작

제품명	제품 사진
수국잎열수추출물 정제	
수국잎열수추출물 젤리	
수국잎열수추출물 정제+젤리	

(다) 사업화 계획

① 5개년 매출 계획 및 기대 효과

유통	점유율	예상 매출액 (억원)					합계
		1차년	2차년	3차년	4차년	5차년	
홈쇼핑	36.0 %	14	25	36	47	58	180
네트워크, 방판	25.0 %	10	18	25	33	40	125
면세점, 약국	11.0 %	4	8	11	14	18	55
시판	9.0 %	4	6	9	12	14	45
온라인 및 기타	19.0 %	8	13	19	25	30	95
소계	100	40	70	100	130	160	500

② 수국잎열수추출물 사업화를 통한 기대효과

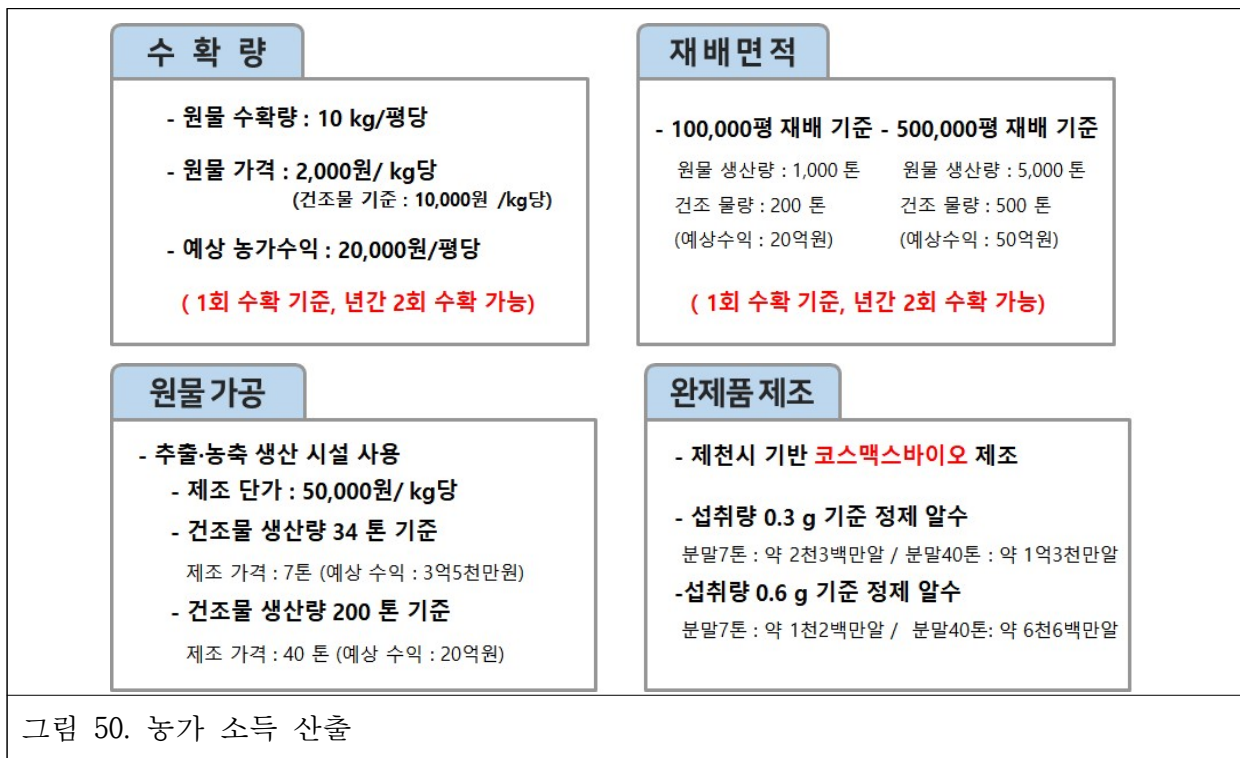
- 국내 자생식물을 이용하여 기능성 소재를 자체 개발을 함으로서 농촌 활성화를 통한 고부가가치로 농가소득 증대
- 국내의 기술력을 바탕으로 국내 및 해외 판매망을 통한 매출로 산업체는 인력을 보강하기 위한 청년들의 일자리를 창출
- 한류열풍으로 한국산 제품 소비 증가에 따라 수출 전략상품으로 활용
- 과학적인 효능 검증 기전 연구를 통해 천연물제품에 대한 이미지 제고
- 농가에서 계약재배를 통한 소재확보로 피부건강에 유용한 기능성 식품 원료를 생산하여 농가 소득증대가 기대됨

재 배	수 확	작 업
		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 수국은 다년생 목본류로 잎의 재배 및 수확 작업 용이 ▪ 고부가가치 수국 소재 생산을 통한 임·농가 소득증대 (10 ~20 kg 수확/평당/년간) ▪ 전 연령 일자리 창출로 지역경제 활성화 		

그림 49. 수국잎열수추출물 사업화를 통한 기대효과

③ 매출 계획에 따른 농가 소득 산출

구분	예상	추출물 원료가	추출물 원료사용량	수국잎 원물 사용량	수국잎 원물 가격
		(제조원가의 40%) - 평균원가 적용	(예상섭취량 300 mg)	(원료 수율 23%)	(kg당 10,000원)
단위	억원	억원	톤 (Ton)	톤 (Ton)	억원
1차년	40	16	11	48	5
2차년	70	28	19	83	8
3차년	100	40	27	117	12
4차년	130	52	35	152	15
5차년	160	64	43	187	19
총계	500	200	135	587	59



[제1협동기관: 한국과학기술연구원]

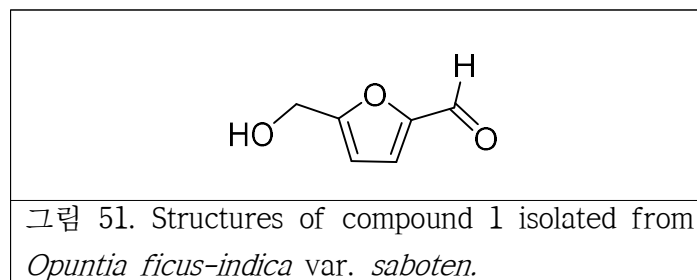
(1) 손바닥선인장(901-15) 줄기와 열매 의 에탄올 추출물의 지표성분 설정

(가) 손바닥선인장 열매(901-45G)로부터 다양한 에탄올 추출물 제조

- 50 °C, 60 °C에서 열수, 30, 50, 70% 에탄올을 사용하여 3, 5시간 동안 환류 추출을 실시하였다. 다양한 조건에서 901-45G 에탄올 추출물 제조한 결과, 추출용매와 추출 온도, 시간에 따르는 변차는 크지 않았다. 그러나 50% 에탄올을 사용하여 3시간 동안 추출한 경우, 약 40 % 추출수율을 나타내어 실험 조건에서 가장 효율적이라고 사료된다.

(나) 901-45G 에탄올 추출물의 성분연구

- 손바닥선인장 소분획 OFS50-50E30M은 sephadex LH-20을 이용하여 메탄올을 전개용매로 화합물을 용출하였으며, 두 번째 분획을 실리카젤을 고정상으로 하여 분리를 실시하였다. 전개용매는 MC-EtOAc (7:1)과 MC-MeOH (1:1)의 혼합용매로 물질 분리를 시도한 결과 34.1 mg의 순수 화합물 5-HMF(지표성분)을 수득하였다.
- 화합물 1(5-Hydroxymethyl-2-furfural)의 구조 및 data
GC-MS : m/z = 126 [M]⁺
¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 9.47(1H, s, H-7), 7.31 (1H, d, J = 3.6 Hz, H-3), 6.52(1H, d, J = 3.6 Hz, H-4), 4.55(2H, s, H-6).
¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 179.4 (C-7), 163.2 (C-5), 153.9 (C-2), 124.8 (C-3), 110.9 (C-4), 57.6(C-6).



(다) 901-45G 에탄올 추출물의 지표성분 설정

- 901-45G 에탄올 추출물의 HPLC profiles에서 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF)을 지표성분으로 설정하였다.

(라) 901-45G 에탄올 추출물 지표성분의 HPLC profiling 실시

- 5-HMF의 검량곡선으로부터 $y = 28690x + 17140$ ($R^2=1$)의 우수한 직선성과 96 % 이상의 회수율과 5 % 미만의 RSD를 나타내 정밀성과 정확성을 입증하였다. 검출한계는 4.71 µg/mL 이었고 정량한계는 14.2 µg/mL로 나타났다.

- Standard sample : 5-HMF 메탄올용액(500, 250, 125, 62.5, 31.25 and 15.625 µg/mL)
- Sample : 손바닥선인장 에탄올 추출물(901-45GEs)
- Column : Luna C18 (5 µm, 250 × 4.6 mm, Phenomenex)
- Detector : Waters 2998 PDA (280 nm)

- Pump : Waters 1525
- Oven temperature : 30 °C
- Injection volume : 20 μ L
- Flow rate : 1 mL/min
- Solvent system : Gradient system (linear gradient system)
10% -> 100% ACN for 50 min.

Time	%A (ACN)	%B (0.1% H ₃ PO ₄)
initial	10	90
10.00	25	75
20.00	35	65
30.00	55	45
40.00	75	25
50.00	100	0
60.00	10	90

(마) 901-45G 에탄올 추출물의 지표성분 함량측정

- 901-45G 에탄올 추출물의 5-HMF의 함량은 50 °C에서 50 % 에탄올을 사용하여 5시간 동안 추출한 경우 6428.76 \pm 562.3 μ g/g으로 가장 높게 나타났다.

(2) 수국(392-45A) 에탄올 추출물의 성분연구 및 지표물질 설정

(가) 수국 잎 (392-45A)의 다양한 에탄올 추출물 제조

- 50 °C, 60 °C에서 열수, 30, 50, 70% 에탄올을 사용하여 2, 3, 4시간 동안 환류 추출을 실시하였다.

(나) 392-45A 에탄올 추출물의 성분연구

- 392-45A 에탄올 추출물의 성분연구로부터 16종의 단일화합물을 분리하여 구조 규명한 결과, 6종의 hydrangenol derivatives, 4종의 secoiridoids, 2종의 flavonoid glycosides, 3종의 stilbenes, 5-caffeoylquinic acid를 분리하였다.

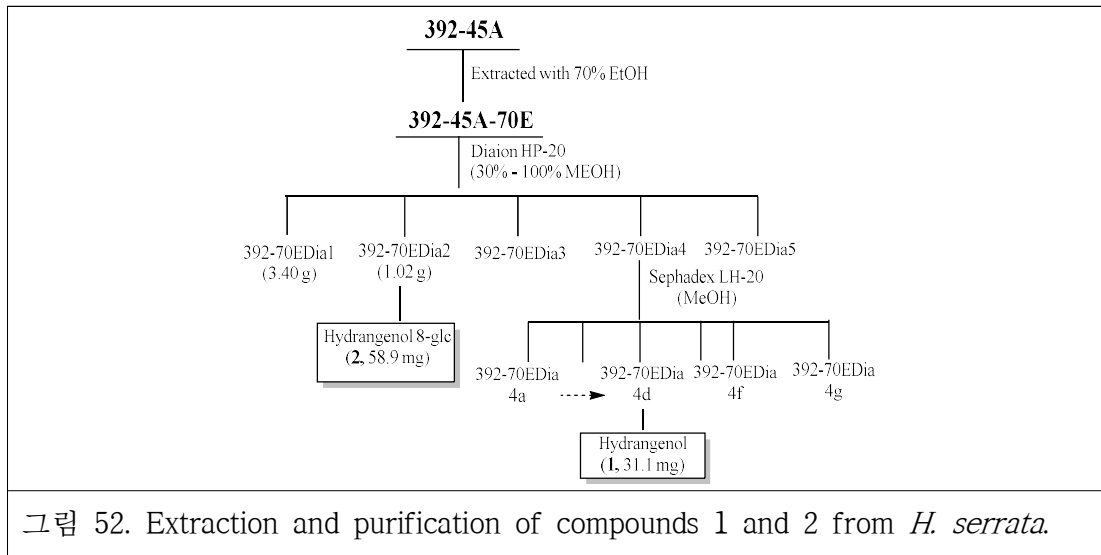
① 시약 및 기기

추출 및 분획용 시약은 1급 시약을 정제하지 않고 그대로 사용하였으며, TLC와 column 용 시약은 1급 또는 특급 시약을 그대로 사용하였고, 발색시약은 10 % 황산 용액을 사용하였다. Optical rotation은 Autopol III automatic polarimeter (Rudolph Research Flanders, New Jersey)를 사용하여 측정하였으며, NMR은 Bruker 400 AMX-400 (400 MHz)를 사용하여 구조분석 하였다. ESIMS은 JEOL JMS-600W mass spectrometer를 이용하여 분자량을 측정하였다. 분취용 column chromatography의 packing material로는 Kieselgel 60 (230-400 mesh, ASTM, Art. 9385, Merck)와 Lipophilic Sephadex LH-20 (bead size 25-100 μ m, Sigma), Lichroprep RP-18 (40-63 μ m, Merck)을 사용하였다.

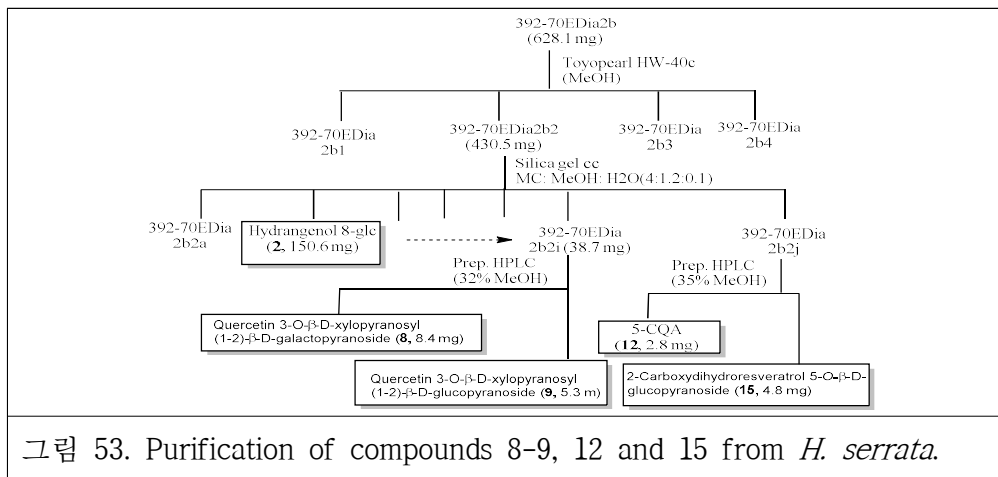
② 화합물 1-16의 분리

수국 잎 70% 에탄올 추출물(392-70E) 5.66 g을 Diaion HP-20을 이용하여 gel filtration

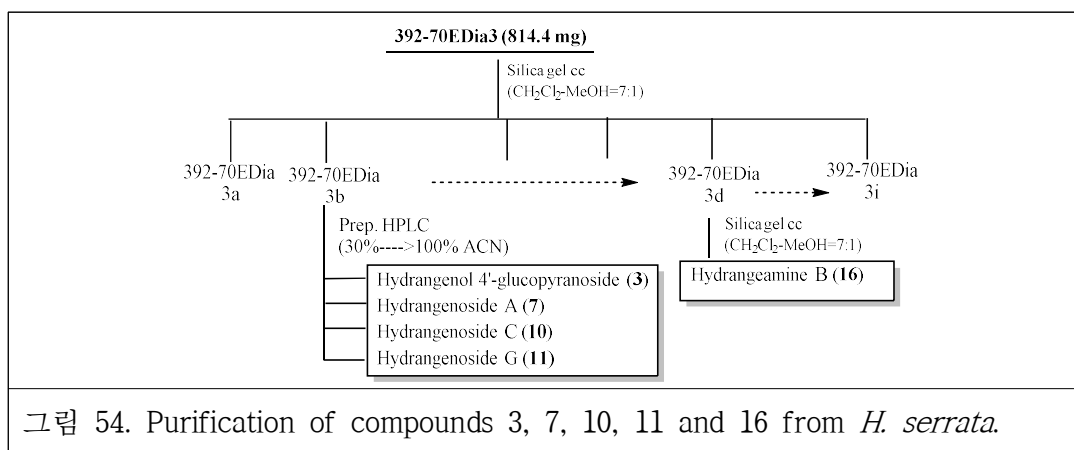
을 실시하였다. 전개용매는 30%, 50%, 70%, 100% 메탄올과 CH₂Cl₂-MeOH (1:1, v/v)의 혼합 용액을 각각 2 L씩 사용하여 용매분획 하였으며 5개의 소 분획(392-70EDia1-5)으로 나누었다. 소분획 392-70EDia4(357.4 mg)는 Sephadex LH-20을 사용하여 메탄올을 전개용매로 하여 7개의 소분획(392-70EDia4a~4g) 으로 나누었으며, 이중 392-70EDia4d 분획은 메탄올에서 재결정하여 무정형의 화합물 1(hydrangenol) 31.1 mg을 순수하게 수득하였다. 소분획 392-70EDia2 (1.02 g)는 Sephadex LH-20을 이용한 정제와 메탄올에서 재결정을 통하여 무정형 화합물 2(hydrangenol 8-glucopyranoside) 58.9 mg을 수득하였다.



소분획 392-70EDia2b (628.1 mg) 분획은 메탄올에서 재결정으로 58.9 mg의 화합물 2를 추가로 분리하였으며, 여액(569.2 mg)은 Toyopearl HW-40c를 이용하여 4개의 분획(392-70EDia2b1~2b4)으로 나누었다. 이 중 두 번째 분획(392-70EDia2b2) 430.5 mg은 실리카젤을 이용하여 MC-MeOH-H₂O (4:1.2:0.1)의 혼합용매를 전개용매로 10개의 소분획(392-70EDia2b2a~2b2j)으로 나누었다. 이 중 두 번째 분획은 150.6 mg의 화합물 2를 분리하였으며, 소분획(392-70EDia2b2i) 38.7 mg은 분취용 HPLC(32% MeOH, 4 ml/min)을 이용하여 화합물 8(8.4 mg)과 9(5.3 mg)을 수득하였으며, 소분획(392-70EDia2b2j) 25.1 mg은 분취용 HPLC(35% MeOH, 4 ml/min)을 이용하여 화합물 12(2.8 mg)와 15(4.8 mg)을 수득하였다.



소분획 392-70EDia3 (814.4 mg)은 실리카젤을 이용한 정제를 실시하였다. 전개용매는 CH₂Cl₂-MeOH (7:1, v/v)의 혼합용액을 이용하여 9개의 소분획(392-70EDia3a~3i)으로 나누었다. 두 번째 소분획 392-70EDia3b는 분취용 HPLC (30% → 100% ACN, 4 ml/min)를 이용하여 화합물 3(hydrangenol 4'-glucopyranoside), 7(hydrangenoside A), 10(hydrangenoside C), 11(hydrangenoside G)을 순수하게 분리하였다. 소분획 392-70EDia3d(422.9 mg)는 실리카젤을 이용한 정제를 실시하여 6개의 분획 (392-70EDia3d1~6)으로 나누었으며, 소분획 392-70EDia3d4는 분취용 HPLC를 이용하여 화합물 16(hydrangeamine B)을 수득 하였다.



수국 잎 50% 에탄올 추출물(392-50E) 5.78 g을 Diaion HP-20을 이용하여 gel filtration을 실시하였다. 전개용매는 30%, 50%, 70%, 100% 메탄올과 CH₂Cl₂-MeOH(1:1, v/v)의 혼합용액을 각각 2 L씩 사용하여 5개의 소분획(392-50EDia1~5)으로 나누었다. 소분획 392-50EDia4(731.1 mg)는 Sephadex LH-20을 사용하여 메탄올을 전개용매로 하여 5개의 소분획(392-50EDia4a~4e)으로 나누었으며, 이중 392-50EDia4e 분획은 분취용 HPLC(20% → 75% ACN, 4 ml/min)를 이용하여 화합물 4(Thunberginol C), 5(Thunberginol F), 6(Thunberginol A), 13(3,4'-Dihydroxystilbene), 14(Hydrangeaic acid)를 순수하게 수득하였다.

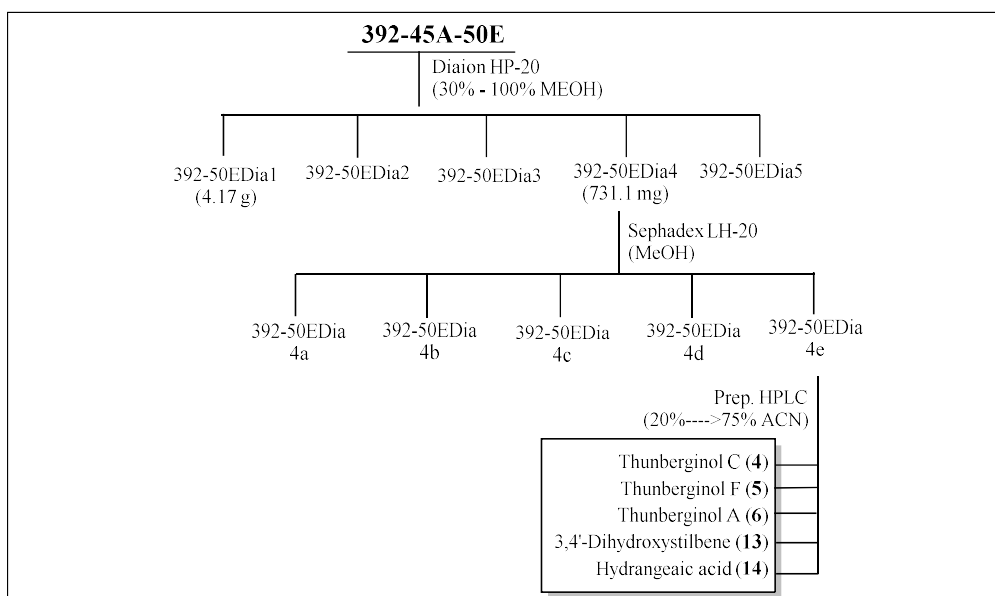


그림 55. Purification of compounds 4-6, 13 and 14 from *H. serrata*.

③ 화합물1-16의 구조 및 data

- 화합물 1(Hydrangenol)의 구조분석

ESI-MS (positive-ion mode): $m/z = 257 [M+H]^+$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.41 (1H, dd, $J = 7.6, 8.4$ Hz, H-6), 7.26 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.80 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 6.76 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.75 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, overlapped with H-3', 5', H-5), 5.50 (1H, dd, $J = 3.2, 8.0$ Hz, H-3), 3.30 (1H, dd, $J = 12.4, 16.8$ Hz, H-4a), 3.06 (1H, dd, $J = 3.2, 16.8$ Hz, H-4b).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 36.1 (C-4), 83.1 (C-3), 110.0 (C-9), 116.9 (C-3', 5'), 117.3 (C-7), 119.8 (C-5), 129.6 (C-2', 6'), 130.9 (C-1'), 138.0 (C-6), 142.2 (C-10), 159.7 (C-4'), 163.7 (C-8), 172.1 (C-1).

- 화합물 2(Hydrangenol 8-glucoopyranoside)의 구조분석

ESI-MS (positive-ion mode): $m/z = 441 [M+Na]^+$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 7.64 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-7), 7.48 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 7.40 (1H, dd, $J = 7.6, 8.4$ Hz, H-6), 7.23 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 6.84 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-5), 5.74 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 5.27 (1H, dd, $J = 2.4, 11.2$ Hz, H-3), 4.62 (1H, dd, $J = 2.0, 12.0$ Hz, H-6'' a), 4.51 (1H, dd, $J = 8.0, 8.4$ Hz, H-2''), 4.42 (1H, dd, $J = 5.6, 11.6$ Hz, H-6'' b), 4.41 (1H, dd, $J = 8.4, 8.8$ Hz, H-3''), 4.36 (1H, dd, $J = 8.8, 9.2$ Hz, H-4''), 4.23 (1H, m, H-5''), 3.30 (1H, dd, $J = 11.6, 16.0$ Hz, H-4a), 3.00 (1H, dd, $J = 2.8, 16.4$ Hz, H-4b).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 36.7 (C-4), 62.9 (C-6''), 71.6 (C-4''), 75.2 (C-2''), 78.9 (C-3''), 79.6 (C-5''), 79.9 (C-3), 103.1 (C-1''), 115.9 (C-9), 116.2 (C-7), 116.9 (C-3', 5'), 121.6 (C-5), 129.2 (C-2', 6'), 130.3 (C-1'), 135.4 (C-6), 142.6 (C-10), 159.8 (C-4'), 160.3 (C-8), 163.0 (C-1).

- 화합물 3(Hydrangenol 4'-glucoopyranoside)의 구조분석

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 7.48 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 7.44 (1H, t, $J = 8.4$ Hz, H-6), 7.41 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 7.04 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 6.73 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-5), 5.70 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 5.57 (1H, dd, $J = 2.4, 12.4$ Hz, H-3), 4.59 (1H, br d, $J = 11.6$ Hz, H-6'' a), 4.40 (4H, m, H-2'', 3'', 4'', 6'' b), 4.18 (1H, m, H-5''), 3.24 (1H, dd, $J = 12.4, 16.4$ Hz, H-4a), 3.01 (1H, dd, $J = 2.4, 16.4$ Hz, H-4b).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 34.5 (C-4), 62.1 (C-6''), 71.0 (C-4''), 74.7 (C-2''), 78.3 (C-3''), 78.7 (C-5''), 80.6 (C-3), 101.7 (C-1''), 108.9 (C-9), 116.1 (C-7), 116.8 (C-3', 5'), 118.3 (C-5), 128.2 (C-2', 6'), 131.8 (C-1'), 136.4 (C-6), 140.2 (C-10), 158.7 (C-4'), 162.3 (C-8), 169.9 (C-1).

- 화합물 4(Thunberginol C)의 구조분석

FAB-MS (negative-ion mode): $m/z = 271$ [M-H]⁻

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7.22 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.73(2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 6.17 (1H, br s, H-5), 6.14 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-7), δ_{H} 5.37(1H, dd, $J = 12.0, 3.2$ Hz, H-3), 3.14(1H, dd, $J = 16.4, 12.0$ Hz, H-4a), 2.91(1H, d, $J = 16.4, 3.2$ Hz), H-4b).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 36.4 (C-4), 82.6 (C-3), 102.1 (C-9), 102.8 (C-7), 108.4 (C-5), 116.8 (C-3', 5'), 129.5 (C-2', 6'), 131.2 (C-1'), 144.1 (C-10), 159.6 (C-4'), 166.2 (C-8), 166.8 (C-6), 172.3 (C-1).

- 화합물 5(thunberginol F)의 구조분석

ESI-MS m/z 269 [M-H]⁻;

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 7.49 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.39 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.25 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-4), 7.04(1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6'), 6.80(1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 6.73 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, s, H-8).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 108.5 (C-8), 109.9 (C-7a), 111.5 (C-4), 116.4 (C-6), 116.8 (C-5'), 117.7 (C-2'), 124.2 (C-6'), 126.9 (C-1'), 137.8 (C-5), 143.8 (C-3), 144.1 (C-3a), 146.5 (C-3'), 147.5 (C-4'), 158.6 (C-7), 167.9 (C-1).

- 화합물 5(thunberginol F)의 구조분석

ESI-MS m/z 269 [M-H]⁻;

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 7.49 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.39 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.25 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-4), 7.04(1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6'), 6.80(1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 6.73 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, s, H-8).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 108.5 (C-8), 109.9 (C-7a), 111.5 (C-4), 116.4 (C-6), 116.8 (C-5'), 117.7 (C-2'), 124.2 (C-6'), 126.9 (C-1'), 137.8 (C-5), 143.8 (C-3), 144.1 (C-3a), 146.5 (C-3'), 147.5 (C-4'), 158.6 (C-7), 167.9 (C-1).

- 화합물 6(thunberginol A)의 구조분석

ESI-MS m/z 269 [M-H]⁻;

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 7.57 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-6), 7.23 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 7.20 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, H-6'), 6.96 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-5), 6.94 (1H, s, H-4), 6.83 (1H, dd, $J = 8.0, 0.8$ Hz, H-7), 6.79 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5').

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 104.9 (C-4), 106.6 (C-8a), 113.2 (C-2'), 115.2 (C-7), 116.7 (C-5'), 117.5 (C-5), 118.6 (C-6'), 124.6 (C-1'), 138.7 (C-6), 140.2 (C-4a), 146.9 (C-3'), 149.1 (C-4'), 154.9 (C-3), 162.7 (C-8), 167.7 (C-1).

- 화합물 7(hydrangenoside A)의 구조분석

ESI-MS m/z 643 [M+Na]⁺;

$[\alpha]_{\text{D}}^{28} -92.8^{\circ}$ (c 1.24, MeOH);

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 7.38 (1H, s, H-3), 6.94 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-22, 24), 6.60 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-21, 25), 5.60 (1H, m, H-8), 5.45 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-1), 5.18

(2H, dd, $J = 10.8, 17.2$ Hz, H-10), 4.61 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 4.47 (1H, m, H-15), 4.19 (1H, m, H-7), 3.82 (1H, br d, $J = 11.2$ Hz, H-6' a), 3.61 (3H, s, OMe), 3.57 (1H, dd, $J = 6.4, 10.8$ Hz, overlapped with OMe, H-6' b), 3.30 (1H, m, H-5'), 3.19 (2H, m, H-3', 4'), 3.14 (1H, t, $J = 8.4$ Hz, H-2'), 2.78 (2H, m, H-5, 16a), 2.72 (4H, m, H-18, 19), 2.53 (1H, m, H-9), 2.43 (3H, m, H-12a, 14a, 16b), 2.21 (2H, m, H-12b, 14b), 1.73 (1H, m, H-6a), 1.57 (1H, m, H-6b).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD): δ 30.3 (C-19), 30.8 (C-5), 36.5 (C-6), 46.0 (C-9), 46.8 (C-18), 47.6 (C-14), 47.8 (C-12), 48.7 (C-16), 52.3 (OMe), 63.3 (C-6'), 70.2 (C-15), 72.1 (C-4'), 73.0 (C-7), 75.1 (C-2'), 78.4 (C-5'), 78.9 (C-3'), 98.2 (C-1), 100.5 (C-1'), 112.4 (C-4), 116.7 (C-22, 24), 120.4 (C-10), 130.8 (C-21, 25), 133.7 (C-20), 136.1 (C-8), 154.2 (C-3), 157.1 (C-23), 169.6 (C-11), 209.9 (C-13), 210.7 (C-17).

- 화합물 8(queracetin 3-*O*- β -D-xylopyranosyl (1-2)- β -D-galactopyranoside)의 구조분석
ESI-MS m/z 619 $[\text{M}+\text{Na}]^+$;

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz): δ 7.64 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.58 (1H, dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz, H-6'), 6.79 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.30 (1H, br s, H-8), 6.11 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-6), 5.33 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 4.69 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-1''), 3.95 (1H, dd, $J = 7.6, 9.2$ Hz, H-2''), 3.88 (1H, dd, $J = 5.2, 11.6$ Hz, H-5''), 3.77 (1H, d, $J = 3.2$ Hz, H-4''), 3.65 (1H, dd, $J = 3.2, 9.6$ Hz, H-3''), 3.55 (1H, dd, $J = 6.0, 11.2$ Hz, H-6'' b), 3.48 (1H, dd, $J = 6.4, 11.2$ Hz, H-6'' a), 3.42 (2H, m, H-4'' , 5''), 3.37 (1H, t, $J = 6.0$ Hz, H-3''), 3.32 (1H, dd, $J = 4.8, 6.8$ Hz, H-2''), 3.23 (1H, dd, $J = 9.6, 11.6$ Hz, H-5'').

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD): δ 61.9 (C-6''), 66.5 (C-5''), 70.2 (C-4''), 70.9 (C-4''), 74.7 (C-2''), 75.1 (C-3''), 76.9 (C-5''), 77.0 (C-3''), 80.1 (C-2''), 94.6 (C-8), 99.8 (C-6), 101.4 (C-1''), 105.3 (C-1''), 105.6 (C-10), 116.1 (C-5'), 117.3 (C-2'), 123.0 (C-1'), 123.3 (C-6'), 135.1 (C-3), 145.9 (C-3'), 149.8 (C-4'), 158.1 (C-2), 158.4 (C-9), 163.1 (C-5), 166.3 (C-7), 179.6 (C-4).

- 화합물 9(queracetin 3-*O*- β -D-xylopyranosyl (1-2)- β -D-galactopyranoside)의 구조분석
ESI-MS m/z 619 $[\text{M}+\text{Na}]^+$;

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz): δ 7.57 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.56 (1H, dd, $J = 2.0, 8.8$ Hz, H-6'), 6.80 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5'), 6.32 (1H, br s, H-8), 6.13 (1H, br s, H-6), 5.43 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 4.68 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-1''), 3.86 (1H, dd, $J = 4.8, 11.6$ Hz, H-5''), 3.65 (1H, dd, $J = 4.8, 12.4$ Hz, H-6'' b), 3.66 (1H, dd, $J = 7.6, 8.8$ Hz, H-2''), 3.53 (1H, dd, $J = 8.8, 9.2$ Hz, H-3''), 3.47 (1H, dd, $J = 5.6, 11.2$ Hz, H-6'' b), 3.41 (1H, m, H-4''), 3.31 (3H, m, H-2'' , 3'' , 4''), 3.16 (1H, dd, $J = 9.6, 11.2$ Hz, H-5''), 3.14 (1H, m, H-5'').

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD): δ 62.9 (C-6''), 67.1 (C-5''), 71.5 (C-4''), 71.6 (C-4''), 75.4 (C-2''), 77.5 (C-3''), 78.7 (C-3''), 78.9 (C-5''), 82.8 (C-2''), 95.0 (C-8), 100.3 (C-6), 101.4 (C-1''), 105.8 (C-1''), 106.3 (C-10), 116.6 (C-5'), 117.8 (C-2'),

123.7 (C-1'), 123.9 (C-6'), 135.6 (C-3), 146.6 (C-3'), 150.2 (C-4'), 158.8 (C-2), 158.9 (C-9), 163.6 (C-5), 166.4 (C-7), 180.1 (C-4).

- 화합물 10(hydrangenoside C)의 구조규명

ESI-MS m/z 601 [M+Na]⁺;

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 7.37 (1H, s, H-3), 6.96 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-20, 22), 6.62 (2H, d, J = 7.6 Hz, H-19, 23), 5.64 (1H, m, H-8), 5.44 (1H, d, J = 5.6 Hz, H-1), 5.18 (2H, dd, J = 10.8, 18.0 Hz, H-10), 4.60 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1'), 4.24 (1H, m, H-15), 3.95 (1H, m, H-7), 3.82 (1H, br d, J = 11.6 Hz, H-6' a), 3.62 (3H, s, OMe), 3.57 (1H, dd, J = 6.4, 10.8 Hz, H-6' b), 3.20 (1H, m, H-5'), 3.16 (2H, m, H-3', 4'), 3.10 (1H, dd, J = 7.6, 8.0 Hz, H-2'), 2.88 (1H, m, H-5), 2.60 (2H, m, H-9, 14b), 2.50 (3H, m, H-12b, 17), 2.21 (2H, m, H-12a, 14a), 1.84 (1H, m, H-6b), 1.69 (2H, m, H-16), 1.60 (1H, m, H-6a).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 29.9 (C-5), 31.7 (C-6), 35.9 (C-17), 37.1 (C-16), 45.8 (C-9), 47.5 (C-14), 47.6 (C-12), 51.7 (OMe), 62.8 (C-6'), 71.6 (C-15), 72.1 (C-7), 72.7 (C-4'), 74.7 (C-2'), 78.0 (C-3'), 78.4 (C-5'), 97.9 (C-1), 100.1 (C-1'), 111.9 (C-4), 116.2 (C-20, 22), 120.0 (C-10), 130.4 (C-19, 23), 133.6 (C-8), 135.6 (C-18), 153.5 (C-3), 156.5 (C-21), 169.2 (C-11), 210.3 (C-13).

- 화합물 11(hydrangenoside G)의 구조규명

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 7.41 (1H, d, J = 0.8 Hz, H-3), 6.91 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-20, 22), 6.76 (1H, dt, J = 7.6, 15.6 Hz, H-7), 6.58 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-19, 23), 5.97 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-12), 5.18 (2H, m, H-10), 4.59 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1'), 4.40 (1H, m, H-15), 3.79 (1H, dd, J = 2.0, 12.0 Hz, H-6' a), 3.58 (3H, s, OMe), 3.54 (1H, m, H-6' b), 3.29-3.14 (3H, m, H-3', 4', 5'), 3.09 (1H, dd, J = 8.0, 9.2 Hz, H-2'), 2.91 (1H, m, H-5), 2.67 (4H, m, H-16, 17), 2.55 (3H, m, H-6a, 9), 2.49 (2H, m, H-14), 1.80 (1H, m, H-6b).

- 화합물 12(5-O-caffeoylquinic acid)의 구조규명

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 7.46 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-7'), 6.95 (1H, br s, H-2'), 6.84 (1H, br d, J = 8.0 Hz, H-6'), 6.67 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.19 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-8'), 5.25 (1H, m, H-5), 4.01 (1H, br, H-3), 3.59 (1H, br d, J = 9.6 Hz, H-4), 1.79-2.05 (4H, m, H-2, 6).

- 화합물 13(3,4'-dihydroxystilbene)의 구조규명

ESI-MS m/z 211 [M-H]⁻;

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 7.31 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 7.07 (1H, t, J = 8.0 Hz, H-5), 6.96 (1H, d, J = 16.4 Hz, H- α), 6.90 (1H, br d, J = 7.6 Hz, H-6), 6.87 (1H, br t, H-2), 6.83 (1H, d, J = 16.4 Hz, H- β), 6.71 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.58 (1H, br dd, J = 1.6, 8.0 Hz, H-4).

- 화합물 14(hydrangeic acid)의 구조규명

ESI-MS m/z 255 [M-H]⁻;

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 8.07 (1H, d, J = 16.4 Hz, H- α), 7.33 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2' , 6'), 7.11 (1H, dd, J = 7.6, 8.0 Hz, H-5), 7.02 (1H, br d, J = 7.2 Hz, H-6), 6.76 (1H, d, J = 16.4 Hz, H- β), 6.69 (2H, dd, J = 8.8 Hz, H-3' , 5'), 6.64 (1H, dd, J = 1.2, 8.0 Hz, H-4).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 116.4 (C-2), 116.8 (C-3' , 5'), 118.6 (C-4), 118.7 (C-6), 129.4 (C- α), 129.5 (C-2' , 6'), 130.1 (C-1'), 132.1 (C- β), 132.3 (C-5), 142.7 (C-1), 158.5 (C-3), 162.8 (C-4'), 176.8 (C-7).

- 화합물 15(2-carboxydihydroresveratrol 5-O- β -glucopyranoside)의 구조규명

ESI-MS m/z 459 [M+Na]⁺;

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 6.99 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2' , 6'), 6.59 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3' , 5'), 6.30 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-6), 6.21 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-4), 4.76 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1''), 3.81 (1H, dd, J = 1.2, 12.8 Hz, H-6'' a), 3.64 (1H, dd, J = 4.8, 12.4 Hz, H-6'' b), 3.40 (1H, t, J = 8.8 Hz, H-3''), 3.37-3.32 (2H, m, H-4'' , 5''), 3.29 (2H, m, H-2'' , 7a), 3.17 (1H, m, H-7b), 2.70 (2H, m, H-8).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 30.0 (C-8), 40.2 (C-7), 62.9 (C-6''), 71.8 (C-4''), 75.4 (C-2''), 78.4 (C-3''), 78.5 (C-5''), 101.2 (C-1''), 103.2 (C-4), 111.5 (C-6), 114.5 (C-2), 116.4 (C-2' , 6'), 131.1 (C-3' , 5'), 135.8 (C-1'), 149.2 (C-1), 156.5 (C-4'), 161.1 (C-5), 165.6 (C-3), 176.5 (C-COOH).

- 화합물 16(hydrangeamine B)의 구조규명

ESI-MS m/z 570 [M+H]⁺;

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ 7.58 (1H, t, J = 7.6 Hz, H-15), 7.55 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3), 7.11 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-14), 7.03 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-16), 6.90 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-21, 25), 6.60 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-22, 24), 5.52 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-1), 5.47 (1H, m, H-8), 5.21 (2H, dd, J = 4.8, 11.2 Hz, H-10) 4.80 (1H, m, overlapped with H₂O, H-7), 4.66 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1'), 3.85 (1H, dd, J = 2.4, 12.0 Hz, H-6' a), 3.61 (1H, dd, J = 5.6, 11.6 Hz, H-6' b), 3.35 (1H, dd, J = 8.8, 9.2 Hz, H-3'), 3.13-3.26 (4H, m, H-5, 4' , 5' , 12a), 3.20 (1H, dd, J = 8.0, 9.2 Hz, H-2'), 3.04 (1H, m, H-12b), 2.97 (1H, m, H-18), 2.85 (2H, m, H-19), 2.55 (1H, m, H-9), 1.83 (1H, m, H-6b), 1.62 (1H, m, H-6a).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 23.5 (C-5), 28.1 (C-6), 36.4 (C-19), 41.0 (C-18), 43.1 (C-12), 43.9 (C-9), 62.7 (C-6'), 71.6 (C-4'), 74.6 (C-2'), 77.8 (C-3'), 78.5 (C-5'), 79.5 (C-7), 98.0 (C-1), 99.8 (C-1'), 105.2 (C-4), 116.1 (C-22, 24), 121.1 (C-10), 122.9 (C-14, 16), 130.5 (C-21, 25), 133.2 (C-8), 133.3 (C-20), 138.9 (C-15), 154.2 (C-3), 156.6 (C-23), 158.0 (C-13), 162.6 (C-17), 168.5 (C-11).

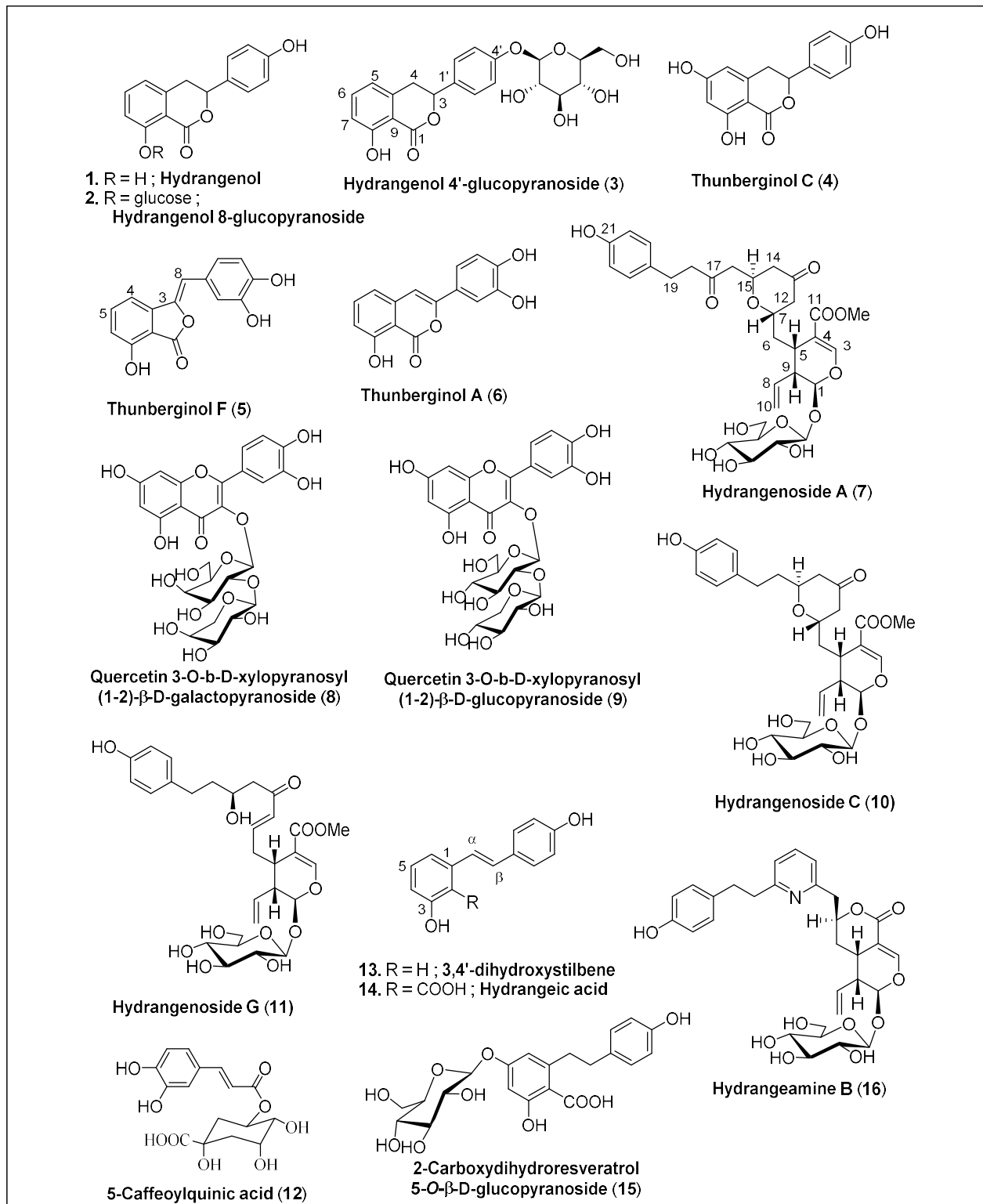


그림 56. Structures of compounds 1 - 16 isolated from *Hydrangea serrata*.

(다) 392-45A 에탄올 추출물의 지표성분 설정

- 392-45A 에탄올 추출물의 HPLC profiles에서 Hydrangenol (HDG)을 지표성분으로 설정하였다.

(라) 392-45A 에탄올 추출물 지표성분의 HPLC profiling 실시

- HDG의 검량곡선으로부터 상관계수(R^2) 0.9996의 우수한 직선성과 95% 이상의 회수율과 6% 미만의 RSD를 나타내 정밀성과 정확성을 입증하였다. 검출한계는 11.3 $\mu\text{g/mL}$ 이었고 정량한계는 34.2 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났다.

- Standard sample : HDG 메탄올용액(500, 250, 125, 62.5, 31.25 and 15.625 $\mu\text{g/mL}$)
- Sample : 수국잎 에탄올 추출물(392-45A-HSEs)
- Column : Luna C18 (5 μm , 250 \times 4.6 mm, Phenomenex)
- Detector : Waters 2998 PDA (210 nm)
- Pump : Waters 1525
- Oven temperature : 30 $^{\circ}\text{C}$
- Injection volume : 20 μl
- Flow rate : 1 ml/min
- Solvent system : Gradient system (linear gradient system)

10% \rightarrow 100% ACN for 50 min.

Time	%A (ACN)	%B (H_2O)
initial	20	80
15.00	25	75
30.00	50	50
40.00	100	0
50.00	20	80
60.00	20	80

(마) 392-45A 에탄올 추출물의 지표성분 함량측정

- 60 $^{\circ}\text{C}$ 에서 추출한 수국 추출물(392-45A-HSEs)에서의 hydrangenol 함량은 70% 에탄올 용액으로 3시간 동안 추출하였을 때 8238.57 \pm 352.7 $\mu\text{g/H. serrata g}$ 으로 가장 높게 측정되었다.

[제2협동기관: 경희대학교]

(1) 바이오마커 검색을 통한 피부건강 활성 소재 선정

(가) 손바닥 선인장(901-15)

① 세포에 대한 세포 독성 평가 (25-200 µg/ml)

- 각 추출물 100 µg/ml에서의 활성을 표로 정리함. 모든 추출 조건에서 두 세포에 대한 세포 보호 효과가 확인됨.

901-45G (100 µg/ml)	Cell viability (%)	
	HaCaT	Hs68
Control	100.00 ± 4.44	100.00 ± 0.40
UV	77.21 ± 9.43 [#]	74.07 ± 4.12 [#]
901-45G 열수추출물	100.49 ± 5.05 ^{***}	86.00 ± 7.10 ^{***}
901-45G 30%주정추출물	126.53 ± 2.40 ^{***}	92.66 ± 2.88 ^{**}
901-45G 50%주정추출물	96.77 ± 12.30 [*]	87.01 ± 2.02 ^{***}
901-45G 70%주정추출물	111.81 ± 10.57 ^{***}	83.32 ± 4.94 ^{**}

#p<0.05 vs control cells, **p<0.01, ***p<0.001 vs UV-induced cells

② Pro-collagen 합성에 대한 활성 평가 (25-200 µg/ml)

- 각 추출물 100 µg/ml에서의 활성을 표로 정리함. 모든 추출 조건과 농도 조건에서 pro-collagen 회복효과는 나타나지 않음.

901-45G (100 µg/ml)	Pro-collagen Type I (ng/ml)
	Hs68
Control	355.64 ± 15.90
UV	213.56 ± 20.11 [#]
901-45G 열수추출물	119.54 ± 13.35
901-45G 30%주정추출물	102.53 ± 4.30
901-45G 50%주정추출물	113.68 ± 5.41
901-45G 70%주정추출물	144.24 ± 19.33

#p<0.05 vs control cells,

③ Hyaluronic acid(HA) 생성에 대한 평가 (25-200 µg/ml)

- 각 추출물 100 µg/ml에서의 활성을 표로 정리함. 모든 추출 조건에서 HA 생성 회복 효과가 확인됨.

901-45G (100 µg/ml)	Hyaluronic acid (ng/ml)	
	HaCaT	Hs68
Control	179.74 ± 6.78	80.60 ± 7.03
UV	119.89 ± 5.26 [#]	60.48 ± 3.09 [#]
901-45G 열수추출물	180.28 ± 1.03 ^{***}	77.48 ± 2.33 ^{***}
901-45G 30%주정추출물	207.72 ± 5.33 ^{***}	78.25 ± 3.90 ^{***}
901-45G 50%주정추출물	205.41 ± 3.23 ^{***}	71.36 ± 1.83 ^{**}
901-45G 70%주정추출물	248.40 ± 2.94 ^{***}	87.35 ± 4.33 ^{***}

#p<0.05 vs control cells, **p<0.01, ***p<0.001 vs UV-induced cells

④ 타깃 단백질 유전자 발현 분석 (HAS, HYAL, MMP) (25, 100 µg/ml)

- HYAL-1 발현에 대한 영향: HA 분해와 관련된 단백질인 HYAL-1에 대한 약물의 효과를 확인한 결과, HaCaT 세포에서는 열수 추출물, 주정 30%, 주정 70% 추출물에서 UV로 증가된 HYAL-1 mRNA 발현이 감소되었음. Hs68 세포에서는 모든 약물에서 감소효과가 확인되었음.

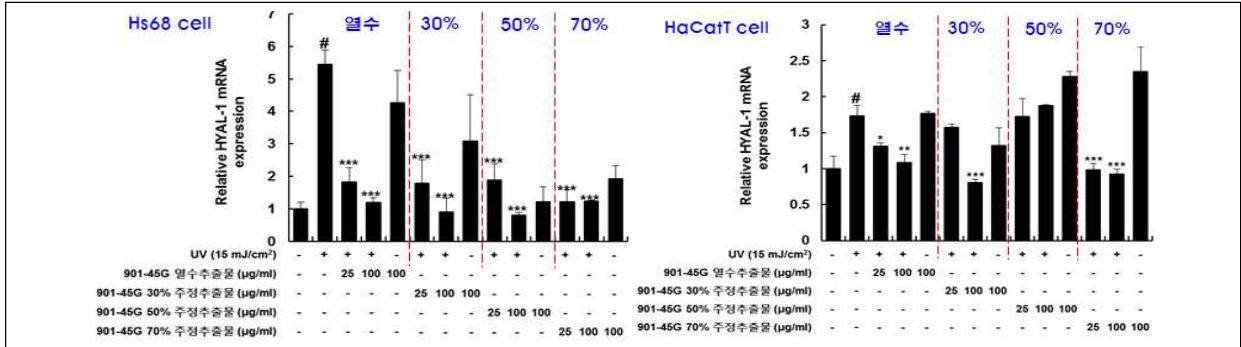


그림 57. UV 조사 Hs68, HaCaT 세포에서 손바닥선인장추출물의 HYAL-1 발현 저해 효과

- HYAL-2 발현에 대한 영향: HA 분해와 관련된 단백질인 HYAL-2에 대한 약물의 효과를 확인한 결과, HaCaT 세포에서는 모든 추출물이 UV로 증가된 HYAL-2 mRNA 발현을 감소시킴. Hs68 세포에서는 50%추출물에서 감소효과를 보였음.

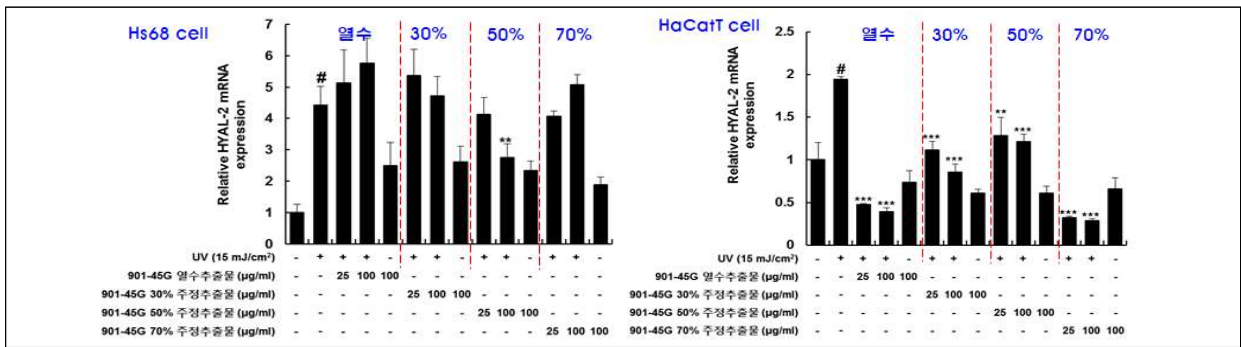
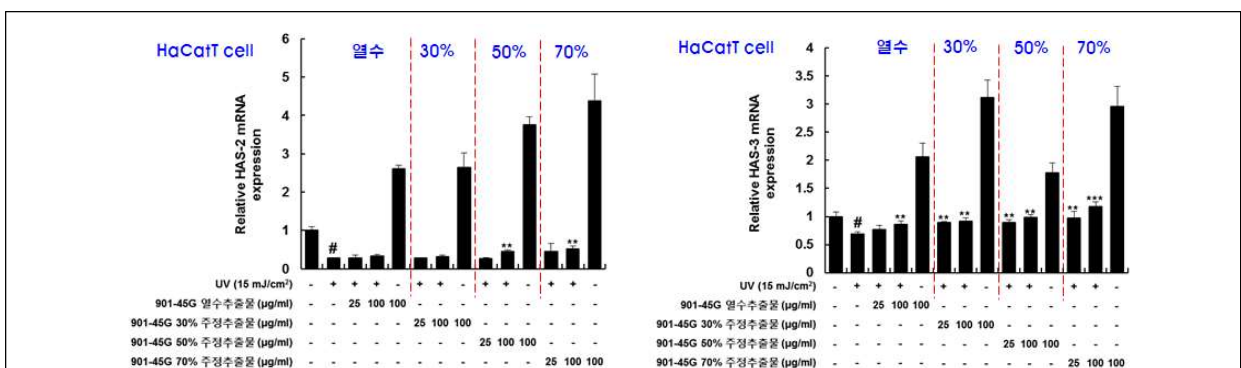


그림 58. UV 조사 Hs68, HaCaT 세포에서 손바닥선인장추출물의 HYAL-2 발현 저해 효과

- HAS-2/3 발현에 대한 영향: HA 합성 단백질인 HAS의 발현에 약물이 미치는 영향을 조사하였음. 각 세포에서 추출물이 유의적인 회복 효과를 보여주었으나, 회복 정도가 크지는 않았음. 따라서 901-45G 약물의 HA 회복효과는 HA의 분해 단계를 억제함으로써 나타난다고 추정됨.



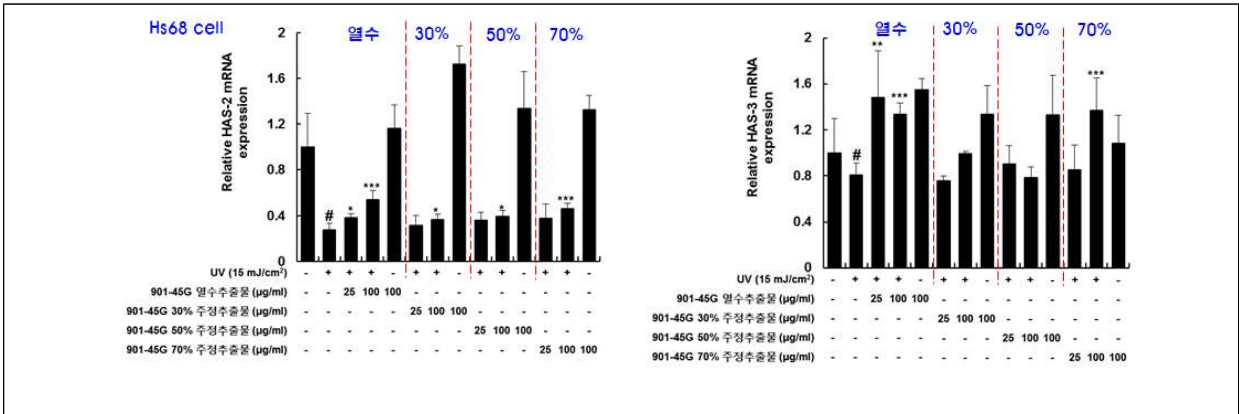


그림 59. UV 조사 Hs68, HaCaT 세포에서 손바닥선인장추출물의 HAS-2/3 발현 증가 효과

- MMP-1 발현에 대한 영향: HaCaT 세포에서 모든 추출물이 MMP-1 mRNA 발현 감소효과를 보였으며, 특히 열수 추출물과 주정 70%의 감소효과가 가장 강하게 나타남. Hs68 세포에서 열수 추출물과 30% 주정 추출물이 MMP-1 mRNA 발현을 유의적으로 감소시킴.

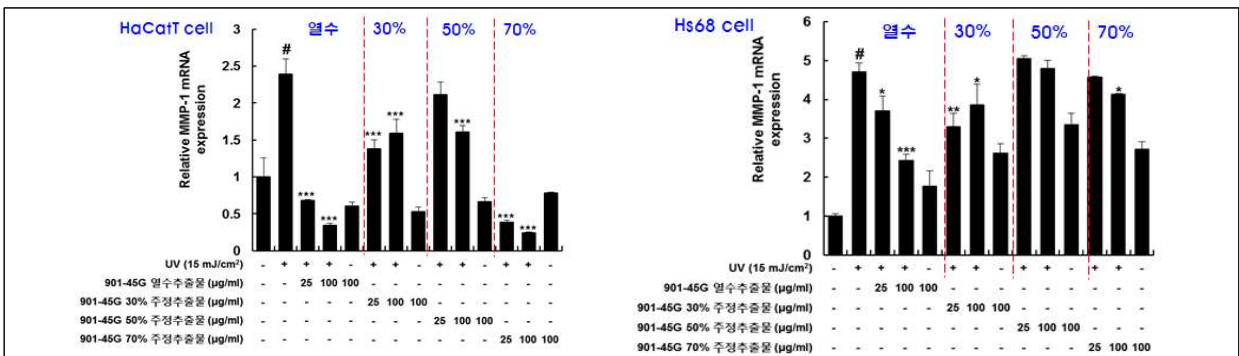


그림 60. UV 조사 Hs68, HaCaT 세포에서 손바닥선인장추출물의 MMP-1 발현 감소 효과

(나) 수국(392-45)

① 세포에 대한 세포 독성 평가 (25-200 µg/ml)

- 각 추출물 25 µg/ml에서의 활성을 표로 정리함. 모든 추출 조건에서 두 세포에 대한 세포 보호 효과가 나타나지 않았음. 세포 독성은 관찰되지 않았음.

392-45A (25 µg/ml)	Cell viability (%)	
	HaCaT	Hs68
Control	100.00 ± 2.62	100.00 ± 4.02
UV	78.92 ± 4.95 [#]	87.85 ± 1.06 [#]
392-45A 열수추출물	86.19 ± 3.00	105.47 ± 3.67
392-45A 30%주정추출물	82.40 ± 6.79	101.74 ± 0.84
392-45A 50%주정추출물	81.12 ± 1.80	96.37 ± 2.77
392-45A 70%주정추출물	77.43 ± 1.83	91.03 ± 1.81

[#]p<0.05 vs control cells,

② Pro-collagen 합성에 대한 활성 평가 (25-200 µg/ml)

- 각 추출물 25 µg/ml에서의 활성을 표로 정리함. UV에 의해 감소된 pro-collagen Type I 이 열수 추출물을 제외한 모든 주정 추출물에서 회복되었음.

392-45A (25 µg/ml)	Pro-collagen Type I (ng/ml)
	Hs68
Control	445.56 ± 12.92
UV	310.71 ± 3.54 [#]
392-45A 열수추출물	345.18 ± 58.58
392-45A 30%주정추출물	365.07 ± 33.05 ^{**}
392-45A 50%주정추출물	479.89 ± 0.94 ^{***}
392-45A 70%주정추출물	469.24 ± 19.84 ^{***}

#p<0.05 vs control cells, **p<0.01, ***p<0.001 vs UV-induced cells

③ MMP-1 생성에 대한 활성 평가 (25-200 µg/ml)

- 각 추출물 25 µg/ml에서의 활성을 표로 정리함. 열수 추출물이 두 세포 모두에서 MMP-1 생성을 유의적으로 억제함. Hs68 세포에서는 모든 추출물이 MMP-1 생성을 감소 시킴.

392-45A (25 µg/ml)	MMP-1 (ng/ml)	
	HaCaT	Hs68
UV	0.43 ± 0.03	10.56 ± 1.27
392-45A 열수추출물	0.26 ± 0.10 ^{***}	6.46 ± 0.23 ^{***}
392-45A 30%주정추출물	0.49 ± 0.01	4.79 ± 0.01 ^{***}
UV	0.47 ± 0.03	5.61 ± 0.11
392-45A 50%주정추출물	0.50 ± 0.01	3.18 ± 0.23 ^{***}
392-45A 70%주정추출물	0.40 ± 0.01	4.62 ± 0.12 [*]

#p<0.05 vs control cells, **p<0.01, ***p<0.001 vs UV-induced cells

④ 수국 분리 화합물 10종의 바이오 마커 검색을 통해 지표물질 결정

MMP-1 (HaCat 세포)를 제외한 실험 결과는 화합물 1 µM에 대한 활성을 표기함

- Cell viability: 화합물 중 Hydrangenol, Thunberginol F, Glucopyranosylhydrangeic acid가 두 세포에서 유의적인 회복효과를 보임.

	Cell viability (%)	
	HaCaT	Hs68
Control	100.00 ± 4.36	100.00 ± 1.19
UV	75.76 ± 3.17 [#]	88.47 ± 4.86 [#]
Hydrangenol	83.15 ± 1.53 ^{**}	98.60 ± 2.57 ^{***}
Diam-sep5-Rt8.2	82.20 ± 3.76	97.17 ± 3.54 ^{***}
Thunberginol F	86.55 ± 3.15 ^{**}	104.07 ± 1.74 ^{***}
Thunberginol C	78.38 ± 5.40	105.92 ± 2.52 ^{***}
Thunberginol A	74.69 ± 0.54	97.07 ± 0.98 ^{***}
Hydrangenoside C	74.69 ± 1.10	93.12 ± 0.16

Hs37-1	74.91 ± 4.70	95.35 ± 2.56
Hs37-2	74.46 ± 5.36	104.41 ± 1.58***
Glucopyranosylhydrangeaic acid	82.41 ± 1.55**	94.69 ± 5.20*
Hydrangenoside A	83.27 ± 1.14**	88.92 ± 0.2

#p<0.05 vs control cells, **p<0.01, ***p<0.001 vs UV-induced cells

- Pro-collagen type 1: 화합물 중 Hydrangenol, Diam-sep5-Rt8.2, Thunberginol C, Thunberginol A, Hydrangenoside C, Hs37-2, Hydrangenoside A가 유의한 회복효과를 보임.

compounds (1 μ M)	Pro-collagen Type I (ng/ml)
	Hs68
Control	725.99 ± 460.13
UV	460.13 ± 22.05#
Hydrangenol	519.32 ± 55.60***
Diam-sep5-Rt8.2	553.03 ± 1.30***
Thunberginol F	572.44 ± 80.48
Thunberginol C	557.53 ± 44.90**
Thunberginol A	562.46 ± 28.18***
Hydrangenoside C	557.77 ± 10.66****
Hs37-1	476.87 ± 48.66
Hs37-2	528.25 ± 33.63**
Glucopyranosylhydrangeaic acid	495.98 ± 49.49
HydrangenosideA	573.56 ± 21.46***

#p<0.05 vs control cells, **p<0.01, ***p<0.001 vs UV-induced cells

- MMP-1: HaCaT세포에서는 10 μ M 결과를 표기함. 모든 화합물이 유의적인 감소효과를 보임. 1 μ M 에서는 Thunberginol A, Glucopyranosylhydrangeaic acid 만 유의적 감소효과 보임.

compounds (1 μ M)	MMP-1 (ng/ml)	
	HaCaT (10 μ M)	Hs68 (1 μ M)
UV	0.47 ± 0.03	5.70 ± 0.39
Hydrangenol	0.35 ± 0.04***	2.51 ± 0.03***
Diam-sep5-Rt8.2	0.37 ± 0.05***	1.87 ± 0.01***
Thunberginol F	0.34 ± 0.07***	1.47 ± 0.07***
Thunberginol C	0.39 ± 0.04***	1.58 ± 0.05***
Thunberginol A	0.37 ± 0.10***	2.74 ± 0.04***
Hydrangenoside C	0.33 ± 0.09***	2.40 ± 0.03***
Hs37-1	0.40 ± 0.02***	3.24 ± 0.02***
Hs37-2	0.36 ± 0.10***	1.73 ± 0.01***
Glucopyranosylhydrangeaic acid	0.33 ± 0.03***	2.51 ± 0.01***
HydrangenosideA	0.38 ± 0.10***	1.84 ± 0.01***

#p<0.05 vs control cells, **p<0.01, ***p<0.001 vs UV-induced cells

- Hyaluronic acid: 화합물 중 Hydrangenol, Hs37-1가 두 세포에서 유의적인 회복효과를 보임.

compounds (1 μ M)	Hyaluronicacid (ng/ml)	
	HaCaT	Hs68
Control	192.20 \pm 41.97	883.85 \pm 155.53
UV	127.14 \pm 18.61 [#]	515.22 \pm 92.84 [#]
Hydrangenol	206.55 \pm 38.19 ^{**}	1045.38 \pm 118.14 ^{***}
Diam-sep5-Rt8.2	268.03 \pm 57.38 ^{***}	551.42 \pm 39.85
Thunberginol F	130.66 \pm 25.90	492.61 \pm 48.82
Thunberginol C	100.37 \pm 6.25	711.87 \pm 149.17
Thunberginol A	204.12 \pm 29.59 ^{**}	629.74 \pm 12.10
Hydrangenoside C	153.66 \pm 17.34	893.44 \pm 274.16 ^{**}
Hs37-1	80.59 \pm 12.64 ^{**}	834.43 \pm 233.09 [*]
Hs37-2	109.99 \pm 15.36	714.56 \pm 171.52
Glucopyranosylhydrangeaic acid	180.59 \pm 12.64	85.14 \pm 76.18
Hydrangenoside A	109.99 \pm 15.36	794.64 \pm 153.29 ^{**}

#p<0.05 vs control cells, **p<0.01, ***p<0.001 vs UV-induced cells

→ 다양한 지표에 대한 효과를 바탕으로 수국 추출물의 유효지표 물질로 Hydrangenol이 가장 적합.

⑤ 논문 투고 및 게재

논문명: Chemical Constituents from Leaves of *Hydrangea serrata* and Their Anti-photoaging Effects on UVB-Irradiated Human Fibroblasts

저널명: Biological and Pharmaceutical Bulletin

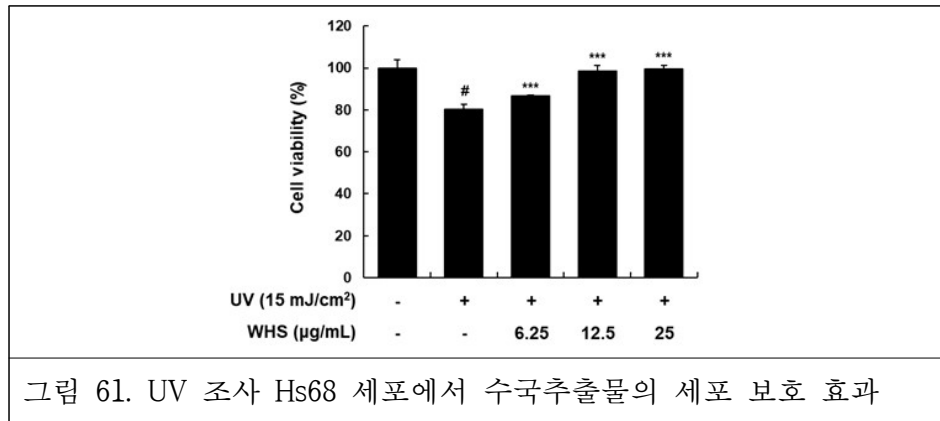
게재일: 2019. 03. 01.

게재권호: volume 42, issue 3, pages 424-431

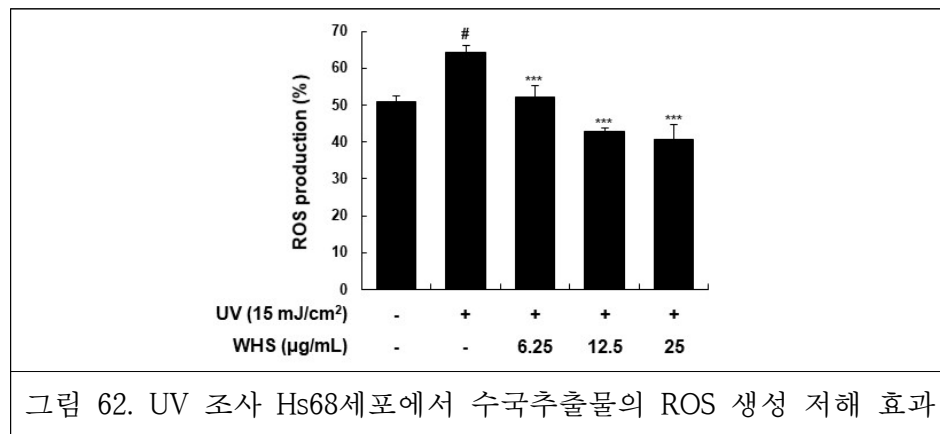
(2) 수국잎열수추출물(WHS)의 피부건강 활성 기전 연구

(가) 세포보호 활성 및 ROS 생성 저해 효과 검색

- 수국잎열수추출물(WHS)의 세포 보호 활성을 Hs68 세포주에서 MTT assay를 이용하여 확인하였다. 수국추출물(6.25, 12.5, 25 μ g/ml)을 UV 조사한 Hs68세포에 처리하였을 때, UV 조사군 대비 농도의존적인 세포 보호 활성을 확인하였다. 이는 수국추출물의 피부보호 효과를 나타낸다.



- ROS는 UV 조사에 의해 생성되는 물질로, 세포 내 산화적 스트레스를 유발하고, 피부 염증 반응 및 피부 노화 관련 유전자의 발현을 유도하여, 피부 노화를 일으키는 물질이다. 수국추출물이 UV 조사로 생성된 ROS에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 수국추출물 (6.25, 12.5, 25 µg/ml)을 처리한 세포 내의 ROS 생성량을 확인하였다. UV 조사는 Hs68세포에서 ROS 생성을 증가시켰고, 이는 수국추출물에 의해 현저히 감소하였다.



(나) Elastase 억제 활성 및 pro-collagen type I 생성 회복 활성 검색

- 세포 기질 단백질(엘라스틴, 콜라겐)은 피부 탄력, 보습, 주름 방지에 중요한 역할을 한다. 수국추출물이 엘라스틴 분해 효소인 elastase의 활성에 영향을 미치는지, 또한 UV 조사로 감소된 pro-collagen type I 생성을 회복시키는지 확인하였다.
- UV 조사는 elastase 활성을 증가시켰고, pro-collagen type I 생성을 감소시켰다. 수국추출물(6.25, 12.5, 25 µg/ml)을 처리하였을 때, UV 조사로 증가한 elastase의 활성은 감소하였고, 감소된 pro-collagen type I 생성은 회복되었다.

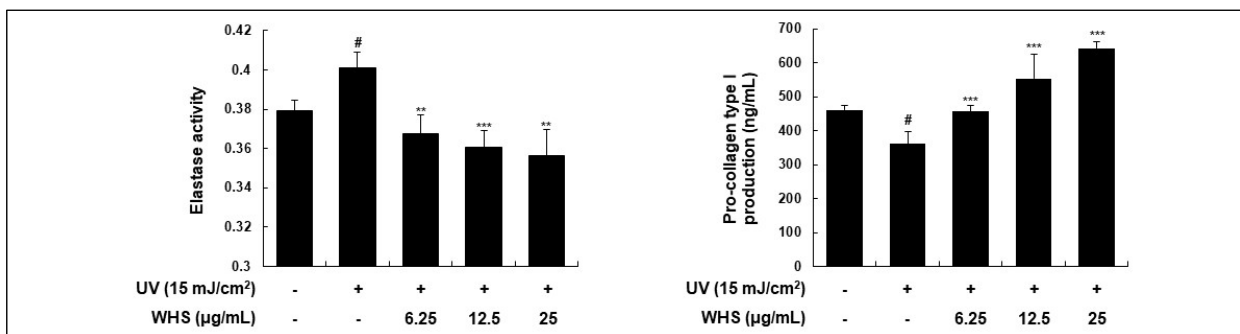


그림 63. UV 조사 Hs68세포에서 수국추출물의 elastase 활성 저해 및 pro-collagen type I 생성 회복 효과

(다) Collagen 합성 유전자 발현 기전 연구

- UV로 감소된 pro-collagen type I 생성이 회복되는 기전을 탐색하기 위해 콜라겐 합성 기전을 연구함. COL1A1은 type I collagen을 이루는 pro- $\alpha 1$ chain을 만드는 유전자로 알려져 있음. Smad는 type I collagen 합성에 관여하는 전사인자로, Smad2는 콜라겐 합성 관련 유전자의 발현을 감소시키는 것으로 알려져 있다.
- 수국추출물(6.25, 12.5, 25 $\mu\text{g/ml}$)을 처리한 세포에서 RNA와 단백질을 추출하여 COL1A1 mRNA 발현의 변화와 Smad2 인산화의 변화를 각각 확인하였다. UV 조사는 COL1A1 mRNA 발현을 감소시키고, Smad2 인산화를 저해하였으나, 수국추출물에 의한 유의적인 회복 효과는 관찰되지 않았다.

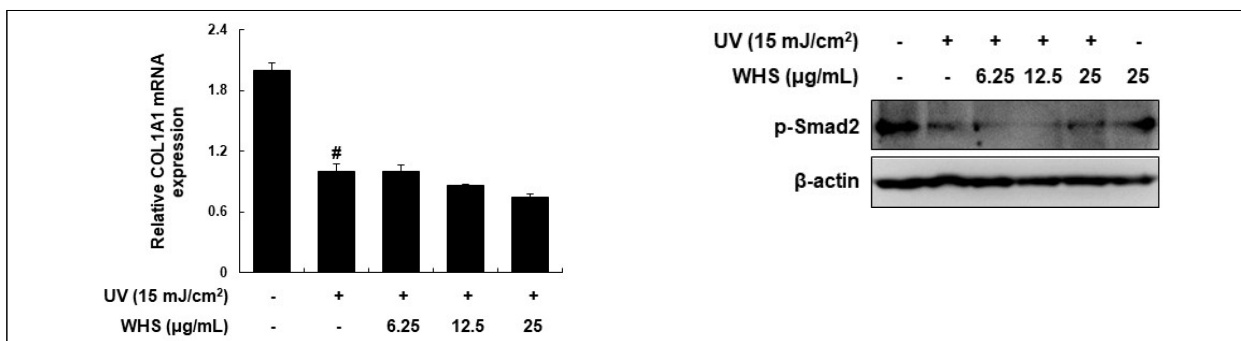


그림 64. UV 조사 Hs68세포에서 수국추출물의 COL1A1 mRNA 발현 및 Smad2 인산화에 미치는 영향

(라) MMP-1/-3 생성 및 mRNA 유전자 발현에 대한 활성 검색

- MMP 단백질은 세포 기질 단백질(콜라겐, 엘라스틴 등)을 분해시키는 역할을 하며, MMP의 증가는 피부 노화의 원인이 될 수 있다. MMP-1은 type I collagen 분해에 관여하며, MMP-3는 proMMP-1을 활성화시켜 콜라겐 분해를 촉진하는 효소이다.
- Hs68세포에 수국추출물(6.25, 12.5, 25 $\mu\text{g/ml}$)을 처리한 후, 상등액 내 MMP-1/-3 양을 정량하였고, 세포내의 RNA를 추출하여 MMP-1/-3 mRNA 발현 변화를 평가하였다. UV 조사된 Hs68세포에서 MMP-1/-3의 생성과 mRNA 발현이 증가하였고, 수국추출물에 의해 유의적으로 감소하였다.

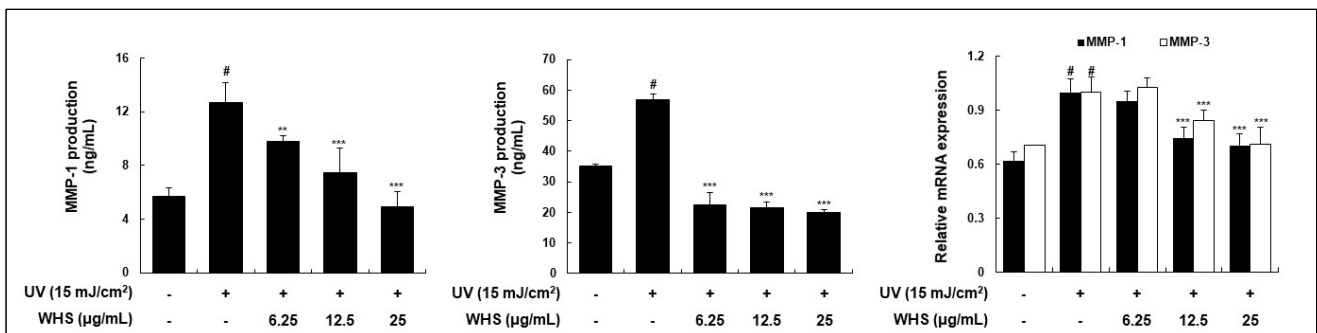
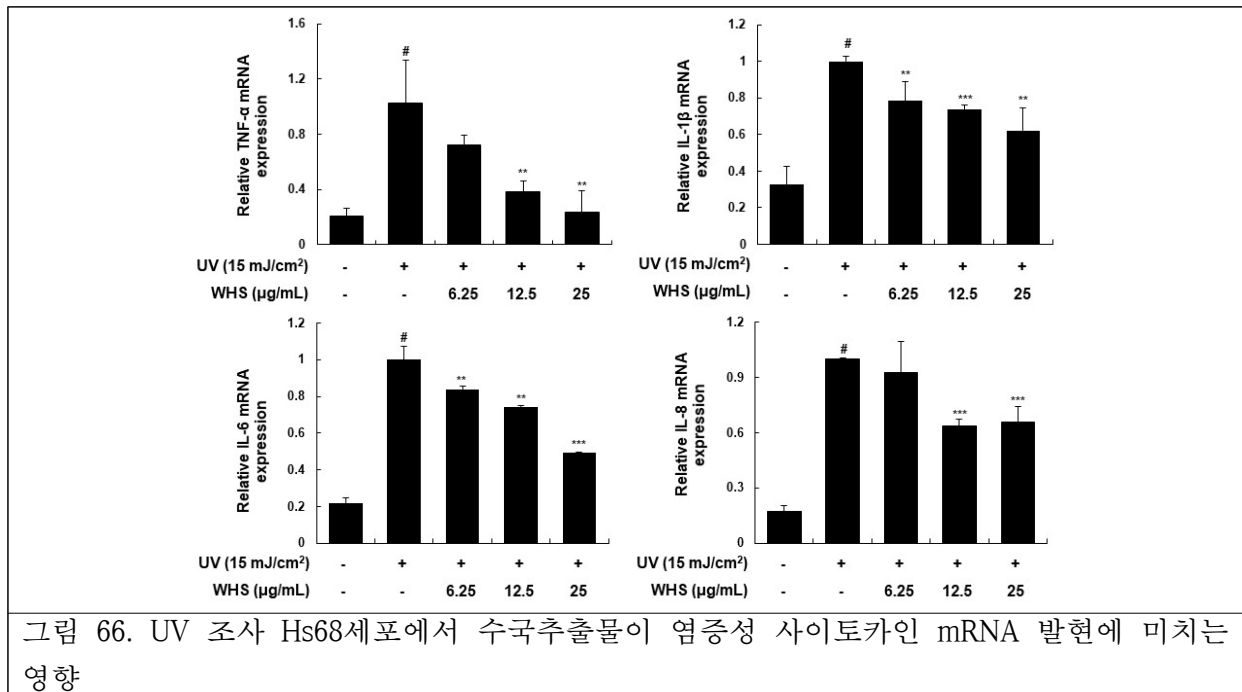


그림 65. UV조사 Hs68세포에서 MMP-1/-3 생성 및 mRNA 발현 감소 효과

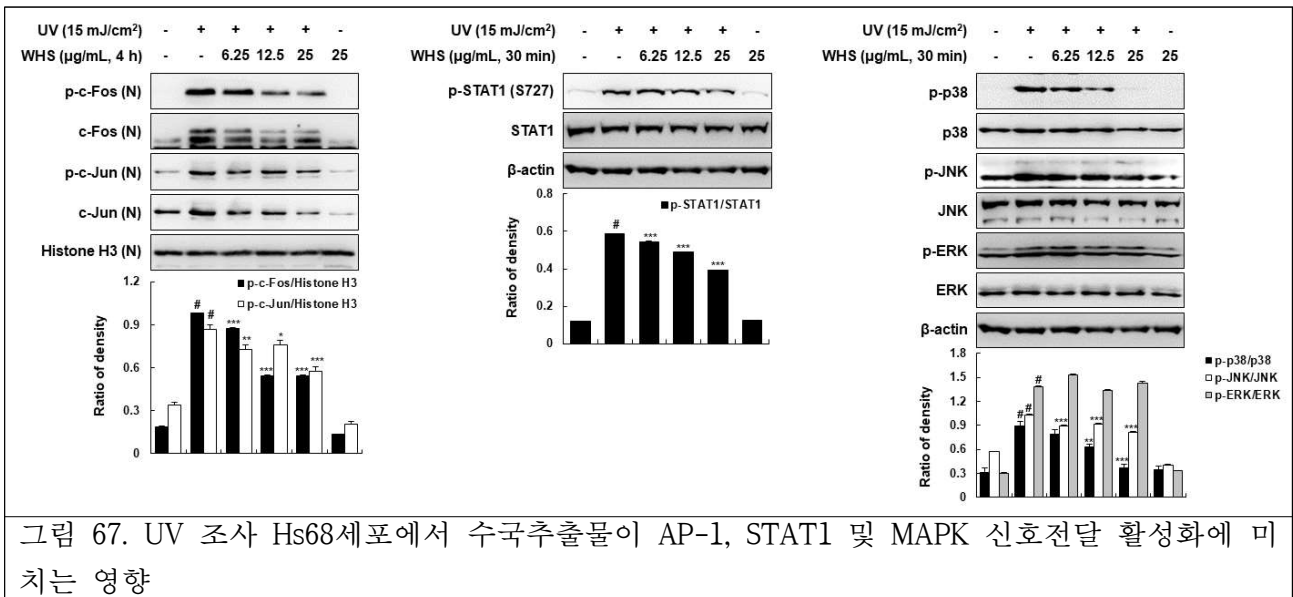
(마) 염증성 사이토카인(TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8) mRNA 유전자 발현에 대한 활성 검색

- UV 조사에 의한 피부 노화는 피부 염증 반응을 수반한다. 수국추출물이 염증 지표 물질인 사이토카인 (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8)의 발현에 미치는 영향을 확인하였다.
- Hs68세포에서 UV 조사로 증가된 TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 mRNA 발현이 수국추출물에 의해 유의적으로 감소하였다.



(바) AP-1, STAT1 전사인자 및 MAPK 신호전달에 대한 활성 검색

- AP-1은 MMP 단백질을 조절하는 대표적인 전사인자이며, STAT1은 염증성 사이토카인의 발현을 조절하는 전사인자이다. AP-1과 STAT1의 활성화는 상위 기전인 MAPK 신호전달의 활성화를 통해 조절된다. 수국추출물이 MMP 단백질과 염증성 사이토카인을 조절하는 기전에 영향을 미치는지 평가하였다.
- UV 조사는 AP-1의 subunit인 c-Fos와 c-Jun의 인산화와 핵 내 단백질 발현을 증가시켰다. 또한 STAT1의 serine 727 위치의 인산화와 MAPK (p38, JNK, ERK)의 인산화를 증가시켰다. 수국추출물(6.25, 12.5, 25 μg/ml)을 처리하였을 때, UV 조사로 증가한 c-Fos, c-Jun의 인산화 및 단백질 발현, STAT1의 인산화가 유의적으로 감소하였다. 상위 기전인 MAPK 신호전달에서는 수국추출물이 p38과 JNK의 인산화를 감소시켰으나, ERK 인산화 감소에는 영향을 미치지 않았다.



(사) 논문 투고 및 게재

논문명: *Hydrangea serrata* (Thunb.) Ser. Extract Attenuate UVB-Induced Photoaging through MAPK/AP-1 Inactivation in Human Skin Fibroblasts and Hairless Mice

저널명: *Nutrients*

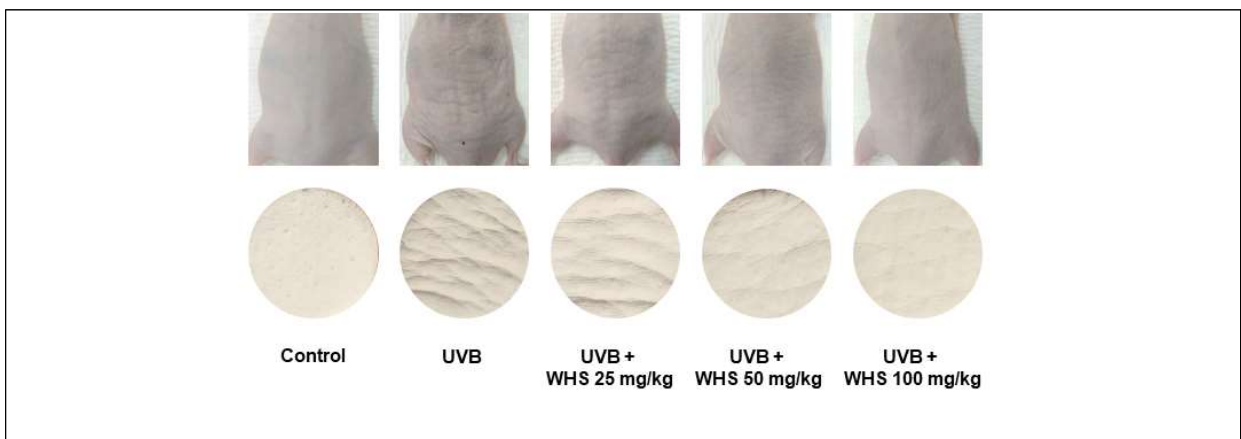
게재일: 2019. 03. 01.

게재권호: volume 11, pages 533

(3) 자외선 조사 동물 모델에서 피부건강 활성 및 기전 연구 (수국잎열수추출물:WSN)

(가) 피부 주름 감소 활성 평가

- UV 조사한 동물 모델에서 수국추출물이 피부 주름 형성을 감소시키는지 평가하였다. 반복적인 UV 조사에 의해 피부 주름이 형성되었으며, 수국추출물(25, 50, 100 mg/kg)을 경구 투여한 군에서 주름 형성이 감소되는 것을 육안으로 확인하였다.
- 피부 모사판 분석을 통해, 주름 면적, 평균 주름 길이, 평균 주름 깊이, 최대 주름 깊이를 평가한 결과, 수국추출물 투여군이 UV 조사군에 비해 모든 지표에서 유의적인 감소 효과를 나타냄을 확인하였다.



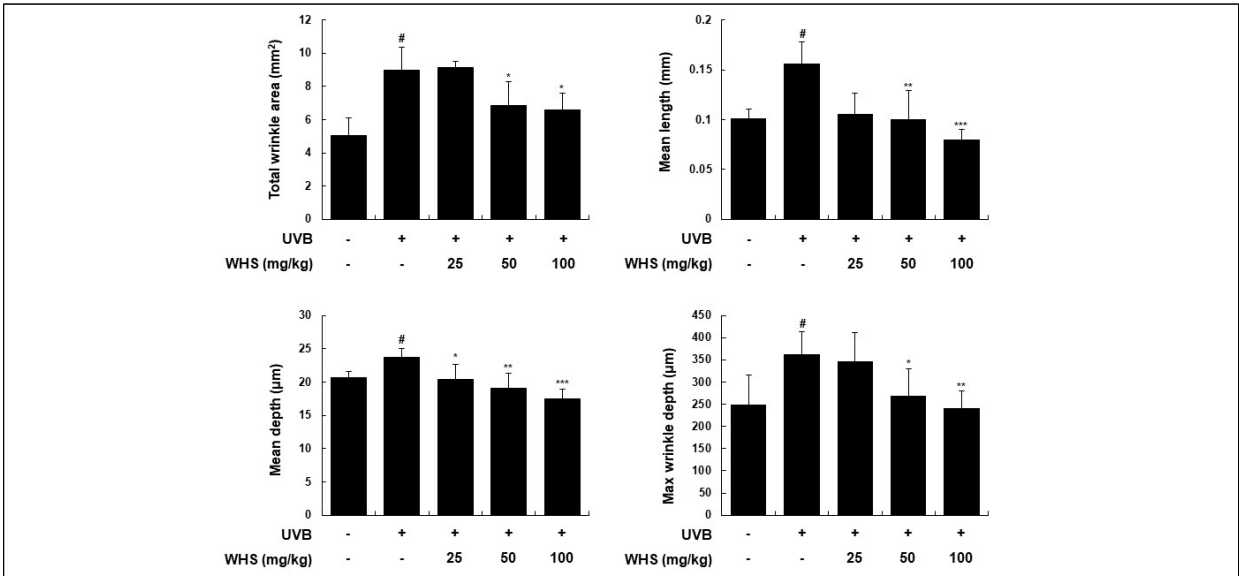


그림 68. UV 조사 동물 모델에서 수국추출물이 피부 주름 형성에 미치는 영향

(나) 피부 표피 두께 감소 활성 평가

- UV 조사에 의한 피부 노화의 지표로 피부 두께의 변화를 측정하였다. UV 조사에 의해 피부 두께가 유의적으로 증가하였고, 수국추출물 투여군에서 농도의존적으로 피부 두께가 감소하는 것을 확인하였다. 조직 염색을 통해 확인한 결과, 표피층의 두께 변화가 두드러짐을 확인하였다.

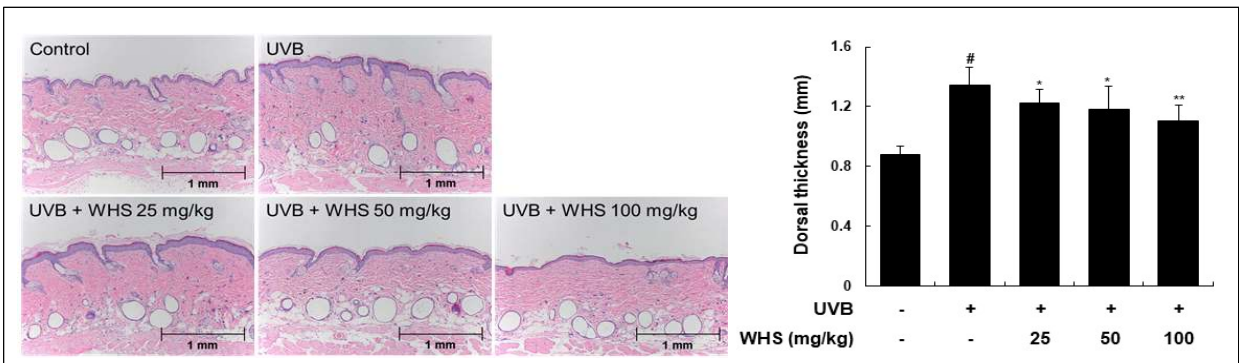
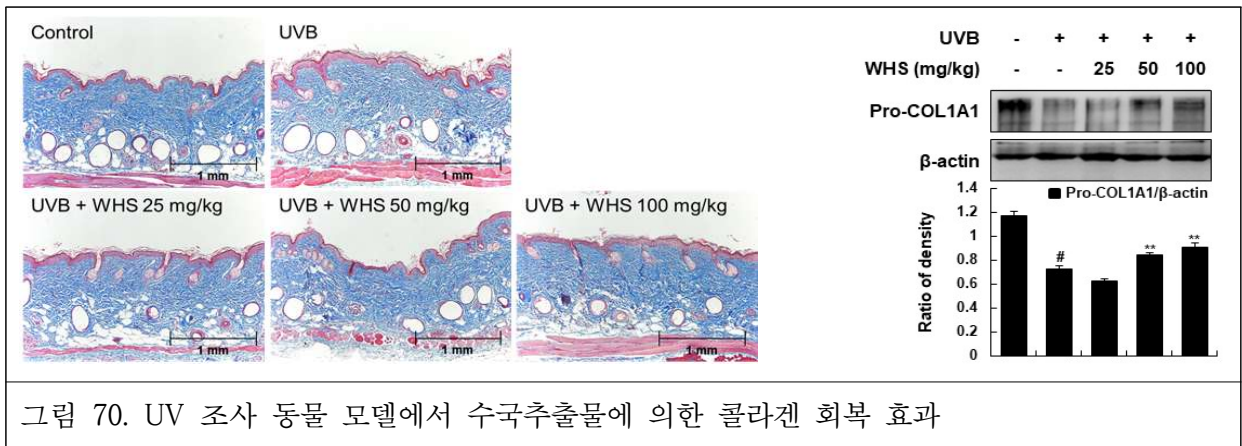


그림 69. UV 조사 동물 모델에서 수국추출물에 의한 피부 두께 감소 효과

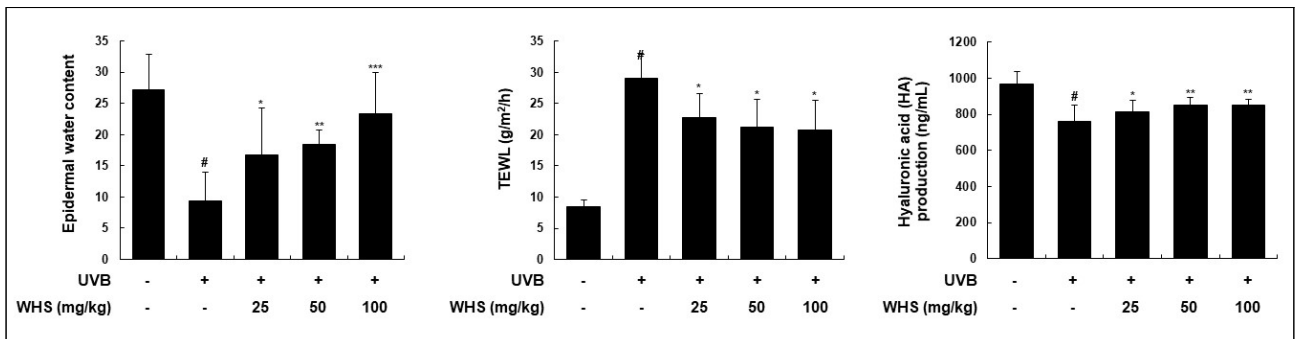
(다) 피부조직에서 콜라겐 섬유에 대한 활성 평가

- UV 조사로 분해된 콜라겐이 수국추출물에 의해 회복되는지 확인하였다. 피부조직에서 콜라겐 섬유를 염색하여 분석한 결과, UV 조사군에서 감소하였던 콜라겐 섬유가 수국추출물 투여에 의해 회복되는 것을 확인하였다.
- 피부 조직에서 단백질을 추출하여 pro-COL1A1 단백질 발현 변화를 평가하였다. UV 조사군에서는 control군 대비 pro-COL1A1 단백질 발현이 현저히 감소하였고, 수국추출물 투여군에서 농도의존적으로 회복되는 것을 확인하였다.



(라) 피부 보습 인자(수분함량, TEWL, hyaluronic acid)에 대한 활성 평가

- 피부 보습 인자의 감소는 주름 형성을 유도하는 등 피부 노화의 원인이 될 수 있다. 수국추출물이 UV 조사 동물 모델에서 피부 보습 인자 회복 활성을 나타내는지 평가하였다.
- 수분 측정기를 이용하여 표피수분함량과 경피수분손실도(Transepidermal water loss, TEWL)를 측정하였다. UV 조사군에서 표피수분함량이 현저히 감소한 반면, TEWL은 증가한 것을 확인하였다. 수국추출물 투여군에서 UV 조사로 감소된 표피수분함량은 증가하고, TEWL은 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다.
- Hyaluronic acid(HA)는 피부 수분을 유지하는 대표적인 보습 인자이다. 피부조직에서 단백질을 추출하여, HA 생성의 변화를 확인하였다. UV 조사는 피부조직에서의 HA 생성을 감소시켰으며, 수국추출물 투여에 의해 감소된 HA가 회복되는 것을 확인하였다.



(마) MMP-1/-3 단백질 발현 및 염증성 사이토카인 mRNA 발현에 대한 활성 평가

- 피부조직에서 MMP-1/-3 단백질과 염증성 사이토카인 mRNA 발현의 변화를 확인하였다. UV 조사군에서 MMP-1/-3 단백질과 염증성 사이토카인(IL-1 β , IL-6) mRNA 발현이 유의적으로 증가하였다. 이러한 증가는 수국추출물 투여에 의해 농도의존적으로 감소하였다.

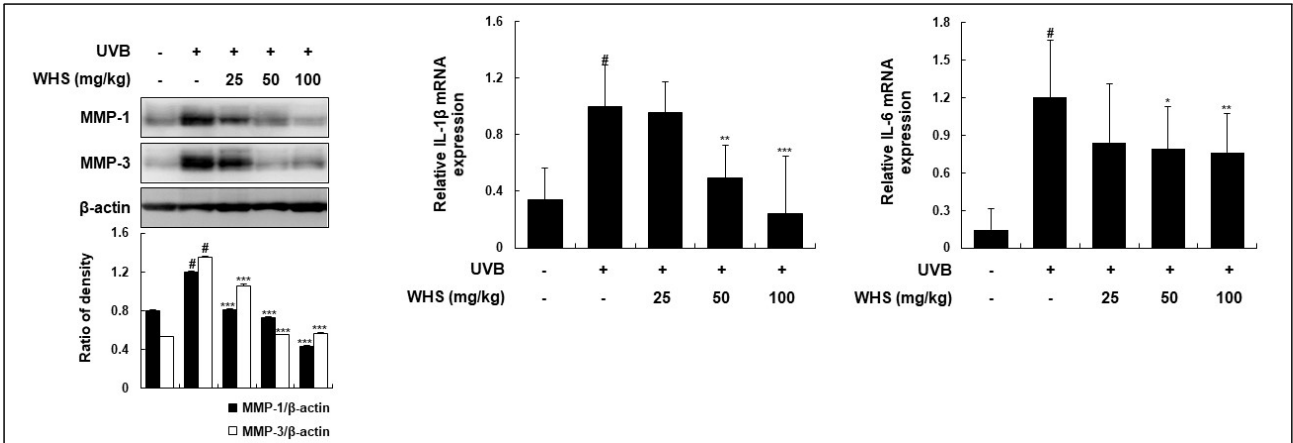


그림 72. UV 조사 동물 모델에서 수국추출물이 MMP-1/3 단백질 및 염증성 사이토카인 mRNA 발현에 미치는 영향

(바) 피부조직에서 AP-1 전사인자 및 MAPK 신호전달 활성화에 대한 활성 평가

- 피부조직에서 수국추출물이 AP-1 전사인자와 MAPK 신호전달에 영향을 미치는지 확인하였다. UV 조사군에서 c-Fos, c-Jun, MAPK(p38, JNK, ERK)의 인산화가 증가하는 것을 확인하였다. 수국추출물 투여군에서 c-Fos, c-Jun의 인산화가 감소하였고, c-Jun의 인산화 감소는 단백질 발현 감소에 의한 것으로 나타났다. MAPK 신호전달에서는 p38, JNK, ERK 모두 수국추출물 투여에 의해 인산화가 감소하였고, JNK의 인산화 감소는 단백질 발현 감소에 의한 것으로 나타났다.

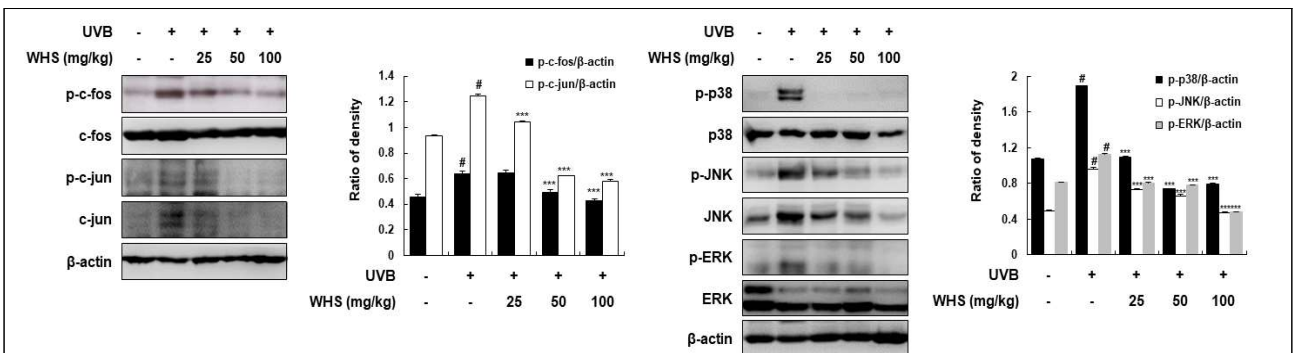


그림 73. UV 조사 동물 모델에서 수국추출물이 AP-1 및 MAPK 신호전달에 미치는 영향

(사) 논문 투고 및 게재

논문명: *Hydrangea serrata* (Thunb.) Ser. Extract Attenuate UVB-Induced Photoaging through MAPK/AP-1 Inactivation in Human Skin Fibroblasts and Hairless Mice

저널명: Nutrients

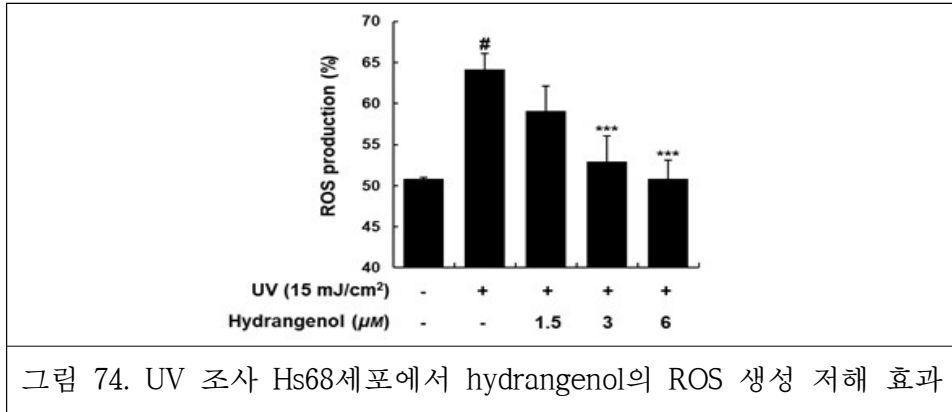
게재일: 2019. 03. 01.

게재권호: volume 11, pages 533

(4) 유효지표성분인 hydrangenol의 피부건강 활성 기전 연구

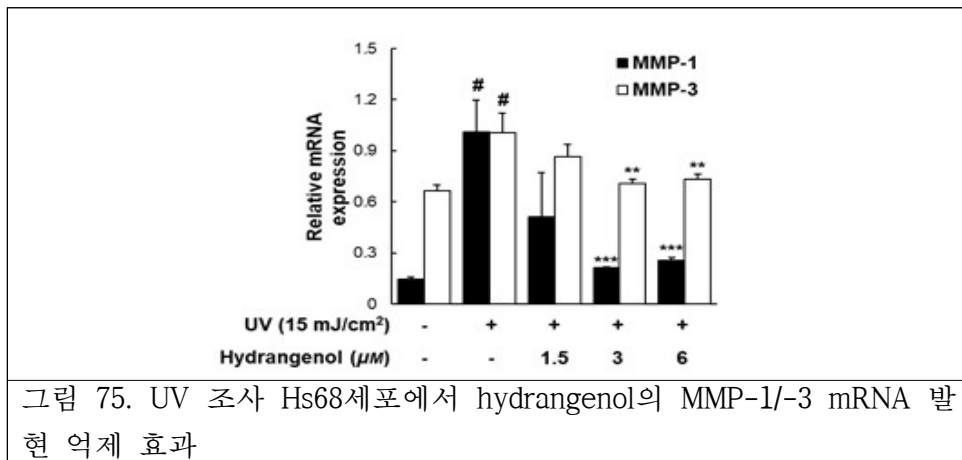
(가) ROS 생성 저해 효과 검색

- Hydrangenol이 UV 조사로 생성된 ROS에 미치는 영향을 확인하기 위하여, hydrangenol (1.5, 3, 6 μ M)을 처리한 세포 내의 ROS 생성량을 확인하였다. UV 조사는 Hs68세포에서 ROS 생성을 현저히 증가시켰고, 이는 hydrangenol 처리에 의해 control군 수준으로 감소하였다.



(나) MMP-1/-3 mRNA 발현에 대한 활성 검색

- Hs68세포에 hydrangenol (1.5, 3, 6 μ M)을 처리한 후, 세포 내의 RNA를 추출하여 MMP-1/-3 mRNA 발현 변화를 평가하였다. UV 조사된 Hs68세포에서 MMP-1/-3의 mRNA 발현이 증가하였고, hydrangenol에 의해 유의적으로 감소하였다.



(다) HA 생성 조절 효소(HAS와 HYAL)의 유전자 발현에 대한 활성 검색

- HAS는 세포막에 존재하여 HA를 합성하는 역할을 하는 효소이다. HYAL(hyaluronidase)은 HA의 글리코시드 결합을 가수분해하는 역할을 하여 HA를 분해하는 효소이다. UV 조사는 HAS 발현을 감소시키고, HYAL 발현을 증가시켜 HA 분해를 촉진시킨다고 알려져 있다. Hydrangenol (1.5, 3, 6 μ M)을 처리한 세포로부터 RNA를 분리하여 HAS-2와 HYAL-1/2의 mRNA 발현 변화를 평가하였다.
- UV 조사한 Hs68세포에서 HAS-2의 발현이 control군 대비 감소하고, HYAL-1, HYAL-2의 발현은 증가한 것을 확인하였다. Hydrangenol을 처리하였을 때, HAS-2 mRNA 발현이 고농도(6 μ M)군에서만 약하게 회복된 것을 확인하였다. HYAL-1의 경우 모든 농도에서 감

소하였으며, HYAL-2의 경우 3, 6 μ M에서 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다

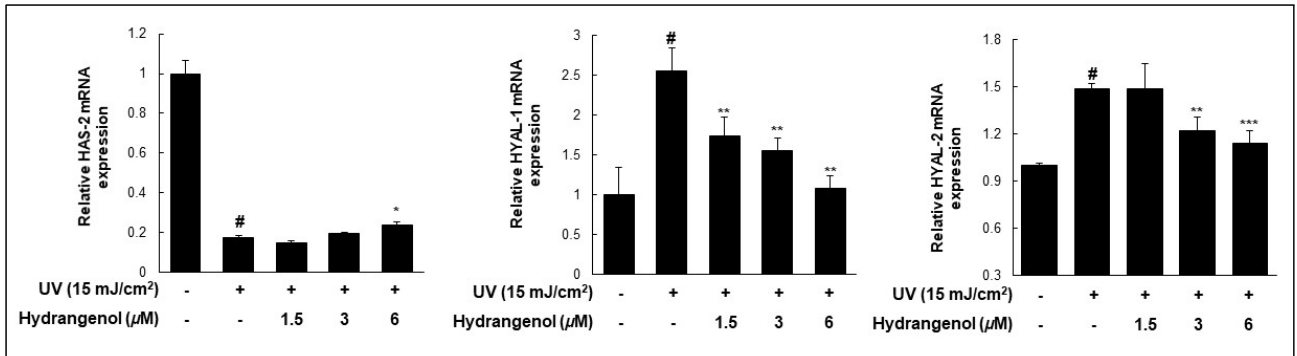


그림 76. UV 조사 Hs68세포에서 hydrangenol의 HAS-2, HYAL-1/2 mRNA 발현에 미치는 영향

(라) 염증 매개 인자(COX-2)와 염증성 사이토카인(IL-6, IL-8, IL-1 β)에 대한 활성 검색

- Hydrangenol이 Hs68세포에서 UV로 유도된 염증 반응을 억제하는지 평가하였다. Hydrangenol (1.5, 3, 6 μ M)을 처리한 세포에서 RNA를 추출하여 COX-2, IL-1 β , IL-6, IL-8 mRNA 발현을 확인하였다. UV 유도군에서 COX-2, IL-1 β , IL-6, IL-8 mRNA 발현이 현저히 증가하였고, hydrangenol 처리에 의해 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다.

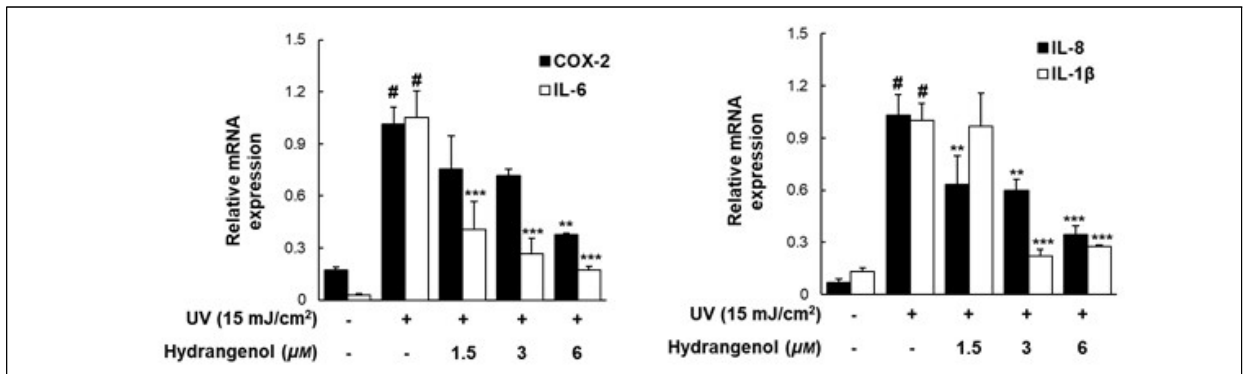


그림 77. UV 조사 Hs68세포에서 hydrangenol이 COX-2와 염증성 사이토카인 mRNA 발현에 미치는 영향

(마) AP-1, STAT1 전사인자와 MAPK 신호전달에 대한 활성 검색

- Hydrangenol (1.5, 3, 6 μ M)을 처리한 세포에서 단백질을 추출하여 AP-1, STAT1 전사인자와 MAPK에 미치는 영향을 평가하였다. UV조사는 AP-1 subunit인 c-Fos, c-Jun의 핵 내 발현을 증가시키고, STAT1의 인산화, 상위 기전인 MAPK (p38, ERK, JNK)의 인산화를 증가시키는 것을 확인하였다.
- Hydrangenol은 UV로 증가한 c-Fos, c-Jun의 핵 내 발현과 STAT1의 인산화를 감소시켰다. MAPK 중에서는 p38과 ERK의 인산화를 유의적으로 감소시켰으며, JNK의 인산화에 대해서는 영향을 미치지 않았다.

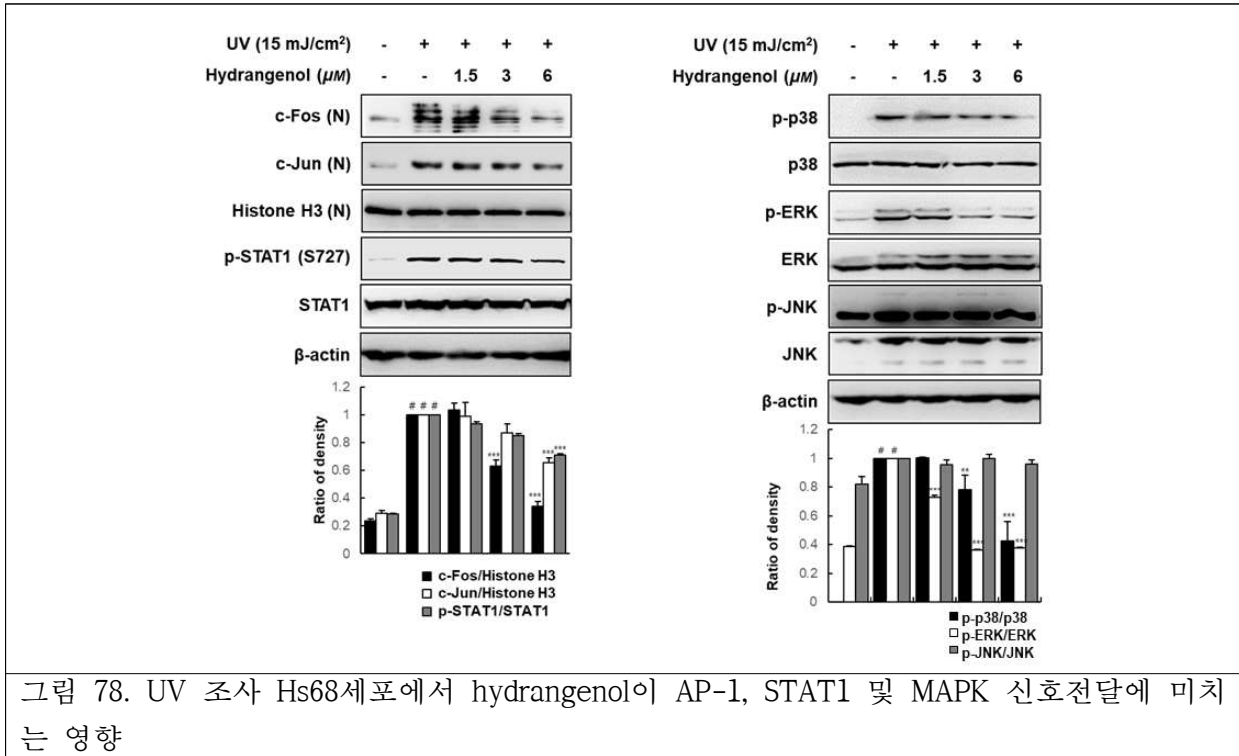


그림 78. UV 조사 Hs68세포에서 hydrangenol이 AP-1, STAT1 및 MAPK 신호전달에 미치는 영향

(바) 논문 투고 및 게재

논문명: Chemical Constituents from Leaves of Hydrangea serrata and Their Anti-photoaging Effects on UVB-Irradiated Human Fibroblasts

저널명: Biological and Pharmaceutical Bulletin

게재일: 2019. 03. 01.

게재권호: volume 42, issue 3, pages 424-431

(5) 자외선 조사 동물 모델에서 유효지표성분 Hydrangenol의 피부건강 활성 및 기전 연구

(가) 피부 주름 감소 활성 평가

- UV 조사 동물 모델에서 hydrangenol의 피부 주름 감소 활성을 평가하였다. UV 조사군에서 control군 대비 깊고 굵은 주름이 형성되는 것이 확인되었다. Hydrangenol 투여군(5, 10, 20, 40 mg/kg)에서는 UV 조사군 대비 주름이 얇고, 주름 형성이 감소하는 것이 육안으로 확인되었다.
- 피부 모사판 분석을 통해, 주름 면적, 평균 주름 길이, 평균 주름 깊이, 최대 주름 깊이를 평가한 결과, Hydrangenol 투여군이 UV 조사군에 비해 모든 지표에서 유의적인 감소 효과를 나타냄을 확인하였다.

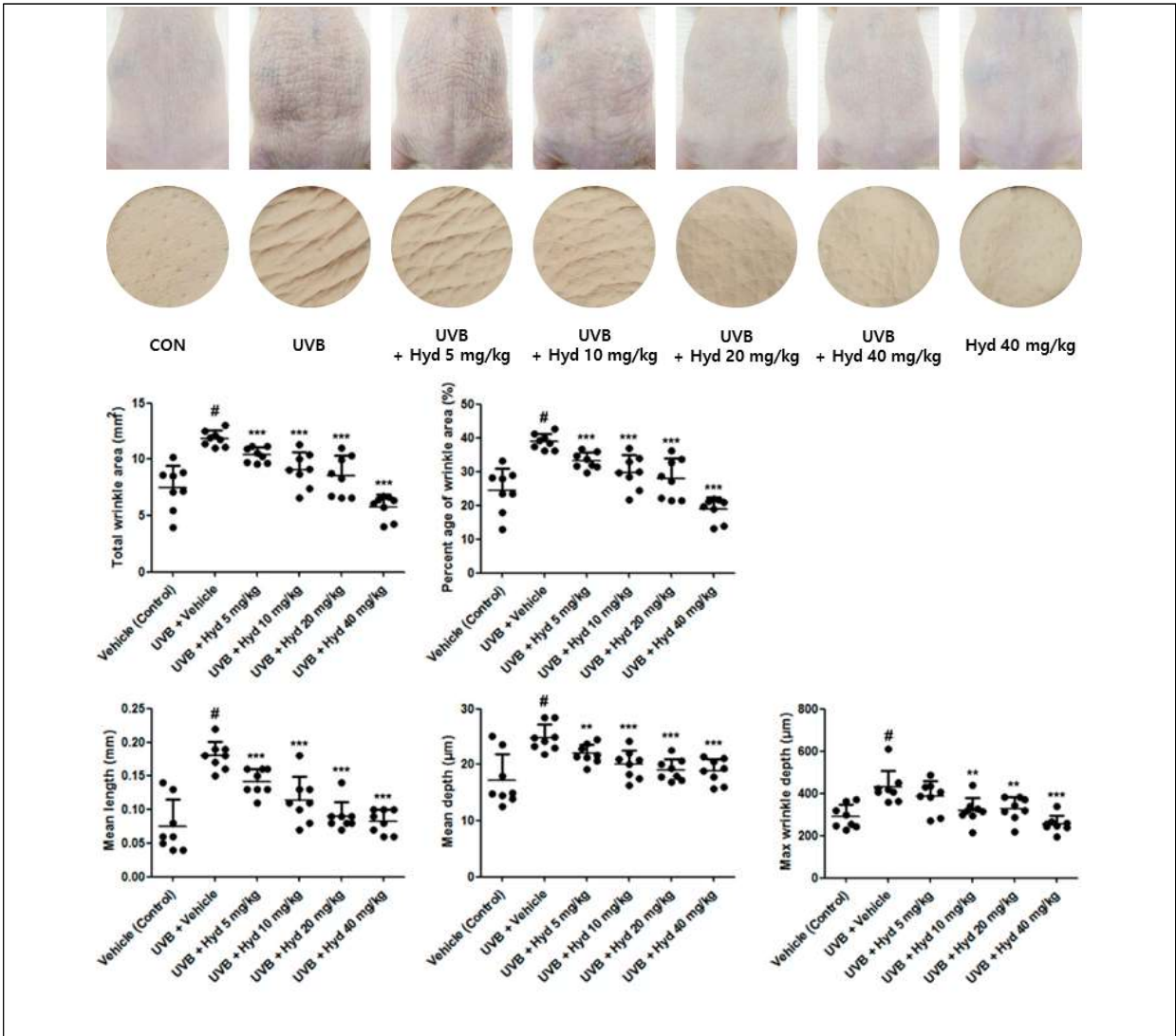
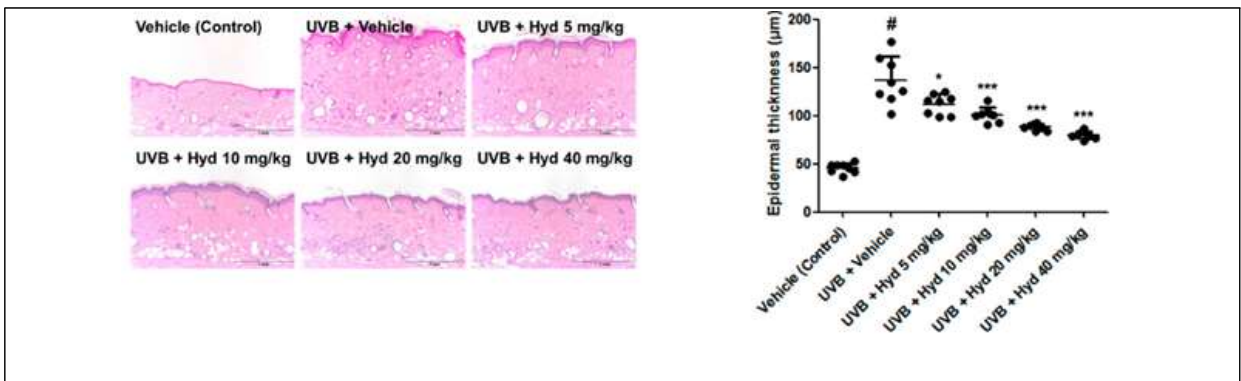


그림 79. UV 조사 동물 모델에서 hydrangenol의 피부 주름 형성에 대한 활성

(나) 피부 두께 감소 활성 평가

- UV 조사 동물 모델에서 피부 두께의 변화를 확인하였다. UV 조사군에서 control군 대비 피부 두께가 증가하였고, hydrangenol 투여(5, 10, 20, 40 mg/kg)에 의해 유의적으로 피부 두께가 감소하였다.
- 조직 염색을 통해 확인한 결과, 표피층의 두께 변화가 두드러짐을 확인하였다.



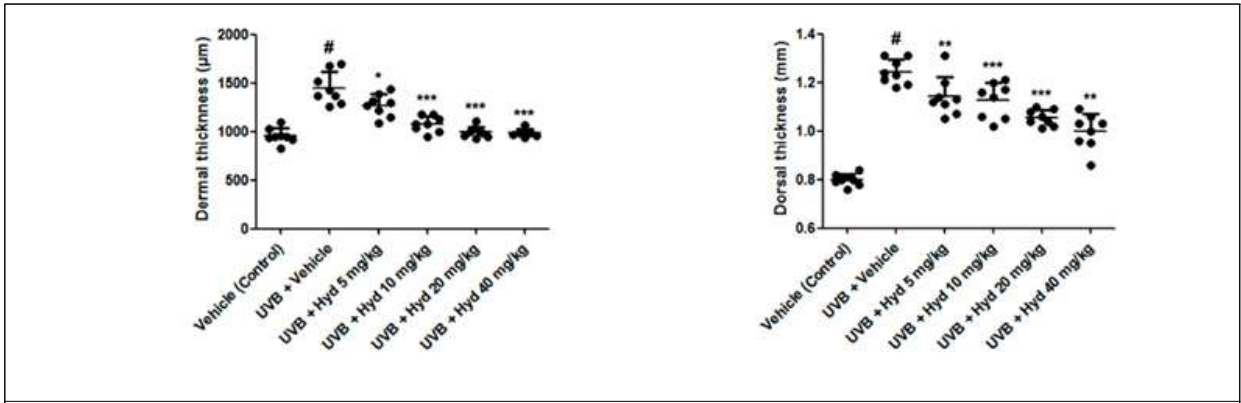


그림 80. UV 조사 동물 모델에서 hydrangenol의 피부 두께 감소 효과

(다) 피부조직에서 콜라겐 섬유에 대한 활성 평가

- UV 조사로 분해된 콜라겐이 Hydrangenol에 의해 회복되는지 확인하였다. 피부조직에서 콜라겐 섬유를 염색하여 분석한 결과, UV 조사군에서 감소하였던 콜라겐 섬유가 Hydrangenol 투여에 의해 회복되는 것을 확인하였다.
- 피부 조직에서 pro-collagen type I의 분비량을 확인하고, mRNA 및 단백질을 추출하여 pro-COL1A1의 발현 변화를 평가하였다. UV 조사군에서는 control군 대비 pro-COL1A1 단백질의 분비량 및 발현이 현저히 감소하였고, Hydrangenol 투여군에서 농도의존적으로 회복되는 것을 확인하였다.

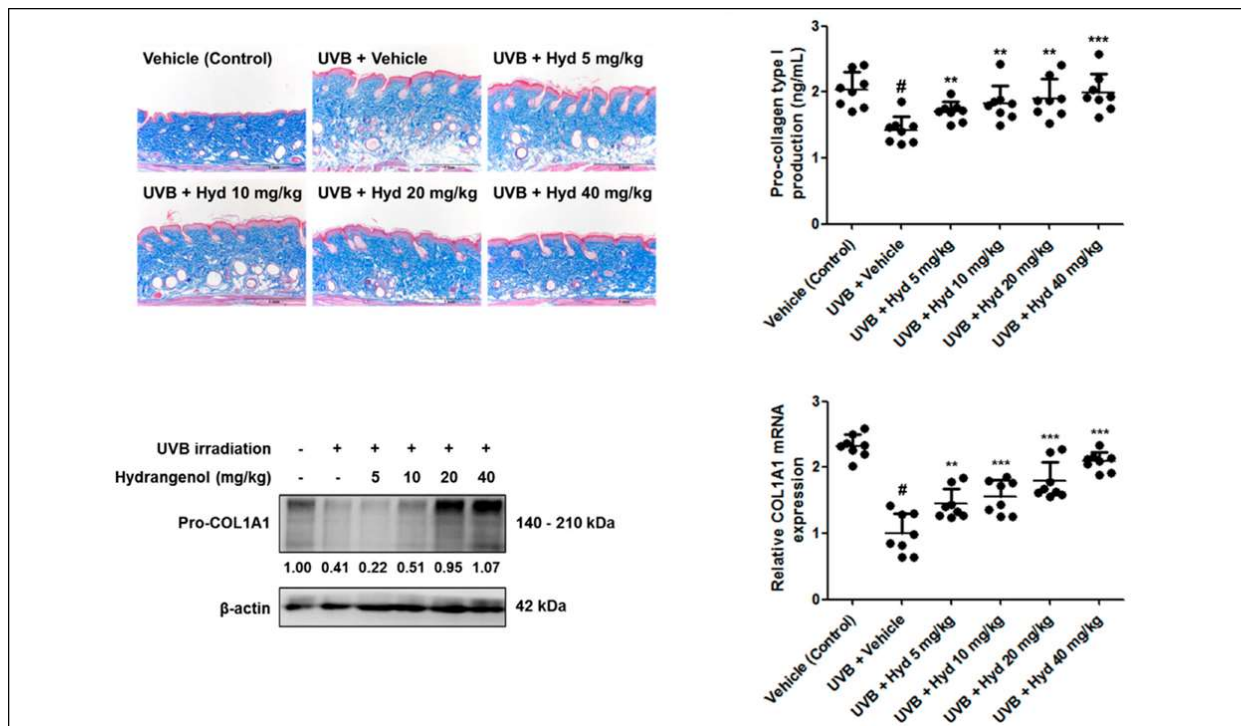


그림 81. UV 조사 동물 모델에서 hydrangenol에 의한 콜라겐 회복 효과

(라) 피부 보습 인자(수분함량, TEWL)에 대한 활성 평가

- 피부 보습 인자의 감소는 주름 형성을 유도하는 등 피부 노화의 원인이 될 수 있다. hydrangenol이 UV 조사 동물 모델에서 피부 보습 인자 회복 활성을 나타내는지 평가하였

다.

- 수분 측정기를 이용하여 표피수분함량과 경피수분손실도(Transepidermal water loss, TEWL)를 측정하였다. UV 조사군에서는 control군 대비 표피 수분 함량이 감소한 반면, TEWL은 증가하였다. 5 mg/kg에서는 유의적인 회복 효과가 나타나지 않았지만, 10, 20, 40 mg/kg에서는 hydrangenol에 의해 표피 수분 함량과 TEWL이 농도의존적으로 회복되는 경향을 나타냈다.

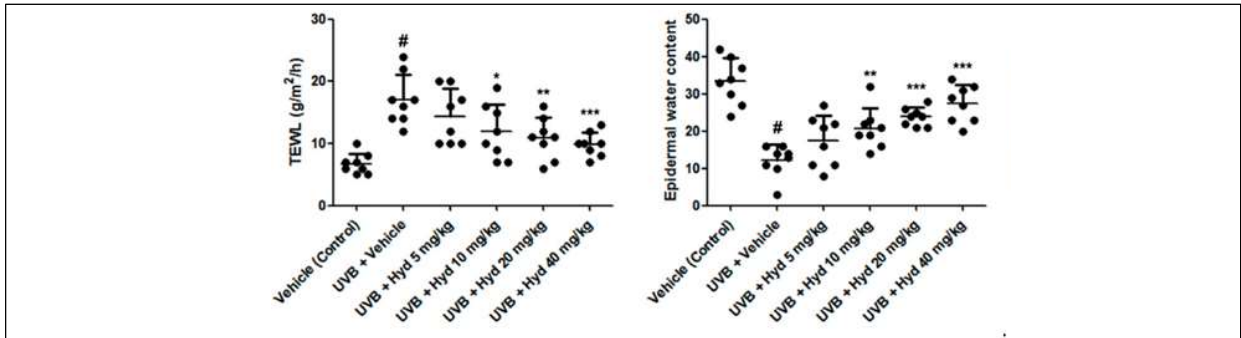
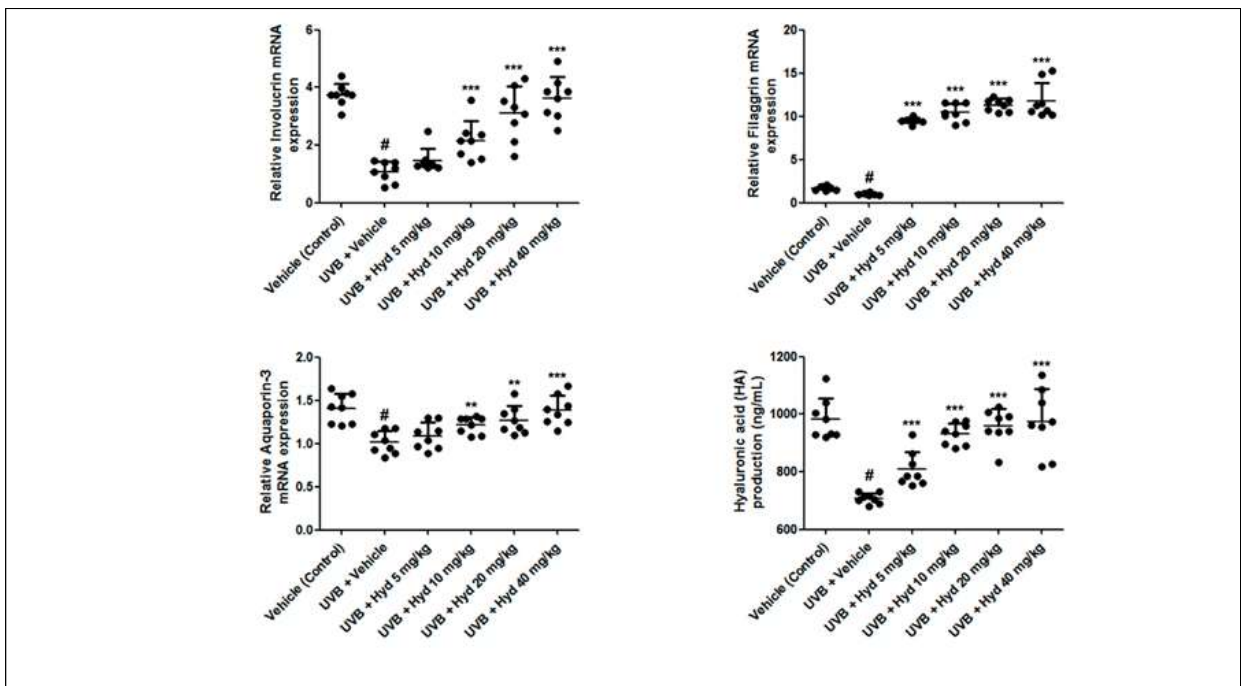


그림 82. UV 조사 동물 모델에서 hydrangenol의 표피 수분 함량 및 TEWL 회복 효과

(마) 피부장벽 단백질과 HA 생성 조절 효소(HYAL)의 유전자 발현에 대한 활성 검색

- 자외선에 의한 피부 수분 손실은 피부 장벽 단백질의 발현 조절과 밀접한 관련이 있다. 따라서, 피부장벽의 주요 구성 성분인 involucrin, filagggrin, aquaforin 3 (AQP3)의 발현변화를 평가하였다. UV 조사는 involucrin, filagggrin, AQP3 발현을 감소시켰으나, hydrangenol 투여에 의해 농도에 따라 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다.
- Hyaluronic acid (HA)는 피부 수분을 유지하는 대표적인 보습 인자이다. UV 조사는 HA 분해를 촉진시킨다고 알려져 있는 HYAL-1, HYAL-2 발현을 증가시켜 피부조직에서의 HA 생성을 감소시켰다. Hydrangenol을 처리하였을 때, HYAL-1, HYAL-2의 발현이 모든 농도에서 유의적으로 감소하면서 HA 생성이 농도의존적으로 증가하는 것을 확인하였다.



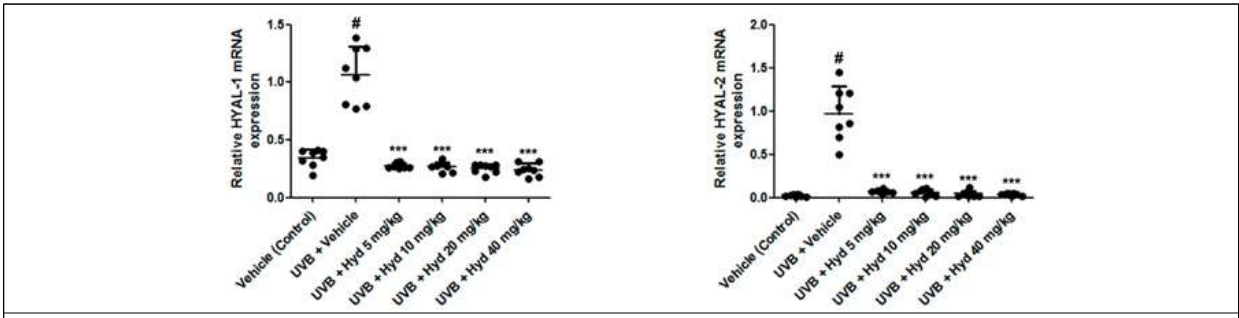


그림 83. UV 조사 동물 모델에서 hydrangenol의 피부장벽 및 HA 회복 효과

(바) MMP-1/-3 단백질 발현 및 염증성 사이토카인 mRNA 발현에 대한 활성 평가

- 피부조직에서 MMP-1/-3 단백질과 염증성 사이토카인 mRNA 발현의 변화를 확인하였다. UV 조사군에서 MMP-1/-3 단백질과 염증성 사이토카인(COX-2, IL-6) mRNA 발현이 유의적으로 증가하였다. 이러한 증가는 Hydrangenol 투여에 의해 농도의존적으로 감소하였다.

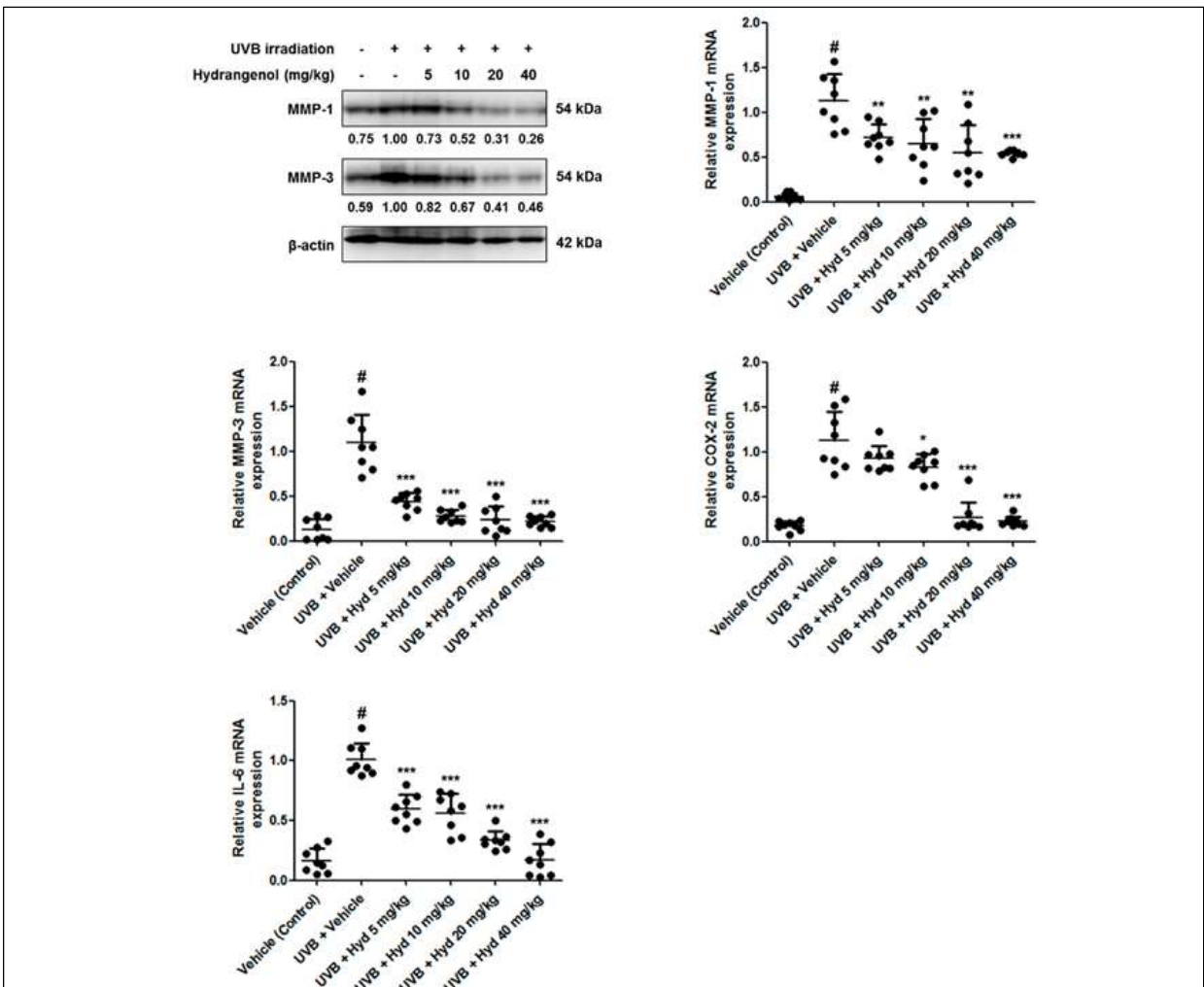


그림 84. UV 조사 동물 모델에서 수국추출물이 MMP-1/-3 단백질 및 염증성 사이토카인 mRNA 발현에 미치는 영향

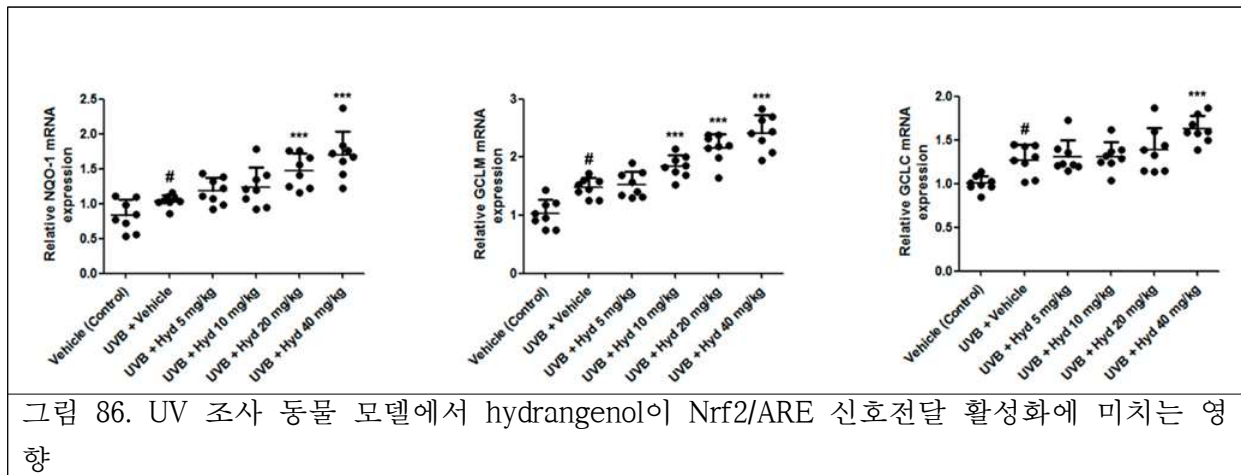


그림 86. UV 조사 동물 모델에서 hydrangenol이 Nrf2/ARE 신호전달 활성화에 미치는 영향

(자) 논문 투고 및 게재

논문명: Hydrangenol Isolated from the Leaves of *Hydrangea serrata* Attenuates Wrinkle Formation and Repairs Skin Moisture in UVB-Irradiated Hairless Mice

저널명: Nutrients

게재일: 2019. 10. 02.

게재권호: volume 11, pages 2354

[주관 위탁연구기관 : 네오뉴트라㈜]

(1) 인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발

(가) 프로토콜 요약

인체적용시험 제목	피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험
인체적용시험 의뢰자	코스맥스바이오(주) 대표이사 김정수 경기도 성남시 분당구 판교로 255번길 35
인체적용시험 시험책임자	이광훈 (글로벌의학연구센터 의학박사)
인체적용시험 실시기관	글로벌의학연구센터 서울시 강남구 도산대로 107
인체적용시험 기간	기관생명윤리위원회(IRB)의 인체적용시험 승인일로부터 12개월
인체적용시험 대상	만 35세 이상~만 60세 이하의 건조하고 주름진 피부를 가진 성인 남녀
인체적용시험 목적	만 35세 이상~만 60세 이하의 건조한 피부를 가지고 있으며, 주름이 있는 성인 남녀에게 WHS(수국잎열수추출물)을 섭취했을 때 대조식품(placebo)과 비교하여 주름 개선 및 보습에 미치는 유효성 및 안전성을 평가하고, 적정 용량을 결정하기 위하여 계획되었다.
인체적용시험 단계 및 디자인	단 계: 기타 (건강기능식품) 디자인: 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조
인체적용시험용 식품	시험식품I: 수국잎열수추출물 300 mg
	시험식품II: 수국잎열수추출물 600 mg
	대조식품: Placebo
인체적용시험용 식품 섭취방법	<ul style="list-style-type: none"> • 시험군I(시험식품I): 1일 1회, 1회 1정을 물과 함께 섭취 (수국잎열수추출물로써 300 mg/day) • 시험군II(시험식품II): 1일 1회, 1회 1정을 물과 함께 섭취 (수국잎열수추출물로써 600 mg/day) • 대조군(placebo): 시험군과 동일한 방법으로 섭취
인체적용시험용 식품 섭취기간	12주
인체적용시험 방법	시험대상자(또는 법정대리인)는 자의로 인체적용시험 동의서에 서명 후, 방문평가를 통해 선정/제외기준 적합 여부를 판정한 뒤, 적합한 시험대상자에 한하여 등록된 순서에 따라 시험군I 또는 시험군II 또는 대조군 중 한 군으로 무작위 배정한다. 배정된 시험대상자는 12주간 인체적용시험용 식품(시험식품I 또는 시험식품II 또는 대조식품)을 섭취한다.

	<p>시험군 I (수국잎열수추출물 300 mg) 시험군 II (수국잎열수추출물 600 mg) 대조군 (Placebo)</p> <p>방문1 (Screening) 방문2 (D-0) 방문3 (D+28(±5), 4주) 방문4 (D+56(±5), 8주) 방문5 (D+84(±5), 12주)</p> <p>Randomization 인체적용시험 종료</p>															
인체적용시험 대상자 수	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>시험군 I</th> <th>시험군 II</th> <th>대조군</th> <th>총 시험대상자 수</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>최종 평가 레수 (PP Set)</td> <td>40</td> <td>40</td> <td>40</td> <td>120</td> </tr> <tr> <td>Drop-out(20%) 고려 예수</td> <td>50</td> <td>50</td> <td>50</td> <td>150</td> </tr> </tbody> </table>		시험군 I	시험군 II	대조군	총 시험대상자 수	최종 평가 레수 (PP Set)	40	40	40	120	Drop-out(20%) 고려 예수	50	50	50	150
	시험군 I	시험군 II	대조군	총 시험대상자 수												
최종 평가 레수 (PP Set)	40	40	40	120												
Drop-out(20%) 고려 예수	50	50	50	150												
선정기준	<ol style="list-style-type: none"> 만 35세 이상 ~ 만 60세 이하의 성인 남녀 육안평가에서 눈가주름 grade 3등급 이상인 자 Corneometer[®]를 이용하여 양측 뺨의 수분보유량을 측정하여, 평균 점수가 49점 이하인 자 인체적용시험이 시작되기 전에 본 인체적용시험의 참여를 동의하고, 서면 동의서(Informed consent)에 서명한 자 															
제외기준	<ol style="list-style-type: none"> 현재 아토피 피부염, 건선염 등의 피부 질환을 앓고 있거나 치료중인 자 시험용 식품 관련 식품에 민감하거나 알레르기가 있는 자 시험 부위에 점, 여드름, 홍반, 모세혈관확장 등의 피부 이상소견이 있는 자 시험 시작 1개월 이내 안면부에 시술(피부 박피술, 케미컬 필링, 기타 피부관리 등)을 받거나 6개월 이내 안면부에 보톡스, 필러 등의 시술을 받은 자 시험 시작 3개월 이내에 스테로이드가 함유된 피부 외형제를 안면부에 사용하거나 경구레티노이드제/스테로이드제를 복용한 자 시험 시작 2주 이내 주름개선용 기능성 화장품(레티노이드제, 레티놀, AHA) 또는 고보습 화장품을 사용한 자 시험 시작 1개월 이내 비만치료제(흡수저해제 및 항우울제, 식욕억제제 등), 피임약 또는 호르몬제, 이뇨제를 복용한 자 															

	<p>(8) 시험 시작 2주일 이내에 항산화제, 히알루론산, 콜라겐 함유 건강기능식품, 달맞이꽃종자유, 비타민 A, 비타민 C, 비타민 E 함유 의약품 및 건강기능식품을 섭취한 자</p> <p>(9) AST(GOT) 또는 ALT(GPT)가 120 IU/L 이상이거나 γ-GTP가 180 IU/L 이상인 자</p> <p>(10) Creatinine이 2.4 mg/dL 이상인 자</p> <p>(11) TSH 0.1 μIU/ml 이하이거나, 10 μIU/ml 이상인 자</p> <p>(12) 조절되지 않는 고혈압 환자(160/100 mmHg 이상, 10분 안정 후 측정 기준)</p> <p>(13) 혈당이 조절되지 않는 당뇨병 환자(공복 혈당 180 mg/dl 이상)</p> <p>(14) 정신분열증, 우울증, 약물중독 등의 정신질환자</p> <p>(15) 임신 중이거나 수유 중 또는 3개월 이내에 임신을 계획하고 있는 자</p> <p>(16) 병력 조사 등을 통해 알코올 사용·유발장애, 심장 질환, 중추 신경 장애 등으로 입원 및 약물치료, 재활치료 중인 자</p> <p>(17) 흡연자 또는 금연 후 1년이 지나지 않은 자</p> <p>(18) 시험 시작 1개월 이내에 다른 임상시험에 참여하였거나 시험 기간 중에 참여할 계획이 있는 자</p> <p>(19) 시험 시작 6개월 이내에 동일한 임상시험에 참여하였거나 시험 기간 중에 참여할 계획이 있는 자</p> <p>(20) 시험자가 본 시험에 부적절하다고 판단되는 자</p>
<p>유효성 평가</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 1차 유효성 평가 <ul style="list-style-type: none"> (1) 피부 주름(육안평가, Mark-Vu, Skin Visiometer[®] SV700) (2) 피부 수분량(Corneometer[®]) • 2차 유효성 평가 <ul style="list-style-type: none"> (1) 경피수분손실량(Tewameter[®]) (2) 피부 탄력(Cutometer[®]) (3) 피부결(Antera 3D[®]CS) (4) 피부주름 거칠기(Anatera 3D[®]CS) (5) 시험자의 개선도 평가 (6) 시험대상자의 개선도 평가
<p>안전성 평가</p>	<p>(1) 이상반응</p> <p>(2) 임상병리검사(혈액학적/혈액화학적검사, 뇨검사)</p> <p>(3) 활력징후(맥박, 혈압)</p> <p>(4) 신체계측(체중)</p>
<p>통계분석</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 유효성 <ul style="list-style-type: none"> (1) 1차 유효성 평가변수 <p>1차 유효성 평가 변수인 피부 주름 및 피부 수분량에 대해서는 각 항</p>

목의 섭취 전후 변화의 정도는 반복 측정 자료로 Repeated Measures ANOVA를 이용하여 분석한다. 섭취 군간의 차이는 사용 전 대비 변화량을 구하여 비교하며, 정규성 검정 후 각 군별로 Independent samples t- test를 실시한다.

(2) 2차 유효성 평가변수

2차 유효성 평가 변수인 경피수분손실량, 피부 탄력, 피부결, 피부주름 거칠기에 대해서는 각 항목의 섭취 전후 변화의 정도는 반복 측정 자료로 Repeated Measures ANOVA를 이용하여 분석한다. 섭취 군간의 차이는 사용 전 대비 변화량을 구하여 비교하며, 정규성 검정 후 각 군별로 Independent samples t- test를 실시한다.

시험자 및 시험대상자 개선도평가의 군간 차이는 one-way ANOVA test를 실시한다. 군간 비교에서 유의한 결과를 가질 경우에는 다중비교(Multiple comparison)방법을 이용하여 분석한다.

• 안전성

(1) 이상반응

인체적용시험기간 동안 보고된 모든 이상반응은 MedDRA preferred term에 따라 Coding 하며, 인체적용시험용 식품 투여 후 발생한 모든 이상반응을 도표화한 후 발생률을 산출하여 평가한다. 각 군간 이상반응이 발생한 시험대상자의 비율을 계산하고 카이제곱검정(Chi-square test) 또는 피셔의 정확검정(Fisher's exact test)을 이용하여 비교 분석한다.

(2) 임상병리검사(혈액학적/혈액화학적검사, 뇨검사)

혈액학적 및 혈액화학적 검사치와 같이 연속형(Continuous type)자료의 군내 비교는 Paired t-test를 이용하고, 군간 비교는 one-way ANOVA test를 실시한다. 군간 비교에서 유의한 결과를 가질 경우에는 다중비교(Multiple comparison) 방법을 이용하여 분석한다. 뇨검사의 일부 측정 변수의 경우는 정상과 비정상으로 나누어 McNemar test를 실시하여 군내 차이를 비교한다.

(3) 활력징후(맥박, 혈압), 신체계측(체중)

활력징후(맥박, 혈압), 신체계측(체중) 검사치에 대하여 섭취 전과 후의 차이에 대한 군내비교는 Paired t-test를 이용하고, 군간 비교는 one-way ANOVA test를 실시한다. 군간 비교에서 유의한 결과를 가질 경우에는 다중비교(Multiple comparison) 방법을 이용하여 분석한다.

(나) 프로토콜

<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p>인체적용시험계획서</p> </div> <p>피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험</p> <p>Protocol No. : COSMAX BIO_WHS Version No. : 1.1 Version Date : 2018년 12월 11일</p> <p>코스맥스바이오㈜ 소유</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px; text-align: center;"> <p>Confidential</p> <p>본 인체적용시험계획서에 포함되어 있는 모든 정보는 인체적용시험 적일지, 인체적용시험 경쟁연구자, 인체적용시험 담당자, 기관생명윤리위원회(IRB), 식품의약품안전처를 위해 제공된 것으로 인체적용시험을 식별할 수 있는 사람에게 시험결과에 대한 서면 통의를 받기 위한 경우를 제외하고는 코스맥스바이오의 사전 서면동의 없이 제3자에게 공개될 수 없습니다.</p> </div>	<p>코스맥스바이오㈜ Clinical Study Protocol Protocol No.: COSMAX BIO_WHS Version No.: 1.1 (2018.12.11) 2/72</p> <p>코스맥스바이오㈜ </p> <p>◎ 인체적용시험계획서</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">인체적용시험 번호</td> <td>COSMAX BIO_WHS</td> </tr> <tr> <td>인체적용시험용 식품</td> <td>WHS(수국잎물수주출물)</td> </tr> <tr> <td>인체적용시험 목적</td> <td>피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험</td> </tr> <tr> <td>인체적용시험 단계</td> <td>기타 (건강기능식품)</td> </tr> <tr> <td>인체적용시험 시술책임자</td> <td>이광훈 (서울로봇의학연구소 연구원)</td> </tr> <tr> <td>인체적용시험 실시기관</td> <td>서울로봇의학연구소 서울시 강남구 도산대로 107</td> </tr> <tr> <td>인체적용시험 의뢰자</td> <td>코스맥스바이오㈜ 대표이사 김경수 경기도 성남시 분당구 판교로 255번길 35</td> </tr> <tr> <td>Confidential</td> <td>© COSMAX BIO CO., LTD. This protocol is the property of COSMAX BIO CO., LTD. and may not in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise use without the express permission of COSMAX BIO CO., LTD.</td> </tr> </table>	인체적용시험 번호	COSMAX BIO_WHS	인체적용시험용 식품	WHS(수국잎물수주출물)	인체적용시험 목적	피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험	인체적용시험 단계	기타 (건강기능식품)	인체적용시험 시술책임자	이광훈 (서울로봇의학연구소 연구원)	인체적용시험 실시기관	서울로봇의학연구소 서울시 강남구 도산대로 107	인체적용시험 의뢰자	코스맥스바이오㈜ 대표이사 김경수 경기도 성남시 분당구 판교로 255번길 35	Confidential	© COSMAX BIO CO., LTD. This protocol is the property of COSMAX BIO CO., LTD. and may not in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise use without the express permission of COSMAX BIO CO., LTD.
인체적용시험 번호	COSMAX BIO_WHS																
인체적용시험용 식품	WHS(수국잎물수주출물)																
인체적용시험 목적	피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험																
인체적용시험 단계	기타 (건강기능식품)																
인체적용시험 시술책임자	이광훈 (서울로봇의학연구소 연구원)																
인체적용시험 실시기관	서울로봇의학연구소 서울시 강남구 도산대로 107																
인체적용시험 의뢰자	코스맥스바이오㈜ 대표이사 김경수 경기도 성남시 분당구 판교로 255번길 35																
Confidential	© COSMAX BIO CO., LTD. This protocol is the property of COSMAX BIO CO., LTD. and may not in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise use without the express permission of COSMAX BIO CO., LTD.																

<p>코스맥스바이오㈜ Clinical Study Protocol Protocol No.: COSMAX BIO_WHS Version No.: 1.1 (2018.12.11) 12/72</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px; text-align: center;"> <p>목 차</p> </div> <p>◎ 인체적용시험계획서 2</p> <p>◎ 인체적용시험계획서 요약 3</p> <p>◎ 인체적용시험 진행 일정표 8</p> <p>1. 인체적용시험의 명칭 및 단계 16</p> <p> 1.1. 명칭 16</p> <p> 1.2. 단계 16</p> <p>2. 시험자 및 실시기관 지원조건 16</p> <p> 2.1. 인체적용시험 실시기관 16</p> <p> 2.2. 인체적용시험 책임자 16</p> <p> 2.3. 인체적용시험 의뢰자 16</p> <p> 2.4. 인체적용시험 수탁기관 (CONTRACT RESEARCH ORGANIZATION, CRO) 16</p> <p>3. 인체적용시험의 목적 및 배경 17</p> <p> 3.1. 인체적용시험의 목적 17</p> <p> 3.2. 인체적용시험의 배경 17</p> <p>4. 인체적용시험용 식품 18</p> <p> 4.1. 인체적용시험용 식품의 개요 19</p> <p> 4.1.1. 시험식품 I(수국잎물수주출물 300mg) 19</p> <p> 4.1.2. 시험식품 II(수국잎물수주출물 600mg) 19</p> <p> 4.1.3. 대조식품(Placebo) 20</p> <p> 4.2. 인체적용시험용 식품의 생산/포장 및 라벨링 21</p> <p> 4.3. 인체적용시험용 식품의 교부 22</p> <p> 4.4. 인체적용시험용 식품의 관리·기록 22</p> <p> 4.5. 인체적용시험용 식품의 회수 및 폐기 22</p> <p> 4.6. 이중눈가림의 유지 22</p> <p>5. 인체적용시험 기간 23</p> <p>6. 인체적용시험대상자의 선정기준, 제외기준 및 목표 인체적용시험대상자의 수 23</p> <p> 6.1. 인체적용시험대상자 23</p> <p> 6.1.1. 선정기준 23</p> <p> 6.1.2. 제외기준 23</p>	<p>코스맥스바이오㈜ Clinical Study Protocol Protocol No.: COSMAX BIO_WHS Version No.: 1.1 (2018.12.11) 13/72</p> <p>6.2. 목표한 인체적용시험대상자의 수 및 선정근거 25</p> <p> 6.2.1. 인체적용시험대상자 수 25</p> <p> 6.2.2. 선정근거 25</p> <p>7. 인체적용시험 방법 27</p> <p> 7.1. 인체적용시험의 설계 27</p> <p> 7.2. 인체적용시험용 식품의 섭취량, 섭취방법 및 섭취기간 27</p> <p> 7.2.1. 1일 섭취량 및 섭취방법 27</p> <p> 7.2.2. 섭취기간 28</p> <p> 7.2.3. 섭취량 설정사유 28</p> <p> 7.3. 병용요법 28</p> <p> 7.3.1. 병용가능 약물(또는 식품) 28</p> <p> 7.3.2. 병용금지 약물(또는 식품) 및 시술 29</p> <p> 7.4. 인체적용시험대상자 관수사항 29</p> <p> 7.5. 무작위배정 30</p> <p> 7.6. 인체적용시험대상자 모집 방법 30</p> <p>8. 인체적용시험 진행일정, 관찰 및 임상검사 항목과 방법 31</p> <p> 8.1. 인체적용시험 진행일정표 31</p> <p> 8.2. 관찰항목 33</p> <p> 8.2.1. 인체적용시험대상자 동의 및 연구학적 조사 33</p> <p> 8.2.2. 생물안전 조사 33</p> <p> 8.2.3. 병역 및 약물투여력 조사, 병용약물 및 병용요법 확인 33</p> <p> 8.2.4. 이력검토사 34</p> <p> 8.2.5. 활력징후(맥박, 혈압) 34</p> <p> 8.2.6. 신체계측(신장, 체중) 34</p> <p> 8.2.7. 식사지도 및 식이조사 34</p> <p> 8.2.8. 화장품 사용 중단 조사 35</p> <p> 8.2.9. 임상영양조사 35</p> <p> 8.2.10. 피부 주름 측정 평가 36</p> <p> 8.2.11. 피부 주름 평가(Mark-Vu(PSEIPLUS Co. LTD, KOREA)) 36</p> <p> 8.2.12. 피부 주름 평가(Skin Visiometer® SV700) 37</p> <p> 8.2.13. 피부 수분분량(Corneometer® CM25) 38</p> <p> 8.2.14. 경피수분손실량(Tewameter® TM300) 38</p> <p> 8.2.15. 피부 탄력(Cutometer® Dual MPAS80) 38</p> <p> 8.2.16. 피부경 및 피부주름 거울기(Antera 3D® CS) 39</p> <p> 8.2.17. 시험자 및 시험대상자의 개선도 평가 39</p>
--	--

임상연구계획 심의신청서

과제 관리번호	
연구 과제 명	
국 문	피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험
영 문	Efficacy and Safety of WHS on the skin wrinkle improvement and moisturizing; A 12week, Randomized, Double-blind, Placebo-Controlled Clinical Trial
연구 진	
연구 책임자	성 명 소 속 직 위
	이광훈 ㈜글로벌의학연구원 의학박사
연구 담당자	성 명 소 속 직 위
	김인아 ㈜글로벌의학연구원 연구원
연구 정보	
연구 종류	<input checked="" type="checkbox"/> 인간대상연구 <input type="checkbox"/> 기타 : _____
연구 기관	<input checked="" type="checkbox"/> 단일기관 <input type="checkbox"/> 다기관 (참여기관 수 : _____)
연구 예정 기간	선행윤리위원회 승인일 ~ 2019년 12월 31일
연구 위험성	<input checked="" type="checkbox"/> Level I (최소위험) <input type="checkbox"/> Level II (최소위험에서 약간 증가) <input type="checkbox"/> Level III (중등도 위험) <input type="checkbox"/> Level IV (고위험)
연구의 특성	
동의취득방법	<input checked="" type="checkbox"/> 서면동의 <input type="checkbox"/> 서면동의면제(사유서첨부) <input type="checkbox"/> 해당없음
개인식별정보 포함 여부	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 <input type="checkbox"/> 해당없음
인간대상연구 (연구종류에서 '인간대상연구'에 표시한 경우 아래 사항을 빠짐없이 표시하여 주시기 바랍니다.)	
모 집 방 법	<input checked="" type="checkbox"/> 직접 모집 (대상 연구대상자 수: 150명) <input type="checkbox"/> 이미 수집된 자료나 문서를 이용하는 연구 (_____ 건)
연구대상자군	<input checked="" type="checkbox"/> 건강한 <input type="checkbox"/> 환자 <input type="checkbox"/> 취약한 환경에 있는 피험자
연구 대상자 정보	취약한 환경에 있는 피험자 <input type="checkbox"/> 임신부 <input type="checkbox"/> 영/소아 <input type="checkbox"/> 장애인 <input type="checkbox"/> 말기환자 <input type="checkbox"/> 연구기관, 연구책임자, 의뢰자 등의 피고용인 <input type="checkbox"/> 수감자 <input type="checkbox"/> 연구자의 연구원이나 학생 <input type="checkbox"/> 시설에 수용된 자 <input type="checkbox"/> 군인 또는 군대 조직에 의한 피험자 모집

심의 신청서

글로벌의학연구원 기관생명윤리위원회(IRB)
[기관생명윤리위원회의 등록번호: 제1-2018060502-A-N-01호]
인체적용평가 심의결과통지서

심 의 번 호	IRB-18N02-AC	심 의 일 자	2018.11.23
연구 과제 명	피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험		
책임 연구자	성 명	이 광 훈	소 속
			㈜글로벌의학연구원

의뢰 기관	기관명	코스텍스바이오텍	주소	경기도 성남시 분당구 만곡로 255번길 35
	성명	김령수	직위	대표이사
연구 대상	상용명	피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험		
		<input type="checkbox"/> 일반화장품 <input type="checkbox"/> 기능성화장품 <input type="checkbox"/> 의약품 <input type="checkbox"/> 의료기기 <input checked="" type="checkbox"/> 건강기능식품 <input type="checkbox"/> 기타		
심의 종류	<input checked="" type="checkbox"/> 정규심의 <input type="checkbox"/> 신속심의			
연구 기간	2018년 11월 20일 ~ 2019년 11월 25일			
심의 내용	<input checked="" type="checkbox"/> 신규 <input type="checkbox"/> 보완			
심의 의견	<input checked="" type="checkbox"/> 중안심사서 <input type="checkbox"/> 변경심사서 <input type="checkbox"/> 중간보고서 <input type="checkbox"/> 종료보고서 <input type="checkbox"/> 결과보고서 <input type="checkbox"/> 기타 모든 서류가 잘 구비되어 있고 피험자 설명은 역시 이해하기 쉽게 잘 만들어져 있으며, 부작용 발생 가능성은 매우 낮으나 발생시 보상 규약 역시 잘 구비됨. 추후 하기의 의견에 대한 보충 설명이 필요할 것으로 판단됨. 대조군에게 고품질 의 추가적인 보상계획이 있다면, 계획서 상에 명시 필요 시험산물 및 대조품의 원재표에 대한 식약처 허가 서류 확인 요망 연구피험자수 산출에 있어서 참고한 Proksch et al.(2014) 연구는 300mg 가까운 것임지 확인 요망. 기저치 대비 12주 후 시험군1 (300mg)이 시험군2 (600mg)보다 변화량이 작을 것으로 예상한다던, 보약적으로 시험군1 (300mg)-대조군에 대한 연구 피험자수를 산출하였던 기술해마 할 것으로 판단됨. - 연구기간에 비해 '중도탈락률' 20%는 높은 것으로 사료됨. <input checked="" type="checkbox"/> 승인 <input type="checkbox"/> 시정승인 <input type="checkbox"/> 보완 <input type="checkbox"/> 보류 <input type="checkbox"/> 중지 <input type="checkbox"/> 반려 <input type="checkbox"/> 심의면제 <small>* 본 통지서에 기재된 사항은 글로벌의학연구원 생명윤리위원회의 기록과 일치함을 증명합니다. * 본 생명윤리위원회는 의약품 임상시험 관리기준 (K-GCP) 및 생명윤리 및 안전에 관한 법률 등을 준수합니다. * 본 인체적용평가의 결과는 의뢰자의 사전 동의 없이 외부에 유출할 수 없습니다.</small>			

2018년 11월 23일

글로벌의학연구원 기관생명윤리위원회 위원장 오 상 호

(다) 개시모임(Initiation Meeting) 실시


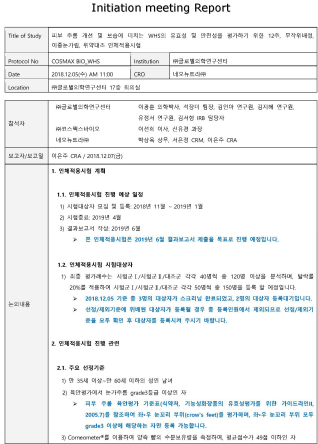
① 연구 시작 전 인체적용시험 계획서 및 연구진행에 대한 발표 및 질의응답의 시간을 가지기 위한 연구 모임 실시

② 개시모임 수행 업무

- ① 인체적용시험 계획서의 전반적 검토(선정/제외기준, 시험진행 절차, 시험식품 섭취, 무작위 배정 및 맹검법, 1차 유효성 평가변수 및 기타 자세한 사항들) 및 설명, 논의, 준수사항(GCP설명)
- ② 시험 관련 문서 및 물품 등 필요한 자료 제공
- ③ 영상진단의학실 검사(임상병리실) 및 특수 컴퓨터 프로그램과 같은 전문적인 절차에 대한 지침 검토
- ④ Protocol, ICF, CRF, 복용일지 등에 대한 모든 질문사항 및 의문점들에 대한 논의
- ⑤ IRB승인 및 변경 사항 문서화
- ⑥ 시험 담당자의 역할과 책임
- ⑦ 향후 모니터링 SDV업무계획 소개 및 근거문서(Source Document)정의(모니터링 방문 간격, 모니터링 방문 시 CRC준비사항 등)
- ⑧ 이상반응 및 중대한 이상반응 등에 대한 보고 및 보고 절차
- ⑨ 의뢰자에게 관련 연구에 관한 최신 정보를 제공
- ⑩ 시험기관 내에서의 절차 및 이슈사항

- ⑪ 연구문서의 종류, 보관 및 사용방법 등에 대한 소개(동의서, 시험대상자 로그, 워크시트, 증례기록서, 수불대장, 처방전, 온도기록지 등의 작성법)
- ⑫ 시험에 사용되는 식품의 수불 일지 확인
- ⑬ 모든 연구 관련 교육 후의 교육기록 문서화
- ⑭ 시험 실시 전 확보되어야 할 기본 문서들 확인, Investigator Site File(ISF) 검토(기록의 보관) 및 ISF보관 기본문서 설명
- ⑮ 연구자파일 및 약국파일 업데이트(추후 발송되는 뉴스레터 와 IRB 관련 변경 및 승인사항, Material 인수증 등)

- ③ 실시일자 및 장소 : 2018.12.05. / 글로벌의학연구센터 17층 회의실
- ④ 참석자 : 참여연구진 및 실시기관 담당자 11명
- ⑤ 개시모임 PPT 및 개시모임 보고서

	
개시모임 PPT	개시모임 보고서

(라) 인체적용시험 진행일정표

Period	Screening	Active Treatment				
		2	3	4	5	
Visit ¹⁾	1	2	3	4	5	
Week	-3	0	4	8	12	
Window period ²⁾			±5	±5	±5	
서면동의서	○					
인구학적 조사 ³⁾	○					
생활습관 조사 ⁴⁾	○					
병력 및 약물투여력 조사 ⁵⁾	○	○				
이학적검사	○		○	○	○	
활력징후(맥박, 혈압) 측정	○				○	
신체계측 ⁶⁾	○				○	

식사지도 및 식이조사 ⁷⁾				○	○	○	○
화장품 사용 습관 조사 ⁸⁾			○	○	○	○	○
임상병리검사 ⁹⁾			○				○
임신반응검사(가임기 여성만 해당) ⁹⁾			○				
유 효 성 평 가	피부주름 ¹⁰⁾	육안평가(Mark-Vu)	○		○	○	○
		Skin Visiometer® SV700		○	○	○	○
	피부 수분량 ¹⁰⁾		○	○	○	○	○
	경피수분손실량 ¹⁰⁾			○	○	○	○
	피부 탄력 ¹⁰⁾			○	○	○	○
	피부결 ¹⁰⁾			○	○	○	○
	피부주름 거칠기 ¹⁰⁾			○	○	○	○
	시험자의 개선도 평가				○	○	○
시험대상자의 개선도 평가				○	○	○	
시험대상자 적합성 평가			○	○			
무작위배정				○			
시험용 식품 처방				○	○	○	
이상반응 확인					○	○	○
순응도 확인 ¹¹⁾					○	○	○
병용약물 및 병용요법 변화 확인					○	○	○

- 1) 방문1의 방문일로부터 3주 이내에 방문2가 시행되어야 한다. 방문1의 모든 검사 결과를 당일 확인할 수 있는 경우, 방문1과 방문2를 동일한 날에 실시할 수 있다.
- 2) 방문3, 4, 5의 방문일은 지정된 날짜 전·후 5일을 허용한다.
- 3) 방문1에 시험대상자의 이니셜, 성별, 생년월일, 연령, 운동여부, 음주여부, 흡연여부를 조사하여 기록한다.
- 4) 방문1에 시험대상자의 1일 평균 야외활동시간, 1주 평균 색조화장빈도, 수면시간, 1주 평균 선크림 사용횟수, 6개월 이내의 피부시술여부를 조사하여 기록한다.
- 5) 방문1, 2에 스크리닝 시점을 기준으로 3개월 이내의 외과적 수술력을 포함한 병력 및 약물투여력을 조사하여 기록한다.
- 6) 신장은 방문1에서 측정하며, 체중은 방문1, 5에서 측정하여 기록한다.
- 7) 방문2에서는 하루 전날 섭취한 식사를 24시간 회상법으로 시험담당자가 기록하며, 방문2, 3, 4에 시험대상자에게 식이조사를 배부하여 방문3, 4, 5에 회수하여 확인한다.
- 8) 방문1, 2에 시험대상자의 화장품 사용 습관을 조사하여 기록하며, 방문2, 3, 4에 시험대상자에게 화장품 사용 다이어리를 배부하여 방문3, 4, 5에 회수하여 확인한다.
- 9) 시험대상자는 채혈하기 전 8시간 금식상태로 다음의 항목을 검사하며, 중앙검사실에서 분석 후 폐기한다. 시험자의 판단에 따라 비정상적인 결과에 대한 재검사를 시행할 수

있다. 방문1의 임상병리검사는 선정/제외기준 확인 후 해당하는 사람만 실시한다.

- 혈액학적 검사: WBC, RBC, Hb, Hct, Platelet, Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil, Basophil
- 혈액화학적 검사: Glucose, T.Protein, Albumin, T.Bilirubin, BUN, AST(GOT), ALT(GPT), γ -GTP, Creatinine, T.Cholesterol, HDL-Cholesterol, LDL-Cholesterol, Triglyceride, TSH(TSH는 방문1에서만 시행)
- 소변검사: SG, pH, Protein, Glucose, Ketone, Bilirubin, Blood, Urobilinogen, Nitrite, WBC
- 임신반응검사: Urine HCG(※ 가임기 여성만 해당)

10) 세안 후 항온항습 조건(20~24 °C, 40~60%)에서 30분간 안정을 취한 후 유효성 평가를 실시하며, 측정하기 1시간 전부터는 수분섭취를 제한한다.

피부 주름의 육안평가는 좌·우 눈꼬리의 피부 주름을 10단계로 나누어 평가하고, 얼굴 전체를 Mark-Vu로 촬영하여 육안평가를 뒷받침하는 자료로 활용하며, 좌·우 눈꼬리로부터 2cm 떨어진 지점을 Skin Visiometer[®] SV700로 측정한다. 피부 주름 육안평가에서 grade 3 이상인 시험대상자가 본 인체적용시험에 선정될 수 있다.

피부 수분량은 Corneometer[®] CM825, 경피수분손실량은 Tewameter[®] TM 300, 피부 탄력은 Cutometer[®] MPA580, 피부결 및 피부주름 거칠기는 Antera 3D[®] CS를 이용하여 시험부위(피부 수분량, 경피수분손실량: 좌·우 눈꼬리와 코끝의 직각교차부위, 피부 탄력: 좌·우 눈동자와 코끝의 직각 교차 부위, 피부결: 좌·우 코 옆의 동일한 볼 부위, 피부주름 거칠기: 좌·우 눈꼬리로부터 2 cm 떨어진 부위)를 측정한다.

11) 방문3, 4, 5에 시험대상자가 지참하고 온 시험용 식품의 잔량을 비교하여 시험담당자가 점검 및 기록한다('시험용 식품 처방 날 ~ 다음방문 전날 섭취).

(마) 인체적용시험 모니터링

- ① 시험대상자의 권리와 복지를 보호하기 위한 인체적용시험 모니터링 실시
- ② 보고된 인체적용시험 관련 자료가 근거문서(Source Documents)와 대조하여 정확하고(accurate) 완전하며(complete) 검증이 가능한지(verifiable) 확인
- ③ 모니터링 주요 내용

- ① 시험책임자가 시험기간 동안 안전하고 적절하게 인체적용시험을 수행할 자격이 있고 자원을 확보하고 있는지 여부 확인
- ② 인체적용시험에 사용되는 시험물질에 대한 다음 사항의 확인
 - 저장조건의 적절성, 섭취기간의 준수 여부 및 이들 시험 물질이 인체적용시험을 실시하기에 충분한지의 여부
 - 선정기준을 만족하는 대상자에게만 시험계획서에 명시된 섭취기간, 섭취방법대로 사용되고 있는지의 여부
 - 대상자가 인체적용시험에 사용되는 시험물질의 적절한 섭취·보관·반납에 관한 정보를 제공받는지의 여부
 - 시험기관에서 인체적용시험에 사용되는 시험물질의 인수 또는 섭취, 의뢰자로의 회수 등이 적절히 관리되고 문서화되는지의 여부

- ③ 시험자가 승인된 시험계획서 또는 시험변경계획서를 준수하고 있는지 여부 확인
- ④ 대상자가 인체적용시험에 참여하기 이전에 동의서가 얻어 졌는지의 여부 확인
- ⑤ 시험자가 인체적용시험을 적절히 실시하고 이 기준에서 정한 사항을 준수하기 위하여 필요한 최신의 인체적용시험자 자료집 및 문서, 인체적용시험에 사용되는 시험물질을 포함한 그 밖의 공급품을 수령하였는지의 여부 확인
- ⑥ 시험자가 인체적용시험의 제반 사항을 충분히 숙지하고 있는지의 여부 확인
- ⑦ 시험자가 특정한 인체적용시험관련 기능을 시험계획서 및 의뢰자와 시험기관의 장 또는 시험책임자와 합의한 문서에 따라 수행하고 있으며, 권한이 없는 자에게 이러한 기능이 위임되지 않았다는 사실의 확인
- ⑧ 시험책임자가 선정기준에 적합한 대상자만을 인체적용시험에 참여시키고 있는지의 여부 확인
- ⑨ 대상자 모집 현황에 대한 보고
- ⑩ 근거문서 및 그 밖의 인체적용시험관련 기록이 정확하고 완전하며 최신 사항이 반영 되도록 유지되고 있는지의 여부 확인
- ⑪ 시험책임자가 인체적용시험에 필요한 모든 보고서, 통지서, 신청서 등을 적절히 제공하고 있으며, 이러한 문서들을 통해 해당 인체적용시험을 확인할 수 있고 또한 그 기록이 정확하고 적절하며, 읽기 쉽고, 날짜가 기재되어 있는지 여부 확인
- ⑫ 증례기록서상의 기재 내용, 근거문서 및 그 밖의 인체적용시험 관련 문서의 정확성과 완전성에 대한 검토와 이들의 상호대조로부터 서로 일치하는지의 여부 및 다음 각 사항에 대한 확인
 - 인체적용시험계획서에서 요구한 자료가 증례기록서에 정확히 기재되었거나 보고되고 있으며, 근거문서와 일치하는지 여부
 - 섭취기간이나 섭취방법 등의 변동사항이 각 대상자별로 적절히 문서화되고 있는지의 여부
 - 대상자가 지키지 못한 방문검사, 실시하지 않은 실험실 검사 등에 대하여 증례기록서상에 사실대로 명확하게 기재되었거나 보고되고 있는지의 여부
 - 인체적용시험으로부터 대상자가 탈락하거나 탈퇴한 모든 사실이 증례기록서 상에 기재되었거나 보고되고 그 이유가 설명되었는지의 여부
 - 증례기록서의 기재오류, 누락사항과 판독하기 어려운 부분에 대하여 시험책임자에게 알리고, 이러한 사항에 대한 정정·첨가·삭제 등이 적절하게 이루어졌는지, 날짜와 그 사유(필요한 경우)가 기재되어 있는지, 시험책임자 또는 시험책임자를 대신하여 증례기록서상의 기재사항에 대한 변경권한을 가진 시험담당자가 서명을 하였는지 등의 확인
 - 모든 이상반응이 동 제안서, 인체적용시험계획서, 심사위원회, 의뢰자 및 관련규정에 명시된 기간 내에 적절하게 보고되었는지의 여부 확인
 - 시험책임자가 기본문서를 보존하고 있는지의 여부 확인
 - 인체적용시험계획서, 표준작업지침서 및 동 제안서에서 정한 사항을 준수하지 않은 것에 대해 시험책임자에게 알리고, 이러한 미 준수 사항이 재발되지 않도록 하는 적절한 조치

④ KGCP 규정에 의거한 모니터링 보고서 작성

- | |
|--|
| ① 모니터링을 실시한 날짜 및 장소 |
| ② 모니터요원의 이름 및 시험자 또는 접촉한 사람의 이름 |
| ③ 모니터요원이 확인한 사항의 요약 |
| ④ 임상적으로 의미있는 발견 또는 사건 |
| ⑤ 인체적용시험 계획서, 의뢰자 표준작업지침서, 실시기관 표준작업지침서 및 이 기준을 위반한 사항 또는 임상시험의 문제점 |
| ⑥ 결론 |
| ⑦ 인체적용시험 계획서, 의뢰자 표준작업지침서, 실시기관 표준작업지침서 및 이 기준을 위반한 사항이 재발되지 않도록 조치한 사항 및 조치가 필요한 사항 |

⑤ 모니터링 실시 내역

모니터링 기관(병원)	차수	일 자	실시결과
글로벌의학연구센터	1	2018.12.18	· 모니터링 보고서 작성
	2	2019.01.09	· 모니터링 보고서 작성
	3	2019.01.15	· 모니터링 보고서 작성
	4	2019.01.16	· 모니터링 보고서 작성
	5	2019.02.25	· 모니터링 보고서 작성
	6	2019.02.26	· 모니터링 보고서 작성
	7	2019.03.13	· 모니터링 보고서 작성
	8	2019.03.14	· 모니터링 보고서 작성
	9	2019.03.21	· 모니터링 보고서 작성
	10	2019.03.22	· 모니터링 보고서 작성
	11	2019.04.04	· 모니터링 보고서 작성
	12	2019.04.05	· 모니터링 보고서 작성
	13	2019.04.11	· 모니터링 보고서 작성
	14	2019.04.12	· 모니터링 보고서 작성
	15	2019.04.23	· 모니터링 보고서 작성
	16	2019.05.15	· 모니터링 보고서 작성
	17	2019.05.16	· 모니터링 보고서 작성
	18	2019.06.07	· 모니터링 보고서 작성
	19	2019.06.13	· 모니터링 보고서 작성
	20	2019.06.14	· 모니터링 보고서 작성
	21	2019.07.03	· 모니터링 보고서 작성
	22	2019.07.10	· 모니터링 보고서 작성
	23	2019.07.11	· 모니터링 보고서 작성
	24	2019.07.19	· 모니터링 보고서 작성
	25	2019.07.24	· 모니터링 보고서 작성
	26	2019.07.29	· 모니터링 보고서 작성
	27	2019.07.30	· 모니터링 보고서 작성
	28	2019.08.01	· 모니터링 보고서 작성
	29	2019.08.02	· 모니터링 보고서 작성

	30	2019.08.05	• 모니터링 보고서 작성
	31	2019.08.06	• 모니터링 보고서 작성

⑥ 모니터링 보고서

CR-EM_001N1.2
Effective Date: 2019.05.13

Site Monitoring Visit30, 31 Report

Protocol No	COSMAX BIQ_WHS
Site Identification	글로벌의학연구소센터
Investigator	이광윤 의학박사

Visit Summary

Monitoring visit date	2018-08-05, 06(월, 31) (30, 31자)
모니터링 장소	글로벌의학연구소센터 회의실
방문 시 참여 연구자	유정서 연구원
방문 모니터링요원	본 모니터링시에 PI meeting은 진행하지 않음
방문 모니터링요원	김이안 CRA

Routine Monitoring Visit Checklist

A. IRB	Yes	No	N/A
A-1 공동연구자 및 인체적용시험 관련 담당자가 변경되었나? (Study Specific Training 기록)		✓	
A-2 지난 방문 이래 연구계획서 변경 및 procedure 변경 사항이 있었나?		✓	
A-3 IRB 및 Regulatory Authority 문서는 적절히 update 되었나? - IRB 승인 유효기간: 2018.11.29-2019.11.29	✓		

B. Investigator

B-1 책임연구자는 responsibilities delegation을 적절히 설정하고, 연구를 수행하고 있는가? (Site Signature & Responsibilities Form)	✓		
B-2 예정된 모집 기간에 따라 대상자가 모집되었나? - 목표: 160명/약 3개월(2018.11-2019.01) - 현재: Screened 280명, Randomized 161명/약 6개월(2018.03.06 대상자 모집 종료) * 신청(제외)기준 위인 대상자 등록되어 4명 추가모집됨		✓	
B-3 대상자 동의서에는 대상자의 서명과 날짜를 기입한 후, 연구자의 서명/날짜를 기록하여 문서화하였는가? (승인받은 동의서에 인체적용시험의 어떠한 지지를 표시하기 전에 서명) - 14차 모니터링 시 모든 대상자의 동의서 확인을 완료함			✓
B-4 연구자는 abnormal laboratory result 및 comment를 적절하게 검토하였는가? - 비정상 결과에 대한 임상적 의미를 판단하여 기록되어 있음을 확인함	✓		
B-5 이상반응 혹은 중대한 이상반응이 발생하였나?		✓	

Confidential Page 1 / 10

CR-EM_001N1.2
Effective Date: 2019.05.13

Site Monitoring Visit30, 31 Report

Protocol No	COSMAX BIQ_WHS
Site Identification	글로벌의학연구소센터
Investigator	이광윤 의학박사

B-6 본 모니터링 시 이상반응 혹은 중대한 이상반응은 발생하지 않음 B-6 지난 방문이래 Unblinding이 발생하였나?				✓
B-7 Investigator Study File 적절히 보관 및 관리되고 있나? - 보관 장소: 글로벌의학연구소센터 연구실 - 보관 파일: ISF binder 1ea, ICF binder 4ea, Source documents binder 5ea, CRF binder 80ea(총 80ea)	✓			

C. Investigational Product

C-1 인체적용시험용 식품이 적절한 온도에 보관되고, Temperature log를 관리하였나? - 보관 장소: 글로벌의학연구소센터 연구실 - 보관 파일: PF binder 1ea				✓
C-2 인체적용시험용 식품이 적절한 온도에 보관되고, Temperature log를 관리하였나? (e.g. Temperature excursion) - 2019.04.30 모든 시험대상자의 인체적용시험용 식품 불량이 완료됨				✓
C-3 의약품으로부터 인체적용시험용 식품의 입고/의사소 시험용 식품의 반납이 진행되었나? - 일정 조율 후 인체적용시험용 식품 의뢰서도 반납 예정		✓		
C-4 인체적용시험용 식품의 재고가 충분한가? - 2019.04.30 모든 시험대상자의 인체적용시험용 식품 불량이 완료됨				✓
C-5 대상자로부터 시험용 식품의 공급과 반환이 정확하게 되었는가? - 29차 모니터링 시 모든 대상자의 처방전, 수불대장 및 시험대상자별 처방기록지 확인을 완료함				✓
C-6 인체적용시험용 식품의 유효기간이 6개월 이상 남았는가? - 유효기간: 2020년 11월 8일	✓			

D. Data Verification

D-1 스크리닝 대상자, 인체적용시험 진행중인 대상자, 조기종료 및 중도탈락 대상자, 인체적용시험을 완료한 대상자는 Subject log에 기록되었나? (Subject Screening & Enrollment Log, Subject Identification Code List)				✓
---	--	--	--	---

Confidential Page 2 / 10

(바) 인체적용시험 종료 및 대상자 등록 결과

- ① 본 인체적용시험은 2018년 11월 30일 첫 인체적용시험 대상자가 스크리닝 되었고, 2019년 05월 31일 마지막 인체적용시험 대상자의 시험이 완료됨.
- ② 적합한 인체적용시험 대상자를 선정하기 위해 총 250명의 인체적용시험 대상자에 대해서 스크리닝 평가를 실시한 결과 스크리닝 탈락 99명으로 총 151명(시험군I 50명, 시험군II 50명, 대조군 51명)이 무작위배정되었음. 이 중 시험군I에서 추적실패 1명, 동의철회 1명으로 총 2명이 중도탈락하여 인체적용시험을 완료한 인체적용시험 대상자는 총 149명이었음(시험군I 48명, 시험군II 50명, 대조군 51명).

(3) Data Management 및 통계분석

(가) Database Development

- ① Annotated CRF : Final version CRF를 바탕으로 Data Dictionary에서 명시하는 변수에 대한 정의를 기술한 Blank CRF
- ② Data Dictionary : Annotated CRF의 자료를 DB에 입력하기 위한 Database Structure로 변수명, 레이블, 속성 등이 정의된 문서

(나) Data Validation Specification (DVS)

- ① 쿼리(Query, 질의) : CRF로 수집해야 하는 자료 중 계획서·CRF 작성 지침에 위반되거나 수집되어야 할 자료의 누락 또는 수집된 자료 간의 일치하지 않는 항목
- ② DVS는 쿼리항목을 사전정의 및 목록화하는 과정으로서, Data의 무결성을 최대화하고, 높은 수준의 Data Quality를 이끌어내기 위하여 실시함.
- ③ Missing Values, Range Checks, Logical Inconsistencies, Protocol Violations 및 적절하지 못한 데이터의 확인 작업 실시
- ④ DVS Test : 작성된 DVS의 정확성을 확인하기 위해 DVS Test를 수행하며, Dummy Data (질의가 각 항목별에 해당하는 자료가 입력되었을 때는 검출되고, 그렇지 않은 자료가 입력되었을 때는 검출되지 않음을 확인하기 위하여 임의로 만드는 자료)를 작성 및 DVS에 적용하여 제대로 실행되는지 검증함. Dummy Data와 출력된 결과와의 불일치를 발견할 경우 이를 해결하여 Retest를 시행하고, Discrepancy가 없을 때까지 반복

(다) DMP (Data Management Plan) 작성

- ① 질 높은 데이터를 제공하고, Project의 분석 목적을 달성하기 위해 시행되는 일련의 Data Management 과정을 계획하여 문서화
- ② DMP의 구성

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">① Signature Page② Modification List③ Abbreviation④ Protocol Summary⑤ Project Team Members and Their Roles⑥ Data Flow⑦ Data Management System⑧ Data Validation⑨ Medical Coding⑩ Database Quality Check(DBQC)⑪ Database Locking/Unlocking⑫ Management of Clinical Study data (Transfer, backup 등)⑬ Archiving |
|--|

③ DMP

<p>Data Management Plan</p> <p>피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험</p> <p>Protocol No. : COSMAX BIO_WHS DMP Ver. No. : 1.0 Version Date : 2019년 04월 30일</p> <p>네오뉴트리원 Confidential</p>	<p>코스맥스바이오㈜ Protocol: COSMAX BIO_WHS Ver. 1.1 DMP Ver. 1.0 4/27</p> <p style="text-align: center;">Table of Contents</p> <p>SIGNATURE PAGE 2 MODIFICATION LIST 3 ABBREVIATION 6 1. PURPOSE 7 2. PROTOCOL SUMMARY 7 3. PROJECT TEAM MEMBERS AND THEIR ROLES 11 4. DATA FLOW 13 4.1. VISIT SCHEDULE 13 4.2. MANAGEMENT OF LABORATORY REFERENCE RANGE 15 4.3. DATA MANAGEMENT PROCEDURES 15 4.4. RECEIPT AND TRACKING OF CRFs 16 4.5. RECEIPT AND MANAGEMENT OF NON-CRF DATA 17 5. DATABASE DESIGN 18 5.1. OVERVIEW OF CRFs AND DATA SET DESCRIPTION 18 5.2. DEVELOPMENT OF DATA ENTRY SCREEN (DES) 18 5.3. EXTERNAL DATA 19 6. DATA ENTRY 19 6.1. SCHEDULE OF DATA ENTRY 19 6.2. METHOD OF DATA ENTRY 19 7. DATA VALIDATION 20 7.1. DATA VALIDATION SPECIFICATION (DVS) 20 7.2. SELF EVIDENT CORRELATION (SEC) 20 7.3. DCF GENERATION/RESOLUTION 21 7.4. EXTERNAL DATA RECONCILIATION 22 8. MEDICAL CODING 22 9. SAE RECONCILIATION 23 10. DATABASE QUALITY CHECK (DBQC) 23 10.1. VARIABLE FOR DBQC 23</p> <p>네오뉴트리원 Confidential</p>
---	---

(라) Medical Coding

- ① 시험과정에서 수집된 이상반응, 병력, 약물에 대한 자료를 표준용어체계를 이용하여 일괄된 용어로 선택함으로써 자료저장, 검색, 분석, 표현을 용이하게 할 뿐만 아니라 자료의 활용도를 높이고, 신속하고 정확한 정보교환을 가능케 함.
- ② Coding dictionary
 - ㉠ 이상반응, 동반질환 및 병력, 수술력 : MedDRA ver.22.0 이상
 - ㉡ 투여력(선행약물) : WHO drug reference 2019 (ATC code)

(마) DB(Database) Locking

- ① Data Cleaning을 확인하고 사전에 정해진 절차에 따라 DB를 잠그는 과정
- ② 실시목적 : 관련자들의 접근 권한을 제한하여 분석이 가능한 자료로 생성하고, 완료된 자료를 저장, 보관하며, 시험 자료의 결과도출, 분석, 제출과정의 데이터 무결성(Data Integrity)을 확보하기 위함.
- ③ DB Locking 시 점검내용

- 모든 Data가 입력되었는가?
- Medical Coding이 종료되었는가?
- CRF에 기록된 자료들에 대한 임상적 검토가 종료되었는가?
- 모든 Query가 해결되었는가? (Query Resolution)

(바) 통계분석 실시

① 통계분석 방법

- ㉠ 통계분석은 SAS[®] (Version 9.4, SAS Institute, Cary, North Carolina, USA)를 이용하여 분석
- ㉡ 인구학적 평가 분석, 유효성 평가 분석, 안전성 평가 분석은 유의수준 0.05로 설정하여 양측검정을 실시하였음. 모든 분석의 p-value에 대해서는 소수점 4자리까지 제시하였으며, 모든 분석의 p-value가 <0.05이면 유의한 것으로 간주함.
- ㉢ 평균, 표준편차, 백분율 등 소수점 이하의 값을 가지는 수치에 대해서는 소수점 2자리까지 제시

② 분석의 일반적 원칙

- ㉠ 본 인체적용시험의 인체적용시험 대상자로부터 얻어진 자료는 크게 Safety Set 분석, FA Set (Full Analysis Set) 분석과 PP Set (Per Protocol Set) 분석의 세 가지 형태로 이루어짐.
- ㉡ Safety Set 분석은 안전성 평가 변수 분석 시 적용되는 분석법으로, 무작위배정 후 인체적용시험용 식품을 한번이라도 섭취한 인체적용시험 대상자 집단을 대상으로 분석
- ㉢ 본 인체적용시험에 무작위배정을 받은 모든 인체적용시험 대상자를 분석 대상으로 하는 원칙(ITT)에 따라, FA Set 분석은 인체적용시험용 식품을 1회 이상 섭취한 후 유효성 평가를 1회 이상 시행한 인체적용시험 대상자이며 주요 선정기준 위반에 해당되지 않는 집단을 대상으로 분석
- ㉣ PP Set 분석은 FA Set 중에서 인체적용시험을 종료하고, 인체적용시험 결과에 영향을 미치는 중대한 위반사항(선정/제외기준 위반 등)이 없는 인체적용시험 대상자 집단을 대상으로 분석
- ㉤ 유효성에 대한 자료는 PP Set 분석을 주 분석법으로 하였고, FA Set 분석을 추가적으로 실시하였음. 인구학적 및 영양분석에 대한 자료는 PP Set 분석을 주 분석법으로 하였고, 안전성에 대한 자료는 Safety Set 분석을 주 분석법으로 실시
- ㉥ 결측치가 발생한 경우, 결측치가 발생한 시점을 기준으로 가장 최근에 얻어진 자료를 이용하여 보정(LOCF)하여 분석함. 단, 인체적용시험용 식품을 섭취하기 이전의 자료(Baseline)로 대체하지 않으며, 유효성 평가변수 이외의 모든 분석 항목에 대해서는 결측치를 대체하지 않고 있는 그대로의 자료로 분석을 시행
- ㉦ 본 인체적용시험에서 얻은 자료는 적당한 기술 통계량으로 평균(Mean)과 표준편차(Standard deviation)를 산출하여 제시하였으며, 차이(Difference)에 대한 유의성은 양측검정으로 $p < 0.05$ 수준에서 검증
- ㉧ 유효성 평가 변수에 대한 분석방법으로 평가 변수와 연관이 있는 인체적용시험 대상자의 기저특성(공변량, 인체적용시험 대상자가 인체적용시험용 식품을 복용하기 전에 관찰되거나 측정된 일차 유효성 평가 변수에 영향을 미칠 것으로 예상되는 변수)을 고려하여 분석하는 ANCOVA를 실시
- ㉨ Sub-set (group) analysis (소집단 분석)는 무작위배정 이전 또는 치료시작 전의 인체적용시험 대상자의 초기 특성으로 범주화하여 분석

③ 유효성 평가 변수에 대한 분석

1차 유효성 변수	<ul style="list-style-type: none"> ○ 피부 주름 및 피부 수분량에 대해서 각 항목의 섭취 전후 변화의 정도는 반복 측정 자료로 Repeated Measures ANOVA를 이용하여 분석 ○ 섭취 군간의 차이는 사용 전 대비 변화량을 구하여 비교하였으며, 정규성 검정 후 각 군별로 Independent samples t-test를 실시
2차 유효성 변수	<ul style="list-style-type: none"> ○ 경피수분손실량, 피부 탄력, 피부결, 피부주름 거칠기에 대해서 각 항목의 섭취 전후 변화의 정도는 반복 측정 자료로 Repeated Measures ANOVA를 이용하여 분석 ○ 섭취 군간의 차이는 사용 전 대비 변화량을 구하여 비교하였으며, 정규성 검정 후 각 군별로 Independent samples t-test를 실시 ○ 시험자 및 인체적용시험 대상자 개선도평가의 군간 차이는 one-way ANOVA test를 실시 ○ 군간 비교에서 유의한 결과를 가질 경우에는 다중비교 (Multiple comparison)방법을 이용하여 분석

④ 안전성 평가 변수에 대한 분석

이상반응	<ul style="list-style-type: none"> ○ 인체적용시험기간 동안 보고된 모든 이상반응은 MedDRA preferred term에 따라 Coding 하였으며, 인체적용시험용 식품 섭취 후 발생한 모든 이상반응을 도표화한 후 발생률을 산출하여 평가 ○ 각 군간 이상반응이 발생한 인체적용시험 대상자의 비율을 계산하고 카이제곱검정(Chi-square test) 또는 피셔의 정확검정(Fisher's exact test)을 이용하여 비교 분석
임상병리검사(혈액학적/혈액화학적검사, 뇨검사)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 섭취 전(방문1: Screening visit, week -3)과 섭취 후(방문5: Closing visit, week 12)의 임상병리검사 결과를 비교하여 변화값을 산출 ○ 혈액학적 및 혈액화학적 검사치와 같이 연속형(Continuous type) 자료의 군내 비교는 Paired t-test를 이용하였고, 군간 비교는 one-way ANOVA test를 실시 ○ 군간 비교에서 유의한 결과를 가질 경우에는 다중비교 (Multiple comparison) 방법을 이용하여 분석 ○ 뇨검사의 일부 측정 변수의 경우는 정상과 비정상으로 나누어 McNemar test를 실시하여 군내 차이를 비교
활력징후(맥박, 혈압), 신체계측(체중)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 활력징후(맥박, 혈압), 신체계측(체중) 검사치에 대하여 섭취 전과 후의 차이에 대한 군내비교는 Paired t-test를 이용하였고, 군간 비교는 one-way ANOVA test를 실시

○ 군간 비교에서 유의한 결과를 가질 경우에는 다중비교 (Multiple comparison) 방법을 이용하여 분석

(4) 결과보고서 작성



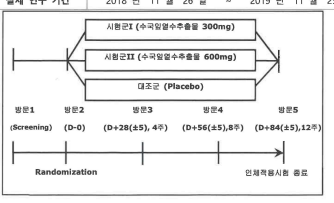


- (가) 인체적용시험 종료 결과 및 통계분석에 따른 결과를 바탕으로 결과보고서 작성
- (나) 유효성 및 안전성 평가자료에 근거하여 해당 약물의 유용성을 유익성-위험성 차원에서 최종적으로 평가하며, 기존 자료에 비추어 임상적으로 어떤 의미를 갖는지 고찰
- (다) 수록문서

- ① 최종 승인된 인체적용시험 계획서
- ② 최종 승인된 시험자 자료집(Investigator’s Brochure)
- ③ 시험 대상자 동의서 및 설명문
- ④ 증례기록서 사본
- ⑤ 인체적용시험 심의에 대한 IRB status
- ⑥ 인체적용시험계획 변경 및 종료 심의의뢰서, 승인통지서
- ⑦ 무작위배정표
- ⑧ 인체적용시험 책임자 서명
- ⑨ 시험대상자 일람표(인구학적 정보, 복용전 특성, 복용 순응도, 병용약물, 유효성 평가 결과, 안전성 평가결과)

(라) 결과보고서

<div style="text-align: right; font-size: small;"> 코스맥스바이오㈜ Clinical Study Report (Version 1.0) Protocol No.: COSMAX_BIO_WHS Ver. 1.1 </div> <div style="text-align: right; font-size: x-small;">1/195</div> <p style="text-align: center; margin-top: 20px;">인체적용시험 결과보고서</p> <p style="text-align: center; margin-top: 20px;">피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 20px;"> <tr> <td style="width: 30%; border-bottom: 1px solid black;">시험약품</td> <td style="border-bottom: 1px solid black;">WHS(수국알칼수추출물)</td> </tr> <tr> <td style="border-bottom: 1px solid black;">인체적용시험 의뢰자</td> <td style="border-bottom: 1px solid black;">코스맥스바이오㈜ 경기도 성남시 분당구 판교로 255번길 35</td> </tr> <tr> <td style="border-bottom: 1px solid black;">인체적용시험 시작일</td> <td style="border-bottom: 1px solid black;">2018.11.30 (첫 인체적용시험 대상자 스크리닝일)</td> </tr> <tr> <td style="border-bottom: 1px solid black;">인체적용시험 종료일</td> <td style="border-bottom: 1px solid black;">2019.05.31 (마지막 인체적용시험 대상자 시험완료일)</td> </tr> <tr> <td style="border-bottom: 1px solid black;">인체적용시험 책임자</td> <td style="border-bottom: 1px solid black;">이광훈 (㈜글로벌의학연구원 의학박사)</td> </tr> <tr> <td style="border-bottom: 1px solid black;">인체적용시험 실시기관</td> <td style="border-bottom: 1px solid black;">㈜글로벌의학연구원 (서울시 강남구 도산대로 107)</td> </tr> <tr> <td style="border-bottom: 1px solid black;">인체적용시험 결과보고서 작성일</td> <td style="border-bottom: 1px solid black;">2019.10.16</td> </tr> </table> <p style="font-size: x-small; margin-top: 20px;">본 인체적용시험은 국제 임상시험관리기준(ICH GCP)에 준하여 시행되었습니다. 본 보고서에 포함된 모든 정보는 코스맥스바이오㈜의 서면 동의없이 공개될 수 없습니다.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between; font-size: x-small; margin-top: 20px;"> NeoNutra co., Ltd. (www.NeoNutra.com) Confidential </div>	시험약품	WHS(수국알칼수추출물)	인체적용시험 의뢰자	코스맥스바이오㈜ 경기도 성남시 분당구 판교로 255번길 35	인체적용시험 시작일	2018.11.30 (첫 인체적용시험 대상자 스크리닝일)	인체적용시험 종료일	2019.05.31 (마지막 인체적용시험 대상자 시험완료일)	인체적용시험 책임자	이광훈 (㈜글로벌의학연구원 의학박사)	인체적용시험 실시기관	㈜글로벌의학연구원 (서울시 강남구 도산대로 107)	인체적용시험 결과보고서 작성일	2019.10.16	<div style="text-align: right; font-size: small;"> 코스맥스바이오㈜ Clinical Study Report (Version 1.0) Protocol No.: COSMAX_BIO_WHS Ver. 1.1 </div> <div style="text-align: right; font-size: x-small;">21/195</div> <p style="text-align: center; margin-top: 20px;">2. 목 차</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 20px;"> <tr> <td style="width: 80%;">1. 인체적용시험 결과보고서 요약</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">2</td> </tr> <tr> <td>2. 목 차</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">21</td> </tr> <tr> <td>3. 윤리적 고려에 대한 기술</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">29</td> </tr> <tr> <td> 3.1. 인체적용시험 관리기준</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">29</td> </tr> <tr> <td> 3.2. 인체적용시험계획서의 승인</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">29</td> </tr> <tr> <td> 3.3. 인체적용시험 대상자 동의</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">30</td> </tr> <tr> <td> 3.4. 비밀보장</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">31</td> </tr> <tr> <td>4. 시험자 및 실시기관 조직</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">31</td> </tr> <tr> <td> 4.1. 인체적용시험 실시기관(Institution)</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">31</td> </tr> <tr> <td> 4.2. 인체적용시험 시험자 및 담당자</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">31</td> </tr> <tr> <td> 4.2.1. 인체적용시험 책임자(Principal Investigator)</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">32</td> </tr> <tr> <td> 4.2.2. 인체적용시험 담당자(Clinical Research Coordinator)</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">32</td> </tr> <tr> <td> 4.3. 인체적용시험 의뢰자(Sponsor)</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">32</td> </tr> <tr> <td> 4.4. 인체적용시험 수탁기관(Contract Research Organization, CRO)</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">32</td> </tr> <tr> <td>5. 인체적용시험의 목적 및 배경</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">32</td> </tr> <tr> <td> 5.1. 인체적용시험의 목적</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">32</td> </tr> <tr> <td> 5.2. 인체적용시험의 배경</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">33</td> </tr> <tr> <td>6. 인체적용시험용 식품</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">34</td> </tr> <tr> <td> 6.1. 인체적용시험용 식품의 개요</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">34</td> </tr> <tr> <td> 6.1.1. 시험식품 I(수국알칼수추출물 300 mg)</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">34</td> </tr> <tr> <td> 6.1.2. 시험식품 II(수국알칼수추출물 600 mg)</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">35</td> </tr> <tr> <td> 6.1.3. 대조식품(Placebo)</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">36</td> </tr> <tr> <td>7. 무작위배정</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">36</td> </tr> <tr> <td> 7.1. 이중눈가림</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">37</td> </tr> <tr> <td>8. 인체적용시험 계획</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">38</td> </tr> <tr> <td> 8.1. 인체적용시험의 설계</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">38</td> </tr> <tr> <td> 8.1.1. 시험기간</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">38</td> </tr> <tr> <td> 8.1.2. 인체적용시험 중지 및 탈락기준, 계획서 위반 처리</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">39</td> </tr> <tr> <td> 8.1.2.1. 인체적용시험 중지 및 탈락기준</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">39</td> </tr> <tr> <td> 8.1.2.2. 인체적용시험계획서 위반에 대한 처리</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">39</td> </tr> <tr> <td> 8.2. 관찰항목, 임상평가 항목 및 방법</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">40</td> </tr> <tr> <td> 8.2.1. 관찰항목</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">40</td> </tr> <tr> <td> 8.2.1.1. 인체적용시험 대상자 동의 및 인구학적 조사</td> <td style="text-align: right; vertical-align: bottom;">40</td> </tr> </table> <div style="display: flex; justify-content: space-between; font-size: x-small; margin-top: 20px;"> NeoNutra co., Ltd. (www.NeoNutra.com) Confidential </div>	1. 인체적용시험 결과보고서 요약	2	2. 목 차	21	3. 윤리적 고려에 대한 기술	29	3.1. 인체적용시험 관리기준	29	3.2. 인체적용시험계획서의 승인	29	3.3. 인체적용시험 대상자 동의	30	3.4. 비밀보장	31	4. 시험자 및 실시기관 조직	31	4.1. 인체적용시험 실시기관(Institution)	31	4.2. 인체적용시험 시험자 및 담당자	31	4.2.1. 인체적용시험 책임자(Principal Investigator)	32	4.2.2. 인체적용시험 담당자(Clinical Research Coordinator)	32	4.3. 인체적용시험 의뢰자(Sponsor)	32	4.4. 인체적용시험 수탁기관(Contract Research Organization, CRO)	32	5. 인체적용시험의 목적 및 배경	32	5.1. 인체적용시험의 목적	32	5.2. 인체적용시험의 배경	33	6. 인체적용시험용 식품	34	6.1. 인체적용시험용 식품의 개요	34	6.1.1. 시험식품 I(수국알칼수추출물 300 mg)	34	6.1.2. 시험식품 II(수국알칼수추출물 600 mg)	35	6.1.3. 대조식품(Placebo)	36	7. 무작위배정	36	7.1. 이중눈가림	37	8. 인체적용시험 계획	38	8.1. 인체적용시험의 설계	38	8.1.1. 시험기간	38	8.1.2. 인체적용시험 중지 및 탈락기준, 계획서 위반 처리	39	8.1.2.1. 인체적용시험 중지 및 탈락기준	39	8.1.2.2. 인체적용시험계획서 위반에 대한 처리	39	8.2. 관찰항목, 임상평가 항목 및 방법	40	8.2.1. 관찰항목	40	8.2.1.1. 인체적용시험 대상자 동의 및 인구학적 조사	40
시험약품	WHS(수국알칼수추출물)																																																																																
인체적용시험 의뢰자	코스맥스바이오㈜ 경기도 성남시 분당구 판교로 255번길 35																																																																																
인체적용시험 시작일	2018.11.30 (첫 인체적용시험 대상자 스크리닝일)																																																																																
인체적용시험 종료일	2019.05.31 (마지막 인체적용시험 대상자 시험완료일)																																																																																
인체적용시험 책임자	이광훈 (㈜글로벌의학연구원 의학박사)																																																																																
인체적용시험 실시기관	㈜글로벌의학연구원 (서울시 강남구 도산대로 107)																																																																																
인체적용시험 결과보고서 작성일	2019.10.16																																																																																
1. 인체적용시험 결과보고서 요약	2																																																																																
2. 목 차	21																																																																																
3. 윤리적 고려에 대한 기술	29																																																																																
3.1. 인체적용시험 관리기준	29																																																																																
3.2. 인체적용시험계획서의 승인	29																																																																																
3.3. 인체적용시험 대상자 동의	30																																																																																
3.4. 비밀보장	31																																																																																
4. 시험자 및 실시기관 조직	31																																																																																
4.1. 인체적용시험 실시기관(Institution)	31																																																																																
4.2. 인체적용시험 시험자 및 담당자	31																																																																																
4.2.1. 인체적용시험 책임자(Principal Investigator)	32																																																																																
4.2.2. 인체적용시험 담당자(Clinical Research Coordinator)	32																																																																																
4.3. 인체적용시험 의뢰자(Sponsor)	32																																																																																
4.4. 인체적용시험 수탁기관(Contract Research Organization, CRO)	32																																																																																
5. 인체적용시험의 목적 및 배경	32																																																																																
5.1. 인체적용시험의 목적	32																																																																																
5.2. 인체적용시험의 배경	33																																																																																
6. 인체적용시험용 식품	34																																																																																
6.1. 인체적용시험용 식품의 개요	34																																																																																
6.1.1. 시험식품 I(수국알칼수추출물 300 mg)	34																																																																																
6.1.2. 시험식품 II(수국알칼수추출물 600 mg)	35																																																																																
6.1.3. 대조식품(Placebo)	36																																																																																
7. 무작위배정	36																																																																																
7.1. 이중눈가림	37																																																																																
8. 인체적용시험 계획	38																																																																																
8.1. 인체적용시험의 설계	38																																																																																
8.1.1. 시험기간	38																																																																																
8.1.2. 인체적용시험 중지 및 탈락기준, 계획서 위반 처리	39																																																																																
8.1.2.1. 인체적용시험 중지 및 탈락기준	39																																																																																
8.1.2.2. 인체적용시험계획서 위반에 대한 처리	39																																																																																
8.2. 관찰항목, 임상평가 항목 및 방법	40																																																																																
8.2.1. 관찰항목	40																																																																																
8.2.1.1. 인체적용시험 대상자 동의 및 인구학적 조사	40																																																																																

(마) 최종 완료된 결과보고서를 IRB에 제출하여 결과보고 IRB 승인 획득

<div style="text-align: center;">  글로벌의학연구원 기관생명윤리위원회(IRB) 임상연구계획 결과보고 신청서  </div> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="5" style="text-align: center;">기본 정보</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>과제 관리번호</td> <td colspan="4">GIRB-18N02-AC</td> </tr> <tr> <td>연구 과제명</td> <td colspan="4">피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험</td> </tr> <tr> <td>연구 책임자</td> <td>성명</td> <td>소속</td> <td>직위</td> <td>전공분야</td> </tr> <tr> <td></td> <td>이광훈</td> <td>글로벌의학연구원</td> <td>의학 박사</td> <td>피부과</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">연구 정보</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>연구 종류</td> <td><input checked="" type="checkbox"/> 인건대상연구 <input type="checkbox"/> 기타 : _____</td> </tr> <tr> <td>연구 기관</td> <td><input checked="" type="checkbox"/> 단일기관 <input type="checkbox"/> 다기관 (참여기관 수 : _____)</td> </tr> <tr> <td>연구 예정기간</td> <td>생명윤리위원회 승인일 ~ 2019년 12월 31일</td> </tr> <tr> <td>연구 위험성</td> <td><input checked="" type="checkbox"/> Level I (최소위험) <input type="checkbox"/> Level II (최소위험에서 약간 증가) <input type="checkbox"/> Level III (중등도 위험) <input type="checkbox"/> Level IV (고위험)</td> </tr> <tr> <td>보고서 제출 근거</td> <td><input checked="" type="checkbox"/> 정상적 종료 <input type="checkbox"/> 조기 종료</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="3" style="text-align: center;">연구 결과 요약</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>연구 수행기간</td> <td>연구 예정 기간</td> <td>공용심의위원회 승인일 ~ 2019년 12월 31일</td> </tr> <tr> <td></td> <td>실제 연구 기간</td> <td>2018년 11월 26일 ~ 2019년 11월 25일</td> </tr> </tbody> </table> <div style="text-align: center;">  <p>시험군I (수극일물수주출발 300mg) 시험군II (수극일물수주출발 600mg) 대조군 (Placebo)</p> <p>방문1 (Screening) (D-0) (D+28(±5), 4주) (D+56(±5), 8주) (D+84(±5), 12주)</p> <p>방문2 방문3 방문4 방문5</p> <p>Randomization 인체적용시험 종료</p> </div>	기본 정보					과제 관리번호	GIRB-18N02-AC				연구 과제명	피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험				연구 책임자	성명	소속	직위	전공분야		이광훈	글로벌의학연구원	의학 박사	피부과	연구 정보		연구 종류	<input checked="" type="checkbox"/> 인건대상연구 <input type="checkbox"/> 기타 : _____	연구 기관	<input checked="" type="checkbox"/> 단일기관 <input type="checkbox"/> 다기관 (참여기관 수 : _____)	연구 예정기간	생명윤리위원회 승인일 ~ 2019년 12월 31일	연구 위험성	<input checked="" type="checkbox"/> Level I (최소위험) <input type="checkbox"/> Level II (최소위험에서 약간 증가) <input type="checkbox"/> Level III (중등도 위험) <input type="checkbox"/> Level IV (고위험)	보고서 제출 근거	<input checked="" type="checkbox"/> 정상적 종료 <input type="checkbox"/> 조기 종료	연구 결과 요약			연구 수행기간	연구 예정 기간	공용심의위원회 승인일 ~ 2019년 12월 31일		실제 연구 기간	2018년 11월 26일 ~ 2019년 11월 25일	<div style="text-align: center;">  글로벌의학연구원 기관생명윤리위원회(IRB) 인체적용평가 심의결과통지서  </div> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>심의번호</th> <td>GIRB-18N02-AC</td> <th>접수일자</th> <td>2019-10-29</td> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>연구 과제명</td> <td colspan="3">피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험</td> </tr> <tr> <td>책임 연구자</td> <td>성명</td> <td>이 광 훈</td> <td>소속</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>글로벌의학연구원</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>의뢰 기관</th> <td>기관명</td> <td>로스텍스바이오㈜</td> <td>주소</td> <td>경기도 성남시 분당구 판교로 255번길 35</td> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>성명</td> <td>김경수</td> <td>직위</td> <td>대표이사</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>연구 대상</th> <td>상용명</td> <td colspan="3">피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험</td> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td><input type="checkbox"/> 일반화장품</td> <td><input type="checkbox"/> 기능성화장품</td> <td><input type="checkbox"/> 의약품</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td><input type="checkbox"/> 의료기기</td> <td colspan="2"><input type="checkbox"/> 건강기능식품 <input type="checkbox"/> 기타</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>심의 종류</th> <td colspan="4"><input checked="" type="checkbox"/> 정규심의 <input type="checkbox"/> 신속심의</td> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>연구 기간</td> <td>2018년 11월 26일</td> <td>~</td> <td>2019년 11월 25일</td> <td></td> </tr> <tr> <td>심의 내용</td> <td colspan="4"><input checked="" type="checkbox"/> 신규 <input type="checkbox"/> 보완</td> </tr> <tr> <td></td> <td colspan="4"><input type="checkbox"/> 승인신청서 <input type="checkbox"/> 변경신청서 <input type="checkbox"/> 중간보고서 <input type="checkbox"/> 종료보고서 <input checked="" type="checkbox"/> 결과보고서 <input type="checkbox"/> 기타</td> </tr> </tbody> </table> <p>임상연구가 특별한 문제가 잘 진행되었고 부작용 발생이 거의 없었고, 있었던 경우도 연구에 사용된 물질과 상관성이 없는 것으로 보입니다. 연구를 통해 해당 물질의 주름 및 보습에 대한 유효성을 확인할 것으로 나타났고, 결과 및 통계값 등이 잘 정리 되어 있습니다. 이에 본 연구의 결과보고를 승인합니다.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 승인 <input type="checkbox"/> 시정승인 <input type="checkbox"/> 보완 <input type="checkbox"/> 보류 <input type="checkbox"/> 중지 <input type="checkbox"/> 반려 <input type="checkbox"/> 심의면제</p> <p>√ 본 통지서에 기재된 사항은 글로벌의학연구원 생명윤리위원회의 기록과 일치함을 증명합니다. √ 본 생명윤리위원회는 의약품 임상시험 관리기준(KGCP) 및 생명윤리 및 안전에 관한 법률 등을 준수합니다. √ 본 인체적용평가의 결과는 의뢰자의 사전 동의 없이 외부에 유출될 수 없습니다.</p> <p style="text-align: right;">귀하가 접수하신 연구에 대하여 본 생명윤리위원회의 심의 결과를 통지합니다.</p> <p style="text-align: right;">2019년 11월 02일</p> <p style="text-align: right;">글로벌의학연구원 기관생명윤리위원회 위원장 오 상 호</p>	심의번호	GIRB-18N02-AC	접수일자	2019-10-29	연구 과제명	피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험			책임 연구자	성명	이 광 훈	소속				글로벌의학연구원	의뢰 기관	기관명	로스텍스바이오㈜	주소	경기도 성남시 분당구 판교로 255번길 35		성명	김경수	직위	대표이사	연구 대상	상용명	피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험					<input type="checkbox"/> 일반화장품	<input type="checkbox"/> 기능성화장품	<input type="checkbox"/> 의약품			<input type="checkbox"/> 의료기기	<input type="checkbox"/> 건강기능식품 <input type="checkbox"/> 기타		심의 종류	<input checked="" type="checkbox"/> 정규심의 <input type="checkbox"/> 신속심의				연구 기간	2018년 11월 26일	~	2019년 11월 25일		심의 내용	<input checked="" type="checkbox"/> 신규 <input type="checkbox"/> 보완					<input type="checkbox"/> 승인신청서 <input type="checkbox"/> 변경신청서 <input type="checkbox"/> 중간보고서 <input type="checkbox"/> 종료보고서 <input checked="" type="checkbox"/> 결과보고서 <input type="checkbox"/> 기타			
기본 정보																																																																																																												
과제 관리번호	GIRB-18N02-AC																																																																																																											
연구 과제명	피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험																																																																																																											
연구 책임자	성명	소속	직위	전공분야																																																																																																								
	이광훈	글로벌의학연구원	의학 박사	피부과																																																																																																								
연구 정보																																																																																																												
연구 종류	<input checked="" type="checkbox"/> 인건대상연구 <input type="checkbox"/> 기타 : _____																																																																																																											
연구 기관	<input checked="" type="checkbox"/> 단일기관 <input type="checkbox"/> 다기관 (참여기관 수 : _____)																																																																																																											
연구 예정기간	생명윤리위원회 승인일 ~ 2019년 12월 31일																																																																																																											
연구 위험성	<input checked="" type="checkbox"/> Level I (최소위험) <input type="checkbox"/> Level II (최소위험에서 약간 증가) <input type="checkbox"/> Level III (중등도 위험) <input type="checkbox"/> Level IV (고위험)																																																																																																											
보고서 제출 근거	<input checked="" type="checkbox"/> 정상적 종료 <input type="checkbox"/> 조기 종료																																																																																																											
연구 결과 요약																																																																																																												
연구 수행기간	연구 예정 기간	공용심의위원회 승인일 ~ 2019년 12월 31일																																																																																																										
	실제 연구 기간	2018년 11월 26일 ~ 2019년 11월 25일																																																																																																										
심의번호	GIRB-18N02-AC	접수일자	2019-10-29																																																																																																									
연구 과제명	피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험																																																																																																											
책임 연구자	성명	이 광 훈	소속																																																																																																									
			글로벌의학연구원																																																																																																									
의뢰 기관	기관명	로스텍스바이오㈜	주소	경기도 성남시 분당구 판교로 255번길 35																																																																																																								
	성명	김경수	직위	대표이사																																																																																																								
연구 대상	상용명	피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험																																																																																																										
		<input type="checkbox"/> 일반화장품	<input type="checkbox"/> 기능성화장품	<input type="checkbox"/> 의약품																																																																																																								
		<input type="checkbox"/> 의료기기	<input type="checkbox"/> 건강기능식품 <input type="checkbox"/> 기타																																																																																																									
심의 종류	<input checked="" type="checkbox"/> 정규심의 <input type="checkbox"/> 신속심의																																																																																																											
연구 기간	2018년 11월 26일	~	2019년 11월 25일																																																																																																									
심의 내용	<input checked="" type="checkbox"/> 신규 <input type="checkbox"/> 보완																																																																																																											
	<input type="checkbox"/> 승인신청서 <input type="checkbox"/> 변경신청서 <input type="checkbox"/> 중간보고서 <input type="checkbox"/> 종료보고서 <input checked="" type="checkbox"/> 결과보고서 <input type="checkbox"/> 기타																																																																																																											
<p>심의 신청서</p>	<p>승인 통보서</p>																																																																																																											

(바) 인체적용시험 결론

<p>피부 주름 육안평가 (Grade)</p>	<p>○ 좌측, 우측 눈꼬리 부위의 피부 주름 grade 측정 결과, 섭취 12주 후 양측 모두 대조군 대비 시험군I(p<0.0001#, p=0.0021#) 및 시험군II(p<0.0001#, p=0.0005#)에서 유의한 차이가 나타남.</p>
<p>피부 눈가 주름 (대표Parameter : R3)</p>	<p>○ 좌측, 우측 눈꼬리 부위의 피부 주름 측정(R3) 결과, 섭취 12주 후 양측 모두 대조군 대비 시험군I(p<0.0001#, p<0.0001#) 및 시험군II(p<0.0001#, p<0.0001#)에서 유의한 차이가 나타남.</p>
<p>피부 수분 (A.U.)</p>	<p>○ 좌측, 우측 피부 수분 측정 결과, 섭취 12주 후 양측 모두 대조군 대비 시험군I(p<0.0001#, p=0.0014#) 및 시험군II(p<0.0001#, p<0.0001#)에서 유의한 차이가 나타남.</p>
<p>경피수분손실량 (g/h/m²)</p>	<p>○ 좌측, 우측 피부 경피수분손실량 측정 결과, 섭취 12주 후 양측 모두 대조군 대비 시험군I(p=0.5716*, p=0.1843#) 및 시험군II(p=0.1747#, p=0.6233#)에서 유의한 차이가 나타나지 않았다.</p>
<p>피부 탄력 (대표Parameter : R2)</p>	<p>○ 좌측 피부 탄력(R2) 측정 결과, 섭취 12주 후 대조군 대비 시험군I(p=0.0198*) 및 시험군II(p=0.0369#)에서 유의한 차이가 나타났고, 우측 부위의 측정결과에서는 대조군 대비 시험군II(p=0.0115#)에서 만 유의한 차이가 나타남.</p>
<p>피부 결 (Ra)</p>	<p>○ 좌측, 우측 볼 부위의 피부 결 측정 결과, 섭취 12주 후 양측 모두 대조군 대비 시험군I(p=0.0001#, p<0.0001#) 및 시험군II(p<0.0001#, p<0.0001#)에서 유의한 차이가 나타남.</p>

피부주름 거칠기 (Depth)	○ 좌측, 우측 눈꼬리 부위의 피부주름 거칠기 측정 결과, 섭취 12주 후 양측 모두 대조군 대비 시험군I($p<0.0001^{\#}$, $p=0.0002^{\#}$) 및 시험군II($p<0.0001^{\#}$, $p=0.0012^{\#}$)에서 유의한 차이가 나타남.
시험자 개선도 평가	○ 시험자의 개선도 평가 결과, 섭취 12주 후 대조군 대비 시험군 I($p<0.0001^{\#}$) 및 시험군II($p<0.0001^{\#}$)에서 유의한 차이가 나타남.
인체적용시험 대상자 개선도 평가	○ 인체적용시험 대상자 개선도 평가 결과, 섭취 12주 후 대조군, 시험군I 및 시험군II 세 군간 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았으나($p=0.7814$), 대체로 개선되는 효과가 있는 것으로 나타남.
임상병리검사	○ 혈액검사 중 Hb, Hct, T. protein, T. bilirubin 항목이 섭취 12주 후 세 군간 통계적으로 유의한 차이가 있었으나 임상적 의미가 없다고 판단됨. ○ 이 외 모든 혈액 및 뇨검사 항목에서 섭취 12주 후 세 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.
혈압 및 체중	○ 맥박은 섭취 12주 후 세 군간 통계적으로 유의한 차이가 있었으나, 모두 정상범위였으며, 이외 수축기혈압, 이완기혈압, 체중 모두 섭취 12주 후 세 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.
종합 결론	○ 결론적으로 본 인체적용시험을 통해 건조한 피부를 가지고 있으며, 주름이 있는 성인에서 수국잎열수추출물을 경구투여하였을 때 시험군I (300 mg), 시험군II (600 mg) 모두 대조군에 비해 피부주름 개선효과 및 보습효과가 우수하였음. ○ 또한, 특이한 이상반응은 발견되지 않아 수국잎열수추출물은 안전하고, 건조피부와 주름개선에 효과적인 식품으로 사료됨.

⇒ 현재 인체적용시험 결과에 대한 SCI급 논문 투고 완료

(5) 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청

(가) 식품의약품안전처 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청서 작성 및 신청

개별인정형 기능성 “피부건강에 도움을 줄 수 있음” 내 2건의 기능성에 대한 신청서 작성

- ① 자외선에 의한 피부손상으로부터 피부건강 유지하는데 도움을 줄 수 있음
- ② 피부보습에 도움을 줄 수 있음

(나) 제출문서

- ① 제출자료 전체의 총괄 요약본
- ② 기원, 개발경위, 국내/외 인정 및 사용현황 등에 관한 자료
- ③ 제조방법 및 그에 관한 자료
- ④ 원료의 특성에 관한 자료
- ⑤ 기능성분(또는 지표성분)에 대한 규격 및 시험방법에 관한 자료
- ⑥ 유해물질에 대한 규격 및 시험방법에 관한 자료
- ⑦ 안전성에 관한 자료

- ⑧ 기능성내용 및 그에 관한 자료
- ⑨ 섭취량, 섭취시 주의사항 및 그 설정에 관한 자료
- ⑩ 의약품과 같거나 유사하지 않음을 확인하는 자료

(다) 신청서 및 접수증

자외선에 의한 피부손상으로부터 피부건강 유지하는데 도움을 줄 수 있음	피부보습에 도움을 줄 수 있음																																																																																																																																																																				
신청서																																																																																																																																																																					
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>1. 제출자료의 총괄 요약본</p> <p><input type="checkbox"/> 신청원료 개요 (■최초, □변경)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; font-size: 8px;"> <tr> <td style="width: 15%;">업 체 명(기관명)</td> <td colspan="3">코스맥스바이오(주) (대표자 : 김경수)</td> </tr> <tr> <td>영업의 종류</td> <td>건강기능식품 전문제조업</td> <td>허가/신고/등록번호</td> <td>제 20040020002 호</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">주소 및 연락처</td> <td colspan="3">* 충청북도 제천시 바이오밸리3로 30 (연락처) 031-8018-0384 (팩스) 031-8018-0399</td> </tr> <tr> <td>담당자</td> <td>(이름) 이선희 (연락처) 010-3252-1642</td> <td></td> </tr> <tr> <td>대행자</td> <td>(이름) 이난희 (연락처) 010-9525-6780</td> <td></td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">신청 원료명</td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">수국잎열수추출물</td> </tr> <tr> <td rowspan="10" style="background-color: #ffffcc; text-align: center; vertical-align: middle;"> 심사 대상 분류 </td> <td rowspan="2" style="background-color: #ffffcc; text-align: center; vertical-align: middle;"> 새로운 원료 </td> <td style="background-color: #ffffcc;">신청 가능성 <input checked="" type="checkbox"/></td> <td style="background-color: #ffffcc;">자외선에 의한 피부 손상으로부터 피부 건강을 유지하는데 도움을 줄 수 있음</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">신청 섭취량</td> <td style="background-color: #ffffcc;">수국잎열수추출물로서 300 ~ 600 mg/일</td> </tr> <tr> <td rowspan="5" style="background-color: #ffffcc; text-align: center; vertical-align: middle;"> 개별인정 원료 </td> <td style="background-color: #ffffcc;">기능성 추가 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-섭취량 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-제조방법 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-기준규격 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-시험방법 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-기타 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td rowspan="5" style="background-color: #ffffcc; text-align: center; vertical-align: middle;"> 고시된 원료 </td> <td style="background-color: #ffffcc;">기능성 추가 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-섭취량 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-제조방법 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-기준규격 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-시험방법 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-기타 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">국내제조 수입 <input checked="" type="checkbox"/></td> <td style="background-color: #ffffcc;">수입인 경우 <input type="checkbox"/></td> <td style="background-color: #ffffcc;">수리번호</td> <td style="background-color: #ffffcc;">수출국</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> <td style="background-color: #ffffcc;">제조회사</td> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> <td style="background-color: #ffffcc;">소재지</td> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> </tr> <tr> <td colspan="4" style="background-color: #ffffcc;">모동도의 <input type="checkbox"/></td> </tr> </table> <p style="font-size: 8px; margin-top: 5px;"> * (최초) 고시되지 않고 새롭게 개별인정 신청하는 원료 (변경) 고시된 원료 또는 개별인정원료의 기능성 추가 또는 변경(섭취량, 제조기준, 기준규격, 시험방법) 또는 시험방법 </p> </div> <td style="width: 50%; padding: 5px; vertical-align: top;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>1. 제출자료의 총괄 요약본</p> <p><input type="checkbox"/> 신청원료 개요 (■최초, □변경)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; font-size: 8px;"> <tr> <td style="width: 15%;">업 체 명(기관명)</td> <td colspan="3">코스맥스바이오(주) (대표자 : 김경수)</td> </tr> <tr> <td>영업의 종류</td> <td>건강기능식품 전문제조업</td> <td>허가/신고/등록번호</td> <td>제 20040020002 호</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">주소 및 연락처</td> <td colspan="3">* 충청북도 제천시 바이오밸리3로 30 (연락처) 031-8018-0384 (팩스) 031-8018-0399</td> </tr> <tr> <td>담당자</td> <td>(이름) 이선희 (연락처) 010-3252-1642</td> <td></td> </tr> <tr> <td>대행자</td> <td>(이름) 이난희 (연락처) 010-9525-6780</td> <td></td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">신청 원료명</td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">수국잎열수추출물</td> </tr> <tr> <td rowspan="10" style="background-color: #ffffcc; text-align: center; vertical-align: middle;"> 심사 대상 분류 </td> <td rowspan="2" style="background-color: #ffffcc; text-align: center; vertical-align: middle;"> 새로운 원료 </td> <td style="background-color: #ffffcc;">신청 가능성 <input checked="" type="checkbox"/></td> <td style="background-color: #ffffcc;">피부보습에 도움을 줄 수 있음</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">신청 섭취량</td> <td style="background-color: #ffffcc;">수국잎열수추출물로서 300 ~ 600 mg/일</td> </tr> <tr> <td rowspan="5" style="background-color: #ffffcc; text-align: center; vertical-align: middle;"> 개별인정 원료 </td> <td style="background-color: #ffffcc;">기능성 추가 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-섭취량 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-제조방법 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-기준규격 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-시험방법 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-기타 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td rowspan="5" style="background-color: #ffffcc; text-align: center; vertical-align: middle;"> 고시된 원료 </td> <td style="background-color: #ffffcc;">기능성 추가 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-섭취량 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-제조방법 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-기준규격 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-시험방법 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-기타 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">국내제조 수입 <input checked="" type="checkbox"/></td> <td style="background-color: #ffffcc;">수입인 경우 <input type="checkbox"/></td> <td style="background-color: #ffffcc;">수리번호</td> <td style="background-color: #ffffcc;">수출국</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> <td style="background-color: #ffffcc;">제조회사</td> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> <td style="background-color: #ffffcc;">소재지</td> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> </tr> <tr> <td colspan="4" style="background-color: #ffffcc;">모동도의 <input type="checkbox"/></td> </tr> </table> <p style="font-size: 8px; margin-top: 5px;"> * (최초) 고시되지 않고 새롭게 개별인정 신청하는 원료 (변경) 고시된 원료 또는 개별인정원료의 기능성 추가 또는 변경(섭취량, 제조기준, 기준규격, 시험방법) 또는 시험방법 </p> </div> </td>	업 체 명(기관명)	코스맥스바이오(주) (대표자 : 김경수)			영업의 종류	건강기능식품 전문제조업	허가/신고/등록번호	제 20040020002 호	주소 및 연락처	* 충청북도 제천시 바이오밸리3로 30 (연락처) 031-8018-0384 (팩스) 031-8018-0399			담당자	(이름) 이선희 (연락처) 010-3252-1642		대행자	(이름) 이난희 (연락처) 010-9525-6780		신청 원료명		수국잎열수추출물		심사 대상 분류	새로운 원료	신청 가능성 <input checked="" type="checkbox"/>	자외선에 의한 피부 손상으로부터 피부 건강을 유지하는데 도움을 줄 수 있음	신청 섭취량	수국잎열수추출물로서 300 ~ 600 mg/일	개별인정 원료	기능성 추가 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-섭취량 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-제조방법 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-기준규격 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-시험방법 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-기타 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		고시된 원료	기능성 추가 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-섭취량 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-제조방법 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-기준규격 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-시험방법 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-기타 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		국내제조 수입 <input checked="" type="checkbox"/>	수입인 경우 <input type="checkbox"/>	수리번호	수출국			제조회사				소재지		모동도의 <input type="checkbox"/>				<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>1. 제출자료의 총괄 요약본</p> <p><input type="checkbox"/> 신청원료 개요 (■최초, □변경)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; font-size: 8px;"> <tr> <td style="width: 15%;">업 체 명(기관명)</td> <td colspan="3">코스맥스바이오(주) (대표자 : 김경수)</td> </tr> <tr> <td>영업의 종류</td> <td>건강기능식품 전문제조업</td> <td>허가/신고/등록번호</td> <td>제 20040020002 호</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">주소 및 연락처</td> <td colspan="3">* 충청북도 제천시 바이오밸리3로 30 (연락처) 031-8018-0384 (팩스) 031-8018-0399</td> </tr> <tr> <td>담당자</td> <td>(이름) 이선희 (연락처) 010-3252-1642</td> <td></td> </tr> <tr> <td>대행자</td> <td>(이름) 이난희 (연락처) 010-9525-6780</td> <td></td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">신청 원료명</td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">수국잎열수추출물</td> </tr> <tr> <td rowspan="10" style="background-color: #ffffcc; text-align: center; vertical-align: middle;"> 심사 대상 분류 </td> <td rowspan="2" style="background-color: #ffffcc; text-align: center; vertical-align: middle;"> 새로운 원료 </td> <td style="background-color: #ffffcc;">신청 가능성 <input checked="" type="checkbox"/></td> <td style="background-color: #ffffcc;">피부보습에 도움을 줄 수 있음</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">신청 섭취량</td> <td style="background-color: #ffffcc;">수국잎열수추출물로서 300 ~ 600 mg/일</td> </tr> <tr> <td rowspan="5" style="background-color: #ffffcc; text-align: center; vertical-align: middle;"> 개별인정 원료 </td> <td style="background-color: #ffffcc;">기능성 추가 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-섭취량 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-제조방법 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-기준규격 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-시험방법 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-기타 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td rowspan="5" style="background-color: #ffffcc; text-align: center; vertical-align: middle;"> 고시된 원료 </td> <td style="background-color: #ffffcc;">기능성 추가 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-섭취량 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-제조방법 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-기준규격 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-시험방법 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">-기타 변경 <input type="checkbox"/></td> <td colspan="2" style="background-color: #ffffcc;">(변경 전)</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;">국내제조 수입 <input checked="" type="checkbox"/></td> <td style="background-color: #ffffcc;">수입인 경우 <input type="checkbox"/></td> <td style="background-color: #ffffcc;">수리번호</td> <td style="background-color: #ffffcc;">수출국</td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> <td style="background-color: #ffffcc;">제조회사</td> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> </tr> <tr> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> <td style="background-color: #ffffcc;">소재지</td> <td style="background-color: #ffffcc;"></td> </tr> <tr> <td colspan="4" style="background-color: #ffffcc;">모동도의 <input type="checkbox"/></td> </tr> </table> <p style="font-size: 8px; margin-top: 5px;"> * (최초) 고시되지 않고 새롭게 개별인정 신청하는 원료 (변경) 고시된 원료 또는 개별인정원료의 기능성 추가 또는 변경(섭취량, 제조기준, 기준규격, 시험방법) 또는 시험방법 </p> </div>	업 체 명(기관명)	코스맥스바이오(주) (대표자 : 김경수)			영업의 종류	건강기능식품 전문제조업	허가/신고/등록번호	제 20040020002 호	주소 및 연락처	* 충청북도 제천시 바이오밸리3로 30 (연락처) 031-8018-0384 (팩스) 031-8018-0399			담당자	(이름) 이선희 (연락처) 010-3252-1642		대행자	(이름) 이난희 (연락처) 010-9525-6780		신청 원료명		수국잎열수추출물		심사 대상 분류	새로운 원료	신청 가능성 <input checked="" type="checkbox"/>	피부보습에 도움을 줄 수 있음	신청 섭취량	수국잎열수추출물로서 300 ~ 600 mg/일	개별인정 원료	기능성 추가 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-섭취량 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-제조방법 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-기준규격 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-시험방법 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-기타 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		고시된 원료	기능성 추가 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-섭취량 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-제조방법 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-기준규격 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-시험방법 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		-기타 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)		국내제조 수입 <input checked="" type="checkbox"/>	수입인 경우 <input type="checkbox"/>	수리번호	수출국			제조회사				소재지		모동도의 <input type="checkbox"/>			
업 체 명(기관명)	코스맥스바이오(주) (대표자 : 김경수)																																																																																																																																																																				
영업의 종류	건강기능식품 전문제조업	허가/신고/등록번호	제 20040020002 호																																																																																																																																																																		
주소 및 연락처	* 충청북도 제천시 바이오밸리3로 30 (연락처) 031-8018-0384 (팩스) 031-8018-0399																																																																																																																																																																				
	담당자	(이름) 이선희 (연락처) 010-3252-1642																																																																																																																																																																			
	대행자	(이름) 이난희 (연락처) 010-9525-6780																																																																																																																																																																			
신청 원료명		수국잎열수추출물																																																																																																																																																																			
심사 대상 분류	새로운 원료	신청 가능성 <input checked="" type="checkbox"/>	자외선에 의한 피부 손상으로부터 피부 건강을 유지하는데 도움을 줄 수 있음																																																																																																																																																																		
		신청 섭취량	수국잎열수추출물로서 300 ~ 600 mg/일																																																																																																																																																																		
	개별인정 원료	기능성 추가 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																		
		-섭취량 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																		
		-제조방법 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																		
		-기준규격 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																		
		-시험방법 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																		
	-기타 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																			
	고시된 원료	기능성 추가 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																		
		-섭취량 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																		
-제조방법 변경 <input type="checkbox"/>		(변경 전)																																																																																																																																																																			
-기준규격 변경 <input type="checkbox"/>		(변경 전)																																																																																																																																																																			
-시험방법 변경 <input type="checkbox"/>		(변경 전)																																																																																																																																																																			
-기타 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																				
국내제조 수입 <input checked="" type="checkbox"/>	수입인 경우 <input type="checkbox"/>	수리번호	수출국																																																																																																																																																																		
		제조회사																																																																																																																																																																			
		소재지																																																																																																																																																																			
모동도의 <input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																					
업 체 명(기관명)	코스맥스바이오(주) (대표자 : 김경수)																																																																																																																																																																				
영업의 종류	건강기능식품 전문제조업	허가/신고/등록번호	제 20040020002 호																																																																																																																																																																		
주소 및 연락처	* 충청북도 제천시 바이오밸리3로 30 (연락처) 031-8018-0384 (팩스) 031-8018-0399																																																																																																																																																																				
	담당자	(이름) 이선희 (연락처) 010-3252-1642																																																																																																																																																																			
	대행자	(이름) 이난희 (연락처) 010-9525-6780																																																																																																																																																																			
신청 원료명		수국잎열수추출물																																																																																																																																																																			
심사 대상 분류	새로운 원료	신청 가능성 <input checked="" type="checkbox"/>	피부보습에 도움을 줄 수 있음																																																																																																																																																																		
		신청 섭취량	수국잎열수추출물로서 300 ~ 600 mg/일																																																																																																																																																																		
	개별인정 원료	기능성 추가 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																		
		-섭취량 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																		
		-제조방법 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																		
		-기준규격 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																		
		-시험방법 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																		
	-기타 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																			
	고시된 원료	기능성 추가 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																		
		-섭취량 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																		
-제조방법 변경 <input type="checkbox"/>		(변경 전)																																																																																																																																																																			
-기준규격 변경 <input type="checkbox"/>		(변경 전)																																																																																																																																																																			
-시험방법 변경 <input type="checkbox"/>		(변경 전)																																																																																																																																																																			
-기타 변경 <input type="checkbox"/>	(변경 전)																																																																																																																																																																				
국내제조 수입 <input checked="" type="checkbox"/>	수입인 경우 <input type="checkbox"/>	수리번호	수출국																																																																																																																																																																		
		제조회사																																																																																																																																																																			
		소재지																																																																																																																																																																			
모동도의 <input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																					
접수증																																																																																																																																																																					
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p style="text-align: center;">접수증</p> <p style="text-align: right; font-size: 8px;">접수일시: 2019.12.30 14:54</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; font-size: 8px;"> <tr> <td style="width: 15%;">접수번호</td> <td style="width: 25%;">20190612076</td> <td style="width: 15%;">회사명</td> <td style="width: 45%;">코스맥스바이오(주)</td> </tr> <tr> <td>건 명</td> <td colspan="3">건강기능식품 기능성원료 인정(신규 신청)</td> </tr> <tr> <td>담 당 과</td> <td>식품의약품안전평가원 영양기능연구팀</td> <td>접수자</td> <td>손은지</td> </tr> <tr> <td colspan="4" style="text-align: center;">위 건명의 민원사안을 접수하였습니다</td> </tr> </table> </div>	접수번호	20190612076	회사명	코스맥스바이오(주)	건 명	건강기능식품 기능성원료 인정(신규 신청)			담 당 과	식품의약품안전평가원 영양기능연구팀	접수자	손은지	위 건명의 민원사안을 접수하였습니다				<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p style="text-align: center;">접수증</p> <p style="text-align: right; font-size: 8px;">접수일시: 2019.12.30 14:54</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; font-size: 8px;"> <tr> <td style="width: 15%;">접수번호</td> <td style="width: 25%;">20190612315</td> <td style="width: 15%;">회사명</td> <td style="width: 45%;">코스맥스바이오(주)</td> </tr> <tr> <td>건 명</td> <td colspan="3">건강기능식품 기능성원료 인정(신규 신청)</td> </tr> <tr> <td>담 당 과</td> <td>식품의약품안전평가원 영양기능연구팀</td> <td>접수자</td> <td>손은지</td> </tr> <tr> <td colspan="4" style="text-align: center;">위 건명의 민원사안을 접수하였습니다</td> </tr> </table> </div>	접수번호	20190612315	회사명	코스맥스바이오(주)	건 명	건강기능식품 기능성원료 인정(신규 신청)			담 당 과	식품의약품안전평가원 영양기능연구팀	접수자	손은지	위 건명의 민원사안을 접수하였습니다																																																																																																																																							
접수번호	20190612076	회사명	코스맥스바이오(주)																																																																																																																																																																		
건 명	건강기능식품 기능성원료 인정(신규 신청)																																																																																																																																																																				
담 당 과	식품의약품안전평가원 영양기능연구팀	접수자	손은지																																																																																																																																																																		
위 건명의 민원사안을 접수하였습니다																																																																																																																																																																					
접수번호	20190612315	회사명	코스맥스바이오(주)																																																																																																																																																																		
건 명	건강기능식품 기능성원료 인정(신규 신청)																																																																																																																																																																				
담 당 과	식품의약품안전평가원 영양기능연구팀	접수자	손은지																																																																																																																																																																		
위 건명의 민원사안을 접수하였습니다																																																																																																																																																																					

(라) “수국잎열수추출물” 품목설명회 발표

이너뷰티 소재로서 “수국잎열수추출물 “에 대한 개발 경위 및 개발 내용, 향후 활용계획에 대한 품목설명회 발표

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

(1) 목표달성도

(가) 최종 목표

■ 국내 자생식물의 피부건강 소재로서의 기능성 이너뷰티 제품 개발

- 국내 자생식물의 활용을 통한 농촌의 고부가가치를 창출함에 따라 6차 산업화 모델 구축
- 피부 활성 소재의 제조 공정 및 품질관리 기준 지표 확립을 통한 품질 규격화
- 제품 적용 가능한 원료 가공기술 개발 및 조건 확립 (수용화, 가용화, 분말화 등)
- 인체적용시험을 통한 과학적인 데이터를 확보한 피부건강 소재로서의 건강기능지향성 제품의 다양한 개발
- 판매의 다각화를 위해 On/Off 유통망 확보와 국내 및 해외 관계사의 유통망을 통한 해외 판로 개척

(나) 연차별 성과목표 달성도

구분	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발의 내용
1차년도 (2017)	[주관] 국내 자생식물의 피부건강 소재의 산업화	진보특허를 출원	100	<ul style="list-style-type: none"> • 특허 출원 1. 산수국 추출물을 함유하는 자외선에 의한 인간 피부 세포 손상 개선용 조성물 (10-2017-0145193) 2. 하이드란제놀을 유효성분으로 하는 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 개선을 위한 조성물 (10-2017-0175385) 3. 산수국 추출물을 함유하는 자외선에 의한 인간 피부 세포 손상 개선용 조성물 (PCT/KR2018/011130) 4. 하이드란제놀을 유효성분으로 하는 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 개선을 위한 조성물 (PCT/KR2018/004922) 5. 필로둘신(Phylloclucin)을 유효성분으로 하는 피부 또는 모발의 멜라닌 색소 조절용 조성물 (10-2019-0131394) 6. 하이드란제놀 또는 필로둘신을 유효성분으로 하는 피부장벽 강화 및 아토피 피부염 개선용 조성물 (10-2019-0131395)
			100	<ul style="list-style-type: none"> • 특허 등록 1. 산수국 추출물을 함유하는 자외선에 의한 인간 피부 세포 손상 개선용 조성물 (10-1902911-0000) 2. 하이드란제놀을 유효성분으로 하는 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 개선을 위한 조성물 (10-1946526-0000)
		100	<ul style="list-style-type: none"> • 수국 및 손바닥선인장 파일럿 추출 생산 - 원료를 파일럿 스케일로 생산 공정 개발 	
		100	<ul style="list-style-type: none"> • 수국잎열수추출물 대량생산 공정 확립 	

구분	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발의 내용
		원료공정 개발 및 표준화 추출 확립	100	<ul style="list-style-type: none"> - 유효 지표물질 하이드란제놀 (Hydrangenol) 설정 - 하이드란제놀 자사 시험법 완료 • 생산 체제 구축 : Pilot scale and Large scale - 각 process 별 validation test 및 대량생산 - 대량 생산 구축에 따른 조건 확립
		건강기능식품 제품 적용 제형 개발	100	<ul style="list-style-type: none"> • 수국잎열수추출물의 가공 및 제형 조건 확립 - 분말화 과정을 통해 수용성 소재 개발 - 각 process 별 최적 배합비 연구 - 정제, 겔 및 젤리 완제품 제형 조건 확립
			100	<ul style="list-style-type: none"> • 개발 제품의 안정성 평가 - 지표성분 단계별 수율 및 함량 평가 - 제형 별 지표물질 함량 평가 완료 - 가공공정을 통한 조건 확립 및 제품 적용 제형 시 생산 완료 - 유통기한 시험
	[제1협동] 국내 자생식물을 이용한 피부건강 소재의 표준화 연구	손바닥선인장 (901-15) 줄기, 열매의 에탄올 추출물의 지표성분 설정	100	<ul style="list-style-type: none"> • 손바닥선인장 열매(901-45G)로부터 다양한 에탄올 추출물 제조 - 50% 에탄올 3시간 추출이 가장 효율적 • 901-45G 에탄올 추출물의 성분연구 - 5-HMF 지표성분 설정 • 5-HMF의 검량곡선으로부터 특이성, 직선성, 정밀성, 정확성, 회수율, LOD, LOQ 분석함 • 5-HMF 지표성분 함량은 50% 에탄올 용액으로 5시간 동안 추출하였을 때 $6428.76 \pm 562.3 \mu\text{g/g}$ 으로 가장 높게 측정됨.
		수국(392-45) 에탄올 추출물의 성분연구 및 지표물질 설정	100	<ul style="list-style-type: none"> • 수국 잎 (392-45A)의 다양한 에탄올 추출물 제조 • 392-45A 에탄올 추출물의 성분연구 - 16종의 단일화합물 분리 및 구조 분석 - 6종의 hydrangenol derivatives, 4종의 secoiridoids, 2종의 flavonoid glycosides, 3종의 stilbenes, 5-caffeoylquinic acid를 분리 • 392-45A 에탄올 추출물의 HPLC profiles에서 Hydrangenol(HDG)을 지표성분으로 설정 • Hydrangeol 함량은 70% 에탄올 용액으로 3시간 동안 추출하였을 때 $8238.57 \pm 352.7 \mu\text{g/g}$으로 가장 높게 측정됨
	[제2협동] 바이오파마커 검색을 통한 피부건강 활성 검색	바이오파마커 검색을 통한 피부건강 활성 소재 선정	100	<p><손바닥 선인장></p> <ul style="list-style-type: none"> • 각질세포 및 섬유아세포에 대한 세포 독성 평가 - 모든 추출 조건에서 세포보호 효과 확인 • Pro-collagen 합성에 대한 활성 평가 - 모든 추출 조건에서 pro-collagen 회복 효과 없음 • Hyaluronic acid 생성에 대한 평가 - 모든 추출 조건에서 HA 생성 회복 효과 확인

구분	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발의 내용
				<ul style="list-style-type: none"> • 타깃 단백질 유전자 (HAS, HYAL, MMP-1) 발현 분석 <ul style="list-style-type: none"> - HYAL-1: HaCaT 세포에서는 열수, 30% 주정, 70% 주정 추출물에서 발현이 감소. Hs68 세포에서는 모든 약물에서 감소효과가 확인. - HYAL-2: HaCaT 세포에서는 모든 추출물이 HYAL-2 발현을 감소시킴. Hs68세포에서는 50%추출물에서 감소효과를 보였음. - HAS-2/3: 회복 정도가 크지는 않았음. - MMP-1: HaCaT 세포에서 모든 추출물이 발현 감소효과를 보임. Hs68 세포에서는 열수 추출물과 30% 주정 추출물이 MMP-1 mRNA 발현을 유의적으로 감소시킴.
			100	<p><수국></p> <ul style="list-style-type: none"> • 각질세포 및 섬유아세포에 대한 세포 독성 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 모든 추출 조건에서 세포보호 효과 및 독성 없음 • Pro-collagen 합성에 대한 활성 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 열수 추출물을 제외한 모든 주정 추출물에서 회복 • MMP-1 생성에 대한 활성 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 열수 추출물이 두 세포 모두에서 MMP-1 생성을 유의적으로 억제함. Hs68 세포에서는 모든 추출물이 MMP-1 생성을 감소시킴.
			100	<p><수국 분리 화합물 10종의 바이오 마커 검색을 통해 지표물질 결정></p> <ul style="list-style-type: none"> • Cell viability: 화합물 중 Hydrangenol, Thunberginol F, Glucopyranosylhydrangeaic acid가 두 세포에서 유의적인 회복효과를 보임 • Pro-collagen type 1: 화합물 중 Hydrangenol, Diam-sep5-Rt8.2, Thunberginol C, Thunberginol A, Hydrangenoside C, Hs37-2, Hydrangenoside A가 유의한 회복효과를 보임 • MMP-1: 모든 화합물이 10 μM에서 유의적인 감소효과를 보임. 1 μM 에서는 Thunberginol A, Glucopyranosylhydrangeaic acid 만 유의적 감소효과 보임. • Hyaluronic acid: 화합물 중 Hydrangenol, Hs37-1가 두 세포에서 유의적인 회복효과를 보임 <p>→ 다양한 지표에 대한 효과를 바탕으로 수국 추출물의 활성지표 물질로 Hydrangenol이 가장 적합</p> <ul style="list-style-type: none"> • 논문 게재: Chemical Constituents from Leaves of Hydrangea serrata and Their Anti-photoaging Effects on UVB-Irradiated Human Fibroblasts. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2019, 42(3), 424-431

구분	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발의 내용
2차년도 (2018)	[주관] 국내 자생식물의 피부건강 소재의 산업화	동물 및 임상 적용 표준화 추출물 대량생산	100	<ul style="list-style-type: none"> 표준화 원료 대량 생산 <ul style="list-style-type: none"> 동물실험에 사용할 표준화 된 수국(<i>Hydrangea serrata</i>) 열수추출물 공급 (수율 : 23%, 하이드란제놀 (지표물질) : 0.768%) 완제품 제형 조건 설정 <ul style="list-style-type: none"> 300 mg, 600 mg 정제 제조 및 봉해도 시험 완료 300 mg, 600 mg 겔 제조 및 지표물질 함량 분석 300 mg 젤리 제조 및 지표물질 함량 분석 유효지표물질인 하이드란제놀 대량 생산 <ul style="list-style-type: none"> 하이드란제놀 대량 생산공정 확립 구조 분석 및 순도 확인 제조사 시험법 완료 (특이성, 직선성, 정확성, 정밀성, 측정범위) 활성물질인 필로들신 대량 생산 <ul style="list-style-type: none"> 필로들신 대량 생산공정 확립 구조 분석 및 순도 확인 수국열수추출물의 기준규격 설정 <ul style="list-style-type: none"> 성상 및 물성 확인 지표 성분 함량 설정 영양성분 분석 유해물질(납, 카드뮴, 총비소, 총수은)의 기준 규격 설정 잔류농약 및 대장균군의 기준 규격 설정 총아플라톡신의 기준 규격 설정
		동물 및 임상 적용 표준화 추출물 독성 시험	100	<ul style="list-style-type: none"> 단회투여 경구 독성 시험 ((주)캠온 비임상연구소 의뢰) <ul style="list-style-type: none"> 1,250, 2,500, 5,000 mg/kg의 용량에서 이상 현상을 발견하지 못했으며, 암수 모두 개략의 치사량 (ALD, Approximate Lethal Dose)은 암수 모두에서 5,000 mg/kg을 상회한 것으로 안전한 원료임을 확인.
		임상적용 건강기능식품 완제품 대량 생산	100	<ul style="list-style-type: none"> 피부건강 기능성 소재 함유 건강기능식품 대량생산 <ul style="list-style-type: none"> 시험식품: 300 mg, 600 mg 수국열수추출물을 함유한 적색의 필름코팅 정제 대조식품: 600 mg 결정셀룰로오스 및 유당혼합분말을 함유한 적색의 필름코팅 정제
	[제2협동] 바이오마커 검색을 통한 피부건강 활성 검색	피부건강 활성 기전 연구	100	<ul style="list-style-type: none"> 수국열수추출물의 피부건강 활성 기전 연구 <ul style="list-style-type: none"> 세포보호 활성 및 ROS 생성 저해 효과 Elastase 억제 활성 및 pro-collagen type I 생성 회복 활성 Collagen 합성 유전자 발현 기전 연구 MMP-1/-3 생성 및 mRNA 유전자 발현에 대한 활성 검색

구분	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발의 내용
				<ul style="list-style-type: none"> - 염증성 사이토카인(TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8) mRNA 유전자 발현에 대한 활성 검색 - AP-1, STAT1 전사인자 및 MAPK 신호전달에 대한 활성 검색 • 논문 게재: <i>Hydrangea serrata</i> (Thunb.) Ser. Extract Attenuate UVB-Induced Photoaging through MAPK/AP-1 Inactivation in Human Skin Fibroblasts and Hairless Mice. <i>Nutrients</i> 2019, 11, 533
			100	<ul style="list-style-type: none"> • 유효지표물질인 하이드란제놀의 피부건강 활성 기전 연구 - ROS 생성 저해 효과 - MMP-1/-3 mRNA 발현에 대한 활성 검색 - HA 생성 조절 효소(HAS와 HYAL)의 유전자 발현에 대한 활성 - 염증 매개 인자(COX-2)와 염증성 사이토카인(IL-6, IL-8, IL-1β)에 대한 활성 검색 - AP-1, STAT1 전사인자와 MAPK 신호전달에 대한 활성 검색 • 논문게재: Chemical Constituents from Leaves of <i>Hydrangea serrata</i> and Their Anti-photoaging Effects on UVB-Irradiated Human Fibroblasts. <i>Biological and Pharmaceutical Bulletin</i>, 2019, 42(3), 424-431
		자외선 조사 동물 모델에서 피부건강 활성 및 기전 연구	100	<ul style="list-style-type: none"> • 자외선 조사 동물 모델에서 수국잎열수추출물의 피부건강 활성 및 기전 연구 - 피부 주름 감소 활성 평가 - 피부 표피 두께 감소 활성 평가 - 피부조직에서 콜라겐 섬유에 대한 활성 평가 - 피부 보습 인자(수분함량, TEWL, hyaluronic acid)에 대한 활성 평가 - MMP-1/-3 단백질 발현 및 염증성 사이토카인 mRNA 발현에 대한 활성 평가 - 피부조직에서 AP-1 전사인자 및 MAPK 신호전달 활성화에 대한 활성 평가 • 논문 게재: <i>Hydrangea serrata</i> (Thunb.) Ser. Extract Attenuate UVB-Induced Photoaging through MAPK/AP-1 Inactivation in Human Skin Fibroblasts and Hairless Mice. <i>Nutrients</i> 2019, 11, 533
			100	<ul style="list-style-type: none"> • 자외선 조사 동물 모델에서 하이드란제놀의 피부건강 활성 및 기전 연구 - 피부 주름 감소 활성 평가 - 피부 표피 두께 감소 활성 평가 - 피부조직에서 콜라겐 섬유에 대한 활성 평가

구분	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발의 내용
				<ul style="list-style-type: none"> - 피부 보습 인자(수분함량, TEWL)에 대한 활성 평가 - 피부장벽 단백질과 HA 생성 조절 효소(HYAL)의 유전자 발현에 대한 활성 검색 - MMP-1/-3 단백질 발현 및 염증성 사이토카인 mRNA 발현에 대한 활성 평가 - 피부조직에서 AP-1 전사인자 및 MAPK 신호전달 활성화에 대한 활성 평가 - 피부조직에서 Nrf2/ARE 신호전달 활성화에 대한 활성 평가 • 논문 게재: Hydrangenol Isolated from the Leaves of <i>Hydrangea serrata</i> Attenuates Wrinkle Formation and Repairs Skin Moisture in UVB-Irradiated Hairless Mice. <i>Nutrients</i> 2019, 11, 2354
	[주관위탁] 인체적용시험 및 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청	인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발		<ul style="list-style-type: none"> • 프로토콜 개발 완료 • 프로토콜 IRB 승인 완료
		인체적용시험 수행		<ul style="list-style-type: none"> • 개시모임 실시 • 인체적용시험 모니터링 실시
3차년도 (2019)	[주관] 국내 자생식물의 피부건강 소재의 산업화	마케팅 전략 수립 및 판매의 다각화	100	<ul style="list-style-type: none"> • 수국 유전자원 분석 및 수국 종자 확보를 통한 보급 <ul style="list-style-type: none"> - 세명대학교 강신호 교수님 연구팀 의뢰 수국 유전자원 분석 - 수국 종자 확보 (국립산림과학원 산림약용자원연구소 협조) • 전국 자생지별 수국잎 채취 및 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 세명대학교 강신호교수님 연구팀에 의뢰하여 전국 46 곳에 분포한 자생 수국 분포도 확인 및 수국잎 채취 • 업무 협약을 통한 재배단지 및 원료 가공기관 확보 <ul style="list-style-type: none"> - 완도군-코스맥스바이오(주)-전남식품산업연구센터-(주)고마미지”의 업무협약 - 충북테크노파크와 천연물 소재의 연구개발과 산업화를 위해 업무협약 • 수국 시범재배 실시 <ul style="list-style-type: none"> - 수국 시범재배를 통해 수국 성장 확인 및 hydrangenol 함량 분석. - 제천시 봉양읍 삼거리 산32-1, 산32-5 (임업후계자 입가)에 수국 유기농 시범재배 실시.
			100	<ul style="list-style-type: none"> • 상표/특허 출원 수국 유래 하이드란제놀(Hydrangenol)의 ICID

구분	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발의 내용
				(International Cosmetics Ingredient Dictionary) 등재 완료 - <i>Hydrangea macrophylla</i> : Hydrangenol (Trade name : HYDRANCOSMAX) - <i>Hydrangea serrata</i> : Hydrangenol (Trade name : HYDRACOSMAX) • 국내·외 전시회 부스 개최를 통한 판매의 다각화 - Health Ingredients Korea 2019 (2019년 8월 21일 ~ 23일, 코엑스, 한국) - Health Ingredients Japan 2019 (2019년 10월 2일 ~ 4일, Tokyo, Japan) • 개별인정 2건 신청 - 자외선에 의한 피부 손상으로부터 피부 건강을 유지하는 데 도움을 줄 수 있음 - 피부 보습에 도움을 줄 수 있음 • “수국잎열수추출물 “ 품목설명회 발표
	[주관위탁] 인체적용시험 및 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청	인체적용시험 종료	100	• DM(Data Management) 및 통계분석 실시 • 결과보고서 작성 완료 • 결과보고 IRB 승인 완료
		개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청 및 과제 종료 1차년도 허가	100	• 개별인정 신청서 작성 완료 • 식약처 신청서 접수 완료 - 자외선에 의한 피부 손상으로부터 피부 건강을 유지하는 데 도움을 줄 수 있음 (접수번호: 20190612076) - 피부 보습에 도움을 줄 수 있음 (접수번호: 20190612315)

(2) 관련분야 기여도

- (가) SCI 논문 “Chemical Constituents from Leaves of *Hydrangea serrata* and Their Anti-photoaging Effects on UVB-Irradiated Human Fibroblasts. Biol Pharm Bull. 2019;42(3):424-431” 을 게재함으로서 수국 추출물 내 10종의 화합물에 대한 피부건강 활성을 확인하였고, 기존에 피부건강 활성이 알려지지 않았던 하이드란제놀을 새로운 유효 지표물질로 발굴하였다.
- (나) SCI 논문 “*Hydrangea serrata* (Thunb.) Ser. Extract Attenuate UVB-Induced Photoaging through MAPK/AP-1 Inactivation in Human Skin Fibroblasts and Hairless Mice. Nutrients. 2019;11(3):533” 을 게재함으로서 수국잎열수추출물의 피부건강 활성 기전을 세포실험을 통해 확인하였다. 또한, UV조사 동물에게 투여한 결과 수국잎열수추출물이 피부 주름생성 방지 및 피부 보습에 효과가 있으며 세포실험을 통해 밝힌 기전을 통해 피부 건강에 효과를 보임을 확인하였다.
- (다) SCI 논문 “Hydrangenol Isolated from the Leaves of *Hydrangea serrata* Attenuates Wrinkle Formation and Repairs Skin Moisture in UVB-Irradiated Hairless Mice.

Nutrients. 2019;11(10):2354” 을 게재함으로서 수국잎열수추출물의 지표물질인 하이드란제놀이 피부건강 유효성분으로서 피부 주름생성 방지 및 보습에 효과가 있음을 확인하였다.

- (라) “피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험” 의 결과보고서 IRB 승인을 통해, 임상연구가 부작용 없이 진행되었고 수국잎열수추출물의 주름 및 보습에 대한 유효성을 확인하였다.
- (마) 특허 10-1902911-0000 “산수국 추출물을 함유하는 자외선에 의한 인간 피부세포 손상 개선용 조성물” 등록을 통해 수국추출물을 함유하는 기능성 소재로서 지적재산권을 확보하였다.
- (바) 특허 10-1946526-0000 “하이드란제놀을 유효성분으로 하는 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 개선을 위한 조성물” 등록을 통해 수국추출물에서 분리된 신규 지표성분인 하이드란제놀을 유효성분으로 포함하는 약제학적 조성물로서의 지적재산권을 확보하였다.
- (사) 해외 PCT를 출원하여 수국추출물 및 하이드란제놀을 함유하는 기능성소재에 대한 지적재산권을 확보하였다.
 - ① 하이드란제놀을 유효성분으로 하는 자외선에 의한 피부 손상 예방 또는 개선을 위한 조성물 (PCT/KR2018/004922)
 - ② 산수국 추출물을 함유하는 자외선에 의한 인간 피부세포 손상 개선용 조성물 (PCT/KR2018/011130)
- (아) 특허 10-2019-0131395 “하이드란제놀 또는 필로둘신을 유효성분으로 하는 피부장벽 강화 및 아토피 피부염 개선용 조성물” 출원을 통해 수국추출물 내 유효성분의 새로운 기능성을 발굴하였으며, 이를 함유하는 조성물에 대한 화장품 또는 약제학적 조성물로서 지적재산권을 확보하였다.
- (자) 특허 10-2019-0131394 “필로둘신(Phylloedulcin)을 유효성분으로 하는 피부 또는 모발의 멜라닌 색소 조절용 조성물” 출원을 통해 수국추출물에서 분리된 신규한 필로둘신 함유 조성물에 대한 화장품 또는 약제학적 조성물로서 지적재산권을 확보하였다.
- (차) 하이드란제놀 고 함량 추출 공정 확립을 통해 이너뷰티 소재 뿐만 아니라 화장품의 cosmeceutical 소재의 영역으로 확대하였다.
 - ① *Hydrangea macrophylla* 유래 Hydrangenol : Trade name “HYDRANCOSMAX” 등재 ICID (International Cosmetics Ingredient Dictionary) 완료
 - ② *Hydrangea serrata* 유래 Hydrangenol : Trade name “HYDRACOSMAX“ ICID 등재 완료

(3) 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

- 건강기능식품을 판매하기 위해서는 광고 문구인 ‘자외선에 의한 피부 손상으로부터 피부 건강을 유지하는데 도움을 줄 수 있음’, ‘피부 보습에 도움을 줄 수 있음’ 의 표시가 필요하므로 개별인정 허가 후 (2020년 상반기) 산업화 추진
- 제천시와 계약재배를 진행하기로 되어 있으나, 농가 및 농업기술센터에서 개별인정 확정 후 본격적으로 재배 진행하기로 하여 산업화 매출을 하는데 원료 확보에 시간이 지연 됨

4. 연구결과의 활용 계획

(1) 나고야의정서 대비 국내 자생 수국을 활용한 제품 생산 판매

- 2010년 채택된 ‘유전자원에 대한 접근 및 이익의 이용으로 발생하는 이익의 공정하고 공평한 공유 (Access and Benefit-Sharing, ABS)에 나고야 의정서’가 2014년 발효되었고 2016년 10월 기준 총 86개국이 비준하였음
- 나고야 의정서는 의약품, 화장품 등의 전반적인 바이오산업 분야에서 파급효과가 클 것으로 예상되며, 특히 국내 바이오 기업들은 해외 유전자원에 크게 의존하고 있어서 나고야 의정서는 부담이 되고 있는 실정
- OECD는 2030년 경 ‘바이오경제시대’가 도래할 것으로 예측하고 있으며, 생물자원은 바이오산업의 핵심 소재로서 무한한 환경적, 경제적 가치를 지니고 있는 중요한 국가 자산
- 국내에서 자생하고 있는 수국의 잎을 활용한 피부건강 기능성 소재를 개발함에 따라 국내 재배 농가와 대단위 계약 재배지 확보로 원료 수급과 품질관리 비용절감 뿐만 아니라 해외 원료 사용에 따르는 로얄티 지불이 없으므로 경제적 가치는 증대

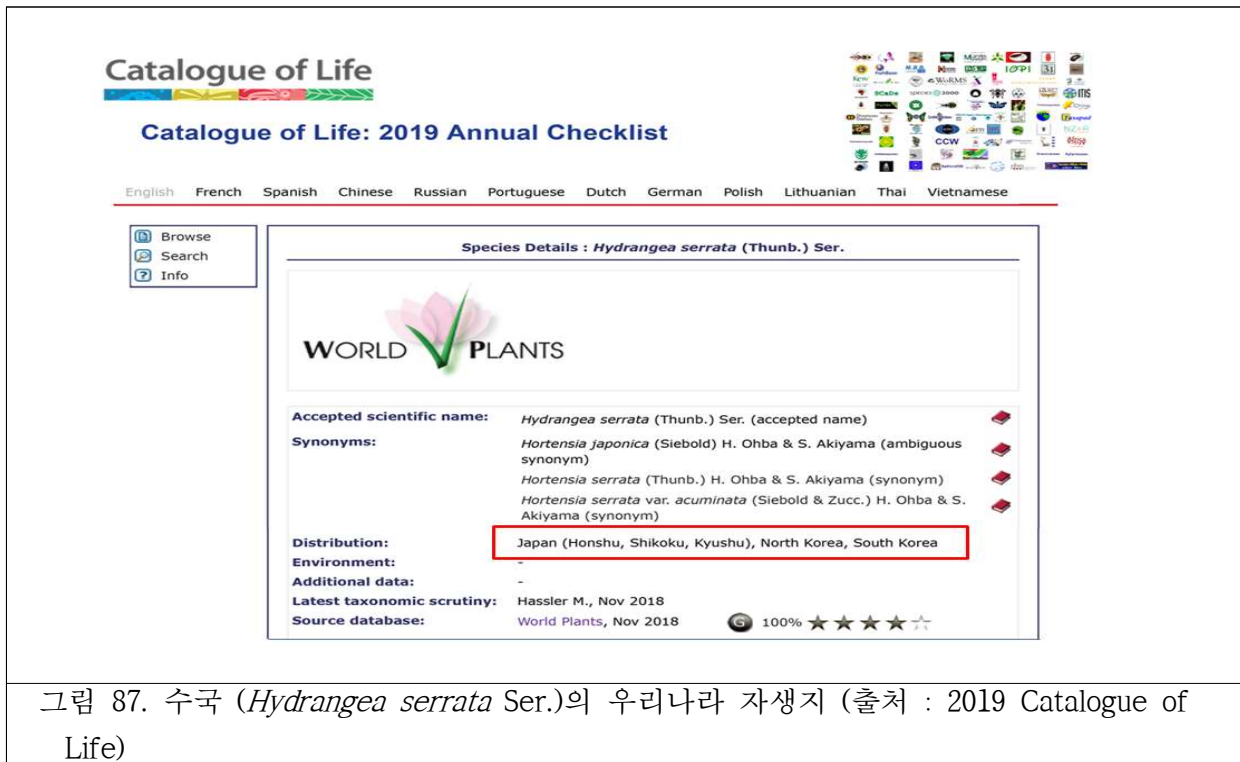
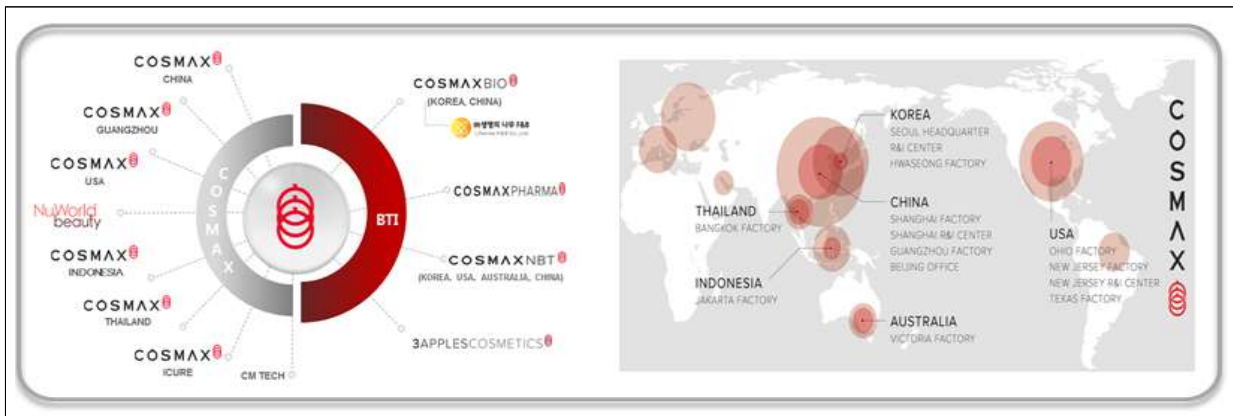


그림 87. 수국 (*Hydrangea serrata* Ser.)의 우리나라 자생지 (출처 : 2019 Catalogue of Life)

- 수국잎열수추출물은 수용성의 원료로서 다양한 건강기능식품 제형에 활용할 수 있을 뿐만 아니라, 할랄 시장까지 진출 계획

표. 코스맥스바이오(주) 다양한 건강기능식품 제형 기술

연질캡슐	Gel / Jelly
 <p>KGC 인삼공사</p> <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: 홍삼정캡슐 • 유형: 건강기능식품 (홍삼) • 유통: 연세암 및 시판 <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: 홍삼오메가3 • 유형: 건강기능식품 (홍삼, 식물성 오메가-3) • 유통: 연세암 및 시판 	 <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: 탁타레프론 (젤 타입) • 유형: 건강기능식품 (비류추출물) <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: 핏케어잇 뷰티나이트 제리앗(젤리 타입) • 유형: 건강기능식품 (가르시니아아삼보치아추출물)
 <p>안국건강</p> <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: 안국 눈에 좋은 루테인 클러스 / 안국 아이세이프 루테인 • 유형: 건강기능식품 (루테인, 말티타르타인아네랄) • 유통: 홈쇼핑 및 온라인 <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: 안국 그린 프로폴리스 (슈어블 타입) • 유형: 건강기능식품 (프로폴리스, 아연) • 유통: 홈쇼핑 및 온라인 	 <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: 비타 리탈디 (액상 PET) • 유형: 건강기능식품 (하탈루론산) <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: 핏츠시업(액상 PET) • 유형: 건강기능식품 (아연) <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: 허벌 얼퍼트 (액상 PET) • 유형: 건강기능식품 (달로에)
 <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: 파워 프로폴리스 (슈어블 타입) • 유형: 건강기능식품 (프로폴리스, 아연) • 유통: 방문판매 <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: 비타이프로 2000IU (슈어블 타입) • 유형: 건강기능식품 (비타이프로) • 유통: 시판 및 온라인 <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: 키즈 식물성 오메가 (슈어블 타입) • 유형: 건강기능식품 (식물성 오메가-3) • 유통: 시판 및 온라인 	 <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: 슬림돌 케이스 (Sachet 타입) • 유형: 저칼로리를 조제식품 <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: 인스인트 허벌 베버리지(Jar 타입) • 유형: 다류/고향차 <ul style="list-style-type: none"> • 제품명: Nibeworks (Jar 타입) • 유형: 건강기능식품 (비타이프로)

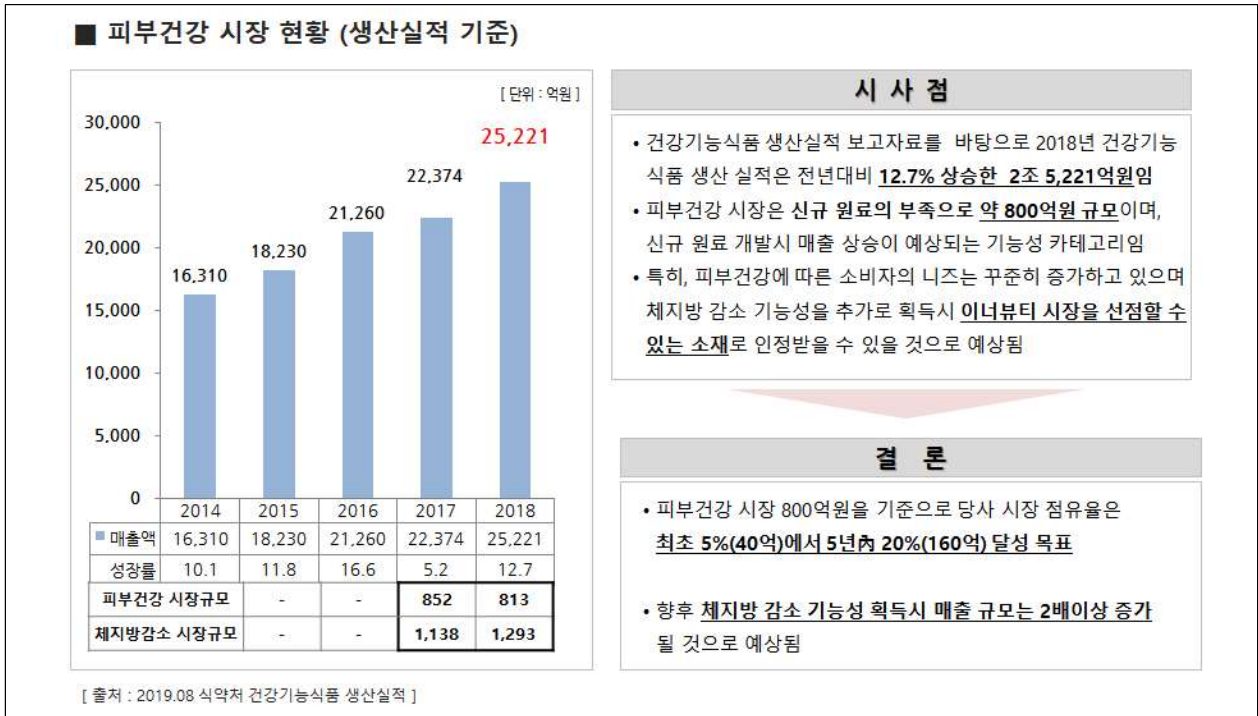


(2) 최근 한류열풍으로 인한 한국산 제품 소비 증가를 통해 수출 전략상품으로 활용

- 신규 가능성을 갖는 국내 자원 활용 및 생산기술의 국산화
- 국내의 자원 활용 뿐만 아니라 국내 연구진의 기능성 규명으로 수입 대체 효과와 더불어 수출 시 국내 연구의 국제적 위상 상승
- 2018년도 건강기능식품 생산 실적기준 피부건강과 체지방 감소의 이너뷰티 시장은 2,300억 기준으로 당사 최초 5% 시장 점유 달성 (피부건강) 목표로 복합기능성으로 체지방 감소 기

능성 획득 시 매출 규모는 2배의 시장 형성 가능

- 제천시와 계약재배를 통해 안정적인 원물 공급과 농가는 안정적인 고소득으로 5차년에는 총 소득 기여금액이 180억 예상
- 코스맥스그룹은 중국의 많은 고객사를 확보하고 있으며, 세계 건강기능식품 시장 2위를 차지하고 있는 중국은 2017년도에 이너뷰티 시장이 100억 위안 (한화 약 1조 7000억원) 판매액을 돌파했으며, 이 중 수국잎추출물 이너뷰티 제품으로서 5%의 시장 점유율 목표 계획



■ 5개년 매출 계획

[단위 : 억 원]

유종	점유율	예상 매출액					합계
		1차년	2차년	3차년	4차년	5차년	
음소평	36.0%	14	25	36	47	58	180
네트워크, 방판	25.0%	10	18	25	33	40	125
면세점, 약국	11.0%	4	8	11	14	18	55
시판	9.0%	4	6	9	12	14	45
온라인 및 기타	19.0%	8	13	19	25	30	95
소계	100%	40	70	100	130	160	500




매출 계획에 따른 농가 소득 산출

구분	예상	수국잎추출물 원료가	수국잎추출물 원료 사용량	수국잎 원물 사용량	수국잎 원물 가격
		(제조원가의 40%) - 평균원가 적용	(예상섭취량 600mg)	(원료 수율 23%)	(kg당 10,000원)
단위	억 원	억 원	톤 (Ton)	톤 (Ton)	억 원
1차년	40	16	11	48	5
2차년	70	28	19	83	8
3차년	100	40	27	117	12
4차년	130	52	35	152	15
5차년	160	64	43	187	19
총계	500	200	135	587	59

1. 제천시에서 수국 원물을 생산 및 공급시 지역 농가의 소득향상 기여액은 **약 60억** 예상 (피부 건강 기준)
2. 체지방 감소 기능성 획득 시 약 120억의 농가소득이 추가로 향상될 것으로 예상되어 총 소득 기여액은 **180억** 예상

(3) 국내의 기술력을 바탕으로 국내 및 해외 판매망을 통한 매출 증대로 신규 일자리 창출

- 농가에서 계약재배를 통한 소재 확보로 피부건강에 유용한 기능성 식품 원료를 생산하여 농가 소득증대가 기대됨
- 한류열풍으로 한국산 제품 소비 증가에 따라 수출 전략상품으로 활용
- 국내 자생식물을 이용하여 기능성 소재를 자체 개발을 함으로서 농촌 활성화를 통한 고부가가치로 농가소득 증대
- 국내의 기술력을 바탕으로 국내 및 해외 판매망을 통한 매출로 산업체는 인력을 보강하기 위한 청년들의 일자리를 창출

재 배	수 확	작 업
		
<ul style="list-style-type: none"> ■ 수국은 다년생 목본류로 잎의 재배 및 수확 작업 용이 ■ 고부가가치 수국 소재 생산을 통한 임·농가 소득증대 (10 ~20 kg 수확/평당/년간) ■ 전 연령 일자리 창출로 지역경제 활성화 		

붙임. 참고문헌

- [Global Industry Analysts Research Report, 2016].
- ‘국내 이너뷰티 시장 규모 추이 및 전망’, 2016. 3. 30, 신한금융투자
- 식품 및 식품첨가물공전, 제 7.1.1.6 봉해시험, 식품의약품안전처
- 이종원, 최임준, 정경숙, 강신호 (2019) 수국속(*Hydrangea* L.) 식물인 수국(*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.) 및 (산)수국(*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. subsp. *serrata* (Thunb.) Makino)에 대한 형태학적 및 유전학적 특징 분류, 1-12
- 식품의 기준 및 규격 제2019-89호, 식품의약품안전처, 2019.10.14.
- 국가표준식물목록(개정판), 산림청 국립수목원, 2017.12.30.
- Yoshikawa M, Matsuda H, Shimoda H, et al. Development of bioactive functions in hydrangeae dulcis folium. V. On the antiallergic and antimicrobial principles of hydrangeae dulcis folium. (2). Thunberginols C, D, and E, thunberginol G 3'-O-glucoside, (-)-hydrangenol 4'-o-glucoside, and (+)-hydrangenol 4'-O-glucoside. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1996;44(8):1440-1447.
- Suzuki H, Ikeda T, Matsumoto T, et al. Isolation and Identification of a New Glycoside, Phyllo dulcin-8-O-β-d-glucose from the Cultured Cells and Fresh Leaves of Amacha (*Hydrangea macrophylla* Seringe var. *Thunbergii* Makino). Agri Biol Chem. 1977;41(9):1815-1817.
- United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service
- The Japanese Pharmacopoeia, 17th Edition, The Ministry of health, labour and welfare, 2016. 4. 1.
- Shin JS, Han HS, Lee SB, et al. Chemical Constituents from Leaves of *Hydrangea serrata* and Their Anti-photoaging Effects on UVB-Irradiated Human Fibroblasts. Biol Pharm Bull. 2019;42(3):424-431.
- Han HS, Shin JS, Myung DB, et al. *Hydrangea serrata* (Thunb.) Ser. Extract Attenuate UVB-Induced Photoaging through MAPK/AP-1 Inactivation in Human Skin Fibroblasts and Hairless Mice. Nutrients. 2019;11(3):533.
- Myung DB, Han HS, Shin JS, et al. Hydrangenol Isolated from the Leaves of *Hydrangea serrata* Attenuates Wrinkle Formation and Repairs Skin Moisture in UVB-Irradiated Hairless Mice. Nutrients. 2019;11(10):2354.
- ‘피부 주름 개선 및 보습에 미치는 WHS의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험’ IRB 승인 (GIRB-18N02-AC), 2018. 11. 23.
- 인체적용시험 결과보고서 IRB 승인, 2019.10.29.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.