

작약씨 유래의 레즈베라트롤 고함유 정제분말
(원료)의 생산과 기능성 제품개발

주관연구기관 : 바이오스펙트럼(주)

협동연구기관 : 서울대학교

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “작약씨 유래의 레즈베라트롤 고 함유 정제분말(원료)의 생산과
기능성 제품개발” 과제 (세부과제 “레즈베라트롤 관련 사업화”)의 최종보고서
로 제출합니다.

2003년 8월 17일

주관연구기관명 : 바이오스펙트럼(주)

총괄연구책임자 : 박 덕 훈

세부연구책임자 : 박 덕 훈

연 구 원 : 김 국 현

연 구 원 : 박 준 호

연 구 원 : 이 종 성

연 구 원 : 김 지 은

협동연구기관명 : 서울대학교

협동연구책임자 : 김 영 식

요 약 문

I. 제 목

작약씨 유래의 레즈베라트롤 고함유 정제분말(원료)의 생산과 기능성 제품개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

레즈베라트롤(resveratrol, 3,5,4'-trihydroxystilbene)은 식물에서 생산되는 phytoalexin으로써 항암, 항염증, 항노화 등의 효능을 가진 물질로 알려져 있으나 식물에서 생산되는 함량이 낮아 상업화에 어려움을 겪고 있다.

작약씨에는 레즈베라트롤과 그 유도체가 포도나 땅콩보다 10배에서 100배정도 고 함량으로 함유돼 있다. 작약씨는 작약생산시 생산되나 현재는 상업적으로 이용되지 못하고 버려지고 있다. 따라서 버려지고 있는 작약씨에서 레즈베라트롤의 분리 정제하여 다양한 생리생화학적인 효능검정과 원료사업화 및 완제품개발 등을 통하여 작약 유래의 레즈베라트롤을 상업화하는데 연구개발의 목적이 있다.

III. 연구개발 내용 및 범위

- 작약종실로부터 레즈베라트롤과 그 유도체의 분리 정제를 수행: 작약씨에서 80% 순도 이상의 레즈베라트롤과 그 유도체 1종에 대한 분리 정제를 수행하여 분말원료를 얻는다.
- 분리된 레즈베라트롤의 생리생화학적 특성분석: 세포수준에서의 항염증, 항산화, 항노화, 미백 등에 대한 효능검증을 시행하여 실제 효능을 검증하고 다른 유래의 레즈베라트롤과 그 효능정도를 비교한다.
- 분리된 레즈베라트롤을 이용한 화장품, 식품 원료의 개발: 화장품 액상원료 2종과 식품용 분말원료 1종을 개발한다.
- 액상제형내에서 사용 가능한 안정화 원료개발: 액상내에서의 구조적 불안정성을 극복하기 위하여 다양한 제형내에서의 안정화 정도를 비교 분석하여 액상내에서 안정한 원료를 개발한다. 이 원료는 식품, 화장품 및 의약분야에 액상제품에 사용 가능하다.
- 안정화 원료를 이용한 화장품시제품개발: 화장품 시제품 3종을 개발하여 상업적으로 이용가능한지에 대한 판단자료로 사용한다.
- 레즈베라트롤을 이용한 기능성 건강보조식품 시제품개발: 남성용 1종과 여성용 1

종을 개발하여 상업화 가능성을 알아본다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

본 연구과제에서 분리 정제에 대한 기술개발이 완료되었고 다양한 생리활성 시험이 완료되었다. 최종적으로 원료 3종과 완제품 2품목 5종 제품 및 건강식품 시제품 2종이 완성되었다.

본 과제에서 셋업 된 다양한 생리활성검정 시험법은 다른 과제에 응용 가능할 것으로 보여진다. 다른 완제품이나 시제품은 유사분야 사업체 등과 협력하여 상업적으로 이용 가능할 것으로 보여집니다. 현재 주관기업을 통한 사업화가 진행 중에 있습니다.

SUMMARY

(영문요약문)

Our research team developed the production method of resveratrol and its derivative from peony seeds. The team carried out various biochemical efficacy in vitro. Resveratrol shows strong anti oxidant, anti inflammation and skin whitening effects. The team developed a few ingredients for producing in cosmetics, pharmaceuticals and health foods. One of them is stabilized in a liquid formulation. The stabilized resveratrol ingredient is capsulated with soy lecithin as a liposome. The team succeeded in developing the stabilized resveratrol at first.

The team commercialized 5 kinds, 2 brand of cosmetics already in korean market. One of them is certified as a functional cosmetics by KFDA. Also we have got two kinds of health foods for men and women respectively.

CONTENTS

(영문목차)

제 1 장	Introduce research subjects -----	6
제 2 장	Research level of R & D in worldwide -----	8
제 3 장	Research methods and Results -----	11
제 4 장	The success rate of the research and the contribution rate in the same research field -----	37
제 5 장	Plan to apply the research results to commercial field -----	41
제 6 장	Obtained information about a similar R & D from worldwide --	42
제 7 장	References -----	43

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	6
	연구개발의 목적, 필요성	6
	연구개발의 범위	6
제 2 장	국내외 기술개발 현황	8
	국내기술개발 현황	8
	해외기술개발현황	8
	연구결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치 등을 기술	9
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	11
	작약씨로부터 레즈베라트롤의 분리정제	11
	Resveratrol에 대한 생리 생화학적 효능검증	13
	레즈베라트롤을 이용한 원료개발 I.	26
	레즈베라트롤을 이용한 원료개발 II.-레즈베라트롤 안정화	28
	레즈베라트롤 관련 원료를 이용한 시제품개발	33
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	37
제 5 장	연구개발결과의 활용계획	41
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	42
제 7 장	참고문헌	43

제 1 장 연구개발과제의 개요

연구개발의 목적, 필요성:

레즈베라트롤(resveratrol, 3,5,4'-trihydroxystilbene)은 식물에서 생산되는 phytoalexin 으로써 1997년 Jang 박사 등에 의해 “암예방물질(chemopreventive activity)”로 입증되어 *Science*지(vol 275, pp 218-220)에 발표되었다. 현재는 세계적으로 연구개발이 가장 활발한 생리활성 물질 중의 하나가 되었다.

그 후 많은 연구에서 레즈베라트롤은 암예방, 항암, 항혈전, 항염증, 항고지혈증, 항균 및 간보호작용을 갖고 있음이 밝혀졌다.

본 연구팀에서는 국내 약재의 대부분을 분석하였으며, 그 결과 현재 버려지고 있는 작약(*Paeonia albiflora*) 종실로부터 레즈베라트롤 뿐만 아니라 그 유도체(resveratrol-glucoside, viniferin & suffruticosol)를 처음으로 분리한바 있다.

특히 작약종실은 현재까지 알려진 어떠한 식물보다도 많은 함량의 레즈베라트롤과 그 유도체를 함유하고 있어 추출과 정제기술을 잘 사용 할 경우 다양한 사업 부문에 사용 가능한 원료로서 이용 가능할 것으로 확실히 된다.

포도껍질: 가장 많다고 알려진 포도의 경우 생체중 그램당 50-100 ug이
레즈베라트롤이 함유

작약종실: 레즈베라트롤(2-5mg/g)과 그 유도체(resveratrol-glucoside 및 viniferin,
5-15mg/g)가 다량 함유
(생육시기에 따라 함량이 다소 차이가 남)

이는 지금까지 알려진 레즈베라트롤 함유 식품(포도, 오디, 땅콩) 및 생약(호장근, 상백피, 하수오 및 대황 등) 보다 최소 10배에서 최대 100배 이르는 고함량이다. 그럼에도 불구하고 작약은 뿌리만을 약재로 사용하고 남은 종실은 거의 폐기되고 있는 실정이다. 그러므로 작약 종실의 레즈베라트롤과 그 유도체를 추출 정제하여 식품, 화장품, 의약 등의 원료로서 또는 완제품으로서 개발할 경우 직접적인 농가 소득증대를 가져올 것이다.

연구개발의 범위:

본 연구에서는 작약 유래의 종실 추출하여 레즈베라트롤의 생리활성을 검증하고 검증

된 생리활성을 타겟으로 화장품원료, 화장품 시제품, 식품원료 및 식품처방 등을 개발한다.

1. 추출, 분리 정제: 작약종실로부터 일반적인 추출법에 따라 적량의 레즈베라트롤과 그 유도체를 분리정제한다.

2. 분리된 레즈베라트롤을 대상으로 다양한 생리활성을 검증하여 그 유효성을 판단한다.

3. 화장품 원료: 작약에서 추출된 레즈베라트롤을 이용하여 처음으로 화장품 원료화를 진행한다. 레즈베라트롤은 생체에 대한 다양한 효능이 과학적으로 입증되었음에도 액상으로 원료화 한 경우 그 자체의 불안정성으로 인하여 상업화에 어려움을 겪어 온 소재이다. 본 과제에서는 대부분 액상제품인 화장품에 사용 가능한 안정한 레즈베라트롤 나노 캡슐(리포솜)을 만들어 안정화된 상업화 원료를 개발한다.

4. 화장품시제품 개발: 개발된 레즈베라트롤 원료를 사용하여 완제품용 시제품을 개발한다. 안정화 기술이 가공된 신규의 안정화 레즈베라트롤 리포솜을 원료로 사용하여 완제품을 개발하여 상용화한다.

5. 식품원료 가능성 검증 및 식품원료화:: 우선적으로 1차 경구투여독성을 실시하여 안전성의 기초자료를 확보하고 추후의 독성시험에 대한 진행여부를 결정하는 자료로 사용한다. 식품원료로서의 가능성을 타진하기 위하여 분말과 액상원료화가 필요한데 액상의 경우는 화장품과 마찬가지로 안정화 원료가 필요하다. 본 연구에서는 액상식품 원료일 경우 화장품과 같은 기술을 사용하여 개발한다. 분말은 80% 이상의 순도를 가진 레즈베라트롤을 소량 생산하여 상업화 가능성을 타진한다. 식품원료를 위한 규격서 제작용 자료와 액상식품용 안정화 레즈베라트롤 원료를 개발한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

국내기술개발 현황

1. **화장품, 식품 원료 생산회사:** 화장품 원료는 대부분 유럽과 구미 쪽에서 수입되다가 최근에는 국내에서도 일부 추출물들이 생산되고 있다. 바이오랜드, 그린바이오텍 등의 코스닥 기업이나 당사를 비롯한 벤처기업을 중심으로 국산 화장품 원료 개발이 순조롭게 진행되고 있다. 현재까지 레즈베라트롤이 공식적으로 국내에서 생산이 보고된 적은 없다. 당사는 본 연구결과 작약씨로부터 레즈베라트롤을 얻는 방법을 완성하여 추출된 일부 레즈베라트롤을 상용화하였다. 특히 완성된 화장품용 원료를 동성 제약과 일부 소규모 회사에 다양한 방식으로 이미 공급하고 있다.

2. **화장품 생산, 판매회사:** 태평양, 코리아나를 비롯한 많은 장업사에서 레즈베라트롤을 화장품에 사용하기 위하여 제형의 안정도, 원료의 안정도, 용해도 부분 등에 대한 검토가 진행되어져 왔는데 물질의 효능 효과가 뛰어난에도 물질의 불안정성이 나타나 현재 제품에 사용되고 있지 못하다. 제형 내에서의 안정도가 해결된다면 대부분의 장업계의 대기업에서 사용할 것으로 예견되고 있다.

3. **기능성 식품 생산, 판매회사:** 알로에마임, 온누리 약국체인, 남양알로에 등과 대부분의 제약사에서 기능성 건강보조식품을 생산 또는 위탁 가공하여 판매 중에 있다. 식품으로 사용할 경우 캡슐이나 파우더 제형에서는 특별한 어려움 없이 사용 가능하다. 다만 음료나, 술 또는 액상제품인 경우 화장품과 마찬가지로 제형 내에서의 안정도를 확보하여야만 사용 가능하다.

현재 미국 등의 선진국을 중심으로 포도 및 호장근 유래의 레즈베라트롤 함유 건강보조식품이 사용되고 있으나 국내에서는 호장은 사용허가가나지 않은 상태이며 포도유래의 레즈베라트롤 역시 상업적으로 사용된 적은 없다. 작약 유래의 레즈베라트롤은 국내외적으로 현재까지 식품용으로 사용된 적은 없으나 작약은 고래로 약재로 사용돼 온 식물로서 작약종자에 독성물질의 예는 보고된 적이 없다. 따라서 포도보다 고농도의 레즈베라트롤이 함유된 작약씨 유래의 레즈베라트롤은 안전성이 확보된다면 건강보조식품의 신규소재로서 이용 가능할 것으로 사료된다.

해외기술개발현황

1. MMP사: 호장 유래의 레즈베라트롤을 생산하여 식품, 화장품 원료로 판매하고 있음. 그러나 판매되고 있는 레즈베라트롤은 가격이 고가이며 (80%가 1000만원/kg) 건조된 분말타입으로 식품용으로 사용이 가능하며 미국과 유럽에서 건강보조식품에 사용하고 있다. 반면에 화장품용으로는 액상화 후 사용해야 하는데 레즈베라트롤 자체가 난용성이라 사용이 어렵다.

2. ADM 사: 호장, 포도 유래의 레즈베라트롤을 식품용, 제약용으로 생산하여 공급 중임. 역시 가격이 고가이며 미국과 유럽을 제외한 대부분의 국가에서 허가문제가 까다로워 현재 매출은 크지 않은 편이다. 다만 식품용으로써 각국의 허가 문제가 해결되면 매출이 급증할 가능성이 있다. 반면에 화장품 원료로서 사용하기에는 역시 MMP사와 같은 문제를 안고 있다.

3. Kinglongbio사: 중국의 허브추출 전문회사로서 호장유래의 레즈베라트롤을 생산하여 전세계에 공급하고 있다. 분말상으로서 품질이 MMP나 ADM에 비해 떨어지는 것으로 알려져 있다. 반면에 가격이 선진국 제품에 절반밖에 차지하지 않아 품질만 보장된다면 식품, 제약용으로 성장가능성이 크다. 역시 화장품용 원료는 생산되고 있지 않다.

연구결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치 등을 기술

1. 화장품용 원료화 및 제품화: 레즈베라트롤 자체의 물리적인 불안정성 때문에 국내를 비롯하여 전 세계적으로 사용이 어려운 점이 있었는데 본 관계에 의하여 안정화된 레즈베라트롤을 사용하여 완제품화 함으로써 제품에 대한 사용량이 늘어날 것으로 예견되고 있다. 국제적으로 레즈베라트롤을 대상으로 액상화장품 원료화는 본 연구에서 처음으로 시도한 것으로서 레즈베라트롤의 액상 제형내에서 사용하더라도 안정도에 문제가 생기지 않도록 다중층 리포솜 기술을 사용하여 안정한 원료를 얻었다. 또한 얻어진 안정화 원료를 사람피부에 직접 사용해 본 결과 아무런 자극이 나타나지 않아 화장품 원료로 적합하였다.

본 신규의 화장품용 원료는 당사에서 개발, 공급하는 동성제약의 리케아화장품의 미백 기능성화장품에 이미 상업적으로 사용되었다. 또한 당해연도 8월부터 판매중인 우리농산물 먹거리 운동의 중추세력인 한살림공동체의 “자연그대로“ 제품에 사용되었다.

2. 식품원료화: 식품으로서 사용되기 위해 작약씨로 부터 추출방법을 대량생산이 가능한 생산방법을 확립하였다. 현재 작약뿌리는 한약재나 건강보조식품 등에 사용 가능하다. 반면에 작약종자 유래물질은 안전성이 확보되지 못한 관계로 사용이 허가되어 있지 않다. 본 연구에서 쥐를 이용한 1차 독성시험에서 아무런 독성이 나타나지 않았으며 문헌상으로도 작약종자에 어떠한 독성성분이 있다는 보고가 없는 것으로 보아 식품용원료로의 개발 가능성이 크다 하겠다.

식품용으로 사용되기 위해서는 건조분말로서 일반적으로 사용되거나 음료나 술 또는 기타의 액상제품 등에는 액상제형으로서 사용된다. 즉 화장품과 마찬가지로 식품에 있어서도 액상제형의 제품에서는 제형 내에서의 안정도를 확보하는 게 상업화 원료의 첫째 조건이다. 본 연구에서는 건조분말 외에 화장품과 마찬가지로 액상의 식품에 사용가능한 다중층 리포솜 기술을 사용하여 식품원료 2종을 완성하였다.

본 과제에서는 식품용 원료화 연구에서 1차 독성시험만이 이루어 졌으며 독성이 없는 것으로 나타났다. 따라서 본 과제 이후 안전성확보와 신규원료로서 개발하기 위한 또 다른 다양한 독성시험을 준비중에 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

● 작약씨로부터 레즈베라트롤의 분리정제

1. 작약씨로부터 레즈베라트롤의 분리정제

1-1. 시험원리

레즈베라트롤은 식물에서 생산되는 이차 대사산물로서 물리화학적 특성 상 물에 녹지 않는 갈색의 화합물이다. 추출 과정은 대부분의 이차 대사산물의 정제 과정과 같은 방법을 사용하게 되는데 1차로 헥산 등에 의한 지질류의 제거와 알콜 추출에 의한 2차 대사산물(terpen 계열)의 추출이 이뤄진다. 알콜 추출된 추출물은 다시 분획, 분리하여 레즈베라트롤만을 정제하는 방법을 사용한다. 그러므로 “탈지--> 알콜 추출--> 농축--> 컬럼, 정제--> 분획 및 최종정제“ 과정으로 진행한다.

각 추출단계 별 레즈베라트롤을 추적하기 위하여 소량의 시료를 채취하여 HPLC를 사용하여 분석하여 확인토록 한다.

1-2. 시험내용: 작약 종실로부터 기능성 원료 생산 공정 개발:

작약 종실은 수원에 위치한 건화약품(수원)을 통해 순천 작약단지로부터 년 1회에 걸쳐 공급받기로 하였고, 1차로 구입된 건조 작약종실 1 kg을 고르게 분쇄한 후 노말 헥산을 가하여 탈지한 다음 얻어진 탈지박에 100% 메탄올을 가하여 일주일 간 상온에서 3일 간 반복 추출한 후 여과 농축하여 메탄올 추출물 최종 72.7 g을 얻었다. 이 메탄올 추출물에 10% 메탄올 가하여 가용화 한 후 10% 메탄올로 평형화 된 다이아 이온 HP-20 컬럼(직경 10 cm X 길이 1 m)에 충전하여 흡착 시킨 후 20% 메탄올 15l를 사용하여 용출 시켰다. 1차 용출 후에 40% 메탄올 30 리터를 사용하여 다시 2차 용출시키고 최종 80%의 메탄올로 용출시켜 3종류의 용출액을 일부 HPLC로 분석한 결과 대부분의 레즈베라트롤 유도체인 레즈베라트롤 글루코사이드는 40% 메탄올 용출액 내에 존재하고 있었고 트란스 레즈베라트롤은 80% 메탄올 분획에 존재하였다 (HPLC자료 참조).

1-3. 결과

레즈베라트롤만 단일 분리 하기 위하여 80% 메탄올 용출액을 감압 농축하여 16.1g의 건고물을 회수하였다. 회수된 건고물을 메탄올 100 ml에 녹인 후 메탄올로 평형화 된

세파텍스 LH-20칼럼(직경 3cm X 90 cm)에 충전 후 동일 용매를 사용하여 튜브당 10 ml 씩 300개를 분획 회수하였다. 자외선 검출기 필터(280 nm)를 통하여 분리되어 나오는 3가지 흡수분획을 모아 따로 감압농축하여 분취 HPLC를 수행하여 최종 분획 1에서 0.57g의 레즈베라트롤을 얻었으며 분획 2와 분획3에서 각각 7.2g, 4.2g의 유도체로 추정되는 물질을 얻었으며 흡광도로 추정하면 비니페린 계열의 물질인 것으로 여겨진다.

40% 분획에서는 상기와 같은 방법으로 레즈베라트롤 글루코사이드를 추출 정제하였는데 초기 약 14.2g의 건고물에서 최종 약 0.75g의 레즈베라트롤 글루코사이드를 얻을 수 있었다.

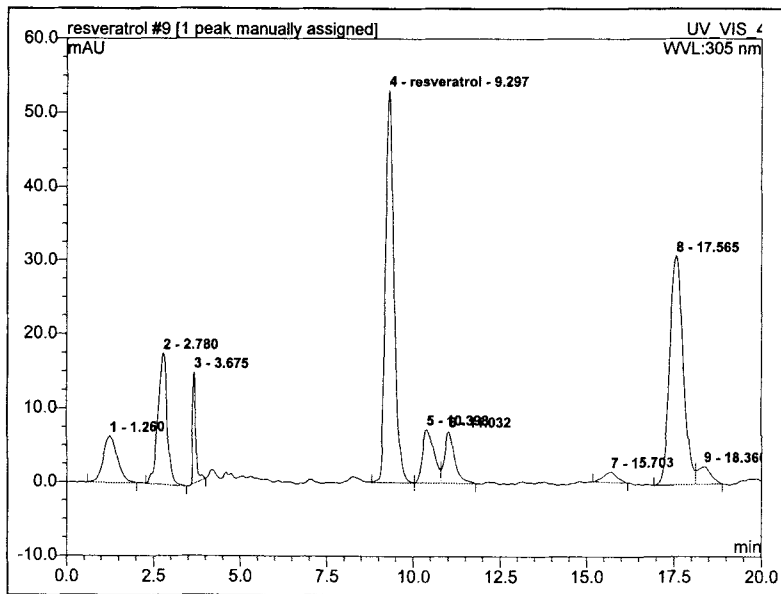


그림 1. 메탄올 추출액의 HPLC분석. 용출피크 9분대에 Resveratrol이 분리되었다. 305nm에서 측정하였다.

그러므로 건조 작약씨 내의 레즈베라트롤의 함량은 약 0.057% 정도로 추정된다. 이 함량은 포도와 비교할 때 포도의 경우 0.005~0.01%의 낮은 함량에 비해 볼 때 5배에서 10배정도 함량이 높다. 특히 작약 종실이 한약 등으로 사용되지 않고 버려지고 있기 때문에 작약 씨를 수확하여 레즈베라트롤의 생산원료로 사용한다면 경제적으로 큰 장점이 있다. 식품인 경우 작약은 종실의 사용이 허가되지 않은 상태라 현재 사용

이 불가능하나 화장품 원료인 경우 사용에 아무런 하자가 없기 때문에 작약씨 유래의 레즈베라트롤과 그 유도체를 사용하여 화장품 쪽 원료로 개발할 시 기능성이 뛰어난 원료로 사용이 가능할 것으로 사료된다.

2. 대량생산 시스템 확보

상기와 같은 방법으로 충북 진천에 위치한 식품원료업체인 건우에프피사에서 작약씨 1000kg에서 약 300g 정도의 80% 순도로 레즈베라트롤을 정제하였다. 또한 역시 같은 순도로 레즈베라트롤 글루코사이드를 역시 80% 순도로 100g 정제하였다(그림 참조)

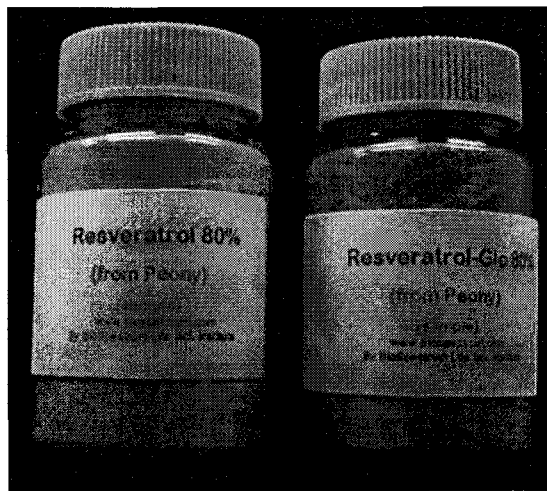


그림 2. 작약 종실로부터 분리된 레즈베라트롤(좌)과 레즈베라트롤 글루코사이드(우)

작약씨는 현재 버려지고 있으나 또한 구매시스템이 갖춰지지 않아 2년 간에 걸쳐 구입할 수 있는 양이 1000kg 밖에 되지 않아 연구에 어려움이 있었다. 특히 본 과제 초기의 의성약초연구소가 제외되는 바람에 어려움이 더욱 컸다.

● Resveratrol에 대한 생리 생화학적 효능검증

본 연구과제에서 분리 정제된 레즈베라트롤을 대상으로 다양한 생리활성검증을 수행하여 작약유래의 레즈베라트롤이 상업적으로 이용가능한 우수한 바이오소재인지를 살펴보고자 본 연구를 진행하였다.

1. 항산화능에 대한 시험:

산화반응은 생체 내에서 대사과정 중에 생겨나는 여러 가지 산화물들에 의해서 야기 되는 세포에 대한 해로운 반응으로서 산화에 의한 손상이 개체의 노화와 밀접한 연관성은 이미 잘 알려져 있다. 특히 최근에는 모든 생체과정의 파괴적인 반응에는 거의 모든 과정에 산화과정이 결부되어 있음도 잘 알려져 있다. 따라서 산화과정을 막을 수 있는 물질은 생체의 노화를 늦추고 다양한 장기보호 및 세포손상을 방지할 수 있는 응용범위가 매우 큰 생화학적으로 중요한 물질로 분류될 수 있을 것이다.

1-1. DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)법에 의한 항산화능 측정

1-1-1. 시험원리

DPPH는 산화/환원 환경변화에 따라 색을 띠는 라디칼로 시료의 라디칼 제거능력을 O.D값 측정을 통해 직접 확인할 수 있다.

1-1-2. 시험방법

1. 시료를 증류수 또는 용매에 녹인다.
2. 액상상태의 100 ml 시료에 200 mM DPPH 900 ml을 섞어준다.
3. 잘 섞은 후, 상온에서 10분간 incubation한다.
4. A517nm에서의 absorbance를 측정한다. (Blank: 증류수 또는 용매, Control: 1에서 시료를 넣지않고 DPPH와 증류수 또는 용매로만 구성된 실험구).

하기의 계산식에 따라서 역가를 측정한다.

계산 $\text{Free radical scavenging activity(\%)} = [1 - (\text{Absorbance of test compound} / \text{Absorbance of control})] \times 100$.

1-1-3. 결과

DPPH에 의한 항산화능을 측정한 결과 250uM 까지 농도에 따라 유의성있게 항산화능이 증가하였다. 따라서 레즈베라트롤은 항산화능이 우수한 것으로 판명되어 식품, 화장품 및 의약품으로서 상용화할 수 있는 좋은 소재인 것으로 판명되었다.

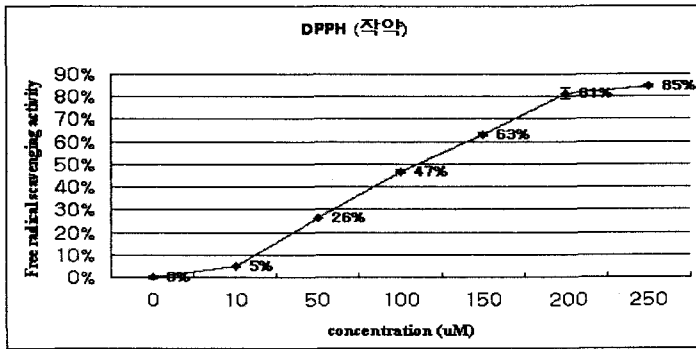


그림 3. 작약유래 레즈베라트롤의 DPPH법에 의한 항산화능

1-2. SOD 활성측정

1-2-1. 시험 원리

Superoxide anion를 과산화 수소와 산소분자로 전환시키는 반응을 촉매하는 Superoxide dismutase는 가장 중요한 항산화 효소중의 하나이다. SOD활성을 측정하기 위하여 직접또는 간접적인 방법들이 개발되었다. 이러한 방법 중, NBT(nitroblue tetrazolium)를 이용한 간접적인 방법이 편리성 때문에 많이 이용되고 있다. 하지만, NBT method는 formazan dye의 물에 대한 난용성과, 환원된 xanthine oxidase와의 상호작용을 한다는 단점을 가지고 있다. SOD assay kit는 수용성 tetrazolium salt를 이용, SOD에 의한 환원으로 수용성의 WST-1(2-(4-Iodophenyl) -3-(4-nitrophenyl) -5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt)를 형성해, SOD assay를 간편하게 할 수 있다는 장점이 있다.

1-2-2. 시험 방법

- ① sample solution 20ul를 96 well plate의 각 well에 첨가한다..
- ② Reagent solution 200ul를 첨가한 후 잘 섞어 준다.
- ③ 마지막으로 Enzyme working solution을 넣어준 후, 37도에서 20분이 incubation한다.
- ④ 450nm에서 Absorbance를 측정한 후, SOD activity(inhibition rate %)를 계산한다.

1-2-3. 결과

1µM, 10µM, 100µM 농도로 레즈베라트롤을 처리한 경우 각 35%, 70%, 80% 의 억제효과를 나타냈다. 레즈베라트롤은 강력한 천연 항산화제인 것으로 판명되었다. SOD mimicker로써 생체를 산화물로부터 보호하는 상업적으로 사용가능한 물질인 것으로

판단된다.

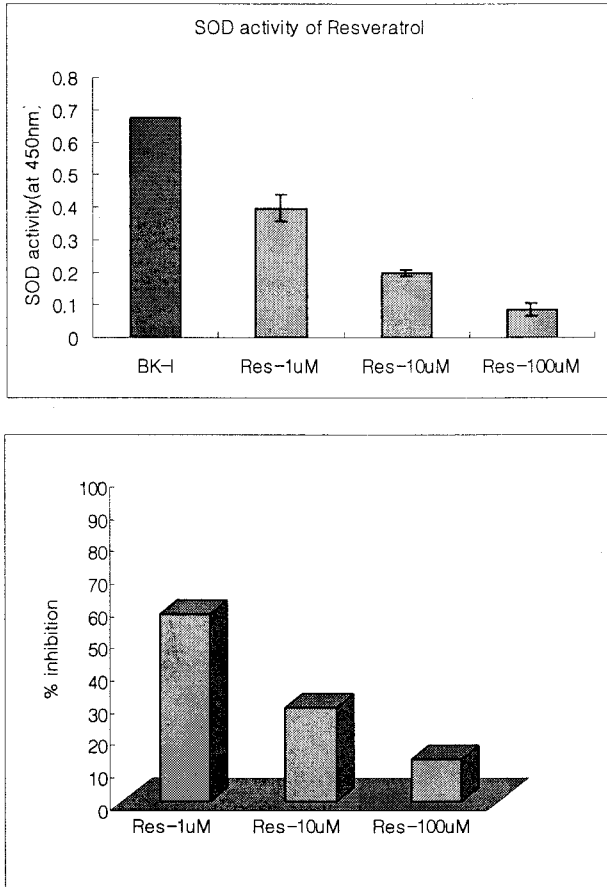


그림 4. 레즈베라트롤의 Superoxide radical 제거능

2. 항노화 효과에 대한 평가:

피부에 대한 항노화 효과를 평가하고자 할 경우에 많이 사용되는 방법으로는 콜라겐 생합성능을 측정하거나 역으로 콜라게네이즈나 엘라스테이즈에 대한 억제능을 평가하는 경우가 많다. 이는 이들 지표 생화학적 기작이 나이에 따른 피부의 노화와 밀접히 관련돼 있으며 기존 연구에서 그 연관성이 유의함이 밝혀져 있기 때문이다. 따라서 이들에 대한 작용유래의 레즈베라트롤의 효과를 측정함으로써 항노화효과를 유추해 볼 수 있다.

2-1. 콜라겐 생합성능 측정

2-1-1. 시험원리

콜라겐은 피부를 구성하는 단백질의 70% 이상을 차지하는 주요 단백질로서 세포의 구조체 역할을 수행한다. 세포가 손상되거나 콜라겐 합성이 원활하지 못하면 세포가 위축되고 외부환경에 대하여 매우 취약하게 된다. 입술의 점막부위의 주요 단백질 역시 콜라겐으로서 점막부위의 콜라겐 생성을 촉진하여 줌으로써 세포들의 건강상태를 유지시켜 외부 자극이나 스트레스 등에 대하여 저항할 수 있도록 할 수 있다. 따라서 콜라겐 생합성능을 측정함으로써 손상된 입술의 복원력을 간접적으로 추정해 볼 수 있다.

콜라겐(type I, II, III, IV and V)은 프로콜라겐이라는 전구물질의 형태로 합성된다. 프로콜라겐은 아미노 말단과 카복시 말단에 프로펩티드라는 펩티드염기서열을 포함한다. 프로펩티드의 기능은 소포체내에서 프로콜라겐 분자의 folding을 도와줌과 동시에 콜라겐 중합반응이 일어날 때 콜라겐 분자로부터 절단, 분리된다고 알려져 있다. 그래서 분리된 프로펩타이드의 양을 측정함으로써, 세포 내에서의 콜라겐 생합성 정도를 파악할 수 있다.

2-1-2. 시험방법

1. Human normal fibroblast cells을 6well dish에 일정수의 세포를 seeding한 후 하루 동안 배양한다.
2. FBS가 0.05%들어있는 각각의 well에 시료를 농도별로 처리한 후, 48시간 동안 다시 배양한다.
3. 48시간 후, 배지를 제거한 후, PBS로 2회 세척한다.
4. 세포를 수집(harvest)하여, 일정량의 lysis buffer를 처리하여 cell lysate를 만든다.
5. 각 sample의 100 μ l를 microplate의 각 well에 넣고, 37C에서 2시간 동안 incubation 한다.
6. 각 well를 PBS 400 μ l로 3회 세척한다.
7. 용액I을 각 well에 100 μ l씩 넣고, 37C에서 1hr 동안 incubation한다.
8. 각 well를 PBS 400 μ l로 3회 세척한다.
9. 기질용액(TMBZ)을 각 well에 첨가한 후, 상온(20-30C)에 15분간 incubation한다.
10. 1N H₂SO₄를 각 well에 첨가 후, 잘 섞는다.
11. 450nm에서 ELISA reader로 detection한다.

2-1-3. 결과

비타민 C는 콜라겐 생합성에 필수적인 cofactor로써 대표적인 항노화 물질로서 알려

져 있다. 비타민 C는 콜라겐 생합성에 사용되는 주요 아미노산인 Hydroxy proline과 Hydroxy lysine에 필요한 OH기를 아미노산에 전이할 때 OH기 도너로써 작동한다. 그림에서 보여지듯이 비타민 C는 100uM, 250uM, 500uM에서 농도증가에 따라 콜라겐 합성이 증가하였다. 특히 500uM에서는 약 20% 정도 증가하였다. 레즈베라트롤은 10uM, 50uM, 100uM의 처리농도 모두에서 콜라겐 합성 증가는 관찰되지 않았다. 따라서 레즈베라트롤은 항노화효과 중 콜라겐 생합성과는 관련이 없었다.

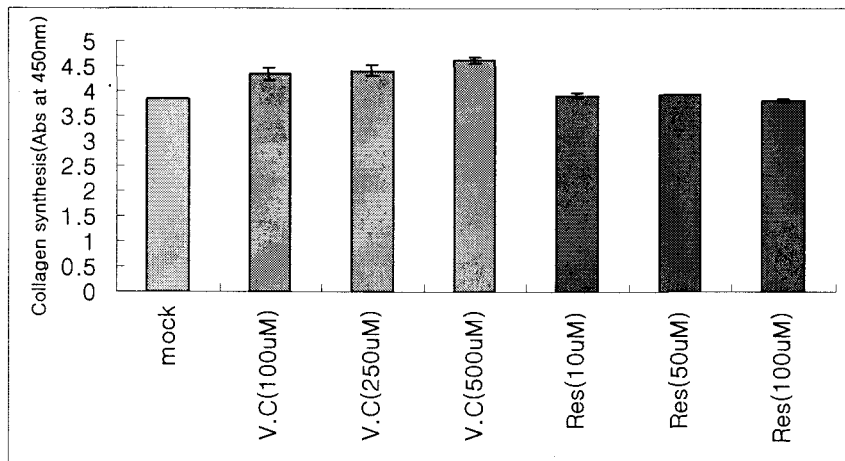


그림 5. 작용유래 레즈베라트롤의 콜라겐 생합성에 미치는 영향

2-2. Elastase 억제능

2-2-1. 시험원리

엘라스테이즈는 피부에 존재하는 대표적인 단백질분해효소로서 나이가 들어감에 따라 그 역가가 증가하여 피부구조단백질인 엘라스틴을 분해하여 피부구조자체를 파괴한다. 즉 엘라스테이즈의 역가가 활성화 될수록 구조단백질인 엘라스틴이 파괴되어 주름이 늘어나게 된다. 따라서 엘라스테이즈의 역가를 저해할 수 있는 물질은 주름개선 등의 항노화 성분으로 사용되어질 수 있다.

2-2-2. 시험방법

1. 96well plate에 10nM elastase(0.25mg/ml) 20 ml를 넣는다.
2. 0.2M Tris-Cl(pH8.0)로 희석된 시료 280 ml를 넣어주어 반응혼합물을 만든다.

3. 25 C 에서 10분간 incubation한다.
4. 125mM SANA 10 ml를 첨가한다.
5. A410nm에서 2-3분간 absorbance를 측정한다.

평가방법: 시료에 의해 elastase의 활성감소가 클수록 elastase 억제제로써 효과적으로 작용한다고 판별한다.

2-2-3. 결과

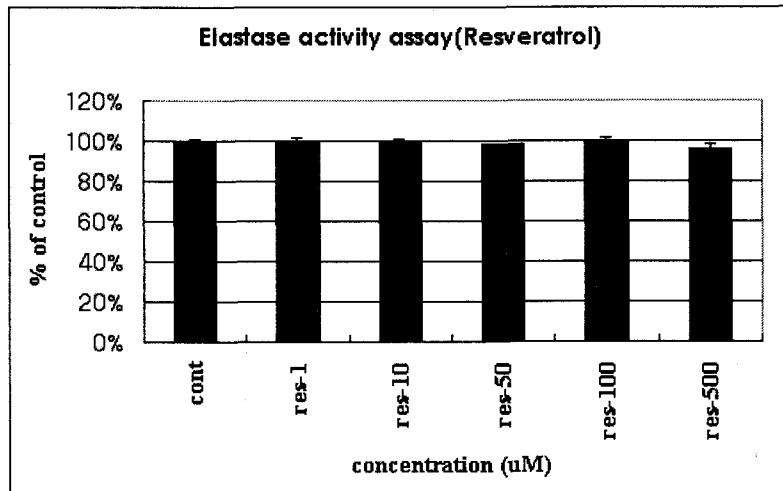


그림 6. 약효유래 레즈베라트롤의 엘라스테이즈에 대한 억제능

그림에서 보여지듯 약효유래의 레즈베라트롤을 1uM에서 500uM 까지 처리한 결과 모든 처리구에서 엘라스테이즈에 대한 억제능은 나타나지 않았다. 따라서 엘라스테이즈에 대한 억제효과가 나타나지 않아 콜라겐 생합성과 마찬가지로 항노화에 대한 효과는 없는 것으로 검증되었다.

3. 미백효능에 대한 시험

피부의 색은 피부에 존재하는 멜라닌 생성세포(Melanocytes)내의 멜라닌 생합성효소인 타이로시네이즈에 의해서 조절된다. 타이로시네이즈는 타이로신으로부터 여러 단계를 거쳐 최종적으로 멜라닌을 생합성하는 주요효소이다. 따라서 타이로시네이즈의 역할을 억제할 수 있는 지의 여부가 미백효능이 있는 지에 대한 지표가 될 수 있다. 또한 다양한 멜라닌 생성 세포를 대상으로

3-1. Resveratrol 실험결과(Tyrosinase activity)

3-1-1. 실험원리

시료가 mushroom tyrosinase(sigma)의 활성을 억제하는지 측정한다. 기질인 L-tyrosin(sigma)과 mushroom tyrosinase 그리고 시료를 함께 반응시킨 후 티로신으로부터 생성된 도파크롬의 O.D값을 잰다.

3-1-2. 실험방법

1. 96well plate를 준비한다.
2. 각 well에 1mM L-tyrosin을 20 ml씩 처리한다.
3. 0.1M potassium phosphate buffer(pH 8.0)로 희석한 resveratrol을 농도별로 180 ml씩 넣어준다.
4. 16 unit mushroom tyrosinase를 10 ml씩 넣고 37C 에서 10분간 반응시킨 후 A450nm에서 absorbance를 측정한다.

평가방법: 시료에 의해 tyrosinase의 활성감소가 클수록 tyrosinase 억제제로서 효과적으로 작용한다고 판별한다

3-1-3. 결과

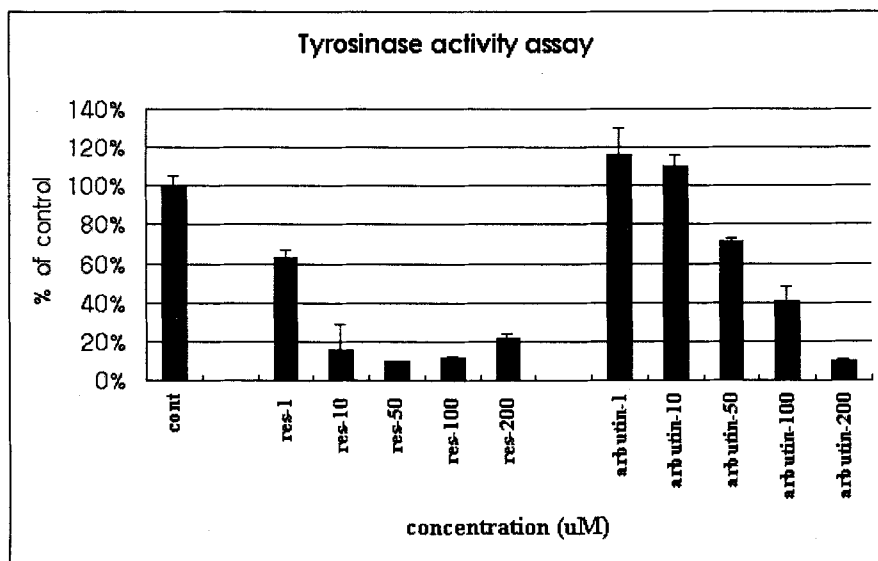


그림 7. 레즈베라트롤의 타이로시네이즈에 대한 억제능

대조구에 대하여 현재까지 가장 널리 사용되고 있는 알부틴은 50uM에서 200uM까지 농도에 따라 유의성있게 억제하였다. 반면에 1uM의 낮은 농도에서는 효소능을 강화하였는데 이는 알부틴 자체의 항산화력에 의한 효소보호작용 때문일 것으로 추정된다. 10uM에서는 별다른 효과가 나타나지 않았다.

레즈베라트롤은 1uM에서 200uM 까지 처리한 모든 처리구에서 효소억제능을 나타냈으며 전체적으로 알부틴에 비하여 좋은 효과를 나타내었다. 1uM의 낮은 농도에서 약 40%의 감소효과를 보여주었으며 10uM에서 200uM까지는 약 80%의 감소효과를 나타내었다. 이는 알부틴 100uM에서 200uM 사이에 속하는 효과범위로서 레즈베라트롤이 알부틴에 비하여 훨씬 강력한 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

따라서 레즈베라트롤은 멜라닌 생성세포 내로 전이해 줄 수 있다면 강력한 미백효과를 나타낼 수 있을 것으로 여겨진다.

3-2. Resveratrol 실험결과(Melanin content assay)

3-2-1. 실험원리

피부의학 분야에서 가장 널리 사용되고 있는 마우스 B16 melanoma 세포를 사용하여 세포배양과정에 생겨나는 멜라닌의 함량을 무처리구와 처리구에서 측정하여 미백효과가 있는지를 판단할 수 있는 시험법이다. B16 melanoma 세포주에 시료를 처리하여 시료가 최종 멜라닌 생성에 미치는 영향을 melanin content assay를 통해 측정한다.

3-2-2. 실험방법

1. p60 culture dish에 B16 melanoma 세포를 20,000개 농도로 깔아준다.
2. 하루 후 세포부착을 확인하고 시료를 농도별로 처리한다.
3. 시료 처리 3일째 되는 날 세포를 수확하고 hemocytometer를 이용해 세포 수를 세어준다.
4. 1×10^6 세포수당 1ml의 1N NaOH용액을 넣고 세포를 녹인 후 A450nm에서 absorbance를 측정한다.

평가방법: 시료에 의해 melanin content가 감소할수록 미백효과가 있다고 판별한다

3-2-3. 결과

그림에서 보여지듯 비교구로 사용된 알부틴에서는 100uM과 250uM에서 무처리구에

비해서 약 30% 및 70%의 높은 멜라닌 합성억제율을 나타내어 기존에 널리 사용되는 미백제 임을 다시 한번 알 수 있었다. 레즈베라트롤에 있어서는 1uM의 낮은 농도에서 20% 정도의 멜라닌 합성 억제율을 나타냈다. 그러나 10uM에서 50uM 농도에서는 대조구와 유의성있는 차이를 나타내지 않았다. 반면 75uM 농도에서는 약 30% 정도의 멜라닌 합성억제능을 나타내었다.

비록 농도 의존적인 억제능을 나타내지는 않았지만 몇몇 농도에서 멜라닌 합성억제능을 나타냈으며 타이로시네이즈 효소 억제능도 나타냈기 때문에 레즈베라트롤은 신규의 미백원료로서 사용이 가능한 것으로 판단된다.

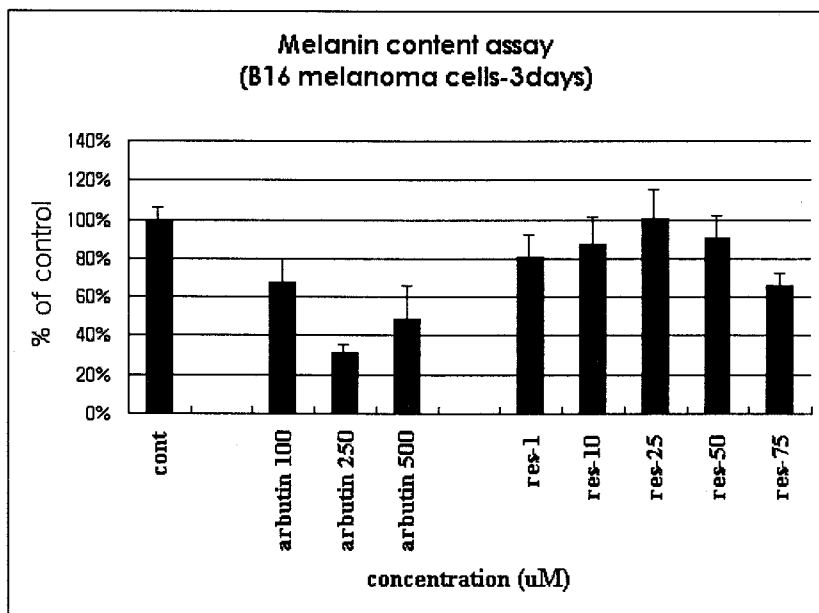


그림 8. 레즈베라트롤의 멜라닌 생합성에 미치는 영향

4. 항염증 효능에 대한 시험(COX-2 활성측정)

Cyclooxygenase (COX)는 cyclooxygenase와 peroxidase활성을 모두 보유한 이중기능의 효소이다 Cyclooxygenase활성은 arachidonic acid를 hydroperoxy endoperoxide(Prostaglandin G2: PGG2)로 전환시키고, peroxidase활성은 이 endoperoxide를 Prostaglandin H2로 전환시킨다. 이 Prostaglandin H2는 Prostaglandin, Thromboxane, Prostacyclin 등의 전구체로 알려져 있다.

지금까지 두 종류의 cyclooxygenase가 알려져 있다. Cyclooxygenase-1(COX-1)는 다양한 종류의 세포에 일상적으로 발현되는 효소로서, 정상적인 세포 항상성에 관여한다고 보고되어 있다. 반면에, Cyclooxygenase-2(COX-2)는 세포분열을 유도하는 다양한 자극들, 즉 phorbol ester, lipopolysaccharide, cytokine등에 의해 발현이 유도되어진다고 알려져 있다. COX-2는 격렬한 염증 상황에서 prostaglandin을 생합성하는 효소이다. 그래서 COX-2는 비스테로이드 항염증 물질을 개발하는데 이용되는 지표효소로도 잘 알려져 있다. 따라서 COX-2에 대한 억제율을 측정함으로써 항염증효과를 유추할 수 있다.

4-1. 시험 원리

COX-2 활성분석은 cyclooxygenase의 peroxigenase활성을 이용한 것이다. 기질로는 N,N,N,N,-tetramethyl-p-phenylenediamine(TMPD)를 이용해서 590nm에서 Absorbance를 측정하여 COX-2의 활성을 측정한다.

4-2. 시험 방법

- ① HaCaT cells을 6well dish에 일정수의 세포를 seeding한 후 하루동안 배양한다.
- ② FBS가 없는 세포배지에 8시간 배양한 후, PMA(10uM)를 첨가 또는 동시에 약 (resveratrol)를 농도별로 처리한 다음 6시간동안 다시 배양한다.
- ③ 6시간 후, 미디어를 제거한 다음, PBS로 2회 세척한다.
- ④ 세포를 수집(harvest)하여, 일정량의 cox buffer를 처리한 후, sonicator를 이용하여 cell lysate를 만든다.
- ⑤ 각 cell lysate를 4oC, 12000rpm으로 15분동안 원심분리한다..
- ⑥ 96well plate의 각 well에 assay buffer(140ul), heme(10ul), cell lysate(10ul), SC-560(COX-1 inhibitor) 10ul를 각각 첨가한다..
- ⑦ 25oC에 5분동안 incubation한다.
- ⑧ Colorimetric substrate 20ul, A를 각 well를 PBS 400μlchidonic acid solution 20ul를 넣고 섞은 후, 25oC에서 5분간 incubation한다.
- ⑨ 590nm에서 ELISA reader로 detection한다.

4-3. 결과:

그림에서 보여지듯 PMA를 처리하여 자극을 발생시킨 비교구에서는 무처리구에 비해 COX-2 효소가 약 35% 정도 활성도가 증가하였다. 반면에 레즈베라트롤 처리구에서는 1uM 농도에서는 억제효과가 나타나지 않았으나 10uM에서 100uM 농도 까지 모든 농도에서 대조구에 가깝게 완전 억제하였다.

따라서 레즈베라트롤은 강력한 COX-2 효소 억제제로서 항염증 관련 의약, 화장품,

식품 등에 사용될 수 있는 물질로 판단된다.

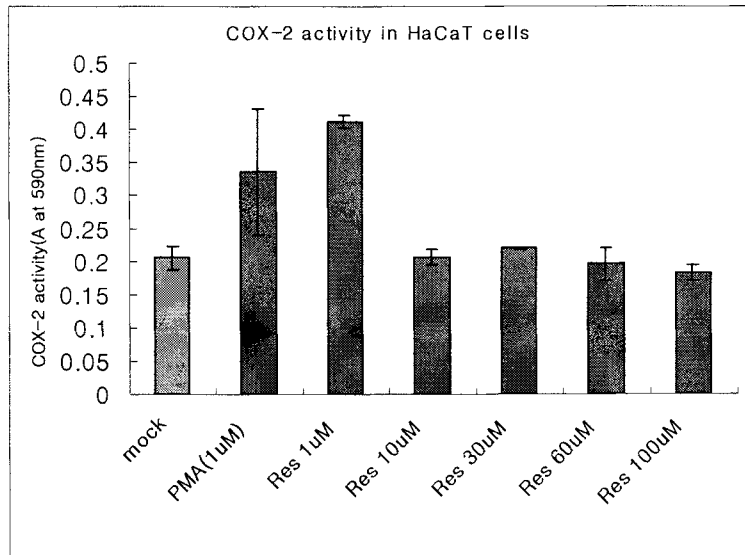


그림 9. 약유래 레즈베라트롤의 COX-2 효소에 대한 억제능

5. 세포증식효과; 세포증식법 시험법(Cell Proliferation assay)

5-1. 시험원리

배양중인 세포에 시험물질을 부가하여 추가로 배양한 후 증식된 피부세포의 수를세어 효능있는 물질의 효능을 평가하는 방법으로서 세포증식능 자체에 대한 평가임으로 실제적인 노화방지물질로서의 평가가 가능하다.

5-2. 시험방법

시험에 사용된 세포주로는 keratinocyte 세포주인 HaCAT cell과 Normal Fibroblast가 사용되었다. 세포배양은 10% 소혈청, 1%의 페니실린-스트렙토마이신(합성체-클론텍사 구입) 혼합제를 첨가한 DMEM 배지를 사용하였고 배양은 CO2가 5%, 온도 37 C로 유지되는 배양기를 사용하였다. 피부세포 증식에 대한 대조구로서 이미 피부세포의 분열을 촉진한다고 알려진 콩 유래의 Genistein을 사용하였다. 측정시료로는 25 uM, 50 uM, 100 uM의 약유래의 레즈베라트롤을 사용하였다.

세포를 96 well의 각 well에 10000개를 부착배양 시킨 후 상기 농도로 DMSO에 잘 녹인 시료를 적량 가하여 1일간 더 키운 후 MTT를 이용하여 흡광도로서 시료의 효능을 측정하였다.

5-3. 결과

레즈베라트롤은 유방 세포주에서와 마찬가지로 각질화 세포인 HaCAT의 세포증식을 촉진 하는 효과를 나타냈다. 25uM과 50 uM에서 각각 92%와 98%의 높은 세포 증식 능을 보여 주었으나 100 uM의 비교적 고 농도에서는 세포증식능이 25uM 이나 50uM 에 비해서 낮게 나타났다. 특히 세포 증식능이 큰 것으로 알려진 제네스테인은 같은 농도에서 레즈베라트롤보다 세포증식능이 40% 정도 낮게 나왔다. 그러나 실제 판매가 배 이상 차이가 있기 때문에 제네스테인은 여전히 항, 노화-주름 개선용 원료로서 좋은 원료인 것으로 사료된다.

표 1. 사람 각질화 세포 HaCAT에 대한 레즈베라트롤의 세포증식 효과

항목	세포 증식효과(%)
대조구(무 처리구)	-
레즈베라트롤(25uM)	92.20 ± 1.89
레즈베라트롤(50uM)	98.24 ± 5.87
레즈베라트롤(100uM)	60.28 ± 3.23
제네스테인(50uM)	71.86 ± 3.12

6. 에스트로겐 유사효과

6-1. 시험원리

식물 유래의 피토 에스트로겐의 활성을 검정하기 위하여 사람의 에스트로겐 수용체가 활성화된 사람유래의 유방세포주인 MCF-7을 이용하는 방법이 가장 널리 사용되고 있다(PNAS, Vol, 94, pp 14138-14143, 1997).

6-2. 시험방법

시험에 사용된 세포주로는 keratinocyte 세포주인 HaCAT cell과 Normal Fibroblast가 사용되었다. 세포배양은 10% 소혈청, 1%의 페니실린-스트렙토마이신(합성체-클론텍 사 구입) 혼합제를 첨가한 DMEM 배지를 사용하였고 배양은 CO2가 5%, 온도 37 C 로 유지되는 배양기를 사용하였다. 피부세포 증식에 대한 대조구로서 이미 피부세포의 분열을 촉진한다고 알려진 콩 유래의 Genistein과 17- 베타 에스트라디올을 사용하였다. 측정시료로는 25 uM, 50 uM, 100 uM의 약액 유래의 레즈베라트롤을 사용하였다.

MCF-7 세포는 매우 느리게 자라기 때문에 3일에 1회씩 배지를 갈아주고 10일정도 까지 기른 후 세포를 12 well plate를 사용하여 각 well에 10000개의 세포를 부착배양 시킨 후 상기 농도로 DMSO에 잘 녹인 시료를 적량 가하여 2일간 더 키운 후 MTT 를 이용하여 흡광도로서 시료의 효능을 측정하였다.

6-3. 결과

유방암 세포주인 MCF-7 세포주를 사용한 에스트로겐 유사효과에 있어 25 uM에서 103 %의 증식효과가 나타나 비교적 낮은 농도에서도 에스트로겐 유사효과를 강하게 나타내었다. 에스트로겐 유사체로서 널리 알려진 제니스테인도 50 uM 농도에서 세포 분열 효과를 나타내었다. 대조구와 비교할 때 약 70% 이상 분열능이 촉진된 것으로 나타났다. 레즈베라트롤에 있어 50 uM 이상의 농도에서는 베타 에스트라디올보다 더 강한 세포 증식능을 나타내었다. 이 결과는 레즈베라트롤의 구조가 에스트로겐과 비슷하고 동시에 에스트로겐과는 달리 강력한 항산화력을 갖고 있어 급속한 세포분열과 증식에 따르는 산화물을 신속히 제거하면서 동시에 에스트로겐 유사체로서 행동하기 때문인 것으로 사료된다. 그러므로 레즈베라트롤은 여성의 갱년기 치료제나 건강보조 식품 또는 여성의 주름개선 화장품 등에 사용되어 질 수 있을 것으로 사료된다.

표 2. 사람 유방세포주 MCF-7에 대한 레즈베라트롤의 세포증식 효과

항목	MCF-7에 대한 증식효과(%)
대조구(무 처리구)	-
레즈베라트롤(25uM)	103.20 ± 2.41
레즈베라트롤(50uM)	130.24 ± 4.91
레즈베라트롤(100uM)	143.28 ± 7.20
제니스테인(50uM)	69.86 ± 3.73
17 베타 에스트라디올	114.8 ± 7.29

● 레즈베라트롤을 이용한 원료개발 I.

레즈베라트롤의 다양한 생리활성 때문에 레즈베라트롤은 식품, 의약 및 화장품 원료로서 개발 가능하다. 본 연구에서는 식품과 화장품용의 원료개발에 목표를 두고 있는데 화장품은 원료개발시 법적인 문제가 없으나 식품인 경우는 작약의 종실에 대한 안전성이 확보되지 않은 상태라 1차 독성평가를 수행하고 독성이 없으면 계속진행하는 방식을 사용하였다.

본 과제에서는 원래 신청 연구비의 77% 이상 삭감되었기 때문에 식품원료나 제품연구는 법적인부분 등에 대한 여러 가지 미비점 때문에 집중적으로 진행하지 못 하였다.

1. 화장품용 원료개발

화장품 용 원료 2종 개발이 완료되어 상업화 되었음. 현재 국내제품에 일부 사용되고 있으며 수출을 위한 다양한 경로를 접촉하고 있음. 2종 원료에 대한 규격서는 작성이 완료된 상태임. 두 원료모두 이미 판매되고 있음

1-1. **BS-Resverol**: 1% Resveratrol이 함유된 액상의 원료로서 다양한 화장품 제품에 사용 가능하다(관련자료 첨부).

1-2. **ReSphere 1.0**: 주관연구기관의 원료 시리즈인 NanoSphere 시리즈의 한 종류로서 레즈베라트롤 1%가 되도록 나노리포좀 공법을 사용한 안정화 원료로서 개발되었다. 특히 국내 피부임상 전분기관인 더마프로에서 자극임을 수행한 결과 아무런 자극이 유발되지 않아 피부에 대한 기능성 화장품 개발시 사용가능한 원료로 판매중이다(관련자료 첨부).



그림 10. BS-Resverol 1.0과 BS-ReSphere 1.0의 원료 샘플(현재 화장품업계 공급 중)

2. 식품원료개발

식품인 경우 작약 종실인 경우 식품 원료로 허가되지 않았기 때문에 1차 독성 시험을 먼저 진행하였다. 독성시험, 허가 등이 선결되지 않아 시험을 진행하지 못하였고 기 허가된 화장품 분야에 집중함으로써 1년차에 사업화에 성공하여 매출이 발생하는 좋은 결과를 얻을 수 있었다.

2-1. 경구단회투여독성시험: 한국화학시험연구원에 의뢰하여 시험품인 80% 순도의 작약유래 레즈베라트롤을 대상으로 한 시험에서 특별한 독성은 나타나지 않았다. LD50는 2.5g/kg B.W 이상인 것으로 나타났다(관련자료 첨부).

2-2. 식품원료화: 식품원료는 액상과 분말상으로 필요한데 분말상은 80% 순도의 레즈베라트롤로서 개발이 완료되었다(규격서 첨부). 액상원료는 화장품 원료개발에 사용된 안정화 기술이 그대로 사용되었다. 따라서 식품용 원료2종 역시 제품화가 완료되었다. 앞으로 법적 허가를 위한 안전성확보 시험을 자체비용으로 진행하여 식품 등에 사용가능한 원료로써 개발완료 할 예정이다.

● 레즈베라트롤을 이용한 원료개발 II.-레즈베라트롤 안정화

1. 액상원료로서의 빛에 대한 안정성

레즈베라트롤은 통상의 식품 2차 대사산물과 마찬가지로 빛이나 열 등에 취약한 것으로 알려져 있다. 따라서 빛이 차단되지 않는 용기에 사용할 경우 빛에 대해 어느정도 취약한지가 상업화에 중요한 용인이 될 것이다.

1-1. 시험방법:

25% 알콜에 녹인 레즈베라트롤 1% 솔루션(Resverol 1.0)과 리포솜(평균크기 200nm)으로 포접한 1% 레즈베라트롤원료인 ReSphere 1.0을 대상으로 하여 상온, 습도 75%로 조절되는 항온항습기에서 빛의 유무에 대한 안정도를 살펴봤다.

1-2. 결과

그림에서 보여지듯이 12개월동안 빛에 대한 안정도를 분석한 결과 빛에 노출된 Resverol 1.0은 50% 수준으로 파괴되었다. 반면에 두 시료 모두에서 암상태에서는 80% 이상의 활성이 유지되었다.

Resverol의 경우 빛이 유무에 따라 안정화 정도가 30% 가까이 차이가 나는 것으로 좌서 빛의 유무에 따라 레즈베라트롤의 안정화에 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있다.

안정화 원료인 ReSphere는 빛의 유무에 큰 영향을 받지 않았으며 대체적으로 안정화 되어 있음을 알 수 있었다.

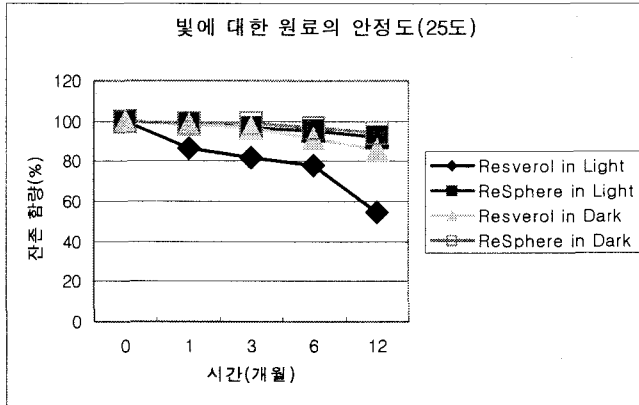


그림 11. 레즈베라트롤의 빛에 대한 안정도

2. 액상원료로서의 pH에 대한 안정성

레즈베라트롤이 다양한 식품, 화장품 등에 사용되기 위해서는 넓은 스펙트럼의 pH 안정성을 나타내야한다. 본 연구에서는 상기 1항의 시료를 사용하여 다양한 pH에서 안정화 정도를 살펴본다.

2-1. 시험방법

25% 알콜에 녹인 레즈베라트롤 1% 솔루션(Resverol 1.0)과 리포솜(평균크기 200nm)으로 포접한 1% 레즈베라트롤원료 인 ReSphere 1.0을 대상으로 하여 상온, 습도 75%, 암상태로 조절되는 항온항습기에서 pH에 대한 안정도를 살펴봤다. 제조 시 최종제품의 pH를 시험조건으로 맞춤. 원래 시제품원료는 pH 5.0으로 조절함.

2-1. 결과

Resverol: 그림에서 보여지듯이 Resverol에서는 pH 3.0, 7.0에서 12개월 뒤 50% 정도 함량으로 파괴됨을 알 수 있다. 반면에 pH 5에서는 1년 간 90% 이상의 함량이 유지되어 액상원료로서 안정도가 확보되었다. pH 9에서는 1개월 이내에 완전 파괴되어 레즈베라트롤은 산보다는 염기에 취약하다는 것을 알 수 있다. 따라서 레즈베라트롤은 염기성 제품보다는 약산성 제품에 사용되는 게 좋을 것으로 사료된다. 레즈베라트롤은 염기성 제품에 사용하기에는 무리가 있을 것으로 보여진다.

ReSphere: Resverol에 비해 안정화가 자되 있음을 알 수 있는데 특히 pH 5.0에서 1년 간 함량이 90% 이상 유지되어 상업적으로 판매 가능 한 원료로 판매된다. 역시 염기성인 pH 9.0에서는 급속히 파괴되어 1개월만에 40이하로 함량이 감소하였고 12개월 만에 완전히 파괴되었다.

두 결과를 종합해 보면 안정화 원료인 ReSphere가 일반 원료인 Resverol보다 훨씬 안정하였으며 pH 5.0정도의 약산성에서 뛰어난 안정도를 나타냈음을 알 수 있다.

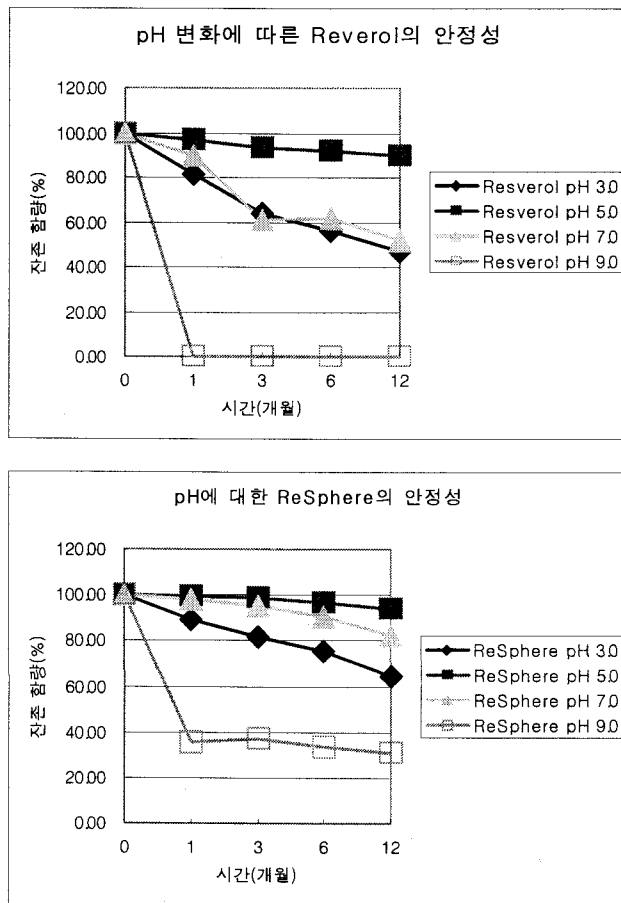


그림 12. Resveratrol의 pH에 대한 안정화 검증 시험

3. 액상원료로서의 온도에 대한 안정성

레즈베라트롤이 다양한 식품, 화장품 등에 사용되기 위해서는 가공공정이나 생산공정에서 주어지는 열에 대해 안정화하여야만 한다. 본 연구에서는 상기 1항의 시료를 사용하여 3가지 온도조건에서 안정화 정도를 살펴봤다.

3-1. 시험방법

시료는 상기 1항과 동일. pH 5.0으로 제조된 두 원료에 대해, 압상태 습도 75%로 조절되는 항온항습기에서 온도를 4도, 25도 상온, 40도 고온으로 설정하여 1년 간 안정화 정도를 살펴봤다.

3-2. 결과

Resverol: 그림에서 보여지듯이 Resverol에서는 4도시 저온과 상온에서 1년 간 90% 정도의 함량이 유지되었다. 반면에 40도 고온에서는 1년 내에 약 40%의 레즈베라트롤이 파괴되었다. 따라서 Resverol은 pH 5.0으로 제조된 경우 저온과 상온보관에서 1년 간 안정하게 유지될 수 있다.

ReSphere: Resverol에 비해 안정화가 잘되어 있음을 알 수 있는데 특히 저온과 상온에서 모두 함량이 90% 이상 유지되었으며 고온에서만 80% 정도로 유지되었다. 통상 액상원료는 상온 1년 90% 이상의 함량을 유지하는 조건으로 판매되기 때문에 본 원료는 상업적인 조건을 갖춘 원료임을 알 수 있다.

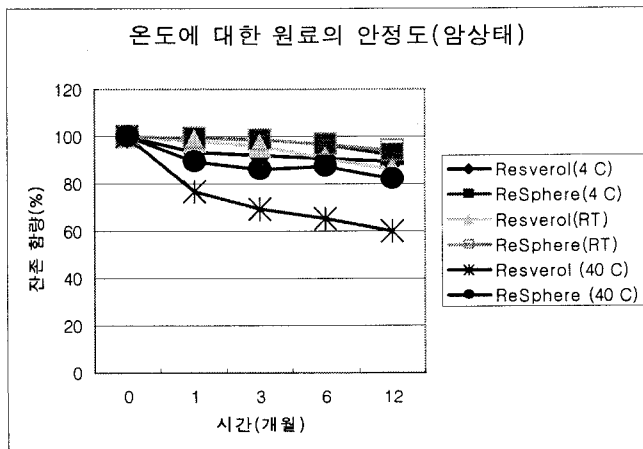


그림 13. 온도에 대한 원료의 안정화 정도

4. 제형내에서의 레즈베라트롤의 안정도

원료 안정화 검증시험에서 pH 5.0으로 제조된 Resverol 1.0과 ReSphere 1.0은 암상태로 저온이나 상온에 보관되었을 때 1년 간 안정도가 유지되는 것을 알 수 있었다. 따라서 이 두 원료를 실제적인 제품에 응용하여 제품 내에서도 레즈베라트롤의 함량이 적절하게 유지되는 지를 살펴봄으로써 실제적인 상업원료로서 판매가 가능한지를 살펴 보았다.

4-1. 시험방법

액상제품에 가장 널리 사용되는 Oil in Water(O/W)제형과 Water in Oil(W/O) 제형 및 Multi Liposome 제형을 기본 처방으로 Resverol 1.0과 ReSphere 1.0을 10%씩 첨가하여 암상태, 상온, 습도 75%로 조절되는 항온기내에서 1년 간 시간에 따라 4회 샘플을 채취하여 HPLC로 그 함량을 분석하였다.

4-2. 시험결과

상온에서 12개월 동안 안정도를 분석한 결과 Resverol 첨가구에서는 O/W 제형인 경우 함량이 50% 이상 감소하여 상업화가 어려울 것으로 보여진다. 반면에 W/O 제형에서는 O/W에 비하여 10% 정도 더 안정하였다.

ReSphere 첨가구에서는 모든 제형에서 안정도가 유지 되어 상업적으로 이용가능한 것으로 판단된다. 또한 Resverol 처리구 중 Multi Liposome 제형에서는 다른 제형과는 달리 1년간 90%의 안정화가 유지되어 상업적인 이용이 가능할 것으로 사료된다.

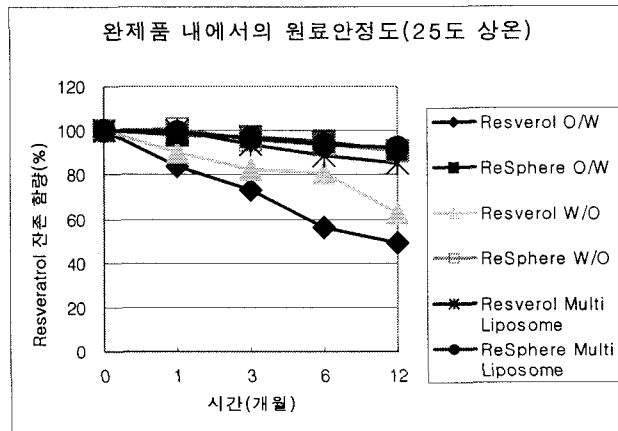


그림 14. 완제품내에서의 레즈베라트롤의 안정화

그러므로 Resverol 1.0인 경우 상업적인 목적의 적정제형으로서 Multi Liposome 제형이 최적인 것으로 판단되며 ReSphere 1.0은 모든 제형에 사용가능한 우수한 범용원료이다.

● 레즈베라트롤 관련 원료를 이용한 시제품개발

1. 화장품

화장품은 식품과는 달리 작약부위별 사용제한이 없고 작약은 화장품 원료로 이미 허가된 식물이기 때문에 작약에서 추출된 레즈베라트롤은 특별한 허가없이 곧바로 적용 가능하다. 본 연구에서는 원래 시제품제조까지만 목표로 설정되어 있었으나 주관기관의 협력업체들의 요청에 의해 2종류의 제품군에 사용되어 시제품이 아닌 사업적 완제품으로써 판매 중에 있다.

따라서 당사에서 생산된 레즈베라트롤을 사용하여 기능성 화장품 처방이 완성되었고 본 과제와 관련하여 완성된 처방을 바탕으로 2종류의 제품군이 완성되어 설정된 목표를 상회하는 좋은 결과를 얻었다.

1-1. 에스메딕 WH 화이트 프로젝트 세럼

동성제약의 리케아화장품사업부(구 오리리화장품)의 에스메딕브랜드의 Protect White Serum에 0.5% 처방되어 사용되고 있으며(계약 완료-납품 중) 이 제품은 2002년 6월 식약청으로부터 정식 기능성화장품으로 인가되어 현재 판매 중에 있다(첨부-기사 참고).



그림 15. 에스메딕 WH 화이트 프로젝트 세럼

1-2. 한 살림 자연그대로

우리 농산물 살리기 운동으로 유명한 시민단체인 한 살림의 자연그대로 브랜드 6종 제품중에 3종에 안정화된 작약유래의 레즈베라트를 원료가 사용되었다(첨부자료 참고).



그림 16. 한 살림 자연그대로 6종 세트

2. 식품

당 과제는 초기 3억원 3년 과제에서 2년 7천만원으로 연구비가 삭감되었으며(총 신청액의 77%의 연구비 삭감), 위탁과제 자체가 삭제되었고 협력과제를 수행하기로 원래 참가한 연구팀이 연구포기로 식품에 대한 연구는 완전하게 진행되지 못했다. 따라서 본 과제에서는 식품원료로서의 가능성과 완제품에 대한 처방서 작성만이 이뤄졌다.

1. 남성용 건강보조식품 처방 및 시제품

여러 가지 Phytoestrogen들의 남성의 전립선 건강에 유익한 효과를 갖고 있음은 이미 잘 알려져 있다. 레즈베라트는 강력한 여성호르몬의 특성을 나타내기 때문에 남성들의 전립선암의 예방을 위한 기능성 건강식품으로써 개발가능하다.

남성의 전립선은 호르몬 조절, 세포재생, 항산화능에 의한 혈관과 Urinary tract에 대한 보호기능, 진정기작 등을 수행하는 중요한 기관으로서 땅콩정도 크기의 작은 기관

이다.

우리나라에서는 식단의 서구화로 전립선 관련 질병이 꾸준히 증가하고 있으며 앞으로 더욱 늘어날 전망이다. 다행히 대부분의 식물체에 존재하는 다양한 플라보노이드 계열의 물질과 파이토에스트로겐 류 등이 남성의 전립선 등에 유익한 보호기능을 나타낸다는 사실이 최근에 속속 밝혀지고 있다. 따라서 이들 물질을 식단으로 또는 가공된 건강보조 식품으로 개발하여 섭취함으로써 전립선의 건강유지와 질병예방에 기여할 수 있을 것이다.

본 연구에서는 미국 등의 선진국에서 비교적 많이 팔리고 있는 PROSTA-RESPONSE™ 제품을 벤치마킹하여 수정 처방전을 작성하여 시제품을 제조하였다. 시제품의 이름은 ResPROSTA-Protector로서 처방전은 후미에 첨부하였다. 이 시제품은 첫 3개월 간은 하루 세 캡슐을 그 후로는 2캡슐씩 먹도록 처방되어 있다. 가장 좋은 결과를 보기 위하여 매 식후 섭취가 적당하다.

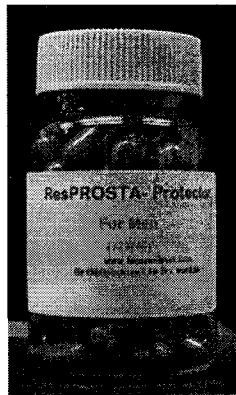


그림 17. 남성용 전립선 관련 건강보조식품으로 개발된 ResPROSTA-Protector의 시제품

2. 여성용 건강보조식품 처방 및 시제품

레즈베라트롤은 강력한 파이토에스트로겐으로써 에스트로겐 효과를 나타낸다. 따라서 갱년기가 가까워지면서 부족된 호르몬을 보충하기 위한 건강보조식품으로 이용이 가능하다. 특히 합성 에스트로겐과는 달리 식물성 에스트로겐은 체내의 에스트로겐의 농도가 높으면 에스트로겐 수용체에 경쟁적으로 결합하여 에스트로겐의 과도한 효과를 줄여 유방암의 위험이나 에스트로겐 과다에 의한 다양한 질병의 위험을 줄여줄 수 있다. 반면에 갱년기에 가까운 시기가 되어 체내 에스트로겐 양이 줄어들면 역시 에

스트로젠 수용체에 결합하여 역으로 에스트로젠 효과를 나타내어 에스트로젠 보충효과를 나타낸다. 특히 파이토에스트로젠의 보충으로 심혈관계에 유익한 효과를 부여할 수 있다.

본 연구에서는 Mennopause MultipleTM과 Bioflavonoid complex(PlantioxidantsTM)을 기초로하여 처방이 완성되었다. 시제품의 이름은 PhytoGenix로 명명되었다. 처방전은 후미에 첨부하였다. 이 시제품은 첫 3개월 간은 하루 1개에서 세 캡슐씩 먹도록 처방되어 있다.

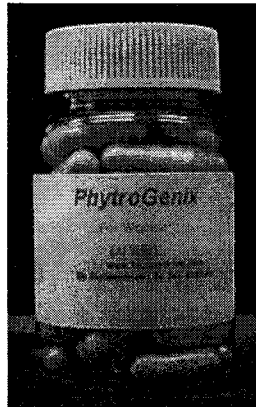


그림 18. 여성용 갱년기 건강보조식품으로 개발된 PhytoGenix의 시제품

연구결과 요약:

- 1) 본 연구에서는 작약씨에서 순도 80% 이상의 레즈베라트롤과 그 유도체인 레즈베라트롤 글루코사이드가 분리 정제되었다.
- 2) 분리 정제된 레즈베라트롤을 대상으로 다양한 생리활성 검증시험이 진행되어 레즈베라트롤이 인체에 유익한 신소재임을 다시 한번 증명하였다.
- 3) 분리 정제된 레즈베라트롤을 이용하여 화장품과 식품원료 4종을 개발완료 하였다. 특히 화장품 원료는 완전상업화 하여 현재 판매 중에 있다.
- 4) 안정화된 레즈베라트롤 원료를 사용한 화장품 완제품 2품목(5종)이 완성되어 상업화되어 판매 중에 있다. 남성과 여성용 기능성 건강보조식품 2종에 대한 시제품 개발이 완료되었다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

* 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연구개발목표의 달성도 및 관련분야의 기술발전에의 기여도 등을 기술

● 제 1차 년도

1. 세부과제에서 분리된 소량의 유효성분을 이용하여 기능성 화장품의 제조 및 제형이 완성되었는가?

작약 유래 레즈베라트롤이 함유된 화장품 처방 5종을 확보하고 있다. 또한 제형으로는 액상에서 크림까지 변경가능한 다양한 제형에 대한 처방을 확보하고 있다.

2. 세부과제에서 관련 특허가 출원되었는가?

본 과제에서 연구개발에 관련된 특허 2건이 출원되었다. 출원된 특허는 다음과 같다. 출원 서지사항은 요약분을 포함하여 첨부하였음. 본 과제에는 과제기간내에 2건의 특허출원이 목표로 되어 있으며 2건 출원을 완료하여 목표를 달성하였다.

구분	제목	출원번호
국내특허 출원	작약 레즈베라트롤을 함유하는 피부 미용 목적의 조성물	10-2003-0055912

3. 세부과제에서 관련 기능성 화장품-제품이 완성되었고 보유하고 있는가?

미백 기능성 화장품으로써 제조법을 보유하고 있으며 동성제약의 리케아 화장품을 통하여 1종이 기능성 화장품으로 허가되어 현재 판매중에 있다. 또한

본 과제와 관련하여 완성된 처방을 바탕으로 동성제약-리케아 화장품(구 오리리화장품)의 에스메딕브랜드의 Protect White Serum에 0.5% 처방되어 사용되고 있으며(계약 완료-납품 중) 이 제품은 2002년 6월 일자로 식약청으로부터 기능성화장품으로 인가되어 현재 판매 중에 있다(첨부-기사 참고). 또한 2년차 연구개발과정이 완료되어 두 번째로 상용화된 화장품인 한 살림 공동체 연합의 자연그대로 브랜드로 출시되어 8월부터 판매 중에 있다. 한 살림 사업연합의 자연그대로 브랜드제품 6종 중 3종에 본 과제에서 연구개발 된 레즈베라트롤 안정화 원료인 ReSphere 1.0이 사용되었다(관

련 자료 첨부).

그러므로 본 과제에서 진행하기로 한 연구개발목표를 100% 달성하였다.

4. 동 과제에서 작약씨로부터 유효성분을 추출하고 분리 정제하는 기술이 완성되었는가?

작약씨로부터 유효성분을 추출, 정제하는 기술이 완료된 상태로서 현재 본 과제와 관련된 작약에서는 레즈베라트롤은 80% 순도의 정제품을 생산하고 있다. 생산된 제품은 현재 화장품용으로 판매 중에 있음(자료 첨부-규격서 및 자료). 분리, 정제기술은 완전 확보된 상태임.

5. 협동과제 관련 생산에 관한 공정 특허가 출원되었는가?

원료생산에 관한 특허가 출원되었음. 목표달성 하였음.

구분	제목	출원번호
국내특허 출원	작약유래 레즈베라트롤의 안정화 원료 생산방법	10-2003-0055913

● 2차년도

1. 안정화 레즈베라트롤에 대한 안정화 분석시험이 완료되었는가?

안정화원료 및 일반원료에 대한 빛, 온도, pH 및 제형내에서의 안정도에 대한 시험이 이뤄졌다. 레즈베라트롤은 빛과 고온 및 염기성조건에서 취약한 것으로 나타났으며 원료의 pH는 5정도의 약산성에 안정하였으며 암조건에서 일반원료 조건보다는 리포솜화 한 안정화 기술이 사용된 원료가 더욱 안정한 것으로 판명되었다. 본 연구에서는 안정화 관련 분석시험이 완료되었다.

레즈베라트롤에 대한 안정화 관련 시험은 본 과제에서 처음으로 이뤄진 것으로서 기존 연구는 대부분 효능분석에 치우친 경우가 많았다. 따라서 본 과제에서 이뤄진 안정화에 대한 자료는 레즈베라트롤을 응용하기 위한 상업화 연구의 기초자료로서 사용될 수 있을 것이다.

2. 항산화능에 대한 시험이 완료되었는가?

레즈베라트롤의 항산화능을 검증하기 위하여 SOD assay 법과 DPPH법을 수행한 결과 레즈베라트롤이 강력한 항산화물질임을 다시 한번 확인하였다.

3. 항노화 효과에 대한 시험이 완료되었는가?

항노화에 대한 효과를 측정하기 위하여 콜라겐 생합성능과 엘라스테이즈 억제효과를 살펴보았다. 레즈베라트롤은 이 두가지 시험에서는 특별한 효과가 없는 것으로 나타났다. 레즈베라트롤의 세포보호에 의한 항노화효과는 항산화 기능에 의한 것으로 추정된다.

4. 미백효능에 대한 시험이 완료되었는가?

미백효능을 보기 위하여 타이로시네이즈 억제능과 멜라닌 생합성능을 조사하였는데 타이로시네이즈에 대해서는 강력한 억제효과가 나타났다. 반면에 멜라닌인 경우는 농도에 따라서 상이한 결과를 나타냈다. 레즈베라트롤은 기본적으로 항산화 기능을 갖고 있으면서 타이로시네이즈 억제효과를 갖고 있기 때문에 피부에 적용 시 멜라닌 생성세포 내로 전달될 수 있다면 좋은 미백제로서 사용가능 할 것으로 판단된다.

본 연구에 의해서 기존에 미백효과가 있다고 알려진 타이로시네이즈의 효과를 다시 한번 확인하였으며 피부에 적용되기 위해서는 멜라닌 생성세포까지 전달할 수 있는 경피흡수기법이 사용 되어야 할 것으로 여겨진다.

5. 항염증 효능에 대한 시험이 완료되었는가?

항염증효과를 측정하기 위하여 항염증 관련 Rate-limiting 효소인 COX-2 효소에 대한 억제능을 살펴 보았는데 레즈베라트롤은 COX-2에 대한 강력한 억제제로서 밝혀졌다. 따라서 레즈베라트롤은 염증 관련 질환의 완화와 치료에 중요한 역할을 수행할 수 있을 것으로 판단된다.

6. 안정화 된 레즈베라트롤의 원료가 완성되었는가?

1항의 안정화 시험을 거쳐 2종의 레즈베라트롤 관련 원료가 생산되었고 이 중 ReSphere 1.0은 모든 액상 제형에 사용 가능한 안정한 원료인 것으로 밝혀졌다. 따라서 본 과제의 연구목표인 안정화 레즈베라트롤은 성공적으로 만들어졌다.

안정화 레즈베라트롤은 국내외적으로 처음으로 만들어진 원료로써 9월에 열리는 IFSCC(국제 화장품 학회)에 정식 소개 될 예정이다. 이미 독일 1사하고 미국1사와 사전 미팅약속을 잡아놓고 있다. 이 원료의 안정화 성공으로 원료수입국에서 수출국으로 전환 할 수 있는 첫걸음이 될 수 잇는 좋은 기회가 될 것이다.

7. 안정화 된 레즈베라트롤을 사용한 기능성 화장품 3종에 대한 처방이 완료되었는가?

이미 2제품라인에서 5종의 제품이 시장에 출시되었다. 화장품은 시장진입이 비교적

쉬우며 법적으로도 규제가 적어서 식품이나 의약품보다 훨씬 빠르게 시장진입이 가능한 장점을 갖고 있다. 본 과제에서는 예상외로 레즈베라트롤에 대한 반응도가 좋아서 상업화가 빨리 진행되었다.

8. 기능성 식품의 처방 2종이 완성되었는가?

남성과 여성용 시제품 2종이 완성되었다. 다만 법적인 허가 문제로 바로 상업화 할 수 없다. 그러나 작약유래의 레즈베라트롤이 문헌이나 모든 자료상에 독성이 있다는 자료가 없고 실제 경구투여독성에서 아무런 독성이 나타나지 않아 식품용으로 사용가능성이 무척 크다 하겠다. 본 과제와 관련 없이 주관연구기관에 의해서 본 과제에서 개발된 원료를 식품용 원료화 하기 위한 일련의 연구개발을 지속적으로 진행하기로 계획하고 있다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

추가연구의 필요성:

화장품용은 현재의 연구로서 충분히 상업화가 가능하며 일부 원료는 상업용 제품에 이용되고 있다. 반면에 식품용은 작약씨는 현재 식품용으로 허가돼 있지 않기 때문에 확실한 안전성확보가 시급하며 안전성이 확보된다면 버려지고 있는 작약씨를 이용하여 레즈베라트롤과 그 유도체를 추출하여 건강식품의 원료로 사용할 수 있다.

1차 경구투여 독성에서는 아무런 독성이 나타나지 않았음을 감안할 때 다른 독성시험에서도 독성이 나타나지 않을 가능성이 크며 충분한 상업적 가치를 갖는 식품원료화가 가능할 것으로 보여진다. 따라서 본 과제의 연속선상에서 안전성확보시험과 식품제형내에서의 안정도 확보 등에 대한 추가 연구가 필요하다.

타 연구에의 응용:

국내 한약재나 여타의 자생식물이 이용이 한정적이다. 특히 식품용은 규격이 까다롭고 법적 허가부분이나 안전성확보 등을 선결해야함으로 많은 유용자원이 이용되지 못하고 사장되고 있다.

화장품용 원료는 식품과는 달리 경구를 통하여 인체내로의 유입이 없고 적용부위도 피부에 한정되는 등 안전측면에서 식품용원료보다 훨씬 유리하다. 본 연구에서도 식품용으로의 이용 가능성이 제시되기는 하였으나 실제 원료제품화까지 상당한 후속 연구가 필요할 것으로 보여지고 있다. 그러나 화장품용은 연구기간인 2년내에 벌써 몇몇 제품에 정식으로 사용되기 시작하였으며 본 과제가 완료된 후 본격적인 원료판매 영업에 의하여 사용량이 상당히 늘어날 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서 개발된 원료추출, 효능검색, 안정화 및 관련 제형기술등이 다른 국내의 유용한 자생식물의 응용기술로서 유용하게 사용될 수 있다.

기업화 추진방안:

화장품 원료 2종은 이미 완제품에 사용되고 있으며 그 중 안정화 레즈베라트롤 1종은 9월에 개최되는 IFSCC(국제 화장품 학회)에 처음으로 정식 소개될 예정이다. 이미 미국의 Collabo사와 스위스의 로슈사 등과의 미팅이 예정되어 있으며 국제 화장품 업계에 대한 공급가능성이 매우 크다.

식품원료는 지속적인 안전성자료 확보 등과 같은 지속적인 연구투자로 완전한 식품원료화를 추진할 예정이다. 특히 당사의 건강보조식품의 주요 파트너인 녹십자 PBM과 알로에 마임 등에서 큰 관심을 나타내고 있어 사업화 전망이 밝다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 레즈베라트롤 상업화 관련:

식품: 미국 등의 선진국에서는 이미 포도나 호장 유래의 레즈베라트롤이 상업화 되어
서 건식에 사용되고 있음(자료첨부)

화장품: 안정화 문제로 현재 화장품에는 사용되고 있지 못함.

기타연구활성화 정도: PubMed 검색에서 resveratrol로 검색할 시 약 600편 이상의
방대한 논문이 검색됨. 대부분의 식물에서 유래한 2차 대사산물이 100편을 통상 넘지
못하는데 비하여 본격적으로 연구된 지 10년이 채 안된 신규의 신소재로서는 상당히
연구 진척도가 빠르고 다양한 연구가 전세계적으로 이뤄지고 있음을 알수 있다.

제 7 장 참고문헌

1. Cancer Chemopreventive activity of Resveratrol, a natural products derived from grapes. Meishiang Jang et al. Science 275: 218-220(1999)
2. Resveratrol inhibition of lipid peroxidation. Tadolini B et al. Free Radic Res 2000 33(1): 105-114.
3. Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention. Soleas GJ et al. J Clin Lab Anal 1997. 11(5): 287-313
4. Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine is an agonist for the estrogen receptor. Barry D. Gehm et al. PNAS 94; 14138-14143(1997)
5. 작약씨로부터부터 트란스-레즈베라트롤 성분의 추출방법: 출원번호-2001-010744

제품명: BS-Resverol



A Flower of Paeonia Lactiflora(작약)

바이오스펙트럼(주)

경기도 용인시 성북동 39-3 두산기술원내

Tel : 031-266-4601~2, Fax : 031-263-9609

e-mail: ben@biospectrum.com,

www.biospectrum.com

BS-Resveratrol-개요

BS-Resverol은 Paeonia Lactiflora Extract를 추출, 정제하여 화장품 원료로 생산한 것으로 작약(Paeonia Lactiflora)에서 추출된 레즈베라트롤을 주 원료로 사용하였다.

1. 작약의 생리 생태

작약(Paeonia Lactiflora)은 천궁, 당귀, 감초와 함께 가장 많이 쓰는 4대 한약재로 피를 맑게 해주는 약효가 있다. 다년생 초목으로 초장은 50~80cm 정도로서 한 포기에서 여러 대가 나오고 잎은 호생하며 뿌리에서 돋는 것은 1~2회 우상으로 갈라지며 작은잎은 깃꼴이고 끝의 큰 것은 3갈래로 갈라지거나 갈라지지 않고 밑부분이 엽병으로 흐른다.

작은잎은 피침형, 수원형 또는 달걀꼴로 표면은 짙은 녹색이고 뒷면은 연한 녹색이며 털이 없고 엽병은 엽맥과 더불어 붉은빛을 띠며 가장자리는 밋밋하다. 개화시기는 5월 중하순~6월 상순이며, 꽃받침잎은 2~5개로서 가장자리가 밋밋하고 녹색으로 끝까지 남으며, 꽃잎은 홑꽃이 8~10개, 겹꽃이 100~200개 내외로서 길이가 5cm정도이고 수술은 상당히 많으며 황색이다. 암술은 3~5개이며 털이 없고 짧은 암술머리가 뒤로 젖혀지고 뿌리는 방추상으로 굽어진다.

2. 주요성분

Paeoniflorin, Paeonine, Paeonol, Tanin, 유기산, B-sitosterol. (1974. 양학검 보고 <신의학 약학집> 12기) Oxypaeoniflorin, Benzoypaeoniflorin, Albiflorin, Benzoic acid, 안식향산 등이 들어 있으며 paeoniflorin은 혈관확장 혈류량증가 혈압강하의 작용을 한다고 알려져 있다. 한국 생약규격집인 한국약전에는 2.78%이상을 양질의 약재로 인정하고 있다.

특히 당사에서 개발된 작약 유래의 레즈베라트롤은 미백, 에스트로겐 유사효과 및 강력한 항산화제로서 피부에 대한 다양한 효능을 나타낸다. 물론 암 예방 및 항암, 혈관청소 기능 등도 잘 알려져 있다.

3. 약리작용: (1979년 <중초약학>)

항목	내용
약효	산작약, 적작약 - 설하, 수검, 진경, 부인병 백작약 - 보혈, 설간염, 화혈맥, 협통, 안비폐, 알절혈통 기타 - 화장품과 드링크, 벡타의 원류.
뿌리 사용 시 규격	질이 근실하고 분성이며 절단면은 백색이고, 바깥면은 광택이 있어야 하며 색상, 굵기, 건조상태에 따라 목측에 의해 상 중 하의 3등급으로 구분.
한방 처방	작약감초탕, 사물탕, 십전대보탕.

1. 비교적 약한 강은 및 경작작용을 한다.
2. 동물의 관상동맥 혈관 및 후족의 혈관을 확장하고 단시간의
강압작용을 나타낸다.
3. 출혈시간과 응고시간을 단축하여 사탄 후 사용하면 지혈작용이
더한층 강해진다.
4. 대장균에 대한 항균작용은 상당히 강하다.

4. BS-Resverol

레즈베라트롤은 식물의 이차 대사산물로서 생성되는 항산화성
페놀계통의 물질로 곰팡이의 감염을 예방하는 천연물질이다. 즉
Resveratrol은 피토알렉신(phytoalexin)으로 곰팡이 등으로부터 식물체
자체 방어를 위한 목적으로 상처, 화상, 스트레스를 받을 때에
식물체에서 자체적으로 생산한다.

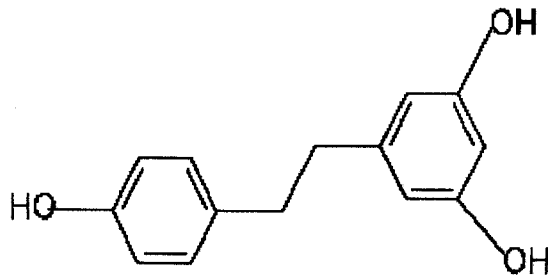
최근에 현대-의학적 임상 시험 결과 급성 미생물 감염(바이러스성 감염),
화학적, 방사능 등에 기인한 백혈구 감소증, 동맥경화증, 고지혈증 등의
치료에 효과가 있다고 알려져 있다. Resveratrol은 동물에 있어서는
강력한 항산화력을 바탕으로 세포내,외의 연구결과 종양 형성 발달을
저해하는 효과를 가지고 있다.

Resveratrol은 세균의 생체실험 수행 시 항돌연변이성 활성을 가지고 있다. 최근의 연구 결과에 의하면 resveratrol은 발암과정을 3단계로 저해 효과를 나타내는 것으로 밝혀졌다.

- 1) phase II drug metabolizing enzymes의 유도(시작 저해)
- 2) 항 염증효과, cyclooxygenase와 hydroxyperoxydase 저해 효과(촉진 저해)
- 3) 백혈병 진행을 억제(진행 저해)의 3단계로 저해하는 것이 발견되었다.

동물 실험 결과 레즈베라트롤은 진해제, 항히스타민, 혈압저해제, 혈관 확장, 세포 독성, 항 산화등의 효과가 있다고 밝혀졌다. 피부세포에 대해서는 미백, 항산화, 에스트로겐 효과 항염증, 항자극 효과가 있는 것으로 밝혀졌다. 또한 레즈베라트롤이 함유된 작약 추출물은 자외선과 자유 라디칼로부터 피부노화를 유도하는 활성산소를 가장 강력하게 제거하는 능력을 가지고 있다.

5. Resveratrol 구조



INCI Name : 3, 4', 5 - Trihydroxy-trans-stilbene(Paeonia Lactiflora Extract)

CAS Number :

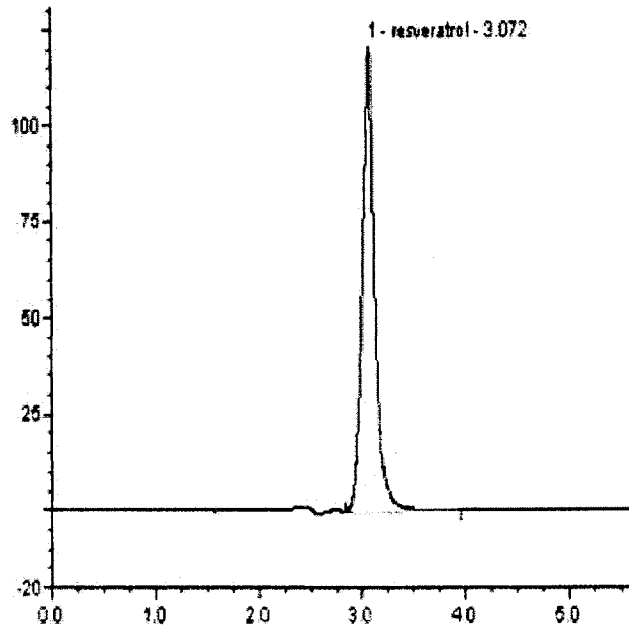
6. 유효성분 : Resveratrol 0.1% 함유(4.4mM)

7. 분석결과

7-1. 화장품 원료 규격항목별 시험보고서

항 목	판 정 범 위	결 과	판 정
비 중	0.90-0.99	0.96	적 합
pH	5.00-6.89	5.97	적 합
색 상	짙은노란색-짙은 갈색	적 갈색	적 합
냄 새	특이 취	약간의 특이 취	적 합
중 금 속	10ppm 이하	불-검출	적 합
주 요 성 분	Resveratrol 0.1% 이상	0.13%	적 합
대 장 균 균	100CFU/ml	음 성	적 합
일 반 세 균	1000CFU/ml	음 성	적 합

7-2. Resveratrol HPLC 분석 결과



HPLC 분석 조건

- 1) 기기 : Dionex P580 pump, ASI-100 automated sample injector
UV/VIS Detector UVD 340S
- 2) 용매 ; Acetonitrile : water = 7 : 3
- 3) 컬럼 : Phenomenex Luna 5u(c18(2)), 250 x 4.60um 5u
- 4) 조건 : 10ul injection, 305nm, 1.0ml/min
- 5) 분석자 : 바이오스펙트럼 원료개발팀

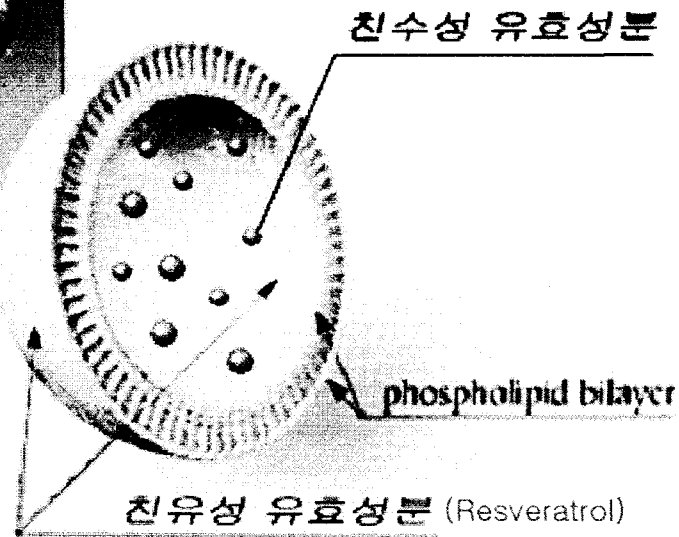
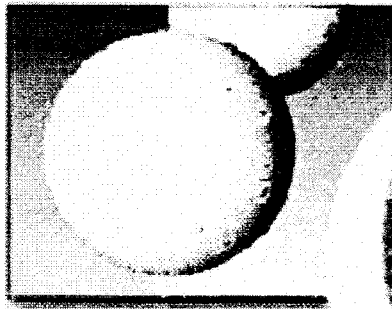
8. 추천 사용량: 1.0 ~ 3.0% 사용

9. 포장 단위: 10kg, 20kg

10. 효능 및 효과

효능	내용-요약	참고 문헌
항노화 효과	H2O2는 세포사멸기작 (apoptosis)을 작동시켜 정상세포를 죽음에 이르게 하는 전형적인 노화촉진 물질이다. Resveratrol은 H2O2에 의해서 유도된 세포의 노화를 30uM 수준에서 완전 정상화하는 강력한 “노화 억제 물질”이다.	Henry.P.(99): Inhibition of Aryl Hydrocarbon-Induced Cytochrome P-450 1A1 Enzyme activity and CYP1A1 Expression by Resveratrol. Molecular Pharmacology. 56, 760-767
세포 증식 효과, 에스트로겐 효과	Resveratrol은 에스트로겐과 동일한 수준에서 세포 성장을 촉진한다. 처리 후 1주일 뒤에 약 60% 정도의 성장촉진 효과를 보여준다.	Barry D.Gehm(97) : Resveratrol, polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the estrogen receptor. Proc.Natl.Acad.Sci.USA.94, 14138-14143
미백 효과	Resveratrol 1mM 처리후 20일 경에 이르면 멜라닌 생합성의 rate limiting 효소인 tyrosinase의 역할을 70%이상 억제한다.	P. Bernard(00) : Resveratrol, an original mechanism on tyrosinase inhibition. International Journal of Cosmetic Science. 22.219-226
항암 효과	Resveratrol은 쥐의 피부실험에서 인위적으로 유도된 피부암을 25uM 수준에서 거의 완벽히 정상화한다.	Meishiang Jang(97) : Cancer Chemopreventive Activity of Resveratrol, a Natural Product Derived from grapes. SCIENCE.275,218 - 220
자극 완화 효과	Resveratrol은 PMA에 의해서 유도된 자극을 30uM 수준에서 완전 정상화한다.	Kotha Subbaramaiah(98) : Resveratrol inhibits Cyclooxygenase-2 Transcription and Activity in Phorbol Ester-treated Human Mammary Epithelial Cells. J.Biol.Chem. 273.21875 - 21882
항염증 효과	Resveratrol은 carrageenan에 의해서 유도된 염증을 시간이 경과함에 따라 급격히 진정시키며 1주일만에 80% 정도 염증을 급감 시킨다.	Meishiang Jang(97) : Cancer Chemopreventive Activity of Resveratrol, a Natural Product Derived from grapes. SCIENCE.275,218 - 220

Copyright © 2008 Biospectrum
제품명: BS-ResSphere 1.0



바이오스펙트럼(주)

경기도 용인시 성북동 39-3 두산기술원내
Tel : 031-266-4601~2, Fax : 031-263-9609
e-mail: ben@biospectrum.com,

www.biospectrum.com

Production information

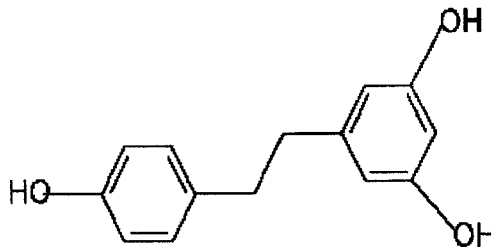
General principles

Resveratrol is an all-natural Peony seed extract, rich in biologically important flavonoids, scientifically shown to be high potency, bioavailable antioxidants.

Resveratrol shows weak physical properties. We are tried to make stable form by liposomic capsulation. BS-ReSphere 1.0 is a unique nano liposome containing 1.0% pure resveratrol.

Studies show that the antioxidant activity BS-ReSphere 1.0 is significantly greater than that of Vitamins E, C or Beta Carotene, it inhibits the DNA damage caused by free radicals. BS-ReSphere 1.0 has many benefits including: A potent free radical scavenger Inhibits free radical induced cellular damage Bioavailable, readily absorbed and delivered to the tissues with the ability to protect DNA and cell membrane lipids against few radical attack Shown to have significantly greater antioxidant activity than Vitamins C, E and Beta Carotene in a wide range of biological tests

A Northwestern University study showed that resveratrol is a phytoestrogen with the capability to replace estradiol, the major natural hormone estrogen that supports the proliferation of certain breast cancer cells. Estrogen is needed for certain cancer cell growth, yet is also known to provide protection against heart disease



Technical sheet

Product Name:

BS- ReSphere 1.0

I.N.C.I. name:

3, 4', 5 – Trihydroxy–trans–stilbene (Paeonia Lactiflora Extract),
Phytosteols, Lecithin

CAS Number : 90082-98-7

Form

Appearance: Yellow ~ Brown lotion

Characterization

pH : 5.00 – 7.00

Specific Gravity : 0.90 – 1.10

Heavy metals : Max. 10 ppm

Arsenic : Max. 4 ppm

Content

Resveratrol : min. 1.00%

Bacteriology

Bacterial colonies : Max. 100 CFU/g

Mold colonies : Max. 100/g

E.coli colonies : Negative

Salmonella colonies : Negative

Packaging

10kg

Technical sheet

Storage

At room temperature

Utilization

Recommended dose for use : 1 ~ 3%

Cosmetic use

Anti-stress activity

Anti-inflammation effect

Estrogen effect

Antioxidant activity as free radical scavengers

Anti-aging effect

Whitening effect

BioSpectrum Inc.

Doosan B/D, #39-3 Sungbok-dong, Yongin City, 449-840 Kyunggi-do,
Rep. of Korea

Tel : 82-31-266-4601~2, Fax : 82-31-263-9609

www.biospectrum.com E-mail: biospectrum@biospectrum.com

아래와 같이 접수되었습니다.

접수번호 (납부자번호)	출원/등록번호 기술평가청구번호 국제출원번호	권리	서류명	참조 번호	비고
1-1-2003-0297929- 72	10-2003-0055912	특허	특허출원서	0003	작약 유래 레즈베라트롤을 함유하는 피부 미용 목적의 조성물

※ 온라인으로 제출한 접수서류의 경우, [물리적인 오류] 또는 출원서의 경우 [명백한 반려사유]로 인해 반려될 수 있습니다.

이러한 오류 여부는 제출아력조회 화면에서 5M 이하건의 경우 10 분이내 5M 이상 50M 이하건은 AM 12:00 시 이전에 제출한 경우 당일 PM 01:00 시 이후, PM 1:00 ~ PM 08:00 까지 제출한 경우 당일 PM 07:00 시 이후부터 확인 가능하며 50M 이상 대응량건은 익일 확인가능합니다. 반드시 확인하십시오.

(단, 등록료납부서의 경우 검증결과란에 "내용오류"로 표시된 것은반려대상이 아니라 확인이 필요한 것이오니 처리에 참고하시기 바랍니다.)

※ [주의]수수료는 접수일로부터 그 다음날까지 접수번호에 기관코드(0131)가 추가된 납부자번호를 기재하여 납부하여야 합니다. 예) 0131-x-x-xxxx-xxxxxxx-xx

만일 기한내에 납부하지 못한 경우 보정통지서를 받은 후 서지사항보정서와 함께 수수료 + 보정료

(11,000 원)를 납부하여야 합니다.


화장품 원료의 안전성 평가 종료 보고서


TEST CODE : DSA-319P

주 소	
의뢰 기관	연구 기관
경기도 용인시 성북동 39-3 두산기술원내 바이오 스펙트럼㈜	서울특별시 서초구 방배동 963-27번지 (주) 더마프로
연구 책임자	
모니터	연구 책임자
책임연구원 이 종 성	의학박사 강 승 주

최종 보고서

시험 제목	화장품 원료의 안전성 평가
-------	----------------

의뢰기관	의뢰일	2003년 06월 일
	의뢰기관장	바이오 스펙트럼 (주) 대표이사
	주소	경기도 용인시 성북동 39-3 두산기술원내
	담당자	책임연구원 이 중 성
	주소	경기도 용인시 성북동 39-3 두산기술원내 전화 : 031-266-4601~3 Fax : 031-263-9609 e-mail : jslee@biospectrum.com
연구기관	기관 명칭	더마프로 피부과학연구소 
	연구기관장	대표이사 고 재 숙
	소재지	서울시 서초구 방배동 963-27 선주빌딩 3층 전화 : 02-597-5430, 5435 Fax : 02-597-5430 e-mail : dermapro @ hanafos. com

연구책임자	책임자	의학박사 강 승 주 
	소속	(주) 더마프로 피부과학연구소
	주소	서울시 서초구 방배동 963-27 선주빌딩 3층
연구 인력 및 시설	별첨 4. 자료 참조	

연구기간	2003 년 06월 16일 - 2003년 06월 19일
------	--------------------------------

8. 연구 결과

1) 연구 대상자

시험 대상자 총 30명은 시험진행 동안 성실히 참여하였다. 본 시험 피험자들의 평균 연령은 22.1세였고, 최고 연령자는 27세였으며 최소 연령자는 20세였다. 민감성이라고 대답한 피험자는 총 2명이었고, 그 중 1명은 환경요인에 민감하고 아이크림에 눈 주위가 붉어지는 과거력을 경험하였으나 지금은 문제가 없는 것으로 대답하였고, 다른 1명은 환경요인에 민감하다고 대답하였으나 2명 모두 본 시험에는 영향이 없을 것으로 생각되어 참여 시켰다.

피험자들의 피부특징은 다음과 같다(별첨 2).

표 2. 피험자 특징

요 인		
평균 연령		22.1세
피부 타입	중성 피부	6명 (20.00%)
	건성 피부	5명 (16.67%)
	지성 피부	3명 (10.00%)
	복합성 피부	16명 (53.33%)
민감성 여부	민감성	2명 (6.67%)
	비 민감성	28명 (93.33%)
민감성 원인	피부 외용제	1명 (50.00%)
	음식물, 약물	
	물리적 자극	
	환경요인	2명 (중복)
	기타	

2) 피부 일차자극 (Human skin primary irritation)

인체피부일차자극시험 결과 전 시료 중 6종(#1,2,5,6,9,10)의 원료에서 각각 1명 내지는 2명이 미미한 홍반 수준(questionable erythema)의 자극반응을 보였으며, #5번 시료에서는 4명으로 다른 시료보다 자극빈도가 높았다. 나머지 시료에서는 어떠한 임상 반응도 관찰되지 않았다(별첨 3).

표 3. Results of human skin primary irritation test

번호	시험물질	48hrs					72hrs					반응도 (n=30)		
		±	1+	2+	3+	4+	±	1+	2+	3+	4+	48h	72h	Mean
1	LipoSphere only	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-	0.8	0.8	0.8
2	ReSphere 1.0	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	0	0.8	0.4
3	GeniSphere 5.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
4	CentSphere	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
5	RetiSphere 5.0	2	-	-	-	-	4	-	-	-	-	0.8	1.7	1.3
6	GlaSphere 3.0	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	0.8	0.4	0.6
7	TeaVigoSphere	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
8	UrSphere 2.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
9	RetiDerm	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	0.8	0.4	0.6
10	YamSphere 2.0	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	0.8	0.4	0.6
11	Petrolatum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
12	BS-ASM 0.5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
13	BS-ASM 1.5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
14	BS-ASM 5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
15	BS-ASM 15%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
16	M+H(10ug/ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
17	M+H(100ug/ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
18	H(5ug/ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
19	H(20ug/ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
20	H(50ug/ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0

9. 결론

본 연구는 화장품 원료에 대한 인체 피부일차자극 유무를 확인하려는 목적으로 피험자 제외기준, 선정기준에 준하는 30명의 건강한 여성을 대상으로 2003년 06월 16일부터 2003년 06월 19일까지 실시하였다. 피험자들의 등 부위에 첩포를 48시간 동안 도포하고, 첩포 제거 30분, 72시간 후에 관찰했다.

시험 물질 모두 인체피부일차자극 측면에서 저자극 범주의 물질로 여겨지나, 5번 시료의 경우는 자극빈도가 높은 편으로 재확인 시험이 필요할 것으로 여겨진다.

따라서 5번 원료를 제외한 나머지 시료는 육안평가 소견상 저자극 물질로서 안전한 범주의 물질로 사료된다.

10. 참고 문헌

- 1) F.N. Marzulli, H.I. Maibach. *Dermatotoxicology*, fourth edition, Hemisphere Publishing Corporation, 1991
- 2) CTFA Safety Testing Guideline : The Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association, Inc. Washington, D.C. 20023, 1991
- 3)鈴木 守, 化粧品における生物科學の進歩. *Fragrance J.* 1987 : 91 - 165
- 4) Nater J. P., A. C. De Groot. Unwanted Effects of Cosmetics and Drugs used in Dermatology. Elsevier Science Publisher B. V. 1985: 91-165
- 5) T. Fisher, H. Maibach. Finn Chamber Patch Test Technique. *Cont. Derm.* 1984. 11: 137-140

회원가입 광고문의
회사소개 구독신청

미백 기능성 화장품 인증 획득!

리케아, 에스메딕 WH 프로젝트 화이트 세럼

기사 검색

기사 조건검색
전체기사 보기



전문점·미용가이드

화장기법
헤어스타일
미용정보
전문점정보

자료실

통계·자료
행정·법규
주소·전화

사이버 리크루트

구인 구직
모집 매매

독자마당

독자게시판
유머게시판
엔터테인먼트
숨은그림찾기
추천사이트

대학가소식

대학가 정보
Q&A
대학가 사이트

리케아화장품(대표 이양구)의 '에스메딕 WH 프로젝트 화이트 세럼'이 최근 식약청으로부터 미백 기능성화장품 인증(제135-14호)을 획득했다.

이번 미백 기능성화장품으로 인증을 받은 에스메딕 WH 프로젝트 화이트 세럼에는 멜라닌 생성 억제 효과가 우수한 미백원료인 알부틴(Arbutin)이 주요 성분으로 함유되어 있으며, 포도나 호장근에 포함된 신원료 레즈베라트롤(Resverastrol), 표고버섯 추출물인 베타 글루칸, 감초, 멘톨 등 미용성분이 함유되어 있다.

리케아화장품은 에스메딕 WH의 개발을 위해 오랜 연구와 투자 기간을 거쳐 이 같은 쾌거를 이룩했으며, 에스메딕 WH 전제품에는 나노 리포솜 기술을 이용해 미용 성분이 효과적으로 피부 속까지 안전하게 전달되도록 하는 시스템을 적용해 피부 흡수율이 매우 높은 장점이 있다. 또한 국내, 국제 특허 출원중인 순수 비타민 C 안정화 기술이 포함된 나이트 세럼을 함께 선보여 프로젝트 화이트 세럼과 함께 병행해 사용할 수 있도록 했으며, 하이드로 토너, 하이드로 에멀전, 비타 하이드로 콤플렉스 등 총 5종을 선보이고 있다.

에스메딕 WH는 에스테틱과 메디컬 지향의 의미를 담은 스킨 케어 브랜드로 화이트닝(White)은 물론 썩, 살구, 금잔화 추출물 등 자연성분을 함유하고 있어 하이드로(Hydro)의 기능까지 갖춘 순수 지향의 저자극성 화이트닝 케어로 민감한 피부에도 만족도가 매우 높은 것으로 평가받고 있다.

리케아화장품은 에스메딕 WH의 우수성을 알리기 위해 마케팅, 광고 전략에 초점을 맞추고 있으며, 이번 미백 기능성화장품 인증을 계기로 전국적으로 에스메딕 샘플링을 강화하고, 각 제품 패키지에 기능성 인증마크를 부착하는 등 기능성 제품 홍보에 주력할 예정이며, 기능성으로 인증받은 에스메딕 WH 프로젝트 화이트 세럼과 순수 비타민 C가 함유된 나이트 세럼 2종 세트를 주력으로 판매해 매출을 올린다는 계획이다.

리케아화장품은 이번 기능성 화장품 승인을 계기로 보다 인증받은 우수한 제품을 개발하기 위해 연구와 투자를 아끼지 않을 계획이며, 하반기에는 에스메딕 피부 타입별 스킨케어 및 클렌징, 안티 에이징 제품까지 라인업을 진행해 에스메딕 브랜드 파워를 더욱 강화할 것이라고 밝혔다.

박재홍(jhpark@hjp.co.kr)

기사입력 [2002-06-22 06:50:00]



뒤로



위로



프린트



Home



About Us



Catalog



Contact Info

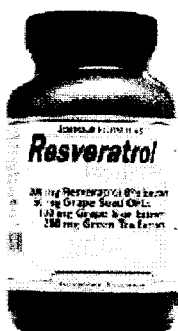


Questions/Info



Shopping Basket

Resveratrol Synergy



30 - 60 days use

\$14.90
Suggested Retail Price:
\$19.95

Resveratrol Synergy contains the biologically active flavonoid resveratrol, plus green tea catechins, grape skin anthocyanins and proanthocyanins from grape seed. Resveratrol, extracted from tiger cane root, protects circulation and heart function by inhibiting platelet aggregation. These synergistic plant extracts spare vitamin C and protect capillaries.

Reference: JF4061

UPC code: 790011140610

Size, Capacity: 60tabs

Manufactured by: Jarrow Formulas

Payment Methods

American Express, MasterCard, Visa, Discover, Check-By-Phone

Currency \$

Ref	Description	Price	Quantity Required	Add to Basket
-----	-------------	-------	-------------------	---------------

<http://www.vitamedics.com/item146.htm>

2003-08-21



Order at 1-888-622-9623

Product Health Concern Ingredients

- Products
- Articles
- FAQ's
- Ask Dr. Judy
- About Us
- Affiliate Program
- Contact Us

- 60 Day No Risk Money Back Guarantee!
- Immediate Shipping!
- \$4.95 Flat Fee Shipping For Any Size Order



LongevitySmart™

Gravinol-S™ Grape Seed Extract, Resveratrol and Vitamin C [View Label](#)

Say Yes... To Living a Longer, Healthier Life!

LongevitySmart™ contains the unbeatable teaming of three of nature's most potent antioxidants!

The 'star players' are...

- Grape Seed extract
- Resveratrol
- Vitamin C

--- the toughest free radical fighters around.

Grape Seed extract with OPCs is nature's most powerful antioxidant...50 times more powerful than Vitamin C and 20 times more potent than Vitamin E in destroying 'free radicals'. Unlike other antioxidants and bioflavonoids, OPCs are fully bioavailable and highly water soluble.

Dubbed the "Youth Nutrient", OPC results include...

- enhanced brain and vision function
- early arteriosclerosis protection
- reduction in skin aging
- relief from allergies and inflammation
- stress reduction
- strengthens collagen

Resveratrol is now just beginning to gain the spotlight it truly deserves. One of the most exciting recent health discoveries... this naturally occurring antioxidant is found mainly in the skin of grapes. It shows great promise not only as a cardio-protective compound, but also as a possible chemo-preventative.

**One Capsule of LongevitySmart™ Gives You...
The Amount Of Resveratrol That You'll Find
In A Bottle Of Wine!**

Research shows Resveratrol protects against atherosclerosis by reducing the stickiness of blood platelets and by helping blood vessels remain open and flexible. It helps to shield the



Best

Our C

- Mul
- Lon
- Opt
- Live
- En
- Me
- Visi

Is Y
A

Million:
Allergi
Fatigue
Disease
Debilit
Ailmen

Can Ai
Prever

... find

Do Yo
We

Solutio
name
extrao
compr
formul
design
solutio
of your
concer

... more



NEW-U

Pat. No.6,190,716 B1

Made by Old South Winery - Natchez, Mississippi- USA

New-U, muscadine seed and skin concentrate, is an all natural dietary supplement made from muscadine grapes; the highest available concentration of resveratrol, ellagic acid and many other nutrients.



- ↓ 100% natural, nothing artificial
- ↓ No fillers
- ↓ Contains powerful antioxidants/ nutrients
 - resveratrol genistein
 - ellagic acid daidzein
- ↓ Contains natural anti-cancer inhibitors

Why Take New-U?

- ↓ REDUCE aches and pains
- ↓ LOWER cholesterol
- ↓ SLOW the aging process
- ↓ PROMOTE overall good health
- ↓ INHIBIT the growth of cancer

Take New-U one to three times per day, preferably with meals for maximum absorption. You may also want to take Vitamins C & E along with the New-U capsule.

BUY NOW!

Contact Old South Winery: mailus@newu.net
Last modified: September 13, 2002

생장 자연화장품

천연재료로 만들어 피부에 안전합니다.



· 세안제, 스킨, 로션, 아이크림, 에센스, 영양크림
· 모음을 구입하며 날개품보다 가격이 저렴합니다.

바이오스펙트럼

1368 선물6종모음 78,000

8월 25일부터 공급합니다



130ml 바이오스펙트럼

1367 자연그대로(세안제) 11,000



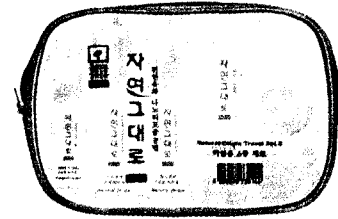
130ml 바이오스펙트럼

1366 자연그대로(스킨) 11,000



130ml 바이오스펙트럼

1365 자연그대로(로션) 15,000



· 세안제/스킨/로션 각 25ml 아이크림/에센스 각 5ml 영양크림 10ml
· 정상품을 구입하기 전에 시험적으로 사용해 보세요.

바이오스펙트럼

1364 여행6종모음 20,700



30ml 바이오스펙트럼

1363 자연그대로(아이크림) 14,000



30ml 바이오스펙트럼

1362 자연그대로(에센스) 14,000

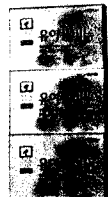


60ml 바이오스펙트럼

1361 자연그대로(영양크림) 16,000

비누

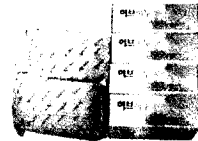
합성계면활성제가 들어있지 않아 분해가 빠르며, 물에도 환경에도 안전합니다.



예민한 아기 피부에는 비타민이 풍부한 스위트 아몬드오일론 만든 한살림 유아용비누가 좋습니다.

90g(3개) 협성

1546 유아용비누 3,600



· 허브향이 은은한 허브비누는 긴장과 스트레스를 풀어주고 불면증을 해결해줍니다.

120g(4개) 협성

1544 허브비누 4,800



· 키토산은 세포의 황성화를 도와 항균성, 열안정성, 피부안정성이 뛰어나고 보습효과가 좋습니다.

120g(4개) 협성

1545 키토산비누 3,600



1550 주방용물비누 1000ml(비닐) 2,700

1531 주방용물비누 1000ml(병) 3,600

- 809** 새하늘(영양크림) 30g/ (자연의벗) 22,000
- 810** 참이슬(스킨) 130ml/ (자연의벗) 20,000
- 811** 꽃구름(로션) 130ml/ (자연의벗) 20,000
- 812** 달님(오일애펙트) 100ml/ (자연의벗) 27,000
- 813** 첫눈(물분) 400g/ (자연의벗) 22,000
- 1536** 연지(투명) 32g/ (자연의벗) 5,000
- 1537** 연지(교구마색) 32g/ (자연의벗) 5,000
- 1538** 연지(복숭아색) 32g/ (자연의벗) 5,000
- 992** 봄봄연지(머지색) (자연의벗) 25,000
- 814** 알로에자연화장수 250ml/ (신물어성모임) 14,500
- 815** 세안제 115g/ (신물어성모임) 10,000
- 816** 자연팩 115g/ (신물어성모임) 11,500

더 나은 품질을 위한 노력이 결실되어...

한살림에서는 8월 25일부터 벤처업체인 바이오스펙트럼에서 생산하는 자연화장품 '자연 그대로'를 공급합니다.

품질의 안정성과 물품의 다양화를 위해

그 동안 한살림에서는 기초 화장품으로 자연의 벗 제품과 산들여성공동체(구 월곡여성생산공동체)의 물품을 공급해 왔습니다만, 특히 얼굴용 기초 화장품은 100% 자연성을 기초로 하고 방부제 등의 합성화학첨가물을 배제하다보니 자연물질의 특성 상 품질이 불안정한 면이 노출되었으며, 이 때문에 이용보급에도 많은 애로가 있었습니다.

이를 위해 기존 화장품의 품질안정성을 개선하기 위해 많은 노력을 기울였으나 다른 합성화학첨가물의 투입 없이는 한계가 있었고, 또한 이미 이 화장품의 특성에 호응하는 회원들이 많이 있어 기존 물품의 내용을 변경하는 것도 쉽지 않았습니다.

이에 화장품은 신체(얼굴)에 바르는 물품이라는 것과 사람마다 체질적인 특성이 매우 다르며, 원료 및 가공 내용에 따라 아주 민감하다는 것, 그래서 하나의 물품만으로는 회원들께 이용권장이 어렵다는 점을 감안하여 기존물품과는 다른 안정된 품질위주의 새로운 제품을 개발하기로 결정하고 지난 3월부터 5개월여동안 회원들이 지적 차언리는 부품의의해세나 때

인체에 해롭지 않은 가장 좋은 품질의 화장품을 만들어 공급한다는 의미에서 불가피한 선택이었습니다. 이러한 시도는 기존의 일반화장품이 수많은 인공·합성화학첨가물 덩어리로 그 위해성이 심각한 수준에 이르렀다는 점에 대한 인식을 토대로 보다 안전한 화장품의 개발 및 공급을 통해 회원의 안전을 도모하고자하는 적극적인 모색이었습니다. 그래서 이번 물품은 국내에서 제조한 화장품 중 원료나 사양으로 볼 때 가장 품질이 우수한 화장품이라고 자부할 만 합니다.

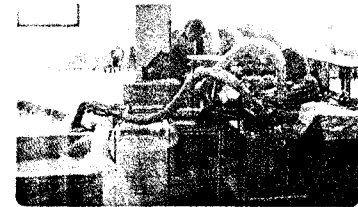
거품을 뺀 가격으로 공급합니다

또한 독자사양의 구성, 원료의 자가 제조, 직거래라는 한살림의 고유한 생산·소비체계를 통해 광고, 방문판매, 샘플 제공 등 기존 화장품의 유통특성에 따른 거품(최소한 10배 이상이라고 합니다)을 제거하고 품질이 우수하면서도 화장품 가격으로 믿기지 않는 가장 저렴한 가격을 달성하였습니다.

<물품특징>

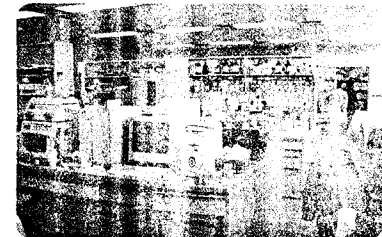
- ① 가능한 국내산 원료와 천연물질을 사용하며, 원료를 바이오스펙트럼에서 직접 제조하여 가공처에 제 공합니다.
- ② 합성색인화성제와 동물성 성분을 사용하지 않고 피부구조와 유사한 리포솜 공법을 사용해 제조하였

- ③ 사용 후에는 반드시 마개를 닫아 두며, 유·소아의 손이 닿지 않는 곳에 보관하십시오.
- ④ 고온 내지 저온의 장소 및 햇빛이 닿는 곳에 보관하지 말고 건조한 상온에서 보관하시기 바랍니다.



이렇게 만들어집니다

바이오스펙트럼은 화장품 원료개발 및 제조(주로 기능성 아토피 제제)를 전문으로 하는 젊은 벤처기업입니다. 개발과정에서 바이오스펙트럼이 한살림의 취지 및 물품개발 원칙에 공감, 회원들의 요청에 적극적으로 협력하여 내용이나 효과면에서 기존 화장품과는 전혀 다른 독자적인 물품과 독자 사양을 개발하여 화장품 제조 제조 전문업체인 제니코(주)를 북 오창 소재)에 위탁·가공한 후 협성생산공동체를 통해 판매, 유통, 공급됩니다.



▲바이오스펙트럼 연구실 전경

인 · 터 · 뷰

박덕훈 사장의 인터뷰를 요약·발췌하였습니다. 전문은 인터넷 물품 게시판에서 확인하시기 바랍니다.

Q. 벤처기업인 바이오스펙트럼과 유기농산물 직거래단인 한살림과는 조금 거리감이 느껴지는데요. 그럼에도 자연친화적인 화장품을 만드시기게 된 계기가 무엇이었나요?



한국화학시험연구원

우 150-038 서울특별시 영등포구 영등포동8가 88-2번지
우 415-871 경기도 김포시 월곶면 고막리 7-6

TEL(02)2635-6100
TEL(031)999-3000

FAX(02)2634-1008
FAX(031)999-3001

시험성적서

접수번호: TBH-000519

대표자: 박덕훈

업체명: 바이오스펙트럼(주)

주소: 경기 용인시 수지구 성북리 39-3(두산기술원내)

접수일자: 2003년 07월 11일

시험완료일자: 2003년 08월 08일

시료명: 작약(RESVERATROL 80%)

시험결과

시험항목	단위	시료구분	결과치	시험방법
급성경구독성시험	-		LD50 : 2,500 mg/k g B.W. 이상.	농촌진흥청고시 2002-9호

붙임 : 시험결과보고서

용도 : 제출용(농림부)

비고 : 1. 이 시험성적서는 용도 이외의 사용을 금함.

2. 상기내용은 의뢰자가 제공한 시료에 대한 결과이며, 시료명은 의뢰자가 제시한 것임.

시험자 : 정재황

승인자 : 성하정

2003년 08월 08일

한국화학시험연구원장

총 1페이지 중 1페이지

자가품질규격서

품 명 : 레즈베라트롤
 제품유형 : (작약가공식품)
 제조일자 : 2003. 2. 12
 시험일자 : 2003. 2. 20
 규 격 : 12항목

	항 목	기 준	결 과	비 고
일반성분	수 분	10% 이하	5.5%	일반시험법 중 상압가열건조법
	pH	4.5~6	5.46	
	회분	1%이하	0.06%	
	비소	2ppm이하	기준이하	
	납	2ppm이하	불검출	AA-670X v1.42
	수용성(pH3~10)	용해	적합	
미생물	대장균군	음성	음성	
	일반세균수/g	300개이하/g	적합	
	진균수/g	100개이하/g	적합	
유해물질	염소이온	0.2%	>0.01%	
	메탄올	불검출	적합	
	레즈베라트롤 함량	80%	적합	HPLC
	결 과	적 합		

이 실험결과는 바이오스펙트럼(주) 부설 생명과학연구소에서 자체 실험한 것입니다.

바이오스펙트럼(주)
 대표이사 박덕훈



ResPROSTA-Protector

ResPROSTA-Protector is a BioSpectrum's formular that supports multiple body system involved with the health of the prostate: a walnut-sized gland located under the bladder and surrounding the urinary tract in men. ResPROSTA-Protector supports hormonal regulation, cellular regeneration, antioxidant defense, bladder and urinary tract, and soothing mechanisms. It contains clinically researched amounts of peony extract and bera-sitosterol, plus soy extract and lycopene.

Three capsules contain;

Ingredients	mg
Zinc(as zinc citrate)	30
Selenium(as sodium selenite)	0.2
Soy isoflavones	1000
Resveratrol(from Peony seeds)	800
L-alanine	150
Phytosterol complex(providing 60mg beta-sitosterol)	140
Pupmkin seed oil extract(25% fatty acid)	100
Gingko biloba leaf extract	40
Ginger root	10
Grape seed extract(proantocyanidin)	10
Lycopene	10

Suggest Use: Three capsules daily for first three months. May take 2-3 capsules daily for maintenance. For best results, spread serving throughout the day, at breakfast and dinner.

