(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0080998
(43) 공개일자 2011년07월13일

(51) Int. Cl.
A61K 8/97 (2006.01) *A61Q 19/08* (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0001484
(22) 출원일자 2010년01월07일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원 춘천시 한림대학길 39 한림대학교
(72) 발명자
이재용
강원도 춘천시 퇴계동 그린타운아파트 103동 1303호
폴 콜로드지엑직
4500-50 Street, Olds College School of Innovation, Olds, Alberta, Canada T4H 1RC
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 천지

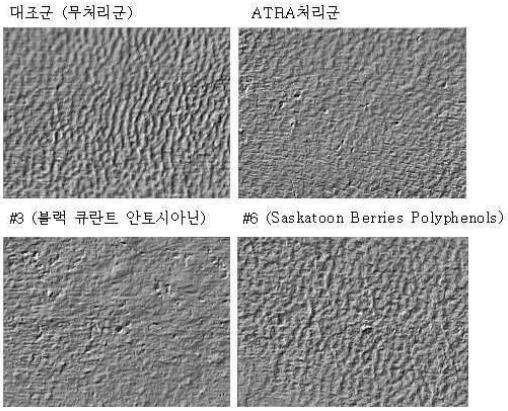
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 블랙 큐란트 안토시아닌을 함유하는 피부 주름 개선 및 예방용 조성물

(57) 요 약

본 발명은 까치밥나무 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 주름 개선 및 예방용 조성물에 관한 것으로, 까치밥나무 추출물, 특히 블랙 큐란트 안토시아닌은 피부 내 콜라겐을 분해하는 콜라게나제를 저해할 뿐만 아니라, 실제로 동물실험을 통하여 확인한 결과, 피부 주름을 개선하고, 피부에 수분과 탄력을 유지시킬 수 있는 것으로 확인되어, 본 발명의 유효성분을 포함한 조성물은 피부의 주름 및 탄력 개선에 효과적으로 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도2



(72) 발명자
안나 바코우스카-바크작
4500-50 Street, Olds College School of Innovation, Olds, Alberta, Canada T4H 1RC

홍수희
강원도 춘천시 후평1동 현대1차아파트 103동 805호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호
부처명 지식경제부
연구관리전문기관
연구사업명 지역 혁신 센터사업
연구과제명 실크 피브로인 필름을 이용한 생체치유용 피부 피복제 개발
기여율
주관기관 한림대학교 산학협력단
연구기간 2009년 03월 01일 ~ 2010년 02월 28일

특허청구의 범위

청구항 1

까치밥나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 예방용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 까치밥나무 추출물은 리버스 니그룸(Ribes nigrum) 추출물인 것을 특징으로 하는 피부 주름 개선 및 예방용 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 리버스 니그룸(Ribes nigrum) 추출물은 블랙 커런트 안토시아닌인 것을 특징으로 하는 피부 주름 개선 및 예방용 조성물.

청구항 4

까치밥나무 추출물 또는 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 피부 주름 개선 및 예방용 외용제.

청구항 5

까치밥나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 콜라게나제 저해제.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 천연물 추출물, 구체적으로 식물 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 피부 주름 개선 및 예방용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 피부는 상부층, 두께가 약 0.1mm인 표피, 하부층, 두께가 약 1 내지 4mm인 진피 및 기저층으로 이루어진다. 상기 피부의 탄력성이 상실되어 느슨해진 상태인 피부외관의 주름살이 형성되는 원인은 자연적 노화에 의한 주름의 생성과 자외선 노출(광노화)에 의한 주름의 생성으로 크게 나눌 수 있는 데, 두 가지 원인에 의한 주름 형성 메커니즘은 아직까지 정확하게 밝혀져 있지 않은 상태이다. 상기 주름과 밀접하게 관련된 피부노화 또한 크게 두 가지로 구분되는데, 자연적 노화 즉, 시간의 흐름에 따른 생리적 노화(chronological aging)와 자외선 노출을 포함하여 바람, 온도, 습도, 담배연기 및 공해 등과 같은 외재적 요인에 의한 노화(extrinsic aging)가 있다.

[0003] 상기 두 가지 주름의 원인 즉, 자연적 노화와 광노화에 의한 피부변화와 관련되어 발견되는 공통적인 현상은 진피 내의 주 구성단백질인 콜라겐 및 엘라스틴의 감소 및 변형 및 진피의 기질인 히아루론산의 감소에 의한 피부 탄력 감소이다. 특히, 지금까지의 연구결과에 의하면 상기 진피 내 주 단백질인 콜라겐 및 엘라스틴의 감소 및 변형이 주름의 생성 및 피부의 탄력저하에 직접적으로 관여하는 것으로 알려져 있다.

[0004] 상기 콜라겐은 세포 외 기질(extracellular matrix)의 주요 구성 성분으로, 피부의 섬유아세포에서 생성되는 주요 기질 단백질로서 세포 외 간질에 존재한다. 또한, 생체 단백질 총 중량의 약 30%를 차지하는 중요한 단백질로서 견고한 3중 나선구조를 가지고 있다. 콜라겐은 피부, 건(tendon), 뼈 및 치아의 유기 물질의 대부분을 형성하는데, 특히 뼈와 피부의 진피에 그 포함량이 높다. 대부분의 다른 체 구조물에서는 섬유상 봉입체로서 존재한다.

[0005] 상기 콜라겐의 주된 기능으로는 피부에 강도와 장력을 부여하여 피부의 기계적 견고성 확보, 결합조직의 저항력 유도, 조직의 결합, 세포 접착의 지탱, 세포 분할과 분화(유기체의 성장 혹은 상처 치유 시)의 유도 등으로 알

려져 있다. 또한, 콜라겐은 상처 치유에 있어서 중요한 역할을 담당하며, 손상된 상피에서 콜라겐의 합성을 촉진시켜서 상처를 신속하게 흉터 없이 회복시킬 수 있는 것으로 알려져 있다.

[0006] 특히, 진피층의 90%를 차지하고 있는 콜라겐의 감소는 피부의 노화와 매우 밀접한 관계를 가진다고 보고되어 있다. 보다 구체적으로, 생체 내에서 콜라겐과 같은 세포외 기질의 합성과 분해는 적절하게 조절되나 노화의 진행이나 자외선 조사는 콜라겐을 분해하는 효소인 기질 금속단백질 분해효소(matrix metalloproteinase, MMP)의 발현을 촉진시키며, 이러한 콜라게나제에 의한 콜라겐 분해로 인하여 피부의 탄력이 저하되고 주름이 형성된다.

[0007] 또한, 지금까지 알려진 피부 노화 억제제로는 피부 노화 억제 기전에 따라 종류가 다양하다. 대표적인 예로는 콜라겐 생성 촉진제, 엘라스틴 활성화제, 히아루론산 생성 증가제, 자유라디칼 소거제, 세포 증식제, 광노화 억제제, 각질세포 증식억제제, 보습제, 유해 활성산소 생성방지제, 세포 재생물질 등이 있다.

[0008] 또한, 피부 주름을 개선시키기 위한 방법으로 콜라겐을 포함시킨 화장품 또는 연고 등과 같은 피부 외용제 조성물을 사용하는 방법이 제시되었다. 이는 콜라겐의 주름 개선 및 피부 회복 효과를 이용하기 위하여 제시된 것이나, 고분자 물질인 콜라겐의 경피 흡수가 어려워 보습작용 또는 상처치유 효과를 기대할 수 없으므로 본질적인 피부기능 개선 및 상처치유의 기능을 나타낼 수 없다는 문제점이 지적되었다.

[0009] 종래의 문제점을 해결하기 위해 제시된 것으로, 자유 라디칼의 형성이나 반응을 억제하는 비타민 C, 비타민 E 또는 카로티노이드와 같은 항산화제에 의해 주름의 형성을 예방하는 방법, 레티놀과 같이 진피 내의 콜라겐 생합성을 증가시키는 방법, 콜라겐을 피부내로 주입하는 방법 또는 보툴리눔 독소를 피부에 주사하는 방법 등이 제시되었다.

[0010] 그러나, 상기 비타민 C, 비타민 E, 카로티노이드 및 레티놀은 모두 상온에서 쉽게 부서진다는 단점이 있고, 상기 레티놀은 처리농도가 높아지면 피부에 부작용을 나타내는 단점이 있는 것으로 알려져 있다. 또한, 콜라겐이나 보툴리눔 독서의 경우 피부적용시 자극과 발적 등의 안전성의 문제로 사용량의 제한이 있거나 효과가 미미하여 실질적으로 피부 기능 개선 또는 상처 치유의 효과를 기대할 수 없다는 단점이 지적되어 왔다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 상기 문제점을 해결하기 위하여, 본 발명은 기존 주름 개선용 조성물 또는 주름 개선용 피부외용제에 포함된 유효성분으로 사용된 물질보다 생체에 안전하고, 피부 주름 및 탄력 개선의 효과가 높으며, 피부 부작용이 적은 함유하는 피부 주름 개선 및 예방용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 까치밥나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 콜라게나제(collagenage) 저해제를 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명은 상기 목적을 달성하기 위하여, 까치밥나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 예방용 조성물을 제공한다. 상기 피부 주름 개선 및 예방용 조성물은 의약, 식품 또는 화장료로 사용될 수 있고, 상기 피부 주름 개선 및 예방용 조성물은 외용제로 사용될 수 있다.

[0014] 본 발명자는 피부 주름 및 탄력을 개선하는 소재를 발굴하기 위하여 천연의 다양한 원료들을 대상으로 연구하던 중, 천연성분인 까치밥나무 씨앗의 추출물에 포함된 안토시아닌(Black currant Anthocyanins)이 피부 진피에 존재하는 피부 결합조직의 구성성분인 콜라겐을 분해하는 효소인 콜라게나제를 저해하여 피부의 탄력을 유지할 수 있음을 발견하고, 이에 추가로 무모쥐(hairless mouse)를 이용하여 실험을 진행한 결과 상기 유효성분인 까치밥나무 씨앗의 추출물에 포함된 안토시아닌이 자외선 조사에도 불구하고 피부주름 예방 효과가 뛰어나고, 피부의 탄력을 유지시켜주며, 피부의 노화를 억제하여 젊고 부드러운 피부를 유지시켜 줄 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0015] 이하, 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

[0016] 본 발명은 까치밥나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 콜라게나제 저해제에 관한 것이다.

[0017] 또한, 본 발명은 까치밥나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 예방용 조성물에 관한 것이다. 상기 피부 주름 개선 및 예방용 조성물은 의약, 의약부외품, 식품 또는 화장품으로 사용될 수 있다. 또한, 상

기 피부 주름 개선 및 예방용 조성물은 외용제로 사용될 수 있다.

[0018] 본 발명에서 까치밥나무란 장미목 범의귀과에 속하는 낙엽관목을 의미한다. 상기 까치밥나무는 유럽 및 중앙아시아가 원산지이가 열매의 색깔이 검은 색이어서 검은 커런트 또는 블랙 커런트(black currant)라고 불리는 리버스 니그룸(*Ribes nigrum*), 유럽에 분포하고 약 1m까지 자라며, 4 내지 5월에 양성화인 꽃이 피고, 7 내지 8월에 장과인 열매가 맺히는 붉은 커런트(red currant), 한국 및 중국 북동부에 분포되어 있고, 까치밥 또는 산앵도라고 불리며, 고산지에 자라고, 5 내지 6월에 양성화인 붉은 자주빛 꽃이 피고, 10월에 장과로 공 모양이며 붉게 익는 열매가 맺히는 리버스 만드슈리컴(*Ribes mandshuricum*), 까막까치밥나무 또는 가막까치밥나무라고 불리고, 한국 북부지역 및 사할린섬 등지에 분포하고, 높은 산의 나무 밑에서 자라며, 흰빛이 도는 녹색 또는 노락색의 양성화인 꽃이 봄에 피고, 장과로 둥근 모양이고 검게 익는 열매가 달리는 리버스 유슈리엔세(*Ribes ussuriense*) 등이 있다. 상기 까치밥나무의 열매는 잼이나 주스 또는 젤리 등과 같은 식용으로 이용되거나, 약용으로 이용되기도 하였다. 상기 커런트라는 말은 '씨 없는 작은 건포도'란 의미로 사용되기도 한다.

[0019] 본 발명에 있어서, 안토시아닌(Anthocyanin)이란 흔히 식물체의 꽃, 과실, 줄기, 잎 또는 뿌리 등에 존재하는 수용성 색소 배당체(glucoside)로 어글리콘(aglycone) 및 글루코시드(glycoside)로 구성되고, 가수분해에 의하여 하나 또는 둘의 단당류와 어글리콘으로 분리될 수 있다. 흔히, 식물체의 액포에 존재하며, 세포액의 산성농도, 새속화합물의 화학적 구조, 여러 금속이온들과의 결합 상태에 따라 자색, 적색 또는 청색 등의 색상을 나타내는 천연 색소이다.

[0020] 본 발명에 있어서, 콜라게나제란 콜라겐을 소화하는 효소로, 일 예로 MMP-1일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0021] 본 발명의 까치밥나무는 리버스 니그룸(Ribes nigrum)일 수 있고, 바람직하게는 리버스 니그룸의 열매일 수 있다. 또한, 본 발명의 안토시아닌은 까치밥나무의 안토시아닌, 바람직하게는 리버스 니그룸의 안토시아닌 또는 블랙 커런트 안토시아닌일 수 있다.

[0022] 본 발명의 까치밥나무 추출물은 바람직하게는 리버스 니그룸(Ribes nigrum) 추출물일 수 있고, 더욱 바람직하게는 리버스 니그룸의 안토시아닌 또는 블랙 커런트 안토시아닌일 수 있다.

[0023] 본 발명의 까치밥나무 추출물은 상기의 까치밥나무를 추출용매 또는 추출용매 및 분획용매를 이용하여 추출 또는 추출 및 분획하여 제조할 수 있다.

[0024] 상기 추출용매는 물, 극성 유기용매, 비극성 유기용매 또는 이들의 혼합용매일 수 있다. 상기 극성 유기용매는 메탄올, 에탄올 등의 탄소수 1 내지 5의 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤 등일 수 있고, 상기 비극성 유기용매는 헥산, 클로로포름, 메틸렌 클로라이드 또는 디클로로메탄 등일 수 있다. 상기 추출용매는 바람직하게는 물 및 탄소수 1 내지 5의 알코올로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상일 수 있고, 더욱 바람직하게는 알코올 수용액일 수 있다.

[0025] 상기 분획용매는 물 또는 메탄올, 에탄올 등의 탄소수 1 내지 5의 알코올, 에틸아세테이트 등의 극성용매와 헥산 또는 디클로로메탄의 비극성용매와 같은 유기용매 또는 이들의 혼합용매일 수 있다. 일 예로, 상기 극성 용매 또는 비극성 용매는 탄소수 1 내지 5의 알코올, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 아세톤, 메틸렌 클로라이드, 이들의 희석수 또는 이들의 혼합물일 수 있다.

[0026] 본 발명의 까치밥나무 추출물을 제조하는 방법은 까치밥나무 또는 까치밥나무 분쇄시료에 추출용매를 첨가하고 추출과정을 수행하는 것일 수 있다.

[0027] 상기 추출과정은 초음파 추출법 또는 기기 추출법일 수 있다. 상기 초음파 추출법은 일 예로 까치밥나무 열매 200g을 기준으로 80% 메탄올 수용액 500 내지 1,000ml를 첨가하고, 분쇄한 후, 5 내지 90분, 바람직하게는 10 내지 60분, 더욱 바람직하게는 15 내지 30분 동안 초음파 추출하는 방법으로 수행할 수 있다. 또한, 상기 까치밥나무 분쇄시료는 유수로 세척한 까치밥나무를 건조시킨 후, 분쇄기로 분쇄하여 제조할 수 있다.

[0028] 또한, 상기 추출물의 제조는 상기 추출방법을 수행한 후에 추출액을 여과포를 이용하여 여과한 후, 잔사를 상기 추출방법과 동일한 방법으로 1회 이상 더 추출하여, 최초 수득한 1차 추출물과 합하는 단계를 추가로 수행하여 제조할 수 있다.

[0029] 상기 추출물은 수득된 추출과정을 수행하여 제조된 조추출액에 대해 여과과정을 수행하거나 농축 및/또는 동결건조를 수행하여 제조할 수 있다. 상기 여과과정을 수행하여 추출액에 남아 있는 잔사 등을 제거할 수 있으며, 상기 농축 및/또는 동결건조를 수행하여 수분을 제거할 수 있다. 또한, 상기 농축은 감압농축기를 이용하여 수

행할 수 있으며, 상기 감압농축 과정은 30 내지 70℃, 바람직하게는 40 내지 50℃의 조건에서 수행할 수 있다.

[0030] 상기 리버스 니그룸의 안토시아닌 또는 블랙 커런트 안토시아닌을 추출 또는 분리정제하는 방법은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려진 식물 또는 식물 추출물로부터 안토시아닌을 분리정제하는 모든 방법일 수 있고, 어느 특정한 방법에 제한되는 것은 아니다.

[0031] 일 예로, 상기 전개용매를 이용한 크로마토그래피법이거나 논아이오닉 폴리머릭 흡착제 컬럼(nonionic polymeric absorbent column)을 이용한 방법일 수 있다. 상기 흡착제 컬럼을 이용하는 경우, 흡착제로부터 안토시아닌의 용출은 메탄올을 이용할 수 있고, 에틸아세테이트를 이용하여 분리할 수 있다.

[0032] 상기 방법에 의해 제조된 까치밥나무 추출물 또는 블랙 커런트 안토시아닌은 실험결과, 사람유래의 섬유아세포의 콜라게나제(MMP-1)을 저해할 뿐만 아니라, 실험동물을 이용하여 실험한 결과 피부 주름을 개선하고, 피부의 노화를 예방할 수 있으므로, 피부 주름을 예방 또는 개선할 수 있고, 피부의 탄력을 개선하는 효과가 있음이 확인되었다.

[0033] 따라서, 상기 까치밥나무 추출물 또는 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 조성물은 주름 개선용 또는 피부 노화 방지용 의약품, 의약부외품, 식품 또는 외용제로 응용될 수 있고, 상기 외용제의 예는 피부 주름 개선 및 예방용 화장료 조성물일 수 있다. 본 발명의 단순한 변형 또는 변경은 모두 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의하여 용이하게 실시될 수 있으며, 이러한 변현이나 변경은 모두 본 발명의 영역에 포함되는 것으로 볼 수 있다.

[0034] 또한, 본 발명의 까치밥나무 추출물 또는 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 콜라게나제 저해제는 주름 개선 또는 노화 방지용 의약품, 의약부외품, 식품 또는 외용제로 응용될 수 있다.

[0035] 본 발명은 까치밥나무 추출물 또는 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 의약 조성물일 수 있다.

[0036] 또한, 본 발명은 까치밥나무 추출물 또는 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 식품 조성물일 수 있다.

[0037] 또한, 본 발명은 까치밥나무 추출물 또는 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 외용제일 수 있다.

[0038] 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 의약 조성물은 인간을 포함한 동물에 직접 적용될 수 있다. 상기 동물은 식물에 대응하는 생물군으로 주로 유기물을 영양분으로 섭취하고, 소화나 배성 및 호흡기관이 분화되어 있는 것을 말하며, 바람직하게는 포유류, 더욱 바람직하게는 인간일 수 있다.

[0039] 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 의약 조성물은 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 단독으로 포함할 수 있으며, 이외 제형, 사용방법 및 사용목적에 따라 약제학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

[0040] 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 의약 조성물에 유효성분인 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌 외에 다른 성분이 첨가된 혼합물로 제공되는 경우, 상기 주름 개선 및 예방용 의약 조성물 총 중량에 대하여 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 0.001 중량% 내지 99.9 중량%, 바람직하게는 0.1 중량% 내지 99 중량 %, 더욱 바람직하게는 1 중량% 내지 50 중량% 포함할 수 있다.

[0041] 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 의약 조성물이 약제로 사용하는 경우 투여방법은 경구 또는 비경구 모두 가능하며, 일 예로는 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있다.

[0042] 또한, 상기 조성물의 제형은 사용방법에 따라 달라질 수 있으며, 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 본 발명이 속하는 기술분야에 알려진 방법을 채택하여 제형화될 수 있다.

[0043] 일반적으로는, 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제(TABLETS), 알약, 연질 또는 경질 캅셀제(CAPSULES), 환제(PILLS), 산제(POWDERS) 및 과립제(GRANULES) 등이 포함되고, 이러한 제제는 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경

구를 위한 액상 제제로는 현탁제(SUSTESIONS), 내용액제, 리모나데제(LIMONADES), 유제(EMULSIONS) 및 시럽제(SYRUPS) 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제 예를 들면, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0044] 또한, 비경구투여를 위한 형태는 크림(CREAM), 로션제(LOTIONS), 연고제(ONITMENTS), 안연고제, 경고제(PLASTERS), 액제(LIQUIDS AND SOULTIONS), 에어로솔제(AEROSOLS), 유동엑스제(FRUIDEXTRACTS), 엘릭서(ELIXIR), 침제(INFUSIONS), 향낭(SACHET), 리니멘트제(LINIMENTS), 패취제(PATCH) 또는 주사제(INJECTIONS) 등의 형태일 수 있다.

[0045] 더 나아가, 본 발명의 조성물은 당해 기술 분야의 공지된 적절한 방법을 사용하여 또는 레밍턴의 문헌(Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 제형화될 수 있다.

[0046] 상기 제형, 사용방법 및 사용목적에 따라 약제학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제는 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자이리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀루로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유, 덱스트린, 칼슘카보네이드, 프로필렌글리콜, 리퀴드 파라핀, 생리식염수로 이루어진 군에서 선택된 1이상 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며 통상의 담체, 부형제 또는 희석제 모두 사용가능하다.

[0047] 또한 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 의약 조성물을 약제화하는 경우, 통상의 충진제, 증량제, 결합제, 붕해제, 계면활성제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 또는 방부제 등을 더욱 포함할 수 있으며, 경구 또는 비경구 모두 사용 할 수 있으나, 바람직하기로는 경구 투여용으로 할 수 있다. 구체적으로 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제 예를 들면, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0048] 본 발명에 따른 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 의약 조성물의 투여량은, 투여방법, 복용자의 연령, 성별 및 체중, 및 질환의 중증도 등을 고려하여 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.

[0049] 일 예로, 본 발명의 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 의약 조성물은 1일 유효성분의 함량 즉, 상기 유효성분의 함량을 기준으로 0.0001 mg/kg(체중) 내지 1000 mg/kg(체중)으로, 보다 효과적이기 위해서는 0.01 mg/kg(체중) 내지 100 mg/kg(체중)으로 투여할 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0050] 또한, 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 함유하는 주름 개선 및 예방용 의약 조성물을 비경구용 또는 외용으로 투여하는 경우에는 상기 조성물을 적용하는 대상의 연령, 성별, 상태, 체내에서 활성 성분의 흡수도, 불활성율, 병용되는 약물 또는 화장품의 종류에 따라 달리 적용될 수 있으며, 예컨대 1일 1 ml을 넓이 4cm^2(0.25 ml/cm^2피부)(블랙 큐란트 안토시아닌 1 μg/ml water) 피부에 투여할 수 있으나 이에 한정되지는 않는다. 본 발명은 또한 투약 단위의 제형들을 포함한다.

[0051] 또한, 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 의약 조성물은, 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌 이외에 공지의 주름 개선 및 예방용 효과 또는 피부 노화 방지 효과를 갖는 화합물 또는 식물 추출물을 더욱 포함할 수 있으며, 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌 100 중량부에 대하여 각각 5 중량부 내지 20 중량부로 포함될 수 있다.

[0052] 또한, 본 발명은 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 식품 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 식품 조성물의 예로는 식품, 식품첨가제, 음료 또는 음료첨가제를 들 수 있다.

[0053] 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 식품 조성물은 그 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

[0054] 본 명세서에서 식품이란 함은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 식품, 식품 첨가제, 건강 기능성 식품 및 음료를 모두 포함하는 의도이다.

[0055] 본 발명의 식품 조성물의 유효성분인 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌이 포함될 수 있는 식품으로는 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 본 발명에서 식품에는 특수영양식품(예, 조제유류, 영,유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스넥류), 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과실,채소류 음료, 두유류, 발효음료류, 아이스크림류 등), 천연조미료(예, 라면 스프 등), 비타민 복합제, 알코올 음료, 주류 및 그 밖의 건강보조식품류를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 식품, 음료 또는 식품첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.

[0056] 본 발명에서 기능성 식품이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체조절기능, 보다 구체적으로 피부노화방지나 피부 주름 예방 또는 개선 기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미한다. 상기 기능성 식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

[0057] 본 발명에서 음료란 갈증을 해소하거나 맛을 즐기기 위하여 마시는 것의 총칭을 의미하며 기능성 음료를 포함하는 의도이다. 상기 음료는 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 것 외에 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기의 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어 포도당, 과당 등 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 수크로스 등 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상기한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100㎖ 당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 5 내지 12g일 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일 주스, 과일 쥬스 음료, 야채 음료의 제조를 위한 과육을 추가로 함유할 수 있다.

[0058] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분을 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 상기 첨가제는 본 발명의 유효성분인 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌 100 중량부 당 0 내지 20 중량부, 바람직하게는 0.00001 내지 15 중량부 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0059] 본 발명에서 기능성 음료란 음료에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 음료의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 음료 군이나 음료 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 음료를 의미한다.

[0060] 상기 기능성음료는 지시된 비율로 필수 성분으로서 본 발명의 유효성분인 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어 포도당, 과당 등 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 수크로스 등 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상기한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 중량부 내지 20 중량부, 바람직하게는 1 중량부 내지 18 중량부, 더욱 바람직하게는 5 중량부 내지 12 중량부 포함될 수 있다.

[0061] 또한, 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 포함하는 주름 개선 및 예방용 식품 조성물에 있어서, 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌의 양은 전체 식품 중량의 0.00001 중량% 내지 50 중량%로 포함될 수 있으며, 음료 조성물의 경우 식품 전체의 부피 100 ml 를 기준으로 0.001 g 내지 50 g, 바람직하게는 0.01 g 내지 10 g의 비율로 포함될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0062] 또한, 본 발명에서는 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 함유하는 것을 특징으로 하는 주름 개선 및 예방용 외용제를 제공한다.

[0063] 본 발명에서 외용제란 일반적으로 외용에 사용하는 조성물 전반을 포괄하는 개념이고, 예를 들어, 기초 화장료, 메이크업 화장료, 모발용 화장료 등 각종 화장료를 포함하는 화장료 조성물이나 연고제 등의 다양한 의약품 내지 의약외품 등으로 폭넓게 적용 가능한 것을 말한다.

[0064] 상기 외용제에는 유효성분 외에 사용용도 및 외용제 조성물의 성질에 따라 통상 외용제에 배합되고 있는 성분, 일예로 보습제, 자외선 흡수제, 비타민류, 동식물 추출성분, 소화제, 미백제, 혈관확장제, 수렴제, 청량제, 호르몬제 등을 추가로 배합한 것일 수 있다.

[0065] 상기 외용제의 제용은 사용용도 및 외용제 조성물의 성질에 따라 적절한 형태를 취할 수 있으며, 일예로 수용액계, 가용화계, 유화계, 유액계, 겔계, 페이스트계, 연고계, 에어졸계, 물-기름 2층계, 물-기름-분말 3층계일 수 있으며, 상기 제형에 의해 본 발명의 외용제의 제형 및 형태가 제한되는 것은 아니다.

[0066] 또한, 상기 외용제는 유효성분을 피부조직으로 침투 또는 이행시키기 위해서 필요한 기제를 추가로 포함할 수 있다.

[0067] 상기 유효성분은 주름 개선 및 예방용 외용제 총 중량을 기준으로 0.01 내지 30 중량%로 포함될 수 있으며, 바람직하기로는 0.05 내지 20 중량%일 수 있으나, 함량은 제형 또는 외용제에 함유되는 유효성분외의 성분의 함량에 따라 적절히 조절할 수 있다. 이의 함량이 0.01 중량%를 미만인 경우에는 기대하는 효과를 얻기 어려울 수 있으며, 이의 함량이 30 중량%를 초과하는 경우에는 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌의 강한 분산성 등으로 인하여 제품의 안정성에 좋지 않은 영향을 줄 수 있다.

[0068] 상기 본 발명의 일 예인, 상기 까치밥나무 추출물 또는 상기 블랙 커런트 안토시아닌을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 예방용 화장료 조성물은 상기 유효성분 이외에, 통상의 화장품에 사용가능한 모든 종류의 성분, 예컨대 향료, 색소, 살균제, 산화방지제, 방부제, 보습제, 점증제, 부형제, 희석제, 무기염류 및 합성 고분자 물질 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0069] 상기 화장료 조성물은, 기초화장품, 메이크업 화장품, 바디 화장품, 두발용 화장품, 두피용 화장품, 면도용 화장품 또는 구강용 화장품의 용도로 제공될 수 있다. 상기 기초화장품의 예로는 크림, 화장수, 팩, 마사지 크림, 유액 등이 있으며, 상기 메이크업 화장품으로는 파운데이션, 메이크업 베이스, 립스틱, 아이새도, 아이라이너, 마스카라, 아이브로우 펜슬 등이 있으며, 바디 화장품으로는, 비누, 액체 세정제, 입욕제, 선스크린 크림, 선 오일 등이 있으며, 두발용 화장품으로는 샴푸, 린스, 헤어 트리트먼트, 헤어 무쓰, 헤어 리퀴드, 포마드, 헤어 칼라제, 헤어 블릿치제, 칼라 린스가 있으며, 두피용 화장품으로는 헤어 토닉, 스칼프 트리트먼트가 있으며, 면도용 화장품으로는 애프터셰이브로션, 셰이빙 크림 등이 있으며, 구강용 화장품으로는 치약, 마우스워셔 등이 있다.

[0070] 본 발명의 조성물은 콜라게나제(MMP-1)의 저해 활성이 우수하고, 자외선에 의한 피부노화 방지, 피부주름 예방 및 개선 효과가 뛰어나며, 피부의 수분 및 탄력 유지효과가 우수할 뿐만 아니라, 식용으로 사용되는 천연식물로부터 제조된 것이므로 안전성에 문제가 없어, 피부 노화 및 피부 주름을 개선 또는 예방하기 위하여 유용하게 사용될 수 있을 것으로 판단된다. 특히, 본 발명의 블랙 큐란트 안토시아닌(Black currant Anthocyanin)은 이러한 우수한 효과와 안전성의 확보로 인하여, 외용 조성물 일 예로, 기능성 화장품이나 피부 노화 방지 및 피부 주름 개선을 포함한 다양한 피부 관련 질환의 치료, 개선 또는 예방을 위한 약품 또는 의약외품에 첨가될 수 있으며, 이러한 기능성 화장품이나 약품 또는 의약외품의 종류는 특별히 한정되지 않는다.

[0071] 또한, 본 발명은 피부 주름 개선 및 예방 효과가 있는 블랙 큐란트 안토시아닌 제조방법을 제공한다.

[0072] 상기 피부 주름 개선 및 예방 효과가 있는 블랙 큐란트 안토시아닌 제조방법은 블랙 큐란트 열매에 알코올 수용액을 가하고, 분쇄하는 분쇄 단계; 상기 분쇄된 분쇄액을 초음파 추출법으로 10분 내지 30분, 바람직하게는 15분 내지 25분 동안 추출하여 추출액을 제조하는 단계; 상기 추출액의 용매를 제거하여 추출물을 제조하는 단계; 상기 추출물를 논아이오닉 폴리머릭 흡착제 컬럼(nonionic polymeric absorbent column)을 이용하여 분리하고,

메탄올로 용출시킨 후, 메탄올을 제거하여 조 안토시아닌을 얻는 단계 및 상기 얻어진 조 안토시아닌을 메탄올에 용해시킨 후, 에틸아세테이트를 첨가하고 분획하여 안토시아닌을 얻는 단계를 포함하는 것일 수 있다.

[0073] 상기 제조방법은 추가로 상기 에틸아세테이트를 첨가하고 분획하여 얻어진 안토시아닌을 HPLC 컬럼을 이용하여 크로마토그래피를 수행함으로써, 안토시아닌을 정제하는 단계를 더욱 포함할 수 있다.

[0074] 상기 방법에 의하여 제조된 블랙 큐란트 안토시아닌은 콜라게나제 저해활성이 뛰어나고, 피부 노화 방지 효과가 우수할 뿐만 아니라, 피부 주름 개선 효과가 우수하여, 피부 주름 예방 및 개선 또는 피부 노화 방지를 위하여 유용하게 사용될 수 있다는 장점이 있다.

발명의 효과

[0075] 상기한 바와 같이, 까치밥나무 추출물 및 블랙 큐란트 안토시아닌은 천연성분으로 피부에 대한 부작용이 없으며, 콜라겐 분해효소인 콜라게나제 저해활성이 뛰어나고, 실험동물에 의해 확인한 결과 자외선을 조사한 경우에도 피부 주름 발생을 억제하고 피부 노화를 방지하여 피부의 주름 및 탄력 개선의 효과가 기대되며 천연물로서 인체에 안전하기 때문에 그 사용량을 높일 수 있다는 점을 고려한다면, 피부 주름 개선 및 예방을 목적으로 하는 다양한 식품, 의약품, 화장품을 포함한 외용 조성물의 원료로서 다양하게 적용 가능하다.

도면의 간단한 설명

[0076] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른, 블랙 큐란트 안토시아닌의 콜라게나아제(MMP1) 저해효과를 확인하기 위하여, 콜라게나아제(MMP1) 및 콜라겐 단백질의 발현량을 비교분석한 사진으로, 상기 1번은 대조군을 나타내는 것이고, 상기 2번은 ATRA 0.1/ml를 투여한 것이며, 상기 3번은 ATRA 1/ml를 투여한 것이고, 상기 4번은 ATRA 10/ml를 투여한 것이며, 상기 5번은 BCP 1/ml를 투여한 것이고, 상기 6번은 BCP 10/ml를 투여한 것이며, 상기 7번은 BCP 100/ml를 투여한 것이고, 상기 8번은 SBA 1/ml를 투여한 것이며, 상기 9번은 SBA 10/ml를 투여한 것이고, 상기 10번은 SBA 100/ml를 투여한 것이며, 상기 11번은 BCA 1/ml를 투여한 것이고, 상기 12번은 BCA 10/ml를 투여한 것이며, 상기 13번은 BCA 100/ml를 투여한 것이고, 상기 14번은 PCP 1/ml를 투여한 것이며, 상기 15번은 PCP 10/ml를 투여한 것이고, 상기 16번은 PCP 100/ml를 투여한 것이며, 상기 17번은 HP 1/ml를 투여한 것이고, 상기 18번은 HP 10/ml를 투여한 것이며, 상기 19번은 HP 100/ml를 투여한 것이고, 상기 20번은 SBP 1/ml를 투여한 것이며, 상기 21번은 SBP 10/ml를 투여한 것이고, 상기 22번은 SBP 100/ml를 투여한 것이며, 상기 ATRA는 양성대조군으로 all trans retinoic acid를 의미하고, 상기 BCP는 블랙 커런트 폴리페놀을 의미하며, 상기 SBA는 Saskatoon Berries Anthocyanins를 의미하고, 상기 BCA는 본 발명의 유효성분인 블랙 커런트 안토시아닌(Black Currant Anthocyanins)을 의미하며, 상기 PCP는 Purple Corn Polyphenols를 의미하고, 상기 HP는 Honeysuckle Polyphenols을 의미하며, 상기 SBP는 Saskatoon Berries Polyphenols를 의미한다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른, 블랙 큐란트 안토시아닌의 피부 주름 방지효과를 확인하기 위하여, 자외선 조사에 의하여 유발된 무모쥐의 등에 블랙 큐란트 안토시아닌을 처리하였을 때의 피부주름개선 정도를 보여주는 사진이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른, 블랙 큐란트 안토시아닌의 피부 주름 방지효과를 확인하기 위하여, 자외선 조사에 의하여 유발된 무모쥐의 등에 블랙 큐란트 안토시아닌을 처리하였을 때의 피부를 visioscan으로 분석한 결과인 Surface 값으로 표면의 크기를 옆으로 폈을 때를 비교해서 계산한 값을 나타낸 그래프이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른, 블랙 큐란트 안토시아닌의 피부 주름 방지효과를 확인하기 위하여, 자외선 조사에 의하여 유발된 무모쥐의 등에 블랙 큐란트 안토시아닌을 처리하였을 때의 피부를 visioscan으로 분석한 결과인 Volume 값으로 모든 굴곡의 평균높이에 이미지가 찰 때까지 필요한 액체의 총량을 계산한 값을 나타낸 그래프이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른, 블랙 큐란트 안토시아닌의 피부 주름 방지효과를 확인하기 위하여, 자외선 조사에 의하여 유발된 무모쥐의 등에 블랙 큐란트 안토시아닌을 처리하였을 때의 피부를 visioscan으로 분석한 결과인 NRJ값은 탄성에너지 값을 나타낸 그래프이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른, 블랙 큐란트 안토시아닌의 피부 주름 방지효과를 확인하기 위하여, 자외선 조사에 의하여 유발된 무모쥐의 등에 블랙 큐란트 안토시아닌을 처리하였을 때의 피부를 visioscan으로 분석한 결과인 Contrast 값으로 근접해 있는 두개의 gray levels 사이의 차이점을 나타내는 값을 나타낸 그래프이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른, 블랙 큐란트 안토시아닌의 피부 주름 방지효과를 확인하기 위하여, 자외선

조사에 의하여 유발된 무모쥐의 등에 블랙 큐란트 안토시아닌을 처리하였을 때의 피부를 visioscan으로 분석한 결과인 Variance값으로 부표면 높낮이의 평균값으로 거친 피부일수록 값이 크다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0077] 이하 본 발명을 구체적으로 설명하기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 단, 하기 실시예는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 이는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 보호범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0078] [실시예]

[0079] **실시예 1. 블랙 큐란트 안토시아닌 (Black currant Anthocyanins)의 추출 및 분리**

[0080] 블랙 큐란트 200g에 80 aquous methanol (0.1% formic acid) 700ml을 가하여 food processor에서 분쇄하고, 20분 동안 sonication한다. 추출물을 4℃에서 1,000g로 30분간 원심분리하여 상층액을 모은다. 침전물에 1:4 H_2O-Methanol mix(0.1% formic acid) 70ml을 가하고 같은 방법으로 상층액을 모아서 1차 상층액과 합친다. 상층액을 vacuum evaporator를 사용하여 40℃에서 용매를 증발시킨다.

[0081] 상기 용매를 증발시켜 수득한 잔여물을 물(0.1% formic acid)에 용해시키고, nonionic polymeric absorbent (Amberlite XAD-16) 컬럼에 부어넣는다. 물(0.1% formic acid)로 충분히 세척한 후에 안토시아닌을 methanol(0.1% formic aci)d)로 용출시키고 rotary evaporator에서 용매를 제거한다.

[0082] 상기 용매를 제거하고 수득한 잔여물을 methanol(0.1% formic acid)에 용해시키고 안토시아닌은 ethyla acetate로 분리한다. 이렇게 얻은 안토시아닌을 역상 C-18 HPLC 컬럼을 사용하여 4.5 % formic acid (A)와 80% acetonitrile (B) 사이의 gradient elutiuon에 의해 안토시아닌들을 분리하였다.

[0083] **실시예 2. 인간섬유아세 포배양에서 콜라젠, 콜라제나아제 발현분석을 통한 주름예방 및 개선 분석**

[0084] 주름의 지표단백질인 콜라겐 I 및 콜라게나아제 I 의 발현을 조사하기 위하여 본 연구실에서 확보한 인간섬유아세포주(human embryonic fibroblast)를 trypsin-EDTA로 배양함에 의하여 1:4로 희석율(분열 수 2에 해당)로 새 페트리디쉬(지름 60mm)로 바꾸어 주면서 지속적으로 수를 늘리면서 다량으로 계대배양하여 세포분열수가 20번이 될 때(아직 노화의 특성을 보여지지 않은 상태), 10% DMSO를 가하고 각 디쉬당 1바이알로 freezer stock을 만들어 액체질소에 보관하였다.

[0085] fibroblast의 배양은 DMEM 10% fetal bovine serum (penicillin-streptomycin포함)을 배지로 사용하고, 37℃, 5% CO_2에서 매 3일 간격으로 배지를 교체하였다.

[0086] 분열수(PD, population doubling) 30의 young human embryonic fibroblast에 추출물을 농도별(1, 10, 100/ml)로 처리하고 48시간 후에 medium를 수거하고 Acetone precipitation을 하였다. Procollagen과 MMP I(collagenase I)의 단백질 발현을 antibody를 사용하여 Western blot analysis를 사용하여 측정하였다.

[0087] 각각의 추출물을 human embryonic fibroblast에 처리한 후 단백질의 발현을 조사하기 위해, 처리군과 비교군의 human embryonic fibroblast의 medium을 Acetone precipitation하여 NET buffer(150mM NaCl, 50mM Tris-HCl pH7.4, 5mM EDTA pH8.0)로 pellet을 lysis 시키고 Lowry법으로 정량한다. SDS PAGE gel에서 150V 1시간동안 전기영동 후에 Transfer membrane에 70V 30분간 Transfer 하고, non-fat milk solution에 membrane을 담그고 overnight 반응시킨다.

[0088] 이후 TBST washing solution 으로 10분간 3회 세척하고, 1차 antibody를 이용하여 2시간 동안 immunoblotting을 한 뒤, 다시 TBST washing solution으로 3회 세척한 후, 2차 antibody로 30분간 immunoblotting을 한 뒤, 다시 3회 세척한 후 ECL kit를 이용하여 필름에 감광시키는 방법으로 단백질의 발현을 조사하였으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0089] 상기 도 1에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 블랙 커런트 안토시아닌의 경우, 양성대조군인 ATRA와 동일한 함량에서 더 우수한 MMP-1 즉, 콜라겐 분해효소인 콜라게나제 저해 활성을 나타내어, 주름 예방 효과가 뛰어난 것으로 확인되었다.

[0090] **실시예 3: 무모쥐를 이용한 주름개선 효능 측정**

[0091] 무모쥐(hairless mouse)를 이용한 in vivo 모델은 피부주름 연구를 수행하는데 주된 방법으로 받아들여지고 있다. 이하의 실시 예 에서는 무모쥐를 이용한 in vivo 실험을 통하여 블랙 큐란트 안토시아닌(Black currant Anthocyanins)의 주름 예방 및 개선 효과를 규명하였다.

[0092] 식물체로부터 블랙 큐란트 안토시아닌 (Black currant Anthocyanins)를 정제하는 방법과 분리정제한 물질의 화학구조를 밝혀 블랙 큐란트 안토시아닌 (Black currant Anthocyanins)라는 것을 증명하는 방법의 실시예는 새로운 방법이 아니며 어떤 다른 분리 정제방법과 구조분석방법도 가능하다.

[0093] 실험에 사용된 실험동물은 5주령의 무모쥐 (hairless mouse)를 구입하여 일주일동안 안정화를 시킨 후 8주간 실험하였으며 실험기간 중 사육실 환경은 23± 2℃ , 상대습도 55± 10 %를 유지하였고 12시간 인공조명 하에서 마우스용 케이지에 5마리씩 넣어 사육하였으며, 실험동물용 사료 및 식수는 자유로이 공급하였다.

[0094] 주름생성을 위해 8주간 UV를 조사하여 피부주름을 유발하였다. UV lamp(Philips TL20w/01RS, USA)를 사용하여 최소홍반량(Minimun Erythema Dose, MED)을 측정해 1MED가 120mJ/cm^2로 결정하였다. 일주일에 3회씩 노출시키고 조사량은 첫 주에 1MED(120mJ/cm^2)에서 시작해 2주에 2MED 3주에 3MED로 증가 시킨 후 3주 이상 부터는 3MED로 조사하였다.

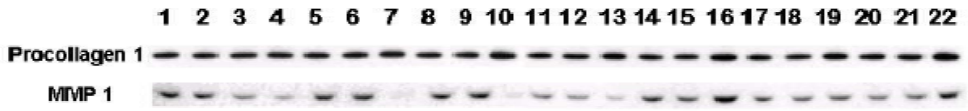
[0095] 실험군은 각 5마리씩 UV 대조군(UV만 노출), ATRA 처리군 (양성대조군, All trans-retinoic acid, 1μM, 이미 화장품에 주름개선제로 사용되는 물질), #3 (Black currant anthocyanins) 0.5%, #6 (Saskatoon berries polyphenols) 0.5%로 나누어 실험하였다.

[0096] ATRA, #3, #6은 화장품 베이스에 녹여 사용하였다. 각 물질을 1주일에 5회씩 등쪽에 발라주고 8주 처리 후 피부의 주름정도를 측정하기 위하여 Visioscan(VC 98)을 이용하여 무모쥐를 호흡마취 시킨 후 등쪽 피부에 밀착시켜 촬영하고 사진을 아래의 값을 사용하여 평가하였고, 그 결과를 도 2 내지 도 7에 나타내었다.

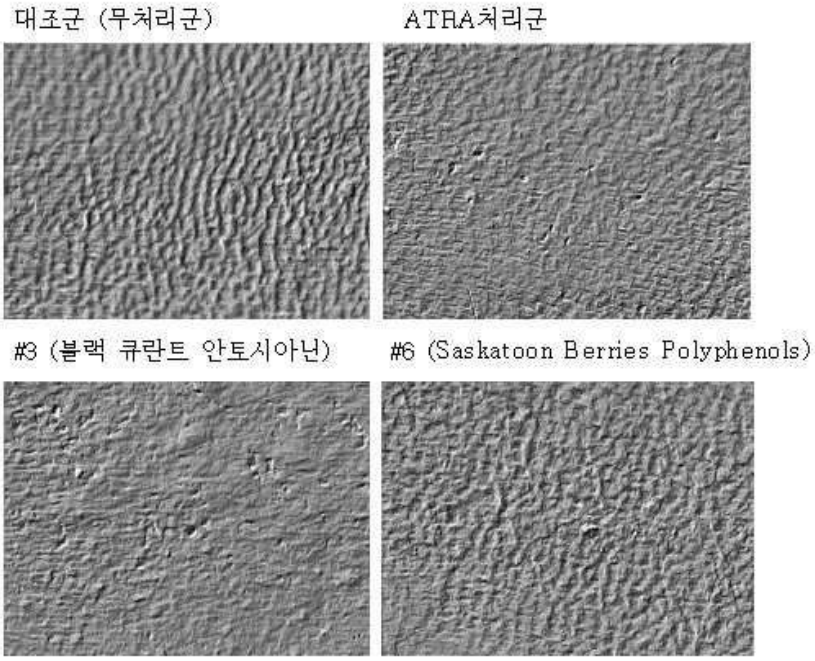
[0097] 상기 도 2 내지 도 7에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 블랙 커런트 안토시아닌은 양성대조군인 ATRA와 대등한 주름 개선 및 예방 효과를 나타내었고, 도 3의 경우 그 값이 ATRA와 유사하게 낮게 나타나 매끄러운 부분이 많은 것으로 확인되었다. 또한, 도 4의 경우, ATRA보다 더 작은 값이 확인되어 주름이 적은 것으로 확이되었고, 도 5의 경우 ATRA와 유사한 높은 값이 확인되어, 자외선 조사에도 불구하고 피부가 젊고 수분이 많고 탄력적인 것으로 나타났고, 도 6 및 도 7의 경우에도 ATRA와 유사하고 Saskatoon berries polyphenols에 비하여 현저하게 낮은 값을 나타내 피부 주름이 적게 발생하는 것으로 확인되었다.

도면

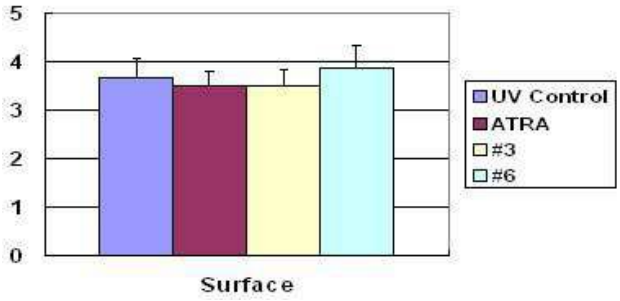
도면1



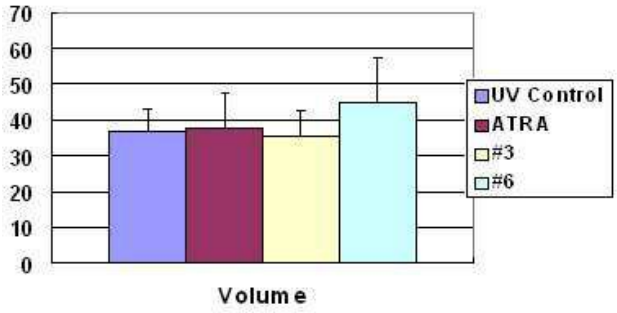
도면2


대조군 (무처리군)
ATRA처리군
#3 (블랙 큐란트 안토시아닌)
#6 (Saskatoon Berries Polyphenols)

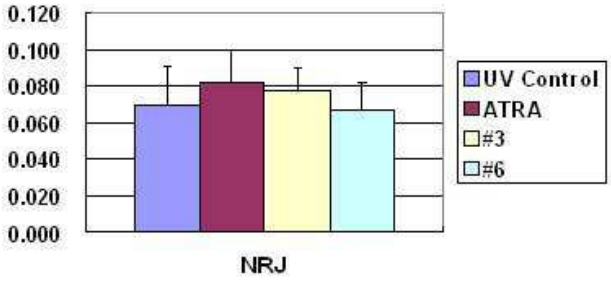
도면3


5
4
3
2
1
0
UV Control
ATRA
#3
#6
Surface

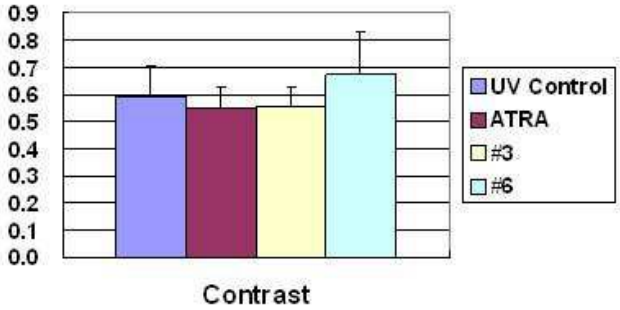
도면4


70
60
50
40
30
20
10
0
UV Control
ATRA
#3
#6
Volume

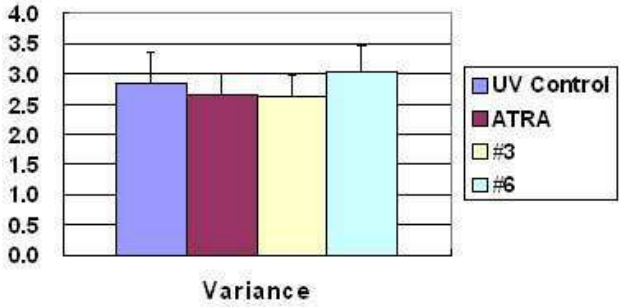
도면5


0.120
0.100
0.080
0.060
0.040
0.020
0.000
UV Control
ATRA
#3
#6
NRJ

도면6


0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
UV Control
ATRA
#3
#6
Contrast

도면7


4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
UV Control
ATRA
#3
#6
Variance