(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년01월28일
(11) 등록번호 10-1589002
(24) 등록일자 2016년01월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/97 (2006.01) *A61K 8/02* (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 8/97 (2013.01)
A61K 8/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0108455
(22) 출원일자 2015년07월31일
심사청구일자 2015년07월31일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020110006444 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 신선로 365 (용당동, 부경대학교)
(72) 발명자
김형락
부산광역시 남구 황령대로319번길 26, 104동 2102호(대연동, 대연경동메르빌)
권미성
부산광역시 수영구 남천동로22번길 19 (남천동)
박시향
경상남도 통영시 운하1길 46, 711호(미수동, 대영유토피아)
(74) 대리인
위병갑

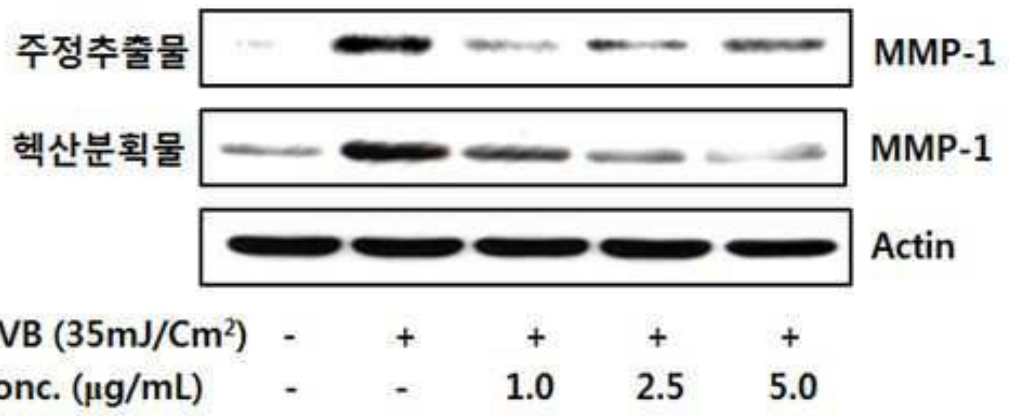
전체 청구항 수 : 총 4 항 심사관 : 박정웅

(54) 발명의 명칭 **톱니모자반 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 주름개선용 화장료 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 주름개선용 화장료 조성물에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 유효성분으로서 톱니모자반 추출물 또는 이의 분획물을 포함하여 주름개선 효과를 갖는 화장료 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 톱니모자반(Sargassum serratifolium) 추출물 또는 이의 분획물은 MMP-1 발현에 중요한 역할을 하는 MAPKs(JNK, ERK, AKT)의 인산화 억제 및 AP-1(activator protein-1)의 발현 억제를 통해 MMP-1 저해 활성이 월등히 우수하므로, 이를 유효성분으로 포함하는 조성물은 UV광에 의한 노화 방지 및 주름개선을 위한 화장료 조성물로서 유용하게 사용될 수 있다. 특히 톱니모자반은 천연물질로서 식용 가능하므로 이로부터 유래한 추출물 및 이의 분획물을 포함하는 본 발명의 주름개선용 화장료 조성물은 장기간 사용에도 안전한 이점을 가진다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A61Q 19/08 (2013.01)
A61K 2800/80 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 C-D-2015-0417
부처명 해양수산부
연구관리전문기관 한국해양과학기술진흥원
연구사업명 수산실용화기술개발사업
연구과제명 톱니모자반을 이용한 건강 기능성 식품소재 개발
기 여 율 1/1
주관기관 부경대학교 산학협력단
연구기간 2015.06.08 ~ 2018.06.07

명 세 서

청구범위

청구항 1

톱니모자반 주정 추출물을 유효성분으로 포함하고,

상기 톱니모자반 주정 추출물은 a) 톱니모자반을 양지에서 자연건조 후 마쇄하여 분말화하는 단계; b) 상기 분말에 주정을 첨가하여 70℃에서 환류냉각 추출한 후 50kDa의 여과막을 사용한 한외여과기를 통해 이물질을 제거하는 단계; 및 c) 상기 b) 단계를 통해 수득한 여과 추출물에서 주정을 제거하는 단계를 포함하는 과정을 통해 제조되는 것을 특징으로 하는, 주름개선용 화장료 조성물.

청구항 2

톱니모자반의 주정 추출물의 헥산 분획물을 유효성분으로 포함하는 주름개선용 화장료 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 톱니모자반 주정 추출물 또는 이의 헥산 분획물은 MMP-1 발현 저해 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 주름개선용 화장료 조성물.

청구항 5

제1항, 제2항 또는 제4항에 있어서,

상기 화장료 조성물은 유연 화장수, 젤, 수용성 리퀴드, 밀크로션, 영양크림, 마사지 크림, 에센스, 수중유 형 에멀젼, 유중수 형 에멀젼, 페이스크성 무수 생성물, 고체 무수 생성물, 소구체를 사용한 수성 상에서의 오일 분산물, 이온성 지질 소포체, 비이온성 지질 소포체, 연고, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 보디오일, 수중유 형 메이크업베이스, 유중수 형 메이크업베이스, 파운데이션, 스킨커버, 립스틱, 립그로스, 페이스파우더, 투웨이케익, 아이섀도우, 마스카라, 치크칼라 및 아이브로우펜슬류로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종의 제형인 것을 특징으로 하는 주름개선용 화장료 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 주름개선용 화장료 조성물에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 유효성분으로서 톱니모자반 추출물 또는 이의 분획물을 포함하여 주름개선 효과를 갖는 화장료 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 인간의 노화 현상 중 하나인 피부의 노화는 그 원인으로 크게 내적, 외적 요인으로 나누어지는데, 그 중 외적요인으로 태양광에 의한 UV 조사는 피부노화의 생리학적, 형태학적 변화의 주된 원인으로 알려져 있다. 피부에 직접적인 영향을 주는 자외선은 피부의 표피와 진피층에 깊숙하게 투과하여 몇 가지 효소반응을 포함한 다양한 과정을 거쳐서 세포 및 조직 중에서 활성산소(oxygen free radical)를 생성시키는데, 생체 내에서 과잉의 활성산소가 생성되면 돌연변이, 염증, 세포살상, 발암과 피부노화 등이 나타나게 된다. 피부에서는 활성산소가 세포막을 공격하여 이를 산화시키게 되고 산화된 지질에 의해 세포막이 손상되어 정상적인 피부세포의 기능을 손실시키게 된다. 또한 피부의 항산화 방어체계의 균형을 깨트리게 되어 피부가 지속적인 산화상태에서 회복되지 못하게 되면서 피부는 거칠고 윤기가 없어지게 되며 이러한 과정의 반복은 주름 생성을 야기하게 된다.

[0003] 또한, 콜라겐 분해 효소의 증가는 콜라겐 섬유의 변성 및 파괴를 유발하는 중요한 원인 중의 하나인데, 생체 내

에서 생성된 활성산소는 MMPs(Matrix metalloproteinases)와 같은 콜라겐 분해 효소(collagenase)의 활성화를 촉진시키고 콜라겐의 합성을 억제시킴으로써 피부의 탄력을 감소시키고 주름의 생성을 촉진시킨다.

[0004] MMPs(Matrix metalloproteinases)는 세포외 기질(Extracellular matrix, ECM)과 기저막 분해에 관여하는 효소군으로 구조와 기능적 특성에 따라 간질성 콜라게나제(interstitial collagenase), 스트로멜리신(stromelysin), 젤라티나제 (gelatinase), 막-타입 MMP(membrane-type MMP, MT-MMP) 등 네 개의 아과(subfamily)로 나누어진다. MMP들은 포유류, 조류, 양서류, 식물류 및 선충 등 다양한 종에서 현재까지 20종류 이상이 알려져 있다.

[0005] 또한 MMP들은 기질 특이성에서는 서로 차이가 나지만 구조적, 기능적 유사성을 가지고 있다. 따라서 모든 MMP들의 명칭은 일반적으로 번호를 붙여서 부르고 있다. 즉, 콜라게나제-1, 2, 3은 MMP-1, 8, 13으로, 젤라티나제-A, B는 MMP-2, 9로, 스트로멜리신-1, 2, 3은 MMP-3, 10, 11로, 메탈로엘라스타제(metalloelastase)는 MMP-12로, 마트릴리신(matrilysin)은 MMP-7로, 막-타입 MMP(MT-MMPs)는 MMP-14, 15, 16,17, 24로, 에나멜리신(enamelysin)은 MMP-20, MMP-19, MMP-23 등으로 부른다.

[0006] 이 효소들은 각각 해당되는 기질, 즉 콜라겐, 피브로넥틴, 라미닌(laminin), 프로테오글리칸, 엔탁틴, 엘라스틴 등의 단백질들을 분해할 수 있다. MMP는 활성 중심부에 아연을 가지는 금속단백분해효소로 생체 내에서 비활성 전구체(zymogen) 형태로 분비된다. 효소활성을 가지기 위해서 구조적 변형이 일어나 아미노 말단부위가 절단되어야 하며, 활성화된 MMP는 2-마크로글로불린(2-macroglobulin)이나 TIMPs(Tissue inhibitors of metalloproteinase)와 같은 저해제에 의해 활성이 조절된다. 피부각질세포 (keratinocyte), 섬유아세포(fibroblast)를 포함한 대다수의 많은 세포들이 MMP를 분비한다. 일회의 UV 조사시에도 피부 내의 MMP 활성이 증가하여 콜라겐을 현저하게 감소시킬 수 있으므로, MMP는 광노화에 주요 인자로 보고되어 있다.

[0007] 현재까지 주름개선을 위한 가장 효과적으로 알려져 있는 방안은 레티놀과 레티노익산을 이용한 방안이다. 이러한 레티놀과 레티노익산 등의 레티노이드의 주름개선 또는 탄력개선 효과는 문헌을 통하여 잘 알려져 있다(Dermatology therapy, 1998, 16, 357~364). 하지만 이들 레티노이드는 주름개선 또는 탄력개선이라는 긍정적인 효과와 더불어, 소량만을 피부에 적용하여도 자극이 나타난다는 단점을 가지며, 또한 불안정성으로 인하여 공기 중에 노출되면 쉽게 산화 변질되기 때문에 사용하는데 많은 제약이 있다. 이에 레티노이드를 안정화하기 위한 연구는 계속해서 진행되고 있으나, 아직까지 피부에 대한 자극 즉 안전성의 문제는 해결되지 않고 있는 실정이다.

[0008] 이를 대신할 수 있는 방안으로 제시되고 있는 것이 콜라겐과 엘라스틴을 분해하는 효소의 활성을 억제하는 것이며, 이러한 효소들의 활성을 억제할 수 있는 저해제들에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 최근 들어 콜라겐을 분해할 수 있는 효소인 콜라게나아제 및 기질 메탈로프로테아제의 활성도의 현격한 증가가 피부 주름 생성 요인 중의 하나로 밝혀짐에 따라 이에 대한 피부 주름 개선의 타겟으로서 관심이 높아지고 있다.

[0009] 한편, 최근 여러 화학물질 등에 의한 피부 자극을 줄이기 위해 천연 추출물로부터 얻어진 주름완화, 미백 등의 기능을 가진 기능성 화장품(functional cosmetics)에 많은 관심이 집중되고 있다. 천연 재료는 피부에 부작용이 적을 뿐 아니라, 천연 재료를 이용한 피부 외용제에 대한 소비자들의 호응이 높아짐에 따라 광노화 방지 화장료 조성물 원료로서 개발가치가 한층 늘어나고 있다. 예를 들어 일본특허공개 평9-672662 는 히알우로니다제(Hyaluronidase)억제 효능을 가지는 해조류 추출물들에 관하여 기술하고 있다. 일본특허공개 평10-85905은 와카메(Wakame)로부터 추출된 푸코이단 (Fucoidan)의 피부감촉 개선효과에 관하여 기술하고 있다. 일본특허공개 평2-245087은 사르가숨(Sargassum)속 추출물의 항산화 효과에 관하여 기술하고 있다. 일본특허공개 평3-294384는 히지키아(Hizikia)속으로부터 추출된 항산화 조성물에 관하여 기술하고 있다. 일본특허공개 평7-10769는 수렴효과(astringent effect)가 있는 페오피시에강(Phaeophyceae) 추출물에 관하여 기술하고 있다. 미국특허 제5,508,033호는 모자반류를 포함하는 항라디칼 활성이 있는 화장료에 관하여 기술하고 있다. 국내 특허 제810134호에는 모자반 또는 톳을 수세 및 탈염하는 단계; 엔도-β1,4-글루카나제, 알긴산 리아제(Alginic acid lyase) 및 엑소셀룰로즈(exocellulose)로 이루어진 1차 효소분해하는 단계; 및 아라바나제(Arabanase), 셀루라제 및 β1,4-글루카나제로 이루어진 2차 효소로 분해하는 일련의 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 모자반 또는 톳의 효소분해물 및 이의 제조방법이 개시되어 있고, 이를 화장료 등으로 이용할 수 있다고 개시되어 있다.

[0010] 이에, 본 발명자들은 이제까지 알려지지 않은 여러 천연물들에 있어서 주름개선 화장료 조성물로의 응용 가능성을 연구한 결과, 모자반목에 속하는 모자반을 선정하고 추출물을 제조하였으며, 다양한 종류의 모자반 중 톱니모자반(Sargassum serratifolium)이 종래 알려진 다른 모자반 대비 주름개선 효과가 두드러지게 우수함을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0011] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-0810134호

(특허문헌 0002) 한국공개특허 제10-2013-0023326호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 따라서 본 발명의 목적은 천연 해조류의 추출물을 이용하여 장기간 사용에도 인체에 안정하면서 주름개선 활성이 우수한 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위해서,

[0014] 본 발명은 톱니모자반 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 주름개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 추출물은 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 물 및 헥산으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 용매로 추출될 수 있다.

[0016] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올은 에탄올일 수 있다.

[0017] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 톱니모자반 추출물 또는 이의 분획물은 MMP-1 발현 저해 활성을 통해 주름개선 효과를 가질 수 있다.

[0018] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 화장료 조성물은 유연 화장수, 젤, 수용성 리퀴드, 밀크로션, 영양크림, 마사지 크림, 에센스, 수중유 형 에멀젼, 유중수 형 에멀젼, 페이스크성 무수 생성물, 고체 무수 생성물, 소구체를 사용한 수성 상에서의 오일 분산물, 이온성 지질 소포체, 비이온성 지질 소포체, 연고, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 보디오일, 수중유 형 메이크업베이스, 유중수 형 메이크업베이스, 파운데이션, 스킨커버, 립스틱, 립그로스, 페이스파우더, 투웨이케익, 아이새도우, 마스카라, 치크칼라 및 아이브로우펜슬류로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종의 제형일 수 있다.

발명의 효과

[0019] 본 발명에 따른 톱니모자반(Sargassum serratifolium) 추출물 또는 이의 분획물은 MMP-1 발현에 중요한 역할을 하는 MAPKs(JNK, ERK, AKT)의 인산화 억제 및 AP-1(activator protein-1)의 발현 억제를 통해 MMP-1 저해 활성이 월등히 우수하므로, 이를 유효성분으로 포함하는 조성물은 UV광에 의한 노화 방지 및 주름개선을 위한 화장료 조성물로서 유용하게 사용될 수 있다. 특히 톱니모자반은 천연물질로서 식용 가능하므로 이로부터 유래한 추출물 및 이의 분획물을 포함하는 본 발명의 주름개선용 화장료 조성물은 장기간 사용에도 안전한 이점을 가진다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 본 발명의 톱니모자반 주정추출물과 헥산분획물의 인간피부 각질세포는 HaCaT에 농도별 처리에 따른 세포생존율을 측정하여 그래프로 나타낸 것이다.

도 2는 HaCaT 세포에 UVB (35mJ/cm2) 조사 후 본 발명의 톱니모자반 주정추출물 및 헥산분획물을 농도별(1.0, 2.5, 5.0㎍/ml)로 3일간 처리한 후 상층액 중의 MMP-1 단백질 발현량을 웨스턴 블랏으로 측정한 결과이다.

도 3은 HaCaT 세포에 UVB 조사 후 본 발명의 톱니모자반 주정추출물 및 헥산분획물을 농도별(1.0, 2.5, 5.0㎍/ml) 처리에 따른 MAPKs(JNK, ERK, AKT)의 인산화 정도를 웨스턴 블랏으로 측정한 결과이다(3a: 톱니모자반 주정추출물, 3b: 헥산분획물).

도 4는 HaCaT 세포에 UVB 조사 후 본 발명의 톱니모자반 주정추출물 및 헥산분획물을 농도별(1.0, 2.5, 5.0㎍/ml) 처리에 따른 AP-1의 구성성분인 c-Jun의 인산화 정도를 웨스턴 블랏으로 측정한 결과이다(3a: 톱니모자반 주정추출물, 3b: 헥산분획물).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 본 발명은 톱니모자반 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 주름개선용 화장료 조성물을 제공함에 그 특징이 있다.

[0022] 본 발명의 톱니모자반(*Sargassum serratifolium*)은 갈조식물문 모자반과의 해조류로서 국내에서 남해안과 제주 지역에 분포하며 식물체는 1~4m이며, 뿌리 지름은 4~5cm로 원뿔상이고 고무와도 같으며 나이테가 있다.

[0023] 이러한 톱니모자반은 현재까지 노화방지, 주름개선과 같은 연구에 대해서는 전혀 보고된 바 없다.

[0024] 본 발명자들은 화장료 조성물의 소재로 모자반목에 속하는 모자반을 선정하고 추출물을 제조하였으며, 다양한 종류의 모자반 중 톱니모자반이 MMP-1 발현에 중요한 역할을 하는 MAPKs(JNK, ERK, AKT)의 인산화 억제 및 AP-1(activator protein-1)의 발현 억제를 통해 MMP-1 저해 활성이 월등히 우수하다는 사실을 확인함으로써, 이를 통해 톱니모자반 추출물 또는 이의 분획물이 효과적으로 피부 주름을 개선할 수 있음을 최초로 규명하였다.

[0025] 자세하게는, 본 발명자들은 톱니모자반 이외에도 경단구슬모자반, 괭생이모자반, 참모자반 등의 다양한 모자반의 MMP-1 발현 억제 활성을 직접 실험을 통해 평가하였으며, 그 결과 본 발명의 톱니모자반 주정추출물(95% 에탄올)이 1ppm 농도에서 약 80%의 MMP-1 발현 억제율을 보였으며, 경단구슬모자반 주정추출물(95% 에탄올)은 10ppm의 농도에서 42.3%의 MMP-1 발현 억제율만을 보여주었고, 경단구슬모자반 물추출물의 경우 50ppm에서 MMP-1 발현 억제활성이 나타났고, 괭생이모자반 주정추출물 및 참모자반 주정추출물은 100ppm에서도 활성이 낮은 것을 실험을 통해 확인하였다(하기 표 참조_연안에서 채취한 모자반 주정 추출물의 MMP-1 단백질 발현저해 효과).

[0026]

종류	MMP-1 발현 저해율 (%)
톱니모자반 (1 ppm)	80.1%
참모자반 (100 ppm)	25.2%
괭생이모자반 (100 ppm)	31.6%
외톨개모자반 (10 ppm)	65.4%
경단구슬모자반 (10 ppm)	42.3%
엔도모자반 (100 ppm)	34.1%
큰잎모자반 (100 ppm)	12.8%

[0027] 참고로, MMP-1 단백질의 생성량은 HaCaT 세포를 UVB (35mJ/cm2) 조사하여 일정농도의 주정추출물을 3일간 처리한 후 상층액 중의 MMP-1 단백질 발현량을 웨스턴 블랏으로 측정하였다.

[0028] 상기와 같은 결과를 통해, 본 발명의 톱니모자반 추출물 및 이의 분획물이 동일한 방법으로 추출한 다른 종류의 모자반 추출물 대비 5배~100 이상의 MMP-1 발현 억제활성을 보이는 것을 실험을 통해 객관적으로 입증하였다.

[0029] 그러므로 톱니모자반 추출물 및 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 본 발명의 화장료 조성물은 피부 주름을 효과적으로 개선할 수 있다.

[0030] 본 발명에 따른 톱니모자반 추출물은 당업계에 공지된 추출 및 분리하는 방법을 사용하여 천연으로부터 추출 및 분리하여 수득한 것을 사용할 수 있으며, 본 발명에서 정의된추출물은 적절한 용매를 이용하여 톱니모자반(*Sargassum serratifolium*)으로부터 추출한 것이며, 예를 들어, 톱니모자반의 조추출물, 극성용매 가용 추출물 또는 비극성용매 가용 추출물을 모두 포함한다.

[0031] 상기 톱니모자반으로부터 추출물을 추출하기 위한 적절한 용매로는 약학적으로 허용되는 유기용매라면 어느 것을 사용해도 무방하며, 물 또는 유기용매를 사용할 수 있으며, 이에 제한되지는 않으나, 예를 들어, 정제수, 메탄올(methanol), 에탄올(ethanol), 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol) 등을 포함하는 탄소수 1 내지 4의 알코올, 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane) 및 시클로헥산(cyclohexane) 등의 각종 용매를 단독으로 혹은 혼합하여 사용할 수 있다. 바람직하게는 에탄올(주정)을 사용할 수 있으며, 보다 바람직하게는 70% 에탄올을 사용하는 것이 좋다.

[0032] 추출 방법으로는 열수추출법, 냉침추출법, 환류냉각추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 방법 중 어느 하나를 선택하여 사용할 수 있다. 또한, 목적하는 추출물은 추가로 통상의 분획 공정을 수행할 수도 있으며, 통상의 정제 방법을 이용하여 정제될 수도 있다. 본 발명의 톱니모자반 추출물의 제조 방법에는 제한이 없으며, 공지되어 있는 어떠한 방법도 이용될 수 있다.

[0033] 예를 들면, 본 발명의 조성물에 포함되는 톱니모자반 추출물은 상기한 열수 추출 또는 용매 추출법으로 추출된 1차 추출물을, 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조할 수 있다. 또한 상기 1차 추출물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등과 같은 다양한 크로마토그래피를 이용하여 추가로 정제된 분획을 얻을 수도 있다.

[0034] 따라서 본 발명에 있어서 톱니모자반 추출물은 추출, 분획 또는 정제의 각 단계에서 얻어지는 모든 추출액, 분획 및 정제물, 그들의 희석액, 농축액 또는 건조물을 모두 포함하는 개념이다.

[0035] 본 발명의 일실시예에 따른 톱니모자반 추출물을 제조하는 방법을 조금 더 구체적으로 살펴보면 다음과 같다.

[0036] 건조한 톱니모자반을 분말화한 뒤, 톱니모자반 건조분말에 70% 에탄올을 추출용매로 사용하여 환류냉각 추출하고, 여과 및 농축하여 추출할 수 있다.

[0037] 이러한 톱니모자반 주정추출물은 n-헥산(n-hexane) 용매를 이용하여 추가적으로 분획과정을 더 거칠 수 있다. 예를 들어, 톱니모자반 주정추출물에 n-헥산(n-hexane), 주정, 물이 10:1:9의 부피비로 혼합된 혼합용매을 가하여 물층과 헥산층을 분리하는 단계, 상기 분리된 물층에 다시 n-헥산을 가하고 정치하여 n-헥산층을 분리해 내는 과정을 반복하여 수득한 헥산 분획물을 농축함으로써 톱니모자반 주정추출물의 헥산분획물을 제조할 수 있다.

[0038] 이에 본 발명의 조성물은 톱니모자반 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피부 주름개선을 위한 화장료 조성물에 해당한다.

[0039] 본 발명의 일 구체예에서 상기 톱니모자반 추출물 또는 이의 분획물은 화장료 조성물에 1㎍/ml 내지 1000㎍/ml(또는 1~1000ppm)의 농도로 포함될 수 있다.

[0040] 본 발명의 화장료 조성물을 첨가할 수 있는 제품으로는, 예를 들어, 수렴화장수, 유연화장수, 영양화장수, 각종 크림, 에센스, 팩, 파운데이션 등과 같은 화장품류와 클렌징, 세안제, 비누, 트리트먼트, 미용액 등이 있다.

[0041] 본 발명의 화장료 조성물의 구체적인 제형으로서는 유연 화장수, 젤, 수용성 리퀴드, 밀크로션, 영양크림, 마사지 크림, 에센스, 수중유 형 에멀젼, 유중수 형 에멀젼, 페이스크성 무수 생성물, 고체 무수 생성물, 소구체를 사용한 수성 상에서의 오일 분산물, 이온성 지질 소포체, 비이온성 지질 소포체, 연고, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 보디오일, 수중유 형 메이크업베이스, 유중수 형 메이크업베이스, 파운데이션, 스킨커버, 립스틱, 립그로스, 페이스파우더, 투웨이케익, 아이섀도우, 마스카라, 치크칼라 및 아이브로우펜슬류로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종의 제형을 포함한다.

[0042] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 유효성분(톱니모자반 추출물 또는 이의 분획물)의 함량은 조성물 총 중량에 대하여 0.00001-40중량%이며, 바람직하게는 0.0005-40%이며, 보다 바람직하게는 0.0005-10중량%이다. 상기 유효성분(톱니모자반 추출물 또는 이의 분획물)의 함량이 0.00001중량% 미만이면 피부 주름개선 효과가 크게 감소되고, 40중량%를 초과하는 경우에는 피부 자극을 초래할 수 있으며, 제형상의 문제점이 발생할 수 있다.

[0043] 한편, 본 발명에 따른 상기 화장료 조성물은 유효성분(톱니모자반 추출물 또는 이의 분획물)을 나노리포좀 내부에 함유시켜 안정화하여 제형화할 수도 있다. 상기 유효성분(톱니모자반 추출물 또는 이의 분획물)을 나노리포좀 내부에 함유시키면, 유효성분이 안정화되어 제형화시 침전형성, 변색, 변취 등의 문제점을 해결할 수 있으며, 성분의 용해도 및 경피흡수율을 높일 수 있어 상기 추출물로부터 기대되는 효능을 최대로 발현시킬 수 있다.

[0044] 본 발명에서 나노리포좀은 통상적인 리포좀의 형태를 갖는 것으로서 평균 입자 지름이 10~500㎚인 리포좀을 의미한다. 본 발명의 바람직한 구현 예에 따르면, 나노리포좀의 평균 입자 지름은 50~300㎚이며, 더욱 바람직하게는 100~200㎚이다. 나노리포좀의 평균 입자 지름이 500㎚를 초과하는 경우에는 본 발명에서 달성하고자 하는 기술적 효과 중 피부침투의 개선 및 제형 안정성의 개선이 매우 미약하다.

[0045] 본 발명에 따라 상기 추출물을 안정화하는데 사용되는 나노리포좀은 폴리올, 유성성분, 계면활성제, 인지질, 지방산 및 물을 포함하는 혼합물에 의해 제조될 수 있다.

[0046] 본 발명의 나노리포좀에 이용되는 폴리올은 특히 제한되지 않으며, 바람직하게는 프로필렌글리콜, 디프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 글리세린, 메틸프로판디올, 이소프로필렌글리콜, 펜틸렌글리콜, 에리스리톨, 자일리톨, 솔비톨 및 이의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상이다. 그 사용량은 나노리포좀 총 중량에 대하여 10~80중량%, 바람직하게는 30~70중량%이다.

[0047] 본 발명의 나노리포좀의 제조에 이용되는 유성(oil) 성분은 당업계에 공지된 다양한 오일이 이용될 수 있으며, 바람직하게는 헥사데칸 및 파라핀 오일과 같은 하이드로카본계 오일, 에스테르계의 합성오일, 디메치콘 및 사이크로메치콘계와 같은 실리콘 오일, 해바라기유, 옥수수유, 대두유, 아보카도유, 참깨유 및 어유와 같은 동식물성 오일, 에톡시레이티드 알킬에테르계오일, 프로폭시레이티드 알킬에테르계오일, 피토스핑고신, 스핑고신 및 스핑가닌과 같은 스핑고노이드 지질, 세레브로사이드 콜레스테롤, 시토스테롤 콜레스테릴설페이트, 시토스테릴설페이트, C_{10-40} 지방알콜 및 이의 혼합물이다. 그 사용량은 나노리포좀 총 중량에 대하여1.0~30.0중량%일 수 있으며, 바람직하게는 3.0~20.0중량%이다.

[0048] 본 발명의 나노리포좀의 제조에 이용되는 계면활성제는 당업계에 공지된 어떠한 것도 사용할 수 있다. 예를 들어, 음이온성 계면활성제, 양이온성 계면활성제, 양성 계면활성제 및 비이온성 계면활성제가 사용될 수 있다. 바람직하게는 음이온성 계면활성제 및 비이온성 계면활성제이다. 음이온성 계면활성제의 구체적인 예는 알킬아실글루타메이트, 알킬포스페이트, 알킬락틸레이트, 디알킬포스페이트 및 트리알킬포스페이트를 포함한다. 비이온성 계면활성제의 구체적인 예는 알콕시레이티드 알킬에테르, 알콕시레이티드 알킬에스테르, 알킬폴리글리코사이드, 폴리글리세릴에스테르 및 슈가에스테르를 포함한다. 특히 바람직한 계면활성제는 비이온성 계면활성제에 속하는 폴리솔베이트류이다. 그 사용량은 나노리포좀 총 중량에 대하여 0.1~10중량%일 수 있으며, 바람직하게는 0.5~5.0중량%이다.

[0049] 본 발명의 나노리포좀의 제조에 이용되는 또 다른 성분인 인지질은 양쪽친화성 지질이 이용되며, 천연 인지질(예를 들어, 난황 레시틴 또는 대두 레시틴, 스핑고마이엘린) 및 합성 인지질(예를 들어, 디팔미토일포스파티딜콜린 또는 수첨 레시틴)을 포함하며, 바람직하게는 레시틴이다. 특히, 대두 또는 난황에서 추출한 천연 유래의 불포화 레시틴 또는 포화 레시틴이 바람직하다. 통상적으로 천연 유래의 레시틴은 포스파티딜콜린의 양이 23~95%, 그리고 포스파디딜에탄올아민의 양이 20% 이하이다. 본 발명의 나노리포좀의 제조에 있어서, 인지질의 사용량은 나노리포좀 총 중량에 대하여 0.5~20.0중량%이며, 바람직하게는 2.0~8.0중량%이다.

[0050] 본 발명의 나노리포좀 제조에 이용되는 지방산은 고급 지방산으로서, 바람직하게는 C_{12-22} 알킬 체인의 포화 또는 불포화 지방산으로서, 예컨대, 라우린산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아린산, 올레산 및 리놀레산을 포함한다. 그 사용량은 나노리포좀 총 중량에 대하여 0.05~3.0중량%일 수 있으며, 바람직하게는 0.1~1.0중량%이다.

[0051] 본 발명의 나노리포좀의 제조에 이용되는 물은 일반적으로 탈이온화된 증류수이며, 그 사용량은 나노리포좀 총 중량에 대하여 5.0~40중량%일 수 있다.

[0052] 나노리포좀의 제조는 당업계에 공지된 다양한 방법을 통해 이루어질 수 있으나, 가장 바람직하게는 상기 성분들을 포함하는 혼합물을 고압 호모게나이저에 적용하여 제조된다. 고압 호모게나이저에 의한 나노리포좀의 제조는 소망하는 입자 크기에 따라 다양한 조건(예: 압력, 횟수 등)으로 실시할 수 있으며, 바람직하게는 600~1200bar의 압력 하에서 1~5회 고압 호모게나아저를 통과하도록 하여 나노리포좀을 제조할 수 있다.

[0053] 본 발명의 화장료 조성물을 단독 또는 중복 도포하여 사용하거나, 본 발명 이외의 다른 화장료 조성물과 중복 도포하여 사용할 수 있다. 또한 본 발명에 따른 주름개선 효과가 우수한 화장료 조성물은 통상적인 사용방법에 따라 사용될 수 있으며, 사용자의 피부 상태 또는 취향에 따라 그 사용횟수를 달리할 수 있다.

[0054] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0055] **<실시예>**

[0056] **세포 배양**

[0057] 실험에 사용된 자외선은 UVB로서 20~90 mJ/cm^2의 자외선을 CUBE 401 lamp(Sankyo ultraviolet)를 사용하여 조사하였다. 인간각질세포 HaCat cell를 4×10^5cells/ml 농도로 6 웰(well)에서 배양하였으며 80% confluency에 도달할 때까지 배양하였다. UV 조사 전에 원배지를 제거한 후 PBS로 세척하여 배지 내 serum이 완전히 제거되도록 하였다. UV 조사 후 free serum인 배지로 처리하고 톱니모자반 주정추출물을 농도별로 처리 후 24 시간 배양하였다.

[0058] **<실시예 1>**

[0059] **톱니모자반 추출물의 제조**

[0060] <1-1> 톱니모자반 주정 추출물의 제조

[0061] 본 발명에 사용한 톱니모자반은 부산시 기장군과 경난 통영시세서 자생하는 천연산을 스쿠버를 동원하여 채취하였고, 기장산의 종확인은 부경대학교 생태공학과 최창근 교수, 통영산의 종확인은 경상대학교 해양생명과학과의 김남길 교수가 수행하였다. 톱니모자반을 양지에서 자연건조 후, 마쇄하여 얻은 분말 1.5kg을 주정 6L에 넣고 70℃에서 3시간 2회 반복하여 환류냉각 추출한 후, 한외여과기 (MWCO 50kDa)로 이물질을 제거하였다. 여과 추출물은 진공회전농축기로 40℃에서 주정을 제거한 후, 추출된 잔사로서 조추출물 160g을 수득하였다(본 발명에서는 톱니모자반 주정추출물을 이하 "ESS"로 약칭함). 이렇게 수득한 톱니모자반 주정추출물은 4℃온도에서 냉장보관하면서 하기 실험의 시료로 사용하였다.

[0062] <1-2> n-헥산 분획물 제조

[0063] 상기 실시예<1-1>에서 제조한 톱니모자반 주정 추출물 100 g에 n-헥산(n-hexane), 주정, 물이 10:1:9의 부피비로 혼합된 혼합용매 4 L를 가하고, 물층과 n-헥산층이 분리되도록 정치하였다. 3-5시간 경과한 후, 상기 혼합물은 2 L의 물층과 2 L의 헥산층으로 분리되었다. 분리된 2 L의 물층에 다시 2 L의 n-헥산을 가하고 정치하여 2 L의 n-헥산층을 분리해 내는 과정을 3회 반복하였다. 그 결과, 최종적으로 총 8 L의 n-헥산층과 2 L의 물층을 수득하였다. 상기와 같이 분리 수득한 8 L의 n-헥산층을 40℃에서 진공회전농축기로 감압·농축하여 용매를 제거한 후, 남은 잔사 79 g을 n-헥산 분획물로서 수득하였다. 이렇게 수득한 n-헥산 분획물은 4℃에서 냉장보관하면서 하기 실험의 시료로 사용하였다.

[0064] **<실험예 1>**

[0065] **본 발명의 톱니모자반 주정추출물 및 헥산분획물의 세포독성 평가**

[0066] 본 실험에서는 상기 실시예 1을 통해 제조된 본 발명의 톱니모자반 주정추출물 및 헥산분획물이 세포독성이 있는지를 확인하기 위하여, 인간피부 각질세포에 본 발명의 추출물/또는 분획물을 농도별로 처리한 후 세포생존율의 변화를 MTS assay로 분석하였다. 실험에 사용된 인간피부 각질세포는 HaCaT를 이용하였다.

[0067] 자세하게는, HaCaT 세포를 10% FBS-DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Gibco)에 배양한 후, 5×10^4 cells/ml의 세포농도로 96-웰 플레이트에 200ul씩 분주하고, 이를 37℃, 5% CO_2 인큐베이터에서 24시간 배양시켰다. 24시간 배양 후, 배지를 제거한 후, 10% FBS-DMEM으로 조제한 농도별(0, 1.0, 2.5, 5.0 μg/ml)톱니주정추출물 및 헥산분획물 각 100ul과 FBS-free DMEM 100ul를 다시 첨가하여 동일 조건에서 24시간 반응시켰다. 이때 FBS-free DMEM만을 사용한 실험구를 시료의 대조구로 사용하였다. 반응 완료 3시간 전, 5mg/ml MTS 용액(in 1× PBS(-), (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl) -2H tetrazolium))을 5ul씩 첨가한 뒤, 다시 3시간 반응을 진행, 완료하였다. MTS 반응액을 제거한 후,

DMSO(Dimethyl sulfoxide) 150ul씩 첨가한 뒤 5분간 교반(상온)하고 이를 마이크로플레이트 계수기(microplate reader)를 이용하여 570nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0068] 그 결과 도 1에서 나타낸 바와 같이, 톱니모자반 주정추출물과 헥산분획물은 5 μg/mL의 농도까지 세포독성이 전혀 나타나지 않았다.

[0069] **<실험예 2>**

[0070] **본 발명의 톱니모자반 주정추출물 및 헥산분획물의 주름개선 효과**

[0071] 본 실험에서는 상기 실시예 1을 통해 제조된 본 발명의 톱니모자반 주정추출물 및 헥산분획물의 주름개선 활성을 알아보기 위하여, MMP-1 발현 저해 효능, MAPKs 저해효능, AP-1 저해효능을 살펴보았다.

[0072] 참고로, MMP-1은 간질의 효소인 섬유아세포 타입 콜라게나아제이며 기질로는 콜라겐타입 Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ,Ⅶ,Ⅷ,X 및 젤라틴이 있으며 원래 콜라겐 길이의 3/4이나 1/4 길이의 펩타이드로 잘라 비특이적인 효소(gelatinase)의 작용이 용이하도록 한다. 결합 단백질 중 가장 큰 비중을 차지하는 타입콜라겐을 분해하는 MMP-1의 활성과 생합성을 억제함으로써 피부 결합단백질을 보호하여 주름생성과 탄력저하를 예방할 수 있다.

[0073] 한편, 콜라겐 분해가 발생하는 기작은 MAPKs(mitogen-activated protein kinases)에 속하는 ERK(extracellular-regulated protein kinase), JNK(Jun-N-terminal kinase) 및 AKT가 인산화되어 활성화되면, AP-1(activator protein-1)의 활성이 유도되어(Xu Y, Fisher GJ., J Dermatol Sci Suppl 2005; 1: S1 S8) DNA와 결합하고 이를 통해 MMPs(matrix metalloproteinase) 분비가 일어나 콜라겐이 분해되게 된다. 이때 c-Jun 및 c-Fos는 상기 AP-1과 DNA 결합에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Waskiewicz AJ, Cooper JA., Curr Opin Cell Biol., 1995; 7: 798 805).

[0074] 이에, 본 발명자들은 상기 실시예 1을 통해 제조된 본 발명의 톱니모자반 주정추출물 및 헥산분획물의 주름개선 활성을 알아보기 위하여 타입콜라겐을 분해하는 MMP-1의 활성 저해 효능과 더불어, MMP-1발현에 중요한 역할을 하는 MAPKs(JNK, ERK, AKT)의 인산화 억제효능 및 MMP-1의 발현을 매개함으로써 최종적으로 콜라겐을 분해시켜 피부 주름형성을 촉진하는 AP-1 저해 효능을 웨스턴 블랏(Western blot)을 이용하여 확인하였다.

[0075] <2-1> 세포배양

[0076] 실험에 사용된 자외선은 UVB로서 35 mJ/cm^2의 자외선을 CUBE 401 lamp를 사용하여 조사하였다. HaCaT 세포를 4 $\times 10^5$cells/ml 농도로 6 well에서 배양하였으며 80% confluency에 도달할 때까지 배양하였다.

[0077] <2-2> 웨스턴 블랏

[0078] HaCaT 세포에 상기 실시예 1을 통해 제조된 본 발명의 톱니모자반 주정추출물 및 헥산분획물을 각각 농도별로 처리하여 24시간 동안 배양한 후 UVB로 30분간 처리 후 1% 프로테아제 억제제(protease inhibitor)를 넣은 RIPA 버퍼로 단백질을 추출한 후 4에서 12,000 rpm으로 25분간 원심 분리하여 상등액을 취하였다. 단백질 함량은 소 혈청 알부민(bovine serum albumin)을 표준물질로 BCA 프로테인 에세이 키트(Pierce, Rockford, IL, USA)를 사용하여 정량하였다. 20-40 μg의 단백질을 5X SDS 샘플 버퍼에 넣고 100℃ 에서 10분간 가열하여 변성(denaturation)시킨 후 전기영동을 실시하였다. 10% SDS 폴리아크릴아마이드 젤(polyacrylamide gel)에서 120V로 2시간 동안 전기영동한 후 니트로셀룰로오스 멤브레인(nitrocellulose membrane)으로 transfer시키고 5% 스킴 밀크(skim milk)를 함유한 차단용액(blocking solution)에서 1시간 동안 반응시켰다. 1차 항체를 1:500로 희석하여 상온에서 1시간 동안 반응시킨 후 Tris-Buffered Saline Tween-20(TBS-T)으로 10분씩 3번 세척하였다. 그 후 1:5000의 비율로 희석한 2차 항체로 1시간 동안 상온에서 반응시킨 후 TBS-T로 10분씩 4번 세척하였다. ECL western blotting substrate(Thermo Scientific)를 이용하여 단백질의 발현량 차이를 luminoimager (ChemiDoc XRS+, BIO-RAD)이용해 관찰하였다.

[0079] <2-3> MMP-1 발현 저해 효능

[0080] HaCaT 세포를 4×10^5cells/ml 농도로 6 웰(well)에서 배양하였으며 80% confluency에 도달할 때까지 배양하였다.

[0081] HaCaT 세포에 상기 실시예 1을 통해 제조된 본 발명의 톱니모자반 주정추출물 및 헥산분획물 각각을 농도별(0, 1.0, 2.5, 5.0 μg/ml)로 24시간 처리하였다. 24시간 후 시료가 함유된 배지를 제거한 후 PBS로 세척하여 배지 내 serum이 완전히 제거되도록 하였다. 이후 UV (35mJ/cm^2)를 조사한 다음 free serum인 배지로 72시간 배양한 후 세포배양액을 수거하여 배지중의 MMP-1량을 웨스턴 블랏(Western blot)으로 분석하였다.

[0082] 그 결과 하기 표 1 및 도 2에서 나타낸 바와 같이, HaCaT 세포에 UVB를 조사한 결과 MMP-1의 발현이 모두 증가하였지만, 본 발명의 톱니모자반 주정추출물 및 헥산분획물을 각각 1.0, 2.5 및 5.0 μg/ml 농도로 처리한 경우 세포배양액에서의 MMP-1 농도가 무첨가군에 비하여 현저하게 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

[0083] 하기 표 1은 웨스턴 블랏을 통해 분석된 MMP-1 단백질 발현량을 정량적으로 수치화한 것이다.

표 1

[0084] 톱니모자반 주정추출물 및 헥산분획물의 처리 농도별 MMP-1 단백질 발현량

	UVB(-)	UVB(+)			
	-	-	1.0μg/ml	2.5μg/ml	5.0μg/ml
주정추출물	1.00±0.05	52.0±0.78	30.58±0.39	17.22±0.51	10.54±0.48
헥산분획물	1.00±0.05	13.3±1.51	5.81±0.97	2.74±0.29	1.52±0.17

[0085] <2-4> MAPKs 저해효능

[0086] 상기 실험예<2-3>에서는 MMP-1 저해 활성을 조사하였는바, 본 실험에서는 MMP-1의 저해 활성을 일으키는 세포내 신호전달 증폭 연쇄반응(signaling cascade)을 확인하기 위하여 MMP-1발현에 중요한 역할을 하는 MAPKs(JNK, ERK, AKT)의 인산화 억제효능을 살펴보았다.

[0087] HaCaT 세포에 serum이 제거된 배지로 톱니모자반 주정추출물과 헥산분획물을 농도별로 희석하여 24시간 처리하였다. 24시간 후 시료가 함유된 배지를 제거한 후 PBS로 세척하여 배지 내 serum이 완전히 제거되도록 하였다. 이후 UV (35mJ/cm^2)를 조사 후 free serum인 배지로 30분간 배양한 후 세포를 수거하였다.

[0088] 그 결과 하기 표 2, 3 및 도 3에서 나타낸 바와 같이, 세포에 UVB를 조사한 경우 모든 MAPKs의 인산화가 현저히 증가하는 것으로 나타난 반면, 본 발명의 톱니모자반 주정추출물과 헥산분획물을 각각 첨가한 실험군에서는 모든 농도에서 AKT, ERK 및 JNK의 인산화가 현저하게 감소하는 것으로 나타났다. 특히 AKT와 ERK의 경우 톱니모자반 주정추출물과 헥산분획물의 모든 농도에서 UVB를 조사하지 않은 세포와 비슷할 정도로 인산화가 억제됨을 확인할 수 있었다. 한편, UVB 조사 유무 및 본 발명의 톱니모자반 주정추출물과 헥산분획물의 첨가에 따른 JNK, ERK, AKT의 세포 내 발현량에는 변화가 없는 것을 확인하였다.

[0089] 이러한 결과로 본 발명의 톱니주정추출물과 헥산분획물이 AP-1의 활성화를 조절하는 MAPKs의 UVB에 의한 인산화를 억제함으로써 MMP-1의 발현을 저해하는 것을 확인할 수 있었다.

[0090] 하기 표 2 및 표 3은 웨스턴 블랏을 통해 분석된 인산화된 JNK, ERK, AKT 단백질 발현량을 정량적으로 수치화한 것이다.

표 2

[0091] 톱니모자반 주정추출물 처리 농도별 인산화된 JNK, ERK, AKT 단백질 발현량

	UVB(-)	UVB(+)			
	-	-	1.0μg/ml	2.5μg/ml	5.0μg/ml
pAKT	1.00±0.05	11.19±0.78	4.14±0.48	3.89±0.51	3.69±0.58

pERK	1.00±0.01	3.01±0.64	0.54±0.37	0.72±0.50	0.86±0.31
pJNK	1.00±0.35	5.02±0.78	3.75±0.52	1.92±0.27	1.86±0.27

표 3

[0092] 톱니모자반 헥산분획물 처리 농도별 인산화된 JNK, ERK, AKT 단백질 발현량

	UVB(-)	UVB(+)			
	-	-	1.0㎍/ml	2.5㎍/ml	5.0㎍/ml
pAKT	1.00±0.02	14.19±0.78	3.79±0.22	3.89±0.48	3.79±0.23
pERK	1.00±0.05	4.19±0.68	1.06±0.33	1.09±0.47	1.33±0.33
pJNK	1.00±0.04	4.72±0.75	6.03±0.27	8.04±0.32	8.91±0.39

[0093] <2-5> AP-1 저해효능

[0094] AP-1은 c-Jun과 c-Fos라는 단백질이 결합된 전사인자로 MMP-1의 발현을 매개함으로써 최종적으로 콜라겐을 분해시켜 피부 주름형성을 촉진시킨다. 본 실험에서는 본 발명의 톱니모자반 주정추출물과 헥산분획물이 UVB에 의한 AP-1의 활성화에 억제효능을 가지는지 확인하기 위해 AP-1의 구성성분인 c-Jun의 인산화 억제효능을 살펴보았다.

[0095] HaCaT 세포에 serum이 제거된 배지로 톱니모자반 주정추출물과 헥산분획물을 농도별로 희석하여 24시간 처리하였다. 24시간 후 시료가 함유된 배지를 제거한 후 PBS로 세척하여 배지 내 serum이 완전히 제거되도록 하였다. 이후 UV (35mJ/cm^2)를 조사 후 free serum인 배지로 30분간 배양한 후 세포를 수거하였다.

[0096] 그 결과 하기 표 4 및 도 4에서 나타낸 바와 같이, HaCaT에 UVB를 조사한 결과 대조군에 비하여 c-Jun의 인산화를 크게 증가하였지만, 본 발명의 톱니모자반 주정추출물과 헥산분획물을 각각 첨가한 경우 모든 농도에서 c-Jun의 인산화를 억제하는 것을 확인할 수 있었다. 하기 표 4는 웨스턴 블랏을 통해 분석된 인산화된 c-Jun 단백질 발현량을 정량적으로 수치화한 것이다.

[0097] 이러한 결과로 톱니모자반 주정추출물과 헥산분획물은 AP-1의 활성을 저해함으로써 UVB에 의하여 유도된 MMP-1의 발현을 억제하는 것으로 확인되었다.

표 4

[0098] 톱니모자반 주정추출물 및 헥산분획물의 처리 농도별 인산화된 c-Jun 단백질 발현량

	UVB(-)	UVB(+)			
	-	-	1.0㎍/ml	2.5㎍/ml	5.0㎍/ml
주정추출물	1.00±0.05	2.53±0.24	0.87±0.06	0.78±0.05	0.67±0.08
헥산분획물	1.00±0.01	4.71±0.35	1.26±0.15	1.10±0.12	1.12±0.11

[0099] **<제조예 1>**

[0100] **본 발명의 주름개선 화장료 조성물 제조**

[0101] <1-1> 유연화장수(skin)

[0102] 본 발명의 톱니모자반 주정추출물 또는 헥산분획물을 함유한 유연화장수(skin)를 아래의 성분비로 통상적인 방법으로 제조하였다.

표 5

[0103] 본 발명의 유연화장수 제형예

성분	함량(중량%)
톱니모자반 주정추출물 또는 헥산분획물	1~3
글리세린	5.0
1,3-부틸렌글리콜	3.0
REG 1500	1.0
알란토인	0.1
DL-판테놀	0.3
EDTA-2Na	0.02
벤조페논-9	0.04
소듐 히아루로네이트	5.0
에탄올	10.0
옥틸도데세스-16	0.2
폴리솔베이트 20	0.2
유니사이드-유 13	0.01
향	미량
증류수	잔량
합계	100

[0104] <1-2> 영양화장수(lotion)

[0105] 본 발명의 톱니모자반 주정추출물 또는 헥산분획물을 함유한 영양화장수(lotion)를 아래의 성분비로 통상적인 방법으로 제조하였다.

표 6

[0106] 본 발명의 영양화장수 제형예

성분	함량(중량%)
톱니모자반 주정추출물 또는 헥산분획물	1~3
글리세릴 스테아레이트 SE	1.5
세테아릴알콜	1.5
라놀린	1.5
폴리솔베이트 60	1.3
솔비타스테아레이트	0.5
경화식물유	4.0
광물유	5.0
트리옥타노인	2.0
디메치콘	0.8
초산 토코페롤	0.5
카르복시비닐 폴리머	0.12
글리세린	5.0
1,3-부틸렌글리콜	3.0
소듐히아루로네이트	5.0
트리에탄올아민	0.12
유니사이드-유 13	0.02
향	미량
증류수	잔량
합계	100

[0107] <1-3> 영양크림

[0108] 본 발명의 톱니모자반 주정추출물 또는 헥산분획물을 함유한 영양크림을 아래의 성분비로 통상적인 방법으로 제조하였다.

표 7

[0109] 본 발명의 영양크림 제형예

성분	함량(중량%)
톱니모자반 주정추출물 또는 헥산분획물	1~10
친유형 모노스테아린산 글리세린	1.5
세테아릴알콜	1.5
스테아린산	1.0
폴리솔베이트 60	1.5
솔비타스테아레이트	0.6
이소스테아릴 이소스테레이트	5.0
스쿠알란	5.0
광물유	35.0
디메치콘	0.5
히드록시에틸셀룰로오스	0.12
글리세린	6.0
트리에탄올아민	0.7
유니사이드-유13	0.02
향	미량
증류수	잔량
합계	100

[0110] <1-4> 마사지크림

[0111] 본 발명의 톱니모자반 주정추출물 또는 헥산분획물을 함유한 마사지크림을 아래의 성분비로 통상적인 방법으로 제조하였다.

표 8

[0112] 본 발명의 마사지크림 제형예

성분	함량(중량%)
톱니모자반 주정추출물 또는 헥산분획물	1~3
프로필렌글리콜	6
글리세린	4.0
트리에탄올아민	0.5
밀납	2.0
토코페릴아세테이트	0.1
폴리솔베이트 60	3.0
솔비탄세스퀴올레이트	2.5
세테아릴알코올	2.0
유동파라핀	30.0
카르복시비닐폴리머	0.5
향	미량
증류수	잔량
합계	100

[0113] <1-5> 팩

[0114] 본 발명의 톱니모자반 주정추출물 또는 헥산분획물을 함유한 팩을 아래의 성분비로 통상적인 방법으로 제조하였다.

표 9

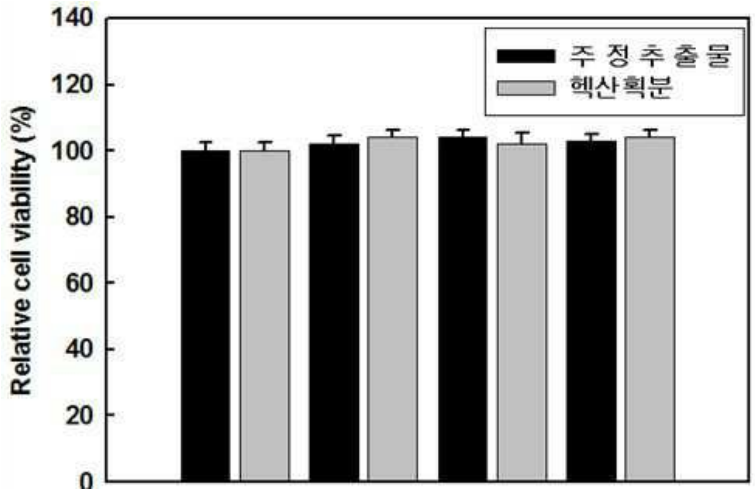
[0115] 본 발명의 팩 제형예

성분	함량(중량%)
톱니모자반 주정추출물 또는 헥산분획물	1~3
글리세린	10.0
베타인	5.0
REG 1500	2.0
알란토인	0.1
DL-판테놀	0.3
EDTA-2Na	0.02
벤조페논-9	0.04
히드록시에틸 셀룰로오스	0.1
소듐 히아루로네이트	80.
카르복시비닐폴리머	0.2
트리에탄올아민	0.18
옥틸도데칸올	0.3
옥틸도데세스-16	0.4
에탄올	6.0
유니사이드-유13	0.01
향	미량
증류수	잔량
합계	100

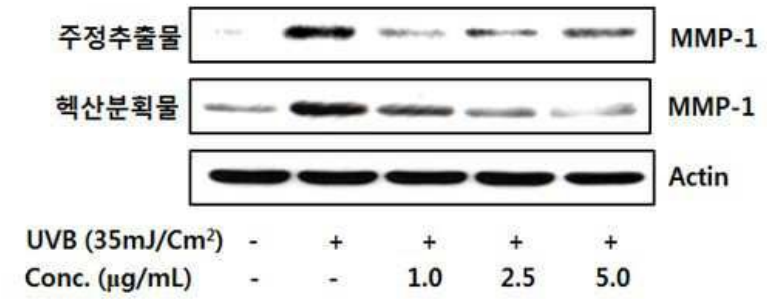
[0116] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

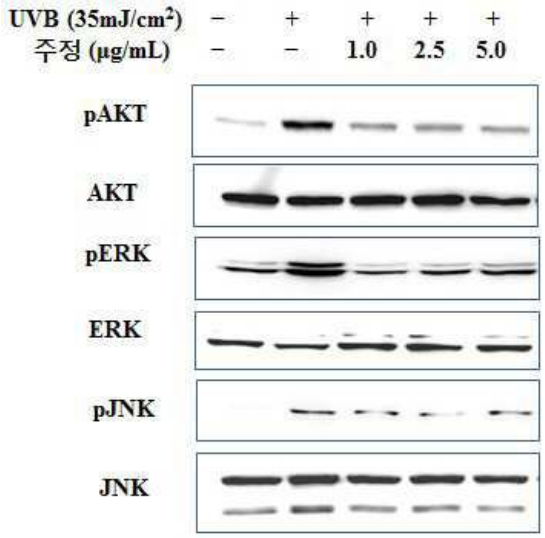
도면1



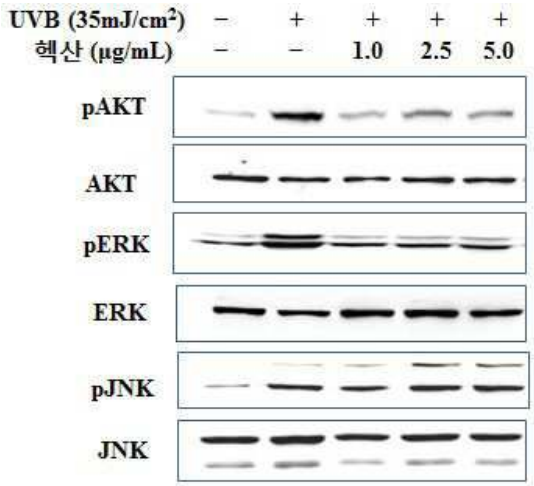
도면2



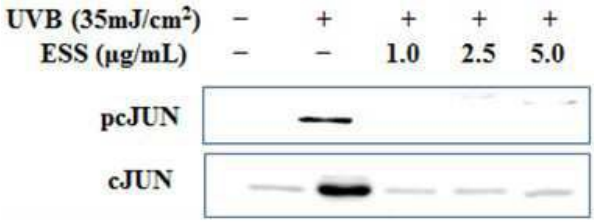
도면3a



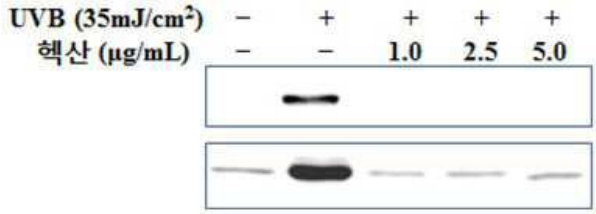
도면3b



도면4a


UVB (35mJ/cm²) − + + + +
ESS (μg/mL) − − 1.0 2.5 5.0
pcJUN
cJUN

도면4b


UVB (35mJ/cm²) − + + + +
헥산 (μg/mL) − − 1.0 2.5 5.0