



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0050068
(43) 공개일자 2020년05월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/192 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A61K 36/28 (2006.01) A61K 8/368 (2006.01)
A61K 8/9789 (2017.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/192 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2018-0132216

(22) 출원일자 2018년10월31일

심사청구일자 2018년10월31일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

한국과학기술연구원

서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)

(72) 발명자

서홍석

서울특별시 용산구 한강대로 211, 101동 2804호(한강로1가, 대우 월드마크 용산)

이용직

인천광역시 남동구 구월로 78, 8동 507호(간석동, 극동아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 다해

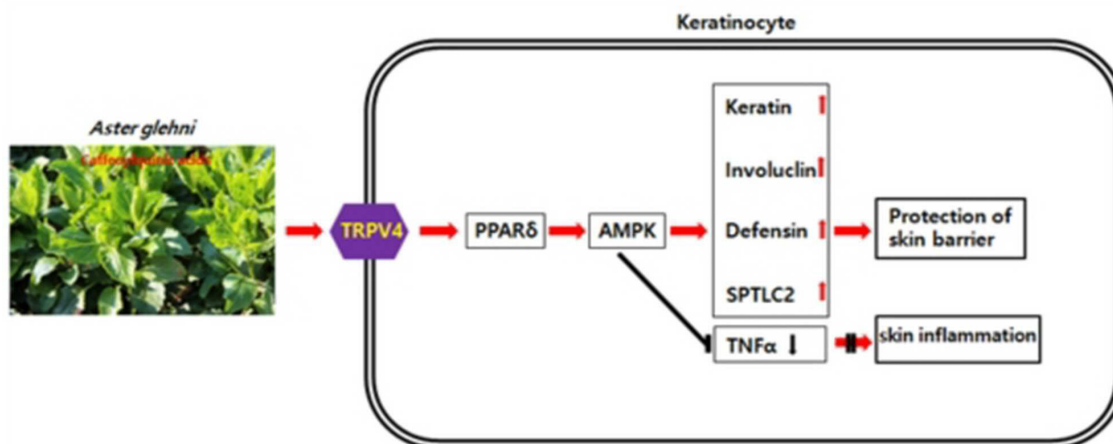
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 3,5-디카페올리퀴닉산을 유효성분으로 함유하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 조성물

(57) 요약

본 발명은 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 조성물에 관한 것으로, 섬쭉부쟁이(Aster glehni) 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 화장품 조성물 및 약제학적 조성물의 유효성분으로 도입함으로써, 피부장벽 손상을 개선하고, 피부염증을 완화하여 아토피 피부염에 대한 예방 및 개선 효과가 있다.

대표도 - 도7



(52) CPC특허분류

A61K 36/28 (2013.01)

A61K 8/368 (2019.05)

A61K 8/9789 (2017.08)

A61K 9/0014 (2013.01)

A61P 17/00 (2018.01)

A61P 29/00 (2018.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2250/21 (2013.01)

(72) 발명자

김형자

서울특별시 성북구 화랑로14길 5(하월곡동)

진창배

서울특별시 성북구 화랑로14길 5(하월곡동)

명세서

청구범위

청구항 1

3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 함유하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 3,5-디카페올리퀴닉산은 섬쭉부쟁이(Aster glehni) 추출물로부터 분리된 것인, 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 섬쭉부쟁이 추출물은 탄소수 1 내지 4의 알코올, 탄소수 1 내지 4의 알코올을 포함하는 수용액, 디클로로메탄, 아세톤 및 아세톤 수용액 중에서 선택된 어느 하나의 추출용매에 의해 추출된 것을 특징으로 하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 약학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 섬쭉부쟁이 추출물은 에틸아세테이트, 헥산, 클로로포름 및 부탄올로 구성된 군에서 선택된 어느 하나에 의해 추가로 분획된 분획 추출물인 것을 특징으로 하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조성물은 TRPV(transient receptor potential cation channel subfamily V member 4), PPAR- δ (Peroxisome proliferator-activated receptor-delta) 및 AMPK(5' AMP-activated protein kinase)의 발현을 증가시키는 것을 특징으로 하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 조성물은 TNF- α (Tumor necrosis factor-alpha)의 발현을 감소시키는 것을 특징으로 하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 약학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 피부 염증은 아토피 피부염인 것을 특징으로 하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 약학적 조성물.

청구항 8

청구항 1 내지 7의 어느 한 청구항의 조성물을 포함하고, 액제, 연고제, 크림제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 젼제, 또는 에어로졸제 제형인 외용제 조성물.

청구항 9

3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 함유하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 화장품 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 3,5-디카페올리퀴닉산은 섬쑥부쟁이(Aster glehni) 추출물로부터 분리된 것인 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 화장품 조성물.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 섬쑥부쟁이 추출물은 탄소수 1 내지 4의 알코올, 탄소수 1 내지 4의 알코올을 포함하는 수용액, 디클로로메탄, 아세톤 및 아세톤 수용액 중에서 선택된 어느 하나의 추출용매에 의해 추출된 것을 특징으로 하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 화장품 조성물.

청구항 12

제9항에 있어서, 상기 섬쑥부쟁이 추출물은 에틸아세테이트, 헥산, 클로로포름 및 부탄올로 구성된 군에서 선택된 어느 하나에 의해 추가로 분획된 분획 추출물인 것을 특징으로 하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 화장품 조성물.

청구항 13

제9항에 있어서, 상기 피부 염증은 아토피 피부염인 것을 특징으로 하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 화장품 조성물.

청구항 14

3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 함유하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 건강기능식품 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 3,5-디카페올리퀴닉산은 섬쑥부쟁이(Aster glehni) 추출물로부터 분리된 것인 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 건강기능식품 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 섬쑥부쟁이 추출물은 탄소수 1 내지 4의 알코올, 탄소수 1 내지 4의 알코올을 포함하는 수용액, 디클로로메탄, 아세톤 및 아세톤 수용액 중에서 선택된 어느 하나의 추출용매에 의해 추출된 것을 특징으로 하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 건강기능식품 조성물.

청구항 17

제15항에 있어서, 상기 섬쭉부쟁이 추출물은 에틸아세테이트, 헥산, 클로로포름 및 부탄올로 구성된 군에서 선택된 어느 하나에 의해 추가로 분획된 분획 추출물인 것을 특징으로 하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 건강기능식품 조성물.

청구항 18

제14항에 있어서, 상기 피부 염증은 아토피 피부염인 것을 특징으로 하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 건강기능식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 조성물에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 함유하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 외피라고도 하는 피부는 표피, 진피 및 피하 조직 (피하)의 세 가지 주요 층으로 구성된다. 특히, 표피는 피부의 바깥 영역이며, 그 구조는 4 개의 층으로 구성되어있으며, 기저층, spinosum 층, stratum granulosum 및 각질층 (피부의 가장 바깥 쪽 얇은 층)으로 나눌 수 있다. Keratinocytes는 표피를 구성하는 주요 세포이며 각화를 통해 신체 방어벽을 구성하는 데 기여한다. Spinosum층에서 keratinocytes는 keratin1과 10을 생산하고, keratin10은 desmosome의 주성분이다. 일반적으로 피부 장벽은 각질층을 의미하며, 각질 세포, 각질층, 각막 상피 세포 및 각질세포간 지질로 구성된다. 각질층은 transglutaminase, involucrin, loricrin, 및 filaggrin으로 구성되며, 그것은 각질세포간 지질 (intercorneocyte lipid)의 다층 구조를 형성함으로써 온전한 피부 장벽 역할을 한다.. 각질세포간 지질은 세라마이드, 콜레스테롤, 유리 지방산 및 콜레스테롤 황산염을 포함하며, 그 중 세라마이드 함량이 가장 높다. 피부 장벽의 주요 기능은 체액의 손실, 독소의 공격, 병원균의 침입을 막는 것이다(Department of Dermatology, Faculty of Medicine and Graduate School of Medicine Hokkaido University. Shimizu's Textbook of Dermatology. <http://www.derm-hokudai.jp/shimizu-dermatology/ch01> (13.02.2017); H. H. Jang, S. N. Lee, *Asian J Beauty Cosmetol*, 14, 339, 2016). 따라서 피부 장벽의 손상은 피부 바깥층의 단순한 기계적 파괴뿐 아니라 다양한 병원균의 침투를 통해 심각한 면역 반응을 일으킬 수 있습니다. 음이온성 계면 활성제인 Sodium dodecyl sulfate(SDS)는 일반적으로 피부 자극뿐만 아니라, SDS는 세제로서 피부 표면의 극성, 피부 장벽의 해체 및 표피 지질의 추출을 유도한다. 또한, SDS는 각질층으로부터의 경피적 수분 손실을 증가시키고 염증을 유도한다.

[0003] 아토피성 피부염(AD)은 초기 유아기에 발생하지만 성인에서도 나타난다. 일반적으로 AD는 면역 글로불린 E(IgE) 생산증가, 습진 피부 병변의 재발, 염증 면역 세포의 침윤 및 피부 장벽의 결함을 특징으로 하는 만성 소양증 염증성 피부 질환으로 근본적인 원인은 거의 알려져 있지 않으며, 산업화의 발전으로 AD의 발생이 증가하고 있다. 따라서 AD에 대한 효과적인 치료법을 찾는 것은 매우 시급하고 사회 경제적으로 중요하다. 2,4-디니트로 클로로벤젠(2,4-Dinitrochlorobenzene (DNCB))은 접촉성 피부염과 AD를 유발하는 대표적 물질로 알려진 바 있다 (Medscape. Atopic Dermatitis. <http://emedicine.medscape.com/article/1049085-overview#a4> (15.02.2017); T. Bieber, *N Engl J Med.*, 358, 1483, 2008).

[0004] 섬쭉부쟁이(Aster glehni (AG))는 한국의 전통 의학에서 발열, 통증, 가래 및 기침을 치료하는 데 사용되어왔다. 이전에 AG의 다른 효과도 보고되었다. AG의 에틸 아세테이트 추출물은 melanocytes에서 멜라닌 생합성에 관여하는 tyrosinase와 tyrosinase 관련 단백질 1의 단백질 발현을 억제하였고, 또 다른 연구에서, AG의 에틸 아세테이트 추출물은 항산화 효과와 염증에 관여하는 유도용 산화 질소 합성효소 (iNOS)의 단백질 발현을 억제하는 효과가 보고되었다(Y. Fujii *et al.*, *Skin Pharmacol Physiol.*, 22 240, 2009).

[0005] 한편, 섬쭉부쟁이(Aster glehni) 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)이 피부장벽 손상 개선 또는 피부 염증 완화 효과를 가진다는 것은 알려져 있지 않다.

[0006] 이에, 본 발명자들은 아토피 등의 질병 예방 및 개선을 위하여 피부장벽 손상 개선 및/또는 피부 염증 완화 효과를 가지는 조성물을 찾고자 예의 노력한 결과, 섬쭉부쟁이(Aster glehni) 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)이 우수한 피부장벽 손상 개선 및/또는 피부 염증 완화 효과를 가지는 것을 발견하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 함유하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 약학적 조성물을 제공하는데 있다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 포함하고, 액제, 연고제, 크림제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 겔제, 또는 에어로졸제 제형인 외용제 조성물을 제공하는데 있다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 함유하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 화장료 조성물을 제공하는데 있다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 함유하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 건강기능식품 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 함유하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 약학적 조성물을 제공한다.

[0012] 상기 3,5-디카페올리퀴닉산은 섬쭉부쟁이(Aster glehni) 추출물로부터 분리된 것일 수 있다.

[0013] 본 발명은 또한, 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 포함하고, 액제, 연고제, 크림제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 겔제, 또는 에어로졸제 제형인 외용제 조성물을 제공한다.

[0014] 본 발명은 또한, 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 함유하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 화장료 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명은 또한, 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 함유하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0016] 본 발명의 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 화장료 조성물 또는 약제학적 조성물의 유효성분으로 도입함으로써, 피부장벽 손상을 개선하고, 피부염증을 완화하여 아토피 피부염에 대한 예방 및 개선 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 섬쭉부쟁이 에틸 아세테이트 추출물에 대한 HPLC 분석 크로마토그램 결과이다(1) 5-CQA : 5-카페오일퀴닉산(5-caffeoylquinic acid), 2) 3,4-DCQA : 3,4-디카페오일퀴닉산(3,4-dicaffeoylquinic acid), 3) 3,5-epi-DCQA : 3,5-에피-디카페오일퀴닉산(3,5-epi-dicaffeoylquinic acid), 4) 3,5-DCQA : 3,5-디카페오일퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid), 5) 4,5-DCQA : 4,5-메틸 4,5-디카페오일퀴네이트, 6) 3,5-DCQA-Me : 메틸 3,5-디카페오일퀴놀산(methyl 3,4-dicaffeoylquinic acid), 7) 4,5-DCQA-Me : 메틸 4,5-디카페오일퀴닉산(methyl 4,5-dicaffeoylquinic acid)).

도 2는 Aster glehni 추출물, SDS, DNCB 및 GSK0660으로 처리된 HaCaT 세포에서 PPAR δ , AMPK 및 SPTLC2에 대한 웨스턴 블롯 분석을 수행한 결과이다(Ctrl은 미처리 대조군, DNCB는 DNCB 처리군, D+AG는 DNCB + AG 처리군, D+A+GSK는 DNCB + AG + GSK0660 처리군, SDS는 SDS 처리군, S+AG는 SDS + AG 처리군, S+A+GSK는 SDS + AG + GSK0660 처리군).

도 3은 Aster glehni 추출물, SDS, DNCB 및 GSK0660로 처리된 HaCaT 세포에서 각질, 인볼루클린, 디펜신 및 TNF α 에 대한 면역 세포 화학 검사를 수행한 결과이다(Ctrl은 미처리 대조군, DNCB는 DNCB 처리군, D+AG는 DNCB

+ AG 처리군, D+A+GSK는 DNCB + AG + GSK0660 처리군, SDS는 SDS 처리군, S+AG는 SDS + AG 처리군, S+A+GSK는 SDS + AG + GSK0660 처리군).

도 4는 TRPV4와 AMPK antagonists를 처리한 HaCaT 세포에서 각질, involucrin, defensin, 및 TNF α에 대한 면역 조직 화학 염색을 수행한 결과이다.

도 5는 3,5-DCQA를 처리한 HaCaT 세포에서 TRPV4, AMPK, PPAR δ 및 SPTLC2에 대한 웨스턴 블랏을 수행한 결과이다.

도 6은 3,5-DCQA를 처리한 HaCaT 세포에서 케라틴, involucrin, defensin 및 TNF α에 대하여 면역 조직 화학 염색을 수행한 결과이다.

도 7은 keratinocytes에서 섬쑥부쟁이 추출물의 작용기전에 대한 도식도이다(화살표는 활성화를 의미하고, 수평선은 억제제를 의미하고, 이중 수직선은 차단을 의미한다).

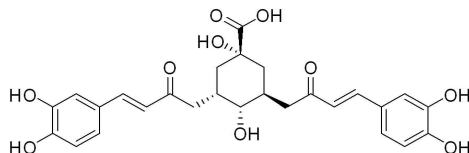
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 본 발명에서는 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 처리한 세포는 SDS 또는 DNCB만 처리한 대조군 세포들에 비해, PPAR δ, 인산화된 AMPK, SPTLC2, 각질, involucrin 및 defensin의 단백질 발현이 증가되며, SDS 또는 DNCB만 처리한 세포군에서 증가된 TNF α 발현은 섬쑥부쟁이 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산을 추가로 첨가한 세포군에서는 감소하는 것을 확인하였다. 길항제 처리를 이용한 연구결과로부터 AG의 작용 경로에서 바이오 마커의 조절효과 기전관련 작용효과의 순서는 TRPV4 → PPAR δ → AMPK이며, 섬쑥부쟁이 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산은 TRPV4 → PPAR δ → AMPK 경로의 순차적 조절을 통해 SDS 또는 DNCB에 의한 각질 형성 세포의 손상을 완하시킬 수 있다는 것을 확인하였다.

[0019] 따라서, 본 발명은 일 관점에서, 섬쑥부쟁이(Aster glehni) 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 함유하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0020] 하기 화학식 1은 3,5-디카페올리퀴닉산의 구조식이다.

[0021] [화학식 1]



[0022]

[0023] 본 발명에서 사용되는 용어 "피부장벽"이란 피부 가장 바깥층인 표피의 상부층으로 각질형성세포로 이루어진 각질층을 의미한다. 독성물질이나 미생물, 기계적 자극, 자외선에 대해 가장 중요한 일차방어선이며, 피부를 통한 전해질이나 수분손실을 억제하여 피부가 정상적인 기능을 수행할 수 있는 환경을 제공하는 기능을 한다.

[0024] 본 발명에서 사용되는 용어 "피부장벽 손상 개선"이란 피부의 가장 외각에 위치하는 각질층의 장벽 기능을 강화하여 피부장벽 손상을 치료 및 개선하는 것을 의미한다.

[0025] 본 발명에 따른 피부 장벽 손상 치료 및 개선 기능에 있어서, 피부장벽(skin barrier)은 표피의 최외곽 층인 각질층(stratum corneum)은 주로 무핵의 편평한 각질세포(corneocyte)로 이루어져 있다. 정상적인 표피세포의 분열 및 분화과정을 통해 유지되는 피부장벽의 각질세포가 합성하는 세라마이드, 콜레스테롤, 및 지방산과 같은 세포간 지질로 형성된 다층지질막(multi lamella lipid layer)는 피부 내의 수분이 증발하지 않도록 방어막 역할을 한다. 한편, 이들 세포간 지질 중 오메가 히드록시 세라마이드는 각질세포(corneocyte) 외곽층의 단백질인 인볼루크린(involucrin)과 화학적 공유결합으로 연결되어 각질세포지질막(corneocyte lipid envelope, CLE)을 형성함으로써 다층 지질막 형태의 세포간 지질을 물리적으로 안정화시키는 역할을 하여 장벽손상을 치료 및 개선시키는 역할을 하게 된다.

[0026] 본 발명의 조성물은 피부도포를 통해 각질층에 전달되어 각질세포의 분화를 촉진시켜, 표피층의 두께를 두껍게 개선시키는 효과가 있을 뿐 아니라, 피부장벽 손상을 회복시키는 효과가 우수하여 피부장벽의 손상에 의해 유발되는 피부질환의 치료 및 예방에 유용하게 사용할 수 있다. 상기 피부장벽 손상에 의해 유발되는 피부질환으로는 아토피 피부염(atopic dermatitis), 피부건조증(xeroderma), 건선(psoriasis), 어린선(ichthyosis), 여드름

등이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0027] 본 발명의 용어, "피부장벽 손상 개선용"이란, 피부 보호 및 피부 상태 개선, 피부 보호 및 피부의 염증 반응의 완화, 면역질환 개선능, 또는 피부 장벽 기능 개선, 피부자극 완화, 피부 세포 증식 및 재생능, 항산화능, 콜라겐 합성 증진능 등을 모두 포함하는 개념이다.
- [0028] 본 발명에서, 피부 염증 완화란, 피부 염증, 가려움증 등과 같은 피부 트러블을 개선 및 치료하는 것을 의미한다.
- [0029] 본 발명에 있어서, '염증 완화'라 함은 염증을 억제하는 것을 말하며, 상기 염증은 어떤 자극에 대한 생체조직의 방어반응의 하나로, 조직 변질, 순환 장애와 삼출, 조직 증식의 세가지를 병발하는 복잡한 병변을 말한다. 보다 구체적으로 염증은 선천성 면역의 일부이며 다른 동물에서처럼 인간의 선천성 면역은 병원체에 특이적으로 존재하는 세포 표면의 패턴을 인식한다. 식세포는 그런 표면을 가진 세포를 비자기로 인식하고 병원체를 공격한다. 만일 병원균이 신체의 물리적 장벽을 깨고 들어온다면 염증반응이 일어난다. 염증반응은 상처부위에 침입한 미생물들에 대한 적대 환경을 만드는 비특이적인 방어작용이다. 염증반응에서, 상처가 나거나 외부 감염체가 체내로 들어왔을 때, 초기단계 면역반응을 맡고 있는 백혈구들이 몰려들어 사이토카인을 발현한다. 따라서 세포 내 사이토카인의 발현양이 염증반응 활성화의 지표가 된다. 염증과 관련된 피부질환의 예로는 아토피 피부염, 건선, 방사선, 화학물질, 화상 등에 의해 촉발되는 홍반성 질환, 산 화상, 수포성 피부병, 태선 모양 종류 질환, 알레르기에 기한 가려움증, 지루성 습진, 장미 여드름, 심상성 천포창, 다형 삼출성 홍반, 결절 홍반, 귀두염, 음문염, 원형 탈모증과 같은 염증성 모발 손실, 피부 T-세포 림프종 등이 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0030] 본 발명에서 사용되는 용어, "예방"이란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 아토피피부염을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0031] 본 발명에서 사용되는 용어, "치료"란 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 아토피피부염에 대한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0032] 본 발명에서 사용되는 용어, "개선"이란, 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0033] 본 발명의 용어, "추출물"이란, 섬썩부쟁이로부터 분리하여 얻은 물질을 의미한다.
- [0034] 본 발명에 있어서, 상기 섬썩부쟁이 추출물은 탄소수 1 내지 4의 알코올, 탄소수 1 내지 4의 알코올을 포함하는 수용액, 디클로로메탄, 아세톤 및 아세톤 수용액 중에서 선택된 어느 하나의 추출용매에 의해 추출된 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0035] 본 발명에 있어서, 상기 섬썩부쟁이 추출물은 에틸아세테이트, 헥산, 클로로포름 및 부탄올로 구성된 군에서 선택된 어느 하나에 의해 추가로 분획된 분획 추출물인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0036] 상기 추출은 당 분야에 알려진 추출방법, 예컨대, 냉침, 열수추출, 초음파 추출, 환류 냉각 추출 등의 방법으로 수행될 수 있으나, 이에 국한되지 않는다. 추출 온도는 당업자가 추출 방법에 적절한 다양한 온도 범위를 채택할 수 있으며, 예를 들어, 20℃ 내지 100℃ 등에서 수행될 수 있으나, 이에 국한되지 않는다. 또한, 추출시간은 추출방법에 따라 상이하며, 당업자가 적절한 추출시간을 채택할 수 있으며, 이에 국한되지 않으나, 약 1시간 내지 10 일의 범위에서 단회 또는 복수회로 수행될 수 있다. 바람직하게는 상기 추출은 실온에서 약 2일씩 2~3회 상기한 추출용매로 추출함으로써 수행될 수 있다.
- [0037] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 TRPV(transient receptor potential cation channel subfamily V member 4), PPAR- δ (Peroxisome proliferator-activated receptor-delta) 및 AMPK(5' AMP-activated protein kinase)의 발현을 증가시키는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0038] 본 발명에서, PPAR δ 와 AMPK는 세포 생존과 항 염증 반응에 관여하고 있다. 세라마이드는 피부 장벽에서 중요하고 주요한 지질 성분이며, serine palmitoyltransferase는 세라마이드 생합성에서 속도 제한 단계(rate limiting step)를 촉매하는 효소이다. 또한, TRPV4는 keratinocytes에서 세포간 접합(intercellular junction)의 형성에 관여하는 것으로 알려져 있다. SPTLC2는 serine palmitoyltransferase의 장쇄 염기 서브 유닛이다.
- [0039] 본 발명의 일 양태에서, AG와 함께 SDS 또는 DNCB로 처리된 HaCaT 세포에서 PPAR δ , AMPK 및 SPTLC2의 단백질

발현정도를 평가하고자 하였다. 그 결과, AG 추출물은 DNCB 및 SDS만 처리된 세포 그룹에 비해 PPAR δ , P-AMPK, SPTLC2 및 TRPV4에 대한 단백질 발현을 증가시키는 것을 확인하였다(도 2A 및 도 2B).

- [0040] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 TNF- α (Tumor necrosis factor- α)의 발현을 감소시키는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0041] 본 발명의 다른 양태에서, SDS 또는 DNCB만 처리한 세포군에서 증가된 TNF α 발현은 AG 추출물을 추가로 첨가한 세포군에서는 감소함을 확인하였다(도 2C).
- [0042] 본 발명에서, 피부 장벽 보호에 대한 AG의 효과와 기전을 명확히 밝히기 위하여, SDS 또는 DNCB로 처리된 HaCaT 세포에서 피부 장벽 유지와 관련된 바이오 마커의 발현 정도를 측정하였다. 특히, peroxisome proliferator-activated receptor δ (PPAR δ)와 AMP-활성화 단백질 키나아제 (AMPK)와 transient receptor potential cation channel subfamily V member 4(TRPV4)의 역할을 조절 인자들의 발현이 AG의 피부보호 작용기전에 중요한 역할을 하고 있는지를 조사하였다.
- [0043] 그 결과, caffeoylquinic 화합물이 풍부한 AG 추출물은 SDS 또는 DNCB로 인간 keratinocytes HaCaT 세포에서 TRPV4 - PPAR δ - AMPK 경로의 순차적 조절을 통해 피부 장벽을 보호할 수 있다는 것을 확인하였으며, TNF α 의 억제제를 통한 항염증 작용으로 피부 장벽을 보호하는 것을 확인하였다(도 7).
- [0044] 본 발명에서, Defensins는 다양한 세포 유형에 의해 생성되는 항균, 항균 및 항 바이러스 작은 양이온 펩타이드이며, α , β 및 θ 디펜신의 세 가지 하위 패밀리를 포함한다. 각화세포에서 β -defensin은 주로 분비된 아형이다.
- [0045] 본 발명에서, 핵 수용체로서의 PPAR δ 는 비만 및 죽상 동맥 경화증과 같은 대사성 질환을 경감시킨다. PPAR δ 는 피부 장벽을 보호효과는 다음과 같이 연구된 바 있다 : PPAR δ 리간드 치료는 태아 랫트 외식 배양 모델에서 각질층 형성 및 투과성 장벽 발달을 자극하고, PPAR δ 녹아웃 마우스에서, 표피의 완전성이 손상되고 염증이 증가된다. 일반적으로, AMPK는 대사 증후군의 개선뿐만 아니라 염증의 감소에 관여하며 PPAR δ 에 의해 조절된다. 활성화된 AMPK는 HaCaT 세포에서 자외선 복사에 의해 유도된 matrix metalloproteinase 1 (MMP1)의 증가를 억제하며, 인간 각질 세포에서 apigenin에 의한 mTOR 신호 경로의 억제를 통해 autophagy 조절에 관여한다.
- [0046] 본 발명에서는 SDS 또는 DNCB에 의해 감소된 각질, involucrin 및 defensin에 대한 단백질 발현이 AG 추출물에 의해 증가되었다. 또한, SDS 또는 DNCB에 의한 TNF α 의 상승된 발현은 AG 처리로 정상화되었다. PPAR δ 및 AMPK의 발현은 SDS나 DNCB 단독 투여에 비해 AG 추출물 처리에 의해 증가되었다. 또한, AG 추출물의 효과는 PPAR δ 길항제에 의해 상쇄되었으므로, 각질 형성 세포에 대한 AG의 효과는 PPAR δ 에 좌우되는 것으로 생각된다.
- [0047] PPAR δ 및 AMPK 이외에, TRPV4는 또한 피부 장벽의 유지 또는 보호에 중요한 역할이 발표된 바 있다. TRPV4는 일반적으로 칼슘 이온 (Ca^{++})-투과성 양이온 전달체로 알려져 있으며 부종과 같은 기계적 스트레스에 반응한다. 피부과 영역에서 볼 때, TRPV4는 tight junction의 강화를 통해 피부 장벽을 보호하고, 바이칼린(baicalin)으로 치료한 HaCaT 세포에서 각질 합성을 증가시켰다. TRPV4가 Ca^{++} 전달자로서 역할을 한다는 것은 케라틴세포(; 각화세포, keratinocytes)에서 칼슘 신호 전달에 관여함을 시사한다. Ca^{++} 는 일반적으로 세포에서 신호 분자로 작용하고 keratin1/10, involucrin, loricrin 및 keratinocyte 분화에 관여하는 transglutaminase 1과 같은 biomarker의 발현을 자극한다. 더불어, Ca^{++} 는 프로피라그린(profilaggrin)의 필라그린(filaggrin)으로의 전환을 촉진시킨다. 피부 장벽이 손상되면 Ca^{++} gradient가 사라지고 loricrin, filaggrin 및 involucrin의 발현이 낮아진다.
- [0048] 본 발명에 있어서, 상기 피부 염증은 아토피 피부염인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0049] 본 발명은 다른 관점에서, 상기 조성물을 포함하고, 액제, 연고제, 크림제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 겔제, 또는 에어로졸제 제형인 외용제 조성물에 관한 것이다.
- [0050] 본 발명의 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에서 사용된 용어, "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고

종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

- [0051] 본 발명의 약학적 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함할 수 있으며, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제제화될 수 있다.
- [0052] 상기 약제학적으로 허용가능한 담체는 당업계에서 통상적으로 사용되는 것들, 예컨대 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등을 포함하나 이에 국한되지 않는다. 또한, 본 발명의 약학 조성물은 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제, 기타 약제학적으로 허용가능한 첨가제를 포함한다.
- [0053] 본 발명의 약학적 조성물이 경구용 고형 제제로 제제화된 경우 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등을 포함하며, 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토즈, 젤라틴 등을 포함할 수 있으며, 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제 등을 포함하나 이에 국한되지 않는다.
- [0054] 본 발명의 약학적 조성물이 경구용 액상 제제화된 경우 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등을 포함하며, 물, 리퀴드 파라핀 등의 희석제, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 포함하나 이에 국한되지 않는다.
- [0055] 본 발명의 약학적 조성물이 비경구용 제제화된 경우 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제를 포함하며, 비수성 용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르류 등을 포함하나 이에 국한되지 않는다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있으나 이에 국한되지 않는다.
- [0056] 본 발명의 약학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.
- [0057] 본 발명의 약학적 조성물에 함유되는 섬쑥부쟁이(Aster glehni) 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)의 투여량은 환자의 상태 및 체중, 연령, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 예를 들면, 섬쑥부쟁이 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산은 1일 1 내지 2000mg/kg으로, 바람직하게는 10 내지 2000mg/kg의 용량으로 투여할 수 있으며, 상기 투여는 하루에 한번 또는 수회 나누어 투여할 수도 있다.
- [0058] 본 발명은 또 다른 관점에서, 섬쑥부쟁이(Aster glehni) 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 함유하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 화장료 조성물에 관한 것이다.
- [0059] 본 발명에 있어서, 상기 섬쑥부쟁이 추출물은 탄소수 1 내지 4의 알코올, 탄소수 1 내지 4의 알코올을 포함하는 수용액, 디클로로메탄, 아세톤 및 아세톤 수용액 중에서 선택된 어느 하나의 추출용매에 의해 추출된 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0060] 본 발명에 있어서, 상기 피부 염증은 아토피 피부염인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0061] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 TRPV(transient receptor potential cation channel subfamily V member 4), PPAR- δ (Peroxisome proliferator-activated receptor-delta) 및 AMPK(5' AMP-activated protein kinase)의 발현을 증가시키는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0062] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 TNF- α (Tumor necrosis factor-alpha)의 발현을 감소시키는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0063] 본 발명은 또 다른 관점에서, 섬쑥부쟁이(Aster glehni) 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 유효성분으로 함유하는 피부장벽 손상 개선용 및/또는 피부 염증 완화용 건강기능식

품 조성물에 관한 것이다.

- [0064] 본 발명에 있어서, 상기 섬썩부쟁이 추출물은 탄소수 1 내지 4의 알코올, 탄소수 1 내지 4의 알코올을 포함하는 수용액, 디클로로메탄, 아세톤 및 아세톤 수용액 중에서 선택된 어느 하나의 추출용매에 의해 추출된 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0065] 본 발명에 있어서, 상기 피부 염증은 아토피 피부염인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0066] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 TRPV(transient receptor potential cation channel subfamily V member 4), PPAR- δ (Peroxisome proliferator-activated receptor-delta) 및 AMPK(5' AMP-activated protein kinase)의 발현을 증가시키는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0067] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 TNF- α (Tumor necrosis factor-alpha)의 발현을 감소시키는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0068] 본 발명에서 용어 "건강기능식품"이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.
- [0069] 본 발명의 식품 조성물은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 "식품 첨가물"로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [0070] 상기 "식품 첨가물 공전"에 기재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류들을 들 수 있다.
- [0071] 본 발명의 식품 조성물은 피부장벽 손상 개선 및/또는 피부 염증 완화 목적으로, 조성물 총 중량에 대하여 섬썩부쟁이(Aster glehni) 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid)을 0.01 내지 95 중량%, 바람직하게는 1 내지 80 중량% 포함할 수 있다.
- [0072] 또한, 본 발명의 식품 조성물은 피부장벽 손상 개선 및/또는 피부 염증 완화 특히, 아토피 피부염의 예방 및/또는 개선을 목적으로, 정제, 캡셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다.
- [0073] 예를 들어, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 섬썩부쟁이 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산 또는 부형제, 결합제, 붕해제, 및 다른 첨가제와의 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축성형할 수 있다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수 있으며, 필요에 따라 적당한 제피제로 제피할 수도 있다.
- [0074] 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질캡셀제는 통상의 경질캡셀에 섬썩부쟁이 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물 또는 그의 입상물 또는 제피한 입상물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질캡셀제는 섬썩부쟁이 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물을 젤라틴 등 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.
- [0075] 환 형태의 건강기능식품은 섬썩부쟁이(Aster glehni) 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid), 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 적당한 제피제로 제피를, 또는 전분, 탈크 또는 적당한 물질로 환의를 입힐 수도 있다.
- [0076] 과립형태의 건강기능식품은 섬썩부쟁이(Aster glehni) 추출물로부터 분리된 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid), 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다. 과립형태의 건강기능식품은 12호(1680 μ m), 14호(1410 μ m) 및 45호(350 μ m) 체를 써서 다음 입도시험을 할 때에 12호체를 전량 통과하고 14호체에 남는 것이 전체량의 5.0% 이하이고 또 45호체를 통과하는 것은 전체량의 15.0% 이하일 수 있다.
- [0077] 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함한다(대한약전 해설편, 문성사, 한국약학대학협의회, 제 5개

정판, p33-48, 1989).

- [0078] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.
- [0079] **실시예 1: 섬쭉부쟁이 추출물 제조**
- [0080] 2012년 11월에 울릉도(N37° 30', E130° 52')에서 껍질을 벗기고 말린 섬쭉부쟁이(Aster glehni(AG))를 구입하여 광창수 명예교수(경희대 학교 약리학과, 서울)의 확인을 받았고, 바우처 표본 (971-12A-P)은 한국 과학 기술 연구원 식물 표본 상자에 보관되었다.
- [0081] 메탄올 - 가용성 추출물을 얻기 위해, 다진 AG 12Kg을 실온에서 70 L의 메탄올을 이용하여 3 회에 걸쳐 추출하였다. 2.6 kg의 건조 추출 잔류물을 물에 현탁시킨 다음 에틸 아세테이트로 순차적으로 분배시켰다. 에틸 아세테이트 분획을 감압 하에 증발시켜 41.0g의 잔류물을 얻었다. AG의 에틸 아세테이트 추출물은 2996 PDA 검출기 (254 nm, Waters, Worcester, MA, USA)를 사용하여 역상 고속 액체 크로마토그래피(Waters 1500 Series System)로 분석하였다.
- [0082] 분리를 위해 Luna C18 컬럼 (5 μ m, 250 $\times$ 4.6 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA)에 30 $^{\circ}$ C에서 10 μ L의 시료를 주입하였다. 이동상(mobile phase)은 아세토나이트릴(acetonitrile) 및 1 % 인산(phosphoric acid)의 그라디언트(gradient)를 이용하였다. 그라디언트 시스템은 20 % 아세토나이트릴(0분), 20 % 아세토나이트릴(0-10 분), 30 % 아세토나이트릴(10-20 분), 40 % 아세토나이트릴(20-30 분), 80 % 아세토나이트릴(30-40 분) 및 100 % 아세토나이트릴(40-50 분)이었다. 이동상의 유속은 1.0 ml/min이었다. 추출 과정 및 HPLC 분석에 사용된 유기 용매는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, U.S.A.)에서 구입하였다.
- [0083] 그 결과, AG에서 추출한 에틸 아세테이트 분획은 주로 5-카페오일퀴닉산(5-caffeoylquinic acid), 3,4-디카페오일퀴닉산(3,4-dicaffeoylquinic acid), 3,5-에피-디카페오일퀴닉산(3,5-epi-dicaffeoylquinic acid), 3,5-디카페오일퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid (3,5-DCQA)), 4,5-디카페오일퀴닉산(4,5-dicaffeoylquinic acid), 메틸 3,5-디카페오일퀴닉산(methyl 3,4-dicaffeoylquinic acid) 및 메틸 4,5-디카페오일퀴닉산(methyl 4,5-dicaffeoylquinic acid)을 포함하였다(도 1). 3,5-DCQA는 AG 에틸 아세테이트 분획의 7 가지 카페오일퀴닉 화합물에서 가장 풍부하다는 것을 확인하였다.
- [0084] **실시예 2: 피부각질형성세포(HaCaT)의 배양**
- [0085] HaCaT 세포 (인간 각질 형성 세포)를 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 10 % 소 태아 혈청(FBS)과 항생제 - 항균제 용액 1%를 함유한 Dulbecco 's modified Eagle 's medium (DMEM) 배지에서 배양하였다. 세포 배양 배지를 48-72 시간마다 새로운 DMEM 배지로 교체하였다. 5 내지 17 계대의 HaCaT 세포를 8-웰 챔버 슬라이드에서 웰 당 1 $\times$ 10⁴ 세포의 밀도로, 또는 10 % 소 태아 혈청과 및 1% 항생제 - 항균제를 함유하는 DMEM 중의 6 웰 배양 플레이트에서 웰 당 1 $\times$ 10⁶ 세포 밀도로 플레이트에 깔았다. 세포들을 37 $^{\circ}$ C, 5 % CO₂ 배양기에서 24 시간에서 48 시간 동안 배양한 후, 1 % 태아 소 혈청을 함유한 DMEM으로 배지를 교체하였다. 그 후, AG 추출물 (50 마이크로그램) 및 PPAR δ 길항제 GSK0660 (Sigma-Aldrich)을 포함한 DNCB, 5 마이크로 몰(Sigma-Aldrich, Louis, MO, USA) 또는 SDS, 30 마이크로몰(Sigma-Aldrich)로 세포를 24시간 처리하였다. 또한, 3,5-디카페오일퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid(3,5-DCQA))는 1 μ M처리하였다. HaCaT 세포는 손상육 박사로부터 기증받았다. 세포 배양을 위한 모든 시약은 WELGENE Inc.(대구, 대한민국)에서 구입하였다. 모든 시약의 농도는 최종 농도였다.
- [0086] **실시예 3: 섬쭉부쟁이 추출물 처리 시, DNCB 또는 SDS 처리된 HaCaT 세포 내 PPAR δ , AMPK, SPTLC2 및 TRPV4의 단백질 발현 관찰**
- [0087] AG와 함께 SDS 또는 DNCB로 처리된 HaCaT 세포에서 PPAR δ , AMPK 및 SPTLC2의 단백질 발현정도를 평가하기 위하여, 실시예 2의 처리조건으로 처리한 후, 웨스턴블랏(Western blot)을 수행하였다.
- [0088] 샘플의 단백질 농도는 Bradford 방법에 의해 평가되었다. 10 μ g의 추출 된 단백질을 10% sodium dodecyl sulfate (SDS) 폴리아크릴아마이드 겔에 로딩하고 니트로셀룰로오스막 위에서 단백질 블랏팅을 90분 동안 수행하였다. 막을 5% 탈지유로 밤새 차단하고 TBS-T로 10분 동안 3회 세척 하였다. 1차 항체를 실온에서 2시간 동안 막에 결합시켰다. PPAR δ 의 1차 항체는 Abcam에 의해 구입하였다. 총 및 인산화 된 형태의 AMPK에 대한 1차 항체는 Cell Signaling Technology, Inc. (Danvers, MA, USA)에서 구입하였다. serine palmitoyltransferase 2

(SPTLC 2)에 대한 1차 항체는 Novus에서 구입하였고, β -actin의 1차 항체는 Santa Cruz Biotechnology, Inc에서 구입하였다. 일차 항체의 희석 조건은 다음과 같다. PPAR δ 는 1 : 500, AMPK, P-AMPK (Thr172에서) 및 SPTLC 2는 1 : 1000이었고, β -액틴은 1 : 800이었다. 10분 동안 TBS-T로 3회 세척 한 후, 2 차 항체 (Santa Cruz Biotechnology, Inc.)를 실온에서 1시간 동안 막에 결합시켰다. 2차 항체의 희석 조건은 다음과 같다. 항토끼 PPAR δ , AMPK, p-AMPK 및 SPTLC 2에 대한 IgG 항체는 1 : 5000이고 β -액틴에 대한 항 마우스 IgG 항체는 1 : 5000이었다. 10 분 동안 TBS-T로 3 회 세척 한 후, 다시 10 분 동안 TBS 세척을 한번 시행하고, 화학 발광 기질 및 인헨서 용액 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 막에 적용하여 단백질 발현 상태를 측정하였다. 이미지는 Kodak GBX 현상액 및 정착시약 (CARESTREAM HEALTH, INC., Rochester, NY, USA)을 사용하여 수동으로 처리하고 ImageJ 프로그램을 사용하여 분석하였다. β -액틴은 로딩된 단백질을 정상화하기 위한 정상 대조군으로 사용되었다.

[0089] 그 결과, AG 추출물은 DNCB 및 SDS만 처리된 세포 그룹에 비해 PPAR δ , P-AMPK, SPTLC2 및 TRPV4에 대한 단백질 발현을 증가시켰다. 그러나 AG 추출물의 이러한 이들 단백질 발현 증가 효과는 TRPV4를 제외하고 PPAR δ 길항제인 GSK0660에 의해 거의 소멸되었다(도 2(A) 및 도 2(B)).

[0090] **실시예 4: 섬쑥부쟁이 추출물 처리 시, DNCB 또는 SDS 처리된 HaCaT 세포의 각질, involucrin, β -defensin 및 TNF α 발현 관찰**

[0091] keratin과 involucrin과 같은 피부 장벽 성분들과 염증성 사이토 카인인 TNF α 와 함께 대표적인 β -defensin의 하나인 β -defensin1의 발현을 평가하기 위하여, 실시예 2의 처리조건으로 처리한 후, 면역 세포 화학 (immunocytochemistry(ICC))을 수행하였다.

[0092] 챔버 슬라이드의 세포를 얼음처럼 차가운 메탄올로 15분 동안 고정시켰다. 고정된 세포를 0.3 % 정상 혈청을 함유하는 0.3 % 과산화수소 (H₂O₂) 용액과 5분 동안 반응시켜 세포에서 퍼옥시다아제 활성을 제거 하였다. PBS를 5분 동안 세척한 후, 세포를 20분간 묽게 희석된 정상혈청을 이용하여 비특이적 항원 차단을 한 후에 1시간 동안 희석시킨 1차 항체와 반응시켰다. involucrin 및 TNF α 에 대한 1차 항체는 Novus (Littleton, CO 80120, U.S.A.)에서 구입하였다. β -defensin1에 대한 1차 항체는 Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Dallas, Texas, USA)에서 구입하였다. pan-keratin에 대한 일차 항체는 Abcam (Cambridge, UK)에서 구입하였다. PBS 세척 후, 2차 항체를 세포에 30분 동안 반응시켰다. PBS 세척 후, 미리 혼합된 VECTASTATIN ABC 시약 용액을 세포에 30분 동안 반응시켰다. 세포를 PBS로 세척하고, 적절한 색 변화가 나타날 때까지 DAB 기질 용액과 반응시켰다. 수돗물로 3분간 세척한 후, 세포를 헤마톡실린으로 카운터 염색 하였다. 세포를 수돗물로 씻고 공기 중에서 말린 다음 마지막을 mount 시켰다. Immunocytochemistry kit (2차 항체 포함)는 Vector laboratories (Burlingame, CA, USA)에서 구입했다.

[0093] 단백질 추출물을 10 % 폴리 아크릴아미드 겔에서 전기 영동하고 니트로셀룰로오스 막에 블롯하였다. 니트로셀룰로오스 막을 1차 및 2차 항체와 순차적으로 결합시킨 후, 헤미루미네선스를 X 선 필름에 노출시켰다. Xray 필름의 밴드 밀도를 Image J 프로그램으로 분석했다. 슬라이드 챔버의 HaCaT 세포를 고정하고 각질, involucrin, defensin, 및 TNF α 항체로 면역 세포 화학적으로 염색하였다. 이미지는 200 배율로 촬영했습니다. 이미지의 밀도는 Image J 프로그램으로 분석하였다. 결과는 평균 $\pm$ SEM으로 표시되었다. 값은 unpaired t-test에 의해 통계적으로 분석되었다. 모든 실험은 세 번 반복되었다

[0094] 그 결과, AG 추출물은 DNCB와 SDS에 의해 감소????된 각질, involucrin 및 β -defensin1의 단백질들의 발현을 증가시켰다. 그러나, 증가된 단백질 발현은 PPAR δ 길항제 GSK0660에 의해 상쇄되었다. DNCB와 SDS에 의해 증가된 TNF α 발현은 AG 추출물에 의해 감소되었으며, AG 추출물의 개선 효과는 GSK0660에 의해 소멸되었다(도 3).

[0095] **실시예 5: HaCaT 세포에서 케라틴, involucrin, β - defensin 및 TNF α 발현 관찰**

[0096] TRPV4와 AMPK가 피부 장벽 성분, 방어 및 염증과 관련된 바이오 마커의 발현에 미치는 영향을 조사하기 위하여, TRPV4와 AMPK에 대한 길항제로 처리된 HaCaT 세포에서 각질, involucrin, β - defensin 및 TNF α 에 대한 단백질 발현을 면역 세포화학 염색법으로 조사하였다.

[0097] TRPV4 및 AMPK에 대한 길항제로 처리하고, TRPV4, PPAR δ 및 AMPK에 대한 길항제로 처리 한 HaCaT 세포에서 TRPV4, AMPK 및 PPAR δ 에 대한 웨스턴 블롯을 수행하였다. 슬라이드 챔버의 HaCaT 세포를 고정하고 각질, involucrin, defensin, 및 TNF α 의 항체로 면역 세포 화학적으로 염색 하였다. 이미지는 200 배율로 촬영했습니다. 이미지의 밀도는 Image J 프로그램으로 분석되었습니다. 단백질 추출물을 10 % 폴리아크릴아미드겔에서 전기영동하고 니트로셀룰로오스 막에 흡착시켰다. 니트로셀룰로오스 막을 1 차 및 2 차 항체와 순차적으로 결합시키

고, 화학 발광을 Xray 필름에 노출시켰다. X 선 필름의 밴드 밀도를 Image J 프로그램으로 분석했다. 결과는 평균 $\pm$ SEM으로 표시되었다. 값은 unpaired t-test에 의해 통계적으로 분석되었다. 모든 실험은 세 번 반복되었다.

- [0098] 그 결과, TNF α 단백질 발현은 HaCaT 세포에서 대조군에 비해 TRPV4 길항제 또는 AMPK 길항제에 의해 증가되었다. 그러나 동일한 조건 하에서 각질, involucrin 및 β -defensin1의 단백질 발현은 대조군에 비해 현저하게 감소하였다(도 4).
- [0099] **실시예 6: HaCaT 세포에서 TRPV4, PPAR δ 및 AMPK의 단백질 발현과 TRPV4, PPAR δ 및 AMPK에 대한 길항제의 상관관계 관찰**
- [0100] TRPV4, PPAR δ 및 AMPK인 주요 조절 인자의 작동 순위를 알아보기 위하여, TRPV4, PPAR δ 또는 AMPK에 대한 길항제로 처리된 HaCaT 세포에서 TRPV4, PPAR δ 및 AMPK의 단백질 발현정도를 웨스턴 블랏으로 측정하였다.
- [0101] 그 결과, TRPV4 길항제로 처리된 HaCaT 세포에서 TRPV4, PPAR δ 및 p-AMPK에 대한 모든 단백질 발현이 유의하게 감소하였다(도 4). PPAR δ 길항제 처리는 PPAR δ 및 p-AMPK에 대한 단백질 발현을 낮추지만, TRPV4 단백질 발현을 변화시키지는 않았다(도 4). AMPK 길항제인 화합물 C는 p-AMPK에 대해서만 단백질 발현을 감소시켰지만, TRPV4 및 PPAR δ 에 대한 단백질 발현에는 영향을 미치지 않았다(도 4).
- [0102] **실시예 7: 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid(3,5-DCQA)) 처리 시, HaCaT 세포의 TRPV4, PPAR δ , AMPK 및 SPTLC2에 대한 단백질 발현 관찰**
- [0103] 3,5-디카페올리퀴닉산 처리 시, HaCaT 세포의 TRPV4, PPAR δ , AMPK 및 SPTLC2의 단백질 발현을 관찰하기 위하여, 실시예 2의 처리조건으로 처리한 후, 웨스턴 블랏을 수행하였다.
- [0104] 그 결과, 3,5-DCQA는 HaCaT 세포에서 AG 에틸 아세테이트 추출물과 마찬가지로 PPAR δ , AMPK 및 SPTLC2에 대한 단백질 발현을 증가시켰다(도 5).
- [0105] **실시예 8: 3,5-디카페올리퀴닉산(3,5-dicaffeoylquinic acid(3,5-DCQA)) 처리 시, HaCaT 세포에서 케라틴, involucrin, β -defensin 및 TNF α 발현 관찰**
- [0106] 3,5-디카페올리퀴닉산 처리 시, HaCaT 세포의 케라틴, involucrin, β -defensin 및 TNF α 의 단백질 발현을 관찰하기 위하여, 실시예 2의 처리조건으로 처리한 후, 면역 조직 화학 염색법을 수행하였다.
- [0107] 단백질 추출물을 10 % 폴리 아크릴 아마이드 겔에서 전기영동하고 니트로셀룰로오스 막에 블롯하였다. 니트로셀룰로오스 막을 1 차 및 2 차 항체와 결합시켰다 순차적으로 조사한 다음 화학 발광을 X 선 필름에 노출시켰다. X 선 필름의 밴드 밀도를 Image J 프로그램으로 분석했다. 슬라이드 챔버의 HaCaT 세포를 고정하고 각질, 블루쿠린, 방어 및 TNF α 항체로 면역 세포 화학적으로 염색 하였다. 이미지는 200x 배율로 촬영 하였다. 이미지의 밀도는 Image J 프로그램으로 분석되었다. 결과는 평균 $\pm$ SEM으로 표시되었다. 값은 unpaired t-test에 의해 통계적으로 분석되었다. 모든 실험은 세 번 반복하였다.
- [0108] 그 결과, HaCaT 세포에서 3,5-DCQA 처리는 피부 장벽의 완전성에 관여하는 각질, involucrin 및 β -defensin1의 단백질 발현을 증가되었으나, 피부 염증과 관련된 TNF α 발현은 감소되었다(도 6).
- [0109] 따라서, TRPV4 단백질 수준은 DNCB 또는 SDS 치료군에 비해 AG 추출물에 의해 증가되었으며, TRPV4 길항제는 각질 세포에서 AG의 효과를 상쇄시켰기 때문에, TRPV4가 피부 장벽의 유지에 관여한다는 것을 알 수 있다.
- [0110] PPAR δ , AMPK 및 TRPV4에 대한 길항제에 의해 처리된 HaCaT 세포로부터 얻어진 실험 결과는 AG가 TRPV4 $\rightarrow$ PPAR δ $\rightarrow$ AMPK 경로의 순차적 조절을 통해 각질 형성 세포를 보호 할 수 있음을 보여 주었다. 또한 AG extract의 7 가지 caffeoylquinic acid 중 가장 풍부한 3,5-dicaffeoylquinic acid는 HaCaT 세포의 피부 장벽의 완전성과 염증과 관련된 biomarker의 발현에서 에틸 아세테이트 추출물과 동등한 효과를 나타냈으므로 AG 추출물의 기능은 카페오일 퀴닉 화합물에 기인하는 것으로 나타났다.
- [0111] caffeoylquinic 화합물이 풍부한 AG 추출물은 SDS 또는 DNCB로 keratinocytes HaCaT 세포에서 TRPV4 ?? PPAR δ - AMPK 경로의 순차적 규제를 통해 피부 장벽을 보호할 수 있다는 것을 확인하였다(도 7).
- [0112] 통계
- [0113] 데이터는 평균 $\pm$ SE (표준 오차 측정)로 표시됩니다. 두 그룹 간의 통계적으로 유의한 차이는 GraphPad Prism 소프트웨어와의 unpaired t-test로 계산하였다. p < 0.05의 값은 유의한 것으로 간주하였다.

[0114]	제조예 1: 3,5-디카페올리퀴닉산을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물 및 건강기능식품 조성물		
[0115]	<제조예 1> 약학적 제제의 제조		
[0116]	<1-1> 산제의 제조		
[0117]	3,5-디카페올리퀴닉산	2 g	
[0118]	유당	1 g	
[0119]	상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.		
[0120]	<1-2> 정제의 제조		
[0121]	3,5-디카페올리퀴닉산	100 mg	
[0122]	옥수수전분	100 mg	
[0123]	유 당	100 mg	
[0124]	스테아린산 마그네	2 mg	
[0125]	상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.		
[0126]	<1-3> 캡슐제의 제조		
[0127]	3,5-디카페올리퀴닉산	100 mg	
[0128]	옥수수전분	100 mg	
[0129]	유 당	100 mg	
[0130]	스테아린산 마그네슘	2 mg	
[0131]	상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.		
[0132]	<1-4> 환의 제조		
[0133]	3,5-디카페올리퀴닉산	1 g	
[0134]	유당	1.5 g	
[0135]	글리세린	1 g	
[0136]	자일리톨	0.5 g	
[0137]	상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 방법에 따라 1환 당 4 g이 되도록 제조하였다.		
[0138]	<1-5> 과립의 제조		
[0139]	3,5-디카페올리퀴닉산	150 mg	
[0140]	대두추출물	50 mg	
[0141]	포도당	200 mg	
[0142]	전분	600 mg	
[0143]	상기의 성분을 혼합한 후, 30 % 에탄올 100 mg을 첨가하여 섞씨 60 ℃에서 건조하여 과립을 형성한 후 포에 충전하였다.		
[0144]	<제조예 2> 식품의 제조		
[0145]	<2-1> 밀가루 식품의 제조		
[0146]	밀가루 100 중량부에 대해 본 발명의 3,5-디카페올리퀴닉산 0.5~5.0 중량부를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하였다.		
[0147]	<2-2> 스프 또는 육즙(gravies)의 제조		

- [0148] 스프 또는 육즙 100 중량부에 대해 본 발명의 3,5-디카페올리퀴닉산 0.1~5.0 중량부를 스프 또는 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 또는 육즙을 제조하였다.
- [0149] <2-3> 그라운드 비프(ground beef)의 제조
- [0150] 그라운드 비프 100 중량부에 대해 본 발명의 3,5-디카페올리퀴닉산 10 중량부를 그라운드 비프에 첨가하여 건강 증진용 그라운드 비프를 제조하였다.
- [0151] <2-4> 유제품(dairy products)의 제조
- [0152] 우유그라운드 비프 100 중량부에 대해 100 중량부에 대해 본 발명의 3,5-디카페올리퀴닉산 5~10 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.
- [0153] <2-5> 전식의 제조
- [0154] 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- [0155] 김정콩, 김정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- [0156] 본 발명의 3,5-디카페올리퀴닉산을 진공 농축기에서 감압농축하고, 분무, 열풍건조기로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60 메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.
- [0157] 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 3,5-디카페올리퀴닉산을 다음의 비율로 배합하여 제조하였다.
- [0158] 곡물류(현미 40 중량%, 율무 15 중량%, 보리 20 중량%),
- [0159] 종실류(들깨 7 중량%, 김정콩 8 중량%, 김정깨 7 중량%),
- [0160] 3,5-디카페올리퀴닉산(3 중량%),
- [0161] 영지(0.5 중량%),
- [0162] 지황(0.5 중량%)
- [0163] <제조예 3> 음료의 제조
- [0164] <3-1> 건강음료의 제조
- [0165] 액상과당(0.5%), 올리고당(2%), 설탕(2%), 식염(0.5%), 물(75%)과 같은 부재료와 본 발명의 3,5-디카페올리퀴닉산 5 g을 균질하게 배합하여 순간 살균을 한 후 이를 유리병, 패트병 등 소포장 용기에 포장하여 제조하였다.
- [0166] <3-2> 야채 주스의 제조
- [0167] 본 발명의 3,5-디카페올리퀴닉산 5 g을 토마토 또는 당근 주스 1,000 ml에 가하여 야채 주스를 제조하였다.
- [0168] <3-3> 과일 주스의 제조
- [0169] 본 발명의 3,5-디카페올리퀴닉산 1 g을 사과 또는 포도 주스 1,000 ml에 가하여 과일 주스를 제조하였다.
- [0170] **제조예 2: 3,5-디카페올리퀴닉산을 유효성분으로 포함하는 피부 외용제 조성물 및 화장료 조성물**
- [0171] 발명의 제형예로서 피부 외용연고, 유연 화장수, 수렴화장수, 영양 화장수, 마사지 크림, 에센스 및 팩을 예시하나 본 발명의 화장료 조성물의 제형은 이에 제한되는 것으로 해석해서는 안 되며, 본 발명의 범위 내에서 당업자의 통상적인 변화가 가능하다.
- [0172] 제형예 1: 피부 외용연고
- [0173] 하기의 표 1과 같이 3,5-디카페올리퀴닉산을 함유하는 피부 외용연고를 통상의 방법에 따라 제조하였다.

표 1

번호	성분	함량(중량%)
1	3,5-디카페올리퀴닉산	10
2	디에틸 세바케이트	8
3	경납	5
4	폴리옥시에틸렌올레일에테르 포스페이트	6
5	벤조산 나트륨	적량
6	바셀린	잔량
7	합계	100

[0174]

[0175] 제형예 2: 유연화장수

표 2

번호	성분	함량(%)
1	글리세린	5.00
2	1,3-부틸렌 글라이콜	3.00
3	PEG 1500	1.00
4	알란토인	0.10
5	DL-판테놀	0.30
6	EDTA-2Na	0.02
7	벤조페논-9	0.04
8	에탄올	10.00
9	옥티도데세스-16	0.20
10	폴리솔베이트 20	0.20
11	3,5-디카페올리퀴닉산	5.0
12	방부제, 향, 색소	미량
13	증류수	잔량

[0176]

[0177] 제형예 3: 수렴화장수

표 3

번호	성분	함량(%)
1	글리세린	2.00
2	1,3-부틸렌 글라이콜	2.00
3	알란토인	0.10
4	DL-판테놀	0.30
5	EDTA-2Na	0.02
6	벤조페논-9	0.04
7	에탄올	15.00
8	폴리솔베이트 20	0.20
9	3,5-디카페올리퀴닉산	3.0
10	구연산	미량
11	방부제, 향, 색소	미량
12	증류수	잔량

[0178]

[0179] 제형예 4: 영양화장수

표 4

번호	성분	함량(%)
1	세테아릴 알콜	1.00
2	글리세릴스테아레이트	0.50
3	폴리소르베이트 60	1.00
4	소르비탄세스퀴올리에이트	0.30
5	세틸옥타노에이트	6.00
6	스쿠알란	4.00
7	사플라워오일	4.00
8	부틸렌글라이콜	4.00
9	글리세린	4.00
10	카보머	0.10
11	트리에탄올아민	0.10
12	3,5-디카페올리퀴닉산	1.00
13	방부제, 향, 색소	미량
14	증류수	잔량

[0180]

[0181] 제형예 5: 에센스

표 5

번호	성분	함량(%)
1	글리세린	10.00
2	베타인	5.00
3	PEG 1500	2.00
4	알란토인	0.10
5	DL-판테놀	0.30
6	EDTA-2Na	0.02
7	벤조페논-9	0.04
8	히드록시에틸 셀룰로오스	0.10
9	카르복시비닐 폴리머	0.20
10	트리에탄올아민	0.18
11	옥틸도데칸올	0.30
12	옥틸도데세스-16	0.40
13	에탄올	6.00
14	3,5-디카페올리퀴닉산	5.00
15	방부제, 향, 색소	미량
16	증류수	잔량

[0182]

[0183] 제형예 6: 팩

표 6

번호	성분	함량(%)
1	폴리비닐 알콜	15.00
2	셀룰로오스 겜	0.15
3	글리세린	3.00
4	PEG 1500	2.00
5	시이크테스트린	0.15
6	DL-판테놀	0.30
7	알란토인	0.10
8	글리시리진산 모노암모늄	0.20
9	니코틴 아미드	0.40
10	에탄올	5.00
11	PEG 40 경화피마자유	0.30
12	3,5-디카페올리퀴닉산	1.00
13	방부제, 향, 색소	미량
14	증류수	잔량

실시예 9: 본 발명에 따른 화장료 조성물의 피부 장벽 기능 개선 효과 확인

본 발명의 3,5-디카페올리퀴닉산이 피부 장벽손상 후 지질 장벽회복을 강화시키는지 확인하였다.

피험자로는 건강이 양호하고 어떠한 피부과적 장애가 없는 정상적인 피부의 지원자 10명을 선정하였다. 이들의 피부 장벽을 다음과 같은 절차에 따라 팔 안쪽(forearm) 부위를 테이프 스트리핑에 의해 경피수분손실량이 30g/m²/h 내외가 될 때까지 손상시켰다. 그 후 TEWL(Transepidermal water loss, 경피수분손실)을 평가한 후, 지원자들의 팔에 1일 2회 30분 동안 20μl 농도의 제조에 2의 외용연고제를 각각 9cm² 면적에 도포하였다. 도포 후 7일까지 매일 TEWL을 측정하여 TEWL이 감소되는 정도를 측정함으로써, 피부 장벽기능이 회복되는 정도를 평가하였다. 효능 평가에 사용된 회복률은 하기 식 1에 따라 측정하였다.

[식 1]

Br(손상회복율)=(1-(Bt=i-Bt=0))/(Bt=d-Bt=0)×100

Bt=i=각 시간에서 피부 장벽 손상 후 TEWL 측정값

Bt=0=피부 장벽 손상 이전의 TEWL 측정값

Bt=d=피부 장벽 손상 이후의 TEWL 측정

그 결과, 표 7에 나타난 바와 같이 본 발명의 3,5-디카페올리퀴닉산이 함유된 크림(제형예)을 도포한 피부의 피부장벽 회복률이 3,5-디카페올리퀴닉산이 미함유된 크림(비교 제형예)에 비해 1일 후에는 19.6%, 3일 후에는 17.7% 정도 높게 나타났다. 이를 통해 본 발명의 3,5-디카페올리퀴닉산은 손상된 피부 장벽의 회복 효능이 탁월함을 확인하였다.

표 7

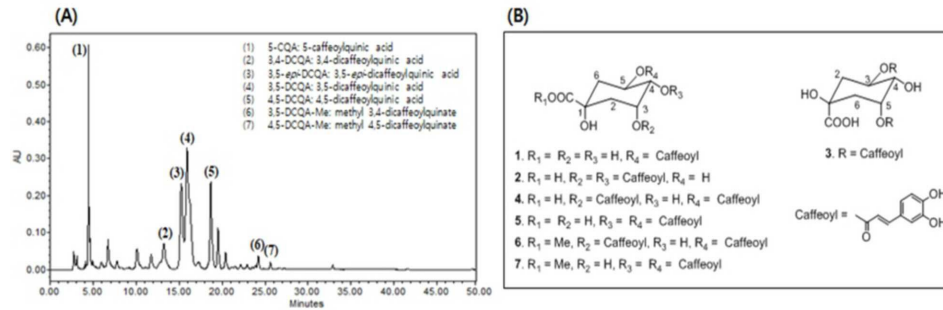
	회복율(%)			
	1일	3일	4일	7일
제형예 (피부의용제 조성물)	48.5	69	83.2	95.3
비교 제형예 (비교예)	28.9	51.3	68.4	82.5

이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할

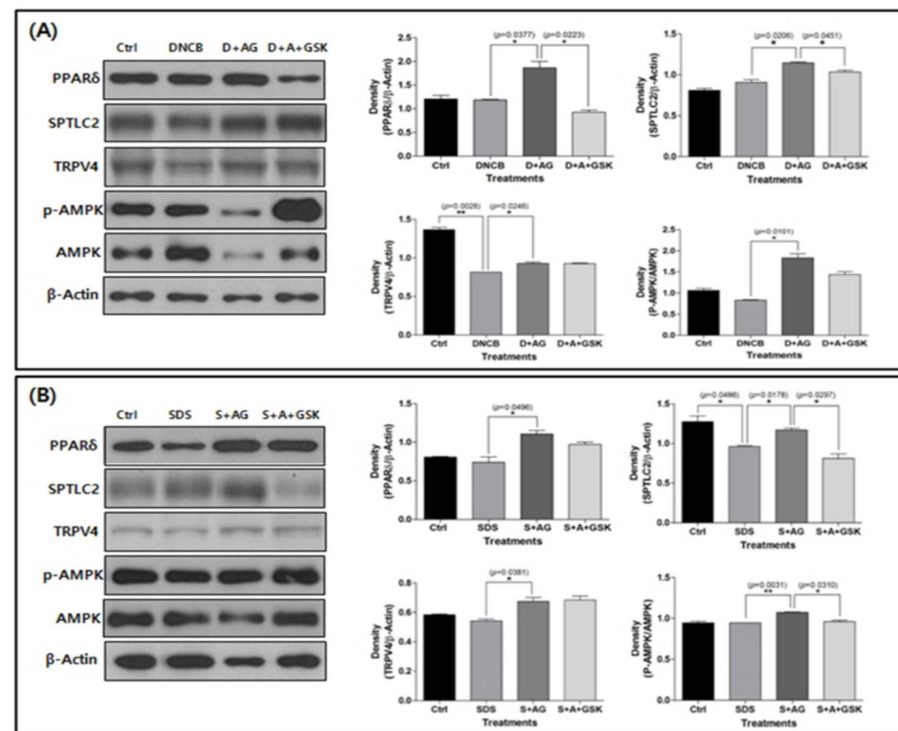
것이다.

도면

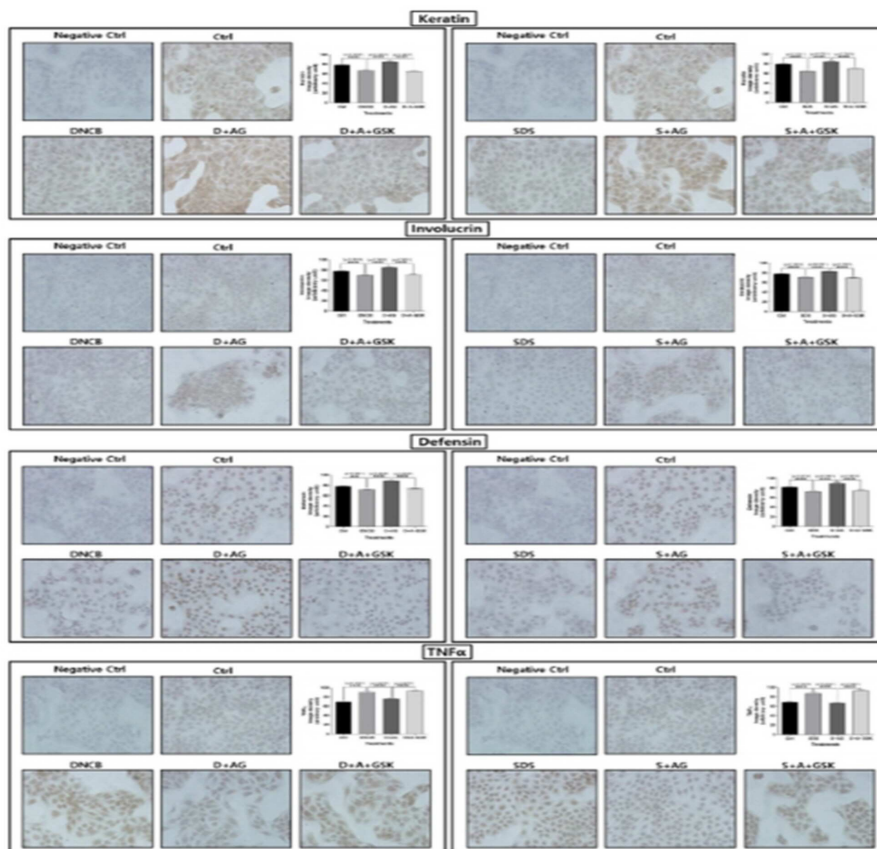
도면1



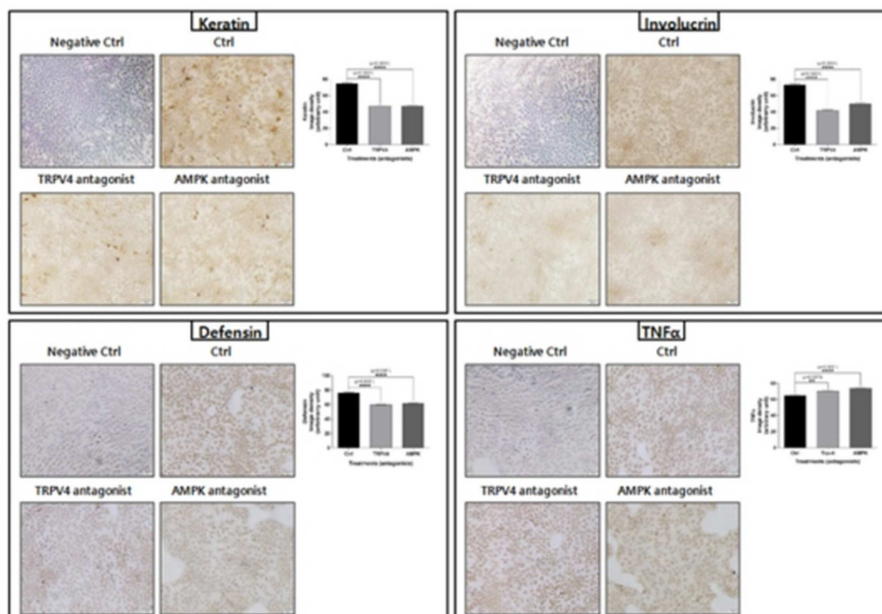
도면2



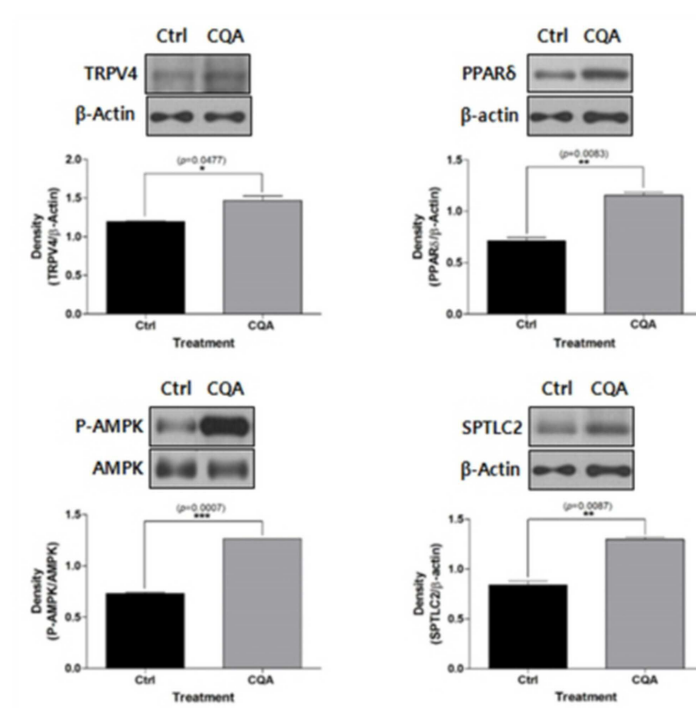
도면3



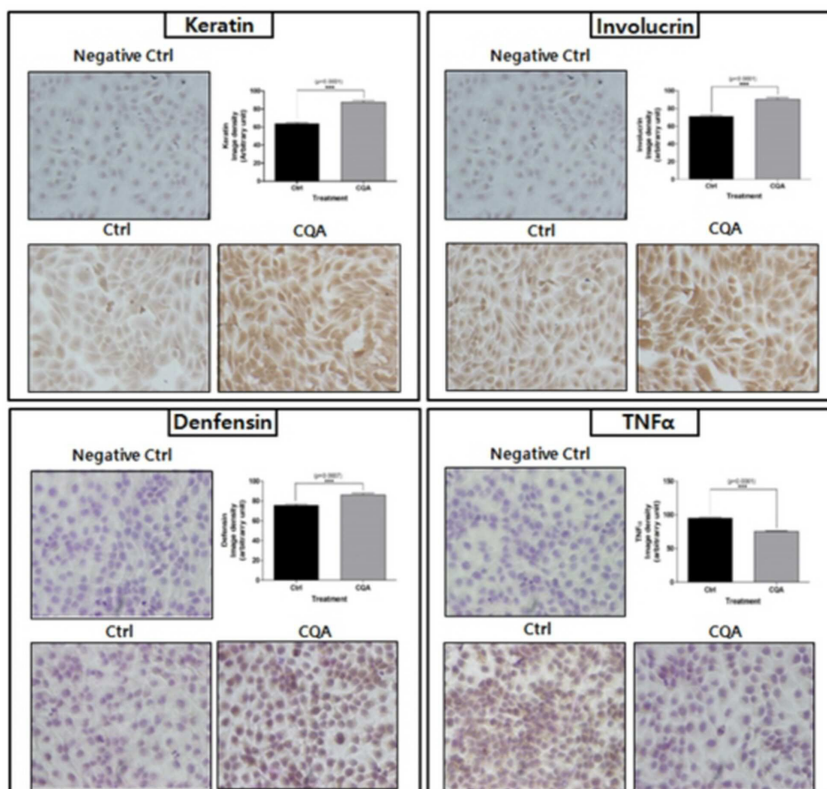
도면4



도면5



도면6



도면7

