(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0113026
(43) 공개일자 2011년10월14일

(51) Int. Cl.
A61K 8/99 (2006.01) *A61K 8/30* (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0032339
(22) 출원일자 2010년04월08일
심사청구일자 2010년04월08일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제캠퍼스내
(72) 발명자
정대균
경기도 수원시 팔달구 우만동 월드메르디앙아파트 112동 2703호
이혜영
서울특별시 관악구 낙성대동 1629-2 동아타운아파트 508호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 13 항

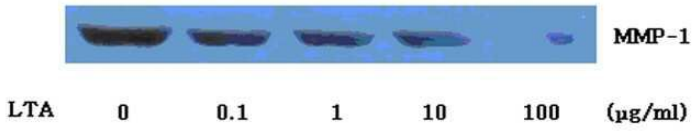
(54) 피부노화 억제용 조성물

(57) 요 약

본 발명은 리포테이코익산을 함유하는 피부노화 억제 및 피부주름생성 억제용 조성물에 관한 것이다. 리포테이코익산은 피부에 자극이 없고 안전하여 화장료, 약제, 피부 외용제 및 건강기능식품에 사용할 수 있다.

본 발명에 따른 리포테이코익산을 포함하는 조성물은 활성 산소의 생성을 억제하고 콜라겐 분해 효소인 MMP-1의 합성을 억제함으로써 피부의 노화와 주름 생성을 방지하는 효능을 가진다. 또한 리포테이코익산은 천연 물질로서 신체에 적용 시 부작용이나 안전성에 대한 위험이 없고 안전하다.

대 표 도 - 도5



(72) 발명자

김한근

경기도 수원시 팔달구 매교동 179-40

김태락

경기도 수원시 영통구 영통동 956-2 청명마을 대우아파트 305동 1003호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 M102KK010016-08K1101-01650 (2009K000716)

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관

연구사업명 미생물유전체활용기술개발사업

연구과제명 비만세포 조절 유산균 및 lipoteichoic acid (LTA)의 기작 규명 및 유전체 활용 연구

기여율

주관기관 (주)RNA

연구기간 2008년 5월 1일 ~ 2011년 4월 1일

특허청구의 범위

청구항 1

리포테이코익산(Lipoteichoic acid)을 함유하는 피부노화 억제용 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

피부노화 억제는 피부주름생성 억제에 의한 것인 피부노화 억제용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 리포테이코익산은 유산균으로부터 추출한 것인 피부노화 억제용 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 유산균은 락토바실러스(*Lactobacillus sp.*), 락토코커스(*Lactococcus sp.*), 스트렙토코커스(*Streptococcus sp.*) 및 루코노스톡(Leuconostoc sp.) 속으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 유산균인 피부노화 억제용 조성물.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 유산균은 락토바실러스 플랜타럼(*Lactobacillus plantarum*), 락토바실러스 사케이(*Lactobacillus sakei*), 락토바실러스 액시도필러스(*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 가세리(*Lactobacillus gasseri*), 락토바실러스 크레모리스(*Lactobacillus cremoris*), 락토바실러스 헬베티커스(*Lactobacillus helveticus*), 락토바실러스 카제이(*Lactobacillus casei*), 락토바실러스 람너서스(*Lactobacillus rhamnosus*), 락토바실러스 델브루키(*Lactobacillus delbrueckii*), 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*), 락토바실러스 파라플랜타럼(*Lactobacillus paraplantarum*), 락토바실러스 불가리커스(*Lactobacillus bulgaricus*), 락토코커스 락티스(*Lactococcus lactis*), 스트렙토코커스 써모필러스(*Streptococcus thermophilus*) 및 루코노스탁 메센테로이드(*Leuconostoc mesemteroide*)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 유산균인 피부노화 억제용 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 리포테이코익산은 조성물 총 중량에 대하여 0.001~30 중량%로 포함되는 것인 피부노화 억제용 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 화장료 조성물인 피부노화 억제용 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 화장료의 제형은 화장수, 에센스, 로션, 젤, 영양 크림, 패치, 마스크시트, 마사지 크림, 립스틱, 파운데이션 또는 파우더인 피부노화 억제용 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 약학 조성물인 피부노화 억제용 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 약학 조성물 내에서 리포테이코익산은 1일 투여량이 0.0001 내지 100 mg/kg 인 피부노화 억제용 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 조성물을 포함하는 피부노화 억제용 피부 외용제.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 피부 외용제의 제형은 크림, 젤, 연고, 액체, 파우더 또는 분무제인 피부노화 억제용 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 조성물을 포함하는 피부노화 억제용 건강기능식품.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 리포테이코익산을 포함하는 피부노화 억제용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 피부는 외부 환경에 직접 노출되어 각종 오염물질이나 온도 및 습도 변화, 자외선 등의 물리적, 화학적 자극을 받는다. 이로 인해 활성 산소와 자유 라디컬이 생성되어 세포의 활성이 저하되고 노화가 촉진된다. 활성 산소는 대사 과정에서 발생하는 부산물로서 자외선을 비롯한 각종 자극에 의해 그 생성이 급격히 증가하며 세포 구조를 손상시키고 노화를 일으키는 주요한 원인 중 하나로 알려져 있다. 뿐만 아니라 내부적으로는 나이가 들어감에 따라 신진대사 능력이 떨어지고 단백질 손상이 일어나며 각종 효소 및 피부 탄력 섬유의 붕괴의 촉진이 일어난다. 이러한 외적, 내적 요인들로 인해 피부의 각질 형성 세포의 턴오버가 감소하여 각질층이 누적되어 두꺼워지고, 세포의 대사 활성이 저하되며, 구조적으로나 기능적으로 손상을 입는다. 따라서 피부 노화가 더욱 촉진되고, 주름이 생성된다.

[0003] 피부주름 생성을 억제시키고 각종 노화반응을 억제하기 위해 다양한 소재들에 대한 연구가 이루어지고 있다. 그 대표적인 예로서 주름개선용 화장료에 주로 쓰이는 비타민 A 유도체인 레티놀과 비타민 C 유도체, 호르몬제 등을 들 수 있다. 그러나 이들은 불안정하고 쉽게 분해되는 단점이 있다. 특히 비타민 A 유도체는 안정성이 낮고 자극적이라는 단점이 있으며, 비타민 A 유도체 이외의 소재들은 주름개선 효과가 미약하다는 문제점이 있다.

[0004] 따라서 노화방지 및 주름개선 효과가 우수할 뿐만 아니라 안정성이 높고 생체친화적이어서 피부에 자극이 없고 부작용이 없는 소재의 개발이 필요한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 피부주름생성을 억제하여 피부노화를 방지할 뿐만 아니라 피부에 자극이 없고 안전하게 이용할 수 있는 화장료, 약제, 피부 외용제 및 건강기능식품을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0006] 상기 과제를 해결하기 위하여 본 발명은 리포테이코익산을 포함하는 피부노화 억제용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0007] 본 발명에 따른 리포테이코익산을 포함하는 조성물은 활성 산소의 생성을 억제하고 콜라겐 분해 효소인 MMP-1의

합성을 억제함으로써 피부의 노화를 억제하며, 특히 주름 생성을 억제하는 효능을 가진다. 리포테이코익산은 천연 물질로서 피부에 자극이 없고 신체에 적용 시 부작용이나 안전성에 대한 위험이 없고 안전하여 화장료, 약제, 피부 외용제 및 건강기능식품에 유용하게 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0008] 도 1 은 유산균 파쇄액의 제조 방법을 도식화한 것이다.

도 2 는 유산균 파쇄액 중 세포벽 성분인 리포테이코익산의 제조 방법을 도식화한 것이다.

도 3 은 유산균 파쇄액의 세포 안정성 시험 결과를 나타내는 그림이다.

도 4 는 유산균 파쇄액이 섬유 아세포에서 콜라겐 분해 효소인 MMP-1의 생성을 저해하는 효과를 나타내는 그림이다.

도 5 는 유산균 파쇄액 중 세포벽 성분인 리포테이코익산이 콜라겐 분해 효소인 MMP-1의 생성을 저해하는 효과를 나타내는 그림이다.

도 6 은 유산균 파쇄액 중 세포벽 성분인 리포테이코익산이 활성 산소의 생성을 억제하는 효과를 나타내는 그림이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0009] 본 발명은 리포테이코익산(Lipoteichoic acid, LTA)를 포함하는 피부노화 억제용 조성물을 제공한다.

[0010] 리포테이코익산은 글루코스 또는 D-알라닌 치환체를 갖는 폴리인산글리세롤 및 당 단위와 지방산 사슬을 포함하는 당지질 구조체로 이루어진 물질로서 그람양성균의 세포벽 성분 중 하나이다. 본 발명자들은 유산균 파쇄액이 콜라겐 분해 효소인 MMP-1의 합성을 억제하는 효과가 있음을 보고, 유산균 파쇄액 중 유산균의 세포벽 성분인 리포테이코익산이 MMP-1의 합성을 억제하고 활성 산소의 생성을 저해함으로써 피부노화를 억제하는 효과가 있음을 확인하였다.

[0011] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 피부노화 억제는 특히 피부주름생성을 억제함으로써 이루어질 수 있다. 하기 실험예에 따르면 리포테이코익산은 콜라겐 분해 효소인 MMP-1의 합성을 억제하였다. MMP-1은 세포외 기질인 콜라겐을 분해하는 효소, 즉 콜라게네이즈(collagenase)로서 콜라겐 타입 I 을 분해한다. MMP-1의 발현이 유도되면, 콜라겐 합성이 감소하고 분해가 촉진되어 주름이 발생한다. 따라서 MMP-1의 합성이 억제되면 콜라겐의 분해가 억제되고 콜라겐 합성이 촉진됨으로써 주름의 형성을 억제할 수 있다. 본 발명에 따른 리포테이코익산은 MMP-1의 합성을 억제하여 콜라겐 분해를 억제함으로써 피부주름생성을 억제할 수 있고 이를 통해 피부노화를 억제할 수 있다.

[0012] 본 발명의 다른 구체예에 따르면, 상기 리포테이코익산은 이에 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 유산균으로부터 추출한 것일 수 있다. 그러나 리포테이코익산은 유산균 이외의 다른 균주로부터 추출할 수도 있으며, 또한 일반적인 화학적 합성 방법에 의해서 합성할 수도 있다.

[0013] 상기 유산균의 종류는 특별히 제한되는 것은 아니지만, 예를 들어 락토바실러스(*Lactobacillus sp.*), 락토코커스(*Lactococcus sp.*), 스트렙토코커스(*Streptococcus sp.*) 및 루코노스톡(Leuconostoc sp.) 속으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 유산균일 수 있다. 더욱 구체적으로는 락토바실러스 플랜타럼(*Lactobacillus plantarum*), 락토바실러스 사케이(*Lactobacillus sakei*), 락토바실러스 액시도필러스(*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 가세리(*Lactobacillus gasseri*), 락토바실러스 크레모리스(*Lactobacillus cremoris*), 락토바실러스 헬베티커스(*Lactobacillus helveticus*), 락토바실러스 카제이(*Lactobacillus casei*), 락토바실러스 람너서스(*Lactobacillus rhamnosus*), 락토바실러스 델브루키(*Lactobacillus delbrueckii*), 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*), 락토바실러스 파라플랜타럼(*Lactobacillus paraplantarum*), 락토바실러스 불가리커스(*Lactobacillus bulgaricus*), 락토코커스 락티스(*Lactococcus lactis*), 스트렙토코커스 써모필러스(*Streptococcus thermophilus*) 및 루코노스탁 메센테로이드(*Leuconostoc mesemteroide*)로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 유산균일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0014] 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 리포테이코익산은 조성물 총 중량에 대하여 0.001~30 중량%, 0.001~ 20 중량%, 0.001~10 중량%, 0.01~30 중량%, 0.01~ 20 중량%, 0.01~10 중량%, 0.1~30 중량%, 0.1~20 중량% 또는 0.1~10 중량%로 포함될 수 있다.

[0015] 본 발명의 또 다른 구체예에서, 리포테이코익산을 포함하는 피부노화 억제용 조성물은 화장료 조성물 또는 약학 조성물일 수 있다. 상기 조성물은 리포테이코익산 이외에도 피부노화 억제 및 피부주름생성 억제에 유해한 효과를 끼치지 않는 한, 공지된 피부노화 억제 및 피부주름생성 억제 효과를 갖는 활성 물질을 추가로 포함할 수 있다. 이러한 활성물질은, 이에 한정되는 것은 아니지만 예를 들어 레티놀, 레티놀 유도체, 토코페롤, 토코페롤 유도체, 7-데히드록시콜레스테롤, 우르솔산, 2-데옥시아데노신 등이 있다.

[0016] 하기 실험예에 따르면 본 발명에 따른 리포테이코익산을 포함하는 유산균 파쇄액을 이용하여 세포 안정성 실험을 실시한 결과 세포에 안전한 물질로 판정되었다([실험예 1]). 따라서 리포테이코익산을 포함하는 피부노화 억제용 조성물은 피부 외용제, 화장료, 의약 또는 건강기능식품으로의 사용이 적합하다.

[0017] 본 발명의 일실시예에 따르면, 상기 조성물을 피부 노화억제 및 피부 주름생성 억제용 화장료 조성물로 사용할 수 있다. 이 경우 화장료의 제형은 이에 한정되는 것은 아니지만 예를 들어 화장수, 에센스, 로션, 젤, 영양 크림, 패치, 마스크시트, 마사지 크림, 립스틱, 파운데이션 또는 파우더일 수 있다.

[0018] 또한 화장료로 사용시 리포테이코익산과 더불어 화장료의 제형에 맞게 통상 사용되는 첨가제, 예를 들어, 정제수, 보습제, 유분, 계면활성제, 고급 알코올, 중저점제, 킬레이트제, 색소, 지방산, 산화방지제, 방부제, 왁스, pH조절제 및 향료 등으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 첨가제를 추가로 포함할 수 있다.

[0019] 상기 보습제로는 글리세린, 프로필렌 글라이콜, 부틸렌 글라이콜, 헥실렌 글라이콜, 디글리세린, 솔비톨, 베타인, 글리세레스-26 등이 사용될 수 있다.

[0020] 상기 유분으로는 미네랄오일, 사이클로메치콘, 스쿠알란, 옥틸도데실 미리스테이트, 올리브오일, 마카다미아 너트오일, 글리세릴 옥타노에이트, 캐스터오일, 에칠헥실 이소노나노에이트, 디메치콘, 사이크로펜타실록산, 선플라워씨드오일 등이 사용될 수 있다.

[0021] 상기 계면활성제로는 소르비탄세스퀴놀리에이트, 폴리솔베이트 60, 글리세릴 스테아레이트, 친유형 글리세릴스테아레이트, 소르비탄 올리에이트, 소르비탄 스테아레이트, 디에이-세틸포스페이트, 소르비탄스테아레이트/슈크로스코코에이트, 글리세릴스테아레이트/폴리에틸렌글라이콜-100 스테아레이트, 세테아레스-6 올리베이트, 라키딜알코올/베헤닐알코올/아라키딜 글루코사이드, 폴리프로필렌글라이콜-26-부테스-26/폴리에틸렌글라이콜-40 하이드로제네이티드 캐스터오일 등이 사용될 수 있다.

[0022] 상기 고급 알코올로는 세틸알코올, 스테아릴 알코올, 옥틸도데칸올, 이소스테아릴 알코올 등이 사용될 수 있다.

[0023] 상기 중저점제로는 산탄검, 카보머, 마그네슘알루미늄실리케이트, 셀룰로오스검, 덱스트린 팔미테이트 등이 사용될 수 있다.

[0024] 상기 킬레이트제로는 디소듐이디티에이, 테트라소듐이디티에이 등이 사용될 수 있다.

[0025] 상기 색소로는 청색1호, 적색40호, 황색4호, 황색 5호 등이 사용될 수 있다.

[0026] 상기 지방산으로는 스테아릴애씨드, 미리스틱애씨드, 팔미틱애씨드, 이소스테아릭애씨드, 라우릭애씨드 등이 사용될 수 있다.

[0027] 상기 산화방지제로는 토코페릴아세테이드, 부틸레이티드하이드록시톨루엔 등이 사용될 수 있다.

[0028] 상기 방부제로는 메칠파라벤, 부틸파라벤, 프로필파라벤, 페녹시에탄올, 이미다졸리디닐우레아, 클로르페네신등이 사용될 수 있다.

[0029] 상기 왁스로는 카나우바왁스, 칸데닐라왁스, 밀납, 경납 등이 사용될 수 있다.

[0030] 상기 pH조절제로는 트리에탄올아민, 씨트릭애씨드 등이 사용될 수 있다.

[0031] 상기 향료로는 천연향료, 조합향료 등이 사용될 수 있다.

[0032] 본 발명의 피부노화 억제용 화장료 조성물은, 화장료 조성물 총 중량에 대하여 상기 리포테이코익산을 0.001~30 중량%, 0.001~ 20 중량%, 0.001~10 중량%, 0.01~30 중량%, 0.01~ 20 중량%, 0.01~10 중량%, 0.1~30 중량%, 0.1~20 중량% 또는 0.1~10 중량%로 포함될 수 있다. 그러나 상기와 같은 조성은 반드시 이에 한정되는 것은 아니고, 적용 대상자의 상태 및 진행 정도에 따라 변할 수 있다.

[0033] 또한 본 발명의 일실시예에 따르면, 상기 조성물을 피부노화 억제 및 피부 주름생성 억제용 약학 조성물로 사용할 수 있다.

[0034] 본 발명에 따른 리포테이코익산은 하기 실시예를 통하여 알 수 있듯이, 활성 산소의 생성 억제 및 콜라겐 분해 효소인 MMP-1의 합성 억제를 통하여 피부노화 억제 및 피부주름생성 억제 효과를 갖는다. 따라서 본 발명은 리포테이코익산의 피부노화 및 피부주름생성 예방 및 치료 용도 및 치료상 유효량의 리포테이코익산을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 피부노화 및 피부주름생성의 예방 및 치료 방법을 제공한다.

[0035] 상기 약제는, 이에 한정되는 것은 아니지만 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 파우더, 젤, 연고, 크림 등의 외용제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0036] 본 발명에 따라 리포테이코익산을 포함하는 피부노화 억제 및 피부주름생성 억제용 조성물을 약제로 사용하는 경우, 상기 조성물은 약제의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 항생제, 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있다.

[0037] 구체적으로 담체, 부형제 또는 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피를리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 로필히드록시벤조에티트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 사용할 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제할 수 있다.

[0038] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제할 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용할 수 있다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 있으며 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[0039] 본 발명에 따라 리포테이코익산을 포함하는 피부노화 억제 및 피부주름생성 억제용 조성물을 약제로 사용할 때, 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 달라질 수 있으며 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 리포테이코익산은 1일 0.0001~100 mg/kg, 0.001~100 mg/kg, 0.01~100 mg/kg 또는 0.1~100 mg/kg 으로 투여하는 것이 바람직하다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0040] 본 발명에 있어서, '대상체'는 인간을 포함하는 포유동물일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니며 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 정맥, 근육 또는 피하 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0041] 또한 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 피부노화 억제용 피부 외용제를 제공한다.

[0042] 피부 외용제란 피부 상에 도포하여 사용하는 제제를 의미하는 것으로서, 화장료 또는 약제의 한 형태일 수 있다. 이 경우 피부 외용제의 제형은 크림, 젤, 연고, 액체, 파우더 또는 분무제일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명에 따른 피부 외용제의 경우, 바람직한 효과를 위해서 리포테이코익산이 전체 피부 외용제 총 중량에 대하여 0.001~30 중량%, 0.001~ 20 중량%, 0.001~10 중량%, 0.01~30 중량%, 0.01~ 20 중량%, 0.01~10 중량%, 0.1~30 중량%, 0.1~20 중량% 또는 0.1~10 중량%로 포함될 수 있다.

[0043] 또한 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 피부노화 억제용 건강기능식품을 제공한다.

[0044] 상기 건강기능식품의 제형은 이에 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 고형, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 액상 형태일 수 있다.

[0045] 본 발명에 따른 리포테이코익산을 함유하는 피부노화 억제용 조성물을 첨가할 수 있는 건강기능식품으로는 이에 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강 기능성 식품류 등이 있다.

[0046] 리포테이코익산을 함유하는 피부노화 억제용 조성물을 건강기능식품의 제조에 사용할 경우에 상기 리포테이코익산의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%, 또는 0.1 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 음료의 제조에 사

용할 경우에 상기 리포테이코익산의 양은 전체 음료 100 ㎖를 기준으로 0.02 내지 5.00g, 또는 0.3 내지 1.0g의 비율로 가할 수 있다.

[0047] 본 발명에 따른 리포테이코익산을 함유하는 피부노화 억제용 조성물을 건강기능식품으로 사용할 때, 필수 성분으로서 상기 조성물을 함유하는 것 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상 첨가할 수 있는 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

[0048] 상기 천연 탄수화물의 예로는 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 당알콜 등이 있다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 이에 제한되는 것은 아니지만 본 발명의 조성물 100 ㎖당 일반적으로 약 1~20g, 바람직하게는 약 5~12g의 비율로 포함될 수 있다.

[0049] 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, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일 쥬스 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있으며, 이러한 첨가제의 비율은 특별히 제한되지 않는다.

[0050] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0051] **[실시예 1] 유산균 파쇄액의 제조**

[0052] 배양액을 제조하기 위해서 유산균 증식배지인 락토바실러스 MRS 액체 배지를 15ml 튜브에 5ml 씩 담아 뚜껑으로 막은 후, 121℃에서 15분간 멸균하였다. 멸균된 배지에 MRS 고체배지에서 배양된 15종의 유산균, 락토바실러스 플랜타럼(Lactobacillus plantarum), 락토바실러스 사케이(Lactobacillus sakei), 락토바실러스 액시도필러스(Lactobacillus acidophilus), 락토바실러스 가세리(Lactobacillus gasseri), 락토바실러스 크레모리스(Lactobacillus cremoris), 락토바실러스 헬베티커스(Lactobacillus helveticus), 락토바실러스 카제이(Lactobacillus casei), 락토바실러스 람너서스(Lactobacillus rhamnosus), 락토바실러스 델브루키(Lactobacillus delbrukei), 락토바실러스 파라카제이(Lactobacillus paracasei), 락토바실러스 파라플랜타럼(Lactobacillus paraplantarum), 락토바실러스 불가리커스(Lactobacillus bulgaricus), 락토코커스 락티스(Lactococcus lactis), 스트렙토코커스 써모필러스(Streptococcus thermophilus), 루코노스탁 메센테로이드(Leuconostoc mesemteroide)를 콜로니 형태로 각각 접종하였다. 37℃ 항온기에서 24시간 동안 배양한 액을 동일한 멸균 배지에 2%(v/v)를 접종한 뒤, 전 단계와 같은 조건으로 배양하였다. 배양액을 대량으로 얻기 위해, 2L 삼각플라스크에 동일한 멸균 배지 1L를 담아 상기와 같은 조건으로 멸균하였고 2%(v/v)으로 접종한 뒤, 산소 존재 하에 30℃ 항온기에서 48시간 배양하여 배양물을 획득하였다. 이의 배양액 1L를 4℃에서 7,500rpm으로 10분간 원심분리하여 균체를 획득하였다.

[0053] 멸균수로 2회 세척한 후, 멸균수 50ml을 첨가하여 현탁하고(suspension), 그 중 20ml만 취하여 동량의 글라스 비드(glass bead)를 넣어 30분간 볼텍스(vortex)하여 파쇄하였다. 여기서 얻어진 파쇄물을 상기와 같은 방법으로 다시 한번 원심분리하여 세포 침전물(cell debris)은 제거하고, 상등액을 최종적인 유산균 파쇄물로 획득하였다.

[0054] 도 1은 상기 유산균 파쇄액의 제조 과정을 도식화하여 나타낸 그림이다.

[0055] **[실시예 2] 유산균 유래 리포테이코익산의 제조**

[0056] 배양액을 제조하기 위해서 유산균 증식배지인 락토바실러스 MRS 액체 배지를 121℃에서 15분간 멸균하고, 배지 5ml에 유산균을 접종하여 37℃ 항온기에서 24시간 동안 배양하였다. 배양액을 대량으로 얻기 위하여 배지 500ml, 10L로 48시간 계대배양하여 배양물을 획득하였다. 이의 배양액 10L를 4℃에서 7,500rpm으로 10분간 원

심분리하여 균체를 획득하였다. 획득한 균체는 주사용수 450ml를 넣어 현탁한 뒤, 0.1M 구연산나트륨 (pH 4.0) 50ml을 넣어 초음파분해(sonication)를 2시간 동안 수행하여 세포를 파쇄하였다.

[0057] 상기 세포 파쇄물에서 단백질을 제거하기 위하여 부탄올 추출(butanol extraction)을 실시하였다. 세포 파쇄물 500ml 과 동일 부피(500ml)의 부탄올을 넣고 30분간 섞은 뒤, 4℃에서 7000rpm으로 15분간 원심분리하여 상층액은 버리고 침전물만 획득하였다. 이렇게 획득한 침전물의 부피와 동일한 부피의 부탄올을 넣고 위와 같은 추출을 최소 4회 반복하였다.

[0058] 단백질이 제거된 세포 파쇄물을 24시간 정도 동결 건조하였다. 동결 건조 후 주사용수 50ml을 넣어 녹인 뒤, 투석막(dialysis membrane)에 넣고 투석하였다. 이 때 막의 구멍(pore) 크기는 1000 달톤이며, 3차 증류수에서 60시간 이상 배양하고, 3차 증류수는 10시간 마다 교환해 주었다. 투석을 마친 샘플은 옥틸 크로마토그래피(Octyl chromatography)와 인산염 분석(phosphate assay)을 통해 리포테이코익산이 가진 인산염기를 잡음으로써 리포테이코익산을 분리하였다.

[0059] 분리된 리포테이코익산에 남아 있는 버퍼 성분을 없애기 위해, 위와 같은 조건으로 투석하였다. 그 후, 동결 건조하여 부피를 줄이고 원하는 농도가 되도록 주사용수를 이용하여 녹였다.

[0060] 도 2는 상기 유산균 유래 리포테이코익산의 제조 과정을 도식화하여 나타낸 그림이다.

[0061] **[실험예 1] 유산균 파쇄액의 세포 안정성 시험**

[0062] 유산균 파쇄액의 세포 안정성 여부를 알아보기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0063] 인간 유래 섬유 아세포 (Fibroblast)를 페니실린(100 IU/ml), 스트렙토마이신 (100g/ml), 10% FBS를 함유하는 DMEM 배지에 넣고 5% 이산화탄소를 포함하는 37℃ 배양기에서 배양하였다. 배양한 각질 형성 세포를 96웰 플레이트에 1 X 10^4cells/ml로 접종 (seeding)하여 1일 배양하였다. 배양 후 배지를 제거한 다음, 유산균 파쇄액을 10 ㎍/ml과 100 ㎍/ml의 농도로 첨가한 DMEM 배지를 첨가하여 20시간 배양하였다. 각 처리군에 WST-1 용액을 10 ㎕ 씩 첨가한 후 배양기에서 30분간 배양하였다. 그 후 microplate-reader 기계를 이용하여 450~590nm에서의 흡광도를 측정하여 값을 나타내었다.

[0064] 도 3 은 유산균 파쇄액이 세포에 사용하기에 안전한지를 WST-1 세포 증식 어세이를 이용하여 확인한 결과이다. 유산균 파쇄액을 처리하지 않은 대조군에서 나타난 세포 생존도와 각 유산균 처리군에서 나타난 세포 생존도가 거의 100%로서, 유산균 처리에 의한 세포손상이 없는 것으로 나타났다.

[0065] **[실험예 2] 유산균 파쇄액의 콜라게네이즈 발현 저해 효과**

[0066] 유산균 파쇄액의 콜라겐 분해 효소(MMP-1) 발현 저해 효과를 알아보기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0067] 인간 유래 섬유 아세포 (Fibroblast)를 페니실린(100 IU/ml), 스트렙토마이신 (100g/ml), 10% FBS를 함유하는 DMEM 배지에 넣고 5% 이산화탄소를 포함하는 37℃ 배양기에서 배양하였다. 배양한 섬유 아세포를 96웰 플레이트에 1 X 10^4 cells/ml로 접종하여 1일 배양하였다. 배양 후 배지를 제거한 다음, 유산균 파쇄액을 10 ㎍/ml와 100 ㎍/ml의 농도로 첨가한 DMEM 배지를 첨가하여 20시간 배양하였다. 그 후 콜라겐 분해 효소 MMP-1의 발현을 유도하기 위하여 배지를 제거한 후 DPBS를 넣고 UV-B를 75mJ로 조사하였다. 24시간 배양 후, 배지를 수거하였다. Bradford 어세이를 통하여 총 단백질량을 정량한 후, 각 처리군의 총 단백질량을 보정하여 웨스턴 블랏용 시료를 제조하였다. 준비한 시료는 10% SDS-PAGE에서 단백질의 크기에 따라 분리되었고, 이를 멤브레인으로 옮겨 항체를 사용하여 엑스레이 필름에서 가시화시켰다.

[0068] 도 4 는 유산균 파쇄액이 섬유 아세포에서 콜라겐 분해 효소 MMP-1의 생성 저해 효과를 보여주는 결과이다. 대조군에 비해 각 유산균 파쇄액을 처리한 경우에 MMP-1의 생성이 현저하게 저해되었음을 알 수 있다.

[0069] **[실험예 3] 리포테이코익산의 콜라게네이즈 발현 저해 효과**

[0070] 유산균 파쇄액 중 세포벽 성분인 리포테이코익산의 콜라겐 분해 효소(MMP-1) 발현 저해 효과를 알아보기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0071] 인간 유래 섬유 아세포 (Fibroblast)를 페니실린(100 IU/ml), 스트렙토마이신 (100g/ml), 10% FBS를 함유하는 DMEM 배지에 넣고 5% 이산화탄소를 포함하는 37℃ 배양기에서 배양하였다. 배양한 섬유 아세포를 96웰 플레이트에 1 X 10^4 cells/ml로 접종하여 1일 배양하였다. 배양 후 배지를 제거한 다음, 유산균의 리포테이코익산을 0.1, 1, 10, 100 ㎍/ml의 농도로 첨가한 DMEM 배지를 첨가하여 20시간 배양하였다. 그 후, 콜라겐 분해 효소인 MMP-1의 발현을 유도하기 위하여, 배지를 제거한 후 DPBS를 넣고, UV-B를 75mJ로 조사하였다. 24시간 배양 후, 배지를 수거하였다. Bradford 어세이를 통하여 총 단백질량을 정량한 후, 각 처리군의 총 단백질량을 보정하여 웨스턴 블랏용 시료를 제조하였다. 준비한 시료는 10% SDS-PAGE에서 단백질의 크기에 따라 분리되었고, 이는 멤브레인으로 옮겨, 항체를 사용하여 엑스레이 필름에서 가시화시켰다.

[0072] 도 5 는 리포테이코익산이 섬유 아세포에서 콜라겐 분해 효소 MMP-1의 생성을 저해하는 효과를 보여주는 결과이다. 대조군에 비해 리포테이코익산을 처리한 경우에 농도 의존적으로 MMP-1의 생성이 저해됨을 알 수 있다.

[0073] **[실험예 4] 리포테이코익산의 활성 산소(ROS) 생성 저해 효과**

[0074] 유산균 파쇄액 중 세포벽 성분인 리포테이코익산의 활성 산소 (ROS) 생성 저해 효과를 알아보기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0075] 인간 유래 섬유아세포를 페니실린(100 IU/ml), 스트렙토마이신 (100g/ml), 10% FBS를 함유하는 DMEM 배지에 넣고 5% 이산화탄소를 포함하는 37℃ 배양기에서 배양하였다. 배양 후 배지를 제거한 다음, 유산균의 리포테이코익산을 100 ㎍/ml의 농도로 첨가한 DMEM 배지를 첨가하여 20시간 배양하였다. 배양 후 배지를 제거한 후, DPBS를 넣고 UV-B를 75mJ로 조사하였다. HBSS에 DCF-DA를 20 μM로 희석하여 세포에 처리한 후, 5% 이산화탄소를 포함하는 37℃ 배양기에서 30분간 배양한 후, 형광 현미경으로 활성 산소 생성 정도를 관찰하였다.

[0076] 도 6 은 리포테이코익산이 활성 산소의 생성을 억제하는 효과를 보여주는 결과이다. 리포테이코익산을 처리하지 않은 대조군에 비해 리포테이코익산을 처리한 경우에 형광량이 감소하여 활성 산소의 생성이 억제됨을 알 수 있다.

[0077] **[제조예 1] 리포테이코익산을 포함하는 화장료**

[0078] A. 리포테이코익산을 함유한 화장수

[0079] a) 유연 화장수

[0080] 리포테이코익산을 함유한 유연 화장수의 제조예는 하기 표 1에 나타낸 바와 같다. 수성 성분에 정제수를 가하고 실온에서 용해시켜 수상을 제조하였다. 리포테이코익산, 유상성분, 유화제, 방부제, 향을 실온에서 용해시킨후, 수상에 첨가하여 혼합하고 여과하였다.

표 1

[0081]

성분	함량 (중량%)
리포테이코익산	0.10
EDTA	0.05
피이지 1500	4.00
카보머	0.16
1,3 부틸렌 글라이콜	3.00
폴리옥시에틸렌 하이드로제네이티드 캐스터오일	0.45
트리에탄올아민	0.12
방부제, 향, 색소	미량
정제수	잔량
합계	100

[0082] b) 수렴 화장수

[0083] 리포테이코익산을 함유한 유연 화장수의 제조예는 하기 표 2에 나타낸 바와 같다. 수성 성분에 정제수를 가하고 실온에서 용해시켜 수상을 제조하였다. 리포테이코익산, 유상성분, 유화제, 방부제, 향에 에탄올을 가하여 실온

에서 용해시켜 알코올 상을 제조한 다음 수상에 첨가하여 혼합하고 여과하였다.

표 2

[0084]

성분	함량 (중량%)
리포테이코익산	0.10
EDTA	0.05
글리세린	2.00
에탄올	7.00
1,3 부틸렌 글라이콜	3.00
폴리옥시에틸렌 하이드로제네이티드 캐스터오일	0.40
방부제, 향, 색소	미량
정제수	잔량
합계	100

[0085] B. 로션

[0086] 리포테이코익산을 함유한 로션의 제조예는 하기 표 3에 나타낸 바와 같다. 수상인 정제수, 트리에탄올 아민, 부틸렌 글라이콜을 70℃로 가열하여 용해시키고, 여기에 유상인 지방산, 유성성분, 유화제 및 방부제를 70℃로 가열하여 용해한 액을 첨가하여 유화시켰다. 유화가 완료된 후 친수성 증점제인 산탄검 2% 용액을 첨가하여 전체에 대해 0.05 중량%가 되도록 조절하였다. 상기 용액을 45℃로 냉각시킨 후, 리포테이코익산, 향 및 색소를 첨가하고 혼합한 다음 30℃로 냉각하였다.

표 3

[0087]

성분	함량 (중량%)
리포테이코익산	0.10
글리세린	3.00
카보머	0.10
산탄검	0.05
1,3 부틸렌 글라이콜	3.00
폴리글리세린-3 메칠글루코스 디스테아레이트일	1.50
글리세린 스테아레이트	0.50
세테아릴 알코올	0.30
호호바 오일	3.00
유동 파라핀	2.00
스쿠알란	3.00
디메치콘	0.50
토코페릴아세테이트	0.20
트리에탄올아민	0.10
방부제, 향, 색소	미량
정제수	잔량
합계	100

[0088] C. 겔

[0089] 리포테이코익산을 함유한 겔의 제조예는 하기 표4에 나타낸 바와 같다.

표 4

[0090]

성분	함량 (중량%)
리포테이코익산	0.10
글리세린	5.00
카보머	0.60
EDTA	0.02
1,3 부틸렌 글라이콜	4.00
하이드록시에틸 셀룰로오스	0.15

트리에탄올 아민	0.50
트리클로산	0.20
에탄올	5.00
폴리옥시 에틸렌 하이드로제네이티드 캐스터오일	4.00
방부제, 향, 색소	미량
정제수	잔량
합계	100

[0091] D.에센스

[0092] 리포테이코익산을 함유한 에센스의 제조예는 하기 표5에 나타낸 바와 같다. 정제수에 점증제를 천천히 교반하면서 가하여 균일하게 분산시켰다. 수상 성분들을 혼합하여 수상을 제조하였다. 유화제, 피부 유연제, 향, 방부제에 에탄올을 가하여 용해시켰다. 수상에 알코올상을 교반하면서 가하고 알칼리제를 첨가하였다. 최종적으로 리포테이코익산과 색소를 첨가하였다.

표 5

[0093]

성분	함량 (중량%)
리포테이코익산	0.10
EDTA	0.05
포타슘-세틸포스페이트	0.30
글리세린	5.00
1,3 부틸렌 글라이콜	4.00
글리세릴스테아레이트/피이지-100 스테아레이트	0.50
소르비탄 스테아레이트	0.30
마카데미아 넛 오일	0.50
호호바 오일	0.50
토코페릴에사테이트	0.50
부틸레이티드하이드록시 톨루엔	0.50
디메치콘	3.00
폴리아크릴아마이드/C13-14 이소파라핀/라우레쓰-7	1.50
글리세릴폴리메타아크릴레이트/프로필렌 글라이콜	5.00
에탄올	3.00
방부제, 향, 색소	미량
정제수	잔량
합계	100

[0094] E. 리포테이코익산을 함유한 크림

[0095] 리포테이코익산을 함유한 영양 크림의 제조예는 하기 표6에 나타낸 바와 같다. 수상인 정제수, 트리에탄올아민, 프로필렌글리콜을 70℃로 가열하고 용해시키고, 여기에 유상인 지방산, 유성성분, 유화제 및 방부제를 70℃로 가열하여 용해한 액을 첨가하여 유화시켰다. 유화가 완료된 후 상기 용액을 45℃로 냉각시키고 리포테이코익산과 향을 첨가하고 분산시킨 다음 30℃로 냉각하였다.

표 6

[0096]

성분	함량 (중량%)
리포테이코익산	0.10~1%
호호바 오일	5.00
유동파라핀	7.00
세틸아릴 알코올	2.00
폴리글리세릴-3 메칠 글루코스 디스테아레이	2.00
글리세릴스테아레이트	0.50
스쿠알란	3.00
프로필렌글리콜	4.00
글리세린	5.00

트리에탄올 아민	0.30
카르복시 비닐폴리머	0.30
토코페릴 아세테이트	0.2
방부제, 향,	미량
정제수	잔량
합계	100

[0097] **[제조예 2] 리포테이코익산을 함유한 건강기능식품의 제조예**

[0098] 리포테이코익산을 함유한 건강기능식품 조성물은 다음 각각의 제제예와 같은 조성으로 통상의 액제 제조방법으로 제조하였다. 최종 부피는 각 액제에 100 ml이다. 본 제제예는 액제 뿐만 아니라 정제, 산제, 과립제 등으로 통상의 제조방법으로 제조가 가능하다.

표 7

[0099]

성분	함량 (중량%)
리포테이코익산	100mg
벌꿀	1500mg
비타민 C	50mg
비타민 B6	10mg
니코틴산아미드	10mg
로얄젤리	80mg
방부제, 향,	미량
정제수	잔량
합계	100mg

[0100] **[제조예 3] 리포테이코익산 함유 약제의 제조**

[0101] 본 발명의 리포테이코익산은 일일 0.1 내지 1000mg의 용량을 약제학적으로 통상으로 사용되는 부형제나 보조제와 혼합하고 통상의 약제학적인 방법으로 경구 또는 비경구로 투여할 수 있는 약학적 제제로 제제화하여 의약품으로 사용될 수 있다. 다음에 제제실시예로서 제제의 제조예를 예시한다.

[0102] **제제실시예 A : 정제의 제조**

[0103] 리포테이코익산 5mg

[0104] 유당 20mg

[0105] 전분 20mg

[0106] 스테아린산 마그네슘 적량

[0107] 상기의 성분을 혼합하고 통상의 정제의 제조방법에 따라서 50mg의 정제로 타정한다.

[0108] **제제실시예 B : 캅셀제의 제조**

[0109] 리포테이코익산 5mg

[0110] 유당 20mg

[0111] 전분 19mg

[0112] 탈크 1mg

[0113] 스테아린산 마그네슘 적량

[0114] 상기 성분을 혼합하고 통상의 캅셀제 제조방법에 따라서 50mg의 젤라틴 캅셀에 충진한다.

[0115] **제제실시예 C : 주사제의 제조**

[0116] 리포테이코익산 5mg

[0117] 용해보조제 적량

[0118] 주사용멸균증류수 적량

[0119] 상기의 성분을 통상이 주사제의 제조방법에 따라서 2ml의 앰플에 충진하고 밀봉한 다음 멸균하여 주사제를 제조한다.

[0120] **제제실시예 D : 시럽제의 제조**

[0121] 리포테이코익산 5mg

[0122] 튄 80 (Tween 80) 적량

[0123] 설탕 5g

[0124] 이성화당 5g

[0125] 정제수 적량

[0126] 전체 50ml

[0127] 상기의 성분을 정제수에 넣고 잘 교반한 다음 50ml의 유리병에 충진하고 멸균하여 시럽제를 제조한다.

[0128] **제제실시예 E : 연고제의 제조**

[0129] 리포테이코익산 5mg

[0130] 디에탄올아민 1.5g

[0131] 폴리비닐피롤리돈 5g

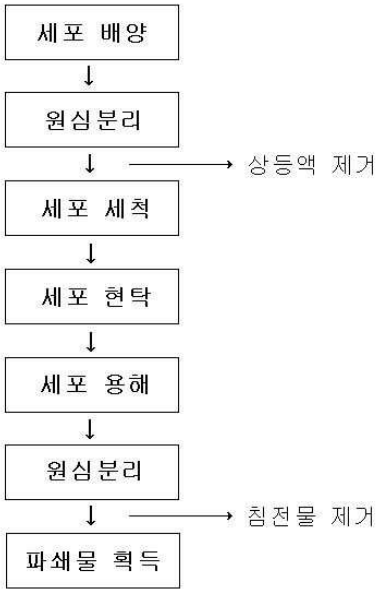
[0132] 프로필렌글리콜 30g

[0133] 증류수를 가하여 전체 100ml로 함

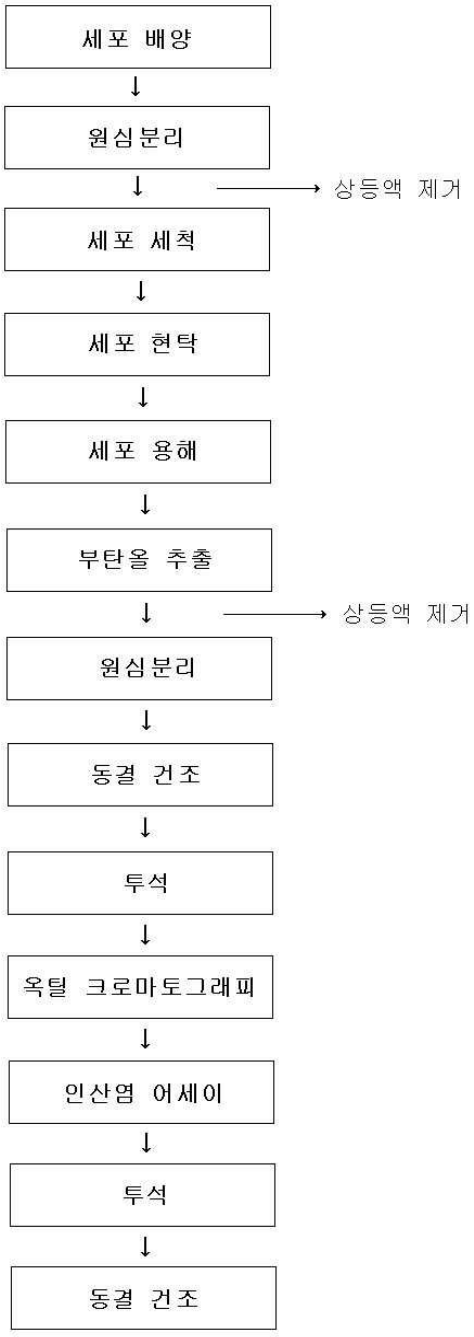
[0134] 상기의 성분을 통상의 연고제의 제조방법에 따라서 연고제를 제조한다.

도면

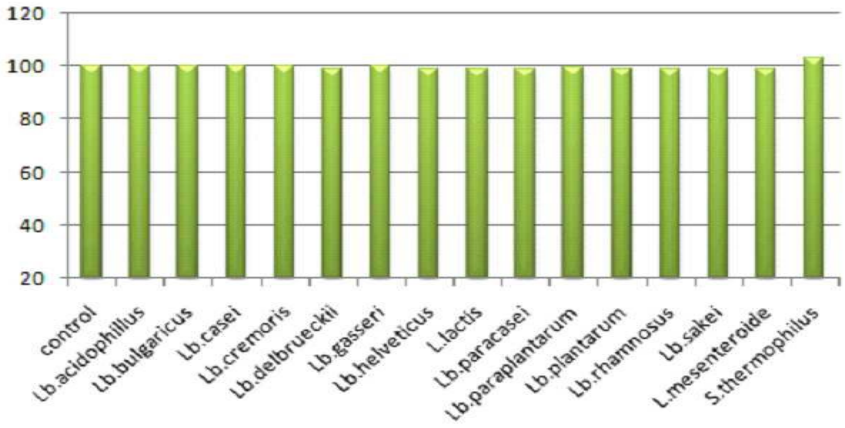
도면1



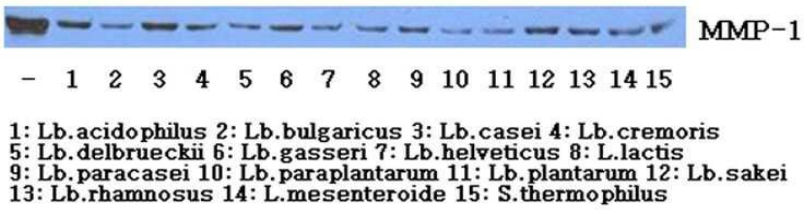
도면2


세포 배양
원심분리
상등액 제거
세포 세척
세포 현탁
세포 용해
부탄올 추출
상등액 제거
원심분리
동결 건조
투석
옥틸 크로마토그래피
인산염 어세이
투석
동결 건조

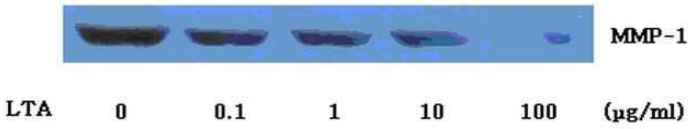
도면3



도면4



도면5



도면6

