



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2017-0025352  
 (43) 공개일자 2017년03월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 36/07* (2006.01) *A23L 1/30* (2006.01)  
*A61K 8/97* (2017.01) *A61Q 19/00* (2006.01)  
 (52) CPC특허분류  
*A61K 36/07* (2013.01)  
*A23L 33/105* (2016.08)  
 (21) 출원번호 10-2015-0121693  
 (22) 출원일자 2015년08월28일  
 심사청구일자 없음

(71) 출원인  
**주식회사 엘지생활건강**  
 서울특별시 종로구 새문안로 58 (신문로2가)  
 (72) 발명자  
**여혜린**  
 대전광역시 유성구 가정로 175 (주)LG생활건강  
 기술연구소  
**김도형**  
 대전광역시 유성구 가정로 175 (주)LG생활건강  
 기술연구소  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
**특허법인다나**

전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **피부 개선용 조성물**

**(57) 요약**

본 발명은 피부 개선용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 잔나비겉상버섯 추출물은 피부줄기세포 증식 촉진 효과, 피부 섬유아세포의 콜라겐 합성 촉진 효과, PPAR 알파의 활성화 우수 효과, 피부 밝기 개선 효과를 통해, 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선용 의약, 화장품 또는 식품 제조에 사용할 수 있다. 또한, 피부줄기세포의 증식을 촉진하고, 줄기세포성 유지 효과를 나타내고 있어 줄기세포 활성화 촉진용 화장품 제조에 사용할 수 있다.

(52) CPC특허분류

*A61K 8/97* (2013.01)

*A61Q 19/00* (2013.01)

*A23V 2200/318* (2013.01)

(72) 발명자

**김효진**

대전광역시 유성구 가정로 175 (주)LG생활건강 기술연구소

**이상화**

대전광역시 유성구 가정로 175 (주)LG생활건강 기술연구소

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

잔나비겉상버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생용 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

잔나비겉상버섯 추출물은 잔나비겉상버섯을 물 및 유기용매로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상으로 추출하여 얻은 추출물인 피부 재생용 조성물.

#### 청구항 3

제2항에 있어서,

유기 용매는 탄소수 1 내지 5의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 또는 아세톤을 포함하는 극성용매; 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산 또는 디클로로헥산을 포함하는 비극성용매; 또는 이들의 혼합용매인 피부 재생용 조성물.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,

조성물은 피부 재생 또는 주름 개선용 의약, 화장품 또는 식품 제조를 위한 것인, 피부 재생용 조성물.

#### 청구항 5

잔나비겉상버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 주름 개선 또는 탄력 증진용 조성물.

#### 청구항 6

제5항에 있어서,

조성물은 피부 탄력 증진용 의약, 화장품 또는 식품 제조를 위한 것인, 피부 주름 개선 또는 탄력 증진용 조성물.

#### 청구항 7

잔나비겉상버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 아토피 개선용 조성물.

#### 청구항 8

제7항에 있어서,

조성물은 아토피 개선용 의약, 화장품 또는 식품 제조를 위한 것인, 아토피 개선용 조성물.

**청구항 9**

잔나비겉상버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부결 개선용 조성물.

**청구항 10**

제9항에 있어서,

조성물은 피부결 개선용 의약, 화장품 또는 식품 제조를 위한 것인, 피부결 개선용 조성물.

**청구항 11**

잔나비겉상버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 줄기세포 활성화 촉진용 조성물.

**청구항 12**

제11항에 있어서,

조성물은 줄기세포 증식 촉진 또는 줄기세포성 유지를 위한 것인, 줄기세포 활성화 촉진용 조성물.

**청구항 13**

제11항에 있어서,

조성물은 줄기세포 활성화 촉진용 화장품 제조를 위한 것인, 줄기세포 활성화 촉진용 조성물.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 피부결 개선, 줄기세포 활성화 촉진 효과를 나타내는 피부 개선용 조성물에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0003] 콜라겐은 피부의 섬유아세포에서 생성되는 주요 기질 단백질로서 세포의 간질에 존재하고, 중요한 기능으로는 피부의 기계적 견고성, 결합조직의 저항력과 조직의 결합력, 세포접착의 지탱, 세포분할과 분화(유기체의 성장 혹은 상처 치유시)의 유도 등이 알려져 있다. 이러한 콜라겐은 연령 및 자외선 조사에 의한 광 노화에 의해 감소하며, 이는 피부의 주름 형성과 밀접한 연관이 있다고 알려져 있다. 또한, 근래에 들어 피부 노화에 대한 광 범위한 연구가 발전되면서 피부에서의 콜라겐의 중요한 기능이 밝혀지고 있다.

[0004] 콜라겐 합성을 촉진하여 주름 개선 효과를 나타내는 유효성분들이 알려져 있다. 예를 들어, 레티노산(retinoic acid), TGF(transforming growth factor)[비특허문헌 1], 동물 태반 유래의 단백질[특허문헌 1], 베틀린산(betulinic acid)[특허문헌 2], 클로렐라 추출물[특허문헌 3, 4] 등이 콜라겐 합성 촉진 물질로서 알려져 있다. 그러나, 상기 유효성분들은 피부 적용 시 자극과 발적 등의 안전성의 문제로 사용량의 제한이 있거나, 효과가 미미하여 실질적으로 피부의 콜라겐 합성을 촉진하여 피부 기능을 개선하는 효과를 기대할 수 없는 문제점이 있다.

[0005] 또한, 피부의 최외각에 위치하고 있는 표피(epidermis)는 외부의 다양한 물리적, 화학적 및 기계적 자극에 대한 방어와 피부를 통한 체내 수분의 과도한 발산을 막는 보호 기능을 수행하고 있다. 이러한 보호 기능은 각질형성 세포로 구성된 각질층이 정상적으로 형성되고 유지됨으로써 가능하다. 각질형성세포는 표피최하층(stratum basale)에서 지속적으로 증식하던 기저세포(basal cell)가 각질층(stratum corneum)으로 이동하면서, 단계적으

로 형태 및 기능상의 변화를 거치며 형성된 세포이며, 일정 기간이 지나면 오래된 각질형성세포는 피부에서 탈락되고, 표피 최하층으로부터 올라온 새로운 각질형성세포가 그 기능을 대신하는 표피 분화(epidermis differentiation) 또는 각화(keratinization)의 과정을 반복하게 된다. 이러한 각화과정에서 각질형성세포는 천연보습인자(Natural Moisturizing Factor; NMF)와 세라마이드, 콜레스테롤 및 지방산과 같은 세포 간 지질을 생성하여, 각질층이 외부와의 차단층 역할을 하게 됨으로써 피부장벽(skin barrier)로서의 기능을 보유하게 된다.

[0006] 또한, 현대 사회의 주요 질환의 하나로 여겨지는 피부 건조증은 피부 장벽 기능 이상에 의해 야기되는 증상의 하나로, 최근, 환경 오염, 아파트, 고층 건물과 같은 건조한 환경의 증가, 사회적 스트레스의 증가, 우리 나라 특유의 과도한 목욕 문화, 피부 노화 등과 같은 여러 가지 요인에 의해 점점 더 증가하고 있으며, 증세가 심하여 치료를 필요로 하는 경우 또한 지속적으로 증가하고 있다.

[0007] 최근 소아의 10%에서 발병하는 아토피성 피부염 역시 피부 건조증, 보다 근본적으로는 피부 장벽 기능의 이상을 주요 원인으로 하는 것으로 알려져 있다. 이러한 아토피성 피부염을 치료하기 위하여, 종래에는 피부 내 적절한 수분 유지에 중점을 두어 외부로부터 수분을 공급하거나 체내로부터의 수분 손실을 최소화하기 위한 연구가 많이 진행되어 왔으며, 실제로 수분 보유 능력이 있는 세라마이드(ceramide) 또는 그의 유도체와 같은 보습제가 개발되어 제약 또는 화장품 영역에서 많이 사용되고 있다.

[0008] 그러나, 이와 같은 보습제의 사용은 그 대부분이 근본적인 치료이기보다는 일시적인 증상의 완화에 불과하여, 아토피성 피부염을 포함하는 피부 건조증 및 피부 장벽 기능 이상의 치료에 대한 충분한 효과를 나타내지 못하고 있다. 이에, 손상된 피부 장벽을 근본적으로 재생시켜주는 물질의 개발이 시급한 실정이다.

[0009] 최근 들어, 각질 형성 세포에 존재하는 PPAR 알파(Peroxisome Proliferator Activated Receptor-alpha)가 그 리간드(ligand)와 결합하여 활성화되면, 각질 형성 세포의 분화를 촉진시켜 손상된 피부 장벽을 재구성하는 효과가 있다고 알려졌다. 실제로 공지된 PPAR 알파의 작용제(agonist)인 클로피브리레이트(Clofibrate)[비특허문헌 2] 또는 WY14643[비특허문헌 3] 등을 피부 장벽이 손상된 피부에 도포하는 경우, 각질 형성 세포의 분화가 촉진되고 피부 장벽의 회복이 촉진됨이 확인된 바 있다.

[0010] 또한, 피부 표면의 형태인 피부결은 미세한 선에 의해 형성된 3차원 미세구조를 특징으로 하며 연령별·부위별로 유의하게 다르다. 피부결은 선의 깊이에 따라 1차(약 20-100 μm), 2차(약 5-40 μm), 3차(약 0.5 μm) 라인으로 구분되며, 좋은 피부일수록 각 라인들이 그물형태의 네트워크구조를 이루며 선들이 만나서 생기는 다각형과 별 모양(star formation)이 뚜렷하다는 특징을 지니고 있다[비특허문헌 4].

[0011] 그러나 나이가 들어감에 따라 또는 피부가 손상됨에 따라 촘촘하던 미세라인의 네트워크 구조가 무너져 미세 라인(2차, 3차 등)은 사라지고 1차 라인은 더욱 깊어져 주름이 생성되는 것으로 알려져 있다[비특허문헌 5, 6]. 즉, 피부가 노화됨에 따라 나타나는 대표적인 징후인 주름은 이미 장기간에 걸쳐 일어나는 미세한 변화의 축적이다.

[0012] 발생학적으로 사람 피부의 모든 구성성분은 외배엽이나 중배엽에서 유래되는 것으로 알려져 있다. 표피, 모낭, 피지선 및 땀샘선 등은 외배엽에서 기원하며, 멜라닌 세포, 신경 및 특수 감각 수용체는 신경외배엽에서 유래된다. 발생학적 시기에 따라 배아의 줄기세포는 분화를 거둬들여 각각의 조직 기능에 맞는 특성의 세포가 되고, 성체가 된 후에도 일정수의 줄기세포는 조직에 남게 되는데 피부에서는 주로 두 곳에 줄기세포들이 존재한다. 첫째는 모낭(hair follicle)에 존재한다. 이곳은 세포분화가 일어나기 전의 세포로 표피의 재생과 관련해 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져 있으며, 털의 재생과 성장에도 중요한 역할을 수행하고 있다. 둘째는 표피의 기저층(the basal layer of epidermis)이다. 이곳에 자리하고 있는 줄기세포는 표피는 물론 진피층의 섬유아세포까지 관장하여 피부 건강을 지키는 중요한 역할을 수행하고 있음이 밝혀졌다. 이곳의 줄기세포는 상대적으로 양이 많고 쉽게 얻을 수 있다는 장점이 있어 피부줄기세포 연구에 널리 사용되고 있다. 피부는 지속적으로 재생(renew)되며, 피부의 상피에 존재하는 줄기세포 즉, 피부의 상피줄기세포(epidermal stem cells)는 상처 후 상피의 복구에 관여한다[비특허문헌 7]. 상피 피부의 상피줄기세포는 피부줄기세포(skin stem cells)로도 칭해지며, 상피 피부줄기세포를 활성화시킬 경우, 외상 등의 피부상처를 치료하거나 상처 치료를 촉진할 수 있으며 피부의 주름완화 또한 기대할 수 있다. 피부줄기세포의 지표로는 인테그린 β1(integrin β1) 및 인테그린 α6(integrin α6)이 사용되고 있고, 상피 형태 형성 및 분화에 필요한 피부줄기세포의 유지는 p63 단백질에 의해 조절된다고 보고되고 있다.

[0013] 피부줄기세포는 피부의 건강과 생리학적 및 생화학적인 항상성을 유지하는데 중요한 역할을 수행한다. 피부에 존재하는 줄기세포도 노화의 영향으로 인하여 기능에 이상이 발생하게 되고, 이에 따라 피부의 항상성이 깨지면

서 여러 가지 문제가 발생된다. 따라서 이러한 줄기세포의 활성을 통하여 피부노화의 여러 현상을 개선할 수 있을 것이다[비특허문헌 8].

- [0014] 또한, 생체에 안전하고, 유효성분이 안정하며, 무엇보다도 기존의 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선 효과가 있는 물질보다 효과가 우수한 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선 활성을 지닌 성분의 개발이 절실히 요망되고 있다.
- [0015] 한편, 잔나비겉상버섯(*Elfvigia applanata* Karst.)은 활엽수의 살이 있는 나무 또는 죽은 나무에 연중 무리 지어나는 다년생 목재부후균이다. 버섯갓의 너비는 10~50cm이며, 그 이상인 것도 있으며 두께는 30~40cm로 반원형, 낮은 산 모양에서 말굽 모양이나 종 모양을 띤다. 표면은 각피로 덮여 있고 회백색 또는 회갈색이며 표면에 코코아 가루같은 포자가 싸여 코코아색을 나타낸다. 살은 초콜렛색이고 두께는 1~5cm이며 모피같은 코르크 질이다. 관공은 다층을 이루며 각층의 두께는 0.5~2cm이고, 황백색 또는 백색인데 만지면 암갈색으로 된다. 자루는 없고 균모가 기주 옆에 붙는다. 한국에서는 변산반도국립공원, 오대산, 지리산, 백두산 등지에 자생하며, 전세계적으로 고루 분포한다.
- [0016] 잔나비겉상버섯은 오랫동안 중국, 일본, 그리고 한국에서 다양한 질병의 전통적 또는 민속적 치료약으로 사용되어 왔으며, 에르코스테인계 스테로이드 화합물들과 트리테르페노이드류의 화합물, 라노스탄계 트리테르펜류 등과 헤테로갈락탄 및  $\beta$ -D-글루칸과 같은 다당체들을 함유하고 있음이 보고되었다. 특히 상황버섯, 구름버섯 등과 함께 높은 항암 효과가 있는 버섯으로 알려져 있으며, 최근의 연구들은 항암, 고혈압, 세포독성, 항보체, 항미생물, 그리고 소염 등을 포함하는 많은 생물학적인 활성들을 서술하고 있다
- [0017] 상기한 바와 같이, 잔나비겉상버섯의 다양한 약리 효과에 대하여 보고되어 있지만, 잔나비겉상버섯의 피부에 대한 기전에 대해서는 아직까지 알려져 있지 않으며, 이에 대한 연구도 전무한 상태이다.

**선행기술문헌**

**특허문헌**

- [0018] (특허문헌 0001) 일본 특개 평8-231370호
- (특허문헌 0002) 일본 특개 평8-208424호
- (특허문헌 0003) 일본 특개 평9-40523호
- (특허문헌 0004) 일본 특개 평10-36283호

**비특허문헌**

- [0019] (비특허문헌 0001) Cardinale G. et al, Adv. Enzymol., 41, p. 425, 1974
- (비특허문헌 0002) Feingold 외, J. Invest. Dermatol., 110, pp 368-375, 1998.
- (비특허문헌 0003) Feingold 외, J. Invest. Dermatol., 115, pp 353-360, 2000.
- (비특허문헌 0004) Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 12:103-114, 1999
- (비특허문헌 0005) The British journal of dermatology. 110: 129-138, 1984
- (비특허문헌 0006) Skin research and technology.5:189-194, 1999
- (비특허문헌 0007) Epidermal Stem Cells of the Skin, Cedric Blanpain, Elaine Fuchs, Annual Review of Cell and Developmental Biology, November 2006, Vol. 22, Pages 339-373
- (비특허문헌 0008) Human skin stem cells and the ageing process, Catherin Niemann, Stem Cell Aging and Regenerative Medicine, November 2008, Pages 986-997

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0020] 이에, 본 발명자들은 잔나비겉상버섯 추출물이 피부줄기세포의 증식을 촉진하여 피부의 재생을 촉진시키고, 피부의 섬유아세포의 콜라겐 합성을 촉진하여 주름을 개선하며 탄력을 증진시키고, PPAR 알파의 활성화도 우수하여 아토피 개선 효과가 있으며, 피부 밝기 개선으로 인한 피부결 개선 효과와 더불어, 피부줄기세포의 증식을 촉진하고, 줄기세포성 유지 효과를 나타내고 있어 줄기세포 활성화 촉진 효과를 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.
- [0021] 따라서, 본 발명의 목적은 잔나비겉상버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선용 조성물을 제공하는데 있다.
- [0022] 또한, 본 발명의 다른 목적은 하기 잔나비겉상버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 줄기세포 활성화 촉진용 조성물을 제공하는데 있다.

**과제의 해결 수단**

- [0024] 상기 과제를 해결하기 위한 수단으로서, 본 발명은 의약, 화장품 또는 식품 제조를 위한, 잔나비겉상버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선용 조성물을 제공한다.
- [0026] 상기 과제를 해결하기 위한 다른 수단으로서, 본 발명은 화장품 제형 제조를 위한, 잔나비겉상버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 줄기세포 활성화 촉진용 조성물을 제공한다.

**발명의 효과**

- [0028] 본 발명에 따른 잔나비겉상버섯 추출물은 피부줄기세포의 증식을 촉진하여 피부의 재생을 촉진시키고, 피부의 섬유아세포의 콜라겐 합성을 촉진하여 주름을 개선하며 탄력을 증진시키고, PPAR 알파의 활성화도 우수하여 아토피 개선 효과가 있으며, 피부 밝기 개선으로 인한 피부결 개선 효과를 나타냄으로써, 의약, 화장품 또는 식품 제조에 사용할 수 있다.
- [0029] 또한, 잔나비겉상버섯 추출물은 피부줄기세포의 증식을 촉진하고, 줄기세포성 유지 효과를 나타내고 있어 줄기세포 활성화 촉진용 화장품 제형 제조에 사용할 수 있다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0031] 이하, 본 발명의 구성을 구체적으로 설명한다.
- [0032] 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선 성분이 실제 피부에 적용 시 우수한 효과를 발휘하기 위해서는 저농도에서 고효성의 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선 활성을 나타내고, 피부를 투과하여 흡수되는 능력이 우수하고, 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선 효과를 나타내기에 충분한 시간 동안 머무를 수 있도록 휘발성이 낮고, 조성물이나 피부 상에서 활성 성분이 안정하게 유지되고, 의약, 화장품 또는 식품 등으로의 제조가 용이하며, 또한 피부에 안전한 것이 바람직하다. 그러나, 공지 성분 중 상기 특성을 모두 만족시키는 성분은 흔치 않다. 예를 들어, 몇몇 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선 성분들은 시험관 내 실험 시 저농도에서도 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선 활성은 우수하나, 피부를 투과하여 흡수되는 능력이 떨어져 실제 피부에 적용하기엔 어렵다. 또 다른 활성 성분들은 친수성이 낮아 의약이나 화장품, 식품으로 제형화가 어렵다. 또한, 몇몇 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선 성분들은 열, 광, 또는 산소에 노출되었을 때 상기 활성 성분이 분해되거나 다른 화합물로 변형되어 피부에 적용하기 전에 이미 효과가 사라지는 경우도 있다.
- [0033] 하기 실시예에서 확인할 수 있는 바와 같이, 잔나비겉상버섯 추출물은 저농도에서 월등히 우수한 피부 줄기세포

의 증식 촉진 효과, 콜라겐 합성 촉진 효과, PPAR 알파 활성화 효과, 피부 밝기 개선 효과를 나타내므로 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선을 위한 의약, 화장품 또는 식품 조성물의 유효성분으로 사용할 수 있다.

- [0034] 따라서, 본 발명은 잔나비겉상버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선용 조성물을 제공한다.
- [0035] 본 발명에서 잔나비겉상버섯(*Elfvigia applanata* Karst.) Underw은 불로초속 불로초과에 속하는 버섯으로, 낮은 산에서 말굽 모양이나 종 모양으로 난다.
- [0036] 상기 잔나비겉상버섯 추출물은 당업계에 공지된 방법에 의해 추출될 수 있으며, 그 방법은 특별히 한정되지 않는다. 또는, 시판되고 있는 추출물을 이용할 수 있다.
- [0037] 바람직하기로는 상기 잔나비겉상버섯 추출물은 잔나비겉상버섯을 물 및/또는 유기용매로 추출하여 수득한 추출물을 사용할 수 있으며, 상기 유기용매는 극성 유기용매, 비극성 유기용매 또는 이들의 혼합용매일 수 있다. 상기 극성 유기용매는 탄소수 1 내지 5의 저급 알코올, 에틸아세테이트 또는 아세톤일 수 있으며, 비극성 유기용매는 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산 또는 디클로로메탄일 수 있다. 예를 들어, 상기 탄소수 1 내지 5의 저급 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올 또는 이소프로판올일 수 있다.
- [0038] 한 구체예에서 상기 잔나비겉상버섯 추출물은 전술한 추출 용매를 이용하여 추출된 1차 추출물을 극성이 다른 추출용매를 이용하여 분획한 분획물을 포함할 수 있다. 예를 들어, 잔나비겉상버섯 추출물은 탄소수 1 내지 5의 알코올로 추출한 후, 에테르, 벤젠, 헥산 등의 극성이 다른 용매로 다시 분획한 분획물 일 수 있다. 상기 분획시 용매는 2종 이상 사용할 수 있으며, 용매의 극성에 따라 순차적으로 사용하거나 혼합하여 사용하여, 각 용매 추출물을 제조할 수 있다.
- [0039] 본 발명에서, 상기 제조된 추출물 또는 상기 분획과정을 수행하여 수득한 분획물에 대해 여과하거나 농축 또는 건조과정을 수행하여 용매를 제거할 수 있으며, 상기 여과, 농축 및 건조를 모두 수행할 수 있다. 구체적으로 상기 여과는 여과지를 이용하거나 감압여과기를 이용할 수 있고, 농축은 감압 농축기 등을 이용하여 감압 농축할 수 있으며, 건조는 동결건조법을 수행할 수 있다.
- [0040] 또한, 상기 제조된 추출물 또는 상기 분획과정을 수행하여 수득한 분획물에 대해 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography) 또는 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등의 다양한 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써 추가로 정제된 분획을 얻을 수 있다.
- [0041] 본 발명의 조성물은 의약 제형 제조를 위해 사용할 수 있다.
- [0042] 상기 의약 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액의 형태이거나, 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡슐제의 형태일 수 있다.
- [0043] 또한, 상기 조성물은 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다. 예컨대, 공지의 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선 성분을 포함할 수 있을 것이다. 추가적인 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선 성분을 포함하게 되면 본 발명의 조성물의 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선 효과는 더욱 증진될 수 있을 것이다. 상기 성분 추가 시에는 복합 사용에 따른 피부 안전성, 제형화의 용이성, 유효성분들의 안정성을 고려할 수 있다. 본 발명의 한 구체예에서, 상기 조성물은 당업계에 공지된 피부 재생 성분으로서, 레티노산, TGF, 동물 태반 유래의 단백질, 베틀린산 및 클로렐라 추출물, 당업계에 공지된 항산화 성분으로서, 토코페롤, 셀레늄, 비타민 C 및 페놀성 화합물, 당업계에 공지된 미백 성분으로서, 코지산(Kojic acid), 알부틴(Arbutin) 등과 같은 티로시나제 효소활성을 억제하는 물질, 하이드로퀴논(Hydroquinone), 비타민-C(L-Ascorbic acid) 및 이들의 유도체와 각종 식물 추출물로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 또는 2종 이상의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 추가의 성분은 전체 조성물 중량에 대하여 0.0001 중량% 내지 10 중량%로 포함될 수 있을 것이며, 상기 함량 범위는 피부 안전성, 상기 잔나비겉상버섯 추출물의 제형화 시의 용이성 등의 요건에 따라 조절될 수 있을 것이다.
- [0044] 또한, 본 발명의 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다.
- [0045] 약학적으로 허용 가능한 담체는 완충액, 주사용 멸균수, 일반 식염수 또는 인산염 완충 식염수, 슈크로스, 히스틴, 염 및 폴리솔베이트 등과 같은 여러 성분을 함유할 수 있다.

- [0046] 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있으며, 일반 약학 제제의 형태, 예를 들어, 임상 투여 시 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [0047] 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 의약 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스 (Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다.
- [0048] 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 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.
- [0049] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌 글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0050] 본 발명에 있어서, '피부 재생 효과'라 함은 피부줄기세포의 활성이 촉진 됨에 따라, 피부 외부 및 내부 원인에 의한 손상에 대하여 피부 조직이 회복되는 것을 말한다. 이때, 상기 외부 원인에 의한 손상은 자외선, 외부 오염 물질, 창상 또는 외상 등을 들 수 있으며, 상기 내부 원인에 의한 손상은 스트레스 등을 들 수 있다.
- [0051] 본 발명에 있어서, '주름 개선 효과'라 함은 피부에 주름이 생성되는 것을 억제 또는 저해하거나, 이미 생성된 주름을 완화시키는 것을 말한다.
- [0052] 본 발명에 있어서, '탄력 증진 효과'라 함은 피부에 대한 탄력성이 증가되는 것으로, 피부 탄력의 손실을 억제 또는 저해하거나, 이미 감소된 탄력을 완화시키는 것을 말한다.
- [0053] 본 발명에 있어서, '아토피 개선 효과'라 함은 아토피, 피부건조증과 같은 피부질환 예방 및 치료 효과를 나타내는 것으로, 아토피 증상을 억제 또는 저해하거나, 완화시키는 것을 말한다.
- [0054] 본 발명에 있어서, '피부결 개선 효과'라 함은 노화, 스트레스 등의 영향으로 피부 표면이 거칠어지는 것을 억제 또는 저해함으로써 피부 표면을 매끄럽게 하고, 광택을 부여하며, 피부 톤을 밝게 개선하는 것을 말한다.
- [0055] 본 발명에 있어서, '유효량'이라 함은 손상된 피부의 재생을 촉진하거나, 주름을 개선하거나, 탄력을 증진시키거나, 아토피와 같은 피부건조증을 개선하거나, 피부결을 개선할 수 있는 추출물의 양을 의미한다. 본 발명의 조성물이 유효량의 상기 잔나비겉상버섯 추출물을 포함할 때 바람직한 피부 재생 효과, 주름 개선 효과, 탄력 증진 효과, 아토피 개선 효과 및 피부결 개선 효과를 제공할 수 있다. 본 발명의 조성물에 포함되는 상기 잔나비겉상버섯 추출물의 유효량은 조성물이 제품화되는 형태, 상기 화합물이 피부에 적용되는 방법 및 피부에 머무르는 시간 등에 따라 달라질 것이다. 예컨대, 상기 조성물이 약학 제형으로 제품화되는 경우에는 일반적으로 피부에 적용하게 되는 화장품으로 제품화되는 경우에 비해 높은 농도로 상기 잔나비겉상버섯 추출물을 포함할 수 있을 것이다. 따라서, 일일 투여량은 상기 잔나비겉상버섯 추출물의 양을 기준으로 0.1 내지 100 mg/kg이고, 바람직하게는 30 내지 80 mg/kg이고, 더욱 바람직하게는 50 내지 60 mg/kg이며, 하루 1 ~ 6 회 투여될 수 있다.
- [0056] 본 발명의 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0057] 본 발명의 의약 제형은 피부 외용제 제형을 포함할 수 있다.
- [0058] 상기 잔나비겉상버섯 추출물을 피부외용제로 사용하는 경우, 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 향산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제 및 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 피부용 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.
- [0059] 상기 잔나비겉상버섯 추출물이 피부 외용제 제형으로 제공될 경우, 이에 제한되는 것은 아니나, 연고, 패취, 겔, 크림 또는 분무제와 같은 제형을 가질 수 있다.

- [0061] 또한, 본 발명의 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선용 조성물은 화장료 제형 제조를 위해 사용될 수 있다.
- [0062] 상기 화장료 제형은 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태일 수 있다. 예컨대, 유연 화장수 또는 영양 화장수 등과 같은 화장수, 웨이셜 로션, 바디로션 등과 같은 유액, 영양 크림, 수분 크림, 아이 크림 등과 같은 크림, 에센스, 화장연고, 스프레이, 젤, 팩, 선 스크린, 메이크업 베이스, 액체 타입, 고체 타입 또는 스프레이 타입 등의 파운데이션, 파우더, 클렌징 크림, 클렌징 로션, 클렌징 오일과 같은 메이크업 제거제, 클렌징 폼, 비누, 바디 워시 등과 같은 세정제 등의 제형을 가질 수 있다.
- [0063] 또한, 상기 화장품은 잔나비겉상버섯 추출물에 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제 및 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 화장품에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 화장품학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다.
- [0064] 상기 화장료 제형은 유효성분이 단기간 내에 피부에 머무르게 되는 메이크업 제거제, 세정제 등과 같은 워쉬-오프(wash-off) 타입의 화장품의 경우에는 비교적 높은 농도의 상기 잔나비겉상버섯 추출물을 포함할 수 있을 것이다. 반면, 유효성분이 장기간 동안 피부에 머무르게 되는 화장수, 유액, 크림, 에센스 등의 리브-온(leave-on) 타입의 화장품의 경우에는 워쉬-오프 타입의 화장품에 비해 낮은 농도의 상기 잔나비겉상버섯 추출물을 포함해도 무방할 것이다. 이에 제한되는 것은 아니나, 본 발명의 한 구체예에서, 상기 조성물은 상기 잔나비겉상버섯 추출물을 전체 조성물 중량에 대하여 0.0001 중량% 내지 10 중량%(바람직하게는 0.0001 중량% 내지 1 중량%)로 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물이 상기 잔나비겉상버섯 추출물을 0.0001 중량% 미만으로 포함할 경우에는 충분한 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선 효과를 기대할 수 없고, 10 중량%를 초과하여 포함할 경우에는 알러지 등 원치 않는 반응이 발생하거나 피부 안전성에 문제가 있을 수 있으므로 이를 방지하기 위한 것이다.
- [0066] 또한, 본 발명의 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선용 조성물은 식품 제형 제조를 위해 사용될 수 있다.
- [0067] 상기 식품 제형은 상기 잔나비겉상버섯 추출물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품 소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품을 의미한다.
- [0068] 상기 식품 제형은 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 높은 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선 및 피부결 개선 효과를 기대할 수 있어 매우 유용하다.
- [0069] 상기 잔나비겉상버섯 추출물을 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 잔나비겉상버섯 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 조성물은 원료에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0070] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [0071] 식품 제형이 음료인 경우, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스 및 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04

g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g 이다.

- [0072] 상기 외에 식품 제형은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 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. 그 밖에 식품 제형은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0074] 본 발명은 또한, 상기 잔나비겉상버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 줄기세포 활성화 촉진용 조성물을 제공한다.
- [0075] 본 발명에서 용어 '줄기세포'는 스스로 세포 분열을 할 수 있고, 매우 다양한 형태의 특이 세포 타입 (specific cell type)으로 분화할 수 있는 능력을 갖는 세포이다. 이러한 줄기세포의 종류는 특별히 제한되지 않으며, 한 구체예에서, 상기 줄기세포는 피부줄기세포일 수 있다. 상기 '피부줄기세포'는 피부(표피, 진피 및 피하지방층)를 이루는 세포로 분화될 수 있는 줄기세포를 의미한다. 상기 피부를 이루는 세포는 표피에 존재하는 케라티노사이트(keratinocyte), 멜라노사이트(melanocyte) 및 진피에 존재하는 섬유아세포(콜라겐 및 엘라스틴의 생합성을 주로 담당)를 포함한다.
- [0076] 상기 피부줄기세포의 종류는 특별히 제한되지 않는다. 본 발명에서 사용되는 피부줄기세포는 그것이 어디로부터 유래한 것인지 관계없이 이용될 수 있다. 예를 들어, 피부줄기세포는 공지의 피부줄기세포 공급원, 예를 들어, 모낭 또는 표피의 기저층에서 얻을 수 있으며, 채취 대상인 동물은 포유동물일 수 있다. 한 구체예에서, 포유동물은 인간, 마우스, 랫트, 기니아 피그, 토끼, 원숭이, 돼지, 말, 소, 양, 영양, 개 또는 고양이일 수 있지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게 포유동물은 인간일 수 있다. 이러한, 피부줄기세포 공급원으로부터 피부줄기세포를 수득하는 방법에 대해서는 당업계에서 잘 알려져 있다.
- [0077] 본 발명에 있어서, '줄기세포 활성화 촉진 효과'라 함은 줄기세포 증식 촉진 효과, 및/또는 줄기세포의 특이적 지표 분자 및 자가 분열적 성질인 줄기세포성을 유지하는 효과를 포함하는 것을 말한다.
- [0078] 또한, 본 발명의 조성물은 화장품 제형 제조를 위해 사용될 수 있다. 이러한 화장품 제형에 대해서는 앞서 잔나비겉상버섯 추출물을 포함하는 화장품 제형에 관한 설명에 기재된 내용과 동일하다.
- [0080] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0082] **제조예 1: 잔나비겉상버섯 추출물의 제조**
- [0083] 잔나비겉상버섯을 세척하고, 분말화한 뒤, 10 배량의 에탄올 용매에서 5일간 냉침한 후 추출 원액을 여과, 농축한 엑기스를 얻었다. 여기에 정제수 및 에탄올의 혼합용액을 첨가하여 용해시킨 다음 여과하여 최종 추출물을 제조하였다.
- [0085] **제조예 2: 무혈청 배지조건에서 피부줄기세포의 배양**
- [0086] Cellntec사에서 구입한 인간 피부줄기세포(Human epidermal stem cell)를 48-웰 플레이트( $6 \times 10^3$  cells/well)에, 소태아혈청(fetal bovine serum)과 유사한 BPE(Bovine pituitary extract)가 첨가된 CNT-57 배지(Cellntec사)를 이용하여 24 시간 동안 5% CO<sub>2</sub> 및 37°C 조건에서 배양하였다. 그 후, 배양액을 흡입관을 통하여 제거한 다음, PBS 용액(GibcoBRL사)을 이용하여 배지 성분을 제거하고, BPE가 포함되지 않은 CNT-57 배지에 잔나비겉상버섯 추출물 5ug/ml 처리하여 5% CO<sub>2</sub> 및 37°C 조건에서 72 시간 동안 배양하였다.

[0088] **실험예 1: CCK-8 평가법을 통한 피부줄기세포 증식 촉진 효과**

[0089] 상기 제조예 2에서 배양된 피부줄기세포에 CCK-8(Cell counting kit-8) 평가를 실시하였다. CCK-8 평가는 세포 내 전자전달계 내의 탈수소효소(Dehydrogenase)가 테트라졸리움 염(Tetrazolium Salt)를 분해하여 생성하는 포르마잔(Formazan)의 흡광도를 측정하여 살아있는 세포의 밀도를 간접적으로 나타내는 분석방법이다.

[0090] 세포에 CCK-8 용액(배지부피의 1/10을 처리)을 37℃에서 2 시간 동안 처리한 후, 파장 450 nm에서의 흡광도를 측정함으로써 분광학적으로 측정하였다. 잔나비겉상버섯 추출물의 피부줄기세포의 증식 촉진 효과는 측정된 흡광도 값으로부터 대조군(BPE 첨가한 CNT-57 배지) 대비 하기 수학적 1에 따라 증식율(%)을 구하고, 그 값을 하기 표 1에 나타냈다.

[0091] [수학적식 1]

[0092] 증식율(%) = (시료처리군의 흡광도/대조군의 흡광도) × 100

**표 1**

피부줄기세포의 증식 촉진 효과

[0093]

첨가시료	농도	대조군 대비 세포 증식율(%)
잔나비겉상버섯 추출물	5µg/mL	132%
대조군	-	100%

[0094] 표 1에 나타난 바와 같이, 잔나비겉상버섯 추출물을 처리한 배지조건에서의 피부줄기세포는 우수한 증식 촉진 효과를 나타내었다.

[0096] **실험예 2: 피부줄기세포의 줄기세포성(stemness) 유지 효과 확인**

[0097] 상기 제조예 2에서 배양된 피부줄기세포의 줄기세포성 유지 효과 확인을 위해 p63 발현 정도를 평가하였다. p63 은 세포 내 전사인자로서 피부줄기세포의 유지 마커로 잘 알려져 있다. 세포의 RNA를 분리하여 cDNA를 합성한 다음, Taqman 염색액으로 실시간-PCR을 수행하여 p63의 발현 정도를 측정하였다. 본 실험에서 RNA의 농도는 S16 리보솜 RNA로 표준화하였다.

[0098] 상기 실험 결과는 하기 표 2에 나타내었다. 하기 표 2에서 p63 증가 배수의 수치는 대조군(BPE 첨가한 CNT-57 배지) 대비 배수를 의미한다.

**표 2**

줄기세포성(stemness) 유지 효과(반복수 = 3)

[0099]

첨가시료	농도	p63 증가 배수(배)
잔나비겉상버섯 추출물	5 µg/mL	2.21
대조군	-	1.0

[0100] 표 2에 나타난 바와 같이, 잔나비겉상버섯 추출물을 처리한 배지 조건은 피부줄기세포의 p63 발현을 촉진하여 줄기세포성 유지 효과가 우수하다.

[0102] **실시예 1: 콜라겐 합성 촉진 효과**

[0103] 잔나비겉상버섯 추출물을 인간유래의 섬유아세포의 배양액에 첨가하여 세포수준에서 콜라겐 합성 촉진 효과를 실험하였다. 생합성된 콜라겐의 측정은 PICP EIA kit (Procollagen Type I C-Peptide Enzyme ImmunoAssay KIT)를 이용하여 정량하였다.

[0104] 잔나비겉상버섯 추출물을 최종 농도 10 µg/mL, 20 µg/mL가 되도록 하여 비타민 C와 대조군(무첨가)과 함께 각각 인간 유래의 섬유아세포(7×10<sup>4</sup> cells/cm<sup>2</sup>)의 배양 배지에 첨가하여 1일간 배양한 후, 배양액을 취하여 PICP EIA Kit로 각 농도에서 콜라겐 생합성 정도를 분광광도계를 이용하여 450 nm에서 측정하였다. 콜라겐 생합성능

은 대조군에 대한 상대적인 합성능으로 증가율을 계산하고 결과를 하기 표 3에 정리하였다.

**표 3**

농도에 따른 콜라겐 합성 촉진 효과(반복수 = 3)

첨가 시료	적용 농도(μg/ml)	대조군 대비 콜라겐 합성증가율(%)
잔나비겉상버섯 추출물	10 μg/ml	34.3%
잔나비겉상버섯 추출물	20 μg/ml	62.1%
비타민 C	50 μg/ml	33.9%

[0106] 표 3에 나타난 바와 같이, 잔나비겉상버섯 추출물은 인간 유래의 섬유아세포에 대하여 우수한 콜라겐 합성능이 있으며, 일반적으로 콜라겐 합성 능력이 있는 것으로 알려진 비타민 C를 적용한 경우보다 적은 농도로 더 우수한 콜라겐 합성 효과를 얻을 수 있음을 알 수 있다.

[0108] **실시예 2: PPAR 알파 활성화 촉진 효과 검증**

[0109] 잔나비겉상버섯 추출물의 PPAR 알파 활성화 촉진 효과를 확인하기 위하여, 잔나비겉상버섯 추출물을 이용하여 하기와 같은 실험을 수행하였다. 마우스 유래의 근아세포(myoblast) 세포주인 C2C12 세포(ATCC CRL-1772)를 10% 우태아 혈청을 포함하는 DMEM(Dulbeco's Modified Eagle's Medium) 배지에 계대 배양하였다. 여기서 사용된 벡터로는,

[0110] 1) pZEO 벡터 (Invitrogen)의 SV40 프로모터에 효모의 전사 인자인 GAL4-DBD(DNA Binding Domain)과 인간 PPAR 알파 LBD(Ligand Binding Domain)에서 Ser<sub>167</sub> 내지 Tyr<sub>468</sub>을 암호화하는 DNA 단편(유전자 은행 정보, NM 005036)을 포함하는 벡터;

[0111] 2) GAL4 응답 서열을 루시페라아제 (Luciferase)를 발현하는 pGL3 벡터(Promega)의 다중 제한 효소 인지 부위에 삽입된 벡터, 및 3) 트랜스펙션 대조군(transfection internal control)으로 β-갈락토시다아제(β-galactosidase)를 발현하는 벡터를 사용하였다.

[0112] 상기 배양한 세포를 4×10<sup>4</sup>의 농도로 24웰 플레이트에 도말한 후, 12 시간 동안 배양하고, 상기 세 종류의 플라스미드 유전자를 일시적인 리포펙타민(Lipopectamine)을 이용하여 트랜스펙션(transient transfection)하였다. 8시간 후, 잔나비겉상버섯 추출물을 처리하고 12 시간 동안 배양한 다음, 1×PBS로 세척하고 1×리포터 용해 버퍼(reporter lysis buffer)로 세포를 용해시킨 후, 루시페라아제 분석 키트(Promega) 및 β-갈락토시다아제 분석 키트(Promega)를 사용하여 루시페라아제의 활성을 측정하였다. 즉, PPAR 알파 활성화도는 '루시페라아제 활성/β-갈락토오스 활성'으로 측정하였다.

[0113] 본 실험에서 양성 대조군으로는 PPAR 알파의 리간드 중 가장 강력한 것으로 알려진 Wy-14,643(Calbiochem)을 사용하였고, 음성 대조군으로는 시료를 녹일 때 사용한 DMSO 0.05%를 사용하였다.

[0114] 상기 실험 방법에 따라, 잔나비겉상버섯 추출물을 C2C12 세포에 처리하여 농도 변화에 따른 PPAR 알파의 활성을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 4에 나타내었다. 하기 표 4에서 PPAR 알파 활성화도의 수치는 음성 대조군(DMSO 0.05%) 대비 백분율을 의미한다.

**표 4**

PPAR 알파의 활성화

시료	PPAR 알파 활성화도 (%)
DMSO (0.05%)	100
Wy-14,643 (0.5 μM)	355
Wy-14,643 (1 μM)	921
잔나비겉상버섯 추출물 (0.05%)	754
잔나비겉상버섯 추출물 (0.5%)	925

[0116] 표 4에 나타난 바와 같이, 양성 대조군과 비교하여, 잔나비겉상버섯추출물은 매우 강력한 PPAR 알파 활성능을

나타낸다는 것을 확인할 수 있었다.

[0118] **실시예 3: 각질 박리(turn-over)개선에 대한 효능성**

[0119] 하기 제제에 2의 영양크림에 대해서 건강한 20대에서 50대의 여성을 대상으로 각질 박리 개선 효과를 다음과 같이 시험하였다.

[0120] 20세에서 50세까지의 여성 20명의 시험 부위에 DHA(Dihydroxyacetone, Sigma Aldrich, USA) 1.5% 용액을 8시간 동안 폐쇄접촉하여 침착시킨 후 제제에 영양크림을 매일 2회 시험 부위에 도포하였다. 도포 4일 후, 도포 8일 후, 도포 12일 후에 Chromameter CR-400(Minolta, Japan)을 이용하여 침착 부위의 피부 밝기에 대한 기기측정과 DSLR을 이용하여 사진 촬영을 실시하였다. 측정값은 최대값과 최소값을 제외한 3회의 평균값을 구하여 평가하였으며, 침착 부위의 피부 밝기 개선이 높을수록 각질 박리 개선 효과가 있음을 나타낸다. 결과는 하기 표 5에 나타내었다.

**표 5**

피부 밝기 개선 효과

구분	도포 4일 후	도포 8일 후	도포 12일 후
개선율(%)	1.64	4.23	11.67

[0121]

[0122] 표 5에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 영양크림을 사용한 경우 각질 박리 개선 효과가 있는 것으로 나타났다.

[0124] **제제예 1: 의약 제제의 제조**

[0125] 1. 정제의 제조

[0126] 잔나비겉상버섯 추출물 0.2mg

[0127] 옥수수전분 100mg

[0128] 유 당 100mg

[0129] 스테아린산 마그네슘 2mg

[0130] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0132] **제제예 2: 화장품의 제조**

[0133] 1. 영양크림의 제조

[0134] 하기 조성과 같이, 잔나비겉상버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 영양크림을 통상의 방법에 따라 제조하였다.

[0135] 잔나비겉상버섯 추출물 0.2중량%

[0136] 베타-1,3-글루칸 5.0 중량%

[0137] 밀납 10.0 중량%

[0138] 폴리솔베이트60 1.5 중량%

[0139] 피이지 60 경화피마자유 2.0 중량%

[0140] 솔비탄세스퀴올레이트 0.5 중량%

[0141] 유동파라핀 10.0 중량%

- [0142] 스쿠알란 5.0 중량%
- [0143] 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드 5.0 중량%
- [0144] 글리세린 5.0 중량%
- [0145] 부틸렌글리콜 3.0 중량%
- [0146] 프로필렌글리콜 3.0 중량%
- [0147] 트리에탄올아민 0.2 중량%
- [0148] 방부제 0.05 중량%
- [0149] 색소 0.05 중량%
- [0150] 향료 0.05 중량%
- [0151] 정제수 to 100 중량%

[0153] **제제예 3: 피부 외용제의 제조**

- [0154] 1. 연고의 제조
- [0155] 하기 조성과 같이, 잔나비겉상버섯 추출물을 유효성분으로 포함하는 연고를 통상의 방법에 따라 제조하였다.
- [0156] 잔나비겉상버섯 추출물 0.5 중량%
- [0157] 베타-1,3-글루칸 10.0 중량%
- [0158] 밀납 10.0 중량%
- [0159] 폴리솔베이트60 5.0 중량%
- [0160] 피이지 60 경화피마자유 2.0 중량%
- [0161] 솔비탄세스퀴올레이트 0.5 중량%
- [0162] 바셀린 5.0 중량%
- [0163] 유동파라핀 10.0 중량%
- [0164] 스쿠알란 5.0 중량%
- [0165] 웨어버터 3.0 중량%
- [0166] 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드 5.0 중량%
- [0167] 글리세린 10.0 중량%
- [0168] 프로필렌글리콜 10.2 중량%
- [0169] 트리에탄올아민 0.2 중량%
- [0170] 방부제 0.05 중량%
- [0171] 색소 0.05 중량%
- [0172] 향료 0.05 중량%
- [0173] 정제수 to 100 중량%