(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0007488
(43) 공개일자 2021년01월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/28 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
A61K 8/9789 (2017.01) *A61P 17/00* (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01) *A61Q 5/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/28 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0084046
(22) 출원일자 2019년07월11일
심사청구일자 2019년07월11일

(71) 출원인
인하대학교 산학협력단
인천광역시 미추홀구 인하로 100(용현동, 인하대학교)
(72) 발명자
김은기
서울특별시 영등포구 당산로 214 (당산동5가, 당산 삼성 래미안) 423동 904호
신정현
인천광역시 연수구 컨벤시아대로42번길 77 (송도동, 더샵 엑스포) 903동 1002호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이원희

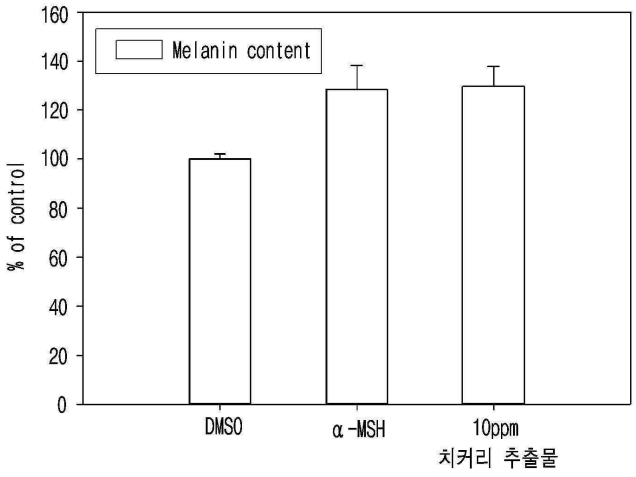
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 상기 치커리 추출물은 세포 독성이 없을 뿐만 아니라, 멜라노블라스트(melanoblast) 세포의 분화 및 이동을 촉진시키므로 백반증 또는 백모증을 예방 또는 치료하는데 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A61K 8/9789 (2017.08)
A61P 17/00 (2018.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
A61Q 5/00 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/318 (2013.01)

(72) 발명자
조동규
인천광역시 연수구 먼우금로 126 (동춘동, 현대대림2차아파트) 208동 1204호
이향복
인천광역시 남동구 석산로 35 (간석동, 간석마을풍림아이원아파트) 108동 2003호
오혜리
서울특별시 도봉구 도당로29길 51 (방학동) 1층
서예지
경기도 용인시 기흥구 한보라2로 93 (보라동, 한보라마을 화성파크드림) 305동
이동찬
서울특별시 강동구 동남로79길 26 (고덕동, 고덕아이파크) 105동 904호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345295040
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(교육부)(R&D)
연구과제명	백반증 발생기전에 근거한 세포 이동조절 물질과 주요 타겟에 관한 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	인하대학교
연구기간	2019.03.01 ~ 2020.02.29

명 세 서

청구범위

청구항 1

치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 치커리 추출물은 물, C_1 내지 C_3의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매로 추출하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 저급 알코올은 메탄올 또는 에탄올인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 치커리 추출물은 멜라노블라스트가 멜라닌 세포로 분화되도록 유도하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 치커리 추출물은 멜라노블라스트의 이동을 촉진시키는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 6

치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 개선용 화장료 조성물.

청구항 7

치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 멜라닌(melanin) 색소는 피부색을 결정하며 자외선을 흡수하여 피부를 보호하는 역할을 한다. 멜라닌 색소를 생성하는 멜라닌 세포(melanocyte)는 멜라노블라스트(melanoblast)에서 유래하는데, 멜라노블라스트가 자극을 받아 멜라닌 세포로 분화되면, 티로시나아제가 활성화되어 세포 내 함유되어 있는 티로신을 DOPA(3,4-dihydroxy-L-phenyl-alanine)로 변화시키고, 이어서 DOPA는 도파옥시다제(dopaoxidase)라는 효소의 작용으로 도파퀴논(dopaquinone)이라는 물질로 변한 후, 일련의 화학반응을 거쳐 멜라닌이 된다. 멜라닌 세포는 멜라닌을 만든 후 피부 상층부의 표피 조직까지 이동하여, 표피 조직에 존재하는 각질 형성 세포(keratinocyte)로 멜라닌을 전달한다. 세포 이동 과정에서 멜라닌 색소는 멜라노좀(melanosome)에 저장되어 운반되는데, 생성 초기에는 색이 없다가 점차 상층부로 이동하면서 4-5 단계에 걸쳐 검은 색소로 채워져, 완전한 색소를 띤 성숙한 멜라닌 과립이 된다.

[0004] 백반증은 멜라닌 세포의 사멸이나 괴사로 인해 다양한 크기 및 형태의 백색반이 피부에 나타나는 후천성 탈색소 질환이다. 백반증 환자는 표피의 멜라닌 세포가 활성을 잃었지만, 모낭의 외부 모근초의 멜라노블라스트 세포는 영향을 받지 않는다. 전세계 인구의 약 1%에서 나타나는 비교적 흔한 질환으로, 인종이나 지역에 따른 차이는 없다. 백반증의 임상 양상으로는 다양한 크기의 둥글거나 불규칙한 모양의 흰색 반점이 나타나고, 초기에는 탈색 정도가 뚜렷하지 않으나 시간이 경과하면서 뚜렷해지는 경우가 많으며, 정상피부와의 경계가 뚜렷하지 않을 수도 있으나 정상피부색보다도 진하면서 뚜렷하게 나타날 수 있다. 드문 경우 가려움을 유발하기도 하며, 털이 있는 부위, 특히 머리카락, 눈썹부위에 흰반점이 나타나는 경우는 흰 털이 자라나는 경우도 있다.

[0005] 백반증은 피부의 어디에나 발병할 수 있으나, 특히 손가락, 발가락, 무릎, 팔꿈치 등의 뼈가 돌출한 부위, 입주위, 코주위, 눈주위, 겨드랑이, 손목 안쪽 등에 자주 발생한다. 그리고 입술이나 성기 등 점막에도 올 수 있으며, 상처를 자주 받는 부위에 특히 잘 발생한다. 백반증의 분포는 좌우 대칭적이거나, 신경에 따른 분포를 보이기도 한다(Vitiligo Pathogenesis and Treatment, American Journal of Clinical Dermatology June 2001, Volume 2, Issue 3, pp.167-181).

[0006] 백반증은 단순히 피부에 흰 반점이 나타나는 경우 외에 눈의 홍채와 망막의 색소이상을 동반할 수 있으며, 당뇨병, 악성 빈혈, 갑상선 기능 저하 또는 항진, 다운 증후군, 담즙성 간경변, 위암, 아디손병, 원형탈모증, 홍반성 낭창 등의 자가 면역질환과 병발할 수 있다. 백반증이 생기는 원인에 대해서 아직 정확히 밝혀진 바는 없으나, 자가면역설, 스트레스, 바이러스 가설, 신경체액설, 멜라닌 세포 자가 파괴설 등 여러 가지 설이 제시되고 있다. 그 외 고유세포 결손(inherent cellular defect), 유전요인, 세포사멸, 칼슘대사 이상 등의 다양한 인자들이 제시되고 있다.

[0007] 백반증 치료에는 여러 가지 방법이 사용되고 있다. 백반증 환자의 탈색 부위에 메톡살렌(8-methoxypsoralen;8MOP)과 자외선 조사 치료(ultraviolet A radiation therapy) 방법을 이용하여 종종 성공적인 치료 효과를 확인하였다. 이 치료법에 의해 모낭이 집중된 부위에서 색소 재침착이 천천히 진행되는데, 이는 모낭이 집중된 부위의 모낭 말단에 멜라노블라스트가 존재하기 때문이다. 모발 모낭의 비활성 멜라노블라스트는 백반증에서 색소 재침착을 위한 멜라닌 세포의 소스로서 제공될 수 있을 것이다. 또한, 멜라노블라스트는 멜라닌 세포로 분화하는 메커니즘의 특성을 이해하는데 이상적인 모델로 이용될 수 있다.

[0008] 한편, 치커리는 북유럽이 원산지이고 국화과에 속하는 다년생 채소로, 이의 특징들로, 뿌리는 다육질이고 길며, 줄기는 높이가 50~150cm이고 단단하며 가지가 갈라지고 털이 있다. 뿌리에서 나온 잎은 아래쪽을 향하고 깃꼴로 갈라지는데, 갈라진 조각은 밑 부분이 점차 좁아지고 날개와 같은 잎자루가 있으며, 끝에 달린 조각은 크고 옆에 달린 조각은 삼각형이다. 줄기에 달린 잎은 달걀 모양 또는 바소꼴이고 가장자리가 밋밋하며 뒷면에 털이 있다. 꽃은 7~9월에 하늘색으로 피고, 줄기 윗부분 잎겨드랑이와 줄기 끝에 설상화가 두상꽃차례를 이루며 달린다. 총포는 원기둥 모양이고 총포 조각은 2개로 갈라진다. 품종에 따라 흰색 또는 엷은 붉은 색의 꽃도 있다. 열매는 수과이고 긴 도끼 모양이며 윗부분에 3~5개의 모서리가 있다. 관모는 짧고 비늘 조각 모양이며 끝이 가늘게 갈라진다.

[0009] 치커리는 생육이 왕성하고 환경에 잘 적응하기 때문에 많이 재배한다. 뿌리는 약간 익혀서 버터를 발라먹고, 잎은 샐러드로 먹는데, 뿌리에서 자라나는 어린 잎을 봄에 채취해 이용한다. 식물체는 사료나 목초로 쓴다. 꽃은 중추신경계통의 흥분제 및 심장 활동을 증강시키는 약으로 쓰인다. 유럽에서는 뿌리를 이뇨, 강장, 건위 또는 피를 맑게 하는 민간 약으로 이용하고, 특히 독일과 프랑스에서는 굵은 뿌리를 건조시켜 가루로 만들어 커피 대

용의 음료로 이용하거나 커피의 색 및 쓴맛을 짙게 하는 첨가제로 사용한다. 한방에서는 식물체 전체를 약재로 쓰는데, 황달형 간염에 효과가 있고 소화 기능 개선 효과가 있다.

[0010] 한국공개특허 10-2019-0040823호에는 치커리(Cichorium intybus L.) 지상부 추출물을 포함하는 피부염 치료용 조성물이 아토피 증상 완화 및 피부장벽 기능 효과가 있음을 개시되어있지만, 백반증의 예방 또는 치료 효능을 개시한 바는 없다. 이에, 본 발명에서는 치커리(Cichorium intybus L.) 추출물이 세포 독성이 없고, 멜라노블라스트(melanoblast)의 분화 및 이동을 촉진하는 효과가 있다는 사실을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 목적은 치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 다른 목적은 치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[0016] 본 발명의 다른 목적은 치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0018] 상기 목적을 달성하기 위해,

[0019] 본 발명의 일 측면은 치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0021] 본 발명의 다른 측면은 치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0023] 본 발명의 다른 측면은 치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

발명의 효과

[0025] 본 발명의 치커리 추출물은 세포 독성이 없을 뿐만 아니라, 멜라노블라스트(melanoblast) 세포의 분화 및 이동을 촉진시키므로 백반증 또는 백모증을 예방 또는 치료하는데 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 멜라노블라스트(Melb-a)에 DMSO, α-MSH, 또는 치커리 추출물을 각각 처리한 경우의 세포 생존율을 비교하여 나타낸 그래프이다(Neg control(음성 대조군): DMSO 처리).

도 2는 멜라노블라스트(Melb-a)에 DMSO, α-MSH, 또는 치커리 추출물을 각각 처리한 경우의 멜라닌 함량을 비교하여 나타낸 그래프이다(Neg control(음성 대조군): DMSO 처리).

도 3은 멜라노블라스트(Melb-a)에 DMSO, α-MSH, 또는 치커리 추출물을 각각 처리한 경우, 필터를 통과한 멜라노블라스트(Melb-a) 세포의 모습을 현미경으로 관찰한 사진이다(Neg control(음성 대조군): DMSO 처리).

도 4는 멜라노블라스트(Melb-a)에 DMSO, α-MSH, 또는 치커리 추출물을 각각 처리한 경우, 필터를 통과한 멜라노블라스트(Melb-a) 세포의 수를 비교하여 나타낸 그래프이다(Neg control(음성 대조군): DMSO 처리).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0029] 본 발명의 일 측면은 치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0030] 상기 치커리 추출물은 하기의 단계들을 포함하는 제조방법에 의해 제조될 수 있다:

[0031] 1) 치커리에 추출 용매를 가하여 추출하는 단계;

[0032] 2) 단계 1)의 추출물을 여과하는 단계; 및

[0033] 3) 단계 2)의 여과한 추출물을 감압 농축한 후 건조하는 단계.

[0034] 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 치커리는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다.

[0035] 상기 치커리는 치커리의 지상부를 사용할 수 있다.

[0036] 또한, 상기 단계 1)의 추출 용매는 물, C_1 내지 C_3의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매일 수 있고, 구체적으로 상기 C_1 내지 C_3의 저급 알코올은 메탄올 또는 에탄올일 수 있다. 본 발명의 구체적인 실시예에 의하면 메탄올로 추출하는 것이 가장 바람직하다.

[0037] 상기 단계 1)의 추출 방법은 진탕추출, Soxhlet 추출 또는 환류추출일 수 있다. 이때, 추출 온도는 20 내지 60℃인 것이 바람직하며, 30 내지 50℃인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 상기 추출 용매는 추출에 사용되는 치커리의 중량 대비 2 내지 10배로 첨가하여 추출하는 것이 바람직하고, 4 내지 8배로 첨가하여 추출하는 것이 더 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

[0038] 또한, 추출 시간은 10 내지 40시간인 것이 바람직하며, 20 내지 30시간이 더욱 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 아울러, 추출 횟수는 1 내지 5회인 것이 바람직하며, 1 내지 3회인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 추출 온도, 추출 시간 또는 추출 횟수의 조건을 벗어난 범위에서는 추출이 충분히 이루어지지 않아 치커리 추출물 내에 유효성분의 함량이 미미할 수 있다. 또는 더이상 추출 수율이 증가하지 않아 추출 작업의 효율이 떨어질 수 있다.

[0039] 상기 단계 3)의 감압 농축은 진공감압농축기 또는 진공회전증발기를 이용할 수 있다. 또한, 상기 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조일 수 있다.

[0040] 본 발명에서는 치커리 추출물을 한국 식물 추출물 은행에서 분양받아 사용하였으나, 상기와 같은 제조방법을 통해 추출물을 제조하여 사용할 수도 있다.

[0041] 상기 추출물은 멜라노블라스트가 멜라닌 세포로 분화되도록 유도할 수 있다.

[0042] 또한, 상기 추출물은 멜라노블라스트의 이동을 촉진시킬 수 있다.

[0044] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 한국 식물 추출물 은행에서 치커리를 분양받은 후 메탄올로 추출하여 치커리 추출물을 제조하였다.

[0045] 상기 치커리 추출물은 10-25㎍/㎖(ppm, parts per million) 농도로 처리시 멜라노블라스트의 세포 생존능을 감소시키지 않은바, 상기 약학적 조성물로 사용 시에, 멜라노블라스트에 대해 세포 독성을 나타내지 않고 안전성이 있는 것을 알 수 있다(실험예 2 및 도 1 참조).

[0046] 또한, 상기 치커리 추출물은 타이로시나아제의 촉매 기능이 멈추어 있는 멜라노블라스트가 멜라닌 세포로 분화

되도록 유도함으로써 멜라닌이 합성되고, 이로 인해 멜라닌 함량이 증가되도록 함을 확인하였다(실험예 3 및 도 2 참조)

[0047] 그리고, 상기 치커리 추출물은 멜라노블라스트가 표피 조직으로 이동하도록 촉진시킴으로써 상기 멜라닌을 각질형성 세포로 전달되게 하는바, 이로부터 탈색 부위의 색소 재침착을 유도하는 효과가 있음을 알 수 있다(실험예 4, 도 3 및 도 4 참조).

[0048] 따라서, 본 발명의 치커리 추출물은 백반증 또는 백모증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 유용하게 사용될 수 있다.

[0050] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 조성물 전체 중량에 대하여 유효성분인 치커리 추출물을 10 내지 95 중량%로 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 상기 유효성분 이외에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 추가로 포함할 수 있다.

[0051] 본 발명의 약학적 조성물은 생물학적 제제에 통상적으로 사용되는 담체, 희석제, 부형제 또는 이의 혼합물을 포함할 수 있다. 약학적으로 허용가능한 담체는 조성물을 생체 내에 전달하는데 적합한 것이면 모두 사용할 수 있다. 구체적으로, 상기 담체는 Merck Index, 13th ed., Merck & Co. Inc.에 기재된 화합물, 식염수, 멸균수, 링거액, 덱스트로스 용액, 말토덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 또는 이의 혼합물일 수 있다. 또한, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등과 같은 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다.

[0052] 상기 조성물을 제제화하는 경우, 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 첨가할 수 있다.

[0053] 본 발명의 조성물은 경구용 제제 또는 비경구용 제제로 제형화될 수 있다. 경구용 제제로는 고형 제제 및 액상 제제가 포함될 수 있다. 상기 고형 제제는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 또는 트로키제일 수 있고, 이러한 고형 제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제를 첨가하여 조제할 수 있다. 상기 부형제는 전분, 탄산칼슘, 수크로스, 락토오스, 젤라틴 또는 이의 혼합물일 수 있다. 또한, 상기 고형 제제는 윤활제를 포함할 수 있고, 그 예로는 마그네슘 스티레이트, 탈크 등이 있다. 한편, 상기 액상 제제는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제일 수 있다. 이때, 상기 액상 제제에는 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등과 같은 부형제가 포함될 수 있다.

[0054] 상기 비경구용 제제는 주사제, 좌제, 호흡기 흡입용 분말, 스프레이용 에어로졸제, 파우더 및 크림 등을 포함할 수 있다. 상기 주사제는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제 등을 포함할 수 있다. 이때, 비수성용제 또는 현탁용제로서는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름이나, 에틸올레이트와 같이 주사가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[0055] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 또는 비경구로 투여될 수 있다. 비경구 투여는 복강내, 직장내, 피하, 정맥, 근육내 또는 흉부내 주사 방식을 포함할 수 있다.

[0056] 상기 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있다. 이는 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 환자의 민감도, 투여 시간, 투여 경로, 치료기간, 동시에 사용되는 약물 등에 따라 달라질 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 본 발명에 따른 약학 조성물에 포함되는 유효성분의 양은 0.0001 내지 1,000 ㎎/kg, 구체적으로 0.001 내지 500 ㎎/kg일 수 있다. 상기 투여는 하루에 1회 수회일 수 있다.

[0057] 본 발명의 조성물은 단독 또는 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있다. 병용 투여시, 투여는 순차적 또는 동시일 수 있다.

[0059] 또한, 본 발명의 다른 측면은 치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0060] 본 발명에 따른 치커리 추출물의 특징은 상기 서술한 바와 같다. 일례로, 상기 치커리 추출물은 물, C_1 내지 C_3의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매로 추출될 수 있고, 구체적으로 상기 C_1 내지 C_3의 저급 알코올은 메탄올 또는 에탄올일 수 있다. 상기 추출물은 멜라노블라스트가 멜라닌 세포로 분화되도록 유도할 수 있다. 또한, 상기 추출물은 멜라노블라스트의 이동을 촉진시킬 수 있다.

[0062] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 한국 식물 추출물 은행에서 치커리를 분양받은 후 메탄올로 추출하여 치커리 추출물을 제조하였다.

[0063] 상기 치커리 추출물은 10-25㎍/㎖(ppm, parts per million) 농도로 처리시 멜라노블라스트의 세포 생존능을 감소시키지 않은바, 상기 약학적 조성물로 사용 시에, 멜라노블라스트에 대해 세포 독성을 나타내지 않고 안전성이 있는 것을 알 수 있다(실험예 2 및 도 1 참조).

[0064] 또한, 상기 치커리 추출물은 타이로시나아제의 촉매 기능이 멈추어 있는 멜라노블라스트가 멜라닌 세포로 분화되도록 유도함으로써 멜라닌이 합성되고, 이로 인해 멜라닌 함량이 증가되도록 함을 확인하였다(실험예 3 및 도 2 참조)

[0065] 그리고, 상기 치커리 추출물은 멜라노블라스트가 표피 조직으로 이동하도록 촉진시킴으로써 상기 멜라닌을 각질형성 세포로 전달되게 하는바, 이로부터 탈색 부위의 색소 재침착을 유도하는 효과가 있음을 알 수 있다(실험예 4, 도 3 및 도 4 참조).

[0066] 따라서, 본 발명의 치커리 추출물은 백반증 또는 백모증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 유용하게 사용될 수 있다.

[0068] 본 발명의 조성물은 상기 추출물에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 포함할 수 있다.

[0069] 또한, 본 발명의 화장료 조성물의 구체적인 제형으로서는 스킨로션, 스킨 소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처 크림, 핸드크림, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 샴푸, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션, 바디클렌저, 유액, 프레스파우더, 루스파우더, 아이섀도 등의 제형을 포함한다.

[0070] 또한, 상기 화장료 조성물은 본 발명의 혼합 추출물에 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(forming 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 화장품 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다.

[0071] 본 발명의 조성물에서 상기 추출물은 조성물 총 중량에 대하여 0.005 내지 90 중량% 함유되는 것이 바람직하지만, 백반증 또는 백모증의 예방 또는 개선 효과가 있고 독성이 나타나지 않는 범위에서 사용 용도에 따라서 상기 범위 이상 또는 이하로도 사용될 수 있다.

[0073] 또한, 본 발명의 다른 측면은 치커리 추출물을 유효성분으로 함유하는 백반증 또는 백모증의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0074] 본 발명에 따른 치커리 추출물의 특징은 상기 서술한 바와 같다. 일례로, 상기 치커리 추출물은 물, C_1 내지 C_3의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매로 추출될 수 있고, 구체적으로 상기 C_1 내지 C_3의 저급 알코올은 메탄올 또는 에탄올일 수 있다. 상기 추출물은 멜라노블라스트가 멜라닌 세포로 분화되도록 유도할 수 있다. 또한, 상기 추출물은 멜라노블라스트의 이동을 촉진시킬 수 있다.

[0075] 본 명세서의 "건강기능식품"이란 일상 식사에서 결핍되기 쉬운 영양소나 인체에 유용한 기능을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조한 식품으로, 인체의 건강을 유지하는데 도움을 주는 식품을 의미하나 이에 한정되지 않으며 통상적인 의미의 건강식품을 모두 포함하는 의미로 사용한다.

[0076] 건강기능식품의 형태 및 종류는 특별히 제한되지 않는다. 구체적으로, 상기 건강기능식품은 정제, 캅셀, 분말, 과립, 액상 및 환의 형태일 수 있다. 상기 건강기능식품은 추가성분으로서 여러 가지 향미제, 감미제 또는 천연 탄수화물을 포함할 수 있다. 상기 감미제는 천연 또는 합성 감미제일 수 있고, 천연 감미제의 예로는 타우마틴, 스테비아 추출물 등이 있다. 한편, 합성 감미제의 예로는 사카린, 아스파르탐 등이 있다. 또한, 상기 천연 탄수화물은 모노사카라이드, 디사카라이드, 폴리사카라이드, 올리고당 및 당알코올 등일 수 있다.

[0077] 본 발명의 건강기능식품은 상기 서술한 추가성분 외에, 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙스탄 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 등을 더 포함할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합으로 사용될 수 있다. 상기 첨가제의 비율은 본 발명의 조성물의 100 중량부당 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택될 수 있다.

[0078] 본 발명의 치커리 추출물은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있다. 이때, 첨가되는 유효성분의 함량은 목적에 따라 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강기능식품 중의 함량은 전체 식품 중량의 0.01 내지 90 중량부일 수 있다. 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 없다면 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0080] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의해 상세히 설명한다.

[0081] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0083] **<실시예 1> 치커리 추출물의 제조**

[0084] 본 발명의 치커리(Cichorium intybus) 추출물(분양번호: KPM026-083)은 한국식물추출물은행 (Korea Plant Extract Bank, KPEB)으로부터 제공받아 준비하였다. 상기 치커리 추출물은 메탄올 99.9% HPLC급으로 45℃에서 3일간 (15분 sonication 후 2시간 정치, 10회/1일)추출하고, 무형광 솜(綿)을 사용하여 여과 후, 45℃에서 감압농축하여 제조할 수 있다.

[0086] **<실험예 1> 멜라노블라스트(melanoblast) 세포주 배양**

[0087] 하기 실험예들에 사용되는 멜라노블라스트(melanoblast)는 다음과 같이 준비하였다. 멜라노블라스트(Melb-a)는 기능 유전체학 세포주 은행(Functional Genomics Cell Bank (영국), Welcome Trust)에서 분양받아 사용하였다. RPMI 1640 배지(Invitrogen Corp (미국))에 1% 페니실린(penicillin)/스트렙토마이신(streptomycin), 1 ng/㎖ bFGF (Murine FGF(Fibroblast growth factor)-basic; PeproTech), 20 nM PDBu(Phorbol12,13-dibutyrate; Sigma Chemical Co, 미국) 및 5% 우태아 혈청(Fetal bovine serum; Invitrogen Corp, 미국)을 첨가하여 완전(complete) RPMI 1640 배지를 제조하였다. 상기 Melb-a(멜라노블라스트)는 상기 완전 RPMI1640 배지를 이용하여 37℃, 10% CO_2 항온기에서 계대 배양하였다. 상기 계대 배양은 배양된 세포에 트립신-EDTA(trypsin-EDTA; Invitrogen Corp (미국))를 처리하고 원심분리하여 침전시키고, 상등액을 제거한 뒤 상기 완전 RPMI 1640 배지를 첨가하여 세포를 현탁시킨 후, 1×10^4 세포수/접시의 농도로 10 cm 세포 배양 접시에 재분주하는 방식으로 수행하였다.

[0089] **<실험예 2> 치커리 추출물이 멜라노블라스트의 세포 생존율에 미치는 영향 확인**

[0090] 본 발명에 따른 치커리 추출물이 멜라노블라스트의 세포 생존율에 미치는 영향을 확인하기 위해, 하기 실험절차에 따라 멜라노블라스트의 세포 생존율을 측정하는 실험을 수행하였고, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0091] 6×10^4 개의 멜라노블라스트 세포를 12-웰 플레이트에 접종하고, 37℃, 10% CO_2 항온기에 24시간 전배양한 후, 배양액을 제거하고 DMSO(Dimethyl sulfoxide)에 녹인 실시예 1에서 제조한 치커리(Cichorium intybus) 추출물이 포함된 배양액을 10 ㎍/㎖(ppm, parts per million) 또는 100 ㎍/㎖ 농도로 각각 처리하였다. 음성 대조군으로 DMSO를 처리하였고, 양성 대조군으로 α-MSH(alpha-melanocyte stimulating hormone)를 처리하였다. 치커리 추출물을 처리한 다음, 배지는 4일 동안 이틀마다 교환하였으며, 배지를 교환할 때 다시 치커리 추출물을 처리하였다. 치커리 추출물을 처음 처리한 시점으로부터 4일째에 배양된 세포에 MTT 시약(5 mg/㎖)을 처리한 후, 형성된 포르마잔(formazan)을 DMSO로 녹이고 ELISA 마이크로플레이트 리더기를 이용하여 540 nm의 파장의 흡광도를 측정하고, 무처리 대조군과 비교하였다.

[0092] 그 결과, 치커리 추출물은 10-25 ㎍/㎖(ppm, parts per million)의 농도로 처리시 멜라노블라스트의 세포 생존

율을 감소시키지 않았다(도 1 참조). 상기 결과는, 치커리 추출물이 멜라노블라스트의 세포 생존율을 감소시키지 않음을 나타내고, 이로부터 치커리 추출물은 백반증 또는 백모증을 예방 또는 치료하는 약학적 조성물로 사용될 경우에 세포독성을 나타내지 않고 안전성이 있음을 알 수 있다.

[0094] **<실험예 3> 치커리 추출물이 멜라노블라스트의 분화에 미치는 영향 확인**

[0095] 멜라노블라스트는 타이로시나아제의 촉매 기능이 멈추어 있는 비색소 세포로, 본 발명에 따른 치커리 추출물이 멜라노블라스트의 분화를 유도하는지 확인하기 위하여, 하기 실험절차에 따라 멜라노블라스트의 멜라닌 함량을 측정하였고, 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0097] **<멜라닌 함량 측정>**

[0098] 6×10^4 개의 멜라노블라스트 세포를 12-웰 플레이트에 접종하고, 37℃, 10% CO_2 항온기에 24시간 전배양한 후, 배양액을 제거하고 DMSO에 녹인 실시예 1의 치커리 추출물이 포함된 배양액을 10 ㎍/㎖(ppm, parts per million) 농도로 처리하였다. 음성 대조군으로 DMSO를 처리하였고, 양성 대조군으로 α-MSH를 처리하였다. 치커리 추출물을 처리한 다음, 배지는 4일 동안 이틀마다 교환하였으며 배지를 교환할 때 다시 치커리 추출물을 처리하였다. 치커리 추출물을 처음 처리한 시점으로부터 4일째에 배양된 세포의 배양액을 제거하고 PBS 500 ㎕로 2번 세척한 후, 트립신-EDTA를 처리하여 세포를 수득하였다. 수득된 세포를 1.5 ㎖ 마이크로 튜브에 옮겨 담고 원심분리하여 세포를 침전시키고, 상등액을 제거한 뒤 10% DMSO가 들어있는 1N NaOH 용액 100 ㎕에 현탁시켜 이를 80℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 상기 용해된 세포 내의 멜라닌은 플레이트 리더기를 이용하여 405 nm의 파장의 흡광도를 측정하고 무처리 대조군과 비교하였다.

[0099] 멜라노블라스트의 침전물을 육안으로 관찰한 결과, 음성 대조군은 흰색인 반면, 양성 대조군(α-MSH)과 치커리 추출물 10ppm(parts per million)을 처리한 실험군에서는 색 변화가 나타나 멜라닌 합성이 유도된 것으로 나타났다. 그리고, 멜라닌 함량을 측정한 결과, 치커리 추출물을 처리한 실험군은 멜라닌 함량이 증가한 것으로 나타났는데, 10ppm 치커리 추출물 처리 시의 멜라닌 함량은 음성 대조군 대비 130%이었고, 이는 양성 대조군의 멜라닌 함량이 음성 대조군 대비 128%인 것과 유사한 수준이었다(도 2 참조).

[0100] 상기 결과는 치커리 추출물이 타이로시나아제의 촉매 기능이 멈추어 있는 멜라노블라스트가 멜라닌 세포로 분화되도록 유도함을 나타내고, 이에 따라, 멜라닌 세포에서 멜라닌이 합성되어 멜라닌 함량이 증가한 것을 알 수 있다. 이로부터, 치커리 추출물은 백반증 또는 백모증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있음을 알 수 있다.

[0102] **<실험예 4> 치커리 추출물이 멜라노블라스트 이동에 미치는 영향 확인**

[0103] 멜라노블라스트에서 분화된 멜라닌 세포(melanocyte)는 표피 조직으로 이동한 다음, 생성된 멜라닌을 각질 형성세포(keratinocyte)로 전달하여 피부를 착색시킨다. 이에, 본 발명에 따른 치커리 추출물이 멜라노블라스트의 이동을 유도하는지 확인하기 위하여 하기 실험절차에 따라 필터를 통과한 멜라노블라스트 세포의 수를 측정하는 실험을 수행하였고, 그 결과를 도 3 및 도 4에 나타내었다.

[0104] 세포의 이동은 트랜스웰 세포 배양 챔버(Transwell cell culture chamber, ostar 3422)를 이용하여 측정하였다. 상기 트랜스웰 세포 배양 챔버 내의 0.8 ㎛ 폴리비닐피롤리돈이 없는 폴리카보네이트(polyvinylpyrroliodone-free polycarbonate) 필터를 1% 젤라틴으로 코팅하였다. 상기 코팅한 필터를 굳힌 후, 챔버의 아랫 부분에 실시예 1에서 제조한 치커리 추출물이 첨가된 무혈청 RPMI 배지 600 ㎕를 첨가하고, 챔버의 윗 부분에는 멜라노블라스트 세포(2.5×10^5 세포수/㎖)를 100 ㎕ 접종하고 24시간 동안 배양하였다. 배양이 완료된 후, 상기 필터를 오려내어 메탄올로 고정시키고 헤마톡실린(hematoxylin)과 에오신(eosin)으로 염색한 다음, 면봉을 이용하여 필터 위에 이동되지 않은 세포를 제거하였다. 필터의 아랫 부분으로 이동된 세포를 현미경으로 관찰하였으며, 필터를 4등분한 뒤 현미경으로 40배 확대하여 세포 수를 측정하고 평균값을 산출하였다. 실험은 각각의 조건에서 2번 반복 수행하였다.

[0105] 그 결과, 10ppm(parts per million) 치커리 추출물을 처리한 필터의 아래면에서 멜라노블라스트 세포의 수가 무처리 대조군에 비해 167%로 증가하였고, 25ppm 치커리 추출물을 처리한 경우는 180%로 증가한 것을 확인하였다

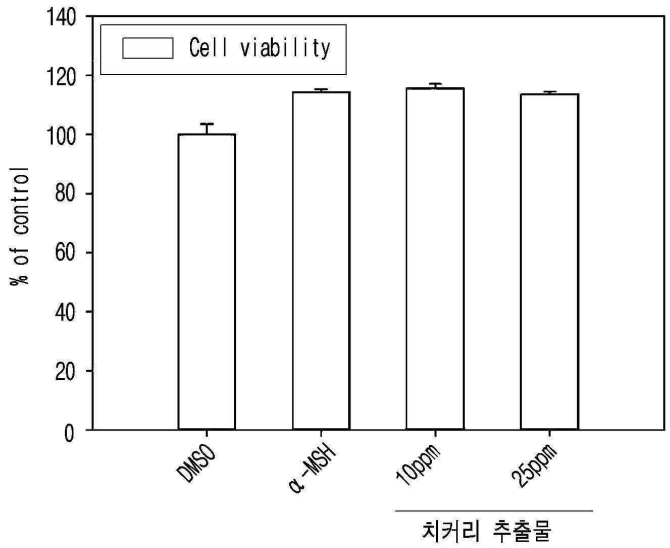
(도 3 및 도 4 참조).

[0106] 상기 결과는 치커리 추출물이 멜라노블라스트가 표피 조직으로 이동하도록 촉진함을 나타내고, 이에 따라 멜라닌을 각질 형성 세포로 전달되게 하여 탈색 부위의 색소 재침착을 유도하는 효과가 있음을 알 수 있다. 이로부터, 치커리 추출물은 백반증 또는 백모증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있음을 알 수 있다.

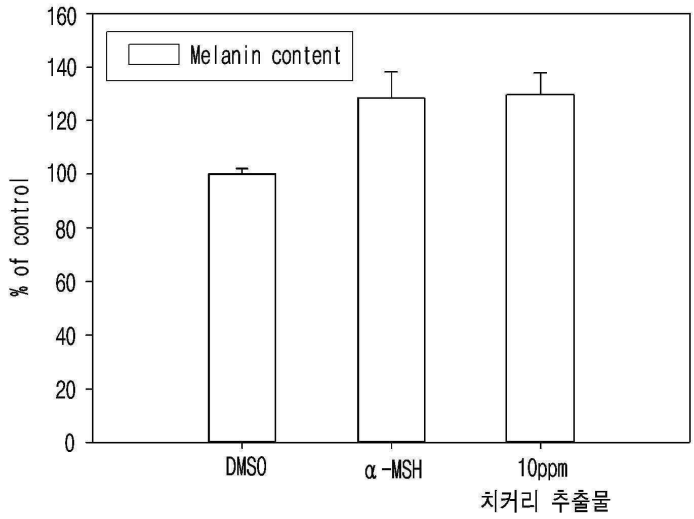
[0107]

도면

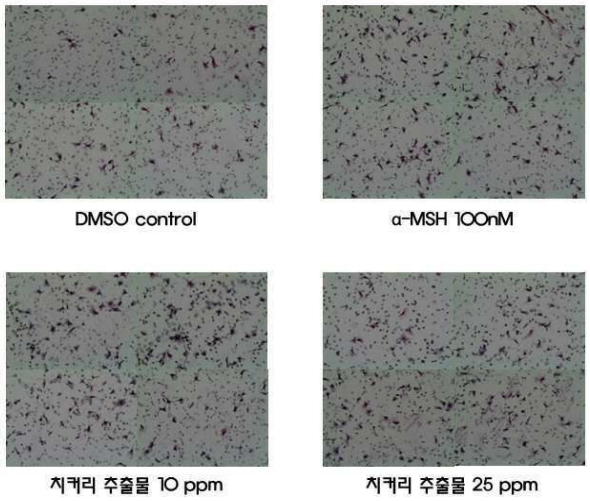
도면1



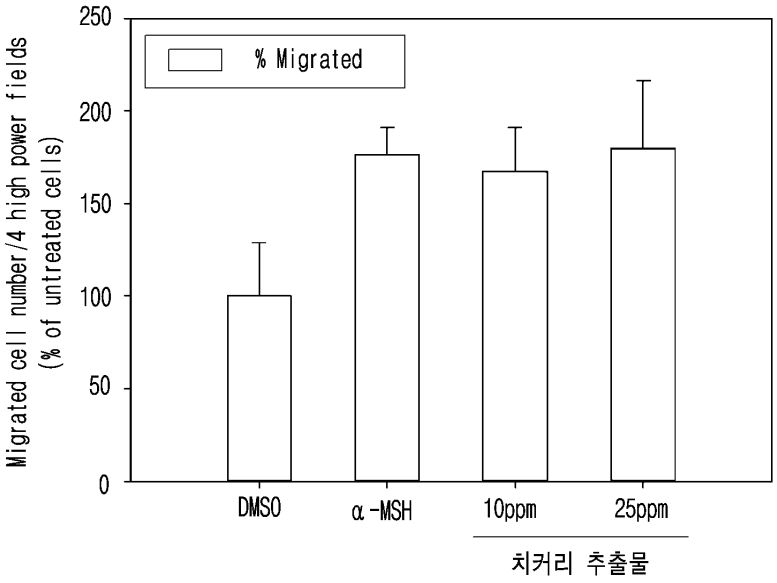
도면2



도면3


DMSO control
α-MSH 100nM
치커리 추출물 10 ppm
치커리 추출물 25 ppm

도면4


% Migrated
Migrated cell number/4 high power fields
(% of untreated cells)
250
200
150
100
50
0
DMSO
α-MSH
10ppm
25ppm
치커리 추출물