

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0046641 (43) 공개일자 2014년04월21일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 8/63 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)	(21) 출원번호 10-2012-0111882 (22) 출원일자 2012년10월09일 심사청구일자 없음	(71) 출원인 경희대학교 산학협력단 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교) (72) 발명자 김지영 서울특별시 서초구 잠원동 한신 8차 이태훈 경기 수원시 영통구 동탄지성로488번길 22, 104동 302호 (망포동, 벽산e빌리지아파트) (74) 대리인 안소영

전체 청구항 수 : 총 7 항

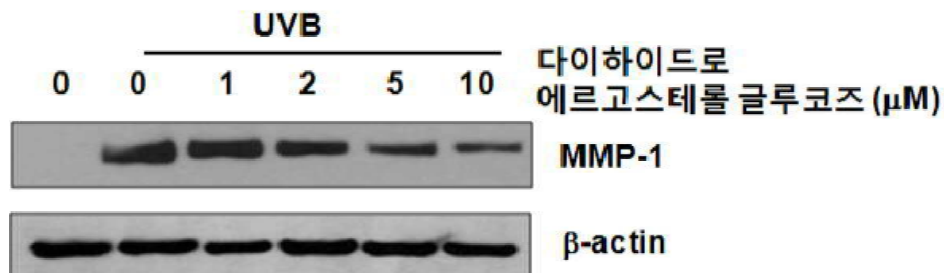
(54) 발명의 명칭 **다이 하이드로 에르고스테롤 당 화합물을 포함하는 피부 주름 개선용 화장품 조성물**

(57) 요약

본 발명은 다이 하이드로 에르고스테롤 당 화합물을 포함하는 피부 주름 개선용 화장품 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 다이 하이드로 에르고스테롤 당 화합물은 콜라게네이즈 효소의 발현 양을 감소시키고 콜라겐의 분해를 저해하여 피부 주름을 개선할 수 있으며, 화장품 및 기능성 첨가제의 유효 성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김학원

서울 강남구 언주로30길 26, G동 504호 (도곡동,
타워팰리스)

오세한

경기 성남시 분당구 양현로94번길 28, 305동 203호
(이매동, 이매촌동신3단지아파트)

박훈규

경기 수원시 영통구 영일로 20, 205호 (영통동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ007985

부처명 농촌진흥청

연구사업명 차세대 바이오그린 21 사업

연구과제명 노각나무 추출물과 사포닌계 유도체를 활용한 주름개선 화장품 개발 연구

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2011.05.01 ~ 2012.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

다이 하이드로 에르고스테롤 또는 이의 당 화합물을 포함하는 피부 주름 개선용 화장품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 당 화합물은 다이 하이드로 에르고스테롤 글루코오스인 피부 주름 개선용 화장품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 다이 하이드로 에르고스테롤 또는 이의 당 화합물이 MMP-1의 발현을 저해하는 것인 피부 주름 개선용 화장품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 다이 하이드로 에르고스테롤 또는 이의 당 화합물이 콜라게네이즈 효소 발현을 감소시키는 것인 피부 주름 개선용 화장품 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 피부 주름은 자외선에 의한 것인 피부 주름 개선용 화장품 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 다이 하이드로 에르고스테롤 또는 이의 당 화합물이 콜라겐 전구체의 회복 효과를 보이는 것인 피부 주름 개선용 화장품 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화장품은 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이로 구성된 군으로부터 선택되는 제형인 화장품 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 다이 하이드로 에르고스테롤 당 화합물을 포함하는 피부 주름 개선용 화장품 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 피부 주름 생성과 관련된 주요 기작은 피부가 대기오염, 자외선 노출, 스트레스 또는 질병 등의 유해환경으로부터 산화적 스트레스(oxidative stress)에 계속적으로 노출되어 체내의 라디칼이 증가되고, 진피의 결합조직인 콜라겐(Collagen), 엘라스틴(Elastin), 히아루론산(Hyaluronic acid) 등을 파괴하여 피부의 일정 부위 침하 현상(주름)을 일으킬 수 있는 것으로 설명된다. 또한 이러한 기작들은 세포막의 지질 부분을 산화시켜 세포의 파괴 현상을 일으켜 피부염, 여드름 또는 피부암등의 질병을 유발할 수 있다. 이외에도 라디칼은 멜라닌 형성과정에 관여하여 기미, 주근깨 및 주름생성의 원인이 되기도 한다.

[0003] 이중 주름의 형성에 가장 큰 영향을 미치는 것은 콜라겐의 생성량 및 콜라겐 분해 효소인 콜라게네이즈의 발현량과 활성이다.

[0004] 콜라겐은 피부의 진피층에 존재하며 전체 피부 건조중량의 약 70%를 차지한다. 피부의 탄력은 이 콜라겐과 엘라스틴(Elastin, 탄력섬유)에 의해서 유지되는 것으로 알려져 있다. 콜라겐 분자는 파이프로블라스트(Fibroblast) 내에서 만들어지며, 이들이 세포 밖으로 분비된 후에 3중 나선 구조를 형성한다. 콜라겐의 주된 기능으로는, 피부의 기계적인 견고성 유지, 결합 조직의 저항력 및 조직의 결합력 강화, 세포 접착의 지탱, 세포 분할 및 분화의 유도 등이 알려졌다(Van der Rest 등, 1990). 이러한 콜라겐은 자연 노화에 의한 세포 활성

의 감소 및 콜라게나아제(Collagenase)의 활성화로 인한 내적 요인 및 공해, 자외선, 스트레스 등의 외적 요인에 의한 활성산소 및 자유 라디칼의 증가로 인해 감소하게 된다(Ingrid Emerit 등, Free radical and aging, 1992). 일반적으로 80세에는 20세에 비해 65%의 콜라겐이 감소하여 피부의 두께가 얇아지고, 이는 피부의 주름형성과 밀접한 관련이 있다고 알려져 있다(Arthur K. Balin 등, Aging and the skin, 1989). 또한 근래에는 피부 노화에 대한 광범위한 연구가 진행되면서 피부에서 콜라겐의 중요성이 한층 강조되고 있다. 피부 내 콜라겐의 합성촉진에 의해 콜라겐 대사가 활발해지면 진피 기질의 성분이 증가됨으로 이로부터 주름개선, 탄력증진, 피부강화 및 상처 치유의 효과를 기대할 수 있는 것으로 알려져 있다.

[0005] 콜라게네이즈는 인체의 섬유아세포(fibroblasts)에서 자외선 자극(Ultra violet B)에 의해 생성된다(Kerwin, J. F. et al., J. Med. Chem. 1995, 38, 4343-4 362). 또한 자외선 자극에 의해 콜라겐의 분해가 일어나며 콜라겐의 분해에 따른 피부세포의 탄성 저하로 인해 주름이 발생하게 된다. 콜라게네이즈는 섬유아 세포에서 자외선 자극을 주게 되면 MAPK의 인산화 단계를 거쳐 전사 인자인 NF-KB의 활성화에 따라 발현이 조절된다. 또한 콜라겐은 TGF- β 의 활성화로 인해 smad 3,7의 조절 작용에 따라 합성이 증진 또는 저해된다고 알려져 있다. 자외선 자극은 다양하게 피부세포에 자극을 주게 되는데 특히 피부층을 구성하는 주된 구성 성분인 콜라겐을 분해시키고 더 나아가는 피부 암을 유발하기도 한다. 콜라겐은 70-90% 정도가 1번 타입으로 존재하는데 유리된 콜라겐 전구체가 피하층에서 콜라겐으로 합성이 일어난다. 섬유아 형성 과정을 거치게 되면 세포 사이의 기질로 작용을 하게 되는데 자외선이 조사되면 콜라겐의 분해 효소인 콜라게네이즈의 발현이 증가 된다. 콜라게네이즈의 발현 증가는 콜라겐의 분해를 촉진하고 이 결과로 피부는 급속도로 탄성을 잃어버리게 된다. 따라서 콜라게네이즈의 발현을 저해하거나 콜라겐의 합성을 증가하는 기능성 물질은 자외선 자극에 따른 주름개선 효능에 도움을 줄 수 있으나, 이에 대한 기능성 물질에 대한 연구가 부족한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) KR 10-2003-0042344
(특허문헌 0002) KR 10-2005-0051604

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 콜라게네이즈 효소의 발현 양을 감소시키고 콜라겐의 분해를 저해하여 피부 주름을 개선할 수 있는 다이 하이드로 에르고스테롤 당 화합물을 포함하는 피부 주름 개선용 화장품 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명자는 자외선 자극에 의해 발생하는 피부 주름을 개선하고자 콜라게네이즈의 발현을 감소하는 효능을 나타내는 물질을 찾고자 노력하였고, 그 결과, 사포닌계 유도체 중에서 다이 하이드로 에르고스테롤을 포함한 당 화합물들이 자외선 자극에 따른 콜라게네이즈의 발현을 감소하는 효능을 갖고 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0009] 본 발명은 다이 하이드로 에르고스테롤 또는 이의 당 화합물을 포함하는 피부 주름 개선용 화장품 조성물을 제공한다. 바람직하게 상기 조성물의 당 화합물은 다이 하이드로 에르고스테롤 글루코오스이다.

[0010] 본 발명에 따른 다이 하이드로 에르고스테롤 또는 이의 당 화합물은 자연원으로부터 분리할 수 있으며, 또한 화학적으로도 합성이 가능하다.

[0011] 본 발명에 따른 다이 하이드로 에르고스테롤(dihydroergosterol)은 사포닌계 유도체 중의 하나에 해당하며, 다이 하이드로 에르고스테롤 및 이의 당 화합물들은 피부 주름 개선에 효과를 보인다.

[0012] 본 발명의 다이 하이드로 에르고스테롤 또는 이의 당 화합물은 피부세포의 구조 형성 및 기능에 필요한 단백질에 영향을 미칠 수 있으며, 예를 들어, 콜라겐, 엘라스틴, 인테그린 등을 말하며, 바람직하게는 콜라겐이다. 보다 바람직하게, 본 발명의 조성물은 콜라게네이즈 효소 발현을 감소시켜며, MMP-1의 발현을 저해하며, 이에 따

라 콜라겐의 감소를 저해한다.

- [0013] 그 결과, 본 발명에 따른 다이 하이드로 에르고스테롤 또는 이의 당 화합물은 피부 주름을 개선할 수 있다.
- [0014] 본 발명의 다이 하이드로 에르고스테롤 또는 이의 당 화합물의 함량은 전체 화장료 조성물에 대하여 0.000001 내지 15.0 중량%이고, 보다 바람직하게는 0.0001 내지 10.0 중량%이며, 가장 바람직하게는 0.001 내지 5.0 중량%이다. 다이 하이드로 에르고스테롤 또는 이의 당 화합물의 함량이 0.000001 중량% 미만일 경우에는 뚜렷한 피부 노화 방지 효과, 특히 주름 개선 효과를 기대할 수 없고, 다이 하이드로 에르고스테롤 또는 이의 당 화합물의 함량이 15.0 중량%를 초과하는 경우에는 함유량 증가에 따른 뚜렷한 효과의 증가가 나타나지 않고, 피부 자극 및 제품의 안정성에 문제점이 있다.
- [0015] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분으로서의 다이 하이드로 에르고스테롤 또는 이의 당 화합물 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함한다.
- [0016] 본 발명의 화장료 조성물은 당 업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0017] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0018] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0019] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [0020] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [0021] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

발명의 효과

- [0022] 본 발명의 다이 하이드로 에르고스테롤 또는 이의 당 화합물을 포함하는 피부 주름 개선용 화장료 조성물은 독성을 나타내지 않으며, 피부 주름을 촉진시키는 효소인 MMP-1 생성 억제 활성이 우수하고 자외선 조사에 따른 주름생성을 억제하는 탁월한 효과가 있으므로 주름 개선 화장품 소재 및 주름 예방, 개선, 또는 치료를 위한 안전한 제제로서 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0023] 도 1은 사람 섬유 아세포에 자외선 자극을 주었을 때, 다이 하이드로 에르고스테롤 글루코즈의 콜라게네이즈(MMP-1) 생성 저해 효과를 나타낸 것이다.
- 도 2는 사람 섬유 아세포에 자외선 자극을 주었을 때, 다이 하이드로 에르고스테롤 글루코즈의 콜라겐 전구체 파괴 회복 효과를 나타낸 것이다.

도 3은 사람 섬유 아세포에 대한 자외선 자극을 주었을 때, 다이 하이드로 에르고스테롤 글루코즈의 전체 콜라겐 파괴 회복 효과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0025] <실시예 1> 다이하이드로 에르고스테롤의 제조

[0026] 에르고스테롤 (0.752 g)과 톨루엔 (10 ml), 다이아이소뷰틸 알루미늄 하이드라이드 (1M in toluene, 8ml)를 밀봉관에 넣고 110℃에서 60시간 동안 교반하였다. 소량의 메탄올을 넣은 뒤 용액을 빠르게 3M HCl 수용액에 넣고 메틸렌클로라이드로 추출하였다. 추출된 유기층은 NaCl 수용액으로 3번 씻어준 뒤 MgSO₄로 건조하고 여과하였다. 여과액은 감압농축 시킨 뒤 컬럼크로마토그래피를 통하여 정제하여 96%의 수득률로 생성물을 얻을 수 있었다.

[0027] 수소 NMR 피크는 하기에 제시한 바와 같다.

[0028] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ 0.55-2.02 (m, 42H), δ 3.60 (brs, 1H), δ 5.17-5.20 (m, 3H)

[0029] <실시예 2> 다이하이드로 에르고스테롤-글루코즈의 제조

[0030] (1) 2,3,4,6-테트라벤조일 글루코즈-다이하이드로 에르고스테롤의 제조

[0031] 다이하이드로 에르고스테롤 (0.5 g)과 2,3,4,6-테트라-O-벤조일-α-D-글루코피라노실 트라이클로로아세트이미데이트 (1.21 g)을 메틸렌클로라이드 (27 ml)에 녹인 뒤 4A 분자체를 넣고 -20℃에서 30분간 교반하였다. Cu(OTf)₂ (49 mg)를 넣고 -20℃에서 하루 동안 교반하였다. 트라이에틸아민으로 중화시킨 뒤 여과하여 여과액을 감압농축시켰다. 농축액을 컬럼크로마토그래피를 통하여 정제하여 68% 수득률로 생성물을 얻을 수 있었다.

[0032] 수소 NMR 피크는 하기에 제시한 바와 같다.

[0033] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ 0.51-1.86 (42H, dihydroergosterol peaks), δ 3.59 (brs, 1H), δ 4.14-4.20 (m, 1H), δ 4.52 (dd, 1H, J=5.9, 12.1 Hz), δ 4.61 (dd, 1H, J=3.3, 11.9 Hz), δ 4.95 (d, 1H, J=7.9 Hz), δ 5.09 (brs, 1H), δ 5.18 (t, 1H, J=6.3 Hz), δ 5.47-5.53 (m, 1H), δ 5.63 (t, 1H, J=9.7 Hz), δ 5.90 (t, 1H, J=9.7 Hz), δ 7.29-7.57 (m, 12H), δ 7.82-8.03 (m, 8H)

[0034] (2) 다이하이드로 에르고스테롤-글루코즈의 제조

[0035] 2,3,4,6-테트라벤조일 글루코즈-다이하이드로 에르고스테롤 (0.7 g)을 메틸렌클로라이드 (7 ml)와 메탄올 (7 ml)에 녹인 뒤 0.5M NaOMe (8.6 ml)를 넣고 실온에서 하루 동안 교반하였다. Dowex Mac-3를 넣어서 중화시킨 뒤 여과하여 여과액을 감압농축 하였다. 컬럼크로마토그래피로 정제하여 생성물을 89%의 수율로 얻었다.

[0036] 녹는 점, 수소 NMR 및 탄소 NMR 피크는 하기에 제시한 바와 같다.

[0037] 녹는점: 257-270℃

[0038] ¹H NMR (300MHz, Pyridine-d₅): δ 0.59 (s, 3H), δ 0.74 (s, 3H), δ 0.89 (d, 6H, J=6.8 Hz), δ 0.99 (d, 4H, J=6.8 Hz), δ 1.08 (d, 3H, J=6.6 Hz), δ 1.15-1.28 (m, 4H), δ 1.35-1.62 (m, 8H), δ 1.66-1.73 (m, 4H), δ 1.73-1.83 (m, 2H), δ 1.86-1.95 (m, 2H), δ 1.99-2.06 (m, 3H), δ 3.95-4.08 (m, 3H), δ 4.24-4.34 (m, 2H), δ 4.41-4.44 (m, 1H), δ 4.60 (d, 1H, J=11.5 Hz), δ 4.86 (brs, -OH peak), δ 5.04 (d, 1H, J=7.7 Hz), δ 5.19 (brs, 1H), δ 5.26-5.29 (m, 1H)

[0039] ¹³C NMR (300MHz, Pyridine-d₅): δ 12.27, 13.06, 17.84, 19.83, 20.14, 21.37, 21.73, 23.27, 28.53, 30.02, 33.33, 34.53, 34.72, 37.31, 39.60, 40.15, 40.85, 43.06, 43.46, 49.56, 55.28, 56.05, 62.90, 71.75, 75.38, 77.04, 78.54, 78.67, 79.80, 102.24, 117.86, 132.06, 136.18, 139.54

[0040] <실시예 3> 다이하이드로 에르고스테롤 화합물의 MMP-1 발현 저해 활성 평가

[0041] 섬유아세포(fibroblast) 배양시 시료가 세포 내 콜라게나제 생성억제를 나타내는지 여부를 공시료액과 비교하였

다.

[0042] 콜라게네이즈 발현 양 측정 Collagenase (MMP-1) 단백질 (AB) 측정법을 사용 하였다. 세포를 충분히 키운 다음 혈청이 포함되지 않은 media 로 갈아 주었다. 다음으로 각각의 시료액을 10 μ M의 농도로 만들어 준다음 자외선을 자극하고 24 시간 동안 배양하였다. 다음으로 세포의 상층액을 회수 한 다음 원심 분리시켰다. 원심 분리된 상층액을 SDS PAGE 실험을 실시하고 분자량에 따라 분리된 젤을 나이트로셀룰로즈 멤브레인에 이동시킨 후, 콜라게네이즈 특이 항체를 붙인 다음 콜라게네이즈 특이 항체를 인지하는 2차 항체를 붙이고 발색하여 단백질의 발현 양을 확인하였다. 상기 실험 진행 방법에 따라 다이하이드로에르고스테롤-글루코즈의 콜라게네이즈 발현 저해 활성을 비교하였다.

[0043] 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0044] 도 1에 나타낸 바와 같이, 자외선을 처리하지 않은 섬유아세포에서는 콜라게네이즈의 발현이 유도되지 않았으며 자외선을 처리한 섬유아세포에서는 콜라게네이즈의 발현이 증가하였다. 다음으로 다이하이드로 에르고스테롤 글루코즈를 처리한 섬유아세포에서는 자외선에 의해 유도되는 콜라게네이즈의 발현이 75% 감소하는 것을 확인하였으며 오차 범위는 0.05% 이하였다.

[0045] <실시예 4> 콜라겐 전구체의 mRNA 발현양 확인

[0046] 상기 결과와 동일하게 다이하이드로 에르고스테롤 글루코즈 화합물의 자외선 유도에 따른 콜라겐 전구체 발현 양 측정은 mRNA 측정법을 사용하였다. 세포를 충분히 키운 다음 혈청이 포함되지 않은 media 로 갈아 주었다. 다음으로 각각의 시료액을 10 μ M의 농도로 만들어 준 다음 자외선을 자극하고 24 시간 동안 배양하였다. 다음으로 세포를 분쇄한 다음 RNA를 분리하였다. 분리된 RNA에 콜라겐 전구체 프라이머를 붙인 다음 PCR 방법으로 특정 RNA를 증폭시킨 다음 아가로스 젤로 확인 하였다.

[0047] 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0048] 도 2에 나타낸 바와 같이, 콜라겐 전구체 발현이 다이하이드로 에르고스테롤 글루코즈 화합물의 처리 농도에 의존적으로 회복되는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 양상은 실시예 3의 결과와 함께 다이하이드로 에르고스테롤 글루코즈 화합물의 피부 주름 개선 효과의 가능성을 보여준다.

[0049] <실시예 5> 콜라겐 양 측정

[0050] 상기 실험 방법과 동일하게 다이하이드로 에르고스테롤 글루코즈 화합물의 전체 콜라겐의 양을 확인하기 위하여 다음과 같은 실험 방법에 따라 콜라겐 양을 확인하였다. Antibody-conjugate solution 100 μ l를 well에 넣은 다음 1/5로 희석한 배양액 및 표준액 20 μ l를 넣고 37°C에서 3시간 배양하였다. well에서 배양액을 제거한 다음 인산염완충액 (PBS) 400 μ l로 4회 씻었다. 발색시약 100 μ l를 넣고 상온에서 15분간 배양하고 1 N 황산 100 μ l을 넣은 다음 450 nm에서 ELISA reader로 측정하였다. 표준액조제는 콜라겐 표준품에 물을 넣어 녹여 각각 0, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 ng/mL가 되도록 희석하고 시약 SirCol assay kit (Biocolor Co.)를 회사에서 제공하는 매뉴얼에 따라 실시하였다.

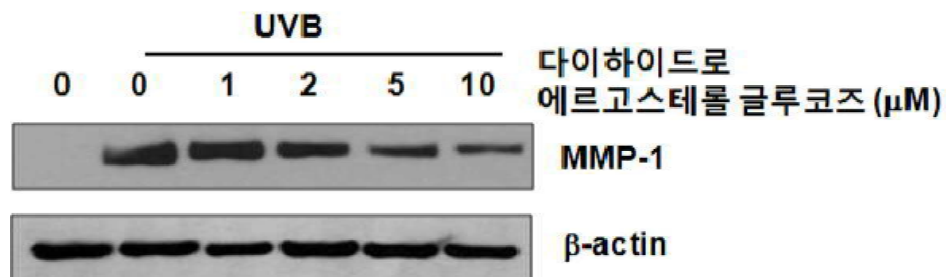
[0051] 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0052] 도 3에 나타낸 바와 같이, 다이하이드로 에르고스테롤 글루코즈 화합물 처리에 의해 콜라겐의 양이 회복되는 것을 확인할 수 있었다.

[0053] 상기 실시예 3 내지 실시예 5의 결과는 다이하이드로 에르고스테롤 글루코즈 화합물의 콜라게네이즈 효소의 발현 양을 감소시키고 콜라겐의 분해를 저해하는 것을 보여준다. 이는 본 발명의 조성물이 피부 주름을 개선할 수 있으며, 화장품 및 기능성 첨가제의 유효 성분으로 유용하게 사용될 수 있음을 말해준다.

도면

도면1



도면2



도면3

