



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0063122
(43) 공개일자 2017년06월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/60 (2006.01) A61K 31/704 (2006.01)
A61K 8/02 (2006.01) A61K 8/31 (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류
A61K 8/60 (2013.01)
A61K 31/704 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0169139
(22) 출원일자 2015년11월30일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
(주)아모레퍼시픽
서울특별시 중구 청계천로 100 (수표동)

(72) 발명자
심진섭
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)
고재영
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
윤동열

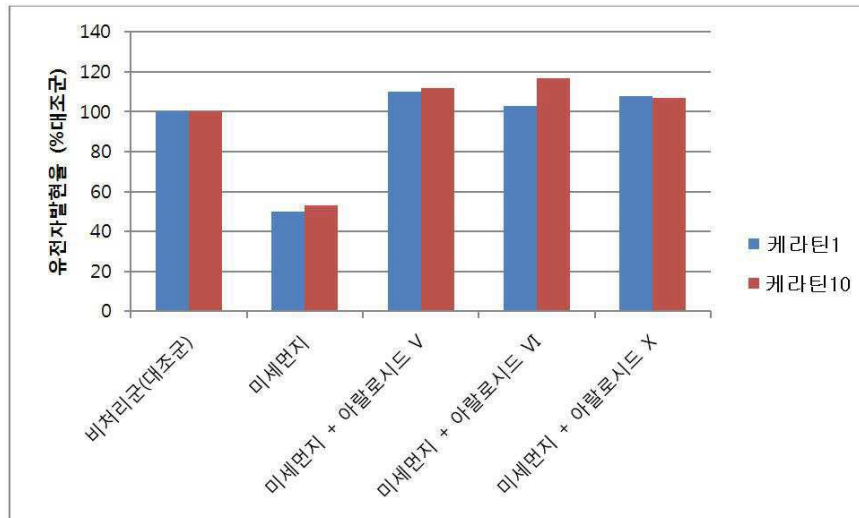
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 아랄로시드를 함유하는 피부 외용제 조성물

(57) 요약

본 발명은 아랄로시드계 화합물을 함유하는 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 아랄로시드 X, 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII를 비롯한 아랄로시드계 화합물을 유효성분으로 함유함으로써 유해물질 또는 미세먼지와 같은 외부 환경 스트레스에 의해 손상된 피부 마커를 회복시키고, 피부 염증 인자의 발현을 감소시켜 피부 회복을 도우며, 이에 의하여 항산화, 피부 트러블 억제, 항염 또는 피부 장벽 개선과 같은 효과를 제공할 수 있는 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 8/02 (2013.01)
A61K 8/31 (2013.01)
A61K 9/06 (2013.01)
A61Q 19/00 (2013.01)

(72) 발명자

양미숙

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)

유세진

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)

송호현

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)

김용진

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)

이존환

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)

명세서

청구범위

청구항 1

아랄로시드계 화합물을 유효성분으로 함유하는 피부 외용제 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 아랄로시드계 화합물은 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII 및 아랄로시드 X로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상임을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 아랄로시드계 화합물의 함량은, 조성물 총 중량에 대하여 0.0001~10중량%인 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 항산화용임을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 피부 트러블 억제용임을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 염증 완화용임을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 피부세포 손상 방지용임을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 조성물은 유연화장수, 수렴화장수, 영양화장수, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 아이크림, 아이에센스, 팩, 파우더, 바디로션, 바디크림, 바디오일, 바디에센스, 샴푸, 린스, 헤어트리트먼트, 바디클렌저, 비누, 클렌징폼, 클렌징워터, 클렌징크림 또는 클렌징젤로 제형화됨을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

청구항 9

아랄로시드계 화합물을 유효성분으로 함유하는, 피부 염증성 질환 치료용 약학 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 아랄로시드계 화합물은 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII 및 아랄로시드 X로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상임을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 아랄로시드계 화합물의 함량은, 조성물 총 중량에 대하여 0.0001~10중량%인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 12

제9항에 있어서, 상기 조성물은 피부 외용제임을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 13

제9항 내지 제12항 중 어느 한 항의 약학 조성물을 제형화하여 만든 의약.

청구항 14

제13항에 있어서, 로션, 크림, 연고 또는 젤로 제형화됨을 특징으로 하는 의약.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 아탈로시드계 화합물을 함유하는 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 아탈로시드 X, 아탈로시드 V, 아탈로시드 VII를 비롯한 아탈로시드계 화합물을 유효성분으로 함유함으로써 유해물질 또는 미세먼지와 같은 외부 환경 스트레스에 의해 손상된 피부 마커를 회복시키고, 피부 염증 인자의 발현을 감소시켜 손상된 피부의 회복을 도우며, 항산화, 피부 트러블 억제, 항염 또는 피부 장벽 개선과 같은 유익한 효과를 제공할 수 있는 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 도시 지역과 산업단지에서는 자동차 배출가스, 중국 동부 공업지대를 지나며 미세 중금속 가루를 포함해 날아온 황사 또는 외부 오염물이 사람들의 피부를 오염시키며 피부 노화 및 피부 트러블의 원인이 될 수 있다. 이는 주로 오염 물질에 함유된 중금속과 미세먼지로 인한 것이다.

[0004] 상기 중금속은 수은, 카드뮴, 납 및 구리와 같은 비중이 4 이상인 모든 금속류를 말하며, 일반적으로 생체 내로 흡수되면 생체 내 물질과 결합하여 잘 분해되지 않는 유기복합체를 형성하기 때문에 몸 밖으로 빨리 배출되지 않고 간장, 신장 등의 장기나 뼈에 축적되는 성질이 강한 물질이다. 소량의 중금속에 장기간 노출될 경우 후지마비, 이상운동, 운동실조, 피부의 색소침착 및 각질화, 발톱 또는 발굽 및 모발의 위축결손, 생식기능장애, 기형출산, 성장 저하 및 면역기능저하 등의 증상이 나타난다. 피부에서는 이러한 유해 중금속 미세 분진들이 대기 중에서 화학반응을 일으켜 질소산화물(NO), 황산화물(SO) 등과 같은 유해물질을 추가로 생성해 피부의 염증성 물질인 시토키인 등을 증가시키고 아토피나 피부 트러블을 유발할 수 있다. 또한, 중금속이 피부의 보습과 밀접한 관계에 있는 히아루론산을 파괴한다는 것은 이미 알려져 있다.

[0005] 상기 미세먼지의 크기는 대부분 10 μ m이하이며, 중금속 입자는 2 μ m이하이기 때문에 일반먼지(평균 크기가 20 μ m 이상)보다 훨씬 작다. 국립환경과학원(2006년)의 연구결과에 따르면, 수도권 지역의 미세먼지는 자동차 배출가스에서 만들어지는 황산염, 질산염 및 중국에서 날아온 2차 생성물 등이 주요성분인 것으로 조사됐다(서울시 전농동의 미세먼지(PM10)는 유기탄소화합물 22%, 원소탄소 8%, 질산염 22%, 황산염 15%, 토양지각성분 15% 및 기타 성분 18%로 나타났다. 자료출처: 2006년 국립환경과학원). 미세먼지는 사람의 폐포까지 깊숙하게 침투해 기관지와 폐에 쌓여 각종 호흡기 질환의 직접 원인이 되며, 몸의 면역 기능을 떨어뜨리고, 천식과 호흡곤란을 일으키며, 장거리 이동으로 비 또는 눈 속의 중금속 농도를 증가시키기도 한다. 피부에서는 미세먼지의 크기가 작기 때문에 쉽게 모공 깊숙이 침투할 수 있다. 침투된 미세먼지를 깨끗이 제거하지 못하면 피부에서 염증 및 트러블을 일으키는 경우가 많다.

[0006] 현재의 체내 중금속 제거 방법은 EDTA(ethylene diamine tetraacetate) 및 BAL(British Anti-Lewisite)과 같은 착화합물 형성물질을 주사하여 체내에 축적되어 있는 중금속과 결합하게 하여 중금속을 체외로 배출시키는 방법 또는 비타민 B1, 비타민 C 및 비타민 E를 복용하여 중금속의 체내 흡수를 막고 배출도 용이하게 하는 방법 등이 있다. 하지만 실제적으로 효과적이고 용이하게 피부 표면에 축적되어 있는 중금속을 제거하는 방법은 없다. 미세먼지는 클렌징으로 어느 정도는 제거가 가능하지만, 미세할수록 흡착력이 강하기 때문에 모공에 깊숙이 스며든 미세먼지, 특히 지름이 2.5 μ m 이하인 초미세먼지를 일반 클렌징으로 완벽하게 제거하는 것은 불가능한 실정므로 피부 트러블을 유발시킬 수 있는 염증 인자를 조절하고 외부 환경 스트레스에 의해 손상된 피부 마커를 회복시킬 수 있는 수단에 대한 요구가 존재한다.

[0007] 한편, 피부는 외부 환경에 직접적으로 노출되는 신체 부위로서, 과도한 자외선이나 오염물질 등과 같은 외부 환경 스트레스에 노출되면 홍반, 부종, 가려움, 염증 등의 피부 자극이 유발된다. 이러한 스트레스에 의한 피부 트러블은 미관상 문제가 될 뿐만 아니라, 염증반응 과정에서 생성되는 물질들이 부수적으로 피부의 색소 침착을 일으키고, 피부 탄력 섬유질의 붕괴를 촉진시켜 피부 주름의 증가에까지 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.

[0008] 따라서, 각종 스트레스에 의한 피부 자극 및 염증을 감소시키고, 화장품 및 경피 흡수 약물 시스템의 사용으로 인한 피부 부작용을 줄이기 위해서는 피부자극 완화 효능이 있는 물질을 개발하는 것이 절실히 요구된다.

선행기술문헌

특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) 등록특허 10-1415996(2014년 7월 8일 공고)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 이에 본 발명자들은 유해물질 또는 초미세먼지에 의해 손상 또는 발현이 저해된 피부 마커(예를 들어, 케라틴 1(KERATIN 1), 케라틴 10(KERATIN 10) 등)를 회복시키고, 활성이 증가된 염증 반응에 관여하는 마커(예를 들어, IL8, IL1B)의 활성을 저해시킴으로써 손상된 피부를 정상화시킬 수 있는 물질을 찾고자 하였으며, 아랄로시드가 이러한 효과를 제공할 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

[0012] 따라서, 본 발명의 목적은 아랄로시드를 유효성분으로 함유함으로써 손상된 피부 마커의 활성을 정상화시키고, 염증 유발 인자의 활성을 억제시켜 피부 자극 완화 효과를 발휘하고, 이에 의하여 항산화, 항노화, 피부 트러블 억제, 항염 또는 피부 장벽 개선과 같은 효과를 나타낼 수 있는 피부 외용제 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기한 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 아랄로시드를 유효성분으로 함유하는 피부 자극 완화, 항산화, 항노화, 피부 트러블 억제, 및 항염용 피부 외용제 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0016] 본 발명의 조성물은 아랄로시드를 함유함으로써 중금속과 같은 유해물질 또는 초미세먼지를 포함한 미세먼지와 같은 외부 환경 스트레스에 의해 손상된 피부 마커를 회복시켜 피부 자극을 완화시키고, 피부 염증 인자의 발현을 감소시켜 피부 회복을 도우며, 이에 의하여 항산화, 항노화, 피부 트러블 억제, 항염 또는 피부 장벽 개선과 같은 효과를 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 미세먼지를 처리한 세포에 있어서 아랄로시드 V, VII 및 X에 의한 케라틴 1, 케라틴 10 마커 활성 수준 회복 정도를 나타낸 그래프이다.

도 2는 미세먼지를 처리한 세포에 있어서 아랄로시드 V, VII 및 X에 의한 MMP-1 억제 정도를 나타낸 그래프이다.

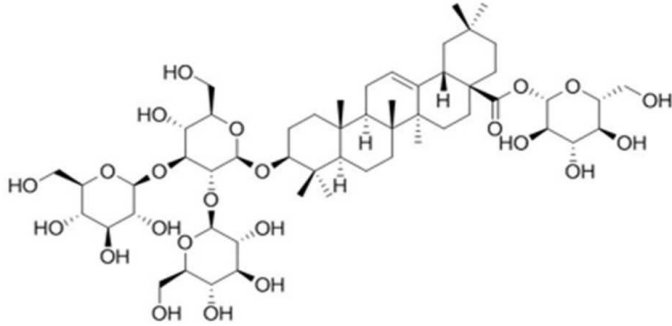
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 본 발명은 아랄로시드계 화합물을 함유하는 피부 외용제 조성물을 제공한다.

[0020] 본 발명에서 유효성분으로 사용되는 아랄로시드계 화합물은 사포닌성 배당체로서, 아랄로시드를 가수분해하면 올레아놀산과 아라비노오스, 포도당, 글루쿠론산, 콜린, 알칼로이드 등의 성분이 추출된다. 이 성분들은 중추신경을 흥분시키는 작용이 있어서, 신경쇠약과 정신분열, 두통, 저혈압의 치료에 효과가 있으며, 위궤양과 위암에도 사용되는 것으로 알려져 있다.

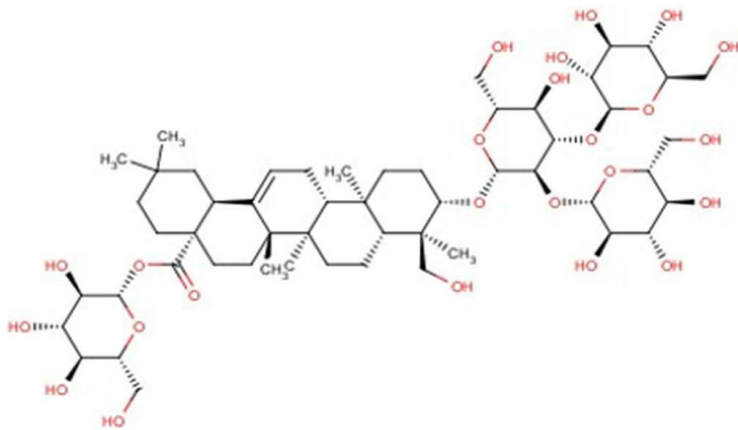
[0021] 아랄로시드계 화합물은 구체적으로 하위부류로서 아랄로시드 A, B, C, V, VII, X 등으로 나뉘어질 수 있다. 바람직하게, 본 발명에서는 아랄로시드 V, VII 또는 X이 유효성분으로서 사용되며, 이들의 구체적인 구조는 하기 화학식 1 내지 3에 나타낸 바와 같다.

화학식 1



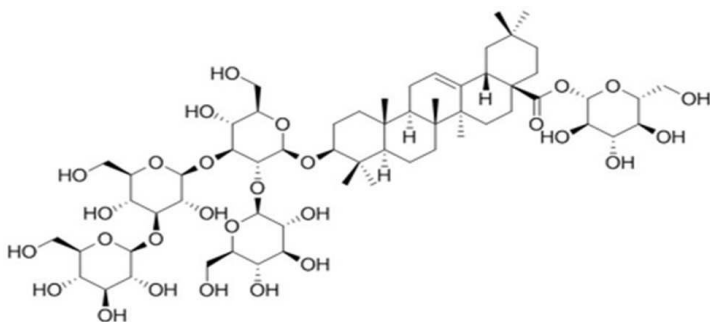
[0022] 아랄로시드 V

화학식 2



[0023] 아랄로시드 VII

화학식 3



[0024] 아랄로시드 X

- [0025] 본 발명에서 사용되는 아랄로시드는 상업적으로 입수하거나, 당업계의 통상적인 방법에 따라 수득될 수 있으며, 그 제조 방법은 특별히 한정되지 않는다. 구체적인 예를 들면, 본 발명에서 사용되는 아랄로시드는 Chendo Biopurify Phytochemicals LTD.(중국)로부터 입수가 가능하다.)
- [0026] 본 발명의 조성물은 아랄로시드를 조성물 총 중량에 대하여 0.0001~30중량%의 양으로 함유할 수 있으며, 특히 개별적인 아랄로시드는 각각 0.0001~10중량%의 양으로 함유될 수 있다. 그 함량이 0.0001중량% 미만이면 성분의 적절한 피부 흡수도, 안정도 및 원하는 효능을 기재하기 어렵고, 10중량% 추가하면 제품의 안전성 및 안정성에 좋지 않은 영향을 줄 수 있다.
- [0027] 본 발명에 따른 조성물은 아랄로시드, 특히 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII 및 아랄로시드 X로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 아랄로시드를 유효성분으로서 사용함으로써, 외부 환경 스트레스에 의한 피부 손상을 회복시키고 피부 자극을 완화하는데 도움을 줄 수 있다.
- [0028] 본 발명에서 “외부 환경 스트레스”라 함은 외부 유해물질, 미세먼지 등을 포함하여 피부에 자극을 줄 수 있는 인자를 의미하는 것이다.
- [0029] 본 발명에서 “피부 자극”이라 함은 피부의 상태가 정상 수준이 아닌 것을 의미하는 것으로서, 예를 들어 피부 건조, 염증, 홍반, 각질, 가려움 또는 화끈거림 등의 상태를 포함한다.
- [0030] 본 발명에서 “유해물질”이라 함은 피부에 자극을 주어 피부 손상을 야기할 수 있는 물질을 의미하는 것으로서, 본 발명에서는 특히 중금속을 포함하는 것으로 의도된다.
- [0031] 본 발명에서 “미세먼지”라 함은 우리 눈에 보이지 않는 아주 작은 물질로 대기 중에 오랫동안 떠다니거나 흩날려 내려오는 직경 10 μ m 이하의 입자상 물질을 말하는 것이다. 먼지는 입자의 크기에 따라 지름이 10 μ m 이하(PM10)인 미세먼지, 지름이 2.5 μ m 이하(PM2.5)인 초미세먼지로 나뉘는데, 본 발명에서 미세먼지는 초미세먼지도 포함되는 것으로 의도된다.
- [0032] 본 발명에서 “피부 염증성 질환”이라 함은 피부의 외부 또는 내부 스트레스에 의하여 피부에 염증을 일으키는 질환을 의미하는 것으로서, 염증, 홍반, 각질, 가려움 또는 화끈거림 등의 증상을 동반하는 것을 의미한다.
- [0033] 본 발명에서 상기 인터루킨8(IL8), 인터루킨1베타(IL1B)는 염증매개성 물질을 분비하는 등 염증 반응에 관여되는 유전자(본 명세서에서는 “피부 염증 유발 인자”라고도 지칭함)로서, 미세먼지 및 초미세먼지로 인해 현저하게 유도된다고 보고된 바 있다. 본 발명에 따른 조성물의 사용으로 피부 염증 유발 인자인 IL8 및 IL1B 유전자의 발현을 억제시키거나 또는 상기 유전자에 의해 발현되는 단백질의 활성을 감소시킬 수 있다.
- [0034] 본 발명에서 상기 케라틴 10(Keratin 10), 케라틴 1(Keratin 1)은 피부 세포의 각질형성을 조절함으로써 표피각화를 정상화시키는 작용을 하는 유전자로서, 미세먼지 및 초미세먼지로 인한 피부 손상, 홍반, 피부 주름, 노화 등에 관여한다. 본 발명에 따른 조성물의 사용으로 이들 케라틴 1 및 케라틴 10의 발현을 상승시키거나 또는 상기 유전자에 의해 발현되는 단백질의 활성을 증가시킬 수 있다.
- [0035] 본 발명의 조성물은 아랄로시드를 유효성분으로 사용함으로써 피부에 흡착된 유해물질 또는 미세먼지, 특히 초미세먼지의 체외 배출이 용이하게 이루어질 수 있도록 하며, 또한 유해물질 또는 미세먼지에 의해 활성이 손상 또는 발현이 저해된 피부 마커, 예를 들어 케라틴 1, 케라틴 10 등과 같은 마커 유전자를 정상 수준으로 회복시켜 상기 유전자의 발현 또는 상기 유전자에 의해 발현되는 단백질의 활성을 증가시키고, 피부 염증 유발 인자, 예를 들어 IL8, IL1B 등과 같은 마커 유전자의 발현 또는 상기 유전자에 의해 발현되는 단백질의 활성을 감소시켜 피부 회복을 도울 뿐만 아니라 외부 자극으로부터의 우수한 피부 보호 효능을 가진다. 또한, 이와 같은 마커 유전자의 발현 조절 또는 상기 유전자에 의해 발현되는 단백질의 활성 조절 작용에 의하여 피부에 대하여 항산화, 피부 질환 개선, 피부 염증 예방 또는 개선, 피부 장벽 개선, 피부 주름 개선 또는 피부 탄력 증가와 같은 항노화 등에 효과적으로 작용할 수 있으므로, 손상된 피부의 정상화에 도움을 줄 수 있다.
- [0036] 본 발명의 피부 외용제 조성물은 화장품 조성물로서 제형화될 수 있으며, 화장품학 또는 피부과학적으로 허용 가능한 매질 또는 기제를 함유하여 제형화될 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 국소 적용에 적합한 모든 제형으로 제공될 수 있으며, 예를 들어 용액, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 유상에 수상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 고체, 젤, 분말, 페이스트, 폼(foam) 또는 에어로졸 조성물의 제형으로 제공될 수 있다. 구체적으로 본 발명의 조성물은 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실 스틱의 형태로 제공될 수

있다. 이러한 제형의 조성물은 당해 분야의 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있다.

- [0037] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 상기한 물질 이외에 주 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서, 바람직하게는 주 효과에 상승 효과를 줄 수 있는 다른 성분들을 포함할 수 있다. 또한 본 발명에 따른 조성물은 보습제, 에몰리언트제, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, pH 조정제, 유기 및 무기 안료, 향료, 냉감제 또는 제한제를 더 포함할 수 있다. 상기 성분의 배합량은 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 당업자가 용이하게 선정 가능하며, 그 배합량은 조성물 총 중량에 대하여 0.01~5중량%, 구체적으로 0.01~3중량%일 수 있다.
- [0038] 본 발명의 화장료 조성물은 그 제형에 있어서 특별히 한정되는 바가 없으며, 예를 들면, 유연화장수, 수렴화장수, 영양화장수, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 아이크림, 아이에센스, 팩, 파우더, 바디로션, 바디크림, 바디오일 및 바디에센스 등의 화장료로 제형화될 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 조성물은 세정용 조성물로서 제형화될 수 있으며, 구체적으로 샴푸, 린스, 헤어트리트먼트, 바디클렌저, 비누, 클렌징폼, 클렌징워터, 클렌징크림, 클렌징젤 등으로 제형화될 수 있다.
- [0039] 본 발명에 따른 피부 외용제 조성물은 약학 조성물일 수 있다. 상기 약학 조성물은 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 약학 보조제 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 추가로 함유할 수 있다. 상기 약학 조성물은, 로션, 크림, 연고 또는 젤 등으로 제형화될 수 있다.
- [0040] 상기 약학 조성물은, 경피 투여되는 것이 바람직하다.
- [0042] 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.
- [0044] [참고예 1] 아랄로시드계 화합물의 준비
- [0045] 본 발명의 효능을 실험하기 위하여 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII, 아랄로시드 X를 Chendo Biopurify Phytochemicals LTD.(중국)를 통해 구입하였다.
- [0047] [참고예 2] 미세먼지의 준비
- [0048] 본 발명의 효능을 실험하기 위하여 미세먼지(Fine dust(PM10-like))를 Sigma-aldrich(미국)를 통해서 구입하였다. 이후 미세먼지는 사용하기 전에 멸균된 생리식염수에 100ppm 농도로 분산시킨 후 24시간 이내에 사용하였다.
- [0050] [시험예 1] 케라틴 1, 케라틴 10 마커 유전자의 발현 수준 회복 효능 확인
- [0051] 사람 신생아 상피 각질형성세포(HEK; Lonza사, NHEK-Neo-Neonatal Normal Human Epidermal Keratinocytes, Pooled)를 6-웰 플레이트의 배지(KBM-gold, Lonza사)에 1×10^5 개씩 분주하여 37℃에서 24시간 동안 배양하였다. 미세먼지 100ppm을 웰에 처리하여 24시간 동안 자극을 준 후 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII, 아랄로시드 X를 각각 50ppm 포함하는 배지(KBM-gold, Lonza사)로 처리하여 5일간 37℃에서 배양하였다. 5일간 배양한 각질형성세포에서 RNeasy mini kit(qiagen사)를 이용하여 RNA를 추출한 다음, Superscript III kit(invitrogen 사)로 RT-PCR을 수행하여 cDNA를 합성하였다. 케라틴 1 및 케라틴 10 유전자의 발현양을 확인하기 위해서 프로브(TaqMan™ fluorogenic probe, Hs00196158_m1, Hs00166289_m1)를 이용하여 정량적 실시간 PCR을 수행하여 케라틴 1 및 케라틴 10 유전자의 발현 양상을 관찰하였으며, 결과물 도 1에 나타내었다. 대조군으로는 미세먼지를 처리하지 않고 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII, 아랄로시드 X 처리도 없는 비처리군과 미세먼지를 처리하고 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII, 아랄로시드 X 를 처리하지 않은 미세먼지 처리군을 사용하였다.
- [0052] 도 1에서 미세먼지만을 처리한 군에 비하여 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII, 아랄로시드 X는 미세먼지로 인해 저해된 케라틴 1 및 케라틴 10 유전자의 발현을 회복시키며, 비처리군(대조군)에 있어서의 케라틴 1 및 케라틴 10

유전자의 발현 수준 이상으로 회복된다는 것을 확인할 수 있었다.

[0054] [시험예 2] IL8, IL1B 마커 유전자의 발현 조절 효능 확인

[0055] 인간섬유아세포(fibroblast)(PromoCell, Germany)를 6-웰 플레이트에 1×10^5 개의 세포의 농도로 접종하고, 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 배양하였다. 미세먼지 100ppm을 웰에 처리하여 24시간 동안 자극을 준 후, 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII, 아랄로시드 X를 50ppm으로 처리하여 48시간 동안 반응시켰다. 반응 완료 후 배양액을 수거하여 ELISA 분석을 수행하였다. 이때 항염 및 자극완화제로 많이 사용되는 물질인 알파-비사보롤(α -bisaborol)을 대조군으로 사용하였다. IL8, IL1B 단백질의 생성량 측정은 ThermoFisher사의 키트를 사용하였으며, 회사의 매뉴얼에 명기된 방법에 따라 실험을 진행하였다. 측정 결과는 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

시료(50ppm)	IL8(pg/ml)	IL1B(pg/ml)
미세먼지(100ppm)	246	311
대조군(α -비사보롤)	180	214
미세먼지 + 아랄로시드 V	189	243
미세먼지 + 아랄로시드 VII	184	256
미세먼지 + 아랄로시드 X	187	252

[0057] 상기 표 1에 나타낸 바와 같이, 염증 매개 물질인 IL8, IL1B 단백질의 생성량이 본 발명에서 사용되는 아랄로시드 V, VII 또는 X의 성분의 첨가에 의해 현저하게 줄어들어 염증 유발 인자 생성에 대한 높은 억제 효과를 보임을 확인할 수 있다.

[0059] [시험예 3] MMP-1 억제 효능 확인

[0060] 인간 신생아 섬유아세포인 HS68은 Cascade Biologics(Invitrogen, USA)로부터 구매하여 사용하였다. Hs68을 10% FBS(fetal bovine serum; 우태아혈청)와 50U/ml 페니실린, 50 μ g/ml 스트렙토마이신이 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 배양하였다. 세포는 37°C, 5% CO₂의 조건에서 배양하였다. 상기 Hs68을 7.5×10^4 세포/웰의 농도로 12-웰 플레이트에 넣고 하룻밤 동안 배양하였다. 다음날 미세먼지 농도가 100ppm인 FBS 무첨가 배지로 교환하여 24시간 동안 배양하였다. UVB 30mJ/cm²를 조사 후, 상기 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII, 아랄로시드 X를 각각 50ppm 농도로 48시간 동안 처리하였다. 배양 후 배지를 수거하여 MMP-1 assay kit(GE healthcare)를 이용하여 MMP-1 생성량을 측정하여 결과를 도 2에 나타내었다. 대조군으로는 미세먼지를 처리하지 않고 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII, 아랄로시드 X 처리도 없는 비처리군과 미세먼지를 처리하고 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII, 아랄로시드 X를 처리하지 않은 미세먼지 처리군을 사용하였다.

[0061] 도 2에서 미세먼지만을 처리한 군에 비하여 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII, 아랄로시드 X는 미세먼지로 인해 현저하게 높아진 MMP-1 활성을 거의 비처리군(대조군)에 있어서의 MMP-1 활성 수준까지 억제시킨다는 것을 확인할 수 있었다.

[0063] [시험예 4] 활성 산소종(ROS: reactive oxygen species) 생성 억제 효과

[0064] 사람의 표피 조직에서 분리한 각질형성세포(keratinocyte)를 24웰 플레이트의 각 웰에 5×10^4 개를 넣고 24시간 동안 부착시켰다. 이후, 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII, 아랄로시드 X를 각각 50ppm으로 처리하였다. 이 때 비교를 위하여 대조군(무처리군)은 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII, 아랄로시드 X를 처리하지 않았으며, 양성대조군으로는 공지된 항산화제인 아스코르브산을 처리한 것을 사용하였다. 2시간 뒤에 배양액을 제거한 후, 각 웰에 미세먼지 100ppm이 포함된 100 μ l의 인산완충염액(PBS)을 넣었다. 이후 미세먼지 자극에 의해 증가한 활성 산소종의 양을 정량하였다. ROS의 양은 ROS에 의해 산화되는 DCF-DA(dichlorofluorescein diacetate)의 형광을 측정하는 Tan의 방법을 참고하여 정량하였으며(Tan et al., 1998, J. Cell Biol. Vol. 141, pp1423-1432), 비히클만 처리한 대조군의 ROS에 대한 비율을 산출한 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

[0065]

시험물질	미세먼지 100ppm 처리
대조군(무처리군)	100
미세먼지(100ppm)	384
미세먼지 + 아랄로시드 V	110
미세먼지 + 아랄로시드 VII	105
미세먼지 + 아랄로시드 X	102
미세먼지 + 아스코르브산(50 ppm)	200

[0066]

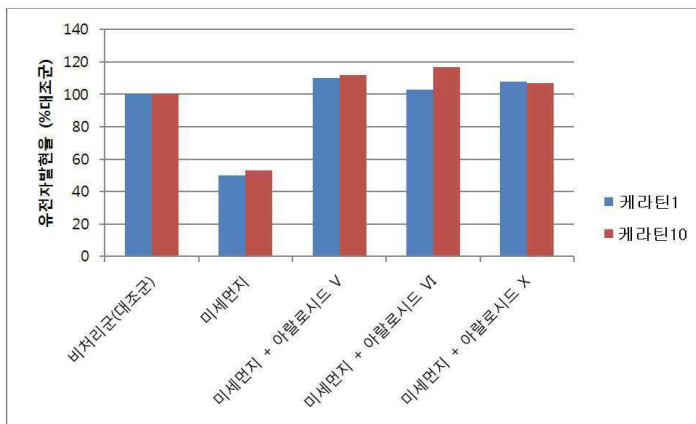
상기 표 2의 결과에서, 본 발명에서 사용되는 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII, 아랄로시드 X는 미세먼지에 의해 피부 세포 손상을 일으키는 것으로 알려진 ROS의 생성을 효과적으로 억제하며 미세먼지 처리 후 ROS의 양이 뛰어난 항산화 효능으로 알려진 아스코르브산 이상의 수준으로 ROS의 생성을 억제하여 항산화 효능이 매우 뛰어난 것을 알 수 있다.

[0067]

따라서, 본 발명에 의한 아랄로시드 V, 아랄로시드 VII, 아랄로시드 X가 미세먼지에 의한 산화를 억제하고 노화를 막음으로써 모공이 넓어지는 것을 예방할 수 있으며, 피부 자극의 생성을 방어함으로써 피부 트러블을 개선시킬 수 있음을 확인하였다.

도면

도면1



도면2

