



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0087146
(43) 공개일자 2015년07월29일

<p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>A61K 31/437</i> (2006.01) <i>A61K 31/407</i> (2006.01) <i>A61K 8/49</i> (2006.01) <i>A61Q 19/02</i> (2006.01) <i>A61Q 19/08</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류 <i>A61K 31/437</i> (2013.01) <i>A61K 31/407</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2015-0009889</p> <p>(22) 출원일자 2015년01월21일 심사청구일자 없음</p> <p>(30) 우선권주장 1020140007447 2014년01월21일 대한민국(KR)</p>	<p>(71) 출원인 주식회사 엘지생활건강 서울특별시 종로구 새문안로 58 (신문로2가)</p> <p>(72) 발명자 이상화 대전광역시 유성구 가정로 175 (주)LG생활건강 기술연구소</p> <p>김도형 대전광역시 유성구 가정로 175 (주)LG생활건강 기술연구소</p> <p>김효진 대전광역시 유성구 가정로 175 (주)LG생활건강 기술연구소</p> <p>(74) 대리인 특허법인다나</p>
---	--

전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 **피부 개선용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 피부 개선용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 타베르소닌(Tabersonine)은 피부의 섬유아세포의 콜라겐 합성을 촉진하여 피부의 재생을 촉진시키고 주름을 개선하며 탄력을 증진시키고, 자유 라디칼을 소거하여 항산화 효과를 나타내며, NO 생성을 억제하여 항염증 효과가 있으며, 멜라닌 합성을 억제하여 미백 효과를 나타낼 뿐만 아니라, PPAR 알파의 활성화도 우수하여 아토피 개선 효과가 있으며, 필라그린 발현 증가로 인한 피부 보습 개선 효과와 더불어, 피부 밝기 개선으로 인한 피부결 개선 효과를 나타냄으로써 약학적 조성물, 피부외용제, 화장품 조성물 또는 건강식품으로 사용 가능하다. 또한, 피부줄기세포의 증식을 촉진하고, 줄기세포성 유지 효과를 나타내고 있어 줄기세포 활성 촉진용 조성물 및 이를 포함하는 화장품으로 사용 가능하다.

(52) CPC특허분류

A61K 8/49 (2013.01)

A61K 8/4913 (2013.01)

A61K 8/4926 (2013.01)

A61Q 19/02 (2013.01)

A61Q 19/08 (2013.01)

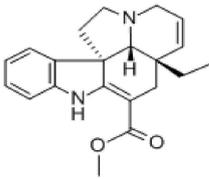
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생 및 주름 개선용 피부 외용제:

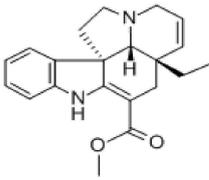
[화학식 1]



청구항 2

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생 및 주름 개선용 화장품 조성물:

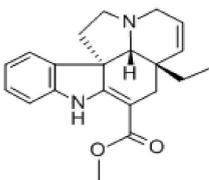
[화학식 1]



청구항 3

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 탄력 증진용 피부 외용제:

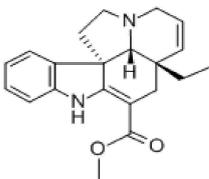
[화학식 1]



청구항 4

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 탄력 증진용 화장품 조성물:

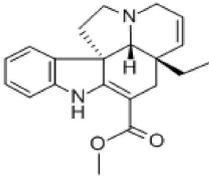
[화학식 1]



청구항 5

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 아토피 개선용 피부 외용제:

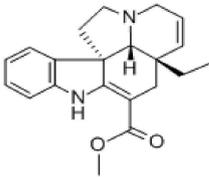
[화학식 1]



청구항 6

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 아토피 개선용 화장료 조성물:

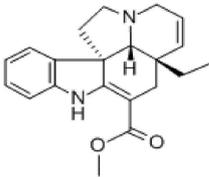
[화학식 1]



청구항 7

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 항산화용 피부 외용제:

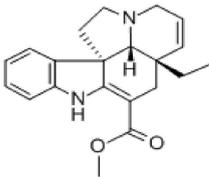
[화학식 1]



청구항 8

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 항산화용 화장료 조성물:

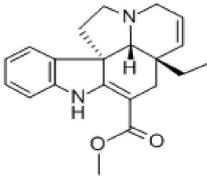
[화학식 1]



청구항 9

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 항염증용 피부 외용제:

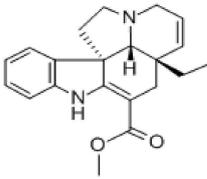
[화학식 1]



청구항 10

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 항염증용 화장품 조성물:

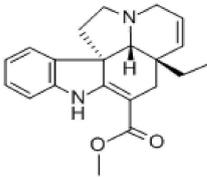
[화학식 1]



청구항 11

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 보습용 피부 외용제:

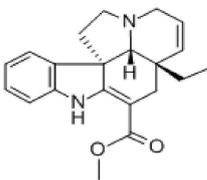
[화학식 1]



청구항 12

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 보습용 미백용 화장품 조성물:

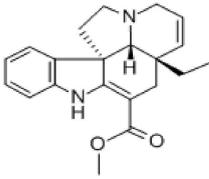
[화학식 1]



청구항 13

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 피부 외용제:

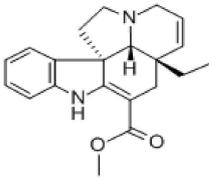
[화학식 1]



청구항 14

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물:

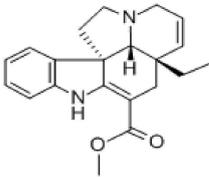
[화학식 1]



청구항 15

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부결 개선용 피부 외용제:

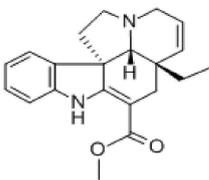
[화학식 1]



청구항 16

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부결 개선용 화장품 조성물:

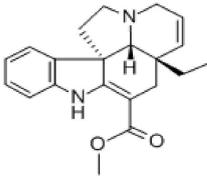
[화학식 1]



청구항 17

하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 줄기세포 활성 촉진용 조성물:

[화학식 1]



청구항 18

제 17 항에 있어서,

상기 줄기세포 활성화는 줄기세포 증식 촉진 또는 줄기세포성 유지를 특징으로 하는 줄기세포 활성화 촉진용 조성물.

청구항 19

제 17 항의 줄기세포 활성화 촉진용 조성물을 포함하는 화장료 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선 등의 피부 개선용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

콜라겐은 피부의 섬유아세포에서 생성되는 주요 기질 단백질로서 세포외 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.

[0003]

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.

[0004]

한편, 생체 외부로부터 유입되거나, 생체 내에서 발생하는 활성 산소는 생체의 노화를 촉진시키거나, 암을 발생시키는 등 많은 문제의 원인이 된다. 따라서 활성 산소에 의한 산화를 억제하는 항산화 물질에 대한 개발 및 연구가 많이 이루어지고 있다. 항산화 물질은 동, 식물계에 널리 분포되어 있으며 과일과 채소에 많은 페놀성 화합물, 플라보노이드, 토코페롤, 비타민 C, 셀레늄 등이 알려져 있다. 다만, 천연에 존재하는 항산화 물질은 피부 적용 시 실질적으로 충분한 효과를 기대할 수 없는 실정이다. 따라서, 항산화력이 뛰어나고 가격이 저렴한 합성 항산화제가 많이 사용되고 있으나, 인체 부작용 등 안전성에 대한 우려로 그 사용이 제한된다.

[0005]

또한, 염증은 상처나 질병에 반응하는 인체의 면역 반응으로, 자외선이나 활성산소, 자유라디칼 등의 산화적 스트레스 등이 염증성 인자를 활성화시켜 각종 질병 및 피부의 노화를 일으킨다. 혈관 활성 폴리펩타이드인 키닌(kinin), 플라스민(plasmin), 보체(complement) 등이 혈관 확장과 수축 및 주화성(chemotaxis) 작용을 하고, 그 외에 인터루킨-6(IL-6) 등과 같은 림포카인과 아라키돈산(arachidonic acid) 등이 염증 반응을 담당한다. 아

라키돈산은 사이클로옥시게나아제(cyclooxygenase) 혹은 리포옥시게나아제(lipoxygenase)의 2가지 경로를 거쳐 염증 매개체인 프로스타글란딘(prostaglandin), 류코트리엔(lukotriene)들로 대사되어 다양한 염증 반응을 매개한다.

[0006] 한편, 염증을 소실시키기 위해 염증원의 제거, 생체 반응 및 증상을 감소시키는 작용을 하는 것을 항염제라 한다. 현재까지 항염의 목적으로 이용되고 있는 물질로는 비스테로이드계로 플루페나믹산(flufenamic acid), 이부프로펜(ibuprofen), 벤지다민(benzydamine), 인도메타신(indomethacin) 등이 있고 스테로이드계통으로 프레드니솔론(prednisolone), 덱사메타손(dexamethasone) 등이 있다. 또한, 알란토인, 아즈엔, 하이드로코티손 등이 항염증에 효과가 있는 것으로 알려져 있으나, 이들 물질은 피부에 대한 안전성의 문제로 사용량의 제한이 있거나, 효과가 미미하여 실질적으로 염증 완화 효과를 기대할 수 없는 문제점이 있다.

[0007] 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, 단계적으로 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.

[0008] 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.

[0009] 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.

[0010] 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.

[0011] 최근 들어, 각질 형성 세포에 존재하는 PPAR 알파(Peroxisome Proliferator Activated Receptor-alpha)가 그리간드(ligand)와 결합하여 활성화되면, 각질 형성 세포의 분화를 촉진시켜 손상된 피부 장벽을 재구성하는 효과가 있다고 알려졌다. 실제로 공지된 PPAR 알파의 작용제(agonist)인 클로피라이브레이트(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.

[0012] 또한, 희고 고운 피부를 갖고자 하는 것은 모든 사람의 한결 같은 소망이다. 사람의 피부 내 멜라닌(melanin)의 농도와 분포에 따라 유전적으로 결정되나, 태양 자외선이나 피로, 스트레스 등의 환경적 또는 생리적 조건에 의해서도 영향을 받는다. 멜라닌은 아미노산의 일종인 티로신(tyrosine)에 티로시나제(tyrosinase)라는 효소가 작용하여 도파(DOPA), 도파퀴논(dopaquinone)으로 바뀐 후, 비효소적인 산화반응을 거쳐 만들어진다. 이와 같이 멜라닌이 만들어지는 경로는 알려져 있으나, 티로시나제가 작용하는 이전 단계인 멜라닌 합성을 유도하는 메커니즘이 무엇인지에 대해서는 아직도 자세히 밝혀지지 않고 있다.

[0013] 한편, 일반적인 알려진 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 추출물이 있다. 이들은 멜라닌 색소의 합성을 저해함으로써, 피부 톤을 밝게 하여 피부 미백을 실현할 수 있을 뿐만 아니라, 자외선, 호르몬 또는 유전에 기인한 기미나 주근깨 등의 피부 과색소 침착증의 개선이 가능하다. 그러나 피부 적용 시, 자극과 발적 등의 안전성의 문제로 사용량의 제한이 있거나, 효과가 미미하여 실질적인 효과를 기대할 수 없는 문제점이 있다.

- [0014] 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].
- [0015] 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]. 즉, 피부가 노화됨에 따라 나타나는 대표적인 징후인 주름은 이미 장기간에 걸쳐 일어나는 미세한 변화의 축적이다.
- [0016] 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 거듭하여 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 6]. 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 인테그린β1(integrin β1) 및 인테그린 α6(integrin α6)이 사용되고 있고, 상피 형태 형성 및 분화에 필요한 피부줄기세포의 유지는 p63 단백질에 의해 조절된다고 보고되고 있다.
- [0017] 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 깨지면서 여러 가지 문제가 발생된다. 따라서 이러한 줄기세포의 활성을 통하여 피부노화의 여러 현상을 개선할 수 있을 것이다[비특허문헌 7].
- [0018] 또한, 생체에 안전하고, 유효성분이 안정하며, 무엇보다도 기존의 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선 효과가 있는 물질보다 효과가 우수한 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선 활성을 지닌 성분의 개발이 절실히 요망되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0019] (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

- [0020] (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, Skin research and technology.5:189-194, 1999

(비특허문헌 0006) 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 0007) Human skin stem cells and the ageing process, Catherin Niemann, Stem Cell Aging and Regenerative Medicine, November 2008, Pages 986-997

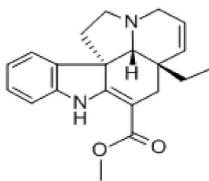
발명의 내용

해결하려는 과제

[0021] 이에, 본 발명자들은 타베르소닌(Tabersonine)이 피부의 섬유아세포의 콜라겐 합성을 촉진하고 피부줄기세포의 증식을 촉진하여 피부의 재생을 촉진시키고 주름을 개선하며 탄력을 증진시키고, 자유 라디칼을 소거하여 항산화 효과를 나타내며, NO 생성을 억제하여 항염증 효과가 있으며, 멜라닌 합성을 억제하여 미백 효과를 나타낼 뿐만 아니라, PPAR 알파의 활성화도 우수하여 아토피 개선 효과가 있으며, 필라그린 발현 증가로 인한 피부 보습 개선 효과와 더불어, 피부 밝기 개선으로 인한 피부결 개선 효과를 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

[0022] 따라서, 본 발명의 목적은 하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선용 조성물을 제공하는데 있다:

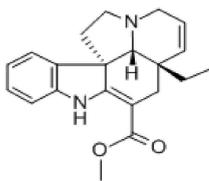
[0023] [화학식 1]



[0024]

[0025] 또한, 본 발명의 다른 목적은 하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 줄기세포 활성화 촉진용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 화장료 조성물을 제공하는데 있다:

[0026] [화학식 1]



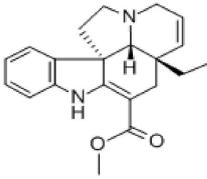
[0027]

과제의 해결 수단

[0028] 이에, 본 발명자들은 타베르소닌(Tabersonine)이 피부의 섬유아세포의 콜라겐 합성을 촉진하여 피부의 재생을 촉진시키고 주름을 개선하며 탄력을 증진시키고, 자유 라디칼을 소거하여 항산화 효과를 나타내며, NO 생성을 억제하여 항염증 효과가 있으며, 멜라닌 합성을 억제하여 미백 효과를 나타낼 뿐만 아니라, PPAR 알파의 활성화도 우수하여 아토피 개선 효과가 있으며, 필라그린 발현 증가로 인한 피부 보습 개선 효과와 더불어, 피부 밝기 개선으로 인한 피부결 개선 효과를 확인하였고, 줄기세포 증식 촉진 효과 및 줄기세포성 유지 효과를 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

[0029] 따라서, 본 발명의 목적은 하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선용 조성물을 제공하는데 있다:

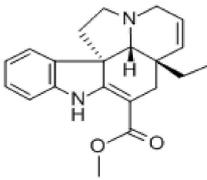
[0030] [화학식 1]



[0031]

[0032] 또한, 본 발명의 다른 목적은 하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 줄기세포 활성 촉진용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 화장료 조성물을 제공하는데 있다:

[0033] [화학식 1]



[0034]

발명의 효과

[0035] 본 발명에 따른 타베르소닌(Tabersonine)이 피부의 섬유아세포의 콜라겐 합성을 촉진하여 피부의 재생을 촉진시키고 주름을 개선하며 탄력을 증진시키고, 자유 라디칼을 소거하여 항산화 효과를 나타내며, NO 생성을 억제하여 항염증 효과가 있으며, 멜라닌 합성을 억제하여 미백 효과를 나타낼 뿐만 아니라, PPAR 알파의 활성화도 우수하여 아토피 개선 효과가 있으며, 필라그린 발현 증가로 인한 피부 보습 개선 효과와 더불어, 피부 밝기 개선으로 인한 피부결 개선 효과를 나타냄으로써 의약품, 화장료 또는 건강식품에 사용할 수 있다. 또한, 피부줄기세포의 증식을 촉진하고, 줄기세포성 유지 효과를 나타내고 있어 줄기세포 활성 촉진용 조성물 및 이를 포함하는 화장료로 사용할 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

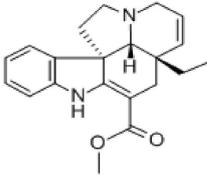
[0036] 이하, 본 발명의 구성을 구체적으로 설명한다.

[0037] 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선 성분이 실제 피부에 적용 시 우수한 효과를 발휘하기 위해서는 저농도에서 고효능의 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선 활성을 나타내고, 피부를 투과하여 흡수되는 능력이 우수하고, 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선 효과를 나타내기에 충분한 시간 동안 머무를 수 있도록 휘발성이 낮고, 조성물이나 피부 상에서 활성 성분이 안정하게 유지되고, 의약이나 화장품으로의 제형화가 용이하며, 또한 피부에 안전한 것이 바람직하다. 그러나, 공지의 성분 중 상기 특성을 모두 만족시키는 성분은 흔치 않다. 예를 들어, 몇몇 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선 성분들은 시험관 내 실험 시 저농도에서도 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선 활성은 우수하나, 피부를 투과하여 흡수되는 능력이 떨어져 실제 피부에 적용하기엔 어렵다. 또 다른 활성 성분들은 친수성이 낮아 의약이나 화장품으로 제형화가 어렵다. 또한, 몇몇 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 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.

[0038] 하기 실시예에서 확인할 수 있는 바와 같이, 타베르소닌은 저농도에서 월등히 우수한 콜라겐 합성 촉진 효과, 항산화 효과, 항염증 효과, 멜라닌 생성 저해 효과, PPAR 알파 활성화 효과, 필라그린 발현 효과, 피부 밝기 개선 효과를 나타내므로 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 피부 미백 및 피부결 개선을 위한 의약품, 화장료, 건강식품 등의 유효성분으로 사용할 수 있다.

[0039] 따라서, 그러므로 본 발명은 하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 피부 미백 및 피부결 개선용 약학적 조성물을 제공한다.

[0040] [화학식 1]



[0041]

[0042] 상기 화학식 1의 화합물의 화합물명은 3알파-에틸-3알파,4,6,11,12,13a-헥사하이드로-1H-인도리지노[8,1-cd]카르바졸-5-카르복실산 메틸 에스테르(3 α -Ethyl-3 α ,4,6,11,12,13a-hexahydro-1H-indolizino[8,1-cd]carbazole-5-carboxylic Acid Methyl Ester)라 하며, 일명 타베르소닌(Tabersonine)이라 한다.

[0043] 상기 화학식 1의 화합물은 합성하여 이용하거나, 시판되고 있는 화합물을 이용할 수 있다.

[0044] 본 발명의 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선용 약학적 조성물은 상기 화학식 1의 화합물의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함할 수 있다.

[0045] 상기 화학식 1의 화합물의 약제학적으로 허용 가능한 염은 유기산 또는 무기산을 이용하여 형성된 산 부가염일 수 있으며, 상기 유기산은, 예를 들면 포름산, 아세트산, 프로피온산, 락트산, 부티르산, 이소부티르산, 트리플루오로아세트산, 말산, 말레산, 말론산, 푸마르산, 숙신산, 숙신산 모노아미드, 글루탐산, 타르타르산, 옥살산, 시트르산, 글리콜산, 글루쿠론산, 아스코르브산, 벤조산, 프탈산, 살리실산, 안트라닐산, 디클로로아세트산, 아미노옥시 아세트산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 및 메탄술폰산계 염을 포함하며 무기산은 예를 들면 염산, 브롬산, 황산, 인산, 질산, 탄산 및 붕산계 염을 포함한다. 바람직하게는 염산염 또는 아세트산염 형태일 수 있으며, 보다 바람직하게는 염산염 형태일 수 있다.

[0046] 상기 언급된 산 부가염은 a) 상기 화학식 1의 화합물 및 산을 직접 혼합하거나, b) 이들 중 한 가지를 용매 또는 함수 용매 중에 용해시키고 혼합시키거나, 또는 c) 화학식 1의 화합물을 용매 또는 수화 용매 중의 산에 위치시키고 이들을 혼합하는 일반적인 염 제조방법으로 제조된다.

[0047] 위와는 별도로 추가적으로 염이 가능한 형태는 가바염, 가바펜틴염, 프레가발린염, 니코틴산염, 아디페이트염, 헤미말론산염, 시스테인염, 아세틸시스테인염, 메티오닌염, 아르기닌염, 라이신염, 오르니틴염, 아스파르트산염 등이 있다.

[0048] 또한, 본 발명의 상기 화학식 1의 화합물을 의약품으로 사용하는 경우, 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다. 예컨대, 공지의 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선 성분을 포함할 수 있을 것이다. 추가적인 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선 성분을 포함하게 되면 본 발명의 조성물의 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 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 당업계에서 공지된 피부 재생 성분으로서, 레티노산, TGF, 동물 태반 유래의 단백질, 베타딘산 및 클로렐라 추출물, 당업계에서 공지된 항산화 성분으로서, 토코페롤, 셀레늄, 비타민 C 및 페놀성 화합물, 당업계에서 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 화학식 1의 화합물의 제형화 시의 용이성 등의 요건에 따라 조절될 수 있을 것이다.

[0049] 또한, 본 발명의 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선용 약학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다.

[0050] 약학적으로 허용되는 담체는 완충액, 주사용 멸균수, 일반 식염수 또는 인산염 완충 식염수, 슈크로스, 히스티

딘, 엽 및 폴리솔베이트 등과 같은 여러 성분을 함유할 수 있다.

- [0051] 본 발명의 약학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있으며, 일반 의약품 제제의 형태, 예를 들어, 임상 투여 시 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉쇄제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [0052] 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 약학적 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다.
- [0053] 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.
- [0054] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 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 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0055] 본 발명에 있어서, '피부 재생 효과'라 함은 피부 외부 및 내부 원인에 의한 손상에 대하여 피부 조직이 회복되는 것을 말한다. 상기 외부 원인에 의한 손상은 자외선, 외부 오염 물질, 창상, 외상 등을 들 수 있으며, 상기 내부 원인에 의한 손상은 스트레스 등을 들 수 있다.
- [0056] 본 발명에 있어서, '주름 개선 효과'라 함은 피부에 주름이 생성되는 것을 억제 또는 저해하거나, 이미 생성된 주름을 완화시키는 것을 말한다.
- [0057] 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.
- [0058] 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.
- [0059] 본 발명에 있어서, '항산화 효과'라 함은 세포내 대사 또는 자외선의 영향으로 인한 산화적 스트레스에 따라 반응성이 높은 자유 라디칼(free radical) 또는 활성산소종(reactive oxygen species;ROS)에 의한 세포의 산화를 억제하는 것을 말하며, 자유 라디칼 또는 활성산소종을 제거하여 이로 인한 세포의 손상이 감소되는 것을 포함한다.
- [0060] 본 발명에 있어서, '항염증 효과'라 함은 염증을 억제하는 것을 말하며, 상기 염증은 어떤 자극에 대한 생체조직의 방어반응의 하나로, 조직 변질, 순환 장애와 삼출, 조직 증식의 세가지를 병발하는 복잡한 병변을 말한다. 보다 구체적으로 염증은 선천성 면역의 일부이며 다른 동물에서처럼 인간의 선천성 면역은 병원에 특이적으로 존재하는 세포 표면의 패턴을 인식한다. 식세포는 그런 표면을 가진 세포를 비자기로 인식하고 병원체를 공격한다. 만일 병원균이 신체의 물리적 장벽을 깨고 들어온다면 염증반응이 일어난다. 염증반응은 상처부위에 침입한 미생물들에 대한 적대 환경을 만드는 비특이적인 방어작용이다. 염증반응에서, 상처가 나거나 외부 감염체가 체내로 들어왔을 때, 초기단계 면역반응을 맡고 있는 백혈구들이 몰려들어 사이토카인을 발현한다. 따라서 세포내 사이토카인의 발현양이 염증반응 활성화의 지표가 된다. 염증과 관련된 피부질환의 예로는 아토피 피부염, 건선, 방사선, 화학물질, 화상 등에 의해 촉발되는 홍반성 질환, 산 화상, 수포성 피부병, 태선 모양 종류 질환, 알레르기에 기한 가려움증, 지루성 습진, 장미 여드름, 심상성 천포창, 다형 삼출성 홍반, 결절 홍반, 귀두염, 음문염, 원형 탈모증과 같은 염증성 모발 손실, 피부 T-세포 림프종 등이 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0061] 본 발명에 있어서, '보습 효과'라 함은 피부의 수분이 감소되는 것을 저해 또는 억제하거나 피부의 수분 함유량을 증가시켜 피부 표면을 매끄럽게 하며, 윤기를 부여하는 것을 말한다.
- [0062] 본 발명에 있어서, '미백 효과'라 함은 멜라닌 색소의 합성을 저해함으로써 피부 톤을 밝게 할 뿐만 아니라, 자외선, 호르몬 또는 유전에 기인한 기미나 주근깨 등의 피부 과색소 침착을 개선하는 것을 말한다.
- [0063] 본 발명에 있어서, '피부결 개선 효과'라 함은 노화, 스트레스 등의 영향으로 피부 표면이 거칠어지는 것을 억

제 또는 저해함으로써 피부 표면을 매끄럽게 하고, 광택을 부여하며, 피부 톤을 밝게 개선하는 것을 말한다.

- [0064] 본 발명의 약학적 조성물은 유효량의 상기 화학식 1의 화합물을 포함할 때 바람직한 피부 재생 효과, 주름 개선 효과, 탄력 증진 효과, 아토피 개선 효과, 항산화 효과, 항염증 효과, 보습 효과, 미백 효과 및 피부결 개선 효과를 제공할 수 있다. 본 발명에 있어서, '유효량'이라 함은 손상된 피부의 재생을 촉진하거나, 주름을 개선하거나, 탄력을 증진시키거나, 아토피와 같은 피부건조증을 개선하거나, 세포의 산화를 억제 또는 완화하거나, 염증을 억제하거나, 피부 결을 개선하거나, 보습 효과, 미백 효과를 나타낼 수 있는 화합물의 양을 의미한다. 본 발명의 조성물에 포함되는 상기 화학식 1의 화합물의 유효량은 조성물이 제품화되는 형태, 상기 화합물이 피부에 적용되는 방법 및 피부에 머무르는 시간 등에 따라 달라질 것이다. 예컨대, 상기 조성물이 의약품으로 제품화되는 경우에는 일상적으로 피부에 적용하게 되는 화장품으로 제품화되는 경우에 비해 높은 농도로 상기 화학식 1의 화합물을 포함할 수 있을 것이다. 따라서, 일일 투여량은 상기 화학식 1의 화합물의 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.
- [0065] 본 발명의 약학적 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0066] 본 발명은 또한 상기 화학식 1의 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선용 피부 외용제의 제형으로 제공할 수 있다.
- [0067] 상기 화학식 1의 화합물을 피부외용제로 사용하는 경우, 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 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.
- [0068] 상기 화학식 1의 화합물이 피부 외용제 제형으로 제공될 경우, 이에 제한되는 것은 아니나, 연고, 패취, 겔, 크림 또는 분무제와 같은 제형을 가질 수 있다.
- [0069] 본 발명은 또한 상기 화학식 1의 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선용 화장품의 제형으로 제공할 수 있다.
- [0070] 상기 화학식 1의 화합물을 화장품으로 사용하는 경우, 상기 화학식 1의 화합물을 유효성분으로 함유하여 제조되는 화장품은 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조할 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.
- [0071] 또한, 상기 화장품은 상기 화학식 1의 화합물에 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.
- [0072] 상기 화학식 1의 화합물은 화장품으로 제품화되는 경우에 유효성분이 단기간 내에 피부에 머무르게 되는 메이크업 제거제, 세정제 등과 같은 워쉬-오프(wash-off) 타입의 화장품의 경우에는 비교적 높은 농도의 상기 화학식 1의 화합물을 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 화학식 1의 화합물을 포함해도 무방할 것이다. 이에 제한되는 것은 아니나, 본 발명의 한 구체예에서, 상기 조성물은 상기 화학식 1의 화합물을 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 화학식 1의 화합물을 0.0001 중량%

미만으로 포함할 경우에는 충분한 피부 재생, 주름 개선, 항산화, 항염증 및 미백 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.

[0073] 본 발명은 또한 상기 화학식 1의 화합물을 포함하는 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선용 건강식품에 관한 것이다.

[0074] 본 명세서에서 '건강식품'이란, 상기 화학식 1의 화합물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있다.

[0075] 이와 같이 하여 얻어지는 본 발명의 건강식품은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 높은 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선 효과를 기대할 수 있어 매우 유용하다.

[0076] 상기 화학식 1의 화합물을 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 화학식 1의 화합물을 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 적절하게 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.

[0077] 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, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

[0078] 본 발명의 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스과 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g 이다.

[0079] 상기 외에 본 발명의 건강식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 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 건강식품은 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.

[0080] 본 발명은 또한, 상기 화학식 1의 화합물을 유효성분으로 포함하는 줄기세포 활성 촉진용 조성물을 제공한다.

[0081] 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.

[0082] 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 고양이를 포함할 수

있지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게 포유동물은 인간일 수 있다. 이러한, 피부줄기세포 공급원으로부터 피부줄기세포를 수득하는 방법에 대해서는 당업계에서 잘 알려져 있다.

[0083] 본 발명에 있어서, '줄기세포 활성화 촉진 효과'라 함은 줄기세포 증식 촉진 효과 및/또는 줄기세포성 유지 효과를 포함하는 것을 말한다.

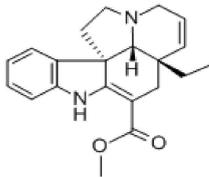
[0084] 피부줄기세포는 피부의 건강과 생리학적 및 생화학적인 항상성을 유지하는데 중요한 역할을 수행한다. 피부에 존재하는 줄기세포도 노화의 영향으로 인하여 기능에 이상이 발생하게 되고, 이에 따라 피부의 항상성이 깨지면서 여러 가지 문제가 발생된다. 이러한 줄기세포의 활성을 통하여 피부 노화의 여러 현상을 개선할 수 있으며 [비특허문헌 7], 이에 대해 본 발명에서는 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 아토피 개선, 항산화, 항염증, 보습, 미백 및 피부결 개선 효과를 확인하였다.

[0085] 따라서, 본 발명은 상기 줄기세포 활성화 촉진용 조성물을 포함하는 화장료 조성물을 제공할 수 있다. 이러한 화장료 제형에 대해서는 앞서 화학식 1의 화합물을 포함하는 화장료 제형에 관한 설명에 기재된 내용과 동일하다.

[0086] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0087] **참조예 1: 타베르소닌(Tabersonine) 물질 정보**

[0088] [화학식 1]



[0089] CAS No.: 4429-63-4

[0091] 구입처: Sichuan Hongjie Import&Export CO., LTD

[0092] **참조예 2: 무혈청 배지조건에서 피부줄기세포의 배양**

[0093] Cellntec사에서 구입한 인간 피부줄기세포(Human epidermal stem cell)를 48-웰 플레이트(6×10^3 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% CO₂ 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 화학식 2의 화합물 20 µg/mL을 처리하여 5% CO₂ 및 37°C 조건에서 72 시간 동안 배양하였다.

[0094] **실험예 1: CCK-8 평가법을 통한 피부줄기세포 증식 촉진 효과**

[0095] 상기 참조예 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.

[0096] 세포에 CCK-8 용액(배지부피의 1/10을 처리)을 37°C에서 2 시간 동안 처리한 후, 파장 450 nm 에서의 흡광도를 측정함으로써 분광학적으로 측정하였다. 화학식 1의 화합물의 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.

[0097] [수학적 1]

[0098] 증식율(%) = (시료처리군의 흡광도/대조군의 흡광도) × 100

표 1

[0099] 피부줄기세포의 증식 촉진 효과

첨가시료	농도	대조군 대비 세포 증식율(%)
화학식 1의 화합물	20 $\mu\text{g/mL}$	121%
대조군	-	100%

[0100] 상기 표 1의 결과에서 볼 수 있듯이, 본 발명의 화학식 1의 화합물을 처리한 배지조건에서의 피부줄기세포는 우수한 증식 촉진 효과를 나타내었다.

[0101] **실험예 2: 피부줄기세포의 줄기세포성(stemness) 유지 효과 확인**

[0102] 상기 참조예 2에서 배양된 피부줄기세포의 줄기세포성 유지 효과 확인을 위해 p63 발현 정도를 평가하였다. p63은 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.

[0103] 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

[0104] 줄기세포성(stemness) 유지 효과(반복수 = 3)

첨가시료	농도	p63 증가 배수(배)
화학식 1의 화합물	20 $\mu\text{g/mL}$	2.02
대조군	-	1.0

[0105] 상기 표 2의 결과에서 볼 수 있듯이, 본 발명의 화학식 1의 화합물을 처리한 배지 조건은 피부줄기세포의 p63 발현을 촉진하여 줄기세포성 유지 효과가 우수하다.

[0106] **실시예 1: 콜라겐 합성 촉진 효과**

[0107] 화학식 1의 화합물을 인간 유래의 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.

[0108] 화학식 1의 화합물을 최종 농도 10 $\mu\text{g/ml}$, 20 $\mu\text{g/ml}$ 가 되도록 하여 비타민 C와 대조군(무첨가)과 함께 각각 인간 유래의 섬유아세포(7×10^4 cells/cm²)의 배양 배지에 첨가하여 1일간 배양한 후, 배양액을 취하여 PICP EIA Kit로 각 농도에서 콜라겐 생합성 정도를 분광광도계를 이용하여 450 nm에서 측정하였다. 콜라겐 생합성능은 대조군에 대한 상대적인 합성능으로 증가율을 계산하고 결과를 하기 표 3에 정리하였다.

표 3

[0109] 농도에 따른 콜라겐 합성 촉진 효과(반복수 = 3)

첨가 시료	적용 농도($\mu\text{g/ml}$)	대조군 대비 콜라겐 합성증가율(%)
화학식 1의 화합물	10 $\mu\text{g/ml}$	43.0%
화학식 1의 화합물	20 $\mu\text{g/ml}$	62.0%
비타민 C	50 $\mu\text{g/ml}$	30.6%

[0110] 그 결과 상기 표 3의 결과에서 볼 수 있듯이, 본 발명의 화학식 1의 화합물은 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.

실시예 2: 미백 효과-멜라닌 생성 저해 효과 확인

화학식 1의 화합물을 쥐의 멜라노마 세포(B-16 mouse melanoma cell)의 배양액에 첨가하여 세포 수준에서의 미백 효과를 실험하였다(Lotan R., Lotan D. Cancer Res. 40:3345-3350, 1980).

실험 전 쥐의 멜라노마 세포에 대하여 독성을 평가하여 독성이 없는 농도를 선정하여 미백평가를 수행하였다.

화학식 1의 화합물을 배양액에 최종 농도가 10 µg/ml, 20 µg/ml이 되도록 하여 실험하였으며, 대조군인 알부틴은 200 µg/ml가 되도록 배지에 첨가하여 각각 B-16 멜라노마 세포에 처리하여 3일간 배양하였다.

이후, 세포들을 트립신(trypsin) 처리하여 배양용기로부터 떼어내 원심분리 한 후 멜라닌을 추출하였다. 떼어낸 세포는 수산화 나트륨 용액(1N) 1ml를 가하여 10분간 끓여 멜라닌을 녹이고 분광 광도계를 이용하여, 400 nm에서 흡광도를 측정하여 생성된 멜라닌의 양을 측정하였다.

상기 멜라닌 양은 단위 세포수당(10^6 cell)의 흡광도로 나타내는 방법으로 측정하였으며, 대조군에 대한 상대적인 멜라닌 생성량을 저해율(%)로 계산하고 결과를 하기 표 4에 정리하였다.

표 4

농도에 따른 세포수준에서의 멜라닌 생성 저해 효과(반복수 = 3)

시료	저해율(%)
대조군(무첨가)	-
대조군 1: 알부틴(200 µg/ml)	30.8
화학식 1의 화합물(20 µg/ml)	40.3
화학식 1의 화합물(10 µg/ml)	22.4

표 4의 결과에서 볼 수 있듯이, 화학식 1의 화합물은 기존에 알려진 미백 물질인 알부틴(Arbutin)과 비교할 때 배양된 쥐의 멜라노마 세포에 대하여 월등히 우수한 멜라닌 생성 억제능이 있음을 알 수 있다.

실시예 3: 항산화 효과- 자유라디칼 소거율

화학식 1의 화합물의 항산화 작용을 확인하기 위해 자유라디칼 소거 활성을 측정하였다. 자유라디칼 소거 활성은 DPPH를 이용하여 측정하였다. DPPH는 시그마사(Sigma Co., Ltd, 미국)에서 구입하여 사용하였다. 먼저, 1.5 mM(0.06 mg/ml)의 표준 DPPH 에탄올 용액을 만들었다. 그리고, 화학식 1의 화합물과 기준물질로 항산화제인 아스코르빈산에 각각 에탄올을 가하여 50µg/ml, 25µg/ml, 12.5µg/ml, 6.25µg/ml, 3.125µg/ml의 농도로 시료를 만들었다. 그 다음, 상기 시료와 표준 DPPH 용액을 같은 비율로 첨가하여 잘 교반한 후, 37 °C에서 30 분간 반응시키고 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때, 상기 시료 대신 에탄올을 첨가한 것을 대조군으로 하였다. 자유라디칼 소거능은 half maximal inhibitory concentration(억제 중간 값)인 IC₅₀을 구하여 그 결과를 하기 표 4에 나타내었다. IC₅₀은 무첨가 대조군의 자유라디칼을 50% 제거하는데 필요한 아스코르빈산 및 화학식 1의 화합물의 농도로서 자유라디칼 소거능을 표현하는 일반적인 방법이다.

표 5

자유라디칼 소거율(IC₅₀)

시료	자유라디칼 소거율(ug/ml)
아스코르빈산	5.2
화학식 1의 화합물	4.2

표 5의 결과에서 볼 수 있듯이, 화학식 1의 화합물은 기존에 알려진 항산화 물질인 아스코르빈산과 비교할 때

높은 활성을 보이므로, 항산화 효과가 있음을 알 수 있다.

[0123]

실시예 4: 항염증 효과-NO 생성 억제 효과

[0124]

화학식 1의 화합물의 항염증 효과 및 피부트리플 완화 효과를 확인하기 위하여, RAW264.7 세포주(ATCC number: CRL-2278)를 이용한 GRIESS 법으로 nitric oxide(NO) 형성 억제력 실험을 실시하였다.

[0125]

구체적으로, 생쥐의 대식세포인 RAW264.7 세포를 수차례 계대 배양하고, 웰 하나에 3×10^5 개씩 들어가도록 24-웰 플레이트에 넣은 후, 24 시간 동안 배양시켰다. 이어서, 하기 표 6에 나타난 농도로 화학식 1의 화합물을 희석하여 함유한 세포 배지로 교체하였다. 이때, NO-생성 억제 물질인 L-NMMA(L-NG-Monomethylarginine) 20 μ g/ml 을 양성 대조군으로 함께 처리하여 30분 동안 배양하였고, 자극원으로 LPS(Lipopolysaccharide)를 1 μ g씩 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 상층액을 100 μ l씩 취해 96-웰 플레이트에 옮기고, GRIESS 용액을 100 μ l씩 가해 상온에서 10분간 반응시키고, 540 nm에서의 흡광도를 측정함으로써 화합물 1의 NO 억제 효과를 판단하고, 그 결과를 하기 표 6에 나타내었다.

표 6

NO 생성 억제 효과

[0126]

시료	NO 생성 억제율(%)
L-NMMA (양성 대조군)	41.53
화학식 1의 화합물(0.1 %)	33.85
화학식 1의 화합물(1 %)	40.48

[0127]

표 6의 결과에서 볼 수 있듯이, 화학식 1의 화합물은 기존에 알려진 항염 물질인 L-NMMA와 동등 수준의 NO 생성 억제능이 있음을 알 수 있다.

[0128]

실시예 5: PPAR 알파 활성화 촉진 효과 검증

[0129]

화학식 1의 화합물의 PPAR 알파 활성화 촉진 효과를 확인하기 위하여, 화학식 1의 화합물을 이용하여 하기와 같은 실험을 수행하였다. 마우스 유래의 근아세포(myoblast) 세포주인 C2C12 세포(ATCC CRL-1772)를 10% 우태아 혈청을 포함하는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 배지에 계대 배양하였다. 여기서 사용된 벡터로는, 1) pZEO 벡터(Invitrogen)의 SV40 프로모터에 효모의 전사 인자인 GAL4-DBD(DNA Binding Domain)과 인간 PPAR 알파 LBD(Ligand Binding Domain)에서 Ser₁₆₇ 내지 Tyr₄₆₈을 암호화하는 DNA 단편(유전자 은행 정보, NM 005036)을 포함하는 벡터, 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 -galactodisase)를 발현하는 벡터를 사용하였다.

[0130]

상기 배양한 세포를 4×10^4 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, 화학식 1의 화합물을 처리하고 12 시간 동안 배양한 다음, $1 \times$ PBS로 세척하고 $1 \times$ 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.

[0131]

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.

[0132]

상기 실험 방법에 따라, 화학식 1의 화합물을 C2C12 세포에 처리하여 농도 변화에 따른 PPAR 알파의 활성을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 5에 나타내었다. 하기 표 7에서 PPAR 알파 활성화도의 수치는 음성 대조군(DMSO 0.05%) 대비 백분율을 의미한다.

표 7

[0133] PPAR 알파의 활성화

시료	PPAR 알파 활성화도 (%)
DMSO (0.05%)	100
Wy-14,643 (0.5 μM)	280
Wy-14,643 (1 μM)	935
화학식 1의 화합물 (0.05%)	700
화학식 1의 화합물 (0.5%)	954

[0134] 상기 표 7의 결과에 나타난 바와 같이, 정제된 화합물인 양성 대조군과 비교하였을 때, 화학식 1의 화합물은 매우 강력한 PPAR 알파 활성능을 나타낸다는 것을 확인할 수 있었다.

[0135] 실시예 6: 필라그린(Filaggrin)의 발현 촉진 효과

[0136] 화학식 1의 화합물을 5 μg/ml, 10 μg/ml가 되도록 하여 각각 인간 각질세포 주 HaCaT 세포의 배양 배지에 첨가하여 1일간 배양한 후, 세포의 RNA를 분리하고 cDNA를 합성한 뒤 Taqman 염색액으로 Real-time PCR을 수행하였다. RNA농도는 S16 리보솜 RNA로 표준화시켰다.

표 8

[0137] 농도에 따른 필라그린 발현 효과(반복수 = 3)

첨가시료	대조군 대비 필라그린 증가배수
대조군(무첨가)	1.00
화학식 1의 화합물 (5 μg/ml)	71.1
화학식 1의 화합물(10 μg/ml)	62.2

[0138] 상기 표 8의 결과에서 볼 수 있듯이, 화학식 1의 화합물은 인간 각질세포 주 HaCaT 세포의 필라그린 발현 촉진 능이 있다.

[0139] 실시예 7: 각질박리(turn-over)개선에 대한 효능성

[0140] 하기 제제에 2의 영양크림에 대해서 건강한 20대에서 50대의 여성을 대상으로 각질 박리 개선 효과를 다음과 같이 시험하였다.

[0141] 20세에서 50세까지의 여성 20명의 시험 부위에 DHA(Dihydroxyacetone, Sigma Aldrich, USA) 1.5% 용액을 8시간 동안 폐쇄 칩포하여 침착시킨 후 제조예 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.

[0142] 결과는 하기 표 9에 나타내었다.

표 9

[0143] 피부 밝기 개선 효과

구분	도포 4일 후	도포 8일 후	도포 12일 후
개선율(%)	1.38	4.85	12.67

[0144] 상기 표 9에서 볼 수 있듯이, 본 발명에 의한 제제에 영양크림을 사용한 경우 각질 박리 개선 효과가 있는 것으로 나타났다.

[0145] **제제예 1: 약학적 제제의 제조**

[0146] 1. 정제의 제조

[0147] 화학식 1의 화합물 0.2mg

[0148] 옥수수전분 100mg

[0149] 유 당 100mg

[0150] 스테아린산 마그네슘 2mg

[0151] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0152] **제제예 2: 화장품의 제조**

[0153] 1. 영양크림의 제조

[0154] 하기 조성과 같이, 화학식 1의 화합물을 유효성분으로 포함하는 영양크림을 통상의 방법에 따라 제조하였다.

[0155] 화학식 1의 화합물 0.2중량%

[0156] 베타-1,3-글루칸 5.0 중량%

[0157] 밀납 10.0 중량%

[0158] 폴리솔베이트60 1.5 중량%

[0159] 피이지 60 경화피마자유 2.0 중량%

[0160] 솔비탄세스퀴올레이트 0.5 중량%

[0161] 유동파라핀 10.0 중량%

[0162] 스쿠알란 5.0 중량%

[0163] 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드 5.0 중량%

[0164] 글리세린 5.0 중량%

[0165] 부틸렌글리콜 3.0 중량%

[0166] 프로필렌글리콜 3.0 중량%

[0167] 트리에탄올아민 0.2 중량%

[0168] 방부제 0.05 중량%

[0169] 색소 0.05 중량%

[0170] 향료 0.05 중량%

[0171] 정제수 to 100 중량%

[0172] **제제예 3: 피부외용제의 제조**

[0173] 1. 연고의 제조

[0174] 하기 조성과 같이, 화학식 1의 화합물을 유효성분으로 포함하는 연고를 통상의 방법에 따라 제조하였다.

[0175] 화학식 1의 화합물 0.5 중량%

[0176] 베타-1,3-글루칸 10.0 중량%

[0177] 밀납 10.0 중량%

[0178] 폴리솔베이트60 5.0 중량%

- [0179] 피이지 60 경화피마자유 2.0 중량%
- [0180] 솔비탄세스퀴올레이트 0.5 중량%
- [0181] 바셀린 5.0 중량%
- [0182] 유동파라핀 10.0 중량%
- [0183] 스쿠알란 5.0 중량%
- [0184] 웨이버터 3.0 중량%
- [0185] 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드 5.0 중량%
- [0186] 글리세린 10.0 중량%
- [0187] 프로필렌글리콜 10.2 중량%
- [0188] 트리에탄올아민 0.2 중량%
- [0189] 방부제 0.05 중량%
- [0190] 색소 0.05 중량%
- [0191] 향료 0.05 중량%
- [0192] 정제수 to 100 중량%