

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0081929

(43) 공개일자 2020년07월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 8/9789 (2017.01) A23L 33/105 (2016.01)

A61K 36/185 (2006.01) A61P 17/18 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 8/9789 (2017.08)

A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2018-0171966

(22) 출원일자 2018년12월28일

심사청구일자 2018년12월28일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

정대균

경기도 용인시 수지구 이종무로169번길 11-12(고기동)

김훈

경기도 수원시 장안구 창훈로80번길 50, 202호(연무동, 효준아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

위병갑

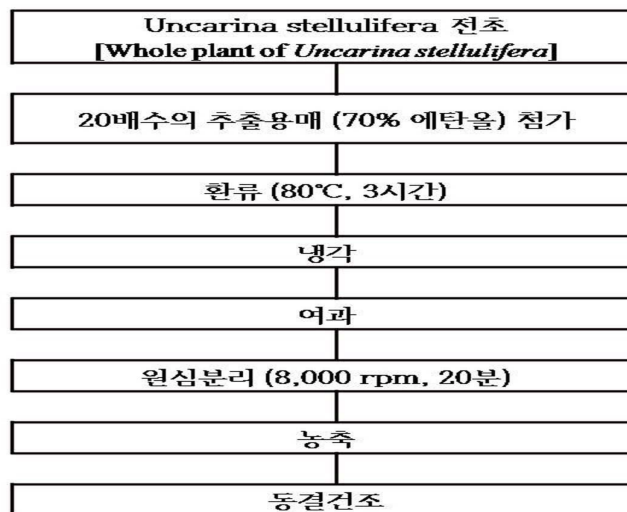
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 노화방지 또는 주름개선용 조성물

(57) 요약

본 발명은 운카리나 스텔루리페라 추출물 및 이를 유효성분으로 포함하는 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 항산화 활성이 우수하고, 엘라스타아제(elastase) 및 MMP-1의 억제 활성이 뛰어나므로 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 식품 및 화장품 조성물로 유용하게 이용할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 36/185 (2013.01)
A61P 17/18 (2018.01)
A61Q 19/08 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/318 (2013.01)
A61K 2800/782 (2013.01)

(72) 발명자

방면호

경기도 수원시 장안구 경수대로976번길 22, 149동
 302호(조원동, 수원 한일타운)

다쉬 오윤빌레그

경기도 수원시 장안구 창훈로52번길 33-19 1층 좌
 (연무동)

한수민

경기도 수원시 권선구 매곡로 43, 205동 1702호(금
 곡동, 호반베르디움 더 센트럴)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	RIC-B0009669
부처명	중소벤처기업부
연구관리전문기관	KIAT
연구사업명	지역혁신센터 사업
연구과제명	피부생명공학센터
기 여 율	1/1
주관기관	경희대학교 산학협력단(피부생명공학센터)
연구기간	2018.03.01 ~ 2019.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

피부 노화 방지 또는 주름 개선 효과를 갖는 운카리나 스텔루리페라(*Uncarina stellulifera*) 추출물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 추출물은 물, 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 헥산, 디클로로메탄 또는 이들의 혼합용매로 추출된 추출물.

청구항 3

운카리나 스텔루리페라(*Uncarina stellulifera*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 조성물.

청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 및 이들의 혼합용매로 구성되는 군으로부터 선택되는 용매로 추출하여 제조되는 것인 조성물.

청구항 5

제 3항에 있어서, 상기 조성물은 항산화 활성을 갖는 것인 조성물.

청구항 6

제 3항의 조성물을 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 화장품 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 화장품 조성물은 유연 화장수, 젤, 수용성 리퀴드, 밀크로션, 영양크림, 마사지 크림, 에센스, 수중유형 에멀전, 유중수형 에멀전, 페이스크림 무수 생성물, 고체 무수 생성물, 소구체를 사용한 수성 상에서의 오일분산물, 이온성 지질 소포체, 비이온성 지질 소포체, 연고, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 보디 오일, 수중유형 메이크업베이스, 유중수형 메이크업베이스, 파운데이션, 스킨케어, 립스틱, 립그로스, 페이스과우더, 투웨이케익, 아이섀도우, 마스크라, 치크칼라 및 아이브로우펜슬류로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종의 제형인 것인, 화장품 조성물.

청구항 8

제 3항의 조성물을 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 약학적 조성물.

청구항 9

제 3항의 조성물을 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 건강식품 조성물.

청구항 10

제 3항의 조성물을 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 의약외품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 노화방지 또는 주름개선용 조성물에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 화장품 산업은 정밀화학기술이 요구되는 기술집약적 산업으로서, 브랜드 파워를 보유한 대규모 기업들이 시장을 주도하고 있으나, 자본력이 부족한 중소기업들도 시장참여가 용이한 산업이다. 최근 주요 주목할 만한 트렌드는 기능성화장품(코스메티슈컬) 시장의 성장과 온라인, 편집숍과 같은 신규 유통채널의 급성장 등을 꼽을 수 있다. 코스메티슈컬은 일반 화장품 대비 노화방지, 미백, 주름개선 등의 효과가 높은 화장품으로, 세계 화장품 시장의 15%를 차지하고 있으며 향후에도 고령화에 따른 아티에이징 시장의 지속적 성장에 힘입어 꾸준하게 성장할 것으로 전망되고 있다.
- [0003] 최근 전세계 화장품 원료 시장 규모는 30조원 정도로 추산되고 있으며, 이중 천연물로부터 고효능의 성분만을 추출한 기능성 화장품 원료 시장은 20%인 약 6조원 규모로 추정되고 있다. 최근 화장품 원료의 브랜드 마케팅 활용도 증가와 다각적 바이오 소재로의 활용 가능성이 높아지고 있어 천연물을 이용한 화장품 생산은 더욱 증가될 것으로 전망되고 있다. 최근 식품의약품안전처는 프리미엄 화장품 산업 육성을 위해 1) 기능성 화장품 범위 확대 2) 천연화장품 기준 및 인증체계 마련 3) 맞춤형 화장품 체험관 운영 및 피부 빅데이터 플랫폼 구축 등을 진행하고 있다.
- [0004] 또한, 최근 천연물 소재를 활용한 화장품 원료 비중이 높아지고 있는 추세인데, 천연물의 경우 오랫동안 민간요법에 의해 식용 또는 약용으로 사용된 경우가 많아 안정성 확보가 용이하고 다양한 약리 효과를 나타내며, 저공해상품(green produc)으로서 안정적인 원료 공급이 가능한 장점이 있다.
- [0005] 새로운 천연 원료를 얻기 위하여 마다가스카르 지역의 천연재료를 연구하였다. 마다가스카르는 아프리카 남동쪽 인도양에 위치한 청정지역으로 '신비의 섬나라'와 '보물섬'이라 불릴 정도로 천연물 자원이 풍부한 나라로 알려졌다. 동국제약의 간판 상처치료제 '마데카솔'의 주원료가 되는 '센텔라아시아티카'라는 식물은 마다가스카르가 주산지이다. 마데카솔이라는 브랜드명도 바로 '마다가스카르'의 지명으로부터 유래되었다고 알려지고 있다. 세계야생동물기금협회(WWF) 보고서에 따르면 마다가스카르 동식물의 80%는 타지역에서 찾아볼 수 없는 고유종으로 알려진 바 있다.
- [0006] 알려진 고유종 이외의 새로운 자생 식물 종을 검토하여 마다가스카르의 자생 식물종 중 하나인 운카리나속(*Uncarina sp.*)은 참깨과(*Pedaliaceae*)에 속하는 식물로 아프리카 동부 마다가스카르 지역에서 주로 자생하고 있지만 국내에서는 자생하고 있지 않은 것으로 파악하였다.
- [0007] 운카리나속에는 11종이 속한 것으로 알려져 있는데, 운카리나 그란디디엘리(*U. grandidieri*) 및 운카리나 데카리(*U. decaryi*)등의 종이 있으며, 마다가스카르 이외 지역에서는 자생하지 않아 관련 연구는 거의 진행되어 있지 않은 실정이다.
- [0008] 이에 본 발명자들은 운카리나속 식물인 운카리나 스텔루리페라를 이용하여 피부 미용 소재로서의 가능성을 평가하고 이를 화장품 및 식품 원료로서의 활용 등 산업분야 기초자료로서 활용하고자 한다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0009] (특허문헌 0001) (0001) 한국 등록 특허 KR 10-0771397
(특허문헌 0002) (0002) 한국 공개 특허 KR 10-1230752

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 따라서 본 발명은 운카리나 스텔루리페라(*Uncarina stellulifera*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부노화 방지 또는 주름 개선용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 피부 노화 방지 또는 주름 개선 효과를 갖는 운카리나 스텔루리페라

(*Uncarina stellulifera*) 추출물을 제공한다.

- [0012] 일 실시예에 있어서, 상기 추출물은 물, 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 헥산, 디클로로메탄 또는 이들의 혼합용매로 추출될 수 있다.
- [0013] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 본 발명은 운카리나 스텔루리페라(*Uncarina stellulifera*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 조성물을 제공한다.
- [0014] 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 물, 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 헥산, 디클로로메탄 또는 이들의 혼합용매로 추출될 수 있다.
- [0015] 일 실시예에 있어서, 상기 조성물은 항산화 효능을 가질 수 있다.
- [0016] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 본 발명은 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0017] 일 실시예에 있어서, 상기 화장료 조성물은 상기 화장료 조성물은 유연 화장수, 젤, 수용성 리퀴드, 밀크로션, 영양크림, 마사지 크림, 에센스, 수중유형 에멀전, 유중수형 에멀전, 페이스스크럼 무수 생성물, 고체 무수 생성물, 소구체를 사용한 수성 상에서의 오일분산물, 이온성 지질 소포체, 비이온성 지질 소포체, 연고, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 보디오일, 수중유형 메이크업베이스, 유중수형 메이크업베이스, 파운데이션, 스킨커버, 립스틱, 립그로스, 페이스파우더, 투웨이케익, 아이섀도우, 마스크라, 치크칼라 및 아이브로우펜슬류로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종의 제형화될 수 있다.
- [0018] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 본 발명은 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0019] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 본 발명은 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.
- [0020] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 본 발명은 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 의약품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0021] 본 발명의 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 항산화 활성이 우수하고, 엘라스타아제(elastase) 및 MMP-1의 억제 활성이 뛰어나므로 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 식품 또는 화장료 조성물로 유용하게 이용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0022] 도 1은 운카리나 스텔루리페라 추출물을 제조하기 위한 과정을 나타낸 모식도이다.
- 도 2는 운카리나 스텔루리페라 추출물의 ABTS 자유라디칼 소거능을 나타낸 그래프이다.
- 도 3은 운카리나 스텔루리페라 추출물의 DPPH 자유라디칼 소거능을 나타낸 그래프이다.
- 도 4는 운카리나 스텔루리페라 추출물의 FRAP 활성을 나타낸 그래프이다.
- 도 5는 운카리나 스텔루리페라 추출물의 총 폴리페놀 함량을 나타낸 그래프이다.
- 도 6은 운카리나 스텔루리페라 추출물의 엘라스타아제(elastase) 억제 활성을 나타낸 그래프이다.
- 도 7은 운카리나 스텔루리페라 추출물의 HDF 세포독성을 나타낸 그래프이다.
- 도 8은 운카리나 스텔루리페라 추출물의 MMP-1 억제 활성을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0023] 본 발명은 피부 노화 방지 또는 주름 개선 효과를 갖는 운카리나 스텔루리페라(*Uncarina stellulifera*) 추출물, 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 조성물을 제공함에 그 특징이 있다.
- [0024] 본 발명의 운카리나 스텔루리페라(*Uncarina stellulifera*)는 마다가스카르의 자생 식물종 중 하나이며, 참깨과

(*Pedaliaceae*)에 속하는 식물로 아프리카 동부 마다가스카르 지역에서 주로 자생하고 있다. 운카리나속에는 11종이 속한 것으로 알려져 있는데, 운카리나 그란디디엘리(*U. grandidieri*) 및 운카리나 데카리(*U. decaryi*) 등의 종이 있으며, 마다가스카르 이외 지역에서는 자생하지 않는다.

- [0025] 이러한 운카리나 스텔루리페라는 현재까지 노화방지, 주름개선과 같은 연구에 대해서는 전혀 보고된 바 없다.
- [0026] 본 발명자들은 화장료 조성물의 소재로 운카리나 스텔루리페라 추출물을 제조하였으며, 운카리나 스텔루리페라가 ABTS 및 DPPH를 이용한 자유라디칼 소거능 평가에서 활성이 증가되며, 환원력 실험인 ferric reducing antioxidant power(FRAP) 실험에서도 농도의존적인 활성을 보여주었다. 총 폴리페놀 함량도 높은 것을 확인함으로써 노화 방지용 조성물로 사용할 수 있음을 규명하였다.
- [0027] 또한, 운카리나 스텔루리페라가 엘라스타아제(elastase) 억제 활성이 뛰어나며, 세포독성이 없으며, 주름생성에 관여하는 metalloproteinase-1(collagenase, MMP-1)의 생성을 농도의존적인 경향으로 억제하는 것을 확인함으로써 주름방지용 조성물로 사용할 수 있음을 규명하였다.
- [0028] 본 발명에 따른 운카리나 스텔루리페라 추출물은 당업계에 공지된 추출 및 분리하는 방법을 사용하여 천연으로부터 추출 및 분리하여 수득한 것을 사용할 수 있으며 상기 운카리나 스텔루리페라로부터 추출물을 추출하기 위한 적절한 용매로는 약학적으로 허용되는 유기용매라면 어느 것을 사용해도 무방하며, 물 또는 유기용매를 사용할 수 있으며, 이에 제한되지는 않으나, 예를 들어, 정제수, 메탄올(methanol), 에탄올(ethanol), 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol) 등을 포함하는 탄소수 1 내지 4의 알코올, 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌 클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane) 및 시클로헥산(cyclohexane) 등의 각종 용매를 단독으로 혹은 혼합하여 사용할 수 있다. 바람직하게는 에탄올(주정)을 사용할 수 있으며, 보다 바람직하게는 70% 에탄올을 사용하는 것이 좋다.
- [0029] 추출 방법으로는 열수추출법, 냉침추출법, 환류냉각추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 방법 중 어느 하나를 선택하여 사용할 수 있다. 또한, 목적하는 추출물은 추가로 통상의 분획 공정을 수행할 수도 있으며, 통상의 정제 방법을 이용하여 정제될 수도 있다. 본 발명의 운카리나 스텔루리페라 추출물의 제조 방법에는 제한이 없으며, 공지되어 있는 어떠한 방법도 이용될 수 있다.
- [0030] 따라서 본 발명에 있어서, 운카리나 스텔루리페라 추출물은 추출, 분획 또는 정제의 각 단계에서 얻어지는 모든 추출액, 분획 및 정제물, 그들의 희석액, 농축액 또는 건조물을 모두 포함하는 개념이다.
- [0031] 또한, 본 발명은 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0032] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 운카리나 스텔루리페라 추출물 또는 이의 분획물은 화장료 조성물에 1 $\mu\text{g/ml}$ 내지 1000 $\mu\text{g/ml}$ (또는 1~1000 ppm)의 농도로 포함될 수 있다.
- [0033] 본 발명의 화장료 조성물을 첨가할 수 있는 제품으로는, 예를 들어, 수렴화장수, 유연화장수, 영양화장수, 각종 크림, 에센스, 팩, 파운데이션 등과 같은 화장품류와 클렌징, 세안제, 비누, 트리트먼트, 미용액 등이 있다.
- [0034] 본 발명의 화장료 조성물의 구체적인 제형으로는 유연 화장수, 젤, 수용성 리퀴드, 밀크로션, 영양크림, 마사지 크림, 에센스, 수중유 형 에멀전, 유중수 형 에멀전, 페이스크림 무수 생성물, 고체 무수 생성물, 소구체를 사용한 수성 상에서의 오일 분산물, 이온성 지질 소포체, 비이온성 지질 소포체, 연고, 클렌징 폼, 클렌징워터, 팩, 보디오일, 수중유 형 메이크업베이스, 유중수 형 메이크업베이스, 파운데이션, 스킨케어, 립스틱, 립그로스, 페이스파우더, 투웨이케익, 아이섀도우, 마스크라, 치크칼라 및 아이브로우펜슬류로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종의 제형을 포함한다.
- [0035] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 유효성분(운카리나 스텔루리페라 추출물 또는 이의 분획물)의 함량은 조성물 총 중량에 대하여 0.01-40 중량%이며, 0.1 중량% 미만이면 피부 주름개선 효과가 크게 감소되고, 40 중량%를 초과하는 경우에는 제품 본연의 품질이 구현되지 않거나 비용 효율이 저하될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 화장료 조성물을 단독 또는 중복 도포하여 사용하거나, 본 발명 이외의 다른 화장료 조성물과 중복 도포하여 사용할 수 있다. 또한 본 발명에 따른 주름개선 효과가 우수한 화장료 조성물은 통상적인 사용방법에 따라 사용될 수 있으며, 사용자의 피부 상태 또는 취향에 따라 그 사용횟수를 달리할 수 있다.
- [0037] 또한, 본 발명은 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 약

학적 조성물을 제공한다.

- [0038] 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여 경로는 구강, 정맥내, 근육내, 동맥내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장이 포함되고, 비경구 투여가 바람직하고, 보다 바람직하게는 도포에 의한 국부투여(topical application) 방식으로 적용된다. 상기 비경구는 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 병소내 주사 또는 주입 기술을 포함한다.
- [0039] 본 발명의 약학적 조성물은 본 발명의 운카리나 스텔루리페라 추출물에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다. 상기 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- [0040] 경구투여를 위한 고형제제에는 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 연질캡슐제, 환 등이 포함된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁액, 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. 비경구 투여를 위한 제제로는 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 멸균된 수용액, 액제, 비수성용제, 현탁제, 에멀전, 시럽, 좌제, 에어로졸 등의 외용제 및 멸균 주사제제의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 바람직하게는 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 또는 카타플라스마제의 피부 외용 약학적 조성물을 제조하여 사용할 수 있으나, 이에 한정하는 것은 아니다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(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.
- [0041] 상기 조성물은 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 보조제, 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 추가로 함유할 수 있으며, 통상적인 방법인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 따라 제형화할 수 있다.
- [0042] 본 발명의 약학적 조성물은 개체의 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별, 투여시간, 투여 경로, 배출률, 약물 배합 및 특정 질환의 증상을 포함한 여러 요인에 따라 다양하게 변할 수 있다.
- [0043] 본 발명의 약학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 성인 기준으로 0.001 내지 100 mg/kg 범위 내이다. 또한 외용제인 경우에는 성인 기준으로 10 내지 30 ml의 양으로 1일 1회 내지 5회 도포하여 1개월 이상 계속 하는 것이 좋으나, 상기 투여량은 본 발명의 범위를 한정하는 것이 아니다.
- [0044] 또한, 본 발명은 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 건강식품 조성물을 제공한다.
- [0045] 본 발명의 건강식품은 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.
- [0046] 상기 건강식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [0047] 본 발명의 조성물이 건강식품 조성물로 제조되는 경우, 식품 제조 시 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함한다. 상기 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어, 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어, 텍스트린, 사이클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상기 향미제로는 천연 향미제 타우마틴, 스테비아 추출물 및 합성 향미제를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 건강식품 조성물이 드링크제로 제조되는 경우에는 본 발명의 운카리나 스텔루리페라 추출물 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 천연 추출액 등이 추가로 포함될 수 있다.
- [0048] 아울러, 본 발명은 운카리나 스텔루리페라 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 노화 방지 또는 주름 개선용 의약품 조성물을 제공한다.
- [0049] 본 발명의 의약품 조성물에는 상기 성분 외에 필요에 따라 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제

를 더욱 포함할 수 있다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제는 본 발명의 효과를 해하지 않는 한 제한되지 않으며, 예를 들어 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제, 윤활제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 포함할 수 있다.

[0050] 본 발명의 의약품 조성물은 소독 청결제, 샤워폼, 연고액, 물티슈, 코팅제 등을 예시할 수 있으나 이에 제한되는 것이 아니며, 의약품의 제제화 방법, 용량, 이용방법, 구성성분 등은 기술분야에 공지된 통상의 기술로부터 적절히 선택될 수 있다.

[0051] 또한, 본 발명의 운카리나 스텔루리페라 추출물은 개체의 피부에 도포하는 단계를 포함하는, 피부 노화 방지 또는 주름 개선에 사용될 수 있다. 상기 개체는 쥐, 가축, 인간 등을 포함하는 포유동물을 제한 없이 포함한다.

[0053] 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.

[0055] <실시예 1> 운카리나 스텔루리페라 추출물의 제조방법

[0056] 운카리나 스텔루리페라 전초 (50 g)에 20배의 70% 에탄올을 첨가하여 80℃에서 3시간 동안 추출하여 냉각 및 여과하였다. 원심분리기를 이용하여 8000 rpm으로 20분 동안 분리하여 농축한 다음에 동결건조하였다. 건조된 운카리나 스텔루리페라 70% 에탄올 추출물은 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 100 mg/mL의 고농도로 용해되었으며, 이후 탈 이온수에 단계별로 희석하여 0.1 mg/mL의 농도로 재조정되었는데 (DMSO의 최종 농도는 0.1%), 이는 본 발명자들이 세포에 독성이 나타나지 않는 DMSO의 농도조건을 조정하기 위함이었다.

[0058] <실시예 2> 운카리나 스텔루리페라 추출물의 항산화능 분석

[0059] 운카리나 스텔루리페라 추출물의 ABTS 및 DPPH 자유 라디칼 소거능을 평가하여 항산화능을 측정하였으며, 제2철 감소(Ferric reducing/antioxidant power, FRAP) 활성도와 페놀화합물의 함량을 분석하였다.

[0060] 구체적으로, 운카리나 스텔루리페라 추출물의 농도에 따라 ABTS 라디칼을 이용한 항산화능을 측정하였다. ABTS 자유라디칼을 이용한 항산화 활성의 측정은 7.4 mM ABTS 용액과 2.6 mM potassium persulphate 용액을 12시간 이상 암소에 방지하여 청록색 라디칼을 형성시킨 다음, 734 nm에서 흡광도 값이 1.0이 되도록 희석하여 사용하였다. 이 용액에 시료 10 μ L를 가한 후 상온에서 30분간 반응시켜 반응액의 흡광도 변화를 734 nm에서 측정하였으며, 결과는 inhibitory rate(%)와 IC50 (Half maximal inhibitory concentration)으로 나타내었다.

[0061] 또한, DPPH 자유라디칼을 이용한 항산화활성의 측정은 0.2 mM DPPH 라디칼 용액에 시료 10 μ L를 가한 후 상온에서 30분간 반응시켜 반응액의 흡광도 변화를 517 nm에서 측정하였다. 결과는 inhibitory rate(%)와 IC50 (Half maximal inhibitory concentration)으로 나타내었다.

[0062] 또한, FRAP 분석은 풀리도(Pulido et al(2000))의 방법을 사용하였다. FRAP 실험을 위해 반응액은 아세트산 완충액(acetate buffer: pH 3.6, 300 mM) : 10 mM의 2,4,6-트리스(2-피리딜)-s-트리아진(2,4,6-tris(2-pyridyl)-striazine, TPTZ) : 20 mM의 염화제이철(FeCl_3)·중류수($6\text{H}_2\text{O}$)를 10 : 1 : 1의 비율로 섞어 실험 직전에 만들어 사용하였다. 반응용액과 운카리나 스텔루리페라 추출물을 혼합한 후 4분 후 593 nm에서 측정하였다. 시료의 환원력은 황산제이철 칠수염($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)으로 표준곡선을 작성하여 2가 철(Fe^{2+} (ferrous)) mmole로 표시하였다. FRAP 수치와 환원력은 비례하며 FRAP 수치가 높을수록 항산화능이 높음을 나타내었다.

[0063] 또한, 본 발명의 운카리나 스텔루리페라 추출물의 폴리페놀 화합물 함량은 Folin Denis 법(Folin O and Dennis W, 1912, J Biol Chem, 12, 239-243)으로 측정하였는데, Folin-Ciocalteus' reagent가 알칼리 조건에서 시료의 폴리페놀 화합물에 의해 환원되면 청색에서 노란색으로 발색되는 원리를 이용한 실험방법이다. 즉, 시료 100 μ L에 알칼리 조건을 형성하기 위해 2% Na_2CO_3 을 2 mL를 가한 후 3분간 반응시키고 50%의 Folin-Ciocalteus ' reagent 100 μ L를 첨가해 30분간 반응시킨 다음, 750 nm에서 측정함으로써 항산화 성분인 총 폴리페놀 함량을 확인할 수 있다. 정량을 위한 표준물질로 gallic acid(Sigma)를 사용하여 검량선을 작성하였으며, 시료의 총 폴리페놀 화합물의 함량은 gallic acid에 대한 mg gallic acid equivalents (GE)/g으로 나타내었다. 이때 수용성 페놀 함량은 갈산(gallic acid)을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하여 갈산에 상당하는 양으로 계

산하였다. 각 실험은 3회 반복하여 평균값 $\pm$ 표준편차로 나타내었다.

[0064] 그 결과, ABTS 및 DPPH를 이용한 자유라디칼 소거능 평가에서 운카리나 스텔루리페라 추출물은 농도의존적인 활성증가를 보이며 각각 560.5 $\mu\text{g/mL}$ 및 622.9 $\mu\text{g/mL}$ 의 IC50 값을 나타내어 우수한 활성을 나타내었다(도 2 및 도 3).

[0065] 또한, 환원력 실험인 ferric reducing antioxidant power(FRAP) 실험에서도 운카리나 스텔루리페라 추출물에 대한 농도의존적인 활성을 보여주었다(도 4).

[0066] 아울러, 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과, 운카리나 스텔루리페라 추출물은 약 100 $\mu\text{g/mg}$ (약 10 w/w%)의 함량을 나타내어 항산화 활성에 관여하는 물질을 함유하고 있었다(도 5).

[0068] <실시예 3> 운카리나 스텔루리페라 추출물의 주름 개선 효과 분석

[0069] 운카리나 스텔루리페라 추출물의 주름 개선 효과를 분석하기 위하여 엘라스타아제(elastase)의 억제 활성, HDF 세포독성, MMP-1의 억제 활성을 분석하였다.

[0070] 운카리나 스텔루리페라 추출물의 주름 개선 효과를 분석하기 위하여 엘라스타아제(elastase)의 억제 활성, HDF 세포독성, MMP-1의 억제 활성을 분석하였다.

[0071] 구체적으로, 운카리나 스텔루리페라 추출물의 피부 주름 개선 효과를 확인하기 위하여 엘라스타아제가 특이적인 기질인 N-succinyl-(L-Ala)3-p-nitroanilide와 반응하여 p-nitroanilide를 생성하는 성질을 이용하여 실험을 진행하였다. 즉, 0, 0.1, 0.25, 0.5 및 1.0 mg/mL 농도로 준비된 운카리나 스텔루리페라 추출물 80 μL 에 200 mM Tris-HCl(pH 8.0)에 녹인 elastase(0.1 unit/mL) 용액 20 μL 를 가한 후 기질로 동일 버퍼에 녹인 N-succinyl-(L-Ala)3-p-nitroanilide (2 mM)을 20 μL 첨가하여 30분 반응시키고 microplate reader (Tecan, Infinite M200)를 이용하여 410 nm 에서의 흡광도를 측정하였다. Elastase 억제 활성은 inhibitory rate(%) 와 IC50 (Half maximal inhibitory concentration)으로 나타내었다. 또한, 피부 섬유아세포주인 human dermal fibroblast (HDF)는 (human dermal fibroblast, HDF) (MCTT사, 서울, 한국)에서 분양받아 실험에 이용하였다. 세포는 2% FBS, 0.1% recombinant human insulin, 0.1% gentamicin sulfate amphotericin-B 및 0.1% recombinant human fibroblast growth factor-B가 첨가된 fibroblast growth medium (이하 HDF 배양배지)를 이용하여 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO₂ 조건이 유지되는 배양기에서 2~3일에 한번씩 계대배양하며 실험에 사용하였다. HDF 세포를 5×10^4 cells/mL로 조정된 다음, 96-well plate에 200 μL 씩 도포하고 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양하여 세포를 안정화시킨 후 배지를 모두 제거하고 새로운 HDF 배양배지 180 μL 와 적당한 농도로 희석된 농도별 시료 20 μL 를 첨가한 뒤 24시간동안 재배양하였다. 이후 배양배지는 모두 제거하고 세포생존율 측정을 위해 1 mg/mL의 MTT 용액 100 μL 를 첨가한 뒤, 30분동안 배양기에서 배양하였다. MTT 용액을 모두 제거한 다음, DMSO 100 μL 를 가하여 세포내에 생성된 pigment를 용해시키고 plate shaker에서 15분동안 교반 후 550 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 세포독성은 시료 무처리구에 대한 세포생존율(cell viability, %)로 나타내었다.

[0072] 한편, 24시간 동안 시료와 함께 배양된 상등액에 존재하는 metalloproteinase-1 (collagenase, MMP-1)의 생성량을 R&D systems사의 total MMP-1 ELISA set를 통해 측정하고, recombinant MMP-1 protein을 통해 작성된 표준곡선을 통해 함량(ng/mL)으로 계산하였다.

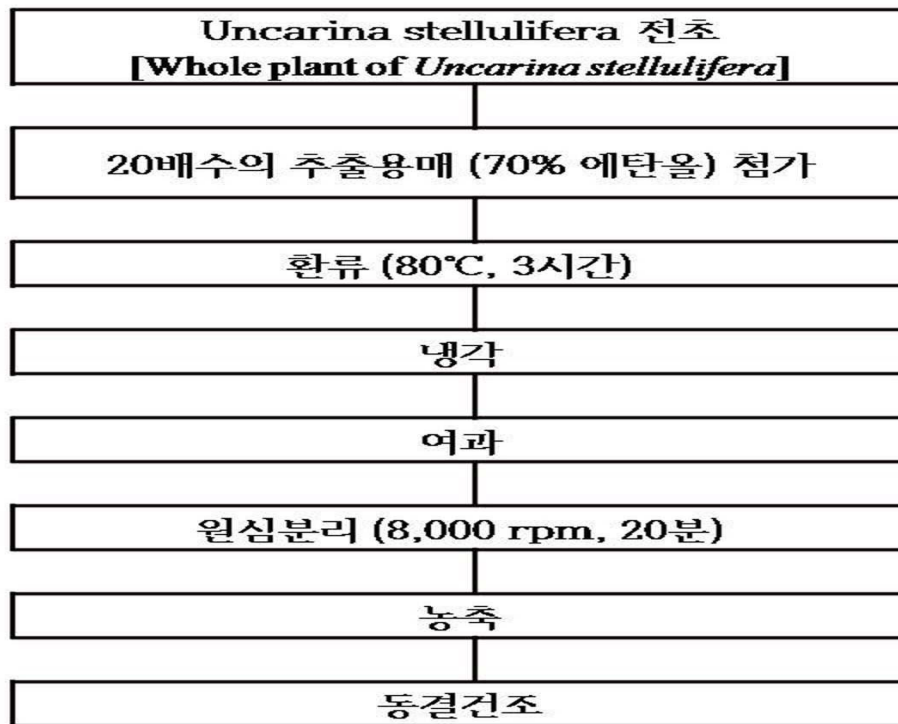
[0073] 그 결과, 운카리나 스텔루리페라 추출물은 0.01~1 mg/mL의 농도범위에서 농도의존적인 엘라스타아제 억제 활성을 나타내었고(2.6~89.9% 억제), 367.1 $\mu\text{g/mL}$ 의 IC50값을 나타냈다.(도 6).

[0074] 또한, HDF 세포를 이용한 주름개선 효능 평가 결과, 1.6~200 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도범위에서 운카리나 스텔루리페라 추출물은 세포독성을 나타내지 않았다(도 7).

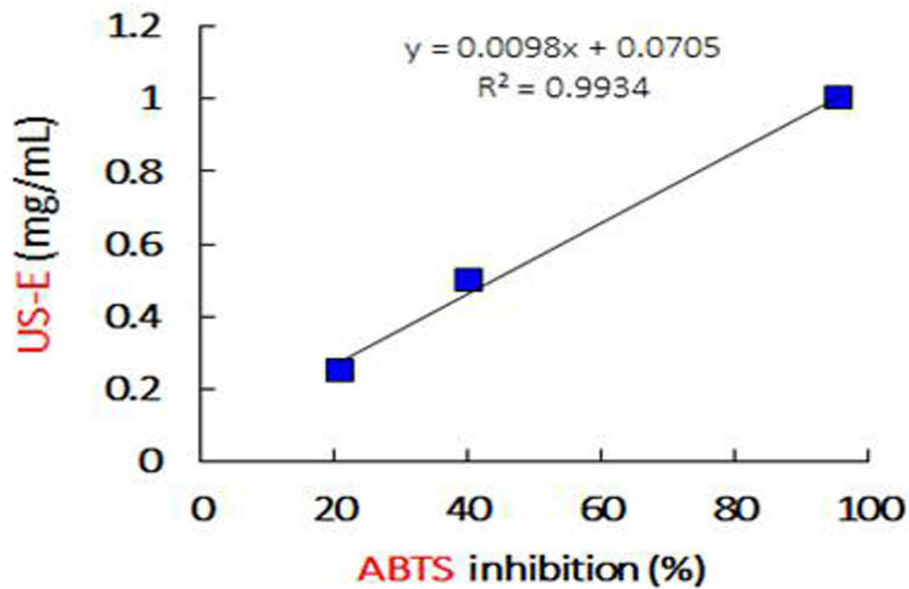
[0075] 따라서 운카리나 스텔루리페라 추출물을 이용한 MMP-1 억제 활성은 독성이 관찰되지 않는 농도범위인 1.6~200 $\mu\text{g/mL}$ 에서 진행하기로 하였다. MMP-1 억제 활성 측정 결과, 운카리나 스텔루리페라 추출물은 주름생성에 관여하는 MMP-1의 생성을 농도의존적인 경향으로 억제하는 것으로 나타났다. 모든 농도범위에서 운카리나 스텔루리페라 추출물은 대조군 대비 유의적인 MMP-1 억제 활성을 나타내었으며, 특히, 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 약 59.0%의 억제 활성을 보여 우수한 주름개선 효능을 가지는 것으로 확인되었다(도 8).

도면

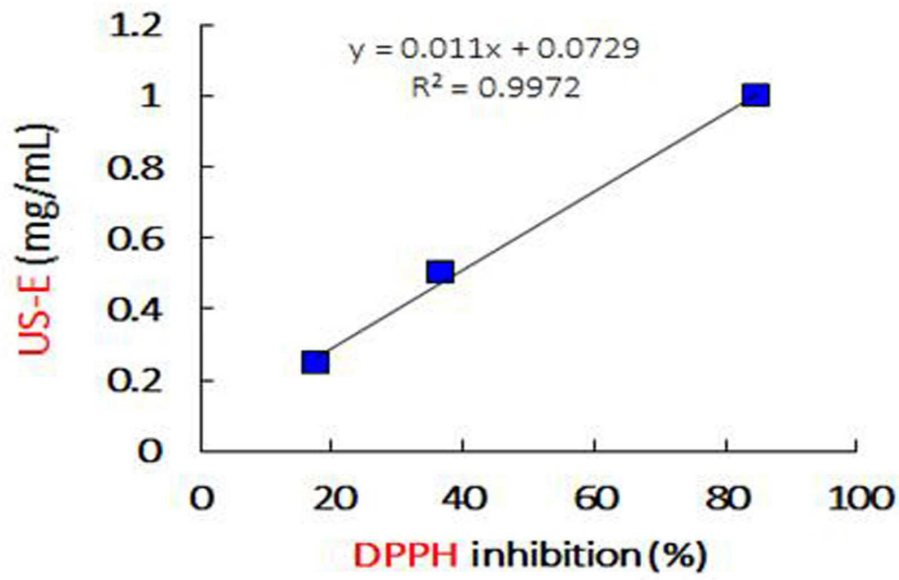
도면1



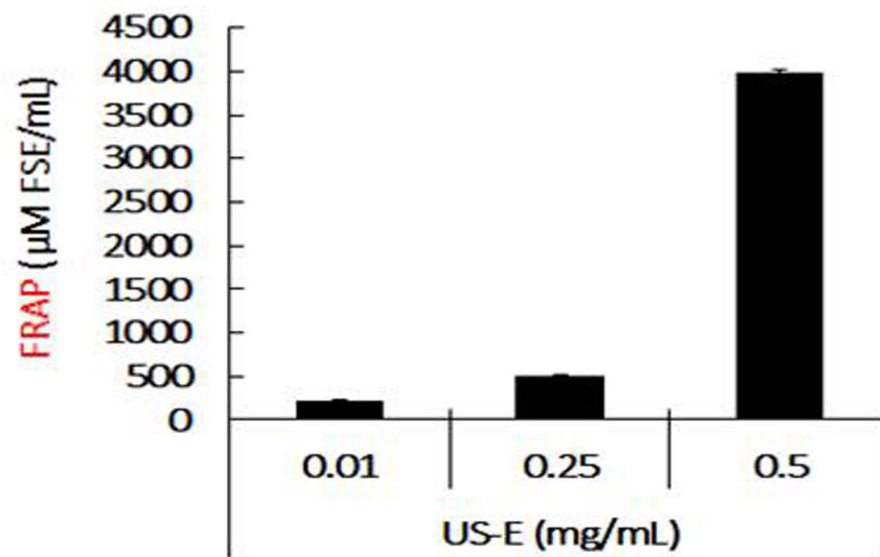
도면2



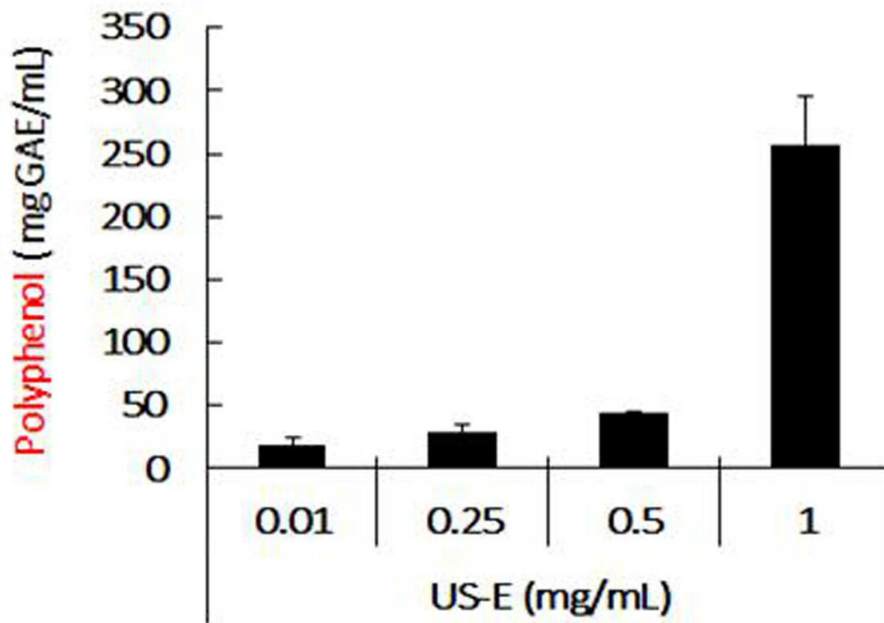
도면3



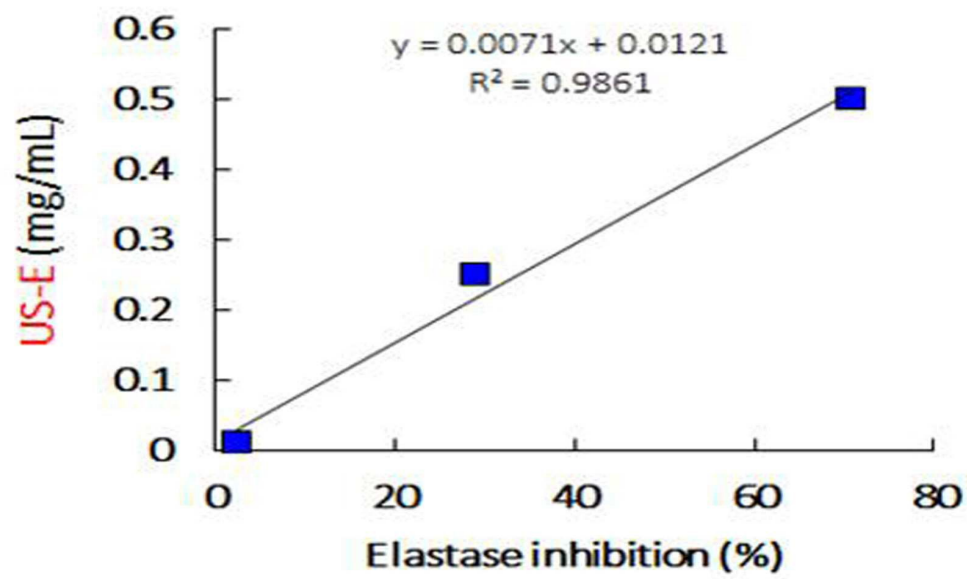
도면4



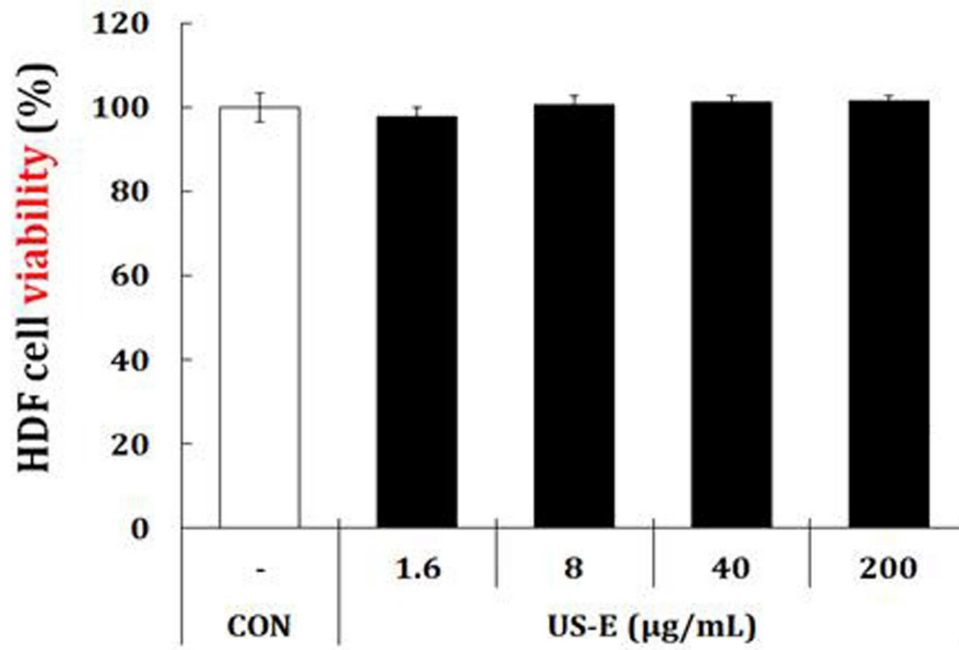
도면5



도면6



도면7



도면8

