

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2022년 3월 3일 (03.03.2022)



(10) 국제공개번호
WO 2022/045830 A1

(51) 국제특허분류:

A61K 31/12 (2006.01) *A61K 8/35* (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01) *A61Q 19/08* (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2021/011525

(22) 국제출원일: 2021년 8월 27일 (27.08.2021)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2020-0109403 2020년 8월 28일 (28.08.2020) KR

(71) 출원인: 주식회사 포스코 (POSCO) [KR/KR]; 37859 경상북도 포항시 남구 동해안로 6261 (괴동동), Gyeongsangbuk-do (KR). 포항공과대학교 산학협력단 (POSTECH RESEARCH AND BUSINESS DEVELOPMENT FOUNDATION) [KR/KR]; 37673 경상북도 포항시 남구 청암로 77, Gyeongsangbuk-do (KR). 재단법인 포항산업과학연구원 (RESEARCH INSTITUTE OF INDUSTRIAL SCIENCE & TECHNOLOGY) [KR/KR];

37673 경상북도 포항시 남구 청암로 67, Gyeongsangbuk-do (KR).

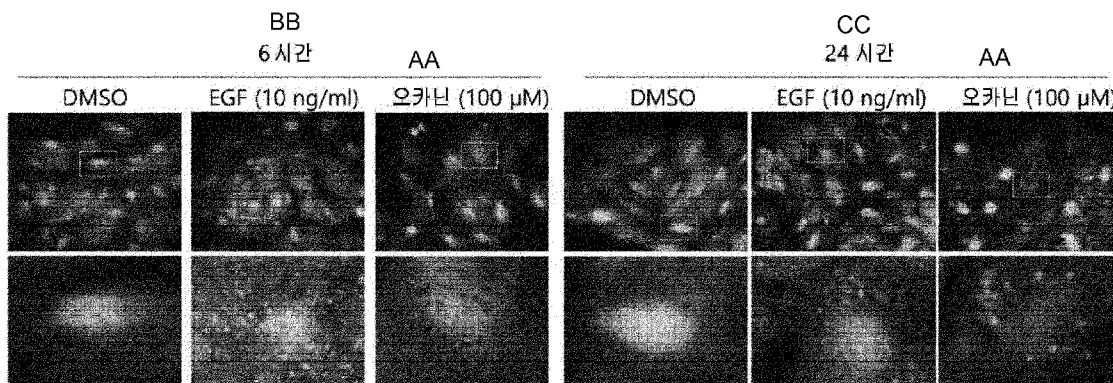
(72) 발명자: 김경태 (KIM, Kyong-Tai); 37673 경상북도 포항시 남구 지곡로 155, 4동 504호, Gyeongsangbuk-do (KR). 권광호 (KWON, Kwang-Ho); 37562 경상북도 포항시 북구 흥해읍 도음로877번길 15, 107동 902호, Gyeongsangbuk-do (KR). 김성욱 (KIM, Sung-Wook); 37701 경상북도 포항시 북구 아치로 10, 103동 2503호, Gyeongsangbuk-do (KR). 정성우 (JEONG, Sung-Woo); 52751 경상남도 진주시 향교로 3, A동 1101호, Gyeongsangnam-do (KR).

(74) 대리인: 특허법인 씨엔에스 (C&S PATENT AND LAW OFFICE); 06292 서울시 강남구 언주로30길 13, 대림아크로텔 7층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK,

(54) Title: COMPOSITION FOR ANTI-AGING OR SKIN REGENERATION, CONTAINING OKANIN

(54) 발명의 명칭: 오카닌을 함유하는 항노화 또는 피부재생용 조성물



AA ... Okanin (100 μM)
BB ... 6 hours
CC ... 24 hours

(57) Abstract: The present invention relates to a composition containing okanin for anti-aging or skin regeneration or a use of okanin or a salt thereof and, specifically, to a composition containing okanin represented by the following chemical formula (1) or a salt thereof as an active ingredient for anti-aging or skin regeneration, and a use of okanin or a salt thereof.

(57) 요약서: 본 발명은 오카닌을 함유하는 항노화 또는 피부재생용 조성물 및 오카닌 또는 이의 염의 용도에 관한 것으로, 상세하게 본 발명은 하기 화학식 (1)로 표현되는 오카닌 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는 항노화 또는 피부재생용 조성물 및 오카닌 또는 이의 염의 용도를 제공한다.

[다음 쪽 계속]



MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 오카닌을 함유하는 항노화 또는 피부재생용 조성물 기술분야

- [1] 본 발명은 항노화 또는 피부재생용 조성물로서, 상세하게는 오카닌을 함유하는 항노화 또는 피부재생용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 피부의 노화는 피할 수 없는 현상이다. 노화는 피부의 탄력을 잃게 하고, 주름을 생성하며 색소 침착, 진피 위축 등의 증상을 일으킨다. 피부의 노화는 피부의 기능, 구조, 모양의 변화를 나타내는 생리적 노화와 자외선과 같은 외부 자극에 의해 일어나는 노화로 크게 구분된다.
- [3] 피부는 노화가 진행되면서 세포의 기능이 저하되고 동시에 자외선과 같은 외부 환경에 의해 다음과 같은 영향을 받는다. 우선, 노화가 진행됨에 따라 케라틴 생성 세포(Keratinocyte)의 분열 속도가 늦어진다. 정상적인 피부 재생 주기는 약 28일이지만, 노화에 따라 이 주기가 증가하게 된다. 다음으로 진피 층에 존재한다고 알려진 섬유아세포의 수가 노화에 따라 감소하며 동시에 기능이 저하된다. 섬유아세포가 바로 피부에 탄력을 제공하는 콜라겐과 엘라스틴 섬유를 생산하는 세포이다. 하지만, 이들의 수가 감소하고 기능이 저하되면 진피층의 위축 현상이 일어난다. 마지막으로 기질단백질 분해효소들의 발현이 노화에 따라 증가된다. 따라서, 콜라겐과 엘라스틴 섬유가 기질단백질 분해효소에 의해 분해가 증가하여 진피층의 위축 현상이 증가하게 된다.
- [4] 하지만, 100세 시대를 맞이하여 노화를 완전히 막을 수는 없을지라도, 피부 노화를 개선하여 아름다움을 가꿀 수 있는 물질에 대한 기대와 수요가 높아지고 있는 실정이다. 따라서 피부 노화를 둔화시키거나 개선시키는 물질에 대한 개발이 시급한 실정이다.
- [5] 표피성장인자(Epidermal growth factor, EGF)는 표피 혹은 외피세포들의 성장과 생존을 조절하는 성장인자이다. EGF는 암과도 관련된 인자로 알려져 있으며, 상처나 화상의 치료에 의학적으로 이용되어왔다. 근래에는 화장품의 원료로도 많이 이용되고 있으며, 예를 들어 등록특허 제2093884호와 같이 EGF를 포함하는 피부 노화 방지용 화장료 조성물에 관해 많은 연구가 있다. 하지만, EGF의 생합성, 분리, 정제에는 많은 비용이 들고 활성 상태를 유지한 상태로 보관하기가 어렵다고 알려져 있다. 또한, EGF는 큰 분자량으로 인해 피부 장벽 통과가 쉽지 않다는 문제점도 있다.
- [6] 따라서, EGF와 유사한 기능을 가지면서 안정하고 피부 장벽 통과에 유용한 천연 유래 소분자 물질에 대한 연구가 요구되고 있다.

발명의 상세한 설명

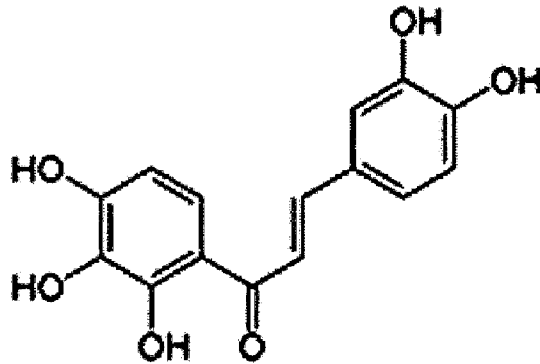
기술적 과제

- [7] 본 발명은 EGF와 유사한 기능을 가지면서 안정하고 피부장벽 통과에 유용한 항노화 또는 피부재생용 조성물을 제공하기 위해, 천연 유래의 소분자 물질인 오카닌 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는 항노화 또는 피부재생용 조성물을 제공한다.

과제 해결 수단

- [8] 본 발명의 일 견지에 있어서, 본 발명은 하기 화학식 (1)로 표현되는 오카닌 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는 항노화 또는 피부재생용 조성물을 제공하는 것이다.

[9]



[10] 화학식 (1)

발명의 효과

- [11] 오카닌(Okanin)은 도깨비바늘속, 등 다양한 식물종에서 추출될 수 있는 것으로서, 본 발명에 따른 조성물은 이를 이용하여 부작용이 없는 장점을 가지고 있다. 또한, 오카닌(Okanin)은 EGF와 마찬가지로 EGFR과 결합하여 세포 생존(survival), 성장(growth), 및 증식(proliferation) 관련 신호를 활성화시킴으로써, 외부 자극으로부터 피부세포의 저항력 및 생존력을 증가시키고, 외부 자극 또한 노화로 인해 손상받은 피부의 재생력을 증진시키는 효과가 있다. 나아가, 오카닌(Okanin)은 EGF와 유사한 기능을 가지면서도 EGF와 달리 안정적이고 크기가 작아, 피부장벽을 통과하여 피부 기저층으로 쉽게 이동함으로써 그 기능을 수행할 수 있는 장점이 있다. 따라서, 본 발명의 오카닌(Okanin)은 의약품, 의약부외용, 화장품용, 향장소재용, 기능성 바이오소재용 및 기능성 식품소재용 등 다양한 방법으로 이용이 가능하다.

도면의 간단한 설명

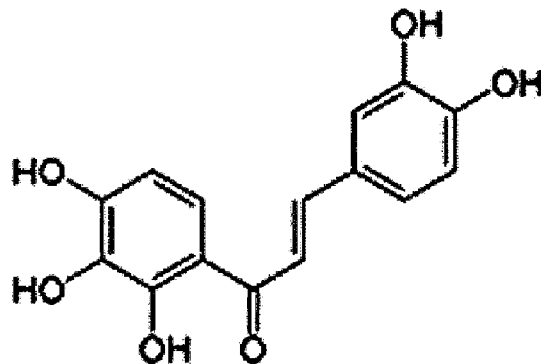
- [12] 도 1은 EGFR 활성 측정 바이오센서 시스템의 세포 내 주입에 의한 바이오센서 단백질(EGFP-SH2)의 발현에 있어서, 상기 단백질이 EGF에 의해 발현되고, 나아가 오카닌에 의해서도 발현됨을 확인한 결과를 나타낸다.
- [13] 도 2는 CCK-8 어레이를 통해, 케라틴 생성 세포인 HaCaT 세포에 대한 오카닌의 농도별 세포 독성을 확인한 결과를 나타낸다.
- [14] 도 3은 오카닌에 의해 EGFR 하위의 ERK와 AKT가 활성화되는 것을 확인한 결과를 나타낸다.

- [15] 도 4는 오카닌에 의해 증가하는 *egr1*, *c-myc*, *c-jun*, *c-fos* 유전자의 발현 양상을 확인한 결과를 나타낸다.
- [16] 도 5는 CCK-8 어세이를 통해, 오카닌에 의한 케라틴 생성 세포의 성장 촉진 효능을 확인한 결과를 나타낸다.
- [17] 도 6은 상처 치료 어세이(Wound healing assay)를 통해, 오카닌에 의한 케라틴 생성 세포의 증식 및 성장 촉진 효능을 확인한 결과의 사진(a) 및 그래프(b)를 나타낸다.
- [18] 도 7은 UVB에 의한 세포손상 조건에서, 케라틴 생성 세포의 저항성이 오카닌에 의해 증가하는 것을 나타낸다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [19] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시 형태를 설명한다. 그러나, 본 발명의 실시 형태는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 이하 설명하는 실시 형태로 한정되는 것은 아니다.
- [20] 본 발명자들은 천연 유래의 소분자 물질인 오카닌(Okanin)이 표지성장인자(epidermal growth factor, EGF)와 유사한 기능을 가지면서도 안정하고 크기가 작아 피부장벽을 쉽게 통과할 수 있음을 실험적으로 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.
- [21] 본 발명은 향노화 또는 피부재생용 조성물의 제조를 위한 하기 화학식 (1)로 표현되는 오카닌 또는 이의 염의 용도에 관한 것이다.

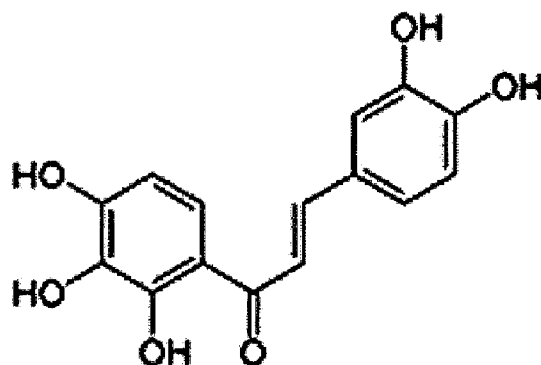
[22]



[23] 화학식 (1)

[24] 구체적으로, 본 발명은 하기 화학식 (1)로 표현되는 오카닌 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는, 향노화 또는 피부재생용 조성물을 제공한다.

[25]



- [26] 화학식 (1)
- [27] 상기 오카닌, 즉 2',3,3',4,4'-펜타히드록시칼콘(2',3,3',4,4'-Pentahydroxychalcone)은 도깨비바늘속 식물, 등 여러 식물종의 추출물로부터 획득될 수 있는 것으로서, 세포 내에서 세포의 생존(survival), 성장(growth), 및 증식(proliferation)과 관련된 시그널을 활성화시키는 세포성장인자(epidermal growth factor, EGF)와 유사한 기능을 함으로써, 외부 자극으로부터 피부세포의 저항력 및 생존력을 증가시키고, 외부 자극 또는 노화로 인해 손상받은 피부의 재생력을 증진시킬 수 있다.
- [28] 본 발명의 조성물은, 상기 오카닌 또는 이의 염을 10 nM 내지 100 μ M, 또는 0.1 내지 100 μ M, 예를 들어 5 내지 100 μ M, 바람직하게는 1 내지 50 μ M, 더욱 바람직하게는 1 내지 10 μ M로 포함할 수 있다. 상기 오카닌 또는 이의 염의 농도가 0.1 μ M 미만인 경우에는 오카닌 또는 이의 염의 효과가 충분히 발현되지 못하는 문제가 발생할 수 있으며, 100 μ M를 초과하는 경우에는 세포 독성이 현저히 높아지는 문제가 발생할 수 있다.
- [29] 한편, 본 발명의 "피부재생"은 피부세포의 성장을 촉진시키고 생존력을 강화하여 외부 또는 내부의 자극으로부터 세포손상을 방지하고 피부의 주름 개선 및 탄력을 증진시키는 것일 수 있으며, 상기 피부재생에는 외부 환경으로부터 유발되는 피부 손상을 의미하며, 예를 들어 화상에 의한 피부 및 조직 손상에 대한 개선 또는 치료의 의미를 포함한다. 따라서, 본 발명의 조성물은 화상 상처를 개선 또는 치료하는 것일 수 있다.
- [30] 나아가, 본 발명의 오카닌 또는 이의 염은 EGFR에 결합하여 세포의 증식 또는 성장을 촉진시킴으로써 항노화 또는 피부의 재생을 활성화할 수 있다. 본 발명의 오카닌 또는 이의 염에 의해 증식 또는 성장되는 세포는 표피세포일 수 있으며, 바람직하게는 케라틴 생성 세포인 케라틴세포(Keratinocyte)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [31] 케라틴(Keratin)은 동물의 여러 조직에서 주요 구성을 이루는 단백질로서, 모발이 윤기있고 탄력있도록 하며, 피부에 생기 및 탄력을 부여한다. 또한, 피부 각질층의 케라틴 단백질은 화학물질에 대한 강한 저항성을 갖고 있어 피부에 화학적 자극에 대한 보호기능을 수행할 수 있다.
- [32] 따라서, 본 발명의 조성물은 피부 탄력을 증진시키거나, 또는 피부 주름을 개선시킬 수 있다.
- [33] 한편, 본 발명의 조성물은 외부 자극에 의한 세포 손상에의 저항성을 증진시킴으로써, 외부 자극에 의한 세포 손상을 예방 또는 개선할 수 있다. 상기 외부 자극은 화장품 기타 외용제에 의한 화학적 자극, 물리적 자극, 또는 자외선, 바람직하게는 자외선일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [34] 나아가, 본 발명의 조성물은 비경구용 또는 경구용 조성물일 수 있으며, 예를 들어 약학적 조성물, 화장품 조성물 또는 건강기능식품 조성물일 수 있다.
- [35] 구체적으로 본 발명의 조성물이 약학적 조성물일 경우에는 상기 조성물은

약학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함할 수 있으며, 나아가 상기 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 주형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다. 또한 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸, 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제, 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

- [36] 본 발명에 따른 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 외용제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 바람직하게는 크림, 젤, 패치, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 또는 카타플라스마제의 제형을 가질 수 있다. 상기 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 중 적어도 하나를 포함하는 화합물일 수 있다.
- [37] 상기 조성물을 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 예를 들어, 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상제제에는 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.
- [38] 한편, 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함될 수 있다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로콜, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [39] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있다. 본 발명에 있어서, "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수해/위험의 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의

치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 본 발명이 속하는 기술분야에 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[40] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 치료할 질환, 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 질환의 중등도 등의 여러 관련 인자와 함께 활성 성분인 약물의 종류에 따라 결정된다.

[41] 본 발명의 조성물은 건강기능식품 조성물의 형태로 제공될 수 있다. 나아가, 상기 조성물은 항노화, 피부탄력증진, 또는 피부주름개선 등의 피부재생을 목적으로 식품에 첨가될 수 있다. 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물은, 상기 조성물을 그대로 사용하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합량은 예방, 건강 또는 치료적 처치와 같은, 사용 목적에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물에서 오카닌 또는 이의 염은, 총 조성물의 중량을 기준으로 0 초과 내지 15 중량% 이하, 바람직하게는 1 내지 10 중량% 이하의 양으로 첨가될 수 있다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있다.

[42] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없으나, 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함할 수 있다.

[43] 상기 음료는 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당 및 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스 및 수크로오스와 같은 디사카라이드, 덱스트린 및 시클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 및 자일리톨, 소르비톨 및 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물 100mL당 약 0.01-0.20g, 바람직하게는 약 0.04-0.10g일 수 있다.

[44] 상기 외에 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물

100 중량부 당 0.01-0.20 중량부의 범위에서 선택될 수 있다.

- [45] 본 발명의 조성물은 화장료 조성물의 형태로 제공될 수 있다. 본 발명에 따른 화장료 조성물의 제형은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사 지크림, 영양크림, 모이스처 크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 또는 바디클렌저의 형태일 수 있다.
- [46] 본 발명에 따른 화장료 조성물은 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 및 스펅고 지질로 이루어진 군에서 선택된 화합물을 더 포함할 수 있다.
- [47] 수용성 비타민으로서는 화장료 조성물에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 가능하며, 바람직하게는 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B6, 피리독신, 엽산피리독신, 비타민 B12, 판토텐산, 니코틴산, 니코틴산아미드, 엽산, 비타민 C, 비타민 H 등이 사용될 수 있고, 그들의 염 (티아민염산염, 아스코르빈산나트륨염 등)이나 유도체(아스코르빈산-2-인산나트륨염, 아스코르빈산-2-인산마그네슘염 등)도 본 발명에서 사용할 수 있는 수용성 비타민에 포함될 수 있다. 수용성 비타민은 미생물 변환법, 미생물의 배양물로부터의 정제법, 효소법 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 수득될 수 있다.
- [48] 유용성 비타민으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 가능하며, 바람직하게는 비타민 A, 카로틴, 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E(d1-알파 토크페롤, d-알파 토크페롤, d-알파 토크페롤) 등이 사용될 수 있고, 그들의 유도체 (팔미틴산아스코르빈, 스테아르산아스코르빈, 디팔미틴산아스코르빈, 아세트산dl-알파 토크페롤, 니코틴산dl-알파 토크페롤비타민 E, DL-판토텐닐알코올, D-판토텐닐알코올, 판토텐닐에틸에테르 등) 등도 본 발명에서 사용되는 유용성 비타민에 포함될 수 있다. 유용성 비타민은 미생물 변환법, 미생물의 배양물로부터의 정제법, 효소 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 수득될 수 있다.
- [49] 고분자 펩티드로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 가능하며, 바람직하게는 콜라겐, 가수 분해 콜라겐, 젤라틴, 엘라스틴, 가수 분해 엘라스틴, 케라틴 등이 사용될 수 있다. 고분자 펩티드는 미생물의 배양액으로부터의 정제법, 효소법 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 수득될 수 있으며, 또는 통상 돼지나 소 등의 진피, 누에의 견섬유 등의 천연물로부터 정제하여 수득될 수 있다.
- [50] 고분자 다당으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 가능하며, 바람직하게는 히드록시에틸셀룰로오스, 크산탄검, 히알루론산나트륨, 콘드로이틴 황산 또는 그 염 (나트륨염 등) 등이 사용될 수 있다. 예를 들어, 콘드로이틴 황산 또는 그 염 등은 통상 포유 동물이나 어류로부터 정제하여 수득될 수 있다.

- [51] 스펅고 지질로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 가능하며, 바람직하게는 세라미드, 피토스핑 고신, 스펅고당지질 등이 사용될 수 있다. 스펅고 지질은 통상 포유류, 어류, 패류, 효모 또는 식물 등으로부터 통상의 방법에 의해 정제하거나 화학 합성법에 의해 수득될 수 있다.
- [52] 본 발명의 화장료 조성물에는 상기 필수 성분과 더불어 필요에 따라 통상 화장품에 배합되는 다른 성분을 배합 할 수 있다.
- [53] 이외에 첨가 가능한 배합 성분으로서는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면활성제, 유기 또는 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 사용할 수 있다.
- [54] 유지 성분으로서는 에스테르계 유지, 탄화수소계 유지, 실리콘계 유지, 불소계 유지, 동물 유지, 식물 유지 등을 사용할 수 있다.
- [55] 에스테르계 유지로서는 트리2-에틸헥산산글리세릴, 2-에틸헥산산세틸, 미리스틴산이소프로필, 미리스틴산부틸, 팔미틴산이소프로필, 스테아르산에틸, 팔미틴산옥틸, 이소스테아르산이소세틸, 스테아르산부틸, 리놀레산에틸, 리놀레산이소프로필, 올레인산에틸, 미리스틴산이소세틸, 미리스틴산이소스테아릴, 팔미틴산이소스테아릴, 미리스틴산옥틸도데실, 이소스테아르산이소세틸, 세바신산디에틸, 아디핀산디이소프로필, 네오펜탄산이소알킬, 트리(카프릴, 카프린산)글리세릴, 트리2-에틸헥산산트리메틸올프로판, 트리아이소스테아르산트리메틸올프로판, 테트라2-에틸헥산산펜타엘리슬리톨, 카프릴산세틸, 라우린산데실, 라우린산헥실, 미리스틴산데실, 미리스틴산미리스틸, 미리스틴산세틸, 스테아르산스테아릴, 올레인산데실, 리시노올레인산세틸, 라우린산이소스테아릴, 미리스틴산이소트리데실, 팔미틴산이소세틸, 스테아르산옥틸, 스테아르산이소세틸, 올레인산이소데실, 올레인산옥틸도데실, 리놀레산옥틸도데실, 이소스테아르산이소프로필, 2-에틸헥산산세토스테아릴, 2-에틸헥산산스테아릴, 이소스테아르산헥실, 디옥탄산에틸렌글리콜, 디올레인산에틸렌글리콜, 디카프린산프로필렌글리콜, 디(카프릴, 카프린산)프로필렌글리콜, 디카프릴산프로필렌글리콜, 디카프린산네오펜틸글리콜, 디옥탄산네오펜틸글리콜, 트리카프릴산글리세릴, 트리운데실산글리세릴, 트리아이소팔미틴산글리세릴, 트리아이소스테아르산글리세릴, 네오펜탄산옥틸도데실, 옥탄산이소스테아릴, 이소노난산옥틸, 네오데칸산헥실데실, 네오데칸산옥틸도데실, 이소스테아르산이소세틸, 이소스테아르산이소스테아릴, 이소스테아르산옥틸데실, 폴리글리세린올레인산에스테르, 폴리글리세린이소스테아르산에스테르, 시트르산트리아이소세틸, 시트르산트리아이소알킬, 시트르산트리아이소옥틸, 락트산라우릴, 락트산미리스틸, 락트산세틸, 락트산옥틸데실, 시트르산트리에틸, 시트르산아세틸트리에틸,

시트르산아세틸트리부틸, 시트르산트리옥틸, 말산디이소스테아릴,
 히드록시스테아르산 2-에틸헥실, 숙신산디2-에틸헥실, 아디핀산디이소부틸,
 세바신산디이소프로필, 세바신산디옥틸, 스테아르산콜레스테릴,
 이소스테아르산콜레스테릴, 히드록시스테아르산콜레스테릴,
 올레인산콜레스테릴, 올레인산디히드로콜레스테릴,
 이소스테아르산피트스테릴, 올레인산피트스테릴,
 12-스테알로일히드록시스테아르산이소세틸, 12-스테알로일히드
 록시스테아르산스테아릴, 12-스테알로일히드록시스테아르산이소스테아릴
 등을 사용할 수 있다.

- [56] 탄화 수소계 유지로서는 스쿠알렌, 유동 파라핀, 알파-올레핀올리고머,
 이소파라핀, 세레신, 파라핀, 유동 이소 파라핀, 폴리부텐,
 마이크로크리스탈린왁스, 와셀린 등을 사용할 수 있다.
- [57] 실리콘계 유지로서는 폴리메틸실리콘, 메틸페닐실리콘,
 메틸시클로폴리실록산, 옥타메틸폴리실록산, 데카메틸폴리실록산,
 도데카메틸시클로실록산, 디메틸실록산·메틸세틸옥시실록산 공중합체,
 디메틸실록산·메틸스테알록시 실록산 공중합체, 알킬 변성 실리콘유, 아미노
 변성 실리콘유 등을 사용할 수 있다.
- [58] 불소계 유지로서는 퍼플루오로폴리에테르 등을 사용할 수 있다.
- [59] 동물 또는 식물 유지로서는 아보카도유, 아르몬드유, 올리브유, 참깨유, 쌀겨유,
 새플라워유, 대두유, 옥수수유, 유채유, 행인(杏仁)유, 팜핵유, 팜유, 피마자유,
 해바라기유, 포도종자유, 면실유, 야자유, 쿠쿠이너트유, 소맥배아유, 쌀 배아유,
 시아버터, 월견초유, 마커데미아너트유, 메도흙유, 난황유, 우지(牛脂), 마유,
 명크유, 오렌지라피유, 호호바유, 캔데리러왁스, 카르나바왁스, 액상 라놀린,
 경화피마자유 등을 사용할 수 있다.
- [60] 보습제로서는 수용성 저분자 보습제, 지용성 분자 보습제, 수용성 고분자,
 지용성 고분자 등을 사용할 수 있다.
- [61] 수용성 저분자 보습제로서는 세린, 글루타민, 솔비톨, 만니톨,
 피롤리돈-카르복실산나트륨, 글리세린, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌글리콜,
 에틸렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜B(중합도 $n=2$ 이상),
 폴리프로필렌글리콜(중합도 $n=2$ 이상), 폴리글리세린B(중합도 $n=2$ 이상),
 락트산, 락트산염 등을 사용할 수 있다.
- [62] 지용성 저분자 보습제로서는 콜레스테롤, 콜레스테롤에스테르 등을 사용할 수
 있다.
- [63] 수용성 고분자로서는 카르복시비닐폴리머, 폴리아스파라긴산염, 트라가칸트,
 크산탄검, 메틸셀룰로오스, 히드록시메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스,
 히드록시프로필셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 수용성 키틴, 키토산,
 덱스트린 등을 사용할 수 있다.
- [64] 지용성 고분자로서는 폴리비닐피롤리돈·에이코센 공중합체,

- 폴리비닐피롤리돈 · 헥사데센 공중합체, 니트로셀룰로오스, 텍스트린지방산에스테르, 고분자 실리콘 등을 사용할 수 있다.
- [65] 에몰리엔트제로서는 장쇄아실글루타민산콜레스테릴에스테르, 히드록시스테아르산콜레스테릴, 12-히드록시스테아르산, 스테아르산, 로진산, 라놀린지방산콜레스테릴에스테르 등을 사용할 수 있다.
- [66] 계면 활성제로서는 비이온성 계면 활성제, 음이온성 계면 활성제, 양이온성 계면 활성제, 양성 계면 활성제 등을 사용할 수 있다.
- [67] 비이온성 계면 활성제로서는 자기 유화형 모노스테아르산글리세린, 프로필렌글리콜지방산에스테르, 글리세린지방산에스테르, 폴리글리세린지방산에스테르, 솔비탄지방산에스테르, POE (폴리옥시에틸렌)솔비탄지방산에스테르, POE 솔비트지방산에스테르, POE 글리세린지방산에스테르, POE 알킬에테르, POE 지방산에스테르, POE 경화피마자유, POE 피마자유, POE · POP (폴리옥시에틸렌 · 폴리옥시프로필렌) 공중 합체, POE · POP 알킬에테르, 폴리에테르변성실리콘, 라우린산알카놀아미드, 알킬아민옥시드, 수소첨가대두인지질 등을 사용할 수 있다.
- [68] 음이온성 계면 활성제로서는 지방산비누, 알파-아실술폰산염, 알킬술폰산염, 알킬알릴술폰산염, 알킬나프탈렌술폰산염, 알킬황산염, POE 알킬에테르황산염, 알킬아미드황산염, 알킬인산염, POE 알킬인산염, 알킬아미드인산염, 알킬로일알킬타우린염, N-아실아미노산염, POE 알킬에테르카르복실산염, 알킬술폰숙신산염, 알킬술폰아세트산나트륨, 아실화 가수분해 콜라겐펩티드염, 펄루오로알킬인산에스테르 등을 사용할 수 있다.
- [69] 양이온성 계면 활성제로서는 염화알킬트리메틸암모늄, 염화스테아릴트리메틸암모늄, 브롬화스테아릴트리메틸암모늄, 염화세토스테아릴트리메틸암모늄, 염화디스테아릴디메틸암모늄, 염화스테아릴디메틸벤질암모늄, 브롬화베헤 닐트리메틸암모늄, 염화벤잘코늄, 스테아르산디에틸아미노에틸아미드, 스테아르산디메틸아미노프로필아미드, 라놀린 유도체 제 4급 암모늄염 등을 사용할 수 있다.
- [70] 양성 계면 활성제로서는 카르복시베타인형, 아미드베타인형, 술폰베타인형, 히드록시술폰베타인형, 아미드술폰베타인형, 포스포베타인형, 아미노카르복실산염형, 이미다졸린 유도체형, 아미드아민형 등의 양성 계면 활성제를 사용할 수 있다.
- [71] 유기 또는 무기 안료로서는 규산, 무수규산, 규산마그네슘, 텔크, 세리사이트, 마이카, 카올린, 벵갈라, 클레이, 벤토나이트, 티탄피막운모, 옥시염화비스무트, 산화지르코늄, 산화마그네슘, 산화아연, 산화티탄, 산화알루미늄, 황산칼슘, 황산바륨, 황산마그네슘, 탄산칼슘, 탄산마그네슘, 산화철, 군청, 산화크롬, 수산화크롬, 칼라민 및 이들의 복합체 등의 무기 안료; 폴리아미드, 폴리에스테르, 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리우레 탄, 비닐수지, 요소수지,

페놀수지, 불소수지, 규소수지, 아크릴수지, 멜라민수지, 에폭시수지, 폴리카보네이트 수지, 디비닐벤젠 · 스티렌 공중합체, 실크파우더, 셀룰로오스, CI 피그먼트옐로우, CI 피그먼트오렌지 등의 유기 안료 및 이들의 무기 안료와 유기 안료의 복합 안료 등을 사용할 수 있다.

- [72] 유기 분체로서는 스테아르산칼슘 등의 금속비누; 세틸린산아연나트륨, 라우릴린산아연, 라우릴린산칼슘 등의 알킬인산금속염; N-라우로일-베타-알라닌칼슘, N-라우로일-베타-알라닌아연, N-라우로일글리신칼슘 등의 아실아미노산 다가금속염; N-라우로일-타우린칼슘, N-팔미토일-타우린칼슘 등의 아미드술포산 다가금속염; N-엡실론-라우로일-L-리진, N-엡실론-팔미토일리진, N-알파-파리토일올니틴, N-알파-라우로일아르기닌, N-알파-경화우지 지방산아실아르기닌 등의 N-아실염기성아미노산; N-라우로일글리실글리신 등의 N-아실폴리펩티드; 알파-아미노카프릴산, 알파-아미노라우린산 등의 알파-아미노지방산; 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 나일론, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리스티렌, 디비닐벤젠 · 스티렌 공중합체, 사불화에틸렌 등을 사용할 수 있다.
- [73] 자외선 흡수제로서는 파라아미노벤조산, 파라아미노벤조산에틸, 파라아미노벤조산아밀, 파라아미노벤조산옥틸, 살리실산에틸렌글리콜, 살리신산페닐, 살리신산옥틸, 살리신산벤질, 살리신산부틸페닐, 살리신산호모멘틸, 계피산벤질, 파라메톡시계피산-2-에톡시에틸, 파라메톡시계피산옥틸, 디파라메톡시계피산모노-2-에틸헥산글리세릴, 파라메톡시계피산이소프로필, 디이소프로필 · 디이소프로필계피산에스테르 혼합물, 우로카닌산, 우로카닌산에틸, 히드록시메톡시벤조페논, 히드록시메톡시벤조페논술포산 및 그 염, 디히드록시메톡시벤조페논, 디히드록시메톡시벤조페논디술포산나트륨, 디히드록시벤조페논, 테트라히드록시벤조페논, 4-tert-부틸-4'-메톡시디벤조일메탄, 2,4,6-트리아닐리노-p-(카르보-2'-에틸헥실-1'-옥시)-1,3,5-트리아진, 2-(2-히드록시-5-메틸페닐)벤조트리아졸 등을 사용할 수 있다.
- [74] 살균제로서는 히노키티올, 트리클로산, 트리클로로히드록시디페닐에테르, 크로르헥시딘글루콘산염, 페녹시에탄올, 레조르신, 이소프로필메틸페놀, 아줄렌, 살리칠산, 진크필리티온, 염화벤잘코늄, 감광소 301호, 모노니트로파이어콜나트륨, 운데시렌산 등을 사용할 수 있다.
- [75] 산화 방지제로서는 부틸히드록시아니솔, 갈릭산프로필, 엘리소르빈산 등을 사용할 수 있다.
- [76] pH 조정제로서는 시트르산, 시트르산나트륨, 말산, 말산나트륨, 프말산, 프말산나트륨, 숙신산, 숙신산나트륨, 수산화나트륨, 인산일수소나트륨 등을 사용할 수 있다.
- [77] 알코올로서는 세틸알코올 등의 고급 알코올을 사용할 수 있다.

- [78] 또한, 이외에 첨가해도 되는 배합 성분은 이에 한정되는 것은 아니며, 또, 상기 어느 성분도 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 배합 가능하지만, 총 조성물 중량에 대하여 바람직하게는 0.01-5중량%, 보다 바람직하게는 0.01-3중량%로 배합될 수 있다.
- [79] 본 발명의 제형이 로션, 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등을 사용할 수 있다.
- [80] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 사용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [81] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액의 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 또는 유탁화제가 사용될 수 있으며, 예를 들어, 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 에스테르를 사용할 수 있다.
- [82] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등을 사용할 수 있다.
- [83] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 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, 식물성유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등을 사용할 수 있다.
- [84] 이하, 구체적인 실시예를 통해 본 발명을 보다 구체적으로 설명한다. 하기 실시예는 본 발명의 이해를 돕기 위한 예시에 불과하며, 본 발명의 범위가 이에 한정되는 것은 아니다.

발명의 실시를 위한 형태

- [85] 실시예
- [86] 실험예 1. 오카닌(Okanin)의 세포성장인자수용체(epidermal growth factor receptor, EGFR) 활성 측정
- [87] 세포막의 EGF 수용체인 EGFR의 세포질 부분에 있는 티로신 잔기의 인산화는

EGFR의 활성화에 동반되어 일어나게 된다. 여기에 동반하여 EGFR의 활성이 계속 유지되면 EGFR이 세포 안쪽으로 내포화되는 특징을 이용하여 EGFR의 활성을 측정할 수 있는 바이오센서 시스템의 세포를 본 실험에서 활용하였다(공개특허 제2019-0014340호 참조).

- [88] 상기 바이오센서 시스템의 세포에 10ng/ml EGF 와 100 μ M의 오카닌(Okanin) (인터팜 (InterPharm)에서 구입)을 처리한 후 형광신호의 변화를 관찰하였다. 상기 세포를 24시간 동안의 무혈청 배지에서 배양한 후, 상기 오카닌을 세포에 처리하였다.
- [89] 그 결과, 도 1에 보이는 바와 같이, 용매인 DMSO만을 처리한 대조군에 비하여 100 μ M의 오카닌을 처리한 세포에서 EGFR이 활성화 됨을 확인할 수 있었다.
- [90] **실험예 2. 오카닌의 농도별 세포 독성 측정**
- [91] 오카닌의 세포독성을 케라틴 생성 세포(Keratinocyte)인 HaCaT 세포를 이용하여 측정하였다.
- [92] 세포에 노란색의 수용성 기질인 MTT 테트라졸리움(MTT tetrazolium)을 처리하면 이 기질이 미토콘드리아의 효소에 의해 MTT 포르마잔(MTT formazan)으로 환원되고 색이 청자색으로 바뀌게 된다. 즉, 살아있는 세포가 많을수록 청자색이 진하게 나타나기 때문에, 540nm 파장에서의 청자색 흡광도는 살아있는 세포의 농도를 반영하게 된다.
- [93] 구체적으로, 96-웰 플레이트의 각 웰에 세포를 가득 차게 배양한 후 오카닌을 0, 10, 25, 50, 100 μ M 농도로 처리하고, 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 24시간 및 48시간 동안 배양한 다음 MTT 시약을 통해 세포의 생존률을 측정하였다. 오카닌을 처리하지 않은 대조군(0 μ M)은 동량의 용매인 DMSO를 처리하였다.
- [94] 그 결과 도 2에 보이는 바와 같이, 25 μ M과 50Mm의 오카닌을 처리한 경우에는 약간의 세포 독성을 보이나, 100 μ M의 오카닌을 처리한 경우에서 48시간 세포를 배양한 경우, 50~60%에 이르는 독성이 나타난 것을 확인할 수 있었다. 따라서, 이후의 실험에서는 10 μ M 이내 오카닌 농도 범위에서 실험을 시행하였다.
- [95] **실험예 3. 오카닌(Okanin)에 의한 ERK, AKT의 활성화**
- [96] ERK(Extracellular signal-regulated kinase) 및 AKT(Protein kinase B)의 활성화는 EGFR의 활성화에 의해 세포 성장과 생존에 필요한 신호를 전달하는 것으로 잘 알려져 있다. 또한, 상기 실험예1에서 오카닌이 EGFR의 활성을 측정할 수 있는 바이오 센스 시스템의 세포에서 EGFR의 활성화로 인하여 신호가 나오는 것을 관찰되었다. 이에 따라 오카닌에 의해 EGFR 활성이 ERK와 AKT의 활성화로 유도되는지 측정하였다.
- [97] 구체적으로 HaCaT 세포를 무혈청 배지에서 배양한 후, 10 μ M 농도의 오카닌을 각각 10분, 30분, 60분 동안 처리한 후 인산화되어 활성화되는 ERK와 AKT를 웨스턴 블롯팅(Western blotting) 방법을 통해 분석하였다. 항체는 활성화된 ERK와 AKT의 표지 인자인 인산화 항체와 이들의 전체를 측정하는 일반 항체를 각각 사용하였다.

- [98] 그 결과, 도 3에 보여지는 바와 같이, 10 μ M의 오카닌이 10분 동안 ERK와 AKT의 활성을 충분히 유도하는 것을 확인하였다. 또한 ERK와 AKT가 30분 이내에 빠르고 활성화되는 것을 확인할 수 있었다.
- [99] **실험예 4. 오카닌에 의한 유전자 발현 변화**
- [100] EGFR에 의한 신호전달은 ERK와 AKT라는 중요한 신호전달 매개 단백질을 거쳐 세포 성장과 생존에 중요한 유전자 발현을 유도하게 된다. *egr1*, *c-myc*, *c-jun*, *c-fos* 유전자는 EGFR에 의해 조절되며 세포 성장과 생존을 촉진시키는 유전자로 잘 알려져 있다. 상기 실험예 2에서 ERK와 AKT의 활성을 충분히 유도한 10 μ M 농도의 오카닌을 무혈청 배지로 배양한 HaCaT세포에 처리하고 1시간 후 각 유전자 발현 변화를 분석하였다.
- [101] 구체적으로 mRNA 추출은 Tri-reagent를 이용하였으며, poly-A 프라이머와 역전사 중합효소(Reverse transcriptase)를 이용한 역전사 중합효소 연쇄반응(RT-PCR, Reverse transcription polymerase chain reaction)으로 cDNA를 만들고 실시간 정량 PCR(Real-time quantitative PCR)을 이용하여 각 mRNA의 양을 측정하였다. 각 mRNA 양은 항존 유전자인 β -액틴의 양으로 보정하였다.
- [102] 그 결과, 도 4에 보이는 바와 같이, *egr1*, *c-myc*, *c-jun*, 및 *c-fos* mRNA가 증가하는 양상을 나타내었다.
- [103] **실험예 5. 오카닌에 의한 케라틴 생성 세포 성장 및 증식 측정**
- [104] 세포 카운팅 키트(Cell counting kit-8, CCK-8)은 WST-8이라는 수용성의 테트라졸리움염(tetrazolium salt) 시약으로, 살아있는 세포의 미토콘드리아에 있는 탈수소효소(dehydrogenase)에 의해 오렌지색의 수용성 포르마잔(Formazan)을 형성하게 된다. 따라서, CCK-8에 의해 나타나는 오렌지색 파장인 450nm의 흡광도는 세포의 수를 반영하므로, 이를 세포 성장 및 증식을 측정하는데 사용하였다.
- [105] 구체적으로 96-웰 플레이트에 1×10^4 개의 HaCaT 세포를 24시간 배양한 후 무혈청 배지로 바꾸어 배지에 포함된 성장인자를 제거한 뒤 세포독성이 없는 10 μ M 이하의 농도, 즉 1nM, 10nM, 100nM, 1 μ M, 10 μ M 농도의 오카닌을 처리하였다. 음성대조군으로는 동량의 용매인 DMSO를 사용하였고, 양성대조군으로는 1ng/ml 농도의 EGF를 사용하였다. 24시간 동안 배양한 뒤, CCK8을 처리하고 450nm에서의 흡광도를 측정하여 세포 성장을 분석하였다.
- [106] 그 결과, 도 5에 보이는 바와 같이, 음성대조군에 비하여 100nM, 1 μ M, 10 μ M 농도의 오카닌이 처리된 경우, 세포 성장 및 증식이 유의하게 증가하는 것을 확인하였다 (One-way ANOVA, * $p < 0.05$).
- [107] **실험예 6. 오카닌에 의한 세포 성장 촉진 효능을 상처 치료 어세이(Wound healing assay).**
- [108] 오카닌에 의한 세포성장 촉진 효능을 상처 치료 어세이를 통해 확인하였다. 구체적으로, 12-웰 플레이트에 HaCaT 세포를 가득 차게 배양한 후, 옐로우 팁(yellow tip)을 이용하여, 일정 면적의 세포를 긁어내어 상처 영역을 형성하고

무혈청 배지로 바꾸어 1 μ M 농도의 오카닌을 처리하였다. 음성 대조군은 용매인 DMSO, 양성대조군은 1ng/ml인 EGF를 사용하였다.

- [109] 그 결과, 도 6a 및 도 6b에 보이는 바와 같이, 6일 동안의 배양시, 음성대조군에 비하여 오카닌을 처리하였을 때 상처 영역이 빠르게 채워지는 것을 확인할 수 있었고, 3일 째 부터는 음성대조군과 대비하여 유의한 차이를 나타내었다. (t-검정, * $p < 0.05$).

[110] **실험예 7. 오카닌의 자외선(UVB) 자극 저항성 효능**

- [111] 자외선(Ultraviolet)파장 중에 280~315nm에 해당하는 UVB 파장은 케라틴 생성 세포가 다수 존재하는 표피층을 투과하여 세포손상을 일으킨다. UVB에 의해 야기된 세포 손상은 세포사멸로 이어지기도 하므로, 오카닌이 케라틴 생성 세포의 성장과 생존 신호 전달을 촉진함에 따라 UVB에 의해 유도되는 세포손상에 저항성을 나타내는지 확인하였다.

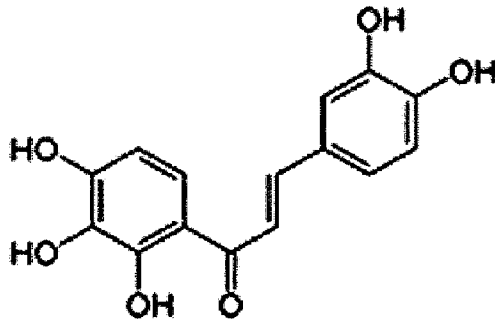
- [112] 구체적으로 1x10⁴ 개의 HaCaT 세포가 배양된 96-웰 플레이트에 500mJ/cm²의 UVB를 조사한 뒤 1 μ M 농도의 오카닌 또는 EGF가 존재하는 무혈청 배지에서 배양하였다. 음성대조군으로는 용매인 DMSO를 사용하였고, 세포 생존력 측정은 상기 실험예 5에서 사용한 CCK-8 법을 이용하였다.

- [113] 그 결과, 도 7에서 보이는 바와 같이, 음성 대조군에서는 500mJ/cm²의 UVB에 의해 세포사멸이 일어나 약 40%의 세포만이 생존한 반면, 1 μ M 농도의 오카닌에 의해서는 약 60%의 세포가 생존한 것을 확인하였고 이는 통계적으로 유의한 수치를 나타내었다. (t-검정, * $p < 0.05$).

- [114] 이상에서 본 발명의 실시예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고, 청구범위에 기재된 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 다양한 수정 및 변형이 가능하다는 것은 당 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에게는 자명할 것이다.

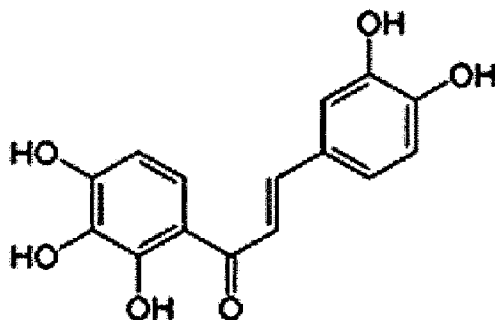
청구범위

- [청구항 1] 하기 화학식 (1)로 표현되는 오카닌 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는, 항노화 또는 피부재생용 조성물.



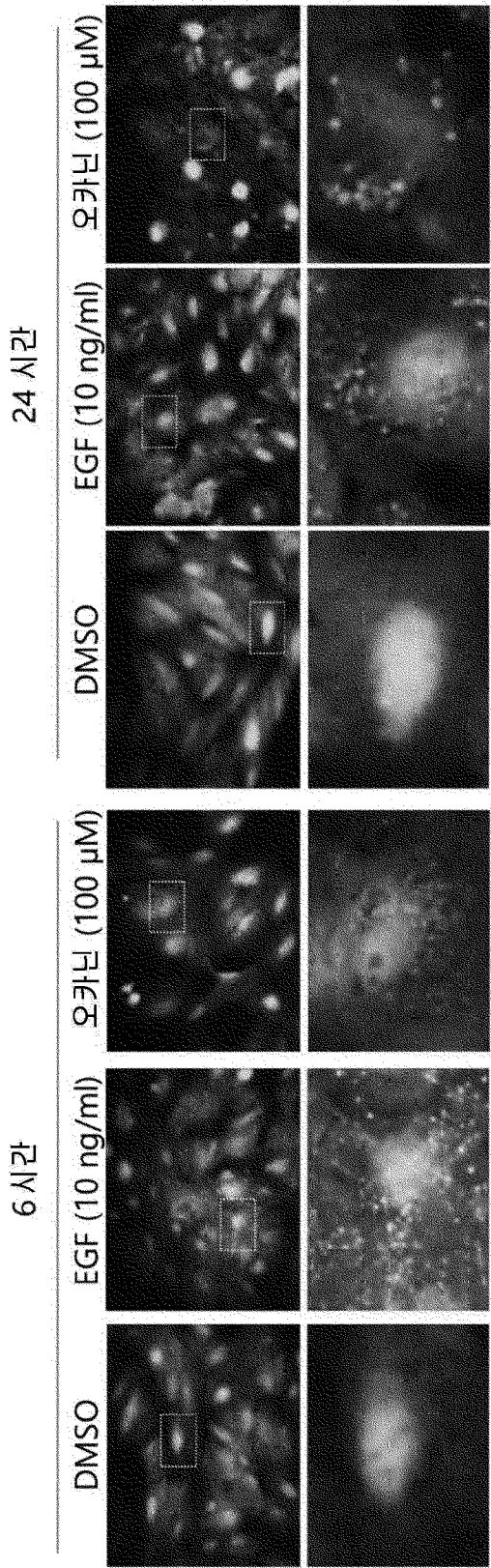
화학식 (1)

- [청구항 2] 제1항에 있어서, 조성물은 상기 오카닌 또는 이의 염을 10 nM 내지 100 μ M 로 포함하는, 항노화 또는 피부재생용 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 조성물은 화상에 의한 피부 및 조직 손상을 개선 또는 치료하는 것인, 항노화 또는 피부재생용 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 조성물은 외부 자극에 의한 세포 손상을 예방 또는 개선하는 것인, 항노화 또는 피부재생용 조성물.
- [청구항 5] 제4항에 있어서, 상기 외부 자극은 자외선인, 항노화 또는 피부 재생용 조성물.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 조성물은 피부 탄력을 증진시키는 것인, 항노화 또는 피부 재생용 조성물.
- [청구항 7] 제1항에 있어서, 상기 조성물은 피부 주름을 개선시키는 것인, 항노화 또는 피부 재생용 조성물.
- [청구항 8] 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 약학적 조성물, 건강기능식품 조성물 또는 화장품 조성물인, 항노화 또는 피부 재생용 조성물.
- [청구항 9] 항노화 또는 피부재생용 조성물의 제조를 위한 하기 화학식 (1)로 표현되는 오카닌 또는 이의 염의 용도.

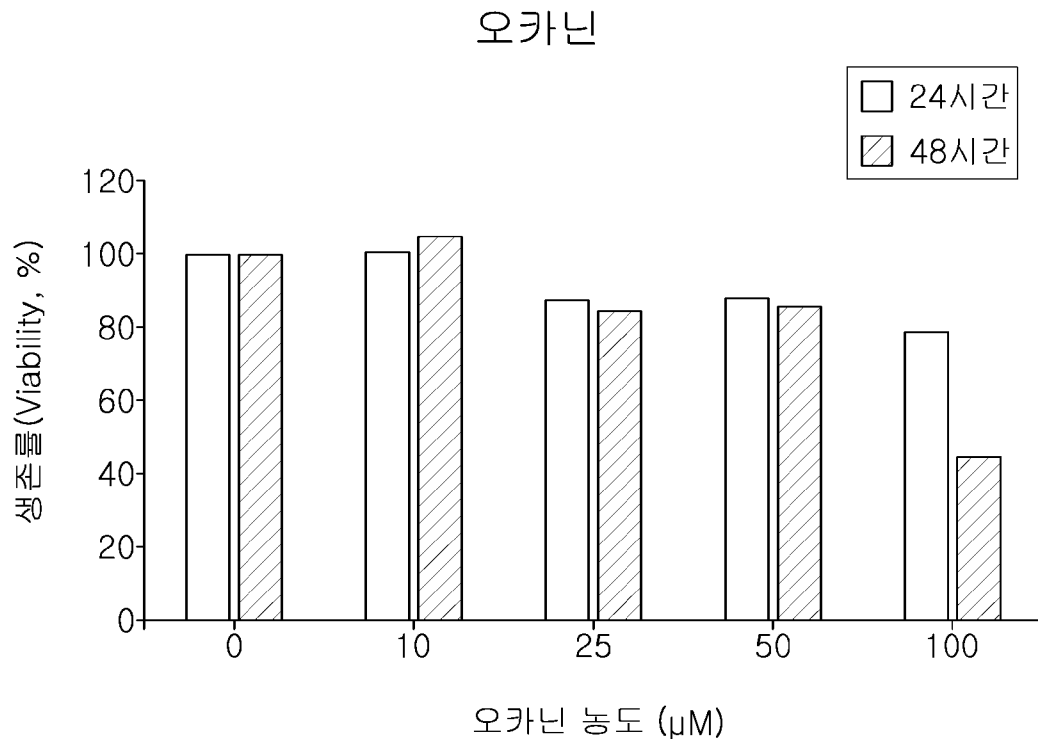


화학식 (1)

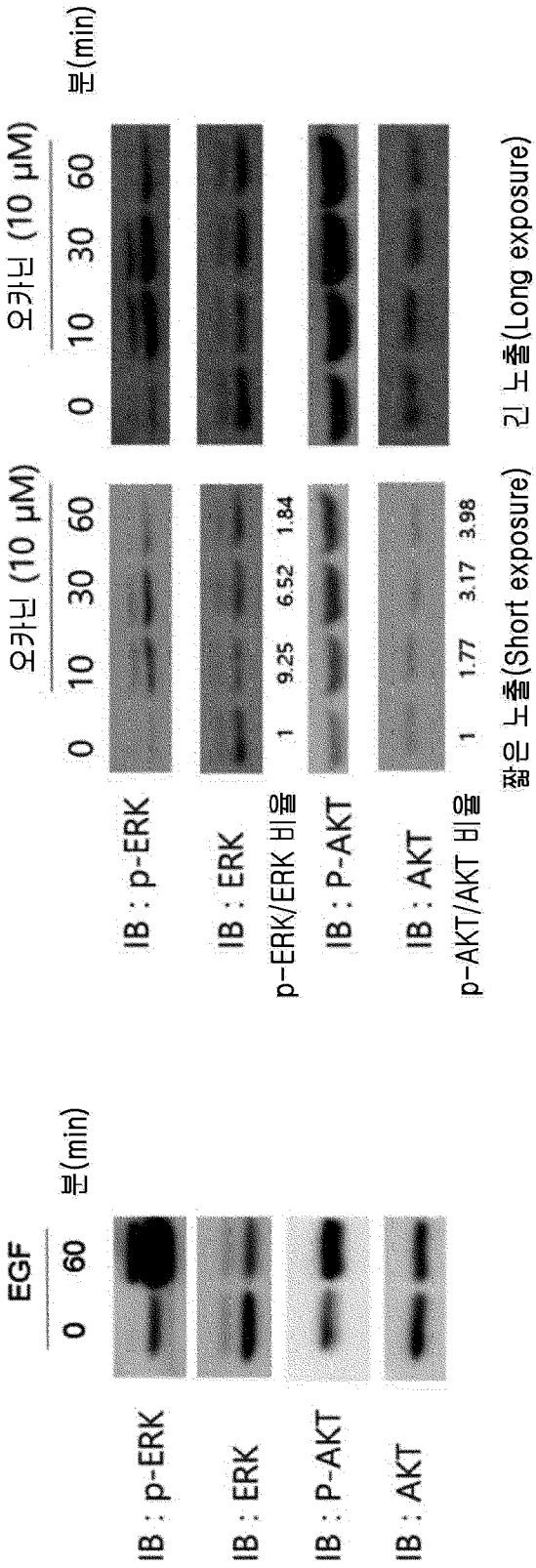
[도1]



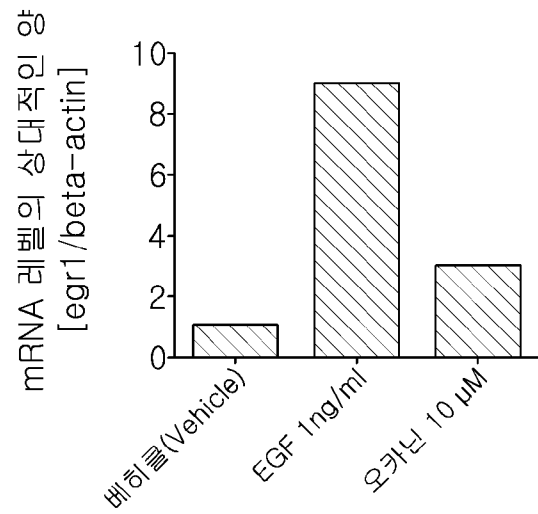
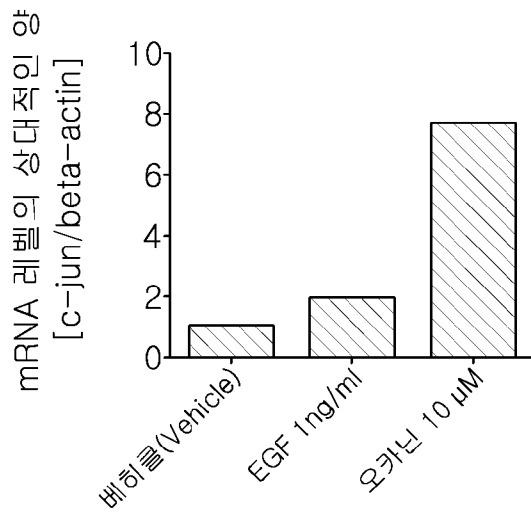
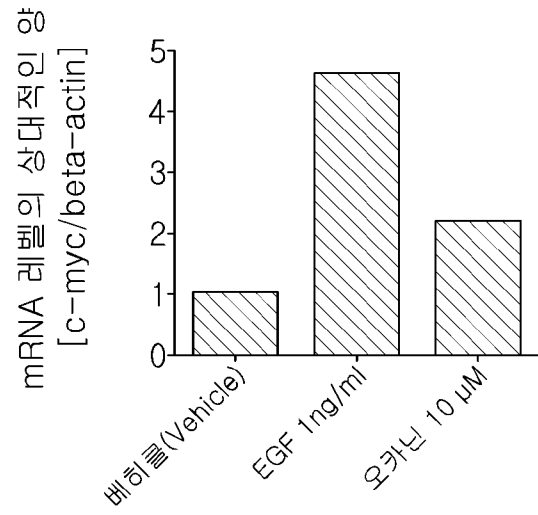
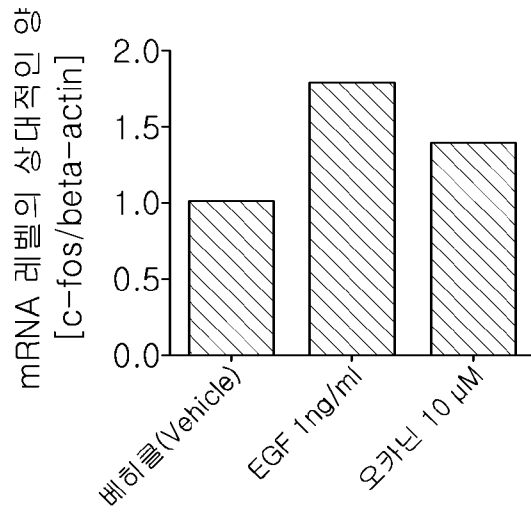
[도2]



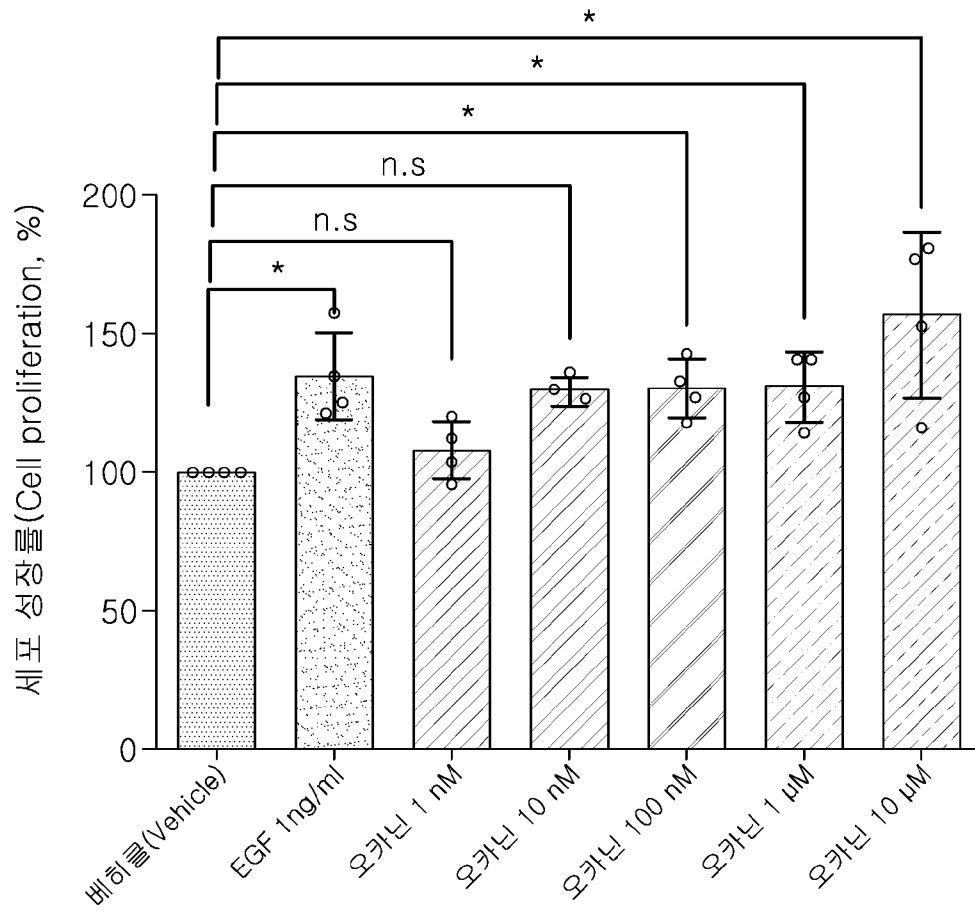
[도3]



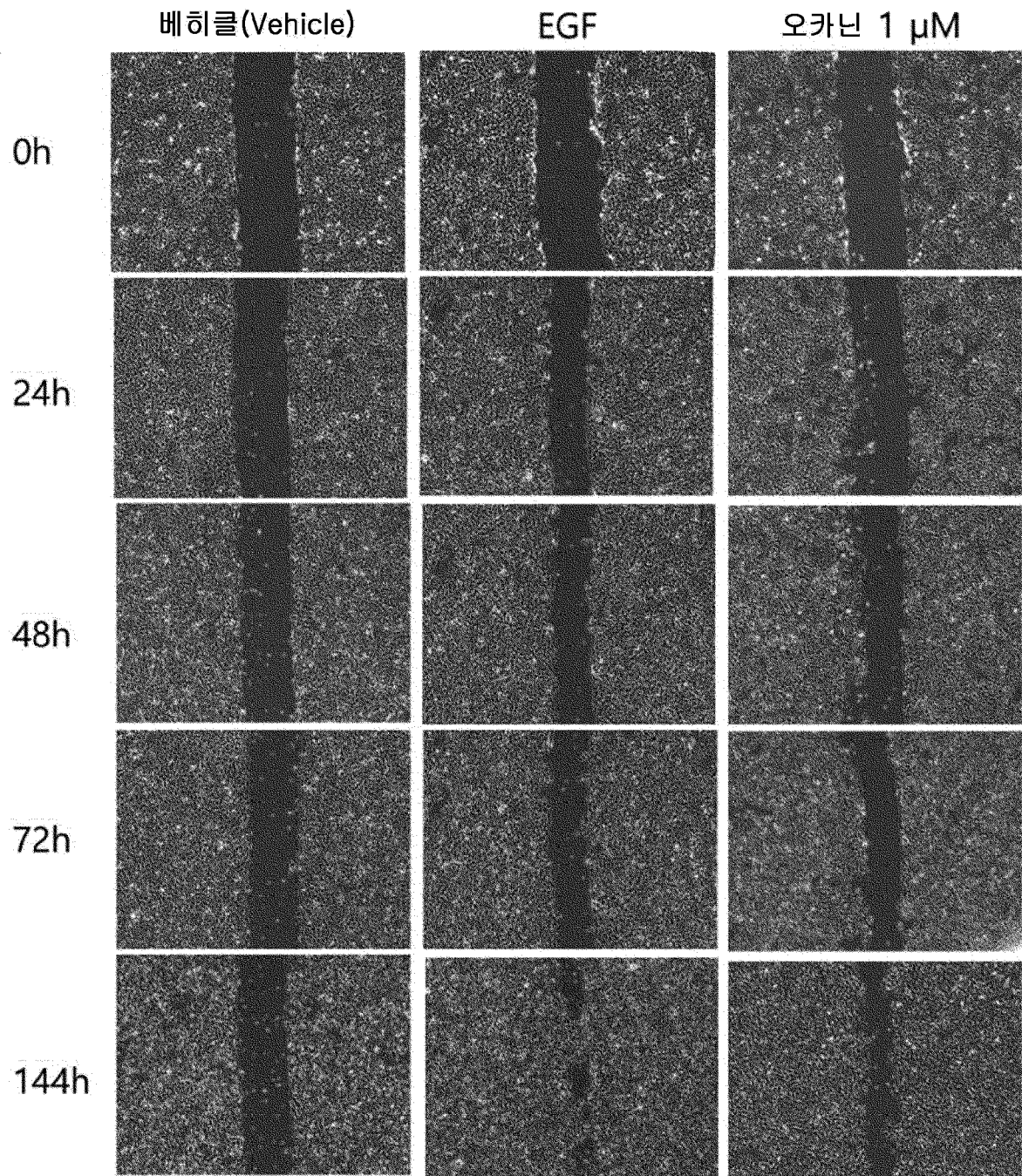
[도4]



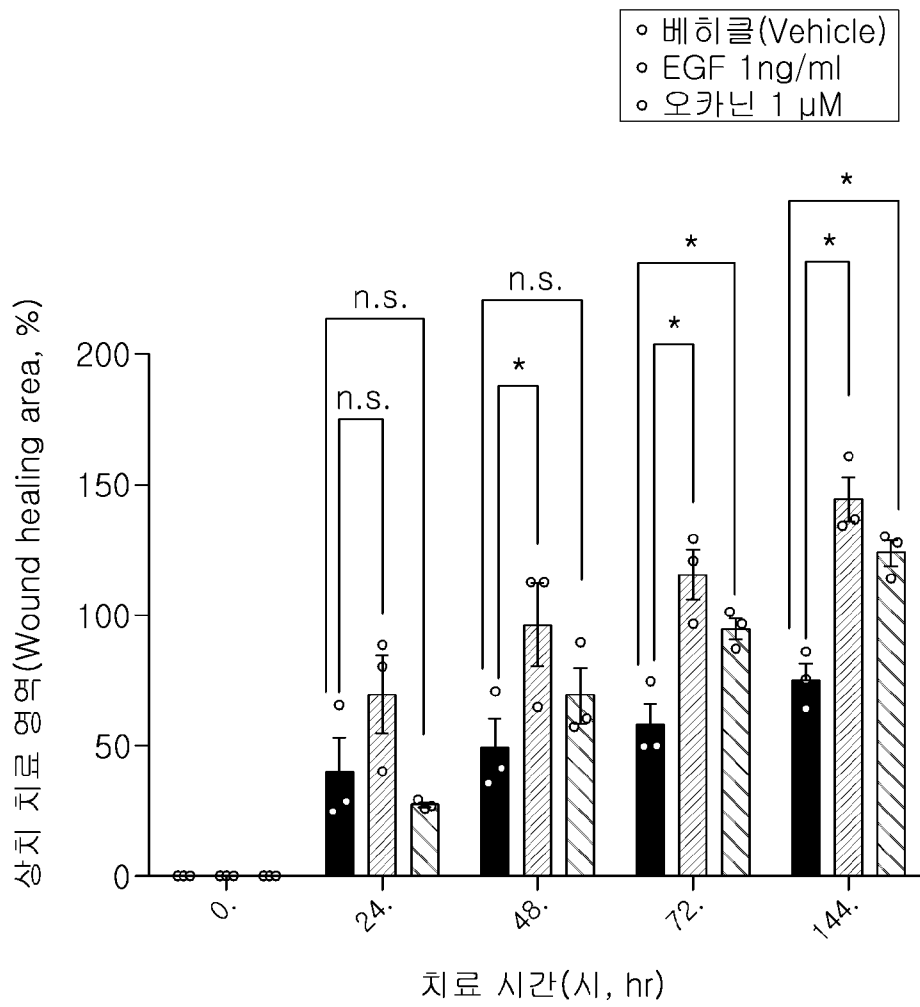
[도5]



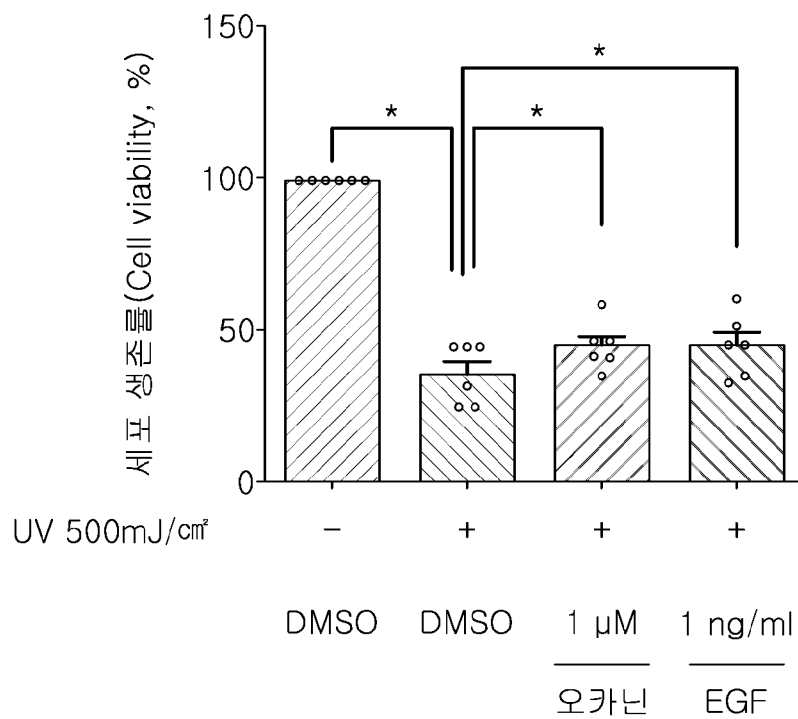
[도6a]



[도6b]



[도7]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2021/011525

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/12(2006.01)i; **A61P 17/00**(2006.01)i; **A61P 17/02**(2006.01)i; **A61K 8/35**(2006.01)i; **A61Q 19/08**(2006.01)i;
A23L 33/10(2016.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 31/12(2006.01); A61K 31/03(2006.01); A61K 36/28(2006.01); A61K 8/35(2006.01); A61K 8/97(2006.01);
 C07C 225/22(2006.01); C07C 49/217(2006.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above
 Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 오카닌 (okanin), 항노화 (anti aging), 피부재생 (skin regeneration), 조성물 (composition), 화장품 (cosmetic), 탄력 (wrinkle)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	HOFMANN, E. et al. Hydroxylated chalcones with dual properties: Xanthine oxidase inhibitors and radical scavengers. Bioorganic & medicinal chemistry. 2016, vol. 24, pp. 578-587. See abstract; figure 1; and table 1.	1-2,4-9 3
A	KR 10-2014-0012059 A (PIERRE FABRE DERMO-COSMETIQUE) 29 January 2014 (2014-01-29) See entire document.	1-9
A	KR 10-2014-0147619 A (EWAH UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION) 30 December 2014 (2014-12-30) See entire document.	1-9
A	KR 10-2003-0036993 A (ANGIOLAB, INC.) 12 May 2003 (2003-05-12) See entire document.	1-9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 “D” document cited by the applicant in the international application
 “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
 “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

07 December 2021

Date of mailing of the international search report

07 December 2021

Name and mailing address of the ISA/KR

**Korean Intellectual Property Office
 Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208**

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2021/011525

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2017-131956 A1 (ELC MANAGEMENT LLC) 03 August 2017 (2017-08-03) See entire document.	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2021/011525

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
KR	10-2014-0012059	A	29 January 2014	AR	084874	A1	10 July 2013
				AU	2012-208626	B2	30 March 2017
				BR	112013018287	A2	16 November 2016
				CA	2823629	A1	26 July 2012
				CA	2823629	C	06 July 2021
				CN	103313722	A	18 September 2013
				CN	103313722	B	27 April 2016
				EP	2665484	A1	27 November 2013
				EP	2665484	B1	01 November 2017
				ES	2653148	T3	06 February 2018
				FR	2970416	A1	20 July 2012
				FR	2970416	B1	20 July 2012
				HK	1185267	A1	14 February 2014
				IL	227447	A	30 September 2013
				JP	2014-508137	A	03 April 2014
				JP	6297333	B2	20 March 2018
				KR	10-1916977	B1	08 November 2018
				MA	34840	B1	02 January 2014
				MX	2013008133	A	13 September 2013
				MX	360027	B	18 October 2018
				NZ	613331	A	28 August 2015
				PL	2665484	T3	30 April 2018
				PT	2665484	T	05 February 2018
				RU	2013135683	A	27 February 2015
				RU	2595860	C2	27 August 2016
				TN	2013000283	A1	20 January 2015
				TW	201309637	A	01 March 2013
				TW	I582069	B	11 May 2017
				US	2013-0177515	A1	11 July 2013
				US	9629786	B2	25 April 2017
				WO	2012-098134	A1	26 July 2012
				ZA	201305458	B	28 January 2015
KR	10-2014-0147619	A	30 December 2014	None			
KR	10-2003-0036993	A	12 May 2003	EP	1450777	A1	01 September 2004
				EP	1450777	B1	08 May 2013
				ES	2422891	T3	16 September 2013
				KR	10-0567125	B1	31 March 2006
				US	2004-0209952	A1	21 October 2004
				US	7572831	B2	11 August 2009
				WO	03-037315	A1	08 May 2003
WO	2017-131956	A1	03 August 2017	AU	2017-210978	A1	16 August 2018
				AU	2017-210978	B2	06 June 2019
				CA	3012104	A1	03 August 2017
				CA	3012104	C	25 August 2020
				CN	108883042	A	23 November 2018
				CN	108883042	B	29 October 2021
				EP	3407858	A1	05 December 2018
				EP	3407858	B1	13 October 2021
				JP	2019-509982	A	11 April 2019
				JP	6664004	B2	13 March 2020

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2021/011525

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		KR 10-2018-0097781 A	31 August 2018
		KR 10-2171523 B1	30 October 2020
		US 2017-0209364 A1	27 July 2017

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 31/12(2006.01)i; A61P 17/00(2006.01)i; A61P 17/02(2006.01)i; A61K 8/35(2006.01)i; A61Q 19/08(2006.01)i; A23L 33/10(2016.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 31/12(2006.01); A61K 31/03(2006.01); A61K 36/28(2006.01); A61K 8/35(2006.01); A61K 8/97(2006.01); C07C 225/22(2006.01); C07C 49/217(2006.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 오카닌 (okanin), 항노화(anti aging), 피부재생 (skin regeneration), 조성물 (composition), 화장품 (cosmetic), 탄력 (wrinkle)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X A	HOFMANN, E. 등, 'Hydroxylated chalcones with dual properties: Xanthine oxidase inhibitors and radical scavengers', Bioorganic & medicinal chemistry, 2016, 24권, 페이지 578-587 초록; 도면 1; 표 1	1-2,4-9 3
A	KR 10-2014-0012059 A (베에르하브르데르모-코스메띠) 2014.01.29 전체 문헌	1-9
A	KR 10-2014-0147619 A (이화여자대학교 산학협력단) 2014.12.30 전체 문헌	1-9
A	KR 10-2003-0036993 A (주식회사 안지오랩) 2003.05.12 전체 문헌	1-9
A	WO 2017-131956 A1 (ELC MANAGEMENT LLC) 2017.08.03 전체 문헌	1-9
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2021년12월07일(07.12.2021)		국제조사보고서 발송일 2021년12월07일(07.12.2021)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 정다원 전화번호 +82-42-481-5373

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2014-0012059 A	2014/01/29	AR 084874 A1	2013/07/10
		AU 2012-208626 B2	2017/03/30
		BR 112013018287 A2	2016/11/16
		CA 2823629 A1	2012/07/26
		CA 2823629 C	2021/07/06
		CN 103313722 A	2013/09/18
		CN 103313722 B	2016/04/27
		EP 2665484 A1	2013/11/27
		EP 2665484 B1	2017/11/01
		ES 2653148 T3	2018/02/06
		FR 2970416 A1	2012/07/20
		FR 2970416 B1	2012/07/20
		HK 1185267 A1	2014/02/14
		IL 227447 A	2013/09/30
		JP 2014-508137 A	2014/04/03
		JP 6297333 B2	2018/03/20
		KR 10-1916977 B1	2018/11/08
		MA 34840 B1	2014/01/02
		MX 2013008133 A	2013/09/13
		MX 360027 B	2018/10/18
		NZ 613331 A	2015/08/28
		PL 2665484 T3	2018/04/30
		PT 2665484 T	2018/02/05
		RU 2013135683 A	2015/02/27
		RU 2595860 C2	2016/08/27
		TN 2013000283 A1	2015/01/20
		TW 201309637 A	2013/03/01
		TW I582069 B	2017/05/11
		US 2013-0177515 A1	2013/07/11
		US 9629786 B2	2017/04/25
		WO 2012-098134 A1	2012/07/26
		ZA 201305458 B	2015/01/28
KR 10-2014-0147619 A	2014/12/30	없음	
KR 10-2003-0036993 A	2003/05/12	EP 1450777 A1	2004/09/01
		EP 1450777 B1	2013/05/08
		ES 2422891 T3	2013/09/16
		KR 10-0567125 B1	2006/03/31
		US 2004-0209952 A1	2004/10/21
		US 7572831 B2	2009/08/11
		WO 03-037315 A1	2003/05/08
WO 2017-131956 A1	2017/08/03	AU 2017-210978 A1	2018/08/16
		AU 2017-210978 B2	2019/06/06
		CA 3012104 A1	2017/08/03
		CA 3012104 C	2020/08/25
		CN 108883042 A	2018/11/23
		CN 108883042 B	2021/10/29
		EP 3407858 A1	2018/12/05
		EP 3407858 B1	2021/10/13
		JP 2019-509982 A	2019/04/11
		JP 6664004 B2	2020/03/13

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		KR 10-2018-0097781 A	2018/08/31
		KR 10-2171523 B1	2020/10/30
		US 2017-0209364 A1	2017/07/27