

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0121033

(43) 공개일자 2024년08월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/60 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)

A61K 36/77 (2006.01) A61K 8/9789 (2017.01)

A61P 17/00 (2006.01) A61P 29/00 (2023.01)

A61P 31/04 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/60 (2013.01)

A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2023-0013783

(22) 출원일자 2023년02월01일

심사청구일자 2023년02월01일

(71) 출원인

계명대학교 산학협력단

대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교
산학협력관 201호(신당동)

(72) 발명자

양선아

경상북도 칠곡군 왜관읍 아곡5길 79, 동호빌리지
A동

배원빈

경상남도 창원시 진해구 풍호로42번길 15, 113동
503호(풍호동, 디에스아이존빌)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인태백

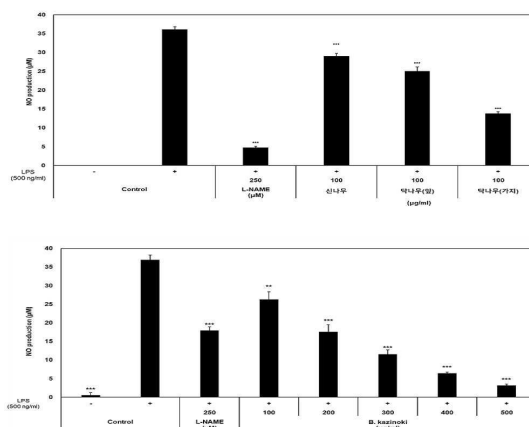
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 닥나무 가지 추출물 또는 신나무 잎 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방
또는 치료용 약학 조성물

(57) 요약

본 발명은 닥나무(*Broussonetia kazinoki*) 가지 추출물 또는 신나무(*Acer ginnala*) 잎 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로, 닥나무 추출물 중 가지 추출물이 다른 부위의 추출물보다 우수한 항염증 활성을 나타내고, 닥나무 가지 추출물과 신나무 잎 추출물을 혼합한 혼합 추출물은 닥나무 가지 추출물에서 나타나지 않은 특정 균주에 대한 항균 활성을 나타냈으며, 특정 균주에 대해서는 혼합을 통한 항균 시너지 효과가 나타나는 것을 확인함으로써, 염증성 피부질환을 예방, 치료 또는 개선용 조성물이나 항균용 조성물로서 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A61K 36/77 (2013.01)
A61K 8/9789 (2017.08)
A61P 17/00 (2018.01)
A61P 29/00 (2023.02)
A61P 31/04 (2018.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/318 (2013.01)
A61K 2300/00 (2023.05)

(72) 발명자

김은혜

대구광역시 달서구 선원남로 181, 504동 701호(용산동, 성서5주공아파트)

소윤주

대구광역시 달서구 서당로12길 43, 205호(신당동, 명광빌)

이유정

대구광역시 달서구 월서로 51, 102동 902호(진천동, 월배역 포스코 더샵 아파트)

박찬규

대구광역시 달서구 호산동로35길 57, 205호(호산동, 더워드)

정환석

경상북도 경주시 현곡면 용담로 548, 113동 802호(경주센트럴푸르지오)

명세서

청구범위

청구항 1

닥나무(*Broussonetia kazinoki*) 가지 추출물; 또는 닥나무 가지 추출물 및 신나무(*Acer ginnala*) 잎 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 추출물은 물, C1 내지 C4 알코올 또는 이의 혼합용매로 추출한 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 추출물은 산화질소(nitric oxide), RANTES(Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted; C-C Motif Chemokine Ligand 5; CCL5), TARC(Thymus and activation-regulated chemokine; CCL17) 및 MDC(Macrophage-derived chemokine; CCL22)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 생성 또는 방출을 억제하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 추출물은 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*), 대장균(*Escherichia coli*) 및 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상에 대한 항균 활성을 나타내는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 혼합 추출물은 닥나무 가지 추출물 및 신나무 잎 추출물을 1:1의 중량 비율로 혼합한 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 염증성 피부질환은 접촉피부염, 자극 접촉피부염, 알레르기 접촉피부염, 광독성 및 광알레르기 접촉 피부염, 접촉 두드러기 증후군, 자가 감각 피부염, 울체 피부염, 여드름, 아토피 피부염, 알레르기성 피부염, 지루성 피부염, 구진상 두드러기, 습진 및 건선으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 7

닥나무(*Broussonetia kazinoki*) 가지 추출물; 또는 닥나무 가지 추출물 및 신나무(*Acer ginnala*) 잎 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 8

닥나무(*Broussonetia kazinoki*) 가지 추출물; 또는 닥나무 가지 추출물 및 신나무(*Acer ginnala*) 잎 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방 또는 개선용 화장품 조성물.

청구항 9

청구항 8에 있어서, 상기 조성물은 유연화장수, 영양화장수, 수분크림, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 앰플, 젤, 아이크림, 클렌징크림, 클렌징폼, 클렌징워터, 팩, 스프레이 및 파우더로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상으로 제형화된 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 10

닥나무(*Broussonetia kazinoki*) 가지 추출물; 또는 닥나무 가지 추출물 및 신나무(*Acer ginnala*) 잎 추출물을

혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 항균용 조성물.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 상기 추출물은 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*), 대장균(*Escherichia coli*) 및 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상에 대한 항균 활성을 나타내는 것을 특징으로 하는 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 닥나무(*Broussonetia kazinoki*) 가지 추출물 또는 신나무(*Acer ginnala*) 잎 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 피부는 신체의 외부를 구성하는 기관으로서 다양한 외부 물리적 및 화학적 자극으로부터 신체를 보호하면서 내부의 항상성을 유지하는 중요한 물리적 장벽이다. 피부는 수분과 전해질의 외부 유출을 방지할 뿐만 아니라, 체온 조절, 온도 등의 항상성을 유지하고, 촉각, 압각, 통각, 온각 등의 자극에 대한 반응을 할 뿐만 아니라, 면역 기능, 비타민 D 합성 등의 기능을 수행한다.

[0003] 이러한 피부가 기능을 수행할 수 없도록 문제가 생기는 것을 피부 질환이라고 하며, 그 중 피부에 염증이 생기는 염증성 피부질환은 발적, 종창, 열감, 동통 등의 증상이 나타나는 질환이며, 유형별로 접촉피부염, 자극 접촉피부염, 알레르기 접촉피부염, 광독성 및 광알레르기 접촉 피부염, 접촉 두드러기 증후군, 아토피 피부염, 지루성 피부염, 물집 습진, 동전모양 습진, 자가 감각 피부염, 주부습진, 율체 피부염 등과 같이 분류된다.

[0004] 염증성 피부질환은 T 림프구, 랑게르한스 세포, 호산구 및 피부각질형성세포와 같이 여러 세포들이 관여하며, 사이토카인, 케모카인 및 면역글로불린 분자와 같은 여러 요소에 의해 유발된다. 그 중, 피부각질형성세포는 피부의 표피 대부분을 구성하는 성분으로서 피부에서 발생하는 면역반응의 유도체 및 표적으로 작용한다.

[0005] 최근 산업화 및 서구적 식습관 등의 생활환경의 변화로 인해 과민성 또는 염증성 피부질환의 발병률이 증가함에 따라, 염증성 피부질환의 시장 역시 증가하는 추세이며, 다양한 민간요법, 생물학적 제제 등이 사용되고 있고, 의학적으로는 코티코스테로이드(corticosteroid)가 경구용, 국소형 연고제, 비강 분무 등 광범위하게 사용되고 있으나, 염증성 피부질환의 경우, 장기간 치료가 요구되는 경우가 많아 시간 및 비용적인 문제가 발생할 뿐만 아니라, 부작용 역시 존재하여, 상기 문제점들을 극복하는 염증성 피부질환 치료제 개발이 활발히 진행 중인 상황이다.

[0006] 한편, 닥나무(*Broussonetia kazinoki*)는 중국, 일본, 대만 및 한국의 표고 100~700m에서 자생하는 다년생 활엽 교목으로, 쌍떡잎식물 켄기폴목 뽕나무과의 관목이다. 전통적으로 한지의 원료로 사용되었고, 세포독성, 아토피 치료, 항산화, 항염 및 미백 효과 등이 보고된 바 있다. 최근에는 항비만, 항당뇨, 항당뇨, 항암 등의 효능이 있는 것이 보고되었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 1. 대한민국 공개특허 제10-2016-0115285호(2016.10.06. 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 닥나무(*Broussonetia kazinoki*) 가지 추출물; 또는 닥나무 가지 추출물 및 신나무(*Acer ginnala*) 잎 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 상기 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방 또는 개선용 화장품 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 추출물을 유효성분으로 포함하는 향균용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 닥나무(*Broussonetia kazinoki*) 가지 추출물; 또는 닥나무 가지 추출물 및 신나무(*Acer ginnala*) 잎 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명은 상기 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 상기 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방 또는 개선용 화장품 조성물을 제공한다.

[0015] 또한, 본 발명은 상기 추출물을 유효성분으로 포함하는 향균용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0016] 본 발명에 따르면, 닥나무(*Broussonetia kazinoki*) 추출물 중 가지 추출물이 다른 부위의 추출물보다 우수한 항염증 활성을 나타내고, 닥나무 가지 추출물과 신나무 잎 추출물을 혼합한 혼합 추출물은 닥나무 가지 추출물에서 나타나지 않은 특정 균주에 대한 항균 활성을 나타냈으며, 특정 균주에 대해서는 혼합을 통한 항균 시너지 효과가 나타나는 것을 확인함으로써, 염증성 피부질환 예방, 치료 또는 개선용 조성물이나 향균용 조성물로서 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 대식세포(RAW264.7 cell)에서 3종의 추출물의 세포독성을 분석한 결과이다.

도 2는 피부각질형성세포(HaCaT cell)에서 닥나무 가지 추출물의 세포독성을 분석한 결과이다.

도 3은 대식세포(RAW264.7 cell)에서 3종의 추출물의 산화질소(nitric oxide; 이하 NO라 함) 생성 억제 활성을 분석한 결과이다.

도 4는 피부각질형성세포(HaCaT cell)에서 닥나무 가지 추출물의 RANTES(Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted; C-C Motif Chemokine Ligand 5; CCL5) 방출 억제 활성을 분석한 결과이다.

도 5는 피부각질형성세포(HaCaT cell)에서 닥나무 가지 추출물의 TARC(Thymus and activation-regulated chemokine; CCL17) 방출 억제 활성을 분석한 결과이다.

도 6은 피부각질형성세포(HaCaT cell)에서 닥나무 가지 추출물의 MDC(Macrophage-derived chemokine; CCL22) 방출 억제 활성을 분석한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0020] 본 발명은 닥나무(*Broussonetia kazinoki*) 가지 추출물; 또는 닥나무 가지 추출물 및 신나무(*Acer ginnala*) 잎 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0021] 상기 추출물은 물, C1 내지 C4 알코올 또는 이의 혼합용매로 추출한 것일 수 있다.

[0022] 또한, 상기 추출물은 산화질소(nitric oxide), RANTES(Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted; C-C Motif Chemokine Ligand 5; CCL5), TARC(Thymus and activation-regulated chemokine; CCL17)

및 MDC(Macrophage-derived chemokine; CCL22)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 생성 또는 방출을 억제할 수 있다.

- [0023] 상기 RANTES는 피부 내부의 사이토카인(cytokine) 반응에 의하여 피부염증이 발생하면 나타나는 케모카인(chemokine)으로 알려져 있다.
- [0024] 또한, 상기 추출물은 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*), 대장균(*Escherichia coli*) 및 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상에 대한 항균 활성을 나타낼 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0025] 상기 혼합 추출물은 닥나무 가지 추출물 및 신나무 잎 추출물을 1:1의 중량 비율로 혼합한 것일 수 있다.
- [0026] 상기 염증성 피부질환은 접촉피부염, 자극 접촉피부염, 알레르기 접촉피부염, 광독성 및 광알레르기 접촉 피부염, 접촉 두드러기 증후군, 자가 감각 피부염, 울체 피부염, 여드름, 아토피 피부염, 알레르기성 피부염, 지루성 피부염, 구진상 두드러기, 습진 및 건선으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0027] 본 발명의 약학 조성물은 당해 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다.
- [0028] 상기 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸 히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘, 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약학 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0029] 본 발명에 있어서, 상기 약학 조성물에 포함되는 첨가제의 함량은 특별히 한정되는 것은 아니며 통상의 제제화에 사용되는 함량 범위 내에서 적절하게 조절될 수 있다.
- [0030] 상기 약학 조성물은 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립, 정제, 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 및 카타플라스마제로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 피부 외용제 형태로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0031] 본 발명의 약학 조성물은 제형화를 위해 추가로 있는 약학적으로 허용 가능한 담체 및 희석제를 포함할 수 있다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체 및 희석제는 전분, 당 및 만니톨과 같은 부형제, 칼슘 포스페이트 등과 같은 충전제 및 증량제, 카르복시메틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스 등과 같은 셀룰로오스 유도체, 젤라틴, 알긴산염, 폴리비닐 피롤리돈 등과 같은 결합제, 활석, 스테아린산 칼슘, 수소화 피마자유 및 폴리에틸렌글리콜과 같은 윤활제, 포비돈 및 크로스포비돈과 같은 봉해제, 폴리소르베이트, 세틸알코올, 글리세롤 등과 같은 계면활성제를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체 및 희석제는 대상체에 게 생물학적 및 생리학적으로 친화적인 것일 수 있다. 희석제의 예로는 염수, 수용성 완충액, 용매 및/또는 분산제(dispersion media)를 들 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0032] 본 발명의 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있다. 경구 투여일 경우, 정제, 트로키제(troches), 로젠지(lozenge), 수용성 현탁액, 유성 현탁액, 조제 분말, 과립, 에멀전, 하드 캡슐, 소프트 캡슐, 시럽, 엘릭시르제 등으로 제형화될 수 있다. 비경구 투여일 경우, 주사액, 좌제, 호흡기 흡입용 분말, 스프레이용 에어로졸제, 연고, 도포용 파우더, 오일, 크림 등으로 제형화 될 수 있다.
- [0033] 본 발명의 약학 조성물의 투여량은 환자의 상태, 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이 체질 특이성, 제제의 성질, 질병의 정도, 조성물의 투여시간, 투여방법, 투여기간 또는 간격, 배설율 및 약물 형태에 따라 그 범위가 다양할 수 있으며, 이 분야 통상의 기술자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 예컨대, 약 0.1 내지 10,000mg/kg의 범위일 수 있으나 이제 제한되지 않으며, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여될 수 있다.
- [0034] 상기 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여되거나 비경구 투여(예를 들면, 정맥 내, 피하 내, 복강 내 또는 국소에 적용)될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 약학적 유효량 및 유효 투여량은 약학 조성물의 제제화 방법, 투여 방식, 투여 시간, 투여 경로 등에 의해 다양해질 수 있으며, 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 목적하는 치료에 효과적인 투여량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 투여

는 하루에 1회 투여될 수 있고, 수회에 나누어 투여될 수도 있다.

- [0036] 또한, 본 발명은 닥나무(*Broussonetia kazinoki*) 가지 추출물; 또는 닥나무 가지 추출물 및 신나무(*Acer ginnala*) 잎 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0037] 본 발명은 통상적으로 이용되는 식품으로써 일반적으로 사용될 수 있다.
- [0038] 본 발명의 식품 조성물은 건강기능식품으로서 사용될 수 있다. 상기 "건강기능 식품"이라 함은 건강기능 식품에 관한 법률에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.
- [0039] 상기 건강기능식품 조성물은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 "식품 첨가물"로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [0040] 상기 "식품 첨가물 공전"에 기재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류들을 들 수 있다.
- [0041] 본 발명의 식품 조성물은 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다. 예를 들어, 캡슐 형태의 건강기능 식품 중 경질 캡슐제는 통상의 경질 캡슐에 본 발명에 따른 조성물을 부형제 등의 첨가제와 혼합 및 충전하여 제조할 수 있으며, 연질 캡슐제는 본 발명에 따른 조성물을 부형제 등의 첨가제와 혼합하고 젤라틴 등 캡슐기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캡슐제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.
- [0042] 상기 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함한다. 상기 식품의 종류에는 특별한 제한이 없으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.
- [0043] 본 발명에서 용어 “예방”은 본 발명에 따른 조성물의 투여로 염증성 피부질환을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 말한다.
- [0044] 본 발명에서 용어 “치료”는 본 발명에 따른 조성물의 투여로 염증성 피부질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 말한다.
- [0045] 본 발명에서 용어 “개선”은 본 발명의 조성물을 개체에 투여하거나 섭취시켜 염증성 피부질환의 나쁜 상태를 좋게 하는 모든 행위를 의미한다.
- [0047] 또한, 본 발명은 닥나무(*Broussonetia kazinoki*) 가지 추출물; 또는 닥나무 가지 추출물 및 신나무(*Acer ginnala*) 잎 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증성 피부질환 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0048] 상기 조성물은 유연화장수, 영양화장수, 수분크림, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 앰플, 젤, 아이크림, 클렌징 크림, 클렌징폼, 클렌징워터, 팩, 스프레이 및 파우더로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0049] 구체적으로, 상기 화장료 조성물은 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형으로 제조할 수 있다. 예컨대, 유연 화장수 또는 영양 화장수 등의 화장수; 웨이셜 로션, 마디로션 등의 유액; 영양 크림, 수분 크림, 아이 크림 등의 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 오일 등의 메이크업 제거제; 또는 클렌징 폼, 비누, 바디워시 등의 세정제로 제형화될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 피부 외용제는, 연고, 패치, 젤, 크림 또는 분무제로 제형화될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0050] 상기 화장료 조성물은 각각의 제형에 있어서 상기 필수성분 외에 제형의 종류 또는 사용 목적 등에 따라 본 발

명에 따른 목적을 저해하지 않는 범위 내에서 다른 성분들이 적절히 배합될 수 있다.

- [0051] 상기 화장료 조성물은 통상적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있으며, 예컨대 유분, 물, 계면활성제, 보습제, 저급 알코올, 증점제, 킬레이트제, 색소, 방부제, 향료 등을 적절히 배합할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0052] 상기 허용 가능한 담체는 제형에 따라 달리할 수 있다. 예컨대, 연고, 페이스트, 크림 또는 젤로 제형화될 때 담체 성분으로서 동물성 유, 식물성 유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화아연 또는 이들의 추출물이 사용될 수 있다.
- [0053] 상기 화장료 조성물은 파우더 또는 스프레이로 제형화될 때, 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실케이트, 폴리아미드 파우더 또는 이들의 추출물이 사용될 수 있고, 스프레이의 경우 클로로플루오로히드로카본, 프로판, 부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진제를 더 포함할 수 있다.
- [0054] 상기 화장료 조성물은 용액 또는 유탁액으로 제형화될 때, 담체 성분으로서 용매, 용해화제, 또는 유탁화제가 사용될 수 있고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일이 사용될 수 있고, 특히, 목화씨 오일, 땅콩 오일, 옥수수 배종 오일, 올리브 오일, 피마자 오일 및 참깨 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 사용될 수 있다.
- [0055] 상기 화장료 조성물은 현탁액으로 제형화될 때, 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리 옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 사용될 수 있다.
- [0056] 상기 화장료 조성물이 비누로 제형화될 때, 담체 성분으로서 지방산의 알칼리 금속 염, 지방산 헤미에스테르염, 지방산 단백질 히드롤리제이트, 이세티오네이트, 라놀린 유도체, 지방족 알코올, 식물성 유, 글리세롤, 당 등이 사용될 수 있다.
- [0057] 상기 화장료 조성물은 최종 제품의 품질이나 기능에 따라 업계에서 통상적으로 사용되는 지방 물질, 유기용매, 용해제, 농축제, 겔화제, 연화제, 향산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온붕쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 화장품에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 화장품학 또는 피부과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 추가적으로 함유할 수 있다.
- [0058] 다만, 상기 보조제 및 그 혼합 비율은 본 발명에 따른 화장료 조성물의 바람직한 성질에 영향을 미치지 않도록 적절히 선택할 수 있다.
- [0060] 또한, 본 발명은 닥나무(*Broussonetia kazinoki*) 가지 추출물; 또는 닥나무 가지 추출물 및 신나무(*Acer ginnala*) 잎 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 향균용 조성물을 제공한다.
- [0061] 상기 추출물은 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*), 대장균(*Escherichia coli*) 및 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상에 대한 항균 활성을 나타낼 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0063] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.
- [0065] **[실험예 1] 추출물 제조**
- [0066] 닥나무(*Broussonetia kazinoki*) 가지를 70% 에탄올을 이용하여 80℃에서 6시간 동안 추출하고, 추출물을 여과지(Advantec, No. 5A, ToKyo, JAPAN)로 여과한 후, 동결건조기(FDU-2100, EYELA, JAPAN)로 동결건조하여 분말 형태로 회수하였다. 회수한 추출물은 -20℃에서 보관하여 사용하였다. 신나무(*Acer ginnala*) 잎 추출물 및 닥나무

있 추출물은 한국식물추출물은행에서 분양받아 사용하였다.

[0068] [실험예 2] 세포 배양

[0069] 대식세포(RAW264.7 cell)는 ATCC(American Type Culture Collection, Manassas, Virginia, USA)에서, 피부각질 형성세포(HaCaT cell)는 CLS(Cell Lines Service, Eppelheim, Baden-Wurttemberg, Germany)에서 분양받아 사용하였다. 상기 2종의 세포는 10% 우태아혈청(fetal bovine serum; FBS)(Welgene, Daegu, Korea) 및 1% 페니실린-스트렙토마이신(penicillin-streptomycin)(Welgene, Daegu, Korea)이 포함된 DMEM(Welgene, Daegu, Korea)을 사용하여 37℃ 및 5% CO₂ 조건의 배양기에서 배양하였다.

[0071] [실험예 3] 균 배양

[0072] 그람음성균인 대장균(*Escherichia coli*)(ATCC 43895) 및 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)(ATCC 9027)과 그람양성균인 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)(ATCC 25923)을 실험에 사용하였고, 상기 3종의 동결된 균을 배양시켜 활성화시켜주었다. 계대배양은 하루에 한 번 진행하였고, 일정한 균의 양을 도달하기 위해, 실험에 사용하기 전 자외-가시선 분광광도계(UV-Vis Spectrophotometer)를 이용하여 600nm에서의 O.D 값을 0.1로 맞춰주었다.

[0074] [실험예 4] 세포독성 분석

[0075] 상기 실험예 1에서 준비한 3종의 추출물의 세포독성을 확인하기 위해, 상기 실험예 2에서 배양한 대식세포 및 피부각질형성세포를 96-웰 플레이트에 1×10^5 cells/well로 분주(seeding)하고, 24시간 동안 배양한 후, 추출물을 농도별로 처리하였다. 그 후, MTT 용액(0.5mg/ml)을 각 웰에 처리하고, 37℃ 및 5% CO₂ 조건에서 4시간 동안 반응시켰다. 용출된 포마잔(formazan) 결정을 DMSO(Dimethyl sulfoxide)를 사용하여 녹인 후, 마이크로플레이트 리더(Spectramax Plus 384, Molecular devices, San Jose, California, USA)를 이용하여 550nm에서의 흡광도를 측정하였다. 추출물의 처리 농도에 따른 세포 생존율은 대조군에 대한 백분율로 나타내었다.

[0077] [실험예 5] 항균 활성 분석

[0078] 상기 3종의 추출물의 상기 실험예 3에서 배양한 3종의 균에 대한 항균 활성을 확인하기 위해, 디스크 확산법(Paper disc diffusion method)을 수행하였다. 추출물은 1mg/disc가 되도록 8mm 페이퍼 디스크에 60 μ l씩 분주하여 건조시킨 후, 핀셋을 이용하여 일정한 간격으로 올려주었다. 이후 24시간 동안 37℃의 배양기에서 배양하였다. 양성대조군(positive control)은 클로람페니콜(chloramphenicol, 0.06mg/disc)을 사용하였고, 클리어 존(clear zone)을 측정하여 비교하였다.

[0080] [실험예 6] 항염증 활성 분석

[0081] 6-1. NO 생성 억제 활성 분석

[0082] 상기 3종의 추출물의 항염증 활성을 확인하기 위해, NO 생성 억제율을 측정하였다. 96-웰 플레이트에 대식세포(RAW264.7 cell)를 1×10^5 cells/well로 분주(seeding)하고, 24시간 동안 CO₂ 배양기에서 배양하였다. 각 웰에 그람음성균의 외벽 구성물질인 LPS(Lipopolysaccharide)를 처리하여 대식세포에 염증 반응을 발생시키고, 추출물을 농도별로 24시간 처리하였다. 그 후, 상층액을 ELISA용 마이크로플레이트에 100 μ l 옮기고, 그리스시약(Griess reagent)[1% 설폰닐아마이드(sulfanilamide), 0.1% N-1-나프틸에틸렌디아민 디하이드로클로라이드(N-(1-Naphtyl)-ethylene diamine dihydrochloride) in 2.5% 인산(phosphoric acid)]을 동량으로 처리하여 ELISA 리더(550nm)에서 흡광도를 측정하였다. 이때 NO 생성량은 질산나트륨(Sodium nitrate; NaNO₃)을 표준으로 사용하여 검량선을 작성하여 계산하였다. 양성대조군으로는 iNOS의 활성 저해를 통해 NO 생성을 억제하는 L-NAME(N-Nitroarginine methyl ester)를 사용하였다.

[0084] 6-2. RANTES 방출 억제 활성 분석

[0085] 닥나무 가지 추출물의 RANTES(Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted; C-C Motif Chemokine Ligand 5; CCL5) 방출 억제 활성을 확인하기 위해, ELISA 방법을 수행하였다. 6-웰 플레이트에 피부 각질형성세포를 5×10^6 cells/well로 분주(seeding)하고, 24시간 동안 37℃ 및 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 그 후, 닥나무 가지 추출물 및 TNF- α /INF- γ (10ng/ml)를 각 웰에 24시간 동안 처리하고, 배양된 세포의 상등액을 포집하여 원심분리(13,000rpm, 4℃ 및 10분)하여 불순물을 제거하였다. 포집된 상등액을 RANTES kit(R&D systems, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 RANTES 방출량을 측정하였다. 양성대조군으로 실리마린(silymarin, 50 μ g/ml)을 사용하였다.

[0087] 6-3. TARC 방출 억제 활성 분석

[0088] 닥나무 가지 추출물의 TARC(Thymus and activation-regulated chemokine; CCL17) 방출 억제 활성을 확인하기 위해, ELISA 방법을 수행하였다. 6-웰 플레이트에 피부각질형성세포를 5×10^6 cells/well로 분주(seeding)하고, 24시간 동안 37℃ 및 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 그 후, 닥나무 가지 추출물 및 TNF- α /INF- γ (10ng/ml)를 각 웰에 24시간 동안 처리하고, 배양된 세포의 상등액을 포집하여 원심분리(13,000rpm, 4℃ 및 10분)하여 불순물을 제거하였다. 포집된 상등액을 TARC kit(R&D systems, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 TARC 방출량을 측정하였다. 양성대조군으로 실리마린(silymarin, 50 μ g/ml)을 사용하였다.

[0090] 6-4. MDC 방출 억제 활성 분석

[0091] 닥나무 가지 추출물의 MDC(Macrophage-derived chemokine; CCL22) 방출 억제 활성을 확인하기 위해, ELISA 방법을 수행하였다. 6-웰 플레이트에 피부각질형성세포를 5×10^6 cells/well로 분주(seeding)하고, 24시간 동안 37℃ 및 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 그 후, 닥나무 가지 추출물 및 TNF- α /INF- γ (10ng/ml)를 각 웰에 24시간 동안 처리하고, 배양된 세포의 상등액을 포집하여 원심분리(13,000rpm, 4℃ 및 10분)하여 불순물을 제거하였다. 포집된 상등액을 MDC kit(R&D systems, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 MDC 방출량을 측정하였다. 양성대조군으로 실리마린(silymarin, 50 μ g/ml)을 사용하였다.

[0093] [실험예 7] 혼합 추출물의 항균 활성 분석

[0094] 닥나무 가지 추출물 및 신나무 잎 추출물 혼합을 통한 항균 시너지 효과가 있는지 확인하기 위해, 상기 2종의 추출물을 동량으로 혼합(1:1)하여 혼합 추출물을 제조하였다. 혼합 추출물은 농도별로 8mm 페이퍼 디스크에 60 μ l씩 분주하여 건조시키고, 핀셋을 이용하여 일정한 간격으로 올려주었다. 이후 24시간 동안 37℃의 배양기에서 배양하였다. 양성대조군은 클로람페니콜(chloramphenicol, 0.06mg/disc)을 사용하였고, 클리어 존(clear zone)을 측정하여 비교하였다.

[0096] [실험예 8] 통계분석

[0097] 본 실험은 3회 이상 반복하였고, 얻은 결과의 모든 값은 반복 실험 측정값의 평균 $\pm$ 표준편차로 나타내었다. 실험 결과값에 대한 통계적 분석은 Student's t-test를 이용하여 분석하였으며, p<0.05에서 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

[0099] [실시예 1] 세포독성 분석

[0100] 상기 실험예 4에 따라, 상기 3종의 추출물의 세포독성을 분석한 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 대식세포에서 상기 3종의 추출물 모두 100 μ g/ml 처리 농도까지 세포독성이 나타나지 않았고, 닥나무 가지 추출물은 500 μ g/ml 처리 농도까지 세포독성이 나타나지 않는 것을 확인하였다. 또한, 도 2에 나타난 바와 같이, 피부각질형성

세포에서 닥나무 가지 추출물은 500 $\mu\text{g/ml}$ 처리 농도까지 세포독성이 나타나지 않는 것을 확인하였다.

[실시예 2] 항균 활성 분석

상기 실험예 5에 따라, 상기 3종의 추출물의 항균 활성을 분석한 결과, 표 1에 나타난 바와 같이, 신나무 잎 추출물은 황색포도상구균에서 클리어 존이 관찰되지 않았고, 대장균에 대해 1.40cm의 클리어 존이 관찰되었다. 닥나무 추출물은 대장균에서 클리어 존이 관찰되지 않았고, 황색포도상구균에서는 닥나무 잎 추출물에서 0.92cm, 닥나무 가지 추출물에서 0.83cm의 클리어 존이 관찰되었다.

표 1

추출물	클리어 존(clear zone)(cm)	
	대장균	황색포도상구균
신나무 잎 추출물	1.4 $\pm$ 0.11	-
닥나무 잎 추출물	-	0.92 $\pm$ 0.04
닥나무 가지 추출물	-	0.83 $\pm$ 0.02

[실시예 3] 항염증 활성 분석

3-1. NO 생성 억제 활성 분석

상기 실험예 6-1에 따라, 상기 3종의 추출물의 NO 생성 억제 활성을 분석한 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 100 $\mu\text{g/ml}$ 처리 농도에서 신나무 잎 추출물, 닥나무 잎 추출물 및 닥나무 가지 추출물은 각각 NO 생성량이 각각 16.7%, 27.8% 및 61.8% 감소하면서 닥나무 가지 추출물의 NO 생성 억제 활성이 가장 우수한 것을 확인하였다. 또한, 닥나무 가지 추출물은 100, 200, 300, 400 및 500 $\mu\text{g/ml}$ 처리 농도에서 NO 생성량이 각각 28.8%, 52.3%, 68.6%, 82.5% 및 91.3% 감소하면서 NO 생성 억제 활성이 농도 의존적으로 증가하는 것을 확인하였다. 상기 결과로부터, 상기 3종의 추출물, 특히 닥나무 가지 추출물이 우수한 항염증 활성을 나타내는 것을 확인하였다.

3-2. RANTES 방출 억제 활성 분석

상기 실험예 6-2에 따라, 닥나무 가지 추출물의 RANTES 방출 억제 활성을 분석한 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, TNF- α /INF- γ 처리에 의해 RANTES의 방출량이 15.8배 증가하여 피부염증이 유도되었고, 닥나무 가지 추출물이 농도 의존적으로 RANTES 방출량을 감소시키는 것을 확인하였다. 상기 결과로부터, 닥나무 가지 추출물이 RANTES 방출 억제를 통해 피부각질세포로의 면역세포 이동을 억제하고, 과민성 반응이 일어날 수 있는 요소를 제거함으로써, 염증성 피부질환(ex. 아토피 피부염)을 개선시킬 수 있음을 확인하였다.

3-3. TARC 방출 억제 활성 분석

상기 실험예 6-3에 따라, 닥나무 가지 추출물의 TARC 방출 억제 활성을 분석한 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, TNF- α /INF- γ 처리에 의해 TARC의 방출량이 15.6배 증가하여 피부염증이 유도되었고, 닥나무 가지 추출물이 농도 의존적으로 TARC 방출량을 감소시키는 것을 확인하였다. 상기 결과로부터, 닥나무 가지 추출물이 TARC 방출 억제를 통해 피부각질세포로의 면역세포 이동을 억제하고, 과민성 반응이 일어날 수 있는 요소를 제거함으로써, 염증성 피부질환(ex. 아토피 피부염)을 개선시킬 수 있음을 확인하였다.

3-4. MDC 방출 억제 활성 분석

상기 실험예 6-4에 따라, 닥나무 가지 추출물의 MDC 방출 억제 활성을 분석한 결과, 도 6에 나타난 바와 같이, TNF- α /INF- γ 처리에 의해 MDC의 방출량이 8.31배 증가하여 피부염증이 유도되었고, 닥나무 가지 추출물이 농도 의존적으로 MDC 방출량을 감소시키는 것을 확인하였다. 상기 결과로부터, 닥나무 가지 추출물이 MDC 방출 억제를 통해 피부각질세포로의 면역세포 이동을 억제하고, 과민성 반응이 일어날 수 있는 요소를 제거함으로써,

염증성 피부질환(ex. 아토피 피부염)을 개선시킬 수 있음을 확인하였다.

[0119] [실시예 4] 혼합 추출물의 항균 활성 분석

[0120] 상기 실험예 7에 따라, 혼합 추출물의 항균 활성을 분석한 결과, 표 2에 나타난 바와 같이, 혼합 추출물은 3종의 균주에서 모두 농도 의존적으로 클리어 존 크기가 증가하였고, 닥나무 가지 추출물에서는 나타나지 않은 대장균 및 녹농균에 대한 항균 활성이 혼합 추출물에서 나타났으며, 특히 녹농균에 대해서는 혼합을 통한 항균 시너지 효과가 나타나는 것을 확인하였다.

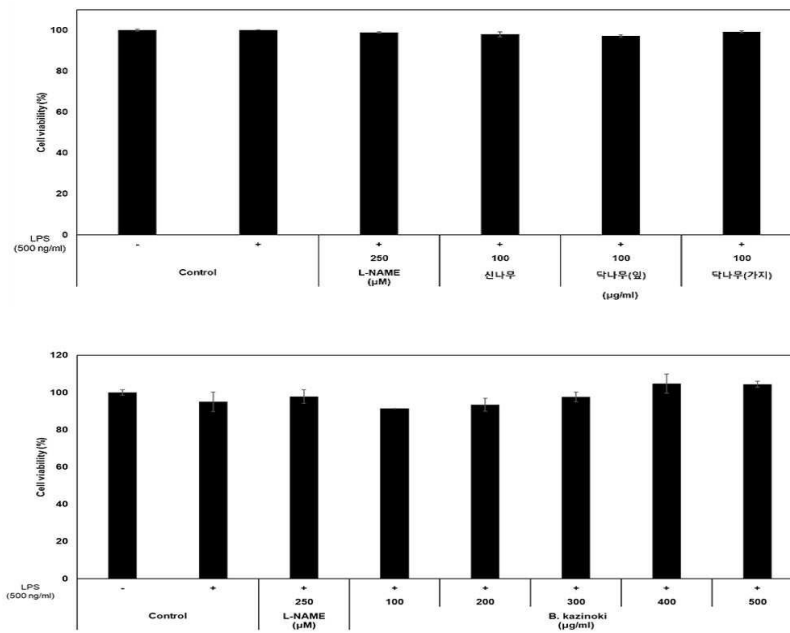
표 2

추출물	실험군	클리어 존(clear zone)(cm)		
		대장균	황색포도상구균	녹농균
닥나무 가지	양성대조군	1.7 ± 0.03	1.5 ± 0.02	1.8 ± 0.03
	0.5mg/disc	-	1.33 ± 0.02	-
	1mg/disc	-	1.60 ± 0.00	-
	2mg/disc	-	1.70 ± 0.00	-
	3mg/disc	-	1.78 ± 0.02	-
신나무 잎	양성대조군	1.7 ± 0.03	1.5 ± 0.02	1.8 ± 0.03
	0.5mg/disc	-	1.26 ± 0.04	-
	1mg/disc	-	1.5 ± 0.05	-
	2mg/disc	1.09 ± 0.06	1.51 ± 0.02	1.16 ± 0.02
	3mg/disc	1.15 ± 0.02	1.74 ± 0.03	1.22 ± 0.01
닥나무 가지+ 신나무 잎	양성대조군	1.7 ± 0.03	1.5 ± 0.02	1.8 ± 0.03
	1mg/disc	-	-	1.28 ± 0.04
	2mg/disc	-	1.38 ± 0.03	1.45 ± 0.05
	3mg/disc	1.2 ± 0.03	1.54 ± 0.02	1.47 ± 0.03

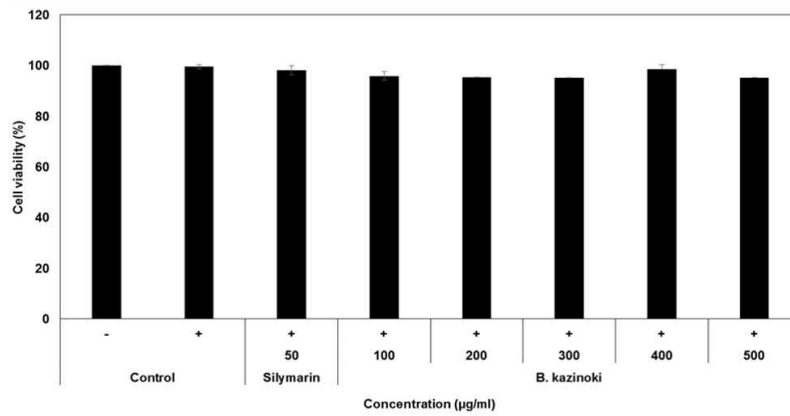
[0123] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

도면

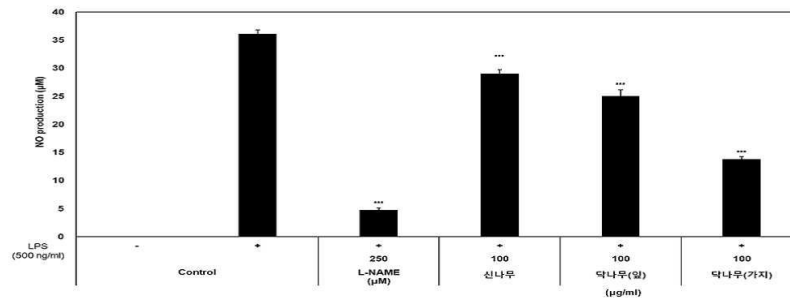
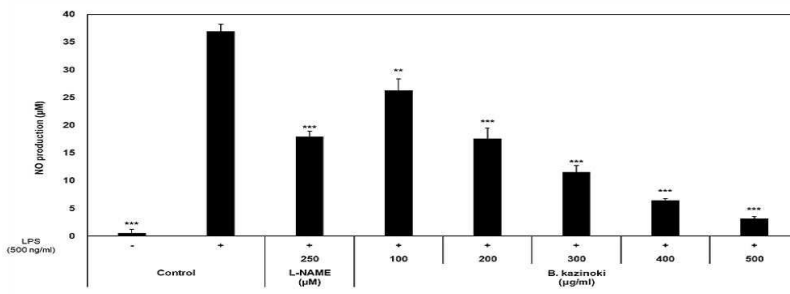
도면1



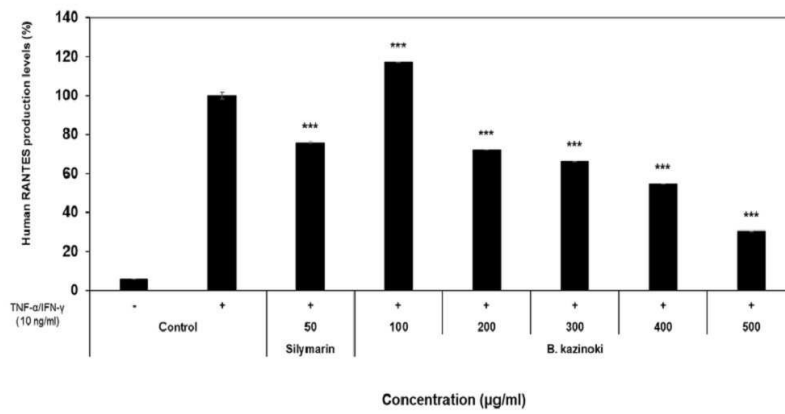
도면2



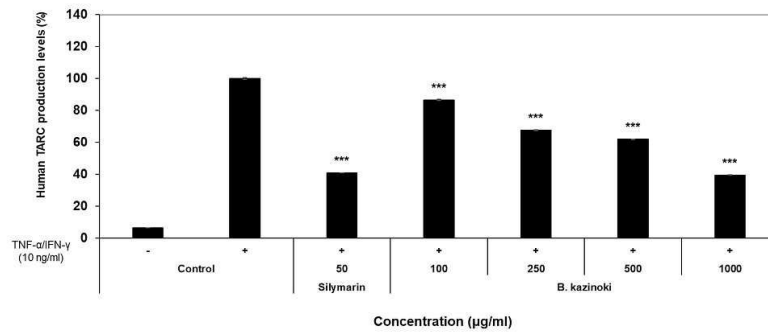
도면3



도면4



도면5



도면6

