



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0009991
(43) 공개일자 2018년01월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 8/97 (2017.01) A61K 8/02 (2006.01)
A61K 8/66 (2006.01) A61Q 17/04 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 8/97 (2013.01)
A61K 8/02 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0092021

(22) 출원일자 2016년07월20일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

이태후

서울특별시 강남구 논현로 807, 정지행한의원 (신사동)

박상용

경기도 수원시 영통구 광고중앙로 247, 3201동 907호 (하동, 휴먼시아아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

안소영

전체 청구항 수 : 총 8 항

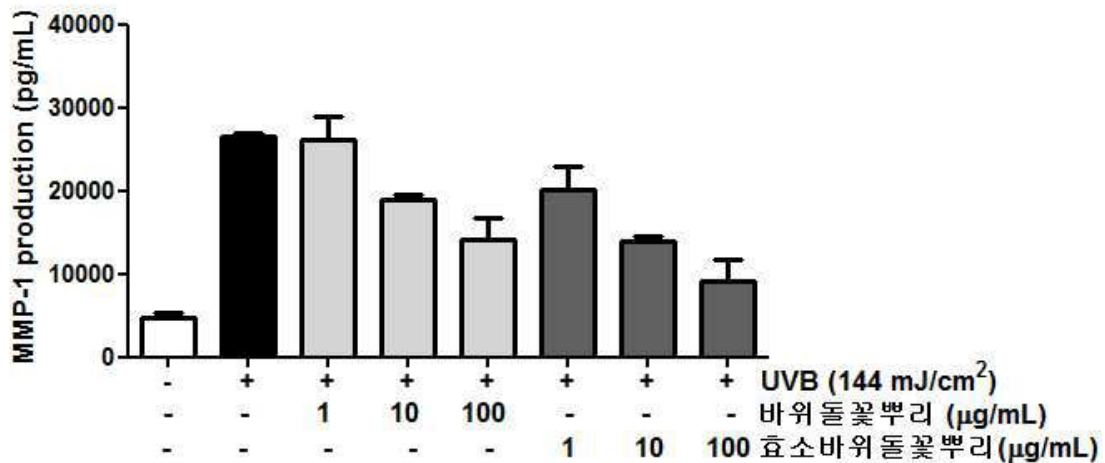
(54) 발명의 명칭 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물

(57) 요약

본 발명은 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물은 항산화 효과, MMP-1 단백질 발현 억제 효과, 타입 I 프로콜라겐의 생성 증진 효과 등을 통해, 피부 주름의 발생을 예방하고, 손상된 피부의 주름을 개선하며, 피부 탄력을 증진 시킴으로써 피부 탄력 및 주름 개선에 현저한 효과를 보인다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A61K 8/66 (2013.01)
A61Q 17/04 (2013.01)
A61Q 19/08 (2013.01)

박재희

서울특별시 송파구 풍성로14길 15-1, 102호 (풍납동)

(72) 발명자

황은선

경기도 용인시 기흥구 서천로172번길 21-3, 202호
 (농서동)

양정은

경기도 용인시 기흥구 흥덕중앙로196번길 21, 402호
 (영덕동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	N0000888
부처명	산업통상자원부
연구관리전문기관	한국산업기술진흥원(Kiat)
연구사업명	산업융합기반구축사업
연구과제명	천연물 의약 소재 개발 및 표준화 지원 사업
기 여 율	1/1
주관기관	경희대학교산학협력단
연구기간	2013.11.01 ~ 2018.08.31

명세서

청구범위

청구항 1

당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 당가수분해 효소는 셀룰라아제(cellulase), 펙티나아제(pectinase), 글루코시다아제(glucosidase) 및 탄나아제(tannase)로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 효소인 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 당가수분해 효소는 셀룰라아제(cellulase)인 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 당가수분해 효소 처리 바위돌꽃 뿌리 추출물은 타입 I 프로콜라겐 단백질의 발현을 증가시키고 MMP-1 단백질의 발현을 억제하는 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조성물은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 및 바디클린저으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형인 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 화장품학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함하는 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 당가수분해 효소 처리 바위돌꽃 뿌리 추출물은 조성물 총중량에 대하여 0.001% ~ 10중량%의 양으로 포함되는 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 피부 탄력 및 주름 개선은 자외선에 의한 피부 탄력 저하 및 주름 증가에 대한 개선인 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 피부 주름 및 탄력은 피부 수분 함량, 콜라겐 함량 및 외부 환경에 대한 면역력 등 여러 가지 요소들에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있으며, 이중 피부의 주름 및 탄력에 가장 큰 영향을 미치는 것은 콜라겐의 생성량 및 콜라겐 분해 효소인 콜라게네이즈의 발현과 활성이다.

[0003] 콜라겐은 피부 진피층에 존재하는데, 피부 전체 건조 중량의 약 70 내지 80%를 차지하는 엘라스틴과 함께 피부

에 탄력을 부여하는 주요 성분으로 알려져 있다. 콜라겐은 자연 노화에 따른 세포활성 저하와 같은 내부 요인에 의해 감소되고, 여러 유해 환경에서의 스트레스 증가나 태양 광선에 의한 활성 산소 종의 증가와 같은 외부 요인에 의하여 생합성이 감소되거나, 분해가 촉진되고 있다.

- [0004] 또한 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)의 과생산은 UVB 노출 환경에서 보고된 바 있고, UVB 노출과 연관된 신호전달 체계는 MAPKs(mitogen activated protein kinases), ERK(extracellular signal-regulated kinase), p38 카이나아제, 및 JNK(c-Jun amino-terminal kinase) 등의 단백질과 관련되어 있는데, NF- κ B 및 AP-1 전사인자의 발현증가를 유도한다. 이러한 AP-1 단백질은 MMP(matrix metalloproteinase) 유전자의 활성화와 관련되어 있고, NF- κ B 단백질은 인터루킨과 같은 전염증 사이토카인(proinflammatory cytokines)의 발현에 영향을 미친다.
- [0005] 노화된 피부에서 콜라겐 및 엘라스틴의 붕괴는 주로 MMP 단백질과 같은 그 분해 효소의 증가된 발현에 의해 야기된다. 또한, 전염증 사이토카인은 콜라겐의 합성을 방해하고, 콜라겐의 붕괴를 촉진시킨다. 타입 I 콜라겐은 연결 조직의 세포와 기질에서 가장 풍부한 단백질이다. 세포와 기질에는 타입 III, V, 및 VII 콜라겐, 엘라스틴, 프로테오글라이칸, 파이브로넥틴과 같은 다른 유형의 단백질을 포함한다.
- [0006] 타입 I 콜라겐 단백질의 발현 수준을 조절하는 것은 피부 광노화를 예방하는데 있어서 가장 중요한 인자이다. UVB의 조사는 TGF- β /Smad 신호전달 체계의 억제를 통해 피부 섬유아세포에서 콜라겐 전구체인 프로콜라겐(procollagen)의 발현을 감소시키게 된다. 또한, TGF- β 1 신호전달 체계는 인간 피부 섬유아세포에서 세포외 기질의 합성을 조절하는 중요한 인자의 하나이다.
- [0007] 따라서, AP-1 및 MAPKs 인자에 의해 조절되는 활성산소종(ROS)의 생성, 및 MMPs, ILs, TGF- β , 및 타입 I 프로콜라겐의 발현은 피부 노화, 피부의 탄력 감소 및 주름 증가에 관한 연구에 있어서 유용한 마커로 작용한다.
- [0008] 콜라겐 감소를 저해하여 피부 주름개선에 효과가 있는 천연물질을 탐색하고자 하는 여러 가지 다양한 시도가 있었다. 예컨대, 콜라겐의 주름개선 효과를 이용하기 위하여 화장품 또는 연고 등과 같은 피부외용제 조성물에 콜라겐을 배합한 제품들이 출시되었으나, 이들 제품들은 콜라겐 자체를 피부 표면에 도포하는 것으로 고분자 물질인 콜라겐의 경피 흡수가 어려워 본질적인 주름개선 효과를 나타낼 수 없었다.
- [0009] 이러한 문제를 해결하기 위하여 콜라겐합성 촉진물질에 대한 관심이 높아졌으며, 종래 알려진 콜라겐합성 촉진 물질로는 비타민C, 레티노익산, 형질전환성장인자(transforming growth factor, TGF), 동물태반 유래의 단백질, 베툴린산, 클로렐라 추출물 등을 이용하는 것이 제안되었으나, 상기 물질은 피부 적용시 자극과 발적 등 안전성 문제로 사용량에 제한이 있거나 그 효과가 미미하여 실질적으로 주름개선 효과를 기대할 수 없다는 문제점이 있었다. 또한 대부분의 일반적인 천연물의 경우 원하는 수준의 효과를 얻기 위하여 피부에 적용되는 양이 통상적으로 피부에 적용가능한 수준을 넘어서기 때문에, 단순히 천연 추출물을 사용해서는 원하는 수준의 피부 주름개선 및 탄력 증진의 효과를 얻을 수 없다.
- [0010] 이러한 배경하에, 종래 주름개선 및 피부 탄력 증진용 조성물보다 생체에 안전하고 주름개선 및 피부 탄력 증진 효과가 높은 새로운 조성물의 개발이 절실히 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0011] (특허문헌 0001) KR10-2014-0058464 2014.05.14
(특허문헌 0002) KR10-2013-0137578 2013.12.17

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0012] 본 발명의 목적은 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 탄력 및 주름개선용 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

- [0013] 본 발명자들은 피부 주름 개선 및 탄력 증진의 효과를 극대화할 수 있는 화장료 조성물의 주원료에 관하여 연구하던 중, 바위돌꽃 뿌리 추출물에 당가수분해 효소를 처리하는 경우 인간 섬유아세포(human dermal fibroblasts, NHDFs)에서 광노화를 비롯한 피부 노화 및 주름 증진에 대한 뛰어난 개선 효과가 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.
- [0014] 본 발명은 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물을 제공한다.
- [0015] 본 발명에 따른 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물은 피부에 적용시 안전성에 문제가 없으며, 항산화 효과, MMP-1 단백질 발현 억제 효과, 타입 I 프로콜라겐의 생성 증진 효과 등을 통해, 피부 주름의 발생을 예방하고, 손상된 피부의 주름을 개선하며, 피부 탄력을 증진, 특히 자외선에 의한 피부 주름 및 피부 탄력 저하를 개선시킴으로써 피부 탄력 및 주름 개선에 현저한 효과를 보인다.
- [0016] 본 발명에서 사용되는 용어 "바위돌꽃(*Rhodiola rosea*)"은 고산지대의 바위틈에서 자라는 쌍떡잎 식물 장미목 돌나목과의 여러해살이 풀이를 말한다. 높이는 7~30cm 정도이며, 전체에 흰색이 돌고 몽처나며 밑부분은 갈색 비늘조각으로 덮여 있다. 잎은 어긋나고 육질이며 달걀을 거꾸로 세운 듯한 모양 또는 타원형이고 윗가장자리에 둔한 톱니가 있다. 꽃은 단성화로 7~8월에 피고 연한 노란색이지만 때로는 자줏빛이 돌며 취산꽃차례를 이룬다. 수꽃에는 퇴화한 암술과 8~10개의 수술이 있고, 암꽃에는 4~5개의 암술이 있다. 열매는 골돌과로서 4~5개이며 길이 6~7mm이고 9월에 익는다. 북반구에 주로 분포하여, 직접 채취할 수도 있고 국내외에서 손쉽게 구매할 수도 있다. 본 발명에 있어서 바람직한 추출 부위는 바위돌꽃의 뿌리이다.
- [0017] 본 발명에서 사용되는 용어, "추출물"은 식물의 추출 처리에 의하여 얻어지는 추출액, 상기 추출액의 회석액이나 농축액, 상기 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 상기 추출액의 조정제물이나 정제물, 또는 이들의 혼합물 등, 추출액 자체 및 추출액을 이용하여 형성 가능한 모든 제형의 추출물을 포함한다. 본 발명의 상기 추출물은 바람직하게 추출 후 건조 분말 형태로 제조되어 사용될 수 있다.
- [0018] 본 발명에서 사용되는 용어, "당가수분해 효소(glycolytic enzyme)"는 해당 반응을 촉매하는 효소를 모두 포함하며, 셀룰로오스, 아밀로오스, 탄닌, 펙틴 등의 올리고당을 분해하는 효소를 말한다.
- [0019] 바람직한 당가수분해 효소는 셀룰라아제(cellulase), 펙티나아제(pectinase), 글루코시다아제(glucosidase) 및 탄나아제(tannase)로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있으며, 보다 바람직하게 셀룰라아제이다. 상기 효소들은 단독으로 사용하거나, 또는 이들 효소들을 복합 처리하여 사용할 수도 있다. 본 발명에서 제시하는 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물은 특별한 언급이 없는 한, 상기 예시된 효소 이외에도 해당 반응을 촉매하는 당가수분해 효소로 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물을 모두 포함하며, 주름 개선 및 피부 탄력 증진을 위한 소재로 사용될 수 있다.
- [0020] 본 발명에서 사용되는 용어 "주름"이란, 피부가 쇠하여 생긴 잔줄을 의미하는데, 유전자에 의한 원인, 피부 진피에 존재하는 콜라겐과 엘라스틴의 감소, 외부환경 등에 의해 유발될 수 있다.
- [0021] 본 발명에서 사용되는 용어 "주름 개선"이란, 피부에 주름이 생성되는 것을 억제 또는 저해하거나, 이미 생성된 주름을 완화시키는 것을 말한다.
- [0022] 본 발명에서 사용되는 용어 "피부 탄력"이란, 진피층에 존재하는 엘라스틴(elastin)으로 구성된 탄력섬유에 의해 나타나는 탄성을 말하며, 이러한 탄력섬유는 고무와 같이 매우 낮은 탄성계수를 가지고 있어서, 작은 힘에 의해서도 쉽게 변형되고, 또 그 힘이 제거되었을 때는 쉽게 원형으로 되돌아 온다. 또한, 탄력섬유는 엘라스틴이라는 무정형의 기질에 미원섬유(microfibrils)들이 박혀 있는 형태를 띠고 있으며, 엘라스틴은 라이신에서 유래한 데스모신(desmosine)과 아이소데스모신(isodesmosine)이라는 탄력섬유에서만 발견되는 아주 특정한 아미노산으로 구성된 단백질이다. 이러한 데스모신과 아이소데스모신 등은 긴 펩타이드사슬 안에서 가교(cross-links)를 형성하고 있는데, 이러한 구조가 엘라스틴으로 하여금 고무와 같은 성질을 갖게 한다.
- [0023] 본 발명에서 사용되는 용어 "피부 탄력 개선"이란 엘라스틴으로 구성된 탄력섬유가 콜라겐(collagen)이라고 하는 교원섬유와 함께 존재하는데, 엘라스틴과 콜라겐이 충분히 존재하는 상태에서 피부 탄력이 유지되는 것을 말한다.
- [0024] 본 발명에 있어서, 추출물의 제조는 용매 하의 바위돌꽃 뿌리에 당가수분해 효소 처리하여 제조될 수 있다.
- [0025] 상기 바위돌꽃 뿌리의 추출 용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 이의 혼합물, 바람직하게는 물, 에탄올, 에탄올 수용액을 사용하는 것이 좋으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 추출 용매의 양은 바위돌꽃 뿌리의

총중량의 0.5 내지 15 배로 한다. 또한, 필요에 따라 차광 및/또는 가온(예를 들어, 온침) 조건 하에서 수행될 수도 있다. 상기 용매 하에 당가수분해 효소는 바위 돌꽃 뿌리 총중량에 대하여 0.5 중량 % 내지 5 중량 %로 포함될 수 있으며, 1시간 내지 10시간 동안 40 내지 55 °C로 반응을 통해 추출될 수 있고, 분리된 상등액은 감압 농축을 통해서 액상 또는 분말 형태의 추출물로 제조될 수 있으며, 이를 동결건조하여 분말형태로 제조될 수 있다.

- [0026] 본 발명의 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물에 함유된 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물은 그 자체로 피부 주름을 제거하는 효과가 있으며, 바람직하게 본 발명에 있어서, 상기 당가수분해 효소 처리 바위돌꽃 뿌리 추출물은 조성물 총중량에 대하여 0.001% ~ 10중량%의 양으로 포함될 수 있다.
- [0027] 또한 본 발명의 조성물은 기존에 알려진 피부 주름 예방 및 개선에 효과가 있다고 공지된 물질들과 혼합하여 사용하는 경우에도 피부 탄력 및 주름 개선 효과를 지속적으로 유지할 수 있다.
- [0028] 상기 피부 탄력 및 주름 개선에 효과가 있는 물질로는 이에 제한되지는 않으나, 캐모마일 꽃 추출물, 로즈마리 잎 추출물, 할미꽃 잎 추출물, 어스니아 추출물, 인삼 추출물, 유카리투스 잎 추출물, 제라늄 꽃 추출물, 고삼 추출물, 유칼립투스 추출물, 타임 추출물, 바위돌꽃 뿌리 추출물, 썬기풀 추출물, 야로우 추출물, 클로브 추출물, 펜넬 추출물, 파파야잎 추출물, 및 해바라기 추출물 등이 있다. 이외에도 본 발명의 화장료 조성물은 수용성 비타민, 지용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스펅고 지질 및 해초 엑기스 등을 더 포함할 수 있다.
- [0029] 본 발명의 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물에는 상기 필수 성분과 더불어 필요에 따라 화장품학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함하여 배합될 수 있다. 첨가해도 되는 배합 성분으로서는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 자외선 흡수제, pH 조정제, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한제, 정제수 등을 들 수 있다.
- [0030] 상기 유지 성분으로는 에스테르계 유지, 탄화수소계 유지, 실리콘계 유지, 불소계 유지, 동물 유지, 식물 유지를 들 수 있다.
- [0031] 상기 보습제로는 수용성 저분자 보습제, 지용성 분자 보습제, 수용성 고분자, 지용성 고분자 등을 들 수 있다.
- [0032] 상기 에몰리엔트제로는 장쇄아실글루타민산콜레스테릴에스테르, 히드록시스테아르산콜레스테릴, 12-히드록시스테아르산, 스테아르산, 로진산, 라놀린지방산콜레스테릴에스테르 등을 들 수 있다.
- [0033] 상기 자외선 흡수제로는 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, 히드록시메톡시벤조페논술폰산 및 그 염, 디히드록시메톡시벤조페논, 디히드록시메톡시벤조페논디술폰산나트륨, 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 들 수 있다.
- [0034] 상기 pH 조정제로는 시트르산, 시트르산나트륨, 말산, 말산나트륨, 프말산, 프말산나트륨, 숙신산, 숙신산나트륨, 수산화나트륨, 인산일수소나트륨 등을 들 수 있다.
- [0035] 또한, 이외에 첨가해도 되는 배합 성분은 이에 한정되는 것은 아니며, 또, 상기 어느 성분도 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 배합 가능하다.
- [0036] 본 발명의 조성물을 함유하여 제조된 화장료는 용액, 유화물, 점성형 혼합물 등의 형상을 취할 수 있다.
- [0037] 또한, 본 발명의 상기 조성물에 포함되는 성분은 유효성분으로서 상기 성분 이외에 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예를 들면, 안정화제, 안료 및 천연향료와 같은 통상적인 보조제 및 담체를 더 포함할 수 있다.
- [0038] 본 발명의 조성물은 피부 탄력 증진 및 피부 주름 개선 효과를 갖는 화장품 또는 세안제 등에 다양하게 이용될 수 있다.
- [0039] 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 제품으로는, 예를 들어, 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩 등과 같은 화장품류와 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 및 바디클렌저

등이 있다.

- [0040] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0041] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판, 부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0042] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액의 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 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 에스테르가 있다.
- [0043] 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 등이 이용될 수 있다.

발명의 효과

- [0044] 본 발명의 피부 탄력 및 주름 개선용 조성물은 항산화 효과, MMP-1 단백질 발현 억제 효과, 타입 I 프로콜라겐의 생성 증진 효과 등을 통해, 피부 주름의 발생을 예방하고, 손상된 피부의 주름을 개선하며, 피부 탄력을 증진시킴으로써 피부 탄력 및 주름 개선에 현저한 효과를 보인다.

도면의 간단한 설명

- [0045] 도 1은 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물의 DPPH 라디칼 억제 활성을 나타낸다.
- 도 2는 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물의 인간섬유아세포에서 MMP-1 단백질의 발현 감소 효과를 나타낸다.
- 도 3은 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물의 UVB 조사된 인간섬유아세포에서 MMP-1 단백질의 발현 감소 효과를 나타낸다.
- 도 4는 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물의 인간섬유아세포에서 타입 I 프로콜라겐 단백질의 발현 증진 효과를 나타낸다.
- 도 5는 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물의 UVB 조사된 인간섬유아세포에서 타입 I 프로콜라겐 단백질의 발현 증진 효과를 나타낸다.
- 도 6은 당가수분해 효소처리 바위돌꽃 뿌리 추출물과 효소처리되지 않은 바위돌꽃 뿌리 추출물의 크로마토그래피 분석 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0046] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

[0047] 실시예 1: 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물의 제조

- [0048] 바위돌꽃(*Rhodiola rosea*) 뿌리 (뿌리와 뿌리줄기) 1kg을 정제수로 세척하고 건조시킨 다음, 분쇄하고 세말화하여 분말을 얻었다. 분말화된 바위돌꽃 뿌리에 10L의 증류수를 가한 후, 1M HCl과 1M NaOH를 이용하여 용액이 pH 5-8 사이가 되도록 조절하였다. 여기에 효소로 셀룰라아제를 바위돌꽃 뿌리 분말의 중량 대비 1%로 첨가하였다. 그리고, 셀룰라아제가 첨가된 용액을 항온수조에 넣고 50℃에서 3시간 동안 교반하여 효소와 반응시켰다. 효소와 반응시킨 반응물을 여과하고, 그 상등액을 동결 건조하여 실시예로 이용하였다.

- [0049] 상기와 같은 방식으로 추출하되, 셀룰라아제 효소로 처리되지 않은 바위돌꽃 뿌리 추출물을 동결 건조하여 비교예로 사용하였다.

[0050] 실시예 2: 당가수분해 효소처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물의 항산화 효과 확인

[0051] DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma, USA)의 환원력을 측정함으로써 효소처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물의 항산화 효과를 확인하였다. DPPH의 환원력은 Sang S 등, J.Agric. Food Chem. 50(8), p2459-2463, 2002에 기재된 방법에 따라 수행하였으며, 상기 실시예 1에 따른 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물을 처리함으로써 측정하였다.

[0052] 메탄올에 녹인 0.2 mM DPPH 용액 180 μ l와 증류수 20 μ l에 녹인 바위돌꽃 뿌리 추출물(음성 대조군), 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물 및 알부틴(양성대조군)(100 및 250 μ g/ml)을 96-웰 마이크로플레이트에 넣고 37℃에서 30 분간 배양한 후, 환원된 DPPH의 양을 분광 광도계(Precision microplate reader; Molecular Devices, VersaMax)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 시료를 가하지 않는 무침가 대조군과 활성을 비교하여 3 반복으로 수행하였으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0053] 도 1에서 확인되는 바와 같이, 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물은 바위돌꽃 뿌리 추출물에 비해 각각 50, 100, 및 250 μ g/ml 용량 처리시, 113%, 118% 및 139% 개선된 우수한 항산화 효과가 확인되었으며, 이러한 항산화 효과의 수치들은 양성대조군인 알부틴과 비교하였을 때도 크게 우수한 효과임이 확인되었다.

[0054] 실시예 3. 당가수분해 효소처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물의 MMP-1 단백질 합성 저해 효과 확인

[0055] MMP-1 단백질의 합성 저해 효과를 확인함으로써 본 발명 추출물의 피부 주름 개선 및 탄력 증진 효과를 확인하였다.

[0056] 40 mm 세포 배양 접시에 2 ml의 DMEM 배양액을 넣고, 인간섬유아세포를 약 1.2×10^5 개의 농도로 접종한 후, 37℃, 5 % CO₂ 환경에서 24시간 동안 배양하였다. 그 후 일부 실험군에 대해서는 UVB 처리가 없었으며 별개의 실험군에 대해서는 UVB를 144 mJ/cm² 조건으로 조사한 후 실시예 1에서 제조된 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물(각각 10 및 100 μ g/ml)을 포함한 배지로 교체하여 3 일간 배양하였다. 이후 배양액을 회수(harvest)하여 4℃, 7500 rpm 환경에서 5분간 원심분리(centrifuge)하여 ELISA 방법을 이용하여 MMP-1(Human Total MMP-1 kit, R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA)의 단백질 발현량 변화를 확인하여, 그 결과를 도 2 및 도 3에 나타내었다.

[0057] 도 2는 자외선 조사 없는 인간섬유아세포 실험에서의 결과를 나타낸다. 도 2에서 확인되는 바와 같이, 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물 처리군은 MMP-1 단백질의 생성이 농도 의존적으로 크게 억제되며, 이러한 효과는 효소 처리되지 않은 바위돌꽃 뿌리 추출물을 처리한 군과 비교할 때 월등히 우수한 것이 확인되었다. 즉, 효소 처리된 군에서는 각각 1, 10, 및 100 μ g/ml 용량에서 3%, 40%, 및 52%, 개선된 MMP-1 단백질의 생성 저해 효과를 나타내어, 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물의 MMP-1 단백질 생성억제 효과가 더욱 큰 것으로 나타났다.

[0058] 또한, 도 3은 자외선 조사된 인간섬유아세포 실험에서의 결과를 나타낸다. 도 3에서 확인되는 바와 같이, 144mJ/cm² 용량으로 자외선 조사 처리한 인간섬유아세포는 자외선 무처리 군에 비해 MMP-1 단백질의 생성이 6배 증가하였다. 자외선 조사 처리로 인한 MMP-1 단백질의 생성 증가는 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물 처리군에 의해 현저히 감소되었다. 이러한 MMP-1 감소 효과는 효소 처리되지 않은 군과 비교할 때 월등한 효과를 나타내는데, 각각 1, 10, 및 100 μ g/ml 용량에서 23%, 27%, 및 36%, 개선된 MMP-1 단백질의 생성 저해 효과를 나타내었다.

[0059] 상기 결과를 통해, 본 발명의 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물은 주름생성의 원인이 되는 MMP-1 단백질의 생성을 효과적으로 억제하여 피부 주름 개선 및 탄력 증진에 효과적임을 확인하였다.

[0060] 실시예 4. 당가수분해 효소처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물의 타입 1 프로콜라겐 단백질 합성 촉진 효과 확인

[0061] 타입 1 프로콜라겐 단백질의 합성 촉진 효과를 확인함으로써 본 발명 추출물의 피부 주름 개선 및 탄력 증진 효과를 확인하였다.

[0062] 40 mm 세포 배양 접시에 2 ml의 DMEM 배양액을 넣고, 인간섬유아세포를 약 1.2×10^5 개의 농도로 접종한 후, 37℃, 5 % CO₂ 환경에서 24시간 동안 배양하였다. 그 후 일부 실험군에 대해서는 UVB 처리가 없었으며 별개의 실험군에 대해서는 UVB를 144 mJ/cm² 조건으로 조사한 후, 실시예 1에서 제조된 당가수분해 효소 처리된 바위돌

꽃 뿌리 추출물(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)을 포함한 배지로 교체하여 3일간 배양하였다. 이후 배양액을 회수(harvest)하여 4 $^{\circ}\text{C}$, 7500 rpm 환경에서 5분간 원심분리(centrifuge)하여 ELISA 방법을 이용하여 타입 1 프로콜라겐(Procollagen Type I C Peptide EIA Kit, Takara, Shiga, Japan)의 단백질 발현량 변화를 확인하여, 그 결과를 도 4 및 도 5에 나타내었다.

[0063] 도 4는 자외선 조사 없는 인간섬유아세포 실험에서의 결과를 나타낸다. 도 4에서 확인되는 바와 같이, 자외선 조사 없는 인간섬유아세포 실험에서 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물 처리군은 타입 1 프로콜라겐 단백질의 생성을 농도 의존적으로 증가시키고 있음을 알 수 있었다. 이러한 효과는 효소 처리되지 않은 바위돌꽃 뿌리 추출물을 처리한 군과 비교할 때 월등히 우수하였으며, 효소 처리되지 않은 바위돌꽃 뿌리 추출물 처리군 대비, 효소 처리된 군에서는 각각 10, 및 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 용량에서 106%, 및 152%, 개선된 타입 1 프로콜라겐 단백질의 생성 증가를 나타내어, 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물 처리시 타입 1 프로콜라겐 단백질의 생성 증가 효과가 더욱 큰 것으로 나타났다.

[0064] 또한, 도 5는 자외선 조사된 인간섬유아세포 실험에서의 결과를 나타낸다. 도 5에서 확인되는 바와 같이, 144mJ/cm² 용량으로 자외선 조사 처리한 인간섬유아세포는 자외선 무처리 군에 비해 타입 1 프로콜라겐 단백질의 생성이 2.2배 감소하였다. 이렇게 자외선 조사 처리로 인한 타입 1 프로콜라겐 단백질의 생성 감소는 효소처리 바위돌꽃 뿌리 추출물의 처리에 의해서 다시 크게 증가하는 것이 확인되었다. 이러한 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물 처리군은 효소 처리되지 않은 군과 비교할 때 월등한 증가 효과를 나타내는데, 각각 10, 및 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 용량에서 114%, 및 150% 개선된 타입 1 프로콜라겐 단백질의 생성 증가 효과를 나타내었다.

[0065] 상기와 같은 결과를 통해, 본 발명의 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물을 포함하는 조성물이 TGF- β /Smad 신호전달체계에 작용하여 타입 1 프로콜라겐의 생성을 촉진시키고, 콜라겐 분해 효소인 MMP-1의 발현을 억제하는 작용을 통해, 주름 생성을 효과적으로 개선하고 탄력 증진에 현저한 효과가 있음을 확인하였다.

[0066] 실시예 5. 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물과 바위돌꽃 뿌리 추출물의 성분 비교 분석

[0067] 상기 실시예 1 및 비교예로 제조한 추출물 성분을 크로마토그래피(Dionex Chromelon Chromatography, Dionex, USA) 장비를 이용하여 분석하였다. 컬럼(Column)은 Sunfire C18(위티스, 4.6x250mm, 5micron)을 사용하였고, 컬럼 오븐 온도는 30 $^{\circ}\text{C}$, 검출기는 280nm 인젝션 볼륨 10 μL , 유속 1.0mL/min으로 분석하였다.

[0068] 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0069] 도 6에 나타난 바와 같이, 효소 처리한 바위돌꽃 뿌리 추출물(파란색 라인)이 효소 처리하지 않은 바위돌꽃 뿌리 추출물(검은색 라인)에 비해 주요성분의 함량이 크게 변화된 것이 확인되었다. 특히, HPLC 분석 결과에 따르면, 주름개선에 탁월한 효능이 있다고 보고된 gallic acid 및 chlorogenic acid 등의 성분이 크게 증가함으로써 주름 개선에 우수한 효과를 보일 수 있음이 확인된다.

[0070] 제형예 1: 당가수분해 효소 처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물을 함유한 화장수 제조

[0071] 당가수분해 효소처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물(실시예 1)을 함유한 화장수(스킨로션)를 하기의 [표 1]의 함량으로 1kg을 제조하였다.

[0072] [표 1] 당가수분해 효소처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물을 함유한 화장수 조성

번호	원료	함량(중량%)
1	당가수분해효소처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물 (실시예 1)	1.0
2	글리세린	3.0
3	부틸렌글리콜	2.0
4	프로필렌글리콜	2.0
5	폴리옥시에틸렌 경화피마자유	1.0
6	에탄올	10.0
7	트리에탄올아민	0.1
8	페녹시에탄올	미량
9	색소	미량
10	향료	미량
11	정제수	잔량

[0073]

[0074] 제형예 2: 당가수분해 효소처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물을 함유한 영양로션 제조

[0075] 당가수분해 효소처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물 (실시예 1)을 함유한 영양로션을 하기의 [표 2]의 함량으로 1kg을

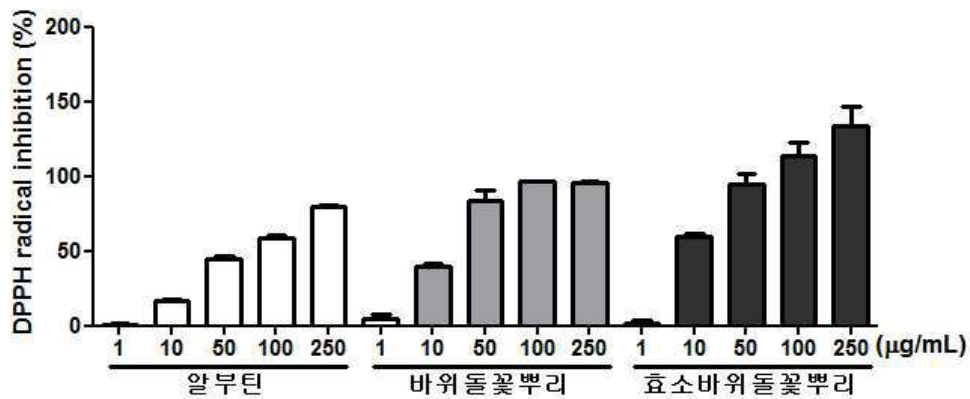
제조하였다.

[0076] [표 2] 당가수분해 효소처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물을 함유한 영양로션 조성

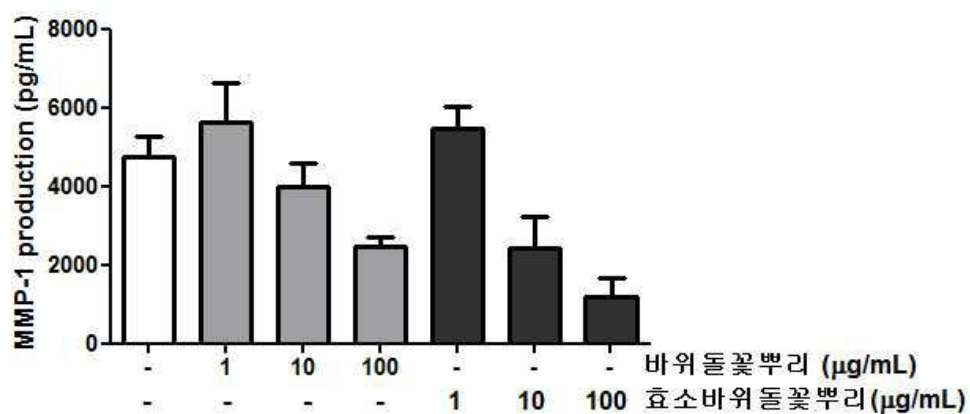
번호	원료	함량(중량%)
1	당가수분해 효소처리된 바위돌꽃 뿌리 추출물 (실시예 1)	1.0
2	밀납	1.0
3	폴리솔베이트 60	1.5
4	솔비탄 세스퀴올레이트	0.5
5	유동 파라핀	10.0
6	소르비탄 스테아레이트	1.0
7	친유형 모노스테아린산 글리세린	0.5
8	스테아린산	1.5
9	글리세릴스테아레이트/피이지-400 스테아레이트	1.0
10	프로필렌글리콜	3.0
11	카르복시폴리머	0.1
12	트리에탄올아민	0.2
13	페녹시아에탄올	미량
14	색소	미량
15	향료	미량
16	정제수	잔량

도면

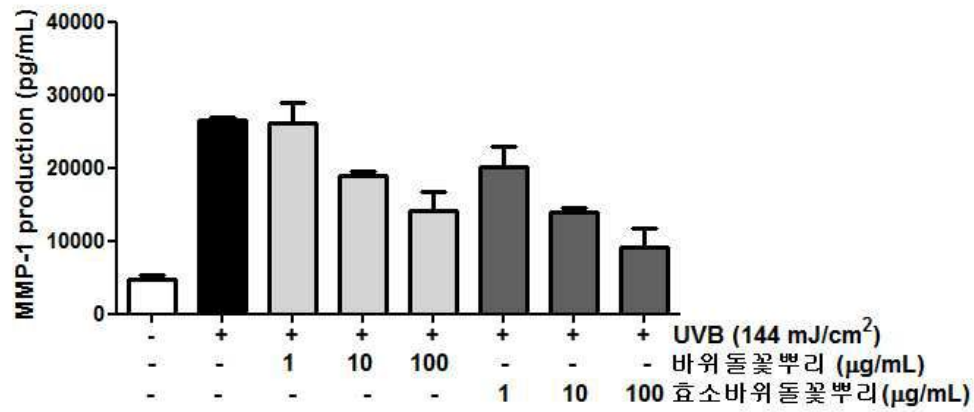
도면1



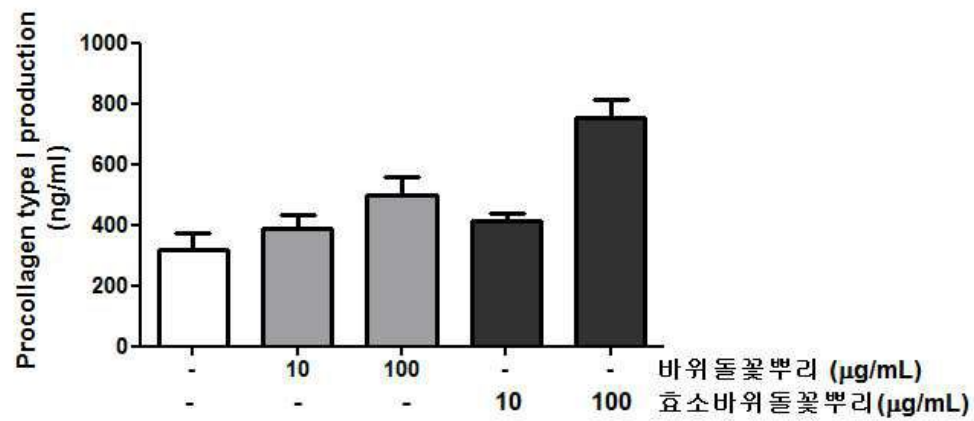
도면2



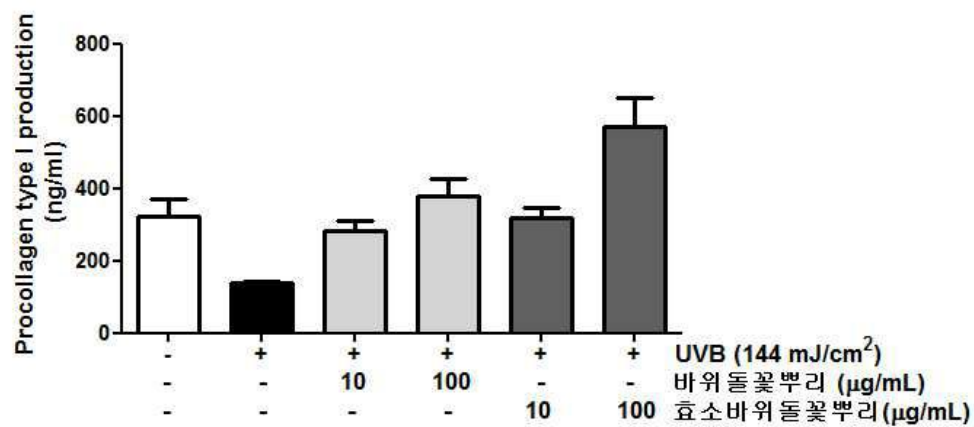
도면3



도면4



도면5



도면6

