



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0134480
(43) 공개일자 2013년12월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/13 (2006.01) A61K 8/97 (2006.01)
A61K 38/46 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0058022
(22) 출원일자 2012년05월31일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
(주)아모레퍼시픽
서울특별시 중구 청계천로 100 (수표동)
(72) 발명자
홍용덕
경기도 용인시 기흥구 보라동 314-1 아모레퍼시픽
기술연구원
남미희
경기도 용인시 기흥구 보라동 314-1 아모레퍼시픽
기술연구원
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
임희택, 김영철, 김 순 영

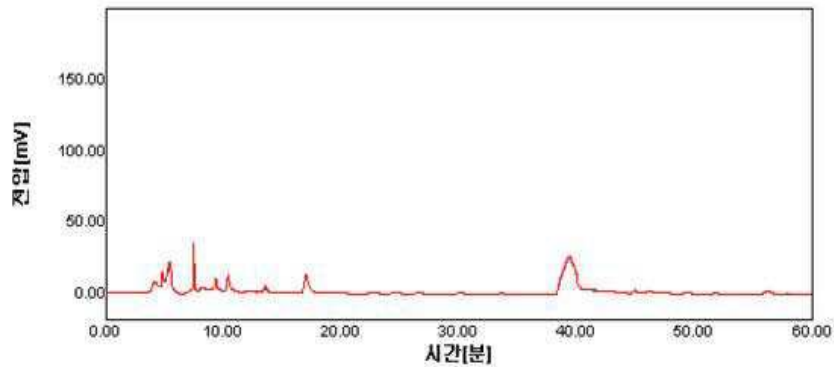
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 효소 처리 토레야 속 추출물

(57) 요약

본 발명은 효소 처리 토레야 속 식물의 추출물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

고재영

경기도 용인시 기흥구 보라동 314-1 아모레퍼시픽
기술연구원

신송석

경기도 용인시 기흥구 보라동 314-1 아모레퍼시픽
기술연구원

박영호

경기도 용인시 기흥구 보라동 314-1 아모레퍼시픽
기술연구원

특허청구의 범위

청구항 1

효소 처리 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물의 추출물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 효소는 세포벽 분해 효소 및 단백질 분해효소로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인, 추출물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물은 토레야 칼리포니카 (*Torreya californica*), 토레야 파르게시 (*Torreya fargesii*), 토레야 그란디스 (*Torreya grandis*), 토레야 자키 (*Torreya jackii*), 토레야 누시페라 (*Torreya nucifera*) 및 토레야 택시포리아 (*Torreya taxifolia*)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 식물인, 추출물.

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 세포벽 분해효소는 셀룰라아제 (cellulase), 크실라나아제 (xylanase) 및 아라비노푸라노시다아제 (arabinofuranosidase)로 이루어진 군에서 선택되는, 추출물.

청구항 5

제2항에 있어서, 상기 단백질 분해효소는 펙티나아제 (pectinase)를 포함하는, 추출물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 추출물은 효소를 토레야 속 식물 총 중량에 대하여 0.01 내지 1중량%로 처리하여 얻어지는, 추출물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 추출물을 포함하는 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 조성물은 항노화능을 가지는, 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 조성물은 항염증능을 가지는, 조성물.

청구항 10

제7항에 있어서, 상기 토레야 속 식물의 추출물은 조성물 총 중량에 대하여 0.001 내지 20중량%로 포함된, 조성물.

청구항 11

제7항에 있어서, 상기 조성물은 화장료 조성물인, 조성물.

청구항 12

제7항에 있어서, 상기 조성물은 약학 조성물인, 조성물.

청구항 13

제7항에 있어서, 상기 조성물은 건강식품 조성물인, 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 효소 처리 토레야 속 식물의 추출물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 피부는 인체의 일차 방어막으로서 체내의 기관들을 온도·습도 변화, 자외선 및 공해물질 등 외부환경의 자극으로부터 보호해 주며, 체온조절 등의 생체 항상성 유지에 중요한 역할을 한다.

[0003] 염증은 세포나 조직이 어떠한 원인에 의해 손상을 받으면 그 반응을 최소화 하고 손상된 부위를 원상으로 회복시키려는 일련의 방어 목적으로 나타나는 것이며, 신경 및 혈관, 임파관, 체액 반응, 세포 반응을 일으켜 결과적으로 통증, 부종, 발적, 발열 등을 일으켜 기능장애를 유발하는 것이다. 염증을 유발하는 원인으로 외상, 동상, 화상, 방사능 등에 의한 물리적 요인과 산(acid)과 같은 화학물질에 의한 화학적 요인 및 항체 반응에 의한 면역학적 요인들이 있으며, 그 외에 혈관이나 호르몬 불균형에 의해서도 발생된다. 외부 자극으로 손상된 세포들이 분비한 여러 화학 매개 물질에 의해 혈관 확장이 일어나고, 투과성이 높아짐에 따라 항체, 보체, 혈장(plasma), 식균 세포들이 염증 부위로 몰려들게 된다. 이러한 현상이 홍반의 원인이 된다. 이러한 염증은 자외선이나 활성산소, 유리 라디칼 등의 산화적 스트레스 등이 염증성 인자를 활성화시켜 각종 질병 및 피부의 노화를 일으킨다. 염증의 특징 중 하나는 프로스타글란딘을 생성하는 시클로옥시게나제(COX) 및 류코트리엔을 생성하는 5-리폭시게나제 경로에 의해 대사되는 아라키돈산(arachidonic acid)의 산소첨가반응의 증가이다. 프로스타글란딘 및 류코트리엔은 염증의 매개체이다. 따라서 시클로옥시게나제 효소는 시클로옥시게나제-1 및 시클로옥시게나제-2의 2개의 형태가 있다. 후자의 형태, 즉 시클로옥시게나제-2는 염증 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 보인다. 따라서 시클로옥시게나제-2 효소를 억제하는 것이 비가역적인 시클로옥시게나제-1 억제와 관련된 부작용 없이 염증을 감소시킬 수 있는 효과적인 방법일 수 있다.

[0004] 본 발명자들은 토레야 속 식물에 효소를 처리한 후, 이로부터 추출물을 얻는 경우, 식물의 유효성분을 더 많이 포함하여, 그 효능이 극대화됨을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 10-2008-0107687

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 부작용이 없으면서 항염증 효능을 가지는 천연의 추출물을 제공하는 데 있다. 또한 본 발명은 상기 추출물에 유효성분이 극대화되어 포함된 조성물을 제공하는 데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 효소 처리 토레야 속(*Torreya sp.*) 식물의 추출물을 제공한다.

[0008] 본 발명은 또한 효소 처리 토레야 속(*Torreya sp.*) 식물의 추출물을 포함하는 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0009] 효소 처리 토레야 속(*Torreya sp.*) 식물 추출물은, 효소처리되지 않은 일반 토레야 속(*Torreya sp.*) 식물 추출물보다 더 많은 양의 유효성분을 포함할 뿐 아니라, 다른 종류의 유효성분을 포함하여, 효소처리되지 않은 일반 토레야 속(*Torreya sp.*) 식물 추출물보다 그 효능이 우수하다. 구체적으로, 효소 처리 토레야 속(*Torreya sp.*) 식물 추출물은 PGE₂, IL-6 및 IL-8 생성을 억제하고 콜라겐 생합성 촉진 및 MMP-1 활성 억제 효과가 현저히 우수하여 효소처리되지 않은 일반 비자 추출물보다 뛰어난 항염 및 항노화 효과를 달성할 수 있다. 이에 따라 피

부 외용제, 화장품 조성물 및 약학 조성물 등에 사용될 수 있다.

[0010] 아울러, 본 발명의 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물 추출물 및 이를 포함하는 조성물은 하는 자연친화적이어서, 인체에 무해하며, 부작용이 없어서 유용하다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 효소처리 비자(*Torreya nucifera*) 추출물의 HPLC 분석 그래프이다.

도 2는 본 발명의 일 비교예에 따른 비자(*Torreya nucifera*) 추출물의 HPLC 분석 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] 본 발명은 일 관점에서, 효소 처리 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물의 추출물에 관한 것이다.

[0013] 본 명세서에서 사용되는 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물은 추출물의 형태로 포함되거나, 생약 자체의 분쇄물, 또는 생약의 건조 분쇄물로서 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 아울러 본 명세서에서 사용되는 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물은 그 입수 방법에 제한이 없으며, 재배하여 사용하거나 시판되는 것을 구입하여 사용할 수도 있으며, 조본의 지상부의 일부 또는 전부를 사용할 수 있으며, 바람직하게는 지상부의 전부를 사용할 수 있다. 토레야속의 식물은 구과목 주목과에 속하는 상록침엽교목으로 한국, 일본등에 서식하는 여러해살이 식물이다.

[0014] 본 발명의 일 관점인 추출물에 있어서, 상기 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물은 토레야 칼리포니카 (*Torreya californica*), 토레야 파르게시 (*Torreya fargesii*), 토레야 그란디스 (*Torreya grandis*), 토레야 자키 (*Torreya jackii*), 토레야 누시페라 (*Torreya nucifera*) 및 토레야 탁시포리아 (*Torreya taxifolia*)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 식물을 포함할 수 있다.

[0015] 상기 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물의 추출물은 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물은 C_1 - C_6 알코올 추출물을 포함할 수 있고, 구체적으로 상기 알코올은 메탄올 또는 에탄올일 수 있다.

[0016] 본 명세서에서 상기 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물 추출물은 물, C_1 - C_6 알콜, 및 이들이 조합으로 구성된 그룹에서 선택된 용매의 조추출물일 수 있다. 상기 C_1 - C_6 알콜은 구체적으로 메탄올일 수 있다. 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물을 용매로 추출 시, 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물의 약 5 내지 15배 정도에 해당하는 용매를 가하여 추출하는 것이 바람직하며, 구체적으로 약 10 배의 용매를 가하여 추출하는 것이 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 추출은 가열 추출, 냉침 추출, 환류냉각 추출, 또는 초음파 추출 등이 이용될 수 있으며, 당업자에게 자명한 추출법이라면 제한이 없다. 상기 추출은 실온에서 수행할 수도 있으나, 보다 효율적인 추출을 위해서는 가온 조건 하에서 수행할 수 있으며, 바람직하게는 약 40 내지 100℃, 더욱 바람직하게는 약 80℃의 온도에서 추출할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 추출시간은 바람직하게는 약 2 내지 4시간, 더욱 바람직하게는 약 3 시간 동안 수행할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니며, 추출 용매 및 추출 온도 등의 조건에 따라 달라질 수 있다. 상기 추출은 활성성분을 보다 다량 수득하기 위해 1 회 이상 여러 번 추출할 수 있으며, 바람직하게는 1 내지 5회, 더욱 바람직하게는 3회 연속추출하여 합한 추출액을 이용할 수 있다.

[0017] 본 명세서에서 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물 추출물은 상기와 같이 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물의 조추출물을 포함할 수 있고, 상기 조추출물을 극성이 낮은 유기 용매로 더욱 추출하여 얻어진 유기 용매의 가용성 분획물로서 포함할 수도 있다. 상기 유기 용매로는 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸 아세테이트, n-부탄올 등이 이용될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기의 방법으로 추출한 추출물 또는 그 추출물의 가용성 분획물은 그대로 사용할 수도 있으나, 여과 후 농축하여 엑기스 형태로 사용할 수 있으며, 농축 후 동결 건조하여 동결건조물의 형태로서 사용할 수 있다.

[0018] 구체적으로, 상기 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물의 추출물은 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물을 세척하고 건조하는 단계; 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물에 효소를 처리하는 단계; 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물을 용매로 추출하는 단계; 및 추출한 토레야 속(*Torreya* sp.) 식물을 여과하는 단계를 거쳐 수득할 수 있다. 상기에서 용매는 물, 유기 용매 및 물과 유기 용매의 혼합물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 포함한다. 상기에서 물은 증류수 또는 정제수를 포함하고, 유기 용매는 C_1 - C_6 의 저급 알코올을 예로 들 수 있는 알코올, 아세톤, 에테르, 에틸아세테이트, 디에틸에테르, 에틸메틸케톤 및 클로로포름으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0019] 본 발명의 일 관점인 추출물에 있어서, 상기 효소는 세포벽 분해 효소 및 단백질 분해효소로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함한다. 구체적으로, 상기 세포벽 분해효소는 셀룰라아제 (cellulase), 크실라나아제 (xylanase) 및 아라비노푸라노시다아제 (arabinofuranosidase)로 이루어진 군에서 선택될 수 있고, 상기 단백질 분해효소는 펙티나아제 (pectinase)를 포함한다.
- [0020] 본 발명의 일 관점인 추출물에 있어서, 상기 효소는 토레야 속 식물 총 중량에 대하여 0.01 내지 1중량%로 처리할 수 있다. 상기 효소처리 효소를 토레야 속 식물의 총중량 대비 0.01 내지 1중량% 첨가하는 것이 바람직하다. 효소가 0.01% 미만인 경우 효소가 활성화되는 농도에 미치지 못하여 그 효과를 기대하기 어렵고, 1% 초과인 경우 효소량이 더 증가한다고 하더라도 활성이 포화상태에 이르러 활성도가 증가하지 않는다. 상기와 같은 관점에 있어서, 상기 효소는 토레야 속 식물 총 중량에 대하여, 0.011 내지 0.98중량%, 0.0012 내지 0.96중량%, 0.013 내지 0.95중량%, 0.014 내지 0.94중량%, 0.015 내지 0.93중량%, 0.014 내지 0.92중량%, 0.015 내지 0.93중량%, 0.016 내지 0.92중량% 또는 0.017 내지 0.91중량%로 함유될 수 있다.
- [0021] 식물의 세포는 동물의 세포와 달리 단단한 세포벽으로 싸여있다. 세포벽은 생성 초기에는 펙틴과 셀룰로오스로 구성되나, 그 후 목화하여 셀룰로스 외에 많은 리그닌 및 헤미셀룰로오스를 함유하게 된다. 셀룰라아제는 셀룰로오스를 분해하는 효소로서 이를 처리하게 되면 단단한 세포벽이 일부 분해되면서 식물 내 유효 성분의 추출 효율이 높아지게 된다. 따라서 토레야 속 식물 추출 전 셀룰라아제를 세포벽 분해효소와 반응시키면 효소를 처리하지 않은 경우에 비해 식물 세포 내 유효 성분 추출 효율이 높아져 원료의 효능 또한 증가할 수 있다.
- [0022] 본 명세서에서 "세포벽 분해효소 (cell wall degradation enzyme)"는 식물 세포벽의 분해에 관여하는 효소를 의미할 수 있다. 세포벽은 일반적으로, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 펙틴물질, 리그닌, 단백질, 마그네슘, 칼슘 등으로 구성되어 있다. 셀룰로오스 분해효소로는 섬유소분해효소 C1, Cx; 헤미셀룰로오스 분해효소로서는 크실라나아제, 1,3-크실라나아제, α-L-아라비노푸라노시다아제 등이 있으며; 펙틴질분해효소에는 펙틴 및 펙틴산의 주사슬의 α-1,4결합을 절단하는 효소군(endo-PMG, endo-PG, endo-PTE, endo-PATE, exo-PMG, exo-PG, exo-PTE, exo-PATE)과 펙틴의 메틸기를 유리하는 펙틴메틸에스테르가수분해효소가 있지만, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0023] 본 명세서에서 "단백질 분해효소"는 단백질과 펩티드의 펩티드결합을 가수분해하는 효소이면 제한되지 않는다. 바람직하게는, 단백질 분해효소로 펙티나아제(Pectinase)가 사용될 수 있다.
- [0024] 본 발명은 다른 관점에서, 상기 효소 처리 토레야 속(*Torreya sp.*) 식물의 추출물을 포함하는 조성물에 관한 것이다.
- [0025] 본 발명의 일 관점인 조성물에 있어서, 상기 조성물은 항노화능 또는 항염증능을 가질 수 있다.
- [0026] 상기와 같은 관점에서, 본 발명은 토레야 속(*Torreya sp.*) 식물의 추출물을 유효성분으로 포함하는 항노화용 조성물 또는 항염증용 조성물에 관한 것이다.
- [0027] 본 발명의 일 관점인 조성물에 있어서, 상기 토레야 속 식물의 추출물은 조성물 총 중량에 대하여 0.001 내지 20중량%로 포함될 수 있다. 상기 범위로 포함할 경우 본 발명의 의도한 효과를 나타내기 위해 적절할 뿐만 아니라, 조성물의 안정성 및 안전성을 모두 만족할 수 있으며, 비용 대비 효과의 측면에서도 상기 범위로 포함하는 것이 적절할 수 있다. 구체적으로 토레야 속 식물 추출물이 0.001 중량% 미만인 경우 충분한 피부 재생 및 모발 성장 촉진 효과를 얻을 수 없고, 20 중량%를 초과하는 경우 안전성 및 제형 안정성이 낮아질 수 있다. 상기와 같은 관점에 있어서, 토레야 속 식물 추출물은 조성물 전체 중량에 대하여, 0.005 내지 18중량%, 0.01 내지 16중량%, 0.05 내지 14중량% 또는 0.1 내지 12중량%로 함유될 수 있다.
- [0028] 구체적으로, 정제수로 토레야 속 식물을 세척하고 건조시킨 다음 분쇄하여 세말화한 토레야 속 식물 분말에 증류수를 가한 후, 염산과 염화나트륨을 이용하여 pH를 5-8 정도로 조절한다. 여기에 셀룰라아제(cellulase)와 펙티나아제(pectinase) 효소를 각각 첨가한 후, 각 시료를 항온수조에 넣고 약 50℃에서 1시간 동안 셰이킹하여, 에탄올로 추출한 후 시료를 여과한다. 그리고, 그 상등액을 감압 건조하여 건조중량을 얻는다.
- [0029] 추출방법은 일반적으로 공지된 추출방법이라면 제한되지 않고 사용할 수 있다. 바람직하게는, 효소처리 토레야 속 식물을 건조 및 분쇄하고; 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 및 함유 저급 알코올, 아세톤, 부틸렌글리콜, 에틸아세테이트, 디에틸아세테이트, 디에틸에테르, 벤젠, 클로로포름 및 헥산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 용매를 사용하여 추출하는 것일 수 있고, 더욱 바람직하게는 물 또는 에탄올 용매를 사용하여 추출할 수 있다. 이후 얻어진 추출물을 냉각 콘덴서가 달린 분류 장치에서 적정 온도로 감압 농축할 수 있다.
- [0030] 본 발명에서 효소처리 토레야 속 식물 추출물은, 효소처리 토레야 속 식물로부터 침출, 전출하여 얻은

침출액 뿐만 아니라 침출액을 다시 일부 또는 전부 농축하여 얻은 농축물 또는 상기의 농축물을 다시 건조시켜 제조한 침체, 전제, 정기, 유동 액기스 및 비자 중에 함유되어 주 효과를 발휘하는 화학 물질은 물론 식물 그 자체를 모두 포함한다.

- [0031] 본 발명의 일 관점인 조성물에 있어서, 상기 조성물은 PGE₂ (Prostaglandin), IL-6 (Interleukin) 및 IL-8 (Interleukin)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상 물질의 생성을 억제할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 일 관점인 조성물에 있어서, 상기 조성물은 MMP-1(Metalloprotease) 생성을 억제할 수 있다.
- [0033] 본 명세서에서 토레야 속 식물 추출물은, PGE₂, IL-6 및 IL-8 생성을 억제하고 콜라겐 생합성 촉진 및 MMP-1 활성 억제 효능을 가져 항염 및 항노화 효과를 가진다. 효소처리되지 않은 일반 토레야 속 식물 추출물에 비하여 PGE₂, IL-6 및 IL-8 생성을 억제하고 콜라겐 생합성 촉진 및 MMP-1 활성 억제 효과가 현저히 우수하여 효소 가공 처리에 의해 기존에 없었던 뛰어난 항염 및 항노화 효과를 달성할 수 있는 것이다.
- [0034] 본 발명의 일 관점인 조성물에 있어서, 상기 조성물은 화장료 조성물일 수 있다.
- [0035] 상기 화장료 조성물은 제형이 특별히 한정되지 않으며, 목적하는 바에 따라 적절히 선택할 수 있다. 예를 들어, 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 및 바디클렌저로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 제형으로 제조될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0036] 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.
- [0037] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄히드록사이드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0038] 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.
- [0039] 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 메타히드록사이드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [0040] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 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, 식물성 유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0041] 상기 유효성분의 함량은 특별히 제한되지 않으나, 조성물 총 중량을 기준으로 0.001 내지 20 중량%로 포함될 수 있다. 상기 유효 성분이 상기 함량을 만족하는 경우 부작용 없이 우수한 효능을 나타낼 수 있다.
- [0042] 상기 화장료 조성물에는 상기 제조된 효소처리 비자 추출물 이외에 기능성 첨가물 및 일반적인 화장료 조성물에 포함되는 성분이 추가로 포함될 수 있다. 상기 기능성 첨가물로는 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스펅고 지질 및 헤초 액기스로 이루어진 군에서 선택된 성분을 포함할 수 있다.
- [0043] 본 발명의 화장료 조성물에는 또한, 상기 기능성 첨가물과 더불어 필요에 따라 일반적인 화장료 조성물에 포함되는 성분을 배합해도 된다. 이외에 포함되는 배합 성분으로서는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조절제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있다.
- [0044] 더욱이, 본 발명은 상기 항염 및 항노화용 조성물을 포함하는 피부 외용제에 관한 것으로, 상기 피부 외용제는

피부 외부에서 도포되는 어떠한 것이라도 포함될 수 있는 총칭이며, 다양한 제형의 화장품, 의약품이 여기에 포함될 수 있다.

- [0045] 본 발명의 일 관점인 조성물에 있어서, 상기 조성물은 약학 조성물일 수 있다.
- [0046] 상기 약학 조성물에는 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 약제학적 보조제 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 추가로 함유할 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 다양한 비경구 투여 형태로 제형화할 수 있다. 비경구 투여 형태로 경피 투여형 제형일 수 있으며, 예를 들어 로션, 연고, 젤, 크림, 패취 또는 분무제 제형일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0047] 상기 유효 성분의 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 약물의 1일 투여 용량은 투여하고자 하는 대상의 미관 진행 정도, 발병 시기, 연령, 건강상태, 합병증 등의 다양한 요인에 따라 달라지지만, 성인을 기준으로 할 때 일반적으로는 상기 조성물 1 μ g/kg 내지 200mg/kg, 바람직하게는 50 μ g/kg 내지 50mg/kg을 1일 1 내지 3회 분할하여 투여할 수 있으며, 상기 투여량은 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것이 아니다.
- [0048] 본 발명의 일 관점인 조성물에 있어서, 상기 조성물은 건강식품 조성물일 수 있다.
- [0049] 상기 식품 조성물의 제형은 특별히 한정되지 않으나, 예를 들어, 정제, 과립제, 분말제, 드링크제와 같은 액제, 캐러멜, 젤, 바 등으로 제형화될 수 있다. 각 제형의 식품 조성물은 유효 성분 이외에 해당 분야에서 통상적으로 사용되는 성분들을 제형 또는 사용 목적에 따라 당업자가 어려움 없이 적의 선정하여 배합할 수 있으며, 다른 원료와 동시에 적용할 경우 상승 효과가 일어날 수 있다.
- [0050] 상기 유효 성분의 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 이의 1일 투여 용량은 예를 들어 0.1mg/kg/일 내지 5000mg/kg/일, 보다 구체적으로는 50 mg/kg/일 내지 500 mg/kg/일이 될 수 있으나, 이에 제한되지 않으며, 투여하고자 하는 대상의 연령, 건강 상태, 합병증 등 다양한 요인에 따라 달라질 수 있다.
- [0051] 이하, 하기의 실시예를 통하여 본 발명을 보다 구체적으로 설명한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명에 대한 이해를 돕기 위해 예시의 목적으로만 제공된 것일 뿐, 본 발명의 범주 및 범위가 이에 한정되지 않는다.
- [0052] **[실시예 1] 효소처리 비자 추출물의 제조**
- [0053] 비자 (*Torreyia nucifera*)를 정제수로 세척하고 건조시킨 다음 분쇄하여 세말화한 비자 분말을 얻었다. 얻어진 비자 분말 2g에 증류수 20 mL를 가한 후, 1M HCl과 1M NaOH를 이용하여 pH 5-8로 조절하였다. 여기에 셀룰라스트(celluclast)와 펙티나아제(pectinase) Pectinex 100L(Novozymes, Denmark) 효소를 각각 2%(w/w)씩 첨가하였다. 상기 각각의 분해효소는 Novo사. (Novozymes Nordisk, Bagsvaerd, Denmark)에서 구입하여 사용하였다. 그리고, 각 시료를 항온수조에 넣고 50℃에서 1시간 동안 웨이킹하여, 에탄올 100mL로 추출한 후 각 시료를 여과하고, 그 상등액을 감압 건조하여 건조중량 0.32g을 얻었다.
- [0054] **[비교예 1] 효소처리하지 않은 비자 추출물의 제조**
- [0055] 비자 (*Torreyia nucifera*)를 정제수로 세척하고 건조시킨 다음 분쇄하여 세말화한 비자 분말을 얻었다. 얻어진 비자 분말 2g을 에탄올 100mL로 추출한 후 각 시료를 여과하여, 그 상등액을 감압 건조하여 건조중량 0.30g을 얻었다. 이를 비교예 1로 하였다.
- [0056] **[실험예 1] HPLC 분석**
- [0057] 상기 실시예 1의 효소처리 비자 추출물 및 상기 비교예 1의 비자 추출물에 대해 HPLC 분석을 행하였다(과장: UV 220nm, 유출속도: 1mL/분으로 60분, 용리액: 10mM 인산/아세트니트릴(80:20) ~ 10mM 인산/아세트니트릴(20:80), 주입부피: 20 μ l). 그 결과를 각각 도 1(실시예 1) 및 도 2(비교예 1)에 나타내었다.
- [0058] 도 1과 도 2에서 볼 수 있듯이, 비자 추출물과 효소처리 비자 추출물은 효소 처리 여부에 따라 서로 다른 성분을 포함하고 있으므로, 서로 다른 유형의 효과를 나타내고, 유사한 효과를 내더라도 그 정도에 있어 차이가 있음을 알 수 있었다.
- [0059] **[실험예 2] PGE2, IL-6 및 IL-8 생성 억제 실험**
- [0060] 인간섬유아세포(fibroblast)(PromoCell, Germany)를 6-웰 배양판에 1 \times 10⁵ 세포의 농도로 접종하고, 24 시간 동안 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에서 배양하였다. H₂O₂ 500 μ M을 웰에 처리하여 24 시간 동안 자극을 준 후, 칼슘나무 추출물을 농도별로 처리하여 48 시간 동안 반응시켰다. 반응 완료 후 배양액을 수거하여 ELISA 분석을 수

행하였다. 이때 항염 및 자극완화제로 많이 사용되는 물질인 알파-비사보롤(α -bisaborol)을 대조군으로 사용하였다. PGE₂는 어세이 디자인(Assay Design)사의 키트, IL-6, IL-8은 엔도젠(Endogen)사의 키트를 사용하였으며, 각 회사의 매뉴얼에 명기된 방법에 따라 실험을 진행하였다. 억제 효과는 하기 수학적 식 1에 따라 계산하였으며, 측정 결과는 하기 표 1에 나타내었다.

[0061] 하기 표 1에 나타낸 바와 같이, 염증 매개 물질인 PGE₂, IL-6, IL-8의 생성량이 본 발명의 비자추출물 추출물 첨가에 의해 현저하게 줄어들어 높은 억제 효과를 보임을 확인할 수 있다.

[0062] <수학적 식 1>

[0063] 억제 효과 = {1-(시험 시료-대조군)/(H2O2-대조군)} × 100

표 1

[0064]

시료(100 μ g/ml)	PGE ₂ (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-8 (pg/ml)
H ₂ O ₂ (500 μ M)	350	245	290
대조군(α -bisabolol)	205	180	200
H ₂ O ₂ + 실시예 1	235	196	230
H ₂ O ₂ + 비교예 1	280	226	235

[0065] [실험예 3] 콜라겐 생합성 촉진 효과의 측정

[0066] 상기 실시예 1 및 비교예 1의 콜라겐 생합성 촉진 효과를 토코페롤 및 EGCG와 비교하여 측정하였다.

[0067] 먼저, 인간섬유아세포(fibroblast)(PromoCell, Germany)를 24공(well)에 1 공 당 10⁵개씩 파종(seeding)하여 90% 정도 자랄 때까지 배양하였다. 이를 24시간 동안 무혈청 DMEM 배지로 배양한 후 무혈청 배지에 녹여진 상기 실시예 1 및 비교예 1; 토코페롤 및 EGCG를 각각 10⁻⁴ 몰농도로 처리하고 24시간 동안 CO₂ 배양기에서 배양하였다. 이들의 상층액을 떠내어 프로콜라겐 형(I) ELISA 키트(proc/; collagen type(I))를 이용하여 프로콜라겐 (procollagen)의 증감여부를 보았다. 그 결과는 표 3에 나타내었으며, 여기서 합성능은 비처리군을 100으로 하여 대비한 것이다.

표 2

[0068]

처리군	합성능 (%)
비처리군	100
토코페롤	118
EGCG	125
실험예 1	147
비교예 1	135

[0069] 그 결과 상기 표 2에서 보는 바와 같이, 효소처리되지 않은 비교예 1에 비하여, 효소 처리된 실시예 1에서 콜라겐 생합성 증가 효과가 현저히 향상됨을 확인하였다.

[0070] [실험예 4] 콜라게네이즈(MMP-1) 저해능

[0071] 시험은 2.5 %의 우태아 혈청이 함유된 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Media) 배지가 함유된 96공 평판배양기(96-well microtiter plate)에 인간의 섬유아세포를 5,000 세포/공(well)이 되도록 넣고, 70~80% 정도 자랄 때까지 배양하였다. 그리고 상기의 물질을 10⁻⁴ 몰농도로 24시간 동안 처리한 후, 세포배양액을 채워하였다. 채워한 세포배양액을 상업적으로 이용가능한 콜라게네이즈 측정기구 (미국 아머삼파마사 사, Catalog #: RPN 2610)를 이용하여 콜라게네이즈 생성 정도를 측정하였다. 먼저 1차 콜라게네이즈 항체가 균일하게 도포된 96-공 평판 (96-well plate)에 채워진 세포 배양액을 넣고 3시간 동안 항원-항체 반응을 항온조에서 실시하였다. 3시간 후 발색단이 결합된 2차 콜라겐 항체를 96-공 평판에 넣고 다시 15분간 반응시켰다. 15분 후 발색유발물질을 넣어 실온에서 15분간 발색을 유발시키고, 다시 1M 황산을 넣어 반응(발색)을 중지시키면 반응액의 색깔은 노란색을 띄며 반응 진행의 정도에 따라 노란색의 정도가 다르게 나타난다. 노란색을 띤 96-공 평판의 흡광도를 흡

광계를 이용하여 405nm에서 측정하고, 하기 수학식 1에 의해 콜라게네이즈의 합성정도를 계산하였다. 이때 조성물을 처리하지 않은 균의 채워진 세포배양액의 반응 흡광도를 대조군으로 하였다.

[0072] <수학식 2>

[0073] 콜라게네이즈 발현정도(%)=(물질처리세포군의 흡광도/대조군의 흡광도)X100

표 3

시료	콜라게네이즈 발현 정도(%)
대조군(비처리군)	100
실험예 1 10 ppm	47
비교예 1 10 ppm	60

[0075] 상기 표 3에서 알 수 있는 바와 같이, 실험예 1은 기질 메탈로 프로테아제(MMP-1)를 저해시키는 효과를 나타내었다.

[0076] 본 발명의 일측면에 따른 조성물의 제형예를 아래에서 설명하나, 다른 여러 가지 제형으로도 응용 가능하며, 이는 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0077] [제형예 1] 로션형 제형

[0078] 실시예 1의 효소처리 비자 추출물 3.00

[0079] L-아스코르빈산-2-인산마그네슘염 1.00

[0080] 수용성 콜라겐 (1% 수용액) 1.00

[0081] 시트르산나트륨 0.10

[0082] 시트르산 0.05

[0083] 감초 엑기스 0.20

[0084] 1,3-부틸렌글리콜 3.00

[0085] 정제수 잔량

[0086] (단위: 중량%)

[0087] [제형예 2] 크림형 제제

[0088] 실시예 1의 효소처리 비자 추출물 1.00

[0089] 폴리에틸렌글리콜모노스테아레이트 2.00

[0090] 자기유화형 모노스테아르산글리세린 5.00

[0091] 세틸알코올 4.00

[0092] 스퀴알렌 6.00

[0093] 트리2-에틸헥산글리세릴 6.00

[0094] 스펅고당지질 1.00

[0095] 1,3-부틸렌글리콜 7.00

[0096] 정제수 잔량

[0097] (단위: 중량%)

[0098] [제형예 3] 팩형 제제

[0099] 실시예 1의 효소처리 비자 추출물 5.00

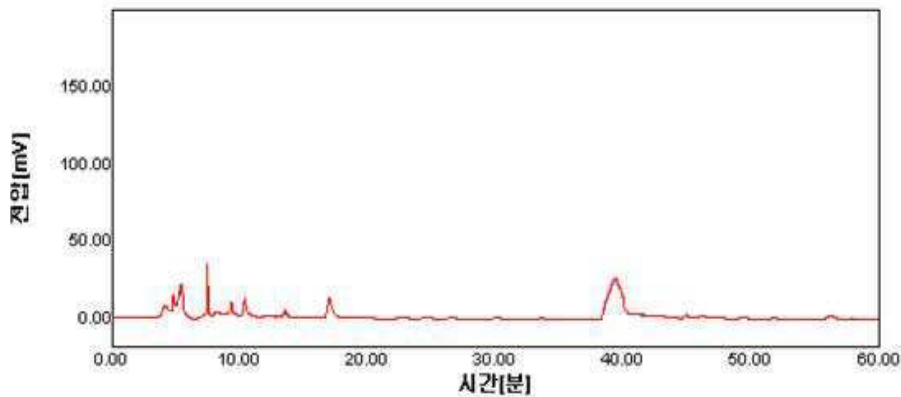
[0100] 폴리비닐알코올 13.00

- [0101] L-아스코르빈산-2-인산마그네슘염 1.00
- [0102] 라우로일히드록시프롤린 1.00
- [0103] 수용성 콜라겐 (1% 수용액) 2.00
- [0104] 1,3-부틸렌글리콜 3.00
- [0105] 에탄올 5.00
- [0106] 정제수 잔량
- [0107] (단위: 중량%)
- [0108] [제형예 4] 미용액형 제제
- [0109] 실시예 1의 효소처리 비자 추출물 2.00
- [0110] 히드록시에틸렌셀룰로오스 (2% 수용액) 12.00
- [0111] 크산탄검 (2% 수용액) 2.00
- [0112] 1,3-부틸렌글리콜 6.00
- [0113] 진한 글리세린 4.00
- [0114] 히알루론산나트륨 (1% 수용액) 5.00
- [0115] 정제수 잔량
- [0116] (단위: 중량%)

[0117] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

도면1



도면2

