



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년02월05일
(11) 등록번호 10-2763933
(24) 등록일자 2025년02월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/97 (2017.01) A23L 33/105 (2016.01)
A61K 36/48 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 8/97 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2016-0175886
(22) 출원일자 2016년12월21일
심사청구일자 2021년09월29일
(65) 공개번호 10-2018-0072381
(43) 공개일자 2018년06월29일
(56) 선행기술조사문헌
KR100729832 B1*
KR1020110027293 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
주식회사 엘지생활건강
서울특별시 종로구 새문안로 58 (신문로2가)
(72) 발명자
이소영
대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)
진무현
대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)
(74) 대리인
특허법인필앤은지

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 정영선

(54) 발명의 명칭 투탕카멘 완두 추출물을 포함하는 피부 상태 개선용 조성물

(57) 요약

본 발명은 피부 상태 개선용 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 피부 재생, 피부 탄력 개선, 피부 주름 방지 또는 개선, 피부 노화 방지 또는 개선, 피부 염증 개선, 피부 보습 및/또는 피부 미백용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 투탕카멘 완두 추출물은 피부의 섬유아세포의 콜라겐 합성을 촉진하여 피부 재생효과, 주름 개선 효과, 피부 보습 효과, 자유 라디칼 생성을 억제하여 항산화 효과, NO 생성을 억제하여 항염증 효과 및 멜라닌 합성을 억제하여 미백 효과를 나타냄으로써 피부 상태 개선용 조성물로 사용 가능하다. 또한, 본 발명의 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 함유하는 조성물은 피부 질환 예방 또는 치료 효과가 우수하다.

(52) CPC특허분류

A61K 36/48 (2013.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
A61Q 19/02 (2013.01)
A61Q 19/08 (2013.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/318 (2013.01)

(72) 발명자

장윤희

대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)

원지희

대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)

황승진

대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)

이정호

서울특별시 강남구 삼성로 212, 31동 903호 (대치동, 은마아파트)

이기철

인천광역시 연수구 신송로118번길 6, 108동 1501호 (송도동, 송도풍림아이원1단지아파트)

명세서

청구범위

청구항 1

투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 피부 염증 개선 또는 피부 미백용 화장료 조성물.

청구항 2

투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 피부 염증 개선 또는 피부 미백용 의약품 조성물.

청구항 3

투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 피부 염증 개선 또는 피부 미백용 건강기능식품 조성물.

청구항 4

투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하며,
 피부 상처, 피부 흉터, 피부 염증 및 피부 색소 침착으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 피부 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,
 상기 투탕카멘 완두 추출물은 물, C₁ 내지 C₄의 알코올, 1,3-부틸렌글리콜 및 에틸아세테이트로 이루어진 군에서 선택되는 1 종 이상의 용매로 추출된 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,
 상기 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물은 조성물 총 중량 대비 0.0001 내지 50 중량% 포함된 것을 특징으로 하는 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 피부 상태 개선용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 세포 외 기질(extracellular matrix)의 주요 구성성분인 콜라겐은 피부의 섬유아세포에서 생성되는 주요 기질 단백질이다. 또한, 생체 단백질 총 중량의 약 30%를 차지하는 중요한 단백질로서 견고한 3중 나선 구조로 되어 있다. 콜라겐은 피부, 건(tendon), 뼈 및 치아의 유기물질의 대부분을 형성하는데, 특히 뼈와 피부(진피)에 그 포함량이 높다. 대부분의 다른 체내 구조물에서는 섬유상 봉입체로서 존재한다.

[0003] 콜라겐은 비교적 약한 면역원인데, 이는 콜라겐의 나선구조에 의한 잠재성 항원 결정인자의 차폐가 그 일부 원인이고, 이 나선구조는 또한 콜라겐이 단백질 분해에 대한 내성을 갖도록 한다. 콜라겐의 주된 기능으로는 피부의 기계적 견고성, 결합조직의 저항력과 조직의 결합력, 세포 접착의 지탱, 세포 분할과 분화(유기체의 성장 혹

은 상처 치유시)의 유도 등이 알려져 있다(비특허문헌 1).

- [0004] 이러한 콜라겐은 연령 및 자외선 조사에 의한 광노화에 의해 감소하며, 이는 피부의 주름 형성과 밀접한 연관이 있다고 알려져 있다(비특허문헌 2). 또한 콜라겐은 상처치유에 있어서 중요한 역할을 담당하며, 손상된 상피에서 콜라겐의 합성을 촉진시켜서 상처를 신속하고 흉터 없이 회복시킬 수 있다.
- [0005] 또한, 콜라겐은 진피층 내의 수분 보유에 중요한 역할을 하는 기질 단백질로 이러한 기질 단백질이 수분을 흡착하며, 이들이 이루는 구조 내부에 수분 보유력을 높여 피부가 적정 수분을 함유한 상태를 유지할 수 있도록 해주며(즉, 피부 보습), 이를 통해 피부의 탄력을 유지하는데 관여한다고 알려져 있다.
- [0006] 종래에는 콜라겐의 피부 보습 효과 및 상처 치유 효과를 이용하기 위하여 화장품 또는 연고 등과 같은 피부외용제 조성물에 콜라겐을 배합한 제품들이 출시되어 있으나, 이들 제품들은 콜라겐 자체를 피부 표면에 도포하는 것으로서 고분자 물질인 콜라겐의 경피 흡수가 어려워 보습작용 또는 상처치유 효과를 기대할 수 없으므로 본질적인 피부기능 개선 및 상처치유의 기능을 나타낸다고 말할 수 없었다.
- [0007] 이러한 문제를 해결하기 위하여 콜라겐 합성 촉진 물질에 대한 관심이 높아졌으며, 종래에 알려진 콜라겐 합성 촉진 물질로는 비타민 C, 레티노익산(retinoic acid), 발암증식인자(비특허문헌 3), 동물 태반 유래의 단백질(특허문헌 1), 베틀린산(betulinic acid)(특허문헌 2), 클로렐라 추출물(특허문헌 3 및 4) 등이 있다.
- [0008] 그러나 이들 물질은 피부 적용시 자극, 발적 등의 안전성 문제로 사용량의 제한이 있거나, 효과가 미미하여 실질적으로 피부기능 개선 또는 상처 치유의 효과를 기대할 수 없었다. 따라서, 기존의 피부외용제 조성물보다 생체에 안전하고 효과가 높은 새로운 피부외용제 조성물의 개발이 절실히 요구되고 있다.
- [0009] 사람의 피부색을 결정하는 멜라닌(melanin)은 멜라노사이트(melanocyte)에서 생성된다. 구체적으로 멜라닌은 생체 내 존재하는 아미노산인 티로신(tyrosine)을 기질로 하여, 멜라노사이트에 존재하는 티로시나제(tyrosinase) 등의 효소에 의한 중합화 산화 반응으로 형성되는 흑갈색의 색소이다. 이렇게 형성된 멜라닌은 멜라노사이트의 수지상 돌기를 통하여 케라티노사이트(keratinocyte)라는 표피세포로 이동하게 된다. 케라티노사이트로 이동한 멜라닌은 케라티노사이트가 표피에서 떨어져 나갈 때에 피부에서 함께 떨어져 나갈으로써 제거될 수 있다. 그러나 생체 내에 멜라닌을 분해하는 효소가 없기 때문에 한번 형성된 멜라닌은 생체 내에서는 분해되지 않는다. 따라서, 피부를 밝게 하기 위하여는 멜라닌의 생성을 억제하는 것이 관건이라 할 수 있다.
- [0010] 화장품으로서의 미백제의 연구는 최근 정서적으로 흰 피부를 선호하는 동양권의 생활 수준 향상과 더불어 피부 흑화가 자외선에 의한 피부 노화로 인식되면서 그 필요성이 점차 증대되고 있다. 그에 따라 아스코르브산(ascorbic acid), 하이드로퀴논(hydroquinone), 글루타치온(glutathione), 알부틴(arbutin) 등의 티로시나아제 저해 활성을 나타내는 물질들이 화장품이나 의약품에 배합되어 사용되어 왔으나(특허문헌 5 및 6), 이들 중 대부분의 것은 효과가 불충분하거나 제형상 불안정한 면이 있어 활용도가 떨어진다. 특히 하이드로퀴논과 같은 화합물은 강한 탈색 작용을 나타내며 그 자체가 피부 감작성을 가지고 있어 피부 알레르기 등을 유발할 수 있고, 정상적인 피부의 기능을 변화시켜 백반증을 유발하는 등의 부작용을 나타내어 피부에 대한 안전성 측면에서 그 사용이 제한되고 있다.
- [0011] 또한, 상기와 같이 티로시나아제의 활성을 저해하는 물질이라 하더라도 이러한 물질이 각질 형성 세포인 케라티노사이트에 작용하여 멜라닌의 생합성을 촉진시키는 인자의 생성을 증가시킨다면, 결과적으로 미백 작용은 약화되거나 오히려 약효과를 거둘 수 있기 때문에 단순히 티로시나아제의 활성 저해제가 좋은 미백제라고 볼 수 없으며, 이에 많은 티로시나아제 저해제가 개발되고 있으나 거의 대부분이 우수한 미백 효과를 나타내지 않는 것으로 알려져 있다.
- [0012] 피부가 과도한 자외선이나 오염물질 등에 노출되거나 스트레스, 질병 등의 요인으로 인해 체내의 자유라디칼이 활성화되면 피부 세포 및 조직의 손상을 촉진시켜 피부 주름의 증가 등 피부노화 증상이 가속화된다. 구체적으로 말하면, 자유라디칼에 의해 피부의 주요 구성물질인 지질, 단백질, 다당류 및 핵산 등이 산화되는 경우 피부 세포 및 조직이 파괴되고, 그에 따른 피부노화 현상이 일어난다. 특히 단백질이 산화되는 경우 피부의 결합조직인 콜라겐(collagen), 히아루론산(hyaluronic acid), 엘라스틴(elastin), 프로테오글리칸(proteoglycan), 피브로넥틴(fibronectin) 등이 절단되어 과다 염증반응을 일으키고 피부 탄력에 지장을 준다. 또한, 단백질 손상이 일어난 피부 세포는 그 기능을 원활히 수행할 수 없게 되어 세포의 대사활성이 저하되고, 이러한 기능적, 구조적 손상으로 주름이 생기게 되어 이들로 인해 피부노화가 더욱 촉진된다. 그러므로 신체의 대사 과정 중 발생하는 자유라디칼이나 자외선 조사, 염증반응에 의해 매개되는 자유라디칼을 소거하여 세포막을 보호하는 한편, 이미 손상 받은 세포는 활발한 신진대사에 의해 재생시켜서 세포를 증식시켜야 피부는 빠르게 회복되고 건강한 피

부를 유지할 수 있다.

- [0013] 따라서 종래에는 수퍼옥사이드 디스뮤테이즈(SOD), 비타민 E 유도체, 아스코르브산 및 그 유도체, 플라보노이드(Flavonoid) 등의 항산화제를 화장품에 배합함으로써 피부노화 방지 효과를 얻어 보려는 노력이 많이 있었으나 피부 안전성 면에서나 화장품 배합시 안정성 면에서 문제점이 발생하여 그 사용이 제한되고 있다.
- [0014] 염증은 상처나 질병에 반응하는 인체의 면역 반응으로, 자외선이나 활성산소, 자유라디칼 등의 산화적 스트레스 등이 염증성 인자를 활성화시켜 각종 질병 및 피부의 노화를 일으킨다. 혈관 활성 폴리펩타이드인 키닌(kinin), 플라스민(plasmin), 보체(complement) 등이 혈관 확장과 수축 및 주화성(chemotaxis) 작용을 하고, 그 외에 인터루킨-6(IL-6) 등과 같은 림포카인과 아라키돈산(arachidonic acid) 등이 염증 반응을 담당한다. 아라키돈산은 싸이클로 옥시게나아제(cyclooxygenase) 혹은 리포옥시게나아제(lipoxygenase)의 2가지 경로를 거쳐 염증 매개체인 프로스타글란딘(prostaglandin), 류코트리엔(lukotriene)들로 대사되어 다양한 염증 반응을 매개한다.
- [0015] 한편, 염증을 소실시키기 위해 염증원의 제거, 생체 반응 및 증상을 감소시키는 작용을 하는 것을 항염제라 한다. 현재까지 항염의 목적으로 이용되고 있는 물질로는 비스테로이드계로 플루페나믹산(flufenamic acid), 이부프로펜(ibuprofen), 벤지다민(benzydamine), 인도메타신(indomethacin) 등이 있고 스테로이드 계통으로 프레드니솔론(prednisolone), 덱사메타손(dexamethasone) 등이 있다. 또한, 알란토인, 아즈엔, 하이드로코티손 등이 항염증에 효과가 있는 것으로 알려져 있으나, 이들 물질은 피부에 대한 안전성의 문제로 사용량의 제한이 있거나, 효과가 미미하여 실질적으로 염증 완화 효과를 기대할 수 없는 문제점이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0016] (특허문헌 0001) 일본공개특허공보 평8-231370호
- (특허문헌 0002) 일본공개특허공보 평8-208424호
- (특허문헌 0003) 일본공개특허공보 평9-40526호
- (특허문헌 0004) 일본공개특허공보 평10-36283호
- (특허문헌 0005) 대한민국등록특허공보 제10-0923141호
- (특허문헌 0006) 대한민국등록특허공보 제10-0921947호

비특허문헌

- [0017] (비특허문헌 0001) Van der Rest 등, Ann NY Acad Sci, 1990
- (비특허문헌 0002) Arthur K. Balin et al., Aging and the skin, 1989
- (비특허문헌 0003) Cardinale G. 35 al, Adv. Enzymol., 41, p.425, 1974

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0018] 따라서 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 위와 같은 문제점을 해결하고, 부작용이 적고 인체에 안전하면서도 피부 재생, 피부 탄력 개선, 피부 주름 방지 또는 개선, 피부 노화 방지 또는 개선, 피부 염증 개선, 피부 보습 또는 피부 미백 효과가 우수한 새로운 활성 성분, 즉, 활성 성분의 이러한 유용한 용도를 제공하는 것이다.
- [0019] 다시 말해, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 상기 효능이 우수한 활성 성분을 유효성분으로 포함하는 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0020] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피

부 재생, 피부 탄력 개선, 피부 주름 방지 또는 개선, 피부 노화 방지 또는 개선, 피부 염증 개선, 피부 보습 및/또는 피부 미백용 조성물, 바람직하게는 화장료 조성물, 약학적 조성물 또는 건강기능식품 조성물을 제공한다.

- [0021] 즉, 본 발명은 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물의 화장료 조성물, 약학적 조성물 또는 건강기능식품 조성물로서의 용도와 피부 재생, 피부 탄력 개선, 피부 주름 방지 또는 개선, 피부 노화 방지 또는 개선, 피부 염증 개선, 피부 보습 및/또는 피부 미백용이라는 새로운 용도를 제공한다.
- [0022] 본 발명의 발명자들은 천연에 존재하는 천연 자원들로부터 독성이 없고 피부 상태 개선 효과가 우수한 물질에 관하여 연구를 수행하였으며, 이에 투탕카멘 완두 추출물이 콜라겐 합성 촉진, 콜라게나아제 활성 억제, 멜라닌 합성 억제, 자유라디칼 소거, 세포 증식 촉진, NO 생성 억제 효능을 나타냄을 규명하여, 이를 활용한 피부 상태 개선용 조성물을 완성하였다.
- [0023] 본 발명에서 사용되는 투탕카멘 완두는 1990년 초 이집트 투탕카멘 왕묘 발견 당시에 출토된 완두의 증식본이다. 현재 재배되는 일반 완두는 흰색 꽃이 피며, 녹색의 깍지를 지니나, 이와는 다르게 붉은색의 꽃이 피며 보라색의 깍지를 지닌다. 분류학상으로 투탕카멘 완두(*Pisum sativum* var. *arvense* (L.) Poir.)는 일반 완두(*Pisum sativum* L.)와 다른 종으로 표기되며, 첫 명명자인 린네는 1753년 완두를 *Pisum sativum* L.로 명명하였으며, 붉은색완두를 *Pisum arvense* L.로 명명한 바 있다. 이후 1804년 Poiret.가 현 학명인 *Pisum sativum* var. *arvense* (L.) Poir.로 명명하였으나, 통상 변종이라 함은 지리적으로 다르지 않은 지역에서 나온 차이를 가진 종을 칭하는데, 상기 두 완두의 경우 지리적으로 같다는 보고는 없다.
- [0024] 본 발명의 투탕카멘 완두는 투탕카멘 완두라면 그 종류에 제한되지 않으며, 재배한 것을 사용하거나, 시중에서 구입한 것을 사용하는 등 그 출처에 제한 없이 모든 투탕카멘 완두를 사용할 수 있으며, 잎, 줄기, 뿌리, 종자 등 투탕카멘 완두의 모든 부위를 사용할 수 있다.
- [0025] 본 발명에서 사용되는 용어, "추출물"은 상기 투탕카멘 완두의 추출처리에 의하여 얻어지는 추출액, 상기 추출액의 희석액이나 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.
- [0026] 본 발명의 상기 투탕카멘 완두 추출물에 있어서, 상기 투탕카멘 완두를 추출하는 방법은 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 추출할 수 있다. 상기 추출 방법의 비제한적인 예로는, 용매 추출법, 열수 추출법, 초음파 추출법, 여과법, 환류 추출법 등을 들 수 있으며, 이들은 단독으로 수행되거나 2 종 이상의 방법을 병용하여 수행될 수 있다.
- [0027] 본 발명에서 상기 투탕카멘 완두를 추출하는 데에 사용되는 추출 용매의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있다. 상기 추출 용매의 비제한적인 예로는 물; 메탄올, 에탄올, 프로필알코올, 부틸알코올 등의 C₁ 내지 C₄의 저급 알코올; 글리세린, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 등의 다가 알코올; 및 메틸아세테이트, 에틸아세테이트, 아세톤, 벤젠, 헥산, 디에틸에테르, 디클로로메탄 등의 탄화수소계 용매; 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있으며, 바람직하게, 물, 저급알코올, 1,3-부틸렌글리콜, 에틸아세테이트를 단독으로 사용하거나 2종 이상 혼합하여 사용할 수 있다. 본 발명에서 투탕카멘 완두를 추출하는 용매로 보다 바람직하게는 물(또는 증류수):메탄올 또는 이들의 혼합용매를 사용할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 물(또는 증류수):메탄올을 1 : 1 내지 10, 바람직하게는 약 3:7 내외의 부피비로 혼합한 용매를 사용할 수 있다. 상기 용매를 사용하여 투탕카멘 완두를 1회 이상 추출하여 투탕카멘 완두의 용매 추출물을 제조할 수 있으며, 상기 용매 추출물을 감압 증류한 후 동결건조 또는 분무 건조하여 얻은 건조 추출물을 제조할 수 있다.
- [0028] 본 발명에서 열 추출 또는 냉침 추출한 추출물은 부유하는 고체 입자를 제거하기 위해 여과, 예를 들어 나일론 등을 이용해 입자를 걸러내거나 냉동여과법 등을 이용해 여과한 후, 그대로 사용하거나 이를 동결건조, 열풍건조, 분무건조 등을 이용해 건조시켜 사용할 수 있다.
- [0029] 본 발명에서 사용되는 용어, "분획물"은 여러 다양한 구성 성분들을 포함하는 혼합물로부터 특정 성분 또는 특정 성분 그룹을 분리하기 위하여 분획을 수행하여 얻어진 결과물을 의미한다.
- [0030] 본 발명에서 상기 분획물을 얻는 분획 방법은 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 수행될 수 있다. 상기 분획 방법의 비제한적인 예로는, 투탕카멘 완두를 추출하여 얻은 추출물에 소정의 용매를 처리하여 상기 추출물로부터 분획물을 얻는 방법을 들 수 있다.
- [0031] 본 발명에서 상기 분획물을 얻는 데에 사용되는 분획 용매의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야

에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있다. 상기 분획 용매의 비제한적인 예로는 물, 증류수, 알코올 등의 극성 용매; 헥산(Hexane), 에틸 아세테이트(Ethyl acetate), 클로로포름(Chloroform), 디클로로메탄(Dichloromethane) 등의 비극성 용매 등을 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합하여 사용될 수 있다. 상기 분획 용매 중 알코올을 사용하는 경우에는 바람직하게는 C₁ 내지 C₄의 알코올을 사용할 수 있다.

- [0032] 본 발명에 따른 조성물은 투탕카멘 완두 추출물을 유효성분으로 포함한다.
- [0033] 본 발명에 있어서 "유효성분으로 포함된다"는 의미는 본 발명에 따른 조성물로부터 피부 상태 개선 효과를 나타낼 수 있는 정도로, 추출물이 첨가되는 것을 의미하고, 피부 전달 및 안정화 등을 위하여 다양한 성분을 부성분으로 첨가하여 다양한 형태로 제형화(formulation) 가능함을 포함하는 의미이다.
- [0034] 본 발명에서, 상기 투탕카멘 완두 추출물은 조성물 총 중량 대비 0.0001 내지 50 중량% 포함될 수 있으며, 바람직하게는 0.0005 내지 10 중량% 포함될 수 있다. 상기 범위 내에서 우수한 피부 재생, 피부 탄력 개선, 피부 주름 방지 또는 개선, 피부 노화 방지 또는 개선, 피부 염증 개선, 피부 보습 또는 피부 미백 효능을 나타내는 이점이 있으며, 조성물의 제형이 안정화되는 이점이 있다.
- [0035] 본 발명에 따른 조성물은 생물학적 활성을 가지며, 피부 상태 개선에 우수한 효과를 발휘한다.
- [0036] 보다 구체적으로, 본 발명에 따른 조성물은 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하며 피부 상태 개선, 구체적으로 피부 재생, 피부 탄력 개선, 피부 주름 방지 또는 개선, 피부 노화 방지 또는 개선, 피부 염증 개선, 피부 보습 및/또는 피부 미백 효과가 있다.
- [0037] 본 발명에서 사용되는 용어, "피부 상태 개선"이란 피부 상태 개선, 구체적으로 피부 재생, 피부 탄력 개선, 피부 주름 방지 또는 개선, 피부 노화 방지 또는 개선, 피부 염증 개선 및/또는 피부 미백을 의미한다.
- [0038] 본 발명에서 사용되는 용어, "피부 재생"이라 함은 피부 외부 및 내부 원인에 의한 손상에 대하여 피부 조직이 회복되는 것을 말한다. 상기 외부 원인에 의한 손상은 자외선, 외부 오염 물질, 창상, 외상 등을 들 수 있으며, 상기 내부 원인에 의한 손상은 스트레스 등을 들 수 있다.
- [0039] 본 발명에서 사용되는 용어, "피부 탄력 개선"이라 함은 피부에 대한 탄력성이 증가되는 것으로, 피부 탄력의 손실을 억제 또는 저해하거나, 이미 감소된 탄력을 완화시키는 것을 말한다.
- [0040] 본 발명에서 사용되는 용어, "피부 주름 방지 또는 개선"이라 함은 피부에 주름이 생성되는 것을 억제 또는 저해하거나, 이미 생성된 주름을 완화시키는 것을 말한다.
- [0041] 상기 피부 재생, 피부 탄력 개선, 피부 주름 방지 또는 개선은 이에 한정되는 것은 아니지만 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물이 콜라겐의 총량을 효과적으로 증가시키는 효능이 있으며, 구체적으로 콜라게나아제 활성을 억제하는 효능을 나타내며, 콜라겐 총량 증가와 관련된 효소로서 상기 콜라게나아제인 MMP-1의 생성을 억제시키는 효능을 통해 확인할 수 있다.
- [0042] 상기 효능들과 관련하여 본 발명의 구체적인 일 실시예에 따르면 인간 섬유아세포에 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 농도별로 처리한 경우, 인간 섬유아세포에서 생산되는 콜라겐의 총량이 농도에 의존적으로 증가되는 것으로 확인되었다.
- [0043] 또 다른 실시예에 따르면, 인간 섬유아세포에 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 농도별로 처리한 후 콜라게나아제인 MMP-1을 생성시키는 것으로 알려진 물질인 TNF- α (tumor necrosis factor- α)를 처리한 경우, 인간 섬유아세포로부터 합성된 MMP-1의 양이 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물의 처리 농도에 의존적으로 저해되는 것으로 확인되었다.
- [0044] 본 발명에서 사용되는 용어, "피부 노화"란 활성 산소 증가에 의해 유발되는 모든 질환을 의미하며, 상기 피부 노화의 비제한적인 예로 주름, 피부의 처짐, 탄력성 감소 등을 들 수 있다.
- [0045] 본 발명에서 사용되는 용어, "피부 염증 개선"이란 면역 반응이 완화되어 NO 생성이 억제되는 모든 작용을 의미한다.
- [0046] 본 발명에서 사용되는 용어, "피부 미백"이란 멜라닌의 합성을 저해하여 멜라닌의 피부 침착을 억제하거나 방지하는 모든 작용을 의미한다.
- [0047] 본 발명에서 사용되는 용어, "피부 색소 침착"이란 멜라닌의 합성 증가로 인해 피부의 색깔이 어두워지는 모든 작용 또는 그러한 상태를 의미한다.

- [0048] 본 발명에서 사용되는 용어, "피부 보습"이란 피부에 수분을 공급하거나 수분의 증발을 차단하여 피부의 유연성을 유지하고 균일한 각질 탈락을 유도하여 매끈한 표면을 유지하게 하는 모든 작용을 의미한다. 본 발명에서 사용되는 용어, "피부 건조"란 피부에 수분이 부족한 상태를 포괄적으로 의미하는 용어이다.
- [0049] 본 발명에서 사용되는 용어, "개선"이란 상태의 완화 또는 치료와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0050] 본 발명의 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물은 멜라닌의 생성을 효과적으로 저해하는 효능이 있으며, 구체적으로 합성되는 멜라닌의 총량을 감소시키는 효능을 나타낸다.
- [0051] 멜라닌은 멜라노사이트에서 생성되는 흑갈색의 색소로서 사람의 피부색을 결정하며 멜라닌 색소억제로 피부를 밝게 하는 효능을 기대할 수 있다.
- [0052] 상기 효능과 관련하여 본 발명의 구체적인 일 실시예에 따르면, 마우스 멜라노마 세포(B-16 mouse melanoma cell)에 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 농도별로 처리한 경우, 멜라노마 세포의 멜라닌 함유량이 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물의 처리 농도에 의존적으로 감소되는 것으로 확인되었다.
- [0053] 본 발명의 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물은 우수한 피부 세포 활성화 효능을 나타낸다. 구체적으로 본 발명의 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물은 피부 세포 증식을 촉진하는 효능을 나타낸다.
- [0054] 상기 효능과 관련하여 본 발명의 구체적인 일 실시예에 따르면, 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 인간 섬유아세포에 처리한 경우, 인간 섬유아세포의 증식 촉진 효과가 나타나는 것으로 확인되었다.
- [0055] 본 발명의 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물은 우수한 항산화 효능을 나타낸다. 구체적으로 본 발명의 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물은 자유라디칼을 소거하는 효능을 나타내며, 특히 DPPH를 소거하는 효능이 우수하다.
- [0056] 자유라디칼은 생체 외부로부터 유입되거나, 생체 내에서 발생하는데 생체의 노화를 촉진시키거나, 암을 발생시키는 등 많은 문제의 원인이 된다.
- [0057] 상기 효능과 관련하여 본 발명의 구체적인 일 실시예에 따르면, 투탕카멘 완두 추출물에 DPPH를 첨가하여 방치한 경우, 우수한 자유라디칼 소거능을 나타내는 것으로 확인되었다.
- [0058] 또한, 본 발명의 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물은 우수한 항염증 효능을 나타낸다. 구체적으로 본 발명의 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물은 NO의 생성을 억제하는 효능을 나타내며, 특히 NO 생성 억제제로 알려진 L-NMMA와 같이 NO생성을 억제하는 효능이 우수하다.
- [0059] NO는 NOS(NO synthase) 효소에 의해 생성되는데 이러한 생성 과정은 IFN γ , TNF α , 그리고 LPS등 면역적 자극에 의해 활성화 될 수 있다.
- [0060] 상기 효능과 관련하여 본 발명의 구체적인 일 실시예에 따르면, 마우스 대식세포인 RAW264.7 세포에 투탕카멘 완두 추출물을 농도별로 처리한 후 면역 자극원으로 LPS(Lipopolysaccharide)를 처리한 경우, 생성되는 NO의 양이 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물의 처리 농도에 의존적으로 감소되는 것으로 확인되었다.
- [0061] 본 발명은 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 피부 탄력 개선, 피부 주름 방지 또는 개선, 피부 노화 방지 또는 개선, 피부 염증 개선, 피부 보습 및/또는 피부 미백용 화장품 조성물을 제공한다.
- [0062] 본 발명의 화장품 조성물은 용액, 외용 연고, 크림, 폼, 영양 화장수, 유연 화장수, 팩, 유연수, 유액, 메이크업 베이스, 에센스, 비누, 액체 세정료, 입욕제, 선 스크린 크림, 선 오일, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 로션, 파우더, 비누, 계면 활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 패취 및 스프레이로 구성된 군으로부터 선택되는 제형으로 제조할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0063] 본 발명의 상기 화장품 조성물은 일반 피부 화장품에 배합되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체를 1 종 이상 추가로 포함할 수 있으며, 통상의 성분으로 예를 들면 유분, 물, 계면 활성제, 보습제, 저급 알코올, 증점제, 킬레이트제, 색소, 방부제, 향료 등을 적절히 배합할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0064] 본 발명의 화장품 조성물에 포함되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체는 화장품 조성물의 제형에 따라 다양하다.

- [0065] 본 발명의 제형이 연고, 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는, 담체 성분으로서 동물성 유, 식물성 유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화 아연 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0066] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는, 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실케이트, 폴리아미드 파우더 등이 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로하드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진제를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0067] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는, 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제 등이 이용될 수 있으며, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일 등이 이용될 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 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0068] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는, 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타하이드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0069] 본 발명의 제형이 비누인 경우에는, 담체 성분으로서 지방산의 알칼리 금속 염, 지방산 헤미에스테르 염, 지방산 단백질 히드롤리제이트, 이세티오네이트, 라놀린 유도체, 지방족 알코올, 식물성 유, 글리세롤, 당 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0070] 또한, 본 발명은 투탕카멘 원두 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 피부 탄력 개선, 피부 주름 방지 또는 개선, 피부 노화 방지 또는 개선, 피부 염증 개선, 피부 보습 및/또는 피부 미백용 의약품 조성물을 제공한다.
- [0071] 본 발명에서 사용되는 용어 "의약외품"은 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 개선, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 물품들 중 의약품보다 작용이 경미한 물품들을 의미하는 것으로, 예를 들어 약사법에 따르면 의약외품이란 의약품의 용도로 사용되는 물품을 제외한 것으로, 사람·동물의 질병 치료나 예방에 쓰이는 제품, 인체에 대한 작용이 경미하거나 직접 작용하지 않는 제품 등이 포함된다.
- [0072] 본 발명의 상기 의약외품 조성물은 바디 클렌저, 폼, 비누, 마스크, 연고제, 크림, 로션, 에센스 및 스프레이로 이루어진 군에서 선택되는 제조할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0073] 또한, 본 발명은 투탕카멘 원두 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 피부 탄력 개선, 피부 주름 방지 또는 개선, 피부 노화 방지 또는 개선, 피부 염증 개선, 피부 보습 및/또는 피부 미백용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0074] 본 발명의 상기 건강기능식품 조성물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.
- [0075] 상기 식품의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 비제한적인 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.
- [0076] 본 발명의 상기 건강기능식품 조성물이 음료 조성물인 경우, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비제한적인 예로 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 수크로오스와 같은 디사카라이드; 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파탐과 같은 합성 감미제 등을 들 수 있다. 상기 첨가되는 추가 성분의 비율은 당업자의 선택에 의해 적절하게 결정될 수 있다.
- [0077] 상기 외에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그

의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 천연 과일 주스, 과일 음료 또는 야채 음료 등의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 사용되거나 2 이상을 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가물의 비율 또한 당업자에 의해 적절히 선택될 수 있다.

- [0078] 또한, 본 발명은 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피부 재생, 피부 탄력 개선, 피부 주름 방지 또는 개선, 피부 노화 방지 또는 개선, 피부 염증 개선, 피부 보습 및/또는 피부 미백용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0079] 또한, 본 발명은 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피부 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0080] 상기 피부 질환은 피부 상처, 피부 흉터, 피부 노화, 피부 염증 및 피부 색소 침착으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상을 포함한다.
- [0081] 본 발명의 상기 약학적 조성물에서, 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물에 관한 설명, 피부 노화, 피부 염증 및 피부 색소 침착에 관한 설명은 상기 설명한 바와 동일하다.
- [0082] 본 발명에서, 상기 피부 상처, 피부 흉터는 피부조직의 콜라겐 총량 증가로 인하여 치료할 수 있는 모든 질환을 의미한다. 상기 피부 상처, 피부 흉터의 비제한적인 예로 찰과상, 찰과상에 의해 야기되는 흉터 등을 들 수 있다.
- [0083] 본 발명에서, 상기 피부 염증 질환은 면역 자극에 의해 유발되는 모든 질환을 의미한다. 상기 피부 염증 질환의 비제한적인 예로 아토피 피부염, 습진, 지루성 피부염, 건선, 여드름 등을 들 수 있다.
- [0084] 본 발명에서, 상기 피부 색소 침착 질환은 멜라닌의 생성 증가로 인한 피부 색소 침착으로 유발되는 모든 질환을 의미한다. 상기 피부 색소 침착 질환의 비제한적인 예로 기미, 주근깨, 반점, 일광 색소반, 약물 사용 후의 색소 침착, 염증 후의 색소 침착, 임신성 색소 침착 등을 들 수 있다.
- [0085] 본 발명의 상기 약학적 조성물에서 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물의 유효 함량은 특별히 제한되지 않는다.
- [0086] 본 발명의 상기 약학적 조성물은, 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 유효 성분으로 함유하는 것에 더하여, 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다.
- [0087] 본 발명에서, 상기 "약학적으로 허용 가능"하다는 것은, 이를 투여 시 생물체를 자극하지 않으면서, 투여되는 화합물의 생물학적 활성 및 특성을 저해하지 않는, 약학 분야에서 통상적으로 사용될 수 있는 것을 의미한다.
- [0088] 본 발명의 상기 약학적 조성물은, 상기 담체와 함께 제제화되어, 식품, 의약품, 사료 첨가제, 음용수 첨가제 등으로 활용될 수 있다.
- [0089] 본 발명에서, 상기 담체의 종류는 특별히 제한되지 아니하며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다. 상기 담체의 비제한적인 예로는, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사 용액, 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 말토 텍스트린, 글리세롤, 에탄올 등을 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다.
- [0090] 또한, 본 발명의 상기 약학적 조성물은 필요한 경우, 부형제, 희석제, 향산화제, 완충액 또는 정균제 등 기타 약학적으로 허용 가능한 첨가제 들을 첨가하여 사용할 수 있으며, 충전제, 증량제, 습윤제, 봉해제, 분산제, 계면 활성제, 결합제 또는 율활제 등을 부가적으로 첨가하여 사용할 수 있다.
- [0091] 본 발명의 상기 약학적 조성물은 경구 투여 또는 비경구 투여를 위한 적합한 다양한 제형으로 제제화되어 사용될 수 있다.
- [0092] 상기 경구 투여용 제제의 비제한적인 예로는, 트로키제(troches), 로젠지(lozenge), 정제, 수용성 현탁액, 유성 현탁액, 조제 분말, 과립, 에멀전, 하드 캡슐, 소프트 캡슐, 시럽 또는 엘릭시르제 등을 들 수 있다.
- [0093] 본 발명의 상기 약학적 조성물을 경구 투여용으로 제제화하기 위하여, 락토오스, 사카로오스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아밀로펙틴(Amylopectin), 셀룰로오스(Cellulose) 또는 젤라틴(Gelatin) 등과 같은 결합제; 디칼슘 포스페이트(Dicalcium phosphate) 등과 같은 부형제; 옥수수 전분 또는 고구마 전분 등과 같은 붕괴제; 스테아르산 마그네슘(Magnesium stearate), 스테아르산 칼슘(Calcium stearate), 스테아릴 푸마르산 나트륨(Sodium

stearyl fumarate) 또는 폴리에틸렌 글리콜 왁스(Polyethylene glycol wax) 등과 같은 윤활유 등을 사용할 수 있으며, 감미제, 방향제, 시럽제 등도 사용할 수 있다.

- [0094] 나아가 캡슐제의 경우에는 상기 언급한 물질 외에도 지방유와 같은 액체 담체 등을 추가로 사용할 수 있다.
- [0095] 상기 비경구용 제제의 비제한적인 예로는, 주사액, 좌제, 호흡기 흡입용 분말, 스프레이용 에어로졸제, 구강용 스프레이제, 구강용 세정제, 치약제, 연고, 도포용 파우더, 오일, 크림 등을 들 수 있다.
- [0096] 본 발명의 상기 약학적 조성물을 비경구 투여용으로 제제화하기 위하여, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결 건조 제제, 외용제 등을 사용할 수 있으며, 상기 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.
- [0097] 또한, 보다 구체적으로 본 발명의 상기 약학적 조성물을 주사액으로 제제화하는 경우, 본 발명의 상기 조성물을 안정제 또는 완충제와 함께 물에서 혼합하여 용액 또는 현탁액으로 제조하고 이를 앰플(ampoule) 또는 바이알(vial)의 단위 투여용으로 제제화할 수 있다. 또한, 본 발명의 상기 약학적 조성물을 에어로졸제로 제제화하는 경우, 수분산된 농축물 또는 습윤 분말이 분산되도록 추진제 등이 첨가제와 함께 배합할 수 있다.
- [0098] 또한, 본 발명의 상기 약학적 조성물을 연고, 크림 등으로 제제화하는 경우에는, 동물성 유, 식물성 유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화 아연 등을 담체로 사용하여 제제화할 수 있다.
- [0099] 본 발명의 상기 약학적 조성물은 바람직하게는 비경구 투여용 제형으로 제제화될 수 있으며, 보다 바람직하게는 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 및 카타플라스마제로 이루어진 군에서 선택되는 제형을 갖을 수 있다.
- [0100] 본 발명의 상기 약학적 조성물의 약학적 유효량, 유효 투여량은 상기 약학적 조성물의 제제화 방법, 투여 방식, 투여 시간 및/또는 투여 경로 등에 의해 다양해질 수 있으며, 상기 약학적 조성물의 투여로 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 투여 대상이 되는 개체의 종류, 연령, 체중, 일반적인 건강 상태, 질병의 증세나 정도, 성별, 식이, 배설, 해당 개체에 동시 또는 이시에 함께 사용되는 약물 기타 조성물의 성분 등을 비롯한 여러 인자 및 의학 분야에서 잘 알려진 유사 인자에 따라 다양해질 수 있으며, 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 목적하는 치료에 효과적인 투여량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다. 본 발명의 상기 약학적 조성물의 투여는 하루에 1회 투여될 수 있고, 수회에 나누어 투여될 수 있다. 따라서 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0101] 본 발명의 상기 약학적 조성물의 바람직한 투여량은, 1일 1 mg/kg 내지 1,000 mg/kg일 수 있다.
- [0102] 본 발명의 상기 약학적 조성물의 투여 경로 및 투여 방식은 각각 독립적일 수 있으며, 그 방식에 있어 특별히 제한되지 아니하며, 목적하는 해당 부위에 상기 약학적 조성물이 도달할 수 있는 한 임의의 투여 경로 및 투여 방식에 따를 수 있다. 상기 약학적 조성물은 경구 투여 또는 비경구 투여 방식으로 투여할 수 있다.
- [0103] 상기 비경구 투여하는 방법으로는, 예를 들어 정맥 내 투여, 복강 내 투여, 근육 내 투여, 경피 투여 또는 피하 투여 등을 이용할 수 있으며, 상기 조성물을 질환 부위에 도포하거나 분무, 흡입하는 방법 또한 이용할 수 있으나 이들에 제한되지 아니한다.
- [0104] 본 발명의 상기 약학적 조성물은 바람직하게는 비경구 투여될 수 있으며, 보다 바람직하게는 피부 상태의 개선이나, 피부 질환을 예방, 개선 또는 치료할 필요가 있는 부위에 국소적으로 도포하는 방식으로 투여될 수 있다.
- [0105] 본 발명에서 사용되는 용어, "예방"이란, 본 발명의 상기 약학적 조성물을 개체에 투여하여 피부 상처, 피부 흉터, 피부 노화, 피부 염증 질환, 피부 색소 침착 질환, 피부 건조를 포함하는 피부 질환의 발병을 억제시키거나 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0106] 본 발명에서 사용되는 용어, "치료"란, 본 발명의 상기 약학적 조성물을 개체에 투여하여 피부 상처, 피부 흉터, 피부 노화, 피부 염증 질환, 피부 색소 침착 질환, 피부 건조의 증세가 호전되도록 하거나 이렇게 되도록 하는 모든 행위를 의미한다.
- [0107] 또한, 본 발명은 투탕카멘 완두(*Pisum sativum* var. *arvense* (L.) Poir.) 추출물 또는 이의 분획물을 유효 성분으로 함유하는 화장료 조성물, 의약외품 조성물 또는 식품 조성물을 개체에 투여하는 것을 포함하는, 피부 상태 개선 방법을 제공한다.

- [0108] 본 발명에서 용어, "개체"는 쥐, 가축, 인간 등을 포함하는 포유 동물을 비롯한 모든 동물을 의미한다.
- [0109] 본 발명에서, 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 유효 성분으로 함유하는 화장품 조성물, 의약품 조성물 또는 식품 조성물은 상기에서 설명한 바와 동일하며, 피부 상태 개선의 의미 역시 상기에서 설명한 바와 동일하다.
- [0110] 본 발명에서, 상기 조성물의 투여량, 투여 경로, 투여 방식 등에 관한 설명은, 본 발명의 상기 약학적 조성물과 관련하여 설명한 내용으로 같음한다.
- [0111] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 투탕카멘 완두(*Pisum sativum* var. *arvense* (L.) Poir.) 추출물 또는 이의 분획물을 유효 성분으로 함유하는 약학적 조성물을 개체에 투여하는 것을 포함하는, 피부 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [0112] 본 발명에서, 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 유효 성분으로 함유하는 약학 조성물은 상기에서 설명한 바와 동일하며, 개체, 피부 질환, 예방, 치료의 의미 역시 상기에서 설명한 바와 동일하다.
- [0113] 본 발명에서, 상기 약학 조성물의 투여량, 투여 경로, 투여 방식 등에 관한 설명은, 본 발명의 상기 약학적 조성물과 관련하여 설명한 바와 동일하다.

발명의 효과

- [0114] 본 발명의 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 함유하는 조성물은 피부 재생, 피부 탄력 개선, 피부 주름 방지 또는 개선, 피부 노화 방지 또는 개선, 피부 염증 개선, 피부 보습 또는 피부 미백 효능이 우수하다. 구체적으로 본 발명의 조성물은 콜라겐 총량 증가, 콜라게나아제 활성 감소, 멜라닌 총량 감소, 세포 증식 촉진, 자유라디칼 소거, 염증 반응 등을 억제하는 효능이 우수하다.
- [0115] 또한, 본 발명의 투탕카멘 완두 추출물 또는 이의 분획물을 함유하는 조성물은 피부 질환 예방 또는 치료 효과가 우수하다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0116] 이하, 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위하여 하기 실시예 등을 들어 설명한다. 그러나 본 발명에 따른 실시예들은 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며 본 발명의 범위가 아래에서 상술하는 실시예들에 한정되는 것으로 해석되어서는 안 된다. 본 발명의 실시예들은 본 발명의 구체적 이해를 돕기 위해 예시적으로 제공되는 것이다.

[0118] 투탕카멘 완두 추출물의 제조

- [0119] 본 발명자들은 투탕카멘 완두를 국립수목원 유용성 증식센터로부터 분양받고 투탕카멘 완두 추출물을 제조하기 위해, 투탕카멘 완두 종자를 분쇄하여 10g을 플라스크에 넣고 추출용매(증류수:메탄올 = 3:7) 100g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2 μ m의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 투탕카멘 완두 추출물을 제조하였다.

[0121] 실험예 1: 콜라겐 총량 증가 효과

- [0122] 본 발명자들은 투탕카멘 완두 추출물을 인간 유래 섬유아세포의 배양액에 첨가하여 세포수준에서 콜라겐 총량 증가 효과를 실험하였다.

- [0123] 구체적으로, 증가된 콜라겐 총량의 측정에는 PICP EIA kit(Procollagen Type I C-Peptide Enzyme ImmunoAssay KIT)를 이용하여 정량하였다. 실험전 인간 유래 섬유아세포를 대상으로 상기에서 제조한 바와 같은 투탕카멘 완두 추출물의 농도(μ g/ml)를 달리하여 세포독성을 평가(섬유아세포를 배양하여 MTT 시험을 하는 방법[참고문헌: Mossman T. (1983). Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth & Survival: application to proliferation & cytotoxicity assays. Journal of Immunological Methods 65, 55-63]) 하였으며, 세포독성이 없는 농도를 선정(10 μ g/ml 이하)하여 콜라겐 총량의 증가 정도를 평가하였다.

- [0124] 각각의 시료를 인간 섬유아세포의 배양 배지에 첨가하여 1일간 배양한 후, 배양액을 취하여 PICP EIA 키트로 각 농도에서의 콜라겐의 총량 증가 정도를 분광광도계를 이용하여 450 nm에서 측정하였다. 효과의 비교를 위하여 아무것도 첨가하지 않은 섬유아세포의 배양 배지(대조군)와 비타민 C를 최종 농도 52.8 μ g/ml이 되도록 첨가한 시료에 대하여 동일한 방법으로 콜라겐 총량의 증가 정도를 측정하였다. 콜라겐의 총량은 UV 흡광도로써 측정하

였으며, 콜라겐 총량의 증가율은 대조군에 대한 상대적인 콜라겐 총량의 비율로 계산하고, 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

[0125]

시료	흡광도 평균	콜라겐 증가율(%)
투탕카멘 완두 추출물(10 μg/ml)	635	139
투탕카멘 완두 추출물(5 μg/ml)	583	128
대조군(무첨가)	456	-
비타민C(52.8μg/ml)	552	121

[0126]

* 투탕카멘 완두 추출물의 콜라겐 총량 증가 효과(반복수=3)

[0128]

상기 표 1의 결과에서 볼 수 있듯이, 투탕카멘 완두 추출물은 콜라겐 합성을 촉진하여 콜라겐의 총량을 증가시키는 효능이 있으며, 특히 콜라겐 총량을 증가시키는 능력이 있는 것으로 알려진 비타민 C보다도 우수한 정도로 콜라겐 총량을 증가시키는 것으로 확인 되었다.

[0130]

실험예 2: 콜라게나아제 활성 억제 효과

[0131]

본 발명자들은 투탕카멘 완두 추출물에 대하여 콜라게나아제 활성 억제 효과를 다음과 같이 확인하였다.

[0132]

인간 정상 피부 세포인 섬유아세포를 24-웰 마이크로 플레이트에 각 웰당 2.5×10^4 세포가 되도록 접종하고, 10% 혈청 DMEM 배지 및 37℃의 조건에서 24시간 동안 배양한 후 10% 혈청 DMEM 배지를 제거하고 인산완충용액으로 1회 세척한 후 투탕카멘 완두 추출물을 첨가한 무혈청 DMEM 배지 및 대조군으로 투탕카멘 완두 추출물이 포함되지 않은 무혈청 DMEM 배지에서 30분 동안 추가로 배양하였다.

[0133]

시료 처리 30분 후 콜라게나아제인 MMP-1을 생성시키는 것으로 알려진 물질인 TNF-α(tumor necrosis factor-α) 50 ng/ml로 자극 후 24시간 배양하였다. 이때 TNF-α 무처리군과 처리군은 투탕카멘 완두 추출물이 포함되지 않은 대조군 중 TNF-α를 처리하지 않은 무처리군과 TNF-α를 처리한 처리군으로 하였다.

[0134]

각 웰의 상층액을 모아 MMP-1 분석 키트(Amersham, 미국)를 이용하여 새로 합성된 MMP-1의 양(ng/ml)을 측정하고, 콜라게나아제 활성 저해율은 하기 수학적 1에 따라 MMP-1 생성억제율(%)을 계산하였으며, 그 결과는 하기 표 2에 나타낸 바와 같다.

[0135]

음성 대조군의 MMP-1의 양은 TNF 무처리군의 MMP-1양을 의미하며 양성 대조군의 MMP-1의 양은 TNF 처리군의 MMP-1의 양을 의미하며 실험군의 MMP-1의 양은 투탕카멘 완두 추출물이 각 농도로 첨가된 군을 말한다.

[0136]

[수학적 1]

$$\left(1 - \frac{X-Z}{Y-Z}\right) \times 100$$

[0137]

MMP-1 생성 억제율(%) =

[0138]

(X = 실험군 MMP-1의 양, Y = 양성 대조군 MMP-1의 양, Z = 음성 대조군 MMP-1의 양)

표 2

[0140]

시료	MMP-1의 양(ng/ml)	저해율(%)
투탕카멘 완두 추출물(10 μg/ml)	11.38	54.27
투탕카멘 완두 추출물(5 μg/ml)	14.13	28.76
음성 대조군(TNF 무처리)	6.45	-
양성 대조군(TNF 처리)	17.23	-

[0141]

* 투탕카멘 완두 추출물의 콜라게나아제 활성 저해 효과(반복수=3)

[0143]

상기 표 2의 결과에서 볼 수 있듯이, 투탕카멘 완두 추출물은 콜라게나아제인 MMP-1의 우수한 저해 능력이 있음

을 알 수 있다.

[0145] **실험예 3: 미백 효과-멜라닌 총량 감소 효과 확인**

[0146] 본 발명자들은 투탕카멘 완두 추출물에 대하여 쥐의 멜라노마 세포(B-16 mouse melanoma cell)의 배양액에 첨가하여 세포 수준에서의 미백 효과를 실험하였다.

[0147] 투탕카멘 완두 추출물을 배양액에 최종농도가 5 µg/ml, 10 µg/ml이 되도록 하여 실험하였으며, 대조군인 알부틴은 100 µg/ml가 되도록 배지에 첨가하여 각각 B-16 멜라노마 세포에 처리하여 3일간 배양하였다.

[0148] 이후, 세포들을 트립신(trypsin) 처리하여 배양용기로부터 떼어내 원심분리 한 후 멜라닌을 추출하였다. 떼어낸 세포는 수산화 나트륨 용액(1N 농도) 1ml를 가하여 10분간 끓여 멜라닌을 녹이고 분광 광도계를 이용하여, 400나노미터(nm)에서 흡광도를 측정하여 생성된 멜라닌의 양을 측정하였다.

[0149] 상기 멜라닌 양은 단위 세포수당(10^6 세포수)의 흡광도로 나타내는 방법으로 측정하였으며, 대조군에 대한 상대적인 멜라닌 총량에 대한 저해율(%)로 계산하고 결과를 표 3에 나타내었다.

표 3

시료	멜라닌 총량(Abs)	저해율(%)
투탕카멘 완두 추출물(10 µg/ml)	0.062	24.39
투탕카멘 완두 추출물(5 µg/ml)	0.075	8.54
대조군(무첨가)	0.082	-
알부틴(100 µg/ml)	0.042	48.78

[0151] * 투탕카멘 완두 추출물의 멜라닌 총량 감소 효과(반복수=3)

[0153] 상기 표 3의 결과에서 볼 수 있듯이, 투탕카멘 완두 추출물은 낮은 농도에서도 멜라닌 합성을 저해하여 멜라닌의 총량을 감소시키는 효능이 나타났다.

[0155] **실험예 4: CCK-8 평가법을 통한 피부 세포 증식 촉진 효과 확인**

[0156] 본 발명자들은 투탕카멘 완두 추출물을 인간 유래 섬유아세포의 배양액에 첨가하여 세포 증식 촉진 효과를 실험하였다.

[0157] 인간 섬유아세포를 96-웰 마이크로 플레이트에 각 웰당 1×10^4 세포가 되도록 접종하고, 10% 혈청 DMEM 배지 및 37°C의 조건에서 24시간 동안 배양한 후 10% 혈청 DMEM 배지를 제거하고 인산완충용액으로 1회 세척하였다. 투탕카멘 완두 추출물을 첨가한 무혈청 DMEM 배지에서 2일간 배양한 후, 배양된 세포에 CCK-8(Cell counting kit-8) 평가를 실시하였다. CCK-8 평가는 세포 내 전자전달계 내의 탈수소효소(Dehydrogenase)가 테트라졸리움 염(Tetrazolium Salt)을 분해하여 생성하는 포르마잔(Formazan)의 흡광도를 측정하여 살아있는 세포의 밀도를 간접적으로 나타내는 분석방법이다. 효과의 비교를 위하여 아무것도 첨가하지 않은 섬유아세포의 배양 배지(대조군)와 5% 혈청 배양 배지(양성대조군)를 첨가한 시료에 대하여 동일한 방법으로 평가하였다.

[0158] 세포에 CCK-8 용액(배지부피의 1/10을 처리)을 37°C에서 1시간 30분 동안 처리한 후, 파장 450 nm에서의 흡광도를 측정함으로써 분광학적으로 측정하였다. 투탕카멘 완두 추출물의 피부 세포 증식 촉진 효과는 측정된 흡광도 값으로부터 대조군 대비 하기 수학적 2에 따라 증식율(%)을 구하고, 그 값을 하기 표 4에 나타내었다.

[0159] [수학적 2]

[0160] 세포수(%) = (시료처리군의 흡광도/대조군의 흡광도) × 100

표 4

시료	농도	대조군 대비 세포 증식율(%)
투탕카멘 완두 추출물	1 µg/ml	123
투탕카멘 완두 추출물	0.1 µg/ml	119
대조군(무혈청배지)	-	100
양성대조군(5%혈청배지)	-	150

[0163] * 세포 증식 촉진 효과(반복수=3)

[0165] 상기 표 4의 결과에서 볼 수 있듯이, 투탕카멘 완두 추출물은 아무 처리하지 않은 대조군에 비해 피부 세포의 증식을 촉진하는 것으로 확인되었으며, 식물의 단순 추출물이지만 낮은 농도에서도 우수한 세포 증식 촉진 효과가 나타났다.

[0167] **실험예 5: 항산화 효과-자유라디칼 소거율**

[0168] 본 발명자들은 투탕카멘 완두 추출물의 항산화 작용을 확인하기 위해 자유라디칼 소거 활성을 측정하였다. 자유라디칼 소거 활성은 DPPH를 이용하여 측정하였다. DPPH는 비교적 안정한 자유라디칼로서 라디칼 상태로 존재시 517 nm에서 최대 흡광을 보이며 라디칼이 소거되면 흡광성을 잃는다. DPPH는 시그마(Sigma Co., Ltd, 미국)사의 것을 사용하였으며, 0.15 mM의 농도로 메틸 알코올에 녹여 사용하였다.

[0169] 먼저, 상기 투탕카멘 완두 추출물 및 아스코르브산을 96-well 플레이트 각 웰에 100 µl씩 넣었다. 여기에 DPPH 용액을 100 µl씩 첨가한 다음 상온에서 30분간 방치한 후 Micro plate reader(BioTek EL-340)를 이용하여 517 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 이때, 상기 시료 대신 메틸 알코올을 첨가한 것을 대조군으로 하였다. 자유라디칼 소거능은 half maximal inhibitory concentration(억제중간값)인 IC₅₀을 구하여 그 결과를 하기 표 5에 나타내었다. IC₅₀은 무첨가 대조군의 자유라디칼을 50% 제거하는데 필요한 아스코르브산 및 투탕카멘 완두 추출물의 농도로서 자유라디칼 소거능을 표현하는 일반적인 방법이다.

표 5

구분	투탕카멘 완두 추출물	아스코르브산
IC ₅₀ (%)	0.0169	0.0007

[0172] 상기 표 5에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 투탕카멘 완두 추출물은 우수한 자유라디칼 소거능을 지님을 알 수 있었다.

[0174] **실험예 6: 항염증 효과-NO 생성 억제 효과**

[0175] 본 발명자들은 투탕카멘 완두 추출물의 항염증 효과 및 피부 트러블 완화 효과를 확인하기 위하여, RAW264.7 세포주(ATCC number: CRL-2278)를 이용한 GRIESS 법으로 nitric oxide(NO) 형성 억제력 실험을 실시하였다.

[0176] 구체적으로, 생쥐의 대식세포인 RAW264.7 세포를 수차례 계대 배양하고, 웰 하나에 3×10⁵ 개씩 들어가도록 24-웰 플레이트에 넣은 후, 24시간 동안 배양시켰다.

[0177] 이어서, 하기 표 7에 나타난 농도로 투탕카멘 완두 추출물을 희석하여 함유한 세포 배지로 교체하였다. 이때, NO-생성 억제물질인 L-NMMA(L-NG-Monomethylarginine)을 양성 대조군으로 함께 처리하여 30분 동안 배양하였고, 자극원으로 LPS(Lipopolysaccharide)를 10 µg씩 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 상층액을 100 µl씩 취해 96-웰 플레이트에 옮기고, GRIESS 용액을 100 µl씩 가해 상온에서 10분간 반응시키고, 540 nm에서의 흡광도를 측정함으로써 투탕카멘 완두 추출물의 NO 억제 효과를 판단하고, 그 결과를 하기 표 6에 나타내었다.

표 6

시료	NO 생성 억제율(%)
투탕카멘 완두 추출물(50 µg/ml)	41.89
투탕카멘 완두 추출물(5 µg/ml)	22.33
L-NMMA (10 ug/ml)	39.54

[0180] 상기 표 6에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 화장료 조성물에 사용되는 투탕카멘 완두 추출물은, 단순 추출물이지만 낮은 농도에서도 우수한 NO 생성 억제 효능을 나타냄을 확인할 수 있었다.