

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0087750
(43) 공개일자 2011년08월03일

(51) Int. Cl.
A61K 36/03 (2006.01) A61K 8/97 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0007322
(22) 출원일자 2010년01월27일
심사청구일자 2010년01월27일

(71) 출원인
재단법인 제주테크노파크
제주특별자치도 제주시 아라일동 4-8
(72) 발명자
현창구
제주특별자치도 제주시 일도2동 삼화아파트 나동 106호
문지영
제주특별자치도 제주시 노형동 1292-1 연동아파트 나동 212호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
강경찬

전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 콜라겐 생성 촉진용 피부 외용제 조성물

(57) 요약

본 발명은 꼬마모자반, 가시뻘대그물말, 붉은까막살, 주름붉은잎, 참도박, 지충이, 주름진두발, 까막살 및 톳으로 구성된 군에서 선택된 해조류의 추출물을 유효성분으로 포함하는 콜라겐 생성 촉진용 피부 외용제 조성물을 개시한다.

(72) 발명자

김동삼

제주 서귀포시 남원읍 신례리 2162-43번지

이육재

충청북도 청주시 흥덕구 개신동 개신푸르지오아파트 408동 504호

이남호

제주 제주시 아라2동 1148번지 프로빌아파트 104동 202호

특허청구의 범위

청구항 1

꼬마모자반, 가시뼈대그물말, 붉은까막살, 주름붉은잎, 참도박, 지충이, 주름진두발, 까막살 및 톳으로 구성된 군에서 선택된 해조류의 추출물을 유효성분으로 포함하는 콜라겐 생성 촉진용 피부 외용제 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 추출물은 그 추출 대상인 해조류를 물, 증류수, 에탄올 또는 이들의 혼합 용매로 추출하고 추출 용매를 제거하여 고형상의 추출물을 얻고 그 고형상의 추출물을 물층과 에틸아세테이트층으로 분획한 후 얻어지는 에틸아세테이트층 분획물인 것을 특징으로 하는 콜라겐 생성 촉진용 피부 외용제 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 콜라겐 생성 촉진용 피부 외용제 조성물은 피부 주름 개선 또는 피부 보습 용도로 사용되는 것을 특징으로 하는 콜라겐 생성 촉진용 피부 외용제 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 화장품 조성물인 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 비누 조성물인 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 약제학적 조성물인 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

명 세 서

기술 분야

[0001] 본 발명은 콜라겐 생성 촉진용 피부 외용제 조성물에 관한 것이다. 구체적으로 본 발명은 꼬마모자반 등 해조류의 추출물을 이용한 콜라겐 생성 촉진용 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 콜라겐은 피부의 섬유아세포에서 생성 분비되는 불용성 가교 단백질로서 세포외 간질에 존재하고, 생체 단백질

총중량의 30%를 차지한다.

- [0003] 콜라겐은 피부, 뼈, 연골, 혈관 등을 형성하는 주요 섬유성 단백질이며, 피부의 기계적 견고성, 결합조직의 저항력과 조직의 결합력, 세포 접착의 지탱, 세포분화와 분화의 유도 등이 그 주요한 기능으로 알려져 있다(*Ann N Y Acad Sci.* 1990;580:8-16).
- [0004] 특히 콜라겐은 진피층의 90% 이상을 구성하고 있어, 자외선, 스트레스, 활성 산소 등에 의하여 콜라겐이 파괴되면, 피부 탄력성이 감소하고 피부 주름이 발생하게 된다(*Arch Dermatol.* 1989;125(8):1150). 또한 콜라겐은 자체 수분 보유력을 가지기 때문에 콜라겐이 파괴되면 피부는 건조하고 거칠어지게 된다(*J Ginseng Res* 31(2):86-92, 2007; *Toxicol Appl Pharmacol* 195: 298-308, 2004).
- [0005] 따라서 콜라겐 생합성 촉진 물질은 화장품 원료로서 피부 주름을 방지하고 피부의 건조함을 개선하는 데 유용할 수 있다.
- [0006] 이러한 이유에서 콜라겐 생합성 촉진 물질을 찾고자 하는 노력이 이루어지고 있다. 예컨대 대한민국 공개 특허 제2009-0110726호는 콜라겐 생성 촉진 활성을 가지는 알로에 베라 겔의 한외 여과 투과액을 개시하고 있고, 대한민국 공개특허 2006-0037245호는 콜라겐 생성 촉진 활성을 가지는 우유 유래 염기성 단백질 분획 또는 여기에 단백질 가수분해소를 처리한 염기성 펩티드 분획을 개시하고 있다.
- [0007] 본 발명도 콜라겐 생성 촉진 활성을 가지는 해조류 추출물을 개시한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명의 목적은 콜라겐 생성 촉진용 피부 외용제 조성물을 제공하는 데 있다.
- [0009] 본 발명의 다른 목적이나 구체적인 양태는 이하에서 제시될 것이다.

과제의 해결 수단

- [0010] 본 발명자들은 아래의 실험예에서 확인되듯이, 꼬마모자반, 가시뽀대그물말, 붉은까막살, 주름붉은잎, 참도박, 지충이, 주름진두발, 까막살, 톳 등의 해조류 추출물을 사람의 섬유아세포 CCD-986SK에 처리할 경우 타입 I 콜라겐(type I collagen)의 생합성이 촉진됨을 확인할 수 있었다. 타입 I 콜라겐은 피부 탄력 및 피부 보습과 밀접한 관련성을 가지는 것으로 보고되어 있는 콜라겐이다(*J. Inv. Der.*, 98; 248-254, 1992; *Arch Dermatol* 138: 1462-1470, 2002).. 아래의 실험예에서 상기 해조류 추출물의 콜라겐 생합성 촉진 효과는 세포 증식 촉진 효과에 기인한 것이 아님을 확인할 수 있다.
- [0011] 본 발명은 이러한 실험 결과에 기초하여 완성된 것으로, 본 발명의 콜라겐 생성 촉진용 피부 외용제 조성물은 꼬마모자반, 가시뽀대그물말, 붉은까막살, 주름붉은잎, 참도박, 지충이, 주름진두발, 까막살 및 톳으로 구성된 군에서 선택된 해조류의 추출물을 유효성분으로 포함함을 특징으로 한다.
- [0012] 본 명세서에서, "콜라겐 생성 촉진용"의 의미는 전술한 바와 같이 콜라겐의 양이 피부 주름 및 피부 보습과 밀접한 상관성을 가지므로, "피부 주름 개선용" 및/또는 "피부 보습용"의 의미를 포함하는 의미이다. 따라서 상기 해조류 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 주름 개선용 피부 외용제 조성물 및/또는 상기 해조류 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 보습용 피부 외용제 조성물도 본 발명의 콜라겐 생성 촉진용 조성물에 포함하는 것으로 이해된다.
- [0013] 또 본 명세서에서, "해조류 추출물"은 추출 방법을 불문하고 상기 해조류를 메탄올, 증류수, 에탄올, 아세톤, 에틸아세테이트, 포화노말부탄올, 클로로포름, 메틸렌클로라이드, 물, 또는 이들의 혼합 용매로 추출하여 얻어진 조추출물과 그 조추출물을 상기 열거된 용매로 분획하여 얻어진 추출물을 포함하는 의미로서 이해된다. 추출 방법을 불문하므로, 추출 대상을 추출 용매에 침지시키는 단계를 통하여 추출되는 한, 추출 방법은 냉침, 환류, 가온, 초음파 방사 등 임의의 방식이 모두 적용될 수 있다. 그럼에도 상기 "해조류 추출물"은 바람직하게는 추출 대상인 해조류를 물, 증류수, 에탄올 또는 이들의 혼합 용매로 추출하고 추출 용매를 제거하여 고형상의 추출물을 얻고 그 고형상의 추출물을 물층과 에틸아세테이트층으로 분획한 후 얻어지는 에틸아세테이트층 분획물

을 말한다. 이러한 추출물 또는 분획물은 추출 용매 또는 분획 용매가 제거된 액상의 농축물이거나 고형물일 수 있다.

- [0014] 또한 본 명세서에서 "유효성분"이란 단독으로 목적하는 활성을 나타내거나 또는 그 자체는 활성이 없는 담체와 함께 활성을 나타낼 수 있는 성분을 의미한다.
- [0015] 본 명세서에서 특별히 정의되지 아니한 기타의 용어는 국어사전적 의미나 당업계에서 일반적으로 받아들여지고 있는 의미를 따른다.
- [0016] 한편 본 발명의 콜라겐 생합성 촉진용 조성물은 그 유효성분인 해조류 추출물을 콜라겐 생합성 촉진 활성을 나타낼 수 있는 한 용도, 제형, 배합 목적 등에 따라 임의의 양(유효량)으로 포함할 수 있는데, 통상적인 유효량은 조성물 전체 중량을 기준으로 할 때 0.001 중량 % 내지 20.000 중량 % 범위 내에서 결정될 것이다. 여기서 "유효량"이란 콜라겐의 생합성을 촉진할 수 있는 유효성분의 양을 말한다. 이러한 유효량은 당업자의 통상의 능력 범위 내에서 실험적으로 결정될 수 있다.
- [0017] 본 발명의 콜라겐 생합성 촉진용 피부 외용제 조성물은 구체적인 양태에 있어서 화장품 조성물로 파악할 수 있다.
- [0018] 본 발명의 조성물이 화장품 조성물로서 파악될 경우, 그 화장품 조성물은 다양한 형태로 제조될 수 있는데, 예컨대, 에멀전, 로션, 크림(수중유적형, 유중수적형, 다중상), 용액, 현탁액(무수 및 수계), 무수 생성물(오일 및 글리콜계), 젤, 마스크, 팩, 분말 등의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0019] 본 발명의 조성물은 그 유효성분을 포함하는 이외에 화장품 제제에 있어서 수용가능한 담체를 포함할 수 있다.
- [0020] 여기서 "화장품 제제에 있어서 수용가능한 담체"란 화장품 제제에 포함될 수 있는 이미 공지되어 사용되고 있는 화합물 또는 조성물이거나 앞으로 개발될 화합물 또는 조성물로서 피부와의 접촉시 인체가 적응 가능한 이상의 독성을 지니지 않는 것을 말한다.
- [0021] 상기 담체는 본 발명의 조성물에 그것의 전체 중량에 대하여 약 1 중량 % 내지 약 99.99 중량 %, 바람직하게는 조성물의 중량의 약 50 중량% 내지 약 99 중량 %로 포함될 수 있다.
- [0022] 그러나 상기 비율은 화장품의 전술한 바의 제형에 따라 또 그것의 구체적인 적용 부위(얼굴이나 손)나 그것의 바람직한 적용량 등에 따라 달라지는 것이기 때문에, 상기 비율은 어떠한 측면으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 이해되어서는 안 된다.
- [0023] 한편, 상기 담체로서는 알코올, 오일, 계면활성제, 지방산, 실리콘 오일, 습윤제, 보습제, 점성 변형제, 유제, 안정제, 자외선 차단제, 발색제, 향료 등이 예시될 수 있다.
- [0024] 상기 담체로서 사용될 수 있는 알코올, 오일, 계면활성제, 지방산, 실리콘 오일, 습윤제, 보습제, 점성 변형제, 유제, 안정제, 자외선 차단제, 발색제, 향료 로 사용될 수 있는 화합물/조성물 등은 이미 당업계에 공지되어 있기 때문에 당업자라면 적절한 해당 물질/조성물을 선택하여 사용할 수 있다.
- [0025] 본 발명의 조성물은 또 다른 구체적인 양태에 있어 비누 조성물로서 파악될 수 있다.
- [0026] 본 발명의 조성물이 비누 조성물로서 파악될 경우에, 본 발명의 비누 조성물은 비누 기재에 그 유효성분을 포함하여 제조될 수 있으며, 첨가제로서 피부 보습제, 유폴화제, 경수 연화제 등을 포함하여 제조될 수 있다.
- [0027] 상기 비누 기재로서는 야자유, 팜유, 대두유, 파마자유, 올리브유, 팜핵류 등의 식물유지 또는 우지, 돈지, 양지, 어유 등의 동물유지 등이 사용될 수 있고, 상기 피부 보습제로서는 글리세린, 에리트리톨, 폴리에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜, 펜틸렌글리콜, 헥실글리콜, 이소프로필미리스테이트, 실리콘 유도체, 알로에베라, 솔비톨 등이 사용될 수 있으며, 상기 유폴화제로서는 천연오일, 왁스 지방알콜, 탄화수소류, 천연식물 추출물 등이 사용될 수 있고, 상기 경수연화제로서는 테트라소듐 이디티에이 등이 사용될 수 있다.
- [0028] 본 발명의 비누 조성물은 또한 첨가제로서 향균제, 분산제, 거품억제제, 용매, 물때 방지제, 부식 방지제, 향료, 색소, 금속이온 봉쇄제, 산화방지제, 방부제 등을 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0029] 본 발명의 비누 조성물에 있어서, 비누 기재나 첨가제는 당업계에 일반적으로 사용되고 있는 함량으로 포함될 수 있는데, 비누 기재는 일반적으로 비누 조성물의 전체 중량을 기준으로 하였을 때 99.999 중량 % 내지 50 중량 %로 첨가될 수 있으며, 첨가제는 1 중량 % 내지 20 중량 %로 첨가될 수 있다.

- [0030] 본 발명의 조성물은 다른 구체적인 양태에 있어서 약제학적 조성물로 파악될 수 있다.
- [0031] 본 발명의 약제학적 조성물은 그 유효성분 이외에 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제 등을 포함하여, 국소형 제형 예컨대 크림, 로션, 연고(반고형의 외용약), 마이크로로에멀전, 젤, 페이스트, 경피제제(TTS)(예컨대 패치 제, 붕대 등) 등으로 제조될 수 있다.
- [0032] 상기에서 "약제학적으로 허용되는" 의미는 유효성분의 활성을 억제하지 않으면서 적용(처방) 대상이 적응가능한 이상의 독성을 지니지 않는다는 의미이다.
- [0033] 약제학적으로 허용되는 담체의 예로서는 락토스, 글루코스, 슈크로스, 전분(예컨대 옥수수 전분, 감자 전분 등), 셀룰로오스, 그것의 유도체(예컨대 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 등), 맥아, 젤라틴, 탈크, 고체 윤활제(예컨대 스테아르산, 스테아르산 마그네슘 등), 황산 칼슘, 식물성 기름(예컨대 땅콩 기름, 면실유, 참기름, 올리브유 등), 폴리올(예컨대 프로필렌 글리콜, 글리세린 등), 알긴산, 유화제(예컨대 TWEENS), 습윤제(예컨대 라우릴 황산 나트륨), 착색제, 풍미제, 안정화제, 항산화제, 보존제, 물, 식염수, 인산 염 완충 용액 등을 들 수 있다. 이러한 담체는 본 발명의 약제학적 조성물의 제형에 따라 적당한 것을 하나 이상 선택하여 사용할 수 있다.
- [0034] 부형제도 본 발명의 약제학적 조성물의 제형에 따라 적합한 것을 선택하여 사용할 수 있는데, 예컨대 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 히드로프로필메틸셀룰로오스, 알긴산 나트륨, 폴리비닐피롤리돈 등의 현탁제나 분산제 등을 들 수 있다.
- [0035] 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여될 수 있고, 바람직하게는 국소적으로 투여될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 약제학적 조성물은 그 1일 투여량이 통상 0.001 ~ 150 mg/kg 체중 범위이고, 1회 또는 수회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나, 본 발명의 약제학적 조성물의 투여량은 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중, 환자의 중증도 등의 여러 관련 인자에 비추어 결정되는 것이므로 상기 투여량은 어떠한 측면으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 이해되어서는 아니 된다.

발명의 효과

- [0037] 진술한 바와 같이, 본 발명에 따르면 콜라겐 생성 촉진용 피부 외용제 조성물을 제공할 수 있다. 본 발명의 콜라겐 생성 촉진 조성물은 피부 주름 개선 용도 또는 피부 보습 용도로 사용될 수 있으며, 화장품, 비누 등으로 제품화될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0038] 이하 본 발명을 실시예 및 실험예를 참조하여 설명한다. 그러나 본 발명의 범위가 이러한 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0039] <실시예> 해조류의 추출물 제조

- [0040] 아래 [표 1] 9종의 각 해조류를 80% 에탄올에 침지시켜 상온에서 24시간 동안 추출한 후 추출 잔사를 제거하고, 감압농축하여 추출 용매를 제거한 후 고형상의 추출물을 얻었다. 그 각 해조류의 고형상의 추출물 3g을 증류수 300ml와 에틸아세테이트 300ml에 넣고 상온에서 72시간 동안 추출하여 에틸아세테이트층을 감압농축하여 동결건조하였다. 각각의 시료는 분주하여 DMSO에 녹여 사용하였다.

표 1

- [0041] 추출에 사용된 해조류

Control	시료 번호	시료
<i>Sargassum nipponicum</i>	JBR243	꼬마모자반

<i>Dictyopteris prolifera</i>	JBR267	가시빠대그물말
<i>Prionitis cornea</i>	JBR268	붉은까막살
<i>Callophyllis crispata</i>	JBR354	주름붉은잎
<i>Grateloupia elliptica</i>	JBR510	참도박
<i>Sargassum thunbergii</i>	JBR511	지충이
<i>Chondrus crispus</i>	JBR514	주름진두발
<i>Carpopeltis affinis</i>	JBR519	까막살
<i>Hizikia fusiformis</i>	JBR538	톳

[0042] <실험예> 콜라겐 생합성 촉진 활성 실험 및 피부 주름 개선 임상실험

[0043] <실험예 1> 콜라겐 생합성 촉진 활성 실험

[0044] <1> 세포 배양

[0045] 실험에 사용한 사람의 섬유아세포(CCD-986SK, human fibroblasts)는 American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, . USA)에서 구입하였으며, 10%의 FBS(fetal bovine serum, Hyclone)와 1% Antibiotic-Antimycotic(Gibco)이 첨가된 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium.Hyclone)으로 37℃, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다.

[0046] <2> Type I collagen 합성 촉진 효과 실험

[0047] 사람 섬유아세포를 2×10^4 cell/well 농도로 96 well에 분주한 다음, 24시간 배양하였다. 배지를 버리고 serum free 배지로 시료를 희석하여 50μg/ml 농도로 넣고 24시간 배양하였다. 양성대조군으로 사용한 ascorbic acid는 200 μM의 농도로 처리하였다. 배양액을 수거하여 실험에 사용하였으며, 세포 배양액 내 콜라겐 합성량은 procollagen type I peptide EIA kit(Takara Biomedical Co.)를 사용하여 측정하였다. Anticody-POD conjugate solution 100 μl를 각 well에 넣은 다음 sample 및 standard 20 μl를 넣고 37℃에서 3시간 배양하였다. 반응이 끝나면 각 well에 배양액을 제거한 뒤 PBS(phosphate buffered saline) 400 μl로 4회 세척하였다. 기질용액 100 μl를 첨가하고 상온에서 15분간 반응시켰다. stop solution(1N H₂SO₄) 100 μl를 첨가하여 반응을 중지시킨 후 ELISA reader로 450nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준농도곡선을 작성하여 콜라겐 양을 확인하였다.

[0048] <3> 세포 생존율 평가 실험

[0049] 사람 섬유아세포를 2×10^4 cell/well 농도로 96 well에 분주한 다음 세포 배양 조건에서 24시간 배양한다. 배지를 버리고 serum free 배지로 시료를 희석하여 50μg/ml 농도로 넣고 24시간 배양하였다. 양성대조군으로 사용한 ascorbic acid는 200 μM의 농도로 처리하였다. MTT용액(2mg/ml 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyl-2H-tetrazolium bromide)을 각 well에 50ul씩 넣고, 4시간 동안 배양한다. 배양액을 제거한 다음 DMSO(dimethyl sulfoxide) 용액을 넣고, 10분간 흔들어 준 후 ELISA reader로 540nm에서 흡광도를 측정한다

[0050] <4> 결과

[0051] 상기 타입 I 콜라겐 생성 촉진 효과 실험 결과와 상기 세포 생존율 평가 실험 결과를 아래의 [표 2]에 나타내었다.

표 2

콜라겐 합성 촉진 효과 및 세포 생존율

Sample (50μg/ml)			콜라겐 합성 촉진 효과(%)	세포생존율 (%)
Control			100.0	100
<i>Sargassum nipponicum</i>	JBR243	꼬마모자반	163.6±5.6**	75.2
<i>Dictyopteris prolifera</i>	JBR267	가시빠대그물말	136.0±2.4**	109.2

<i>Prionitis cornea</i>	JBR268	붉은까막살	119.0±3.7**	56.2
<i>Callophyllis crispata</i>	JBR354	주름붉은잎	124.9±5.2**	64.2
<i>Grateloupia elliptica</i>	JBR510	참도박	145.1±6.1**	74.2
<i>Sargassum thunbergii</i>	JBR511	지층이	143.2±3.9**	128.1
<i>Chondrus crispus</i>	JBR514	주름진두발	115.1±1.8**	105.3
<i>Carpopeltis affinis</i>	JBR519	까막살	127.6±2.5**	107.9
<i>Hizikia fusiformis</i>	JBR538	톳	148.7±8.2**	81.7
Ascorbic acid (200 μ M)			140.1±3.2**	107.7
* p < 0.05, ** p < 0.01				

[0053] 상기 [표 2]의 결과는 9가지 해조류 추출물 모두 콜라겐 생합성 촉진 효과를 가짐을 보여준다. 이러한 콜라겐 생합성 촉진 효과는 상기 [표 1]의 세포 생존율에서 확인할 수 있듯이 세포 증식에 따른 효과가 아님을 알 수 있다.

[0054] **통계처리**

[0055] 효과 판정을 위해 one way ANOVA test를 이용하였고 사후검정을 위해 대조군과 비교하는 Dunnett's post hoc test를 사용하였다.