【명세서】

【발명의 명칭】

ABH 항원의 발현을 조절하는 물질을 포함하는 조성물

【기술분야】

<1> 본 발명은 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질을 포함하는 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 ABH 항원의 발현을 조절함으로써 피지의 생성 조절과 함께 피부 트러블을 개선할 수 있고, 항산화 효과를 제공하여 모공이 넓어지는 것을 예방하며, 또한 피부 자극의 생성을 방어할 수 있는 조성물에 관한 것이다.

【배경기술】

<2> 혈액형 항원은 혈액의 적혈구 표면의 당단백질 혹은 당지질에서 발견된 특정한 항원성을 띄는 구조를 말한다. 대표적으로 ABO식 혈액형 항원(ABH 항원), 루이스(Lewis)식 혈액형 항원 등이 있으며, 특정구조의 당질화 말단기 구조에 따라 혈액형이 결정된다. ABO식 혈액형 항원 및 루이스식 혈액형 항원은 적혈구에서만 발현되는 것이 아니라, 인체의 다양한 부위에서 발견되며, 특히 ABO식 혈액형 항원은 개인의 혈액형에 따라 몸 안의 식도, 위장, 소장 등의 상피에서도 발현되는 것이 알려져 있고, 피부에서는 표피의 과립층에서 발현된다.

<3> 이러한 ABO식 혈액형 항원의 표피의 과립층에서의 발현은, 해부학적인 위치상 피부의 가장 바깥층에서 나타나므로, 피부관련 질환, 특히 염증 질환과 밀접한 관계가 있다.

<4> 이와 같이, ABO식 혈액형 항원은 수혈과 장기이식의 거부반응의 주원인이 되는 매우 중요한 항원이지만, 1900년에 발견된 이래로 아직까지 거부반응 이외의 생리적 기능에 대해서는 연구된 바가 거의 없다.

【발명의 상세한 설명】

【기술적 과제】

<5> 이에 본 발명자들은 ABH 항원 발현의 조절이 피지 조절, 피부 트러블 개선, 모공 확대 예방 등과 관련이 있음을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

<6> 따라서, 본 발명의 목적은 ABH 항원의 발현을 조절함으로써 피지 조절 또는 피부 트러블 개선에 효과적인 조성물을 제공하는 것이다.

<7> 또한, 본 발명의 다른 목적은 ABH 항원의 발현을 조절함으로써 모공 축소 또는 확대 예방, 피부 노화 예방에 효과적인 물질을 포함하는 조성물을 제공하는 것이다.

【기술적 해결방법】

<8> 상기한 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질을 유효성분으로 포함하는 피지 조절용 조성물을 제공한다.

<9> 또한, 본 발명은 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질을 유효성분으로 포함하는 피부 트러블 개선용 조성물을 제공한다.

<10> 또한, 본 발명은 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질을 유효성분으로 포함하는 모공 축소용 조성물을 제공한다.

<11> 또한, 본 발명은 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질을 유효성분으로 포함하는 모공 확대 예방용 조성물을 제공한다.

<12> 또한, 본 발명은 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질을 유효성분으로 포함하는 피부 노화 예방용 조성물을 제공한다.

【유리한 효과】

<13> 본 발명의 조성물은 ABH 항원의 발현을 조절함으로써, 우수한 피지 조절 또는 피부 트러블 개선 효과를 제공함과 더불어, 활성 산소 제거와 콜라겐 합성 촉진을 통하여 모공을 축소시키며, 우수한 항산화력으로 인해 피부 자극의 생성을 방어하는 효과가 탁월하다.

【도면의 간단한 설명】

<14> 도 1은 ABH 항원 및 루이스식 혈액형 항원의 구조를 나타낸 것이다.

<15> 도 2는 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질에 의해 HaCaT 세포주에서 B 항원의 발현이 증가되는 것을 나타내는 것이다.

【발명의 실시를 위한 최선의 형태】

<16> 본 발명은 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질을 유효성분으로 함유하는 조성물에 관한 것이다.

<17> 특히, 본 발명의 조성물은 ABH 항원의 발현을 조절함으로써 피지 조절 또는 피부 트러블 개선 효과를 나타낸다.

<18> 또한, 본 발명의 조성물은 ABH 항원의 발현을 조절함으로써 모공 축소, 모공 확대 예방 또는 피부 노화 예방 효과를 나타낸다.

<19> 본 명세서에서, "ABH 항원"은 혈액의 적혈구 표면의 당단백질 혹은 당지질에서 발현된 특정한 항원성을 띄는 구조를 말하며, 대표적으로 ABH 항원은 도 1에 표현된 ABH 항원, 루이스식 혈액형 항원 등 ABH 항원 유사체의 집합체를 모두 포함하는 의미로 사용한다. ABH 항원 유사체는 단당류, 아미노산 등이 추가로 결합되어 있는 물질로서 ABH 항원 본래의 기능과 동일한 기능을 하는 물질을 의미한다. 도 1에 ABH 항원 및 루이스식 혈액형 항원의 구조를 나타내었다.

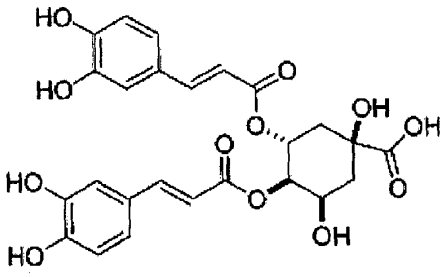
<20> 본 명세서에서 "유효성분"은 단독으로 목적하는 활성을 나타내거나 또는 그 자체 활성이 없는 담체와 함께 활성을 나타낼 수 있는 성분을 의미하는 것이다.

<21> 본 발명의 조성물에 있어서, 상기 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질은 ABH 항원의 발현을 증가시키는 물질을 포함한다.이러한 ABH 항원의 발현 증가는 구체적으로 HaCaT 세포주에서의 B 항원의 발현 증가를 통하여 나타나는 것일 수 있다.

<22> 본 발명의 조성물에 있어서, 상기 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질은 1,3-디카페오일퀴닉산(1,3-dicaffeoylquinic acid)(화학식 1), 1,5-디카페오일퀴닉산(1,5-dicafeoylquinic acid)(화학식 2) 및 아멘토플라본(amentoflavon)(화학식 3)으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 화합물, 이의 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 이의 염을 포함한다.

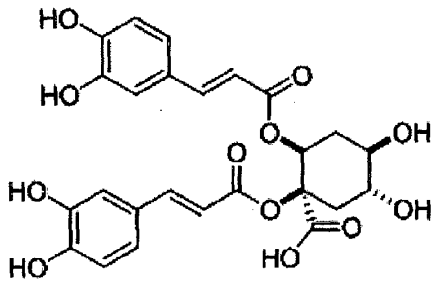
<23> 【화학식 1】

<24>



1,3-디카페오일퀴닉산

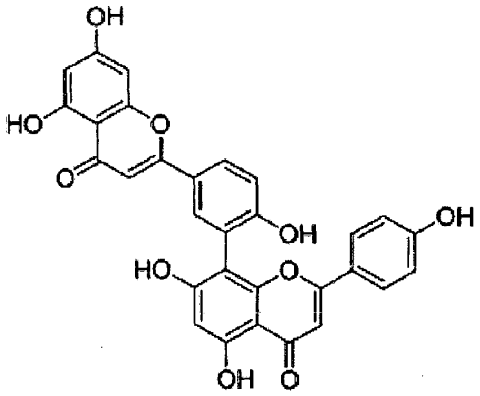
<25> 【화학식 2】



1,5-디카페오일퀴닉산

<26>

<27> 【화학식 3】



아멘토플라본

<28>

<29> 본 명세서에서 "유도체"는 상기 화합물의 치환 가능한 위치에서 다른 치환기로 변경되는 모든 화합물을 의미하는 것이며, 이러한 치환기의 종류에는 제한이 없다.

<30> 본 명세서에서 "약학적으로 허용가능"이란 통상의 의약적 복용량(medicinal dosage)으로 이용할 때 상당한 독성 효과를 피함으로써, 동물, 더 구체적으로는 인간에게 사용할 수 있다는 정부 또는 이에 준하는 규제 기구의 승인을 받을 수 있거나 승인 받거나, 또는 약전에 열거되거나 기타 일반적인 약전으로 인지되는 것을 의미한다.

<31> 본 명세서에서 "약학적으로 허용가능한 염"은 약학적으로 허용가능하고 모 화합물(parent compound)의 바람직한 약리 활성을 갖는 본 발명의 일 관점에 따른 염을 의미한다. 상기 염은 (1) 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등과 같은 무기산으로 형성되거나; 또는 아세트산, 프로파이온산, 헥사노산, 시클로펜테인프로피온산, 글라이콜산, 피루브산, 락트산, 말론산, 숙신산, 말산, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 3-(4-히드록시벤조일) 벤조산, 신남산, 만델산, 메테인설폰산, 에테인설폰산, 1,2-에테인-디설폰산, 2-히드록시에테인설폰산, 벤젠설폰산, 4-클로로벤젠설폰산, 2-나프탈렌설폰산, 4-톨루엔설폰산, 캄퍼설폰산, 4-메틸바이시클로 [2,2,2]-oct-2-엔-1-카르복실산, 글루코헵톤산, 3-페닐프로파이온산, 트리메틸아세트산, tert-부틸아세트산, 라우릴 황산, 글루콘산, 글루탐산, 히드록시나프토산, 살리실산, 스테아르산, 뮤콘산과 같은 유기산으로 형성되는 산부가염(acid addition salt); 또는 (2) 모 화합물에 존재하는 산성 프로톤이 치환될 때 형성되는 염을 포함할 수 있다.

<32> 본 발명의 조성물은 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질을 조성물 총 중량에 대하여 0.001중량% 내지 20중량%의 양으로 포함할 수 있다.

<33> 상기 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질을 상기 범위로 사용할 경우, 본 발명이 의도하는 효과를 나타내기에 적절할 뿐만 아니라, 조성물의 안정성 및 안전성을 모두 만족할 수 있으며, 비용 대비 효과의 측면에서 유용하다. 상기와 같은 관점에서, 본 발명의 조성물은 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질을 조성물 총 중량에 대하여 0.005중량% 내지 19.5중량%, 0.01중량% 내지 19중량%, 0.015중량% 내지 18.5중량%, 0.02중량% 내지 18중량%, 0.025중량% 내지 17.5중량%, 0.03중량% 내지 17중량%, 0.035중량% 내지 16.5중량%, 0.04중량% 내지 16중량% 또는 0.045중량% 내지 15.5중량%의 양으로 포함할 수 있다.

<34> 본 발명의 일 관점인 피지 조절용 조성물에 있어서, 상기 조성물은 5α-리덕테이즈의 발현을 억제할 수 있다. 구체적으로 본 발명의 조성물은 5α-리덕테이즈 유전자의 발현을 방해하여 억제 또는 저해시키거나, 5α-리덕테이즈 단백질의 활성을 저해하여 그 작용을 방해할 수 있다.

<35> 또한, 본 발명의 다른 관점인 모공 축소 또는 확대 예방용 조성물에 있어서, 상기 조성물은 활성 산소 제거와 콜라겐 합성을 촉진하여 모공을 축소시키고, 모공 확대 또는 피부 노화를 예방할 수 있으며, 또한 우수한 항산화력으로 인해 활성 산소종의 생성을 억제하여 피부 염증을 억제함으로써 피부 자극의 생성을 방어할 수 있다.

<36> 본 발명의 일 관점인 조성물에 있어서, 상기 조성물은 화장료 조성물일 수 있다.

<37> 상기 화장료 조성물은 제형이 특별히 한정되지 않으며, 목적하는 바에 따라 적절히 선택할 수 있다. 예를 들어, 유연화장수(스킨로션 및 밀크로션), 영양화장수, 에센스, 영양크림, 마사지크림, 팩, 젤, 에센스, 아이크림, 아이에센스, 클렌징크림, 클렌징폼, 클렌징워터, 팩, 파우더, 보디로션, 보디크림, 보디오일 및 보디 에센스로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 제형으로 제조될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 아울러, 상기 화장료 조성물은 연고, 패치 등의 형태로 피부 외용제의 제형으로 사용하는 것을 포함할 수 있다.

<38> 본 발명에 따른 화장료 조성물은 국소 적용에 적합한 모든 제형으로 제공될 수 있다. 예를 들면, 용액, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀젼, 유상에 수상을 분산시켜 얻은 에멀젼, 현탁액, 고체, 겔, 분말, 페이스트, 포말(foam) 또는 에어로졸 조성물의 제형으로 제공될 수 있다. 이러한 제형의 조성물은 당해 분야의 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있다.

<39> 본 발명에 따른 화장료 조성물은 상기한 물질 이외에 주 효과를 손상시키지

않는 범위 내에서, 바람직하게는 주 효과에 상승 효과를 줄 수 있는 다른 성분들을 포함할 수 있다. 또한 본 발명에 따른 화장료 조성물은 보습제, 에몰리언트제, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, pH 조정제, 유기 및 무기 안료, 향료, 냉감제 또는 제한제를 더 포함할 수 있다. 상기 성분의 배합량은 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 당업자가 용이하게 선정 가능하며, 그 배합량은 조성물 전체 중량을 기준으로 0.01중량 내지 5중량%, 구체적으로 0.01중량 내지 3중량%일 수 있다.

<40> 본 발명의 일 관점인 조성물에 있어서, 상기 조성물은 약학 조성물일 수 있다.

<41> 본 발명에 따른 약학 조성물의 제형은 용액제, 현탁제, 유액제, 겔, 점적제, 좌제, 패취 또는 분무제일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 제형은 당해 분야의 통상적인 방법에 따라 용이하게 제조될 수 있으며, 부형제, 수화제, 유화 촉진제, 현탁제, 삼투압 조절을 위한 염 또는 완충제, 착색제, 향신료, 안정화제, 방부제, 보존제 또는 기타 상용하는 보조제를 적당히 사용할 수 있다.

<42> 본 발명의 약학 조성물의 유효 성분은 투여 받을 대상의 연령, 성별, 체중, 병리 상태 및 그 심각도, 투여 경로 또는 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 적용량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 이의 1일 투여 용량은 예를 들어 0.000025mg/g/일 내지 0.025mg/g/일, 보다 구체적으로는 0.00025mg/g/일 내지 0.01mg/g/일이 될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

<43> 본 발명의 약학 조성물은 경구 또는 경피로 투여될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

<44> 또한, 본 발명은 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질을 스크리닝하는 방법을 제공하며, 상기 방법은

<45> 1) 시험 피부 세포에서 발현하는 ABH 항원의 발현 수준을 확인하는 단계;

<46> 2) 상기 시험 피부 세포에 후보 물질을 처리하는 단계;

<47> 3) 상기 2) 단계의 세포에서 ABH 항원의 발현 수준을 확인하는 단계; 및

<48> 4) 상기 1) 단계와 3) 단계의 결과를 비교하여 ABH 항원의 발현을 증가시키는 물질인지 여부를 결정하는 단계;

<49> 를 포함한다.

<50> 본 발명의 일 관점인 스크리닝 방법에 있어서, 상기 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질은 피지 생성 억제 또는 피부 트러블 완화 활성을 갖는 물질이다.

<51> 또한, 본 발명의 다른 관점인 스크리닝 방법에 있어서, 상기 ABH 항원의 발

현을 조절하는 물질은 모공 축소 또는 모공 확대 억제 활성을 갖거나, 또는 피부 노화 억제 활성을 갖는 물질이다.

<52> 본 발명의 방법에 있어서, 상기 ABH 항원의 발현을 조절하는 물질은 1,3-디카페오일퀴닉산(1,3-dicaffeoylquinic acid), 1,5-디카페오일퀴닉산(1,5-dicafeoylquinic acid) 및 아멘토플라본(amentoflavon)으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 화합물, 이의 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 이의 염을 포함한다.

【발명의 실시를 위한 형태】

<53> 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

<54>

<55> [시험예 1] HaCaT 세포주에서 B 항원의 발현증가 효과

<56> 다양한 종류의 화합물이 ABH 항원의 발현에 미치는 영향을 실험하였다. 이를 위하여, HaCaT 세포(provided by Prof. Dr. N.E. Fusenig, DKFZ Heidelberg, Germany)를 35mm 디쉬에서 10% FBS-DMEM으로 24시간 동안 배양한 후, 24시간 동안 0% FBS-DMEM으로 배양하여 기아 상태로 만들었다. 다시 0% FBS-DMEM으로 배지를 갈아주면서 시험 물질로서 다양한 종류의 화합물을 각각 2μg/ml의 농도로 HaCaT 세포에 처리한 후, 48시간 동안 배양하였다. 이 때 비교를 위하여 대조군은 DMSO를 시료와 동일한 농도로 처리하였다. 시험 물질 중 ABH 항원의 발현을 유의적으로 증가시키는 3가지 물질, 즉 1,3-디카페오일퀴닉산(1,3-dicaffeoylquinic acid), 1,5-디카페오일퀴닉산(1,5-dicafeoylquinic acid) 및 아멘토플라본(amentoflavon)을 확인하였으며(데이터 미제시), 이들 3가지 화합물을 처리한 경우에 있어서 세포에서 단백질을 추출하여 세포 용해물을 동량으로 로딩하여 웨스턴 블랏으로 B형 항원의 발현을 조사하였다. 대조군으로는 알파-튜블린 단백질을 사용하였다. 측정 결과는 도 2에 나타내었다.

<57> 도 2를 보면, 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본 모두 HaCaT 세포에서 B형 항원의 발현을 증가시키는 효과가 있음을 확인할 수 있다.

<58>

<59> [시험예 2] 5α-리덕테이즈 활성 억제 효과

<60> 5α-리덕테이즈 활성 억제 효과를 확인하기 위해서 HEK293-5αR2 세포에서 [^{14}C]테스토스테론이 [^{14}C]디하이드로테스토스테론으로 변환되는 비율을 측정하였다. HEK293 세포는 p3 x FLAG-CMV-5αR2를 형질감염(transfection)시켜서 24웰 플레이트에 웰당 2.5 x 10^5세포로 넣고 배양하였다(Park et al., 2003, JDS. Vol. 31, pp191-98). 다음날 효소 기질과 저해제가 들은 새로운 배지로 바꿔주었다. 배지의 기질로는 0.05μCi [^{14}C]테스토스테론(Amersham Pharmacia biotech, UK)을 사용하였다. 저해 정도를 확인하기 위해서 시험물질로서 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본을 각각 2μg/ml 넣고 2시간 동안 37℃, 5% CO_2배양기에서 배양하였다. 이때, 비교를 위하여 음성대조군으로는 상기 시험물질 중 어느 것도 함유하지 않은 것을 사용하고, 양성대조군으로는 피나스테라이드(Finasteride)를 배지에 2μg/ml 넣고 동일 조건에서 배양한 것을 사용하였다. 배양 배지를 수거하여 테스토스테론을 800㎕ 에틸아세테이트로 추출하였다. 상부의 유기용매층을 분리하여 말린 후에 남은 잔유물을 다시 50㎕ 에틸아세테이트로 녹여서 실리카 플라스틱시트 카이젤겔 60에프 254(Silica plastic sheet kieselgel F254) 상에서 전개용매로서 에틸아세테이트-헥산(1:1)을 사용하여 전개하였다.

<61> 플라스틱 시료를 공기 중에서 건조한 후, 동위원소의 양을 측정하기 위해 바스 시스템을 사용하였는데, 건조된 플라스틱 시트와 엑스레이 필름을 함께 바스 카셋트에 넣어 1주일 후에 필름에 남아 있는 테스토스테론과 디하이드로테스토스테론의 동위 원소양을 측정하였다. 그 결과는 하기 표1에 나타내었다.

<62> 【표 1】

시료	전환율(%)	저해율(%)
1,3-디카페오일퀴닉산	30	38
1,5-디카페오일퀴닉산	30	38
아멘토플라본	32	33
대조군	48	-
양성대조군(Finasteride)	27	44

<63> (1) 전환율: DHT영역에의 방사능/총 방사능

<64> (2) 저해율: 100*(대조군의 전환율-시료의 전환율) / 대조군의 전환율

<65>

<66> 상기 표 1의 결과로부터, 본 발명의 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본은 테스토스테론을 디하이드로테스토스테론으로 전환시켜 세포질 내에 있는 수용체 단백질과 결합해 핵 내로 들어가 피지선 세포를 활성화하고 분화를 촉진시킴으로써 피지선 내의 피지를 과분비시키는 5α-리덕테이즈의 활

성을 효과적으로 억제함으로써 테스토스테론의 디하이드로테스토스테론으로의 전환을 차단하는 것을 알 수 있었다.

<67> 따라서, 본 발명의 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본은 우수한 5α-리덕테이즈의 활성 억제 효과가 있어 피지의 과분비를 억제하는데 효과적이다.

<68>

<69> [참조예 1] 실시예 1~3 및 비교예 1의 제조

<70> 하기 표 2에 기재된 조성에 따라 로션 제형의 실시예 1~3 및 비교예 1을 통상적인 제조 방법으로 제조하였다(단위: 중량%).

<71> 【표 2】

번호	원료명	실시예1	실시예2	실시예3	비교예1
1	세테아릴알코올	1.0	1.0	1.0	1.0
2	친유형글리세릴스테아레이트	1.0	1.0	1.0	1.0
3	글리세릴스테아레이트SE	1.5	1.5	1.5	1.5
4	피토스쿠알란	3	3	3	3
5	하이드로지네이티드폴리데센	2	2	2	2
6	디메치콘	0.5	0.5	0.5	0.5
7	폴리소르베이트 60	1	1	1	1
8	소르비탄세스퀴올리에이트	0.4	0.4	0.4	0.4
9	메칠파라벤	0.1	0.1	0.1	0.1
10	프로필파라벤	0.05	0.05	0.05	0.05
11	정제수	To 100	To 100	To 100	To 100
12	부틸렌글리콜	5	5	5	5
13	폴리아크릴레이트-13* 폴리이소부텐* 폴리소르베이트 20	0.5	0.5	0.5	0.5
14	1,3-디카페오일퀴닉산	1	-	-	-
	1,5-디카페오일퀴닉산	-	1	-	-
	아멘토플라본	-	-	1	-

<72> <실시예 및 비교예의 제조방법>

<73> 1) 상기 11~14 성분을 70℃까지 가열하면서 균일하게 혼합하여 수상 파트를 제조하였다.

<74> 2) 상기 1~10 성분을 70℃까지 가열하면서 균일하게 혼합하여 유상 파트를 제조하였다.

<75> 3) 상기 1)의 수상 파트에 상기 2)의 유상 파트를 투입하고 7,200rpm에서 6분간 호모믹싱하였다.

<76> 4) 상기 3)의 혼합물을 실온까지 냉각하였다.

<77>

<78> [시험예 3] 피지 분비 억제 효과

<79> 상기 실시예 1~3 및 비교예 1의 피지 분비 억제 효과를 알아보기 위하여 다음과 같이 평가하였다. 피지분비가 많다고 느끼는 피험자 남녀 40명을 선정하여 10명씩 4개 군으로 나누고 각 군에 대하여 실시예 1~3 및 비교예1의 로션을 각각 지정된 부위에 4주간 매일 바르게 하였다. 피지 감소의 효과에 대한 판정은 피지량 측정기(Sebumeter815, Germany) 를 사용하여 측정하였으며, 그 결과는 하기 표 3에 나타내었다.

<80> 【표 3】

	실시예 1	실시예 2	실시예 3	비교예 1
2주 경과 후의 평균 피지 감소율(%)	17.2±3.4	15.4±2.5	18.7±3.6	5.2±2.1
4주 경과 후의 평균 피지 감소율(%)	18.5±3.2	17.2±2.8	20.5±4.2	5.4±2.5

<81> 상기 표 3의 결과로부터, 본 발명에 따른 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 또는 아멘토플라본을 함유하는 실시예 1 내지 3은 이들 물질을 함유하지 않은 비교예 1보다 과잉으로 분비되는 피지를 효과적으로 억제할 수 있음을 알 수 있다.

<82> 따라서, 본 발명에 따른 피부 외용제 조성물은 우수한 피지 분비 억제 효과가 있다.

<83>

<84> [시험예 4] 피부 염증 인자의 발현 감소 효과

<85> 본 발명의 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본의 피부 염증 인자인 PGE-2의 발현을 억제하는 효과를 측정하기 위해서 ELISA(EnzymeLinked ImmunoSorbent Assay)를 실시하였다(SE Dunsmore, et al., J Biol Chem, 271: 24576-24582, 1996).

<86> 사람의 표피조직에서 분리한 각질형성세포(keratinocyte)를 24-웰 시험플레이트에 5×10^4개씩 넣고 24시간동안 부착시켰다. FBS가 포함되지 않은 배지로 교체하고, 아스피린 처리를 하여 프로스타글란딘 생합성효소 (prostaglandin H2 synthetase, 또는 cyclooxygenase)의 활성을 제거하였다. 아스피린 처리 2시간 후에 각질형성세포가 들어있는 각 웰을 PBS 로 2회 세척하고, 각웰에 100㎕의 PBS를 넣었다. 이 각질형성세포에 자외선 B(UV B)램프(Model: F15T8, UV B15W, Sankyo Dennki社, Japan)를 이용하여 자외선 30mJ/cm^2를 조사한 후, PBS를 덜어내고 각 웰에 각질형성세포 배양액(keratinocyte growth media, Clonetics BioWhittacker社,MD,USA) 250㎕를 첨가하였다. 여기에 상기 물질 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카

페오일퀴닉산 및 아멘토플라본을 2μg/ml 만큼씩 처리한 후, 16시간 동안 배양하였다. 배양 상층액을 적당량 취하여 16시간 동안 생합성된 PGE-2를 정량함으로써, 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본 의 프로스타글란딘 억제효과를 판단하였다. PGE-2의 발현 억제 효과는 하기 수학식 1에 의하여 산출하였으며, 그 결과는 하기 표 4에 나타내었다.

<87> 【수학식 1】

PGE-2의 발현 억제율(%) = (A-B)/A*100

A: 시험물질을 첨가하지 않은 웰의 흡광도

<90> B: 시험물질을 첨가한 웰의 흡광도

<91>

<92> 【표 4】

구분	PGE-2 발현억제율(%)
대조군	-
1,3-디카페오일퀴닉산	28.1
1,5-디카페오일퀴닉산	32.5
아멘토플라본	30.9

<93> 상기 표 4의 결과로부터, 본 발명의 조성물에 함유되는 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본은 피부의 염증 인자인 PGE-2의 발현을 효과적으로 억제하는 것을 확인할 수 있다. 따라서, 본 발명의 조성물에 함유되는 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본은 피부 염증 인자의 발현을 억제하여 피부 트러블을 방지하는 효과가 우수함을 알 수 있다.

<94>

<95> [시험예 5] 활성 산소종(reactive oxygen species) 생성 억제 효과

<96> 사람의 표피 조직에서 분리한 각질형성세포(keratinocyte)를 24웰(well) 세포배양 플레이트의 각 웰에 5?0 ^{4}개를 넣고 24시간 동안 부착시켰다. 배양액을 제거한 후, 각 웰에 100㎕의 인산완충염액(PBS)을 넣었다. 이 각질형성세포에 자외선 B(UV B) 램프(Model: F15T8,UV B 15W, Sankyo Dennki社, Japan)를 이용하여 자외선 30mJ/㎠를 조사한 후, PBS를 덜어내고 각 웰에 각질형성세포 배양액 200㎕를 첨가하였다. 여기에 시험 물질로서 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본을 각각 2μg/ml 처리하고 일정 시간대별로 자외선 자극에 의해 증가한 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)의 양을 정량하였다. 이 때, 비교를 위하여 시험 물질을 처리하지 않고(무처리) 자외선 자극도 하지 않은 것 및 시험 물질을 처리하지 않고 자외선 자극을 한 것에 대한 활성 산소종의 양도 측정하였다.

ROS의 양은 ROS에 의해 산화되는 DCF-DA(dichlorofluorescin diacetate)의 형광을 측정하는 Tan의 방법을 참고하여 정량하였으며(Tan et al.,1998, J. Cell Biol. Vol. 141, pp1423-1432), 대조군의 ROS에 대한 비율을 하기 표 5에 나타내었다.

<97> 【표 5】

	UVB 30mJ/cm^2 조사 후 경과된 시간		
	0시간	2시간	3시간
무처리	100	244	287
UVB+무처리	100	325	381
UVB+1,3-디카페오일퀴닉산	100	277	319
UVB+1,5-디카페오일퀴닉산	100	280	315
UVB+아멘토플라본	100	288	320

<98> 상기 표 5에 나타낸 결과로부터, 본 발명의 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본은 자외선에 의해 피부 세포 손상을 일으키는 것으로 알려진 ROS의 생성을 효과적으로 억제한다는 것을 확인할 수 있으며, 따라서, 이들 물질은 항산화 효능이 뛰어나다는 것을 알 수 있다.

<99> 따라서, 본 발명의 조성물에 함유되는 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본은 활성 산소종의 생성을 억제하여 피부 염증을 억제함으로써 피부 자극의 생성을 방어할 수 있고, 또한 피부 세포 손상을 방지하여 피부 노화를 막음으로써 모공이 넓어지는 것을 예방할 수 있다.

<100>

<101> [시험예 6] 콜라겐 생합성 촉진

<102> 본 발명에서 사용되는 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본의 콜라겐 생합성 촉진 효과를 TGF-베타와 비교하여 측정하였다.

<103> 우선, 섬유아세포(fibroblast)를 24웰 플레이트의 각 웰에 10^5개씩 파종(seeding)하여 90% 정도 자랄 때까지 배양하였다. 이를 24시간 동안 무혈청 DMEM 배지로 배양한 후, 여기에 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본과 TGF-베타를 각각 2㎍/ml 로 처리하고 24시간 동안 CO_2배양기에서 배양하였다. 이들의 상층액을 떠내어 프로콜라겐 형(I) ELISA 키트(procollagen type(I))를 이용하여 프로콜라겐(procollagen)의 증감여부를 보았다. 그 결과를 표 6에 나타내었으며, 콜라겐의 합성능은 비처리군을 100으로 하여 대비하였다.

<104> 【표 6】

구분	콜라겐합성능(%)
비처리군	100
TNF-베타	183.5±13.1
1,3-디카페오일퀴닉산	142.1±13.1
1,5-디카페오일퀴닉산	144.2±11.0
아멘토플라본	147.7±15.8

<105> 상기 표 6에 나타낸 결과로부터, 본 발명의 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본은 양성대조군인 TGF-베타와 같이 높은 콜라겐 합성능을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

<106> 따라서, 본 발명의 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본은 모공 주변의 콜라겐 생성량을 증가시켜 넓어진 모공을 축소시킬 수 있다는 것을 알 수 있다.

<107>

<108> [시험예 7] 피부 모공 수축 효과 평가

<109> 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본의 모공축소 효과를 토코페롤 및 EGCG와 비교하여 측정하였다. 리노마우스 60마리를 10마리씩 6개 군으로 나누고, 각 군의 리노마우스에 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본, 토코페롤 또는 EGCG의 1% 용액(용매로는 1,3-부틸렌글리콜:에탄올=7:3 사용)을 0.5㎖씩 도포하였다. 이 때 비교를 위하여 하나의 군에는 용매만을 0.5㎖ 도포하였다. 1주 동안 물질을 처리하고 마지막 처리 24시간 후 등쪽 부분을 생검하였다. 표피를 분리하여 0.5%의 아세트산에 담근 후 10% 포르말린에 고정한 후 6㎜로 수직으로 잘랐다. 헤마톡실린과 에오신으로 염색한 후, 기계 접안 마이크로미터(Mechanical eyepiece micrometer)를 이용하여 모공의 크기를 측정하였다. 그 결과를 하기 표 7에 나타내었다.

<110> 【표 7】

물질	모공 크기(㎜)
대조군	65
토코페롤	64
EGCG	60
1,3-디카페오일퀴닉산	53
1,5-디카페오일퀴닉산	54
아멘토플라본	50

<111> 상기 표 7에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본은 토코페롤 및 EGCG와 비교하여 모공의 크기를 감소

시키는 효과가 뛰어남을 알 수 있다.

<112>

<113> [참조예 2] 실시예 4~6 및 비교예 2의 제조

<114> 하기 표 8에 기재된 조성에 따라 유연화장수(스킨로션) 제형의 실시예 4~6 및 비교예 2를 통상적인 제조 방법으로 제조하였다(단위: 중량%).

<115> 【표 8】

배합성분	실시예 1	실시예 2	실시예 3	비교예 1
정제수	잔량	잔량	잔량	잔량
1,3-디카페오일퀴닉산	0.1	-	-	-
1,5-디카페오일퀴닉산	-	0.1	-	-
아멘토플라본	-	-	0.1	-
부틸렌글리콜	2.0	2.0	2.0	2.0
프로필렌글리콜	2.0	2.0	2.0	2.0
카르복시비닐폴리머	0.1	0.1	0.1	0.1
피이지-12 노닐페닐에테르	0.2	0.2	0.2	0.2
폴리솔베이트 80	0.4	0.4	0.4	0.4
에탄올	10.0	10.0	10.0	10.0
트리에탄올아민	0.1	0.1	0.1	0.1
방부제, 색소, 향료	적량	적량	적량	적량

<116>

<117> [시험예 8] 모공 수축에 대한 관능평가

<118> 시험 대상으로는 20~50세 여성층으로서 지성피부의 소유자 60명을 무작위로 15명씩 4개군으로 나누었다. 각 군에 대하여 세안 후 일정 시간이 지난 후 상기 실시예 4 내지 6 또는 비교예 2의 제품을 각각 도포하게 하였고, 이를 아침, 저녁으로 1일 2회 수행하게 한 후 4 주 후에 모공 크기를 육안으로 측정하였다. 그 결과는 하기의 표 9에 나타내었다(평가 등급 : 0. 전혀 축소 되지 않았다; 5. 매우 축소되었다).

<119> 【표 9】

구분	평가등급
실시예 1	3.3
실시예 2	3.2
실시예 3	3.7
비교예 1	0.8

<120> 상기 표 9의 결과에서 알 수 있듯이, 본 발명의 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본을 함유하는 조성물은 모공 수축 효과가 어느 것도 함유하지 않은 비교예의 조성물 보다 우수하다고 응답한 사용자가 유의하게 많았다.

<121> 따라서, 본 발명의 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본을 함유하는 피부 외용제 조성물의 모공 수축 효과가 우수함을 알 수 있었다.

<122>

<123> 이하, 본 발명에 따른 조성물의 제형예를 설명하나, 약학 조성물 및 화장료 조성물은 여러 가지 제형으로 응용 가능하며, 이는 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

<124>

<125> [제형예 1] 화장수

<126> 아래 표 10에 기재된 조성으로 통상의 방법에 따라 화장수를 제조한다.

<127> 【표 10】

	함량(중량%)
1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 화합물	2.0
글리세린	3.0
부틸렌글리콜	2.0
프로필렌글리콜	2.0
카르복시비닐폴리머	0.1
PEG 12 노닐페닐에테르	0.2
폴리솔베이트 80	0.4
에탄올	10.0
트리에탄올아민	0.1
방부제, 색소, 향료	적량
정제수	잔량

<128>

<129> [제형예 2] 영양 크림

<130> 아래 표 11에 기재된 조성으로 통상의 방법에 따라 영양 크림을 제조한다.

<131> 【표 11】

	함량(중량%)
1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 화합물	2.0
폴리솔베이트 60	1.5
솔비탄세스퀴올리에이트	0.5
PEG 60 경화피마자유	2.0
유동파라핀	10.0
스쿠알란	5.0
카프릴릭/카프락트리글리세라이드	5.0
글리세린	5.0
부틸렌글리콜	3.0
프로필렌글리콜	3.0
트리에탄올아민	0.2
방부제, 색소, 향료	적량
정제수	잔량

<132>

<133> [제형예 3] 마사지 크림

<134> 아래 표 12에 기재된 조성으로 통상의 방법에 따라 마사지 크림을 제조한다.

<135> 【표 12】

	함량(중량%)
1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 화합물	1.0
밀납	10.0
폴리솔베이트 60	1.5
PEG 60 경화피마자유	2.0
솔비탄세스퀴올레이트	0.8
유동파라핀	40.0
스쿠알란	5.0
카프릴릭/카프릭트리글리세라이드	4.0
글리세린	5.0
부틸렌글리콜	3.0
프로필렌글리콜	3.0
트리에탄올아민	0.2
방부제, 색소, 향료	적량
정제수	잔량

<136>

<137> [제형예 4] 팩

<138> 아래 표 13에 기재된 조성으로 통상의 방법에 따라 팩을 제조한다.

<139> 【표 13】

	함량(중량%)
1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 화합물	1.0
폴리비닐알콜	13.0
소듐카르복시메틸셀룰로오스	0.2
글리세린	5.0
알란토인	0.1
에탄올	6.0
PEG 12 노닐페닐에테르	0.3
폴리솔베이트 60	0.3
방부제, 색소, 향료	적량
정제수	잔량

<140>

<141> [제형예 5] 젤

<142> 아래 표 14에 기재된 조성으로 통상의 방법에 따라 젤을 제조한다.

<143> 【표 14】

	함량(중량%)
1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 화합물	0.5
에틸렌디아민초산나트륨	0.05
글리세린	5.0
카르복시비닐폴리머	0.3
에탄올	5.0
PEG 60 경화피마자유	0.5
트리에탄올아민	0.3
방부제, 색소, 향료	적량
정제수	잔량

<144>

<145> [제형예 6] 연고

<146> 아래 표 15에 기재된 조성으로 통상적인 방법으로 연고를 제조하였다.

<147> 【표 15】

	함량(중량%)
1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 화합물	0.1
글리세린	8.0
부틸렌글리콜	4.0
유동파라핀	15.0
베타글루칸	7.0
카보머	0.1
카프릴릭/카프릭 트리글리세라이드	3.0
스쿠알란	1.0
세테아릴 글루코사이드	1.5
소르비탄 스테아레이트	0.4
세테아릴 알코올	1.0
밀납	4.0
방부제, 색소, 향료	적량
정제수	잔량

<148>

<149> [제형예 7] 연질캡셀제

<150> 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 화합물 0.0025g, 비타민 C 0.0025g, 팜유 2mg, 팜경화유 8mg, 황납 4mg 및 레시틴 6mg을 혼합하고, 통상의 방법에 따라 1 캡슐당 400 mg씩 충진하여 연질캡셀을 제조하였다.

<151>

<152> [제형예 8] 정제

<153> 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 화합물 0.0025g, 비타민 C 0.0025g, 포도당 100mg, 전분 96mg 및 마그네슘 스테아레이트 4mg을 혼합하고 30% 에탄올을 40mg 첨가하여 과립을 형성한 후, 60℃에서 건조하고 타정기를 이용하여 정제로 타정하였다.

<154>

<155> [제형예 9] 과립제

<156> 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 화합물 150mg, 비타민 C 150mg, 포도당 100mg, 및 전분 600mg을 혼합하고 30% 에탄올을 100 mg 첨가하여 과립을 형성한 후, 60℃에서 건조하여 과립을 형성한 다음 포에 충진하였다. 내용물의 최종 중량은 1 g으로 하였다.

<157>

<158> [제형예 10] 드링크제

<159> 1,3-디카페오일퀴닉산, 1,5-디카페오일퀴닉산 및 아멘토플라본으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 화합물 0.0025g, 비타민 C 0.0025g, 포도당 10g, 구연산 2g 및 정제수 187.8g을 혼합하고 병에 충진하였다. 내용물의 최종 용량은 200ml로 하였다.

<160>

<161> 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시태양일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.