



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2014년04월21일  
 (11) 등록번호 10-1384812  
 (24) 등록일자 2014년04월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 31/575* (2006.01) *A61K 8/63* (2006.01)  
*A61P 17/00* (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2012-0101626  
 (22) 출원일자 2012년09월13일  
 심사청구일자 2012년09월13일  
 (65) 공개번호 10-2014-0036400  
 (43) 공개일자 2014년03월26일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 KR1020120027440 A\*  
 US06589945 B1\*  
 KR1020120021317 A  
 KR1020120019495 A  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
 주식회사 콧데  
 충청남도 천안시 동남구 수신면 우각골길 19-3  
 (72) 발명자  
 구창섭  
 충남 아산시 배방읍 배방로105번길 31, 114동  
 1003호 (아산배방푸르지오아파트)  
 김민진  
 제주 제주시 서문로2길 14, (용담일동)  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
 이상문, 박천도

전체 청구항 수 : 총 2 항

심사관 : 최영희

(54) 발명의 명칭 **엘라스타제 활성을 저해하는 식물성 스테롤을 유효성분으로 함유하는 조성물**

**(57) 요약**

본 발명은 식물성 스테롤의 엘라스타제 저해 활성을 탐구하여 완성된 것으로, 엘라스타제 활성을 저해하는 식물성 스테롤을 유효성분으로 함유하는 피부 탄력 개선 내지 피부의 상처 치료용 외용제 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 식물성 스테롤을 함유하는 조성물은 피부에 대한 부작용 없이 안전하게 사용될 수 있을 뿐만 아니라, 엘라스타제 저해 활성을 통하여 피부 탄력 개선에 의한 현저하게 향상된 피부 노화 방지 효과 및 피부의 상처 치유 효과를 나타낸다.

(72) 발명자

**정윤주**

충남 천안시 서북구 직산읍 삼은4길 18-23, 205동  
304호 (직산세광엔리치빌1차아파트)

**장동일**

충남 천안시 서북구 쌍용동 2100 천안동일하이빌  
108동 1802호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	A103017
부처명	보건복지부
연구사업명	보건의료연구개발사업
연구과제명	글로벌코스메틱연구개발사업단
기여율	1/1
주관기관	(재)대한화장품산업연구원
연구기간	2011.11.01 ~ 2015.10.31

---

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

엘라스타제 활성을 저해하는 효능을 가진 베타-시토스테롤을 활성성분으로 조성물 총 중량에 0.001 내지 10중량 % 포함하는 것을 특징으로 하는 피부 탄력 개선용 화장료 조성물.

**청구항 2**

엘라스타제 활성을 저해하는 효능을 가진 베타-시토스테롤을 활성성분으로 조성물 총 중량에 0.001 내지 10중량 % 포함하는 것을 특징으로 하는 피부 상처를 치유하기 위한 약학적 조성물.

**청구항 3**

삭제

**청구항 4**

삭제

**청구항 5**

삭제

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 식물성 스테롤을 유효성분으로 함유하여 엘라스타제 저해 활성을 통하여 피부 탄력을 개선함으로써, 현저하게 향상된 피부 노화 방지효과를 나타내고 또한 피부의 상처를 치유 효과를 나타내는 조성물에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 피부에서 엘라스틴 섬유는 콜라겐 섬유와 더불어 진피(epiderm)안쪽에서 가교 결합을 형성하며 피부 탄력에 관여하고 있다. 나이가 들어감에 따라 피부는 조직학적으로 엘라스틴 섬유의 결핍과 응집, 콜라겐 섬유의 감소, 염증 세포 침윤증가와, 생화학적으로 엘라스틴 분해 효소인 엘라스타제의 활성도의 현격한 증가를 보인다. 따라서 엘라스타제의 작용으로 피부의 탄력이 급격히 저하되고, 함몰(sagging) 현상이 나타나게 된다. 엘라스타제는 엘라스틴을 분해 할 수 있는 지금까지 알려진 유일한 효소로서 이에 대한 저해는 피부 노화를 근본적으로 줄여 줄 수 있다.

[0003] 피부 노화를 지연시키기 위하여 보습제, 항염증제, 엘라스틴 및 콜라겐 가교 결합이 파괴되어 있는 조직을 위한 영양제 및 첨가제 등을 화장료에 배합하는 방법이 사용되고 있는데, 이는 근본적으로 노화를 지연시키는데는 한계가 있다. 따라서 피부 탄력을 유지시키는 엘라스틴 및 콜라겐의 분해를 근본적으로 저해시키는 저해제가 요구되고 있는 실정이다.

[0004] 이러한 목적으로 동물성 추출물 또는 콜라겐과 엘라스틴과 유사한 구조를 가진 합성 펩타이드 유도체 등이 사용되고 있으나, 안전성 및 안정성에 대한 문제와 당업계에서 요구하는 소기할 만한 효과를 거두지 못했으므로 종래 보다 인체에 안전하면서도 효과가 우수한 새로운 기능성 물질의 개발이 절실한 상황이며, 일본국 특허공개 제2004-018793호 공보를 보면 엘라스타제 활성 저해 효과를 갖는 성분으로서 청담의 난초, 홍산무엽란, 금난초, 손바닥 나비 난초 등이 개시되어 있다.

[0005] 그러나, 식물성 스테롤이 현재까지 엘라스타제 저해 활성을 통하여 피부 탄력을 개선에 의한 현저한 피부 노화 방지효과 및 피부의 상처 치유 효과를 나타낸다는 사실은 알려져 있지 않았다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0006] 본 발명자들은 식물성 천연물을 대상으로 엘라스틴 저해 및 파괴로 인한 피부 탄력 감소의 개선 효과와 피부 안전성, 화장품 배합 시 안정성 문제를 해결할 수 있는 항노화 물질을 탐색한 결과, 식물성 스테롤이 우수한 엘라스타제 저해 효과를 보이며, 사람 피부에 도포 시에도 뚜렷한 피부 탄력을 개선하여 현저하게 향상된 노화 방지 효과 및 피부의 상처를 치유하는 효과를 나타낸다는 사실을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다.
- [0007] 따라서, 본 발명은 피부 부작용을 유발하지 않으며 엘라스타제의 활성을 효과적으로 억제하여 피부 탄력 개선 효과 및 피부 상처 치유 효과가 있는 식물성 스테롤을 함유하는 외용제 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

**과제의 해결 수단**

- [0008] 상기 과제를 해결하기 위하여 본 발명은,
- [0009] 엘라스타제 활성을 저해하는 식물성 스테롤을 유효성분으로 함유하는 피부 외용제 조성물을 제공한다.
- [0010] 본 발명에 따른 피부 외용제 조성물에 있어서,
- [0011] 상기 식물성 스테롤은 베타-시토스테롤 또는 스티그마스테롤인 것이 바람직하다.
- [0012] 본 발명에 따른 피부 외용제 조성물에 있어서,
- [0013] 상기 식물성 스테롤의 함량이 전체 조성물의 총 중량에 대하여 0.001 내지 10중량%인 것이 바람직하다.
- [0014] 본 발명에 따른 피부 외용제 조성물은 피부 탄력 개선용 화장품 조성물 또는 피부 상처를 치유하기 위한 약학적 조성물일 수 있다.

**발명의 효과**

- [0015] 상기에서 상세히 설명한 바와 같이, 본 발명에 의한 식물성 스테롤들은 엘라스타제 저해 활성을 통하여 피부 탄력을 개선하여 현저하게 향상된 피부 노화 방지효과 및 피부의 상처 치유 효과를 나타낸다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0016] 본 발명은 식물성 스테롤을 유효성분으로 함유하여 엘라스타제 활성을 효과적으로 억제하는 효과를 가지는 외용제 조성물을 제공한다.
- [0017] 일반적으로 식물성 스테롤은 유화 상태를 안정화시키는 능력이 강하기 때문에 화장품이나 잉크 제조시 유화제로 이용되고 있으며, 스티그마스테롤과 베타-시토스테롤은 인간을 포함한 동물에 섭취될 때 혈중 총 콜레스테롤 수준 및 LDL 콜레스테롤 수준을 저하시키는 능력 때문에 의약품 원료로서 중요하게 이용되고 있다. 또한, 식물성 스테롤은 협심증, 심근경색증과 같은 관상동맥질환(coronary heart disease)의 위험성을 낮출 수 있는 것으로 알려져 있다.
- [0018] 본 발명의 식물성 스테롤은 과일, 채소, 견과류, 곡류, 콩류 및 식물성 유지, 예를 들면, 채종유, 옥수수유, 해바라기유, 호밀, 밀, 보리, 귀리 등과 같이 식물성 스테롤이 높은 농도로 함유되어 있는 식물자원에서 추출될 수 있지만, 상기 식물자원이 이에 한정된 것은 아니다. 이러한 식물성 스테롤은 다양한 방법으로 얻을 수 있으나, 경제성을 고려할 때 대두유 제조시 얻어지는 탈취 증류분으로부터도 분리하여 얻는 것이 가장 바람직하다.

- [0019] 상기 식물성 스테롤은 채종유, 옥수수유, 해바라기유, 호밀, 밀, 보리, 귀리 등과 같이 식물성 스테롤이 높은 농도로 함유되어 있는 식물자원을 비극성 추출용매로 추출하고, 여과하여 제조하며, 추출용매로서는 헥산(hexane), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 시클로헥산(cyclohexane), 톨루엔(toluene)을 사용할 수 있으며 초임계 추출 등의 방법으로도 추출이 가능하다. 상기 식물 추출물로부터 식물성 스테롤의 분리 및 정제는 C18이나 실리카겔(silica gel) 등의 각종 합성수지를 충전한 컬럼 크로마토그래피(column chromatography) 및 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 등을 단독으로 혹은 병행하여 사용할 수 있다. 그러나 유효성분의 추출 및 분리정제 방법이 반드시 상기한 방법에 한정되는 것은 아니다.
- [0020] 상기 식물성 스테롤은 조성물 총 중량에 대하여 0.001~10중량%의 양으로 함유한다. 본 발명에서는 목적하는 효과를 얻기 위하여 상기의 식물성 스테롤은 조성물 총 중량에 대하여 0.001~10중량%로 함유된다. 0.001중량% 미만으로 사용하였을 때는 적절한 효능을 기대하기 어렵고, 10중량% 초과하여 사용할 경우에는 제품의 안전성 및 안정성에 좋지 않은 영향을 줄 수 있다.
- [0021] 본 발명에 의한 외용제 조성물은 피부에 직접 도포하여 적용하는 조성물로서 약학적 조성물 내지 화장품 조성물은 그 제형에 특별히 한정되지 않으며, 예를 들어유연화장수, 수렴화장수, 영양화장수, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 아이크림, 아이에센스, 클렌징크림, 클렌징로션, 클렌징폼, 클렌징워터, 팩, 파우더, 바디로션, 바디크림, 바디오일, 바디에센스, 바디세정제, 염모제, 헤어토닉, 스칼프트리트먼트, 로션, 연고, 젤, 크림, 패취 또는 분무제 등으로 제형화될 수 있다.
- [0022] 이하, 실시예 및 시험예를 들어 본 발명의 구성 및 작용효과를 보다 구체적으로 설명하겠으나, 본 발명이 이들 예로만 한정되는 것은 아니다.
- [0023] [실시예 1] 대두유 탈취 증류분으로부터 식물성 스테롤의 제조
- [0024] 대두유 탈취 증류분(식물성스테롤함량: 27%) 200 g과 톨루엔 200 g을 3 ℓ 삼구플라스크에 넣고 300 rpm으로 교반하면서 90℃까지 승온시킨 후 25%(w/w) NaOH 용액 200 g을 첨가하였다. 이후 상기 반응생성물을 80℃에서 300 rpm으로 교반하면서 50%(w/w) 황산용액 150 g을 서서히 첨가한 다음 15분간 교반하고 정지한 후 수층을 제거하여 유층을 얻었다. 유층은 황산이 완전히 제거될 때까지 반복세척하였으며 110℃에서 감압농축하여 톨루엔을 제거한 후 여과하였다. 상기 여과물에 메탄올 300 g을 혼합하여 3 ℓ 삼구플라스크 속에 넣은 다음 65℃에서 30분 동안 반응시킨 후 실온까지 냉각시켜 24시간 동안 교반하고, 교반과정에서 생성된 고체 생성물을 여과한 후 메탄올 200 g으로 세척해주고, 고체생성물을 감압 증류하여 메탄올을 완전히 제거하여 식물성 스테롤을 제조하였다. 제조된 식물성 스테롤의 수율과 순도는 각각 75%와 98%이었다.
- [0025] [실시예 2] 식물성 스테롤의 분리 및 확인
- [0026] 상기 식물성 스테롤 1.5 g을 C18 컬럼 크로마토그래피를 실시하였다. 이때 사용된 컬럼 용출액은 메탄올과 물이 각각 80:20 (v/v)의 부피 비율로 혼합된 용매를 시작하여 40분 동안 점진적으로 메탄올의 비율을 높여 메탄올이 100%가 되도록 하였으며, 용매의 용출 속도와 검출과장은 각각 60 ml/분와 UV 210 nm로 하였다. 상기의 C18 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 소분획 48~52와 55~60으로부터 베타-시토스테롤 0.75 g과 스티그마스테롤 0.38 g을 수득하였다.
- [0027] 분리된 식물성 스테롤의 기기분석 결과는 다음과 같았다.
- [0028] 화합물 1 (베타-시토스테롤)
- [0029]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz)  $\delta$  3.53 (tdd, 1H,  $J=4.5, 4.2, 3.8$  Hz, H-3),  $\delta$  5.36 (t, 1H,  $J=6.4$  Hz, H-5),  $\delta$  0.93 (d, 3H,  $J=6.5$  Hz, H-19),  $\delta$  0.84 (t, 3H,  $J=7.2$  Hz, H-24),  $\delta$  0.83 (d, 3H,  $J=6.4$  Hz, H-26),  $\delta$  0.81 (d, 3H,  $J=6.4$  Hz, H-27),  $\delta$  0.68 (s, 3H, H-28),  $\delta$  1.01 (s, 3H, H-29)
- [0030]  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz)  $\delta$  37.5 (C-1),  $\delta$  31.9 (C-2),  $\delta$  72.0 (C-3),  $\delta$  42.5 (C-4),  $\delta$  140.9 (C-5),  $\delta$

121.9 (C-6), δ 32.1 (C-7), δ 32.1 (C-8), δ 50.3 (C-9), δ 36.7 (C-10), δ 21.3 (C-11), δ 39.9 (C-12), δ 42.6 (C-13), δ 56.9 (C-14), δ 26.3 (C-15), δ 28.5 (C-16), δ 56.3 (C-17), δ 36.3 (C-18), δ 19.2 (C-19), δ 34.2 (C-20), δ 26.3 (C-21), δ 46.1 (C-22), δ 23.3 (C-23), δ 12.2 (C-24), δ 29.4 (C-25), δ 20.1 (C-26), δ 19.6 (C-27), δ 19.0 (C-28), δ 12.0 (C-29)

[0031] EIMS (C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O m/z (rel. int.)): 412 [M<sup>+</sup>] (39.7%), 351 (13.5%), 314 (7.0%), 300 (25.5%), 271 (38.4 %), 229 (8.6%), 213 (10.6%), 55 (100%)

[0032] 화합물 2 (스티그마스테롤)

[0033] <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ 3.51 (tdd, 1H, J=4.5, 4.3, 3.8 Hz, H-3), δ 5.31 (t, 1H, J=6.1 Hz, H-5), δ 0.91 (d, 3H, J=6.2 Hz, H-19), δ 4.98 (m, 1H, H-20), δ 5.14 (m, 1H, H-21), δ 0.83 (t, 3H, J=7.1 Hz, H-24), δ 0.82 (d, 3H, J=6.6 Hz, H-26), δ 0.80 (d, 3H, J=6.6 Hz, H-27), δ 0.71 (s, 3H, H-28), δ 1.03 (s, 3H, H-29)

[0034] <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) δ 37.6 (C-1), δ 32.1 (C-2), δ 72.1 (C-3), δ 42.4 (C-4), δ 141.1 (C-5), δ 121.8 (C-6), δ 31.8 (C-7), δ 31.8 (C-8), δ 50.2 (C-9), δ 36.6 (C-10), δ 21.5 (C-11), δ 39.9 (C-12), δ 42.4 (C-13), δ 56.8 (C-14), δ 24.4 (C-15), δ 29.3 (C-16), δ 56.2 (C-17), δ 40.6 (C-18), δ 21.7 (C-19), δ 138.7 (C-20), δ 129.6 (C-21), δ 46.1 (C-22), δ 25.4 (C-23), δ 12.1 (C-24), δ 29.6 (C-25), δ 20.2 (C-26), δ 19.8 (C-27), δ 18.9 (C-28), δ 12.2 (C-29)

[0035] EIMS (C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O m/z (rel. int.)): 414 [M<sup>+</sup>] (100%), 396 (30.8%), 381 (14.0%), 329 (13.7%), 303 (22.1%), 255 (11.8%), 213 (12.2%), 145 (18.5%), 95 (21.6%), 81 (21.3%), 55 (25.8%), 43 (45.0%).

[0036] [시험예 1] 식물성 스테롤의 엘라스타제 저해효과

[0037] 엘라스타제는 돼지 췌장으로부터 추출된 것으로 시그마(Sigma)사의 것을 사용하였다. 췌장 엘라스타제에 의한 합성 펩티드 기질(Sigma)의 가수분해에 근거한 시험법으로 광과장 410 nm에서의 단위 시간당의 4-니트로아닐린 (4-nitroanilide)의 방출량의 증가를 엘라스타제의 촉매 활성치로 하였다. 각 시험용액을 1 mg/ml의 일정농도가 되도록 조제한 후 40 μl씩 취하고 여기에 50 mM Tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 porcine pancreas elastase (2.5 U/ml)용액 40 μl를 가한 후 기질로 50 mM Tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 N-succinyl-(L-Ala)3-p-nitroanilide (0.5 mg/ml)을 80μl첨가하여 37℃에서 30분간 반응시켰다. 기질로부터 생성되는 4-니트로아닐린의 생성량은 410nm에서 흡광도를 측정하였고, 하기 수학적 1에 의해 엘라스타제 저해 정도를 계산하였다.

[0038] [수학적 1]

[0039] 엘라스타제 저해율(%)= 1-(시료 첨가군의 흡광도/시료 무첨가군의 흡광도) x 100

표 1

화합물	농도(μg/ml)	엘라스타제 저해율(%)
대두유 탈취 증류분의 식물성 스테롤	125	13.3
	250	15.0
	500	43.9
	1,000	72.8
	2,000	100.0
베타-시토스테롤	125	19.6
	250	27.2
	500	35.3
	1,000	68.7
	2,000	95.6

스티그마스테롤	125	10.6
	250	44.4
	500	51.8
	1,000	66.6
	2,000	93.8

[0041] 상기 표 1로부터 알 수 있는 바와 같이, 식물성 스테롤 화합물은 농도의존적으로 엘라스타제 활성을 저해시키는 효과를 나타내었다.

[0042] [시험예 2] 식물성 스테롤의 피부 보습 및 탄력 효과

[0043] 본 발명의 식물성 스테롤을 함유하는 크림 화장료 및 식물성 스테롤을 함유하지 않은 크림 화장료를 사용하여 피부 보습 및 탄력 효과에 대한 임상시험을 실시하였다. 임상시험에 사용된 크림은 하기의 표 2과 같은 조성으로 제조하였다.

표 2

배합성분	합량(중량%)			
	제형 1	제형 2	제형 3	비교 제형
대두유 탈취 증류분의 식물성 스테롤	1.00	-	-	-
베타-시토스테롤	-	1.00	-	-
스티그마스테롤	-	-	1.00	-
스쿠알란	5.0	5.0	5.0	5.0
밀납	4.0	4.0	4.0	4.0
폴리솔베이트 60	1.5	1.5	1.5	1.5
솔비탄세스퀴올레이트	1.5	1.5	1.5	1.5
유동파라핀	0.5	0.5	0.5	0.5
카프릴릭/카프릭트리글리세라이드	5.0	5.0	5.0	5.0
글리세린	3.0	3.0	3.0	3.0
프로필렌글리콜	3.0	3.0	3.0	3.0
카르복시비닐폴리머	0.1	0.1	0.1	0.1
트리에탄올아민	0.2	0.2	0.2	0.2
방부제, 향, 색소	적량	적량	적량	적량
정제수	잔량	잔량	잔량	잔량

[0045] 피부탄력성에 대한 식물성 스테롤의 영향을 실험하기 위해 피검자 20명의 왼쪽은 가장자리에 하루 두 번 적용하였다. 처리하지 않은 오른쪽 눈 가장자리는 대조군으로 사용하였다. 식물성 스테롤 함유 화장료로 처리하기 전과 처리하고 난 14일 후 피부 표면의 피부 탄력성을 피부수분측정기 CM 80과 피부탄력측정기 SEM 474에 의해 측정하였다. 피부수분측정기 CM 820에 의한 피부 보습 측정은 대조군에 비해 증가한 보습력 값을 %로 나타내었으며, 피검자 20명의 평균값을 결과에 나타내었다. 피부탄력측정기 SEM 474에 의한 피부 탄력도 측정은 주름의 깊이를 측정하는 것으로서, 값이 적을수록 탄력성이 좋은 것이다. 탄력도 값은 대조군에 비해 감소한 값을 %로 나타내었으며, 피검자 20명의 평균값을 결과에 나타내었다.

표 3

제형예	피부보습효과(%)	피부탄력도효과(%)
제형 1	34	42
제형 2	39	48
제형 3	33	40
비교 제형	12	18

- [0047] 상기 표 3으로부터 알 수 있는 바와 같이, 식물성 스테롤을 포함하는 제형 1 내지 3에서의 피부 보습 및 탄력도 효과는 식물성 스테롤을 사용하지 않은 비교 제형과 비교하여 현저하게 우수함을 알 수 있었다.
- [0048] [시험예 3 식물성 스테롤의 상처 치유 효과]
- [0049] 연고제 베이스에 대두유 탈취 증류분의 식물성 스테롤, 베타-시토스테롤 및 스티그마스테롤을 각각 전체 중량 대비 5중량%을 함유시켜 연고 1, 연고 2 및 연고 3을 제조하였으며, 대조군으로는 연고제 베이스만을 사용하였다.
- [0050] 상처 치유 효과를 측정하기 위하여 생쥐를 이용한 동물실험을 수행하였다
- [0051] 생쥐 배의 피부를 포비돈 및 알코올 소독액으로 처리한 후, 15번 수술용 칼로 피부에 상처를 만든 후 이어서 연고 1, 연고 2, 연고 3 및 대조군을 상처에 도포한 후에 거즈를 이용하여 도포 부위를 덮어 보호하였다. 이와 같은 도포는 1일 2회 실시하였다.
- [0052] 각각의 연고가 도포된 4마리의 생쥐에 대하여 새롭게 도포할 때마다 육안 관찰을 시행하였다.
- [0053] 육안 관찰에서 대조군에서는 상처가 벌어지고 치유가 지연되고 감염이 관찰되었으나, 본 발명에 따른 연고 1, 2 및 3의 경우에는 상처가 벌어지지 않고 점차적인 치유 양상을 관찰할 수 있었다.