

임상시험을 통한 3-Amino Propane Phosphoric Acid(3-APPA)의 노화억제 효과 확인(제1보)

하재현, 김종일, 강학회*, 김영택*, 고재숙**, 변영훈***, 이진선, 이옥섭*
(피부과학연구소, 제품개발연구소*, 분석안전성연구센터**, 기반기술연구소***)
(주)태평양 기술 연구원

요 약

3-APPA(3-aminopropane phosphoric acid)는 생체내 물질 γ -amino butyric acid(GABA)와 유사한 구조를 갖는 물질로서 human fibroblasts 3-dimensional culture system 등의 in vitro 시험에서 collagen 합성촉진 효과, 세포증식 효과를 나타내며, hairless mouse를 이용한 동물시험에서도 collagen 합성이 증가되는 것으로 보고된 바 있다. 또한 피부 안전성에서도 우수한 결과를 보여줌으로서 화장품 분야에서 새로운 노화억제 물질로서 주목을 받게 되었다. 본 시험에서는 180명의 피검자를 대상으로 3개월간의 임상시험을 통하여 새로운 노화억제 물질인 3-APPA의 효능을 기존의 GABA 유사물질, aminopropane sulfonic acid(APSA)와 비교하였다.

본 시험은 double-blind, randomized, vehicle-controlled clinical study로서 180명의 피검자(나이 31.4 ± 4.5 , 여성)를 APSA군(n=60), 3-APPA군(n=60), vehicle군(n=60)으로 분류한후 3개월간 매일 저녁 취침전, 안면에 시험제품을 사용하도록 하였으며 사용전, 사용 1주후, 2주후, 6주후, 12주후 5회 설문지를 통하여 피부상태를 조사하였다. 각 설문시점에서 피검자는 현재의 피부상태를 스스로 평가하여 설문에 답하도록 하였다. 설문내용은 피부 건조도, 피부 탄력도, 피부 주름량, 피부 윤기도, 피부 거칠기 정도에 대한 5개 질문으로 구성된 효능에 관한 질문과 흡수정도, 끈적임, 매끄러움, 보습력, 보습지속성, 전체적인 사용감에 대한 6개 질문으로 구성된 사용성에 관한 것이었다. 각 질문에 대하여는 매우 좋음 1점, 좋음 2점, 보통임 3점, 나쁨 4점, 매우 나쁨 5점 사이에서 답할 수 있도록 하였다.

시험결과 APSA군은 6주와 12주후 피부 건조도, 피부 거칠기 항목에서 사용전에 비하여 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었다. 3-APPA군은 6주후 피부 건조도, 피부 거칠기, 피부 탄력도 항목에서 시료사용전에 비해 유의한 차이(p<0.05)를 나타내었으며 12주후에는 피부 건조도, 피부 탄력, 피부 윤기, 피부 거칠기 항목에서 유의한 차이(p<0.05)를 나타내

었다. 12주후 APSA군은 피부 주름, 피부 탄력도 항목에서 vehicle 사용 피검자군에 비하여 유의적인 차이($p<0.05$)를 나타내었으나 3-APPA군은 피부 탄력도, 피부 주름량, 피부 윤기 항목에서 vehicle군에 비하여 유의적인 차이($p<0.05$)를 나타내었다. 결론적으로 3-APPA와 APSA 사이에 유의적인 차이가 있지는 않았으나 3-APPA군은 APSA군에 비하여 6주, 12주에서 사용전과 유의한 차이를 나타내는 항목이 많았으며 12주에서 vehicle과 유의적인 차이를 나타내는 항목도 많으므로 3-APPA가 APSA 보다 광범위한 피부노화 억제 효과를 갖는 물질이라고 할 수 있다.

서 론

화장품의 기능이 단순한 피부 미화의 수준을 넘어서 특별한 기능을 부여하는 기능성 화장품의 출현이 가속화되고 있다. 이러한 상황에서 노화방지 물질로서 새로이 개발된 3-APPA는 세포증식 효과와 collagen 합성 촉진 효과가 분자 수준에서 규명됨으로서 노화 방지를 주 소구점으로 하는 화장품 원료로서 주목을 끌고 있다.

노화와 관련된 피부 생리적 변화중 하나가 섬유아세포의 증식이 감소되는 것이다. 섬유아세포 증식의 감소는 collagen 합성 감소로 이어지며 외부 유해인자에 대한 방어능 약화, 세포내 물질대사 약화 등의 현상으로 이어져 피부노화를 촉진하게 된다. 생체내 물질인 γ -amino butyric acid(GABA)는 인체내에서 섬유아세포 증식을 촉진하고 collagen 합성을 증가시키는 노화 억제 물질로 알려져 있으며 이미 화장품에 도입되어 사용된 바 있다. GABA 유사물질인 amino propane sulfonic acid(APSA) 역시 유사한 기능을 갖는 물질로서 화장품에 사용되고 있다(1). 3-APPA는 APSA의 sulfonic acid를 phosphoric acid로 치환시킨 물질로서(2) 인체 섬유아세포 증식 실험에서 무처치군에 비하여 최고 2배의 섬유아세포 증식효과를 나타내며 immunostaining을 이용한 hairless mice의 피부에 대한 형태학적 변화고찰에서도 collagen 합성을 증가시키는 것으로 확인된 바 있다(3,4).

많은 세포 활성 물질들이 in vitro 시험에서 우수한 결과를 나타내면서도 실제 제품에 응용하였을 때 여러 가지 이유로 실질적으로는 효능을 나타내지 못하는 경우가 많다. 따라서 새로운 노화억제 물질로서 개발되어 in vitro 시험에서 우수한 결과를 나타낸 3-APPA의 효능을 임상적으로 확인할 필요가 있다. 본 시험에서는 180명의 피검자를 대상으로 3개월간 제품을 사용하도록 하고 설문조사 방식으로 피부상태 변화를 조사하는 임상시험을 통하여 새로운 노화억제 물질인 3-APPA의 효능을 기존의 GABA 유사물질,

aminopropane sulfonic acid(APSA)와 비교 하였다.

재료 및 방법

피검자 전체 시험에 참가한 피검자 수는 180명이었으며 피부질환을 갖고 있지 않은 평균나이 31.4 ± 4.5 세의 건강한 여성으로 구성하였다. 180명의 피검자를 1% APSA를 에센스를 사용하는 APSA군, 1% APPA 에센스를 사용하는 APPA군, vehicle을 사용하는 vehicle군 이상 3개 피검자군으로 분류하였으며 각 피검자군은 60명씩으로 구성하였다. 피검자군을 분류할 때 randomize를 위하여 이름의 가나다순에 따라 사용시료를 결정하였다.

시험시료 시료는 완성된 에센스 제품으로 만들었으며 시료명은 '가', '나', '다'로 표기하여 동일한 용기에 담아 피검자가 시료의 종류를 알지 못하도록 하였다. 시험결과를 분석하는 시험자 역시 모든 통계처리가 완료될 때까지 시료의 종류를 알지 못하도록 하는 double-blind test로 시험을 진행하였다. 시료 '가'는 APSA를 1% 함유하고 있는 에센스, 시료 '나'는 vehicle, 시료 '다'는 3-APPA를 1% 함유한 에센스이었다. Vehicle의 처방은 표 1과 같으며 vehicle에 APSA 또는 3-APPA를 1% 첨가하여 에센스 '가', '다'를 만들었다.

시험기간 시험기간은 8월 첫번째 주에서 10월 네번째 주까지 3개월간이었다.

시험방법 각 피검자는 3가지 시료 중 한가지만을 사용하였으며 3개월간 매일 저녁 취침전 시료를 사용하도록 하였다. 시험기간중 다른 화장품의 사용에는 제한을 두지 않았으나 에센스를 사용하던 피검자에 한하여 기존 사용중이던 에센스의 사용을 중단하고 시험시료를 사용하도록 하였다. 시료의 사용방법은 일반적인 제품과 동일하게 하였으며 시료의 사용량도 제한을 두지 않았다. 사용전, 사용 1주후, 2주후, 6주후, 12주후 시점에서 피부상태 변화를 조사하기 위한 설문지를 배포하였으며 1주후 시점에서 시료의 사용감을 조사하기 위한 설문지를 배포하였다. 각 피검자는 각 설문시점에서 현재의 피부 상태를 스스로 평가하여 설문지에 답하도록 하였다. 피부상태 변화를 조사하기 위하여 피부 건조도, 피부 탄력정도, 피부 주름량, 피부 윤기, 피부 거칠기 이상 5개 항목의 질문을 하였고, 5회의 각 설문지 내용이 동일하였다. 시료의 사용감을 조사하기 위한 설문지에서는 일반적으로 에센스 제품의 사용성을 평가하는데 이용되는 흡수정도, 끈적임, 매끄러움, 보습력, 보습지속성,

표 1. 시험시료 처방

성 분	합량
에칠렌디아민 테트라초산디나트륨	0.02
글리세린	10.0
1,3-부틸렌글리콜	7.0
트리에탄올아민	0.12
친유형모노스테아린산글리세린	2.0
모노스테아린산폴리옥시에칠렌소르비탄(20E)	1.0
세토스테아릴알코올	0.5
세슬퀴올레인산소르비탄	0.5
자기유화형모노스테아린산글리세린	0.5
사이크로메치콘	7.0
트리(카프릴, 카프린산)글리세린	2.0
파라옥시안식향산메칠	0.1
카르복시비닐폴리머	0.06
이미다졸리디닐우레아	0.5
조합향료	qs
정제수	to 100

전체적인 사용감 이상 6개 질문을 하였다. 각 질문에 대하여 매우좋음 1점, 좋음 2점, 보통 3점, 나쁨 4점, 매우나쁨 5점 사이에서 선택할 수 있도록 하였다.

통계처리 각 설문에 대한 답은 5개 항목으로 제시된 등간 척도이므로 일원변량분석(One-way ANOVA test)을 통하여 결과를 분석하였다. 시료간 사용성의 차이를 확인하기 위하여 시료사용 1주후 사용성 평가결과를 일원변량분석 하였다. 시료 사용전부터 시료 사용 시작후 12주까지 시간에 따른 피부상태 변화를 확인하기 위하여 일원변량분석을 하였으며 시료 사용 6주후와 12주후 시점에서 사용시료간의 차이를 확인하기 위한 일원변량분

석을 하였다.

결 과

180명의 피검자 중에서 3개월간의 시험도중 중도에 포기한 피검자는 총 13명이었으며 APSA군에 5명, 3-APPA군에 4명, vehicle군에 4명이었다. 이중에서 vehicle을 사용한 피검자 1명이 시료 사용 1주만에 피부 부작용으로 시험을 포기하였으며 나머지 12명은 개인적인 사정으로 설문지를 제출하지 않거나 시료를 사용하지 않은 일수가 18일을 초과한 사람이다.

시료의 사용성 평가

시료간의 사용성 차이가 있는지 확인하기 위하여 1주후 시료의 사용성을 설문 조사하였으며 질문 항목별 평가 점수는 표 2 와 같다. 각 질문항목에 대하여 일원변량분석을 시행하였으며 시료간 사용성에 유의한 차이가 나타난 항목은 없었다. 따라서 시료의 사용성이 피부 상태 개선효과에 미치는 심리적 요인은 없는 것으로 확인할 수 있었다.

표 2. 시료의 사용성 평가 결과 (평균±표준편차)

평가항목	'가'(n=55)	'나'(n=56)	'다'(n=56)
흡수정도	2.30±0.66	2.16±0.64	2.20±0.80
매끄러움	2.04±0.59	2.20±0.76	2.18±0.62
보습력	1.94±0.70	1.84±0.71	2.02±0.71
보습지속성	2.09±0.66	2.11±0.71	2.12±0.66
끈적임	3.19±0.92	2.62±0.91	3.10±0.94
전체적 사용감	2.34±0.81	2.16±0.52	2.20±0.78

사용성 평가를 위한 질문에 대하여 매우 좋음 1점, 좋음 2점, 보통임 3점, 나쁨 4점, 매우나쁨 5점으로 평가. 평균점수가 낮을수록 만족도가 높음을 표시하고 있다.

시료의 효능 평가

1. 시간에 따른 피부상태 변화

시료 사용후 시간에 따라 피부상태 변화분석을 위하여 사용전, 1주후, 2주후, 6주후, 12주후 결과를 일원변량분석 하였다. APSA군은 피부 건조도 항목에서 1주, 2주, 6주, 12주에 사용전과 유의적인($p<0.05$) 개선효과를 나타내었고 피부 거칠기 항목에서는 6주, 12주에 유의적인($p<0.05$) 개선효과를 나타내었다. Vehicle군은 피부 건조도 항목에서 2주, 6주, 12주에 사용전에 비하여 유의적인 차이($p<0.05$)를 나타내었고 피부 거칠기 항목에서는 12주후에 유의적인($p<0.05$) 개선효과를 나타내었다. 3-APPA군에서는 피부 건조도 항목에서 1주, 2주, 6주, 12주후에 사용전에 비하여 유의적인($p<0.05$) 개선효과를 나타내었으며 피부 탄력 항목과 피부 거칠기 항목에서 6주, 12주후에 피부 윤기 항목에서 12주에 각각 사용전에 비해 유의적인($p<0.05$) 개선효과를 나타내었다(표 3).

표 3. 시료도포후 시간에 따른 피검자의 피부상태
(사용전과 대조하여 사용후 유의적 차이를 나타내는 항목)

	APSA군		vehicle군		3-APPA군			
	건조도	거칠기	건조도	거칠기	건조도	거칠기	탄력	윤기
1주	*		*		*			
2주	*		*		*			
6주	*	*	*		*	*	*	
12주	*	*	*	*	*	*	*	*

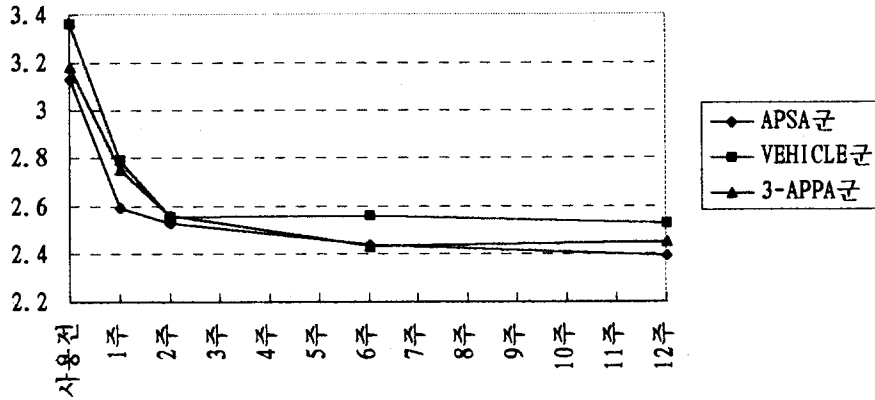
*표는 사용전과 유의적인 차이를 나타냄($p<0.05$).

2. 시료간의 차이 분석

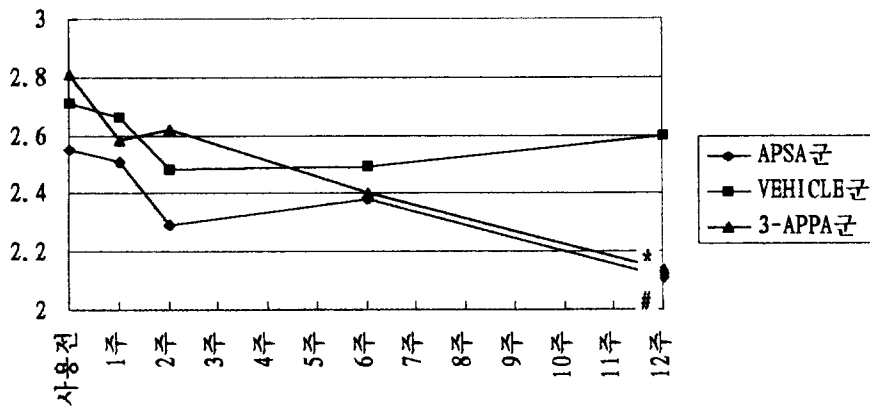
시료간 차이를 분석하기 위하여 6주후와 12주의 결과를 일원변량분석 하였다. 6주후에는 피검자군간의 차이가 나타나지 않았으나 12주후에 피부 탄력도, 피부 주름량, 피부 윤기 항목에서 피검자 군간의 차이가 나타났다. 피부 탄력과 피부 주름 항목에서는 APSA군과 3-APPA군이 vehicle군에 비하여 유의적($p<0.05$)으로 피부상태가 좋은 것으로 나타났으며 피부 윤기 항목에서는 3-APPA군이 vehicle군에 비하여 유의적인 차이($p<0.05$)를 나타냈다. 본 시험결과에서는 APSA군과 3-APPA군 사이에는 유의적인 차이가 나타나는 항목이 없었다(그림 1). 그러나 vehicle군에 비교하여 유의적인 차이를 나타내는 항목이 APSA군 보다 3-APPA군에서 많았다. 따라서 3개월 이상 장기적으로 시험이 진행된다면 3-APPA와 APSA의 차이를 확인할 수 있을 것으로 생각된다.

그림 1. 시료간의 피부상태 변화 비교

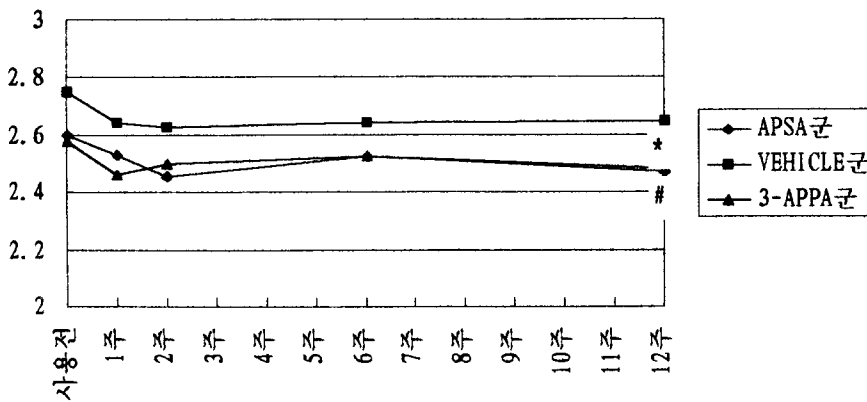
a) 피부 건조도



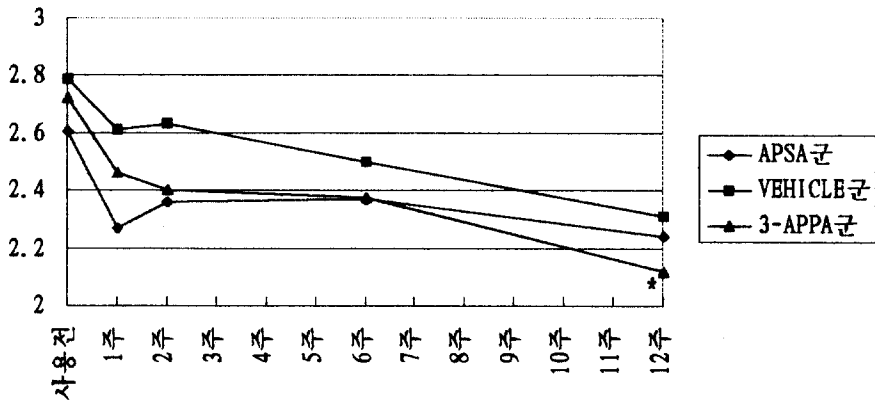
b) 피부 탄력정도



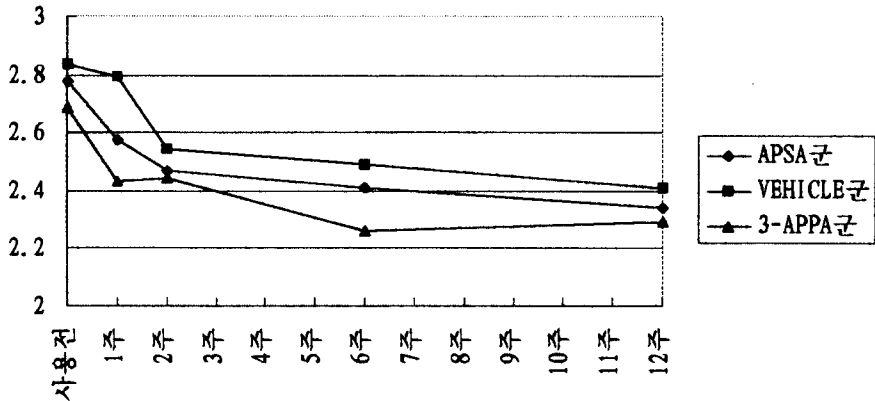
c) 피부 주름량



d) 피부 윤기도



e) 피부 거칠기



x축은 시간을 나타내며 y축은 5점 척도(매우 좋음 1점, 좋음 2점, 보통임 3점, 나쁨 4점, 매우 나쁨 5점)의 평가 점수를 나타냄. 그래프는 피검자군의 평균점수를 표시하며 평균점수가 낮을수록 피부상태 개선 정도가 높음을 표시하고 있다.

*는 3-APPA군과 vehicle군과 유의적인 차이를 나타냄($p < 0.05$)

#는 APSA군과 vehicle군과의 유의적인 차이를 나타냄($p < 0.05$)

고 찰

시험중 피부 부작용에 의해 시험을 중도 포기한 1명의 피검자는 vehicle군에 속해있던 피검자로서 시료 사용 1주일만에 피부 부작용으로 시료사용을 중단하였다. 이 피검자는 피검자들의 일반적인 특성을 조사하기 위해 사전에 시행된 피부 민감도 조사에서도 민감성 피부로 답변하였던 피검자였으며 화장품에 의한 피부 부작용을 경험한 전례가 있는 피검

자로 확인되었다. 본 시험에서 시료의 피부 안전성을 확인하는 설문조사가 1주와 2주 시점에 시행되었으며 그 결과(Data는 제시하지 않았음) 피부 안전도에서도 시료 '다'(3-APPA)는 시료 '가'(APSA)보다 좋은 결과를 보여주었다.

피부 노화를 생리학적으로 분류하면 나이가 들어감에 따라 자연적으로 진행되는 자연노화와 자외선에 의하여 유발되는 광노화로 나눌 수 있다. 두가지 노화 모두 피부가 건조해지고 거칠어지며, 탄력이 없어지고 주름이 생성되는 생리적 공통점을 갖는다. 그러므로 피부에 수분을 공급하고 탄력을 유지시켜 주며 주름생성을 억제할 수 있다면 노화억제라 말할 수 있다. 따라서 노화억제 물질로서 피부세포의 생성을 촉진하고 collagen 합성을 촉진시키는 물질에 대한 연구가 진행되어 왔다. 3-APPA는 피부에 안전하면서도 in vitro 및 동물시험에서 섬유아세포의 증식과 collagen합성을 촉진시키는 효과가 확인되어 새로운 노화억제 물질로 주목을 받게 되었다. 그러나 많은 물질들이 in vitro에서 효능이 확인되어도 실제 제품에 응용하였을 때 여러 가지 문제로 충분한 효능을 발휘하지 못하는 경우가 많다. 따라서 이러한 문제점을 검증하기 위한 과정으로 임상시험이 필수적이며 본 시험은 3-APPA의 효능을 임상적으로 확인하기 위한 제1보에 해당한다. 본 시험에서 3-APPA를 1% 함유한 에센스를 3개월간 임상시험하여 피부 건조도, 피부 탄력, 피부 주름, 피부 윤기, 피부 거칠기 항목으로 피부노화 억제효과를 확인하였다. 시험결과 3-APPA는 피부 주름, 피부 윤기 항목에서 개선효과를 나타내었고 특히, 피부 탄력 항목에서는 6주만에 시료 사용전과 유의한 수준의 차이를 보임으로서 비교물질인 APSA 보다도 좋은 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 3-APPA의 섬유아세포 증식 및 collagen 합성 촉진효과가 있다는 in vitro 및 동물시험 결과를 간접적으로 확인시켜준 것이며 따라서 장기적인 시료 사용후 생검을 통하여 직접적으로 3-APPA의 효능을 검증하는 제2보의 시험에서도 좋은 결과를 기대할 수 있게 되었다.

본 시험에 참가한 여성은 평균나이 31.4 ± 4.5세로서 피부노화의 진행이 많지 않은 연령으로 볼 수 있다. 피검자군이 40 - 50대 여성으로 피부 주름이 많고 피부탄력이 감소되어 있는 피검자군이라면 본 시험보다 명확한 결과를 도출할 수도 있을 것이다. 12주후 시험종료 시점에서 피검자가 시료를 얼마나 충실하게 사용하였느냐는 내용의 설문을 하였으며 그 설문조사 결과를 바탕으로 시료 미사용 일수가 총 18일(전체 시험기간의 1/5에 해당함)을 초과하는 피검자는 시험결과 분석에서 제외하였다. 그러나 답변의 진위여부를 확인할 수 없다는 문제점은 여전히 남아있다.

APSA와 3-APPA는 유사한 구조를 가지며 생체내에서 섬유아세포 증식을 촉진시키고 collagen 합성을 증가시키는 등 유사한 기능을 나타내는 물질이다. 본 시험결과에서는

APSA군과 3-APPA군 사이에 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 3-APPA군은 사용전에 비하여 유의적으로 피부상태 개선을 나타낸 항목이 많았으며 평균값도 APSA군의 평균값보다 낮았다. 따라서 시험기간이 3개월 이상 지속된다면 3-APPA와 APSA의 차이를 확인할 수 있을 것으로 기대된다. 결론적으로 3-APPA는 APSA와 유사한 수준 또는 그 이상의 광범위한 노화 억제 효능을 가지며 피부 안전성도 우수한 새로운 노화 억제 물질이라고 할 수 있다.

참고문헌

1. 선보경, 이해광, 김은정, 천지민, 김종일, 박원재 “Amino propane sulfonic acid”의 임상적 개선효과 및 새로운 optiscoprolometry 방법에 의한 정량분석” 대한화장품학회지, 21-1호, 1995.
2. 변영훈, 고재숙, 조윤기, 이병곤 “ The synthesis and safety of 3-aminopropyl dihydrogen phosphate, a new anti-aging agent” 19th IFSCC congress, poster No. 81.
3. 조윤기, 선보경, 변영훈, 박원재 “3-Aminopropyl dihydrogen phosphate ; a novel anti-aging substance” 1996, Annual meeting society for Investigative Dermatology, J. Investigative Dermatology, Apr. 1996. vol.106. No.4.
4. 조윤기 “3-APPA(3-Aminopropane phosphoric acid) 새로운 피부노화 억제물질” 대한화장품 학회 4차 심포지움, 1996. 7.
5. Sewon Kang, Kwang J. Kim, Christopher E. M. Griffiths, “Topical tretinoin(retinoic acid) improves early stretch marks” Arch Dermatol, vol132, May 1996.
6. Christopher E. M. Griffiths, Sewon Kang, Charles N. Ellis, “Two concentrations of topical tretinoin(retinoic acid) cause similar improvement of photoaging but different degrees of irritation” Arch Dermatol, vol131, Sep, 1996.