



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년07월28일

(11) 등록번호 10-2561081

(24) 등록일자 2023년07월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/9789 (2017.01) *A61Q 17/00* (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 8/9789 (2017.08)
A61Q 17/005 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0000878
(22) 출원일자 2023년01월03일
심사청구일자 2023년01월03일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020220078838 A*
KR102253095 B1*
KR102471043 B1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
주식회사 한국화장품제조
서울특별시 종로구 청계천로 35 (서린동)
(72) 발명자
강현수
서울특별시 종로구 청계천로 35 관정빌딩 20층
임미진
서울특별시 종로구 청계천로 35 관정빌딩 20층
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 신우

전체 청구항 수 : 총 5 항

심사관 : 이소영

(54) 발명의 명칭 **항염증, 항산화, 항균 및 피부 보습 효과를 갖는 화장료 조성물**

(57) 요약

본 발명에 따른 복합 식물 추출물은 여드름 군에 대한 항균효과, NO 생성 및 염증매개인자인 TNF- 발현 억제 활성을 가지는 동시에 항산화, 보습 등 효능을 나타내어 여드름을 비롯한 다양한 피부 트러블을 개선하는데 유용하게 이용될 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61Q 19/00 (2013.01)

A61K 2800/5922 (2013.01)

(72) 발명자

이석현

서울특별시 종로구 청계천로 35 관정빌딩 20층

한아름

서울특별시 종로구 청계천로 35 관정빌딩 20층

명세서

청구범위

청구항 1

녹차(*Camellia Sinensis*), 비쭉(*Artemisia Scoparia*) 뿌리, 약모밀(*Houttuynia Cordata*), 감초(*Glycyrrhiza Glabra*) 뿌리 및 박하(*Mentha Arvensis*)의 복합 식물 추출물을 유효성분으로 포함하고,

상기 복합 식물 추출물은 녹차 추출물: 비쭉 뿌리 추출물: 약모밀 추출물: 감초 뿌리 추출물: 박하 추출물이 20~100: 20~100: 20~100: 20~100: 1~20의 중량비(w/w)로 배합되고,

여드름 원인균인 큐티박테리움 아크니스(*Cutibacterium acnes*)에 대한 항균 활성을 갖는,

항염증, 항산화, 항균 및 피부 보습 효과를 갖는 화장품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 복합 식물 추출물은

정제수, 탄소수 1 내지 6의 알코올, 글리세린, 탄소수 2 내지 6의 알킬렌글리콜, 탄소수 1 내지 6의 알칸, 탄소수 1 내지 6의 할로젠화 탄화수소, 탄소수 2 내지 6의 알킬 알카노에이트, 클로로포름 및 그의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상으로 추출된 용매 추출물인 것인, 화장품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 복합 식물 추출물은

전체 조성물 100중량%를 기준으로 0.0001 내지 20중량%로 포함되는 것인, 화장품 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조성물은

스킨, 화장수, 용액, 외용 연고, 크림, 폼, 영양 화장수, 유연 화장수, 팩, 유연수, 유액, 메이크업 베이스, 에센스, 비누, 세정제, 액체 세정료, 입욕제, 선 스크린 크림, 선 오일, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 로션, 파우더, 비누, 계면 활성제-함유 클렌징, 오일, 파운데이션, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 패취, 시트 및 스프레이로 구성된 군에서 선택된 1종의 제형인 것인, 화장품 조성물.

청구항 6

녹차(*Camellia Sinensis*), 비쭉(*Artemisia Scoparia*) 뿌리, 약모밀(*Houttuynia Cordata*), 감초(*Glycyrrhiza Glabra*) 뿌리 및 박하(*Mentha Arvensis*)의 복합 식물 추출물을 유효성분으로 포함하고,

상기 복합 식물 추출물은 녹차 추출물: 비쭉 뿌리 추출물: 약모밀 추출물: 감초 뿌리 추출물: 박하 추출물이 20~100: 20~100: 20~100: 20~100: 1~20의 중량비(w/w)로 배합되고,

여드름 원인균인 큐티박테리움 아크니스(*Cutibacterium acnes*)에 대한 항균 활성을 갖는, 항균용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

배경 기술

[0001] 여드름은 피지의 과잉 분비로 인해 모공에 축적되어 염증반응이 나타나는 만성 피부 질환이다(Omer et al., 2017). 여드름의 직접적인 원인은 남성호르몬으로 알려져 있으며 간접적인 원인으로는 환경오염, 스트레스, 유전, 약물남용, 세균감염 등이 있다. 여드름균으로 알려진 큐티 박테리움 아크네스(*Cutibacterium acnes*)는 혐기성 균으로 지방분해효소를 분비하며 이 효소가 피지 중의 중성지방을 분해하여 유리지방산을 형성하는데, 형성된 유리 지방산은 피부에 자극을 주게 되어 모낭벽이나 모공 주위의 세포에 염증을 일으킨다. *C. acnes*는 염증반응을 유도함으로써 각질형성세포를 자극하여 다량의 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)을 생성하게 되는데, 이렇게 생성된 활성 산소종은 *C. acnes* 증식 저해 물질의 결핍을 초래하고 피부의 항산화제 파괴, 지질 과산화 반응의 개시, 단백질 및 DNA 산화, 결합조직의 사슬절단 및 비정상적인 교차결합에 의한 주름생성, 멜라닌생성을 유도하여 피부노화를 가속화한다.

[0002] 여드름 같은 피부 상재균에 의한 피부질환의 발생을 감소시키고 피부를 보호하기 위해 항생제의 사용은 필수적으로 사용되고 있으나, 기존에 사용되고 있는 합성 물질들은 피부 건조증과 과민증을 유발하여, 지속적인 사용이 어려운 것으로 알려져 있다. 따라서, 부작용을 유발하지 않아 인체에 안전하면서도 여드름 피부에 대한 개선 효과가 우수한 제품의 개발 필요성이 꾸준히 대두되고 있는 상황이다

발명의 내용

해결하려는 과제

[0003] 이러한 배경하에서, 식물 추출물 중 여드름균 성장억제효과, 여드름균에 의한 염증 억제 효과를 보이는 물질을 선별하여 다양한 경로로 발생하는 여드름에 효과적인 식물 추출물을 포함하는 화장료 조성물을 개발하고자 노력하였으며, 그 결과 본 발명을 완성하게 되었다.

[0004] 특히 본 발명의 복합 식물 추출물은 여드름 원인균에 대하여 강력한 항균 효과를 나타내는 것과 동시에 항염증, 항산화, 피부 보습 효과도 나타내어, 다양한 효능을 통해 피부 부작용을 수반하지 않으면서도 피부 상태 개선이 가능하다.

[0005] 본 발명의 과제는 녹차(*Camellia Sinensis*), 비쭉(*Artemisia Scoparia*) 뿌리, 약모밀(*Houttuynia Cordata*), 감초(*Glycyrrhiza Glabra*) 뿌리 및 박하(*Mentha Arvensis*)의 복합 식물 추출물을 유효성분으로 포함하고,

[0006] 여드름 원인균인 큐티박테리움 아크네스(*Cutibacterium acnes*)에 대한 항균 활성을 갖는,

[0007] 항염증, 항산화, 항균 및 피부 보습 효과를 갖는 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 또한 본 발명의 과제는 녹차(*Camellia Sinensis*), 비쭉(*Artemisia Scoparia*) 뿌리, 약모밀(*Houttuynia Cordata*), 감초(*Glycyrrhiza Glabra*) 뿌리 및 박하(*Mentha Arvensis*)의 복합 식물 추출물을 유효성분으로 포함하고,

[0009] 여드름 원인균인 큐티박테리움 아크네스(*Cutibacterium acnes*)에 대한 항균 활성을 갖는, 항균용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기한 과제를 달성하기 위해 본 발명은

[0011] 녹차(*Camellia Sinensis*), 비쭉(*Artemisia Scoparia*) 뿌리, 약모밀(*Houttuynia Cordata*), 감초(*Glycyrrhiza Glabra*) 뿌리 및 박하(*Mentha Arvensis*)의 복합 식물 추출물을 유효성분으로 포함하고,

[0012] 여드름 원인균인 큐티박테리움 아크네스(*Cutibacterium acnes*)에 대한 항균 활성을 갖는,

[0013] 항염증, 항산화, 항균 및 피부 보습 효과를 갖는 화장료 조성물을 제공한다.

[0014] 또한 본 발명은

[0015] 녹차(*Camellia Sinensis*), 비쭉(*Artemisia Scoparia*) 뿌리, 약모밀(*Houttuynia Cordata*), 감초(*Glycyrrhiza Glabra*) 뿌리 및 박하(*Mentha Arvensis*)의 복합 식물 추출물을 유효성분으로 포함하고,

[0016] 여드름 원인균인 큐티박테리움 아크네스(*Cutibacterium acnes*)에 대한 항균 활성을 갖는, 항균용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0017] 본 발명에 따른 복합 식물 추출물은 여드름 균에 대한 항균효과, NO 생성 및 염증매개인자인 TNF- 발현 억제 활성을 가지는 동시에 항산화, 보습 등 효능을 나타내어 여드름을 비롯한 다양한 피부 트러블을 개선하는데 유용하게 이용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 본 발명의 조성물은 여드름 원인균에 대한 항균 활성을 갖는 것과 동시에 항염증, 항산화, 항균 및 피부 보습 효과를 갖는다.

[0019] 본 발명의 조성물은 복합 식물 추출물을 유효성분으로 포함하며, 복합 식물 추출물은 녹차(*Camellia Sinensis*), 비쭉(*Artemisia Scoparia*) 뿌리, 약모밀(*Houttuynia Cordata*), 감초(*Glycyrrhiza Glabra*) 뿌리 및 박하(*Mentha Arvensis*)의 추출물을 포함한다.

[0020] 이때, '추출물'은 특별한 언급이 없는 한 다양한 기관 또는 부분으로부터 추출하여 얻은 것으로, 잎, 꽃, 뿌리, 줄기, 가지, 껍질 및 종자 등의 추출물이 모두 가능하다.

[0021] 본 발명에서 원료로 사용하는 상기 복합 식물 추출물은 녹차(*Camellia Sinensis*), 비쭉(*Artemisia Scoparia*) 뿌리, 약모밀(*Houttuynia Cordata*), 감초(*Glycyrrhiza Glabra*) 뿌리, 또는 박하(*Mentha Arvensis*)로부터 침출, 진출하여 얻은 침출액, 또는 그 침출액을 다시 일부 또는 전부 농축하여 얻은 농축물, 또는 다시 그 농축물을 건조시켜 제조한 추출 엑기스 및 추출액 중에 함유되고 있는 주 효과를 발휘하는 화합물질 그 자체를 포함한다.

[0022] 본 발명의 조성물은 피부 여드름균 예를 들면 캔디다 알비칸(*Candida albicans*), 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*), 스태필로코커스 아우레스(*Staphylococcus aureus*) 및 큐티박테리움 아크네스(*Cutibacterium acnes*)로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상에 대해 항균 효과를 나타내는 것일 수 있다. 구체적으로, 본 발명의 조성물은 큐티박테리움 아크네스(*Cutibacterium acnes*)에 대한 우수한 항균 효과를 갖는다.

[0023] 상기 복합 식물 추출물은 녹차 추출물: 비쭉 뿌리 추출물: 약모밀 추출물: 감초 뿌리 추출물: 박하 추출물이 20~100: 20~100: 20~100: 20~100: 1~20의 중량비(w/w)로 배합된 것을 포함할 수 있다. 상기 범위 내로 제한되지 않으나, 상기 범위 내로 포함되는 경우, 복합 식물 추출물은 우수한 항균 효과, 항염증 및 항산화 효과를 나타낼 수 있다.

[0024] 본 발명의 추출물은, 당업계에 공지된 통상의 방법에 따라, 즉, 통 상적인 용매를 사용하여, 통상적으로 이용되는 냉침, 환류 냉각추출, 열수추출, 실 온추출, 가온추출, 초음파추출, 초임계추출 등의 방법으로 제조될 수 있다.

[0025] 본 발명은 상기 복합 식물 추출물을 유효성분으로 포함하는 큐티박테리움 아크네스(*Cutibacterium acnes*)에 대한 항균용 조성물을 제공한다.

[0026] 또한 본 발명은 상기 복합 식물 추출물을 유효성분으로 포함하는, 항염증, 항산화, 항균 및 피부 보습 효과를 갖는 화장료 조성물을 제공한다.

[0027] 본 발명의 일 구현예에 따른 조성물은 목적하는 바에 따라 적절한 함량의 복합 식물 추출물을 포함할 수 있으며, 예를 들어 전체 조성물 100중량%를 기준으로 복합 식물 추출물을 0.0001 내지 20 중량%, 0.001 내지 20 중량%, 0.002 내지 20 중량%, 0.0025 내지 20 중량%, 0.0001 내지 10 중량%, 0.001 내지 10 중량%, 0.002 내지 10 중량%, 0.0025 내지 10 중량%, 0.0001 내지 5 중량%, 0.001 내지 5 중량%, 0.002 내지 5 중량%, 0.0025 내지 5 중량%, 0.0001 내지 1 중량%, 0.001 내지 1 중량%, 0.002 내지 1 중량%, 또는 0.0025 내지 1중량% 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이때, 복합 식물 추출물의 함량은 제형에 함유되는 성분들의 함량에 따라 상기 범위 내에서 적절히 조절하는 것이 바람직하다. 상기 복합 식물 추출물의 함량이 0.0001% 미만인 경우에는 항염증, 항균, 피부 보습 및 여드름 개선 효과가 너무 미약하고, 20 중량%를 초과하는 경우에는 함량의 증

가에 따른 효과의 증가가 미비하고 제형상의 안정성이 확보되지 않는 문제점이 있다.

[0028] 또한, 본 발명에 따른 복합 식물 추출물을 조성 성분으로 사용함에 있어서는 동결 건조된 분말 형태로는 물론이고, 물 또는 통상의 유기용매에 분산 또는 용해된 액체 형태로도 사용될 수 있다.

[0029] 구체적으로는 정제수, 탄소수 1 내지 6의 알코올, 글리세린, 탄소수 2 내지 6의 알킬렌글리콜, 탄소수 1 내지 6의 알칸, 탄소수 1 내지 6의 할로젠화 탄화수소, 탄소수 2 내지 6의 알킬 알카노에이트, 클로로포름 및 그의 혼합물로부터 선택된 추출용매를 사용할 수 있다. 좀 더 구체적으로 예시하면 정제수, 메탄올, 에탄올, 1,2-프로판디올, 글리세린, 에틸렌글리콜, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 디클로로메탄, 디클로로에탄, 헥산, 에틸아세테이트, 클로로포름 및 그의 혼합물로부터 선택된 추출용매를 사용할 수 있다.

[0030] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 복합 식물 추출물은 분획용매로 분획하여 얻어진 분획 추출물일 수 있다. 상기 분획 추출물은 여러 다양한 구성 성분들을 포함하는 혼합물로부터 특정 성분 또는 특정 성분 그룹을 분리하기 위하여 분획을 수행하여 얻어진 결과물을 의미한다. 상기 분획물을 얻는 분획 방법은 특별히 제한되지 않으며, 상기 분획 방법의 비제한적인 예로는, 다양한 용매를 처리하여 수행하는 용매 분획법, 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 통과시켜 수행하는 한외여과 분획법, 다양한 크로마토그래피 (크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)를 수행하는 크로마토그래피 분획법, 및 이들의 조합 등이 있다. 구체적으로, 본 발명의 녹차(*Camellia Sinensis*), 비쭉(*Artemisia Scoparia*) 뿌리, 약모밀(*Houttuynia Cordata*), 감초(*Glycyrrhiza Glabra*) 뿌리, 또는 박하(*Mentha Arvensis*)를 추출하여 얻은 추출물에 소정의 용매를 처리하여 상기 추출물로부터 분획물을 얻는 방법을 들 수 있다. 상기 분획물을 얻는데 사용되는 분획 용매의 종류는 특별히 제한되지 않으며, 복합 식물 추출물로부터 목적 하는 유효성분을 분리 추출하기 위한 임의의 용매를 사용할 수 있다. 상기 분획 용매는 상기 추출용매에서 언급한 용매를 사용할 수 있다.

[0031] 이때 추출용매 또는 분획 용매의 사용량은 원료 중량의 5 내지 30 배 부피량이며, 보다 바람직하게는 5 내지 20 배이다.

[0032] 추출온도는 당업자가 추출 방법에 적절한 다양한 온도 범위를 채택 할 수 있으며, 예를 들어, 20 ℃ 내지 100 ℃ 등에서 수행될 수 있으나, 이에 국한 되지 않는다. 또한, 추출시간은 추출방법에 따라 상이하며, 당업자가 적절한 추출 시간을 채택할 수 있으며, 이에 국한되지 않으나, 약 1 시간 내지 수일의 범위에서 단회 또는 복수 회로 수행될 수 있다. 상기 1차 추출용매로 추출을 수행하여 얻어진 추출물은 통상의 방법에 따라 여과하여 불순물을 제거한 액상 형태로 얻거나, 얻어진 액상 형태의 추출물을 통상의 방법에 따라 감압농축 및/또는 건조하여 분말 형태로 얻을 수 있다.

[0033] 본 발명의 화장료 조성물은 그 제형에 있어서 특별히 한정되는 바가 없으며, 예를 들어 스킨, 화장수, 용액, 외용 연고, 크림, 폼, 영양 화장수, 유연 화장수, 팩, 유연수, 유액, 메이크업 베이스, 에센스, 비누, 세정제, 액체 세정료, 입욕제, 선 스크린 크림, 선 오일, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 파운데이션, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 패취, 시트 및 스프레이로 구성된 군에서 선택되는 제형으로 제조할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0034] 또한, 각 제형의 조성들은 그 제형의 제제화에 필요하고 적절한 각 종의 기제와 첨가물을 함유할 수 있으며, 그 효과를 떨어트리지 않는 범위 내에서 비이온 계면활성제, 실리콘 폴리머, 체질안료, 향료, 방부제, 살균제, 산화 안정화 제, 유기 용매, 이온성 또는 비이온성 증점제, 유연화제, 산화방지제, 자유 라디칼 파괴제, 불투명화제, 안정화제, 에몰리언트(emollient), 실리콘, 질화수소산, 소포제, 보습제, 비타민, 곤충 기피제, 향료, 보존제, 계면활성제, 소염제, 물질 P 길항제, 충전제, 중합체, 추진제, 염기성화 또는 산성화제, 또는 착색제 등 공지의 화합물을 포함하여 제조된다.

[0035] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 더욱 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0036] 제조예 1: 식물성 추출물의 제조

[0037] 건조된 녹차 100g을 분쇄한 후 3L의 80% EtOH을 사용하여 2시간 가온 추출한 후, 냉침 시키고, 1μm 투과 사이즈를 갖는 여과지로 여과하여 여과액을 수득하였다. 수득된 여과액을 감압농축하고 진공건조 또는 동결건조 과정을 거쳐 식물 추출물을 제조하였다.

[0038] 상기와 동일한 방법으로 각각 비쭉 뿌리, 약모밀, 감초 뿌리 및 박하의 추출물 건조 분말을 제조하였다.

[0039] 실시예 1 및 비교예 1 내지 20: 녹차, 비쭉 뿌리, 약모밀, 감초 뿌리 및 박하 추출물 복합물의 제조

[0040] 녹차, 비쭉 뿌리, 약모밀, 감초 뿌리 및 박하 추출물의 혼합물을 하기 표 1, 표 2의 조성으로 제조하였다. 구체적으로, 하기 표 1, 2의 조성으로 각각의 복합물을 혼합하고, 복합물을 멸균 처리(KRS A-1, Health up, Korea)된 용기에 옮겨 담아 5 °C에서 냉장보관하였다.

표 1

[0041]

구분	중량비				
	녹차 추출물	비쭉 뿌리 추출물	약모밀 추출물	감초뿌리 추출물	박하 추출물
실시예 1	1	1	1	1	1
비교예 1	1	-	-	-	-
비교예 2	-	1	-	-	-
비교예 3	-	-	1	-	-
비교예 4	-	-	-	1	-
비교예 5	-	-	-	-	1
비교예 6	1	1	-	-	-
비교예 7	1	-	1	-	-
비교예 8	1	-	-	1	-
비교예 9	1	-	-	-	1
비교예 10	-	1	1	-	-
비교예 11	-	1	-	1	-
비교예 12	-	1	-	-	1
비교예 13	-	-	1	1	-
비교예 14	-	-	1	-	1
비교예 15	-	-	-	1	1
비교예 16	1	1	1	-	-
비교예 17	1	1	-	1	-
비교예 18	1	1	-	-	1
비교예 19	-	1	1	1	-
비교예 20	-	1	1	-	1
비교예 21	-	-	1	1	1
비교예 22	1	1	1	1	-
비교예 23	-	1	1	1	1

표 2

[0042]

구분	중량비				
	녹차 추출물	비쭉 뿌리 추출물	약모밀 추출물	감초 뿌리 추출물	박하 추출물
실시예 1-1	1	1	1	1	0.2
실시예 1-2	1	1	1	1	0.4
실시예 1-3	1	1	1	1	0.6
실시예 1-4	1	1	1	1	0.8

[0043] 실험예 1: NO 생성 억제

[0044] 녹차추출물, 비쭉추출물, 약모밀추출물, 감초뿌리추출물 및 박하추출물의 항염증 효과를 알아보기 위해 NO 생성 억제 효과를 확인하였다.

[0045] 마우스 대식 세포인 RAW 264.7 세포를 2×10^6 cells/dish density로 60mm 플레이트(plate)에 분주하여 24시간 동안 플레이트에서 배양하였다. 염증반응을 유발하기 위해 $1\mu\text{g/ml}$ 농도의 LPS(lipopolysaccharide)와 시험물질을 함유한 새로운 배지를 처리하여 24시간 배양하였다. NO assay를 통한 항염 활성 평가는 griess A, B reagent를 이용한 방법으로, 1% sulfanilamide, 0.1% N-(1-naphtyl)ethylenediamine dihydrochloride reagent를 1:1

비율로 혼합하여 사용하였다. 본 실험예에서는 상기 실시예 1, 실시예 1-1 내지 1-4, 및 비교예 1 내지 20에 대해 모두 400 ug/ml의 농도로 동일하게 처리하였다. 96 well plate에서 실시예 1, 실시예 1-1 내지 1-4 및 비교예 1 내지 23을 처리 후 37 °C, 5% CO₂의 조건에서 24시간 동안 배양된 배지의 상등액을 griess (A+B) reagent와 1:1 비율로 각각 50 μ l씩 혼합하여 10분간 상온에서 보관한 후 540nm에서 ELISA 측정을 통해 NO 생성 억제능을 측정하였다.

[0046] 그 결과는 하기 표 3 및 표 4에 나타내었다. NO 생성 억제율 (%)은 대조군(100 %)을 기준으로 NO 생성률 (%)을 100 %에서 뺀 값을 말한다.

표 3

[0047]

구분	NO 생성 억제율 (%)
실시예 1	45.3
실시예 1-1	35.9
실시예 1-2	47.3
실시예 1-3	55.1
실시예 1-4	58.2

표 4

[0048]

구분	NO 생성 억제율 (%)
비교예 1	17.1
비교예 2	13.6
비교예 3	9.1
비교예 4	7.6
비교예 5	11.5
비교예 6	18.5
비교예 7	18.1
비교예 8	18.2
비교예 9	17.7
비교예 10	14.2
비교예 11	13.1
비교예 12	12.9
비교예 13	12.1
비교예 14	10.2
비교예 15	13.4
비교예 16	22.6
비교예 17	21.9
비교예 18	18.8
비교예 19	13.1
비교예 20	12.3
비교예 21	11.0
비교예 22	25.6
비교예 23	20.1

[0049] 상기 표 3과 표 4에 나타난 바와 같이, 실시예 1-1 내지 1-4의 샘플은 모두 비교예 1 내지 23 대비 NO 생성 억제율이 현저히 향상되는 것으로 나타났다. 구체적으로, 비교예 5 및 비교예 22의 NO 생성 억제율을 기준으로 콜비식 (Colby's equation) 예측치를 계산하면, 34.16%가 나오는데, 실시예 1 및 실시예 1-1 내지 1-4의 실측치는 모두 콜비식 예측치를 상회하는 결과를 나타내어 상승효과가 나타남을 확인하였다. 특히, 실시예 1 및 실시예 1-2 내지 1-4의 샘플은 NO 생성 억제율이 현저히 높게 나타났다.

[0050] **실험예 2: 염증성 사이토카인 TNF- 발현 억제 효능 확인**

[0051] 녹차 추출물, 비쭈 뿌리 추출물, 약모밀 추출물, 감초 뿌리추출물 및 박하추출물의 항염증 효과를 알아보기 위해 염증성 사이토카인 TNF-의 발현 억제효과를 확인하였다. 마우스 대식세포인 RAW 264.7 세포를 10% FBS가 첨

가된 DMEM 배지를 이용하여 5×10^5 cell/well로 조절한 후, 12 well plate에 접종하고 18시간 동안 배양하였다. 본 실험예에서는 상기 실시예 1, 실시예 1-1 내지 1-4, 및 비교예 1 내지 23에 대해 모두 400 ug/ml의 농도로 동일하게 처리하였다. 배양한 뒤 12시간 동안 기아상태를 유지시킨 후, LPS 10ng/mL와 실시예 1, 실시예 1-1 내지 1-4 및 비교예 1 내지 23을 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 배양된 세포에서 RNA를 추출하여 Reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR)을 통해 TNF-의 발현율을 확인하였다. TNF- 발현율은 하기 수학적 식 1에 의해 산출되었고, TNF- 발현 억제율은 100 %에서 TNF- 발현율을 뺀 값을 말한다. 그 결과는 하기 표 5와 표 6에 나타내었다.

[0052] [수학적 식 1]

[0053] $TNF- 발현율(\%) = (시료\ TNF- 발현양 / 대조군\ TNF- 발현양) \times 100$

표 5

[0054]

구분	TNF- α 발현 억제율 (%)
대조군	0.0
실시예 1	47.2
실시예 1-1	41.2
실시예 1-2	45.3
실시예 1-3	49.9
실시예 1-4	50.2

표 6

[0055]

구분	TNF- α 발현 억제율 (%)
비교예 1	15.0
비교예 2	17.6
비교예 3	14.6
비교예 4	5.7
비교예 5	5.6
비교예 6	26.2
비교예 7	22.1
비교예 8	20.9
비교예 9	18.7
비교예 10	25.4
비교예 11	19.1
비교예 12	18.9
비교예 13	15.1
비교예 14	13.2
비교예 15	7.2
비교예 16	29.7
비교예 17	39.2
비교예 18	31.6
비교예 19	30.8
비교예 20	16.0
비교예 21	10.2
비교예 22	36.8
비교예 23	33.3

[0056] 상기 표 5와 표 6에 나타난 바와 같이, 실시예 1 및 실시예 1-1 내지 1-4의 샘플은 모두 비교예 1 내지 23 대비 TNF- 발현 억제율이 현저히 향상되는 것으로 나타났다. 구체적으로, 비교예 2 및 비교예 22의 TNF- 발현 억제율을 기준으로 콜비식(Colby's equation) 예측치를 계산하면, 40.1%가 나오는데, 실시예 1-1 내지 1-4의 실험치는 모두 콜비식 예측치를 상회하는 결과를 나타내어 상승효과가 나타남을 확인하였다. 특히, 실시예 1 및 실시예 1-2 내지 1-4의 샘플은 TNF- 발현 억제율이 현저히 높게 나타났다.

[0057] 실험예 3: 복합 식물 추출물의 큐티 박테리움 아크네스(*Cutibacterium acnes*)에 대한 항균 활성 확인

[0058] 각 샘플의 최소저해농도 (Minimum Inhibition Concentration: MIC)를 측정하기 위한 실험을 수행하였다. 구체적으로, 24시간 동안 배양한 큐티 박테리움 아크네스(*Cutibacterium acnes*)를 3 ml RCM 배지에 넣고, 동시에 샘플을 농도별로 각각 첨가한 후 혐기 조건하에서 37℃에서 24시간 동안 배양하였다. 카페산의 MIC를 측정하기 위하여 2배 계열 희석법(two-fold serial dilution method)을 사용하였다. 여기서 MIC는 미생물의 성장을 억제하는 최소 농도로 정의한다. 그 결과를 하기 표 7과 표 8에 나타내었다.

표 7

[0059]

구분	최소저해농도 (ppm)
실시예 1	973
실시예 1-1	1550
실시예 1-2	1452
실시예 1-3	1067
실시예 1-4	980

표 8

[0060]

구분	최소저해농도 (ppm)
비교예 1	2124
비교예 2	1865
비교예 3	2535
비교예 4	2215
비교예 5	1414
비교예 6	2459
비교예 7	2575
비교예 8	2111
비교예 9	1505
비교예 10	2006
비교예 11	2010
비교예 12	1675
비교예 13	2518
비교예 14	2153
비교예 15	1887
비교예 16	1678
비교예 17	1821
비교예 18	1552
비교예 19	1910
비교예 20	1543
비교예 21	1875
비교예 22	1310
비교예 23	1407

[0061] 상기 표 7 및 표 8에 나타난 바와 같이, 녹차, 비쭈, 약모밀, 감초뿌리 및 박하 복합 추출물 처리시 여드름 군주에 대한 강한 항균력을 나타내는 것을 확인하였다. 실시예 1 및 실시예 1-3 내지 1-4의 샘플은 모두 비교예 1 내지 23 대비 *P. acnes*에 대한 항균력이 현저히 향상되는 것으로 나타났으며, 특히 실시예 1-4의 샘플은 *C. acnes*에 대한 항균력이 현저히 높게 나타났다.

[0062] **실험예 4: 복합 식물 추출물의 항산화 효능 측정**

[0063] 항산화 효능을 확인하기 위해 DPPH를 0.2mM 농도가 되게 70% EtOH에 녹여 준비하였다. DPPH 용액과 제조된 시료를 100:100이 되도록 혼합하였다. 이와 같이 DPPH 용액과 농도별로 용매에 용해시킨 시료를 혼합하여 20 분간 반응시키고 20분 후, 분광광도계를 이용하여 515nm에서 흡광도를 측정하여 항산화 활성을 분석하였다. 아스코르브산(Ascorbic acid)을 대조군 (PC, Positive control)으로 하고, 소거 활성의 크기는 하기 수학적 2를 기반으로 DPPH의 활성 저해율을 나타내었다.

[0064] [수학적 2]

[0065] $\text{Inhibition (\%)} = \{(\text{OD control} - \text{OD sample}) / \text{OD control}\} \times 100$

[0066] 상기 실시예 1 및 비교예 1 내지 23의 복합 식물 추출물의 항산화 효능을 평가(DPPH radical 소거능)하여 아래 표 9에 나타내었다.

표 9

[0067]

구분	DPPH 활성 저해율 (%)
실시예 1	73.2
비교예 1	52.6
비교예 2	42.6
비교예 3	45.2
비교예 4	37.3
비교예 5	35.7
비교예 6	45.7
비교예 7	49.1
비교예 8	38.2
비교예 9	46.5
비교예 10	42.8
비교예 11	40.5
비교예 12	36.2
비교예 13	41.6
비교예 14	41.9
비교예 15	35.1
비교예 16	54.9
비교예 17	49.3
비교예 18	46.7
비교예 19	43.1
비교예 20	42.8
비교예 21	37.2
비교예 22	55.7
비교예 23	45.8

[0068] 실험예 5: 피부수분량 개선 측정

[0069] 하기 표 10에 기재된 조성에 따라 통상적인 방법으로 로션을 제조하였다.

표 10

[0070]

성분 (함량: 중량%)	실시 제형	비교 제형
실시예 1의 복합 식물 추출물	0.1	—
다이소듐이디티에이	미량	미량
글리세린	6.0	6.0
폴리글리세릴-3메틸글루코오스다이스테아레이트	1.0	1.0
세틸에틸헥사노에이트	3.0	3.0
다이메티콘	0.5	0.5
카보머	미량	미량
알지닌	미량	미량
1,2-헥산다이올	2.0	2.0
정제수	To 100	To 100

[0071] 피부수분 개선효과를 측정하였다. 피부질환이 없는 24세 ~ 41세 구간의 성인 20명을 대상으로 하여, 실시예 1에 따라 제조된 복합 식물 추출물 0.1 wt% 함유한 로션과 복합 식물 추출물이 함유되지 않은 로션을 각각 10명에게 적용하였다. 아침, 저녁 세안 후 눈가 부위에 도포하여 30 분 후에 피부수분 변화 상태를 측정하였다. 피부 수분량 변화 상태를 측정한 결과, 사용 전 실험대상자의 평균 피부수분량이 0.6121 A.U.로 측정되었던 것이 사용 2 주 경과 후, 복합추출물을 함유한 로션(실시 제형)을 사용한 실험대상자의 평균 피부수분량 0.6942 A.U.로 측

정되었고 복합 식물 추출물이 함유되지 않은 로션(비교 제형)은 0.6458 A.U.로 측정됨으로 복합 식물 추출물 화장품의 보습기능에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 판단한다.