



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0106811
(43) 공개일자 2009년10월12일

(51) Int. Cl.

A61K 8/19 (2006.01) A61Q 19/02 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0032179

(22) 출원일자 2008년04월07일

심사청구일자 2008년04월07일

(71) 출원인

인하대학교 산학협력단

인천 남구 용현동 253 인하대학교

(72) 발명자

김은기

서울특별시 강남구 대치동 316 은마아파트 8-212

손영중

인천 남동구 만수3동 859-7번지 금빛 101동 301호

김정현

인천광역시 연수구 옥련동 벽산빌라 11동 308호

(74) 대리인

이원희

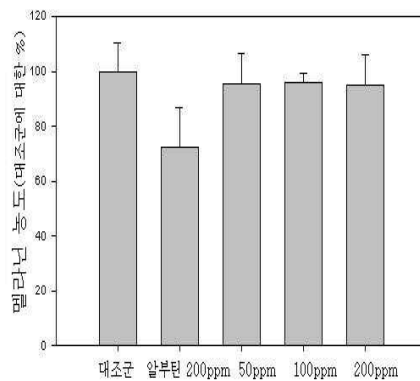
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 머드 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백, 보습또는 항염증용 조성물

(57) 요약

본 발명은 머드(Mud, sandbar) 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백, 보습 또는 항염증용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출되는 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물은 프로스타글란딘 E2(prostaglandin E2, PGE2)를 억제하여 피부 미백 및 염증완화 효과를 나타내고, 보습효과가 뛰어나며 세포독성이 없으므로 피부 미백, 보습 또는 항염증용 조성물로 유용하게 사용할 수 있다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

머드(Mud, sandbar) 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 보습용 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 추출물은 물, 알코올 또는 이들의 혼합물로 추출되는 것을 특징으로 하는 피부 미백 및 보습용 조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 알코올은 C_1 내지 C_4 저급 알코올인 것을 특징으로 하는 피부 미백 및 보습용 조성물.

청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 저급 알코올은 에탄올 또는 메탄올인 것을 특징으로 하는 피부 미백 및 보습용 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서, 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물은 프로스타글란딘 E2(prostaglandin E2, PGE2)를 억제하는 것을 특징으로 하는 피부 미백 및 보습용 조성물.

청구항 6

제 1항의 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 보습용 피부 외용제.

청구항 7

제 1항의 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 보습용 화장품 조성물.

청구항 8

머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 항염증용 조성물.

청구항 9

제 8항에 있어서, 상기 추출물은 물, 알코올 또는 이들의 혼합물로 추출되는 것을 특징으로 하는 항염증용 조성물.

청구항 10

제 9항에 있어서, 상기 알코올은 C_1 내지 C_4 저급 알코올인 것을 특징으로 하는 항염증용 조성물.

청구항 11

제 10항에 있어서, 상기 저급 알코올은 에탄올 또는 메탄올인 것을 특징으로 하는 항염증용 조성물.

청구항 12

제 8항에 있어서, 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물은 프로스타글란딘 E2(prostaglandin E2, PGE2)를 억제하는 것을 특징으로 하는 항염증용 조성물.

청구항 13

제 8항의 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 항염증용 피부 외용제.

청구항 14

제 8항의 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 항염증용 화장품 조성물.

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

- <1> 본 발명은 머드(Mud, sandbar) 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백, 보습 또는 항염증용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출되는 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백, 보습 또는 항염증용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- <2> 건강하고 여유로운 삶이 요구되고 있는 가운데 아름다워지고자 하는 소망과 함께 기능성 화장품에 대한 관심이 더욱 높아지고 있고, 그에 따라서 기능성 화장품은 단순히 미용의 개념에서 진화하여 고기능, 다기능의 개념을 함유한 미백 등의 기능성 화장품의 신소재 원료 개발이 강하게 요구되고 있다. 앞으로의 기능성 화장품이 확대됨에 따라 미백 제품은 기능성 화장품의 30% 이상을 차지할 것이라 예상하며 기능성 화장품 개발에 있어서 중추적인 역할을 할 것이라 예측된다.
- <3> 피부색을 결정하는 가장 중요한 색소는 멜라닌으로서 표피의 기저층에 존재하는 멜라노사이트(melanocyte) 내의 멜라노솜(melanosome)에서 합성된다. 멜라닌은 햇빛 UV의 빛 에너지를 흡수하여 UV에 의한 손상으로부터 진피 이하의 피부 기관을 보호하는 역할을 하며, 피부 생체 내에 생겨난 유해산소 및 프리라디칼 등을 잡아주는 등 외부 유해인자로부터 피부를 보호해주는 유용한 역할을 수행한다. 또한, 피부 세포 내의 멜라닌양에 따라 사람의 피부색을 결정한다. 멜라닌 색소가 많은 사람은 갈색 또는 검은 색 피부를 갖는 반면, 멜라닌 색소가 적은 사람은 흰색의 피부를 갖게 된다. 하지만 일광, 호르몬변화, 염증 또는 약제 등에 의해 멜라닌이 과도로 합성되거나 각화작용이 원활히 이루어지지 않아 색소가 침착되면 기미, 주근깨와 같은 피부질환을 일으키며 또한 피부암의 원인이 되기도 한다. 따라서, 미용욕구 충족뿐만 아니라 피부질환 치료를 위한 미백제에 대한 개발이 필요하다.
- <4> 멜라닌의 생성을 억제하는 다양한 접근방법이 있는데, 예를 들면 티로시네즈(tyrosinase) 생성 억제, 티로시네즈 활성 억제, 기존 멜라닌의 환원, 광산화 억제 또는 멜라닌 배설 촉진 등이 있다.
- <5> 최근에는 종래의 미백 물질들 외에 천연물에서 미백 활성 성분을 찾기 위한 연구가 활발하며, 그 중 상백피(일본공개특허 소 55-44375호, 소 64-26507호, 소 64-83009호, 평 1-25687호, 평 5-139950호 및 대한민국 공개특허 제92-002109호, 제97-021273호), 감초(일본공개특허 소 60-214721호, 소 60-214728호, 소 63-23809호, 소 64-63506호, 평 1-149706호 및 대한민국 공개특허 제92-002109호, 제97-025601호), 작약(일본공개특허 소 61-246109호 및 대한민국 공개특허 제92-002111호), 계피(일본공개특허 소 63-30403호, 평 5-139954호), 고삼(일본공개특허 소 64-26507호 및 대한민국 공개특허 제92-002110호), 갈근(일본공개특허 소 60-214727호, 소 64-16709호), 당귀(일본공개특허 소 56-92211호, 평 4-26610호), 목단피(일본공개특허 소 60-214721호, 소 61-50915호, 소 61-246109호), 반하(일본공개특허 평 2-207028호, 대한민국 공개특허 제96-033442호), 알로에(일본공개특허 소52-44375호, 평 2-207030호, 평 5-139950호)등 다수의 식물 추출물 및 생약재 추출물 등이 멜라닌 생성을 억제한다는 사실이 밝혀졌으나 이들 역시 안전성, 변색 가능성 등의 측면에서 화장품 또는 의약품에 유효 농도 이상으로 사용하는 데는 많은 문제점이 있고 활성성분이 분명치가 않으며, 아직 뛰어난 효과를 나타내지도 못하고 있는 실정이다.
- <6> 프로스타글란딘 E2(prostaglandin E2, PGE2)는 아라키돈산 반응단계(arachidonate cascade)에 있어서의 대사산물의 하나로서 활성을 유도하는 통증, 전- 또는 항-염증성 활성, 자궁수축 활성, 소화 연동에 대한 촉진 작용, 각성 활성, 위산분비에 대한 억제 작용, 저혈압 활성, 혈소판 저해 활성, 골-재흡수 활성 및 혈관 형성 활성 등의 각종 활성을 지닌다.
- <7> PGE2는 피부의 세포 중에서는 UV 자극에 의해 케라티노사이트(keratinocyte)에서 생성되며, 상기 생성된 PGE2는

세포 외로 방출되어 지질 신호 매개체(lipid signaling intermediate)로 작용하여 면역조절, 세포 성장, 세포 분화 및 발암(carcinogenesis)에 영향을 미친다. 따라서 PGE2의 생성을 억제하면 항염효과를 얻을 수 있다(Glynis Scott, et al., *J Invest Dermatol* 122: 1214-1224, 2004).

<8> PGE2는 피부 구조에서 PKC ζ 을 통하여 멜라닌세포 수지상 결정(melanocyte dendrite)을 자극하는 결과가 보고된 바 있다. 상기 멜라닌세포 수지상 결정은 생성된 멜라노좀(melanosome)이 케라티노사이트로 이동되는데 관여하는 중요한 요소이다. 즉, 멜라닌세포 수지상 결정을 자극시키는 PGE2를 감소시키는 것은 UV에 의해 자극된 케라티노사이트가 색소형성(pigmentation)을 일으키는 것을 억제하여, 탈색소(depigment) 효과가 있다(Glynis Scott, et al., *experimental cell research* 313, 3840-3850, 2007).

<9> 머드(Mud, sandbar)는 천연 바다 진흙으로 원적외선이 다량 방출되고 미네랄이 풍부할 뿐만 아니라 게르마늄 및 벤토나이트 등의 유익한 성분이 함유되어 있어 피부세포 호흡촉진으로 피부노화 방지, 수분균형 유지, 피부청정 작용 및 피부노폐물 제거 등의 탁월한 효능을 가지고 있음이 알려져 있다. 그러나 지금까지 머드에서 분리한 활성성분이 보습, 피부 미백 및 항염증에 효과가 있다는 보고는 없다.

<10> 이에, 본 발명자들은 머드내 성분을 연구하던 중, 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물이 프로스타글란딘 E2(prostaglandin E2, PGE2)를 억제하고, 높은 보습력을 가지며 세포독성이 없음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

<11> 본 발명의 목적은 머드(Mud, sandbar) 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백, 보습 또는 항염증용 조성물, 피부 외용제, 및 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

<12> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 머드(Mud, sandbar) 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 보습용 조성물을 제공한다.

<13> 또한, 본 발명은 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 보습용 피부 외용제를 제공한다.

<14> 또한, 본 발명은 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 보습용 화장료 조성물을 제공한다.

<15> 또한, 본 발명은 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 항염증용 조성물을 제공한다.

<16> 또한, 본 발명은 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 항염증용 피부 외용제를 제공한다.

<17> 아울러, 본 발명은 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 항염증용 화장료 조성물을 제공한다.

효 과

<18> 본 발명의 머드(Mud, sandbar) 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물은 멜라닌 생성을 억제하고, 프로스타글란딘 E2(prostaglandin E2, PGE2)를 억제하여 피부 미백 및 염증완화 효과를 나타내고, 보습효과가 뛰어나며 세포독성이 없으므로 피부 미백, 보습 또는 항염증용 조성물, 피부 외용제, 및 화장료 조성물에 유용하게 이용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<19> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

<20> 본 발명은 머드(Mud, sandbar) 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 보습용 조성물, 또는 항염증용 조성물을 제공한다.

- <21> 상기 머드 추출물은
- <22> 1) 건조한 머드를 분말로 만든 후 추출용매를 가하여 추출하는 단계;
- <23> 2) 단계 1)의 추출물을 식힌 후 여과하는 단계; 및
- <24> 3) 단계 2)의 추출물을 감압농축한 후 동결건조하는 단계를 포함하는 제조방법에 의해 제조되는 것이 바람직하나 상기 방법에 한정되지 않는다.
- <25> 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 머드는 직접 채취한 것 또는 시판되는 것을 제한 없이 사용할 수 있으나 이에 한정되지 않고 당업자가 입수할 수 있는 머드는 모두 사용할 수 있다.
- <26> 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 추출용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물인 것이 바람직하고, 상기 알코올로는 C₁ 내지 C₄ 저급 알코올을 이용하는 것이 바람직하며, 저급 알코올로는 에탄올 또는 메탄올을 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 추출용매를 머드 분말의 총 분량에 2 내지 5배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하며, 3배 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 또한, 추출온도는 80 ~ 120℃인 것이 바람직하며, 100℃인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 추출시간은 15 ~ 30시간이 바람직하며, 24시간이 더욱 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- <27> 상기 제조방법에 있어서, 단계 3)의 감압농축은 감압농축기를 이용하는 것이 바람직하고 회전진공농축기를 이용하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 감압농축은 20 ~ 60℃에서 농축하는 것이 바람직하고 20 ~ 40℃에서 농축하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 동결건조는 동결건조기를 이용하는 것이 바람직하고 진동동결건조기를 이용하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 동결건조는 -50 ~ -100℃에서 건조하는 것이 바람직하고 -70℃에서 건조하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <28> 본 발명의 머드 추출물은 멜라닌 합성 인자 및 프로스타글란딘 E2(prostaglandin E2, PGE2)를 억제하는 것을 특징으로 한다.
- <29> 본 발명자들은 머드 추출물들이 멜라닌 생성을 억제하는지 알아보기 위해, 마우스 흑색종 세포(Mouse melanoma cell)에 본 발명의 머드 추출물들을 처리하여 배양한 후 ELISA 리더기(reader)를 이용하여 생성된 멜라닌양을 측정하였다. 그 결과, 본 발명의 머드 추출물들은 미백작용이 있는 물질로 알려진 알부틴(Arbutin)에 비해 조금 낮았지만 PBS만을 처리한 대조군에 비해 3 ~ 8%의 저해율을 나타냄으로써 멜라닌 생성에 대한 저해작용이 있음을 알 수 있었다. 따라서 본 발명의 머드 추출물은 멜라닌 세포(melanocyte) 내의 멜라닌 합성(melanogenesis) 인자를 억제하는 것을 알 수 있다(도 1 및 도 2 참조).
- <30> 또한, 본 발명자들은 머드 추출물이 PGE2를 억제하는지 알아보기 위해, 인간 각질형성 세포(Human Keratinocyte cell)에 UV를 처리하여 PGE2의 생성하게 한 후 본 발명의 머드 추출물들을 처리하여 배양한 다음, PGE2 항체 및 ELISA 리더기를 이용하여 생성된 PGE2양을 측정하였다. 그 결과, 본 발명의 머드 추출물들은 UVB만을 쬔 대조군에 비하여 20 ~ 60% 높은 PGE2 저해율을 나타내었고, PGE2의 저해제로 알려진 인도메타신(Indomethacin)과 유사한 정도의 억제효과를 나타내었으며 농도 의존적으로 PGE2를 억제하는 것을 알 수 있다(도 3 및 도 4 참조). PGE2는 멜라닌 세포의 수지상 결정(dendrite)을 조절하는 것으로 알려져 있다(Glynis Scott, et al., *experimental cell research* 313, 3840-3850, 2007). 즉, UVB에 의해 각질형성 세포에서 방출되는 PGE2를 줄이는 물질은 멜라닌 세포의 수지상 결정을 억제시켜 멜라닌 이동(melanin transfer)을 감소시켜 탈색소(depigment)할 수 있다. 또한, PGE2는 통증 수용체의 발현을 촉진하여 통증을 뇌로 전달하며 염증 반응의 매개체인 것이 알려져 있다(Glynis Scott, et al., *J Invest Dermatol* 122: 1214-1224, 2004). 즉, 각질형성 세포에서 방출되는 PGE2양을 줄이는 물질은 염증을 완화할 수 있다. 따라서 본 발명의 머드 추출물을 함유하는 조성물은 멜라닌 이동 및 염증 반응에 영향을 미치는 인자인 PGE2를 억제함으로써 피부 미백 또는 염증완화용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.
- <31> 본 발명의 머드 추출물은 유기물 및 무기물의 혼합물인 것이 바람직하나 유기물이 제거된 무기물로만 구성된 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <32> 상기 유기물이 제거된 머드 추출물은
- <33> 1) 상기 제조방법으로 제조된 머드 추출물을 550℃의 고온로(Muffle Furnace)에 넣고 방치하여 유기물을 구성하고 있는 원소들을 모두 연소시키는 단계; 및
- <34> 2) 상기 단계 1)의 방치한 머드 추출물을 데시케이팅(desicate)에서 건조시키는 단계를 포함하는 제조방법에 의

해 제조될 수 있으나 상기 방법에 한정되지 않는다.

- <35> 본 발명자들은 PGE2 억제효과가 머드 추출물 내 어떤 인자에 의해 주로 영향을 받는지 알아보기 위해, 유기물과 무기물이 모두 포함된 머드 추출물들과 유기물을 제거하여 무기물만이 포함된 머드 추출물의 PGE2 억제효과를 측정하였다. 그 결과, 무기물만이 포함된 머드 추출물이 유기물과 무기물이 모두 포함된 머드 추출물들에 비하여 50% 정도 높은 PGE2 억제 효과를 보였고, 상기 억제 효과는 농도 의존적으로 나타났다. 즉, 본 발명의 머드 추출물 내 무기물이 유기물에 비해 PGE2의 억제 효과가 높은 것을 알 수 있었다(도 4 및 도 5 참조). 따라서 본 발명의 머드 추출물을 함유하는 조성물은 무기물 함량이 많을수록 피부 미백 및 항염증 효과가 높게 나타나는 것을 알 수 있다.
- <36> 본 발명자들은 머드 추출물이 보습 효과가 있는지 알아보기 위해, 밀폐된 공간에 NaOH 포화용액을 넣어 습도를 일정하게 유지한 후 본 발명의 머드 추출물 및 기준에 보습력이 있다고 알려진 황토(yellow ocher of Korea) 추출물의 보습력을 측정하여 비교하였다. 그 결과, 본 발명의 머드 추출물들은 기준에 알려진 화장품 원료인 황토 추출물만큼 우수한 보습력을 가지고 있음을 알 수 있었다(표 1 참조). 따라서 본 발명의 머드 추출물을 함유하는 조성물은 피부 보습용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.
- <37> 또한, 본 발명자들은 머드 추출물이 세포독성이 있는지 알아보기 위해, 마우스 흑색종 세포 및 인간 각질형성 세포에 본 발명의 머드 추출물들을 처리하여 배양한 후 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide) 및 ELISA 리더기를 이용하여 세포 생존도(cell viability)를 측정하였다. 그 결과, 알부틴 및 인도메타신에 비교하여 세포 생존도가 줄어들지 않는 경향을 보임으로써 기준에 알려진 기능성 물질에 비해 저 독성을 가지는 안정적인 물질임을 알 수 있다(도 6, 도 7, 도 8 및 도 9 참조). 따라서 본 발명의 머드 추출물을 함유하는 조성물은 피부 외용 및 화장품으로 유용하게 사용될 수 있다.
- <38> 본 발명의 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 의약품으로 사용하는 경우, 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- <39> 상기 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물은 임상 투여 시에 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있다.
- <40> 즉, 본 발명의 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물은 실제 임상 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- <41> 본 발명의 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설을 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하며, 일일 투여량은 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물의 양을 기준으로 0.1 내지 100 mg/kg이고, 바람직하게는 30 내지 80 mg/kg이고, 더욱 바람직하게는 50 내지 60 mg/kg이며, 하루 1 ~ 6 회 투여될 수 있다.
- <42> 본 발명의 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- <43> 또한, 본 발명은 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 보습용 피부 외용제, 또는 항염증용 피부 외용제를 제공한다.
- <44> 본 발명의 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 피부 외용제로 사용하는 경우, 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 향산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제

(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제 및 킬레이트 화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 피부용 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한, 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.

- <45> 아울러, 본 발명은 머드 추출물 또는 상기 머드 추출물로부터 유기물을 제거한 무기물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 보습용 화장료 조성물, 또는 항염증용 화장료 조성물을 제공한다.
- <46> 본 발명의 화장료는 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스펅고 지질 및 해초 엑기스로 이루어진 군에서 선택된 조성물을 포함하나 이에 한정되지 않는다.
- <47> 상기 수용성 비타민으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B6, 피리독신, 엽산피리독신, 비타민 B12, 판토텐산, 니코틴산, 니코틴산아미드, 엽산, 비타민 C, 비타민 H 등을 들 수 있으며, 그들의 염(티아민염산염, 아스코르빈산나트륨염 등)이나 유도체(아스코르빈산-2-인산나트륨염, 아스코르빈산-2-인산마그네슘염 등)를 포함하나 이에 한정되지 않는다.
- <48> 상기 유용성 비타민으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 비타민 A, 카로틴, 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E (d1-알파 토크페롤, d-알파 토크페롤, d-알파 토크페롤) 및, 그들의 유도체(팔미틴산아스코르빈, 스테아르산아스코르빈, 디팔미틴산아스코르빈, 아세트산 d1-알파 토크페롤, 니코틴산 d1-알파 토크페롤비타민 E, DL-판토텐닐알코올, D-판토텐닐알코올, 판토텐닐에틸에테르 등)를 포함하나 이에 한정되지 않는다.
- <49> 상기 고분자 펩티드로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 콜라겐, 가수 분해 콜라겐, 젤라틴, 엘라스틴, 가수 분해 엘라스틴 또는 케라틴이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <50> 상기 고분자 다당으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 히드록시에틸셀룰로오스, 크산탄검, 히알루론산나트륨, 콘드로이틴 황산 또는 그 염(나트륨염 등)이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <51> 상기 스펅고 지질로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 세라미드, 피토스핑고신, 스펅고당지질이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <52> 상기 해초 엑기스로는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 갈조 엑기스, 홍조 엑기스 또는 녹조 엑기스가 바람직하고, 이들의 해초 엑기스로부터 정제된 칼라기난, 아르긴산, 아르긴산나트륨 또는 아르긴산칼륨이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <53> 본 발명의 화장료에는 상기 필수 성분과 더불어 필요에 따라 통상 화장료에 배합되는 다른 성분을 배합할 수 있다.
- <54> 상기 다른 성분으로서는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제 또는 정제수가 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <55> 상기 유지 성분으로서는 에스테르계 유지, 탄화수소계 유지, 실리콘계 유지, 불소계 유지, 동물 유지 또는 식물 유지가 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 에스테르계 유지로서는 트리2-에틸헥산산글리세릴, 2-에틸헥산산세틸, 미리스틴산이소프로필, 미리스틴산부틸, 팔미틴산이소프로필, 스테아르산에틸, 팔미틴산옥틸, 이소스테아르산이소세틸, 스테아르산부틸, 리놀레산에틸, 리놀레산이소프로필, 올레인산에틸, 미리스틴산이소세틸, 미리스틴산이소스테아릴, 팔미틴산이소스테아릴, 미리스틴산옥틸도데실, 이소스테아르산이소세틸, 세바신산디에틸, 아디핀산디이소프로필, 네오펜탄산이소알킬, 트리(카프릴, 카프린산)글리세릴, 트리2-에틸헥산산트리메틸올프로판, 트라이소스테아르산트리메틸올프로판, 테트라2-에틸헥산산펜타엘리슬리톨, 카프릴산세틸, 라우린산데실, 라우린산헥실, 미리스틴산데실, 미리스틴산미리스틸, 미리스틴산세틸, 스테아르산스테아릴, 올레인산데실, 리시노올레인산세틸, 라우린산이소스테아릴, 미리스틴산이소트리데실, 팔미틴산이소세틸, 스테아르산옥틸, 스테아르산이소세틸, 올레인산이소데실, 올레인산옥틸도데실, 리놀레산옥틸도데실, 이소스테아르산이소프로필, 2-에틸헥산산세토스테아릴, 2-에틸헥산산스테아릴, 이소스테아르산헥실, 디옥탄산에틸렌글리콜, 디올레인산에틸렌글리콜, 디카프린산프로필렌글리콜, 디(카프릴, 카프린산)프로필렌글리콜, 디카프릴산프로필렌글리콜, 디카프린산네오펜틸글리콜, 디옥탄산네오펜틸글리콜, 트리카프릴산글리세릴, 트리운데실산글리세릴, 트리아소팔미틴산글리세릴, 트리아소스테아르산글리세릴, 네오펜탄산옥틸도데실, 옥탄산이소스테아릴, 이소노난산옥틸, 네오펜탄산헥실데실, 네오펜탄산옥틸도데실, 이소스테아르산이소세틸, 이소스테아르산이소스테아릴, 이소스테아르산옥틸데실, 폴리글리

세린올레인산에스테르, 폴리글리세린이소스테아르산에스테르, 시트르산트리이소세틸, 시트르산트리이소알킬, 시트르산트리이소옥틸, 락트산라우릴, 락트산미리스틸, 락트산세틸, 락트산옥틸데실, 시트르산트리에틸, 시트르산아세틸트리에틸, 시트르산아세틸트리부틸, 시트르산트리옥틸, 말산다이소스테아릴, 히드록시스테아르산 2-에틸헥실, 숙신산디2-에틸헥실, 아디핀산다이소부틸, 세바신산다이소프로필, 세바신산디옥틸, 스테아르산콜레스테릴, 이소스테아르산콜레스테릴, 히드록시스테아르산콜레스테릴, 올레인산콜레스테릴, 올레인산디히드로콜레스테릴, 이소스테아르산피트스테릴, 올레인산피트스테릴, 12-스테알로일히드록시스테아르산이소세틸, 12-스테알로일히드록시스테아르산스테아릴 또는 12-스테알로일히드록시스테아르산이소스테아릴 등의 에스테르계가 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

<56> 상기 탄화 수소계 유지로서는 스쿠알렌, 유동 파라핀, 알파-올레핀올리고머, 이소파라핀, 세레신, 파라핀, 유동 이소파라핀, 폴리부텐, 마이크로크리스탈린왁스 또는 와셀린 등의 탄화 수소계 유지가 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

<57> 상기 실리콘계 유지로서는 폴리메틸실리콘, 메틸페닐실리콘, 메틸시클로폴리실록산, 옥타메틸폴리실록산, 데카메틸폴리실록산, 도데카메틸시클로실록산, 디메틸실록산·메틸세틸옥시실록산 공중합체, 디메틸실록산·메틸스테알록시실록산 공중합체, 알킬 변성 실리콘유 또는 아미노 변성 실리콘유가 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

<58> 상기 불소계 유지로서는 퍼플루오로폴리에테르가 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

<59> 상기 동물 또는 식물 유지로서는 아보카도유, 아르몬드유, 올리브유, 참깨유, 쌀겨유, 새플라워유, 대두유, 옥수수유, 유채유, 행인(杏仁)유, 팜핵유, 팜유, 피마자유, 해바라기유, 포도종자유, 면실유, 야자유, 쿠쿠이너트유, 소맥배아유, 쌀 배아유, 시아버터, 월견초유, 마커데미아너트유, 메도홍유, 난황유, 우지(牛脂), 마유, 밉크유, 오렌지라피유, 호호바유, 캔테리러왁스, 카르나바왁스, 액상 라놀린 또는 경화피마자유 등의 동물 또는 식물 유지가 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

<60> 상기 보습제로서는 수용성 저분자 보습제, 지용성 분자 보습제, 수용성 고분자 또는 지용성 고분자가 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 수용성 저분자 보습제로서는 세린, 글루타민, 솔비톨, 만니톨, 피롤리돈-카르복실산나트륨, 글리세린, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 에틸렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜B(중합도 n=2 이상), 폴리프로필렌글리콜(중합도 n=2 이상), 폴리글리세린B(중합도 n=2 이상), 락트산 또는 락트산염이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 지용성 저분자 보습제로서는 콜레스테롤 또는 콜레스테롤에스테르가 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 수용성 고분자로서는 카르복시비닐폴리머, 폴리아스파라긴산염, 트라가칸트, 크산탄검, 메틸셀룰로오스, 히드록시메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 수용성 키틴, 키토산 또는 텍스트린 이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 지용성 고분자로서는 폴리비닐피롤리돈·에이코센 공중합체, 폴리비닐피롤리돈·헥사데센 공중합체, 니트로셀룰로오스, 텍스트린지방산에스테르 또는 고분자 실리콘이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 에멀리엔트제로서는 장쇄아실글루타민산콜레스테릴에스테르, 히드록시스테아르산콜레스테릴, 12-히드록시스테아르산, 스테아르산, 로진산 또는 라놀린지방산콜레스테릴에스테르가 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

<61> 상기 계면 활성제로서는 비이온성 계면 활성제, 음이온성 계면 활성제, 양이온성 계면 활성제 또는 양성 계면 활성제가 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 비이온성 계면 활성제로서는 자기 유화형 모노스테아르산글리세린, 프로필렌글리콜지방산에스테르, 글리세린지방산에스테르, 폴리글리세린지방산에스테르, 솔비탄지방산에스테르, POE (폴리옥시에틸렌)솔비탄지방산에스테르, POE 솔비트지방산에스테르, POE 글리세린지방산에스테르, POE 알킬에테르, POE 지방산에스테르, POE 경화피마자유, POE 피마자유, POE·POP (폴리옥시에틸렌·폴리옥시프로필렌) 공중합체, POE·POP 알킬에테르, 폴리에테르변성실리콘, 라우린산알카놀아미드, 알킬아민옥시드 또는 수소첨가대두인지질이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 음이온성 계면 활성제로서는 지방산비누, 알파-아실술폰산염, 알킬술폰산염, 알킬알릴술폰산염, 알킬나프탈렌술폰산염, 알킬황산염, POE 알킬에테르황산염, 알킬아미드황산염, 알킬인산염, POE 알킬인산염, 알킬아미드인산염, 알킬로일알킬타우린염, N-아실아미노산염, POE 알킬에테르카르복실산염, 알킬술폰숙신산염, 알킬술폰아세트산나트륨, 아실화 가수분해 콜라겐펩티드염 또는 퍼플루오로알킬인산에스테르가 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 양이온성 계면 활성제로서는 염화알킬트리메틸암모늄, 염화스테아릴트리메틸암모늄, 브롬화스테아릴트리메틸암모늄, 염화세토스테아릴트리메틸암모늄, 염화디스테아릴디메틸암모늄, 염화스테아릴디메틸벤질암모늄, 브롬화베닐트리메틸암모늄, 염화벤잘코늄, 스테아르산디에틸아미노에틸아미드, 스테아르산디메틸아미노프로필아미드 또는 라놀린 유도체 제 4급 암모늄염이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 양성 계면 활성제로서는 카르복시베타인형, 아미드베타인형, 술포베타인형, 히드록시술포베타인형, 아미드술포베타인형, 포스포베타인형, 아미노카르복실산

염형, 이미다졸린 유도체형 또는 아미드아민형 등의 양성 계면 활성제가 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

- <62> 상기 유기 및 무기 안료로서는 규산, 무수규산, 규산마그네슘, 텔크, 세리사이트, 마이카, 카올린, 벵갈라, 클레이, 벤토나이트, 티탄피막운모, 옥시염화비스무트, 산화지르코늄, 산화마그네슘, 산화아연, 산화티탄, 산화알루미늄, 황산칼슘, 황산바륨, 황산마그네슘, 탄산칼슘, 탄산마그네슘, 산화철, 군청, 산화크롬, 수산화크롬, 칼라민 및 이들의 복합체등의 무기 안료; 폴리아미드, 폴리에스테르, 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리우레탄, 비닐수지, 요소수지, 페놀수지, 불소수지, 규소수지, 아크릴수지, 멜라민수지, 에폭시수지, 폴리카보네이트수지, 디비닐벤젠·스티렌 공중합체, 실크파우더, 셀룰로오스, CI 피그먼트옐로우, CI 피그먼트옐로우, CI 피그먼트옐로우 등의 유기 안료 및 이들의 무기 안료와 유기 안료의 복합 안료가 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <63> 상기 유기 분체로서는 스테아르산칼슘 등의 금속비누; 세틸린산아연나트륨, 라우릴린산아연, 라우릴린산칼슘 등의 알킬인산금속염; N-라우로일-베타-알라닌칼슘, N-라우로일-베타-알라닌아연, N-라우로일글리신칼슘 등의 아실아미노산 다가금속염
- <64> 속염 ; N-라우로일-타우린칼슘, N-팔미토일-타우린칼슘 등의 아미드술포산 다가금속염 ; N-엡실론-라우로일-L-리진, N-엡실론-팔미토일리진, N-알파파리토일올니틴, N-알파-라우로일아르기닌, N-알파-경화우지지방산아실아르기닌 등의 N-아실염기성아미노산 ; N-라우로일글리실글리신 등의 N-아실폴리펩티드; 알파-아미노카프릴산, 알파-아미노라우린산 등의 알파-아미노지방산; 또는 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 나일론, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리스티렌, 디비닐벤젠·스티렌 공중합체, 사불화에틸렌가 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <65> 상기 자외선 흡수제로서는 파라아미노벤조산, 파라아미노벤조산에틸, 파라아미노벤조산아밀, 파라아미노벤조산옥틸, 살리실산에틸렌글리콜, 살리신산페닐, 살리신산옥틸, 살리신산벤질, 살리신산부틸페닐, 살리신산호모멘틸, 계피산벤질, 파라메톡시계피산-2-에톡시에틸, 파라메톡시계피산옥틸, 디파라메톡시계피산모노-2-에틸헥산글리세릴, 파라메톡시계피산이소프로필, 디이소프로필·디이소프로필계피산에스테르 혼합물, 우로카닌산, 우로카닌산에틸, 히드록시메톡시벤조페논, 히드록시메톡시벤조페논술포산 및 그 염, 디히드록시메톡시벤조페논, 디히드록시메톡시벤조페논디술포산나트륨, 디히드록시벤조페논, 테트라히드록시벤조페논, 4-tert -부틸-4'-메톡시디벤조일메탄, 2,4,6-트리아닐리노-p -(카르보-2'-에틸헥실-1'-옥시)-1,3,5-트리아진 또는 2-(2-히드록시-5-메틸페닐)벤조트리아졸이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <66> 상기 살균제로서는 히노키티올, 트리클로산, 트리클로로히드록시디페닐에테르, 크로르헥시딘글루콘산염, 페녹시에탄올, 레조르신, 이소프로필메틸페놀, 아줄렌, 살리칠산, 진크필리톤, 염화벤잘코늄, 감광소 301호, 모노니트로콰이어콜나트륨 또는 운데시렌산이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <67> 상기 산화 방지제로서는 부틸히드록시아니솔, 갈릭산프로필 또는 엘리스르빈산이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <68> 상기 pH 조정제로서는 시트르산, 시트르산나트륨, 말산, 말산나트륨, 프말산, 프말산나트륨, 숙신산, 숙신산나트륨, 수산화나트륨 또는 인산일수소나트륨이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <69> 상기 알코올로서는 세틸알코올 등의 고급 알코올이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <70> 또한, 이외에 첨가해도 되는 배합 성분은 이에 한정되는 것은 아니며, 또, 상기 어느 성분도 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 배합 가능하지만, 총중량에 대하여 0.01 ~ 5% 중량 백분율로 배합되는 것이 바람직하고, 0.01 ~ 3% 중량 백분율로 배합되는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <71> 본 발명의 화장료는 용액, 유화물 또는 점성형 혼합물의 형상을 취할 수 있으나 이에 한정되지 않는다. 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효성분으로서 본 발명의 머드 추출물 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제 및 담체를 포함할 수 있으나 이에 한정되지 않는다.
- <72> 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 유액, 크림, 화장수, 팩, 파운데이션, 로션, 미용액 또는 모발화장료로 제조될 수 있으나 이에 한정되지 않는다. 구체적으로, 본 발명의 화장료 조성물은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 또는 바디클렌저의 제형을 포함하나 이에 한정되지 않는다.
- <73> 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 진분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연이 이

용될 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

<74> 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

<75> 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액의 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 또는 유탁화제가 이용되고, 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 이용될 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

<76> 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트가 이용될 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

<77> 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르가 이용될 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

실시예

<78> 이하, 본 발명을 실시예, 실험예 및 제조예에 의하여 상세히 설명한다.

<79> 단, 하기 실시예, 실험예 및 제조예는 본 발명을 구체적으로 예시하는 것이며, 본 발명의 내용이 실시예, 실험예 및 제조예에 의해 한정되는 것은 아니다.

<80> <실시예 1> 머드 추출물의 제조

<81> 충청남도 보령시에 위치한 방파제 갯벌의 지상에서 150cm 내려간 지점에서 채취하였다. 이는 지상에서 가까운 곳의 흙은 갯벌 흙 중 피부 유용물질이 적게 들어있고 황갈색의 색을 띄며 상용화되어있는 제품의 원료채취가 150cm지점에서 이루어짐을 착안하였고 채취한 머드는 회백색을 나타내었다.

<82> <1-1> 머드 물 추출물의 제조

<83> 채취한 머드를 건조기를 이용해 완전히 건조시킨 후 파쇄 과정을 거쳐 분말 상태의 시료를 1g/3ml의 비율로 100℃의 물과 혼합한 후 밤새 방치하였다. 물에 녹아나온 물질을 미세 머드 입자와 분리하기 위해 여과 과정을 거친 후 얻어진 상등액을 동결건조를 이용하여 분리하였다. 수율은 1g당 0.06%인 0.6mg이었다.

<84> <1-2> 머드 100% 메탄올 추출물의 제조

<85> 추출용매로 물 대신 100% 메탄올을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 <1-1>의 추출방법과 동일하게 추출하였다. 수율은 1g당 0.12%인 1.2mg이었다.

<86> <1-3> 머드 70% 메탄올 수용액 추출물의 제조

<87> 추출용매로 물 대신 70% 메탄올 수용액을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 <1-1>의 추출방법과 동일하게 추출하였다. 수율은 1g당 0.11%인 1.1mg이었다.

<88> <1-4> 머드 에탄올 추출물의 제조

<89> 추출용매로 물 대신 100% 에탄올을 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 <1-1>의 추출방법과 동일하게 추출하였다. 수율은 1g당 0.10%인 1.0mg이었다.

<90> <1-5> 유기물을 제거한 머드 물 추출물의 제조

<91> 상기 실시예 <1-1>에서 추출 및 농축한 머드 물 추출물을 550℃의 고온로(Muffle Furnace)에 넣고 1시간 동안 방치한 후 데시케이트(desiccate)에서 1시간 동안 건조하여 유기물을 구성하고 있는 원소들을 모두 연소시켰다.

그 결과, 전체 머드 물 추출물 1g당 22.92%의 비율을 차지하는 유기물의 함량이 제거되었다.

<92> <실험예 1> 머드 추출물의 멜라닌 생성 억제 효과 검증

<93> B16F10 세포주(Mouse melanoma cell line)(ATCC CRL-6475, American Type Culture Collection)는 10% FBS(fetal bovine serum(v/v)) 및 1% 페니실린-스트렙토마이신(penicillin-streptomycin(v/v))을 함유한 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 배지에서 5% CO₂ 및 37℃의 조건으로 배양하였다.

<94> 상기 B16F10 세포를 8×10^4 세포/웰(cell/well)의 농도로 6-웰 플레이트(well plate)에 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 배양액을 제거한 후 상기 <실시예 1>의 머드 추출물들을 50ppm, 100ppm 및 200ppm의 농도로 각각 배지에 넣고 5% CO₂ 및 37℃의 조건으로 48시간 동안 배양하였다. 이후 배양액을 제거한 후 PBS로 2회 세척하고 트립신(trypsin)-EDTA로 처리하여 세포 펠렛(pellet)을 회수하였다. 상기 회수한 펠렛은 1500rpm에서 5분간 원심분리(원심분리기: Hanil, 대한민국)한 후 상등액을 제거하였다. 남은 펠렛에 10% DMSO가 함유된 200 μ l의 NaOH를 넣은 후 80℃ 항온조에서 1시간 동안 반응시켜 세포 내의 멜라닌을 수득하였다. 이후 200 μ l를 96-웰 플레이트에 옮기고 ELISA 리더기(reader)(Molecular Devices, USA)로 405nm 파장에서 흡광도를 측정하여 멜라닌 양을 측정하였다. 이때 대조군(control)은 PBS만을 처리한 것이고, 양성대조군(positive control)은 미백작용이 있는 물질로 알려진 알부틴(Arbutin) 200ppm을 이용하였다.

<95> 그 결과, 본 발명의 머드 추출물들은 대조군에 비해 50, 100 및 200ppm의 농도에서 각각 3 ~ 7%, 3 ~ 8% 및 5 ~ 8%의 저해율을 보임으로서 멜라닌 생성에 대한 저해작용이 있는 것으로 나타났다(도 1 및 도 2). 따라서 본 발명의 머드 추출물은 멜라닌 세포(melanocyte)내의 멜라닌 합성(melanogenesis) 인자를 억제하여 멜라닌 생성을 제어하는 것을 알 수 있다.

<96> <실험예 2> 머드 추출물의 PGE2에 대한 억제 효과 검증

<97> HaCaT 세포주(Human Keratinocyte cell line)(Petra Boukamp, et al., *The Journal of Cell Biology*, Mar;106(3):761-771, 1998)는 10% FBS(fetal bovine serum(v/v)) 및 1% 페니실린-스트렙토마이신(penicillin-streptomycin(v/v))을 함유한 RPMI1640 배지에서 5% CO₂ 및 37℃의 조건으로 배양하였다.

<98> 상기 HaCaT 세포를 3.0×10^5 세포/웰(cell/well)의 농도로 6-웰 플레이트(well plate)에 분주하여 24시간 배양한 후 PBS로 2회 세척하였다. 상기 세척한 HaCaT 세포에 PBS를 넣어준 후 UVB(312nm)를 30mJ/cm²의 농도로 40초간 쬔여준 후 상기 실시예 <1-1> 내지 <1-4>의 머드 추출물들을 100ppm 및 200ppm의 농도로 1%의 FBS의 배지에 넣은 후 24시간 배양하였다. 이때 대조군은 UVB만을 쬔여준 것이고, 양성 대조군은 PGE2의 저해제로 알려진 인도메타신(Indomethacine)을 사용하였다. PGE2의 발현양은 배양한 상등액을 이용하여 경쟁적 결합 기술(competitive binding technique)의 원리를 이용하여 염소 항-마우스 다클론 항체(goat anti-mouse polyclonal Ab)가 코팅되어 있는 96-웰 플레이트에 세포 배양 배지 100 μ l와 PGE2 접합체(conjugate)(R&D system, USA), 및 PGE2 항체 용액(R&D system, USA)을 각각 50 μ l씩 넣어준 후 2시간 동안 진탕(shaking)하며 실온에서 반응시켰다. 상기 반응 후 각 웰을 세척 완충용액(washing buffer)을 이용하여 3회 세척 후 기질용액(substrate solution)을 200 μ l씩 첨가한 후 30분간 반응하고 반응 중지를 위하여 2N 황산(sulfuric acid)을 50 μ l씩 첨가하였다. 이후 ELISA 리더기(reader)를 이용하여 450nm파장에서 흡광도를 측정하였다.

<99> 그 결과, 본 발명의 머드 추출물들은 UVB만을 쬔여준 대조군에 비하여 100ppm에서 20 ~ 25%의 PGE2 저해율 및 200ppm에서 50 ~ 60%의 PGE2 저해율을 나타내어 농도 의존적으로 PGE2를 저해하는 것을 알 수 있었다. 이는 PEG2 저해제로 알려진 인도메타신 1 μ M과 유사한 정도의 억제효과를 보인 것을 알 수 있었다(도 3 및 도 4). 따라서 본 발명의 머드 추출물은 멜라닌 이동(melanin transfer)에 영향을 미치는 인자인 PGE2를 억제함으로써 피부 미백 및 염증완화작용에 효과가 있음을 알 수 있다.

<100> 또한, 상기 실시예 <1-1> 내지 <1-4>의 유기물과 무기물이 모두 포함된 머드 추출물들과 유기물을 제거하여 무기물만이 포함된 실시예 <1-5>의 머드 추출물을 각각 200ppm, 100ppm, 50ppm 및 25ppm을 처리하여 상기와 동일한 방법으로 PGE2를 측정하였다.

<101> 그 결과, 유기물을 제거한 머드 추출물의 100ppm 및 200ppm은 유기물과 무기물이 모두 포함된 머드 추출물의 100ppm 및 200ppm에 비해 각각 50%의 PGE2 저해율을 나타내고, 농도 의존적으로 PGE2를 저해하는 것을 알 수 있었다(도 4 및 도 5). 따라서 본 발명의 머드 추출물 내 무기물이 PGE2 억제의 주요 인자인 것을 알 수 있으며,

무기물의 함량이 높을수록 PGE2 억제 효과가 높은 것을 알 수 있다.

<실험예 3> 머드 추출물의 보습력(water retention capacity) 검증

가로 27cm, 세로 21cm 및 높이 17cm의 플라스틱으로 되어진 밀폐용기 내의 밀폐된 공간에서 NaOH 포화용액을 넣었을 시에 습도가 75 ~ 76.5%로 일정하게 유지되는 성질을 이용하여, 일정 무게의 시료가 가지는 보습력을 시간별로 측정하여 단위 무게당 가지는 능력을 백분율로 정리하였다. 우선, NaOH 포화용액 500ml을 제조하여 밀폐된 공간 안에 넣어두어 일정 습도를 유지한 후 상기 <실시예 1>의 머드 추출물들과 기존에 보습력이 있다고 알려진 화장품으로 생산되어지고 있는 황토(yellow ocher of Korea)(그린바이오, 대한민국) 열수 추출물과 보습력을 측정하여 비교하였다. 상기 보습의 측정은 분말 상태의 시료가 수분을 끌어당겨 흡수한 후의 무게변화를 저울(Mettler-Toledo사, Switzerland)을 통하여 측정하였다.

표 1

머드 추출물의 보습력 평가

시료	보습력(% , 질량)
머드 물 추출물	1.482
머드 메탄올 추출물	1.478
머드 에탄올 추출물	1.475
황토 물 추출물	1.473

그 결과, 표1에서 보는 바와 같이 본 발명의 머드 추출물들은 기존에 보습력이 높은 것으로 인정되어 화장품으로 생산되어지고 있는 황토 추출물만큼 높은 보습력을 가지고 있음을 알 수 있었다(표 1).

<실험예 4> 머드 추출물의 세포 독성 평가(MTT assay)

세포독성 분석법은 노란색의 수용성 기질인 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide)를 진청색의 비수용성인 포마잔(formazan) 물질로 변화시키는 살아있는 세포의 미토콘드리아 디하이드로제나제(mitochondria dehydrogenase)의 능력을 이용하였다. 우선, HaCaT 세포와 B16F10 세포를 96-웰 플레이트(well plate)에 5×10^3 셀/웰(cell/well)의 농도로 분주하고 24시간 배양하였다. 배양액을 제거한 후 상기 실시예 <1-1> 내지 <1-3>의 머드 추출물들을 50ppm, 100ppm 및 200ppm(B16F10은 100ppm 및 200ppm)의 농도로 각각 배지에 넣은 다음 48시간 동안 배양하였다. 47시간 후 배양액을 제거하고 MTT 시약을 첨가한 다음 4시간 동안 37℃ 세포배양기에서 반응시킨 후 MTT 시약을 제거하였다. 이후 100 μ l DMSO를 첨가한 후 ELISA 리더기(reader)를 이용하여 540nm파장에서 흡광도를 측정하여 세포 생존도를 측정하였다.

그 결과, 기존에 기능성 물질로 사용되고 있는 알부틴 및 인도메타신에 비교하여 세포 생존도가 줄어들지 않는 경향을 보였다(도 6, 도 7, 도 8 및 도 9). 따라서, 본 발명의 머드 추출물들은 저 독성을 가지는 안정적인 물질임을 알 수 있었다.

하기에 본 발명의 조성물을 위한 제조예를 예시한다.

<제조예 1> 약학적 제제의 제조

1. 산제의 제조

실시예 <1-1>의 추출물 2g

유당 1g

상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

2. 정제의 제조

실시예 <1-1>의 추출물 100mg

옥수수전분 100mg

유 당 100mg

- <119> 스테아린산 마그네슘 2mg
- <120> 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.
- <121> 3. 캡슐제의 제조
- <122> 실시예 <1-1>의 추출물 100mg
- <123> 옥수수전분 100mg
- <124> 유 당 100mg
- <125> 스테아린산 마그네슘 2mg
- <126> 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.
- <127> 4. 환의 제조
- <128> 실시예 <1-1>의 추출물 1 g
- <129> 유당 1.5 g
- <130> 글리세린 1 g
- <131> 자일리톨 0.5 g
- <132> 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 방법에 따라 1 환 당 4 g이 되도록 제조하였다.
- <133> 5. 과립의 제조
- <134> 실시예 <1-1>의 추출물 150 mg
- <135> 대두 추출물 50 mg
- <136> 포도당 200 mg
- <137> 전분 600 mg
- <138> 상기의 성분을 혼합한 후, 30% 에탄올 100 mg을 첨가하여 섭씨 60℃에서 건조하여 과립을 형성한 후 포에 충전하였다.
- <139> <제조예 2> 화장품의 제조
- <140> 본 발명의 머드 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백, 보습 또는 항염증용 화장품을 제조할 수 있다. 본 발명자들은 상기 화장품으로 영양화장수, 크림, 에센스 등의 유화 제형의 화장품 및 유연화장수 등의 가용화 제형의 화장품을 제조하였다.
- <141> <2-1> 유화 제형의 화장품 제조
- <142> 표 2에 기재된 조성으로 유화제형의 화장품을 제조하였다. 제조 방법은 하기와 같다.
- <143> 1) 1 내지 9의 원료를 혼합한 혼합물을 65~70℃로 가열하였다.
- <144> 2) 10의 원료를 상기 단계 1)의 혼합물에 투입하였다.
- <145> 3) 11 내지 13의 원료의 혼합물을 65~70℃로 가열하여 완전히 용해시켰다.
- <146> 4) 상기 단계 3)을 거치면서, 상기 2)의 혼합물을 서서히 첨가하여 8,000 rpm에서 2~3분간 유화시켰다.
- <147> 5) 14의 원료를 소량의 물에 용해시킨 후 상기 단계 4)의 혼합물에 첨가하고 2분간 더 유화시켰다.
- <148> 6) 15 내지 17의 원료를 각각 평량한 후 상기 단계 5)의 혼합물에 넣고 30초간 더 유화시켰다.
- <149> 7) 상기 단계 6)의 혼합물을 유화 후 탈기과정을 거쳐 25~35℃로 냉각시킴으로써 유화제형의 화장품을 제조하였다.

표 2

<150> 유화 제형 1, 2, 3의 조성

조성		유화제형 1	유화제형 2	유화제형 3
1	스테아린 산	0.3	0.3	0.3
2	스테알리 알콜	0.2	0.2	0.2
3	글리세릴 모노스테아레이트	1.2	1.2	1.2
4	밀납	0.4	0.4	0.4
5	폴리옥시에틸렌솔비탄 모노라우린산 에스테르	2.2	2.2	2.2
6	파라옥시안식향산 메틸	0.1	0.1	0.1
7	파라옥시안식향산 프로필	0.05	0.05	0.05
8	세틸에틸헥사노에이트	5	5	5
9	트리글리세라이드	2	2	2
10	사이클로메티콘	3	3	3
11	증류수	~ 100	~ 100	~ 100
12	농글리세린	5	5	5
13	트리에탄올아민	0.15	0.15	0.15
14	폴리아크릴산 중합체	0.12	0.12	0.12
15	색소	0.0001	0.0001	0.0001
16	향	0.10	0.10	0.10
17	실시에 <1-2>의 추출물	0.0001	1	10

<151> <2-2> 가용화 제형의 화장품 제조

<152> 표 3에 기재된 조성으로 가용화 제형의 화장품을 제조하였다. 제조 방법은 하기와 같다.

<153> 1) 2 내지 6의 원료를 1의 원료(정제수)에 넣고 아직믹서를 이용하여 용해시켰다.

<154> 2) 8 내지 11의 원료를 7의 원료(알코올)에 넣고 완전용해시켰다.

<155> 3) 상기 단계 2)의 혼합물을 상기 단계 1)의 혼합물에 서서히 첨가하면서 가용화시켰다.

표 3

<156> 가용화 제형 1, 2, 3의 조성

조성		가용화 제형 1	가용화 제형 2	가용화 제형 3
1	정제수	~ 100	~ 100	~ 100
2	농글리세린	3	3	3
3	1,3-부틸렌글리콜	2	2	2
4	EDTA-2Na	0.01	0.01	0.01
5	색소	0.0001	0.0002	0.0002
6	실시에 <1-2>의 추출물	0.1	5	5
7	알코올(95%)	8	8	8
8	파라옥시안식향산 메틸	0.1	0.1	0.1
9	폴리옥시에틸렌 하이드로제네이티드스테르	0.3	0.3	0.3
10	향	0.15	0.15	0.15
11	사이클로메티콘	-	-	0.2

도면의 간단한 설명

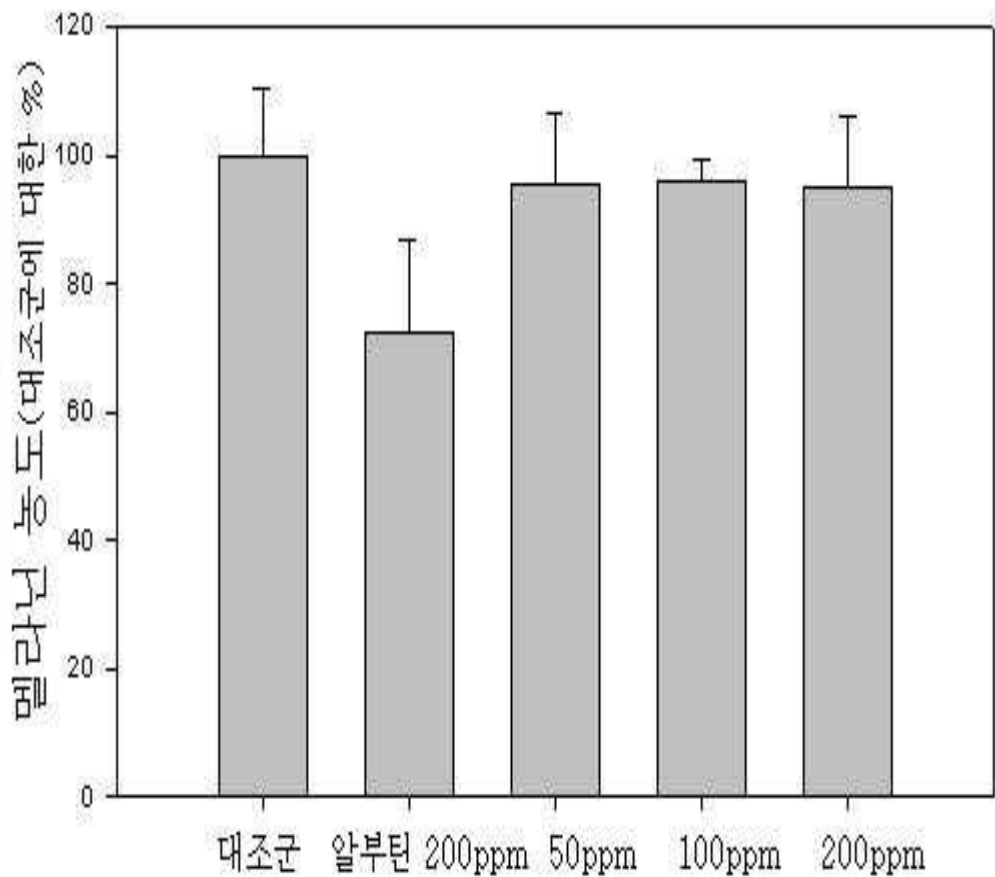
<157> 도 1은 배양된 B16F10 세포들의 멜라닌 생성에 대한 머드 물 추출물의 억제 효과를 나타낸 그래프이다.

<158> 도 2는 배양된 B16F10 세포들의 멜라닌 생성에 대한 머드 메탄올 추출물의 억제 효과를 나타낸 그래프이다.

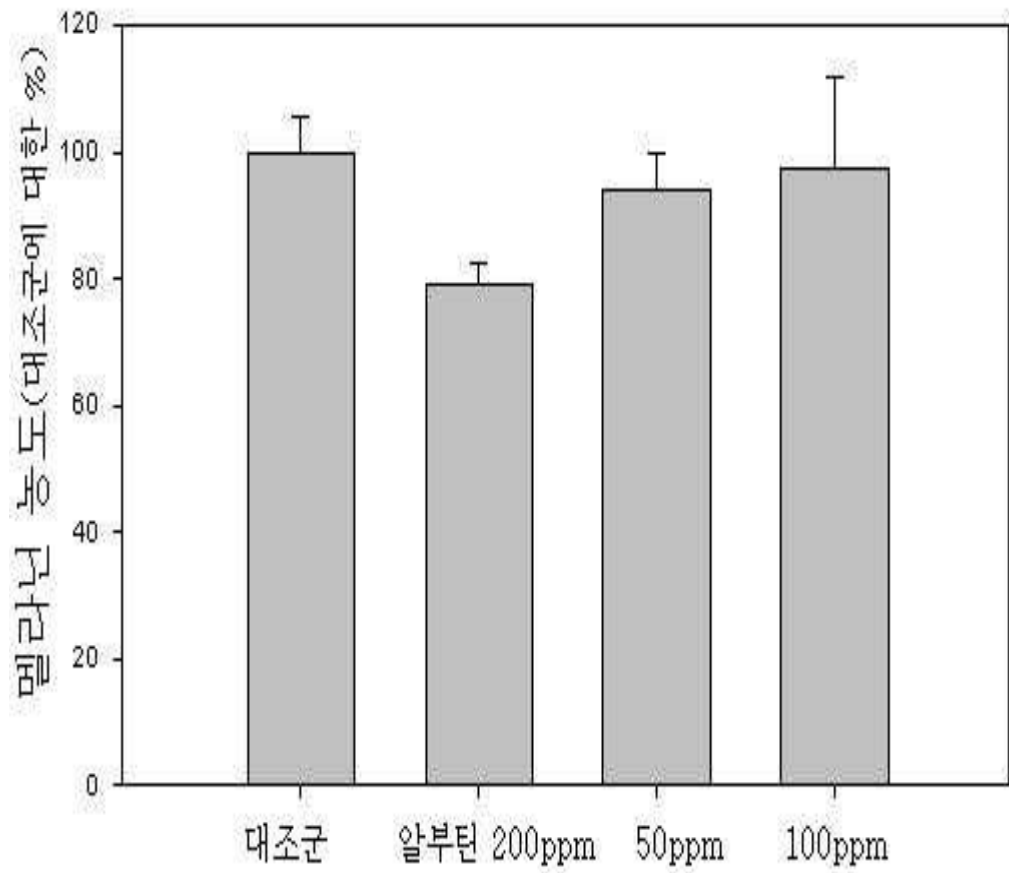
- <159> 도 3은 배양된 HaCaT 세포들의 PGE2에 대한 머드 물 추출물의 억제 효과를 나타낸 그래프이다.
- <160> 도 4는 배양된 HaCaT 세포들의 PGE2에 대한 머드 메탄올 추출물의 억제 효과를 고농도에서 무기물과 유기물 포함한 경우를 비교하여 나타낸 그래프이다.
- <161> 도 5는 배양된 HaCaT 세포들의 PGE2에 대한 머드 물 추출물의 억제 효과를 저농도에서 무기물과 유기물 포함한 경우를 비교하여 나타낸 그래프이다.
- <162> 도 6은 머드 물 추출물로 처리된 B16F10 세포들의 세포 생존도를 나타낸 그래프이다.
- <163> 도 7은 머드 메탄올 추출물로 처리된 B16F10 세포들의 세포 생존도를 나타낸 그래프이다.
- <164> 도 8은 머드 물 추출물로 처리된 HaCaT 세포들의 세포 생존도를 나타낸 그래프이다.
- <165> 도 9는 머드 물 추출물로 처리된 HaCaT 세포들의 세포 생존도를 무기물과 유기물 포함한 경우를 비교하여 나타낸 그래프이다.

도면

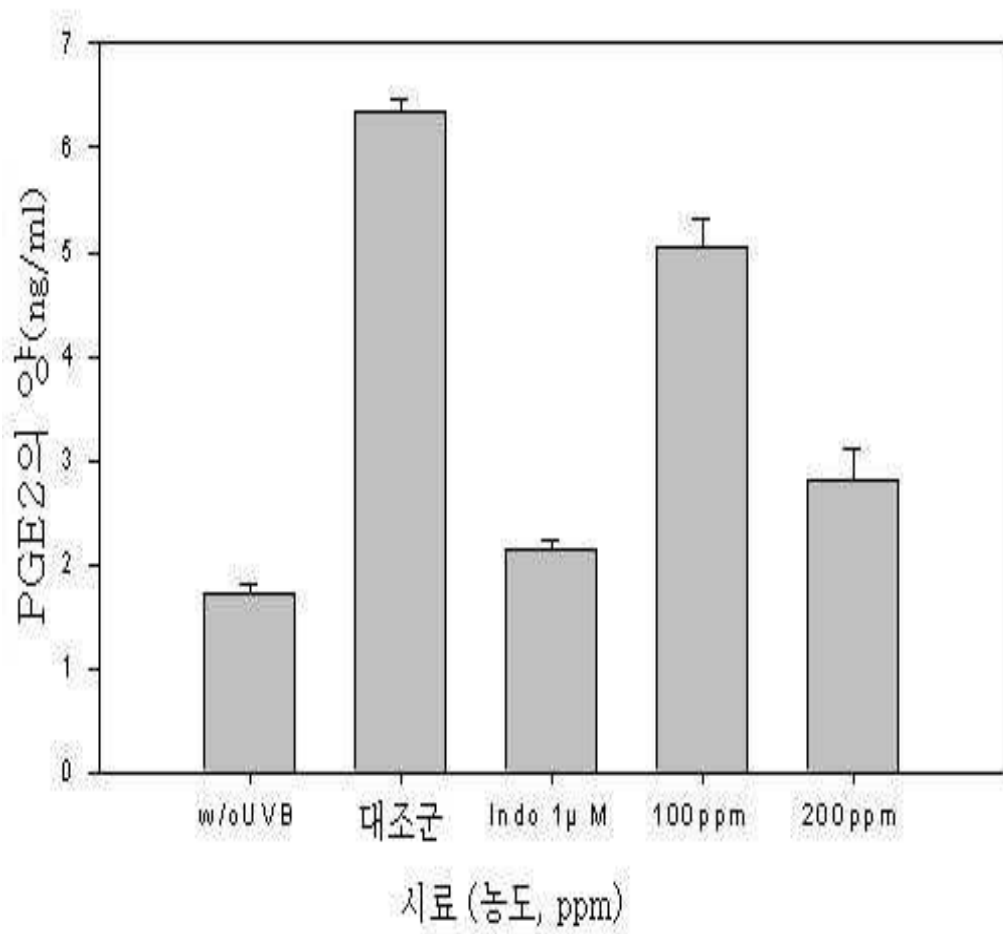
도면1



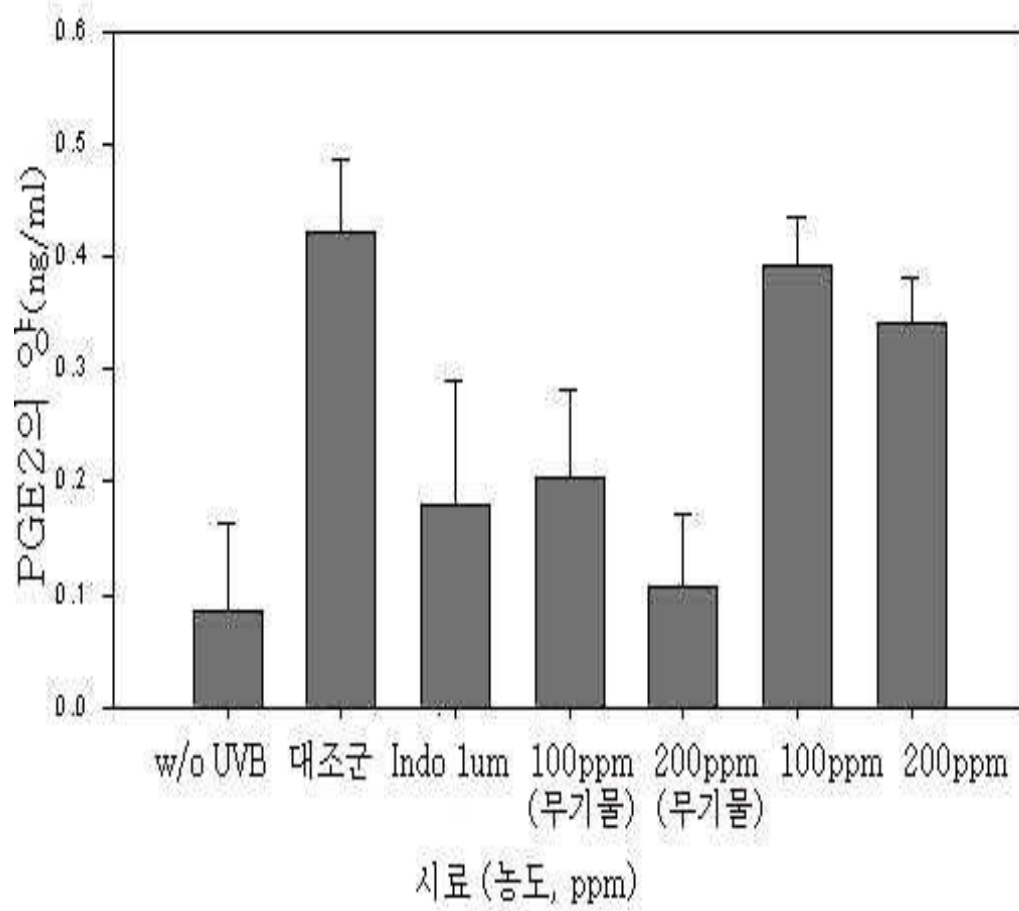
도면2



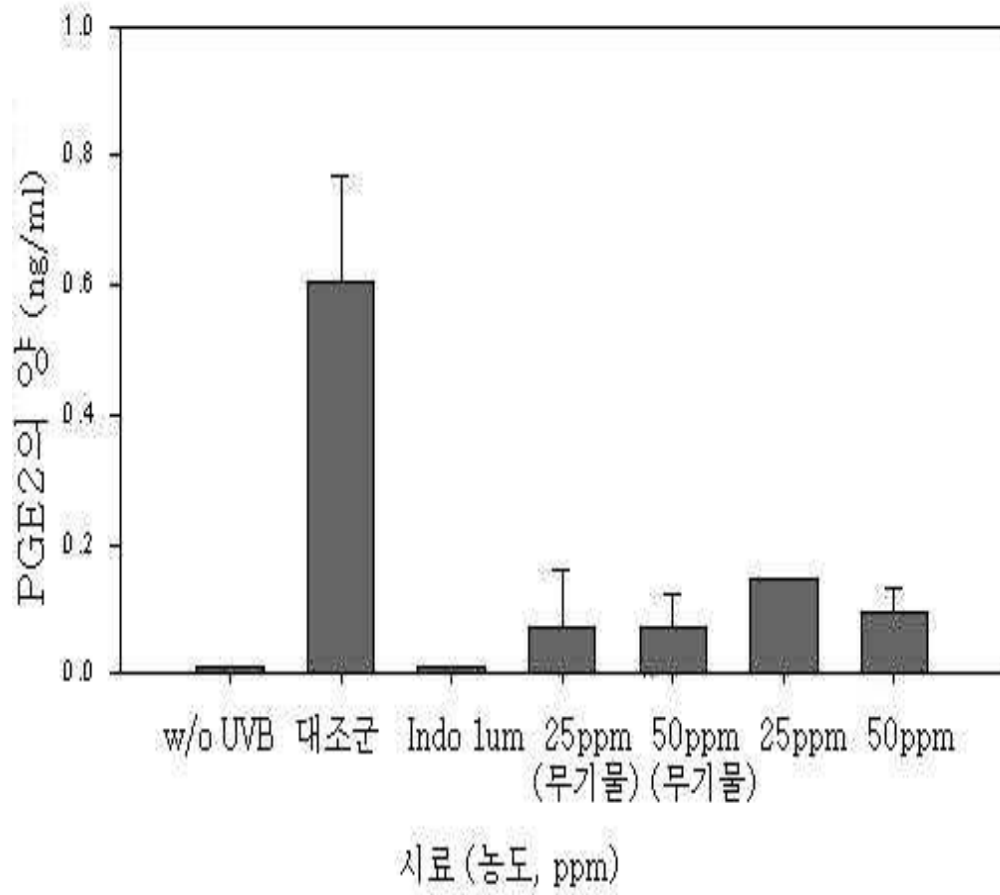
도면3



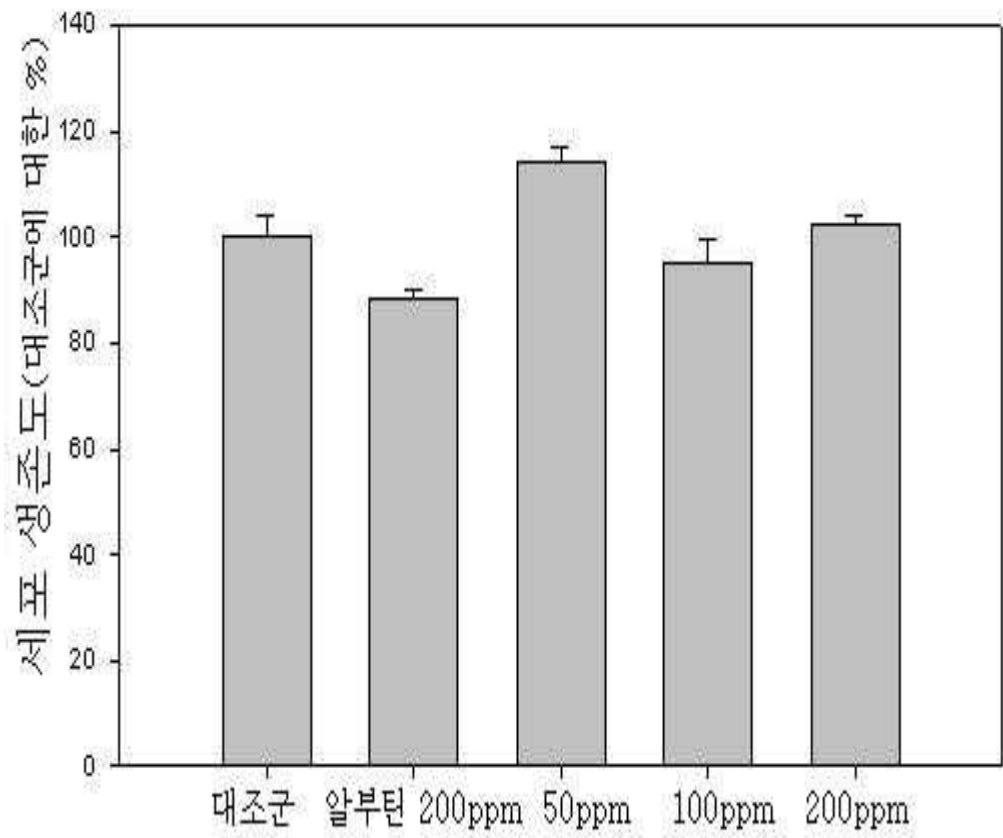
도면4



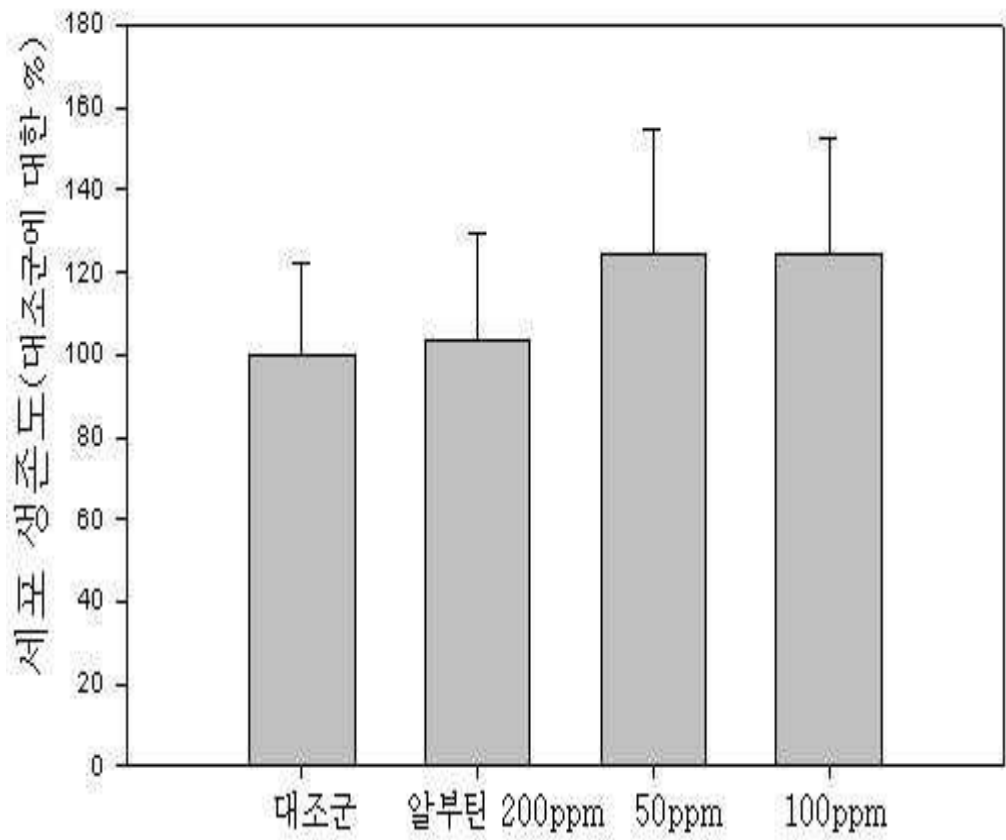
도면5



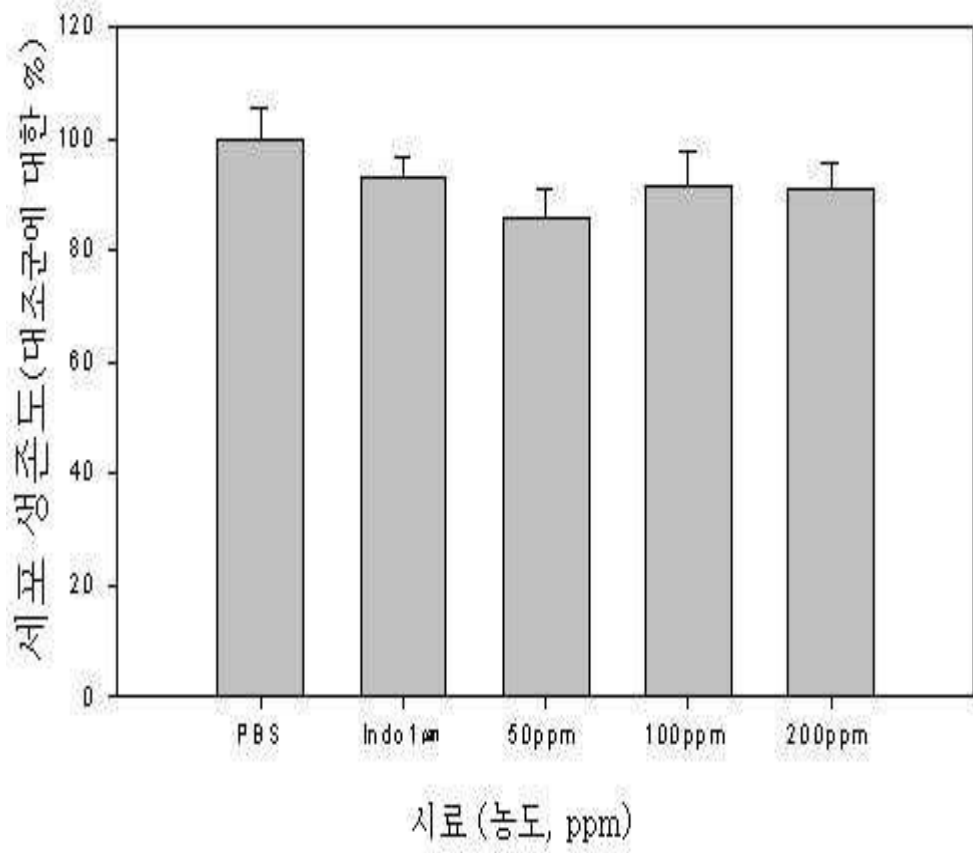
도면6



도면7



도면8



도면9

