

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.⁷
A61K 7/48

(11) 공개번호 10-2005-0026297
(43) 공개일자 2005년03월15일

(21) 출원번호 10-2003-0063327
(22) 출원일자 2003년09월09일

(71) 출원인 주식회사 사임당화장품
충북 영동군 영동읍 계산리 805-5

(72) 발명자 윤경섭
대전광역시유성구전민동엑스포아파트301동502호

김자영
충청북도영동군영동읍계산리697-20번지401호

김미진
충청북도영동군영동읍계산리805-5

(74) 대리인 류완수
이광복

심사청구 : 있음

(54) 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물 및 그 추출 방법

요약

본 발명은 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물 및 그 추출 방법에 관한 것이다. 본 발명은 도인, 목단피, 향부자 및 후박의 생약재 혼합물로부터 추출된 유효성분을 이용하는 것을 특징으로 하며, (a)도인, 목단피, 향부자 및 후박으로 이루어진 생약재 혼합물을 준비하는 단계; 및 (b)상기 준비된 생약재 혼합물에 소정의 추출용매를 첨가하고 가열하여 유효성분을 추출하는 단계;를 포함하여 진행되는 것을 특징으로 한다. 본 발명에 따르면, 피부의 항노화와 관련한 세포증식효과, 엘라스테이즈 저해효과, 항산화효과 및 티로시네이즈 저해효과의 우수한 효과를 발휘함으로써, 피부노화방지의 유효성분을 함유하는 화장료에 적용하는 경우에는 피부탄력효과 및 주름개선효과가 뛰어나며 피부의 노화방지효과를 가져오는 장점을 가진다.

색인어

피부노화방지, 생약재, 화장료, 도인, 목단피, 향부자, 후박

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물 및 그 추출 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 한방(韓方)에서 주로 이용되고 있는 생약재로서 기(氣)를 다스려 기를 보하고(補氣) 흐름을 원활하게 돕는(行氣) 이기약(理氣藥)과 혈(血)을 다스려 혈의 흐름을 원활하게 하고(活血) 혈을 보충하며(補血) 출혈을 멈추게 돕는(止血) 이혈약(理血藥)으로 분류된 도인, 목단피, 향부자 및 후박의 생약재 혼합물로부터 피부노화방지 효과를 갖는 유효성분을 이용한 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물 및 그 추출 방법에 관한 것이다.

인체의 피부는 우리가 살아가는데 있어서 없어서는 안 될 기관이며 최대로 장해를 받기 쉬운 부위중의 하나이다. 피부는 항상 산소, 태양광선, 세균 및 공해물질 등에 노출되어 있을 뿐만 아니라 피부에는 피지나 광감작성 물질들이 존재하기 때문에 활성산소나 과산화지질을 수반하는 광생물학적 반응이 야기되어 손상받기가 쉽기 때문이다. 또한

피부는 다양한 외부의 요인들로부터 물리적, 화학적 상해를 직접적으로 받는 부위이다. 따라서 인체 중에서도 피부는 항상 노화될 수 있는 환경에 노출되어 있어, 생명연장의 바람 외에도 피부노화를 지연시킬 수 있는 방법들이 강구되고 있다.

피부노화는 건조, 기미나 검버섯, 주름 등 다양한 현상으로 나타나며, 자외선이나 저온 및 저습 조건 등의 외부환경 영향으로 가속화 될 수 있다. 일반적으로 건조현상은 30 대에서부터 시작해 연령 증가시 현저해지며, 각질층의 수분방어능력이나 수분보유능력이 감소하거나, 표피 지질량의 감소가 주된 요인으로 표피나 진피 노화에 의한 위축성 변화에 의해 비박화가 용이해져 건조피 생성이 쉬워진다. 기미나 검버섯은 30 내지 40세 경부터 시작되어 연령 증가시 증가하여(얼굴, 손등 등) 피부의 투명도가 감소하는 현상으로 주된 원인으로는 ①멜라닌대사의 이상은 물론이고, 자외선에 의한 멜라닌 색소 증가와 축적, ②각질층의 수분보유 능력의 감소나 표피 지질의 감소에 의한 피부 투명도의 감소, ③모세혈관계의 기능변화를 들 수 있다. 주름 역시 25세 전후부터 시작하여 피부가 이완되고 그 사이에 2차적으로 생기는 골이 깊은 피구가 형성되는 현상으로 주된 원인은 진피교원섬유, 탄력섬유 및 기질의 변화와 피하지방의 감소나 자외선 노출 등을 들 수 있다.

이러한 외부환경 또는 내부기작에 의하여 피부손상이 발생됨으로 인해, 외견상 피부노화 또는 주름발생을 억제하고자 하는 노력이 화장료 제조업계에서는 지대한 관심사항으로 대두되고 있으며, 이를 위해 피부에 안전하면서도 피부효과를 줄 수 있는 생약재를 이용한 소정의 추출물을 화장료의 성분으로 포함하기 위한 다각적인 노력이 진행되어 왔으며, 특히 본 발명자들은 전술한 본 발명을 이루기 위하여 우선 예로부터 한방에서 기를 다스리는 이기약, 혈을 다스리는 이혈약으로 분류된 약재들 중 도인, 목단피, 향부자 및 후박을 포함하여 단삼, 당귀, 백단향, 백출, 산약, 시호, 울금, 익모초, 인삼, 작약, 조각자, 천궁, 청피, 홍화, 황기의 19종을 추출용매로 추출한 후, 피부노화방지의 효과를 검증하는 세포증식효과, 엘라스테이즈저해효과, 항산화효과 및 티로시네이즈 저해효과를 통하여 검색해오는 기술적 배경을 가지면서, 본 발명이 안출된 것이다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명에서는 전술한 인체 피부에서 진행되는 여러 요인에 의해 야기될 수 있는 피부의 노화현상을 억제하고, 다른 부작용을 초래하지 않으면서도 세포증식효과, 엘라스테이즈 저해효과, 항산화효과 및 미백효과를 증진시켜 주기 위한 생약재들을 선별적으로 추출한 후 피부 화장료에 적용하기 위하여 본 발명이 이루고자하는 기술적 과제가 있다. 이러한 기술적 과제를 달성하기 위하여, 한방에서 주로 이용되고 있는 생약재로서 기(氣)를 다스리는 이기약(理氣藥)과 혈(血)을 다스리는 이혈약(理血藥)으로 분류된 약재들 중에서 피부에 노화방지효과가 있는 생약재를 연구한 결과로서, 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물 및 그 추출 방법을 제공함에 본 발명의 목적이 있다.

발명의 구성 및 작용

전술한 본 발명의 목적을 달성하기 위해 제공되는 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물은 도인, 목단피, 향부자 및 후박의 생약재 혼합물로부터 추출된 유효성분을 이용하는 것을 특징으로 한다.

이때, 상기 도인, 목단피, 향부자 및 후박 각각의 함량은 추출전 생약재 혼합물 전체 중량대비 10 내지 50중량%이면 바람직하다. 상기 추출전 생약재 혼합물에서 어느 한 생약재의 함량이 10중량% 미만인 경우에는 그 약재의 함량이 상대적으로 낮아 본래 목적하는 피부의 노화방지효과를 충분하게 달성할 수 없어 바람직하지 못하며, 상기 추출전 생약재 혼합물에서 어느 한 생약재의 함량이 50중량%를 초과하는 경우에는 상대적으로 다른 생약재의 함량이 낮아져 본래 목적하는 피부의 노화방지효과를 충분하게 달성할 수 없어 바람직하지 못하다.

한편, 상기 생약재 혼합물로부터 추출된 유효성분을 화장료에 적용하는 경우에는 화장료 전체 조성물 중량을 기준으로 0.001 내지 10중량%이면 피부노화방지에 충분한 효과를 발휘할 수 있다. 상기 추출된 화장료 유효성분의 함량이 전체 화장료 중량대비 0.001중량% 미만인 경우에는 본래 목적하는 피부의 노화방지효과를 충분하게 달성할 수 없어 바람직하지 못하며, 상기 추출된 화장료 유효성분의 함량이 전체 화장료 중량대비 10중량%를 초과하는 경우에는 화장료의 안정성에 문제를 발생시킬 수 있으며, 이로 인하여 화장료의 외관이나 사용시 충분한 화장효과를 발현시킬 수 없는 단점으로 인해 바람직하지 못하다.

상기 생약재 추출물을 함유하여 제조된 화장료 조성물은 스킨류, 로션류, 에센스류, 크림류, 팩류, 파운데이션류 및 메이크업베이스류와 같은 다양한 제형으로 제조될 수 있으며, 구체적으로 액상, 크림상, 페이스트상 및 고체상 등 다양한 성상으로 적용가능하며, 통상적인 화장료 제조법에 적용시킬 수 있다.

상기 생약재 혼합물로부터 피부노화방지를 위한 유효성분을 추출하여 제조된 상기 화장료 조성물 및 화장료는 피부노화방지용으로 다양한 형태로 이용될 수 있음은 자명하며, 예컨대 스킨류, 로션류, 에센스류, 크림류, 팩류, 파운데이션류 및 메이크업베이스류와 같은 다양한 상품 제형으로 제조될 수 있다. 물성적인 측면에서는 액상, 크림상, 페이스트상 및 고체상 등 다양한 성상으로 적용가능하며, 통상적인 화장료 제조법에 적용시킬 수 있음은 또한 자명하다.

전술한 본 발명의 목적을 달성하기 위해 제공되는 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 추출방법은, (a)도인, 목단피, 향부자 및 후박으로 이루어진 생약재 혼합물을 준비하는 단계; 및 (b)상기 준비된 생약재 혼합물에 소정의 추출용매를 첨가하고 가열하여 유효성분을 추출하는 단계;를 포함하여 진행하는 것을 특징으로 한다.

이때, 상기 (a)단계에서 도인, 목단피, 향부자 및 후박 각각의 함량은 추출전 생약재 혼합물 전체 중량대비 10 내지 50중량%의 비율로 혼합되면 바람직하다. 상기 추출전 생약재 혼합물에서 어느 한 생약재의 함량이 10중량% 미만인 경우에는 그 약재의 함량이 상대적으로 낮아 본래 목적하는 피부의 노화방지효과를 충분하게 달성할 수 없어 바람직하지 못하며, 상기 추출전 생약재 혼합물에서 어느 한 생약재의 함량이 50중량%를 초과하는 경우에는 상대적으로 다른 생약재의 함량이 낮아져 본래 목적하는 피부의 노화방지효과를 충분하게 달성할 수 없어 바람직하지 못하다.

그리고, 상기 (b)단계에서 상기 추출용매는 정제수, 탄소수 1 내지 4인 무수 또는 함수 메탄올, 에탄올, 프로필렌글라이콜, 프로필알코올, 부틸렌글라이콜, 부틸알코올 및 글리세린을 포함한 용매군 중에서 선택된 하나의 순수용매 또는 이들 중 임의의 2개 이상이 조합된 혼합용매이며, 상기 선택된 추출용매는 상기 생약재 혼합물 전체 중량대비 1 내지 20배의 양으로 가해지면 바람직하다. 상기 선택된 추출용매의 함량이 생약재 혼합물 전체 중량대비 1배 미만이면 생약재 전체가 골고루 추출되기 어려워 본래 목적하는 추출효과를 달성할 수 없어 바람직하지 못하며, 상기 선택된 추출용매의 함량이 생약재 혼합물 전체 중량대비 20배를 초과하는 경우에는 추출 후 유효성분의 함량이 낮을 수 있어 본래 목적하는 추출효과를 달성할 수 없어 바람직하지 못하다.

한편, 상기 (b)단계는 상기 생약재 혼합물에 추출용매를 가한 후, 5 내지 37℃의 온도조건에서 1 내지 15일간 침적 추출하는 방법으로 진행하거나, 상기 생약재 혼합물에 추출용매를 가한 후, 냉각콘덴서를 장착시킨 후 50 내지 95℃의 온도조건에서 1 내지 20시간 열을 가하여 추출하는 방법으로 진행하면 바람직하다. 상기 생약재 혼합물에 추출용매를 가하여 추출하는 경우에 실온추출 혹은 가열추출 모두가 바람직하나, 실온추출 방법인건 가열추출 방법인건 추출온도가 너무 낮거나 추출시간이 너무 짧으면 유효성분이 유효하게 추출되지 못하여 본래 목적하는 추출효과를 달성할 수 없어 바람직하지 못하며, 상기 추출에서 유효성분이 충분히 유효하게 추출되는 조건보다도 추출온도가 높거나 추출시간이 길어도 추출된 유효성분에 영향은 주지 않으나 유효성분이 충분히 유효하게 추출되는 조건보다 가혹한 조건으로 추출하는 것은 바람직하지 못하다.

본 발명의 피부노화방지 화장료에 함유되는 생약재 추출물에 제조에 사용되는 시중에서 쉽게 구입할 수 있으며, 이들에 대한 공지된 문헌인 『약초의 성분과 이용』(일월서각, 1991), 『한국본초도감』(교학사, 1998), 『한약자원식물학』(학문출판, 1999) 및 『한약생약규격집』(한국의약품수출입협회&한국의약시험연구소, 2000) 등을 통해 알려져 있는 약리효과를 살펴보면 다음과 같다.

도인(桃仁)은 장미과(*Rosaceae*) 갈잎큰키나무 복숭아나무(*Prunus persica* (L.) B.)의 종자로 에몰신(emulsion), 아미그달린(amygdalin), 리놀렌산(linolenic acid) 등이 함유되어 있다. 도인은 한방에서는 악혈이 체내에 있을 때 생리통, 무월경, 산후의 복통 등에 사용되고 진통, 소염, 해독, 완화제로 타박상, 뱀데, 내출혈 등에 사용되고 있으며, 민간에서는 생선을 먹고 중독되었을 때 복숭아를 먹으면 해독이 되고, 기침을 멈추게 하는 효능이 있는 것으로 알려져 있으며, 가래를 없애기 위한 목적으로 복숭아를 달여서 마시기도 하며, 이는 지방이 풍부하여 변비에 유효하며 배변을 용이하게 하는 효능이 알려져 있다. 도인은 화장료와 관련하여서는 피부의 혈색을 좋게하고, 미백작용과 항염작용을 보이며, 피부에 윤기를 더하여 주는 것으로 알려져 있다.

목단피(牡丹皮)는 모란과(*Paeoniaceae*) 여러해살이풀 모란(*Paeonia suffruticosa* A.)의 뿌리껍질로 페오놀(paeonol)과 그 배당체인 페오노시드(paeonoside), 페오놀리드(paeonolide), 페오니플로린(paeoniflorin) 등이 함유되어 있다. 이는 부인약의 필수약재로서, 진정작용, 열내림작용, 아픔뺀이작용, 항염작용 및 피뺀이작용을 하며 혈압강화작용이 보고된 바 있다. 목단피는 도인과 병행 사용될 때 소염효과와 혈액순환개선의 효과가 보여주는 것으로 알려져 있다. 한편, 화장료와 관련된 목단피의 효능은 소염작용에 의한 증기치료효과, 티로시네이즈활성 저해 효과가 있으며, 혈액순환 촉진과 항염작용 및 수렴작용으로 피부노화를 예방하는 효능이 알려져 있다.

향부자(香附子)는 사초과(*Cyperaceae*) 여러해살이풀 향부자(*Cyperus rotundus* L.)의 뿌리줄기로 정유(essential oil), 알칼로이드(alkaloid), 플라보노이드(flavonoid), 당분(sugar), 펙틴(pectin) 등이 함유되어 있다. 향부자의 뿌리줄기의 유동엑스는 아픔뺀이(진통), 자궁의 긴장성 완화, 강심작용, 발노작용 및 혈액순환을 개선하는 효능이 알려져 있다. 한방에서 향부자는 통경약, 정혈약으로 월경불순, 산전산후의 부인병에 널리 사용되고 있으며, 해열진정약이나 소화약에 첨가하여 감기, 머리아픔, 배아픔 등에 사용하기도 한다. 화장료와 관련하여 향부자는 피부진균에 대한 강한 항균효과를 보이며, 혈액순환을 원활하게 하여 혈색을 윤택하게 하며, 항산화작용과 항염작용으로 인한 피부노화를 예방하는 효능이 알려져 있다.

후박(厚朴)은 목련과(*Magnoliaceae*) 갈잎큰키나무 황목련(*Magnolia obovata* T.)의 껍질로 마그놀롤(magnolol), 호노키올(honokiol), 마키올(machiol) 등이 함유되어 있다. 한방에서 후박은 행기(行氣)작용이 있어 복부창만, 소화불량에 특효를 나타내고, 배가 더부룩하고 음식이 꺼려질 때 사용하고 있으며, 특히 복부가 냉하여 발생하는 설사에 유효하며, 가래를 삭이고 해소 및 천식을 진정시키는 효능이 알려져 있다. 화장료와 관련하여 후박은 강한 항균작용과 항산화효과로 피부노화를 억제하는 효능이 알려져 있다.

이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예, 실험예 등의 구체적인 예를 들어 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명에 따른 실시예 또는 실험예들은 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 아래에서 상술하는 예들에 한정되는 것으로 해석되어지지 않아야 한다. 본 발명에 따른 실시예 및 실험예들은 당 업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해서 제공되어지는 것에 불과하므로, 본 출원시점에 있어서 이들을 대체할 수 있는 다양한 균등물과 변형예들이 있을 수 있음을 이해하여야 한다.

추출 실시예 1 내지 5

정선된 도인 250g, 목단피 250g, 향부자 250g 및 후박 250g을 각각 정량하여 추출기에 넣은 후, 하기 표 1과 같은 각각의 추출용매 5kg을 가하고, 상온에서 6일간 침적하여 추출한 후, 400 메시 여과포로 여과하고 4℃에서 7일간 방치하여 저온숙성시킨 다음, 0.45µm 필터로 2차 여과하였다. 이 추출여액을 냉각콘덴서가 달린 증류장치에서 60℃로 감압농축하여 하기 표 1과 같이 생약재 추출물 33.2g을 각각 수득하였다.

표 1.

추출실시예	추출용매	생약재 추출물 양(g)
1	30% 함수 에탄올	33.2
2	50% 함수 에탄올	34.5
3	70% 함수 에탄올	35.4

4	90% 함수 에탄올	37.4
5	30% 함수 부틸렌글라이콜	22.8

실험예 1 <섬유아세포를 이용한 MTT실험>

본 발명의 상기 각 추출 실시예에 따라 수득된 생약재 추출물에 대하여 피부노화방지의 효과를 검정하는 세포증식 효과 및 독성에 관한 성능을 알아보기 위하여 섬유아세포를 이용한 MTT 시험법 [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide reduction method]을 수행하였다.

먼저, 인체 정상 섬유아세포(Human normal fibroblast)를 96-웰 플레이트(96-well plate)의 각 웰에 1×10^4 세포가 되도록 분주하여 디엠이엠(DMEM, Sigma) 배지에서 24시간동안 1차 배양한다. 상기 1차 배양단계 이후에 상기 추출 실시예 1에서 수득된 생약재 추출물의 농도를 하기 표 1과 같이 조절하여 소태아 혈청이 없는 배지에서 48시간동안 2차 배양한다. 상기 2차 배양단계 이후, MTT 용액(1mg/ml, Sigma) 100 μ l씩을 배양배지에 첨가한 후, 4시간 동안 방치한 다음 배지를 제거한다. 각 웰당 디메틸 설펝사이드(Dimethyl sulfoxide, Sigma) 용액 100 μ l씩을 가한 후, 마이크로 플레이트 판독기 490nm에서 흡광도를 측정한다. 상기 MTT 실험에서의 대조군은 생약재 추출물을 처리하지 않은 배양액으로 설정하였다.

하기 표 2는 상기 추출 실시예 1로 수득된 생약재 추출물을 농도를 달리하여 사용한 실험결과치를 하기 수학적 식 1을 이용하여 세포의 생존능력을 수치로 계산하여 나타낸 결과이다.

표 2.

농도(μ g/ml)	세포증식능(%)
10	104.2 내지 105.7
100	108.4 내지 111.8
250	127.7 내지 130.6
500	135.3 내지 140.1

상기 표 2에서 보는 바와 같이 상기 추출 실시예 1에 의한 생약재 추출물로 처리한 섬유아세포는 10 μ g/ml의 적은 농도에서도 세포증식효과가 있으며, 특히 500 μ g/ml의 농도에서도 세포증식효과가 촉진됨을 알 수 있다. 이러한 결과로부터 본 발명에 따른 실시예에 의한 생약재 추출물은 독성이 없으며 세포증식효과가 있음을 확인할 수 있다.

한편, 상기 MTT 시험법에 의해 확인해본 바에 따르면, 특히 상기 추출 실시예 1에 따른 생약재 추출물의 농도가 500 μ g/ml인 경우 세포증식효과가 더욱 촉진되는 사실을 알 수 있었는데, 상기 MTT 실험과 동일한 방법으로 진행하되, 상기 추출 실시예 1 내지 5로부터 각각 수득된 500 μ g/ml의 생약재 추출물 1 내지 5 각각을 섬유아세포 배양액에 처리한 후, 상기 수학적 식 1에 따른 섬유아세포의 생존능력을 측정하여 그 결과를 하기 표 3에 나타내었다.

표 3.

생약재 추출물 구분	세포증식능(%)
1	135.3 내지 140.1
2	134.2 내지 135.7
3	128.4 내지 131.8
4	127.7 내지 130.6
5	133.3 내지 138.1

상기 표 3에 나타낸 결과에서와 같이, 본 발명에 따른 다양한 실시예에 의해 추출된 생약재 추출물(구분번호 1 내지 5)의 세포증식능은 추출물을 처리하지 않은 대조군(생약재 추출물을 처리하지 않은 예)에 비해 상대적으로 대략 28 내지 38%의 증진효과를 확인할 수 있었으며, 세포독성도 없다는 사실을 구체적으로 확인할 수 있었다.

본 발명에 따른 세포증식능 및 세포무독성에 대한 비교값으로서 실시예 3과 용매조건은 같으나 유사한 추출조건에서 얻은 울피 추출물(250 μ g/ml)의 세포증식능은 128.7%, 가자 추출물(250 μ g/ml)의 세포증식능은 118.2%이며(대한민국 공개특허공보 특2002-0001913), 또한 실시예 3과 추출용매는 같으나 추출조건은 다소 다른 경우로서, 옥죽, 연자육, 작약, 백합 및 지황으로 구성된 생약재 혼합 추출물의 세포증식능은 124.2 내지 130.3%(대한민국 등록특허공보 10-0193105)로 제시되고 있는 공지자료에 비추어볼 때, 본 발명에 따른 생약재 추출물의 우수한 세포증식효과를 객관적으로 확인할 수 있음은 자명하다 할 것이다.

실험예2 - <엘라스테이즈저해능 실험>

본 발명의 추출 실시예에 따라 수득한 생약재 추출물에 대하여 피부주름의 억제 및 개선 효과 검정시험으로서 엘라스테이즈 저해능시험(Elastase Inhibition Activity Test)을 실시하였다.

엘라스틴(Elastin)을 분해하는 효소인 엘라스테이즈의 활성을 측정하는 방법으로 엘라스테이즈 기질인 N-Succinyl-Ala-Ala-Ala p-nitroaniline을 이용하여 p-nitroaniline이 분해되면서 생기는 색의 변화를 410nm의 파장에서 흡광도를 측정함으로써 엘라스테이즈 활성을 측정하는 방법이다. 완충액은 pH 8.0, 0.267M Trizma-HCl(Sigma), 기질액은 8.8mM N-Succinyl-(Ala)₃ p-nitroaniline (Sigma), 효소액은 돼지췌장 엘라스테이즈를 10

μg/ml(Sigma)의 농도로 사용하였다. 완충액 60μl, 기질액 20μl와 상기 각 추출 실시예 1 내지 5로부터 수득된 각 생약재 추출물(구분번호 1 내지 5) 각각을 농도별로 정제수에 녹여 100μl로 한 시료액을 섞은 후, 효소액 20μl를 넣어 25℃ 항온수조에서 15분간 반응시켜 p-nitroaniline의 생성량을 마이크로 플레이트 판독기를 이용하여 파장 405nm에서 측정한다.

한편, 상기 엘라스테이즈 활성도를 측정하기 위한 대조군은 생약재 추출물 대신 정제수를 넣어 같은 방법으로 측정하였으며, 효소액 대신 정제수를 넣어 각각에 대한 색 보정값을 얻은 경우를 설정하였다.

하기 수학적 식 2를 이용하여 엘라스테이즈 저해율을 수치로 계산하여 하기 표 4에 나타내었다. 하기 표 4에서, IC₅₀은 엘라스테이즈 저해율 50%를 달성하기 위해 소요되는 추출물 시료의 농도로서 다른 성분물질과 상대적으로 비교할 때 사용하는 수치로서 값이 작을수록 저해율이 높음을 나타낸다.

표 4.

생약재 추출물 구분	엘라스테이즈 저해능, IC ₅₀ (mg)
1	0.032
2	0.040
3	0.037
4	0.039
5	0.053

상기 표 4에 나타낸 결과에서와 같이, 본 발명에 따른 다양한 실시예에 의해 추출된 생약재 추출물(구분번호 1 내지 5)의 엘라스테이즈 저해율은 0.031 내지 0.053mg(IC₅₀)으로 효과가 우수함을 알 수 있다.

한편, 상기 추출 실시예 1과 같은 조건에서 단독 생약재로서 도인, 목단피, 향부자 및 후박 각각을 추출하여 얻은 추출물(구분번호 1 내지 5)의 엘라스테이즈 저해율은 도인 추출물의 경우 0.052mg, 목단피 추출물은 0.126mg, 인삼 추출물은 0.025mg, 향부자 추출물은 0.105mg으로 측정된 것과 비교해보면, 본 발명에서와 같은 혼합 생약재 추출물의 경우가 단독 생약재 추출물을 이용하는 것에 비해 엘라스테이즈 저해능을 상승시키는 효과를 가져오는 것을 확인할 수 있다.

실험예 3- <자유라디칼 소거시험>

본 발명의 실시예에 따라 얻은 생약재 추출물에 대하여 피부노화방지 효과의 검증시험으로 항산화효과를 알아보기 위하여 자유라디칼 소거시험(Free Radical Scavenging Activity Test)을 실시하였다. 자유라디칼 소거시험은 Kim 등(Kor. J. Pharmacogn., 24 (4), 299 내지 303(1993))의 방법을 변형한 것으로서, 안정한 자유라디칼인 DPPH(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical(Sigma)을 사용하였다.

먼저, 0.2mM DPPH 용액 1ml에 상기 추출 실시예 1 내지 5에 따라 수득된 각각의 생약재 추출물(구분번호 1 내지 5) 각각의 시료를 메탄올에 녹여 2ml로 하여 혼합하고, 실온에서 10분간 방치한 후 525nm에서 흡광도를 측정한다.

한편, 상기 자유라디칼 소거시험에서의 대조군은 시료액 대신 메탄올을 넣어 같은 방법으로 측정하며, DPPH 용액 대신 메탄올을 넣어 생약재 추출물 시료와 대조군에 대한 각각의 색 보정값을 얻는 것으로 설정하였다.

하기 수학적 식 3을 이용하여 자유라디칼 소거율을 수치로 계산하여 하기 표 5에 나타내었다. 하기 표 5에서, SC₅₀은 자유라디칼 소거율 50%를 달성하기 위해 소요되는 시료의 농도로서 다른 성분물질과 상대적으로 비교할 때 사용하는 수치로서 값이 작을수록 소거율이 높음을 나타낸다.

표 5.

생약재 추출물 구분	자유라디칼 소거율, SC ₅₀ (mg)
1	0.041
2	0.039
3	0.038
4	0.033
5	0.049

상기 표 5에 나타낸 결과에서와 같이, 본 발명에 따른 다양한 추출 실시예에 의해 추출된 생약재 추출물(구분번호 1 내지 5) 각 시료의 자유라디칼소거율은 0.033 내지 0.049mg(SC₅₀)으로 우수한 효과를 발휘하고 있음을 확인할 수 있다.

한편, 이에 대한 비교값으로서 추출 실시예 1과 용매조건은 같으나 유사한 추출조건에서 얻은 '지유' 추출물의 자유라디칼소거율은 0.024mg(SC₅₀)이며, 아스코빅애씨드(Ascorbic acid)은 0.027mg(SC₅₀)이고(대한민국 공개특허공보 특2002-0047762), 지유와 같은 조건에서 추출된 '합환피' 추출물은 0.099mg(SC₅₀)(대한민국 공개특허공보 특

2002-0080657)으로 공개된 바 있다. 따라서 본 발명에 따른 다양한 실시예에 의해 추출된 생약재 추출물의 항산화 효과는 강력한 합성 산화제인 아스코빅애씨드에 상당함을 알 수 있다.

실험예 4- <티로시네이즈 저해실험>

본 발명의 각 추출 실시예에 따라 수득한 생약재 추출물에 대하여 피부노화방지 효과의 검증시험으로 미백효과를 알아보기 위하여 티로시네이즈 저해시험(Tyrosinase Activity Inhibition Test)을 실시하였다.

티로시네이즈는 생체내에서 티로신(Tyrosine)이라는 물질의 산화과정을 촉진하여 멜라닌 색소가 생성되게 도와주는 효소로서, 따라서 시료의 효과는 효소의 기능을 억제함으로써 티로신의 산화를 막아 멜라닌이 생성되는 것을 억제하는 정도로 평가된다. 티로시네이즈(Fluka)는 버섯에서 분리 및 정제된 것으로 것을 사용하였고, 기질인 L-티로신(Fluka)을 0.1M 인산나트륨 완충용액에 녹여 0.3mg/ml 농도로 만들어 사용하였다. 본 발명에서의 상기 추출 실시예 1 내지 5에 따라 추출된 각각의 생약재 추출물(구분번호 1 내지 5)의 각 시료를 적정 농도로 조절한 0.5ml, 기질인 티로신 1.0ml, 완충용액 1.1ml을 잘 혼합하여 37℃에서 10분간 방치한다. 여기에 1,600U/ml 티로시네이즈 0.1ml을 넣고 37℃에서 10분간 반응시키고, 2 내지 3분간 얼음물에 냉침하여 반응을 중지시키고 480nm에서 흡광도를 측정한다.

상기 티로시네이즈저해시험을 위한 대조군은 시료액 대신 완충용액을 넣어 같은 방법으로 측정하며, 티로시네이즈 대신 완충용액 넣어 생약재 추출물 시료와 대조군에 대한 각각의 색 보정값을 얻은 경우로 설정하였다. 하기 수확식 4를 이용하여 티로시네이즈저해율을 수치로 계산하여 하기 표 6에 나타내었다. 하기 표 6에서, IC₅₀은 티로시네이즈저해율 50%를 달성하기 위해 소요되는 추출물 시료의 농도로서 다른 성분물질과 상대적으로 비교할 때 사용하는 수치로서 값이 작을수록 저해율이 높음을 나타낸다.

미백제로 알려진 상백피를 상기 추출 실시예 1과 같은 조건으로 추출한 추출물에 대해 동일한 조건으로 시험하여 하기 표 6에 그 결과를 함께 기재하였다.

표 6.

생약재 추출물 구분	티로시네이즈 저해율, IC ₅₀ (mg)
1	0.117
2	0.103
3	0.092
4	0.095
5	0.146
상백피 추출물	0.232

상기 표 6에 나타낸 결과에서와 같이, 본 발명에 따른 다양한 추출 실시예에 의해 추출된 생약재 추출물(구분번호 1 내지 5) 각 시료의 티로시네이즈저해율은 0.092 내지 0.146mg(IC₅₀)으로서, 일반적으로 미백제로서 알려진 상백피 추출물의 그것보다 그 수치가 낮게 나타남으로서, 높은 티로시네이즈 저해 효과의 우수성을 확인할 수 있었다.

제형 실시예 1 및 그 비교예 1

상기 추출 실시예 1에 따른 생약재 추출물을 함유한 유연 화장수의 성분구성을 하기 표 7과 같이 구성하여 제조하였다. 이때, 성분함량의 단위는 중량%이다. 한편, 하기 표 7의 각 성분 번호로 구별된 성분 중에서, 먼저 성분 1(정제수)에 성분 2와 3을 교반 분산시킨 후, 성분 4 내지 6을 가하고, 성분 8 내지 10을 성분 7에 용해시킨 물질과 성분 11을 차례로 가하여 혼합하는 방식으로 제조하였다.

상기 제형 실시예 1에 대한 그 비교예 1은 성분 11을 제외한 나머지 성분 구성이나 제조방법은 동일하게 진행하여 제조한 것을 설정하였다.

표 7.

번호	성분	제형 실시예 1	제형 비교예 1
1	정제수	잔량	잔량
2	카보머	0.1	0.1
3	하이드록시에틸셀룰로오스	0.1	0.1
4	부틸렌글라이콜	2.0	2.0
5	글리세린	1.0	1.0
6	피이지-1500	0.5	0.5
7	에탄올	8.0	8.0
8	폴리소르베이트 80	0.2	0.2
9	트리에탄올아민	0.1	0.1
10	방부제	미량	미량
11	추출 실시예 1에 따른 생약재 추출물 1	0.5	-

제형 실시예 2 및 그 비교예 2

상기 추출 실시예 1에 따른 생약재 추출물을 함유한 탄력 로션의 성분구성을 하기 표 8과 같이 구성하여 제조하였다. 이때, 성분함량의 단위는 중량%이다. 한편, 하기 표 8의 각 성분 번호로 구별된 성분 중에서, 먼저 성분 1 내지 7을 70℃의 온도에서 가열 용해시킨 다음, 성분 8 내지 11을 성분 12에 용해 분산시켜 70℃로 가열한 것에 유화한다. 이후, 상기 유화한 것을 성분 13으로 중화하고, 56℃의 온도로 냉각한 후, 성분 14를 가하여 교반하고 실온으로 냉각하여 제조하였다.

상기 제형 실시예 2에 대한 그 비교예 2는 성분 14인 추출 실시예 1에 따른 생약재 추출물을 제외한 나머지 성분 구성이나 제조방법은 동일하게 진행하여 제조한 것을 설정하였다.

표 8.

번호	성분	제형 실시예 1	제형 비교예 1
1	세테아릴알코올	1.0	1.0
2	글리세릴스테아레이트	0.5	0.5
3	폴리소르베이트 60	1.0	1.0
4	소르비탄세퀴올리에이트	0.3	0.3
5	유동파라핀	6.0	6.0
6	스쿠알렌	4.0	4.0
7	마카테이나넛오일	4.0	4.0
8	글리세린	5.0	5.0
9	카보머	0.1	0.1
10	산탄검	0.03	0.03
11	방부제	미량	미량
12	정제수	잔량	잔량
13	아르기닌	0.1	0.1
14	추출 실시예 1에 따른 생약재 추출물 1	1.0	-

제형 실시예 3 및 그 비교예 3

상기 추출 실시예 1에 따른 생약재 추출물을 함유한 탄력영양크림의 성분구성을 하기 표 9와 같이 구성하여 제조하였다. 이때, 성분함량의 단위는 중량%이다. 한편, 하기 표 9의 각 성분 번호로 구별된 성분 중에서, 먼저 성분 1 내지 7을 70℃의 온도에서 가열 용해시킨 다음, 성분 9 내지 12를 성분 13에 용해 분산시켜 70℃로 가열한 것에 유화한다. 이후, 상기 유화한 것을 56℃의 온도로 냉각한 후, 성분 14를 가하여 교반하고 실온으로 냉각하여 제조하였다.

상기 제형 실시예 3에 대한 그 비교예 3은 성분 14인 추출 실시예 1에 따른 생약재 추출물을 제외한 나머지 성분 구성이나 제조방법은 동일하게 진행하여 제조한 것을 설정하였다.

표 9.

번호	성분	제형 실시예 3	제형 비교예 3
1	세테아릴알코올	1.5	1.5
2	글리세릴스테아레이트	1.0	1.0
3	폴리소르베이트 60	1.0	1.0
4	소르비탄세퀴올리에이트	0.3	0.3
5	세틸옥타노에이트	6.0	6.0
6	스쿠알렌	8.0	8.0
7	아프리카드커넛오일	4.0	4.0
8	디메치콘	2.0	2.0
9	글리세린	5.0	5.0
10	마그네슘알루미늄실리케이트	0.4	0.4
11	산탄검	0.03	0.03
12	방부제	미량	미량
13	정제수	잔량	잔량
14	추출 실시예 1에 따른 생약재 추출물 1	2.0	-

<피부의 주름개선효과와 탄력성 측정 실험>

본 발명에 따른 추출 실시예 1의 생약재 추출물을 함유하는 제형 실시예 3을 실제 피부에 적용한 적용예와 이에 대비되는 비교예를 하기와 같이 설정하여 피부에 대한 주름과 탄력에 영향을 미치는 정도에 대한 상대적 비교시험을 하기와 같이 실시하였다.

즉, 제형 실시예 3과 그 비교예 3의 탄력영양크림을 피부에 각각 도포했을 때 피부의 주름개선과 탄력이 증가되는 효과를 측정하기 위하여 20세 이상의 여성층으로서 정상, 지성, 건성, 복합성 피부의 소유자 20명에게 안면 왼쪽 부

분에는 제형 실시예 3의 탄력영양크림(적용예)을, 안면 오른쪽 부분에는 비교 제형예 3의 탄력영양크림(적용 비교예)을 아침과 저녁으로 1일 2회 12주간 지속적으로 사용하게 한후, 미세주름측정기인 스킨 비지오메터(Skin Visiometer SV 600, CK Electronic GmbH)와 탄력측정기인 큐토미터(Cutometer SEM 575, CK Electronic GmbH)를 이용하여 피부의 주름개선효과와 탄력성을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 10에 나타내었다.

표 10.

구분		주름개선효과		탄력효과
		주름의 평균깊이(Rz)	거칠기평균(Ra)	피부흡착도(ds)
적용예	적용전	34.8	19.8	0.0543
	적용후	27.1	12.4	0.0368
적용비교예	적용전	34.2	19.3	0.0525
	적용후	33.8	18.5	0.0512

상기 표 10에서 'Rz'는 주름의 평균깊이(Mean Depth of Roughness)로서, 주름을 측정하고자 하는 부위에 실리콘 고무를 이용하여 만든 표본을 5등분하고, 각각 5군데에서 주름 높이의 최고점과 최저점의 차이에 대한 평균값을 나타낸다. 'Ra'는 거칠기 평균(Roughness Average)으로 표본에서 전체 주름깊이의 평균값에서 개개 측정부위(전체를 255개의 측정부위 점으로 나눔)에서의 주름깊이 차이에 대한 평균값을 나타낸다. 'Rz'와 'Ra'의 수치는 낮게 나타날수록 주름이 작게 형성되는 것으로서 피부 노화도가 작은 것을 의미하게 되어 바람직하다.

상기 표 10에 나타난 결과로부터, 탄력영양크림의 적용전/후의 적용예에 대한 상대적인 수치 계산을 통해 살펴보면, 'Rz'값으로 살펴본 주름개선효과는 22.12%향상(적용 비교예에는 1.17%향상)되고, 'Ra'값으로 살펴본 주름개선효과는 37.37%향상(적용 비교예에는 4.15%향상)되어 있음을 알 수 있으므로, 본 발명에 의한 생약재 추출물 함유 화장료는 피부의 주름개선효과를 상당한 효과를 발휘하고 있음을 확인할 수 있다.

또한, 상기 표 10에서 'ds'는 큐토미터 측정기내로 피부가 흡착된 길이(penetration depth of the skin into the aperture)를 나타내는 것으로서 흡착정도를 나타내는 수치이며, 그 수치가 작을수록 바람직하다. 'ds'값에 의한 탄력효과는 32.23%향상(적용 비교예에는 2.48%)되어, 피부의 탄력도가 상당한 정도로 개선되었음을 확인할 수 있다.

결과적으로 상기 표 10에 나타난 결과를 통해 확인할 수 있는 사실은 본 발명에 따른 추출 실시예에 의해 준비된 생약재 추출물을 함유하는 화장료는 피부주름개선효과와 탄력효과를 증진시키는 것으로서, 피부노화방지의 우수한 효과를 발휘하고 있음을 알 수 있다.

이상에서 설명된 본 발명의 최적 실시예들이 개시되었다. 여기서 특정한 용어들이 사용되었으나, 이는 단지 본 발명을 설명하기 위한 목적에서 사용된 것이지 의미한정이나 특허청구범위에 기재된 본 발명의 범위를 제한하기 위해 사용된 것이 아니다.

발명의 효과

본 발명에 따른 도인, 목단피, 향부자 및 후박을 포함하는 생약재 추출물은 항노화와 관련된 세포증식효과, 엘라스테이즈 저해효과, 항산화효과 및 티로시네이즈 저해효과에서 우수한 효과를 발휘하며, 이를 함유한 화장료는 피부의 주름개선효과 및 탄력증진효과가 뛰어나 피부의 노화방지효과를 가져올 수 있다. 따라서, 단순화장용 제품으로서만이 아닌 특별한 기능성 효과를 발휘할 수 있으므로 제품 상용화나 상품성에서 탁월한 효과를 발휘할 수 있을 것으로 기대된다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

도인, 목단피, 향부자 및 후박의 생약재 혼합물로부터 추출된 유효성분을 이용하는 것을 특징으로 하는 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물.

청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 도인, 목단피, 향부자 및 후박 각각의 함량은 추출전 생약재 혼합물 전체 중량대비 10 내지 50 중량%인 것을 특징으로 하는 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물.

청구항 3.

제1항에 있어서, 상기 유효성분의 함량은 화장료 조성물 총 중량을 기준으로 0.001 내지 10중량%인 것을 특징으로 하는 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물.

청구항 4.

제1항에 있어서, 상기 생약재 추출물을 함유하여 제조된 화장료 조성물은 스킨류, 로션류, 에센스류, 크림류, 팩류, 파운데이션류 및 메이크업베이스류 중 선택된 어느 하나의 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물.

청구항 5.

제1항 내지 제4항 중 선택된 어느 한항에 있어서, 상기 화장료 조성물은 피부노화방지용으로 이용되는 것을 특징으로 하는 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물.

청구항 6.

(a)도인, 목단피, 향부자 및 후박으로 이루어진 생약재 혼합물을 준비하는 단계; 및

(b)상기 준비된 생약재 혼합물에 소정의 추출용매를 첨가하고 가열하여 유효성분을 추출하는 단계;를 포함하여 진행되는 것을 특징으로 하는 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 추출방법.

청구항 7.

제6항에 있어서, 상기 (a)단계에서 도인, 목단피, 향부자 및 후박 각각의 함량은 추출된 생약재 혼합물 전체 중량대비 10 내지 50중량%의 비율로 혼합된 것을 특징으로 하는 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 추출방법.

청구항 8.

제6항에 있어서, 상기 (b)단계에서 상기 추출용매는 정제수, 탄소수 1 내지 4인 무수 또는 함수 메탄올, 에탄올, 프로필렌글라이콜, 프로필알코올, 부틸렌글라이콜, 부틸알코올 및 글리세린을 포함한 용매군 중에서 선택된 하나의 순수용매 또는 이들 중 임의로 선택된 둘 이상이 조합된 혼합용매이며, 상기 선택된 추출용매는 상기 생약재 혼합물 전체 중량대비 1 내지 20배의 양으로 가해지는 것을 특징으로 하는 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 추출방법.

청구항 9.

제6항에 있어서, 상기 (b)단계는 상기 생약재 혼합물에 추출용매를 가한 후, 5 내지 37℃의 온도조건에서 1 내지 15일간 침적 추출하는 방법으로 진행되는 것을 특징으로 하는 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 추출방법.

청구항 10.

제6항에 있어서, 상기 (b)단계는 상기 생약재 혼합물에 추출용매를 가한 후, 냉각콘덴서를 장착시킨 후 50 내지 95℃의 온도조건에서 1 내지 20시간 열을 가하여 추출하는 방법으로 진행되는 것을 특징으로 하는 생약재 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 추출방법.