



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0085371
(43) 공개일자 2011년07월27일

(51) Int. Cl.

A61K 8/97 (2006.01) A61Q 5/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0005125

(22) 출원일자 2010년01월20일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

(주)아모레퍼시픽

서울특별시 용산구 한강로2가 181

(72) 발명자

강병하

경기도 용인시 기흥구 보라동 한보라마을5단지
507동 1506호

민대진

서울특별시 성동구 용답동 35-12호 1층

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

윤동열

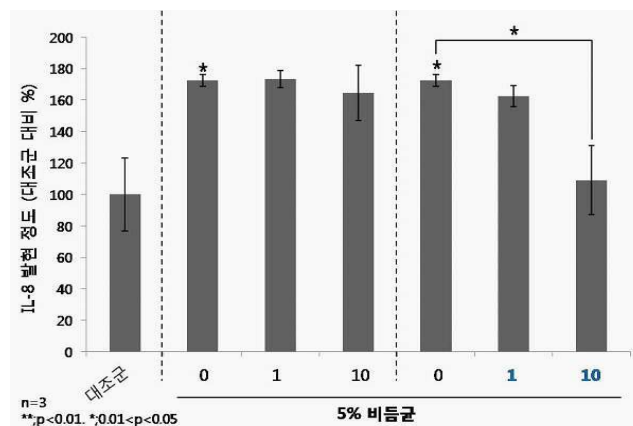
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 천연식물 추출물을 함유한 두피 상태 개선용 화장료 조성물

(57) 요약

본 발명은 천연식물 추출물을 함유하여 두피 상태를 개선시키는 화장료 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 수련추출물, 생강추출물 및 대나무추출물을 포함하는 천연식물복합성분을 함유하여 두피 염증 반응을 억제시키고, 활성산소의 생성 및 작용을 억제하여 두피에 대한 정화 및 진정 효과가 우수한 화장료 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김신형

경기도 용인시 기흥구 상갈동 금화주공그린빌아파트 602동 206호

장희경

경기도 용인시 기흥구 상갈동 금화주공아파트 307동 1507호

최장원

서울특별시 서대문구 홍제동 청구 3차 APT 302동 901호

신성연

경기도 수원시 영통구 망포동 늘푸른벽산아파트 113동 602호

이기현

경기도 수원시 팔달구 인계동 371-1 인계삼성아파트 102동 303호

이존환

경기도 용인시 기흥구 동백동 호수마을 1704동 1802호

특허청구의 범위

청구항 1

수련추출물, 생강추출물 및 대나무추출물을 포함하는 천연식물복합성분을 함유하는 두피 상태 개선용 화장료 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 천연식물복합성분은 수련추출물, 생강추출물 및 대나무추출물을 1~10:1~10:1~10의 비율로 이루어짐을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 수련추출물, 생강추출물 및 대나무추출물의 혼합량은 천연식물복합성분의 중량에 대하여 50.0~80.0중량%임을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 천연식물복합성분은 조성물 총 중량에 대하여 0.01~10중량%의 양으로 함유됨을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 천연식물복합성분은 부틸렌글라이콜 및 페녹시에탄올을 더 포함함을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 조성물은 두피 염증을 억제함을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 7

제 1항에 있어서, 상기 조성물은 항산화용임을 특징으로 하는 화장료 조성물.

명 세 서

기술 분야

[0001] 본 발명은 천연식물 추출물을 함유하여 두피 상태를 개선시키는 화장료 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 수련추출물, 생강추출물 및 대나무추출물을 포함하는 천연식물복합성분을 함유하여 두피 염증 반응을 억제시키고, 활성산소의 생성 및 작용을 억제하여 두피에 대한 정화 및 진정 효과가 우수한 화장료 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 두피는 표피(epidermis), 진피(dermis), 피하조직(subcutaneous tissue)으로 구성되어 있으며, 가장 바깥조직이 표피이다. 표피는 신체의 민감한 조직을 손상받지 않도록 보호해주는 기능을 한다. 그러나 외부의 온도, 습도의 변화, 공해물질 등의 여러 가지 물리적, 화학적 외부의 자극과 스트레스, 영향 결핍 등으로 인해 두피의 기능을 상실할 수 있으며, 나아가서는 탈모에도 영향을 미칠 수 있다.

[0003] 한편 비듬이란 인체의 활발한 신진대사에 의해 생긴 두피의 죽거나 벗겨진 세포들이 두피 피지선의 분비물과 함께 달라붙어서 생긴 각질형태의 덩어리를 말한다. 비듬은 점차 정상 피부와 뚜렷한 경계를 가지며, 붉게 되어 두피에 인설이 증가하여 통상 가려움과 염증을 수반하는 지루피부염으로까지 진행된다.

[0004] 이러한 비듬의 발생과 관련하여 두피의 비듬균인 말라세지아균(Malassezia globosa)이 관련이 있으며 이 비듬균을 제거하기 위하여 많은 두피 케어 제품에서 효능성분으로 아연피리치온, 클림바졸, 이미다졸 등의 화학물질을

주로 사용하였다.

[0005] 그러나 상기 아연피리치온 등의 화학물질은 비듬균에 대한 항균력은 우수하나, 비듬증과 함께 수반되는 가려움증의 완화에 대해서는 효과가 약한 편이며, 피부 부작용 등에 안전하지 못하다는 점과 화학물질이라는 점에서 소비자들에게 부정적인 생각을 갖게 할 수 있다.

[0006] 따라서, 두피의 상태를 개선시킬 수 있으면서 안정적인 천연식물성분을 함유한 조성물이 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 이에 본 출원인들은 수련추출물, 생강추출물 및 대나무추출물을 포함하는 천연식물복합성분을 사용할 경우 이들 성분을 단독으로 사용할 때보다 항염 효능 및 항산화 효능이 우수하여 두피 정화 및 진정 효과가 뛰어남을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다.

[0008] 따라서 본 발명은 두피 상태를 개선시키는 효과가 우수한 화장료 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기한 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 수련추출물, 생강추출물 및 대나무추출물을 포함하는 천연식물복합성분을 함유하는 두피 상태 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0010] 본 발명에 의한 화장료 조성물은 모발과 두피에 축적된 독소를 효과적으로 배출하여 두피를 정화하고, 비듬균의 증식과 성장을 억제하여 두피염증반응을 예방할 수 있으며, 또한 활성산소의 생성 및 작용을 억제하는 항산화 효능이 뛰어나 두피를 강화시키는 효과를 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 천연식물복합성분의 비듬균에 의한 두피염증반응 억제 효과를 IL-8의 발현 정도로 나타낸 것이다.

도 2는 천연식물복합성분의 지방산에 의한 두피염증반응 억제 효과를 IL-8의 발현 정도로 나타낸 것이다.

도 3은 천연식물복합성분의 항산화 효능을 DPPH 분석법으로 측정한 결과를 나타낸 것이다.

도 4는 천연식물복합성분의 항산화 효능을 DCF-DA 분석법으로 측정한 지방산에 의해 생성되는 ROS에 대한 천연식물복합성분의 항산화 효과를 나타낸 것이다.

도 5는 천연식물복합성분의 항산화 효능을 DCF-DA 분석법으로 측정한 지방산 및 자외선에 의해 생성되는 ROS에 대한 천연식물복합성분의 항산화 효과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] 본 발명의 화장료 조성물은 수련추출물, 생강추출물 및 대나무추출물을 포함하는 천연식물복합성분을 유효성분으로 함유한다.

[0013] 본 발명에서 사용되는 수련은 여러해살이 수중식물로서 굵고 짧은 땅속줄기에서 많은 잎자루가 자라서 물 위에서 잎을 편다. 잎몸은 길이 두꺼운 달걀 모양이고 밑부분은 화살뿔처럼 깊게 갈라진다. 앞면은 녹색이고 윤기가 있으며, 뒷면은 자줏빛이고 길이 두껍다. 수련속의 식물은 꽃이 아름다우므로 연못이나 온실에서 관상용으로 재배된다. 또한 종자와 뿌리줄기는 녹말을 많이 함유하고 있어 세계 각지에서 식용되고 있다. 또한 뿌리줄기는 누파리딘을 함유하고 있어 위장약으로 사용된다.

- [0014] 본 발명에서 사용되는 생강은 새양, 새양이라고도 한다. 동남아시아가 원산지이고 채소로 재배한다. 뿌리줄기는 옆으로 자라고 다육질이며 덩어리 모양이고 황색이며 매운 맛과 향긋한 냄새가 있다. 뿌리줄기는 말려 갈아서 빵·과자·카레·소스·피클 등에 향신료로 사용하고, 껍질을 벗기고 끓인 후 시럽에 넣어 절이기도 하며 생강차와 생강주 등을 만들기도 한다. 한방에서는 뿌리줄기 말린 것을 건강(乾薑)이라는 약재로 쓰는데, 소화불량·구토·설사에 효과가 있고, 혈액 순환을 촉진하며, 항염증과 진통 효과가 있다.
- [0015] 본 발명에서 사용되는 대나무는 외떡잎식물 벼목 화본과(벼과, Poaceae) 대나무아과(Bambusoideae)에 속하는 여러해살이 식물의 총칭으로 키가 큰 왕대속만을 대나무라고 일컫는 경우도 있다. 대나무는 건축재·가구재·냥싯대·식물 지지대를 비롯하여 바구니 등 죽세공품에 이르기까지 그 용도가 매우 다양하며 관상용으로 심기도 한다. 어린 순은 나물로 요리하여 먹는다.
- [0016] 본 발명에서 상기 수련, 생강 및 대나무의 추출물은 각각의 건조된 원료를 수세 후 이온수에 투입하여 70~75℃에서 열수로 추출한다. 상온으로 냉각 후 탈취 및 여과하여 각각의 추출물을 얻는다. 상세한 제조방법은 하기의 참고예에 명기한다.
- [0017] 본 발명에서 사용되는 천연식물복합성분에 포함되는 수련추출물, 생강추출물 및 대나무추출물은 1~10:1~10:1~10의 중량비율로 혼합되며, 바람직하게는 각 식물추출물들의 혼합으로 인한 시너지 효과를 얻기 위해 1:1:1의 비율로 혼합하는 것이 좋다. 또한 상기 천연식물복합성분은 수련추출물, 생강추출물 및 대나무추출물의 혼합물을 천연식물복합성분의 중량에 대하여 50.0~80.0중량%의 양으로 함유한다. 또한 천연식물복합성분은 원료의 보존성을 높이기 위해 제균목적으로 광범위하게 사용되는 방부제를 더 포함할 수 있으며, 바람직하게는 부틸렌글리콜과 페녹시에탄올을 사용할 수 있다.
- [0018] 또한, 본 발명의 조성물은 상기 천연식물복합성분을 조성물 총 중량에 대하여 0.01~10중량%의 양으로 함유한다. 이는 0.01중량% 미만에서는 그 효과가 매우 미약하고, 10중량% 초과에서는 제형의 안정도에 문제가 있기 때문이다.
- [0019] 본 발명의 조성물은 제형화하는데 있어서 특별히 한정되는 바가 없으나, 헤어토닉, 모발 영양화장수, 스칼프트리트먼트, 헤어트리트먼트, 헤어샴푸, 헤어린스, 헤어로션 또는 두피 모발 겸용 트리트먼트 등으로 제형화될 수 있다.
- [0020] 또한, 각각의 제형에 있어서 상기한 필수성분 이외에 다른 성분들은 기타 외용제의 종류 또는 사용목적 등에 따라 당업자가 어려움 없이 적합하게 선정하여 배합할 수 있다.
- [0021] 본 발명에 의한 조성물은 모발과 두피에 축적된 독소를 효과적으로 배출하여 두피를 정화하고, 비듬균의 증식과 성장을 억제하여 두피염증반응을 예방할 수 있으며, 또한 활성산소의 생성 및 작용을 억제하는 항산화 효능이 뛰어나 두피를 진정시키고 강화시키며 본연의 방어력을 강화시키는 효과를 제공할 수 있다.
- [0022] 이하, 실시예 및 시험예를 들어 본 발명의 보다 구체적으로 설명하지만, 본 발명이 이들 예로만 한정되는 것은 아니다.
- [0023] [참고예 1] 수련추출물의 제조
- [0024] 수련 1kg을 수세 후 25L의 이온수에 투입하여 70~75℃에서 3시간 동안 열수로 추출하였다. 상온으로 냉각 후 규조토를 이용하여 여과한 다음, 탈취를 위하여 제올라이트 0.5kg으로 처리하고 여과하여 추출액 2L를 획득하였다.
- [0025] [참고예 2] 생강추출물의 제조
- [0026] 건생강 2kg을 수세 후 25L의 이온수에 투입하여 70~75℃에서 3시간 동안 열수로 추출하였다. 상온으로 냉각 후 규조토를 이용하여 여과한 다음, 탈취를 위하여 제올라이트 0.5kg으로 처리하고 여과하여 추출액 2L를 획득하였다.

- [0027] [참고예 3] 대나무추출물의 제조
- [0028] 건조된 대나무 5kg을 20cm 간격으로 자른 다음 수세 후 25L의 이온수에 투입하여 70~75℃에서 3시간 동안 열수로 추출하였다. 상온으로 냉각 후 규조토를 이용하여 여과하여 추출액 20L를 획득하였다.
- [0029] [참고예 4] 천연식물복합성분의 제조
- [0030] 상기 참고예 1~3에서 획득한 추출액을 대나무 추출액 23.2중량%, 건생강 추출액 23.2중량%, 수련 추출액 23.1중량%를 비율에 맞추어 혼합한 후 방부액(1,3-부틸렌글라이콜 30중량%, 페녹시에탄올 0.5중량%)을 혼합하였다. 이를 1.0 μ m 필터를 이용하여 선여과(Pre-filtration) 처리하고, 0.45 μ m 필터를 이용하여 미세여과(Micro-filtration) 후 포장을 하였다.
- [0031] [시험예 1] 천연식물복합성분에 의한 항염효능
- [0032] 두피의 비듬균(*Malassezia globosa*)은 자신의 지방분해효소(Lipase)를 이용해서 두피 표면의 지방산을 분해한다. 이렇게 분해된 지방산들 중에서 불포화지방산은 두피 내부로 침투하여 염증반응 등의 병리적인 현상을 일으키고, 포화지방산들은 비듬균이 증식과 성장을 위한 에너지원으로 사용한다. 또한 두피의 비듬균과 비듬균이 생성하는 지방산은 두피 각질형성세포에서 IL-8의 발현을 증가시켜 두피 염증반응을 유발할 수 있다. 따라서 본 시험예에서는 본 발명의 천연식물복합성분이 비듬균과 지방산에 의한 피부 염증반응을 억제하는 효과를 측정하고자 하였다.
- [0033] 비듬균(*Malassezia globosa*)과 피부의 대표적인 지방산(리놀레산(Linoleic acid))을 인간각질형성세포에 처리하고 염증매개인자 분석을 통하여 염증반응을 관찰하고 항염효능을 확인하였다. 구체적인 실험방법은 하기와 같다.
- [0034] 1) 세포 배양
- [0035] 인간의 불멸화된 각질형성세포인 HaCaT 세포를 10% FBS(Fetal Bovine Serum)와 100unit/ml 페니실린-스트렙토마이신이 들어 있는 DMEM(Dulbecco Modified Eagle's Medium)에 넣고 37℃, 5% CO₂에서 배양하였다.
- [0036] 2) 비듬균 배양 및 비듬균 시료 준비
- [0037] 비듬균(*Malassezia globosa*)는 ATCC에서 구입(ATCC strain #96807)하였으며, Leeming & Notman 브로스(broth)에 접종하여 35℃에서 3일간 증식 후 실험에 사용하였다. 증식한 비듬균은 원심분리해서 비듬균과 배양배지로 분리하였다. 배양배지는 추가적인 정제 과정을 거치지 않고 냉동보관 하였다가 필요시 녹여서 사용하였으며, 비듬균은 PBS(Phosphate Buffered Saline)로 3회 세척한 후에 4℃에서 냉장보관 하였다가 시험에 사용하였다.
- [0038] 3) IL-8 분석
- [0039] HaCaT 세포를 1x10⁵ 농도로 24웰 플레이트에 파종하였다. 파종 다음날 FBS 농도를 2%로 낮추고 페놀 레드(Phenol red)를 제거한 IL-8 분석용 배지로 교환하고 비듬균과 지방산류를 처리하였다. 물질 처리 24시간 후에 세포의 배양 배지를 수거하고 남아 있는 세포는 PBS로 두 번 세척 후 WST-1(Roche) 시약을 이용해서 세포 독성을 평가하였다. 수거한 배지는 원심분리로 잔여물을 제거하고 IL-8 ELISA 세트(BD Bioscience)를 이용해서 배지 내의 IL-8 농도를 측정하였다. WST-1와 IL-8 ELISA는 제조사가 제공한 프로토콜을 따랐다.
- [0040] 4) 통계처리
- [0041] 배지에서 측정된 IL-8의 농도를 WST-1 값으로 나눠서 세포 독성에 의한 값 차이를 보정하였다. 이 보정값을 미니탭(Minitab 14 Korean) 통계 프로그램을 이용해서 각 군간의 유의성을 평가하였다.
- [0042] 측정결과는 도 1 및 도 2에 나타내었다.
- [0043] 도 1 및 2를 보면, 생강추출물을 단독으로 처리한 경우에는 비듬균 및 지방산에 의한 두피 염증반응의 억제 효과가 거의 없음을 알 수 있다. 그러나 수련추출물, 생강추출물 및 대나무추출물을 포함한 천연식물복합성분은 비듬균과 지방산에 의한 IL-8의 증가를 농도 의존적으로 억제할 수 있으며, 특히 천연식물복합성분을 10ppm의 농도로 처리한 경우, 비듬균에 의한 두피 염증반응을 63% 정도, 지방산에 의한 두피염증반응을 65% 정도 억제할

수 있음을 확인할 수 있다.

[0044] 이를 통해, 비듬균은 두피 각질형성세포에서 염증매개인자 IL-8의 발현을 증가시켜 두피염증반응을 유도할 수 있으나, 수련추출물, 생강추출물 및 대나무추출물로 구성된 천연식물복합성분은 이런 비듬균에 의한 두피 염증 반응을 억제하여 항염효능을 제공할 수 있음을 알 수 있다.

[0045] [시험예 2] 천연식물복합성분에 의한 항산화 효능

[0046] ROS(활성산소, Reactive oxygen stress)는 산소 원자를 포함한 자유 라디칼(free radical)을 지칭하는 것으로서, 정상시에는 대사과정 중 생성되는 부산물이나, 자외선과 같은 다양한 외부자극에 의해 세포가 지속적으로 영향을 받으면, 세포 내 ROS 생성 양이 급속하게 증가하게 된다. 이렇게 증가한 ROS는 세포의 DNA, RNA, 단백질 등에 영향을 주어 세포 괴사 혹은 염증 반응 등 세포에 손상을 입히는 다양한 현상들을 일으킨다. 따라서 본 시험예에서는 본 발명의 천연식물복합성분에 대하여 지방산에 의해 생성되는 ROS의 생성 및 작용을 막는 항산화 효과를 측정하고자 하였으며, DPPH 분석법과 DCF-DA 분석법을 이용하였다.

[0047] 1. DPPH 분석법

[0048] DPPH는 붉은색을 띠는 안정한 자유 라디칼인데, 이때 항산화 효능 물질에 의해 자유 라디칼의 수가 감소하면 점차 노란색으로 변하게 되므로, 이를 통해 세포 내 이미 생성된 ROS에 대한 물질의 항산화 효능을 판별할 수 있다.

[0049] 1) DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) 준비

[0050] 실험을 시작하기 전에 에탄올에 녹여 100 μ M로 만들었다.

[0051] 2) 처리 물질 준비

[0052] DPPH 용액과 반응시킬 물질을 최종 처리 농도 x20로 에탄올에 녹였다.

[0053] 3) 물질처리

[0054] 처리할 물질을 농도별로 10 μ l씩 96-웰 플레이트에 넣었다. 이때 물질 처리 농도 구간마다 같은 농도의 처리 횟수를 3회로 하였다. 대조군에는 에탄올을 10 μ l 넣었다.

[0055] 4) DPPH 처리 및 반응

[0056] 100 μ M DPPH를 190 μ l씩 멀티채널 피펫을 이용하여 넣었다. 그 후 37℃ 인큐베이터에서 30분간 보관하였다.

[0057] 5) 흡광도 측정 및 통계 처리

[0058] Spectra Max 190을 이용하여 517nm에서의 흡광도를 측정하였다. 대조군을 기준으로 물질 처리군의 변화율을 계산하였다. 각 군간의 유의성은 미니탭(Minitab 14 Korean) 통계 프로그램을 이용하여 평가하였다.

[0059] 결과는 도 3에 나타내었다.

[0060] 도 3을 보면 생강추출물 50 μ M 단독처리 시험군에서도 유의적인 자유 라디칼 소거능이 관찰되지만, 사용한 천연식물복합성분 보다 고농도이며 효능이 많이 떨어짐을 볼 수 있다. 반면, 수련추출물, 생강추출물 및 대나무추출물로 구성된 천연식물복합성분은 10 μ M의 농도로 처리시, 대조군 대비 60% 정도의 수준으로 자유 라디칼의 양이 감소하게 되며, 또한 95% 신뢰수준으로 검정 시, 10, 5 μ M 농도 모두에서 항산화능이 관찰되고, 이를 통해 본 발명의 천연식물복합성분은 농도의존적 항산화능을 보임을 알 수 있다.

[0061] 2. DCF-DA 분석법

[0062] 상기 방법은 세포내 ROS의 생성량을 측정할 수 있는 방법이다. 구체적으로 DCFH-DA가 세포 속으로 들어가면 DCFH 상태로 존재하는데, 이때 세포 내에 생성된 과산화수소(H_2O_2)를 만나면 형광도가 높은 DCF로 전환된다. 이때 DCF의 형광도 측정 및 관찰을 통해 녹색빛이 강해지거나 형광도 값이 높으면 ROS 생성이 높은 것으로 판단할 수 있으므로, 상기 방법으로 ROS의 생성 정도를 파악할 수 있다.

- [0063] (1) 지방산에 의해 생성되는 ROS에 대한 천연식물복합성분의 항산화 효과
- [0064] 1) 세포 배양
- [0065] 인간의 불멸화된 각질형성세포인 HaCaT 세포 1.0×10^5 개/웰을 Ibidi 8웰 플레이트에 깔아, 10% FBS(Fetal Bovine Serum)와 100unit/ml 페니실린-스트렙토마이신이 들어 있는 DMEM(Dulbecco Modified Eagle's Medium)에 넣고 37℃, 5% CO₂에서 24시간 배양하였다.
- [0066] 2) 물질 처리
- [0067] 물질 처리군은 평가할 물질을 무혈청 배지에 넣고 24시간 전처리 하였다. 이때 세포독성이 나타나지 않는 물질 농도로 실험을 진행하였다. 그 외 평가군도 무혈청 배지로 갈아주었다.
- [0068] 3) DCF da 처리
- [0069] 배지를 제거하고 HBSS로 한 번 세척하였다. DCF da 50 μ M을 처리해 인큐베이터에서 20분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후, HBSS로 2번 세척하였다.
- [0070] 4) 자극원 처리 및 공초점 현미경 관찰
- [0071] 지방산(OA: 올레산) 100 μ M 처리 한 뒤, 1시간 뒤 공초점 현미경으로 488nm 파장으로 관찰하였다. 물질 처리군은 지방산 처리시 평가 물질을 함께 처리하였다.
- [0072] 결과는 도 4에 나타내었다.
- [0073] 도 4를 보면, 지방산(OA)으로 처리하면 세포 내 ROS 생성량이 증가하게 되나, 본 발명에 의한 천연식물복합성분을 처리할 경우 지방산에 의한 ROS 생성의 증가가 억제됨을 확인할 수 있다.
- [0074] (2) 지방산과 자외선에 의해 생성되는 ROS에 대한 천연식물복합성분의 항산화 효과
- [0075] 1) 세포 배양
- [0076] 인간의 불멸화된 각질형성세포인 HaCaT 세포 1.0×10^5 개/웰을 Ibidi 8웰 플레이트에 깔아, 10% FBS(Fetal Bovine Serum)와 100unit/ml 페니실린-스트렙토마이신이 들어 있는 DMEM(Dulbecco Modified Eagle's Medium)에 넣고 37℃, 5% CO₂에서 24시간 배양하였다.
- [0077] 2) 물질 처리
- [0078] 물질 처리군은 평가할 물질을 무혈청 배지에 넣고 24시간 전처리 하였다. 이때 세포독성이 나타나지 않는 물질 농도로 실험을 진행하였다. 그 외 평가군도 무혈청 배지로 갈아주었다.
- [0079] 3) DCF da 처리
- [0080] 배지를 제거하고 HBSS로 한 번 세척하였다. DCF da 50 μ M을 처리해 인큐베이터에서 20분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후, HBSS로 2번 세척하였다.
- [0081] 4) 자극원 처리 및 공초점 현미경 관찰
- [0082] UVB를 처리하지 않는 대조군은 흡수막으로 가리고 UVB 30mJ을 처리하였다. UVB 처리가 끝나면, 지방산(OA: 올레산) 100 μ M 처리 한 뒤, 1시간 뒤 공초점 현미경으로 488nm 파장으로 관찰하였다. 물질 처리군은 지방산 처리시 평가 물질을 함께 처리하였다.
- [0083] 결과는 도 5에 나타내었다.
- [0084] 도 5를 보면, 지방산(OA)과 자외선으로 처리하면 세포 내 ROS 생성량이 증가하게 되나, 본 발명에 의한 천연식물복합성분을 처리할 경우 지방산과 자외선에 의한 ROS 생성의 증가가 억제됨을 확인할 수 있다.
- [0085] [시험예 3] 사용 효능 및 품질 시험

[0086] 20~30세 성인 남성, 여성 30명으로 구성되는 품평단(panel)을 대상으로 표 1의 실시예 1~2 및 비교예 1의 샴푸를 2주일 동안 매일 사용하도록 한 후, 하기 설문항목에 7점 척도(점수가 높을수록 우수함)로 답하게 하는 방식으로 사용 품질을 평가하였다. 그 결과는 하기 표 2에 나타내었다.

표 1

[0087]

성분	비교예 1 (단위: 중량%)	실시예 1 (단위: 중량%)	실시예 2 (단위: 중량%)
정제수	To 100	To 100	To 100
암모늄라우릴설페이트액(활성분 25%)	28	28	28
암모늄라우레스설페이트액(활성분 25%)	20	20	20
페녹시에탄올	0.2	0.2	0.2
천연식물복합성분(참고예 4)	-	0.1	1
구아하이드록시프로필트리모늄클로라이드	0.4	0.4	0.4
세틸알콜	1	1	1
디메치콘	1	1	1
시트릭애씨드	0.1	0.1	0.1
트리하이드록시스테아린	0.3	0.3	0.3
향료	0.7	0.7	0.7

표 2

[0088]

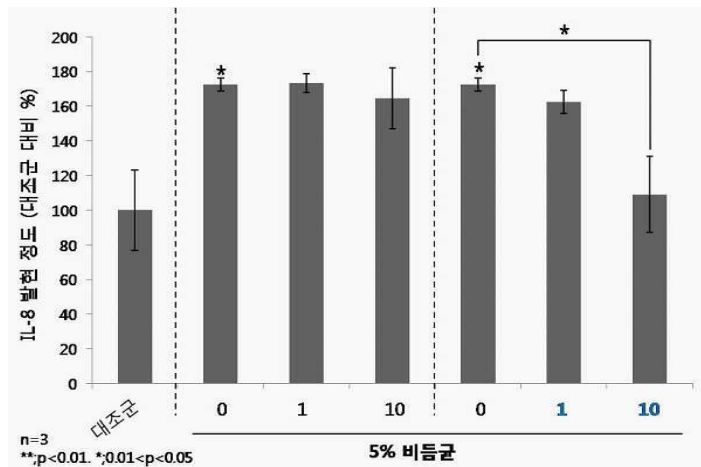
설문항목	비교예 1	실시예 1	실시예 2
1. 기포가 잘 나고 기포 느낌이 좋다	5.4	5.4	5.5
2. 행굼 시 느낌이 좋고 손가락 통과가 잘된다	5.6	5.8	5.7
3. 반 건조 시 빗질이 쉽고 부드럽다	5.6	5.7	5.6
4. 건조 후 두피의 가려움이 개선되었다.	3.8	4.5	6.2
5. 2주 후 두피의 상태가 깨끗해졌다. (두피에 뽕루지나 홍반이 없는 정도)	4.0	4.9	6.5

[0089]

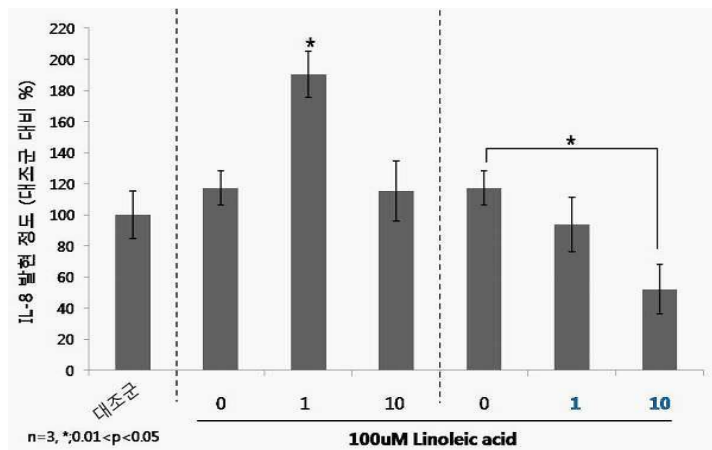
상기 표 2를 보면 본 발명에 따른 실시예 1~2를 사용할 경우 비교예 1을 사용할 경우보다 두피의 가려움이 많이 개선되고 두피의 상태가 깨끗해지게 되었음을 확인할 수 있다.

도면

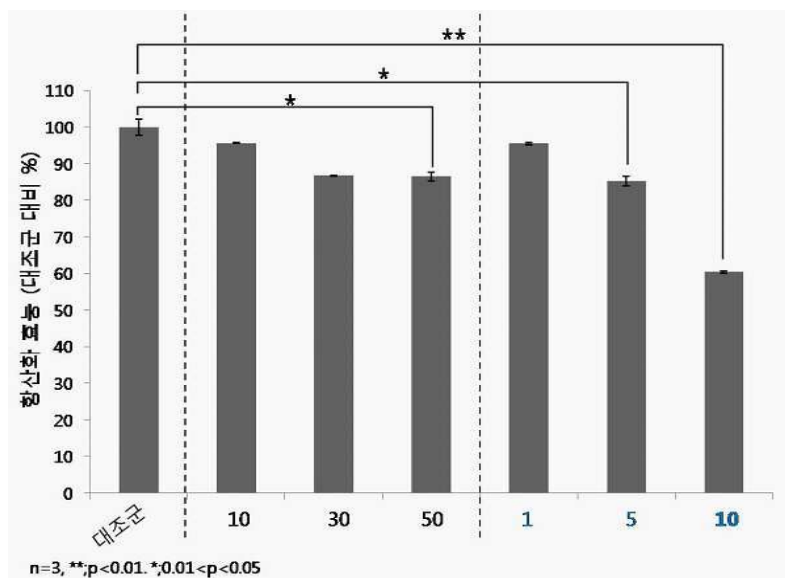
도면1



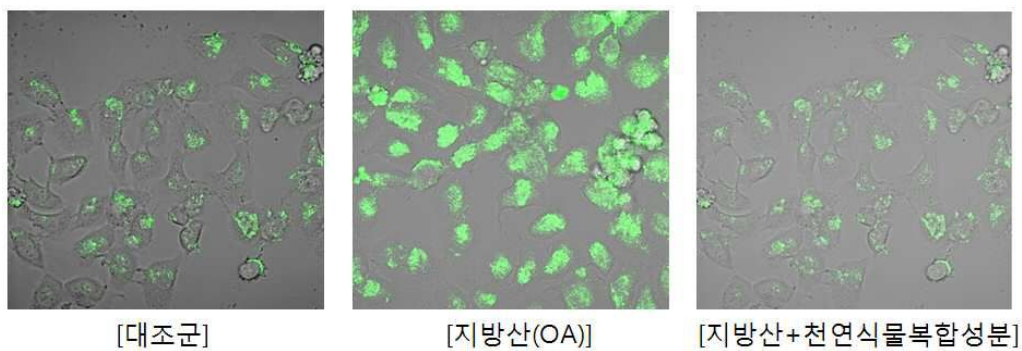
도면2



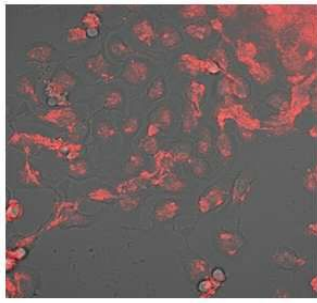
도면3



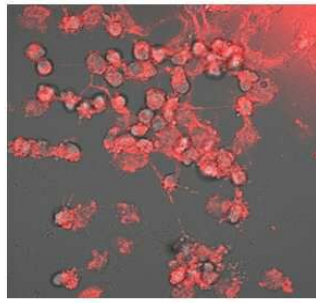
도면4



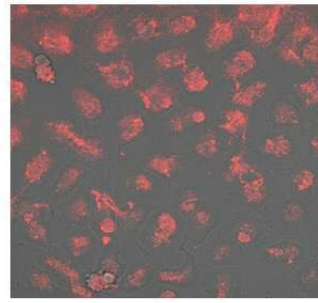
도면5



[대조군]



[지방산(OA)+자외선]



[지방산+자외선+천연식물복합성분]