



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0041667
(43) 공개일자 2020년04월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 8/64 (2006.01) A61K 8/02 (2006.01)
A61K 8/65 (2006.01) A61K 8/9789 (2017.01)
A61Q 19/00 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 8/64 (2013.01)
A61K 8/0212 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-0122048

(22) 출원일자 2018년10월12일

심사청구일자 2018년10월12일

(71) 출원인

주식회사 세리코

서울특별시 영등포구 선유로49길 23, 1501호(양평동4가)

(72) 발명자

이부용

서울특별시 영등포구 선유로49길 23, 1501호 (양평동4가)

(74) 대리인

특허법인에이아이피

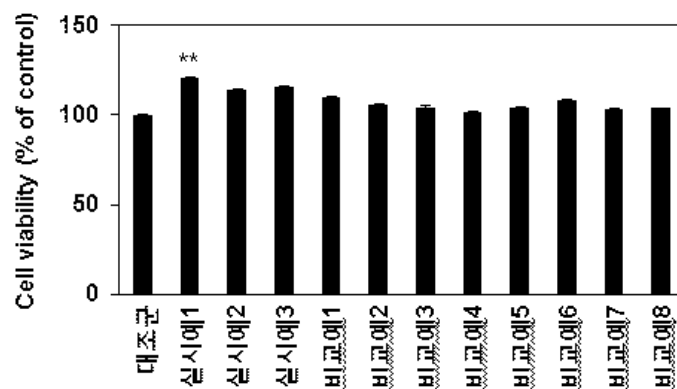
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 피부 개선용 화장료 조성물 및 이의 제조 방법

(57) 요약

본 발명은 피부 개선용 화장료 조성물, 이의 제조 방법 및 피부 개선 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



**p<0.01

(52) CPC특허분류

A61K 8/65 (2013.01)
A61K 8/9789 (2017.08)
A61Q 19/00 (2013.01)
A61Q 19/08 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

세리신, 병풀 추출물 및 콜라겐을 포함하는 피부 개선용 화장료 조성물로, 상기 조성물은 병풀 추출물의 중량 100을 기준으로 세리신 15 중량부 내지 100 중량부, 콜라겐은 10 중량부 내지 1000 중량부로 포함하는 피부 개선용 화장료 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 세리신은 분자량이 100 Da 내지 20000 Da인, 피부 개선용 화장료 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 콜라겐은 분자량이 100 Da 내지 10 kDa 인, 피부 개선용 화장료 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 병풀 추출물은 조성물의 전체 중량에 대해 0.001 중량% 내지 20 중량%인, 피부 개선용 화장료 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 피부 개선용이, 피부재생, 피부보습, 주름 개선, 항산화, 콜라겐 증가, 염증 억제, 피부 유수분 조절, 진피친밀도 증가, 피부 탄력 개선, 피부 장벽 회복, 피부결 개선, 색소침착 감소 중 어느 하나 이상의 개선인, 피부 개선용 화장료 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 세리신과 상기 콜라겐의 중량비는 1: 1 내지 30인, 피부 개선용 화장료 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 따른 피부 개선용 화장료 조성물을 포함하는 화장품.

청구항 8

제7항에 있어서 상기 화장품이 마스크 팩인, 화장품.

청구항 9

세리신, 병풀 추출물 및 콜라겐을 포함하는 피부 개선용 화장료 조성물의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은, 병풀 추출물의 중량 100을 기준으로 세리신 15 중량부 내지 100 중량부, 콜라겐은 10 중량부 내지 1000 중량부가 되도록 혼합하는 것을 포함하는, 화장료 조성물의 제조 방법.

청구항 10

세리신, 병풀 추출물 및 콜라겐을 포함하는 화장료 조성물을 대상체에 적용하여 피부 상태를 개선하는 방법으로, 상기 조성물은 병풀 추출물의 중량 100을 기준으로 세리신 15 중량부 내지 100 중량부, 콜라겐은 10 중량부 내지 1000 중량부로 포함하는, 피부 상태 개선 방법.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 피부 개선용 또는 피부 상태 개선이, 피부재생, 피부보습, 주름 개선, 항산화, 콜라겐 증가, 염증 억제, 피부 유수분 조절, 진피친밀도 증가, 피부 탄력 개선, 피부 장벽 회복, 피부결 개선, 색소침착 감소 중 어느 하나 이상의 개선인, 피부 상태 개선 방법.

청구항 12

제10항에 있어서, 상기 피부가 얼굴 피부인, 피부 상태 개선 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 피부 개선용 화장품 조성물, 이의 제조 방법 및 피부 개선 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 인간의 피부는 신체의 외부 커버링(covering)으로 외부 환경으로부터 인체를 보호하고, 내부의 수분 등이 밖으로 유출되는 것을 방지하는 장벽기능, 체온조절 기능 등의 다양한 생리적 기능을 담당하고 있다.

[0004] 피부 주름은 일반적으로 수분에 장시간 노출되면 나타나는 결과이며, 글리케이션(glycation), 습관적인 수면 위치 손실과 같은 노화 과정의 결과로서 나타난다. 나이가 들면서 피부에 주름이 생기고 습관적인 얼굴 표정, 노화, 햇볕에 그을린 피부염, 흡연 등으로 인해 상기 주름 생성이 촉진된다.

[0005] 또한 급속한 산업화와 더불어 공기 오염과 오존층의 파괴로 인해 UV 양이 증가되었고, 이로 인해 활성산소종과 같은 산화물질의 증가로 피부 노화, 색소 침착 등이 증가되는 추세이다.

[0006] 이에 이러한 피부 노화, 색소 침착, 피부 탄력 저하를 방지하거나 적어도 이의 진행을 감속시키기 위해 항산화, 미백, 항노화, 항주름 등의 활성을 갖는 화장품 조성물이 제공되고 있으나, 그 효과는 일시적이거나 목적하는 항산화, 항노화, 내지 보습 효과를 얻기에는 불충분하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-0641302호
(특허문헌 0002) 대한민국 공개특허 출원 제10-2015-0050310호
(특허문헌 0003) 대한민국 공개특허 출원제10-2005-0015177호

비특허문헌

[0009] (비특허문헌 0001) 없음

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 일 목적은 피부 상태 개선, 예컨대, 피부 보습효과, 주름 개선 효과 뿐만 아니라 항산화 효과, 항염증 효과가 뛰어난 화장품 조성물을 제공하는 데 있다.

[0011] 본 발명의 다른 일 목적은 피부재생 효과가 뛰어나 아토피 개선, 항노화 및 주름개선 효과가 우수한 화장품 조성물을 제공하는 데 있다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 부작용이 없이 안전하고 효과가 오래 지속되는 화장품 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

- [0014] 본 발명의 일 양태는, 세리신, 병풀 추출물 및 콜라겐을 포함하는 피부 개선용 화장료 조성물에 관한 것으로, 상기 조성물은 병풀 추출물의 중량 100을 기준으로 세리신은 15 내지 100 중량부로 포함하고, 콜라겐은 10 중량부 내지 1000 중량부를 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0015] 본 발명의 다른 일 양태는, 세리신, 병풀 추출물 및 콜라겐을 포함하는 피부 개선용 화장료 조성물의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은, 병풀 추출물의 중량 100을 기준으로 세리신은 15 내지 100 중량부, 콜라겐은 10 중량부 내지 1000 중량부가 되도록 혼합하는 것을 포함한다.

발명의 효과

- [0017] 본 발명의 일 양태에 따른 조성물은 피부 보습효과, 주름 개선 효과 뿐만 아니라 항산화 효과, 항염증 효과가 우수하다.
- [0018] 본 발명의 일 양태에 따른 조성물은 피부 세포 재생, 증식, 항염, 보습에 있어서 각 성분을 단독으로 투여하는 것에 비해 시너지 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0020] 도 1은 본원의 일 구현예 및 비교예에 따른 조성물들의 MTT 평가에 있어서의 세포 증식 개선 결과를 보여주는 그래프이다.
- 도 2은 본원의 일 구현예 및 비교예에 따른 조성물들의 피부매트릭스 유전자(콜라겐) 발현에 있어서의 결과를 보여주는 그래프이다.
- 도 3은 본원의 일 구현예 및 비교예에 따른 조성물들의 피부매트릭스 유전자(엘라스틴) 발현에 있어서의 결과를 보여주는 그래프이다.
- 도 4는 본원의 일 구현예 및 비교예에 따른 조성물들의 피부보습 유전자(aquaporin-3) 발현에 있어서의 결과를 보여주는 그래프이다.
- 도 5는 본원의 일 구현예 및 비교예에 따른 조성물들의 NO 생성능 저해에 따른 피부 자극 완화 결과를 보여주는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0021] 이하에서는 본 발명의 일 실시예와 각 성분들에 대해 상세하게 설명한다. 이는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 발명을 용이하게 실시할 수 있을 정도로 설명하기 위한 것일 뿐 발명의 청구범위를 이로 제한하고자 하는 것은 아니다.
- [0023] 본 발명의 일 양태는, 세리신, 병풀 추출물 및 콜라겐을 포함하는 피부 개선용 화장료 조성물에 관한 것으로, 상기 조성물은 병풀 추출물의 중량 100을 기준으로 세리신 15 중량부 내지 100 중량부, 콜라겐은 10 중량부 내지 1000 중량부를 포함하는 것을 특징으로 한다. 상기 중량부 범위 내에서 각 성분을 사용할 때, 피부재생, 항염, 항노화, 보습, 또는 피부 재생 면에서 단순 부가적 효과를 넘는 상승 효과가 있다. 구체적으로 상기 조성물은 병풀 추출물의 중량 100을 기준으로 세리신은 20 중량부 내지 100 중량부로 포함하고, 콜라겐은 15 중량부 내지 600 중량부를 포함하는 것을 특징으로 한다. 보다 구체적으로, 상기 조성물은 병풀 추출물의 중량 100을 기준으로 세리신은 25 중량부 내지 100 중량부로 포함하고, 콜라겐은 20 중량부 내지 500 중량부를 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0024] '병풀'은 남아시아에서 서식하는 다년생 포복성 약용식물로서 화상이나 상처치유, 및 보호로 피부질환에 사용되어 왔다. 아시아트산, 아시아트코사이드, 마데카스산 등과 같은 유효성분을 포함한다. 병풀의 약리기전으로는 피부세포에서 콜라겐 생합성 촉진활성 효과가 있는 것으로 추측되나 정확한 기전은 알려져 있지 않지만, 그 활

성 성분인 아시아티코사이드의 주름개선 효과가 확인되었다.

- [0025] 본원의 '병풀 추출물'은 공지된 다양한 추출 방법에 의해 제조될 수 있다. 구체예에서 추출용매와 접촉시키는 방법을 통해 제조될 수 있다. 추출용매와 접촉시키기 전에 병풀을 건조 및/또는 파쇄하는 공정을 거칠 수 있다. 추출용매로는 물, 탄소수 1 내지 5의 저급 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트, 디클로로메탄, 1,2-헥산디올, 헥산, 1,3-부틸렌글리콜 등을 사용할 수 있으며, 구체예에서 1,3-부틸렌글리콜, 1,2-헥산디올, 멸균수와 같은 물 또는 저급 알코올을 사용할 수 있다. 상기 추출 후, 임의로 여과(예: 마이크로필터)할 수 있다. 병풀 추출물은 고체 또는 액체 형태로 사용할 수 있다. 일 예에서, 아시아트산, 아시아티코사이드, 또는 마데카스산 중 1종 이상의 성분을 함유하는 병풀의 건조된 전초의 1,3-부틸렌글리콜, 1,2-헥산디올, 물 또는 저급 알코올 중 1종 이상 중 1시간 내지 48시간 동안 침지하여 추출하고 이를 여과하여 이용할 수 있다.
- [0026] 본원에서 병풀 추출물은 화장료 조성물 전체 중량에 대해 0.001 내지 20 중량%, 구체적으로는 0.005중량% 내지 15중량%, 보다 구체적으로는 0.008 중량% 내지 10 중량%로 포함될 수 있다.
- [0027] 세리신은 누에고치 섬유를 구성하는 단백질로, 아미노산 서열이 세린(Ser-세린(Ser)인 것을 특징으로 하며, 세린이 약 20 내지 40% 정도로 포함된다. 탄력개선, 피부 보습 효과가 우수하며, 나이가 항산화 효과가 있다. 세리신은 공지된 방법으로 제조될 수 있으며, 예컨대, 생사에 물을 첨가하고 이를 고온(예: 70 내지 130 ℃)에서 1시간 내지 12시간 정련하고, 20℃ 내지 40℃의 범위로 냉각시킨 상기 수용액에 프로테아제, 알칼라아제, 플라보자임, 프로타맥스 등 중 어느 하나 이상의 가수분해 효소를 첨가하여 30℃ 내지 70℃에서 1시간 내지 70시간 동안 가수분해하고, 이를 원심분리하여 상등액을 분리한 후 불용성 세리신 분자를 분획하여 제조될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0028] 구체예에서 저분자량 세리신을 사용할 수 있으며, 예컨대 분자량 100 Da 내지 20000 Da, 또는 200 Da 내지 20000 Da, 보다 구체적으로 200 Da 내지 1000 Da인 것을 사용하는 것이 보습 효과 유지 측면에서 좋다. 특히 분자량 200 Da 내지 500 Da의 범위인 세리신을 사용하는 것이 좋다.
- [0029] 병풀 추출물의 중량 100을 기준으로 세리신은 20 중량부 내지 100 중량부, 25 중량부 내지 100 중량부로 포함되는 것이 좋다. 상기 범위에서 병풀 추출물과 함께 사용시, 피부 재생, 보습 또는 항노화 효과 면에서 상승 효과가 있는 것을 확인하였다.
- [0030] 본원에서 세리신은 화장료 조성물 전체 중량에 대해 0.0001 내지 10 중량%, 구체적으로는 0.001 내지 5 중량%, 보다 구체적으로는 0.001 중량% 내지 1 중량%로 포함될 수 있다.
- [0031] 콜라겐은 세포와 세포 사이에 접착제의 역할을 하고, 피부 탄력 유지, 노화 방지에 효능이 있는 성분으로 인체를 구성하는 단백질 중 30 내지 40%의 비율로 포함되며, 장기, 관절, 연골, 눈의 각막, 뼈와 피부 등에 주로 분포하고, 특히 칼슘 접착 기능과 주름의 원인이 되는 진피층의 구성요소이다. 콜라겐으로 돼지 등의 동물 유래 콜라겐 또는 어류 유래 콜라겐을 사용할 수 있으나, 분자량이 상대적으로 적고 하이드록시 프롤린의 함량이 높은 어류 유래 콜라겐을 사용하는 것이 좋다. 구체예에서 어류 유래 콜라겐을 저분자량 처리하여 사용하는 것이 좋다. 콜라겐의 분자량은 100 Da 내지 10 kDa, 또는 200 Da 내지 7000 Da, 또는 6000 Da 이하일 수 있다. 상기 범위인 것은 피부에 적용시 도입 관점에서 유리할 수 있다.
- [0032] 병풀 추출물의 중량 100을 기준으로 콜라겐은 10 내지 1000 중량부, 구체적으로 15 중량부 내지 600 중량부, 보다 구체적으로 20 중량부 내지 500 중량부로 포함되는 것을 특징으로 한다. 상기 범위에서 병풀 추출물과 함께 사용시, 피부 재생, 보습 또는 항노화 효과 면에서 상승 효과가 있는 것을 확인하였다.
- [0033] 본원에서 콜라겐은 화장료 조성물 전체 중량에 대해 0.0001 내지 50 중량%, 구체적으로는 0.0001 내지 30중량%, 보다 구체적으로는 0.0005 중량% 내지 10 중량%로 포함될 수 있다.
- [0034] 상기 세리신과 상기 콜라겐의 중량비는 1: 1 내지 30, 구체적으로는 1:1 내지 20, 또는 1:1 내지 9의 범위일 수 있다. 상기 범위에서 피부 재생, 보습 또는 항노화 효과 면에서 상승 효과가 있을 수 있다.
- [0036] 상기 조성물은 용매를 추가로 포함할 수 있다. 상기 용매는 정제수와 같은 물, 메탄올, 에탄올, 1,3-부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 또는 글리세린일 수 있다. 상기 용매는 조성물의 전체 중량을 기준으로 20 중량% 내지 99.9 중량%, 구체적으로는 30 중량% 내지 99.5 중량%의 범위 내일 수 있다.
- [0037] 상기 조성물은 피부 상태 개선을 위한 다른 성분을 추가로 포함할 수 있다. 예컨대, 감초 추출물, 알로에베라

추출물, 녹차 추출물, 황금 추출물, 오미자 추출물, 작두콩 추출물, 귀리 가루, 비타민 E 등을 포함할 수 있다. 상기 성분은 조성물의 전체 중량을 기준으로 0.001 중량% 내지 10 중량%, 구체적으로는 0.002 중량% 내지 5 중량%의 범위 내일 수 있다.

[0038] 상기 조성물은 피부의 색소 감소, 일광보호, 향료, 항노화 및 주름, 피부 미백, 피부 연화, 피부 보습, 흉터 감소, 피부 토닝, 또는 피부 퍼밍을 개선하기 위한 성분을 추가로 포함할 수 있다. 이의 예로는 에텔바이스 추출물, 천연초 추출물, 히알루론산, 호호바 오일, 시어 버터, 코코넛 오일, 레몬그라스 오일, 사시나무 껍질, 소듐 아시세이트, 이산화티타늄, 산화아연 또는 이의 조합일 수 있다. 상기 성분은 조성물의 전체 중량을 기준으로 0.001 중량% 내지 10 중량%, 구체적으로는 0.002 중량% 내지 5 중량%의 범위 내일 수 있다.

[0040] 본 발명의 다른 일 양태는, 본원의 화장료 조성물을 함유하는 화장품에 관한 것이다. 상기 화장품은 연고, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 팩, 로션 등의 형태일 수 있으며, 구체적으로는 마스크 팩 형태일 수 있다.

[0041] 상기 화장품은 임의적으로 기타 성분을 포함할 수 있다. 예컨대, 향산화제, 결합제, 생물학적 첨가제, 완충제, 착색제, 에센셜 오일, 피부 감각물, 피부 진정제, 중합체, 증점제, 수렴제, 방향제, 불투명화제, 화이트닝제, 컨디셔너, 각질제거제, pH 조정제, 보존제, 천연 추출물 등을 들 수 있다.

[0043] 본 발명의 다른 일 양태는, 세리신, 병풀 추출물 및 콜라겐을 포함하는 피부 개선용 화장료 조성물의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은, 병풀 추출물의 중량 100을 기준으로 세리신 15 중량부 내지 100 중량부, 콜라겐은 10 중량부 내지 1000 중량부가 되도록 상기 세 성분들을 혼합하는 것을 포함한다. 상기 양태에서 사용될 수 있는 각 성분에 대한 설명과, 이의 함량, 기타 성분들에 대한 설명은 이전 양태와 동일하므로 이에 대한 기술은 생략한다.

[0045] 본 발명의 또 다른 일 양태는, 세리신, 병풀 추출물 및 콜라겐을 포함하는 화장료 조성물을 대상체의 피부에 적용하는 것을 포함하는 피부 개선 방법에 관한 것으로, 상기 조성물은 병풀 추출물의 중량 100을 기준으로 세리신 15 중량부 내지 100 중량부, 콜라겐은 10 중량부 내지 1000 중량부 포함한다. 상기 양태에서 사용될 수 있는 각 성분에 대한 설명과, 이의 함량, 기타 성분들에 대한 설명은 이전 양태와 동일하므로 이에 대한 기술은 생략한다. 상기 피부 개선 방법은 추가로 화장료 조성물을 대상체의 피부에 적용하고 1분 내지 2시간, 구체적으로 5분 내지 40분 동안 유지하는 것을 포함한다.

[0046] 본원에서 용어 '피부 개선'은 피부의 상태 개선으로 피부재생, 피부보습, 주름 개선, 항산화, 콜라겐 증가, 염증 억제, 피부 유수분 조절, 진피친밀도 증가, 피부 탄력 개선, 피부 장벽 회복, 피부결 개선, 색소침착 감소 중 어느 하나 이상의 개선을 포함하는 의미이며, 특히 피부재생, 피부보습 또는 주름 개선을 의미한다. 상기 피부는 구체예에서 얼굴의 피부일 수 있다.

[0048] 이하, 본 출원의 이해를 돕기 위해 실시 예를 들어 상세히 설명한다. 단 하기 실시 예는 본원 출원의 일 예시에 불과하며 출원의 내용이 이에 한정되는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0050] 실시예 1 : 화장료 조성물 1의 제조

[0051] 병풀 추출물 (농도 4 중량%, 제조원: 코씨드바이오팜) 50mg, 세리신 (농도 20 중량%, 분자량 200~ 20,000 Da) 2mg, 콜라겐(농도 6.5 중량%, 제조원: 코씨드바이오팜, 분자량 5900 Da 이하) 10mg에 용매 증류수, 100 ml를 추가하고 교반기를 사용하여 혼합하여, 병풀 추출물, 세리신, 콜라겐의 각 중량비가 40: 8: 13 인 화장료 조성물 1을 제조하였다.

[0052] 상기 사용된 세리신은 아래 방법으로 제조된 것이다:

[0053] 실크릿 코콘을 90℃~100℃로 가열한 증류수에 넣어 3~5시간 환류한 후, 실온으로 냉각을 하여 프로테아제를 첨가하고, 프로테아제 처리 가수분해물을 농축하여 분무건조한 후 HPLC로 세리신 가수분해물(분자량: 200~ 20,000

Da)을 확인하였다.

[0055] 실시예 2 : 화장료 조성물 2의 제조

[0056] 병풀 추출물 (농도 4 중량%, 제조원: 코씨드바이오팜) 10mg, 세리신 (농도 20 중량%, 분자량 200~ 20,000 Da) 2mg, 콜라겐(농도 6.5 중량%, 제조원: 코씨드바이오팜, 분자량 5900 Da 이하) 5mg에 용매 증류수, 100 ml를 추가하고 교반기를 사용하여 혼합하여, 병출 추출물, 세리신, 콜라겐의 각 중량비가 8: 8: 6.5인 화장료 조성물 2를 제조하였다.

[0058] 실시예 3 : 화장료 조성물 3의 제조

[0059] 병풀 추출물 (농도 4 중량%, 제조원: 코씨드바이오팜) 20mg, 세리신 (농도 20 중량%, 분자량 200~ 20,000 Da) 2mg, 콜라겐(농도 6.5 중량%, 제조원: 코씨드바이오팜, 분자량 5900 Da 이하) 50mg에 용매 증류수, 100 ml를 추가하고 교반기를 사용하여 혼합하여, 병출 추출물, 세리신, 콜라겐의 각 중량비가 16: 8: 65인 화장료 조성물 3를 제조하였다.

[0061] 비교예 1 : 비교 화장료 조성물 1의 제조

[0062] 병풀 추출물 (농도 4 중량%, 제조원: 코씨드바이오팜) 10mg에 용매 증류수, 100 ml를 추가하고 교반기를 사용하여 혼합하여, 병출 추출물 함유 비교 화장료 조성물 1을 제조하였다.

[0063] 비교예 2 : 비교 화장료 조성물 2의 제조

[0064] 병풀 추출물 (농도 4 중량%, 제조원: 코씨드바이오팜) 20mg에 용매 증류수, 100 ml를 추가하고 교반기를 사용하여 혼합하여, 병출 추출물 함유 비교 화장료 조성물 2을 제조하였다.

[0065] 비교예 3 : 비교 화장료 조성물 3의 제조

[0066] 병풀 추출물 (농도 4 중량%, 제조원: 코씨드바이오팜) 50mg에 용매 증류수, 100 ml를 추가하고 교반기를 사용하여 혼합하여, 병출 추출물 함유 비교 화장료 조성물 3을 제조하였다

[0067] 비교예 4 : 비교 화장료 조성물 4의 제조

[0068] 콜라겐(농도 6.5 중량%, 제조원: 코씨드바이오팜, 분자량 5900 Da 이하) 5mg에 용매 증류수, 100 ml를 추가하고 교반기를 사용하여 혼합하여, 콜라겐 함유 비교 화장료 조성물 4을 제조하였다.

[0069] 비교예 5 : 비교 화장료 조성물 5의 제조

[0070] 콜라겐(농도 6.5 중량%, 제조원: 코씨드바이오팜, 분자량 5900 Da 이하) 10mg에 용매 증류수, 100 ml를 추가하고 교반기를 사용하여 혼합하여, 콜라겐 함유 비교 화장료 조성물 5을 제조하였다.

[0071] 비교예 6 : 비교 화장료 조성물 6의 제조

[0072] 콜라겐(농도 6.5 중량%, 제조원: 코씨드바이오팜, 분자량 5900 Da 이하) 50mg에 용매 증류수, 100 ml를 추가하고 교반기를 사용하여 혼합하여, 콜라겐 함유 비교 화장료 조성물 6을 제조하였다.

[0073] 비교예 7 : 비교 화장료 조성물 7의 제조

[0074] 세리신 (농도 20 중량%, 분자량 200 Da ~ 20,000 Da) 2mg에 용매 증류수, 100 ml를 추가하고 교반기를 사용하여 혼합하여, 세리신 함유 비교 화장료 조성물 7을 제조하였다.

[0075] 비교예 8 : 비교 화장료 조성물 8의 제조

[0076] 병풀 추출물 (농도 4 중량%, 제조원: 코씨드바이오팜) 75mg, 세리신 (농도 20 중량%, 분자량 200 Da ~ 20,000 Da) 2mg, 콜라겐(농도 6.5 중량%, 제조원: 코씨드바이오팜, 분자량 5900 Da 이하) 75mg에 용매 증류수, 100 ml를 추가하고 교반기를 사용하여 혼합하여, 병출 추출물, 세리신, 콜라겐의 각 중량비가 60: 8: 130인 비교 화장료 조성물 8를 제조하였다.

[0078] 실험예 1: 세포 증식능 평가

[0079] 상기 실시예 및 비교예의 조성물에 대해, 아래와 같은 방법으로 세포 증식능을 평가하였다.

[0080] 각질세포인 HaCat cell (Human keratinocyte cell)을 10 % FBS와 1 % gentamicine이 첨가된 DMEM(High glucose)배지에서 37 °C, 5 % CO₂ 조건으로 배양하여 96well/5 x 10³ cell이 되도록 하였다. 24시간 후 상기 제조된 조성물 시료를 배지로 희석한 후, 각 well에 처리하였다. 24시간 후 MTT 용액을 100 µg/mL 농도로 처리하였다. 이후 37 °C, 5 % CO₂ 배양기에서 1시간 반응시켰다. 배양액을 모두 제거하고 각 well에 acid-isopropanol 100µl씩 첨가하고, 570 nm에서 ELISA reader로 흡광도를 측정하였다. 상기 세포에 아무 시료 처리도 하지 않은 배지에서의 흡광도(대조군)를 100으로 하여 상대 흡광도의 크기로 세포 생존율을 측정하고 그 증가율을 아래 표 1에 나타내었다(도 1 결과 참조).

[0082] 실험예 2: 피부 매트릭스 유전자 발현 평가

[0083] 상기 실시예 및 비교예의 조성물에 대해, 아래와 같은 방법으로 유전자 발현을 평가하였다.

[0084] HaCat 세포를 6well plate에 1x10⁵ cell/well로 배양하였다. 24시간 후 상기 제조된 시료 조성물을 배지로 희석한 후, 각 well에 처리하였다. 24시간 후 Trizol로 세포를 녹인 후 total RNA를 추출하였다. Total RNA를 cDNA로 변환 한 후 qPCR을 통해 collagen, elastin 유전자 발현을 확인하였다(도 2 및 도 3 결과 참조). 상기 세포에 아무 시료 처리도 하지 않은 배지에서의 발현(대조군)을 100으로 하여 상대 발현 크기를 측정하고 그 증가율을 아래 표 1에 나타내었다.

[0086] 실험예 3: 피부 보습 유전자 발현 평가

[0087] 상기 실시예 및 비교예의 조성물에 대해, 아래와 같은 방법으로 유전자 발현을 평가하였다.

[0088] HaCat 세포를 6well plate에 1x10⁵ cell/well로 배양하였다. 24시간 후 상기 제조된 시료 조성물을 배지로 희석한 후, 각 well에 처리하였다. 24시간 후 Trizol로 세포를 녹인 후 total RNA를 추출하였다. Total RNA를 cDNA로 변환 한 후 qPCR을 통해 aquaporin-3 유전자 발현을 확인하였다(도 4 결과 참조). 상기 세포에 아무 시료 처리도 하지 않은 배지에서의 발현(대조군)을 100으로 하여 상대 발현 크기를 측정하고 그 증가율을 아래 표 1에 나타내었다.

[0090] 실험예 4: 피부 염증 완화 평가

[0091] 상기 실시예 및 비교예의 조성물에 대해, 아래와 같은 방법으로 NO 생성 억제 효과를 평가하였다.

[0092] Raw264.7을 12well plate에 1x10⁵ cell/well로 배양하였다. 24시간 후 LPS 1 µg/ml와 배지로 희석한 상기 제조된 조성물 시료를 각 well에 처리하였다. 24시간 후 세포배양액을 모아 원심분리 한 후 세포 배양액 100µl와 Griess 시약 100µl을 10분간 반응시켰다. 540 nm에서 ELISA reader로 흡광도를 측정하였다. 상기 세포에 아무 시료 처리도 하지 않은 배지에서의 흡광도(대조군)를 100으로 하여 상대 흡광도의 크기로 NO 생성율을 측정하였다(도 5 결과 참조).

[0094] 상기 결과는 아래 표 1과 같다:

표 1

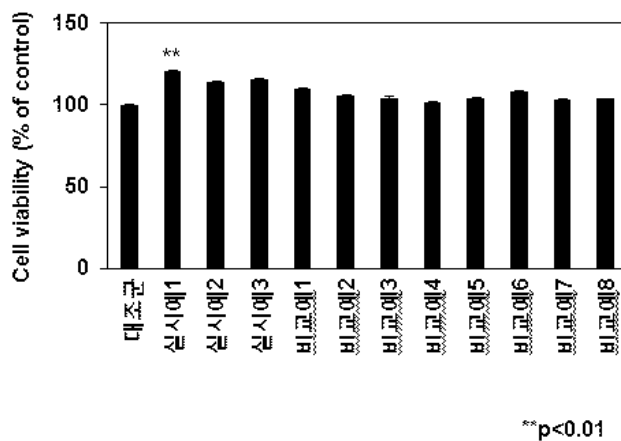
	실시예 1	실시예 2	실시예 3	비교예1	비교예2	비교예3	비교예4	비교예5	비교예6	비교예7	비교예8
세포 증식 분석 (MTT assay)	20.47% 증가	13.8% 증가	15.4% 증가	10.1% 증가	5.7% 증가	4.5% 증가	1.6% 증가	3.8% 증가	7.9% 증가	3.2% 증가	3.8% 증가
피부 매트릭스 유전자 분석 (collagen)	106% 증가	285% 증가	269% 증가	65% 증가	41% 증가	87% 증가	48% 증가	35% 증가	42% 증가	12% 증가	88% 증가
피부 매트릭스 유전자 분석 (elastin)	277.63% 증가	242% 증가	202% 증가	62% 증가	88% 증가	168% 증가	54% 증가	32% 증가	23% 증가	78% 증가	104% 증가
보습 관련 유전자 분석 (Aquaporin-3)	63.7% 증가	120% 증가	66.5% 증가	26% 증가	19% 증가	18% 증가	20% 증가	25.6% 증가	31.27% 증가	11% 증가	48.3% 증가
NO 생성 능력 분석	17.99% 감소	14.56% 감소	29.36% 감소	7.1% 감소	2.1% 감소	2.5% 감소	11.04% 감소	11.97% 감소	7.15% 감소	3.5% 감소	13.59% 감소

상기 결과는 본원의 3개 성분의 조합에 따른 피부 재생 및 피부 보습 등의 보호 효과 면에서 각 단독의 단순 부가 효과를 넘는 상승 효과가 있음을 보여준다.

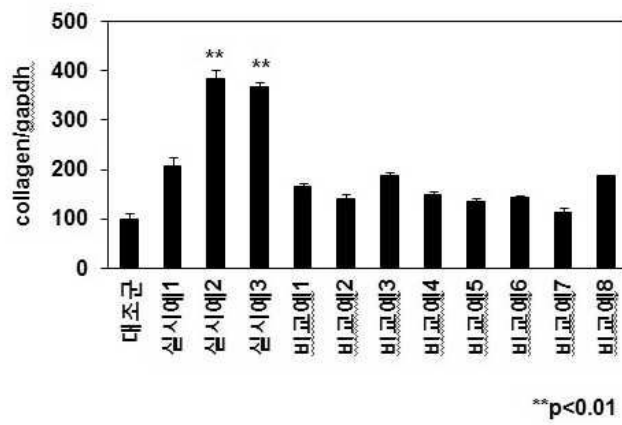
나아가, 상기 결과는 본원의 한정된 3개 성분의 함량비에서 위 상승효과가 나타남을 보여준다.

도면

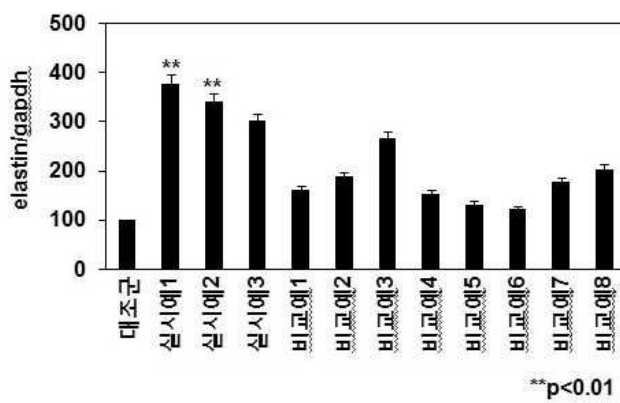
도면1



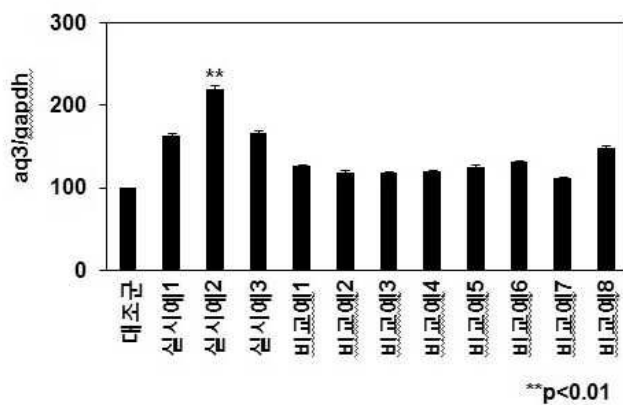
도면2



도면3



도면4



도면5

