



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0137542
 (43) 공개일자 2017년12월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/97 (2017.01) *A23L 1/30* (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01) *A61Q 19/08* (2006.01)

(52) CPC특허분류
A61K 8/97 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2016-0069844

(22) 출원일자 2016년06월03일

심사청구일자 없음

(71) 출원인
주식회사 엘지생활건강
 서울특별시 종로구 새문안로 58 (신문로2가)

(72) 발명자
안영제
 대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)
황승진
 대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
특허법인필앤은지

전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 **복합 생약 추출물을 포함하는 피부 개선용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 피부 적용시 안전하고, 피부 개선 효과가 우수한 복합 생약 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명에 따른 조성물은 당귀 추출물, 생지황 추출물, 작약 추출물, 천궁 추출물, 옥죽 추출물, 백질려 추출물, 백선피 추출물, 지부자 추출물, 방풍 추출물, 하수오 추출물 및 감초 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물로, 항당화 효과, 피부 미백 효과, 피부 탄력 및 주름 개선 효과, 항산화 효과 및 피부 트러블 개선 효과를 포함한 피부 개선에 탁월한 효과를 갖는다.

(52) CPC특허분류

A61Q 19/02 (2013.01)

A61Q 19/08 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/318 (2013.01)

(72) 발명자

진무현

대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)

노효선

대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)

김병현

대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)

노석선

대전광역시 유성구 지족로 362, 310동 1404호 (지족동, 반석마을3단지아파트)

최인화

서울특별시 강남구 압구정로 201, 65동 604호 (압구정동, 현대아파트)

이명수

대전광역시 유성구 전민로 71, 112동 1003호 (전민동, 삼성푸른아파트)

명세서

청구범위

청구항 1

당귀 추출물, 생지황 추출물, 작약 추출물, 천궁 추출물, 옥죽 추출물, 백질려 추출물, 백선피 추출물, 지부자 추출물, 방풍 추출물, 하수오 추출물 및 감초 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백, 주름 개선, 탄력 개선, 트러블 개선 또는 항산화용 화장품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 당귀 추출물 : 생지황 추출물 : 작약 추출물 : 천궁 추출물 : 옥죽 추출물 : 백질려 추출물 : 백선피 추출물 : 지부자 추출물 : 방풍 추출물 : 하수오 추출물 : 감초 추출물의 중량비는 1 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10인 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 추출물은 물, C1 내지 C4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택된 용매로 추출한 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 화장품 조성물은 항당화, 멜라닌 생성 저해, 콜라겐 합성 촉진, 엘라스테이즈 활성 저해 또는 자유라디칼 소거하는 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 피부 적용시 안전하고, 피부 개선 효과가 우수한 복합 생약 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 피부는 외부 환경으로부터 인체를 보호하고, 내부의 수분 및 유용 성분이 밖으로 유출되는 것을 막아주는 장벽 기능, 체온조절 기능, 배설 기능 등 다양한 생리적 기능을 담당하고 있는 중요한 기관이다. 그러나 다음과 같은 이유 등에 의해 피부 세포의 활성이 저하되고 피부 상태가 악화되는 현상이 일어날 수 있다.

[0003] 피부의 진피층에 존재하는 콜라겐과 엘라스틴은 피부의 기계적 견고성, 결합조직의 저항력, 조직의 결합력 유지, 및 세포접착의 지탱 등의 기능을 수행하여 피부의 구성성분에 많은 영향을 미친다. 이러한 콜라겐은 스트레스, 고령화 또는 자외선 조사에 의한 광 노화에 의하여 감소되며, 한편, 엘라스틴은 자외선에 노출된 후 활성이 증가된 분해효소 엘라스테이즈에 의해 3차원 구조가 뒤틀려진다고 알려져있다. 이에 따라 피부 조직이 느슨해지고 탄력을 잃게 된다.

[0004] 표피의 세포 기능이 저하됨으로써 신진대사 작용이 원활하지 못하게 되어, 각질 탈락이 잘 일어나지 않아 각질이 과하게 축적된 상태에서 자외선을 받으면 탄력이 저하되어 주름 발생을 초래하게 된다. 또는 표피에 피지막이 형성되지 않을 경우 수분과 피지 분비가 감소하고 피부가 건조해지면서 주름이 형성되기도 한다.

[0005] 피부가 자외선을 받으면 피부를 보호하기 위해 멜라닌을 합성한다. 합성된 멜라닌은 멜라노솜을 통해 피부의 각질세포로 옮겨진다. 이 각질 세포는 28일을 주기로 턴-오버(turn over) 현상이 일어난다. 따라서 생성된 멜라닌은 각질세포에 의해 28일을 주기로 소실되는 것이 일반적이나, 스트레스, 피부 노화 등에 의해 피부 세포 주기가 잘 조절되지 않게 되면 각질세포가 제시기에 탈락하지 않아 기미, 주근깨, 검버섯 등의 색소 침착이 일어나게 된다.

[0006] 피부에서는 피지, 땀 성분 및 화장품 성분들이 피부 상재균에 의해 독성이 강한 물질로 분해되어 피부에 자극을 일으키고 염증을 유발시킬 수 있다. 또한 자외선으로 인한 자극으로 피부에 염증 매개 물질인 일산화질소(NO)의

생성을 증가시켜 피부 트러블이 유발될 수 있다. 일산화질소의 생성은 대부분 iNOS에 의한 것인데, iNOS는 LPS, 사이토카인 같은 자극에 의해 급격하게 유도되어 과량의 NO를 생성하는 것으로 알려져있다.

- [0007] 유해산소(toxic oxygen species)라고도 하는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 호흡 등과 같은 생리작용에 의해 세포에서 생성되는 독성물질로 끊임없이 생산되고 소멸하며, 정상적인 상태에서는 3-5% 정도로 존재한다. 이런 활성산소종은 슈퍼옥시드 라디칼(Superoxide radical, O₂⁻), 하이드록시라디칼(hydroxyl radical, HO⁺)과 같은 자유라디칼(free radical: 화학적으로 최외각 전자궤도에 쌍을 이루고 있지 않은 원자나 분자로 매우 불안정하여 높은 반응성을 가지는 형태)로 존재하거나 혹은 과산화수소(hydrogen peroxide, H₂O₂)나 일중항산소(Singlet radical)와 같이 쌍을 이룬 전자를 가진 화합물의 형태로 존재한다. 활성산소종은 생리계 내에서 세균을 살균하는 생체 방어 작용을 하는 장점도 있지만, 일반적으로 생체 내에서 산화를 일으켜 질병의 원인이 되는 유해한 작용을 한다. 이러한 활성산소종은 생물분자를 공격하여 세포나 조직에 피해를 주며, 노화나 각종 성인병 질환에 관여하는 여러 종류의 질병을 야기한다는 보고가 있다.
- [0008] 상술한 여러 요인들에 의한 피부 노화를 억제하고, 미백, 주름, 탄력 또는 트러블을 개선하고, 항산화 효과가 있는 물질을 개발하고자 하는 연구가 계속되어 왔다.
- [0009] 상술한 효과가 있는 물질은 자연계에 널리 분포되어 있는데, 주로 식물로부터 유래된 물질을 사용해 식품, 화장품, 의약품 등의 원료로서 사용해 왔다. 그러나, 이 같은 자연계에서 유래된 물질은 효과가 크지 않아 유의미한 효과를 얻기 위해서는 다량으로 사용해야 하고, 이로 인한 독성 및 가격 상승 문제가 대두되었다.
- [0010] 이러한 천연 물질의 문제점을 해결하기 위해, 화학적으로 합성된 물질의 개발이 이어졌다. 이들은 천연 물질에 비해 소량 사용으로도 월등히 우수한 효과를 발휘한다는 장점이 있으나, 반면 인체에 크고 작은 부작용을 유발시킬 수 있다는 치명적인 문제점이 있어 사용이 제한된다.
- [0011] 이에, 피부 개선에 우수한 효과를 발휘하면서도 천연물로부터 유래되어 안정성이 확보되는 물질의 개발이 절실한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0012] (특허문헌 0001) KR 1020060092179 A
(특허문헌 0002) KR 1020090002682 A

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0013] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 피부 개선, 특히 미백, 주름, 탄력, 트러블 개선, 항산화에 우수한 효과를 발휘하면서도 천연물로부터 유래되어 안정성이 확보되는 복합 생약 추출물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

- [0014] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 당귀 추출물, 생지황 추출물, 작약 추출물, 천궁 추출물, 옥죽 추출물, 백질려 추출물, 백선피 추출물, 지부자 추출물, 방풍 추출물, 하수오 추출물 및 감초 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백, 주름 개선, 탄력 개선, 트러블 개선 또는 항산화용 조성물(예를 들어, 화장품 조성물)을 제공한다.
- [0015] [추출물]
- [0016] 당귀(當歸, *Angelica Gigas*)는 미나리과에 속하며, 참당귀(*Angelica Gigas Nakai*)의 뿌리를 포함하고, 오장육부를 건강하게 하고 몸을 따스하게 하는 성질이 있어, 당귀의 몸통은 피를 조절하며 당귀의 윗부분은 보혈을 하는 효능이 있다.
- [0017] 생지황(生地黃, *Rehmanniae Radix Recens*)은 현삼과(Scrophulariaceae)이고, 지황(*Rehmannia glutinosa* Liboschitz ex Steudel)의 신선한 뿌리로, 맛은 쓰고 약간 달며 성질은 몹시 차다.

- [0018] 작약(芍藥)은 적작약을 포함하며, 작약(*Paeonia lactiflora* Pallas) 또는 기타 동속 근연식물(작약과 Paeoniaceae)의 뿌리이다.
- [0019] 천궁(川芎)은 산형과(Umbelliferae)에 속하는 천궁(*Cnidium officinale* Makino) 또는 중국천궁(中國川芎, *Ligusticum chuanxiong* Hort)의 뿌리줄기로서 그대로 또는 끓는 물에 데친 것이다.
- [0020] 옥죽(玉竹)은 백합과(Liliaceae)에 속하는 등글레(*Polygonatum odoratum* var. *pluriflorum* (Miq.) Ohwi) 또는 기타 동속 근연식물의 뿌리줄기를 말한다.
- [0021] 백질려는 남가새과(Zygophyllaceae)의 남가새(*Tribulus terrestris* Linne)의 열매이다.
- [0022] 백선피(白鮮皮)는 운향과(Rutaceae)의 여러해살이풀인 백선(*Dictamnus dasycarpus* Turczaininov)의 뿌리껍질이다.
- [0023] 지부자(地膚子, *Kochiae Fructus*)는 명아주과(Chenopodiaceae)에 속하는 땀싸리(*Kochia scoparia* Schrader)의 열매이다.
- [0024] 방풍(防風, *Saposhnikovia divaricata* Schischkin)은 산형과(傘形科, Umbelliferae)에 속하는 다년생 초본의 뿌리이다.
- [0025] 하수오(何首烏)는 여뀌과(Polygonaceae)에 속하는 하수오(*Polygonum multiflorum* Thunberg)의 덩이뿌리이다.
- [0026] 감초(甘草, *Glycyrrhizae Radix*)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 다년생초본이며, 감초(*Glycyrrhiza uralensis* Fischer), 광과감초(光果甘草, *Glycyrrhiza glabra* Linne) 또는 창과감초(脹果甘草, *Glycyrrhiza inflata* Batal)의 뿌리 및 뿌리줄기로서 그대로 또는 주피를 제거한 것이다.
- [0028] 본 발명자들은 상기 추출물의 모두가 피부에 유익한 생물학적 활성을 가지며, 상기 추출물 중 2 이상의 복합 추출물, 바람직하게 당귀 추출물, 생지황 추출물, 작약 추출물, 천궁 추출물, 옥죽 추출물, 백질려 추출물, 백선피 추출물, 지부자 추출물, 방풍 추출물, 하수오 추출물 및 감초 추출물의 복합 추출물은 시너지적 생물학적 활성을 가짐을 발견하였다.
- [0029] 본 발명에 있어서, 용어 "추출물"은 상기 추출처리에 의하여 얻어지는 추출액, 상기 추출액의 희석액이나 농축액, 상기 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 상기 추출액의 조정제물이나 정제물, 또는 이들의 혼합물 등, 추출액 자체 및 추출액을 이용하여 형성 가능한 모든 제형의 추출물을 포함한다.
- [0030] 상기 추출물에는 각각의 식물을 설명하며 특정된 부위 외에도 그의 잎, 줄기, 나무껍질, 뿌리, 꽃 또는 꽃눈, 과실, 종자, 수액 및 전체 식물이 포함될 수 있다.
- [0031] 상기 추출물을 제조하기 위하여, 통상의 기술자는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법을 사용할 수 있다. 예를 들어, 용매 추출법에 의할 수 있다. 식물 전체 또는 임의의 부분을 분쇄한 다음(예를 들어, 블렌더), 추출 용매를 처리하여, 용매 추출물을 수득할 수 있다. 분쇄 전에 건조 과정(예를 들어, 40 내지 70°C에서 15 내지 50시간 동안의 건조)을 거친 다음 분쇄할 수도 있다. 또한, 용매 추출물은 감압 증류 및 동결건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.
- [0032] 상기 사용되는 추출 용매의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있다. 상기 추출 용매의 비제한적인 예로는 물; 메탄올, 에탄올, 프로필알코올, 부틸알코올 등의 C1 내지 C4의 저급 알코올; 글리세린, 부틸렌글라이콜, 프로필렌글라이콜 등의 다가 알코올; 및 메틸아세테이트, 에틸아세테이트, 아세톤, 벤젠, 헥산, 디에틸에테르, 디클로로메탄 등의 탄화수소계 용매; 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있으며, 바람직하게, 물, 저급알코올을 단독으로 사용하거나 2종 이상 혼합하여 사용할 수 있다. 상기 용매를 사용하여 1회 이상 추출하여 용매 추출물을 제조할 수 있으며, 상기 용매 추출물을 감압 증류한 후 동결건조 또는 분무 건조하여 얻은 건조 추출물을 제조할 수 있다.
- [0033] 상기 추출 용매의 양은 이용되는 추출 용매의 종류에 따라 다양할 수 있으나, 예를 들어 대상 식물의 건조 중량에 대하여 1 내지 20배, 또는 5 내지 20배로 사용할 수 있다.
- [0034] 이외에도, 당업계 공지된 다양한 추출 공정, 예를 들어, 온침(maceration), 인퓨전(infusion), 퍼콜레이션(percolation), 소화, 전즙(decoction), 고온 연속 추출(hot continuous extraction), 수성-알코올성 추출, 역류 추출, 마이크로파 보조 추출, 초음파 추출, 초임계 유체 추출, 조직편 추출(phytonic extract) (예를 들어,

하이드로-플루오로-카본 용매) 등) 등을 선택하여 사용할 수 있으며, 이들은 단독으로 수행되거나 2 종 이상의 방법을 병용하여 수행될 수 있다.

[0036] [조성물]

[0037] 본 발명에 따른 조성물은 당귀 추출물, 생지황 추출물, 작약 추출물, 천궁 추출물, 옥죽 추출물, 백질려 추출물, 백선피 추출물, 지부자 추출물, 방풍 추출물, 하수오 추출물 및 감초 추출물을 유효성분으로 포함한다.

[0038] 본 발명에 있어서 "유효성분으로 포함된다"는 의미는 본 발명에 따른 조성물로부터 피부 개선 효과를 나타낼 수 있는 정도로, 추출물이 첨가되는 것을 의미하고, 피부 전달 및 안정화 등을 위하여 다양한 성분을 부성분으로 첨가하여 다양한 형태로 제형화(formulation) 가능함을 포함하는 의미이다.

[0039] 본 발명에 따른 조성물에 각각의 식물 추출물은 다음과 같은 비율로 포함될 수 있다. 예를 들어, 당귀 추출물 : 생지황 추출물 : 작약 추출물 : 천궁 추출물 : 옥죽 추출물 : 백질려 추출물 : 백선피 추출물 : 지부자 추출물 : 방풍 추출물 : 하수오 추출물 : 감초 추출물의 중량비는 1 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10로 포함될 수 있으며, 1 : 0.1 ~ 5 : 0.1 ~ 5 : 0.1 ~ 5 : 0.1 ~ 5 : 0.1 ~ 5 : 0.1 ~ 5 : 0.1 ~ 5 : 0.1 ~ 5 : 0.1 ~ 5, 1 : 0.1 ~ 3 : 0.1 ~ 3 : 0.1 ~ 3 : 0.1 ~ 3 : 0.1 ~ 3 : 0.1 ~ 3 : 0.1 ~ 3 : 0.1 ~ 3 : 0.1 ~ 3 : 0.1 ~ 3, 1 : 0.1 ~ 2 : 0.1 ~ 2 : 0.1 ~ 2 : 0.1 ~ 2 : 0.1 ~ 2 : 0.1 ~ 2 : 0.1 ~ 2 : 0.1 ~ 2 : 0.1 ~ 2 : 0.1 ~ 2, 1 : 0.5 ~ 1.5 : 0.5 ~ 1.5 : 0.5 ~ 1.5 : 0.5 ~ 1.5 : 0.5 ~ 1.5 : 0.5 ~ 1.5 : 0.5 ~ 1.5 : 0.5 ~ 1.5 : 0.5 ~ 1.5로 포함될 수 있다.

[0040] 본 발명에 따른 조성물은 이의 최종 형태 중에 적어도 약 0.0001%, 0.0002%, 0.0003%, 0.0004%, 0.0005%, 0.0006%, 0.0007%, 0.0008%, 0.0009%, 0.0010%, 0.0011%, 0.0012%, 0.0013%, 0.0014%, 0.0015%, 0.0016%, 0.0017%, 0.0018%, 0.0019%, 0.0020%, 0.0021%, 0.0022%, 0.0023%, 0.0024%, 0.0025%, 0.0026%, 0.0027%, 0.0028%, 0.0029%, 0.0030%, 0.0031%, 0.0032%, 0.0033%, 0.0034%, 0.0035%, 0.0036%, 0.0037%, 0.0038%, 0.0039%, 0.0040%, 0.0041%, 0.0042%, 0.0043%, 0.0044%, 0.0045%, 0.0046%, 0.0047%, 0.0048%, 0.0049%, 0.0050%, 0.0051%, 0.0052%, 0.0053%, 0.0054%, 0.0055%, 0.0056%, 0.0057%, 0.0058%, 0.0059%, 0.0060%, 0.0061%, 0.0062%, 0.0063%, 0.0064%, 0.0065%, 0.0066%, 0.0067%, 0.0068%, 0.0069%, 0.0070%, 0.0071%, 0.0072%, 0.0073%, 0.0074%, 0.0075%, 0.0076%, 0.0077%, 0.0078%, 0.0079%, 0.0080%, 0.0081%, 0.0082%, 0.0083%, 0.0084%, 0.0085%, 0.0086%, 0.0087%, 0.0088%, 0.0089%, 0.0090%, 0.0091%, 0.0092%, 0.0093%, 0.0094%, 0.0095%, 0.0096%, 0.0097%, 0.0098%, 0.0099%, 0.0100%, 0.0200%, 0.0250%, 0.0275%, 0.0300%, 0.0325%, 0.0350%, 0.0375%, 0.0400%, 0.0425%, 0.0450%, 0.0475%, 0.0500%, 0.0525%, 0.0550%, 0.0575%, 0.0600%, 0.0625%, 0.0650%, 0.0675%, 0.0700%, 0.0725%, 0.0750%, 0.0775%, 0.0800%, 0.0825%, 0.0850%, 0.0875%, 0.0900%, 0.0925%, 0.0950%, 0.0975%, 0.1000%, 0.1250%, 0.1500%, 0.1750%, 0.2000%, 0.2250%, 0.2500%, 0.2750%, 0.3000%, 0.3250%, 0.3500%, 0.3750%, 0.4000%, 0.4250%, 0.4500%, 0.4750%, 0.5000%, 0.5250%, 0.550%, 0.5750%, 0.6000%, 0.6250%, 0.6500%, 0.6750%, 0.7000%, 0.7250%, 0.7500%, 0.7750%, 0.8000%, 0.8250%, 0.8500%, 0.8750%, 0.9000%, 0.9250%, 0.9500%, 0.9750%, 1.0%, 1.1%, 1.2%, 1.3%, 1.4%, 1.5%, 1.6%, 1.7%, 1.8%, 1.9%, 2.0%, 2.1%, 2.2%, 2.3%, 2.4%, 2.5%, 2.6%, 2.7%, 2.8%, 2.9%, 3.0%, 3.1%, 3.2%, 3.3%, 3.4%, 3.5%, 3.6%, 3.7%, 3.8%, 3.9%, 4.0%, 4.1%, 4.2%, 4.3%, 4.4%, 4.5%, 4.6%, 4.7%, 4.8%, 4.9%, 5.0%, 5.1%, 5.2%, 5.3%, 5.4%, 5.5%, 5.6%, 5.7%, 5.8%, 5.9%, 6.0%, 6.1%, 6.2%, 6.3%, 6.4%, 6.5%, 6.6%, 6.7%, 6.8%, 6.9%, 7.0%, 7.1%, 7.2%, 7.3%, 7.4%, 7.5%, 7.6%, 7.7%, 7.8%, 7.9%, 8.0%, 8.1%, 8.2%, 8.3%, 8.4%, 8.5%, 8.6%, 8.7%, 8.8%, 8.9%, 9.0%, 9.1%, 9.2%, 9.3%, 9.4%, 9.5%, 9.6%, 9.7%, 9.8%, 9.9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 이상의 범위로 본 발명의 1 이상의 추출물을 포함할 수 있다. 상기 %는 조성물의 총 중량 대비 중량 또는 총 부피 대비 부피를 기준으로 계산할 수 있으며, 농도는 조성물의 목적하는 효과 또는 조성물이 혼입되는 제품에 따라 조정될 수 있다.

[0041] 본 발명의 조성물은 모든 유형의 비히클 내로 제형화될 수 있다. 적합한 비히클의 예로는 에멀전 (예를 들어, 수중유, 유중수, 수중실리콘, 실리콘중수, 수중유중수, 수중유, 유중수중유, 실리콘중수중유 등), 크림, 로션, 용액 (예컨대, 수성 및 하이드로-알코올 용액), 무수 베이스 (예를 들어, 립스틱 및 파우더), 젤, 연고, 페이스트, 밀크, 액체, 에어로졸, 고체 형태 또는 아이 젤리를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

- [0042] 또한, 본 발명의 조성물은 피부와 같은 표적 영역으로의 운반을 위해 캡슐화될 수도 있다. 캡슐화 기술은 예를 들어, 피부에 성분을 전달하는 운반 비히클로서 사용될 수 있는 리포솜, 소낭, 및/또는 나노입자 (예를 들어, 성분이 트랩핑(trap되고, 캡슐화되고/되거나 흡수되는 폴리머 물질을 포함하는 생분해성 및 비생분해성 콜로이드성 입자, 예를 들어 나노스피어(nanosphere) 및 나노캡슐을 포함)의 사용을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0043] 본 발명에 따른 조성물은 다양하게 제품화될 수 있다. 예를 들어, 화장료 조성물, 식품 조성물 등으로 제품화될 수 있다.
- [0044] 상기 화장료 조성물은 예를 들어, 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조될 것일 수 있다. 예를 들어, 유연 화장수 또는 영양 화장수 등과 같은 화장수, 웨이셜 로션, 바디로션 등과 같은 유액, 영양 크림, 수분 크림, 아이크림, 마사지 크림 등과 같은 크림, 에센스, 세럼, 화장연고, 스프레이, 오일젤, 젤, 팩, 선 스크린, 메이크업베이스, 액체 타입, 고체 타입 또는 스프레이 타입 등의 파운데이션, 파우더, 클렌징 크림, 클렌징 로션, 클렌징 오일과 같은 메이크업 제거제, 클렌징 폼, 비누, 바디 워시 등과 같은 세정제 등의 제형을 가질 수 있으나, 이에 제한되지 않고 당업계 공지된 다양한 형태로 제형화될 수 있다.
- [0045] 상기 화장료 조성물에는 본 발명의 목적을 해하지 않는 이상, 본 발명에 따른 추출물 외에 당업계에서 화장료 조성물의 성분으로 공지된 통상의 성분을 임의로 선택하여 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 방향제 (합성 및 천연), 염료 및 색 성분, 흡수제, 에멀전화제, 안정화제, 유허제, 용매, 보습제 (예: 연화제(emollient), 습윤제(humectant), 피막형성제, 폐색제(occlusive agent), 및 피부의 천연 보습 메커니즘에 영향을 주는 작용제 (agent)를 포함함), 발수제(water-repellant), UV 흡수제 (물리적 및 화학적 흡수제, 예를 들어 파라아미노벤조산("PABA") 및 상응하는 PABA 유도체, 이산화티탄, 산화아연 등), 에센셜 오일(essential oil), 비타민 (예: A, B, C, D, E 및 K), 미량 금속 (예: 아연, 칼슘 및 셀레늄), 항-자극제(anti-irritant) (예: 스테로이드 및 비스테로이드성 항염증제), 항-미생물제(anti-microbial agent), 항산화제 (예: BHT 및 토코페롤), 킬레이트제 (예: 다이소듐 EDTA 및 테트라소듐 EDTA), 보존제 (예: 메틸파라벤 및 프로필파라벤), pH 조정제 (예: 수산화나트륨 및 시트르산), 흡수제(예를 들어, 알루미늄 진분 옥테닐석시네이트, 카올린, 옥수수 진분, 귀리 진분, 사이클로덱스트린, 탈크(talc), 및 제올라이트), 피부 블리칭(bleaching) 및 라이트닝(lightening) 작용제 (예를 들어, 하이드로퀴논 및 니아신아미드 락테이트), 습윤제 (예: 글리세린, 프로필렌 글리콜, 부틸렌 글리콜, 펜틸렌 글리콜, 소르비톨, 우레아 및 만니톨), 각질제거제(exfoliant) (예: 알파-하이드록시산 및 베타-하이드록시산, 예를 들어 락트산, 글리콜산 및 살리실산; 및 이들의 염), 발수제(waterproofing agent) (예: 마그네슘/알루미늄 하이드록시드 스테아레이트), 피부 컨디셔닝제(skin conditioning agent) (예: 알로에 추출물, 알란토인(allantoin), 비사볼롤(bisabolol), 세라마이드(ceramide), 다이메티콘, 히알루론산, 및 다이포타슘 글리시리제이트), 및 증점제(thickening agent) (예: 조성물의 점도를 증가시킬 수 있는 물질, 예를 들어 카복실산 폴리머, 가교된 폴리아크릴레이트 폴리머, 폴리아크릴아미드 폴리머, 다당류 및 검(gum)) 및 실리콘 함유 화합물(예: 실리콘 오일 및 폴리오르가노실록산) 등이 포함될 수 있다.
- [0046] 상기 식품 조성물은 예를 들어, 음료, 강화수(fortified water), 에너지 드링크(energy drink), 영양 드링크(nutritional drink), 고형 식품, 비타민, 보조제(Supplement) 등) 등으로 제형화 될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 보조제에는 비타민, 무기질, 허브 또는 기타 식물, 아미노산, 효소 및 대사산물을 포함할 수 있다. 이러한 보조제는 경구 이용(oral consumption)에 적합하며, 경구로 투여될 수 있다.
- [0047] 본 발명에 따른 조성물을 포함하는 키트로 제공될 수 있다. 본 발명에 따른 조성물은 용기에 포함되며, 용기는 병, 금속 튜브, 라미네이트 튜브, 플라스틱 튜브, 디스펜서, 압력 용기, 장벽 용기, 패키지, 컴파트먼트, 립스틱 용기, 컴팩트 용기, 화장용 조성물을 담을 수 있는 화장용 팬, 또는 다른 타입의 용기 예를 들어, 분산매체(dispersions) 또는 조성물 또는 유지되는 바람직한 병, 디스펜서, 또는 패키지 내로 주입 또는 블로우-몰드된 플라스틱 용기 등이 포함될 수 있으며, 이에 제한되지 않는다. 상기 키트에는 키트 또는 조성물을 사용하기 위한 지시서가 포함될 수 있으며, 지시서는 별개 용지에 기재될 수 있고, 또는 용기 표면, 용기 포장지의 표면 상에 기재될 수 있다. 지시사항은 글자, 어구, 약어, 그림 또는 기호 등이 포함되며, 이에 제한되지 않는다. 지시서에는 예를 들어, 키트 또는 조성물의 사용 방법, 적용 방법 및 유지 방법 등에 관한 지시사항이 포함될 수 있다. 용기에는 사전에 정해진 양에 따라 분배하여 담을 수 있다.
- [0048] 본 발명에 따른 조성물은 국소용 피부 조성물로 제공될 수 있다.
- [0049] 또한, 본 발명에 따른 조성물을 피부에 국소 적용하는 방법을 제공할 수 있다.

- [0050] 본 발명에 있어서, 용어 "국소 적용"은 조성물을 각질 조직의 표면에 적용하거나 도포하는 것을 의미하고, "국소용 피부 조성물"은 각질 조직상에 국소 적용 또는 도포하기에 적합한 조성물을 포함한다. 이러한 조성물은 피부에 적용되는 경우 과도한 독성, 부적합성(incompatibility), 불안정성, 알러지 반응 등을 갖지 않는다는 점에서, 전형적으로 피부과학적으로 허용된다. 본 발명의 국소 피부 케어 조성물은, 피부에 적용된 후 현저한 적하(dripping) 또는 풀링(pooling)을 회피하기 위해, 선택된 점도를 지닐 수 있다.
- [0052] [피부 개선 효과]
- [0053] 본 발명에 따른 조성물은 생물학적 활성을 가지며, 피부 개선에 우수한 효과를 발휘한다.
- [0054] 보다 구체적으로, 본 발명에 따른 조성물은 피부 미백 효과가 있다.
- [0055] 상기 피부 미백은 멜라닌 형성 과정을 억제 시켜 멜라닌 생성을 억제하는 것을 말한다.
- [0056] 본 발명자들은 본 발명에 따른 복합 추출물을 멜라노마 세포에 처리하여 생성된 멜라닌의 양을 측정된 결과, 각각의 추출물을 처리하는 경우에 비해 상승된 멜라닌 생성 억제 효과를 보임을 확인할 수 있었고, 피부 미백 효과가 공지되어 있는 알부틴에 상응하는 효과를 발휘함을 알 수 있었다. 본 발명에 따른 조성물은 멜라닌 생성 저해 효과가 뛰어나, 우수한 미백 효과를 나타냄을 확인하였다.
- [0057] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 주름 및 탄력 개선 효과가 있다.
- [0058] 상기 피부 주름이란 피부가 쇠하여 생긴 잔줄을 의미하며, 유전자에 의한 원인, 피부 진피에 존재하는 콜라겐과 엘라스틴의 감소, 외부환경 등에 의해 유발될 수 있다.
- [0059] 상기 주름 개선은 주름이 생성되는 것을 억제 또는 저해하거나, 이미 생성된 주름을 완화시키는 것을 말한다.
- [0060] 상기 피부 탄력이란 진피층에 존재하는 엘라스틴(elastin)으로 구성된 탄력섬유 및 콜라겐(collagen)이라고 하는 교원섬유에 의해 나타나는 것으로, 상기 탄력 개선이란 탄력 감소를 억제 또는 저해하거나, 탄력을 유지 또는 향상시키는 것을 말한다.
- [0061] 본 발명자들은 본 발명에 따른 복합 추출물을 처리한 결과, 각각의 추출물을 처리하는 경우에 비해 상승된 콜라겐 합성 촉진 효과 및 엘라스테이즈 활성 저해 효과를 보임을 확인할 수 있었고, 피부 콜라겐 합성 촉진 효과가 공지되어 있는 비타민 C에 상응하는 효과를 보이며, 피부 엘라스테이즈 활성 저해 효과가 공지되어 있는 퀘세틴에 상응하는 효과를 발휘함을 알 수 있었다. 본 발명에 따른 조성물은 콜라겐 합성 촉진 효과 및 엘라스테이즈 활성 저해 효과가 뛰어나, 우수한 피부 주름 및 탄력 개선 효과를 나타냄을 확인하였다.
- [0062] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 트러블 개선 효과가 있다.
- [0063] 상기 트러블은 피부자극 및 염증과 같은 증상을 말하며, 염증 반응에는 외부 자극에 의한 동통, 발열, 발적, 종창, 기능상실 등을 특징으로 하며, 조직학적으로는 소동맥, 모세혈관 및 소정맥의 투과성과 혈류증가를 동반한 확장, 혈장단백을 함유한 혈장의 삼출, 백혈구의 염증부위로의 이동 등을 포함한 복잡한 증상 등이 관찰되며, 피부자극 반응에는 홍반, 가려움, 발열 등을 특징으로 한다.
- [0064] 상기 트러블 개선은 피부 자극 반응 및 염증 반응을 억제 또는 저해하거나, 이미 진행 중인 피부자극 반응 또는 염증 반응을 완화시키는 것을 말한다.
- [0065] 본 발명자들은 본 발명에 따른 복합 추출물을 처리하여 NO 생성 저해 효과를 측정된 결과, 각각의 추출물을 처리하는 경우에 비해 상승된 NO 생성 저해 효과를 보임을 확인할 수 있었고, NO 생성 저해 효과가 공지되어 있는 L-NMMA에 상응하는 효과를 발휘함을 알 수 있었다. 본 발명에 따른 조성물은 NO 생성 저해를 통해 우수한 피부 트러블 개선 효과를 나타냄을 확인하였다.
- [0066] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 항산화 효과가 있다.
- [0067] 상기 항산화는 세포내 대사 또는 자외선의 영향으로 인한 산화적 스트레스에 따라 반응성이 높은 자유 라디칼(free radical) 또는 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)에 의한 세포의 산화를 억제하는 것을 말하며, 자유 라디칼 또는 활성산소종을 제거하여 이로 인한 세포의 손상이 감소되는 것을 포함한다.
- [0068] 본 발명자들은 본 발명에 따른 복합 추출물을 처리하여 자유라디칼 소거능을 측정된 결과, 각각의 추출물을 처리하는 경우에 비해 상승된 자유라디칼 소거능을 보임을 확인할 수 있었고, 자유라디칼 소거능이 공지되어 있는

비타민 C에 상응하는 효과를 발휘함을 알 수 있었다. 이로써, 본 발명에 따른 조성물은 우수한 항산화 효과를 나타냄을 확인하였다.

[0069]

또한, 본 발명에 따른 조성물은 항당화 효과가 있다.

[0070]

상기 당화는 과도한 당의 존재로 인해 생기는 당과 단백질이 결합해 단백질이 파괴되는 현상을 말한다. 당화가 진행되면 콜라겐과 엘라스틴에 영향을 미쳐 피부 탄력 저하 외 각종 피부손상을 일으키게 된다.

[0071]

본 발명자들은 본 발명에 따른 복합 추출물을 처리하여 항당화 효과를 측정한 결과, 각각의 추출물을 처리하는 경우에 비해 상승된 항당화 효과를 보임을 확인할 수 있었고, 항당화 효과가 공지되어 있는 아미노구아니딘에 상응하는 효과를 발휘함을 알 수 있었다. 이로써, 본 발명에 따른 조성물은 우수한 항당화 효과를 나타냄을 확인하였다.

발명의 효과

[0072]

본 발명에 따른 복합 추출물은 피부에 안전하며, 항당화 효과, 피부 미백 효과, 피부 탄력 및 주름 개선 효과, 항산화 효과 및 피부 트러블 개선 효과를 포함한 피부 개선에 탁월한 효과를 갖는다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0073]

이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예 및 실험예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 그러나 본 발명에 따른 실시예 및 실험예는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 아래에서 상술하는 실시예 및 실험예에 한정되는 것으로 해석 되어서는 안 된다. 본 발명의 실시예 및 실험예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해서 제공되는 것이다.

[0075]

<실시예 1> 당귀 추출물의 제조

[0076]

당귀를 잘 건조하여 세절한 후, 건조 중량 100g을 플라스크에 넣고 추출 용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2 μ m의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 당귀 추출물을 제조하였다.

[0078]

<실시예 2> 생지황 추출물의 제조

[0079]

생지황을 세절한 후, 중량 100g을 플라스크에 넣고 추출 용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2 μ m의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 생지황 추출물을 제조하였다.

[0081]

<실시예 3> 적작약 추출물의 제조

[0082]

적작약을 잘 건조하여 세절한 후, 건조 중량 100g을 플라스크에 넣고 추출 용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2 μ m의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 적작약 추출물을 제조하였다.

[0084]

<실시예 4> 천궁 추출물의 제조

[0085]

천궁을 잘 건조하여 세절한 후, 건조 중량 100g을 플라스크에 넣고 추출 용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2 μ m의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 천궁 추출물을 제조하였다.

[0087]

<실시예 5> 옥죽 추출물의 제조

[0088]

옥죽을 잘 건조하여 세절한 후, 건조 중량 100g을 플라스크에 넣고 추출 용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2 μ m의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 옥죽 추출물을 제조하였다.

[0090]

<실시예 6> 백질려 추출물의 제조

[0091]

백질려를 잘 건조하여 세절한 후, 건조 중량 100g을 플라스크에 넣고 추출 용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침

하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2 μ m의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 백질러 추출물을 제조하였다.

[0093] <실시예 7> 백선퓌 추출물의 제조

[0094] 백선퓌를 잘 건조하여 세절한 후, 건조 중량 100g을 플라스크에 넣고 추출 용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2 μ m의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 백선퓌 추출물을 제조하였다.

[0096] <실시예 8> 지부자 추출물의 제조

[0097] 지부자를 잘 건조하여 세절한 후, 건조 중량 100g을 플라스크에 넣고 추출 용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2 μ m의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 지부자 추출물을 제조하였다.

[0099] <실시예 9> 방풍 추출물의 제조

[0100] 방풍을 잘 건조하여 세절한 후, 건조 중량 100g을 플라스크에 넣고 추출 용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2 μ m의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 방풍 추출물을 제조하였다.

[0102] <실시예 10> 하수오 추출물의 제조

[0103] 하수오를 잘 건조하여 세절한 후, 건조 중량 100g을 플라스크에 넣고 추출 용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2 μ m의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 하수오 추출물을 제조하였다.

[0105] <실시예 11> 감초 추출물의 제조

[0106] 감초를 잘 건조하여 세절한 후, 건조 중량 100g을 플라스크에 넣고 추출 용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2 μ m의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 감초 추출물을 제조하였다.

[0108] <실시예 12> 당귀, 생지황, 적작약, 천궁, 옥죽, 백질러, 백선퓌, 지부자, 방풍, 하수오 및 감초(11 가지) 혼합 추출물의 제조

[0109] 상술한 실시예와 같이 각각 추출물 형태로 제조한 당귀, 생지황, 적작약, 천궁, 옥죽, 백질러, 백선퓌, 지부자, 방풍, 하수오 및 감초 추출물을 동량 주입하여 당귀, 생지황, 적작약, 천궁, 옥죽, 백질러, 백선퓌, 지부자, 방풍, 하수오 및 감초 혼합 추출물을 제조하였다.

[0111] <실험예 1> 항당화 효과

[0112] 본 발명자들은 항당화(anti-glycation) 효능을 확인하기 위하여, L-arginine과 포도당을 이용하여 당화 저해 활성을 측정하였다.

[0113] 먼저, 1M 인산 완충용액(pH 7.4)을 이용하여 1M L-아르기닌(arginine), 1M 포도당을 녹여 준비하고 1M 인산 완충용액을 이용하여 시료를 50ppm이 되도록 희석해서 준비하였다. 1M L-아르기닌과 1M 인산 완충용액을 1 대 4의 비율로 섞은 다음 96-웰 플레이트에 80 μ l씩 분주하였다. 여기에 각각 50ppm으로 희석한 시료와 양성대조군으로 사용될 0.01M 아미노구아니딘(aminoguanidin)을 100 μ l씩 첨가하였다. 이 시료들을 잘 섞어준 다음, 마지막으로 포도당의 최종 농도가 0.1M이 되도록 1M 인산 완충용액으로 희석한 포도당을 넣은 후, 70 $^{\circ}$ C에서 4시간 동안 반응 시켰다. 96-웰 플레이트를 분광 광도계를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하여 당화 정도를 측정하였다.

[0114] 하기 식의 Glycation 실험군은 1M L-아르기닌과 1M 포도당을 넣어 당화를 유발시킨 실험군이며, 시료 자체의 흡광도를 측정하기 위해서 포도당을 넣지 않고 1M L-아르기닌과 시료만을 넣어 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 당화 저해 활성은 다음과 같은 식으로 구할 수 있다. 실험은 각각 3회씩 수행하여 평균값으로 나타내었다.

[0115] [수학식 1]

$$\text{당화 저해율 (\%)} = \frac{(\text{반응 후 시료의 흡광도} - \text{반응 전 시료의 흡광도})}{\text{Glycation 실험군}} * 100$$

[0116]

[0117] (상기 수학식 1에서의 'Glycation 실험군'은 'Glycation 실험군의 흡광도'를 의미함)

표 1

[0118]

시료	저해율(%)
대조군 (DMSO, 50ppm)	-
양성대조군 (Aminoguanidine, 55ppm)	54.89
실시예1	40.55
실시예2	44.97
실시예3	51.58
실시예4	50.46
실시예5	49.84
실시예6	50.12
실시예7	54.44
실시예8	49.52
실시예9	50.14
실시예10	48.43
실시예11	41.78
실시예12(50ppm)	60.08

[0119]

상기 표 1의 결과에서 볼 수 있듯이, 혼합 추출물은 항당화 물질로 알려진 아미노구아니딘(Aminoguanidine)과 비교할 때, 항당화 효과가 더욱 뛰어남을 알 수 있다.

[0121] <실험예 2> 멜라닌 생성 저해 효과

[0122]

멜라닌 생성 저해를 통한 미백 효과를 확인하기 위하여, Lotan R. 외(Cancer Res. 40:3345-3350, 1980)에 기재된 방법에 따라 쥐의 멜라노마 세포(B-16 mouse melanoma cell)의 배양액에, 추출물을 첨가하여 멜라닌 총량을 측정하였다. 실험 시, 먼저 쥐의 멜라노마 세포에 대하여 독성을 평가하여 독성이 없는 농도에서 미백평가를 수행하였다. 음성 대조군으로는 DMSO를, 양성 대조군으로는 알부틴(albutin)을 사용하였다.

[0123]

구체적으로, 시료를 최종 농도가 100 ppm이 되도록 배지에 첨가하고, 알부틴은 100 ppm이 되도록 배지에 첨가한 후 멜라노마 세포를 3일간 배양하였다. 이후, 세포들을 트립신(trypsin) 처리하여 배양용기로부터 떼어내 원심 분리한 후, 멜라닌을 추출하였다. 떼어낸 세포는 수산화나트륨 용액(1N 농도) 1 ml를 가하여 10분간 끓여 멜라닌을 녹이고 분광 광도계를 이용하여, 400 nm에서 흡광도를 측정하여 생성된 멜라닌의 양을 측정하였다.

[0124]

상기 멜라닌 양은 단위 세포수당(1×10^6 cell)의 흡광도로 나타내는 방법으로 측정하였으며, 대조군에 대한 상대적인 멜라닌 총량을 저해율(%)로 계산하고 결과를 하기 표 2에 나타내었으며, 실험은 각각 3회씩 수행하여 평균값으로 나타내었다.

표 2

[0125]

시료	멜라닌생성량 (abs)	저해율(%)
대조군 (DMSO, 10ppm)	0.33	-
양성대조군 (알부틴, 100ppm)	0.228	30.91
실시예1	0.286	13.33
실시예2	0.307	6.97
실시예3	0.299	9.39
실시예4	0.318	3.64
실시예5	0.273	17.27

실시예6	0.298	9.70
실시예7	0.281	14.85
실시예8	0.294	10.91
실시예9	0.291	11.82
실시예10	0.299	9.39
실시예11	0.292	11.52
실시예12 (100ppm)	0.259	21.52

[0126] 상기 표 2의 결과에서 볼 수 있듯이, 혼합 추출물은 뛰어난 멜라닌 총량 감소 효과를 나타내어 미백 용도로 유용함을 알 수 있었다.

[0128] <실험예 3> 항염 효과

[0129] 항염증 효과 및 피부트러블 개선 효과를 확인하기 위하여, RAW264.7 세포주 (ATCC number: CRL-2278)를 이용한 GRIESS 법으로 nitric oxide(NO) 생성 억제력 실험을 실시하였다.

[0130] 구체적으로, 생쥐의 대식세포인 RAW264.7 세포를 수차례 계대 배양하고, 웰 하나에 3×10^5 개씩 들어가도록 24-웰 플레이트에 넣은 후, 24 시간 동안 배양하였다. 이어서, 최종농도 10ppm의 농도로 시료를 함유한 세포 배지로 교체하였다. 이때, NO-생성 억제물질인 L-NMMA(L-NG-Monomethylarginine)을 양성 대조군으로 함께 처리하여 30분 동안 배양하였고, 자극원으로 LPS(Lipopolysaccharide)를 1 μ g씩 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 상층액을 100 μ l씩 취해 96-웰 플레이트에 옮기고, GRIESS 용액을 100 μ l씩 가해 상온에서 10분간 반응시키고, 540nm에서의 흡광도를 측정함으로써 NO 억제 효과를 판단하고, NO 생성 저해율(%)은 하기 수학적 2를 이용하여 계산하여 하기 표 3에 나타내었으며, 실험은 각각 3회씩 수행하여 평균값으로 나타내었다.

[0131] [수학적 2]

[0132] NO 생성 저해율(%) = $\frac{\{(\text{음성대조군의 흡광도} - \text{각 추출물의 흡광도}) / \text{음성 대조군의 흡광도}\} \times 100}$

표 3

시료	NO 생성 저해율(%)
대조군 (DMSO, 10ppm)	-
L-NMMA (양성 대조군, 10ppm)	41.02
실시예1	35.42
실시예2	30.31
실시예3	37.14
실시예4	35.42
실시예5	36.44
실시예6	30.54
실시예7	35.56
실시예8	37.44
실시예9	31.98
실시예10	34.45
실시예11	33.23
실시예12 (10ppm)	40.09

[0134] 상기 표 3의 결과에서 알 수 있듯이, 혼합 추출물은 대표적인 항염 의약품인 L-NMMA와 비교하였을 때, 상대적 활성은 조금 낮으나 천연물질로써 우수한 활성을 나타냄을 알 수 있었다.

[0136] <실험예 4> 콜라겐 합성 촉진 효과

[0137] 시료를 인간 유래 섬유아세포의 배양액에 첨가하여 세포수준에서 제1형 콜라겐 합성 촉진 효과를 확인하였다.

합성된 콜라겐의 측정은 PICP EIA kit(Procollagen Type I C-Peptide Enzyme Immuno Assay KIT)를 이용하여 정량하였다. 콜라겐 합성량을 측정하기 위해 시료를 최종 농도가 10 ppm이 되도록 섬유아세포의 배양배지(DMEM 배지)에 첨가하여 48 시간 배양한 후 배양액을 취하여 PICP EIA 키트로 각 농도에서 제1형 콜라겐 합성 정도를 분광광도계를 이용하여 450 nm에서 측정하였다.

[0138] 효과의 비교를 위하여 시료를 처리하지 않은 섬유아세포의 배양배지(음성대조군)와 비타민 C(양성대조군)를 최종농도 52.85 µg/ml가 되도록 첨가한 시료에 대하여 동일한 방법으로 콜라겐 합성 정도를 측정하였다. 콜라겐 생성 증가율은 음성 대조군에 대한 상대적인 콜라겐 생성량의 비율로 계산하고 결과를 하기 표 4에 나타내었으며, 실험은 4회씩 수행하여 평균값으로 나타내었다.

표 4

시료	제1형 콜라겐 생성량(ng/ml)	증가율(%)
음성대조군	150.2	-
양성대조군 (비타민 C)	246.8	64.3
실시예1	180.9	20.44
실시예2	187.4	24.77
실시예3	190.7	26.96
실시예4	213.4	42.1
실시예5	157.4	4.8
실시예6	202.3	34.7
실시예7	168.5	12.2
실시예8	211.8	41.0
실시예9	221.9	47.7
실시예10	182.3	21.4
실시예11	186.2	24.0
실시예12(10ppm)	240.8	60.32

[0140] 상기 표 4의 결과에서 볼 수 있듯이, 혼합 추출물을 처리한 경우에 콜라겐 합성을 증가시켰고, 일반적으로 콜라겐 합성을 유도하는 것으로 잘 알려진 비타민C를 적용한 경우와 유사한 정도의 콜라겐 합성 효과를 나타내었다.

[0142] <실험예 5> 엘라스테이즈 활성 저해 효과

[0143] 엘라스틴(Elastin)을 분해하는 효소인 엘라스테이즈(Elastase)의 활성 저해 효과를 다음과 같이 확인하였다.

[0144] 엘라스테이즈(Elastase)는 사람의 백혈구 세포로부터 유래한 엘라스테이즈를 사용하였고, 엘라스테이즈의 기질로 합성 기질인 MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-pNA를 사용하였다. 완충 용액은 100mM의 Tris(pH 7.5) 용액을 사용하였다. 엘라스테이즈는 완충용액을 이용하여 최종적으로 0.2 mU를 사용하였다. 또한, 엘라스테이즈의 합성 기질은 DMSO를 이용하여 100mM 용액을 만든 후 최종 농도가 0.5mM이 되도록 완충용액을 이용하여 희석하였다. 이때, 양성 대조군은 엘라스테이즈 저해 물질로 알려진 퀘세틴(Quercetin)을 10ppm 농도로 넣은 것으로 설정하였다. 엘라스테이즈 저해 후보는 최종농도가 10ppm이 되도록 첨가하였다. 반응은 96-웰 플레이트에서 진행하였으며, 상온에서 20분간 반응시켰다. 분광 광도계를 이용하여 1분 간격으로 405 nm에서 흡광도를 측정하여, 시간 대비 흡광도의 기울기를 구하여 효소의 활성도로 정하였다. 엘라스테이즈 저해율은 다음과 같이 계산하였다.

[0145] [수학식 3]

$$\text{엘라스테이즈 저해율 (\%)} = \left\{ \frac{\left(\text{대조군 기울기} - \text{시료의 기울기} \right)}{\text{대조군 기울기}} \right\} \times 100$$

[0146] [0147] 엘라스테이즈 저해율은 상기 수학식 3을 이용해 계산하여 하기 표 5에 나타내었으며, 실험은 각각 3회씩 수행하여 평균값으로 나타내었다.

표 5

[0148]

시료	효소 활성도	저해율(%)
실시예1	5.5	47.11
실시예2	6.2	40.38
실시예3	5.3	49.03
실시예4	4.9	52.88
실시예5	4.2	59.62
실시예6	4.7	54.80
실시예7	5.2	50.00
실시예8	5.5	47.11
실시예9	7.9	24.04
실시예10	5.2	50.00
실시예11	5.7	45.19
실시예12 (10ppm)	3.8	63.46
양성대조군 (Quercetin, 10ppm)	3.5	66.35
대조군 (DMSO, 20ppm)	10.4	-

[0149]

상기 표 5의 결과에서 볼 수 있듯이, 혼합 추출물을 처리한 경우, 양성대조군인 퀘세틴과 비교하여서도 우수한 엘라스테이즈 활성 저해 효과를 발휘함을 알 수 있었다. 따라서, 혼합 추출물은 피부재생, 주름개선을 위한 용도로 사용할 수 있음을 알 수 있었다.

[0151]

<실험예 6> 항산화 효과

[0152]

혼합 추출물에 대한 자유라디칼 소거능을 1,1-디페닐-2-피크릴히드라질(DPPH) 방법으로 측정하였다(Blois, Nature 181, 1190, 1958). DPPH는 비교적 안정한 자유라디칼로서 라디칼 상태로 존재 시 517nm에서 최대 흡광을 보이며 라디칼이 소거되면 흡광성을 잃는다. DPPH는 시그마(Sigma)사의 것을 사용하였으며, 0.15 mM의 농도로 메틸 알코올에 녹여 사용하였다.

[0153]

먼저, 혼합 추출물 또는 양성 대조군인 비타민 C를 96-웰 플레이트의 각각의 웰에 100 µl씩 넣었다. 여기에 DPPH 용액을 100 µl씩 첨가한 다음 상온에서 30분간 방치하고 마이크로플레이트 리더(BioTek EL-340)를 이용하여 517nm에서의 흡광도를 측정하였다.

[0154]

시료를 처리한 것의 흡광도가 대조군의 흡광도의 절반이 될 때의 추출물의 농도를 IC₅₀으로 표시한 결과를 하기 표 6에 나타내었다. 본 실험은 3회 반복하였다.

표 6

[0155]

시료	IC50(%w/v)
대조군	0.0025
양성대조군 (비타민 C) 농도	0.0005
실시예1 농도	0.0013
실시예2 농도	0.0012
실시예3 농도	0.0022
실시예4 농도	0.0029
실시예5 농도	0.0048
실시예6 농도	0.0031
실시예7 농도	0.0014
실시예8 농도	0.0042
실시예9 농도	0.0053
실시예10 농도	0.0023
실시예11 농도	0.0075
실시예12 농도	0.0008

- [0156] 상기 표 6과 같이, 혼합 추출물은 비타민 C와 비교할 때도 자유라디칼 소거능이 매우 강력하였으며, 이로써 항산화 효과가 우수함을 확인하였다.