



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2009년04월24일
(11) 등록번호 10-0894714
(24) 등록일자 2009년04월16일

(51) Int. Cl.

A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/02 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0114349

(22) 출원일자 2007년11월09일

심사청구일자 2007년11월09일

(56) 선행기술조사문헌

응용약물학회지, The journal of Applied Pharmacology, 9, 183-187, 2001*

대한해부학회지 제36권 제1호, 2003*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

인하대학교 산학협력단

인천 남구 용현동 253 인하대학교

(72) 발명자

김은기

서울특별시 강남구 대치동 316 은마아파트 8-212

김동만

서울 구로구 궁동 190-101호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이원희

전체 청구항 수 : 총 7 항

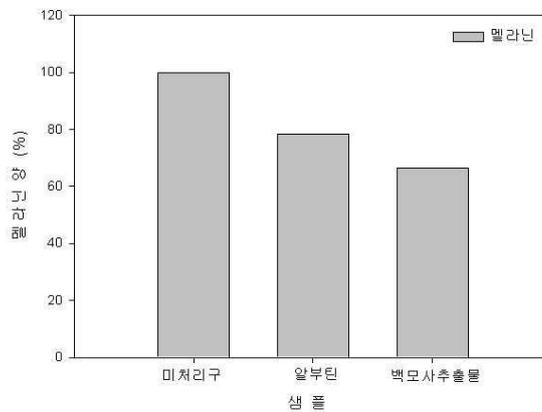
심사관 : 이동욱

(54) 피부 미백 및 항산화 활성을 가지는 백모사 추출물

(57) 요약

본 발명은 피부 미백 및 항산화 활성을 가지는 백모사(*Humata tyermanni Moore*)추출물에 관한 것으로서, 본 발명에 따른 백모사 추출물은 멜라닌 생성 세포에서의 멜라닌 생성을 저해하고, 항산화 활성을 가지며 세포 독성이 거의 나타나지 않기 때문에 피부 미백용 화장품 조성물 및 활성산소가 과량으로 축적되어 발생하는 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물뿐 아니라 피부 노화 방지 화장품으로도 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자
신정현
인천 중구 신흥동3가 7-206

라련화
인천 남구 용현4동 인하대학교 생명과공학부

특허청구의 범위

청구항 1

물, 알코올 또는 이들의 혼합물로 추출되며, 피부 미백 활성을 가지는 백모사(*Humata tyermanni Moore*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부미백용 화장품 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 알코올은 C₁ 내지 C₃의 저급 알코올인 것을 특징으로 하는 피부미백용 화장품 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 백모사 추출물은

- 1) 건조된 백모사 시료를 물, 알코올 또는 이들의 혼합물에 침지하여 온탕처리하는 단계;
- 2) 단계 1)을 통해 수득된 추출물을 냉각시키는 단계;
- 3) 단계 2)의 냉각시킨 추출물을 여과시키는 단계;
- 4) 단계 3)의 여과액에서 저급 알코올을 증발시키는 단계; 및
- 5) 단계 4)의 수득물을 농축하는 단계로 추출되는 것을 특징으로 하는 피부미백용 화장품 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 피부 미백 활성은 세포의 멜라닌 생성 저해에 의한 것임을 특징으로 하는 피부미백용 화장품 조성물.

청구항 5

물, 알코올 또는 이들의 혼합물로 추출되며, 항산화 활성을 가지는 백모사추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화제.

청구항 6

물, 알코올 또는 이들의 혼합물로 추출되며, 피부 미백 활성을 가지는 백모사(*Humata tyermanni Moore*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부미백용 약학적 조성물.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

물, 알코올 또는 이들의 혼합물로 추출되며, 항산화 활성을 가지는 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 노화 방지용 화장품.

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

<1> 본 발명은 피부 미백 및 항산화 활성을 가지는 백모사(*Humata tyermanni Moore*)추출물에 관한 것이다.

배경기술

- <2> 사람의 피부색을 결정하는 가장 중요한 색소는 멜라닌이며 피부 기저층에 있는 멜라노사이트(melanocyte)의 멜라노좀(melanosome)내에서 생성된다. 멜라닌의 복잡한 생합성과정은 아미노산의 일종인 티로신(tyrosine)으로부터 시작하는데 티로신이 티로시나아제(tyrosinase)라는 효소에 의해 도파퀴논(DOPAquinone)으로 전환되고, 도파퀴논으로부터 자동 산화 반응과 효소 반응으로 멜라닌이 생성된다. 멜라닌으로 차여있는 멜라노좀은 주위의 케라티노사이트(keratinocyte)로 이동되어 각질화를 통해 소실된다. 하지만 이 모든 과정이 이상이 생겼을 시 멜라닌 색소의 과잉생산이나 침착 등으로 인해 피부의 흑화나 흔히 보는 기미나 주근깨와 같은 피부질환을 일으킨다.
- <3> 멜라닌의 생성을 억제함에 있어서 여러 가지 접근방법이 있다. 예를 들면, 티로시나아제(tyrosinase) 생성 억제, 티로시나아제 활성 억제, 기존 멜라닌의 환원 및 광산화 억제 또는 멜라닌 배설 촉진 등이 있다. 티로시나아제 활성 억제제로서는 코지산(kojic acid), 알부틴(arbutin) 등과 그들의 유도체들이 개발되었으나 처방계층에서의 안정성이 나빠 분해되어 착색되거나, 이취의 발생, 생체 레벨에서의 효능, 효과의 불분명 및 안전성 문제 등으로 그 사용이 제한되고 있는 실정이다. 코지산은 티로시나아제의 활성 부위에 존재하는 구리 이온을 흡착시켜 효소활성을 저해하지만, 화장품에 배합 시 불안정성, 피부 부작용의 문제 및 최근 동물실험 결과 간암을 유발한다고 밝혀져 화장품 원료로 사용이 중지되었다. 또한, 알부틴은 하이드로퀴논에 글루코피라노사이드(Glucopyranoside)가 결합된 유도체로 하이드로퀴논 사용 시 나타나는 부작용이 적으면서 인체에 대한 독성은 없이 멜라닌 색소의 합성을 억제하는 작용이 있어, 멜라닌 색소 침착이 증가되는 피부 질환의 치료제로서의 이용 가능성이 제시되었으나, 피부 효소에 의해 일부 분해되는 단점이 있다. 활성산소를 제거하여 항산화 효과 및 미백 효과를 동시에 보는 물질들이 최근 들어 각광을 받고 있는데 여기에는 코엔자임, 비타민 E 및 녹차추출물 등이 있다.
- <4> 신규원료물질을 탐색함에 있어서 천연물에 대한 연구가 많이 진행되고 있는바 그 원인은 뛰어난 안전성과 여러 가지 활성성분 때문이다. 천연물을 함유하는 미백화장료를 예를 들면 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), 계피(일본공개특허 소 63-30403호, 평 5-139954호), 고삼(일본공개특허 소 64-26507호 및 대한민국 공개특허 제92-002110호),알로에(일본공개특허 소52-44375호, 평 2-207030호, 평 5-139950호) 등이 대표적이다. 그러나 이들 다수의 식물 추출물 및 생약제 추출물 등이 티로시나아제에 작용하여 멜라닌 생성을 억제한다는 사실이 밝혀졌으나, 이들 역시 안전성, 변색 가능성 등의 측면에서 화장품이나 의약품에 유효 농도 이상으로 사용하는 데는 많은 문제점을 갖고 있으며, 아직 뛰어난 효과를 나타내지도 못하고 있는 실정이다.
- <5> 각종 산화반응, 화학약품, 식품, 인체질환 및 방사선 등에 의해 슈퍼옥사이드(superoxide, O₂⁻), 하이드록실라디칼(hydroxyl radical, \cdot OH), 및 과산화수소(H₂O₂) 등과 같은 반응성이 큰 강한 활성산소와 유리 라디칼(free radical) 등이 생체 내에 생성되면 이들에 의해서 불포화 지방산이 다량 함유된 세포막의 지질이 산화되어 세포막에 지질 과산화물이 생성되게 된다. 세포막에 지질과산화물이 축적하면 세포막의 유동성과 기능이 저하됨으로 세포의 전체적인 기능이 억제되고 세포의 구조도 변화하는 등 조직상에 국소적인 장애가 생기면서 각종 질환이 유발되게 되는 것이다. 또한 활성산소와 유리라디칼은 세포 구성성분인 핵산, 당 등을 변형 또는 파괴함으로써 암을 비롯하여 알콜성 간염 등의 간장 질환, 뇌혈관 장애로 인한 뇌졸중, 심근경색, 당뇨병성 혈관장애, 고지혈증, 급성염증, 류마티스 질환 등 각종 인체 질환의 원인이 되고 있다. 또한 활성산소는 식품에 다량으로 존재하는 불포화 지방산 등과 반응하여 산패의 원인이 되어 식품의 안전성 및 고품질 유지에 결정적인 결함을 초래하기도 하며 각종 산화물에 의한 동식물의 산화적 스트레스, 미생물 발효시 발생하는 활성산소에 의한 수율 저하 등 많은 분야에서 활성산소에 의한 문제가 야기되고 있다.
- <6> 노화와 성인병 질환의 원인이 활성 산소종에 기인된 것이라는 학설이 인정됨에 따라 활성 산소종을 조절할 수 있는 물질로 알려진 항산화제의 개발 연구가 활발히 진행되어 슈퍼옥사이드 디스뮤타아제(superoxide dismutase), 퍼옥시다아제(peroxidase), 카탈라아제(catalase), 글루타치온 퍼옥시다아제(glutathione peroxidase) 등의 항산화 효소와 토코페롤(tocopherol), 아스코베이트(ascorbate), 카로테노이드(carotenoid), 글루타치온(glutathione) 등의 천연물 유래의 저분자 항산화 물질에 대한 많은 연구가 이루어지고 있으며 (Chang, S. S., *et al.*, *J. Food Sic.* 42:1102, 1977; Hammerschmidt, P. A. and Pratt, D. E., *J. Food Sic.* 43:556, 1964), 2,6-디-tert-부틸-4-히드록시 아니졸(2,6-di-tert-butyl-4-hydroxyanisole, BHA) 등의 합성 항산화제가 많이 개발되어 의약품과 식품 분야에서 이용되고 있다(Kitahara, K., *et al.*, *Chem Pharm. Bull.*

40:2208, 1992; Hatano, T., *Natural Medicines* 49:357, 1995; Masaki, H., *et al.*, *Biol. Pharm. Bull.* 18:162, 1995).

- <7> 그러나 합성 항산화제에 대한 소비자의 기피 성향과 합성 항산화제가 대량으로 투여된 동물 실험에서 발암성이 보고되고 있어(Branen, A. L., *JAOCs* 52:59, 1975) 합성 항산화제의 사용이 점점 제한되고 있다. 이로 인하여 효력이 탁월하고 보다 안전한 새로운 천연 항산화제의 개발이 절실히 요구된다.
- <8> 한편, 백모사는 부생초본으로서 넉줄고사리과(Davalliaceae)에 속하고 학명은 *Humata tyermanni Moore*이다. 키는 20 cm정도, 뿌리줄기는 길고 옆으로 뻗는다. 오래된 나무의 가지나 암석 위에서 자라고 주로 중국 동부, 남부와 서남부 지역에 분포되어 있다. 뿌리줄기 부위를 건조시킨 후 약으로 사용하는데 형태는 납작하고 길며 뱀처럼 구부러진 형태를 하고 길이는 15~30 cm, 직경은 0.5 cm정도이다. 어혈을 삭이고 혈액을 원활하게 하며 풍습을 제거하고 이뇨작용이 있다.
- <9> 이에 본 발명자들은 피부에 안전하고 변색 가능성이 적은 미백 화장품 조성물에 대하여 천연 약용 식물을 연구하던 중, 중국의 고산지대에서 자라는 식물인 백모사(*Humata tyermanni Moore*)에서 추출한 추출물이 멜라닌 생성 저해 및 항산화 작용이 있어, 피부 미백용 화장품 조성물 또는 항산화 조성물로 유용하게 사용될 수 있음을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하고자하는 과제

- <10> 본 발명의 목적은 피부 미백 및 항산화 활성을 가지는 백모사 추출물(*Humata tyermanni Moore*)을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

- <11> 상기의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 미백 활성과 항산화 활성을 갖는 백모사 추출물(*Humata tyermanni Moore*)을 제공한다.
- <12> 또한, 본 발명은 상기 백모사 추출물을 함유하는 미백용 화장품 조성물을 제공한다.
- <13> 또한, 본 발명은 상기 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화제를 제공한다.
- <14> 또한, 본 발명은 상기 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 활성산소가 과량으로 축적되어 발병되는 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- <15> 또한, 본 발명은 상기 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 노화 방지용 약학적 조성물을 제공한다.
- <16> 아울러, 본 발명은 상기 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 노화 방지용 화장품을 제공한다.
- <17> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- <18> 본 발명에 따른 백모사 추출물은 다음과 같이 제조될 수 있다.
- <19> 백모사를 물로 깨끗이 세척한 후, 그늘에서 건조한다. 건조한 백모사를 추출 용기에 넣고, 물, 알코올 또는 이들의 혼합물로 적절한 온도에서 일정 시간 추출한다. 추출물은 여과되고, 농축될 수 있다.
- <20> 상기 추출 용매로는 물, C₁ 내지 C₃의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매로부터 선택된 용매를 사용하는 것이 바람직하며, 메탄올을 사용하는 것이 더욱 바람직하다.
- <21> 상기 추출 용매의 양은 생약 건조 중량의 2 내지 10 배로, 바람직하게는 4배로 한다.
- <22> 상기 추출 방법은 열 추출, 환류 냉각 추출 및 초음파 추출 등의 추출 방법을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 열 추출의 추출방법으로 1회 내지 5회 추출될 수 있다.
- <23> 상기 침적 온도는 30 ℃ 내지 70 ℃ 이며, 보다 바람직하게는 40 ℃ 내지 60℃이며, 가장 바람직하게는 40 ℃ 정도로 유지하는 것이 부패, 변색 및 변취의 예방에 가장 효과적이다.
- <24> 상기 침적 시간은 5 내지 20 시간이며, 바람직하게는 10 시간이다.
- <25> 상기 백모사 추출물을 수득한 후, 거름종이 등을 이용하여 고형분을 제거하고, 현탁액을 원심분리시키고, 상층

액을 감압 여과할 수 있다.

- <26> 상기 여과된 추출물은 질소를 이용하여 추출물내 메탄올을 제거함으로써 농축한다.
- <27> 본 발명에 의한 백모사 추출물은 B16F10 멜라노마 세포에서 일반적인 미백물질로 알려진 알부틴보다 뛰어난 멜라닌 생성을 저해하여(도 1 및 표 1 참조) 미백 효과가 있다. 또한, B16F10 멜라노마 세포에 200 µg/ml의 높은 농도로 처리하여도 세포 독성이 없으며(도 2 및 표 2 참조) 자유 라디칼을 소거하는 항산화 활성을 보였다(도 3 및 표 3 참조). 항산화 활성은 비타민C보다 뛰어나지는 않아도 추출시 오랫동안 상온에 방치해도 효과가 있는 것으로 보아 안정하다는 것을 알 수 있다.
- <28> 또한, 본 발명은 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 화장품 조성물을 제공한다.
- <29> 본 발명의 백모사 추출물은 상기와 같이 과다한 멜라닌 생성을 억제하는 미백용 화장품 조성물로 효과적으로 사용될 수 있다. 또한, 항산화 화장품 조성물로 효과적으로 사용될 수 있다.
- <30> 본 발명의 조성물에서 상기 백모사 추출물은 조성물 총 중량에 대하여 0.005 내지 50 (중량 %) 함유되는 것이 바람직하지만, 미백 효과가 있고 독성이 나타나지 않는 범위에서 사용 용도에 따라서 상기 범위 이상 또는 이하로도 사용될 수 있다.
- <31> 본 발명의 조성물은 상기 백모사 추출물에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- <32> 본 발명의 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물로 제조되는 화장품은 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조할 수 있다. 유화 제형의 화장품으로는 영양화장수, 크림, 에센스 등이 있으며, 가용화 제형의 화장품으로는 유연화장수가 있다. 또한, 본 발명의 백모사 추출물을 함유하는 화장품 이외에도 피부 과학적으로 허용 가능한 매질 또는 기제를 함유함으로써 피부과학 분야에서 통상적으로 사용되는 국소 적용 또는 전신 적용할 수 있는 보조제 형태로 제조될 수 있다.
- <33> 적합한 화장품의 제형으로는 예를 들면, 용액, 겔, 고체 또는 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 마이크로에멀전, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는 이온형(리포솜), 비이온형의 소낭 분산제의 형태, 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실 스틱(conceal stick)의 형태로 제공될 수 있다. 또한, 포말(foam)의 형태 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로도 제조될 수 있다.
- <34> 또한, 본 발명의 화장품 조성물은 백모사 추출물에 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온 봉쇄제 및 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 화장품에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 화장품학 또는 피부과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 그리고 상기의 성분들은 피부과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.
- <35> 본 발명의 화장품 조성물의 구체적인 제형으로는 스킨로션, 스킨 소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 마사지크림, 영양크림, 모이스처 크림, 핸드크림, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 샴푸, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션, 바디클렌저, 유액, 프레스파우더, 루스파우더, 아이새드 등의 제형을 포함한다.
- <36> 또한, 본 발명은 상기 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화제를 제공한다.
- <37> 본 발명의 백모사 추출물은 비타민 C보다 항산화 활성이 뛰어나지는 않지만(도 3 및 표 3 참조) 안정성이 높아 오랜 시간이 지나도 항산화 활성이 유지됨으로 생체 내에서 유해한 라디칼을 효과적으로 제거할 수 있다.
- <38> 또한, 본 발명은 상기 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 활성산소가 과량으로 축적되어 발병되는 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- <39> 또한, 본 발명은 상기 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 노화방지용 약학적 조성물을 제공한다.
- <40> 본 발명의 백모사 추출물은 항산화 활성을 보임으로 효과적인 활성산소가 과량으로 축적되어 발병되는 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물 또는 노화방지용 약학적 조성물로 유용하게 사용할 수 있다.
- <41> 본 발명의 조성물은 통상적으로 사용되는 부형제, 봉해제, 감미제, 활택제, 향미제 등을 추가로 포함할 수 있으며, 통상적인 방법에 의해 정제, 캡셀제, 산제, 과립제, 현탁제, 유제, 시럽제, 기타 액제로 제형화될 수 있다.

- <42> 구체적으로 본 발명의 조성물은 경구 투여용 제형, 예를 들면 정제, 트로치제(troches), 로젠지(lozenge), 수용성 또는 우성현탁액, 조제분말 또는 과립, 에멀전, 하드 또는 소프트 캡슐, 시럽 또는 엘릭시르제(elixirs)로 제제화된다. 정제 및 캡슐 등의 제형으로 제제하기 위해 락토오스, 사카로오스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아밀로펙틴, 셀룰로오스 또는 젤라틴과 같은 결합제, 디칼슘 포스페이트와 같은 부형제, 옥수수 전분 또는 고구마 전분과 같은 붕해제, 스테아르산 마그네슘, 스테아르산 칼슘, 스테아릴푸마르산 나트륨 또는 폴리에틸렌글리콜 왁스와 같은 윤활유가 함유된다. 캡슐제형의 경우는 상기에서 언급한 물질 이외에도 지방유와 같은 액체 담체를 함유한다.
- <43> 또한, 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여시 피하주사, 정맥주사, 근육내 주사 또는 흉부내 주사 주입방식을 선택하는 것이 바람직하다. 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위해서는 본 발명의 백모사 추출물을 안정제 또는 완충제와 함께 물에서 혼합하여 현탁액으로 제조하고 이를 앰플 또는 바이알의 단위 투여형으로 제제한다.
- <44> 본 발명에 따른 유효성분의 투여량은 체내에서 활성성분의 흡수도, 불활성화율 및 배설속도, 환자의 연령, 성별 및 상태, 치료할 질병의 중증 정도에 따라 적절히 선택되나, 경구 투여제의 경우 일반적으로 성인에게 1일에 체중 1 kg당 본 발명의 백모사 추출물을 0.1 ~ 0.2 g의 양으로 1회 내지 수회 나누어 투여할 수 있으며, 0.1 ~ 10 mg의 양으로 투여하는 것이 바람직하다.
- <45> 본 발명의 조성물은 활성산소가 과량으로 축적되어 발생하는 질환의 예방 및 치료뿐만 아니라 노화방지를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- <46> 아울러, 본 발명은 상기 백모사 추출물을 포함하는 피부 노화 방지용 화장품을 제공한다.
- <47> 본 발명의 피부 노화 방지용 화장품으로는 로션, 연고, 겔, 크림, 패치 또는 분무제 등이 있으나 여기에 국한되는 것은 아니다. 본 발명의 상기 백모사 추출물을 함유하는 피부 노화 방지용 화장품을 제조함에 있어서, 통상적으로 함유되는 피부 외용제 조성물에 본 발명의 백모사 추출물이 1 내지 15 중량부, 바람직하게는 2 또는 10 중량부로 첨가할 수 있다. 본 발명의 피부용 외형제에는 본 발명의 백모사 추출물에 추가로 지방 물질, 유기용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온 봉쇄제 및 킬레이트화제, 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.

효 과

- <48> 이상에서 살펴본 바와 같이, 본 발명의 백모사 추출물은 물, C₁ 내지 C₃의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매로부터 선택된 용매를 이용하여 추출하며, B16 멜라노마 세포에 의한 멜라닌 생성을 저해하며, 세포 독성이 거의 없고, 항산화 활성이 있으므로, 피부 미백용 화장료 조성물 및 활성산소가 과량으로 축적되어 발생하는 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물뿐 아니라 피부 노화 방지 화장품으로도 유용하게 이용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- <49> 이하, 본 발명을 실시예, 실험예 및 제제예에 의해 상세히 설명한다.
- <50> 단, 하기 실시예, 실험예 및 제제예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예, 실험예 및 제제예에 의해 한정되는 것은 아니다.
- <51> <실시예 1> 피부 미백용 백모사 추출물의 제조
- <52> 본 실시예의 백모사(*Humata tyermanni Moore*)는 중국운남의 고산지방에서 채취한 것을 사용하였다. 채취한 샘플 100 g을 99.5% 메탄올 1 L에 담겨 40℃ 수욕조에서 10시간 동안 온탕해서 추출하는데 3번 반복한다. 얻어진 추출액을 냉각시키기 전에 거름종이(와트만 4번)로 여과하였다. 여과된 추출액은 회전진공농축기(EYELA)를 사용하여 농축하고 남은 메탄올은 질소가스로 제거하여 백모사 추출물을 약 10 g 얻었다.
- <53> <실험예 1> 미백 효과 측정

<54> <1-1> B16F10 멜라노마 세포배양

<55> B16F10세포는 멜라닌을 생성하는 세포주로서 ATCC(American Type Culture Collection)에서 분양하였다. 상기 세포를 배양하기 위한 배지는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)에 10% FBS(fetal bovine serum), 1% 페니실린-스트렙토마이신을 첨가하여 사용하였다. 세포를 37℃, 5% CO₂의 인큐베이터(incubator)에서 3일 배양하여 100 πdish가 90% 정도 찻을 때 계대하였다.

<56> <1-2> 흡광도 측정을 이용한 멜라닌 생성 저해 측정

<57> 미백효과를 알아보기 위하여 200 μg/ml의 백모사 추출물을 B16F10세포에 처리하여 생성된 멜라닌양의 변화를 측정하였다. 6웰 플레이트에 세포를 0.3×10⁵ cells/ml 농도로 접종(seeding)하고 24시간 배양한 후 실시예 1의 백모사 추출물 또는 알부틴을 처리하였으며 48시간 배양한 후 세포를 회수한다. 회수한 세포를 10% DMSO(Dimethylsulfoxide)를 포함하는 1N NaOH를 가해 80 ℃에서 1시간 끓인 다음 ELISA를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 멜라닌 생성도는 하기 수학적 식 1을 이용하여 계산하였으며, 실험결과는 표 1과 도 1에 나타내었다.

수학적 식 1

<58> 멜라닌 생성도(%) = 처리구 흡광도/무처리구 흡광도 × 100

표 1

<59> 시료명	무처리구	알부틴	백모사 추출물
멜라닌 생성도(%)	100	78.3	66.5

<60> 표 1에서 나타난 바와 같이, 일반적인 미백물질로 알려진 알부틴의 경우 농도가 200 μg/ml에서 멜라닌 양이 78.3%인 것에 비해 백모사 추출물은 66.5%를 나타내어 보다 뛰어난 멜라닌 생성 저해 효과를 가짐을 확인할 수 있다.

<61> <실험예 2> 독성실험

<62> 백모사 추출물을 미백 화장품 조성물로 사용할 수 있는지 여부를 판단하기 위하여, 세포 독성 실험을 실시하였다. 96웰 플레이트에 세포를 12.5×10³ cells/ml 농도로 접종하고 24시간 배양 후 200 μg/ml의 백모사 추출물을 처리하였으며 48시간 배양한 후 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 용액을 100 μl/웰 처리하였다. MTT용액은 5 mg MTT분말을 1 ml PBS (phosphate buffered saline)에 녹인 후 DMEM 배지로 10배 희석하여 사용하였다. MTT용액을 처리한 세포는 계속하여 4시간 배양한 후 배지를 제거하고 DMSO(dimethyl sulfoxide) 100 μl/웰 넣은 다음 ELISA로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존율은 하기 수학적 식 2를 이용하여 계산하였으며, 결과는 도 2 및 표 2에 나타내었다.

수학적 식 2

<63> 세포생존율(%) = (처리구 흡광도/무처리구 흡광도) × 100

표 2

<64> 시료명	무처리구	알부틴	백모사 추출물
세포생존율(%)	100	109.3	107.8

<65> 표 2에서 나타난 바와 같이, 무처리구를 100%로 했을 때 백모사 추출물은 200 μg/ml인 고농도임에도 불구하고 세포 생존율은 107.8%로 세포 수가 오히려 증가하는 것으로 보아 세포 독성이 없다는 것을 알 수 있다.

<66> <실험예 3> 항산화 활성 실험

<67> 백모사 추출물의 항산화 활성을 확인하기 위하여 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 어세이를 사용하였다. 96웰 플레이트에 에탄올 1.2 mg/ml로 녹인 DPPH를 10배 희석하여 각 웰에 100 μl를 넣고 200 μg/ml의 백모사 추출물을 넣어서 37℃ 인큐베이터에서 30분 반응시킨 후 ELISA로 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 컨트롤

(control)은 샘플 미처리하지 않은 것과 비타민 C를 사용하였다(Si Eun Lee, Eun Mi Ju, Jeong Hee kim. 2001. free radical scavenging and antioxidant enzyme fortifying activities of extracts from Smilax china root. Exp Mol Med.33(4):263-8). 항산화 활성은 하기 수학적 식 3을 이용하여 계산하였으며, 실험결과는 도 3 및 표 3에 나타내었다.

수학적 식 3

<68> 항산화 활성(%) = (1-처리구 흡광도/무처리구 흡광도) × 100

표 3

<69>

시료명	비타민	백모사 추출물
항산화 활성(%)	60.8	31.1

<70> 표 3에 나타난 바와 같이, 백모사 추출물(200 μg/ml에서 31.1%)이 항산화 활성을 보였다.

<71> 하기에 본 발명의 조성물을 위한 제제예를 예시한다.

<72> <제제예 1> 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 미백 화장료의 제조

<73> <1-1> 유연 화장수의 제조

<74> 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 유연 화장수의 제제예는 다음 표 4와 같이 제조하였다.

표 4

<75>

원료	함량(중량부)
백모사 추출물	10.00
1,3-부틸렌글리콜	1.00
디소듐이디티에이	0.05
알란토인	0.10
디포타슘글리시리레이트	0.05
시트릭에씨드	0.01
소듐시트레이트	0.02
글리세레스-26	1.00
알부틴	2.00
하이드로제네이티드캐스터오일	1.00
에탄올	30.00
보존제	미량
착색제	미량
착향제	미량
정제수	잔량

<76> <1-2> 영양 크림의 제조

<77> 백모사 추출물을 함유한 영양크림의 제제예는 다음 표 5의 조성과 같이 제조하였다.

표 5

<78>

원료	함량(중량부)
백모사 추출물	10.0
1,3-부틸렌 글리콜	7.0
글리세린	1.0
D-판테놀	0.1
식물 추출물	3.2
마그네슘알루미늄실리케이트	0.3

PEG-40 스테아레이트	1.2
스테아릭애씨드	2.0
폴리소르베이트 60	1.5
친유형글리세릴스테아레이트	2.0
소르비탄세스퀴올리에이트	1.5
세테아릴알코올	3.0
미네랄오일	4.0
스쿠알란	3.8
카르틸릭/카프릭트리글리세라이드	2.8
식물성 오일	1.8
디메치콘	0.4
디포타슘글리시리제이트	미량
알란토인	미량
소듐 히아루로네이트	미량
토코페릴아세테이트	적량
트리에탄올아민	적량
보존제	적량
착향제	적량
정제수	잔량

<79> <제제예 2> 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 노화 억제제의 제조

<80> <2-1> 시럽제의 제조

<81> 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 시럽제는 다음 표 6의 조성과 같이 제조하였다.

표 6

<82>

구성성분	함량(중량부)
백모사 추출물	2
사카린	0.8
당	25.4
글리세린	8
향미료	0.04
에탄올	4
소르브산	0.4
증류수	60

<83> <2-2> 정제의 제조

<84> 백모사 추출물을 유효성분으로 함유하는 정제는 표 7의 조성과 같이 제조하였다.

표 7

<85>

구성성분	함량(중량부)
백모사 추출물	250
락토오스	175.9
감자전분	180
콜롱드성 규산	32
10% 젤라틴 용액	5
감자전분	160
활석	50
스테아르산 마그네슘	5

<86> 백모사 추출물 250 중량부, 락토오스 175.9 중량부, 감자전분 180 중량부 및 콜로이드성 규산 32 중량부와 혼합하였다. 상기 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄하여 14 매쉬체를 통과시켰다. 이것을 건조하고 여기에 감자전분 160 중량부, 활석 50 중량부 및 스테아린산 마그네슘 5 중량부를 첨가하여 얻은 혼합물을 정제로 제조하였다.

도면의 간단한 설명

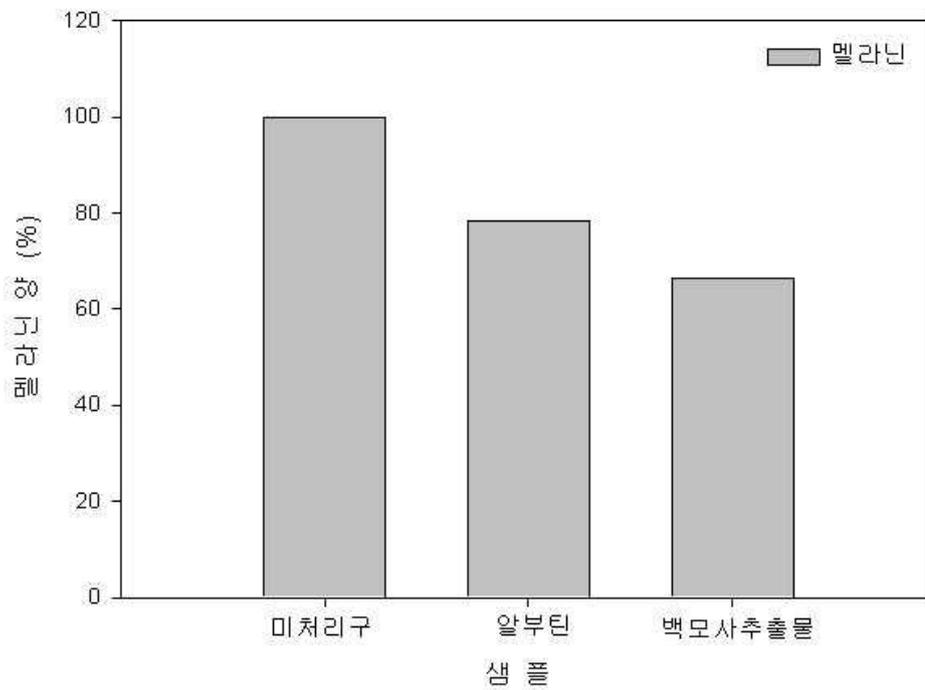
<87> 도 1은 백모사 추출물 처리시 멜라닌 생성도를 나타낸 그래프이고,

<88> 도 2는 백모사 추출물 처리시 세포 생존율을 나타낸 그래프이고,

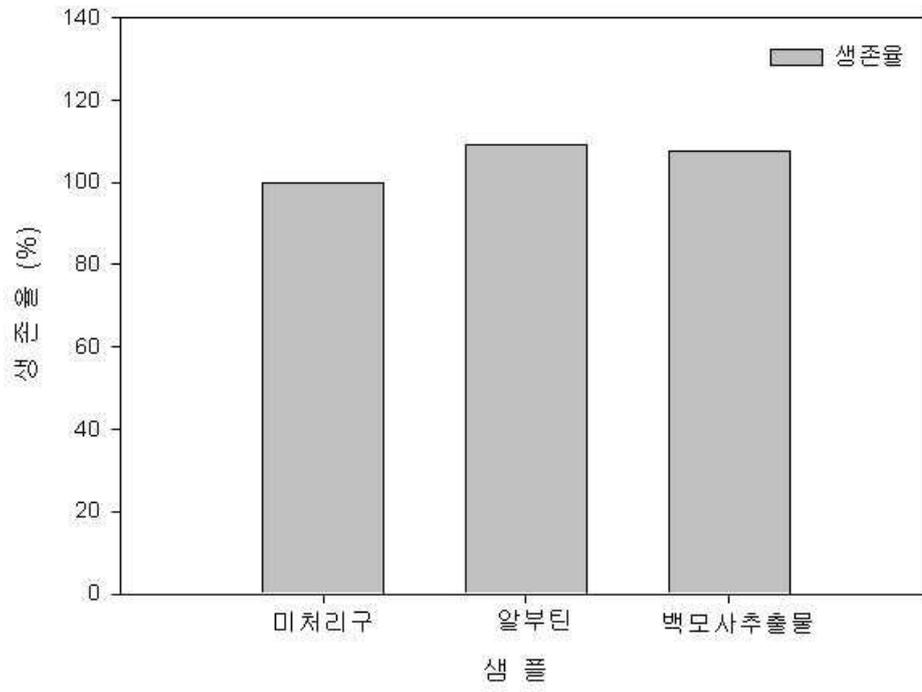
<89> 도 3은 백모사 추출물의 항산화 활성을 나타낸 그래프이다.

도면

도면1



도면2



도면3

