



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년11월06일
 (11) 등록번호 10-1915655
 (24) 등록일자 2018년10월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 A61K 8/97 (2017.01) A61Q 19/00 (2006.01)
 A61Q 19/08 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2011-0109655
 (22) 출원일자 2011년10월26일
 심사청구일자 2016년10월06일
 (65) 공개번호 10-2013-0045451
 (43) 공개일자 2013년05월06일
 (56) 선행기술조사문헌
 W02011012737 A1*
 What Is Dragon' s Blood, [Online],
 2009.06.01., 인터넷*
 JP11139952 A
 US20050220723 A1
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
(주)아모레퍼시픽
 서울특별시 용산구 한강대로 100(한강로2가)
 (72) 발명자
김유정
 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)
강승현
 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
윤동열

전체 청구항 수 : 총 4 항

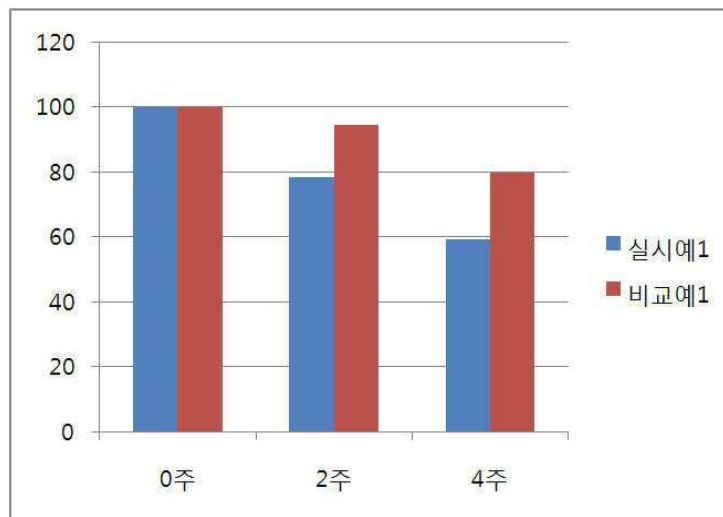
심사관 : 문동현

(54) 발명의 명칭 **드래곤블러드수지 추출물을 함유하는 화장료 조성물**

(57) 요약

본 발명은 드래곤블러드수지 추출물을 함유하는 화장료 조성물에 관한 것으로서, 본 발명의 화장료 조성물은 각질 형성 세포의 성장 촉진 효과, 자외선에 의해 생성되는 활성 산소 소거 효과가 우수할 뿐만 아니라, 피부 기질 분해에 관련된 자외선에 의한 MMP-1의 생합성을 감소시켜 타입 1 프로콜라겐의 생합성을 촉진시키고 생성된 멜라닌 배출을 촉진시켜 우수한 피부 노화 방지 및 보습 효과를 제공하며, 또한, 항균, 항염 효과가 우수하여 여드름 증상을 개선시킬 수 있으며, 모공을 축소시키고 피지를 감소시키며 각질의 턴오버가 원활하게 이루어질 수 있게 하여 피부결을 정돈하는데에도 효과적이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자
채병근
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)

한상훈
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)

명세서

청구범위

청구항 1

드래곤블러드수지 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 화장품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 드래곤블러드수지 추출물은 화장품 조성물 총 중량에 대하여 0.0001 내지 20중량%의 양으로 함유되는 피부 미백용 화장품 조성물.

청구항 3

드래곤블러드수지 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 보습력 증진용 화장품 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 드래곤블러드수지 추출물은 화장품 조성물 총 중량에 대하여 0.0001 내지 20중량%의 양으로 함유되는 피부 보습력 증진용 화장품 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 드래곤블러드수지 추출물을 유효성분으로 함유하여 전반적인 피부 상태를 개선시킬 수 있는 화장품 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 피부는 인체를 외부의 물리적, 화학적인 자극으로부터 보호하며, 크게 표피, 진피, 피하지방 조직의 3개 층으로 구분된다. 특히 피부는 인체가 갖고 있는 약 65~70%의 수분을 함유하는데, 이는 인체에 필요한 각종 생리 활성 물질을 운반하고 피부가 촉촉한 상태를 유지할 수 있도록 도와준다. 또한 피부는 이러한 수분이 체외로 증발되는 것을 조절해 주는 중요한 역할을 한다.

[0003] 표피는 외부로부터 각질층, 과립층, 유극층, 기저층으로 구분된다. 표피의 각질층은 약 10~20%의 수분을 함유하며 인체의 최외각에 존재함으로써, 피지선에서 나온 피지와 땀샘에서 나온 땀으로 만들어진 천연 보호막을 형성하여 체외로의 수분 증발을 막아주는 동시에 외부로부터의 물질 과잉 침투를 차단한다. 이러한 각질층을 구성하고 있는 세포에는 수용성 성분인 고농도의 자연보습인자(Natural Moisturizing Factor, NMF)가 존재하여 피부가 유연성을 나타내도록 작용함은 물론 적절한 수분을 유지할 수 있도록 돕는다. 그러나 자외선, 외부로부터 받는 과도한 물리적, 화학적 자극 및 스트레스, 영양결핍 등은 피부의 정상기능을 저하시키고 탄력손실, 각질화, 주름 생성 등의 피부 노화현상을 촉진시키게 된다. 특히, 각질세포가 차례차례로 계속해서 만들어지고 최외층의 오래된 각질세포가 때때로 이탈해가므로 표피가 일정한 두께를 유지하게 되는 각화과정이 순조롭지 못하면 비정상적인 각질세포가 생성되고 피부 표면에 쌓여 각질층이 두꺼워지게 되어 피부가 거칠어지고 칙칙해지며, 미세한 잔주름이 생기게 되고 결국 피부 노화가 진행되게 된다. 또한, 자외선에 의해 생성되는 활성산소 및 피부 기

질의 분해에 관련한 자외선에 의한 MMP-1의 생합성을 통한 타입 1 프로콜라겐의 생합성 감소, 피부 진피층에 존재하는 섬유아세포의 분열 능력 저하도 피부 노화와 관련이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) 미국특허출원 제2002-494567호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 이에, 본 발명자들은 천연 유래의 물질 중에서 피부 부작용을 유발하지 않으면서 피부 상태 개선 효과를 가지는 원료를 찾기 위해 노력한 결과, 드래곤블러드수지 추출물이 전반적인 피부 상태 개선에 매우 효과적임을 발견하고 본 발명을 완성하였다.

[0006] 따라서, 본 발명의 목적은 피부 보습, 탄력 개선, 노화 방지, 미백 효과를 비롯하여 항균, 항염 효과에 의한 여드름 개선, 모공 축소, 피지 감소, 여드름 개선, 각질 정돈 효과 등 전반적으로 피부 상태 개선에 효과적인 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기한 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 드래곤블러드수지 추출물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0008] 본 발명의 화장료 조성물은 드래곤블러드수지 추출물을 유효성분으로 함유하여 각질 형성 세포의 성장 촉진 효과, 자외선에 의해 생성되는 활성 산소 소거 효과, 피부 기질 분해에 관련된 자외선에 의한 MMP-1의 생합성을 감소시켜 타입 1 프로콜라겐의 생합성을 촉진시키는 효과, 생성된 멜라닌 배출 촉진을 통한 미백 효과가 우수하므로, 항노화용 및 피부 보습 증진용 화장료 조성물로서 유용하게 이용할 수 있다. 또한, 항균, 항염 효과가 우수하여 여드름 증상을 개선시킬 수 있으며, 모공을 축소시키고 피지를 감소시키며 각질의 턴오버가 원활하게 이루어질 수 있게 하여 피부결을 정돈하는데에도 효과적이다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1은 본 발명에 따른 조성물의 보습력을 경피수분손실(TEWL) 측정 방법으로 측정한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 2는 본 발명에 따른 조성물에 의한 피부 수분량을 코니오미터로 측정한 결과를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010] 본 발명은 드래곤블러드수지 추출물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물을 제공한다.

[0011] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

[0012] 본 발명에 사용하는 드래곤블러드(Croton Lechleri)는 페루가 원산지인 10~20m의 거목으로 아마존 상류 남아메리카 지역에 서식한다. 수지(resin)의 붉은 색상으로 인해 드래곤블러드(Dragon's Blood)라는 이름이 붙여진 이 나무의 수지는 고대로부터 전통적인 치료제로 사용되어 왔다.

[0013] 드래곤블러드(Croton Lechleri) 추출물은 유효 성분으로 프로안토시아니딘(Proanthocyanidin)과 타스핀(Taspine) 등을 함유하고 있다. 프로안토시아니딘은 플라보노이드의 일종으로 떫은 맛을 내고 채소, 과일, 와인 등에서 색상을 내는 성분이며, 항암 효과가 있고 심혈관계 질환 예방에 효과적인 것으로 알려져 있다. 타스핀은

질소를 함유하는 유기화합물로 상처 치유 등 피부에 좋은 효과를 준다고 알려져 있다.

- [0014] 본 발명에서 사용되는 드래곤블러드수지 추출물은 조성물 총 중량에 대하여 0.0001~20.0중량%로 함유되는 것이 바람직하다. 그 함량이 0.0001중량% 미만일 경우에는 그 효과가 미미하고, 20.0중량%를 초과하는 경우에는 제품의 사용감 및 제형의 안정도 문제가 발생하기 때문이다.
- [0015] 본 발명에서 사용되는 드래곤블러드수지 추출물은 당업계의 통상적인 제조 방법에 의해 제조될 수 있으며, 그 제조 방법은 특별히 한정되지 않는다. 예를 들면, 드래곤블러드수지를 물 또는 유기 용매에 침출하고, 정제, 분리하는 일반적인 방법으로 얻을 수 있다. 이때, 사용되는 유기 용매는 특별히 제한되는 것은 아니며, C₁ 내지 C₅의 저급 알코올, 에테르, 에틸아세테이트 또는 클로로포름일 수 있다. 상기 C₁ 내지 C₅의 저급 알코올은, 예를 들어, 메탄올, 에탄올, 이소프로필알코올, n-프로필알코올, n-부탄올 및 이소부탄올로 이루어진 군에서 선택된 1종 또는 2종 이상의 혼합 용매일 수 있다.
- [0016] 본 발명에 의한 화장료 조성물은 우수한 각질 형성 세포의 성장 촉진 효과, 자외선에 의해 생성되는 활성 산소 소거 효과, 피부 기질 분해에 관련된 자외선에 의한 MMP-1의 생합성 감소를 통한 타입 1 프로콜라겐 생합성 촉진 효과 및 티로시나아제 활성 억제 효과가 뛰어나 우수한 피부 노화 방지 및 보습 효과를 나타낸다. 그러므로, 본 발명의 조성물은 각질 형성세포 성장 촉진용 조성물, 피부 항산화 증진용 조성물, MMP-1의 생합성 감소를 통한 타입 1 프로콜라겐 생합성 촉진용 조성물, 피부 미백 증진용 조성물, 피부 노화 방지용 조성물 및 피부 보습 증진용 조성물로서 화장품에 유용하게 이용할 수 있다.
- [0017] 또한, 본 발명에 의한 화장료 조성물은 항염 및 항균 효과가 우수하며, 따라서 여드름 개선에도 효과적이다. 또한, 모공을 축소시키고 피지를 감소시키며 각질의 턴오버가 원활하게 이루어질 수 있게 하여 피부결을 정돈하는 데에도 유용하게 이용할 수 있다.
- [0018] 본 발명에 의한 화장료 조성물은 상기한 물질 이외에 본 발명이 목적으로 하는 주 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 바람직하게는 주 효과에 상승 효과를 줄 수 있는 다른 성분들을 함유하는 것도 무방하며, 본 발명의 유효성분 이외에 다른 성분을 기타 화장료의 제형 또는 사용 목적에 따라 당업자가 어려움 없이 적의 선정하여 배합할 수 있다.
- [0019] 예컨대, 상기 화장료 조성물은 그 효과를 증가시키기 위하여 피부 흡수 촉진 물질을 함유할 수 있다. 또한, 본 발명의 화장료 조성물은 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스펅고 지질 및 해초 엑기스로 이루어진 군에서 선택된 물질을 포함할 수 있다. 뿐만 아니라, 본 발명의 화장료 조성물은 상기 필수 성분과 더불어 필요에 따라 통상 화장료에 배합되는 다른 성분을 포함할 수 있고, 이의 예로서 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있다.
- [0020] 본 발명의 화장료 조성물에 포함될 수 있는 기타 배합 성분은 이에 한정되는 것은 아니고, 또한 상기 성분의 배합량은 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 가능하다.
- [0021] 본 발명에 의한 화장료 조성물은 그 제형에 있어서 특별히 한정되지 않고, 예를 들어 유연화장수, 수렴화장수, 영양화장수, 영양크림, 마사지크림, 아이크림, 아이에센스, 에센스, 클렌징크림, 클렌징로션, 클렌징폼, 클렌징 워터, 팩, 파우더, 메이크업 베이스, 파운데이션, 립스틱, 바디로션, 바디크림, 바디오일, 바디에센스, 바디 세정제, 미용액, 비누, 유액, 로션, 연고, 젤, 크림, 패취 또는 분무제 등과 같은 제형을 들 수 있다.
- [0022] 이하, 실시예 및 시험예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하지만, 본 발명이 이들 예로만 한정되는 것은 아니다.
- [0023] [시험예 1] 각질형성세포 성장촉진 효과 - MTT 분석
- [0024] 드래곤블러드수지 추출물이 각질형성세포의 성장능에 미치는 효과를 MTT 방법으로 측정하였다. 각질형성세포의 성장능에 미치는 효과를 비교하기 위해 각질형성세포 성장촉진 효과가 널리 알려진 병풀추출물(Centella asiatica Extract)에 대해서도 함께 각질형성세포의 성장능을 측정하여 비교하였다.

[0025] 드래곤블러드수지 추출물은 나투렉스(NATUREX, 미국)에서 구입하고, 병풀추출물은 바이오랜드(Bioland, 대한민국)에서 구입하여 사용하였다.

[0026] 먼저, 각질형성세포를 96 웰 플레이트(well plate)에 웰 당 200 μ l 당 5×10^3 개 농도로 심어서 24시간 배양한 후, 드래곤블러드수지 추출물과 병풀추출물을 각각 0.001, 0.01 및 0.1%로 처리하여 48시간 동안 배양한 다음, 배양액을 흡입하여 제거한 후, PBS로 1회 세척하고 MTT(Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, Sigma, USA) 0.5mg/ml 용액을 100 μ l 씩 세포에 첨가한 다음, 4시간 동안 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂에서 배양하였다. 그 후, 배양액을 흡입하여 제거한 다음 DMSO(dimethyl sulfoxide) 용액 200 μ l를 첨가하고, 셰이커(shaker)에서 10분간 흔들어진 후 ELISA 리더(reader)(DIbiotech, Korea)로 540nm에서의 흡광도를 판독하였다. 이 때, 대조군으로는 드래곤블러드수지 추출물과 병풀추출물의 무처리군을 사용하였고, 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

[0027]

	농도(%)	흡광도
드래곤블러드수지 추출물	0.001%	153
	0.01%	163
	0.1%	170
병풀추출물	0.001%	142
	0.01%	148
	0.1%	154
무처리대조군	0%	100

[0028] 상기 표 1에 나타난 바와 같이, 본 발명에서 유효성분으로 사용되는 드래곤블러드수지 추출물은 각질형성세포 성장을 촉진하는 효과가 우수함을 알 수 있다. 또한, 각질형성세포 성장을 촉진하는 효과가 우수한 병풀추출물과 비교하였을 때에 동등 이상으로 각질형성세포 성장이 더욱 빠르게 진행되었으며, 성분 농도가 높아질수록 각질형성세포의 분열을 촉진하는 효과도 비례하여 증가하였다.

[0029] [시험예 2] 활성산소 소거효과

[0030] 드래곤블러드수지 추출물의 자외선에 의해 생성되는 활성산소 생성 억제 효과 즉, 활성산소의 소거 효과를 알아보기 위해 형광물질을 이용하여 하기와 같이 실험을 수행하였다. 활성산소 소거 효과의 비교를 위해 활성산소 생성 억제 효과가 널리 알려진 블루베리추출물(Vaccinium Angustifolium (Blueberry) Fruit Extract)을 함께 실험하여 비교하였다.

[0031] 이 실험에 사용된 블루베리추출물은 바이오랜드(Bioland, 대한민국)에서 구입하여 사용하였다.

[0032] 먼저, 실험에 사용한 세포주는 독일 암연구센터의 뤼세니그 박사(Dr. Fusenig)로부터 분양 받은 인간 각질세포 HaCaT 세포주(Human keratinocytes HaCaT cell line)로서 이를 형광측정용 96웰 블랙 플레이트(well black plate)에 웰당 2.0×10^4 개로 분주하고, 페니실린/스트렙토마이신(penicillin/streptomycin)이 첨가된 DMEM(Dulbeccos Modification of Eagles Medium, FBS 10%, Gibco, USA) 배지를 사용하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 조건에서 1일간 배양한 후, 드래곤블러드수지 추출물 또는 블루베리추출물을 각각 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125%의 농도로 처리하였다.

[0033] 다음, 시험시료를 넣고 24시간 배양한 후 HCSS(HEPES-buffered control salt solution, Gibco, USA)로 세척하여 남아있는 배지를 제거하고, HCSS에 20 μ M로 준비된 DCFH-DA(2',7'-dichlorodihydro-fluorescein diacetate, Molecular Probes, USA)를 100 μ l 첨가하고 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 조건에서 20분간 배양하며 HCSS로 세척하였다. 각 시료 농도별로 처리된 HCSS를 100 μ l 가한 후 초기에 활성산소로 산화된 DCF(dichlorofluorescein)의 형광도를 형광플레이트 리더(Ex=485nm, Em=530nm)로 측정하였다. 이후 UVB(30mJ/cm²)를 조사하고 처리직후(표 2) 및 처리 3시간 후(표 3)의 형광도를 형광플레이트 리더(Ex=485nm, Em=530nm)로 측정하였다. 이때, 대조군으로는 드래곤블러드수지 추출물과 블루베리추출물의 무처리군을 사용하였다.

표 2

[0034]

처리직후의 형광도

	농도(%)	형광도
드래곤블러드수지 추출물	0.03125%	87.55
	0.0625%	85.06
	0.125%	83.74
	0.25%	81.53
	0.5%	79.45
블루베리추출물	0.03125%	91.33
	0.0625%	89.07
	0.125%	87.89
	0.25%	85.64
	0.5%	83.28
무처리대조군	0%	100

표 3

[0035]

처리 3시간 후의 형광도

	농도(%)	형광도
드래곤블러드수지 추출물	0.03125%	77.23
	0.0625%	75.55
	0.125%	73.97
	0.25%	71.75
	0.5%	68.81
블루베리추출물	0.03125%	82.74
	0.0625%	79.39
	0.125%	76.85
	0.25%	73.53
	0.5%	71.92
무처리대조군	0%	100

[0036]

상기 표2 및 3에 나타난 바와 같이, 본 발명에서 유효성분으로 사용되는 드래곤블러드수지 추출물은 활성산소의 생성을 억제하는 효과가 우수함을 알 수 있다. 또한, 활성산소의 생성 억제 효과가 우수한 블루베리추출물과 비교할 때 동등 이상의 효능을 나타내었으며, 성분 농도가 높아질수록 활성산소 생성의 억제 효과도 비례하여 증가하였다.

[0037]

[시험예 3] 자유라디칼 소거 효과

[0038]

드래곤블러드수지 추출물의 자유라디칼 소거 효과를 알아보기 위해 하기 방법으로 시험하였다. 시험예2와 동일하게 블루베리추출물과 비교하여 그 효과를 확인하였다.

[0039]

측정 방법으로 1,1-디페닐-2-피크릴-2-히드라질(1,1-Diphenyl-2-picryl-Hydrazyl; DPPH)법을 사용하였으며, 1,1-디페닐-2-피크릴-2-히드라질 시약은 미국 시그마社(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 이 시약은 비교적 안정한 자유라디칼로 존재하여 자유라디칼 소거 작용을 확인하는데 일차적으로 사용되는 시험관적 방법에서 주로 사용되는 제제이다.

[0040]

DPPH 측정에 사용된 상기 드래곤블러드수지 추출물 또는 블루베리추출물을 각각 5.0, 1.0, 0.1 및 0.01%의 농도로 96웰 플레이트에 넣고, 5mM 에탄올 용액으로 제조된 DPPH를 총 부피가 200 μ l가 되도록 하여 37℃에서 30분간 방치한 후 520nm ELISA 리더로 흡광도를 관찰하였다. 자유라디칼 소거 작용(%)을 하기 수학적 식 1로 계산하고, 그 결과는 하기 표 4에 나타내었다.

수학적 식 1

[0041]

$$\text{자유라디칼 소거작용(\%)} = 100 - (B / A)100$$

[0042] A: 시료를 처리하지 않은 대조군 웰의 흡광도

[0043] B: 시료를 처리한 실험군 웰의 흡광도

표 4

[0044]

	농도(%)	자유라디칼 소거작용(%)
드래곤블러드수지 추출물	0.01%	35.2
	0.1%	52.3
	1%	78.8
	5%	90.1
블루베리추출물	0.01%	25.7
	0.1%	48.5
	1%	63.1
	5%	79.0
무처리대조군	0%	0

[0045] 상기 표 4의 결과에서 보는 바와 같이, 본 발명에서 유효성분으로 사용되는 드래곤블러드수지 추출물은 자유라디칼을 소거하는 효과가 우수함을 알 수 있다. 또한, 자유라디칼 소거 효과가 알려진 블루베리추출물과 비교하였을 때 동등 이상의 효과를 나타내었고, 성분 농도가 높아질수록 자유라디칼 소거 효과도 비례하여 증가하였다.

[0046] [시험예 4] 사람 세포주의 항산화 방어물질 활성증가 효과

[0047] 드래곤블러드수지 추출물의 사람 세포주에서의 항산화 방어물질 활성증가 효과를 알아보기 위해 하기 방법으로 시험하였다. 시험예 2와 동일하게 블루베리추출물과 비교하여 그 효과를 확인하였다.

[0048] 이 실험에 사용한 세포주는 인간 각질세포 HaCaT 세포주로 150×150 배양 플레이트에 6.0×10⁶개로 분주하고 1일간 배양한 후, 드래곤블러드수지 추출물 또는 블루베리추출물을 각각 5.0%, 1.0% 및 0.1% 농도로 시험 시료에 처리하였다. 배양에 사용된 10%의 우태아 혈청(fetal bovine serum, FBS)이 함유된 DMEM(Dulbecco's modified eagles medium, GIBCO BRL, Life Technologues社) 배지를 사용하고 37℃, 5% CO₂조건에서 배양하였다. 배양 후 세척용으로 1×PBS(phosphate buffered saline, Sigma Co.)를 사용하였다. 시험시료를 넣고 1일간 배양한 후 UVB를 30mJ/cm²의 세기로 처리하고, 37℃, 5% CO₂조건에서 1일간 배양한 후 수확하여 항산화 방어인자 측정에 사용하였다.

[0049] 측정하는 항산화 방어인자는 슈퍼옥사이드 디스뮤타아제(superoxide dismutase, SOD), 카탈라아제(catalase) 및 글루타치온(glutathione, GSH)이며, 그 측정방법으로 슈퍼옥사이드 디스뮤타아제는 McCord의 방법(J. Biol. Chem. 1969; 244: 6049-6055), 카탈라아제는 Budhuin의 방법(Biochem. J. 1964; 92: 179-184), 글루타치온은 Akerboom의 방법(Methods in Enzymology 1981; 77 : 373-382)에 준하여 측정하였다.

[0050] 항산화 방어인자 회복 효과는 UVB를 조사하지 않은 대조군(Control)의 활성을 100%로 환산하여 이 값과 비교한 활성을 %로 표시하였고, 그 결과는 하기 표 5에 나타내었다.

표 5

[0051]

	농도%	활성(%)		
		SOD	카탈라아제	GSH
대조군		100	100	100
UVB 처리군		42.8	65.3	60.7
드래곤블러드수지추출물	0.1%	51.3	64.7	63.1
	1%	63.7	70.2	78.6
	5%	75.3	78.5	89.9
블루베리추출물	0.1%	45.6	61.9	59.4
	1%	58.7	66.3	75.5
	5%	70.6	74.9	85.3

[0052] 상기 표 5의 결과에서 보는 바와 같이, 본 발명에서 유효성분으로 사용되는 드래곤블러드수지 추출물은 자외선에 의해 감소된 항산화 방어인자의 활성을 회복시켜줌으로써 항산화 효능이 우수함을 알 수 있다. 또한, 블루베리추출물과 비교할 때 항산화 방어인자의 활성을 회복시키는 효과가 동등 이상으로 우수하였고, 성분 농도가 높아질수록 항산화 효과도 비례하여 증가하였다.

[0053] [시험예 5] MMP-1 및 프로콜라겐 분석

[0054] 드래곤블러드수지 추출물의 MMP-1의 생합성 감소 및 타입 1 프로콜라겐의 생합성 촉진 효과를 알아보기 위하여 MMP-1 및 프로콜라겐 분석을 하기와 같은 방법으로 수행하였다. 이 실험에서는 주름 개선 기능성 성분으로서 MMP-1 생합성 감소 및 타입 1 프로콜라겐의 생합성 촉진 효과가 널리 알려진 아데노신(Adenosine)을 함께 시험하여 비교하였다.

[0055] 이 실험에 사용된 아데노신은 에이티랩(ATLAB, 대한민국)으로부터 구입하여 사용하였다.

[0056] 먼저, 정상표피의 지방층을 제거하고 잘게 잘라 콜라겐아제(collagenase)로 표피와 진피를 분리한 후, 표피와 진피조직을 각각 0.25% 트립신(trypsin) 용액에 넣고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 10분간 처리하였다. 이후 보텍스(vortex)를 시행하여 각질형성세포와 섬유아세포를 각각 유리시켰다. 유리된 세포를 모아 세척한 후 각질형성세포는 KGM(keratinocyte growth medium, Clonetics, USA)에서 1×10⁴ cells/cm² 농도로 배양하였으며, 섬유아세포는 10% 우태아혈청(FBS)이 첨가된 DMEM 배지에서 배양하였다. 70~80% 정도 자라면 1:3의 비율로 분주하여 계대 배양하였고, 3~4차 계대 배양한 세포를 실험에 이용하였다.

[0057] MMP-1의 양을 측정하는 실험을 위해서 섬유아세포를 48웰 플레이트(well plate)에 90% 이상 배양한 후 하루 동안 기아(starvation) 상태로 하였다. 이후 PBS로 2회 세척한 다음 PBS를 100μl씩 넣어준 상태에서 플레이트(plate)의 뚜껑을 열고 자외선 A(UVA 필터가 장치된 Dermlight cube 401, UVAtec, USA)를 15J/cm²로 조사하였다. 조사 직후 다시 PBS로 1회 세척하고 우태아 혈청을 포함하지 않은 DMEM에서 드래곤블러드수지 추출물과 아데노신으로 각각 0.001, 0.01%의 농도로 처리하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 48시간 동안 배양한 후, 배지 중에 유리된 MMP-1의 양을 MMP-1 인간 ELISA 시스템(human ELISA system)(RPN2610, Amersham Pharmacia Biotech, UK)을 이용하여 측정하였고, 섬유아세포의 총 단백질 양으로 보정하였다(표 6). 이 때, 대조군으로는 드래곤블러드수지 추출물과 아데노신의 무처리군을 사용하였다.

[0058] 한편, 프로콜라겐의 양을 측정하기 위해 상기 MMP-1의 양을 측정하는 방법과 동일한 조건에서 기아(starvation)상태로 자외선 조사 없이 드래곤블러드수지 추출물과 아데노신을 각각 0.001, 0.01% 첨가하고, 24시간 후에 배지 중에 유리된 프로콜라겐의 양을 프로콜라겐 타입-1 C-펩타이드 EIA 키트(proc collagen type-1 C-peptide EIA kit)(MK101, Takara, Japan)를 사용하여 측정하였다(표 7). 이 때, 대조군으로는 드래곤블러드수지 추출물과 아데노신의 무처리군을 사용하였다.

표 6

	농도(%)	유리된 MMP-1 양
드래곤블러드수지 추출물	0.001%	75
	0.01%	68
아데노신	0.001%	77
	0.01%	67
무처리대조군	0%	100

표 7

	농도(%)	유리된 프로콜라겐 양
드래곤블러드수지 추출물	0.001%	109
	0.01%	123
아데노신	0.001%	108
	0.01%	124
무처리대조군	0%	100

[0061] 상기 표 6의 결과에서 보는 바와 같이, 본 발명에서 유효성분으로 사용되는 드래곤블러드수지 추출물은 MMP-1을 억제함을 알 수 있다. 또한, 아데노신과 비교하였을 때 동등 수준의 효과를 나타내었고, 성분 농도가 높아질수록 MMP-1의 양이 비례하여 감소하였다.

[0062] 또한, 상기 표 7의 결과에서 보는 바와 같이, 본 발명에서 유효성분으로 사용되는 드래곤블러드수지 추출물은 타입 1 프로콜라겐의 생합성을 증가시킴을 알 수 있다. 또한, 아데노신과 비교하였을 때 동등 수준의 효과를 나타내었고, 성분 농도가 높아질수록 생성된 프로콜라겐의 양이 비례하여 증가하였다.

[0063] [참고예 1] 실시예1 및 비교예 1~2의 제조

[0064] 하기 표 8의 조성으로 실시예 1및 비교예 1~2의 크림 제형의 화장료 조성물을 제조하였다.

표 8

성분(함량: 중량%)	실시예1	비교예1	비교예2
1. 비즈왁스	2	2	2
2. 스테아릴알코올	3	3	3
3. 스테아린산	8	8	8
4. 스쿠알렌	10	10	10
5. 프로필렌글리콜모노스테아레이트	3	3	3
6. 폴리옥시에틸렌에테르	1	1	1
7. 방부제	적량	적량	적량
8. 글리세린	5	5	5
9. 프로필렌글리콜	4	4	4
10. 트리에틸아민	1	1	1
11. 소디움폴리아크릴레이트	0.2	0.2	0.2
12. 정제수	To 100	To 100	To 100
13. 드래곤블러드수지 추출물	0.1	-	-
14. 아데노신	-	-	0.1
15. 카보머	적량	적량	적량

[0066] <제조방법>

[0067] 1) 성분 1~7을 65~75℃로 가열 용해하여 유상파트를 제조하였다.

[0068] 2) 성분 8~12를 65~75℃로 가열 용해하여 수상파트를 제조하였다.

[0069] 3) 상기 2)를 교반하면서 상기 1) 및 성분 15를 서서히 첨가하고 7000~8000rpm에서 5분 동안 유회시켜 크림 제형으로 제조하였다.

[0070] 4) 45℃까지 냉각한 후 성분 13~14를 첨가하고 1500rpm에서 1분 동안 분산시켜 제조하였다.

[0071] [시험예 6] 주름 개선 효과

[0072] 상기 실시예 1및 비교예 1~2의 주름개선효과를 알아보기 위하여, 30대 여성 60명을 각각 20명씩 3조로 나누어, 아침 저녁 매일 2회씩 8주간 지정된 눈가 부위에 실시예 1 및 비교예 1~2의 크림을 각각 도포하게 한 후, 실리콘 재질의 모사판(replica)을 제작하여 지정 부위의 주름의 상태를 화상분석기인 비지오미터(visiometer: SV60, Courage+KHzaka electronic GmbH, Germany)로 측정하고, 그 결과를 하기 표 9 에 나타내었다. 이 결과는 8주 후의 각각의 파라미터(parameter) 값에서 8주 전 파라미터 값을 뺀 수치의 평균을 나타낸다. 즉, 이 값이 음수가 나올수록 주름 개선 효과가 높다는 것을 의미한다.

표 9

	R1	R2	R3	R4	R5
실시예1	-0.24	-0.20	-0.13	-0.08	-0.08
비교예1	0.27	0.25	0.21	0.04	0.03
비교예2	-0.25	-0.20	-0.12	-0.09	-0.08

- [0074] R1: 주름 등고선의 최고치와 최저치의 차이값
- [0075] R2: 주름 등고선을 임의로 5칸씩 나눈 후 그 중 R1값들의 평균
- [0076] R3: 5개씩 나눈 R1값 중 최고치
- [0077] R4: 주름 등고선의 기선(baseline)에서 각 각의 꼭대기와 계곡의 값을 뺀 평균값
- [0078] R5: 주름 등고선의 기선에서 각 각의 주름 윤곽을 뺀 값의 평균값

[0079] 상기 표 9에서 알 수 있는 바와 같이, 비교예1과 비교하여 드래곤블러드수지 추출물을 함유하는 실시예 1은 모든 항목에서 큰 음수값을 나타내었다. 또한 주름 개선 기능성 성분인 아테노신을 함유한 비교예 2와 비교하여도 동등 수준의 음수값을 나타내었다. 따라서, 본 발명의 화장료 조성물의 피부 주름 개선 효과가 매우 우수함을 알 수 있다.

[0080] [시험예 7] 피부 장벽기능 회복효과

[0081] 상기 실시예 1의 피부 장벽기능 회복효과를 측정하기 위해, 무모생쥐(hairless mouse)의 피부에 아세톤을 반복적으로 도포하여 장벽기능을 손상시킨 후, 표피수분 손실량(TEWL, transdermal water loss)을 servomed사(스웨덴) 증발계(evaporimeter EP1)로 측정하여 4.0g/m²/h에 도달하면, 상기 실시예 1 및 비교예 1을 5cm² 면적에 도포하고 1, 2, 4 및 8시간 경과 후 표피 수분 손실량을 측정하여 감소되는 정도를 평가함으로써 장벽 기능이 회복되는 정도를 평가하였다. 이때, 통상의 지질혼합물(세라마이드:콜레스테롤:지방산의 2:1:1 혼합물)을 양성 대조군으로 사용하였다. 초기 손상된 장벽 상태에서의 표피 수분 손실량을 100%로 하고 시간에 따른 변화를 비교하였고, 그 결과를 하기 표 10에 나타내었다.

표 10

시료	표피수분 손실량			
	1시간 후	2시간 후	4시간 후	8시간 후
실시예1	57	48	37	25
비교예1	87	79	76	73
지질혼합물	65	45	38	24

[0083] 상기 표 10의 결과에서 알 수 있듯이, 드래곤블러드수지 추출물을 함유하는 실시예 1은 상기 유효성분을 함유하지 않는 비교예 1보다 표피수분 손실량이 적었으며, 양성 대조군인 지질혼합물보다도 우수한 피부장벽기능 회복효과를 나타내었다.

[0084] [시험예 8] 인체에서의 보습효과 검증

[0085] 건조를 호소하거나, 건성피부라 생각되는 성인 남, 녀 40명을 2개조로 나누어, 각 조에 실시예 1 및 비교예 1을 제공하고 매일 2회씩 4주간 안면에 도포하도록 하였다. 도포 개시 전과 도포 후 2주 및 4주가 경과한 시점에 항온, 항습 조건(24℃, 상대습도 40%)에서 TEWL을 측정하여 보습력을 비교하였으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다. 아울러, 1회 도포 시 보습지속력을 알아보기 위하여 실시예 1을 도포한 후 6시간 동안 코니오미터(corneometer)로 피부수분량을 측정하였고 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0086] < Trans Epidermal Water Loss(TEWL) 측정 방법 >

[0087] 원리: 피부에서 증발하는 수분의 양을 면적과 시간에 따라 계산하여 증발하는 수분량을 온도와 보습 전자센서로 읽고 수치화하여 피부의 보습력을 측정한다.

[0088] 1. 환경조건: 온도, 습도가 일정하게 유지하고, 측정자와 피검자 외에 최소한의 인원만 남기며, 가급적 공기의 흐름을 차단한다.

[0089] 2. TEWL 프로브를 피검자의 측정부위에 올려놓는다.

[0090] 3. 프로브를 측정부위에 무리한 힘을 가하지 말고, 피부에 자국이 남지 않도록 가볍게 올려놓고 지면과 90도의 각도를 이루도록 한다.

[0091] 4. 시간이 지날수록 피부의 TEWL 수치가 일정해지는 값을 측정한다(1~3분 소요).

[0092] 5. 프로브의 손잡이는 가급적 멀리 잡아서 측정자의 체온이 전해지지 않도록 주의한다.

[0093] 6. 면적당 시간당 증발하는 수분량($g/m^2/h$)을 계산한다.

[0094] 도 1의 결과에서 알 수 있듯이, 드래곤블러드수지 추출물을 함유하는 실시예 1을 피부에 도포한 경우에는 시간의 경과에 따른 TEWL 변화값(수분 증발량)이 감소하였다. 따라서, 본 발명의 화장료 조성물의 보습 효과가 우수함을 알 수 있었다.

[0095] < 코니오미터 측정방법 >

[0096] 원리: 피부의 표피 내에 존재하는 수분의 양을 센서를 이용하여 수분의 이온 정도를 측정, 이를 수치화하여 수분의 양을 계산함으로써 보습력을 측정한다.

[0097] 1. 측정하고자 하는 피부 부위에 코니오미터 (corneometer)의 프로브를 올려놓는다.

[0098] 2. 프로브를 피부에 누르면 센서를 통하여 피부의 전기 전도도(capacitance)가 수치화하여 화면에 표시된다.

[0099] 3. 측정부위를 달리하여, 측정을 반복한다.

[0100] 4. 한번 측정 후, 킴와이프로 센서를 닦은 후에 다시 측정한다.

[0101] 도 2의 결과에서 알 수 있듯이, 드래곤블러드수지 추출물을 함유하는 실시예 1이 무처리군보다 시간의 경과에 따른 피부에서의 수분량 증가폭이 크게 나타났으며, 이로써 실시예 1의 보습효과가 우수함을 확인할 수 있다.

[0102] [시험예 9] 사용성 평가

[0103] 건조를 호소하거나 건성피부라 생각되는 성인 남, 녀 24명을 2개조로 나누고 각 조에 실시예 1및 비교예 1을 제공하여 매일 2회씩 4주간 안면에 도포하도록 하였다.

[0104] 4주 동안 사용하고 난 다음 사용성에 대한 설문조사를 통하여 피부 건조증 개선 효과에 대한 평가를 시행하였고, 그 결과를 하기 표 11에 나타내었다.

표 11

도포군	응답자 수			
	매우 양호	양호	보통	미흡
실시예 1	6	5	1	0
비교예 1	0	1	7	4

[0106] 상기 표 11의 결과에서 알 수 있듯이, 상기 실시예 1을 바른 사람은 비교예 1을 바른 사람보다 상대적으로 피부 건조증 개선 효과 및 보습 효과가 더 우수하다고 느끼는 것으로 나타났다.

[0107] [시험예 10] 인체 피부에 대한 미백 효과

[0108] 상기 실시예 1 및 비교예 1에서 제조한 화장료의 미백 효과를 알아보기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0109] 먼저, 건강한 14명의 남자를 대상으로 피검자의 윗팔뚝 부위에 직경 1.5 cm의 구멍이 뚫린 불투명 테이프를 부착한 뒤, 각 피검자의 최소 홍반량(Minimal Erythema Dose)의 1.5~2배 정도의 자외선(UVB)을 조사하여 피부의 흑화를 유도하고, 상기 실시예 1 및 비교예 1에서 제조한 미백용 화장료를 하루에 2회씩(아침, 저녁) 매일 두 달간 바르게 한 다음, 두 달 후에 크로마미터(Chromameter, Minolta CR-300)를 이용하여 피부의 명암을 측정하였다.

[0110] 효과의 판정은 피부의 명암을 나타내는 "L"값을 구하여 결정하였다. 참고로, 인위적으로 태우지 않은 한국인 피부색은 일반적으로 50~70의 값을 나타낸다. 색차계(미놀타 CR2002)를 사용하여 피부의 흑백 정도를 측정하여 효과를 판정하였다. 색을 표시하는 데에는 L*a*b* 표색계를 사용하나, 본 발명에서는 주로 L* 값(명도)을 지표로 하였다. L* 값은 표준 백판으로 교정하며, 측정은 1개 부위에서 5회 이상 측정을 되풀이함으로써 색소침착부를 균등하게 측정하였다. 도포 시작시점(도포 전)과 완료시점(도포 두 달 후)에서의 피부색의 차이(ΔL*)를 하기 수학적 식 2에 따라 계산하였고, 그 결과를 하기 표 12에 나타내었다. 미백효과는 시료 도포 부위와 대조군 부위의 ΔL*의 비교로 판정하는데, ΔL* 값이 높을수록 미백 효과가 우수한 것으로 판정할 수 있다.

수학적 식 2

[0111] $\Delta L^* = \text{시험물질 도포개시 두 달 후의 } L^* \text{ 값} - \text{시험물질 도포 전 } L^* \text{ 값}$

표 12

평가항목	실시에 1	비교예 1
미백효과(ΔL)	2.93	0.81

[0113] 상기 표 12의 결과에서, 드래곤블러드수지 추출물을 함유한 실시예 1의 ΔL값은 드래곤블러드수지 추출물을 함유하지 않는 비교예 1과 비교하여 볼 때 수치가 상당히 높게 나왔으며, 이를 통하여 본 발명에 의한 드래곤블러드수지 추출물을 함유한 조성물은 우수한 미백 효과를 제공함을 알 수 있다.

[0114] [시험예 11] 인체피부에서의 피부 턴오버 촉진 효과 확인 시험

[0115] 본 발명에 의한 실시예 1 및 비교예 1, 대조군(무처리군) 및 양성대조군(1% 젯산 처리군)의 피부 턴오버(Turn over) 촉진 효과를 알아보기 위하여, 건강한 남녀 28명(평균연령 34세)을 대상으로 시험물질 도포 전 피시험자의 팔 상박부 안쪽 색상을 색도변화계로 측정된 후 디하이드록시 아세톤(DHA)이 함유된 크림을 사용하여 인공텐닝시키고, 시험물질 도포 전과의 색상 차이를 비교하였다. 이후 1일 2회씩 상기 실시예 1 및 비교예 1의 조성물, 양성대조군에 사용한 1% 젯산을 혼합용매(물:에탄올:부틸렌글리콜 = 80:15:5)에 0.2 중량%씩 녹인 시료를 도포하면서 매일 탈색되는 정도를 색도변화계로 측정하여 원래의 피부색으로 돌아오는데 걸리는 시간(단백질 변색에 따른 색도변화=피부 턴오버시간)을 측정하였다. 피부 턴오버 촉진율을 하기 수학적 식 3으로 계산하였으며, 그 결과를 하기 표 13에 나타내었다.

수학적 식 3

$$\text{턴오버촉진율(\%)} = \frac{\text{대조군 턴오버시간} - \text{시험물질 도포군 턴오버시간}}{\text{대조군 턴오버시간}} \times 100$$

[0116] 여기서 턴오버 시간은 기존의 각질층이 새로운 각질층으로 교체되는데 걸리는 시간, 즉 DHA에 의해 탠닝된 후 피부가 원상복귀되는데 걸리는 시간이다.

표 13

시험물질	턴오버 시간(day)	턴오버촉진율(%)
대조군	18.5	-
양성대조군	12.5	32.4
실시에 1	12.0	35.1
비교예 1	15.5	16.2

[0119] 상기 표 13의 결과에서, 본 발명에 의한 실시예 1의 미백용 화장료가 비교예 1 및 대조군보다 턴오버를 촉진하며, 또한 양성대조군보다도 턴오버 주기가 짧은 것으로 나타나, 본 발명에 따른 실시예 1은 멜라닌 배출을 효과적으로 촉진시킴을 알 수 있다.

[0120] 이하, 상기 조성물의 제형예를 설명하지만, 이는 발명을 한정하고자 함이 아니라 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0121] [제형예 1] 현탁유액 화장수

[0122] 하기 표 14의 조성으로 현탁유액 화장수를 제조할 수 있다.

표 14

구성성분	합량(중량%)
메칠과라벤	적량
향료	적량
세틸옥타노에이트	1.0
폴리옥시에칠렌경화피마자유	0.6
폴리실록산	0.4
초산토코페롤	0.1
에탄올	12.0
글리세린	6.0
프로필렌글리콜	2.0
카르복시비닐폴리머	0.12
드래곤블러드수지 추출물	0.1
정제수	TO 100

[0124] [제형예 2] 에센스

[0125] 하기 표 15의 조성으로 에센스를 제조할 수 있다.

표 15

구성성분	합량(중량%)
메칠과라벤	적량
향료	적량
세틸옥타노에이트	1.0
옥틸도데스-16	0.5
콜레스-24/세테스-24	0.2
폴리실록산	0.4
초산토코페롤	0.1
에탄올	6.0
글리세린	15.0
산탄검	0.07
프로필렌글리콜	4.0
카르복시비닐폴리머	0.12
드래곤블러드수지 추출물	0.1
정제수	TO 100

[0127] [제형예 3] 영양크림

[0128] 하기 표 16의 조성으로 영양크림을 제조하였다.

표 16

[0129]

구성성분	함량(중량%)
유동파라핀	15.0
세토스테아릴알코올	2.0
밀납	3.0
폴리실록산	0.5
친유형모노스테아린산스테아레이트	2.0
스테아린산	2.0
세테아릴글루코사이드	1.5
모노스테아린산폴리옥시에칠렌소르비탄(20 E.O)	1.3
하이드로제네이티드레시친	2.0
세틸옥타노에이트	1.0
메칠파라벤	0.2
프로필파라벤	0.1
향료	적량
에칠렌다아민테트라초산나트륨	0.02
글리세린	5.0
카르복시비닐폴리머	0.10
프로필렌글리콜	2.0
드래곤블러드수지 추출물	0.5
정제수	TO 100

[0130] [제형예 4] 젤

[0131] 하기 표 17의 조성으로 젤을 제조하였다.

표 17

[0132]

구성성분	함량(중량%)
방부제	적량
향료	적량
세테아릴글루코사이드	1.5
세틸옥타노에이트	1.0
글리세린	5.0
호호바왁스	3.0
디엘판텐놀	1.0
에탄올	7.0
카르복시비닐폴리머	0.6
프로필렌글리콜	3.0
드래곤블러드수지 추출물	0.5
정제수	TO 100

[0133] [제형예 5] 팩

[0134] 하기 표 18의 조성으로 팩을 제조하였다.

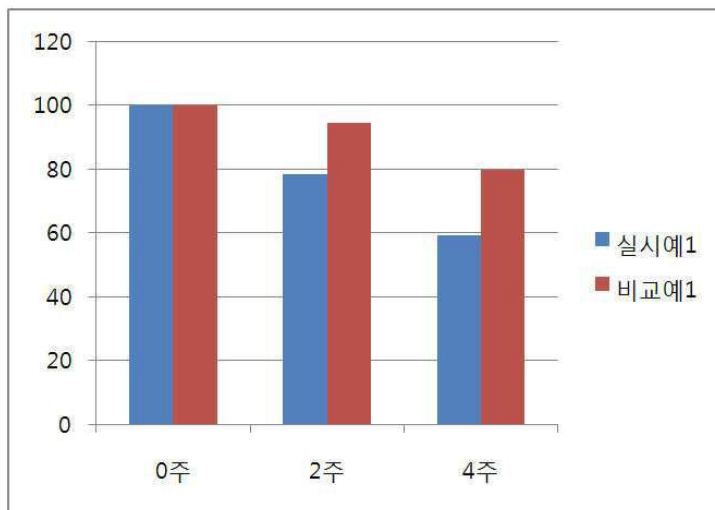
[0135]

표 18

구성성분	함량(중량%)
메칠과라벤	적량
향료	적량
세틸옥타노에이트	1.0
폴리옥시에칠렌경화피마자유	0.6
폴리실록산	0.2
셀룰로오스겔	0.2
에탄올	6.0
글리세린	5.0
프로필렌글리콜	3.0
폴리비닐알코올	15.0
드레곤블러드수지 추출물	1.0
정제수	TO 100

도면

도면1



도면2

