



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년07월09일
(11) 등록번호 10-2831785
(24) 등록일자 2025년07월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/9711 (2017.01) A23L 33/105 (2016.01)
A61K 36/03 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01) A61Q 5/00 (2006.01)

(73) 특허권자
바이오스펙트럼 주식회사
경기도 용인시 수지구 신수로 767, 1805호(동천동, 분당수지 유타워)

(52) CPC특허분류
A61K 8/9711 (2017.08)
A23L 33/105 (2016.08)

(72) 발명자
김하연
경기도 용인시 기흥구 흥덕3로 60, 1402동 101호
조은애
서울특별시 송파구 성내천로 263, 401호 (마천동)
(뒷면에 계속)

(21) 출원번호 10-2022-0069631
(22) 출원일자 2022년06월08일
심사청구일자 2022년06월08일
(65) 공개번호 10-2023-0168850
(43) 공개일자 2023년12월15일

(74) 대리인
정성중

(56) 선행기술조사문헌
KR1020160125728 A*
(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 6 항

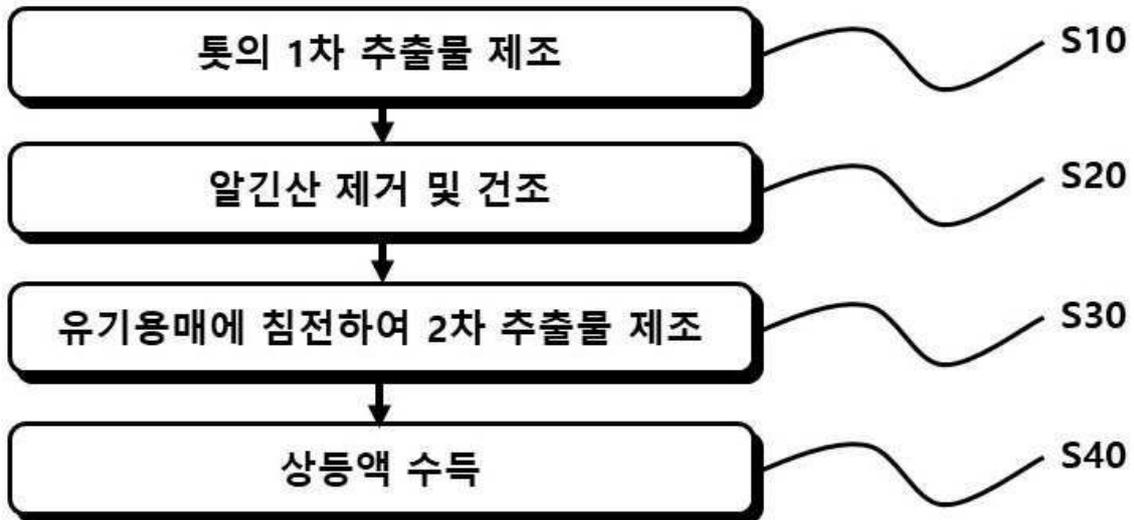
심사관 : 강신건

(54) 발명의 명칭 **톳 추출물을 포함하는 멜라닌 생성 촉진용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 톳(*Sargassum fusiforme*) 추출물을 함유하는 멜라닌 생성 촉진용 조성물에 관한 것이다. 상기 조성물은 멜라닌 합성을 촉진함으로써 피부 및 모발의 흑화를 유도하고, 피부에 대한 안정성이 있어, 백모 예방 및 백반증 치료용 조성물 또는 멜라닌 저색소증 개선제로서 매우 효과적이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 36/03 (2013.01)
A61P 17/00 (2018.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
A61Q 5/00 (2013.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/318 (2013.01)
A23V 2250/202 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020190010482 A*
 KR101866906 B1
 JP10330218 A
 KR1020210005526 A

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(72) 발명자

신승우

서울특별시 강남구 광평로10길 6 한솔마을아파트
 305-309

정은선

경기도 수원시 영통구 권광로304번길 58-38

박덕훈

경기도 성남시 분당구 정자일로232번길 25, B동
 403호 (정자동, 두산위브제니스)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1525013436
과제번호	202203062
부처명	해양수산부
과제관리(전문)기관명	해양수산과학기술진흥원
연구사업명	해양바이오전락소재개발및상용화지원
연구과제명	제주산 톳을 이용한 헤어제품용 화장품원료 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	바이오스펙트럼(주)
연구기간	2022.04.15 ~ 2023.04.14

명세서

청구범위

청구항 1

투스(*Sargassum fusiforme*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 백모, 백반증, 또는 저색소증 억제 또는 개선용 화장료 조성물로,

상기 톨 추출물은 (S10) 톨을 열수로 1차 추출하는 단계; (S20) 상기 톨의 1차 추출물에서 알긴산을 제거하고 건조하는 단계; (S30) 상기 알긴산이 제거되고 건조된 톨의 1차 추출물을 유기용매에 침전하여 2차 추출하는 단계; 및 (S40) 상기 톨의 2차 추출물의 상등액을 수득하는 단계;를 포함하는 방법에 의하여 제조된 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 화장료 조성물은 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이로 구성된 군으로부터 선택되는 제형을 갖는 것인 화장료 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 따른 화장료 조성물을 모발에 도포하여 모발의 멜라닌 생성을 촉진하고 백모를 억제하는 헤어케어용 화장료 조성물.

청구항 5

투스(*Sargassum fusiforme*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 백모, 백반증, 또는 저색소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로,

상기 톨 추출물은 (S10) 톨을 열수로 1차 추출하는 단계; (S20) 상기 톨의 1차 추출물에서 알긴산을 제거하고 건조하는 단계; (S30) 상기 알긴산이 제거되고 건조된 톨의 1차 추출물을 유기용매에 침전하여 2차 추출하는 단계; 및 (S40) 상기 톨의 2차 추출물의 상등액을 수득하는 단계;를 포함하는 방법에 의하여 제조된 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 6

투스(*Sargassum fusiforme*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 백모, 백반증, 또는 저색소증 예방 또는 치료용 피부외용제 조성물로,

상기 톨 추출물은 (S10) 톨을 열수로 1차 추출하는 단계; (S20) 상기 톨의 1차 추출물에서 알긴산을 제거하고 건조하는 단계; (S30) 상기 알긴산이 제거되고 건조된 톨의 1차 추출물을 유기용매에 침전하여 2차 추출하는 단계; 및 (S40) 상기 톨의 2차 추출물의 상등액을 수득하는 단계;를 포함하는 방법에 의하여 제조된 것을 특징으로 하는 피부외용제 조성물.

청구항 7

투스(*Sargassum fusiforme*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 백모, 백반증, 또는 저색소증 예방 또는 개선용 식품 조성물로,

상기 톨 추출물은 (S10) 톨을 열수로 1차 추출하는 단계; (S20) 상기 톨의 1차 추출물에서 알긴산을 제거하고 건조하는 단계; (S30) 상기 알긴산이 제거되고 건조된 톨의 1차 추출물을 유기용매에 침전하여 2차 추출하는 단계; 및 (S40) 상기 톨의 2차 추출물의 상등액을 수득하는 단계;를 포함하는 방법에 의하여 제조된 것을 특징으로

로 하는 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 툷(*Sargassum fusiforme*) 추출물을 함유하는 멜라닌 생성 촉진용 조성물에 관한 것이다. 보다 상세하게는 피부에 안전하면서 멜라닌 합성을 촉진시켜 흑화를 유도함으로써, 백모, 백반증 및 저색소증의 예방 및 개선을 위해 툷 추출물을 유효성분으로 함유하는 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인체 피부의 표피 기저층에 존재하는 멜라닌 세포(melanocyte)에서 생성되는 멜라닌(melanin) 색소는 검은 색소와 단백질의 복합형태를 갖는 폐놀계 고분자 물질을 말하는데, 농도와 분포에 따라서 사람의 피부색을 결정하기도 하고, 자외선으로부터 우리의 피부를 보호해주는 역할도 한다. 자외선, 호르몬 등의 원인들로 멜라닌이 과도하게 생성되면, 기미, 주근깨 등의 색소 침착을 유발하지만, 반대로 멜라닌 생성이 억제되면, 저색소증으로 피부암의 위험인자가 되기도 하고, 백반증(vitiligo) 등의 피부병변이 나타나기도 해서 멜라닌 생성을 억제시키는 미백 관련 연구만큼이나 멜라닌 생성을 촉진시켜 흑화를 유도하는 연구 또한 매우 중요하다.

[0003] 모발에 있어서, 백모는 노화가 진행되면 자연스럽게 발생하지만, 외관상 보기에 좋지 않을뿐만 아니라 사회활동에 있어서 어려움이 많아 이를 감추려고 많은 사람들이 백모를 검게 염색하여 일시적으로 백발을 감추려고 하기 때문에 염색제에 대한 연구도 많이 이루어지고 있다. 그러나 염색제는 일시적인 방법으로 다시 백발이 자라기 때문에 주기적인 사용이 필요하며 산화제 등이 포함됨에 따라 피부에 손상을 줄 수 있다. 따라서 근본적으로 백발이 되는 것을 방지 또는 개선하기 위해 멜라닌 생성 촉진제에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다.

[0004] 또한 외부 스트레스에 의해서도 백모가 유발되기도 하는데, 두피는 피부와 마찬가지로 외적 환경으로부터 보호하는 기능과 체내의 유해물질과 노폐물을 배설하여 인체를 보호한다. 외부 물질에 의해 모낭 내 산화적 스트레스가 축적되면 모발이 가늘어질 뿐만 아니라 멜라닌 형성에도 영향을 주어 백모가 유발될 수 있다.

[0005] 본 발명자들은 이러한 점에 착안하여 저색소증 및 백모 등의 발생의 문제를 해결하기 위해 이를 완화할 수 있는 물질을 찾고자 했고, 그 물질로서 툷을 선별하였다.

[0006] 툷(*Sargassum fusiforme*)은 갈조식물 모자반과에 속하는 식용 바닷말로 한국, 일본, 중국의 조간대 하부에 서식하는 다년생 해조류이다. 경사가 완만한 암초지대나 파도가 심하지 않은 지역에 군락을 이루어 자라며 섬유상의 뿌리를 가지고 있고 줄기는 원뿔형의 구조로 되어 있다. 툷은 겨울부터 자라기 시작하여 2~7월까지 제철을 맞이하는 해조류로 우리나라는 남해안 일대와 제주도에서 주로 재배하고 있다. 툷은 해조류 중에서도 영양분이 풍부하며 각종 생리활성 물질들을 다량 포함하여 바다의 불로초로 불리며, 고대부터 많이 먹어온 식물로 제주에서는 기근이 들면 구황식품으로도 많이 먹어왔다. 풍부한 식이섬유와 비타민 그리고 후코이단 성분이 많이 들어있으며, 알긴산에 의해 증금속을 체외로 배출시키는 효능이 탁월하여 항암 식품으로서 인기가 높다.

[0007] 한편, 한국 공개특허 제10-2021-0106661호 및 일본공개특허 특개2011-79768호는 툷의 열수 추출물이 멜라닌 생성을 억제한다고 공개하고 있다.

[0008] 이와 달리 본 발명자들은 툷 추출물의 추출 방법을 달리하는 경우 상기 특허문헌들과 달리 툷이 피부에 안전하면서 멜라닌 합성을 촉진시켜 흑화를 유도함으로써, 백모, 백반증 및 저색소증의 예방 및 개선하는데 매우 효과적임을 발견하게 되었고, 그에 따라 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명의 하나의 목적은 툷 추출물을 포함하는 멜라닌 생성 촉진용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 다른 하나의 목적은 상기 멜라닌 생성 촉진 효과를 갖는 툷 추출물의 제조 방법을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 다른 하나의 목적은 상기 멜라닌 생성 촉진용 조성물을 포함하는 백모, 백반증, 또는 저색소증의 예방 또는 개선용 화장품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 멜라닌 생성 촉진용 조성물을 포함하는 백모, 백반증, 또는 저색소증의

예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

- [0013] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 멜라닌 생성 촉진용 조성물을 포함하는 백모, 백반증, 또는 저색소증의 예방, 개선 또는 치료용 피부 외용제 조성물을 제공하는 것이다.
- [0014] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 멜라닌 생성 촉진용 조성물을 포함하는 백모, 백반증, 또는 저색소증의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0015] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 멜라닌 생성 촉진용 조성물을 개체에 투여하여 개체의 백모, 백반증, 또는 저색소증을 예방, 개선, 또는 치료하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0016] 하나의 양태로서, 본 발명은 톳 추출물을 포함하는 멜라닌 생성 촉진용 조성물을 제공한다.
- [0017] 본 발명에 있어서, "톳(*Sargassum fusiforme*)"은 갈조식물 모자반과에 속하는 식용 바닷말로 한국, 일본, 중국의 조간대 하부에 서식하는 다년생 해조류이다.
- [0018] 본 발명의 톳 추출물은 (S10) 톳을 물, 유기용매, 또는 이들의 혼합용매로 1차 추출하는 단계; (S20) 상기 톳의 1차 추출물에서 알긴산을 제거하고 건조하는 단계; (S30) 상기 알긴산이 제거되고 건조된 톳의 1차 추출물을 유기용매에 침전하여 2차 추출하는 단계; 및 (S40) 상기 톳의 2차 추출물의 상등액을 수득하는 단계;를 포함하는 방법에 의하여 제조되는 것을 특징으로 한다.
- [0019] 이하, 도 1을 참고로 하여 본 발명의 톳 추출물의 제조 방법을 구체적으로 설명한다.
- [0020] (S10) 단계는, 톳을 물, 유기용매, 또는 이들의 혼합용매로 1차 추출하는 단계이다.
- [0021] 상기 유기용매는 극성 또는 비극성 용매, 바람직하게는 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올(에탄올, 메탄올, 프로판올 또는 부탄올 등)일 수 있으며, 상기 1차 추출은 이들 용매로 열수 추출, 냉침 추출, 초음파 추출, 또는 환류 냉각 추출 방법 등의 다양한 추출 방법, 바람직하게는 열수 추출 방법을 사용하여 이루어질 수 있다.
- [0022] 하나의 구체적 예로서, 상기 1차 추출은 건조된 톳 분말을 물에 침지하고, 90 내지 120℃, 바람직하게는 100℃로 가열하여 추출하는 가열추출법의 방법을 사용할 수 있다. 한편, 추출시간은 10분 내지 4시간인 것이 바람직하며, 60분 내지 3시간인 것이 더욱 바람직하고, 2시간인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정하지 않는다. 아울러, 추출 횟수는 1 내지 5회인 것이 바람직하며, 1 내지 3회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하고, 2회인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0023] 한편, 상기 (S10) 단계 전에 톳을 건조하는 단계를 포함할 수 있는데, 상기 건조는 음건이 바람직하다.
- [0024] (S20) 단계는, 상기 톳의 1차 추출물에서 알긴산을 제거하고 건조하는 단계이다.
- [0025] 상기 알긴산의 제거는 반드시 이로 한정되는 것은 아니지만, 칼슘염과의 가교반응으로 응집하여 제거하는 방법 등을 이용할 수 있다.
- [0026] 상기 건조는 통상의 건조 방법, 예를 들어 동결건조, 감압건조, 진공건조, 비등건조, 또는 분무건조 등의 방법으로 이루어질 수 있다.
- [0027] (S30) 단계는, 상기 알긴산이 제거되고 건조된 톳의 1차 추출물을 유기용매에 침전하여 2차 추출하는 단계이다.
- [0028] 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올(에탄올, 메탄올, 프로판올 또는 부탄올 등), 바람직하게는 에탄올 또는 메탄올, 가장 바람직하게는 에탄올이다.
- [0029] 상기 침전은 상온에서 60분 내지 4시간, 바람직하게는 60분 내지 3시간, 보다 바람직하게는 90분 내지 150분, 가장 바람직하게는 120분 동안 이루어질 수 있다.
- [0030] 하나의 구체적 예로서, 상기 톳의 1차 추출물에서 알긴산을 제거하고 건조한 다음 60 내지 80% 에탄올 용액, 바람직하게는 65% 내지 75% 에탄올 용액, 보다 바람직하게는 70% 에탄올 용액에 1차 추출물을 침지하고 상온에서 60분 내지 240분 동안, 바람직하게는 60분 내지 3시간, 보다 바람직하게는 90분 내지 150분, 가장 바람직하게는 120분 동안 실시할 수 있다.
- [0031] (S40) 단계는, 상기 톳의 2차 추출물의 상등액을 수득하는 단계이다.
- [0032] 상기 상등액은 상기 (S30) 단계의 침전에 의하여 발생하는 상층액으로, 상기 상등액의 고형물, 이들의 희석액,

이들의 농축액을 모두 포함하는 것으로 이해될 것이다.

- [0033] 상기한 방법에 의하여 제조된 본 발명에 따른 톳 추출물은 멜라닌 색소가 감소된 모발 및 피부의 멜라닌의 생성 및 흑화를 촉진하는 효과가 있다.
- [0034] 따라서, 본 발명은 다른 하나의 양태로서 상기한 모발 및 피부의 멜라닌의 생성 및 흑화를 촉진하는 톳 추출물의 제조 방법을 제공한다.
- [0035] 하나의 구체적 실시에서, 본 발명에 따른 톳 추출물은 인체 멜라닌 세포(Human melanocyte), B16 멜라노마 세포(B16 melanoma cell)에서 멜라닌 생성을 현저히 촉진하는 효과가 있음이 확인되었다.
- [0036] 또 하나의 구체적 실시에서, 본 발명에 따른 톳 추출물은 3D 스킨 및 인체 모낭 배양을 이용한 실험에서 멜라닌 생성을 촉진하는 효과가 있음이 확인되었다.
- [0037] 따라서 본 발명에 따른 톳 추출물은 멜라닌 합성을 촉진시키고, 피부에 대한 안정성이 높아 피부 흑화용, 백모 방지용, 백반증 치료 및 예방을 위하여 유용하게 사용할 수 있으며, 흑화 유도를 위한 화장품, 의약품 및 식품에 유용하게 사용할 수 있다.
- [0038] 본 발명의 조성물에 있어서, 톳 추출물의 유효성분은 전체 조성물 중량을 기준으로 하여 0.0001 내지 10.0 중량%, 바람직하게는 0.001 내지 10 중량%를 포함할 수 있다. 만일 톳 추출물의 상기 함량이 0.0001 중량% 미만인 경우에는 피부 및 모발의 흑화 효과와 피부의 백반증 또는 저색소증을 예방, 개선 또는 치료하는 효과가 너무 미약하고, 10.0 중량%를 초과하는 경우에는 함량의 증가에 따른 효과의 증가가 미비하고 제형상의 안정성이 확보되지 않는 문제점이 있다.
- [0039] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 톳 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 포함하는, 피부 흑화 효능, 예를 들어 백모, 백반증 또는 저색소증의 개선 또는 예방을 위한 화장료 조성물을 제공한다.
- [0040] 상기 톳 추출물의 멜라닌 생성 촉진 효과에 따른 백모, 백반증 및 저색소증의 예방 또는 개선 효과는 상술한 바와 같다.
- [0041] 본 발명에 있어서, 용어 "예방" 또는 "억제"는 질환 또는 질병을 보유하고 있다고 진단된 적은 없으나, 이러한 질환 또는 질병에 걸리기 쉬운 경향이 있는 개체에서 질환 또는 질병의 발생을 감소시키는 것을 의미한다.
- [0042] 본 명세서에서, 용어 "치료" 또는 "개선"은 개체에서 (a) 질환 또는 질병의 발전의 억제 (b) 질환 또는 질병의 경감 및 (c) 질환 또는 질환의 제거를 의미한다.
- [0043] 본 명세서에서, 용어 "개체"는 본 발명의 상기 조성물을 투여하여 증상이 호전될 수 있는 질환을 가진 인간을 포함한 원숭이, 소, 말, 돼지, 양, 개, 고양이, 래트, 마우스, 침팬지 등의 포유동물을 의미한다.
- [0044] 상기 조성물은 유효 성분으로서의 톳 추출물 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예를 들어 향산화제, 용해화제, 안정화제, 비타민, 안료, 그리고 향료와 같은 통상적인 보조제 및 담체를 포함한다.
- [0045] 본 발명의 화장료 조성물은 당 업계에서 일반적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예컨대, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 그 외, 영양 크림, 수렴 화장수, 유연 화장수, 로션, 에센스, 샴푸, 영양젤 또는 마사지 크림의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0046] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0047] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0048] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르

가 있다.

- [0049] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0051] 특히, 본 발명의 상기 백모, 백반증 또는 저색소증의 개선 또는 예방을 위한 화장품 조성물은 모발에 도포하여 모발의 멜라닌 생성을 촉진하고 백모를 억제하는 헤어케어용 화장품 조성물을 제공한다.
- [0052] 상기 헤어케어용 화장품 조성물은 예를 들면, 헤어샴푸, 헤어 린스, 헤어컨디셔너, 헤어트리트먼트, 헤어토닉, 스칼프트리트먼트, 헤어로션, 헤어크림, 헤어미스트, 헤어앰플, 헤어 팩, 헤어에센스, 헤어오일, 두피스케일러, 모발 영양화장수 및 헤어 염색제 등이 있다.
- [0053] 본 발명의 화장품 조성물은 유효 성분으로 톳 추출물을 전체 조성물의 중량을 기준으로 0.0001 내지 10.0 중량%, 바람직하게는 0.001 내지 10 중량%를 포함할 수 있다. 만일 톳 추출물의 상기 함량이 0.0001 중량% 미만인 경우에는 피부 및 모발의 흑화 효과와 피부의 백반증 또는 저색소증을 예방, 개선 또는 치료하는 효과가 너무 미약하고, 10.0 중량%를 초과하는 경우에는 함량의 증가에 따른 효과의 증가가 미비하고 제형상의 안정성이 확보되지 않는 문제점이 있다.
- [0054] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는, 피부 흑화 효능, 즉 백모, 백반증 또는 저색소증 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0055] 상기 톳 추출물의 멜라닌 생성 촉진 효과에 따른 백모, 백반증 및 저색소증의 예방 또는 치료 효과는 상술한 바와 같다.
- [0056] 본 발명의 용어, "약학적 조성물"은 질병의 예방 또는 치료를 목적으로 제조된 것을 의미하며, 각각 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예컨대, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형으로 제형화할 수 있고, 윤활제, 습윤제, 향미제, 유효제, 현탁제, 보존제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 비경구형 제형으로 제형화하여 사용될 수 있다. 또한, 외용제, 좌제, 피부외용제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용할 수 있다. 하나의 구체적 예로, 본 발명의 조성물은 경구형 제형으로 경구 투여 방식으로 사용될 수 있다. 또 하나의 구체적 예로, 본 발명의 조성물은 멜라닌 색소가 감소한 모발 및 피부에 직접 도포 또는 산포하는 등의 방법에 의해 사용될 수 있다.
- [0057] 또한, 각각의 제형에 따라 약학적으로 허용가능한 담체, 예컨대 완충제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제, 기제 등 당업계에 공지된 담체를 추가로 포함하여 제조할 수 있다.
- [0058] 본 발명에서 사용되는 용어, "약학적으로 허용 가능한 담체"란 생물체를 자극하지 않으면서, 주입되는 유효성분의 생물학적 활성 및 특성을 저해하지 않는 담체 또는 희석제를 의미할 수 있다. 본 발명에 사용 가능한 상기 담체의 종류는 특별히 제한되지 아니하며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되고 약학적으로 허용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다. 상기 담체의 비제한적인 예로는, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사 용액, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 등을 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다. 상기 담체는 비자연적 담체 (non-naturally occurring carrier)일 수 있다.
- [0059] 본 발명의 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다. 상기 약학적으로 유효한 양은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 건강상태, 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 구체적으로 투여 개체의 몸무게 1kg 당 일반적으로 1일 0.01mg 내지 5000mg이며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정 시간간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [0060] 본 발명의 약학적 조성물은 유효 성분으로 톳 추출물을 전체 조성물의 중량을 기준으로 0.0001 내지 10.0 중량%, 바람직하게는 0.001 내지 10 중량%를 포함할 수 있다. 만일 톳 추출물의 상기 함량이 0.0001 중량% 미만인 경우에는 피부 및 모발의 흑화 효과와 피부의 백반증 또는 저색소증을 예방, 개선 또는 치료하는 효과가 너무 미약하고, 10.0 중량%를 초과하는 경우에는 함량의 증가에 따른 효과의 증가가 미비하고 제형상의 안정성이 확보되지 않는 문제점이 있다.
- [0061] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 단독으로 또는 백모, 백반증, 또는 저색소증의 예방 또는 치료 효과를 나타내는 기타 약학적 활성 화합물과 결합하여 또는 적당한 집합을 이루어 사용될 수 있다.
- [0062] 본 발명의 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여할 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용을 유발하지 않으면서 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0063] 본 발명에서 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 개체에게 본 발명의 약학적 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명의 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있다.
- [0064] 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여 방식은 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방식에 따를 수 있다. 상기 투여 방식의 비제한적인 예로, 조성물을 경구 투여 또는 비경구 투여 방식으로 투여할 수 있다. 구체적으로, 본 발명의 조성물은 멜라닌 색소가 감소한 모발이나 피부 등의 부위에 직접 도포 또는 산포하는 등의 방법에 의해 사용될 수 있다.
- [0065] 본 발명에 따른 약학 조성물은 목적하는 투여 방식에 따라 다양한 제형으로 제작될 수 있다.
- [0066] 본 발명의 조성물의 투여빈도는 특별히 이에 제한되지 않으나, 1일 1회 투여하거나 또는 용량을 분할하여 수회 투여할 수 있다.
- [0067] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 톳 추출물을 포함하는 멜라닌 생성 촉진용 조성물을 포함하는, 백모, 백반증, 저색소증의 예방, 개선 또는 치료용 피부 외용제 조성물을 제공한다.
- [0068] 상기 톳 추출물의 멜라닌 생성 촉진 효과에 따른 백모, 백반증 및 저색소증의 예방 또는 개선 효과는 상술한 바와 같다.
- [0069] 본 발명에 따른 피부 외용제 조성물은 화장품학 또는 피부과학적으로 허용 가능한 매질 또는 기체를 함유하여 제형화될 수 있다. 이는 국소적용에 적합한 모든 제형으로서, 예를 들면, 용액, 겔, 고체, 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 마이크로에멀전, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는, 이온형(리포솜) 및 비이온형의 소낭 분산제의 형태로, 또는 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이, 팩 또는 콘실 스틱의 형태로 제공될 수 있다. 폼(foam)의 형태로 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로도 사용될 수 있다. 이들 조성물은 당해 분야의 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있다.
- [0070] 또한, 본 발명에 의한 피부 외용제 조성물은 지방 물질, 유기용매, 용해제, 농축제, 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제, 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. 상기 보조제는 화장품학 또는 피부과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입된다.
- [0071] 상기 조성물에 포함되는 톳 추출물은 특별히 이에 제한되지 않으나, 조성물의 총 중량에 대하여 0.0001 내지 10.0중량%, 보다 바람직하게는 0.001 내지 10중량%로 함유할 수 있다. 만일 톳 추출물의 상기 함량이 0.0001 중량% 미만인 경우에는 피부 및 모발의 흑화 효과와 피부의 백반증 또는 저색소증을 예방, 개선 또는 치료하는 효과가 너무 미약하고, 10.0 중량%를 초과하는 경우에는 함량의 증가에 따른 효과의 증가가 미비하고 제형상의 안정성이 확보되지 않는 문제점이 있다.
- [0072] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 톳 추출물을 포함하는 멜라닌 생성 촉진용 조성물을 포함하는 백모, 백반증, 저색소증 관련 질환의 예방 또는 개선 식품 조성물을 제공한다.
- [0073] 상기 톳 추출물의 멜라닌 생성 촉진 효과에 따른 백모, 백반증 및 저색소증의 예방 또는 개선 효과는 상술한 바

와 같다.

- [0074] 본 발명의 조성물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 톱 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상의 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 사용 목적(예 방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적절하게 결정될 수 있으며, 식품학적으로 허용가능한 식품 보조 첨가제를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 톱 추출물은 식용하여 왔으며, 인체 안정성 실험으로부터 안정성을 확인하였으므로 혼합량에 큰 제한은 없다.
- [0075] 본 발명의 식품 조성물은 통상적인 의미의 식품을 모두 포함할 수 있으며, 기능성 식품, 건강기능식품 등 당업계 알려진 용어와 혼용 가능하다.
- [0076] 멜라닌 생성 촉진을 통한 백모, 백반증, 및 저색소증의 예방 또는 개선 관련 질환의 예방 또는 개선을 위한 본 발명의 조성물이 사용될 수 있는 식품의 종류에는 제한이 없다. 아울러 본 발명의 톱 추출물을 활성성분으로 포함하는 조성물은 당업자의 선택에 따라 식품에 함유될 수 있는 적절한 기타 보조 성분과 공지의 첨가제를 혼합하여 제조할 수 있다. 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 나농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 본 발명에 따른 추출물을 주성분으로 하여 제조한 즙, 차, 젤리 및 주스 등에 첨가하여 제조할 수 있다.
- [0077] 또한, 본 발명에 적용될 수 있는 식품에는 예컨대, 특수영양식품(예: 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예: 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예: 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예: 스낵류), 유가공품(예: 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예: 과일, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료(예, 라면스프 등) 등 모든 식품을 포함할 수 있다.
- [0078] 상기 조성물에 포함되는 톱 추출물은 특별히 이에 제한되지 않으나, 조성물의 총 중량에 대하여 0.0001 내지 10 중량%, 보다 바람직하게는 0.001 내지 10 중량%로 함유한다. 만일 톱 추출물의 상기 함량이 0.0001 중량% 미만인 경우에는 피부 및 모발의 흑화 효과와 피부의 백반증 또는 저색소증을 예방, 개선 또는 치료하는 효과가 너무 미약하고, 10.0 중량%를 초과하는 경우에는 함량의 증가에 따른 효과의 증가가 미비하고 제형상의 안정성이 확보되지 않는 문제점이 있다.
- [0079] 본 발명의 건강기능식품 조성물이 음료의 형태로 사용될 경우에는 통상의 음료와 같이 여러 가지 감미제, 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 외에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.
- [0080] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 톱 추출물을 포함하는 조성물을 포함하는 백모, 백반증, 저색소증 관련 질환의 예방, 개선 또는 치료 방법을 제공한다.
- [0081] 상기 톱 추출물의 멜라닌 생성 촉진 효과에 따른 백모, 백반증 및 저색소증의 예방 또는 치료 효과는 상술한 바와 같다.
- [0082] 본 발명에서 사용되는 용어, "개체"란, 멜라닌 색소의 감소에 따른 모발 또는 피부의 전부 또는 일부의 색이 하얗게 되거나 될 가능성이 있는 인간을 포함한 모든 동물을 의미할 수 있다. 상기 동물은 인간뿐만 아니라 이와 유사한 증상의 치료를 필요로 하는 소, 말, 양, 돼지, 염소, 낙타, 영양, 개, 고양이 등의 포유동물일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0083] 본 발명의 상기 예방 또는 치료 방법은 구체적으로, 멜라닌 색소의 감소에 따른 모발 또는 피부의 전부 또는 일부의 색이 하얗게 되거나 될 가능성이 있는 개체에 상기 조성물을 약학적으로 유효한 양으로 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 투여하는 방법은, 상기에 진술한 바와 같다.
- [0084] 상기 예방은 본 발명에 따른 멜라닌 생성 촉진용 조성물을 개체에 투여하여 멜라닌 색소의 감소에 따른 증상 및 질환, 예를 들어 백모, 백반증, 및 저색소증 등의 발병을 억제시키거나 지연시키는 모든 행위를 의미할 수 있다.
- [0085] 상기 치료는 본 발명의 상기 조성물을 멜라닌 색소의 감소에 따른 증상 및 질환의 발병 의심 개체에 투여하여 멜라닌 색소의 감소에 따른 증상 및 질환의 증세가 호전되도록 하거나 이롭게 되도록 하는 모든 행위를 의미할

수 있다.

[0086] 상기 톳 추출물을 포함하는 약학적 조성물에 대해서는 전술한 바와 같다.

[0087] 본 발명의 조성물은 투여를 위하여, 상기 기재한 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로오스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로오스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일을 들 수 있다.

[0088] 본 발명의 조성물의 적합한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 구체적으로, 상기 톳 추출물의 투여량은 1~500mg/Kg일 수 있다.

[0089] 한편, 본 발명의 유효성분인 톳 추출물은 식용으로 이용하여 왔을 뿐만 아니라 피부누적 자극시험 결과 인체에 무해한 물질임이 밝혀졌다. 따라서 본 발명의 톳 추출물은 독성 및 부작용이 거의 없으므로 장기간 사용 시에도 안심하고 사용할 수 있으므로, 화장품, 의약품, 식품, 및 피부외용제 등에 안전하게 사용할 수 있다.

발명의 효과

[0090] 본 발명의 톳 추출물을 유효성분으로 포함하는 멜라닌 생성 촉진용 조성물은 멜라닌 색소의 감소로 인한 모발 및 피부의 흑화를 유도하여 모발에 대한 백모, 피부에 대한 백모증 및 저색소증 등을 예방, 개선, 또는 치료하기 위한 화장품, 의약품, 식품 및 피부 외용제의 유효성분으로 효과적으로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0091] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 톳 추출물의 제조 방법을 도식화한 그림이다.

도 2는 인체 멜라닌 세포(Human melanocyte)에서 톳 추출물에 의한 멜라닌 합성 촉진 효과를 보여주는 그림이다.

도 3은 B16 멜라노마 세포(B16 melanoma cell)에서 톳 추출물에 의한 멜라닌 합성 촉진 효과를 보여주는 그림이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0092] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예 등을 들어 상세하게 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명에 따른 실시예들은 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 하기 실시예들에 한정되는 것으로 해석되어서는 안 된다. 본 발명의 실시예들은 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0093] **실시예 1: 톳 추출물 제조**

[0094] 제주산 톳을 채취하여 이물질 및 불순물이 완전히 제거되도록 깨끗이 세척한 후, 20 내지 35℃에서 음건한 다음, 100℃의 물로 2시간 동안 추출하였다. 상기 톳의 열수 추출물에 최종 2%가 되도록 염화칼슘을 투입하여 알긴산을 가교 반응으로 겔화시키고 이를 여과하여 제거하였다. 알긴산을 제거한 톳 추출물을 동결건조한 다음 70% 에탄올 용액에 2시간 동안 침전시켰다. 침전 후 상등액만을 회수하여 5 μm 필터로 여과한 다음 감압농축기로 농축한 후, 동결 및 건조하여 톳의 추출분말을 제조하였다.

[0095] **실시예 2: 톳 추출물의 세포독성 시험**

[0096] 본 발명에 따른 톳 추출물에 의한 세포 독성을 확인하기 위하여, 인체 멜라닌 세포(Human melanocyte)와 인체 각질 세포(Human keratinocyte)를 이용하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0097] 인체 멜라닌 세포는 HMGS(Human Melanocytes Growth Supplement)가 함유된 M254 배지로 96-웰 플레이트(well plate)에 웰당 5 x 10³ 개로 접종하였으며, 인체 각질 세포(Human keratinocyte)는 HKGS(Human Keratinocytes Growth Supplement)가 함유된 EpiLife™ 배지로 96-웰 플레이트(well plate)에 웰당 5 x 10³ 개로 접종하였다. 그 후 세포가 웰 바닥에 약 80% 이상 부착될 때까지 5% CO₂ 및 37℃ 하에서 배양하였다. 그 후, 배지를 제거하고 시료를 각각 10ppm부터 150ppm까지 다양한 농도 범위로 희석한 각각의 배지로 교체한 후, 3일간 5% CO₂ 및

37℃ 하에서 배양하였다. 3일 후, 배양액을 제거하고 1mg/ml로 녹인 MTT 시약을 각각의 배지로 10배 희석하여 처리해 준 후, 4시간 동안 배양하였다. 4시간 후 MTT 시약이 함유된 배양액을 제거한 후 DMSO를 웰당 100 μ l씩 넣고 세포 내에 생성된 포르마잔(formazan)을 녹여 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존율(cell viability)은 톳 추출물을 처리하지 않은 대조군 값과 비교하여 산출하였다.

[0098] 그 결과, 표 1에서 볼 수 있는 바와 같이 톳 추출물의 모든 처리군에서 세포독성이 없는 것을 확인하였다.

표 1

시료	처리농도(ppm)	인체 멜라닌 세포	인체 각질 세포
		세포생존율(%)	
control	-	100	100
톳 추출물	10	102.3	101.2
	50	102.7	99.8
	100	100.3	101.1
	150	100.4	104.2

[0100] 실시예 3: 인체 멜라닌 세포에서 톳 추출물에 의한 멜라닌 생성 촉진 효과

[0101] 본 발명에 따른 톳 추출물에 의한 멜라닌 생성 촉진 효과를 알아보기 위하여, 인체 멜라닌 세포(Human melanocyte)를 이용하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0102] 인체 멜라닌 세포를 HMGS(Human Melanocytes Growth Supplement)가 함유된 M254 배지로 6-웰 플레이트(well plate)에 웰당 1.5x10⁵ 개로 접종한 후, 세포가 웰 바닥에 약 80% 이상 부착될 때까지 5% CO₂ 및 37℃ 하에서 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고 시료를 적당 농도로 희석된 배지로 교체한 후, 5일간 5% CO₂ 및 37℃ 하에서 배양하였다. 톳 추출물의 농도범위는 상기 실시예 2에 따라 세포독성이 없는 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm으로 결정하였다. 배지를 제거한 세포를 PBS(phosphated buffer saline)로 세척한 후, 세포를 회수하였다. 회수된 세포는 혈구계를 이용하여 세포수를 측정한 다음 10,000 내지 13,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 상등액을 제거하고 펠렛을 얻었다. 얻어진 세포 펠렛을 60℃에서 건조시킨 후에 10% DMSO가 함유된 1M 수산화나트륨액 100 μ l를 넣어 60℃ 항온조에서 세포내 멜라닌 용액을 얻었다. 이 용액을 가지고 microplate reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 일정 수당 멜라닌 양을 구하였다. 그 결과를 하기 표 2와 도 2에 나타내었다.

표 2

시료	처리 농도(ppm)	멜라닌 생성 촉진율(%)
control	-	100
톳 추출물	50	138
	100	148.9
	150	154.5

[0104] 상기 표 2 및 도 2에 기재된 바와 같이, 본 발명에 따른 톳 추출물이 농도 의존적으로 대조군에 비해 멜라닌 생성 촉진율이 높게 관찰되었다.

[0105] 실시예 4: B16 멜라노마 세포에서 톳 추출물에 의한 멜라닌 생성 촉진 효과

[0106] 본 발명에 따른 톳 추출물에 의한 멜라닌 생성 촉진 효과를 알아보기 위하여, B16 멜라노마 세포 (B16 melanoma cell)를 이용하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0107] B16 멜라노마 세포를 10%의 FBS(fetal bovine serum)가 함유된 DMEM 배지로 6-웰 플레이트(well plate)에 웰당 1x10⁵ 개로 접종한 후, 세포가 웰 바닥에 약 80% 이상 부착될 때까지 5% CO₂ 및 37℃ 하에서 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고 시료를 적당 농도로 희석된 배지에 교체한 후, 3일간 5% CO₂ 및 37℃ 하에서 배양하였다. 톳 추출물의 농도범위는 세포독성이 없는 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm으로 결정하였다. 배지를 제거한 세포를 PBS(phosphated buffer saline)로 세척한 후, 세포를 회수하였다. 회수된 세포는 혈구계를 이용하여 세포수를 측정한 다음 10,000 내지 13,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 상등액을 제거하고 펠렛을 얻었다. 얻어진 세포

펠렛을 60℃에서 건조시킨 후에 10% DMSO가 함유된 1M 수산화나트륨액 100 μl를 넣어 60℃ 항온조에서 세포내 멜라닌을 얻었다. 이 액을 가지고 microplate reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 일정 수당 멜라닌 양을 구하였다. 그 결과를 하기 표 3과 도 3에 나타내었다.

표 3

시료	처리 농도(ppm)	멜라닌 생성 촉진율(%)
control	-	100
뿔 추출물	10	142.3
	50	173
	100	198.5

[0108]

[0109]

상기 표 3 및 도 3에 기재된 바와 같이, 본 발명에 따른 뿔 추출물이 농도 의존적으로 대조군에 비해 멜라닌 생성 촉진율이 높았고, 뿔 추출물 100 ppm을 처리하였을 때 2배 가량 멜라닌 생성을 촉진하는 것으로 관찰되었다.

[0110]

실시예 5: 3D skin에서 뿔 추출물에 의한 멜라닌 생성 촉진 효과

[0111]

본 발명에 따른 뿔 추출물에 의한 멜라닌 생성 촉진 효과를 알아보기 위하여, 3D skin을 이용하여 하기와 같은 실험을 수행하였다. 3D skin은 Maintenance 배지로 12-웰 플레이트(well plate)에 37℃, 5% CO₂에서 배양하였다. 배지를 교체한 후, 상기 실시예 1에서 제조한 뿔 추출물을 세포독성이 없는 50 ppm, 100 ppm 농도에서 처리하였다. 10일 동안 뿔 추출물을 농도에 맞게 처리한 배지로 3번 교체한 후, 5% CO₂ 및 37℃ 하에서 배양하였다. 배지를 제거한 세포를 PBS(phosphated buffer saline)로 세척한 후, 세포를 회수하였다. 10,000 내지 13,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 상등액을 제거하고 펠렛을 얻었다. 얻어진 세포 펠렛을 60℃에서 건조시킨 후에 10% DMSO가 함유된 1M 수산화나트륨액 100 μl를 넣어 60℃ 항온조에서 세포내 멜라닌을 얻었다. 이 액을 가지고 microplate reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 일정 수당 멜라닌 양을 구하였다. 그 결과를 하기 표 4에 나타내었다.

표 4

시료	처리 농도(ppm)	멜라닌 생성 촉진율(%)
control	-	100
뿔 추출물	50	134
	100	141

[0112]

[0113]

상기 표 4에 기재된 바와 같이, 본 발명에 따른 뿔 추출물이 농도 의존적으로 대조군에 비해 멜라닌 생성 촉진율이 높게 관찰되었다.

[0114]

실시예 6: 인체 모낭 배양을 통한 뿔 추출물의 멜라닌 생성 촉진 효과

[0115]

상기 실시예 1에서 제조한 뿔 추출물의 멜라닌 생성 촉진 효과를 인체 모낭 배양을 통해 측정하였다. 구체적으로 여성의 기증자로부터 얻어진 모낭을 50 U/mL 페니실린, 50 μg/mL 스트렙토마이신, 2 mM L-글루타민, 10 μg/mL 인슐린, 0.004 μg/mL 하이드로코르티손(hydrocortisone)이 포함된 E. William 배지에서 7일간 37℃에서 배양하였으며, 뿔 추출물과 함께 처리하였다. 그 후 포름알데히드로 고정시킨 후 탈수 과정을 거쳐 파라핀으로 고정하여 폰타나 마슨(Fontana Masson) 염색 용액으로 염색하고, 그 단면을 5 μm 두께로 잘라 니콘 E400 현미경으로 관찰하였다. 그리고 모낭의 멜라닌 함량은 모낭 부위의 멜라닌을 image J 소프트웨어를 통해 정량적으로 측정하여 표 5에 표기하였다. 그 결과 아무것도 처리하지 않은 음성 대조군과 비교하여 뿔 추출물을 100ppm 처리한 군에서 멜라닌 함량이 39% 증가하는 결과를 관찰하였다.

표 5

시료	처리 농도(ppm)	멜라닌 생성 촉진율(%)
control	-	100
뿔 추출물	50	122
	100	139

[0116]

[0117] 실시예 7: 톳 추출물의 인체 피부에 대한 안전성 확인 실험

[0118] 본 발명에 따른 톳 추출물이 인체 피부에 안전한지 확인하기 위하여, 피부 안전성 검증 실험을 수행하였다. 이를 위해 피부누적자극시험을 실시하였다. 톳 추출물을 각각 0.1%, 0.5% 및 1%를 첨가한 제형을 제조하고, 이를 사용하여 건강한 30명의 성인을 대상으로 윗 팔뚝 부위에 격일로 총 9회의 24시간 누적 첩포를 시행하여 톳 추출물이 피부에 자극을 주는지의 여부를 측정하였다. 첩포 방법은 핀 챔버 (Finn chamber, Epitest Ltd, 핀란드)를 이용하였다. 챔버에 상기 각 피부외용제를 15 μ l씩 적하한 후 첩포를 실시하였다. 매회 피부에 나타난 반응의 정도를 하기 수학적 1을 이용하여 점수화 하였으며, 그 결과를 하기 표 6에 나타내었다.

[0119] [수학적 1]

[0120] 평균반응도 = $\frac{[(\text{반응지수} \times \text{반응도}) / (\text{총 피검자수} \times \text{최고점수}(4\text{점}))] \times 100}{\text{검사회수}(9\text{회})}$

[0121] 반응도에서 \pm 는 1점, +는 2점 및 ++는 4점의 점수를 부여하며, 평균반응도가 3 미만일 때 안전한 조성물로 판정된다.

표 6

시험물질	반응이 나타난 피검자 수									평균 반응 도	
	1주			2주			3주				
	1차	2차	3차	4차	5차	6차	7차	8차	9차		
	\pm	+	++	\pm	+	++	\pm	+	++		
대조군 (스쿠알렌)	0	-	-	0	-	-	-	-	-	-	0.00
톳 추출물 (0.1%) [시험군 1]	0	-	-	0	-	-	-	-	-	-	0.00
톳 추출물 (0.5%) [시험군 2]	0	-	-	0	-	-	-	-	-	-	0.00
톳 추출물 (1%) [시험군 3]	0	-	-	0	-	-	-	-	-	-	0.00

[0123] 상기 표 5에서 시험군 1, 2 및 3 모두 \pm , + 및 ++에 해당하는 사람의 수가 모두 0명이고, 평균 반응도 역시 0.00이었다. 그러므로 평균반응도가 3이하의 반응도로 나타나, 톳 추출물은 뚜렷한 누적자극 양상을 나타내지 않는 인체 피부에 안전한 물질로 판정되었다.

[0124] 본 발명의 조성물은 하기와 같이 제제예로 제조될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0125] 제제예 1 : 화장료 제제

[0126] 1-1. 유연화장수

[0127] 하기의 표 7과 같이 톳 추출물을 유효성분으로 포함하는 유연화장수를 통상의 방법에 따라 제조하였다.

표 7

성분	중량%
톳 추출물	0.01
글리세린	3.0
부틸렌 글리콜	2.0
프로필렌 글리콜	2.0
카복시비닐폴리머	0.1
에탄올	10.0
트리에탄올아민	0.1
방부제, 미량색소, 미량향료 및 미량 정제수	82.79

총계	100.0
----	-------

[0129] 1-2. 영양화장수

[0130] 하기의 표 8과 같이 톳 추출물을 유효성분으로 포함하는 영양화장수를 통상의 방법에 따라 제조하였다.

표 8

[0131]

성분	중량%
톳 추출물	0.01
밀납	4.0
폴리소르베이트 60	1.5
소르비탄세스퀴올레이트	0.5
유동과라핀	5.0
스쿠알란	5.0
카프릴릭/카프릭 트리글리세라이드	5.0
글리세린	3.0
부틸렌 글리콜	3.0
프로필렌 글리콜	3.0
카복시비닐폴리머	0.1
트리에탄올아민	0.2
방부제, 미량색소, 미량향료 및 미량정제수	69.69
총계	100.0

[0132] 1-3. 영양크림

[0133] 하기의 표 9와 같이 톳 추출물을 유효성분으로 포함하는 영양크림을 통상의 방법에 따라 제조하였다.

표 9

[0134]

성분	중량%
톳 추출물	0.01
밀납	10.0
폴리소르베이트 60	1.5
소르비탄세스퀴올레이트	0.5
유동과라핀	10.0
스쿠알란	5.0
카프릴릭/카프릭 트리글리세라이드	5.0
글리세린	5.0
부틸렌 글리콜	3.0
프로필렌 글리콜	3.0
트리에탄올아민	0.2
방부제, 미량색소, 미량향료 및 미량정제수	56.79
총계	100.0

[0135] 1-4. 마사지 크림

[0136] 하기의 표 10과 같이 톳 추출물을 유효성분으로 포함하는 마사지 크림을 통상의 방법에 따라 제조하였다.

표 10

[0137]

성분	중량%
톳 추출물	0.01
밀납	10.0
폴리소르베이트 60	1.5
소르비탄세스퀴올레이트	0.8
유동과라핀	40.0
스쿠알란	5.0

카프릴릭/카프릭 트리글리세라이드	4.0
글리세린	5.0
부틸렌 글리콜	3.0
프로필렌 글리콜	3.0
트리에탄올아민	0.2
방부제, 미량색소, 미량향료 및 미량정제수	27.49
총계	100.0

[0138] 1-5. 팩

[0139] 하기의 표 11과 같이 톳 추출물을 유효성분으로 포함하는 팩을 통상의 방법에 따라 제조하였다.

표 11

[0140]

성분	중량%
톳 추출물	0.01
폴리비닐알콜	13.0
소듐카복시메틸셀룰로스	0.2
알란토인	0.1
에탄올	5.0
노닐페닐에테르	0.3
방부제, 미량색소, 미량향료 및 미량정제수	81.39
총계	100.0

[0141] 1-6. 샴푸

[0142] 하기의 표 12와 같이 톳 추출물을 유효성분으로 포함하는 샴푸를 통상의 방법에 따라 제조하였다.

표 12

[0143]

성분	중량%
톳 추출물	0.01
티에이-코코일글루타메이트	10.0
코카미도프로필베타인	20.0
글리세린	5.0
판테놀	0.05
나이아신아마이드	0.2
잔탄검	1.0
방부제, 미량색소, 미량향료 및 미량정제수	63.74
총계	100.0

[0144] 1-7. 헤어 세럼

[0145] 하기의 표 13과 같이 톳 추출물을 유효성분으로 포함하는 헤어 세럼을 통상의 방법에 따라 제조하였다.

표 13

[0146]

성분	중량%
톳 추출물	0.01
멘톨	0.1
폴리솔베이트20	0.5
에탄올	5.0
판테놀	0.1
나이아신아마이드	0.3
피리독신에이치씨엘	0.1
다이프로필렌글라이콜	2.0
방부제, 미량색소, 미량향료 및 미량정제수	91.89
총계	100.0

[0147] 제제예 2 : 약제학적 제제

[0148] 2-1. 산제의 제조

표 14

성분	합량(g)
톳 추출물	2
유당	1

[0150] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0151] 2-2. 정제의 제조

표 15

성분	합량(mg)
톳 추출물	100
옥수수전분	100
유당	100
스테아린산마그네슘	2

[0153] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0154] 2-3. 캡슐제의 제조

표 16

성분	합량(mg)
톳 추출물	100
옥수수전분	100
유당	100
스테아린산마그네슘	2

[0156] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0157] 2-4. 젤의 제조

표 17

성분	중량%
톳 추출물	0.01
부틸렌글라이콜	2.00
글리세린	1.00
디소듐이디티에이	0.02
피이지-60 하이드로제네이티드캐스터오일	1.00
코카미도프로필베타인	4.00
라우릴 글루코사이드	6.00
폴리소르베이트 20	1.00
소듐벤조에이트	0.40
카프릴릭글라이콜	0.20
소듐락테이트	0.50
하이드록시에틸셀룰로오스	0.7
정제수	83.17
총계	100.0

[0159] 2-5. 연고제의 제조

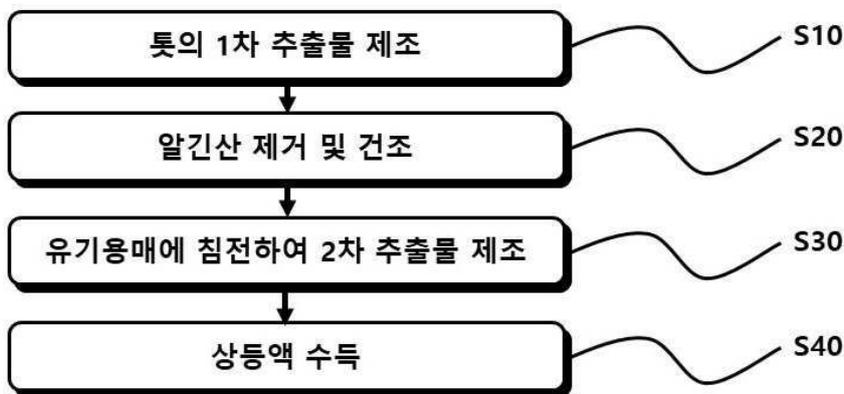
표 18

[0160]

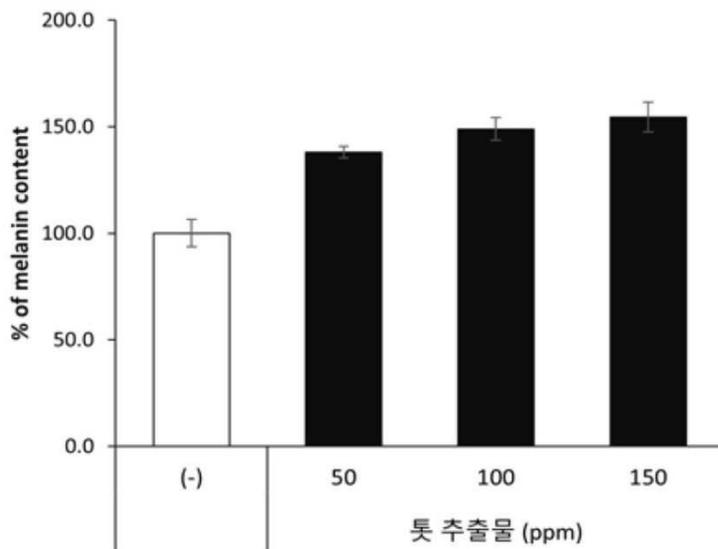
성분	중량%
투스 추출물	0.01
디에탄올아민	1.5
폴리비닐프롤리돈	5.0
프로필렌글리콜	30.0
정제수	63.49
총계	100.0

도면

도면1



도면2



도면3

