



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0005177
(43) 공개일자 2013년01월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0066604

(22) 출원일자 2011년07월05일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

보령메디앙스 주식회사

서울특별시 종로구 창경궁로 136 (원남동)

장문식

경기도 수원시 장안구 금당로39번길 34, 조원주공
아파트 214동 804호 (조원동)

(72) 발명자

김동호

인천광역시 서구 원당동 e-편한세상 104동 1203호

임남훈

서울특별시 동작구 사당로2가길 102, 108동 1003
호 (사당동, 사당자이아파트)

(뒷면에 계속)

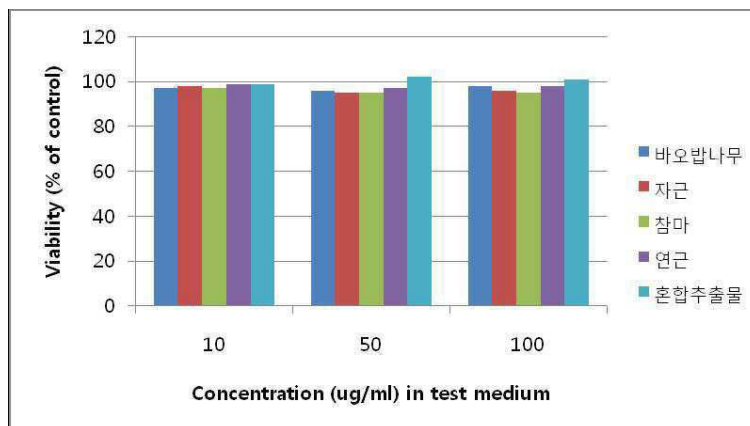
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 항염 및 항알러지 효과가 있는 바오밥나무, 자근, 참마, 연근 혼합추출물의 제조방법 및 이를 포함하는 화장료 조성물

(57) 요약

본 발명은 항염 및 항알러지 효과가 있는 바오밥나무, 자근, 참마, 연근 혼합추출물의 제조방법 및 이를 포함하는 화장료 조성물을 제공한다. 본 발명의 조성물은 항염 및 항알러지 효과가 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

전용석

인천광역시 서구 원당동 대림아파트 105동 1406호

김상범

경기도 안양시 동안구 흥안대로414번길 39, 인덕원
대림2차아파트 210동 401호 (평촌동)

이영희

인천광역시 부평구 수변로 333, 218동 404호 (삼산
동, 삼산타운)

이광욱

경기도 안산시 상록구 본오동 1112-4201호

장문식

경기도 수원시 장안구 금당로39번길 34, 조원주공
아파트 214동 804호 (조원동)

김새봄

경기도 군포시 광정로 122, 주몽아파트 1003동
1003호 (산본동)

박미정

경기도 수원시 장안구 화산로187번길 19, 삼성래미
안아파트 109동 703호 (천천동)

김동원

서울특별시 서초구 주흥11길 40, 반포 웨미리아파
트 101-501 (반포동)

유근실

경기도 수원시 권선구 매실로 70, LG삼익아파트
103동 1106호 (호매실동)

조은주

경기도 수원시 장안구 만석로20번길 28, 한라비발
디아파트 633동 406호 (정자동)

박송아

경기도 성남시 분당구 수내동 양지마을한양아파트
527-701

송지은

경기도 화성시 석우동 예당마을 푸르지오 106-1103

특허청구의 범위

청구항 1

바오밥나무, 자근, 참마, 연근의 혼합추출물을 함유하는 화장료 조성물

청구항 2

제 1항에 있어서,

그람 양성균으로서 내생 포자 형성능이 있으며, 장간균의 형태를 가지며, 또한 호기성 또는 통성혐기성 조건에서 생장이 가능하지만 혐기적인 조건에서는 생장이 불가능하며 카탈라아제 생산 및 카제인과 젤라틴, 전분 분해능의 특징을 가지며, 생장 조건으로서는 7% 식염수 조건에서 생장이 가능하며 발효 조건인 약 45도씨에서 생장이 가능하며 약 pH 5.0 내지 7.5에서 생장이 활발하며, 글루코오스, 아라비노오스, 크실로오스, 만니톨을 이용하여 산을 생성할 수 있는 것을 특징으로 하는 바실러스 속 미생물을 사용하여 발효 단계를 거치는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물

청구항 3

제 1항에 있어서, 혼합 추출물이 정제수, C1~C4알코올, 함수 C1~C4알코올, C1~C6글리콜, 함수C1~C6글리콜, 에틸아세테이트, 벤젠, 헥산, 디에틸에테르 또는 디클로로메탄으로 이루어진 그룹 중에서 단일 또는 2종 이상의 용매를 혼합한 것으로 추출된 화장료 조성물

청구항 4

제 3항에 있어서, 혼합 추출물이 에탄올 또는 함수에탄올로 추출된 화장료 조성물

청구항 5

제 1항에 있어서, 바오밥나무, 자근, 참마, 연근으로 구성되어진 혼합물을 80 내지 100도씨 온도에서 30분 내지 1시간 동안 습식 열처리를 하여 미생물 오염을 제거하며 각 혼합물을 구성하는 원료의 영양성분이 화학적으로 용출되어 이용되기 쉽도록 조건을 형성하는 단계를 거친 후 30 내지 60도씨 온도와 pH 5.5 내지 8.5 및 통상 혐기적인 발효 조건에서 바실러스속 미생물을 이용하여 고체 발효하여 고분자 물질을 생산한 후 제균 단계를 거치어 정제수 또는 유기용매로서 C 1 내지 4로 구성된 저급 알코올 특히 에탄올을 1:1 내지 5의 부피비로 혼합 첨가하여 열수 또는 초음파 추출 방법을 사용하여 교반하여 추출액을 회수하고 이를 농축하여 1차 정제하는 단계로 구성되는 발효 추출물을 포함하는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물

청구항 6

제 1항 내지 제 4항에 있어서, 화장료 조성물이 항염 및 항알러지 효과를 가지는 화장료 조성물

청구항 7

제 1항 내지 제 5항에 있어서, 화장료 조성물이 화장수, 영양로션, 영양크림, 맛사지 크림, 에센스 또는 팩 제형인 화장료 조성물

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 바오밥나무, 자근, 참마, 연근 혼합추출물을 함유하는 화장품 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 대부분의 질환과 마찬가지로 피부 질환은 염증 반응을 동반하는데 대표적인 피부 질환인 알레르기 접촉피부염, 건선, 아토피성 피부염 등은 면역세포인 T세포가 매개하는 염증성 질환이다. 따라서 주요 피부 질환에 대한 관리 및 치료에는 반드시 항염증제가 응용되어야 한다. 이러한 염증성 질환을 치료하기 위해 스테로이드성 항염증제가 사용되고 있으나 스테로이드성 제제들은 여러 가지 많은 부작용을 나타내고 있어 그 사용을 제한하고 있다.

[0003] 따라서, 현 시장에서는 NOS를 직접적으로 억제하여 알러지로부터 피부를 보호할 뿐만 아니라, 염증으로부터 피부를 보호하는 효과도 있는 천연 식물을 찾아내는 것이 요구되고 있다.

[0004] 한편, 바오밥나무(*Adansonia digitata*)는 열대 아프리카에서 자란다. 높이 20m, 가슴높이둘레 10m, 퍼진 가지 길이 10m 정도로 원줄기는 술통처럼 생긴 세계에서 큰 나무 중의 하나이다. 아프리카에서는 신성한 나무 중 하나로 꼽고 있으며 구멍을 뚫고 사람이 살거나 시체를 매장하기도 한다. 열매가 달려 있는 모양이 쥐가 달린 것같이 보이므로 죽은쥐나무(dead rat tree)라고도 한다. 잎은 5~7개의 작은잎으로 된 손바닥 모양 겹잎이다. 꽃은 흰색이며 지름 15cm 정도로 꽃잎은 5개이다. 열매는 수세미와처럼 생겨서 길이 20~30cm로 털이 있고 딱딱하며 긴 과경(果梗)이 있다. 수령이 5,000년에 달한다고 한다. 바오밥나무의 학명은 이 나무를 발견한 프랑스의 식물학자 열대 아프리카에서 자란다.

[0005] 자근(*Lithospermum erythrorhizon* Siebold and Zuccarini)은 지리적으로는 일본, 만주, 중국, 아무우르에 분포한다. 지치과에 속하며, 우리나라 전국 각처의 산야지초원에 자생하였으나 지금은 드물게 나타나며 전라남도 진도 지방에서 많이 재배하기도 한다. 씨로 번식한다. 꽃과 뿌리가 검붉은 가지색을 띠기 때문에 자초 또는 지치, 자근이라고 한다. 뿌리는 약간 가늘고 긴 원추형으로 흔히가지가 갈라지고, 길이 6~10cm, 지름 5~15mm이다. 바깥면은 어두운 적색~자갈색을 띠고, 피부는 거칠고 얇게 벗겨지기 쉽다. 지치의 뿌리를 자근 혹은 자초근이라고도 하는데, 생약(生藥)에서 뿌리를 가을에 캐서 물에 씻어 햇볕에 말려 약재로 사용하며, 맛은 조금 달고 냄새는 없다. 다년초, 높이 30~70cm, 줄기는 곧게 서고, 뿌리가 땅속 깊이 들어가고 굵으며 자주색이고, 원줄기는 가지가 갈라지며 잎과 더불어 털이 많다. 잎은 호생하고 피침형이며 양끝이 좁고 밑부분이 좁아져서 잎자루처럼 된다. 꽃은 5~6월에 피고 백색이며 줄기끝에 총상화서로 달리고, 잎모양의 포가 있으며, 꽃받침잎은 5개이고 녹색이며 넓은 선형으로 둔두(鈍頭)이고 화관통부(花冠筒部)보다 길다. 화관(花冠)은 길이 6~7mm, 지름 4mm이고 후부(喉部)에 5개의 인편(鱗片)이 있다. 열매는 7월에 성숙되고 견과(堅果)는 회색이며 골질(骨質)로 되고 광택이 나며 난상 원형이다.

[0006] 뿌리에 가지색을 띤 나프토키논유도체(1.8~3.5%)인 아세틸시코닌 (acetylshikonin), 시코닌, 이소발레틸시코닌, β -디메틸아크릴-시코닌, 테르아크릴-시코닌, β -히드록시 이소발레틸-시코닌, α -메틸-n-부틸시코닌, 데옥시시코닌, 안히드로알칸닌 등이 있다. 또한 알칸닌과 알칸난이 들어있다. 다른 자료에 의하면 뿌리의 색소함량이 7.1% 였고 30kg의 뿌리에서 435mg의 시코닌을 얻었다고 한다. 뿌리에서는 또한 알칼로이드, 트리테르펜사포닌, 1-보르네시톨, 이노시트, 루틴, 니트릴배당체 등이 확인되었다. 지상분에 페놀카르본산이 0.2% 있다.

[0007] 참마(*Dioscorea japonica* Thunberg)는 중국, 일본, 한국 거의 전도, 설악산, 군자산, 영종도가 산지로 2~8월에 채집시기이다. 맛은 달고, 약성은 따뜻하며 독이 없다. 마과(서예과)에 속하는 덩굴성 다년생초본으로서 괴근은 긴 원주상이며 길이 2m에 달한다. 줄기는 가늘고 길며, 덩굴로 분지(分枝)된다. 자색을 띤 잎은 대생(對生)하며 잎자루가 길고 난형-타원형이며, 심장형으로 끝이 뾰족하다. 엽액(葉腋)에 둥근 싹이 있다. 꽃은 자웅이가(雌雄二家)로서 수상화서이며 여러개가 액생(腋生)했고 자방은 하위이고 3실이다. 삭과(朔果)는 3개의 익상(翼狀)이고 원익(圓翼)의 중자가 있다. 꽃은 백색이고 6~7월에 핀다. 괴근을 약용으로 쓰는데 산약은 코르크층을 벗기어 말린 것이며 거의 원추형이며 다육질이고 외면은 미황백색이다. 당단백질(glucoprotein)로 된 뮤신(mucin)성의

점액 2-3%를 함유하고 가수분해에 의해 만노오즈(mannose), 포도당(glucose)과 그밖에 16종의 아미노(amino)산을 생성한다.

[0008] 연근()은 수련과의 다년생 초본으로 아시아 남부, 북호주 원산이다. 진흙속에서 자라면서도 청결하고 고귀한 식물로, 여러 나라 사람들에게 친근감을 주어 온 식물이다. 연못에서 자라고 논밭에서 재배하기도 한다. 뿌리줄기는 굵고 옆으로 뻗어가며 마디가 많고 가을에는 특히 끝부분이 굵어진다. 높이나 수전에서 지하경으로 재배되며 비교적 따뜻한 곳에서 좋은 것이 수확된다. 일반적으로 육질의 색깔이 희고 부드러우며 속의 구멍이 적은 것일수록 좋은 품질이다. 원산지가 중국인 연근은 다년생 수생식물로 지하경은 땅 속으로 길게 뻗어가 끝에 덩이 줄기를 형성하며, 긴 것은 1.8 m 이상이 되는 것도 있다. 지름 40cm 내외로서 물에 젖지 않으며 잎맥이 방사상으로 퍼지고 가장자리가 밋밋하다. 잎자루는 겉에 가시가 있고 안에 있는 구멍은 땅속줄기의 구멍과 통한다. 꽃은 7~8월에 피고 홍색 또는 백색이며 꽃줄기 끝에 1개씩 달리고 지름 15~20cm이며 꽃줄기에 가시가 있다. 꽃잎은 달걀을 거꾸로 세운 모양이며 수술은 여러개이다. 꽃턱은 크고 편평하며 지름 10cm 정도이고 열매는 견과이다. 종자가 꽃턱의 구멍에 들어 있다. 종자의 수명은 길고 2000년 묵은 종자가 발아한 예가 있다. 잎은 반원형 혹은 줄부채 모양이나 퍼보면 원형이다. 지름 20~50cm, 잎 가장자리는 평탄하거나 파상(波狀)이다. 윗면은 짙은 녹색 혹은 황록색이고 아랫면은 옅은 회갈색으로서 광택이 조금 나 있다. 잎자루가 있는 중심으로부터 21~22줄의 돌출된 엽맥이 사방으로 뻗어 나가 있다. 질은 무르고 부스러지기 쉽다. 특이한 냄새가 있고 맛은 약간 쓰다. 품종은 일반적으로 대륜·중륜·소륜으로 나눈다. 연근은 높은 온도를 좋아하여 생육 적온은 25~30도씨 이다. 우리나라에서 재배되고 있는 연근은 인도에서 유래한 재배종으로서 한국 재래종과 일본 종이 이에 속한다. 한국종은 만생종으로 꽃은 담홍색이고, 뿌리는 타원형이며, 분질, 다수성이다. 4~5월에 뿌리를 심어 9월초에서 이듬해 5월 상순까지 수시로 수확한다.

[0009] 연의 씨앗성분으로는 단백질이 8%이며 당질이 23%로 주로 전분이다. 연근 외에도 연방(꽃받침), 하엽(잎), 연술(수술), 우절(뿌리줄기의 마디), 연화(꽃봉오리)도 약으로 쓴다. 로에메린, 누씨페린은 진통작용, 진정작용이 있다. 연근의 성분은 탄수화물이 많으며(13.4%로 대부분이 전분) 지방이 8.1%, 단백질은 2.4% 정도로서 단백질의 소화율은 별로 좋지 않다. 비타민 C는 50 mg%로 비교적 많다. 열매의 탄수화물은 20%로서 역시 대부분이 전분이며 단백질은 8%나 있다. 연근의 갈변을 막기 위해서는 연한 산성용액(식초용액)에 담그면 된다. 흰색의 연근조리를 할때엔 위에 말 한 산성용액으로 일단 데쳐낸 후 다시 식초, 설탕, 소금 등으로 조미를 하면 좋다. 이렇게 하면 아삭아삭하고 독특한 풍미가 있게 된다. 부원료로 사용할 수 있다. 변비가 있는 사람은 피하는 것이 좋다. 근경은 야채로 먹으며, 종자는 볶아 먹는다. 미숙한 종자는 생것으로 먹는다. 뿌리는 조리하는 이외에도 생식하고 열매는 생식, 당절임하기도 하며, 잎은 육류를 삶을 때 포장용으로 사용한다.

[0010] 지금까지 염증 및 알러지 완화용 조성물을 찾기 위해 여러 가지 시도가 있었으나, 위 바오밥나무, 자근, 참마, 연근 혼합추출물의 상기 용도들은 개시되지 않았다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 이에 본 발명자들은 바오밥나무, 자근, 참마, 연근 혼합추출물이 항염 및 항알러지 효과가 있고 화장료 조성물로 적합함을 알아내어 본 발명을 완성하였다.

발명의 효과

[0012] 본 발명에 의한 화장료 조성물은 항염 및 항알러지 효과가 우수하다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 본 발명의 바오밥나무, 자근, 참마, 연근의 혼합추출물의 농도에 따른 세포 독성 확인 실험을 나타내는 그래프,

도 2는 본 발명의 바오밥나무, 자근, 참마, 연근의 혼합추출물의 농도에 따른 항염증 효과를 나타내는 그래프,

도 3은 본 발명의 바오밥나무, 자근, 참마, 연근의 혼합추출물의 Nitric Oxide 저해 효과를 나타내는 그래프,

도 4는 본 발명의 바오밥나무, 자근, 참마, 연근의 혼합추출물의 β -hexosaminidase release 저해로 인한 항알

러지 효과를 나타내는 그래프

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0014] 이하 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.
- [0015] 본 발명은 바오밥나무, 자근, 참마, 연근의 고체 발효를 통한 혼합추출물을 함유하는 화장료 조성물을 제공한다.
- [0016] 본 발명에 사용되는 바오밥나무, 자근, 참마, 연근은 직접 재배하여 건조시킨 것을 사용하거나, 국내 재래시장 또는 한약재를 파는 곳에서 직접 구입하여 사용할 수 있다.
- [0017] 본 발명의 혼합추출물은 고체 발효를 통한 추출방법에 의해 제조된다. 예를 들어, 바오밥나무, 자근, 참마, 연근을 세척하여 건조시킨 후, 이를 세절한 후에, 통상의 추출용매로 통상의 추출방법을 통해 제조하기 전에 고체 발효를 거치는 공정을 적용한다.
- [0018] 본 발명은 바오밥나무, 자근, 참마, 연근을 각각 10 내지 30 중량%로 구성하여 건조 과정을 거친 후 혼합물을 80 내지 100도씨 온도에서 30분 내지 1시간 동안 습식 열처리를 하여 미생물 오염을 제거하며 각 혼합물을 구성하는 원료의 영양성분이 용출되어 이용되기 쉽도록 화학적 조건을 형성하는 단계를 거친 후 30 내지 60도씨 온도와 pH 5.5 내지 8.5 및 통성 혐기적인 발효 조건에서 바실러스속 미생물을 이용하여 고체 발효하여 고분자 물질을 생산한 후 제균 단계를 거치어 정제수 또는 유기용매로서 저급 알코올 특히 에탄올을 1:1 내지 5의 부피 비로 혼합 첨가하여 열수 또는 초음파 추출 방법을 사용하여 교반하여 추출액을 회수하고 이를 농축하여 1차 정제하였다. 더욱 정제하고자 할 때는 4도씨에서 분자량 10kD의 막 필터를 이용한 투석을 통해 저분자량의 물질을 제거할 수 있다. 분리된 용액의 부피와 동일한 부피의 증류수를 첨가하여 추출물의 점도를 낮춘 후 동결건조하여 건조중량을 측정하여 생산성을 결정하였다.
- [0019] 이렇게 제조된 바오밥나무, 자근, 참마, 연근으로 구성된 고체 발효 단계를 거친 혼합 추출물을 화장료 제조시 첨가한다.
- [0020] 본 발명의 바실러스속 균주의 특성은 그람 양성균으로서 내생 포자 형성능이 있으며, 장간균의 형태를 가지고 있다. 또한 호기성 또는 통성혐기성 조건에서 생장이 가능하지만 혐기적인 조건에서는 생장이 불가능하며 카탈라아제 생산 및 카제인과 젤라틴, 전분 분해능의 특징을 가진다. 성장 조건으로서는 7% 식염수 조건에서 생장이 가능하며 발효 조건인 약 45도씨에서 생장이 가능하며 약 pH 5.0 내지 7.5에서 생장이 활발하다. 또한 글루코오스, 아라비노오스, 크실로오스, 만니톨을 이용하여 산을 생성할 수 있는 특징을 가진다.
- [0021] 본 발명에 따른 화장료 조성물은 상기 제조된 바오밥나무, 자근, 참마, 연근으로 구성되어진 발효 추출물을 0.1 내지 20 중량%로 바람직하게는 2 중량%가 되게 함유하는 것을 특징으로 한다.
- [0022] 본 발명에 따른 항염 및 항알러지 효과가 있는 화장료 조성물은 통상의 제형을 가질 수 있으며, 예를 들어 유연 화장수, 수렴화장수, 영양화장수, 영양크림 등으로 제형화될 수 있다. 이들 각 제형의 조성물은 그 제형의 제제화에 필요하고 적절한 각종의 기제와 첨가물을 함유할 수 있으며, 이들 성분의 종류와 양은 당업자에 의해 용이하게 선정될 수 있다. 이하에 항염 및 항알러지 효과를 갖는 화장료 조성물의 대표적인 화장수와 영양로션 조성물을 예를 들어 설명한다.
- [0023] 또한 본 발명에 따른 항염 및 항알러지 효과를 가지는 화장료 조성물은 통상적인 사용방법에 따라 사용될 수 있으며, 사용자의 피부 상태 또는 취향에 따라 그 사용 횟수를 달리할 수 있다.
- [0024] 이하 본 발명의 실시예를 통하여 본 발명의 항염 및 항알러지 효과를 가지는 화장료 조성물을 더욱 상세하게 설명하지만 본 발명이 이들 실시예에만 국한되는 것은 아니다.
- [0025] 본 발명의 혼합 추출물 제조에 사용되는 용매는 당업자에게 알려진 추출용매이면 어느 것이든 가능하다. 예를 들어, 물, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올과 같은 C1~C4의 알코올, 또는 함수 C1~C4 알코올, 부틸렌글리콜과 같은 C1~C6의 글리콜, 함수 C1~C6의 글리콜, 에틸아세테이트, 헥산, 벤젠, 디에틸에테르, 디클로로메탄 등이 있으며, 단일 또는 2종 이상의 혼합 용매를 혼합하여 사용할 수 있다. 바람직한 천연 식물 추출용매는 에탄올을 포함하는 C1~C4의 알코올, 함수 C1~C4알코올이다. 본 발명의 화장료 조성물에서, 혼합추출물의 함량은 사용목적 및 사용자의 대상에 따라 다양하게 함유될 수 있다. 바람직한 혼합추출물의 함량은 화장료 조성물 총중량에 대하여 0.1 내지 5.0 중량% 이다. 본 발명의 화장료 조성물은 항염증 또는 피부자극완화 효과가 있으므로, 항염증용 또는 피부자극완화용의 기능성 화장품으로 사용가능하다.

[0026] 또한 본 발명의 화장료 조성물은 현재 시판되는 화장품, 화장용비누, 화장용 세안제의 제형을 가진다. 예를 들어, 본 발명의 화장료 조성물은 화장수(스킨로션), 영양로션, 영양크림, 맛사지 크림, 에센스, 팩 또는 유화형 화운데이션과 같은 화장품제형일 수 있다. 또한, 본 발명의 화장료 조성물은 유아전용 화장수(스킨로션), 로션, 크림, 자외선차단 로션 또는 자외선차단 크림과 같은 화장품일 수 있다. 또한, 본 발명의 화장료 조성물은 유아전용 목욕 세정제, 샴푸 또는 비누와 같은 화장용 세정제 일 수 있다.

[0027] 이하, 실시예, 비교예, 실험예 및 비교실험예를 들어 본 발명의 구성 및 효과를 상세히 설명하나, 본 발명이 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0028] 실시예 1 : 천연 혼합 추출물 제조

[0029] 바오밥나무 30g, 자근 30g, 참마 20g 및 연근 20g을 80 내지 100도씨 온도에서 1시간 동안 습식 열처리를 하여 미생물 오염을 차단하며 각 혼합물을 구성하는 원료의 영양성분이 용출되어 이용되기 쉽도록 조건을 형성하는 단계를 거친 후 60도씨 온도와 pH 5.5 내지 6.0 및 통성 혐기적인 발효 조건에서 바오밥나무, 자근, 참마, 연근으로 구성된 열처리된 혼합물을 건식 배양 조건하에서 바실러스속 미생물을 이용하여 24시간 동안 고체 발효하여 고분자 물질을 생산한 후 제균 단계를 거치어 에탄올을 500ml로 혼합하여 교반하여 추출액을 회수하고 이를 감압 농축하여 건조중량 기준으로 10 g의 혼합추출물을 제조하였다. 이 중 1 g을 각각 취하여 활성검색 시료로 하였다.

[0030] 비교예 1 : 바오밥나무 추출물의 제조

[0031] 바오밥나무 30g을 취하여 실시예 1과 동일한 방법으로 추출하여 건조중량 3g을 얻었다.

[0032] 비교예 2 : 자근 추출물의 제조

[0033] 자근 30g을 비교예 1과 동일한 방법으로 하여 건조 중량 3g을 얻었다.

[0034] 비교예 3 : 참마 추출물의 제조

[0035] 참마 20g을 비교예 1과 동일한 방법으로 하여 건조 중량 2g을 얻었다.

[0036] 비교예 4 : 연근 추출물의 제조

[0037] 연근 20g을 비교예 1과 동일한 방법으로 하여 건조 중량 2g을 얻었다.

[0038] 실험예 1 : 본 발명에 따른 피부 진정 효과가 있는 화장수 조성물의 제조

[0039] 하기 표 1에 나타난 바와 같은 조성비율로 화장수를 제조하였다. 즉 성분 11번에 성분 2, 3, 4 및 8번을 순서대로 투입하고 교반하여 용해시킨다. 그 후 성분 5번을 60도씨로 가열하여 용해시킨 후 성분 10을 투입, 교반하여 용해한 후 성분 11번을 투입한다. 마지막으로 성분 1, 6, 7 및 9번을 투입하고 충분히 교반한 뒤 숙성시킨다.

표 1

번호	원료	함량(중량%)
1	혼합추출물(실시예1)	2.0
2	글리세린	3.0
3	부틸렌글리콜	3.0
4	프로필렌글리콜	1.0
5	피피지-26-부테스-26/피이지-40 히드로케네이트드 캐스터오일	1.1
6	에탄올	8.0

7	트리에탄올아민	0.2
8	방부제	미량
9	색소	미량
10	향료	미량
11	정제수	to 100

실험예 2 : 본 발명에 따른 피부 진정 효과가 있는 영양 로션 조성물의 제조

하기 표 2에 나타난 바와 같은 조성비율로 실시예 2와 동일한 방법으로 영양 로션을 제조하였다. 즉 성분 2, 3, 4, 5 및 6을 일정한 온도에서 균질화한 후 1, 7, 8 및 14를 혼합하고 일정한 온도에서 균질화한 후 성분 9를 60 도씨에서 서서히 첨가하여 균질화한다. 그 후 성분 10, 11, 12, 13을 투입하여 분산시켜 안정화된 다음 숙성시킨다.

표 2

번호	원료	함량(중량%)
1	혼합추출물(실시예1)	2.0
2	시토스테롤	1.5
3	폴리글리세릴 2-올레이트	1.2
4	세라마이드	0.2
5	세테아레스-4	1.0
6	콜레스테롤	1.2
7	디세틸포스페이트	0.5
8	부틸렌글리콜	5.0
9	선플라워오일	3.0
10	카르복시비닐폴리머	0.2
11	산탄검	0.1
12	방부제	미량
13	향료	미량
14	정제수	to 100

실험예 3 : 본 발명에 따른 화장수의 피부 자극성 및 진정 효과 확인

건강한 성인 남녀 20명(남자 10명, 여자 10명)의 전박부에 상기 실시예 2에서 제조한 화장수를 일정량(10m/5 cm²)씩 도포하고, 그외의 부위를 알루미늄 호일로 차폐하여 30분 후에, 자외선 조사기를 이용하여 장파장 자외선을 10.2J/cm²의 용량으로 조사하고 24시간 후에 피부 상태(홍반, 부종, 구진 등)를 관찰하였다. 관찰 결과 피부에 홍반 등의 부작용이 발생되지 않아 상기 화장수는 광독성이 없으므로 피부 진정 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

실험예 4 : 본 발명에 따른 영양 로션의 피부 자극성 및 진정 효과 확인

건강한 성인 남녀 20명(남자 10명, 여자 10명)의 전박부에 상기 실시예 3에서 제조한 영양 로션을 일정량(10m/5 cm²)씩 도포하고, 그외의 부위를 알루미늄 호일로 차폐하여 30분 후에, 자외선 조사기를 이용하여 장파장 자외선을 10.2J/cm²의 용량으로 조사하고 24시간 후에 피부 상태(홍반, 부종, 구진 등)를 관찰하였다. 관찰 결과 피부에 홍반 등의 부작용이 발생되지 않아 상기 영양 로션은 광독성이 없으며 피부 진정 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

실험예 5 : 본 발명에 따른 화장수 및 영양 로션의 피부 안전성 확인 시험

건강한 성인 남녀 20명(남자 10명, 여자 10명)의 전박부에 상기 실시예 2와 3에서 제조한 화장수 및 영양 로션을 인체 철편 시험을 실시하였다. 시험대상자의 전박부를 70% 에탄올로 잘 닦은 다음 그 부위에, 통상의 화장료 기체에 상기 실시예 2와 3에서 제조한 화장수 및 영양 로션을 20μl씩 담은 핀 챔버를 점착 테이프를 이용하여 24시간 폐쇄 부착시켰다. 24시간 후에 점착 테이프와 핀 챔버를 제거하고, 가제로 피부에 잔존된 시료를 가볍게

닭아 제거한 뒤에 피부 상태를 관찰하고 다시 24시간 후에 한번 더 관찰하였다. 실험 결과 표 3에 나타난 바와 같이 본 발명에 따른 화장수 및 영양 로션의 피부 자극성을 확인하기 위한 인체 철평 시험에서 양성 반응을 보이지 않아 인체 피부에 자극성이 전혀 없는 것으로 확인되었다.

표 3

시료	24시간 후(n=20)	48시간 후(n=20)	비고
스킨로션	0/20	0/20	반응양성자수/총대상자수
밀크 로션	0/20	0/20	

실험예 6 : 본 발명에 따른 바오밥나무, 자근, 참마, 연근 혼합추출물의

세포 독성 확인 실험

MTT 정량법은 생존세포에만 활성이 있는 미토콘드리아의 탈수소 효소작용에 의해 색으로 변하는 현상을 이용한다. 살아있는 세포수가 증가하면 시료중의 미토콘드리아 탈수소효소의 전체 활성이 증가하며, 이 효소 활성의 증가가 Formazan 색소의 생성 증가를 유도하기 때문에, Formazan 색소와 배지중의 대사활성이 있는 세포의 수와는 직선적인 상관관계를 나타내게 된다. 노란색의 수용성 Tetrazolium MTT은 미토콘드리아의 탈수소효소 작용에 의하여 보라색의 불용성 Formazan crystal로 환원되며, 이를 용해시켜 570nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

Human dermal fibroblast cell(cascade)을 3000~5000 cells/well의 농도로 하여 96 well plate에 seeding하였다. Medium은 FBS 10%를 함유한 DMEM (Dubelcco Modified Eagle Medium, Gibco)를 사용하였다. 24시간 후, 추출물을 농도별로 첨가하고, 37℃, 5% CO2에서 3일간 배양하였다. 상등액을 제거하고 0.5%(w/v) MTT 용액을 10ul/well씩 가한 후 4 시간 후에 MTT를 제거하고 DMSO를 첨가하여 570nm에서 흡광도를 측정하여 표 4와 도1에 나타내었다. 즉 피부 섬유아세포에 대하여 본 발명에 따른 혼합추출물은 독성이 없는 안전한 원료임을 알 수 있었다.

표 4

추출물의 농도 (ug/ml)	세포 생존율 (%)				
	바오밥나무	자근	참마	연근	혼합추출물
10	97	98	97	99	99
50	96	95	95	97	102
100	98	96	95	98	101

실험예 7 : 본 발명에 따른 바오밥나무, 자근, 참마, 연근 혼합추출물의

항염증 효과 확인 실험

리폭시게나제(5-L0, 5-lipoxygenase)는 리놀산, 리놀렌산, 아라키돈산과 같이 분자 내에 1,4-*cis,cis*-pentadiene(1,4-pentadiene) 구조를 갖는 불포화 지방산에 분자상 산소를 첨가하여 1,3-*cis, trans*-diene 5-hydroperoxide를 생성하는 산화효소로 아라키돈산으로부터 각종 염증 및 알러지성 질환에 관여하는 로이코트리엔(leucotriene) 생합성의 첫번째 반응에 관여하는 효소이다. 따라서 구조적, 메커니즘적으로 5-L0와 유사한 SLO(soybean lipoxygenase)를 이용하여 리폭시게나제의 저해활성을 측정하여 항염 효과를 평가하였다.

리폭시게나제는 대두(soybean)에서 정제한 sigma사 제품을 사용하였으며 563 unit/ml로 희석하여 사용하였다. UV 통과 96 well plate에 Tris-HCl (100 mM, pH 8.5) buffer 155 ul에 sample 5ul와 20 ul의 효소액을 첨가하고 상온에서 5분 동안 방치 한다. 33 uM의 linolenic acid (sigma, USA) 20 ul를 첨가하고 234 nm에서 200초 동안 흡광도의 변화를 측정한다. 흡광도의 변화를 가지고 리폭시게나제 저해능을 측정하여 표 5와 도 2에 나타내었다. 즉 본 발명에 따른 바오밥나무, 자근, 참마, 연근의 혼합추출물은 단일 물질인 quercetin과 비슷하게 높은 리폭시게나제 활성을 억제하는 효과를 나타내어 항염 효과가 우수함을 알 수 있었다.

표 5

추출물의 농도 (v/v)	LO inhibition activity (%)					
	바오밥나무	자근	참마	연근	혼합추출물	Quercetin
0.1	1.2	0.89	2.1	1.8	3.1	5.1
0.3	8.6	5.4	4.8	10.6	9.4	15.6
1.3	12.3	10.9	11	13.8	20.6	27.4
2.5	23	20.1	20.8	18.4	45	54

실험예 8 : 본 발명에 따른 바오밥나무, 자근, 참마, 연근의 혼합추출물의 Nitric Oxide 저해 실험

Nitric oxide (NO)는 혈압조절, 신경전달, 혈소판 응집억제, 면역기능 등의 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 여러 조직과 세포에서 L-arginine으로부터 nitric oxide synthase에 의해 합성된다. NOS는 크게 cNOS와 iNOS로 나눌수 있으며, iNOS는 세포내 칼슘 농도에 비의존성이며 대식세포, 혈관평활근세포, 내피세포, 간세포와 심근 세포 등 여러 세포에서 LPS, IFN- γ , IL-1과 TNF- α 등의 자극에 의해 활성화되어 장시간동안 다량의 NO를 생성한다. 그러나 NO가 필요이상으로 생성되면 shock에 의한 혈관확장, 염증반응으로 유발되는 조직손상, 신경조직의 손상 등을 일으켜 생체에 유해한 작용을 나타낸다. 대식세포에서 L-arginine에 의해 생성된 NO는 종양세포와 균류를 제거하므로 면역반응에 관여하는 대식세포의 기능에 중요한 물질로서 작용한다. 또한 NO는 주요 혈관 확장 물질로도 작용하는데 이런 경우에는 acetylcholine 이나 bradykinin을 수용체로 이용한다. 이때 주변의 평활근 세포로 확산된 NO가 cGMP를 증가시켜 결국 증가된 cGMP에 의해 근육세포를 이완시켜 혈관 확장을 일으킨다. 이와 같은 사실에 입각하여 현재 iNOS에 의한 NO의 생성을 저해하는 염증치료제 개발도 진행되고 있으며, 추출물에 대한 NO 생성능을 측정함으로써 염증반응 억제 효과를 판단할 수 있다.

실험 방법으로서 Mouse macrophage cell인 RAW 264.7 cell에 염증 유발 물질인 LPS를 인위적으로 처리한 후 염증 억제 효과가 있는지를 평가하였다. 96 well plate에 well 당 2 x 10⁵ cell 이 되도록 분주한 다음, 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. Overnight 한 다음, 새로운 배지로 교환해주고, LPS(1ug/ml)와 추출물을 농도별로 투여하여 24시간동안 배양하였다. 배양 후, 배지 상층액을 취해 13,000 rpm에서 3분동안 원심분리하여 상등액만 모은 후, Griess reagent 시약과 1:1로 반응시키고, 570nm에서 흡광도를 측정하여 그 결과를 표 6과 도 3에 나타내었다.

즉 본 발명에 따른 바오밥나무, 자근, 참마, 연근 혼합추출물의 RAW 264.7 cell에서 항염 효과를 평가한 결과, 농도의 증가에 따라 Nitric Oxide 생성을 감소시켜, 염증으로부터의 세포 보호 효과가 우수함을 확인하였다. .

표 6

추출물의 농도 (ug/ml)	NO inhibition activity(%)					
	바오밥나무	자근	참마	연근	혼합추출물	Quercetin
10	5.6	10.6	2.9	8.3	15.3	9.5
50	10.8	17.3	9.4	15.3	20.8	40.9
100	25.9	27.6	16.8	31.8	42.8	60.8

실험예 9 : 본 발명에 따른 바오밥나무, 자근, 참마, 연근의 혼합추출물의 β -hexosaminidase release 저해로 인한 항알러지 효과

아토피성 피부염에서 혈중 호산구수와 혈청 IgE 양의 증가가 나타나며, 이는 아토피성 피부염의 대표적인 지표로써 아토피성 피부염의 초기반응은 항원의 자극에 의해 항체 IgE가 생산된 후 항체가 비만세포 표면의 high affinity receptor에 결합하였을 때 항원이 제침입하면 수용체와 결합하고 있는 항체와 결합하여 비만세포 내로 신호를 빠르게 전달하여 알레르기를 일으키는 화학적 매개물질 (cytokine, histamine, leukotrienes)을 분비한다. Histamine 등의 매개물질에 의해서 혈관 투과성을 증가시키고, 혈관을 확장시키고, 평활근을 수축시키며, 분비선의 기능을 항진시키는 특징적인 반응을 일으키게 되며, 동반되는 염증반응에는 비만세포, 호산구, T세포에서 분비되는 인터루킨 등 여러가지 사이토카인에 의해 호산구가 염증 부위로 이동하는 것이 중요하다. Histamine과 함께 중요한 매개체로 작용하는 것으로 β -hexosaminidase가 있으며, 세포로부터 β -hexosaminidase의 방출 또한 면역세포 탈과립의 지표로 사용된다.

[0068] RBL-2H3 cell을 10% FBS를 함유한 DMEM(Dulbecco modified Eagle's medium)에 현탁시킨 후 24 well plate에 각 well당 2 x 10⁵ cell이 들어가도록 처리한 다음 각 well당 100ng/ml의 mouse monoclonal IgE로 감작시킨 후 5% CO₂ incubator에서 24 시간동안 배양하였다. 세포를 well당 Tyrode buffer 500ul를 사용하여 행구어내고, 농도 별로 혼합 추출물을 처리한 후 37℃, 5% CO₂ incubator에서 15분간 배양하고, 한 시간동안 DNP-BSA 100ng/ml을 처리한다. 상층액에 substrate (1mM p-nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosaminide) 50ul 처리 후 37℃, 5% CO₂ incubator에서 한 시간 동안 incubation 한 후 ELISA reader를 사용하여 405nm에서 흡광도를 측정하여 그 결과를 표 7과 도 4에 나타내었다.

[0069] 즉 본 발명에 따른 바오밥나무, 자근, 참마, 연근으로 구성된 혼합추출물을 첨가하였을 때 mast cell 탈과립 억제효과를 평가한 결과, 농도의 증가에 따라 β-hexosaminidase의 방출양이 감소하여 그 억제 효과가 우수함을 확인하였다.

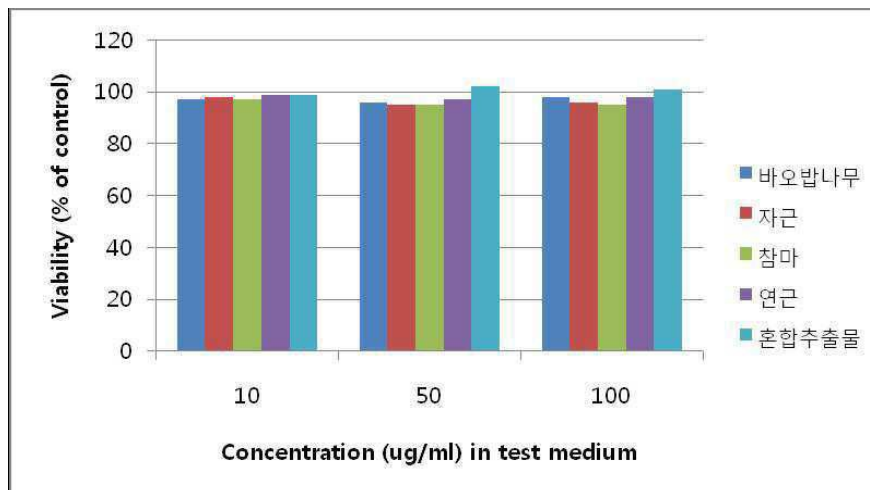
표 7

[0070]

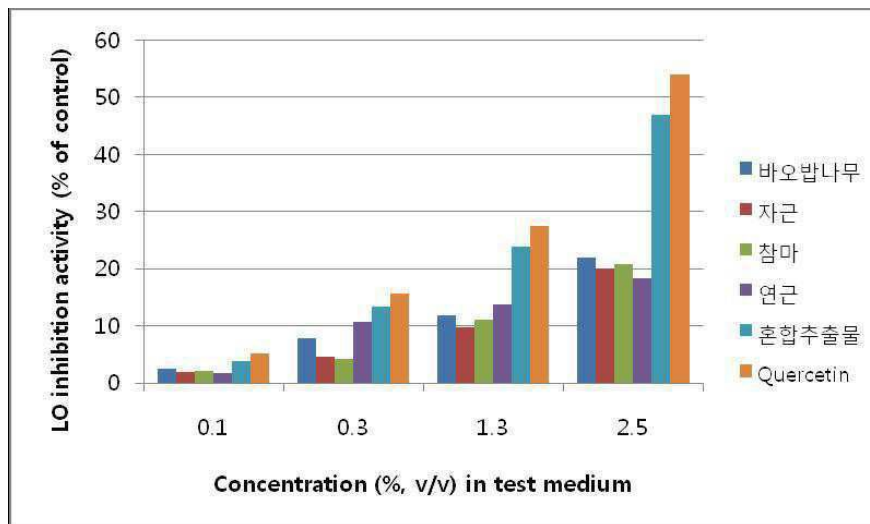
추출물의 농도 (ug/ml)	β-hexosaminidase release inhibition activity (%)					
	바오밥나무	자근	참마	연근	혼합추출물	Quercetin
10	2.9	3.8	3.7	5.9	6.4	18.9
50	6.7	8.6	8.4	10.7	12.7	26.7
100	16.7	17.6	20.7	22.9	30.8	

도면

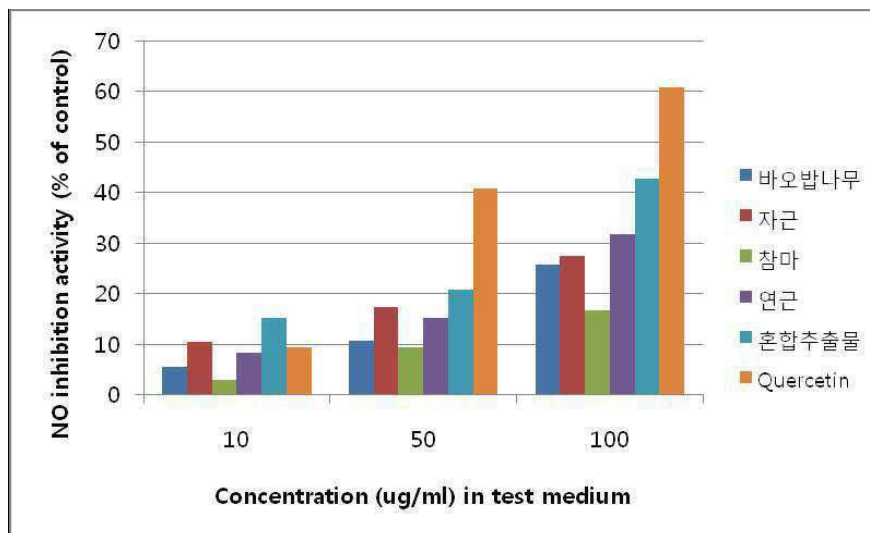
도면1



도면2



도면3



도면4

