



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0019632
(43) 공개일자 2016년02월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

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

A61Q 19/02 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0104014

(22) 출원일자 2014년08월11일

심사청구일자 2014년08월11일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

동국대학교 경주캠퍼스 산학협력단

경상북도 경주시 석장동 707

(72) 발명자

장영표

서울특별시 강남구 삼성로147길 22, 101동 202호 (청담동, 우성아파트)

정세영

서울특별시 동대문구 천장산로11길 17, 204동 1503호 (이문동, 삼성래미안아파트)

김동일

경기도 고양시 일산동구 동국로 27, 3층 한방여성 의학과 (식사동, 동국대학교 일산불교병원)

(74) 대리인

안소영

전체 청구항 수 : 총 5 항

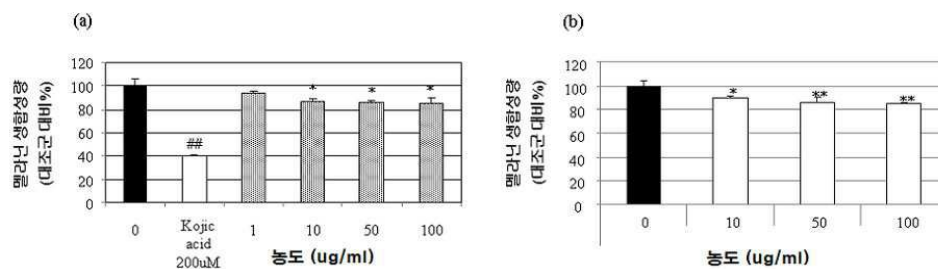
(54) 발명의 명칭 피부 미백용 화장품 조성물

(57) 요약

본 발명은 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물을 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 화장품 조성물은 안전한 천연 제제를 이용한 것으로 피부 적용시 부작용이 없으며, 티로시나제 활성 저해, 멜라닌 생합성 저해 등을 통해 피부 미백에 탁월한 효과를 가져, 피부 미백용 화장품 조성물로 적합하다.

대표도 - 도3



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HN12C0062

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 KHIDI 한국보건산업진흥원

연구사업명 글로벌화장품신소재·신기술연구개발지원

연구과제명 한방화장품 실증 연구

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교산학협력단

연구기간 2012.11.01 ~ 2015.10.31

명세서

청구범위

청구항 1

생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물을 포함하는 피부 미백용 화장료 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물은 생지황 40 중량% 내지 50 중량%, 구기자 15 중량% 내지 25 중량%, 황금 15 중량% 내지 25 중량% 및 백지 10 중량% 내지 20 중량%으로 이루어진 피부 미백용 화장료 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 이들의 혼합물 중에서 선택된 하나 이상의 용매로 추출된 것인 피부 미백용 화장료 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 피부 미백은 티로시나제 활성 저해, 멜라닌 생합성 저해 또는 이들 모두에 의한 것인 피부 미백용 화장료 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 화장료는 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 맛사지 크림, 에센스, 팩, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더 중에서 선택된 어느 하나의 제형을 가지는 화장료 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 한약재 혼합 추출물을 포함하는 피부 미백용 화장료 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 사람의 피부색을 결정하는 데는 여러 가지 요인들이 관여하는데, 그 중에서도 멜라닌 색소를 만드는 멜라노사이트(melanocyte)의 활동성, 혈관의 분포, 피부의 두께 및 카로티노이드와 빌리루빈 등의 인체 내외의 색소 함유 유무 등의 요인들이 중요하다.

[0003] 멜라닌 색소의 형성에는 유전적 요인, 호르몬 분비, 스트레스 등과 관련된 생리적 요인 및 자외선 조사 등과 같은 환경적 요인 등이 영향을 미친다.

[0004] 신체 피부의 멜라닌 세포에서 생성되는 멜라닌 색소는 검은 색소와 단백질의 복합체 형태를 갖는 페놀계 고분자 물질로서, 태양으로부터 조사되는 자외선을 차단하여 진피 이하의 피부기관을 보호해주는 동시에 피부 생체 내에 생겨난 자유 라디칼 등을 잡아주는 등 피부 내 단백질과 유전자들을 보호해주는 유용한 역할을 담당한다.

[0005] 이와 같이 피부 내, 외부의 스트레스적 자극에 의해 생겨난 멜라닌은 스트레스가 사라져도 피부 각질화를 통해서 외부로 배출되기 전까지는 없어지지 않는 안정한 물질이다. 그러나 멜라닌이 필요 이상으로 많이 생기게 되면 기미, 주근깨 및 점 등과 같은 과색소 침착증을 유발하여 미용상으로 좋지 않은 결과를 가져오게 된다.

[0006] 이와 같은 요구에 부응하여 종전부터 아스코르빈산, 코지산, 알부틴, 하이드로퀴논, 글루타치온 또는 이들의 유도체, 또는 타이로시나제 저해활성을 가진 물질들을 화장료나 의약품에 배합하여 사용하여 왔으나, 이들의 불충분한 미백효과, 피부에 대한 안전성 문제, 화장료에 배합 시 나타나는 제형 및 안정성의 문제 등으로 인해 그 사용이 제한되고 있다. 이에 따라, 기존의 피부 미백용 조성물보다 생체에 안전하고 효과가 높은 새로운 피부

미백용 조성물의 개발이 절실히 요망되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0007] (특허문헌 0001) KR10-2013-0125878 2013.11.20
(특허문헌 0002) KR10-2013-0090169 2013.08.13

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명의 목적은 미백 효과를 가지는 화장료 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

- [0009] 본 발명자들은 미백 효과를 갖는 화장료 조성물을 개발하고자 예의 연구한 결과, 생지황, 구기자, 황금 및 백지가 우수한 피부 미백 효과를 가짐을 확인하여, 본 발명을 완성하였다.
- [0010] 본 발명은 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물을 제공한다.
- [0011] 본 발명의 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물은 상기 4 종의 약재의 혼합에 의한 시너지 효과에 따라, 각각의 약재를 사용하였을 때보다 낮은 세포 독성을 가지며 우수한 피부 미백 효과를 가진다.
- [0012] 본 발명에 있어서, 생지황(*Rehmanniae Radix Recens*)은 현삼과에 속하는 다년생 초본인 지황(*Rehmannia glutinosa* (Gaertner) Liboschitz ex Steudel)의 신선한 뿌리이며, 한국, 중국, 일본에 자생한다.
- [0013] 본 발명에 있어서, 구기자(*Lycium Fruit*)는 가지과에 속하는 덩굴성 낙엽관목인 구기자나무(*Lycium chinense* Miller) 또는 영하구기(*Lycium barbarum* Linne)의 열매이다. 성숙한 과실을 채취하여 서늘한 곳에서 말려 외피가 유연해지고 짙은 갈색이 되면 음건하여 사용한다. 한국, 중국, 일본 등지에서 자생한다.
- [0014] 본 발명에 있어서, 황금(*Scutellaria Root*)은 꿀풀과에 속하는 다년생 초본인 속씨은풀(*Scutellaria baicalensis* Georgi)의 뿌리이다. 한국, 중국, 몽골 및 시베리아 동부 등지에 분포한다.
- [0015] 본 발명에 있어서, 백지(*Angelica Dahurica Root*)는 산형과에 속하는 일년 또는 이년생의 초본인 구릿대(*Angelica dahurica* Bentham et Hooker f.) 또는 향백지(*Angelica dahurica* Bentham et Hooker f. var. *formosana* Shan et Yuan)의 뿌리이다. 한국, 중국, 일본 등지에 분포한다.
- [0016] 상기 약재들은 국내외에서 저비용으로 원료 확보가 용이하며 구입하거나 직접 채취한 것을 사용할 수 있다.
- [0017] 본 발명에서 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물은 이들 추출물을 먼저 혼합한 후 추출한 추출물이거나, 이들 각각을 추출한 후 이를 혼합한 혼합 추출물일 수 있으며, 바람직하게 본 발명의 혼합 추출물은 생지황, 구기자, 황금 및 백지를 혼합한 후 추출한 추출물을 사용한다. 본 발명에서 상기 혼합 추출물은 농축된 액상일 수도 있고, 동결 건조된 분말 형태일 수도 있다.
- [0018] 본 발명의 혼합 추출물은 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물 총중량에 대하여 생지황 40 중량% 내지 50 중량%, 구기자 15 중량% 내지 25 중량%, 황금 15 중량% 내지 25 중량% 및 백지 10 중량% 내지 20 중량%를 포함할 수 있으며, 바람직하게 생지황 40 중량% 내지 50 중량%, 구기자 17 중량% 내지 25 중량%, 황금 17 중량% 내지 25 중량% 및 백지 15 중량% 내지 20 중량%의 중량%를 포함할 수 있다.
- [0019] 본 발명의 혼합 추출물은 상기 4종의 약재에 대하여 상기 기재된 중량 %를 포함함으로써 개별 추출물 내지 2이상의 조합추출물과 대비하여 피부 미백에 현저히 우수한 효과를 나타내며, 특히 티로시나제 활성 억제 및 멜라닌 생합성 저해에 기인한 피부 미백에 우수한 활성을 나타낸다.
- [0020] 본 발명에 있어서, 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물의 제조는 열수 추출, 침지 추출, 환류 냉각 추출 및 초음파 추출 등의 추출 방법 등을 사용하여 제조할 수 있으며, 추출 회수는 1 내지 5회인 것이 바람직하다. 추출 용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 이의 혼합물, 바람직하게는 물, 에탄올 수용액을 사용하는 것

이 좋으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 추출 용매의 양은 생지황, 구기자, 황금 및 백지의 총중량의 2 내지 15 배로 한다. 열수(물) 추출물의 경우 100~110℃에서 2~24시간 동안 바람직하게는 2~10시간 동안 수욕 환류 추출하는 것을 1 내지 4회 반복할 수 있다.

[0021] 본 발명에서 상기 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물을 추가로 분리하여 얻어진 생지황, 구기자, 황금 및 백지 추출물의 분획물을 제공한다. 분획분리는 당해 분야에 알려진 분리법에 의해 수행된다. 바람직하게는 생지황, 구기자, 황금 및 백지를 물에 현탁한 후, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 등의 용매를 이용하여 추출하여 생지황, 구기자, 황금 및 백지 가용 추출물을 수득할 수 있다.

[0022] 본 발명은 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물을 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물을 제공한다.

[0023] 본 발명의 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물은 안전한 천연 제제를 이용한 것으로 피부 적용시 부작용이 없으며, 티로시나제 활성 저해, 멜라닌 생합성 저해 등을 통해 피부 미백에 탁월한 효과를 가져, 피부 미백용 화장품 조성물로 적합하다.

[0024] 특히, 본 발명의 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물을 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물은 이들 각각의 단독 추출물 내지 2 이상의 조합 추출물과 대비하였을 때, 생지황, 구기자, 황금 및 백지의 구성 약재 간 조합에 따른 시너지 효과 때문에 더욱 우수한 피부 미백 효과를 가진다.

[0025] 본 발명에서 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물은 화장품 조성물의 총 중량에 대하여 분말형태 또는 액상 형태로 0.001% ~ 10중량%의 양으로 화장품에 첨가될 수 있으며, 바람직하게는 화장품 조성물 총 중량에 대하여 분말형태 또는 액상형태로 0.01~5중량%의 양으로 화장품에 첨가될 수 있다.

[0026] 본 발명에서 화장품 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분으로서의 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물 이외에 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 에센스 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료, 색소 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함한다.

[0027] 본 발명의 화장품 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 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. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 맛사지 크림, 에센스, 팩, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

[0028] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0029] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0030] 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, 부틸렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 폴리옥시에틸렌 경화피마자유, 글리세롤, 글리세린, 지방족 에스테르, 페녹시에탄올, 트리에탄올아민, 폴리에틸렌 글리콜, 밀납, 폴리솔베이트 60, 솔비탄세스퀴오레이드, 파라핀, 소르비탄 스테아레이트, 친유형 모노스테아린산 글리세린, 스테아린산, 글리세릴스테아레이트/피이지-400 스테아레이트, 카르복시폴리머, 시토스테롤, 폴리글리세릴 2-올레이트, 세라마이드, 콜레스테롤, 스테아레스-4, 디세틸포스페이트, 마카다미아 오일, 카르복시비닐폴리머, 산탄검 또는 소르비탄의 지방산 에스테르 등이 있다.

[0031] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올, 부틸렌글리콜 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 하이드록시에틸셀룰로오스, 소듐히아루로네이트, 페녹시에탄올, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0032] 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 아마이드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에

탄올아미드, 식물성유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

발명의 효과

[0033] 본 발명의 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물은 안전한 천연 제제를 이용한 것으로 피부 적용시 부작용이 없으며, 티로시나제 활성 저해, 멜라닌 생합성 저해 등을 통해 피부 미백에 탁월한 효과를 가져, 피부 미백용 화장품 조성물로 탁월한 효과를 가진다.

도면의 간단한 설명

[0034] 도 1은 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물 처리에 따른 세포 생존율 변화를 확인한 도이다.
 도 2는 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물 처리에 따른 티로시나제 활성 저해를 확인한 도이다.
 도 3은 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물 처리에 따른 멜라닌 생성 저해를 확인한 도이다.
 도 4는 생지황, 황금, 백지 또는 구기자 개별 약재 추출물 처리에 따른 멜라닌 생성 변화를 확인한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] 이하, 하기 실시예 및 실험예에 의해 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 하기 실시예는 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니며, 이는 본 발명의 이해를 돕기 위한 것으로 해석되어야 할 것이다.

[0036] 실시예 1. 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물의 제조

[0037] 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물을 제조하기 위하여, 생지황(원산지: 경북산), 구기자(원산지: 충남산), 황금(원산지: 전남산) 및 백지(원산지: 경북산)를 (주)윌니허브에서 구입하여 물로 세척하고 음건한 후에 사용하였다.

[0038] 상기 생지황 100 g, 구기자 50 g, 황금 50 g 및 백지 35 g을 증류수 1L에 넣고, 환류관을 장착한 후 100 ℃에서 4 시간 동안 환류 추출한 후, 감압 농축하여 62.26g의 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물을 제조하였다.

[0039] 대조군으로 생지황, 황금, 백지 또는 구기자 개별 약재 100 g을 증류수 1 L에 넣고 환류관을 장착한 후 100℃에서 4시간 동안 환류 추출하고, 감압 농축하여 생지황 41 g, 구기자 34 g, 황금 35 g 또는 백지 31 g을 제조하였다.

[0040] 실시예 2. 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물의 세포 독성 여부 확인

[0041] MTT assay를 이용하여 생지황, 황금, 백지 및 구기자 혼합 추출물의 세포 독성 여부를 확인하였다.

[0042] 마우스 유래 B16F10 melanoma 세포를 24 well plate에 10^4 cells/well의 수가 되도록 1 mL의 세포 현탁액을 분주하고, 10% fetal bovine serum, 2 mM glutamine, 100 U/mL penicillin, 및 100 mg/mL streptomycin이 포함된 DMEM media를 이용하여 37℃, 5% CO₂ 세포배양기에서 24 시간 배양하였다. 배양된 세포에 농도별(0~400 μg/mL)로 생지황, 황금, 백지 및 구기자 혼합 추출물을 처리하였다. 48시간을 더 배양한 후 pH 7.4의 PBS로 2회 세척 후 배양액에 10배 희석한 MTT 시약 (0.5 mg/mL)을 1 mL 처리한 다음 4 시간 동안 37℃, 5% CO₂ 세포 배양기에서 반응시켰다. MTT 반응 4 시간 후 배양액을 제거한 후 DMSO 용액 1 mL 을 넣어 세포를 녹인 후, 이 때 나타나는 포르마잔염의 농도를 분광광도계를 이용하여 540nm 에서 흡광도를 측정하였다.

[0043] 세포 생존율은 하기 [식 1]에 의해 산출되었으며, 그 결과는 하기 도 1에 나타내었다.

[0044] [식 1]

$$\text{세포 생존율 (\%)} = \frac{\text{시료 흡광도}}{\text{대조군 흡광도}} \times 100$$

[0045]

[0046] 상기 실험 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1에 나타낸 바와 같이, 생지황, 황금, 백지 및 구기자 혼합 추출물은 약 100 ug/ml를 처리하였을 때까지 세포 생존에 미치는 영향이 미비하였으나, 세포에 처리한 농도가 200 μg/mL 이상이 되었을 때부터 대조군과 대비하여 세포독성이 유의적으로 나타난 것을 확인하였다.

[0047] **실시예 3. 생지황, 황금, 백지 및 구기자 혼합 추출물의 티로시나제 저해 활성 확인**

[0048] 마우스 유래 B16F10 melanoma 세포에서 추출한 티로시나제를 이용하여 생지황, 황금, 백지 및 구기자 혼합 추출물의 티로시나제 활성 저해를 확인하였다.

[0049] 100 mm 세포 배양접시에 melanoma 세포가 95% confluency 될 때까지 배양하였다. 배양된 세포를 PBS (pH 7.4)로 2회 세척 후 0.1% triton 100이 포함된 0.1 M phosphate buffer (pH 6.8)를 이용하여 효소를 추출하였다. 효소액의 단백질 농도를 20 µg으로 정량한 후 농도별 (0~1 mg/mL)로 생지황, 황금, 백지 및 구기자 혼합 추출물을 처리하고, 37℃에서 10분간 반응시켰다. 반응액에 0.15% dopa (3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine)용액을 분주한 후, 37℃에서 20분간 반응시킨 다음 분광광도계를 이용하여 475 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0050] 반응색이 갈색이기 때문에 0.15% dopa 용액 대신 증류수를 넣어 반응시킨 시료군 (a)을 준비하였으며, 0.15% dopa 용액과 농도별 생지황, 황금, 백지 및 구기자 처방을 함께 반응시킨 (b)군에서 (a)를 제외한 후 값을 산출하였다.

[0051] 티로시나제 활성 저해는 하기 [식 2]에 의해 산출되었으며, 그 결과는 하기 도 2에 나타내었다.

[0052] [식 2]

$$\text{티로시나제 활성 저해 (\%)} = \frac{\text{자유팅추경험방 (b-a) 흡광도}}{\text{대조군 (b-a) 흡광도}} \times 100$$

[0053]

[0054] 상기 실험 결과를 도 2에 나타내었다. 도 2에 나타낸 바와 같이, 생지황, 황금, 백지 및 구기자 처방에 의해 0.1 mg/mL에서부터 대조군 대비 농도 의존적으로 감소하였으며, 0.1 및 1 mg/mL에서 각각 12.1 및 33.1%로 티로시나제 활성이 감소한 것을 확인하였다.

[0055] **실시예 4. 생지황, 황금, 백지 및 구기자 혼합 추출물의 멜라닌 생성 저해 확인**

[0056] 마우스 유래 B16F10 melanoma 세포를 이용하여 멜라닌 생합성 정도를 측정하였다.

[0057] B16F10 melanoma 세포를 100 mm 배양 접시에서 10% fetal bovine serum, 2 mM glutamine, 100 U/mL penicillin 및 100 mg/mL streptomycin이 포함된 DMEM media를 이용하여 5% CO₂를 포함하는 37℃ 배양기 내에서 세포가 90% confluency 될 때까지 배양하였다.

[0058] 멜라닌 생성 저해능을 측정하기 위하여, B16F10 melanoma 세포를 24 well plate에 210⁴ 세포/웰로 분주하고 37℃, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양하였다. 농도별 (0~100 µg/mL) 생지황, 황금, 백지 및 구기자 혼합 추출물, 개별 약제 각각의 추출물, 2 이상의 조합 추출물, 및 양성대조군으로 사용한 코직산(kojic acid) 200 µM 을 세포에 처리한 후 48 시간 배양하였다. 배양액을 제거한 후 PBS를 이용하여 2회 세척한 다음 1 N NaOH를 세포가 부착되어 있는 웰에 분주한 후 30분 동안 더 배양하였다. 배양한 녹은 세포를 튜브에 수거한 다음 100℃ 30분 동안 boiling을 실시하였다. 녹인 액을 분광광도계를 이용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 멜라닌 농도를 멜라닌 표준 곡선을 이용하여 산출하였으며, 녹인 액의 단백질 농도를 정량하여 멜라닌 농도를 보정하였다. 단백질 농도의 측정은 로우리법(Lowry method)을 기본으로 한 BCA protein assay kit(Thermo Scientific, 23225)를 사용하여 측정하였다.

[0059] 그 결과를 도 3 및 4에 나타내었다.

[0060] 도 3의 (a)는 실시예 1에서 제조된 생지황, 황금, 백지 및 구기자 혼합 추출물을 처리한 결과이며, 도 3의 (b)는 생지황, 황금, 백지 또는 구기자 개별 추출물을 실시예 1과 동일 농도로 조합하여 처리한 결과이다. 도 3에 나타낸 바와 같이, 생지황, 황금, 백지 및 구기자 혼합 추출물 처리에 따라 농도 의존적으로 유의성 있게 멜라닌 생성량이 감소하는 것을 확인할 수 있었으며, 생지황, 황금, 백지 또는 구기자 추출물의 개별 약제 조합의 멜라닌 생합성 저해능도 비슷한 것을 확인하였다.

[0061] 한편, 도 4는 생지황, 황금, 백지 또는 구기자의 개별 추출물 처리에 따른 멜라닌 생합성 변화를 나타낸다. 도 4에 나타낸 바와 같이, 생지황, 황금, 백지 또는 구기자의 개별 추출물은 멜라닌 생합성에 효과가 없음을 확인하였다.

[0062] 즉, 생지황, 황금, 백지 또는 구기자의 개별 추출물은 멜라닌 합성 저해에 거의 영향을 미치지 못하나, 이들을

조합한 생지황, 황금, 백지 및 구기자 혼합 추출물은 각 약제간의 혼합에 따른 시너지 효과에 의해 멜라닌 생성 억제에 현저한 효과를 가졌다.

또한, 각각 개별 약제 추출물들이 가지는 세포 독성 등을 고려할 때, 상기 증량부로 조합된 생지황, 황금, 백지 및 구기자 혼합 추출물이 다른 어떠한 조합보다 현저한 미백 효과를 가지는 것을 확인하였다.

제형예 1. 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물을 함유한 화장수 제조

생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물(실시에 1)을 함유한 화장수(스킨로션)를 하기의 [표 1]의 함량으로 1kg을 제조하였다.

[표 1] 생지황, 구기자, 황금 및 백지를 함유한 화장수 조성

번호	원료	함량(중량%)
1	생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물 (실시에 1)	1.0
2	글리세린	3.0
3	부틸렌글리콜	2.0
4	프로필렌글리콜	2.0
5	폴리옥시에틸렌 경화피마자유	1.0
6	에탄올	10.0
7	트리에탄올아민	0.1
8	페녹시에탄올	미량
9	색소	미량
10	향료	미량
11	정제수	잔량

제형예 2. 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물을 함유한 영양로션 제조

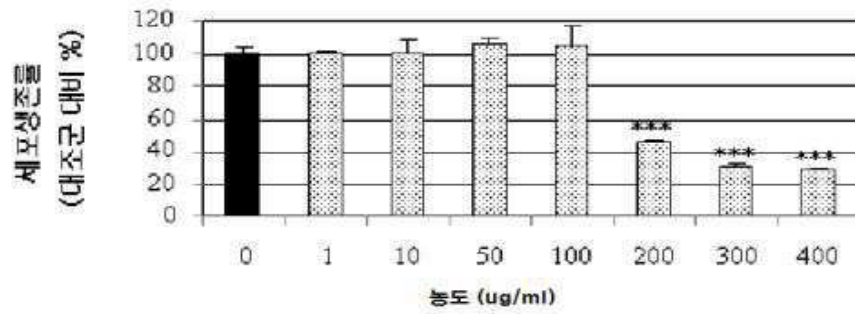
생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물 (실시에 1)을 함유한 영양로션을 하기의 [표 2]의 함량으로 1kg을 제조하였다.

[표 2] 생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물을 함유한 영양로션 조성

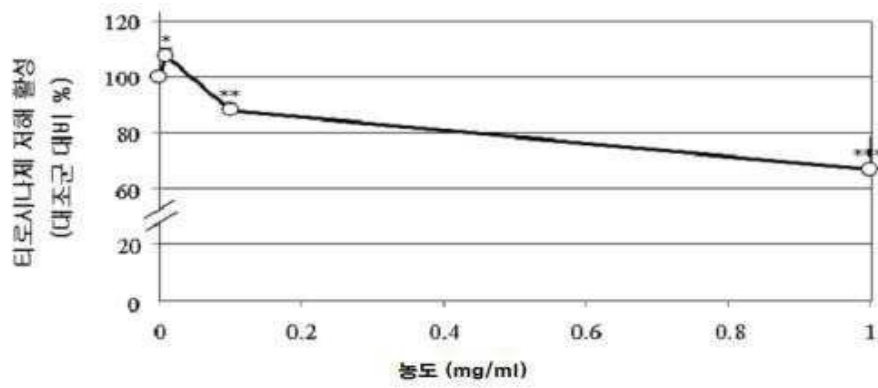
번호	원료	함량(중량%)
1	생지황, 구기자, 황금 및 백지 혼합 추출물 (실시에 1)	1.0
2	밀납	1.0
3	폴리솔베이트 60	1.5
4	솔비탄 세스퀴올레이트	0.5
5	유동 파라핀	10.0
6	소르비탄 스테아레이트	1.0
7	친유형 모노스테아린산 글리세린	0.5
8	스테아린산	1.5
9	글리세릴스테아레이트/피이지-400 스테아레이트	1.0
10	프로필렌글리콜	3.0
11	카르복시폴리머	0.1
12	트리에탄올아민	0.2
13	페녹시에탄올	미량
14	색소	미량
15	향료	미량
16	정제수	잔량

도면

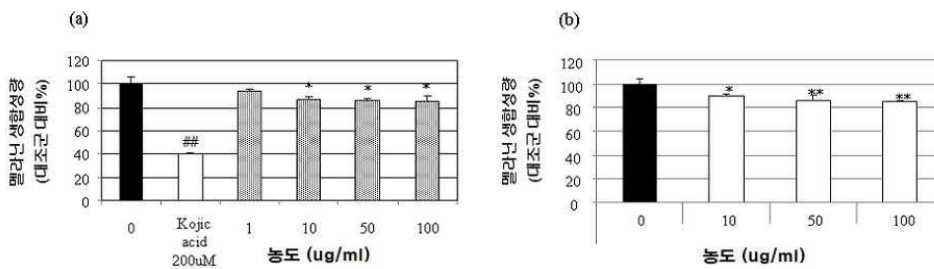
도면1



도면2



도면3



도면4

