



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0046028
(43) 공개일자 2017년04월28일

- | | |
|---|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 8/97</i> (2017.01) <i>A23L 1/30</i> (2006.01)
 <i>A61K 36/736</i> (2006.01) <i>A61Q 19/02</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61K 8/97</i> (2013.01)
 <i>A23L 33/105</i> (2016.08)</p> <p>(21) 출원번호 10-2015-0146307
 (22) 출원일자 2015년10월20일
 심사청구일자 2015년10월20일</p> | <p>(71) 출원인
 고려대학교 산학협력단
 서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)</p> <p>(72) 발명자
 조흥연
 서울특별시 성북구 정릉로 388, 103동 1002호(돈암동, 동부센트레빌아파트)</p> <p>최윤목
 세종특별자치시 조치원읍 도원1로 16, 111동 402호(푸르지오아파트)
 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
 특허법인다나</p> |
|---|---|

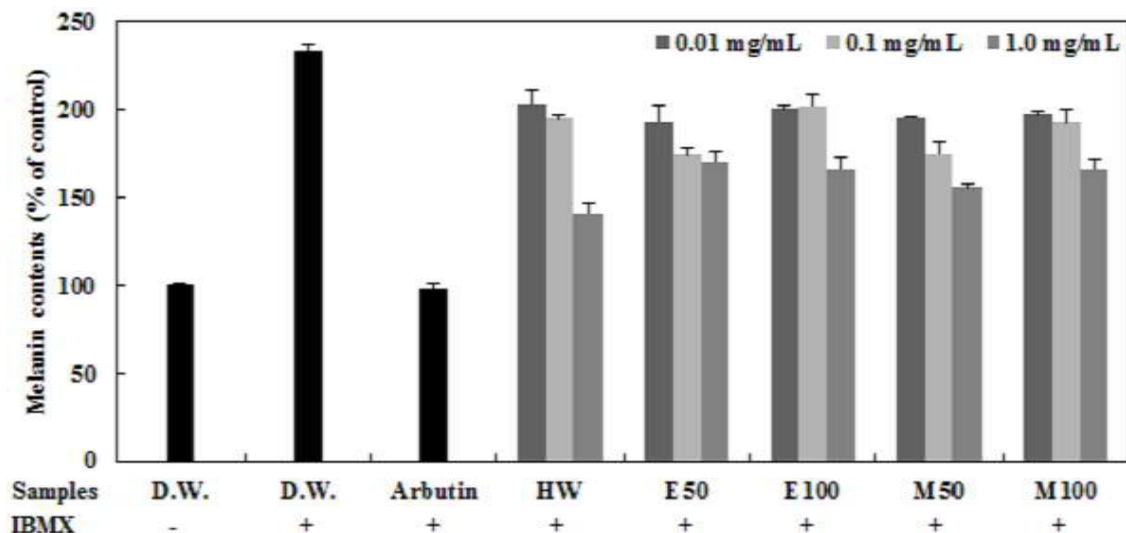
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **미숙과 추출물을 포함하는 미백용 조성물**

(57) 요약

본 발명의 미백활성을 갖는 미숙과 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장료 조성물, 식품 조성물 및 색소 침착 저해용 약학 조성물 및 이들을 포함하는 화장품, 식품 및 약제에 관한 것으로 본 발명의 유효성분인 미숙과 추출물은 세포독성을 나타내지 않으면서도, 티로시나아제의 효소 활성을 저해하는 효과가 있으며, 멜라닌 생합성 및 그와 관련된 유전자들의 발현을 효과적으로 억제하여 피부 미백, 색소 침착의 예방 또는 치료에 유용하게 사용할 수 있을 뿐만 아니라, 오랫동안 식용으로 사용되던 식물로부터 추출된 것으로 인공적으로 합성된 화합물과 달리 부작용도 문제되지 않으며, 안전성도 인정되므로 화장품 개발을 위한 화장료 조성물, 의약품과 같은 약학 조성물 뿐만 아니라 건강기능식품을 비롯한 식품 조성물에도 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

A61K 36/736 (2013.01)

A61Q 19/02 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/318 (2013.01)

(72) 발명자

최진영

서울특별시 강남구 삼성로 150, 212동 405호(대치동, 미도아파트)

이효은

서울특별시 양천구 목동동로 50, 1220동 808호(신정동, 신시가지12단지아파트)

안수희

광주광역시 북구 삼정로 112, 제102동 1609호(두압동, 라인동산아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 G02A00730006301

부처명 산업통상자원부

연구관리전문기관 한국산업기술진흥원

연구사업명 지역특화산업육성

연구과제명 고기능성 복숭아 소재 화장품/건강식품 개발 및 명품화 지원 사업

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2014.07.01 ~ 2015.06.30

명세서

청구범위

청구항 1

복숭아 미숙과 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장료 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 조성물은 피부 미백용인 화장료 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 용매로 추출된 화장료 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 복숭아 미숙과 추출물은 티로시나아제(tyrosinase) 활성 저해를 통한 미백활성을 갖는 화장료 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 추출물은 복숭아 미숙과 열수 추출물인 화장료 조성물.

청구항 6

제 1 내지 5항에 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 팩, 계면활성제-함유 클린징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이로 이루어진 군으로부터 선택된 제형을 갖는 화장료 조성물.

청구항 7

제 1항 내지 5항에 따른 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장수류, 에센스류, 스킨류, 로션류, 크림류, 팩류로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형을 갖는 화장품.

청구항 8

복숭아 미숙과 추출물을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 용매로 추출된 식품 조성물.

청구항 10

제8항 또는 제9항에 따른 식품조성물을 포함하는 피부 미백용 건강기능식품.

청구항 11

복숭아 미숙과 추출물을 유효성분으로 포함하는 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 색소 침착 질환은 주근깨, 노인성 반점, 간반, 기미, 갈색 또는 흑점, 일광 색소반, 푸른 흑피증(cynic melisma), 약물 사용 후의 과다 색소 침착, 임신성 갈색반(gravidic chloasma) 및 상처 또는 피부염으로 인한 염증 후 과다 색소침착으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 질환인 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 미숙과 추출물을 포함하는 미백용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 평균수명의 연장과 레저 활동의 증가, 급속한 산업화에 따른 환경오염으로 인해 오존층의 파괴와 자외선 노출 증가로 야기되는 피부변화가 증가되고 있는 추세이다. 이러한 환경에서 자외선으로 인한 피부 손상과 광노화에 의해 야기되는 피부색소침착이 심해져, 피부 착색에 대한 관심이 날로 높아지고 있다. 최근 기능성 화장품 산업에서 연구가 가장 활발하게 진행되고 있는 분야는 피부 노화 방지와 피부 미백에 관한 분야이고, 국내 화장품 시장에서의 기능성 화장품 매출액은 2012년을 기준으로 수요가 증가하고 있는 추세이며, 세계 화장품 시장규모 또한 꾸준히 증가하고 있다.

[0003] 인간의 피부색은 내적, 외적 요인에 의해 달라지는데, 그 중 피부색을 결정짓는 가장 근본적인 내적 인자는 천연 피부색소인 멜라닌(melanin)이다. 멜라닌은 표피 기저층에 존재하는 멜라닌세포의 멜라노솜(melanosome)에서 합성되어 수송돌기를 통해 표피의 각질세포로 이동하여 피부의 색상을 결정하는 주요한 인자이며, 자외선이나 외부 자극물질로부터 피부를 보호하는 역할을 한다. 그러나, 과도한 멜라닌 색소의 축적은 기미, 주근깨, 피부 반점 등과 같은 과색소 침착 현상을 유발하며, 피부노화를 촉진하는 등 미용적인 면에서 부정적인 기능을 나타내고, 이러한 색소침착이 심한 일상 생활에 어려움을 느끼는 등 질병으로서도 문제가 되고 있다.

[0004] 멜라닌 세포가 자외선, 약물 또는 α -MSH 등 외인성 및 내인성 인자에 노출되면, 아미노산의 일종인 티로신(tyrosine)이 티로시나아제(tyrosinase)의 촉매작용으로 수산화(hydroxylation)되어 3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA)을 생성하며, 다시 DOPA가 티로시나아제(tyrosinase)에 의해 산화되어 도파퀴논(DOPA-quinone)이 되면서 두 가지 방향으로 멜라닌 색소를 형성한다. 첫째, 검은색, 갈색을 나타내는 유멜라닌(eumelanin) 색소가 생성되는 경로는 도파퀴논(DOPA-quinone)이 도파크롬(DOPA-chrome)으로 전환되고, 도파크롬(DOPA-chrome)이 TRP-2(DOPACHROME tautomerase)에 의해 DHICA(5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid)로 변환되고, TRP-1(DHICA oxidase)에 의해 indole-5,6-quinone-2-carboxylic acid로 전환되어 유멜라닌(eumelanin)을 생성하는 경우와, 도파크롬(DOPA-chrome)이 자동산화 되어 DHI(5,6-dihydroxyindole)으로 전환된 후 티로시나아제(tyrosinase) 작용에 의해 indole-5,6-quinone으로 전환되어 유멜라닌(eumelanin)을 생성하는 경우가 있다. 둘째, 노란색이나 붉은색을 나타내는 페오멜라닌(pheomelanin) 색소가 생성되는 경로는 도파퀴논(DOPA-quinone)이 시스테인(cysteine)과 글루타티온(glutathione)의 작용을 받아 cystenyl-DOPA로 전환되고, enzothiazine alanine으로 전환되면서 페오멜라닌(pheomelanin)을 생성하는 경로이다.

[0005] 멜라닌은 몇 가지 세포 내 신호전달 메커니즘을 통하여 합성되는데, cyclic adenosine monophosphate(cAMP)/PKA(protein kinase A)에 의한 경로, protein kinase C(PKC)에 의한 경로, p38 MAP kinase에 의한 경로 등이 알려져 있다. 그 중, cAMP/PKA경로가 멜라닌형성(melanogenesis)의 주요 경로로서 피부가 UV에 노출되었을 때, 세포 내 cAMP 농도가 증가되고, 하위 신호전달 분자인 PKA를 활성화 시키며, cAMP response element binding protein(CREB)를 거쳐 MITF의 발현을 증가시킨다. MITF는 멜라닌 합성 과정에서 중요한 전사 조절 인자로, 티로시나아제, TRP-1, TRP-2의 발현을 촉진한다.

[0006] 현재 미백제로 사용되고 있는 원료는 알부틴, 아스코르브산(ascorbic acid), 하이드로퀴논(hydroquinone) 등이 있으나, 피부 안전성, 제형 안정성 등을 포함한 문제점이 있어 제한된 양만 사용하고 있다. 따라서 최근에는 인체에 무해하고 안정성이 높은 천연물, 한방 약용식물 등을 소재로 한 미백 작용기전 및 미백 효능에 대한 연구

가 활발하게 진행되고 있다.

[0007] 복숭아(*Prunus persica* L. Batsch)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 복숭아 나무의 열매로, 대표적인 여름과일이다. 주성분은 수분과 당분이며 주석산, 사과산, 시트르산 등의 유기산이 함유되어 있고, 말산과 개미산, 초산, 타르타르산 등의 에스테르와 알코올류, 알데히드류 및 펙틴 등도 풍부하다. 과육에는 유리 아미노산이 많이 함유되어 있으며, 특히 아스파르트산 함량이 높다. 복숭아는 국내 전체 과실 생산량의 8%를 점유하고 있으며, 국내 과실 생산량 중 6위를 차지한다. 그러나 복숭아는 재배과정에서 열매의 크기를 크고 고르게 하고, 품질을 높이기 위해 매년 4월 초순부터 5월 초순까지 3~4회에 걸쳐 하나의 가지 내에 일정 수량의 과실을 유지하는 적과 작업을 수행하며, 전체 과실의 90% 이상을 차지하는 복숭아 미숙과(유과, 적과, 낙과 등)는 모두 폐기되고 있는 실정이다.

[0008] 복숭아의 효능은 예로부터 혈액순환, 피로 회복, 피부 건조 예방, 콜레스테롤 저하 등이 있으며, 과실 외에도 복숭아 씨는 월경 불순, 진해, 거담 등의 다양한 생리, 약리 활성화에 대해 한약재로 사용되고 있으며, 잎은 위염, 기침, 두통, 기관지염 등에 대해 전통적인 약재로 사용되어 왔다. 그러나 폐기되는 미숙과에 대해서는 효능 연구가 미미한 실정이다.

[0010] 따라서 본 발명자들은 적과 과정에서 폐기되고 있는 복숭아 미숙과의 활용 방안 모색을 위한 연구의 일환으로 복숭아 미숙과로부터 여러 생리활성에 대해 연구해왔으며, 복숭아 미숙과 추출물로부터 뛰어난 피부 미백 효과를 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0011] (특허문헌 0001) KR 10-107678 B

(특허문헌 0002) KR 10-179331 B

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 목적은 미백활성을 갖는 복숭아 미숙과 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장료 조성물, 식품 조성물 및 색소 침착 저해용 약학 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 목적을 달성하기 위하여, 복숭아 미숙과 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장료 조성물을 제공한다.

[0014] 상기 조성물은 피부 미백용일 수 있다.

[0015] 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 용매로 추출된 것 일 수 있다.

[0016] 상기 복숭아 미숙과 추출물은 티로시나아제(tyrosinase) 활성 저해를 통한 미백활성을 갖는 것 일 수 있다.

[0017] 상기 추출물은 복숭아 미숙과 열수 추출물 일 수 있다.

[0018] 상기 조성물은 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 팩, 계면활성제-함유 클린징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이로 이루어진 군으로부터 선택된 제형을 갖는 것 일 수 있다.

[0019] 또한 본 발명은 복숭아 미숙과 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장수류, 에센스류, 스킨류, 로션류, 크림류, 팩류로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형을 갖는 화장품을 제공한다.

[0020] 또한 본 발명은 복숭아 미숙과 추출물을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물을 제공한다.

[0021] 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 용매로

추출된 것 일 수 있다.

[0022] 또한 본 발명은 상기 식품 조성물을 포함하는 피부 미백용 건강기능식품을 제공한다.

[0023] 또한 본 발명은 복숭아 미숙과 추출물을 유효성분으로 포함하는 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0024] 상기 색소 침착 질환은 주근깨, 노인성 반점, 간반(chloasma), 기미, 갈색 또는 흑점, 일광 색소반, 푸른 흑피증(cynic melisma), 약물 사용 후의 과다 색소 침착, 임신성 갈색반(gravidic chloasma), 피부 색소 증식증 및 상처 또는 피부염으로 인한 염증 후 과다 색소침착으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상 일 수 있다.

발명의 효과

[0025] 본 발명의 추출물은 세포독성을 나타내지 않으면서도, 티로시나아제의 효소 활성을 저해하는 효과가 있으며, 멜라닌 생합성 및 그와 관련된 유전자들의 발현을 효과적으로 억제하여 피부 미백, 색소 침착의 예방 또는 치료에 유용하게 사용할 수 있을 뿐만 아니라, 오랫동안 식용으로 사용되던 식물로부터 추출된 것으로 인공적으로 합성된 화합물과 달리 부작용도 문제되지 않으며, 안전성도 인정되므로 화장품 개발을 위한 화장료 조성물, 의약품과 같은 약학 조성물 뿐만 아니라 건강기능식품을 비롯한 식품 조성물에도 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 발명의 일 실시예에 따른 복숭아 부위별 열수 추출물의 멜라닌 생성 저해 활성 결과를 나타내는 그래프로 가로축은 각 처리군을 나타내고, 세로축은 대조군에 대한 멜라닌 함량의 상대값을 나타낸다. Arbutin은 알부틴 처리군, PUP-HW는 복숭아 미숙과 열수 추출물 처리군, PHP-HW는 복숭아 성숙과 열수 추출물 처리군, PL-HW는 복숭아 잎 열수 추출물 처리군 그리고 PB-HW는 복숭아 가지 열수 추출물 처리군을 나타낸다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 용매별 추출물의 세포생존율을 확인한 그래프로, 가로축은 각 처리군을 나타내고, 세로축은 세포독성을 나타낸다. 0/IBMX-는 대조군이고, 0/IBMX+는 IBMX만 처리한 대조군, Arbutin//IBMX+는 알부틴 처리군, HW/IBMX+는 복숭아 미숙과 열수 추출물 처리군, E50/ IBMX+는 복숭아 미숙과 50% 에탄올 추출물 처리군, E100/IBMX+는 복숭아 미숙과 100% 에탄올 추출물 처리군, M50/IBMX+는 복숭아 미숙과 50% 메탄올 추출물 그리고 M100/IBMX+는 복숭아 미숙과 100% 메탄올 추출물 처리군을 나타낸다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 용매별 추출물의 티로시나아제(tyrosinase) 저해 활성 결과를 나타내는 그래프로, 가로축은 각 처리군을 나타내고, 세로축은 티로시나아제 활성을 나타낸다. 0/IBMX-는 대조군이고, 0/IBMX+는 IBMX만 처리한 대조군, Arbutin//IBMX+는 알부틴 처리군, HW/IBMX+는 복숭아 미숙과 열수 추출물 처리군, E50/ IBMX+는 복숭아 미숙과 50% 에탄올 추출물 처리군, E100/IBMX+는 복숭아 미숙과 100% 에탄올 추출물 처리군, M50/IBMX+는 복숭아 미숙과 50% 메탄올 추출물 그리고 M100/IBMX+는 복숭아 미숙과 100% 메탄올 추출물 처리군을 나타낸다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 용매별 추출물의 멜라닌 생성 저해 활성 결과를 나타내는 그래프로 가로축은 각 처리군을 나타내고, 세로축은 대조군에 대한 멜라닌 함량의 상대값을 나타낸다. 0/IBMX-는 대조군이고, 0/IBMX+는 IBMX만 처리한 대조군, Arbutin//IBMX+는 알부틴 처리군, HW/IBMX+는 복숭아 미숙과 열수 추출물 처리군, E50/ IBMX+는 복숭아 미숙과 50% 에탄올 추출물 처리군, E100/IBMX+는 복숭아 미숙과 100% 에탄올 추출물 처리군, M50/IBMX+는 복숭아 미숙과 50% 메탄올 추출물 그리고 M100/IBMX+는 복숭아 미숙과 100% 메탄올 추출물 처리군을 나타낸다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 열수 추출물의 B16/F10 cell로부터 추출한 티로시나아제 저해 활성 결과를 나타내는 그래프로, 가로축은 각 처리군을 나타내고, 세로축은 티로시나아제 활성을 나타내며, 가로축의 Control은 대조군, Kojic acid는 코지산 처리군, Arbutin은 알부틴 처리군, PUP-HW는 복숭아 미숙과 열수 추출물 처리군을 나타낸다.

도 6은 추출물의 티로시나아제 mRNA의 발현 억제 활성을 확인한 결과를 나타내는 도이다. 그래프의 가로축의 각 처리군은 각각 대조군(control, D.W./IBMX-), IBMX만 처리한 대조군(IBM control), 양성대조군인 알부틴 처리군(arbutin/IBMX+), 복숭아 미숙과 열수 추출물 처리군(PUP-HW/IBMX+)을 나타낸다.

도 7은 열수 추출물의 TRP-1 mRNA의 발현 억제 활성을 확인한 결과를 나타내는 도이다. 그래프의 가로축의 각 처리군은 각각 대조군(control, D.W./IBMX-), IBMX만 처리한 대조군(IBM control), 양성대조군인 알부틴 처리

군(arbutin/IBMX+), 복숭아 미숙과 열수 추출물 처리군(PUP-HW/IBMX+)을 나타낸다.

도 8은 열수 추출물의 TRP-2 및 mRNA의 발현 억제 활성을 나타낸 도이다. 그래프의 가로축의 각 처리군은 각각 대조군(control, D.W./IBMX-), IBMX만 처리한 대조군(IBMX control), 양성대조군인 알부틴 처리군(arbutin/IBMX+), 복숭아 미숙과 열수 추출물 처리군(PUP-HW/IBMX+)을 나타낸다.

도 9는 열수 추출물의 MITF mRNA의 발현 억제 활성을 나타낸 도이다. 그래프의 가로축의 각 처리군은 각각 대조군(control, D.W./IBMX-), IBMX만 처리한 대조군(IBMX control), 양성대조군인 알부틴 처리군(arbutin/IBMX+), 복숭아 미숙과 열수 추출물 처리군(PUP-HW/IBMX+)을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0027] 복숭아 미숙과 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장료 조성물을 제공한다.
- [0028] 상기 복숭아 미숙과 추출물은 멜라닌 합성을 및 티로시나아제 활성을 효과적으로 억제할 수 있어 피부 미백에 우수한 효과가 있다.
- [0029] 상기 복숭아(*Prunus persica* L.)는 장미과에 속하는 복숭아 나무의 열매이고, 상기 복숭아 미숙과는 과실의 발육단계 중 성숙과(성숙한 과실) 전 단계의 과실을 모두 의미하는 것이고, 구체적으로 상기 미숙과는 과실 품질 및 생산량을 조절하기 위해 적해지는 적과(fruit thinning), 수정 완료 후부터 과실이 비대해지기 전 단계까지의 과실을 의미하는 유과(young fruit), 그리고 과실이 성숙하기 이전에 식물체로부터 탈리된 낙과(fruit drop)를 모두 포함하는 의미이다.
- [0030] 상기 미숙과는 바람직하게는 씨앗이 제거된 과육을 의미하고, 조성물 제조 시 건조 또는 미건조 시킨 복숭아 미숙과를 사용할 수 있고, 추출의 효율성을 위하여 상기 미숙과를 잘게 부수어 사용할 수 있다. 상기 복숭아 미숙과 추출물의 경우 멜라닌의 합성을 저해하는 효과가 복숭아 다른 부위의 추출물(일 예로 잎, 가지 등), 특히 복숭아 성숙과 추출물 보다 현저하게 우수함을 실험적으로 확인 하였다.
- [0031] 상기 조성물은 피부 미백용일 수 있고, 다르게 표현하면 미백활성을 갖는 복숭아 미숙과 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장료 조성물 일 수 있다.
- [0032] 상기 추출물은 티로시나아제(tyrosinase) 활성 저해를 통한 미백활성을 갖는 것 일 수 있고, 또는 멜라닌 억제를 통한 미백 활성을 갖는 것 일 수 있다. 바람직하게는 상기 작용의 복합적인 효과에 의하여 미백활성을 갖는 것일 수 있다.
- [0033] 상기 미백이란 멜라닌 등의 색소 과다로 인하여 명도가 감소된 피부의 명도를 증가시키거나, 피부의 명도를 일정 수준으로 유지하는 방법, 상기 방법으로 형성된 명도가 증가된 피부 등을 모두 포함하는 의미 이다.
- [0034] 상기 멜라닌 억제는 멜라닌의 합성을 억제하는 것뿐만 아니라, 기존에 생성된 멜라닌을 억제, 그와 관련된 유전자들의 발현 억제를 모두 포함할 수 있다.
- [0035] 상기 추출물은 추출용매로 추출하거나 추출용매로 추출하여 제조한 추출물에 분획용매를 가하여 분획하여 제조할 수 있다.
- [0036] 상기 추출용매는 물 및 유기용매로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상 일 수 있다. 상기 유기용매는 메탄올, 에탄올 등의 탄소수 1 내지 4의 알코올, 에틸아세테이트 또는 아세톤 등의 극성용매와 벤젠, 헥산 또는 디클로로메탄의 비극성용매 또는 이들의 혼합용매 일 수 있고, 바람직하게는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 일 수 있고, 더욱 바람직한 용매로 물 일 수 있고, 가장 바람직한 형태로는 열수를 추출용매로 사용할 수 있다. 상기 열수를 추출용매로 사용한 경우 다른 추출용매에 의한 추출물보다 멜라닌 합성 저해효과가 우수한 것을 실험적으로 확인하였다.
- [0037] 상기 추출용매는 미숙과 중량대비 1배 내지 20배, 바람직하게는 7배 내지 13배, 더욱 바람직하게는 9배 내지 11배로 사용할 수 있다.
- [0038] 상기 추출물은 여과, 농축 및/또는 건조 과정을 수행하여 용매를 제거할 수 있다. 구체적으로 상기 여과는 감압 여과기를 사용하거나, 여과지를 이용할 수 있고, 상기 농축은 감압 농축기를 이용할 수 있으며, 상기 건조는 동결건조법으로 수행할 수 있으나 이러한 방법에 한정되지 않고, 추출물 발명의 기술분야에서 추출 또는 분획을 위해 사용할 수 있는 통상의 기기 및 기술을 모두 이용할 수 있다.
- [0039] 상기 추출물은 통상의 추출물의 제조방법에 따라 제조된 것일 수 있다. 보다 구체적으로, 불순물을 제거한 상기

미숙과에 추출용매를 가하고 추출과정을 수행하는 방법으로 수행할 수 있다. 상기 추출과정은 냉침추출법, 온침추출법, 가압추출법 또는 초음파 분쇄 추출법일 수 있다.

- [0040] 상기 추출물은 하기 추출조건으로 제조하는 것이 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 추출물의 추출 시간은 1시간 내지 10시간 동안 수행될 수 있고, 바람직하게는 5시간 내지 8시간 동안 수행할 수 있으며, 상기 추출온도는 10 ℃ 내지 100 ℃에서 수행할 수 있고, 바람직하게는 60 ℃ 내지 80 ℃에서 수행할 수 있다. 상기 방법으로 얻어진 추출물의 경우 미백효과가 탁월하여 화장료 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.
- [0041] 상기 화장료 조성물은 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 팩, 계면활성제-함유 클린징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이로 이루어진 군으로부터 선택된 제형을 갖는 것 일 수 있다. 상기 화장료 조성물은 제형에 따라서 통상적으로 사용되는 성분을 더 포함할 수 있다.
- [0042] 상기 화장료 조성물은 본 발명의 복숭아 미숙과 추출물을 사용하여 통상의 화장료 제조방법에 따라, 다양한 형태로 제조될 수 있고, 화장료 조성물 분야에서 통상적으로 사용되는 성분을 더 포함할 수 있고, 일 예로 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료, 자외선흡수제, 정제수 및 향료와 같은 통상적인 보조제를 더 포함할 수 있다.
- [0043] 상기 화장료 조성물은 본 발명의 추출물을 전체 조성물 대비 0.001 내지 50 중량%로 포함하는 것 일 수 있다. 상기 농도로 추출물을 포함하는 경우 세포독성을 나타내지 않아 안전하면서도, 우수한 미백효과를 가질 수 있다.
- [0045] 또한 본 발명은 복숭아 미숙과 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장수류, 에센스류, 스킨류, 로션류, 크림류, 팩류로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형을 갖는 화장품을 제공한다.
- [0046] 상기 화장품은 일 예로 스킨, 스킨소프트너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비소, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 마디로션 및 마디클렌저 등이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0049] 또한 본 발명은 복숭아 미숙과 추출물을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물 및 상기 식품 조성물을 포함하는 피부 미백용 건강기능식품을 제공한다.
- [0050] 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 용매로 추출된 것 일 수 있다.
- [0051] 상기 추출물은 바람직하게는 열수로 추출된 것 일 수 있고, 열수추출물로 추출된 추출물의 경우 안전성이 우수하고, 티로시나아제 활성 억제 효과가 다른 용매를 이용한 경우 보다 현저히 우수하여, 식품으로 섭취 시 우수한 미백효과를 나타낼 수 있다.
- [0052] 상기 식품이라 함은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서 건강기능식품, 기능성식품, 음료, 식품 첨가제 및 음료 첨가제를 모두 포함하는 의도이다.
- [0053] 상기 식품은 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능식품 등일 수 있다. 추가로, 본 발명에서 식품에는 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 및 채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료(예, 라면스프 등)를 포함하나 이에 한정되지 않는다.
- [0054] 상기 식품, 기능성식품, 건강기능식품, 음료, 식품 첨가제 및 음료 첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.
- [0055] 본 발명에서 건강기능식품이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와

회복 등에 관한 체조절 기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미한다.

- [0056] 상기 건강기능식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 건강기능식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.
- [0057] 본 발명에서 음료란 갈증을 해소하거나 맛을 즐기기 위하여 마시는 것의 총칭을 의미하며, 건강기능음료를 포함하는 의도이다.
- [0058] 상기 음료는 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 추출물을 유효성분으로 포함하는 것 외에 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.
- [0059] 상기의 천연 탄수화물의 예는 포도당이나 과당 등과 같은 모노사카라이드, 말토스, 수크로스 등과 같은 디사카라이드, 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 폴리사카라이드 또는 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올 등일 수 있다. 상기 향미제는 타우마틴이나 레바우디오시드 A 또는 글리시르히진과 같은 스테비아 추출물과 같은 천연 향미제 또는 사카린, 아스파르탐 등과 같은 합성 향미제일 수 있다.
- [0060] 상기 천연 탄수화물의 첨가량은 본 발명의 식품 조성물 100 ml 당 일반적으로 약 1 g 내지 20 g, 바람직하게는 5 g 내지 12 g일 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일 주스, 과일 주스 음료, 야채 음료의 제조를 위한 과육을 추가로 함유할 수 있다.
- [0061] 상기 외에 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.
- [0062] 이러한 성분을 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 중요하지 않지만, 본 발명의 추출물 100 중량부 당 0 내지 2,000 중량부 범위에서 선택될 수 있다.
- [0063] 상기 건강기능음료란 음료에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 음료의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가 가치를 부여한 음료 군이나 음료 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 음료를 의미한다.
- [0064] 상기 건강기능음료는 지시된 비율로 필수 성분으로서 본 발명의 복숭아 미숙과 추출물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.
- [0065] 상기의 천연 탄수화물의 예는 포도당이나 과당 등과 같은 모노사카라이드, 말토스, 수크로스 등과 같은 디사카라이드, 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 폴리사카라이드 또는 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올 등일 수 있다. 상기 향미제는 타우마틴이나 레바우디오시드 A 또는 글리시르히진과 같은 스테비아 추출물과 같은 천연 향미제 또는 사카린, 아스파르탐 등과 같은 합성 향미제일 수 있다.
- [0066] 상기 천연 탄수화물의 첨가량은 본 발명의 식품 조성물 100 ml 당 일반적으로 약 1 g 내지 20 g, 바람직하게는 5 g 내지 12 g일 수 있다.
- [0067] 그밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일 주스, 과일 주스 음료, 야채 음료의 제조를 위한 과육을 추가로 함유할 수 있다.
- [0068] 상기 외에 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분을 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하지 않지만, 본 발명의 복숭아 미숙과 추출물 100 중량부 당 0 내지 20 중량부 범위에서 선택될 수 있다.
- [0069] 상기 건강기능식품은 식품첨가물을 추가로 포함할 수 있고, 식품첨가물로서의 적합여부는 다른 규정이 없는 식품의약품안전처에 승인된 식품첨가물공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [0070] 본 발명의 건강기능식품을 제조하는 과정에서 음료를 포함한 식품에 첨가되는 본 발명의 추출물은 필요에 따른

그 함량을 적절히 가감할 수 있고, 바람직하게는 전체 식품 100 중량%에 대하여 1 내지 15 중량%로 포함되도록 첨가할 수 있다.

- [0072] 또한 본 발명은 복숭아 미숙과 추출물을 유효성분으로 포함하는 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0073] 상기 복숭아 미숙과 추출물은 색소가 과다 침착된 피부에 적용되었을 때, 피부에서 멜라닌 합성 및 관련된 유전자의 활성을 효과적으로 억제, 티로시나아제 활성을 억제할 수 있어, 색소 침착과 관련된 질환 및 병변을 효과적으로 예방, 개선 또는 치료(제거) 할 수 있다.
- [0074] 상기 색소 침착 질환은 색소가 과도하게 증식하거나, 침착되는 증상과 관련된 모든 질환을 의미하고, 바람직하게는 주근깨, 노인성 반점, 간반(chloasma), 기미, 갈색 또는 흑점, 일광 색소반, 푸른 흑피증(cynic melisma), 약물 사용 후의 과다 색소 침착, 임신성 갈색반(gravidic chloasma), 피부 색소 증식증 및 상처 또는 피부염으로 인한 염증 후 과다 색소침착으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상 일 수 있다.
- [0075] 상기 약학 조성물은 인간을 포함한 동물의 질병을 진단, 치료, 경감, 처치 또는 예방을 목적으로 사용하는 약제를 의미한다.
- [0076] 상기 추출물을 유효성분으로 포함하는 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 상기 추출물을 0.001 중량% 내지 99.9 중량% 또는 0.1 중량% 내지 99 중량% 또는 1 중량% 내지 20 중량% 포함될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며, 조성물의 사용태양 및 사용방법에 따라 상기 추출물의 함량은 약학적으로 유효한 양 또는 바람직한 양으로 적절히 조절하여 사용될 수 있다.
- [0077] 본 발명의 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물은 유효성분으로 하는 상기 복숭아 미숙과 추출물을 단독으로 포함할 수 있고, 이외 제형, 사용방법 및 사용목적에 따라 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제, 희석제 및/또는 부성분을 더 포함할 수 있다.
- [0078] 보다 구체적으로, 상기 유효성분 외에 추가로 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 증진제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 추가로 함유할 수 있다.
- [0079] 상기 '약학적으로 허용되는'이란 생리학적으로 허용되고 동물, 바람직하게는 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 것을 의미한다. 상기 약학적으로 유효한 양은 질환 및 이의 중증 정도, 환자의 연령, 체중, 건강상태, 성별, 투여경로 및 치료기간 등에 따라 적절히 변화될 수 있다.
- [0080] 상기 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유, 텍스트린, 칼슘카보네이트, 텍스트린, 칼슘카보네이트, 프로필렌글리콜, 리퀴드 파라핀 및 생리식염수로 이루어진 군에서 선택된 1 이상을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며 통상의 담체, 부형제 또는 희석제 모두 사용 가능하다.
- [0081] 상기 성분들은 상기 유효성분인 복숭아 미숙과 추출물에 독립적으로 또는 조합하여 추가될 수 있다.
- [0082] 또한, 상기 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물은 통상의 증진제, 증량제, 결합제, 붕해제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, pH 조절제, 영양제, 비타민, 전해질, 알긴산 및 그의 염, 펙트산 및 그의 염, 보호성 콜로이드, 글리세린, 향료, 유화제 또는 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다. 상기 성분들은 본 발명의 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물에 독립적으로 또는 조합하여 추가될 수 있다.
- [0083] 또한, 상기 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물은 상기 유효성분 이외에 피부 색소 침착의 개선, 완화, 치료 또는 예방을 나타내는 물질을 더욱 포함하여 사용될 수 있고, 바람직하게는 본 발명의 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물 100 중량부 당 0.1 중량부 내지 20 중량부 범위, 또는 상기 유효성분인 추출물 100 중량부에 대하여 각각 5 중량부 내지 200 중량부 범위에서 추가될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0084] 상기 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물의 투여방법은 경구 또는 비경구 모두 가능하며, 일 예로는

경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있다.

- [0085] 또한, 상기 조성물의 제형은 사용방법에 따라 달라질 수 있으며, 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 본 발명이 속하는 기술 분야에 잘 알려진 방법을 사용하여 제형화 될 수 있다. 상기 제형의 예로는 과립제, 산제, 시럽제, 액제, 현탁제, 정제, 주사제, 주정제, 카타플라스마제(cataplasma), 캡슐제, 연질 젤라틴 캡셀 또는 경질 젤라틴 캡셀 등이 있다.
- [0086] 상기 제형을 위하여 부형제, 일 예로 통상의 충전제, 증량제, 결합제, 붕해제, 계면활성제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제, 감미제, 방향제 또는 보존제 등을 더욱 포함할 수 있다.
- [0087] 일반적으로는, 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제(TABLETS), 알약, 연질 또는 경질 캡셀제(CAPSULES), 환제(PILLS), 산제(POWDERS) 및 과립제(GRANULES) 등이 포함되고, 이러한 제제는 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다.
- [0088] 또한, 경구 투여를 위한 액상제제에는 현탁제(SUSPENSIONS), 내용액제, 유제(EMULSIONS) 및 시럽제(SYRUPS) 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물 또는 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제 예를 들면, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0089] 피부 투여를 위해 언급할 수 있는 예로는 더스팅 파우더, 에멀전, 현탁액, 오일, 스프레이, 연고, 그리지 연고, 크림, 페이스트, 젤, 폼, 또는 용액을 생성시키는데 적합하고, 경피 약물 전달체(TTS: Transdermal therapeuticsystem)에 적합한 담체 및/또는 부형제가 있다. 본 발명의 국소용 약학제제는 반고체상 제형일 수 있으며 특히 연고(용액 연고, 현탁액 연고), 크림, 젤 또는 페이스트가 있다. 유상에 주로 사용되는 것은 지방 알콜, 예를 들면 라우릴 알코올, 세틸 알코올, 스테아릴 알코올, 지방산, 예를 들면 팔미트산 또는 스테아르산, 액상 또는 고체상 파라핀 또는 오조케라이트, 액상 내지 고체상 왁스, 예를 들면 이소프로필 미리스테이트, 천연 지방 또는 일부 합성 지방, 예를 들면 코코넛 지방산 트리글리세라이드, 경화유, 예를 들면 수소화된 피넛 또는 캐스터 오일, 또는 글리세롤의 지방산 부분 에스테르, 예를 들면 글리세롤 모노스테아레이트 또는 글리세롤 디스테아레이트가 있다. 적합한 유화제로는 계면활성제, 예를 들어 비이온성 계면활성제, 예를 들면 폴리알코올 또는 이것의 산화에틸렌 부가물의 지방산 에스테르, 예컨대 폴리글리세롤 지방산 에스테르 또는 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르, 소르비탄 지방산 에스테르, 예컨대 소르비탄 올레이트 및/또는 소르비탄 이소스테아레이트 등, 이소스테아레이트, 스테롤, 또는 폴리옥시에틸렌 지방 알콜 에테르 또는 지방산 에스테르, 예를 들어 음이온성 계면활성제, 예를 들면 지방 알코올 설포네이트의 알칼리 금속염, 예컨대 나트륨 라우릴 설페이트, 나트륨 세틸 설페이트 또는 나트륨 스테아릴 설페이트가 있으며 이들은 상기 지방 알코올, 예를 들면 세틸 알코올 또는 스테아릴 알코올의 존재 하에서 일반적으로 사용된다. 이 중에서도 특히 크림 건조를 방지하는 제제, 예를 들면 폴리알코올, 예컨대 글리세롤, 소르비톨, 프로필렌 글리콜 및/또는 폴리에틸렌 글리콜을 수상에 첨가하거나 또는 보존제, 향료 등을 수상에 첨가하는 것이 가능하다.
- [0090] 더 나아가, 본 발명의 조성물은 당해 기술 분야의 공지된 적절한 방법을 사용하여 또는 레밍턴의 문헌(Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 제형화될 수 있다.
- [0091] 본 발명의 약학제제는 무수상태의 연고일 수 있고, 국소용도에 적합하고 체온상태에서 액체인 파라핀, 특히 저점도 파라핀을 함유하거나, 또는 상기 천연지방 또는 부분합성 지방, 예를 들면, 코코넛 지방산 트리글리세라이드, 경화유, 예를 들면 수소화된 피넛 또는 캐스터 오일, 글리세롤의 지방산 부분 에스테르, 예를 들면 글리세롤 모노스테아레이트 및 디스테아레이트, 실리콘, 예를 들면 폴리메틸실록산, 예컨대 헥사메틸디실록산 또는 옥타메틸트리실록산을 함유할 수 있으며, 예를 들어 수성크림과 관련되어 있고 수분 흡수 용량을 증가시키는 지방 알코올, 그리고 스테롤, 올 왁스, 다른 유화제 및/또는 기타 첨가제를 함유할 수 있다.
- [0092] 상기 조성물의 투여량은 투여방법, 개체의 연령, 성별 및 체중, 질환의 중증도, 상태, 체내에서 활성 성분의 흡수도, 불활성물 및 병용되는 약물 등을 고려하여 담당자에 의해 적절하게 결정할 수 있다. 일 예로 상기 조성물의 1일 유효성분을 기준으로 하였을 때, 상기 복숭아 미숙과 추출물은 0.0001 mg/kg(체중) 내지 500 mg/kg(체중), 0.01 mg/kg(체중) 내지 400 mg/kg(체중) 또는 1 mg/kg(체중) 내지 300 mg/kg(체중)으로 투여될 수 있으며, 하루에 한번 또는 수회 나누어 투여될 수 있다. 다만 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0093] 또한 본 발명의 약학적 조성물은 피부 색소 침착의 개선, 완화, 치료 또는 예방을 위하여 단독으로, 또는 수술,

호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0094] 이상 본 명세서에 기재된 수치 값은 달리 명시되어 있지 않은 한 균등범위까지 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

[0095] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예, 제제예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예, 제제예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예 또는 제제예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0097] [실시예]

[0099] **제조예1. 미숙과 추출물의 제조**

[0100] 본 발명에 사용된 시료는 세종특별자치시 조치원 읍에서 생산된 미숙과(적과, 유과 및 낙과를 모두 포함)를 대상으로 하였으며, 세척한 후 건조하여 시료의 중량 대비 10배의 추출 용매를 사용하여 70 °C에서 6시간 환류 추출하였다. 추출용매로는 물, 에탄올 50%, 에탄올 100%, 메탄올 50% 그리고 메탄올 100%를 사용하였으며, 획득한 추출액을 여과하고, 50 °C에서 회전감압농축기로 감압 농축한 후, 동결 건조하여 추출물을 수득하였다. 이후 상기 복숭아 미숙과 추출물을 실험예에서 사용하였다.

[0102] **실험예 1. 복숭아 부위별 추출물의 멜라닌 생성 저해 효과 확인**

[0103] 복숭아의 부위별 추출물의 멜라닌 생성 저해효과를 검토 및 비교하기 위해 복숭아 미숙과, 복숭아 성숙과, 복숭아 잎 그리고 복숭아 가지를 준비하여, 상기 제조예 1과 동일한 방법으로 열수 추출물을 제조하고, 각 추출물 처리군과 대조군 나누어 실험을 실시하였다.

[0104] 3-isobutyl-1-methylxanthine(IBMx)를 처리하여 멜라닌 생성을 유도시킨 B16/F10 세포에서 멜라닌 함량을 측정하였다. B16/F10 세포를 10% Fetal bovine serum(FBS)이 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 1x10⁴cells/well의 농도로 6 well-plate에 접종하여 37°C, CO₂ 항온기에서 24시간 배양하였다. 원 배지를 제거하고, 10% FBS가 첨가된 DMEM 배지와 함께 복숭아 추출물을 1.0 mg/mL 농도로 처리하여 37°C, CO₂ 항온기에서 48시간 배양하였다. 추출물을 처리하지 않은 대조군(control)를 제외한 전 처리군에 멜라닌 생합성을 유도하기 위해 0.1 mM의 IBMx를 함께 처리하였다. 미백효과를 갖는 물질인 알부틴(arbutin)을 양성 대조군(positive control)으로 사용하였으며, 0.1 mg/mL의 농도로 처리하였다. 48시간 뒤, 각 well의 세포를 차가운 PBS로 2회 세척 후, 세포 스크래퍼(cell scraper)를 이용하여 세포를 회수한 뒤, 20 mmol/L Tris-0.1% Triton X-100(pH 7.5)을 첨가하고, vortexing을 30분간 실시하여 멜라닌을 추출하였다. 이를 12,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리한 후, pellet에 10% DMSO(dimethyl sulfoxide)를 포함하는 1 N NaOH를 150 µL 첨가하여 80°C에서 30분간 가열하였다. 반응시킨 혼합물을 96 wells plate에 100 µL씩 분주하여 마이크로플레이트리더기를 이용하여 415 nm에서 흡광도(absorbance)를 측정하였고, 결과값은 [계산식]에 따라 계산하여, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0106] [계산식]

[0107] 멜라닌 함량(%) =(시료 처리군의 흡광도/대조군의 흡광도) x 100

[0109] 도 1에 나타낸 바와 같이, 시료를 처리하지 않은 대조군(control)의 멜라닌 함량을 100%로 비교하였을 때, IBMx만 처리한 대조군(IBMx control)의 멜라닌 함량은 208%로 대조군(control)에 비해 생성량이 108% 증가하였고, 양성대조군인 알부틴(arbutin) 처리군의 멜라닌 함량은 114%로, IBMx control군에 비해 생성량이 94% 감소하였다. 복숭아 추출물을 처리한 군에서 멜라닌 함량(melanin contents)은 복숭아 미숙과 열수 추출물 처리군(PUP-HW)에서 약 133%(IBMx대조군 대비 멜라닌 생성 75% 억제), 복숭아 성숙과 열수 추출물 처리군(PHP-HW)에서 약 150%(IBMx대조군 대비 멜라닌 생성 57% 억제), 복숭아 잎 열수 추출물 처리군(PL-HW)에서 약 163%(IBMx대조군 대비 멜라닌 생성 44% 억제), 그리고 복숭아 가지 열수 추출물 처리군(PB-HW)에서 약 175%(IBMx대조군 대비 멜라닌 생성 33% 억제)를 나타내었다. 상기 결과를 통하여 복숭아의 모든 부위 추출물이 세포 내에서 멜라닌 생성

을 억제하는 것을 확인 하였고, 그 중에서도 복숭아 미숙과의 경우 다른 부위의 추출물 보다 멜라닌 생합성 억제 활성이 약 20% 이상 높음을 확인하여, 미숙과를 이용하여 추가적인 미백 활성 실험을 실시하였다.

[0112] 실험예 2. 추출용매별 추출물의 세포독성 평가

[0113] 상기 제조예에서 추출한 추출물 5종의 세포 독성을 확인하기 위해 세포 생존율을 측정하였다. 이를 위해 마우스 유래의 멜라노사이트(melanocyte)인 B16/F10 세포주(murine melanoma cells)를 10% 소태아혈청(Fetal bovine serum, FBS)이 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 1×10^4 cells/well의 농도로 96 well-plate에 접종하여 37℃, CO₂ 항온기(incubator)에서 24시간 배양하였다. 원 배지를 제거하고, 혈청(serum)이 함유되지 않은 DMEM 배지와 함께 복숭아 미숙과 추출물 5종 시료를 각각 0.01, 0.1, 1.0 mg/mL 농도로 처리한 후, 37℃, CO₂ 항온기(incubator)에서 24시간 배양하였다. 추출물을 처리하지 않은 대조군(control)을 제외한 모든 처리군에 멜라닌 생합성(melanogenesis)을 유도하기 위해 0.1 mM의 3-이소부틸-1-메틸크산틴(3-isobutyl-1-methylxanthine, IBMX)을 함께 처리하였다. 미백효과가 잘 알려진 물질인 알부틴(arbutin)을 양성 대조군(positive control)으로 사용하였으며, 0.1 mg/mL의 농도로 처리하였다. 24시간 뒤, 세포생존율 측정을 위해 배지를 제거하고, MTT 용액(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) 100 μL를 첨가하여 3시간 반응 시킨 후 배지를 제거하였다. 세포 내 생성된 포르마잔(formazan)을 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 용해시킨 후, 마이크로플레이트리더(Model 680 microplate reader, Bio-Rad, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였고, 측정된 값은 [계산식 1]에 따라 계산하고, 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0114] [계산식 1]

[0115] 세포생존율(%) = (시료 처리군의 흡광도/대조군의 흡광도) x 100

[0117] 도 2에 나타낸 바와 같이, 추출물을 처리하지 않은 대조군(control)의 세포 생존율을 100%로 하여 비교하였을 때, IBMX만 처리한 대조군(IBM control)과 양성대조군인 알부틴(arbutin) 처리군의 세포 생존율은 각각 105% 이었다. 복숭아 미숙과 추출물의 경우 상기 언급한 농도 순으로 각각 열수 추출물 처리군(HW)의 세포 생존율은 약 95%, 100%, 100% 이었고, 50% 에탄올 추출물 처리군(E50)의 세포 생존율은 104%, 102%, 103%, 100% 에탄올 추출물 처리군(E100)의 세포 생존율은 101%, 97%, 96%, 50% 메탄올 추출물 처리군(M50)의 세포 생존율은 95%, 95%, 100% 그리고 100% 메탄올 추출물(M100)의 세포 생존율은 101%, 98%, 97%이었다. 상기 결과를 토대로, 복숭아 미숙과 용매별 추출물은 1.0 mg/mL 이하 농도에서는 B16/F10 세포에 대해 독성이 없는 것을 확인하였다.

[0119] 실험예 3. 용매별 추출물의 티로시나아제 저해 활성 측정

[0120] 상기 제조예에서 추출한 추출물 5종의 미백활성을 검토하기 위해 시험관 수준에서 티로시나아제 저해 활성을 측정하였다.

[0121] 이는 티로시나아제 작용의 결과로 생성되는 도파크롬(DOPA chrome)을 비색법에 의해 측정하는 것으로, 버섯 유래의 티로시나아제(mushroom 티로시나아제(tyrosinase), 150 unit, Sigma, USA)를 사용하였고, 10 mM의 디페닐알라닌(3,4-dihydroxy-L-phenyl-alanine, Sigma, USA)을 기질로 사용하였다. 시료의 농도는 0.01, 0.1, 1.0 mg/mL로 조제하였으며, 양성 대조군(positive control)인 코지산(kojic acid)은 0.05 mg/mL로 조제하였다. 증류수 550 μL, 1 M 칼륨 인산 완충액(potassium phosphate buffer, KPB, pH 6.8) 50 μL, 시료 100 μL를 혼합한 반응혼합물(reaction mixture)에 150 U 티로시나아제(tyrosinase) 100 μL를 첨가하여 37 °C에서 2분 pre-incubation하였다. 공시험(Blank)은 티로시나아제(tyrosinase) 대신 50 mM의 KPB buffer(효소 희석액)를 첨가하였다. 이 혼합액에 10 mM의 DOPA solution 200 μL를 첨가하여 37 °C에서 10분 반응시켰다. 반응시킨 혼합물을 아이스 배스(ice bath)에서 효소 반응을 정지 시킨 뒤, 생성된 도파크롬(DOPA chrome)의 양을 분광광도계(spectrophotometer)를 이용하여 475 nm에서 측정하였다. 티로시나아제의 활성은 [계산식 2]에 따라 계산하고, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0122] [계산식 2]

[0123] mushroom tyrosinase activity(%) = (Sample O.D - Blank O.D / Control O.D - Blank O.D) x 100

[0124] 도 3에 나타난 바와 같이, 시료를 처리하지 않은 대조군(control)의 활성을 100%로 하였을 때, 양성대조군(positive control)의 티로시나아제 활성은 34%로, 약 66%의 티로시나아제 억제 활성을 나타내었다. 복숭아 미숙과 추출물 처리군의 경우 상기 언급한 농도 범위에서 각각 열수 추출물 처리군(HW)에서 약 99%, 97%, 84%, 50% 에탄올 추출물 처리군(E50)에서 약 103%, 98%, 95%, 100% 에탄올 추출물 처리군(E100)에서 약 99%, 95%, 84%, 50% 메탄올 추출물 처리군(M50)에서 약 102%, 104%, 101% 그리고 100% 메탄올 추출물 처리군(M100)에서 약 101%, 95%, 84%의 티로시나아제 활성을 나타내었다. 상기 결과를 통해서 1.0 mg/mL 농도의 복숭아 미숙과 열수 추출물, 100% 에탄올 추출물 그리고 100% 메탄올 추출물에서 각각 약 16%의 티로시나아제 억제 활성이 있음을 실험적으로 확인하였다.

[0126] 실시예 4. 추출물의 멜라닌 생성 저해 효과 검토

[0127] 상기 제조예에서 추출한 추출물 5종의 멜라닌 생성 저해효과를 검토하기 위해 3-isobutyl-1-methylxanthine(IBMx)를 처리하여 멜라닌 생성을 유도시킨 B16/F10 세포에서 멜라닌 함량을 측정하였다.

[0128] B16/F10 세포를 10% Fetal bovine serum(FBS)이 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 1x10cells/well의 농도로 6 well-plate에 접종하여 37℃, CO₂ 항온기에서 24시간 배양하였다. 원 배지를 제거하고, 10% FBS가 첨가된 DMEM 배지와 함께 복숭아 미숙과 추출물을 0.01, 0.1, 1.0 mg/mL 농도로 처리하여 37℃, CO₂ 항온기에서 48시간 배양하였다. 추출물을 처리하지 않은 대조군(control)를 제외한 전 처리군에 멜라닌 생합성을 유도하기 위해 0.1 mM의 IBMx를 함께 처리하였다. 미백효과를 갖는 물질인 알부틴(arbutin)을 양성 대조군(positive control)으로 사용하였으며, 0.1 mg/mL의 농도로 처리하였다. 48시간 뒤, 각 well의 세포를 차가운 PBS로 2회 세척 후, 세포 스크래퍼(cell scraper)를 이용하여 세포를 회수한 뒤, 20 mmol/L Tris-0.1% Triton X-100(pH 7.5)을 첨가하고, vortexing을 30분간 실시하여 멜라닌을 추출하였다. 이를 12,000 rpm, 4℃에서 10분간 원심분리한 후, pellet에 10% DMSO(dimethyl sulfoxide)를 포함하는 1 N NaOH를 150 μL 첨가하여 80℃에서 30분간 가열하였다. 반응시킨 혼합물을 96 wells plate에 100 μL씩 분주하여 마이크로플레이트리더기를 이용하여 415 nm에서 흡광도(absorbance)를 측정하였고, 결과값은 [계산식 3]에 따라 계산하여, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0130] [계산식3]

[0131] 멜라닌 함량(%) =(시료 처리군의 흡광도/대조군의 흡광도) x 100

[0133] 도 4에 나타난 바와 같이, 시료를 처리하지 않은 대조군(control)의 멜라닌 함량을 100%로 비교하였을 때, IBMx만 처리한 대조군(IBMx control)의 멜라닌 함량은 233%로 대조군(control)에 비해 생성량이 133% 증가하였고, 양성대조군인 알부틴(arbutin) 처리군의 멜라닌 함량은 98%로, IBMx control군에 비해 생성량이 135% 감소하였다. 복숭아 미숙과 추출물 처리군의 경우 상기 언급한 농도 순으로 각각 열수 추출물 처리군(HW)에서 약 203%, 195%, 141%, 50% 에탄올 추출물 처리군(E50)에서 약 193%, 174%, 170%, 100% 에탄올 추출물 처리군(E100)에서 약 200%, 201%, 166%, 50% 메탄올 추출물 처리군(M50)에서 약 195%, 175%, 156% 그리고 100% 메탄올 추출물 처리군(M100)에서 약 197%, 193%, 166%의 멜라닌 함량(melanin contents)를 나타내었다. 복숭아 미숙과 추출물을 세포에 처리하는 경우 멜라닌 생성을 억제하는 것을 확인하였고, 특히 농도 1.0 mg/mL로 처리하는 경우 상기 언급한 용매 순으로 약 92%, 63%, 67%, 77%, 67%의 멜라닌 생성 억제 활성을 확인하였고, 상기 5종의 추출물 중에서 열수 추출물의 멜라닌 생성 억제 활성이 가장 우수하여 이를 이용하여 추가적인 미백 활성 실험을 실시하였다.

[0135] 실시예 5. 열수 추출물의 B16/F10 세포 유래 티로시나아제 저해 활성 측정

[0136] 복숭아 미숙과 열수 추출물의 미백활성을 세포 수준에서 검토하기 위해 B16/F10 세포로부터 추출한 티로시나아제(Murine tyrosinase)를 사용하여 효소 활성을 측정하였다. 상기 티로시나아제는 IBMx를 처리하여 멜라닌 생성을 유도한 B16/F10 세포주로부터 추출하여 사용하였다.

[0137] 보다 자세하게는, B16/F10 세포주를 10% Fetal bovine serum(FBS)이 첨가된 DMEM을 이용하여 1x10cells/well의 농도로 6 well-plate에 접종하여 37℃, CO₂ 항온기에서 24시간 배양하였다. 배지를 제거하고, 10% FBS가 첨가된 DMEM 배지와 함께 100 μM의 IBMX 300 μL를 처리하여 37℃, CO₂ 항온기에서 48시간 배양하였다. 48시간 뒤, 세포를 차가운 PBS로 2회 세척 후, 세포 스크래퍼(cell scraper)를 이용하여 세포를 회수한 뒤, 20 mmol/L Tris-0.1% Triton X-100(pH 7.5)를 첨가하고 30분간 vortexing하여 세포를 용해하였고, 이를 12,000 rpm, 4℃에서 10분간 원심분리한 후 상등액(supernatant)을 회수하여 B16/F10 세포 유래 티로시나아제 조효소액으로 사용하였다. 효소 활성은 실험예 2에 기술된 방법에 따라 티로시나아제 활성을 측정하고, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0139] 도 5에 나타낸 바와 같이, 시료를 처리하지 않은 대조군(control)의 효소 활성을 100%로 하였을 때, positive control인 kojic acid는 56%의 억제 활성을, 알부틴(arbutin)은 17%의 억제 활성을 나타내었다. 복숭아 미숙과 열수 추출물의 효소 활성은 상기 언급한 농도 순으로 각각 약 89%, 86%, 78%의 activity로 농도 유의적인 결과를 나타내었으며, 1.0 mg/mL 처리군 에서 B16/F10 세포 유래 티로시나아제에 대해 약 22%의 억제 활성을 확인하였다.

[0141] 실험예 6. 복숭아 미숙과 열수 추출물의 멜라닌 생합성 관련 유전자의 발현 저해 효과 측정

[0142] 복숭아 미숙과 열수 추출물의 멜라닌 생합성 저해를 통한 미백효과를 검토하기 위해 멜라닌 생합성에 관여하는 핵심 유전자인 티로시나아제(tyrosinase), TRP-1, TRP-2 및 MITF의 mRNA 발현 저해 효과를 확인하고자 reverse transcription-PCR(RT-PCR)을 수행하였다. B16/F10 세포를 10% Fetal bovine serum(FBS)이 첨가된 DMEM을 이용하여 1x10cells/well의 농도로 6 well-plate에 접종하여 37℃, CO₂ 항온기에서 24시간 배양하였다. 배지를 제거하고, 10% FBS가 첨가된 DMEM과 함께 복숭아 미숙과 열수 추출물을 1.0 mg/mL 농도로 처리하여 37℃, CO₂ 항온기에서 48시간 배양하였다. 시료를 처리하지 않은 대조군(control)을 제외한 전 처리군에 멜라닌 생성을 유도하기 위해 0.1 mM의 IBMX를 함께 처리하였고, 양성 대조군(positive control)은 미백효과를 갖는 물질인 알부틴(arbutin)을 0.1 mg/mL 농도로 사용하였다. RNA를 추출한 뒤, cDNA를 합성하였고, 합성된 cDNA로부터 각 유전자의 발현 정도를 확인하기 위해 RT-PCR을 수행하였다. 합성한 cDNA(template DNA), Taq DNA polymerase, dNTP, 10X PCR buffer, 각 유전자의 forward/reverse primer를 혼합하여 다음과 같이 PCR을 진행하였다. 95℃에서 5분 반응한 뒤, 95℃에서 30초간 denaturation, 54℃에서 30초간 annealing, 72℃에서 30초간 extension 반응을 45 cycle 진행한 뒤, 최종적으로 72℃에서 7분간 extension 반응시켰다. PCR 산물은 0.002% ethidium bromide가 첨가된 2.5% agarose gel에서 전기영동법으로 유전자 크기에 따라 분리한 뒤 자외선광으로 해당 유전자의 발현 정도를 확인하였고, 표준물질로써 β-Actin을 사용하여 해당 유전자 밴드의 강도를 분석 정량하고, 그 결과는 도 6 내지 도 9에 나타내었다.

[0143] 도 6에 나타난 바와 같이 추출물을 처리하지 않은 대조군(control, D.W./IBMX-)의 tyrosinase mRNA 발현량을 100%로 하여 비교하였을 때, IBMX만 처리한 대조군(IBMX 대조군, D.W./IBMX+)의 발현량은 263%로, 대조군에 비해 발현량이 163% 증가하였고, 양성대조군인 알부틴 처리군(arbutin/IBMX+)의 발현량은 227%로, IBMX 대조군에 비해 발현량이 36% 감소하였다. 복숭아 미숙과 열수 추출물 처리군(PUP-HW/IBMX+)의 발현량은 208%로, IBMX 대조군에 비해 약 55%의 높은 tyrosinase mRNA 발현 저해 효과를 나타내었음을 확인하였다.

[0144] 도 7에서 대조군(control, D.W./IBMX-)의 TRP-1 mRNA 발현량을 100%로 하여 비교하였을 때, IBMX만 처리한 대조군(IBMX 대조군, D.W./IBMX+)의 발현량은 206%로, 대조군(control, D.W./IBMX-)에 비해 발현량이 106% 증가하였고, 양성대조군인 알부틴 처리군(arbutin/IBMX+)의 발현량은 137%로, IBMX 대조군에 비해 발현량이 69% 감소하였다. 복숭아 미숙과 열수 추출물 처리군(PUP-HW/IBMX+)의 발현량은 149%로, IBMX 대조군에 비해 약 57%의 높은 TRP-1 mRNA 발현 저해 효과를 나타내었음을 확인하였다.

[0145] 도 8에서 대조군(control, D.W./IBMX-)의 TRP-2 mRNA 발현량을 100%로 하여 비교하였을 때, IBMX만 처리한 대조군(IBMX 대조군, D.W./IBMX+)의 발현량은 173%로, 대조군(control, D.W./IBMX-)에 비해 발현량이 73% 증가하였고, 양성대조군인 알부틴 처리군(arbutin/IBMX+)의 발현량은 132%로, IBMX 대조군에 비해 발현량이 40% 감소하였다. 복숭아 미숙과 열수 추출물 처리군(PUP-HW/IBMX+)의 발현량은 156%로, IBMX 대조군에 비해 약 17%의 TRP-2 mRNA 발현 저해 효과를 나타내었음을 확인하였다.

[0146] 도 9에서 control의 MITF mRNA 발현량을 100%로 하여 비교하였을 때, IBMX만 처리한 대조군(IBMX 대조군,

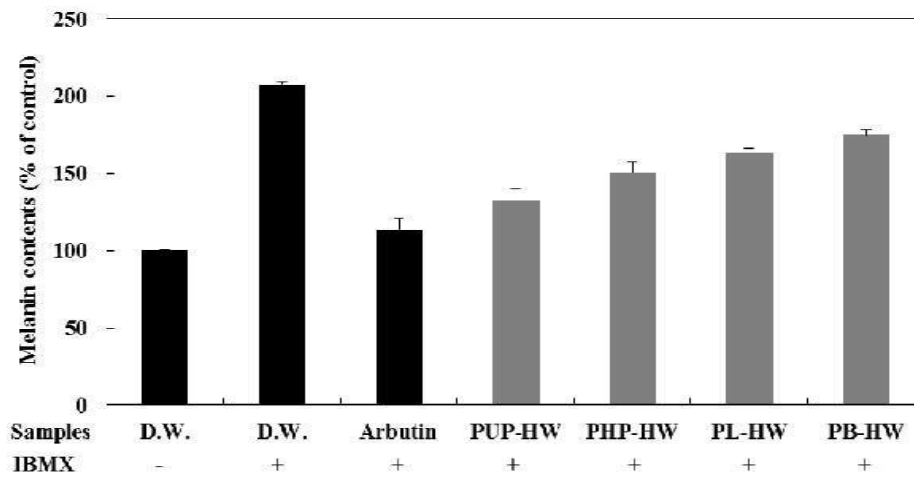
D.W./IBMX+)의 발현량은 198%로, 대조군(control, D.W./IBMX-)에 비해 발현량이 98% 증가하였고, 양성대조군인 알부틴 처리군(arbutin/IBMX+)의 발현량은 154%로, IBMX 대조군에 비해 발현량이 44% 감소하였다. 복숭아 미숙과 열수 추출물 처리군(PUP-HW/IBMX+)의 발현량은 138%로, IBMX 대조군에 비해 약 60%의 높은 MITF mRNA 발현 저해 효과를 나타내었음을 확인하였다.

[0147] 이 결과들로부터 복숭아 미숙과 열수 추출물이 멜라닌 생합성에 관련된 유전자들의 발현을 저해함으로써 멜라닌 생합성이 감소되어 미백효과를 나타내었음을 확인하였다.

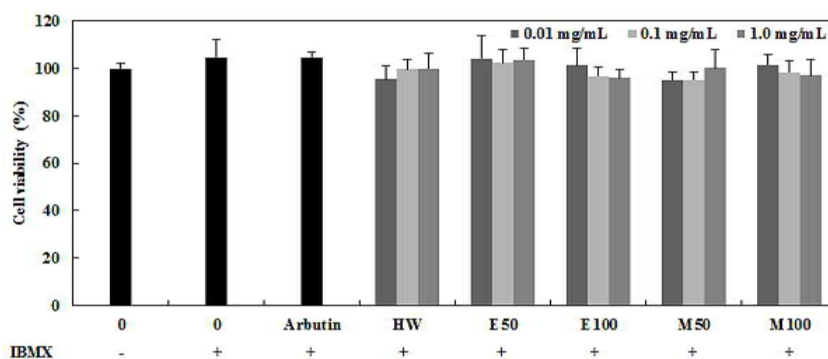
[0149] 이상에서 본 발명의 바람직한 실시예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고 다음의 청구범위에서 정의하고 있는 본 발명의 기본 개념을 이용한 당업자의 여러 변형 및 개량 형태 또한 본 발명의 권리범위에 속하는 것이다.

도면

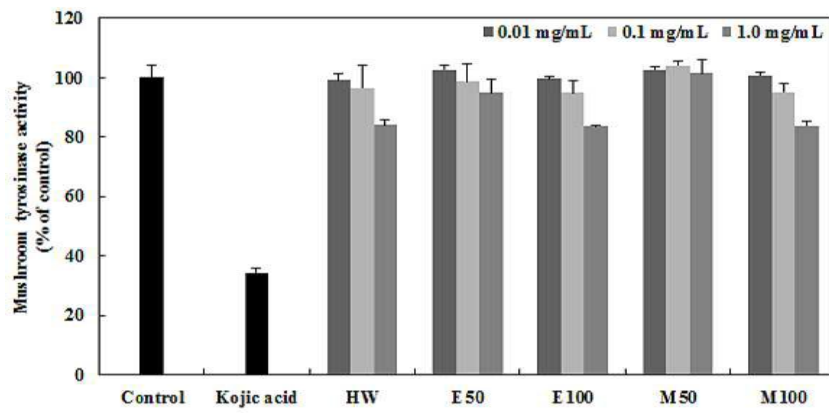
도면1



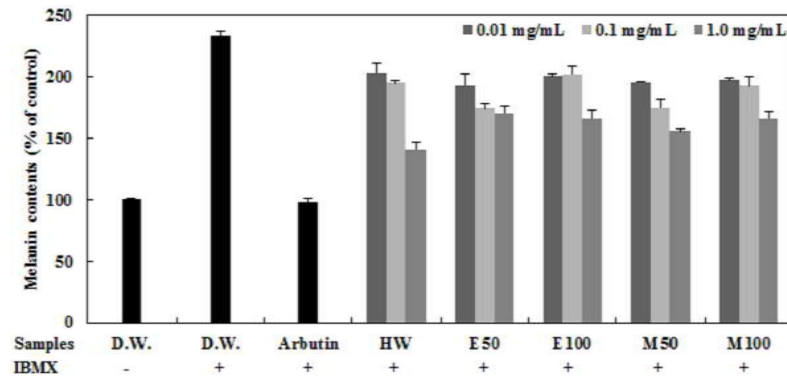
도면2



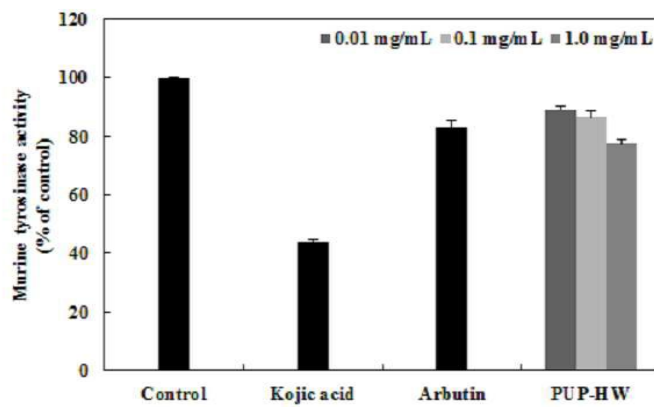
도면3



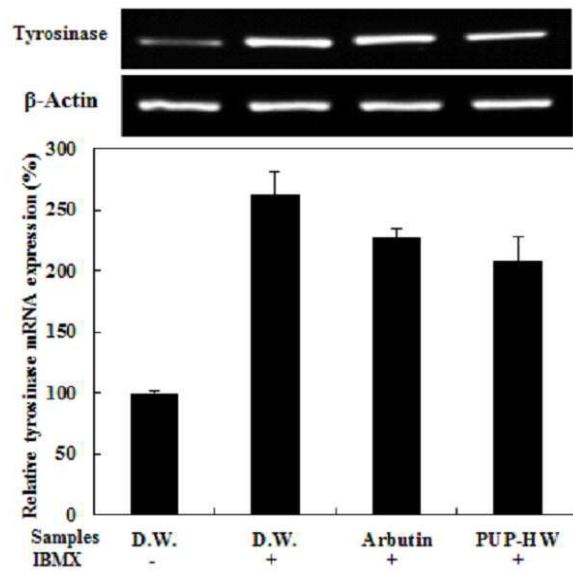
도면4



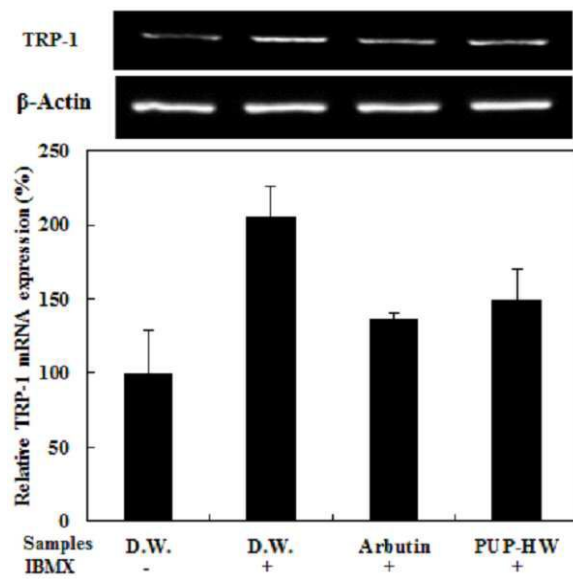
도면5



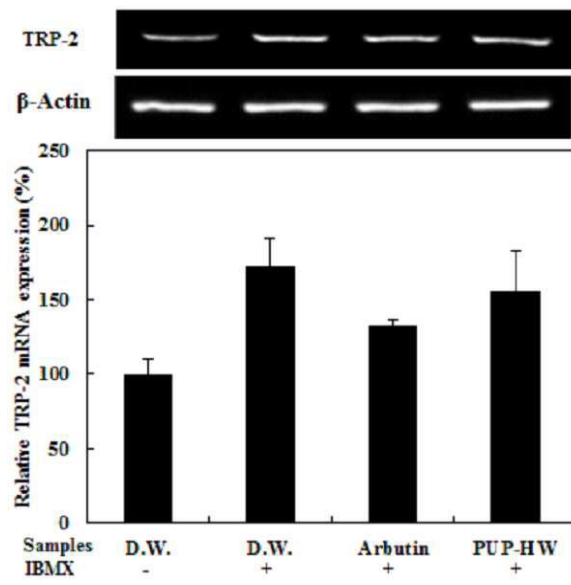
도면6



도면7



도면8



도면9

