



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0046573
(43) 공개일자 2023년04월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/61 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)

A61Q 19/02 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/61 (2013.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0129702

(22) 출원일자 2021년09월30일

심사청구일자 2021년09월30일

(71) 출원인

경상국립대학교산학협력단

경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)

오성음

부산광역시 기장군 철마면 반송로 1058-27

(72) 발명자

김창준

경상남도 진주시 석갑로53번길 10, 104동 103호
(평거동, 들말대경아파트)

신은민

경상남도 진주시 진주대로 501, 경상국립대학교
학생생활관 10동 807호(가좌동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인충현

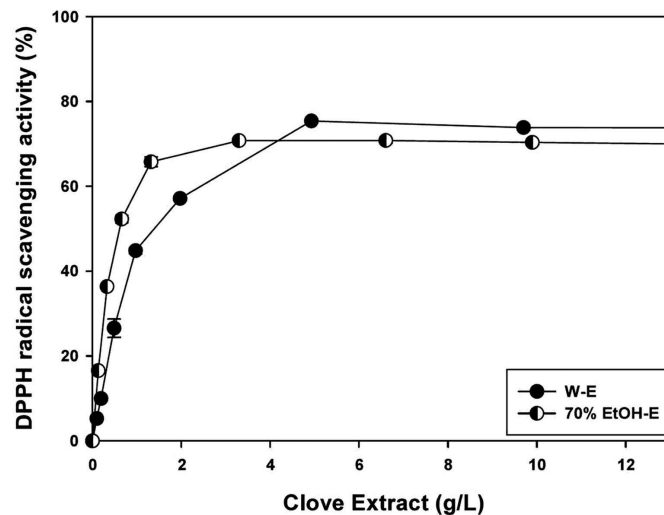
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 정향 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 항산화, 피부미백 개선, 주름 개선 및 탄력 개선
용 화장료 조성물

(57) 요약

본 발명은 정향 추출물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물에 관한 것으로 정향 추출물을 유효성분으로 포함함으로써, 항산화 효과가 우수하며, 피부미백 개선, 주름 개선, 탄력 개선에 효과가 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61Q 19/02 (2013.01)

A61Q 19/08 (2013.01)

A61K 2800/522 (2013.01)

(72) 발명자

김주연

경상남도 김해시 경원로11번길 15-11, 3층(내동)

박시은

경상남도 창원시 진해구 석동로 80, 406동 403호(석동, 벚꽃그린빌주공4단지)

오성음

부산광역시 기장군 철마면 반송로 1058-27

김민성

경상북도 경산시 삼풍로 27, 글로벌벤처동 305호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1425146952

과제번호 G21S303655501

부처명 중소벤처기업부

과제관리(전문)기관명 중소기업기술정보진흥원

연구사업명 소상공인자영업자를위한생활혁신형기술개발(R&D)

연구과제명 국내 약용시장과의 상생협력을 통한 천연 약용 소재 활용 피부 개선 기능성 화장품 개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 가람오브네이처

연구기간 2020.12.28 ~ 2021.06.27

명세서

청구범위

청구항 1

정향(Clove) 추출물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 피부 항산화, 피부미백 개선, 주름 개선 및 탄력 개선용 화장품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 정향 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 그들의 혼합 용매에 의한 추출물인 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 정향 추출물은 열수 추출물인 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 정향 열수 추출물은 정향을 10 내지 100 ℃에서 1 내지 5 시간 동안 추출하여 제조된 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 정향나무(*Syzygium aromaticum*)의 꽃봉오리인 정향(Clove) 추출물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 현대사회에서 외모는 자신을 타인에게 알리는데 있어 가장 빠른 정보원으로 자신을 표현하는 중요한 요소로 작용한다. 특히 생활수준의 향상과 함께 젊고 아름다운 인생을 즐기려는 욕망이 강하게 나타나고 있으며, 현대의 학의 발달로 평균수명이 증대되고 고령화 사회로의 진입에 따라 건강하고 아름다운 노후에 대한 욕구는 점차 높아지고 있는 추세이다.

[0003] 이와 같은 사회적 변화와 함께 화장품도 단순히 컨셉차원이나 일시적인 개선에서 벗어나 실질적인 효능이 요구되고 있으며, 제품 속성 중에서 효능과 효과를 증시하는 기능성 화장품에 대한 수요가 크게 증가하고 있다.

[0004] 피부 노화는 내인성 요인과 외인성 요인이 작용하는데, 내인성 요인은 유전적 요인이고, 외인성 요인은 외부에서 유래된 요인으로 자외선, 흡연, 스트레스, 화학물질, 환경오염물질, 공해 등이 있다.

[0005] 노화된 피부를 빠르게 회복시키고 피부의 노화를 예방하기 위한 소재들이 개발되었으나, 신체의 대사 과정 및 자외선 조사에 의해 매개되는 자유라디칼 및 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)을 소거하는 항산화 활성에 집중되어 있거나, 세포의 재생을 촉진하는 활성에 초점이 맞춰져 있다.

[0006] 활성산소종으로는 O_2^{2-} (superoxide anion radical), OH(hydroxyl radical), $1O_2$ (singlet oxygen), H_2O_2 (hydrogen peroxide) 등이 있고, 관련하여 BHA(Butylated hydroxy anisole), BHT(Butylated hydroxy toluene), NDGA(Nordihydroguaiaretic acid) 등과 같은 합성 항산화제 또는 천연물질로부터 얻어지는 천연 항산화제가 개발되고 있으나, 산화적 생체 손상의 억제 효과, 및 면역 효과가 미약하며, 피부탄력, 주름 개선 기능이나 미백에 대해서는 대비하지 못하는 문제가 있었다.

[0007] 즉, 종래 개시된 화장품 또는 화장품은 피부탄력, 주름 개선 기능과 동시에 항산화, 피부보호 및 주름개선, 미백, 항노화의 복합 기능을 갖기에는 제한적이라는 단점을 갖고 있다. 이에 고기능성의 화장품 조성물에 대한 개발이 더욱 절실히 요구되고 있는 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 특허문헌 1. 대한민국 등록특허공보 제10-1949430호
(특허문헌 0002) 특허문헌 2. 대한민국 등록특허공보 제10-0506384호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 정향나무(*Syzygium aromaticum*)의 꽃봉오리인 정향(Clove) 추출물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 피부 항산화, 피부미백 개선, 주름 개선 및 탄력 개선용 화장품 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 피부 항산화, 피부미백 개선, 주름 개선 및 탄력 개선용 화장품 조성물은 정향나무(*Syzygium aromaticum*)의 꽃봉오리인 정향(Clove) 추출물을 유효성분으로 함유한다.

[0011] 상기 정향 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합 용매에 의한 추출물일 수 있다.

[0012] 상기 정향 추출물은 열수 추출물일 수 있다.

[0013] 상기 정향 열수 추출물은 정향을 10 내지 100 ℃에서 1 내지 5 시간 동안 추출하여 제조된 것일 수 있다.

발명의 효과

[0014] 본 발명의 정향나무(*Syzygium aromaticum*)의 꽃봉오리인 정향(Clove) 추출물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물은 DPPH 라디칼 소거활성과 ABTS⁺ 라디칼 소거 활성이 우수하여 항산화 효과가 있으며, 타이로시네이스(Tyrosinase) 활성을 저해하므로 미백효과를 가질 뿐만 아니라, 우수한 콜라게네이스(Collagenase)와 엘라스테이스(Elastase) 저해 활성을 가져 주름과 피부탄력 개선 효과가 있다.

[0015] 따라서 본 발명의 정향 추출물은 항산화 효과가 우수하고, 피부미백 개선, 주름 개선, 탄력 개선에 효과적이므로, 고기능성 화장품 소재로 이용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 정향 열수 추출물(실시예 1)과 정향 용매 추출물(실시예 2)의 DPPH 라디칼 전자공여능 측정 결과를 나타낸 그래프이다.

도 2는 정향 열수 추출물(실시예 1)과 정향 용매 추출물(실시예 2)의 ABTS⁺양이온 라디칼 소거능 측정 결과를 나타낸 그래프이다.

도 3은 정향 열수 추출물(실시예 1)의 타이로시네이스 활성 저해율을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 4는 정향 열수 추출물(실시예 1)의 콜라게네이스 활성 저해율을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 5는 정향 열수 추출물(실시예 1)의 엘라스테이스 활성 저해율을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0018] 본 발명의 일 측면은 정향나무(*Syzygium aromaticum*)의 꽃봉오리인 정향(Clove) 추출물을 유효성분으로 함유하

는 것을 특징으로 하는 피부 향산화, 피부미백 개선, 주름 개선 및 탄력 개선용 화장품 조성물에 관한 것이다.

- [0019] 본 발명의 화장품 조성물은 정향나무(*Syzygium aromaticum*)의 꽃봉오리인 정향(Clove) 추출물을 유효성분으로 함유한다.
- [0020] 본 발명에 사용된 정향(丁香, Clove)은 정향나무(*Syzygium aromaticum*)과의 꽃봉오리로서 열대 각지에서 재배되는 상록교목으로 짧은 막대기 모양이고 전체 길이는 1~2 cm이다. 윗부분은 꽃잎으로 둘러싸여 구형을 이루고 아래 부분은 약간 납작한 둥근 기둥모양의 꽃받침 층으로 되어 있으며, 꽃은 담홍색이고 어두운 적색으로 익으며, 특이한 냄새가 강하고 맛은 강렬하다. 정향은 향료의 일종으로 꽃이 피기 전의 꽃봉오리를 따서 말린 것으로서 오래전부터 유럽의 각국에서 각종 육류와 야채요리에 널리 이용되고 있으며, 우리나라에서도 본래의 향미강화, 나쁜 향미 억제 등의 목적과 방충제, 곰팡이 방제 등을 목적으로 널리 이용되고 있다. 또한 정향은 예로부터 위산분비를 촉진하는 물질로 알려져 소화불량, 위장염, 구토, 설사 등의 복수 질환 및 치과나 한방에서 많이 쓰이는 것으로, 근래의 정향 연구로는 혈전과 관련된 연구가 대부분이며, 항산화성이나 항균성에 대한 연구는 미비한 실정이다.
- [0021] 상기 정향 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 그들의 혼합 용매에 의한 추출물일 수 있다.
- [0022] 상기 물은 화장품 제조에 적합할 경우 특별히 한정할 필요는 없으나 예를 들어 지하수, 정제수, 증류수, 탈이온수 등이 이용될 수 있다.
- [0023] 상기 탄소수 1 내지 4의 알코올은 특별히 한정할 필요는 없으나 예를 들어 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 노말-프로판올, 이소-프로판올 또는 노말-부탄올 등이 이용될 수 있고, 바람직하게는 에탄올이다.
- [0024] 상기 혼합 용매는 특별히 한정할 필요는 없으나 예를 들어 물과 에탄올의 혼합 용매인 경우 5 내지 95 중량% 에탄올 수용액, 10 내지 90 중량% 에탄올 수용액, 20 내지 80 중량% 에탄올 수용액, 30 내지 70 중량% 에탄올 수용액이 이용될 수 있다.
- [0025] 상기 정향 추출물은 열수 추출물일 수 있는데, 상기 열수 추출물의 제조는 특별히 한정할 필요는 없으나 정향을 10 내지 100 °C의 물로 1 내지 50 시간 동안 추출하여 제조된 것일 수 있고, 바람직하게는 20 내지 60 °C에서 1 내지 5 시간 동안 추출하여 제조된 것일 수 있다.
- [0026] 최근, 화학약품이 들어가지 않은 화장품을 선호하는 '노케미(No-Chemi)'족들이 크게 증가하고 있다. 이에 열수 추출물이 에탄올 추출물보다 친환경적이고 인체에 유해하지 않으므로, 제품선호도 측면에서 더 높은 효과를 갖는다는 장점이 있다.
- [0027] 또한, 추출온도 및 추출시간이 상기 하한치 미만인 경우에는 정향(Clove)의 유효성분이 적은 양으로 추출될 수 있으며, 상기 상한치 초과인 경우에는 정향(Clove)의 유효성분이 열에 의해 변형되어 기능성이 감소할 수 있다.
- [0028] 상기 알코올 추출물, 또는 물과 알코올의 혼합 용매의 추출물의 제조에 특별히 한정할 필요는 없으나 예를 들어 정향을 30 내지 70 중량%의 에탄올 수용액으로 10 내지 100 °C에서 1 내지 50 시간 동안 추출하여 제조하며, 바람직하게는 20 내지 60 °C에서 1 내지 5 시간 동안 추출하여 제조된 것일 수 있다.
- [0029] 상기 알코올 추출물, 또는 물과 알코올의 혼합 용매의 추출물은 추출용매 하에서 초음파처리를 통해 추출되는 것일 수 있다. 구체적으로 정향(clove)과 추출용매가 1 : 1 내지 25, 바람직하게는 1 : 2 내지 10의 중량비로 혼합되어 20 내지 50 kHz, 바람직하게는 30 내지 40 kHz의 진동수 및 50 내지 700 W, 바람직하게는 150 내지 400 W 파워의 초음파기로 10 내지 90 °C, 바람직하게는 20 내지 60 °C에서 1 내지 60분, 바람직하게는 10 내지 30분 동안 처리하여 제조된 것일 수 있다.
- [0030] 상기 정향(Clove)의 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 그들의 혼합 용매에 의한 추출물은, 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 그들의 혼합 용매에 의한 추출물을 유기용매로 재분획한 분획물을 포함한다. 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 4의 알코올, 헥산, 아세톤, 에틸아세테이트, 클로로포름 및 디에틸에테르 등에서 선택되는 하나 이상의 유기용매일 수 있고, 바람직하게는 헥산 또는 에틸아세테이트일 수 있다.
- [0031] 본 발명에서 사용되는 용어 '추출물'은 상기 용매를 이용하여 정향(Clove)에 포함된 성분을 추출한 추출물, 이들로부터 분획한 분획물, 이들 추출물 또는 분획물을 추가적으로 농축한 농축물, 이를 정제 또는 분리한 정제물도 포함하고, 상기 추출물, 분획물, 농축물 또는 정제물을 건조한 건조물 또는 그를 분쇄한 분말을 포함하는 의미로 사용된다.
- [0032] 상기 정제물의 제조를 위해 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 통과시키거나, 또는 다양한 크로마토그래

피(크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등, 추가적으로 실시된 다양한 정제 방법을 부가할 수 있다.

- [0033] 본 발명의 화장료 조성물은 유효성분으로 정향나무(*Syzygium aromaticum*)의 꽃봉오리인 정향(Clove) 추출물을 포함하여, 외인성 요인으로 인한 피부노화와 피부손상 회복, 피부미백, 피부 주름 및 피부 탄력 감소 등 여러 가지 피부 손상 중 하나 이상을 개선할 수 있다.
- [0034] 본 발명에 의하면 상기 정향(Clove) 추출물은 유의적으로 현저히 우수한 DPPH 라디칼 소거활성과 ABTS⁺ 라디칼 소거 활성을 보임으로써 항산화 효과 또는 항노화 효과를 구현해낼 수 있다.
- [0035] 본 발명에 의하면 상기 정향(Clove) 추출물은 타이로시네이즈 저해 활성이 우수하여, 피부 미백효과를 구현해낼 수 있다.
- [0036] 본 발명에 의하면 상기 정향(Clove) 추출물은 유의적으로 현저히 우수한 콜라게네이즈(Collagenase) 활성 저해능과 엘라스테이즈(Elastase) 활성 저해능을 보임으로써, 피부 주름 및 피부 탄력 개선 효과를 구현해낼 수 있다.
- [0037] 따라서 정향나무(*Syzygium aromaticum*)의 꽃봉오리인 정향(Clove) 추출물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물은 피부 항산화, 피부미백 개선, 주름 개선 및 탄력 개선을 목적으로 유용하게 이용될 수 있다.
- [0038] 본 발명의 정향 추출물은 화장료 조성물 외에 건강기능식품에도 사용될 수 있다.
- [0039] 한편, 본 명세서에서 용어 '유효성분으로 함유하는'이란 정향(Clove) 추출물의 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분한 양을포함하는 것을 의미한다. 일례로, 상기 정향(Clove) 추출물은 0.1 mg/ml 이상, 바람직하게는 1 내지 1000 mg/ml의 농도로 사용되며, 보다 바람직하게는 5 내지 1000 mg/ml의 농도로 사용된다. 정향(Clove) 추출물은 천연물로서 과량 사용하여도 인체에 부작용이 없으므로 본 발명의 조성물 내에 포함되는 정향(Clove) 추출물의 양적 상한은 당업자가 적절한 범위 내에서 선택하여 실시할 수 있다.
- [0040] 본 발명의 화장료 조성물에는 상기의 화장료 조성물과 더불어 필요에 따라 통상 화장료에 배합되는 다른 성분을 배합할 수 있으며, 이러한 배합 성분으로서의 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한제, 정제수, 수용성 비타민, 지용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스펅고 지질 및 해초 엑기스 등을 들 수 있다.
- [0041] 본 발명의 화장료 조성물은 해당 업계에서 통상 사용되는 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조될 수 있다.
- [0042] 또한, 본 발명의 상기 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효성분으로서 상기 성분 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예를 들면, 안정화제, 안료 및 천연향료와 같은 통상적인 보조제 및 담체를 더 포함할 수 있다.
- [0043] 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 제품으로는, 예를 들어, 미스트, 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 자외선 차단크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 마스크팩, 프레스파우더, 루스파우더, 아이섀도우, 입술보호제 등과 같은 화장품류와 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 및 바디클렌저 등이 있다.
- [0044] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0045] 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.
- [0046] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액의 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 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 에스테르가 있다.
- [0047] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상 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.

[0048] 또한, 본 발명은 정향(Clove) 추출물을 유효성분으로 함유하는 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0049] 건강기능식품이란, 정향(Clove) 추출물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있다. 이와 같이 하여 얻어지는 본 발명의 건강기능식품은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 매우 유용하다. 이와 같은 건강기능식품에 있어서의 정향(Clove) 추출물의 첨가량은, 대상인 건강기능식품의 종류에 따라 달라 일률적으로 규정할 수 없지만, 식품 본래의 맛을 손상시키지 않는 범위에서 첨가하면 되며, 대상 식품에 대하여 통상 0.01 내지 50 중량%, 바람직하기로는 0.1 내지 20 중량%의 범위이다. 또한, 환제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태의 건강기능식품의 경우에는 통상 0.1 내지 100 중량% 바람직하기로는 0.5 내지 80 중량%의 범위에서 첨가하면 된다. 한 구체예에서, 본 발명의 건강기능식품은 환제, 정제, 캡슐제 또는 음료의 형태일 수 있다.

[0050] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범주 및 기술사상 범위 내에서 다양한 변경 및 수정이 가능함은 당업자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속하는 것도 당연한 것이다.

[0051] 실시예 1. 정향(Clove) 열수 추출물(W-E)

[0052] 정향나무(*Syzygium aromaticum*)의 꽃봉오리인 정향(Clove)은 하영허브로부터 구입하여 사용하였다. 정향(Clove)(200 g)과 물을 1 : 5의 중량비로 혼합하여 60 ℃에서 2 시간 동안 추출하였다. 추출물은 Watman filter paper(No. 2)로 여과한 다음 감압농축하여 정향 열수 추출물로 사용하였다.

[0053] 실시예 2. 정향(Clove) 용매 추출물(70% EtOH-E)

[0054] 정향나무(*Syzygium aromaticum*)의 꽃봉오리인 정향(Clove)은 하영허브로부터 구입하여 사용하였다. 정향(Clove)(200 g)과 70% 에탄올 수용액을 1 : 5의 중량비로 혼합하여 초음파기(JAC Ultrasonic, Hwaseng, Korea)에 투입 후 60 ℃ 하에서 초음파(50 kHz, 700 W)를 이용하여 2시간 동안 추출하였다. 추출물은 Watman filter paper(No. 2)로 여과한 다음 감압농축하여 정향 용매 추출물로 사용하였다.

[0055] <시험예>

[0056] 시험예 1. 총 폴리페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량

[0057] 1-1. 총 폴리페놀 함량 (μg GAE/mg DW)

[0058] Folin-Denis 방법을 변형하여 측정하였으며, folin-ciocalteu 페놀 용액(Folin-Ciocalteu's phenol reagent; Sigma-Aldrich, USA)을 시료에 첨가하여 폴리페놀 화합물에 의해 환원되어 발생하는 몰리브덴 청색발색 반응을 원리로 하였다. 시료의 농도별 용액 0.14 mL에 0.2 N F.C용액(Folin-Ciocalteu phenol reagent)을 첨가하여 10 분 동안 방치 후 7.5% Na₂CO₃ 0.56 mL를 첨가하고 1시간 동안 반응시켜 흡광도 값을 720 nm에서 측정하였다. 표준물질로 gallic acid(Sigma-Aldrich, USA)를 사용하였고, 단위는 작성한 gallic acid 검량선과 비교하여 μg gallic acid equivalent(GAE)/mg dry weight(DW)로 표시하였다.

[0059] 1-2. 총 플라보노이드 함량 (μg QE/mg DW)

[0060] 플라보노이드의 pH를 높이면 황색으로 발색이 되는 원리에 근거하여 흡광도를 측정하였고 이를 quercetin과 비교하여 총 플라보노이드 농도를 확인하였다. 시료의 농도별 용액 0.5 mL에 증류수 2.5 mL와 99.5% 에탄올 1.5 mL를 첨가한 후 혼합하였고 이에 potassium acetate 0.1 mL와 10% aluminum chloride 0.1 mL를 가하여 교반한 후 실온에서 30분간 방치하였다. 파장 415 nm에서 흡광도를 측정하였으며 quercetin(Sigma-Aldrich, Minneapolis, USA)을 25, 50, 100, 200 μg/mL로 증류수를 이용해 계열희석하였다. 이를 바탕으로 standard graph를 도출하였고 플라보노이드 함량을 μg quercetin equivalent (QE)/mg dry weight(DW)로 나타내었다.

표 1

구분	총 건조중량 (mg)	총폴리페놀 ($\mu\text{g GAE/mg DW}$)	총플라보노이드 ($\mu\text{g QE/mg DW}$)
실시예 1	19.4(± 0.5)	69.5(± 0.3)	401.2(± 39.0)
실시예 2	13.2(± 0.5)	89.7(± 0.9)	584.2(± 16.2)

위 표 1에 나타난 바와 같이, 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 정향 열수 추출물은 건조중량이 실시예 2에 따라 제조된 정향 용매 추출물에 비하여 더 많음에도 불구하고, 총 폴리페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량은 낮은 것을 확인하였다.

시험예 2. 항산화 활성

2-1. DPPH 라디칼 전자공여능 측정

시료의 농도별 용액 20 μL 에 DPPH(1-1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 용액(0.2 mM) 800 μL 와 Tris-HCl buffer(100 mM, pH 7.4) 180 μL 를 넣고 25 $^{\circ}\text{C}$ 암실에서 20분 동안 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 라디칼 소거능(DPPH radical scavenging activity)은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

2-2. ABTS⁺ 양이온 라디칼 소거능 측정

7.4 mM ABTS(2,2-azino-bis(3-ethyl-benthiazoline-6-sulfonic acid))와 2.45 mM 과황산칼륨을 혼합하여 25 $^{\circ}\text{C}$ 암실에서 16시간 동안 방치하여 ABTS⁺를 형성한 후, 흡광도가 723 nm에서 0.70 ± 0.02 가 되도록 PBS buffer(pH 7.4)로 희석하여 ABTS⁺ 측정용액을 제조하였다. 측정용액 900 μL 에 시료의 농도별 용액 100 μL 를 가하여 1분 동안 방치한 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. 라디칼 소거능(ABTS⁺ radical scavenging activity)은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

도 1은 정향 열수 추출물(실시예 1)과 정향 용매 추출물(실시예 2)의 DPPH 라디칼 전자공여능 측정 결과를 나타낸 그래프로, 정향 열수 추출물과 정향 용매 추출물은 1 g/L 농도에서 40% 이상의 항산화 효과를 나타내었으며, 정향 열수 추출물은 4.9 g/L에서 75%의 항산화 효과를 나타내었다.

도 2는 정향 열수 추출물(실시예 1)과 정향 용매 추출물(실시예 2)의 ABTS⁺ 양이온 라디칼 소거능 측정 결과를 나타낸 그래프로, ABTS⁺ 측정 결과, 정향 열수 추출물 0.1 g/l 농도에서 100%의 항산화 효과를 나타내었다. 정향 용매 추출물은 용액의 현탁화로 객관적인 평가가 불가능하였다.

시험예 3. 타이로시네이스(Tyrosinase) 활성 저해

Tyrosinase의 활성 저해능은 Flurkey의 방법을 변형하여 실험하였다. 100 mM Sodium phosphate buffer(pH 6.8) 500 μL 에 10 mM 3,4-dihydroxy phenylalanine(L-dopa)(20 mg/mL) 200 μL 와 tyrosinase(100 U/mL) 200 μL 를 혼합하여 반응액을 제조하였다. 상기 반응액에 시료의 농도별 용액 100 μL 를 첨가하여 교반한 뒤 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 반응시켰다. 반응 후 분광광도계로 475 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 이때 시료 OD와 대조군 OD는 tyrosinase를 첨가하지 않은 반응액을 Blank로 하여 측정하였다. tyrosinase 대신 동량의 100 mM sodium phosphate buffer를 첨가하였다.

수학식 1

$$\text{타이로시네이스활성저해율(Inhibitory activity, \%)} = \left[1 - \frac{b-b'}{a-a'} \right] \times 100$$

상기 식 1에서 a는 대조군 OD(흡광도)이고,

a'는 tyrosinase를 첨가하지 않은 반응액에 대한 OD(흡광도)(대조군 Blank)이며,

- [0075] b는 시료 OD(흡광도)이며,
- [0076] b'는 tyrosinase를 첨가하지 않은 반응액에 농도별 시료를 첨가한 후 측정된 OD(흡광도)(시료 Blank)이다.
- [0077] 도 3은 정향 열수 추출물(실시예 1)의 타이로시네이즈 활성 저해율을 측정한 결과를 나타낸 그래프로, 정향 열수 추출물 5 g/L 농도에서부터 타이로시네이즈 활성 저해가 급격히 상승하는 것을 확인할 수 있다. 특히 정향 열수 추출물 19.4 g/L 농도에서 타이로시네이즈 활성 저해율이 56.3%인 것을 확인할 수 있다.
- [0078] **시험예 4. 콜라게네이즈(Collagenase) 및 엘라스테이즈(Elastase) 활성저해**
- [0079] 4-1. 콜라게네이즈 활성 저해 효과 측정
- [0080] 콜라게네이즈 활성 저해 효과는 Wblch와 Heidrich의 방법을 변형하여 측정하였다. 0.35 mM CaCl₂가 함유된 50 mM TES buffer(pH 7.4)를 제조하였다. 상기 제조된 buffer에 collagenase type I(from Clostridium histolyticum, 0.2 mg/mL) 400 μL를 혼합하여 15분간 37 °C에서 반응시켜 효소를 활성화 시켰다.
- [0081] 100 mM tris-HCl buffer(pH 7.4)와 4 mM CaCl₂ 혼합하여 교반하여 제조하였다. 상기 제조된 buffer에 기질 4-phenylazobenzyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg을 0.6 mg/mL의 농도로 제조하여 기질 용액을 제조했다. 활성화 용액에 기질용액 500 μL와 시료의 농도별 용액 500 μL를 동시에 첨가하여 37 °C에서 20분간 반응시켰다. 반응 후 5% citric acid 1 mL를 첨가하여 반응을 정지하였고, ethyl acetate 2 mL를 첨가한 뒤, 120RPM으로 볼텍싱하여 혼합용액을 잘 섞고 층 분리가 일어나도록 10 분간 대기하였다. 상등액만 분리하여 파장 320 nm에서 흡광도를 측정하였고 다음 식에 의해 콜라게네이즈 활성 저해율을 계산하였다. 식에서 OD_{control}은 시료를 첨가하지 않은 반응액이고 OD_{sample-free}는 기질을 첨가하지 않은 반응액을 나타내며, OD_{sample}은 기질과 시료를 첨가한 반응액이다.
- [0082] [수학식 2]
- [0083] 콜라게네이즈 활성 저해율(Inhibition, %) = $[1 - \{OD_{control} - (OD_{sample} - OD_{sample-free})\} / OD_{control}] \times 100$
- [0084] 4-2. 엘라스테이즈 저해 효과 측정
- [0085] 100 mM tris-HCl buffer(pH 8.0) 500 μL에 elastase(0.6 U/ml) 100 μL를 혼합하여 효소 용액을 제조하였다. 상기 효소 용액에 기질인 N-succinyl-(L-Ala)3-p-nitroanilide(1 mg/mL)을 200 μL와 시료의 농도별 용액 200 μL를 첨가하고 첨가하고 37 °C에서 20분간 반응시켰다. 상기 반응액을 회수하여 분광광도계를 이용하여 파장 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정하였고 다음식에 의해 엘라스테이즈 활성 저해율을 계산하였다. 식에서 OD_{control}은 시료를 첨가하지 않은 반응액이고 OD_{sample-free}는 기질을 첨가하지 않은 반응액을 나타내며, OD_{sample}은 기질과 시료를 첨가한 반응액이다.
- [0086] [수학식 3]
- [0087] 엘라스테이즈 활성 저해율(Inhibition, %) = $[1 - \{OD_{control} - (OD_{sample} - OD_{sample-free})\} / OD_{control}] \times 100$
- [0088] 도 4는 정향 열수 추출물(실시예 1)의 콜라게네이즈 활성 저해율을 측정한 결과를 나타낸 그래프로, 정향 열수 추출물 0.2 g/L 농도에서부터 콜라게네이즈 활성 저해율이 급격히 상승하여 58.5%를 달성하는 것을 확인할 수 있다.
- [0089] 도 5는 정향 열수 추출물(실시예 1)의 엘라스테이즈 활성 저해율을 측정한 결과를 나타낸 그래프로, 정향 열수 추출물 1.9 g/L 농도에서부터 엘라스테이즈 활성 저해가 급격히 상승하는 것을 확인할 수 있다. 특히 정향 열수 추출물 4.9 g/L 농도에서 엘라스테이즈 활성 저해율이 80.0%인 것을 확인할 수 있다.
- [0090] 하기에 본 발명의 분말을 함유하는 조성물의 제조예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.
- [0091] 제조예 1. 과립제의 제조
- [0092] 실시예 1 또는 2에서 얻은 추출물 분말 1,000 mg
- [0093] 비타민 혼합물 적량

[0094]	비타민 A 아세테이트	70 μ g
[0095]	비타민 E	1.0 mg
[0096]	비타민 B1	0.13 mg
[0097]	비타민 B2	0.15 mg
[0098]	비타민 B6	0.5 mg
[0099]	비타민 B12	0.2 μ g
[0100]	비타민 C	10 mg
[0101]	비오틴	10 μ g
[0102]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0103]	엽산	50 μ g
[0104]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0105]	무기질 혼합물	적량
[0106]	황산제1철	1.75 mg
[0107]	산화아연	0.82 mg
[0108]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0109]	제1인산칼륨	15 mg
[0110]	제2인산칼슘	55 mg
[0111]	구연산칼륨	90 mg
[0112]	탄산칼슘	100 mg
[0113]	염화마그네슘	24.8 mg
[0114]	상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 과립제에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 과립제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강기능식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.	
[0115]	제조예 2. 기능성 음료의 제조	
[0116]	실시예 1 또는 2에서 얻은 추출물 분말	1,000 mg
[0117]	구연산	1,000 mg
[0118]	올리고당	100 g
[0119]	매실농축액	2 g
[0120]	타우린	1 g
[0121]	정제수를 가하여	전체 900 mL
[0122]	통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1 시간 동안 85 ℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 기능성 음료 조성물 제조에 사용한다.	
[0123]	상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.	
[0124]	본 발명을 적용하기에 적합한 화장료 조성물의 제조예를 제시하기로 한다.	
[0125]	제조예 3: 화장수	

[0126] 실시예 1 또는 2에서 얻은 추출물을 포함하는 화장료 중 화장수의 제조예는 하기 표 2와 같다.

표 2

[0127]

성분	함량(중량%)
실시예 1 또는 2의 추출물	5.0
글리세린	6.0
1,3-부틸렌글라이콜	3.0
피이지1500	1.0
알란토인	0.1
DL-판테놀	0.3
EDTA-2Na	0.02
벤조페논-9	0.04
소듐하이알루로네이트	5.0
에탄올	10.0
폴리소르베이트20	0.2
방부제, 향, 색소	미량
증류수	잔량
합계	100

[0128] 제조예 4: 로션

[0129] 실시예 1 또는 2에서 얻은 추출물을 포함하는 화장료 중 로션의 제조예는 하기 표 3과 같다.

표 3

[0130]

성분	함량(중량%)
실시예 1 또는 2의 추출물	3.0
프로필렌글리콜	6.0
글리세린	4.0
트리에탄올아민	1.2
토코페릴아세테이트	3.0
유동 파라핀	5.0
스쿠알란	3.0
마카다미너트오일	2.0
폴리소르베이트 60	1.5
소르비탄세스퀴올레이트	1.0
카르복시비닐폴리머	1.0
방부제, 향, 색소	미량
증류수	잔량
합계	100

[0131] 제조예 5: 영양 크림

[0132] 실시예 1 또는 2에서 얻은 추출물을 포함하는 화장료 중 영양 크림의 제조예는 하기 표 5와 같다.

표 4

[0133]

성분	함량(중량%)
실시예 1 또는 2의 추출물	1.0
친유형 모노스테아린산글리세린	1.5
세테아릴 알코올	1.5
스테아린산	1.0
폴리소르베이트 60	1.5
소르비탄 스테아레이트	0.6
이소스테아릴이소스테아레이트	5.0
스쿠알란	5.0
광물유	35.0

디메치콘	0.5
하이드록시에칠셀룰로오스	0.12
글리세린	6.0
트리에탄올아민	0.7
방부제, 향, 색소	미량
증류수	잔량
합계	100

[0134] 제조예 6: 에센스

[0135] 실시예 1 또는 2에서 얻은 추출물을 포함하는 화장품 중 에센스의 제조예는 하기 표 5와 같다.

표 5

[0136]

성분	함량(중량%)
실시예 1 또는 2의 추출물	1.5
글리세린	10.0
베타인	5.0
PEG 1500	2.0
알란토인	0.1
DL-판테놀	0.3
EDTA-2Na	0.02
벤조페논-9	0.04
하이드록시에칠셀룰로오스	0.1
소듐하이알루로네이트	8.0
카르복시비닐폴리머	0.2
트리에탄올아민	0.18
옥틸도데칸올	0.3
옥틸도데세스-16	0.4
에탄올	6.0
방부제, 향, 색소	미량
증류수	잔량
합계	100

[0137] 제조예 7: 마스크 팩용 유액

[0138] 실시예 1 또는 2에서 얻은 추출물을 포함하는 화장품 중 마스크 팩용 유액의 제조예는 하기 표 6과 같다.

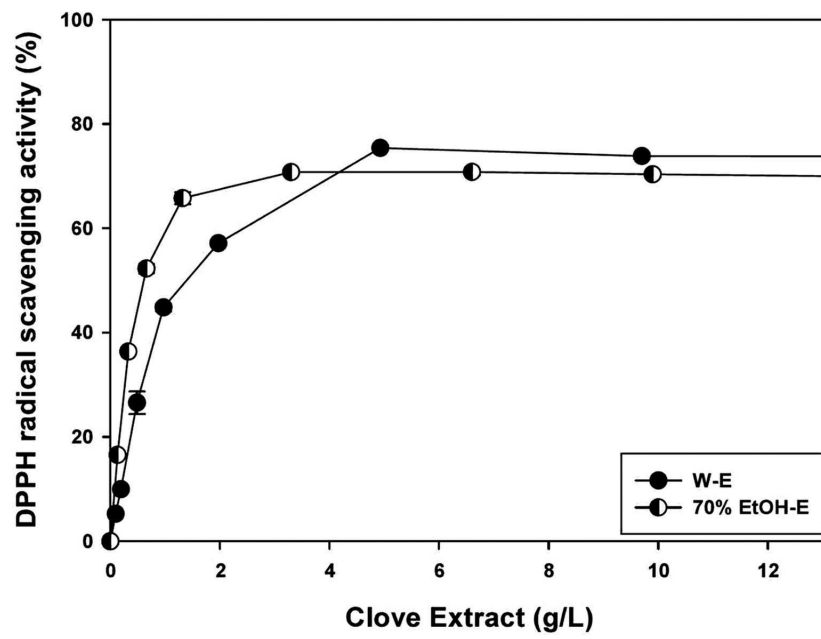
표 6

[0139]

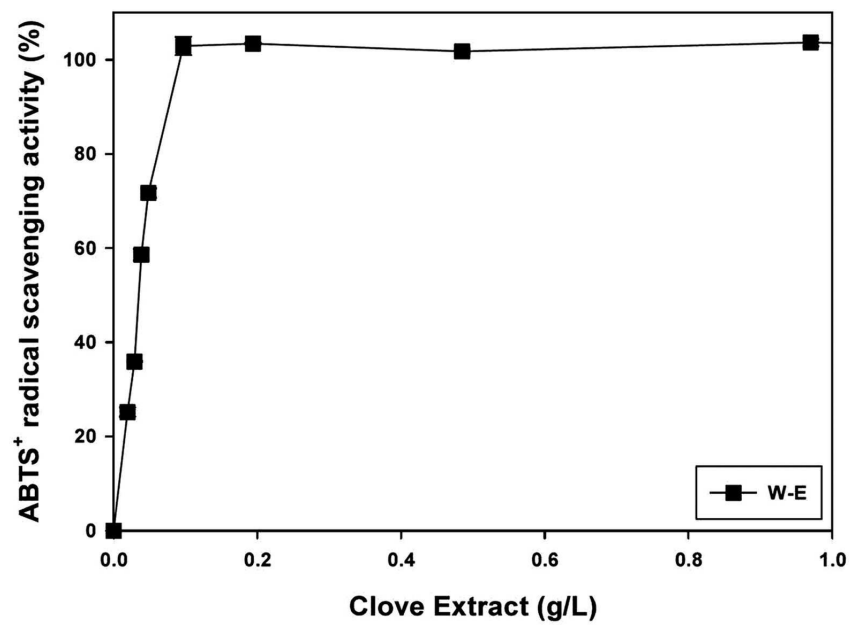
성분	함량(중량%)
실시예 1 또는 2의 추출물	1.0
폴리비닐알코올	15.0
셀룰로오스 겹	0.15
글리세린	3.0
PEG 1500	2.0
사이클로덱스트린	0.15
DL-판테놀	0.4
알란토인	0.1
글리시리진산모노암모늄	0.3
니코틴아마이드	0.5
에탄올	6.0
PEG 40 경화 피마자유	0.3
방부제, 향, 색소	미량
증류수	잔량
합계	100

도면

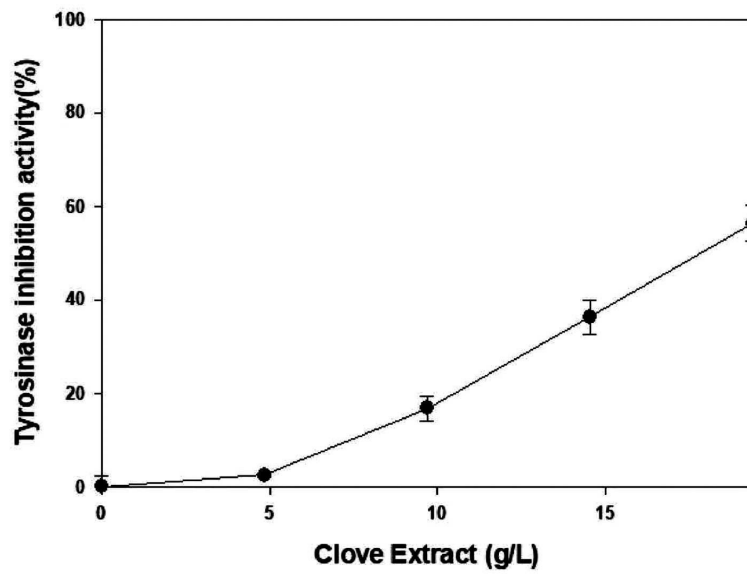
도면1



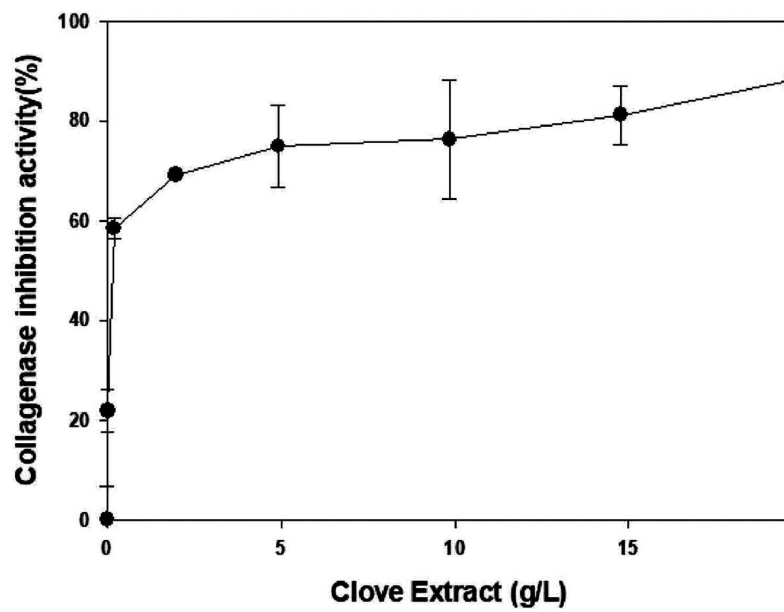
도면2



도면3



도면4



도면5

