



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년04월19일

(11) 등록번호 10-2241763

(24) 등록일자 2021년04월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 8/9789 (2017.01) A61K 8/68 (2006.01)

A61K 8/9755 (2017.01) A61K 8/9794 (2017.01)

A61Q 17/00 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 8/9789 (2017.08)

A61K 8/68 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0108495

(22) 출원일자 2020년08월27일

심사청구일자 2020년08월27일

(56) 선행기술조사문헌

KR101897488 B1\*

(뒷면에 계속)

(73) 특허권자

(주)대한뷰티산업진흥원

제주특별자치도 제주시 첨단로 213-4, 501호(영평동, 제주첨단과학기술단지엘리트빌딩)

(72) 발명자

강유안

제주특별자치도 제주시 삼동2길 6, 1동 301호(연동, 돌담빌)

김수민

제주특별자치도 제주시 은수길 97, 105호(연동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

위병갑

전체 청구항 수 : 총 3 항

심사관 : 윤미란

(54) 발명의 명칭 동백유박 추출물과 비자 세라마이드 및 울금 추출물을 포함하는 항염증 및 항균 화장료 조성물

## (57) 요약

본 발명은 동백유박 추출물과 비자 세라마이드 및 울금 추출물을 포함하는 항염증 및 항균 화장료 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 화장료 조성물은, 유효성분으로 동백유박 추출물과 비자 세라마이드 및 울금 추출물을 포함함에 따라, 항염증 및 항균(특히 여드름균 및 칸디다 알비칸스)에 현저한 효과가 있다.

(52) CPC특허분류

**A61K 8/9755** (2017.08)  
**A61K 8/9794** (2017.08)  
**A61Q 17/005** (2013.01)  
**A61Q 19/00** (2013.01)  
**A61K 2800/5922** (2013.01)

(72) 발명자

**김청룡**

제주특별자치도 제주시 첨단로동길 74, 205동 201호

**이은희**

제주특별자치도 제주시 조천읍 일주동로 952-25, 가동 205호(조천반석타운)

**문규리**

제주특별자치도 제주시 서사로20길 13, 402호(삼도일동)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020150103138 A\*

강성구 외, ‘동백(Camellia japonica L.)유박 추출물의 항균활성’, 한국식품영양과학회지 27(2), 232~238 (1998.)\*

KR1020190079291 A

KR1020170084950 A

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

|             |                                       |
|-------------|---------------------------------------|
| 과제고유번호      | 0006158                               |
| 과제번호        | P0006158                              |
| 부처명         | 산업통상자원부                               |
| 과제관리(전문)기관명 | 한국산업기술진흥원                             |
| 연구사업명       | 광역협력권산업육상사업 (지역주도형 R&D)               |
| 연구과제명       | 제주 천연소재 유래 세라마이드 함유 프리미엄 더마코스메 틱 제품개발 |
| 기 여 율       | 1/1                                   |
| 과제수행기관명     | 대한뷰티산업진흥원                             |
| 연구기간        | 2018.10.01 ~ 2021.03.31               |

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

동백유박(defatted camellia seeds) 추출물 80 중량부 기준;

비자(*Torreya nucifera*) 세라마이드 9-11 중량부; 및

울금(*Curcuma longa* Linne) 추출물 9-11 중량부;를 포함하고,

상기 비자 세라마이드는 비자 오일 14-16 중량%, 파이토스핑고신 2-4 중량%, 세라마이드 3(세라마이드 NP) 5-7 중량% 및 글리세린 잔량을 포함하는 것을 특징으로 하는,

염증 예방 또는 개선용 화장료 조성물.

#### 청구항 2

동백유박(defatted camellia seeds) 추출물 80 중량부 기준;

비자(*Torreya nucifera*) 세라마이드 9-11 중량부; 및

울금(*Curcuma longa* Linne) 추출물 9-11 중량부;를 포함하고,

상기 비자 세라마이드는 비자 오일 14-16 중량%, 파이토스핑고신 2-4 중량%, 세라마이드 3(세라마이드 NP) 5-7 중량% 및 글리세린 잔량을 포함하는 것을 특징으로 하는,

여드름 예방 또는 개선용 화장료 조성물.

#### 청구항 3

동백유박(defatted camellia seeds) 추출물 80 중량부 기준;

비자(*Torreya nucifera*) 세라마이드 9-11 중량부; 및

울금(*Curcuma longa* Linne) 추출물 9-11 중량부;를 포함하고,

상기 비자 세라마이드는 비자 오일 14-16 중량%, 파이토스핑고신 2-4 중량%, 세라마이드 3(세라마이드 NP) 5-7 중량% 및 글리세린 잔량을 포함하는 것을 특징으로 하는,

여드름균(*Propionibacterium acnes*) 및 칸디다 알비칸스균(*Candida albicans*) 중 1종 이상에 대한 항균용 화장료 조성물.

#### 청구항 4

삭제

#### 청구항 5

삭제

#### 청구항 6

삭제

#### 청구항 7

삭제

## 발명의 설명

## 기술분야

[0001] 본 발명은 동백유박 추출물과 비자 세라마이드 및 울금 추출물을 포함하는 항염증 및 항균 화장품 조성물에 관한 것이다.

## 배경기술

[0003] 염증은 상처나 질병에 반응하는 인체의 면역 반응으로, 자외선이나 활성산소, 자유라디칼 등의 산화적 스트레스 등이 염증성 인자를 활성화시켜 각종 질병 및 피부의 노화를 일으킨다. 혈관 활성 폴리펩타이드인 키닌(Kinin), 플라스민(Plasmin) 또는 보체 (Complement) 등이 혈관 확장과 수축 및 주화성(Chemotaxis) 작용을 하고, 그 외에 인터루킨-6(IL-6) 등과 같은 림포카인과 아라키돈산(Arachidonic acid) 등이 염증 반응을 담당한다. 아라키돈산은 싸이클로옥시게나아제(Cyclooxygenase) 혹은 리포옥시게나아제(Lipoxygenase)의 2가지 경로를 거쳐 염증 매개체인 프로스타글란딘(Prostaglandin) 또는 류코트리엔(Lukotriene)들로 대사되어 다양한 염증 반응을 매개한다.

[0005] 한편, 염증을 소실시키기 위해 염증원의 제거, 생체 반응 및 증상을 감소시키는 작용을 하는 것을 항염제라 한다. 현재까지 항염의 목적으로 이용되고 있는 물질로는 비스테로이드계로 플루페나믹산(Flufenamic acid), 이부프로펜(Ibuprofen), 벤지다민(Benzydamin) 또는 인도메타신(Indomethacin) 등이 있고 스테로이드계통으로 프레드니솔론(Prednisolone) 또는 덱사메타손 (Dexamethasone) 등이 있다. 또한 알란토인, 아즈엔 또는 하이드로코티손 등이 항염증에 효과가 있는 것으로 알려져 있으나, 이들 물질은 피부에 대한 안전성의 문제로 사용량의 제한이 있거나, 효과가 미미하여 실질적으로 염증 완화 효과를 기대할 수 없는 문제점이 있다.

[0006] 여드름(심상성 좌창:Acne vulgaris)은 모낭 및 피지선에 발생하는 만성 염증성 질환이다. 여드름 발생원인은 크게 피지분비의 증가, 모낭상피의 이상 과각질화, 및 혐기성 피부 상재균인 프로피오니 박테리움 아크네의 증식 등이 원인이라할 수 있겠으나, 이 외에도 호르몬의 불균형, 스트레스, 치우친 식생활, 몸 상태의 불량 등 신체나 정신 상태에 영향을 받기 때문에 여드름의 발생원인은 매우 복잡하다.

[0007] 종래에 여드름 치료를 위하여 에리스로마이신, 벤조일퍼옥사이드 등의 항생제를 이용하여 여드름 균을 억제하거나, 트리클로산, 살리실산 등을 이용하여 여드름 균을 제거하는 방법이 사용되고 있지만, 피부 정상균총을 파괴하고, 항생제 내성균을 증식키며, 여드름의 주원인 중 하나인 과도한 피지분비를 조절할 수 없으므로, 근본적인 여드름 치료방법으로서는 한계가 있다.

[0009] "비자"는 겉씨식물 구과목 주목과의 상록교목인 비자나무(*Torreya nucifera*, Torreya)의 열매로, 가을에 익은 열매를 따서 껍질을 벗겨 버리고 햇볕에 말려 사용한다. 비자는 맛은 달고 성질은 평하며, 기생충을 구제하고 대변이 잘 나오게 하며 기침을 멎게 하는 것으로 알려져 있다. 비자나무의 목재는 질이 좋기 때문에 각종 기구재, 특히 바둑판으로서 귀중한 재목이다. 기름을 짜서 식용하며, 공해에 강하므로 가로수로 적합하다. 한국(내장산), 일본 등지에 분포한다.

[0011] "울금 (*Curcuma longa* Linne)"은 잎 뒷면에 작은 가시 솜털 같은 꽃이 붉은 핑크색을 띄우고 자라며 열대 아시아 원산으로서 국내에서는 울금 속 식물이 자생하지 않으며 열대 각 지방 및 중국의 남부지방에 자생하거나 재배되는 생강과의 다년생 초본이다. 본초학에서는 울금을 생약으로 사용 시 성질이 따뜻해서 혈액순환을 촉진시키고 통증을 제거하는 효과가 탁월하다고 하였다. 또한 몇몇 나라에서는 전통적으로 염증을 치료하는데 사용해 왔다. 또한, 울금에 함유된 생리활성물질인 커큐민(curcumin)은 항산화, 항염증, 항바이러스 효능이 우수한 것으로 알려진 바 있다.

[0013] "동백나무"는 차나무과(Theaceae)에 속하는 상록교목으로 원산지는 아시아 지방으로 약 200여종이 분포되어 있는 것으로 보고되고 있으며 한국에서는 그 중 1종(*Camellia japonica* L.)이 자생 분포 동백이라고 불린다. 동백은 주로 원에 자원으로서, 예컨대 동백 목재는 고급 숲의 원료 또는 공예의 재료로 사용되어 왔고, 동백 종실은 건조, 분쇄한 후, 착유나 용매를 사용하여 동백 오일로 추출할 경우, 약 9.1~11.5중량%의 포화지방산, 약 85.6~89.4중량%의 올레인산, 약 1.3~2.9중량%의 리놀산을 포함하는 동백 오일의 제조가 가능하여, 예로부터 화장유(머릿기름), 등잔기름, 식용유 및 정밀기계유로 사용되어 왔다.

[0015] 본 발명자들은, 동백유박(defatted camellia seeds) 추출물과, 비자(*Torreya nucifera*) 세라마이드 및 울금(*Curcuma longa* Linne) 추출물을 포함하는 화장품 조성물을 개발하였으며, 상기 화장품 조성물을 항염증; 및 항균(여드름균 및 칸디다 알비칸스 균) 효능이 현저히 우수함을 확인하여, 본 발명을 완성하였다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0017] (특허문헌 0001) 공개특허공보 10-2012-0060296호

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0018] 본 발명의 목적은 향염증; 및 항균; 효능을 갖는 것을 특징으로 하는, 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0020] 상기 목적을 달성하기 위하여,  
 [0021] 본 발명은 동백유박(defatted camellia seeds) 추출물;  
 [0022] 비자(Torreyia nucifera) 세라마이드; 및  
 [0023] 울금(Curcuma longa Linne) 추출물;  
 [0024] 을 포함하는, 화장료 조성물을 제공한다.  
 [0026] 상기 비자 세라마이드는,  
 [0027] 비자 오일 13-17 중량%;  
 [0028] 파이토스핑고신 1-5 중량%;  
 [0029] 세라마이드 3(세라마이드 NP) 4-8 중량%; 및  
 [0030] 글리세린 잔량;  
 [0031] 을 포함할 수 있다.  
 [0033] 바람직하게,  
 [0034] 상기 비자 세라마이드는,  
 [0035] 비자 오일 14-16 중량%;  
 [0036] 파이토스핑고신 2-4 중량%;  
 [0037] 세라마이드 3(세라마이드 NP) 5-7 중량%; 및  
 [0038] 글리세린 잔량;  
 [0039] 을 포함할 수 있다.  
 [0040] 상기 '세라마이드 3'은 '세라마이드 NP'라고도 불리우는 동일한 물질이다.  
 [0042] 상기 화장료 조성물은,  
 [0043] 동백유박(defatted camellia seeds) 추출물 80 중량부 기준,  
 [0044] 비자(Torreyia nucifera) 세라마이드 8-12 중량부,  
 [0045] 울금(Curcuma longa Linne) 추출물 8-12 중량부,  
 [0046] 포함할 수 있다.  
 [0048] 바람직하게,  
 [0049] 상기 화장료 조성물은,

- [0050] 동백유박(defatted camellia seeds) 추출물 80 중량부 기준,  
 [0051] 비자(Torreya nucifera) 세라마이드 9-11 중량부,  
 [0052] 울금(Curcuma longa Linne) 추출물 9-11 중량부,  
 [0053] 포함할 수 있다.  
 [0055] 상기 화장품 조성물은 항염증; 및 항균; 효능을 갖는 것을 특징으로 한다(실험예 1 및 2 참조). 상기 항균은 여드름균(*Propionibacterium acnes*) 및 칸디다 알비칸스균(*Candida albicans*)에 대한 항균일 수 있다.

### 발명의 효과

- [0057] 본 발명에 따른 화장품 조성물은, 유효성분으로 동백유박 추출물과 비자 세라마이드 및 울금 추출물을 포함함에 따라서, 항염증 및 항균(특히 여드름균 및 칸디다 알비칸스)에 현저한 효과가 있다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0059] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.  
 [0061] **화장료 조성물**  
 [0062] 본 발명은 유효성분을 포함하는 화장료 조성물을 제공한다.  
 [0063] 상기 화장료 조성물은, 예를 들면 용액, 겔, 고체 또는 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 마이크로에멀전, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는 이온형(리포솜), 비이온형의 소낭 분산제의 형태, 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실 스틱의 형태로 제공될 수 있다. 또한, 포말(foam)의 형태 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로도 제조될 수 있다.  
 [0064] 또한, 상기 화장료 조성물은 본 발명의 유효성분에 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 향산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제 및 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 화장품에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 화장품 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다.  
 [0065] 본 발명의 유효성분을 함유하는 화장료 조성물에 있어서, 통상적으로 함유되는 화장료 조성물에 본 발명의 유효성분이 0.1 내지 50 중량%, 바람직하게는 1 내지 10 중량%의 양으로 첨가될 수 있다.  
 [0066] 본 발명의 유효성분을 피부 외용제로 사용하는 경우, 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 향산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제 및 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 피부용 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한, 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.  
 [0068] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

### [0070] <제조예 1> 비자 오일의 제조

- [0071] 추출 시 발생하는 열은 원물과 오일이 서로 분리되는 최소한의 온도인 50℃로 조절하여 착유한다. 비자씨앗의 껍질을 제거하고 씻은 후 건조시켜 사용하였으며, 저온착유기 (제조사: 내쇼날이엔지)를 이용하여 착유한 오일은 원심분리기를 이용하여 8000rpm, 4℃에서 1시간동안 불순물을 침전시킨 후 상층인 오일만 사용하였다.

### [0073] <제조예 2> 울금 추출물의 제조

- [0074] 울금 건조 절편 50 g을 40% Butylene glycol 용액 950ml로 실온에서 3일간 침지 추출하여 추출액을 얻었다. 상기 추출액을 mesh filter(stainless steel filter mesh, R&K, China, 4-400mesh)로 여과하였다. 상기 여과한 여과액을 rotary evaporator(DL10-3000, Greatwall, 20L)를 이용하여 감압농축하여 용매를 제거하여 울금 추출물 분말을 제조하였다. 추출물을 멸균 처리(KRS A-1, Health up, Korea)된 용기에 옮겨 담아 5℃에서 냉장보관하였다.

[0076] <제조예 3> 동백유박 추출물의 제조

[0077] 착유하고 남은 동백유박 100g을 40% Butylene glycol 용액 900ml로 실온에서 3일간 침지 추출하여 추출액을 얻었다. 상기 추출액을 mesh filter(stainless steel filter mesh, R&K, China, 4~400mesh)로 여과하였다. 상기 여과한 여과액을 rotary evaporator(DL10-3000, Greatwall, 20L)를 이용하여 감압농축하여 용매를 제거하여 동백유박 추출물 분말을 제조하였다. 추출물을 멸균 처리(KRS A-1, Health up, Korea)된 용기에 옮겨 담아 5℃에서 냉장보관하였다.

[0079] <제조예 4 내지 6> 비자 세라마이드의 제조

[0080] 하기 표 1의 조성비로 구성 요소들을 혼합하여 비자세라마이드를 제조하였다.

표 1

[0081]

|                       | 함량(중량%) |       |       |
|-----------------------|---------|-------|-------|
|                       | 제조예 4   | 제조예 5 | 제조예 6 |
| 비자 오일                 | 15      | 15    | 15    |
| 파이토스펩고신               | 3       | 0     | 3     |
| 세라마이드 3<br>(세라마이드 NP) | 6       | 6     | 0     |
| 글리세린                  | 76      | 79    | 82    |

[0083] <실시에 및 비교예> 비자 세라마이드와 울금 및 동백유박 추출물 함유 화장료 조성물의 제조

[0084] 하기 표 2의 조성비로 유효성분을 혼합하여 화장료 조성물을 제조하였다. 하기 표 2에서 각 유효성분의 함량(wt%)은 화장료 조성물에 함유되는 유효성분 총 100 wt%에 포함되는 함량을 의미하고, 화장료 베이스 조성물에 해당하는 구성요소와 이들의 함량은 생략하였다.

표 2

[0086]

|       | 유효성분     |          |         |         |
|-------|----------|----------|---------|---------|
|       | 동백유박 추출물 | 비자 세라마이드 |         | 울금 추출물  |
|       | 함량(wt%)  | 시료       | 함량(wt%) | 함량(wt%) |
| 실시예 1 | 80       | 제조예 4    | 10      | 10      |
| 비교예 1 | 80       | 제조예 5    | 10      | 10      |
| 비교예 2 | 80       | 제조예 6    | 10      | 10      |
| 비교예 3 | 100      | -        | -       | -       |
| 비교예 4 | 80       | 제조예 4    | 20      | -       |
| 비교예 5 | 80       | -        | -       | 20      |
| 비교예 6 | -        | 제조예 4    | 100     | -       |
| 비교예 7 | -        | -        | -       | 100     |
| 비교예 8 | -        | 제조예 4    | 50      | 50      |

[0088] <실험예 1> 항염증 효능 평가 (NO 생성 억제능)

[0089] 실시예 및 비교예에서 제조한 화장료의 항염증 효과를 알아보기 위해 NO 생성 억제 효과를 확인하였다. 마우스 대식세포인 RAW 264.7 세포를  $2 \times 10^6$  cells/dish density로 60mm 플레이트(plate)에 분주하여 24시간 동안 플레이트에서 배양하였다. 염증반응을 유발하기 위해  $1\mu\text{g/ml}$  농도의 LPS(lipopolysaccharide)와 시험물질을 함유한 새로운 배지를 처리하여 24시간 배양하였다. NO assay를 통한 항염 활성 평가는 griess A, B reagent를 이용한 방법으로, 1% sulfanilamide, 0.1% N-(1-naphtyl)ethylenediamine dihydrochloride reagent를 1:1 비율로 혼합하여 사용하였다. 96 well plate에서 실시예 및 비교예를 처리 후 37℃, 5% CO<sub>2</sub>의 조건에서 24시간 동안 배양된 배지의 상등액을 griess (A+B) reagent와 1:1 비율로 각각 50 $\mu\text{l}$ 씩 혼합하여 10분간 상온에서 보관한 후 540nm에서 ELISA 측정을 통해 NO 생성 억제능을 측정하였다. 그 결과는 하기 표 3에 나타내었다. NO 생성 억제율(%)은 대조군(100%)을 기준으로 NO 생성률(%)을 100%에서 뺀 값을 말한다.

표 3

|       | 유효성분    |          |         |         | NO 생성 억제율 (%) |
|-------|---------|----------|---------|---------|---------------|
|       | 동백유박    | 비자 세라마이드 |         | 울금      |               |
|       | 함량(wt%) | 시료       | 함량(wt%) | 함량(wt%) |               |
| 실시예 1 | 80      | 제조예 4    | 10      | 10      | 52.6          |
| 비교예 1 | 80      | 제조예 5    | 10      | 10      | 31.2          |
| 비교예 2 | 80      | 제조예 6    | 10      | 10      | 29.4          |
| 비교예 3 | 100     | -        | -       | -       | 21.8          |
| 비교예 4 | 80      | 제조예 4    | 20      | -       | 23.5          |
| 비교예 5 | 80      | -        | -       | 20      | 21.4          |
| 비교예 6 | -       | 제조예 4    | 100     | -       | 8.2           |
| 비교예 7 | -       | -        | -       | 100     | 15.4          |
| 비교예 8 | -       | 제조예 4    | 50      | 50      | 17.9          |

상기 표 3에 나타난 바와 같이,

비자 세라마이드 구성에 차이가 있는 실시예 1 및 비교예 1-2 중에서 실시예 1이 NO 생성 억제율이 현저히 높게 나타났고,

비자 세라마이드 및/또는 울금 추출물 포함 여부에 차이가 있는 실시예 1 및 비교예 3-5 중에서 실시예 1이 NO 생성 억제율이 현저히 높게 나타났으며,

동백유박 추출물 포함 여부에 차이가 있는 실시예 1 및 비교예 6-8 중에서 실시예 1이 NO 생성 억제율이 현저히 높게 나타났다.

이러한 결과로부터, 제조예 4의 비자 세라마이드와 울금 및 동백유박 추출물을 모두 포함하는 시료(실시예 1)는 항염증에 현저한 효과가 있음을 확인하였다.

#### <실험예 2> 항염증 효능 평가 (TNF- $\alpha$ 발현 억제능)

실시예 및 비교예에서 제조한 화장료의 항염증 효과를 알아보기 위해 염증성 사이토카인 TNF- $\alpha$ 의 발현 억제효과를 확인하였다. 마우스 대식세포인 RAW 264.7 세포를 10% FBS가 첨가된 DMEM 배지를 이용하여  $5 \times 10^5$  cell/well로 조절한 후, 12 well plate에 접종하고 18시간 동안 배양하였다. 배양한 뒤 12시간 동안 기아상태를 유지시킨 후, LPS 10ng/mL와 실시예 및 비교예의 화장료를 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 배양된 세포에서 RNA를 추출하여 Reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR)을 통해 TNF- $\alpha$ 의 발현율을 확인하였다. TNF- $\alpha$  발현율은 하기 수학적 식 1에 의해 산출되었고, TNF- $\alpha$  발현 억제율은 100 % 에서 TNF- $\alpha$  발현율을 뺀 값을 말한다. 그 결과는 하기 표 4에 나타내었다.

[수학적 식 1]

TNF- $\alpha$  발현율(%)=(시료 TNF- $\alpha$  발현양/대조군 TNF- $\alpha$  발현양) $\times$ 100

표 4

|       | 유효성분    |          |         |         | TNF- $\alpha$ 발현 억제율 (%) |
|-------|---------|----------|---------|---------|--------------------------|
|       | 동백유박    | 비자 세라마이드 |         | 울금      |                          |
|       | 함량(wt%) | 시료       | 함량(wt%) | 함량(wt%) |                          |
| 실시예 1 | 80      | 제조예 4    | 10      | 10      | 47.6                     |
| 비교예 1 | 80      | 제조예 5    | 10      | 10      | 29.2                     |
| 비교예 2 | 80      | 제조예 6    | 10      | 10      | 28.4                     |
| 비교예 3 | 100     | -        | -       | -       | 20.8                     |
| 비교예 4 | 80      | 제조예 4    | 20      | -       | 21.5                     |
| 비교예 5 | 80      | -        | -       | 20      | 20.4                     |
| 비교예 6 | -       | 제조예 4    | 100     | -       | 9.3                      |
| 비교예 7 | -       | -        | -       | 100     | 13.9                     |
| 비교예 8 | -       | 제조예 4    | 50      | 50      | 15.8                     |

- [0108] 상기 표 4에 나타난 바와 같이,
- [0109] 비자 세라마이드 조성에 차이가 있는 실시예 1 및 비교예 1-2 중에서 실시예 1이 TNF- $\alpha$  발현 억제율이 현저히 높게 나타났고,
- [0110] 비자 세라마이드 및/또는 울금 추출물 포함 여부에 차이가 있는 실시예 1 및 비교예 3-5 중에서 실시예 1이 TNF- $\alpha$  발현 억제율이 현저히 높게 나타났으며,
- [0111] 동백유박 추출물 포함 여부에 차이가 있는 실시예 1 및 비교예 6-8 중에서 실시예 1이 TNF- $\alpha$  발현 억제율이 현저히 높게 나타났다.
- [0113] 이러한 결과로부터, 제조예 4의 비자 세라마이드와 울금 및 동백유박 추출물을 모두 포함하는 시료(실시예 1)는 항염증에 현저한 효과가 있음을 확인하였다.
- [0115] <실험예 3> 항여드름 효능 평가 (P. acnes 항균력)
- [0116] 실시예 및 비교예에서 제조한 화장료의 항여드름 효과를 알아보기 위해 Propionibacterium acnes에 대한 항균력을 측정하였다.
- [0117] 실시예 및 비교예에서 제조한 화장료의 항균력 측정은 고체 배양 희석법(Agar Serial Dilution Method)을 이용하여 최소 저해 농도(minimal inhibitory concentration, MIC)를 측정하였다. 배양배지는 Reinforced clostridial 배지(Merck, Germany)를 사용하였으며, 먼저 72시간 동안 배양한 균주를  $1.5 \times 10^8$  cfu/ml로 희석하고 각 well에 접종한 후 시료로 실시예 및 비교예를 각 농도별로 처리하였다. 균 희석액 및 시료를 접종한 well plate를 혐기조건, 37°C incubator에서 3일간 배양 후 균의 생육이 나타나지 않는 최소 농도를 최소저해농도(MIC, Minimum inhibitory concentration)로 정하였고, 그 결과를 표 5에 나타내었다. 이때, 최소저해농도는 값이 작을수록 항균효과가 높다는 것을 의미한다.

표 5

|       | 유효성분    |          |         |         | 최소저해농도(MIC)<br>( $\mu$ g/mL) |
|-------|---------|----------|---------|---------|------------------------------|
|       | 동백유박    | 비자 세라마이드 |         | 울금      |                              |
|       | 함량(wt%) | 시료       | 함량(wt%) | 함량(wt%) |                              |
| 실시예 1 | 80      | 제조예 4    | 10      | 10      | 0.93                         |
| 비교예 1 | 80      | 제조예 5    | 10      | 10      | 1.88                         |
| 비교예 2 | 80      | 제조예 6    | 10      | 10      | 2.06                         |
| 비교예 3 | 100     | -        | -       | -       | 7.54                         |
| 비교예 4 | 80      | 제조예 4    | 20      | -       | 6.58                         |
| 비교예 5 | 80      | -        | -       | 20      | 8.21                         |
| 비교예 6 | -       | 제조예 4    | 100     | -       | 9.47                         |
| 비교예 7 | -       | -        | -       | 100     | 7.89                         |
| 비교예 8 | -       | 제조예 4    | 50      | 50      | 6.21                         |

- [0121] 상기 표 5에 나타난 바와 같이,
- [0122] 비자 세라마이드 조성에 차이가 있는 실시예 1 및 비교예 1-2 중에서 실시예 1이 여드름 균주에 항균력이 현저히 높게 나타났고,
- [0123] 비자 세라마이드 및/또는 울금 추출물 포함 여부에 차이가 있는 실시예 1 및 비교예 3-5 중에서 실시예 1이 여드름 균주에 항균력이 현저히 높게 나타났으며,
- [0124] 동백유박 추출물 포함 여부에 차이가 있는 실시예 1 및 비교예 6-8 중에서 실시예 1이 여드름 균주에 항균력이 현저히 높게 나타났다.
- [0126] 안전성 평가
- [0127] 상기 여드름 균주 항균력 분석의 각 평가 시점에서 문진과 시험자의 관찰에 의해 피부 자극감과 객관적 피부 자극을 확인하여 기록하였다.

[0128] 그 결과, 시험기간 동안 모든 피험자에게서 피부 이상반응은 관찰되지 않았다.

[0130] <실험예 4> 항균 효능 평가 (Candida albicans 항균력)

[0131] 실시예 및 비교예에서 제조한 화장료의 항균 효과를 알아보기 위해 Candida albicans에 대한 항균력을 측정하였다.

[0132] 실시예 및 비교예에서 제조한 화장료의 항균력 측정은 디스크확산법 (Paper disc method)을 이용하여 C. Albicans에 대한 항균 효능을 측정하였다. 배양배지는 Sabouraud Dextrose agar 배지(Merck, Germany)를 사용하였으며, 먼저 72시간 동안 배양한 균주를  $2 \times 10^4$  cfu/ml로 희석하고 각 well plate에 접종한 후 paper disc에 시료로 실시예 및 비교예를 각 농도별로  $50\mu\text{l}$  처리하였다. 접종한 well plate를 5% CO<sub>2</sub> 조건, 37°C incubator에서 3일간 배양 후 paper disc 주변의 clean zone의 길이를 측정하여, 그 결과를 표 6에 나타내었다. 이때, Clean zone의 길이의 값이 높을수록 항균효과가 높다는 것을 의미한다.

[0134] 또한, 실시예 및 비교예에서 제조한 화장료의 항균력 측정은 액체 배양 희석법(Broth Serial Dilution Method)을 이용하여 최소 저해 농도(minimal inhibitory concentration, MIC)를 측정하였다. 배양배지는 Sabouraud Dextrose 배지(Merck, Germany)를 사용하였으며, 먼저 72시간 동안 배양한 균주를  $2 \times 10^4$  cfu/ml로 희석하고 각 시험관에 접종한 후 시료로 실시예 및 비교예를 각 농도별로 처리하였다. 균 희석액 및 시료를 접종한 시험관을 5% CO<sub>2</sub> 조건, 37°C incubator에서 3일간 배양 후 배지가 현탁되지 않는 최소 농도를 최소저해농도(MIC, Minimum inhibitory concentration)로 정하였고, 그 결과를 표 7에 나타내었다. 이때, 최소저해농도는 값이 작을수록 항균효과가 높다는 것을 의미한다.

표 6

[0136]

|       | 유효성분    |          |         |         |         |
|-------|---------|----------|---------|---------|---------|
|       | 동백유박    | 비자 세라마이드 |         | 울금      | 클린존 사이즈 |
|       | 함량(wt%) | 시료       | 함량(wt%) | 함량(wt%) | (mm)    |
| 실시예 1 | 80      | 제조예 4    | 10      | 10      | 2.3     |
| 비교예 1 | 80      | 제조예 5    | 10      | 10      | 7.8     |
| 비교예 2 | 80      | 제조예 6    | 10      | 10      | 7.4     |
| 비교예 3 | 100     | -        | -       | -       | 10.2    |
| 비교예 4 | 80      | 제조예 4    | 20      | -       | 9.9     |
| 비교예 5 | 80      | -        | -       | 20      | 9.6     |
| 비교예 6 | -       | 제조예 4    | 100     | -       | 25.5    |
| 비교예 7 | -       | -        | -       | 100     | 16.5    |
| 비교예 8 | -       | 제조예 4    | 50      | 50      | 14.1    |

표 7

[0138]

|       | 유효성분    |          |         |         |                      |
|-------|---------|----------|---------|---------|----------------------|
|       | 동백유박    | 비자 세라마이드 |         | 울금      | 최소저해농도(MIC)          |
|       | 함량(wt%) | 시료       | 함량(wt%) | 함량(wt%) | ( $\mu\text{g/mL}$ ) |
| 실시예 1 | 80      | 제조예 4    | 10      | 10      | 0.83                 |
| 비교예 1 | 80      | 제조예 5    | 10      | 10      | 2.08                 |
| 비교예 2 | 80      | 제조예 6    | 10      | 10      | 2.46                 |
| 비교예 3 | 100     | -        | -       | -       | 4.97                 |
| 비교예 4 | 80      | 제조예 4    | 20      | -       | 4.54                 |
| 비교예 5 | 80      | -        | -       | 20      | 4.09                 |
| 비교예 6 | -       | 제조예 4    | 100     | -       | 12.64                |
| 비교예 7 | -       | -        | -       | 100     | 8.23                 |
| 비교예 8 | -       | 제조예 4    | 50      | 50      | 7.14                 |

[0140] 상기 표 6 및 표 7에 나타난 바와 같이,

[0141] 비자 세라마이드 구성에 차이가 있는 실시예 1 및 비교예 1-2 중에서 실시예 1이 칸디다 알비칸스에 항균력이

현저히 높게 나타났고,

[0142] 비자 세라마이드 및/또는 울금 추출물 포함 여부에 차이가 있는 실시예 1 및 비교예 3-5 중에서 실시예 1이 칸디다 알비칸스에 항균력이 현저히 높게 나타났으며,

[0143] 동백유박 추출물 포함 여부에 차이가 있는 실시예 1 및 비교예 6-8 중에서 실시예 1이 칸디다 알비칸스에 항균력이 현저히 높게 나타났다.

[0145] **화장료의 제조예**

[0146] 본 발명에 따른 유효성분은 목적에 따라 여러 형태의 화장료로 제조 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 유효성분을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 화장료의 제조방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0148] **<화장료 제조예 1> 유연 화장수의 제조**

|        |                |          |
|--------|----------------|----------|
| [0149] | 유효성분           | 10.0 중량부 |
| [0150] | 1,3-부틸렌글리콜     | 1.00 중량부 |
| [0151] | 디소듐이디티에이       | 0.05 중량부 |
| [0152] | 알란토인           | 0.10 중량부 |
| [0153] | 디포타슘글리시리제이트    | 0.05 중량부 |
| [0154] | 시트르산           | 0.01 중량부 |
| [0155] | 소듐시트레이트        | 0.02 중량부 |
| [0156] | 글리세레스-26       | 1.00 중량부 |
| [0157] | 알부틴            | 2.00 중량부 |
| [0158] | 하이드로제네이티드캐스터오일 | 1.00 중량부 |
| [0159] | 에탄올            | 30.0 중량부 |
| [0160] | 보존제            | 미량       |
| [0161] | 착색제            | 미량       |
| [0162] | 착향제            | 미량       |
| [0163] | 정제수            | 잔량       |

[0165] **<화장료 제조예 2> 영양 크림의 제조**

|        |               |          |
|--------|---------------|----------|
| [0166] | 유효성분          | 10.0 중량부 |
| [0167] | 1,3-부틸렌글리콜    | 7.00 중량부 |
| [0168] | 글리세린          | 1.00 중량부 |
| [0169] | D-판테놀         | 0.10 중량부 |
| [0170] | 식물 추출물        | 3.20 중량부 |
| [0171] | 마그네슘알루미늄실리케이트 | 0.30 중량부 |
| [0172] | PEG-40 스테아레이트 | 1.20 중량부 |
| [0173] | 스테아르산         | 2.00 중량부 |
| [0174] | 폴리소르베이트 60    | 1.50 중량부 |
| [0175] | 친유형글리세릴스테아레이트 | 2.00 중량부 |
| [0176] | 소르비탄세스퀴올리에이트  | 1.50 중량부 |
| [0177] | 세테아릴알코올       | 3.00 중량부 |

|        |                  |          |
|--------|------------------|----------|
| [0178] | 미네랄오일            | 4.00 중량부 |
| [0179] | 스쿠알란             | 3.80 중량부 |
| [0180] | 카르틸릭/카프릭트리글리세라이드 | 2.80 중량부 |
| [0181] | 식물성오일            | 1.80 중량부 |
| [0182] | 디메치콘             | 0.40 중량부 |
| [0183] | 디포습글리시리제이트       | 미량       |
| [0184] | 알란토인             | 미량       |
| [0185] | 소듐 히아루로네이트       | 미량       |
| [0186] | 토코페릴아세테이트        | 적량       |
| [0187] | 트리에탄올아민          | 적량       |
| [0188] | 보존제              | 적량       |
| [0189] | 착향제              | 적량       |
| [0190] | 정제수              | 잔량       |

[0192] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.