



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년04월23일
(11) 등록번호 10-1971837
(24) 등록일자 2019년04월17일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/9789 (2017.01) A23L 33/105 (2016.01)
A61K 36/23 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 8/9789 (2017.08)
A23L 33/105 (2016.08)
- (21) 출원번호 10-2018-0112354
- (22) 출원일자 2018년09월19일
심사청구일자 2018년09월19일
- (56) 선행기술조사문헌
Adv Biotech & Micro., Vol. 3, No. 4, pp. 1-9
(2017.05.24.)*
J Plant Biotechnol., Vol. 45, pp. 117-124
(2018.06.30.)*
제천시 연구용역 보고서 “글로벌 천연물 원료제
조 클러스터 구축사업 기본계획 및 타당성 연구용
역 최종보고서” (2017.05.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
동국제약 주식회사
서울특별시 강남구 테헤란로108길 7 (대치동)
- (72) 발명자
정구영
충청북도 청주시 청원구 오창읍 오창중앙로 83,
708동 401호(이안오창아파트)
황영식
충청북도 청주시 청원구 충청대로 95-15, 302호(
율량동)
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
최규환

전체 청구항 수 : 총 9 항

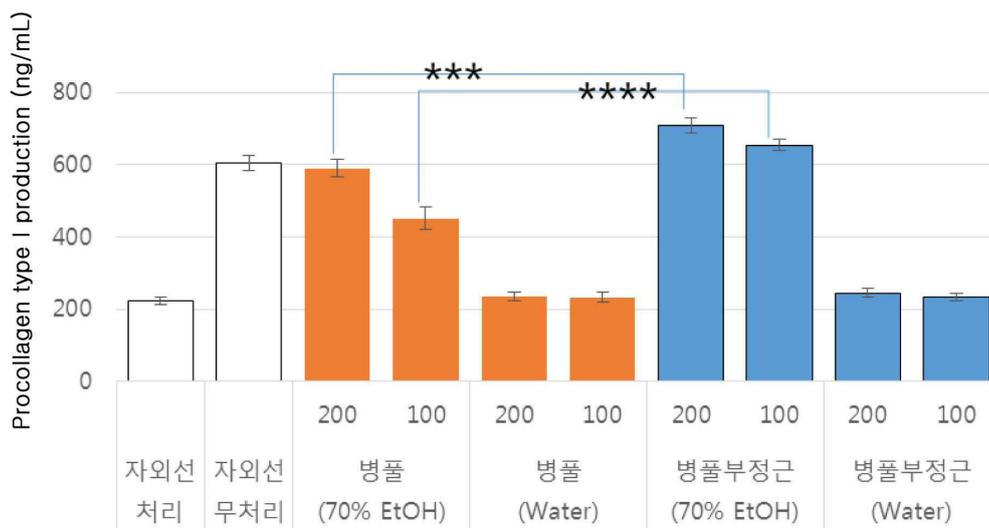
심사관 : 공성철

(54) 발명의 명칭 병풀 부정근 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 주름개선용 화장품 조성물

(57) 요약

본 발명은 병풀 부정근의 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 주름 개선용 화장품 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 병풀 부정근 추출물은 세포 독성이 없으며, 항염 및 항산화 활성이 우수하고, 멜라닌 색소 및 기질금속단백질분해효소의 생성을 저해하며, 프로콜라겐의 생성을 증진시키는 효과가 우수하므로, 피부 미백 및 주름개선용 화장품 또는 피부 외용제 등에 유용하게 이용될 수 있을 것이다.

대표도 - 도6



(52) CPC특허분류

A61K 36/23 (2013.01)
A61P 17/00 (2018.01)
A61Q 19/02 (2013.01)
A61Q 19/08 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/318 (2013.01)

김영은

세종특별자치시 마음안로 34, 510동 1902호(고운동, 가락마을5단지)

(72) 발명자

지형근

충청남도 천안시 동남구 신부8길 21, 105동 1101호(신부동, 도솔노블시티동문굿모닝힐아파트)

한수민

충청북도 청주시 청원구 오창읍 주성2길 13-5, 204호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1545017807
부처명	농림축산식품부
연구관리전문기관	농림식품기술기획평가원
연구사업명	농생명산업기술개발사업
연구과제명	기능성원료 인허가 및 제품화를 통한 배양근의 산업화 기술개발
기 여 율	1/1
주관기관	동국제약(주)
연구기간	2018.06.14 ~ 2019.08.13

명세서

청구범위

청구항 1

병풀(*Centella asiatica*) 부정근 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 주름개선용 화장품 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 조성물은 멜라닌 및 기질금속단백질분해효소(matrix metalloprotease)의 생성을 저해하고 프로콜라겐의 생성을 촉진하는 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 조성물은 항염 및 항산화 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조성물은 스킨, 스킨 소프트너, 스킨 토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처로션, 영양로션, 마사지크림, 영양크림, 아이 크림, 모이스처 크림, 핸드크림, 에센스, 영양에센스, 팩, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 클렌징 로션, 클렌징 크림, 바디로션, 바디클렌저, 비누 및 파우더 중에서 선택된 어느 하나의 제형인 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 6

병풀(*Centella asiatica*) 부정근 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 주름개선용 피부 외용 약학 조성물.

청구항 7

병풀(*Centella asiatica*) 부정근 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 색소 과다 침착 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 멜라닌 색소 과다 침착 질환은 주근깨, 노인성 반점, 간반, 기미, 갈색 또는 흑점, 일광 색소반, 푸른흑피증(cyanic melasma), 약물 사용 후의 과다색소침착, 임신성 갈색반(gravidic chloasma), 또는 찰상 및 화상을 비롯한 상처 또는 피부염으로 인한 염증 후 과다 색소 침착인 것을 특징으로 하는 멜라닌 색소 과다 침착 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 조성물은 주사제, 크림, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 및 카타플라스마제 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것을 특징으로 하는 피부 색소 과다 침착 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 10

병풀(*Centella asiatica*) 부정근 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 색소 과다 침착 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 병풀 부정근 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 주름개선용 화장품 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 노령인구가 증가함에 따라 노화의 척도가 될 수 있는 피부미용 및 노화를 방지할 수 있는 항산화 분야가 주요 관심사로 떠오르고 있다. 노화로 인한 피부의 주름생성 및 체내의 항산화 활성 감소 등은 건강의 척도로 사용될 수 있다. 피부노화는 원인에 따라 내인성 노화(intrinsic aging)와 외인성 노화(extrinsic aging)로 구분할 수 있다. 내인성 노화는 나이에 따른 피부 표피 및 진피의 생리적 기능 변화가 원인이며, 외인성 노화는 대기오염, 자외선 노출, 스트레스 등의 환경으로부터 발생하는 피부의 생리적 기능 변화가 원인으로 알려져 있다. 이러한 노화의 공통적 메커니즘은 산화적 스트레스(oxidative stress)에 지속적으로 노출되어 체내에 자유라디칼(free radical)이 증가되고, 진피의 결합조직인 엘라스틴(elastin)을 분해하는 엘라스타제(elastase)의 활성 증가, 히알루론산(hyaluronic acid)을 분해는 히알루로니다제(hyaluronidase)의 활성 증가로 설명될 수 있다. 즉, 피부 노화란 엘라스틴 및 히알루론산이 파괴되어 진피를 무너트리고 피부를 건조하게 만들어 주름이 생기는 것으로 설명될 수 있다. 또한, 체내의 자유라디칼은 멜라닌 형성과정에 관여하여 티로시나제(tyrosinase)를 활성화시켜 기미와 주근깨를 생성하는 원인이 되기도 한다.

[0003] 일상생활에서 우리는 활성산소(reactive oxygen)에 의해 일어나는 유해성에 항상 노출되어 있으며, 노화로 인한 유해성은 점진적으로 축적되며 항산화 능력이 점진적으로 감소된다. 일반적인 신체 조건에서 항산화 보호 시스템은 효소(예컨대, superoxide dismutase(SOD) 등) 반응과 비효소(예컨대, 폴리페놀, 플라보노이드 등) 반응의 경로로 활성산소를 제거한다. 따라서 항산화 활성을 나타내기 위해서는 SOD와 같은 항산화 효소반응을 활성화시키거나 직접적인 항산화 작용을 하는 비효소 물질을 섭취해야 한다.

[0004] 피부건강 및 항산화에 대한 기전 연구가 활발히 진행되어 왔으며, 연구 수준의 발달 및 기술력 증가로 생화학적 효능, 효과를 가진 소재들을 개발하기 위한 다수의 연구가 진행되고 있다. 특히, 식물 유래 소재는 안전성 측면에서 우수함을 인정받아 오랫동안 이용되었으며, 국내의 경우, 민간에서 이용되거나 혹은 한방에서 이용되는 식물 및 생약 성분을 주로 한 기능성 소재 개발이 활발히 이루어지고 있다. 특히, 식물 유래 유용물질(카로티노이드, 페놀화합물, 비타민 등)을 이용한 피부 노화 방지, 탈모 방지, 항산화 등의 목적으로 화장품 분야에서 식물 소재에 대한 관심이 고조되고 있다.

[0005] 그러나, 식물은 성장속도가 느리고, 식물 내 유용물질은 식물의 특정 기관 내에만 소량 존재하거나 품종에 따라 이차 대사물질들의 종류 및 함량이 달라지며, 같은 종 내에서도 계절, 장소, 기후, 재배조건, 식물체 부위 등에 따라 생산성이 달라지는 특성이 있다. 또한, 최근 나고야의정서 발효로 인해 국외 원료 수입이 어려워지고 있는 실정이다. 이에 따라 식물에 의존한 다양한 유용물질(이차 대사산물)을 생명공학기술로 생산하려는 많은 연구가 시도되었다. 그 중 가장 효과적인 생산법이 식물세포배양법이다. 이 방법은 배양배지와 배양환경 및 다양한 유도인자(elicitor) 처리 등을 통해 효과적으로 이차대사산물을 생산할 수 있다. 또한, 자연환경의 제약(농약, 중금속 오염, 계절적 지배 등)을 받지 않고도 식물이 생산하는 유용물질을 연속적으로 안정하게 대량생산이 가능하므로 상업적으로 중요하다고 할 수 있다.

[0006] 병풀(*Centella asiatica*(L.) Urban)은 산형과의 여러해살이풀로서 원줄기가 옆으로 뻗어 자라며 마디에서 뿌리가 내리며 비늘 같은 잎이 있다. 병풀은 주로 고온 다습한 곳에서 자생하기 때문에 아프리카 마다가스카르 섬, 인도양의 해안지역, 인도 남방 및 말레이시아 지역에 분포하고 국내에서는 난대지방에 속하는 제주도 및 남부지방의 섬에 극히 제한되어 자생한다. 병풀 추출물은 아시아티코사이드(asiaticoside), 마데카소사이드(madecassoside), 아시아틱애시드(asiatic acid), 마데카식애시드(madecassic acid) 등을 함유하고 있어 상처 치료에 탁월하고, 항치매 및 위장병 등에 효과가 있어 질병 치료제의 원료로 사용되고 있다.

[0007] 한편, 한국등록특허 제1739422호에는 '식물공장 유래 병풀 추출물을 유효성분으로 하는 피부개선용 조성물 및 증식성 피부질환 예방 또는 치료용 조성물'이 개시되어 있고, 한국등록특허 제1881417호에는 '멘톨, 은행잎, 알로에, 녹차, 병풀 및 하수오 추출물을 포함하는 화장품 조성물'이 개시되어 있으나, 본 발명의 병풀 부정근 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 주름개선용 화장품 조성물에 대해서는 기재된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자들은 식물세포배양 기술로 생산한 병풀 부정근의 추출물이 병풀 추출물에 비해 산화질소(nitric oxide, NO) 생성 저해능, 자유라디칼 소거능뿐 아니라, 멜라닌 및 기질금속단백질분해효소(matrix metalloprotease, MMP)의 생성 저해 효과가 현저히 우수한 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 병풀(*Centella asiatica*) 부정근 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 주름개선용 화장품 조성물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 병풀 부정근 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 주름개선용 피부 외용 약학 조성물을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 병풀 부정근 추출물을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 색소 과다 침착 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 병풀 부정근 추출물을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 색소 과다 침착 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0013] 본 발명의 병풀 부정근 추출물은 세포 독성이 없으며, 항염 및 항산화 활성이 우수하고, 멜라닌 색소의 생성을 저해하며, 콜라겐의 전구물질인 프로콜라겐의 생성을 증진시키는 효과가 우수하므로, 피부 미백 및 주름개선용 화장품 또는 피부 외용제 등에 유용하게 이용될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 병풀 또는 병풀 부정근의 물 또는 에탄올 추출물의 마우스 대식세포에 대한 세포 독성을 확인한 결과이다. nor, 무처리 정상세포; NMMA, Mono-methyl-L-arginine; indo, indomethacin.

도 2는 LPS를 처리한 마우스 대식세포에 병풀 또는 병풀 부정근의 물 또는 에탄올 추출물을 처리하고, 산화질소(nitric oxide, NO)의 생성 수준을 분석한 결과이다.

도 3은 병풀 또는 병풀 부정근의 물 또는 에탄올 추출물의 마우스 흑색종(melanoma) 세포에 대한 세포 독성을 확인한 결과이다.

도 4는 마우스 흑색종 세포에 병풀 또는 병풀 부정근의 물 또는 에탄올 추출물을 처리한 후, 멜라닌 수준을 측정한 결과이다.

도 5는 자외선을 조사한 인간 섬유아세포에 병풀 또는 병풀 부정근의 물 또는 에탄올 추출물을 처리한 후 기질금속단백질분해효소(matrix metalloprotease, MMP)의 생성량 변화를 분석한 결과로, A는 MMP-1, B는 MMP-3에 대한 결과이다.

도 6은 자외선을 조사한 인간 섬유아세포에 병풀 또는 병풀 부정근의 물 또는 에탄올 추출물을 처리한 후 프로콜라겐의 생성량을 분석한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 병풀(*Centella asiatica*) 부정근 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 주름개선용 화장품 조성물을 제공한다.

[0016] 병풀 부정근(adventitious root)은 야생 병풀의 조직 일부를 떼어내어 무균상태로 기내도입하여 식물의 전형성능(totipotency)에 의해 형성되는 부정근을 말하며, 병풀 부정근은 일정기간 동안 사전배양(seed culture)한 후, 생물반응기에서 본 배양함으로써 대량생산이 가능하며, 상기와 같은 기내배양 방법에 의해 생산된 병풀 부정근은 잔류농약(예: Diazinon, DDT, Metalaxyl)이나 중금속(예: 납, 카드뮴) 등의 유해성분이 근본적으로 배제되어, 자연상태의 생육과정에서 발생가능한 병충해 및 바이러스의 감염으로부터 안전한 장점이 있다.

[0017] 본 발명의 일 구현 예에 따른 피부 미백 및 주름개선용 화장품 조성물에 있어서, 상기 추출물은 메탄올,

에탄올, 프로판올, 부탄올 또는 이의 혼합 용매 추출물일 수 있고, 바람직하게는 에탄올 추출물일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 건조된 병풀 부정근 중량 대비 60~80%(v/v)의 에탄올을 8~12배 첨가하여, 22~26시간 동안 상온추출한 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [0018] 또한, 상기 병풀 부정근 추출물은 추출처리에 의해 얻어지는 추출액; 추출액의 희석액 또는 농축액; 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물; 조정제물; 또는 정제물 중 어느 하나를 포함할 수도 있다.
- [0019] 본 발명에 있어서, '미백'이라 함은 피부의 과다 색소 침착을 억제, 저해 또는 완화시키는 것을 말한다. 피부의 과다 색소 침착은 주근깨, 기미, 자외선 노출 후 과다 색소 침착, 염증 후 과다 색소 침착, 노인흑색점, 갈색반점 또는 검버섯 등을 포함한다.
- [0020] 본 발명에 있어서, '주름개선'이라 함은 피부에 주름이 생성되는 것을 억제 또는 저해하거나, 이미 생성된 주름을 완화시키는 것을 말한다. 본 발명에서 주름 생성은 콜라겐의 감소로 인해 발생하는 것이며, 상기 콜라겐의 감소는 과도한 산화 스트레스나 자외선 조사가 원인일 수 있다.
- [0021] 본 발명의 화장료 조성물은 멜라닌 생성 억제능, 기질금속단백질분해효소(MMP) 생성 억제능 및 프로콜라겐 합성 촉진능의 효과를 가지는 병풀 부정근의 추출물을 유효성분으로 포함하고 있으므로, 피부 미백 및 주름개선 기능을 가진 화장료 조성물이다.
- [0022] 또한, 본 발명의 상기 병풀 부정근의 추출물은 병풀 추출물에 비해 산화질소(NO) 생성 저해능 및 자유 라디칼 소거능이 우수한 것이 특징이다.
- [0023] 본 발명의 일 구현 예에 따른 화장료 조성물에 있어서, 상기 피부 미백 및 주름개선용 화장료 조성물은 스킨, 스킨 소프트너, 스킨 토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처로션, 영양로션, 마사지크림, 영양크림, 아이 크림, 모이스처 크림, 핸드크림, 에센스, 영양에센스, 팩, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 클렌징 로션, 클렌징 크림, 바디로션, 바디클렌저, 비누 및 파우더로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 이들 각 제형으로 이루어진 화장료 조성물은 그 제형의 제제화에 필요하고 적절한 각종의 기재와 첨가물을 함유할 수 있으며, 이들 성분의 종류와 양은 당업자에 의해 용이하게 선정될 수 있다.
- [0024] 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라카칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0025] 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 용액 또는 유탁액의 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [0026] 본 발명의 화장료 조성물의 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.
- [0027] 본 발명의 화장료 조성물의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 아세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아마이드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0028] 본 발명의 화장료 조성물의 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.
- [0029] 본 발명의 병풀 부정근 추출물은 화장품으로 제품화되는 경우에 유효성분이 단기간 내에 피부에 머무르게 되는 메이크업 제거제, 세정제 등과 같은 워쉬-오프(wash-off) 타입의 화장품의 경우에는 비교적 높은 농도로 포함될 수 있을 것이다. 반면, 유효성분이 장기간 동안 피부에 머무르게 되는 화장수, 유액, 크림, 에센스 등의 리브-온(leave-on) 타입의 화장품의 경우에는 워쉬-오프 타입의 화장품에 비해 낮은 농도의 병풀 부정근 추출물을 포

함해도 무방할 것이다.

- [0030] 본 발명은 또한, 병풀 부정근 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 및 주름개선용 피부 외용 약학 조성물을 제공한다. 본 발명에 따른 피부 외용 약학 조성물에 있어서, 상기 병풀 부정근 추출물은 병풀 부정근의 에탄올 추출물일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0031] 또한, 본 발명은 병풀 부정근 추출물을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 색소 과다 침착 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0032] 본 명세서에서 용어 "멜라닌 색소 과다 침착(hyperpigmentation)"은 피부 또는 손·발톱의 특정 부위에서 멜라닌의 과도한 증가에 의해 다른 부위에 비해 검게 또는 어둡게 되는 것을 의미한다. 상기 멜라닌 색소 과다침착 질환은 주근깨, 노인성 반점, 간반, 기미, 갈색 또는 흑점, 일광 색소반, 푸른흑피증(cyanic melasma), 약물 사용 후의 과다색소침착, 임신성 갈색반(gravidic chloasma), 또는 찰상 및 화상을 비롯한 상처 또는 피부염으로 인한 염증 후 과다 색소 침착 등을 포함하나 이에 한정되지 않는다.
- [0033] 본 발명의 약학 조성물은 유효성분 이외에 약학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있으며, 이러한 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유향제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 상기 성분 추가 시에는 복합 사용에 따른 피부 안전성, 제형화의 용이성, 유효성분들의 안정성을 고려할 수 있다.
- [0034] 본 발명의 약학 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있으며, 비경구 투여의 경우, 피부에 국소적으로 도포, 정맥 내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물이 멜라닌 색소 과다 침착 질환을 치료 또는 예방을 위해 적용되는 점을 감안하면, 피부에 국소적으로 도포되어 이루어지는 것이 바람직하다.
- [0035] 본 발명의 약학 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 주사제, 크림, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 및 카타플라스마제 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조될 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0036] 본 발명의 약학 조성물은 유효량의 병풀 부정근 추출물을 포함할 때 바람직한 피부 미백 및 주름개선 효과를 제공할 수 있다. 본 발명에 있어서, '유효량'이라 함은 색소 침착을 억제하거나, 주름개선 효과를 나타낼 수 있는 추출물의 양을 의미한다. 본 발명의 조성물에 포함되는 병풀 부정근 추출물의 유효량은 조성물이 제제화되는 형태, 병풀 부정근의 추출물이 피부에 적용되는 방법 및 피부에 머무르는 시간 등에 따라 달라질 것이다. 예컨대, 병풀 부정근 추출물이 의약품으로 제제화되는 경우에는 일상적으로 피부에 적용하게 되는 화장품으로 제제화되는 경우에 비해 높은 농도로 병풀 부정근 추출물을 포함할 수 있을 것이다. 따라서, 일일 투여량은 병풀 부정근 추출물의 양을 기준으로 0.1 내지 100 mg/kg이고, 바람직하게는 30 내지 80 mg/kg이고, 더욱 바람직하게는 50 내지 60 mg/kg이며, 하루 1 ~ 6 회 투여될 수 있다. 본 발명의 병풀 부정근 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 외용 약학 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.
- [0037] 또한, 본 발명은 병풀 부정근의 추출물을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 색소 과다 침착 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0038] 본 발명의 건강기능식품 조성물을 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 건강기능식품 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선)에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시 본 발명의 건강기능식품 조성물은 원료에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가된다. 그러나 건강을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로 사용될 수 있다.
- [0039] 상기 건강기능식품의 종류에 특별한 제한은 없다. 상기 건강기능식품 조성물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙

농제품, 각종 스프, 음료수, 차 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강 식품을 모두 포함한다.

[0040] 또한, 본 발명의 건강기능식품 조성물은 식품, 특히 기능성 식품으로 제조될 수 있다. 본 발명의 기능성 식품은 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소 및 조미제를 포함한다. 예컨대, 드링크제로 제조되는 경우에는 유효성분 이외에 천연 탄수화물 또는 향미제를 추가 성분으로서 포함시킬 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 모노사카라이드(예컨대, 글루코오스, 프럭토오스 등), 디사카라이드(예컨대, 말토스, 수크로오스 등), 올리고당, 폴리사카라이드(예컨대, 텍스트린, 시클로텍스트린 등), 또는 당알코올(예컨대, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등)인 것이 바람직하다. 상기 향미제는 천연 향미제(예컨대, 타우마틴, 스테비아 추출물 등)와 합성 향미제(예컨대, 사카린, 아스파르탐 등)를 이용할 수 있다.

[0041] 상기 건강기능식품 조성물 이외에 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 더 함유할 수 있다. 이러한 상기 첨가되는 성분의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 건강기능식품 조성물 100 중량부에 대하여, 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0042] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0043] **제조예 1. 병풀 부정근 추출물의 제조**

[0044] (1) 병풀 부정근 70% 에탄올 추출물 제조

[0045] 건조된 병풀 부정근(충북대학교 첨단원예기술개발센터 제공) 10 g에 70%(v/v) 에탄올 수용액 100 ml를 가한 후, 24시간 동안 상온추출하여 0.45 μm 필터로 여과하고 감압농축 및 열풍건조하였다.

[0046] (2) 병풀 부정근 물 추출물 제조

[0047] 건조된 병풀 부정근 10 g에 정제수 100 ml를 가한 후, 24시간 동안 상온추출하여 0.45 μm 필터로 여과하고 감압농축 및 열풍건조하였다.

[0048] (3) 병풀 70% 에탄올 추출물 제조

[0049] 건조된 병풀 잎(피에르파브르(프랑스)에서 구입) 10 g에 70%(v/v) 에탄올 수용액 100 ml를 가한 후, 24시간 동안 상온추출하여 0.45 μm 필터로 여과하고 감압농축 및 열풍건조하였다.

[0050] (4) 병풀 물 추출물 제조

[0051] 건조된 병풀 잎 10 g에 정제수 100 ml를 가한 후, 24시간 동안 상온추출하여 0.45 μm 필터로 여과하고 감압농축 및 열풍건조하였다.

[0052] **실시예 1. 세포 독성 측정**

[0053] 상기 제조예 1에서 제조한 병풀 부정근 및 병풀의 물 또는 에탄올 추출물에 대하여 세포 독성을 측정하였다. 0.5 μg/ml LPS(lipopolysaccharide)로 염증반응을 유발시킨 마우스 대식세포(RAW264.7)를 96-웰 플레이트에 2 × 10⁵ 세포/웰로 분주하여 24시간 배양한 후, NMMA 50 μg/ml, 인도메타신(Indomethacin) 2 ng/ml 및 각각의 추출물 시료를 100 또는 200 μg/ml로 처리하고 48시간 배양한 후, MTT 어세이를 수행하여 세포 생존율을 측정하였다.

[0054] 그 결과 도 1에 나타나는 바와 같이 병풀 또는 병풀 부정근 추출물은 세포 독성을 나타내지 않음을 알 수 있었다.

[0055] **실시예 2. 항염 활성 분석**

[0056] 상기 실시예 1과 동일하게 LPS로 염증반응을 유발한 RAW264.7 세포를 96-웰 플레이트에 분주하여 24시간 배양하고, 병풀 또는 병풀 부정근의 추출물 시료를 각각 처리하고 48시간 배양한 후, 그리스 시약(Griess reagent)을 이용하여 NO의 생성량을 측정하였다.

[0057] 그 결과 도 2에 나타난 것과 같이, NMMA(Mono-methyl-L-arginine) 처리구에서는 NO 생성이 억제되지 않았으나, 인도메타신 처리구(indo)에서는 LPS 처리에 의해 증가된 NO 생성이 감소된 것을 확인할 수 있었다. 또한, 병풀 부정근의 70% 에탄올 추출물을 처리한 군에서 NO 생성이 억제되는 것을 확인할 수 있었다. 동일한 시료를 사용

한 병풀 부정근의 물 추출물과, 병풀의 물 추출물 및 에탄올 추출물은 모두 NO 생성 억제 활성이 없음을 알 수 있었다.

[0058] **실시예 3. 항산화 활성 분석**

[0059] 제조예 1에서 제조한 병풀 또는 병풀 부정근의 70% 에탄올 추출물의 항산화 활성을 분석하였다. 간단하게, 0.1 mM DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 190 μ l와 추출물 시료 10 μ l를 혼합한 후, 암실에서 30분간 반응시킨 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하여 라디칼 소거능을 평가하였다.

[0060] 그 결과, 하기 표 1과 같이 병풀 부정근의 70% 에탄올 추출물이 병풀 70% 에탄올 추출물보다 DPPH 라디칼 소거 활성이 강하게 나타나는 것으로 확인되었다.

표 1

DPPH 라디칼 소거 활성

	병풀 부정근 에탄올 추출물	병풀 에탄올 추출물
IC ₅₀ (μ g/ml)	18.5 \pm 4.6	184.0 \pm 9.8

[0062] **실시예 4. 미백 효능 평가**

[0063] 제조예 1에서 제조한 추출물의 멜라닌 합성 억제 효과를 평가하기 위해 마우스 흑색종 세포(B-16 melanoma cell)를 10% FBS가 포함된 DMEM 배지를 사용하여 배양하였고, 6-웰 플레이트에 3×10^5 세포/웰로 분주하여 24 시간 배양한 후, 50 μ g/ml 코직산(kojic acid) 또는, 50, 100 및 200 μ g/ml 농도의 각 추출물을 처리하고, 3일간 배양하였다. 배양 후, PBS로 2회 세척하고 세포에 트립신을 처리하여 배양 용기로부터 세포를 떼어내 원심분리하여 세포 침전물을 얻었다. 추출된 멜라닌에 1N 수산화나트륨 용액 1 ml을 가하여 약 10분동안 끓여 멜라닌을 녹이고 400 nm에서 흡광도를 측정하였다. 멜라닌 양은 합성 멜라닌을 사용하여 작성된 표준직선에 의해 구하고, 실험군의 멜라닌 양은 대조군의 멜라닌 양에 대한 백분율로 계산하였다. 또한, B-16 세포에 대한 추출물의 독성을 MTT 어세이를 통해 분석하였다.

[0064] 그 결과, 병풀 또는 병풀 부정근의 물 및 70% 에탄올 추출물 모두 세포 독성을 나타내지 않았으며(도 3), 병풀 및 병풀 부정근의 물 추출물은 멜라닌 합성 억제능이 없는 것으로 확인되었다. 그러나, 병풀 부정근의 70% 에탄올 추출물은 200, 100 및 50 μ g/ml 농도 처리 조건에서 각각 78.8, 65.1 및 46.8%의 멜라닌 합성 억제 효과를 보였으며, 병풀 70% 에탄올 추출물은 200, 100 및 50 μ g/ml 농도 처리 조건에서 각각 29.1, 22.5 및 0%의 멜라닌 합성 억제 효과를 보여, 병풀 부정근의 에탄올 추출물이 병풀 에탄올 추출물에 비해 멜라닌 합성 억제 효과가 현저히 우수함을 확인할 수 있었다(도 4).

[0065] 또한, 병풀 부정근의 에탄올 추출물과 병풀 에탄올 추출물의 티로시나제 활성 저해능을 분석하였다. 간단하게, 0.1 M 인산나트륨 버퍼 220 μ l와 200 μ g/ml의 추출물 시료 20 μ l를 혼합한 후, 1.5 mM L-티로신 40 μ l, 1,500 unit/ml로 제조된 버섯 티로시나제(mushroom tyrosinase) 20 μ l를 첨가하고, 37°C에서 15분간 반응시킨 후, 490 nm에서 흡광도를 측정하여 생성된 도파크롬(dopachrome)의 양을 평가하였다. 그 결과 하기 표 2에서 나타나는 바와 같이, 병풀 부정근 70% 에탄올 추출물의 티로시나제 활성 저해능이 병풀 70% 에탄올 추출물과 유의적인 차이를 보이지 않는 것을 확인할 수 있었다.

[0066] 상기의 결과를 통하여 병풀 부정근의 70% 에탄올 추출물은 멜라닌 색소의 합성을 저해시키는 효과가 우수하나, 티로시나제 효소의 활성 억제에 의한 효과가 아닌 다른 기작에 의한 효과임을 유추할 수 있었다.

표 2

티로시나제 저해 활성

	병풀 부정근 에탄올 추출물	병풀 에탄올 추출물
티로시나제 활성 저해능(%)	26.6 \pm 1.7	30.6 \pm 11.5

[0068] **실시예 5. 주름개선 효능 평가**

[0069] 제조예 1에서 제조한 추출물의 주름개선 효능을 확인하기 위하여 기질금속단백질분해효소-1(matrix

metalloprotease-1, MMP-1) 및 MMP-3 단백질의 합성 저해 효과와 프로콜라겐 단백질의 합성 촉진 효과를 분석하였다. 간단하게, 40 mm 세포 배양 접시에 2 ml의 DMEM 배양액을 넣고, 인간 섬유아세포(fibroblast cell)를 약 1.2×10^5 세포/dish의 농도로 접종한 후 37°C, 5% 이산화탄소 환경에서 24시간 동안 배양하였다. 그 후, UVB를 144 mJ/cm^2 조건으로 조사한 후, 각 추출물 시료를 포함한 배지로 교체하여 3일간 배양하였다. 이후 세포 배양액을 회수하여 4°C, 7,500 rpm으로 5분간 원심분리하여 상층액을 회수하고, Human total MMP-1/3 키트(R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA)를 사용하여 MMP-1과 MMP-3의 단백질 발현량 변화를 확인하였다.

[0070] 그 결과, 자외선 조사 처리한 인간 섬유아세포는 자외선 무처리군에 비해 MMP-1 단백질의 생성량이 약 2배 증가하였으며, 자외선 조사 처리로 인한 MMP-1 단백질의 증가된 생성량은 병풀 부정근의 에탄올 추출물 또는 병풀 에탄올 추출물을 200 µg/ml 농도로 처리한 후 각각 58.6% 및 23.1% 수준 감소되는 것이 확인되었고, 특히, 병풀 부정근의 에탄올 추출물은 자외선 무처리군과 유사한 수준을 보이는 것을 알 수 있었고, 이를 통해 병풀 부정근의 에탄올 추출물이 MMP-1의 생성을 매우 효과적으로 저해하는 것을 알 수 있었다(도 5A). MMP-3 단백질의 생성량에 있어서도 병풀 부정근의 에탄올 추출물 또는 병풀 에탄올 추출물의 200 µg/ml 처리 조건에서 각각 36.9% 및 22.3%의 MMP-3 단백질 생성 저해 효과가 있음을 관찰할 수 있었다(도 5B). 특히, 동일한 병풀 부정근을 사용하였으나, 물로 추출한 경우에는 이와 같은 MMP 단백질의 생성 저해 효과가 확인되지 않는 것이 관찰되었고, 이와 같은 결과를 통해, 본 발명의 병풀 부정근의 에탄올 추출물은 주름생성의 원인이 되는 MMP-1과 MMP-3 단백질의 생성을 효과적으로 억제하여 피부 주름의 예방 및 개선에 효과적으로 사용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0071] 또한, 본 발명의 각 추출물이 콜라겐 생성에 미치는 영향을 확인하기 위해, 상기 MMP 단백질의 생성 저해 효과를 확인한 실험 조건과 동일하게 세포를 준비하고, UVB 조사된 세포의 배양액에서 타입 I 프로콜라겐의 단백질 발현량 변화를 Procollagen Type I C Peptide EIA 키트(Takara, Shiga, Japan)를 이용하여 확인하였다.

[0072] 그 결과, 자외선 조사 처리한 인간 섬유아세포는 자외선 무처리군에 비해 타입 I 프로콜라겐 단백질의 생성이 현저하게 감소하였으며, 이렇게 감소된 타입 I 프로콜라겐 단백질의 생성량은 병풀 부정근의 에탄올 추출물 또는 병풀 에탄올 추출물을 200 µg/ml로 처리한 조건에서 각각 319.4%와 266.2% 증가되는 것으로 확인되었다(도 6). MMP 단백질의 생성 저해능 실험과 같이, 병풀 부정근의 물 추출물은 프로콜라겐의 생성 촉진 효과가 확인되지 않았다. 상기의 결과를 통하여 본 발명의 병풀 부정근의 70% 에탄올 추출물은 타입 I 프로콜라겐의 생성을 촉진시키고, 콜라겐 분해 효소인 MMP-1과 MMP-3의 발현을 억제하는 작용을 통해, 주름 생성을 효과적으로 예방하고, 생성된 주름을 개선하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

[0073] <제형예 1> 유연 화장수(스킨)의 제조

[0074] 하기와 같이, 제조예 1-(1)에서 수득한 병풀 부정근 에탄올 추출물을 함유한 유연 화장수(스킨)를 통상의 방법에 따라 하기 표의 조성으로 제조하였다.

표 3

유연 화장수 배합 조성

[0075]

성분	합량(단위:중량%)
병풀 부정근 에탄올 추출물	2.0
글리세린	5.0
1,3-부틸렌글리콜	3.0
피이지1500	1.0
알란토인	0.1
DL-판테놀	0.3
EDTA-2Na	0.02
벤조페논-9	0.04
소듐 히아루로네이트	5.0
에탄올	10.0
옥티도데세스-16	0.2
폴리솔베이트 20	0.2
방부제, 향, 색소	미량
증류수	잔량
합계	100

[0076] <제형예 2> 영양 화장수(로션)의 제조

[0077] 하기와 같이, 제조예 1-(1)에서 수득한 병풀 부정근 에탄올 추출물을 함유한 영양화장수(로션)를 통상의 방법에 따라 하기 표의 조성으로 제조하였다.

표 4

[0078] 영양 화장수 조성

성분	합량(단위: 중량%)
병풀 부정근 에탄올 추출물	2.0
글리세릴 스테아레이트SE	1.5
스테아릴 알콜	1.5
라놀린	1.5
폴리솔베이트 60	1.3
솔비탄스테아레이트	0.5
경화식물유	1.0
광물유	5.0
스쿠알란	3.0
트리옥타노인	2.0
디메치콘	0.8
초산토코페롤	0.5
카르복시비닐폴리머	0.12
글리세린	5.0
1,3-부틸렌글리콜	3.0
소듐히아루로네이트	5.0
트리 에탄올아민	0.12
방부제, 향, 색소	미량
증류수	잔량
합계	100

[0079] <제형예 3> 영양크림의 제조

[0080] 하기와 같이, 제조예 1-(1)에서 수득한 병풀 부정근 에탄올 추출물을 함유한 영양크림을 통상의 방법에 따라 하기 표의 조성으로 제조하였다.

표 5

[0081] 영양크림 조성

성분	합량(단위: 중량%)
병풀 부정근 에탄올 추출물	2.0
친유형 모노스테아린산글리세린	2.0
세테아릴알콜	2.2
스테아린산	1.5
밀납	1.0
폴리솔베이트 60	1.5
솔비탄스테아레이트	0.6
경화식물유	1.0
스쿠알란	3.0
광물유	5.0
트리옥타노인	5.0
디메치콘	1.0
소듐마그네슘실리케이트	0.1
글리세린	5.0
베타인	3.0
트리에탄올아민	1.0
소듐히아루로네이트	4.0
방부제, 향, 색소	미량

증류수	잔량
합계	100

[0082] <제형예 4> 에센스의 제조

[0083] 하기와 같이, 제조예 1-(1)에서 수득한 병풀 부정근 에탄올 추출물을 함유한 에센스를 통상의 방법에 따라 하기 표의 조성으로 제조하였다.

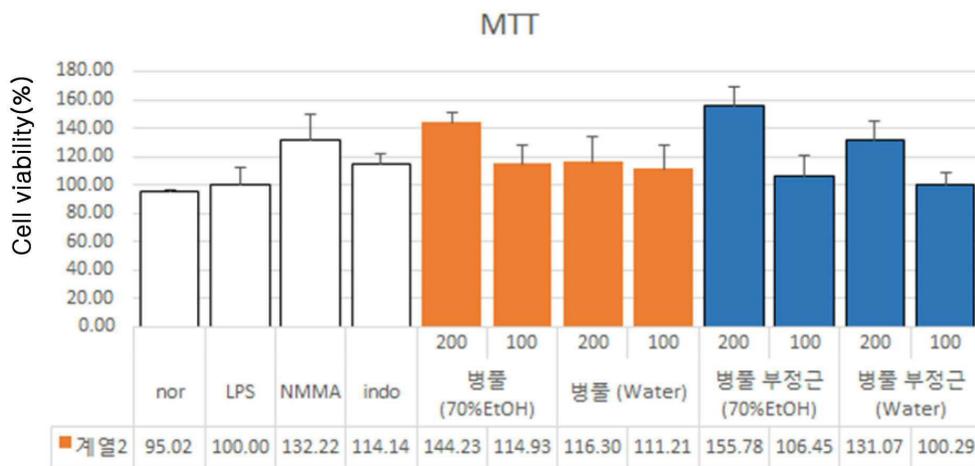
표 6
에센스 조성

[0084]

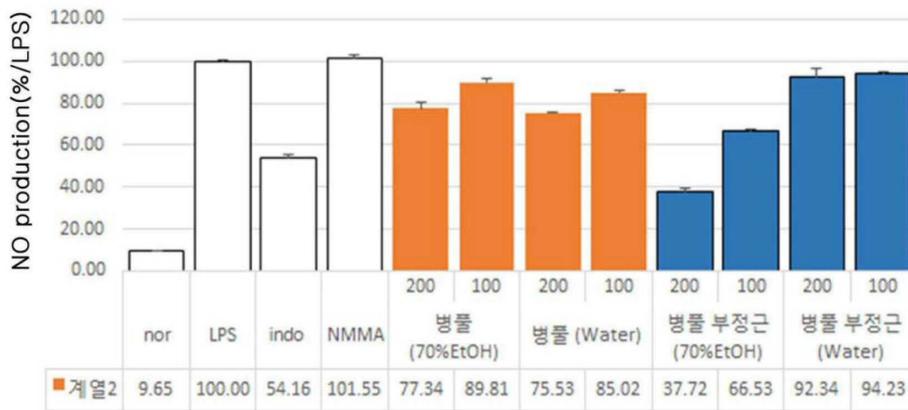
성분	함량(단위:중량%)
병풀 부정근 에탄올 추출물	2.0
글리세린	10.0
베타인	5.0
피이지 1500	2.0
알란토인	0.1
DL-판테놀	0.3
이.디.티.에이-2Na	0.02
벤조페논-9	0.04
히드록시에칠 셀룰로오스	0.1
소듐히아루로네이트	8.0
카르복시비닐폴리머	0.2
트리에탄올아민	0.18
옥틸도데칸올	0.3
옥틸도데세스-16	0.4
에탄올	6.0
방부제, 향, 색소	미량
증류수	잔량
합계	100

도면

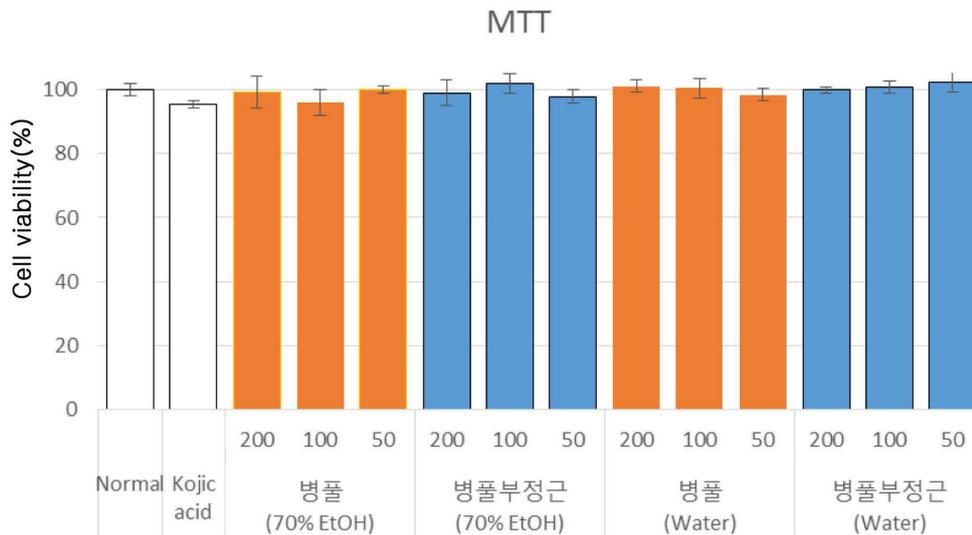
도면1



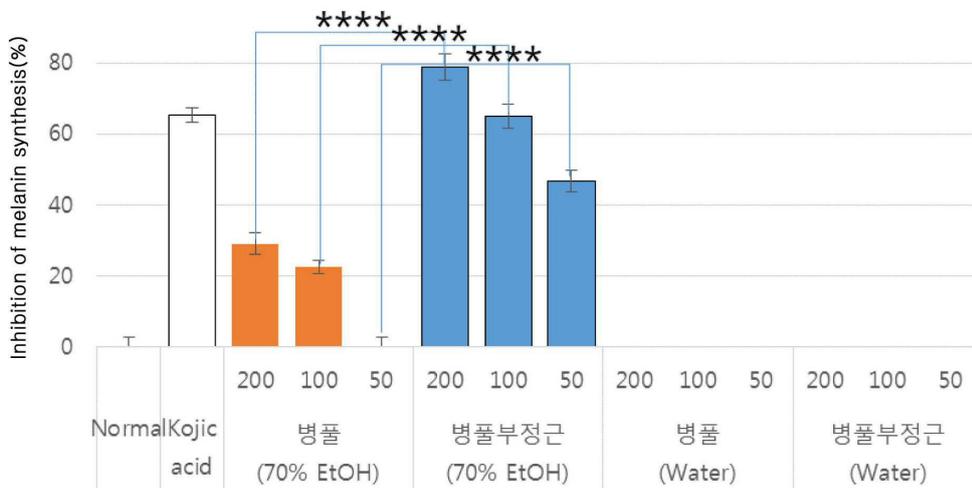
도면2



도면3

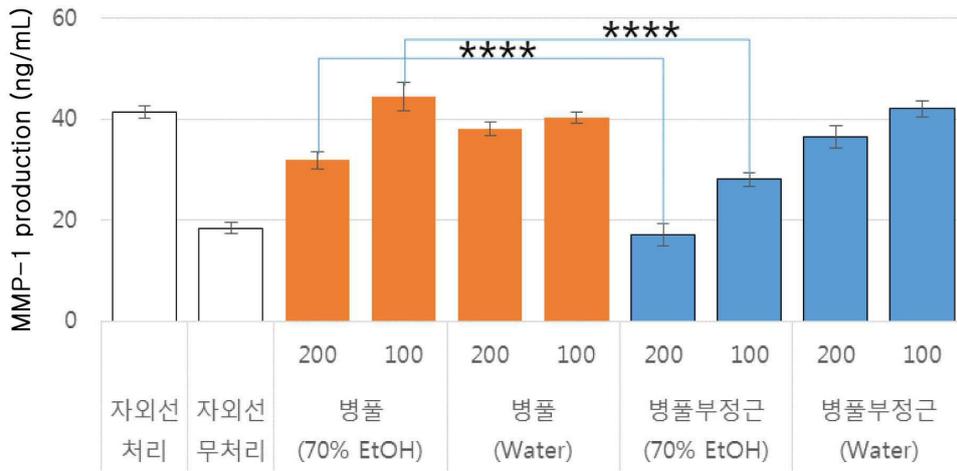


도면4

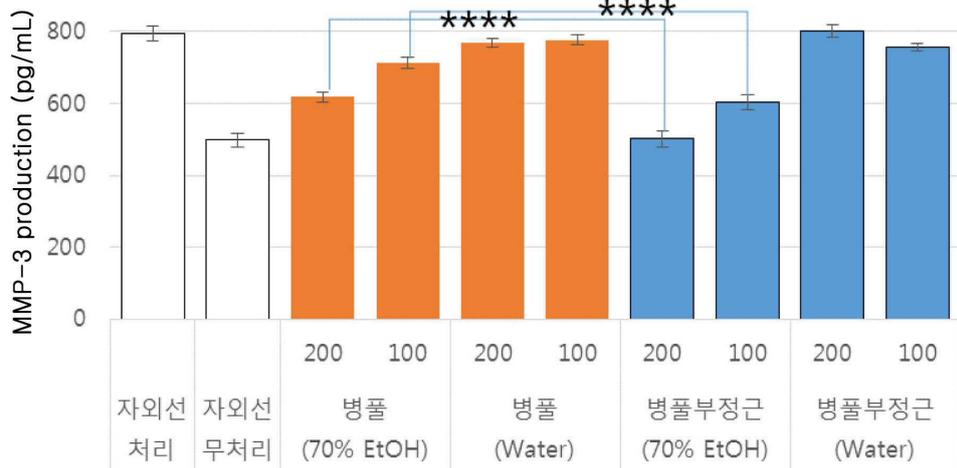


도면5

A



B



도면6

