



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2020년11월27일  
(11) 등록번호 10-2183896  
(24) 등록일자 2020년11월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 8/97 (2017.01) A23L 33/105 (2016.01)  
A61K 36/736 (2006.01) A61K 36/896 (2006.01)  
A61Q 19/00 (2006.01) A61Q 19/02 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A61K 8/97 (2013.01)  
A23L 33/105 (2016.08)  
(21) 출원번호 10-2016-0160306  
(22) 출원일자 2016년11월29일  
심사청구일자 2018년11월26일  
(65) 공개번호 10-2018-0060608  
(43) 공개일자 2018년06월07일  
(56) 선행기술조사문헌  
대한미용학회지, 제9권, 제2호, 105~114쪽, 2013  
년 6월 공개\*  
대한민국 공개특허공보 제10-2004-0064570호  
(2004.07.19. 공개)\*  
일요주간, 살구씨 성분 ‘아미그달린’ 대체의학에  
서 향암제로. [online], (2014.05.30 공개)\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
주식회사 엘지생활건강  
서울특별시 종로구 새문안로 58 (신문로2가)  
(72) 발명자  
홍초영  
대전광역시 유성구 가정로 175  
황승진  
대전광역시 유성구 가정로 175  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 22 항

심사관 : 정영선

(54) 발명의 명칭 **피부 개선용 조성물**

**(57) 요약**

본 발명은 피부 개선용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물은 멜라닌 총량을 현저히 감소시켜 미백 효과를 나타내고, 피부의 섬유아세포의 콜라겐 합성을 촉진하며, 엘라스테이스 활성을 저해하여 주름을 개선하며 탄력을 증진시키고, 산화질소(NO) 생성을 억제하여 항염증 효과를 나타내며, 자유 라디칼을 소거하여 항산화 효과, 당화를 억제하는 항당화 효과를 통해, 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화용 의약, 화장품 또는 식품 제조에 사용할 수 있다.

(52) CPC특허분류

**A61K 36/736** (2013.01)

**A61K 36/896** (2013.01)

**A61Q 19/00** (2013.01)

**A61Q 19/02** (2013.01)

**A23V 2002/00** (2013.01)

**A23V 2200/318** (2013.01)

**A61K 2300/00** (2013.01)

(72) 발명자

**진무현**

대전광역시 유성구 가정로 175

**추정하**

대전광역시 유성구 가정로 175

**장윤희**

대전광역시 유성구 가정로 175

**김태윤**

대전광역시 유성구 가정로 175

**김윤선**

대전광역시 유성구 가정로 175

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물.

#### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

맥문동 추출물은 맥문동을 물 및 유기용매로 이루어진 균에서 선택된 하나 이상으로 추출하여 얻은 추출물이고, 행인 추출물은 행인을 물 및 유기용매로 이루어진 균에서 선택된 하나 이상으로 추출하여 얻은 추출물인 피부 미백용 화장품 조성물.

#### 청구항 3

제 2 항에 있어서,

유기 용매는 탄소수 1 내지 5의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 또는 아세톤을 포함하는 극성용매; 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산 또는 디클로로헥산을 포함하는 비극성용매; 또는 이들의 혼합용매인 피부 미백용 화장품 조성물.

#### 청구항 4

맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 식품 조성물.

#### 청구항 5

맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 탄력 증진 또는 주름 개선용 화장품 조성물.

#### 청구항 6

제 5 항에 있어서,

맥문동 추출물은 맥문동을 물 및 유기용매로 이루어진 균에서 선택된 하나 이상으로 추출하여 얻은 추출물이고, 행인 추출물은 행인을 물 및 유기용매로 이루어진 균에서 선택된 하나 이상으로 추출하여 얻은 추출물인 피부 탄력 증진 또는 주름 개선용 화장품 조성물.

#### 청구항 7

제 6 항에 있어서,

유기 용매는 탄소수 1 내지 5의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 또는 아세톤을 포함하는 극성용매; 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산 또는 디클로로헥산을 포함하는 비극성용매; 또는 이들의 혼합용매인 피부 탄력 증진 또는 주름 개선용 화장품 조성물.

**청구항 8**

맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 탄력 증진 또는 주름 개선용 식품 조성물.

**청구항 9**

맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 항염증용 화장료 조성물.

**청구항 10**

제 9 항에 있어서,

맥문동 추출물은 맥문동을 물 및 유기용매로 이루어진 균에서 선택된 하나 이상으로 추출하여 얻은 추출물이고, 행인 추출물은 행인을 물 및 유기용매로 이루어진 균에서 선택된 하나 이상으로 추출하여 얻은 추출물인 항염증용 화장료 조성물.

**청구항 11**

제 10 항에 있어서,

유기 용매는 탄소수 1 내지 5의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 또는 아세톤을 포함하는 극성용매; 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산 또는 디클로로헥산을 포함하는 비극성용매; 또는 이들의 혼합용매인 항염증용 화장료 조성물.

**청구항 12**

맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 항염증용 식품 조성물.

**청구항 13**

맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화용 화장료 조성물.

**청구항 14**

제 13 항에 있어서,

맥문동 추출물은 맥문동을 물 및 유기용매로 이루어진 균에서 선택된 하나 이상으로 추출하여 얻은 추출물이고, 행인 추출물은 행인을 물 및 유기용매로 이루어진 균에서 선택된 하나 이상으로 추출하여 얻은 추출물인 항산화용 화장료 조성물.

**청구항 15**

제 14 항에 있어서,

유기 용매는 탄소수 1 내지 5의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 또는 아세톤을 포함하는 극성용매; 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산 또는 디클로로헥산을 포함하는 비극성용매; 또는 이들의 혼합용매인 항산화용 화장료 조성물.

**청구항 16**

맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화용 식품 조성물.

**청구항 17**

맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 항당화용 화장품 조성물.

**청구항 18**

제 17 항에 있어서,

맥문동 추출물은 맥문동을 물 및 유기용매로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상으로 추출하여 얻은 추출물이고, 행인 추출물은 행인을 물 및 유기용매로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상으로 추출하여 얻은 추출물인 항당화용 화장품 조성물.

**청구항 19**

제 18 항에 있어서,

유기 용매는 탄소수 1 내지 5의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 또는 아세톤을 포함하는 극성용매; 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산 또는 디클로로헥산을 포함하는 비극성용매; 또는 이들의 혼합용매인 항당화용 화장품 조성물.

**청구항 20**

맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 항당화용 식품 조성물.

**청구항 21**

맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 과색소 침착증 개선용 피부 외용제.

**청구항 22**

맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 염증 질환 예방 또는 치료용 의약 조성물.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 피부 미백, 탄력 증진, 주름 개선, 항염증, 항산화, 항당화 효과를 나타내는 피부 개선용 조성물에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0003] 희고 고운 피부를 갖고자 하는 것은 일반적인 소망이다. 피부의 색깔 또는 밝기는 사람의 피부 내 멜라닌(melanin)의 농도와 분포에 따라 유전적으로 결정되나, 태양 자외선, 피로 또는 스트레스 등의 환경적 또는 생

리적 조건에 의해서도 영향을 받는다. 멜라닌은 아미노산의 일종인 티로신(tyrosine)에 티로시나제(tyrosinase)라는 효소가 촉매로 작용하여 도파(DOPA) 및 도파퀴논(dopaquinone)으로 순차적으로 바뀐 후, 비효소적인 산화반응을 거쳐 만들어진다. 이와 같이 멜라닌이 만들어지는 경로는 알려져 있으나, 멜라닌 합성을 유도하는 메커니즘에서 티로시나제가 촉발되는 원인이 무엇인지에 대해서는 아직도 자세히 밝혀지지 않고 있다.

[0004] 한편, 일반적으로 알려진 미백 성분으로서, 코지산(Kojic acid) 또는 알부틴(Arbutin) 등과 같은 티로시나제 효소활성을 억제하는 물질, 하이드로퀴논(Hydroquinone), 비타민 C(L-Ascorbic acid) 또는 이들의 유도체와 각종 식물 추출물이 있다. 이들은 멜라닌 색소의 합성을 저해함으로써, 피부 톤을 밝게 하여 피부 미백을 실현할 수 있을 뿐만 아니라, 자외선, 호르몬 또는 유전에 기인한 기미나 주근깨 등의 피부 과색소 침착증의 개선이 가능하다. 그러나 피부 적용 시, 자극과 발적 등의 안전성의 문제로 사용량의 제한이 있거나, 효과가 미미하여 실질적인 효과를 기대할 수 없는 문제점이 있다.

[0005] 또한, 콜라겐은 피부의 섬유아세포에서 생성되는 주요 기질 단백질로서 세포외 간질에 존재하고, 중요한 기능으로는 피부의 기계적 견고성, 결합조직의 저항력과 조직의 결합력, 세포접착의 지탱, 세포분할과 분화(유기체의 성장 혹은 상처 치유시)의 유도 등이 알려져 있다. 이러한 콜라겐은 연령 및 자외선 조사에 의한 광 노화에 의해 감소하며, 이는 피부의 주름 형성과 밀접한 연관이 있다고 알려져 있다. 또한, 근래에 들어 피부 노화에 대한 광범위한 연구가 발전되면서 피부에서의 콜라겐의 중요한 기능이 밝혀지고 있다.

[0006] 콜라겐 합성을 촉진하여 주름 개선 효과를 나타내는 유효성분들이 알려져 있다. 예를 들어, 레티노산(retinoic acid), TGF(transforming growth factor)[비특허문헌 1], 동물 대반 유래의 단백질[특허문헌 1], 베틀린산(betulinic acid)[특허문헌 2], 클로렐라 추출물[특허문헌 3, 4] 등이 콜라겐 합성 촉진 물질로서 알려져 있다. 그러나, 상기 유효성분들은 피부 적용 시 자극과 발적 등의 안전성의 문제로 사용량의 제한이 있거나, 효과가 미미하여 실질적으로 피부의 콜라겐 합성을 촉진하여 피부 기능을 개선하는 효과를 기대할 수 없는 문제점이 있다.

[0007] 또한, 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.

[0008] 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(benzylamine) 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.

[0009] 한편, 생체 외부로부터 유입되거나, 생체 내에서 발생하는 활성 산소는 생체의 노화를 촉진시키거나, 암을 발생시키는 등 많은 문제의 원인이 된다. 따라서 활성 산소에 의한 산화를 억제하는 항산화 물질에 대한 개발 및 연구가 많이 이루어지고 있다. 항산화 물질은 동, 식물계에 널리 분포되어 있으며 과일과 채소에 많은 페놀성 화합물, 플라보노이드, 토코페롤, 비타민 C, 셀레늄 등이 알려져 있다. 다만, 천연에 존재하는 항산화 물질은 피부 적용 시 실질적으로 충분한 효과를 기대할 수 없는 실정이다. 따라서, 항산화력이 뛰어나고 가격이 저렴한 합성 항산화제가 많이 사용되고 있으나, 인체 부작용 등 안전성에 대한 우려로 그 사용이 제한된다.

[0010] 당화(Glycation)는 일반적으로 효소의 관여 없이 일어나는 단백질 또는 지방에 포도당 또는 과당과 같은 단순당이 공유결합을 형성하는 반응을 의미한다. 최종당화산물의 축적은 단백질을 단단하고 더욱 부서지기 쉬운 상태로 변화시키며, 당화된 콜라겐은 진피층의 세포 외 기질에서 콜라겐이 적절한 구조를 형성하지 못하도록 함으로써 피부의 탄력을 잃게 하고 주름 생성을 촉진한다[비특허문헌 2]. 또한 당화로 인해 생성된 최종당화산물은 갈색 빛을 띠는 물질로써, 피부 노화가 진행되면서 점차 얼굴빛이 노랗게 변하는 원인 물질로 생각되고 있으며, 특정 최종당화산물이 쌓일수록 피부에서 반사되는 반사 빛이 줄어든다고 알려져 있다[비특허문헌 3]. 당화를 억제하는 물질로 아미노구아니딘(Aminoguanidine), 피리독사민(Pyridoxamine), 아스피린(Aspirin) 등이 알려져 있으나, 이들 물질은 피부에 대한 안전성의 문제로 사용량의 제한이 있거나, 효과가 미미하여 실질적으로 효과

를 기대할 수 없는 문제점이 있다.

- [0011] 또한, 생체에 안전하고, 유효성분이 안정하며, 무엇보다도 기존의 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증 및/또는 항산화 효과가 있는 물질보다 효과가 우수한 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증 및/또는 항산화 활성을 지닌 성분의 개발이 절실히 요망되고 있다.
- [0012] 한편, 맥문동(Lycium chinense)는 맥문동(Liriope platyphylla Wang et Tang) 또는 소엽맥문동(Ophiopogon japonicus Ker-Gawler) 뿌리의 팽대부(膨大部)를 의미한다.
- [0013] 맥문동은 진액을 보하는 대표적인 약으로 폐음손상으로 인한 마른기침, 각혈, 가래, 해수에 쓰며, 위음부족으로 인한 갈증, 소갈 및 변비에도 사용한다. 음혈 소상으로 가슴이 답답하고 팔다리를 가만히 두지 못하는 증상과 불면증에 사용한다.
- [0014] 맥문동(麥門冬)은 맥문동(麥冬), 계전초(階前草), 여동(麗冬), 마구(馬), 맥동(麥冬), 불사약(不死藥), 애구(愛), 양구(羊), 양기(羊耆), 우구(禹), 우여량(禹餘糧), 인동(忍冬), 인릉(忍凌), 문동(冬), 복루(僕), 수지(隨脂)라고도 한다.
- [0015] 또한, 행인(Armeniaca Semen)은 살구나무(*Prunus armeniaca* Linne var. *ansu* Maximowicz), 개살구나무(*Prunus mandshurica* Koehne var. *glabra* Nakai), 시베리아살구(*Prunus sibirica* Linne) 또는 아르메니아살구(*Prunus armeniaca* Linne, 장미과 Rosaceae)의 잘 익은 씨로서, 담(痰)을 제거하고 기침과 천식을 멎게 하며 장(腸)을 촉촉하게 하는 약재이다.

### 선행기술문헌

#### 특허문헌

- [0016] (특허문헌 0001) 일본 특개 평8-231370호
- (특허문헌 0002) 일본 특개 평8-208424호
- (특허문헌 0003) 일본 특개 평9-40523호
- (특허문헌 0004) 일본 특개 평10-36283호

#### 비특허문헌

- [0017] (비특허문헌 0001) Cardinale G. et al, Adv. Enzymol., 41, p. 425, 1974
- (비특허문헌 0002) Dyer, D. G. et al, The Journal of Clinical Investigation., 9, p. 2463, 1993
- (비특허문헌 0003) Hiroshi, O. et al, Skin Research and Technology, 15, p. 496, 2009

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

- [0018] 이에, 본 발명자들은 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물이 멜라닌 총량을 현저히 감소시켜 미백 효과를 나타내고, 피부의 섬유아세포의 콜라겐 합성을 촉진하며, 엘라스테이즈 활성을 저해하여 주름을 개선하며 탄력을 증진시키고, 산화질소(NO) 생성을 억제하여 항염증 효과를 나타내며, 자유 라디칼을 소거하는 항산화 효과 및 당화를 억제하는 항당화 효과를 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.
- [0019] 따라서, 본 발명의 목적은 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화용 조성물을 제공하는데 있다.

#### 과제의 해결 수단

- [0021] 상기 과제를 해결하기 위한 수단으로서, 본 발명은 의약, 화장품 또는 식품 제조를 위한, 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화

및/또는 항당화용 조성물을 제공한다.

**발명의 효과**

[0023] 본 발명에 따른 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물은 멜라닌 총량을 현저히 감소시켜 미백 효과를 나타내고, 피부의 섬유아세포의 콜라겐 합성을 촉진하며, 엘라스테이즈 활성을 저해하여 주름을 개선하며 탄력을 증진시키고, 산화질소(NO) 생성을 억제하여 항염증 효과를 나타내며, 자유 라디칼을 소거하여 항산화 효과 및 당화를 억제하는 항당화 효과를 나타냄으로써, 의약, 화장품 또는 식품 제조에 사용할 수 있다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0025] 이하, 본 발명의 구성을 구체적으로 설명한다.
- [0026] 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화 성분이 실제 피부에 적용 시 우수한 효과를 발휘하기 위해서는 저농도에서 고효성의 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화 활성을 나타내고, 피부를 투과하여 흡수되는 능력이 우수하고, 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화 효과를 나타내기에 충분한 시간 동안 머무를 수 있도록 휘발성이 낮고, 조성물이나 피부 상에서 활성 성분이 안정하게 유지되고, 의약, 화장품 또는 식품 등으로의 제조가 용이하며, 또한 피부에 안전한 것이 바람직하다. 그러나, 공지 성분 중 상기 특성을 모두 만족시키는 성분은 흔치 않다. 예를 들어, 몇몇 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화 성분들은 시험관 내 실험 시 저농도에서도 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화 활성은 우수하나, 피부를 투과하여 흡수되는 능력이 떨어져 실제 피부에 적용하기엔 어렵다. 또 다른 활성 성분들은 친수성이 낮아 의약이나 화장품, 식품으로 제형화가 어렵다. 또한, 몇몇 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화 성분들은 열, 광, 또는 산소에 노출되었을 때 상기 활성 성분이 분해되거나 다른 화합물로 변형되어 피부에 적용하기 전에 이미 효과가 사라지는 경우도 있다.
- [0027] 하기 실시예에서 확인할 수 있는 바와 같이, 맥문동 추출물 및 행인 추출물은 저농도에서 월등히 우수한 멜라닌 총량 감소 효과, 항당화 효과, 콜라겐 합성 촉진 효과, 항염증, 항산화 및/또는 항당화를 위한 의약, 화장품 또는 식품 조성물의 유효성분으로 사용할 수 있다.
- [0028] 따라서, 본 발명은 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화용 조성물을 제공한다.
- [0029] 본 발명에서 맥문동은 외떡잎식물 백합목 백합과의 여러해살이풀로, 학명은 *Liriope platyphylla*이다. 또한, 행인은 살구나무의 잘 익은 씨이다.
- [0030] 상기 맥문동 추출물 또는 행인 추출물은 당업계에 공지된 방법에 의해 추출될 수 있으며, 그 방법은 특별히 한정되지 않는다. 또는, 시판되고 있는 추출물을 이용할 수 있다.
- [0031] 바람직하기로는 상기 맥문동 추출물 또는 행인 추출물은 맥문동 또는 행인을 물 및/또는 유기용매로 추출하여 수득한 추출물을 사용할 수 있으며, 상기 유기용매는 극성 유기용매, 비극성 유기용매 또는 이들의 혼합용매일 수 있다. 상기 극성 유기용매는 탄소수 1 내지 5의 저급 알코올, 에틸아세테이트 또는 아세톤일 수 있으며, 비극성 유기용매는 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산 또는 디클로로메탄일 수 있다. 예를 들어, 상기 탄소수 1 내지 5의 저급 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올 또는 이소프로판올일 수 있다.
- [0032] 일 구체예에서 상기 맥문동 추출물 또는 행인 추출물은 전술한 추출용매를 이용하여 추출된 1차 추출물을 극성이 다른 추출용매를 이용하여 분획한 분획물을 포함할 수 있다. 예를 들어, 맥문동 추출물 또는 행인 추출물은 탄소수 1 내지 5의 알코올로 추출한 후, 에테르, 벤젠, 헥산 등의 극성이 다른 용매로 다시 분획한 분획물일 수 있다. 상기 분획 시 용매는 2종 이상 사용할 수 있으며, 용매의 극성에 따라 순차적으로 사용하거나 혼합하여 사용하여, 각 용매 추출물을 제조할 수 있다.
- [0033] 본 발명에서, 상기 제조된 추출물 또는 상기 분획과정을 수행하여 수득한 분획물에 대해 여과하거나 농축 또는 건조과정을 수행하여 용매를 제거할 수 있으며, 상기 여과, 농축 및 건조를 모두 수행할 수 있다. 구체적으로 상기 여과는 여과지를 이용하거나 감압여과기를 이용할 수 있고, 농축은 감압 농축기 등을 이용하여 감압 농축할 수 있으며, 건조는 동결건조법을 수행할 수 있다.
- [0034] 또한, 상기 제조된 추출물 또는 상기 분획과정을 수행하여 수득한 분획물에 대해 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography) 또는 고성능 액체 크

로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등의 다양한 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써 추가로 정제된 분획을 얻을 수 있다.

- [0035] 본 발명의 맥문동 추출물 및 행인 추출물의 혼합 추출물은 맥문동 추출물과 행인 추출물이 1: 1~5의 중량비로 혼합되는 것이 바람직하다. 특히, 맥문동 추출물과 행인 추출물이 1: 1의 중량비로 혼합되는 것이 보다 바람직하다.
- [0036] 본 발명의 조성물은 의약 제형 제조를 위해 사용할 수 있다.
- [0037] 상기 의약 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액의 형태이거나, 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡슐제의 형태일 수 있다.
- [0038] 또한, 상기 조성물은 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다. 예컨대, 공지의 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화 성분을 포함할 수 있을 것이다. 추가적인 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화 성분을 포함하게 되면 본 발명의 조성물의 피부 재생, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화 개선 효과는 더욱 증진될 수 있을 것이다. 상기 성분 추가 시에는 복합 사용에 따른 피부 안전성, 제형화의 용이성, 유효성분들의 안정성을 고려할 수 있다. 본 발명의 한 구체예에서, 상기 조성물은 당업계에서 공지된 피부 재생 성분으로서, 레티노산, TGF, 동물태반 유래의 단백질, 베타린산 및 클로렐라 추출물, 당업계에 공지된 항산화 성분으로서, 토코페롤, 셀레늄, 비타민 C 및 페놀성 화합물, 당업계에 공지된 미백 성분으로서, 코지산(Kojic acid), 알부틴(Arbutin) 등과 같은 티로시나제 효소활성을 억제하는 물질, 하이드로퀴논(Hydroquinone), 비타민-C(L-Ascorbic acid) 및 이들의 유도체와 각종 식물 추출물로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 또는 2종 이상의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 추가의 성분은 전체 조성물 중량에 대하여 0.0001 중량% 내지 10 중량%로 포함될 수 있을 것이며, 상기 함량 범위는 피부 안전성, 상기 유효성분의 제형화 시의 용이성 등의 요건에 따라 조절될 수 있을 것이다.
- [0039] 또한, 본 발명의 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다.
- [0040] 약학적으로 허용 가능한 담체는 완충액, 주사용 멸균수, 일반 식염수 또는 인산염 완충 식염수, 수크로스, 히스티딘, 염 및 폴리솔베이트 등과 같은 여러 성분을 함유할 수 있다.
- [0041] 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있으며, 일반 약학 제제의 형태, 예를 들어, 임상 투여 시 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [0042] 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 의약 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다.
- [0043] 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0044] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌 글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0045] 본 발명에 있어서, '미백 효과'라 함은 멜라닌 색소의 합성을 저해함으로써 피부 톤을 밝게 할 뿐만 아니라, 자외선, 호르몬 또는 유전에 기인한 기미나 주근깨 등의 피부 과색소 침착을 개선하는 것을 말한다.
- [0046] 본 발명에 있어서, '주름 개선 효과'라 함은 피부에 주름이 생성되는 것을 억제 또는 저해하거나, 이미 생성된 주름을 완화시키는 것을 말한다.
- [0047] 본 발명에 있어서, '탄력 증진 효과'라 함은 피부에 대한 탄력성이 증가되는 것으로, 피부 탄력의 손실을 억제 또는 저해하거나, 이미 감소된 탄력을 완화시키는 것을 말한다.
- [0048] 본 발명에 있어서, '항염증 효과'라 함은 염증을 억제하는 것을 말한다. 상기 염증은 어떤 자극에 대한 생체조직의 방어반응의 하나로, 조직 변질, 순환 장애와 삼출 및 조직 증식의 세 가지를 병발하는 복잡한 병변을 말한다. 보다 구체적으로 염증은 선천성 면역의 일부이며 다른 동물에서처럼 인간의 선천성 면역은 병원체에 특이적

으로 존재하는 세포 표면의 패턴을 인식한다. 식세포는 그런 표면을 가진 세포를 비자기로 인식하고 병원체를 공격한다. 만일 병원균이 신체의 물리적 장벽을 깨고 들어온다면 염증반응이 일어난다. 염증반응은 상처 부위에 침입한 미생물들에 대한 적대 환경을 만드는 비특이적인 방어작용이다. 염증반응에서, 상처가 나거나 외부 감염체가 체내로 들어왔을 때, 초기단계 면역반응을 맡고 있는 백혈구들이 몰려들어 사이토카인을 발현한다. 따라서 세포 내 사이토카인의 발현양이 염증반응 활성화의 지표가 된다. 염증과 관련된 피부질환의 예로는 아토피 피부염, 건선, 방사선, 화학물질 또는 화상 등에 의한 홍반성 질환; 산 화상, 수포성 피부병, 태선 모양 종류 질환 또는 알레르기 등에 의한 가려움증; 지루성 습진, 장미 여드름, 심상성 천포창, 다형 삼출성 홍반, 결절 홍반, 귀두염, 음문염 또는 원형 탈모증과 같은 염증성 모발 손실; 피부 T-세포 림프종 등이 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0049] 본 발명에 있어서, '항산화 효과'라 함은 세포내 대사 또는 자외선의 영향으로 인한 산화적 스트레스에 따라 반응성이 높은 자유 라디칼(free radical) 또는 활성산소종(reactive oxygen species;ROS)에 의한 세포의 산화를 억제하는 것을 말하며, 자유 라디칼 또는 활성산소종을 제거하여 이로 인한 세포의 손상이 감소되는 것을 포함한다.
- [0050] 본 발명에 있어서, '항당화 효과'라 함은 세포에 존재하는 포도당과 단백질이 반응하여 신체 내 단백질 기능이 저하되는 당화(Glycation) 현상을 예방하거나 억제하는 것을 뜻한다.
- [0051] 본 발명에 있어서, '유효량'이라 함은 손상된 미백 효과를 나타내거나, 주름을 개선하거나, 탄력을 증진시키거나, 염증을 억제하거나, 세포의 산화를 억제 또는 완화하거나, 당화의 생성을 억제할 수 있는 추출물의 양을 의미한다. 본 발명의 조성물이 유효량의 상기 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 포함할 때 바람직한 피부 미백 효과, 주름 개선 효과, 탄력 증진 효과, 항염증 효과, 항산화 효과, 항당화 효과를 제공할 수 있다. 본 발명의 조성물에 포함되는 상기 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물의 유효량은 조성물이 제품화되는 형태, 상기 화합물이 피부에 적용되는 방법 및 피부에 머무르는 시간 등에 따라 달라질 것이다. 예컨대, 상기 조성물이 약학 제형으로 제품화되는 경우에는 일상적으로 피부에 적용하게 되는 화장품으로 제품화되는 경우에 비해 높은 농도로 상기 유효성분을 포함할 수 있을 것이다. 따라서, 일일 투여량은 상기 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 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.
- [0052] 본 발명의 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0053] 본 발명의 의약 제형은 피부 외용제 제형을 포함할 수 있다.
- [0054] 상기 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 피부외용제로 사용하는 경우, 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 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.
- [0055] 상기 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물이 피부 외용제 제형으로 제공될 경우, 이에 제한되는 것은 아니나, 연고, 패취, 겔, 크림 또는 분무제와 같은 제형을 가질 수 있다.
- [0057] 또한, 본 발명의 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화용 조성물은 화장품 제형 제조를 위해 사용될 수 있다.
- [0058] 상기 화장품 제형은 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태일 수 있다. 예컨대, 유연 화장수 또는 영양 화장수 등과 같은 화장수, 웨이셜 로션, 바디로션 등과 같은 유액, 영양 크림, 수분 크림, 아이 크림 등과 같은 크림, 에센스, 화장연고, 스프레이, 젤, 팩, 선 스크린, 메이크업 베이스, 액체 타입, 고체 타입 또는 스프레이 타입 등의 파운데이션, 파우더, 클렌징 크림, 클렌징 로션, 클렌징 오일과 같은 메이크업 제거제, 클렌징 폼, 비누, 바디 워시 등과 같은 세정제 등의 제형을 가질 수 있다.
- [0059] 또한, 상기 화장품은 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물에 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 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 화장품학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다.

- [0060] 상기 화장료 제형은 유효성분이 단기간 내에 피부에 머무르게 되는 메이크업 제거제, 세정제 등과 같은 워쉬-오프(wash-off) 타입의 화장품의 경우에는 비교적 높은 농도의 상기 유효성분을 포함할 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 상기 유효성분을 포함해도 무방할 것이다. 이에 제한되는 것은 아니나, 본 발명의 한 구체예에서, 상기 조성물은 상기 유효성분을 전체 조성물 중량에 대하여 0.0001 중량% 내지 10 중량%(바람직하게는 0.0001 중량% 내지 1 중량%)로 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물이 상기 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 0.0001 중량% 미만으로 포함할 경우에는 충분한 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화 효과를 기대할 수 없고, 10 중량%를 초과하여 포함할 경우에는 알러지 등 원치 않는 반응이 발생하거나 피부 안전성에 문제가 있을 수 있으므로 이를 방지하기 위한 것이다.
- [0062] 또한, 본 발명의 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화용 조성물은 식품 제형 제조를 위해 사용될 수 있다.
- [0063] 상기 식품 제형은 상기 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품 소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품을 의미한다.
- [0064] 상기 식품 제형은 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 높은 피부 미백, 주름 개선, 탄력 증진, 항염증, 항산화 및/또는 항당화 효과를 기대할 수 있어 매우 유용하다.
- [0065] 상기 유효성분을 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 맥문동 추출물 및 행인 추출물을 혼합한 혼합 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 조성물은 원료에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효 성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0066] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 젠디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [0067] 식품 제형이 음료인 경우, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 수크로스 및 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g 이다.
- [0068] 상기 외에 식품 제형은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 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. 그 밖에 식품 제형은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0070] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0072] **제조예 1: 맥문동 추출물의 제조**
- [0073] 맥문동을 잘 건조하여 세절한 후, 건조중량 100g을 플라스크에 넣고 추출용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2 $\mu$ m의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 맥문동 추출물을 제조하였다.

[0075] **제조예 2: 행인 추출물의 제조**

[0076] 행인을 잘 건조하여 세절한 후, 건조중량 100g을 플라스크에 넣고 추출용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2 $\mu$ m의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 행인추출물을 제조하였다

[0078] **제조예 3: 맥문동 및 행인의 혼합 추출물 제조**

[0079] 제조예 1의 맥문동 추출물 10 g과 제조예 2의 행인 추출물 10 g을 혼합하여 맥문동, 행인 혼합 추출물을 제조하였다.

[0081] **실시예 1: 멜라닌 생성 저해 효과**

[0082] 멜라닌 생성 저해를 통한 미백 효과를 확인하기 위하여, Lotan R. 외(Cancer Res. 40:3345-3350, 1980)에 기재된 방법에 따라 쥐의 멜라노마 세포(B-16 mouse melanoma cell)의 배양액에, 추출물을 첨가하여 멜라닌 총량을 측정하였다. 실험 시, 먼저 쥐의 멜라노마 세포에 대하여 독성을 평가하여 독성이 없는 농도에서 미백 평가를 수행하였다. 음성 대조군으로는 DMSO를, 양성 대조군으로는 알부틴(albutin)을 사용하였다.

[0083] 구체적으로, 시료를 최종 농도가 100 ppm이 되도록 배지에 첨가하고, 알부틴은 100 ppm이 되도록 배지에 첨가한 후 멜라노마 세포를 3일간 배양하였다. 이후, 세포들을 트립신(trypsin) 처리하여 배양용기로부터 떼어내 원심 분리한 후, 멜라닌을 추출하였다. 떼어낸 세포는 수산화나트륨 용액(1N 농도) 1 ml를 가하여 10분간 끓여 멜라닌을 녹이고 분광 광도계를 이용하여, 400 nm에서 흡광도를 측정하여 생성된 멜라닌의 양을 측정하였다.

[0084] 상기 멜라닌 양은 단위 세포수당( $1 \times 10^6$  cell)의 흡광도로 나타내는 방법으로 측정하였으며, 대조군에 대한 상대적인 멜라닌 총량을 저해율(%)로 계산하고 결과를 하기 표 1에 나타내었으며, 실험은 각각 3회씩 수행하여 평균값으로 나타내었다.

**표 1**

[0085] 농도에 따른 세포 수준에서의 멜라닌 총량의 감소 효과 (반복수 =3)

| 시료                  | 멜라닌 생성량 (abs) | 저해율(%) |
|---------------------|---------------|--------|
| 대조군 (DMSO, 10ppm)   | 0.33          | -      |
| 양성대조군 (알부틴, 100ppm) | 0.228         | 30.91  |
| 제조예 1 (100 ppm)     | 0.257         | 22.12  |
| 제조예 2 (100 ppm)     | 0.290         | 12.12  |
| 제조예3 (100 ppm)      | 0.237         | 28.18  |

[0086] 상기 표 1의 결과에서 볼 수 있듯이, 제조예 3의 혼합 추출물은 저농도에서도 뛰어난 멜라닌 총량 감소 효과를 나타내어 미백 용도로 사용할 수 있음을 알 수 있었다.

[0088] **실시예 2: 콜라겐 합성 촉진 효과**

[0089] 시료를 인간 유래의 섬유아세포의 배양액에 첨가하여 세포수준에서 제1형 콜라겐 합성 촉진 효과를 확인하였다. 합성된 콜라겐의 측정은 PICP EIA kit (Procollagen Type I C-Peptide Enzyme ImmunoAssay KIT)를 이용하여 정량하였다.

[0090] 시료를 최종 농도 10 ppm이 되도록 하여 섬유아세포의 배양배지(DMEM 배지)에 첨가하여 48시간 배양한 후 배양액을 취하여 PICP EIA 키트로 각 농도에서 제1형 콜라겐 합성 정도를 분광광도계를 이용하여 450 nm에서 측정하였다.

[0091] 효과 비교를 위하여 시료를 처리하지 않은 섬유아세포의 배양 배지(음성대조군)와 비타민 C(양성대조군)를 최종 농도 52.85  $\mu$ g/ml가 되도록 첨가한 시료에 대하여 동일한 방법으로 콜라겐 합성 정도를 측정하였다.

[0092] 콜라겐 생성 증가율은 음성 대조군에 대한 상대적인 콜라겐 생성량의 비율로 계산하고 결과를 하기 표 2에 나타내었으며, 실험은 4회씩 수행하여 평균값으로 나타내었다.

**표 2**

[0093] 콜라겐 합성 촉진 효과(반복수 = 4)

| 시료             | 제1형 콜라겐 생성량(ng/ml) | 콜라겐 생성 증가율(%) |
|----------------|--------------------|---------------|
| 음성대조군          | 150.2              | -             |
| 양성대조군 (비타민 C)  | 246.8              | 64.3          |
| 제조예 1 (10 ppm) | 188.4              | 25.4          |
| 제조예 2 (10 ppm) | 200.9              | 33.8          |
| 제조예 3 (10 ppm) | 246.3              | 64.0          |

[0094] 상기 표 2에 나타난 바와 같이, 제조예 3의 혼합 추출물을 처리한 경우에 콜라겐 합성을 증가시켰고, 일반적으로 콜라겐 합성을 유도하는 것으로 잘 알려진 비타민C를 적용한 경우와 유사한 콜라겐 합성 효과를 나타내었다.

[0096] **실시예 3: 엘라스테이즈 활성 저해 효과**

[0097] 엘라스틴(Elastin)을 분해하는 효소인 엘라스테이즈(Elastase)의 활성 저해 효과를 다음과 같이 확인하였다.

[0098] 엘라스테이즈(Elastase)는 사람의 백혈구 세포로부터 유래한 엘라스테이즈를 사용하였고, 엘라스테이즈의 기질로 합성 기질인 MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-pNA를 사용하였다. 완충 용액은 100 mM의 Tris(pH 7.5) 용액을 사용하였다. 엘라스테이즈는 완충용액을 이용하여 최종적으로 0.2 mU를 사용하였다. 또한, 엘라스테이즈의 합성 기질은 DMSO를 이용하여 100 mM 용액을 만든 후 최종 농도가 0.5 mM이 되도록 완충용액을 이용하여 희석하였다. 이때, 양성 대조군은 엘라스테이즈 저해 물질로 알려진 퀘세틴(Quercetin)을 10 ppm 농도로 넣은 것으로 설정하였다. 엘라스테이즈 저해 후보는 최종 농도가 10 ppm이 되도록 첨가하였다. 반응은 96-웰 플레이트에서 진행하였으며, 상온에서 20분간 반응시켰다. 분광 광도계를 이용하여 1분 간격으로 405 nm에서 흡광도를 측정하여, 시간 대비 흡광도의 기울기를 구하여 효소의 활성도로 정하였다. 엘라스테이즈 저해율은 다음 수학적 식 1과 같이 계산하였다.

[0099] [수학적 식 1]

$$\text{엘라스테이즈 저해율 (\%)} = \left\{ \frac{\left( \text{대조군 기울기} - \text{시료의 기울기} \right)}{\text{대조군 기울기}} \right\} \times 100$$

[0100]

**표 3**

[0101] 엘라스테이즈 활성 저해 효과 (반복수 =3)

| 시료                       | 효소 활성도 | 저해율(%) |
|--------------------------|--------|--------|
| 제조예 1 (10 ppm)           | 4.9    | 52.88  |
| 제조예 2 (10 ppm)           | 5.3    | 49.03  |
| 제조예 3 (10 ppm)           | 3.9    | 62.50  |
| 양성대조군 (Quercetin, 10ppm) | 3.5    | 66.35  |
| 대조군 (DMSO, 20ppm)        | 10.4   | -      |

[0102] 상기 표 3에서 볼 수 있듯이, 제조예 3의 혼합 추출물을 처리한 경우, 양성대조군 보다 효과는 적으나, 엘라스테이즈 활성 저해가 뛰어난 것을 알 수 있다. 즉, 혼합 추출물은 우수한 엘라스테이즈 활성 저해 효과를 발휘하였다. 따라서, 혼합 추출물은 탄력 증진, 주름 개선을 위한 용도로 사용할 수 있음을 알 수 있었다.

[0104] **실시예 4: 항염 효과**

[0105] 항염증 효과 및 피부 트러블 개선 효과를 확인하기 위하여, RAW264.7 세포주 (ATCC number: CRL-2278)를 이용한 GRIESS 법으로 nitric oxide(NO) 생성 억제력 실험을 실시하였다.

[0106] 구체적으로, 생쥐의 대식세포인 RAW264.7 세포를 수차례 계대 배양하고, 웰 하나에  $3 \times 10^5$  개씩 들어가도록 24-웰 플레이트에 넣은 후, 24시간 동안 배양하였다. 이어서, 최종 농도 10 ppm의 농도로 시료를 함유한 세포 배지로 교체하였다. 이때, NO-생성 억제 물질인 L-NMMA(L-NG-Monomethylarginine)을 양성 대조군으로 함께 처리하여 30분 동안 배양하였고, 자극원으로 LPS(Lipopolysaccharide)를 1  $\mu$ g씩 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 상

층액을 100  $\mu$ l씩 취해 96-웰 플레이트에 옮기고, GRIESS 용액을 100  $\mu$ l씩 가해 상온에서 10분간 반응시키고, 540 nm에서의 흡광도를 측정함으로써 NO 억제 효과를 판단하고, NO 생성 저해율(%)은 하기 수학적 2를 이용하여 계산하여 하기 표 4에 나타내었으며, 실험은 각각 3회씩 수행하여 평균값으로 나타내었다.

[0107] [수학적 2]

[0108] NO 생성 저해율(%) =  $\frac{\text{(음성대조군의 흡광도} - \text{각 추출물의 흡광도)}}{\text{음성 대조군의 흡광도}} \times 100$

**표 4**

[0109] NO 생성 저해 효과 (반복수 =3)

| 시료                      | NO 생성 저해율(%) |
|-------------------------|--------------|
| 대조군 (DMSO, 10 ppm)      | -            |
| L-NMMA (양성 대조군, 10 ppm) | 41.02        |
| 제조예 1 (10 ppm)          | 31.77        |
| 제조예 2 (10 ppm)          | 36.99        |
| 제조예 3 (10 ppm)          | 40.07        |

[0110] 상기 표 4에서 볼 수 있듯이, 제조예 3의 혼합 추출물은 대표적인 항염 의약품질인 L-NMMA와 비교하였을 때, 그 활성은 낮으나 천연물질로서 우수한 활성을 나타내어, 피부 트러블 개선에 있어, 항염 효과가 보조적인 역할로 작용하여 상승 효과를 기대할 수 있다

[0112] **실시예 5: 항산화 효과- 자유라디칼 소거율**

[0113] 시료의 항산화 작용을 확인하기 위해 자유라디칼 소거 활성을 측정하였다. 자유라디칼 소거 활성은 DPPH를 이용하여 측정하였다 (Blois, Nature 181, 1190, 1958).

[0114] DPPH는 비교적 안정한 자유라디칼로서 라디칼 상태로 존재 시 517nm에서 최대 흡광을 보이며 라디칼이 소거되면 흡광성을 잃는다. DPPH는 시그마(Sigma)사의 것을 사용하였다.

[0115] 먼저, 1.5 mM (0.06 mg/ml)의 표준 DPPH 에탄올 용액을 만들었다. 그리고, 3차 증류수를 이용하여 1000  $\mu$ g/ml (0.1%) 비타민 C 용액을 만든 다음 1/2씩 연속 희석하여 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 7.81, 3.91, 1.95, 0.98, 0.49  $\mu$ g/ml 농도의 비타민 C 시료를 만들었다. 또한, 비타민 C와 동일한 농도로 제조예 1~3의 희석액을 준비하였다. 그 다음, 상기 시료와 표준 DPPH 용액을 같은 비율로 첨가하여 잘 교반한 후, 37  $^{\circ}$ C에서 30 분간 반응시키고 마이크로플레이트 리더(BioTek EL-340)를 이용하여 517nm에서의 흡광도를 측정하여 IC<sub>50</sub>을 구하여 하기 표 5에 나타내었다.

[0116] IC<sub>50</sub>(half maximal inhibitory concentration)은 무첨가 대조군(이 경우 DPPH)의 자유라디칼을 50% 제거하는데 필요한 물질의 농도로서, 자유라디칼 소거능을 표현하는 일반적인 방법이다.

**표 5**

[0117] 자유라디칼 소거 효과(반복수=3)

| 시료             | IC <sub>50</sub> (%w/v) |
|----------------|-------------------------|
| 양성 대조군 (비타민 C) | 0.0005                  |
| 제조예 1          | 0.0022                  |
| 제조예 2          | 0.0013                  |
| 제조예 3          | 0.0009                  |

[0118] 상기 표 5와 같이, 제조예 3의 혼합 추출물은 제조예 1과 제조예 2와 비교하였을 때 자유라디칼 소거능이 뛰어났으며, 양성대조군인 비타민 C와 유사한 항산화 효과를 지님을 확인하였다.

[0120] **실시예 6: 항당화 효과**

[0121] 항당화(anti-glycation) 효능을 확인하기 위하여, L-아르기닌(arginine)과 포도당을 이용하여 당화 저해 활성을 측정하였다.

[0122] 먼저, 1M 인산 완충용액(pH 7.4)을 이용하여 1M L-아르기닌, 1M 포도당을 녹여 준비하고 1M 인산 완충용액을 이용하여 시료를 50 ppm이 되도록 희석해서 준비하였다. 1M L-아르기닌과 1M 인산 완충용액을 1 대 4의 비율로 섞은 다음 96-웰 플레이트에 80 μl씩 분주하였다. 여기에 각각 50ppm으로 희석한 시료와 양성대조군으로 사용될 0.01M 아미노구아니딘(aminoguanidin)을 100 μl씩 첨가하였다. 이 시료들을 잘 섞어준 다음, 마지막으로 포도당의 최종 농도가 0.1M이 되도록 1M 인산 완충용액으로 희석한 포도당을 넣은 후, 70 °C에서 4시간 동안 반응시켰다. 96-웰 플레이트를 분광 광도계를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하여 당화 정도를 측정하였다.

[0123] 하기 수학적 식 1의 Glycation 실험군은 1M L-아르기닌과 1M 포도당을 넣어 당화를 유발시킨 실험군이며, 시료 자체의 흡광도를 측정하기 위해서 포도당을 넣지 않고 1M L-아르기닌과 시료만을 넣어 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0124] 당화 저해 활성은 다음과 같은 수학적 식 3으로 구할 수 있다. 실험은 각각 3회씩 수행하여 평균값으로 나타내었다.

[0125] [수학적 식 3]

$$\text{당화 저해율(\%)} = \frac{(\text{반응 후 시료의 흡광도} - \text{반응 전 시료의 흡광도})}{\text{Glycation 실험군}} * 100$$

[0126]

표 6

[0127]

| 시료 (반복수 =3)                    | 당화 저해율(%) |
|--------------------------------|-----------|
| 대조군 (DMSO, 50 ppm)             | -         |
| 양성대조군 (Aminoguanidine, 55 ppm) | 54.89     |
| 제조예 1(50 ppm)                  | 42.27     |
| 제조예 2(50 ppm)                  | 49.99     |
| 제조예 3(50 ppm)                  | 69.45     |

[0128] 상기 표 6의 결과에서 볼 수 있듯이, 본 발명에 따른 제조예 3의 혼합 추출물은 항당화 물질로 알려진 Aminoguanidine과 비교할 때, 항당화 효과가 더욱 뛰어남을 알 수 있다. 즉, 혼합 추출물은 우수한 항당화 효과를 나타내어 미백 또는 주름 개선에 있어, 항당화 효과가 보조적인 역할로 작용하여 상승 효과를 기대할 수 있다.

[0130] **제조예 1: 의약 제제의 제조**

[0131] 1. 정제의 제조

[0132] 제조예 3의 혼합 추출물 0.2mg

[0133] 옥수수전분 100mg

[0134] 유 당 100mg

[0135] 스테아린산 마그네슘 2mg \_\_\_\_\_

[0136] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0138] **제조예 2: 화장품의 제조**

[0139] 1. 영양크림의 제조

[0140] 하기 조성분과 같이, 제조예 3의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 영양크림을 통상의 방법에 따라 제조하였다.

[0141] 제조예 3의 혼합 추출물 0.2중량%

[0142] 베타-1,3-글루칸 5.0 중량%

[0143] 밀납 10.0 중량%

[0144] 폴리솔베이트60 1.5 중량%

- [0145] 피이지 60 경화피마자유 2.0 중량%
- [0146] 솔비탄세스퀴올레이트 0.5 중량%
- [0147] 유동과라핀 10.0 중량%
- [0148] 스쿠알란 5.0 중량%
- [0149] 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드 5.0 중량%
- [0150] 글리세린 5.0 중량%
- [0151] 부틸렌글리콜 3.0 중량%
- [0152] 프로필렌글리콜 3.0 중량%
- [0153] 트리에탄올아민 0.2 중량%
- [0154] 방부제 0.05 중량%
- [0155] 색소 0.05 중량%
- [0156] 향료 0.05 중량%
- [0157] 정제수 to 100 중량%
- [0159] **제제예 3: 피부 외용제의 제조**
- [0160] 1. 연고의 제조
- [0161] 하기 조성과 같이, 제조예 3의 혼합 추출물을 유효성분으로 포함하는 연고를 통상의 방법에 따라 제조하였다.
- [0162] 제조예 3의 혼합 추출물 0.5 중량%
- [0163] 베타-1,3-글루칸 10.0 중량%
- [0164] 밀납 10.0 중량%
- [0165] 폴리솔베이트60 5.0 중량%
- [0166] 피이지 60 경화피마자유 2.0 중량%
- [0167] 솔비탄세스퀴올레이트 0.5 중량%
- [0168] 바셀린 5.0 중량%
- [0169] 유동과라핀 10.0 중량%
- [0170] 스쿠알란 5.0 중량%
- [0171] 웨이버터 3.0 중량%
- [0172] 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드 5.0 중량%
- [0173] 글리세린 10.0 중량%
- [0174] 프로필렌글리콜 10.2 중량%
- [0175] 트리에탄올아민 0.2 중량%
- [0176] 방부제 0.05 중량%
- [0177] 색소 0.05 중량%
- [0178] 향료 0.05 중량%
- [0179] 정제수 to 100 중량%