(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년10월25일
(11) 등록번호 10-2594733
(24) 등록일자 2023년10월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/9789 (2017.01) *A61Q 19/02* (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 8/9789 (2017.08)
A61Q 19/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-0024764
(22) 출원일자 2021년02월24일
심사청구일자 2021년02월24일
(65) 공개번호 10-2022-0120948
(43) 공개일자 2022년08월31일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020140062456 A*
(뒷면에 계속)
전체 청구항 수 : 총 9 항

(73) 특허권자
이경미
부산광역시 부산진구 동평로183번길 67, 101동 2002호 (연지동, 연지자이1차아파트)
(72) 발명자
이경미
부산광역시 부산진구 동평로183번길 67, 101동 2002호 (연지동, 연지자이1차아파트)
(74) 대리인
특허법인비엘티

심사관 : 지무근

(54) 발명의 명칭 **율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피 발효 추출물을 포함하는 기미, 주근깨, 미백 및 주름 개선용 화장료 조성물 및 이의 제조 방법**

(57) 요 약

본 발명의 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피를 혼합한 혼합물의 주정 및 발효 추출물을 함유하는 기미, 주근깨, 미백 및 주름 개선용 화장료 조성물 및 이의 제조방법은 천연 약재를 활용하여 사용상의 안전성을 확보함과 동시에 우수한 주름 개선 및 미백 효과를 갖는다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61Q 19/08 (2013.01)
A61K 2800/5922 (2013.01)
A61K 2800/85 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌
KR1020190076620 A*
KR1020090002680 A
KR101754218 B1
KR1020160078691 A
KR1020180081328 A
KR1020190020946 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명 세 서

청구범위

청구항 1

다음의 단계를 포함하는 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피를 함유하는 기미, 주근깨, 미백 및 주름 개선용 화장료 조성물 제조방법:

(a) 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피를 혼합하여 주정 추출하는 단계;

(b) 상기 (a) 주정 추출물을 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis) 및 락토바실러스 카제이(Lactobacillus casei)로 접종하고, 32 내지 37℃에서 24 내지 72시간 동안 호기 배양하여 발효시킨 발효 추출물을 수득하는 단계

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 (a) 단계는 율피, 백지, 마치현, 행인 및 상백피를 함수율이 10 ~ 15%가 되도록 하는 건조하여 분말로 제조한 후 주정 추출하는 것인 화장료 조성물 제조 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 (a) 단계는 율피 30~40 중량%, 백지 15~25 중량%, 마치현 10~18 중량%, 행인 10~18 중량%, 및 상백피 10~18 중량%를 혼합하여 주정 추출하는 것인 화장료 조성물 제조 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 (a) 단계의 주정 추출은 30 ~ 40℃에서 40 ~ 60 시간 동안 추출하는 것인 화장료 조성물 제조 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 (a) 단계의 주정은 물과 주정의 질량비가 3 : 7인 것인 화장료 조성물 제조 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 (a) 단계 이후 50℃ 미만의 온도로 120 ~ 240 시간 동안 숙성시켜 알코올 성분을 증발시킨 것인 화장료 조성물 제조 방법.

청구항 7

삭제

청구항 8

제1항에 있어서, 사이 (b) 단계의 발효 추출물을 나노 크기 입자로 분쇄하는 단계를 더 포함하는 화장료 조성물 제조 방법.

청구항 9

제1항의 방법으로 제조되는 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피를 혼합한 혼합물의 주정 및 발효 추출물을 함유하는 기미, 주근깨, 미백 및 주름 개선용 화장료 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피 혼합물은 상기 율피 30~40 중량%, 백지 15~25 중량%, 마치현 10~18 중량%, 행인 10~18 중량%, 및 상백피 10~18 중량%를 혼합한 것을 특징으로 하는 기미, 주근깨 개선, 미백 및 주름개선용 화장료 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 율피(chestnut inner shell), 백지(angelica dahurica), 마치현(portulace oleracea), 행인(armeniacae) 및 상백피(mori dadicis cortex)의 혼합물에 대한 주정 및 발효 추출물을 유효성분으로 포함하는 기미, 주근깨 등 미백 및 주름 개선용 화장료 조성물 및 이의 제조 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 발효는 미생물이 자신이 가지고 있는 효소를 이용해 유기물을 분해 또는 합성시키는 과정을 의미하며, 최근 화장품 분야에서는 천연소재들을 이용한 발효 화장품에 대한 관심이 증가되면서, 미백, 피부 주름 개선, 항산화, 보습, 탄력 등의 연구들이 활기를 띠고 있다.

[0003] 발효액 추출물은 다른 어떠한 용매를 사용하지 않고, 발효와 숙성과정을 거쳐 천연소재가 함유하고 있는 당성분을 알콜로 변화시키며, 천연소재 속에 들어있는 플라보노이드, 비타민C, 비타민B, 아미노산 등의 유효 성분에 대한 추출 효율을 높일 수 있다. 또한, 독성을 줄 수 있는 천연소재는 발효추출법을 통해 천연소재를 독성을 줄이거나 안정한 유도체로 전환시키는 방법으로 사용될 수 있으며, 유산균 및 효모 등의 발효공정에 의해 흡수가 용이한 저분자 물질로의 전환, 보습 및 탄력성 증진, 미백, 피부주름 개선 효과를 극대화시킬 수 있다.

[0004] 주름개선 화장료로는 레티노이드, 아데노신, 동물태반 유래 단백질, 클로렐라 추출물 등이 알려져 있다. 가장 잘 알려져 있는 레티놀은 콜라겐 합성을 촉진하며 엘라스타제 효소를 저해하는 물질이지만 불안정하고 피부 적용시 자극, 발작 등의 안전성 문제로 사용량의 제한이 있으며, 클로렐라 추출물 등은 효과가 미미하여 실질적으로 피부주름 개선효과를 기대하기가 어렵다고 알려져 있다.

[0005] 멜라닌 생성을 효과적으로 억제하여 기미, 주근깨 개선 및 미백효과를 나타내는 미백용 화장료 조성물에서, 미백 효과를 위해 종래에는 하이드로퀴논(hydroquinone), 아스콜빈산(ascorbic acid), 코지산(kojic acid), 글로타티온(glutathione) 등과 같은 티로시나제에 저해 활성을 갖는 물질을 배합하여 기미, 주근깨 개선 등 피부 미백의 목적에 사용하여 왔다. 그러나, 하이드로퀴논의 경우 피부자극성이 심하여 사용량이 제한되며, 아스콜빈산은 산화되기 쉬워 이를 배합한 화장료는 변색, 변취되는 등의 문제를 야기시키며, 글루타티온, 시스테인 등의 티올계 화합물은 특유의 불쾌한 냄새가 나는 등 화장료의 배합성분으로 사용하는데 문제가 있다.

[0006] 따라서 사용상의 안전성을 확보함과 동시에 주름 개선 및 미백 효과를 높일 수 있는 천연화장품에 대한 관심이 높아지고 있는 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 특허문헌 : 국내 등록특허 제10-0820009호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명자들은 천연물인 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피가 개별적으로 갖는 우수한 기능을 극대화하면서도 미백 및 주름 개선 효능이 뛰어난 화장료 조성물을 연구하던 중 이들 약재를 혼합하여 주정으로 추출한 후 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis), 락토바실러스 카제이(Lactobacillus casei), 락토바실러스 플랜터럼(Lactobacillus plantarum) 및 사카미세스 세레비지에(Saccharomyces cerevisiae)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 2 이상의 균으로 발효 시, 우수한 미백 및 주름 개선 효과를 확인하여, 본 발명을 완성하게 되었다.

[0009] 따라서, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 (a) 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피를 혼합하여 주정 추출하는 단계; 및 (b) 상기 주정 추출물을 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis), 락토바실러스 카제이(Lactobacillus casei), 락토바실러스 플랜터럼(Lactobacillus plantarum) 및 사카미세스 세레비지에(Saccharomyces cerevisiae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 2 이상의 균으로 발효시킨 발효 추출물을 수득하

는 단계를 포함하는 율피, 백지, 마치현, 행인 및 상백피를 함유하는 기미, 주근깨, 미백 및 주름 개선용 화장료 조성물 제조방법을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명이 해결하고자 하는 다른 과제는 상기 방법으로 제조되는 율피, 백지, 마치현, 행인 및 상백피를 혼합한 혼합물의 주정 및 발효 추출물을 함유하는 기미, 주근깨, 미백 및 주름 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명이 해결하고자 하는 과제들은 이상에서 언급된 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명에서는 유효성분으로 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피를 혼합한 혼합물의 추출물을 함유한다.

[0013] 율피는 너무 밤나무과(Buna)의 다년생 초목인 밤나무(Castanea crenata Siebold)의 과실인 밥의 속껍질로 피부를 청결하고 아름답게 하며 노화를 방지하는 것으로 알려졌다. 율피의 주요작용은 피부에 수분을 공급하거나 피부로부터 수분이 과도하게 증발되는 것을 막아주는 보습효과와 특히, 유해환경으로부터 신체 내부에 생성된 반응성이 높은 활성산소나 자유라디칼 과산화물에 의해 생체성분이 산화되거나 변성되어 피부노화의 주원인으로 작용하는 것을 저해하거나 자유라디칼 소거작용을 한다. 또한, DOPA 자동산화에 대한 저해작용, 피부의 과다한 멜라닌 색소 형성에 의한 피부의 색소 침착을 억제해주는 미백효과에 뛰어난 소재이다.

[0014] 백지는 미나리과(Umbelliferae)에 속하는 구릿대의 뿌리에서 얻어진 생약으로 다량의 당과 무기질을 함유하고 있으며, 약 0.07%의 정유 성분을 함유하는 것으로 밝혀졌다. 백지에 대한 생리활성 연구로는 항혈전 효과, 항균작용, 콜라겐 생성 촉진 효과, 항산화 효과 등이 보고되고 있다.

[0015] 마치현은 잎 모양이 말의 이빨과 비슷하게 생겼고 약재의 성질이 매끄러운 것이 비름과 유사하기 때문에 생긴 이름이다. 마치현(Portulace oleracea)은 쇠비름의 전초를 말린 것으로 여름부터 가을 사이에 전초를 채취하여 사용한다. 전통적으로 피부 연고 원료로 많이 이용되어 왔을 정도로 피부를 진정시키고 자극을 줄여주는 효과가 뛰어나다. 독성이 전혀 없는 식품으로서 옛 조상들이 즐겨먹던 음식이었다.

[0016] 행인(Prunus Armeniaca (Apricot) Kernel)은 벚나무과에 속하는 낙엽성 교목인 살구나무(Prunus armeniacavar. ansu Maxim)와 산살구나무(P. mandshurica Koehne)의 씨를 말린 것이다. 살구나무는 우리 나라 각지의 산과 들에서 자라며, 익은 열매를 따서 살을 벗기고 굳은 껍질을 까 버린 다음 끓는 물에 담가서 씨껍질을 없애고 그대로 또는 볶아서 쓴다. 행인은 민간에서 환을 지어먹거나 가루로 만들어 복용하여 폐나 대장에 작용하고 가래를 삭히는 효과가 있다고 알려져 있으며, 미용에 효과가 좋아 그 가루를 화장품 원료 및 비누를 만들어 활용하고 있다.

[0017] 상백피는 뽕나무과의 뽕나무(Morus alba L.), 또는 동속식물의 뿌리껍질로 만든 약재로 폐열로 인한 해수, 천식을 치료하며 이뇨 작용이 있다. 급성신우염, 허약성부종에 쓰이고 혈압강하 작용, 진해, 진통, 해열 작용 등을 가지고 있으며, 피부 보습과 미백에 뛰어난 효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있다.

[0018] 상기 약재들은 자체로서 약리 작용을 나타낼 수 있으나 이들을 주정 추출 및 발효하는 공정을 통해 유효성분을 극대화시킬 수 있고, 발효 전의 약재에 없던 새로운 약리 작용을 나타낼 수 있다.

[0019] 본 발명의 일 구현예에 따르면, (a) 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피를 혼합하여 주정 추출하는 단계; 및 (b) 상기 주정 추출물을 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis), 락토바실러스 카제이(Lactobacillus casei), 락토바실러스 플랜터럼(Lactobacillus plantarum) 및 사카미세스 세레비지에(Saccharomyces cerevisiae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 2 이상의 균으로 발효시킨 발효 추출물을 수득하는 단계를 포함하는 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피를 함유하는 기미, 주근깨, 미백 및 주름 개선용 화장료 조성물 제조방법을 특징으로 한다.

[0020] 본 발명의 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피 추출물의 제조 시에는 건조 또는 미 건조시킨 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피 혼합물을 사용할 수 있다. 추출의 효율성을 위해 상기 약재를 잘게 부수어 사용될 수 있다.

[0021] 본 발명의 실시예에서, 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피의 혼합물을 주정 추출한 것으로, 이들을 각각 주정 추출한 후 혼합한 것에 비해 미백, 주름개선, 항산화 효능 각각에서 약 10% 이상의 향상된 효과를 확인하였

다.

[0022] 본 발명의 일 구현예에서 상기 (a) 단계는 율피, 백지, 마치현, 행인 및 상백피를 함수율이 10 ~ 15%가 되도록 건조하여 분말로 제조한 후 주정 추출하였다.

[0023] 본 발명의 일 구현예에서 상기 (a) 단계는 율피 30~40 중량%, 백지 15~25 중량%, 마치현 10~18 중량%, 행인 10~18 중량%, 및 상백피 10~18 중량%를 혼합하여 주정 추출하는 것이다. 본 발명의 실시예에서 율피 중량이 40 중량%를 초과하는 경우 미백 기능은 우수하나 주름 개선 효과가 낮으며, 마치현 중량이 18 중량%를 초과하는 경우 미백 기능은 우수하나 주름 개선 효과가 낮으며, 백지 중량이 25 중량%를 초과하는 경우 주름 개선 효과가 뛰어나나 미백 기능이 낮아, 약재들을 상기 중량 범위 내에서 포함하는 경우 우수한 미백, 주름개선 및 항산화 효과를 동시에 나타낸다.

[0024] 본 발명의 일 구현예에서 상기 (a) 단계의 주정 추출은 30 ~ 40℃에서 40 ~ 60 시간 동안 추출하는 것이다.

[0025] 본 발명의 주정 추출물에서 주정 추출을 하는 경우, 열수 추출보다 천연물의 영양성분이 더 많이 추출되며, 천연물의 소수성 및 친수성 물질 모두를 추출할 수 있다. 또한, 주정의 좋은 성분이 최대한 약재에 침투되도록 하고 약재들의 효능이 극대화되며 복용자에 게 혈행(피가 돎)을 활성화하고 활혈작용(活血作用)을 극대화할 수 있다.

[0026] 본 발명의 일 실시예에서, 추출 용매로 물과 주정의 함량이 3 : 7인 70% 주정을 용매로 사용하여 발효시킨 결과물은 50% 주정 추출물, 100% 주정 추출물, 100% 물 추출물을 발효시킨 결과물에 비해 약 30% 이상 우수한 미백, 항산화 및 주름 개선 효과를 확인하였다.

[0027] 상기 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피 주정 추출물은 1차 추출에서 사용된 주정과 극성이 다른 유기 용매를 사용하여 추가로 분획할 수 있다. 이 경우, 상기 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피 주정 추출물은 이를 주정으로 추출하고, 그 잔사를 극성이 다른 유기용매를 이용하여 분획함으로써 수득한 주정 추출물 분획일 수 있다.

[0028] 또한, 상기 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피 주정 추출물 또는 주정 추출물 분획에 대해 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등과 같은 다양한 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써 추가로 정제된 분획을 얻을 수도 있다. 본 발명에 있어서, '주정 추출물'에는 이와 같이 추출, 분획 또는 정제의 각 단계에서 얻어지는 모든 추출액, 분획 및 정제물, 그들의 희석액, 농축액 또는 건조물을 포함한다.

[0029] 상기와 같이 추출물을 얻은 이후에는 당업계에서 알려진 통상의 방법으로 상온에서 냉침, 가열 및 여과하여 액상물을 얻을 수 있으며, 또는 추가로 용매를 증발, 분무건조 또는 동결건조할 수 있다.

[0030] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 (a) 단계 결과물에 대하여 50℃ 미만의 온도로 120 ~ 240시간 동안 숙성시켜 알코올 성분을 증발시킨다. 50℃ 미만의 온도는 추출물의 알코올 성분이 증발되면서도 약재의 유효 성분이 잔존하도록 한다.

[0031] 본 발명의 일 구현예에 따르면,(a) 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피를 분쇄한 후 혼합하여 30 ~ 40℃에서 40 ~ 60 시간 동안 주정 추출한 추출물을 50℃ 미만의 온도에서 120 ~ 240 시간 숙성시켜 알코올 성분을 제거시킨 결과물을 수득하는 단계, 및 (b) 상기 (a) 결과물을 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis), 락토바실러스 카제이(Lactobacillus casei), 락토바실러스 플랜터럼(Lactobacillus plantarum) 및 사카미세스 세레비지에(Saccharomyces cerevisiae)로 이루어진 군으로부터 선택되는 2 이상의 균으로 발효시킨 발효 추출물을 수득하는 단계를 포함하는 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피를 함유하는 기미, 주근깨, 미백 및 주름 개선용 화장료 조성물 제조방법을 특징으로 한다.

[0032] 본 발명에서 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피에 대한 액상 및 고형분 형태의 주정 추출물에 발효 공정이 부가되어 각 약재의 영양 성분을 더욱 농축시켜, 미백 및 주름 개선 효능을 향상시킨 것이다.

[0033] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 (b) 단계의 발효 추출물을 나노 크기 입자로 분쇄하는 단계를 더 포함한다. 발효 추출물을 나노화 공정에 의해 최대한 잘게 분쇄함으로써 각 약재의 영양 성분이 화장료 조성물에 함유되었을 때 외관상 우수하며, 피부 투과능이 향상되어 미백 및 주름 개선 효과를 더욱 향상시킨다.

[0034] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 (b) 단계의 선택되는 2 이상의 균은 바실러스 서브틸리스(Bacillus

subtilis), 락토바실러스 카제이(Lactobacillus casei), 락토바실러스 플랜터럼(Lactobacillus plantarum) 및 사카미세스 세레비지에(Saccharomyces cerevisiae)를 상기 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피 혼합물의 주정 추출물에 배양하였을 때 가장 잘 자라는 균이다. 상기 4가지 균은 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피 혼합물에 적용하였을 때 우수한 발효 효능을 갖는 균이다.

[0035] 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 방법으로 제조되는 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피를 혼합한 혼합물의 주정 추출물을 발효한 추출물을 함유하는 미백 및 주름개선용 화장료 조성물에 관한 것이다.

[0036] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 율피, 백지, 마치현, 행인, 및 상백피 혼합물은 상기 율피 30~40 중량%, 백지 15~25 중량%, 마치현 10~18 중량%, 행인 10~18 중량%, 및 상백피 10~18 중량%를 혼합한 것을 특징으로 한다. 율피 중량이 40 중량%를 초과하는 경우 미백 기능은 우수하나 주름 개선 효과가 낮으며, 마치현 중량이 18 중량%를 초과하는 경우 미백 기능은 우수하나 주름 개선 효과가 낮으며, 백지 중량 25 중량%를 초과하는 경우 주름 개선 효과가 뛰어나나 미백 기능이 낮아, 약재들을 상기 중량 범위 내에서 포함하는 경우 우수한 미백 및 주름개선 효과를 동시에 나타낸다.

[0037] 상기와 같이 수득한 약재 주정 및 발효 추출물은 본 발명의 화장료 조성물에 0.0001 내지 10 중량%로 포함되는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 0.0005 내지 10 중량%로 포함되는 것이다. 그 함량이 0.0001 중량% 미만일 경우에는 뚜렷한 효과를 기대할 수 없고, 10 중량%를 초과할 경우에는 함유량의 증가에 따른 뚜렷한 효과가 나타나지 않는다.

[0038] 상기와 같은 본 발명의 약재 발효 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장료 조성물의 제형은 특별히 제한되지 않으며, 목적하는 바에 따라 적절히 선택할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 화장료 조성물은 피부외용연고, 유연화장수, 영양화장수, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 팩, 에멀젼, 오일젤 등의 제형으로 제조될 수 있다. 이때, 상기 피부외용연고는 본 발명의 약재 발효 추출물 이외에 바셀린 50~97 중량% 및 폴리옥시에틸렌올 레일-에테르 포스페이트 0.1~5 중량%를 함유하도록 제조할 수 있으며, 유연화장수는 본 발명의 약재 발효 추출물 이외에 다가알콜류(프로필렌글리콜, 글리세린 등) 1~10 중량% 및 계면활성제(폴리에틸렌올레일에테르, 폴리 옥시에틸렌 경화피마자유 등) 0.05~2 중량%를 함유하도록 제조할 수 있다. 또한, 영양화장수 및 영양크림은 본 발명의 약재 발효 추출물 이외에 오일류(스쿠알란, 바셀린, 옥틸도데칸올 등) 5~20 중량% 및 왁스성분(세탄 올, 스테아릴알콜, 밀납 등) 3~15 중량%를 함유하도록 제조할 수 있으며, 에센스는 본 발명의 약재 발효 추출물 이외에 글리세린, 프로필렌글리콜 등의 다가알콜류 5~30 중량%를 함유하여 제조할 수 있다. 마사지 크림은 본 발명의 약재 발효 추출물 이외에 유동파라핀, 바셀린, 이소노닐이소노나노에이트 등의 오일 30~70 중량%를 함유하여 제조되며, 팩은 본 발명의 약재 발효 추출물 이외에 폴리비닐알콜 5~20 중량%를 함유하는 필 오프 팩 또는 일반유화형 화장료에 본 발명의 약재 발효 추출물 이외에 카올린, 탈크, 산화아연, 이산화티탄 등의 안료가 5~30 중량% 함유된 워시오프 팩으로 제조할 수 있다.

[0039] 또한 본 발명의 화장료 조성물은 각각의 제형에 상기 기재한 성분들 이외에 일반 피부화장료에 배합되는 유분, 물, 계면활성제, 보습제, 저급알코올, 증점제, 킬레이트제, 색소, 방부제, 또는 향료 등을 필요에 따라 적절히 배합하여 사용할 수 있다.

발명의 효과

[0040] 본 발명은 율피, 백지, 마치현, 행인 및 상백피를 포함하는 5가지 약재의 주정 및 발효 추출물의 미백 기능, 주름 개선 용도를 제공한다. 따라서, 이를 유효성분으로 포함하는 조성물은 미백 기능, 주름 개선에 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0041] 도 1은 본 발명에 따라 제조된 화장료 조성물의 적용 전과 후의 기미, 주근깨 개선 효과를 비교한 도이다.

도 2은 본 발명에 따라 제조된 화장료 조성물이 적용 전과 후의 미백 효과를 나타낸 도이다.

도 3은 본 발명에 따라 제조된 화장료 조성물이 적용 전과 후의 주름 개선 효과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0042] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다, 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는

것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명한 것이다.

[0044] **실시예 1: 율피, 백지, 마치현, 행인 및 상백피 추출물의 제조**

[0046] 율피, 백지, 마치현, 행인 및 상백피를 포함하는 5가지 약재를 물로 세척한 후 말려 건조시켰다. 상기 약재의 건조 후 함수율은 10~15%가 되도록 하였다. 건조된 5가지 약재를 분쇄기구를 이용하여 가루로 분말화 시킨 후, 하기 표에 기재된 중량비의 분말을 추출용매에 혼합하였다.

표 1

[0047]

	실시예 1	비교예 1	비교예 2	비교예 3	비교예 4	비교예 5	비교예 6
율피	35	100	-	-	-	-	60
백지	20	-	100	-	-	-	10
마치현	15	-	-	100	-	-	10
행인	15	-	-	-	100	-	10
상백피	15	-	-	-	-	100	10

[0049] 실시예 1, 비교예 1 내지 6에 대하여 추출용매로 물과 주정의 함량을 3:7로 혼합한 70% 주정을 사용하였으며, 상기 분말 약재를 1로 하였을 때, 상기 추출용매는 1 : 9~12 중량비로 혼합하였다. 즉, 실시예 1, 비교예 1 내지 6의 전체 분말을 각 1로 하여 추출 용매를 9~12 비율로 혼합한다. 추출 용매와 혼합된 율피, 백지, 마치현, 행인 및 상백피를 30~40℃에서 40~60시간 추출하였다. 추출된 결과물을 50℃ 미만의 온도로 120 ~ 240 시간 동안 숙성시켜 알코올 성분을 증발시켰다.

[0051] **실시예 2: 율피, 백지, 마치현, 행인 및 상백피 추출물의 발효**

[0052] 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis), 락토바실러스 카제이(Lactobacillus casei), 락토바실러스 플랜터럼(Lactobacillus plantarum) 및 사카미세스 세레비지에(Saccharomyces cerevisiae) 4가지 균을 50ml conical tube에 접종 후 상기 실시예 1의 결과물 1.0g을 배합하여 가장 잘 자라는 균을 2가지 선택하였다. 상기 4가지 균은 약 100여종의 균 중 상기 약재에 접종하였을 때 발효가 잘 이뤄지며, 발효물의 효과가 우수한 것을 선택한 것이다.

[0053] 선택되는 2 이상의 균은 계절, 온도, 습도 등에 따라 상이할 수 있으며, 본 실시예에서는 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis) 및 락토바실러스 카제이(Lactobacillus casei)를 선택하여 약 10^5 ~ 10^7 cells/mL의 농도로 각 5L 발효조에서 배양하였다. 배양 조건은 균의 전용배지를 120g을 발효조에 각각 넣은 후, 실시예 1의 추출물 200ml, 3차 증류수 5L, 소포제 1ml를 첨가한 후 발효조를 완전 밀봉하였다. 이후 고압멸균기 121℃에서 30분 동안 멸균 후 발효조에 종균 200ml 접종하고, 32~37℃, 180 rpm, 24~72시간 동안 호기 배양한 후 필터링하여 불순물을 제거한 추출물을 얻었다. 비교예 1 내지 6에 대하여도 각각 동일한 방식으로 발효 추출과정을 거쳤다. 추가적으로, 실시예 1과 각 약재의 중량비가 동일하나 약재의 혼합액에 대한 주정 및 발효 추출물이 아닌, 각 약재에 대하여 주정 및 발효 추출한 것을 혼합하여 비교예 7 발효 추출물로 제조하였다.

[0055] **실험예 1: 피부 세포 독성**

[0056]

[0057] 96 well plate에 HaCaT cell를 $4x10^4$ cells/well의 농도로 분주하여 24시간 배양을 하였다. 실시예 1, 비교예 1 내지 7의 발효 추출물을 50mg/ml의 농도로 제조한 후, 2배씩 단계 희석 (50, 25, 12.5, 6.25, 3.125mg/ml)하여 각 well (배지 200 μl)에 2 μl씩 처리하여 최종 500, 250, 125, 62.5, 31.25μg/ml이 되도록 한 후 24시간 동안 반응시켰다. WST solution을 각 well에 20μl씩 처리하여 30분 동안 반응시킨 후 450nm에서 측정한 결과, 최고 농도인 500μg/ml에서도 세포 생존율이 100% 이상으로 높게 나타나 세포 독성이 없음을 확인하였다. 비교예 1 내지 7에 대하여도 각각 동일한 방식으로 세포 독성을 측정하여 세포 생존율이 90% 이상으로 높게 나타나 세포 독성이 없음을 확인하였다.

[0060] **실험예 2: 항산화 활성 분석**

[0062] 발효 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 분석하여 항산화 활성을 확인하였다. 실시예 1을 실시예 2에 의해 발효시킨 샘플 2mg/ml을 1ml의 MeOH에 혼합한 후 초음파 처리를 1시간씩 총 3회 수행하여 샘플에 함유된 가용 성분이

충분히 용출되도록 하였다. 이후 2,500rpm에서 5분간 실온에서 원심분리를 수행하여 상층액을 분리하여 실험에 사용하였다. e-tube 4개를 준비하여 MeOH 800㎕씩 각각 분주한 다음 상기 시료 200㎕를 취하여 계단식으로 희석하였디. 양성대조군으로 사용할 아스코르브산(Vit. C)은 2 mg/ml of MeOH로 준비하여 계단식으로 희석하였다. 96 well plate에 각 샘플을 160μl씩 분주하고 DPPH 시약을 40㎕씩 가한 후 실온에서 빛을 차단하여 30분간 반응시켰다. 반응 종료 후 Multi plate reader를 이용하여 520nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교하여 자유라디칼 소거활성을 하기 식에 따라 백분율로 나타내었다.

[0064] [수식 1]

[0065] DPPH radical scavenging activity(%) = 1-(A-B)/C ×100

[0066] A : sample absorbance 520nm

[0067] B : color control absorbance 520nm(without DPPH)

[0068] C : negative control absorbance 520nm(without sample)

[0070] 그 결과, DPPH 소거능에 의한 항산화 활성은 대조군과 비교하여 실시예 1의 발효추출물이 70.6%로 가장 높았으며, 비교예 7이 60.6%, 비교예 1 내지 6은

[0071] 51 내지 55% 사이의 소거능을 확인하였다.

[0073] **실험예 3: 미백 활성 분석**

[0075] 실시예 1, 비교예 1 내지 7의 발효 추출물의 티로시나아제 저해능을 분석하여 미백 활성을 확인하였다. 실험은 티로신(tyrosine)으로부터 최종산물로 멜라닌(melanin)을 합성하는 주요 효소인 버섯 티로시나아제의 L-DOPA의 산화 반응을 억제하는 정도를 시험하였다. 100mM 소디움 포스페이트 버퍼(sodium phosphate buffer, pH 7.0) 0.85ml에 버섯 티로시나아제 0.05ml, 및 실시예 1을 발효시킨 발효 추출물을 10% 혼합하였다. 강하게 교반한 후, 37℃ 항온조에서 6분간 반응시켰다. 반응 후 기질이 되는 L-DOPA 0.05ml을 첨가하여 강하게 교반하고 추가적으로 1분간 반응시켰다. 반응이 끝나면 전체 반응계에서 약 0.2ml을 취하여 96 웰 플레이트에 옮기고, 효소결합면역흡수법(ELISA)을 이용하여 475nm에서 흡광도를 측정하였다. 산화 저해능의 정도는 순수한 물을 사용한 대조구의 흡광 강도를 기준으로 백분율로 표시하였다. 그 결과 정제수를 사용한 대조군에 비해 72%의 산화 반응 저해능을 확인하였다. 그 결과, 본 발명의 화장료 조성물이 티로시나아제의 L-DOPA 산화를 저해하는 능력을 확인하여, 본 발명이 미백 소재로 활용 가능성이 있음을 제시하였다. 비교예 1 내지 7에 대하여도 각각 동일한 방식으로 10% 농도에 대하여 L-DOPA 산화를 저해능을 측정하여 표 2에 나타내었다.

표 2

[0076]

	비교예 1	비교예 2	비교예 3	비교예 4	비교예 5	비교예 6	비교예 7
산화 저해능	65	41	43	51	44	50	65

[0077] 그 결과, 실시예 1에서 가장 뛰어난 L-DOPA 산화를 저해능을 확인하였다.

[0079] **실험예 4: 주름 개선 효과**

[0081] 실시예 1, 비교예 1 내지 7의 발효 추출물의 콜라겐 생합성을 분석하여 주름 개선 효과를 확인하였다. Fibroblast 세포 내에서 새로 생성되는 콜라겐 양을 측정하기 위해 procollagen assay를 실시하였다. 콜라겐 생성에 관여하는 세포주의 하나인 Fibroblast를 1% Antibiotic-Antimycotic(AA, Welgene, Korea)과 10% Fetal bovine serum (FBS, Welgene, Korea)을 포함한 Dulbecco's modified essential medium (DMEM, Welgene, Korea)을 이용하여 37℃, 5% CO_2 인큐베이터에서 배양하였다. $2x10^5$ 농도의 Fibroblast 세포를 6 well plate에 접종하여 24시간 동안 배양한 후 배지를 제거하고 무혈청 배지를 처리하여 24시간 동안 starvation 시킨다. 24시간 후, 무혈청 배지를 제거하고 PBS로 세척한후, UV 312nm 파장에서 12.5mJ로 조사하였다. 그 후, 시료를 phenolred free DMEM 배지에 농도 별로 처리하여 48시간 동안 추가 배양하였다. Ascorbic acid 50uM을 양성 대조군으로, UV(+)군을 음성 대조군으로, 배지만 처리한 그룹을 대조군으로 사용하여 실시예 1 발효 추출물의 결과와 비교하였다. 추출물 처리 후 48시간 동안의 배양이 끝난 후 배지를 수거하였다. 수거한 배지는 Procollagen Type-I C-Peptide (PIP) EIA kit(Takara Bio Inc. MK101)를 이용하여 콜라겐 양을 측정하였다.

Antibody-POD conjugate solution 100ul를 각 well에 첨가하고, 37℃에서 3시간 방치하였다. 반응이 끝나면 내용물을 제거한 뒤 PBS 400ul로 4번 세척하였다. 제거 후 기질용액 100ul를 첨가하여 실온에서 15분간 반응시킨 뒤 stop solution 100ul 첨가하여 부드럽게 섞어주었다, microplate reader(Chromate, USA)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정한 후 표준 농도곡선을 작성하여 콜라겐 양을 산정하였다(표 3). 비교예 1 내지 7 발효 추출물에 대하여도 각각 동일한 방식으로 콜라겐 양을 산정하였다.

표 3

[0082]

시험군	Procollagen conc.(㎍/ml)
	0.0004%
UV(+)	78
AS 25mL	101
실시예 1	112
비교예 1	85
비교예 2	90
비교예 3	89
비교예 4	74
비교예 5	64
비교예 6	86
비교예 7	103

[0083] 그 결과, 실시예 1에서 비교예 1 내지 7에 비해 새로 생성되는 콜라겐양이 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

[0084]

[0085] **실험예 4: 추출 용매별 미백 및 주름 개선 효과의 비교**

[0086]

[0087] 실시예 1에 대하여 다양한 추출 용매(주정, 물, 물과 주정을 3 : 7, 5 : 5로 섞어 제조한 용매)를 사용하여, 실시예 1에 기재된 방식에 따라 추출물을 제조하고, 실시예 2에 기재된 방식에 따라 발효된 추출물을 함유하는 화장료 조성물을 제조하여, 20명의 소비자를 대상으로 4주간 미백 및 주름 개선 효능을 확인하는 실험을 하여 효과가 나타난 소비자 수를 측정하여 효과 비율을 표 4에 나타내었다.

표 4

[0088]

추출 용매	100% 주정	100% 물	50% 주정	70% 주정
미백	10/20	10/20	12/20	17/20
주름 개선	10/20	11/20	12/20	18/20

[0089] 그 결과, 70% 주정 추출물을 대상으로 한 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물에서 뛰어난 미백 및 주름 개선 효과를 확인할 수 있었다.

[0091] **실험예 5: 피부 진정 효과의 비교**

[0092]

[0093] 실시예 1, 비교예 1 내지 7의 발효 추출물의 피부 진정 효과를 측정하기 위하여 실험용 마우스를 이용하였다. 실험용 마우스의 좌측 귀를 대조 부위로, 우측 귀를 시험 부위로 정하고, 에탄올로 귀를 깨끗하게 세척하였다. 제조된 샘플 25㎕를 1일 1회, 4일간 지속적으로 도포하였다. 마지막 도포 1시간 후에는 좌측 귀에 에탄올을, 우측 귀에 아라키돈산(arachidonic acid) 2㎎을 도포하여, 1시간 후 귀의 부종 정도를 마이크로미터로 3회 반복 측정하였다. 아라키돈산은 염증을 유발하는 물질로, 본 실험에서 아라키돈산을 처리한 귀를 음성대조군으로 사용하였다. 또한 소염제인 인도메타신(indomethacin)을 귀에 도포한 쥐도 준비하여 양성대조군으로 사용하였다. 항염증 진정 효과는 아라키돈산 처리군을 기준으로 하였을 때 부종이 억제된 정도를 비교하여 평가하고, 억제율(%)는 (A-B)/A x 100(A : 대조군 귀의 평균두께(아라키돈산 처리귀의 두께-비처리 귀의 두께), B : 시료 도포군 귀의 두께(시료 처리귀의 두께-비처리 귀의 두께))로 계산하여, 그 결과를 하기 표 5에 나타내었다.

표 5

[0094]

시료	농도(%)	아라키돈산 비처리 귀두께	아라키돈산 처리 귀두께	억제율
아라키돈산	2mg/ml	238	469	-
인도메타신	1.0%	227	333	54.1
실시예 1	100%	236	296	42.4
비교예 1	100%	244	423	22.5
비교예 2	100%	238	398	30.7
비교예 3	100%	244	398	33.3
비교예 4	100%	240	369	35.4
비교예 5	100%	239	389	35.1
비교예 6	100%	241	410	26.8
비교예 7	100%	242	400	31.6

[0095] 그 결과, 본 발명에 따른 실시예 1의 발효 추출물이 염증반응 유발 후 염증반응을 완화시키는 피부 진정효과가 비교예 1 내지 7에 비해 뛰어남을 확인하였다.

도면

도면1



도면2



도면3

