



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0092514
(43) 공개일자 2007년09월13일

(51) Int. Cl.

A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/02 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2006-0022765
(22) 출원일자 2006년03월10일
심사청구일자 2006년03월10일

(71) 출원인

인하대학교 산학협력단
인천 남구 용현동 253 인하대학교

(72) 발명자

김은기
서울특별시 강남구 대치동 316 은마아파트 8-212
김동만
서울 구로구 궁동 190-101호
홍은숙
서울 관악구 신림동 1410-18

(74) 대리인

이원희

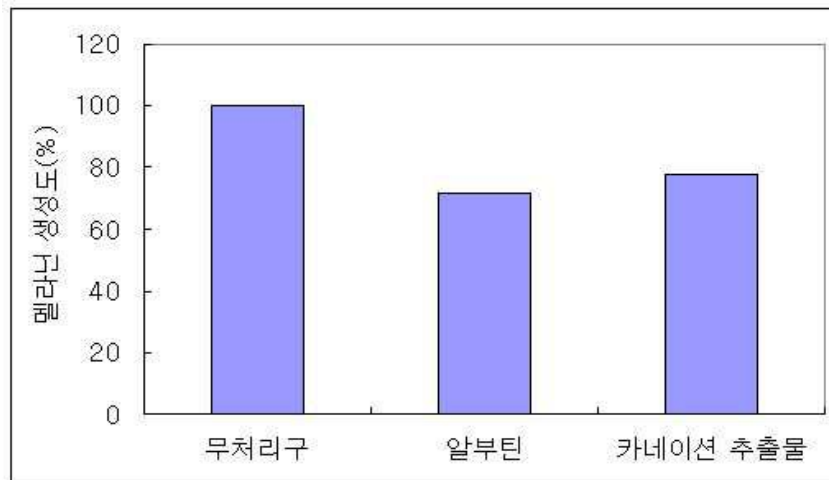
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 피부 미백 및 항산화 활성을 가지는 카네이션 추출물

(57) 요약

본 발명은 피부 미백 및 항산화 활성을 가지는 카네이션(*Dianthus caryophyllus*) 추출물에 관한 것으로서, 본 발명에 따른 카네이션 추출물은 멜라닌 생성 세포에서의 멜라닌 생성을 저해하고, 항산화 활성이 우수하며, 세포 독성이 거의 나타나지 않기 때문에 피부 미백용 화장품 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

물, 알코올 또는 이들의 혼합물로 추출되며, 항산화 활성 및 피부 미백 활성을 가지는 카네이션(*Dianthus caryophyllus*) 추출물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 알코올은 G 내지 C₈의 저급 알코올인 것을 특징으로 하는 카네이션 추출물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 추출은 열 추출 방법에 의해 이루어지는 것임을 특징으로 하는 카네이션 추출물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 피부 미백 활성은 세포의 멜라닌 생성 저해에 의한 것임을 특징으로 하는 카네이션 추출물.

청구항 5

제 1항의 추출물을 함유하는 피부 미백용 화장품 조성물.

청구항 6

제 1항의 카네이션 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화제.

청구항 7

제 1항의 카네이션 추출물을 유효성분으로 함유하는 노화 억제제.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- <4> 본 발명은 피부 미백 및 항산화 활성을 가지는 카네이션(*Dianthus caryophyllus*) 추출물에 관한 것이다.
- <5> 피부는 외부 환경과 직접 접하면서 인체를 보호하며 생화학적이고 물리적인 기능을 가지는 아주 중요한 조직이다. 이 조직은 크게 3가지 즉, 표피(epidermis), 진피(dermis) 및 피하(hypodermis)로 나누어진다. 멜라닌은 피부의 표피층에 존재하는 색소로서, 표피의 기저층에 존재하는 멜라노사이트(melanocyte)로부터 만들어져 케라티노사이트(keratinocyte)라는 표피 세포로 이동한다. 생체 내에는 멜라닌을 분해하는 효소가 없고, 다만 케라티노사이트가 표피에서 떨어져 나갈 때 같이 피부에서 떨어져 나가는 것으로 제거된다.
- <6> 멜라닌 합성 과정을 살펴보면, 멜라노사이트 내의 멜라노솜이라는 소포체에서 먼저 티로시나제(Tyrosinase)라는 효소에 의해 티로신이 도파(DOPA)를 거쳐 도파퀴논(DOPAquinone)으로 전환되고, 도파퀴논으로부터 자동 산화 반응과 효소 반응으로 도파크롬(DOPACHrome)을 거쳐 흑갈색의 공중합체인 멜라닌이 생성된다. 이렇게 생성된 멜라닌은 멜라노솜을 통해 케라티노사이트로 옮겨지고 여기에서 약 28일간의 각화 과정을 거치면서 피부 표면으로 나와 각질과 함께 소실된다.
- <7> 멜라닌은 햇빛 UV의 빛 에너지를 흡수하여 UV에 의한 손상으로부터 진피 이하의 피부 기관을 보호하는 역할을 하며, 피부 생체 내에 생겨난 유해산소 및 프리라디칼 등을 잡아주는 등 외부 유해인자로부터 피부를 보호해주는 유용한 역할을 수행한다. 또한, 피부 세포 내의 멜라닌 양에 따라 사람의 피부색을 결정한다. 멜라닌 색소가 많은 사람은 갈색 또는 검은 색 피부를 갖는 반면, 멜라닌 색소가 적은 사람은 흰색의 피부를 갖게 된다.
- <8> 그러나 멜라닌이 비정상적으로 적게 생산되면 백반증과 같은 피부병변이 유발되고, 반대로 일광, 호르몬 변화, 염증 또는 약제 등에 의해 멜라닌의 과도하게 합성되거나 각화작용이 원활히 이루어지지 않아 멜라닌이 완전히

없어지지 않으면 피부에 손상을 줄 뿐만 아니라 피부의 색소가 침착되어 기미, 주근깨를 형성하며, 이와 같은 병변으로부터 나아가 피부암의 원인이 되기도 한다. 따라서, 이러한 색소 침착 현상을 방지하기 위해서는 멜라닌 생성 과정의 일부분을 저해하여 멜라닌의 생성을 감소시켜야 한다.

- <9> 오늘날 동양권의 여성들은 백옥같이 하얗고 깨끗한 피부를 선호하며 이를 미의 중요한 기준으로 삼고 있기 때문에 피부색소 이상침착의 치료 및 미용욕구 충족을 위한 미백제에 대한 개발이 활발히 이루어지고 있다.
- <10> 현재 피부미용을 위한 미백제의 개발에 있어서, 생성된 멜라닌 색소를 환원시켜 탈색하는 방법과 멜라닌 색소를 형성하는 효소인 티로시나제의 활성을 억제하는 방법이 알려져 있다. 그러나 멜라닌 색소를 환원시키기 위해 사용되는 토코페롤이나 비타민류 등을 사용한 미백제는 멜라닌 색소의 탈색효과가 미미한 것으로 알려져 있다. 따라서 티로시나제의 활성을 저해시킴으로써 멜라닌 색소의 생성을 억제하는 저해제가 주목받고 있다.
- <11> 종래의 화장품 분야에서는 미백 성분으로서, 예를 들면, 코지산(Kojic acid), 알부틴(Arbutin) 등과 같은 티로시나제 효소활성을 억제하는 물질, 하이드로퀴논(Hydroquinone), 비타민 C(L-Ascorbic acid) 및 이들의 유도체와 각종 식물 추출물이 사용되어 왔다.
- <12> 그러나, 상기 티로시나제 효소활성을 억제하는 물질은 처방계 중에서의 안정성이 나빠 분해되어 착색되거나, 이취의 발생, 생체 레벨에서의 효능, 효과의 불분명 및 안전성 문제 등으로 그 사용이 제한되고 있는 실정이다. 코지산은 티로시나제의 활성 부위에 존재하는 구리 이온을 흡착시켜 효소활성을 저해하지만, 화장품에 배합 시 불안정성, 피부 부작용의 문제 및 최근 동물실험 결과 간암을 유발한다고 밝혀져 화장품 원료로 사용이 중지되었다. 비타민 C 및 그 유도체는 산화가 잘되는 불안정성 때문에 화장품 원료로서 사용이 어려우며, 하이드로퀴논은 피부에 대한 미백효과는 탁월하지만 알레르기를 유발하는 성질, 멜라닌 생성 세포에 대한 독성, 피부에의 영구 탈색화 등 피부에 대한 자극성이 높으며, 최근 발암성 물질로 규정되어 사용이 금지되어 각 나라별로 제한적인 농도만 허가하고 있다. 또한, 알부틴은 하이드로퀴논에 글루코피라노사이드(Glucopyranoside)가 결합된 유도체로 하이드로퀴논 사용 시 나타나는 부작용이 적으면서 인체에 대한 독성은 없이 멜라닌 색소의 합성을 억제하는 작용이 있어, 멜라닌 색소 침착이 증가되는 피부 질환의 치료제로서의 이용 가능성이 제시되었으나, 피부 효소에 의해 일부 분해되는 단점이 있다.
- <13> 이들 미백 물질들 외에 천연물 특히 식물 중에서 미백 활성 성분을 찾기 위한 연구도 계속 이루어져 왔고, 그 중 상백피(일본공개특허 소 55-44375호, 소 64-26507호, 소 64-83009호, 평 1-25687호, 평 5-139950호 및 대한민국 공개특허 제92-002109호, 제97-021273호), 감초(일본공개특허 소 60-214721호, 소 60-214728호, 소 63-23809호, 소 64-63506호, 평 1-149706호 및 대한민국 공개특허 제92-002109호, 제97-025601호), 작약(일본공개특허 소 61-246109호 및 대한민국 공개특허 제92-002111호), 계피(일본공개특허 소 63-30403호, 평 5-139954호), 고삼(일본공개특허 소 64-26507호 및 대한민국 공개특허 제92-002110호), 갈근(일본공개특허 소 60-214727호, 소 64-16709호), 당귀(일본공개특허 소 56-92211호, 평 4-26610호), 목단피(일본공개특허 소 60-214721호, 소 61-50915호, 소 61-246109호), 반하(일본공개특허 평 2-207028호, 대한민국 공개특허 제96-033442호), 알로에(일본공개특허 소52-44375호, 평 2-207030호, 평 5-139950호)등 다수의 식물 추출물 및 생약재 추출물 등이 티로시나제에 작용하여 멜라닌 생성을 억제한다는 사실이 밝혀졌으나, 이들 역시 안전성, 변색 가능성 등의 측면에서 화장품이나 의약품에 유효 농도 이상으로 사용하는 데는 많은 문제점을 갖고 있으며, 아직 뛰어난 효과를 나타내지도 못하고 있는 실정이다.
- <14> 인간을 포함한 모든 호기성 생물체는 산소(O_2)를 이용하여 에너지 대사를 진행하며 생존하고 있다. 그러나 생체 내 산소가 각종 물리적, 화학적, 생물학적인 스트레스를 받으면 슈퍼옥사이드 음이온 라디칼(superoxide anion radical, O_2^-) 과산화수소(H_2O_2), 히드록시 라디칼(hydroxy radical, $\cdot OH$) 등의 유해한 활성 산소종(active oxygen species)으로 변하여 인체에 치명적인 생리적 장애를 일으키고 심할 경우는 질병을 유발하고 생명을 잃게 한다.
- <15> 생체는 활성 산소종을 제거하는 자기 방어 기구로부터 항산화기구(antioxidative mechanism)를 발달시키면서 진화하여 왔다고 생각되지만, 조직의 방어능을 초월한 활성 산소종의 발생은 단백질, DNA, 효소 및 T 세포와 같은 면역계통의 인자를 손상시켜 각종 질환의 원인이 된다. 또한, 활성 산소종은 세포 생체막의 구성 성분인 불포화 지방산을 공격하여 과산화 반응을 일으키고 이로 인해 생체 내 축적된 과산화 지질은 노화와 각종 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다(Halliwell, B., *Drugs* 42:569, 1999; Fukuzawa, K and Takaishi, Y., *J. Act. Dxyg. Free Rad.* 1:55, 1990; Neuzil, J., Gebicki, J. M. and Stocker, R., *Biochem. J.* 293:601, 1993; Sies, H., ed., *Oxidative stress*, 1985; Steinberg, D., et al., *N. Engl. J. Med.* 320:915, 1989).

- <16> 최근 노화와 성인병 질환의 원인이 활성 산소종에 기인된 것이라는 학설이 인정됨에 따라 활성 산소종을 조절할 수 있는 물질로 알려진 항산화제의 개발 연구가 활발히 진행되어 슈퍼옥사이드 디스뮤타아제(superoxide dismutase), 퍼옥시다아제(oxidase), 카탈라아제(catalase), 글루타치온 퍼옥시다아제(glutathione peroxidase) 등의 항산화 효소와 토코페롤(tocopherol), 아스코베이트(ascorbate), 카로테노이드(carotenoid), 글루타치온(glutathione) 등의 천연물 유래의 저분자 항산화 물질에 대한 많은 연구가 이루어지고 있으며 (Chang, S. S., *et al.*, *J. Food Sic.* 42:1102, 1977; Hammerschmidt, P. A. and Pratt, D. E., *J. Food Sic.* 43:556, 1964), 2,6-디-tert-부틸-4-히드록시 아니졸(2,6-di-tert-butyl-4-hydroxyanisole, BHA) 등의 합성 항산화제가 많이 개발되어 의약품과 식품 분야에서 이용되고 있다(Kitahara, K., *et al.*, *Chem Pharm. Bull.* 40:2208, 1992; Hatano, T., *Natural Medicines* 49:357, 1995; Masaki, H., *et al.*, *Biol. Pharm. Bull.* 18:162, 1995).
- <17> 그러나 합성 항산화제에 대한 소비자의 기피 성향과 합성 항산화제가 대량으로 투여된 동물 실험에서 발암성이 보고되고 있어(Branen, A. L., *JAACS* 52:59, 1975) 합성 항산화제의 사용이 점점 제한되고 있다. 이로 인하여 효력이 탁월하고 보다 안전한 새로운 천연 항산화제의 개발이 절실히 요구된다.
- <18> 카네이션(*Dianthus caryophyllus*)은 석죽과로 남유럽과 서부아시아에 분포한다. 개화기는 7월에서 8월 사이에 피며 줄기 윗부분의 잎겨드랑이 끝에 1 ~ 3개씩 달리고 향기가 있다. 꽃받침은 넓은 둥근 통꼴이며 끝이 5 갈래로 갈라진다. 작은 꽃 싸개는 네모꼴로 꽃받침 길이의 1/4 정도이다. 꽃잎은 거꿀 달걀꼴로 끝이 얇게 갈라진다. 수술은 10개, 암술대는 2개이다. 열매는 튀는 열매이고 달걀꼴이며 꽃받침에 싸여 있다. 생육 적온은 10~20℃이며 25℃ 이상의 고온에는 약하고 생리통 완화에 쓰인다.
- <19> 이에 본 발명자들은 피부에 안전하고 변색 가능성이 적은 미백 화장료 조성물에 대하여 천연 약용 식물 중에서 연구하던 중, 중국의 고산지대에서 자생하는 식물인 카네이션에서 추출한 추출물이 멜라닌 생성을 감소시키고, 항산화 효과가 있어, 피부 미백용 화장료 조성물 또는 항산화 조성물로 유용하게 사용될 수 있음을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

- <20> 본 발명의 목적은 피부 미백 및 항산화 활성을 가지는 카네이션 추출물(*Dianthus caryophyllus*)을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

- <21> 상기의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 미백 활성과 항산화 활성을 갖는 카네이션 추출물(*Dianthus caryophyllus*)을 제공한다.
- <22> 또한, 본 발명은 상기 카네이션 추출물을 함유하는 미백용 화장료 조성물을 제공한다.
- <23> 또한, 본 발명은 카네이션 추출물을 함유하는 항산화용 조성물을 제공한다.
- <24> 아울러, 본 발명은 카네이션 추출물을 함유하는 노화 억제제를 제공한다.
- <25> 이하, 본 발명을 자세히 설명한다.
- <26> 본 발명에 따른 카네이션 추출물은 다음과 같이 제조될 수 있다.
- <27> 카네이션을 물로 깨끗이 세척한 후, 그늘에서 건조한다. 건조한 카네이션을 추출 용기에 넣고, 물, 알코올 또는 이들의 혼합물로 적절한 온도에서 일정 시간 추출한다. 추출물은 여과되고, 농축될 수 있다.
- <28> 상기 추출 용매로는 물, C₁ 내지 C₃의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매로부터 선택된 용매를 사용하는 것이 바람직하며, 메탄올을 사용하는 것이 더욱 바람직하다.
- <29> 상기 추출 용매의 양은 생약 건조 중량의 2 내지 10배로, 바람직하게는 4배로 한다.
- <30> 상기 추출 방법은 열 추출, 환류 냉각 추출, 초음파 추출 등의 추출 방법을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 열 추출의 추출방법으로 1회 내지 5회 추출될 수 있다.
- <31> 상기 침적 온도는 30 내지 70℃이며, 보다 바람직하게는 40 내지 60℃이며, 가장 바람직하게는 50℃ 정도로 유지하는 것이 부패, 변색 및 변취의 예방에 가장 효과적이다.

- <32> 상기 침적 시간은 5 내지 20 시간이며, 바람직하게는 10 시간이다.
- <33> 상기 카네이션 추출물을 수득한 후, 거름종이 등을 이용하여 고형분을 제거하고, 현탁액을 원심분리 시키고, 상층액을 감압 여과할 수 있다.
- <34> 상기 여과된 추출물은 질소를 이용하여 추출물 내 메탄올을 제거함으로써 농축한다.
- <35> 본 발명에 의한 카네이션 추출물은 일반적인 미백물질로 알려진 알부틴과 비비슷하게 B16 멜라노마 세포에서 멜라닌 생성을 저해하여(도 1 및 표 1 참조) 미백 효과가 있다. 또한, B16 멜라노마 세포에 200 mg/ml의 높은 농도로 처리하여도 세포 독성이 미비하며(도 2 및 표 2 참조), 자유 라디칼을 소거하는 항산화 효과에서는 비타민 C와 비슷한 항산화 활성을 보였다(도 3 및 표 3 참조). 특이할 만한 점은 카네이션 추출물은 비타민 C에 비해 항산화력이 뛰어나지는 않으나 비타민 C보다 안정성이 높아 오랜 시간이 지나도 활성이 유지된다는 점을 실험 중에 확인할 수 있었다.
- <36> 본 발명은 카네이션 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 화장품 조성물을 제공한다.
- <37> 본 발명의 카네이션 추출물은 상기와 같이 과다한 멜라닌 생성을 억제하는 미백용 화장품 조성물로 효과적으로 사용될 수 있다. 또한, 항산화용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.
- <38> 본 발명의 조성물에서 상기 카네이션 추출물은 조성물 총 중량에 대하여 0.005 내지 50 중량 % 함유되는 것이 바람직하지만, 미백 효과가 있고 독성이 나타나지 않는 범위에서 사용 용도에 따라서 상기 범위 이상 또는 이하로도 사용될 수 있다.
- <39> 본 발명의 조성물은 상기 카네이션 추출물에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- <40> 본 발명의 카네이션 추출물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물로 제조되는 화장품은 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조할 수 있다. 유화 제형의 화장품으로는 영양화장수, 크림, 에센스 등이 있으며, 가용화 제형의 화장품으로는 유연화장수가 있다. 또한, 본 발명의 카네이션 추출물을 함유하는 화장품 이외에도 피부 과학적으로 허용 가능한 매질 또는 기제를 함유함으로써 피부과학 분야에서 통상적으로 사용되는 국소 적용 또는 전신 적용할 수 있는 보조제 형태로 제조될 수 있다.
- <41> 적합한 화장품의 제형으로는 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 스틱(conceal stick)의 형태로 제공될 수 있다. 또한, 포말(foam)의 형태 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로도 제조될 수 있다.
- <42> 또한, 본 발명의 화장품 조성물은 카네이션 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, 금속이온 봉쇄제 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 또는 피부과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 그리고, 상기의 성분들은 피부과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.
- <43> 본 발명의 화장품 조성물의 구체적인 제형으로는 스킨로션, 스킨 소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처 크림, 핸드크림, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 샴푸, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션, 바디클렌저, 유액, 프레스파우더, 루스파우더, 아이섀도 등의 제형을 포함한다.
- <44> 본 발명은 카네이션 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 조성물을 제공한다.
- <45> 본 발명의 카네이션 추출물은 비타민 C와 비슷한 항산화 활성을 보이거나(도 3 및 표 3 참조) 안정성이 비타민 C보다 높아 오랜 시간이 지나도 항산화 활성이 유지됨으로 생체 내에서 유해한 라디칼을 효과적으로 제거할 수 있다.
- <46> 또한, 본 발명은 상기 카네이션 추출물을 유효성분으로 함유하는 노화 억제제를 제공한다. 본 발명의 카네이션 추출물은 항산화 활성을 보임으로 효과적인 노화 억제제로 유용하게 사용할 수 있다.
- <47> 본 발명의 노화 억제제는 통상적으로 사용되는 부형제, 봉쇄제, 감미제, 활택제, 향미제 등을 추가로 포함할 수

있으며, 통상적인 방법에 의해 정제, 캡슐제, 산제, 과립제, 현탁제, 유제, 시럽제, 기타 액제로 제형화될 수 있다.

<48> 구체적으로 본 발명의 노화 억제제는 경구 투여용 제형, 예를 들면 정제, 트로치제(troches), 로젠지(lozenge), 수용성 또는 우성현탁액, 조제분말 또는 과립, 에멀전, 하드 또는 소프트 캡슐, 시럽 또는 엘릭시르제(elixirs)로 제제화된다. 정제 및 캡슐 등의 제형으로 제제하기 위해 락토오스, 사카로오스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아밀로펙틴, 셀룰로오스 또는 젤라틴과 같은 결합제, 디칼슘 포스페이트와 같은 부형제, 옥수수 전분 또는 고구마 전분과 같은 붕해제, 스테아르산 마그네슘, 스테아르산 칼슘, 스테아릴푸마르산 나트륨 또는 폴리에틸렌글리콜 왁스와 같은 윤활유가 함유된다. 캡슐제형의 경우는 상기에서 언급한 물질 이외에도 지방유와 같은 액체 담체를 함유한다.

<49> 또한, 본 발명의 노화 억제제는 경구 또는 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여시 피하주사, 정맥주사, 근육내 주사 또는 흉부내 주사 주입방식을 선택하는 것이 바람직하다. 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위해서는 본 발명의 카네이션 추출물을 안정제 또는 완충제와 함께 물에서 혼합하여 현탁액으로 제조하고 이를 앰플 또는 바이알의 단위 투여형으로 제제한다.

<50> 본 발명에 따른 유효성분의 투여량은 체내에서 활성성분의 흡수도, 불활성화를 및 배설속도, 환자의 연령, 성별 및 상태, 치료할 질병의 중증 정도에 따라 적절히 선택되나, 경구 투여제의 경우 일반적으로 성인에게 1일에 체중 1 kg당 본 발명의 카네이션 추출물을 0.1 ~ 500 mg의 양으로 1회 내지 수회 나누어 투여할 수 있으며, 0.1 ~ 100 mg의 양으로 투여하는 것이 바람직하다.

<51> 이하, 본 발명을 실시예, 실험예 및 제제예에 의해 상세히 설명한다.

<52> 단, 하기 실시예, 실험예 및 제제예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예, 실험예 및 제제예에 의해 한정되는 것은 아니다.

<53> <실시예 1> 피부 미백용 카네이션 추출물의 제조

<54> 본 실시예의 카네이션은 중국의 고산지대에서 채취한 것을 사용하였다.

<55> 채취한 식물을 물에 씻어 이물질을 제거한 후 건조하였다. 건조된 식물 50 g을 100% 메탄올 200 ml에 침지시켜 50℃ 수욕조에서 10시간 동안 온탕하였다. 얻어진 추출액을 실온으로 냉각시키고 거름종이로 여과하여 여과액을 취하였다. 질소를 사용하여 여과액에서 메탄올을 증발시켜 농축한 다음, 이를 10% 메탄올에 녹여 19 g의 추출물을 제조하였고 농도는 4 mg/μl이다.

<56> <실험예 1> 미백 효과 측정

<57> <실험예 1-1> B16 멜라노마 세포 배양

<58> B16 멜라노마 세포는 수원 임업 연구소에서 제공받아 사용하였다. B16 멜라노마 세포는 멜라닌을 생산하는 세포주로서 일반적으로 미백물질 스크리닝에 사용된다.

<59> 상기 세포를 배양하기 위한 배지는 10% FBS, 1% 페니실린/스트렙토마이신을 포함하는 DMEM 배지를 제조, 멸균하여 무균상태로 만들었다. 세포 배양은 37℃, 5% CO₂의 인큐베이터에서 배양하였다. 멜라노마 세포를 배양하여 100 mm 패트리 디쉬가 90% 정도 찼을 때 계대 하였다.

<60> <실험예 1-2> 흡광도 측정을 통한 멜라닌 저해 측정

<61> 카네이션 추출물의 미백효과 측정을 위하여 B16 멜라노마 세포에 카네이션 추출물 또는 알부틴을 처리하여 생성된 멜라닌 양의 변화를 측정하였다. 6웰 플레이트에 세포를 접종(seeding)하고 실시예에서 제조한 카네이션 추출물 또는 알부틴을 200 μg/ml의 농도로 처리하여 이틀간 배양한 후, 트립신-EDTA를 이용하여 세포를 회수하였다. 회수한 세포에 10% DMSO(Dimethylsulfoxide)를 포함하는 1N NaOH를 가해 90℃에서 1 시간 반응시켜 멜라닌에 충분히 녹아나오도록 한 후, ELISA 리더(reader)를 이용하여 파장 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 멜라닌 생성도는 하기 수식식 1을 이용하여 계산하였으며, 실험 결과는 도 1 및 표 1에 나타내었다.

【표 1】

<63>

시료명	무처리구	알부틴	카네이션 추출물
멜라닌 생성도(%)	100	71.4	77.4

<64>

표 1에서 나타난 바와 같이, 일반적인 미백물질로 알려진 알부틴의 경우 무처리구와 비교했을 때, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 멜라닌의 양이 71.4%이며, 카네이션 추출물은 77.4%로 알부틴과 비슷한 멜라닌 생성 저해 효과를 가짐을 확인할 수 있다.

<65>

<실험예 2> 독성 시험

<66>

카네이션 추출물을 미백 화장품 조성물로 사용할 수 있는지 여부를 판단하기 위하여, 세포 독성 실험을 실시하였다. 96웰 플레이트에 세포를 접종하고 카네이션 추출물 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 처리하여 2일 동안 37℃, 5% CO₂의 인큐베이터에서 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 용액 100 μl 를 첨가하여 30℃에서 4시간 반응시켰다. 반응이 끝난 후, 용액을 제거하고 DMSO 100 μl 를 첨가하여 염색된 세포를 녹인 후 ELISA 리더(reader)를 이용하여 파장 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존율은 하기 수학적 식 2를 이용하여 계산하였으며, 결과는 도 2 및 표 2에 나타내었다.

【표 2】

<68>

시료명	무처리구	알부틴	카네이션 추출물
세포 생존율(%)	100	98.3	93.6

<69>

표 2에서 나타난 바와 같이, 카네이션 추출물을 처리하지 않은 무처리구와 비교하였을 때, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 높은 농도임에도 불구하고 세포 생존율은 93.6%로 세포 수가 거의 줄어들지 않는 것으로 보아 세포독성이 적은 것을 알 수 있다.

<70>

<실험예 3> 항산화 활성 실험

<71>

카네이션 추출물이 항산화 활성을 갖는지 확인하기 위하여 일반적으로 항산화 활성을 측정하는 방법인 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액을 이용한 방법을 이용하여 측정하였으며(Si Eun Lee, Eun Mi Ju, Jeong Hee kim., *Exp Mol Med.* 33(4):263-268, 2001), 항산화제로 알려진 비타민 C와 함께 실험하여 카네이션 추출물이 어느 정도의 활성을 갖는지를 상대적으로 비교해 보았다.

<72>

200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 카네이션 추출물 또는 비타민 C와 항산화 측정 용액인 DPPH 용액을 100 μl 씩 혼합하여 37℃에서 30 분간 반응시킨 후, ELISA 리더(reader)를 이용하여 파장 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

<73>

항산화 활성은 하기 수학적 식 3를 이용하여 계산하였으며, 실험 결과는 도 3 및 표 3에 나타내었다.

【표 3】

<75>

시료명	비타민 C	카네이션 추출물
항산화 활성(%)	66.2	55.6

<76>

표 3에서 나타난 바와 같이, 카네이션 추출물의 항산화 활성이 55.6%로 나타나 비타민 C보다 비슷한 정도의 항산화력을 갖는다는 것을 알 수 있었다.

<77>

하기에 본 발명의 조성물을 위한 제제예를 예시한다.

<78>

<제제예 1> 카네이션 추출물을 유효성분으로 함유하는 미백化粧료의 제조

<79>

<1-1> 유연化粧수의 제조

<80>

카네이션 추출물을 유효성분으로 함유하는 유연化粧수의 제제예는 다음 표 4와 같이 제조하였다.

【표 4】

<81>

원료	함량(중량부)
카네이션 추출물	10.00
1,3-부틸렌글리콜	1.00
디소듐이디티에이	0.05
알란토인	0.10
디포타슘글리시리제이트	0.05
시트릭애씨드	0.01
소듐시트레이트	0.02
글리세레스-26	1.00
알부틴	2.00
하이드로제네이티드캐스터오일	1.00
에탄올	30.00
보존제	미량
착색제	미량
착향제	미량
정제수	잔량

<82> <1-2> 영양 크림의 제조

<83> 카네이션 추출물을 함유한 영양크림의 제제에는 다음 표 5의 조성과 같이 제조하였다.

【표 5】

<84>

원료	함량(중량부)
카네이션 추출물	10.0
1,3-부틸렌 글리콜	7.0
글리세린	1.0
D-판테놀	0.1
식물 추출물	3.2
마그네슘알루미늄실리케이트	0.3
PEG-40 스테아레이트	1.2
스테아릭애씨드	2.0
폴리소르베이트 60	1.5
친유형글리세릴스테아레이트	2.0
소르비탄세스퀴올리에이트	1.5
세테아릴알코올	3.0
미네랄오일	4.0
스쿠알란	3.8
카르틸릭/카프릭트리글리세라이드	2.8
식물성 오일	1.8
디메치콘	0.4
디포타슘글리시리제이트	미량
알란토인	미량
소듐 히아루로네이트	미량
토코페릴아세테이트	적량
트리에탄올아민	적량
보존제	적량
착향제	적량
정제수	잔량

<85> <제제예 2> 카네이션 추출물을 유효성분으로 함유하는 노화 억제제의 제조

<86> <2-1> 시럽제의 제조

<87> 카네이션 추출물을 유효성분으로 함유하는 시럽제는 다음 표 6의 조성과 같이 제조하였다.

【표 6】

<88>

구성성분	함량(중량부)
카네이션 추출물	2
사카린	0.8
당	25.4
글리세린	8
향미료	0.04
에탄올	4
소르브산	0.4
증류수	60

<89> <2-2> 정제의 제조

<90> 카네이션 추출물을 유효성분으로 함유하는 정제는 표 7의 조성과 같이 제조하였다.

【표 7】

<91>

구성성분	함량(중량부)
카네이션 추출물	250
락토오스	175.9
감자전분	180
콜로이드성 규산	32
10% 젤라틴 용액	
감자전분	160
활석	50
스테아르산 마그네슘	5

<92> 카네이션 추출물 250 중량부, 락토오스 175.9 중량부, 감자전분 180 중량부 및 콜로이드성 규산 32 중량부와 혼합하였다. 상기 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄하여 14 mesh체를 통과시켰다. 이것을 건조하고 여기에 감자전분 160 중량부, 활석 50 중량부 및 스테아린산 마그네슘 5 중량부를 첨가하여 얻은 혼합물을 정제로 제조하였다.

발명의 효과

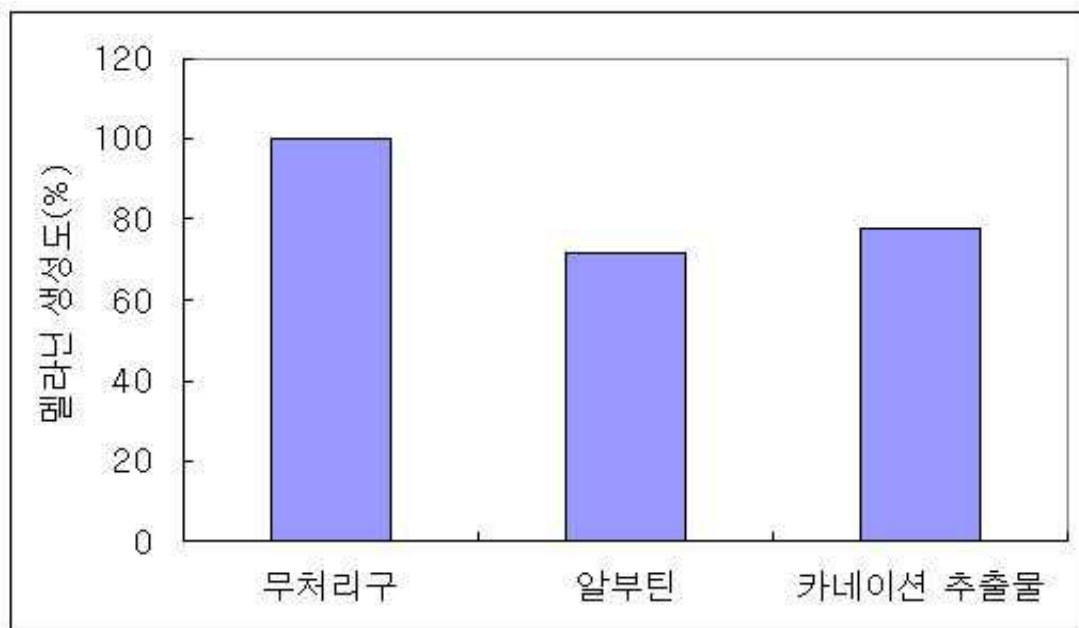
<93> 본 발명의 카네이션 추출물은 물, C₁ 내지 C₃의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매로부터 선택된 용매를 이용하여 추출하며, B16 멜라노마 세포에 의한 멜라닌 생성을 저해하며, 세포 독성이 거의 없고, 항산화 활성이 있으므로, 피부 미백용 화장품 조성물로 유용하게 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

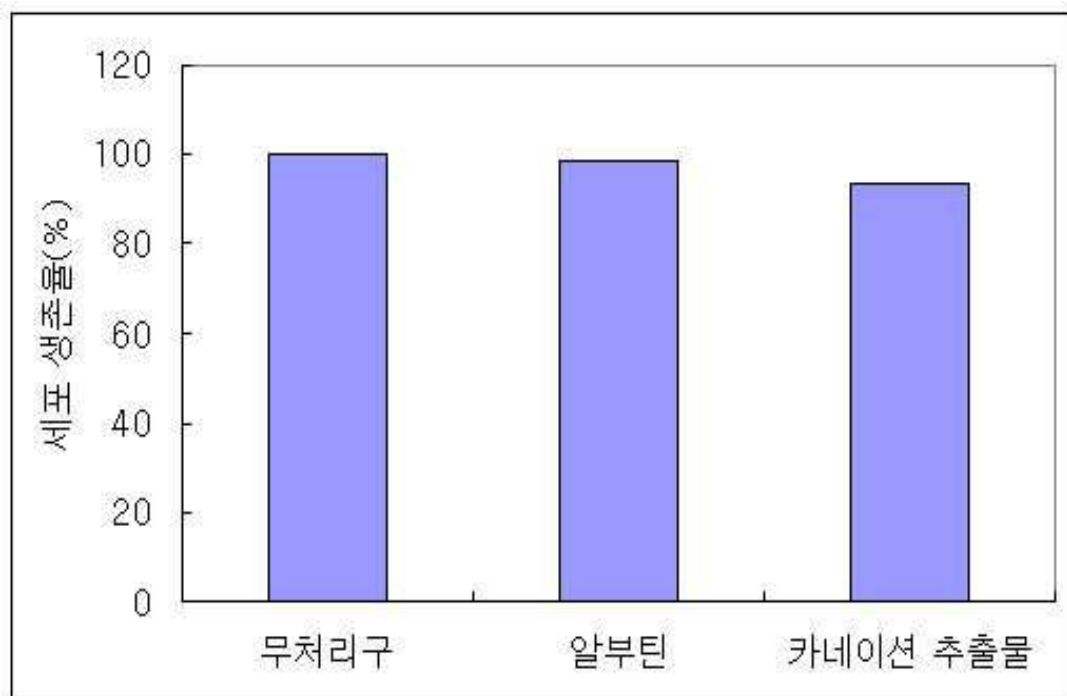
- <1> 도 1은 카네이션 추출물 처리시 멜라닌 생성도를 나타낸 그래프이고,
- <2> 도 2는 카네이션 추출물 처리시 세포 생존율을 나타낸 그래프이고,
- <3> 도 3은 카네이션 추출물의 항산화 활성을 나타낸 그래프이다.

도면

도면1



도면2



도면3

