

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2017년 6월 8일 (08.06.2017)



(10) 국제공개번호
WO 2017/094959 A1

- (51) 국제특허분류:
A61K 8/97 (2006.01) A61K 36/539 (2006.01)
A61K 8/02 (2006.01) A61K 36/31 (2006.01)
A23L 33/10 (2016.01) A61Q 19/08 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2015/014373
- (22) 국제출원일: 2015년 12월 29일 (29.12.2015)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2015-0168333 2015년 11월 30일 (30.11.2015) KR
- (71) 출원인: 한국 한의학 연구원 (KOREA INSTITUTE OF ORIENTAL MEDICINE) [KR/KR]; 34054 대전시 유성구 유성대로 1672, Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 김종열 (KIM, Jong Yeol); 34002 대전시 유성구 구룡길 143, Daejeon (KR). 차성원 (CHA, Seong-won); 34140 대전시 유성구 어은로 57, 133 동 1105 호, Daejeon (KR). 남지호 (NAM, Jiho); 06592 서울시 서초구 사평대로 240, 503 동 709 호, Seoul (KR). 채성욱 (CHAE, Sungwook); 35230 대전시 서구 대덕대로 175 번길 60, 524 호, Daejeon (KR). 임아랑 (IM, A-Rang); 03055 서울시 종로구 북촌로 7길 15, Seoul (KR).

(74) 대리인: 최규환 (CHOI, Kyu Whan); 35209 대전시 서구 한밭대로 745, 12층 그린국제특허법률사무소, Daejeon (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

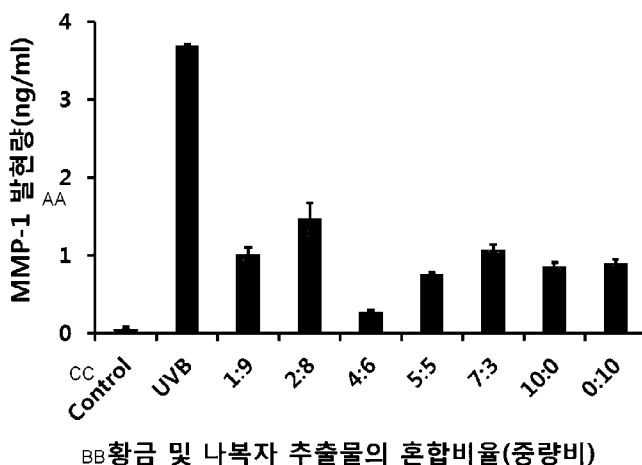
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

(54) Title: COMPOSITION FOR IMPROVING SKIN AGING AND WRINKLES, CONTAINING SCUTELLARIA BAICALENSIS AND RAPHANUS SATIVUS L. MIXTURE EXTRACT AS ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭: 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 노화 및 주름 개선용 조성물



AA ... MMP-1 expression level (ng/ml)
BB ... Mixing ratio (weight ratio) of Scutellaria baicalensis and Raphanus sativus L. extracts
CC ... Control

(57) Abstract: The present invention relates to a composition for skin wrinkle improvement and anti-aging, the composition containing a Scutellaria baicalensis and Raphanus sativus L. mixture extract as an active ingredient. Specifically, the mixture extract having Scutellaria baicalensis and Raphanus sativus L. extracts mixed by a weight ratio of 3.5-4.5:6.5-5.5 inhibits cell damage due to ultraviolet ray irradiation, and notably inhibits the expression of MMP-1. The composition of the present invention may be used as a cosmetic material, a functional health food and a pharmaceutical composition, and especially has an excellent effect of improving skin wrinkles for a person of Tae-Eum type among the Sasang constitutional types classified in oriental medicine.

(57) 요약서: 본 발명은 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 항노화용 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 황금 및 나복자 추출물을 3.5~4.5:6.5~5.5 중량비로 혼합한 혼합추출물이 자외선 조사에 의한 세포 손상을 억제하며, MMP-1의 발현을 현저하게 억제한다. 본 발명의 조성물은 화장품, 건강기능식품 및 약학 조성물로 사용할 수 있으며, 특히, 한의학에서 분류하는 사상체질 중에서 태음인의 피부 주름 개선 효과가 탁월한 효과가 있는 것이다.

WO 2017/094959 A1

명세서

발명의 명칭: 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 노화 및 주름 개선용 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 노화 및 주름 개선용 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 3.5~4.5:6.5~5.5의 중량비로 혼합한 황금 추출물과 나복자 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 노화 및 주름개선용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 피부는 외부환경의 자극으로부터 체내의 기관들을 보호해주며, 체온조절 등의 생체 항상성 유지에 중요한 역할을 한다. 이러한 피부는 여러 가지 내외적 요인에 의해서 노화가 발생되며, 크게 유전적 원인에 의한 내인성 노화와 환경적 원인에 의한 외인성 노화로 구분된다. 이 중, 광노화는 자외선(ultraviolet; UV)에 의한 노화를 의미한다. 최근 환경오염으로 인한 오존층 파괴는 자외선의 양을 증가시켰고 이에 따라 광노화에 대한 연구가 주목되고 있다(Wang SQ et al., 2010, Dermatol. Ther. 23(1):31-47). 광노화 된 피부에서는 거칠어짐, 탄력 손실, 주름 발생 및 불규칙한 색소 침착 등과 같은 외관상의 특징이 관찰되며, 이 중 광노화의 주된 연구 분야는 피부 주름의 변화에 대한 것이다. 상기 광노화에 의한 피부 주름 형성에 관해 피부의 주요 구성성분인 콜라겐(collagen)의 합성, 분해 및 수분 함유량 등의 기초적인 생리 대사 변화에 대한 연구 결과가 다수 보고되고있다(Brenneisen et al., 2002, Ann. N. Y. Acad. Sci., 973:31-43). 특히 자외선에 의해 활성 산소종(reactive oxygen species) 생성이 증가되고 피부의 효소적, 비효소적 항산화 방어체계가 붕괴되어 콜라겐의 분해 증가 및 생합성을 감소시켜 진피층 내의 콜라겐이 현저하게 감소된다(Bickers DR, Athar M, 2006, J. Invest. Dermatol., 126(12):2565-2575). 상기 콜라겐 감소에 중요한 영향을 미치는 것은 콜라겐 분해 효소(MMPs; matrix metalloproteinases)로, 이는 세포외기질(extracellular matrix)과 기저막(basement membrane)의 분해에 관여한다. 상기 효소는 자외선에 의해 활성이 증가되며 이를 억제함으로써 자외선에 의해 유도되는 피부 두께 증가 및 주름 형성이 감소된다는 연구 결과들이 보고되어 있다(Inomata S et al., 2003, J. Invest. Dermatol., 120(1):128-134). 따라서 광노화의 예방 및 치료를 위해서는 MMPs를 조절하는 것이 효과적인 방법으로 알려져 있다.
- [3] 한편, 황금(*Scutellaria baicalensis*)은 꿀풀과(Labiatae)에 속한 다년생 본초인 황금을 의미하며, 특히 황금의 뿌리를 거피하여 건조한 것을 의미할 수 있으나, 황금의 뿌리, 줄기, 잎, 꽃 또는 종자 등 부위에 제한되지 않는다. 황금은 제습열, 지혈 등의 효능이 있어 고혈압, 유행성 뇌척수막염의 치료에 사용되어 왔다.

지금까지 밝혀진 약리작용으로는 항균, 항염증, 항알러지, 이뇨, 고지혈증 개선, 장관운동 억제 작용 등이 알려져 있다.

- [4] 또한, 나복자는 십자화과에 속한 식물로 무(*Raphanus sativus* L.)의 여문 종자이다. 말린 종자는 타원형이거나 둥근 난형과 비슷한데 조금 편평하며 길이는 약 3mm, 너비는 2.5mm이다. 표면은 적갈색이며 한쪽에 세로 홈이 몇 개 있고 한쪽 끝에 밀씨가 있다. 밀씨는 갈색이고 둥근 점 모양으로 도드라져 있다. 확대경으로 관찰하면 씨 전체에 그물무늬가 촘촘히 있다. 질은 단단하고 쪼개면 황백색 혹은 누런 알맹이가 보이고 알맹이에 정유가 있다. 여름과 가을에 종자가 여물면 포기를 베어 햇볕에 말렸다가 손으로 비벼 씨를 빼내어, 잡물을 제거한 후 햇볕에 말린 후 한약제로 사용한다 (중약대사전, 김창민 외, pp.715, 1997). 나복자에는 항균물질이 들어 있어 포도상구균과 대장균에 대하여 뚜렷한 억제 작용을 하고 동심성, 백선균 등의 피부 진균에 대한 항진균작용 등의 약리작용을 가지고 있다. 그리고 기가 치밀어 오르는 증세를 치료하고 호흡을 가라앉히며 소화를 돕고 가래를 삭히는 효능이 있으며 해수로 인한 기관지 천식, 식적기체(食積氣滯), 가슴이 답답하고 더부룩한 증상, 이질에 의한 이급후증을 치료하는데 나복자가 처방된다(중약대사전, 김창민 외, pp.716-718, 1997). 근래에 들어, 나복자 추출물 또는 일부 구성 성분이 강력한 항돌연변이 활성, 항균, 항고혈압 및 항염작용을 나타내는 것으로 보고된 바 있다.

- [5] 한편, 사상의학은 이제마 선생이 임상관찰을 통하여 성격, 체형, 생리, 병리 외형과 정신 심리 및 전 우주에 이르기까지 4가지 분류라는 틀을 통하여 인식하였고 이것을 질병의 예방, 치료 및 철학으로 이론화 체계화하였다. 사상의학에서는 체질은 한 번 타고나면 불변하는 것으로 보며, 특질이나 기질, 성격 적성 등을 결정하는 특성에 따라 태양인, 태음인, 소양인, 소음인의 4가지 타입으로 분류하고, 각기 체질에 따른 음식과 섭생 등으로 질병을 미리 예방할 수도 있고 병이 났을 때는 각자의 체질에 따라 치료법이 다르다. 따라서 같은 화장품, 식품 또는 약물일지라도 체질에 따라 유익할 수 있고 해로울 수도 있는 것이다. 이러한 사상체질 중에서 태음인은 간이 크고 폐가 작으며 허리 부위의 형세가 성장하여 서 있는 자세가 굳건하다. 반면에 목덜미 기세가 약하다. 키가 큰 것이 보통이고 작은 사람은 드물다. 대개는 살이 찘고 체격이 건실하며 간혹 수척한 사람도 있으나 골격만은 건실하다. 성격은 꾸준하고 침착하며 무슨 일이든 시작한 일, 맡은 일을 이루어 성취하는 데 장점이 있으며 어느 곳에서도 잘 적응하는 재간이 있다. 태음인은 땀구멍이 잘 통하여 땀이 잘 나오면 건강하다. 호흡기와 순환기 기능이 약해서 심장병·고혈압·중풍·천식 등에 걸리기 쉽고 지방질이 많은 식품은 좋지 않다.

- [6] 상기 황금 또는 나복자 추출물의 피부 주름 개선 또는 피부 노화 관련 기술로는 한국공개특허 제2009-0092095호에 미세염증억제작용, 항산화작용 및 주름완화작용을 갖는 황금추출물 및 아카시아추출물, 또는 굴피나무열매추출물을 함유하는 화장품 조성물에 관한 기술에 대하여 개시되어

있고, 한국공개특허 제2010-0038797호에 황련, 황금, 황백, 연교, 금은화 및 치자의 복합 생약 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 노화방지 및 주름 개선용 피부 외용 약학 조성물 및 화장품 조성물에 대하여 개시되어 있으며, 한국공개특허 제2013-0069034호에 안전하면서도 피부 주름 개선 효과가 뛰어난 나복자 추출 분획을 포함하는 주름 개선용 조성물에 대하여 개시되어 있으나, 본 발명의 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 항노화용 화장품 조성물에 대해서는 언급된 바 없다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [7] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 항노화용 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 황금 및 나복자 추출물을 3.5~4.5:6.5~5.5 중량비로 혼합한 혼합추출물은 자외선 조사에 의한 세포 손상을 억제하며, MMP-1의 발현을 현저하게 억제하고, 특히 태음인에게 주름개선 효과가 있다는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제 해결 수단

- [8] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 항노화용 화장품 조성물을 제공한다.
- [9] 또한, 본 발명은 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 항노화용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [10] 또한, 본 발명은 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 항노화용 약학 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [11] 본 발명은 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 항노화용 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 황금 및 나복자 추출물을 3.5~4.5:6.5~5.5 중량비로 혼합한 혼합추출물은 자외선 조사에 의한 세포 손상을 억제하며, MMP-1의 발현을 현저하게 억제한다. 황금 및 나복자 추출물의 혼합비가 3.5~4.5:6.5~5.5 중량비인 경우, 다른 혼합비로 혼합하거나, 황금 추출물 또는 나복자 추출물을 단독으로 사용하는 경우보다 효과적으로 자외선 조사에 의한 세포 손상을 억제하며, MMP-1의 발현을 현저하게 억제하는 것이다. 본 발명의 유효성분은 한의학에서 분류하는 사상체질 중 태음인에게 피부 주름 개선 효과가 탁월한 효과가 있는 것으로 태음인의 화장품 조성물, 건강기능식품조성물 및 약학조성물로 유용하게 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [12] 도 1은 본 발명의 황금 및 나복자 혼합 추출물의 혼합비(중량비)에 따른 세포 생존율을 확인하기 위하여, HaCaT 세포(사람 각질형성 세포주)에 24시간 동안 각각의 시료를 농도별(100 μ g/ml 및 200 μ g/ml)로 희석하여 처리하고 자외선(UV

- Crosslinker, Ultra Lum)을 30분간 조사한 후, MTS 어세이를 수행한 결과이다.
- [13] 도 2는 본 발명의 황금 및 나복자 혼합 추출물의 혼합비(중량비)에 따른 MMP-1의 발현량을 확인한 결과이다.
- [14] 도 3은 레플리카 분석에서 사용되는 주름 파라미터의 정의 및 다이어그램이다.
- [15] 도 4는 중량비가 4:6인 황금 및 나복자 혼합 추출물을 함유하는 제품을 사용한 시험군과 대조군 사이의 주름 개선 효과를 육안으로 평가한 결과를 나타낸 것이다.
- [16] 도 5는 중량비가 4:6인 황금 및 나복자 혼합 추출물을 함유하는 제품을 사용한 시험군과 대조군 사이의 주름 개선 효과를 레플리카의 Rt(Skin roughness) 파라미터로 분석한 결과이다.
- [17] 도 6은 중량비가 4:6인 황금 및 나복자 혼합 추출물을 함유하는 제품을 사용한 시험군과 대조군 사이의 주름 개선 효과를 레플리카의 Rm(Maximum roughness) 파라미터로 분석한 결과이다.
- [18] 도 7은 중량비가 4:6인 황금 및 나복자 혼합 추출물을 함유하는 제품을 사용한 시험군과 대조군 사이의 주름 개선 효과를 레플리카의 Rz(Average roughness) 파라미터로 분석한 결과이다.
- [19] 도 8은 중량비가 4:6인 황금 및 나복자 혼합 추출물을 함유하는 제품을 사용한 시험군과 대조군 사이의 주름 개선 효과를 레플리카의 Rp(Smoothness depth) 파라미터로 분석한 결과이다.
- [20] 도 9는 중량비가 4:6인 황금 및 나복자 혼합 추출물을 함유하는 제품을 사용한 시험군과 대조군 사이의 주름 개선 효과를 레플리카의 Ra(Arithmetic Average roughness) 파라미터로 분석한 결과이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [21] 본 발명은 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 항노화용 화장품 조성물에 관한 것이다.
- [22] 상기 황금 및 나복자 추출물은 물, C₁~C₄의 저급알코올, 프로필렌글리콜, 에틸아세트산, 부틸렌글리콜, 글리세린, 에테르 및 클로로포름 중에서 선택된 하나 이상의 용매를 이용하여 추출한 것이 바람직하고, 더 바람직하게는 열수 추출하는 것이나, 이에 한정하지 않는다.
- [23] 상기 황금 및 나복자 추출물의 혼합비는 3.5~4.5:6.5~5.5 중량비인 것이 바람직하지만, 이에 한정하지 않으며, 상기 3.5~4.5:6.5~5.5 중량비로 혼합하는 경우, 단독으로 사용하거나 또는 다른 중량비로 혼합하는 것에 비해 주름개선 효과가 탁월하다.
- [24] 상기 화장품 조성물은 사상체질 중에서 태음인용인 것을 특징으로 하며, 본 발명에서의 태음인 여부는 SCAT 프로그램(한국공개특허 제2012-0034475호, JH DO. et.al 2012, Development of an integrated Sasang constitution diagnosis method using face, body shape, voice, and questionnaire information 12:85)을 이용한 체질

판별하거나 한의사에 의해 진단받는 것이 바람직하다.

- [25] 태음인은 이제마 선생이 임상관찰을 통하여 성격, 체형, 생리, 병리 외형과 정신 심리 및 전 우주에 이르기까지 4가지 분류(태양, 태음, 소양, 소음)라는 틀을 통하여 질병 예방, 치료 및 철학으로 이론화 체계화한 사상의학으로 분류한 기준에 의거하여 허리의 서 있는 기세가 왕성하지만, 뇌추의 기세는 약한 자를 의미한다. 상기 뇌추는 머리, 뒷목덜미, 어깨 등을 의미한다. 또한 체격이 건실하며, 살이 찢 사람이 많지만 수척한 사람도 있고, 소음인(少陰人)과는 체형이 유사하지만, 소음인에 비해 태음인의 체격이 더 큰 편이며 피부가 더 단단하다. 하지만 체격이 큰 소음인도 있으므로 단지 외형만으로 체질을 감별하는 것은 한계가 있으므로, 평소에 나타나는 증상, 맥(脈) 등을 종합적으로 고려해서 감별하는 것이 바람직하다.
- [26] 상기 화장품 조성물은 MMP-1의 발현을 저해함으로써 피부의 노화 방지 및 피부 주름개선에 효과가 있는 것이다.
- [27] 본 발명의 일 구현 예에 따른 화장품 조성물에 있어서, 상기 피부 주름 개선 및 항노화용 화장품 조성물은 피부외용 연고, 크림, 유연화장수, 영양화장수, 팩, 에센스, 헤어토닉, 샴푸, 린스, 헤어 컨디셔너, 헤어 트리트먼트, 젤, 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 마사지 크림, 영양크림, 모이스처 크림, 핸드 크림, 파운데이션, 영양에센스, 선스크린, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디 로션 및 바디 클렌저로 이루어지는 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형을 가질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 이들 각 제형으로 이루어진 화장품 조성물은 그 제형의 제제화에 필요하고 적절한 각종의 기재와 첨가물을 함유할 수 있으며, 이들 성분의 종류와 양은 당업자에 의해 용이하게 선정될 수 있다.
- [28] 본 발명의 화장품 조성물의 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라가칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [29] 본 발명의 화장품 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.
- [30] 본 발명의 화장품 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.
- [31] 본 발명의 화장품 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.

- [32] 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 디에탄올아מיד, 식물성 유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [33] 본 발명의 화장료 조성물은 형광물질, 살진균제, 굴수성 유발물질, 보습제, 방향제, 방향제 담체, 단백질, 용해화제, 당 유도체, 일광차단제, 비타민, 식물 추출물 등을 포함하는 부형제를 추가로 함유할 수 있다.
- [34] 또한, 본 발명은 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 항노화용 건강기능식품 조성물에 관한 것이다.
- [35] 상기 황금 및 나복자 추출물의 혼합비는 3.5~4.5:6.5~5.5 중량비인 것이 바람직하지만 이에 한정하지 않으며, 사상체질 중에서 태음인용인 것이 특징이다.
- [36] 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.
- [37] 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 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [38] 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, 덱스트린, 시클로덱스트린 등), 또는 당알코올(예컨대, 자일리톨, 소르비톨, 에리쓰리톨 등)인 것이 바람직하다. 상기 향미제는 천연 향미제(예컨대, 타우마틴, 스테비아 추출물 등)와 합성 향미제(예컨대, 사카린, 아스파르탐 등)를 이용할 수 있다.
- [39] 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.
- [40] 또한, 본 발명은 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 항노화용 약학 조성물에 관한 것이다. 상기 황금 및 나복자 추출물의 혼합비는 3.5~4.5:6.5~5.5 중량비인 것이 바람직하지만 이에 한정하지 않으며, 사상체질 중에서 태음인용인 것이 특징이다.
- [41] 본 발명의 약학 조성물은 유효성분 이외에 약학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있으며, 이러한 담체는 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 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, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약학적으로 허용되는 담체 및 제제는 레밍턴의 약학과 과학(Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.
- [42] 본 발명에 따른 약학 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 한편, 본 발명의 약학 조성물의 투여량은 바람직하게는 1일 당 0.0001 내지 100mg/kg(체중)이다.
- [43] 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.
- [44] 본 발명의 약학 조성물에 포함되는 유효성분의 농도는 치료 목적, 환자의 상태, 필요기간 등을 고려하여 결정할 수 있으며 특정 범위의 농도로 한정되지 않는다.
- [45] 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.

[46]

[47] 이하, 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 자명한 것이다.

[48]

[49] [재료 및 방법]

[50] 1. 한약재 추출물의 제조

[51] 한약재는 광명당으로부터 구입하였고, 각 시료는 $5.5 \pm 0.3^\circ\text{C}$ 의 온도 및 $55 \pm 5\%$ 의 습도를 유지하는 약제보관용 냉장고에서 보관하였다. 황금 및 나복자 추출물은 황금 및 나복자 각각의 총 중량에 대하여 10배량에 해당되는 물을 첨가하여 3시간씩 2회 환류냉각 추출하고, 여과지를 이용하여 얻어진 여액을 감압농축기로 용매를 제거함으로써 추출물을 제조하였다.

[52]

[53] 2. 세포실험

[54] 1) 세포배양

[55] HaCaT 세포(사람 각질형성 세포주)는 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Gibco)에 10% 소태아 혈청(Fetal bovine serum; FBS, Gibco)과 1% 페니실린-스트렙토마이신(penicillin-streptomycin; PS, Gibco)이 함유된 배지에서 37°C , 5% CO_2 조건에서 배양하였다.

[56]

[57] 2) 세포생존률 분석

[58] HaCaT 세포(사람 각질형성 세포주)에 24시간 동안 각각의 시료를 농도별로 희석하여 처리하고 자외선(UV Crosslinker, Ultra Lum)을 $20 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ 의 세기로 30분간 조사한 후, MTS 어세이(CellTiter Aqueous One Solution Cell proliferation assay kit, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, inner salt; MTS, Promega Co. Madison, WI, USA) 기법으로 세포 생존능을 490nm에서 마이크로플레이트 리더(Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 측정하여 시험하였다.

[59]

[60] 3) MMP-1의 발현량 분석

[61] UV 조사 후, MMP-1(matrix metalloproteinases-1)의 발현량을 측정하기 위하여 5×10^4 의 HaCaT 세포를 배양하였고, 제조사의 지시에 따라 ELISA 키트(R&D

Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 MMP-1의 발현량을 측정하였다.

- [62] 상세하게는 96웰 플레이트에 HaCaT 세포를 도말한 후, 본 발명의 황금 및 나복자 혼합추출물을 다양한 혼합비율별로 처리하였다. 이후, 자외선(UV) 조사하고, 배양물의 상등액을 수집하고 13,000rpm으로 5분 동안 원심분리하였다. 이후 상등액을 취해 ELISA 키트를 이용한 형광 어세이를 수행하여 MMP-1의 발현량을 정량분석하였다.

[63]

[64] 3. 인체적용시험

- [65] 본 시험은 헬싱키 선언(Declaration of Helsinki)에 근거한 윤리규정, 인체적용 시험가이드라인[식품의약품안전처, 2011.12 제정] 및 관련 규정에 따라 실시하였다(시험코드: DEF-HSWIT001(2)-15036, IRB승인번호: 제1-220777-A-N-02호-DICN15031).

[66]

[67] 1) 시험 목적

- [68] 본 시험은 주름이 생성되기 시작하거나 이미 생성된 30세 이상의 태음인 여성을 대상으로 12주간 시험제품을 사용하게 하여 주름개선 효과 및 피부 안전성을 평가하기 위함이다.

[69]

[70] 2) 시험 제품

- [71] - 제품명: KIOM SY(2015SY 1-1)
- [72] - 시험군(A): 0.4g의 황금 추출물 및 0.6g의 나복자 추출물의 혼합물 1% 함유
- [73] - 대조군(B): 황금 및 나복자 추출물의 미함유
- [74] - 제품의性状: 크림
- [75] - 제품의 보관: 실온 보관
- [76] - 제품의 유효 성분: 0.4g의 황금 추출물 및 0.6g의 나복자 추출물의 혼합물 1%
- [77] - 제품의 사용 방법: 12주 동안 1일 2회 세안 후 스킨 다음 단계에서 제품 A와 B를 안면 좌, 우측 정해진 눈가 부위에 바르고 흡수시키게 하였다. 피험자는 이중맹검법과 무작위 배정에 따라 두 그룹으로 나누어 A그룹은 좌측에 시험군(제품 A), 우측에 대조군(제품 B)을 사용하게 하고, B그룹은 좌측에 대조군(제품 B), 우측에 시험군(제품 A)을 사용하게 하였다.

[78]

[79] 3) 시험 방법

- [80] 모든 피험자는 방문 시마다 시험부위를 세척한 다음에 항온항습실($22\pm 2^{\circ}\text{C}$, $50\pm 5\%$)에 입실하였으며, 30분 동안 안정을 취한 후 시험에 참여하였다.

- [81] 평가는 제품 사용 전과 사용 후 각 시점(4주, 8주, 12주)에서 육안평가, 피부 주름 파라미터 측정, 피험자에 의한 설문평가 및 시험자의 관찰과 문진을 통해 피부 안전성을 평가하였다.

[82]

[83] ① 피험자 선정

[84] 피부 임상 시험 전 SCAT 프로그램(한국공개특허 제2012-0034475호, JH DO. et.al 2012, Development of an integrated Sasang constitution diagnosis method using face, body shape, voice, and questionnaire information 12:85)을 이용한 체질 판별이 된 임상 대상자 선정 절차에 따라 선별하였다.

[85] 본 시험은 30~65세의 태음인 여성을 모집하였으며, 모집결과, 피험자 선정 기준에 부합하고 제외 기준에 부합하지 않는 태음인 여성 피험자 22명이 모집되었으며, 이들의 연령은 43~58세(평균 연령 49.05 ± 3.77 세)로 분포하였다.

[86] 피부 주름은 더마프로 피부과학연구소의 SOP(standard operating procedure)에 따라 주름이 생성되기 시작하거나 이미 생성된 피험자를 대상으로 시험의 목적과 방법, 기대 효능과 이상반응을 설명하여 참여 의사를 보이는 자는 시험 참가 동의서를 작성하고 시험에 참여하도록 하였다.

[87] 태음인 인자 판별을 위해 시험 시작 전, 체질량 지수(BMI) 측정(Inbody 330, Biospace, Korea), 신체 둘레 측정, 사진촬영 및 사상체질 진단 설문평가를 진행하였고, 한국한의학 연구원의 사상체질 진단 프로그램(SCAT, Sasang Constitutional Analysis Tool)을 이용하여 태음인을 선정하였다.

[88] - 체질을 대략 분류할 수 있는 설문문항 2-3개를 이용하여 임상 대상자 1차 필터링 시행하였다.

[89] - 1차 필터링된 피험자를 대상으로 SCAT를 통하여 체질을 진단하였으며, 본 발명에 따르는 태음인 체질인 자를 선정하였다.

[90] - 피부 임상 기준 인원인 20명을 초과한 24명(20명+4명)를 최종 임상 시험 피험자로 선정하였다.

[91] 선정 과정에서 피험자마다 계산된 태음(TE), 소음(SE), 소양(SY) 체질 값 중 가장 높은 체질값(max(TE,SE,SY))과 두 번째로 높은 체질값(median(TE,SE,SY))의 차이가 큰 순서대로 정렬해서 태음인으로 판단된 24명을 선정하였다.

[92] [피험자 선정기준]

[93] 하기에 기재한 바와 같은 조건에 부합되는 지원자를 시험 대상군으로 선정하였다.

[94] - 30세 이상의 태음인으로 주 시험자의 판단에 따라 시험부위에 주름이 있는 자

[95] - 피부질환을 포함하는 급, 만성 신체 질환이 없는 건강한 자

[96] - 시험에 앞서 시험의 목적, 내용 등에 대해 충분히 설명을 듣고 자발적으로 서면 동의서에 서명한 지원자

[97] - 시험기간 동안 추적 관찰이 가능한 자

[98]

[99] [피험자 제외기준]

[100] 하기에 기재된 항목에 해당되는 지원자는 시험 대상군에서 제외하였다.

- [101] - 임신, 수유 중 또는 6개월 이내에 임신을 계획하고 있는 경우
- [102] - 피부질환의 치료를 위해 스테로이드가 함유된 피부 외형제를 1개월 이상 사용한 경우
- [103] - 동일한 시험에 참가한 뒤 6개월이 경과 되지 않은 경우
- [104] - 민감성, 과민성 피부를 가진 경우
- [105] - 시험부위에 점, 여드름, 홍반, 모세혈관 확장 등의 피부 이상 소견이 있는 경우
- [106] - 시험시작 3개월 이내에 시험부위에 동일 또는 유사한 화장품 또는 의약품을 사용한 경우
- [107] - 시험부위에 시술(박피술, 보톡스, 기타 피부관리 등)을 받거나 6개월 이내 계획한 경우
- [108] - 만성 소모성 질환이 있는 경우 (천식, 당뇨, 고혈압 등)
- [109] - 그 외 주 시험자의 판단으로 시험이 곤란하다고 판단되는 경우
- [110]
- [111] [피험자 제한사항]
- [112] 피험자는 시험제품 이외의 기능성 화장품 혹은 의약품과의 혼용을 금하도록 하였고, 시험제품 외에 사용하는 기초 화장품은 기능성 성분이 없는 스킨, 로션만을, 메이크업 화장품은 베이스 메이크업(파운데이션, 파우더), 펜슬, 립스틱만을 사용하도록 하였으며, 선 크림 제품은 외출 시 반드시 사용하도록 하였다. 그리고, 방문(측정)시에는 색조 화장은 하지 않고 방문하도록 하였다.
- [113]
- [114] [피험자 수 및 이에 대한 근거]
- [115] 피험자 수는 기능성 화장품의 유효성 평가를 위한 가이드라인(2003, 2005), 화장품 표시, 광고 실증을 위한 시험방법 가이드라인(2013)에 준하여 20명 이상을 선정하여 시험을 시행하였다.
- [116]
- [117] ② 피부 주름의 육안 평가
- [118] 육안 평가는 양측 눈가의 주름 상태에 대해 주름평가 기준에 의거 2인의 시험자가 일정한 조명하에 독립적으로 평가하였다. 각 평가 시점마다 주름 상태의 등급을 10단계(0.5점 단위) 로 기록하고, 시험자 2인의 평균값을 분석하였다(표 1).
- [119] 표 1

[표1]

다니엘의 판별기준을 변형한 육안 주름평가 기준

점수	주름평가 기준
0	피부에 주름이 없으며 피부 결이 섬세하다.
1	피부에 얇은 주름이 보이기 시작한다.
2	피부에 얇은 주름이 보인다.
3	얇은 주름이 많거나 보통 주름이 보이기 시작한다.
4	피부에 보통 주름이 보인다.
5	보통주름이 있으나 깊은 주름은 보이지 않는다.
6	보통주름이 많거나 깊은 주름이 보이기 시작한다.
7	피부에 깊은 주름이 보인다.
8	피부에 깊은 주름이 많다.
9	피부에 깊은 주름이 매우 많다.

[120]

[121] ③ 레플리카를 이용한 피부 주름 파라미터 평가

[122] 피부 주름은 각 평가시점에서 Visioline® VL650 (C+K, Germany)을 이용하여 피부 레플리카 이미지를 분석하여 평가하였다. 이 측정기기는 제작한 SILFLO 레플리카를 기기내의 frame 에 장착하고, 레플리카에 35°의 각도로 빛을 투과시켜 이미지를 촬영한다. 촬영된 이미지는 녹색으로 그림자가 마크되며, 자동적으로 수치화하여 5가지의 주름 파라미터 [Rt(Skin roughness), Rm(Maximum roughness), Rz(Average roughness), Rp(Smoothness depth), Ra(Arithmetic Average roughness)]를 분석하였다.

[123]

[124] ④ 사진 촬영

[125] 각 평가 시점에서 안면 피부 촬영장치(VISIA® CR, Canfield, USA)를 이용하여 안면 좌, 우 측면을 촬영하였다.

[126]

[127] ⑤ 피험자에 의한 설문평가

[128] 제품의 효능에 관한 설문은 제품 사용 4주, 8주, 12주 후 평가시점에서 피험자로 하여금 5점 척도(1, 전혀 그렇지 않다; 2, 그렇지 않은 편이다; 3, 차이가 없다; 4, 그런 편이다; 5, 매우 그렇다)로 설문을 작성하도록 하였다. 또한 제품 사용성에 관한 설문은 제품 사용 12주 후 평가시점에서 5단계 척도(1, 전혀 좋지 않다; 2, 좋지 않은 편이다; 3, 보통이다; 4, 좋은 편이다; 5, 매우 좋다)로 실시하여, 피험자들이 작성한 긍정적인 답변(4, 좋은 편이다; 5, 매우 좋다)을 분석하였다.

[129]

[130] ⑥ 피부 안전성 평가

[131] 제품 사용 4주, 8주, 12주 후 시점에서 문진과 시험자의 관찰을 통해 주관적 피부 자극감과 객관적 피부 자극을 평가하였다.

[132]

[133] 4) 통계분석

[134] 모든 데이터는 SPSS 패키지 프로그램(IBM, USA)을 이용하여 통계적 유의성을 검증하였으며, 육안평가의 경우 시험자 간 신뢰도 분석으로 ICC(Intraclass correlation coefficient) 분석을 수행하고, ICC 값이 0.8 이상이면 시험자 간의 신뢰도를 인정하여 시험자의 평균값을 적용하여 분석하였다. 또한 정규성은 첨도(kurtosis)와 왜도(skewness)를, 사전 동질성은 paired t-테스트를 통해 검증하였다.

[135] 동일 피험자에게서 반복 측정된 데이터에 존재하는 상호의존성(교호작용), 군간 비교 및 시점별 전 후 변화를 확인하기 위해 반복측정 분산분석법(Repeated Measures ANOVA)을 적용하였다. 설문평가 분석 시 효능에 관한 설문평가는 두 군의 비모수적 평균 값을 비교하기 위해 Mann-Whitney U-테스트를 이용하였고, 제품 사용성 설문평가는 카이-스퀘어 테스트(Chi-Square test)를 이용하여 분석하였다. 각 통계학적 유의수준은 p 값이 0.05 미만인 것을 유의한 것으로 하였다.

[136]

[137] 실시예 1. 황금 및 나복자 추출물의 혼합물 제조

[138] 상기 [재료 및 방법]에 기재한 바와 같이 황금 및 나복자 추출물을 제조하여, 황금:나복자의 중량비가 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 및 9:1이 되도록 혼합하여 혼합 추출물을 각각 제조하였다.

[139] 이후, 실시예에서는 본 실시예 1에서 제조한 혼합추출물을 이용하여 세포 생존률 및 MMP-1 발현량을 분석하였으며, 효과가 가장 우수한 혼합 추출물을 선정하여 태음인 22명을 대상으로 주름 개선효과를 분석하였다.

[140]

[141] 실시예 2. 황금 및 나복자 혼합 추출물에 대한 세포 생존률 분석

[142] 상기 실시예 1에서 제조한 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 및 9:1의 중량비가 되도록 혼합한 황금 및 나복자 혼합 추출물을 각각 HaCaT 세포(사람 각질형성 세포주)에 24시간 동안 처리하고, 자외선(UV Crosslinker, Ultra Lum)을 30분간 조사한 후, MTS 어세이를 수행한 결과, 도 1에 개시한 바와 같이, 황금 및 나복자 혼합 추출물의 혼합비에 따라 세포 생존률이 다르게 나타났으며, 자외선 조사에 의해 세포 생존률이 55.3%로 감소하였고, 혼합비가 4:6인 황금 및 나복자 혼합 추출물 100 μ g/ml을 처리한 경우, 세포 생존률이 94.1%이고, 200 μ g/ml을 처리한 경우, 세포 생존률이 112.8%로 나타났다.

[143] 한편, 황금 추출물을 단독으로 처리한 경우, 세포 생존률은 55.1~57.6%이었으며, 나복자 추출물을 단독 처리하였을 경우, 세포 생존률은

31.6~34.6%로 나타났다(도 1).

[144]

[145] 실시예 3. 황금 및 나복자 혼합 추출물의 MMP-1의 발현량에 대한 효과

[146] 콜라겐 분해 효소(MMPs; matrix metalloproteinases)는 세포외기질(extracellular matrix)과 기저막(basement membrane)의 분해에 관여함으로써, 콜라겐 감소에 영향을 미치는 효소이다.

[147] 본 실시예 3에서는 콜라겐 감소에 중요한 영향을 미치는 콜라겐 분해 효소(MMPs; matrix metalloproteinases)의 발현량의 변화를 분석함으로써, 본 발명의 유효성분인 황금 및 나복자 추출물의 혼합물의 주름개선 효과가 있는지 여부를 확인하였다.

[148] 도 2에 개시한 바와 같이, 자외선을 조사하지 않은 세포에서는 MMP-1의 발현량이 매우 낮았으나, 자외선 조사에 의해 MMP-1의 발현이 현저하게 증가하였다는 것을 확인할 수 있었고, 본 발명의 황금 및 나복자 추출물을 비율별로 혼합하여 처리한 경우 MMP-1의 발현량이 현저하게 감소하였다. 특히, 황금 추출물 대 나복자 추출물이 4:6의 비율로 혼합된 경우, 거의 자외선을 조사하지 않았을 때와 거의 동일하게 MMP-1이 발현되고 있음을 확인함으로써, 본 발명의 유효성분은 주름개선에 효과가 있을 것으로 판단하였다.

[149]

[150] 실시예 4. 4:6의 중량비로 혼합한 황금 및 나복자 혼합 추출물을 포함하는 시험제품을 이용한 임상 시험

[151] 본 실시예 4에서는 상기 실시예 2 및 3의 결과를 바탕으로, 가장 효과가 우수한 4:6의 중량비로 혼합한 황금 및 나복자 혼합 추출물을 포함하는 시험제품을 제조하고, 이를 22명의 태음인에게 적용하는 임상시험을 실시하였다.

[152] 본 시험은 제외기준 및 선정기준에 준하는 43~58세의 여성 피험자 총 24명이 참여하였으나 2명(#12:개인사정, #13; 추적관찰 실패)이 탈락하여 총 22명(평균 50.43±3.92세)의 피험자가 시험 종료 시까지 전 과정을 성실히 수행하였다. 피험자의 피부 특성은 설문에 의해 조사하였다.

[153] 22명 중에서 그룹 A는 본 발명의 유효성분인 4:6의 황금 및 나복자 혼합 추출물을 함유하는 시험군이고, 그룹 B는 대조군으로 본 발명의 유효성분을 함유하지 않은 제품을 사용한 그룹이다. 하기 표 2 내지 4에 임상 시험에 참여한 시험군(A)와 대조군(B)의 정보, 피부타입 및 피부 상태를 개시하였다.

[154] 표 2

[표2]

시험군(A) 및 대조군(B)의 정보

No.	성명	나이	그룹	사상체질별 분류	중도 탈락
01	L*J	48	A	태음인	-
02	N*J	48	A	태음인	-
03	L*Y	58	B	태음인	-
04	O*H	49	B	태음인	
05	K*A	44	B	태음인	-
06	P*H	49	A	태음인	-
07	K*M	46	B	태음인	-
08	H*H	48	A	태음인	
09	L*J	43	B	태음인	
10	L*S	51	B	태음인	-
11	K*J	47	A	태음인	-
12	Y*S	47	A	태음인	개인사정
13	O*K	47	A	태음인	추적실패
14	K*J	50	B	태음인	-
15	K*O	54	A	태음인	-
16	H*S	51	B	태음인	-
17	J*J	53	A	태음인	-
18	K*M	52	A	태음인	-
19	K*J	44	B	태음인	-
20	L*M	48	B	태음인	-
21	C*J	49	A	태음인	-
22	S*S	51	B	태음인	-
23	C*J	53	B	태음인	-
24	J*H	43	A	태음인	-

[155]

[156] 표 3

[표3]

시험군 및 대조군의 피부타입 (N=22)

항목	분류	시험자수(N)	비율(%)
연 령(Age)	40대	13	59.09
	50대	9	40.91
피부타입(Skin type)	건성	5	22.73
	중성	13	59.09
	지성	1	4.55
	건지성	3	13.64
	문제성피부	0	0.00

[157]

[158] 표 4

[표4]

시험군 및 대조군의 피부 상태 (N=22)

항목	분류	시험자수 (N)	비율(%)
수분(Hydration)	촉촉	0	0.00
	보통	18	81.82
	부족	4	18.18
유분(Sebum)	번들거림	2	9.09
	보통	16	72.73
	부족	4	18.18
표면 상태(Surface)	부드러움	7	31.82
	보통	14	63.64
	거침	1	4.55
두께(Thickness)	얇은 편	10	45.45
	보통	9	40.91
	두꺼운 편	3	13.64
자외선 노출시간(Duration of UV exposure)	1시간 이내	9	40.91
	1~3시간	12	54.55
	3시간 이상	1	4.55
수면시간(Sleeping hours)	5시간 이하	0	0.00
	5~8시간	17	77.27
	8시간 이상	5	22.73
흡연 유무(Smoking)	피우지 않음.	22	100.00
	10개피 이내	0	0.00
	10개피 이상	0	0.00
자극 감수성(Irritability)	예	2	9.09
	아니오	20	90.91
따가움 감수성(Stinging)	예	1	4.55
	아니오	21	95.45
이상반응 경험(Adverse reaction)	예	0	0.00
	아니오	22	100.00

[160] 1) 피부 주름의 육안평가 분석

[161] 본 실시예에서는 상기한 바와 같이 제품을 적용 전과 적용 4주 후, 8주 후, 12주 후에 시험군과 대조군의 피부를 육안 평가 비교하였으며, 그 결과 8주 후 시점에서부터 시험군이 대조군에 비해 눈가 주름이 유의하게 개선되었음을 확인하였다(표 5 및 도 4).

[162] 표 5

[표5]

황금 및 나복자 혼합 추출물을 포함하는 크림 타입의 제품을 사용한 시험군(A)과 대조군(B)의 육안 평가에 대하여 통계학적 의미(p 값)

그룹비교(N=22)	4주	8주	12주
시험군 vs. 대조군	0.648	0.009*	0.018*

[163] *: p값이 0.05 미만인 경우, 시험군과 대조군 사이에 유의하게 차이가 있다는 것을 의미한다.

[164]

[165] 2) 레플리카를 이용한 피부 주름 파라미터 분석

[166] Rt 및 Rm 파라미터는 제품 사용 4주 이후 시점부터 시험군이 대조군에 비해 유의하게 개선되었음을 확인하였고(표 6, 도 5 및 도 6), Rz 및 Rp 파라미터는 제품 사용 8주 이후 시점부터 시험군이 대조군에 비해 유의하게 개선되었음을 확인하였으며(표 6, 도 7 및 도 8), Ra 파라미터는 제품 사용 12주 시점부터 시험군이 대조군에 비해 유의하게 개선되었음을 확인하였다(표 6 및 도 9).

[167] 표 6

[표6]

황금 및 나복자 혼합 추출물을 포함하는 크림 타입의 제품을 사용한 시험군(A)과 대조군(B)의 레플리카 분석에 대하여 통계학적 의미(p 값)

파라미터	그룹	4주	8주	12주
Rt	시험군 vs. 대조군	0.003*	0.003*	0.000*
Rm	시험군 vs. 대조군	0.002*	0.002*	0.000*
Rz	시험군 vs. 대조군	0.055	0.041*	0.000*
Rp	시험군 vs. 대조군	0.051	0.008*	0.001*
Ra	시험군 vs. 대조군	0.115	0.192	0.005*

[168] *: p값이 0.05 미만인 경우이고, 시험군과 대조군 사이에 유의하게 차이가 있다는 것을 의미한다.

[169]

[170] 3) 피부 안전성 평가

[171] 본 시험기간 동안 모든 피험자에게서 피부 이상반응은 관찰되지 않았다.

따라서 본 발명의 유효성분은 독성 또는 부작용이 없는 것으로 판단하였다(표 7).

[172] 표 7

[표7]

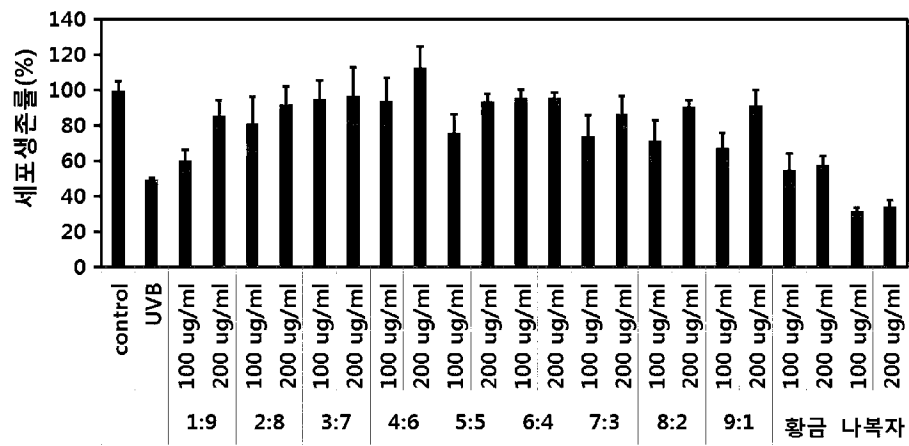
황금 및 나복자 혼합 추출물을 포함하는 크림 타입의 제품을 사용한 시험군(A)과 대조군(B)의 피부 이상반응에 대한 피부 안전성 평가 결과

증상 (Symptom)		4주		8주		12주	
		A	B	A	B	A	B
주관적자극감 (Subjective irritation)	가렵다 (Itching)	0	0	0	0	0	0
	바늘로 찌르듯이 아프다(Prickling)	0	0	0	0	0	0
	근질거린다 (Tickling)	0	0	0	0	0	0
	화끈거린다 (Burning)	0	0	0	0	0	0
	따끔거린다 (Stinging)	0	0	0	0	0	0
	뻣뻣하다 (Stiffness)	0	0	0	0	0	0
	당긴다 (Tightening)	0	0	0	0	0	0
	기타 (etc.)	0	0	0	0	0	0
객관적자극(O bjectiveIrritatio n)	홍반 (Erythema)	0	0	0	0	0	0
	부종 (Edema)	0	0	0	0	0	0
	인설 (Scale)	0	0	0	0	0	0
	구진 (Papule)	0	0	0	0	0	0
	기타 (etc.)	0	0	0	0	0	0
총 이상반응자 수(Total number of subjects)		0	0	0	0	0	0

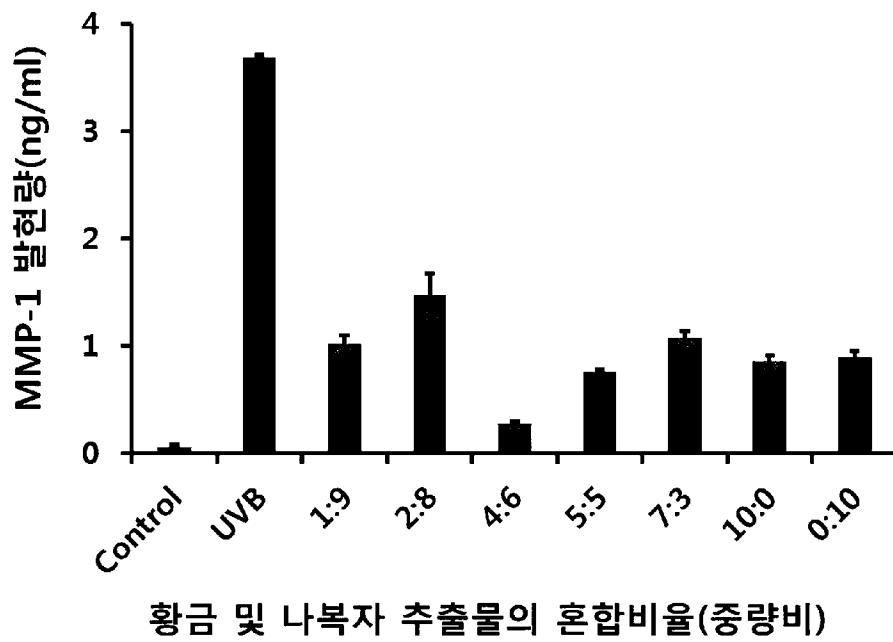
청구범위

- [청구항 1] 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 항노화용 화장품 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 황금 및 나복자 혼합 추출물은 물, C₁~C₄의 저급알코올, 프로필렌글리콜, 에틸아세트산, 부틸렌글리콜, 글리세린, 에테르 및 클로로포름 중에서 선택된 하나 이상의 용매를 이용하여 추출한 것을 특징으로 하는 피부 주름 개선 및 항노화용 화장품 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 황금 및 나복자 추출물의 혼합비는 3.5~4.5:6.5~5.5 중량비인 것을 특징으로 하는 피부 주름 개선 및 항노화용 화장품 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 화장품 조성물은 사상체질 중에서 태음인용인 것을 특징으로 하는 피부 주름 개선 및 항노화용 화장품 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 화장품 조성물은 MMP-1의 발현을 저해하는 것을 특징으로 하는 피부 주름 개선 및 항노화용 화장품 조성물.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 화장품 조성물은 피부외용 연고, 크림, 유연화장수, 영양화장수, 팩, 에센스, 헤어토닉, 샴푸, 린스, 헤어 컨디셔너, 헤어 트리트먼트, 젤, 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 마사지 크림, 영양크림, 모이스처 크림, 핸드 크림, 파운데이션, 영양에센스, 선스크린, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디 로션 및 바디 클렌저로 이루어지는 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형인 것을 특징으로 하는 주름개선 또는 항노화용 조성물.
- [청구항 7] 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 항노화용 건강기능식품 조성물.
- [청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 황금 및 나복자 추출물의 혼합비는 3.5~4.5:6.5~5.5 중량비이며, 사상체질 중에서 태음인용인 것을 특징으로 하는 피부 주름 개선 및 항노화용 건강기능식품 조성물.
- [청구항 9] 황금 및 나복자 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 및 항노화용 약학 조성물.
- [청구항 10] 제9항에 있어서, 상기 황금 및 나복자 추출물의 혼합비는 3.5~4.5:6.5~5.5 중량비이며, 사상체질 중에서 태음인용인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

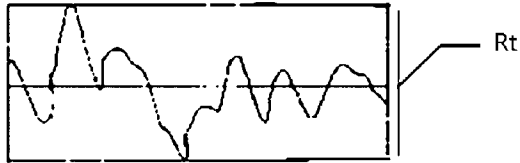
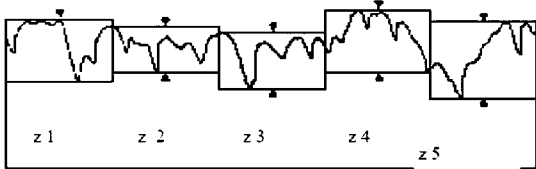
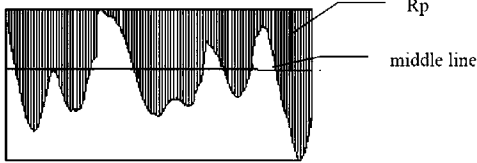
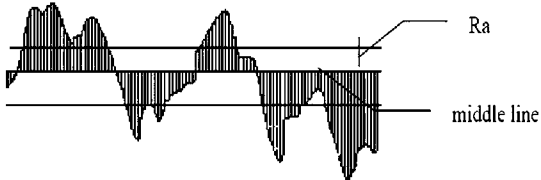
[도1]



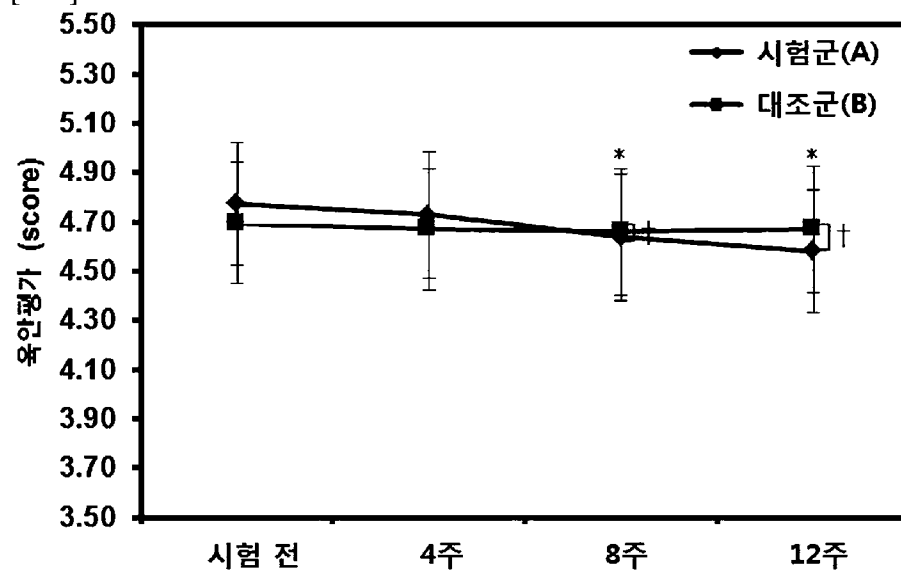
[도2]



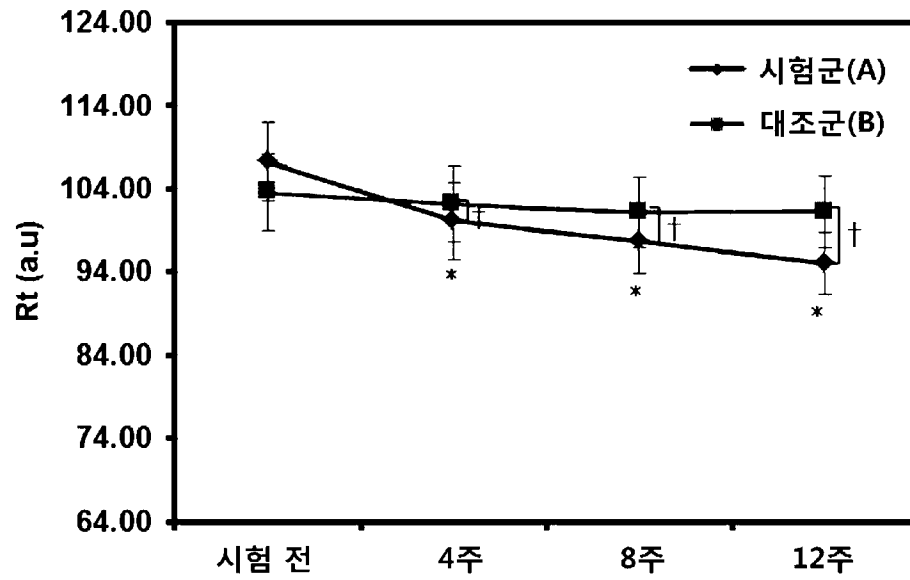
[도3]

파라미터	기준에 대한 설명
	Skin Roughness Rt: 프로필의 가장 높은 지점과 가장 낮은 지점간의 거리
	Maximum Roughness Rm: 균분된 영역의 Rt 중 최고 값
	Average Roughness Rz : 프로필을 연속적으로 5개의 길이로 균분한 다음 각 영역에서의 Rt 값의 산술 평균
	Smoothness Depth Rp : 프로필의 가장 꼭대기 값에서 수평선을 그어 프로필과 이루는 면적을 적분하여 중간선의 길이로 나눈 값으로서 피부 주름의 평균 깊이를 의미
	Arithmetic Average Roughness Ra: 프로필의 중간선과 프로필이 이루는 면적을 적분하여 프로필의 중간선의 길이로 나눈 값으로서 피부의 평균 거칠기를 의미

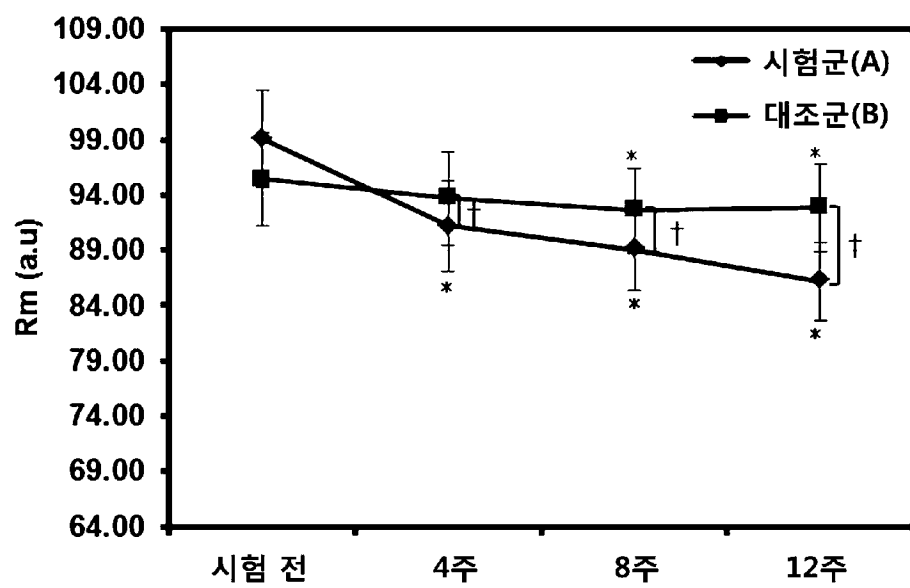
[도4]



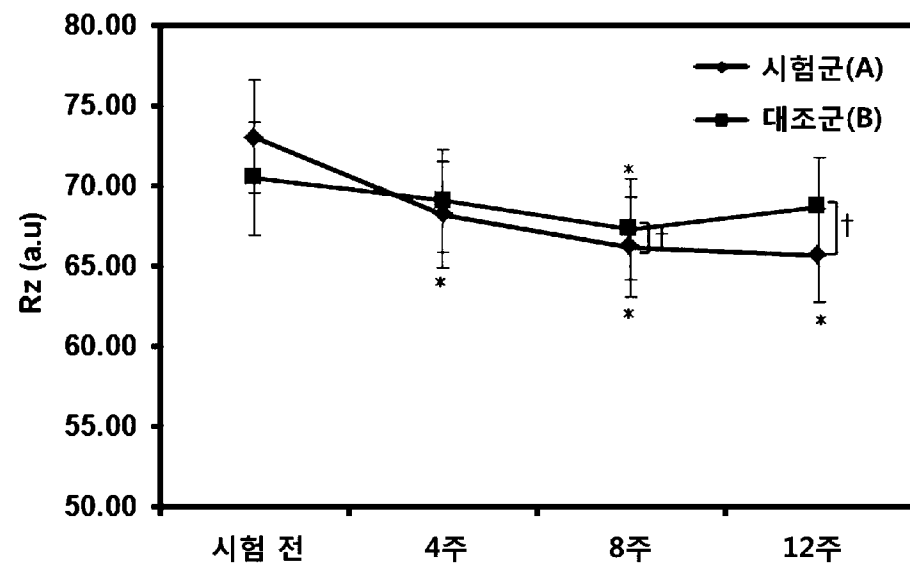
[도5]



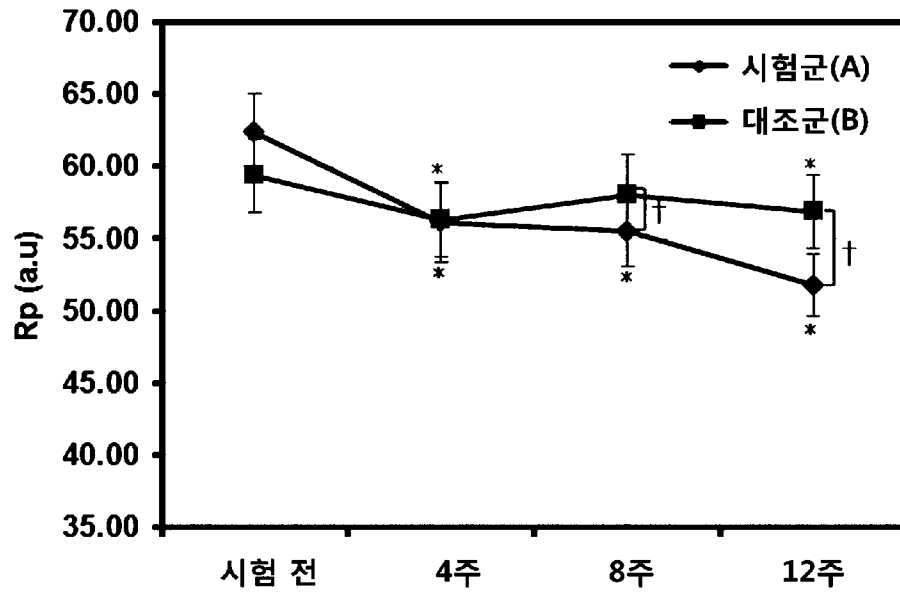
[도6]



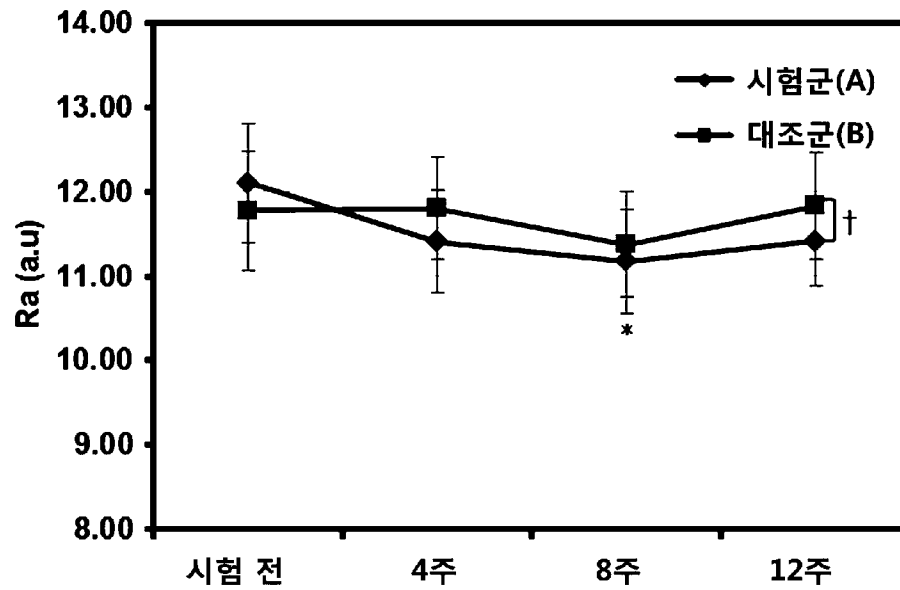
[도7]



[도8]



[도9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2015/014373

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 8/97(2006.01)i, A61K 8/02(2006.01)i, A23L 33/10(2016.01)i, A61K 36/539(2006.01)i, A61K 36/31(2006.01)i, A61Q 19/08(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 8/97; A61K 36/481; A61Q 19/08; A61K 36/28; A61K 36/31; A61K 31/7048; A61K 36/804; A61K 36/488; C12G 3/02; A61K 7/00; A61K 7/48; A61K 8/02; A23L 33/10; A61K 36/539

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: *Scutellaria baicalensis*, *Raphanus sativus* L. seed, extract, skin anti-wrinkle, anti-aging, cosmetic composition

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KR 10-2013-0069034 A (OBM LAB.) 26 June 2013 See abstract; paragraphs [0001], [0013] and [0016]; claim 2.	1-10
Y	JP 2000-159627 A (ICHIMARU PHARCOS CO., LTD.) 13 June 2000 See abstract; claims 1-2.	1-10
Y	KR 10-2004-0095000 A (SEO, Kwang Yong) 12 November 2004 See abstract; table 2.	4,8,10
Y	KR 10-2014-0116666 A (INSTITUTE FOR KOREA TRADITIONAL MEDICAL INDUSTRY) 06 October 2014 See abstract; paragraphs [0165]-[0167].	5
A	KR 10-2002-0061196 A (COREANA COSMETICS CO., LTD.) 24 July 2002 See abstract; claims 1-4.	1-10
A	KR 10-2009-0092095 A (UNIVERA, INC.) 31 August 2009 See abstract; claims 1, 3 and 9.	1-10
A	KR 10-2013-0047778 A (AMOREPACIFIC CORPORATION) 09 May 2013 See abstract; claims 1-6.	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 AUGUST 2016 (23.08.2016)

Date of mailing of the international search report

23 AUGUST 2016 (23.08.2016)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2015/014373

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2013-0069034 A	26/06/2013	NONE	
JP 2000-159627 A	13/06/2000	NONE	
KR 10-2004-0095000 A	12/11/2004	NONE	
KR 10-2014-0116666 A	06/10/2014	NONE	
KR 10-2002-0061196 A	24/07/2002	NONE	
KR 10-2009-0092095 A	31/08/2009	KR 10-1616284 B1	29/04/2016
KR 10-2013-0047778 A	09/05/2013	CN 103906526 A	02/07/2014
		JP 2014-530905 A	20/11/2014
		WO 2013-062266 A2	02/05/2013
		WO 2013-062266 A3	20/06/2013

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 8/97(2006.01)i, A61K 8/02(2006.01)i, A23L 33/10(2016.01)i, A61K 36/539(2006.01)i, A61K 36/31(2006.01)i, A61Q 19/08(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 8/97; A61K 36/481; A61Q 19/08; A61K 36/28; A61K 36/31; A61K 31/7048; A61K 36/804; A61K 36/488; C12G 3/02; A61K 7/00; A61K 7/48; A61K 8/02; A23L 33/10; A61K 36/539

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 황금, 나복자, 추출물, 피부 주름 개선, 항노화, 화장품

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KR 10-2013-0069034 A (주식회사 오비애플) 2013.06.26 요약; 단락 [0001], [0013] 및 [0016]; 청구항 2 참조.	1-10
Y	JP 2000-159627 A (ICHIMARU PHARCOS CO., LTD.) 2000.06.13 요약; 청구항 1-2 참조.	1-10
Y	KR 10-2004-0095000 A (서광용) 2004.11.12 요약; 표 2 참조.	4, 8, 10
Y	KR 10-2014-0116666 A (재단법인 한국한방산업진흥원) 2014.10.06 요약; 단락 [0165]-[0167] 참조.	5
A	KR 10-2002-0061196 A (주식회사 코리아나화장품) 2002.07.24 요약; 청구항 1-4 참조.	1-10
A	KR 10-2009-0092095 A (주식회사 유니베라) 2009.08.31 요약; 청구항 1, 3 및 9 참조.	1-10
A	KR 10-2013-0047778 A ((주)아모레퍼시픽) 2013.05.09 요약; 청구항 1-6 참조.	1-10

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2016년 08월 23일 (23.08.2016)

국제조사보고서 발송일

2016년 08월 23일 (23.08.2016)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

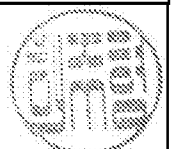
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2013-0069034 A	2013/06/26	없음	
JP 2000-159627 A	2000/06/13	없음	
KR 10-2004-0095000 A	2004/11/12	없음	
KR 10-2014-0116666 A	2014/10/06	없음	
KR 10-2002-0061196 A	2002/07/24	없음	
KR 10-2009-0092095 A	2009/08/31	KR 10-1616284 B1	2016/04/29
KR 10-2013-0047778 A	2013/05/09	CN 103906526 A	2014/07/02
		JP 2014-530905 A	2014/11/20
		WO 2013-062266 A2	2013/05/02
		WO 2013-062266 A3	2013/06/20