



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0063243  
(43) 공개일자 2014년05월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2012-0130388  
(22) 출원일자 2012년11월16일  
심사청구일자 2012년11월16일

(71) 출원인  
주식회사 코리아나화장품  
충청남도 천안시 서북구 성거읍 삼곡2길 6  
(72) 발명자  
이지영  
대전 대덕구 동춘당로 178, 109동 108호 (법동, 보람아파트)  
이정노  
충북 청주시 상당구 울봉로201번길 51-1, 403 (울량동, 예다움빌)  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
특허법인천문

전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **뱀무 추출물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물**

**(57) 요약**

본 발명은 뱀무(*Geum japonicum thunb.*) 추출물을 유효 성분으로 함유하는 화장료 조성물에 관한 것으로서, 뱀무 추출물을 유효 성분으로 화장료 조성물의 전체 중량에 대하여 0.001 ~ 30.0 중량%를 함유하는 것을 특징으로 한다. 본 발명에 따르면, 뱀무 추출물은 MMP-1 생성억제효과, 콜라겐 생합성효과, 멜라닌 생성억제효과, 방부효과, 피부 주름개선, 보습효과가 있어 각종 기능성 화장료를 제공할 수 있다.

(72) 발명자

**유영경**

충남 천안시 서북구 성거읍 봉주로 120, 106동  
1503호 (삼환나우빌아파트)

**이강태**

충남 천안시 서북구 성거읍 봉주로 107-6, 102동  
1201호 (성거벽산아파트)

**이건국**

경기 용인시 수지구 대지로 19, 101동 1002호 (죽  
전동, 길훈1차아파트)

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

뱀무 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부주름 개선용 화장료 조성물.

### 청구항 2

뱀무 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 화장료 조성물.

### 청구항 3

뱀무 추출물을 유효성분으로 함유하는 방부용 화장료 조성물.

### 청구항 4

뱀무 추출물을 유효성분으로 함유하는 보습용 화장료 조성물.

### 청구항 5

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 뱀무 추출물은 상기 화장료 조성물의 전체 중량에 대하여 0.001 ~ 30.0 중량% 함유되는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

### 청구항 6

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 뱀무 추출물은 (a) 물, 탄소수 1-4의 무수 또는 함유 저급 알코올, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜, 글리세린, 아세톤, 에틸 아세테이트, 클로로포름, 부틸 아세테이트, 디에틸에테르, 디클로로메탄, 헥산 및 이들의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 추출용매를 이용한 용매 추출법, (b) 초임계 추출법, (c) 초음파 추출법, 또는 (d) 미생물로부터의 발효나 자연발효대사를 이용하여 추출된 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

## 명세서

### 기술분야

[0001] 본 발명은 뱀무 추출물을 유효 성분으로 함유하는 화장료 조성물에 관한 것이다.

### 배경기술

[0002] 사람의 피부는 노화 과정에서 다양한 물리·화학적 변화가 일어난다. 그 원인으로는 크게 내적인 노화 (intrinsic aging)와 광노화 (photo-aging)로 구분되며 이에 관한 연구가 활발히 이루어져 왔다. 피부노화는 자외선, 스트레스, 질병 상태, 환경 인자, 상처, 나이가 들어감에 따라 자유라디칼이 활성화되어 야기될 수 있으며, 이런 상태가 심화될 경우 생체 내에 존재하는 항산화 방어망을 파괴하고, 세포 및 조직을 손상시켜 성인병 및 노화를 촉진하게 된다.

[0003] 좀 더 구체적으로 말하자면, 피부의 주요 구성 물질인 지질, 단백질, 다당류 및 핵산 등이 산화되어 피부 세포 및 조직이 파괴되고, 결국 피부 노화 현상이 생겨나는 것이다.

[0004] 특히, 단백질의 산화는 피부의 결합 조직인 콜라겐 (collagen), 히아루론산 (hyaluronic acid), 엘라스틴 (elastin), 프로테오글리칸 (proteoglycan), 피브로넥틴 (fibronectin) 등이 절단되어 심한 과다 염증 반응과 피부의 탄력에 지장을 주고 이것이 더 심해질 경우 DNA의 변이에 의해 돌연변이, 암의 유발, 면역 기능 저하의 상태에 이르게 된다.

[0005] 그러므로, 신체의 대사 과정 중 발생하는 자유라디칼이나 자외선 조사, 염증 반응에 의해 매개되어 발생하는 자유라디칼을 소거하여 세포막을 보호하고, 또 이미 손상 받은 세포는 활발한 신진 대사에 의해 재생시켜서 세포를 증식시켜야 피부는 빠르게 회복되고 건강한 피부를 유지할 수 있다.

[0006] 노화에는 이러한 자유라디칼 뿐만 아니라 콜라겐 분해효소인 기질 금속 단백질 분해 효소 (Matrix Metalloproteinase; MMP)라는 효소도 관여한다. 즉, 생체 내에서 콜라겐과 같은 세포외기질의 합성과 분해는 적절하게 조절되나, 노화가 진행되면서 콜라겐 합성이 감소하고, 콜라겐을 분해하는 효소인 기질 금속 단백질 분

해 효소(MMP)의 발현이 촉진되어 피부의 탄력이 저하되고 주름이 형성된다. 또한, 자외선 조사에 의해 이러한 분해 효소가 활성화되기도 한다.

[0007] 그러므로, 세포 내에서 활성화가 유도되는 MMP 발현을 조절하거나 그 활성을 억제할 수 있는 물질의 개발이 요구되고 있다. 이제까지 화장품의 소재로서 사용된 원료들은 단순히 효소 활성만을 억제하는 것이 대부분이었다. 이에 세포내 자연노화와 광노화에 의해 그 발현이 유도되는 MMP 발현량 및 활성을 조절하고자 하였다.

[0008] 한편, 색소 침착에 의한 피부 변화가 생긴다. 피부색을 결정하는 인자에는 기본적으로 인종과 지역, 성별, 나이에 따른 차이를 배제하면 기미, 주근깨와 자외선 노출로 인한 태닝과 같은, 부분 또는 전체적인 색소 침착, 그 외에 여드름 및 흉터, 각질의 분포 상태와 혈액 순환, 스트레스, 건강 상태 등이 있다. 이상의 인자들 가운데에서도 가장 중요한 인자는 색소 침착이다.

[0009] 피부색에 영향을 주는 색소로는 멜라닌, 멜라노이드, 카로틴, 헤모글로빈 등이 있는데, 이중 가장 중요한 것은 멜라닌으로서, 이 멜라닌의 생합성에 영향을 미치는 가장 큰 요인은 자외선과 체내 호르몬 분비 정도이다.

[0010] 멜라닌은 자외선을 흡수 또는 산란시켜 자외선으로부터 피부가 손상되는 것을 방지하는데 큰 역할을 하는데, 특별한 최대 흡수 파장이 없고 전 영역의 빛을 흡수한다. 또한 활성 산소종을 제거하는 기능이 탁월하나, 때로는 멜라닌 자체가 활성 산소를 발생시키기도 하며, 멜라닌 구조 내의 카테콜이나 퀴논에 의하여 다른 물질을 환원시키거나 산화시키고, 멜라닌 자체가 자유라디칼의 성질을 나타내기도 한다.

[0011] 멜라닌의 생합성은 아미노산의 일종인 티로신이 멜라닌 형성 세포의 멜라노솜에서 티로시나제에 의해 산화되어 디하이드록시 페닐알라닌 (dihydroxy phenylalanine)으로 전환되는 것을 시작으로 계속되는 일련의 산화 과정을 거쳐 갈색 (pheomelanin), 흑색 (eumelanin)의 중합체로 형성된다.

[0012] 이러한 생합성 과정은 멜라노솜이라는 특수한 형태의 갈색 세포 내 소기관에서 진행되며 멜라닌 과립을 포함한 멜라노솜은 핵 주변 부위에서 수지상 돌기 끝부분으로 이동, 각질 세포의 식세포 작용에 의해 세포질 내로 이동하고 이들은 각질 세포의 핵 주변에 축적된다.

[0013] 멜라닌의 합성과 멜라노솜의 수, 주위의 각질 세포로의 이동은 부분적으로 호르몬과 자외선 등에 영향을 받고 일차적으로는 유전적인 영향을 크게 받는다. 그 밖에 티로시나제의 발현 및 멜라닌의 합성, 전송에 관여하는 세포내 조절인자인 싸이토카인 (cytokine), 구리, 아연, 철 등의 금속 이온 및 인터페론, 프로스타글란딘, 히스타민 등이 관여하는 것으로 알려져 있다.

[0014] 이미 아스코르빈산 (일본특개평 4-9320), 하이드로퀴논 (일본특개평-192062), 코직산 (일본특개소 56-7710), 알부틴 (일본특개평 4-93150) 및 일부의 추출물 등이 티로시나제 저해 활성을 가지고 있어 미백 화장품으로 이용되고 있으나 화장품 제형 중에서의 안정성이 낮으므로 분해되어 착색되거나, 이취의 발생, 생체 레벨에서의 효능, 효과의 불분명 및 안전성 문제 등으로 그 사용이 제한되고 있는 실정이다. 그리고 상기한 물질들은 그 티로시나제 억제 효과가 입증되었으나 실제 생체 레벨과 유사한 실험에서는 그 효과가 낮게 나타난다. 따라서 생체 레벨과 유사한 흑색종 세포 배양에 의한 저해효과 평가가 요구되고 있는 실정이다. 또한, 하이드로퀴논은 발암성 물질로 규정되어 화장품에서는 그 사용이 금지 또는 제한되고 있다. 코직산과 아스코르빈산은 매우 불안정한 물질이다. 상기 성분들을 소량 함유한 화장품은 실온에서 수 주일동안 보관하면 갈변 현상이 발생한다.

[0015] 이러한 여러 가지 문제점을 해결하기 위하여, 최근 여러 화학 물질 등에 의한 피부 자극을 줄이기 위해 천연물을 사용한 화장품이 많이 개발되고 있다. 천연 재료는 피부에 부작용이 적을 뿐만 아니라, 최근 천연 재료를 이용한 화장품에 대한 소비자들의 호응이 높아짐에 따라 화장품 원료로서 개발 가치가 한층 늘어나고 있다.

[0016] 화장품에는 물, 오일, 계면활성제, 단백질, 식물추출물 등 다양한 성분들이 혼재되어 적정한 환경 하에 미생물이 유입되면 미생물의 증식이 일어날 수 있다. 화장품의 미생물 오염은 제품의 품질을 떨어뜨리고 심각하게는 소비자의 건강에도 해를 줄 수 있다. 이러한 오염을 막기 위해 화장품에는 적정량의 방부제를 사용하는데 파라옥시안식향산에스테르, 페녹시에탄올, 클로로페네신, 메칠이소치아졸리논 등이 대표적인 예이다. 그러나 이러한 합성방부제는 홍반, 부종, 종창, 구진 등을 수반하는 자극성 접촉피부염, 알레르기성 피부염 등의 피부 자극을 일으키는 것으로 보고되고 있어 천연물을 이용한 천연 방부제에 대한 관심이 증대하고 있는 실정이다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0017] 이에, 본 발명자들은 이제까지 알려지지 않은 여러 천연물들에 있어서 화장품으로의 응용 가능성을 연구한

결과, 장미과식물인 뱀무를 선정하고 이로부터 추출물을 제조하여 MMP-1 생성 억제 효과, 콜라겐 합성 증진 효과, 멜라닌 생성 억제 효과, 방부효과, 보습효과와 주름 개선효과를 측정한 결과, 그 효능이 매우 우수하므로 화장품으로서의 효능을 기대할 수 있다는 것을 발견하게 되었다.

[0018] 본 발명의 목적은 뱀무 추출물을 함유하여 MMP-1 생성 억제 효과, 콜라겐 합성 증진 효과, 멜라닌 생성 억제 효과, 방부효과, 보습효과 또는 피부 주름개선 효과를 나타내는 화장료 조성물을 제공하는데 있다.

[0019] 또한, 본 발명의 목적은 뱀무 추출물의 효능을 극대화하기 위해 초임계, 초음파, 발효추출물을 제조하고 정제과정을 거쳐 효능 효과를 나타내는 화장료 조성물을 제공하는데 있다.

### 과제의 해결 수단

[0020] 따라서, 상기와 같은 본 발명의 목적은 뱀무 추출물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물에 의해 달성된다.

[0021] 바람직하게는, 상기 화장료 조성물은 피부주름 개선용인 것을 특징으로 한다.

[0022] 또한, 바람직하게는, 상기 화장료 조성물은 피부 미백용인 것을 특징으로 한다.

[0023] 또한, 바람직하게는, 상기 화장료 조성물은 방부용인 것을 특징으로 한다.

[0024] 또한, 바람직하게는, 상기 화장료 조성물은 보습용인 것을 특징으로 한다.

[0025] 또한, 바람직하게는, 상기 뱀무 추출물은 상기 화장료 조성물의 전체 중량에 대하여 0.001 ~ 30.0 중량% 함유되는 것을 특징으로 한다.

[0026] 또한, 바람직하게는, 상기 뱀무 추출물은 (a) 물, 탄소수 1-4의 무수 또는 함수 저급 알코올, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜, 글리세린, 아세톤, 에틸 아세테이트, 클로로포름, 부틸 아세테이트, 디에틸에테르, 디클로로메탄, 헥산 및 이들의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 추출용매를 이용한 용매 추출법, (b) 초임계 추출법, (c) 초음파 추출법, (d) 발효공정을 이용하여 추출된 것을 특징으로 한다.

### 발명의 효과

[0027] 본 발명에 따른 뱀무 추출물은 MMP-1 생성 억제 효과(실험예 1), 콜라겐 합성 증진 효과(실험예 2), 멜라닌 생성 억제 효과(실험예 3), 보습 효과(실험예 4), 방부 효과(실험예 5) 및 주름개선 효과(실험예 6)를 갖는다.

[0028] 또한, 본 발명에 따르면, 뱀무 추출물의 효능을 극대화하기 위해 초음파, 초임계추출 및 발효공정을 통해 MMP-1 생성억제 효과, 콜라겐 합성 증진 효과, 멜라닌 생성억제 효과 등을 더욱 증진시켜준다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029] 본 발명의 화장료 조성물 중 유효 성분으로 사용되는 뱀무(*Geum Japonicum Thunb.*)는 장미목 장미과의 다년생 초본으로 높이 25~100cm이고 줄기의 전체에 털이 있으며 가지는 윗부분에서 갈라진다. 뿌리잎은 잎자루가 길고 갈라지며 옆부분에 붙어 있는 잎이 있고 줄기잎은 3개로 갈라지며 길이 각 3~6cm, 너비 3~6cm의 달걀형 원모양 또는 심장모양이다. 잎의 양면에 짧은 털이 있으며 가장자리에 거치가 있다. 꽃은 6월에 노란색으로 취산화서로 피며 가지의 끝부분에 달린다. 5개로 갈라지는 꽃받침잎은 삼각형 바소모양이고 꽃이 피고나면 뒤로 젖혀지며 5개로 갈라지는 꽃잎은 둥근 모양이다. 열매는 수과이고 둥근모양으로 겉에 털이 있다. 원산지인 한국이고 한국, 일본, 중국 등에 분포하며 산과 들에 서식한다.

[0030] 본 발명에 있어서, 뱀무 추출물은 뱀무의 다양한 기관(예: 잎, 꽃, 뿌리, 줄기 등)으로부터 추출하여 얻은 것을 의미하고, 바람직하게는 전초 또는 뿌리로부터 얻은 추출물이고, 가장 바람직하게는 전초로부터 얻은 추출물을 의미한다.

[0031] 또한, 본 발명의 뱀무 추출물은 당업계에 공지된 통상의 방법에 따라, 즉, 통상적인 온도와 압력의 조건 하에서, 통상적인 용매를 사용하여 제조될 수 있으나, 바람직하게는 (a) 물, 탄소수 1-4의 무수 또는 함수 저급 알코올(예를 들면, 메탄올, 에탄올, 프로판올 및 부탄올), 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 글리세린, 아세톤, 디에틸에테르, 에틸 아세테이트, 부틸아세테이트, 디클로로메탄, 클로로포름, 헥산 및 이들의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 용매를 이용한 용매 추출법 (b) 이산화탄소에 의한 감압 및 고온에 의한 초임계 추출법 또는 (c) 초음파 추출법을 이용하여 추출한다.

[0032] 본 발명에서 뱀무 추출물은 다양한 추출용매, 예를 들어, 물, 탄소수 1-4의 무수 또는 함수 저급 알코올 (예를

들면, 메탄올, 에탄올, 프로판올 및 부탄올), 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 글리세린, 아세톤, 디에틸에테르, 에틸 아세테이트, 부틸아세테이트, 디클로로메탄, 클로로포름, 헥산 및 이들의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 1종 이상의 추출 용매를 사용하여 얻을 수 있으며, 바람직하게는 에탄올, 70%(v/v) 에탄올 또는 물을 사용하여 얻어진 것이고, 가장 바람직하게는 70%(v/v) 에탄올을 사용하여 얻어진 것이다.

- [0033] 한편, 본 발명의 뱀무 추출물은 상기한 추출 용매뿐만 아니라, 다른 추출 용매를 이용하여도 실질적으로 동일한 효과를 나타내는 추출물이 얻어질 수 있다는 것은 당업자에게 자명한 것이다.
- [0034] 또한, 본 발명의 뱀무 추출물은 상술한 추출 용매에 의한 추출물뿐만 아니라, 통상적인 정제 및 발효 과정을 거친 추출물도 포함한다. 예컨대, 이산화탄소에 의한 감압, 고온에 의한 초임계추출법에 의한 추출, 초음파를 이용한 추출법에 의한 추출, 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 이용한 분리, 다양한 크로마토그래피 (크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의해 분리하거나 자연 상태나 각종 미생물을 이용한 발효산물에 의한 추출물 등, 추가적으로 실시된 다양한 정제 및 추출방법을 통해 얻어진 활성 분획도 본 발명의 추출물에 포함된다.
- [0035] 또한, 본 발명은 상기 추출물이 상온에서 냉침, 가열 여과하여 얻어진 액상물, 추가로 용매를 감압농축 또는 동결 건조하여 얻은 것임을 특징으로 하는 화장료 조성물을 제공한다.
- [0036] 상기 이산화탄소에 의한 감압, 고온에 의한 초임계추출법에 의한 추출법은 초임계 유체 추출법(supercritical fluid extraction)을 의미하는 것으로, 일반적으로 초임계 유체는 기체가 고온 고압 조건에서 임계점에 도달하였을 때 갖는 액체 및 기체의 성질을 지니고 있으며, 화학적으로 비극성 용매와 유사한 극성을 지니고 있으며 이러한 특성으로 인해 초임계 유체는 지용성 물질의 추출에 사용되고 있다(J. Chromatogr. A. 1998;479:200-205).
- [0037] 이산화탄소는 초임계 유체기기의 작동으로 압력 및 온도가 임계점까지 이르는 과정을 거치면서 액체 및 기체 성질을 동시에 지닌 초임계 유체가 되고 그 결과 지용성 용질에 대한 용해도가 증가한다. 초임계 이산화탄소가 일정량의 시료를 함유한 추출 용기를 통과하게 되면 시료에 함유된 지용성 물질은 초임계 이산화탄소에 추출되어 나온다.
- [0038] 지용성 물질을 추출한 후 추출 용기에 남아있는 시료에 다시 소량의 공용매가 함유된 초임계 이산화탄소를 흘려 통과시키면 순수한 초임계 이산화탄소만으로는 추출되지 않았던 성분들이 추출되어 나오게 할 수 있다.
- [0039] 본 발명의 초임계추출법에 사용되는 초임계 유체는 초임계 이산화탄소 또는 이산화탄소에 추가적으로 공용매를 혼합한 혼합유체를 사용함으로써 효과적으로 유효 성분을 추출할 수 있다.
- [0040] 이러한 공용매는 클로로포름, 에탄올, 메탄올, 물, 에틸아세테이트, 헥산 및 디에틸에테르로 이루어진 군에서 선택되는 1종 또는 2종 이상의 혼합물을 사용할 수 있다.
- [0041] 추출된 시료는 대부분 이산화탄소를 함유하고 있는데 이산화탄소는 실온에서 공기 중으로 휘발되므로 상기 방법으로 얻은 추출물을 화장료 조성물로서 사용할 수 있으며, 공용매는 감압증발기로 제거할 수 있다.
- [0042] 또한 상기 초음파 추출법은 초음파 진동에 의해 발생하는 에너지를 이용하는 추출방법으로, 초음파가 수용성 용매 속에서 시료에 포함된 불용성인 용매를 파괴시킬 수 있으며, 이때 발생하는 높은 국부온도로 인하여 주위에 위치하는 반응물 입자들의 운동에너지를 크게 하기 때문에 반응에 필요한 충분한 에너지를 얻게 되고, 초음파 에너지의 충격효과로 높은 압력을 유도하여 시료에 함유된 물질과 용매의 혼합 효과를 높여주어 추출효율을 증가시키게 된다.
- [0043] 초음파 추출법에 사용할 수 있는 추출용매는 클로로포름, 에탄올, 메탄올, 물, 에틸아세테이트, 헥산 및 디에틸에테르로 이루어진 군에서 선택되는 1종 또는 2종 이상의 혼합물을 사용할 수 있다. 추출된 시료는 진공 여과하여 여과액을 회수한 후 감압증발기로 제거하고, 동결 건조하는 통상의 추출물 제조방법을 통해 추출물을 얻을 수 있다.
- [0044] 본 발명에 따른 뱀무 추출물은 발효과정을 거친 추출물도 포함하는데, 뱀무의 발효추출물은 다음과 같이 제조할 수 있다. 뱀무를 100~500메쉬 정도로 미세하게 파쇄한 다음 통상적인 미생물 배양액을 1~50g/L를 첨가하고 효모 균주 또는 유산균등의 미생물을 10,000~100,000 cfu/L의 양으로 첨가한다. 배양온도는 30~37℃의 통상적인 미생물 배양조건으로 배양한다. pH는 5~7로 호기적 또는 통상 혐기(anaerobic)적인 조건으로 약 5내지 10일간 배양한다. 이후 숙성 및 여과를 통해 얻을 수 있다.

- [0045] 본 발명에 따르면, 상기 뱀무 추출물은 화장료 조성물의 전체 중량에 대해서 0.001 ~ 30.0 중량% 함유되며, 더욱 바람직하게는, 상기 뱀무 추출물은 화장료 조성물의 전체 중량에 대해서 0.01 ~ 10 중량% 함유되는 것을 특징으로 한다. 상기 추출물의 함량이 0.001 중량% 미만인 경우에는 피부 개선 효과가 나타나지 않으며, 30.0 중량%를 초과하는 경우에는 함유량 증가에 대한 피부 개선 효과 증대 정도가 미미하며, 제형상의 안전 및 안정성에 문제가 있으며 경제적이지도 못하다.
- [0046] 따라서, 이러한 다양한 기능을 가진 뱀무 추출물을 포함하는 본 발명의 화장료 조성물은 우수한 콜라겐 합성 증진 효과, MMP-1 생성 억제 효과, 피부주름 개선 효과, 피부 미백 효과, 멜라닌 생성 억제 효과, 방부효과를 갖는 것을 특징으로 한다.
- [0047] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분으로서 상기 유효 성분 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예컨대 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함한다.
- [0048] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 팩, 마사지크림 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0049] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [0051] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소 결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [0052] 본 발명의 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.
- [0053] 본 발명의 제형이 계면활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아마이드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0054] 본 발명의 화장료 조성물이 비누, 계면활성제 함유 클렌징 제형 또는 계면활성제 비함유 클렌징 제형일 경우, 피부에 도포한 후 닦아내거나 떼거나 물로 씻어낼 수도 있다. 구체적인 예로서, 상기 비누는 액상비누, 가루비누, 고형비누 및 오일비누이며, 상기 계면활성제 함유 클렌징 제형은 클렌징 폼, 클렌징 워터, 클렌징 수건 및 클렌징 팩이며, 상기 계면활성제 비 함유 클렌징 제형은 클렌징크림, 클렌징 로션, 클렌징 워터 및 클렌징 겔이며, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0055] 본 발명의 화장료 조성물은 단독 또는 중복하여 사용하거나, 본 발명 이외의 다른 화장료 조성물과 중복하여 사용할 수 있다. 또한 본 발명에 따른 화장료 조성물은 통상적인 사용방법에 따라 사용될 수 있으며, 사용자의 피부 상태 또는 취향에 따라 그 사용횟수를 달리할 수 있다.(문맥상 순서 변경)
- [0056] 본 발명의 뱀무 추출물을 포함하는 화장료 조성물을 이용하는 화장방법을 수행하면, MMP-1 생성 억제 효과, 콜라겐 합성 증진 효과, 멜라닌 생성 억제 효과, 방부 효과와 보습효과 및 피부 주름개선 효과를 얻을 수 있다.
- [0057] 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 자명할 것이다.

[0058]

**제조예 1: 뱀무 추출물 제조**

[0059]

세절하여 음건한 뱀무의 전초를 70% (V/V) 에탄올 수용액으로 5시간씩 3회 환류 추출하고 냉침한 후, 와트만 (Whatman) #4 여과지로 여과하였다. 여과된 추출물을 50 ℃ 이하에서 감압 농축 및 동결 건조하였다.

[0060]

**제조예 2-3. 초임계 유체 추출물 및 초음파 추출물 제조**

[0061]

통상적인 초임계 추출법(약 60℃의 온도에서 약 300 기압의 압력 하에 초임계 상태에서 공용매로서 올리브오일을 이용하여 추출함)으로 추출하여 초임계 추출물을 얻었다(제조예 2). 초음파(슈퍼소닉 초음파기기를 이용하여 25KHz의 강도로 30℃에서 약 2시간 동안 추출)를 이용한 추출을 통해 추출물을 얻었다(제조예 3). 단, 제조예 3의 경우에는 공용매로 에탄올을 사용하였다.

[0062]

**실험예 1. 뱀무 추출물의 MMP-1 생성 억제 효과**

[0063]

본 실험예 1은 제조예 1,2,3 에서 수득한 뱀무 추출물이 콜라겐 분해효소인 MMP-1 생성을 억제하는 효과를 측정하였다.

[0064]

인간 정상 피부 세포인 섬유아세포 (한국 세포주 은행, 대한민국)를 48-웰 마이크로 플레이트(Nunc, 덴마크)에 각 웰당  $1 \times 10^6$  세포가 되도록 접종하고, DMEM 배지(Sigma, 미합중국) 및 37℃의 조건에서 24시간 동안 배양한 후 상기 제조예 1,2, 3 의 뱀무 추출물을 첨가한 무혈청 DMEM 배지 및 대조군으로 뱀무 추출물이 포함되지 않은 무혈청 DMEM 배지에서 48시간 동안 추가로 배양하였다.

[0065]

배양 후, 각 웰의 상층액을 모아 MMP-1 분석 키트(Amersham, 미합중국)를 이용하여 새로 합성된 MMP-1의 양(ng/ml)을 측정하고, 하기 수학적 식 1에 따라 MMP-1 생성 억제율(%)을 계산하였으며, 그 결과를 표 1에 나타내었다.

**수학적 식 1**

[0066]

$$\text{MMP-1 생성 억제율 (\%)} = \left\{ 1 - \frac{\text{실험군의 MMP-1의 양}}{\text{대조군의 MMP-1의 양}} \right\} \times 100$$

**표 1**

시료명	처리 농도	(제조예 1)	(제조예 2)	(제조예 3)
		MMP-1 생성 억제율(%)	MMP-1 생성 억제율(%)	MMP-1 생성 억제율(%)
뱀무 추출물	10ppm	18.19	24.87	25.12
	50ppm	28.12	35.49	36.12
	100ppm	45.62	52.11	53.14
	500ppm	75.67	81.73	81.90
	1000ppm	88.18	93.59	93.01
TGF-β	(200nM )	73.3		

[0067]

[0068]

상기 표 1의 결과에서 보는 바와 같이, 본 발명의 뱀무 추출물은 농도 의존적으로 MMP-1의 생성을 억제(MMP-1 활성 억제)시키는 것을 확인할 수 있었다. MMP-1 생성 억제효과가 있는 것으로 알려진 물질인 TGF-β의 농도(200nM)와 본원발명의 뱀무 추출물의 농도(500ppm) 차이를 감안해도, 여러 종류의 물질이 혼합된 추출물 수준에서 상기와 같은 정도의 MMP-1 억제율을 나타낸 것은 본원발명의 뱀무 추출물은 MMP-1 생성 억제 효과가 있다는 것을 보여준다.

[0069]

**실험예 2. 뱀무 추출물의 콜라겐 합성 증진 효과**

[0070]

인간 정상 상피 세포인 섬유아세포를 48-웰 마이크로 플레이트에 각 웰당  $1 \times 10^6$  세포가 되도록 접종하고,

DMEM 배지에서 24시간 동안 배양하였다. 상기 제조예 1,2,3에 의해 제조된 뱀무 추출물을 첨가한 무혈청 DMEM 배지 및 대조군으로 뱀무 추출물이 포함되지 않은 무혈청 DMEM 배지에서 48시간 동안 추가로 배양하였다. 배양 후, 각 웰의 상층액을 모아 콜라겐 키트(Takara, 일본)를 이용하여 프로콜라겐 (procollagen) 타입 I C-펩타이드 (PICP) 양을 측정하여 ng/ml 환산하였으며, 이에 의해 합성된 콜라겐 양을 측정하였다. 콜라겐 생합성 증가율(%)은 하기 수학적 식 2에 따라 계산하였으며, 그 결과를 표 2에 나타내었다.

**수학적 식 2**

$$\text{콜라겐 생합성 증가율(\%)} = \left( \frac{\text{실험군의 콜라겐 양}}{\text{대조군의 콜라겐 양}} - 1 \right) \times 100$$

[0071]

**표 2**

시료명	처리 농도	(제조예 1) 콜라겐 생합성을(%)	(제조예 2) 콜라겐 생합성을(%)	(제조예 3) 콜라겐 생합성을(%)
뱀무 추출물	2.5ppm	6.8	10.1	11.9
	5ppm	15.4	23.5	24.7
	10ppm	36.2	45.5	48.3
	25ppm	90.3	99.5	101.4
	50ppm	158.6	165.7	170.5
TGF-β	( 200nM )	168.7		

[0072]

표 2에 따르면, 본 발명의 제조예 1,2,3에 의해 제조된 정제된 뱀무 추출물의 콜라겐 생합성율이 농도의존적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 특히 제조예 2 및 3에 의해 제조된 추출물이 효과가 제조예 1 추출물보다 효과가 더 좋은 것을 확인 하였다.

[0073]

**실험예 3: 뱀무 추출물의 B16F1 멜라닌형성세포를 이용한 멜라닌 생성 억제효과**

[0074]

본 실험예 3은 상기 제조예 1,2, 3 에서 수득한 뱀무 추출물의 미백 효과를 확인하기 위해 B16F1 멜라닌 형성 세포에 대한 멜라닌 생성 억제 정도를 보고 미백 효과를 판단한 것이다. 본 실험예 3에 사용된 B16F1 멜라닌 형성 세포는 마우스에서 유래한 세포주이며, 멜라닌이라는 흑색 색소를 분비하는 세포이다.

[0075]

이 세포의 인공 배양 중에 시료를 처리하여 멜라닌 흑색 색소가 감소하는 정도를 비교 평가하였다. 본 실험예에 사용된 B16F1 멜라닌 형성 세포는 ATCC(American Type Culture Collection)로부터 분양받아 사용하였다.

[0076]

B16F1 멜라닌 형성 세포의 멜라닌 생합성 억제 효과 측정은 다음과 같이 행하였다.

[0077]

B16F1 멜라닌 형성 세포를 6웰 플레이트에 각 웰당  $2 \times 10^5$  농도로 분주하고 세포를 부착시킨 후 독성을 유발하지 않는 농도로 제조예 1, 2, 3 에 따른 뱀무 추출물을 처리하여 72시간 동안 배양하였다. 72시간 배양 후 세포를 트립신-EDTA로 떼어낸 후 세포수를 측정한 다음 원심분리하여 세포를 회수하였다. 세포 내 멜라닌의 정량은 로탄(Lotan: Cancer Res., 40: 3345-3350, 1980)의 방법을 약간 변형하여 실시하였다. 셀 펠릿을 PBS로 1회 세척한 후 균질화 버퍼액(50 mM 소듐 포스페이트, pH 6.8, 1% Triton X-100, 2 mM PMSF) 1ml를 첨가하여 5분간 와류하여 세포를 파쇄하였다. 원심분리 (3,000 rpm, 10분)하여 얻은 세포 여액에 1N NaOH(10% DMSO)를 첨가하여 추출된 멜라닌을 용해한 후 마이크로 플레이트 판독기로 405 nm에서 멜라닌의 흡광도를 측정한 다음 멜라닌을 정량하여 시료의 멜라닌 생성 저해율(%)을 측정하였다. B16F1 멜라닌 형성 세포의 멜라닌 생성 저해율(%)은 하기 수학적 식 3에 의하여 계산하였으며, 그 결과를 표 3에 기재하였다.

[0078]

**수학식 3**

$$\text{멜라닌 생성 저해율 (\%)} = \left[ \frac{(A - B)}{A} \right] \times 100$$

[0079]

[0080] A : 시료를 첨가하지 않은 웰의 멜라닌 양

[0081] B : 시료를 첨가한 웰의 멜라닌 양

**표 3**

시료명	처리농도(%)	멜라닌 생성 저해효과 (%)		
		제조예1	제조예2	제조예3
뱀무 추출물	0.001	13.78	21.47	22.11
	0.005	27.27	36.69	38.36
	0.01	45.23	52.62	56.12
	0.05	72.76	78.51	79.52
알부틴	200ppm	68.45		

[0082]

[0083] 상기 표 3의 결과에서 알 수 있듯이, 본 발명의 제조예 1,2,3에 의해 제조된 정제된 뱀무 추출물은 B16F1 멜라닌 형성 세포에서 멜라닌 생성을 크게 저해하는 것을 알 수 있었다.

**제형예 1 : 뱀무 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 제조**

[0085] 뱀무 추출물을 포함하는 화장료는 제조예 1~3 의 뱀무 추출물을 각각 포함하는 화장료(제형예 1,2,3)를 제조하였으며, 효능의 비교를 위해 뱀무 추출물 대신에 보습제로서 글리세린 및 1,3부틸렌글리콜을 포함하는 화장료 조성물(비교제형예 1), 보습제로서 글리세린 및 솔비톨을 포함하는 화장료 조성물(비교제형예 2), 추출물이나 보습제를 모두 포함하지 않는 화장료 조성물(비교제형예 3)을 하기 표 4에 나타내었다.

표 4

구분	성분	제형예 1	제형예 2	제형예 3	비교제형예 1	비교제형예 2	비교제형예 3
A	뱀무 추출물 (제조예 1)	5.0	-		-	-	-
	뱀무 추출물 (제조예 2)	-	5.0		-	-	-
	뱀무 추출물 (제조예 3)			5.0			
	글리세린				5.0	5.0	
	1,3부틸렌글리콜	-	-		5.0	-	-
	솔비톨	-	-		-	5.0	-
	EDTA-2Na	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
	정제수	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100
B	세토스테아릴알코올	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
	글리세릴스테아레이트	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
	마이크로크리스탈린	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
	스쿠알란	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
	유동파라핀	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
	트리옥타노인	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
	폴리솔베이트	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
	솔비탄스테아레이트	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	토코페릴아세테이트	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
	사이클로메치콘	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
	BHT	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
C	향, 방부제	적량	적량	적량	적량	적량	적량

[0086]

[0087]

실험예 4 : 뱀무 추출물의 보습 효과

[0088]

상기 제형예 1, 2, 3의 화장료 조성물에 대한 임상 보습 효과를 다음과 같이 측정하였다. 설문 조사를 통하여 피부가 건조하다고 느끼는 건강한 성인 남녀 150 명을 무작위로 25 명씩 6개 그룹 (A, B, C, D, E, F)으로 나눈 후, A, B, C 그룹에는 제형예 1, 2, 3의 화장료 조성물을, D, E, F 그룹에는 각각 뱀무 추출물 대신에 보습제로서 글리세린 및 1,3부틸렌글리콜을 포함하는 화장료 조성물(비교제형예 1), 보습제로서 글리세린 및 솔비톨을 포함하는 화장료 조성물(비교제형예 2), 및 추출물이나 보습제를 모두 포함하지 않는 화장료 조성물(비교제형예 3)의 화장료 조성물을 각각 1일 2회씩 8주간 안면에 도포하게 하였다. 보습 효과는 실사용 시험 시작 후부터 매 2주간, 그리고 종료 후의 개선 효과를 Corneometer CM 820 (Corage +Khazaka, Germany)를 이용하여 평가하였다. 실험 결과는 하기 표 5에 나타내었다.

표 5

뱀무 추출물의 피부 보습 효과

구분	사용전	사용 2주 후	사용 4주 후
제형예 1	22.0	37.8	46.5
제형예 2	21.8	38.6	48.8
제형예 3	23.6	39.5	50.3
비교제형예 1	23.9	35.7	42.3
비교제형예 2	23.3	34.9	39.9
비교제형예 3	22.5	23.9	24.5

[0089]

[0090] 상기 표 5에 나타난 바와 같이, 일반 다른 보습제를 함유한 화장료(비교제형에 1,2)와 비교하여도 본 발명의 뱀무 추출물 함유한 화장료(제형에 1, 2,3)의 보습효과가 우수함을 확인할 수 있었다.

[0091] **실험예 5: 뱀무 추출물의 방부 효과**

[0092] 뱀무 추출물의 방부 효과를 알아보기 위해, 하기 표 6의 조성으로 제조예 1, 2, 3의 뱀무 추출물을 다양한 함량 비로 함유하는 제형에 4-11의 화장료, 뱀무 추출물 대신 정제수를 함유한 비교제형에 4의 화장료 및 뱀무 추출물 대신에 방부제로 메칠파라벤과 이미다졸리디닐우레탄을 함유하는 비교제형에 5의 화장료를 제조하였다.

표 6

성분	제형예									비교제형예	
	4	5	6	7	8	9	10	11	4	5	
	함량 (단위:중량%)										
뱀무 추출물 (제조예 1)	0.5	1.0	2.0		-	-	-	-	-	-	
뱀무 추출물 (제조예 2)	-	-	-	0.5	1.0	2.0	-	-	-	-	
뱀무 추출물 (제조예 3)							0.5	1.0			
글리세린	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	
부틸렌글리콜	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	
프로필렌글리콜	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	
EDTA-2Na	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	
폴리소르베이트 60	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
글리세릴스테아레이트	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	
밀납	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	
마카데미아넛 오일	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	
스쿠알란	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	
향료	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	미량	
메칠파라벤	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	
이미다졸리디닐우레아	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	
정제수	To	To	To	To	To	To	To	To	To	To	
	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	

[0093] 상기 표 6의 제형예 및 비교제형예의 화장료를 이용하여 박테리아 및 곰팡이에 대한 방부 효과를 측정하였다.

[0094] 먼저, 박테리아의 경우 상기 제형예 4-11의 화장료 및 비교제형예 4, 5의 화장료 20-30 g에 대장균(*Escherichia coli* ; ATCC 8739), 슈도모나스 애루지노사(*Pseudomonas aeruginosa* ; ATCC9027) 및 스태필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus* ; ATCC6538)의 혼합 균액을 시료당 초기 농도가  $10^7$  cfu/g 되도록 첨가 혼합하였다.

[0095] 이들을 30-32°C 항온조에서 4주간 배양하면서 1, 7, 14, 21 및 28일 간격으로 각 화장료를 1 g씩 취하여 생균수를 측정하였다. 측정결과는 하기의 표 8에 나타내었다.

[0096] 다음으로 곰팡이의 경우에는, 칸디다 알비칸스(*Candida albicans* ; ATCC10231), 페니실리움 씨트리눔(*Penicillium citrinum* ; KCTC2123) 및 아스퍼질러스 나이거(*Aspergillus niger* ; ATCC16404)의 혼합균액을 시

료당  $10^7$  cfu/g이 되도록 첨가 혼합한 후 25℃ 항온조에서 배양하면서 7일 간격으로 변취 유무와 시료표면의 균사 및 포자발생 유무를 관찰하여, 그 결과를 하기의 표 7에 나타내었다.

표 7

화장료	박테리아(cfu/g)						곰팡이*
	초기균수	1일차	7일차	14일차	21일차	28일차	
제형예 4	$1 \times 10^7$	860000	20000	1000	500	<100	-
제형예 5	$1 \times 10^7$	720000	13000	800	250	<100	-
제형예 6	$1 \times 10^7$	360000	5000	500	<100	<100	-
제형예 7	$1 \times 10^7$	780000	18000	900	400	<100	-
제형예 8	$1 \times 10^7$	670000	12000	700	200	<100	
제형예 9	$1 \times 10^7$	380000	4700	450	<100	<100	
제형예 10	$1 \times 10^7$	800000	22000	1200	600	<100	-
제형예 11	$1 \times 10^7$	690000	15000	900	300	<100	-
비교제형예 4	$1 \times 10^7$	89000000	80000000	71000000	62000000	59000000	+++
비교제형예 5	$1 \times 10^7$	460000	3500	300	<100	<100	-

[0097]

[0098]

- : 8주간 변취 및 균사와 포자 발생이 없고 양호

[0099]

+ : 4주 이내에 기벽이나 뚜껑에 곰팡이 발생

[0100]

++ : 4주 이내에 변취 및 표면 일부에 곰팡이 발생

[0101]

+++ : 4주 이내에 변취 및 표면 전체에 곰팡이 발생

[0102]

상기 표 7에서 보는 바와 같이, 방부제를 사용하지 않은 비교예 4의 화장료 조성물은 4주 이내에 변취 및 표면 전체에 곰팡이가 발생하고, 1일만 지나도 박테리아 균이 현저하게 증가하는 것을 알 수 있다. 그러나 본 발명의 뱀무 추출물을 함유하는 제형예 4 내지 제형예 11의 화장료 조성물은 박테리아 및 곰팡이에 대해 농도-의존적으로 방부효과를 나타내었으며, 약 28일이 경과한 후에는 2.0%(w/v)의 함량으로 사용했을 때 방부제인 메칠파라벤과 이미다졸리디닐우레아를 혼합한 비교제형예 5와 유사하거나 더 우수한 방부력이 확보되었고, 배양일 전체로 판단했을 때에도 2.0% 이상의 함량으로 사용했을 때 방부제인 메칠파라벤과 이미다졸리디닐우레아를 혼합한 비교제형예 5에 비해 훨씬 우수한 방부력이 확보됨을 알 수 있었다. 특히 제조예 1보다는 제조예 2와 3으로 제조된 뱀무 추출물이 보다 방부력이 뛰어난 것을 확인 할 수 있었다.

[0103]

**실험예 6. 뱀무 추출물의 피부 주름 개선효과**

[0104]

본 발명의 뱀무 추출물을 함유하는 화장료의 피부 주름 개선효과에 대한 임상실험을 실시하였다. 임상실험은 각 화장료의 실제 사용 테스트를 통하여 평가하였다.

[0105]

즉, 임상실험은 상기 표 4의 제조예 2의 뱀무 추출물을 함유하고 있는 제형예 2와 뱀무 추출물 대신에 보습제로서 글리세린 및 1,3부틸렌글리콜을 포함하는 비교제형예 1의 화장료 조성물을 사람을 대상으로 화장료의 사용으로 인한 피부 주름 개선 효과를 확인 및 비교 평가하였다.

[0106]

60명의 여성을 대상으로 실험군을 각각 20명씩 뱀무 추출물 대신에 보습제로서 글리세린 및 1,3부틸렌글리콜을 포함하는 화장료 조성물(비교제형예 1) 처리군, 뱀무 추출물을 아데노신 3%(v/v)로 대체한 크림(비교 제형예 6, 표 4에는 함량을 표기하지 않음) 처리군, 뱀무 추출물을 포함하는 제형예 2의 실험군의 세 그룹으로 나누고, 얼굴 양쪽면을 사용하여 6주 후의 주름 개선 효과를 육안으로 평가하여 주름 개선 정도를 확인하였다. 이 평가를 토대한 주름 개선 효과 결과는 하기의 표 8에 나타내었다.

[0107]

실험 완료 후 피부 주름 개선 효과는 제품 사용 전과 3개월간 사용 후의 각 피검자의 주름 개선 효과를 숙련된 의사의 육안 관찰 및 기기측정(cutometer SEM 575, C+K Electronic Co., Germany)을 통하여 평가하였으며, 실

험 결과는 하기의 표 8에 나타낸 바와 같다.

**표 8**

[0108] 뱀무 추출물을 포함하는 화장료 조성물의 주름 개선 효과 (육안 평가 및 기기평가)

	주름 개선 효과			유효율(%)
	우수	약간	없음	
제형예 2 (뱀무 추출물)	22	5	3	90.0
비교제형예 1 (보습제)	4	6	20	33.3
비교제형예 6 (아데노신)	( 19 )	( 5 )	( 6 )	( 80.0 )

[0109] 상기 표 8의 결과에서도 알 수 있듯이, 본 발명의 뱀무 추출물을 함유한 제형예 2의 화장료 조성물은 보습제를 함유하는 비교제형예 1에 비하여 약 2.7배 높은 주름개선 효과를 보여주었다.

[0110] 또한, 뱀무 추출물 대신 주름 개선 효과가 있는 것으로 알려진 아데노신을 함유하는 비교 제형예 6의 화장료와 유사한 결과가 나타나, 뱀무 추출물의 우수한 주름 개선 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 또한 본 발명의 복주머니란 추출물을 함유하는 화장료를 피부에 도포한 대부분의 피검자들에게서 피부 자극을 관찰할 수 없었다.

[0111] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.