(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0137508
(43) 공개일자 2017년12월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/97 (2017.01) *A23L 1/30* (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01) *A61Q 19/08* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 8/97 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2016-0069748
(22) 출원일자 2016년06월03일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
주식회사 엘지생활건강
서울특별시 종로구 새문안로 58 (신문로2가)
(72) 발명자
노효선
대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)
황승진
대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인필앤온지

전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 **복합 생약 추출물을 포함하는 피부 개선용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 피부 적용 시 안전하고, 피부 개선 효과가 우수한 복합 생약 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명에 따른 조성물은 생지황 추출물, 숙지황 추출물, 석곡 추출물, 천문동 추출물, 맥문동 추출물, 황금 추출물, 인진 추출물, 지각 추출물, 감초 추출물 및 비파엽 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물로, 항당화 효과, 피부 미백 효과, 피부 탄력 및 주름 개선 효과, 항산화 효과 및 피부 트러블 개선 효과를 포함한 피부 개선에 탁월한 효과를 갖는다.

(52) CPC특허분류
A61Q 19/02 (2013.01)
A61Q 19/08 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/318 (2013.01)
(72) 발명자
진무현
대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)
노석선
대전광역시 유성구 지족로 362, 310동 1404호 (지족동, 반석마을3단지아파트)

명 세 서

청구범위

청구항 1

생지황 추출물, 숙지황 추출물, 석곡 추출물, 천문동 추출물, 맥문동 추출물, 황금 추출물, 인진 추출물, 지각 추출물, 감초 추출물 및 비파엽 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백, 주름, 탄력, 트러블, 또는 항산화용 화장료 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 생지황 추출물: 숙지황 추출물: 석곡 추출물: 천문동 추출물: 맥문동 추출물: 황금 추출물: 인진 추출물: 지각 추출물: 감초 추출물: 비파엽 추출물의 중량비는 1: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10인 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 추출물은 물, C1 내지 C4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택된 용매로 추출한 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 화장료 조성물은 항당화, 멜라닌 생성 저해, 콜라겐 합성 촉진, 엘라스타제 활성 저해 또는 자유라디칼 소거하는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 피부 적용 시 안전하고, 피부 개선 효과가 우수한 복합 생약 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 피부는 외부 환경으로부터 인체를 보호하고, 내부의 수분 및 유용 성분이 밖으로 유출되는 것을 막아주는 장벽 기능, 체온조절 기능, 배설 기능 등 다양한 생리적 기능을 담당하고 있는 중요한 기관이다. 그러나, 다음과 같은 이유 등에 의해 피부 세포의 활성이 저하되고 피부 상태가 악화되는 현상이 일어날 수 있다.

[0004] 피부의 진피층에 존재하는 콜라겐과 엘라스틴은 피부의 기계적 견고성, 결합조직의 저항력, 조직의 결합력 유지, 및 세포접착의 지탱 등의 기능을 수행하여 피부의 구성성분에 많은 영향을 미친다. 이러한 콜라겐은 스트레스, 고령화 또는 자외선 조사에 의한 광 노화에 의하여 감소되며, 한편, 엘라스틴은 자외선에 노출된 후 활성이 증가된 분해효소 엘라스타제에 의해 3차원 구조가 뒤틀려진다고 알려져있다. 이에 따라 피부 조직이 느슨해지고 탄력을 잃게 된다.

[0005] 표피의 세포 기능이 저하됨으로써 신진대사 작용이 원활하지 못하게 되어, 각질 탈락이 잘 일어나지 않아 각질이 과하게 축적된 상태에서 자외선을 받으면 탄력이 저하되어 주름 발생을 초래하게 된다. 또는 표피에 피지막이 형성되지 않을 경우 수분과 피지 분비가 감소하고 피부가 건조해지면서 주름이 형성되기도 한다.

[0006] 피부가 자외선을 받으면 피부를 보호하기 위해 멜라닌을 합성한다. 합성된 멜라닌은 멜라노좀을 통해 피부의 각질세포로 옮겨진다. 이 각질 세포는 28일을 주기로 턴-오버(turn over) 현상이 일어난다. 따라서 생성된 멜라닌은 각질세포에 의해 28일을 주기로 소실되는 것이 일반적이나, 스트레스, 피부 노화 등에 의해 피부 세포 주기가 잘 조절되지 않게 되면 각질세포가 제시기에 탈락하지 않아 기미, 주근깨, 검버섯 등의 색소 침착이 일어나게 된다.

[0007] 피부에서는 피지, 땀 성분 및 화장품 성분들이 피부 상재균에 의해 독성이 강한 물질로 분해되어 피부에 자극을 일으키고 염증을 유발시킬 수 있다. 또한 자외선으로 인한 자극으로 피부에 염증 매개 물질인 일산화질소(NO)의

생성을 증가시켜 피부 트러블이 유발될 수 있다. 일산화질소의 생성은 대부분 iNOS에 의한 것인데, iNOS는 LPS, 사이토카인 같은 자극에 의해 급격하게 유도되어 과량의 NO를 생성하는 것으로 알려져있다.

[0008] 유해산소(toxic oxygen species)라고도 하는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 호흡 등과 같은 생리작용에 의해 세포에서 생성되는 독성물질로 끊임없이 생산되고 소멸하며, 정상적인 상태에서는 3-5% 정도로 존재한다. 이런 활성산소종은 수퍼옥시드 라디칼(Superoxide radical, O2-), 하이드록시라디칼 (hydroxyl radical, HO+)과 같은 자유라디칼(free radical: 화학적으로 최외각 전자궤도에 쌍을 이루고 있지 않은 원자나 분자로 매우 불안정하여 높은 반응성을 가지는 형태)로 존재하거나 혹은 과산화수소(hydorgen peroxide, H_2O_2)나 일중항산소(Singlet radical)와 같이 쌍을 이룬 전자를 가진 화합물의 형태로 존재한다. 활성산소종은 생리계 내에서 세균을 살균하는 생체 방어 작용을 하는 장점도 있지만, 일반적으로 생체 내에서 산화를 일으켜 질병의 원인이 되는 유해한 작용을 한다. 이러한 활성산소종은 생물분자를 공격하여 세포나 조직에 피해를 주며, 노화나 각종 성인병 질환에 관여하는 여러 종류의 질병을 야기한다는 보고가 있다.

[0010] 상술한 여러 요인들에 의한 피부 노화를 억제하고, 미백, 주름, 탄력 또는 트러블을 개선하고, 항산화 효과가 있는 물질을 개발하고자 하는 연구가 계속되어 왔다.

[0011] 상술한 효과가 있는 물질은 자연계에 널리 분포되어 있는데, 주로 식물로부터 유래된 물질을 사용해 식품, 화장품, 의약품 등의 원료로서 사용해 왔다. 그러나, 이 같은 자연계에서 유래된 물질은 효과가 크지 않아 유의미한 효과를 얻기 위해서는 다량으로 사용해야 하고, 이로 인한 독성 및 가격 상승 문제가 대두되었다.

[0012] 이러한 천연 물질의 문제점을 해결하기 위해, 화학적으로 합성된 물질의 개발이 이어졌다. 이들은 천연 물질에 비해 소량 사용으로도 월등히 우수한 효과를 발휘한다는 장점이 있으나, 반면 인체에 크고 작은 부작용을 유발시킬 수 있다는 치명적인 문제점이 있어 사용이 제한된다.

[0014] 이에, 피부 개선에 우수한 효과를 발휘하면서도 천연물로부터 유래되어 안정성이 확보되는 물질의 개발이 절실한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0016] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 피부 개선, 특히 미백, 주름, 탄력, 트러블 개선, 항산화에 우수한 효과를 발휘하면서도 천연물로부터 유래되어 안정성이 확보되는 복합 생약 추출물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0018] 상술한 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 생지황 추출물, 숙지황 추출물, 석곡 추출물, 천문동 추출물, 맥문동 추출물, 황금 추출물, 인진 추출물, 지각 추출물, 감초 추출물 및 비파엽 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백, 주름, 탄력, 트러블, 또는 항산화용 조성물 (예를 들어, 화장료 조성물)을 제공한다.

[0020] [추출물]

[0021] 생지황(生地黃, Rehmanniae Radix Recens)은 라틴명 Rehmanniae Radix Recens 이고, *Rehmannia glutinosa* Liboschitz ex Steudel (현삼과 Scrophulariaceae)의 신선한 뿌리로, 원기둥모양 ~ 방수형을 이루고 길이 5~15 cm, 지름 8 ~ 50 mm로서 더러는 꺾어졌거나 구부러진 것도 있다. 맛은 쓰고 약간 달며 성질은 몹시 차다. 응혈(凝血) 촉진 작용 · 강심(强心) 작용 · 이뇨 작용 · 혈당 강하 작용 · 혈압 상승 작용을 하는 것으로 알려져 있다.

[0022] 숙지황(熟地黃, Prepared Rehmannia Root)은 라틴명 Rehmanniae Radix Recens 이고, *Rehmannia glutinosa* Liboschitz ex Steudel (현삼과 Scrophulariaceae)의 뿌리를 포제가공한 것이다. 정제된 지황을 보통 술,

사인, 진피를 보료로 하여 속과 겉이 검게 되고 윤기가 흐르며 질이 부드럽고 연하며 점조하게 될 때까지 찌고 햇볕에 말리는 것을 반복하여 제조할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 포제한 뿌리는 불규칙한 덩어리이고, 크기는 고르지 않다. 바깥면은 검고 광택이 나며 점성이 크다. 질은 유연하고 질겨서 잘 잘라지지 않으며, 잘린 면은 검은색이고 광택이 있다. 약간 특유한 냄새가 있고 맛은 달다. 허리와 무릎이 시리고 아픈 증상이나 월경 이상, 어지럼증 등을 치료하고 머리를 검게 하는 효능이 있다.

[0023] 석곡 (石斛, Dendrobii Caulis)은 금채석곡 *Dendrobium nobile* Lindley, 환초석곡 *Dendrobium loddigesii* Rolfe., 마편석곡 *Dendrobium fimbriatum* Hook. var. oculatum Hook., 황초석곡 *Dendrobium chrysanthum* Wall. ex Lindley 또는 철피석곡 *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindley (난초과 Orchidaceae)의 줄기이다. 한국(제주·전남·경남)·일본·중국 등지에 분포하며, 바위나 죽은 나무 줄기에 서식한다. 해열·진통 작용이 있으며 백내장에 효과가 있고 건위제·강장제로 사용한다. 금채석곡의 줄기는 납작한 원기둥모양이고 길이 20 ~ 40 ㎝, 지름 4 ~ 6 ㎜, 마디 사이가 25 ~ 30 ㎜ 이다. 바깥면은 황금색이고 녹색을 띤 부분도 있으며 세로주름이 있다. 질은 단단하나 쉽게 부스러진다. 냄새가 거의 없고 맛은 쓰다. 환초석곡은 가늘고 긴 원기둥모양이고 구부러졌으며 길이 15 ~ 35 ㎝, 지름 1 ~ 3 ㎜, 마디 사이가 1 ~ 2 ㎝이다. 바깥면은 황금색이고 광택이 나며 세로주름이 있다. 질은 부드러우면서 질기고 속은 충실하다. 냄새가 없고 맛은 담담하다. 마편석곡은 원기둥모양이고 길이 40 ~ 120 ㎝, 지름 5~ 8 ㎜, 마디 사이가 30 ~ 45 ㎜이다. 바깥면은 노란색 ~ 어두운 노란색이고 세로주름이 있다. 질은 성글고 자른 면은 섬유성이다. 맛이 약간 쓰다. 황초석곡은 길이 30 ~ 80 ㎝, 지름 3 ~ 5 ㎜, 마디 사이가 20 ~ 35 ㎜이다. 바깥면은 황금색 ~ 연한 황갈색이고 세로주름이 있다. 질은 견실하고 가벼우며 꺾이기 쉽다. 꺾인 면은 대체로 섬유성이다. 씹으면 점성을 나타낸다. 철피석곡은 원기둥모양이고 길이 15 ~ 50 ㎝, 지름 1.5~ 3 ㎜, 마디 사이가 1 ~ 4 ㎝이다. 바깥면은 노란색이고 아랫부분의 일부에는 광택이 나며 세로주름이 있다. 마디 위에는 꽃차례자루 자국 및 남아있는 엽초가 있다. 보통 마디 사이의 위에는 1 개의 간극이 있고 갈색이다. 엽초의 입구는 많이 벌어져 있다. 질은 단단하나 부서지기 쉽다. 꺾인 면은 섬유성이다. 냄새가 거의 없고 씹으면 끈적끈적하다.

[0024] 천문동 (天門冬, Asparagus Tuber)은 *Asparagus cochinchinensis* Merrill (백합과 Liliaceae)의 덩이뿌리로서 뜨거운 물로 삶거나 찐 뒤에 겉껍질을 제거하고 말린 것이다. 덩이뿌리는 방추형 내지 원형을 이루고 대개 구부러져 있다. 길이 5 ~ 15 ㎝, 지름 5 ~ 20 ㎜이다. 약간 특유한 냄새가 있고 맛은 처음에 달고 후에 약간 쓰다. ·이뇨 ·강장제로 사용한다. 한국 ·일본 ·타이완 ·중국에 분포한다.

[0025] 맥문동(麥門冬, Liriope Tuber)은 맥문동 *Liriope platyphylla* Wang et Tang 또는 소엽맥문동 *Ophiopogon japonicas* Ker-Gawler (백합과 Liliaceae)의 뿌리의 팽대부 (膨大部)이다. 맥문동의 뿌리 팽대부는 네모기둥 또는 둥근 네모기둥 모양이고, 길이 12 ~ 40 ㎜, 지름 4 ~ 9 ㎜이다. 바깥면은 황백색이고 세로주름이 있다. 질은 부드러우면서 질기다. 꺾인면은 황백색이고 약간 투명하며 중심주는 가늘고 억세며 질긴 목심이다. 소엽맥문동의 뿌리 팽대부는 긴 네모기둥 모양 또는 방추형이고, 길이 10 ~ 25 ㎜ 지름 3 ~ 5 ㎜이다. 한 쪽 끝은 뾰족하고 다른 쪽은 약간 둥글다. 바깥면은 연한 노란색 ~ 연한 황갈색이며 크고 작은 세로주름이 있다. 꺾기 쉬우며 꺾인 면은 황백색이고 약간 투명하며 중심주는 가늘고 억세며 질긴 목심이다. 꽃은 5~8월에 피고 자줏빛이며 수상꽃차례의 마디에 3~5개씩 달린다. 꽃이삭은 길이 8~12㎝이며 작은꽃가지에 마디가 있다. 씨방상위이며 열매는 삭과로 둥글고 일찍 과피(果皮)가 벗겨지므로 종자가 노출되며 자흑색(紫黑色)이다. 덩이뿌리는 한방에서 약재로 사용하는데 소염·강장 ·진해·거담제 및 강심제로 이용한다. 한국·일본·중국·타이완 동북아시아 뿐만아니라 세계적으로 폭넓게 분포한다.

[0026] 황금(黃芩)은 라틴명 Scutellariae Radix인, 속썩은풀 *Scutellaria baicalensis* Georgi (꿀풀과 Labiatae)의 뿌리로서 그대로 또는 주피를 제거한 것이다. 뿌리는 원뿔 모양이고 비틀어져 굽어 있으며, 바깥 면은 황갈색~진한 노란색이고, 질은 단단하면서 취약하고 절단하기 쉽다. 자른 면은 노란색이고, 중심부는 적갈색이다. 냄새가 거의 없고 맛은 약간 쓰다. 항균작용, 항염증작용, 혈압강하, 지혈작용, 간치료작용, 해열, 진토, 이뇨작용이 보고되었다. 주요 화학성분으로는 포르시톨(forsythol), 스테롤(sterol) 화합물, 사포닌(saponin), 올레아놀산(oleanolic acid) 등이 있다.

[0027] 인진 (茵蔯,Artemisiae Capillaris Herba)은 사철쑥 *Artemisia capillaris* Thunberg (국화과 Compositae)의 지상부이다. 봄에 채취한 것을 '면인진'이라 하고, 가을에 채취한 것을 '인진호'라 한다. 면인진은 지상부로 말린 덩어리 모양이고 회백색~ 회록색이며 전체에는 흰색의 털이 덮여있고 섬유처럼 부드럽다. 줄기는 가늘고 길이 15 ~ 25 ㎜, 지름 1 ~ 2 ㎜이며 겉면의 흰색의 털을 제거하면 세로무늬를 선명하게 볼 수 있고 질은 부드럽다. 잎에는 잎자루가 있고 1 ~ 3 회 우상으로 갈라져 있으며 길이 1 ~ 3 ㎝, 지름 약 1 ㎝이다. 맑은 향기가 있고 맛은 약간 쓰다. 인진호는 지상부로 줄기는 원기둥모양이고 가지가 많으며 길이 30 ~ 100 ㎝, 지

름 2 ~ 8 mm이다. 겉은 갈색 또는 보라색이고 세로무늬가 있으며 짧은 유모로 덮여있다. 질은 약하며 가볍고 자른 면은 유백색이다. 잎은 밀집되어 있거나 탈락되어 있다. 아래쪽의 잎은 1 ~ 2 회 우상으로 갈라져 있고 아랫쪽은 줄기를 싸고 있으며 열편은 가는 실 모양이다. 두상화는 달걀모양이고 여럿이 모여 원뿔모양을 이루며 길이 1.2 ~1.5 mm, 지름 1 ~ 1.2 mm이며 짧은 잎자루가 있다. 총포편은 3 ~ 4 층이고 달걀모양이며 포편은 셋으로 갈라진다. 바깥층의 암꽃은 6 ~ 10 개이고 많은 것은 15 개까지이며 안쪽의 양성화는 2 ~ 10 개이다. 수과는 타원형이고 황갈색이다. 특유한 냄새가 있고 맛은 약간 쓰다

[0028] 지각 (枳殼, Aurantii Fructus Immaturus)은 광귤나무 *Citrus aurantium* Linne, 하귤 *C. natsudaidai* Hayata 또는 그 재배변종 (운향과 Rutaceae)의 덜 익은 열매이다. 열매는 구형 또는 절단되어 반구형으로 지름 3 ~ 5 cm이고, 바깥면은 녹갈색 ~ 적갈색이며 과립상의 돌기가 있으며 돌기마다 그 위에 들어간 점이 있고 꽃대와 열매꼭지이 떨어진 자국이 있다. 열매껍질의 두께는 6~13 mm로 절단면의 중과피는 황백색이며 질은 단단하고 꺾기가 어렵다. 가장자리에는 1 ~ 2 줄의 유실이 있고, 양낭은 7~12개, 일부는 15개에 이르고, 말라 줄어든 즙낭은 종색 내지 종갈색이고, 꺾은 면은 매끈하나 약간의 돌기가 있으며 속에는 씨가 들어 있다. 특유한 냄새가 있고 맛은 쓰고 약간 시다.

[0029] 감초(甘草)는 라틴명 Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Licorice이고, 감초 *Glycyrrhiza uralensis* Fischer, 광과감초(光果甘草) *Glycyrrhiza glabra* Linne 또는 창과감초(脹果甘草) *Glycyrrhiza inflata* Batalin (콩과 Leguminosae)의 뿌리 및/또는 뿌리줄기로서 그대로 (즉, 껍질이 붙은 채로) 또는 주피를 제거한 것이다. 특이한 냄새가 나며 맛은 달다. 진해·거담, 근육이완, 이뇨작용을 한다.

[0030] 비파엽(枇杷葉, Eriobotrya Leaf)은 장미과의 비파나무 *Eriobotrya japonica* Lindley (장미과 Rosaceae)의 잎이다. 잎은긴 원형 내지 도란형이며, 길이 12 ~ 30 cm, 너비 4 ~ 9 cm이다. 끝은 뾰족하고 잎 가장자리에는 성글고 거친 톱니가 있으나 아랫쪽 가까이는 전연이다. 윗면은 회록색, 황갈색 내지 녹갈색이고 광택이 나며 매끄럽다. 아랫면은 색이 엷고 노란색의 섬모가 촘촘히 덮여있다. 잎자루는 매우 짧고 연한 황갈색의 섬모가 덮여있다. 질은 가죽질이고 부서지기 쉽다. 냄새가 거의 없고 맛은 약간 쓰다. 비파나무의 꽃·열매·씨도 약용한다. 약리작용으로 진해, 거담 작용, 요충을 죽이는 효과가 보고되었다.

[0032] 본 발명자들은 상기 추출물의 모두가 피부에 유익한 생물학적 활성을 가지며, 상기 추출물 중 2 이상의 복합 추출물, 바람직하게 생지황 추출물, 숙지황 추출물, 석곡 추출물, 천문동 추출물, 맥문동 추출물, 황금 추출물, 인진 추출물, 지각 추출물, 감초 추출물 및 비파엽 추출물의 복합 추출물은 시너지적 생물학적 활성을 가짐을 발견하였다.

[0034] 본 발명에 있어서, 용어 "추출물"은 상기 추출처리에 의하여 얻어지는 추출액, 상기 추출액의 희석액이나 농충액, 상기 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 상기 추출액의 조정제물이나 정제물, 또는 이들의 혼합물 등, 추출액 자체 및 추출액을 이용하여 형성 가능한 모든 제형의 추출물을 포함한다.

[0036] 상기 추출물에는 각각의 식물을 설명하며 특정된 부위 외에도 그의 잎, 줄기, 나무껍질, 뿌리, 꽃 또는 꽃눈, 과실, 종자, 수액 및 전체 식물이 포함될 수 있다.

[0038] 상기 추출물을 제조하기 위하여, 통상의 기술자는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법을 사용할 수 있다. 예를 들어, 용매 추출법에 의할 수 있다. 식물 전체 또는 임의의 부분을 분쇄한 다음(예를 들어, 블렌더), 추출 용매를 처리하여, 용매 추출물을 수득할 수 있다. 분쇄 전에 건조 과정(예를 들어, 40 내지 70℃에서 15 내지 50시간 동안의 건조)을 거친 다음 분쇄할 수도 있다. 또한, 용매 추출물은 감압 증류 및 동결건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.

[0039] 상기 사용되는 추출 용매의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있다. 상기 추출 용매의 비제한적인 예로는 물; 메탄올, 에탄올, 프로필알코올, 부틸알코올 등의 C1 내지 C4의 저급 알코올; 글리세린, 부틸렌글라이콜, 프로필렌글라이콜 등의 다가 알코올; 및 메틸아세테이트, 에틸아세테이트, 아세톤, 벤젠, 헥산, 디에틸에테르, 디클로로메탄 등의 탄화수소계 용매; 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있으며, 바람직하게, 물, 저급알코올을 단독으로 사용하거나 2종 이상 혼합하여 사용할 수 있다. 상기 용

매를 사용하여 1회 이상 추출하여 용매 추출물을 제조할 수 있으며, 상기 용매 추출물을 감압 증류한 후 동결건조 또는 분무 건조하여 얻은 건조 추출물을 제조할 수 있다.

[0040] 상기 추출 용매의 양은 이용되는 추출 용매의 종류에 따라 다양할 수 있으나, 예를 들어 대상 식물의 건조 중량에 대하여 1 내지 20배, 또는 5 내지 20배로 사용할 수 있다.

[0041] 이외에도, 당업계 공지된 다양한 추출 공정, 예를 들어, 온침(maceration), 인퓨전(infusion), 퍼콜레이션(percolation), 소화, 전즙(decoction), 고온 연속 추출(hot continuous extraction), 수성-알코올성 추출, 역류 추출, 마이크로파 보조 추출, 초음파 추출, 초임계 유체 추출, 조직편 추출(phytonic extract) (예를 들어, 하이드로-플루오로-카본 용매) 등) 등을 선택하여 사용할 수 있으며, 이들은 단독으로 수행되거나 2 종 이상의 방법을 병용하여 수행될 수 있다.

[0043] [조성물]

[0044] 본 발명에 따른 조성물은 생지황 추출물, 숙지황 추출물, 석곡 추출물, 천문동 추출물, 맥문동 추출물, 황금 추출물, 인진 추출물, 지각 추출물, 감초 추출물 및 비파엽 추출물을 유효성분으로 포함한다.

[0045] 본 발명에 있어서 "유효성분으로 포함된다"는 의미는 본 발명에 따른 조성물로부터 피부 개선 효과를 나타낼 수 있는 정도로, 추출물이 첨가되는 것을 의미하고, 피부 전달 및 안정화 등을 위하여 다양한 성분을 부성분으로 첨가하여 다양한 형태로 제형화(formulation) 가능함을 포함하는 의미이다.

[0046] 본 발명에 따른 조성물에 각각의 식물 추출물은 다음과 같은 비율로 포함될 수 있다. 예를 들어, 생지황 추출물: 숙지황 추출물: 석곡 추출물: 천문동 추출물: 맥문동 추출물: 황금 추출물: 인진 추출물: 지각 추출물: 감초 추출물: 비파엽 추출물의 중량비는 1: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10: 0.01 ~ 10, 또는 1: 0.1 ~ 10: 0.1 ~ 10: 0.1 ~ 10: 0.1 ~ 10: 0.1 ~ 10: 0.1 ~ 10: 0.1 ~ 10: 0.1 ~ 10, 1: 1 ~ 5: 1 ~ 5: 1 ~ 5: 1 ~ 5: 1 ~ 5: 1 ~ 5: 1 ~ 5: 1 ~ 5, 또는 1: 1 ~ 3: 1 ~ 3: 1 ~ 3: 1 ~ 3: 1 ~ 3: 1 ~ 3: 1 ~ 3: 1 ~ 3으로 포함될 수 있다.

[0047] 본 발명에 따른 조성물에는 본 발명의 1 이상의 추출물이 조성물의 최종 형태 중에 적어도 약 0.0001%, 0.0002%, 0.0003%, 0.0004%, 0.0005%, 0.0006%, 0.0007%, 0.0008%, 0.0009%, 0.0010%, 0.0011%, 0.0012%, 0.0013%, 0.0014%, 0.0015%, 0.0016%, 0.0017%, 0.0018%, 0.0019%, 0.0020%, 0.0021%, 0.0022%, 0.0023%, 0.0024%, 0.0025%, 0.0026%, 0.0027%, 0.0028%, 0.0029%, 0.0030%, 0.0031%, 0.0032%, 0.0033%, 0.0034%, 0.0035%, 0.0036%, 0.0037%, 0.0038%, 0.0039%, 0.0040%, 0.0041%, 0.0042%, 0.0043%, 0.0044%, 0.0045%, 0.0046%, 0.0047%, 0.0048%, 0.0049%, 0.0050%, 0.0051%, 0.0052%, 0.0053%, 0.0054%, 0.0055%, 0.0056%, 0.0057%, 0.0058%, 0.0059%, 0.0060%, 0.0061%, 0.0062%, 0.0063%, 0.0064%, 0.0065%, 0.0066%, 0.0067%, 0.0068%, 0.0069%, 0.0070%, 0.0071%, 0.0072%, 0.0073%, 0.0074%, 0.0075%, 0.0076%, 0.0077%, 0.0078%, 0.0079%, 0.0080%, 0.0081%, 0.0082%, 0.0083%, 0.0084%, 0.0085%, 0.0086%, 0.0087%, 0.0088%, 0.0089%, 0.0090%, 0.0091%, 0.0092%, 0.0093%, 0.0094%, 0.0095%, 0.0096%, 0.0097%, 0.0098%, 0.0099%, 0.0100%, 0.0200%, 0.0250%, 0.0275%, 0.0300%, 0.0325%, 0.0350%, 0.0375%, 0.0400%, 0.0425%, 0.0450%, 0.0475%, 0.0500%, 0.0525%, 0.0550%, 0.0575%, 0.0600%, 0.0625%, 0.0650%, 0.0675%, 0.0700%, 0.0725%, 0.0750%, 0.0775%, 0.0800%, 0.0825%, 0.0850%, 0.0875%, 0.0900%, 0.0925%, 0.0950%, 0.0975%, 0.1000%, 0.1250%, 0.1500%, 0.1750%, 0.2000%, 0.2250%, 0.2500%, 0.2750%, 0.3000%, 0.3250%, 0.3500%, 0.3750%, 0.4000%, 0.4250%, 0.4500%, 0.4750%, 0.5000%, 0.5250%, 0.550%, 0.5750%, 0.6000%, 0.6250%, 0.6500%, 0.6750%, 0.7000%, 0.7250%, 0.7500%, 0.7750%, 0.8000%, 0.8250%, 0.8500%, 0.8750%, 0.9000%, 0.9250%, 0.9500%, 0.9750%, 1.0%, 1.1%, 1.2%, 1.3%, 1.4%, 1.5%, 1.6%, 1.7%, 1.8%, 1.9%, 2.0%, 2.1%, 2.2%, 2.3%, 2.4%, 2.5%, 2.6%, 2.7%, 2.8%, 2.9%, 3.0%, 3.1%, 3.2%, 3.3%, 3.4%, 3.5%, 3.6%, 3.7%, 3.8%, 3.9%, 4.0%, 4.1%, 4.2%, 4.3%, 4.4%, 4.5%, 4.6%, 4.7%, 4.8%, 4.9%, 5.0%, 5.1%, 5.2%, 5.3%, 5.4%, 5.5%, 5.6%, 5.7%, 5.8%, 5.9%, 6.0%, 6.1%, 6.2%, 6.3%, 6.4%, 6.5%, 6.6%, 6.7%, 6.8%, 6.9%, 7.0%, 7.1%, 7.2%, 7.3%, 7.4%, 7.5%, 7.6%, 7.7%, 7.8%, 7.9%, 8.0%, 8.1%, 8.2%, 8.3%, 8.4%, 8.5%, 8.6%, 8.7%, 8.8%, 8.9%, 9.0%, 9.1%, 9.2%, 9.3%, 9.4%, 9.5%, 9.6%, 9.7%, 9.8%, 9.9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 이상의 범위로 본 발명의 1 이상의 추출물을 포함할 수 있다.

[0048] 또한, 본 발명에 따른 조성물에는 본 발명의 각각의 추출물이 조성물의 최종 형태 중에 적어도 약 0.0001% ~

90%, 0.001% ~ 90%, 0.01% ~ 90%, 0.1% ~ 90%, 0.1% ~ 90%, 0.1% ~ 80%, 0.1% ~ 70%, 0.1% ~ 60%, 0.1% ~ 50%, 0.1% ~ 40%, 0.1% ~ 30%, 0.1% ~ 20% 또는 0.1% ~ 10%의 범위로 포함될 수 있다.

[0049] 상기 %는 조성물의 총 중량 대비 중량 또는 총 부피 대비 부피를 기준으로 계산할 수 있으며, 농도는 조성물의 목적하는 효과 또는 조성물이 혼입되는 제품에 따라 조정될 수 있다.

[0051] 본 발명의 조성물은 모든 유형의 비히클 내로 제형화 될 수 있다. 적합한 비히클의 예로는 에멀젼 (예를 들어, 수중유, 유중수, 수중실리콘, 실리콘중수, 수중유중수, 수중유, 유중수중유, 실리콘중수중유 등), 크림, 로션, 용액 (예컨대, 수성 및 하이드로-알코올 용액), 무수 베이스 (예를 들어, 립스틱 및 파우더), 젤, 연고, 페이스트, 밀크, 액체, 에어로졸, 고체 형태 또는 아이 젤리를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0052] 또한, 본 발명의 조성물은 피부와 같은 표적 영역으로의 운반을 위해 캡슐화될 수도 있다. 캡슐화 기술은 예를 들어, 피부에 성분을 전달하는 운반 비히클로서 사용될 수 있는 리포좀, 소낭, 및/또는 나노입자 (예를 들어, 성분이 트랩핑(trap되고, 캡슐화되고/되거나 흡수되는 폴리머 물질을 포함하는 생분해성 및 비생분해성 콜로이드성 입자, 예를 들어 나노스피어(nanosphere) 및 나노캡슐을 포함)의 사용을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0054] 본 발명에 따른 조성물은 다양하게 제품화될 수 있다. 예를 들어, 화장료 조성물, 식품 조성물 등으로 제품화될 수 있다.

[0056] 상기 화장료 조성물은 예를 들어, 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조된 것일 수 있다. 예를 들어, 유연 화장수 또는 영양 화장수 등과 같은 화장수, 훼이셜 로션, 바디로션 등과 같은 유액, 영양 크림, 수분 크림, 아이크림, 마사지 크림 등과 같은 크림, 에센스, 세럼, 화장연고, 스프레이, 오일젤, 젤, 팩, 선 스크린, 메이크업베이스, 액체 타입, 고체 타입 또는 스프레이 타입 등의 파운데이션, 파우더, 클렌징 크림, 클렌징 로션, 클렌징 오일과 같은 메이크업 제거제, 클렌징 폼, 비누, 바디 워쉬 등과 같은 세정제 등의 제형을 가질 수 있으나, 이에 제한되지 않고 당업계 공지된 다양한 형태로 제형화될 수 있다.

[0057] 상기 화장료 조성물에는 본 발명의 목적을 해하지 않는 이상, 본 발명에 따른 추출물 외에 당업계에서 화장료 조성물의 성분으로 공지된 통상의 성분을 임의로 선택하여 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 방향제 (합성 및 천연), 염료 및 색 성분, 흡수제, 에멀젼화제, 안정화제, 윤활제, 용매, 보습제 (예: 연화제(emollient), 습윤제(humectant), 피막형성제, 폐색제(occlusive agent), 및 피부의 천연 보습 메커니즘에 영향을 주는 작용제(agent)를 포함함), 발수제(water-repellant), UV 흡수제 (물리적 및 화학적 흡수제, 예를 들어 파라아미노벤조산("PABA") 및 상응하는 PABA 유도체, 이산화티탄, 산화아연 등), 에센셜 오일(essential oil), 비타민 (예: A, B, C, D, E 및 K), 미량 금속 (예: 아연, 칼슘 및 셀레늄), 항-자극제(anti-irritant) (예: 스테로이드 및 비스테로이드성 항염증제), 항-미생물제(anti-microbial agent), 항산화제 (예: BHT 및 토코페롤), 킬레이트제 (예: 다이소듐 EDTA 및 테트라소듐 EDTA), 보존제 (예: 메틸파라벤 및 프로필파라벤), pH 조정제 (예: 수산화나트륨 및 시트르산), 흡수제(예를 들어, 알루미늄 전분 옥테닐석시네이트, 카올린, 옥수수 전분, 귀리 전분, 사이클로덱스트린, 탈크(talc), 및 제올라이트), 피부 블리칭(bleaching) 및 라이트닝(lightening) 작용제 (예를 들어, 하이드로퀴논 및 니아신아미드 락테이트), 습윤제 (예: 글리세린, 프로필렌 글리콜, 부틸렌 글리콜, 펜틸렌 글리콜, 소르비톨, 우레아 및 만니톨), 각질제거제(exfoliant) (예: 알파-하이드록시산 및 베타-하이드록시산, 예를 들어 락트산, 글리콜산 및 살리실산; 및 이들의 염), 발수제(waterproofing agent) (예: 마그네슘/알루미늄 하이드록시드 스테아레이트), 피부 컨디셔닝제(skin conditioning agent) (예: 알로에 추출물, 알란토인(allantoin), 비사볼롤(bisabolol), 세라마이드(ceramide), 다이메티콘, 히알루론산, 및 다이포타슘 글리시리제이트), 및 증점제(thickening agent) (예:조성물의 점도를 증가시킬 수 있는 물질, 예를 들어 카복실산 폴리머, 가교된 폴리아크릴레이트 폴리머, 폴리아크릴아미드 폴리머, 다당류 및 검(gum)) 및 실리콘 함유 화합물(예: 실리콘 오일 및 폴리오르가노실록산) 등이 포함될 수 있다.

[0059] 상기 식품 조성물은 예를 들어, 음료, 강화수(fortified water), 에너지 드링크(energy drink), 영양 드링크(nutritional drink), 고형 식품, 비타민, 보조제(Supplement) 등) 등으로 제형화 될 수 있으나, 이에 제한되

지 않는다. 상기 보조제에는 비타민, 무기질, 허브 또는 기타 식물, 아미노산, 효소 및 대사산물을 포함할 수 있다. 이러한 보조제는 경구 이용(oral consumption)에 적합하며, 경구로 투여될 수 있다.

[0061] 본 발명에 따른 조성물을 포함하는 키트로 제공될 수 있다. 본 발명에 따른 조성물은 용기에 포함되며, 용기는 병, 금속 튜브, 라미네이트 튜브, 플라스틱 튜브, 디스펜서, 압력 용기, 장벽 용기, 패키지, 컴파트먼트, 립스틱 용기, 컴팩트 용기, 화장용 조성물을 담을 수 있는 화장용 팬, 또는 다른 타입의 용기 예를 들어, 분산매체(dispersions) 또는 조성물 또는 유지되는 바람직한 병, 디스펜서, 또는 패키지 내로 주입 또는 블로우-몰드된 플라스틱 용기 등이 포함될 수 있으며, 이에 제한되지 않는다. 상기 키트에는 키트 또는 조성물을 사용하기 위한 지시서가 포함될 수 있으며, 지시서는 별개 용지에 기재될 수 있고, 또는 용기 표면, 용기 포장지의 표면 상에 기재될 수 있다. 지시사항은 글자, 어구, 약어, 그림 또는 기호 등이 포함되며, 이에 제한되지 않는다. 지시서에는 예를 들어, 키트 또는 조성물의 사용 방법, 적용 방법 및 유지 방법 등에 관한 지시사항이 포함될 수 있다. 용기에는 사전에 정해진 양에 따라 분배하여 담을 수 있다.

[0063] 본 발명에 따른 조성물은 국소용 피부 조성물로 제공될 수 있다.

[0064] 또한, 본 발명에 따른 조성물을 피부에 국소 적용하는 방법을 제공할 수 있다.

[0065] 본 발명에 있어서, 용어 "국소 적용"은 조성물을 각질 조직의 표면상에 적용하거나 도포하는 것을 의미하고, "국소용 피부 조성물"은 각질 조직상에 국소 적용 또는 도포하기에 적합한 조성물을 포함한다. 이러한 조성물은 피부에 적용되는 경우 과도한 독성, 부적합성(incompatibility), 불안정성, 알러지 반응 등을 갖지 않는다는 점에서, 전형적으로 피부과학적으로 허용된다. 본 발명의 국소 피부 케어 조성물은, 피부에 적용된 후 현저한 적하(dripping) 또는 풀링(pooling)을 회피하기 위해, 선택된 점도를 지닐 수 있다.

[0067] [피부 개선 효과]

[0068] 본 발명에 따른 조성물은 생물학적 활성을 가지며, 피부 개선에 우수한 효과를 발휘한다.

[0070] 보다 구체적으로, 본 발명에 따른 조성물은 피부 미백 효과가 있다.

[0071] 상기 피부 미백은 멜라닌 형성 과정을 억제 시켜 멜라닌 생성을 억제하는 것을 말한다.

[0072] 본 발명자들은 본 발명에 따른 복합 추출물을 멜라노마 세포에 처리하여 생성된 멜라닌의 양을 측정한 결과, 각각의 추출물을 처리하는 경우에 비해 상승된 멜라닌 생성 억제 효과를 보임을 확인할 수 있었고, 피부 미백 효과가 공지되어 있는 알부틴에 상응하는 효과를 발휘함을 알 수 있었다. 본 발명에 따른 조성물은 멜라닌 생성 저해 효과가 뛰어나, 우수한 미백 효과를 나타냄을 확인하였다.

[0074] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 주름 및 탄력 개선 효과가 있다.

[0075] 상기 피부 주름이란 피부가 쇠하여 생긴 잔줄을 의미하며, 유전자에 의한 원인, 피부 진피에 존재하는 콜라겐과 엘라스틴의 감소, 외부환경 등에 의해 유발될 수 있다.

[0076] 상기 주름 개선은 주름이 생성되는 것을 억제 또는 저해하거나, 이미 생성된 주름을 완화시키는 것을 말한다.

[0077] 상기 피부 탄력이란 진피층에 존재하는 엘라스틴(elastin)으로 구성된 탄력섬유 및 콜라겐(collagen)이라고 하는 교원섬유에 의해 나타나는 것으로, 상기 탄력 개선이란 탄력 감소를 억제 또는 저해하거나, 탄력을 유지 또는 향상시키는 것을 말한다.

[0078] 본 발명자들은 본 발명에 따른 복합 추출물을 처리한 결과, 각각의 추출물을 처리하는 경우에 비해 상승된 콜라겐 합성 촉진 효과 및 엘라스타제 활성 저해 효과를 보임을 확인할 수 있었고, 피부 콜라겐 합성 촉진 효과가 공지되어 있는 비타민 C에 상응하는 효과를 보이며, 피부 엘라스타제 활성 저해 효과가 공지되어 있는 퀘세틴에 상응하는 효과를 발휘함을 알 수 있었다. 본 발명에 따른 조성물은 콜라겐 합성 촉진 효과 및 엘라스타제 활성 저해 효과가 뛰어나, 우수한 피부 주름 및 탄력 개선 효과를 나타냄을 확인하였다.

[0080] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 트러블 개선 효과가 있다.

[0081] 상기 트러블은 피부자극 및 염증과 같은 증상을 말하며, 염증 반응에는 외부 자극에 의한 동통, 발열, 발적, 종창, 기능상실 등을 특징으로 하며, 조직학적으로는 소동맥, 모세혈관 및 소정맥의 투과성과 혈류증가를 동반한 확장, 혈장단백을 함유한 혈장의 삼출, 백혈구의 염증부위로의 이동 등을 포함한 복잡한 증상 등이 관찰되며, 피부자극 반응에는 홍반, 가려움, 발열 등을 특징으로 한다.

[0082] 상기 트러블 개선은 피부 자극 반응 및 염증 반응을 억제 또는 저해하거나, 이미 진행 중인 피부자극 반응 또는 염증 반응을 완화시키는 것을 말한다.

[0083] 본 발명자들은 본 발명에 따른 복합 추출물을 처리하여 NO 생성 저해 효과를 측정한 결과, 각각의 추출물을 처리하는 경우에 비해 상승된 NO 생성 저해 효과를 보임을 확인할 수 있었고, NO 생성 저해 효과가 공지되어 있는 L-NMMA에 상응하는 효과를 발휘함을 알 수 있었다. 본 발명에 따른 조성물은 NO 생성 저해를 통해 우수한 피부 트러블 개선 효과를 나타냄을 확인하였다.

[0085] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 항산화 효과가 있다.

[0086] 상기 항산화는 세포내 대사 또는 자외선의 영향으로 인한 산화적 스트레스에 따라 반응성이 높은 자유 라디칼(free radical) 또는 활성산소종(reactive oxygen species;ROS)에 의한 세포의 산화를 억제하는 것을 말하며, 자유 라디칼 또는 활성산소종을 제거하여 이로 인한 세포의 손상이 감소되는 것을 포함한다.

[0087] 본 발명자들은 본 발명에 따른 복합 추출물을 처리하여 자유라디칼 소거능을 측정한 결과, 각각의 추출물을 처리하는 경우에 비해 상승된 자유라디칼 소거능을 보임을 확인할 수 있었고, 자유라디칼 소거능이 공지되어 있는 비타민 C에 상응하는 효과를 발휘함을 알 수 있었다. 이로써, 본 발명에 따른 조성물은 우수한 항산화 효과를 나타냄을 확인하였다.

[0089] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 항당화 효과가 있다.

[0090] 상기 당화는 과도한 당의 존재로 인해 생기는 당과 단백질이 결합해 단백질이 파괴되는 현상을 말한다. 당화가 진행되면 콜라겐과 엘라스틴에 영향을 미쳐 피부 탄력 저하 외 각종 피부손상을 일으키게 된다.

[0091] 본 발명자들은 본 발명에 따른 복합 추출물을 처리하여 항당화 효과를 측정한 결과, 각각의 추출물을 처리하는 경우에 비해 상승된 항당화 효과를 보임을 확인할 수 있었고, 항당화 효과가 공지되어 있는 아미노구아니딘에 상응하는 효과를 발휘함을 알 수 있었다. 이로써, 본 발명에 따른 조성물은 우수한 항당화 효과를 나타냄을 확인하였다.

발명의 효과

[0093] 본 발명에 따른 복합 추출물은 피부에 안전하며, 항당화 효과, 피부 미백 효과, 피부 탄력 및 주름 개선 효과, 항산화 효과 및 피부 트러블 개선 효과를 포함한 피부 개선에 탁월한 효과를 갖는다. 또한, 섬유아세포증식 효과를 갖는다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0095] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예 및 실험예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 그러나 본 발명에 따른 실시예 및 실험예는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 아래에서 상술하는 실시예 및 실험예에 한정되는 것으로 해석 되어서는 안 된다. 본 발명의 실시예 및 실험예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해서 제공되는 것이다.

[0097] <실시예 1> 생지황추출물의 제조

[0098] 생지황을 세절한 후, 중량 100g을 플라스크에 넣고 추출용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2㎛의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 생지황추출물을 제조하였다.

[0100] <실시예 2> 숙지황추출물의 제조

[0101] 숙지황을 잘 건조하여 세절한 후, 건조중량 100g을 플라스크에 넣고 추출용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2㎛의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 숙지황추출물을 제조하였다.

[0103] <실시예 3> 석곡추출물의 제조

[0104] 석곡을 잘 건조하여 세절한 후, 건조중량 100g을 플라스크에 넣고 추출용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2㎛의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 석곡추출물을 제조하였다.

[0106] <실시예 4> 천문동추출물의 제조

[0107] 천문동을 잘 건조하여 세절한 후, 건조중량 100g을 플라스크에 넣고 추출용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2㎛의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 천문동추출물을 제조하였다.

[0109] <실시예 5> 맥문동추출물의 제조

[0110] 맥문동을 잘 건조하여 세절한 후, 건조중량 100g을 플라스크에 넣고 추출용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2㎛의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 맥문동추출물을 제조하였다.

[0112] <실시예 6> 황금추출물의 제조

[0113] 황금을 잘 건조하여 세절한 후, 건조중량 100g을 플라스크에 넣고 추출용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2㎛의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 황금추출물을 제조하였다.

[0115] <실시예 7> 인진추출물의 제조

[0116] 인진을 잘 건조하여 세절한 후, 건조중량 100g을 플라스크에 넣고 추출용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2㎛의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 인진추출물을 제조하였다.

[0118] <실시예 8> 지각추출물의 제조

[0119] 지각을 잘 건조하여 세절한 후, 건조중량 100g을 플라스크에 넣고 추출용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2㎛의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 지각추출물을 제조하였다.

[0121] <실시예 9> 감초추출물의 제조

[0122] 감초를 잘 건조하여 세절한 후, 건조중량 100g을 플라스크에 넣고 추출용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2㎛의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 감초추출물을 제조하였다.

[0124] <실시예 10> 비파엽추출물의 제조

[0125] 비파엽을 잘 건조하여 세절한 후, 건조중량 100g을 플라스크에 넣고 추출용매(증류수) 1000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2㎛의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 비파엽추출물을 제조하였다.

[0127] <실시예 11> 생지황, 숙지황, 석곡, 천문동, 맥문동, 황금, 인진, 지각, 감초, 비파엽 혼합추출물(10가지) 의 제조

[0128] 상술한 실시예와 같이 각각 추출물 형태로 제조한 생지황, 숙지황, 석곡, 천문동, 맥문동, 황금, 인진, 지각, 감초, 비파엽추출물 을 동량을 주입하여 생지황, 숙지황, 석곡, 천문동, 맥문동, 황금, 인진, 지각, 감초, 비파엽의 혼합추출물을 제조하였다.

[0130] <실험예 1> 항당화 효과

[0131] 항당화(anti-glycation) 효능을 확인하기 위하여, L-arginine과 포도당을 이용하여 당화 저해 활성을 측정하였다.

[0132] 먼저, 1M 인산 완충용액(pH 7.4)을 이용하여 1M L-아르기닌(arginine), 1M 포도당을 녹여 준비하고 1M 인산 완충용액을 이용하여 시료를 50ppm이 되도록 희석해서 준비하였다. 1M L-아르기닌과 1M 인산 완충용액을 1대 4의 비율로 섞은 다음 96-웰 플레이트에 80 μl씩 분주하였다. 여기에 각각 50ppm으로 희석한 시료와 양성대조군으로 사용될 0.01M 아미노구아니딘(aminoguanidin)을 100 μl씩 첨가하였다. 이 시료들을 잘 섞어준 다음, 마지막으로 포도당의 최종 농도가 0.1M이 되도록 1M 인산 완충용액으로 희석한 포도당을 넣은 후, 70℃에서 4시간 동안 반응 시켰다. 96-웰 플레이트를 분광 광도계를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하여 당화 정도를 측정하였다.

[0133] 하기 식의 Glycation 실험군은 1M L-아르기닌과 1M 포도당을 넣어 당화를 유발시킨 실험군이며, 시료 자체의 흡광도를 측정하기 위해서 포도당을 넣지 않고 1M L-아르기닌과 시료만을 넣어 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 당화 저해 활성은 다음과 같은 식으로 구할 수 있다.

[0134] [수학식 1]

[0135]
$$\text{당화 저해율 (\%)} = \frac{(\text{반응 후 시료의 흡광도} - \text{반응 전 시료의 흡광도})}{\text{Glycation 실험군}} * 100$$

[0136] (상기 수학식 1에서의 'Glycation 실험군'은 'Glycation 실험군의 흡광도'를 의미함.)

표 1

시료	저해율(%)
대조군 (DMSO, 50ppm)	-
양성대조군 (Aminoguanidine, 55ppm)	54.89
실시예1	44.38
실시예2	43.22
실시예3	42.81
실시예4	31.15
실시예5	40.11
실시예6	37.68
실시예7	42.13
실시예8	39.29
실시예9	47.28
실시예10	42.30
실시예11(50ppm)	61.40

[0137]

[0138] 상기 표 1의 결과에서 나타난 바와 같이, 혼합추출물은 항당화 물질로 알려진 아미노구아니딘(aminoguanidin)과 비교할 때, 항당화 효과가 더욱 뛰어남을 알 수 있다.

[0140] <실험예 2> 멜라닌 생성 저해 효과

[0141] 멜라닌 생성 저해를 통한 미백 효과를 확인하기 위하여, Lotan R. 외(Cancer Res. 40:3345-3350, 1980)에 기재된 방법에 따라 쥐의 멜라노마 세포(B-16 mouse melanoma cell)의 배양액에, 추출물을 첨가하여 멜라닌 총량을 측정하였다. 실험 시, 먼저 쥐의 멜라노마 세포에 대하여 독성을 평가하여 독성이 없는 농도에서 미백평가를 수행하였다. 음성 대조군으로는 DMSO를, 양성 대조군으로는 알부틴(albutin)을 사용하였다.

[0142] 구체적으로, 시료를 최종 농도가 100 ppm이 되도록 배지에 첨가하고, 알부틴은 100 ppm이 되도록 배지에 첨가한 후 멜라노마 세포를 3일간 배양하였다. 이후, 세포들을 트립신(trypsin) 처리하여 배양용기로부터 떼어내 원심분리한 후, 멜라닌을 추출하였다. 떼어낸 세포는 수산화나트륨 용액(1N 농도) 1 ml를 가하여 10분간 끓여 멜라닌을 녹이고 분광 광도계를 이용하여, 400 nm에서 흡광도를 측정하여 생성된 멜라닌의 양을 측정하였다.

[0143] 상기 멜라닌 양은 단위 세포수당(1×10^{6} cell)의 흡광도로 나타내는 방법으로 측정하였으며, 대조군에 대한 상대적인 멜라닌 총량을 저해율(%)로 계산하고 결과를 하기 표 2에 나타내었으며, 실험은 각각 3회씩 수행하여 평균값으로 나타내었다.

표 2

시료	멜라닌생성량 (abs)	저해율(%)
대조군 (DMSO, 10ppm)	0.33	-
양성대조군 (알부틴, 100ppm)	0.228	31.06
실시예1	0.292	11.52
실시예2	0.290	12.12
실시예3	0.291	11.82
실시예4	0.311	5.76
실시예5	0.301	8.79
실시예6	0.318	3.64
실시예7	0.273	17.34
실시예8	0.290	12.12
실시예9	0.302	8.48
실시예10	0.298	9.70
실시예11 (100ppm)	0.231	30.00

[0144]

[0145] 상기 표 2의 결과에서 볼 수 있듯이, 혼합추출물은 뛰어난 멜라닌 총량 감소 효과를 나타내어 미백 용도로 유용함을 알 수 있었다.

[0147] <실험예 3> 항염 효과

[0148] 항염증 효과 및 피부트러블 개선 효과를 확인하기 위하여, RAW264.7 세포주 (ATCC number: CRL-2278)를 이용한 GRIESS 법으로 nitric oxide(NO) 생성 억제력 실험을 실시하였다.

[0149] 구체적으로, 생쥐의 대식세포인 RAW264.7 세포를 수차례 계대 배양하고, 웰 하나에 3×10^5 개씩 들어가도록 24-웰 프레이트에 넣은 후, 24 시간 동안 배양하였다. 이어서, 최종농도 10ppm의 농도로 시료를 함유한 세포 배지로 교체하였다. 이때, NO-생성 억제물질인 L-NMMA(L-NG-Monomethylarginine)을 양성 대조군으로 함께 처리하여 30분 동안 배양하였고, 자극원으로 LPS(Lipopolysaccharide)를 1 ㎍씩 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 상층액을 100㎕씩 취해 96-웰 프레이트에 옮기고, GRIESS 용액을 100㎕씩 가해 상온에서 10분간 반응시키고, 540nm에서의 흡광도를 측정함으로써 NO 억제 효과를 판단하고, NO 생성 저해율(%)은 하기 수학식 2를 이용하여 계산하여 하기 표 3에 나타내었으며, 실험은 각각 3회씩 수행하여 평균값으로 나타내었다.

[0150] [수학식 2]

[0151] NO 생성 저해율(%)={(음성대조군의 흡광도 - 각 추출물의 흡광도)/음성 대조군의 흡광도} x 100

표 3

시료	NO 생성 저해율(%)
대조군 (DMSO, 10ppm)	-
L-NMMA (양성 대조군, 10ppm)	41.02
실시예1	23.59
실시예2	29.73
실시예3	24.41
실시예4	30.44
실시예5	38.43
실시예6	36.09
실시예7	21.98
실시예8	38.44
실시예9	29.83
실시예10	28.43
실시예11 (10ppm)	40.74

[0152]

[0153] 상기 표 3의 결과에서 알 수 있듯이, 혼합추출물은 대표적인 항염 의약물질인 L-NMMA와 비교하였을 때, 상대적 활성은 다소 낮으나 천연물질로써 우수한 활성을 나타냄을 알 수 있었다.

[0155] <실험예 4> 콜라겐 합성 촉진 효과

[0156] 시료를 인간 유래 섬유아세포의 배양액에 첨가하여 세포수준에서 제1형 콜라겐 합성 촉진 효과를 확인하였다. 합성된 콜라겐의 측정은 PICP EIA kit(Procollagen Type I C-Peptide Enzyme Immuno Assay KIT)를 이용하여 정량하였다. 콜라겐 합성량을 측정하기 위해 시료를 최종 농도가 10 ppm이 되도록 섬유아세포의 배양배지(DMEM 배지)에 첨가하여 48 시간 배양한 후 배양액을 취하여 PICP EIA 키트로 각 농도에서 제1형 콜라겐 합성 정도를 분광광도계를 이용하여 450 nm에서 측정하였다.

[0157] 효과의 비교를 위하여 시료를 처리하지 않은 섬유아세포의 배양배지(음성대조군)와 비타민 C(양성대조군)를 최종농도 52.85 ㎍/ml가 되도록 첨가한 시료에 대하여 동일한 방법으로 콜라겐 합성 정도를 측정하였다. 콜라겐 생성 증가율은 음성 대조군에 대한 상대적인 콜라겐 생성량의 비율로 계산하고 결과를 하기 표 4에 나타내었으며, 실험은 4회씩 수행하여 평균값으로 나타내었다.

표 4

[0158]

시료	제1형 콜라겐 생성량(ng/ml)	증가율(%)
음성대조군	150.2	-
양성대조군 (비타민 C)	246.8	64.3
실시예1	187.7	25.0
실시예2	221.9	47.7
실시예3	194.3	29.4
실시예4	209.7	39.6
실시예5	211.7	40.9
실시예6	196.2	30.6
실시예7	166.9	11.1
실시예8	161.2	7.32
실시예9	198.4	32.1
실시예10	218.0	45.1
실시예11 (10ppm)	240.8	60.3

[0159] 상기 표 4의 결과에서 볼 수 있듯이, 혼합추출물을 처리한 경우에 콜라겐 합성을 증가시켰고, 일반적으로 콜라겐 합성을 유도하는 것으로 잘 알려진 비타민C를 적용한 경우와 대응한 정도의 콜라겐 합성 효과를 나타내었다.

[0161] <실험예 5> 엘라스타제 활성 저해 효과

[0162] 엘라스틴(Elastin)을 분해하는 효소인 엘라스테이즈(Elastase)의 활성 저해 효과를 다음과 같이 확인하였다.

[0163] 엘라스테이즈(Elastase)는 사람의 백혈구 세포로부터 유래한 엘라스테이즈를 사용하였고, 엘라스테이즈의 기질로 합성 기질인 MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-pNA를 사용하였다. 완충용액은 100mM의 Tris(pH 7.5) 용액을 사용하였다. 엘라스테이즈는 완충용액을 이용하여 최종적으로 0.2 mU을 사용하였다. 또한 엘라스테이즈의 합성 기질은 DMSO를 이용하여 100mM 용액을 만든 후 최종 농도가 0.5mM이 되도록 완충용액을 이용하여 희석하였다. 이 때, 양성 대조군은 엘라스테이즈 저해 물질로 알려진 쿼세틴(Quercetin)을 10ppm 농도로 넣은 것으로 설정하였다. 엘라스테이즈 저해 후보는 최종농도가 10ppm이 되도록 첨가하였다. 반응은 96-웰 플레이트에서 진행하였으며, 상온에서 20분간 반응시켰다. 분광 광도계를 이용하여 1분 간격으로 405 nm에서 흡광도를 측정하여, 시간 대비 흡광도의 기울기를 구하여 효소의 활성도로 정하였다. 엘라스테이즈 저해율은 다음과 같이 계산하였다.

[0164] [수학식 3]

[0165]
$$\text{엘라스테이즈 저해율 (\%)} = \left\{ \frac{(\text{대조군 기울기} - \text{시료의 기울기})}{\text{대조군 기울기}} \right\} \times 100$$

[0166] 엘라스타제 저해율은 상기 수학식 3을 이용해 계산하여 하기 표 5에 나타내었으며, 실험은 각각 3회씩 수행하여 평균값으로 나타내었다.

표 5

[0167]

시료	효소 활성도	저해율(%)
실시예1	5.7	45.19
실시예2	4.4	57.69
실시예3	4.2	59.62
실시예4	7.1	31.73
실시예5	6.2	40.38
실시예6	5.3	49.03
실시예7	6.5	37.50
실시예8	4.7	54.80
실시예9	5.8	44.23
실시예10	6.0	42.31
실시예11 (10ppm)	3.6	65.38
양성대조군 (Quercetin, 10ppm)	3.5	66.35
대조군 (DMSO, 20ppm)	10.4	-

[0168] 상기 표 5의 결과에서 볼 수 있듯이, 혼합추출물을 처리한 경우, 양성대조군 보다 상대적으로 효과가 다소 약하나, 우수한 엘라스타제 활성 저해 효과를 발휘함을 알 수 있었다. 따라서, 혼합추출물은 피부재생, 주름개선을 위한 용도로 사용할 수 있음을 알 수 있었다.

[0170] <실험예 6> 항산화 효과

[0171] 혼합추출물에 대한 자유라디칼 소거능을 1,1-디페닐-2-피크릴히드라질(DPPH) 방법으로 측정하였다(Blois, Nature 181, 1190, 1958). DPPH는 비교적 안정한 자유라디칼로서 라디칼 상태로 존재 시 517㎚에서 최대 흡광을 보이며 라디칼이 소거되면 흡광성을 잃는다. DPPH는 시그마(Sigma)사의 것을 사용하였으며, 0.15 mM의 농도로 메틸 알코올에 녹여 사용하였다.

[0172] 먼저, 혼합추출물 또는 양성 대조군인 비타민 C를 96-웰 플레이트의 각각의 웰에 100㎕씩 넣었다. 여기에 DPPH 용액을 100㎕씩 첨가한 다음 상온에서 30분간 방치하고 마이크로플레이트 리더(BioTek EL-340)를 이용하여 517㎚에서의 흡광도를 측정하였다.

[0173] 시료를 처리한 것의 흡광도가 대조군의 흡광도의 절반이 될 때의 추출물의 농도를 IC_{50}으로 표시한 결과를 하기 표 6에 나타내었다. 본 실험은 3회 반복하였다.

표 6

[0174]

(반복수=3)	
시료	IC50(%w/v)
대조군	0.0025
양성대조군 (비타민 C) 농도	0.0005
실시예1 농도	0.0018
실시예2 농도	0.0017
실시예3 농도	0.0015
실시예4 농도	0.0022
실시예5 농도	0.0024
실시예6 농도	0.0021
실시예7 농도	0.0013
실시예8 농도	0.0014
실시예9 농도	0.0011
실시예10 농도	0.0020
실시예11 농도	0.0007

[0175] 상기 표 6과 같이, 혼합추출물은 비타민 C와 비교할 때도 자유라디칼 소거능이 매우 강력하였으며, 이로써 항산화 효과가 우수함을 확인하였다.