



등록특허 10-2472033



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년11월29일

(11) 등록번호 10-2472033

(24) 등록일자 2022년11월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 8/37 (2006.01) A61K 8/9789 (2017.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 8/375 (2013.01)

A61K 8/9789 (2017.08)

(21) 출원번호 10-2020-0174221

(22) 출원일자 2020년12월14일

심사청구일자 2020년12월14일

(65) 공개번호 10-2022-0084597

(43) 공개일자 2022년06월21일

(56) 선행기술조사문헌

KR101873028 B1

ACTA PHARM., 2015

(73) 특허권자

주식회사 씨엠에스랩

서울특별시 서초구 강남대로51길 1, 14층, 15층
(서초동)

(72) 발명자

박기현

서울특별시 중랑구 면목로44라길 40, 청솔하이빌
A동 201호

이윤두

서울특별시 구로구 오리로11길 99, 104동 202호
(룻면에 계속)

(74) 대리인

곽영목, 정일영

전체 청구항 수 : 총 5 항

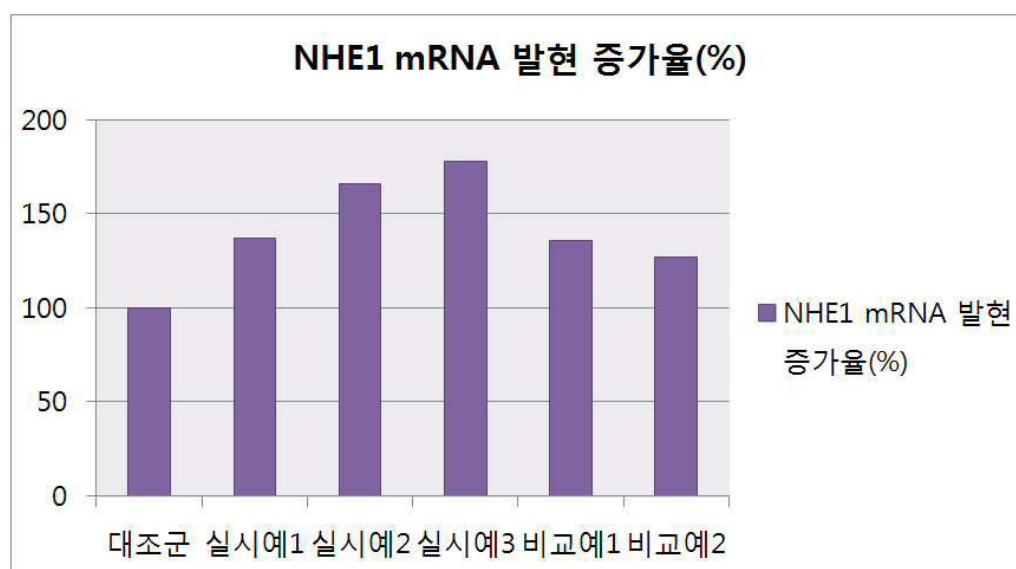
심사관 : 홍승우

(54) 발명의 명칭 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물

(57) 요약

본 발명은 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하여, 피부 pH를 조절하는 내부인자인 NHE1(Sodium hydrogen exchanger1)의 발현을 증가시킴으로써 약산성 피부 유지 및 피부 장벽 강화 효과를 가지며, 그 외에 피부에 이로운 다양한 효과를 갖도록 한 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61Q 19/00 (2013.01)

A61K 2800/5922 (2013.01)

(72) 발명자

지현경

서울특별시 송파구 법원로 114, 엠스테이트 C동
742호

유강민

경기도 안산시 상록구 해양4로 31, 111동 302호

남성주

서울특별시 양천구 목동서로2길 22, 한신청구아파
트 103동 1008호

이진수

서울특별시 동작구 사당로27길 130, 이수역리가아
파트 102동 1602호

명세서

청구범위

청구항 1

로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하여 피부 pH를 조절하는 내부인자인 NHE1(Sodium hydrogen exchanger1)의 발현 증가를 통해 피부pH를 조절하는 것을 특징으로 하는 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물은, 파우더 상의 로즈마린산과 레몬밤잎추출물을 정제수, 에탄올, 메탄올, 부탄올, 프로판올, 아세톤, 부틸렌글라이콜 및 헥산디올로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 용매에 용해하고 교반하여 혼합한 것을 특징으로 하는 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 로즈마린산과 레몬밤잎추출물은 0.01 ~ 10 : 0.01 ~ 90의 중량비로 혼합되는 것을 특징으로 하는 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 레몬밤잎추출물은 정제수, 에탄올, 메탄올, 부탄올, 프로판올, 아세톤, 부틸렌글라이콜 및 헥산디올로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 추출용매로 열수추출된 것을 특징으로 하는 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 전체 중량 대비 0.001 ~ 90.0 중량% 포함하는 것을 특징으로 하는 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001]

본 발명은 화장료 조성물에 관한 것으로, 더 자세하게는 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하여, 피부 pH를 조절하는 내부인자인 NHE1(Sodium hydrogen exchanger1)의 발현을 증가시킴으로써 약산성 피부 유지 및 피부 장벽 강화 효과를 가지며, 그 외에 피부에 이로운 다양한 효과를 갖도록 한 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 일반적으로 피부의 가장 중요한 역할은 외부 손상과 세균의 침입 등으로부터 신체를 보호하는 방어 장벽(defense barrier)으로서의 기능이다. 피부는 바깥쪽에서부터 표피(epidermis), 진피(dermis) 및 피하지방층(subcutaneous fat)의 세 층으로 구성되어 있으며, 표피의 최외곽에 위치하는 각질층은 인체 부위에 따라 대략 15층 내지 30층으로 존재하여 외부 환경으로부터 피부를 보호하는 가장 중요한 장벽으로서 기능한다. 표피의 기저층(basal layer)에서 생성된 각질형성세포(keratinocyte)는 각질층에 도달하여 층판소체(lamellar body)로부터 풍부한 지질을 배출하고, 이후 핵이 소실되면서 단백질 덩어리인 각질세포(corneocyte)로 남게 된다. 각질층은 각질세포(벽돌;brick)와 그 사이를 채우고 있는 세포간 지질막(회반죽; mortar)으로 구성되어 외부의 물리적, 화학적, 생물학적 자극으로부터 인체를 보호하는 강력한 방어 기능을 수행한다.
- [0003] 젊고 건강한 사람의 피부 표면은 pH 4.5 ~ 5.5 정도의 약산성을 띄고 있으며 이러한 약산성의 pH는 피부장벽이 항상성을 유지하는데 기여한다. 하지만, 노인의 피부는 pH가 다소 높아져서 중성 혹은 약알칼리성을 띄게 된다. 이러한 약알칼리성 환경에서는 지질막 형성에 관여하는 효소들의 활성이 감소되고, 각질세포들을 단단히 결합하고 있는 각질교소체(corneodesmosome)가 분해되며, 각질 탈락에 관여하는 효소인 serine protease들의 활성도가 증가하게 되어 피부 장벽기능의 이상이 초래된다. 노화 피부에서는 각질층의 산성 pH를 유지하는데 결정적인 역할을 하는 나트륨-수소이온 교환 펌프(Sodium-hydrogen exchanger-1, NHE-1)의 발현이 감소되어 있는데, 이러한 NHE-1의 감소에 의해 노화 피부가 산성 pH를 유지하지 못하여 그 결과 피부장벽이 손상된 후에 정상으로 회복되는 속도가 크게 저하되는 것으로 생각된다. 따라서, 피부 pH를 조절할 수 있는 화장품 조성물에 대한 필요성이 커지고 있었다.
- [0004] 이와 같은 pH 조절과 관련된 종래의 기술로, 대한민국 등록특허공보 제10-2014395호에는 블랙커민 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장품 조성물이 개시된 바 있는데, 이는, 피부 pH 조절인자인 나트륨/수소 이온통로(Na⁺/H⁺ Exchanger 1)의 활성을 높임으로써, 보다 본질적이고, 지속적으로 피부 pH를 약산성으로 유지시키며, 피부장벽 기능을 개선하고, 피부의 유연성 및 보습에 우수한 효과를 보이는 블랙커민(Nigella sativa)) 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 pH 조절용 화장품 조성물에 관한 것이다.
- [0005] 그러나, 상기 종래의 블랙커민 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장품 조성물은 블랙커민을 원료로 얻기 힘들어, 우리 주위에서 재배하기 쉬운 원물을 이용한 피부 pH 조절용化妝품을 필요로 하게 되었다. 또한, 상기 종래의 블랙커민 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장품 조성물은 pH 조절 효과가 미미하였다.
- [0006] 따라서, 우리 주위에서 쉽게 구할 수 있되, 피부 pH를 조절하는 내부인자인 NHE1(Sodium hydrogen exchanger 1)의 발현을 증가시킴으로써 약산성 피부 유지 및 피부 장벽 강화 효과를 가지며, 그 외에 피부에 이로운 효과를 갖는 신규한 화장품 조성물의 필요성이 커지고 있었다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0007] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허공보 제10-2014395호(2019.08.26. 공고), "블랙커민 (N i g e l l a s a t i v a) 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장품 조성물"

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명은 화장품 조성물에 관한 것으로, 더 자세하게는 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하여, 피부 pH를 조절하는 내부인자인 NHE1(Sodium hydrogen exchanger1)의 발현을 증가시킴으로써, 약산성 피부 유지 및 피부 장벽 강화 효과를 가지며, 그 외에 피부에 이로운 다양한 효과를 갖도록 한 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물에 관한 것이다.

과제의 해결 수단

- [0009] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하여 피부 pH를 조절하는 내부인자인 NHE1(Sodium hydrogen exchanger1)의 발현을 증가시키는 것을 특징으로 하는

로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물을 제공한다.

- [0010] 또한, 상기 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물은, 파우더 상의 로즈마린산과 레몬밤잎추출물을 정제수, 에탄올, 메탄올, 부탄올, 프로판올, 아세톤, 부틸렌글라이콜 및 헥산디올로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 용매에 용해하고 교반하여 혼합한 것을 특징으로 한다.
- [0011] 또한, 상기 로즈마린산과 레몬밤잎추출물은 0.01 ~ 10 : 0.1 ~ 90의 중량비로 혼합되는 것을 특징으로 한다.
- [0012] 또한, 상기 레몬밤잎추출물은 정제수, 에탄올, 메탄올, 부탄올, 프로판올, 아세톤, 부틸렌글라이콜 및 헥산디올로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 추출용매로 열수추출된 것을 특징으로 한다.
- [0013] 또한, 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 전체 중량 대비 0.001 ~ 90.0 중량% 포함하는 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

- [0014] 본 발명에 따른 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물은 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하여, 피부 pH를 조절하는 내부인자인 NHE1(Sodium hydrogen exchanger1)의 발현을 증가시킴으로써 약산성 피부 유지 및 피부 장벽 강화 효과를 가지며, 그 외에 안티폴루션 효과, 블랙헤드제거효과 및 주름개선효과 등 피부에 이로운 다양한 효과를 갖는다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 실시예 1 내지 3 및 비교예 1 내지 2의 NHE1 mRNA 발현 증가율을 나타낸 그래프.
- 도 2는 실시예 1 내지 3 및 비교예 1 내지 2의 NHE1 단백질 생성 촉진율을 나타낸 그래프.
- 도 3은 제조예 2 및 비교제조예 1 내지 3을 도포하고 시간경과에 따른 피부 pH 변화를 나타낸 그래프.
- 도 4는 제조예 2 및 비교제조예 1 내지 3를 도포하고 시간경과에 따른 경피수분손실량 변화를 나타낸 그래프.
- 도 5는 실시예 1 내지 3 및 비교예 1 내지 2의 오염물질에 대한 세포증식율을 나타낸 그래프.
- 도 6은 제조예 2 및 비교제조예 1 내지 3의 블랙헤드 제거 효과를 나타낸 그래프.
- 도 7은 실시예 1 내지 3 및 비교예 1 내지 2의 콜라겐 합성율을 나타낸 그래프.

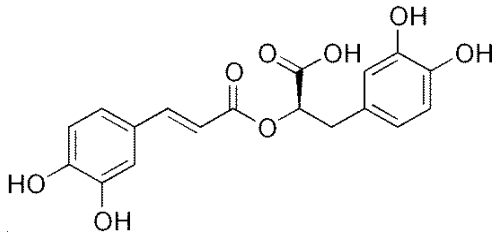
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 이하의 본 발명에 관한 상세한 설명들은 본 발명이 실시될 수 있는 실시 예이고 해당 실시 예의 예시로서 도시된 첨부 도면을 참조한다. 이들 실시 예는 당 업자가 본 발명의 실시예에 충분하도록 상세히 설명된다. 본 발명의 다양한 실시 예는 서로 다르지만 상호 배타적일 필요는 없음이 이해되어야 한다. 예를 들어, 여기에 기재되어 있는 특정 형상, 구조 및 특성은 일 실시 예에 관련하여 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않으면서 다른 실시 예로 구현될 수 있다. 또한, 각각의 기재된 실시예 내의 개별 구성요소의 위치 또는 배치는 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않으면서 변경될 수 있음이 이해되어야 한다.
- [0017] 따라서 후술되는 상세한 설명은 한정적인 의미로서 취하려는 것이 아니며, 본 발명의 범위는 적절하게 설명된다면 그 청구항들이 주장하는 것과 균등한 모든 범위와 더불어 첨부된 청구항에 의해서만 한정된다. 도면에서 유사한 참조부호는 여러 측면에 걸쳐서 동일하거나 유사한 기능을 지칭한다.
- [0018] 본 발명에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 판례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.
- [0019] 본 발명에서 어떤 부분이 어떤 구성요소를 “포함” 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한, 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있음을 의미한다.
- [0021] 이하, 본 발명에 따른 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물에 대하여 자세하게 설명한다.

[0023] 본 발명에 따른 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물은, 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하여 피부 pH를 조절하는 내부인자인 NHE1(Sodium hydrogen exchanger1)의 발현을 증가시키며, 안티폴루션효과, 블랙헤드제거효과 및 주름개선효과 등 피부에 이로운 다양한 효과를 갖는다.

[0025] 상기 로즈마린산(rosmarinic acid)은 로즈마리, 갯잎, 레몬 등의 다양한 식물에 풍부하게 존재하는 폴리페놀(polyphenol) 화합물의 일종이다. 로즈마린산은 폴리페놀 성분으로서 항산화 효과 등의 다양한 약리 효능을 가지고 있는 것으로 연구되고 있다. 상기 로즈마린산은 하기 화학식 1의 형태를 갖는다.

화학식 1



[0026]

[0027] 상기 로즈마린산은 디히드록시페닐젓산[3-(3,4-dihydroxyphenyl) lactic acid]의 카페인산 에스테르(caffeic acid ester)이다. 상기 로즈마린산은 1958년 스카르파티와 오리엔테(M. L. Scarpatti and G. Oriente)에 의해 로즈마리로부터 처음 추출 및 분석되었다. 상기 로즈마린산은 파우더 형태를 갖는 것을 사용하는 것이 적절하며, 파우더 형태의 로즈마린산은 다양한 제품들이 시중에 판매 중이다.

[0029] 상기 레몬밤잎추출물은 레몬밤(*Melissa officinalis*)의 잎으로부터 추출한 추출물을 칭한다. 상기 레몬밤은 쌍떡잎식물 꿀풀과의 내한성 다년초다. 상기 레몬밤은 레몬향이 나기 때문에 멜리스 시트로넬(melisse citronnelle)이라고도 불린다. 상기 레몬밤의 알코올성 추출물은 심장을 강화하고 두통을 완화하는 효능으로 알려진 물약인 카멜리트 워터(l'eau des Carmes)의 원료로 쓰인다. 상기 레몬밤은 꽃, 잎, 줄기 모두를 이용할 수 있고, 에센셜 오일을 유효 물질로 이용한다.

[0030] 한편, 상기 레몬밤잎추출물은 레몬밤의 잎을 정제수, 에탄올, 메탄올, 부탄올, 프로판올, 아세톤, 부틸렌글라이콜 및 헥산디올로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 추출용매에 넣고 열수 추출하여 얻어진 것이 바람직하다. 보다 구체적으로, 레몬밤의 잎을 추출용매에 넣고 70 ~ 120℃의 온도에서 30 ~ 240분간 가열하여 얻어진 것일 수 있다.

[0032] 상기 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물은, 파우더 상의 로즈마린산과 레몬밤잎추출물을 용매에 용해하고 교반하여 혼합한 것을 지칭한다.

[0033] 이때, 상기 용매는 정제수, 에탄올, 메탄올, 부탄올, 프로판올, 아세톤, 부틸렌글라이콜 및 헥산디올로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상인 것이 적절하다. 보다 적절하게는 정제수 또는 부틸렌글라이콜인 것이 적절하다.

[0034] 한편, 상기 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물은, 로즈마린산과 레몬밤잎추출물이 0.01 : 10 ~ 0.1 : 90의 중량비로 혼합하여 용매에 용해시킨 것이 바람직하다. 잔량으로는 정제수, 에탄올, 메탄올, 부탄올, 프로판올, 아세톤, 부틸렌글라이콜 및 헥산디올로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 용매를 포함할 수 있다.

[0035] 한편, 본 발명에 따른 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물은, 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물 외에, 정제수, 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드, 세테아릴알코올, 다이메티콘, 1,2-엑산디올, 세테아릴 올리베이트, 소르비탄올리베이트, 카보머, 트로메타민, 에칠헥실글리세린 및 시트릭애씨드 등을 더 포함하여 제형화된 것일 수 있다. 상기 성분들을 포함하여 제형화할 때, 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 조성물 전체 중량 대비 0.001 ~ 90.0 중량%로 포함하고 그 외에 기타 성분들을 포함하는 것이 바람직할 것이다.

[0036] 한편, 본 발명에 따른 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물은, 피부 pH를 조절하는 내부인자인 NHE1(Sodium hydrogen exchanger1)의 발현을 증가시켜 약산성 피부 유지 효과를 가지

며, 피부 장벽 강화 효과를 갖는다.

또한, 본 발명에 따른 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물은, 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하여, 안티폴루션효과, 블랙헤드제거효과 및 주름개선효과 등 피부에 이로운 다양한 효과를 갖는다.

이하, 하기의 실시예, 비교예, 제조예, 비교제조예 및 실험예를 통하여 본 발명에 따른 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물이 갖는 효과에 대하여 자세히 설명한다.

실시예 1 내지 3. 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물의 제조

하기의 제조 단계를 거쳐 실시예 1 내지 3의 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 제조하였다.

(S10): 로즈마린산 파우더를 준비하였다.

(S20): 레몬밤의 잎을 정제수에 넣고 90℃의 온도에서 120분간 가열하여 레몬밤잎추출물을 제조하였다.

(S30): 1,3-부틸렌글라이콜에, 로즈마린산 파우더, 레몬밤잎추출물을 하기 표 1의 조성비로 혼합하고 교반하여 실시예 1 내지 3의 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 제조하였다.

표 1

	혼합 중량비 (중량%)		
	실시예1	실시예2	실시예3
1,3-부틸렌글라이콜	잔량	잔량	잔량
레몬밤잎추출물	50.0	50.0	50.0
로즈마린산 파우더	0.1	1.0	2.0

비교예 1. 로즈마린산만 포함된 혼합물의 제조

하기의 제조 단계를 거쳐 비교예 1의 로즈마린산만 포함된 혼합물을 제조하였다.

(S10): 로즈마린산 파우더를 준비하였다.

(S20): 1,3-부틸렌글라이콜에, 로즈마린산 파우더를 하기 표 2의 조성비로 혼합하고 교반하여 비교예 1의 로즈마린산만 포함된 혼합물을 제조하였다.

표 2

	혼합 중량비 (중량%)
	비교예1
1,3-부틸렌글라이콜	잔량
로즈마린산 파우더	1.0

비교예 2. 레몬밤잎추출물만 포함된 혼합물의 제조

하기의 제조 단계를 거쳐 비교예 2의 레몬밤잎추출물만 포함된 혼합물을 제조하였다.

(S10): 레몬밤의 잎을 정제수에 넣고 90℃의 온도에서 120분간 가열하여 레몬밤잎추출물을 제조하였다.

(S20): 1,3-부틸렌글라이콜에, 레몬밤잎추출물을 하기 표 3의 조성비로 혼합하고 교반하여 비교예 2의 레몬밤잎추출물만 포함된 혼합물을 제조하였다.

표 3

	혼합 중량비 (중량%)
	비교예2
1,3-부틸렌글라이콜	잔량
레몬밤잎추출물	50.0

[0060] 제조예 1 내지 3 및 비교제조예 1 내지 3. 실시예 1 내지 3 및 비교예 1 내지 2를 이용한 화장료 제형의 제조

[0061] 상기 실시예 1 내지 3 및 비교예 1 내지 2에서 제조된 혼합물을 화장료 제형으로 제조하였다.

[0062] 실시예 1 내지 3 및 비교예 1 내지 2에서 제조된 혼합물에 정제수, 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드, 세테아릴 알코올, 다이메티콘, 1,2-헥산다이올, 세테아릴 올리베이트, 소르비탄올리베이트, 카보머, 트로메타민, 에틸헥실 글리세린 및 시트릭애씨드를 더 포함하여 하기 표 4와 같이 제조예 1 내지 3 및 비교제조예 1 내지 2의 화장료로 제형화하였다. 한편, 실시예 1 내지 3 및 비교예 1 내지 2에서 제조된 혼합물이 아무것도 포함되지 않은 비교제조예 3도 함께 제조하였다.

표 4

[0063]

	혼합 중량비 (중량%)					
	제조예1	제조예2	제조예3	비교제조예1	비교제조예2	비교제조예3
정제수	잔량	잔량	잔량	잔량	잔량	잔량
실시예1	2.0	-	-	-	-	-
실시예2	-	2.0	-	-	-	-
실시예3	-	-	2.0	-	-	-
비교예1	-	-	-	2.0	-	-
비교예2	-	-	-	-	2.0	-
카프릴릭/카프릭트리글리세라이드	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
세테아릴알코올	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
다이메티콘	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
1,2-헥산다이올	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35
세테아릴 올리베이트	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
소르비탄올리베이트	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
카보머	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
트로메타민	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
에틸헥실글리세린	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
시트릭애씨드	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02

[0065] 실험예 1. NHE1 mRNA 발현 증가율 확인

[0066] 실시예 1 내지 3 및 비교예 1 내지 2에서 제조된 혼합물에 대하여 NHE1 mRNA 발현 증가율을 확인하였다.

[0067] 정상적인 인간 표피 각질 세포 (NHEKs)를 75cm²의 플라스크 Keratinocyte Growth Medium(KGM)에서 배양한다. 트립신 처리에 의해 세포를 수집하고 KGM으로 희석하여 1.5 x 10⁵ cells / mL의 농도를 만든 다음 2mL의 세포 혼합물을 6 웰 플레이트에 접종하고 밤새 배양한다. 그 후 KGM은 Keratinocyte Basal Medium(KBM)로 교환하고 세포를 24시간 동안 배양한다. KBM에 1000배 희석하여 녹인 실시예 1 내지 3 및 비교예 1 내지 2의 시험 샘플을 웰에 첨가하고 24시간 배양 후, 총 RNAs를 표준 방법에 따라 분리한다. 실시예 1 내지 3 및 비교예 1 내지 2의 첨가없이 배양된 세포의 총 RNAs를 동일한 방식으로 분리한다. cDNA는 200ng total RNA의 역전사로 합성한 다음, Real-time PCR 분석은 Thermal Cycler Dice® Real Time SystemIII (Takara Bio Inc, Otsu, Japan), TaKaRa SYBR® PrimeScript™ RT-PCR Kit (Perfect Real Time) (Takara Bio Inc, Otsu, Japan)과 NHE1 또는 GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate) primer set를 이용해서 수행한다. 상대 발현은 NHE1 유전자와 GAPDH 유전자의 발현 비율(NHE1/GAPDH 비율)로 주어진다. NHE1 mRNA 발현에 대한 증진 효과는 다음 공식을 사용하여 평가하였다.

[0068] NHE1 mRNA 발현 증가율(%) = A / B x 100

[0069] A : 시험 샘플의 NHE1 / GAPDH 비율

[0070] B : 대조군의 NHE1 / GAPDH 비율

[0071] 결과는 하기 표 5에 나타낸 바와 같다.

표 5

	NHE1 mRNA 발현 증가율(%)
대조군	100%
실시예1	137%
실시예2	166%
실시예3	178%
비교예1	136%
비교예2	127%

그 결과, 로즈마린산만 포함된 비교예 1과 레몬밤잎추출물만 포함된 비교예 2에 비해 로즈마린산과 레몬밤잎추출물이 혼합된 경우의 NHE1 mRNA 발현 증가율이 월등히 높음을 확인할 수 있었다.

이에 따라, 로즈마린산만 단독으로 사용한 경우와 레몬밤잎추출물만 단독으로 사용된 경우에 비해 로즈마린산과 레몬밤잎추출이 혼합된 경우 효능이 우수함을 확인하였다.

실험예 2. NHE1 단백질 생성 촉진율 확인

실시예 1 내지 3 및 비교예 1 내지 2에서 제조된 혼합물에 대하여 NHE1 단백질 생성 촉진율을 확인하였다.

정상적인 인간 표피 각질 세포 (NHEKs)를 75cm²의 플라스크 Keratinocyte Growth Medium(KGM)에서 배양한다. 트립신 처리에 의해 세포를 수집하고 KGM으로 희석하여 1.5 x 10⁵ cells/mL의 농도를 만든 다음 2mL의 세포 혼합물을 6 웰 플레이트에 접종하고 밤새 배양한다. 그 후 KGM은 Keratinocyte Basal Medium(KBM)로 교환하고 세포를 24시간 동안 배양한다. KBM에 1000배 희석하여 녹인 실시예 1 내지 4 및 비교예 1 내지 4를 웰에 첨가하고 48시간 배양 후, 세포를 400 μL의 50 mmol/L Tris-HCl 완충액(pH7.5, 150 mmol/L NaCl, 1% NonidetP40, 0.5% sodium deoxycholate와 프로테아제 억제제가 함유된)에 용해하고 원심 분리하여 세포 파편을 제거한다. 단백질 용액 100 μL에 포함된 NHE1의 양은 NHE1 ELISA Kit (Cloud-Clone Corp.)로 측정한다. 동시에 20 μL의 단백질 용액에서 총 단백질을 정량했으며 총 단백질 당 NHE1의 양이 계산되었다. 실시예 1 내지 4 및 비교예 1 내지 4의 첨가 없이 세포에서 추출한 총 단백질 당 NHE1의 양을 100으로 정하고 시험 샘플의 세포에서 추출한 총 단백질 당 NHE1 생산 촉진 효과는 다음 공식을 사용하여 평가하였다.

NHE1 단백질 생성 촉진율(%) = A / B x 100

A : 시험 샘플을 가지고 있는 세포에서 추출한 총 단백질 당 NHE1의 양

B : 시험 샘플 없이 세포에서 추출한 총 단백질 당 NHE1의 양

결과는 하기 표 6에 나타난 바와 같다.

표 6

	NHE1 단백질 생성 촉진율(%)
대조군	100%
실시예1	140%
실시예2	170%
실시예3	182%
비교예1	139%
비교예2	119%

그 결과, 로즈마린산만 포함된 비교예 1과 레몬밤잎추출물만 포함된 비교예 2에 비해 로즈마린산과 레몬밤잎추출물이 혼합된 경우의 NHE1 단백질 생성 촉진율이 월등히 높음을 확인할 수 있었다.

이에 따라, 로즈마린산만 단독으로 사용한 경우와 레몬밤잎추출물만 단독으로 사용된 경우에 비해 로즈마린산과 레몬밤잎추출이 혼합된 경우 효능이 우수함을 확인하였다..

실험예 3. 피부 pH 및 피부장벽 개선 효능 확인

제조예 2와 비교제조예 1 내지 3에서 제조한 화장품 제형에 대해 피부 pH 및 피부장벽 개선 효능을 확인하였다.

[0089] 20명 시험대상자는 하루 2번씩, 2주간 제조예 2와 비교제조예 1 내지 3에서 제조한 화장료 제형을 양팔 전박부에 각각 도포한 후, 전박 부위에 1.2% SLS(Sodium Lauryl Sulfate) 용액을 IQ chamber 에 적하하여 시험 부위에 24시간 동안 철폐하였다. 인위적으로 피부 pH 및 TEWL 를 증가시킨 뒤 3일차, 1주차에 시험부위의 pH 및 경피수분손실량을 각각 pH meter와 Vapometer를 이용하여 측정하였다.

[0090] 결과는 하기 표 7에 피부 pH를 나타내었으며, 하기 표 8에 경피수분손실량을 나타내었다.

표 7

	피부 pH			
	손상 전	손상 직후	3일 차	1주 차
제조예2	4.98	5.47	5.21	5.06
비교제조예1	4.97	5.42	5.34	5.27
비교제조예2	4.96	5.45	5.32	5.25
비교제조예3	4.95	5.47	5.43	5.38

표 8

	경피수분손실량			
	손상 전	손상 직후	3일 차	1주 차
제조예2	7.60	23.56	16.78	8.27
비교제조예1	7.62	23.54	18.54	9.58
비교제조예2	7.65	23.52	18.78	9.68
비교제조예3	7.64	23.51	19.60	9.89

[0094] 로즈마린산만 포함된 비교제조예 1과 레몬밤잎추출물만 포함된 비교제조예 2, 아무것도 포함되지 않은 비교제조예 3에 비해 로즈마린산과 레몬밤잎추출물이 혼합된 경우에 외부자극에 의해 증가된 pH 와 경피수분손실량을 더 많이 감소시키는 것을 확인할 수 있었다.

[0095] 이에 따라, 로즈마린산만 단독으로 사용한 경우와 레몬밤잎추출물만 단독으로 사용된 경우에 비해 로즈마린산과 레몬밤잎추출이 혼합된 경우 효능이 우수함을 확인하였다.

[0097] 실험예 4. 안티폴루션효과 확인

[0098] 실시예 1 내지 3과 비교예 1 내지 2에서 제조한 화장료 제형에 대해 안티폴루션효과를 확인하였다.

[0099] 일반적으로 공해 물질과 직접적으로 맞닿게 되는 피부 각질세포를 사용하여 공해물질에 의한 세포 손상 정도를 측정하고, 실시예 1 내지 3과 비교예 1 내지 2를 처리하고, 피부 세포 손상 억제 효과를 확인하였다. 실험은 공지된 방법에 따라 진행하였다.

[0100] 사람 각질 세포 HaCaT를 1×10^4 cells/ml 농도로 96-well plate에 200 μ l씩 분주하여 37℃, CO₂ 인큐베이터에서 24시간 배양하였다. 이때, 배지는 소혈청 10%와 항생제 1%가 포함된 IMDM 배지를 이용하였다. 배양 후 소혈청과 항생제가 배제된 IMDM 배지로 교체한 다음, 벤조피렌(2.5 μ g/mL), 질산암모늄(500ppm), 포름알데히드(1.5 μ g/mL)를 처리한 후 실시예 1 내지 3과 비교예 1 내지 2를 1000배 희석처리하여 21시간 추가 배양하였다. 그 후 5mg/ml 농도의 MTT solution을 넣고 3시간 배양한 다음, 배지를 제거하고 dimethyl sulfoxide를 150ul 씩 각 well에 넣어주고 10분간 shaking 하고, 570nm로 흡광도를 측정하였다. 오염물을 처리하지 않은 실험군의 세포생존율을 대조군으로 하고, 대조군의 세포증식율을 100%로 하여 실시예 1 내지 3과 비교예 1 내지 2의 세포증식율을 비교하였다. 비교군은 실험군 대신 정제수만을 투입하였다.

표 9

	벤조피렌(2.5 μ g/mL)에 대한 세포증식율(%)	질산암모늄(500 ppm)에 대한 세포증식율(%)	포름알데히드(1.5 μ g/mL)에 대한 세포증식율(%)
대조군(오염물질 미처리군)	100	100	100
비교군(실험군 미처리군)	42	43	41
실시예1	69	72	76

실시예2	87	89	82
실시예3	85	86	79
비교예1	66	67	65
비교예2	68	66	68

[0102] 그 결과, 로즈마린산만 포함된 비교예 1과 레몬밤잎추출물만 포함된 비교예 2에 비해 로즈마린산과 레몬밤잎추출물이 혼합된 경우에 오염물질에 대한한 세포증식율이 더 우수한 것을 확인할 수 있었다.

[0103] 이에 따라, 로즈마린산만 단독으로 사용한 경우와 레몬밤잎추출물만 단독으로 사용된 경우에 비해 로즈마린산과 레몬밤잎추출물이 혼합된 경우의 로즈마린산과 레몬밤잎추출이 혼합된 경우 효능이 우수함을 확인하였다.

[0105] 실험예 5. 블랙헤드제거효과 확인

[0106] 제조예 2와 비교제조예 1 내지 3의 화장료 제형에 대해 블랙헤드제거효과를 확인하였다.

[0107] 시험은 공지된 방법에 따라 진행되었다. 블랙헤드 문제로 고민을 겪고있는 피험자 20명을 대상으로 제조예 2와 비교제조예 1 내지 3에서 제조한 화장료 제형을 사용한 경우의 블랙헤드 제거 효과를 평가하였다. 피험자 20명을 각각의 군으로 나누어 제조예 2와 비교제조예 1 내지 3의 화장료 제형을 2주간 도포하도록 하였다.

[0108] 4주 경과 후 메이크업 전문가를 통해 실험 전 피험자들의 피부 상태 이미지와 4주 후 피험자들의 피부 상태 이미지를 비교하고 5점 척도법을 이용하여 블랙헤드 제거 정도를 평가하도록 하였고, 그 결과를 평균값으로 계산하여 표 10에 나타내었다.

표 10

	블랙헤드 제거 정도 (평균)
제조예2	4.8
비교제조예1	3.6
비교제조예2	3.2
비교제조예3	2.4

[0110] 그 결과, 로즈마린산만 포함된 비교제조예 1과 레몬밤잎추출물만 포함된 비교제조예 2, 아무것도 포함되지 않은 비교제조예 3에 비해 로즈마린산과 레몬밤잎추출물이 혼합된 경우에 블랙헤드 제거 효과가 더 우수한 것을 확인할 수 있었다.

[0111] 이에 따라, 로즈마린산만 단독으로 사용한 경우와 레몬밤잎추출물만 단독으로 사용된 경우에 비해 로즈마린산과 레몬밤잎추출물이 혼합된 경우의 로즈마린산과 레몬밤잎추출이 혼합된 경우 효능이 우수함을 확인하였다.

[0113] 실험예 6. 콜라겐 합성율 측정

[0114] 실시예 1 내지 3과 비교예 1 내지 2에 대해 콜라겐합성효능을 확인하였다.

[0115] 실험은 공지된 방법에 따라 수행되었다. 피부 섬유아세포(human dermal fibroblast)에 실시예 1 내지 3과 비교예 1 내지 2를 처리하여 콜라겐합성효능을 측정하였다.

[0116] 피부 섬유아세포(human dermal fibroblast)를 96웰 마이크로 플레이트의 각 웰에 1×10^4 세포가 되도록 접종하여, DMEM에서 24시간 배양하였다.

[0117] 섬유아세포(human dermal fibroblast, 혈청 함유 DMEM 배지가 들어 있는 96-웰 플레이트에 접종하고(3×10^3 세포/웰) 5% 농도의 CO₂ 배양기에서 37℃로 24시간 배양하였다. 24시간 후, 각 웰에서 배지를 제거한 후, 실시예 1 내지 3과 비교예 1내지 2를 1000배 희석하여 무혈청 배지로 처리하고, 48시간 동안 다시 배양하였다. 48시간 후, 세포 배양 배지를 수집하여 샘플을 제조하였다. 샘플 내 콜라겐량은 콜라겐 측정 키트(Takara, Japan)를 이용하여 프로콜라겐 타입 I C-펩타이드 (Procollagen Type I C-peptide : PICP)의 양을 측정하였다. 실험은 설명서에 기재된 방법에 따라 수행하였다.

[0118] 대조군은 실시예 1 내지 3과 비교예 1 내지 2를 처리하지 않은 것이며, 비교군은 실시예 1 내지 3과 비교예 1 내지 2를 처리하지 않고, 자외선을 조사한 것을 지칭한다. 결과는 하기 표 11에 나타난 바와 같으며, 대조군을

100%로 기준하여, 나머지 실험군을 이와 비교하였다.

표 11

	콜라겐 합성율(%)
대조군	100
비교군	76
실시예1	135
실시예2	175
실시예3	184
비교예1	130
비교예2	129

그 결과, 로즈마린산만 포함된 비교예 1과 레몬밤잎추출물만 포함된 비교예 2에 비해 로즈마린산과 레몬밤잎추출물이 혼합된 경우에 콜라겐 합성율이 더 우수한 것을 확인할 수 있었다.

콜라겐 합성율을 통해, 본 발명에 따른 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물은 개선된 주름 개선효과를 가짐을 유추할 수 있었다.

이에 따라, 로즈마린산만 단독으로 사용한 경우와 레몬밤잎추출물만 단독으로 사용된 경우에 비해 로즈마린산과 레몬밤잎추출물이 혼합된 경우의 로즈마린산과 레몬밤잎추출이 혼합된 경우 효능이 우수함을 확인하였다.

결론.

상기 실시예, 비교예, 제조예, 비교제조예 및 실험예를 통해 확인한 바와 같이, 본 발명에 따른 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물은 NHE1 mRNA 발현을 증가시키고 NHE1 단백질 생성을 촉진시키는 것을 확인할 수 있었다.

이에 따라, 본 발명에 따른 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물은 NHE1(Sodium hydrogen exchanger1)의 발현을 증가시킴으로써, 약산성 피부 유지 효과, 경피수분손실 방지 효과 및, 피부 장벽 강화 효과 등을 가질 수 있다.

그 외에도, 본 발명에 따른 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물은 안티폴루션효과, 블랙헤드제거효과 및 주름개선 효과를 추가적으로 갖고 있음을 확인할 수 있었다.

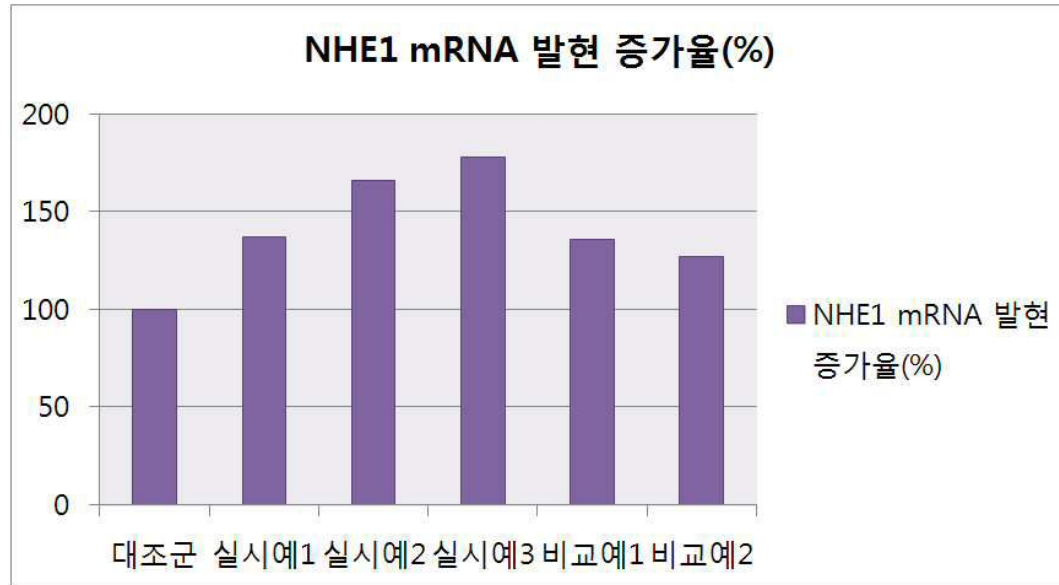
다만, 상기와 같은 효과를 만족할만한 수치로 발현하기 위해서는 로즈마린산과 레몬밤잎추출물이 0.01 : 90 ~ 0.1 : 90의 중량비로 혼합되어야 함을 확인할 수 있었다.

이에, 본 발명은 피부 pH를 조절하는 내부인자인 NHE1(Sodium hydrogen exchanger1)의 발현을 증가시킴으로써 약산성 피부 유지 및 피부 장벽 강화 효과를 가지며, 그 외에 안티폴루션효과, 블랙헤드제거효과 및 주름개선효과를 갖는 신규한 조성물으로써 로즈마린산과 레몬밤잎추출물의 혼합물을 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물을 개발하였음을 명시한다.

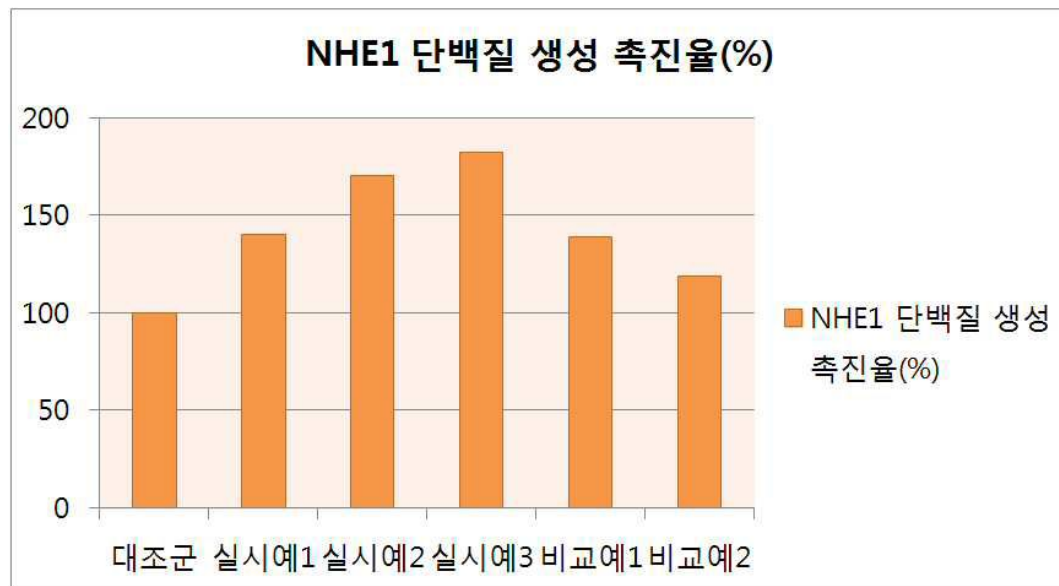
본 발명을 첨부된 도면과 함께 설명하였으나, 이는 본 발명의 요지를 포함하는 다양한 실시 형태 중의 하나의 실시 예에 불과하며, 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 하는 데에 그 목적이 있는 것으로, 본 발명은 상기 설명된 실시예에만 국한되는 것이 아님은 명확하다. 따라서, 본 발명의 보호범위는 하기의 청구범위에 의해 해석되어야 하며, 본 발명의 요지를 벗어나지 않는 범위 내에서 변경, 치환, 대체 등에 의해 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 기술 사상은 본 발명의 권리예 포함될 것이다. 또한, 도면의 일부 구성은 구성을 보다 명확하게 설명하기 위한 것으로 실제보다 과장되거나 축소되어 제공되는 것임을 명확히 한다.

도면

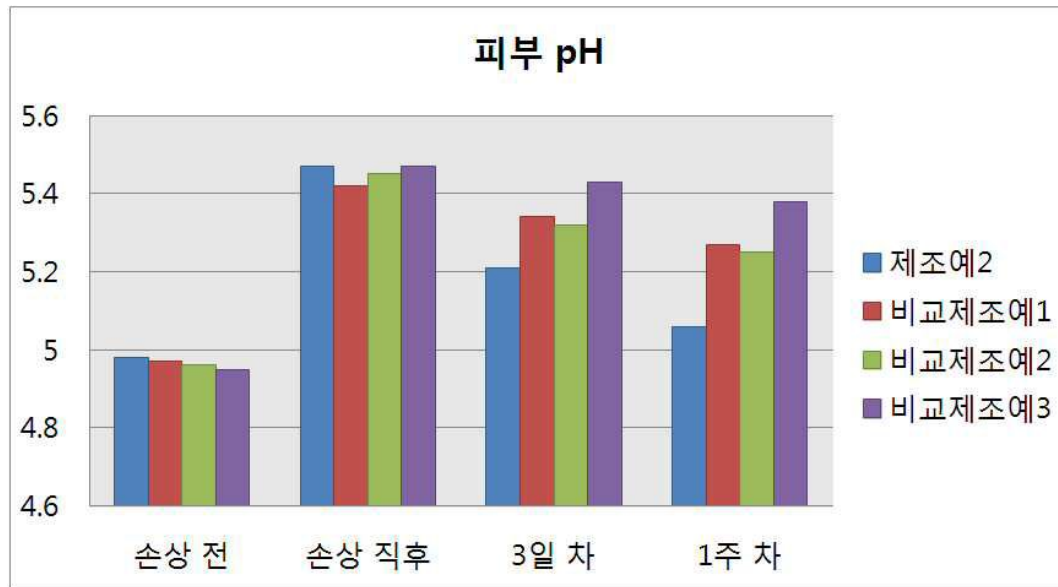
도면1



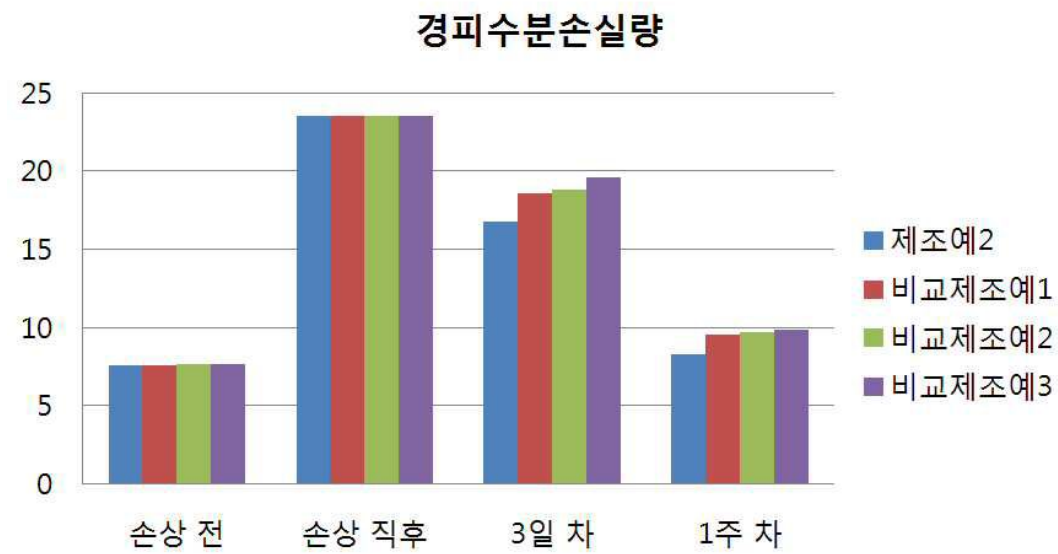
도면2



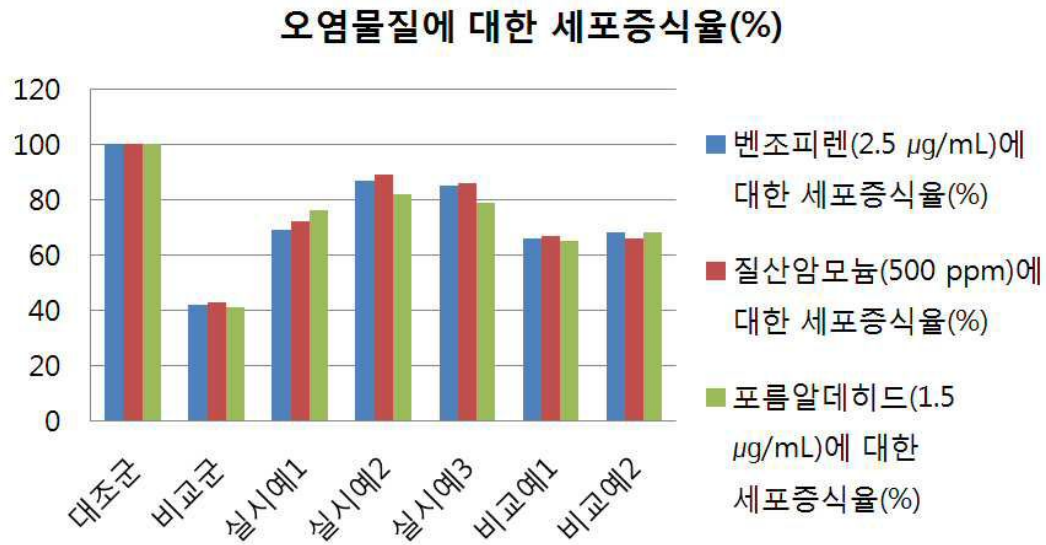
도면3



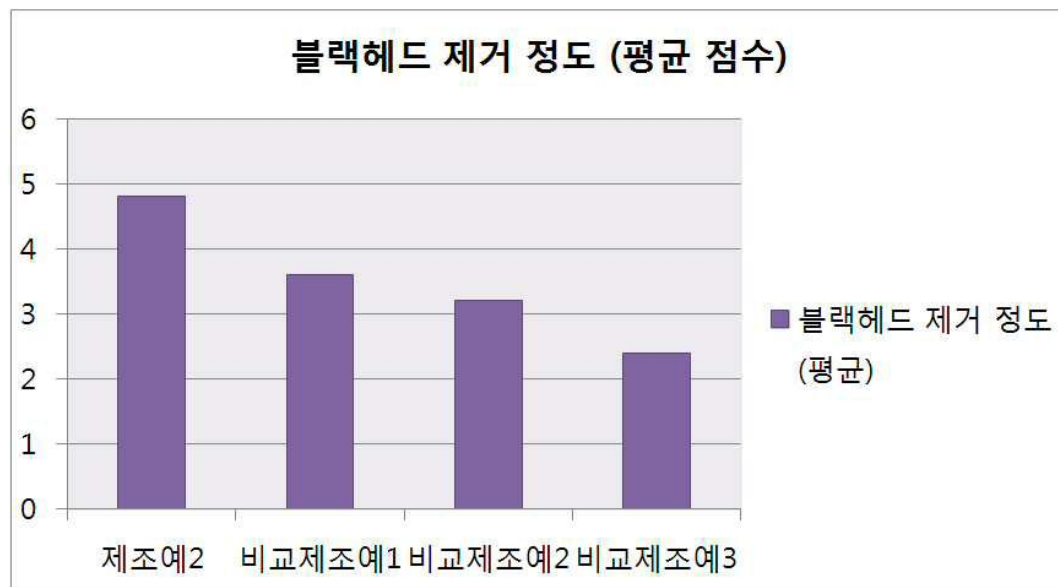
도면4



도면5



도면6



도면7

