

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2010-0071475 (43) 공개일자 2010년06월29일
(51) Int. Cl. <i>A61K 8/97</i> (2006.01) <i>A61Q 19/02</i> (2006.01) (21) 출원번호 10-2008-0130207 (22) 출원일자 2008년12월19일 심사청구일자 2008년12월19일	(71) 출원인 인하대학교 산학협력단 인천 남구 용현동 253 인하대학교 (72) 발명자 김은기 인천광역시 남구 용현3동 인하대학교 생명화공학부 김령 인천광역시 남구 용현3동 인하대학교 2남 134호 (뒷면에 계속) (74) 대리인 이원희	

전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 글라디올러스 추출물을 유효성분으로 함유하는 미백용 조성물

(57) 요 약

본 발명은 글라디올러스(*Gladiolus gandaavensis*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 미백용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출되는 글라디올러스 추출물이 멜라닌 생성 세포주의 멜라닌 생성을 저해하고 티로시나제 효소 활성을 저해하여 미백 효과를 나타내며, 세포 독성 및 항산화 활성이 거의 없으므로 피부 미백용 조성물, 화장품 조성물 또는 건강식품으로 유용하게 사용될 수 있다.

(72) 발명자

아델투루데이스 발라다 카브리안

필리핀, 바기오시티 보니파시오 스트리트, 세인트 루이스 유니버시티

가우델리아 안다이하 루아이스

필리핀, 바기오시티 보니파시오 스트리트, 세인트 루이스 유니버시티

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 36528

부처명 교육과학기술부

연구사업명 학술연구과제관리지침C

연구과제명 동남아 천연물로부터 기능성 미백 피부화장품 소재의 개발

주관기관 한국학술진흥재단

연구기간 2007.08.01 ~ 2008.07.31

특허청구의 범위

청구항 1

글라디올러스(*Gladiolus gandaavensis*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 추출물은 물, C₁ 내지 C₄ 저급 알코올, 또는 이들의 혼합물로 추출되는 것을 특징으로 하는 피부 미백용 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 저급 알코올은 에탄올 또는 메탄올인 것을 특징으로 피부 미백용 조성물.

청구항 4

글라디올러스 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 화장품 조성물.

청구항 5

글라디올러스 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 건강기능식품.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 글라디올러스(*Gladiolus gandaavensis*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 미백용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출되는 글라디올러스 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물, 화장품 조성물 또는 건강식품에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 피부는 외부 환경과 직접 접하면서 인체를 보호하며 생화학적이고 물리적인 기능을 가지고 있는 아주 중요한 조직으로, 크게 3가지 즉, 표피(epidermis), 진피(dermis) 및 피하(hypodermis)로 나누어진다.

[0003] 멜라닌(melanin)은 피부의 표피층에 존재하는 색소로서, 표피의 기저층에 존재하는 멜라노사이트(melanocyte)로부터 만들어져 케라티노사이트(keratinocyte)라는 표피 세포로 이동하게 된다. 생체 내에는 멜라닌을 분해하는 효소가 없고, 다만 케라티노사이트가 표피에서 떨어져나갈 때 같이 피부에서 떨어져나가는 것으로 제거된다.

[0004] 멜라닌 합성 과정을 살펴보면, 멜라노사이트 내의 멜라노솜(melanosome)이라는 소포체에서 먼저 티로시나제(Tyrosinase)라는 효소에 의해 티로신이 도파(DOPA)를 거쳐 도파퀴논(DOPAquinone)으로 전환되고, 도파퀴논으로부터 자동 산화 반응과 효소 반응으로 도파크롬(DOPACHrome)을 거쳐 흑갈색의 공중합체인 멜라닌이 생성된다. 이렇게 생성된 멜라닌은 멜라노솜을 통해 케라티노사이트로 옮겨지고 여기에서 약 28일간의 각화 과정을 거치면서 피부 표면으로 나와 각질과 함께 소실된다.

- [0005] 멜라닌은 햇빛 UV의 빛 에너지를 흡수하여 UV에 의한 손상으로부터 진피 이하의 피부 기관을 보호하는 역할을 하며, 피부 생체 내에 생겨난 유해산소 및 프리라디칼 등을 잡아주는 등 외부 유해인자로부터 피부를 보호해주는 유용한 역할을 수행한다. 또한, 피부 세포 내의 멜라닌 양에 따라 사람의 피부색을 결정하게 되며 멜라닌 색소가 많은 사람은 갈색 또는 검은 색 피부를 갖는 반면, 멜라닌 색소가 적은 사람은 흰색의 피부를 갖게 된다.
- [0006] 멜라닌이 비정상적으로 적게 생산되면 백반증과 같은 피부병변이 유발되고, 이와 반대로 일광, 호르몬변화, 염증, 약제 등에 의한 멜라닌이 과도하게 합성되거나 각화작용이 원활히 이루어지지 않아 멜라닌이 축적되는 경우 피부에 손상을 줄 뿐 만 아니라 피부의 색소가 침착되어 기미, 주근깨를 형성하며, 이와 같은 병변으로부터 나아가 피부암의 원인이 되기도 한다. 따라서, 이러한 색소 침착 현상을 방지하기 위해서는 멜라닌 생성 과정의 일부분을 저해하여 멜라닌의 생성을 감소시켜야 한다.
- [0007] 오늘날 동양권의 여성들은 하얗고 깨끗한 피부를 선호하며 이를 미의 중요한 기준으로 삼고 있기 때문에 피부색소 이상침착의 치료 및 미용욕구 충족을 위한 미백제에 대한 개발이 활발히 이루어지고 있다. 현재 피부미용을 위한 미백제의 개발에 있어서, 생성된 멜라닌 색소를 환원시켜 탈색하는 방법과 멜라닌 색소를 형성하는 효소인 티로시나제의 활성을 억제하는 방법이 알려져 있다. 그러나 멜라닌 색소를 환원시키기 위해 사용되는 토코페롤이나 비타민류 등을 사용한 미백제는 멜라닌 색소의 탈색효과가 미미한 것으로 알려져 있으므로 멜라닌 색소의 생성을 억제하는 저해제에 관한 연구가 다수 진행되고 있다.
- [0008] 종래의 화장품 분야에서는 미백성분으로서, 예를 들면, 코지산(Kojic acid), 알부틴(Arbutin) 등과 같은 티로시나제 효소활성을 억제하는 물질, 하이드로퀴논(Hydroquinone), 비타민-C(L-Ascorbic acid) 및 이들의 유도체와 각종 식물 추출물이 사용되어 왔다. 그러나 상기 미백성분들은 처방계 중에서 안정성이 나빠 분해되어 착색되거나, 이취의 발생, 생체 레벨에서의 효능, 효과의 불분명 및 안전성 문제 등으로 그 사용이 제한되고 있는 실정이다. 코지산은 티로시나제의 활성부위에 존재하는 구리이온을 흡착시켜 효소활성을 저해하지만, 화장품에 배합 시 불안정성, 피부 부작용의 문제 및 최근 동물실험 결과 간암유발이 밝혀져 화장품 원료로 사용이 중지되었다. 비타민-C 및 그 유도체는 산화가 잘되는 불안정성 때문에 화장품 원료로서 사용이 어려우며, 하이드로퀴논은 피부에 대한 미백효과는 탁월하지만 알레르기를 유발하는 성질, 멜라닌 생성 세포에 대한 독성, 피부에의 영구 탈색화 등 피부에 대한 자극성이 높으며, 최근 발암성 물질로 규정되어 사용이 금지되어 각 나라별로 제한적인 농도만 허가하고 있다. 또한, 알부틴은 하이드로퀴논에 글루코피라노사이드(Glucopyranoside)가 결합된 유도체로 하이드로퀴논은 사용 시 나타나는 부작용이 적으면서 인체에 대한 독성은 없이 멜라닌 색소의 합성을 억제하는 작용이 있어, 멜라닌 색소 침착이 증가되는 피부질환의 치료제로서 이용가능성이 제시되었으나, 피부효소에 의해 일부 분해되는 단점이 있다.
- [0009] 이들 미백 물질들 외에 천연물 특히 식물 중에서 미백 활성 성분을 찾기 위한 연구도 계속 이루어져왔고, 그 중 상백피(일본공개특허 소 55-44375호, 소 64-26507호, 소 64-83009호, 평 1-25687호, 평 5-139950호 및 대한민국 공개특허 제92-002109호, 제97-021273호), 감초(일본공개특허 소 60-214721호, 소 60-214728호, 소 63-23809호, 소 64-63506호, 평 1-149706호 및 대한민국 공개특허 제92-002109호, 제97-025601호), 작약(일본공개특허 소 61-246109호 및 대한민국 공개특허 제92-002111호), 계피(일본공개특허 소 63-30403호, 평 5-139954호), 고삼(일본공개특허 소 64-26507호 및 대한민국 공개특허 제92-002110호), 갈근(일본공개특허 소 60-214727호, 소 64-16709호), 당귀(일본공개특허 소 56-92211호, 평 4-26610호), 목단피(일본공개특허 소 60-214721호, 소 61-50915호, 소 61-246109호), 반하(일본공개특허 평 2-207028호, 대한민국 공개특허 제96-033442호) 및 알로에(일본공개특허 소52-44375호, 평 2-207030호, 평 5-139950호)등 다수의 식물 추출물 및 생약재 추출물 등이 티로시나제에 작용하여 멜라닌 생성을 억제한다는 사실이 밝혀졌으나, 이들 역시 안전성, 변색 가능성 등의 측면에서 화장품이나 의약품에 유효농도 이상으로 사용하는 데는 많은 문제점을 갖고 있으며, 아직 뛰어난 효과를 나타내지도 못하고 있는 실정이다.
- [0010] 글라디올러스(*Gladiolus gandaavensis*)는 필리핀에 자생하는 붓꽃과 식물이다. 남아프리카가 원산지이며 주로 봄에 심는 구근초이다. 상기 식물은 높이가 80 ~ 100 cm이고, 알줄기는 편평하고 둥글며 위쪽이 죽은 비늘잎으로 덮여 있으며, 원줄기는 녹색이고 밑부분에 잎, 윗부분에 꽃이삭이 달린다. 주요 품종으로는 하트슬라브(백색), 하이스타일(분홍색), 서머골드(황색), 바이올레타(청자색) 및 파이어 블란드(적색) 등이 있다. 재배는 양지쪽의 배수가 잘 되고 비옥하며 경토가 깊은 땅이 적합하다. 용도는 주로 관상용이나 큰 노란 뒷날개 나방

(Large Yellow Underwing)을 포함하는 인사류(Lepidoptera species)의 유충에 의한 먹이로 사용된다.

- [0011] 이에 본 발명자들은 멜라닌 생성을 억제하면서도 안정성이 뛰어나고, 변색가능성이 적은 미백용 조성물을 개발하고자 예의 연구 노력한 결과, 글라디올러스(*Gladiolus gandaavensis*)의 추출물이 멜라닌 생성을 감소시키고, 안정적으로 피부에 작용하여 미백용 조성물로 유용하게 사용될 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- [0012] 본 발명의 목적은 글라디올러스(*Gladiolus gandaavensis*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물, 피부 미백용 화장품 조성물, 및 피부 미백용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

- [0013] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 글라디올러스(*Gladiolus gandaavensis*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물을 제공한다.
- [0014] 또한, 본 발명은 글라디올러스 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 화장품 조성물을 제공한다.
- [0015] 아울러, 본 발명은 탈리늄 글라디올러스 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 건강기능식품을 제공한다.

효 과

- [0016] 본 발명의 글라디올러스(*Gladiolus gandaavensis*) 추출물은 멜라닌의 생성을 저해하고 티로시나제 효소 활성을 저해하여 기존의 미백물질에 비해 우수한 미백 효과를 나타내며, 세포 독성 및 항산화 활성이 거의 없으므로 피부 미백용 조성물, 화장품 조성물 또는 건강식품으로 유용하게 사용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- [0017] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0018] 본 발명은 글라디올러스(*Gladiolus gandaavensis*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물을 제공한다.
- [0019] 본 발명의 글라디올러스 추출물은 하기의 단계를 포함하는 제조방법에 의해 제조되는 것이 바람직하나 상기 방법에 한정되지 않는다:
- [0020] 1) 건조한 글라디올러스를 분쇄한 후 추출용매에 침지시켜 추출하는 단계;
- [0021] 2) 단계 1)의 추출물을 냉각시킨 후 여과하는 단계; 및
- [0022] 3) 단계 2)의 여과액을 농축한 후 건조하는 단계.
- [0023] 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 글라디올러스는 직접 채취한 것 또는 시판되는 것을 제한 없이 사용할 수 있으나 이에 한정되지 않는다. 상기 글라디올러스는 잎, 줄기 또는 뿌리를 모두 이용할 수 있으며, 잎을 이용하는 것이 가장 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0024] 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 추출용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물인 것이 바람직하고, 상기 알코올로는 C₁ 내지 C₄ 저급 알코올을 이용하는 것이 바람직하며, 저급 알코올로는 에탄올 또는 메탄올을 이용하는 것이

바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 추출용매를 글라디올러스의 총 분량에 2 내지 10배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하며, 3 내지 5배 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 또한, 추출온도는 30 ~ 100℃인 것이 바람직하고 40 ~ 60℃인 것이 더욱 바람직하며 50℃로 유지하는 것이 가장 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 상기 온도의 유지는 부패, 변색 및 변취의 예방에 효과적이기 때문이다. 또한, 추출시간은 5 ~ 20시간이 바람직하며, 10 ~ 15시간이 더욱 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 또한, 추출횟수는 1 ~ 5 회 반복 추출하는 것이 바람직하고, 2 ~ 3회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 글라디올러스의 추출 방법은 열수 추출, 중탕 추출, 조음과 추출법, Soxhlet 추출법 및 환류냉각 추출법 등 당업계의 통상적인 추출방법은 모두 사용될 수 있다.

[0025] 상기 방법에 있어서, 단계 3)의 농축은 감압농축하는 것이 바람직하며, 진공회전농축기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 농축은 20 ~ 100℃에서 농축하는 것이 바람직하고 50 ~ 70℃에서 농축하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 건조는 동결건조하는 것이 바람직하며, 진동동결건조기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 동결건조는 -50 ~ -100℃에서 건조하는 것이 바람직하고 -70℃에서 건조하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0026] 본 발명에서는 글라디올러스 추출물이 멜라닌 생성 세포에 대해 높은 멜라닌의 생성 저해 효과를 나타내었으며, 미백 물질로 알려진 알부틴 보다 우수한 효과를 나타내었다(표 1 및 표 2 참조).

[0027] 또한, 본 발명에서는 글라디올러스 추출물이 멜라닌을 생성하는데 중요한 역할을 하는 티로시나제 효소 활성을 저해하였으며, 미백제로서 널리 사용되는 코지산 보다 우수한 효과를 나타내었다(표 3 참조).

[0028] 또한, 본 발명에서는 글라디올러스 추출물의 세포 독성 여부 및 항산화 활성을 확인한 결과, 높은 농도에서도 세포독성 및 항산화력이 거의 없음을 확인하였다(표 4 참조).

[0029] 따라서, 본 발명의 글라디올러스 추출물이 멜라닌 생성을 감소시켜 피부미백 효능을 가지며, 세포독성을 일으키지 않으므로 피부 미백용 조성물로 유용하게 사용될 수 있음을 알 수 있다.

[0030] 본 발명의 조성물은 글라디올러스 추출물에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.

[0031] 본 발명의 조성물은 실제 임상 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있으며, 비경구 사용시 피부에 도포하는 방법으로 사용될 수 있으며, 제형에 따라 바람직한 사용 방법을 선택할 수 있다.

[0032] 본 발명의 조성물의 투여량은 상기 글라디올러스 추출물의 양을 기준으로 0.0001 내지 50 중량부인 것이 바람직하고, 0.001 내지 50 중량부인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0033] 또한, 본 발명은 글라디올러스 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 화장료 조성물을 제공한다.

[0034] 본 발명의 글라디올러스 추출물은 멜라닌의 생성을 저해하고 티로시나제 효소 활성을 저해하여 미백 효과를 나타내며, 세포 독성 및 항산화 활성이 거의 없으므로 피부 미백용 화장료 조성물의 유효성분으로 유용하게 이용될 수 있다.

[0035] 본 발명의 화장료 조성물은 글라디올러스 추출물에 추가적으로 피부학적으로 허용된 담체를 혼합하여 사용될 수 있다.

[0036] 본 발명의 화장료 조성물은 글라디올러스 추출물을 상기 조성물 총 중량에 대하여 0.001 ~ 50 중량부의 양으로 함유되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0037] 상기 피부학적으로 허용된 담체는 정제수, 오일, 왁스, 지방산, 지방산 알코올, 지방산 에스테르, 계면활성제, 흡습제(humectant), 증점제(thickening agent), 항산화제, 점도 안정화제(viscosity stabilizer), 킬레이팅제, 완충제, 방부제, 저급 알코올 등이 포함되지만, 이에 한정되는 것은 아니며, 그 종류와 농도는 다양하고, 당업자가 본 발명의 사상 및 영역으로부터 벗어나지 않는 범위 내에서 수정 및 변경할 수 있는 부분을 포함한다. 필요에 따라 미백제, 보습제, 항염증제, 항박테리아제, 항진균제, 비타민, 자외선 차단제, 향생제, 여드름 방지제, 향수, 염료가 포함될 수도 있으며, 이들은 화장품 분야에서 통상적으로 사용되는 양으로 본 발명에 따른 화장료 조성물에 포함될 수 있다.

- [0038] 구체적으로, 상기 오일로는 수소화 식물성유, 파마자유, 면실유, 올리브유, 야자인유, 호호바유, 아보카도유가 이용될 수 있고, 왁스로는 밀랍, 경랍, 카르나우바, 칸텔릴라, 몬탄, 세레신, 액체 파라핀, 라놀린이 이용될 수 있다.
- [0039] 상기 지방산으로는 스테아르산, 리놀레산, 리놀렌산, 올레산이 이용될 수 있고, 지방산 알코올로는 세틸 알코올, 옥틸 도데칸올, 올레일 알코올, 판텐올, 라놀린 알코올, 스테아릴 알코올, 헥사데칸올이 이용될 수 있으며, 지방산 에스테르로는 이소프로필 미리스테이트, 이소프로필 팔미테이트, 부틸 스테아레이트 등이 이용될 수 있지만, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0040] 상기 계면활성제로는 소듐 스테아레이트, 소듐 세틸설페이트, 폴리옥시에틸렌 라우릴에테르 포스페이트, 소듐 N-아실 글루타메이트와 같은 음이온 계면활성제; 스테아릴디메틸벤질암모늄 클로라이드 및 스테아릴트리메틸암모늄 클로라이드와 같은 양이온 계면활성제; 알킬아미노에틸글리신 하이드로클로라이드 및 레시틴과 같은 양성 계면활성제; 글리세린 모노스테아레이트, 소르비탄 모노스테아레이트, 프로필렌 글리콜 모노스테아레이트, 폴리옥시에틸렌 올레일에테르, 폴리에틸렌 글리콜 모노스테아레이트, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노팔미테이트, 폴리옥시에틸렌 코코넛 지방산 모노에탄올아르니드(monoethanolamide), 폴리옥시프로필렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 캐스터유, 폴리옥시에틸렌 라놀린과 같은 비이온성 계면활성제 등이 포함된다.
- [0041] 상기 흡습제로는 글리세린, 1,3-부틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜이 이용될 수 있으며, 저급 알코올로는 에탄올, 이소프로판올이 이용 가능하다. 증점제의 예에는 알긴산 나트륨, 카제인산 나트륨, 젤라틴 한천, 크산탄 고무, 전분, 셀룰로오스 에테르(예, 하이드록시에틸 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 카르복시메틸 셀룰로오스, 하이드록시 프로필메틸 셀룰로오스), 폴리비닐 피롤리돈, 폴리비닐 알코올, 폴리에틸렌 글리콜 및 소듐 카르복시메틸 셀룰로오스 등이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0042] 상기 항산화제로는 부틸레이티드 하이드록시톨루엔, 부틸레이티드 하이드록시아니솔, 프로필 갈레이트, 시트르산, 에톡시퀸(ethoxyquin)이 이용 가능하고, 킬레이팅제로는 디소듐 에데테이트, 에탄하이드록시 디포스페이트가 이용 가능하다.
- [0043] 상기 완충제로는 시트르산, 소듐 시트레이트, 붕산, 보렉스(borax), 디소듐 하이드로젠 포스페이트가 이용 가능하고, 방부제로는 메틸 파라하이드록시벤조에이트, 에틸 파라하이드록시벤조에이트, 디하이드로아세트산, 살리실산, 벤조산이 이용 가능하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0044] 본 발명의 조성물은 상기 글라디올러스 추출물에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 피부 미백 활성 성분을 1종 이상 함유할 수 있다. 피부 미백 활성 성분으로는 코지산 및 이의 유도체, 알부틴, 아스코르브산 및 이의 유도체, 하이드로퀴논 및 이의 유도체, 레조르시놀, 사이클로알카논, 메틸렌디옥시페닐 알칸올, 2,7-디니트로인다졸, 덩굴굴 추출물, 쌀 추출물, 감초 추출물과 같은 식물 추출물 등이 있지만, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0045] 본 발명의 화장료 조성물로부터 제조되는 화장품은 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조할 수 있다. 유화 제형의 화장품으로는 영양화장수, 크림, 에센스 등이 있으며, 가용화 제형의 화장품으로는 유연화장수가 있다. 상기 화장품은 본 발명의 글라디올러스 추출물 이외에도 피부학적으로 허용된 매질 또는 기제를 함유함으로써 피부학 분야에서 통상적으로 사용되는 국소 적용 또는 전신 적용할 수 있는 보조제 형태로 제조될 수도 있다.
- [0046] 적합한 화장품의 제형으로는 예를 들면, 용액, 겔, 고체 또는 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 마이크로에멀전, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는 이온형(리포솜), 비이온형의 소낭 분산제의 형태, 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실 스틱(conceal stick)의 형태로 제공될 수 있다. 또한, 포말(foam)의 형태 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로도 제조될 수 있다.
- [0047] 본 발명의 화장료 조성물을 첨가할 수 있는 제품으로는, 예를 들어, 수렴화장수, 유연화장수, 영양화장수, 각종 크림, 에센스, 팩, 파운데이션 등과 같은 화장품류와 클렌징, 세안제, 비누, 트리트먼트 또는 미용액 등이 있다. 구체적인 제형으로서는 스킨로션, 스킨 소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처 크림, 핸드크림, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 샴푸, 클렌징 폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션, 바디클렌저, 유액, 프레스파우더, 루스파우더 또는 아이섀도 등의 제형을 포함한다.

- [0048] 아울러, 본 발명은 글라디올러스 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 건강기능식품을 제공한다.
- [0049] 본 발명의 글라디올러스 추출물은 멜라닌의 생성을 저해하고 티로시나제 효소 활성을 저해하여 미백 효과를 나타내며, 세포 독성 및 항산화 활성이 거의 없으므로 미백용 건강식품의 유효성분으로 유용하게 이용될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 글라디올러스 추출물은 식품학적으로 허용된 담체와 혼합하여 식품 조성물로서 제공될 수 있다.
- [0051] 본 발명의 글라디올러스 추출물을 식품 또는 음료 첨가물로 사용할 경우, 상기 글라디올러스 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 상기 글라디올러스 추출물의 혼합양은 그의 사용목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0052] 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우, 상기 글라디올러스 추출물은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에, 장기간 복용이 가능하다.
- [0053] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿류, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있다.
- [0054] 음료수로 제형화할 경우에 글라디올러스 추출물 이외에 첨가되는 액체 성분으로는 이제 한정되지는 않으나, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드(예, 포도당, 과당 등), 디사카라이드(예, 말토오스, 수크로오스 등) 및 폴리사카라이드(예, 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당), 및 자일리톨, 소르비톨, 에리스리톨 등의 당 알코올이다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml 당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제[타우마린, 스테비아 추출물 (예, 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)] 및 합성 향미제(예, 사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다.
- [0055] 다른 양태로서, 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 또한 본 발명의 식품 조성물은 과일 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 단독으로 또는 조합으로 사용될 수 있으며, 이러한 첨가제의 비율은 조성물 전체 중량당 0.001 내지 50 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

실시예

- [0056] 이하, 본 발명을 실시예, 실험예 및 제조예에 의하여 상세히 설명한다.
- [0057] 단, 하기 실시예, 실험예 및 제조예는 본 발명을 구체적으로 예시하는 것이며, 본 발명의 내용이 실시예, 실험예 및 제조예에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0058] <실시예 1> 글라디올러스 추출물의 제조
- [0059] <1-1> 글라디올러스 100% 메탄올 추출물
- [0060] 필리핀의 고산지방에서 채취한 글라디올러스(*Gladiolus gandaavensis*) 식물 50 g을 100% 메탄올 200 ml에 침지시켜 50℃ 수욕조에서 10시간 동안 온탕하였다. 수득한 추출액을 실온으로 냉각시키고 거름종이로 여과하여 여과액을 취하였다. 질소를 사용하여 상기 여과액에서 메탄올을 증발시켜 농축하여 글라디올러스 메탄올 추출물 5 g을 제조하였다.
- [0061] <1-2> 글라디올러스 메탄올 수용액 추출물
- [0062] 상기 실시예 <1-1>에서 100% 메탄올 대신 70% 메탄올 수용액을 사용한 것 외에 동일한 방법으로 글라디올러스 메탄올 수용액 추출물 5 g을 제조하였다.

[0063] <1-3> 글라디올러스 에탄올 추출물

[0064] 상기 실시예 <1-1>에서 100% 메탄올 대신 100% 에탄올을 사용한 것 외에 동일한 방법으로 글라디올러스 에탄올 추출물 4 g을 제조하였다.

[0065] <1-4> 글라디올러스 물 추출물

[0066] 글라디올러스 50 g을 100℃ 물 200 ml에서 10시간 동안 열수 추출하였다. 수득한 추출액을 실온으로 냉각시키고 거름종이로 여과하여 여과액을 취하였다. 질소를 사용하여 상기 여과액에서 물을 증발시켜 농축하여 글라디올러스 물 추출물 4 g을 제조하였다.

[0067] <실험예 1> 글라디올러스 추출물의 멜라닌 저해 효과 측정

[0068] <1-1> B16 멜라노마 세포 배양

[0069] 멜라닌을 생성하는 세포주로서 일반적으로 미백물질 스크리닝에 사용되는, B16 멜라노마 세포를 수원 임업 연구소에서 제공받아 배양시켰다. 상기 세포를 배양하기 위한 배지는 DMEM, 10% FBS, 1% 페니실린/스트렙토마이신을 넣어 무균 상태로 만들었다. 세포 배양은 37℃, 5% CO₂의 인큐베이터에서 배양하였다. 멜라노마 세포를 배양하여 100 mm 패트리 디쉬가 90% 정도 찼을 때 계대하였다.

[0070] <1-2> 흡광도 측정을 이용한 멜라닌 저해 측정

[0071] 글라디올러스 추출물들의 미백효과 측정을 위하여, B16 멜라노마 세포에 처리하여 생성된 멜라닌양의 변화를 측정하였다. 우선, 6-웰 플레이트(well plate)에 세포를 접종(seeding)한 후, 증류수만을 처리한 음성 대조군, 상기 <실시예 1>에서 제조한 각각의 글라디올러스 추출물들을 25 µg/ml, 12.5 µg/ml 및 6.25 µg/ml 농도로 각각 처리한 실험군, 및 미백물질로 알려진 알부틴을 200 µg/ml 농도로 처리한 양성대조군으로 분류하였다. 상기 군들을 각각 이틀간 배양하여 세포를 회수하였다. 상기 회수한 세포를 10% DMSO를 포함하는 1N NaOH를 가해 90℃에서 1시간 반응시켜 멜라닌에 충분히 녹아나오도록 한 후, ELISA 리더(reader)를 이용하여 파장 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 상기 측정 결과는 하기 [수학식 1]을 이용하여 멜라닌 생성도를 계산하였다.

수학식 1

[0072] 멜라닌 생성도(%) = 처리구 흡광도/미처리구 흡광도 × 100

[0073] 그 결과, 하기 표 1에 나타난 바와 같이 일반적인 미백물질로 알려진 알부틴의 경우 미처리구와 비교했을 때, 200 µg/ml의 농도에서 멜라닌 양이 86%인 것에 반해, 글라디올러스 추출물들은 25 µg/ml에서 58 ~ 60%로 알부틴보다 더 높은 멜라닌 생성 저해효과를 가짐을 확인할 수 있었다(표 1). 또한, 글라디올러스 추출물들의 농도별 멜라닌 생성도를 측정한 결과, 하기 표 2에서 나타나는 바와 같이, 농도가 증가할수록 멜라닌 생성도가 저해하는 것을 확인할 수 있었다(표 2).

표 1

[0074] 멜라닌 생성 저해 정도

시료명	멜라닌 생성도(%)
미처리구	100
알부틴 (200 µg/ml)	86
글라디올러스 메탄올 추출물 (25 µg/ml)	58

글라디올러스 메탄올 수용액 추출물 (25 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	58
글라디올러스 에탄올 추출물 (25 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	59
글라디올러스 물 추출물 (25 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	60

표 2

농도별 멜라닌 생성 저해 정도

시료명	농도 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	멜라닌 함량 (% 대조군)
글라디올러스 메탄올 추출물	25	58.23 $\pm$ 4.39
	12.5	90.67 $\pm$ 4.69
	6.25	90.62 $\pm$ 3.72
글라디올러스 메탄올 수용액 추출물	25	58.43 $\pm$ 2.54
	12.5	90.34 $\pm$ 3.65
	6.25	90.65 $\pm$ 4.12
글라디올러스 에탄올 추출물	25	59.25 $\pm$ 3.78
	12.5	90.57 $\pm$ 2.84
	6.25	90.68 $\pm$ 3.72
글라디올러스 물 추출물	25	60.12 $\pm$ 4.11
	12.5	90.58 $\pm$ 3.89
	6.25	90.69 $\pm$ 3.75

<실험예 2> 글라디올러스 추출물의 티로시나제 활성 저해 측정

글라디올러스 추출물들의 미백효과 측정을 위하여, 멜라닌을 생성하는데 중요한 역할을 하는 티로시나제 효소 활성을 측정하였다. 우선, 96-웰 플레이트에 0.1 M 인산 완충용액(phosphate buffer)(pH 6.8)을 20 μl 첨가한 후, 증류수 50 μl 를 첨가한 음성 대조군, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 각각의 글라디올러스 추출물들을 첨가한 실험군, 및 미백제로서 널리 사용되는 코지산 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 첨가한 양성 대조군으로 분류하였다. 그런 다음, 상기 각 군에 10 μl 의 버섯 유래 티로시나제를 첨가하였다. 기질로서 5 mM의 L-DOPA 20 μl 를 첨가한 후 37°C에서 2분간 반응시킨 후, ELISA 리더(reader)를 이용하여 파장 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 티로시나제 활성도는 하기 [수학식 2]를 이용하여 계산하였다.

수학식 2

티로시나제 활성도(%) = 처리구 흡광도/미처리구 흡광도 $\times$ 100

그 결과, 하기 표 3에 나타난 바와 같이 미백제로서 널리 사용되는 코지산을 처리하였을 때 전체 활성의 2.6%만이 활성을 가진 반면, 글라디올러스 추출물들을 처리하였을 때에는 약 -4.0 ~ -3.8% 정도의 활성을 보였다(표 3).

표 3

티로시나제 활성 측정

시료명	티로시나제 활성 (%)
미처리구	100
코지산	2.6
글라디올러스 메탄올 추출물	-3.93

글라디올러스 메탄올 수용액 추출물	-3.90
글라디올러스 에탄올 추출물	-3.87
글라디올러스 물 추출물	-3.85

[0081] <실험예 2> 글라디올러스 추출물의 독성 실험

[0082] 글라디올러스 추출물들의 미백용 화장품으로 사용하기 위하여, 세포 독성 여부를 확인하기 위한 실험을 하였다. 96-웰 플레이트에 B16 멜라노마 세포를 접종하고 글라디올러스 추출물들을 각각 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 및 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 각각 처리하고, 이틀 후 배지를 제거하고 MTT 용액을 100 μl 첨가하여 30℃에서 4시간 반응시킨 다음, 용액을 제거하고 DMSO 100 μl 를 첨가하여 염색된 세포를 녹인 후, ELISA 리더(reader)를 이용하여 파장 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존율은 하기 [수학식 3]을 이용하여 계산하였다.

수학식 3

[0083] 세포 생존율(%) = (1-처리구 흡광도/미처리구 흡광도) $\times$ 100

[0084] 그 결과, 하기 표 4에 나타난 바와 같이, 글라디올러스 추출물을 처리하지 않은 세포와 비교하였을 때, 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 높은 농도임에도 불구하고 생존 세포율이 약 101 ~ 102%로 세포독성이 거의 없음을 알 수 있다.

표 4

[0085] 세포독성 실험

시료명	농도 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	세포 독성 (% 대조군)
글라디올러스 메탄올 추출물	25	102.34 $\pm$ 5.14
	12.5	107.64 $\pm$ 2.62
	6.25	115.70 $\pm$ 8.33
글라디올러스 메탄올 수용액 추출물	25	102.15 $\pm$ 3.75
	12.5	105.63 $\pm$ 3.20
	6.25	114.25 $\pm$ 5.65
글라디올러스 에탄올 추출물	25	101.40 $\pm$ 4.42
	12.5	106.55 $\pm$ 3.25
	6.25	115.71 $\pm$ 8.33
글라디올러스 물 추출물	25	101.45 $\pm$ 5.24
	12.5	106.68 $\pm$ 3.62
	6.25	114.57 $\pm$ 6.27

[0086] <실험예 3> 글라디올러스 추출물의 항산화 활성 실험

[0087] 글라디올러스 추출물들이 항산화 활성을 갖는지 확인하기 위하여, 일반적으로 항산화 활성을 측정하는 방법인 DPPH 용액을 이용하여 측정하였다. 우선, 각각의 글라디올러스 추출물들 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 과 항산화 측정 용액인 DPPH 용액을 100 μl 씩 혼합하여 37℃에서 30분간 반응시킨 후 ELISA 리더(reader)를 이용하여 파장 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 항산화 활성은 하기 [수학식 4]를 이용하여 계산하였다. 항산화제로 알려진 비타민 C와 함께 실험하여 추출물이 어느 정도의 활성을 갖는지를 상대적으로 비교해보았다.

수학식 4

[0088] 항산화 활성(%) = (1-처리구 흡광도/미처리구 흡광도) × 10

[0089] 그 결과, 글라디올러스 추출물들은 항산화 활성이 약 20 ~ 21%로 나타났으므로 항산화력이 낮은 것을 알 수 있었다.

[0090] 하기에 본 발명의 조성물을 위한 제조예를 예시한다.

[0091] <제조예 1> 화장품의 제조

[0092] 본 발명의 글라디올러스 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 화장품을 제조하였다.

[0093] <1-1> 유연 화장수

[0094] 글라디올러스 추출물을 함유한 유연 화장수는 하기 <표 5>의 조성과 같이 제조하였다.

표 5

[0095]

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

[0096] <2-2> 영양 크림

[0097] 글라디올러스 추출물을 함유한 영양크림은 하기 <표 6>의 조성과 같이 제조하였다.

표 6

[0098]

원료	함량(중량%)
글라디올러스 메탄올 추출물	10.0
1,3-부틸렌 글리콜	7.0
글리세린	1.0
D-판테놀	0.1
식물 추출물	3.2
마그네슘알루미늄실리케이트	0.3
PEG-40 스테아레이트	1.2

스테아릭애씨드	2.0
폴리소르베이트 60	1.5
친유형글리세릴스테아레이트	2.0
소르비탄세스퀴올리에이트	1.5
세테아릴알코올	3.0
미네랄오일	4.0
스쿠알란	3.8
카르틸릭/카프릭트리글리세라이드	2.8
식물성 오일	1.8
디메치콘	0.4
디포타슘글리시리제이트	미량
알란토인	미량
소듐 히아루로네이트	미량
토코페릴아세테이트	적량
트리에탄올아민	적량
보존제	적량
착향제	적량
정제수	잔량

[0099] <제조예 2> 식품의 제조

[0100] 본 발명의 글라디올러스 추출물을 함유하는 식품들을 다음과 같이 제조하였다.

[0101] <2-1> 밀가루 식품의 제조

[0102] 본 발명의 글라디올러스 에탄올 추출물 0.5 ~ 5.0 중량부를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.

[0103] <2-2> 유제품의 제조

[0104] 본 발명의 글라디올러스 물 추출물 5 ~ 10 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0105] <2-3> 선식의 제조

[0106] 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.

[0107] 감정콩, 감정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.

[0108] 본 발명의 글라디올러스 물 추출물을 진공 농축기에서 감압 농축하고, 분무, 열풍건조기로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60 메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.

[0109] 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 글라디올러스 물 추출물의 건조분말을 다음의 비율로 배합하여 제조하였다.

[0110] 곡물류(현미 30 중량부, 율무 15 중량부, 보리 20 중량부),

[0111] 종실류(들깨 7 중량부, 감정콩 8 중량부, 감정깨 7 중량부),

[0112] 글라디올러스 물 추출물의 건조분말(3 중량부),

[0113] 영지(0.5 중량부), 및

[0114] 지황(0.5 중량부)

산업이용 가능성

[0115] 본 발명은 멜라닌 생성 억제 효능이 우수하면서, 안정성이 뛰어나고, 변색가능성이 적은 미백용 외용제, 화장료 조성물 또는 건강식품 개발에 유용하게 사용될 수 있다.