



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0098000  
(43) 공개일자 2018년09월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 8/97* (2017.01) *A61K 8/34* (2006.01)

*A61K 8/49* (2006.01)

(52) CPC특허분류

*A61K 8/97* (2013.01)

*A61K 8/34* (2013.01)

(21) 출원번호 10-2017-0024898

(22) 출원일자 2017년02월24일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

(주)아모레퍼시픽

서울특별시 용산구 한강대로 100(한강로2가)

(72) 발명자

황준영

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원

황경환

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김영철, 임희택, 김순영

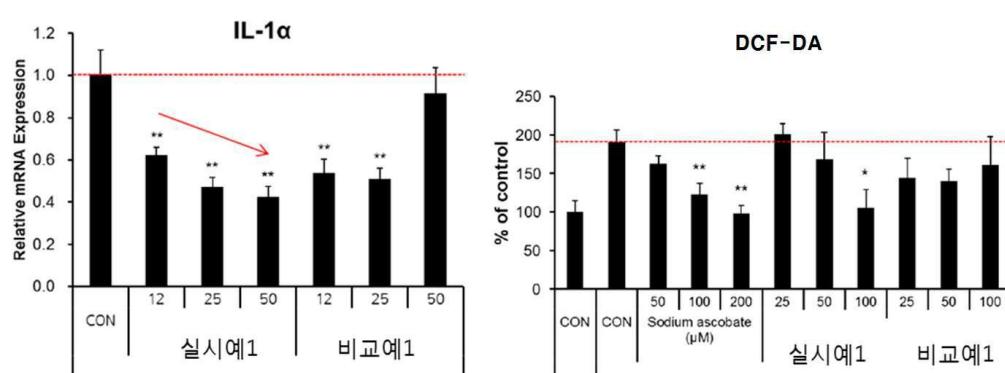
전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 피부 미용액을 이용한 화장료 조성물의 제조방법

### (57) 요약

본 명세서는 피부미용에 사용할 수 있는 미용액을 이용하여 식물을 추출하는 방법에 관한 것으로서, 이를 이용할 경우 기존의 용매를 이용한 추출방법 보다 공정의 효율을 높이고 유용한 성분을 보다 효과적으로 추출할 수 있어, 소비자의 만족도를 높이고 관련 산업의 발전을 도모할 수 있다.

대 표 도 - 도7



(52) CPC특허분류

*A61K 8/345* (2013.01)

*A61K 8/498* (2013.01)

*A61Q 19/00* (2013.01)

*A61K 2800/80* (2013.01)

*A61K 2800/82* (2013.01)

*A61K 2800/85* (2013.01)

(72) 발명자

**신진섭**

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽

기술연구원

**이은수**

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽  
기술연구원

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

피부 미용액을 이용하여 식물로부터 추출물을 추출하는 단계; 및

상기 단계에서 추출된 추출물에 부가 성분을 가하여 화장료 조성물을 제조하는 단계를 포함하는, 식물 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 제조 방법.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 식물은 차나무 잎인, 제조 방법.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 식물은 발효시킨 차나무 잎인, 제조 방법.

#### 청구항 4

제1항에 있어서, 상기 추출은 초음파추출, 상온추출, 냉침 추출, 또는 환류 냉각 추출인, 제조 방법.

#### 청구항 5

제1항에 있어서, 상기 추출은 10 내지 50°C에서 실시하는 것인, 제조 방법.

#### 청구항 6

제1항에 있어서, 상기 추출은 3 내지 30시간 동안 실시하는 것인, 제조 방법.

#### 청구항 7

제1항에 있어서, 상기 추출은 5 내지 100 rpm에서 실시하는 것인, 제조 방법.

#### 청구항 8

제1항에 있어서, 상기 추출하는 단계는 필터링하는 단계를 더 포함하는 것인, 제조 방법.

#### 청구항 9

식물 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 제조에 있어서 식물 추출에 사용하기 위한, 피부 미용액으로 구성된 추출 용매.

#### 청구항 10

제9항에 있어서, 상기 피부 미용액은 부틸렌글라이콜, 프로판다이올 및 헥산다이올로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상, 및 글리세린과 글리세린 유도체 중 하나 이상을 포함하는 것인, 추출 용매.

#### 청구항 11

제10항에 있어서 상기 부틸렌글라이콜은 1,3-부틸렌글라이콜이고, 상기 프로판다이올은 1,3-프로판다이올이며, 상기 헥산다이올은 1,2-헥산다이올인, 추출 용매.

#### 청구항 12

제10항에 있어서, 상기 글리세린 유도체는 에틸헥실글리세린인, 추출 용매.

#### 청구항 13

제9항에 있어서, 상기 피부 미용액은 글리세린, 부틸렌글라이콜, 프로판다이올, 헥산다이올, 및 에틸헥실글리세

린을 포함하는 것인, 추출 용매.

#### 청구항 14

제10항에 있어서, 상기 부틸렌글라이콜의 함량은 상기 추출 용매 총중량 대비 10 내지 25 중량%;  
상기 프로판다이올의 함량은 상기 추출 용매 총중량 대비 1 내지 20 중량%; 또는  
상기 헥산다이올의 함량은 상기 추출 용매 총중량 대비 0.1 내지 5 중량%인, 추출 용매.

#### 청구항 15

제10항에 있어서, 상기 글리세린의 함량은 상기 추출 용매 총중량 대비 5 내지 20 중량%; 또는 상기 글리세린 유도체의 함량은 상기 추출 용매 총중량 대비 0.01 내지 10 중량%인, 추출 용매.

#### 청구항 16

제10항에 있어서, 상기 글리세린:부틸렌글라이콜의 중량 비율은 1 : 0.5 내지 5;  
상기 부틸렌글라이콜:프로판다이올의 중량 비율은 1 : 0.04 내지 2;  
상기 프로판다이올:헥산다이올의 중량 비율은 1 : 0.005 내지 5; 또는  
상기 헥산다이올:글리세린 유도체의 중량 비율은 1 : 0.002 내지 100인, 추출 용매.

#### 청구항 17

제9항 내지 제16항에 따른 추출 용매 및 그에 의해 식물로부터 추출된 성분을 포함하는 추출물.

#### 청구항 18

제17항에 있어서, 상기 추출물은 상기 식물 1g 대비 에피갈로카테킨 갈레이트(Epigallocatechin gallate, EGCG)의 함량이 20 내지 60 mg인, 추출물.

#### 청구항 19

제17항에 따른 추출물을 포함하는, 화장료 조성물.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] 본 명세서는 피부 미용액을 이용한 화장료 조성물의 제조방법, 및 식물 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 제조에 있어서 식물 추출에 사용하기 위한, 피부 미용액으로 구성된 추출 용매에 관한 것이고, 한편으로는 이를 이용한 추출물 및 화장료 조성물에 관한 것이다.

#### 배경 기술

[0002] 추출(extraction)이란, 주로 액체 상태의 용매를 사용하여 고체 또는 액체 상태의 혼합물 속에서 어떤 특정한 성분만을 용해하여 분리하는 조작으로, 화학 및 생물 실험에서뿐만 아니라 산업적으로도 매우 중요한 분리 방법이다. 이 경우 산-염기 혹은 퀼레이트 생성 등의 화학반응을 이용하거나 혹은 단순히 용해도 차이만을 이용할 수도 있다. 고체에서 추출하는 경우를 고-액추출(固液抽出), 액체에서 추출하는 경우를 액-액추출(液液抽出)이라 하며, 고-액추출을 침출(浸出)이라 할 때도 있다.

[0003] 추출 중에서도 용매 추출은, 용매(溶媒)를 써서 고체 또는 액체시료(液體試料)중에서 성분물질(成分物質)의 일종(때로는 2종 이상)을 용해시켜 분리하는 것을 말한다. 혼합물을 화학분석하거나 이용하는데 있어, 어떤 시험재료의 성분은 특정 용매에 잘 녹는데, 다른 성분은 그 용매에 녹지 않는 경우가 있다.

[0004] 추출용매는 고체혼합물이나 액체혼합물 속에서 어떤 특정한 물질을 용해·분리할 때 쓰는 액체의 용매를 말하는데, 물, 알코올, 에테르, 석유에테르, 벤젠, 아세트산에틸, 클로로포름, 수은 등이 이에 해당된다. 최근에는 초임계유체(supercritical fluid, SCF)를 용매로 사용한 추출방법도 많이 사용된다.

[0005] 추출은 이와 같이 용매만 사용하기도 하지만, 혼합물 속에서 산·알카리에 의한 반응 또는 킬레이트 생성과 같은 화학반응에 의해서도 추출한다. 용매를 이용하여 고체 혼합물을 추출할 때는 속슬렛추출기(Soxhlet extractor), 액체혼합물을 추출할 때는 분액(分液)칼때기를 사용한다.

[0006] 식물에서 성분을 추출 또는 분리하기 위해서는 보통 바로 채집하여 재료로 사용하는 것이 좋으며, 채집 즉시 열수, 뜨거운 메탄올 또는 뜨거운 에탄올에 담그는 방법이 가장 많이 활용된다. 성분을 추출하기 전에 식물을 건조시키는 수도 있다. 이 때에는 건조 중에 식물조직 내 성분이 변화를 받지 않도록 주의를 해야 함은 물론이다. 그러므로 식물재료는 가능한 빨리 저온에서나 통풍이 잘 되는 곳에서 건조시키는 것이 좋다. 일단 건조된 식물재료는 장기간 보존하여도 성분 연구에는 지장이 많지 않다. 실제로 플라보노이드(flavonoid), 알칼로이드(alkaloid), 터페노이드(terpenoid) 같은 식물성은 건조 후 수년이 지나도 큰 변화가 없을 수도 있다.

[0007] 특히, 화장료 제조에 있어서 이러한 식물 추출물을 함유하는 제품에 대하여 소비자의 수요가 증대하고 있고, 그에 따라 효과적이고도 안전한 추출 방법 및 추출 용매에 대한 연구가 계속되고 있다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 대한민국 특허출원 제10-2009-0114513호

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0009] 일 측면에서, 본 명세서는 효과적이고도 안전한 추출 용매, 그를 이용한 추출 방법, 및 그를 이용한 화장료 조성물의 제공을 해결 과제로 하고 있다.

### 과제의 해결 수단

[0010] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 명세서는 피부 미용액을 이용하여 식물로부터 추출물을 추출하는 단계; 및 상기 단계에서 추출된 추출물에 부가 성분을 가하여 화장료 조성물을 제조하는 단계를 포함하는, 식물 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 제조 방법을 제공한다.

[0011] 또한, 본 명세서는 식물 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 제조에 있어서 식물 추출에 사용하기 위한, 피부 미용액으로 구성된 추출 용매를 제공한다.

[0012] 또한, 본 명세서는 그러한 추출 용매 및 그에 의해 식물로부터 추출된 성분을 포함하는 추출물을 제공한다.

[0013] 아울러, 본 명세서는 그러한 추출물을 포함하는 화장료 조성물을 제공한다.

## 발명의 효과

[0014] 본 발명의 일 측면에 의한 제조 방법에 따를 경우 기존의 용매를 이용한 방법 보다 공정 면에서 현저하게 효율적이고, 본 발명의 일 측면에 따른 추출 용매를 이용하여 추출물을 만들어 화장료 조성물을 제조할 경우, 추출된 유효성분의 함량도 높고 피부에 대한 효과 면에서도 현저하게 우수하다.

## 도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 본 발명의 일 측면에 따라 추출한 추출물을 사용했을 때 피부 거칠기가 완화됨을 나타낸 것이다.

도 2는 본 발명의 일 측면에 따라 추출한 추출물을 사용했을 경우 피부보습 효과가 향상됨을 나타낸 것이다.

도 3은 본 발명의 일 측면에 따라 추출한 추출물을 사용했을 경우 피부탄력이 증진됨을 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명의 일 측면에 따라 추출한 추출물을 사용했을 경우 피부 투명도가 개선됨을 나타낸 것이다.

도 5는 본 발명의 일 측면에 따라 추출한 추출물을 사용했을 경우 피부각질에서 항산화 효소(catalase)의 활성이 증진되어 피부 항산화 효과가 있음을 나타낸 것이다.

도 6은 본 발명의 일 측면에 따른 실시예 1과 비교예 1의 미용액(용매)에 의해 추출한 추출물의 세포독성을 비교한 것이다.

도 7은 본 발명의 일 측면에 따른 실시예 1과 비교예 1의 미용액(용매)으로 추출한 추출물을 사용한 경우 IL-1 $\alpha$  및 DCF-DA 발현 정도를 측정한 결과를 나타낸 것이다.

도 8은 본 발명의 일 측면에 따른 실시예의 미용액(용매)에 의해 추출한 추출물을 사용한 경우 MMP-1, COX2, Nrf2 및 Keap-1을 평가한 결과를 나타낸 것이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016]

본 명세서에서, “피부 미용액”은 다양한 미용 목적으로 피부에 적용할 수 있는 유동성 있는 조성물을 통칭하는 것으로서, 주로 유연화장수, 영양화장수, 유액 등과 같은 액상 또는 에센스 제형을 포함하며, 유제, 가용화제, 보습제, 물 및 그 외의 약제를 포함할 수도 있다.

[0017]

본 명세서에서 “추출물”은 추출 방법, 추출 용매, 추출된 성분 또는 추출물의 형태를 불문하고, 천연물의 성분을 뽑아냄으로써 얻어진 물질을 모두 포함하는 것이며 또한 천연물의 성분을 뽑아내어 얻어진 물질을 추출 후 다른 방법으로 가공 또는 처리하여 얻어질 수 있는 물질을 모두 포함하는 광범위한 개념이며, 구체적으로 상기 가공 또는 처리는 추출물을 추가적으로 발효, 또는 효소처리 하는 것일 수 있다. 따라서 본 명세서에서 추출물은 발효물, 농축물, 건조물을 포함하는 광범위한 개념이다.

[0018]

본 명세서에서, “글리세린 유도체”는 글리세린의 일부가 화학적으로 변화되어 얻어지는, 글리세린과 유사한 화합물이다. 글리세린 중 수소원자 또는 특정 원자단이 다른 원자 또는 원자단에 의하여 치환된 화합물을 말한다.

[0019]

기존의 식물 추출물을 포함한 화장료 조성물은 널리 쓰이는 범용적인 추출법을 이용하여 식물을 추출하고 이를 다시 환원하여 화장료 조성물에 넣어서 사용하는 방법을 사용하였다. 일반적으로 추출하는 방법은 유기용매나 물, 혹은 이들의 혼합물을 용매로 이용하여 추출하고 추출한 액상에서 용매를 증발시켜 제거한 후 다시 화장료에 사용가능한 형태로 제가공하여 화장료에 사용하는 방식이다. 이러한 일반적인 용매를 이용한 추출 방식을 사용할 경우 비용이나 시간 면에서 효율적이지만 추출하고자 하는 원물이 가지고 있는 다양한 성분 중 특정 용매에 용해도가 있는 성분들만 부분적으로 추출되게 되거나 추출 후 증발 및 추가 가공 공정에서 성분이 유실되는 단점이 있을 수 있다. 또한 사용된 유기용매가 소량 잔류할 수 있어 피부에 좋지 않게 작용할 가능성이 있다.

[0020]

본 발명은 일 측면에서, 피부 미용액으로 쓰일 수 있는 원료를 조합하여 이를 통해 직접 식물을 추출하는 방법에 관한 것으로서, 용매제거 과정 등과 같은 추가적인 처리절차가 없으므로 추출된 성분의 유실을 막을 수 있고, 기존의 용매가 가지는 유해성도 가지지 않으므로, 상기와 같은 단점을 모두 극복할 수 있는 발명이다.

[0021]

본 발명은 일 측면에서, 피부 미용액을 이용하여 식물로부터 추출물을 추출하는 단계; 및 상기 단계에서 추출된 추출물에 부가 성분을 가하여 화장료 조성물을 제조하는 단계를 포함하는, 식물 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 제조 방법에 관한 것일 수 있다. 피부 미용액 자체를 이용하여 식물로부터 추출물을 얻는 과정은 현재까지 알려진 것이 없고, 본 발명은 일 측면에서 그러한 새로운 구성을 채택한 것이다. 이를 통해 상기한 바와 같은 효과가 발생하는 것이다.

[0022]

일 구현 예로서, 상기 식물은 상기 피부 미용액을 이용한 추출의 대상이 될 수 있는 식물이면 어떤 것인든 가능하고, 잎, 줄기, 열매, 꽃, 뿌리 등 부위를 불문하나, 바람직하게는 차나무 잎일 수 있다.

[0023]

다른 구현 예로서, 상기 식물은 발효시킨 차나무 잎일 수 있다. 상기 발효는 자연발효 또는 미생물 접종에 의한 발효를 모두 포함할 수 있으나, 자연발효가 바람직할 수 있다.

[0024]

다른 구현 예로서, 상기 추출은 초음파추출, 상온추출, 냉침 추출, 또는 환류 냉각 추출일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0025]

또 다른 구현 예로서, 상기 추출은 10 내지 50°C에서 실시하는 것일 수 있다. 상기 추출은 예시적으로 10°C 이상, 20°C 이상, 25°C 이상, 30°C 이상, 40°C 이상, 또는 45°C 이상에서 실시하는 것일 수 있다. 또한, 50°C 이하, 45°C 이하, 40°C 이하, 30°C 이하, 25°C 이하, 20°C 이하, 또는 15°C 이하에서 실시하는 것일 수 있다.

[0026]

또 다른 구현 예로서, 상기 추출은 3 내지 30시간 동안 실시하는 것일 수 있다. 예시적인 추출 시간은 3시간 이상, 5시간 이상, 8시간 이상, 10시간 이상, 12시간 이상, 14시간 이상, 16시간 이상, 18시간 이상, 20시간

이상, 25시간 이상, 또는 28시간 이상일 수 있다. 또한, 30시간 이하, 25시간 이하, 20시간 이하, 18시간 이하, 16시간 이하, 14시간 이하, 12시간 이하, 10시간 이하, 8시간 이하, 또는 5시간 이하일 수 있다.

[0027] 또 다른 구현 예로서, 상기 추출은 5 내지 100 rpm에서 실시하는 것일 수 있다. 예시적으로 상기 rpm은 5이상, 7이상, 9이상, 10이상, 12이상, 15이상, 20이상, 30이상, 40이상, 50이상, 60이상, 70이상, 80이상, 또는 90이상일 수 있다. 또한, 상기 rpm은 100이하, 90이하, 80이하, 70이하, 60이하, 50이하, 40이하, 30이하, 20이하, 15이하, 12이하, 10이하, 9이하, 또는 7이하일 수 있다.

[0028] 본 발명의 일 측면에 따르면, 상기 추출하는 단계는 필터링하는 단계를 더 포함하는 것일 수 있다. 일 구현 예로서, 상기 필터링은 여과일 수 있고, 보다 바람직하게는 원심분리한 이후 여과하는 것일 수 있다.

[0029] 본 발명은 다른 측면에서, 식물 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 제조에 있어서 식물 추출에 사용하기 위한, 피부 미용액으로 구성된 추출 용매일 수 있다.

[0030] 일 구현 예로서, 상기 피부 미용액은  $C_2$  내지  $C_{20}$ 의 2가 알코올 및  $C_2$  내지  $C_{20}$ 의 3가 알코올로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 포함하는 것일 수 있다.

[0031] 다른 구현 예로서, 상기 2가 알코올은 부틸렌글라이콜, 프로판다이올, 및 헥산다이올로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있다. 또한, 상기 3가 알코올은 글리세린 및 글리세린 유도체 중 하나 이상일 수 있다.

[0032] 다른 구현 예로서, 상기 부틸렌글라이콜은 1,3-부틸렌글라이콜일 수 있고, 상기 프로판다이올은 1,3-프로판다이올일 수 있으며, 상기 헥산다이올은 1,2-헥산다이올일 수 있다.

[0033] 또 다른 구현 예로서, 상기 글리세린 유도체는 에틸헥실글리세린일 수 있다.

[0034] 또 다른 구현 예로서, 상기 피부 미용액은 글리세린, 부틸렌글라이콜, 프로판다이올, 헥산다이올, 및 에틸헥실글리세린을 포함하는 것일 수 있다.

[0035] 일 구현 예로서, 상기 부틸렌글라이콜의 함량은 상기 추출 용매 총중량 대비 10 내지 25 중량%일 수 있다. 25 중량%를 초과하면 점도 상승, 여과 불능 등으로 인하여 사용할 수 없고, 10중량%미만이면 추출 효과가 현저히 떨어졌다. 일 측면에서 상기 부틸렌글라이콜의 함량은 상기 추출 용매 총중량 대비 10중량% 이상, 12중량% 이상, 14중량% 이상, 16중량% 이상, 18중량% 이상, 20중량% 이상, 22중량% 이상, 또는 24중량% 이상일 수 있다. 또는 25중량% 이하, 22중량% 이하, 20중량% 이하, 18중량% 이하, 16중량% 이하, 또는 12중량% 이하일 수 있다.

[0036] 다른 구현 예로서, 상기 프로판다이올의 함량은 상기 추출 용매 총중량 대비 1 내지 20 중량%일 수 있다. 20 중량%를 초과하면 점도 상승, 여과 불능 등으로 인하여 사용할 수 없고, 1중량%미만이면 추출 효과가 현저히 떨어졌다. 일 측면에서 상기 함량은 1중량% 이상, 4중량% 이상, 6중량% 이상, 8중량% 이상, 10중량% 이상, 12중량% 이상, 14중량% 이상, 16중량% 이상, 또는 18중량% 이상일 수 있다. 또한, 상기 중량은 20중량% 이하, 18중량% 이하, 16중량% 이하, 14중량% 이하, 12중량% 이하, 10중량% 이하, 8중량% 이하, 6중량% 이하, 4중량% 이하, 또는 2중량% 이하일 수 있다.

[0037] 또 다른 구현 예로서, 상기 헥산다이올의 함량은 상기 추출 용매 총중량 대비 0.1 내지 5 중량%일 수 있다. 5 중량%를 초과하면 점도 상승, 여과 불능 등으로 인하여 사용할 수 없고, 0.1 중량%미만이면 추출 효과가 현저히 떨어졌다. 일 측면에서 상기 함량은 0.1중량% 이상, 0.4중량% 이상, 0.6중량% 이상, 0.8중량% 이상, 1중량% 이상, 1.2중량% 이상, 1.5중량% 이상, 2중량% 이상, 2.5중량% 이상, 3중량% 이상, 3.5중량% 이상, 4중량% 이상, 또는 4.5중량% 이상일 수 있다. 또한, 상기 함량은 5중량% 이하, 4.5중량% 이하, 4중량% 이하, 3.5중량% 이하, 3중량% 이하, 2.5중량% 이하, 2중량% 이하, 1.5중량% 이하, 1.2중량% 이하, 1중량% 이하, 0.8중량% 이하, 0.6 중량% 이하, 0.4중량% 이하, 또는 0.2중량% 이하일 수 있다.

[0038] 또 다른 구현 예로서, 상기 글리세린의 함량은 상기 추출 용매 총중량 대비 5 내지 20 중량%일 수 있다. 20 중량%를 초과하면 점도 상승, 여과 불능 등으로 인하여 사용할 수 없고, 5 중량%미만이면 추출 효과가 현저히 떨어졌다. 일 측면에서 상기 함량은 5중량% 이상, 7중량% 이상, 9중량% 이상, 11중량% 이상, 13중량% 이상, 15중량% 이상, 17중량% 이상, 또는 19중량% 이상일 수 있다. 또한, 20중량% 이하, 18중량% 이하, 16중량% 이하, 14중량% 이하, 12중량% 이하, 10중량% 이하, 8중량% 이하, 또는 6중량% 이하일 수 있다.

[0039] 또 다른 구현 예로서, 상기 글리세린 유도체의 함량은 상기 추출 용매 총중량 대비 0.01 내지 10 중량%일 수 있다. 10 중량%를 초과하면 점도 상승, 여과 불능 등으로 인하여 사용할 수 없고, 0.01 중량%미만이면 추출 효과

가 현저히 떨어졌다. 일 측면에서 상기 함량은 0.01중량% 이상, 0.05중량% 이상, 0.08중량% 이상, 0.1중량% 이상, 0.12중량% 이상, 0.14중량% 이상, 0.2중량% 이상, 0.4중량% 이상, 0.6중량% 이상, 0.8중량% 이상, 1중량% 이상, 4중량% 이상, 6중량% 이상, 또는 8중량% 이상일 수 있다. 또한, 8중량% 이하, 6중량% 이하, 4중량% 이하, 1중량% 이하, 0.8중량% 이하, 0.6중량% 이하, 0.4중량% 이하, 0.2중량% 이하, 0.14중량% 이하, 0.12중량% 이하, 0.1중량% 이하, 0.08중량% 이하, 0.05중량% 이하, 또는 0.02중량% 이하일 수 있다.

[0040] 본 발명의 일 측면에 따르면, 상기 글리세린:부틸렌글라이콜의 중량 비율은 1 : 0.5 내지 5일 수 있다. 일 측면에서, 상기 비율은 1:0.5이상, 1:0.7이상, 1:0.9이상, 1:1.0이상, 1:1.2이상, 1:1.4이상, 1:1.6이상, 1:1.8이상, 1:2이상, 1:2.5이상, 1:2.8이상, 1:3이상, 1:3.5이상, 1:4이상, 또는 1:4.5이상일 수 있다. 또한, 상기 비율은 1:5이하, 1:4.5이하, 1:4이하, 1:3.5이하, 1:3이하, 1:2.5이하, 1:2이하, 1:1.5이하, 1:1.2이하, 1:1이하, 1:0.8이하, 또는 1:0.6이하일 수 있다.

[0041] 일 구현 예로서, 상기 부틸렌글라이콜:프로판다이올의 중량 비율은 1 : 0.04 내지 2일 수 있다. 일 측면에서, 상기 비율은 1:0.04이상, 1:0.06이상, 1:0.08이상, 1:0.1이상, 1:0.2이상, 1:0.4이상, 1:0.6이상, 1:0.8이상, 1:1이상, 1:1.2이상, 1:1.4이상, 1:1.6이상, 또는 1:1.8이상일 수 있다. 또한, 상기 비율은 1:2이하, 1:1.8이하, 1:1.6이하, 1:1.4이하, 1:1.2이하, 1:1이하, 1:0.8이하, 1:0.6이하, 1:0.4이하, 1:0.2이하, 1:0.1이하, 1:0.08이하, 또는 1:0.06이하일 수 있다.

[0042] 다른 구현 예로서 상기 프로판다이올:헥산다이올의 중량 비율은 1 : 0.005 내지 5일 수 있다. 일 측면에서 1:0.005이상, 1:0.01이상, 1:0.05이상, 1:0.1이상, 1:0.5이상, 1:1이상, 1:2이상, 1:3이상, 또는 1:4이상일 수 있다. 또한, 상기 비율은 1:5이하, 1:4이하, 1:3이하, 1:2이하, 1:1이하, 1:0.5이하, 1:0.1이하, 1:0.05이하, 1:0.01이하, 또는 1:0.008이하일 수 있다.

[0043] 다른 구현 예로서 상기 헥산다이올:글리세린 유도체의 중량 비율은 1 : 0.002 내지 100일 수 있다. 일 측면에서, 1:0.002이상, 1:0.005이상, 1:0.01이상, 1:0.05이상, 1:0.1이상, 1:0.5이상, 1:1이상, 1:5이상, 1:10이상, 1:20이상, 1:30이상, 1:40이상, 1:50이상, 또는 1:80이상일 수 있다. 또한, 1:100이하, 1:80이하, 1:60이하, 1:40이하, 1:30이하, 1:20이하, 1:10이하, 1:5이하, 1:1이하, 1:0.5이하, 1:0.1이하, 1:0.05이하, 1:0.01이하, 또는 1:0.005이하일 수 있다.

[0044] 본 발명은 다른 측면에서, 상기 추출 용매 및 그에 의해 식물로부터 추출된 성분을 포함하는 추출물일 수 있다.

[0045] 일 구현 예로서, 상기 추출물은 추출 대상이 되는 식물의 중량 1g(또는 상기 추출 용매(또는 상기 피부 미용액) 및 그에 의해 식물로부터 추출된 성분을 포함하는 추출물 100g) 대비 에피갈로카테킨 갈레이트 (Epigallocatechin gallate, EGCG)의 함량이 20 내지 60 mg인 추출물일 수 있다. 일 측면에서 상기 EGCG의 함량은 20mg이상, 25mg이상, 30mg이상, 35mg이상, 40mg이상, 45mg이상, 50mg이상, 또는 55mg이상일 수 있다. 또한, 상기 함량은 60mg이하, 55mg이하, 50mg이하, 45mg이하, 40mg이하, 35mg이하, 30mg이하, 또는 25mg이하일 수 있다.

[0046] 본 발명은 또 다른 측면에서, 상기 추출물을 포함하는 화장료 조성물일 수 있다.

[0047] 이하, 제조예, 실시예, 실험예를 통하여, 본 발명 일측면의 구성 및 효과를 보다 구체적으로 설명한다. 그러나 아래 예는 본 발명에 대한 이해를 돋기 위해 예시의 목적으로만 제공된 것일 뿐 본 발명의 범주 및 범위가 그에 의해 제한되는 것은 아니다.

[0049] [제조예] 발효 녹차 제조

[0050] 본 발명의 일 구현 예에 따른 실시를 위해 발효 녹차를 제조하였다.

[0051] 구체적으로, 일반 녹차잎 수확방법과 동일하게 녹차잎을 수확하여, 50일 간 별도의 미생물 접종 없이 자연 발효시켰다. 발효 조건은  $45\pm5^{\circ}\text{C}$ , 습도 30%이다. 이후, 발효된 녹차잎을 50일간 숙성 시켰다.

[0052]

[0053] [실시예] 피부 미용액(추출 용매) 제조

[0054] 추출 용매로 사용할 수 있는 피부 미용액을 제조하기 위해 먼저 용매의 구성성분이 될 수 있는 조건을 고려하였다. 우선, 피부에 사용가능한 성분으로 한정하였고, 화장료로 사용가능한 수준의 조성이 될 수 있는 것으로 제

한하였다. 또한, 생체에 대해 안전하여야 하고, 추출시 유용 성분을 충분히 추출할 수 있는 것으로 선별하였다. 원료(추출 대상 원료)는 식물이면 부위(잎, 줄기, 뿌리, 꽃, 열매 등)에 관계없이 어느 것이든 사용할 수 있는 성분으로 용매의 구성성분을 선별하였고, 일 구현 예로서 녹차를 대상으로 실험을 진행해 보았으나, 본 명세서의 추출 용매로 추출을 진행할 수 있는 식물이면 부위에 관계 없이 어떤 것이라도 추출 대상 원료로 삼을 수 있음을 확인하였다.

[0055] 용매의 구성성분에 대한 피부 안전성은 패치 실험으로 확인하였다.

[0056] 구체적으로, 평균 연령 36.36세의 건강한 성인 여성 32명을 대상(건선 (Psoriasis), 여드름 (acne), 습진 (eczema), 기타 피부병 등의 보유자나 임신, 수유부 또는 피임제, 항히스타민제 등을 복용하고 있는 사람은 시험 실시 전 제외)으로 각 성분별로 폐쇄 패치 실험(closed patch test, 등 부위)를 실시하였다. 24시간 침포 후 24시간까지 검사하였다. 피부반응은 Frosch & Kligman, CTFA 가이드라인에 따라 평가하였다.

[0057] 그리하여, 상기 요건을 만족하는 것으로 확인된 후보물질로서, 정제수, 글리세린, 1,3-부틸렌글라이콜(1,3-butylen glycol), 1,3-프로판다이올(1,3-propandiol), 1,2-헥산다이올(1,2-hexandiol), 에틸헥실글리세린 (ethylhexylglycerin), D-글루코스(D-glucose), 베타인(betain)을 선정하였고, 이들 물질을 적정 중량 및 비율로 조합하여 추출 용매를 제조하였다.

[0058] 또한, 일반 추출 방법에 범용적으로 사용되는 용매인 에탄올, 에틸아세테이트(ethylacetate), 헥산(hexane)을 비교 성분으로 선별하였다.

[0059] 추출 효율 비교를 위한 추출 방법은 하기 내용에 따랐다.

[0060] 구체적으로, 상기 제조예에 의한 발효 녹차잎을 전조시켜 분말(0.001~5%wt)로 만든 뒤 상기 안전성이 확인된 후보물질들을 조합하여 만든 미용액(5~75%wt)을 상기 분말과 혼합하고, 이에 정제수(20~94.999%wt)를 혼합한 뒤 10°C 내지 50°C(특히 25°C가 바람직하나 실험은 상기 온도범위에서 전반적으로 실시하였음)에서 3 내지 20시간 동안(특히 12시간이 바람직하나 상기 시간 범위에서 전반적으로 실시하였음), 5 내지 100rpm(특히 10rpm이 바람직하나 상기 rpm범위에서 전반적으로 실시하였음)으로 아지믹싱(Agimixing)하면서 추출하였다. 그 후 필터링(300메쉬의 필터(나일론 재질), 공극 3마이크로미터의 필터(다공성 필터 페이퍼), 공극 0.45마이크로미터의 필터(다공성 필터 페이퍼)를 이용하여 차례대로 필터링)을 거쳐 추출물을 제조하였다. 후보물질의 조합에 의한 추출물은 하기와 같이 분석하였다.

[0061] 녹차 대표 성분인 EGCG 추출 수율(yield)을 비교하였는데, HPLC분석(이동상(A:B = 7:3, A: 0.5% formic acid in water, B: 0.5% formic acid in methanol, 1.0ml/min, 분석 칼럼 : Phenomenex Gemini 5u C18 110A (4.6 x 150 mm, 5 um), 상온, 280nm검출)을 실시하여 확인하였다. 다른 성분도 확인해 보았으나, 수율 면에서는 EGCG와 유사한 결과가 나왔으며, 상기 EGCG는 추출 효율을 확인하기 위한 하나의 예시적 물질일 뿐이다.

[0062] 그 결과, 하기 표 1의 실시예 1 및 2와 같은 비율로 성분을 조합하여 추출용매로 사용할 경우 가장 추출효율이 높은 것을 확인하였다.

### 표 1

구분	성분명	실시예 1	실시예 2	비교예 1	비교예 2
1	정제수	잔량	잔량	100(열수)	-
2	에탄올	-	-	-	100
3	글리세린	15	15	-	-
4	1,3-부틸렌글라이콜	20	20	-	-
5	1,3-프로판다이올	10	-	-	-
6	1,2-헥산다이올	1	1	-	-
7	에틸헥실글리세린	0.1	0.1	-	-
	총중량	100	100	100	100

[0064] (상기 표 1 내의 수치는 중량%)

[0065] EGCG에 대한 실시예 1, 실시예 2, 비교예 1 및 비교예 2의 추출 효율은 아래 표 2와 같이 나타났다.

표 2

[0066]

추출 용매	추출 효율	비고
열수(비교예 1)	66%	녹차 1g에 대해 실시예 1을 사용했을 경우(즉, 추출물 전체를 100g으로 보았을 때)의 EGCG 추출량(42mg) 기준
에탄올(비교예 2)	82%	
실시예 1	100%	
실시예 2	94%	

[0067]

다만, 상기 EGCG는 추출되는 여러 활성 성분 중 분석이 용이한 지표 물질 중 하나일 뿐이므로, 상기 실시예 등에 의한 추출 효율이 EGCG에 대해서만 높은 것은 아니다. 본 발명의 일 측면에 따른 상기 실시예 등을 이용할 경우, 녹차나 발효녹차에서 추출할 수 있는 성분이면 어떤 성분에 대해서도 추출 효율이 높음을 알 수 있다.

[0068]

상기 실시예의 추출 용매는 화장료로 사용가능한 물질을 조합한 것으로서 그 자체로 피부미용액(화장료) 등으로 사용이 가능하고, 에탄올, 에틸아세테이트(ethylacetate), 헥산(hexane) 등의 유기용매와는 달리 피부에 대한 자극이 없어 안전하게 사용할 수 있으므로, 용매 제거나 추가적인 가공 과정 없이 화장료로 곧바로 적용이 가능함을 알 수 있었다. 추출된 추출물을 추가 가공과정 없이 그대로 화장료 조성물로서 피부에 곧바로 적용이 가능하므로 사용성 면에서 실시예 1 및 2가 기준의 용매를 사용하는 비교예에 비해 현저하게 우수하다는 것을 알 수 있다. 아울러, 상기 실시예 1 및 2를 이용할 경우 원료의 유용한 성분을 훨씬 효과적으로 추출할 수 있고, 가공 과정 또한 최소화하므로, 추출된 성분의 보존성도 기준 용매를 사용하는 비교예보다 현저하게 우수하다 할 것이다.

[0070]

[실험 예 1] 추출물의 효능 확인

[0071]

상시 실시예에 따라, 실시예 1 및 2의 피부미용액(용매)를 이용하여 녹차 추출물을 제조한 후 이를 피부에 적용하여 효능을 평가하였다.

[0072]

구체적으로, 아래 표 3과 같은 조건으로 효능을 평가하였고, 그 결과를 도 1 내지 도 5와 같이 나타내었다.

표 3

[0073]

시험 대상자	39~49세 여성 (평균 약 45.7세)
시험 기간	4주
시험 부위	안면, 전박
시험 항목	피부결, 수분, 탄력, 투명도, 항산화 수준
측정 시기	제품 사용 직후, 1주, 2주, 4주 시점에서 측정 및 평가

[0074]

피부결은 3차원 이미지 장치를 이용하여 측정하였다. 구체적으로, PRIMOS<sup>®</sup> premium(GFMesstechnik GmbH, Germany)을 이용하여 측정하였다. 각 평가시점마다 촬영된 영상 이미지는 동일한 부위를 측정 및 비교한 것이고, 거칠기 파라미터(roughness-parameter 또는 wrinkle analysis parameter)를 이용하여 분석하였다.

[0075]

피부 수분은 정전용량을 이용한 피부수분량 측정을 통해 확인하였고, Corneometer<sup>®</sup> CM 825(C+K, Germany)를 이용하여 각 시점에서 뺨 부위의 수분량을 3회 측정한 후 평균값을 분석하였다.

[0076]

피부 탄력은 흡착법을 이용하여 측정하였고, Cutometer<sup>®</sup> MPA580 (C+K Germany) 이용하였다. 450mbar 의 음압을 2.0초 간격으로 on-off 하여 3번 흡착 후 측정한 피부 탄력치를 분석하였다.

[0077]

피부 투명도는 확산반사를 이용하여 측정하였다. Radioscan<sup>TM</sup> (True system, Korea)을 이용하되 뺨 부위 피부를 60° 각도에서 확산 반사값을 측정하였다.

[0078]

피부 항산화 수준은 피부각질의 항산화 지수(catalase activity)를 측정하여 확인하였다. D-squame disc<sup>®</sup> (Cuderm, USA)를 이용하여 전박 부위의 각질을 채취 후 SquameScan<sup>®</sup> 850(Wetzlar, Germany)를 이용하여 850nm의 파장에서 광 흡수량 분석하여 단백질량을 정량하였다. 그 후 Catalase Activity Colorimetric/Fluorometric Assay kit(biovision, Inc., USA)를 이용하여 각질의 카탈라아제 활성(catalase activity)을 측정하여 분석하

였다.

[0079] 상기 실시예에 의한 추출물은 추출 효율이 높고, 피부 미용액으로 바로 사용할 수 있는 성분으로 추출한 것이므로 용매 제거와 같은 추가가공 과정이 필요 없으므로, 추출된 여러 성분들의 효과적으로 보존될 수 있음을 알 수 있고, 이러한 추출물을 피부에 바로 적용할 경우 피부결, 피부수분, 피부탄력, 피부투명도, 피부 항산화 수준에 있어서 현저한 효과를 발휘함을 알 수 있었다(도 1 내지 도 5).

[0081] [실험 예 2] 실시예와 비교예에 의한 추출물의 세포 독성 비교

[0082] 세포 독성 확인은 Cell proliferation & toxicity assay (CCk-8)를 이용하였다. 즉, HEKn 세포를 48well plate에  $1.2 \times 10^4$  cells/200  $\mu$ L 농도로 seeding하여 24시간 배양한 후, 정해진 농도의 시료(실시예 및 비교예를 이용한 추출물)를 각각 처리한 다음, 24시간 후에, CCK-8 용액 (Dojindo #CK04)이 8% 들어 있는 배양액으로 교체한 다음 2~3시간 추가로 37°C 배양기에서 배양하였다. 최종적으로 450nm 파장에서 흡광도를 측정하여, 세포증식 혹은 독성여부를 대조군(“CON”)과 비교하여 산정하였다.

[0083] 실시예 1 및 2를 이용한 추출물(25, 50, 100, 200, 400 중량ppm)의 경우 비교예 1을 이용한 추출물보다 세포독성 면에서 안전한 것으로 나타났다(도 6, “CON”은 추출물을 처리하지 않은 군).

[0085] [실험 예 3] 실시예와 비교예에 의한 추출물의 항염, 항산화 및 항노화 효과 비교

[0086] 실시예와 비교예에 의한 추출물의 항염, 항산화 및 항노화 효과를 비교하였다.

[0087] 구체적으로, IL-1 $\alpha$  (interleukin-1 alpha), COX2(Cytochrome c oxidase subunit 2), DCF-DA(dichlorofluorescindiacetate), NF-E2-related factor-2(Nrf2), 및 Keap-1(Kelch-like ECH associated protein 1) 등의 발현에 대해, 정량 PCR(quantitative PCR)을 통해 RNA 추출(RNA extraction)에서부터 PCR 분석을 진행하여 평가하였다. HEKn 세포를 6well plate에  $2 \times 10^5$  개수로 seeding 하여 24시간 배양하였다. 지정한 농도로 각각 시료(실시예 및 비교예를 이용한 추출물)를 처리한 다음, 24시간 후에, Trizol을 이용하여 tvh를 lysis 및 RNA를 분리하였다. RNA를 정량한 후, cDNA 합성을 한 다음, 각각의 유전자를 Taqman probe를 이용해 real time PCR을 수행하였다. Internal control 유전자로서 RPLP0유전자를 사용하였다. 최종적으로 각각의 상대적 유전자 발현값을 Ct 값을 이용해 정량하였다(염증 유발을 위한 자극원으로는 미세먼지 시료를 이용하였다. DCF-DA의 경우 양성 대조군으로서 소듐아스코베이트(sodium ascorbate)를 사용하였다).

[0088] 항노화는 MMP-1(Matrix metalloprotease-1) ELISA를 통해 평가하였다. Hs68 세포를 24well plate에  $3.6 \times 10^4$  cells/600  $\mu$ L를 넣어주고, 24시간 동안 배양하였다. Serum-free 배지로 바꿔준 후, 추가로 4시간을 배양한 다음, UVB  $35 \text{mJ/cm}^2$  자극을 주고, 시료 2종(실시예 및 비교예를 이용한 추출물) 및 양성 대조군(대표적인 MMP-1 발현 저해제인 retinoic acid(RA))을 농도별로 각각 처리하였다. 시료 처리 48시간 후, 배양액을 취합하여 MMP-1양을 ELISA 방법을 이용하여 측정하였다.

[0089] 실시예 1 및 2를 이용한 추출물의 경우 농도 의존적으로 IL-1 $\alpha$ 와 DCF-DA의 발현을 낮추는 것으로 확인되었고, 특히 IL-1 $\alpha$  및 DCF-DA 발현의 경우 기존의 용매를 사용한 비교예에 의한 추출물보다 훨씬 더 낮게 발현되었음을 알 수 있었다. 이를 통해, 실시예 1 및 2를 이용한 추출물이 기존 용매에 의한 추출물보다 훨씬 항염 효과와 항산화 효과가 뛰어남을 알 수 있었다(도 7, 도 7의 좌측 도면에서 “CON”은 대조군으로서 염증을 일으키기 위한 자극원을 처리하고 실시예 및 비교예의 추출물을 처리하지 않은 군. 도 7의 우측 도면에서 좌측 “CON”은 아무것도 처리하지 않은 군이고 우측 “CON”은 자외선만 처리한 군임. 도 7의 X축의 숫자의 단위는  $\mu$ M).

[0090] 아울러, 실시예 1 및 2를 이용한 추출물의 경우 농도 의존적으로 MMP-1의 농도를 감소시키고, COX2 발현을 감소시키며, Nrf2의 발현을 증가시키고, keap-1의 발현을 감소(산화적 스트레스(oxidative stress) 조건에서는 Keap1 단백질이 분해됨으로써 Nrf2가 안정화 되고, 이 Nrf2가 핵으로 들어가 전사인자로서 작용하여 NQO1, HO-1, GCLC 등과 같은 항산화 유전자들의 발현이 증가된다)시키므로, 항노화, 항염 및 항산화 효과가 우수함을 알 수 있었다(도 8, 좌측상단 도면에서 첫번째 “CON”은 아무것도 처리하지 않은 군이고 두번째 “CON”은 자외선만 조사한 군임. 우측상단 도면에서 “CON”은 실시예 및 비교예에 의한 추출물을 처리하지 않은 군. 도면 내의 ppm은 중량ppm. “cz120”은 COX2 발현 시험에서 염증 유도를 위한 미세먼지 시료 명칭임).

[0092] [제형예 1] 영양화장수

[0093] 본 발명의 일 측면에 따른 실시예 1을 이용하여 발효 녹차 1중량%를 추출하고 그 추출물에 적량의 향료와 5 중량%(추출물 총 중량 대비)의 스쿠알란을 가하여 영양화장수를 제조하였다.

[0095] [제형예 2] 유연화장수

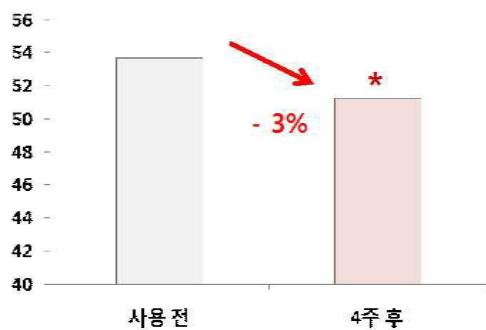
[0096] 본 발명의 일 측면에 따른 실시예 1을 이용하여 발효 녹차 5중량%를 추출하고 그 추출물에 적량의 향료, 유동파라핀 0.5중량%(추출물 총 중량 대비), 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드 5중량%, 폴리솔베이트60 1.5 중량%, 스쿠알란 5 중량%, 밀납 4 중량% 을 가하여 유연화장수를 제조하였다.

[0098] [제형예 3] 팩

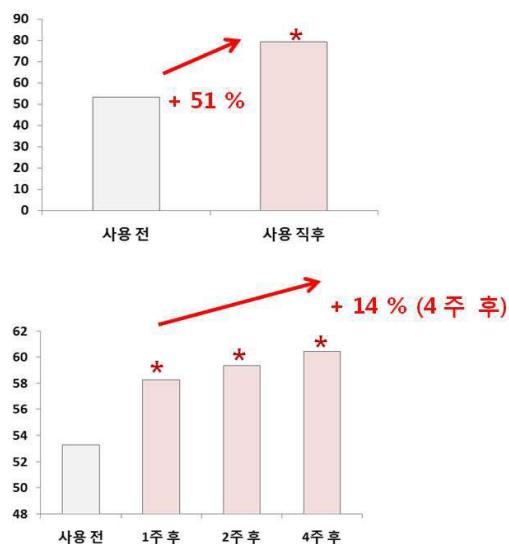
[0099] 본 발명의 일 측면에 따른 실시예 1을 이용하여 발효 녹차 3중량%를 추출하고 그 추출물에 PEG 12 노닐페닐에테르 0.3 중량%(추출물 총 중량 대비), 알란토인 0.1 중량%, 폴리비닐알콜 13 중량%을 가하고 이를 팩의 표면에 적용함으로써, 팩을 제조하였다.

## 도면

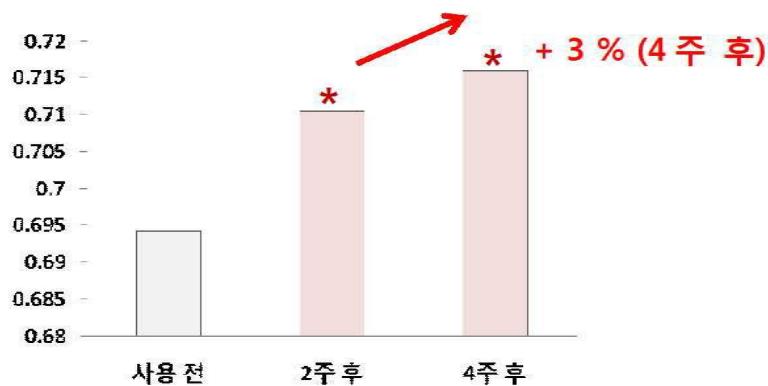
### 도면1



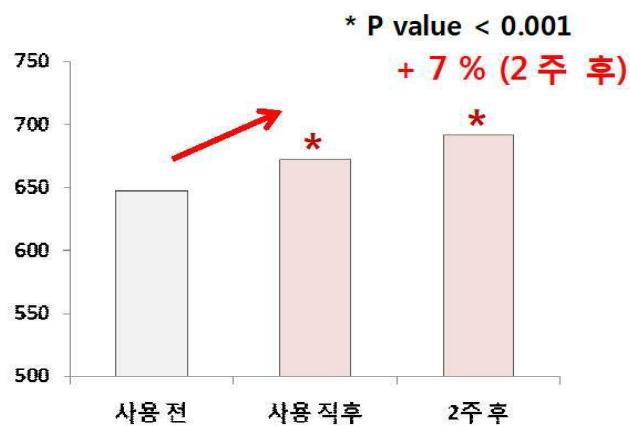
### 도면2



도면3



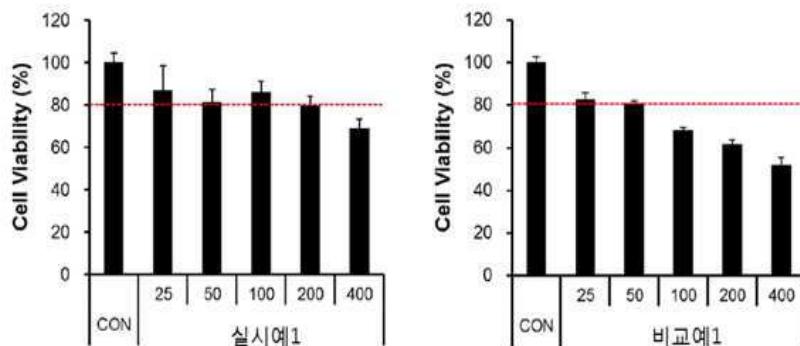
도면4



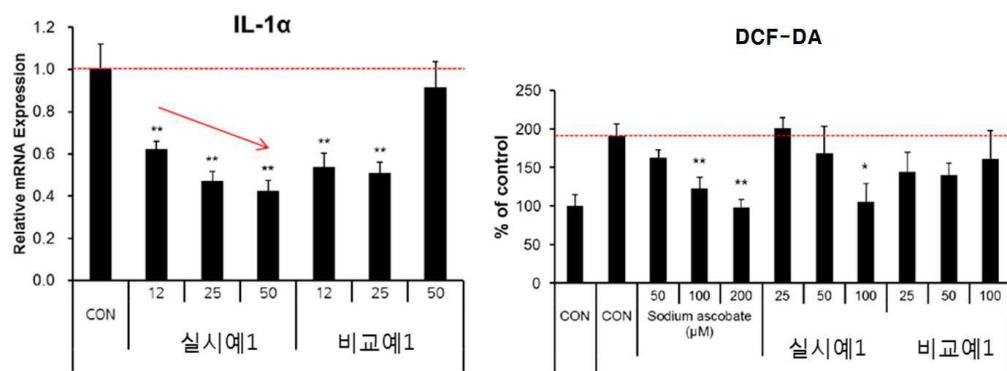
도면5



## 도면6



## 도면7



## 도면8

