

# (19) 대한민국특허청(KR)

# (12) 등록특허공보(B1)

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

**A61K 8/97** (2006.01) **A61Q 19/00** (2006.01)

(21) 출원번호 **10-2011-0133295** 

(22) 출원일자 **2011년12월12일** 심사청구일자 **2014년03월19일** 

(65) 공개번호 10-2013-0066466

(43) 공개일자 2013년06월20일

(56) 선행기술조사문헌 KR100967018 B1 KR100989944 B1 (45) 공고일자 2015년08월07일

(11) 등록번호 10-1542490

(24) 등록일자2015년07월31일(73) 특허권자

# 양정님

부산광역시 영도구 동삼로77번길 4, - (동삼동)

#### 장문식

경기도 수원시 장안구 금당로39번길 34, 조원주공 아파트 214동 804호 (조원동)

(72) 발명자

#### 장문식

경기도 수원시 장안구 금당로39번길 34, 조원주공 아파트 214동 804호 (조원동)

#### 김동원

서울특별시 서초구 주흥11길 40, 반포 훼미리아파 트 101-501 (반포동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이덕록

전체 청구항 수 : 총 7 항

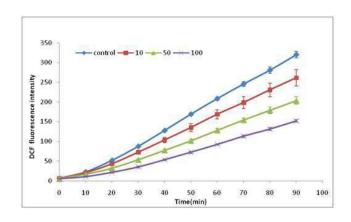
심사관: 박정웅

(54) 발명의 명칭 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀 및 유칼립투스로 구성된 혼합 추출물을 유효 성분으로 하는 화장료 조성물

## (57) 요 약

본 발명은 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스를 발효하여 얻은 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 유효 성분으로 함유하는 화장료 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 추출물에 발효 미생물 사카로마이세스 세레비시에(Saccharomyces cerevisiae)를 이용하여 발효하고 이를 펩타이드 함량이 증가된 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

## 대 표 도 - 도1



## (72) 발명자

# 송지은

경기 화성시 동탄반석로 264, 106동 1103호 (석우동, 예당마을대우푸르지오아파트)

## 김영태

경기도 수원시 팔달구 덕영대로757번길 23, 2동 701호 (화서동, 영광아파트)

#### 함기호

인천 연수구 원인재로 315, 207동 608호 (연수동, 주공아파트)

## 김성근

인천 연수구 원인재로232,103동506호(연수동,솔밭 아파트)

## 양정님

부산광역시 영도구 동삼로77번길 4, - (동삼동)

## 명세서

## 청구범위

## 청구항 1

야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀 및 유칼립투스를 건조중량 기준으로 각각 1 내지 30중량부로 혼합하고 효모균주로 발효한 다음 원심분리하고 용매추출한 다음 여과하는 것이 특징인 화장료용 발효 추출물의 제조 방법

## 청구항 2

제 1항에 방법에 따라 제조된 화장료용 발효 추출물

#### 청구항 3

제 2항의 발효 추출물을 유효성분으로 함유하는 것이 특징인 항산화 기능성 화장료 조성물

## 청구항 4

제 2항의 발효 추출물을 유효성분으로 함유하는 것이 특징인 항염증 기능성 화장료 조성물

#### 청구항 5

제 2항의 발효 추출물을 유효성분으로 함유하는 것이 특징인 피부탄력 개선 기능성 화장료 조성물

## 청구항 6

제 3항 내지 제 5항에 있어서, 상기 화장료 조성물이 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 포옴, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더 중에서 선택되는 어느 하나의 제형을 갖는 것이 특징인 화장료 조성물

## 청구항 7

제 3항 내지 제 5항에 있어서, 상기 화장료 조성물이 보조제 또는 담체를 함유하는 것이 특징인 화장료 조성물

## 발명의 설명

## 기 술 분 야

[0001]

[0003]

본 발명은 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스로 구성된 혼합 추출물을 유효 성분으로 함유하는 화장료 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 추출물에 발효 미생물 사카로마이세스 세레비시에(Saccharomyces cerevisiae)를 이용하여 발효하고 이를 함유하는 화장료 조성물에 관한 것이다.

## 배경기술

[0002] 특허문헌 : 한국 출원번호 10-2001-0022014 호

## 발명의 내용

## 해결하려는 과제

이에, 본 발명자들은 상기 종래 기술보다 유효 성분을 최대한 높은 수율로 수득할 수 있는 방법을 찾고 이를 화 장료에 적용하기 위해 노력한 결과, 본원 발명의 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 제조하는 방법이 펩타이드 등을 포함한 유효 성분을 풍부하게 농축하고 있으며 이를 화장료에 적용하 여 본 발명의 항산화 효과 및 염증 반응 억제 효과를 나타내는 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[0004] 본 발명의 목적 및 장점은 하기의 발명의 실시를 위한 구체적인 내용 및 청구범위에 의해 보다 명확하게 된다.

#### 과제의 해결 수단

[0006]

[0007]

[0008]

[0009]

[0010]

[0011]

[0012]

[0013]

[0014]

[0015]

[0016]

[0017]

[0005] 상기와 같은 목적을 달성하기 위해 본 발명은 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스를 발효시킨 후 추출 및 여과하여 얻은 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물을 제공한다.

바람직하게는 상기 발효는 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스를 효모균, 유산균, 바실러스속 균 및 이의 혼합물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 균으로 20 내지 40 ℃의 온도 조건 하에서 pH 5 내지 7을 유지하면서, 1 내지 7일간 발효시켜 얻은 것을 특징으로 하는 화장료 조성물을 제공한다.

또한, 바람직하게는 상기 효모균이 사카로미세스 세레비시아(Saccharomyces cerevisisae)인 것을 특징으로하는 화장료 조성물을 제공한다.

또한, 바람직하게는 상기 추출 과정은 40 내지 90℃의 온도로 1 내지 24 시간

동안 처리하여 얻는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물을 제공한다.

또한, 바람직하게는 상기 추출이 정제수, 메탄올, 에탄올, 글리세린, 에틸아세테이트, 부틸렌글리콜, 프로필렌 글리콜, 디클로로메탄, 클로로포름, 에틸에테르, 부틸렌글리콜, 헥산 및 이의 혼합물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 용매를 사용하여 추출하는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물을 제공한다.

또한, 바람직하게는 상기 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물이 상기 화장료 조성물의 전체 중량을 기준으로 0.0001 내지 30.0 중량 %의 양으로 함유되는 것을 특징으로 한다.

또한, 바람직하게는 상기 화장료 조성물이 항산화 효과 및 염증 반응 억제 효과를 나타내는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물을 제공한다.

## 발명의 효과

본 발명에 의한 화장료 조성물은 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물의 유효 성분을 함유하여 피부 자극이 없고, 화장료용의 각종 기제 및 첨가제, 유기용제 등에 대한 용해성, 친화성 및 안정성이 좋았고, 특히 피부 탄력 개선 효과 및 염증 반응 억제 효과가 우수하였다.

본 발명은 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스를 발효시킨 후 추출 및 여과하여 얻은, 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물을 제공한다.

본 발명에 따르면, 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물은 유효성분인 펩타이드 함량이 증가되었으며, 항산화 효과(실험예 3), 염증 반응 억제 효과(실험예 4)가 뛰어나다.

따라서, 이러한 다양한 기능을 가진 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 유효성분으로 포함하는 본 발명의 화장료 조성물은 유효성분인 펩타이드의 함량이 높아 항산화 효과 및 염증 반응 억제 효과를 가져 유용하게 사용될 수 있다.

## 도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명에 따른 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물 농도에 따른 항산 화 효과를 나타내는 그래프,

도 2는 본 발명에 따른 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물 농도에 따른 염증 반응 억제 효과를 나타내는 그래프,

도 3은 본 발명에 따른 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물 농도에 따른 멜라닌 합성 저해 효과를 나타내는 그래프

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 본 발명은 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스를 발효,추출 및 여과하여 얻은 야로우, 보리

지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물에 관한 것으로 더욱 상세하게는 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스를 효모균, 유산균, 바실러스속 균 및 이의 혼합물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 발효 미생물을 이용하여 발효하고 이를 추출, 여과하여 펩타이드 함량이 증가된 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 유효 성분으로 함유하는 화장료 조성물을 개발하였다.

- [0019]
- 야로우(Achillea Millefolium)는 유라시아가 원산지이며 북미에 이식되어 순화되었다. 지금은 전세계적으로 대부분의 온대 지역에서 찾아볼 수 있다. 서양톱풀이라고 불리는 야로우는 상처 치료에 뛰어난 효과로 인정받은 허브 중의 하나이며, 톱, 칼, 낫 등의 도구에 다친 상처에 잘 듣는다고 하여 목수의 허브라는 별명도 가지고 있다. 또한 살균, 지혈, 수렴 작용이 있어 1차 세계대전 때에는 병사들이 들에 있던 야로우를 이용하여 상처 치료를 했다고 전해진다.
- [0020]
- 보리지(Borage)는 지중해 연안이 원산지이며 지치과 두해살이 허브로서 고대에 전쟁에 지친 병사들을 달래어 주기 위해 보라지 술을 담구어 나누어 주었다는 전설이 있으며, 보라지 잎은 오이향과 비슷한 향이 나는데 미네랄특히 칼슘, 칼륨이 많이 함유되어 있어서 이뇨, 진통, 발한, 정화, 피부연화작용이 우수하여 습진, 피부염, 진통, 피로회복, 해열, 정화 등에 효과가 탁월한 것으로 알려져 있다. 보라지 오일은 꽃과 잎에서 오일의 수증기 증류법에 의해 추출되는데 필수 지방산의 함유량이 특히 풍부한데 그 중에서도 감마리놀렌산 (GLA) 은 달맞이꽃 오일의 2배 이상 함유하고 있다. 감마 리놀렌산은 염증 매개에 중요한 사이토카인이나 프로스타글란딘을 함유하는 에코사나이드 (ecosaind)를 세포내 합성과정에 관여하기 때문에 염증의 발생과 억제에 중요한 역할을하는데, 보라지 오일은 풍부한 감마 리놀렌산으로 특히 아토피성 피부염에 탁월한 효과가 있다. 보라지 오일은 피부에 활력, 윤기, 탄성을 주기 위한 페이셜 트리트먼트에 적절하게 사용하고 있는 오일로, 습진이나 항균작용치료를 돕고 호르몬 분비를 활성화시켜 월경 증후군이나 가슴의 아픔 해소에도 도움이 되는 것으로 알려져 있다.
- [0021]
- 에버라스팅(Everlasting)은 북아프리카, 크레타, 지중해에 근접한 아시아 일부가 원산지이며 '영원한'이란 의미를 지니고 있으며 학명인 Helichrysum (헬리클리섬) 또는 '영원불멸'의 뜻을 가진 Immortelle(임모텔)이라고 부르기도 한다. 특히 에버라스팅 오일은 프랑킨센스, Spikenard, 장미와 함께 아주 고대부터 사용되어온 귀중한 신체의 치료제이면서, 마음의 상처까지 치유하는 귀중한 오일로 사용되었다고 한다.
- [0022]
- 레이디스맨틀(Lady's mantle)는 장미과(Rosaceae) 알케밀라속(Alchemilla)에 속하는 다년생초로서 특히 알케밀라 불가리스(A. vulgaris)를 말한다. 알케밀라 불가리스는 북반구 온대지방에 널리 퍼져 있으며 키가 60cm 정도까지 자란다. 잎은 너비 10cm 정도이며 긴 줄기에 달리는데, 모양이 둥글고 얕게 갈라졌으며 가장자리에 톱니가 있다. 꽃은 작고 녹황색이며 줄기 끝에 무리지어 핀다. 레이디스 맨틀의 날카로운 어린 잎은 스위스 차에 배합되고, 샐러드에 첨가된다. 우려낸 녹색의 잎액은 질(膣)의 가려움증을 경감시켜 주고, 출산 후 회복을 도와준다. 그리고 생리를 조절하며, 폐경기를 늦추어주는 것으로 알려져 있다.
- [0023]
- 유칼립투스 (Eucalyptus)는 상록의 교목으로서 높이는 보통 10m 정도인데, 때로는 15m 이상인 큰 나무도 있다. 잎은 길이 30cm나 되는 피침형으로 혁질이고 전체가 흰 분으로 덮여 있으며 향기를 낸다. 꽃은 녹백색으로 봄이되면 핀다. 꽃은 많은 수술을 가지는데, 이들은 꽃 밖으로 뻗어나와 있으며, 꽃받침통의 밑부분에는 잘 발달된 꽃턱이 있다. 열매는 이 꽃턱이 발달된 것이며, 씨는 열매의 팬 홈에 만들어지게 된다. 오스트레일리아가 원산지로, 잎에서는 유칼리유(油)를 짜내어사용한다.
- [0024]
- 상술한 바와 같은 본 발명의 화장료 조성물은 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스를 발효시킨 후 추출 및 여과하여 얻은 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물이다.
- [0025]
- 상기와 같은 성분으로 이루어지는 본 발명의 화장료 조성물은 피부 항산화 효과 및 염증 반응 억제 효과, 멜라 민 합성 저해 효과 등을 위한 화장료 조성물로 적합하다.
- [0026]
- 본 발명자들은 다양한 효능을 가지고 있는 펩타이드의 성분, 특히 여과 공정을 통한 최대한 높은 수율로 수득할 수 있는 방법을 찾을 찾기 위해 아래 기재한 방법과 같이, 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스를 발효시킨 후 추출 및 여과 공정을 거쳐 유효성분의 함량이 증가됨을 확인하였고, 이를 화장료에 적용하여 피부 탄력 개선 효과 및 염증 반응 억제 효과가 있음을 확인하여 본 발명을 완성하게 되었다.
- [0027]
- 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스는 건조중량을 기준으로 야로우 1 내지 30 중량부, 보리지 1 내지 30 중량부, 에버라스팅 1 내지 30 중량부, 레이디스맨틀 1 내

지 30 중량부, 유칼립투스 1 내지 30 중량부로 구성되는 것을 특징으로 하며 이들의 조합으로구성된 발효 추출물은 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스를 효모균, 유산균, 바실러스속 균 및 이의 혼합물로 이루어지는 군 중에서 선택되는 균으로 20 내지 40 ℃의 온도 조건 하에서 pH 5 내지 7을 유지하면서, 1 내지 7일간 발효시켜 얻을 수 있으며, 보다 바람직하게는 사카로미세스 세레비시아(Saccharomyces cerevisisae)를 이용하여 발효시키는 것이며, 가장 바람직하게는 사카로미세스 세레비시아 KCTC 7904 균주를 이용하여 발효시키는 것이다.

- [0028]
- 본 발명에 사용되는 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스는 일반적으로 알려진 방법으로 제조된 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스를 사용하였으며, 이들은 충분히 세척한 다음 건조분쇄한 후 300메시를 이용하여 미세하게 만들었다. 이것을 100g/L되게 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스를 사카로미세스 속 (사카로미세스 세레비시아 KCTC 7904) 균주 배양액에 첨가하였다. 여기에 탄소원으로 포도당 1 내지 4%를 사용하며 바람직하게는 1 내지 2%를 첨가하였으며, 펩톤 0.1~1%를 첨가하며 바람직하게는 0.2 내지 0.5% 를 추가로 첨가하여 배양하였다. 배양은 5L 발효조를 이용하여 20 내지 40℃의 온도 조건 하에서, pH 5 내지 7로 유지하면서 1 내지 7일간 배양하였다. 배양 후 배양액을 원심분리하여 배양균을 1차제거하였다.
- [0029]
- 또한 바람직하게는, 상기 추출은 40 내지 90 ℃의 온도로 1 내지 24 시간 동안 처리하며, 바람직하게는 40 내지 60℃의 온도로 12 내지 24시간 처리하는 것이며, 가장 바람직하게는 50℃의 온도로 24 시간 동안 처리한다.
- [0030]
- 또한 바람직하게는, 상기 추출이 정제수, 메탄올, 에탄올, 글리세린, 에틸아세테이트, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 디클로로메탄, 클로로포름, 에틸에테르, 부틸렌글리콜, 헥산 및 이의 혼합물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 추출용매를 사용하여 추출되며, 보다 바람직하게는 에탄올, 70% 에탄올 수용액 또는 물을 사용하여 추출되며, 가장 바람직하게는 70% 에탄올 수용액을 사용하여 추출한다.
- [0031]
- 추출한 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 최종 70%(V/V) 에탄올 수용액이 되도록 에탄올을 첨가하여 5시간씩 3회 환류 추출하고 냉침한 후, 와트만(Whatman) #2 여과지로 여과하였다. 여과가 완료되면 본 발명에서는 상기 추출단계에서 얻어진 추출액을 농축조로 이송하여 감압농축하고 이를 동결건조하였다. 감압농축은 로터리 감압농축기를 이용하여 농축하였으며 농축 조건은 1,000ml 라운드플라스크에 700ml의 추출물을 넣고 650mmHg 내지 750mmHg의 압력으로 50 내지 70℃, 600 내지 1200rpm으로 회전하면서 2시간동안 감압 농축하였다. 감압 농축한 농축액은 예비동결을 수행하여 -40℃로 온도를 낮추고 -40℃로 2 내지 4시간 동안 유지한 후 트랩 냉동을 통하여 -80까지 떨어트리고, 진공을 10~30mTorr로 유지한 다음 120분에 걸쳐 -40℃까지 다시 올린다. 그 후 -20℃로 240분, 0℃로 40분, 15℃로 340분, 30℃로 130분 유지하고 완전히 건조될때까지 1300분으로 유지하였다.
- [0032]
- 참고로, 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물은 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스를 발효하여 얻은 발효물을 초고압 처리 후 추출한 추출액이거나, 상기추출액을 진공, 농축 후 동결건조시킨 분말이거나, 상기 분말을 추출용매와 배합한 배합물이 바람직하다.
- [0033]
- 또한, 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물은 특정의 범위에 한정하는 것은 아니나, 바람직하게는 화장료 조성물의 총 중량에 대해 0.0001 내지 30중량% 함유되는 것이 좋다. 상기 추출물의 함량이 0.0001중량% 미만인 경우에는 피부개선 효과가 나타나지 않으며, 30중량% 이상인 경우에는 함유량 증가에 대한 효과 증대 정도가 미미하며, 제형상의 안전 및 안정성에 문제가 있으며 경제적이지도 못하다.
- [0034]
- 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분으로서 상기 유효성분 이외에 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함한다.
- [0035]
- 본 발명의 화장료 조성물은 당 업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0036]
- 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌 징 포옴, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0037]
- 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.

- [0038] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시 드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로 플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0039] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예 컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르 가 있다.
- [0040] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 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 이용될수 있다.
- [0041] 본 발명의 제형이 계면활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0042] 본 발명의 화장료 조성물이 비누, 계면활성제 함유 클렌징 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 클린징 제형은 클렌징폼, 클렌징 워터, 클렌징 수건 및 클렌징 팩이며, 상기 계면활성제 비함유 클렌징 제형은 클렌징크림, 클렌징 로션, 클렌징 워터 및 클렌징 젤이며, 이에한정되는 것은 아니다.
- [0043] 본 발명의 화장료 조성물은 피부 탄력 개선용, 염증 반응 억제용 화장료에 적용될 수 있다.
- [0044] 본 발명의 화장 방법은 본 발명의 화장료 조성물을 이용하는 모든 화장 방법을 일컫는다. 즉, 화장료 조성물을 이용하는 당업계에 공지된 모든 방법이 본 발명의 화장 방법에 속하다.
- [0045] 또한, 본 발명은 상기 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 포함하는 화장료 조성물을 이용하여 피부 탄력 개선 피부 효과 및 염증 반응 억제 효과를 얻을 수 있는 화장 방법을 제공한다.
- [0046] 본 발명의 화장 방법은 본 발명의 화장료 조성물을 인간의 피부에 도포하는 모든 화장 방법을 일컫는다. 즉, 화 장료 조성물을 피부에 도포하는 당업계에 공지된 모든 방법이 본 발명의 화장 방법에 속한다.
- [0047] 본 발명의 화장료 조성물은 단독 또는 중복 도포하여 사용하거나, 본 발명 이외의 다른 화장료 조성물과 중복 도포하여 사용할 수 있다. 또한 본 발명에 따른 혈행 개선 효과 및/또는 피부 탄력 개선 효과가 우수한 화장료 조성물은 통상적인 사용방법에 따라 사용될 수 있으며, 사용자의 피부 상태 또는 취향에 따라 그 사용횟수를 달리할 수 있다.
- [0048] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.
- [0049] <실시예 1> 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물 제조
- [0050] 야로우 20g, 보리지 20g, 에버라스팅 20g, 레이디스맨틀 20g, 유칼립투스 20g을 시료로 선별하여 충분히 세척 건조한 다음 300메시 체를 통과할 수 있도록 분쇄물을 미세하게 만들었다. 이 분쇄물의 고형분 기준 0.5% 수준으로 사카로미세스 속(사카로미세스 세레비시아 KCTC 7904) 균주 배양액을 용해하여 첨가하였다. 여기에 탄소원으로 포도당 1 내지 4%를 사용하며 바람직하게는 2%(W/V)를 첨가하였으며, 펩톤 0.1 내지 1%를 첨가하며 바람직하게는 0.5%(W/V)를 추가로 첨가하여 배양하였다. 배양은 5L 발효조를 이용하여, 37℃에서, pH 5-7로 유지하면서 바람직하게는 pH 6으로 유지하면서, 1 내지 7일간 바람직하게는 5일간 배양하였다. 미생물 배양 후 배양액을 원심분리하여 배양균을 1차 제거하였다. 배양균이 1차 제거된 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스를 50℃로 승온시키고 24시간 동안 초고압 처리한 후 실온으로 냉각시켰다. 초고압 처리한 야로우, 보리

지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효물을 최종 70%(V/V) 에탄올 수용액이 되도록 에탄올을 첨가하여 5시간씩 3회 환류추출하고 냉침한 후, 와트만(Whatman) #2 여과지로 여과하였다. 여과가 완료되면 본 발명에서 는 상기 추출단계에서 얻어진 추출액을 농축조로 이송하여 50℃ 이하에서 감압농축 후 동결 건조하였다. 동결건 조물을 50% 글리세린을 이용하여 2%가 되게 녹여 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물 20g (실시예1)을 제조하였다.

[0051] <실시예 2> 본 발명에 따른 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 함유한 영양 크림의 제조

정제수 부분을 80℃로 가온하여 용해하는 단계와 80℃로 가온 용해한 유상부분을 첨가하여 유화를 실시하는 단계와 60℃에서 가온 용해한 증점제를 첨가 혼합하는 단계와 냉각하여 미용성분을 첨가하여 혼합하는 단계와 30℃까지 냉각하여 탈포, 여과하는 단계와 50℃에서 숙성 제조하는 단계를 실시하여 표 1에서와 같이 영양 크림을 제조하였다.

丑 1

[0053]

[0055]

[0052]

분류	원료명	무게(중량%)
정제수부분	제수부분 정제수	
	프로필렌글리콜	5.0
	글리세린	6.0
	산탄검	0.1
	트리에탄올아민	0.7
	메칠파라벤	0.2
	페녹시에탄올	0.1
	본 발명의 발효 추출물	2.0
유상 성분	스쿠알란	8.0
	세틸알콜	2.2
	사이클로펜타실록산	2.0
	스테아린산	1.5
	글리세릴모노스테아레이트	1.0
	마이크로크리스탈린왁스	0.6
	피이지-100	0.3
	초산토코페롤	1.0
	쉬이버터	1.0
	프로필파라벤	0.1
	오리자놀	0.1
	비사보롤	0.2
	디메치콘	0.5
	모노스테아린산폴리옥시에칠렌소르비탄	0.8
증점제	카보머	0.24
	정제수	2.4
미용 성분	아스코르빈산나트륨	0.1
	인지질	1.0
	프라센타엑기스	0.5
	알로에엑기스	0.5
	토코페롤아세테이트	0.5
	알로에 추출물	1.0
합계		100.00

[0054] <실험예 1> 본 발명에 따른 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 함유한 영양 크림의 피부 자극성 및 보호 효과 확인

건강한 성인 남녀 30명(남자 15명, 여자 15명)의 전박부에 상기 실시예 3에서 제조한 영양 크림을 일정량  $(10\text{m}/5\text{cm}^2)$ 씩 도포하고, 그외의 부위를 알루미늄 호일로 차폐하여 30분 후에, 자외선 조사기를 이용하여 장파장

자외선을 10.2J/cm2의 용량으로 조사하고 24시간 후에 피부 상태(홍반, 부종, 구진 등)를 관찰하였다. 관찰 결과 피부에 홍반 등의 부작용이 발생되지 않아 상기 영양 크림은 광독성이 없으며 피부 보호 효과가 있다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 건강한 성인 남녀 60명(남자 30명, 여자 30명)을 2개 그룹으로 나누어 상기 실시예 2에서 제조한 영양 크림을 일정량(10m/5cm²)씩 도포한 실험군과 본 발명에 따른 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 함유하지 않고 실시예 2를 제조하여 대조군으로 하여 1시간, 3시간, 6시간후 피부 탄력성을 지름 10mm 테두리로 구성된 속이 비어있는 원통형으로 약 5N의 힘을 주어 자국이 사라지는 시간을 재어 비교해 본 결과 대조군에 비하여 각 시간별로 약 17% 수준으로 실험군에서 사라지는 것으로 보아 본 발명의 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 함유한 영양 크림의 사용에 의해 피부 탄력성이 개선되는 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

[0056] <실험예 2> 본 발명에 따른 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 함유한 영양 크림의 피부 안전성 확인 시험

[0057]

[0058]

[0059]

[0060]

[0061]

[0062]

건강한 성인 남녀 30명(남자 15명, 여자 15명)의 전박부에 상기 실시예 2에서 제조한 영양 크림을 인체 첩포 시험을 실시하였다. 시험대상자의 전박부를 70% 에탄올로 잘 닦은 다음 그 부위에, 통상의 화장료 기제에 상기 실시예 2에서 제조한 영양 크림을  $20\mu$ 신씩 담은 핀 챔버를 점착 테이프를 이용하여 24시간 폐쇄 부착시켰다. 24시간 후에 점착 테이프와 핀 챔버를 제거하고, 가제로 피부에 잔존된 시료를 가볍게 닦아 제거한 뒤에 피부 상태를 관찰하고 다시 24시간 후에 한번 더 관찰하였다. 실험 결과, 표 2에 나타난 바와 같이 본 발명에 따른 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물을 함유한 영양 크림의 피부 자극성을 확인하기위한 인체 첩포 시험에서 양성 반응을 보이지 않아 인체 피부에 자극성이 전혀 없는 것으로 확인되었다.

## 丑 2

시료	24시간 후(n=30)	48시간 후(n=30)	비고
영양 크림	0/30	0/30	반응양성자수/총대상자수

<실험예 3> 본 발명에 따른 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물의 농도에 따른 항산화 효과 측정 실험

실험에 3과 동일한 방법으로 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물의 대조군과 실험군의 샘플을 사용하였다. 세포에서의 에너지 생산에서는 미토콘드리아 호흡에 의한 부산물인 반응성 산소기 (ROS, reactive oxygen species)의 생성이 수반되며 이것은 단백질, 지방 및 핵산에 손상을 가져온다. 이러한 손상으로부터 세포 자체를 보호하기 위해 세포 내의 방어체계가 작동을 하지만 유리 라디칼의 생성과 항산화 체계의 균형이 깨어지면 산화스트레스가 세포에 작용하게 되어 신체노화를 비롯한 각종 성인병과 암의 주요 원인으로 작용한다. 따라서, 피부친화적이고 안정적인 식물을 원료로 항산화제 개발을 위해, 세포 내에 형성된 활성산소의 양을 측정하여 추출물에 대한 항산화능을 평가한다. DCFH-DA(2`,7`-dichlorofluorescin-diacetate)를 이용한 fluorimetric assay가 대표적인 평가법으로 DCFH-DA는 비극성분자로 용이하게 세포 내로 들어갈 수 있으며 세포 내의 esterase에 의해 비형광성 극성분자인 DCFH으로 분리된 후 세포 내의 활성산소에 의해 산화되면 형광성 DCF(2`,7`-dichlorofluorescin)로 전환되게 되고 이를 fluorometer로 측정하는 방법이다. 도 1에서 본 발명에 따른 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물의 농도에 따라 항산화 효과가 증가하는 것을 확인하였다.

<실험예 4> 본 발명에 따른 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물의 농도에 따른 염증 반응 억제 효과 측정 실험

실험예 3과 동일한 방법으로 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물의 대조군과 실험군의 샘플을 사용하였다. Nitric oxide (NO)는 혈압조절, 신경전달, 혈소판 응집억제, 면역기능 등의 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 여러 조직과 세포에서 L-arginine으로부터 nitric oxide synthase에 의해 합성된다. NOS는 크게 cNOS와 iNOS로 나눌 수 있으며, iNOS는 세포내 칼슘 농도에 비의존성이며 대식세포, 혈관평활근세포, 내피세포, 간세포와 심근세포 등 여러 세포에서 LPS, IFN-r, IL-1과 TNF-a등의 자극에 의해 활성화되어 장시간동안 다량의 NO를 생성한다. 그러나 NO가 필요 이상으로 생성되면 shock에 의한 혈관확장, 염증반응으로

유발되는 조직손상, 신경조직의 손상 등을 일으켜 생체에 유해한 작용을 나타낸다. 대식세포에서 L-arginine에 의해 생성된 NO는 종양세포와 균류를 제거하므로 면역반응에 관여하는 대식세포의 기능에 중요한 물질로서 작용한다. 또한 NO는 주요 혈관 확장물질로도 작용하는데 이런 경우에는 acetylcholine 이나 bradykinin을 수용체로 이용한다. 이때 주변의 평활근 세포로 확산된 NO가 cGMP를 증가시켜 결국 증가된 cGMP에 의해 근육세포를 이완시켜 혈관 확장을 일으킨다. 이와 같은 사실에 입각하여 현재 iNOS에 의한 NO의 생성을 저해하는 염증치료제 개발도 진행되고 있으며, 추출물에 대한 NO 생성능을 측정함으로써 염증반응 억제 효과를 판단할 수 있다.

실험 방법으로서는 Mouse macrophage cell인 RAW 264.7 cell에 염증 유발 물질인 LPS를 인위적으로 처리한 후염증 억제 효과가 있는지를 평가하였다. 96 well plate에 well 당  $2 \times 10^5$  cell 이 되도록 분주한 다음, 24시간 동안  $37^{\circ}$ C, 5% CO2 incubator에서 배양하였다. Overnight 한 다음, 새로운 배지로 교환해주고, LPS(1ug/ml)와 추출물을 농도 별로 투여하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 배지 상충액을 취해 13,000 rpm에서 3분 동안 원심분리하여 상등액만 모은 후, Griess reagent 시약과 1:1로 반응시키고, 570nm에서 흡광도를 측정하여 도 2에 나타내었다. 도 2에서 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 추출물 농도에 따른 Nitric Oxide 저해 효과가 나타났다.

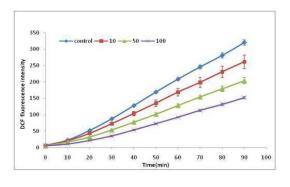
<실험예 5> 본 발명에 따른 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 발효 추출물의 농도에 따른 세포 내 멜라민 합성 저해 효과 측정 실험

멜라닌 세포는 피부 상피 조직의 기저층에 있는 분화된 세포인데, 이 세포는 멜라닌 소체라는 특수한 기관이 있어 멜라닌을 합성한다. 멜라닌은 자외선으로부터 피부를 보호하는 기능 및 cytotoxic radical의 scavenger로서 역할뿐만 아니라, 기미, 주근깨와 같은 색소 침착에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 현재, 미백 원료의 효능을 평가하기 위해 가장 일반적으로 in vitro tyrosinase 활성 억제 시험과 더불어 세포내 멜라닌 생성 저해 시험을 가장 많이 사용되고 있다. 본 실험은 B16-F1 세포에서 멜라닌 합성 저해실험을 통해 추출물의 미백 원료로서의 효능을 평가하였다. 도 3에서 야로우, 보리지, 에버라스팅, 레이디스맨틀, 유칼립투스 추출물 농도에 따른 멜라민 합성 저해 효과가 나타났다.

본 발명은 상기에서 언급한 바람직한 실시예와 관련하여 설명됐지만, 본 발명의 범위가 이러한 실시예에 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 범위는 이하의 특허청구범위에 의하여 정하여지는 것으로 본 발명과 균등 범위에 속하는 다양한 수정 및 변형을 포함할 것이다.

## 도면

## 도면1

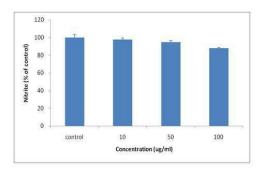


[0064]

[0065]

[0066]

# 도면2



# 도면3

