



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0055500
(43) 공개일자 2012년05월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0030272
(22) 출원일자 2012년03월24일
심사청구일자 2012년03월24일

(71) 출원인
주식회사 내추럴솔루션
인천광역시 남동구 능허대로 729, 504호 (고잔동)
장문식
경기도 수원시 장안구 금당로39번길 34, 조원주
공아파트 214동 804호 (조원동)

(주)웰크론

서울특별시 구로구 구로3동 214-24

(72) 발명자

이영규

서울특별시 구로구 구로동 212-24

김성중

서울특별시 구로구 구로동 212-24

(뒷면에 계속)

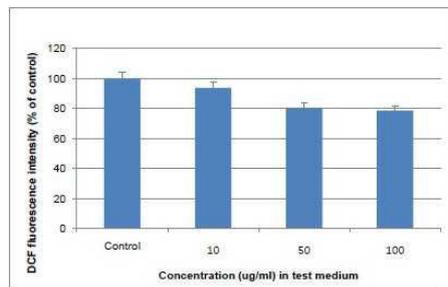
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 혼합 추출물을 유효 성분으로 하는 화장료 조성물**

(57) 요약

본 발명은 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초를 혼합하여 초음파 추출한 후 발효하여 얻은 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물을 유효 성분으로 함유하는 화장료 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 추출물에 발효 미생물 사카로마이세스 세레비시에(Saccharomyces cerevisiae)를 이용하여 발효하고 이를 추출하여 함유하는 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

박기정

서울특별시 구로구 구로동 212-24

김영태

경기도 수원시 팔달구 화서동 영광아파트 2-701

박송아

경기도 성남시 분당구 수내동 양지마을한양아파트
501-529

정옥순

서울특별시 송파구 신천동 파크리오아파트
312-2003

김동원

서울특별시 서초구 반포1동 713-1 반포 웨미리아
파트 101-501

유근실

경기도 수원시 권선구 호매실동 LG삼익아파트
103-1106

장문식

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

특허청구의 범위

청구항 1

강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물을 함유한 화장료 조성물

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 추출물은 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 혼합물을 초음파 추출하여 발효시켜 얻은 발효액을 여과, 농축한 후 건조시켜 제조되는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 추출물은 건조중량으로 0.0001 내지 30.0 중량% 양으로 함유되는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 추출물을 포함한 화장료 조성물은 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 추출물이 항산화 효과를 가지는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 혼합 추출물을 유효 성분으로 함유하는 화장료 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 추출물에 발효 미생물 사카로마이세스 세레비시에(Saccharomyces cerevisiae)를 이용하여 발효하고 이를 초음파 추출하여 함유하는 화장료 조성물에 관한 것이다.

배경기술

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

발명의 내용

해결하려는 과제

[0003] 이에, 본 발명자들은 상기 종래 기술보다 유효 성분을 최대한 높은 수율로 수득할 수 있는 방법을 찾고 이를 화장료에 적용하기 위해 노력한 결과, 본원 발명의 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 발효 추출물을 제조하는 방법이 펩타이드 등을 포함한 유효 성분을 풍부하게 농축하고 있으며 이를 화장료에 적용하여 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

[0005] 상기와 같은 목적을 달성하기 위해 본 발명은 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초를 발효시킨 후 추출 및 여과하여 얻은 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물을 제공한다.

[0006] 바람직하게는 상기 발효는 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초를 효모균, 유산균, 바실러스속 균 및 이의 혼합물로 이루어지는 균으로부터 선택되는 균으로 20 내지 40 ℃의 온도 조건 하에서 pH 5 내지 7을 유

지하면서, 1 내지 7일간 발효시켜 얻은 것을 특징으로 하는 화장료 조성물을 제공한다.

- [0007] 또한, 바람직하게는 상기 효모균이 사카로미세스 세레비시아(Saccharomyces cerevisiae)인 것을 특징으로 하는 화장료 조성물을 제공한다.
- [0008] 또한, 바람직하게는 상기 추출 과정은 40 내지 90℃의 온도로 1 내지 24 시간 동안 처리하여 얻는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물을 제공한다.
- [0009] 또한, 바람직하게는 상기 추출이 정제수, 메탄올, 에탄올, 글리세린, 에틸아세테이트, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 디클로로메탄, 클로로포름, 에틸에테르, 부틸렌글리콜, 헥산 및 이의 혼합물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 용매를 사용하여 추출하는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물을 제공한다.
- [0010] 또한, 바람직하게는 상기 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 발효 추출물이 상기 화장료 조성물의 전체 중량을 기준으로 0.0001 내지 30.0 중량 %의 양으로 함유되는 것을 특징으로 한다.
- [0011] 또한, 바람직하게는 상기 화장료 조성물이 항산화 효과 및 염증 반응 억제 효과를 나타내는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0012] 본 발명에 의한 화장료 조성물은 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 발효 추출물의 유효 성분을 함유하여 피부 자극이 없고, 화장료용의 각종 기재 및 첨가제, 유기용제 등에 대한 용해성, 친화성 및 안정성이 좋았고, 특히 피부 탄력 개선 효과 및 염증 반응 억제 효과가 우수하였다.
- [0013] 본 발명은 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초를 발효시킨 후 초음파 추출 및 여과하여 얻은, 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물을 제공한다.
- [0014] 본 발명에 따르면, 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물은 유효성분인 펩타이드 함량이 증가되었으며, 항산화 효과(실험예 3)가 뛰어나다.
- [0015] 따라서, 이러한 다양한 기능을 가진 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물을 유효성분으로 포함하는 본 발명의 화장료 조성물은 유효성분인 펩타이드의 함량이 높아 항산화 효과를 가져 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0016] 도 1은 본 발명에 따른 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물 농도에 따른 항산화 효과를 나타내는 그래프,
 도 2는 본 발명에 따른 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물의 농도에 따른 아질산이온 합성 저해능을 나타내는 그래프,
 도 3은 본 발명에 따른 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물의 농도에 따른 베타-헥소사미니다아제 방출 저해능을 나타내는 그래프

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0017] 본 발명은 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초를 발효, 초음파 추출 및 여과하여 얻은 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물에 관한 것으로 더욱 상세하게는 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초를 효모균, 유산균, 바실러스속 균 및 이의 혼합물로 이루어지는 군으로부터 선택되는 발효 미생물을 이용하여 발효하고 이를 추출, 여과하여 펩타이드 함량이 증가된 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물을 유효 성분으로 함유하는 화장료 조성물을 개발하였다.
- [0018] 상술한 바와 같은 본 발명의 화장료 조성물은 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초를 발효시킨 후 초음파 추출 및 여과하여 얻은 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물이다.
- [0019] 상기와 같은 성분으로 이루어지는 본 발명의 강화사자발췌, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추

출물은 항산화 효과가 우수하여 화장료 조성물의 원료로 사용하는데 적합하다.

- [0020] 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, 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초를 발효시킨 후 초음파 추출 및 여과 공정을 거쳐 유효성분의 함량이 증가됨을 확인하였고, 이를 화장료에 적용하여 항산화 효과가 있음을 확인하여 본 발명을 완성하게 되었다.
- [0021] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초는 건조중량을 기준으로 강화사자발쑀 1 내지 30 중량부, 어성초 1 내지 30 중량부, 익모초 1 내지 30 중량부, 눈연꽃 1 내지 30 중량부, 함초 1 내지 30 중량부로 구성되는 것을 특징으로 하며 이들의 조합으로 구성된 초음파 추출물을 효모균, 유산균, 바실러스속 균 및 이의 혼합물로 이루어지는 균 중에서 선택되는 균으로 20 내지 40 °C의 온도 조건 하에서 pH 5 내지 7을 유지하면서, 1 내지 7일간 발효시켜 얻을 수 있으며, 보다 바람직하게는 사카로미세스 세레비시아(*Saccharomyces cerevisiae*)를 이용하여 발효시키는 것이며, 가장 바람직하게는 사카로미세스 세레비시아 KCTC 7904 균주를 이용하여 발효시키는 것이다.
- [0022] 본 발명에 사용되는 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초는 일반적으로 알려진 방법으로 제조된 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초를 건조하여 사용하며, 이들은 충분히 세척한 다음 건조 분쇄한 후 300메시를 이용하여 미세한 분말로 제조하여 40 내지 60°C의 온도로 12 내지 24시간 처리하여 초음파 추출물을 얻는다. 이것을 100g/L되게 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초를 사카로미세스 속 (사카로미세스 세레비시아 KCTC 7904) 균주 배양액에 첨가한다. 여기에 탄소원으로 포도당 1 내지 4%를 사용하며 바람직하게는 1 내지 2%를 첨가하며, 펩톤 0.1~1%를 첨가하며 바람직하게는 0.2 내지 0.5% 를 추가로 첨가하여 배양하였다. 배양은 5L 발효조를 이용하여 20 내지 40°C의 온도 조건 하에서, pH 5 내지 7로 유지하면서 1 내지 7일간 배양하였다. 배양 후 배양액을 원심분리하여 배양균을 1차 제거하는 것을 특징으로 한다.
- [0023] 또한 바람직하게는, 상기 초음파 추출은 40 내지 90 °C의 온도로 1 내지 24 시간 동안 처리하며, 바람직하게는 40 내지 60°C의 온도로 12 내지 24시간 처리하는 것이며, 가장 바람직하게는 50°C의 온도로 24 시간 동안 처리한다.
- [0024] 상기 초음파 추출 방법에서 초음파란 인간의 귀로 들을 수 없는 높은 진동수의 소리를 말한다.
- [0025] 본 발명의 한방 식물 추출물의 제조에 사용된 초음파 추출 방법은 장점은 초음파 에너지 변화의 세기를 조절할 수 있는 특징을 가진다. 그리하여 추출 효율이 매우 높으며 약리 활성을 나타내는 유효 성분의 변성 및 파괴 가능성을 최소화시키며, 생산 속도가 기존의 전통적 열수 추출 방법보다 빠르므로 추출시간을 단축시키며 이로 인하여 저비용 저에너지 사용이라는 특징을 가지는 것을 확인하였다.
- [0026] 또한 바람직하게는, 상기 추출이 정제수, 메탄올, 에탄올, 글리세린, 에틸아세테이트, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 디클로로메탄, 클로로포름, 에틸에테르, 부틸렌글리콜, 헥산 및 이의 혼합물로 이루어지는 균으로부터 선택되는 추출용매를 사용하여 추출되며, 보다 바람직하게는 에탄올, 70% 에탄올 수용액 또는 물을 사용하여 추출되며, 가장 바람직하게는 70% 에탄올 수용액을 사용하여 추출한다.
- [0027] 상기와 같이 추출된 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물을 최종 70%(V/V) 에탄올 수용액이 되도록 에탄올을 첨가하여 5시간씩 3회 환류 추출하고 냉침한 후, 왓만(Whatman) #2 여과지로 여과한다. 여과가 완료되면 본 발명에서는 상기 추출단계에서 얻어진 추출액을 농축조로 이송하여 감압농축하고 이를 동결 건조한다. 감압 농축은 로터리 감압농축기를 이용하여 농축하였으며 농축 조건은 1,000ml 라운드플라스크에 700ml의 추출물을 넣고 650mmHg 내지 750mmHg의 압력으로 50 내지 70°C, 600 내지 1200rpm으로 회전하면서 2시간동안 감압 농축한다. 감압 농축한 농축액은 예비동결을 수행하여 -40°C 로 온도를 낮추고 -40°C로 2 내지 4시간 동안 유지한 후 트랩 냉동을 통하여 -80까지 떨어트리고, 진공을 10~30mTorr로 유지한 다음 120분에 걸쳐 -40C까지 다시 올린다. 그 후 -20°C로 240분, 0°C로 40분, 15°C로 340분, 30°C로 130분 유지하고 완전히 건조될 때까지 1300분으로 유지한다.
- [0028] 참고로, 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물은 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초를 발효하여 얻은 발효물을 초고압 처리 후 추출한 추출액이거나, 상기추출액을 진공, 농축 후 동결건조시킨 분말이거나, 상기 분말을 추출용매와 배합한 배합물이 바람직하다.
- [0029] 또한, 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 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 항산화 효과가 나타나지 않으며, 30중량% 이상인 경우에는 함유량 증

가에 대한 효과 증대 정도가 미미하며, 제형상의 안전 및 안정성에 문제가 있으며 경제적이지도 못하다.

- [0030] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분으로서 상기 유효성분 이외에 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함한다.
- [0031] 본 발명의 화장료 조성물은 당 업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0032] 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0033] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 진분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0034] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0035] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [0036] 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 이용될 수 있다.
- [0037] 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.
- [0038] 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 클렌징 제형은 클렌징폼, 클렌징 워터, 클렌징 수건 및 클렌징 팩이며, 상기 계면활성제 비함유 클렌징 제형은 클렌징크림, 클렌징 로션, 클렌징 워터 및 클렌징 겔이며, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0039] 본 발명의 화장료 조성물은 피부 탄력 개선용, 염증 반응 억제용 화장료에 적용될 수 있다.
- [0040] 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 속한다.
- [0041] 또한, 본 발명은 상기 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 발효 추출물을 포함하는 화장료 조성물을 이용하여 항산화 효과를 얻을 수 있는 화장 방법을 제공한다.
- [0042] 본 발명의 화장료 조성물을 인간의 피부에 도포하는 모든 화장 방법을 일컫는다. 즉, 화장료 조성물을 피부에 도포하는 당업계에 공지된 모든 방법이 본 발명의 화장 방법에 속한다.
- [0043] 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.
- [0044] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체

적으로 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.

[0045] <실시예 1> 강화사자발쑉, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물 제조

[0046] 강화사자발쑉 20g, 어성초 20g, 익모초 20g, 눈연꽃 20g, 함초 20g을 시료로 선별하여 충분히 세척 건조한 다음 300메시 체를 통과할 수 있도록 분쇄물을 미세하게 만들어 40 내지 60℃의 온도에서 12시간 초음파 추출하여 초음파 추출물을 얻었다. 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%를 첨가하여 배양하였다. 배양은 5L 발효조를 이용하여, 37℃에서, pH 5-7로 유지하면서, 5일간 배양하였다. 미생물 배양 후 배양액을 원심분리하여 배양균을 1차 제거하였다. 배양균이 1차 제거된 강화사자발쑉, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초를 50℃로 승온시키고 24시간 동안 초고압 처리한 후 실온으로 냉각시켰다. 초고압 처리한 강화사자발쑉, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효물을 최종 70%(V/V) 에탄올 수용액이 되도록 에탄올을 첨가하여 5시간씩 3회 환류추출하고 냉침한 후, 와트만(Whatman) #2 여과지로 여과하였다. 여과가 완료되면 본 발명에서는 상기 추출단계에서 얻어진 추출액을 농축조로 이송하여 50℃ 이하에서 감압농축 후 동결 건조하였다. 동결건조물을 50% 글리세린을 이용하여 2%가 되게 녹여 강화사자발쑉, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물 20g (실시예1)을 제조하였다.

[0047] <실시예 2> 본 발명에 따른 강화사자발쑉, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물을 함유한 영양 크림의 제조

[0048] 정제수 부분을 80℃로 가온하여 용해하는 단계와 80℃로 가온 용해한 유상부분을 첨가하여 유희를 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.

표 1

[0049]

분류	원료명	무게(중량%)
정제수부분	정제수	60.36
	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
모노스테아린산폴리옥시에틸렌소르비탄	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

[0050] <실험예 1> 본 발명에 따른 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물을 함유한 영양 크림의 피부 자극성 및 보호 효과 확인

[0051] 건강한 성인 남녀 30명(남자 15명, 여자 15명)의 전박부에 상기 실시예 3에서 제조한 영양 크림을 일정량(10m/5cm²)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 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물을 함유하지 않고 실시예 2를 제조하여 대조군으로 하여 1시간, 3시간, 6시간 후 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 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물을 함유한 영양 크림의 사용에 의해 피부 탄력성이 개선되는 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

[0052] <실험예 2> 본 발명에 따른 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물을 함유한 영양 크림의 피부 안전성 확인 시험

[0053] 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 화장품 기체에 상기 실시예 2에서 제조한 영양 크림을 20μl씩 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 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초로 구성된 발효 추출물을 함유한 영양 크림의 피부 자극성을 확인하기 위한 인체 첩포 시험에서 양성 반응을 보이지 않아 인체 피부에 자극성이 전혀 없는 것으로 확인되었다.

표 2

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

[0055] <실험예 3> 본 발명에 따른 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 발효 추출물의 농도에 따른 항산화 효과 측정 실험

[0056] 실험예 3과 동일한 방법으로 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 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 깨지면 산화스트레스가 세포에 작용하게 되어 신체의 노화를 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'-dichlorofluorescein)로 전환되게 되고 이를 fluorometer로 측정하는 방법이다. 도 1에서 본 발명에 따른 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 발효 추출물의 농도에 따라 항산화 효과가 증가하는 것을 확인하였다.

[0057] <실험예 4> 본 발명에 따른 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 발효 추출물의 농도에 따른 아질산 이온 합성 저해능 측정 실험

[0058] 실험예 3과 동일한 방법으로 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 발효 추출물의 대조군과 실험군의 샘플을 사용하였다. 염증의 발현 기전에는 다양한 매개체가 관여하고 있으며, 그 병의 원인도 다양하다. 대식 세포에 엔도톡신으로 알려져 있는 LPS(lipopolysaccharide)를 처리하면 iNOS(inducible NOS) 발현에 의해 NO생합성이 증가하며 염증 반응이 유도된다. NO는 많은 세포들이 분비하는 병리적인 2차 신호전달물질이며 COX의 활성을 조절하고 염증반응에 상승적으로 작용한다. Raw264.7 세포에서 LPS에 의해 유도되는 NOS에 의해 생성되는 NO를 측정하여 본 발명에 따른 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 발효 추출물의 염증반응 억제 효과를 관찰할 수 있다. 도 2에서 본 발명에 따른 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 발효 추출물의 농도에 따라 염증 반응 억제 효과가 관찰되는 것을 확인하였다.

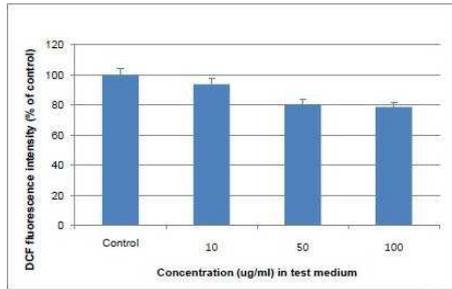
[0059] <실험예 5> 본 발명에 따른 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 발효 추출물의 농도에 따른 베타-헥소사미니다아제 방출 저해능 측정 실험

[0060] 실험예 3과 동일한 방법으로 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 발효 추출물의 대조군과 실험군의 샘플을 사용하였다. 실험 방법에 사용되는 원리로서 아토피성 피부염에서 혈중 호산구수와 혈청 IgE 양의 증가가 나타나며, 이는 아토피성 피부염의 대표적인 지표로써 아토피성 피부염의 초기반응은 항원의 자극에 의해 항체 IgE가 생산된 후 항체가 비만세포 표면의 high affinity receptor에 결합하였을 때 항원이 재침입하면 수용체와 결합하고 있는 항체와 결합하여 비만세포 내로 신호를 빠르게 전달하여 알레르기를 일으키는 화학적 매개물질 (cytokine, histamine, leukotrienes)을 분비한다. Histamine 등의 매개물질에 의해서 혈관 투과성을 증가시키고, 혈관을 확장시키고, 평활근을 수축시키며, 분비선의 기능을 항진시키는 특징적인 반응을 일으키게 되며, 동반되는 염증반응에는 비만세포, 호산구, T세포에서 분비되는 인터루킨 등 여러가지 사이토카인에 의해 호산구가 염증 부위로 이동하는 것이 중요하다. Histamine과 함께 중요한 매개체로 작용하는 것으로 beta-hexosaminidase가 있으며, 세포로부터 beta-hexosaminidase의 방출 또한 면역세포 탈과립의 지표로 사용된다. 도 3에서 본 발명에 따른 강화사자발쑀, 어성초, 익모초, 눈연꽃, 함초 발효 추출물의 농도에 따라 beta-hexosaminidase 방출되는 양이 적어지므로 염증 반응 억제 효과가 농도에 따라 나타나는 것을 확인하였다.

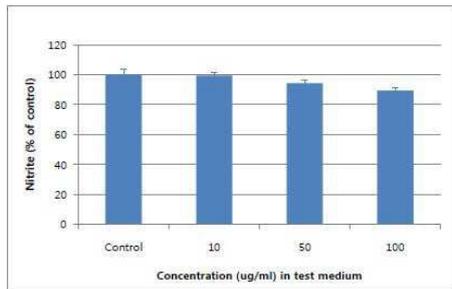
[0061] 본 발명은 상기에서 언급한 바람직한 실시예와 관련하여 설명됐지만, 본 발명의 범위가 이러한 실시예에 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 범위는 이하의 특허청구범위에 의하여 정하여지는 것으로 본 발명과 균등 범위에 속하는 다양한 수정 및 변형을 포함할 것이다.

도면

도면1



도면2



도면3

