



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년02월25일
 (11) 등록번호 10-1951649
 (24) 등록일자 2019년02월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 A61K 8/9789 (2017.01) A61K 8/34 (2006.01)
 A61Q 17/00 (2006.01) A61Q 19/10 (2006.01)
 A61Q 5/00 (2006.01)
 (52) CPC특허분류
 A61K 8/9789 (2017.08)
 A61K 8/347 (2013.01)
 (21) 출원번호 10-2018-0060641
 (22) 출원일자 2018년05월28일
 심사청구일자 2018년05월28일
 (56) 선행기술조사문헌
 KR100772575 B1*
 CN101338327 A*
 WO2011099665 A1*
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
주식회사 케이투케이바이오
 충청북도 청주시 청원구 오창읍 각리1길 7, 505호(오창벤처프라자)
주식회사 티에스트릴리온
 서울특별시 영등포구 양평로 96, 1층,6층,8층(양평동4가, 티에스빌딩)
주식회사 코스메카코리아
 충청북도 음성군 대소면 대금로196번길 17-12
 (72) 발명자
이재섭
 충청북도 청주시 상당구 가덕면 상대2길 36-34
김윤석
 충청북도 청주시 청원구 오창읍 양청길 83-1, 힐하우스207호
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
특허법인 케이투비

전체 청구항 수 : 총 7 항

심사관 : 김현태

(54) 발명의 명칭 레스베라트롤 함량이 증가된 호장근추출물의 제조방법과 이를 함유하는 항진균용 조성물

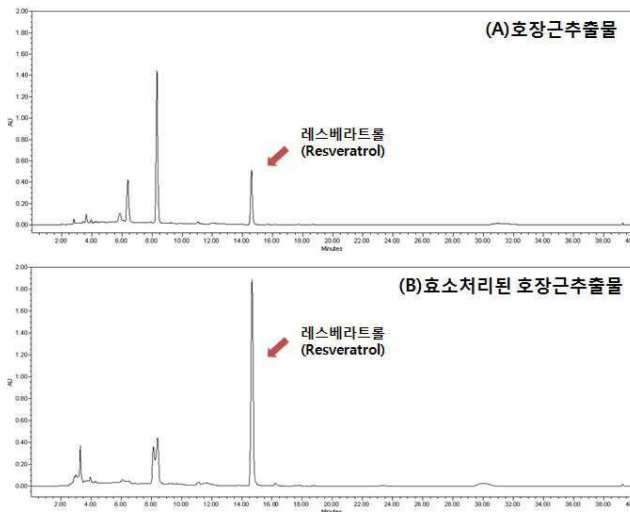
(57) 요약

본 발명은 레스베라트롤 함량이 증가된 호장근추출물의 제조방법과 이를 함유하는 항진균용 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 호장근(*Polygonum cuspidatum*) 추출물을 당-가수분해 효소반응을 통해 다량의 레스베라트롤 함량이 증가한 추출물을 제조하는 방법 및 이를 유효성분으로 포함하는 항진균용 조성물에 관한 것이다.

본 발명을 통해, 호장근 추출물을 당-가수분해효소 처리함으로써 기존의 호장근 추출물의 레스베라트롤 배당체로부터 당이 제거된 호장근 레스베라트롤을 제공할 수 있는 효과가 있다.

또한, 상기 호장근 레스베라트롤을 유효성분으로 포함하는 조성물은, 두피의 비듬을 유발시키는 말라세지아속 진균에 대한 항진균력이 있으므로, 비듬을 예방 또는 개선하는데 사용할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61Q 17/005 (2013.01)

A61Q 19/10 (2013.01)

A61Q 5/006 (2013.01)

(72) 발명자

장기영

경기도 고양시 일산서구 현중로 13, 1302동 1903호(탄현동, 탄현마을13단지아파트)

차영권

경기도 용인시 기흥구 중부대로 375, 101동 1701호(신갈동, 기흥역롯데캐슬스카이)

서훈기

경기도 성남시 중원구 금상로 134, 111동 1205호(상대원동, 선경상대원2차아파트)

서아영

경기도 성남시 분당구 불정로 362, 609동 202호(서현동, 화성아파트)

명세서

청구범위

청구항 1

세절하여 음건한 호장근 수피 또는 뿌리줄기를 열수 추출하고, 추출액에 대하여, 감압농축 및 분무건조를 반복 하되, 감압농축 및 분무건조는 잔류용매가 완전히 제거되어 분말상태가 될 때까지 반복하여, 호장근 추출물을 제조하여, 호장근추출물 20g중량비를 초산완충용액(pH 5.5)에 용해시키고, 여기에 효소 5g중량비를 준비하되, naringinase 2.0g 중량비, α -amylase 1.0g 중량비, β -glucanase 1.0g 중량비, β -glucosidase 0.5g 중량비 및 amyloglucosidase 0.5g중량비로 구성된 효소로서, 이 효소를 첨가하여 37℃ 수욕상에서 교반시키면서, 박층 크로마토그래피에 의해 8시간 간격으로 확인하고, 기질이 완전히 소실된 48시간 후 열수중에서 10분간 가열하여 반응한 후, 반응액을 동량의 메탄올로 3회 추출, 여과, 농축하여 생성물 7.5g중량비를 얻는 것을 특징으로 하는 레스베라트롤 함량이 증가된 호장근추출물의 제조방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,

제조된 호장근 추출물을 조성물 총중량에 대해 0.0001 - 5.0 중량%의 양으로 함유하는 것을 특징으로 하는 항진균용 조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 호장근추출물은,

말라세지아속 진균인 말라세지아 퍼퍼(*Malassezia furfur*), 말라세지아 글로보사(*Malassezia globosa*) 및 말라세지아 레스트릭타(*Malassezia restricta*)로 이루어진 군에서 선택되는 항진균용 조성물.

청구항 4

제 2항에 있어서,

상기 항진균용 조성물을 유효 성분으로 포함하는 비듬의 예방, 개선 또는 치료용인, 항진균용 조성물.

청구항 5

제 2항에 있어서,

상기 항진균용 조성물을 유효 성분으로 포함하는 화장료 조성물.

청구항 6

제 2항에 있어서,

상기 항진균용 조성물을 유효 성분으로 포함하는 모발 화장료 조성물.

청구항 7

제 2항에 있어서,
상기 항진균용 조성물을 유효 성분으로 포함하는 세정제 조성물.

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 레스베라트롤 함량이 증가된 호장근추출물의 제조방법과 이를 함유하는 항진균용 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 호장근(*Polygonum cuspidatum*) 추출물을 당-가수분해 효소반응을 통해 다량의 레스베라트롤 함량이 증가한 추출물을 제조하는 방법 및 이를 유효성분으로 포함하는 항진균용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 진균(fungus)이란, 곰팡이, 효모, 버섯을 포함한 미생물군을 말하는데, 대부분 스스로 영양분을 합성할 수 없어 다른 생물체에 기생하여 사는 특징이 있다.
- [0003] 사람에게는 죽어서 벗겨지는 세포가 많이 분포하는 두피, 모발, 얼굴, 팔, 다리, 손톱이나 발톱 등 피부에 감염 되는 질환이다.
- [0004] 상기 진균 중 말라세지아속(*Malassezia* sp.) 진균은 인간이나 동물의 피부 표면에 주로 위치하며, 말라세지아 파치더마티스(*Malassezia pachydermatis*), 말라세지아 퍼피(*Malassezia furfur*), 말라세지아 글로보사(*Malassezia globosa*), 말라세지아 심포디알리스(*Malassezia sympodialis*), 말라세지아 슬로오피에(*Malassezia slooffiae*), 말라세지아 오브투사(*Malassezia obtusa*), 말라세지아 레스트릭타(*Malassezia restricta*) 등의 종류가 있다.
- [0005] 주로 피부 표면에서 서식하므로 비듬, 지루성 피부염, 모낭염, 어루러기, 아토피 피부염 등 다양한 피부 질환과 관련 있는 것으로 알려져 있다.
- [0006] 특히, 지루성 피부염 중 지루성 두피염은 일반 성인에게 빈번하게 발생하며 정확한 원인은 밝혀지지 않았으나 말라세지아 속(*Malassezia* sp.) 진균이 주요 원인으로 추정되고 있다.
- [0007] 따라서, 시중에서 항진균제로 케토코나졸(Ketoconazole)과 같은 합성물과 타르, 살리실산 등이 사용되고 있으나 인체에 대한 안전성이 제기되고 있다.
- [0008] 이에 인체에 안전하면서 비듬을 억제할 수 있는 물질에 대한 연구가 필요한 실정이다.
- [0009] 따라서, 보다 우수한 항진균 원료를 찾고자 하는 연구의 일환으로, 호장근의 단순추출물의 경우, 생체외에서는 유효한 효능을 나타내지만, 실제로 이를 함유하는 화장료를 피부에 도포하였을 때는 그 효과가 만족스럽지 못한 문제점이 있었다.
- [0010] 일반적으로, 효과적인 피부 투과를 위해서는 친수성의 성질을 지니고 있는 물질보다는 소수성의 물질이 더 효과적이다.
- [0011] 왜냐하면, 피부의 각질층 중에 분포되어 있는 세라미드 성분 사이를 통과하기 위해서는 친수성의 물질보다는 소수성의 물질이 세라미드와의 상호작용에 더 효과적이며, 보다 자유롭게 피부 최외각 층을 통과할 수 있기 때문이다.

- [0012] 따라서, 본 발명자들은 상기 호장근추출물의 효능효과를 나타내는 주성분이 레스베라트롤(resveratrol)임을 확인하였으며, 레스베라트롤이 항산화, 항암, 항염증, 항균 및 항진균에 등의 약리학적 효능이 우수한 것으로 보고되고 있다(Athar et al., Toxicology and Applied Pharmacology, 224:274, 2007; Filip et al., Food Chemistry, 83:585, 2003).
- [0013] 상기 레스베라트롤과 같은 플라보노이드는 대부분 당(sugar) 한 분자 이상이 결합된 배당체(glycosides)로서 자연계에 존재하고 분자량이 상대적으로 크며, 수용성의 성질도 일부 지니기 때문에 각직층을 쉽게 통과하지 못하고 이에 따라 피부 내부로의 유입이 어렵게 되어 효과적으로 흡수가 어렵다는 문제점이 있다.
- [0014] 이처럼 호장근 추출물의 주요활성 성분인 호장근 레스베라트롤이 세정제, 화장료 또는 모발 화장료 조성물에 포함되어 비듬증 예방 또는 피부에 효과적으로 흡수될 수 있도록 효소 처리한 경우는 없으며, 특히 호장근추출물을 당-가수분해 효소처리한 경우는 없었다.
- [0015] 따라서, 본 발명에서는 호장근(*Polygonum cuspidatum*) 추출물을 당-가수분해 효소반응을 통해 다량의 레스베라트롤 함량이 증가한 추출물을 제조하는 방법 및 이를 유효성분으로 포함하는 항진균용 조성물에 대하여 제안하고자 하는 것이다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0016] (특허문헌 0001) 대한민국공개특허공보 제10-2010-0058331호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0017] 본 발명의 목적은 당이 제거된 호장근 레스베라트롤 성분이 증가된 호장근 추출물이 말라세지아속 진균의 억제력을 통해서 비듬증의 억제, 예방 또는 피부 흡수력이 뛰어나고, 기존의 호장근 추출물보다 우수한 항진균력 효과를 제공하는데 있다.
- [0018] 본 발명의 다른 목적은 호장근 추출물 또는 이로부터 분리한 레스베라트롤 배당체를 효소 처리하여 당이 제거된 레스베라트롤을 포함하는 호장근 추출물을 제공하는 것이다.
- [0019] 본 발명의 또 다른 목적은 효소 처리를 통해 당이 제거된 레스베라트롤을 다량으로 함유하여 말라세지아속 진균의 억제를 통해서 비듬증의 억제, 예방, 또는 치료를 위한 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0020] 본 발명의 과제를 해결하기 위한, 레스베라트롤 함량이 증가된 호장근추출물의 제조방법은,
- [0021] 호장근 추출물을 효소 처리하여 주요활성 성분인 플라보노이드를 가수분해시키는 것을 특징으로 한다.
- [0022] 이때, 상기 가수분해는 당-가수분해효소 반응에 의하여 이루어지는 것을 특징으로 한다.
- [0023] 이때, 상기 당-가수분해효소 반응에서 사용되는 효소는 당결합 분해 효소 및 이들을 함유하고 있는 복합효소제로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 한다.
- [0024] 이때, 상기 당결합 분해 효소는 α -아밀라제(α -amylase), α , β -글루코시다제(α , β -glucosidase), β -글루카네이제(β -glucanase) 및 아밀로글루코시다제(amyloglucosidase)로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 한다.
- [0025] 또한, 항진균용 조성물은 상기 제조 방법에 의해 제조된 호장근 추출물을 조성물 총중량에 대해 0.0001 - 5.0 중량%의 양으로 함유하는 것을 특징으로 한다.
- [0026] 이때, 상기 호장근추출물은,
- [0027] 말라세지아속 진균인 말라세지아 퍼퍼(*Malassezia furfur*), 말라세지아 글로보사(*Malassezia globosa*) 및 말라세지아 레스트릭타(*Malassezia restricta*)로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

- [0028] 본 발명인 레스베라트롤 함량이 증가된 호장근추출물의 제조방법과 이를 함유하는 항진균용 조성물을 통해, 호장근 추출물을 당-가수분해효소 처리함으로써 기존의 호장근 추출물의 레스베라트롤 배당체로부터 당이 제거된 호장근 레스베라트롤을 제공할 수 있는 효과가 있다.
- [0029] 또한, 상기 호장근 레스베라트롤을 유효성분으로 포함하는 조성물은, 두피의 비듬을 유발시키는 말라세지아속 진균에 대한 항진균력이 있으므로, 비듬을 예방 또는 개선하는데 사용할 수 있다.
- [0030] 또한, 상기 조성물은 피부 흡수력이 뛰어나고, 세포 독성이 없고, 피부 자극을 유발하지 않는 효과를 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0031] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 호장근 추출물의 효소처리 전과 후의 레스베라트롤 함량 변화를 확인한 액체 크로마토그래피 도면이다.
- 도 2는 본 발명의 일실시예에 따른 호장근 추출물의 디스크 확산법에 의해 말라세지아 퍼피(*Malassezia furfur*)에 대한 항진균력을 확인한 도면이다.
- 도 3은 본 발명인 호장근 추출물의 농도에 따른 말라세지아 퍼피(*Malassezia furfur*)에 대한 항진균력을 확인한 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0032] 본 발명의 일실시예에 따른 레스베라트롤 함량이 증가된 호장근추출물의 제조방법은,
- [0033] 호장근추출물을 효소처리하여 주요활성성분인 플라보노이드를 가수분해시키는 것을 특징으로 한다.
- [0034] 이때, 상기 가수분해는 당-가수분해효소 반응에 의하여 이루어지는 것을 특징으로 한다.
- [0035] 이때, 상기 당-가수분해효소 반응에서 사용되는 효소는 당결합 분해 효소 및 이들을 함유하고 있는 복합효소제로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 한다.
- [0036] 이때, 상기 당결합 분해 효소는 α -아밀라제(α -amylase), α, β -글루코시다제(α, β -glucosidase), β -글루카네이제(β -glucanase) 및 아밀로글루코시다제(amyloglucosidase)로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 한다.
- [0037] 또한, 상기의 제조 방법에 의해 제조된 호장근추출물을 조성물 총중량에 대해 0.0001 - 5.0 중량%의 양으로 함유하는 것을 특징으로 한다.
- [0038] 이때, 상기 호장근추출물은,
- [0039] 말라세지아속 진균인 말라세지아 퍼피(*Malassezia furfur*), 말라세지아 글로보사(*Malassezia globosa*) 및 말라세지아 레스트릭타(*Malassezia restricta*)로 이루어진 군에서 선택되는 항진균용 조성물인 것을 특징으로 한다.
- [0040] 이때, 상기 항진균용 조성물을 유효 성분으로 포함하는 비듬의 예방, 개선 또는 치료용을 제공할 수 있다.
- [0041] 이때, 상기 항진균용 조성물을 유효 성분으로 포함하는 화장료 조성물을 제공할 수 있다.
- [0042] 이때, 상기 항진균용 조성물을 유효 성분으로 포함하는 모발 화장료 조성물을 제공할 수 있다.
- [0043] 이때, 상기 항진균용 조성물을 유효 성분으로 포함하는 세정제 조성물을 제공할 수 있다.
- [0044] 이하, 본 발명에 의한 레스베라트롤 함량이 증가된 호장근추출물의 제조방법과 이를 함유하는 항진균용 조성물의 실시예를 통해 상세히 설명하도록 한다.
- [0045] 본 발명의 목적은, 호장근 추출물을 효소 처리하여 주요활성 성분인 레스베라트롤 배당체를 가수분해시킴으로써, 비배당체 형태의 레스베라트롤 함량이 증가된 호장근 추출물을 제조한다.
- [0046] 상기 효소 가수분해반응에 사용되는 효소는 당 결합을 가수 분해하는 당-가수분해효소 및 이들을 함유하고 있는 복합 효소제로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다.

- [0047] 상기의 당-가수분해효소에는 α -아밀라제(α -amylase), α , β -글루코시다제(α , β -glucosidase), β -글루카네이제(β -glucanase), 아밀로글루코시다제(amyloglucosidase) 등이 있으며, 이들 중 1종 이상을 선택하여 사용할 수 있다.
- [0048] 또한, 상기 복합효소제로는 나린지나제(naringinase), 셀룰라제(cellulase), 펙티나제(pectinase) 등이 있으며, 이들 중 1종 이상을 선택하여 사용할 수 있다.
- [0049] 아울러, 상기 당-가수분해효소와 상기 복합효소를 동시에 사용할 수 있음은 물론이다.
- [0050] 또한, 본 발명은 호장근 추출물을 유효성분으로 함유하는 말라세지아속 진균의 억제제를 통해서 비듬증의 억제, 예방, 또는 치료를 위한 조성물을 제공하고자 한다.
- [0051] 또한, 본 발명은 상기 호장근추출물을 함유하는 세정제 조성물, 화장료 조성물, 또는 모발 화장료 조성물을 제공한다.
- [0052] 본 발명에서는 설명하고 있는 호장근은 다년초인 호장(*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.), 왕호장(*Polygonum sachalinense* F. Schmidt ex Maxim.) 및 둥근잎호장(*Polygonum ellipticum* Migo) 등 마디풀과(*Polygonaceae*)에 속하는 호장의 뿌리 및 근경을 말린 것으로, 호장근은 옛날부터 민간에서 이뇨, 통경제, 진정제로 사용되어 왔으며, 완하, 이뇨, 통경, 화농성 피부염, 뇨도염, 방광염, 고혈압, 암 동맥경화 등의 여러 질병을 치료하기 위하여 우리나라를 비롯하여 동양권의 전통의학에서 이용되어 왔다.
- [0053] 구체적으로, 호장 및 왕호장은 다년생 초본으로서 1미터 이상 자라며, 줄기에는 적자색의 반점이 있고 속이 비어 있는데, 근경은 옆으로 뻗으며 황갈색이다 잎은 호생하고 난형 또는 난상 타원형이며 끝이 뾰족하다 6 ~ 8월에 백색 꽃이 피는데 이가화(二家花)이고, 과실이 열리는 시기는 9~10월이며, 잎은 호장엽이라 하여 약용한다 전국에 분포하며 산야의 습윤한 곳에서 잘 자란다.
- [0054] 호장근에는 거풍(祛風), 이뇨(利尿), 구어혈(驅瘀血) 및 소종(消腫) 등의 작용이 있어서, 풍습성 동통(風濕性疼痛), 수종(水腫), 임탁(淋濁), 월경불순, 산후악로불하(産後惡露不下), 간염, 황달, 타박성 동통, 골수염, 치질, 악창 및 종양 등의 치료에 예로부터 사용되고 있다. (원색 천연약물대사전, 남산장, 1989).
- [0055] 그리고, 호장근의 주요 성분으로는 배당체인 폴리곤닌(polygonin), 폴리다틴(polydatin) 및 폴리다토사이드(polydatoside) 등이 있고, 옥시안트라퀴논체인 에모닌(emodin), 에모딘-모노메틸에테르(emodinmonomethylether) 및 크리소파놀(chrysophanol) 등이 있으며, 플라보노이드인 이소귀시트린(isoquercitrin) 및 레스베라트롤(resveratrol) 등이 함유되어 있다.(중약대사전, 1985; 신정화 한약, 의치약출판(주), 1980)
- [0056] 본 발명의 호장근 추출물은 호장근 천연물을 추출 용매로서, 정제수, 메탄올, 에탄올, 글리세린, 에틸아세테이트, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 디클로로메탄 및 헥산 중에서 선택된 1종 이상의 용매를 사용하여 추출한 후, 호장근 추출물에서 당이 제거된 것으로 호장근추출물을 효소를 이용하여 가수분해하는 방법으로 제조한다.
- [0057] 상기 호장근 추출물을 산완충액에 용해시키고, 여기에 효소 또는 효소 혼합물을 첨가하여 수욕상에서 교반시키면서 박층크로마토그래피에 의해 주기적으로 확인하여 기질이 완전히 소실되면 열수 중에서 가열하여 반응을 종료시킨 다음, 반응액은 동량의 유기용매를 이용하여 추출, 여과, 농축하여 생성물 레스베라트롤 물질을 얻는다.
- [0058] 예를 들어, 호장근 추출물을 20mM 초산완충용액(pH 5.5)에 용해시키고, 여기에 단일효소(α -amylase α , α , β -glucosidase, β -glucanase, amyloglucosidase, naringinase, cellulase, pectinase 등) 또는 이들의 혼합물을 첨가하고 25 ~ 55 $^{\circ}$ C 수욕상에서 24 ~ 72시간 동안 교반시키면서, 박층 크로마토그래피에 의해 주기적으로 확인하여 기질이 완전히 소실되면 열수 중에서 10분간 가열하여 반응을 종료시킨 다음, 반응액은 동량의 메탄올로 3회 추출, 여과, 농축하여 생성물 레스베라트롤 물질을 얻는다.
- [0059] 또한, 상기의 방법으로 추출한 레스베라트롤을 함유하는 항진균용 조성물을 제공한다.
- [0060] 상기 조성물은, 말라세지아속(*Malassezia* sp) 진균에 대한 항진균 조성물일 수 있다.
- [0061] 상기 말라세지아속 진균은 말라세지아 퍼퍼(*Malassezia furfur*), 말라세지아 레스트릭타(*Malassezia restricta*), 말라세지아 오브투사(*Malassezia obtusa*), 말라세지아 글로보사(*Malassezia globosa*), 말라세지아 슬로오피아에(*Malassezia slooffiae*), 말라세지아 심포디아리스(*Malassezia sympodialis*) 및 말라세지아 파키더마티스(*Malassezia pachydermatis*)로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상일 수 있다.

- [0062] 따라서, 본 발명에서 상기 조성물은 비듬의 예방 및 개선용 조성물을 특징으로 한다.
- [0063] 한편, 본 발명에서 "유효성분으로 포함된다"는 의미는 본 발명의 조성물로부터 피부 상태의 개선 효과를 나타낼 수 있는 정도로 조성물에 호장근 추출물이 첨가되는 것을 의미하고, 성분 전달 및 안정화 등을 위하여 다양한 성분을 부성분으로 첨가하여 다양한 형태로 제형화하는 것을 포함하는 의미이다.
- [0064] 또한, 본 발명은 화장품 또는 모발 화장품의 유효성분으로 함유하는 호장근추출물이 비듬균에 대한 항진균 효과가 우수한 것을 특징으로 한다.
- [0065] 또한, 본 발명은 상기 화장품 조성물이 샴푸, 화장수, 젤, 수용성 리퀴드, 크림, 에센스, 수중유(O/W)형 및 유중수(W/O)형으로 이루어진 기초 화장품 제형을 의미할 수 있다.
- [0066] 그리고, 수중유형 또는 유중수형의 메이크업베이스, 파운데이션, 스킨케어, 립스틱, 립그로스, 페이스파우더, 투웨이케어, 아이세도, 치크칼라 및 아이브로우 펜슬류 중에서 선택된 화장품 조성물임을 특징으로 한다.
- [0067] 또한, 본 발명은 모발 화장품 조성물이 모발 영양화장수, 헤어 세럼, 헤어 로션, 헤어 크림, 헤어 에센스, 헤어 오일, 스칼프 트리트먼트, 샴푸, 린스, 헤어 컨디셔너, 헤어 트리트먼트, 스타일링 젤, 헤어 무스, 헤어 왁스 및 헤어 스프레이로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상으로 제형화되는 것을 의미할 수 있다.
- [0068] 본 발명에서 조성물이란 바람직하게는 피부 외용제 조성물을 의미하고, 피부외용제 조성물이란, 일반적으로 피부에 적용되는 조성물 전부를 의미하고, 의약품, 의약부외품, 화장품 등을 포함하는 것이다.
- [0069] 본 발명의 균주의 유효성분의 피부 외용제에 대한 배합량은 조성물 총량을 기준으로 0.0001 ~ 10%로 하는 것이 바람직하고, 보다 바람직하게는 0.01 ~ 1%이다.
- [0070] 이하, 실시예를 통해 본 발명을 좀 더 구체적으로 설명한다. 단, 이들 실시예는 본 발명의 예시적인 기재일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되는 것은 아니다.
- [0071] <실시예 1> 호장근 추출물의 제조
- [0072] 세절하여 음건한 호장근 수피 또는 뿌리줄기를 열수 추출하였다.
- [0073] 상기 열수 추출에 의해 획득된 추출액에 대하여 감압 농축 및 분무 건조를 반복하였다.
- [0074] 감압 농축 및 분무 건조는 잔류 용매가 완전히 제거되어 분말 상태가 될 때까지 반복하여 호장근 추출물을 제조하였다.
- [0075] <실시예 2> 효소분해방법을 통한 호장근추출물의 레스베라트롤 제조
- [0076] 상기 실시예 1에서 수득한 호장근 추출물 20g을 1000mL의 20mM 초산완충용액(pH 5.5)에 용해시키고, 여기에 효소 5g(naringinase 2.0g, α -amylase 1.0g, β -glucanase 1.0g, β -glucosidase 0.5g, amyloglucosidase 0.5g ; Sigma)을 첨가하여 37℃ 수욕상에서 교반시키면서 박층 크로마토그래피에 의해 8시간 간격으로 확인하고, 기질이 완전히 소실된 48시간 후, 열수 중에서 10분간 가열하여 반응을 종료시켰다.
- [0077] 반응액을 동량의 메탄올로 3회 추출, 여과, 농축하여 생성물 7.5g을 얻었다.
- [0078] <실시예 3> 효소 처리된 호장근 추출물의 성분 및 함량 확인 실험
- [0079] 본 실시예 3은 실시예 1과 실시예 2에서 수득한 호장근 추출물의 주요성분 중, 페놀성 물질, 플라보노이드 등의 정성 분석 및 총 페놀 함량, 총 플라보노이드, 그리고 레스베라트롤 함량 변화를 확인하기 위해 다음과 같이 수행하였다.
- [0080] 1) 정성 분석
- [0081] (1) 페놀성 물질, 플라보노이드의 경우에는 추출액에 2.5% FeCl₃ 에탄올 용액을 1 ~ 2 방울 떨어뜨려 방치할 때, 암녹색으로 정색하거나 침전의 생성 여부를 관찰하였다.
- [0082] (2) 플라보노이드 배당체의 경우에는 진한 황산법을 이용하여 추출물 5 mL에 진한 황산을 점적하여 황색 및 황적색 침전의 생성을 관찰하였다.
- [0083] (3) 당의 경우에는 추출액에 5% α -나프톨 알콜 시액 2 ~ 3 방울을 넣은 후, 농황산을 기벽을 통하여 가할 때 경계면에 적자색이 나타나는지 관찰하였다.

- [0084] 2) 함량 분석
- [0085] (1) 총 페놀 함량의 경우에는 추출액 1 mL에 증류수 10 mL을 첨가한 후, 2 mL의 Folin-Ciocalteu phenol reagent(Sigma-Aldrich)첨가하여 혼합한 다음, 실온에서 5분간 반응시킨다.
- [0086] 이 반응물에 20% 소듐 카보네이트를 2 mL 첨가하여 혼합한 다음, 상온에서 1시간 시킨 후, 680nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0087] 이때, 지표물질은 갈릭산(gallic acid, Sigma-Aldrich)을 사용하였다.
- [0088] (2) 총 플라보노이드 함량의 경우에는 추출액 1.5 mL에 동량의 메탄올에 용해된 2% AlCl₃ · 6H₂O를 혼합한 다음, 상온에서 10분간 반응을 시킨 후, 367nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0089] 이때 지표물질은 카테킨(catechin, Sigma-Aldrich)을 사용하였다.
- [0090] (3) 레스베라트롤 함량의 경우에는 추출물 1g을 달아 메탄올에 녹여 정확하게 50 mL로 한 후, 0.45 um 필터로 여과한 액을 20 uL를 정확하게 취해 액체크로마토그래피를 실시하였다.
- [0091] 구체적으로는 Alliance 2695 system (Waters)에 컬럼(Shidedo Capcell PAK C18, 4.6 mm X 250 mm, 5 um)을 장착한 후, 용매로는 물/메탄올(v/v)(20:70 → 0:100)를 사용하고, 용리 속도는 0.5 mL/min이었으며, UV 305nm 파장에서 검출하였다.
- [0092] 분석 시간은 40분으로 하여 측정하였다(도 1 참조).
- [0093] 이때, 지표물질은 레스베라트롤(resveratrol, Sigma-Aldrich)을 사용하였다.

표 1

시료명	총 페놀함량 (ug/mg of extract)	총 플라보노이드 함량 (ug/mg of extract)	레스베라트롤 함량 (ug/mg of extract)
실시예 1	487.4	69.8	23.7
실시예 2	690.8	112.7	40.9

- [0095] 상기 표 1과 같이, 총 페놀, 총 플라보노이드 및 레스베라트롤 함량의 결과는 당-가수분해효소 처리된 호장균 추출물이 총 플라보노이드 함량이 높았으며, 특히, 레스베라트롤 함량은 2배 이상 증가하였다.
- [0096] 실험예 1-1 : 항진균력의 측정
- [0097] 상기 실시예 2에서 수득한 호장균 추출물의 말라세지아속(*Malassezia* sp.) 진균에 대한 항진균력을 측정하기 위하여 Agar-Disc diffusion assay를 실시하였다.
- [0098] 구체적으로, 락토바실러스 쿠르바투스 J2K01 균주의 배양물을 0.1 mL을 직경 8 mm, 두께 1.5 mm의 paper disk (Advantec Filter Paper, Toyo Roshi Kaisha Ltd, JP)에 흡수시키고 증발시킨 다음, mLNA agar 배지에 말라세지아 퍼퍼(*Malassezia furfur*) (KCTC 7744)가 1 X 10⁷ 내지 1 X 10⁸ cfu/mL 농도로 도달된 평판배지에 올려 항균 활성을 시험하였다.
- [0099] 말라세지아 퍼퍼(*Malassezia furfur*)가 도달된 평판배지는 37°C에서 2일간 배양한 다음, 디스크 주변에 형성된 억제환의 크기를 자로 재어 결과를 판독하였으며, 그 결과는 도 2에 나타내었다.
- [0100] 실험예 1-2 : 항진균력의 측정
- [0101] 상기 실시예 2에서 수득한 호장균 추출물의 말라세지아속(*Malassezia* sp.) 진균에 대한 항진균력을 측정하기 위하여 시료 농도의 배양 시간에 따른 말라세지아 퍼퍼(*Malassezia furfur*) (KCTC 7744)의 억제 정도를 Agar plate counting을 통하여 확인하였다.
- [0102] 구체적으로, mLNA 액상 배지를 넣은 4개의 캡 유리시험관에 락토바실러스 쿠르바투스 J2K01 균주의 배양물이 0%, 1%, 5%, 10%가 되도록 시료 농도를 구배하였다.
- [0103] 각 시험관에 말라세지아 퍼퍼를 1 X 10⁶ cfu/mL 농도가 되도록 접종 후 37°C에서 진탕 배양하였다.
- [0104] 배양 0시간과 12시간 간격으로 2일간, 각 시험 샘플로부터 1mL를 취하여 생리 식염수에 1/10 연속 희석을 실시

하고 이를 mLNA agar에 도말 후, 37℃에서 2일 배양하여 생성된 콜로니 수를 확인하여 생균수를 판독하였다.

[0105] 그 결과, 호장근 추출물은 농도가 증가할수록 말라세지아 피부에 대한 항진균력이 증가함을 알 수 있었다.(도 3 참조)

[0106] 실험예 2: 시료의 세포독성

[0107] 상기 실시예 2에서 수득한 호장근 추출물의 피부 세포에 대한 세포독성을 평가하였다.

[0108] 96-웰 시험 플레이트에 세포배양 배지(DMEM에 10% FBS가 첨가된 것)에 희석된 섬유아세포(fibroblast)를 1×10^5 cells/mL개씩 넣고 24시간 동안 부착시켰다.

[0109] 실시예 2에서 수득한 시료를 각 웰에 적절한 농도로 희석하여 처리한 후, 24시간 동안 배양하였다.

[0110] 24시간이 지나면 배지를 제거하고, 각 웰 당 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) 용액(2.5 mg/mL)이 함유된 세포배양 배지 200 μ L를 넣은 후 2시간 동안 37℃ CO₂배양기에서 배양하였다.

[0111] 배지를 제거하고 DMSO(Dimethyl sulfoxide)를 100 μ L씩 넣어주었다.

[0112] 5분간 진탕하여 세포를 용해시킨 후, 마이크로플레이트 판독기에서 565 nm 흡광도를 측정하였다.

[0113] 수학식 1과 같이, 세포생존율(%)을 정하였으며, 세포의 생존에 영향을 미치지 않는 시료의 농도를 결정하였다.

[0114] <수학식 1>

[0115]
$$\text{세포생존율}(\%) = \frac{(St - Bo)}{(Bt - Bo)} \times 100$$

[0116] Bo: 세포배양 배지만을 발색 반응한 웰의 565 nm 흡광값.

[0117] Bt: 시료를 처리하지 않고, 발색 반응한 웰의 565 nm 흡광값.

[0118] St: 시료를 처리하고, 발색 반응한 웰의 565 nm 흡광값.

표 2

[0119]

시료명	100% 세포 생존 농도
실시예 2	4%
실시예 2	2%
실시예 2	1.5%
실시예 2	0.5%

[0120] 상기 표 2와 같이, 피부 섬유아세포의 100% 생존 처리농도는 실시예 2의 호장근 추출물이 5% 이하로, 이는 일반적으로 화장품에 사용되는 농도를 고려하였을 때, 피부 자극 유발 가능성이 적은 안전한 시료인 것을 의미하는 것이다.

[0121] 실험예 3: 피부자극 완화 효과

[0122] 상기 실시예 2에서 수득한 호장근 추출물을 함유한 화장료의 자극 완화 효과를 인체 첩포 시험으로 평가하였다.

[0123] 일반적 화장품 처방(크림, 로션, 스킨, 에센스)에 자극을 일으키는 SLS(Sodium lauryl sulfate) 1%와 실시예 4에서 제조된 제품을 혼용하여 24시간, 48시간, 72시간 동안 첩포하여 자극 유발지수를 바탕으로 자극완화 효과를 평가한 것이다.

[0124] 20 ~ 50세의 건강한 남녀 50명의 팔 상박 부위에 FINN CHAMBER(FINLAND)를 이용하여 각각의 제품을 0.3 mg씩 첩포하고, 24시간 후 급성 자극 지수를 평가하였다.

[0125] 평가 후, 제차 동일한 부위에 동량의 제품을 첩포하여 48시간 및 72시간 후의 지연성 자극 지수를 평가하였다.

[0126] 시험 결과, SLS를 단독으로 첩포한 부분은 24시간 후부터 피부에 붉게 자극이 나타났으나, 본 발명의 호장근 추출물을 함유하는 제품을 첩포한 경우에는 24시간, 48시간, 72시간 경과 후에도 아무런 피부 발작을 일으키지 않았다.

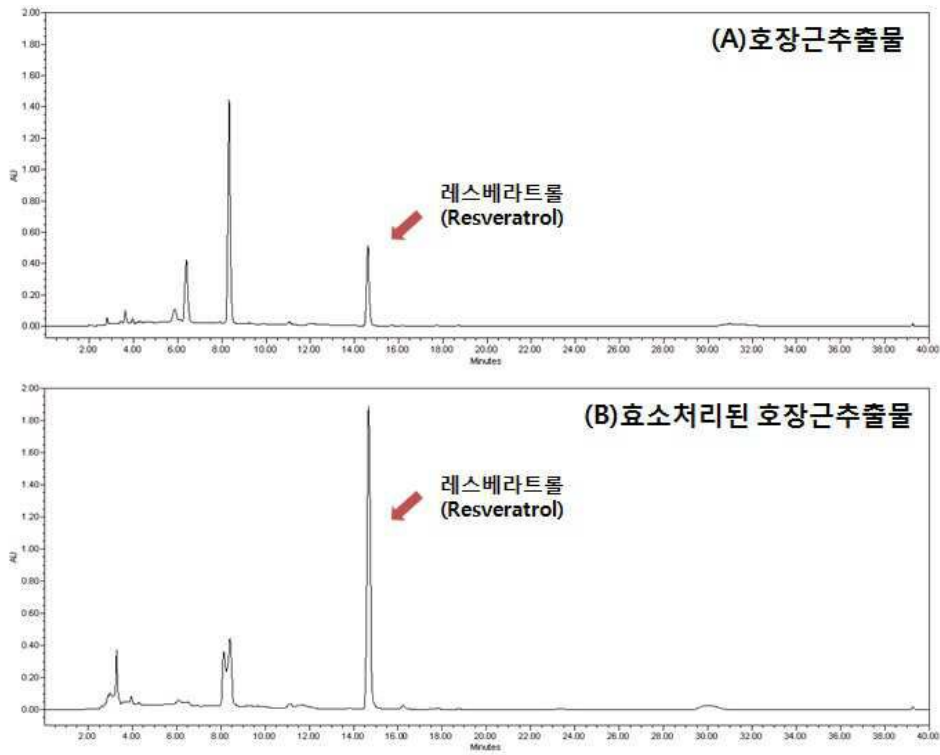
- [0127] 이 결과는 본 발명의 호장근 추출물이 화장료에 혼용되었을 때 자극을 유발시키는 기재(계면 활성제, 향, 알콜)에 의한 피부 자극을 감소시킬 수 있는 유의미한 효과가 있음을 나타내는 것이다.
- [0128] 이하에서는 그 외의 실시예를 나타내었다.
- [0129] 즉, 실시예 2에서 수득한 본 발명의 호장근 추출물을 함유한 샴푸, 화장수, 유액 및 미용액을 실시예 4 내지 7과 같이, 제조하였다.
- [0130] <실시예 4> 본 발명의 호장근 추출물을 함유하는 샴푸 제조
- [0131] 95% 에탄올 5g에 암모늄라우레스설페이트 5g, 코실베타인 5g, 알킬에테르설페이트 0.5g, 실리콘 0.5g, 폴리쿼터 0.2g, 향료 0.2g, 보존제 0.02g를 혼합하여 혼합액을 획득하였다.
- [0132] 이때, 실시예 2에서 수득한 본 발명의 호장근 추출물 5g, 글리세린 5g을 정제수 85.33g에 용해한 것에 상기 혼합액을 첨가한 후, 교반하여 샴푸를 얻었다.
- [0133] <실시예 5> 본 발명의 호장근 추출물을 함유하는 화장수 제조
- [0134] 95% 에탄올 8g에 폴리피로리돈 0.05g, 올레일알콜 0.1g, 폴리옥시에틸렌모노올레이트 0.2g, 향료 0.2g, 파라옥시안식향산메틸에스테르 0.1g, 소량의 산화방지제, 소량의 색소를 혼합하여 혼합액을 획득하였다.
- [0135] 이때, 실시예 2에서 수득한 본 발명의 호장근 추출물 10g, 글리세린 5g을 정제수 85.33g에 용해한 것에 상기 혼합액을 첨가한 후, 교반하여 화장수를 얻었다.
- [0136] <실시예 6> 본 발명의 호장근추출물을 함유한 유액 제조
- [0137] 세틸알콜1.2g, 스쿠알란 10g, 바세린 2g, 파라옥시안식향산에틸에스테르 0.2g, 글리세린모노에스테아레이트 1g, 폴리옥시에틸렌(20몰 부가)모노올레이트 1g 및 향료 0.1g을 70℃에서 가열 및 혼합하여 용해하였다.
- [0138] 이때, 실시예 2에서 수득한 본 발명의 호장근 추출물 0.5g, 디프로필렌글리콜 5g, 폴리에틸렌글리콜-1500 2g, 트리에탄올아민 0.2g, 정제수 76.2g을 75℃로 가열해서 용해하였다.
- [0139] 양자를 혼합하여 유화시킨 후, 냉각하여 수중유(O/W)형의 유액을 얻었다.
- [0140] <실시예 7> 본 발명의 호장근 추출물을 함유한 미용액 제조
- [0141] 95% 에틸알콜 5g에 폴리옥시에틸렌솔비탄모노올레이트 1.2g, 키토로오즈 0.3g, 히아루론산나트륨 0.2g, 비타민 E-아세테이트 0.2g, 감초산 나트륨 0.2g, 파라옥시안식향산에틸에스테르 0.1g에, 실시예 2에서 수득한 본 발명의 호장근 추출물 1g 및 적량의 색소를 혼합하여 미용액을 얻었다.
- [0142] 본 발명에 의하면, 레스베라트롤 함량이 증가된 호장근추출물의 제조방법과 이를 함유하는 항진균용 조성물을 통해, 호장근 추출물을 당-가수분해효소 처리함으로써 기존의 호장근 추출물의 레스베라트롤 배당체로부터 당이 제거된 호장근 레스베라트롤을 제공할 수 있는 효과가 있다.
- [0143] 또한, 상기 호장근 레스베라트롤을 유효성분으로 포함하는 조성물은, 두피의 비듬을 유발시키는 말라세지아속 진균에 대한 항진균력이 있으므로, 비듬을 예방 또는 개선하는데 사용할 수 있다.
- [0144] 또한, 상기 조성물은 피부 흡수력이 뛰어나고, 세포 독성이 없고, 피부 자극을 유발하지 않는 효과를 제공하게 된다.
- [0145] 상기와 같은 내용의 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시된 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다.
- [0146] 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구 범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

부호의 설명

- [0147] 없음.

도면

도면1



도면2



Malassezia furfur (KCTC 7744)

도면3

