



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년11월27일
(11) 등록번호 10-1333676
(24) 등록일자 2013년11월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0081691
(22) 출원일자 2013년07월11일
심사청구일자 2013년07월11일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020060032372 A
KR1019990040966 A
KR1020100098080 A
KR1020030089160 A

(73) 특허권자
주식회사 더마랩
강원도 원주시 문막읍 문막공단길 231
(72) 발명자
박종만
강원도 태백시 장성동 삼성연립 A동 303호
이대우
강원도 원주시 명륜2동 청구아파트 207동 1205호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
권혁철

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 박정민

(54) 발명의 명칭 달맞이꽃, 갈근, 술잎 및 유근피 혼합추출물을 포함하는 모공축소 및 피지분비 억제용 화장료 조성물

(57) 요약

본 발명은 달맞이꽃, 갈근, 술잎 및 유근피의 혼합추출물을 포함하는 모공 축소 및 피지분비 억제 효과를 가지는 화장료 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 달맞이꽃, 갈근, 술잎 및 유근피 추출물은 프리라디칼 소거능, 5 α -리덕타아제 활성 저해율 및 모공축소 활성이 우수하다.

(72) 발명자

최성규

경기도 안양시 동안구 범계동 평촌목련2단지대우선
경아파트 208동 1303호

하정옥

인천광역시 부평구 삼산1동 서해그랑블 202동 280
1호

특허청구의 범위

청구항 1

달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피의 혼합추출물을 포함하는 모공 축소 및 피지분비 억제용 화장료 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 혼합추출물은 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피가 1:1:1:1의 중량비로 혼합되어 추출되어진 것임을 특징으로 하는 모공축소 및 피지분비 억제용 화장료 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 혼합추출물은 초음파 추출에 의하여 얻어진 것임을 특징으로 하는 모공 축소 및 피지분비 억제용 화장료 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물을 조성물의 총 중량에 대하여 0.001 ~ 10중량%를 포함하는 모공 축소 및 피지분비 억제용 화장료 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 화장료조성물은 유연화장수, 영양화장수, 영양로션, 영양크림, 맛사지크림, 영양세럼, 에센스 또는 팩의 제형인 것임을 특징으로 하는 모공 축소 및 피지분비 억제용 화장료 조성물.

청구항 6

- A) 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피를 세척 건조 후 혼합하는 단계;
- B) 생약 건조물의 중량에 대한 10~50배 중량의 용매를 가하여 50~80℃로 1~2시간 초음파 추출하는 단계;
- C) 여과 후 5~10일간 방치하는 단계; 및
- D) 여과 후 농축하는 단계를 포함하는 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피 혼합추출물의 제조방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 생약 혼합 추출물을 함유하는 화장료에 관한 것으로, 구체적으로 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피의 혼합 추출물을 함유하여 모공축소 및 피지분비 억제 활성을 갖는 화장료 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 모공(hair follicle)은 털이 자라나는 구멍으로 피지선과도 연결되어 있어 피지선에 만들어 내는 피지가 모공을 통해 피부 표면으로 나오게 된다. 모공의 지름은 대략 0.02~0.05mm 정도이지만, 계절, 나이 등에 의해서 늘어나기도 한다. 손바닥, 발바닥, 입술 등을 제외하고는 전신 피부에 존재하며, 주로 얼굴, 목, 가슴에 많이 분포한다. 모공에 붙어 있는 피지샘은 피지를 분비하는데 피지는 외부로부터 피부를 보호하고 세균 감염을 막아 주며 피부를 촉촉하게 하는 기능을 한다. 피지샘은 사춘기 전에는 혼적만 있고 활동을 하지 않고 있다가 사춘기가 되어 몸에서 성 호르몬이 왕성하게 만들어지면 피지샘이 커지고 많은 피지를 생산하여 모공 밖으로 배출하게 된다. 사춘기에는 활발한 피지샘의 활동으로 여드름과 같은 질환이 발생하는 반면, 나이가 들면서 피부샘의 기능이 떨어져서 피부가 건조하게 되고 가려움 등을 유발하게 된다. 모공은 피지가 과다하게 분비하는 사춘기 시절에 넓어진다. 사춘기가 되면 호르몬의 영향으로 피지의 분비가 많아지고 모공은 이를 배출하기 위해 넓어진다. 또한 모공이 밖으로 배출되는 과정에서 피지가 모공 안에서 머물게 되면 정체된 피지가 모공을 더욱 넓힌다. 모공이 넓어지는 또 다른 이유로는 피부의 노화를 들 수 있다. 피부의 노화는 모공을 지지하는 역할을 하는 콜라겐 섬유와 탄력 섬유의 변성이나 감소에 영향을 준다. 그 결과, 모공을 지지해 주는 힘이 부족하게 되면서 모공은 자연스럽게 넓어진다. 모공이 넓어지면 세균들이 침입하기 쉬우므로 여드름과 같은 피부트러블을

유발하기 쉽다. 그러므로 모공 및 피지의 관리는 중요하다.

[0003] 대한민국 공개특허 제2011-0047717호에는 밤꽃 추출물을 유효 성분으로 포함하는 모공 축소 또는 피지 분비 억제용 조성물이 개시되어 있으며, 대한민국 공개특허 제2013-0016929호에는 박하잎 추출물, 밀싹 추출물 및 길경 추출물을 유효성분으로 포함하는 모공 축소 또는 피지분비 억제용 화장료 조성물이 개시되어 있다.

[0004] 본 발명자들은 모공 및 피지 관리에 적합한 천연물에 대하여 연구하던 중 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피의 혼합추출물이 그 상승작용에 의하여 우수한 모공축소 및 피지분비 억제활성이 있는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 따라서 본 발명의 목적은 모공 축소 및 피지분비 억제 활성이 우수한 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피 생약 혼합추출물을 함유하는 모공축소 및 피지분비 억제용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[0006] 본 발명의 다른 목적은 모공 축소 및 피지분비 억제 활성이 우수한 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피 생약 혼합추출물의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명에 따르면, 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피의 혼합추출물을 포함하는 모공 축소 및 피지분비 억제용 화장료 조성물이 제공된다. 이 때 상기 혼합추출물은 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피의 1:1:1:1의 중량비로 혼합 추출하여 제조될 수 있다. 바람직하게는 상기 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피의 혼합추출물은 초음파 추출에 의하여 얻어진 것이다. 초음파 추출에 의한 때 모공 축소 및 피지분비 억제활성이 더욱 우수하게 나타났다.

[0008] 유효성분으로서의 상기 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물은 화장료조성물의 총 중량에 대하여 0.001 ~ 10중량%의 비율로 포함된다. 본 발명의 모공 축소 및 피지분비 억제용 화장료 조성물은 유연화장수, 영양화장수, 영양로션, 영양크림, 맛사지크림, 영양세럼, 에센스 또는 팩의 제형으로 제조될 수 있다.

[0009] 상기 다른 목적을 달성하기 위하여 본 발명에 따르면, A)달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피를 세척 건조 후 혼합하는 단계; B)생약 건조물의 중량에 대한 10~50배 중량의 용매를 가하여 50~80도로 1~2시간 초음파 추출하는 단계; C)여과 후 5~10일간 방치하는 단계; 및 D)여과 후 농축하는 단계를 포함하는 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피 혼합추출물의 제조방법이 제공된다. 상기 용매로는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 에틸아세테이트, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜 및 이들의 혼합용매(예를 들어, 함수알코올, 함수글리세린, 함수에틸렌글리콜, 함수프로필렌글리콜, 함수 부틸렌글리콜)중에서 선택된 것일 수 있고, 바람직하게는 물, 탄소수 1 내지 4의 무수알코올 또는 함수알코올에서 선택된 용매이며, 더욱 바람직하게는 70%함수 에탄올이다.

발명의 효과

[0010] 본 발명의 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피의 혼합추출물을 함유하는 화장료 조성물은 생약추출물을 함유하므로 안정할 뿐 아니라, 각 성분의 상승작용에 의하여 모공 축소 및 피지분비 억제 효과가 우수하다. 특히 초음파 추출법에 의하여 제조된 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피 혼합추출물은 그 활성이 더욱 우수하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0012] 달맞이꽃(Oenothera odorata Jacq.)은 굵고 곧은 뿌리에서 1개 또는 여러 개의 줄기가 나와 곧게 서며 높이가 50~90cm이다. 전체에 짧은 털이 난다. 잎은 어긋나고 줄 모양의 바소꼴이며 끝이 뾰족하고 가장자리에 얇은 톱니가 나 있다. 주요성분으로 꽃에는 플라보노이드(flavonoid), 정유성분을 함유하고 있고, 종자에 아미노산을 함유하고 있다. 종자유에는 리놀레산(Linolenic acid)과 천연의 감마리놀렌산이 포함되어있다. 이들은 모두 프로스타글란딘의 전구 물질이다. 효능으로는 감기로 인한 고열과 인후염에 복용하고 콜레스테롤을 비롯한 지질성분의 과다한 축적 작용을 억제시키므로 고지혈증 등에 활용한다. 민간에서는 종자에서 뽑은 기름을 당뇨병, 고혈압 등 만성병에 이용한다.

- [0013] 갈근(쑥뿌리, *Pueraria radix*)은 동아시아에 분포하며 덩불과 숲의 가장자리에 서식한다. 매우 길게(10~30m) 기거나 높이 기어올라가는 덩굴식물이다. 어린 줄기는 솜털이 나 있고, 때때로 나무 하나를 완전히 덮어버릴 때도 있다. 잎은 넓고, 잎사귀는 난형이며, 2~3개의 열편으로 되어 있고, 아랫부분은 털이 나 있다. 꽃은 두형이고, 자주색, 보라색 또는 희미한 홍색이며, 꽃잎의 아래부분에 노란색으로 얼룩져 있다. 꽃에서는 포도향이 난다. 뿌리는 크고 갈라져 있다. 주요성분으로는 다이드자인(daidzein), 다이드진(daidzin), 게니스테인(genistein), 파라쿠마릭산, 푸에라린, 케르세틴, 칼슘, 철, 마그네슘, 인, 칼륨, 비타민 B₂가 있으며 쑥의 뿌리는 잘게 쪼갠 다음 이를 말려서 한방의 건재, 약재 및 침차의 원료로도 이용한다. 전분이 많고 식용이 되며 덩굴의 속껍질은 '청을치'라 하여 끈의 대용이 되고 피륙도 짜며, 잎은 사료 또는 식용으로 한다. 또한 예로부터 해독제, 구토방지제, 진경제, 강심제, 진통제, 정화제, 발한제, 해열제, 유즙분비제, 혈당강하제, 혈압강하제 등으로 쓰이기도 하였다.
- [0014] 솔잎은 소나무(*Pinus densiflora* Siebold et Zuccarini)의 잎으로 한국, 중국, 일본으로 동북아시아 지역으로 우리 민족과 오랜 역사를 같이한 나무의 잎과 새순이다. 신선한 솔잎에는 다량의 아스코르빈산과 비타민 A, B, K, 쓴맛을 내는 고미성 물질, 플라보노이드, 안토시안, 7 내지 12%의 수지(송진) 5% 정도의 타닌질, 탄수화물, 정유(精油)등이 함유되어 있다. 이밖에 소나무 전체에는 알코올, 에스테르 등 체내의 노폐물을 배출시키고 신진대사를 촉진하는 성분, 페놀 화합물, 키니, 테르펜틴, 비타민 A, C, 클로로필을 주성분으로 하는 성분과 글리코기닌, 아피에틴산도 있고, 철분도 풍부하고 적송 잎에 함유된 아미노산은 24종이고, 단백질로 구성된 아미노산 19종류도 확인되었다. 솔잎은 비타민 C의 원료이며 공급원이다. 솔잎은 훨씬 짙은 녹색을 품고 있어서 풍부한 카로틴을 섭취할 수 있다. 솔잎의 경우, 약리학적 가치는 테르펜, 페놀 화합물, 타닌 등이 가진 일반 효과를 말할 수 있다. 이 밖에도 고혈압, 중풍, 당뇨, 치매 및 노화방지, 항암효과, 간과 위, 변비와 빈혈, 만성 알코올 중독 및 숙취해소, 니코틴제거, 피부미용과 체질개선 다이어트 남성들의 스테미나 각종 스트레스와 과다한 흡연, 음주로 머리가 무겁고 눈이 침침할 때 특히 머리를 맑게 하여 공부하는 학생이나 수험생들에게 좋다.
- [0015] 유근피(*Ulmus pumila* L.)는 느릅나무의 뿌리 껍질을 한방약재로 통칭하는 이름이다. 느릅나무는 쌍떡잎식물 쑤기과목 느릅나무과의 낙엽활엽 교목으로 춘유(春楡) 또는 가유(家楡)라고도 하는데, 높이는 20m, 지름은 60cm이며, 나무 껍질은 회갈색이고, 작은 가지에 적갈색의 짧은 털이 있다. 목재는 건축재, 가구재, 선박재, 세공재, 뿔감 등으로 쓰인다. 느릅나무의 뿌리 껍질을 유근피 혹은 유백피라 하여 한방에서 약재로 사용하는데, 그 맛은 달고 성질은 평하다. 붓기, 소변 불리, 변비, 기침, 옹종, 단독, 젖앓이 등에 쓰인다.
- [0016] 본 발명은 상기 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피의 혼합추출물을 포함하는 모공 축소 및 피지분비 억제용 화장료 조성물에 관한 것이다. 상기 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피의 혼합추출물은 통상의 열수추출 또는 유기용매 추출에 의하여 얻어질 수 있으며, 더욱 바람직하게는 이와 병행하는 초음파 추출에 의하여 얻어지는 것이다.
- [0017] 동, 식물로부터 유효성분을 추출하는 통상적인 방법은 물이나 메탄올, 에탄올, 헥산 등의 유기용매를 이용하는 것인데, 유기용매에 의한 추출 방식은 적용이 용이한 반면 적절한 용매의 선택, 유기용매의 잔존, 용매제거의 어려움, 환경오염, 추출 수율이 낮고, 또한 통상적으로 약 24~48시간의 장시간의 추출시간을 필요로 하는등의 문제점을 내포하고 있다. 초음파 추출 방법은 분쇄, 혼합 및 추출 공정 등에서 빠른 반응 시간에 좋은 효율을 얻기 위하여 적용되는 방법으로, 기존의 전통 추출 방법인 열수 추출 방법 보다 추출 효율이 높고, 에너지 소비가 적으며 열로 인한 많은 유용성분의 파괴와 손실, 단백질의 변이를 방지하는 한편, 열에 대해 안정한 장점을 가지고 있다. 이러한 초음파 추출 방법은 또한 추출 공정의 효율을 높이고 허브나 천연 한방원료에 적용시 많은 생리 활성 물질을 안전하게 그리고 효과적으로 얻을 수 있는 장점을 가지고 있다. 또한 초음파 추출 방법은 식물 추출물의 제조 시 추출하고자 하는 원료에 따라 초음파 에너지 변화의 세기를 조절할 수 있는 특징을 가진다. 그리하여 원료에 따라 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 가진다.
- [0018] 본 발명에서, 추출 용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 에틸아세테이트, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜 및 이들의 혼합용매(예를 들어, 함수알코올, 함수글리세린, 함수에틸렌글리콜, 함수프로필렌글리콜, 함수 부틸렌글리콜)중에서 선택된 것일 수 있고, 물, 탄소수 1 내지 4의 무수알코올 또는 함수알코올에서 선택된 용매로 추출되는 것이 바람직하다. 여기서, 탄소수 1 내지 4의 알코올은 메탄올, 에탄올, n-프로판올, iso-프로판올, n-부탄올, iso-부탄올, tert-부탄올일 수 있으며, 에탄올이 바람직하다. 여기서, 함수 알코올은 물을 0.3 내지 90(wt/wt)%로 함유할 수 있다. 이들 추출용매 중 알코올이 70중량% 함유되어 있는 70%함수 에탄올이 가장 바람직하다.

- [0019] 본 발명의 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물은 통상의 기술자에게 알려진 공지의 추출법에 의해 제조된다. 일 구체예에 따르면, 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 건조물을 세절하고, 혼합 건조 중량의 1~50배 부피량의 물, 탄소수 1~4의 알코올 또는 이들의 함수 알코올과 중에서 선택된 추출용매를 부가하여 4~30℃에서 3~20일간 침적시켜 유효성분을 추출한 후, 추출용매를 감압농축기로 농축하여 수득될 수 있다. 또한, 다른 구체예에 따르면 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 건조물을 분쇄하여 혼합하고, 이들의 혼합 건조 중량의 1~30배 부피량의 물, 탄소수 1~4의 알코올, 에틸아세테이트, 물, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜로 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 용매를 사용하며, 이어서 용매가 증발되는 것을 방지하기 위하여 냉각 콘덴서를 구비한 추출기로 30~100℃에서 3~48시간 동안 가열 추출하거나 5~30℃에서 1~5일간 침적시켜 유효성분을 추출하고, 추출 용매를 감압농축기로 농축하여 수득될 수 있다.
- [0020] 또한, 더욱 바람직하게는 아래와 같이 추출용매에 초음파 추출법 등을 이용하여 제조할 수 있다.
- [0021] A) 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피를 세척 건조 후 혼합하는 단계; B) 생약 건조물의 중량에 대한 10~50배 중량의 용매를 가하여 50~80도로 1~2시간 초음파 추출하는 단계; C) 여과 후 5~10일간 방치하는 단계; 및 D) 여과 후 농축하는 단계를 포함하여 제조될 수 있다.
- [0022] 이때, 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 건조물을 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수알코올로 추출하는 것이 바람직하며, 그 추출온도는 추출용매에 따라 달라질 수 있으나, 50 ~ 100℃가 바람직하다. 이때 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 건조물의 혼합비율은 특별히 제한적이지 않지만, 그 수율이나 모공축소 및 피지분비활성 면에서 1:1:1:1의 중량비로 혼합하여 추출하는 것이 바람직하다. 본 발명의 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피 추출물은 프리라디칼 소거능(모공확대 방지), 5 α -리덕타아제 활성 저해율(피지분비억제) 및 모공축소 활성이 우수한 것으로 확인되었다.
- [0023] 본 발명의 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피 혼합추출물은 추출 용매로 추출한 추출액을 감압 농축한 농축액, 농축액을 동결건조한 분말 또는 농축액을 분무 건조하여 건조한 분말 일 수 있다. 본 발명의 화장료 조성물에서 본 발명의 달맞이꽃, 갈근, 솔잎 및 유근피의 혼합 추출물은 화장료 조성물의 총 중량에 대하여 0.001~10.0중량%의 양으로 화장료에 첨가될 수 있고, 바람직하게는 0.001~5.0중량%의 양으로 화장료에 첨가될 수 있다.
- [0024] 본 발명의 화장료 조성물은 그 제형에 있어서 특별히 한정되는 바가 없으며, 예를 들면, 유연화장수, 영양화장수, 영양로션, 영양크림, 맛사지크림, 영양세럼, 에센스, 팩 등의 제형을 가질 수 있다. 또한, 각 제형의 화장료 조성물에 있어서, 상기의 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물 외에 다른 성분들을 기타 화장료의 제형 또는 사용목적 등에 따라 임의로 선정하여 배합할 수 있다. 예를 들어, 화장료 조성물에 통상적으로 사용되는 착색제(색소), 착향제(향료), 현탁화제, 유화제, 용해보조제, 안정제, 등장제, pH조절제, 점도조절제, 용제, 방부제 등을 포함할 수 있다.
- [0025] 또한, 본 발명의 화장료 조성물은 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물은 모공 축소 및 피지분비 억제 활성을 나타내는 다른 유효성분을 1이상 포함할 수 있다.
- [0026] [실시예]
- [0027] 이하, 실시예 및 비교예 및 제형예를 들어 본 발명의 구성 및 효과를 상세히 설명하나, 본 발명이 이들에만 한정되는 것은 아니다.
- [0028] **실시예 1 내지 4: 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피 각각의 추출물 분말 제조(열수 추출)**
- [0029] 경동시장에서 구매한 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피를 정제수로 세척한 후, 건조시킨 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피를 각각 200g을 증류수 2kg을 넣고 냉각 콘덴서가 달린 추출기에서 80℃로 8시간 끓여서 추출한 후 300메쉬 여과지로 여과하고, 1주일간 실온에서 방치하여 침전물을 에드벤텍 5번 여과지와 와트만 GF/C 150mm 여과지로 2번 여과하였다. 그리고 감압 농축기를 이용하여 40~50℃의 온도에서 농축한 후(모델명: B-290, BUCHI사 제품) 다음 조건으로 이용하여 건조시킨 표제의 추출 분말을 제조하였다.(Krusmann, 1982). 결과는 하기 표 1과 같다.
- [0030] **실시예 5: 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피 혼합 추출물의 분말제조(열수 추출)**
- [0031] 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피를 세척 및 건조 후 각각 50g씩 1:1:1:1 비율로 혼합 200g이 되도록 하여 실시예

1과 동일한 방법으로 혼합 추출 및 여과하여 분말을 제조하였다. 결과는 하기 표 1과 같다.

실시예 6: 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피 혼합 추출물의 분말제조(초음파 저온추출)

달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피를 세척 및 건조 후 각각 50g씩 1:1:1:1 비율로 혼합 200g이 되도록 하여 증류수 2kg에 넣고 초음파 추출기에서 50℃로 2시간 추출한 후 300메쉬 여과지로 여과하고, 1주일간 실온에서 방치하여 침전물을 에드벤텍 5번 여과지와 와트만 GF/C 150mm 여과지로 2번 여과하였다. 그리고 감압 농축기를 이용하여 40~50℃의 온도에서 농축한 후(모델명: B-290, BUCHI사 제품) 다음 조건으로 이용하여 건조시킨 표제의 추출 분말을 제조하였다.(Krusmann, 1982). 결과는 하기 표 1과 같다.

실시예 7: 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피 혼합 추출물의 분말제조(초음파 고온추출)

달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피를 세척 및 건조 후 각각 50g씩 1:1:1:1 비율로 혼합 200g이 되도록 하여 증류수 2kg에 넣고 초음파 추출기에서 80℃로 2시간 추출한 후 300메쉬 여과지로 여과하고, 1주일간 실온에서 방치하여 침전물을 에드벤텍 5번 여과지와 와트만 GF/C 150mm 여과지로 2번 여과하였다. 그리고 감압 농축기를 이용하여 40~50℃의 온도에서 농축한 후(모델명: B-290, BUCHI사 제품) 다음 조건으로 이용하여 건조시킨 표제의 추출 분말을 제조하였다.(Krusmann, 1982). 결과는 하기 표 1과 같다.

실시예 8 내지 11: 추출 용매에 따른 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피 혼합추출물의 분말제조(초음파 고온추출)

달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피를 세척 및 건조 후 각각 50g씩 1:1:1:1 비율로 혼합 200g이 되도록 하여, 각기 다른 비율의 함수 에탄올 2kg에 넣고 초음파 추출기에서 80℃로 2시간 추출한 후, 300메쉬 여과지로 여과하고, 1주일간 실온에서 방치하여 침전물을 에드벤텍 5번 여과지와 와트만 GF/C 150mm 여과지로 2번 여과하였다. 그리고 감압 농축기를 이용하여 40~50℃의 온도에서 농축한 후(모델명: B-290, BUCHI사 제품) 다음 조건으로 이용하여 건조시킨 표제의 추출 분말을 제조하였다.(Krusmann, 1982). 결과는 하기 표 2와 같다.

표 1

구 분	분말(g)
실시예 1	8
실시예 2	12
실시예 3	9
실시예 4	11
실시예 5	12
실시예 6	15
실시예 7	17

표 2

구 분	추출 용 매	수득량(g)
실시예 8	30% 함수 에탄올	14
실시예 9	50% 함수 에탄올	16
실시예 10	70% 함수 에탄올	20
실시예 11	80% 함수 에탄올	19

상기 표 1과 표 2에서 나타난 바와 같이 단일 추출물 보다는 혼합 추출물이 더 많이 분말이 얻어지고, 열수추출 보다는 초음파추출이 그 중에서도 초음파추출(고온)에서 더 많이 얻어 지며 증류수를 용매로 했을 때 보다 70% 함수 에탄올이 더 낫다는 것을 알 수 있다.

시험예 1: 항산화 효과 실험

[0042] 상기 실시예 1 내지 11에 대하여 프리라디칼 소거능을 측정하였다.

[0043] 0.1 mL에 4.1×10^{-5} M의 DPPH용액 0.9 mL를 가한 후 상온에서 30분간 반응시켜 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로는 L-ascorbic acid($100 \mu\text{g}/\text{mL}$)를 사용하였으며, 각 시료의 라디칼 소거능은 아래의 식에 의해 라디칼 소거능으로 계산하여 나타내었다(표 3).

[0044]
$$\text{라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}}\right) \times 100$$

표 3

시료명	처리 농도 (wt/v%)	항산화효과(%)
실시예 1	0.1	56.24
실시예 2	0.1	62.42
실시예 3	0.1	61.76
실시예 4	0.1	52.84
실시예 5	0.1	73.12
실시예 6	0.1	84.04
실시예 7	0.1	88.62
실시예 8	0.1	82.42
실시예 9	0.1	88.64
실시예 10	0.1	95.73
실시예 11	0.1	93.77

[0046] 상기 표 3에서 나타난 바와 같이, 초음파 추출기를 사용한 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물은 대부분 높은 소거율을 나타내었으며 특히 70% 함수 에탄올을 용매로한 실시예 10이 가장 높은 소거율을 나타내었다. 대조군인 L-ascorbic acid($100 \mu\text{g}/\text{mL}$)의 경우 85.10%의 소거율을 나타내었다.

[0047] 따라서, 본 발명의 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피를 초음파 추출한 혼합 추출물은 항산화 효과가 있어 노화를 막음으로써 모공이 넓어 지는 것을 예방할 수 있음을 알 수 있다.

[0048] 시험예 2: 피지 분비 억제 실험

[0049] 상기 실시예 1 내지 11에 대하여 5 α -리덕타아제 활성 저해율을 측정하였다.

[0050] 24시간 절식시킨 성숙한 Sprague-Dawley 웅성랫트(생후 7-8주)를 디에틸에테르로 치사시킨 후, 복부 전립선을 떼내어 결합조직을 제거하였다. 여기에 완충액(0.32M 슈크로오즈(sucrose), 0.1mM 디티오프레이톨(dithiothreitol), 20mM 소듐아세테이트(sodium acetate))를 첨가하여 잘게 자른 다음, 분쇄기로 현탁화하였다. 현탁액을 원심분리하여 상층액을 취하여 5 α -리덕타아제를 부분정제하였다. 이 효소를 이용하여 활성도 억제실험을 수행하였다.

[0051] 상기 얻어진 상층액의 일부를 취하여 0.2M 일염기산과 0.2M 이염기산이 들어있는 완충액에 넣은 후, 동위원소인 3H가 붙어있는 기질(테스토스테론)과 함께 반응시켜 생성물인 디하이드로테스토스테론의 생성량을 측정하였다. 반응용액은 1mM 디티오프레이톨, 40mM 나트륨 포스페이트(pH 6.5), 50 μM NADPH, [1,2,6,7- 3H]테스토스테론/테스토스테론 및 효소현탁액(0.5mg)을 넣어 총 부피가 640 μL 가 되게 하였다.

[0052] 시료는 10% 에탄올에 1%가 되도록 녹인 후, 위의 반응용액에 시료를 6.40 μL 첨가하여 최종농도가 0.01%가 되도록 하였다. 대조군으로는 같은 부피의 용매를 이용하였고, 양성대조군으로는 피나스테라이드(Finasteride)라는 미국 FDA의 승인을 받은 5 α -리덕타아제의 저해제로서 잘 알려진 물질을 이용하였다.

[0053] 반응은 효소현탁액을 부가함과 동시에 시작하여 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분간 진행시킨 후, 1mL의 에틸아세테이트를 가하여 추출하였으며, 100 μL 의 에틸아세테이트상을 실리카 플라스틱시트 카이젤겔 60F 254 (Silica plastic sheet kieselgel F254)상에서 전개용매계는 아세테이트-사이클로헥산(1:1)으로 하여 전개하였다.

[0054] 플라스틱 시료를 공기 중에서 건조한 후, 동위원소의 양을 측정하기 위해 바스 시스템을 사용하였는데, 건조된 플라스틱 시트와 엑스레이 필름을 함께 바스 카세트에 넣어 1주일 후에 필름에 잔존해 있는 테스토스테론과 디

하이드로테스토스테론의 동위원소양을 측정하였다.

[0055] 각각의 저해율에 대한 결과는 하기 표 4에 나타내었다.

[0056] * T : 테스토스테론 영역에서 나타난 3H 방사능(Radio Activity)

[0057] ** DHT : 디하이드로테스토스테론 영역에서 나타난 3H 방사능

[0058] *** 전환율 : DHT영역에의 방사능 / 총 방사능

[0059] **** 저해율 : ((대조군의 전환율-시료의 전환율) / 대조군의 전환율)×100

표 4

[0060]

시료(0.01%)	T(dpm))	DHT(dpm)	전환율(%)	저해율(%)
실시예 1	7643	3810	33.27%	25.2%
실시예 2	8142	3765	31.62%	28.9%
실시예 3	7946	3855	32.67%	26.5%
실시예 4	8326	4087	32.93%	25.9%
실시예 5	8045	2675	24.95%	43.9%
실시예 6	8127	2432	23.03%	48.2%
실시예 7	8392	1668	16.58%	62.7%
실시예 8	7989	2044	20.37%	54.2%
실시예 9	8014	1746	17.89%	59.8%
실시예 10	8365	1358	13.97%	68.6%
실시예 11	8179	1623	16.56%	62.8%
대조군	8536	6832	44.46%	-
양성대조군	8091	2986	26.96%	39.4%

[0061] 상기 표 4에서 나타난 바와 같이 단일 추출물 보다는 혼합 추출물이 열수 추출물 보다는 함수에탄올 용매의 초음파추출(고온)이 5α-리덕타아제 저해효과가 훨씬 뛰어남을 확인할 수 있다.

[0062] 시험예 3: 모공 축소 효과 시험

[0063] 상기 실시예 1 내지 11에 대하여 헤모글로빈 침전율을 측정하였다.

[0064] 상기 실시예 1 내지 11에 대하여 소(bovine) 헤모글로빈 단백질을 이용해서 모공 수축효과를 확인하였다. PBS(phosphate buffered saline, pH 7.4)를 헤모글로빈과 1:1로 혼합용액(1 mg/1 ml)을 만들고, 3000 rpm에서 5분간 원심분리하고, 상등액을 분리하여 광학기에서 407 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로는 시료 대신 상기 혼합용액 2 ml를 사용했다. 반응액 중에 함유시킨 실시예 1 내지 11의 최종 농도가 1 ~ 5 %인 경우에서 헤모글로빈의 침전량을 측정하여 모공수축 효과를 측정하였으며, 그 결과는 표 5와 같다. 헤모글로빈의 침전율이 높을수록 모공수축 효과가 뛰어나다는 것을 의미한다.

표 5

[0065]

샘플 \ 농도(%)	헤모글로빈의 침전(%)				
	0	0.1	0.5	1	5
대조군	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
실시예 1	0.1	1.5	4.7	8.6	25.3
실시예 2	0.1	1.7	4.1	8	22.7
실시예 3	0.1	1.6	3.9	7.6	23
실시예 4	0.1	1.3	7.2	13.4	38.6
실시예 5	0.1	2.8	10.1	24.7	66.1
실시예 6	0.1	3.2	13.7	29.7	71.4
실시예 7	0.1	3.8	14.9	31.4	82.8

실시예 8	0.1	2.9	10.4	23.5	64.4
실시예 9	0.1	3.7	14.2	30.1	77.9
실시예 10	0.1	4.1	15.6	38.8	85.4
실시예 11	0.1	3.8	14.4	32.7	81.3

[0066] 상기 표 5에서 나타난 바와 같이 단일 추출물 보다는 혼합 추출물이 열수 추출물 보다는 함수에탄올 용매의 초음파추출(고온)이 단백질 응고효과를 통해서 모공 수축효과가 훨씬 뛰어남을 확인할 수 있다.

[0067] 시험예 4: 세포 독성 및 증식 실험

[0068] 세포 독성 및 증식 실험을 다음과 같은 방법으로 실시하였다. 배양하고 인체 정상 섬유아세포를 96-웰 마이크로플레이트의 각 웰에 1×10^4 세포가 되도록 접종하고, DMEM 배지에서 37℃에서 24시간 동안 배양하였다. 이어, 최종 농도를 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0%로 하여 혈청이 2.5% 함유되어 있는 DMEM 배지로 교체한 실험군과 혈청이 없는 DMEM 배지로 교체한 대조군을 24시간 동안 추가로 배양하였다. 배양 후, 세포의 생존율을 비교하기 위하여 MTT(시그마, 미합중국) 솔루션(3mg/ml)을 첨가하여 세포 생존율을 ELISA READER(Molecular Devices, 미합중국)를 이용하여 570nm에서 흡광도를 측정하고 세포 성장의 최적 조건인 위과 같은 조건으로 동시배양을 하였으며, 대조군의 세포증식을 100%로 하고 시료 투입 실험군의 세포 증식률을 계산하였다.

$$\text{세포생존율(\%)} = \frac{\text{시료첨가군의 } O.D \text{ at } 570 \text{ nm}}{\text{시료무첨가군의 } O.D \text{ at } 570 \text{ nm}} \times 100$$

[0069]

표 6

[0070]

농도(%)	세포 증식률(%)					
	대조군	0.1	0.5	1.0	2.0	5.0
실시예 1	100	99.8	100.0	100.3	98.9	100.1
실시예 2	100	100.1	99.9	100.4	101.8	99.8
실시예 3	100	100.3	101.3	101.1	100.0	99.4
실시예 4	100	99.5	100.0	99.7	100.1	100.0
실시예 5	100	102.8	98.8	100.2	98.6	100.9
실시예 6	100	98.9	100.5	99.8	100.5	101.3
실시예 7	100	100.6	101.1	100.0	100.5	100.4
실시예 8	100	98.7	100.9	102.0	99.7	99.9
실시예 9	100	100.1	99.7	99.3	100.2	98.7
실시예 10	100	99.9	100.2	100.7	101.0	100.2
실시예 11	100	100.0	97.8	100.7	99.9	99.8

[0071] 상기 표 6에서 나타난 바와 같이, 세포 성장 최적 조건에서의 세포 증식을 100%로 하였을 때, 측정 오차범위를 고려하면 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물은 모두 세포 무독성이며, 세포 증식 효과가 있음이 확인되었다.

[0072] 제형예 1: 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피 혼합추출물을 이용한 화장수 제조

[0073] 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물(실시예 10)을 함유한 화장수(스킨로션)를 하기의 표 7의 함량으로 하기 제조 방법을 이용하여 1kg을 제조하였다.

표 7

[0074]

번호	원 료	함량(중량%)
1	달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물 (실시예 10)	1.0
2	글리세린	3.0

3	부틸렌글리콜	2.0
4	프로필렌글리콜	2.0
5	폴리옥시에틸렌 경화피마자유	1.0
6	에탄올	10.0
7	트리에탄올아민	0.1
8	방부제	미량
9	색소	미량
10	향료	미량
11	정제수	잔량

[0075] 상기 표 7에서 일정량의 11번 물질에 2, 3, 4, 8번 물질을 순서대로 반응용기에 투입하고 교반하여 용해시킨 후, 5번 물질을 60℃ 정도로 가열하여 용해시켰다. 이 후, 10번 물질을 반응용기에 투입하여 용해한 후 잔량의 11번 물질을 투입하였다. 마지막으로 1, 6, 7, 9번 물질을 투입하여 충분히 교반시킨 뒤 25℃에서 3일간 숙성시켜 표제의 화장수를 제조하였다.

[0076] **제형예 2: 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물을 이용한 영양 로션 제조**

[0077] 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물(실시예 10)을 함유한 영양로션을 하기의 표 8의 함량으로 하기 제조 방법을 이용하여 1kg을 제조하였다.

표 8

번호	원 료	함량(중량%)
1	달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물(실시예 10)	1.0
2	밀납	1.0
3	폴리솔베이트 60	1.5
4	솔비탄 세스퀴올레이트	0.5
5	유동 파라핀	10.0
6	소르비탄 스테아레이트	1.0
7	친유형 모노스테아린산 글리세린	0.5
8	스테아린산	1.5
9	글리세릴스테아레이트/피이지-400 스테아레이트	1.0
10	프로필렌글리콜	3.0
11	카르복시폴리머	0.1
12	트리에탄올아민	0.2
13	방부제	미량
14	색소	미량
15	향료	미량
16	정제수	잔량

[0079] 상기 표 8에서 10, 11, 13, 16번 물질을 혼합 교반 하면서 80 ~ 85℃ 사이로 가열하여 제조부에 투입한 후 유화기를 작용시키고 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12번 물질을 80 ~ 85℃사이로 가열 용해한 후 유화시켰다. 유화가 끝나면 교반기를 이용하여 교반 하면서 50℃까지 냉각한 뒤 15번 물질을 투입하고 45℃까지 냉각한 뒤 14번 물질을 투입하고 35℃에서 1번 물질을 투입하여 25℃까지 냉각한 뒤 25℃에서 3일간 숙성시켜 표제의 영양로션을 제조하였다.

[0080] **제형예 3: 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물을 이용한 영양 세럼 제조**

[0081] 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물(실시예 10)을 함유한 영양세럼을 하기의 표 9의 함량으로 하기 제조 방법을 이용하여 1kg을 제조하였다.

표 9

번호	원 료	함량(중량%)
1	달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물(실시에 10)	1.0
2	잔탄검	0.02
3	부틸렌글리콜	10.0
4	소이빈포스포리피드	10.0
5	하이드록시에틸셀룰로오즈	0.1
6	소듐히아루로네이트	5.0
7	정제수	잔량

상기 표 9에서 2, 3, 5번 물질을 혼합 교반 하면서 40 ~ 45℃ 사이로 가열하여 제조부에 투입한 후 유화기를 작동시키고 4, 6, 7번 물질을 제조부에 투입하고 유화시켰다. 유화가 끝나면 교반기를 이용하여 교반 하면서 35℃ 까지 냉각하고 1번 물질을 투입하여 25℃까지 냉각한 뒤 25℃에서 3일간 숙성시켜 표제의 영양 세럼을 제조하였다.

제형예 4: 달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물을 이용한 에센스 제조

달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물(실시에 10)을 함유한 에센스를 하기의 표 10의 함량으로 하기 제조 방법을 이용하여 1kg을 제조하였다.

표 10

번호	원 료	함량(중량%)
1	달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물(실시에 10)	1.0
2	시토 스테롤	1.7
3	폴리에틸렌 글리콜	1.5
4	세라마이드	0.7
5	스테아르산	1.2
6	콜레스테롤	1.5
7	디세틸포스페이트	0.4
8	농글리세린	5.0
9	마카다미아 오일	15.0
10	카르복시비닐폴리머	0.2
11	산탄검	0.2
12	방부제	미량
13	향료	미량
14	정제수	잔량

상기 표에서 2, 3, 4, 5 및 6번 물질을 일정한 온도에서 균질화하여 비이온계 양친매성 지질을 제조하였다. 이 비이온계 양친매성 지질과 1, 7, 8 및 14번 물질을 혼합하고 일정한 온도에서 균질화하여 마이크로플루이다이저를 통과시키고 이어 9번 물질을 50 ~ 60℃로 가온하여 서서히 첨가하여 균질화한 후 다시 마이크로플루이다이저에 재차 통과시켰다. 그 후, 10, 11, 12, 13번 물질을 투입하여 분산시켜 안정화하고 25℃에서 3일간 숙성시켜 표제의 에센스를 제조하였다.

실험예 5: 제형 안정도 확인

달맞이꽃, 갈근, 솔잎, 유근피의 혼합추출물을 포함하는 제형예 1 내지 4에서 제조한 제형예 대하여 실온(25℃), 4℃ 및 45℃로 일정하게 유지되는 실내, 냉장고 및 항온수조에서 불투명 초자 용기에 담아 12주 동안 보관 후 육안으로 변색, 및 분리를 관찰하고, 후각으로 변취를 확인하여 이들 제형의 안정성을 확인 하였다. 그 결과는 표 11과 같다.

표 11

[0090]

온도 조건	안정성 확인(변색, 변취 및 분리)			
	제형예 1	제형예 2	제형예 3	제형예 4
실온	0	0	0	0
4℃	0	0	0	0
45℃	0	0	0	0

[0091]

<제형 안정 등급>

[0092]

0 : 변화 없음, 1 : 미세한 변화, 2 : 변화, 3: 극심한 변화

[0093]

표 11에서 나타난 바와 같이, 제형예 1 내지 4 제형 모두 실온, 4℃ 및 45℃ 온도 조건하에서 변색, 변취 및 분리 현상이 나타나지 않고 안정하였다.