



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년02월18일  
(11) 등록번호 10-2364959  
(24) 등록일자 2022년02월15일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 8/9789 (2017.01) A61Q 19/02 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
A61K 8/9789 (2017.08)  
A61Q 19/02 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2019-0113310
- (22) 출원일자 2019년09월16일  
심사청구일자 2019년09월16일
- (65) 공개번호 10-2021-0032069
- (43) 공개일자 2021년03월24일
- (56) 선행기술조사문헌  
구절초 꽃 추출물의 항산화, 항염증 및 멜라닌 생  
성억제 효과에 관한 연구, J. of Korean Oil  
Chemists' Soc., 33(4), 762-770(2016.12.) 1  
부.\*  
구절초 꽃의 항산화 활성 및 플라보노이드 함량,  
Kor. J. Hort. Sci. Technol., 29(1),  
68-73(2011.) 1부.\*  
국화류 추출물의 항산화 및 멜라닌 생성 억제 활  
성, J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 51(4),  
321-328(2008.) 1부.\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자  
세종대학교산학협력단  
서울특별시 광진구 능동로 209 (군자동, 세종대학  
교)
- (72) 발명자  
임진희  
서울특별시 송파구 올림픽로35길 104, 16동 1303  
호(신천동, 장미아파트)
- 정연옥  
전라북도 남원시 운봉읍 산덕길 122  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
특허법인리체

전체 청구항 수 : 총 3 항

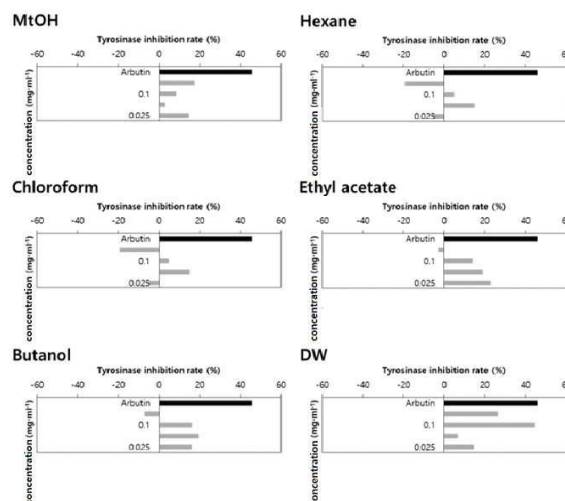
심사관 : 박수진

(54) 발명의 명칭 피부 미백용 화장품 조성물

(57) 요약

본 발명은 구절초 꽃 알코올 추출물의 물 분획물을 포함함으로써, 타이로시나아제 억제 활성이 뛰어나, 우수한 미백 효과를 나타낼 수 있는 피부 미백용 화장품 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자  
**최형원**  
 서울특별시 중랑구 망우로67길 5(망우동)

**권민정**  
 서울특별시 마포구 삼개로 38, 15동 906호(도화동,  
 도화3지구우성아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업  
 과제고유번호 1395057654  
 부처명 농촌진흥청  
 과제관리(전문)기관명 농촌진흥청  
 연구사업명 신품종지역적응연구(R&D)  
 연구과제명 영양체 유전자원 보존관리 2018  
 기여율 1/2  
 과제수행기관명 세종대학교 산학협력단  
 연구기간 2018.01.01 ~ 2018.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업  
 과제고유번호 20190424  
 부처명 세종대학교 산학협력단  
 과제관리(전문)기관명 세종대학교 산학협력단  
 연구사업명 국화 신화색 신화형 품종 육성을 위한 변이 창출  
 연구과제명 국화 신화색 신화형 품종 육성을 위한 변이 창출  
 기여율 1/2  
 과제수행기관명 세종대학교 산학협력단  
 연구기간 2019.03.18 ~ 2021.01.31

공지예외적용 : 있음

---

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

구절초 꽃 알코올 추출물의 물 분획물을 0.1 내지 0.2 mg/ml의 농도로 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물.

**청구항 2**

청구항 1에 있어서, 상기 알코올은 메탄올인 조성물.

**청구항 3**

청구항 1에 있어서, 상기 추출물은 냉침 추출물인 조성물.

**청구항 4**

삭제

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 피부 미백용 화장품 조성물에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0003] 근래 유럽, 미국, 일본 등의 선진국에서는 광우병의 발병으로 동물에서 유래한 화장품 소재들이 대부분 식물에서 유래한 소재로 급격히 대체되고 있다. 식물에서 유래한 소재로 올리브유, 야자유와 사포닌, 소맥배아유, 미강유 또는 인지질 등과 같은 계면활성성분; 아미노산, 단백질 또는 당류 등을 함유한 수용성 성분; 로즈메리 나뭇잎, 버드나무껍질 추출액, 나래지처뿌리, 꿀 또는 당근 등 다양한 천연물이 보습제, 피막형성제, 피부보호제, 립스틱, 향료 등으로 이용되고 있다.

[0004] 최근에는 엘라스타제 및 매트릭스 메탈로프로테이나제-1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)의 활성을 억제하는 소재, 히알루론산의 합성을 촉진하는 소재, 활성산소 제거능을 가진 소재 또는 각화세포 및 섬유아세포의 증식을 촉진하는 소재 등이 연구개발 중이거나 기능성 화장품의 원료로 사용되고 있으며, 여러 가지 형태의 천연 소재를 첨가한 화장품이 쏟아져 나오고 있으나 그 효능에 대한 과학적, 체계적인 연구 및 검증이 미비한 실정이다.

[0005] 국내 화장품시장의 규모는 3조원 규모로 그 중 피부미백화장품의 시장 규모는 100억 정도에 이르는데, 국내 화장품 중 피부미백 및 주름개선시장의 확대에 따른 수요증대와 외국 업체의 공략에 대비하여 국내 천연자원을 이용한 기능성 원료개발이 요구되고 있다.

[0006] 피부미백관련 인자로서 멜라닌은 피부색소인자로서 자외선 등으로 인한 피부의 손상에 대항하여 생성되며 피부를 보호하는 작용을 하며, 멜라닌의 생성은 티로시나제에 의한 티로신의 산화로 시작되어 DOPA 와 DOPA 크롬(chrome) 등이 생성된 후 DHICA와 DHI를 거쳐 이루어지며 현재까지 DHI-eu멜라닌, DHICA-eu멜라닌, pheo멜라닌 등의 3종이 생성 되는 것으로 알려져 있다.

[0007] 자외선 노출 등의 원인으로 인한 피부의 멜라닌 색소 과침착은 기미 주근깨 검은반점 등을 일으키는 요인이 되며 이러한 피부의 흑화를 예방 및 개선하기 위하여 누룩산(kojic acid), 알부틴(arbutin), 비타민 C 유도체 등이 피부미백제로 개발되어졌으나, 누룩산의 경우는 생체 외에서의 티로시나제(tyrosinase) 억제효과에 비해 세

포상이나 생체 내에서의 멜라닌 생성 억제효과가 미비하며 또한 장기 사용 시 간암을 유발할 수 있다고 최근에 보고되었다. 또한, 알부틴은 히드로퀴논(hydroquinone)계열이 갖는 세포독성의 문제점이 있으며, 비타민 C 역시 화학적 안정성에 대한 문제가 있어 장기 보관이 어려운 문제점이 있다.

[0008] 상기와 같은 피부미백활성물질의 부작용 등이 알려짐에 따라 그 대체원료로 여러 천연물추출물을 이용한 기능성 피부미백화장품 또는 약품에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔으나 그 효능이나 독성에 대한 확실한 검증이 충분치 못하고 아직까지 임상적 효과가 만족스럽지 못하여 새로운 대체원료의 개발과 과학적이고 체계적인 효능검증이 절실하다.

### 선행기술문헌

#### 특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제 1937344호

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

[0011] 본 발명은 천연물 유래의 우수한 미백 효능을 갖는 화장료 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

#### 과제의 해결 수단

[0013] 1. 구절초 꽃 알코올 추출물의 물 분획물을 포함하는 피부 미백용 화장료 조성물.

[0014] 2. 위 1에 있어서, 상기 알코올은 메탄올인 조성물.

[0015] 3. 위 1에 있어서, 상기 추출물은 냉침 추출물인 조성물.

[0016] 4. 위 1에 있어서, 상기 분획물의 농도는 0.1 내지 0.2 mg/ml인 조성물.

#### 발명의 효과

[0018] 본 발명의 조성물은 타이로시나아제 억제 활성이 우수하여, 우수한 미백 활성을 나타낼 수 있다.

#### 도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 본 발명의 일 구현예에 따른 조성물의 미백 활성을 나타낸 것이다.

도 2 내지 4는 본 발명의 일 구현예에 따른 각 분획물의 UPLC 결과이다.

#### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0023] 본 발명은 구절초 꽃 알코올 추출물을 포함하는 조성물에 관한 것이다.

[0024] 알코올은 예를 들면 탄소수 1 내지 4의 알코올일 수 있고, 구체적으로, 메탄올, 에탄올일 수 있으며, 바람직하게는 메탄올일 수 있으며, 보다 바람직하게는 95부피% 이상의 메탄올일 수 있다.

[0025] 추출물은 다양한 방법으로 추출된 것일 수 있고, 예를 들면 냉침 추출, 환류냉각추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 방법으로 추출된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0026] 냉침 추출의 구체적인 예를 들면, 24시간 내지 72시간 상온에서 냉침할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0027] 본 발명의 조성물은 상기 추출물의 분획물을 포함할 수 있다. 예를 들면 물분획, 에틸아세테이트 분획, 부탄올 분획, 헥산 분획, 클로로폼 분획 등일 수 있다.

[0028] 상기 추출물 또는 분획물은 액체 상태일 수도 있으나, 감압 농축, 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정을 통해 분말 상태로 된 것일 수 있다.

- [0029] 본 발명의 조성물에 있어서 상기 추출물 또는 분획물의 농도는 특별히 한정되지 않으며, 예를 들면 0.025 내지 0.2mg/ ml일 수 있으며, 구체적으로 0.1 내지 0.2 mg/ml일 수 있다.
- [0031] 본 발명의 조성물은 미백 용도의 조성물이다.
- [0032] 본 발명의 조성물은 바람직하게는 상기 추출물의 물 분획물을 포함할 수 있다. 그러한 경우에 보다 우수한 효과를 나타낼 수 있다.
- [0033] 본 발명의 조성물은 화장료 조성물일 수 있다.
- [0034] 본 발명의 화장료 조성물은 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제 및 담체를 포함할 수 있으며, 당업계에서 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. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 맛사지 크림, 에센스, 아이크림, 헤어토닉, 샴푸, 린스, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0035] 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.
- [0036] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0037] 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, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [0038] 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 메타히드록사이드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [0039] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0040] 본 발명의 제형이 로션인 경우에는 천연에센스 오일, 보습제를 포함할 수 있다.
- [0041] 천연에센스 오일로서는 라벤더 오일, 올리브 오일, 호호바 오일, 마카다미아 오일을 포함하는 식물성 오일로 이루어진 군으로부터 1종 이상 선택되는 것을 사용하는 것이 바람직하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0042] 보습제로서는 수용성 저분자 보습제, 지용성 분자 보습제, 수용성 고분자, 지용성 고분자 등을 들 수 있다.
- [0043] 수용성 저분자 보습제로서는 세린, 글루타민, 솔비톨, 만니톨, 피롤리돈-카르복실산나트륨, 글리세린, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 에틸렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜B(중합도 n = 2 이상), 폴리프로필렌글리콜(중합도 n = 2 이상), 폴리글리세린B(중합도 n = 2 이상), 락트산, 락트산염 등을 들 수 있다.
- [0044] 지용성 저분자 보습제로서는 콜레스테롤, 콜레스테롤에스테르 등을 들 수 있다.
- [0045] 수용성 고분자로서는 카르복시비닐폴리머, 폴리아스파라긴산염, 트라가칸트, 크산탄검, 메틸셀룰로오스, 히드록시메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 수용성 키틴, 키토산, 텍스트린 등을 들 수 있다.
- [0046] 지용성 고분자로서는 폴리비닐피롤리돈·에이코센 공중합체, 폴리비닐피롤리돈·헥사데센 공중합체, 니트로셀룰로오스, 텍스트린지방산에스테르, 고분자 실리콘 등을 들 수 있다.

[0048] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다.

[0050] **실험방법**

[0051] **1. 식물재료의 추출**

[0052] 구절초 생화는 유기농 구절초 판매 업체 함해국(<http://hamhaeguk2.com>)에서 구매하여 사용하였다. 구절초 생화 10 kg을 20 L의 98% 메탄올(Methyl alcohol, 20L, (주)대정화금)에 침지, 48시간 상온 추출하였다. 농축물은 여과지(Qualitative filter paper, No.1, 47mm, Whatman®, England)를 이용하여 2번 여과하였다. 여과된 농축물을 45℃에서 감압 농축하여 유기용매를 제거하였다. 분말화된 농축물은 생시료의 무게로 나누어 수율을 계산하였다.

[0054] **2. 농축물 분획**

[0055] 유기용매 제거 후, 분말화된 농축물을 500 mL 증류수에 균질 혼련기(256rpm, HMZ-20DN, (주)풍림테크)를 이용하여 균질화하였다. 충분히 균질화 된 용액은 동량의 헥산(n-Hexane, 500 mL, (주)대정화금), 클로로포름(99.5% Chloroform, 500 mL, (주)대정화금), 에틸 아세테이트(Ethyl acetate, 500 mL, (주)대정화금), 부탄올(99% n-Butanol, 500 mL, (주)대정화금)을 이용하여 분획하였다. 각각의 분획물은 감압농축법을 이용하여 분말화하였다. 각 분획물은 생시료의 무게로 나누어 수율을 계산하였다.

[0057] **3. 타이로시나아제 활성 저해 시험**

[0058] 구절초 생화 농축물의 미백효과를 알아보기 위하여 식품의약품안전청 의약품평가부 의약외품과에서 발행한 ‘기능성 화장품의 유효성 평가를 위한 가이드라인’ 을 토대로 *in vitro* 타이로시나아제 활성 저해시험을 진행하였다. 농축물을 각각 0.2 mg · mL<sup>-1</sup>, 0.1mg · mL<sup>-1</sup>, 0.05mg · mL<sup>-1</sup>, 0.025mg · mL<sup>-1</sup>, 0.01mg · mL<sup>-1</sup>, 0.005mg · mL<sup>-1</sup>의 농도로 99% 메탄올을 이용해 희석한 후, 인산염 완충액(pH 7.0) 150μL, 타이로시나아제(Tyrosinase from mushroom, Sigma, USA) 10μL, L-타이로신 (L-Tyrosine, Sigma, USA) 20μL, 시료액 20μL씩 혼합하였다. 혼합한 용액은 37℃에 10분간 반응 후 475nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로는 미백 개선 기능성화장품에 첨가되는 알부틴(Arbutin, Sigma, USA)을 이용하였고, 시료액의 타이로시나아제 활성저해율은 하기 수학적 식 3으로 계산되었다:

[0059] [수학적 식 3]

[0060] 타이로시나아제 활성저해율(%) = 100 - (((b-b')/(a-a')) \* 100)

[0061] (a는 공시료액의 반응 후 흡광도, b는 시료액의 반응 후 흡광도, a'와 b'는 타이로시나아제 대신 완충액으로 대체하여 측정된 흡광도).

[0063] **4. DOPA 산화반응 저해 시험**

[0064] 구절초 생화 농축물의 미백효과를 알아보기 위하여 식품의약품안전청 의약품평가부 의약외품과에서 발행한 ‘기능성 화장품의 유효성 평가를 위한 가이드라인’ 을 토대로 *in vitro* DOPA 산화반응 저해시험을 진행하였다. 농축물은 0.2 mg · ml<sup>-1</sup>, 0.1 mg · ml<sup>-1</sup>, 0.05 mg · ml<sup>-1</sup>, 0.025 mg · ml<sup>-1</sup>, 0.01 mg · ml<sup>-1</sup>, 0.005 mg · ml<sup>-1</sup>의 농도로 99% 메탄올을 이용해 희석한 후, 인산염 완충액(pH 7.0) 150μL, 타이로시나아제(Tyrosinase from mushroom, Sigma, USA) 10μL, L-DOPA (3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine, Sigma, USA) 20μL, 시료액 20μL씩 혼합하였다. 혼합한 용액은 37℃에 2분간 반응 후 475nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로는 알부틴 (Arbutin, Sigma, USA)을 이용하였고, 시료액의 DOPA 산화반응 저해율은 하기 수학적 식 4로 계산되었다:

[0065] [수학적 식 4]

[0066] DOPA 산화반응 저해율(%) = 100 - ((각 시료액의 반응 흡광도/공시료액의 반응 흡광도) \* 100).

[0068] **5. UPLC를 이용한 유효성분 분석 시험**

[0069] 각 농축물의 기능성 물질 분석을 위하여 ACQUITY<sup>TM</sup> Ultra-Performance LC system (Waters, Milford, MA, USA)을 이용한 HPLC(High Performance Liquid Chromatography)로 분석하였다. 유효성분 질량 분석은 ACQUITY UPLC<sup>®</sup>

BEH C<sub>18</sub>column(1.7 $\mu$ m 2.1 $\times$ 100mm)을 이용한 Micromass Q-TOF Premier<sup>제</sup> (Waters)로 TOF-MS 분석을 진행하였다. 이동상은 (A)0.1% 포름산+증류수, (B)0.1% 포름산+아세트나이트릴로 구성하였다. 유량은 0.4 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>이며 주입용량은 5 $\mu$ L이다(표 2).

표 2

[0071]

시간(분)	플로우(mL $\cdot$ min <sup>-1</sup> )	%A	%B
0.00	0.4	99	1
1.00	0.4	95	5
10.00	0.4	70	30
17.00	0.4	40	60
17.10	0.4	0	100
19.00	0.4	0	100
19.10	0.4	99	1
20.00	0.4	99	1

[0072]

**실험결과**

[0073]

**1. 미백 활성**

[0074]

*In vitro* DOPA 산화반응 억제 시험에서는 모든 처리구에서 유의한 미백 활성을 나타내지 않았다. 이에 반해, *in vitro* 타이로시나아제 억제 활성 시험 결과 물 분획층은 농도 0.01mg $\cdot$ mL<sup>-1</sup>에서 양성대조구인 arbutin과 같은 수준의 미백 활성을 나타냄을 확인하였다(도 1).

[0076]

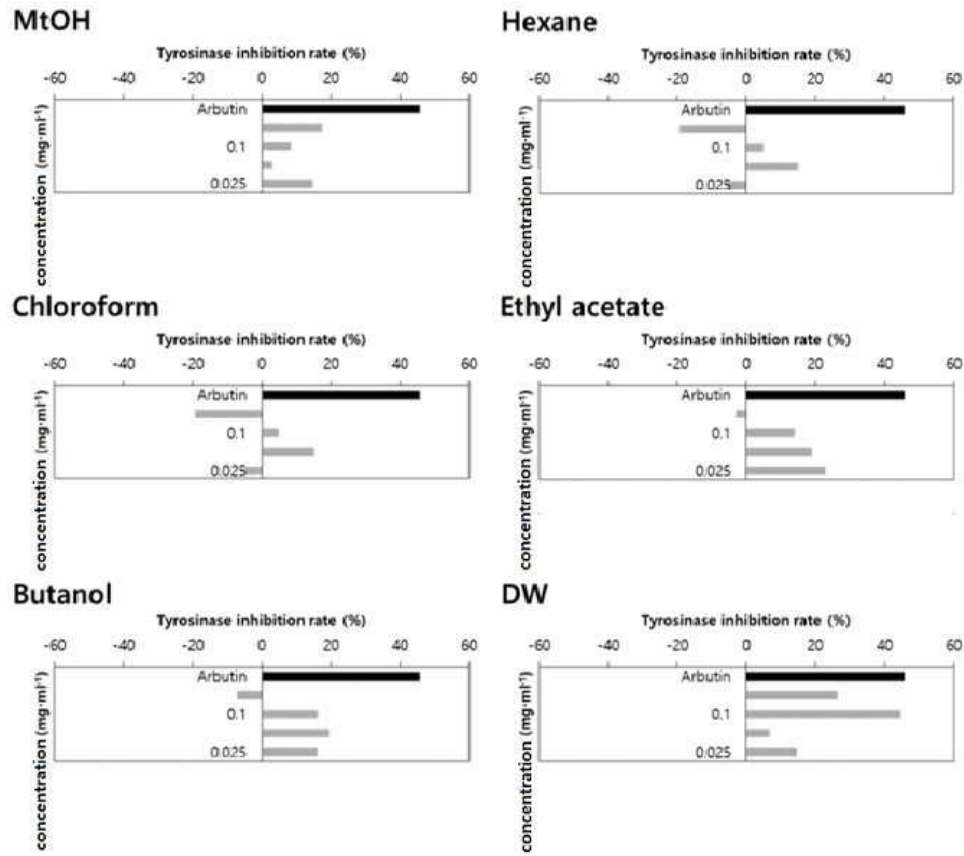
**2. UPLC 분석**

[0077]

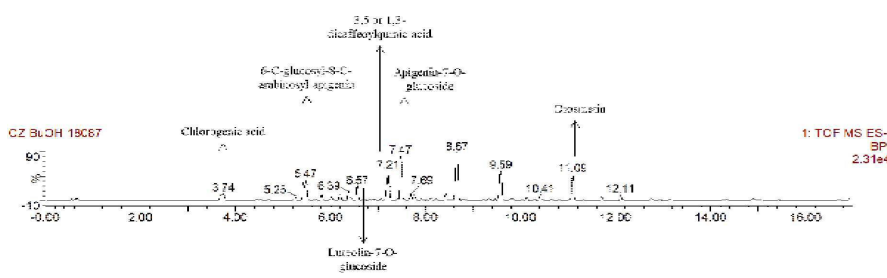
UPLC 결과, 물 분획물은 chlorogenic acid와 6-C-glucosyl- 8-C-arabinosylapigenin을 포함하는 것을 확인하였다(도 2). Ethyl acetate를 이용한 구절초 생화 분획물의 UPLC 결과, 플라본류 luteolin, diosmetin과 플라보노이드 화합물 acacetin-7-rutinoside(linarin), apigenin을 포함하는 것을 확인하였다(도 3). 또한, 부탄올 분획물에서는 폴리페놀화합물 chlorogenic acid, 3,5 or 1,3-dicaffeoylquinic acid(cynarin)와 플라보노이드 6-C-glucosyl-8-C- arabinosyl apigenin, apigenin-7-O-glucoside, diosmetin이 함유되어 있음을 확인하였다(도 4).

도면

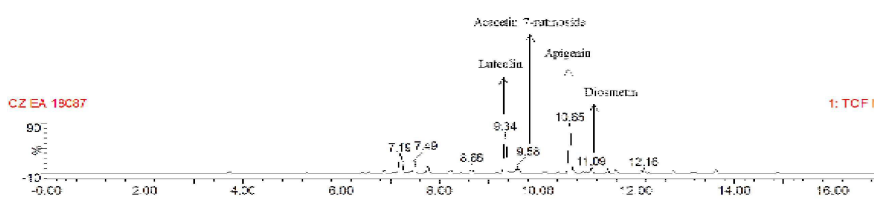
도면1



도면2



도면3





도면4

