



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년11월28일
(11) 등록번호 10-1680431
(24) 등록일자 2016년11월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0148909
(22) 출원일자 2014년10월30일
심사청구일자 2014년10월30일
(65) 공개번호 10-2016-0050530
(43) 공개일자 2016년05월11일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020140045161 A
KR1020120056594 A
KR1020110006444 A
KR1020090027387 A

(73) 특허권자
재단법인 전남생물산업진흥원
전남 나주시 동수농공단지길 30-5, (동수동)
(72) 발명자
최철용
광주광역시 서구 풍암순환로 10 호반중흥1단지 아
파트 105동 203호
이규욱
전라남도 장흥군 장흥읍 우드랜드길 136 성은연립
주택 101동 404호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최석진

전체 청구항 수 : 총 5 항

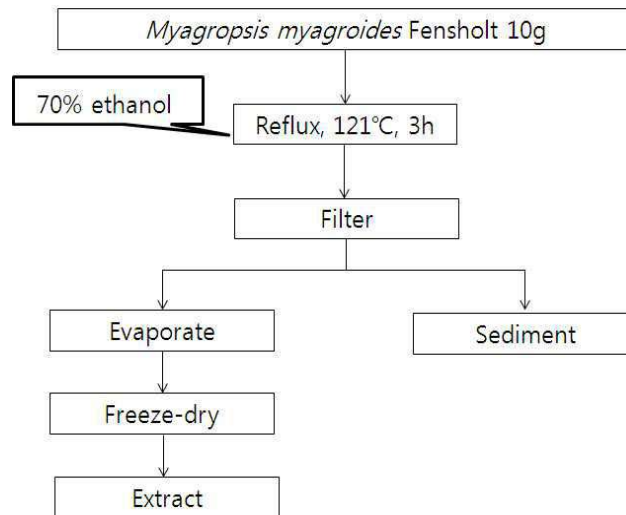
심사관 : 김정아

(54) 발명의 명칭 외톨개모자반 추출물을 함유하는 주름개선용 화장료 조성물

(57) 요약

우리나라 해양 천연자원인 외톨개모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 주름개선에 효과가 있는 화장료 조성물
에 관한 것으로, 항산화활성이 우수하고 사람 각질세포주인 Haca T에 H₂O₂처리 후에 증가하는 콜라게나아제(MMP-
1) 활성을 저해하는 효과가 우수하여 피부주름 개선효과를 가지고 있을 뿐만 아니라 세포에 대한 독성 및 부작용
이 없어 장기적 사용에도 안전한 효과가 있는 주름개선용 화장료 조성물을 제공한다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

반상오

광주광역시 북구 평교로29번길 23 (문흥동)

김재용

전라남도 순천시 왕궁길 60 중흥파크맨션 304동 207호

설희진

광주광역시 남구 봉선2로 96-14 무등2차아파트 203동 806호

강후원

전라남도 나주시 영산포로 205-7 (영산동)

장육진

전라남도 장흥군 장흥읍 장흥대로 3492 계명아파트 1005호

박성윤

전라남도 화순군 화순읍 광덕로 215 부영6차아파트 606-705

박세준

전라남도 장흥군 안양면 우드랜드길 288

이순택

경기도 고양시 일산서구 대산로226번길 24-3

이동욱

전라남도 장흥군 장흥읍 북부로 39 수창아트빌아파트 203호

김선오

광주광역시 북구 양일로 52-1 연제2차대주피오레아파트 201동 1003호

조영현

전라남도 완도군 신지면 명사십리61번길 215

최성계

전라남도 장흥군 장흥읍 건산로1길 16 미래1차 아파트 1106호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 CJY20141029002

부처명 산업통상자원부

연구관리전문기관 한국산업기술평가관리원(KEIT)/전남지역산업평가단

연구사업명 해양바이오소재산업화지원사업

연구과제명 완도의 해양자원을 이용한 새로운 기능성 화장품 개발 및 제품화

기여율 1/1

주관기관 (주)향아식품

연구기간 2013.11.01 ~ 2014.10.31

명세서

청구범위

청구항 1

외톨개 모자반 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 외톨개모자반 추출물을 함유하는 주름 개선용 화장료 조성물

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 5의 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산, 디클로로메탄 및 이의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상을 추출용매로 사용하여 추출한 것을 특징으로 하는 외톨개모자반 추출물을 함유하는 주름 개선용 화장료 조성물

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 추출용매를 사용하여 추출한 외톨개모자반 추출물에 비극성용매로서 헥산, 클로로포름, 디클로로메탄 및 에틸아세테이트 중 어느 하나를 분획용매로 사용하여 분획한 것을 특징으로 하는 외톨개모자반 추출물을 함유하는 주름 개선용 화장료 조성물

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 외톨개 모자반 추출물은 조성물 내에 0.1 내지 10.0중량%로 포함되는 것을 특징으로 하는 외톨개모자반 추출물을 함유하는 주름 개선용 화장료 조성물

청구항 5

- 1) 증류수로 수세한 외톨개 모자반에 70% 에탄올을 가한 후, 121℃에서 3시간 동안 가열하여 reflux 환류 냉각 추출하는 단계;
- 2) 상기 추출단계로부터 얻어진 추출물을 400 메쉬 필터페이퍼에 여과한 다음, 수득한 여액을 감압회전농축기를 이용하여 농축단계
- 3) 상기 여과 후 남은 잔사에 동일 과정으로 2번 더 추출 여과 및 감압 농축하는 단계;
- 4) 상기 여과, 농축단계를 통해 제조된 농축액을 동결건조기에서 동결 건조하여 수득한 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물이 0.1 내지 10.0중량%로 포함하는 것을 특징으로 하는 외톨개모자반 추출물을 함유하는 주름 개선용 화장료 조성물

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 주름개선용 화장료 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 외톨개모자반 (*Myagropsis myagroides* (Martens ex Turner) Fensholt) 추출물을 유효성분으로 포함하며, 항산화 활성이 우수하고 사람 각질세포주인 Haca T에 H₂O₂처리 후, 증가한 콜라게나아제(MMP-1) 활성 저해 효과가 우수하며 독성 및 부작용이 없이 안전하게 사용될 수 있는 주름개선용 화장료 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 바닷속 식물은 대부분 꽃이나 종자를 갖지 않는 하등조류에 속하지만, 종자식물도 약간 있다. 이와 같이 바다의 종자식물을 해초(sea grass, 海草)라고 하여 모두 외떡잎식물에 속하며, 물 속에 나오는 녹색 잎, 해저의 표면 또는 그 바로 아래를 가로, 세로로 가는 줄기 및 뿌리의 세 부분으로 이루어지는 체계를 가진다. 성숙하면 꽃이 피는데, 육상식물에서 볼 수 있는 아름다운 꽃이 아니고 소형으로 눈에 잘 띄지 않고 필요한 수술 암술만으로 이루어진다.
- [0003] 전 세계에 8속 약 40종이 있으며 추운 북극해안보다 따뜻한 남쪽 해안에 종류도 많고 잘 번식한다. 한해역(寒海城)에는 새우말, 온해역에는 거머리말 애기거머리말, 난해역에는 바다거머리말이 대표종이다.
- [0004] 한편 해조(marine algae, 海藻)란 바다에 사는 조류(藻類)를 통틀어 일컫는 말로, 녹조식물, 갈조식물, 홍조식물과 남조식물 중 바다에 사는 종류가 포함된다. 이들은 보통 520m까지 분포하며, 50m 깊이까지도 생육하고 있는 것을 볼 수 있다.
- [0005] 특히 갈조류는 laminaran, fucoidan 및 alginic acid과 같은 다당류뿐만 아니라 fucoxanthin, phloroglucinol, eckstolonol, eckol, phlorofucofuroeckol A 및 dieckol phlorotanin 등 다양한 생리활성 물질이 함유되어 있어 면역증진, 알레르기억제, 항염증, 항암, 항혈액응고 및 혈중 콜레스테롤감소 효과등 다양한 생리활성을 가지는 천연자원으로 그 중요성이 증대되고 있다.
- [0006] 외톨개 모자반(*Myagropsis myagroides*)은 모자반목(Fucales) 모자반과 (Sargassaceae)에 속하는 갈조류로 뿌리는 직경5~7cm의 낮은 원추상이며 뿌리 표면에서 1~4cm 또는 그 이상의 줄기가 나오고 줄기의 표면에는 다수개의 혹이 형성된다. 중심가지는 매우 접근하여 줄기의 양측에서 우상으로 나와서 광개한 형태이고 길이 1~3m크기로 중심가지는 편원이고 수회 우상분기하며 작은 가지의 양 가장자리에 잎을 가지게 된다.
- [0007] 외톨개 모자반의 잎에는 중륵이 있고, 선상이며 가늘고 우상으로 분기하며 기포는 타원형으로 양끝이 가늘고 상부의 것은 방추상이다. 기포는 가는 선상의 관엽을 가지고 기포가 큰 것은 길이 5~10mm, 지름 4~5mm, 상부의 작은 것은 길이 4mm, 폭2mm 썸되는 것도 있다.
- [0008] 외톨개 모자반은 우리나라 남해안과 일본의 전 연안에 서식하고 있으며 우리나라에서는 기성, 부산, 제주도등의 저조선 부근에서 분포하며 다년생으로 봄에 성숙하여 주로 사료로 이용되고 있다. 지금까지 외톨개 모자반에 대한 연구로는 항균, 항고혈압활성, 간손상보호, 항혈액응고 효과 등이 보고되고 있으나, 그 생리활성에 관한 연구는 아직 미비한 실정이다.
- [0009] 한편, 화장료의 목표는 피부를 청결하게 하고, 아름다우며 건강하게 유지하는 것이다. 표피, 진피, 피하지방으로 구성되어 있는 피부는 인체를 이루고 있는 가장 큰 기관으로 보호기능과 장벽기능, 온도조절기능, 배설기능, 호흡기능 등 다양한 역할을 담당하고 있는 아주 중요한 기관이다. 그러나, 피부는 나이가 들면서 그 기능이 급격하게 저하되고, 이로 인한 다양한 변화가 오면서 노화되어 가게 된다. 노화에 따른 피부의 생리적 변화로는 피부의 구성 성분인 표피, 진피 및 피하조직의 두께가 얇아지는 현상, 피부장벽의 기능을 맡고 있는 지방막 조성분과 함량이 변화하면서 그 기능이 급격하게 저하됨으로써 피부의 수분함량이 떨어지고 피부가 건조해지는 현상, 기미, 주근깨, 색소침착 또는 다양한 피부 병변이 유발되는 현상 등이 있다.
- [0010] 특히, 자외선량의 증가와 대기오염 및 현대인의 과도한 피로와 스트레스 등으로 인해 생성되는 반응성이 높은 활성산소와 자유라디칼은 생체성분을 산화시키거나 변성시킴으로써 피부노화의 주원인으로 작용한다. 따라서 피부노화에 따른 주름형성, 피부 탄력감소, 색소침착, 기미, 주근깨 등은 화장료 분야에서 피부 보호 및 미용 차원의 중요한 과제라 가장 많이 연구되어 지고 있는 영역중 하나이다.
- [0011] 본 발명은 천연원료인 외톨개 모자반 추출물을 유효성분으로 이용하여 독성 및 부작용 없이 안전하게 사용될 수 있고 주름개선이 가능한 외톨개 모자반 추출물을 유효성분으로 함유하는 주름개선용 화장료 조성물을 제공하고 자 한다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0012] (특허문헌 0001) 국내 등록특허번호 제10-0879283호에는 다시마 추출물 100 중량부, 미역귀 추출물 5 내지 300

중량부 및 알송이 모자반 추출물 1 내지 100 중량부를 포함하고, 상기 다시마 추출물, 미역귀 추출물 또는 모자반 추출물이 각각 다시마, 미역귀 또는 모자반을 단독으로 또는 혼합하여 물에 침지한 후 10 내지 50℃의 온도에서 5 내지 100시간 동안 저온 추출하여 얻어지는 것을 특징으로 하는 해조 추출물을 포함하는 화장료 조성물에 관하여 개시되어 있다.

(특허문헌 0002) 국내 등록특허번호 제10-1067648호에는 다시마를 이용한 추출, 농축물을 제조하는 방법 및 그 잔사에서 주정 또는 에탄올로 추출하여 엽록소를 효과적으로 추출, 농축하여 농축물에 첨가하여 엽록소가 가지는 기능성을 보장하는 공정으로 다시마분말을 이용한 추출, 농축물 제조방법 및 그 잔사에 대해서 엽록소를 추출, 농축하여 첨가하여 엽록소를 함유된 다시마 농축물의 제조 및 그 기능성에 관하여 개시되어 있다.

(특허문헌 0003) 국내 등록특허번호 제10-1084939호에는 동해산의 다시마(Laminaria japonica) 또는 구멍쇠미역(Agarum cribrosum) 건조물을 세절 및 분쇄하는 제 1단계 분쇄물 각각에 50 내지 200배(v/w)의 물을 가하여 균질화한 다음, 상온에서 30분 내지 3시간 동안 추출한 후, 원심분리하여 얻은 상등액을 진공동결 건조하여 상온수 추출물(RWF-1)을 수득하는 제 2단계 제 2단계의 상등액을 제거한 잔사에 증류수를 각각 가하여 50 내지 150℃에서 30분 내지 3시간 동안 추출한 후, 원심분리하여 얻은 상등액을 진공동결 건조하는 단계로 수득되는 열수 추출물(HWF-1)이 포함되어 있는 해조류 추출물을 유효성분으로 함유하는 고혈압의 예방 및 치료용 조성물에 관하여 개시되어 있다.

(특허문헌 0004) 국내 등록특허번호 제10-1084939호에는 미역포자염을 다당분해효소로 분해하는 단계; 상기 분해물을 가압추출 후 여과하여 저점도효소분해액을 제조하는 단계; 저점도효소분해액에서 단백질 및 알긴산을 제거하여 다당분해액을 제조하는 단계; 다당분해액 중의 다당류를 산성용액에 의해 분해하고 탈염하여 조 푸코이단액을 제조하는 단계; 조 푸코이단액을 이온교환크로마토그래피를 통해 푸코이단을 수집하는 단계, 상기 수집물을 분자량에 따라 분획하는 단계를 포함하는 미역포자염으로부터 분리한 항혈액응고 활성을 가진 황산화푸코스 다당 및 그 제조방법에 관하여 개시되어 있다.

(특허문헌 0005) 그러나 이와 같은 선행기술은 본 발명에서와 같이 외톨개모자반 추출물을 유효성분으로 포함하여 주름개선용 화장료 조성물로 사용하고, 항균활성을 비롯한 다양한 생리활성물질의 새로운 자원인 해양 생물 자원을 사용함으로써 풍부한 자원확보와 항산화활성이 우수하고 콜라게나아제 활성 저해효과가 우수할 뿐만 아니라 독성 및 부작용 없이 안정하게 사용될 수 있는 본 발명의 외톨개모자반 추출물을 유효성분으로 함유하는 주름개선용 화장료 조성물과는 차이를 보인다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명은 항산화 활성이 우수하고 콜라게나아제 활성을 저해하는 외톨개 모자반 추출물을 함유하는 주름개선용 화장료 조성물에 관한 것으로, 우리나라 해양 천연 자원인 갈조류에 속하는 외톨개 모자반 추출물을 유효성분으로 포함하며, 피부의 주름개선 효능이 있는 피부외용제 제형으로 사용할 수 있고 장기간 사용하여도 부작용 없이 안전한 외톨개 모자반 추출물을 함유하는 주름개선용 화장료 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기 과제를 해결하기 위해 본 발명은 외톨개모자반 추출물을 유효성분으로 함유하는 주름 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0015] 외톨개 모자반 추출물은 물, 탄소수 1 내지 5의 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산, 디클로로메탄 및 이의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택된 1종이상을 가용한 추출물 일 수 있으며, 상기 추출용매를 사용하여 추출한 외톨개 모자반 추출물에 비극성 용매로서 헥산, 클로로포름, 디클로로메탄 및 에틸아세테이트 중 어느 하나를 분획용매로 사용하여 분획할 수 있다.

[0016] 상기 추출물을 유효성분으로 함유하는 주름 개선용 화장료 조성물은 0.1 내지 10.0 중량% 함유하며 피부외용제 제형인 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0017] 본 발명은 천연 해양생물자원인 외톨개모자반 추출물을 유효성분으로 사용함으로써 항산화활성이 우수하고 사람 각질세포주인 Haca T에 H₂O₂처리 후에 증가하는 콜라게나아제(MMP-1) 활성을 저해하는 효과가 우수하여 피부주름 개선효과를 가지고 있을 뿐만 아니라 세포에 대한 독성 및 부작용이 없으므로 장기적 사용에도 안전한 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도1는 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물의 제조모식도를 나타낸다.
 도 2는 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물의 세포 독성실험결과를 나타낸다.
 도 3은 외톨개모자반 열수, 30%, 70% 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능 효과를 나타낸 것이다
 도 4는 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능 효과를 나타낸다.
 도 5는 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물의 MMP-1 활성저해 효과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 본 발명은 외톨개모자반 추출물을 유효성분으로 함유하는 주름개선용 화장료 조성물을 제공한다. 본 발명의 외톨개모자반 추출방법은 외톨개모자반을 증류수로 수세한 다음 추출용매를 가하여 열수추출하는 단계; 상기 추출물을 여과하고 농축하여 동결건조하여 추출물을 수득하는 단계로 이루어질 수 있다.

[0020] 상기 열수 추출단계의 추출용매는 물, 탄소수 1내지 5의 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산, 디클로로메탄 및 이의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상을 가용하여 추출할 수 있다.

[0021] 본 발명의 외톨개모자반 추출물을 유효성분으로 함유하는 주름 개선용 화장료 조성물은 0.1 내지 10.0중량% 범위로 함유시켜 항산화 활성과 콜라게나아제 활성을 저해하여 주름개선이 가능하고 독성 및 부작용이 없는 피부 외용제 제형으로 이용할 수 있다.

[0022] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예를 상세히 설명한다. 하기 실시예는 본 발명의 외톨개 모자반 추출물 제조방법과 제조한 추출물을 통해 세포독성 실험을 통해 독성 및 부작용이 있는지 여부를 확인하고, DPPH라디칼 소거능효과 실험으로, 항산화효과를 MMP-1활성 저해 효과 실험으로 주름개선효과를 확인하는 실험에 가 기재되어 있다.

[0023]

1. 외톨개모자반 추출물 제조

[0024]

[0025] 도 1은 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물의 제조모식도를 나타낸 것이다. 증류수로 수세한 외톨개 모자반 10g을 70% 에탄올 200ml을 가한 후, 121℃에서 3시간 동안 가열하면서 reflux 환류 냉각 추출하였다. 30% 에탄올 추출물의 경우 역시 상기와 동일한 조건에서 행하였으며, 열수추출은 모자반 10g을 증류수 200ml을 가한 후, 100℃에서 3시간 동안 가열하면서 추출하였다.

[0026] 여과, 농축단계는 상기 추출단계를 수행한 후 400 메쉬 필터페이퍼에 여과한 다음, 수득한 여액을 감압회전농축기를 이용하여 농축하였다. 일반적으로 여과 후 남은 잔사에 동일 과정으로 2번 더 추출 여과 및 감압농축하는 것이 적절하다.

[0027] 추출물 수득단계는 상기 여과, 농축단계를 통해 제조된 농축액을 동결건조기(Freeze dryer)에서 동결 건조시킴으로서 추출물을 수득하고, 수득한 추출물을 비극성 용매로 이루어진 분획용매에 용해시켜 분획물을 얻은 후 감압 여과 장치로 여과 농축하여 동결건조하여 이루어질 수 있다.

[0028] 동결 건조기에서 외톨개모자반 70% 에탄올추출물 3.24g을 수득하였으며, 상기 70% 에탄올 추출법에 의한 수율이 32.4%인 것으로 확인할 수 있다. 분획과정은 수득한 추출물을 증류수에 완전히 용해시킨 후 분획 여두 깔대기에 헥산(Hexane) 을 첨가하여 water층과 hexane 층을 분리하였고 이와 같은 공정을 3번 반복하였다. 반복 공정시 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 부탄올(butanol), 물을 순차적으로 가하여 각 분획

물을 얻었고, 얻어진 각각의 분획물을 감압여과 장치로 여과하여 농축한 후 동결 건조한다.

2. 외톨개모자반 추출물의 세포 독성실험

본 발명의 외톨개 모자반 추출물을 유효성분으로 함유하는 주름개선용 화장 조성물의 피부에 대한 세포독성 및 안정성을 확인하고자 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물에 대한 NIH3T3세포의 세포생존율을 측정하기위해 MTT assay를 수행하였다.

세포 독성실험방법은 세포배양 배지를 제거한 후 MTT를 1 mg/ml로 포함하는 DMEM 배지를 웰 당 1 ml씩 처리하고, 37℃ 습윤한 CO₂ 배양기에서 4시간 더 배양하였다. 이후 배지를 제거한 후, tetrazolium bromide salt를 제거하고, DMSO 200 μl를 분주하여 각 웰에 생성된 포르마잔 크리스탈을 용해시키고, 마이크로 플레이트 리더(microplate reader)에서 570 nm파장으로 흡광도를 측정하여 세포생존율을 확인하였다.

도 2는 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물의 세포 독성실험결과를 나타낸다. 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물을 다양한 농도(10, 20, 30, 40, 60, 80, 그리고 100ug/ml)별로 처리하고 24시간을 처리한 결과, 각각 88.1%, 79.6%, 91.7%, 89.2%, 84.4%, 101.4%, 그리고 102.3%의 세포증식능력을 확인할 수 있었고 이는 시료를 처리하지 않은 정상군과 비교한 결과, 모두 세포독성에 별다른 영향을 나타내지 않는 것으로 확인되었다.

3. 외톨개모자반 추출물의 항산화 효과 확인실험

3.1 추출 용매에 따른 외톨개모자반 추출물의 항산화 효과 확인실험

도 3는 외톨개 모자반 열수, 30%, 70% 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능 효과를 나타낸 것이다. 외톨개 모자반 열수, 30%, 70% 에탄올 추출물의 항산화효과를 평가하기 위해 DPPH 자유라디칼 소거활성 실험을 수행하였다.

외톨개 모자반 추출물이 DPPH 라디칼에 전자를 공여함으로써 라디칼을 소거하는 효과를 517nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 즉, 외톨개 모자반 추출물을 DPPH용액과 혼합하여 각각 10, 50, 100 그리고 200ug/ml의 농도가 되도록 하고 실온에서 30분 동안 정치시킨 다음 증류수로 반응을 정지시켰다. 반응물에 대한 흡광도를 측정하여 대조군에 대한 흡광도 감소치를 DPPH 라디칼 소거활성으로 하여 외톨개모자반 추출물의 항산화 활성도를 나타내었다.

대조군인 DPPH용액의 흡광도 값을 100% 기준으로 했을 때, 실험군인 외톨개모자반 열수, 30%, 70% 에탄올 추출물 200ug/ml의 농도에서의 DPPH 흡광도 값을 구한 결과 각각 82.2%, 62.3% 그리고 52.7% 값을 얻었다.

따라서, 외톨개 모자반 70% 에탄올 추출물은 열수나 30% 에탄올 추출물에 비해 높은 DPPH 라디칼 소거능을 보임으로서 우수한 항산화 효과를 확인하였다.

3.2 외톨개 모자반 70% 에탄올 추출물의 항산화 효과 확인실험

본 발명의 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물의 항산화효과를 확인하기 위해 DPPH 자유라디칼 소거활성 실험을 수행하였다. DPPH 자유라디칼 소거활성 실험은 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물이 DPPH 라디칼에 전자를 공여함으로써 라디칼을 소거하는 효과를 517nm에서 흡광도를 측정하여 계산하여 이루어질 수 있다.

DPPH 자유라디칼 소거활성 실험방법은 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물을 DPPH용액과 혼합하여 각각 50, 100 그리고 200ug/ml의 농도가 되도록 하고 실온에서 30분 동안 정치시킨 다음 증류수로 반응을 정지시켰다. 반응물에 대한 흡광도를 측정하여 대조군에 대한 흡광도 감소치를 DPPH 라디칼 소거활성으로 하여 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물의 항산화 활성도를 나타내었다.

도 4는 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능 효과를 나타낸다. 대조군인 DPPH용액의 흡광도 값을 100% 기준으로 했을 때, 실험군인 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물 50, 100 그리고 200ug/ml의 농도에서의 DPPH 흡광도 값을 구한 결과 각각 73.5%, 62.5% 그리고 52.7% 값을 얻었다.

상기 결과를 통해 외톨개 모자반 70% 에탄올 추출물은 농도 의존적으로 각각 26.5%, 37.5% 그리고 47.3%의 DPPH 라디칼 소거능을 보임으로서 우수한 항산화 효과가 있는 것으로 사료된다.

[0044] **4. 외톨개모자반 추출물의 콜라겐 분해 억제능 확인 실험**

[0045] 본 발명의 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물의 콜라겐 분해 억제능력을 확인하기위해 MMP-1 활성저해 실험을 수행하였다. MMP-1 활성저해 실험방법은 인간 각질세포인 Haca T세포를 24-웰 마이크로 플레이트에 각 웰당 5×10^4 세포가 되도록 접종하고, DMEM 배지에 37°C의 조건에서 24시간 동안 배양하였다.

[0046] 대조군으로 10uM 과산화수소(H_2O_2)를 처리하여 콜라겐 분해를 유발하였다. 실험군으로 10uM 과산화수소(H_2O_2)와 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물 10 $\mu g/ml$ 로 처리한 다음 24시간 동안 무혈청 배지에서 추가로 배양하였다. 배양 후, 각 웰의 상층액을 모아 MMP-1 assay kit(fluorimetric)를 사용하여 흡광340/발광490nm에서 형광물질인 EDVANS의 생성량을 측정하였다. EDVANS의 생성량을 통해 MMP-1 효소의 활성을 확인하였다.

[0047] 도 5는 외톨개 모자반 70% 에탄올 추출물의 MMP-1 활성저해 효과를 나타낸다. 대조군인 10uM 과산화수소(H_2O_2)를 처리한 경우, MMP-1 효소의 활성(79.2)이 정상군의 활성(75.9)에 비해 증가함을 확인하였다. 반면에 10uM 과산화수소(H_2O_2)와 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물 10ug/ml을 동시에 처리한 실험군의 경우, MMP-1 효소의 활성(68.8)이 대조군(79.2)에 비해 감소하였음을 확인하였다.

[0048] 상기 실험결과에 따라 외톨개모자반 70% 에탄올 추출물은 과산화수소에 의해 증가된 MMP-1 활성 억제에 관여하고 콜라겐 분해 촉진 억제에 관여함으로써 주름개선에 효과가 있는 것으로 사료된다.

[0049] **5. 추출물을 이용한 주름개선 효과를 갖는 기능성 화장품제조**

[0050] 외톨개 모자반 70% 에탄올 추출물에 대한 MMP-1 활성저해 등의 실험결과로부터 항산화, 주름개선 효과에 뛰어난 기능성 화장품의 원료로 사용할 수 있는 것이 확인됨에 따라 본 발명의 외톨개 모자반 70% 에탄올 추출물을 이용하여 주름개선 효과에 뛰어난 기능성 화장품을 제조하였다.

[0051] 주름개선 기능을 갖는 외톨개 모자반 70% 에탄올 추출물의 기능성 화장품 함유량은 본 발명의 외톨개 모자반 70% 에탄올 추출물을 100 내지 200 ug/ml 함유하도록 하였다. 기타 포함되는 화장품 원료로는 일반적으로 화장품제조에 사용되는 원료로서 유상, 수상 성분, 계면활성제, 비타민류 등을 혼합하여 제조한다.

[0052] 본 발명에 따라 제조된 기능성 화장품은 클렌징 폼, 스킨로션, 에멀전, 영양크림, 에센스, 앰플, 아이크림, 클렌징 로션, 마사지 크림, 필링젤, 남성용 스킨로션, 필링젤, 남성용 에멀전, 비비크림, 슬리밍 젤, 고주파 젤, 고주파 크림, 손 소독제 등으로 제조될 수 있으며, 사용방법은 일반적으로 환부에 도포하는 방법이 사용될 수 있고, 제형에 따라 바람직한 투여방법을 선택할 수 있다.

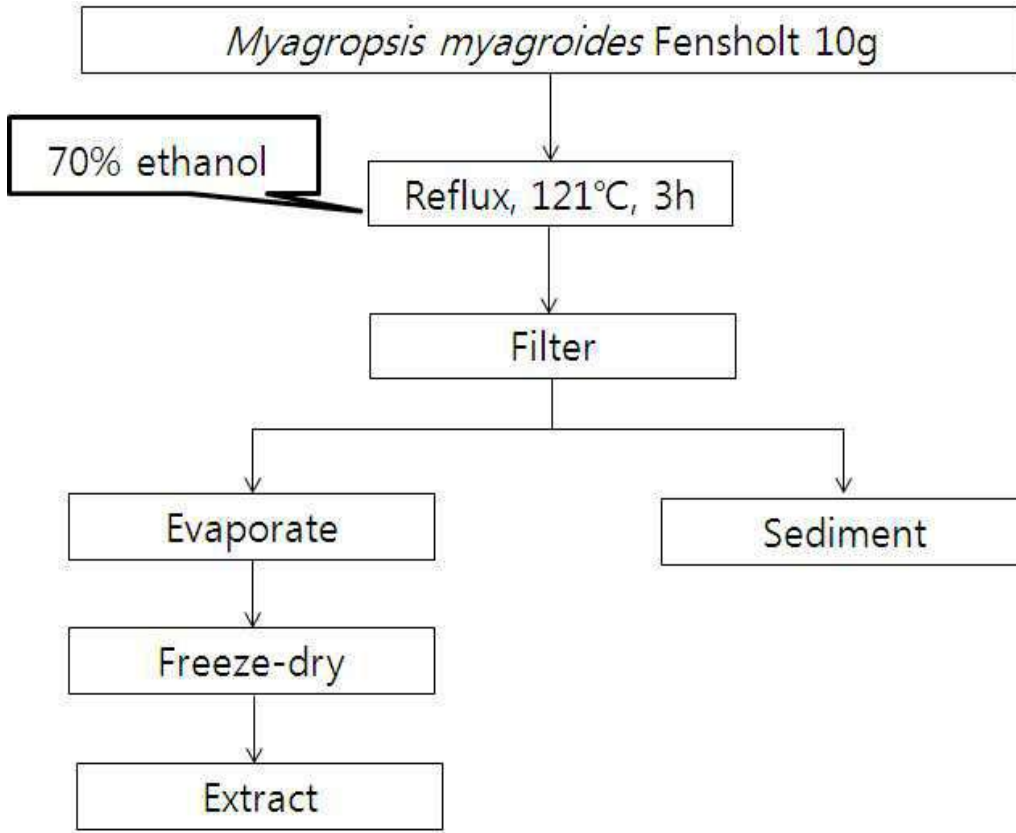
[0053] 본 발명의 조성물의 일일 투여량은 투여대상, 투여방법, 증상에 따라 결정되며, 투여회수는 1일 2회 이상이 바람직하나 정도에 따라 투여회수 또한 조절될 수 있다.

산업상 이용가능성

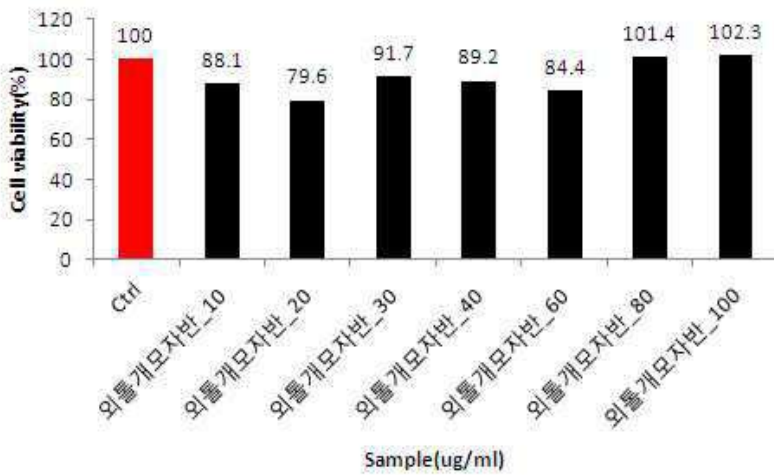
[0054] 본 발명은 천연 해양생물자원인 외톨개모자반 추출물을 유효성분으로 사용함으로써 항산화활성이 우수하고 사람 각질세포주인 Haca T에 H_2O_2 처리 후에 증가하는 콜라게나아제(MMP-1) 활성을 저해하는 효과가 우수하여 피부주름 개선효과를 가지고 있을 뿐만 아니라, 세포에 대한 독성 및 부작용이 없으므로 장기적 사용에도 안전한 효과가 있어 제조생산 단가 절감과 산업화를 통한 수입대체 및 수출효과를 기대할 수 있으므로 산업상 이용가능성이 있다.

도면

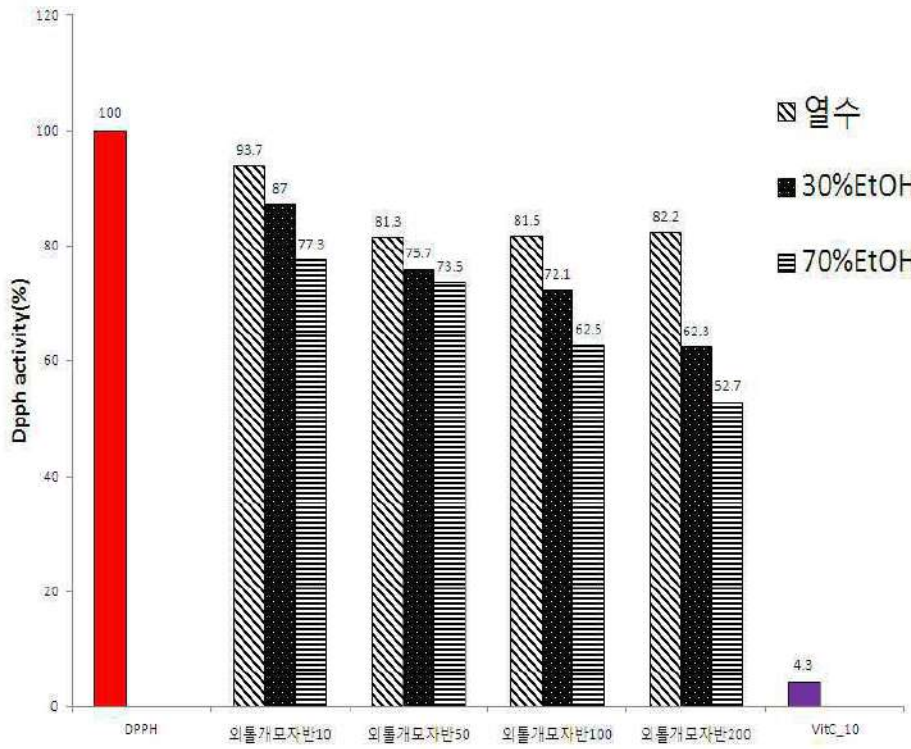
도면1



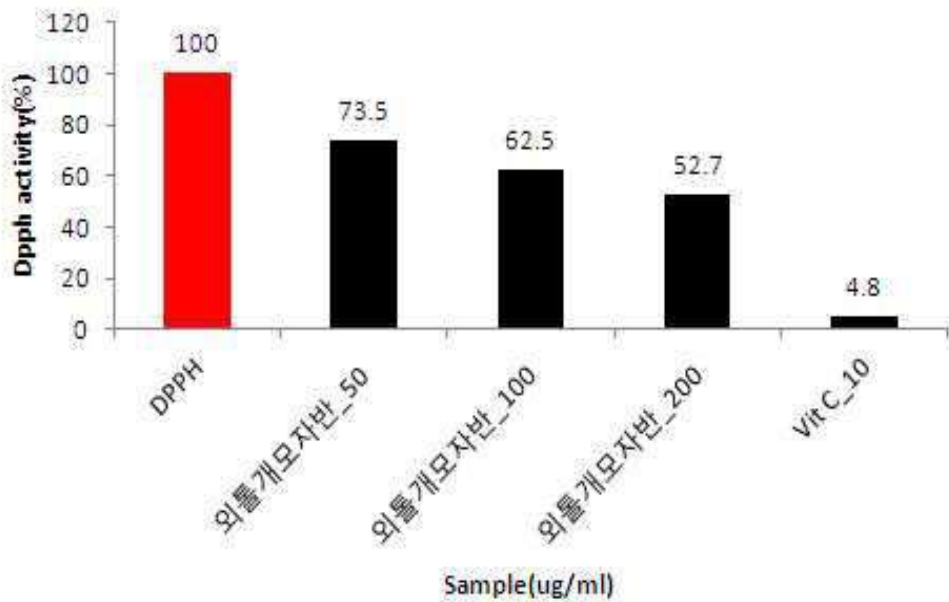
도면2



도면3



도면4



도면5

