

명세서

발명의 명칭: 박하초 추출물을 포함하는 미세먼지에 의한 피부 세포 손상 케어용, 피부장벽 강화용, 및 항노화 또는 항염 조성물 기술분야

- [1] 본 명세서에는 미세먼지에 의한 피부 세포 손상을 케어하는 조성물이 개시된다. 보다 상세하게, 정상 상태의 피부 세포와 비교하여 미세먼지에 의해 발현 정도가 변화되는 피부 세포 유전자인 바이오마커 등을 유의미하게 변화시켜서 피부 세포 손상을 케어하는, 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물을 포함하는 조성물이 개시된다.
- 배경기술**
- [2] 피부는 외부 환경에 직접적으로 노출되는 신체 부위로서, 우리 몸의 중요한 기관들을 보호하는 보호막 역할을 할 뿐만 아니라 수분 증발을 조절하고 외부 감염으로부터 몸을 보호하는 역할을 한다. 하지만, 아무리 외부로부터의 바이러스 침투를 막아내는 피부일지라도 과도한 자외선이나 오염물질 등에 노출되면 피부 자극을 유발하게 되고, 특히 강한 바람과 흙먼지를 동반한 황사에 의해 상처를 입게 된다.
- [3] 황사는 중국 및 몽고 등의 내륙에 위치한 사막에서 작은 모래나 황토가 부유하여 상층바람을 타고 멀리 수송되어, 지면 가까이 낙하하는 현상이다. 우리나라에서도 매년 봄철이면 황사가 주기적으로 발생한다. 황사는 유기물과 무기물의 복합체로 발생시기와 장소에 따라 물리적 특성과 구성성분이 매우 다양하며, 생물학적으로 영향을 줄 수 있는 금속 성분도 포함하고 있다. 황사와 같은 크기가 큰 입자들은 주로 발원지나 주변에 머물며, 그 중 입자 크기가 작은 먼지들이 국내에까지 유입되며, 이러한 먼지가 흡입시에 하부기관지 및 폐의 가스-교환부분까지 침착하여 호흡기계에 손상을 일으킬 수 있다고 보고된 바 있다. 또한, 황사, 먼지가 많은 지역에 주거하는 사람들의 피부에서는 피부 세포의 손상이 늘어나는 것이 관찰된 바 있다.
- [4] 한편, 피부의 구성층 중 표피는 인체 내부의 수분 증발을 방지하는 중요한 역할을 한다. 표피는 외부로부터 순서대로 각질층, 과립층, 유극층, 기저층으로 구분되며, 각질층의 세포들은 벽돌과 같은 역할을 하고 각질세포 사이의 세포간 지질들은 모르타르와 같은 역할로 작용하여 피부 장벽을 구성한다. 또한, 건강한 사람의 각질세포에는 고농도의 자연보습인자(Natural Moisturing Factor, NMF)가 존재하여 피부의 수분 보유를 돕는데, 예를 들면 아미노산과 같은 물질은 수용성이기 때문에 효과적으로 수분과 결합하여 피부에서 수분이 건조되는 것을 억제한다.
- [5] 그러나, 요즘과 같이 환경의 변화나 생활 패턴의 변화에 따른 냉/난방의 인위적인 온도 조절, 사회 생활에서 발생하는 각종 스트레스와 환경 오염으로

인한 피부 스트레스, 화장 습관에 따른 잦은 세안 및 연령 증가에 따른 자연적인 피부 노화 등의 여러 가지 원인으로 인하여 각질층의 수분이 감소하여 피부가 건조해지고 표면이 거칠게 되며 피부가 푸석거리고 촉촉함을 잃어 생기가 없어 보이는 등의 현상이 발생하기 때문에 피부 보습제의 필요가 증가하고 있다. 또한 외부로부터 받는 과도한 물리적, 화학적 자극, 자외선, 스트레스 및 영양결핍 등은 피부의 정상기능을 저하시키고 탄력손실, 각질화, 주름생성 등의 현상을 촉진시키게 되는데, 특히 자외선에 의해 표피 진피 경계부는 심하게 손상을 받는다. 또한, 외부로부터 받는 과도한 물리적, 화학적 자극, 자외선 및 스트레스 등은 피부의 정상기능을 저하시키고 탄력손실, 각질화, 주름생성 등의 피부노화현상을 촉진시키게 되는데, 특히 자외선에 의해 표피 진피 경계부는 심하게 손상을 받는다.

- [6] IL-36G는 피부장벽 약화로 인하여 발생하는 건선 등에 있어서의 유용한 바이오마커라는 것이 알려져 있다(비특허문헌 1 참조). 또한, S100A7은 피부장벽 기능의 장애로 인한 아토피 피부염 및 건선과 관련된 지표임이 알려져 있다(비특허문헌 2 참조). 또한, LCE3D 또한 건선 리스크 유전자와 관련된 지표임이 알려져 있다(비특허문헌 3 참조).
- [7] 또한, 인터류킨 1 은 노화관련분비표현형(senescence-associated secretory phenotype, SASP)으로 분류되고 있으며, 특히, 인터류킨 1a 및 1b (IL-1a 및 IL-1b)는 대표적인 노화 마커로 세포 노화(Cellular senescence)에 관여하는 것으로 알려져 있다(비특허문헌 4 참조). IL-1a, IL-1b 및 PTGS2는 피부 염증에 관여하고, XDH는 자극원에 장기간 노출된 경우에 유발된 산화 스트레스(oxidative stress)를 나타내고, 그 결과 외인성 피부노화를 나타내는 지표라는 점도 알려졌다(비특허문헌 5 참조). 또한, 피부 염증 관련하여 PTGS2(=COX-2) 및 IL-1a가 자극원에 노출된 피부 세포에서 발현량이 향상된다는 사실도 알려져 있으며(비특허문헌 6 참조), XDH(xanthine dehydrogenase)는 피부의 산화 스트레스(oxidative stress)를 나타내는 지표로, 피부 노화에 관여하는 것도 역시 알려져 있다.
- [8] 선행기술문헌
- [9] (비특허문헌 1) AM D'Erme et al, "IL-36c (IL-1F9) Is a Biomarker for Psoriasis Skin Lesions", Journal of Investigative Dermatology, Volume 135, 2015.
- [10] (비특허문헌 2) Son et al, "S100A7 (psoriasin) inhibits human epidermal differentiation by enhanced IL-6 secretion through IjB/NF-jB signalling", Experimental Dermatology, John Wiley & Sons A/S, 2016.
- [11] (비특허문헌 3) Bergboer et al, "Psoriasis Risk Genes of the Late Cornified Envelope-3 Group Are Distinctly Expressed Compared with Genes of Other LCE Groups", The American Journal of Pathology, Vol. 178, No. 4, April 2011.
- [12] (비특허문헌 4) Jean-Philippe Coppe, et al, "The Senescence-Associated Secretory Phenotype: The Dark Side of Tumor Suppression", Annual Review of Pathology:

Mechanisms of Disease, volume 5, 2010.

- [13] (비특허문헌 5) Kim, H.J., et al, "Transcriptome analysis of airborne PM_{2.5}-induced detrimental effects on human keratinocytes", Toxicology Letters 273, 26-35, 2017.
- [14] (비특허문헌 6) Natalia D Magnani, et al, "Skin Damage Mechanisms Related to Airborne Particulate Matter Exposure", toxicological sciences, 149(1), 2016, 227-236.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [15] 이에 본 발명자는 미세먼지가 피부에 유해한 영향을 미치며, 이러한 영향에 의하여 피부 세포 유전자의 발현에도 영향을 미침으로써 피부 세포 손상 등과 같은 증상이 나타나게 된다는 것을 발견하다.
- [16] 따라서, 일 측면에서 본 발명은 미세먼지에 의한 피부 세포의 손상 케어용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결 수단

- [17] 상기한 목적을 달성하기 위하여, 일 측면에서, 본 발명은 박하초 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 외용제 조성물로서, 미세먼지에 의해 발현량이 영향을 받는 피부 세포 내 유전자인 IL-1a(NM_000575), IL-1B(NM_000576), IL-36G(NM_019618), S100A7(NM_002963), LCE3D(NM_032563), PTGS2(NM_000963), XDH(NM_000379)로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 발현량을 정상 수준으로 조절하는 미세먼지에 의한 피부 손상 케어용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [18] 일 측면에서, 본 발명에 의해 제공되는 미세먼지에 의한 피부 손상 케어용 조성물을 이용함으로써, 미세먼지에 의해 변화되는 유전자 발현량을 정상 수준으로 되돌려 피부 세포의 손상을 케어할 수 있다.
- [19] 일 측면에서, 본 발명에 의해 제공되는 항노화 조성물 및 항염 조성물을 이용함으로써, 염증 또는 노화 자극에 의해 변화되는 유전자 발현량을 정상 수준으로 되돌려 피부 세포의 손상을 저하시킬 수 있다.
- [20] 일 측면에서, 본 발명에 의해 제공되는 피부장벽 강화용 조성물을 이용함으로써, 피부장벽 약화를 일으키는 자극원에 의해 변화되는 유전자 발현량을 정상 수준으로 되돌려 피부 세포의 손상을 저하시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [21] 도 1은 미세먼지 추출액의 처리에 의한 세포생존율을 나타낸 것이며, 여기에서 ADSP는 아시아 먼지 바람 입자(Asian dust storm particle)로서 황사를 나타내고, PM10(Particulate matter 10)은 입자크기가 10 μ m인 미세먼지를 나타내며, PM2.5(Particulate matter 2.5)는 입자크기가 2.5 μ m인 미세먼지를 나타낸다.
- [22] 도 2a는 PM2.5 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포 내에서 S100A7 유전자의 mRNA 발현량이 증가함을 나타낸 것이다.

- [23] 도 2b는 PM2.5 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포 내에서 IL-1A 유전자의 mRNA 발현량이 증가함을 나타낸 것이다.
- [24] 도 2c는 PM2.5 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포 내에서 IL-1B 유전자의 mRNA 발현량이 증가함을 나타낸 것이다.
- [25] 도 2d는 PM2.5 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포 내에서 IL-36G 유전자의 mRNA 발현량이 증가함을 나타낸 것이다.
- [26] 도 2e는 PM2.5 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포 내에서 PTGS2 유전자의 mRNA 발현량이 증가함을 나타낸 것이다.
- [27] 도 2f는 PM2.5 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포 내에서 LCE3D 유전자의 mRNA 발현량이 증가함을 나타낸 것이다.
- [28] 도 2g는 PM2.5 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포 내에서 XDH 유전자의 mRNA 발현량이 증가함을 나타낸 것이다.
- [29] 도 3a는 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포에서 변화한 S100A7 유전자의 발현량이 박하초 추출물의 처리에 의해 정상 수준으로 되돌아감을 나타낸 것이다.
- [30] 도 3b는 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포에서 변화한 IL-1A 유전자의 발현량이 박하초 추출물의 처리에 의해 정상 수준으로 되돌아감을 나타낸 것이다.
- [31] 도 3c는 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포에서 변화한 IL-1B 유전자의 발현량이 박하초 추출물의 처리에 의해 정상 수준으로 되돌아감을 나타낸 것이다.
- [32] 도 3d는 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포에서 변화한 IL-36G 유전자의 발현량이 박하초 추출물의 처리에 의해 정상 수준으로 되돌아감을 나타낸 것이다.
- [33] 도 3e는 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포에서 변화한 PTGS2 유전자의 발현량이 박하초 추출물의 처리에 의해 정상 수준으로 되돌아감을 나타낸 것이다.
- [34] 도 3f는 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포에서 변화한 LCE3D 유전자의 발현량이 박하초 추출물의 처리에 의해 정상 수준으로 되돌아감을 나타낸 것이다.
- [35] 도 3g는 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포에서 변화한 XDH 유전자의 발현량이 박하초 추출물의 처리에 의해 정상 수준으로 되돌아감을 나타낸 것이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [36] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [37] 박하초(*Mentha Arvensis*)는 통화식물목 꿀풀과의 여러해살이 속근초에 속하며, 야식향, 번하채, 인단초, 구박하 라고도 불린다. 박하초는 산뜻하고 투명한 듯한

청량감이 있는 풍미가 특징이며 서늘한 기후에서 자란 잎과 줄기가 향이 진한 특징을 갖는다. 주로 멘톨 성분이 함유되어 특유의 향을 발산하며, 비타민 등의 영양 성분도 함유되어 있다.

- [38] 본 발명의 일 측면에서, 상기 조성물은 박하초 추출물을 포함한다.
- [39] 일 측면에서, 박하초의 잎 또는 줄기를 사용할 수 있으나, 여기에 한정되는 것은 아니다.
- [40] 상기 미생물이 첨가된 박하초는 구체적으로 22 - 30 °C에서 24 - 72시간동안 발효될 수 있다. 일 실시예에서, 상기 추출물은 26°C에서 약 48시간동안 발효된다.
- [41] 본 발명의 일 측면에서, 상기 박하초는 특정 추출용매로 추출되어 박하초 추출물을 형성할 수 있다.
- [42] 본 발명의 일 측면인, 상기 박하초 추출물은 박하초의 잎 또는 줄기를 물 또는 유기용매로 추출하여 제조될 수 있다. 구체적으로, 박하초의 잎 또는 줄기를 물, C₁-C₆의 무수 또는 함수 저급 알코올, 아세톤, 부틸렌글리콜, 에틸아세테이트, 디에틸아세테이트, 디에틸에테르, 벤젠, 클로로포름 및 헥산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 추출용매로 추출하여 제조될 수 있다.
- [43] 일 측면에서, 상기 박하초 추출물은 상온 추출된 것일 수 있다.
- [44] 일 측면에서, 상기 박하초 추출물은 상기 추출용매로 추출된 이후에, 여과, 농축, 분리 또는 건조 과정 중 하나 이상을 추가적으로 거쳐서 얻어진 것일 수 있다. 특히, 상기 박하초 추출물은 1회 이상의 여과 과정을 거친 것일 수 있으며, 일 실시예에서 2회의 여과 과정을 거친다.
- [45] 일 실시예에서 상기 분리 과정은 원심분리 과정을 포함할 수 있다.
- [46] 구체적으로, 상기 추출은 물, C₁-C₆의 무수 또는 함수 저급 알코올, 아세톤 및 부틸렌글리콜을 포함하는 극성 용매 및 에틸아세테이트, 디에틸아세테이트, 디에틸에테르, 벤젠, 클로로포름 및 헥산을 포함하는 저극성 용매 중 어느 하나 이상을 용매로 사용하는 것일 수 있다.
- [47] 더 구체적으로, 상기 용매는 50 - 90%의 에탄올 수용액일 수 있으며, 60 - 80% 또는 65 - 75%의 에탄올 수용액일 수 있다. 상기 용매가 50 - 90%의 에탄올 수용액인 경우, 박하초에서 유효성분을 효과적으로 추출할 수 있다. 일 실시예에서, 상기 용매는 약 70%의 에탄올 수용액일 수 있다.
- [48] 일 측면에서, 상기 추출물은 추출 후 냉각 콘텐서가 달린 증류 장치에서 적정 온도로 감압 농축될 수 있다.
- [49] 다만, 본 발명에 따른 박하초 추출물은 당해 기술 분야의 통상적인 방법으로 추출하여 얻을 수 있으며, 진술한 방법에 의하여 한정되는 것은 아니다.
- [50] 본 발명의 일 관점인, 조성물에 있어서, 상기 조성물은 박하초 추출물을, 조성물 총 중량을 기준으로 0.000001 내지 30중량%로 포함할 수 있다. 그 함량이 0.000001 내지 30중량%인 경우, 박하초 추출물에 의한 미세먼지에 의한 피부 손상 케어 효과가 우수하였다.

- [51] 구체적으로, 0.0000001 중량% 이상, 0.0000005 중량% 이상, 0.0000007 중량% 이상, 0.0000009 중량% 이상, 0.000001 중량% 이상, 0.000002 중량% 이상, 0.000004 중량% 이상, 0.000006 중량% 이상, 0.000008 중량% 이상, 0.00001 중량% 이상, 0.00003 중량% 이상, 0.00005 중량% 이상, 0.00007 중량% 이상, 0.00009 중량% 이상, 0.0001 중량% 이상, 0.0003 중량% 이상, 0.0005 중량% 이상, 0.0007 중량% 이상, 0.0009 중량% 이상, 0.001 중량% 이상, 0.01 중량% 이상, 0.1 중량% 이상, 1 중량% 이상, 3 중량% 이상, 5 중량% 이상, 7 중량% 이상, 9 중량% 이상, 10 중량% 이상, 13 중량% 이상, 15 중량% 이상, 17 중량% 이상, 19 중량% 이상, 21 중량% 이상, 23 중량% 이상, 25 중량% 이상, 27 중량% 이상, 29 중량% 이상, 30 중량% 이상, 31 중량% 이상일 수 있고, 32 중량% 이하, 31 중량% 이하, 30 중량% 이하, 29 중량% 이하, 28 중량% 이하, 26 중량% 이하, 24 중량% 이하, 22 중량% 이하, 20 중량% 이하, 18 중량% 이하, 16 중량% 이하, 14 중량% 이하, 12 중량% 이하, 10 중량% 이하, 9 중량% 이하, 8 중량% 이하, 6 중량% 이하, 4 중량% 이하, 2 중량% 이하, 1 중량% 이하, 0.1 중량% 이하, 0.09 중량% 이하, 0.04 중량% 이하, 0.01 중량% 이하, 0.006 중량% 이하, 0.001 중량% 이하, 0.0009 중량% 이하, 0.0007 중량% 이하, 0.0005 중량% 이하, 0.0003 중량% 이하, 0.0001 중량% 이하, 0.00009 중량% 이하, 0.00007 중량% 이하, 0.00005 중량% 이하, 0.00003 중량% 이하, 0.00001 중량% 이하, 0.000009 중량% 이하, 0.000007 중량% 이하, 0.000005 중량% 이하, 0.000003 중량% 이하, 0.000001 중량% 이하, 0.0000009 중량% 이하일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [52] 본 발명의 다른 측면은, 상기 조성물의 미세먼지에 의한 피부 손상 케어 용도를 포함한다.
- [53] 본 발명의 다른 측면에서 대상의 미세먼지에 의한 피부 손상 케어를 위한 방법으로서, 상기 방법은 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [54] 본 발명의 다른 측면에서 미세먼지에 의한 피부 손상 케어를 위한 조성물을 제조하는데 있어서의 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물의 용도를 제공한다.
- [55] 본 발명의 다른 측면에서 미세먼지에 의한 피부 손상 케어를 위한 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물을 제공한다.
- [56] 본 명세서에서 사용되는 "미세먼지"라 함은, 우리 눈에 보이지 않는 아주 작은 물질로 대기 중에 오랫동안 떠다니거나 흩날리는 입자상의 물질로서, 입경 10 μ m 이하의 물질을 말한다. 특히 입경이 2.5 μ m 이하인 입자상의 물질은 "초미세먼지"라 하는데, 본원발명에서 "미세먼지"는 "초미세먼지"도 포함하는 것으로 의도된다.
- [57] 본 명세서에서 사용되는 용어"케어"라 함은, 자극으로부터 피부 세포를 효과적으로 보호하고, 상기 자극에 의하여 특정 유전자의 발현량이 변화하는 것을 억제, 방지 또는 복구(복원) 하는 것을 말한다.

- [58] 일 측면에서, 본 발명은 미세먼지에 의해 손상된 피부 세포에서 특정 유전자의 발현량을 정상 수준으로 조절함으로써, 미세먼지에 의한 피부 세포의 손상을 억제하는 조성물을 제공한다.
- [59] 구체적으로, 본 발명에서 미세먼지에 의해 발현량이 영향을 받는 피부 세포 내 유전자로는 IL-1a(NM_000575), IL-1B(NM_000576), IL-36G(NM_019618), S100A7(NM_002963), LCE3D(NM_032563), PTGS2(NM_000963), XDH(NM_000379) 등을 포함한다. 상기 IL-1a(NM_000575), IL-1B(NM_000576), IL-36G(NM_019618), S100A7(NM_002963), LCE3D(NM_032563), PTGS2(NM_000963), XDH(NM_000379)는 미세먼지에 의해 발현량이 증가하는 유전자이므로, 이들 유전자의 발현량을 억제하여 정상 수준으로 조절함으로써 피부 세포의 손상을 억제한다.
- [60] 본 발명에서 사용되는, 미세먼지에 의해 발현량이 증가되는 유전자는 [표 1]에 제시되어 있다. [표 1]은 미세먼지에 의해 발현량이 증가되는 유전자를 나타내는 것이며, 이들 표에서 Name은 NCBI의 genbank accession ID를 의미하는 것이고, Gene Symbol은 공식 유전자 심볼을 의미하며, Gene title은 각 유전자의 이름을 의미한다. 이러한 내용은 비특허문헌 1에 기재를 통하여 확인할 수 있다.
- [61] [표1]

증가유전자		
Name	Gene Symbol	Gene title
NM_002963	S100A7	S100 calcium binding protein A7
NM_032563	LCE3D	late cornified envelope 3D
NM_019618	IL36G	interleukin 36, gamma
NM_000576	IL1B	interleukin 1, beta
NM_000575	IL1A	interleukin 1, alpha
NM_000963	PTGS2	Cyclooxygenase-2 (COX-2)
NM_000379	XDH	xanthine dehydrogenase

- [62] 상기 유전자 또는 단백질의 발현량 분석은 마이크로어레이, PCR, NGS(Nest Generation Sequencing; 차세대 염기서열분석), 웨스턴 블롯, 노던 블롯, ELISA, 방사선 면역 분석, 방사 면역 확산법, 조직면역 염색, 면역침전 분석법 등 당업계에 공지된 다양한 분석 방법을 이용하여 분석될 수 있다.
- [63] 미세먼지에 의해 피부 세포의 손상이 일어나며, 이 때 염증이 유도되어 다시

피부 세포의 손상이 추가로 일어나게 된다. 이렇게 피부 세포 손상의 악순환을 박하초 추출물이 케어함으로써 피부 상태를 개선시킬 수 있게 된다.

- [64] 본 발명의 다른 측면은, 본 발명의 조성물의 항노화 용도 및 항염 용도를 포함한다.
- [65] 본 발명의 다른 측면에서 대상의 항노화를 위한 방법으로서, 상기 방법은 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [66] 본 발명의 다른 측면에서 항노화를 위한 조성물을 제조하는데 있어서의 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물의 용도를 제공한다.
- [67] 본 발명의 다른 측면에서 항노화를 위한 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물을 제공한다.
- [68] 본 발명의 다른 측면에서 대상의 항염을 위한 방법으로서, 상기 방법은 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [69] 본 발명의 다른 측면에서 항염을 위한 조성물을 제조하는데 있어서의 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물의 용도를 제공한다.
- [70] 본 발명의 다른 측면에서 항염을 위한 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물을 제공한다.
- [71] 일 측면에서, 본 발명은 염증 또는 노화 자극에 의해 손상된 피부 세포에서 특정 유전자의 발현량을 정상 수준으로 조절함으로써, 염증 또는 노화를 억제하는 조성물을 제공한다.
- [72] 일 측면에서 구체적으로, 본 발명에서 염증 또는 노화 자극에 의해 발현량이 영향을 받는 피부 세포 내 유전자로는 IL-1a(NM_000575), IL-1B(NM_000576), PTGS2(NM_000963), XDH(NM_000379) 등을 포함한다. 상기 IL-1a(NM_000575), IL-1B(NM_000576), PTGS2(NM_000963), XDH(NM_000379)는 염증 또는 노화 자극에 의해 발현량이 증가하는 유전자이므로, 이들 유전자의 발현량을 억제하여 정상 수준으로 조절함으로써 피부 세포의 염증 또는 노화를 억제한다.
- [73] 일 측면에서, 본 발명에서 사용되는 염증 또는 노화 자극에 의해 발현량이 증가되는 유전자는 [표 2]에 제시되어 있다. 표에서 Name은 NCBI의 genebank accession ID를 의미하는 것이고, Gene Symbol은 공식 유전자 심볼을 의미하며, Gene title은 각 유전자의 이름을 의미한다.

[74] [표2]

증가유전자		
Name	Gene Symbol	Gene title
NM_000576	IL1B	interleukin 1, beta
NM_000575	IL1A	interleukin 1, alpha
NM_000963	PTGS2	Cyclooxygenase-2 (COX-2)
NM_000379	XDH	xanthine dehydrogenase

[75] 본 발명의 다른 측면은, 본 발명의 조성물의 피부장벽 강화 용도를 포함한다.

[76] 일 측면에서, 본 발명은 피부장벽 약화를 일으키는 자극에 의해 손상된 피부 세포에서 특정 유전자의 발현량을 정상 수준으로 조절함으로써, 피부장벽을 강화시키는 조성물을 제공한다.

[77] 일 측면에서 구체적으로, 본 발명에서 피부장벽 약화를 일으키는 자극에 의해 발현량이 영향을 받는 피부 세포 내 유전자로는 S100A7(NM_002963), IL-36G(NM_019618) 및 LCE3D(NM_032563) 등을 포함한다. 상기

S100A7(NM_002963), IL-36G(NM_019618) 및 LCE3D(NM_032563)는 피부장벽 약화를 일으키는 자극에 의해 발현량이 증가하는 유전자이므로, 이들 유전자의 발현량을 억제하여 정상 수준으로 조절함으로써 피부장벽을 강화시킬 수 있다.

[78] 일 측면에서, 본 발명에서 사용되는 피부장벽 약화를 일으키는 자극에 의해 발현량이 증가되는 유전자는 [표 3]에 제시되어 있다. 표에서 Name은 NCBI의 genebank accession ID를 의미하는 것이고, Gene Symbol은 공식 유전자 심볼을 의미하며, Gene title은 각 유전자의 이름을 의미한다.

[79] [표3]

증가유전자		
Name	Gene Symbol	Gene title
NM_002963	S100A7	S100 calcium binding protein A7
NM_019618	IL36G	interleukin 36, gamma
NM_032563	LCE3D	late cornified envelope 3D

[80] 본 발명의 다른 측면에서 대상의 피부장벽 강화를 위한 방법으로서, 상기 방법은 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물의 유효량을 이를 필요로 하는 대상에

투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

- [81] 본 발명의 다른 측면에서 피부장벽 강화를 위한 조성물을 제조하는데 있어서의 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물의 용도를 제공한다.
- [82] 본 발명의 다른 측면에서 피부장벽 강화를 위한 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물을 제공한다.
- [83]
- [84] 본 발명의 일 관점인, 상기 조성물은, 화장료 조성물일 수 있고, 약학적 조성물일 수 있으며, 건강기능식품 조성물일 수 있다.
- [85] 상기 화장료 조성물은, 예컨대, 각종 크림, 로션, 각종 크림, 로션, 스킨 등과 같은 화장품 류와 클렌징, 세안제, 비누, 미용액 등이 있다.
- [86] 일 측면에서, 본 발명의 상기 박하초 추출물을 함유하는 조성물이 첨가된 화장료는 용액, 유화물, 점성형 혼합물 등의 형상을 취할 수 있다.
- [87] 즉, 일 측면에서 본 발명의 화장료는 그 제형에 있어서 특별히 한정되지 않으며, 예를 들어 유액, 크림, 화장수, 에센스, 팩, 젤, 파우더, 메이크업 베이스, 파운데이션, 로션, 연고, 패취, 미용액, 클렌징폼, 클렌징크림, 클렌징워터, 바디로션, 바디크림, 바디오일, 바디에센스, 샴푸, 린스, 바디세정제, 비누, 염모제, 분무제 등과 같은 제형을 들 수 있다.
- [88] 각 제형의 화장료 조성물에 있어서, 상기 박하초 추출물 이외에 다른 성분들은 기타 화장료의 제형 또는 사용 목적에 따라 당업자가 어려움 없이 적의 선정하여 배합할 수 있다.
- [89] 또한, 일 측면에서 본 발명의 화장료는 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스펅고 지질 및 해초 엑기스로 이루어진 군에서 선택된 조성물을 포함할 수 있다.
- [90] 일 측면에서, 본 발명의 화장료에는 상기 필수 성분과 더불어 필요에 따라 통상 화장료에 배합되는 다른 성분을 배합해도 된다.
- [91] 이외에 첨가해도 되는 배합 성분으로서는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있다.
- [92] 또한, 이외에 첨가해도 되는 배합 성분은 이에 한정되는 것은 아니며, 또, 상기 어느 성분도 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 배합 가능하다.
- [93] 일 측면에서, 본 발명의 박하초 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 약학조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [94] 그 제형으로는, 상기 박하초 추출물을 포함하는 약학적 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 정제, 캡슐, 산제 또는 시럽 등의 경구제, 또는 연고, 젤, 크림, 패취 또는 분무제 등의 외용제 등을 비롯하여 약제학적 제제에 적합한 어떠한

형태로든 제형화하여 사용할 수 있다.

- [95] 일반적으로 상기 약학적 조성물에 의해 투여되는 유효성분의 실제 투여량은 증상의 중증도, 선택된 투여 경로, 대상의 연령, 성별, 체중 및 건강상태 등의 여러 관련 인자에 비추어 결정되어야 하는 것으로 이해되어야 한다. 일반적으로 유효성분의 투여량은 0.0001mg/kg/일 내지 3000mg/kg/일, 예를 들어 10 mg/kg/일 내지 500mg/kg/일 일 수 있다.
- [96] 본 발명의 일 관점인 건강 기능식품 조성물에서, 건강식품은, 일상 식사에서 결핍되기 쉬운 영양소나 인체에 유용한 기능을 가진 원료나 성분(기능성원료)을 사용하여 제조한 것으로, 인체의 정상적인 기능을 유지하거나 생리기능 활성화를 통하여 건강을 유지하고 개선하는 식품을 의미할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 건강식품은 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조, 가공될 수 있으나, 이에 한정되지 않으며 법률에 따라 어떤 형태로든지 제조, 가공될 수 있다.
- [97] 구체적으로, 건강 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 화합물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드 폴리사카라이드, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제 (타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다.
- [98] 일반적으로 상기 건강 기능식품 조성물에 의해 투여되는 유효성분의 실제 투여량은 증상의 중증도, 선택된 투여 경로, 대상의 연령, 성별, 체중 및 건강상태 등의 여러 관련 인자에 비추어 결정되어야 하는 것으로 이해되어야 한다. 일반적으로 유효성분의 투여량은 0.0001mg/kg/일 내지 1000mg/kg/일, 예를 들어 0.02 mg/kg/일 내지 6mg/kg/일 일 수 있다.
- [99]
- [100] 이하, 실시예를 들어 본 발명의 구성 및 효과를 보다 구체적으로 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명에 대한 이해를 돕기 위해 예시의 목적으로만 제공된 것일 뿐 본 발명의 범주 및 범위가 하기 예에 의해 제한되는 것은 아니다.
- [101]
- [102] [실시예 1] 박하초 추출물 제조
- [103] 박하잎 및 아세트박터 아세티(*Acetovacter aceti*)를 준비한 후, 이들을 26°C에서 48시간 발효하였다. 그리고 상기 발효물을 정제수와 에탄올을 3:7의 비율로 혼합한 추출용매, 즉 70% 에탄올을 추출용매로 하여 상온 추출하였다. 상온 추출 후 1차 여과를 하여 추출물에 포함된 고형상의 재료를 제거하였고, 그런 뒤 추출물을 농축하여 에탄올을 제거한 후 이를 분리 및 정제하였다. 그리고 원심분리 및 2차 여과 후 건조하여 박하초 추출물을 얻었다.

[104]

[105] [실시예 2] 미세먼지 포집 및 추출

[106] 미세먼지의 포집은 로우 볼륨 에어 샘플러(Sensidyne, Gillian, Low Volume Air Sampler, FL, U.S.A.)를 이용하였고, Filter pack은 매 측정일 오전 10시 전후에 필터와 디누더를 교체하여 약 24시간 동안 시료를 채취하였다. 28일간 서울의 풍하지역(경기도 용인시 처인구 소재, 한국외국어대학교 외국학 종합연구센터 생활관 6층 옥상)에서 매일 미세먼지를 포집하였으며, 측정시간은 진공펌프를 켜면서 타이머를 작동시키고 진공펌프를 끌 때 타이머의 시간을 기록하였다. 채취 유량은 16.7L/min으로 하여 측정 시작시 유량계(Model 4143, TSI Inc.)로 유량을 측정하고 측정이 끝날 때 다시 유량을 측정하였다. 필터팩(filter pack)에 들어가는 Teflon 필터는 시료 채취 전과 후에 무게를 측정하였다. Teflon 필터의 무게를 측정하기 전 24 시간 동안 상대습도 40%의 데시케이터(NIKKO, Japan)에 항량시킨 후 소수점 5자리가 표시되는 전자저울(DVG215CD, Ohaus)에 무게를 두 번 측정하여 평균값을 기록하였다. 시료를 채취한 후에도 무게를 측정하기 전에 데시케이터에서 24시간 항량시킨 후 무게를 두 번 측정하여 채취 전에 측정한 무게와 비교하여 질량농도를 산출하였다. 미세먼지의 추출은 Teflon 필터를 1mL의 에탄올에 적신 후 14mL의 DW를 넣어 필터의 에어로졸 포집면이 수면에 닿도록 한 상태에서 뚜껑을 닫은 후 초음파 세척기로 30분간 초음파를 주어 실행하였다. 여과단계에서 수분에 의한 오차를 최소화하기 위하여 건조기(decicator)에서 48시간 동안 필터의 수분을 완전히 제거한 후, 0.1mg까지 측정할 수 있는 초정밀저울계(Mettler Toledo Company 社)를 이용하여 필터의 무게를 칭량하여 필터의 추출 전, 후 무게를 칭량하였다.

[107]

[108] [실시예 3] (정상사람)각질형성세포주의 배양

[109] (정상사람)각질형성세포주(Human normal epidermal keratinocytes)는 론자 社(Lonza, Inc. 미국 메릴랜드주 워커스빌 소재)에서 구입하여 계대배양한 후 CO2 배양기(CO2 incubator)에서 37°C, 5% CO2 조건 하에서 배양하였다. 세포 배양액은 론자 社의 지침서에 따랐다. 500ml의 KBM-2(KBMTM-2, CC-3103) 배지에 KGM-2 불렛 키트 CC-4152(KGM TM-2 Bullet kit, CC-4152)(성분: BPE(Bovine pituitary extract)), 인간표피 성장인자(human epidermal growth factor, hEGF), 인슐린(Insulin), 하이드로코티손(Hydrocortisone), 트랜스페린(Transferrin), 에피네프린(Epinephrine), 및 젠타마이신 설페이트 + 암포페리신-B(Gentamycin Sufate + Amphotericin-B: GA-1000))를 첨가한 KGM-2 불렛키트 CC-3107(KGM TM-2 Bullet Kit, CC-3107)을 사용하였다.

[110]

[111] [실시예 4] (정상사람)각질형성세포주에 미세먼지의 처리 및 세포독성 측정

[112] 미세먼지 처리를 통한 세포독성 여부 확인을 위하여, Mossman 등(J.Immunol. Methods, 65, 55-63, 1983)의 방법으로 (정상사람)각질형성세포주를 이용한 MTT

실험을 수행하였다.

- [113] 구체적으로, 24-웰 플레이트를 사용하고 상기 실시예 2의 채취하여 얻은 직경이 $2.5\mu\text{m}$ 인 미세먼지를 정제수에 분산시켜서 미세먼지 분산액을 제조한 다음, 실시예 3의 세포배양조건으로 2.5×10^5 웰 세포수인 조건에서 배양한 세포에 상기 미세먼지 분산액을 처리하여 24시간 동안 배양한 후, MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 5mg/ml 을 혼합하여 37°C 에서 3시간 동안 추가 배양하였다. 이 후 배지를 제거하고 형성된 포르마잔 크리스탈(formazan crystal)을 DMSO $500\mu\text{l}$ 에 용해하였다. 그 용해물을 96-웰 플레이트로 옮겨 분주(aliquot)하고 흡광도 540nm 에서 OD값을 측정하였다. 측정 결과는 도 1에 나타내었다.
- [114] 도 1에 나타낸 바와 같이, 상기 세포주에서 2.5 마이크로미터 이하 미세먼지를 분산시킨 분산액에 의한 세포독성에 대하여 80% 생존율을 보이는 농도(IC₂₀)값은 2.5 마이크로미터 이하 미세먼지 수용성 추출액의 경우 $12.5\mu\text{g/ml}$ 이었다.
- [115]
- [116] [실시예 5] 차세대 염기서열분석(Next Generation Sequencing)을 통한 미세먼지의 세포 유전자 변화 확인
- [117] RNA-염기서열 데이터 처리 및 분석을 위해, Trapnell et al.(2012)에 의해 개발된 일반적인 분석 단계를 참조하였다. FastQC(<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>)를 사용하여 RNA-seq 데이터 품질을 확인하였고, FASTX(http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/)를 사용하여, 정확도가 떨어지는 베이스 및 어댑터 서열을 제거하였다. 이후 Tophat(Trapnell et al., 2009)과 인간 유전체(hg19)를 사용하여 얼라인먼트를 수행하였고, 각 샘플의 데이터량을 RSeQC로 재명명된 EVER-seq을 사용하여 확인하였다(Wang et al., 2012). 또한, Cufflinks를 사용하여 전사체(transcript)의 발현 수준을 정량하였고, 미세먼지 분산액 처리 샘플과 정상 샘플의 사이에서 전사 수준을 비교하였다(Trapnell et al., 2010). FDR adjusted p-value <0.05 로, ≥ 2.0 fold-change의 엄격한 컷오프를 적용하여, 직경이 $2.5\mu\text{m}$ 인 미세먼지의 분산액의 처리시 유의미한 발현 차이를 나타내는 유전자를 결정하였다. 측정 결과는 하기 [표 4] 및 [도 2a] 내지 [도 2g]에 나타나 있다.

[118] [표4]

증가유전자		
Name	GeneSymbol	배수 변화량
NM_000575	IL-1a	4.014605674
NM_000576	IL1B	11.31259177
NM_019618	IL36G	6.742761413
NM_002963	S100A7	9.515833375
NM_032563	LCE3D	11.96124722
NM_000963	PTGS2	2.284968542
NM_000379	XDH	2.57463302

[119] [실시예 6] 실시간 RT-PCR 정량

[120] 실시예 2에서 추출한 직경이 $2.5\mu\text{m}$ 인 미세먼지를 실시예 3에서 배양한 인간정상각질피부세포에 세포배양배지 1ml에 $12.5\mu\text{g}$ 의 양으로 처리하고, 하기 표 3에 나타난 유전자의 프라이머(applied biosystems TaqMan® Primers)로 상대적 mRNA 발현량을 측정하였다. 박하초 추출물은 실시예 1에서 제조한 것을 사용하였다.

[121] [표5]

증가유전자		
Name	GeneSymbol	TaqMan® 프라이머
NM_000575	IL-1a	Hs00174092_m1
NM_000576	IL1B	Hs01555410_m1
NM_019618	IL36G	Hs00219742_m1
NM_002963	S100A7	Hs00161488_m1
NM_032563	LCE3D	Hs00754375_s1
NM_000963	PTGS2	Hs00153133_m1
NM_000379	XDH	Hs00166010_m1

[122] 배지에 박하초 추출물을 20 ppm의 농도로 처리하고 24시간 경과 후, 배양액을 제거하고, 2ml의 인산염 완충액(Phosphate Buffered Saline, PBS)으로 세포를 세척한 다음, 트리졸 시약(Trizol reagent, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 사용하여 세포 내의 RNA를 분리하였다. 분리된 RNA를 키아젠사의 RNA 키트(QIAGEN RNeasy kt, QIAGEN, Valencia, CA)로 한번 더 정제한 후, 애질런트사의 바이오어널라이저 2100 모델 기기(Agilent 2100 BioAnalyzer, Agilent

Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 RNA의 질(quality)을 확인하였다. 인비트로젠사의 역전사키트(Superscript Reverse Transcriptase (RT) kit, Invitrogen, Carlsbad, CA)를 이용하여 상기 RNA로부터 cDNA를 합성하였고, 이를 상기 [표 5]의 프라이머를 이용한 실시간 역전사 중합 효소 연쇄반응(Q-RT-PCR: real time-reverse transcription polymerase chain reaction)을 통해 정량적으로 분석하였다. 유전자의 발현 패턴 변화를 어플라이드바이오시스템사의 택맨 유전자 발현 시스템(TaqMan gene expression assay kit, Applied Biosystems, Foster City, CA)을 이용하여 세포의 유전자 변화를 실시간 PCR로 평가하였으며, 그 결과를 [도 3]에 나타내었다. 이용한 Q-RT-PCR과 실시간 PCR은 모두 라이프테크놀로지에서 배포하는 표준 프로토콜에 따라서 실행하였으며, 구체적으로 95°C에서 20초 동안 처리한 후, 95°C에서 3초 및 60°C에서 30초를 처리하는 공정을 40주기 진행하였다.

- [123] [도 3a] 내지 [도 3g]에 나타낸 바와 같이, 미세먼지에 의해 자극된 피부 세포에서 발현량이 증가 또는 감소하는 유전자가 존재하며, 박하초 추출물의 처리에 의하여 인터류킨 1 알파(IL-1a), 인터류킨 1 베타(IL-1B), 인터류킨 36 감마(IL-36G), S100 칼슘 바인딩 프로틴 A7(S100A7), 후기 각질화피 3D(LCE3D), 프로스타글라딘-엔도과산화물 합성효소 2(PTGS2), 잔틴 탈수소효소(XDH) 유전자의 발현량이 감소됨을 확인할 수 있었다.
- [124] 또한, [도 3a] 내지 [도 3g]에 나타낸 바와 같이, 염증 또는 노화 자극에 의해 자극된 피부 세포에서 발현량이 증가하는 유전자가 존재하며, 박하초 추출물의 처리에 의하여 인터류킨 1 알파(IL-1a), 인터류킨 1 베타(IL-1B), 프로스타글라딘-엔도과산화물 합성효소 2(PTGS2), 잔틴 탈수소효소(XDH) 유전자의 발현량이 감소됨을 확인할 수 있었다.
- [125] 따라서, 박하초 추출물은 염증 또는 노화 자극으로 인한 피부 세포 손상으로부터 피부 세포를 효과적으로 보호하고, 상기 염증 또는 노화 자극에 의하여 전술한 특정 유전자의 발현량이 변화하는 것을 억제 또는 방지하여, 정상 수준의 발현량을 갖도록 할 수 있음을 알 수 있다.
- [126] 또한, [도 3a] 내지 [도 3g]에 나타낸 바와 같이, 피부장벽 약화를 일으키는 자극에 의해 자극된 피부 세포에서 발현량이 증가하는 유전자가 존재하며, 박하초 추출물의 처리에 의하여 인터류킨 36 감마(IL-36G), S100 칼슘 바인딩 프로틴 A7(S100A7), 후기 각질화피 3D(LCE3D) 유전자의 발현량이 감소됨을 확인할 수 있었다.
- [127] 따라서, 박하초 추출물은 피부장벽 약화를 일으키는 자극으로 인한 피부 세포 손상으로부터 피부 세포를 효과적으로 보호하고, 상기 피부장벽 약화를 일으키는 자극에 의하여 전술한 특정 유전자의 발현량이 변화하는 것을 억제 또는 방지하여, 정상 수준의 발현량을 갖도록 할 수 있음을 알 수 있다.
- [128] 따라서, 박하초 추출물은 미세먼지에 의한 자극으로부터 피부 세포를 효과적으로 보호하고, 상기 자극에 의하여 전술한 특정 유전자의 발현량이

변화하는 것을 억제 또는 방지하여, 정상 수준의 발현량을 갖도록 할 수 있음을 알 수 있다.

[129]

[130] 이하, 본 발명에 따른 조성물의 제형예를 설명하나, 화장료 조성물, 약학적 조성물 및 건강 기능식품 조성물은 여러 가지 제형으로 응용 가능하며, 이는 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[131]

[132] [제형예 1] 정제

[133] 본 발명 실시예에 따른 박하초 추출물 100mg, 락토오스 400mg, 옥수수 전분 400mg 및 스테아린산 마그네슘 2mg을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[134] [표6]

배합성분	함량(mg)
박하초 추출물	100
락토오스	400
옥수수 전분	400
스테아린산 마그네슘	2

[135] [제형예 2] 캡슐제

[136] 본 발명 실시예에 따른 박하초 추출물 100mg, 락토오스 400mg, 옥수수 전분 400mg 및 스테아린산 마그네슘 2mg을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조 방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[137] [표7]

배합성분	함량(mg)
박하초 추출물	100
락토오스	400
옥수수 전분	400
스테아린산 마그네슘	2

[138] [제형예 3] 과립제

[139] 본 발명 실시예에 따른 박하초 추출물 50mg, 무수결정 포도당 250mg 및 전분 550mg을 혼합하고, 유동층 과립기를 사용하여 과립으로 성형한 후 포에 충전하였다.

[140] [표8]

배합성분	함량(mg)
박하초 추출물	50
무수결정 포도당	250
전분	550

[141] [제형예 4] 비누

[142] [표9]

배합성분	함량(%)
박하초 추출물	5.00
유지	적량
수산화나트륨	적량
염화나트륨	적량
향료	적량
정제수	잔량

[143] [제형예 5] 로션

[144] [표10]

배합성분	함량(%)
박하초 추출물	5.00
L-아스코르빈산-2-인산마그네슘염	1.00
수용성 콜라겐 (1 % 수용액)	1.00
시트르산나트륨	0.10
시트르산	0.05
감초 엑기스	0.20
1,3-부틸렌글리콜	3.00
정제수	잔량

[145] [제형예 6] 크림

[146] [표11]

배합성분	함량(%)
박하초 추출물	3.00
폴리에틸렌글리콜모노스테알레이트	2.00
자기유화형모노스테아르산글리세린	5.00
세틸알코올	4.00
스쿠알렌	6.00
트리2-에틸헥산산글리세릴	6.00
스핑고당지질	1.00
1,3-부틸렌글리콜	7.00
정제수	잔량

[147] [제형예 7] 연고

[148] [표12]

배합성분	함량(%)
박하초 추출물	5.00
폴리비닐알코올	13.00
L-아스코르빈산-2-인산마그네슘염	1.00
라우로일히드록시프로릴	1.00
수용성 콜라겐 (1 % 수용액)	2.00
1,3-부틸렌글리콜	3.00
에탄올	5.00
정제수	잔량

[149] [제형예 8] 미용액 제조

[150] [표13]

배합성분	함량(%)
박하초 추출물	3.00
히드록시에틸렌셀룰로오스(2 % 수용액)	12.00
크산탄검(2 % 수용액)	2.00
1,3-부틸렌글리콜	6.00
진한 글리세린	4.00
히알루론산나트륨 (1 % 수용액)	2.00
정제수	잔량

[151] [제형예 9] 건강식품

[152] [표14]

배합 성분	함량
박하초 추출물	2mg
비타민 A 아세테이트	70 μ g
비타민 E	1.0mg
비타민 B1	0.13mg
비타민 B2	0.15mg
비타민 B6	0.5mg
비타민 B12	0.2 μ g
비타민 C	10mg
비오틴	10 μ g
니코틴산아미드	1.7mg
엽산	50 μ g
판토텐산 칼슘	0.5mg
황산 제1철	1.75mg
산화아연	0.82mg
탄산마그네슘	25.3mg
제1인산칼륨	15mg
제2인산칼슘	55mg
구연산칼륨	90mg
탄산칼슘	100mg
염화마그네슘	24.8mg

[153] [제형예 10] 건강음료

[154] [표15]

배합성분	함량
박하초 추출물	50mg
구연산	1000mg
올리고당	100 g
타우린	1g
정제수	잔량

청구범위

- [청구항 1] 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 미세먼지에 의한 피부 손상 케어용 조성물.
- [청구항 2] 제 1 항에 있어서,
상기 미세먼지에 의한 피부 손상 케어는 피부장벽 강화, 항노화, 및 항염으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상인, 조성물.
- [청구항 3] 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 피부장벽 강화용 조성물.
- [청구항 4] 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 항노화 조성물.
- [청구항 5] 박하초(*Mentha Arvensis*) 추출물을 유효성분으로 포함하는, 항염 조성물.
- [청구항 6] 제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 박하초 추출물은 조성물 총 중량에 대하여 0.000001 내지 30중량%로 포함된, 조성물.
- [청구항 7] 제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 박하초 추출물은 물, C₁ - C₆의 무수 또는 함수 저급 알코올, 아세톤, 부틸렌글리콜, 에틸아세테이트, 디에틸아세테이트, 디에틸에테르, 벤젠, 클로로포름 및 헥산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 추출용매로 추출된 것인, 조성물.
- [청구항 8] 제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 박하초 추출물은 박하초의 잎에서 추출된 것인, 조성물.
- [청구항 9] 제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 박하초는 발효된 박하초이고,
상기 발효는 아세토박터 속(*Acetovacter* sp.) 미생물을 첨가하여 발효시키는 것인, 조성물.
- [청구항 10] 제 9 항에 있어서,
상기 아세토박터 속(*Acetovacter* sp.) 미생물은 아세토박터 아세티(*Acetovacter aceti*)인, 조성물.
- [청구항 11] 제 1 항 내지 제 2 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 조성물은 IL-1a(NM_000575), IL-1B(NM_000576), IL-36G(NM_019618), S100A7(NM_002963), LCE3D(NM_032563), PTGS2(NM_000963), XDH(NM_000379)로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 발현을 억제하는, 조성물.
- [청구항 12] 제 3 항에 있어서,
상기 조성물은 IL-36G(NM_019618), S100A7(NM_002963) 및 LCE3D(NM_032563)로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 발현을 억제하는, 조성물.

- [청구항 13] 제 4 항에 있어서,
상기 조성물은 IL-1a(NM_000575), IL-1B(NM_000576),
PTGS2(NM_000963) 및 XDH(NM_000379)로 이루어진 군에서 선택되는
하나 이상의 발현을 억제하는, 조성물.
- [청구항 14] 제 5 항에 있어서,
상기 조성물은 IL-1a(NM_000575), IL-1B(NM_000576) 및
PTGS2(NM_000963) 로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 발현을
억제하는, 조성물.
- [청구항 15] 제 11 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 조성물은 각질형성세포(keratinocyte)에 적용되는, 조성물.
- [청구항 16] 제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 박하초 추출물은 10 내지 500 mg/kg/일의 투여량으로 투여되는,
조성물.
- [청구항 17] 제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 조성물은 화장료 조성물인, 조성물.
- [청구항 18] 제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 조성물은 약학적 조성물인, 조성물.
- [청구항 19] 제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 조성물은 건강 기능식품 조성물인, 조성물.