



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0058781
(43) 공개일자 2012년06월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/02 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0120240
(22) 출원일자 2010년11월30일
심사청구일자 2010년11월30일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울 성북구 안암동5가 1
(72) 발명자
이성준
서울특별시 강남구 청담동 삼성청담공원@
104-402
조강진
경기도 용인시 수지구 진산로 24, 성원아파트
116동 401호 (상현동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김선애

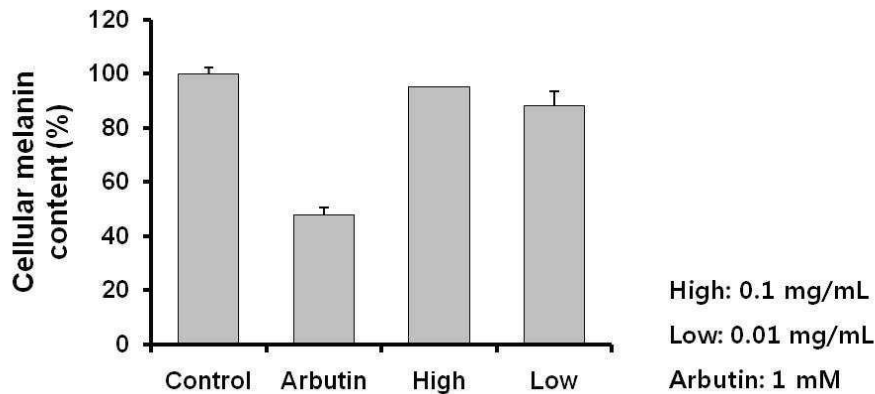
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **칠보버 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 피부 멜라닌 합성 저해 효과가 있는 칠보버 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물에 관한 것이다. 상기한 본 발명에 의하면, 멜라닌 색소형성에 관여하는 티로시나제 효소의 활성을 억제하고, 멜라닌 합성에 관여하는 티로시나제, TRP-1, TRP-2 효소의 유전자 발현을 감소시켜 미백효과가 우수하고 세포독성 등 부작용이 거의 없으며 제형도 안정적인 피부 미백용 조성물을 제공할 수 있는 이점이 있다.

대표도 - 도4



(72) 발명자

서우덕

경상남도 밀양시 내이동 1085번지

전희진

부산광역시 동래구 복천로5번길 34, 104동 501호
(복천동, 우성베스트피아)

이지혜

경기도 수원시 권선구 금곡로31번길 7, LG빌리지
103동 802호 (금곡동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 201004010300560010400

부처명 농촌진흥청

연구사업명 농촌진흥청 국책기술개발사업

연구과제명 [협동]쌀 소재 성분의 미백가능성 평가

주관기관 국립농업과학원

연구기간 2010.01.01 ~ 2010.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

피부 멜라닌 합성 저해 효과가 있는 칠보벼(*Oryza sativa* cv. chilbo) 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 조성물은 에탄올 추출물인 것을 피부 미백용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 조성물은 티로시나제의 활성을 억제함으로써 피부 멜라닌 합성을 억제하는 피부 미백용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 조성물은 티로시나제, TRP-1(tyrosinase related protein-1), TRP-2(tyrosinase related protein-2) 및 MITF((microphthalmia-associated transcription factor)로 이루어진 그룹에서 선택된 하나 이상 단백질의 발현을 저해함으로써 피부 멜라닌 합성을 억제하는 피부 미백용 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 의한 조성물을 유효성분으로 함유하는 피부미백용 화장품 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 의한 조성물을 유효성분으로 함유하는 피부미백용 건강기능성 식품 조성물.

청구항 7

분쇄된 칠보벼 입자에 75 ~ 80% 에틸 알코올을 가하여 미백성분을 추출하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 피부 미백용 조성물을 제조하는 방법.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 칠보벼 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물에 관한 것이다. 더욱 상세하게, 본 발명은 멜라닌 색소형성에 관여하는 티로시나제 효소의 활성을 억제하고, 멜라닌 합성에 관여하는 티로시나제, TRP-1, TRP-2 효소의 유전자 발현을 감소시키는 칠보벼 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 쌀은 예로부터 우리나라의 주요 먹거리였으며 지금도 아시아 지역 사람들의 주식으로 소비되는 대표적인 곡물이다. 예로부터 쌀은 피부를 맑게 해주고, 미백효과에 탁월하여 옛 선조들은 쌀뜨물을 이용하여 세안을 하는 것이 민간요법으로 사용될 정도로 미백효과가 뛰어난 것으로 알려져 왔다. 이에 따라 현재 쌀 전분은 화장품 원료 기준에 수제되어있는 대표적인 천연물 원료 품목 중 하나로써 포함되어있다.¹⁾

[0003] 항산화 물질은 인체 내에서 육체적 활동에 따른 지질의 과산화나 생체막의 손상을 억제하여 노화를 방지하는 중요한 역할을 하며 암 발생 억제효과도 가지고 있는 것으로 알려져 있는데 피부세포 멜라닌 합성에도 관여하여 UV에 의한 산화적 스트레스를 조절하여 멜라닌 합성을 억제하는 기전이 알려져 있어 항산화 물질을 대상으로 한 미백효능이 연구되어 왔다. 쌀에서도 항산화 효과를 나타내는 다양한 성분이 알려져 왔는데 특히, 토코

페롤(비타민E), 오리지놀, 토코트리에놀, 페롤산, 피틴산, 아이소비텍신, 페놀화합물, 그리고 유색미의 안토시아닌색소 등 다양한 항산화 물질이 포함^{2,3)}되어 있으며 있어 미백효과가 있을 것으로 기대되어 왔으며, 항산화 효과와는 독립적으로 멜라닌 색소 형성을 직접 억제할 가능성에 대한 연구를 통해 쌀 성분의 미백효능 과학적 근거를 축적할 필요가 있다.⁴⁾

[0004] 쌀에 주된 기능성분인 피틴산, 오리지놀(Oryzanol), 가바(GABA) 등의 성분은 발암 억제, 혈중 콜레스테롤 저하 및 혈전 형성 억제효과, 지방간 억제 및 면역기능의 강화기능 외에도 다양한 생리활성을 갖고 있어 피부건강 효과 외의 추가적인 기능적 특성 또한 갖는다.

[0005] 칠보벼(*Oryza sativa* cv. chilbo)는 전북부안에서 처음 재배된 품종으로 영덕 26호와 고시히카리 품종의 교배조합으로써 영덕 44호로 2007년에 등록된 신품종이다. 칠보벼는 최고식미를 갖는 쌀품종으로서 도열병 및 줄무늬잎마름병 저항성을 갖으며, 도정을 및 완전미율이 양호해 수확률이 높은 품종이다. 중부평야지와 남부중산간지 및 영남내륙평야 등에서 적응해서 재배되고 있다.⁵⁾ 쌀의 품종별 간의 항산화 활성 검정에서 DPPH와 ABTS의 라디칼 소거율 각각 48.2%, 53.2%로 일반미 중 가장 높은 수치를 보여 항산화 효능이 탁월한 특징을 보이고 있다. 항산화 효능이 있는 물질은 활성산소로부터 피부보호효과가 있으며 피부건강 중 미백은 부가가치와 시장성이 가장 큰 분야로 천연 쌀소재를 이용한 새로운 미백소재개발은 중요한 기술분야로서 본 발명에서는 이러한 신품종인 칠보벼의 피부미백효능을 입증하여 쌀의 부가가치를 높이고 소비를 증대시키는데 기여하고자 하였다.

[0006] 한편, 멜라닌은 피부에 존재하는 색소로 자외선 등 외부의 자극으로부터 신체를 보호하는 중요한 기능을 한다. 하지만 이것이 과잉 생성되어 침착 되면 기미나 주근깨 등을 형성시켜 피부 외관상 문제를 야기할 수 있으며 이것은 피부노화를 촉진시키고 피부암을 유발할 수 있기 때문에 멜라닌 과잉생성을 저해할 수 있는 성분으로의 피부미용 소재나 약제 연구가 활발히 진행되고 있으며 미백제품은 소비자들의 높은 선호도를 얻고 있다.⁶⁾

[0007] 피부의 색소침착은 자외선이나 염증 등의 자극에 의해 야기되며 또 유전적 요인이나 호르몬, 식품 등과 화학물질 등의 인자에 의해서도 발생된다고 알려져 있다. 멜라닌의 생합성 과정은 피부 멜라닌세포(melanocyte)가 관여한다. 즉, 멜라닌의 생합성은 멜라노솜(melanosome)이라고 불리는 특수한 형태의 멜라닌세포 내 소기관에서 일어나는데 이 멜라노솜 내에서 멜라닌의 생성에서는 티로시나제(tyrosinase)라는 효소가 가장 중요한 역할을 한다. 이 효소의 작용에 의해 티로신(tyrosine)은 도파(dopa)로 전환되며 이것이 일련의 산화과정을 통해 도파퀴논(dopaquinone)이 생성되고 다시 도파크롬(dopachrome)으로 변환됨으로서 최종적으로 흑갈색인 멜라닌을 형성하게 된다.⁶⁾ 이 멜라닌 색소형성에 관여하는 단백질 유전자는 티로시나제(tyrosinase), TRP-1(tyrosinase related protein-1), TRP-2, ERK(Extracellular signal-regulated kinases)와 이러한 멜라닌 합성 유전자 발현을 조절하는 주요 전사인자인 MITF(Microphthalmia-associated transcription factor)의 발현이 중요한 멜라닌 합성과정으로서 역할을 한다.^{7,8)}

[0008] 따라서 색소 침착을 예방하는 미백화장품의 개발을 위한 약제의 기본 메커니즘은 티로시나제의 활성억제, 티로시나제의 생성 억제, 멜라닌을 생성을 촉진하는 중간 인자(mediator)의 억제, 생성된 멜라닌의 환원 및 광산화 억제, 멜라닌의 배설 촉진 및 자외선 커트 등이 있을 수 있다. 이 중 가장 간단하면서 효과적인 피부 미백효과를 얻을 수 있는 방법 중 하나가 티로시나제의 활성 억제를 통한 방법이라고 할 수 있다.

[0009] 작용기작에 따른 피부 미백 원료 개발을 살펴보면 먼저, UV를 차단함으로써 멜라닌 형성의 자극을 줄이는 UV차단기능과, 멜라닌 합성 명령을 내리는 신호전달 물질인 사이토카인(cytokine)의 작용을 조절하는 기능, 티로신(tyrosine)의 산화반응을 억제해서 직접 멜라닌의 합성을 저해하는 기능, 티로신(tyrosine)을 산화시키는 티로시나제(tyrosinase)의 활성을 저해하는 기능, 마지막으로 피부 박리촉진 기능 등으로 나누어 볼 수 있다.

[0010] 특허분석에 의한 미백소재의 기술동향을 살펴보면 한 가지 기작보다는 여러 가지 기작을 복합적으로 이용함으로써 시너지 효과를 얻을 수 있는 화장품이 늘고 있으며, 티로시나제(tyrosinase) 생성 억제기작보다는 티로시나제(tyrosinase)의 활성 억제기작을 이용하는 것이 더 많다. 또한 이런 티로시나제(tyrosinase) 활성억제제에 집중되어 있던 연구방향에서 벗어나 다양하고 복잡한 미백연구가 진행될 것으로 전망된다.¹⁰⁾ 미백활성의 기원을 보면, 한국과 일본 같은 경우 천연식물을 통한 미백물질이 주를 이루지만, 미국과 유럽에서는 합성화

합물 기원의 물질이 주를 이루고 있다. 예전에는 알부틴(Arbutin), 코직산(Kojic acid)과 같은 티로시나제 활성 조절제 물질이나, 피부산화환원 조절제가 많이 사용되었으나, 연구 결과들이 점차 축적되어 색소세포의 흑화 관련 유전발현조절제, 색소의 표피세포로의 전달을 차단하는 소재, 색소세포와 피부구성세포간 신호전달 조절제 등의 개발이 이루어지고 있다.

[0011] 종래의 피부 미백제로 사용되는 물질들은 제품의 안정성이 낮거나 세포독성 등 부작용이 발생하는 등의 문제점이 있다. 특히 코직산은 발암물질로 밝혀져 사용이 제한되고 있는 실정이다.

선행기술문헌

비특허문헌

- [0012] (비특허문헌 0001) 1) 화장품원료기준 성분사전/ 식품의약품안전청, 행정간행물 11-1470000-001650-01
- (비특허문헌 0002) 2) Nutritional and biochemical aspects of the hypolipidemic action of rice bran oil/ Rukmini C, Raghuram TC/ J Am Coll Nutr. 1991 Dec;10(6):593-601.
- (비특허문헌 0003) 3) Amended final report on the safety assessment of Oryza Sativa (rice) Bran Oil, Oryza Sativa (rice) Germ Oil, Rice Bran Acid, Oryza Sativa (rice) Bran Wax, Hydrogenated Rice Bran Wax, Oryza Sativa (rice) Bran Extract, Oryza Sativa (rice) Extract, Oryza Sativa (rice) Germ Powder, Oryza Sativa (rice) Starch, Oryza Sativa (rice) Bran, Hydrolyzed Rice Bran Extract, Hydrolyzed Rice Bran Protein, Hydrolyzed Rice Extract, and Hydrolyzed Rice Protein./ Int J Toxicol. 2006;25 Suppl 2:91-120.
- (비특허문헌 0004) 4) Antioxidant Activities and Antioxidant Compounds of Some Specialty Rices / Sun Jung Seo, Youngmin Choi, Seon-Mi Lee, Suhyun Kong, and Junsoo Lee†/ J Korean Soc Food Sci Nutr 37(2), 1297135(2008)
- (비특허문헌 0005) 5) 2009 주요 작물 품종해설/ 농촌진흥청 국립식량과학원
- (비특허문헌 0006) 6) Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress/ Gertrude-E. Costin*,1 and Vincent J. Hearing/ The FASEB journal, Vol. 21, 0892-6638/07/0021-0976
- (비특허문헌 0007) 7) Human pigmentation genetics: the difference is only skin deep/ Richard A. Sturm1,*, Neil F. Box1, Michele Ramsay2/ Bioessays. 1998 Sep;20(9):712-21.
- (비특허문헌 0008) 8) Terrein: a new melanogenesis inhibitor and its mechanism/ Park SH, Kim DS, Kim WG, Ryoo IJ, Lee DH, Huh CH, Youn SW, Yoo ID, Park KC./ Cell Mol Life Sci. 2004 Nov;61(22):2878-85.
- (비특허문헌 0009) 9) 미백 화장품 출시 동향 분석 /Cosmetic mania news/ 심재영
- (비특허문헌 0010) 10) 최근의 미백화장품 개발 동향 및 전망/ 대한피부미용학회지 제 2권 제3호 /이강태, 김은화

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명자들은 멜라닌 세포에 칠보버 에탄올 추출 조성물을 처리 시, 멜라닌세포 내 멜라닌색소 형성 과정에 미치는 영향을 살펴본 결과, 세포 내 멜라닌 합성에 관여하는 티로시나제의 효소활성이 유의적으로 감소되었고, 세포 내 멜라닌 색소의 함유량도 농도 유의적으로 감소하였고, 한편 멜라닌 색소형성에 관여하는 단백질의 유전자 및 단백질 발현량을 실험한 결과 티로시나제 및 TRP-1(tyrosinase related protein-1), TRP-2(tyrosinase related protein-2) 유전자 및 단백질 발현, 그리고 이러한 멜라닌 합성 유전자 발현을 조절하는 주요 전사인자인 MITF의 발현이 억제되는 것을 발견하였다. 이러한 결과로 보아 칠보버 추출 조성물이 피부세포에서 멜라닌 합성을 감소시킨다는 사실을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

[0014] 따라서, 본 발명의 목적은 피부 색소 침착을 일으키는 멜라닌 생합성에 관여하는 주요 효소인 티로시나제의

활성을 억제하고 멜라닌 합성에 관여하는 티로시나제, TRP-1, TRP-2 효소의 유전자 발현을 감소시킴으로써 멜라닌의 합성을 저해하는 효과가 있는 칠보벼 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물을 제공하는 데 있다.

[0015] 본 발명의 다른 목적은, 제품 안정성이 높고 세포독성 등의 부작용이 거의 없는 칠보벼 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물을 제공하는 것이다.

[0016] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 더욱 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

[0017] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 피부 멜라닌 합성 저해 효과가 있는 칠보벼(*Oryza sativa* cv. chilbo) 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물을 제공한다.

[0018] 본 발명에 의한 상기 조성물은 티로시나제의 활성을 억제함으로써 피부 멜라닌 합성을 억제한다.

[0019] 또한, 본 발명에 의한 조성물은 티로시나제, TRP-1(tyrosinase related protein-1), TRP-2(tyrosinase related protein-2) 및 MITF((microphthalmia-associated transcription factor)로 이루어진 그룹에서 선택된 하나 이상 단백질의 발현을 저해함으로써 피부 멜라닌 합성을 억제한다.

[0020] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 조성물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 화장료 조성물을 제공한다.

[0021] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 조성물을 유효성분으로 함유하는 포함하는 건강기능성 식품 조성물을 제공한다.

[0022] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 분쇄된 칠보벼 입자에 75 ~ 80% 에틸 알코올을 가하여 미백성분을 추출하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 피부 미백용 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.

[0023]

[0024] 이하, 본 발명을 보다 구체적으로 설명한다.

[0025] 본 발명은 피부 멜라닌 합성 저해 효과가 있는 칠보벼 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물을 제공한다.

[0026] 상기 칠보벼는 쌀의 품종별 간의 피부미백 활성 검정에서 일반미 중 가장 높은 수치를 보여 피부미백 효능이 탁월한 특징을 보인다. 또한, 칠보벼는 쌀의 품종별 간의 항산화 활성 검정에서 DPPH와 ABTS의 라디칼 소거율 각각 48.2%, 53.2%로 일반미 중 가장 높은 수치를 보여 항산화 효능이 탁월한 특징을 보이고 있다. 항산화 효능이 있는 물질은 활성산소로부터 피부보호 효과가 있다. 따라서 본 발명에 의한 조성물은 피부 미백 효과 및 피부보호 효과가 우수하다.

[0027] 본 발명에 의한 칠보벼 에탄올 추출 조성물을 멜라닌 세포에 처리 시, 세포 내 멜라닌 합성에 관여하는 티로시나제의 효소활성이 유의적으로 감소되고, 세포 내 멜라닌 색소의 함유량도 농도 유의적으로 감소한다(도 1 ~ 도 5 참조), 한편 멜라닌 색소형성에 관여하는 단백질의 유전자 및 단백질 발현량을 실험한 결과 티로시나제 및 TRP-1, TRP-2 유전자 및 단백질 발현, 그리고 이러한 멜라닌 합성 유전자 발현을 조절하는 주요 전사인자인 MITF의 발현이 억제된다(도 6 ~ 도 7b).

[0028] 본 발명의 칠보벼 추출물은 당업계에 공지된 통상의 방법에 따라, 즉, 통상적인 온도와 압력의 조건하에서 통상적인 용매를 사용하여 제조될 수 있다.

[0029] 본 발명의 조성물의 유효 성분인 칠보벼 추출물을 제조하기 위한 추출 용매로는 천연물 추출에서 일반적으로 사용할 수 있는 용매를 사용할 수 있는데, 물, 탄소수 1-4개의 무수 또는 함유 저급 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트 및 1,3-부틸렌 글리콜로 구성된 군으로부터 선택되는 용매를 사용하여 추출되는 것이 바람직하며, 보다 바람직하게는 에틸 알코올이며, 보다 더 바람직하게는 75% 내지 85% 에틸 알코올이다.

[0030] 본 발명의 구체적인 일 실시예에 따르면, 원료가 되는 칠보벼를 분쇄하여 80% 에틸 알코올을 가하여 미백성분을 추출하고 감압농축기를 이용하여 에틸 알코올을 제거함으로써 상기 추출물을 제조한다.

[0031] 한편, 본 발명의 추출물은 상술한 추출법에 의한 추출물뿐만 아니라, 통상적인 정제 과정을 거친 추출물도 포

함한다. 예컨대, 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 이용한 분리, 다양한 크로마토그래피 (크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등, 추가적으로 실시된 다양한 정제 방법을 통해 얻어진 분획도 본 발명의 칠보며 추출물에 포함된다고 해석된다.

- [0032] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 조성물을 유효성분으로 함유하는 피부미백용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0033] 상술한 바와 같이, 칠보며 추출물을 함유하는 조성물은 티로시나제의 활성 억제를 통해 멜라닌 합성의 양을 저해시킴으로, 이러한 칠보며 에탄올 추출조성물을 화장품 등 향장소재로 활용할 경우, 쌀에 포함된 여러 단 일성분들의 항산화 효능을 이용하여 효과적이며 안전한 제품의 개발이 가능하다.
- [0034] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 칠보며 추출물의 함량은 화장료 조성물 총 중량에 대하여 0.0001-10 중량%, 바람직하게는 0.001-3 중량%이다. 이때 칠보며 추출물의 함량이 0.0001% 미만일 때에는 그 효과가 나타나기 어렵고, 10% 이상일 때에는 피부에 자극을 유발할 가능성이 높으며, 제형의 안정화에도 큰 영향을 미칠 수 있다.
- [0035] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분으로서 상기 추출물 이외에 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함한다.
- [0036] 본 발명의 화장료 조성물은 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 (스킨), 수렴 화장수, 영양 화장수 (밀크로션), 영양 크림, 맛사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0037] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0038] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0039] 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 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [0040] 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 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [0041] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아마이드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0042] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 조성물을 유효성분으로 함유하는 피부미백용 건강기능성 식품 조성물을 제공한다.
- [0043] 상술한 바와 같이, 본 발명에 의한 칠보며 추출물 조성물은 피부 멜라닌 합성 저해 효과가 있으므로, 본 발명

에 의한 조성물은 피부 미백용 식품 조성물 내지 먹는 화장품으로 이용될 수 있다. 쌀에 주된 기능성분인 피틴산, 오리자놀(Oryzanol), 가바(GABA) 등의 성분은 발암 억제, 혈중 콜레스테롤 저하 및 혈전 형성 억제효과, 지방간 억제 및 면역기능의 강화기능 외에도 다양한 생리활성을 갖고 있어 피부건강 효과 외의 추가적인 기능적 특성 또한 갖는다. 특히, 칠보벼는 쌀의 품종별 간의 항산화 활성 검정에서 DPPH와 ABTS의 라디칼 소거율 각각 48.2%, 53.2%로 일반미 중 가장 높은 수치를 보여 항산화 효능이 탁월한 특징을 보이고 있다. 항산화 효능이 있는 물질은 활성산소로부터 피부보호 효과가 있다. 따라서 본 발명에 의한 조성물은 피부 미백 효과 이외에 피부보호 등 다양한 효능을 갖는 복합 기능성 식품으로 제공될 수 있다.

[0044] 본 명세서에서 식품이란 함은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 식품, 식품 첨가제, 건강 기능성 식품 및 음료를 모두 포함한다. 본 명세서에서 건강기능성 식품이란, 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0045] 본 발명의 식품 조성물에서, 바람직하게는 상기 추출물은 조성물 총중량에 대하여 0.0001 내지 90 중량%로 포함될 수 있다. 본 발명의 식품은, 식품학적으로 허용 가능한 식품보조첨가제를 더 포함할 수도 있으며, 환제, 분말, 과립, 침제, 정제, 캡슐 또는 음료 형태로 제제화될 수 있다.

[0046] 예를 들어, 상기 정제 형태의 건강기능성 식품은 그대로 또는 부형제, 결합제, 붕해제 또는 다른 첨가제를 넣어 고르게 섞은 것을 적당한 방법으로 과립상으로 한 다음 활택제 등을 넣어 압축성형하여 조제하거나 정제 형태의 건강기능성 식품을 그대로 또는 부형제, 결합제, 붕해제 또는 다른 적당한 첨가제를 넣어 고르게 섞은 것을 직접 압축성형하여 만들거나 또는 미리 만든 과립에 건강기능성 식품을 그대로 혹은 적당한 첨가제를 넣어 고르게 섞은 다음 압축성형하여 조제하거나 건강기능식품에 부형제, 결합제 또는 다른 적당한 첨가제를 넣어 고르게 섞은 분말을 용매로 습윤시키고, 습윤된 분말을 저압으로 틀에 넣어서 성형한 후, 적당한 방법으로 건조하여 조제한다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능식품에 필요에 따라 교미제 등을 넣을 수 있으며, 적당한 제피제로 제피 가능하다.

[0047] 상기 캡셀 형태의 건강기능성 식품 중 경질캡셀제는 보통 캡셀에 건강기능식품 또는 건강기능식품에 적당한 부형제 등을 고르게 섞은 것 또는 적당한 방법으로 입상으로 한 것 또는 입상으로 한 것에 적당한 제피제로 제피한 것을 그대로 또는 가볍게 성형하여 충전하여 조제하며, 연질캡셀제는 보통 캡셀에 건강기능식품 또는 건강기능식품에 적당한 부형제 등을 넣은 것을 젤라틴 등 적당한 캡셀기체에 글리세린 또는 소르비톨 등을 넣어 소성을 높인 캡셀기체로 피포하여 일정한 형상으로 성형하여 조제하며, 필요에 따라 상기 캡셀기체에 착색료, 보존료 등을 첨가할 수 있다.

[0048] 상기 환형태의 건강기능성 식품은 보통 건강기능식품에 부형제, 결합제, 붕해제 등을 고르게 섞은 다음 적당한 방법으로 구상으로 성형하여 조제하며, 필요에 따라 백당이나 다른 적당한 제피제로 제피를, 또는 전분, 탈크 또는 적당한 물질로 환의를 입힐 수도 있다.

[0049] 또한, 본 발명의 조성물은, 관련 질환의 예방을 위한 건강보조식품의 식품보조첨가제로서 사용될 수 있다. 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 각종 식품류, 예를 들어, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류 등이 있으며, 환제, 분말, 과립, 침제, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용할 수 있다.

[0050] 이때, 식품 또는 음료 중의 상기 추출물의 양은, 일반적으로 본 발명의 식품 조성물의 경우 전체식품 중량의 0.0001 내지 90 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물의 경우 100ml를 기준으로 0.0001 내지 20 중량%로 가할 수 있다.

[0051] 본 발명에서 정의되는 추출물 이외의 식품보조첨가제는 당업계에 통상적인 식품첨가제, 예를 들어 향미제, 풍미제, 착색제, 충전제, 안정화제 등을 포함하며 하기에 예시한다.

[0052] 상기 음료 조성물의 경우, 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 추출물 이외 함유하는 액체 성분에는 특별한 제한점은 없으며, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 예로는 예를 들어, 포도당, 과당 등의 모노사카라이드 예를 들어, 말토오스, 수크로오스 등의 디사카라이드 예를 들어, 텍스트린, 사이클로 텍스트린 등의 폴리사카라이드 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어, 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르트

등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 약 5 내지 12g이다.

[0053] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.001 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0054] 또한, 본 발명은 칠보버 추출물을 멜라닌 생성 억제 효과를 부여하기 위한 유효성분으로 배합하는 다른 조성물, 예를 들어 약제학적 조성물 등도 포함하는 것이다.

발명의 효과

[0055] 상술한 바와 같이, 본 발명에 의한 칠보버 추출물 조성물은 멜라닌 합성에 관여하는 효소인 티로시나제의 활성을 저해함으로써 멜라닌의 합성을 저해하는 방법으로 미백효과를 갖는다. 또한, 본 발명에 의한 칠보버 추출물 조성물은 피부멜라닌 세포에서 멜라닌 형성에 관여하는 티로시나제, TRP-1, TRP-2의 발현을 억제하여 멜라닌 합성량을 저해하는 기작으로도 미백효과를 얻을 수 있다.

[0056] 나아가, 칠보버는 최근 새로 육종 개발된 쌀 품종으로 우수한 식미감으로 식용측면에서 매우 우수한 특성이 있는 것으로 알려져 있다. 본 발명을 통한 미백효과로 칠보버의 용도를 다변화 하여 부가가치와 소비량을 촉진할 수 있다.

[0057] 따라서, 본 발명에 의한 칠보버 추출물 조성물을 이용하여 미백효과가 뛰어나면서도 세포독성이 낮은 미백용 화장품 뿐만 아니라, 건강기능성 식품조성물도 제조할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0058] 도 1은 멜라닌 합성 관여하는 유전자 종류 및 기작을 보인 도면이다.

* *MITF* : *Microphthalmia-associated transcription factor*

* *ERK* : *Extracellular signal-regulated kinases*

* *TYR* : *Tyrosinase*

* *TYRP1*: *Tyrosinase-related protein 1*

* *CREB*: *cAMP response element binding protein*

도 2는 본 발명에 의한 칠보버 에탄올 추출 조성물의 버섯 티로시나제 (mushroom tyrosinase) 활성 실험 결과를 보인 도면이다.

도 3은 본 발명에 의한 칠보버 에탄올 추출 조성물의 MTT 분석한 결과를 보인 도면이다.

도 4는 B16/F1의 피부 세포 내 멜라닌 함량측정 결과를 보인 도면이다. 알부틴 (Arbutin):1mM, High: 칠보버 에탄올 추출조성물 0.1mg/mL, Low: 칠보버 에탄올 추출조성물 0.01mg/mL.

도 5는 B16/F1의 피부세포 티로시나제 활성을 측정한 결과를 보인 도면이다. 알부틴 (Arbutin):1mM, High: 칠보버 에탄올 추출조성물 0.1mg/mL, Low: 칠보버 에탄올 추출조성물 0.01mg/mL.

도 6은 B16/F1의 피부세포내 멜라닌 합성 관여 효소들의 유전자 발현을 측정(PCR)한 결과를 보인 도면이다. 알부틴 (Arbutin):1mM, High: 칠보버 에탄올 추출조성물 0.1mg/mL, Low: 칠보버 에탄올 추출조성물 0.01mg/mL.

도 7a 및 7b는 B16/F1의 피부세포내 멜라닌 합성 관여 효소들의 단백질 합성량을 측정(Western blot)한 결과를 보인 도면이다. 알부틴 (Arbutin):1mM, High: 칠보버 에탄올 추출조성물 0.1mg/mL, Low: 칠보버 에탄올

추출조성물 0.01mg/mL.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0059] 이하, 실시예를 통해 본 발명을 상세히 설명한다. 그러나 하기 실시예들은 본 발명을 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 권리범위가 하기 실시예들에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[실시예 1]. 에탄올 (80%, v/v)을 이용한 칠보버 에탄올 추출 조성물의 제조

[0060] 분쇄된 칠보버 입자에서 미백성분을 추출해 내기 위해 80% 에탄올 700ml을 이용해 48시간동안 실온에서 교반 추출하고, 이를 감압농축기를 이용해 에탄올 성분을 제거하였으며, 잔존수분은 동결건조를 이용해 이틀 동안 동결건조 실시하여 최종적으로 칠보버 에탄올 추출 조성물을 제조하였다. 이러한 80% 에탄올 추출 조성물은 초기 칠보버 분쇄입자 대비 총 1.38%의 수율을 나타냈다.

[실시예 2]. 버섯 티로시나제 (mushroom tyrosinase) 활성 실험

[0063] 티로시나제는 피부 멜라닌 합성의 율속단계 효소로서 이를 저해하면 피부세포 멜라닌 합성량을 조절할 수 있다. 이 효소는 피부세포의 멜라노솜 (melanosome)내에서 아미노산 티로신 (tyrosine) 기질을 산화시켜 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA, 도파)를 만드는 티로신 수산화효소(hydroxylase) 활성과 도파를 다시 산화시켜 도파크롬 (DOPACHrome) 을 만드는 도파산화 (DOPA oxidase) 활성의 두 가지 활성을 가지고 있으며 이 물질은 최종적으로 멜라닌 중합체로 생합성된다. 칠보버 에탄올 추출조성물의 티로시나제 활성억제 효과를 조사하기 위해 버섯 티로시나제와 도파를 기질로 사용하여 실험을 실시하였다. 도파 50 μ L, 0.03% (w/v) 티로신 용액 (tyrosine solution)과 75 μ L의 0.1M 인산완충용액 (phosphate buffer, pH6.8)에 실시예 1에서 얻은 칠보버 추출물을 농도별로 첨가하고 25 μ L의 버섯 티로시나제 (400unit/mL 0.1M phosphate buffer)을 섞어 37 $^{\circ}$ C에서 20분 반응시킨 후 475nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0064] 그 결과를 도 2에 나타내었다. 도 2에 나타난 바와 같이, 버섯 티로시나제의 활성을 측정한 결과 칠보버 에탄올 추출조성물을 0.05~0.2 mg/ml로 처리했을 때 대조군에 비해 그 활성이 점차 억제되었다. 티로시나제는 멜라닌합성에 중요한 효사이므로 칠보버 에탄올 추출조성물이 티로시나제 효소를 직접 억제하여 멜라닌합성을 억제할 수 있다.

[실시예 3]. 세포배양

[0066] B16-F1 마우스 멜라닌세포 (B16-F1 murine melanocytes, Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)를 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM)에 10%의 fetal bovine serum (FBS)과 100U/mL 의 페니실린, 0.1mg/mL의 스트렙토마이신을 첨가한 배지에 37 $^{\circ}$ C, 95%air/ 5% CO₂ 조건에서 배양하였다.

[실시예 4]. MTT 분석

[0068] 살아있는 세포의 미토콘드리아에서 MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)- 2,5-diphenyl tetrazolium bromide]가 포르마잔 (formazan)으로 환원되는 원리를 이용하여 세포 독성을 판단할 수 있는 분석으로, 72시간 동안 8가지 농도의 칠보버 추출물 조성물을 B16-F1 멜라닌 세포에 처리한 후 MTT 용액을 첨가한 배양 배지에서 분석하였다. MTT용액을 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 3시간동안 반응시키고 생성된 포르마잔을 dimetyl sulfoxide (DMSO)를 첨가하여 용해시킨 후 570nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0069] 그 결과를 도 3에 나타냈다. 도 3에 나타난 바와 같이, 칠보버 에탄올 추출 조성물을 피부세포인 B16/F1 세포에 처리한 결과 0~0.2mg/ml 사이에서 세포의 독성을 크게 보이지 않는 것으로 확인되었다.

[실시예 5]. B16/F1의 세포내 멜라닌 합성량 측정

[0071] 칠보버 추출물을 72시간 처리한 세포로부터 합성된 멜라닌의 양을 측정하였다. 이를 위해 세포를 건어내어 원심 분리 시킨 후 이 세포에 있는 멜라닌을 멜라닌의 최대 흡광도인 400nm에서 측정하였다. 멜라닌 함량을 결

정하기 위해 세포를 PBS 완충용액으로 씻어낸 후 20mmol/L Tris-0.1%, Triton X-100 (pH7.5)를 첨가하여 세포를 용해하였다. 세포용해물을 4℃에서 5분간 원심분리시켜 (12000xg) 펠렛 (pellet)을 얻었다. 얻어진 펠렛을 1N NaOH, 60℃에서 1시간 동안 용해시키고 흡광도를 400nm에서 관측하였고, 이 값을 합성 멜라닌을 사용한 표준곡선과 비교하여 멜라닌 함량을 측정하였다. 이후 원심분리시킨 후 상등액에 존재하는 세포의 총단백질 함량을 측정하여 총단백질 함량에 따른 멜라닌 합성량을 보정해주었다.

[0072] 그 결과를 도 4에 나타내었다. 도 4에 나타난 바와 같이, 칠보버 에탄올 추출 조성물 처리시 멜라닌 세포에서 대조군에 비해 멜라닌 함량이 감소된 것을 확인하였다.

[0073] [실시예 6]. B16/F1의 세포내 티로시나제 활성 측정

[0074] 세포내로 흡수된 미백활성물질이 세포내 티로시나아제의 활성을 억제하는지를 다음과 같이 측정하였다. 조직 세포 배양용 용기 (6-well plate)에 1×10^5 cells/well의 농도로 세포를 첨가한 후 37℃, 5% CO₂의 조건에서 24시간 배양하고, 각 배양세포에 10 µg/ml, 100 µg/ml 농도로 칠보버 에탄올 추출 조성물을 첨가하였다. 72시간 배양한 후, 배지를 제거하고 PBS 완충용액으로 2회 세척한 후 20 mmol/L Tris-0.1% Triton X-100 (pH 7.5) 완충용액을 150 µl를 첨가하여 세포를 용해시킨 후 액체질소를 이용해 급속냉동과 해동을 반복하며 1시간 동안 파쇄하였다. 12000g에서 5분간 원심분리하여 상층액을 티로시나아제 조추출물로 사용하였다. 70 µl 상층액 + 140 µl 0.1% L-DOPA를 첨가하여 37℃ 인큐베이터에서 2시간 반응시킨 뒤 마이크로플레이트 흡광 판독기로 475nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0075] 그 결과를 도 5에 나타내었다. 상기와 같이 세포로부터 단백질을 추출하여 L-DOPA를 기질로 한 티로시나아제의 활성을 측정한 결과, 도 5에서의 멜라닌 합성량과 같이, 칠보버 에탄올 추출조성물을 처리하였을 때, 효소 활성이 유의적으로 감소하였다. 특히 저농도에서 더 큰 티로시나아제 억제효과를 확인하였다.

[0076] [실시예 7]. B16/F1의 세포내 멜라닌 합성 관여 효소들의 유전자 발현 측정(PCR)

[0077] 세포내에서 멜라닌 합성에 관여하는 효소들인 티로시나아제와 TRP-1, TRP-2, 그리고 이러한 유전자 발현에 영향을 주는 신호전달에 관여하는, MITF, ERK, p-ERK의 유전자 발현 변화를 살피기 위하여 역전사 반응(RT-PCR)법을 실시하였으며, 다음과 같이 측정하였다. 조직세포 배양용 용기 (6-well plate)에 4×10^5 cells/well 이 되도록 세포를 첨가한 후 37℃, 5% CO₂의 조건에서 24시간 배양하고, 각 샘플에 각각 10 µg/ml, 100 µg/ml 농도로 칠보버 에탄올 추출 조성물을 첨가하였다. 24시간 배양한 후 배지를 제거하고, TRIzol시약 (Invitrogen사)을 첨가하여 조제한 total RNA에 Invitrogen사 제조의 Superscript II를 사용하여 RT-PCR을 실시하고, cDNA를 합성하였다.

[0078] 상기 cDNA를 주형으로 한 PCR의 반응액 조성은 상기 합성한 cDNA, 10 pmol 포워드 프라이머 및 리버스 프라이머, 10XPCR Buffer, 2.5mM dNTP Mix를 Taq-DNAPolymerase (Corebiosystem사, 한국)를 혼합하였다. 반응은 열변성 94℃ 30초, 프라이머 annealing 56℃ 30초, 신장반응 72℃ 2분의 행정을 25사이클 반복하였다. 얻어진 PCR산물은 1% Agarose 겔에서 TAE(Tris-Acetate-EDTA)완충액 중에서 통상의 방법에 따라 전기영동하고, 증폭 밴드는 GelPro 분석 소프트웨어를 이용해 정량화하였다. 여기서, PCR 반응에 사용된 프라이머 세트는 다음과 같다.

[0079] Tyrosinase: upstream 5'-GGC CAG CTT TCA GGC AGA GGT-3'(서열번호 1)

[0080] downstream 5'-TGG TGC TTC ATG GGC AAA ATC-3'(서열번호 2)

[0081] TRP-1: upstream 5'-GCT GCA GGA GCC TTC TTT CTC-3'(서열번호 3)

[0082] downstream 5'-AAG ACG CTG CAC TGC TGG TCT-3'(서열번호 4)

[0083] TRP-2: upstream 5'-GGA TGA CCG TGA GCA ATG GCC-3'(서열번호 5)

[0084] downstream 5'-CGG TTG TGA CCA ATG GGT GCC-3'(서열번호 6)

[0085] MITF: upstream 5'-GTATGAACACGCACTCTCTCGA-3'(서열번호 7)

[0086] downstream 5'-CTTCTGCGCTCATACTGCTC-3'(서열번호 8)

[0087] 도 6에 나타난 바와 같이, 칠보버 에탄올 추출조성물의 0.1mg/ml, 0.01mg/ml에서 티로시나제, TRP1, TRP2, MITF 의 멜라닌 합성에 관여하는 유전자 발현이 감소되는 것을 확인하였다. 특히 저농도인 0.01mg/mL에서 더 큰 효과를 보였다. 이것으로 칠보버 에탄올 추출조성물이 유전자 발현 수준에서 또한 멜라닌 합성 억제에 관여하고 있음을 확인하였다.

[0088] [실시예 8]. B16/F1의 세포내 멜라닌 합성 관여 효소들의 단백질 합성량 측정(Western blot)

[0089] 세포내 멜라닌 합성에 관여하는 효소인 티로시나아제와 TRP-1, TRP-2 및 티로시나제 효소의 전사인자인 MITF(microphthalmia-associated transcription factor)의 단백질 발현을 웨스턴 블랏팅(western blotting)을 실시하여 조사하였다. 조직세포 배양용 용기 (6-well plate)에 1×10^5 cells/well이 되도록 세포를 첨가한 후 37°C, 5% CO₂의 조건에서 24시간 배양하고, 각 세포샘플에 10 µg/ml, 100 µg/ml의 농도로 칠보버 추출 조성을 첨가하였다. 72시간 배양한 후 배지를 제거하고 4°C PBS 완충용액으로 2회 세척한 후, 리파 세포용해 완충액(RIPA buffer, 10 mM Tris-HCl, pH 7.5, 1% NP-40, 0.1% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA)을 균질화 처리하여 세포의 총 단백질을 추출액을 얻어냈다.

[0090] 이를 사용하여 단백질을 표준용액으로서 BSA(Bovine Serum Albumin)를 사용하는 브라드포드 방법에 의해 결정하였다. 단백질을 10% SDS 겔에서 분리하고, 니트로셀룰로스 막 (Schleicher & Schuell BioScience)으로 이동시킨 후, 쥐의 티로시나아제, TRP-1, TRP-2, 및 MITF에 대한 1차 항체(Anti-tyrosinase(C-19), anti-TRP1(G-17), anti-TRP2(D-18), anti-Mitf(N-15), and anti-α-tubulin(B-7) antibodies, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)를 완충액으로 500배로 희석하여 4°C에서 밤새 항원 반응시킨 후, 광범위하게 세척하여 퍼옥시다아제 보충 2차 항체(goat peroxidaseconjugated second antibody)와 반응시켰다. 세척과정을 거친 막은 ECL 키트 (Amersham-Pharmacia사)를 사용하여 발색시킨 후, 발색된 단백질을 GelPro 분석 소프트웨어를 이용해 정량화하였다.

[0091] 그 결과를 도 7a 및 도 7b에 나타내었다. 도 7a 및 도 7b에 나타난 바와 같이, 인산화된 ERK (Phosphorylated-ERK)의 단백질 합성의 감소는 보이지 않고 오히려 증가하였으나 TRP-1과 TRP-2의 단백질 합성량은 칠보버 에탄올 추출조성물을 처리하였을 때, 단백질 합성량을 크게 감소시켰으며 MITF, 티로시나제, 또한 단백질 합성이 크게 저해되었다. 이로써, 칠보버 에탄올 추출조성물이 티로시나아제와 그 전사인자의 단백질 합성을 저해함으로써 멜라닌 합성을 억제하여 미백 기능성을 보일 수 있음을 확인하였다.

[0092] [제조예 1]. 유연화장수

[0093] 다음의 조성으로 유연화장수를 제조하였다.

[0094] 성분 함량(중량%)

[0095]	칠보버 추출물	0.1
[0096]	글리세린	6.0
[0097]	1,3-부틸렌글리콜	3.0
[0098]	PEG 1500	1.0
[0099]	알란토인	0.1
[0100]	DL-판테놀	0.3
[0101]	EDTA-2Na	0.02
[0102]	벤조페논-9	0.04
[0103]	소듐 히아루로네이트	5.0

[0104]	에탄올	10.0
[0105]	옥타도데세스-16	0.2
[0106]	폴리솔베이트 20	0.2
[0107]	방부제, 향, 색소	미량
[0108]	증류수	잔량
[0109]	합계	100

[제조예 2]. 건강기능성 식품의 제조

[0111] 다음의 조성으로 건강기능성 식품을 제조하였다.

[0112]	칠보버 추출물	500 mg
[0113]	비타민 혼합물	적량
[0114]	비타민 A 아세테이트	70 μ g
[0115]	비타민 E	1.0 mg
[0116]	비타민 B1	0.13 mg
[0117]	비타민 B2	0.15 mg
[0118]	비타민 B6	0.5 mg
[0119]	비타민 B12	0.2 μ g
[0120]	비타민 C	10 mg
[0121]	비오틴	10 μ g
[0122]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0123]	엽산	50 μ g
[0124]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0125]	무기질 혼합물	적량
[0126]	황산제1철	1.75 mg
[0127]	산화아연	0.82 mg
[0128]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0129]	제1인산칼륨	15 mg
[0130]	제2인산칼슘	55 mg
[0131]	구연산칼륨	90 mg
[0132]	탄산칼슘	100 mg
[0133]	염화마그네슘	24.8 mg

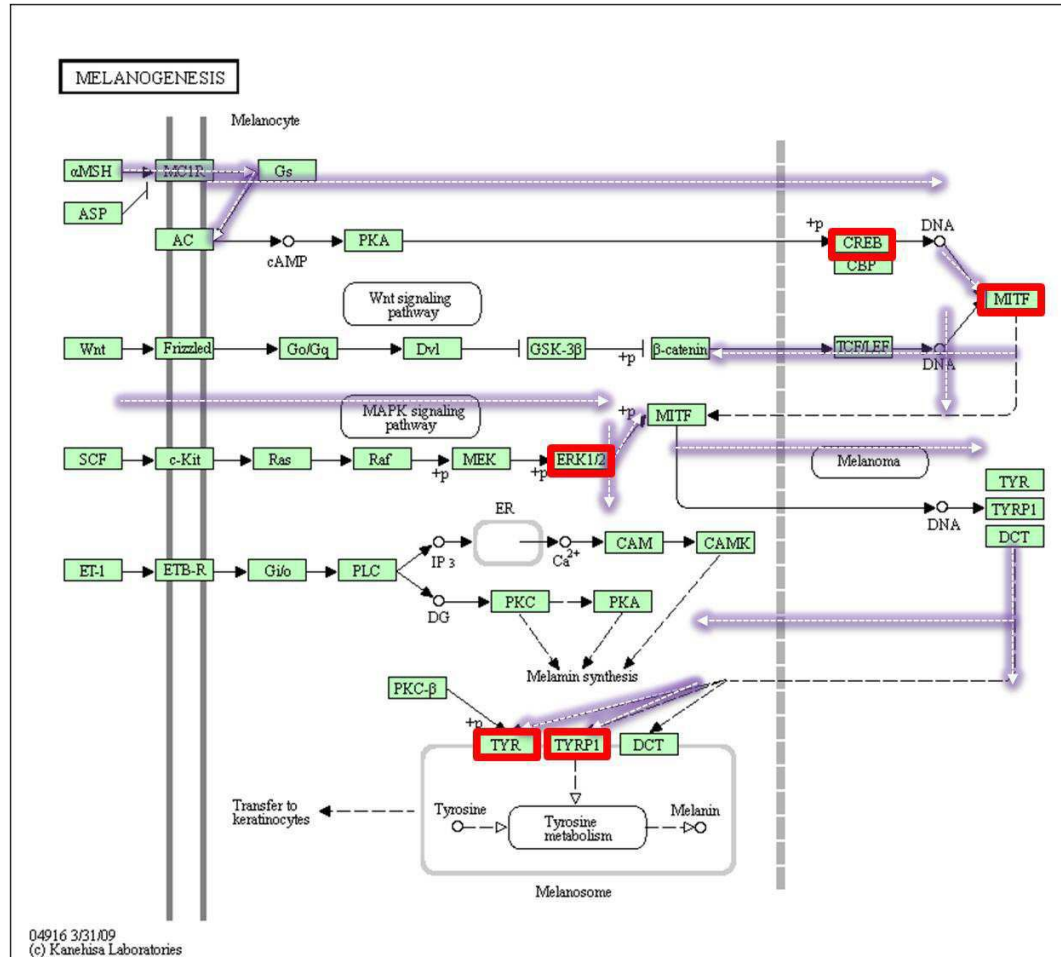
[0134] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강기능성 식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능성 식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강기능성 식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0135]

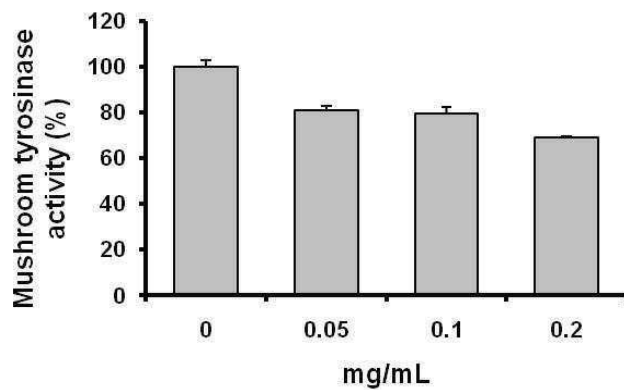
이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였으나, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 균등물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

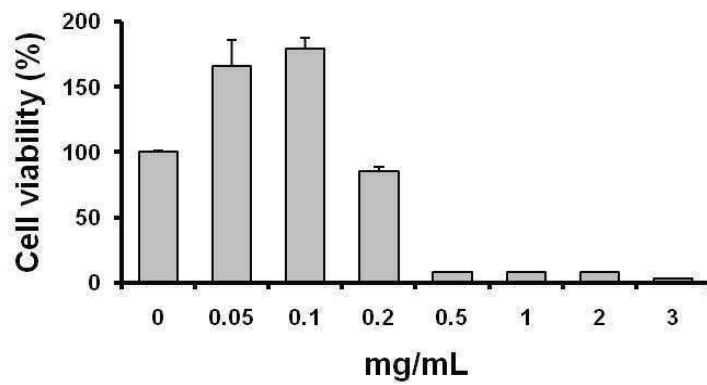
도면1



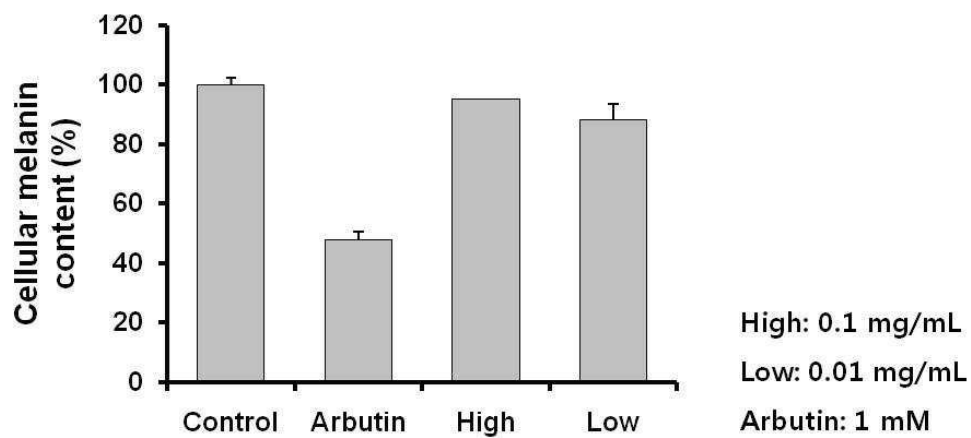
도면2



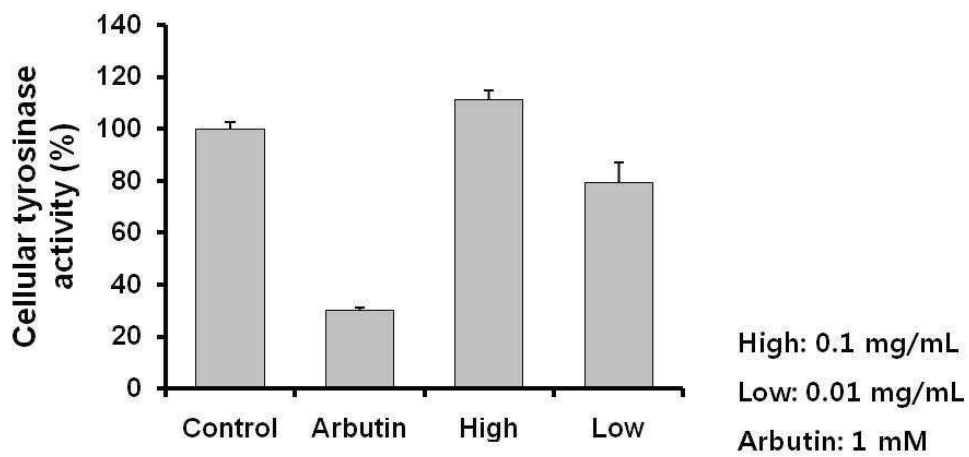
도면3



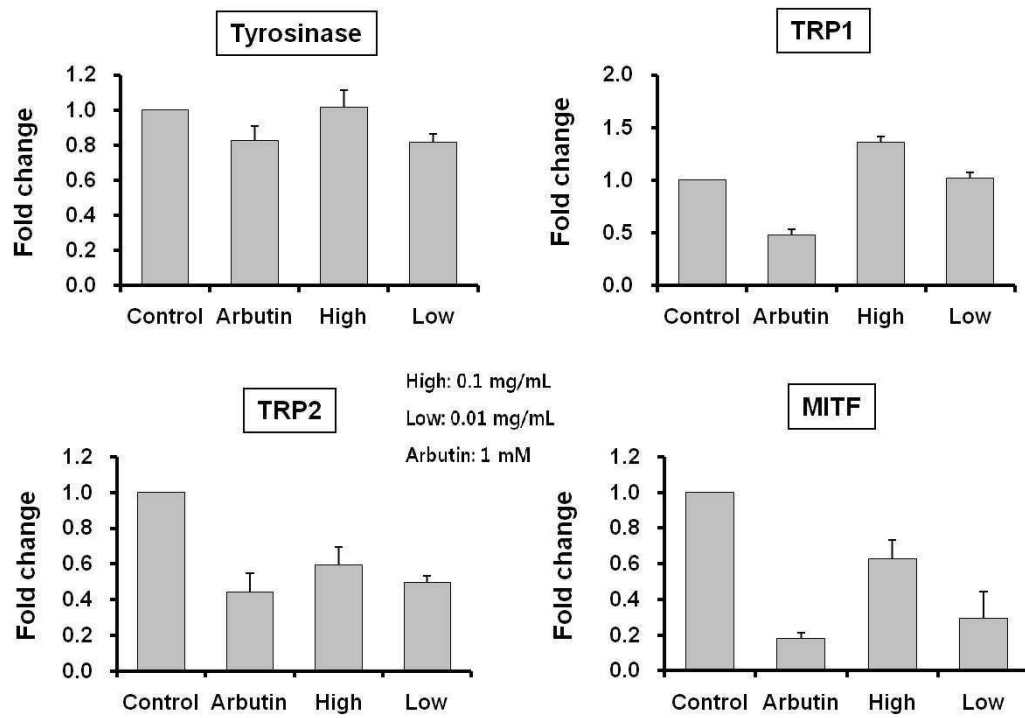
도면4



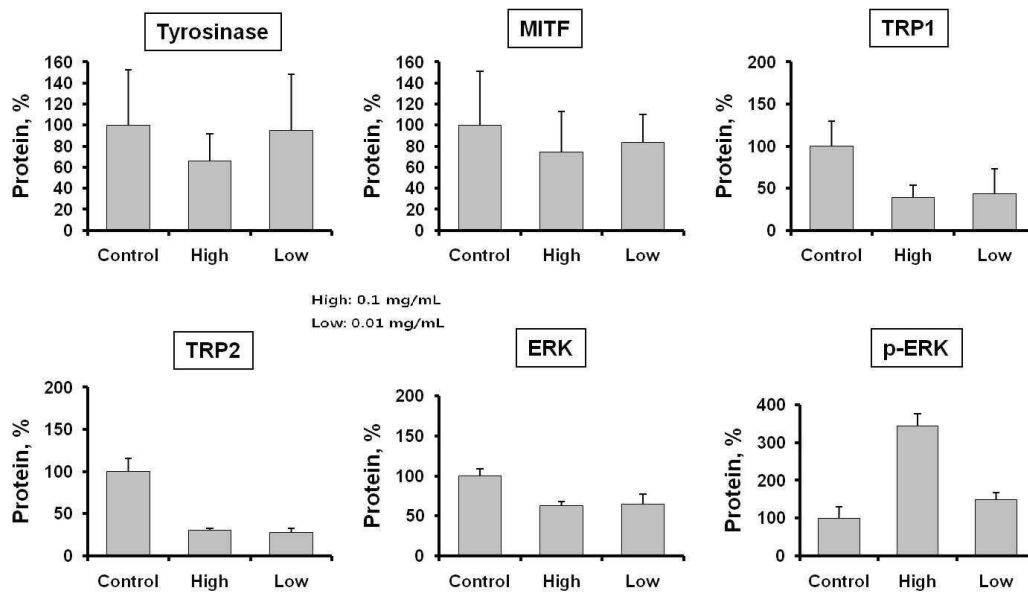
도면5



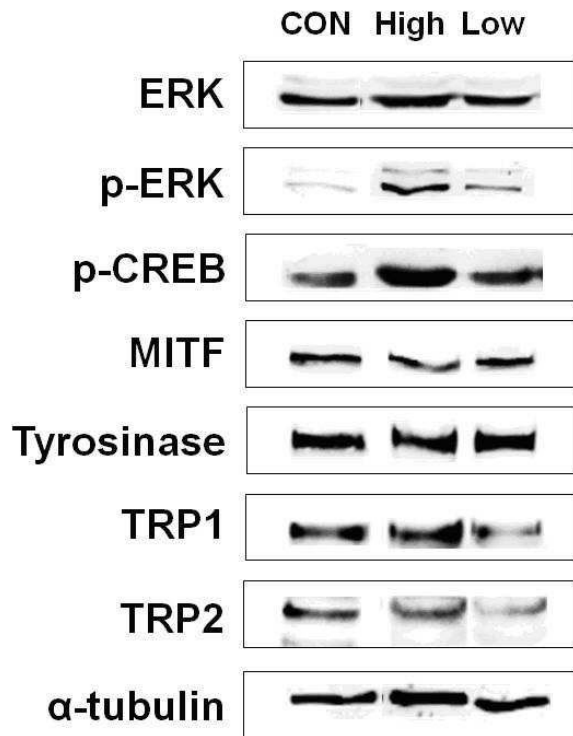
도면6



도면7a



도면7b



서열 목록

- <110> KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION
- <120> Skin whitening composition comprising extracts of *Oryza sativa*
cv. chilbo
- <130> P11-101125-01
- <160> 8
- <170> Kopatent In 1.71
- <210> 1
- <211> 21
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> PCR PRIMER
- <400> 1
- ggccagcttt caggcagagg t
- <210> 2
- <211> 21
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> PCR PRIMER

21

<400> 2
 tgggtgcttca tgggcaaaat c 21

<210> 3
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> PCR PRIMER
 <400> 3
 gctgcaggag ccttctttct c 21

<210> 4
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> PCR PRIMER
 <400> 4
 aagacgctgc actgctggtc t 21

<210> 5
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> PCR PRIMER
 <400> 5
 ggatgaccgt gagcaatggc c 21

<210> 6
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> PCR PRIMER
 <400> 6
 cggttgtgac caatgggtgc c 21

<210> 7
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> PCR PRIMER

<400> 7

glatgaacac gcactctctc ga

22

<210> 8

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PCR PRIMER

<400> 8

cttctgcgct catactgctc

20