



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0122421
(43) 공개일자 2017년11월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/97 (2017.01) A61K 8/02 (2006.01)
A61K 8/99 (2017.01) A61Q 19/00 (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 8/97 (2013.01)
A61K 8/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0051329
(22) 출원일자 2016년04월27일
심사청구일자 2016년04월27일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
강세찬
경기도 성남시 분당구 정자로 143, 202동 1202호 (정자동, 한솔마을LG아파트)
조영미
서울특별시 성동구 광나루로 190, A동 406호 (성수동1가)
권정은
경기도 수원시 영통구 반달로 76, 204호 (영통동)
(74) 대리인
안소영

전체 청구항 수 : 총 7 항

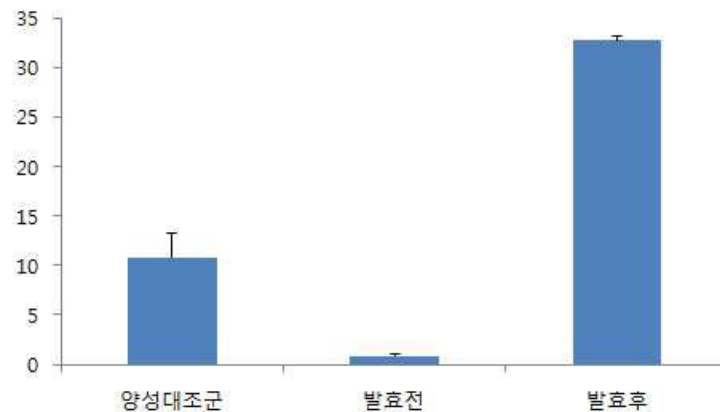
(54) 발명의 명칭 피부 개선용 화장품 조성물

(57) 요약

본 발명은 수수의 황국균 발효 추출물을 포함하는 피부 개선용 화장품 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 수수의 황국균 발효 추출물을 포함하는 화장품 조성물은 안전한 천연 제제를 이용한 것으로 피부 적용시 부작용이 없으며 수수의 황국균 발효에 따라 수수에서 거의 확인되지 않았던 주름 개선, 미백 및 피부 탄력 증진에 우수한 효과를 나타낸다.

대표도 - 도1

Tyrosinase 억제율 (%)



(52) CPC특허분류

A61K 8/99 (2013.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
A61Q 19/02 (2013.01)
A61Q 19/08 (2013.01)
A61K 2800/85 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	R0004029
부처명	산업통상자원부
연구관리전문기관	제주지역사업평가단
연구사업명	경제협력권산업육성사업
연구과제명	수수 유래 노화방지 이너뷰티 제품개발
기 여 율	1/1
주관기관	(주)단정바이오
연구기간	2015.06.01 ~ 2018.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

수수(*Sorghum bicolor*)의 황국균 발효 추출물을 포함하는 피부 개선용 화장품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 황국균은 *Aspergillus oryzae* NK 균주인 피부 개선용 화장품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 수수(*Sorghum bicolor*)의 황국균 발효 추출물은 화장품 조성물 총 중량에 대하여 0.001% ~ 10 중량%의 양으로 포함되는 피부 개선용 화장품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 피부 개선용 화장품 조성물은 피부의 주름 개선 및 탄력 증진용인 피부 개선용 화장품 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 피부 개선용 화장품 조성물은 피부의 미백용인 피부 개선용 화장품 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 수수(*Sorghum bicolor*)는 수수의 잎, 줄기 또는 이들 모두인 피부 개선용 화장품 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 화장품은 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 팩, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 및 파우더 중에서 선택된 어느 하나의 제형을 가지는 화장품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 피부개선용 화장품 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 수수의 황국균 발효 추출물을 포함하는 우수한 피부 개선 활성을 갖는 화장품 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 피부노화는 자연히 발생하는 내인성 노화와 외부 요인에 의해 일어나는 외인성 노화로 구분된다. 내인성 노화의 요인은 주로 유전적인 요인을 말하며 피부 세포 및 조직의 구조와 변화를 결정한다. 외인성 노화의 요인은 외부에서 유래된 요인으로 영양부족, 햇빛, 환경오염 등이 속하며 얼마든지 예방 가능하고 피할 수 있는 요인이다.

[0003] 이러한 요인으로 인해 피부 노화가 진행됨으로서 피부가 건조해지고 거칠어지며 주름 생성, 색소 침착 및 수분 부족 현상 등이 일어나게 된다. 따라서 피부 미용에 대한 관심이 높아지며 특히 피부 노화에 대한 관심과 노화를 늦추기 위한 시도들이 행하여지고 있다.

[0004] 예를 들어 주름이 형성되는 원인은 자연적 노화에 의한 주름의 생성과 자외선 노출(광노화)에 의한 주름의 생성으로 크게 나눌 수 있다. 자연적 노화와 광노화에 의한 피부변화와 관련되어 발견되는 공통적인 현상은 진피 내의 주 구성단백질인 콜라겐 및 엘라스틴의 감소 및 변형, 진피의 기질인 히아루론산의 감소에 의한 피부 탄력 감소이다. 특히 지금까지의 연구결과에 의하면 진피 내 주 단백질인 콜라겐 및 엘라스틴의 감소 및 변형이 주름의 생성 및 피부의 탄력저하에 직접적으로 관여하는 것으로 알려져 있다. 피부 주름의 시작은 진피의 노화에서

부터 진행되고 탄력섬유인 엘라스틴의 구조가 변화되어 피부는 늘어지면서 주름이 생기게 되며, 진피의 콜라겐과 다른 결합조직 성분을 분해시키는 MMPs(matrix metalloproteinase) 활성 증가로 인해 콜라겐 합성이 저해되어 주름이 증가한다는 연구가 많이 진행되고 있다.

[0005] 또한, 피부 미백이 멜라닌 색소와 직접적으로 관련되어 있다는 것은 널리 알려진 사실이다. 멜라닌은 자외선을 차단하여 진피 이하의 피부 기관을 보호해주는 동시에, 피부 생체 내에 생겨난 자유 라디칼 등에 의한 피부 내 단백질과 유전자들의 손상을 보호해주는 유용한 역할을 하지만, 멜라닌이 필요 이상으로 많이 생기게 되면 피부 노화를 가져오며 기미나 주근깨 등과 같은 과색소침착증을 유발한다. 미백 작용은 멜라닌의 생성을 억제하거나, 멜라노솜의 이동을 저해함으로써 가능해진다. 이러한 메커니즘으로 식약처에 의해 미백 성분으로 등록된 물질은 닥나무추출물, 알부틴, 에칠아스코빌에텔, 유용성감초추출물, 아스코빌글루코사이드, 나이아신아마이드, 알파-비사볼올, 아스코빌테트라이소팔미테이트 등인데, 일반적으로 멜라닌의 생성을 억제함으로써 그 효과를 나타낸다.

[0006] 그러나, 대부분의 알려진 주름 개선 또는 미백 효과를 가진 피부 개선을 위한 물질들은 피부 적용시 자극, 발적 등의 안전성 문제로 사용량의 제한이 있거나, 효과가 미미하여 실질적으로 피부기능 개선 또는 상처 치유의 효과를 기대할 수 없었다. 따라서, 기존의 피부 개선용 화장품 조성물보다 생체에 안전하고 효과가 높은 새로운 피부 개선용 화장품 조성물의 개발이 절실히 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) KR10-2014-0058464 2014.05.14
(특허문헌 0002) KR10-2013-0137578 2013.12.17

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 수수의 황국균 발효 추출물을 포함하는 화장품 조성물을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명자들은 내인성 및 외부 요인으로부터 피부를 보호할 수 있는 다양한 소재들에 대하여 연구하던 중, 수수의 황국균 발효 추출물이 주름 개선 및 미백 효과 등을 통해 피부 개선에 효능을 갖는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0010] 본 발명은 수수의 황국균 발효 추출물을 포함하는 화장품 조성물을 제공한다.

[0011] 본 발명의 수수의 황국균 발효 추출물을 포함하는 화장품 조성물은 안전한 천연 제제를 이용한 것으로 피부 적용시 부작용이 없으며 수수의 황국균 발효에 따라 수수에서 거의 확인되지 않았던 주름 개선, 미백 및 피부 탄력 증진에 우수한 효과를 나타낸다.

[0012] 본 발명에 있어서, 수수(*Sorghum bicolor*)는 벼과에 속하는 일년생 작물이다. 높이는 1.5~3m이며, 표면은 굳고 흰색의 낱절물이 있으며 속이 차 있다. 줄기에는 10~13개의 마디가 있고 줄기 끝에 이삭이 달린다. 잎은 마주나고 길이 50~60cm, 너비 5cm 정도로 1줄기에 10개 정도 달린다. 처음에는 잎과 줄기가 녹색이나 차츰 붉은 갈색으로 변하는 특징을 가진다. 수수 재배는 북한 지역이 비교적 재배면적이 넓으며 한국에서는 강원 및 경기도에서 일부 재배되고 있다. 본 발명에 따른 수수의 사용 부위는 수수의 잎, 줄기 또는 이들 모두가 바람직하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0013] 상기 수수는 국내외에서 저비용으로 원료 확보가 용이하며 구입하거나 직접 채취한 것을 사용할 수 있다.

[0014] 본 발명에 있어서, 황국균(*Aspergillus oryzae*)이란 누룩곰팡이의 대표균으로 청주, 일본식 된장, 간장류 제조에 사용되는 균주이다. 집락은 처음에는 백색인데 분생자가 생기면 황색에서 황록색으로 되고 오래되면 갈색으로 된다. 전분 당화력, 단백질 분해력이 강한 특성을 가진다. 바람직하게 본 발명에 따른 황국균은 *Aspergillus oryzae* NK이나, 이에 제한되지 않는다.

- [0015] 황국균(*Aspergillus oryzae*)은 인체에 무독성이며, 수수 발효에 사용하는 경우 수수에서 거의 나타나지 않은 주름 개선, 미백 및 탄력 증진 효과를 발생시킨다. 즉, 본 발명의 수수의 황국균 발효 추출물은 황국균 발효 처리를 하지 않은 일반 수수 추출물과 대비하여 피부 주름 개선, 피부 탄력 증진 및 미백에 현저히 우수한 효과를 나타내며, 특히 MMP-1 발현 저해, 멜라닌 합성 효소 억제에 현저한 효과를 가져, 이에 기인한 피부 주름 개선, 피부 탄력 증진 및 미백에 우수한 활성을 나타낸다.
- [0016] 본 발명에 있어서, 수수의 황국균 발효 추출물의 제조는 1) 수수의 용매 추출 단계; 및 2) 수수의 황국균 발효 추출 단계를 포함한다.
- [0017] 상기 1) 수수의 용매 추출 단계는 열수 추출, 침지 추출, 환류 냉각 추출 및 초음파 추출 등의 추출 방법 등을 사용하여 제조할 수 있으며, 추출 횟수는 1 내지 5회인 것이 바람직하다. 추출 용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 이의 혼합물, 바람직하게는 물, 에탄올, 에탄올 수용액을 사용하는 것이 좋으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 추출 용매의 양은 수수의 총중량의 0.5 내지 15 배로 한다. 또한, 필요에 따라 차광 및/또는 가온(예를 들어, 온침) 조건 하에서 수행될 수도 있다. 바람직하게, 상온에서 2~48시간 동안 바람직하게는 2~36 시간 동안 추출하는 것을 1 내지 4회 반복할 수 있다.
- [0018] 상기 2) 수수의 황국균 발효 추출 단계는 1) 수수의 용매 추출 단계에 의해 추출된 수수에 추가의 정제 공정 없이 바로 수수를 포함하는 용매 총중량에 대하여 0.5 중량 % 내지 15 중량 %, 바람직하게 2 중량 % 내지 10 중량 %로 접종하여 발효를 수행하거나, 통상의 정제 방법에 의해 정제된 수수 추출물에 물, 탄소수 1~4의 알코올, 탄소수 1~4의 알코올 수용액으로 이루어진 군으로부터 선택된 용매를 첨가하여 2배 내지 15배의 비율로 녹이고 황국균을 수수를 포함하는 용매 총중량에 대하여 0.5 중량 % 내지 15 중량 %, 바람직하게 1 중량 % 내지 10 중량 %로 접종하여 발효를 수행할 수 있다. 상기 발효는 28 °C 내지 40 °C, 바람직하게 37 °C에서 24 시간 내지 72 시간, 바람직하게 48시간 배양하여 발효를 수행할 수 있다.
- [0019] 배양물은 고온에서 1분 내지 1시간동안 멸균하여 효소를 불활성화시킬 수 있으며, 원심분리 등을 통해 상층액을 취할 수 있다. 분리된 상층액은 감압농축을 통해서 액상 또는 분말 형태의 수수의 황국균 발효 추출물로 제조될 수 있으며, 이를 동결건조하여 분말형태로 제조될 수 있다.
- [0020] 본 발명에서 상기 수수의 황국균 발효 추출물은 추가로 분리하여 얻어진 수수의 황국균 발효 추출물의 분획물을 포함한다. 분획 분리는 당해 분야에 알려진 분리법에 의해 수행된다. 바람직하게는 수수의 황국균 발효를 물에 현탁한 후, 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 등의 용매를 이용하여 추출하여 수수의 황국균 발효 추출물의 분획물을 수득할 수 있으며, 수득된 수수의 황국균 발효 추출물의 분획물은 피부 개선, 특히 피부의 주름 개선, 탄력 증진 및 미백에 보다더 현저한 효과를 보일 수 있다.
- [0021] 본 발명에서 수수의 황국균 발효 추출물은 화장료 조성물의 총 중량에 대하여 분말형태 또는 액상 형태로 0.001% ~ 10중량%의 양으로 화장료에 첨가될 수 있으며, 바람직하게는 화장료 조성물 총 중량에 대하여 분말형태 또는 액상형태로 0.01~5중량%의 양으로 화장료에 첨가될 수 있다.
- [0022] 본 발명에서 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분으로서의 수수의 황국균 발효 추출물 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료, 색소 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함한다.
- [0023] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 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, 마사지 크림, 에센스, 팩, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0024] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0025] 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.
- [0026] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예

컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 부틸렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 폴리옥시에틸렌 경화피마자유, 글리세롤, 글리세린, 지방족 에스테르, 페녹시에탄올, 트리에탄올아민, 폴리에틸렌 글리콜, 밀납, 폴리솔베이트 60, 솔비탄세스퀴오레이드, 파라핀, 소르비탄 스테아레이트, 친유형 모노스테아린산 글리세린, 스테아린산, 글리세릴스테아레이트/피이지-400 스테아레이트, 카르복시폴리머, 시토스테롤, 폴리글리세릴 2-올레이트, 세라마이드, 콜레스테롤, 스테아레스-4, 디세틸포스페이트, 마카다미아 오일, 카르복시비닐폴리머, 산탄검 또는 소르비탄의 지방산 에스테르 등이 있다.

[0027] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올, 부틸렌글리콜 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 하이드록시에틸셀룰로오스, 소디움히아루로네이트, 페녹시에탄올, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0028] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 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.

발명의 효과

[0029] 본 발명의 수수의 황국균 발효 추출물을 포함하는 화장료 조성물은 안전한 천연 제제를 이용한 것으로 피부 적용시 부작용이 없으며 수수의 황국균 발효에 따라 수수에서 거의 확인되지 않았던 주름 개선, 미백 및 피부 탄력 증진에 우수한 효과를 나타낸다.

도면의 간단한 설명

[0030] 도 1은 수수의 황국균 발효 추출물 처리에 따른 멜라닌 합성효소(tyrosinase) 억제 효능을 확인한 결과를 나타낸다.

도 2는 수수의 황국균 발효 추출물 처리에 따른 MMP-1 의 발현 억제 효능을 확인한 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] 이하, 하기 실시예 및 실험예에 의해 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 하기 실시예는 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니며, 이는 본 발명의 이해를 돕기 위한 것으로 해석되어야 할 것이다.

[0032] 실시예 1. 수수의 황국균 발효 추출물의 제조

[0033] 강원도 횡성 지역에서 재배된 수수(*Sorghum bicolor*)의 잎 및 줄기를 입수하여 건조시켰다. 건조된 1 kg의 수수의 잎 및 줄기를 실온에서 재차 건조한 후, 분쇄하여 50% 에탄올을 10 L 가하고 실온에서 1 일 동안 추출하였다. 추출 후 *Aspergillus oryzae* (A. *oryzae*) NK 균 (출처 : 서울약품(주)) 배양액을 총 양의 1% 첨가하여 50 rpm으로 37 °C에서 48시간 동안 발효가 일어나도록 진탕배양하고 이 배양액을 농축하여, 수수의 황국균 발효 추출물을 제조하였다. 또한, 위 발효 단계를 수행하지 않은 수수 에탄올 추출물을 대조군으로 사용하였다.

[0035] 실시예 2. 수수의 황국균 발효 추출물의 멜라닌 합성 효소(tyrosinase) 억제 효능 확인

[0036] 상기 실시예 1에서 제조된 수수의 황국균 발효 추출물의 피부 미백 효과 증진을 측정하기 위하여 멜라닌 합성효소인 티로시나아제(tyrosinase)의 활성 억제 효과를 한국보건공학정서연구회(2004)의 미용관련 기능성 시험의 가이드라인(821-858 번 참조)을 참고하여 측정하였다.

[0037] 96 웰 플레이트의 각 웰 상에서 PBS(pH 6.8)에 녹인 상기 실시예 1에서 제조된 수수의 황국균 발효 추출물 및 수수 추출물 (최종농도 200 µg/mL)에 mushroom tyrosinase (2,000 unit/mg) 20 µL와 10 mM L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) 10 µL를 첨가한 후, 37°C에서 30분간 반응시킨 후, microplate reader (Infinite 200, Tecan Group Ltd., Switzerland)를 이용해 475 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0038] 이 때, 시료를 함유되지 않은 버퍼만을 넣었을 때의 흡광도 변화를 기준(100%)로 하여 흡광도 감소를 억제율로 표시하였으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0039] 도 1에서 확인되는 바와 같이, 실시예 1에서 제조된 수수의 황국균 발효 추출물(발효 후)은 32.7%의 우수한 티

로시나아제 억제율을 나타낸 것에 반하여, 발효전의 수수 추출물은 0.9%의 티로시나아제 억제율을 보여 그 효과가 미비하였다.

[0040] 즉, 수수의 황국균 발효 추출물은 발효 처리가 수행되지 않은 발효 전 수수 추출물과 대비하여 티로시나아제 억제율이 36배 이상 상승하는 것으로 확인되었다.

[0041] **실시예 3. 수수의 황국균 발효 추출물의 MMP-1 (Matrix methaloprotease-1, collagenase) 발현 억제 효과 확인**

[0042] 피부의 광노화에 있어 중요한 역할을 담당하고 있는 MMP-1의 발현은 UVA에 의해 세포에서 JNK/p38 활성도가 증가하고 전사인자인 AP-1의 활성도가 증가되는 신호 전달경로를 통해 MMP-1 발현을 증가시켜 피부에서 교원질의 결핍을 초래한다고 알려져 있다. MMP-1(Matrix methaloprotease-1, collagenase) 저해 활성을 가진 물질은 콜라겐을 보호하여 탄력과 피부가 늘어지는 것을 방지한다. 따라서 원료의 MMP 저해 활성을 측정함으로써 주름을 개선하고 탄력 있는 피부를 위한 화장품 개발에 유용하게 사용될 수 있다.

[0043] MMP-1 단백질 발현 억제효과 측정은 웨스턴블랏(western blot) 방법으로 실시하였다. 섬유아세포(Human dermal fibroblast)를 2×10^5 cells/ml의 농도로 60 mm 디쉬(dish)에 배양하고 약 85% 수준에 도달할 때까지 배양하였다. $\text{TNF } \alpha$ 를 2시간 동안 처리하여 염증을 유도한 후 25, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 시료를 24시간 동안 처리하였다. 섬유아세포가 배양된 배지 내의 총 단백질 양은 브래드포드(bradford)법을 이용하여 정량하였다. 추출된 단백질은 10% SDS-폴리아크릴아미드 겔에 전기영동 시킨 후 니트로셀룰로오스 세포막(nitrocellulose membrane)으로 겔의 단백질을 전이시켰다. 멤브레인이 더 이상 다른 미지의 단백질에 의해 오염이 되지 않도록 5% 탈지분유를 이용하여 1시간 동안 상온에서 반응시키고, 콜라겐 분해효소-1(MMP-1)의 1차 항체를 5% 탈지분유에 1:1000의 비율로 희석하여 2시간동안 상온에서 반응시켰다. 1차 항체 반응 후 10분씩 3회에 걸쳐 TBST(Trisbuffer Saline Tween 20)로 흔들어주며 세척하였다. 콜라겐 분해효소-1(MMP-1)의 1차 항체를 인지하는 2차 항체를 5% 탈지분유에 1:1000이 되도록 희석하여 1시간 동안 상온에서 반응시키고 1차 항체 때와 마찬가지로 10분씩 3회에 걸쳐 TBST(tris-buffer saline Tween 20)로 흔들어주며 세척한 다음 화학발광법(chemiluminescence)으로 현상하였다.

[0044] 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0045] 도 2의 (a)는 MMP-1의 발현 변화를 웨스턴 블랏으로 확인한 결과를 나타내며, 도 2의 (b)는 이들 간의 상대적 발현 비율을 확인한 결과를 나타낸다. 도 2에서 확인되는 바와 같이, $\text{TNF } \alpha$ 처리에 따른 MMP-1의 발현 증가는 수수의 황국균 발효 추출물의 처리에 의해 그 발현 수준이 크게 감소되는 것이 확인되었고, 발효 처리를 하지 않은 수수 추출물의 경우에는 MMP-1 발현에 전혀 영향을 미치지 못하는 것이 확인되었다.

[0046] **제형예 1. 수수의 황국균 발효 추출물을 함유한 화장수 제조**

[0047] 수수의 황국균 발효 추출물(실시예 1)을 함유한 화장수(스킨로션)를 하기의 [표 1]의 함량으로 1kg을 제조하였다.

[0048] [표 1] 수수의 황국균 발효 추출물을 함유한 화장수 조성

번호	원료	함량(중량%)
1	수수의 황국균 발효 추출물 (실시예 1)	1.0
2	글리세린	3.0
3	부틸렌글리콜	2.0
4	프로필렌글리콜	2.0
5	폴리옥시에칠렌 경화피마자유	1.0
6	에탄올	10.0
7	트리에탄올아민	0.1
8	페녹시에탄올	미량
9	색소	미량
10	향료	미량
11	정제수	잔량

[0049]

[0050] **제형예 2. 수수의 황국균 발효 추출물을 함유한 영양로션 제조**

[0051] 수수의 황국균 발효 추출물 (실시예 1)을 함유한 영양로션을 하기의 [표 2]의 함량으로 1kg을 제조하였다.

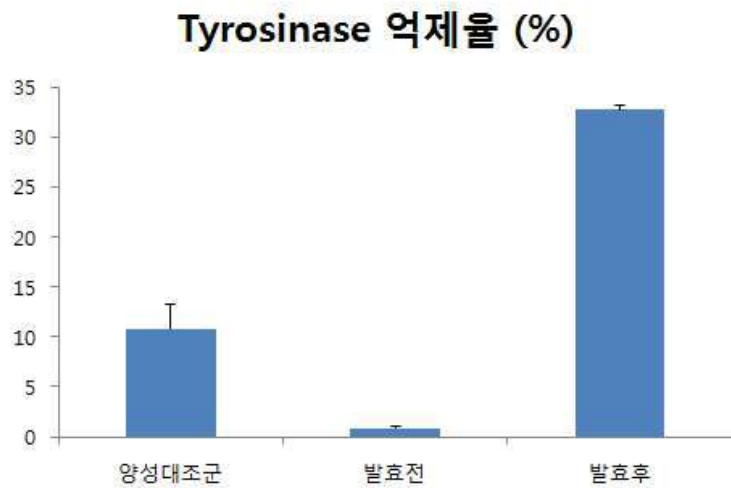
[0052] [표 2] 수수의 황국균 발효 추출물을 함유한 영양로션 조성

번호	원료	함량(중량%)
1	수수의 황국균 발효 추출물 (실시예 1)	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	페녹시에탄올	미량
14	색소	미량
15	향료	미량
16	정제수	잔량

[0053]

도면

도면1



도면2

