



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2019년08월12일  
 (11) 등록번호 10-2009676  
 (24) 등록일자 2019년08월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
 A61K 8/9794 (2017.01) A61Q 19/00 (2006.01)  
 A61Q 19/02 (2006.01)  
 (52) CPC특허분류  
 A61K 8/9794 (2017.08)  
 A61Q 19/00 (2013.01)  
 (21) 출원번호 10-2017-0162427  
 (22) 출원일자 2017년11월30일  
 심사청구일자 2017년11월30일  
 (65) 공개번호 10-2019-0063549  
 (43) 공개일자 2019년06월10일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 JP2016006016 A\*  
 KR101587447 B1\*  
 KR1020130085012 A\*  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
 코스맥스 주식회사  
 경기도 화성시 향남읍 제약공단2길 46  
 (72) 발명자  
 윤석균  
 경기도 성남시 분당구 수내로 206, 푸른마을 벽산  
 아파트 315-105  
 김민지  
 경기도 수원시 팔달구 장다리로306번길 45, 수정  
 아파트 109동 1309호  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
 반중혁

전체 청구항 수 : 총 4 항

심사관 : 이현석

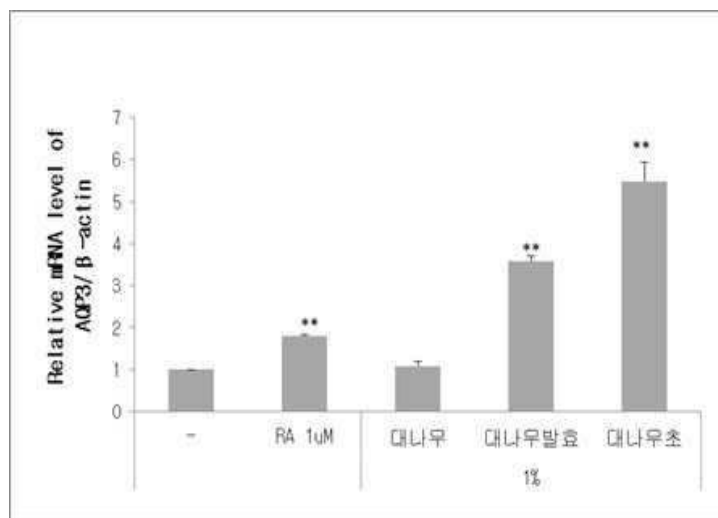
(54) 발명의 명칭 **대나무 발효물을 함유하는 화장품 조성물**

**(57) 요약**

본 발명은 대나무 발효물을 함유하는 피부 상태 개선을 위한 화장품 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는, 대나무 발효물 또는 그 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 또는 피부 보습용 또는 피부결 개선용 화장품 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 대나무 발효물 또는 그 추출물은 피부 세포에 독성이 없으면서도 본 발명에 따른 대나무 발효물 또는 그 추출물은 피부 세포에 독성이 없으면서도 아쿠아포린 3 발현이 증가하여 우수한 피부 보습 효과 및 피부결 개선 효능을 가지고, 멜라닌 생성 억제능 또한 우수하여 피부 미백능을 가지고 있어, 기능성 피부 외용제의 소재로써 활용가능하다.

**대표도 - 도1**



(52) CPC특허분류

**A61Q 19/02** (2013.01)

**A61K 2800/85** (2013.01)

(72) 발명자

**노윤화**

대구광역시 달서구 대명천로10길 29-13

**정수경**

서울특별시 관악구 관악로17길 31, 보배오피스텔  
208호

**강승현**

서울특별시 강남구 영동대로 230, 대치우성1차  
1-1205

**박명삼**

서울특별시 광진구 능동로34길 93(능동, 능동빌리  
지)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

대나무 줄기의 초산 발효물 또는 그 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 또는 피부 보습용 또는 피부결 개선용 화장품 조성물.

#### 청구항 2

삭제

#### 청구항 3

삭제

#### 청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 대나무 줄기의 초산 발효물은 초산균을 이용한 초산 발효 과정을 통해 수득한 발효물인 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

#### 청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 추출물은 상기 대나무 줄기의 초산 발효물을 원심분리한 후 얻은 상등액인 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

#### 청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 화장품 조성물은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 또는 바디클렌저로 구성된 그룹에서 선택된 하나 이상의 제형인 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

### 발명의 설명

#### 기술분야

[0001] 본 발명은 대나무 발효물을 함유하는 피부 상태 개선을 위한 화장품 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는, 대나무 발효물 또는 그 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 또는 피부 보습용 또는 피부결 개선용 화장품 조성물에 관한 것이다.

#### 배경기술

[0002] 21세기를 살아가는 현대인에게 가장 위협이 되는 것은 무엇보다 환경이나 경제, 사회적 스트레스 등으로 원인모를 면역질환에 노출되어 각종 알레르기, 아토피, 암 등의 급·만성 독성, 돌연변이 유발 등의 새로운 문제들이 야기되고 있다는 점이다.

- [0003] 피부에 안전하며 기능이 뛰어난 제품들을 선호하는 소비자들의 욕구에 부응하기 위한 화장품업계의 원료개발 연구는 오래전부터 열정적으로 이루어져 왔다.
- [0004] 그 중에서 특히 주목을 받은 원료가 발효과정에 독성이 제거되어 안전성이 뛰어난 발효원료이다. 발효 화장품은 발효 과정에서 생성된 물질을 착안해 개발된 것이다. 즉 우리가 일상생활에서 먹는 발효 식품에 들어있는 효소가 세포를 활성화하는 기능을 화장품에 도입한 것이다. 화장품에서의 발효는 미생물을 발효시키는 과정에서 발효균을 제거하는 동시에 효소 외에 유효성분들을 함께 추출함으로써 기존 효소 단독 만이 가진 효능을 배가시키고 함유 성분들을 피부에 빠르게 흡수되도록 한다. 우유, 채소, 한방 성분 등 각종 화장품의 원료들은 발효 과정을 거치면 영양소가 증가한다. 아미노산류, 비타민류, 각종 기능성 물질이 생성되고 합성되는 과정에서 영양소의 파괴는 거의 일어나지 않으며 발효 산물들은 효모가 먹고 배설한 물질이므로 분자구조가 작아져 피부에 흡수가 용이하다.
- [0005] 발효는 넓은 의미에서 미생물을 이용하여 그 효소작용으로 유기물을 전환시키는 것을 뜻한다. 발효란 뜻의 fermentation은 라틴어의 fervere(끓는다)로부터 유래되었다.
- [0006] 일반적인 발효 화장품이라 하면 유산균, 고초균, 황국균, 효모 등을 이용하여 원물을 발효하거나 그 균주 또는 효모의 사균체를 원료로 사용하는 화장품을 의미한다. 하지만 초산균을 이용한 초산 발효원료는 화장품분야에 연구가 거의 안되고 있는 실정이다.
- [0007] 초산 발효는 기질과 발효 미생물의 반응 기작에 따라, 발효 과정 중 다양한 종류의 휘발성 및 비휘발성 유기산, 당류, 아미노산, 에스테르, 등을 함유한 독특한 방향성을 생성한다. 초산 발효에 사용하는 미생물을 초산균이라 하는데 초산균에는 알코올을 산화하여 초산을 만드는 균과 포도당을 산화하여 클루콘산이나 케토산을 만드는 균으로 나뉘어진다. 전자를 Acetobacter, 후자를 Gluconobacter라고 부른다. 주로 초의 제조에 관여하는 Acetobacter는 Pseudomonadaceae에 속하는 호기성의 세균이다. 이렇게 초산발효를 통하여 탄생한 식초는 식중독균의 살균, 성인병 예방, 콜레스테롤 저하, 체지방 저감화, 피로회복 등 우리 인체에 유익한 영향을 주는 기능성 효과가 알려지면서부터 신맛과 칼로리는 줄이고 다양한 원료와 발효종균을 이용해 맛과 향의 품질을 높이는 연구 개발이 지속적으로 이뤄지고 있다. 그러나 화장품 원료로서의 연구는 미진한 상태이다.
- [0008] 이러한 상황 속에서, 대나무를 화장료 조성물 소재로 개발코자 하는 시도는 있어왔으나, (특허문헌 1) 대나무 초산 발효물이 피부 보습 등에 효능있음을 기반으로 하여 화장품 소재로서 개발한 사례는 전무하다.

**선행기술문헌**

**특허문헌**

- [0009] (특허문헌 0001) 특허문헌 1: 대한민국공개특허 제2003-0005485호

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0010] 본 발명자들은 기능성 화장품 천연 소재 개발을 위해 노력하던 중, 본 발명에 따른 대나무 초산 발효물이 티로시나아제(tyrosinase)의 억제 활성 및 항산화 효능이 있음을 확인함으로써, 티로시나아제(tyrosinase)의 억제 활성 및 멜라닌(melanine) 생성 억제활성을 통해 매우 뛰어난 미백활성을 가짐을 실험적으로 확인하고, 활성 추적 분리법(activity guided fractionation and isolation)에 의해 주력 추출물중에서 화합물 1,2-디히드록시벤젠(1,2-dihydroxybenzene) 및 1,4-디히드록시벤젠(1,4-dihydroxybenzene)이 미백 활성을 나타내는 활성성분임을 실험적으로 규명함으로써 본 발명을 완성하였다.
- [0011] 따라서, 본 발명의 목적은 대나무 발효물 또는 그 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 또는 피부 보습용 또는 피부결 개선용 화장료 조성물을 제공하는데 있다.
- [0012] 본 발명의 또 다른 목적은, 상기 대나무 발효물 또는 그 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 또는 피부 보습용 또는 피부결 개선용 화장료 조성물의 제조방법을 제공하는데 있다.

**과제의 해결 수단**

- [0013] 상기와 같은 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 대나무 초산 발효물 또는 그 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백, 피부 보습 및 피부결 개선과 같은 피부 상태 개선을 위한 화장품 조성물을 제공한다.
- [0014] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 피부 미백, 피부 보습, 피부결 개선용 화장품 조성물인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0015] 본 발명에 있어서, 상기 대나무 발효물은 대나무 줄기, 대나무 죽순 또는 대나무 잎의 발효물인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0016] 본 발명에 있어서, 상기 대나무 발효물은 대나무 초산 발효물 또는 대나무 유산균 발효물인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0017] 본 발명에 있어서, 상기 대나무 발효물은 효모를 이용한 알코올 발효 과정 및 초산균을 이용한 초산 발효 과정을 통해 수득한 발효물인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0018] 본 발명에 있어서, 상기 추출물은 상기 대나무 발효물을 원심분리한 후 얻은 상등액인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0019] 본 발명에 있어서, 상기 화장품 조성물은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨도너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 또는 바디클렌저로 구성된 그룹에서 선택된 하나 이상의 제형인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0020] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.
- [0021] 본 발명은 대나무 초산 발효물 또는 그 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백, 피부 보습 및 피부결 개선과 같은 피부 상태 개선을 위한 화장품 조성물에 관한 것이다.
- [0022] 본 발명에 있어서, 대나무는 중의학인 신농 본초경에서 해소와 상기, 종양, 해열에 효과가 있다고 전해져 내려오며, 동의보감에서는 뇌졸중과 심신안정에 효능이 있다고 전해져 내려온다. 한방에서도 오래전부터 사용되어 온 약재로 특히 염증 치료에 많이 이용되어 왔다. 또한 중국과 일본에서도 민간치료제로 사용 되어 오고 있다. 대나무는 외떡잎식물로서, 벼목 화본과(벼과, Poaceae), 대나무아과(Bambusoideae)에 속하는 여러해살이 식물의 총칭이며, 키가 큰 왕대속만을 대나무라고 일컫는 경우도 있으며, 본 발명에서는 대나무의 부위에 제한됨 없이 이용가능하나, 특히, 상기 대나무의 잎과 줄기, 죽순 부분을 이용할 수 있다.
- [0023] 한편, "피부 미백"과 관련하여서, 사람의 피부색을 결정하는 색소는 멜라닌, 헤모글로빈, 카로티노이드 등이 있으며, 피부, 모발 및 눈의 다양한 색깔이 이들 색소에 의해 결정된다. 피부에 있어서 색깔을 결정하는 가장 중요한 색소는 멜라닌이며 멜라닌의 양, 성질 그리고 분포의 정도에 따라 유전적으로 결정되며, 멜라닌 생성은 태양 자외선과 같은 환경적 요인, 피로 및 스트레스와 같은 생리적 요인에 의해서도 영향을 받는다. 과거에는 조직화된 멜라닌 구조를 파괴시킴으로써 피부를 하얗게 만드는 하이드로퀴논(hydroquinone) 등의 화학물질을 많이 사용했다. 그러나 하이드로퀴논은 매우 낮은 항-티로시나아제 활성을 가질 뿐더러 정상 멜라노사이트 세포에 높은 세포독성을 나타낸다. 이런 이유 때문에, 세포 독성이 약한 알부틴(arbutine), 하이드로퀴논 유도체가 개발 및 이용되었으나 이들은 색소침착 기작에 대해 특이성이 떨어진다.
- [0024] 본 발명에서는, 상술한 종래의 미백 물질들이 갖는 문제점을 해결하기 위하여, 즉, 피부에 대한 안정성이 우수할 뿐 아니라 멜라닌 합성 저해능이 탁월하여 미백 효과가 현저하고, 안정성이 이미 확보된 대나무 발효물, 특히, 초산발효물 또는 그 추출물을 함유하는 피부 미백 화장품 조성물에 관한 것이다.
- [0025] 또한, "피부 보습"과 관련하여서, 아쿠아포린은 물 분자만을 선택적으로 통과시키며 모든 세포막에 존재하는 막 관통단백질로 피부의 수분 흡수를 증가시키는 기작이 있다. 포유동물에서는 13가지 종류가 알려져 있고, 이들 중 아쿠아포린 3은 피부의 각질형성세포에서 발현하며 아쿠아포린 3을 통한 물과 글리세롤의 흡수와 이동은 세포의 수분 손실을 방지해 피부에 수분을 공급 유지 시키는 기능을 한다. 그러나, 현재까지, 대나무 발효물, 특히, 대나무초산 발효물 및 그 추출물을 이용한 피부보습효능에 대한 연구가 보고 된 바 없었으며, 본 발명에서 새롭게, 대나무 발효물 또는 그 추출물을 함유하는 피부 보습용 화장품 조성물을 제공한다.
- [0026] 또한, "피부 결 개선"과 관련하여서, 각질세포는 기저층에서 생성된 후 성숙되면서 각화되어 결국은 세포의 형태가 편평하게 되고, 세포내의 소기관 소실, 섬유성 단백질의 생성, 탈수 및 세포막이 비후된 후에 탈각된다. 이러한 과정은 표피의 증식, 분화, 탈각의 과정을 거치게 되고, 피부 재생 항상성 유지에 가장 중요하다. 특히,

각질형성세포의 분화과정에 있어서, 표피의 기저층에서 생성된 각질세포는 과립층에 도달하면서 세포 내 기관들이 사라지기 시작하고, 트랜스글루타미나제 (transglutaminase)를 활성화시켜서 각질세포막을 구성하는 단백질의 비가역적 결합을 유도하게 된다. 이러한 과정을 통해 정상적으로 일어난 표피 분화 과정은 최종적으로 최상부 층에서 각질 세포는 탈각되어 피부로부터 박리된다. 각질층의 정상적인 탈각 과정은 피부를 윤기있고 건강하게 유지시켜 준다. 탈각 과정은 외부로부터 발생한 유해 미생물 및 바이러스 등을 각질과 함께 제거하는 데 있어서도 의미를 가진다. 따라서 표피층의 분화와 탈각의 정상화는 피부 최외곽층을 건강하게 유지시켜 건강한 피부결을 유지하는데 도움을 준다.

- [0027] 본 발명에 있어서, 대나무로부터 유래된 성분인 펩타이드, 비타민C, 식이섬유, 폴리페놀, 플라보노이드, 다당류, 비타민E 등이 발효 특히, 초산발효를 통하여 생체로 흡수가 잘되는 저분자의 상태로 분해 될 뿐만 아니라, 초산 발효에 의하여 생성되는 각종 아미노산 및 유기물들이 피부 도포시 멜라닌 생성 억제 및 각질세포의 분화를 촉진하여 피부미백 및 피부보습, 피부결 개선과 같은 피부 상태 개선에 탁월한 활성을 나타낼 수 있다는 것을 특징으로 한다.
- [0028] 또한, 본 발명에서 대나무 발효물 또는 그 추출물은 조성물의 총 중량에 대하여 0.01 내지 50 중량% 또는 부피%로 함유할 수 있고, 이러한 비율은 단지 바람직한 범위일 뿐이며, 예컨대, 0.01 중량% 미만이면 상기 대나무 발효물에 의한 효능 효과가 미약할 수 있고, 50 중량%를 초과하면 피부 안전성 또는 제형상의 문제가 있을 수 있다.
- [0029] 본 발명에 있어서, 본 발명에 있어서, "추출물"은 상기 대나무 발효물을 원심분리 한 후 상등액을 얻은 것을 의미하거나, 그 외에도 본 발명의 배양물을 분말화하거나, 냉수추출법, 열수추출법, 에탄올 추출법 등 종래 알려진 다양한 추출법에 의해 수득한 추출물을 의미한다.
- [0030] 본 발명에서 추출 방법은 특별히 제한되지 않고, 예를 들어 냉침 추출, 초음파 추출, 환류 추출, 열수 추출 등이 있다. 또는, 물, 유기 용매, 또는 이의 혼합 용매를 사용하여 추출하는 방법으로 제조될 수 있다. 추출한 액은 바로 사용하거나 또는 농축 및/또는 건조하여 사용할 수 있다. 유기용매를 사용하여 추출하는 경우, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 부탄올, 에틸렌, 아세톤, 헥산, 에테르, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트, 디클로로메탄, N, N-디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO), 1,3-부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 또는 이들의 혼합용매인 유기용매를 사용하며 생약의 유효 성분이 파괴되지 않거나 최소화된 조건에서 실온 또는 가온하여 추출할 수 있다. 추출하는 유기용매에 따라 약제의 유효성분의 추출정도와 손실정도가 차이가 날 수 있으므로, 알맞은 유기용매를 선택하여 사용하도록 한다.
- [0031] 본 발명에 있어서, 상기 추출물은 농축, 또는 희석하여 사용할 수 있고, 추출물의 증류액을 사용할 수도 있다.
- [0032] 본 발명에 있어서, "유효성분으로 함유하는"의 의미는, 화장료 조성물로서 미백, 피부 보습, 피부결개선 효과를 나타낼 수 있는 정도의 유효량을 함유하는 것을 의미한다.
- [0033] 본 발명에 있어서, 상기 대나무 발효물은 효모를 이용한 알코올 발효 과정 및 초산균을 이용한 초산 발효 과정을 통해 수득한 발효물인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0034] 본 발명은 다른 관점에서, (a) 대나무 잎, 줄기 또는 죽순을 효모를 이용한 알코올 발효 과정 및 초산균을 이용한 초산 발효과정을 수행하여 초산 발효물을 수득하는 단계; 및 (b) 상기 얻어진 대나무 초산 발효물 또는 그 추출물을 함유하는 화장료 조성물을 제조하는 단계를 포함하는 대나무 발효물 또는 그 추출물을 함유한 화장료 조성물의 제조방법에 관한 것이다.
- [0035] 본 발명에 있어서, 상기 대나무 잎, 줄기 또는 죽순은 별도의 처리과정 없이 이용하거나, 대나무 잎, 줄기 또는 죽순을 알코올을 추출하거나, 추출후 농축과정을 거친 추출물을 본 발명에서 사용할 수 있다.
- [0036] 본 발명에 있어서, 상기 (b)단계에서 있어서, (a)단계의 배양을 통해 얻어진 대나무 발효물 그대로를 포함하는 조성물을 적절한 형태의 화장료 조성물로 제조하거나, 또는 상기 배양물을 공지된 추출 방법을 통해 추출물 형태로 수득하여 적절한 형태의 화장료 조성물로 제조할 수 있다.
- [0037] 상기 화장료 조성물에 있어서는, 화장품 제제에 있어서 수용가능한 담체를 포함할 수 있다. 여기서, "화장품 제제에 있어서 수용가능한 담체"란 화장품 제제에 포함될 수 있는 이미 공지되어 사용되고 있는 화합물 또는 조성물이거나 앞으로 개발될 화합물 또는 조성물로서 피부와의 접촉시 인체가 적응 가능한 이상의 독성, 불안정성 또는 자극성이 없는 것을 말한다.
- [0038] 상기 담체는 본 발명의 피부 외용제 조성물에 그것의 전체 중량에 대하여 약 1 중량 % 내지 약 99.99 중량 %,

바람직하게는 조성물의 중량의 약 90 중량% 내지 약 99.99 중량 %로 포함될 수 있다. 그러나 상기 비율은 본 발명의 화장료 조성물이 제조되는 후술한 바의 제형에 따라 또 그것의 구체적인 적용 부위(얼굴, 목 등)나 그것의 바람직한 적용량 등에 따라 달라지는 것이기 때문에, 상기 비율은 어떠한 측면으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 이해되어서는 안 된다.

[0039] 상기 담체로서는 알코올, 오일, 계면활성제, 지방산, 실리콘 오일, 습윤제, 보습제, 점성 변형제, 유제, 안정제, 자외선산란제, 자외선흡수제, 발색제, 향료 등이 예시될 수 있다. 상기 알코올, 오일, 계면활성제, 지방산, 실리콘 오일, 습윤제, 보습제, 점성 변형제, 유제, 안정제, 자외선산란제, 자외선흡수제, 발색제, 향료로 사용될 수 있는 화합물/조성물 등은 이미 당업계에 공지되어 있기 때문에 당업자라면 적절한 해당 물질/조성물을 선택하여 사용할 수 있다.

[0040] 본 발명에 따른 화장료 조성물은, 다양한 형태로 제조될 수 있는데, 예컨대, 화장수, 에센스, 젤, 에멀전, 로션, 크림(수중유적형, 유중수적형, 다중상), 용액, 현탁액(무수 및 수계), 무수 생성물(오일 및 글리콜계), 젤, 마스크, 팩, 분말, 또는 젤라틴 등의 피막이 있는 캡셀(소프트 캡셀, 하드 캡셀) 제형 등의 형태로 제조될 수 있다.

[0041] 화장료 조성물로 제조될 경우, 유화 제형의 화장품으로는 영양화장수, 크림, 에센스 등이 있으며, 가용화 제형의 화장품으로는 유연화장수가 있다. 또한, 피부과학적으로 허용가능한 매질 또는 기체를 함유함으로써 피부과학 분야에서 통상적으로 사용되는 국소적용 또는 전신적용할 수 있는 보조제 형태로 제조될 수 있다.

[0042] 또한, 적합한 화장품의 제형으로는, 예를 들면 용액, 젤, 고체 또는 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 마이크로에멀전, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는 이온형(리포솜), 비이온형의 소낭 분산제의 형태, 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실스틱의 형태로 제공될 수 있다.

[0043] 본 발명에 있어서, 특히, 상기 화장료 조성물은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처 크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 및 바디클렌저로 구성된 군으로부터 선택된 하나의 제형을 갖는 것을 특징으로 한다.

**발명의 효과**

[0044] 본 발명에 따른 대나무 발효물 또는 그 추출물은 피부 세포에 독성이 없으면서도 아쿠아포린 3 발현이 증가하여 우수한 피부 보습 효과 및 피부결 개선 효능을 가지고, 멜라닌 생성 억제능 또한 우수하여 피부 미백능을 가지고 있어, 기능성 피부 외용제의 소재로써 활용가능하다.

**도면의 간단한 설명**

[0045] 도 1은 대나무 추출물, 대나무 발효물, 대나무 초산 발효물을 각각 1.0%처리한 경우 아쿠아포린 3 발현양을 비교한 결과이다.

도 2는 본 발명에 따른 대나무 초산 발효물을 0.1%, 0.5%, 1.0% 처리한 경우 아쿠아포린 3 발현양을 비교한 결과이다.

도 3은 대나무의 각 부위별 (줄기, 순, 잎) 추출물, 발효물, 초산발효물의 아쿠아포린 3 발현양을 비교한 결과이다.

도 4는 대나무 추출물, 대나무 발효물, 대나무 초산 발효물을 각각 1.0%처리한 경우 멜라닌 억제 효과를 비교한 결과이다.

도 5는 본 발명에 따른 대나무 초산 발효물을 0.1%, 0.5%, 1.0% 처리한 경우 멜라닌 억제 효과를 비교한 결과이다.

도 6은 대나무의 각 부위별 (줄기, 순, 잎) 추출물, 발효물, 초산발효물의 멜라닌 억제 효과를 비교한 결과이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0046] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식

을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

**실시예 1**

**1.1 대나무 추출물 제조**

본 실험에서 사용한 대나무 줄기, 잎, 죽순은 동양허브에서 구입하여 사용한 것이다.

대나무 줄기 100g을 취하여 분쇄기를 이용하여 분쇄하고, 70%에탄올 1L를 첨가한 후 48시간 이상 상에서 추출한 다음, 감압 여과장치를 통하여 200 $\mu$ m 여과지를 사용하여 여과 하고, 50 $^{\circ}$ C 로 세팅된 환류감압 농축기를 통하여 수분과 에탄올을 증발시켜서, 대나무 줄기 추출물을 수득하였다. 상기 추출물은 멸균을 위해 0.2 $\mu$ m 주사기 필터를 사용하여 멸균 처리하였다. 대나무 줄기 이외의 대나무 잎, 대나무 순 도 위와 같은 과정으로 추출, 농축 하였다.

**1.2 대나무 발효물의 제조**

**(1) 대나무 줄기의 전처리**

대나무 줄기를 일광건조 후 흐르는 물세척을 통하여 전처리 하였다.

**(2) 대나무 줄기의 멸균처리 및 1차 준비**

대나무 줄기를 세척 후 121 $^{\circ}$ C 고압 습식멸균을 실시하여, 무균조건이 유지되는 조건으로 자연 건조시켰다. 대나무 줄기를 추출물을 제조하기 위해 300g의 대나무 줄기를 흐르는 물에 세척하여 자연 건조시킨 뒤 파쇄기를 사용하여 파쇄하고, 착즙기를 사용하여 압착 추출을 실시하였다. 추출된 대나무 줄기 추출물은 멸균을 위해 0.45 $\mu$ m 주사기 필터를 사용하여 멸균 처리하였다.

**(3) 대나무 줄기의 발효**

배양된 유산균(KCCM : 11542, *Lactobacillus plantarum* 유산균)을 접종하여 7일(168hr) 간 1차 배양 실시하였다. 접종에 사용되는 균체량은  $10^7$ - $10^9$  cfu/ml이며, 온도 35-38 $^{\circ}$ C, 통기량 0.5VVM의 조건을 유지하면서 액체 배양하였다. 상기 발효액을 3500rpm에서 30분간 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 회수된 상등액을 0.45 $\mu$ m 여과막으로 제균하여 최종 대나무 줄기 발효 추출물을 얻었다.

대나무 줄기 이외의 대나무 잎, 대나무 순 도 위와 같은 과정으로 발효하였다.

**1.3 대나무초산 발효물 제조**

본 발명에 사용된 대나무 초는 일반적인 초산발효 공정을 통하여 만들었다. 일반적으로 초산발효는 2단계 공정을 거치는데 1단계는 "알코올발효" 로 효모를 이용하여 산소가 없는 혐기성 상태에서 미생물에 의해 당류가 분해 되어 알코올을 생성하는 발효 공정이며 2단계는 "초산발효"로 산화발효의 한 종류로, 공기 중의 산소를 이용하는 초산균(아세트산균)의 작용으로 알콜을 호기적으로 산화시켜 아세트알데하이드를 거쳐 아세트산을 만드는 과정이며, 공업적으로 식초의 양조에 사용된다.

본 실험에서는 초산 발효를 위하여 실시예 1.2의 (2) 대나무 줄기의 멸균처리 및 1차 준비까지 동일한 방법을 사용하였다.

알코올 발효를 위하여 혐기성 발효 용기에 대나무 줄기추출물 200g을 준비하고 대나무 줄기를 60~90% 설탕 10~40% 비율로 혼합하였다. 혼합 후 배양된 효모(KCCM : 11293, *Saccharomyces cerevisiae*, 효모)를 접종하여 25~35도, 60~72시간 동안 혐기 발효 하였다. 혐기발효 후 배양된 초산균(KCCM : 40011, *Acetobacter pasteurianus*, 초산균)을 접종하여 30~35도, 9~10일, 통기량 0.5VVM 조건으로 호기 발효 하였다.

초산발효공정에서 얻어진 상기 발효액을 3500rpm에서 30분간 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 회수된 상등액을 0.45 $\mu$ m 여과막으로 제균하여 최종 대나무 줄기 발효 추출물을 얻었다.

**실험예 1-1: 인간피부 각질형성세포주 HaCaT 세포 배양**

인간피부의 구성 세포주인 각질형성세포 HaCaT는 10% fetal bovine serum (FBS)과 항생제가 들어있는 DMEM 배양액을 사용하여 배양하였다. 배양 용기는 75T-flask와 6 well plate를 사용하였으며 5% CO<sub>2</sub>가 공급되는 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 배양하였다. 배양액은 3~4일마다 교환해 주며 세포가 과다하게 증식되었을 때는 계대배양 하였다.

HaCaT( $5 \times 10^5$ /well)을 분주하고 배양 24 시간 후, 인산 완충 식염수 용액(PBS)로 세척하고, 각 웰에 FBS를 넣지 않은 DMEM 배지에 대나무초 추출물과 acacetin을 각각 10 ppm이 되도록 희석시켜 각 웰에 첨가하였다. 24 시간 후 cDNA를 합성하고 PCR을 실시하여 유전자 발현 정도를 평가하였다.

[0065] **실험예 1-2: Real-time PCR을 이용한 보습 인자, 유전자 발현 시험**

[0066] 합성된 cDNA를 타겟 주형(primer) 및 시아닌 염료인 SYBR 그린(green) 마스터 혼합물(master mix)을 사용하여 실시간(real-time) 중합효소 연쇄반응(PCR)을 실시하여 최종적으로 유전자 발현 정도를 평가하였다. 유전자에 관한 발현은 Ct(threshold cycle) 방법에 의한 내부 대조 유전자  $\beta$ -actin의 보정 정량화를 통한 상대적인 값으로 비교되었으며 서열은 아래 표 1에서 볼 수 있다. (음성 대조군에 대하여 \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ )

표 1

프라이머 이름	서열
Aquaporin3	정방향 5'-AGACAGCCCCTCAGGATTT-3'
Aquaporin3	역방향 5'-TCCCTTGCCCTGAATATCTG-3'
$\beta$ -actin	정방향 5'-GGCCATCTCTTGCTCGAAGT-3'
$\beta$ -actin	역방향 5'-GACACCTCAACACCCAGC-3'

[0068] 아쿠아포린이란 세포 내에 물의 출입을 조절하는 막단백질. 세포의 배관시스템이다. 내재단백질(major intrinsic protein)에 속하며 세포막에 구멍을 형성한다. 아쿠아포린은 이온이나 용질의 이동을 방해하면서 선택적으로 물 분자의 출입을 조절한다. 수분통로로 알려져 있으며 아쿠아글리세로포린(aquaglyceroporin)은 구멍의 크기에 따라 세포막 사이에 글리세롤, CO<sub>2</sub>, 암모니아, 요소를 운반하기도 한다. 하지만 수분통로는 양성자와 같은 대전된 물질은 통과시키지 못한다. 수분통로는 물의 침투성을 증가시킨다.

[0069] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이 대나무 추출물(도 1의 대나무), 대나무 유산균발효물 (도 1의 대나무 발효물), 대나무 초산발효물 (도 1의 대나무초)를 각각 1.0% 처리에 따라 아쿠아포린3 발현양이 대나무발효물과 대나무초에서 유의적으로 증가함을 확인 할 수 있었다. 또한 대나무초의 아쿠아포린3의 증가가 가장 우수함을 알 수 있었다.

[0070] 또한, 도 2에 나타난 바와 같이 대나무 초산발효물 (도 2의 대나무초)를 각각 0.1%, 0.5%, 1.0% 처리한 경우 아쿠아포린이 농도에 의존적으로 증가함을 알 수 있었다. 따라서, 아쿠아포린3의 증가는 세포간의 부착과 세포주위 공간을 통한 수분 이동의 조절을 더 효과적으로 수행할 수 있음을 나타냄으로써 보습기능을 강화할 수 있다.

[0071] 또한, 도 3에서와 같이 대나무의 각 부위별 (줄기, 순, 잎) 추출물, (유산균)발효물, 초의 아쿠아포린3의 효과를 비교한 결과 대나무초(줄기)에서 가장 우수한 아쿠아포린3의 증가가 가장 우수함을 알 수 있었다.

[0072] **실험예 1-3: 미백-멜라닌 생성 억제 평가**

[0073] 마우스의 색소세포(B16 melanoma cells, ATCC, CRL-6475™)를 이용하여 조성물 처리에 의한 멜라닌 생성 억제효과를 측정하였으며, 이를 멜라닌 생성을 억제하는 것으로 알려진 알부틴(arbutin; 100 g/ml)에 의한 멜라닌 생성 억제효과와 비교하였다.

[0074] 마우스 색소세포(B16 F10)를 10% FBS(fetal bovine serum)를 포함하는 DMEM에 현탁시켜 웰 당  $1 \times 10^5$  세포로 6-웰 플레이트에 접종하여 웰 바닥에 부착될 때까지 배양시켰다. 멜라닌 생성 유도를 위하여, 0.1  $\mu$ M  $\alpha$ -MSH를 처리하고 시료를 첨가한 후 3일 동안 배양하였다. 물질 처리농도는 100  $\mu$ g/ml로 하였다. 멜라닌 생성능 실험의 양성대조군으로 알부틴을 사용하였다. 배양한 세포는 인산완충화된 염 용액(PBS)으로 세척하고 트립신으로 회수하였다. 회수한 세포를 혈구계(hemocytometer)로 계수하여 각 처리 그룹별로  $1 \times 10^6$  세포/ml로 동일한 세포수가 되도록 모아 1,000 rpm으로 10분 동안 원심분리하여 세포를 수득하였다. 상기 회수된 세포를 60°C에서 1시간 건조시킨 후 10% DMSO가 포함된 1M NaOH 용액 400  $\mu$ l을 가하여 세포 내 멜라닌을 얻었다. 마이크로플레이트 판독기를 이용하여 상기 멜라닌 용액의 490 nm 흡광도를 측정하여 멜라닌 생성 저해율을 평가하였다.

[0075] 그 결과, 도 4에서와 같이, 대나무 초산발효물 (도 4의 대나무초)의 멜라닌 억제 효과가 대나무 추출물(도 4의 대나무), 대나무 유산균 발효물(도 4의 대나무 발효)에 비하여 우수한 것으로 나타나는 것을 볼 수 있다 특히 1.0%에서는 알부틴 보다 우수한 효과가 나타나는 것을 확인 할 수 있었다.

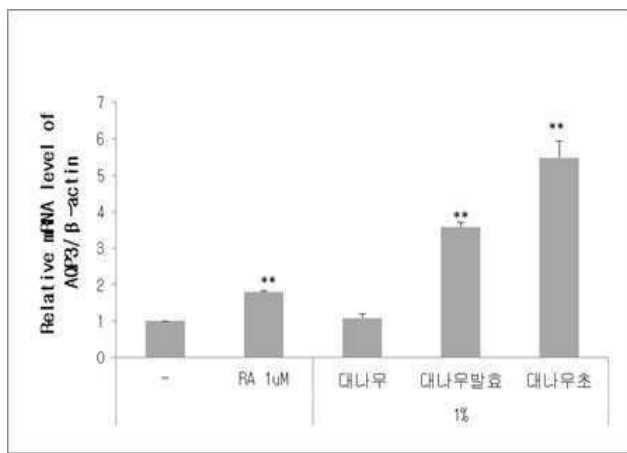
[0076] 도 5에서도, 대나무 초의 멜라닌 억제 효과가 매우 우수한 것을 볼 수 있다. 0.01%에서부터 1.0%까지 농도 의존적으로 그 효과가 증가하는 것을 볼 수 있으며 특히 1.0%에서는 알부틴 보다 우수한 효과가 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

[0077] 도 6에서와 같이, 대나무의 각 부위별 (줄기, 순, 잎) 추출물, 발효물, 초의 멜라닌 억제 효과를 비교한 결과 대나무초(줄기)에서 멜라닌 억제 효과가 가장 우수함을 알 수 있었다.

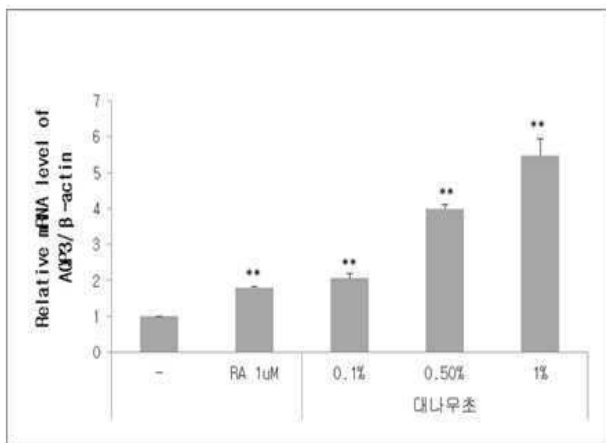
[0078] 이상으로 본 발명의 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

**도면**

**도면1**



**도면2**





도면6

