

 (19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2012-0048321 (43) 공개일자 2012년05월15일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>A61K 8/97</i> (2006.01) <i>A61Q 19/02</i> (2006.01) <i>A61Q 19/00</i> (2006.01) (21) 출원번호 10-2010-0109904 (22) 출원일자 2010년11월05일 심사청구일자 없음	(71) 출원인 경희대학교 산학협력단 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교) (72) 발명자 정덕한 경기도 안양시 동안구 호계동 1052번지 목련아파트 205동 1008호 김선여 서울특별시 강남구 도곡로78길 22, 113동 901호 (대치동, 대치삼성아파트) (뒷면에 계속) (74) 대리인 오국진

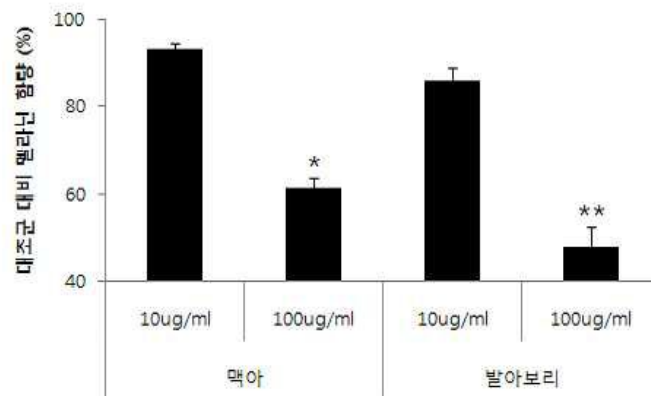
전체 청구항 수 : 총 2 항

(54) 발명의 명칭 **발아보리의 자기분해물을 포함하는 피부미백용 화장료 조성물**

(57) 요약

본 발명은 발아보리의 자기분해물을 포함하는 피부미백용 화장료 조성물을 제공한다.

대표도 - 도2



(72) 발명자

정대균

경기도 성남시 분당구 중앙공원로 54, 212동 1802호 (서현동, 우성아파트)

정용수

전라남도 영광군 묘량면 신천리 903번지

이현명

경기도 수원시 영통구 청명로 16, 302호 (영통동)

특허청구의 범위

청구항 1

발아보리의 자기분해물을 포함하는 피부미백용 화장료 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 발아보리의 자기분해물이 하기 단계를 포함하는 방법에 의해 얻어지는 것을 특징으로 하는 피부미백용 화장료 조성물:

- (a) 겉보리를 15?18 ℃에서 물에 침지하고 배유층의 흡수가 이루어지기 전인 흡수 개시 18?20 시간에서 흡수를 중단시키는 단계;
- (b) 물에서 꺼낸 겉보리를 20?24 시간 동안 호흡을 시키면서 배유층 보다 먼저 흡수가 이루어진 호분층과 표피층을 위주로 효소의 활성을 유도하는 단계;
- (c) 호흡 중인 겉보리를 다시 물에 침지하여 36?40 시간 동안 산소 공급을 차단하는 변형된 효소활성 조건을 부여하여 뿌리의 발근(發根)을 억제시키는 대신 발아보리 에너지와 물질들을 발아체 내부에 증폭시켜 백생체를 형성시키는 단계;
- (d) 발아보리가 증폭된 단계의 보리를 물에서 꺼내어 다시 3?5 시간 동안 호흡을 시켜 배유층을 비롯한 나머지 보리 조직 전반에 걸친 효소분해를 촉진시키는 단계;
- (e) 효소분해가 진행된 겉보리를 분쇄기에서 절단하여 55 ℃에서 3시간, 60 ℃에서 3시간, 및 65 ℃에서 3시간의 가수분해 조건을 부여하는 단계; 및
- (f) 껍질로부터 배유부분에 이르기 까지 보리조직 전부를 상대로 자기 효소분해 및 가수분해의 반복적이고 복합적인 분해를 완료시키는 단계.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 발아보리의 자기분해물을 포함하는 피부미백용 화장료 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 보리(*Hordeum vulgare* var.)는 외떡잎식물 벼목 화본과의 두해살이풀로 스코틀랜드, 노르웨이, 시베리아, 알프스, 아프가니스탄, 히말라야, 티베트, 페루, 한국 등 널리 분포하고 있다. 과거부터 한방에서는 보리를 대맥(大麥)이라 하여 짜고 따스한 성질을 가지며 허한 것을 보해주고 기운을 돋우며 비위를 조화시키는 역할을 한다고 알려져 있으며, 우리나라의 주식으로 오랫동안 사용해 온 주곡이다. 보리의 생리활성으로는 콜레스테롤 저해, 고지혈증 억제, 심혈관질환 예방, 항암, 항염증, 항바이러스, 항알러지, 항산화 활성 등이 알려져 있다. 보리의 주성분으로는 베타글루칸(β -glucan), 리보플라빈(riboflavin), 페루릭산(ferulic acid), 루테올린(luteolin) 외에 다양한 폴리페놀 화합물들이 알려져 있다.

[0003] 쌀, 보리 등의 곡류의 생산이 국내 수요를 초과함에 따라, 보리 또는 보리 맥아를 가축사료로 전환하기 위한 연구가 진행되고 있다. 보리 맥아는 보리를 물에 담가 충분히 물을 흡수시켜 발아시킨 것을 말하며, 건조하지 않은 그대로의 것을 생맥아라 하고, 건조한 것을 건조 맥아라 한다. 보리 맥아는 곡류가 발아될 때 여러 가지의 효소가 만들어지며, 이 중 특히 아밀라제를 많이 형성한다. 보리의 사료화는 소나 양 등 되새김질을 하는 '반추동물'에 사용하기 위해 보리를 발효시키는 방법이 주종을 이루고 있다. 그러나 겉보리의 싹을 틔운, 즉 보리 맥아를 아직 본격적으로 사료화하지는 못하고 있으며, 이는 보리 맥아 사료의 낮은 소화율(약 60?70%)에 기인한다. 식품으로서의 보리는 껍질부분이 사람이나 비초식 동물의 소화효소나 물에 의하여 가수분해 되지 않는 문제점을 가지고 있다.

[0004] 이와 같은 보리 맥아의 단점을 극복하기 위하여, 대한민국 특허등록 제10-0817830호는 보리 껍질이 스스로 분해될 수 있는 방법 즉, 자기분해 방법을 개시한 바 있다. 상기 특허에 따르면, 변형된 흡수(吸水) 호흡조건을 부

여함으로써 겉보리의 눈만 티우고 뿌리는 나지 않게 하면서, 종피(種皮)와 표피(表皮)등 껍질부분의 섬유소다당류를 비롯하여 배유(胚乳)부분에 이르기까지 조직 전체에 걸쳐 자기 효소 분해와 가수 분해를 반복하는 복합분해를 유도한다. 따라서 상기 자기분해 방법에 따라 얻어진 보리 유래의 자기분해 생성물을 제조할 경우, 돼지나 닭 등 '비반추동물'의 사육에도 보리 사료를 사용할 수 있을 것으로 기대되고 있다.

[0005] 한편, 멜라닌은 세포내의 티로신을 기질로 하여 합성된다. 티로시나아제가 도파킨을 생성시키면, 도파킨으로부터 자동산화 반응과 효소반응을 거쳐 공중합체인 멜라닌이 생성된다. 이렇게 생성된 멜라닌은 멜라노솜을 통해 각질화세포로 옮겨지고 각화과정을 거치면서 피부표면으로 나오게 된다. 멜라닌의 가장 중요한 역할은 자외선으로부터 피부의 외피 및 내피조직을 보호하고 나아가 자외선 침투로 인한 유전자 손상을 막아주는 것이다. 그러나 이 과정에서 멜라닌이 과량 생성되고 각화에 의해 멜라닌이 완전히 없어지지 않으면 색소침착현상이 나타나게 되고, 나아가 피부종양, 피부암을 일으키는 원인이 되기도 한다.

[0006] 외모에 대한 관심이 높아지면서 치료목적 뿐만 아니라 피부미용을 위한 목적으로 미백제 개발에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 종래에 보고된 미백제는 생성된 멜라닌 색소를 환원시켜 탈색시키는 방법과 멜라닌 색소를 형성하는 효소인 티로시나아제의 활성을 억제하는 방법이 주로 사용된다. 그러나 멜라닌 색소를 환원시키기 위해 사용되는 기존 토코페롤이나 비타민류 등은 멜라닌 색소의 탈색효과가 만족할만한 수준에는 이르지 못하고 있다. 하이드로퀴논과 같은 화합물은 강한 탈색작용을 나타내지만 자체가 피부감작성을 가지고 있어 피부알레르기 등을 유발할 수 있다. 또한, 코직산은 티로시나아제의 활성을 억제하는 효과는 우수하나, 멜라닌 색소나 멜라닌 세포를 변성시키기 때문에 피부염, 피부암 등의 여러 가지 피부자극을 유발할 수 있으며, 특히 코직산을 배합한 미백화장료는 시간이 경과함에 따라, 특히 고온(45℃)에서 쉽게 산화되어 변색이 심하게 일어나면서 미백효과가 떨어지는 문제점이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 종래에 보고된 발아보리의 자기분해물 즉, 대한민국 특허등록 제10-0817830호에 따라 얻어진 자기분해물의 활성을 연구하던 중, 놀랍게도 상기 자기분해물이 멜라닌 생합성을 억제하고 또한 멜라닌 생성량을 감소 시킴으로써 피부 미백 활성을 갖는다는 것을 발견하였다.

[0008] 따라서 본 발명은 발아보리의 자기분해물을 포함하는 피부미백용 화장료 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명의 일 태양에 따라, 발아보리의 자기분해물을 포함하는 피부미백용 화장료 조성물이 제공된다.

[0010] 상기 발아보리의 자기분해물은 바람직하게는 하기 단계를 포함하는 방법에 의해 얻어질 수 있다:

[0011] (a) 겉보리를 15?18 ℃에서 물에 침지하고 배유층의 흡수가 이루어지기 전인 흡수 개시 18?20 시간에서 흡수를 중단시키는 단계;

[0012] (b) 물에서 꺼낸 겉보리를 20?24 시간 동안 호흡을 시키면서 배유층 보다 먼저 흡수가 이루어진 호분층과 표피층을 위주로 효소의 활성을 유도하는 단계;

[0013] (c) 호흡 중인 겉보리를 다시 물에 침지하여 36?40 시간 동안 산소 공급을 차단하는 변형된 효소활성 조건을 부여하여 뿌리의 발근(發根)을 억제시키는 대신 발아보리 에너지와 물질들을 발아체 내부에 증폭시켜 백생체를 형성시키는 단계;

[0014] (d) 발아보리가 증폭된 단계의 보리를 물에서 꺼내어 다시 3?5 시간 동안 호흡을 시켜 배유층을 비롯한 나머지 보리 조직 전반에 걸친 효소분해를 촉진시키는 단계;

[0015] (e) 효소분해가 진행된 겉보리를 분쇄기에서 절단하여 55 ℃에서 3시간, 60 ℃에서 3시간, 및 65 ℃에서 3시간의 가수분해 조건을 부여하는 단계; 및

[0016] (f) 껍질로부터 배유부분에 이르기 까지 보리조직 전부를 상대로 자기 효소분해 및 가수분해의 반복적이고 복합적인 분해를 완료시키는 단계.

발명의 효과

[0017] 본 발명에 의해, 발아보리의 자기분해물이 멜라닌 생합성을 억제하고 또한 멜라닌 생성량을 감소시킴으로써 피부 미백 활성을 갖는다는 것이 밝혀졌다. 따라서 상기 발아보리의 자기분해물은 피부미백용 화장품 조성물에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 맥아 및 발아보리의 자기분해물을 Melan-a 세포에 처리하였을 때, 세포 생존율을 MTT 염색법에 의해 측정한 결과를 나타낸다. 도 1에서 '맥아'란 맥아를 처리한 경우를 말하며, '발아보리'란 발아보리의 자기분해물을 처리한 경우를 의미한다.

도 2는 맥아 및 발아보리의 자기분해물을 Melan-a 세포에 처리하였을 때, 멜라닌 생성량을 측정한 결과를 나타낸다. 도 2에서 '맥아'란 맥아를 처리한 경우를 말하며, '발아보리'란 발아보리의 자기분해물을 처리한 경우를 의미한다.

도 3은 맥아 및 발아보리의 자기분해물을 Melan-a 세포에 처리하였을 때, 멜라닌 생합성에 관여하는 단백질인 티로시나아제 및 TRP II의 발현 정도를 측정한 결과를 나타낸다. 도 3에서 '맥아'란 맥아를 처리한 경우를 말하며, '발아보리'란 발아보리의 자기분해물을 처리한 경우를 의미한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 본 명세서에서, "발아보리(germinated barley)" 라 함은 보리 종자의 흡수(吸水), 저장양분의 분해(分解) 또는 소화(消化), 양분의 이동(移動), 호흡(呼吸) 등의 발아유기(發芽誘起) 단계에 있는 생체로서, 발근(發根)이 억제되어 있는 생체(bioprocess)를 말한다. 즉, 종자가 생체로서 기능을 정지하고 있는 상태를 휴면(休眠)이라고 하는데, 이때 그 생체분자들은 비활성구조로 압축되고 주위와 차단된 상태를 유지하다가, 적당한 수분과 온도 및 산소 등 환경조건이 갖추어지면 생체효소물질들의 활성화와 함께 발아를 준비하면서부터 다시 생명체로서 생장을 시작하게 되는데, 이를 발아보리라고 한다.

[0020] 상기 발아보리의 "자기분해물(self-lysis product)" 이라 함은 대한민국 특허등록 제10-0817830호에 개시된 방법에 따라 얻어진 분해 생성물을 의미한다. 따라서 대한민국 특허등록 제10-0817830호는 전체로서 본 명세서에 포함된다. 상기 자기분해 방법은 바람직하게는, (a) 겉보리를 15?18 ℃에서 물에 침지하고 배유층의 흡수가 이루어지기 전인 흡수 개시 18?20 시간에서 흡수를 중단시키는 단계; (b) 물에서 꺼낸 겉보리를 20?24 시간 동안 호흡을 시키면서 배유층 보다 먼저 흡수가 이루어진 호분층과 표피층을 위주로 효소의 활성을 유도하는 단계; (c) 호흡 중인 겉보리를 다시 물에 침지하여 36?40 시간 동안 산소 공급을 차단하는 변형된 효소활성 조건을 부여하여 뿌리의 발근(發根)을 억제시키는 대신 발아보리 에너지와 물질들을 발아체 내부에 증폭시켜 백생체를 형성시키는 단계; (d) 발아보리가 증폭된 단계의 보리를 물에서 꺼내어 다시 3?5 시간 동안 호흡을 시켜 배유층을 비롯한 나머지 보리 조직 전반에 걸친 효소분해를 촉진시키는 단계; (e) 효소분해가 진행된 겉보리를 분쇄기에서 절단하여 55 ℃에서 3시간, 60 ℃에서 3시간, 및 65 ℃에서 3시간의 가수분해 조건을 부여하는 단계; 및 (f) 껍질로부터 배유부분에 이르기 까지 보리조직 전부를 상대로 자기 효소분해 및 가수분해의 반복적이고 복합적인 분해를 완료시키는 단계를 포함한다. 필요에 따라, 얻어진 발아보리의 자기분해물은 통상의 방법에 따라 건조 및/또는 분쇄하여 분말 형태로 얻어질 수 있다. 상기와 같은 발아보리의 자기분해물은 다당체(多糖體)인 껍질부분이 맥아당과 아라비노자일란(Arabinosilan) 등 기능성 식이섬유 등으로 분해되어 영양소 흡수율을 90% 정도로 향상시킬 수 있다.

[0021] 본 발명은 발아보리의 자기분해물을 포함하는 피부미백용 화장품 조성물을 제공한다.

[0022] 하기 시험예에서 알 수 있는 바와 같이, 상기 발아보리의 자기분해물은 멜라닌 생합성을 억제하고 또한 멜라닌 생성량을 효과적으로 감소시킴으로써 우수한 피부 미백 활성을 나타낸다. 아직 확실히 밝혀진 것은 아니나, 상기 특수한 발아 과정 및 자기분해 과정을 통하여 생성된 다양한 효소들의 작용으로 인한 2차 대사산물들이 이와 같은 멜라닌 생합성 억제 및 멜라닌 생성량 감소 활성을 나타내는 것으로 추정된다.

[0023] 본 발명에 따른 피부미백용 화장품 조성물은 상기 발아보리의 자기분해물을 사용하여 통상의 화장품 제조방법에 따라, 다양한 형태로 제조될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 화장품 조성물은 상기 발아보리의 자기분해물을 함유하는 목욕액의 형태로 제조될 수 있으며, 이는 통상의 목욕물, 클렌징액, 수렴액 및 보습액으로 희석하여 사용될 수 있다. 또한, 본 발명의 화장품 조성물은 스킨로션, 밀크로션(영양로션), 미백크림, 미백에센스 등의 형

태로 제조될 수도 있다.

[0024] 본 발명의 피부미백용 화장료 조성물에 함유되는 상기 발아보리의 자기분해물의 함량은 색소침착의 정도, 적용 기간 등에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 예를 들면, 상기 발아보리의 자기분해물은 1일 0.0001 내지 5000 mg/kg의 용량으로 적용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 본 발명의 피부 미백용 화장료 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 상기 발아보리의 자기분해물을 0.001 내지 50 % 중량백분율로 포함할 수 있다.

[0025] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들에 한정되는 것은 아니다.

[0026] 하기 실시예에서, 발아보리의 자기분해물은 대한민국 특허등록 제10-0817830호에 개시된 방법에 따라 얻어진 것을 바우연구소(소장: 정덕한)로부터 공급받아 시험에 사용하였다. 또한, 비교를 위하여 맥아 분말을 비교물질로 사용하였다.

[0027]

[0028] 실시예 1. Melan-a 세포 생존율 측정 (MTT 염색법)

[0029] Melan-a 세포((주)아모레퍼시픽에서 분양)를 10% 우태아혈청(FBS), 1% 페니실린/스트렙토마이신), 및 200 nM PMA(phobol 12-myristate 13-acetate)로 보충된 RPMI 1640 배지에서 배양하였다. 100 mm 세포 배양 접시에 10 ml의 배양액을 넣고 약 3×10^5 cells의 농도로 세포를 접종한 후, 37 °C, 5% CO₂ 환경에서 배양하였다. 약 3 ? 4일 후, 세포가 충분히 성장하였을 때, 24-웰 플레이트에 약 10^5 세포/웰로 접종하여 24시간 동안 배양하였다.

[0030] 맥아 및 발아보리의 자기분해물을 각각 3차 증류수에 용해시켜 얻어진 수용액을 사용하여, 10 ug/ml 및 100 ug/ml 농도로 상기 세포를 함유하는 웰에 10 ul씩 처리한 후, 72시간 동안 배양하였다. 대조군에는 3차 증류수 10 ul을 가하였다. 배양 완료 후, MTT (3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸리움 브로마이드) 0.1 mg/ml을 200 ul씩 처리하여 37 °C에서 1시간 동안 염색하고, DMSO(디메틸 술폭시드) 400 ul를 첨가한 뒤 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 결과는 도 1과 같다. 도 1의 결과로부터, 맥아 및 발아보리의 자기분해물 모두 우수한 세포 생존율을 나타냄으로써, 독성이 거의 없는 물질임을 알 수 있다.

[0031] 실시예 2. Melan-a 세포 멜라닌 함량 측정

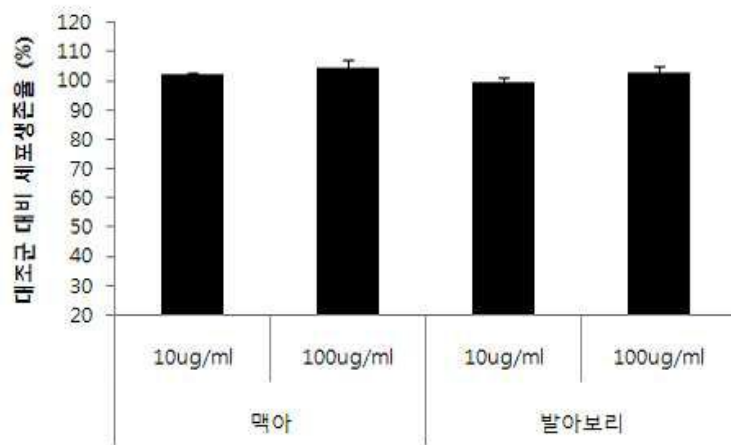
[0032] 실시예 1과 동일한 방법으로 Melan-a 세포를 배양하여, 맥아 및 발아보리의 자기분해물을 처리한 후, 72시간 동안 배양하였다. 대조군에는 실시예 1과 마찬가지로 3차 증류수 10 ul을 가하였다. 배양된 세포 각각에 NaOH 500 ul씩 첨가해서 세포를 용해시킨 뒤, 405 nm에서 흡광도를 측정하여, 생성된 멜라닌 함량을 분석하였다. 그 결과는 도 2와 같다. 도 2의 결과로부터, 맥아를 처리한 경우에 비하여 발아보리의 자기분해물을 처리한 경우, 멜라닌이 더욱 낮게 생성되는 것을 알 수 있으며, 특히 맥아를 100 ug/ml 농도로 처리한 경우에는 멜라닌 생성량이 약 60 % 임에 반해, 발아보리의 자기분해물을 100 ug/ml 농도로 처리한 경우에는 멜라닌 생성량이 약 47 % 로서 멜라닌 생성량을 현저하게 낮춤을 알 수 있다.

[0033] 실시예 3. Melan-a 세포의 단백질 발현량 측정

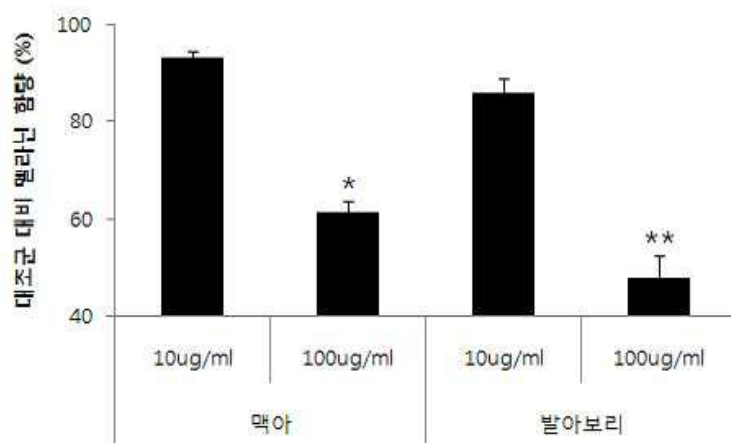
[0034] 실시예 1과 동일한 방법으로 Melan-a 세포를 배양하여, 맥아 및 발아보리의 자기분해물을 10 ug/ml, 100 ug/ml, 및 250 ug/ml 농도로 처리한 후, 72시간 동안 배양하였다. 대조군에는 실시예 1과 마찬가지로 3차 증류수 10 ul을 가하였다. 배양된 세포 각각에 용해 완충액(lysis buffer)[50 mM 트리스-염산, pH 8.0, 150 mM NaCl, 0.02% 소듐 아지드, 0.1% SDS(소듐 도데실 설페이트), 1% NP-40(노닐 페녹시폴리에톡시에탄올, Sigma-Aldrich, Inc.), 0.5% 소듐 데옥시콜레이트, 100 ug/ml PMSF(페닐메탄설포닐 플루오라이드), 및 1 ug/ml 아프로티닌]을 사용하여 세포를 용해시킨 뒤, 멜라닌 생합성에 관여하는 단백질인 티로시나아제 및 TRP II (도파크롬 타우로머 라아제(dopachrome tautomerase))의 발현 정도를 웨스턴 블롯팅을 통하여 분석하였다. 그 결과는 도 3과 같다. 도 3의 결과로부터, 발아보리의 자기분해물을 처리한 경우, 멜라닌 생합성에 관여하는 단백질인 티로시나아제 및 TRP II의 발현, 특히 티로시나아제의 발현을 효과적으로 억제함을 알 수 있다.

도면

도면1



도면2



도면3

