(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년02월28일
(11) 등록번호 10-1367306
(24) 등록일자 2014년02월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/97 (2006.01) *A61Q 19/02* (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0101071
(22) 출원일자 2013년08월26일
심사청구일자 2013년08월26일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020040107852 A
KR1020050036093 A
KR1020120012918 A
KR1020120119227 A

(73) 특허권자
재단법인 전남생물산업진흥원
전남 나주시 동수농공단지길 30-5, (동수동)
(72) 발명자
김선오
광주광역시 북구 양일로 52-1, 201동 1003호(연제동, 연제2차 대주피오레)
김영숙
경남 진주시 남강로1317번길 31-1, (상평동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인유아이피

전체 청구항 수 : 총 7 항 심사관 : 박정민

(54) 발명의 명칭 **황칠나무로부터 분리한 테트라데칸올을 유효성분으로 포함하는 미백 또는 보습용 화장료 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 황칠나무 추출물로부터 분리된 테트라데칸올(tetradecanol)을 유효성분으로 포함하는 미백 또는 보습용 화장료 조성물 에 관한 것이다. 또한 본 발명은 황칠나무로부터 정제수를 포함한 물, C1 내지 C4의 저급 알콜, 헥산 또는 이들의 혼합용매를 가하여 황칠나무 추출물을 제조하는 1단계; 상기 1단계에서 제조된 황칠나무 추출물에 계통분획을 실시하여 황칠나무 분획물을 제조하는 2단계; 및 상기 2단계에 제조된 황칠나무 분획물을 크로마토그래피로 분리, 정제하여 테트라데칸올(tetradecanol)을 제조하는 3단계를 포함하여 이루어지는 테트라데칸올의 제조방법을 제공한다. 상기 조성물은 티로시나제 저해 활성, 멜라닌 생성 억제 및 보습 효과를 가지면서 세포 안정성이 우수하다.

대 표 도 - 도3c

(72) 발명자

배동혁

전라남도 화순군 화순읍 오성로 558, 303동 1106호(서라3차아파트)

최은진

광주광역시 남구 방림로 31, 108동 605호(방림동, 휴먼시아아파트)

이선영

광주광역시 서구 상무시민로 65, 102동 404호(치평동, 한국아파트)

김기안

전남 장흥군 장흥읍 진골목길 4,

김지혜

전남 장흥군 장흥읍 북부로 80, B동 201호 (동국빌라)

최철웅

광주광역시 서구 풍암순환로 14, 105동 203호(풍암동, 호반중흥아파트)

이동욱

전라남도 장흥군 장흥읍 북부로 39, 203호(수창아트빌아파트)

특허청구의 범위

청구항 1

황칠나무 추출물로부터 분리된 테트라데칸올(tetradecanol)을 유효성분으로 포함하는 미백용 화장료 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 조성물은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 수분로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 수분크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 샴푸, 린스, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 및 바디클린저로 구성된 그룹으로부터 선택된 어느 하나의 제형인 것을 특징으로 하는 미백용 화장료 조성물.

청구항 3

황칠나무 추출물로부터 분리된 테트라데칸올(tetradecanol)을 유효성분으로 포함하는 보습용 화장료 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 조성물은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 수분로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 수분크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 샴푸, 린스, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 및 바디클린저로 구성된 그룹으로부터 선택된 어느 하나의 제형인 것을 특징으로 하는 보습용 화장료 조성물.

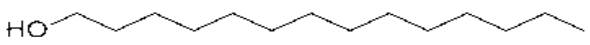
청구항 5

황칠나무로부터 정제수를 포함한 물, C1 내지 C4의 저급 알콜, 헥산 또는 이들의 혼합용매를 가하여 황칠나무 추출물을 제조하는 1단계;

상기 1단계에서 제조된 황칠나무 추출물에 계통분획을 실시하여 황칠나무 분획물을 제조하는 2단계; 및

상기 2단계에 제조된 황칠나무 분획물을 크로마토그래피로 분리, 정제하여 테트라데칸올(tetradecanol)을 제조하는 3단계를 포함하여 이루어지는 하기 화학식 1로 표시되는 테트라데칸올의 제조방법.

[화학식 1]



청구항 6

제5항에 있어서,

상기 2단계의 계통분획은 상기 1단계에서 제조된 황칠나무 추출물을 물로 현탁한 후, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 n-부탄올로 계통분획을 실시하는 것을 특징으로 하는 테트라데칸올의 제조방법.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 3단계의 황칠나무 분획물을 크로마토그래피로 분리, 정제하는 단계에서 헥산(Hexane):아세톤(Acetone)을 100:1 ~ 1:1의 부피비로 혼합한 용매를 사용하는 것을 특징으로 하는 테트라데칸올의 제조방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 황칠나무로부터 분리한 테트라데칸올(tetradecanol)을 유효성분으로 포함하는 미백 또는 보습용 화장료 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 황칠나무는 한국 특산종으로서 우리나라의 전남 해안지역과 제주도에서 자생하는 상록 활엽 교목이다. 황칠나무의 껍질에 상처를 내면 노란 액체가 흘러나오는데, 이것을 황칠(黃漆)이라고 하며 오래 전부터 가구의 도료로 사용하였다. 최근의 연구 결과에 따르면, 황칠나무가 항산화작용, 면역력 증진, 신경안정, 항균작용, 그리고 항암작용 등이 있는 것으로 보고 되고 있다.

[0003] 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 피부내 단백질과 유전자들의 손상을 보호해 주는 유용한 역할을 하지만, 멜라닌이 필요 이상으로 많이 생기게 되면 피부 노화를 가져오며 기미나 주근깨 등과 같은 과색소침착증을 유발한다.

[0004] 멜라닌 합성은 멜라노좀 내에 존재하는 티로시나제 및 티로시나제 관련 단백질(tyrosinase related protein)의 작용에 의하여 이루어진다. 구체적으로 티로시나제(tyrosinase)에 의하여 티로신(tyrosine)이 산화되어 도파(DOPA, 3,4-dihydroxyphenylalanine)로, 이어 도파옥시다제(dopaoxidase)의 작용으로 도파가 다시 산화되어 도파퀴논(dopaquinone)으로 바뀐 후, 티로시나제 관련 단백질인 TRP-1(5,6-dihydroxy indole-2-carboxylic acid oxidase)과 TRP-2(dopachrome tautomerase)의 작용에 의하여 멜라닌을 생성한다. 따라서 멜라닌의 생성이 억제될 경우 미백 효과를 기대할 수 있다.

[0005] 한편 최근 산업사회의 가속화에 따른 환경 오염, 사회가 복잡해짐에 따라 발생하는 각종 스트레스, 냉난방 시설에 의한 인위적인 온도 조절, 노화, 자외선 등이 원인이 되어 피부 각질층의 수분이 감소하고 피부가 거칠어지는 등의 피부 트러블이 증가하고 있는 실정이다.

[0006] 이에 본 발명자는 미백이나 보습 효과가 뛰어난 천연물에 대한 연구를 수행한 결과, 황칠나무에서 분리한 테트라데칸올(tetradecanol)이 피부의 미백 및 보습 효과를 보이는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 티로시나제 활성 저해, 멜라닌 생성 억제 효과 및 표피에 대한 보습 효과를 가지는, 황칠나무로부터 분리한 테트라데칸올(tetradecanol)을 유효성분으로 포함하는 미백 또는 보습용 화장료 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 황칠나무 추출물로부터 분리된 테트라데칸올(tetradecanol)을 유효성분으로 포함하는 미백용 화장료 조성물을 제공한다.

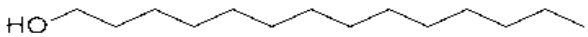
[0009] 본 발명은 황칠나무 추출물로부터 분리된 테트라데칸올(tetradecanol)을 유효성분으로 포함하는 보습용 화장료 조성물을 제공한다.

[0010] 본 발명에서,

[0011] 상기 조성물은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 수분로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 수분크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 샴푸, 린스, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 및 바디클린저로 구성된 그룹으로부터 선택된 어느 하나의 제형인 것을 특징으로 한다.

[0012] 본 발명은 황칠나무로부터 정제수를 포함한 물, C1 내지 C4의 저급 알콜, 헥산 또는 이들의 혼합용매를 가하여 황칠나무 추출물을 제조하는 1단계; 상기 1단계에서 제조된 황칠나무 추출물에 계통분획을 실시하여 황칠나무 분획물을 제조하는 2단계; 및 상기 2단계에 제조된 황칠나무 분획물을 크로마토그래피로 분리, 정제하여 테트라데칸올(tetradecanol)을 제조하는 3단계를 포함하여 이루어지는 하기 화학식 1로 표시되는 테트라데칸올의 제조방법을 제공한다.

[0013] [화학식 1]

[0014] 

[0015] 본 발명에서,

[0016] 상기 2단계의 계통분획은 상기 1단계에서 제조된 황칠나무 추출물을 물로 현탁한 후, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 n-부탄올로 순차적으로 계통분획을 실시하는 것을 특징으로 한다.

[0017] 또한 본 발명에서, 상기 3단계의 황칠나무 분획물을 크로마토그래피로 분리, 정제하는 단계에서 헥산(Hexane):아세톤(Acetone)을 100:1 ~ 1:1의 부피비로 혼합한 용매를 사용하는 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0018] 본 발명의 황칠나무에서 분리한 테트라데칸올(tetradecanol)을 유효성분으로 포함하는 미백 또는 보습용 화장료 조성물은 티로시나제 활성 저해, 멜라닌 생성 억제 효과 및 표피에 대한 보습 효과를 가지므로, 미백 또는 보습용 화장료 조성물로 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0019] 도 1은 황칠나무 농축액에서 황칠나무 유기용매 분획물을 제조하는 과정을 나타낸다.

도 2는 황칠나무 헥산 분획물에서 오픈 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 유효성분을 분리하는 과정을 나타낸다.

도 3은 ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR을 측정하여 황칠나무에서 분리한 유효성분의 구조를 동정한 것이다.

도 4는 황칠나무에서 분리한 테트라데칸올(tetradecanol)의 티로시나제 억제 활성을 나타낸다.

도 5 는 황칠나무에서 분리한 테트라데칸올(tetradecanol)의 멜라닌 합성 억제 효과를 나타낸다.

도 6은 황칠나무에서 분리한 테트라데칸올(tetradecanol)의 보습효과를 나타낸다.

도 7은 황칠나무에서 분리한 테트라데칸올(tetradecanol)에 대한 세포 생존율(cell viability)을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

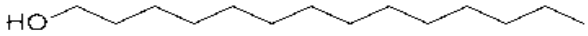
[0020] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0021] 본 발명의 미백 또는 보습용 화장료 조성물은 황칠나무 (Dendropanax morbifera Lev.) 추출물로부터 분리된 테트라데칸올(tetradecanol)을 유효성분으로 포함한다.

[0022] 상기 황칠나무 추출물로부터 분리된 테트라데칸올(tetradecanol)은 티로시나제 활성 저해, 멜라닌 생성 억제 및 표피에 대한 보습 효과를 가지므로 미백 또는 보습용 화장료 조성물로 사용할 수 있다.

[0023] 상기 황칠나무 추출물로부터 분리된 테트라데칸올(tetradecanol)은 하기 화학식 1로 표시되는 1-테트라데칸올일 수 있다.

[0024] [화학식 1]

[0025] 

[0026] 황칠나무로부터 테트라데칸올(tetradecanol)은 다음과 같은 3단계를 통해서 수득될 수 있다.

[0027] 황칠나무로부터 정제수를 포함한 물, C1 내지 C4의 저급 알콜, 헥산 또는 이들의 혼합용매를 가하여 황칠나무 추출물을 제조하는 1단계; 상기 1단계에서 제조된 황칠나무 추출물에 계통분획을 실시하여 황칠나무 분획물을 제조하는 2단계; 및 상기 2단계에 제조된 황칠나무 분획물을 크로마토그래피로 분리, 정제하여 테트라데칸올(tetradecanol)을 제조하는 3단계에 의해 수득될 수 있다.

[0028] 상기 황칠나무로부터 황칠나무 추출물을 제조하는 1단계를 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

[0029] a) 황칠나무 건잎 500 내지 3000g을 정확히 칭량하여, b) 정제수를 포함한 물, C1 내지 C4의 저급 알콜, 헥산 또는 이들의 혼합용매를 가하여 진탕하면서 10℃ 내지 200℃에서 1 내지 20시간 동안 추출하여 여과한 후, c) 여과된 추출액의 성분 함량을 높이기 위하여 감압 농축하여 농축액이 수득될 수 있다.

[0030] 상기 황칠나무 추출물로부터 계통분획을 실시하여 황칠나무 분획물을 제조하는 2단계를 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

[0031] 먼저 1단계에서 얻어진 황칠나무 농축액을 물로 충분히 현탁한 후, 헥산을 이용하여 1차 분획을 실시하여 물층과 헥산층(Hexane ext.)으로 분획한다. 분획된 물층을 클로로포름을 이용하여 물층과 클로로포름층($CHCl_3$ ext)으로 2차 분획한다. 분획된 물층을 에틸아세테이트를 이용하여 물층과 에틸아세테이트층(EtOAc ext.)으로 3차 분획한다. 마지막으로 물층을 n-butanol(n-부탄올)을 이용하여 물층과 n-부탄올층으로 분획한다.

[0032] 상기 황칠나무 분획물을 크로마토그래피로 분리, 정제한 후 테트라데칸올(tetradecanol)을 제조하는 3단계를 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

[0033] 상기 2단계에서 얻은 헥산층을 실리카겔로 충진시킨 크로마토그래피에 로딩한 후, 헥산(Hexane):아세톤(Acetone)을 100:1에서 1:1(W/V)로 혼합한 용매를 사용하고 이들 용매에 의해 용출된 다수의 소분획물을 얻는다. 얻어진 다수의 소분획물 중에서 하나를 골라 크로마토그래피를 실시하여 다시 다수의 소분획물을 얻는다. 얻어진 다수의 소분획물 중에서 메이저 스팟(major spot)이 있는 분획물을 아세톤을 사용, 침전하여 유효성분인 테트라데칸올(tetradecanol)이 수득될 수 있다. 이렇게 얻어진 유효성분은 ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR을 측정하여 분자구조를 결정할 수 있다.

[0034] 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 테트라데칸올 또는 상기 제조방법에 의해 제조되는 테트라데칸올 또는 상기 1단계에서 얻어지는 황칠나무 추출물 또는 상기 2단계에서 얻어지는 황칠나무의 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 n-부탄올 분획물을 유효성분으로 함유하는 미백 또는 보습용 화장료 조성물을 제공한다.

[0035] 본 발명의 상기 화장료 조성물은 미백 또는 보습 효과를 위한 화장품 및 세안제 등에 다양하게 이용될 수 있다. 본 조성물을 첨가할 수 있는 제품으로는, 예를 들어, 각종 크림, 로션, 스킨 등과 같은 화장품류와 클렌징, 세안제, 샴푸, 린스, 비누, 트리트먼트, 미용액 등이 있다.

[0036] 본 발명의 화장료 조성물은 상기 유효성분인 테트라데칸올(tetradecanol) 이외에 본 발명의 효과를 저해하지 않는 범위 내에서 보습제, 증점제, 계면활성제, 유상기제, 방부제, 산화방지제, 알코올, 향료, pH 조절제, 천연추출물 등을 비롯하여, 피부 미백 또는 보습 효과를 배가시키기 위한 화학적 성분의 피부 노화 방지 성분을 당업계의 통상적인 사용량으로 배합할 수 있다.

[0037] 또한, 이외에 첨가해도 되는 성분은 이에 한정되는 것은 아니며, 또, 상기 어느 성분도 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 배합 가능하다.

[0038] 본 발명의 미백 또는 보습용 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어 유액, 크림, 화장수, 팩, 파운데이션, 로션, 미용액, 모발화장료 등을 들 수 있다. 구체적으로, 본 발명의 화장료 조성물은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 수분로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 수분크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 샴푸, 린스, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 및 바디클린저의 제형을 포함한다.

[0039] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽

게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0040] **<실시예 1> 황칠나무 메탄올 추출물 제조 및 테트라데칸올의 분리**

[0041] **1-1. 황칠나무 메탄올 추출물 제조**

[0042] 황칠 건잎 1.3kg을 100% MeOH을 이용하여 60 ℃에서 3시간동안 용매 추출을 하였다. 상기 추출된 메탄올 추출물을 감압 농축하여 96.0g의 황칠나무 메탄올 농축액을 얻었다.

[0043] **1-2. 황칠나무 분획물의 제조**

[0044] 상기 1-1에서 얻어진 농축액을 물로 충분히 현탁하여 2배 부피의 헥산(Hexane)으로 1차 용매이행을 3회 수행하여 물층과 헥산층(Hexane ext. 35.2g)으로 분리하였다. 물층을 다시 2배 부피의 클로로포름(chloroform, $CHCl_3$)으로 2차 용매이행을 3회 수행하여 물층과 클로로포름층($CHCl_3$ ext. 8.1g)을 확보하였다. 물층을 다시 2배 부피의 에틸아세테이트(ethyl acetate, EtOAc)로 3차 용매이행을 3회 수행하여 물층과 에틸아세테이트층(EtOAc ext. 810.4mg)을 확보하였다. 마지막으로 물층을 n-부탄올(n-butanol)로 4차 용매이행을 3회 수행하여 부탄올층(n-BuOH ext. 17.44g)을 확보하였다.

[0045] **1-3. 황칠 헥산층에서 유효성분의 분리**

[0046] 헥산층(Hexane ext. 35.2g)에서 18g 덜어내어 오픈 컬럼 실리카겔 크로마토크래피(open column silica gel chromatography)를 시행하여 7개의 소분획물(sub fract)을 얻었다. 이 때 사용된 용매는 헥산(Hexane) : 아세톤(Acetone)을 100:1에서 1:1(W/V)의 비율로 하였다. 7개의 소분획물(sub fract)중 5번째 분획물인 H-5(1.7223g)를 오픈 컬럼 실리카겔 크로마토크래피를 실시하여 모두 9개의 소분획물(sub-fract)을 얻었다. 그 중 메이저 스팟(major spot)이 있는 4번째 분획(H-5-4, 30mg)을 상온에서 밤새 아세톤에 녹여, H-5-4-1(6mg)(테트라데칸올, tetradecanol)을 얻었다.

[0047] **1-4. NMR을 이용한 구조 동정**

[0048] 상기 1-3에서 침전에 의해 얻어진 물질, H-5-4-1(6mg)을 Agilent NMR (400Mhz)을 이용하여 ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR 스펙트럼을 측정하여 1-테트라데칸올(tetradecanol)의 구조를 동정하였다(도 3).

[0049] **<실시예 2> 황칠나무 열수추출물의 제조**

[0050] 황칠건잎 30kg을 100 ℃에서 황칠건잎에 대한 10배수의 물을 넣어 3시간 동안 끓인 후, 추출액 및 고상 잔류물을 수득하였다. 수득된 추출액을 16brix에 맞추어 감압농축하여 5.47kg의 황칠나무 열수추출물을 얻었다.

[0051] **<실시예 3> 황칠나무 헥산추출물의 제조**

[0052] 황칠 건잎 200g을 헥산을 이용하여 상온에서 밤새(overnight) 용매 추출을 하였다. 3회 반복 후 상기 추출된 헥산 추출물을 감압 농축하여 13.5g의 황칠나무 헥산 농축액을 얻었다.

[0053] **<실험예 1> 미백효과 실험**

[0054] **1-1. 티로시나제 저해 활성 측정**

[0055] 96 well plate에 pH 6.8, 0.1 M potassium phosphate buffer 220 와 각 시료(코직산, 실시예 2의 열수추출물, 실시예 3의 헥산추출물, 실시예 1에서 분리된 테트라데칸올) 20 를 첨가한 후, enzyme solution (tyrosinase 2 unit/) 20 와 기질액 (0.03% tyrosine) 40 를 첨가하였다. 그 후, 37℃ incubator에서 15분간 반응 후, ELISA

rerder기를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0056] 테트라데칸올(tetradecanol)의 티로시나제 저해 활성 효과를 확인하기 위해 코직산을 양성 대조군으로 사용하였으며, 황칠나무 열수추출물, 황칠나무 헥산추출물과 그 효과를 비교하였다.

[0057] 그 결과, 단일물질인 테트라데칸올(tetradecanol)이 황칠나무 열수추출물, 황칠나무 헥산추출물에 비해서 티로시나제 저해 효과가 우수한 것으로 나타났다(도 4).

[0058] **1-2. 멜라닌 생성 저해 측정**

[0059] 쥐(Mus musculus)의 B16F10 흑색종 세포주를 6 well plate에 5 X 10^4cells/ml 이 되도록 준비한 후 37℃ 항온기에서 배양하였다. 24시간 후 멜라닌 생합성 유도물질인 50nM α-MSH가 있는 배지 조건에 각 시료(황칠나무 열수추출물, 황칠나무 헥산추출물, 테트라데칸올)를 농도별로 처리하고 72시간 동안 37℃, 5% CO2배양기에서 배양하였다. 양성대조군으로 알부틴을 사용하였다. 세포를 PBS로 2회 세척한 후 수확된 세포에 5 mM EDTA와 1% triton X-100을 함유한 0.1 M 인산나트륨 완충 용액(pH 6.8) 500 를 처리하고 4 ℃ 원심분리기에서 15,000 rpm으로 20min 동안 원심분리하여 분리된 침전물에 10% DMSO를 함유한 1N NaOH 용액을 첨가하고 65℃ 항온 수조에서 2시간 동안 멜라닌을 용해시킨 후 microplate reader로 405nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0060] 그 결과, 단일물질인 테트라데칸올(tetradecanol)이 황칠나무 열수추출물, 황칠나무 헥산추출물에 비해서 멜라닌 생성 억제 효과가 우수한 것으로 나타났다(도 5a, 5b).

[0061] **<실험예 2> 누드 마우스를 이용한 보습효과 실험**

[0062] 시험물질을 수컷의 HR-1 mouse 10마리의 등에 도포 후, 2시간, 4시간, 6시간, 8시간 간격으로 경피 수분 손실량을 측정하였다. 상기 시험물질로 40% 프로필렌글리콜에 1% 황칠나무 열수추출물, 1% 황칠나무 헥산추출물, 1% 테트라데칸올을 희석하여 사용하였다.

[0063] 표피피부기능측정시스템인 Tewameter (Corage & Khazaka electronic GmbH, German)에 TM300 probe를 연결하여 센서를 표피면 (mm^2)에 접지후 10번 반복치의 평균값을 기준으로 채택하여 표피의 수분손실량을 측정하였다. 측정 장소는 실내온도 20~22℃, 습도 40~60%가 유지하는 조건에서 유발 부위를 측정 후 개체의 수치로 산출하였다. 피부표면에서 공기중으로 수분이 Fick의 법칙에 의해서 확산하는 것에 의하여 증기압을 구하여 표피로부터 수분 손실량을 산정하였다.

[0064] dm/dt ($g/m^2/h$) = $-DA\, dp/dx$, A = surface in m^2, m = water transported (in g), t = time (h) D = diffusion constant (=0.0877 g/ (m × h × mm Hg)) p = vapour pressure of the atmosphere (mm Hg) x = distance from the skin surface to point of measurement (m)

[0065] 그 결과, 단일물질인 테트라데칸올(tetradecanol)이 황칠나무 열수추출물, 황칠나무 헥산추출물에 비해서 수분 손실량이 적어 보습 효과가 우수한 것으로 나타났다(도 6).

[0066]

[0067] **<실험예 3> 세포 생존율 측정**

[0068] B16F10 세포를 3 X 10^4 cells/well 농도로 96 well plate에 분주하고 24시간 후에 각 시료(황칠나무 열수추출물, 황칠나무 헥산추출물, 테트라데칸올)를 처리하고 48시간 동안 배양하였다. MTT 용액을 첨가하고 4시간 후 배지를 제거하여 PBS로 1회 세척하였다. DMSO를 처리하고 상온에 30분동안 둔 후에 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0069] 그 결과, 양성대조군으로 사용한 알부틴과 마찬가지로 테트라데칸올(tetradecanol), 황칠나무 열수추출물, 황칠나무 핵산추출물 모두에서 세포 독성을 나타내지 않았다(도 7).

[0070] **< 제제예 1 > 화장수의 제조**

[0071] 상기 실시예 1에서 제조한 테트라데칸올을 함유한 화장수의 성분 구성을 표 1에 나타내었다. 화장수의 제조는 당업계의 통상적인 방법에 따라 제조하였다.

표 1

[0072]

	원료	함량(중량 %)
1	테트라데칸올	5.0
2	글리세린	3.0
3	부틸렌 글리콜	2.0
4	프로필렌 글리콜	2.0
5	폴리옥시에칠렌(60)경화 피마자유	1.0
6	에탄올	10.0
7	트리에탄올아민	0.1
8	방부제	미량
9	색소	미량
10	향료	미량
11	정제수	잔량
		100

[0073] **< 제제예 2 > 로션의 제조**

[0074] 상기 실시예 1에서 제조한 테트라데칸올을 함유한 로숀의 성분 구성을 표 2에 나타내었다. 로션의 제조는 당업계의 통상적인 방법에 따라 제조하였다.

표 2

[0075]

	원료	함량(중량 %)
1	테트라데칸올	5.0
2	시토 스테롤	1.7
3	폴리글리세릴 2-올레이트	1.5
4	세라마이드	0.7
5	세테아레스-4	1.2
6	콜레스테롤	1.5
7	디세틸포스페이트	0.4
8	글리세린	5.0
9	선플라우어오일	10
10	카르복시비닐폴리머	0.2
11	산탄검	0.3
12	트리에탄올아민	0.2
13	방부제	미량
14	향료	미량
15	정제수	잔량
		100

[0076]

[0077] **< 제제예 3 > 크림의 제조**

[0078] 상기 실시예 1에서 제조한 테트라데칸올을 함유한 크림의 성분 구성을 표 3에 나타내었다. 크림의 제조는 당업계의 통상적인 방법에 따라 제조하였다.

표 3

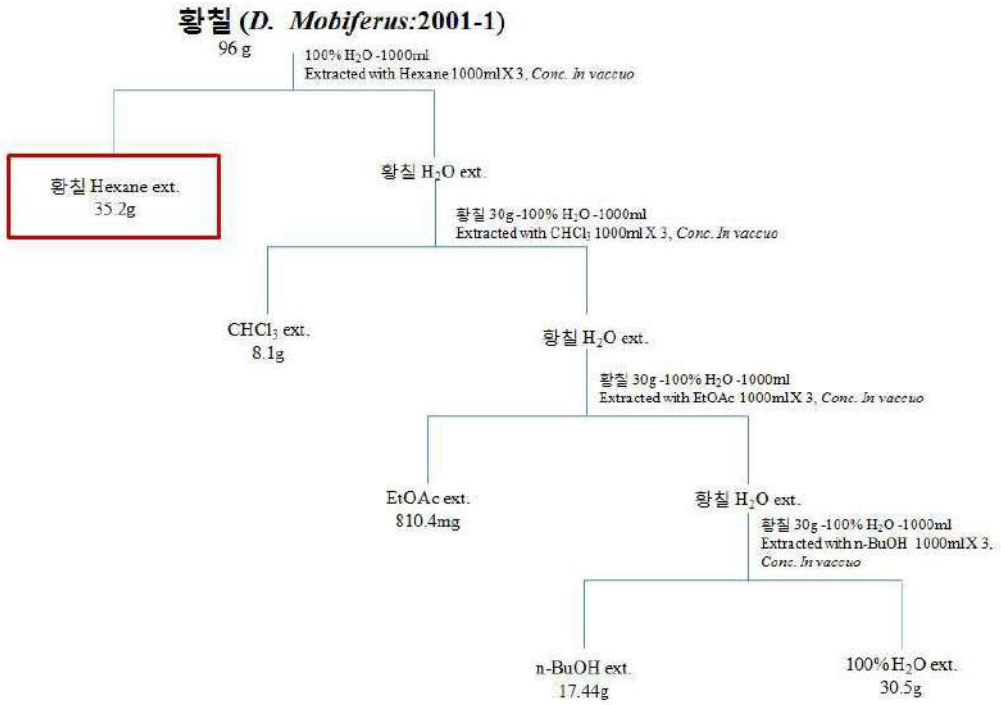
[0079]

	원료	함량(중량 %)
1	테트라데칸올	5.0
2	시토 스테롤	4.0
3	폴리글리세릴 2-올레이트	3.0
4	세라마이드	0.7

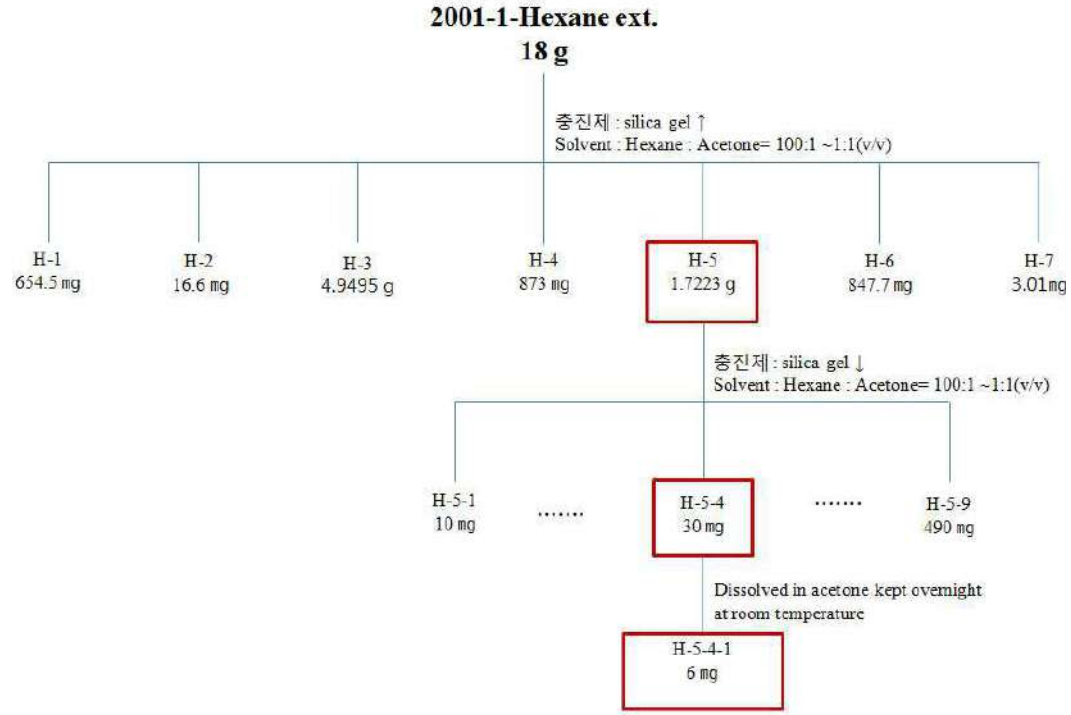
5	세테아레스-4	2.0
6	콜레스테롤	3.0
7	디세틸포스페이트	5.0
8	글리세린	5.0
9	선플라우어오일	22
10	카르복시비닐폴리머	0.5
11	트리에탄올아민	0.5
12	방부제	미량
13	향료	미량
14	정제수	잔량
		100

도면

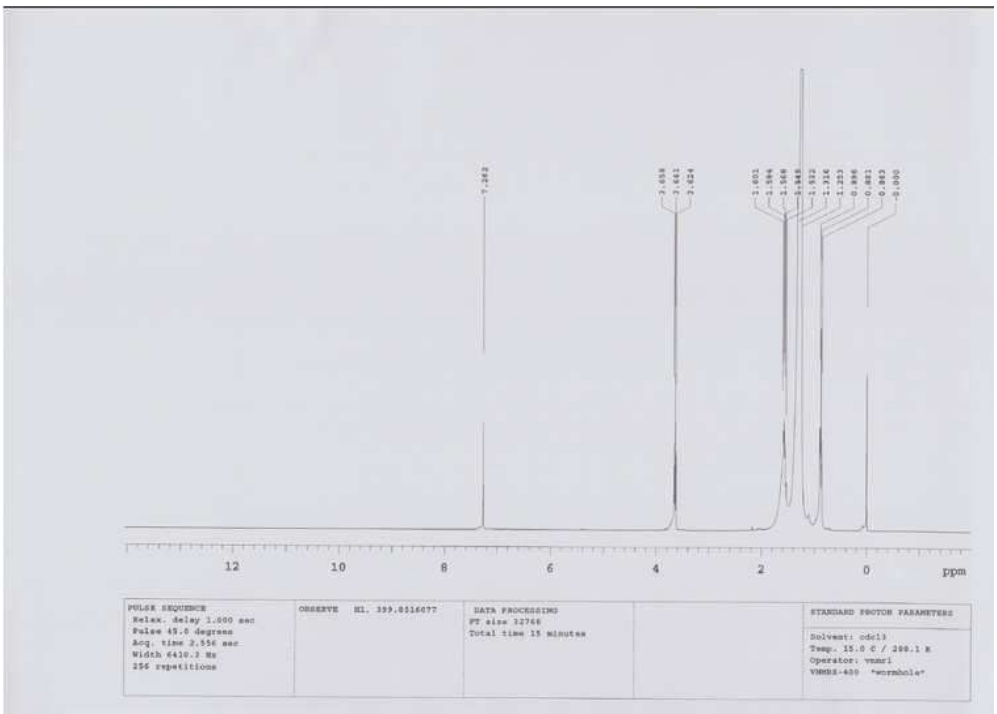
도면1



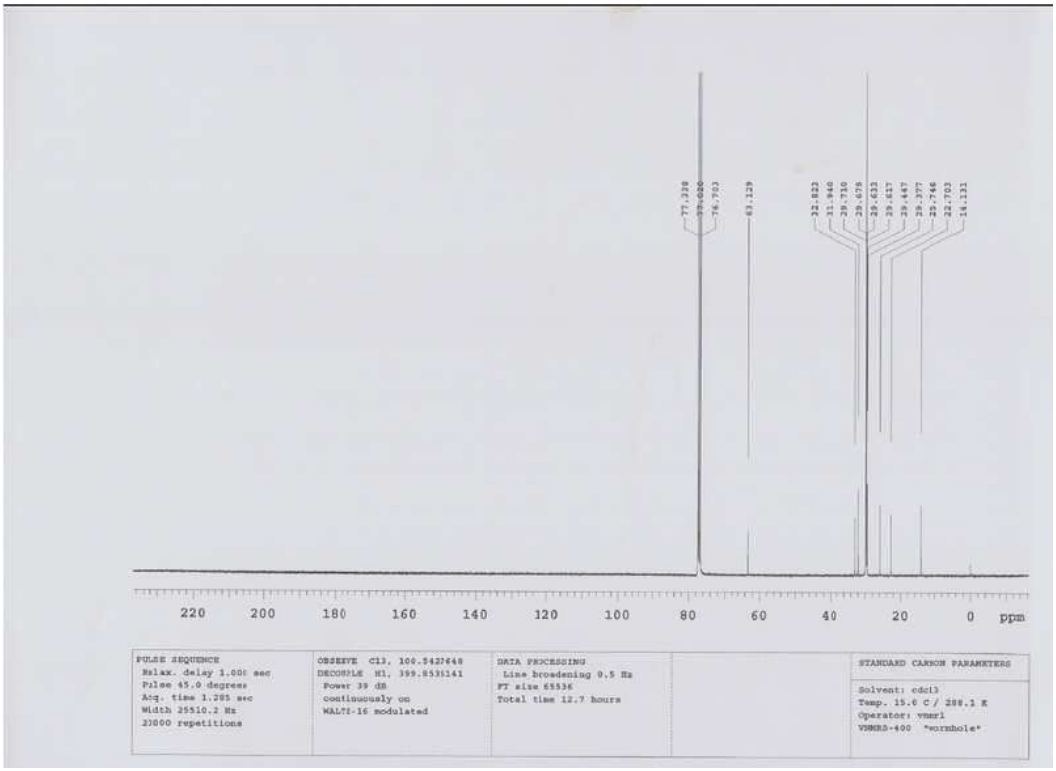
도면2


2001-1-Hexane ext.
18 g
충진제 : silica gel ↑
Solvent : Hexane : Acetone= 100:1 ~1:1(v/v)
H-1
654.5 mg
H-2
16.6 mg
H-3
4.9495 g
H-4
873 mg
H-5
1.7223 g
H-6
847.7 mg
H-7
3.01mg
충진제 : silica gel ↓
Solvent : Hexane : Acetone= 100:1 ~1:1(v/v)
H-5-1
10 mg
.....
H-5-4
30 mg
.....
H-5-9
490 mg
Dissolved in acetone kept overnight
at room temperature
H-5-4-1
6 mg

도면3a

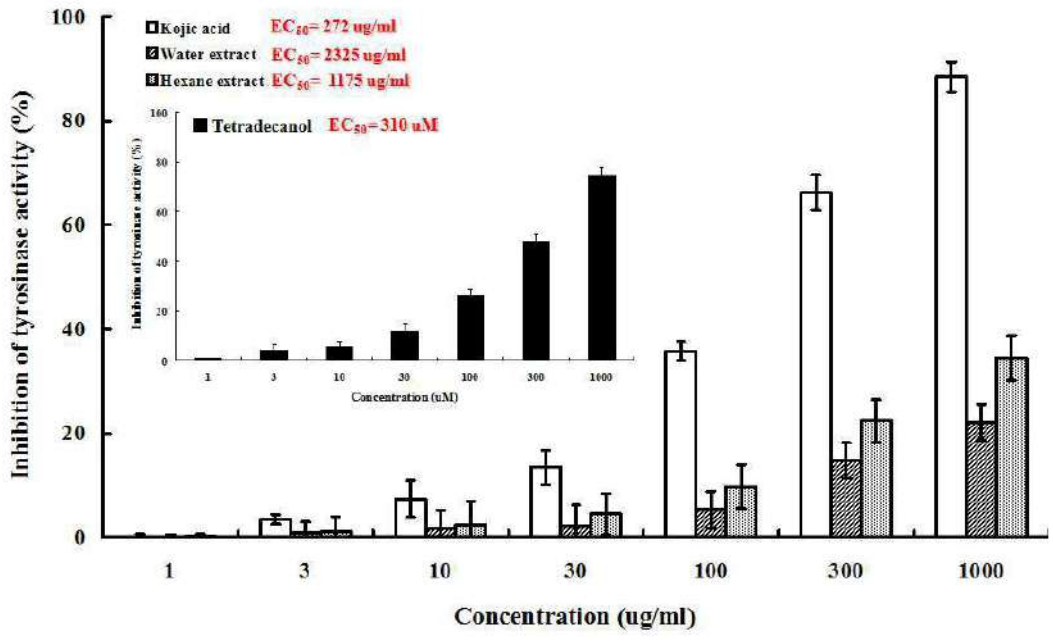

12
10
8
6
4
2
0
ppm

도면3b

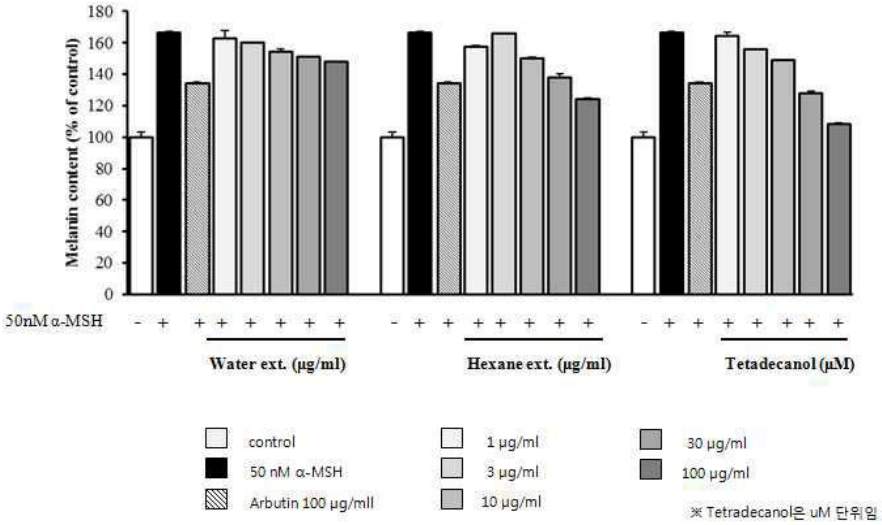


도면3c

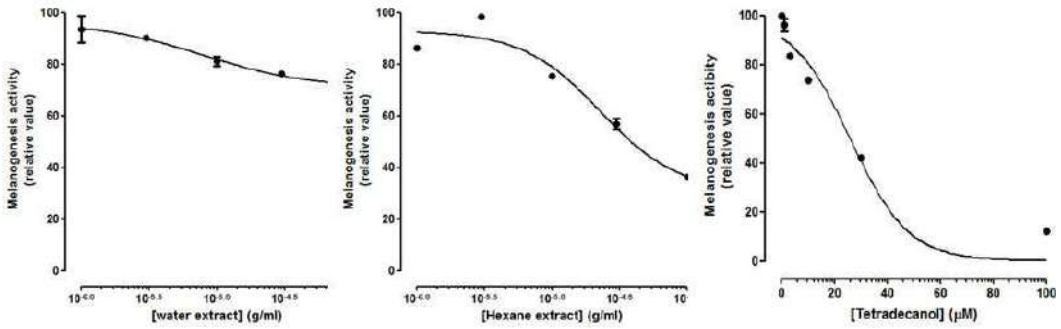
도면4



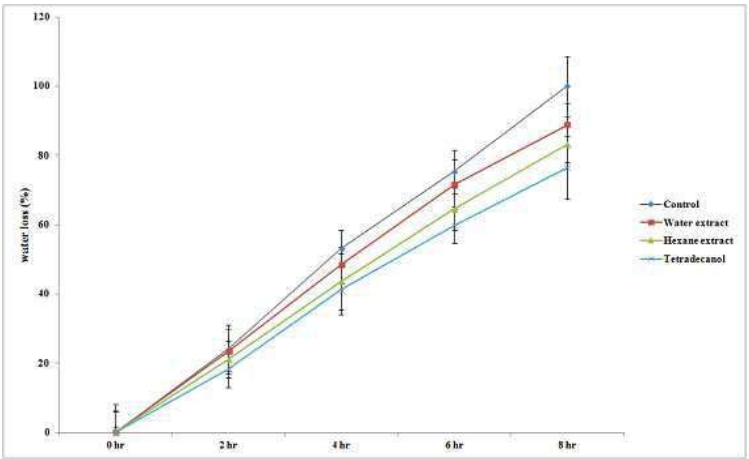
도면5a



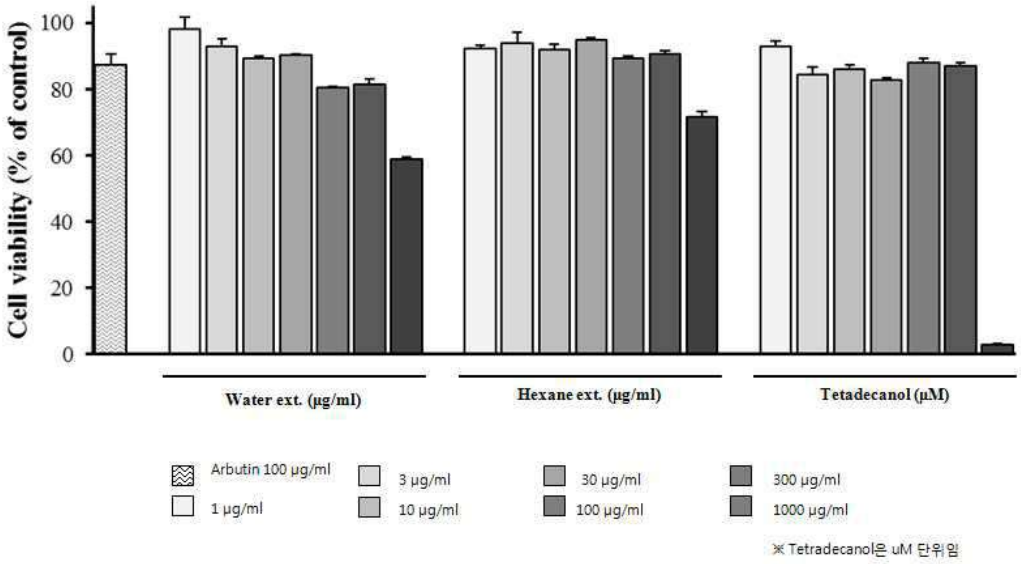
도면5b



도면6



도면7


Cell viability (% of control)
100
80
60
40
20
0
Water ext. (μg/ml)
Hexane ext. (μg/ml)
Tetadecanol (μM)
Arbutin 100 μg/ml
1 μg/ml
3 μg/ml
10 μg/ml
30 μg/ml
100 μg/ml
300 μg/ml
1000 μg/ml
※ Tetradecanol은 uM 단위임