



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

(45) 공고일자 2014년09월17일  
 (11) 등록번호 10-1440061  
 (24) 등록일자 2014년09월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 31/575* (2006.01) *A61K 36/25* (2006.01)  
*A61P 17/14* (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2013-0153827  
 (22) 출원일자 2013년12월11일  
 심사청구일자 2013년12월11일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 KR1020120128474 A\*  
 KR1020110001290 A\*  
 B. Y. PARK et al, Isolation and anticomplement activity of compounds from *Dendropanax morbifera*, Journal of Ethnopharmacology, 2004, Vol. 90, pp. 403-408\*  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
**재단법인 전남생물산업진흥원**  
 전남 나주시 동수농공단지길 30-5, (동수동)  
 (72) 발명자  
**김선오**  
 광주광역시 북구 양일로 52-1, 201동 1003호(연제동, 연제2차 대주피오레)  
**배동혁**  
 전라남도 화순군 화순읍 오성로 558, 303동 1106호(서라3차아파트)  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
**특허법인유아이피**

전체 청구항 수 : 총 3 항

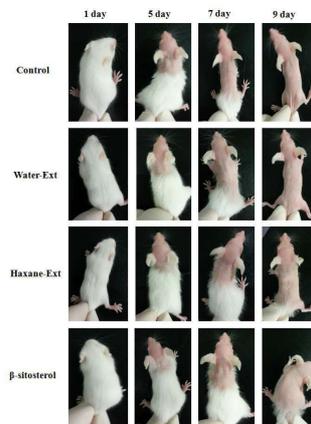
심사관 : 최영희

(54) 발명의 명칭 **황칠나무로부터 분리한 베타-시토스테롤을 유효성분으로 포함하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물**

**(57) 요약**

본 발명은 황칠나무로부터 분리한 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)을 유효성분으로 포함하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물에 관한 것이다. 또한 본 발명은 황칠나무로부터 정제수를 포함한 물, C1 내지 C4의 저급 알콜, 핵산 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 베타-시토스테롤을 제조하는 3단계로 이루어지는 베타-시토스테롤의 제조방법에 제공한다. 상기 발모촉진 및 탈모방지용 조성물은 발모촉진, 탈모방지 효과를 가지므로, 대머리 질환, 원형탈모의 치료와 탈모방지를 위한 탈모방지제 및 발모촉진제로 유용하게 이용될 수 있다.

**대표도** - 도6a



(72) 발명자

**최은진**

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

**김지혜**

전남 장흥군 장흥읍 북부로 80, B동 201호 (동국빌  
라)

**최철웅**

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

**이동욱**

전라남도 장흥군 장흥읍 북부로 39, 203호(수창아  
트빌아파트)

---

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

삭제

**청구항 2**

삭제

**청구항 3**

삭제

**청구항 4**

삭제

**청구항 5**

삭제

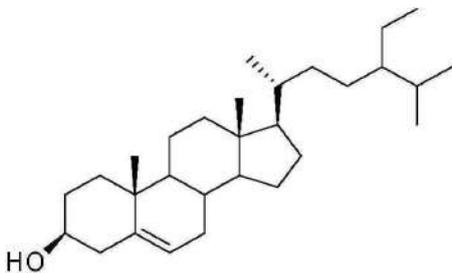
**청구항 6**

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

상기 1단계에서 제조된 황칠나무 추출물에 헥산을 이용하여 1차\_용매이행을 3회 수행하여 황칠나무 헥산층과 물층으로 분리하는 2단계; 및

상기 2단계에서 분리된 황칠나무 헥산층을 크로마토그래피로 분리 및 정제하여 베타-시토스테롤을 제조하는 3단계로 이루어지는 하기 화학식 1로 표시되는 베타-시토스테롤을 포함하는 발모촉진 및 탈모방지용 피부 외용제 조성물의 제조방법.

[화학식 1]



**청구항 7**

삭제

**청구항 8**

제6항에 있어서,

상기 1단계에서 제조된 황칠나무 추출물은 메탄올 추출물인 것을 특징으로 하는 베타-시토스테롤을 포함하는 발모촉진 및 탈모방지용 피부 외용제 조성물의 제조방법.

**청구항 9**

제6항에 있어서,

상기 3단계의 황칠나무 핵산층을 크로마토그래피로 분리 및 정제하는 단계에서 헥산(Hexane):아세톤(Acetone)을 100:1 ~ 1:1의 부피비로 혼합한 용매를 사용하는 것을 특징으로 하는 베타-시토스테롤을 포함하는 발모촉진 및 탈모방지용 피부 외용제 조성물의 제조방법.

**청구항 10**

삭제

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 황칠나무로부터 분리한 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)을 유효성분으로 포함하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 인체의 모발은 약 10~15만개 정도로, 각각의 모발은 서로 다른 주기를 거쳐 성장, 퇴화를 반복하게 된다. 모발은 성장하는 성장기(Anagen), 성장기가 끝나고 모발의 형태를 유지하면서 대사과정이 느려지는 퇴행기(Catagen) 및 모유두가 위축되고 모낭이 차츰 위축되어 모근이 위쪽으로 밀려 올라가 모낭이 작아지는 휴지기(Telogen)의 3단계의 주기를 반복한다.

[0003] 이러한 모발의 주기 및 수명은 영양상태, 병력, 유전, 체질, 호르몬 분비 또는 노화 등의 다양한 조건에 따라 변화할 수 있으며, 탈모증 환자의 경우, 성장기 모발이 퇴행기와 휴지기로 이행하여 성장기 비율이 낮아져 비정상적으로 탈락하는 모발이 많아지고 모낭이 위축되어 소실되는 현상을 관찰할 수 있다.

[0004] 탈모의 가장 큰 원인으로는 보통 유전적 원인과 남성호르몬을 들 수 있다. 탈모는 일단 유전적 소인이 있어야 하고, 그 발현 여부는 남성 호르몬에 의해 좌우된다. 탈모와 관계된 남성호르몬은 5 알파-환원효소에 의해 활성화되는 디하이드로테스토스테론(DHT)이 있으며, 그 외에도 스트레스, 질병, 출산, 식생활의 변화, 불규칙한 생활, 혈행 순환 장애, 감염성 염증 및 과산화물 등이 탈모에 관여한다고 알려져 있다.

[0005] 최근에는 낮은 연령층과 여성들에게도 탈모 증상이 나타나고 있어, 탈모 인구가 점차 늘어나고 있다. 이에 대해, 다양한 외용제가 사용되고 있는데, 미국 FDA의 승인을 받은 미녹시딜(Minoxidil)은 모세혈관 확장 기능이 있어 두피에 바르므로써 탈모를 방지하지만, 매일 2회씩 지속적으로 발라야 하고, 3~4시간 동안 약제가 두피에 머무르도록 해야만 효과가 나타나며, 가려움증, 자극 등의 부작용이 있다.

[0006] 또한, FDA의 승인을 받은 내복약인 피나스테라이드(finasteride)는 탈모를 유발하는 남성 호르몬인 DHT(5 $\alpha$ -dihydrotestosterone)의 생성을 억제하며, 6개월에서 1년 정도 복용 시 발모 또는 탈모억제 효과가 있으나, 복용을 중단하면 2개월 안에 원상태로 돌아가는 문제점이 있다. 또한, 부작용으로는 성욕감퇴, 발기부전 등의 성기능 감퇴 등을 들 수 있으며 여성은 기형아 출산 위험이 있기 때문에 복용을 제한하고 있다.

[0007] 한편, 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 보도되고 있다.

[0008] 상기와 같은 부작용을 없애기 위해 인체에 무해한 식물 추출물을 이용하여 두피에 바르거나 복용함으로써 발모를 촉진시키려는 시도가 이루어지고 있다. 이에 본 발명자는 발모촉진이나 탈모방지에 효과가 뛰어난 천연물에 대한 연구를 수행한 결과, 황칠나무에서 분리한 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)이 발모촉진 및 탈모방지 효과를 보이는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

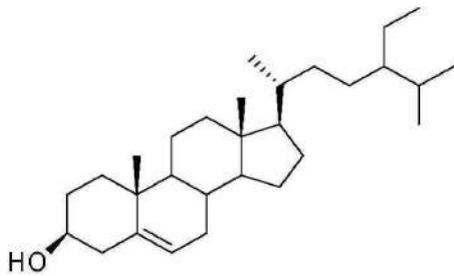
[0009] 본 발명의 목적은 황칠나무로부터 분리한 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)을 유효성분으로 포함하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물을 제공하기 위한 것이다.

**과제의 해결 수단**

[0010] 본 발명은 황칠나무로부터 분리한 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)을 유효성분으로 포함하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물에 관한 것이다.

[0011] 본 발명에서, 상기 베타-시토스테롤은 하기 화학식 1로 표현되는 것을 특징으로 한다.

[0012] [화학식 1]

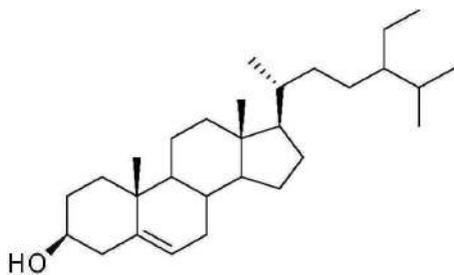


[0013] 본 발명에서, 상기 황칠나무 추출물은 정제수를 포함한 물, C1 내지 C4의 저급 알콜, 헥산 또는 이들의 혼합용매에 의해 추출되는 것을 특징으로 한다.

[0014] 본 발명에서 상기 조성물은 피부 외용제 제형이며, 상기 피부 외용제 제형은 헤어토닉, 헤어로션, 헤어크림, 헤어스프레이, 헤어무스, 헤어젤, 헤어컨디셔너, 헤어샴푸, 헤어린스, 헤어팩, 헤어트리트먼트, 눈썹발모제, 속눈썹발모제, 속눈썹영양제, 애완동물용 샴푸 또는 애완동물용 린스의 제형인 특징으로 한다.

[0015] 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 베타-시토스테롤을 제조하는 3단계로 이루어지는 하기 화학식 1로 표시되는 베타-시토스테롤의 제조방법에 관한 것이다.

[0016] [화학식 1]



[0017] 본 발명에서, 상기 2단계의 계통분획은 상기 1단계에서 제조된 황칠나무 추출물을 물로 현탁한 후, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올로 계통분획을 실시하는 것을 특징으로 한다.

[0018] 본 발명에서, 상기 1단계에서 제조된 황칠나무 추출물은 메탄올 추출물인 것을 특징으로 한다.

[0019] 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.

[0020] 본 발명에서, 상기 황칠나무 분획물은 헥산을 이용하여 1차 용매이행을 3회 수행하여 얻어진 헥산층(hexane ext.)인 것을 특징으로 한다.

**발명의 효과**

[0021] 본 발명의 황칠나무로부터 분리한 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)을 유효성분으로 포함하는 발모촉진 및 탈모 방지용 조성물은 발모촉진, 탈모방지 효과를 가지므로, 대머리 질환, 원형탈모의 치료와 탈모방지를 위한 탈모 방지제 및 발모촉진제로 유용하게 이용될 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

[0022] 도 1은 황칠나무 건잎에서 황칠나무 농축액을 제조하는 과정(도 1a)과 제조된 황칠나무 농축액에서 황칠나무 유용매 분획물을 제조하는 과정(도 1b)을 나타낸다.

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

도 3은 GC-MS (shimaduz ??5000)을 이용하여 황칠나무에서 분리한 유효성분을 분석한 것이다.

도 4는  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ 을 측정하여 황칠나무에서 분리한 유효성분의 구조를 동정한 것이다.

도 5는 황칠나무에서 분리한 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)의 구조를 나타낸 것이다.

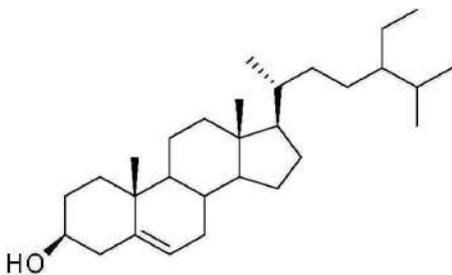
도 6은 마우스를 이용하여 황칠나무에서 분리한 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)의 발모촉진 및 탈모방지 효과를 나타낸 것이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0023] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0024] 본 발명의 발모촉진 및 탈모방지용 조성물은 황칠나무(*Dendropanax morbifera* Lev.)의 건잎 추출물로부터 분리된 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)을 유효성분으로 포함한다. 상기 황칠 나무 추출물로부터 분리된 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)은 하기 화학식 1로 표시되는 1-베타-시토스테롤이다.

[0025] [화학식 1]



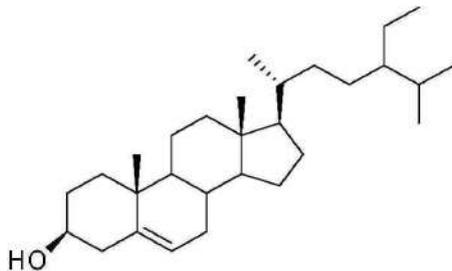
[0026] 상기 황칠나무 추출물로부터 분리된 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)을 유효성분으로 포함하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물은 마우스를 이용한 모의 성장속도 및 모발수의 증가량을 측정하는 실험에서 우수한 탈모 예방 효과 및 발모 촉진효과를 나타내어(도 6참조), 대머리 질환 및 원형탈모의 치료와 탈모방지를 위한 탈모방지제 및 발모촉진제로 유용하게 이용될 수 있다.

[0027] 황칠나무로부터 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)은 다음과 같은 3단계를 통해서 취득될 수 있다.

[0028] 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 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)을 제조하는 3단계에 의해 취득될 수 있다.

- [0029] 상기 황칠나무로부터 황칠나무 추출물을 제조하는 1단계를 구체적으로 설명하면 다음과 같다(도 1a 참조).
- [0030] 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.
- [0031] 상기 황칠나무 추출물로부터 계통분획을 실시하여 황칠나무 분획물을 제조하는 2단계를 구체적으로 설명하면 다음과 같다(도 1b 참조).
- [0032] 먼저 1단계에서 얻어진 황칠나무 농축액을 물로 충분히 현탁한 후, 헥산을 이용하여 1차 분획을 실시하여 물층과 헥산층(Hexane ext.)으로 분획한다. 상기 1차 분획된 물층을 클로로포름을 이용하여 물층과 클로로포름층(CHCl<sub>3</sub> ext.)으로 2차 분획한다. 상기 2차 분획된 물층을 에틸아세테이트를 이용하여 물층과 에틸아세테이트층(EtOAc ext.)으로 3차 분획한다. 마지막으로, 3차 분획된 물층을 butanol(n-부탄올)을 이용하여 물층과 부탄올층으로 분획한다.
- [0033] 상기 황칠나무 분획물을 크로마토그래피로 분리, 정제한 후 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)을 제조하는 3단계를 구체적으로 설명하면 다음과 같다(도 2 참조).
- [0034] 상기 2단계에서 1차 분획에 의해 얻은 헥산층을 실리카겔로 충전시킨 크로마토그래피에 로딩한 후, 헥산(Hexane):아세톤(Acetone)을 100:1에서 1:1(V/V)의 비로 혼합한 용매를 사용하여, 용출된 다수의 1차 소분획물, 보다 구체적으로 7개의 1차 소분획물을 얻는다. 상기 다수의 1차 소분획물 중에서 하나를 골라 크로마토그래피를 실시하여 다시 다수의 2차 소분획물, 보다 구체적으로 4개의 2차 소분획물을 얻는다. 상기 다수의 2차 소분획물 중에서 하나를 골라 다시 크로마토그래피를 실시하여 유효성분인 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)이 수득될 수 있다. 이렇게 얻어진 유효성분은 <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, GC-MS를 이용하여 분자구조를 결정할 수 있으며(도 3, 도 4a, 도 4b 및 도 5 참조), 그 구조는 하기의 화학식 1과 같다.

[0035] [화학식 1]



- [0036] 본 발명의 상기 발모촉진 및 탈모방지용 조성물은 약제학적 또는 화장학적으로 허용되는 담체를 추가로 함유하여, 크림, 로션, 토닉, 스프레이, 에어로졸, 오일, 용액, 현탁액, 젤, 연고, 에멀전, 페이스트 등의 통상적인 제형으로 제조될 수 있다. 본 발명의 조성물은 통상 기제(基劑)를 함유하고, 필요에 따라서 일반적으로 의약품 또는 화장품 원료로서 사용되는 기타 성분이 적절히 배합될 수 있다. 본 발명의 조성물의 기제로는 정제수, 미네랄 워터, 에탄올, 글리세린, 스쿠알렌, 1,3-프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 피마자유, 츠바키유 및 리퀴드 페트롤레이텀(liquid petrolatum)을 포함한다. 본 발명의 조성물에 배합되는 기타 성분의 예는 계면활성제, 유화제, 증점제, 방부제(예를 들어, 파라옥시안식향산메틸), 산화방지제, 향료 등을 포함하며, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0037] 본 발명의 조성물에는 상기 성분 이외에도 모낭에 영양소를 공급하는 역할을 할 수 있는 성분이나 통상적으로 사용되는 모발성장 촉진 보조성분을 포함할 수 있으며, 예를 들면 비타민류, 아미노산류, 동식물유, 염화나트륨 등이 있으며, 이들로 한정되는 것은 아니다. 이들의 양은 전체 조성물의 0.0001 내지 10 중량 %, 특히 0.01 내지 1 중량 %가 바람직하다. 이 경우 비타민류는 비타민 A, 비타민 B1, 비타민 B2, 나이아신(니코틴산), 비타민 C, 비타민 E, 판토텐산 나트륨, 판토텐산 칼륨, 비오틴 H(비타민 H) 등을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 동식물유는 마유, 난유, 올리브유, 동백유, 유채기름, 참기름, 배아유 등을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다.
- [0038] 본 발명의 조성물은 피부 외용제 제형으로 모발 또는 두피에 직접 도포 또는 산포하는 등의 방법에 의해 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물이 적용되는 모발이란, 머리의 모근 및 모낭, 머리카락 및 속눈썹과 겉눈썹, 수염,

겨드랑이, 음모, 신체 전반에 모근 및 모낭이 있는 모든 부위를 포함한다. 따라서 본 발명은 헤어토닉, 헤어로션, 헤어크림, 헤어스프레이, 헤어무스, 헤어젤, 헤어컨디셔너, 헤어샴푸, 헤어린스, 헤어팩, 헤어트리트먼트, 눈썹발모제, 속눈썹발모제 또는 속눈썹영양제, 또는 애완동물용 샴푸 및 애완동물용 린스로 사용될 수 있다.

[0039] 본 발명에 따른 조성물의 용량은 성별, 연령, 탈모증세, 모발상태 등을 고려하여 적절히 결정될 수 있다. 본 발명에 따른 발모촉진 및 탈모방지 기능이 있는 베타-시토스테롤( $\beta$ -sitosterol)은 피부 외용제로 화장품과 의약품의 원료로 첨가될 수 있다. 이때, 베타-시토스테롤은 피부 외용제 조성물의 건조 중량에 대하여 0.0001~10 중량 %, 바람직하게는 0.001~5 중량 % 로 첨가하는 것이 바람직하다.

[0040] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나, 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0041] <실시예 1> 황칠나무 메탄올 추출물 제조 및 베타-시토스테롤의 분리

[0042] 1-1. 황칠나무 메탄올 추출물 제조

[0043] 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.

[0044] 1-2. 황칠나무 분획물의 제조

[0045] 실시예 1-1에서 얻어진 황칠나무 메탄올 농축액을 물로 충분히 현탁하여 2배 부피의 헥산(Hexane)으로 1차 용매이행을 3회 수행하여 물층과 헥산층(Hexane ext. 35.2g)으로 분리하였다. 상기 1차 용매이행에 의해 얻어진 물층을 다시 2배 부피의 클로로포름(chloroform,  $\text{CHCl}_3$ )으로 2차 용매이행을 3회 수행하여 물층과 클로로포름층( $\text{CHCl}_3$  ext. 8.1g)을 확보하였다. 상기 2차 용매이행에 의해 얻어진 물층을 다시 2배 부피의 에틸아세테이트(ethyl acetate, EtOAc)로 3차 용매이행을 3회 수행하여 물층과 에틸아세테이트층(EtOAc ext. 810.4mg)을 확보하였다. 마지막으로 상기 2차 용매이행에 의해 얻어진 물층을 n-부탄올(n-butanol)로 4차 용매이행을 3회 수행하여 부탄올층(n-BuOH ext. 17.44g)을 확보하였다.

[0046] 1-3. 황칠 헥산층에서 유효성분의 분리

[0047] 실시예 1-2에서 얻어진 헥산층(Hexane ext. 35.2g)에서 18g 덜어내어 오픈 컬럼 실리카겔 크로마토그래피(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(V/V)의 비율로 하였다. 7개의 소분획물(sub- fract)중 6번째 분획물인 H-6(847.7mg)을 오픈 컬럼 실리카겔 크로마토그래피를 실시하여 모두 4개의 소분획물(sub-fract)을 얻었다. 4개의 소분획물(sub-fract)중에서 1번째 소분획물인 H-6-1(98.6 mg)을 다시 실리카겔을 이용한 오픈 컬럼 실리카겔 크로마토그래피를 실시하여 소분획물인 H-6-1-5(10 mg)와 H-6-1-6(4.3 mg)의 두 개의 물질을 얻을 수 있었다.

[0048] 1-4. NMR 및 GC-MS 를 이용한 구조 동정

[0049] 상기 실시예 1-3에서 얻어진 물질, H-6-1-5(6mg)을 GC-MS (shimaduz ??5000)을 이용하여 확인을 하였다(도 3 참조). 또한, 물질 구조 분석은  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  스펙트럼(Agilent-400Mhz) 1D data 분석을 통해 베타-시토스테롤의 구조를 동정하였다(도 4a, 도 4b 참조).

[0050] <실시예 2> 황칠나무 열수추출물의 제조

[0051] 황칠 건잎 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.

[0052] <실시예 3> 황칠나무 핵산추출물의 제조

[0053] 황칠 건잎 200g을 핵산을 이용하여 상온에서 밤새(overnight) 용매 추출을 하였다. 3회 반복 후 상기 추출된 핵산 추출물을 감압 농축하여 13.5g의 황칠나무 핵산 농축액을 얻었다.

[0054] <실험예> 마우스를 이용한 발모촉진 및 탈모방지 실험

[0055] 생후 13일의 모양의 발육 및 발모가 완료된 실험동물(수컷의 HR-1 mouse)에 탈모가 완료되는 생후 22일 까지, 총 9일 동안 하루에 1회 실험물질을 실험동물의 등 및 전신에 도포 하였다. 실험물질의 흡수를 위해 도포 후, 2 시간 동안 모체와 분리하였으며 물리적 탈모를 방지하기 위해 이유 후에 개체별로 격리 사육하였으며, 실험물질 도포 후, 9일 동안 실험동물의 탈모 상태를 비교 관찰 하였다. 상기 실험물질로 40% 프로필렌글리콜에 1% 황칠나무 열수추출물, 1% 황칠나무 핵산추출물, 0.5% 베타-시토스테롤을 희석하여 사용하였다(표 1 참조).

표 1

[0056]

Group	실험물질	Sex	No. of animal
Control	40% propylene glycol	Male	10
Water extract	1% water extract in 40% propylene glycol	Male	10
Haxane extract	1% haxane extract in 40% propylene glycol	Male	10
β-sitosterol	0.5% β-sitosterol in 40% propylene glycol	Male	10

[0057] 그 결과, 도 6a를 살펴보면, 베타-시토스테롤을 도포한 실험동물(수컷의 HR-1 mouse)의 경우 대조군과, 황칠나무 열수추출물에 비해 유의적인 탈모방지 및 발모촉진 효과가 있음을 알 수 있었다.

[0058] 또한, 생후 18일째(실험물질 도포 6일째)에, 실험동물의 6번 흉추 부분에 디지털 마이크로스코프(Digital microscope, SCALAR, Japan)를 이용하여 1 mm<sup>2</sup>을 100배율로 촬영하여 각 개체별로 모발수를 비교 측정하였다. 그 결과, 도 6b를 살펴보면, 황칠나무 열수추출물의 경우, 대조군과 차이가 없었다. 그러나, 황칠나무 핵산추출물과 단일물질인 베타-시토스테롤(β-sitosterol)의 경우 모발수가 유의성 있게 증가한 것을 확인할 수 있었다.

[0059] <제형예 1> 헤어토닉의 제조

[0060] 상기 실시예 1에서 제조한 베타-시토스테롤을 함유한 헤어토닉의 성분 구성을 표 2에 나타내었다. 헤어토닉의 제조는 당업계의 통상적인 방법에 따라 제조하였다.

표 2

[0061]

	원료	함량(중량 %)
1	베타-시토스테롤	5.0
2	에탄올	55
3	피마자유	5.0
4	글리세린	3.0
5	피록톤아민	0.1
6	방부제	미량
7	향료	미량
8	정제수	잔량
		100

[0062] <제형예 2> 헤어로션의 제조

[0063] 상기 실시예 1에서 제조한 베타-시토스테롤을 함유한 헤어로션의 성분 구성을 표 3에 나타내었다. 헤어로션의 제조는 당업계의 통상적인 방법에 따라 제조하였다.

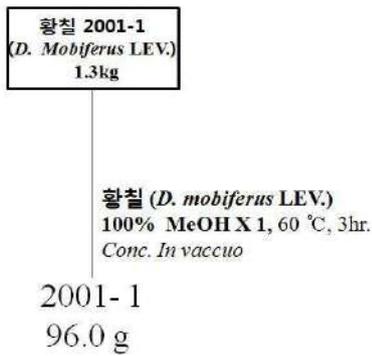
표 3

[0064]

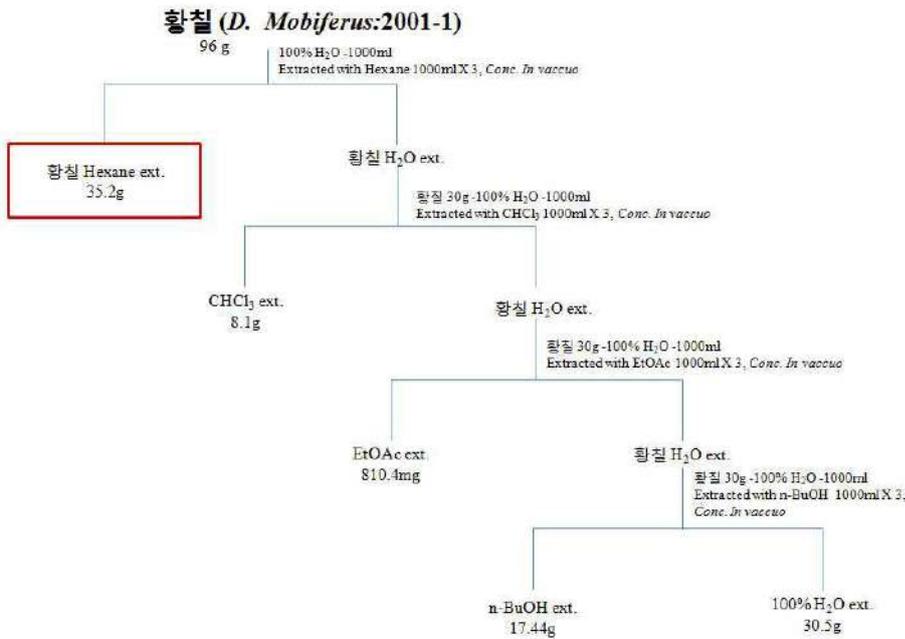
	원료	합량(중량 %)
1	베타-시토스테롤	5.0
2	세토스테아릴알코올	2.0
3	염화스테아릴트리에틸암모늄 2.0	2.0
4	히드록시에틸셀룰로오즈 0.5	0.5
5	피복톤올아민 0.1	0.1
6	향료	미량
7	정제수	잔량
		100

도면

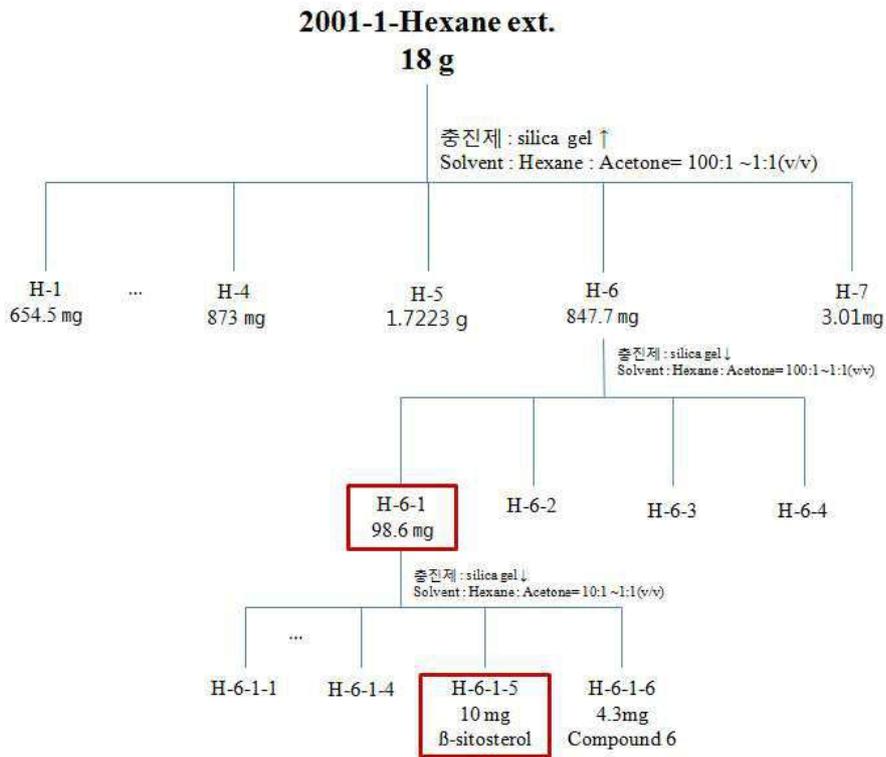
도면1a



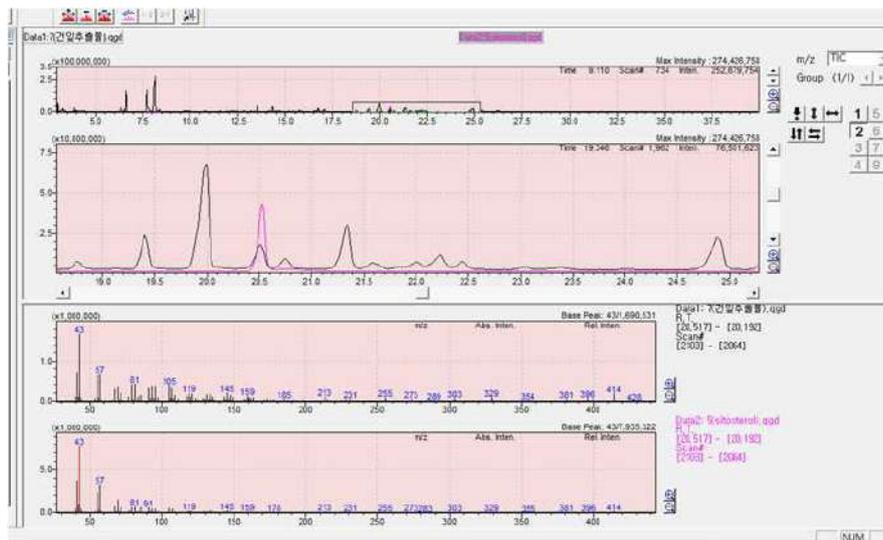
도면1b



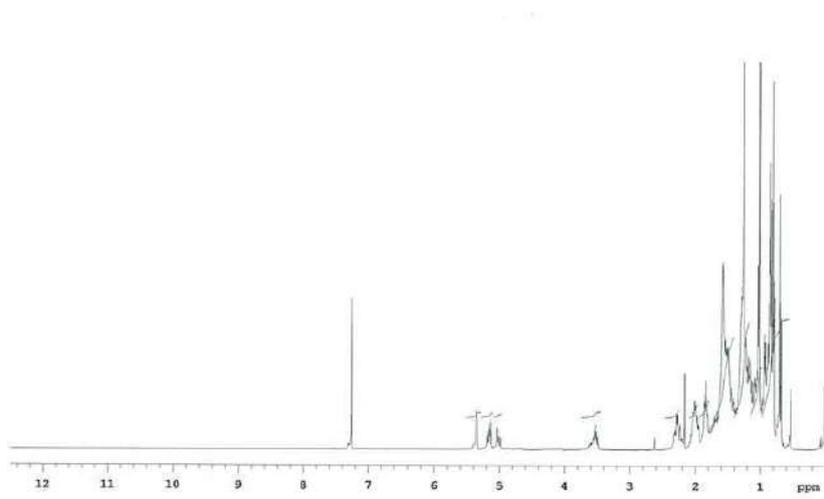
도면2



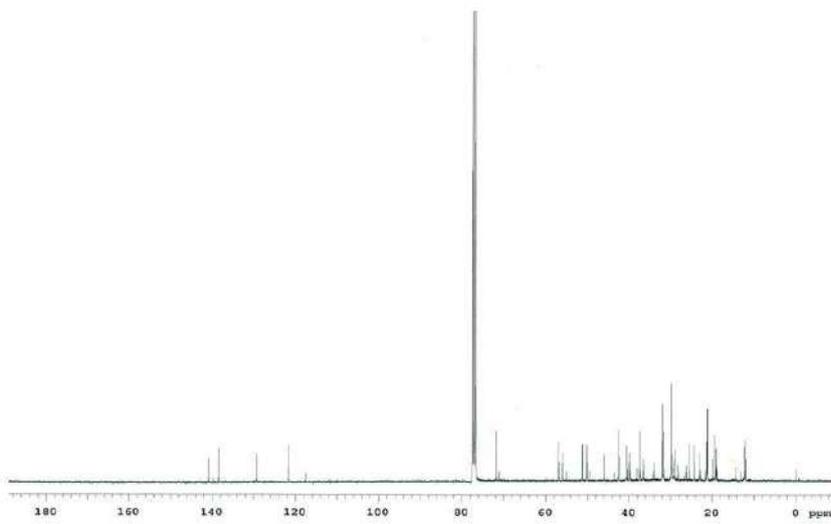
도면3



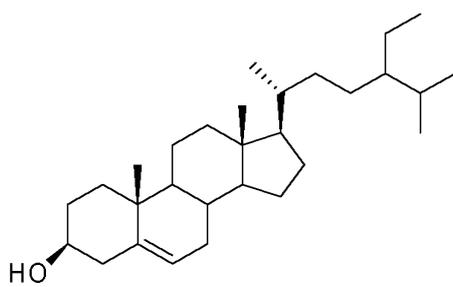
도면4a



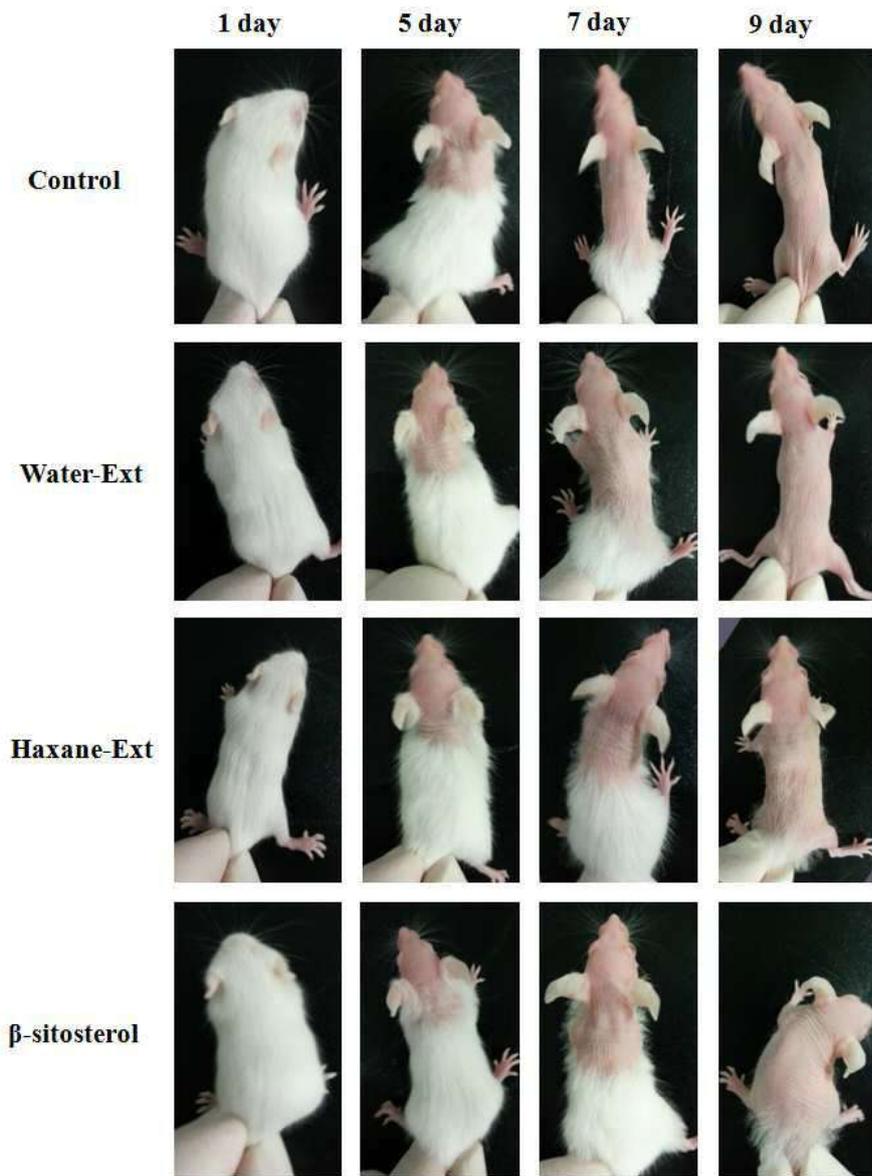
도면4b



도면5



도면6a



도면6b

