



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0130663
(43) 공개일자 2011년12월06일

(51) Int. Cl.

A61K 8/97 (2006.01) A61K 8/30 (2006.01)

A61Q 19/02 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0050122

(22) 출원일자 2010년05월28일

심사청구일자 2010년05월28일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제 캠퍼스내

(72) 발명자

황재성

서울특별시 송파구 가락2동 프라자아파트 9-402

방면호

경기도 수원시 팔달구 고등동 영림맨션 마동 201호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이덕록

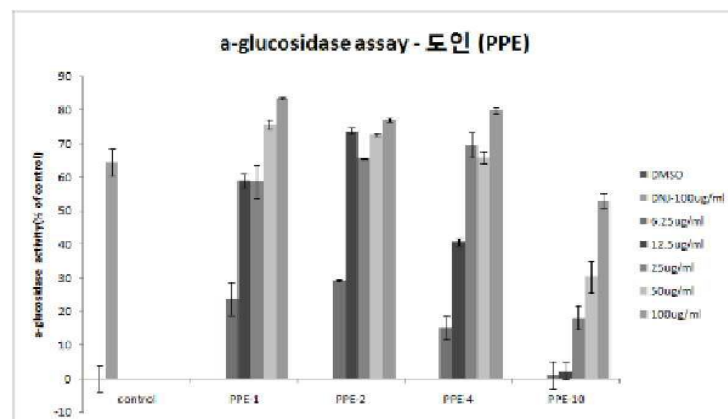
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 도인 유래 화합물을 함유하는 피부 과색소성 질환 치료 및 피부 미백용 조성물

(57) 요약

본 발명은 도인 유래 화합물인 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데크-9-에노익산[(Z)-12,13-dihydroxyoctadec-9-enoic acid]을 함유하는 멜라닌 과잉 형성에 기인한 피부 과색소성 질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물 및 건강기능식품 조성물, 및 피부 미백용 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 도인 유래 화합물인 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데크-9-에노익산은 알파 글루코시데이즈 억제효과와 멜라닌 생성억제효과가 우수하여 멜라닌 과잉생성으로 인한 피부 과색소성 질환을 예방, 치료 또는 개선시킬 수 있는 한편, 피부 미백 활성에도 매우 효과적일 수 있어, 제약산업상 및 화장품 산업상 매우 유용한 발명이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

고미연

경기도 수원시 영통구 매탄동 553번지 601호

이정민

경기도 성남시 중원구 하대원동 101-14

이승연

경기도 수원시 팔달구 우만동 74-2번지 206호

한민우

경기도 용인시 기흥구 영덕동 휴먼시아 106-401

정대균

경기도 수원시 팔달구 우만동 월드메르디앙아파트
112동 2703호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 A092055-0911-0001900 / RIC 07-06004

부처명 보건복지 가족부 / 지식경제부

연구관리전문기관

연구사업명 그린코스메틱센터 / 지역혁신센터 사업

연구과제명 초고속 자동 분획 시스템을 활용한 천연 미백제 탐색 및 기전연구 / 피부생명

기여율

주관기관 서울산업대학 산학협력단 / 경희대학교 피부생명공학센터

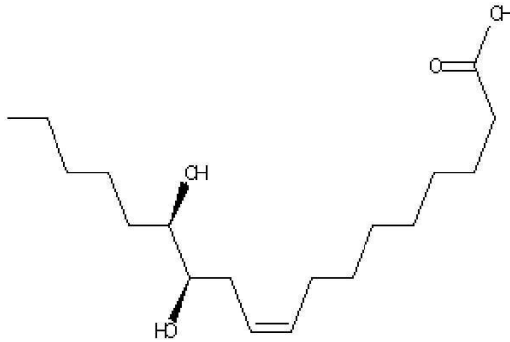
연구기간 2009년 5월 1일~2015년 4월 30일 / 2009년 7월 1일~2010년 6월 30일

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1의 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데크-9-에노익산 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 과잉 생성에 기인한 피부 과색소성 질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.

<화학식 1>



청구항 2

제1항에 따른 화학식 1의 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데크-9-에노익산 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 과잉 생성에 기인한 피부 과색소성 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 3

제1항에 따른 화학식 1의 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데크-9-에노익산 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 화장품 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 도인 유래 화합물을 함유하는 피부 과색소성 질환 치료 및 피부 미백용 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 도인 유래 화합물인 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데크-9-에노익산[(Z)-12,13-dihydroxyoctadec-9-enoic acid]을 함유하는 멜라닌 과잉 생성에 기인한 피부 과색소성 질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물 및 건강기능식품 조성물, 및 피부 미백용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 사람의 피부색을 결정하는 멜라닌(melanin)은 멜라노사이트(melanocyte)라 불리는 피부 세포에서 만들어져 케라티노사이트(keratinocyte)라는 표피 세포로 이동한다. 여기서 멜라닌은 핵 주변에 모자와 같은 구조를 형성하여 자외선으로부터 유전자를 보호하고 자유 라디칼(free radical)을 제거하여 세포 내 단백질을 보호하는 등 중요한 역할을 하게 된다.

[0003] 멜라닌생성(melanogenesis)은 멜라닌세포에서 멜라닌 색소가 생합성되는 것을 의미하며, 이는 세포내 및 세포외 환경에 의해 조절된다. 이러한 멜라닌생성은 티로시나아제에 의해 촉발되는데, 이는 티로신을 도파퀴논으로 산화시키고, 상기 도파퀴논은 계속해서 엷은 황색/적색 화합물인 페오멜라닌(pheomelanin)과 연갈색 내지 흑색인 유멜라닌(eumelanin)으로 전환된다. 피부에서, 멜라닌은 색소형성에 영향을 주고, 피부를 자외선과 다른 피부 질환의 원인들로부터 보호하지만, 반면에 멜라닌의 비정상적인 축적은 기미와 주근깨를 형성시킬 수도 있다.

- [0004] 멜라닌 과잉 형성에 기인한 피부 과색소성 질환으로는 유전적 피부 질환, 예를 들어, 백반, 바덴부르그 증후군, 후천적 피부 질환, 예를 들어, 후염증성 백색 비강진, 원인불명 물방울 멜라닌 저하증, 기미, 약물치료에 기인한 피부 질환, 예를 들어, 미노사이클린, 블레오마이신, 부술판, 지도부딘, 및 감염을 통해 전이된 피부 질환, 예를 들어, 어루러기 등이 있다.
- [0005] 생체 내에는 멜라닌을 분해하는 효소가 없고 다만 케라티노사이트가 표피에서 떨어져나갈 때, 멜라닌과 함께 피부에서 떨어져나가는 것으로 제거된다. 하지만 멜라닌이 필요 이상으로 많이 생기게 되면 기미나 주근깨, 점 등과 같은 과색소침착증을 유발하여 미용상으로 좋지 않은 결과를 가져오게 된다. 또한 레이저 인구의 증가로 외부에서 활동하는 것을 즐기는 사람들이 많아지면서 자외선에 의한 멜라닌 색소 침착을 막고자 하는 요구가 더욱 늘어나게 되었다. 이에 과도한 멜라닌 생성을 막는 미백제 개발이 필요하게 되었고 그 동안 많은 노력들이 이루어졌다.
- [0006] 이제까지의 미백제 개발은 주로 멜라닌 생합성에서 없어서는 안될 기본적인면서도 가장 중요한 역할을 하는 효소인 타이로시네이스(tyrosinase)의 활성을 저해하는 것을 통해 멜라닌 양을 줄이는 물질을 찾는 것으로 이루어져왔다. 합성 미백제에 대한 최근의 연구에서 알콕시 벤조에이트 및 알콕시 신나메이트 유도체, 및 하이드록삼산의 용도가 탐색된 바 있다. 다른 연구들은 공지된 티로시나아제 저해제의 유도체, 예를 들어 5-[(3-아니노프로필) 포스포노옥시]-2-(하이드록시메틸)-4H-피란-4-온{5-[(3-aminopropyl) phosphinoxy]-2-(hydroxymethyl)-4H-pyran-4-one}, 및 *N*-하이드록시신나모일페날킬-아미드(*N*-hydroxycinnamoylphenalkyl-amide) 유도체의 합성에 초점이 맞추어져 있었다.
- [0007] 이렇게 개발된 미백제로 코직산, 알부틴, 글루타치온, 비타민 A, 비타민 C 등이 있지만 소비자들이 만족할 만한 미백효과를 갖지 못하고 있으며 부작용 때문에 그 사용량에 제한이 따른다. 따라서 이제까지의 미백제보다 효능이 뛰어나고 좀 더 안전한 미백제를 개발하는 것이 절실한 시점이 되었다.
- [0008] 멜라닌을 생합성 하는 효소인 타이로시네이스는 당단백질로써, 생체 내 당단백질 합성 과정인 글라이코실레이션(glycosylation) 과정을 통해 만들어진다. 이 글라이코실레이션 과정에 문제가 생겨 타이로시네이스의 당 부분에 이상이 생기면 타이로시네이스는 세포내 멜라닌 생합성 장소인 멜라노솜(melanosome)으로 이동하지 못하고 따라서 멜라닌 생성이 이루어질 수 없게 된다.
- [0009] 상기 글라이코실레이션 과정에는 많은 효소가 관여하는데 그 중 중요한 효소가 글루코시다제(glucosidase)이다. 만약 이 효소의 효소 활성을 억제할 수 있다면 멜라닌의 생합성을 억제할 수 있고, 따라서 미백 효과를 가져올 수 있을 것이다.
- [0010] 이와 관련하여 종래 대한민국 특허출원 제10-2004-0025053호 ‘방선균 배양물 추출물을 함유하는 피부 미백용 조성물’에는 방선균(Actinomycetes) 균주 또는 방선균(Actinomycetes) 배양물 추출물이 멜라닌 생합성에 관여하는 효소인 타이로시네이스(tyrosinase)를 합성하는 글라이코실레이션(glycosylation)의 과정에 관여하는 중요한 효소인 베타-글루코시다제(beta-glucosidase)의 효소 활성을 억제함으로써, 타이로시네이스의 글라이코실레이션을 억제하여 멜라닌 생성을 저해함으로써 미백 효과를 나타낸다는 사실이 개시되어 있다.
- [0011] 한편, 도인(桃仁, 생약명: Peach Kernel: Persicae Semen)은 복사나무(*Prunus persica* Batsch) 또는 산복사(*Prunus davidiana* Maximowicz, 장미과 Rosaceae)의 씨이다. 생약으로는 종자를 사용하며 도인(桃仁, Persicae Semen)이라한다.
- [0012] 도인은 혈결(血結), 어혈, 소염, 진통, 월경불순, 변비에 효과 있고 혈액순환을 좋게 하는 작용도 있다. 일반적으로 장미과 에 속하는 복사나무의 과실이 성숙한 후 채취하여 과육과 핵곡을 제거하고 종인만 취하여 건조한 후 분말을 내어 사용하는데, 성분은 지방유 40~50%, 청산배당체 amygdalin 3.49%, prunasin 0.38%, emusin, 그리고 항응혈 활성 물질 등으로되어 있으며, 항응혈작용(抗凝血作用)과 약한 용혈작용(弱溶血作用)이 있어 피가 굳는 것을 풀어주므로 어혈을 풀어주고 건조한 것을 부드럽게 함으로써 타박상이나 어혈종통(瘀血腫痛)을 풀어주고(중약대사전,
- [0013] p1788) 피를 잘 돌게 하는 효과가 있다. 또한 파혈, 거담 및 윤회장작용 등의 약리 작용을 한다.
- [0014] 최근 과학적인 연구결과에 의한 도인의 효과를 살펴보면 UV로 인한 정상 인간 케라틴세포(keratinocyte)와 섬유아세포(fibroblast)의 세포독성에 대한 보호효과가 있으며(Archives of Pharmacial Research, 2000, 23(4), 396-400)돌연변이 유발 물질(mutagen)에 대한 억제물질을 함유하고 있는 것이 보고되었고(Yakugaku Zasshi-J, Pharmaceutical Society of Japan, 1992, 112(12), 934-9), 하이포콜레스테롤

(hypcholesterolemic) 생쥐의 콜레스테롤 수치를 낮추는 효과(Kor. J. Pharmacogn., 1990, 21(2), 153-157)와 산소 래디칼(oxygen radical) 소거작용이 있음이 보고되었다(Yakugaku Zasshi-J. Pharmaceutical Society of Japan, 1985, 105(9), 895-901).

[0015] 도인추출물은 여러 생약재의 혼합 형태로 미백제로, 예를 들어, 대한민국 특허출원 제10-2007-0082003호 ‘도인피 추출물 및 분획물을 함유하는 화장료 조성물’ 및 대한민국 특허출원 제10-2004-0103894호 ‘캄페롤-3-갈락토피라노사이드, 캄페롤-3-O-알파-L-람노피라노사이드, 캄페롤-3-O-베타-L-글루코피라노사이드가 함유된 도인 추출물 제조 및 이를 이용한 미백 화장료’로 개발된 예가 있으나, 도인을 이용하여 글루코시데이즈 억제 기능을 가진 미백물질을 개발하거나 미백 효능을 검증한 예는 없으며 이에 대한 특허도 알려진 바 없다.

[0016] 이와 같이 본 발명자들은 이제까지의 미백제 보다 효능이 뛰어나고 좀 더 안전한 새로운 미백 물질을 개발하고자 여러 식물 추출물에서 글루코시다제 효소 활성 억제능을 검색해본 결과, 도인 추출물이 매우 우수한 글루코시다제 효소 활성 억제능을 가지며, 이는 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데크-9-에노익산에 기인한 것임을 발견하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0017] 따라서 본 발명의 목적은 도인 유래 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데크-9-에노익산을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 과잉 생성에 기인한 피부 과색소성 질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0018] 본 발명의 다른 목적은 도인 유래 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데크-9-에노익산을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 과잉 생성에 기인한 피부 과색소성 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

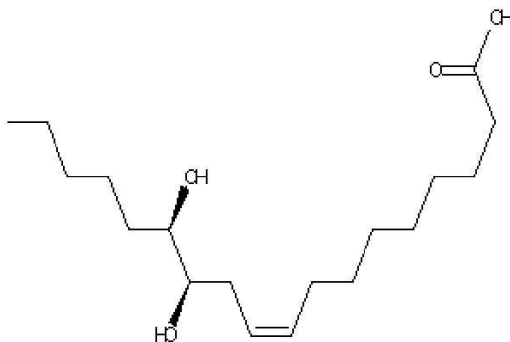
[0019] 본 발명의 다른 목적은 도인 유래 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데크-9-에노익산을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0020] 상기와 같은 본 발명의 목적은 도인으로부터 추출물을 제조하고, 상기 추출물로부터 재차 분획물을 제조한 후, 이들 분획물중 알파 글루코시데이즈 억제효과와 멜라닌 생성억제효과가 우수한 분획을 도출해낸 후, 상기 분획의 화학구조를 동정함으로써 달성되었다.

[0021] 본 발명은 도인 유래 하기 화학식 1의 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데크-9-에노익산 또는 그의 약제학적으로 허용된 염을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 과잉 생성에 기인한 피부 과색소성 질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.

[0022] <화학식 1>



[0023]

[0024] 본 발명은 또한 도인 유래 상기 화학식 1의 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데크-9-에노익산또는 그의 약제

학적으로 허용된 염을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 과잉 생성에 기인한 피부 과색소성 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0025] 본 발명은 또한 도인 유래 상기 화학식 1의 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데크-9-에노익산 또는 그의 약제학적으로 허용된 염을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 화장품 조성물을 제공한다.

[0026] 본 발명에 있어서, “유효성분”이라 함은 내제된 약리작용에 의해 그 의약품의 효능·효과를 직접 또는 간접적으로 발현한다고 기대되는 물질 또는 물질군(약리학적 활성성분 등이 밝혀지지 않은 생약 등을 포함한다)으로서 주성분을 포함하는 것을 의미한다.

[0027] 본 발명에 있어서, “건강기능식품”은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, “기능성”이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0028] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은, 피부 세포에서 멜라닌을 생합성 하는 효소인 타이로시네이즈 합성 과정인 글라이코실레이션(glycosylation) 과정 관여하는 글루코시다제(glucosidase)의 효소 활성을 효과적으로 억제하여 멜라닌의 생합성을 억제하여 피부 미백 활성을 증진시킬 수 있는 동시에, 멜라닌의 과잉 형성을 억제함으로써 그로 인한 피부 과색소성 질환을 예방, 개선 또는 치료할 수 있다.

[0029] 본 발명에 있어서, 상기 멜라닌 과잉 형성에 기인한 피부 과색소성 질환으로는 유전적 피부 질환, 예를 들어, 백반, 바덴부르그 증후군, 후천적 피부 질환, 예를 들어, 후염증성 백색 비강진, 원인불명 물방울 멜라닌 저하증, 기미, 약물치료에 기인한 피부 질환, 예를 들어, 미노사이클린, 블레오마이신, 부술판, 지도부딘, 및 감염을 통해 전이된 피부 질환, 예를 들어, 어루러기 등이 있다

[0030] 본 발명의 화학식 1의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.

[0031] 본 발명의 화학식 1의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0032] 본 발명의 화학식 1의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제에는 상기 추출액에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calciumcarbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0033] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 화학식 1의 화합물은 1일 0.0001 내지 100 mg/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 100 mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0034] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식이 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는

뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사 및 피부에 직접 투여될 수 있다.

[0035] 또한, 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 멜라닌 과잉 생성에 기인한 피부 과색소성 질환 예방 또는 개선 효과를 목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있다. 화학식 1의 화합물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강 기능성 식품류, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료 등이 있다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 화학식 1의 화합물의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02 내지 5 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.

[0036] 본 발명의 식품 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 화학식 1의 화합물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 약 5 내지 12g이다.

[0037] 상기 외에 본 발명의 화학식 1의 화합물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등과 혼합되어 사용될 수 있다. 그밖에 본 발명의 화학식 1의 화합물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 도인은 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0038] 본 발명의 화장료 조성물에 있어서, 상기 조성물은 화장수(스킨로션), 로션, 크림, 마사지 크림, 에센스, 팩의 제형을 갖는 것을 특징으로 한다. 상기 제형들은 당업계에 종래 알려진 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 또한, 상기 제형 내 화학식 1의 화합물의 함량도 당업계에 종래 알려진 함량 범위 내(약 1-10 중량%)에서 포함될 수 있다.

[0039] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효성분으로서 상기 화학식 1의 화합물 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예를 들면, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제 및 담체를 포함한다.

[0040] 본 발명에서는 도인(*Persicae semen*)으로부터 MeOH 추출물을 제조하고, MeOH 추출물을 EtOAc로 분배 추출하였고, 얻어진 H₂O층을 *n*-BuOH/H₂O로 분배 추출한 후, 이로부터 얻어진 각 층을 감압 농축하여 각각 EtOAc, *n*-BuOH 및 H₂O 분획을 얻었다.

[0041] 이어서, 상기 EtOAc분획에 대하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래를 실시하여 11개의 분획물(PPE-1 내지 PPE-11)을 얻었다.

[0042] 상기 PPE-1 내지 PPE-11 분획을 이용하여, 알파-글루코시데이즈가 *p*-니트로페닐(*p*NP) 알파-D-글루코사이드의 글루코사이드 부분을 기질로 인식하여, *p*NP와 알파-D-글루코사이드를 효소반응으로 끊어주고, 여기서 나온 *p*NP의 양을 405 nm에서 흡광도를 측정하여 이것으로 알파-글루코시데이즈 활성을 간접적으로 측정하였다. 그 결과 PPE-1, 2, 4, 10번 분획이 효소활성 저해 효과를 나타내었다(도 1 참조).

[0043] 또한, C57BL/6 마우스에서 유래한 불멸화 세포주인인 멜라닌-a(melan-a) 세포를 상기 분획으로 처리한 결과 PPE-2 분획이 우수한 멜라닌 형성 억제 활성을 나타냄을 확인하였다(도 2 참조).

[0044] 이어서, 상기에서 멜라닌 생성 억제 효과가 우수한 것으로 평가된 도인 PPE-2 분획에 대하여 ODS c.c.를 실시하여, 6개의 분획물 (PPE 2-1~PPE 2-6)을 얻었다.

[0045] 상기 분획에 대하여, 글루코시데이즈 억제 및 멜라닌 생성 효과를 측정한 결과, 분획 PPE 2-2번이 활성이 우수함을 확인하였고(도 3 및 4 참조), 이의 구조를 동정하여 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데카-9-에노익산

임을 확인하였다.

발명의 효과

[0046] 상기한 바와 같이 본 발명에 따른 도인 유래 화합물인 (Z)-12,13-디하이드록시옥타데크-9-에노익산은 알파 글루코시데이즈 억제효과와 멜라닌 생성억제효과가 우수하여 멜라닌 과잉생성으로 인한 피부 과색소성 질환을 예방, 치료 또는 개선시킬 수 있는 한편, 피부 미백 활성에도 매우 효과적일 수 있어, 제약산업상 및 화장품 산업상 매우 유용한 발명이다.

도면의 간단한 설명

[0047] 도 1은 도인 분획의 알파-글루코시데이즈 활성 억제 평가 결과를 나타낸 그래프이다.

도 2는 도인 분획의 멜란-a 세포에서 멜라닌 억제효능 평가 결과를 나타낸 그래프이다.

도 3은 PPE 2-2 분획의 알파 글루코시데이즈 억제효과를 나타낸 그래프이다.

도 4는 PPE-2 분획의 멜라닌 생성억제효과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048] 이하에서 본 발명의 바람직한 실시형태를 실시예를 참고로 보다 구체적으로 설명한다. 하지만 본 발명의 범위가 이러한 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0049] **실시예 1 : 도인 추출물 제조 및 그로부터 활성물질 분리**

[0050] 도인(*Persicae semen*) 소말 5 kg을 MeOH 80% 수용액 (18 l × 2)으로 두 차례 걸쳐 추출한 후 여과지로 여과를 하였다. 얻어진 여액을 45℃에서 감압 농축하여 MeOH 추출물을 얻었다. 얻어진 MeOH 추출물을 EtOAc(2 l × 2)/H₂O(2 l)로 분배 추출하였고, 여기서 얻어진 H₂O층을 *n*-BuOH(2 l × 2)/H₂O(3.2 l)로 재차 분배 추출 하였다. 이로부터 얻어진 각 층을 감압 농축하여 각각 EtOAc(201 g), *n*-BuOH(193 g) 및 H₂O 분획을 얻었다.

[0051] 이어서, 상기 EtOAc분획에 대하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래프(ϕ 9 × 14 cm, *n*-헥산-EtOAc = 10 : 1 → 7 : 1 → 5 : 1 → 1 : 1 → CHCl₃-MeOH = 10 : 1 → 7 : 1 → 5 : 1 → 3 : 1 → 2 : 1 → 1 : 1)를 실시하여 11개의 분획물(PPE-1 내지 PPE-11)을 얻었다.

[0052] **실험예 1 : 알파 글루코시데이즈 억제 효능 평가**

[0053] 상기 실시예 1에서 얻은 분획에 대하여, 알파-글루코시데이즈가 *p*-니트로페닐(*p*NP) 알파-D-글루코사이드의 글루코사이드 부분을 기질로 인식하여, *p*NP와 알파-D-글루코사이드를 효소반응으로 끊어주고, 여기서 나온 *p*NP의 양을 405 nm에서 흡광도를 측정하여 이것으로 알파-글루코시데이즈 활성을 간접적으로 측정하였다. 50 mM 인산염 완충액(pH 6.8)에 시료물질과 알파-글루코시데이즈(0.6 unit/ml)을 넣어주고, 10 mM의 *p*NP 알파-D-글리코사이드 용액을 첨가하여 37℃에서 30분 동안 효소 반응 시킨 후, 1M의 Na₂CO₃를 3배 넣어 반응을 정지 시켰다. 효소 반응에서 생성된 *p*NP의 양을 405 nm에서 흡광도를 측정하여 결정 하였다.

[0054] 그 결과 도 1에 나타난 바와 같이, PPE-1, 2, 4, 10번 분획이 효소활성 저해 효과를 나타내었다.

[0055] **실험예 2 : 멜란-a(melan-a) 세포를 이용한 멜라닌 생성억제 효과**

[0056] C57BL/6 마우스에서 유래한 불멸화 세포주인인 멜란-a(melan-a) 세포는 베넷 박사(Dr. Bennett; Cancer Research Center, London, England)로부터 분양받아 사용하였다. 멜란-a 세포는 10% FBS, 200nM 12-

O-테트라데카노일포르볼-13-아세테이트, 100mg/L의 스트렙토마이신, 100 IU/ml의 페니실린이 포함된 RPMI 1640 배지를 사용하여 37℃, 10% CO₂ 조건하에서 배양하였다.

[0057] 멜란-a 세포가 배양기에서 유착되게(confluent) 자라면 0.25% 트립신/EDTA로 세포를 떼어내서 24 웰 플레이트에 웰 당 1×10^5 개를 주입한 후 24시간동안 세포가 플레이트에 잘 부착하도록 기다렸다가 PBS로 한번 세척한 후, FBS가 함유되지 않은 배양배지에 시료물질을 첨가하여 세포에 처리하였다. 시료물질은 DMSO에 원하는 농도의 1000배가 되도록 녹인 후, 세포에 처리시 1000분의 1로 희석하여 사용하였다. 대조군은 DMSO를 시료와 같은 농도로 처리한 용액을 사용하였다.

[0058] 위와 같은 방법으로 시료 물질을 3일간 처리한 후, 멜라닌의 양은 1N NaOH에 10% DMSO가 포함된 용액으로 cell을 녹여 490nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 세포파쇄액을 다시 브래드포드 법으로 총 단백질 양을 구한 후, 일정 단백질 당 멜라닌 양으로 나타내었다.

[0059] 그 결과, 도 2에 나타낸 바와 같이, PPE-2 분획이 우수한 활성을 나타내었다.

[0060]

[0061] **실험예 3 : (Z)-12,13-디하이드록시옥타데카-9-에노익산의 글루코시데이즈 저해 및 멜라닌 생성억제 효과**

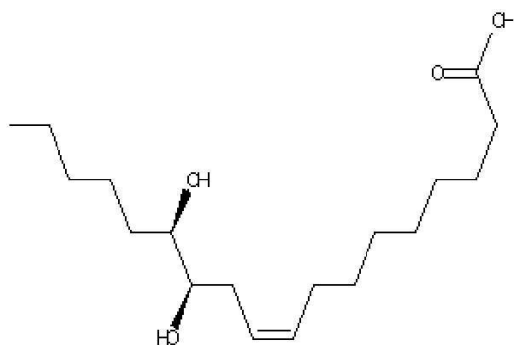
[0062] 상기 실험예 2에서 멜라닌 생성 억제 효과가 우수한 것으로 평가된 도인 PPE-2 분획(1.9 g) 분획에 대하여 ODS c.c.(φ 3.5 × 11 cm, MeOH-H₂O = 7 : 1)를 실시하여, 6개의 분획물 (PPE 2-1~PPE 2-6)을 얻었다.

[0063] 상기 분획물을 사용하여 상기 실험예 1 및 2에서와 같은 방법으로 글루코시데이즈 억제 및 멜라닌 생성 효과를 측정하였다.

[0064] 그 결과, 도 3 및 4에 나타낸 바와 같이, 분획 PPE 2-2번[(화합물 1, 23 mg, TLC (RP-18 F_{254s}) R_f = 0.65, MeOH-H₂O = 5 : 1)]이 활성이 우수함을 확인하였고 이의 구조를 다음과 같이 확인 하였다.

[0065] 화합물 1 [(Z)-12,13-디하이드록시옥타데카-9-에노익산]: 무색 오일, EI/MS *m/z*: 314[M]⁺; ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃, δ_H): 5.34(4H, m, olefinic-H), 2.47-1.42(22H, CH₂×11), 0.97(3H, t, *J*=7.4 Hz, 말단 메틸); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃, δ_C): 181.3(에스테르), 128.7, 128.5, (올레핀-C), 34.9, 31.6, 28.9, 28.7, 28.6, 28.5, 29.3, 29.2, 29.2, 29.1, 29.1, 29.0, 27.3, 27.2, 24.5, 22.3(메틸렌), 14.3(말단 메틸).

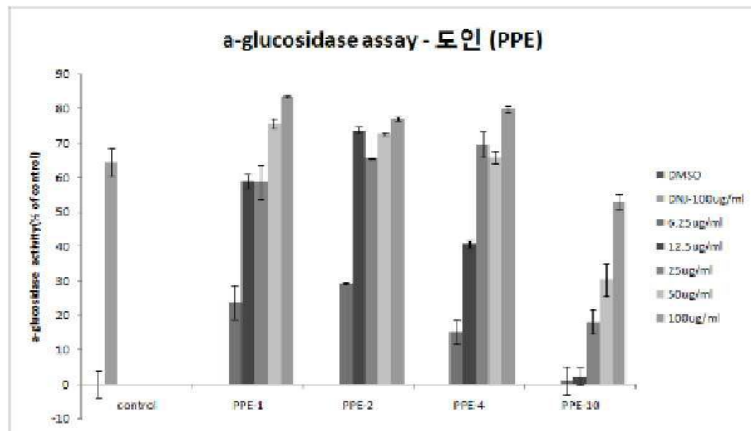
[0066] <화학식 1>



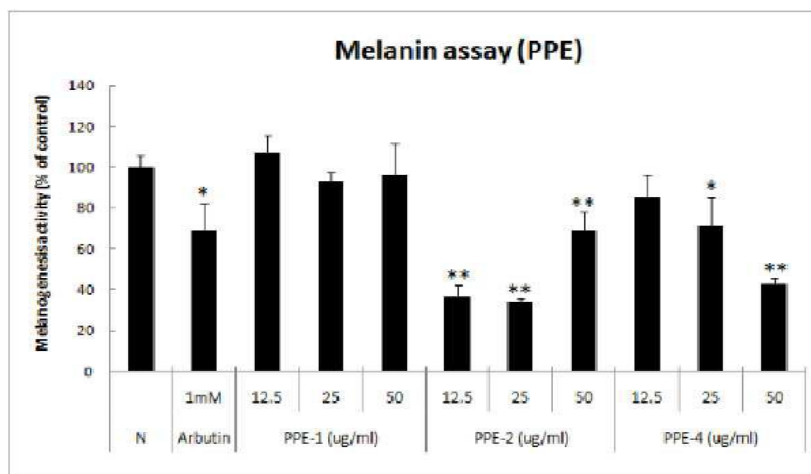
[0067]

도면

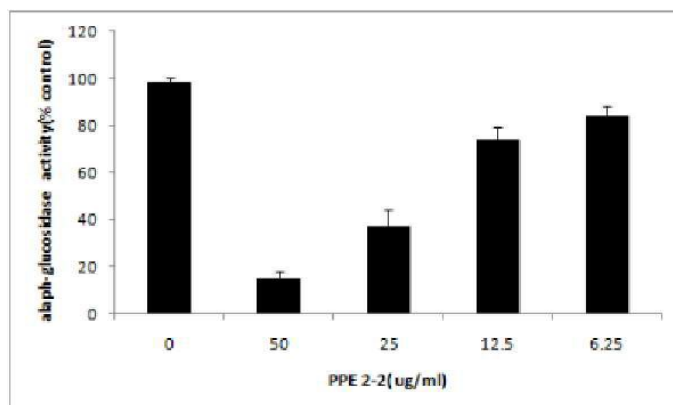
도면1



도면2



도면3



도면4

