



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0015502
(43) 공개일자 2016년02월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/28 (2006.01) A61K 31/045 (2006.01)
A61K 8/97 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0097510

(22) 출원일자 2014년07월30일

심사청구일자 2014년07월30일

(71) 출원인

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

황재관

경기도 고양시 덕양구 화중로 219, 109-604 (화정동, 달빛마을아파트)

김미보

서울 서대문구 연세로 50, 제2공학관 B504호 (신촌동, 연세대학교)

이선아

경상남도 창원시 마산합포구 월영마을로 52, 501동 2202호(월영동, 현대2차아파트)

(74) 대리인

특허법인다나

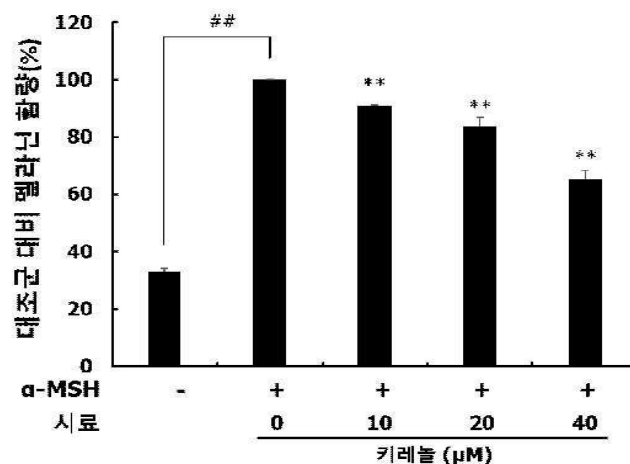
전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 발명의 명칭 키레놀 또는 시게스베키아 푸베센스 추출물을 포함하는 피부 미백용 조성물

(57) 요약

본 발명은 키레놀(kirenol) 또는, 이를 함유하는 시게스베키아 푸베센스(*Sigesbeckia pubescens* L.) 추출물 또는 이의 분획물의 신규한 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스베키아 푸베센스 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 피부 미백용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따르면, 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스베키아 푸베센스 추출물은 멜라닌(melanin) 생성 및 티로시나제(tyrosinase) 활성을 억제함으로써 탁월한 미백 효과가 있다. 또한, 본 발명은 천연물이므로 부작용 없이 안전하게 사용될 수 있어, 의약품, 화장품 또는 식품으로 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 시게스베키아 푸베센스 추출물은 물, 탄소수 1 내지 6의 유기용매, 아임계 유체 및 초임계 유체로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 용매로 시게스베키아 푸베센스를 추출하여 수득한 것인 피부 미백용 약학 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 탄소수 1 내지 6의 유기용매는 탄소수 1 내지 6의 알코올(alcohol), 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌 클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane), 시클로헥산(cyclohexane) 및 석유에테르(petroleum ether)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 피부 미백용 약학 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 시게스베키아 푸베센스 추출물은 100 MPa 이상의 초고압 조건 하에서 시게스베키아 푸베센스를 추출하여 수득한 것인 피부 미백용 약학 조성물.

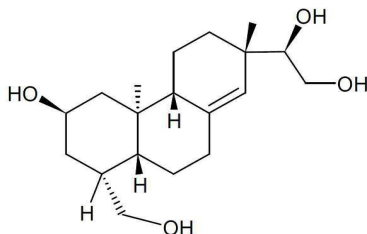
청구항 5

제1항에 있어서 시게스베키아 푸베센스 분획물은 에틸아세테이트, 메탄올 또는 이들의 혼합용매로 시게스베키아 푸베센스 추출물을 분획하여 수득한 것인 피부 미백용 약학 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물은 하기 화학식 2의 키레놀을 함유하는 것인 피부 미백용 약학 조성물:

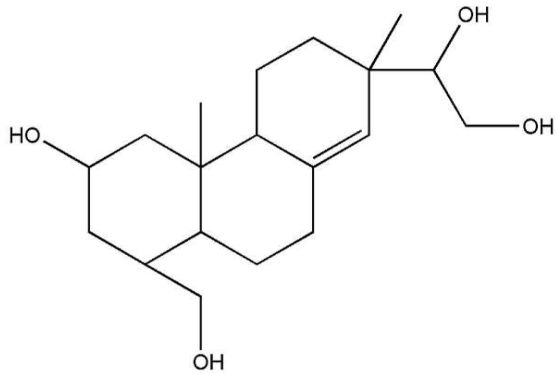
[화학식 2]



청구항 7

하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 약학 조성물:

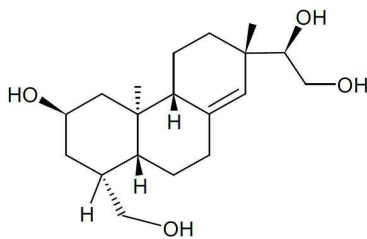
[화학식 1]



청구항 8

제7항에 있어서, 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 키레놀인 피부 미백용 약학 조성물:

[화학식 2]



청구항 9

제7항에 있어서, 화학식 1로 표시되는 화합물은 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물로부터 분리된 것인 피부 미백용 약학 조성물.

청구항 10

시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 화장료 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 시게스베키아 푸베센스 추출물은 물, 탄소수 1 내지 6의 유기용매, 아임계 유체 및 초임계 유체로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 용매로 시게스베키아 푸베센스를 추출하여 수득한 것인 피부 미백용 화장료 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 탄소수 1 내지 6의 유기용매는 탄소수 1 내지 6의 알코올(alcohol), 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌 클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane), 시클로헥산(cyclohexane) 및 석유에테르(petroleum ether)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 피부 미백용 화장료 조성물.

청구항 13

제10항에 있어서, 시게스베키아 푸베센스 추출물은 100 MPa 이상의 초고압 조건 하에서 시게스베키아 푸베센스를 추출하여 수득한 것인 피부 미백용 화장품 조성물.

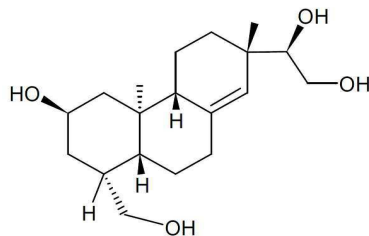
청구항 14

제10항에 있어서 시게스베키아 푸베센스 분획물은 에틸아세테이트, 메탄올 또는 이들의 혼합용매로 시게스베키아 푸베센스 추출물을 분획하여 수득한 것인 피부 미백용 화장품 조성물.

청구항 15

제10항에 있어서, 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물은 하기 화학식 2의 키레놀을 함유하는 것인 피부 미백용 화장품 조성물:

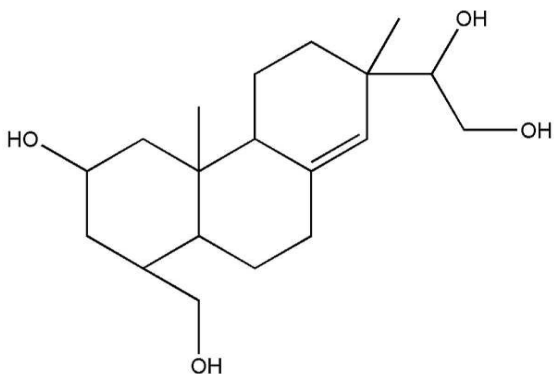
[화학식 2]



청구항 16

하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물:

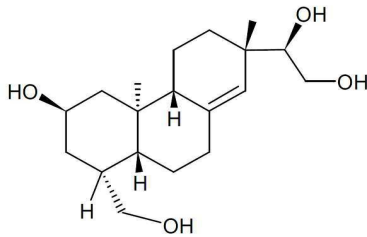
[화학식 1]



청구항 17

제16항에 있어서, 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 키레놀인 피부 미백용 화장품 조성물:

[화학식 2]



청구항 18

제16항에 있어서, 화학식 1로 표시되는 화합물은 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물로부터 분리된 것인 피부 미백용 화장품 조성물.

청구항 19

시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 식품 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 시게스베키아 푸베센스 추출물은 물, 탄소수 1 내지 6의 유기용매, 아임계 유체 및 초임계 유체로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 용매로 시게스베키아 푸베센스를 추출하여 수득한 것인 피부 미백용 식품 조성물.

청구항 21

제20항에 있어서, 탄소수 1 내지 6의 유기용매는 탄소수 1 내지 6의 알코올(alcohol), 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌 클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane), 시클로헥산(cyclohexane) 및 석유에테르(petroleum ether)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 피부 미백용 식품 조성물.

청구항 22

제19항에 있어서, 시게스베키아 푸베센스 추출물은 100 MPa 이상의 초고압 조건 하에서 시게스베키아 푸베센스를 추출하여 수득한 것인 피부 미백용 식품 조성물.

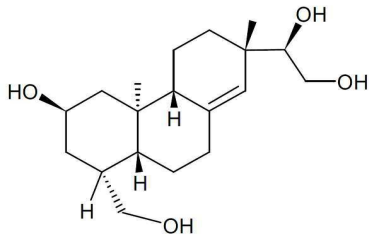
청구항 23

제19항에 있어서 시게스베키아 푸베센스 분획물은 에틸아세테이트, 메탄올 또는 이들의 혼합용매로 시게스베키아 푸베센스 추출물을 분획하여 수득한 것인 피부 미백용 식품 조성물.

청구항 24

제19항에 있어서, 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물은 하기 화학식 2의 키레놀을 함유하는 것인 피부 미백용 식품 조성물:

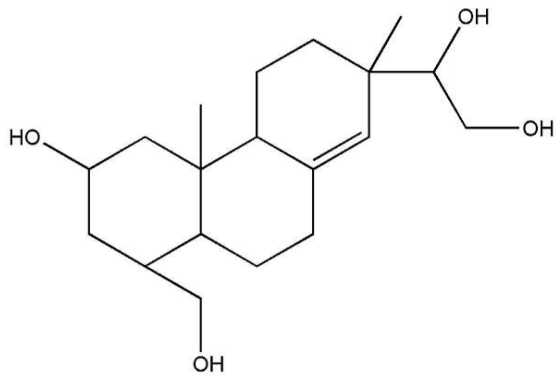
[화학식 2]



청구항 25

하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 식품 조성물:

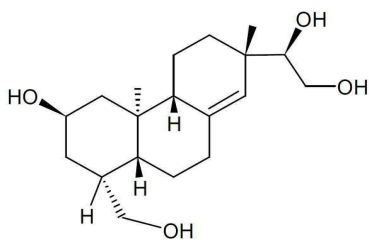
[화학식 1]



청구항 26

제25항에 있어서, 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 키레놀인 피부 미백용 식품 조성물:

[화학식 2]



청구항 27

제25항에 있어서, 화학식 1로 표시되는 화합물은 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물로부터 분리된 것인 피부 미백용 식품 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 키레놀(kirenol) 또는 시게스베키아 푸베센스 (*Sigesbeckia pubescens* L.) 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 사람의 피부색은 멜라닌 색소를 만드는 멜라닌세포(melanocyte)의 활동성, 혈관의 분포, 피부의 두께 및 카로티노이드(carotenoid), 헤모글로빈(hemoglobin) 등 인체 내외의 색소 함유 유무와 같은 여러 요인들에 의해 결정된다. 멜라닌 색소의 형성에는 유전적 요인, 호르몬 분비, 스트레스 등과 관련된 생리적 요인 및 자외선 조사 등과 같은 환경적 요인이 영향을 미친다(Annu. Rev. Genet. 37: 67-90, 2003).

[0003] 멜라닌의 생성 메커니즘에 중요한 영향을 미치는 것은 티로시나제(tyrosinase)라는 효소로, 이는 멜라노사이트 내의 멜라노솜에서 티로신(tyrosine)의 산화 과정에 관여한다. 자외선 노출 등에 의해 상기 티로시나제가 활성화되어 티로신에 작용하여 도파(dopa) 및 도파퀴논(dopaquinone)을 생성시키는 산화 과정에 의하여, 멜라닌 중합체가 합성된다(J. Environ. Sci. Health. 23: 105-161, 2005).

[0004] 멜라닌은 피부의 외각인 표피층에 존재하여 자외선 등으로부터 진피 이하의 피부기관을 보호해주는 동시에 피부 생체 내에 생겨난 자유라디칼 등을 잡아주는 역할을 하여 피부 내 단백질과 유전자들을 보호해주는 중요한 기능을 가지고 있다. 그러나 멜라닌이 과잉생산 되면 기미, 주근깨 등을 형성할 뿐 아니라 피부노화를 촉진하며 피부암 유발에도 중요한 작용을 하는 것으로 알려져 있다(FASEB J. 21: 976-994, 2007).

[0005] 기미, 주근깨, 색소침착 등과 같은 피부색소 이상침착 증상과 자외선 노출 등에 의해 발생된 과도한 멜라닌 색소 침착을 치료 또는 경감시켜주기 위해서 이전부터 아스코르빈산, 코지산, 알부틴, 하이드로퀴논, 글루타치온 또는 이들의 유도체, 티로시나제 저해활성을 가진 물질들을 화장품이나 의약품에 배합하여 사용하고 있다. 그러나 이들은 불충분한 미백효과, 피부에 대한 안전성 문제, 화장료에 배합 시 제형 및 안정성 문제 등으로 인해 그 사용이 제한적이라는 문제점이 있다(Dermatol. Ther. 20: 308-313, 2007). 상기 유효성분들의 문제점을 해결하기 위하여 안정성이 입증된 천연물 유래의 유효성분에 대한 연구가 요구되고 있다.

[0006] 한편, 시게스베키아 푸베센스(*Siegesbeckia pubescens* Mak.)는 국화과(Compositae)에 속하는 식물로서 항염 및 진통(Pak. J. Pharm. Sci. 21: 89-91, 2008), 항산화 및 항비만(Kor. J. Microbiol. Biotechnol 41: 341-349, 2013), 상처치유(J. Ethnopharmacol. 134: 1033-1038, 2011), 관절염효과(Phytomedicine 19: 882-889, 2012) 등의 활성이 보고되어 있다. 키레놀(kirenol)은 천연식물에 존재하는 디테르페노이드(diterpenoid)의 일종으로서 항염(J. Ethnopharmacol. 137: 1089-1094, 2011), 관절염효과(J. Ethnopharmacol. 137: 774-782, 2011), 항균(Pharmacogn. Mag. 8: 149-155, 2012), 항비만(Biochem. Biophys. Res. Commun. 445: 433-438, 2014) 등의 활성이 보고되어 있다.

[0007] 그러나 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀의 피부 미백 활성에 대해서는 지금까지 보고된 바 없다.

선행기술문헌

비특허문헌

- [0008] (비특허문헌 0001) Pak. J. Pharm. Sci. 21: 89-91, 2008
(비특허문헌 0002) Kor. J. Microbiol. Biotechnol 41: 341-349, 2013
(비특허문헌 0003) J. Ethnopharmacol. 134: 1033-1038, 2011
(비특허문헌 0004) Phytomedicine 19: 882-889, 2012

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 이에, 본 발명자들은 천연물 유래의 미백 활성이 있는 식물을 발견하기 위하여, 여러 종의 식물을 대상으로 연구한 결과, 진득찰 속(*Siegesbeckia* spp.)과 식물인 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이 추출물로부터 분리된 키레놀이 미백작용이 우수함을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

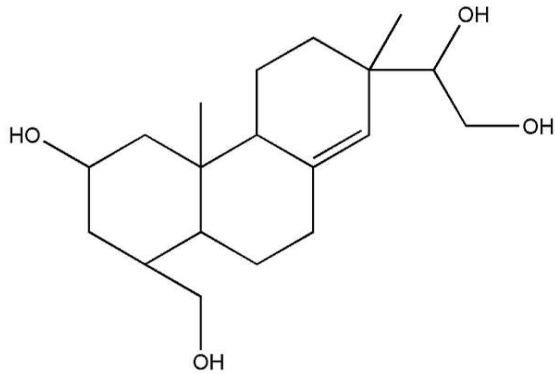
[0010] 상기 과제를 해결하기 위한 수단으로서, 본 발명은

[0011] 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 약학 조성물, 화장품 조성물 또는 식품 조성물을 제공한다.

[0012] 상기 과제를 해결하기 위한 또 다른 수단으로서, 본 발명은

[0013] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 약학 조성물, 화장품 조성물 또는 식품 조성물을 제공한다:

[0014] [화학식 1]



[0015]

발명의 효과

[0016] 본 발명에 따른 키레놀(kirenoside), 또는 이를 함유하는 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물은 멜라닌 생성 및 티로시나제 활성을 억제하여 탁월한 미백 효과를 나타낸다. 또한, 천연물이므로 부작용 없이 안전하게 사용될 수 있어, 의약품, 화장품 또는 식품으로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 B16F10 멜라노마 세포에서 키레놀 처리에 따른 멜라닌 생성 저해효과를 측정한 결과를 보여준다.

도 2는 B16F10 멜라노마 세포에서 키레놀 처리에 따른 티로시나제 활성 저해효과를 측정한 결과를 보여준다.

도 3은 B16F10 멜라노마 세포에서 키레놀 처리에 따른 티로시나제의 단백질 발현양 감소를 측정한 결과를 보여준다.

도 4는 B16F10 멜라노마 세포에서 시게스베키아 푸베센스 추출물 처리에 따른 멜라닌 생성 저해효과를 측정한 결과를 보여준다.

도 5는 B16F10 멜라노마 세포에서 시게스베키아 푸베센스 추출물 처리에 따른 티로시나제 활성 저해효과를 측정한 결과를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하, 본 발명의 구성을 구체적으로 설명한다.

[0019] 피부 미백 성분이 실제 피부에 적용시 우수한 효과를 발휘하기 위해서는 저농도에서 고활성의 피부 미백 활성을 나타내고, 피부를 투과하여 흡수되는 능력이 우수한 것이 바람직하다. 또한 피부 미백 효과를 나타내기에 충분

한 시간 동안 머무를 수 있도록 휘발성이 낮으며, 조성물이나 피부 상에서 활성 성분이 안정하게 유지되고, 의 약이나 화장품으로의 제형화가 용이하며, 또한 피부에 안전한 것이 바람직하다. 그러나 공지의 성분 중 상기 특 성을 모두 만족시키는 성분은 흔치 않다. 예를 들어, 몇몇 피부 미백 성분들은 시험관 내 실험 시 저농도에서 도 피부 미백 활성은 우수하나, 피부를 투과하여 흡수되는 능력이 떨어져 실제 피부에 적용하기엔 어렵다. 또 다른 활성 성분들은 친수성이 낮아 의약이나 화장품으로 제형화가 어렵다. 또한, 몇몇 피부 미백 성분들은 열, 광, 또는 산소에 노출되었을 때 상기 활성 성분이 분해되거나 다른 화합물로 변형되어 피부에 적용하기 전에 이 미 효과가 사라지는 경우도 있다.

[0020] 하기 실시예에서 확인할 수 있는 바와 같이, 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물은, 멜라닌 생성 및 티로시나제 활성을 현저히 억제하는 효과를 나타내므로 피부 미 백을 위한 의약품, 화장료 또는 건강식품 등의 유효성분으로 사용할 수 있다.

[0021] 따라서, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물의 피부 미백 용도; 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물을 포함하는 피 부 미백용 조성물; 또는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물을 인간을 포함한 포유동물에 적용하는 것을 포함하는 피부 미백 방법을 제공한다.

[0022] 본 명세서에서 용어 '시게스베키아 푸베센스'는 국화과(Compositae), 진득찰 속(*Siegesbeckia* spp.)에 속하는 식물을 의미한다.

[0023] 본 명세서에서 용어 '시게스베키아 푸베센스 추출물'은 시게스베키아 푸베센스를 적당한 용매로 추출하여 수득 한 추출물을 의미한다. 시게스베키아 푸베센스 추출물의 제조방법은 당업계에 공지된 통상의 추출방법을 제한 없이 이용할 수 있고, 예를 들어, 시게스베키아 푸베센스 식물 또는 식물의 일부 (잎 또는 뿌리)로부터 물, 탄 소수 1 내지 6의 유기용매 및 아임계 또는 초임계 유체로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 용매로 추출하여 수득할 수 있다. 또한 필요한 경우 당업계에 공지된 방법에 따라 여과 및 농축 단계를 추가적으로 포함하여 제 조할 수 있다.

[0024] 본 명세서에서 용어 '분획물'은 다양한 구성성분을 포함하는 혼합물로부터 특정 성분 또는 특정 그룹을 분리하 는 분획방법에 의하여 얻어진 결과물을 의미한다. 용매 분획, 실리카 겔 크로마토그래피(silica gel chromatography), prep-HPLC 등의 기술을 이용하여 활성물질이 농축된 특정 분획물을 제조할 수 있다.

[0025] 본 명세서에서, '피부 미백' 또는 '미백 효과'라 함은 멜라닌 색소의 합성을 저해함으로써 피부 톤을 밝게 할 뿐만 아니라, 자외선, 호르몬 또는 유전에 기인한 기미나 주근깨 등의 피부 과색소 침착을 개선하는 것을 말한 다.

[0026] 본 명세서에서, '피부 미백용 조성물'은 피부 미백 효과가 있는 물질을 유효성분으로 포함하는 조성물로, 약학 조성물, 화장료 조성물 또는 식품 조성물을 포함한다.

[0027] 본 발명의 피부 미백용 조성물은, 키레놀 또는, 이를 함유하는 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물 이외에, 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다. 예컨대, 공지의 피부 미백 성분을 포함할 수 있다. 추가적인 피부 미백 성분을 포함하게 되면 본 발명의 조성물의 피부 미백 효과가 더욱 증진될 수 있을 것이다. 상기 성분 추가 시에는 복합 사용에 따른 피부 안전성, 제형화의 용이성, 유효성 분들의 안정성을 고려할 수 있다. 본 발명의 한 구체예에서, 상기 조성물은 당업계에 공지된 피부 미백 성분으 로서, 코지산(Kojic acid) 또는 알부틴(Arbutin) 등과 같은 티로시나제 효소활성을 억제하는 물질, 하이드로퀴 논(Hydroquinone), 비타민-C(L-Ascorbic acid); 이들의 유도체; 및 각종 식물 추출물로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 또는 2종 이상의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 추가의 성분은 전체 조성물 중량에 대하여 0.0001 중량% 이상 내지 10 중량% 이하로 포함될 수 있다. 예를 들어, 0.0001 중량% 이상 내지 1 중량% 이하, 0.0001중량% 이상 내지 0.1중량% 이하, 0.0001 중량% 이상 내지 0.001 중량% 이하, 0.001중량% 이상 내지 10중량% 이하, 0.001중량% 이상 내지 1중량% 이하, 0.001 중량% 이상 내지 0.1중량% 이하, 0.01 중량% 이상 내지 10중량% 이하, 0.01중량% 이상 내지 1 중량% 이하일 수 있다. 상기 함량 범위는 피부 안전성, 상기 화학식 1의 화합물의 제형화 시의 용이성 등의 요건에 따라 조절될 수 있을 것이다.

[0028] 본 발명은 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 약학 조성물, 화장료 조성물 또는 식품 조성물을 제공한다.

[0029] 한 구체예에서, 시게스베키아 푸베센스 추출물은 물, 탄소수 1 내지 6의 유기용매, 아임계 유체 및 초임계 유체 로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 용매로 시게스베키아 푸베센스를 추출하여 수득할 수 있다. 예를

들어, 시게스베키아 푸베센스 식물 또는 식물의 일부 (잎 또는 뿌리)로부터 물, 탄소수 1 내지 6의 유기용매 및 아임계 또는 초임계 유체로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 용매로 추출하여 수득할 수 있다. 또한 필요한 경우 당업계에 공지된 방법에 따라 여과 및 농축 단계를 추가적으로 포함하여 제조할 수 있다.

[0030]

한 구체예에서, 탄소수 1 내지 6의 유기용매는 탄소수 1 내지 6의 알코올(alcohol), 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌 클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane), 시클로헥산(cyclohexane) 및 석유에테르(petroleum ether)로 이루어진 군 중에서 선택되는 하나 이상일 수 있다.

[0031]

또한, 본 발명의 시게스베키아 푸베센스 추출물은 건조시킨 시게스베키아 푸베센스를 식품가공에 적합한 정제수, 에탄올 및 아임계수 또는 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출, 정제하여 얻을 수 있거나, 초고압 추출 장치를 이용하여 추출, 정제하여 얻을 수 있으며, 또는 시게스베키아 푸베센스 식물을 직접 압착하여 얻은 오일로부터 분리 정제하여 얻을 수 있다.

[0032]

한 구체예에서, 시게스베키아 푸베센스 추출물은 100 MPa 이상의 초고압 조건 하에서 시게스베키아 푸베센스를 추출하여 수득할 수 있다.

[0033]

한 구체예에서, 시게스베키아 푸베센스 분획물은 에틸아세테이트, 메탄올 또는 이들의 혼합용매로 시게스베키아 푸베센스 추출물을 분획하여 수득할 수 있다.

[0034]

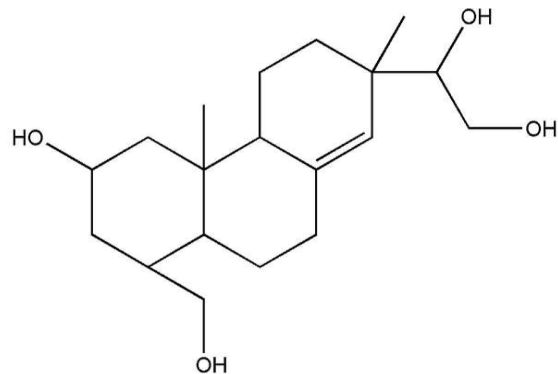
한 구체예에서, 시게스베키아 추출물 또는 이의 분획물은 키레놀을 유효성분으로 포함할 수 있다.

[0035]

본 발명은 또한, 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 약학 조성물, 화장품 조성물 또는 식품 조성물을 제공한다.

[0036]

[화학식 1]



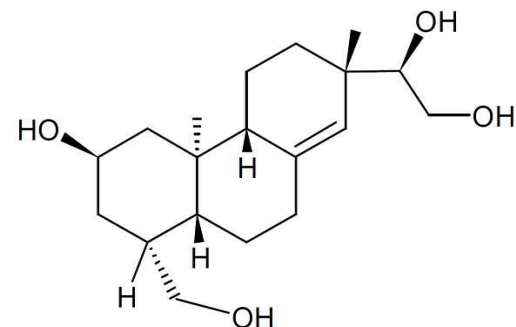
[0037]

[0038]

상기 화학식 1의 화합물은 가능한 모든 이성질체를 포함할 수 있으며, 예를 들어, 하기 화학식 2의 화합물을 포함할 수 있다.

[0039]

[화학식 2]



[0040]

- [0041] 상기 화학식 2의 화합물은 일명 키레놀(kirenol)이다.
- [0042] 키레놀(kirenol)은 회침, 즉, 시게스베키아 오리엔탈리스(*Siegesbeckia orientalis* L.), 시게스베키아 푸베센스(*Siegesbeckia pubescens* Mak.), 시게스베키아 글라브레센스(*Siegesbeckia glabrescens* Mak.)에 함유되어 있는 물질로 제주도 및 남부지방에 서식하는 시게스베키아 속(*Siegesbeckia* spp.) 식물의 유효성분이다. 키레놀 또는 시게스베키아 푸베센스 추출물은 항염효과 및 진통효과(J. Ethnopharmacol. 137: 1089-1094, 2011), 항균 효과(Pharmacogn. Mag. 8: 149-155, 2012), 관절염효과(Phytomedicine 19: 882-889, 2012)를 갖는 것으로 보고 되었으나, 본 발명의 이전에는 피부 미백 효과에 관해서는 알려진 바 없었다.
- [0043] 키레놀은 건조시킨 회침을 식품가공에 적합한 정제수, 에탄올 및 아임계수 또는 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출, 정제하거나, 초고압 추출 장치를 이용하여 추출, 정제하여 얻을 수 있으며, 또는 회침을 직접 압착하여 얻은 오일로부터 분리 정제하여 얻을 수 있다. 회침 추출물로부터 키레놀의 분리 및 정제는 실리카겔(silica gel)이나 활성 알루미나(alumina)등의 각종 흡수성지를 충전한 컬럼 크로마토그래피 및 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 등을 단독으로 혹은 병행하여 사용할 수 있으나, 키레놀의 추출 및 분리정제 방법이 반드시 상기 방법에 한정되는 것은 아니다.
- [0044] 또한, 상기 화학식 1의 화합물 또는 상기 화학식 2의 화합물은 식물 추출물로부터 분리 또는 합성하여 이용하거나, 시판되고 있는 화합물을 이용할 수 있다.
- [0045] 한 구체예에서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 화학식 2로 표시되는 화합물은 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물로부터 분리된 것일 수 있다.
- [0046] 본 발명의 피부 미백용 조성물이 약학 조성물인 경우, 상기 약학 조성물은 키레놀의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 용어 '약제학적으로 허용 가능한'이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 것을 말하며, 상기 염으로는 약제학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의하여 형성된 산 부가염이 바람직하다.
- [0047] 상기 키레놀의 약제학적으로 허용 가능한 염은 유기산 또는 무기산을 이용하여 형성된 산 부가염일 수 있으며, 상기 유기산은 예를 들면 포름산, 아세트산, 프로피온산, 락트산, 부티르산, 이소부티르산, 트리플루오로아세트산, 말산, 말레산, 말론산, 푸마르산, 숙신산, 숙신산 모노아미드, 글루탐산, 타르타르산, 옥살산, 시트르산, 글리콜산, 글루쿠론산, 아스코르브산, 벤조산, 프탈산, 살리실산, 안트라닐산, 디클로로아세트산, 아미노옥시 아세트산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 또는 메탄술폰산을 포함한다. 무기산은 예를 들면 염산, 브롬산, 황산, 인산, 질산, 탄산 또는 붕산을 포함한다. 산 부가염은 바람직하게는 염산염 또는 아세트산염 형태일 수 있으며, 보다 바람직하게는 염산염 형태일 수 있다.
- [0048] 상기 언급된 산 부가염은 a) 키레놀 및 산을 직접 혼합하거나, b) 이들 중 한 가지를 용매 또는 함수 용매 중에 용해시키고 혼합시키거나, 또는 c) 키레놀을 용매 또는 수화 용매 중의 산에 위치시키고 이들을 혼합하는 일반적인 염 제조방법으로 제조된다.
- [0049] 위와는 별도로 추가적으로 염이 가능한 형태는 가바염, 가바펜티움, 프레가발린염, 니코틴산염, 아디페이트염, 헤미말론산염, 시스테인염, 아세틸시스테인염, 메티오닌염, 아르기닌염, 라이신염, 오르니틴염 또는 아스파르트산염 등이 있다.
- [0050] 또한, 본 발명의 피부 미백용 약학 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다.
- [0051] 약제학적으로 허용되는 담체로는 예컨대, 경구 투여용 담체 또는 비경구 투여용 담체를 추가로 포함할 수 있다. 경구 투여용 담체는 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등을 포함할 수 있다. 또한 비경구 투여용 담체는 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코스 및 글리콜 등을 포함할 수 있다. 또한, 안정화제 및 보존제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 안정화제로는 아황산수소나트륨, 아황산나트륨 또는 아스코르브산과 같은 항산화제가 있다. 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 메틸- 또는 프로필-파라벤 및 클로로부탄올이 있다. 그 밖의 약제학적으로 허용되는 담체로는 다음의 문헌에 기재되어 있는 것을 참고로 할 수 있다 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995).
- [0052] 본 발명의 약학 조성물은 인간을 비롯한 포유동물에 어떠한 방법으로도 투여할 수 있다. 예를 들어, 경구 또는 비경구로 투여할 수 있으며, 비경구적인 투여방법으로는 이에 제한되는 것은 아니나, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장내 투여될 수 있다.
- [0053] 본 발명의 약학 조성물은 상술한 바와 같은 투여 경로에 따라 경구 투여용 또는 비경구 투여용 제제로 제형화

할 수 있다. 제형화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제 또는 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

[0054] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 액제, 겔제, 시럽제, 슬러리제, 현탁액 또는 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 약학 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분(옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분 등 포함), 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose), 락토오스(Lactose), 텍스트로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필메틸-셀룰로오스 또는 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 예컨대, 활성성분을 고체 부형제와 배합한 다음 이를 분쇄하고 적합한 보조제를 첨가한 후 과립 혼합물로 가공함으로써 정제 또는 당의정제를 수득할 수 있다.

[0055] 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물 또는 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 또는 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0056] 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨 알기네이트 등을 봉해제로 첨가할 수 있으며, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0057] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 또는 좌제가 포함된다. 비수성용제 또는 현탁용제로는 프로필렌 글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜 또는 올리브 오일과 같은 식물성 기름; 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지 또는 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다. 비경구 투여용 제형은 모든 제약 화학에 일반적으로 공지된 처방서인 문헌(Remington's Pharmaceutical Science, 15th Edition, 1975. Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania 18042, Chapter 87: Blaug, Seymour)에 기재되어 있다.

[0058] 본 발명의 약학 조성물은 키레놀 또는, 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물을 유효량으로 포함할 때 바람직한 피부 미백 효과를 제공할 수 있다. 본 명세서에서, '유효량'이라 함은 피부 미백효과를 나타낼 수 있는 유효성분의 양을 의미한다. 본 발명의 약학 조성물에 포함되는 키레놀 또는 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물의 유효량은 조성물이 제품화되는 형태, 상기 화합물이 피부에 적용되는 방법 또는 피부에 머무르는 시간 등에 따라 달라질 것이다.

[0059] 본 발명의 약학적 조성물의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법(fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있다. 비경구 투여시는 상기 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스베키아 푸베센스 추출물을 기준으로 하루에 체중 1 kg당 바람직하게 0.01 내지 50 mg, 더 바람직하게는 0.1 내지 30 mg의 양으로 투여되도록, 그리고 경구 투여시는 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스베키아 푸베센스 추출물을 기준으로 하루에 체중 1 kg당 바람직하게 0.01 내지 100 mg, 더 바람직하게는 0.1 내지 50 mg의 양으로 투여되도록 1 내지 수회에 나누어 투여할 수 있다. 그러나 상기 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스베키아 푸베센스 추출물의 용량은 약학적 조성물의 투여 경로 및 치료 횟수뿐만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환의 중증도, 식이 및 배설을 등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정되는 것이므로, 이러한 점을 고려할 때 당 분야의 통상적인 지식을 가진 자라면 상기 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스베키아 푸베센스 추출물을 미백을 위한 특정한 용도에 따른 적절한 유효 투여량을 결정할 수 있을 것이다. 본 발명에 따른 약학 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지 아니한다.

[0060] 본 발명의 피부 미백용 약학 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 또는 생물학적 반응조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0061] 본 발명의 피부 미백용 약학 조성물은 또한 키레놀 또는, 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 외용제의 제형으로 제공할 수 있다.

[0062] 본 발명의 피부 미백용 약학 조성물을 피부외용제로 사용하는 경우, 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 향산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 유화제, 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 활성제, 친유성 활성제 또는 지질 소낭 등 피부 외용제에 통상적으로 사용되는 임

의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한 상기 성분들은 피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.

[0063] 본 발명의 피부 미백용 약학 조성물이 피부 외용제로 제공될 경우, 이에 제한되는 것은 아니나, 연고, 패취, 겔, 크림 또는 분무제 등의 제형일 수 있다.

[0064] 본 발명의 피부 미백용 조성물이 화장료 조성물인 경우, 키레놀 또는, 시게스벙키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 화장품은 일반적인 유화 제형 또는 가용화 제형의 형태로 제조할 수 있다. 예컨대, 유연 화장수 또는 영양 화장수 등과 같은 화장수; 웨이셜 로션 또는 바디로션 등과 같은 유액; 영양 크림, 수분 크림 또는 아이 크림 등과 같은 크림; 에센스; 화장연고; 스프레이; 젤; 팩; 선 스크린; 메이크업 베이스; 액체 타입, 고체 타입 또는 스프레이 타입 등의 파운데이션; 파우더; 클렌징 크림, 클렌징 로션, 클렌징 오일과 같은 메이크업 제거제; 클렌징 폼, 비누, 바디 워시 등과 같은 세정제 등의 제형을 가질 수 있다.

[0065] 또한 상기 화장품은 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제, 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 유화제, 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 활성제, 친유성 활성제 또는 지질 소나 등 화장품 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다.

[0066] 본 발명의 피부 미백용 조성물이 화장품으로 제품화되는 경우에 유효성분이 단기간 내에 피부에 머무르게 되는 메이크업 제거제 또는 세정제와 같은 워시-오프(wash-off) 타입의 화장품의 경우에는 유효성분을 비교적 높은 농도로 포함할 수 있을 것이다. 반면, 유효성분이 장기간 피부에 머무르게 되는 화장수, 유액, 크림 또는 에센스 등의 리브-온(leave-on) 타입의 화장품의 경우에는 워시-오프 타입의 화장품에 비해 낮은 농도의 유효성분을 포함해도 무방할 것이다. 이에 제한되는 것은 아니나, 본 발명의 한 구체예에서, 상기 조성물은 키레놀 또는, 시게스벙키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물을 전체 조성물 중량에 대하여 0.001 중량% 내지 10 중량%, 0.01 내지 5 중량 %로 포함할 수 있다. 키레놀 또는, 시게스벙키아 푸베센스 추출물 또는 이의 분획물을 0.0001 중량% 미만으로 포함할 경우에는 충분한 피부 미백 효과를 기대할 수 없고, 10 중량%를 초과하여 포함할 경우에는 알러지 등 원치 않는 반응이 발생하거나, 제조상의 문제 또는 피부 안전성에 문제가 있을 수 있으므로 이를 방지하기 위한 것이다.

[0067] 본 발명의 피부 미백용 조성물은 또한 식품 조성물일 수 있다. 식품 조성물은 일반 식품(conventional food), 영양보조제(nutritional supplements), 건강기능식품(health function foods) 및 식품 첨가제(food additives) 등을 포함한다.

[0068] 상기 유형의 식품 조성물은 당업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다. 일반 식품으로는 이에 한정되지 않지만 음료(알콜성 음료 포함), 과일 및 그의 가공식품(예: 과일통조림, 병조림, 잼, 마아말레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(예: 햄, 소시지 콘비이프 등), 빵류 및 면류(예: 우동, 메밀국수, 라면, 스파게이트, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 옛, 유제품(예: 버터, 치즈 등), 식용식물 유지, 마아가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료(예: 된장, 간장, 소스 등) 등에 상기 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스벙키아 푸베센스 추출물을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 영양보조제로는 이에 한정되지 않지만 캡슐, 타블렛, 환 등에 상기 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스벙키아 푸베센스 추출물을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 건강기능식품으로는 이에 한정되지 않지만 예를 들면, 상기 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스벙키아 푸베센스 추출물 자체를 차, 주스 및 드링크의 형태로 제조하여 음용(건강음료)할 수 있도록 액상화, 과립화, 캡슐화 및 분말화하여 섭취할 수 있다. 또한, 상기 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스벙키아 푸베센스 추출물을 식품 첨가제의 형태로 사용하기 위해서는 분말 또는 농축액 형태로 제조하여 사용할 수 있다. 또한, 상기 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스벙키아 푸베센스 추출물과 미백 효과가 있다고 알려진 공지의 활성 성분과 함께 혼합하여 조성물의 형태로 제조할 수 있다.

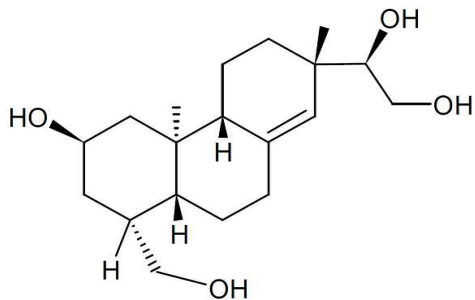
[0069] 본 발명의 피부 미백용 조성물이 건강음료 조성물로 이용되는 경우, 상기 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스과 같은 디사카라이드; 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드; 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g 이다.

[0070] 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스베키아 푸베센스 추출물은 피부 미백용 식품 조성물의 유효성분으로 함유될 수 있는데, 그 양은 미백 작용을 달성하기에 유효한 양으로 특별히 한정되는 것은 아니나, 전체 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 100 중량%인 것이 바람직하다. 본 발명의 식품 조성물은 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스베키아 푸베센스 추출물과 함께 미백 효과가 있는 것으로 알려진 다른 미백 활성 성분과 함께 혼합하여 제조될 수 있다.

[0071] 상기 외에 본 발명의 건강식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산, 펙트산의 염, 알긴산, 알긴산의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강식품은 천연 과일주스, 과일주스 음료, 또는 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0072] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명에 대한 이해를 돕기 위해 예시의 목적으로만 제공된 것일 뿐 본 발명의 범위가 이것들로부터 한정되는 것은 아니다. 하기 실시예의 실험 결과는 평균 \pm 표준편차로 표시하였으며, 통계적 분석은 ANOVA 분석법(Scheff test)을 사용하여 P value가 0.05 이하이면 유의성이 있는 것으로 평가하였다.

[0073] **참조예 1: 키레놀(kirenol)물질 정보**



[0074]

[0075] 명칭: Kirenol; Kirel; (1R,3S,4aS,4bS,7S,10aS)-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,9,10,10a-Dodecahydro-3-hydroxy-7-[(R)-1,2-dihydroxyethyl]-1,4a,7-trimethylphenanthrene-1-methanol

[0076] CAS No.: 52659-56-0

[0077] **[실시예 1] 시게스베키아 푸베센스 추출물의 제조**

[0078] [실시예 1-1] 시게스베키아 푸베센스 에탄올 추출물의 제조

[0079] 건조시킨 시게스베키아 푸베센스의 잎과 줄기를 믹서로 분쇄한 다음, 분쇄한 시게스베키아 푸베센스 시료 100 g을 에탄올 1 L에 넣고 50 °C에서 60분간 교반하면서 추출하였다. 추출된 시료는 와트만(whatman) 2번 여과지로 여과하고, 여과된 추출액을 진공 회전 농축기로 농축하여 용매성분을 제거함으로써 시게스베키아 푸베센스 에탄올 추출물을 얻었다.

[0080] [실시예 1-2] 시게스베키아 푸베센스 열수 추출물의 제조

[0081] 건조시킨 시게스베키아 푸베센스잎과 줄기를 믹서로 분쇄한 다음, 분쇄한 시게스베키아 푸베센스 시료 100 g을 물 1 L에 넣고 100 °C에서 4시간 교반하면서 추출하였다. 추출된 시료는 와트만 2번 여과지로 여과하고, 여과된 추출액을 진공 회전 농축기로 농축하여 용매성분을 제거함으로써 시게스베키아 푸베센스 열수 추출물을 얻었다.

- [0082] [실시예 1-3] 시게스베키아 푸베센스 메탄올 추출물의 제조
- [0083] 건조시킨 시게스베키아 푸베센스 잎과 줄기를 믹서로 분쇄한 다음, 분쇄한 시게스베키아 푸베센스 시료 100 g을 메탄올 1 L에 넣고 50 °C에서 60분간 교반하면서 추출하였다. 추출된 시료는 와트만 2번 여과지로 여과하고, 여과된 추출액을 진공 회전 농축기로 농축하여 용매성분을 제거함으로써 시게스베키아 푸베센스 메탄올 추출물을 얻었다.
- [0084] [실시예 1-4] 시게스베키아 푸베센스 헥산 추출물의 제조
- [0085] 건조시킨 시게스베키아 푸베센스 잎과 줄기를 믹서로 분쇄한 다음, 분쇄한 시게스베키아 푸베센스 시료 100 g을 헥산 1 L에 넣고 50 °C에서 60분간 교반하면서 추출하였다. 추출된 시료는 와트만 2번 여과지로 여과하고, 여과된 추출액을 진공 회전 농축기로 농축하여 용매성분을 제거함으로써 시게스베키아 푸베센스 헥산 추출물을 얻었다.
- [0086] [실시예 1-5] 시게스베키아 푸베센스 에틸아세테이트 추출물의 제조
- [0087] 건조시킨 시게스베키아 푸베센스 잎과 줄기를 믹서로 분쇄한 다음, 분쇄한 시게스베키아 푸베센스 시료 100 g을 에틸아세테이트 1 L에 넣고 50 °C에서 60분간 교반하면서 추출하였다. 추출된 시료는 와트만 2번 여과지로 여과하고, 여과된 추출액을 진공 회전 농축기로 농축하여 용매성분을 제거함으로써 시게스베키아 푸베센스 에틸아세테이트 추출물을 얻었다.
- [0088] [실시예 1-6] 시게스베키아 푸베센스 클로로포름 추출물의 제조
- [0089] 건조시킨 시게스베키아 푸베센스 잎과 줄기를 믹서로 분쇄한 다음, 분쇄한 시게스베키아 푸베센스 시료 100 g을 클로로포름 1 L에 넣고 50 °C에서 60분간 교반하면서 추출하였다. 추출된 시료는 와트만 2번 여과지로 여과하고, 여과된 추출액을 진공 회전 농축기로 농축하여 용매성분을 제거함으로써 시게스베키아 푸베센스 클로로포름 추출물을 얻었다.
- [0090] [실시예 1-7] 시게스베키아 푸베센스 초고압 추출물의 제조
- [0091] 건조시킨 시게스베키아 푸베센스의 잎과 줄기를 믹서로 분쇄한 다음, 분쇄한 시게스베키아 푸베센스 시료 1 g과 18% 에탄올 76 mL을 폴리에틸렌(polyethylene) 팩에 넣고 밀봉한 후 초고압 추출장치(Frescal MFP-7000; Mitsubishi Heavy Industries, Tokyo, Japan)를 이용하여 추출하였다. 초고압 추출 조건은 추출압력이 320 MPa, 추출시간은 5 min 이었다. 추출된 시료는 와트만 2번 여과지로 여과하고, 여과된 추출액을 진공 회전 농축기로 농축하여 용매성분을 제거함으로써 시게스베키아 푸베센스 초고압 추출물을 얻었다.
- [0092] **[실시예 2] 키레놀의 분리 및 구조결정**
- [0093] [실시예 2-1] 키레놀의 분리
- [0094] 상기 실시예 1-1에서 얻은 농축된 시게스베키아 푸베센스 에탄올 추출물을 실리카겔이 충전된 컬럼에 적재하고 에틸아세테이트, 메탄올을 10:0.5(v/v)의 비율로 혼합한 용매시스템을 이용하여 분취하였다. 상기 분취 순서에 따라서 총 7개의 분획으로 나누어 각각의 분획을 농축 건조하였다. 7개의 분획 중 6번 분획(분획 6)을 RP-18 역상컬럼 크로마토그래피(Lichroprep RP-18 25~40um, Merck&Co., Whitehouse Station, NJ, USA)를 이용하여 전개 용매 10% 에틸아세테이트로 분취하였다. 상기 분취 순서에 따라서 총 2개의 분획으로 나누어 각각의 분획을 농축 건조하였다. 상기 2개의 분획 중 2번 분획(분획 6-2)을 농축 건조하고 다시 Rp-18 역상컬럼 크로마토그래피 이용하여 전개 용매 20% 에틸아세테이트로 분취하였다. 상기 분취 순서에 따라서 총 3개의 분획으로 나누어 각각의 분획을 농축 건조하였다. 최종적으로 3개의 분획 중 2번 분획(분획 6-2-2)을 농축 건조시켜 순수한 단일 활성 물질을 분리하였다.

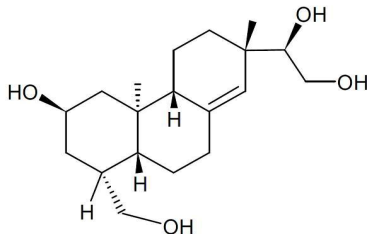
[0095] [실시예 2-2] 키레놀의 구조결정

[0096] 상기 실시예 2-1에서 분리된 단일 활성물질의 구조결정을 위하여 ^1H -NMR 스펙트럼과 ^{13}C -NMR 스펙트럼을 각각 500 MHz 와 125 MHz(용매: MeOH)에서 측정하였다. 수득된 ^1H -NMR 스펙트럼과 ^{13}C -NMR 스펙트럼의 결과를 토대로 ^1H 의 상관관계와 ^1H ^{13}C 의 상관관계를 측정하기 위하여 ^1H ^1H COSY 스펙트럼과 ^1H ^{13}C HSQC 스펙트럼을 측정하고, 탄소공명을 통해 나오는 파장으로 각각의 탄소 신호를 구별하여 그 결과를 측정하였다.

[0097] 또한 상기 분리된 단일물질의 질량분석을 위해 측정된 FAB-MS를 측정하였다. 본 화합물은 FAB-MS에서 [M]⁺가 *m/z* 338.48에서 관측되어 분자량이 338.48로 판명되었고, 분자식 $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_4$ 였다.

[0098] 이상의 ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, 및 FAB-MS에 대한 결과와 기존에 발표된 연구보고(Wang J.P. et al., Pharmacogn. Mag., 8:149-155, 2012)를 비교 분석하여 동정한 결과, 상기에서 분리된 단일물질은 하기 화학식 2로 표시되는 키레놀(kirenol) 화합물로 확인되었다.

[0099] [화학식 2]



[0100]

[0101] [실시예 3] B16F10 멜라노마 세포에서 키레놀 처리에 따른 멜라닌 생성 억제 및 티로시나제 활성 억제 효과 및 단백질 발현 감소 효과

[0102] [실시예 3-1] B16F10 멜라노마 세포에서 멜라닌 생성 억제 효과

[0103] B16F10 멜라노마 세포를 10 % 우태아 혈청(fetal bovine serum)이 함유된 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Media) 배지에서 배양한 후 6-웰 플레이트에 2×10^5 cell/ml(최종 부피 3 ml)으로 넣는다. 24 시간 배양한 후 배지를 제거하고 200 nM α -멜라닌세포자극호르몬(α -MSH)이 든 DMEM 배지에 녹인 상기 실시예 2에서 제조한 키레놀을 각각 10, 20, 40 μM 농도로 처리하였다. 72 시간 경과 후 6-웰 플레이트에서 배양된 배지를 제거하고 0.25% 트립신-에틸렌디아민사아세트산(trypsin-EDTA)용액을 처리하여 세포 펠렛(pellet)을 회수하고 1.5 ml 튜브(tube)로 옮겨 10,000rpm으로 10분간 원심분리하여 상등액을 제거하였다. 얻어진 펠렛을 60℃에서 건조시킨 후 1N NaOH 100 μl 를 넣어 세포내 멜라닌을 녹였다. 이 용액을 PBS로 희석시킨 다음 ELISA 판독기로 405nm에서 흡광도를 측정하여 시료 처리군의 멜라닌 함량을 구하였다. 상기 키레놀을 첨가하지 않은 세포를 대조군으로 하여 대조군에서의 멜라닌 함량과 비교하여 실험물질의 멜라닌 생성 정도를 측정하여 미백효과를 측정하였다. 하기 수학적 식 1에 따라 대조군 대비 멜라닌 함량을 계산하여 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0104] [수학적 식 1]

[0105] 대조군 대비 멜라닌 함량(%) =
$$\frac{\text{각 실험물질의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

[0106] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 키레놀은 멜라닌 생성 저해효과가 우수하여 미백효과가 우수함을 알 수 있었다(**: $P < 0.01$).

- [0107] [실시예 3-2] B16F10 멜라노마 세포에서 티로시나제(tyrosinase) 활성 억제 효과
- [0108] B16F10 멜라노마 세포를 10 % 우태아 혈청(fetal bovine serum)이 함유된 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Media) 배지에서 배양한 후 6-웰 플레이트에 2×10^5 cell/ml(최종 부피 3 ml)으로 넣는다. 24 시간 배양한 후 배지를 제거하고 200 nM α -멜라닌세포자극호르몬(α -MSH)이 든 DMEM 배지에 녹인 상기 실시예 2에서 제조한 키레놀을 각각 10, 20, 40 μ M 농도로 처리하였다. 48 시간 경과 후 6-웰 플레이트에서 배양된 배지를 제거하고 1 % 트리톤 X-100(Triton X-100)이 함유된 인산염 완충액(pH 6.8)을 첨가하여 세포를 회수한 후 1.5 ml 튜브로 옮겨 10,000rpm으로 10분간 원심 분리하였다. 상등액을 모아 그 중 150 μ l을 96-웰마이크로플레이트(96-well microplate)에 넣은 후 L-도파(L-dopa) 50 μ l을 첨가하였다. 37°C에서 30분간 배양한 후 마이크로플레이트 리더(micro plate reader)를 이용하여 생성된 도파 크롬(dopa chrome)의 양을 475nm에서 흡광도를 측정하였다. 상기 키레놀을 첨가하지 않은 세포를 대조군으로 하여 대조군에서의 티로시나제 활성과 비교하여 실험물질의 티로시나제 활성 정도를 측정하여 미백효과를 측정하였다.
- [0109] 하기 수학적 2에 따라 대조군 대비 티로시나제 활성을 계산하여 그 결과를 도 2에 나타내었다.
- [0110] [수학적 2]
- [0111] 대조군 대비 티로시나제 활성(%) =
$$\frac{\text{각 실험물질의 반응 흡광도}}{\text{대조군의 반응 흡광도}} \times 100$$
- [0112] 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 키레놀은 티로시나제 저해효과가 우수하여 미백효과가 우수함을 알 수 있었다(**: P<0.01).
- [0113] [실시예 3-3] B16F10 멜라노마 세포에서 티로시나제 단백질 발현 감소 효과
- [0114] B16F10 멜라노마 세포를 10 % 우태아 혈청(fetal bovine serum)이 함유된 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Media) 배지에서 배양한 후 6-웰 플레이트에 2×10^5 cell/ml(최종 부피 3 ml)으로 넣는다. 24 시간 배양한 후 배지를 제거하고 200 nM α -멜라닌세포자극호르몬(α -MSH)이 든 DMEM 배지에 녹인 상기 실시예 2에서 제조한 키레놀을 10, 40 μ M 농도로 처리하였다. 24 시간 경과 후 B16F10 세포를 프로테아제 억제제 콕테일(proteinase inhibitor cocktail)이 포함된 NP40 완충용액으로 용해시켰다. B16F10 세포에서 추출한 단백질 양은 브래드포드(Bradford)법을 이용하여 정량하였다. 상기시료를 5분간 끓인 후, 동량의 단백질(20 g)을 10% SDS-PAGE로 전기영동하여 분리하였다. 전기영동 후 분리된 단백질을 니트로셀룰로스 막으로 전달하고 웨스턴 블롯(western blot)을 수행하였다. 1차 항체에 반응시킨 다음 TBST(Tris-buffer Saline Tween20)를 이용하여 10분간 3회 세척하였다. 이때, 본 발명에서 사용된 1차 항체의 종류와 희석률은 1:1000이다. 2차 항체반응은 상기 1차 항체반응을 수행한 막에 2차 항체(anti-goat horseradish)를 넣고 상온에서 2시간 동안 반응하였다. 이때 2차 항체의 희석률은 1:5000으로 하였다. 단백질 밴드는 ECL 웨스턴 블로팅 검출 시약(Amersham, Tokyo, Japan)을 사용하여 발색하였다. 티로시나제의 단백질 발현을 확인하였으며, α -튜불린으로 단백질 로딩량이 일정함을 나타내었다.
- [0115] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이 키레놀 처리에 따라 B16F10 멜라노마 세포에서 티로시나제의 단백질 발현이 감소한 것을 확인할 수 있었다. 따라서 키레놀은 멜라닌세포에서 멜라닌을 생성하는 효소인 티로시나제의 단백질 발현을 억제함으로써 미백효과가 우수함을 알 수 있다.
- [0116] [실시예 4] B16F10 멜라노마 세포에서 시게스베키아 푸베센스 에탄올 추출물 처리에 따른 멜라닌 생성 억제, 티로시나제 활성 억제
- [0117] [실시예 4-1] B16F10 멜라노마 세포에서 멜라닌 생성 억제 효과
- [0118] 상기 실시예 3-1과 같은 방법으로 상기 실시예 1-1에서 제조한 시게스베키아 푸베센스 에탄올 추출물을 10, 20, 40 μ g/ml 농도로 각각 처리하였다.
- [0119] 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이 시게스베키아 푸베센스 에탄올 추출물은 멜라닌 생성 저해효과가 우수하여

미백효과가 우수함을 알 수 있었다(**: P<0.01).

[실시예 4-2] B16F10 멜라노마 세포에서 티로시나제 활성 억제 효과

상기 실시예 3-2과 같은 방법으로 상기 실시예 1-1에서 제조한 시게스베키아 푸베센스 에탄올 추출물을 10, 20, 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 각각 처리하였다.

그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이 시게스베키아 푸베센스 에탄올 추출물은 티로시나제 저해효과가 우수하여 미백효과가 우수함을 알 수 있었다(**: P<0.01).

[실시예 5] B16F10 멜라노마 세포에서 시게스베키아 푸베센스 추출물 처리에 따른 멜라닌 생성 억제

상기 실시예 3-1과 같은 방법으로 상기 실시예 1-2 내지 실시예 1-7에서 제조한 시게스베키아 푸베센스 추출물을 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 각각 처리하였다.

그 결과 아래 표 1에 나타난 바와 같이 시게스베키아 푸베센스 열수, 메탄올, 헥산, 에틸아세테이트 및 클로로포름 추출물은 대조군과 비교하여 멜라닌 생성 저해효과가 우수하여 미백효과가 우수함을 알 수 있었다(**: P<0.01).

표 1

시게스베키아 푸베센스 추출물의 멜라닌 생성 저해효과

시게스베키아 푸베센스 추출물	대조군 대비 멜라닌 함량 (%)
실시예 1-2 (열수 추출물)	82.9*
실시예 1-3 (메탄올 추출물)	78.4**
실시예 1-4 (헥산 추출물)	65.5**
실시예 1-5 (에틸아세테이트 추출물)	70.5**
실시예 1-6 (클로로포름 추출물)	67.1**

이하, 본 발명에 따른 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스베키아 푸베센스 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 화장료, 식품 의약품의 제조예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다. 상기 피부 미백 효과가 우수한 키레놀 또는 이를 함유하는 시게스베키아 푸베센스 추출물을 가지고 하기와 같은 조성성분 및 조성비에 따라 제조예 1 내지 3의 피부 미백용 조성물을 통상적인 방법에 따라서 제조하였다.

[제조예 1 - 화장품]

[제조예 1-1] 영양화장수(밀크로션)

상기 실시예 1 내지 실시예 2의 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀을 하기 표 2의 영양화장수 제형 비율대로 하여 통상적인 방법에 따라 영양화장수를 제조하였다.

표 2

배합성분	제조예 1-1-1 (중량%)	제조예 1-1-2 (중량%)
시게스베키아 푸베센스 추출물	1.0	-
키레놀	-	0.1
스쿠알란	5.0	5.0
밀납	4.0	4.0
폴리솔베이트 60	1.5	1.5
솔비탄세스퀴올레이트	1.5	1.5
유동파라핀	0.5	0.5
카프릴릭/카프릭트리글리세라이드	5.0	5.0
글리세린	3.0	3.0

부틸렌글리콜	3.0	3.0
프로필렌글리콜	3.0	3.0
카르복시비닐폴리머	0.1	0.1
트리에탄올아민	0.2	0.2
방부제, 색소, 향료	적량	적량
정제수	to 100	to 100

[0132] [제조예 1-2] 유연화장수(스킨로션)

[0133] 상기 실시예 1 내지 실시예 2의 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀을 하기 표 3의 유연화장수 제형 비율대로 하여 통상적인 방법에 따라 유연화장수를 제조하였다.

표 3

배합성분	제형예 1-2-1 (중량%)	제형예 1-2-2 (중량%)
시게스베키아 푸베센스 추출물	0.5	-
키레놀	-	0.05
글리세린	3.0	3.0
부틸렌글리콜	2.0	2.0
프로필렌글리콜	2.0	2.0
카르복시비닐폴리머	0.1	0.1
PEG 12 노닐페닐에테르	0.2	0.2
폴리솔베이트 80	0.4	0.4
에탄올	10.0	10.0
트리에탄올아민	0.1	0.1
방부제, 색소, 향료	적량	적량
정제수	to 100	to 100

[0135] [제조예 1-3] 영양크림

[0136] 상기 실시예 1 내지 실시예 2의 시게스베키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀을 하기 표 4의 영양크림 제형 비율대로 하여 통상적인 방법에 따라 영양크림을 제조하였다.

표 4

배합성분	제형예 1-3-1 (중량%)	제형예 1-3-2 (중량%)
시게스베키아 푸베센스 추출물	2.0	-
키레놀	-	0.5
폴리솔베이트 60	1.5	1.5
솔비탄세스퀴올레이트	0.5	0.5
PEG60 경화피마자유	2.0	2.0
유동과라핀	10	10
스쿠알란	5.0	5.0
카프릴릭/카프릭트리글리세라이드	5.0	5.0
글리세린	5.0	5.0
부틸렌글리콜	3.0	3.0
프로필렌글리콜	3.0	3.0
트리에탄올아민	0.2	0.2
방부제	적량	적량
색소	적량	적량
향료	적량	적량
정제수	to 100	to 100

[0138] [제조예 1-4] 마사지크림

[0139]

상기 실시예 1 내지 실시예 2의 시게스벡키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀을 하기 표 5의 마사지크림 제형 비율대로 하여 통상적인 방법에 따라 마사지크림을 제조하였다.

[표 5]

배합성분	제형예 1-4-1 (중량%)	제형예 1-4-2 (중량%)
시게스벡키아 푸베센스 추출물	1.0	-
키레놀	-	1.0
밀납	10.0	10.0
폴리솔베이트 60	1.5	1.5
PEG 60 경화피마자유	2.0	2.0
솔비탄세스퀴올레이트	0.8	0.8
유동파라핀	40.0	40.0
스쿠알란	5.0	5.0
카프릴릭/카프릭트리글리세라이드	4.0	4.0
글리세린	5.0	5.0
부틸렌글리콜	3.0	3.0
프로필렌글리콜	3.0	3.0
트리에탄올아민	0.2	0.2
방부제, 색소, 향료	적량	적량
정제수	to 100	to 100

[0140]

[0141]

[제조예 1-5] 팩

[0142]

상기 실시예 1 내지 실시예 2의 시게스벡키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀을 하기 표 6의 팩 제형 비율대로 하여 통상적인 방법에 따라 팩을 제조하였다.

[표 6]

배합성분	제형예 1-5-1 (중량%)	제형예 1-5-2 (중량%)
시게스벡키아 푸베센스 추출물	1.0	-
키레놀	-	1.0
폴리비닐알콜	13.0	13.0
소듐카르복시메틸셀룰로오스	0.2	0.2
글리세린	5.0	5.0
알란토인	0.1	0.1
에탄올	6.0	6.0
PEG 12 노닐페닐에테르	0.3	0.3
폴리솔베이트 60	0.3	0.3
방부제, 색소, 향료	적량	적량
경계수	to 100	to 100

[0143]

[0144]

[제조예 1-6] 젤

[0145]

상기 실시예 1 내지 실시예 2의 시게스벡키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀을 하기 표 7의 젤 제형 비율대로 하여 통상적인 방법에 따라 젤을 제조하였다.

[표 7]

배합성분	제형예 1-6-1 (중량%)	제형예 1-6-2 (중량%)
시게스벙키아 푸베센스 추출물	0.5	-
키레놀	-	0.5
에틸헨디아민초산나트륨	0.05	0.05
글리세린	5.0	5.0
카르복시비닐폴리머	0.3	0.3
에탄올	5.0	5.0
PEG 60 경화피마자유	0.5	0.5
트리에탄올아민	0.3	0.3
방부제, 색소, 향료	적량	적량
정제수	to 100	to 100

[0146]

[0147]

[제조예 2 - 식품]

[0148]

[제조예 2-1] 건강식품의 제조

[0149]

상기 실시예 1 내지 실시예 2의 시게스벙키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀 1000 mg, 비타민 A 아세테이트 70 ug, 비타민 E 1.0 mg, 비타민 B1 0.13 mg, 비타민 B2 0.15 mg, 비타민 B6 0.5 mg, 비타민 B12 0.2 ug, 비타민 C 10 mg, 비오틴 10 ug, 니코틴산아미드 1.7 mg, 엽산 50 ug, 판토텐산 칼슘 0.5 mg, 황산제1철 1.75 mg, 산화아연 0.82 mg, 탄산마그네슘 25.3 mg, 제1인산칼슘 15 mg, 제2인산칼슘 55 mg, 구연산칼슘 90 mg, 탄산칼슘 100 mg, 염화마그네슘 24.8 mg를 혼합하여 제조할 수 있으며, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0150]

[제조예 2-2] 건강음료의 제조

[0151]

상기 실시예 1 내지 실시예 2의 시게스벙키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀 1000 mg, 구연산 1000 mg, 올리고당 100 g, 매실농축액 2 g, 타우린 1 g에 정제수를 가하여 전체 900 ml 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간동안 85에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 건강음료 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0152]

[제조예 2-3] 츄잉껌

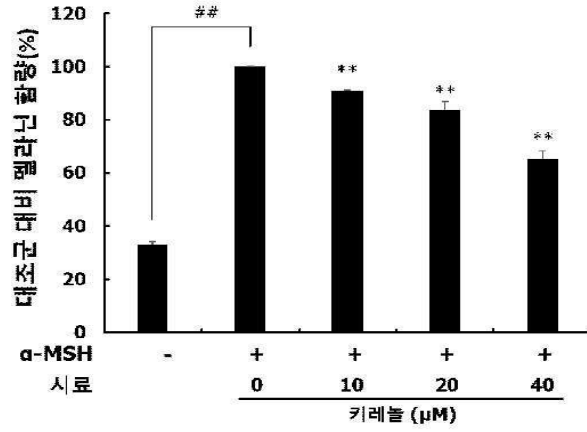
[0153]

껌 베이스 20 중량%, 설탕 76.9 중량%, 향료 1 중량% 및 물 2 중량% 와 상기 실시예 1-1의 시게스벙키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀 0.1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 츄잉껌을 제조하였다.

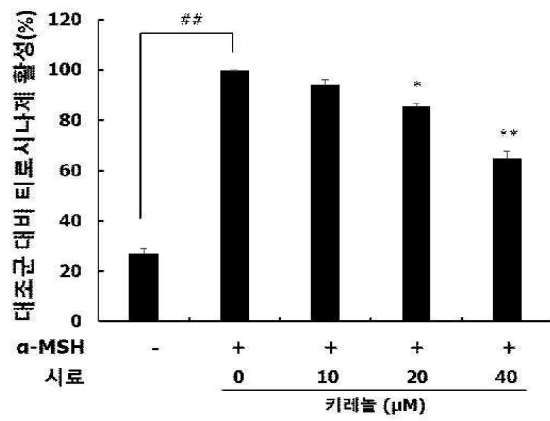
- [0154] [제조예 2-4] 캔디
- [0155] 설탕 60 중량%, 물엿 39.8 중량% 및 향료 0.1 중량%와 상기 실시예 1 내지 실시예 2의 시게스벙키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀 0.1 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 캔디를 제조하였다.
- [0156] [제조예 2-5] 비스킷
- [0157] 박력 1급 25.59 중량%, 중력 1급 22.22 중량%, 정백당 4.80 중량%, 식염 0.73 중량%, 포도당 0.78 중량%, 팜쇼트닝 11.78 중량%, 압모늄 1.54 중량%, 중조 0.17 중량%, 중아황산나트륨 0.16 중량%, 쌀가루 1.45 중량%, 비타민 B 0.0001 중량%, 밀크향 0.04 중량%, 물 20.6998 중량%, 전지분유 1.16 중량%, 대용분유 0.29 중량%, 제1인산칼슘 0.03 중량%, 살포염 0.29 중량% 및 분무유 7.27 중량%와 상기 실시예 1 내지 실시예 2의 시게스벙키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀 중량%를 배합하여 통상의 방법으로 비스킷을 제조하였다.
- [0158] [제조예 3 - 의약품]
- [0159] [제조예 3-1] 산제
- [0160] 상기 실시예 1 내지 실시예 2의 시게스벙키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀 50 mg, 결정셀룰로오스 2 g을 혼합한 후 통상의 산제 제조방법에 따라서 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.
- [0161] [제조예 3-2] 정제
- [0162] 상기 실시예 1 내지 실시예 2의 시게스벙키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀 50 mg, 결정셀룰로오스 400 mg, 스테아린산 마그네슘 5 mg을 혼합한 후 통상의 정제 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.
- [0163] [제조예 3-3] 캡슐제
- [0164] 상기 실시예 1 내지 실시예 2의 시게스벙키아 푸베센스 추출물 또는 키레놀 30 mg, 유청단백질 100 mg, 결정셀룰로오스 400 mg, 스테아린산 마그네슘 6 mg을 혼합한 후 통상의 캡슐제 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.
- [0165] [제조예 3-4] 주사제
- [0166] 통상의 주사제 제조방법에 따라 활성성분을 주사용 증류수에 용해하고 pH를 약 7.5로 조절한 다음 상기 실시예 2의 키레놀 100 mg, 주사용 증류수, pH 조절제를 혼합하여 2 ml 용량의 앰플에 충전하고 멸균시켜서 주사제를 제조하였다.

도면

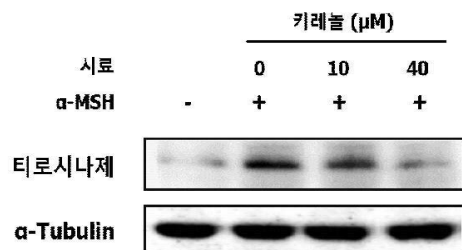
도면1



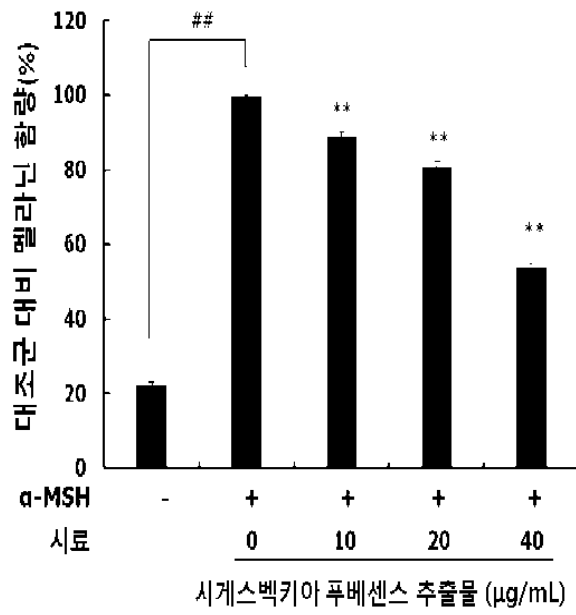
도면2



도면3



도면4



도면5

