

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2022-0009697
(43) 공개일자 2022년01월25일

- | | |
|---|---|
| (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
<i>A61K 36/185</i> (2006.01) <i>A23L 33/105</i> (2016.01)
<i>A61P 17/14</i> (2006.01)
(52) CPC특허분류
<i>A61K 36/185</i> (2013.01)
<i>A23L 33/105</i> (2016.08)
(21) 출원번호 10-2020-0088235
(22) 출원일자 2020년07월16일
심사청구일자 2020년10월21일 | (71) 출원인
경상국립대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
정은주
경상남도 진주시 진주대로 859, 13동 904호(주약동, 한주럭키아파트)
(74) 대리인
특허법인충현 |
|---|---|

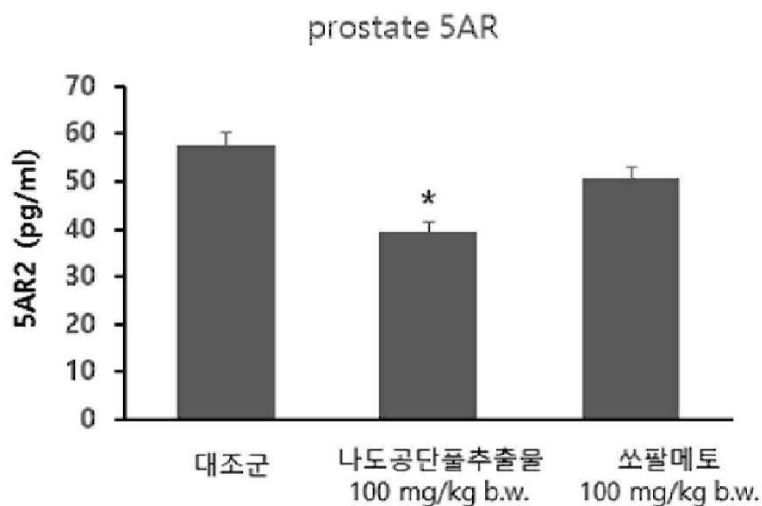
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 나도공단폴을 유효성분으로 포함하는 탈모증 예방, 개선 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 나도공단폴 유효성분으로 포함하는 탈모증 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 이에 의하여, 피나스테리드(finasteride)나 두타스테리드(dutasteride)와 같은 탈모 치료제를 대체할 수 있으며, 탈모증을 효과적으로 치료할 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61P 17/14 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/318 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

나도공단폴을 유효성분으로 포함하는 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 나도공단폴은 생나도공단폴, 나도공단폴 건조물 및 나도공단폴 추출물 중에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 나도공단폴 추출물의 추출용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 또는 이들의 혼합물인 것을 특징으로 하는 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물은 5AR2(5 α -reductase 2형) 및 TGF- β 2 중에서 선택된 1종 이상의 발현 억제용인 것을 특징으로 하는 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물은 태반성장인자(PIGF) 분비 촉진용인 것을 특징으로 하는 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 6

나도공단폴을 유효성분으로 포함하는 탈모증 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 나도공단폴은 생나도공단폴, 나도공단폴 건조물 및 나도공단폴 추출물 중에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 탈모증 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 나도공단폴 추출물의 추출용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 또는 이들의 혼합물인 것을 특징으로 하는 탈모증 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 9

제6항에 있어서,

상기 탈모증 예방 또는 개선용 식품 조성물은 5AR2(5 α -reductase 2형) 및 TGF- β 2 중에서 선택된 1종 이상의 발현 억제용인 것을 특징으로 하는 탈모증 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 10

제6항에 있어서,

상기 탈모증 예방 또는 개선용 식품 조성물은 태반성장인자(PIGF) 분비 촉진용인 것을 특징으로 하는 탈모증 예방 또는 개선용 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 나도공단폴(Sida rhombifolia)을 유효성분으로 포함하는 탈모증 예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 남성의 외모에 대한 관심이 증가하면서 탈모증의 치료에 대한 관심 또한 증대되고 있다. 최근 탈모 치료를 위한 많은 연구가 진행되어 왔지만 아직도 탈모의 원인이 무엇인지 정확하게 알려져 있지는 않다.

[0003] 현재 탈모 및 육모 기전에 관여하는 많은 조절 인자들에 대한 연구가 활발히 진행 중이다. 특히 모낭의 형태 형성과 성장에는 많은 종류의 사이토카인(cytokine) 및 성장인자들이 관여한다고 밝혀진 바 있다. 예를 들어 종양 괴사인자(Tumour Necrosis Factor- α , TNF- α), 인터류킨-1 α (Interleukin-1 α , IL-1 α), 인터류킨-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β), 인터페론- γ (Interferon- γ , IFN- γ), 섬유아세포 성장인자(Fibroblast Growth Factor-5, FGF5), 간세포 성장인자(Hepatocyte Growth Factor, HGF), 혈관내피 성장인자(Vascular Epithelial Growth Factor, VEGF), 인슐린유사성장인자-I(Insulin like Growth Factor-I, IGF-I), 인슐린유사성장인자-II(Insulin-like Growth Factor-II, IGF-II) 및 표피성장인자 수용체(Epithelial Growth Factor Receptor, EGFR)가 이에 해당한다. TNF- α 는 기질세포에서 세포의 죽음을 증가시키고 모간의 연장(Elongation)을 억제하며 IL-1 α 및 IL-1 β 역시 모낭의 성장을 억제한다. 또한 IFN- γ 의 과발현은 탈모를 유발시키고, FGF5는 래트(rat)의 모낭에서 퇴행기를 유도하는 반면에 HGF는 모낭 성장을 촉진한다. 또한 IGF-I 및 IGF-II는 인슐린 없이 모낭을 배양할 때 농도 의존적으로 모낭의 성장을 촉진하며, EGF-수용체(EGF-receptor)가 제거된 유전자이식(Transgenic) 마우스의 경우 세포 괴사(Necrosis)가 일어나 모낭이 사라진다고 보고된 바 있다.

[0004] 탈모의 가장 전형적인 형태인 남성형 탈모증(AGA, Androgenetic alopecia)는 안드로겐(Androgen) 호르몬에 의존적으로 발생하는 것으로 알려져 있다. 포유류에서 대표적인 안드로겐 호르몬으로는 테스토스테론(Testosterone)과 디하이드로테스토스테론(Dihydrotestosterone)이 있고, 디하이드로테스토스테론은 테스토스테론 보다 안드로겐 수용체(AR, Androgen receptor)에 더 강하게 결합하는 특성이 있으며, 탈모증이 있는 사람은 디하이드로테스토스테론이 더 많이 나타난다는 연구가 보고된 바 있다. 디하이드로테스토스테론이 안드로겐 수용체와 결합하여 모낭세포의 단백질 합성을 지연시켜 모낭의 생장기가 단축되고 모낭을 위축시켜 탈모를 유발한다.

[0005] 테스토스테론은 5 α -환원효소(5 α -reductase)에 의해서 디하이드로테스토스테론으로 전환된다. 5 α -환원효소는 제1형 5 α -환원효소와 제2형 5 α -환원효소가 있다. 제1형 5 α -환원효소는 피지선에서 현저하게 나타나지만 모낭에서는 보이지 않고, 제2형 5 α -환원효소의 경우 턱수염 및 이마의 머리카락과 모낭의 외모근초에서 나타나지만 피지선 및 진피유두에서는 나타나지 않는다. 두 형태 중 제2형 5 α -환원효소에 의해 테스토스테론에서 전환되는 디하이드로테스토스테론은 진피유두 및 모낭에 점진적인 축소화(Miniaturization)를 가져온다. 또한 디하이드로테스토스테론을 처리하여 진피유두세포를 배양시 퇴행기를 유도하고 모낭성장은 억제하는 변형성장인자(Transforming growth factor-beta 2; TGF- β 2)의 양이 증가한다고 보고되고 있다. 제2형 5 α -환원효소 활성 억제제인 피나스테리드(Finasteride)는 탈모환자의 디하이드로테스토스테론(DHT)을 감소시켜 탈모를 방지할 수 있게 한다.

[0006] 5 α 환원효소 억제제인 피나스테리드와 두타스테리드는 테스토스테론이 5 α 환원효소에 의해 활성 대사물질인 디하이드로테스토스테론(DHT)으로의 전환을 억제함으로써 탈모치료에 효과적인 것으로 알려져 있으나, 이들 약물은 발기 부전, 성욕 감소 및 정액 부피 감소와 같은 부작용을 일으키는 것으로 알려져 있다. 이렇듯 현재 사용하고 있는 약물치료가 다소 효과가 있다고는 하나, 이와 같은 부작용이 발생하는 문제점이 있다. 이에 따라 인체에 부작용을 최소화할 수 있는 탈모증 개선 또는 치료용 물질의 개발이 필요한 실정이다.

[0007] 한편, 나도공단폴(Sida rhombifolia)은 아욱목(Malvales) 아욱과(Malvaceae)에 속하며, 한국, 일본, 아열대지역, 열대지역 등에 분포하고 있다. 이와 같은 나도공단폴은 관절염 개선 효과(Gupta SR et al., "Anti-arthritic activity of various extracts of Sida rhombifolia aerial parts", Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters, 23:8, 689-695 등 참조), 당뇨 치료 효과(Vaibhav M. Shinde et.al., "Hypoglycemic and Hypolipidemic Effect of Sida rhombifolia ssp. retusa in Diabetic Induced Animals", International Journal of Phytomedicine 2 (2010) 160-165 등 참조} 등이 보고된 바 있고, 최근 들어 혈관 이완 효과{Chaves OS et al., "Alkaloids and Phenolic Compounds from Sida rhombifolia L. (Malvaceae) and Vasorelaxant Activity of Two Indoquinoline Alkaloids". Molecules 2017;22:1-9 등 참조}가 있다고 알려진 바 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 한국등록특허공보 제10-2107194호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 나도공단폴을 유효성분으로 포함하는 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 데 있다.

[0010] 본 발명의 다른 하나의 목적은 나도공단폴을 유효성분으로 포함하는 탈모증 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 데 있다.

[0011] 본 발명의 다른 또 하나의 목적은 나도공단폴을 유효성분으로 포함하는 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 데 있다.

[0012] 본 발명의 다른 또 하나의 목적은 나도공단폴을 유효성분으로 포함하는 탈모증 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명의 일 측면에 따르면,

[0014] 나도공단폴(Sida rhombifolia)을 유효성분으로 포함하는 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물이 제공된다.

[0015] 상기 나도공단폴은 생나도공단폴, 나도공단폴 건조물 및 나도공단폴 추출물 중에서 선택된 어느 하나일 수 있다.

[0016] 상기 나도공단폴 추출물의 추출용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 또는 이들의 혼합물일 수 있다.

[0017] 상기 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물은 5AR2(5 α -reductase 2형) 및 TGF- β 2 중에서 선택된 1종 이상의 발현 억제용일 수 있다.

[0018] 상기 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물은 태반성장인자(PIGF) 분비 촉진용일 수 있다.

[0019] 본 발명의 다른 하나의 측면에 따르면,

[0020] 나도공단폴을 유효성분으로 포함하는 탈모증 예방 또는 개선용 식품 조성물이 제공된다.

[0021] 상기 나도공단폴은 생나도공단폴, 나도공단폴 건조물 및 나도공단폴 추출물 중에서 선택된 어느 하나일 수 있다.

[0022] 상기 나도공단폴 추출물의 추출용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 또는 이들의 혼합물일 수 있다.

[0023] 상기 탈모증 예방 또는 개선용 식품 조성물은 5AR2(5 α -reductase 2형) 및 TGF- β 2 중에서 선택된 1종 이상의 발현 억제용일 수 있다.

[0024] 상기 탈모증 예방 또는 개선용 식품 조성물은 태반성장인자(PIGF) 분비 촉진용일 수 있다.

발명의 효과

[0025] 본 발명의 나도공단폴(Sida rhombifolia)을 유효성분으로 포함하는 조성물은 5AR2(5 α -reductase 2형) 활성을 억제하고, 태반성장인자(PIGF) 분비를 촉진함으로써 탈모증을 예방, 개선 또는 치료하는 데 효과적이며, 자연 유래 성분으로 종래 치료제인 피나스테리드(finasteride)나 두타스테리드(dutasteride)를 대체할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 실험예 1에 따른 β -NADPH의 농도 측정결과이다.
 도 2는 실험예 3에 따른 5AR2 발현 정도를 측정한 결과이다.
 도 3은 실험예 3에 따른 DHT 생성 측정결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 이하에서, 본 발명의 여러 측면 및 다양한 구현예에 대해 더욱 구체적으로 설명한다.

[0028] 이하, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예를 상세히 설명하도록 한다.

[0029] 그러나, 이하의 설명은 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[0030] 본원에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 출원에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0031] 본 명세서에서, ‘생나도공단폴’은 채취 후 별도의 건조과정을 거치지 않은 나도공단폴의 전초(whole plant) 또는 일부(part)를 의미하고, ‘나도공단폴 건조물’은 생나도공단폴을 건조한 것을 의미한다.

[0032] 또한, ‘나도공단폴 추출물’은 생나도공단폴 또는 나도공단폴 건조물 중에서 선택된 하나 이상을 용매로 추출한 것을 의미한다.

[0034] 본 발명의 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물은 나도공단폴(Sida rhombifolia)을 유효성분으로 포함한다.

[0035] 바람직하게는 본 발명의 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물은 생나도공단폴, 나도공단폴 건조물 또는 나도공단폴 추출물 중에서 선택된 어느 하나를 유효성분으로 포함할 수 있다.

[0036] 나도공단폴 추출물은 나도공단폴을 건조시켜 분쇄한 후, 건조 중량의 1 내지 30 배, 바람직하게는 5 내지 15배 부피의 용매에 투입하여 추출하는 것이 바람직하다.

[0037] 상기 용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 또는 이들의 혼합물인 것이 바람직하는데, 더욱 바람직하게는 열수 추출하거나 에탄올 추출할 수 있고, 더욱 더 바람직하게는 에탄올 추출할 수 있다.

[0038] 추출 공정을 수행한 후에는 여과하여 불순물을 제거하고, 여액을 고형분 함량이 15% 이상이 되도록 농축하는 것이 바람직하다. 더욱 바람직하게는 농축한 다음 농축물을 동결건조 또는 열풍건조 또는 분사 방식에 의한 건조 등을 통하여 분말화하는 것이나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0039] 상기 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물은 5AR2(5 α -reductase 2형) 및 TGF- β 2 중에서 선택된 1종 이상의 발현 억제용인 것을 특징으로 한다.

[0040] 상기 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물은 태반성장인자(PIGF) 분비 촉진용일 수 있다.

- [0041] 본 명세서에서 사용되는 용어 ‘추출물’은 추출물을 추가적으로 분획(fractionation)한 분획물도 포함한다. 즉, 나도공단폴 추출물은 상술한 추출용매를 이용하여 얻은 것뿐만 아니라, 여기에 정제과정을 추가적으로 적용하여 얻은 것도 포함한다. 또한, 상기 추출물이나 분획물을 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 통과시켜 얻은 분획, 다양한 크로마토그래피에 의한 분리 등, 추가적으로 실시된 다양한 정제 방법을 통해 얻어진 분획도 본 발명의 나도공단폴 추출물에 포함된다.
- [0042] 한 구체예에서, 상기 나도공단폴 추출물은 유기용매 추출물을 제2의 유기용매로 재분획한 분획물일 수 있다. 여기에서, 유기용매 추출물이라 함은 광의로는 앞서 설명한 나도공단폴 추출물의 오일 분획, 나도공단폴 추출물의 액상 분획, 나도공단폴 추출물의 왁스 분획을 모두 포함하며, 협의로는 이 중 나도공단폴 추출물의 액상 분획을 의미한다. 그러므로, 한 구체예에서, 상기 유기 추출물을 제2의 유기용매로 재분획한 분획물은 나도공단폴 추출물의 액상 분획을 제2의 유기 용매로 재분획한 분획물을 의미할 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 나도공단폴 추출물은 저급 알코올 추출물을 제2의 유기용매로 재분획한 분획물일 수 있다. 또 다른 구체예에서, 상기 나도공단폴 추출물은 에탄올 추출물을 헥산으로 재분획한 분획물일 수 있다.
- [0043] 본 명세서에서 사용되는 용어 ‘추출물’은 나도공단폴에 추출용매를 처리하여 얻은 조추출물뿐만 아니라 나도공단폴 추출물의 가공물도 포함한다. 예를 들어, 나도공단폴 추출물은 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.
- [0044] 또한, 본 발명의 나도공단폴 추출물은 광의로는 나도공단폴 자체를 인체에 투여할 수 있도록 제형화된 나도공단폴 가공물, 예컨대, 나도공단폴 분말도 포함하는 의미를 갖는다. 비록 본 발명에서 나도공단폴 추출물로 실험을 진행하긴 하였으나, 나도공단폴 가공물과 같은 형태로도 목적하는 효과를 달성할 수 있음은 당업자라면 예상 가능할 것이다.
- [0046] 한편, 본 명세서에서 용어 ‘유효성분으로 포함하는’이란 나도공단폴 추출물의 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분한 양을 포함하는 것을 의미한다. 본 발명의 한 구체예에서, 본 발명의 조성물 내에서 나도공단폴 추출물은 예를 들어, 0.001 mg/kg 이상, 바람직하게는 0.1 mg/kg 이상, 보다 바람직하게는 10 mg/kg 이상, 보다 더 바람직하게는 100 mg/kg 이상, 보다 더욱 더 바람직하게는 250 mg/kg 이상, 가장 바람직하게는 1 g/kg 이상 포함된다. 나도공단폴 추출물은 천연물로서 과량 투여하여도 인체에 부작용이 없으므로 본 발명의 조성물 내에 포함되는 나도공단폴 추출물의 양적 상한은 당업자가 적절한 범위 내에서 선택하여 실시할 수 있다.
- [0048] 본 발명의 약학 조성물은 상기 유효 성분 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 봉해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.
- [0049] 상기 약학 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효 성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약학 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.
- [0050] 상기 약학 조성물의 제제 형태는 과립제, 산제, 정제, 피복정, 캡슐제, 좌제, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 주사 가능한 액제 등이 될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 봉해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 봉해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다.
- [0051] 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.
- [0052] 더 나아가 해당분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company,

Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화 할 수 있다.

- [0053] 본 발명의 약학 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있으며, 바람직하게는 경구 투여이다.
- [0054] 본 발명의 약학 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다. 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 약학 조성물의 1일 투여량은 0.001-10g/kg이다.
- [0055] 본 발명의 약학 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화 함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0057] 본 발명은 나도공단폴을 유효성분으로 포함하는 탈모증 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0058] 상기 나도공단폴은 생나도공단폴, 나도공단폴 건조물 및 나도공단폴 추출물 중에서 선택된 어느 하나일 수 있다.
- [0059] 상기 나도공단폴 추출물에 관한 내용은 상술한 나도공단폴을 유효성분으로 포함하는 탈모증 예방 또는 치료용 약학 조성물에서의 설명과 동일하므로 상세한 내용은 그 부분을 참조하기로 한다.
- [0061] 본 발명에 따른 식품 조성물은 상기 약학 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 알코올 음료류, 과자류, 다이어트바, 유제품, 육류, 초코렛, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류, 비타민 복합제, 건강보조식품류 등이 있다.
- [0062] 본 발명의 식품 조성물은 상기 유효성분뿐 아니라, 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함한다. 상술한 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 사이클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제 [타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)] 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제와 음료류로 제조되는 경우에는 본 발명의 나도공단폴 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 및 각종 식물 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.
- [0064] 본 발명은 상기 나도공단폴을 유효성분으로 포함하는 탈모증 예방 또는 개선용 식품 조성물을 포함하는 건강기능식품을 제공한다. 건강기능식품이란, 나도공단폴 추출물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있다. 이와 같이 하여 얻어지는 본 발명의 건강기능식품은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 매우 유용하다. 이와 같은 건강기능식품에 있어서의 나도공단폴의 첨가량은, 대상인 건강기능식품의 종류에 따라 달라 일률적으로 규정할 수 없지만, 식품 본래의 맛을 손상시키지 않는 범위에서 첨가하면 되며, 대상 식품에 대하여 통상 0.01 내지 50 중량%, 바람직하기로는 0.1 내지 20 중량%의 범위이다. 또한, 환제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태의 건강기능식품의 경우에는 통상 0.1 내지 100 중량% 바람직하기로는 0.5 내지 80 중량%의 범위에서 첨가하면 된다. 한 구현예에서, 본 발명의 건강기능식품은 환제, 정제, 캡슐제 또는 음료의 형태일 수 있다.
- [0066] 이하에서는 본 발명에 따른 실시예를 들어 구체적으로 설명하도록 한다.

[0067] [실시예]

[0068] **실시예 1: 나도공단폴(Sida rhombifolia) 알코올 추출물 제조**

[0069] 나도공단폴건조물(코스타리카에서 채취한 나도공단폴의 잎을 건조하고 분쇄하여 분말화한 건조물, 생명공학연구원 부설 해외생물소재센터에서 분양받음) 100 g에 1 리터의 100%-MeOH(HPLC grade)를 가하고 40℃의 온도에서 초음파 추출하였다. 1회 2시간, 3회 반복하여 추출한 추출물을 감압농축장치(Buchi R-220)로 농축하여 나도공단폴 추출물을 얻었다.

[0071] [실험예]

[0072] **실험예 1: 나도공단폴 추출물의 5AR2(5 α -reductase 2형) 저해 활성 측정**

[0073] 5AR2 효소원을 준비하기 위하여, 우선 15주령 Sprague Dawley rat(코아텍에서 입수)을 CO₂ 흡입마취한 후 전립선 조직을 적출하였다. 적출한 조직 200mg을 pH 7.4 PBS로 2회 세척한 후, 10ml의 lysis buffer(0.32M sucrose와 1mM EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid)를 함유한 20 mM 인산나트륨, pH 6.5)를 첨가한 후 glass homogenizer로 균질화하였다. 균질액을 4℃, 5,000rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 취하고 Brad Ford 시약을 이용하여 단백질 정량을 실시한 후 이를 5AR2 효소원으로 사용하였다. 남은 균질액은 -70℃에 보관하였다.

[0074] 5AR2 활성 억제능은 Nahata and Dixit{Andrologia, 46(6):592-601, 2014}의 방법을 이용하여 측정하였다. 96-웰 플레이트에서, 준비한 효소원(0.8 mg/ml protein), 실시예 1의 나도공단폴 추출물(50 μ g/ml), 테스토스테론 7.5 mM, 및 β -NADPH 300 μ M을 37℃에서 반응시켰다. 이후 5분마다 총 30분간 350 nm에서 β -NADPH 양 변화에 따른 흡광도를 측정하였다. 측정값의 계산은 β -NADPH의 standard 그래프를 이용하며 단위는 pg/ml로 산정하였다. 공시료는 나도공단폴 추출물 대신 메탄올을 처리하고 테스토스테론 대신 인산 완충액(phosphate buffer)를 사용한 것을 제외하고 나도공단폴 추출물 처리군과 동일하게 준비하였다. 음성대조군은 나도공단폴 추출물 대신 메탄올을 처리한 것을 제외하고 나도공단폴 추출물 처리군과 동일하게 준비하였다. 양성대조군은 나도공단폴 추출물 대신 피나스테리드(Finasteride)(100 μ M)를 처리한 것을 제외하고 나도공단폴 추출물 처리군과 동일하게 준비하였다. 5AR2는 β -NADPH를 β -NADP로 전환시키므로 반응시간 동안 반응액 속의 β -NADPH의 양은 점차 감소하는 경향을 나타낸다. 반면, 5AR2 활성을 저해하는 물질을 함께 처리한 경우 β -NADPH의 양은 변화가 없거나 NADPH가 효소의 결합자리(binding site)로부터 자유로이 빠져나옴에 따라 점차 그 농도가 상승하는 경향을 나타낸다. 따라서 반응종료 시점의 β -NADPH의 농도가 높을수록 시료의 5AR2 활성 억제능이 우수함을 알 수 있다.

[0075] 도 1는 나도공단폴이 5AR2 활성 억제에 미치는 영향을 분석한 결과를 나타낸 그래프이다. x축은 공시료(blank), 음성대조군(Negative control), 양성대조군(Positive control), 및 실시예 1의 나도공단폴 추출물 처리군(나도공단폴 추출물)을 나타내고, y축은 반응종료 시점에서의 반응액 속 β -NADPH의 농도를 나타낸 것이다(* p<0.01; 음성대조군과 비교).

[0076] 이에 따르면, 피나스테리드를 처리한 양성대조군의 경우 음성대조군에 비해 β -NADPH의 농도가 증가하는 것을 확인할 수 있어 5AR2 효소 활성이 저해되었음을 알 수 있다. 나도공단폴 추출물 처리군의 경우 양성대조군에 비해서도 β -NADPH의 농도가 증가하는 것을 확인할 수 있어 5AR2 효소 활성이 유의적으로 저해되었음을 알 수 있다.

[0077] 이와 같은 결과로부터, 나도공단폴이 5AR2의 활성을 유의적으로 억제함을 알 수 있다. 따라서, 모낭조직에서도 5AR2 활성 억제가 이루어질 것으로 볼 수 있으며 탈모증에 효과적일 것으로 추측할 수 있다.

[0079] **실험예 2: 세포독성 평가**

[0080] 세포배양을 위한 인간유래 모모세포(keratinocyte cell)는 Innoprot사(스페인)에서 분양받았으며, poly-D-lysine 코팅된 75T 플라스크에 seeding하여 37℃, 5% CO₂ 조건 하에서 배양하였다. 배지는 10% FBS, 1% 항생제, 1% 성장 보충제(growth supplement)가 포함된 MSC배지(Mesenchymal stem cell medium-Innoprot)를 사용하였으며 3일마다 배양액을 교체하였다. 플라스크에 80~90% 정도 되면 계대해 주었으며 최소 한번 정도의 계대가 된 후 안정된 상태의 세포를 이용해 실험을 진행하였다.

[0081] 24 웰 플레이트에 모모세포를 4*10⁴ cells/ml을 200 μ l씩 분주하여 안정화를 위해 37℃, 5% CO₂ 조건 하에서 24

시간 배양하였다. 24시간 후 실시예 1의 나도 공단폴 추출물 시료를 농도별로 처리한 다음 37℃, 5% CO₂ 조건 하에서 72시간 동안 배양한 후, MTS 시료(CellTiter 96® Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay kit, Cat no.G5421, Promega사) 20μl를 넣어 주고 37℃, 5%-CO₂ 인큐베이터에서 1시간 동안 반응시킨 후 492nm에서 측정하였다. 대조물질로는 시료 대비 동일한 양의 PBS를 처리하였다.

[0082] 모모세포를 0.5×10^5 cells/ml에서 5×10^5 cells/ml까지 0.5 단위로 세포 수를 카운팅하여 96 웰 플레이트에 200μl 씩 분주하였고, MTS 시료 20μl를 처리하여 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에서 1시간 동안 반응시킨 후 492nm에서 마이크로플레이트 리더(Microplate Reader)로 흡광도를 측정함으로써 세포수를 환산하였다. 그 결과 실시예 1의 나도공단폴 추출물의 모모세포에 대한 세포독성이 거의 나타나지 않았다.

[0084] 실험예 3: 조직 내 5AR2 및 디하이드로테스토스테론(DHT) 분석

[0085] 실험동물은 6주령의 웅성 Wistar rat을 사용하였다. 실험동물의 사육환경은 온도 23±3℃, 상대습도 55±5%, 명암교대는 약 12시간으로 하며 사료와 물은 자유로이 섭취하게 하였다. 실험동물은 사육상자당 2마리씩 수용하고 무게측정과 배당교환은 5일에 한 번씩 실시하여 관리하였다.

[0086] 실험동물은 일주일간의 순화기간을 거친 후 내재적 테스토스테론(intrinsic testosterone)의 영향을 배제하기 위하여 거세(castration)시켰다. 실험동물을 이소플루레인(isoflurane)으로 마취하여 배면이 수술자를 향하게 눕혀 고정하고 음낭 끝 부위의 피부를 절개하여 좌우 고환 및 부고환을 잘라낸 후 절개면을 봉합하여 수술을 실시하였다. 모든 실험동물은 수술 전 항생제(cefazolin) 및 진통제(carprofen)를 투여하여 염증 및 통증을 완화시켰다. 거세 후 7일 동안 안정화시켜 수술부위의 상처를 아물게 하고, 이하와 같은 실험을 개시하였다. 개시 시점의 동물의 체중은 각 군마다 평균 200 내지 250 g이 되도록 하고, 한 군당 실험동물은 8마리가 되도록 하였다. 실험 중에는 다른 군끼리 한 사육상자에 있지 않도록 배치하고 물과 사료는 자유롭게 급여하였다.

[0087] 준비된 실험동물에 TP(testosterone propionate)를 6주간 1일 1회 3 mg/kg 체중/일로 피하주사하였으며, 동시에 나도공단폴용매추출물도 0.5%-CMC(carboxy methylcellulose)에 희석하여 100mg/kg 체중/일로 경구투여하였다. 이때, TP는 실험의 오차를 최소화하기 위하여 3일마다 측정된 실험동물의 무게를 기준으로 총 주사 부피(injection volume)가 100μl가 되도록 피넛오일(peanut oil)에 녹여 사용하였다. 또한, 양성대조군은 희석한 나도공단폴 추출물 대신 소팔메토를 피넛오일에 희석하여 100 mg/kg 체중/일로 경구투여한 것을 제외하고 나도공단폴용매추출물 처리군과 동일하게 처리하였고, 대조군은 희석한 나도공단폴용매추출물 대신 0.5%-CMC를 10 ml/kg 체중/일로 경구투여한 것을 제외하고 나도공단폴 추출물 처리군과 동일하게 처리하였다.

[0088] 6주간의 실험 이후, 실험동물을 16시간 절식시키고 마지막 체중을 측정하였다. 이후, 실험동물을 경추탈골로 안락사시킨 후 전립선(dorsal prostate 및 ventral prostate) 및 방광을 적출하고 조심스럽게 분리하여 PBS로 1회 세척한 후 물기를 가볍게 제거하였다.

[0089] 실시예 1의 나도공단폴 추출물이 5AR2의 발현을 억제하고 DHT의 생성을 억제하는지 확인하고자, ELISA(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, 효소면역측정법)를 이용하였다. 구체적으로, ELISA는 5AR2 ELISA 키트(Cusabio, #CSB-EL022654RA)와 DHT ELISA kit(Mybiosource, #MBS266535)를 이용하여 제조사의 지시에 따라 실시하였다. 적출한 전립선조직을 균질화하여 균질액을 얻고, ELISA 키트를 이용하여 5AR2의 발현량 및 DHT의 생성량을 분석하였다. 5AR2 발현량 측정을 위하여, 균질액 50 μg를 goat-anti-rabbit 항체가 미리 코팅된 96 웰 마이크로플레이트에 HRP-conjugated SRD5A2(rat 3-oxo-5-alpha-steroid-4-dehydrogenase 2) 및 SRD5A2-특이항체와 함께 혼합한 후, 37℃에서 1시간 동안 진탕배양(shaking incubation)을 실시하였다. 배양 후 기질용액을 첨가하고 15분 후 황산용액으로 반응을 멈춘 후 450 nm에서 10분 이내에 시료별 차이를 측정하였다. 측정값의 계산은 표준 그래프를 이용하며 단위는 pg/ml로 표기하였다. 이에 따라 나도공단폴이 5AR2 발현 억제에 미치는 영향을 분석한 결과를 도 2에 나타내었고, DHT 생성 억제에 미치는 영향을 분석한 결과를 도 3에 나타내었다(* p<0.1; 대조군과 비교).

[0090] 이에 따르면, 나도공단폴 추출물 처리군의 경우 대조군에 비해 5AR2 발현량 및 DHT 생성량이 큰 폭으로 감소하였으며, 양성대조군과 대비하여도 효과적임을 알 수 있다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때 본원발명의 나도공단폴 추출물은 전립선 외에 두피의 모낭에서 5AR2 발현을 억제함으로써 탈모증의 개선에 효과적인 것으로 추측된다.

[0092] **실험예 4: 인간유래 모유두세포 내 태반성장인자(PIGF) 발현 효과 측정**

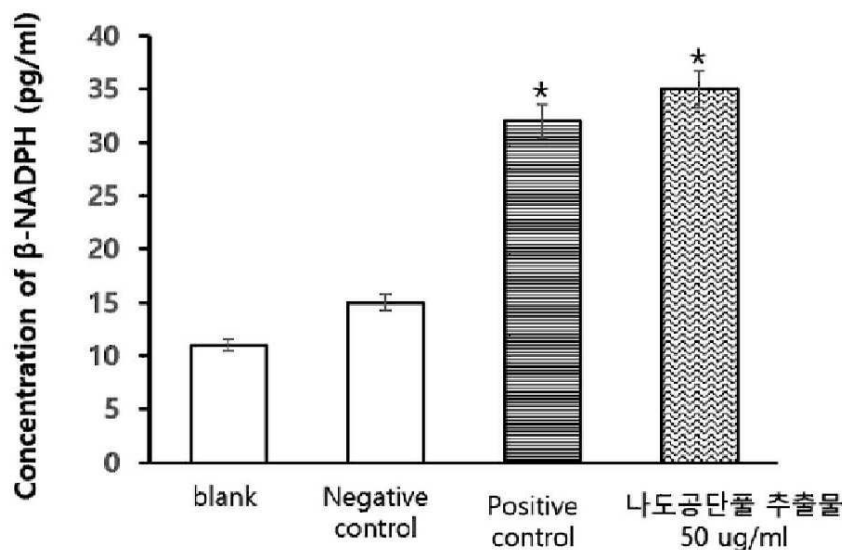
[0093] 인간 모유두 세포(human dermal papilla cells, hDPs, C-12071, Promocell사)는 배양액(Follicle Dermal Papilla Cell Growth Medium Kit(C-26502))에서, 37℃ 및 5% CO₂의 조건의 배양기에서 배양하였다. 모유두 세포의 배양은 총 3회 진행하였다(Yoon SY et al., A role of placental growth factor in hair growth, Dermatol. Sci. 2014).

[0094] 계대배양한 모유두 세포 3*10⁴개를 35mm 배양접시에 분주하고, 나도공단폴 추출물을 농도별로 각각 10 ppm(w/w)씩 처리하고 24시간 동안 배양한 후, 태반 성장 인자의 발현량을 측정하였다. 태반성장인자(PIGF)의 발현량 측정은, 면역효소 측정 방법 키트(Raybiotech, Cat. No. ELH-PLGF)를 이용하여, 키트 제조사의 프로토콜에 따라 진행하였다. 구체적으로, 표준 곡선을 작성하기 위해, 양성대조군으로서 농도별로 조성된 PIGF(1,000 pg/ml, 333.3 pg/ml, 111.1 pg/ml, 37.04 pg/ml, 12.35 pg/ml, 4.125 pg/ml, 1.372 pg/ml, 0 pg/ml)와 실시예 1의 나도공단폴 추출물을 처리한 배양액(200μl) 각각을, PIGF 항체가 코팅되어 있는 96 웰플레이트에 넣어주었다. 세척 버퍼로 3번 씻어준 후, 바이오티닐 인간 PIGF 항체(biotinylated anti-human PIGF)를 각 웰에 첨가하여 약 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이후 결합하지 않은 바이오티닐 인간 PIGF 항체를 세척 버퍼로 3번 씻어서 제거한 후, HRP 결합 스트렙타아비딘(HRP conjugated streptavidin)을 각 웰에 첨가하여 45분 동안 인큐베이션하였다. 이후, 세척 버퍼로 다시 3번 씻어준 후, 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, TMB)를 넣어주어 30분 동안 발색 반응을 기다린 후, 반응 정지액(stop solution)을 첨가하여 각 웰의 화학적 반응을 멈추고 분광광도계에서 450nm로 측정하였다. 표준 PIGF(standard PIGF)의 농도 값과 분광광도계에서 측정된 O.D(optical density)값을 기준으로 하여 표준 곡선을 작성한 후, 각각의 후보물질이 처리된 샘플의 O.D값을 대입하여, 각 물질에 의해 증가된 PIGF의 발현량을 계산하였다. 이에 따르면, 실시예 1의 나도공단폴 추출물을 처리한 경우, PIGF의 발현량이 음성 대조군에 비하여 50% 이상 증가함을 확인할 수 있었다.

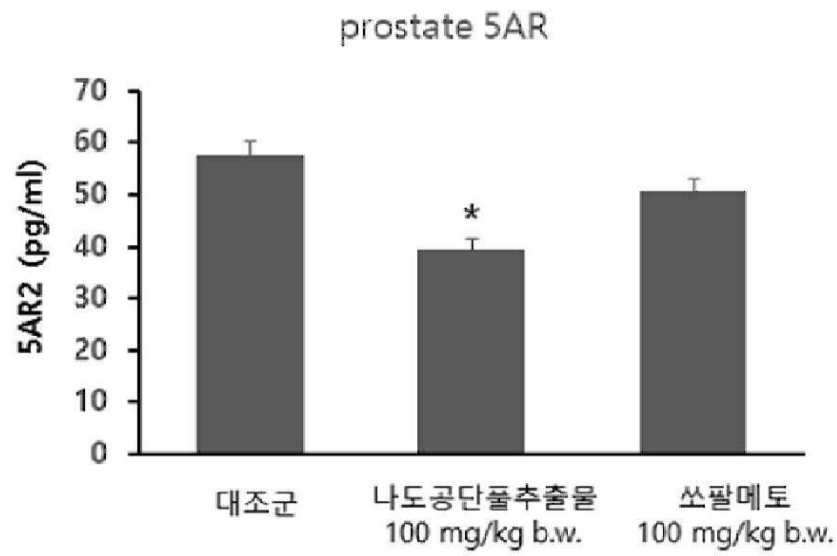
[0096] 이상, 본 발명의 실시예들에 대하여 설명하였으나, 해당 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 특허청구범위에 기재된 본 발명의 사상으로부터 벗어나지 않는 범위 내에서, 구성 요소의 부가, 변경, 삭제 또는 추가 등에 의해 본 발명을 다양하게 수정 및 변경시킬 수 있을 것이며, 이 또한 본 발명의 권리범위 내에 포함된다 할 것이다.

도면

도면1



도면2



도면3

