

|                                                                                             |                                                                           |                                                    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
|            | (19) 대한민국특허청(KR)<br>(12) 공개특허공보(A)                                        | (11) 공개번호 10-2014-0102558<br>(43) 공개일자 2014년08월22일 |
| <hr/>                                                                                       |                                                                           |                                                    |
| (51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br>A61K 31/352 (2006.01) A61K 31/35 (2006.01)<br>A61P 17/14 (2006.01) | (71) 출원인<br>경희대학교 산학협력단<br>경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스<br>내 (서천동, 경희대학교) |                                                    |
| (21) 출원번호 10-2013-0016046                                                                   | (72) 발명자                                                                  |                                                    |
| (22) 출원일자 2013년02월14일                                                                       | 양용모                                                                       |                                                    |
| 심사청구일자 2014년03월14일                                                                          | 서울 서초구 효령로23길 29, 302호 (방배동, 아이<br>비하우스)                                  |                                                    |
|                                                                                             | 김미혜                                                                       |                                                    |
|                                                                                             | 경기 수원시 장안구 장안로 211, 202동 1502호 (정<br>자동, 동신2단지아파트)                        |                                                    |
|                                                                                             | 최유연                                                                       |                                                    |
|                                                                                             | 서울 노원구 덕릉로94가길 20, 201동 507호 (상계<br>동, 청암2단지아파트)                          |                                                    |
|                                                                                             | (74) 대리인                                                                  |                                                    |
|                                                                                             | 손민                                                                        |                                                    |

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 포모노네티ن 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 및 발모 촉진용 조성물

### (57) 요약

본 발명은 포모노네티(Formononetin) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 및 발모촉진용 약제학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 따른 포모노네티 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물은 탈모에 의해서 발생하는 면역반응 및 세포사멸 반응을 억제하는 것을 통해 모발의 재발모를 촉진하는 효과를 가지며, 상기 면역 반응 및 세포사멸 반응을 억제하는 효과를 통해 애초에 자연적으로 일어나는 탈모를 방지하는 효과를 가짐에 따라, 포모노네티가 탈모방지 및 발모촉진용 조성물로 널리 사용될 수 있다.

### 대표도 - 도1



## 특허청구의 범위

### 청구항 1

포모노네티(Formononetin) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 약제학적 조성물.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 포모노네티 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 총 조성물 중량 대비 0.00001 중량% 내지 30 중량%으로 포함되는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 조성물은 피부외용제인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

### 청구항 4

탈모방지 또는 발모촉진용 유효성분으로 포모노네티 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염만을 함유하는 탈모방지 또는 발모촉진용 조성물.

### 청구항 5

포모노네티 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 화장품 조성물.

### 청구항 6

제5항에 있어서, 상기 포모노네티 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 총 조성물 중량 대비 0.00001 중량% 내지 30 중량%으로 포함되는 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

### 청구항 7

포모노네티 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 의약품 조성물.

### 청구항 8

포모노네티 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 식품 조성물.

## 명세서

## 기술분야

[0001] 본 발명은 포모노네티(Formononetin) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 및 발모촉진용 약제학적 조성물에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0002] 두피로부터 모발이 빠지는 탈모증은 여러 가지 요인에 의해 발생하는 것으로, 유전적인 체질이나 남성 호르몬의 작용과 같은 내적인 요인 또는 일상 생활에서의 정신적인 스트레스, 두피에서의 과산화지질의 축적과 같은 외적인 요인이 있으며, 이러한 요인들이 복잡하게 관여하여 탈모증상을 나타내는 것으로 알려져 있다. 최근에는 남성형 탈모뿐만 아니라 여성들의 비만성 탈모를 비롯하여 젊은 층에서의 탈모가 점차 확산되어가는 추세에 있으며, 이러한 탈모현상을 개선하기 위해 많은 종류의 모발성장 또는 욱모제가 시판되고 있다.

[0003] 시판중인 모발성장 또는 욱모제에 사용되는 주요 성분으로는 두피에 충분한 혈액을 순환시키기 위한 염화카프로니움, 미녹시딜 및 각종 식물의 추출물 등의 혈관 확장제나 모유두(毛乳頭)에 부착하여 모발을 탈락시키는 남성 호르몬의 작용을 억제하기 위한 에스트로겐, 에스트라지올, 프로게스테론 등의 여성 호르몬제 또는 펜타데칸산, 피나스테라이드 등의 남성 호르몬 활성화 억제제가 있다. 예를 들면, 미국의 식품의약국(FDA)으로부터 탈모치료제로 허가받은 약물은 두 종류로, 바르는 치료제인 미녹시딜은 혈관 확장작용에 의한 것이고 경구용인 프로페시아는 피나스테라이드를 주제로 한 남성 호르몬의 활성화 억제작용에 의해 탈모방지 효과가 우수한 제제로 많이 이용되고 있다. 그러나, 전술한 대부분의 모발성장, 욱모제들은 탈모의 방지에는 어느 정도의 효과를 나타내지만 발모와 관련된 효과는 다소 저조한 것으로 보고되고 있다. 즉, 이들 제제는 모근이 활성화 되어있는 부위에서만 효과를 나타내므로 탈모방지 효과는 상당하지만, 장기간의 휴지기 상태에 있는 모발의 성장, 즉 발모효과는 미미하여서 이미 탈모가 진행되어 모낭이 위축된 대머리에는 전혀 효과가 없는 것으로 나타났다.

[0004] 두피의 하나 또는 몇 개의 영역에서 모발이 돌연 없어지는 원형 탈모증의 경우에는 면역계의 변조에 의해 모낭이 임파구에 의해 공격을 받아 발육상태가 갑자기 중단되면서 발생하는 것으로 알려져 있다. 이와 관련하여, 일부 과학자들은 대머리를 원형 탈모와 같은 '자가면역질환'의 하나로 보고 있으며 남성호르몬(디하이드로테스토스테론, DHT)이 면역반응을 일으켜 모근을 파괴시킨다는 설을 제시하고 있다. 즉, 탈모증상이 나타난 사람들의 경우 체내에서 백혈구가 모낭을 제거해야하는 외부 단백질로 인식하면서 자기항체를 생성하여 모낭을 공격하게 된다는 것이다. 자기항체가 생성되면 흉선이 위축되어 면역계의 기능이 약화되고 그 결과의 하나로 모낭이 위축되면서 머리칼이 가늘어지고 조밀성이 감소하면서 빠져나가게 된다는 것이다. 또한, 탈모현상을 일으키는 주요 원인의 하나로 피지의 역할도 강조되고 있다. 성장기에 있는 모낭으로부터 두피로 분비된 피지는 활성화된 산소나 자외선조사에 의해 두피 층에 과산화지질을 생성하면서 굳어지는 성질이 있어, 굳어진 피지가 모공을 막아버리므로 모발의 정상적인 성장을 방해하거나 세포구성물의 피사를 가져와 탈모를 촉진하게 된다는 것이다.

[0005] 한편, 대머리 부위 조직은 보통의 머리가 있는 부위의 조직에 비하여 5-알파 환원효소의 활성도가 높다는 연구 결과가 보고된바 있다. 5-알파 환원효소는 테스토스테론(testosterone)을 디하이드로테스토스테론(dehydrotestosterone, DHT)으로 환원시키는 것으로, 남성의 형질발현에 있어 골격근 증가, 정자 형성 등은 테스토스테론이 관여하고 여드름, 피지증가, 탈모 및 전립선비대증 등은 디하이드로테스토스테론이 해당조직에서 관여하는 것으로 알려져 있다(J. Invest. Dermatol. 1995; 105(2): 209-14). 따라서, 테스토스테론에서 디하이드로테스토스테론의 반응에 관여하는 생체 효소인 5-알파 환원효소의 활성을 저해함으로써 탈모증을 치료하는 약리활성 물질은 찾는 연구가 많이 이루어지고 있다. 현재 5-알파 환원효소 저해제로 피나스테라이드와 같은 화합물이 있으며, 투여용량을 달리하여 전립선 치료제 및 탈모방지제로 사용되고 있다. 피나스테라이드는 편리성과 효능면에서 우수한 약이나 피나스테라이드를 제조하는데 있어 사용되는 시약이 고가이거나 맹독성이어서 제조원가에 부담을 주거나 환경을 오염시키는 문제점이 있다. 특히, 부생성물의 제거가 용이하지 않아 목적산물의 순도가 떨어지거나, 수분에 용이하게 저해되는 시약 또는 활성 유도체를 사용함으로써 대량생산이 어렵다는 문제점이 있을 뿐 아니라 스테로이드 호르몬 자체는 정상적인 생리활성에도 중요한 역할을 하므로 스테로이드 호르몬 생성 자체를 인위적으로 차단할 경우, 여러 종류의 문제점들이 야기될 수 있다.

[0006] 상기와 같은 배경 하에, 본 발명자들은 탈모방지 및 발모촉진 효과가 우수하면서 안정성이 높아 부작용이 없는 신규한 물질을 연구하던 중, 식물로부터 추출할 수 있는 포모노네틴이 탈모를 유도한 동물모델에서 탈모 방지 효과뿐만 아니라, 발모촉진 효과도 우수함을 확인하여, 포모노네틴이 탈모방지 및 발모촉진용 조성물로 유용하게 사용될 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 포모노네틴(Formononetin) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 약제학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 포모노네틴 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 화장품 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 포모노네틴 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 의약품 조성물을 제공하는 것이다.

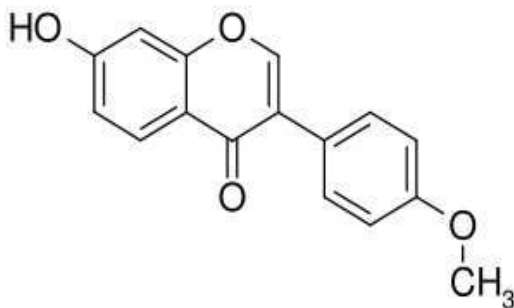
[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 포모노네틴 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 포모노네틴(Formononetin) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 약제학적 조성물을 제공한다.

[0012] 본 발명의 용어, "포모노네틴(Formononetin)"은 O-메틸화 이소플라본으로 붉은 클로버(red clover)등 수많은 식물 및 허브에서 발견되는 화합물이다. 특히, 완두콩, 밤콩과 같은 콩과 식물들에 주로 생기며, 다른 이름으로는 비오키닌 B 으로 불린다. 하기 화학식 1의 구조를 가지고 있다.

[0013] [화학식 1]



[0014]

[0015] 본 발명에서 상기 포모노네틴은 콩과 식물, 황기, 승마 또는 붉은 클로버 등으로부터 추출하여 수득하거나, 화학적으로 합성하여 제조할 수 있다.

[0016] 상기 추출은 당업계에 공지된 통상적인 용매를 사용하여 수행할 수 있으며, 바람직하게는 에탄올, 메탄올 또는 부탄올을 이용하여 추출할 수 있다. 또한, 상기의 용매 추출물뿐 아니라 추가적인 정제방법을 통하여 얻어진 분획물도 포함할 수 있다. 본원발명의 일실시예에서 포모노네틴은 Sigma-Aldrich에서 제조한 것을 구매하여 사용하였다(Catalog No. 47752-formononetin).

[0017] 본 발명에 사용된 용어, "약학적으로 허용가능한 염"은 당해 기술분야에서 통상적인 방법에 따라 제조된 염을 의미하며, 이러한 제조방법은 당업자에게 공지되어 있다. 구체적으로, 상기 약학적으로 허용 가능한 염은 약리

학적 또는 생리학적으로 허용되는 하기 무기산과 유기산 및 염기로부터 유도된 염을 포함하지만 이것으로 한정되지는 않는다. 적합한 산의 예로는 염산, 브롬산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글리콜산, 락트산, 살리실산, 숙신산, 톨루엔-p-설폰산, 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 메탄설폰산, 포름산, 벤조산, 말론산, 나프탈렌-2-설폰산, 벤젠설폰산 등을 포함할 수 있다. 적합한 염기로부터 유도된 염은 알칼리 금속, 예를 들어, 나트륨, 또는 칼륨, 알칼리 토금속, 예를 들어, 마그네슘을 포함할 수 있다.

[0018] 상기 포모노네틴은 총 조성물 중량 대비 0.00001 중량% 내지 30 중량%로 포함할 수 있으며, 바람직하게는 0.0001 중량% 내지 10 중량%로 포함한다. 더 바람직하게는 0.002 중량% 내지 3 중량%이다. 만약, 포모노네틴이 0.00001 중량% 미만이면 효능이 미약한 단점이 있다. 또한, 15 중량%를 초과하는 경우에는 함량의 증가에 따른 효과의 증가는 매우 미약하며, 제형상의 안정성이 확보되지 않는 문제점이 발생할 수 있다.

[0019] 본 발명의 조성물은 투여를 위하여, 상기 기재한 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍트트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로오스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로오스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일을 들 수 있다.

[0020] 본 발명의 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 제형화하여 사용할 수 있다. 상세하게는, 제형화할 경우 통상 사용하는 윤활제, 습윤제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

[0021] 바람직하게, 본 발명의 조성물은 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.

[0022] 본 발명의 조성물의 적합한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 상기 포모노네틴의 일일 투여량은 성인 기준으로 1.0 ml 내지 3.0 ml이며, 필요에 따라 일일 1회 내지 5회 도포하여 투여할 수 있다.

[0023] 본 발명의 구체적인 실시예에 따르면, 탈모를 유도한 쥐에 본 발명의 유효성분인 포모노네틴을 처리한 경우에는 농도 의존적으로 모발이 발모하는 것을 확인하였다(실시예 1 및 도 1). 또한, 조직학적으로는 포모노네틴 처리에 의해 파괴되었던 모근과 모간이 재건되는 것을 확인할 수 있었으며, 이에 따라 퇴행기에 도입되던 모낭이 성장기에 접어드는 현상을 확인할 수 있었다(실시예 2 및 도 2).

[0024] 본 발명의 또 다른 구체적인 실시예에서는, 쥐를 동물 모델로 한 실험에서 정상군과 탈모유도군, 및 탈모유도 후 포모노네틴 처리군의 등피부조직에서 면역 및 세포사멸 관련 현상에 포모노네틴이 미치는 영향을 확인하였다.

[0025] 구체적으로는, 탈모가 일어난 피부에서 T림프구 활성화와 관련된 사이토카인 IL-8과 TNF- $\beta$ 의 mRNA 발현이 증가하는데 비하여, 포모노네틴을 처리하는 경우에 농도 의존적으로 상기 두 유전자의 mRNA 발현이 감소되는 것을 확인하였으며(실시예 3 및 도 3), 단백질 수준에서는 면역 관련 사이토카인인 TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , IL-1 $\beta$ , 4, 6, 및 8 수준이 감소하며, 전-면역반응 관련 사이토카인과 관련된 전사인자 NF- $\kappa$ B 및 p-I $\kappa$ B- $\alpha$ 의 수준이 감소하였다(실시예 5, 실시예 7-1 내지 실시예 7-2 및 도 4 내지 도 6).

[0026] 또한, 포모노네틴의 처리가 세포생존 및 사멸과 관련된 3개의 MAP kinase들(p38, SAPK/JNK 및 ERK)의 활성화에 미치는 영향을 확인한 결과, 포모노네틴을 처리한 모든 군에서 정상군에 가까운 정도로 완벽히 회복(감소)되는

것을 확인하였다. 또한, SAPK/JNK pathway의 하위인자인 c-Jun의 활성화도 감소하였다(실시예 7-3 내지 실시예 7-5 및 도 7 내지 도 9).

[0027] 상기 결과에서, 본 발명의 포모노네티ンは 탈모를 일으킨 동물 모델에서 뛰어난 발모 촉진 효과를 가지는 것을 확인했으며, 이는 탈모에 의해서 발생하는 면역반응 및 세포사멸 반응을 억제하는 것을 통해 모발의 재발모를 촉진하는 효과를 가지는 것을 확인하였다. 또한, 상기 면역 반응 및 세포사멸 반응을 억제하는 효과를 통해 애초에 자연적으로 일어나는 탈모를 방지하는 효과를 가질 수 있음을 예측할 수 있었다.

[0028] 또 다른 양태로서, 본 발명은 포모노네티ン(Formononetin) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 조성물을 제공한다. 상기 조성물은 탈모방지 또는/및 발모촉진용 유효성분으로서 포모노네티ン만을 포함하는 것으로서, 포모노네티ンの 탈모방지/발모 촉진 활성을 방해하지 않는 다른 보조성분을 추가로 포함할 수 있다.

[0029] 또한, 본 발명은 분리된 포모노네티ン 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 탈모방지 또는 발모촉진용 조성물을 제공한다.

[0030] 상기 조성물은 포모노네티ン이 식물, 이의 추출물 또는 분획물에 포함된 형태가 아닌 분리된 형태로 포함된 것일 수 있다.

[0031] 또 다른 양태로서, 본 발명은 포모노네티ン 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 화장품 조성물을 제공한다.

[0032] 상기 화장료 조성물은 탈모방지 또는 발모촉진용 두피 모발케어 조성물일 수 있다.

[0033] 본 발명에서 사용하는 용어 "두피 모발케어 조성물"은, 물리적 또는 화학적 요인에 의하여 발생하는 두피 및 모발의 손상을 방지 또는 완화해주는 조성물을 의미한다. 본 발명의 조성물은 샴푸, 린스, 에센스, 영양제, 세럼, 마사지크림, 로션 또는 팩제인 것이 바람직하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0034] 또한, 상기 조성물은 각각의 제형에 따라 상기의 필수성분 이외에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예컨대 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민제, 안료 및 향료와 같은 보조제 및 담체를 들 수 있다.

[0035] 또 다른 양태로서, 본 발명은 포모노네티ン 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 의약품 조성물을 제공한다.

[0036] 본 발명의 탈모방지 및 발모촉진용 조성물은 화장품 또는 의약품의 제형으로 사용될 수 있다. 상기 조성물의 제형은 포모노네티ン 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로서 배합할 수 있는 어느 형태의 제형도 가능하다. 바람직하게, 상기 탈모방지 및 발모촉진용 화장품 또는 의약품의 제형으로 헤어토닉, 헤어크림, 헤어로션, 헤어샴푸, 헤어린스, 헤어컨디셔너, 헤어스프레이, 헤어에어졸, 폼마드, 분말, 젤, 헤어팩, 헤어트리트먼트, 눈썹발모제, 속눈썹 발모제, 속눈썹 영양제, 또는 애완동물용 샴푸 및 애완동물용 린스 등과 같이 용액, 솔젤, 에멀전, 오일, 왁스, 에어졸 등 다양한 형태로 제조될 수 있고, 가발 또는 모자 등의 두피 또는 모발용 기구의 제조나 가공에 사용될 수 도 있으며, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0037] 또한 상기 탈모방지용 조성물에는 상술한 각종 제형에 따라 또는 최종목적에 적합하게 통상의 탈모방지용 조성물에 배합되는 각종 성분들을 함유할 수 있다. 예를 들면, 샴푸의 제형을 갖는 경우에는 세정 성분인 합성 계면활성제와 방부제, 점증제, 점도 조절제, pH 조절제, 향료, 염료, 모발 컨디셔닝제 및 물 중 어느 하나 이상을 함유할 수 있다. 상기 합성 계면활성제 중 합성 음이온 계면활성제는 알킬 및 알킬 에테르 설페이트로서, 대표적인 예로 라우릴 황산나트륨, 라우릴 황 산암모늄, 라우릴 황산 트리에탄올아민, 폴리옥시에틸렌 라우릴 황산

나트륨, 폴리옥시에틸렌 라우릴 황산암모늄 등이 있다. 또한 상기 합성 계면활성제 중 합성 양쪽성 계면활성제는 알킬 베타민 및 알킬 아미도프로필 베타민으로서, 대표적인 예로는 코코디메틸 카복시메틸 베타민, 라우릴디메틸 카복시메틸 베타민, 라우릴 디메틸 알파-카복시에틸 베타민, 세틸 디메틸 카복시메틸 베타민, 코카미도 프로필 베타민 등이 있다. 상기 비이온 계면활성제는 알카놀 아미드 및 아민 옥사이드로서, 라우릴 디에틸 아민옥사이드, 야자유 알킬디메틸 아민옥사이드, 라우린산 디에탄올아미드, 야자유 지방산 디 에탄올아미드, 야자유 지방산 모노에탄올아미드 등이 있다.

[0038] 본 발명에서 사용되는 임의 성분으로서의 샴푸로서의 기본적인 물성 및 품질을 유지하기 위한 통상적인 임의 성분으로서 당해 분야의 전문가에게 널리 공지되어 있다. 이러한 임의 성분에는 진주박 보조제, 방부제, 점증제 및 점도 조절제, pH 조절제, 향료, 염료, 모발 컨디셔닝제가 포함된다. 예를 들면 에틸렌글리콜 모노스테아레이트, 에틸렌글리콜 디스테아레이트와 같은 진주박 보조제; 파라 옥시안식향산메틸, 메틸클로로 이소치아졸리논과 메틸 이소치아졸 리논의 혼합물과 같은 방부제; 염화나트륨, 염화암모늄, 프로필렌 글리콜과 같은 점증제 및 점도 조절제; 구연산, 인산, 수산화나트륨, 수산화칼륨과 같은 pH 조절제; 폴리쿼터늄-10, 폴리쿼터늄-7, 메틸폴리실록산, 디메티콘코폴리 올, 가수분해 동물단백질과 같은 모발 컨디셔닝제, 수용성 타르와 같은 염료가 사용되며, 또한 향료가 사용될 수 있다.

[0039] 추가로, 본 발명의 탈모방지용 조성물은 그 제형에 달리하여 애완동물용으로 사용할 수 있다. 본 발명의 조성물을 함유하는 샴푸 형태로 제조될 수 있으며, 애완동물의 피부에 자극이 적고 보습력이 탁월한 중성의 세제를 첨가하여 제조할 수 있다. 이때, 본 발명의 성분에 의해 강력한 살충, 항균능력과 탈모 방지 효과를 얻을 수 있다.

[0040] 또한, 상기 조성물은 각각의 제형에 따라 상기의 필수성분 이외에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예컨대 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민제, 안료 및 향료와 같은 보조제 및 담체를 들 수 있다.

[0041] 또 다른 양태로서, 본 발명은 포모노네티ن 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 식품 조성물을 제공한다. 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분은 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 등)와 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제(예를 들어, 타우마틴, 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등과 같은 스테비아 추출물) 및 합성 향미제(예를 들어, 사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다.

### 발명의 효과

[0042] 본 발명의 따른 포모노네티ن 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물은 탈모에 의해서 발생하는 면역반응 및 세포사멸 반응을 억제하는 것을 통해 모발의 재발모를 촉진하는 효과를 가지며, 상기 면역 반응 및 세포사멸 반응을 억제하는 효과를 통해 애초에 자연적으로 일어나는 탈모를 방지하는 효과를 가짐에 따라, 포모노네티인이 탈모방지 및 발모촉진용 조성물로 널리 사용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0043] 도 1은 쥐를 동물 모델로 하여 정상군과 탈모유도군, 및 탈모유도 후 포모노네티ن 농도별 처리군(1 또는 1000  $\mu$ M)의 탈모유도 후 15일째 등피부 및 모발 사진이다.

도 2은 쥐를 동물 모델로 하여 정상군과 탈모유도군, 및 탈모유도 후 포모노네티ن 농도별 처리군(1 또는 1000  $\mu$ M)의 탈모유도 후 15일째 등피부조직 단편을 H&E 염색한 사진이다.

도 3은 쥐를 동물 모델로 하여 정상군과 탈모유도군, 및 탈모유도 후 포모노네티ن 농도별 처리군(1 또는 1000  $\mu$ M)의 탈모유도 후 15일째 등피부조직으로부터 TNF- $\beta$ , IL-8 및 GAPDH의 mRNA 발현량을 역전사 PCR을 통해 확인하는 도면이다.

도 4은 쥐를 동물 모델로 하여 정상군과 탈모유도군, 및 탈모유도 후 포모노네티ن 농도별 처리군(1 또는 1000  $\mu$ M)의 탈모유도 후 15일째 등피부조직으로부터 (A)TNF- $\alpha$ , (B)IL-1 $\beta$ , (C)4, (D)6 및 (E)IFN- $\gamma$ 의 수준을 확인하는 도면이다.

도 5는 쥐를 동물 모델로 하여 정상군과 탈모유도군, 및 탈모유도 후 포모노네티ن 농도별 처리군(1 또는 1000  $\mu$ M)의 탈모유도 후 15일째 등피부조직으로부터 NF- $\kappa$ B 및 I $\kappa$ B- $\alpha$  활성을 확인하는 도면이다.

도 6은 쥐를 동물 모델로 하여 정상군과 탈모유도군, 및 탈모유도 후 포모노네티ن 농도별 처리군(1 또는 1000  $\mu$ M)의 탈모유도 후 15일째 등피부조직으로부터 i-Nos 및 Cox-2의 발현을 확인하는 도면이다.

도 7은 쥐를 동물 모델로 하여 정상군과 탈모유도군, 및 탈모유도 후 포모노네티ن 농도별 처리군(1 또는 1000  $\mu$ M)의 탈모유도 후 15일째 등피부조직으로부터 MAP kinase들(p38, SAPK/JNK 및 ERK)의 발현량과 활성화를 의미하는 인산화를 확인하는 도면이다.

도 8은 쥐를 동물 모델로 하여 정상군과 탈모유도군, 및 탈모유도 후 포모노네티ن 농도별 처리군(1 또는 1000  $\mu$ M)의 탈모유도 후 15일째 등피부조직으로부터 SAPK/JNK pathway의 하위 인자인 c-Jun의 활성을 확인하는 도면이다.

도 9는 쥐를 동물 모델로 하여 정상군과 탈모유도군, 및 탈모유도 후 포모노네티ن 농도별 처리군(1 또는 1000  $\mu$ M)의 탈모유도 후 15일째 등피부조직으로부터 Bcl-2, Bax, p53, capase-3 및 9의 활성을 확인하는 도면이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0044] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들로 한정되는 것은 아니다.

### [0045] 실시예 1. 동물 관리 및 실험 과정

[0046] 7주차 C57b1/6 암컷(18~20 g)을 삼타코 실험 동물 센터(오산, 경기도, 한국)에서 구입하였다. 등의 피부 색상이 분홍색인 것으로 쉽게 식별이 가능한, 모발 성장 주기가 휴지기(Telegen)에 접어든 쥐를 선택하였다. 기존에 알려진 방법인 탈모(털뽑기)를 통해 성장기(검은색)에 접어드는 것으로 자연적 퇴행기(Catagen)(회색)를 유도하였다. 동물은  $22 \pm 1$  °C 및 상대습도  $55 \pm 10\%$ 로 유지되는 층류 방식 무균실에 한 cage당 7마리씩 사육되었으며, 쥐는 경희대학교 동물실험윤리위원회에서 정한 지침 및 실험동물 사육 및 이용에 관한 지침(보건 교육 후생부, NIH; publication #78-23, 1996)에 따라 취급되었다. 포모노네티는 Sigma-Aldrich에서 제조한 것을 구매하여 사용하였다(Catalog No. 47752-formononetin).

[0047] 쥐는 무작위적으로 4개의 군에 7마리씩 배정되었다. Nor(일반 C57BL/6 쥐) 군과 Alopecia(탈모 C57BL/6 쥐) 군들에 담체와 2 종류의 농도(1, 100  $\mu$ M; 메탄올 용매)인 포모노네티를 탈모 후 일주일에 5일 국소적으로 처리하였다. 성장기의 유도와 대량의 퇴행기 진행 여부를 2주간 측정하였다. 탈모 후 15일째에, 사진을 찍고 개별 쥐의 등피부조직을 사용시까지 열린 상태로 유지된 채로 수집하였다.

[0048] 구체적으로는, 모발 재발모에 포모노네티가 미치는 영향을 확인하기 위하여, 정상군과 탈모군에 메탄올을 처리하여 모발 소실이 일어난 등쪽 피부에 포모노네티를 국소적으로 처리하였다.

[0049] 그 결과, 포모노네티를 처리하지 않은 모발 소실이 일어난 쥐는 모발이 소실된 채로 유지되어 있었으며 등피부는 분홍 또는 회색을 보였다. 반면, 포모노네티를 처리한 경우에는 농도 의존적으로 모발이 재발모하는 것을 확인하였다(도 1). 포모노네티 처리군에 속한 모든 쥐에서 탈모가 뚜렷하게 개선되었다.

[0050] **실시예 2. 모발 성장의 조직학적 실험**

[0051] 포모노네틴이 모낭(hair follicle), 모근(hair bulbs) 및 모간(hair shafts)에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 실시예 1에서 수득한 각 군의 등피부조직을 헤마톡실린 & 에오신(Hematoxylin & Eosin, H&E) 염색을 위해 4% 포름알데하이드로 고정하였다. 파라핀으로 고정된 4- $\mu$ m 두께의 절편들을 에탄올과 증류수로 수화하고 H&E 시약으로 염색하였다. 퍼마운트(자일렌) 한 방울을 유리 막대를 이용하여 기포 없이 슬라이드에 떨어뜨린다. 슬라이드 위에 커버슬립을 부드럽게 얹으면, 퍼마운트는 커버슬립 아래에 퍼지게 되고, 이를 후드에서 하룻밤 동안 말렸다. Leica Application Suite(LAS) 현미경 소프트웨어(Leica Microsystems Inc., IL, USA)가 디지털 이미지를 얻는데 사용되었다. 배율은 x100, x200 및 x400이었다.

[0052] 도 2는 x100, x200 및 x400배 확대된 H&E 염색 단면의 대표적인 모습이다. T림프구 침윤에 영향받은 피부 부위는 모간이 망가져 모낭으로부터 뺏어나가지 못하는 특징을 보인다. 그리고 도면상 모근 주위에 이른바 '벌떼(swarm of bees)'라 일컬어지는 높은 T림프구 침윤은 거의 확인되지 않았다. 놀랍도록 작아진 모낭이 피부 상피 표면으로부터 떨어져서 존재했다. 그리고 탈모-영향 피부에서 모근 주변에 몇몇 호산구가 침윤한 모습은 확인되었다. 포모노네틴을 처리한 후에 새로운 모발이 생겨났으며, 빈영양형 퇴행기 모낭이 새로이 길쭉한 성장기 모낭으로 변화하였다. 포모노네틴 처리로 인하여, 모발 및 긴 모간을 포함하는 모낭의 크기를 회복하였다. 특히 100mg/mL의 포모노네틴 처리군에서는 모낭으로부터 피부 표면에까지 곧게 뻗은, 잘 분화된 모간을 보였다.

[0053] **실시예 3. 역전사 PCR(Reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)을 통한 TNF- $\beta$ , 및 IL-8 mRNA 정량 측정**

[0054] 탈모 영역의 피부조직으로부터 TRIzol 시약(Invitrogen Corp., Carlsbad, CA, USA)을 이용하여 제조자의 지시에 따라 전RNA를 분리하였다. 분리된 전RNA(1 $\mu$ g)를 상업적으로 사용가능한 cDNA 제조키트(Invitrogen Corp., Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 cDNA로 역전사하였다. 실험 튜브들을 45°C에서 60 분간 정치한 후, 95°C에서 5 분간 정치하였다. 상기 샘플들은 이후 사용시까지 -20°C에서 보관되었다. cDNA는 Taq 합성효소(Promega)와 TNF- $\beta$ , IL-8 및 GAPDH의 mRNA에 특이적인 프라이머를 통해 증폭되었다. 역전사 PCR(RT-PCR)의 최적 조건은 일반적인 방법을 통해서 확정되었다. TNF- $\beta$  및 IL-8은 94°C 20초, 60°C 30초, 및 72°C로 2분의 사이클을 35회 반복한 후, 최종 합성을 위해 72°C로 10분간 PCR을 진행하였다. PCR 결과물을 1% 아가로스 겔에 전기영동하여, GAPDH mRNA를 기준으로 하여 상대적인 mRNA 발현량을 Quantity One 소프트웨어를 이용하여 정량화하였다.

[0055] 도 3에 나타난 바와 같이, 탈모가 일어난 피부에서 IL-8과 TNF- $\beta$ 의 mRNA 발현이 증가하는데 비하여, 포모노네틴을 처리하는 경우에 농도의존적으로 상기 두 사이토카인의 발현 증가를 억제하는 것을 확인하였다.

[0056] **실시예 4. 전, 세포질 및 핵 단백질 수득을 위한 조직 용해물 제조**

[0057] 전조직 용해물을 수득하기 위해서, 쥐의 등피부로부터 수득한 500mg(그룹당 7마리) 쥐 조직을 얼음 위에서 단백질 분해효소 저해 cocktail((Roche, Indianapolis, IN)을 포함하는 T-PER 조직 단백질 추출용액 (Pierce, Rockford, IL, USA) 2mL에 균질화하였다. 혼합물은 얼음위에 15분간 정치시킨 후 15초간 볼텍싱하였다. 이러한 과정을 4회 반복하였다. 마지막으로 4°C에서 12,000Xg로 20분간 원심분리하여 상층액을 수득하였으며, 그 후 상기 상층액에 등피부조직으로부터 얻은 전단백질이라고 라벨링하고, 등피부조직의 tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , interleukin (IL)-1 $\beta$ , 4, 6 및 IFN- $\gamma$  등과 같은 사이토카인과 면역 및 세포사멸 인자의 발현을 확인하였다. 또한, 쥐의 등피부로부터 수득한 또다른 500mg(그룹당 7마리)의 쥐 조직을 얼음 위에서 단백질 분해효소 저해 cocktail을 포함하는 세포질 완충용액 (10 mM HEPES, pH 7.9, 10 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 0.1 mM EGTA, 1 mM

DTT, 0.15% Nonidet P-40, 50 mM  $\beta$ -glycerophosphate, 10 mM NaF 및 5 mM  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ ) 2mL에 균질화하였다. 균질 물을 얼음 위에서 15분간 정치한 후에 4℃에서 12,000Xg로 30분간 원심분리하였다. 상기 상층액을 세포질 단백질이라고 라벨링하고, 펠렛(핵 포함)은 핵 완충용액(20 mM HEPES, pH 7.9, 400 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM DTT, 0.50% Nonidet P-40, 50 mM  $\beta$ -glycerophosphate, 10 mM NaF 및 5 mM  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ )에 현탁시킨 후, 얼음 위에 15분간 정치하였다. 핵 단백질 분획은 4℃에서 12,000Xg로 30분간 원심분리한 상층액으로 얻었다. 전, 세포질 및 핵 단백질 분획은 사용시까지 -80℃에 보관하였다.

**[0058] 실시예 5. 사이토카인 측정을 위한 효소-연결 면역흡착 분석(ELISA)**

**[0059]** T 림프구 침윤에 영향받지 않은 피부 조직 또는 영향받은 피부 조직 단백질에서 사이토카인 생성량을 측정하기 위하여 변형된 ELISA 방법을 이용하였다. 단백질 농도는 단백질 분석 용액(Bio-Rad, Hercules, CA)을 이용하여 측정하였다. 간단하게 말하면, 편평한 96-웰 플레이트(BD Bioscience, San Jose, CA)를 IL-6 and IFN- $\gamma$  포획 항체(capture antibody)를 포함하는 코팅 용액으로 4℃에서 하룻밤 동안 코팅시켰다. 그 후, PBS-T 용액(0.05% Tween-20 포함 PBS)로 3회 세척한 후 분석 희석 용액(Assay Diluent buffer, 10% FBS를 포함하는 PBS)로 실온에서 1시간 동안 블라킹하였다. PBS-T로 플레이트를 세척하였다. 샘플과 기준 시료를 웰 3개씩에 처리하고, 실온에서 2시간 동안 정치하였다. 다음으로, 각 웰들을 5번씩 세척한 다음, 탐지 항체(detection antibody)를 각 웰에 처리하고, 상기 플레이트를 실온에서 1시간 동안 정치한다. 상기 플레이트를 7번 세척하였다. 그 다음, TMB 기질 시약(BD Bioscience, San Jose, CA)을 첨가한 다음 암전 상태로 30분간 실온에서 정치시켰다. 본 반응은 정지 용액(2N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ )으로 고정하고, 각 웰의 광학적 세기는 450 nm 필터와 570 nm 필터를 이용하여 ELISA Reader(Molecular Devices, Downingtown, PA)를 통해 측정하였다. 사이토카인 수준은 총 단백질 g 당 pg으로 계산하였다.

**[0060]** 포모노네티이 T림프구 활성화와 관련된 사이토카인 생성에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 등피부조직으로부터 얻은 전-용해물을 사용하였다. 기존에 알려진 바와 같이 수개의 T 세포-매개 사이토카인들이 면역반응 과정을 조절한다. 상기 ELISA 실험 결과, 탈모 및 T림프구 침윤 그룹에서 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , 4, 6, 및 IFN- $\gamma$ 의 수준이 증가되었다.

**[0061]** 실시예 3에 의한 역전사 PCR과 상기 결과를 종합하면, 포모노네티는 탈모 그룹과 비교하여 TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , IL-1 $\beta$ , 4, 6, 및 8 수준을 감소시켰다. 그러나, IFN- $\gamma$ 의 수준은 포모노네티 처리 여부에 영향을 받지 않았다(도 4).

**[0062] 실시예 6. 웨스턴 블랏팅 분석**

**[0063]**  $\beta$ -actin, 유도성 산화질소 합성효소(inducible nitric oxide synthase, i-Nos), cyclooxygenase (Cox)-2, c-Jun, extracellular signal-regulated kinase (ERK), p-ERK, stress-activated protein kinase (SAPK)/c-Jun N-terminal kinases (SAPK/JNK), p-SAPK/JNK, p38, p-p38, Bax, Bcl-2, p53, caspase-3 및 9의 활성화를 전단백질 레벨에서 확인하였다. 또한, NF- $\kappa$ B의 활성은 핵 단백질에서, I $\kappa$ B- $\alpha$  및 p-I $\kappa$ B- $\alpha$ 의 수준은 세포질 단백질에서 분석하였다. 각 단백질 50  $\mu$ g을 SDS 용액(62.5 mM Tris-HCl, pH 6.8, 2% SDS, 20% glycerol, 1% bromophenol blue 및 10% 2-mercaptoethanol)으로 변성시켰다. 변성된 시료는 10% SDS-polyacrylamide gel에 의해 분리되어 PVDF 막(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)에 2시간 동안 이동되었다. 상기 막은 5% 탈지 우유 용액(TBS-T)에 2시간동안 블라킹 된 후, TBS-T 용액에 의해 세척되었다. 이후, 1차 항체(anti- $\beta$ -actin, -i-Nos, -Cox-2, -c-Jun, -ERK, -p-ERK, -SAPK/JNK, -p-SAPK/JNK, -p38, -p-p38, -Bax, -Bcl-2, -p53, caspase-3, capase-9, -NF- $\kappa$ B, -I $\kappa$ B- $\alpha$  및 -p-I $\kappa$ B- $\alpha$ ; TBS-T 용액에 1:800 비율로 희석; cell signaling, USA)를 처리하여 하룻밤 정치하였다. 세척한 후, 2차 항체(anti-mouse IgG; TBS-T 용액에 1:2000비율로 희석)을 붙였다. 항체가 결합된 단백질은 ECL 탐지 시약 (enhanced chemiluminescence 탐지 시약, Amersham Pharmacia, Piscataway, NJ, USA)으로 시각화하였다.  $\beta$ -actin은 i-Nos, Cox-2, c-Jun, Bax, Bcl-2, p53, caspase-3, 9,

NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B- $\alpha$  및 p-I $\kappa$ B- $\alpha$ 의 단백질 수준을 측정하기 위한 내부 대조군(internal loading control)으로 이용하였다. MAP kinase(ERK, JNF, p-38)는 인산화 정도를 측정하기 위한 내부 대조군으로 이용하였다. 상기 밴드의 상대적인 세기는 컴퓨터화된 세기 측정 시스템(computerized densitometry system)을 이용하여 측정하였다.

[0064] 실시예 7. 포모노네티에 의한 면역 및 세포사멸 관련 인자 활성화 측정

[0065] 상시 실시예 6에서 설명한 웨스턴 블랏팅 방법을 통해서, 면역 및 세포사멸 관련 인자들의 발현량 또는 활성화(인산화 등)를 확인하였다.

[0066] 실시예 7-1 포모노네티의 NF- $\kappa$ B 및 I $\kappa$ B- $\alpha$  활성화에 미치는 영향

[0067] 웨스턴 블랏팅을 통하여 많은 전-면역반응 관련 사이토카인과 관련된 것이 알려진 전사인자의 발현량을 측정하였다. 포모노네티 처리는 핵 단백질 내에서 NF- $\kappa$ B의 발현을 감소시키고 세포질 단백질 내에서 p-I $\kappa$ B- $\alpha$ 의 수준을 감소시켰다(도 5).

[0068] 이는 포모노네티가 NF- $\kappa$ B의 핵 내로의 이동을 막아서 I $\kappa$ B- $\alpha$ 의 인산화를 억제한다는 것을 의미한다. 또한, 포모노네티에 의한 NF- $\kappa$ B의 발현 감소는 세포질 내에서 I $\kappa$ B- $\alpha$ 의 분해를 저해한다.

[0069] 실시예 7-2. 포모노네티의 i-Nos 및 Cox-2 활성화에 미치는 영향

[0070] NF- $\kappa$ B의 활성화는 i-Nos 및 Cox-2의 발현과 관련되어 있음은 기존에 알려져 있다. NF- $\kappa$ B의 저해에 의한 추후 기작을 확인하기 위하여, 전단백질 용해물에서 i-Nos 및 Cox-2의 발현 수준을 측정하였다. 탈모에 의해 증가되었던 i-Nos 및 Cox-2의 발현이 포모노네티에 의해서 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인하였다(도 6).

[0071] 실시예 7-3. 포모노네티의 MAP kinase 활성화에 미치는 영향

[0072] 포모노네티의 처리가 세포생존 및 사멸과 관련된 3개의 MAP kinase들(p38, SAPK/JNK 및 ERK)의 활성화를 의미하는 인산화를 억제하는지 여부를 확인하였다. T림프구 침윤에 영향받은 피부 영역에서 해당 3 MAP kinase의 증가된 인산화 수준이 포모노네티 처리에 의해서 감소되는 것을 확인하였다. 포모노네티를 처리한 모든 군에서 정상군(Alopiecia -, 포모노네티 -)에 가까운 정도로 완벽히 회복되는 것을 확인하였다(도 7).

[0073] 실시예 7-4. 포모노네티의 c-Jun 활성화에 미치는 영향

[0074] SAPK/JNK pathway의 활성화를 추가적으로 확인하기 위해서 SAPK/JNK-관련 인자인 c-Jun에 대해서 분석하였다. 실시예 7-3에서 확인하였듯이 포모노네티의 처리에 의한 SAPK/JNK의 발현 및 활성화 감소와 일치하여, 그 하위인자인 c-Jun의 활성화도 감소하였다(도 8).

[0075] 실시예 7-5. 포모노네티의 세포사멸인자 생성에 미치는 영향

[0076] 모낭의 퇴행으로 여겨지는 퇴행기에 대한 조절은 케라티노사이트 사멸을 반영한다. 항-세포사멸 Bcl-2와 전세포사멸 Bax 발현 비율은 세포사멸 조정 과정을 대표한다. 사멸형 퇴행기-영향 쥐에서 Bax의 증가만큼이나 Bcl-2의

감소가 확인되었다. 포모노네티 처리 쥐에서는 상기 두 사멸-관련 인자의 발현이 서로 반대되어 결국 Bcl-2와 Bax 발현 비율이 증가하는 것을 확인하였다. 이에 더하여, p53, capase-3 및 9의 활성이 포모노네티 처리에 의해서 감소하였다(도 9).

[0077] **실시예 8. 통계학적 분석**

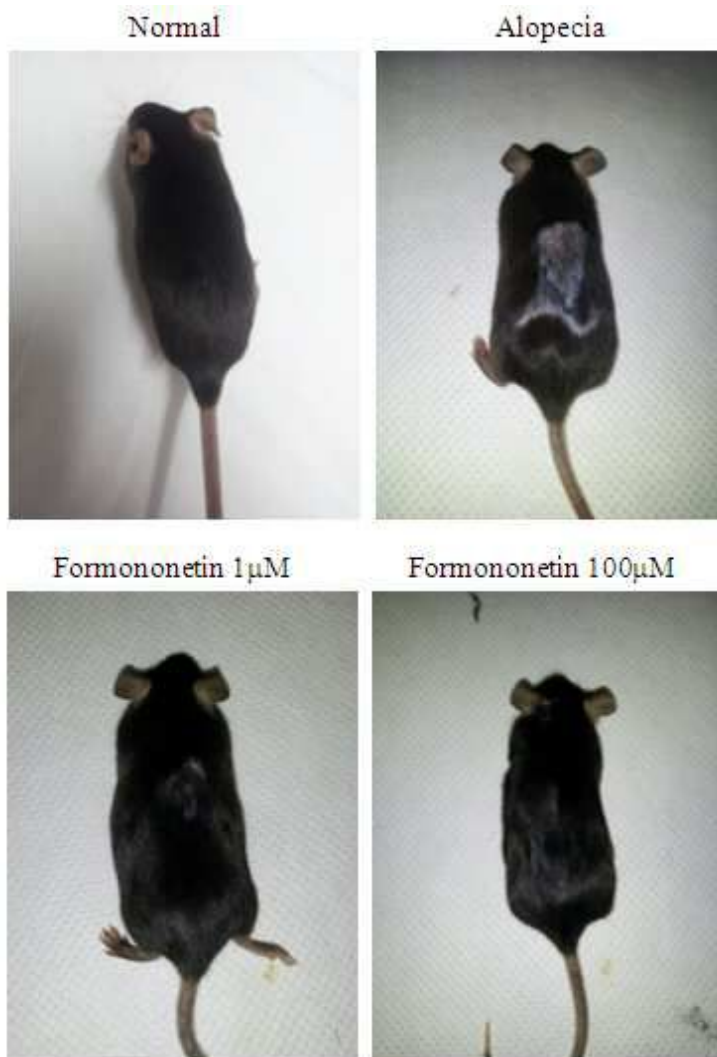
[0078] ANOVA(one-way analysis of variance) 및 비모수 검정을 통하여 유의미도를 측정하였다. 모든 분석에서, 통계학적 유의미성의 기준으로  $P < 0.05$ 을 확인하였다.

[0079] 상기 결과에서, 본 발명의 포모노네티는 탈모를 일으킨 동물 모델에서 뛰어난 발모 촉진 효과를 가지는 것을 확인했으며, 이는 탈모에 의해서 발생하는 면역반응 및 세포사멸 반응을 억제하는 것을 통해 모발의 재발모를 촉진하는 효과를 가지는 것을 확인하였다. 또한, 상기 면역 반응 및 세포사멸 반응을 억제하는 효과를 통해 애초에 자연적으로 일어나는 탈모를 방지하는 효과를 가질 수 있음도 예측할 수 있다.

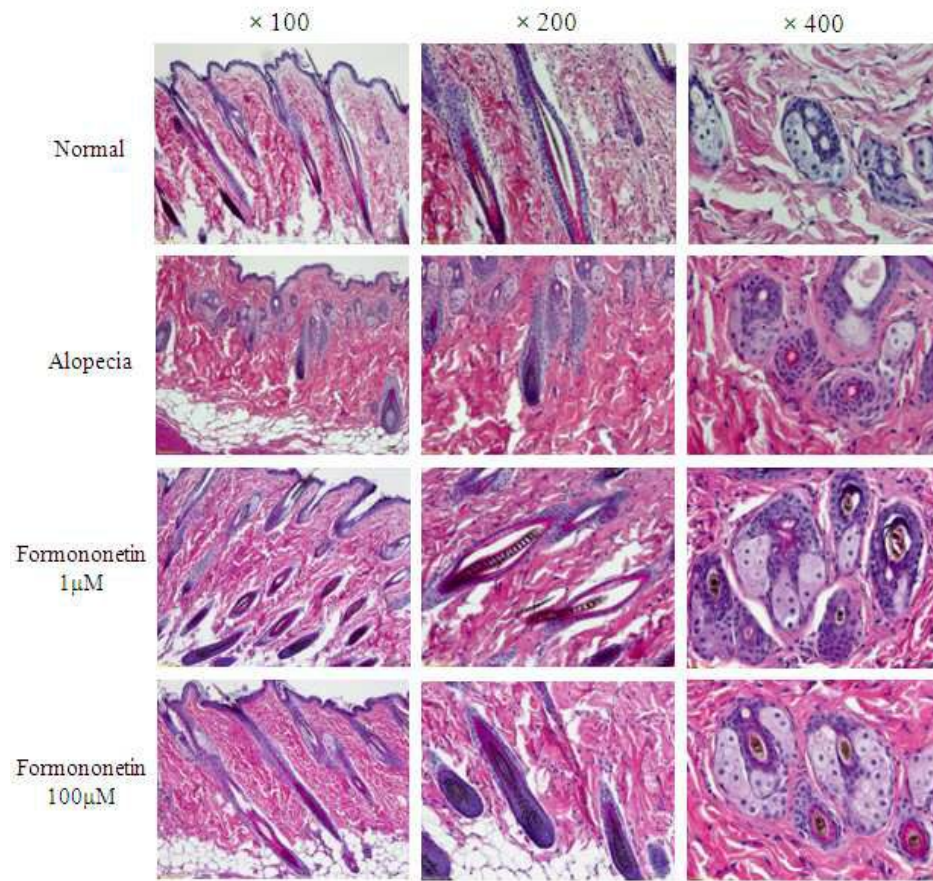
[0080] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

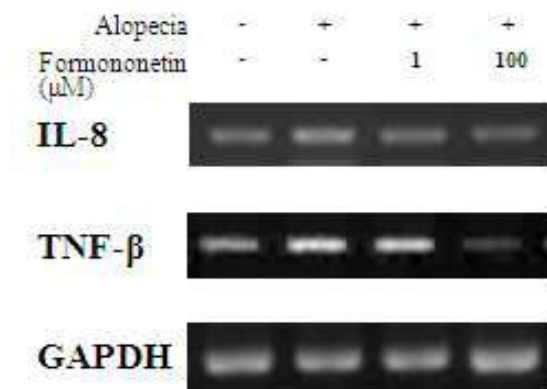
도면1



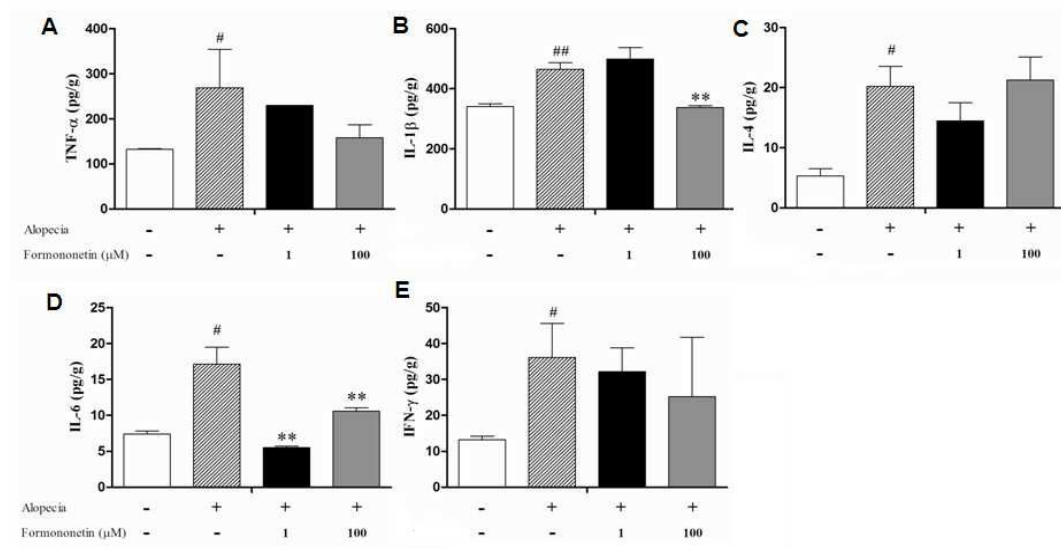
도면2



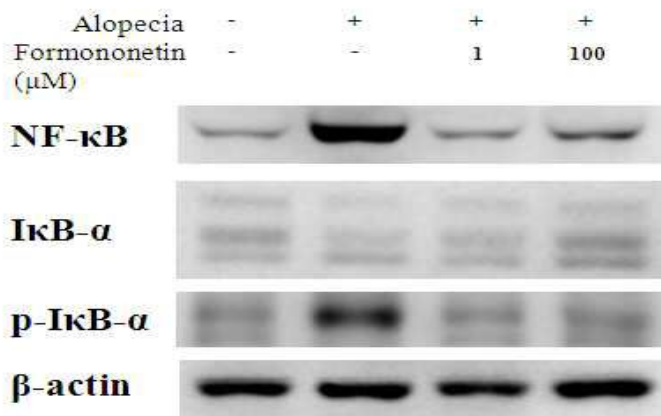
도면3



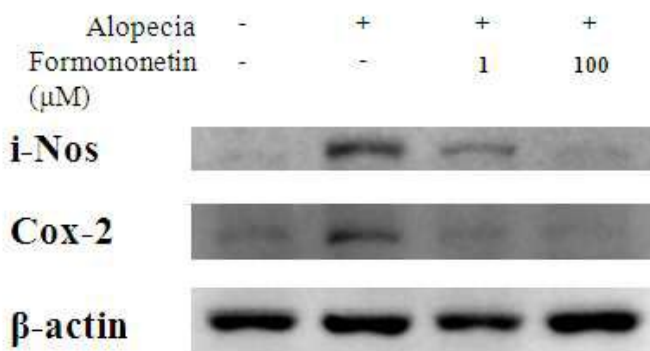
#### 도면4



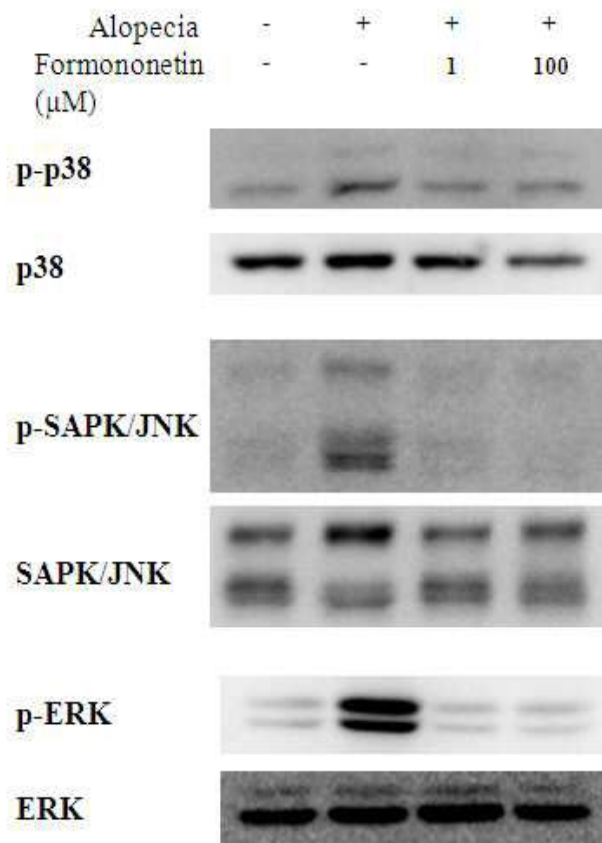
#### 도면5



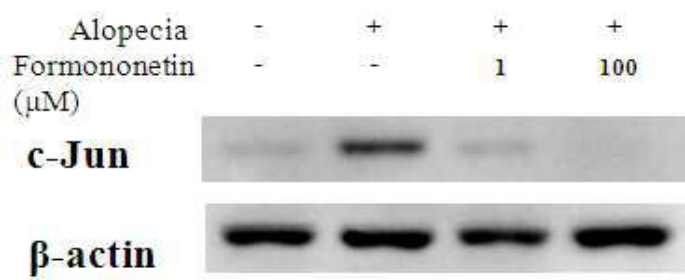
#### 도면6



도면7



도면8



도면9

