



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년07월17일
(11) 등록번호 10-2000934
(24) 등록일자 2019년07월11일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/49 (2006.01) A61K 31/34 (2006.01)
A61K 8/34 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
A61Q 7/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 8/4973 (2013.01)
A61K 31/34 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2016-0052490(분할)
(22) 출원일자 2016년04월28일
심사청구일자 2019년01월11일
(65) 공개번호 10-2016-0054446
(43) 공개일자 2016년05월16일
(62) 원출원 특허 10-2014-0006004
원출원일자 2014년01월17일
심사청구일자 2014년01월17일
- (56) 선행기술조사문헌
CN103494803 A*
Natural Product Research, Vol.26, No.5,
pp.423-429, 2012*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
주식회사 엘지생활건강
서울특별시 종로구 새문안로 58 (신문로2가)
- (72) 발명자
조호성
대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)
이슬기
대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)
이상화
대전광역시 유성구 가정로 175 (장동)
- (74) 대리인
특허법인필엔은지

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 김예훈

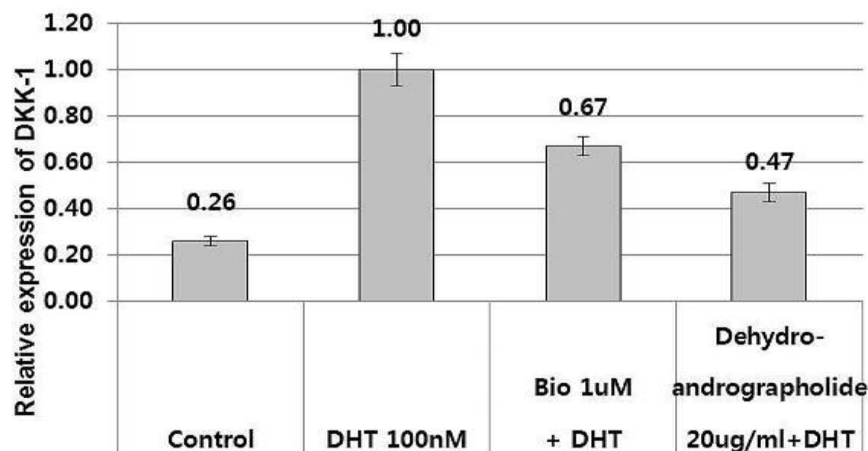
(54) 발명의 명칭 디하이드로안드로그래폴라이드를 포함하는 모발 성장 촉진용 화장품 또는 약학 조성물

(57) 요약

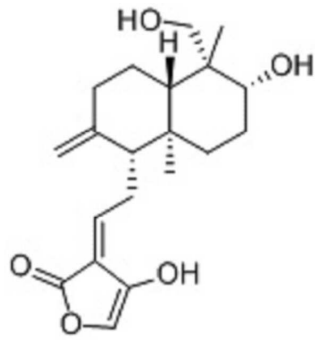
본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 탈모 방지, 모발 성장 또는 발모 촉진용 화장품 또는 약학 조성물을 제공한다. 본 발명의 화장품 또는 약학용 조성물은 부작용이 적어 인체에 안전하면서도 우수한 모발 성장 또는 발모 촉진 효과를 나타낼 수 있다.

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



[화학식 1]



(52) CPC특허분류

A61K 8/34 (2013.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

A61Q 7/00 (2019.01)

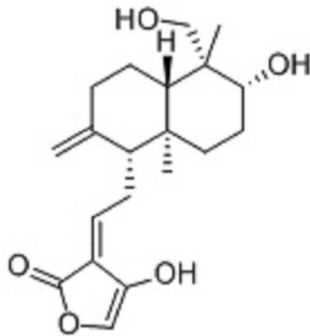
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표현되는 화합물 또는 이의 화학학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 흉터 개선용 화장품 조성물.

[화학식 1]



청구항 2

제1항에 있어서, 상기 조성물은 상기 화학식 1로 표현되는 화합물 또는 이의 화학학적으로 허용 가능한 염을 조성물 전체 중량 대비 0.001 내지 10 중량% 포함하는 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

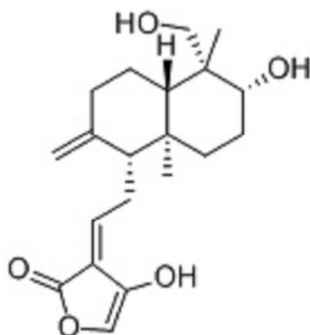
청구항 3

제1항에 있어서, 상기 화장품 조성물은 Wnt/ β -카테닌(catenin) 신호 전달 체계를 활성화시키는 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 4

하기 화학식 1로 표현되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 흉터 개선용 약학 조성물.

[화학식 1]



청구항 5

제4항에 있어서, 상기 조성물은 상기 화학식 1로 표현되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 조성물 전체 중량 대비 0.001 내지 10 중량% 포함하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 약학 조성물은 Wnt/ β -카테닌(catenin) 신호 전달 체계를 활성화시키는 것을 특징으로 하

는 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 모발 성장 촉진을 위한 조성물에 관한 것으로, 모발의 신규성장 또는 성장 촉진을 유도하는 성분을 함유하는 모발 성장 촉진을 위한 화장료 또는 약학 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 시대가 변하면서 미용에 대한 관심이 날로 높아가는 과정에 모발은 중요한 한 부분을 차지하고 있다. 모발은 피부 표면에서 생산된 가늘고 각질화된 구조다. 이것은 외부충격에 대한 쿠션 역할과 더불어 직사광선, 한냉, 마찰, 위험 등 외부 자극으로부터 인체를 보호하고 신체에 유해한 비소, 수은, 아연 등의 중금속이 체외로 배출되는 기능을 하며 현대에 와서는 장식의 미용 측면도 강조되고 있다.
- [0003] 그러나 생활환경 변화나 내외적 스트레스 증가를 비롯하여 여러 원인에 의해 탈모를 호소하는 사람들이 늘어나고 있다.
- [0004] 사람의 모발은 약 10만~15만개 정도이며, 각각의 모발은 서로 다른 성장주기를 가진다. 모발성장주기는 3단계로 구성되는데, 모발이 가장 활발하게 성장하는 성장기(anagen stage), 모발의 퇴화가 시작되는 퇴화기(catagen stage) 및 모발의 성장이 멈추거나 휴식에 접어드는 휴지기(telogen stage)로 분류된다.
- [0005] 일반적으로 탈모증이라 함은 이러한 주기 중에서 성장기의 모발 비율이 짧아지고 퇴행기 또는 휴지기의 모발이 많아져 비정상적으로 모발이 탈락하는 숫자가 많아지는 것을 일컫는다.
- [0006] 모낭의 사멸과 탈락에는 남성호르몬이 매우 중요하게 작용하고 있는데 남성호르몬에 의해 모낭에서 발현되는 인자들 중, DKK-1(Dickkopf-related protein 1)은 모낭성장 저해와 사멸에 중요한 역할을 한다.
- [0007] 한편, 주기적인 모발성장을 위해선 모낭의 재생과 줄기세포의 활성화가 이루어져야 하며 이는 Wnt/ β -카테닌(catenin)의 생성, 활성화에 의해 이루어지는 것으로 알려져 있다. 또한, 앞서 언급된 DKK-1은 Wnt/ β -catenin의 길항제로 알려져 있어 모발성장을 조절하는데 있어 상기의 신호체계가 매우 중요함을 알 수 있다.
- [0008] 현재까지 개발된 탈모증의 치료 또는 예방용 제제로는 혈행 촉진, 모근 기능 강화, 두피보습 및 남성호르몬 억제 등을 위한 여성호르몬을 주성분으로 한 제제나 미녹시딜(minoxidil), 피나스트라이드(finasteride), 트리코사카라이드(trichosaccharide) 등을 함유한 제제 등이 있지만, 성기능장애, 기형아 출산 가능성, 전신 발모 등의 부작용으로 인하여 사용에 많은 제약이 있다.

발명의 내용

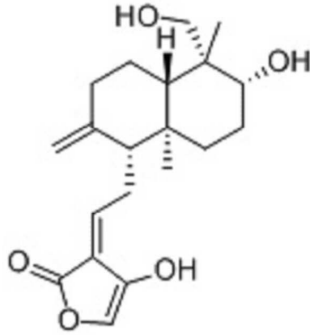
해결하려는 과제

- [0009] 따라서 본 발명은 위와 같은 문제점을 해결하고, 부작용이 적고 인체에 안전하면서도 모발성장 또는 발모 촉진에 효과적으로 작용할 수 있는 새로운 활성 성분, 즉 활성 성분의 새로운 유용한 용도를 제공하고자 한다.
- [0010] 다시 말해, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 상기 효능이 우수한 활성 성분을 유효성분으로 포함하는 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0011] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표현되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 모발 성장 또는 발모 촉진을 위한 조성물, 바람직하게는 화장료 조성물 또는 약학 조성물을 제공한다.

[0012] [화학식 1]



[0013]

[0014] 즉, 본 발명은 상기 화학식 1로 표현되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 모발 성장 또는 발모 촉진용이라는 새로운 용도를 제공한다.

[0015] 본 발명의 발명자들은 상기 화학식 1로 표현되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 Wnt/ β -catenin signal pathway 활성화에 영향을 미친다는 사실을 실험을 통하여 확인하였다.

[0016] 또한 본 발명의 조성물은 모낭성장 저해와 사멸에 중요한 역할을 하는 DKK-1 유전자 발현을 감소시킬 수 있다.

[0017] 또한 본 발명의 상기 화학식 1로 표현되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 포함된 조성물은 Wnt/ β -catenin 신호 전달 체계를 활성화시켜 멜라닌의 생성을 유도할 수 있으며, 흉터 개선에 효과를 나타낼 수 있다.

[0018] 본 발명의 화학식 1로 표현되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 포함된 조성물은 멜라닌 생성을 유도하여 백모, 백반증 등을 예방, 완화 또는 개선할 수 있다.

[0019] 본 명세서에서 사용된 용어 "백반증"은 멜라닌 세포의 파괴로 인하여 피부에 백색 반점이 나타나는 탈색소성 질환을 의미하며, "백모(白毛)"는 머리카락이 하얗게 변화하는 것으로, 노화의 진행으로 나타나는 것이 대부분이나 이러한 원인에 한정되지 않는다.

[0020] 본 발명의 화학식 1로 표현되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 포함된 조성물은 화상이나 여드름 등의 흉터 개선에 우수한 효과를 나타낼 수 있다.

[0021] 본 발명에 있어서, "탈모 방지"라 함은 모낭 또는 두피에서 모발이 탈락되는 현상이 저지되거나 약화되는 것을 의미한다.

[0022] 본 발명에 있어서, "모발 성장"이라 함은 생성된 모발(머리카락)의 굵기가 증가되거나 길이 자람 속도에 영향을 미치는 것을 의미한다.

[0023] 본 발명에서 "발모 촉진"이라 함은 모발이 생성되는 것을 의미하며, 모발 생성 속도 및 생성량을 증가시키는 넓은 의미로 사용된다. 또한 모근 기능이 강화되거나, 모발의 탈락 및 생성 주기가 짧아져 모낭에서 자라는 모발의 수가 증가되는 것을 의미한다.

[0024] 상기 화학식 1로 대표되는 화합물은 일명 디하이드로안드로그라폴라이드(Dehydroandrographolide)이라 한다. 본 발명은 상기 디하이드로안드로그라폴라이드의 획득 방법에 특별히 한정되지 않으며, 당 업계에 공지된 방법으로 화학적으로 합성하거나 시판되는 물질을 사용할 수 있다.

[0025] 본 발명의 "약학적으로 허용 가능한 염"은 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 및 메탄술폰산계 염을 포함하며 무기산은 예를 들면 염산, 브롬산, 황산, 인산, 질산, 탄산 및 붕산계 염을 포함한다. 바람직하게는 염산염 또는 아세트산염 형태일 수 있으며, 보다 바람직하게는 염산염 형태일 수 있다.

[0026] 상기 언급된 산 부가염은 a) 상기 화학식 1의 화합물 및 산을 직접 혼합하거나, b) 이들 중 한 가지를 용매 또는 함수 용매 중에 용해시키고 혼합시키거나, 또는 c) 화학식 1의 화합물을 용매 또는 수하 용매 중의 산에 위

치시키고 이들을 혼합하는 일반적인 염 제조방법으로 제조된다.

- [0027] 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물, 이의 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염뿐 아니라 이로부터 제조될 수 있는 가능한 용매화물, 수화물 및 입체이성질체도 모두 발명의 범주 내로 포함할 수 있다.
- [0028] 또한 본 발명의 디하이드로안드로그라폴라이드는 수화물, 에탄올화물 등의 형태를 포함하는 용매화된 형태뿐만 아니라 비-용매화된(unsolvated) 형태로 존재할 수도 있다. 본 발명의 디하이드로안드로그라폴라이드는 결정형 또는 무정형 형태로 존재할 수 있으며, 이러한 모든 물리적 형태는 본 발명의 범위에 포함된다.
- [0029] 또한, 본 발명의 상기 화학식 1의 화합물을 의약품으로 사용하는 경우, 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다. 예컨대, 공지의 모발 성장 촉진 또는 발모 촉진 성분을 포함할 수 있을 것이다. 이 경우 본 발명의 조성물의 모발 성장 촉진 또는 발모 촉진 효과는 더욱 증진될 수 있을 것이다. 상기 성분 추가 시에는 복합 사용에 따른 피부 안전성, 제형화의 용이성, 유효성분들의 안정성을 고려할 수 있다.
- [0030] 또한, 본 발명의 탈모 방지, 모발 성장 또는 발모 촉진용 약학 조성물 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다.
- [0031] 본 발명의 용어 "약학적으로 허용 가능한"은 생리학적으로 허용가능하며 전형적으로 인간에게 투여되었을 때 예상 밖의 반응을 일으키지 않는 조성물 및 분자들을 의미한다. 바람직하게, 여기서 사용되는 바와 같이, 상기 용어 "약학적으로 허용가능한"은 포유동물 및 특히 인간에의 사용에 관해 다른 일반적으로 알려진 약전에 의해 승인되는 것을 의미한다.
- [0032] 약학적으로 허용되는 담체는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등과 같은 여러 성분을 함유할 수 있다.
- [0033] 본 발명의 약학적 조성물은 비경구로 투여할 수 있으며, 일반 의약품 제제의 형태, 예를 들어, 임상 투여 시 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [0034] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 또는 동결건조제제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌 글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.
- [0035] 본 발명의 약학적 조성물은 유효량의 상기 화학식 1의 화합물을 포함할 때 바람직한 모발 성장 효과 또는 발모 촉진 효과를 제공할 수 있다. 본 발명에 있어서, 유효량이라 함은 모발 성장 촉진 효과, 발모 효과 또는 탈모 방지 효과를 나타낼 수 있는 화합물의 양을 의미한다. 본 발명의 조성물에 포함되는 상기 화학식 1의 화합물의 유효량은 조성물이 제품화되는 형태, 상기 화합물이 피부에 적용되는 방법 및 피부에 머무르는 시간 등에 따라 달라질 것이다. 예컨대, 상기 조성물이 의약품으로 제품화되는 경우에는 일상적으로 피부에 적용하게 되는 샴푸, 헤어 컨디셔너, 헤어팩 등의 제품으로 제품화되는 경우에 비해 높은 농도로 상기 화학식 1의 화합물을 포함할 수 있을 것이다. 따라서, 일일 투여량은 상기 화학식 1의 화합물의 양을 기준으로 0.1 내지 100 mg/kg이고, 바람직하게는 1 내지 50 mg/kg이고, 더욱 바람직하게는 5 내지 20 mg/kg이며, 하루 1 ~ 6 회 투여될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 약학적 조성물은 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0037] 본 발명은 또한 상기 화학식 1의 화합물을 유효성분으로 포함하는 모발 성장 또는 발모 촉진을 위한 피부 외용제의 제형으로 제공할 수 있다.
- [0038] 상기 화학식 1의 화합물을 피부외용제로 사용하는 경우, 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 향산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온붕쇄제 및 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소나 또는 피부용 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한 상기 성분들은 피부 과학

분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다.

- [0039] 상기 화학식 1의 화합물이 피부 외용제 제형으로 제공될 경우, 이에 제한되는 것은 아니나, 겔, 크림, 패치 또는 분무제와 같이 모발에 적용이 가능한 제형을 가질 수 있다.
- [0040] 본 발명은 또한 상기 화학식 1의 화합물을 유효성분으로 포함하는 모발 성장 촉진을 위한 화장품 조성물의 제형으로 제공할 수 있다.
- [0041] 상기 화학식 1의 화합물을 화장품으로 사용하는 경우, 상기 화학식 1의 화합물을 유효성분으로 함유하여 제조되는 화장품은 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조할 수 있다. 예컨대, 스프레이, 헤어젤, 헤어팩, 샴푸, 헤어컨디셔너, 헤어로션, 헤어에센스, 패취 또는 분무제 등과 같은 제형을 가질 수 있다.
- [0042] 또한, 상기 화장품은 상기 화학식 1의 화합물에 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 향산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온붕쇄제 및 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소나 또는 화장품에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 화장품학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다.
- [0043] 바람직하게 본 발명의 조성물은 액상, 크림상, 페이스트상, 또는 고체상 등 두피에 적용시킬 수 있는 모든 제형으로 제조할 수 있고, 통상의 첨가제를 가하여 모발 성장 촉진을 위한 샴푸, 헤어컨디셔너, 헤어로션, 액상의 발모제 타입 등의 조성물로 제조될 수 있으며, 여기에는 이들 제형의 에어졸 타입도 포함된다.
- [0044] 본 발명의 조성물은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 전체 조성물 총 중량 대비 0.001 내지 10 중량% 포함하며, 바람직하게는 0.005 내지 5 중량%, 더욱 바람직하게는 0.01 내지 3 중량% 포함할 수 있다.
- [0045] 상기 화학식 1의 화합물의 함량이 0.001 중량% 미만일 경우, 모발 성장기 유도 촉진 효과가 만족스럽지 않을 수 있으며, 10 중량%를 초과하는 경우 용량에 비해서 작용 효과가 충분하게 나타나지 않아 바람직하지 않을 수 있다.

발명의 효과

- [0046] 본 발명의 디하이드로안드로그라폴라이드 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 함유하는 조성물은 모발 성장 촉진 효과를 나타낸다.
- [0047] 또한 발모 촉진 효과를 나타낼 뿐만 아니라, 탈모 방지에도 우수한 효과를 나타낸다.
- [0048] 본 발명의 디하이드로안드로그라폴라이드 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 함유하는 조성물은 안전하면서도 우수한 화장품 원료, 약학 성분으로 이용될 수 있다.
- [0049] 그리고 본 발명의 조성물은 종래 탈모치료제의 부작용 등이 없고 인체에 안전하면서도 우수한 발모 또는 탈모 방지 효과를 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0050] 도 1은 디하이드로안드로그라폴라이드, 디하이드로테스토스테론 및 이들을 함께 처리할 때 DKK-1 발현의 정도를 나타낸 그래프이다. 도 1에 나타난 결과에 따르면 디하이드로안드로그라폴라이드의 처리는 디하이드로테스토스테론 처리에 의해 증가된 DKK-1 발현을 감소시키는 효과가 있는 것을 알 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0051] 이하, 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위하여 하기 실시예 등을 들어 설명한다. 그러나, 본 발명에 따른 실시예들은 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며 본 발명의 범위가 아래에서 상술하는 실시예들에 한정되는 것으로 해석되어서는 안 된다. 본 발명의 실시예들은 본 발명의 구체적 이해를 돕기 위해 예시적으로 제공되는 것이다.
- [0052] 본 발명의 디하이드로안드로그라폴라이드는 Xi'an Guanyu Bio-tech Co., Ltd(西安冠宇生物技术有限公司)에서 구입하였다.
- [0053] <실시예 1> 디하이드로안드로그라폴라이드의 세포독성 평가

[0054] 본 실시예에서 디하이드로안드로그라폴라이드의 세포독성 평가를 위해 Follicle Dermal Papilla(Promocell, 독일)의 세포분열 변화를 Cell Counting Kit-8(Dojindo Lab, 미국)을 사용하여 측정하였다.

[0055] 먼저, 균일한 수의 세포를 96 well plate에 깔아준 뒤 안정화 시킨 후 디하이드로안드로그라폴라이드를 10, 20 ug/ml이 되도록 처리한 후 48시간 동안 추가배양 하였다. 이후 CCK-8을 처리하여 2시간 뒤 450nm에서 흡광도를 측정하였다. 무처리 대비 디하이드로안드로그라폴라이드를 처리한 세포의 상대적인 세포 생존율을 아래와 같이 분석, 그 결과를 하기 표 1 에 나타내었다.

[0056] 상대적인 세포 생존율 = (화합물 처리군)/(무처리군) X 100

표 1

시료	무처리	BIO 1uM	디하이드로안드로그라폴 라이드 10ug/ml	디하이드로안드로그라폴 라이드 20ug/ml
생존율(%)	100	97	98	105

[0058] 상기 표 1 에서와 같이, 디하이드로안드로그라폴라이드 처리에 의해 세포의 수가 크게 변화하지 않는 것을 알 수 있다.

[0059] <실시예 2> 디하이드로안드로그라폴라이드의 Wnt/ β -catenin signal pathway 활성 효과 조사

[0060] 디하이드로안드로그라폴라이드가 Wnt/ β -catenin signal pathway 활성화에 미치는 영향을 조사하기 위해 TOPflash reporter(Millipore, 미국)를 이용하였다. 인간 모유두세포를 24 웰 플레이트에 2×10^5 /웰로 접종하고 24시간 동안 배양한 다음 디하이드로안드로그라폴라이드를 10, 20 ug/ml이 되도록 처리한 후 15시간 동안 추가 배양하여 듀얼 루시퍼레이스 어세이 키트(Promega, 미국)를 사용하여 파이어플라이 루시퍼레이스 (firefly luciferase)활성을 측정하였다.

[0061] 루시퍼레이스 활성을 정확하게 측정하기 위하여 각각의 시료에 대하여 3회 실시하였으며 대조군에 대한 상대적인 활성을 증가율(%)로 계산하고 하기 표 2에 나타내었다. 대조군은 무처리군이다. 양성대조군으로는 6-bromoindirubin-3'-oxime (BIO)를 사용했으며 Wnt 신호전달 체계에서 GSK-3를 억제하는 것으로 알려져 있는 물질이다.

표 2

시료	대조군	BIO 1uM	디하이드로안드로그라폴라 이드 10ug/ml	디하이드로안드로그라폴 라이드 20ug/ml
증가율(%)	100	162	134	160

[0063] 상기 표 2에 나타나는 바와 같이, 본 발명에 디하이드로안드로그라폴라이드는 농도 의존적으로 TOPflash reporter 활성을 증가시켜 Wnt/ β -catenin 신호전달에 대하여 선택적이며 우수한 활성능이 있음을 알 수 있었다. 해당 측정값은 firefly luciferase 수치를 renilla luciferase 수치로 보정해 주었다.

[0064] <실시예 3> DHT에 의해 유도되는 DKK-1 억제 효과 조사

[0065] Wnt/ β -catenin의 활성화는 모발성장을 촉진하는 반면, 남성호르몬 또는 디하이드로테스토스테론 (Dihydrotestosterone; WAKO, 일본)는 DKK-1 유전자의 발현촉진을 통하여 Wnt/ β -catenin의 길항제로 작용한다.

[0066] 따라서 디하이드로안드로그라폴라이드가 Wnt/ β -catenin의 길항제인 DKK-1유전자를 억제하여 모발성장을 촉진할 수 있는지 알아보고자 인간 모유두세포에 디하이드로안드로그라폴라이드 20ug/ml과 디하이드로테스토스테론 100nM을 24시간 동안 함께 처리한 후, 하기 표 3의 프라이머(바이오니아, 한국)를 이용하여 DKK-1의 발현을 역전사 증폭기법(RT-PCR)으로 확인하였다. 이때 사용한 프라이머를 표 3에 나타내었다.

표 3

[0067]

	서 열
정방향	TGATGAGTACTGCGCTAGTC
역방향	CTCCTATGCTTGGTACACAC

[0068]

실험결과, 디하이드로안드로그라폴라이드의 처리는 디하이드로테스토스테론 처리에 의해 증가된 DKK-1의 발현을 현저하게 감소시켰으며, 이를 통해 모발성장을 촉진할 수 있음을 알 수 있었다. 결과 분석은 Comparative CT($\Delta\Delta CT$) Experiment((Livak KJ, Schmittgen TD: Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method, Methods, 25, 402-408(2001))로 진행하였으며 internal control은 GAPDH를 사용하였고, 그 결과는 도 1에 나타내었다.

[0069]

이상과 같은 효과시험 결과를 근거로 하여, 본 발명에 따른 조성물의 여러 가지 제형 예를 구체적으로 설명한다. 단, 이들 제형 예는 본 발명 조성물의 예시일 뿐, 본 발명 조성물의 범위가 이들 제형만으로 한정되지 않는다는 것은 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0070]

제형 1 : 발모용 조성물 1 (헤어 토닉)

[0071]

아래 처방에 따라 통상의 방법으로 헤어 토닉을 제조하였다.

표 4

[0072]

배합성분	중량비(%)
에탄올	55
피마자유	5
글리세린	3
피로톤올아민	0.1
디하이드로안드로그라폴라이드	0.5
향료 및 색소	적량
정제수	잔액 (총 100)

[0073]

제형 예 2 : 발모용 조성물 2 (샴푸)

[0074]

아래 처방에 따라 통상의 방법으로 샴푸를 제조하였다.

표 5

[0075]

배합성분	중량비(%)
폴리 퀴터니움	0.5
라우릴황산나트륨(30%)	20
폴리옥시에틸렌 라우릴황산 나트륨	30
야자유지방산 디에탄올아미드	3
4급 암모늄 양이온 계면활성제	2
Carbopol-1342	0.3
파라옥시안식황산에스텔	0.2
디하이드로안드로그라폴라이드	0.5
향료 및 색소	적량
정제수	잔액 (총 100)

[0076]

제형 예 3 : 발모용 조성물 3 (헤어 로션)

[0077]

아래 처방에 따라 통상의 방법으로 헤어 로션을 제조하였다.

표 6

[0078]

배합성분	중량비(%)
세토스테아릴알코올	2
염화스테아릴트리에틸암모늄	2

히드록시에틸 셀룰로오즈	0.5
피록톤올아민	0.1
디하이드로안드로그라폴라이드	0.5
향료 및 색소	적량
정제수	잔액 (총 100)

<실시예 4> 본 발명의 발모용 조성물의 발모효과 확인 시험

본 발명의 발모용 조성물 1을 모발의 수가 정상에 비해 현저히 적거나, 탈모증상이 보이며 모발이 약한 남녀 총 20명을 대상으로 하여 1주에 5회씩 6개월 동안 모발 및 두피에 사용하였다. 사용 후, 평가는 모발의 굵기, 밀집 정도, 탄력성 및 전체적 평가 항목에 대하여 개선정도(매우 좋아짐;+5, 조금 좋아짐;+4, 변화없음;3, 조금 나빠짐;2, 매우 나빠짐;1)를 3개월, 6개월 경과 후 사용자 문진하여 평균값을 표 7 에 나타내었다.

표 7

	모발의 굵기	밀집 정도	탄력성	전체 평가
3개월 후 평균 점수	4.25	4.20	4.15	4.20
6개월 후 평균 점수	4.45	4.45	4.30	4.40

상기 표 7에 나타난 바에 따르면 본 발명의 발모용 조성물을 3개월 이상 사용한 결과, 모발의 굵기, 밀집도, 및 탄력성 면에서 시험 대상자들의 만족도가 우수한 것을 알 수 있다. 또한 6개월 동안 사용한 결과 이러한 만족도는 더욱 우수한 것으로 나타나 지속적인 사용으로 더욱 우수한 효과를 기대할 수 있을 것으로 생각되었다.

<실시예 5> 눈썹성장제 조성물의 성장효과 확인 시험

제형 4 : 눈썹성장 토닉

아래 처방에 따라 통상의 방법으로 눈썹성장 토닉을 제조하였다.

표 8

배합성분	중량비(%)
에탄올	40
초산토코페롤	0.1
살리실산	0.3
L-멘톨	0.3
디하이드로안드로그라폴라이드	0.5
트윈 20	적량
정제수	잔액 (총 100)

제형 예 5 : 눈썹성장 크림

아래 처방에 따라 통상의 방법으로 샴푸를 제조하였다.

표 9

배합성분	중량비(%)
파라핀	5
세토스테아릴알코올	5.5
페트로라툼	5.5
글리세린모노스테아레이트	3
폴리옥시에틸렌옥틸도데실에테르	3
프로필파라벤	0.3
글리세린	7
디하이드로안드로그라폴라이드	0.5
디프로필렌글리콜	20

폴리에틸렌글리콜	5
향료	적량
정제수	잔액 (총 100)

[0090] 본 발명의 발모용 조성물 4를 속눈썹의 수가 정상에 비해 현저히 적거나, 짧은 남녀 총 15명을 대상으로 하여 1주에 5회씩 3개월 동안 사용하였다. 사용 후, 평가는 속눈썹의 굵기, 밀집 정도, 길이, 탄력성 및 전체적 평가 항목에 대하여 개선정도(매우 좋아짐;+5, 조금 좋아짐;+4, 변화없음;3, 조금 나빠짐;2, 매우 나빠짐;1)를 3개월 경과 후 사용자 문진하여 평균값을 표 10에 나타내었다.

표 10

[0091]

	속눈썹길이	속눈썹의 굵기	속눈썹 밀집 정도	속눈썹 탄력성	전체 평가
3개월 후, 평균 점수	4.40	4.40	4.35	4.35	4.35

[0092] 상기 표 10에 나타난 결과에 따르면, 본 발명의 발모용 조성물을 사용한 실험참가자들은 모든 항목에 대해서 만족스러운 평가를 하였다. 특히, 속눈썹 길이 변화에 대한 평가는 가장 우수한 것으로 나타났다.

도면

도면1

