(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0069488
(43) 공개일자 2016년06월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/64 (2015.01) *A61K 8/98* (2006.01)
A61Q 7/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 35/64 (2013.01)
A61K 8/987 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0174096
(22) 출원일자 2015년12월08일
심사청구일자 2015년12월08일
(30) 우선권주장
1020140174616 2014년12월08일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
고려은단주식회사
경기도 성남시 중원구 사기막골로 100 (상대원동)
(72) 발명자
임영희
서울특별시 서대문구 통일로25길 30, 108동 208호 (홍제동, 한양아파트)
한은혜
경기도 수원시 장안구 송정로76번길 45, 1206호 (정자동, 기산아파트)
(74) 대리인
특허법인충현

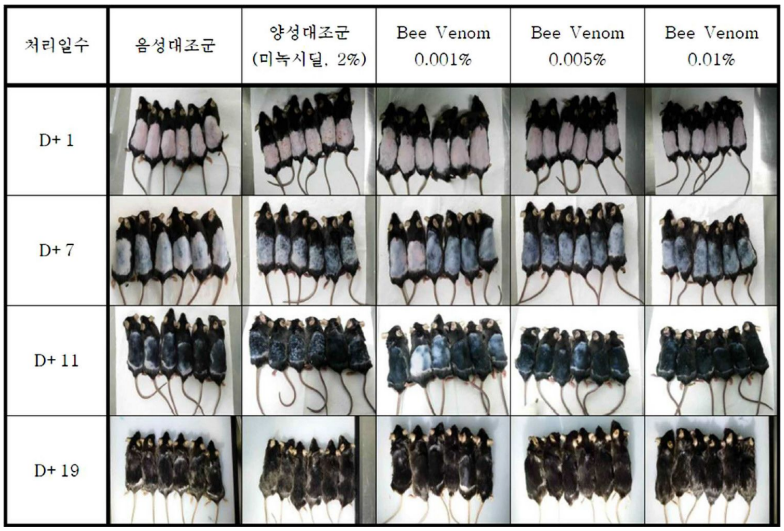
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **봉독을 유효성분으로 함유하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 봉독을 유효성분으로 함유하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물에 관한 것으로서, 본 발명에 따른 조성물은, 천연 물질인 봉독을 유효성분으로 함유하고, 우수한 모발기 생장 유도 효과, 퇴행기 탈모 방지 효과 및 피부 세포 증식 효과를 보유하는 바, 종래기술에 따른 발모촉진제 또는 탈모방지제에서 야기되던 다양한 문제점들을 효과적으로 해결할 수 있는, 우수한 발모촉진 및 탈모방지용 조성물로서 사용될 수 있다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61Q 7/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 114070-3
부처명 농림축산식품부
연구관리전문기관 농림수산식품기술기획평가원
연구사업명 농생명산업기술개발사업
연구과제명 봉독을 이용한 탈모방지 및 양모촉진 헤어케어 제품개발
기 여 율 1/1
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2015.09.25 ~ 2017.09.24

명 세 서

청구범위

청구항 1

봉독을 유효성분으로 함유하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 봉독은 생 봉독, 건조 봉독, 봉독 추출물, 정제 봉독 또는 그 혼합물인 것을 특징으로 하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 조성물 중 상기 봉독의 함량은 0.001 내지 0.01 중량%인 것을 특징으로 하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 조성물은 담체 성분을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물.

청구항 5

봉독을 에탄올 수용액, 페트롤륨에테르, 에틸아세테이트 및 부탄올 순으로 순차적으로 분획하여 봉독 부탄올 추출물을 얻는 단계를 포함하는 발모촉진 및 탈모 방지용 조성물의 제조방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 봉독 (bee venom, 이하 BV)을 유효성분으로서 포함하는 발모촉진 및 탈모예방, 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 모발 (毛髮)은 외부 환경으로부터 두개골을 보호한다는 기본적 기능 이외에도, 외모를 더욱 아름답게 한다는 미용적 기능을 갖는다. 특히, 최근 유전, 호르몬 과다분비와 같은 내생적 요인 이외에도 스트레스, 음주 또는 흡연 등과 같은 외부적 요인에 의해서 탈모 인구가 급격히 증가하고 있고, 그 대상은 중장년 남성에만 국한되던 것이 젊은 남성층과 여성층으로까지 번지고 있는 추세이다.

[0003] 모발 성장은 생장기 (anagen phase), 퇴행기 (catagen phase) 및 휴지기 (telogen phase)로 나누어 볼 수 있으며, 생장기에는 모낭의 기저부위인 모구에서 활발한 세포 분열이 일어남으로써 모발이 계속 성장하지만, 퇴행기에는 모구가 급속도로 위축되며 모낭의 생장활동이 정지되어 가고, 휴지기에는 모낭의 생장활동이 완전히 정지되게 된다. 이때, 휴지기 모낭의 기저부에서는 새로이 생장기 모발이 형성되며, 기존의 휴지기 모발은 새로 나온 생장기 모발에 의해서 밀려 탈리되거나 또는 빗질과 같은 기계적 작용에 의해서 탈리된다.

[0004] 따라서, 효과적인 탈모방지 및 양모 효과를 얻기 위해서는, 휴지기에서 생장기로의 전환을 촉진하는 생장기 유도 효과 및 생장기에서 퇴행기로의 전환을 지연시키는 퇴행기 억제 효과를 동시에 발휘할 수 있어야 한다. 그러나, 현재 미국 식품의약국 (FDA)에서 허가된 탈모치료제 성분으로는 피나스테리드 (finasteride) 및 미녹시딜 (minoxidil)이 유일하며, 국내에서도 의약품으로서 허가된 탈모치료제로는 미녹시딜 성분의 외용 및 경구용 탈모치료제 또는 피나스테리드 성분을 함유한 경구용 탈모치료제가 시판되고 있다. 예를 들어, 피나스테리드 함유 제품으로는 머크사가 출시한 프로페시아 (Propecia™), 미녹시딜 함유 제품으로는 화이자사가 출시한 로게인 (Rogaine™)이 있다. 그외에도, 이탈리아의 탈모전문 제약회사인 폴텐사가 개발한 트리코사카라이드

(Tricosaccaride®) 및 트리칼곡실 (Tricalgoxyl®) 성분을 함유한 탈모방지 제품으로서, 폴텐 (Foltene™)과 같은 제품들이 시판되고 있기도 하다.

[0005] 그러나, 미녹시딜의 경우, 원재료를 전량 해외로부터의 수입에 의존하고 있을 뿐만 아니라 피부 흡수에 장시간이 소요되며, 사용 중단시 탈모가 재발되고, 탈모가 완전히 진행된 이후에는 치료 효과가 거의 없다는 단점이 있고, 프로페시아는 성인 남성에게만 처방되어 정자수 감소 및 성기능 장애를 유발할 수 있다는 사실이 보고되고 있는 등, 기존 제품들의 심각한 문제점들이 부각되고 있다. 더욱이, 기존의 탈모치료제 대부분의 작용기전이 남성 호르몬과 깊은 연관성을 갖기 때문에, 여성에게는 효능이 나타나지 않거나, 기형아를 유발할 수도 있다는 중대한 문제점들을 내포하고 있다. 따라서, 최근에는 이러한 문제점들로 인해서, 발모촉진 및 탈모예방을 위한 천연성분에 그 관심이 집중되고 있다.

[0006] 한편, 봉독은 꿀벌의 독낭에 들어 있는 폴리펩티드, 효소, 분자량이 작은 화합물 등 약 40가지의 성분으로 구성된 물질로서, 천연 봉독에는 멜리틴 (melittin), 아파민 (apamin), MCD 펩타이드 (MCD peptide), 아돌라핀 (adolapin), 단백질효소 저해제 (protease inhibitor), 인지질 분해효소 (phospholipase A2), 히알루론산 분해효소 (hyaluronidase) 등 주요 유효성분들이 함유되어 있는 것으로 보고되었다 (Son DJ. et al., Pharmacology & Therapeutics 2007, 115, 246-270). 특히, 봉독의 가장 특징적인 주성분인 멜리틴은 40-50%의 함량으로 포함되어 있으며, 효소류로는 인지질 분해효소 및 히알루로니다아제 (hyaluronidase)가 각각 10~12% 및 1.5~2%의 함량으로 포함되어 있고, 이는 항염증 작용 및 항암 효과를 보이는 것으로 알려져 있다. 기타, 아민류로는 히스타민 (histamine), 도파민 (dopamine) 및 노르에피네프린 (norepinephrine) 등의 성분이 1% 이하의 함량으로 포함되어 있다.

[0007] 기존에 알려진 바에 따르면, 봉독은 알레르기를 유발하지만, 진통 및 항염증 효과를 갖기 때문에 퇴행성관절염, 급성 관절염 등에 전통 치료요법에서 사용되어 오고 있다. 최근에는, 류마티스 관절염 (Seo BK et al., 대한침구학회 2005, 22, 19-32), 파킨슨병의 개선 (Doo AR. et al., Brain Research 2012. 1429, 106-115.; Alvarez-Fische D., PLoS One. 2013, 8, e61700) 및 항치매와 같은 퇴행성 뇌질환의 치료에도 사용가능하다고 보고되었을 뿐만 아니라, 피부미백 (대한민국 공개특허 제10-2012-0003178호) 및 피부재생 (대한민국 공개특허 제10-2011-0139486호)에도 효과를 나타내는 것으로 알려진 바 있다. 그러나, 봉독이 발모촉진이나 탈모예방에 효과적이라는 점에 관해서는 종래에 전혀 알려진 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 따라서, 본 발명에서는 봉독을 유효성분으로 함유하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물 및 이의 제조방법을 제공함으로써, 종래기술에서 보고된 바 있는 발모촉진제 또는 탈모방지제의 다양한 문제점들을 해결하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 상기 목적을 달성하기 위해서,

[0010] 봉독을 유효성분으로 함유하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물을 제공한다.

[0011] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 봉독은 생 봉독, 건조 봉독, 봉독 추출물, 정제 봉독 또는 그 혼합물일 수 있다.

[0012] 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 조성물 중 상기 봉독의 함량은 0.001 내지 0.01 중량%일 수 있다.

[0013] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기 조성물은 담체 성분을 더 포함할 수 있다.

[0014] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기 담체 성분은 폴리에틸렌글리콜, 증류수 및 에틸알코올의 혼합물일 수 있다.

발명의 효과

[0015] 본 발명에 따르면, 부작용이 없이, 남녀 모두에게 우수한 발모촉진 및 탈모방지 효과를 나타내는 조성물을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 다양한 농도 (0.001, 0.005, 0.01%)의 봉독을 함유하는 본 발명에 따른 조성물 및 양성대조군으로서 미녹시딜 (2%)을 처리한 후, 피부조직에서의 양모 효과를 나타낸 그래프이다.

도 2는 다양한 농도 (0.001, 0.005, 0.01%)의 봉독을 함유하는 본 발명에 따른 조성물 및 양성대조군으로서 미녹시딜 (2%)을 처리한 후, 피부조직 내의 모근의 성장효과를 나타낸 그래프이다.

도 3은 다양한 농도 (0.005, 0.01%)의 봉독을 함유하는 본 발명에 따른 조성물 및 양성대조군으로서 미녹시딜 (2%)을 처리한 후, 모근으로부터 성장한 모발의 길이 증가 효과를 나타낸 그래프이다.

도 4는 퇴행기 유도제인 덱사메타손 (dexamethasone) 0.1%를 처리하여 퇴행기를 유도한 후, 다양한 농도 (0.001, 0.005, 0.01%)의 봉독을 함유하는 본 발명에 따른 조성물 및 양성대조군으로서 미녹시딜 (2%)을 처리하였을 때, 퇴행기 탈모 방지 효과를 나타낸 그래프이다.

도 5는 모유두 세포 (human hair follicle dermal papilla cell, DPC)에 다양한 농도 (1, 10, 100, 500 ng)의 봉독을 함유하는 본 발명에 따른 조성물 및 봉독의 주성분인 멜리틴 (200 ng)을 처리하였을 때, 세포증식 효과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 본 발명에서는 봉독 성분의 탈모방지 및 발모촉진 효과를 확인하고, 소정 과정을 거쳐서 이를 정제한 후, 담체와 혼합하여 조성물을 제조한 다음, 제조된 조성물의 탈모방지 및 발모촉진 효과를 실험적으로 확인하였다. 구체적으로, 탈모방지 효과면에서는 모발 퇴행기를 인위적으로 유도한 다음 본 발명에 따른 조성물을 처리하여 탈모방지 효과를 관찰하였고, 또한 발모촉진 효과면에서는 양모 및 모근 성장에 대한 조직 검사를 수행함으로써 발모촉진 효과를 관찰하였다.

[0018] 하기 실시예로부터도 알 수 있는 바와 같이, 본 발명에 따른 조성물을 처리하는 경우, 조성물 중의 봉독 성분 함량에 따라서 농도 의존적으로 탈모방지 및 발모촉진 효과가 관찰되었으며, 이러한 효과는 양성대조군으로 사용한 미녹시딜 (2%) 처리군에 비해서도 현저하게 우수한 정도였다.

[0019] 따라서, 본 발명에서는 봉독 성분의 이러한 우수한 탈모방지 및 발모촉진 효과를 감안하여, 봉독을 유효성분으로 함유하는 발모촉진 및 탈모방지용 조성물을 제공한다.

[0020] 본 발명에서 봉독이라 함은, 벌이 가지고 있는 독액으로서, 벌의 독침으로부터 분비되는 벌의 독낭(毒囊)속에 저장되어 있는 독선(毒腺)의 분비물로 외부적인 자극에 의해 분비되는 동물성 천연생리 활성물질을 의미한다. 상기 봉독은 생 (生) 봉독, 건조 봉독, 봉독 추출물 및 정제 봉독을 포함하고, 벌의 독침기관으로부터 분비되는 물질을 포함하고 있는 한 제한되지 않고 본 발명의 봉독에 해당한다. 본 발명에서 봉독은 상업적으로 판매되는 것을 구입하여 사용하거나, 자연에서 채취 또는 재배 벌로부터 채취된 것을 사용할 수 있으며, 비정제된 봉독은 황분(黃糞) 프로폴리스, 꿀, 화분, 그 외에 먼지 등 불순물이 포함되어 있을 수 있으므로 정제하여 사용할 수 있다.

[0021] 생 봉독은 건조 또는 정제과정을 거치지 않은 것으로서, 방향성을 지닌 투명한 액체로 맛이 쓰고 산성반응을 보이며 비중이 1.31, 산도 (pH)가 5.2 내지 5.5 범위이고, 봉독의 산성물질은 상온에서 휘발되고 30% 정도의 건조물이 남는데 건조물의 대부분은 단백질 또는 펩타이드가 약 75%를 차지한다. 또한 칼륨, 나트륨, 마그네슘, 인, 알라닌, 발린, 아르기닌, 트립토판, 메티오닌, 히스티딘 등 다양한 물질이 미량으로 함유되어 있다. 생 봉독으로부터 다양한 추출 방법을 이용하여 펩티드 등을 포함하는 유효성분을 분리, 추출하여 봉독 추출물을 얻을 수 있다. 공지된 추출 방법으로는, 물, 탄소수 14의 무수 또는 함수 저급 알코올 (메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올 등), 상기 저급 알코올과 물과의 혼합용매, 아세톤, 에틸 아세테이트, 부틸렌글리콜을 추출 용매로 이용하여 제조할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0022] 정제 봉독은 상술한 추출 용매에 의한 추출물 이외에 통상적인 정제 과정을 거쳐 얻거나, 여과막을 이용하여 이물질을 제거하고 봉독성분만을 분리하거나, 다양한 크로마토그래피에 의한 분리, 또는 통상의 다른 정제방법에 의해서 정제된 봉독을 포함할 수 있으며 정제 방법에 제한을 두는 것은 아니다.

[0023] 본 발명에 의하면, 바람직한 봉독은 봉독 추출물일 수 있으며, 특히, 봉독을 에탄올, 페트롤륨에테르(petroleum ether), 에틸아세테이트 및 부탄올 순으로 차례대로 분획하여 수득한 부탄올 추출물일 수 있다.

[0024] 상기 봉독이 에탄올, 페트롤륨에테르, 에틸아세테이트 및 부탄올 순으로 차례대로 분획하여 수득한 봉독 부탄올 추출물인 경우에는 특히 알레르기 유발이 다른 봉독 구체적으로, 각각 생봉독, 건조봉독, 정제봉독 및 봉독 저급알콜 추출물, 봉독 아세톤 추출물, 봉독 에틸아세트 추출물 및 에틸 아세테이트 부틸렌글리콜 추출물에 비하여 모발의 양 및 길이가 증가하였으며, 농도 의존적으로 모발 퇴행기 억제 효과 및 모발 생장기 유도 효과가 훨씬 우수하였다. 이에 본 발명에 따른 봉독 부탄올 추출물의 탈모방지 및 발모 효과를 확인하였다. 특히, 상기 부탄올 추출물은 종래의 생봉독, 건조봉독 또는 정제봉독에 비하여 2배 이상 낮은 알레르기 유발 효과도 보였다.

[0025] 본 발명에 따른 조성물 중 봉독의 함량은 0.001 내지 0.01 중량%일 수 있다. 본 발명에서는 알레르기 유발 효과를 비롯한 봉독의 독성을 고려하여 조성물 중 봉독의 함량을 최적화하였는 바, 조성물 중 봉독의 함량이 0.001 중량% 미만인 경우에는, 그 농도가 너무 낮아서 원하는 탈모방지 및 발모촉진 효과를 거둘 수 없다는 문제점이 있고, 0.01 중량%를 초과하는 경우에는, 독액 자체가 인체 및 세포에 대한 독성을 지니고 있는 관계로, 세포증식 감소 또는 염증 유발 등과 같은 다양한 부작용을 초래할 수도 있다.

[0026] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 유효성분으로서 봉독 이외에도, 표적 세포에 유효성분을 효과적으로 전달하기 위한 담체 (vehicle) 성분을 포함하며, 예를 들어 폴리에틸렌글리콜, 증류수 및 에틸알코올이 혼합된 혼합물을 담체로 사용할 수 있고, 이때 담체 중 각 성분들의 비율은 5:3:2의 부피비로 혼합될 수 있다.

[0027] 이하, 실시예를 통해서 본 발명을 더욱 상세하게 설명하기로 하되, 하기 실시예는 본 발명의 이해를 돕기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니다.

[0028] 봉독의 제조 및 정제

[0029] 미정제 봉독 50g (송림무역)을 정제수 2.5L와 함께 반응용기에 투입하고 30~35℃에서 2시간 동안 교반하였다. 교반 결과물 중의 크기가 큰 물질을 1차적으로 제거하기 위해 여과지 (ADVANTEC No. 2, 기공 크기 5㎛, 두께 261㎛)를 이용하여 여과한 다음, 정제수 100 ml로 여과지를 세척하였다. 여과된 용액을 0.45㎛ 멤브레인 여과장치 (Millipore)를 이용하여 2차 여과하였다. 여과 후, 정제수 100 ml로 여과지를 세척한 후, 여과액을 90~120 시간 동안 동결 건조하여 정제 봉독 41g을 얻었다.

[0030] 봉독 추출물의 제조

[0031] 미정제 봉독을 100g 을 70% 에탄올 수용액 500 ml을 추출용매로 하여 혼합하고, 12 시간동안 반응시켰다. 상기 혼합액의 침전물을 여과한 뒤 여액을 감압 농축하였다. 상기 농축액에 페트롤륨에테르 및 물을 가하여 반응시킨 후 층분리를 하였다. 페트롤륨에테르 층을 수득하였다. 상기 페트롤륨에테르 층에 에틸아세테이트를 가하여 반응시킨 뒤, 층분리하여 에틸아세테이트 층을 수득하고, 수득된 에틸아세테이트 층은 다시 부탄올을 첨가하여 반응시킨 뒤 층분리하여 부탄올 분획층을 얻었다. 각 단계의 분획물에 대하여 모발 퇴행기 억제 효과가 있는지 확인하였으며, 부탄올 분획물에서 특히 우수한 모발 퇴행기 억제 효과가 있음을 확인하였다.

[0032] 실험예 1. 봉독의 모발 생장기 유도 효과

[0033] 1-1. 실험방법

[0034] 등의 피부색이 백색 또는 분홍색인 6주령 C57BL/6 암컷 마우스를 실험 동물로 사용하였다. 실험군은 음성대조군 (유효성분이 없는 담체 포함)과 양성대조군을 포함하여 총 5개 군으로 분류하였고, 각 군에는 6 마리의 마우스를 사용하였다. 전기 면도기를 이용하여 마우스 등의 털을 깎고, 털을 깎은 부위에 하루 1회씩 19일간 시험물질을 도포하였다. 음성대조군은 시약을 녹이는 용매로 사용한 담체 (폴리에틸렌글리콜 (대정화금(주)):증류수:에틸알코올 = 5:3:2)만 처리하였고, 양성대조군은 제조한 담체에 미녹시딜 (minoxidil, Sigma)을 녹여서 2% (w/w)의 농도로 처리하였으며, 시료처리군은 담체에 봉독을 0.001% (w/w), 0.005% (w/w), 0.01% (w/w)의 농도로 처리하였다. 하기 표 1에는 각 실험군에 대한 처리방법을 요약하였다.

표 1

[0035]

실험군	처리방법
그룹 1 (음성대조군, NC)	제모 후 담체 연고제제를 피부에 도포 (담체 연고제제는 폴리에틸렌글리콜:증류수:에틸알코올=5:3:2로 구성됨)
그룹 2 (양성대조군, PC)	제모 후 2% (w/w) 미녹시딜 연고제제를 피부에 도포
그룹 3 (시료처리군)	제모 후 0.001% (w/w) 봉독을 피부에 도포
그룹 4 (시료처리군)	제모 후 0.005% (w/w) 봉독을 피부에 도포
그룹 5 (시료처리군)	제모 후 0.01% (w/w) 봉독을 피부에 도포

[0036] 1.2 피부 조직에서의 양모 촉진 효과의 확인

[0037] 각 시료를 매일 일정시간에 한번 피부에 도포하고, 19일 후 사진을 찍어 양모효과를 비교하였으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1에서 알 수 있는 바와 같이, 봉독 처리에 따라 농도 의존적으로 양모효과가 뚜렷이 나타났으며, 양성대조군으로 사용한 미녹시딜 (2%) 처리군에 비해서도 봉독 0.005%, 0.01% 처리군의 경우는 현저히 우수한 양모촉진 효과를 나타내었다.

[0038] 1.3 모근 성장 효과의 확인

[0039] 실험 마지막 날, 마우스를 희생시켜 피부조직을 얻은 다음, 조직을 파라핀 고정 후 조직 슬라이드를 제작하였으며, 이를 헤마톡실린 및 에오신 (Hematoxylin and eosin, H&E) 염색 후 현미경으로 관찰 (100×)하였다. 관찰 결과를 도 2에 나타내었다. 도 2에서 알 수 있는 바와 같이, 봉독 처리에 의해서 조직 내의 모근이 성장하는 것이 뚜렷이 관찰되었으며, 효과가 농도 의존적으로 나타남을 알 수 있었다. 도 2의 결과는, 도 1의 피부 외측에서 관찰된 양모 촉진 효과와 일관된 것으로서, 결과적으로 봉독 처리에 의해 양모촉진이 유발됨을 알 수 있었다.

[0040] 1.4 모발 길이 성장 효과의 확인

[0041] 시료를 처리한 다음, 19일이 경과한 시점에서 모발을 무작위적으로 채취하여 길이를 측정하였으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다. 도 3에서 알 수 있는 바와 같이, 봉독 처리에 의해 모발의 길이가 성장하는 것이 뚜렷이 관찰되었으며, 그 효과는 농도 의존적으로 나타남을 알 수 있었고, 양성대조군을 처리한 경우보다 길이가 증가함을 알 수 있었다. 결론적으로, 봉독 처리군에서 농도 의존적으로 발모 촉진 효과가 나타난다는 사실을 확인할 수 있었다.

[0042] 실험예 2. 봉독의 모발 퇴행기 억제 효과

[0043] 2.1 실험방법

[0044] 등의 피부색이 백색 또는 분홍색인 6주령 C57BL/6 암컷 마우스를 실험 동물로 사용하였다. 실험군은 음성대조군 (유효성분이 없는 담체 포함)과 양성대조군을 포함하여 총 6개 군으로 분류하였고, 각 군에는 6 마리의 마우스를 사용하였다. 제모제를 이용하여 마우스 등의 털을 제거하고, 제모 7일 후부터 제모한 부위에 하루 1회씩 7일간 시험물질을 도포하였다. 제모 9일 후부터는, 프로필렌글리콜을 용매로 사용한 0.1% 덱사메타손 (퇴행기 유도 약물, Sigma) 1ml를 제모한 부위에 하루 1회씩 5일간 도포하였다. 16일 후에 제모 부위 중 생장기 모발이 유지되고 있는 부위를 관찰하였다. 음성대조군은 시약을 녹이는 용매로 사용한 담체 (폴리에틸렌글리콜:증류수:에틸알코올 = 5:3:2)만 처리하였고, 양성대조군은 제조한 담체에 미녹시딜 (minoxidil, Sigma)을 녹여서 2% (w/w)의 농도로 처리하였으며, 시료처리군은 담체에 봉독을 0.001% (w/w), 0.005% (w/w), 0.01% (w/w)의 농도로 처리하였다. 하기 표 2에는 각 실험군에 대한 처리방법을 요약하였다.

표 2

[0045]

실험군	처리방법
그룹 1 (음성대조군, NC)	제모 7일 후부터 담체 연고제제를 피부에 도포 (담체 연고제제는 폴리에틸렌글리콜:증류수:에틸알코올=5:3:2로 구성됨)
그룹 2 (덱사메타손 처리)	제모 7일 후부터 담체 연고제제를 피부에 도포, 제모 9일 후부터는 0.1% (w/w) 덱사메타손 (Dexamethason)과 담체 연고제제를 도포

그룹 3 (양성대조군, PC)	제모 7일 후부터 2% (w/w) 미녹시딜 연고제제를 피부에 도포
그룹 4 (시료처리군)	제모 7일 후부터 0.001% (w/w) 봉독을 피부에 도포. 9일 후부터는 0.1% (w/w) 덱사메타손과 0.001% (w/w) 봉독을 피부에 도포.
그룹 5 (시료처리군)	제모 7일 후부터 0.005% (w/w) 봉독을 피부에 도포. 9일 후부터는 0.1% (w/w) 덱사메타손과 0.005% (w/w) 봉독을 피부에 도포.
그룹 6 (시료처리군)	제모 7일 후부터 0.01% (w/w) 봉독을 피부에 도포. 9일 후부터는 0.1% (w/w) 덱사메타손과 0.01% (w/w) 봉독을 피부에 도포.

[0046] 2.2 퇴행기 탈모 방지 효과의 확인

[0047] 도 4로부터 알 수 있는 바와 같이, 봉독 처리에 의해서 농도 의존적으로 퇴행기 탈모 방지효과가 관찰되었다. 퇴행기 유도 물질인 덱사메타손만 처리한 그룹은 모발이 거의 자라지 않은 반면, 봉독처리군은 덱사메타손 처리에도 불구하고 모발 성장이 크게 증가한 것이 관찰되었다. 봉독처리군의 경우, 양성대조군인 미녹시딜 처리군보다도 월등히 뛰어난 모발 성장 효과를 보임을 알 수 있었다.

[0048] 실험예 3. 봉독의 피부세포 증식 효과

[0049] 3.1 실험방법

[0050] 봉독에 의한 피부유래 세포의 증식 확인을 위해서, 모유두 세포 (dermal papilla cell, DPC)를 이용하였다. 세포 배양에는 10% 우태아혈청 (FBS), 1% 페니실린/스트렙토마이신, 1% L-글루타민이 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Gibco BRL)을 사용하였으며, 37℃, 5% CO_2가 공급되는 배양기에서 배양하였다.

배양된 세포 (1.5×10^4 cells/well)에 시료물질을 처리한 후, 24시간 동안 배양한 다음, 배지의 10%를 제거하고 제거된 양만큼의 MTT (0.5% 3-(4,5-디메틸 티아졸-2-일)-2,5 디페닐-2H-테트라졸륨 브로마이드, Sigma) 용액을 첨가하고 4시간 동안 배양하였다. 배양액을 제거한 후 MTT 가용화 용액 (Sigma) 200 ㎕를 첨가하고 10분간 흔들어 준 다음, 마이크로플레이트 리더 (microplate reader)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정함으로써 세포 증식 효과를 평가하였다.

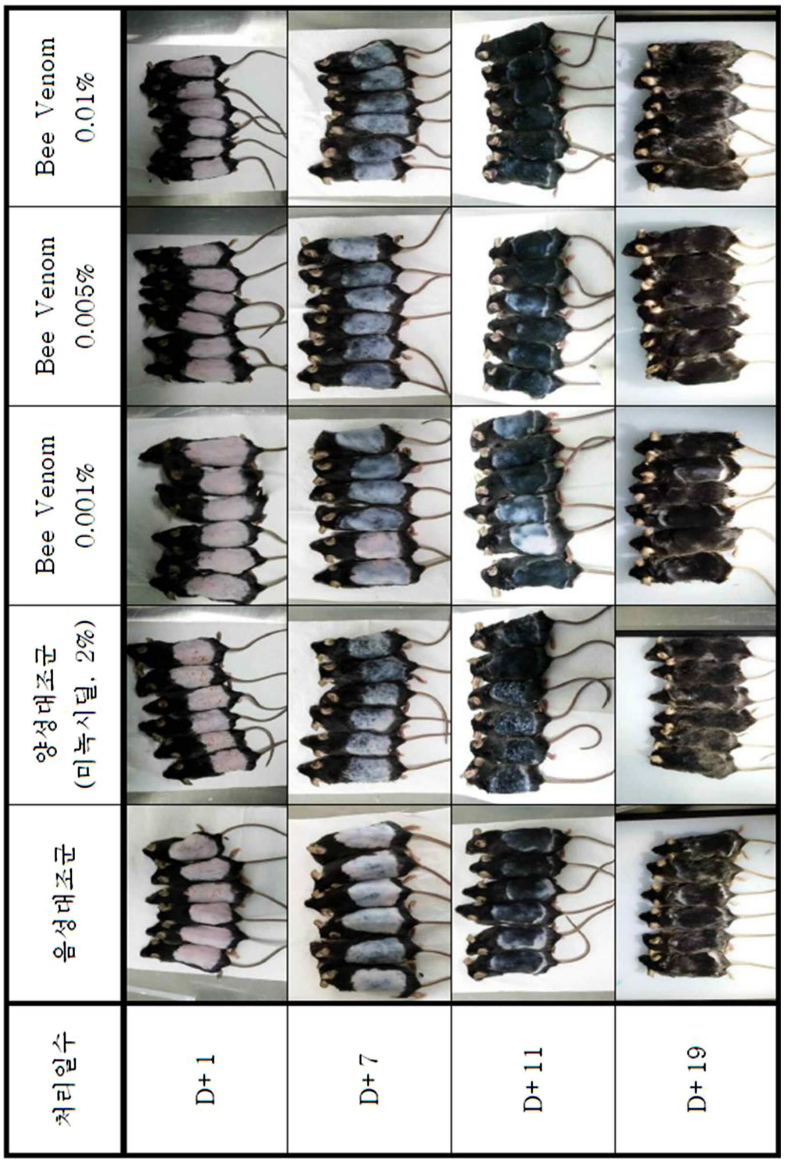
[0051] 3.2 피부 세포 증식 효과의 확인

[0052] 도 5로부터 알 수 있는 바와 같이, 봉독 처리군의 경우 음성대조군에 비해서 10, 100, 500 ng 처리시 각각 12%, 19%, 21%의 세포증식 효과를 보이며, 따라서 세포증식 효과 또한 농도 의존적으로 증가함을 알 수 있었다. 한편, 봉독의 주성분인 멜리틴 200 ng 처리군의 경우에도 15%의 세포 증식 효과를 보였다.

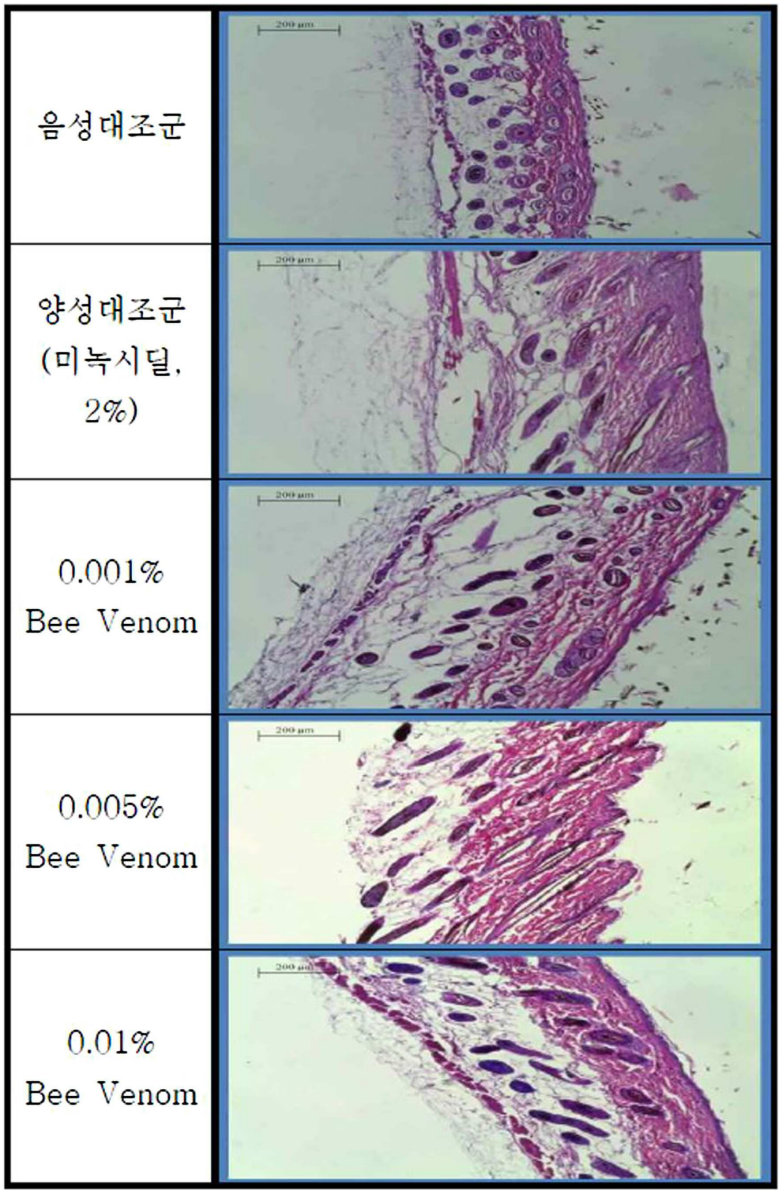
[0053] 종합하면, 본 발명에 따른 조성물은, 천연 물질인 봉독을 유효성분으로 함유하고, 우수한 모발기 생장 유도 효과, 퇴행기 탈모 방지 효과 및 피부 세포 증식 효과를 보유하는 바, 종래기술에 따른 발모촉진제 또는 탈모방지제에서 야기되던 다양한 문제점들을 효과적으로 해결할 수 있는, 우수한 발모촉진 및 탈모방지용 조성물로서 사용될 수 있다.

도면

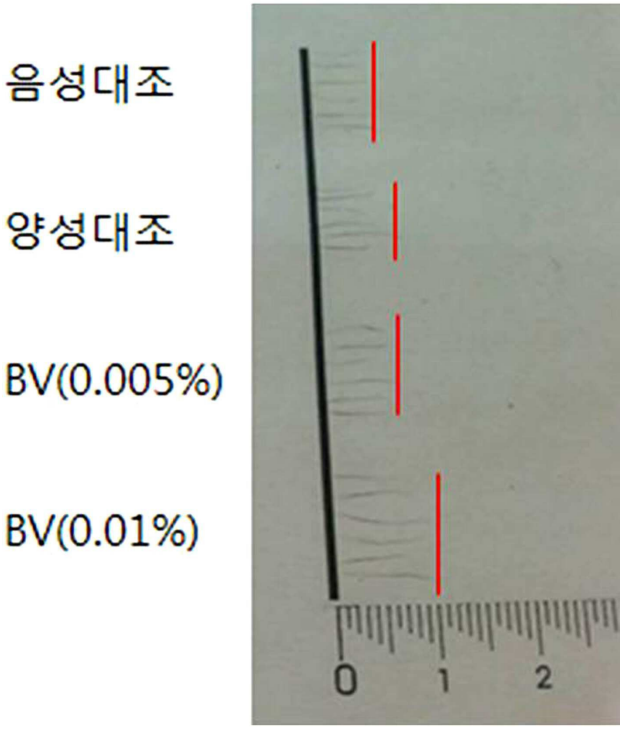
도면1


처리일수
음성대조군
양성대조군 (미녹시딜, 2%)
Bee Venom 0.001%
Bee Venom 0.005%
Bee Venom 0.01%
D+1
D+7
D+11
D+19

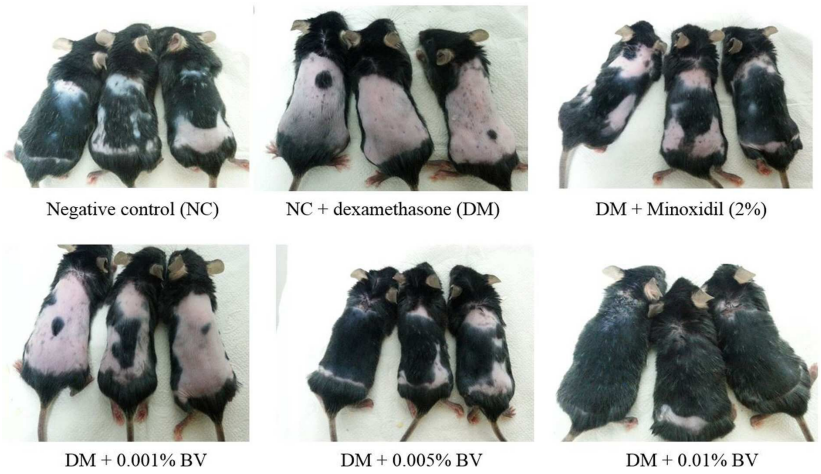
도면2


음성대조군
양성대조군 (미녹시딜, 2%)
0.001% Bee Venom
0.005% Bee Venom
0.01% Bee Venom

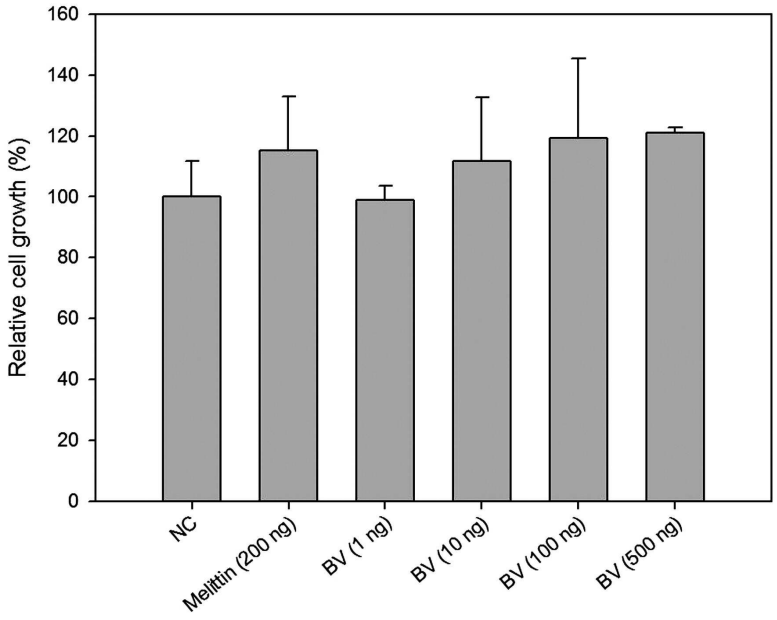
도면3


음성대조
양성대조
BV(0.005%)
BV(0.01%)
0
1
2

도면4


Negative control (NC)
NC + dexamethasone (DM)
DM + Minoxidil (2%)
DM + 0.001% BV
DM + 0.005% BV
DM + 0.01% BV

도면5


160
140
120
100
80
60
40
20
0
Relative cell growth (%)
NC
Melittin (200 ng)
BV (1 ng)
BV (10 ng)
BV (100 ng)
BV (500 ng)