



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0117198
(43) 공개일자 2010년11월03일

(51) Int. Cl.

A61K 31/55 (2006.01) A61P 17/14 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01) A23L 2/52 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0035814

(22) 출원일자 2009년04월24일

심사청구일자 2009년04월24일

(71) 출원인

제주대학교 산학협력단

제주특별자치도 제주시 아라1동 1번지 제주대학교

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 궁동 220번지 충남대학교

(72) 발명자

김영호

대전광역시 유성구 어은동 99 한빛아파트 107-301

강희경

제주특별자치도 제주시 일도2동 대유대림아파트
301동 402호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

신동인

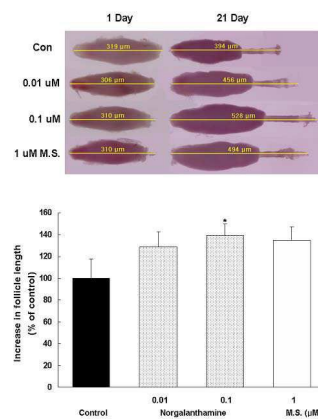
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 노르갈란타민 화합물을 유효성분으로 함유하는 탈모 질환의 예방 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 문주란으로부터 분리되는 노르갈란타민(Norgalanthamine) 화합물을 유효성분으로 함유하는 탈모 질환의 예방 및 치료를 위한 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 본 발명의 노르갈란타민 화합물이 모발의 성장에 중요한 역할을 하는 모유두세포(Dermal papilla cell)의 성장 증식을 촉진하여 모낭의 성장기를 유도하는 효과를 나타내므로, 탈모 질환의 예방 및 치료에 유용한 약학조성물 및 건강기능식품에 이용될 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김상철

제주특별자치도 제주시 구좌읍 김녕리 1525번지

강정일

제주특별자치도 제주시 이호2동 930번지 창우연립
3동 305호

유은숙

제주 제주시 노형동 731-1 현대아파트 101동 606호

김기호

충청남도 천안시 서북구 쌍용2동 쌍용동일하이빌아
파트 108동 1502호

김영희

충청남도 천안시 동남구 신방동 두레현대아파트
106동 803호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 08-C1-16-008

부처명 산업자원부 중소기업청

연구관리전문기관

연구사업명 산학 공동기술개발지원사업

연구과제명 문주란 소재의 양모제 개발

기여율

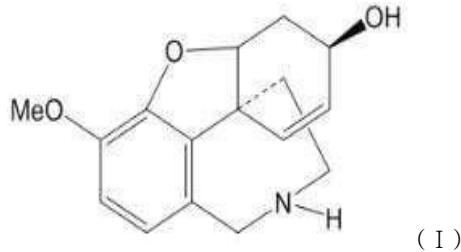
주관기관 제주대학교 산학협력단

연구기간 2008년 07월 01일 ~ 2009년 06월 30일

특허청구의 범위

청구항 1

하기 구조식 (I)의 노르갈란타민 화합물을 유효성분으로 함유하는 탈모 질환의 예방 및 치료용 약학조성물:



청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 탈모 질환은 휴지기 탈모증, 원형 탈모증, 성장기 모발 탈모증, 외상성 탈모증, 반흔성 탈모증 또는 비반흔성 탈모증인 약학조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 조성물 총 중량에 대하여 상기 화합물을 0.1 내지 50 중량%로 포함함을 특징으로 하는 약학조성물.

청구항 4

제 1항에 기재된 구조식 (I)의 노르갈란타민 화합물을 유효성분으로 함유하는 탈모 질환의 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 5

제 4항에 있어서, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 건강기능식품.

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 노르갈란타민 화합물을 유효성분으로 함유하는 탈모 질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] [문헌 1] Elliott K, *et al.*, Differences in hair follicle dermal papilla volume are due to extracellular matrix volume and cell number: implications for the control of hair follicle size and androgen responses., *J Invest Dermatol*, 113, pp.873-877, 1999

[0003] [문헌 2] Kaufman KD., Androgens and alopecia., *Mol Cell Endocrinol*, 198, pp.89-95, 2002

- [0004] [문헌 3] Botchkarev VA., Molecular mechanisms of chemotherapy-induced hair loss., *J Invest Dermatol Symp Proc*, 8, pp.72-75, 2003
- [0005] [문헌 4] Botchkarev VA., Stress and the hair follicle: Exploring the connections., *Am J Pathol*, 162, pp.709-712, 2003
- [0006] [문헌 5] Han JH, *et al.*, Effect of minoxidil on proliferation and apoptosis in dermal papilla cells of human hair follicle., *J Dermatol Sci*, 34, pp.91-98, 2004
- [0007] [문헌 6] Kaufman KD, *et al.*, Finasteride, a Type 2 5alpha-reductase inhibitor, in the treatment of men with androgenetic alopecia., *Expert Opin Invest Drugs*, 8, pp.403-415, 1999
- [0008] [문헌 7] Botchkarev VA, *et al.*, Molecular control of epithelial- mesenchymal interactions during hair follicle cycling., *J Invest Dermatol Symp Proc*, 8, pp.46-55, 2003
- [0009] [문헌 8] Ozeki M, *et al.*, In vivo promoted growth of mice hair follicles by the controlled release of growth factors., *Biomaterials*, 24, pp.2387-2394, 2003
- [0010] [문헌 9] Jang JH, Stimulation of human hair growth by the recombinant human KGF-2. *Biotechnol. Lett*, 27, pp.749-752, 2005
- [0011] [문헌 10] Kamiya T, *et al.*, Hair follicle elongation in organ culture of skin from newborn and adult mice., *Dermatol Sci*, 17, pp.54-60, 1998
- [0012] [문헌 11] Hibino T, *et al.*, Role of TGF-β2 in the human hair cycle., *J. Dermatol. Sci*, 35, pp.9-18, 2004
- [0013] [문헌 12] Moore KA, *et al.*, Stem cells and their niches. *Science*, 311, pp.1880-1885, 2006
- [0014] [문헌 13] Jahoda CA, *et al.*, Induction of hair growth by implantation of cultured dermal papilla cells., *Nature*, 311, pp.560-562, 1984
- [0015] [문헌 14] Min BS, *et al.*, Cytotoxic alkaloids and a flavan from the bulbs of *Crinum asiaticum* var. *japonicum*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 49(9), pp.1217-1219, 2001
- [0016] [문헌 15] Gabrielsen B, *et al.*, Antiviral(RNA) activity of selected Amaryllidaceae isoquinoline constituents and synthesis of related substances. *J Nat Prod*. 55(11), pp.1569-1581, 1992
- [0017] [문헌 16] Likhitwitayawuid K, *et al.*, Cytotoxic and antimalarial alkaloids from the bulbs of *Crinum amabile*. *J Nat Prod*. 56(8), pp.1331-1338, 1993
- [0018] [문헌 17] Abdel-Halim OB, *et al.*, New crinine-type alkaloids with inhibitory effect on induction of inducible nitric oxide synthase from *Crinum yemense*. *J Nat Prod*. 67(7), pp.1119-1124, 2004
- [0019] [문헌 18] Samud AM, *et al.*, Anti-inflammatory activity of *Crinum asiaticum* plant and its effect on bradykinin-induced contractions on isolated uterus. *Immunopharmacology*. 43(2-3), pp.311-316, 1999
- [0020] [문헌 19] 대한민국 특허출원 10-2008-27742, 2008.03.26 출원
- [0021] [문헌 20] Philpott MP, *et al.*, Cyclical changes in rat vibrissa follicles maintained *in vitro*. *J Invest Dermatol*. 115, pp.1152-1155, 2000
- [0022] [문헌 21] Filsell W, *et al.*, Transfection of rat dermal papilla cells with a gene encoding a temperature-sensitive polyomavirus large T antigen generates cell lines a differentiated phenotype., *J. Cell Sci*, 107, pp.1761-1772, 1994

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- [0023] 최근 몇 십년동안 탈모 치료를 위한 많은 연구가 진행되고 있지만, 아직도 탈모의 원인이 무엇인지는 정확히 알

려져 있지는 않다. 지금까지 밝혀진 탈모요인에 대한 내용을 살펴보면, 모발 주기 조절과 관련된 모유두(dermal papilla)의 증식 억제 또는 기능 저하(Elliott K, *et al.*, Differences in hair follicle dermal papilla volume are due to extracellular matrix volume and cell number: implications for the control of hair follicle size and androgen responses., *J Invest Dermatol*, **113**, pp.873-877, 1999), 남성호르몬 작용에 의한 모발주기의 비정상화, 두피로의 혈류량 저하로 인한 모발주기의 비정상적 변화(Kaufman KD., Androgens and alopecia., *Mol Cell Endocrinol*, **198**, pp.89-95, 2002), 항암제(Botchkarev VA., Molecular mechanisms of chemotherapy-induced hair loss., *J Invest Dermatol Symp Proc*, **8**, pp.72-75, 2003), 정신적 스트레스, 물리적 자극 및 환경오염 등(Botchkarev VA., Stress and the hair follicle: Exploring the connections., *Am J Pathol*, **162**, pp.709-712, 2003)이 거론되고 있다.

[0024] 현재 모발성장을 촉진하는 약물로 미국식품의약국(Food and Drug Administration, FDA)의 승인을 받은 것으로서 미녹시딜(minoxidil)과 피나스테라이드(finasteride)가 잘 알려져 있다. 미녹시딜은 처음에 고혈압 치료를 위한 혈관확장제로 개발되었으나, 부작용으로 다모증이 보고되면서 발모제로 개발되었다. 미녹시딜의 발모효과에 대한 작용기전은 현재까지 명확히 밝혀지지 않았지만, 혈관확장을 통한 영양공급 증가, 포타슘 채널 오픈링(potassium channel opening)효과 및 모유두세포(dermal papilla cells)의 세포사멸(apoptosis) 억제 효능 등이 모발성장을 유도하는 것으로 생각되고 있다(Han JH, *et al.*, Effect of minoxidil on proliferation and apoptosis in dermal papilla cells of human hair follicle., *J Dermatol Sci*, **34**, pp.91-98, 2004). 또한 머크(Merck)에서 개발한 피나스테라이드는 남성호르몬 대사에 작용하는 효소인 5 α -환원효소(5 α -reductase)의 활성을 억제시키는 물질로서 전립선 비대증 치료제로 개발되었으나, 모발의 성장을 촉진시킨다는 사실이 알려지면서 발모제로 개발되었다(Kaufman KD, *et al.*, Finasteride, a Type 2 5 α -reductase inhibitor, in the treatment of men with androgenetic alopecia., *Expert Opin Investig Drugs*, **8**, pp.403-415, 1999). 최근 다양한 연구기관에서 육모 및 탈모 기전에 관여하는 많은 조절 인자들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 특히 성장기, 퇴행기 및 휴지기의 모발주기에 관련된 여러 인자들과 그들의 수용체에 의한 신호전달에 의해 육모효과가 조절됨이 계속적으로 보고되고 있다. 예를 들어 EGF 및 EGFR(Botchkarev VA, *et al.*, Molecular control of epithelial-mesenchymal interactions during hair follicle cycling., *J Invest Dermatol Symp Proc*, **8**, pp.46-55, 2003), VEGF 및 VEGFR(Ozeki M, *et al.*, In vivo promoted growth of mice hair follicles by the controlled release of growth factors., *Biomaterials*, **24**, pp.2387-2394, 2003), HGF/SF 및 c-MET(Botchkarev VA, *et al.*, Molecular control of epithelial-mesenchymal interactions during hair follicle cycling. *J Invest Dermatol Symp Proc*, **8**, pp.46-55, 2003), FGF family 및 FGFR(Jang JH, Stimulation of human hair growth by the recombinant human KGF-2. *Biotechnol. Lett*, **27**, pp.749-752, 2005), IGF 및 IGF-IR(Kamiya T, *et al.*, Hair follicle elongation in organ culture of skin from newborn and adult mice., *Dermatol Sci*, **17**, pp.54-60, 1998), TGF- β 및 TGF- β R(Hibino T, *et al.*, Role of TGF- β 2 in the human hair cycle., *J. Dermatol. Sci*, **35**, pp.9-18, 2004) 등의 성장인자들이 모유두(dermal papilla)의 활성을 조절하여 모발주기에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다. 또한 돌출 부위(bulge region)에 있는 모낭 줄기세포의 증식 또는 분화에 Wnt 경로(pathway) 및 Bmp 신호(signaling)가 결정적으로 작용함이 밝혀지고 있다(Moore KA, *et al.*, Stem cells and their niches. *Science*, **311**, pp.1880-1885, 2006).

[0025] 모발의 성장은 여러 유전자와 성장인자 및 그 수용체, 전신적 호르몬의 작용 등으로 인한 복잡한 기전에 의해 일어난다. 특히 상피세포로 이루어진 모낭의 모기질 세포와 간엽세포로 구성된 모유두 세포가 모발의 형성 및 성장에 중추적인 요소로 작용한다. Jahoda(Jahoda CA, *et al.*, Induction of hair growth by implantation of cultured dermal papilla cells., *Nature*, **311**, pp.560-562, 1984) 등에 의하면 쥐의 콧수염 모낭(rat vibrissa follicle)에서 모유두세포를 제거하였을 때, 모발의 성장이 일시적으로 중지하였다가 진피 근초로부터 세포가 이동하여 다시 모유두세포를 형성하고 모발의 성장이 다시 계속되었으며, 모낭의 아랫부분 1/3 이하를 제거하면 진피 근초로부터 모유두세포가 형성되고 외피 근초로부터 모기질세포가 형성되어 모발의 성장이 계속되나 모낭의 아랫부분 1/3 이상을 제거하면 모발의 성장의 중지되었다. 그러나 모낭의 아랫부분 1/3 이상을 제거한 후, 분리된 모유두세포를 이식하면 모발의 성장이 계속되는 사실로 미루어 모유두세포가 모발의 성장에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 있다.

[0026] 수선화과의 문주란(*Crinum asiaticum* var. *japonicum*)은 한국 및 일본 지역에서만 넓게 분포하여 자란다. 여러 종류의 페난트리딘 알칼로이드(phenanthridine alkaloids), 트리테르펜 알코올(triterpene alcohols) 및 플라보노이드(flavonoids)(Min BS, *et al.*, Cytotoxic alkaloids and a flavan from the bulbs of *Crinum asiaticum* var. *japonicum*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. **49**(9), pp.1217-1219, 2001)를 함유하고 있으며, 알칼로이드(alkaloids)들은 항바이러스(Gabrielsen B, *et al.*, Antiviral(RNA) activity of selected

Amaryllidaceae isoquinoline constituents and synthesis of related substances. *J Nat Prod.* 55(11), pp.1569-1581, 1992), 향말라리아(Likhitwitayawuid K, *et al.*, Cytotoxic and antimalarial alkaloids from the bulbs of *Crinum amabile*. *J Nat Prod.* 56(8), pp.1331-1338, 1993), 세포독성(cytotoxic)(Abdel-Halim OB, *et al.*, New crinine-type alkaloids with inhibitory effect on induction of inducible nitric oxide synthase from *Crinum yemense*. *J Nat Prod.* 67(7), pp.1119-1124, 2004), 항염작용(Samud AM, *et al.*, Anti-inflammatory activity of *Crinum asiaticum* plant and its effect on bradykinin-induced contractions on isolated uterus. *Immunopharmacology.* 43(2-3), pp.311-316, 1999) 등의 다양한 약리효과를 보이는 것으로 알려져 있다. 또한, 문주란의 육모효능에 대한 연구도 이미 진행되어, ‘탈모방지 및 모발성장 촉진효과를 갖는 피부외용 조성물’ (대한민국 특허출원 10-2008-27742, 2008.03.26 출원)의 명칭으로 문주란의 육모 효능에 대한 특허가 출원되어 있다.

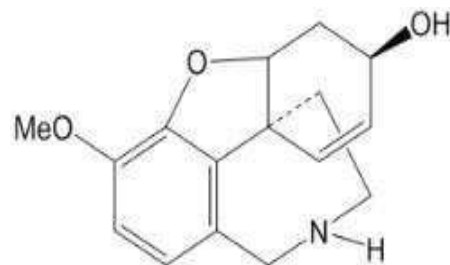
[0027] 이에 본 발명자들은 육모 효능을 나타내는 문주란의 성분을 탐색하여, 문주란의 주성분의 하나인 노르갈란타민 화합물에 의한 탈모 질환의 예방 및 치료 효과에 대해 지속적으로 연구한 결과, 랫트의 콧수염 모낭(vibrissa follicles) 성장 효과 및 모발의 성장에 중요한 역할을 하는 모유두세포(Dermal papilla cell)의 증식 효과를 확인하여 본 발명을 완성하게 되었다.

과제 해결수단

[0028] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 구조식 (I)의 노르갈란타민 화합물을 유효성분으로 함유하는 탈모 질환의 예방 및 치료용 약학조성물을 제공한다.

[0029] 또한, 본 발명은 하기 구조식 (I)의 노르갈란타민 화합물을 유효성분으로 함유하는 탈모 질환의 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

화학식 1



[0030] (I)

[0031] 상기 노르갈란타민 화합물은 문주란(*Crinum asiaticum*) 추출물로부터 분리 가능하다.

[0032] 본원에서 정의되는 탈모 질환은 휴지기 탈모증, 원형 탈모증, 성장기 모발 탈모증, 외상성 탈모증, 반흔성 탈모증 또는 비반흔성 탈모증으로부터 선택된 하나 이상의 질환, 바람직하게는 휴지기 탈모증을 포함한다.

[0033] 본 발명의 노르갈란타민 화합물을 함유하는 약학 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 상기 화합물을 0.1 내지 50 중량%로 포함한다.

[0034] 그러나 상기와 같은 조성은 반드시 이에 한정되는 것은 아니고, 환자의 상태 및 질환의 종류 및 진행 정도에 따라 변할 수 있다.

[0035] 본 발명의 화합물 자체는 독성 및 부작용이 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.

[0036] 본 발명의 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.

- [0037] 본 발명의 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 화합물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 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 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제에는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0038] 본 발명의 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 화합물은 1일 0.5 g/kg 내지 5 g/kg으로, 바람직하게는 1 g/kg 내지 3 g/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다. 따라서 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0039] 본 발명의 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0040] 또한, 본 발명은 노르갈란타민 화합물을 유효성분으로 함유하는 탈모 질환의 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [0041] 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물은 탈모 질환의 예방 및 개선을 위한 약제, 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있다. 본 발명의 화합물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류 등이 있고, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용할 수 있다.
- [0042] 본 발명의 화합물은 탈모 질환의 예방 및 개선을 목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 화합물의 양은 일반적으로 본 발명의 건강식품 조성물은 전체 식품 중량의 1 내지 5 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 mL를 기준으로 0.02 내지 10 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.
- [0043] 본 발명의 건강 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 화합물을 함유하는 것 외에 액체성분에는 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등의 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등의 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 약 5 내지 12g이다.
- [0044] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 주스 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

효 과

[0045] 본 발명의 노르갈란타민 화합물이 모발의 성장에 중요한 역할을 하는 모유두세포(Dermal papilla cell)의 성장 증식 효과를 나타내므로, 탈모 질환의 예방 및 치료에 유용한 약학조성물 및 건강기능식품에 이용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0046] 이하, 본 발명을 참고예, 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0047] 단, 하기 참고예, 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 참고예, 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0048] 실시예 1. 노르갈란타민의 분리 정제

[0049] 제주도에서 자생하는 문주란(*Crinum asiaticum var. japonicum*)의 지상부를 수집하여 음건한 시료 1.5 Kg을 세 절하고 메탄올 2,500 ml로 3회 추출한 후, 농축하여 메탄올 엑스 500 g을 수득하였다. 이 메탄올 엑스를 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트, 부탄올 각각 1,000 ml으로 차례로 분획하여 각각의 분획을 수득한 후, 부탄올 분획을 클로로포름-메탄올-물(13:7:2(v/v/v), 하층)을 이동상으로 하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 수행하여 9개의 소분획('Fr.1' 내지 'Fr. 9')을 수득하였다. 소분획 Fr.4를 상법에 따라서 물과 디클로로메탄에 현탁시킨 후 산 염기를 차례로 처리하여 알칼로이드 분획을 얻었다. 이를 다시 아세톤-물(2:1(v/v))을 이동상으로 하여 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 수행하여 노르갈란타민 조분획을 얻고, 이를 아세톤에서 재결정하여 백색침상결정인 노르갈란타민 160 mg을 수득하였다.

[0050] 백색침상결정

[0051] 융점 : 179-181 °C

[0052] $[\alpha]_D^{20}$ (MeOH, c 0.29): -65.5°

[0053] UV λ_{max} : 278, 288 nm

[0054] FAB-MS m/z: 274 [M+H]⁺

[0055] ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ : 2.52 (H, d, J=15.9 Hz, H-1), 2.18 (H, d, 15.9 Hz, H-1), 4.21 (H, m, H-2), 6.02 (H, d, J=10.3 Hz, H-3), 6.16 (H, d, J=10.3 Hz, H-4), 2.08 (2H, m, H-6), 3.65(H, d, J=15.0 Hz, H-7), 3.63 (H, d, J=15.0 Hz, H-7), 4.34 (H, d, J=15.0 Hz, H-9), 4.54 (H, d, J=15.0 Hz, H-9), 6.83 (H, d, J=8.3 Hz, H-11), 6.86 (H, d, J=8.3 Hz, H-12), 4.63(H, m, H-16), 3.83 (3H, s, H-OCH₃)

[0056] ¹³C-NMR (75MHz, CD₃OD) δ : 31.40(C-1), 62.08(C-2), 129.99(C-3), 127.00(C-4), 49.28(C-5), 35.94(C-6), 46.62(C-7), 51.74(C-9), 123.04(C-10), 123.55(C-11), 113.60(C-12), 148.43(C-13), 147.04(C-14), 134.20(C-15), 88.57(C-16), 56.66(OCH₃)

[0057] 참고예 1. 통계 분석

[0058] 모든 측정결과는 평균 ± 표준편차로 나타내었으며, 통계학적 유의성 검정은 student's t test으로 검정하였으며, p-value가 0.05이하일 경우 유의성을 인정하였다. 통계처리는 SPSS 12.0K for Windows(Release 12.0.1. SPSS Inc. USA)를 사용하였다.

[0059] **실험예 1. 콧수염 모낭(Vibrissa follicles) 성장 효과 측정**

[0060] 1-1. 랫트의 콧수염 모낭(Rat vibrissa follicles)의 분리 및 배양

[0061] 상기 실시예 1의 노르갈란타민 화합물의 욱모 효능을 측정하기 위하여 문헌에 기재된 방법을 이용하여 하기와 같은 실험을 수행하였다(Philpott MP, *et al.*, Cyclical changes in rat vibrissa follicles maintained *in vitro*. *J Invest Dermatol.* 115, pp.1152-1155, 2000).

[0062] 생후 3주령인 위스터 랫트(Wistar rat) 수컷(Japan SLC, Hamamatsu, Japan)을 (주)중앙실험동물로부터 구입하여 에틸 에테르(ethyl ether)로 마취한 후 경추도살 하였다. 랫트 왼쪽과 오른쪽 상순(mystacial pads)을 분리하여 100 units/ml 페니실린-100 $\mu\text{g/ml}$ 스트렙토마이신(Gibco Inc, NY, USA)이 함유된 E/P buffer[(EBSS, Earle's balanced salts solution, Sigma MO, USA) + (PBS, phosphate-buffered saline, Sigma MO, USA)]에 넣었다. 해부 현미경으로 관찰하며 콧수염 모낭(vibrissa follicles)을 조심스럽게 분리하였다. 모낭이 모두 분리될 때까지 E/P buffer를 넣은 페트리 디쉬(Petri dish)에 분리된 모낭을 넣고 37°C, 5% CO₂ 항온기에서 1시간 정도 배양하였다. 24-웰 플레이트의 각 웰에 2 mM L-글루타민(L-glutamine, Gibco Inc, NY, USA), 10 $\mu\text{g/ml}$ 인슐린(insulin, Sigma MO, USA), 50 nM 하이드로코르티손(hydrocortisone, Sigma MO, USA)과 100 units/ml 페니실린-100 $\mu\text{g/ml}$ 스트렙토마이신을 포함하는 500 μl 의 윌리엄 E 배지(William E medium, Gibco Inc, NY, USA)를 넣고, 하나의 웰에 하나씩의 모낭을 넣어서 37°C, 5% CO₂ 항온기에서 배양하였다. 한 실험군에 10-12개의 모낭을 이용하였으며, 배양 중에 배지는 3일마다 교환하였다. 상기 실시예 1의 노르갈란타민 화합물을 0.01 및 0.1 μM 농도로 처리하였으며, 양성 대조물질인 미녹시딜 설페이트(minoxidil sulfate, M.S., Sigma, USA)는 1 μM 의 농도로 처리하였다.

[0063] 1-2. 콧수염 모낭(Rat vibrissa follicles)의 성장 측정

[0064] 배양 중인 콧수염 모낭(vibrissa follicle)의 형태는 현미경(Olympus, Japan)을 사용하여 촬영하였다. 모낭 길이는 이미지 분석기(image analyzer, DP controller; Olympus, Japan)를 사용하여 0, 7, 14 및 21일 째에 측정하였다. 모낭 길이 변화의 평균값을 구하고 대조군의 평균길이와 비교하여 성장 정도를 측정하였다.

[0065] 1-3. 실험결과

[0066] 실험결과, 생후 3 주령 랫트의 성장기 콧수염 모낭(vibrissa follicles)을 분리하여 3주간 배양하면서 모낭 길이를 측정함으로써 노르갈란타민 화합물의 욱모 효능을 확인하였다. 도 1에 나타난 바와 같이, 노르갈란타민 처리군과 대조군과의 모낭의 길이 차이(%)를 비교한 결과, 노르갈란타민을 0.01 및 0.1 μM 농도로 각각 처리하였을 때, 21일째에 모섬유질(hair fiber)의 성장 효과는 대조군(100%)보다 128.7 $\pm$ 13.8% 및 139.2 $\pm$ 10.3% ($P>0.05$)로 유의성 있게 증가하였으며, 양성대조군인 1 μM 미녹시딜 설페이트(minoxidil sulphate, M.S.)는 135.03 $\pm$ 38.8% 성장 효과를 확인할 수 있었다.

[0067] **실험예 2. 모유두세포(Dermal papilla cell)의 증식 효과 측정**

[0068] 상기 실시예 1의 노르갈란타민 화합물이 모발의 성장에 매우 중요한 역할을 하는 모유두세포 증식 효과가 있는지 확인하기 위하여 불멸화된 모낭유두 세포(rat vibrissa immortalized dermal papilla cell)를 사용하여 문헌에 기재된 방법을 이용하여 하기와 같이 MTT 분석법으로 실험하였다(Han JH, *et al.*, Effect of minoxidil on proliferation and apoptosis in dermal papilla cells of human hair follicle., *J Dermatol Sci*, 34, pp.91-98, 2004).

[0069] 흰쥐 수염에서 분리된 모낭 유두 세포를 불멸화한 세포(Rat vibrissa immortalized dermal papilla cell: Filsell W, *et al.*, Transfection of rat dermal papilla cells with a gene encoding a temperature-sensitive polyomavirus large T antigen generates cell lines a differentiated phenotype., *J. Cell Sci*, 107, pp.1761-1772, 1994)를 100 units/ml 페니실린-100 $\mu\text{g/ml}$ 스트렙토마이신(Gibco Inc, NY, USA)과 10% 열-비활성화 FBS(heat-inactivated fetal bovine serum; Gibco Inc, NY, USA)가 함유된 DMEM(Hyclone Inc, USA) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 항온기에서 배양하였으며, 3 일에 한 번씩 계대배양 하였다.

[0070] 상기에서 배양한 모유두세포(dermal papilla cell, 1.0×10^4 cells/ml)를 96-웰 플레이트에 넣고 24시간 배양한 후, 무혈청 DMEM 배지로 교환하여 다시 24시간 배양한 다음, 상기 실시예 1의 노르갈란타민 화합물은 0.01 및 0.1 μM 의 농도로 처리하였고, 양성 대조군인 미녹시딜 설페이트(minoxidil sulfate, M.S., Sigma, MO, USA)는 1 μM 의 농도로 처리하였다. 4 일 동안 배양한 후 50 μl 의 MTT(Sigma, MO, USA)를 첨가하고 4 시간 동안 반응시켰다. 상층액은 제거하고 DMSO 200 μl 을 가하여 침전물을 용해시킨 후, 마이크로플레이트 판독기(microplate reader; Amersham Pharmacia Biotech, NY, USA)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료군에 대한 평균 흡광도 값을 구하였으며, 대조군의 흡광도 값과 비교하여 증식 정도를 조사하였다.

[0071] 실험결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 본 발명의 노르갈란타민 화합물을 0.01 및 0.1 μM 의 농도로 처리하였을 때, 대조군의 증식효과(100%)와 비교하여 $114.0 \pm 4.3\%$ ($P > 0.05$) 및 $106.2 \pm 5.6\%$ 로 증가하였으며, 이런 노르갈란타민 화합물의 모유두세포(dermal papilla cell) 증식효과는 대표적 모발성장 촉진 약물로 널리 알려진 미녹시딜 설페이트(minoxidil sulfate, M.S.)의 증식 효과($114.9 \pm 4.5\%$)와 유사한 수준으로 증가하였음을 확인할 수 있었다.

[0072] 결론적으로, 문주란의 성분인 노르갈란타민 화합물은 모발성장에 매우 중요한 역할을 하는 모유두세포의 성장 증식을 촉진하여 모낭의 성장기를 유도하거나 성장기를 유지시키는데 작용할 것으로 사료된다. 따라서 노르갈란타민 화합물은 탈모 예방 및 치료에 효과적으로 사용될 수 있다.

[0073] 하기에 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0074] **제제예 1. 산제의 제조**

[0075]	노르갈란타민 화합물	20 mg
[0076]	유당	100 mg
[0077]	탈크	10 mg
[0078]	상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.	

[0079] **제제예 2. 정제의 제조**

[0080]	노르갈란타민 화합물	10 mg
[0081]	옥수수전분	100 mg
[0082]	유당	100 mg
[0083]	스테아린산 마그네슘	2 mg
[0084]	상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.	

[0085] **제제예 3. 캡슐제의 제조**

[0086]	노르갈란타민 화합물	10 mg
[0087]	결정성 셀룰로오스	3 mg
[0088]	락토오스	14.8 mg
[0089]	마그네슘 스테아레이트	0.2 mg
[0090]	통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.	

[0091] **제제예 4. 주사제의 제조**

[0092]	노르갈란타민 화합물	10 mg
[0093]	만니톨	180 mg
[0094]	주사용 멸균 증류수	2974 mg
[0095]	Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	26 mg
[0096]	통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.	

[0097] **제제예 5. 액제의 제조**

[0098]	노르갈란타민 화합물	20 mg
[0099]	이성화당	10 g
[0100]	만니톨	5 g
[0101]	정제수	적량
[0102]	통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.	

[0103] **제제예 6. 건강 식품의 제조**

[0104]	노르갈란타민 화합물	1000 mg
[0105]	비타민 혼합물	적량
[0106]	비타민 A 아세테이트	70 µg
[0107]	비타민 E	1.0 mg
[0108]	비타민 B1	0.13 mg
[0109]	비타민 B2	0.15 mg
[0110]	비타민 B6	0.5 mg
[0111]	비타민 B12	0.2 µg
[0112]	비타민 C	10 mg
[0113]	비오틴	10 µg
[0114]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0115]	엽산	50 µg
[0116]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0117]	무기질 혼합물	적량
[0118]	황산제1철	1.75 mg
[0119]	산화아연	0.82 mg
[0120]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0121]	제1인산칼륨	15 mg
[0122]	제2인산칼슘	55 mg

[0123]	구연산칼륨	90 mg
[0124]	탄산칼슘	100 mg
[0125]	염화마그네슘	24.8 mg
[0126]	상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 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.	
[0127]	제제예 7. 건강 음료의 제조	
[0128]	노르갈란타민 화합물	1000 mg
[0129]	구연산	1000 mg
[0130]	올리고당	100 g
[0131]	매실농축액	2 g
[0132]	타우린	1 g
[0133]	정제수를 가하여	전체 900 ml
[0134]	통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.	
[0135]	상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.	
[0136]	[이 발명을 지원한 국가연구개발사업]	
[0137]	[과제고유번호]	
[0138]	08-C1-16-008	
[0139]	[부처명]	
[0140]	산업자원부 중소기업청	
[0141]	[연구사업명]	
[0142]	산학 공동기술개발지원사업	
[0143]	[연구과제명]	
[0144]	문주란 소재의 양모제 개발	
[0145]	[주관기관]	
[0146]	제주대학교 산학협력단	
[0147]	[연구기간]	
[0148]	2008년 07월 01일 ~ 2009년 06월 30일	

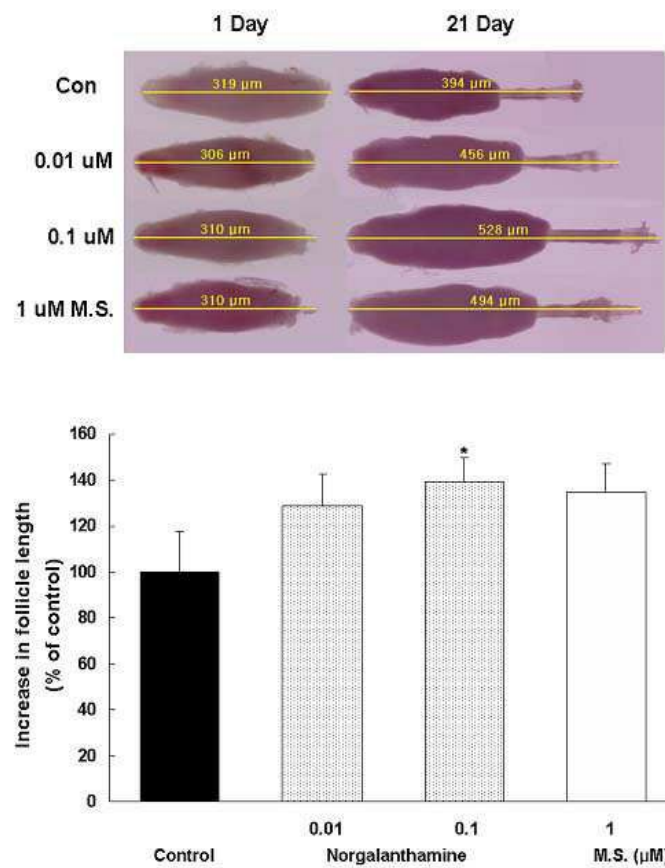
도면의 간단한 설명

- [0149] 도 1은 노르갈란타민 화합물의 콧수염 모낭(vibrissa follicles) 성장 효과를 나타낸 도이며(대조군에 대한 %),
- [0150] 도 2는 노르갈란타민 화합물의 모유두세포의 증식 효과를 나타낸 도이고(대조군에 대한 %),

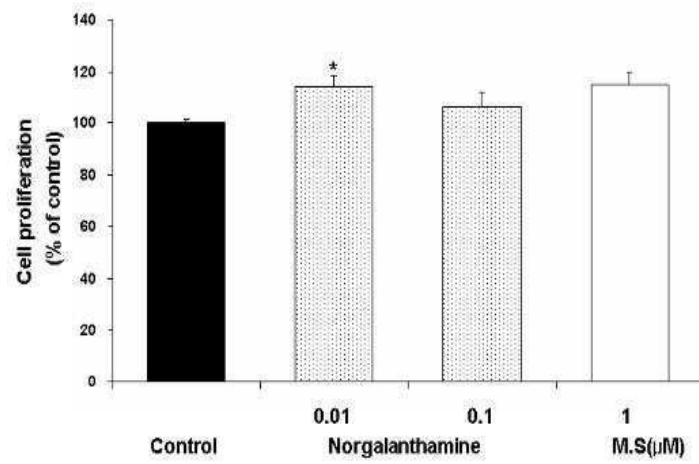
- [0151] 도 3은 노르갈란타민 화합물의 ^{13}C -NMR 스펙트럼(75MHz, CD_3OD)이며,
- [0152] 도 4는 노르갈란타민 화합물의 DEPT 스펙트럼이고,
- [0153] 도 5는 노르갈란타민 화합물의 ^1H -NMR 스펙트럼(300MHz, CD_3OD)이며,
- [0154] 도 6은 노르갈란타민 화합물의 FAB(+)-mass 스펙트럼이다.

도면

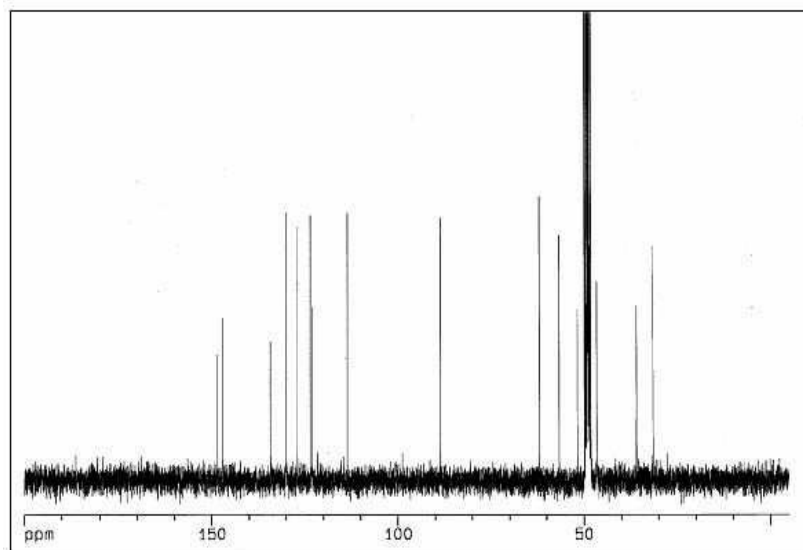
도면1



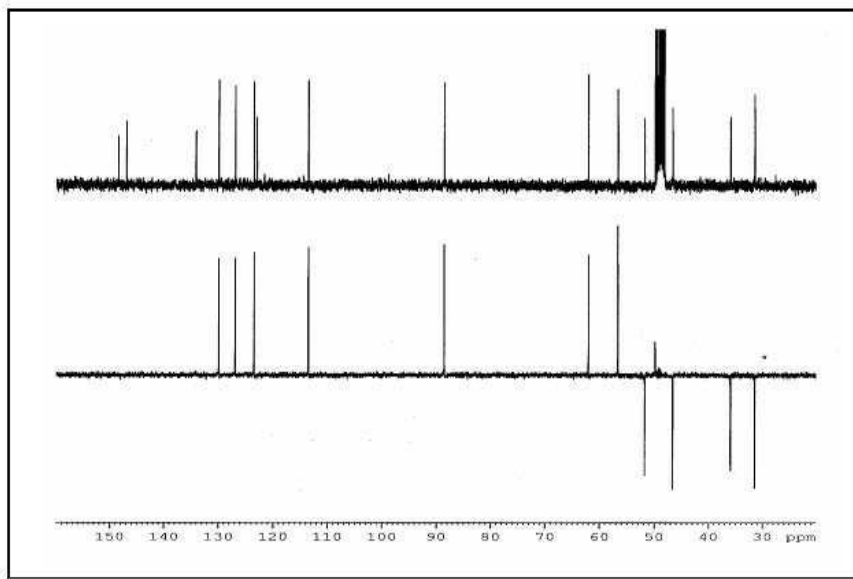
도면2



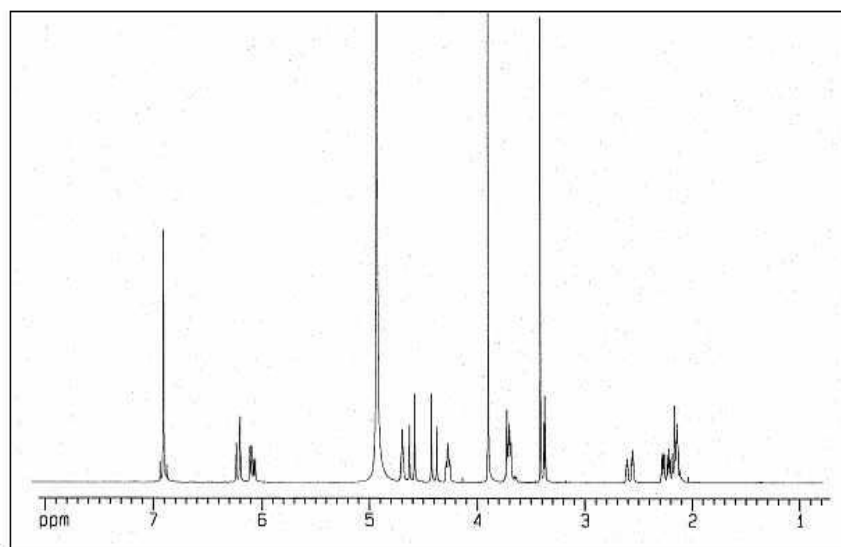
도면3



도면4



도면5



도면6

