(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0081833
(43) 공개일자 2021년07월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/9789 (2017.01) *A23L 29/00* (2016.01)
A23L 33/105 (2016.01) *A61Q 7/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 8/9789 (2017.08)
A23L 29/06 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0174168
(22) 출원일자 2019년12월24일
심사청구일자 2020년12월16일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
웅진식품주식회사
충청남도 공주시 유구읍 유구마곡사로 136-24
대한민국(농촌진흥청장)
전라북도 전주시 덕진구 농생명로 300 (중동)
(72) 발명자
조진경
경기도 화성시 동탄순환대로12길 85, 3633동 502호(산척동, 그린힐 반도유보라 아이비파크 10)
김호빈
경기도 수원시 영통구 효원로 363, 116동 1806호 (매탄동, 매탄 위브 하늘채)
김상숙
제주특별자치도 제주시 도남로16길 15, 203호(도남동, 재영샤르빌)
(74) 대리인
위병갑

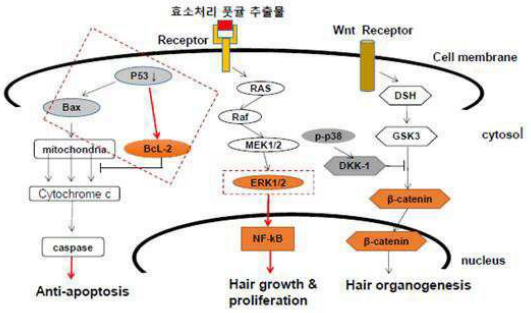
전체 청구항 수 : 총 2 항

(54) 발명의 명칭 **풋귤 효소 추출물을 포함하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 풋귤 효소 추출물을 포함하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 탈모 방지 및 발모 촉진용 조성물은 미성숙과인 풋귤을 이용하여 유효한 탈모 방지 및 발모 촉진 효과를 갖는 조성물을 제공하며, 부산물로 폐기되는 풋귤을 고부가가치 식품 및 화장품 소재로서 활용될 수 있다.

대 표 도 - 도4



(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A61Q 7/00 (2019.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/318 (2013.01)
A61K 2800/805 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 PJ012655042019
부처명 농림축산식품부
과제관리(전문)기관명 농촌진흥청
연구사업명 FTA대응경쟁력향상기술개발
연구과제명 풋귤 추출물의 대사성 질환 개선 효능
기 여 율 1/1
과제수행기관명 국립원예특작과학원
연구기간 2017.01.01 ~ 2019.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

풋귤 효소 추출물을 포함하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 풋귤 효소 추출물은 인체모유두세포(HHDPC) 및 모발각질형성세포(HaCaT)의 증식 촉진 효과를 갖는 것을 특징으로 하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 풋귤 효소 추출물을 포함하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 사람의 모발은 외부의 자극, 자외선 및 추위로부터 머리를 보호하는 필수적인 역할 외에도 개성을 표현하는 하나의 수단으로 외형적 기능을 한다. 삶의 질 향상으로 아름다움에 대한 사회적 관심이 높아지고 있기 때문에 외관과 직접 연결된 모발의 상태는 중요한 사회적 삶의 요소로 작용하고 있다. 따라서 탈모증을 가지고 있는 현대인들은 과도한 스트레스, 우울증 및 자존감 상실을 경험하고 있다.

[0003] 건강보험심사평가원에 따르면 2018년 탈모로 병원을 찾는 환자 수가 22 만 명으로 2014년 대비 7.7%가 증가하여 5년 동안(2014년~2018년) 총 환자 수는 약 107 만 명에 달한다. 연령별 탈모증 환자 비율은 20~30대가 약 43.6%로 전체 탈모증 환자 중 절반에 가까운 수치이며, 이 중 20대는 5년 동안 11%의 가장 큰 증가율을 보이고 있다. 탈모증 치료비용도 꾸준히 증가하여 2018 년에는 병원에서 탈모 치료비로 약 267억 원이 사용되었다.

[0004] 제주 감귤은 생산량과 소비량이 우리나라에서 가장 많은 과수이지만, 2007년 1인당 감귤 소비량이 16kg으로 정점을 찍은 뒤 감소하는 상황이다. 또한, 감귤의 부산물 중 미성숙 감귤인 "풋귤"은 감귤의 생산량 감축과 품질의 고급화를 위해 매년 8~10월에 약 5~10만 톤이 폐기되고 있어 풋귤의 활용도를 높일 수 있는 연구가 필요한 상황이다. 풋귤은 미성숙과 이지만 hesperidin과 같은 flavonoid, pectin, carotenoid, vitamin 등 다양한 성분이 함유되어있다. Kim 등에 따르면 미성숙 감귤은 성숙과에 비해 고기능성분인 flavonoid 함량이 높고, 항염(Choi), 항산화(Yu), 미백(Lee) 활성 등이 더 높은 것으로 알려져 있다. 반면에 탈모 활성에 대한 효능 평가는 전무한 상황이다.

[0005] 이에 따라, 본 발명자들은 제주 감귤의 부산물로서 폐기되는 풋귤의 고부가가치 식품 및 화장품 소재로의 활용을 위하여 풋귤 섭취가 탈모에 미치는 영향을 규명하고, 그 기전을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 따라서, 본 발명의 목적은 풋귤 효소 추출물을 포함하여 유효한 탈모 방지 및 발모 촉진 효과를 갖는 탈모 방지 및 발모 촉진용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명에 따르면, 미성숙과인 풋귤의 효소 추출물을 포함하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0008] 본 발명에 따른 탈모 방지 및 발모 촉진용 조성물은 미성숙과인 풋귤을 이용하여 유효한 탈모 방지 및 발모 촉진 효과를 갖는 조성물을 제공하며, 부산물로 폐기되는 풋귤의 고부가가치 식품 및 화장품 소재로서 활용될 수

있는 이점이 있다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1은 본 발명의 풋귤 효소 추출물의 인체모유두세포 증식 효과를 나타낸 것이다.

도 2는 본 발명의 풋귤 효소 추출물의 모발각질형성세포 증식 효과를 나타낸 것이다.

도 3은 본 발명의 풋귤 효소 추출물의 웨스턴 블롯 결과를 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명의 풋귤 효소 추출물의 헤어 신호전달 과정을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010] <실시예 1> 재료 및 방법

[0011] 1-1 재료 준비

[0012] 본 발명에서 사용된 인체 모유두세포와 모발각질형성세포는 ACTT (Virginia, US) 에서 구입하였다. 세포 배양에 사용된 DMEM, Fetal bovine serum (FBS) 및 penicillin-streptomycin은 Gibco (NY, US)로부터 구매하였다. 단백질 추출에는 Intron (Seongnam, Korea)의 Lysis using Pro-prep.을 사용하였으며, Western blot 분석에 사용된 Anti-body는 Santa Cruz (CA, US), Cell signaling (MA. US), abcam (Cambridge, England), Proteintech group (IL, US) 및 BD life science (NJ, US) 사의 제품을 사용하였다. 각각에서 사용된 Anti-body는 아래 표 1에 나타내었다. ECL solution은 GE Healthcare (IL, USA) 사의 제품을 사용하였고 그 외의 시약은 Sigma-Aldrich (NJ, US) 제품이 쓰였다.

표 1

[0013]

Antibody list				
name	company	Cat#	dilution factor	etc.
actin	santacruz	sc-1616R	1/1000	human & mouse
p53	BD	554294	1/1000	human
bax	ProteinTech Group, Inc	50599-2-Ig	1/2000	human & mouse
bcl-2	santacruz	sc-7382	1/1000	human & mouse
ERK	cell signaling	#9102	1/1000	human & mouse
pERK	cell signaling	#9101	1/1000	human & mouse
p38	cell signaling	#9212	1/1000	human & mouse
pp38	cell signaling	#9211	1/1000	human & mouse
NF-kB	abcam	ab16502	1/1000	human & mouse

[0015] 1-2 세포 배양 및 세포 생존능 평가

[0016] 각각의 세포는 10% FBS 및 1% penicillin-streptomycin을 함유한 DMEM 또는 MSCM 배지로 37℃, 5% CO2 배양기에서 배양하였다. 세포생존능 평가를 위하여 96 well plate에 well당 $1.0X10^4$개의 세포를 분주한 후 24시간 배양한 뒤, 시료를 처리하여 추가로 24시간을 배양하였다. 다음으로 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)를 처리하여 3시간 반응 후 상등액을 제거하고 생성된 formazan을 DMSO로 용해시켜 그 흡광도를 595nm에서 측정하였다. 측정된 OD값은 무처리군을 100%으로 하여 시료가 처리된 세포의 생존능을 평가하였다.

[0018] 1-3 Western blot 분석

[0019] 다음으로 특정 단백질 발현분석을 위하여 western blot 분석을 실시하였다. 먼저 세포의 total protein을 Intron 사의 Lysis using Pro-prep.으로 추출한 뒤 Bradford 법으로 동량으로 정량하였다. 정량된 Protein을 12% SDS-polyacrylamide gel을 이용하여 전기연동 후, acrylamide gel을 PVDF membrane으로 transfer 하였다. 다음으로 준비된 membrane에 각각의 1차 anti-body를 처리하여 4℃에서 overnight 시킨 다음 2차 항체를 상온에

서 1시간 반응 시킨 뒤 ECL 용액에 노출 시킨 뒤 감광하여 단백질 발현량을 확인하였고 Image J 프로그램을 사용하여 정량하였다.

[0021] <실시예 2> 결과 및 고찰

[0022] 2-1

[0023] 효소처리 풋귤 추출물의 세포증식 효능 결과를 도 1 및 도 2에 나타내었다.

[0024] 인체모유두세포(HHDPC)의 증식 효과를 확인한 결과 풋귤 효소처리 추출물의 경우 미녹시딜 및 풋귤 단독 추출물에 비하여 높은 인체모유두세포 증식 효과를 가지는 것으로 나타났다(도 1).

[0025] 또한, 모발각질형성세포(HaCaT)의 증식 효과를 확인한 결과 미녹시딜 및 풋귤 단독 추출물에 비하여 높은 모발각질형성세포 증식 효과를 가지는 것을 확인했다(도 2).

[0026] 2-2

[0027] 효소처리 풋귤 추출물의 Western blot 분석결과를 도 3에 나타내었다. 그 결과, p53 발현 감소, Bcl-2 발현 증가 및 Bax 발현 감소를 확인하였다. 이를 통해 Cell Apoptosis를 억제하여 탈모 예방 효과가 있음을 확인하였다.

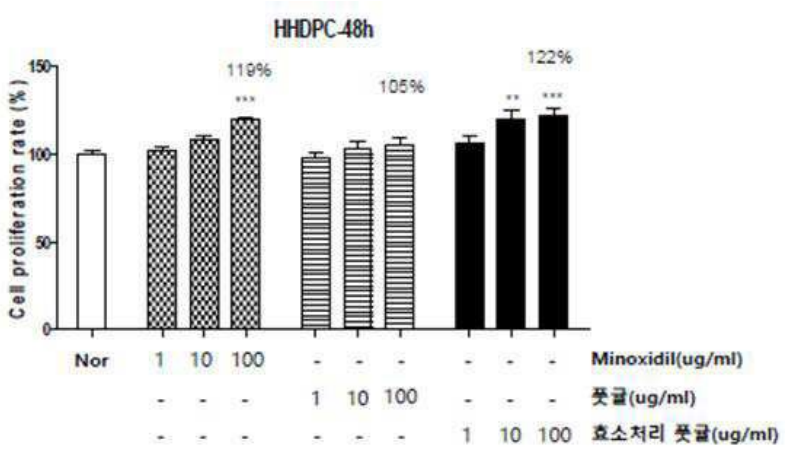
[0028] 또한, p-p38발현 감소, DKK-1 발현 감소 및 B-catenin 발현 증가를 확인하였다. 이를 통해 Hair organogenesis 활성을 가짐으로서 모발 성장을 촉진됨을 확인하였다.

[0029] 또한, p-ERK1/2 발현 증가 및 NF-kB 발현 증가를 확인하였으며, 이를 통해 Hair growth & proliferation 활성을 가져 모발 성장을 촉진하는 것으로 나타났다.

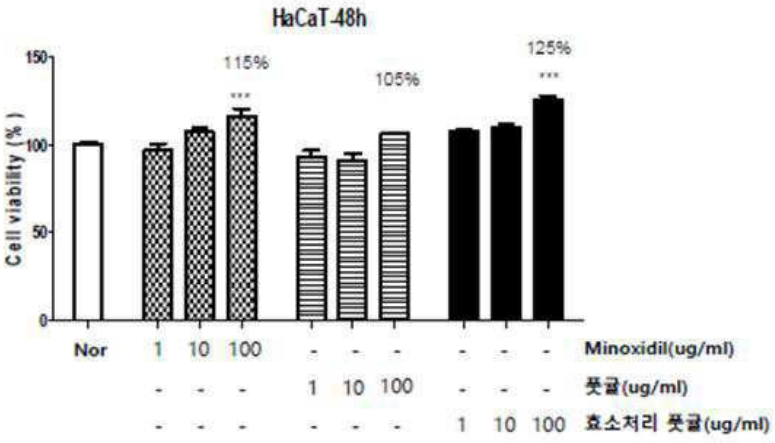
[0030] 본 실시예에서 확인된 인자를 통해 풋귤 효소처리 추출물의 모발 탈모 방지 및 발모 촉진의 기작을 나타내었다(도 4). 본 발명을 통해 풋귤 효소 처리 추출물은 유효한 탈모 방지 및 발모 촉진 효과를 가지는 것을 확인하였다.

도면

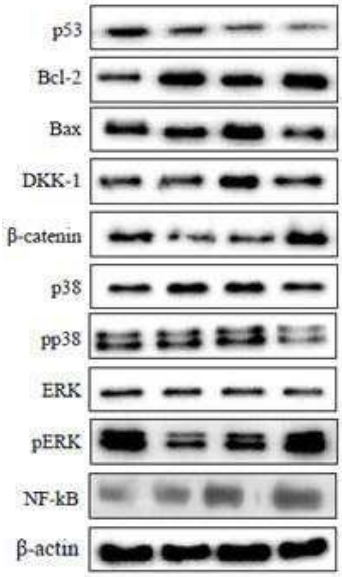
도면1



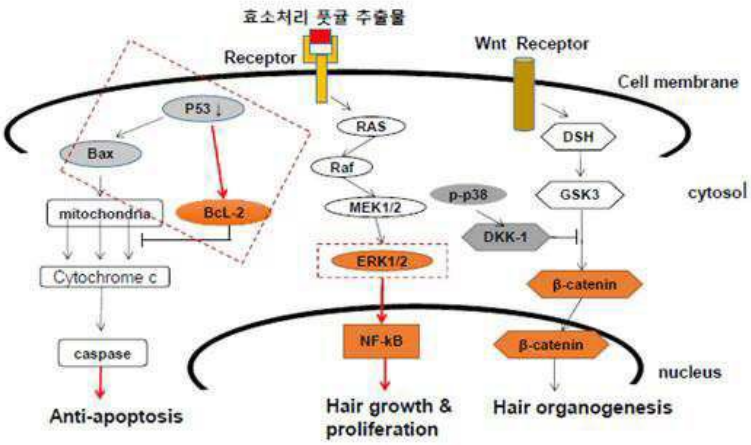
도면2


HaCaT-48h
Cell viability (%)
150
100
50
0
115%
***
105%
125%
***
Nor
1
10
100
Minoxidil(ug/ml)
풋귤(ug/ml)
효소처리 풋귤(ug/ml)

도면3


p53
Bcl-2
Bax
DKK-1
β-catenin
p38
pp38
ERK
pERK
NF-kB
β-actin

도면4


효소처리 풋귤 추출물
Receptor
Wnt Receptor
Cell membrane
P53
Bax
RAS
Raf
MEK1/2
ERK1/2
DSH
GSK3
p-p38
DKK-1
β-catenin
cytosol
mitochondria
BcL-2
Cytochrome c
caspase
NF-kB
β-catenin
nucleus
Anti-apoptosis
Hair growth & proliferation
Hair organogenesis