



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0082974
(43) 공개일자 2022년06월20일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/185 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
A61K 36/27 (2006.01) *A61K 36/78* (2006.01)
A61K 36/8988 (2006.01) *A61K 36/899* (2006.01)
A61K 8/9789 (2017.01) *A61K 8/9794* (2017.01)
A61P 17/14 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 36/185 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
- (21) 출원번호 10-2020-0172131
(22) 출원일자 2020년12월10일
심사청구일자 2020년12월10일
- (71) 출원인
정제운
경기도 김포시 김포한강8로148번길 8-5 (마산동) 401호
- (72) 발명자
정제운
경기도 김포시 김포한강8로148번길 8-5 (마산동) 401호
- (74) 대리인
유재훈

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **쥐눈이콩 복합 추출물을 함유하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 탈모 방지 및 발모 촉진용 조성물에 관한 것으로, 쥐눈이콩 추출물, 및 검은깨 추출물을 유효성분으로 포함한다.

(52) CPC특허분류

A61K 36/27 (2013.01)
A61K 36/48 (2013.01)
A61K 36/78 (2013.01)
A61K 36/8988 (2013.01)
A61K 36/899 (2013.01)
A61K 8/9789 (2017.08)
A61P 17/14 (2018.01)
A61P 29/00 (2018.01)
A61P 31/04 (2018.01)

명세서

청구범위

청구항 1

귀눈이콩 추출물, 및 검은깨 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

백하수오 추출물, 또는 어성초 추출물을 더 포함하는 약학 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

흑미 추출물, 또는 천마 추출물을 더 포함하는 약학 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

항염, 및 항균 용도를 더 포함하는 약학 조성물.

청구항 5

귀눈이콩 추출물, 및 검은깨 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 식품 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서,

백하수오 추출물, 어성초 추출물, 흑미 추출물 및 천마 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 더 포함하는, 식품 조성물.

청구항 7

귀눈이콩 추출물, 및 검은깨 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 화장료 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

백하수오 추출물, 어성초 추출물, 흑미 추출물 및 천마 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 더 포함하는, 화장료 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 모발의 손상 및 자극을 최소화함과 동시에 모발의 성장을 촉진할 수 있는 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 동물들은 계절에 따라 털이 전체적으로 교체되는 털갈이 시기가 있으나, 인간은 전체 모발 중 일부가 매일 계속적으로 교체되어 항상 비슷한 개수가 유지된다.

[0003] 모발의 주기(hair cycle)는 성장기, 퇴행기, 휴지기의 3주기로 나뉘 수 있으며, 그 중 성장기(anagen)는 모유두에서 활발한 세포 분열이 일어나 새로운 모발의 성장이 촉진되는 시기로, 이 시기에 모발이 성장할 수 있다.

- [0004] 모발의 성장 주기는 대략 남성은 3 내지 5년, 여성은 4 내지 6년 정도이며 전체적으로 약 80 내지 85%의 모발이 성장기에 해당한다.
- [0005] 퇴행기(catagen)는 세포 분열이 점차 멈추어 가는 시기로 대략 3 내지 4주 정도이다. 마지막으로 휴지기(talogen)는 모유두가 위축되어 모발이 모세혈관과 분리되어 단순히 두피에 박혀 있는 시기로, 대략 3개월 정도이며 휴지기에 있는 모발은 대개 물리적 자극에 의해 쉽게 모피에서 이탈된다.
- [0006] 인간의 모발은 비록 생명과는 무관하나, 사람의 인상 및 외모에 결정적인 영향을 미치기 때문에 사회적으로 많은 관심이 집중되고, 종래 탈모가 증상으로 인식되었던 것과 달리 최근에는 질환이라는 인식이 증대되고 있다.
- [0007] 특히, 최근 고도화, 산업화가 가속되면서 수반되는 과도한 스트레스, 생활 습관의 사회 문화적인 요인들로 인해 탈모 인구가 급격히 증가하고 있다.
- [0008] 또한, 최근에는 중년 남성뿐 아니라 장년층의 탈모가 증가하고 있어 탈모의 다양한 원인을 분석하고 이를 해결하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다.
- [0009] 한편, 화장품 업계에서는 여러 화학물질 등에 의한 피부 자극을 줄이기 위해 천연물을 사용한 제품이 다수 개발되고 있다.
- [0010] 천연 재료는 피부에 부작용이 적을 뿐 아니라, 최근 천연 재료를 이용한 화장품에 대한 소비자들의 호응이 높아짐에 따라 화장품 원료로서 개발가치가 한층 늘어나고 있다.
- [0011] 따라서, 소비자의 호응도가 높은 천연 재료를 이용한 화장품의 수요가 점차 증가하고 있으며, 생체 안전성 및 피부 개선 효과가 우수한 다기능성(multi-funtional) 화장품 개발에 대한 다양한 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0012] 본 발명은 전술한 종래 기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 목적은 천연 원료를 유효성분으로 포함하여 피부 건강에 유익할 뿐만 아니라, 탈모 방지 및 육모 촉진능이 우수한 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0013] 본 발명의 일 측면에 따르면, 쥐눈이콩 추출물, 및 검은깨 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 약학 조성물이 제공된다.
- [0014] 일 실시예에 있어서, 상기 약학 조성물은 백하수오 추출물, 또는 어성초 추출물을 더 포함할 수 있다.
- [0015] 일 실시예에 있어서, 상기 약학 조성물은 흑미 추출물 또는 천마 추출물을 더 포함할 수 있다.
- [0016] 일 실시예에 있어서, 상기 약학 조성물은 향염, 및 향균 용도를 더 포함할 수 있다.
- [0017] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 쥐눈이콩 추출물, 및 검은깨 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 식품 조성물이 제공된다.
- [0018] 일 실시예에 있어서, 상기 식품 조성물은 백하수오 추출물, 어성초 추출물, 흑미 추출물 및 천마 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 더 포함할 수 있다.
- [0019] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 쥐눈이콩 추출물, 및 검은깨 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 화장료 조성물이 제공된다.
- [0020] 일 실시예에 있어서, 상기 화장료 조성물은 백하수오 추출물, 어성초 추출물, 흑미 추출물 및 천마 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

- [0021] 발명의 일 측면에 따른 조성물은 천연 복합 추출물에 포함된 유효성분들이 상호 작용하여 사용자의 피부 건강에 유익하면서도 탈모 방지 및 발모 촉진 효과가 극대화될 수 있다.
- [0022] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의

구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0023] 본 명세서에서 사용되는 용어는 본 발명에서의 기능을 고려하면서 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어들을 선택하였으나, 이는 당 분야에 종사하는 기술자의 의도 또는 관례, 새로운 기술의 출현 등에 따라 달라질 수 있다. 또한, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있으며, 이 경우 해당되는 발명의 설명 부분에서 상세히 그 의미를 기재할 것이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 용어는 단순한 용어의 명칭이 아닌, 그 용어가 가지는 의미와 본 발명의 전반에 걸친 내용을 토대로 정의되어야 한다.
- [0024] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0025] 수치 범위는 상기 범위에 정의된 수치를 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최대의 수치 제한은 낮은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 낮은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 최소의 수치 제한은 더 높은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼 모든 더 높은 수치 제한을 포함한다. 본 명세서에 걸쳐 주어진 모든 수치 제한은 더 좁은 수치 제한이 명확히 쓰여져 있는 것처럼, 더 넓은 수치 범위 내의 더 좋은 모든 수치 범위를 포함할 것이다.
- [0026] 이하, 본 발명의 실시예를 상세히 기술하나, 하기 실시예에 의해 본 발명이 한정되지 아니함은 자명하다.
- [0027] 본 발명의 일 측면에 따르면, 쥐눈이콩 추출물, 및 검은깨 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 약학 조성물이 제공된다.
- [0028] 상기 약학 조성물은 천연 유래의 복합 추출물을 유효성분으로 포함하여 탈모 방지 및 육모 촉진 활성뿐만 아니라 생체 안전성이 우수하다.
- [0029] 특히, 상기 복합 추출물은 인체 내에서 복합적으로 작용하므로, 단일 추출물과 비교하여 탈모 방지 및 발모 촉진 효과가 현저히 우수하다.
- [0030] 또한, 상기 약학 조성물은 모발 성장을 효과적으로 촉진할 뿐만 아니라, 항염, 항균 활성 및 세포 증식능이 뛰어나 비듬 방지 효과 및 두피 염증 완화 효과가 우수하다.
- [0031] 상기 “쥐눈이콩(wild soybean, *Rhynchosia Nulubilis*)”은 콩과의 다년생 만초(蔓草)로서, 노화를 방지하고, 뼈를 튼튼하게 하며, 암을 예방하는 효과가 알려져 있다.
- [0032] 상기 쥐눈이콩에 존재하는 폴리포스페이트, 즉 인 중합체는 산화유발원인인 자외선에 의해 피부세포가 손상되는 것을 억제할 뿐만 아니라 세포들의 돌연변이도 예방하는 작용을 하는 것으로 알려져 있다.
- [0033] 상기 “검은깨(*Sesamum indicum*)”는 거승, 검정깨, 흑임자 등이라고도 불리우며, 식용과 약용으로 이용되어 왔다. 상기 검은깨에는 다량의 단백질 및 지방이 포함되어 있고, 레시틴, 칼슘, 인, 철분, 비타민 B와 비타민 E, 섬유질, 철분 및 칼슘이 풍부하다.
- [0034] 상기 “추출물”은 용매와 추출재료를 특정 조건하에서 접촉시킴으로써 추출 재료에 함유된 유효성분을 분리해 낸 것을 의미한다.
- [0035] 상기 복합 추출물은 정제수, 탄소수 1 내지 4개의 저급 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트, 및 1,3-부틸렌글라이콜로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 용매로 추출될 수 있고, 상기 알코올은 60 내지 90% 농도(v/v)의 에탄올일 수 있다.
- [0036] 상기 원료에 포함된 유효성분은 용매의 극성에 따라 추출 비율이 상이해질 수 있으며, 상기 에탄올은 천연 원료의 생리 활성 물질 추출에 있어 선택성이 뛰어나므로 상기 에탄올 추출에 의해 최적의 발모 촉진 효과가 구현될 수 있다.
- [0037] 특히, 물과 에탄올은 극성이 상이하여, 각 극성에 따라 추출되는 유효성분이 달라질 수 있으며 최적의 발모 촉진 효과가 구현될 수 있도록 상기 에탄올의 농도를 적절히 제어할 수 있다.

- [0038] 상기 에탄올은 농도가 90%(w/w) 초과이면 적정한 수율이 구현되지 않을 수 있고, 농도가 60%(w/w) 미만이면 발모를 촉진하는 유효성분이 충분하게 추출되지 않을 수 있다.
- [0039] 상기 복합 추출물은 각 원료를 물로 수세한 후 건조 및 분쇄하여, 원료 중량의 8 내지 12배에 달하는 부피의 용매로 약 1시간 내지 24시간 동안 환류 순환 추출, 가압 추출, 초음파 추출 등 통상적인 방법으로 추출 및 여과하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 추출물은 감압 증류 또는 동결 건조 등과 같은 추가적인 공정에 의해 분말 상태로 수득할 수 있다.
- [0040] 상기 추출물은 통상적인 정제 과정을 거친 추출물도 포함할 수 있다. 예컨대, 상기 추출물은 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 이용한 분리, 다양한 크로마토그래피(크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등 추가적으로 실시된 다양한 정제 방법을 통해 얻어진 분획물을 포함할 수 있다.
- [0041] 또한, 상기 추출물은 천연 원료에 함유된 유효성분을 함유하고 있으면 족하므로, 소정의 용매를 이용하여 수득한 추출물뿐만 아니라 천연 원료에 대한 파쇄물이나 분쇄물 형태로도 수득할 수 있다.
- [0042] 한편, 상기 약학 조성물이 백하수오 추출물, 어성초 추출물, 흑미 추출물 및 천마 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 더 포함할 수 있다.
- [0043] 상기 “백하수오(*Cynanchum wilfordii*)”는 백수오(白首烏), 산백(山伯) 또는 큰조롱으로 불리며, 박주가리에 가까운 생김새를 가진 여러해살이 덩굴풀이다.
- [0044] 상기 백하수오는 임파선염을 치료하고, 부스럼을 가라앉히기 때문에 머리와 얼굴에 나는 뽕루지를 낮게한다고 알려져 있다.
- [0045] 또한, 상기 백하수오는 신장 기능을 튼튼하게 하고, 원기 회복, 자양강장, 빈혈 개선, 불면증 개선, 변비 개선, 관절염 개선 및 성인병에 좋다고 알려져 있다.
- [0046] 상기 “어성초(*Houttuyniacordata thunb.*)”는 삼백초과(Saururaceae)의 식물인 약모밀의 전초로, 아시아 동남부와 특히 일본, 한국 등지에 서식한다.
- [0047] 상기 어성초는 열가지 약효가 있다고 하여 십약이라고도 부르며, 줄기는 고구마 잎과 같고 생잎을 만지면 생선비린내가 심하게 나는 것에서 유래되어 어성초로 부르기도 한다.
- [0048] 상기 어성초는 약용 및 식용으로도 가능하며 식품공전 식품 원재료 분류에 부원료로 최소량만을 사용할 수 있는 동식물로 분류되어 있고 약리적으로는 강심, 이뇨, 항균, 해독, 항암 효능이 있는 것으로 널리 알려져 있으며, 민간에서는 해독과 미용을 돕는 화장품 및 건강기능식품으로 이용하고 있다.
- [0049] 상기 “흑미”는 검은쌀, 흑향미라고도 불리우며, 식용으로 이용되어 왔다.
- [0050] 상기 흑미에는 전분, 단백질, 지방, 칼슘, 인, 철분 등이 풍부하게 함유되어 있고, 비타민 B1, B2도 많이 함유되어 있다. 또한, 상기 흑미는 셀레늄(Se)을 다량 함유하고 있고, 일반 쌀 대비 철, 칼슘, 아연, 망간, 셀레늄 등의 미네랄 원소들을 5배 이상 많이 함유하고 있다.
- [0051] 상기 “참마(*Dioscorea japonica Thunb*)”는 마과(Dioscoreaceae)에 속하는 덩굴성 다년생 초본으로 땅속에 굵고 긴 덩이뿌리를 가지고 있다.
- [0052] 상기 참마의 원산지는 중국이며 우리나라에서는 전국각지에 자생하고 덩굴 속이나 풀밭에서 발견되며, 주로 전라도 산간지방에서 널리 재배되고 있다.
- [0053] 상기 참마의 근경은 batasin, mucin, amylase, mucilage, allantoin 등의 약리성분을 함유하고 있으며 자양강장, 폐결핵 및 당뇨병치료에 사용되어 왔다.
- [0054] 또한 상기 참마에 함유된 사포닌 성분은 동맥경화증과, 고혈압 및 혈중 콜레스테롤 함량을 감소시키는 것으로 알려져 있는데 그 중 steroidal saponin인 dioscin과 diosgenin은 항균, 항진균, 혈당 하강 작용, 소화 촉진 작용, 자양작용 등의 약리효과가 있는 것으로 알려져 있다.
- [0055] 상기 약학 조성물은 상기 유효성분 이외에 약학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다.
- [0056] 상기 약학적으로 허용되는 담체는 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세 결정성셀룰로스, 폴리비

닐피로리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필 히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0057] 또한, 상기 약학 조성물은 상기 성분들 이외에 윤향제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0058] 상기 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여 경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.
- [0059] 상기 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다. 상기 “약학적으로 유효한 양”은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0060] 상기 약학 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다.
- [0061] 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0062] 구체적으로 상기 약학 조성물의 유효량은 환자의 연령, 성별, 상태, 체중, 체내에 활성 성분의 흡수도, 불활성을 및 배설 속도, 질병 종류, 병용되는 약물에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로는 체중 1kg 당 0.001 내지 150mg, 바람직하게는 0.01내지 100mg을 매일 또는 격일 투여하거나, 1일 1 내지 3회로 나누어 투여할 수 있다.
- [0063] 그러나 투여 경로, 비만의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라서 증감될 수 있으므로 상기 투여량이 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0064] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 쥐눈이콩 추출물, 및 검은깨 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 식품 조성물이 제공된다.
- [0065] 상기 식품 조성물은 백하수오 추출물, 어성초 추출물, 흑미 추출물 및 천마 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 더 포함할 수 있다.
- [0066] 상기 “식품 조성물”은 통상적인 기능성 식품 또는 건강기능식품을 모두 포함하는 개념으로 이용될 수 있다.
- [0067] 상기 기능성 식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 상기 식품 첨가물은 다른 규정이 없는 한 식품의약품안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 적합성 여부를 판단할 수 있다.
- [0068] 상기 식품 첨가물 공전에 기재된 품목은 예컨대 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 먼류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류를 들 수 있다.
- [0069] 상기 기능성 식품은 항산화, 탈모, 염증질환 등의 개선을 위한 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있으며, 예컨대, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성 보조 식품, 식품 첨가제 등에 사용될 수 있다.
- [0070] 상기 기능성 식품은 항산화, 탈모, 염증질환 등의 개선을 목적으로 정제, 과립, 분말, 캡셀, 액상의 용액 및 환으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조 및 가공될 수 있다.
- [0071] 구체적으로 상기 정제 형태의 기능성 식품은 식물 추출물 또는 이의 분획물, 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와의 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축 성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 정제 형태의 기능성 식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수 있으며, 필요에 따라 적당한 제피제로 제피할 수도 있다.
- [0072] 상기 캡셀 형태의 기능성 식품 중 경질캡셀제는 통상의 경질캡셀에 가지 추출물 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물 또는 그의 입상물 또는 제피한 입상물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질캡셀제는 식물 추출물 또는 이의 분획물, 및 부형제 등의 첨가제와의 혼합물을 젤라틴 등 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 솔비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.
- [0073] 상기 환 형태의 기능성 식품은 식물 추출물 또는 이의 분획물, 부형제, 결합제, 붕해제 등의 혼합물을 적당한

방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 적당한 제피제로 제피를, 또는 전분, 탈크 또는 적당한 물질로 환의를 입힐 수도 있다.

- [0074] 상기 과립형태의 기능성 식품은 식물 추출물 또는 이의 분획물, 부형제, 결합제, 봉해제 등의 혼합물을 적당한 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다
- [0075] 또한, 상기 부형제, 결합제, 봉해제, 활택제, 교미제, 착향제 등에 대한 용어 정의는 당업계에 공지된 문헌에 기재된 것으로 그 기능 등이 동일 내지 유사한 것들을 포함할 수 있다.
- [0076] 상기 건강기능식품은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 말한다.
- [0077] 상기 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전처에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정할 수 있다.
- [0078] 상기 건강기능식품은 담체, 희석제, 부형제 및 첨가제 중 하나 이상을 포함하여 정제, 환제, 산제, 과립제, 분말제, 캡슐제 및 액제 제형으로 이루어진 군에서 선택된 하나로 제형된 것을 특징으로 한다.
- [0079] 상기 건강기능식품에 첨가할 수 있는 식품으로는, 각종 식품류, 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽제, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성식품류 등이 있다.
- [0080] 상기 건강기능식품에 더 포함될 수 있는 첨가제로는, 천연 탄수 화물, 향미제, 영양제, 비타민, 광물(전해질), 풍미제(합성 풍미제, 천연 풍미제 등), 착색제, 충전제, 팩트산 및 그의 염, 일간산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, PH조절제, 안정화제, 방부제, 산화 방지제, 글리세린, 알콜, 탄산화제 및 과육으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 성분을 사용할 수 있다.
- [0081] 상기 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다.
- [0082] 상기 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.
- [0083] 또한, 상기 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 충전제, 팩트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, PH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.
- [0084] 상기 담체, 부형제, 희석제 및 첨가제의 구체적인 예로는 이에 한정하는 것은 아니나, 락토스, 텍스트로즈, 슈크로스, 솔비톨, 만니톨, 에리트리톨, 전분, 아카시아 고무, 인산칼슘, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 미세결정성 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 메틸셀룰로즈, 물, 설탕시럽, 메틸 하이드록시 벤조에이트, 프로필하이드록시 벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상이 사용되는 것이 바람직하나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0085] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 쥐눈이콩 추출물, 및 검은깨 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 및 발모 촉진용 화장품 조성물이 제공된다.
- [0086] 상기 화장품 조성물은 백하수오 추출물, 어성초 추출물, 흑미 추출물 및 천마 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 더 포함할 수 있다.
- [0087] 상기 화장품 조성물은 아미노산 복합체(amino acid complex), 하이드롤라이즈드실크(hydrolyzed silk), 착향제, 세라마이드(Ceramide), 및 부형제를 더 포함할 수 있다.
- [0088] 상기 아미노산 복합체(amino acid complex)는 단백질의 기본 구성단위인 하나 이상의 아미노산이 혼합된 복합 조성물을 지칭하는 것으로, 혼합되는 아미노산의 종류 또는 혼합비는 특별히 제한되지 아니하며, 필요에 따라 달리 할 수 있다. 상기 아미노산 복합체는 피부에 보습력을 제공해주고, 모발에 윤기를 부여하므로 상기 조성물의 사용감을 증진시키고, 피부에 대한 자극을 최소화할 수 있다.
- [0089] 상기 하이드롤라이즈드실크(hydrolyzed silk) 견섬유를 산 또는 알칼리로 가수분해하여 얻은 펩타이드를 함유하

는 물 또는 묽은 에탄올을 지칭하는 것으로 흔히 피부 또는 모발 컨디셔닝제의 용도로 사용될 수 있다. 상기 하이드롤라이즈드실크는 단백질의 구성 성분으로서 인체에 안전하며, 모발에 윤기 및 탄력을 부여하고 손상된 모발을 회복시킬 수 있다.

- [0090] 상기 착향제는 식품이나 화장품 등에 넣어 향기를 내기 위해 첨가하는 물질을 지칭하는 것으로 상온에서 휘발성이 우수하며, 상기 조성물의 제품화를 위해 필요에 따라 첨가될 수 있다.
- [0091] 상기 착향제의 종류는 특별히 한정되지 않으며, 방향성 화학물질, 정유, 천연추출물, 증류물, 단리성분, 아로마, 수지성 레진 등이 사용될 수 있다.
- [0092] 상기 세라마이드(Ceramide)는 피부 각질층을 구성하는 각질 세포간 지질 중 약 40% 이상을 차지하며 각질층의 구조 형성이나 기능을 나타내는 데 필수적인 성분으로서, 친수성기와 친유성기를 함께 가지므로 피부에 있는 수분의 증발을 억제할 수 있다. 상기 세라마이드는 모발에 수분막을 형성하여 수분 증발을 억제하고 손상을 방지하므로, 보습제의 원료로 첨가될 수 있다.
- [0093] 상기 부형제(excipient)는 약제에 적당한 굳기나 형상을 부여하거나, 주제(主劑)의 양이 부족한 경우에 일정 용량, 중량을 주어 취급하기 쉬운 크기로 하기 위해 첨가하는 물질을 지칭하는 것으로, 그 종류는 특별히 한정되지 않으나, 락토오스, 녹말, 텍스트린, 글리세린, 셀룰로오스 등이 사용될 수 있다.
- [0094] 상기 화장료 조성물은 상기 첨가물들뿐만 아니라, 상기 조성물의 기능이나 용도를 고려하여 유화제, 보존제, 희석제, 색소 등 다양한 첨가제를 포함할 수 있다.
- [0095] 상기 화장료 조성물은 일반적인 두피 및 모발용 외용제에 배합될 수 있는 기재 성분을 추가로 포함할 수 있고, 구체적으로 용해보조제, 계면활성제, 보습제, 점증제, pH 조정제, 방부제, 산화방지제, 금속이온봉쇄제, 살균제, 항염증제, 향미생물제, 용제, 착색제, 또는 착향제 등을 포함할 수 있다.
- [0096] 상기 용해보조제는 이소프로필 미리스테이트, 폴리에틸렌 글리콜, 중쇄 지방산 트리글리세리드, 탄화수소, 글리콜류 등이 될 수 있다.
- [0097] 상기 계면활성제 중 음이온계 계면활성제는 암모늄 라우릴술포숙시네이트, 암모늄 라우릴 설페이트, 소듐 코코일이세시오네이트, 소듐 라우릴 이세시오네이트, 소듐 라우릴 설페이트, 트리에탄올아민 라우릴 설페이트, 소듐 라우릴 에테르 설페이트(에틸렌옥사이드 1~3개) 등이 사용될 수 있다. 비이온성 계면활성제는 폴리옥시에틸렌알킬에테르, 폴리옥시에틸렌지방산 에스테르, 폴리옥시에틸렌, 경화 피마자유 유도체, 지방산 디에탄올아미드, 글리세릴스테아레이트 등이 사용될 수 있다. 양이온성 계면활성제는 3급 지방족 아민염, 알킬트리메틸암모늄클로라이드, 디알킬디메틸암모늄클로라이드 등이 사용될 수 있다. 양쪽성 계면활성제는 구체적으로 베타인, 아미드베타인형, 설포베타인형, 스테아르트림모늄클로라이드 등이 사용될 수 있다.
- [0098] 상기 보습제는 글리세린, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 디프로필렌글리콜, 소르비톨 등이 사용될 수 있다.
- [0099] 상기 점증제는 메틸셀룰로스, 하이드록시에틸셀룰로스, 카라기난, 카르복시메틸셀룰로스, 하이드록시메틸셀룰로스 등의 수용성 고분자 화합물이 사용될 수 있다.
- [0100] 상기 pH 조정제는 구체적으로 구연산, 수산화나트륨, 트리에탄올아민, 구연산나트륨, 인산, 인산나트륨, 젯산 등이 사용될 수 있다.
- [0101] 상기 방부제는 벤조산, 파라옥시안식향산에스테르, 메칠클로로이소치아졸리논의 혼합물, 페녹시에탄올, 디엠디엠히단토인 등이 될 수 있고, 상기 산화방지제는 디부틸히드록시톨루엔, 아스코르빈산 등이 사용될 수 있다.
- [0102] 상기 금속이온봉쇄제는 에칠렌디아민테트라초산디나트륨, 에칠렌디아민테트라초산테트라나트륨 등이 사용될 수 있고, 상기 살균제는 클로르헥시딘 글루코네이트, 4급 암모늄염, 피록톤올아민, 아연피리치온 현탁액, 요도프로피닐 부틸카바메이트, 살리실산 등이 사용될 수 있다.
- [0103] 상기 항염증제는 글리시리진산모노암모늄, 글리시리진산디칼륨, 스테아릴글리시리지네이트, 카모마일, 알파 비사보롤, 알란토인 등이 사용될 수 있고, 상기 향미생물제는 구체적으로 페녹시에탄올, 클로르헥시딘, 클로르헥시딘 글루코네이트, 피록톤올아민, 케토코나졸, 아르니카추출물, 요도프로피닐부틸카바메이트, 벤잘코늄클로라이드, 벤젠토늄클로라이드, 벤조산 및 그의 염, 벤질알코올, 라벤다, 로즈마리, 살리실산, 트리클로카르반, 아연피리치온 현탁액 등이 사용될 수 있다.

- [0104] 상기 용제는 에탄올, 정제수, 트윈 20, 사이클로메치콘, 미네랄오일, 디메치콘 등이 사용될 수 있고, 상기 착색제 및 착향제는 두피 및 모발용 제제에 사용되는 통상의 기재들을 사용할 수 있다.
- [0105] 한편, 상기 조성물은 유액, 크림, 페이스트, 겔, 화장수, 팩, 로션, 파우더, 스프레이, 비누 등의 모발처리용 조성물로서 제형화될 수 있고, 구체적으로 헤어토너, 헤어로션, 헤어크림, 헤어스프레이, 헤어무스, 헤어젤, 헤어비누, 헤어샴푸, 헤어린스, 헤어팩, 및 헤어트리트먼트로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상으로 제형화될 수 있고, 구체적으로 액상형 헤어샴푸로 제형화될 수 있다.
- [0106] 상기 제형에 있어서, 상기한 필수성분 이외에 다른 성분들은 기타 외용제의 용도 또는 사용목적에 따라 당업자가 적절하게 선정하여 배합할 수 있다.
- [0107] 예컨대, 상기 조성물의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 사용될 수 있다.
- [0108] 상기 조성물의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히, 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판, 부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 더 포함할 수 있다.
- [0109] 상기 조성물의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 또는 유탁화제가 사용될 수 있고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 사용될 수 있다.
- [0110] 상기 조성물의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 사용될 수 있다.
- [0111] 이하 실시예를 통해, 본 발명을 더욱 상술하나 하기 실시예에 의해 본 발명이 제한되지 아니함은 자명하다.
- [0112] **제조예 : 천연 추출물 제조**
- [0113] 쥐눈이콩, 검은깨, 백하수오, 어성초, 흑미 및 천마를 각각 수세한 후 상온에서 완전히 건조시키고 분쇄물을 100g씩 수득하였다.
- [0114] 각각의 분쇄물 100g에 대해 20배 부피의 에탄올을 용매로 하여 50℃의 온도에서 24시간 동안 침적 추출하였다.
- [0115] 상기 추출물은 250메쉬 및 3 μ m 필터 에 의해 여과되었으며, 잔여 원료에 대해 동일한 방법으로 3회 반복 추출하고, 50℃에서 감압 농축 후 동결 건조하여 고형분을 수득하였다.
- [0116] **실시예 및 비교예**
- [0117] 수득한 추출물의 안정성 및 기능성을 검증하고자 하기 표 1 및 2와 같이 시료를 혼합하여 실시예 및 비교예를 설정하였다.

표 1

[함량(중량부)]

[0118]

구분	실시예							
	1	2	3	4	5	6	7	8
쥐눈이콩 추출물	300	200	200	200	200	150	120	100
검은깨 추출물	300	200	200	200	200	150	120	100
백하수오 추출물	-	200	-	-	-	150	120	100
어성초 추출물	-	-	200	-	-	150	120	100
흑미 추출물	-	-	-	200	-	-	120	100
천마 추출물	-	-	-	-	200	-	-	100

표 2

[함량(중량부)]

[0119]

구분	비교예											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
쥐눈이콩 추출물	600	-	-	-	-	-	300	300	200	-	-	-
검은깨 추출물	-	600	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
백하수오 추출물	-	-	600	-	-	-	300	-	200	200	-	200
어성초 추출물	-	-	-	600	-	-	-	300	200	200	200	200
흑미 추출물	-	-	-	-	600	-	-	-	-	200	200	-
천마 추출물	-	-	-	-	-	600	-	-	-	-	200	200

[0120] **실험예 1 : 피부 안전성 평가**

[0121] 실시예 및 비교예의 시료에 대한 피부 안전성을 검증하기 위해, 섬유아세포(HDF)에 대한 MTT assay 실험을 수행하였다.

[0122] 실시예 및 비교예의 시료를 정제수에 25, 50, 100, 200, 400 µg/mL의 농도별로 각각 현탁한 후, 세포 생존율을 측정하였다.

[0123] 세포 독성은 MTT{3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2-5-diphenyltetrazolium bromide} 시약을 이용하여 세포 생존율을 측정하는 모스만(Mosmann)의 방법을 변형하여 수행하였다.

[0124] 섬유아세포(HDF)를 각각 96-웰 플레이트에 1×10^4 cells/well의 농도로 분주하여 37°C, 5% CO₂에서 48시간 동안 배양하였다.

[0125] 배양 배지를 제거하고 시료를 농도별로 처리한 배지에 48시간 동안 배양한 후 배지를 제거하고 PBS(Phosphate buffered saline)로 반복 세척하였다.

[0126] MTT를 5mg/mL로 PBS에 녹여 50 µL 첨가하고 37°C, 5%의 CO₂에서 48시간 동안 배양하였다. DMSO(Dimethyl sulfoxide)를 한 웰(well) 당 100L 넣고, 10분 동안 교반한 후 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0127] 측정 결과, 각 시료의 모든 농도에서 세포 독성은 확인되지 않았다. 기 결과는 상기 시료가 인체에 무해할 뿐만 아니라 인체 안전성이 우수함을 시사한다.

[0128] **실험예 2 : 모유두세포 증식 촉진 활성 평가**

[0129] 온도 민감 T 항원을 인코딩한 폴리오마바이러스 라지 T 유전자(polyomavirus large T gene)를 트랜스팩션하여 제조한 PVG 귀수염 모유두세포(Rat Vibrissa dermal papillae cell)를 이용하여 실시예 및 비교예 시료의 모유두세포 증식 촉진 효과를 평가하였다.

[0130] 상기 모유두세포를 6-웰 플레이트에 한 웰 당 약 10^4 세포/웰의 농도로 배양하였다.

[0131] 실시예 및 비교예의 시료를 DMSO(Dimethyl sulfoxide) 또는 에탄올에 각각 용해시킨 후, 5% FBS 혈청 농도의 DMEM 배지로 순차적 희석(serial dilution)하여 최종 농도를 10ppm으로 조절하였다.

[0132] 실시예 및 비교예의 시료가 첨가된 배지 200 µL를 각각 웰 당 첨가한 후, 37°C 5% CO₂ 배양기에서 약 3일간 배양하였으며, MTT 용액을 각 웰 당 50 µL씩 첨가한 후, 동일한 배양기에서 4시간 동안 더 배양하였다.

[0133] MTT 시약이 세포 내 미토콘드리아에 흡수된 후 상등액을 제거하고, DMSO를 150 µL 첨가하였으며, 10분간 교반하여 균일하게 프로마잔(formazan) 염료(dye)를 용해시켰다.

[0134] 515nm 파장에서 ELISA 리더를 이용하여 O.D. 값을 측정하였으며, 미리 만들어진 표준 곡선에 맞추어 세포 수를 측정하였다.

[0135] 측정된 세포 수를 기초로 실시예 및 비교예의 모유두 세포 증식 촉진능(%)을 계산하였다. 평가 결과는 하기 표 3과 같다.

표 3

구분	세포증식촉진효과(%)
실시예 1	57.9±1.1
실시예 2	63.6±1.3
실시예 3	62.2±1.2
실시예 4	63.2±1.1
실시예 5	62.9±1.1
실시예 6	65.4±1.1
실시예 7	67.2±1.2
실시예 8	70.1±1.1
비교예 1	24.5±1.3
비교예 2	20.2±1.2
비교예 3	22.5±0.9
비교예 4	25.0±1.3
비교예 5	21.6±1.0
비교예 6	23.9±1.2
비교예 7	26.4±1.0
비교예 8	35.8±1.0
비교예 9	38.2±0.9
비교예 10	41.5±1.1
비교예 11	40.9±1.0
비교예 12	39.5±1.1

[0137] 표 3을 참조하면, 실시예의 혼합 시료는 비교예의 시료와 비교하여 현저하게 우수한 모두유 세포 증식 촉진 효과를 나타내었으며, 시료의 복합 적용에 따른 시너지 효과가 규명되었다.

[0138] 특히, 실시예 2 내지 8의 시료는 실시예1과 비교하여 세포 증식을 더욱 촉진하였으므로, 탈모 방지 및 육모 촉진 효과가 매우 우수한 것으로 평가할 수 있다.

[0139] **실험예 3 : 모세혈관 확장효과 평가**

[0140] 실시예 및 비교예 시료의 모세혈관 확장효과를 평가하고자, 섬유아세포(fibroblast)의 증식 정도를 측정하였다.

[0141] 칼슘통로는 활성화되어 미토제네시스(mitogenesis)를 촉진하고, 혈관 평활근(vascular smooth muscle)을 이완시켜 혈관의 확장을 유도하는 반면, 차단에 의해 NIH3T3 섬유아세포(fibroblast)의 증식을 촉진하므로 섬유아세포의 증식 정도를 평가하여 칼슘통로의 개방 여부를 확인할 수 있다.

[0142] 시료의 모세혈관 확장능을 평가하기 위해, NIH3T3 섬유아세포를 24-웰 배양 플레이트에 10⁴ 세포/웰의 농도로 시드(seed)하고, 10% FCS(fetal calf serum) 및 2mM L-글루타민을 포함하며 항생제를 포함하지 않는 DMEM 배지에 24시간 동안 배양하였다.

[0143] 한편, 상기 배양된 배지를 실험예 1과 동일한 방법으로 제조된 실시예 및 비교예의 추출물이 첨가된 각 배지로 교체하고 72시간 동안 더 배양하였다.

[0144] 이때, 배지를 제거한 후 PBS(Ca²⁺/Mg²⁺ 없음)로 세척하였으며, 0.5ml TE(trypsin-ethylenediamine tetraacetic acid)로 처리한 후 배양하였다.

[0145] 10%(v/v) FCS가 포함된 DMEM를 첨가하고 세포를 분리한 후 EP 튜브에 넣어 5500rpm에서 원심 분리하였다.

[0146] 상등액을 제거한 후 남은 세포액을 100 μL의 PBS에 현탁한 후 혈구 계산기(hemocytometer)를 통해 세포수를 카운팅하였다.

[0147] 상기 결과에 따라 측정된 실시예 및 비교예의 모세혈관 확장효과는 하기 표 4와 같다.

표 4

구분	모세혈관확장효과(%)
실시예 1	51.5±2.1

[0148]

실시예 2	57.3±1.4
실시예 3	56.9±1.6
실시예 4	58.2±1.4
실시예 5	57.1±1.4
실시예 6	61.2±1.6
실시예 7	63.7±1.8
실시예 8	67.1±1.7
비교예 1	21.1±1.2
비교예 2	23.7±1.1
비교예 3	26.4±1.3
비교예 4	31.5±1.4
비교예 5	29.3±1.2
비교예 6	30.5±1.3
비교예 7	34.2±1.4
비교예 8	35.9±1.1
비교예 9	36.2±1.3
비교예 10	37.9±1.1
비교예 11	35.5±1.4
비교예 12	36.9±1.2

[0149] 표 4를 참조하면, 실시예의 혼합 시료는 비교예의 시료와 비교하여 모세혈관 확장효과가 현저하게 우수하였다. 특히, 실시예 2 내지 8의 시료는 실시예1과 비교하여 모세혈관 확장효과가 더욱 우수하였으므로, 두피 모세혈관의 혈액 순환을 개선하여 모발 건강을 증진시키고 탈모의 진행을 억제할 수 있는 것으로 평가된다.

[0150] **실험예 4 : 모발 촉진 활성 평가**

[0151] 모발이 휴지기에 들어선 생후 약 50일 된 생쥐(C57BL/6)의 모발을 제거한 후 실시예 및 비교예의 모발 성장 촉진 효과를 평가하였다.

[0152] 본 실험에서 몸무게, 크기 등 특성이 유사한 생쥐를 4마리씩 20으로 나눈 후 개별적으로 사육하여 모발의 성장 정도를 측정하였다.

[0153] 실시예 및 비교예의 시료를 2.0 중량% 포함하는 시리얼 사료를 섭취하도록 한 후 30일간 사육하고 제모 부위에서 성장한 모발을 분리하여 중량을 측정하였다.

[0154] 실시예 및 비교예의 시료를 포함하지 않는 시리얼 사료를 섭취한 생쥐를 대조군으로 설정하여 추출물에 의한 모발 성장 촉진 효과를 더욱 명확하게 평가하였다. 측정 결과는 하기 표 5와 같다.

표 5

[0155]

구분	모발중량(mg)
실시예 1	236.1±11.8
실시예 2	256.9±12.3
실시예 3	254.2±12.1
실시예 4	252.5±11.2
실시예 5	236.2±11.7
실시예 6	269.5±11.5
실시예 7	278.2±13.1
실시예 8	284.8±12.6
비교예 1	132.9±8.1
비교예 2	123.6±9.3
비교예 3	119.2±7.6
비교예 4	120.3±9.6
비교예 5	124.6±8.4
비교예 6	123.2±8.6
비교예 7	138.5±9.1
비교예 8	136.5±9.4
비교예 9	141.2±8.9
비교예 10	132.5±9.0

비교예 11	131.9±8.6
비교예 12	133.1±9.3
대조군	53.7±6.5

- [0156] 표 5를 참조하면, 실시예의 혼합 시료는 비교예의 시료와 비교하여 모발 성장 촉진 효과가 현저하게 우수하였다.
- [0157] 특히, 실시예 2 내지 8의 시료는 실시예1과 비교하여 모발 성진 촉진 효과가 더욱 우수하였으므로 모발 건강을 증진 시키고 탈모를 억제할 수 있을 것으로 평가된다.
- [0158] **실험예 5 : 자유라디칼 소거 활성 평가**
- [0159] 상기 실시예 및 비교예의 추출물을 정제수에 현탁(농도 10%)하여 자유라디칼 소거 활성(free radical scavenging activity)을 평가하였다.
- [0160] DPPH 측정법은 억제제(inhibitor)가 안정한 라디칼 DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical)를 소거하여 탈색되는 정도를 540 nm에서 흡광도를 측정하는 방법이다.
- [0161] 대조군으로서 디부틸히드록시톨루엔(BHT, Dibutyl hydroxy toluene)을 이용하여 자유라디칼 소거 활성을 명확히 비교하였다.
- [0162] 디부틸히드록시톨루엔은 무색의 결정, 또는 백색의 결정성 분말로 항산화 효과가 우수하여 식용유지, 유지성 식품의 산화방지제로 널리 사용되고 있다.
- [0163] 실험의 정확도를 위하여 동일한 실험을 3회 반복하였으며, 결과는 하기 표 6과 같다.

표 6

구분	DPPH radical scavenging activity(%)
실시예 1	148.5
실시예 2	153.7
실시예 3	151.9
실시예 4	152.6
실시예 5	151.5
실시예 6	158.4
실시예 7	163.2
실시예 8	167.6
비교예 1	127.9
비교예 2	129.3
비교예 3	128.6
비교예 4	131.8
비교예 5	128.7
비교예 6	128.8
비교예 7	132.0
비교예 8	136.4
비교예 9	134.7
비교예 10	135.5
비교예 11	131.8
비교예 12	132.0
대조군	161.5

- [0165] 표 6을 참조하면, 실시예의 시료는 농도가 증가함에 따라 자유라디칼 소거활성이 증가하였으며, 비교예의 시료와 비교하여 자유라디칼 소거활성이 현저히 우수하였다.
- [0166] 자유라디칼 소거활성이 높을수록 항산화 효과가 뛰어난 것으로 평가할 수 있으며, 특히, 실시예 2 내지 8의 시료는 실시예1과 비교하여 항산화 효과가 더욱 우수하였다.
- [0167] **실험예 6 : 항염 활성 평가**

- [0168] Lipopolysaccharide(LPS)로 자극을 유도한 쥐 대식세포주 RAW 264.7 cell에서 EAME의 NO 생성 억제능을 분석하여 실시예 및 비교예의 항염 활성을 평가하였다.
- [0169] 실험을 위해 Murine macrophage cell line 인 Raw 264.7 세포를 한국 세포주 은행으로부터 분양 받아 100units/mL penicillin-streptomycin과 10% fetal bovine serum(FBS)이 함유된 DMEM 배지를 사용하여 37℃ 5% CO₂ incubator에서 배양하였으며, 2 내지 3일에 한번씩 계대 배양을 실시하였다.
- [0170] Raw 264.7 세포(3 X 10⁵ cells/mL)를 18시간 전 배양 후, 실시예 및 비교예의 시료(농도 10%)와 LPS(1 µg/mL)를 동시 처리하여 24시간동안 배양하였다.
- [0171] 생성된 NO는 Griess reagent을 이용하여 세포 배양액 중 존재하는 NO₂⁻의 형태로 측정하였다.
- [0172] 음성 대조군은 LPS를 처리하지 않았으며, 양성 대조군은 LPS만을 처리하여 생성된 NO량을 측정하였다.
- [0173] 세포 배양 상층액 100 µL 및 Griess 시약(1%(w/v) sulfanilamide, 0.1%(w/v) naphthylethylenediamine in 2.5%(v/v) phosphoric acid)을 동량 혼합하여 10분간 실온 암실에서 반응시킨 후 ELISA reader를 이용하여 흡광도(540nm)를 측정하였다.
- [0174] 표준농도 곡선은 sodium nitrite(NaNO₂)를 serial dilution하여 얻었다(10-100 µM).

표 7

[0175]	구분	NO 생성량 (µM)
	실시예 1	15.35
	실시예 2	13.45
	실시예 3	12.42
	실시예 4	12.73
	실시예 5	13.23
	실시예 6	11.53
	실시예 7	10.93
	실시예 8	9.85
	비교예 1	21.34
	비교예 2	23.71
	비교예 3	22.28
	비교예 4	21.34
	비교예 5	23.61
	비교예 6	22.43
	비교예 7	19.21
	비교예 8	21.52
	비교예 9	23.31
	비교예 10	22.59
	비교예 11	21.52
	비교예 12	20.25
	LPS(-)	6.53
	LPS(+)	37.24

- [0176] 표 7을 참조하면, 실시예의 혼합 시료는 비교예의 시료와 비교하여 더 높은 NO(Nitric oxide) 생성 억제 활성을 나타냈으며, 항산화 및 항염증 활성이 현저히 우수하였다.
- [0177] **실험예 7 : 항균 활성 평가**
- [0178] 실시예 및 비교예 시료의 항균 활성을 평가하였다. 공시균으로서 피티로스포룸 오발(*Pityrosporum ovale* ATCC 12087)을 사용하였으며 양성 대조균으로서 화학합성 항균제인 트리클로산을 사용하였다.
- [0179] 프로피오니박테리움 아크네스균은 5% sheep blood가 포함된 tryptic soy agar 배지에 striking하여 2 내지 3일 정도 배양 하여 미리 준비해 둔 McFaland nephelometer standards 0.5(1% Barium chloride(0.05 ml) + 1% Sulfuric acid(9.95 ml))의 탁도와 동일하게 하면 균의 농도는 1x10⁸ cells/mL이었다.

[0180] 액체 BHI배지 2ml에 각 시료를 0에서 2000ppm까지 100ppm 간격으로 희석한 후, 1×10^8 cells/mL의 균액 20 μ L를 접종하여 48시간 동안 배양시켰다.

[0181] 혼탁도를 기준으로 성장이 저해된 최소농도를 최저 성장저해농도(MIC)로 정의하였으며, 결과는 하기 표 8과 같다.

표 8

구분	최저성장저해농도 MIC(PPM)
실시예 1	620
실시예 2	580
실시예 3	570
실시예 4	580
실시예 5	590
실시예 6	540
실시예 7	520
실시예 8	490
비교예 1	1120
비교예 2	1270
비교예 3	1140
비교예 4	1120
비교예 5	1270
비교예 6	1130
비교예 7	1060
비교예 8	1030
비교예 9	1100
비교예 10	970
비교예 11	1060
비교예 12	1020
트리클로산	450

[0183] 표 8을 참조하면 실시예의 혼합 시료는 양성 대조군인 트리클로산과 비교하여 항균 효과가 다소 미약하였으나, 비교예의 시료와 비교하여 항균 효과가 현저히 우수하였다.

[0184] 특히, 실시예 2 내지 8의 시료는 실시예1과 비교하여 비듬균에 대한 항균 효과가 더욱 우수하였다.

[0185] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

[0186] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.