



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0083054
(43) 공개일자 2015년07월16일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7048 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
A61K 8/60 (2006.01) A61Q 7/00 (2006.01)
C07H 17/04 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/7048 (2013.01)
A23L 1/30 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-0089618(분할)
(22) 출원일자 2015년06월24일
심사청구일자 2015년06월24일
(62) 원출원 특허 10-2013-0046224
원출원일자 2013년04월25일
심사청구일자 2013년04월25일
- (71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
- (72) 발명자
양용모
서울특별시 성동구 성수일로4길 26, 102동 1703호 (성수동2가, 서울숲힐스테이트아파트)
김미혜
경기도 수원시 장안구 장안로 211, 202동 1502호 (정자동, 동신2차아파트)
최유연
서울특별시 노원구 덕릉로94가길 20, 201동 507호 (상계동, 청암2단지아파트)
- (74) 대리인
안소영

전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 아스트라갈로시드 I V를 포함하는 탈모 방지 또는 발모 촉진용 조성물

(57) 요약

본 발명은 아스트라갈로시드 IV를 함유하는 탈모 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 건강기능식품 및 화장품 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 아스트라갈로시드 IV는 모낭에서의 세포 사멸을 억제하고 모발의 성장을 촉진함으로써, 탈모를 방지하고 발모를 촉진하는 효과가 우수하여 탈모 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



정상



탈모



아스트라갈로시드 IV 1μM



아스트라갈로시드 IV 100μM

(52) CPC특허분류

A61K 8/60 (2013.01)

A61Q 7/00 (2013.01)

C07H 17/04 (2013.01)

A23V 2200/318 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)를 유효성분으로 포함하는 휴지기 탈모증의 탈모 방지 및 발모 촉진용 약학적 조성물로서, 상기 아스트라갈로시드 IV 는 모낭에서의 세포 사멸을 억제하고, 모발의 성장을 촉진하는 것인 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 아스트라갈로시드 IV 는 TNF- α , IL-1 β , IL-4 및 IL-6로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 사이토카인의 생산을 감소시키는 것인, 휴지기 탈모증의 탈모 방지 및 발모 촉진용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 조성물은 외용액제, 크림, 연고, 페이스트, 에어로졸, 젤 및 로션 중에서 선택된 제형을 갖는, 휴지기 탈모증의 탈모 방지 및 발모 촉진용 약학적 조성물.

청구항 4

아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)를 유효성분으로 포함하는 휴지기 탈모증의 탈모 방지 및 발모 촉진용 건강기능식품.

청구항 5

아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)를 유효성분으로 포함하는 휴지기 탈모증의 탈모 방지 및 발모 촉진용 화장품 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 아스트라갈로시드 IV를 함유하는 탈모 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 건강기능식품 및 화장품 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 탈모란 정상적으로 모발이 있어야 할 곳에 모발이 없는 상태를 말하며 유전적 요인이 가장 주요한 원인으로 알려져 있다. 최근 사회적 스트레스의 증가와 더불어 환경오염 및 인스턴트 식품 등 서구화된 식습관, 잦은 과마와 염색, 잘못된 두피관리들로 인하여 탈모 인구가 점차 증가하고 있는 추세이다.

[0003] 모발은 성장기(Anagen), 퇴화기(Catagen), 휴지기(Telogen)의 주기를 돌며 발모와 탈모를 반복하며 유지되고 있다. 상세하게는, 모발을 성장시키는 성장기(anagen), 성장을 종료하고 모구부가 축소하는 시기인 퇴화기(catagen), 모유두가 활동을 멈추고 모발을 두피에 머무르게 하는 시기인 휴지기(telogen), 모유두가 활동을 시작하거나 또는 새로운 모발을 발생시켜 오래된 모발을 탈모시키는 시기인 발생기로 나눌 수 있다. 모발의 성장기는 남성 3~5년, 여성이 4~6년 정도이며, 그 후 퇴화기 30~45일 정도, 휴지기가 3~4개월 정도 지나 자연적으로 탈모가 된다. 그리고 휴지기의 마지막이 되면 새로운 모발이 생성되는 발생기가 시작된다. 탈모는 정상적인 현상이나 정상인 사람이 성장기 상태의 모발이 많은 데 비해 보통 탈모증(Alopecia)인 사람은 휴지기 상태의 모발이 많아 눈으로 보이는 탈모현상이 나타난다.

[0004] 모낭(hair follicle)의 형성은 베타-카테닌(β -catenin)의 작용에 의해 기원판(placode)이 형성되면(Laura C. 2003), 형성된 기원판로부터 모낭이 완성되고 모낭 내부의 모유두세포(Dermal papilla cell)에 의해 모발이 생성되는 과정을 통해 이루어진다. 이렇게 모발이 자라는 시기를 성장기라 한다. 처음 생성된 모발은 성장기 시기

를 거쳐 휴지기로 들어가며, 이는 퇴화기를 거쳐 탈모되며 다시 성장기로 들어가는 주기를 돈다.

[0005] 보다 구체적인 모발의 주기는 다음과 같다.

[0006] 성장기(Anagen Stage; 2~7년)는 모발이 성장하는 기간이다. 성장기 단계는 모발이 모구로부터 모포로 나가려는 모발 생성 단계와 딱딱한 케라틴이 모낭 안에서 만들어지는 단계로 나뉘어 진다. 성장기의 수명은 2~7년이며 전체 모발(10~15만개)의 89~90%를 차지하고 성장기 단계에서 모발은 평균적으로 한 달에 1~1.5cm정도 자란다.

[0007] 퇴행기(Catagen Stage; 2~3주)는 성장기가 끝나고, 모발의 형태를 유지하면서 대사과정이 느려지는 시기로 천천히 성장한다. 이 단계에서는 케라틴을 만들어 내지는 않는다. 퇴화기의 수명은 2~3주이며 전체 모발의 1%를 차지한다. 모구부가 수축하여 모유두로 나뉘지며 모낭에 둘러싸여 위쪽으로 올라간다. 이때 세포분열은 정지한 상태이다.

[0008] 휴지기(Telogen Stage; 3개월)는 모유두가 위축되고 모낭은 차츰 쪼그라들며, 모근은 위쪽으로 밀려 올라가 빠지게 되는 상태이다. 모발이 없어지는 시기로서 다음 성장기 단계가 시작될 때까지의 수명은 3~4개월이고 전체 모발의 4~14% 해당(분만 후 30~40%)된다.

[0009] 탈모증을 나타내는 사람들의 특징은 모발의 소형화에 있다. 탈모가 진행될수록 성장기의 기간이 짧아지고 이로 인하여 모발은 점점 소형화된다. 따라서 탈모의 치료를 위해서는 휴지기 상태의 모낭이 성장기로 상태가 될 수 있도록 하고, 짧아진 성장기를 늘려주는 것이 중요하다.

[0010] 탈모증은 크게 남성형 탈모증(male pattern alopecia)과 여성용 탈모증(female pattern hair loss)으로 분류될 수 있으며, 그 밖의 탈모증으로는 원형탈모증(alopecia areata), 기타 원인에 의한 탈모증 등이 있다.

[0011] 남성형 탈모증은 테스토스테론(Testosterone)이라는 남성호르몬에 의해 나타나는 현상으로 이 테스토스테론이 5 알파-리덕타아제(α -reductase)라는 효소에 의해 더 강력한 호르몬인 디하이드로테스토스테론(Dihydrotestosterone; DHT)으로 바뀌게 되면, 이 호르몬이 모낭에 작용하여 모낭을 성장기 단계에서 퇴화 단계로 유도하여 탈모가 일어나게 한다. 따라서 이러한 원인에 의한 탈모증을 치료하기 위하여 5 알파-리덕타아제에 의한 DHT의 생성을 억제하는 방법이 주로 사용된다.

[0012] 여성형 탈모증은 주로 폐경기 이후 에스트로겐 양의 감소에 의해 발생한다. 여성의 탈모증은 남성형 탈모증의 모양과는 다르게 머리 앞부분은 빠지지 않고 중간 부분의 머리만이 주로 탈모된다. 여성의 탈모증은 5 알파-리덕타아제와의 연관관계가 남성보다 적게 작용한다. 따라서 5 알파-리덕타아제를 억제시키는 약물은 폐경기 이후의 탈모증 여성에게는 별로 효과가 없다. 따라서, 이러한 탈모증을 위한 치료제로는 주로 미녹시딜이나 에스트로겐을 사용한다. 원형 탈모증은 자가면역질환이나 정신적 스트레스, 유전적 소인에 의해 발생한다. 원형 또는 난원형의 탈모가 일어나며, 두부 백선이나 발모벽이 생기는 특징을 갖고 있다. 이러한 원형 탈모증은 안드로겐성 탈모증과는 근본적으로 원인이 다르며, 치료법 또한 달라서 부신 피질 호르몬제를 처리하는 방법을 사용하거나, 미녹시딜을 환부에 바르거나 인위적으로 환부에 자극을 유발하는 방법을 사용한다.

[0013] 이처럼 다양하고 복잡한 탈모 원인에 대하여, 현재까지 알려진 탈모 방지 제품에는 유효성분으로 혈액 순환 촉진, 남성 호르몬 작용 억제, 모근 기능 강화 등을 목적으로 하는 성분 등이 시중에 제품으로 판매되고 있으나, 효과 면에서 뚜렷한 효과를 지닌 것은 아직까지 없는 상태이고 부작용의 문제가 제기되기도 한다.

[0014] 최근 사용되고 있는 발모제로는, 처음에는 혈액 순환 촉진을 위한 용도로 개발되어 사용되다가 이를 사용하는 환자들 사이에서 부작용으로 발모 효과를 나타내는 것으로 알려져, 이후, 발모용 원료로 미국식품의약품안전청(FDA)에서 승인받아 발모 치료제로 사용되고 있는 미국특허 제3,382,247호의 미녹시딜(6-Amino-1,2-dihydro-1-hydroxy-2-imino-4-phenoxy-pyrimidine) 및 미국특허 제 5,215,894 호에서 언급된 머크사의 피나스테라이드(finasteride)가 있다.

[0015] 그러나, 미녹시딜의 경우 끈적이는 사용감과 피부에 자극을 유발하는 부작용이 보고된 바 있으며, 피나스테라이드의 경우 현재 경구투여용 제제로 사용되고 있으나, 이의 섭취에 따라 성기능 장애 등의 부작용이 보고된 일도 있을 뿐 아니라, 탈모에 대해서도 꾸준한 복용이 이루어져야만 효과가 있다는 부작용이 있다.

[0016] 이에 본 발명자들은 기존의 발모제를 대체할 수 있는 새로운 물질에 관하여 연구를 계속하던 중 아스트라갈로사이드 IV(Astragaloside IV)가 탈모를 방지하고 발모를 촉진함을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0017] (특허문헌 0001) 미국특허 제3,382,247호
(특허문헌 0002) 미국특허 제5,215,894호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0018] 본 발명의 목적은 아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)를 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 발모 촉진용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0019] 또한, 본 발명의 목적은 아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)를 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 발모 촉진용 건강기능식품을 제공하는 것이다.
- [0020] 또한, 본 발명의 목적은 아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)를 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 발모 촉진용 화장품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0021] 본 발명은 아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)를 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 발모 촉진용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0022] 또한 본 발명은 상기 아스트라갈로시드 IV 는 모발의 성장을 촉진하는 것인, 탈모 방지 또는 발모 촉진용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0023] 또한 본 발명은 상기 아스트라갈로시드 IV 는 모낭에서의 세포 사멸을 억제하는 것인, 탈모 방지 또는 발모 촉진용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0024] 또한 본 발명은 상기 아스트라갈로시드 IV 는 TNF- α IL-1 β IL-4 및 IL-6로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 사이토카인의 생산을 감소시키는 것인, 탈모 방지 또는 발모 촉진용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0025] 또한 본 발명은 상기 조성물은 외용액제, 크림, 연고, 페이스트, 에어로졸, 젤 및 로션 중에서 선택된 제형을 갖는, 탈모 방지 및 발모 촉진용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0026] 또한 본 발명은 아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)를 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 발모 촉진용 건강기능식품을 제공한다.
- [0027] 또한 본 발명은 아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)를 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 발모 촉진용 화장품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0028] 본 발명의 아스트라갈로시드 IV는 모낭에서의 세포 사멸을 억제하고 모발의 성장을 촉진함으로써, 탈모를 방지하고 발모를 촉진하는 효과가 우수하다.

도면의 간단한 설명

- [0029] 도 1은 마우스의 등에서 아스트라갈로시드 IV의 처리에 따른 발모 효과를 확인한 도이다.
- 도 2는 H&E 염색법을 이용하여 아스트라갈로시드 IV의 처리에 따른 손상된 모발의 회복 및 새로운 모발의 성장을 확인한 도이다.
- 도 3 및 도 4는 아스트라갈로시드 IV의 처리에 의한 모낭의 세포사멸 억제 효과를 TUNEL 에세이 및 카스파아제-3 양성 세포로 확인한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 5는 아스트라갈로시드 IV의 처리에 의한 세포사멸 인자 카스파아제-3, -8 및 -9의 발현 감소 및 Bax 및 p53 감소를 확인한 도이다.

도 6은 및 도 7은 아스트라갈로시드 IV의 처리에 의한 NF- κ B, 인산화된 p-I κ B- α 발현 및 i-Nos 및 Cox-2의 발현의 감소를 확인한 도이다.

도 8은 아스트라갈로시드 IV 처리에 의한, ERK, SAPK/JNK 및 p38 인산화 억제 효과를 확인한 도이다.

도 9 아스트라갈로시드 IV 처리에 의한 c-fos 및 c-Jun의 억제를 확인한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0030] 본 발명은 아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)를 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 발모 촉진용 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0031] 본 발명의 아스트라갈로시드 IV는 모낭에서의 세포 사멸을 억제하고 모발의 성장을 촉진함으로써, 탈모를 방지하고 발모를 촉진하는 효과가 뛰어나므로 탈모 방지 또는 발모 촉진용 약학적 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.
- [0032] 상기 아스트라갈로시드 IV는 사포닌계 물질로서 아스트라갈로시드 IV를 성분으로 포함하고 있는 천연물질로부터 정제하여 사용하거나, 정제된 아스트라갈로시드 IV를 구입하여 사용할 수 있다.
- [0033] 상기 아스트라갈로시드 IV는 염증을 억제하는 항염증 작용을 나타낼 수 있으며, 퇴화기의 모낭에 적용 시, 모낭에서 세포사멸인자를 억제하여 세포사멸을 억제하고 모발의 성장을 촉진하여 퇴화기의 모낭 상태를 성장기의 모낭상태로 이행되도록 할 수 있다.
- [0034] 상기 아스트라갈로시드 IV는 TNF- α , IL-1 β , IL-4 및 IL 6로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 사이토카인의 생산을 감소시킬 수 있다.
- [0035] 본 발명의 조성물은 실제 임상 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있다. 상기 조성물은 바람직하게는 외용액제, 크림, 연고, 페이스트, 에어로졸, 젤 및 로션 중에서 선택된 1종의 제형을 가질 수 있다.
- [0036] 본 발명의 조성물을 약학적으로 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제 및 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [0037] 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제 및 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 본 발명의 약학적 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스, 락토오스 및 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘, 스테레이트, 탈크 같은 윤활제도 사용될 수 있다.
- [0038] 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0039] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제가 포함된다. 비수성용제와 현탁용제로는 프로필레글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤 및 젤라틴 등이 사용될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 비경구 투여 시 피하주사, 정맥주사 또는 근육 내 주사를 통하여 투여될 수 있다.
- [0040] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르며, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서 본 발명의 아스트라갈로시드 IV는 1일 0.1 내지 1000mg/kg으로 투여하는 것이 바람직하다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 다만, 상기 투여량의 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0041] 본 발명의 조성물은 탈모 방지 또는 발모 촉진을 위하여 단독으로, 또는 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0042] 또한 본 발명은 아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)를 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 발모 촉진용 건강기능식품을 제공한다.
- [0043] 본 발명의 건강기능식품은 아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품

성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 함량은 사용 목적(예 방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 아스트라갈로시드 IV는 식품의 총 중량에 대하여 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있다.

[0044] 또한, 상기 식품의 종류에는 특별한 제한이 없다. 본 발명의 아스트라갈로시드 IV를 첨가할 수 있는 식품의 예로는 음료, 껌, 비타민 복합제, 드링크제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

[0045] 본 발명의 건강기능식품은 건강기능음료일 수 있으며, 상기 음료는 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 예로는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토오스, 수크로오스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 또한, 상술한 것 이외의 향미제(사카린, 아스파탐 등)를 사용할 수 있다.

[0046] 본 발명의 건강기능식품은 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, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.

[0047] 또한 본 발명은 아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)를 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 발모 촉진용 화장료 조성물을 제공한다.

[0048] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분으로서 상기 아스트라갈로시드 IV 이외에 생체성분의 활성을 유지시켜주는 다양한 성분들, 예컨대 보존제, 삼투제, pH 조절제, 완충제, 안정제, 수산화알루미늄, 인산알루미늄, 계면활성제, 리포솜, 증점제 등 및 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들, 예컨대 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체 등을 포함할 수 있으며, 이에 제한되지 않는다.

[0049] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 임의의 제형으로 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더 및 스프레이 등으로 제형화 될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 클렌징크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 헤어컨디셔너, 헤어 토닉, 헤어 크림, 헤어 로션, 헤어 페이스, 헤어 겔, 헤어 팩, 헤어 마사지, 헤어 리퀴드, 헤어 스프레이, 헤어 무스, 트리트먼트, 비 에어로졸 무스, 비 에어로졸 스프레이, 에어로졸 무스, 에어로졸 스프레이, 파마제, 탈색제, 샴푸, 린스, 샴푸와 린스 혼합형, 비누, 피부를 세정하기에 적합한 바 또는 타블렛, 비누 바, 비누 타블렛, 수 분산액, 파우더 및 오일의 제형으로 제조될 수 있다.

[0050] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0051] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0052] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 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 에스테르를 이용할 수 있다.

[0053] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소 결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 등이 이용될 수 있다.

[0054] 본 발명의 제형이 계면활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아마이드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0055] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예 및 제제예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예 및 제제예

는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예 또는 제제에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0056] **실시예 1. 마우스에서의 모발 성장 유도 효과 확인**

[0057] 아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV) (시그마, St. Louis, MO, USA) 처리에 의한, 마우스에서의 모발 성장 유도 효과를 확인하기 위하여 마우스를 이용한 동물 실험을 수행하였다. 휴지기(in telogen phase)의 모근을 가진 분홍색의 7주령의 자연적 탈모 C57BL/6 마우스(18-20g) 및 정상 마우스를 선택하고 실험 동물 센터(경기도 오산, 한국)에서 구입하였다. 실험 동물들은 일정한 온도(23℃), 습도(55%) 및 12시간의 명/암 사이클로 식이제한없이 사육하였다. 모든 실험은 실험 동물의 보호와 이용을 위한 지침(보건복지교육부, NIH publication #78-23, 1996)에 따라 수행되었다. 1μM 및 100μM 아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV) 또는 메탄올을 국부적으로 하루에 한 회 탈모를 가진 마우스의 등(n=7)에 도포하여 처리하였다. 이러한 과정을 5일/주로 15일 동안 수행하고 마우스의 등 피부에서 모발 재성장을 관찰하였다.

[0058] 결과를 도 1에 나타내었다.

[0059] 도 1에 나타난 바와 같이, 아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)의 처리는 자연적 탈모를 가진 C57BL/6 마우스에서 용량의존적인 모발 재성장을 유도하였다. 반면, 아스트라갈로시드 IV 를 처리하지 않은 마우스의 등에는 자연적 퇴화 상태인 회색이 남아있었다. 아스트라갈로시드 IV(Astragaloside IV)의 국부 적용은 1μM 및 100μM 용량 모두에서 모발 성장을 유도하였으며, 100μM을 처리한 마우스에서는 거의 정상적인 수준에 가까운 모발 회복 능력을 나타내는 것을 확인하였다. 추가적으로, 퇴화기의 억제 및 성장기로의 진입을 의미하는 피부 색의 변화가 및 아스트라갈로시드 IV 처리에 의해 확인되었다.

[0060] **실시예 2. 모낭의 조직학적 분석**

[0061] 실시예 1과 같이 유지된 마우스를 15일 후 희생시킨 후, 마우스 등 부위의 피부를 적출하여 사용시까지 4% 포르말데하이드로 고정시키거나 동결보관하였다. 포르말데하이드로 24시간 동안 고정시킨 등 부위의 피부를 PBS(phosphate-buffered saline)로 이동시켰다. 고정된 피부는 에탄올 및 PBS로 수화되었다. 파라핀 고정된 부위를 4μM 두께로 절단하였으며 H&E(Hematoxylin and eosin) 염색을 수행하고 모발의 재성장을 관찰하였다. Leica Application Suite (LAS) 현미경 소프트웨어(Leica Microsystems Inc., IL, USA)를 이용하여 디지털 이미지를 얻었으며, 100배, 200배 및 400배 확대하여 관찰하였다.

[0062] 결과를 도 2에 나타내었다.

[0063] 도 2는 파라핀 모간(hair shaft)과 함께 모낭(hair follicles) 영양부족으로 유도된 자연 탈모를 가진 퇴화기의 모낭 및 이를 아스트라갈로시드 IV로 처리한 조직을 염색한 결과를 나타낸다. 자연 탈모를 가진 실험군에서는 피부 표면을 뚫고 나오는 모발을 확인할 수 없었으며, 털망울을 가진 모낭이 확인되지 않았다. 그러나, 아스트라갈로시드 IV를 처리한 실험군에서는 모낭의 모양 및 모낭에서 피부 표면을 뚫고 나간 모발과 모간을 확인할 수 있었다. 이를 통해, 아스트라갈로시드 IV의 처리는 모간 길이가 점점 가늘어지는 것을 회복시킬 뿐만 아니라 손상된 모발을 회복시키는 것을 확인할 수 있었다. 역최소화(Reversed miniaturized)된 모낭은 작은 호산구 및 잠식된 털망울을 가진 모섬유를 보여주었다.

[0064] **실시예 3. 모낭에서의 세포사멸의 억제 및 카스파아제-3의 감소**

[0065] 4μM 두께로 절단한 파라핀 절편을 항원차단을 위하여 10mM 구연산염 완충액(sodium citrate buffer)에서 가열시켰다. 내생적 퍼옥시다아제(endogenous peroxidase)의 감소를 위하여 슬라이드들은 3% H₂O₂로 30분동안 처리되었고 비특이적 결합을 최소화하기 위하여 정상 염소 혈청으로 처리되었다. TUNEL 및 항-마우스 카스파아제-3 IgG (BD Pharmingen, San Jose, CA, USA)를 슬라이드에 처리하고 4℃에서 하루 동안 두었으며, 그 후 비오티화된 항-토끼 항체(biotinylated anti-rabbit antibody)(BD Pharmingen)를 1시간 동안 처리하였다. 1시간 후, 아비딘/비오티닐 효소 복합체(avidin/biotinylated enzyme complex; ABC) 키트(Vector Laboratories, Burlingame, CA)를 사용하여 염색을 수행하였으며, 3,3'-다이아미노벤지딘(diaminobenzidine) (DAB; Dako, Glostrup, Denmark) 기질로 전개시켰다. Leica Application Suite (LAS) 현미경 소프트웨어(Leica Microsystems Inc., IL, USA)를 이용하여 디지털 이미지를 얻었으며, 100배 확대하여 관찰하였다.

[0066] 결과를 도 3 및 도 4에 나타내었다.

[0067] 도 3에 나타난 바와 같이, 탈모 마우스의 퇴화기 모낭의 세포 사멸 패턴은 최소화된 모낭을 가진 TUNEL-양성 세

포로 확인되었다. 아스트라갈로시드 IV를 처리한 마우스의 피부에서는 HF 매트릭스에서 적은 수의 TUNEL-양성 세포들이 확인되었다. 또한 도 4에 나타난 바와 같이, 카스파아제-3 양성 세포들은 탈모 영역의 모낭에서 관찰되었으며 아스트라갈로시드 IV의 처리가 모간의 회복과 함께 뚜렷하게 카스파아제-3 양성 세포를 감소시킴을 확인하였다. 이를 통해, 아스트라갈로시드 IV의 처리는 탈모 부위에서 모간의 회복과 함께 카스파아제-3 양성 세포들을 뚜렷하게 감소시킬 수 있음을 확인하였다.

[0068]

실시예 4. 세포사멸-연관 단백질 발현 변화

[0069]

아스트라갈로시드 IV 처리에 의한 퇴화의 억제 효과의 분자적 메커니즘을 확인하기 위하여, 세포사멸-연관 단백질의 발현을 웨스턴 블랏으로 확인하였다. 피부 조직의 전체 조직 단백질 분획(100 mg, n = 7/그룹)을 프로테아제 억제제 콕테일(protease inhibitor cocktail) (Roche, Indianapolis, IN, USA)을 포함하는 2 mL T-PER 조직 단백질 추출 시약(Pierce, Rockford, IL, USA)을 이용한 균질화에 의해 얻었다. 피부 조직의 핵 및 세포질 단백질 분획(100 mg, n = 7/그룹)을 세포질완충액(cytoplasmic buffer)(10 mM HEPES [pH 7.9], 10 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 0.1 mM EGTA, 1 mM DTT, 0.15% Nonidet P-40, 50 mM β -glycerophosphate, 10 mM NaF, 5 mM Na_3VO_4)에서의 균질화를 통해 얻었으며, 프로테아제 억제제 콕테일을 포함하는 핵 완충액(nuclear buffer)(20 mM HEPES [pH 7.9], 400 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM DTT, 0.50% Nonidet P-40, 50 mM β -glycerophosphate, 10 mM NaF, 5 mM Na_3VO_4) 내에서 15분 동안 펠렛(pellet)을 부유시켰다. 얻어진 균질현탁액은 4°C에서 12,000×g로 30분 동안 원심분리되었으며, 각각의 상층액은 전체-조직, 세포질 및 핵 단백질로 표지되었다. β -액틴(β -actin), i-Nos(inducible nitric oxide synthase), Cox-2(cyclooxygenase-2), c-fos, c-Jun, ERK(extracellular signal-regulated kinase), 인산화-ERK((p)-ERK), SAPK(stress-activated protein kinase)/c-Jun N-말단 카이나아제(SAPK/JNK), p-SAPK/JNK, p38, p-p38, 카스파아제-3, -8, -9, p53 및 Bax의 발현 분석을 위하여 얻어진 단백질 분획을 이용하여 웨스턴 블랏을 수행하였다. 핵단백질 분획은 NF- κ B의 활성화를 분석하는데 사용되었으며, 세포질 단백질 분획은 κ B- α 및 p-I κ B- α 수준을 분석하는데 사용되었다. 30 μ g 단백질을 10% SDS-PAGE 겔상에서 전기영동시켰고, PVDF 막(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)으로 이동시켰다. 각각의 일차 항체들(3% BSA(Bovine serum albumin) 내 1:1000 희석; Cell signaling, USA)과 함께 막에서 배양하였으며, 항-토끼 알카라인 인산화제-컨쥬게이트드 이차 항체(Anti-rabbit alkaline phosphatase-conjugated secondary antibody)(3% BSA(Bovine serum albumin) 내 1:2000 희석; Santa Cruz, CA, USA)가 표적 단백질을 검출하는데 사용되었다. 실온에서 2시간 동안 배양한 후, 결합된 항체들이 ECL(enhanced chemiluminescence) 검출 시약(Amersham Pharmacia, Piscataway, NJ, USA)에 의하여 시각적으로 확인되었다. 상대적인 밴드의 밀도는 컴퓨터화된 밀도계(densitometry) 시스템을 사용하여 결정하였다.

[0070]

결과를 도 5 내지 도 9에 나타내었다.

[0071]

도 5에 나타난 바와 같이, 세포사멸 인자인 카스파아제-3, -8 및 -9의 발현은 1 및 100 μ M 아스트라갈로시드 IV의 처리에 의해 감소되었으나 아스트라갈로시드 IV 비처리구인 탈모 마우스에서는 감소되지 않았다. 또한 세포사멸에 의한 모발 퇴화의 마우스에 아스트라갈로시드 IV를 처리한 결과, Bax 및 p53 수준을 뚜렷하게 감소시키는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 아스트라갈로시드 IV가 항-세포사멸 효과를 가짐을 나타낸다.

[0072]

또한 도 6 및 도 7에 나타난 바와 같이, 아스트라갈로시드 IV로 처리된 마우스 피부에서의 NF- κ B, 인산화된 p-I κ B- α 발현 및 i-Nos 및 Cox-2의 발현은 탈모 마우스와 비교하여 감소됨을 확인하였다. 이러한 결과는 아스트라갈로시드 IV의 처리에 의하여 NF- κ B가 핵으로 이동하는 것이 차단되며 I κ B- α 의 인산화가 차단된다는 것을 나타낸다.

[0073]

도 8에 나타난 바와 같이, 아스트라갈로시드 IV가 세가지 MAP 카이나아제의 인산화를 억제하는지 여부를 확인한 결과, 아스트라갈로시드 IV의 처리에 따라 ERK, SAPK/JNK 및 p38 인산화가 억제되는 것을 확인하였다. 또한 도 9에 나타난 바와 같이, 세가지 MAP 카이나아제의 감소는 용량 의존적으로 c-fos 및 c-Jun의 낮은 수준을 동반하는 것을 확인하였다.

[0074]

실시예 5. 사이토카인 생산의 조절

[0075]

모발의 성장과 퇴행(regression)을 조절하는 것으로 알려진 사이토카인의 단백질 수준을 등 피부 조직의 전체 조직 용해물(whole-tissue lysates)을 이용하여 평가하였다. 단백질 분석 시약(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 동일한 조건하에서의 단백질 농도 정량분석을 위하여 사용하였으며 조직 사이토카인 농도들은 제조사의 지시에 따라 마우스 TNF- α IL-1 β , -4, -6 및 IFN- γ ELISA 키트(BD Bioscience, San Jose, CA, USA)를 이용하여 정량화 되었다. 사이토카인 수준은 pg/ 총 단백질 mg 로 계산하였다. 광학 밀도는 ELISA(enzyme-linked

immunosorbent assay) 리더기(Molecular Devices, Downingtown, PA)를 사용하여 450nm에서 측정하였다.

결과를 도 10에 나타내었다.

도 10에 나타낸 바와 같이, 탈모 그룹에서 TNF- α IL-1 β , -4 및 -6 는 증가한 것을 확인하였다. 탈모 그룹에 아스트라갈로시드 IV를 처리한 결과, IL-1 β -4 및 -6이 탈모그룹과 비교하여 용량 의존적으로 뚜렷하게 감소하였으며 TNF- α 도 아스트라갈로시드 IV 처리에 의하여 감소됨을 확인하였다.

본 발명에 사용된 모든 통계적 분석은 ANOVA 및 비모수 시험(nonparametric test)에 의하여 유의도를 결정하였으며, 모든 분석에서 $p < 0.05$ 를 통계학적으로 유의한 것으로 판단하였다.

제제예 1. 의약품의 제조

1.1 산제의 제조

아스트라갈로시드 IV	100mg
유당	100mg
탈	10mg

상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

1.2 정제의 제조

아스트라갈로시드 IV	100mg
옥수수전분	100mg
유당	100mg
스테아린산 마그네슘	2mg

상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

1.3 캡슐제의 제조

아스트라갈로시드 IV	100mg
옥수수전분	100mg
유당	100mg
스테아린산 마그네슘	2mg

통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 정제를 제조한다.

1.4 주사제의 제조

아스트라갈로시드 IV	100mg
주사용 멸균 증류수	적량
pH 조절제	적량

통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

1.5 액제의 제조

아스트라갈로시드 IV	100mg
설탕	20g
이성화당	20g
레몬향	적량

정제수를 가하여 전체 1,00ml로 맞추었다. 통상의 액제의 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 갈색병에 충전하고 멸균시켜 액제를 제조한다.

[0108] **제제예 2. 건강기능식품의 제조**

[0109]	아스트라갈로시드 IV	100mg
[0110]	비타민 혼합물	적량
[0111]	비타민 A 아세테이트	70 μ g
[0112]	비타민 E	1.0 mg
[0113]	비타민 B1	0.13 mg
[0114]	비타민 B2	0.15 mg
[0115]	비타민 B6	0.5 mg
[0116]	비타민 B12	0.2 μ g
[0117]	비타민 C	10 mg
[0118]	비오틴	10 μ g
[0119]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0120]	엽산	50 μ g
[0121]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0122]	무기질 혼합물	적량
[0123]	황산제1철	1.75 mg
[0124]	산화아연	0.82 mg
[0125]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0126]	제1인산칼륨	15 mg
[0127]	제2인산칼슘	55 mg
[0128]	구연산칼륨	90 mg
[0129]	탄산칼슘	100 mg
[0130]	염화마그네슘	24.8 mg

[0131] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강기능식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 통상의 방법에 따라 건강기능식품 조성물 제조(예, 영양캔디 등)에 사용할 수 있다.

[0132] **제제예 3. 건강기능성 음료의 제조**

[0133]	아스트라갈로시드 IV	100mg
[0134]	구연산	1000 mg
[0135]	올리고당	100 g
[0136]	매실농축액	2 g
[0137]	타우린	1 g
[0138]	정제수를 가하여 전체	900 ml

[0139] 통상의 건강기능성 음료 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 건강기능성 음료 조성물 제조에 사용한다.

[0140] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가,

사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

제제예 4. 화장품의 제조

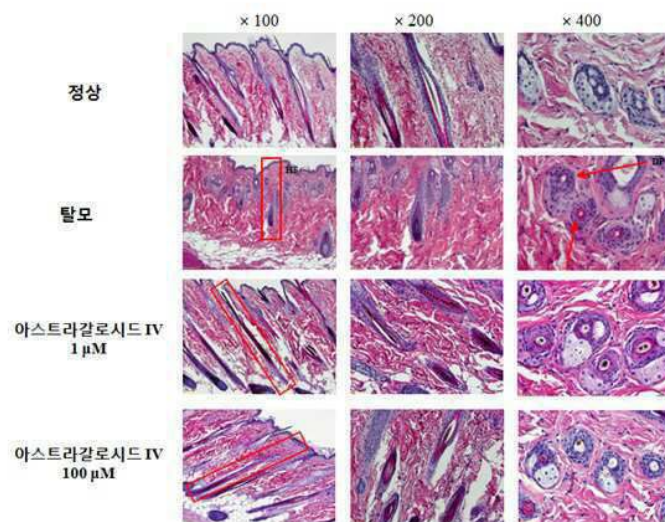
아스트라갈로시드 IV	0.5 중량%
글리세린	3.0 mg 중량%
하이드로제네이티드 레시친	1.0 mg 중량%
세토스테아릴알콜	2.0중량%
폴리소르베이트 60	1.5중량%
항산화제	0.3 중량%
방부제	적량
정제수	적량

도면

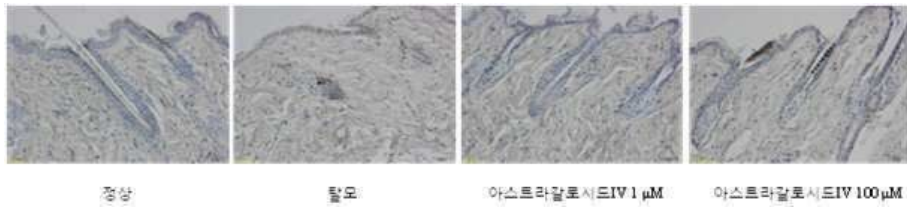
도면1



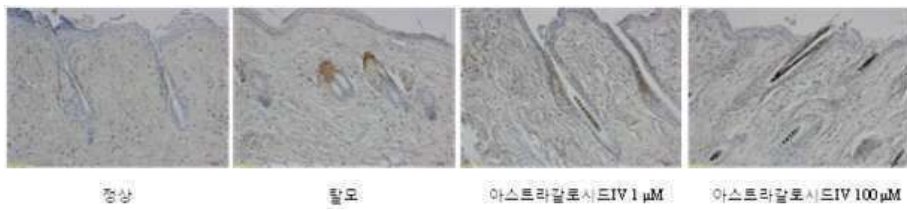
도면2



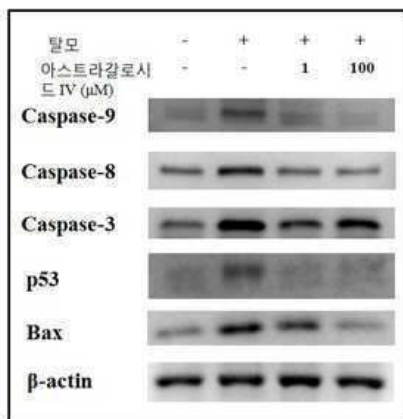
도면3



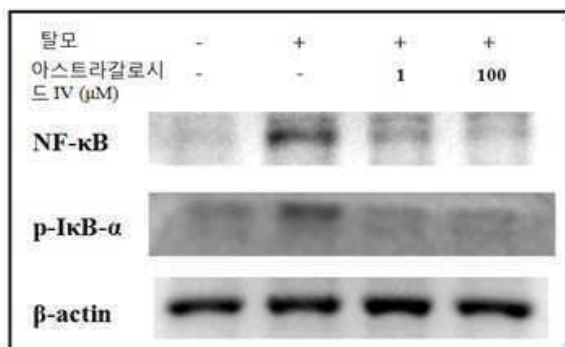
도면4



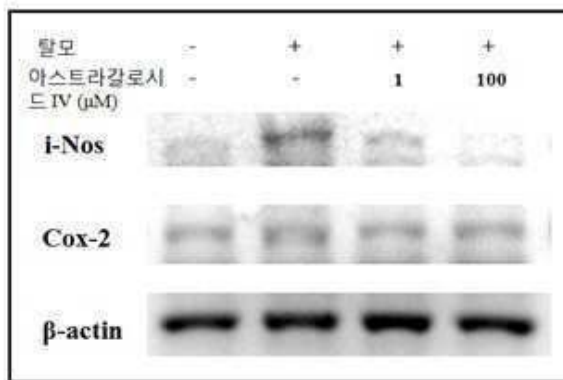
도면5



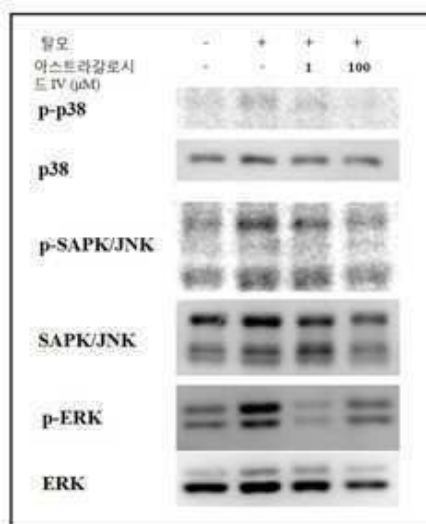
도면6



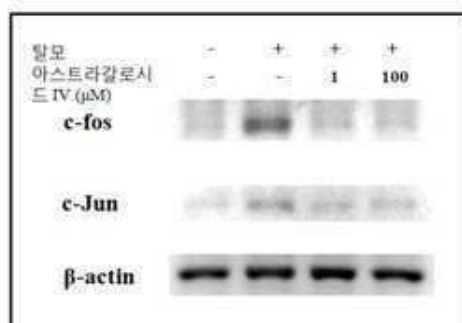
도면7



도면8



도면9



도면10

