(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년09월04일
(11) 등록번호 10-1438332
(24) 등록일자 2014년08월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7028 (2006.01) *A61P 17/14* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0106476
(22) 출원일자 2013년09월05일
심사청구일자 2013년09월05일
(56) 선행기술조사문헌
KR100658002 B1
EP1047439 B1
CN100154246 A
JP20070524709 A

(73) 특허권자
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교)
(72) 발명자
이태후
서울 강남구 논현로 807, (신사동, 평화빌딩)
신헌섭
경기 수원시 영통구 봉영로1517번길 73, 924동 1702호 (영통동, 벽적골9단지아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
안소영

전체 청구항 수 : 총 9 항 심사관 : 박제현

(54) 발명의 명칭 **포시티아사이드-에이를 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 포시티아사이드-에이를 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 조성물을 제공한다. 상기 유효성분은 탈모의 진행을 완화시키고, 모발의 양모/육모, 성장을 촉진할 수 있어, 탈모방지 또는 발모촉진에 효과적이다.

대 표 도 - 도6



(72) 발명자

박상용

경기 수원시 권선구 동수원로146번길 218-13, 305호 (곡반정동)

송현근

인천 남구 수봉북로12번길 24, (도화동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 810006-03-3-CG100

부처명 농림수산식품부

연구사업명 농림바이오기술사업화지원

연구과제명 [인삼소재피부과학응용사업단]임상평가 프로세스 관리 및 인삼소재 및 제품의 탈모방지 효능검증

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2012.11.01 ~ 2013.10.31

특허청구의 범위

청구항 1

포시티아사이드-에이(forsythiaside-A)를 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 조성물은 탈모증의 예방 또는 치료용인 약학 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 탈모증은 원형 탈모증, 유전성 안드로겐 탈모증, 휴지기 탈모증, 외상성 탈모증, 발모벽, 압박성 탈모증, 생장기 탈모증, 비강성 탈모증, 매독성 탈모증, 지루 탈모증, 증후성 탈모증, 반흔성 탈모증, 또는 선천성 탈모증 중에서 선택된 하나 이상인 약학 조성물.

청구항 4

포시티아사이드-에이(forsythiaside-A)를 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 식품 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 조성물은 탈모증의 예방 또는 개선용인 식품 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 탈모증은 원형 탈모증, 유전성 안드로겐 탈모증, 휴지기 탈모증, 외상성 탈모증, 발모벽, 압박성 탈모증, 생장기 탈모증, 비강성 탈모증, 매독성 탈모증, 지루 탈모증, 증후성 탈모증, 반흔성 탈모증, 또는 선천성 탈모증 중에서 선택된 하나 이상인 식품 조성물.

청구항 7

포시티아사이드-에이(forsythiaside-A)를 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 화장료 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 조성물은 탈모증의 예방 또는 개선용인 화장료 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 탈모증은 원형 탈모증, 유전성 안드로겐 탈모증, 휴지기 탈모증, 외상성 탈모증, 발모벽, 압박성 탈모증, 생장기 탈모증, 비강성 탈모증, 매독성 탈모증, 지루 탈모증, 증후성 탈모증, 반흔성 탈모증, 또는 선천성 탈모증 중에서 선택된 하나 이상인 화장료 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 탈모방지 또는 발모촉진용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 탈모의 원인에 관하여서는 모근, 피지선 등의 기관에서 남성 호르몬의 작용설, 모낭(Hair follicle)의 혈류량 저하, 세균 번식이나 피지 분비 과다에 의한 두피 이상설, 유전적 요인 그리고 노화 등이 거론되어 왔다(대한민국출원특허 제10-2006-0067229호, 2006.07.19 2쪽, [0002] 단락). 그러나 아직까지 탈모에 대한 명확한 원인은 규명되고 있지 않으며 최근 들어 오히려 탈모증으로 고민하는 사람이 점점 늘고 있으며 그 연령층도 낮아지고 있는 실정이다.

[0003] 탈모증의 치료법에 관해서도 아직까지 뚜렷한 효과를 지닌 것은 없으며, 동의보감에서는 신응양진단 등 탈모에

관계되는 몇몇 복용하는 처방들이 있고, 호마유(참깨) 등을 탈모 부위에 마사지한다든지, 특정 한약처방을 주침(酒沈)해서 바르는 방법과 특정 혈위를 자극하는 방법 등이 있지만 효과에 있어서는 개인적 차이가 많다고 알려져 있으며, 일반적으로 적용될 수 있는 신약 소재는 아직까지 보고되지 않고 있다.

[0004] 인체의 모발은 약 130만개 이상, 두발은 10만개 이상이며 이들 모발은 생장기(anagen), 퇴행기(catagen), 휴지기(telogen)의 3단계 주기를 거치며 각 모발은 독립적인 주기로 활동하며 진행된다. 탈모는 머리카락이나 털이 어떤 원인에 의하여 정상보다 적거나 없는 상태를 의미하며(대한민국출원특허 제10-2005-0015941호, 2005.02.25 2쪽, [0002] 단락), 크게 모발이 휴지기 상태에서 빠지는 일반적인 탈모 현상(휴지기 탈모, telogen effluvium)과 비정상적인 탈모 현상인 생장기 탈모 현상(anagen effluvium)으로 구별할 수 있는 데, 후자를 일반적으로 탈모라 일컫는다. 탈모(또는 탈모 질환)는 형태, 증상 또는 원인 등에 따라, 원형 탈모증(Alopecia Areata), 유전성 안드로겐 탈모증(Androgenetic Alopecia), 휴지기 탈모증(Telogen Effluvium), 외상성 탈모증, 발모벽(Trichoti lomania), 압박성(Pressure Alopecia)등의 생장기 탈모증, 비강성, 매독성(Alopecia syphlltiac), 지루 탈모증(Alopecia seborrhecia), 증후성, 반흔성, 선천성 탈모증 등으로 분류되고 있다.

[0005] 종래의 탈모증 치료방법으로는, 호르몬설과 관련하여 여성 호르몬을 주재로 한 제제가 있으나 효과뿐 아니라 피부 염증 발생, 호르몬 투여에 의한 부작용 발생 등의 보고가 있어 현재는 사용이 중단되고 있다. 발모제로서 미국 업존사의 미녹시딜(minoxidil), 이태리 크리노스(Crinos, Co.)사의 트리코사카라이드 (trichosaccharide)등을 주성분으로 하는 제제가 사용되고 있으나 뚜렷한 효과의 부재 및 부작용 문제가 대두되고 있다(대한민국출원특허 제10-2008-0086248호, 2008.09.02 2쪽, [0005] 단락). 또한 머크사에서 개발한 피나스테라이드(finasteride)는 모낭에서 남성호르몬 테스토스테론 대사에 작용하는 효소인 5-α-리덕테이즈(5-α-reductase)의 활성을 억제시키는 물질로 알려져 있으나 우울증을 유발할 수 있으며 이 또한 장기간의 치료가 필요하다는 문제점을 안고 있다. 이 외에도 크레시나와 로게인이 있지만, 탈모 질환이 완전히 진행되기 전인 정상 두피에 모근이 살아있는 경우에만 사용된다. 이처럼 종래의 여러 종류의 발모제는 일반적으로 두피의 혈행 촉진과 모근의 영양공급을 목적으로 하여 모발의 성장에 도움을 주도록 하는 방법이 시도되었으나 이 역시 독성과 부작용이 심하고 그 효과 또한 미흡한 것이 현재 실정이다(대한민국출원특허 제10-2006-0021965호, 2006.03.08 4-5쪽, [0015]-[0016] 단락).

[0006] 포시티아사이드-에이는 폴리페놀의 플라보노이드 그룹에 속하는 독특한 구조를 가지며 개나리의 열매인 연교에 함유되어있는 성분으로 항산화, 항균, 항염 등의 각종 약리작용으로 인해 많은 연구가 이루어지고 있다(Kinoshita K et al., Anti-emetic principles of Inula linariaefolia flowers and Forsythia suspensa fruits. Phytomedicine, 3:51-58, 1996, Schinella GR et al., Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts, Life Sci. 70:1023-1033, 2002, Qu H et al., Antioxidant and antibacterial activity of two compounds (forsythaiside and forsythin) isolated from Forsythia suspensa, J Pharm Pharmacol. 60:261-266, 2008, Dai SJ et al., New alkaloids form Fosythia suspensa and their anti-inflammatory activities, Planta Med. 75:375-377, 2009, Qu H et al., Isoforsythiaside, an antioxidant and antibacterial phenylethanoid glycoside isolated from Forsythia suspensa, Bioorg Chem. 40:87-91, 2012).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명이 해결하려는 과제는 탈모방지 또는 발모촉진에 효과적인 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기한 과제를 달성하기 위하여, 본 발명자들은 안전성이 우수한 천연물을 대상으로 탈모를 방지하거나 발모를 촉진할 수 있는 다양한 활성물질들을 검색한 결과, 포시티아사이드-에이가 우수한 모(毛) 유두 세포, 각질형성세포의 세포 성장 촉진 효과 및 발모 촉진 효과를 나타내는 것을 발견하고, 본 발명을 완성하였다.

[0009] 이에, 본 발명은 포시티아사이드-에이를 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 조성물을 제공한다.

[0010] 상기 포시티아사이드-에이는 폴리페놀의 플라보노이드 그룹에 속하는 독특한 구조를 가지며, 도 1에 기재된 구조식으로 표시되는 화합물(화학식 I)일 수 있다. 상기 포시티아사이드-에이는 연교의 천연물에서 추출하거나 시판되는 것을 구매한 것일 수 있다.

[0011] 상기 조성물은 탈모증의 예방, 치료 또는 개선용일 수 있으며, 상기 탈모증은 원형 탈모증(Alopecia Areata),

유전성 안드로겐 탈모증(Androgenetic Alopecia), 휴지기 탈모증(Telogen Effluvium), 외상성 탈모증, 발모벽(Trichotillomania), 압박성 탈모증(Pressure Alopecia), 생장기 탈모증, 비강성 탈모증, 매독성 탈모증(Alopecia syphlltiac), 지루 탈모증(Alopecia seborrhecia), 증후성 탈모증, 반흔성 탈모증, 또는 선천성 탈모증 중에서 선택된 하나 이상일 수 있다.

[0012] 상기 조성물은 약학 조성물, 식품조성물 또는 화장료 조성물일 수 있다.

[0013] 또한, 본 발명은 본 발명의 조성물에 포함되는 유효성분의 탈모방지 또는 발모촉진 용도를 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 본 발명의 조성물에 포함되는 유효성분을 필요로 하는 인간을 포함한 포유류에게 투여하는 단계를 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진 방법을 제공한다.

[0015] 별도의 언급이 없는 한, 본 발명의 조성물, 용도, 방법에서 언급된 내용은 서로 모순되지 않는 한 동일하게 적용된다.

[0016] 상술한 바와 같이, 본 발명은 포시티아사이드-에이를 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용, 탈모증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0017] 상기 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 포함할 수 있다. 상기 약학 조성물은 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 및 멸균 주사용액의 형태로 제제화될 수 있다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 락토즈, 덱스트로즈, 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 광물유 등을 포함한다. 또한, 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 포함한다. 경구용 고형 제제는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등을 포함하며, 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 포함할 수 있으며, 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제 등을 포함할 수 있다. 경구용 액상 제제는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등을 포함하며, 물, 리퀴드 파라핀 등의 희석제, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 포함할 수 있다. 비경구용 제제는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제를 포함하며, 비수성 용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르류 등을 포함한다.

[0018] 본 발명의 조성물, 용도 및 방법에 있어서, 유효성분의 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 경우에 따라 적절하게 선택될 수 있다. 예를 들면, 상기 포시티아사이드-에이 기준으로 1일 0.0001 내지 100 mg/kg으로, 바람직하게는 0.01 내지 100 mg/kg의 용량으로 투여할 수 있으며, 상기 투여는 하루에 한번 또는 수회 나누어 투여할 수도 있다. 또한, 상기 조성물은 조성물 총 중량에 대하여 포시티아사이드-에이를 0.001 내지 50 중량%로 포함할 수 있다. 상기 약학 조성물은 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로, 예를 들면, 경구, 정맥, 근육, 또는 피하 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0019] 본 발명의 조성물은 국소로 투여될 수 있다. 국소투여는 피부 및/또는 모발에 대한 유효성분(및 조성물)의 직접적인 적용을 의미한다. 본 발명의 국소용 조성물은 용액, 로숀, 납고, 크림, 연고, 리포좀, 스프레이, 젤, 포움(foam), 롤러스틱(roller stick), 또는 피부과에서 일상적으로 사용되는 그 밖의 모든 제형의 형태일 수 있다.

[0020] 상술한 바와 같이, 본 발명은 포시티아사이드-에이를 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 식품 조성물을 제공한다.

[0021] 본 발명의 식품 조성물의 제형은 통상의 방법에 따라 제조하며, 담체와 함께 건조한 후 캡슐화하거나 기타 정제, 과립, 분말, 음료, 죽 등의 형태로 제형화할 수 있으며, 상기 기재한 것 외에도 모든 식품 형태로 제조 가능하다.

[0022] 본 발명의 식품 조성물은 건강기능식품으로서 사용될 수 있다. "건강기능식품"이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0023] 본 발명의 식품 조성물은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, "식품 첨가물"로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안정청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한

규격 및 기준에 의하여 판정한다.

[0024] 상기 "식품 첨가물 공전"에 기재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류들을 들 수 있다.

[0025] 본 발명의 건강 기능성 식품 조성물은 탈모 예방 또는 발모 촉진을 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 있고, 분말, 과립, 정제, 캡슐, 환 또는 음료인 형태로 사용할 수 있다. 상기 기재한 것 외에도 모든 식품 형태일 수 있다.

[0026] 본 발명의 식품 조성물의 제형은 통상의 방법에 따라 제조하며, 담체와 함께 건조한 후 캡슐화하거나 기타 정제, 과립, 분말, 음료, 죽 등의 형태로 제형화할 수 있으며, 상기 기재한 것 외에도 모든 식품 형태로 제조 가능하다.

[0027] 상술한 바와 같이, 본 발명은 포시티아사이드-에이를 유효성분으로 포함하는 탈모방지 또는 발모촉진용 화장료 조성물을 제공한다.

[0028] 상기 화장료 조성물은 상기 포시티아사이드-에이를 사용하여 통상의 화장료 제조방법에 따라, 다양한 형태로 제조될 수 있다. 예를 들어, 상기 화장료 조성물은 포시티아사이드-에이를 함유하는 향장 제품, 샴푸, 헤어로션, 헤어크림, 헤어 젤 등의 형태로 제조될 수 있으며, 이는 통상의 클렌징액, 수렴액 및 보습액으로 희석하여 사용될 수 있다. 또한, 상기 화장료 조성물은 화장료 조성물 분야에서 통상적으로 사용되는 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료, 및 향료와 같은 통상적인 보조제를 포함할 수 있다.

[0029] 화장품용으로 허용되는 담체에는 정제수, 오일, 왁스, 지방산, 지방산 알코올, 지방산 에스테르, 계면활성제, 흡습제, 증점제, 점도 안정화제, 킬레이팅제, 완충제, 방부제, 저급 알코올 등이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 필요에 따라 보습제, 항염증제, 항박테리아제, 항진균제, 비타민, 자외선 차단제, 항생제, 향수, 염료가 포함될 수도 있다.

[0030] 상기 유효성분은 약학적으로 또는 식품학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제 등을 첨가하여 제제화할 수 있으며, 제제화에 관한 내용은 Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA 등의 문헌을 참조할 수 있다.

발명의 효과

[0031] 본 발명의 조성물 중 유효성분인 포시티아사이드-에이는 사람의 모유두 세포(Dermal papilla cell)와 사람의 각질형성 세포(Human keratinocyte)의 성장을 촉진하는 등의 활성을 가짐으로써 모발의 생장 및 건강한 두피 생육을 촉진할 수 있다. 따라서, 본 발명의 조성물은 탈모의 진행을 완화시키고, 모발의 양모/육모, 성장을 촉진할 수 있어, 탈모방지 또는 발모촉진용 약학 조성물, 식품 조성물 또는 화장료 조성물로 유용하다.

도면의 간단한 설명

[0032] 도 1은 포시티아사이드-에이의 화학식이다.

도 2는 포시티아사이드-에이를 사람의 모 유두 세포(HHDPC)에 처리하였을 때 세포 성장 촉진 효과를 측정한 결과를 나타낸다.

도 3은 연교의 성분인 포시티아사이드-에이 및 다른 구성성분 (oleanolic acid, phillyrin, pinoresinol, arctiin, matairesinol)을 사람의 모 유두 세포(HHDPC)에 처리하였을 때 세포 성장 촉진 효과를 측정한 결과를 나타낸다.

도 4는 포시티아사이드-에이를 사람의 각질형성세포(HaCaT cell)에 처리하였을 때 세포 성장 촉진 효과를 측정한 결과를 나타낸다.

도 5는 연교의 성분인 포시티아사이드-에이 및 다른 구성성분 (oleanolic acid, phillyrin, pinoresinol, arctiin, matairesinol)을 사람의 각질형성세포(HaCaT cell)에 처리하였을 때 세포 성장 촉진 효과를 측정한 결과를 나타낸다.

도 6은 포시티아사이드-에이를 C57BL/6 마우스에 처리하였을 때 모발 생장 촉진 효과를 측정한 결과를

나타낸다.

도 7은 포시티아사이드-에이를 C57BL/6 마우스에 처리하였을 때 조직학적 변화를 관찰한 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033] 중국 상해의 TAUTO Biotech로부터 순도 98 % 포시티아사이드-에이를 구입하여 시험예에서 사용하였다. 머크사에서 개발한 프로페시아(피나스테라이드:Finasteride)를 양성대조군으로 사용하였다.

[0034] 이하, 본 발명을 시험예 및 제조예를 통하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예, 시험예 및 제조예는 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들에 한정되는 것은 아니다.

[0035] **[시험예]**

[0036] **<시험예 1> 포시티아사이드-에이의 탈모방지 또는 발모촉진 효과 확인- 사람의 모 유두 세포(human hair dermal papilla cell) 성장에 미치는 영향 평가**

[0037] 포시티아사이드-에이가 사람의 모(毛) 유두 세포의 세포성장 효과에 미치는 영향을, 모 유두 세포(human hair dermal papilla cell, HHDPC)(Sciencell사, cat. no. 2400)를 사용하여 평가하였다.

[0038] 10% FBS (fetal bovine serum, *Cambrex*)가 포함된 전용배지인 MSC(Mesenchymal Stem Cell) 배지에 HHDPC를 0.25 X 10^4 cells/㎖이 되도록 하여 96 웰 플레이트에 접종하여 24시간 동안, 37℃, 5% CO_2 습윤 조건 하에서 배양하였다. 포시티아사이드-에이를 0.01, 0.1, 1 μM의 농도로 처리하여 24, 48, 72시간 동안 배양한 후, 5 mg/㎖의 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) 시약 20㎕를 상기 배양액에 넣고 37℃, 5% CO_2 습윤 조건하에서 4시간 동안 배양하였다. 상기와 동일 조건이나 포시티아사이드-에이 대신 200㎕ 부피의 용매를 처리한 배양 배지를 음성대조군으로, 20 nM의 피나스테라이드(머크) 을 처리한 배양 배지를 양성대조군으로 사용하였다. 배양 시, 살아있는 세포에는 보라색의 크리스탈이 형성된다. 4시간 배양 후 배지를 제거하고 DMSO 100㎕를 넣어 10분 동안 쉐이킹 인큐베이터(shaking incubator)에서 크리스탈을 녹인 후 540 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 성장의 정도를 측정하였다. 상기 시험은 3회 반복하였으며, 얻어진 결과는 도 2와 같다.

[0039] 도 2에서 확인되는 바와 같이, 포시티아사이드-에이는 모 유두 세포 성장을 약 9.5 - 45.3% 이상 향상시켰으며, 양성대조군인 피나스테라이드 처리군 보다 뛰어난 모 유두 세포 성장 촉진 활성을 나타냄이 확인되었다. 상기 결과로부터, 본 발명의 조성물 중 포함되는 유효성분인 포시티아사이드-에이가 우수한 탈모방지 또는 발모촉진 효과가 있음을 알 수 있다.

[0040] **<시험예 2> 포시티아사이드-에이와 기타 연교 추출물에 포함된 성분의 탈모방지 또는 발모촉진 효과 비교**

[0041] 포시티아사이드-에이가 모 유두 세포의 세포성장 효과에 미치는 영향을 다른 5종의 연교 추출물에 포함된 성분(olenolic acid, phillyrin, pinoresinol, arctiin, matairesinol)과 비교하였다. 각 성분은 200㎕씩 0.1 μM의 농도로 처리하였고 그 방법은 시험예 1과 동일한 방법으로 평가하였다.

[0042] 도 3에서 확인되는 바와 같이, 포시티아사이드-에이는 모 유두 세포 성장을 약 38.9% 이상 향상시켰으며, olenolic acid(14%), phillyrin(21%), pinoresinol(13%), arctiin(15%), matairesinol(20%)과 비교하여 38.9 - 45.3% 이상 모 유두 세포 성장 촉진 활성을 나타냄을 확인하였고, 양성대조군인 피나스테라이드 처리군 보다 뛰어난 모 유두 세포 성장 촉진 활성을 나타냄이 확인되었다.

[0043] **<시험예 3> 포시티아사이드-에이의 탈모방지 또는 발모촉진 효과 확인- 사람의 각질형성세포(HaCaT cell) 성장에 미치는 영향 평가**

[0044] 포시티아사이드-에이가 각질형성세포의 세포성장 효과에 미치는 영향을, 모 유두 세포 대신 각질형성세포(HaCaT cell)(Dr. N. E. Fuseing, Heidelberg, Germany)를 사용한 것을 제외하고, 시험예 1과 동일한 방법으로 평가하였다.

[0045] 배지는 10% FBS (fetal bovine serum, *Cambrex*)가 포함된 RPMI 배지를 사용하였으며, MTT 분석으로부터 얻어진 결과는 도 4와 같았다.

[0046] 도 4에서 확인되는 바와 같이, 포시티아사이드-에이는 각질형성세포 성장을 약 12.2 ~ 43.6% 이상 향상시켰으며, 양성대조군인 피나스테라이드 처리군 보다 뛰어난 각질형성세포 성장 촉진 활성을 나타냄이 확인

되었다. 상기 결과로부터, 본 발명의 조성물 중 포함되는 유효성분인 포시티아사이드-에이가 우수한 탈모방지 또는 발모촉진 효과가 있음을 알 수 있다.

[0047] **<시험예 4> 포시티아사이드-에이와 기타 연교 추출물에 포함된 성분의 탈모방지 또는 발모촉진 효과 비교**

[0048] 포시티아사이드-에이가 각질형성세포의 세포성장 효과에 미치는 영향을 다른 5종의 연교 추출물에 포함된 성분(olenolic acid, phillyrin, pinoresinol, arctiin, matairesinol)과 비교하였다. 시험예 3과 동일한 방법으로 평가하였다.

[0049] 도 5에서 확인되는 바와 같이, 포시티아사이드-에이는 각질형성세포 성장을 약 34.1% 이상 향상시켰으며, olenolic acid(13%), phillyrin(22%), pinoresinol(14%), arctiin(15%), matairesinol(21%)과 비교하여 34.1-43.6% 이상 각질형성세포 성장 촉진 활성을 확인하였고, 양성대조군인 피나스테라이드 처리군 보다 뛰어난 모유두 세포 성장 촉진 활성을 나타냄이 확인되었다.

[0050] **<시험예 5> 포시티아사이드-에이의 탈모방지 또는 발모촉진 효과 확인- C57BL/6 마우스에서의 모발 생장 효과 평가**

[0051] 7주령의 C57BL/6 마우스의 등 부위 털을 제거하고, 등 부위 피부가 깨끗한 마우스를 5~7 마리씩 3 군(A-C군)으로 나누었다. 모든 군은 Wax-Rosin 혼합물을 이용하여 모낭을 파괴한 후, 제A군은 saline을 18일 동안 경구 투여하였고(음성 대조군), 제B군은 머크사에서 개발한 프로페시아(피나스테라이드)를 0.5mg/kg의 용량으로 18일 동안 경구 투여 하였으며(양성 대조군), 제C군은 실시예 1에서와 동일한 방법으로 준비한 포시티아사이드-에이를 saline에 녹여 5mg/kg의 용량으로 18일 동안 경구 투여 하였다. 12일에 모발의 분포 정도를 측정한 결과는 도 6과 같다.

[0052] 또한, 피부 내 모낭(hair follicle)의 변화, 피부 두께 및 조직의 변화를 관찰하기 위하여, 12 일째에 각 군의 마우스를 치사시킨 후, 등 쪽 피부의 발모된 부위의 조직을 채취하여 4% 포름알데히드 용액으로 고정하였다. 고정 후, 수세, 탈수과정을 거쳐 파라핀으로 포매하고, 7㎛의 절편을 제작하여 Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색을 시행하였으며, 조직학적 변화를 관찰한 결과는 도 7과 같다.

[0053] 도 6 및 도 7로부터, 포시티아사이드-에이를 처리한 마우스의 등에서 대조군에 비하여 피부색이 단시간에 검게 변하며 털이 빨리 자라고, 실제 피부조직에서도 모낭의 수가 현저히 증가하고 정상 모발의 형태를 유지함이 확인되었다. 이로써 포시티아사이드-에이가 뛰어난 발모효과를 가짐을 알 수 있다. 또한, 포시티아사이드-에이는 피부자극이 없는 안전한 물질임이 확인되었다.

[0054] **[제제예]**

[0055] **<제제예 1> 약학 조성물 제조**

[0056] 상기 시험예와 동일한 방법으로 준비한 포시티아사이드-에이 100mg, 옥수수 전분 100mg, 유당 100mg, 스테아린산 마그네슘 2mg을 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0057] **<제제예 2> 식품 조성물 제조**

[0058] 상기 시험예와 동일한 방법으로 준비한 포시티아사이드-에이(4중량 %), 액상과당(0.5중량%), 올리고당(2중량%), 설탕(2중량%), 및 식염(0.5중량%)에 물을 추가하여 잔량을 맞춘 후 균질하게 배합하여 순간 살균을 하여 건강음료를 제조하였다.

[0059] **<제제예 3> 화장료 조성물 제조**

[0060] 실시예 1에서와 동일한 방법으로 준비한 포시티아사이드-에이를 함유한 영양로션을 하기 표의 함량으로 하기 방법에 의해 제조하였다.

[0061] [표 1]

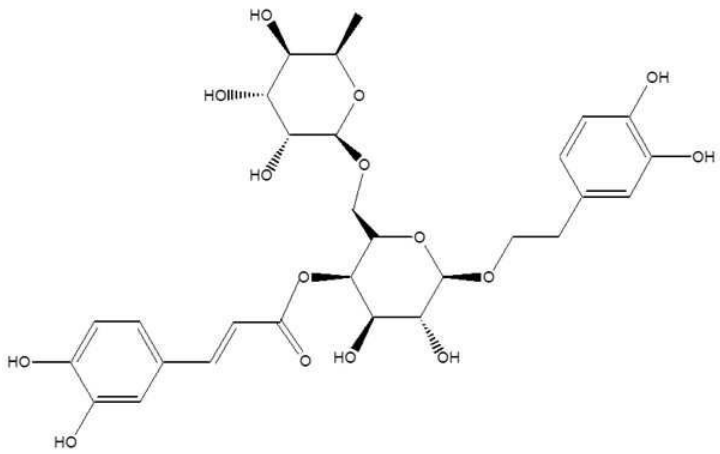
번호	원료	함량(중량%)
1	포시티아사이드-에이	1.0
2	밀납	1.0
3	폴리솔베이트 60	1.5
4	솔비탄 세스퀴올레이트	0.5
5	유동 파라핀	10.0
6	소르비탄 스테아레이트	1.0
7	친유형 모노스테아린산 글리세린	0.5
8	스테아린산	1.5
9	글리세릴스테아레이트/피이지-400 스테아레이트	1.0
10	프로필렌글리콜	3.0
11	카르복시폴리머	0.1
12	트리에탄올아민	0.2
13	방부제	0.4
14	향료	0.1
15	정제수	잔량

[0062]

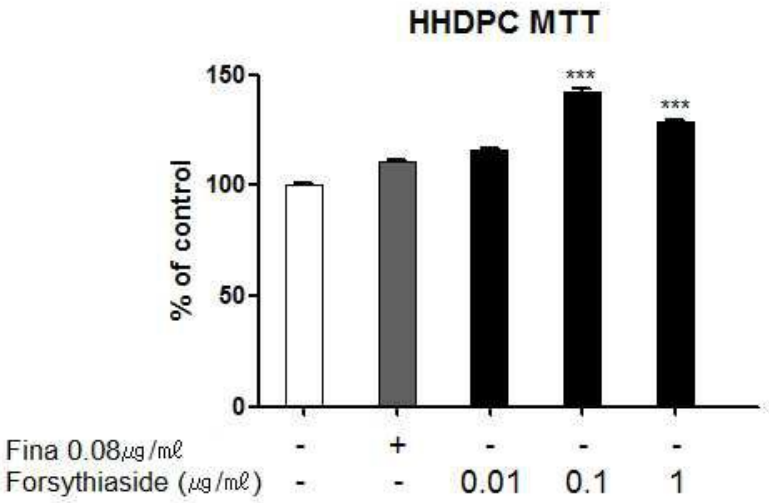
[0063] 상기 표 중 10, 11, 13, 15번 원료를 혼합 교반하면서 섭씨 80~85도로 가열하여 유화기에 투입하고, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9번 원료를 섭씨 80~85도로 가열하여 유화기에 투입하여 유화시켰다. 유화가 끝나면 12번 원료를 교반기를 이용하여 교반하면서 섭씨 50도까지 냉각한 후 14번 원료를 투입하고 섭씨 35도까지 냉각한 뒤 1번 원료를 투입하여 섭씨 25도까지 냉각한 후 숙성시켜 영양로션을 제조하였다.

도면

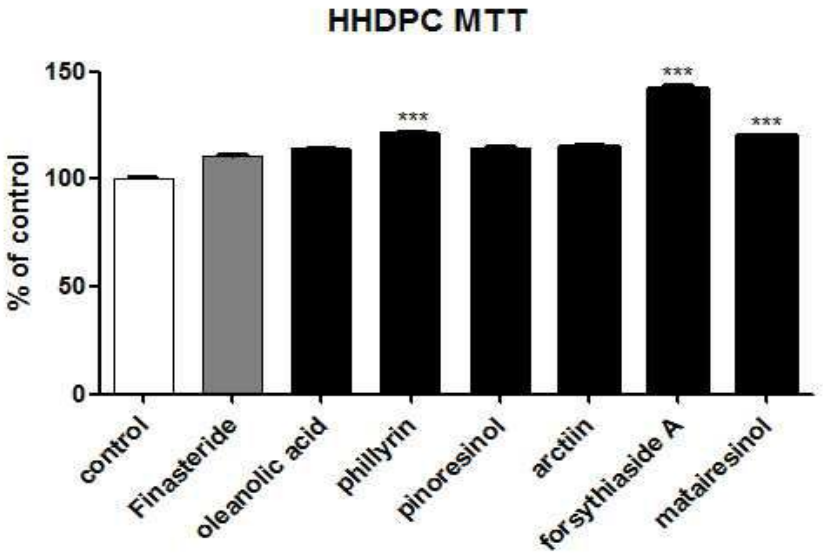
도면1



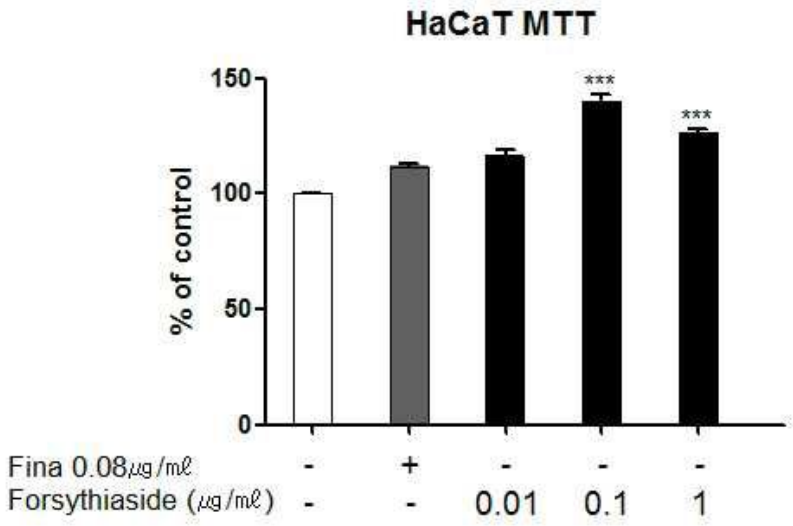
도면2


HHDPC MTT
% of control
150
100
50
0
***
***
Fina 0.08㎍/㎖ - + - - -
Forsythiaside (㎍/㎖) - - 0.01 0.1 1

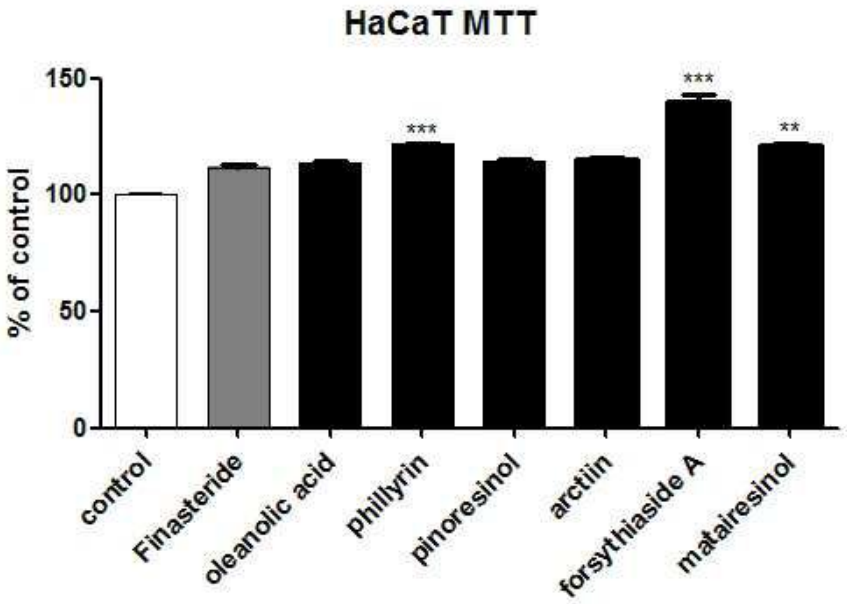
도면3


HHDPC MTT
% of control
150
100
50
0
***
***
***
control
Finasteride
oleanolic acid
phillyrin
pinoresinol
arctiin
forsythiaside A
matairesinol

도면4



도면5



도면6

	Control	Finasteride	Forsythiaside-A
Day 12			

도면7

