(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0030241
(43) 공개일자 2023년03월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/22 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
A61K 8/9789 (2017.01) *A61P 17/14* (2006.01)
A61Q 7/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/22 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2021-0112225
(22) 출원일자 2021년08월25일
심사청구일자 2021년08월25일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
김기광
대전광역시 유성구 지족로 362 반석마을아파트3단지, 302동 1404호
(74) 대리인
이상열

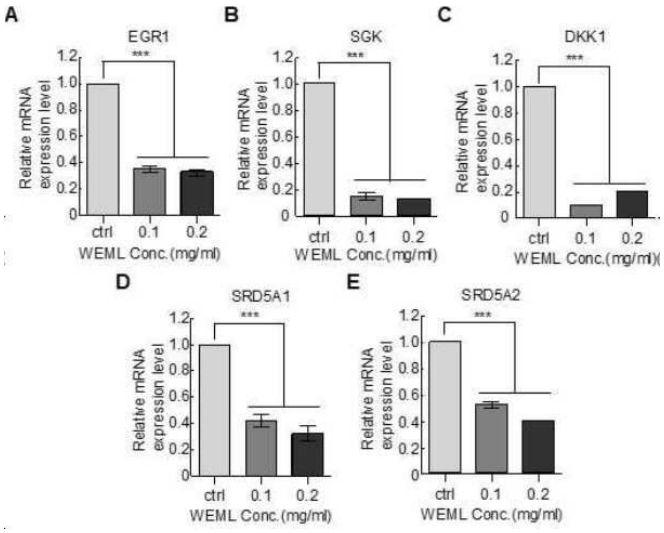
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **망고 추출물을 포함하는 탈모 방지용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 망고 추출물, 더욱 바람직하게는 망고 잎의 용매 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모의 개선, 억제, 예방 또는 치료용 조성물, 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 망고 추출물은 탈모의 개선, 억제, 예방 및 치료에 유용한 약학적 조성물, 식품 조성물 또는 화장료 조성물로 이용될 수 있다.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류
A61K 8/9789 (2017.08)
A61P 17/14 (2018.01)
A61Q 7/00 (2019.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/318 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

망고(*Mangifera indica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모의 개선, 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 망고 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4개의 직쇄 또는 분지형 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트, 1,3-부틸렌 글리콜, 헥산 및 디에틸에테르로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하여 얻어진 추출물인 것인, 탈모의 개선, 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 망고 추출물은 망고 잎(leaves) 추출물인, 탈모의 개선, 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 망고 잎은 애플망고 잎인, 탈모의 개선, 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

망고 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모의 개선 또는 억제용 식품 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 망고 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4개의 직쇄 또는 분지형 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트, 1,3-부틸렌 글리콜, 헥산 및 디에틸에테르로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하여 얻어진 추출물인 것인, 탈모의 개선 또는 억제용 식품 조성물.

청구항 7

망고 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모의 개선 또는 예방용 화장료 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 망고 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4개의 직쇄 또는 분지형 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트, 1,3-부틸렌 글리콜, 헥산 및 디에틸에테르로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하여 얻어진 추출물인 것인, 탈모의 개선 또는 예방용 화장료 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 망고 추출물, 더욱 바람직하게는 망고 잎의 용매 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모의 개선, 억제, 예방 또는 치료용 조성물, 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 탈모란 생리적으로 모발이 모낭에서 빠져나가는 것으로, 일반적인 모발은 3년의 생장기, 3주의 퇴행기와 3개월의 휴지기를 반복하여 발모와 탈모 주기를 거친다1). 탈모는 크게 두 종류로 구분하며 휴지기의 모발이 자연스럽게 모낭에서 탈락되는 자연탈모와 임신, 유전적 요인, 호르몬 분비 이상, 노화, 극심한 다이어트, 정신적 스트레스, 불규칙한 생활, 발열성 질병, 과도한 화학제품의 사용 등이 원인이 되는 비정상적인 탈모로 분류한다.

[0003] 이러한 현대인의 탈모는 선천적인 요인보다 환경 문제를 포함한 후천적인 요인이 커지면서 잠재적 탈모 인구를

포함하여 2019년도 국내 기준 탈모인 1,000만 시대를 돌파하고 있다. 또한 화장품, 의약외품과 의약품 등을 포함한 국내시장은 대략 4 조원에 이른다는 조사도 있다. 과거에 탈모는 중장년층만의 문제로 생각되었지만 현재에는 20, 30대 젊은 층에서 크게 증가하는 추세이며 질병으로써 치부되고 있다. 이러한 증가로 인해 탈모 억제나 치료제, 발모에 대한 연구들 또한 증가하고 있다.

[0004] 모유두 세포는 모낭에서 성장 주기를 조절하는 여러 신호 전달 물질을 분비하는 세포로 알려져 있다. 또한 신체 내 안드로겐(androgen) 그룹의 스테로이드성 성 호르몬인 테스토스테론(testosterone)은 모유두 세포 내의 5알파-리덕타제(5α-reductase)와 작용하여 남성형 탈모에 직접적인 영향을 미치는 디히드로테스토스테론(Dihydrotestosterone; DHT)을 생성하여 모낭에서 모발의 탈락을 야기한다.

[0005] FDA 승인을 받아 탈모 시장 내 대부분의 점유율을 보유한 피나스테리드(finasteride)와 두타스테리드(dutasteride)는 5알파-리덕타제 타입 2의 활성을 억제하여 발모의 유도와 탈모 진행을 늦춘다. 하지만 이러한 치료제 역시 화학적 의약품으로 알러지성 접촉성 피부염, 성욕 감퇴, 남성의 여성형 유방, 사정량 감소, 가임기 여성에서의 치명적 위험성 등 부작용을 감수하며 사용해야 한다.

[0006] 이러한 이유로 부작용이 적은 천연물 유래 치료제 개발은 필수적이며 계속적인 연구가 필요한 상태이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) KR 10-1501806 B1

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명자들은 부작용이 적은 천연물 유래 탈모 치료제를 개발하고자 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 망고(*Mangifera indica*)가 탈모 관련 유전자 발현을 억제시켜 궁극적으로 유의성 있는 탈모 억제 효과를 나타냄을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

[0009] 따라서, 본 발명의 목적은 망고(*Mangifera indica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모의 개선, 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 망고 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모의 개선 또는 억제용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 망고 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모의 개선 또는 억제용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 망고 추출물을 탈모의 개선, 예방 또는 치료 유효량으로 이를 필요로 하는 대상에 투여하여 탈모 개선, 예방, 또는 치료하는 방법을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 탈모의 개선, 예방 또는 치료 용도에 사용하는 망고 추출물의 용도에 관한 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 본 발명자들은 부작용이 적은 천연물 유래 탈모 치료제를 개발하고자 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 망고(*Mangifera indica*)가 탈모 관련 유전자 발현을 억제시켜 궁극적으로 유의성 있는 탈모 억제 효과를 나타냄을 확인하였다.

[0015] 본 발명은 망고 추출물, 더욱 바람직하게는 망고 잎의 용매 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모의 개선, 억제, 예방 또는 치료용 조성물, 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

[0016] 본 발명은 망고 잎 열수 추출물(Water extracts of *Mangifera indica* leaves, WEML)을 이용하여 모유두 세포에서 모발 생성 주기와 관련된 유전자 분석 실험을 통해 탈모 억제 효능에 있어서 유의미한 결과를 확인하였다.

[0017] 이하, 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.

[0019] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 망고(*Mangifera indica*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모의 개선, 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0020] 본 발명에서 "망고(*Mangifera indica*)"는 무환자나무목(*Sapindales*) 옻나무과(*Anacardiaceae*) 망고속(*Mangifera*)의 상록교목 쌍떡잎 식물로, 긴 창 모양의 30 ㎝ 길이의 잎을 갖고 있다.

[0021] 대표적인 망고 잎 성분으로는 망기페린(mangiferin), 페놀염 성분(phenolic constituents), 글루코스(glucose), 플라보노이드(flavonoids), 아라비노스(arabinose), 자일로스(xylose), 람노스(rhamnose), 갈락토스(galactose), 류신(leucine), 티로신(tyrosine), 발린(valine), 프로토카테츄산(protocatechuic acid), 카테킨(catechin) (VI), 알라닌(alanine), 글리신(glycine), 타닌(tannins), 키나산(kinic acid), 알파-피넨(α-pinene), 베타-피넨(â-pinene) (VI) 등이 있다.

[0022] 망고 잎에 포함되어 있는 안토시아닌(anthocyanins)에 의해, 잎을 가열한 차를 지속적으로 섭취하였을 때 당뇨성 망막증과 당뇨성 혈관증에 대해 긍정적인 효능이 있다고 보고되었으며, 강력한 항산화 작용으로 혈관과 장기 등에 손상을 입히는 활성 산소를 제거한다고 알려져 있다.

[0023] 한편, 애플망고는 사과와 비슷한 모양의 망고 품종 중 하나로, 현재까지 탈모 억제 기능에 대한 애플망고 잎의 연구는 없는 상태이다.

[0024] 본 명세서에서 사용되는 용어 '추출물'은 당업계에서 조추출물(crude extract)로 통용되는 의미를 갖지만, 광의적으로는 추출물을 추가적으로 분획(fractionation)한 분획물도 포함한다. 즉, 망고 추출물은 상술한 추출 용매를 이용하여 얻은 것뿐만 아니라, 여기에 정제과정을 추가적으로 적용하여 얻은 것도 포함한다. 예컨대, 상기 추출물을 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 통과시켜 얻은 분획, 다양한 크로마토그래피(크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등, 추가적으로 실시된 다양한 정제 방법을 통해 얻어진 분획도 본 발명의 망고 추출물에 포함되는 것이다.

[0025] 본 발명의 망고 추출물은 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.

[0026] 본 발명에서 망고는 뿌리, 줄기 및 잎을 모두 사용할 수 있으며, 예를 들어, 망고의 잎, 바람직하게는 애플망고의 잎을 사용할 수 있다.

[0027] 본 발명에서 추출 용매는 물, 및 탄소수 1 내지 4개의 직쇄 또는 분지형 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0028] 본 발명에서 추출 온도는 예를 들어 0 ℃내지 150 ℃일 수 있으며, 구체적으로는 50 ℃내지 100 ℃일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0029] 본 발명에서 추출 시간은 예를 들어 1시간 내지 10 시간일 수 있으며, 구체적으로는 3 시간 내지 8시간일 수 있고, 더욱 구체적으로는 5 시간 내지 7 시간일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0030] 본 발명의 망고 추출물은 공지의 천연물 추출법으로 추출될 수 있다. 예를 들어 냉침 추출, 열수 추출, 초음파 추출, 환류냉각 추출, 가열 추출법으로 추출할 수 있으며, 구체적으로는 열수 추출 또는 환류 냉각 추출법으로 추출할 수 있으며, 1회 내지 10회, 보다 구체적으로는 2회 내지 7회 반복 추출할 수 있다.

[0031] 본 발명에서 상기 망고 추출물은 본 발명의 조성물 총 중량 대비 0.001 내지 3.0중량%로 함유할 수 있고, 보다 구체적으로는 조성물 총 중량 대비 0.01 내지 3.0 중량%, 0.1 내지 3.0 중량%, 1.0 내지 3.0 중량 %로 함유될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 추출물을 조성물 총 중량 대비 0.001% 미만으로 포함되는 경우에는 효과를 기대하기 힘들고, 3.0중량%을 초과하는 경우에는 경제성에 문제가 있다.

[0033] 본 발명의 다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 탈모의 개선, 억제, 예방 또는 치료 활성을 갖는 망고의 추출물을 제조하는 방법에 관한 것이다.

[0034] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 망고 추출물은 망고의 잎, 줄기 및 뿌리로 이루어지는 군에서 선택된 1종

이상을, 물, 및 탄소수 1 내지 4개의 직쇄 또는 분지형 알코올로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하여 얻어진 조추출물일 수 있다.

[0035] 본 발명에 따른 망고 추출물의 제조 과정을 보다 상세하게 설명하면 다음과 같다:

[0036] 망고 잎을 절단하고 물로 세척하여 협착물을 제거하고 건조시킨 후, 상기 망고 잎의 중량에 대하여 약 10 내지 30 부피배, 바람직하게는 17 내지 23 부피배의 추출용매로 환류 추출한다. 추출 후 여과하여 여과액을 모은다. 추출 온도는 특별한 제한은 없지만 50 내지 150℃, 바람직하게는 80 내지 100℃인 것이 좋다.

[0037] 추출공정은 1회 또는 수회 반복할 수 있으며, 본 발명의 한 바람직한 예에서는 1차 추출 후 다시 재추출하는 방법을 채택할 수 있는데, 이는 생약 추출물을 대량 생산하는 경우 효과적으로 여과를 한다 하더라도 생약 자체의 수분 함량이 높기 때문에 손실이 발생하게 되어 1차 추출만으로는 추출 효율이 떨어지므로 이를 방지하기 위함이다. 또한, 각 단계별 추출 효율을 검증한 결과 2차 추출에 의해 전체 추출량의 80 내지 90% 정도가 추출되는 것으로 밝혀졌다.

[0038] 본 발명의 일 예에서, 추출 공정을 2회 반복하는 경우, 상기 얻어진 잔사에 다시 추출용매, 약 5 내지 15 부피배, 바람직하게는 8 내지 12 부피배로 환류 추출한다. 추출 후 여과하고 이전에 얻어진 여과액과 합쳐서 감압농축을 하여 망고 추출물을 제조한다. 이와 같이 2차에 걸친 추출 및 각각의 추출 후 얻어진 여과액을 혼합함으로써 추출 효율을 높일 수 있으나, 본 발명의 추출물이 추출 회수에 한정되는 것은 아니다.

[0039] 상기 망고 추출물 제조 시에 사용되는 용매의 양이 너무 적으면 교반이 어렵게 되고 추출물의 용해도가 낮아져 추출 효율이 떨어지게 되고, 지나치게 많은 경우는 다음의 정제 단계에서 사용되는 용매의 사용량이 많아져 경제적이지 못하여 취급상 문제가 발생할 수 있으므로, 용매의 사용량은 상기 범위로 하는 것이 좋다.

[0040] 본 발명의 조성물 내의 유효성분인 망고 추출물의 함량은 사용 형태 및 목적, 환자 상태, 증상의 종류 및 경중 등에 의하여 적절하게 조절할 수 있으며, 고형분 중량 기준으로 0.001 내지 99.9 중량%, 또는 0.1 내지 99.9 중량%, 바람직하게는 0.1 내지 50 중량%, 또는 0.1 내지 40 중량%일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0041] 본 발명의 조성물은 인간을 포함하는 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여 방식은 통상적으로 사용되는 모든 방식일 수 있으며, 예컨대, 경구, 피부, 정맥, 근육, 피하 등의 경로로 투여될 수 있으며, 바람직하게는 경구로 투여될 수 있다.

[0042] 본 발명의 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 연고제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 또는 경피제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태의 비경구 제형 등으로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0043] 본 발명의 조성물은 상기 추출물 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 담체, 부형제 및 희석제 등의 보조제를 추가로 포함하는 것일 수 있다.

[0044] 본 발명의 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는, 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 광물유를 들 수 있다.

[0045] 제제화 할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용할 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다.

[0046] 경구를 위한 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 연고제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0047] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제, 경피제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌 글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[0048] 좌제의 제제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0049] 본 발명의 조성물을 인간에게 적용하는 구체예에 있어서, 본 발명의 추출물 조성물은 단독으로 투여될 수 있으나, 일반적으로 투여방식과 표준 약제학적 관행(standard phamaceutical practice)을 고려하여 선택된 약제학적 담체와 혼합되어 투여될 수 있다.

[0050] 예를 들면, 본 발명의 추출물 함유 조성물은 전분 또는 락토스를 포함하는 정제 형태로, 또는 단독 또는 부형제를 포함하는 캡슐 형태로, 또는 맛을 내거나 색을 띄게 하는 화학 약품을 포함하는 엘릭시르 또는 현탁제 형태로 경구, 구강 내 또는 혀 밑 투여될 수 있다. 이러한 액체 제제는 현탁제(예를 들면, 메틸셀룰로오즈, 위텝솔(witepsol)과 같은 반합성 글리세라이드 또는 행인유(apricot kernel oil)와 PEG-6 에스테르의 혼합물 또는 PEG-8과 카프릴릭/카프릭 글리세라이드의 혼합물과 같은 글리세라이드 혼합물)와 같은 약제학적으로 허용 가능한 첨가제와 함께 제형화 될 수 있다.

[0051] 본 발명의 망고 추출물 함유 조성물의 투여 용량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있으며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정 시간 간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다. 예를 들어, 유효성분 함량을 기준으로 1일 투여량이 0.1 내지 500 ㎎/㎏, 바람직하게는 0.5 내지 300 ㎎/㎏일 수 있다. 상기한 투여량은 평균적인 경우를 예시한 것으로서 개인적인 차이에 따라 그 투여량이 높거나 낮을 수 있다.

[0052] 본 발명의 망고 추출물 함유 조성물의 1일 투여량이 상기 투여 용량 미만이면 유의성 있는 효과를 얻을 수 없으며, 그 이상을 초과하는 경우 비경제적일 뿐만 아니라 상용량의 범위를 벗어나므로 바람직하지 않은 부작용이 나타날 우려가 발생할 수 있으므로, 상기 범위로 하는 것이 좋다.

[0054] 본 발명의 또 다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 망고 추출물을 포함하는 탈모의 개선 또는 억제용 식품 조성물에 관한 것이다.

[0055] 본 발명에서 식품은 각종 음료, 식품 첨가제 등일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0056] 본 발명에서 식품 조성물에 함유된 유효성분인 망고 추출물의 함량은 식품의 형태, 소망하는 용도 등에 따라 적절하게 특별한 제한이 없으며, 예를 들어, 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ㎖를 기준으로 0.02 내지 10 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.

[0057] 본 발명의 식품 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 추출물을 포함하는 것 외에 액체성분에는 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

[0058] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등의 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등의 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제 (타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ㎖당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 약 5 내지 12g이다.

[0059] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 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. 그밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 쥬스 및 과일 쥬스 음료 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.

[0061] 본 발명의 또 다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 망고 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모의 개선 또는 예방용 화장료 조성물에 관한 것이다.

[0062] 본 발명의 화장료 조성물은 상기 유효성분인 망고 추출물 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예컨대 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함한다.

[0063] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 팩, 마사지크림 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0064] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0065] 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, 폴리에틸렌글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.

[0066] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소 결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0067] 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 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0068] 본 발명의 제형이 계면활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0069] 본 발명의 화장료 조성물이 비누, 계면활성제 함유 클렌징 제형 또는 계면활성제 비함유 클렌징 제형일 경우, 피부에 도포한 후 닦아내거나 떼거나 물로 씻어낼 수도 있다. 구체적인 예로서, 상기 비누는 액상비누, 가루비누, 고형비누 및 오일비누이며, 상기 계면활성제 함유 클렌징 제형은 클렌징 폼, 클렌징 워터, 클렌징 수건 및 클렌징 팩이며, 상기 계면활성제 비함유 클렌징 제형은 클렌징크림, 클렌징 로션, 클렌징 워터 및 클렌징 겔이며, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0070] 본 발명의 각 조성물을 인체에 투여/도포하는 경우 천연 추출물의 일반적 특성에 비추어 볼 때 다른 합성품에 비해 부작용의 염려가 없을 것으로 사료되며, 실제로 규격화된 조성물에 대한 독성 시험 결과 생체에 아무런 영향이 없는 것으로 판명되었다.

발명의 효과

[0071] 본 발명은 망고 추출물, 더욱 바람직하게는 망고 잎의 용매 추출물을 유효성분으로 포함하는 탈모의 개선, 억제, 예방 또는 치료용 조성물, 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 망고 추출물은 탈모의 개선, 억제, 예방 및 치료에 유용한 약학적 조성물, 식품 조성물 또는 화장료 조성물로 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0072] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 본 발명의 망고 잎 열수 추출물의 활성산소 소거능 평가 결과를 나타낸다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 본 발명의 망고 잎 열수 추출물의 세포 생존능 평가 결과를 나타낸다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 본 발명의 망고 잎 열수 추출물의 탈모 관련 유전자 발현에 미치는 영향을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0073] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0074] 모든 실험의 결과는 Mean±Standard error로 표기하였고, 실험자료의 통계 분석은 대조군에 대한 실험군의 유의

성을 Student's t-test로 하였으며, p 값이 0.001 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다.

[0076] **제조예. 본 발명의 망고 열수 추출물의 제조**

[0077] 실험에 사용된 애플망고 잎(*Mangifera indica* leaves)은 충청남도 금산군 소재의 망고 과수원에서 2021년 1월에 획득하였다.

[0078] 애플망고 잎 100 g을 1차 증류수 2 L와 함께 환류 추출기에 넣어주었다. 탕액이 끓는 시점으로부터 6 시간 동안 100 ℃로 가열한 뒤, 필터 페이퍼(filter paper, Advantec No.2, Japan)에서 감압 여과액을 제작하였다. 그 다음, 회전 진공 농축기(rotary vacuum evaporator, Eyela, Japan)를 이용하여 농축액을 얻었으며, 동결건조기(IlshineBioBase, Korea)를 이용하여 7일 동안 건조 후 건조 분말을 제작하였다. 최종 동결건조 추출물은 11.254 g으로 수득율은 11.254 %로 확인되었다.

[0080] **실험예 1. 항산화 효과(활성산소 소거능) 평가 - ABTS assay**

[0081] 먼저, 7 mM ABTS(2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothi'azoline-6-sulphonic acid) 용액과 2.4 mM 과황산칼륨(potassium persulfate) 용액을 동일한 부피(1:1)로 혼합하고 24 시간 동안 차광 상태로 실온에서 반응을 유도하여 자유 라디칼(free radical) 상태의 ABTS 용액을 제작하였다.

[0082] 다음으로, 제작한 자유 라디칼 상태의 ABTS 용액 80 μl을 96 웰 플레이트에 첨가하고, 멸균된 증류수를 사용하여 희석시킨 후 마이크로플레이트 리더(r (Molecular Devices EMax Plus, USA)를 이용하여 734 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였을 때 측정값이 0.7 부근의 수치가 되도록 ABTS working 용액을 제작하였다.

[0083] 끝으로, 본 발명의 망고 잎 열수 추출물(WEML)(25, 50 또는 100 μg/ml) 20 μl와 ABTS working 용액 80 μl를 96 웰 플레이트에 첨가하여 5 분간 실온에서 반응시킨 후, 734 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 이때, 활성산소 소거능이 뛰어나다고 알려져 있는 항산화제인 레스베라트롤(resveratrol)(25 또는 50 μM)을 양성 대조군으로 설정하였다. 다음의 식 1에 따라 항산화 효능(ABTS radical scavenging activity(%))을 계산하였다.

[0084] [식 1]

[0085]
$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A_{Sample} - A_{Sampleblank}}{A_{Blank}}\right) \times 100$$

[0086] A_{Sample}: Sample과 ABTS가 반응한 흡광도

[0087] $A_{Sampleblank}$: Sample과 DW가 반응한 흡광도

[0088] A_{Blank}: ABTS와 DW가 반응한 흡광도

[0089] 도 1에서 확인할 수 있듯이, 본 발명의 망고 잎 열수 추출물의 100 μg/ml 농도에서 ABTS 라디칼 소거능은 93.4%로, 양성 대조군인 레스베라트롤(5 μg/ml 농도 47.8%, 10 μg/ml 농도 72.9%) 보다 뛰어난 활성산소 소거능을 나타내었다.

[0091] **실험예 2. 세포 생존율 측정 - MTS assay**

[0092] 충남대학교 의과대학 피부과로부터 분양 받은 모유두 세포(Dermal papilla cell, DP)를 웰당 $1X10^4$ 세포로 96 웰 플레이트에 분주하고, DMEM/F12 배지(Welgene, Korea)에 10 % FBS(Welgene, Korea)와 1 % 100 U/ml 페니실린 및 100 μg/ml 스트렙토마이신(Welgene, Korea)이 첨가된 배양액으로 표준세포배양법인 5 % CO_2, 37 ℃ 조건을 유지하며 CO_2 incubator(Thermo, USA)에서 24 시간 동안 배양하였다. 그 다음, 각 웰에 본 발명의 망고 잎 열수 추출물(WEML)을 농도별(25, 50, 100, 200 또는 400 μg/ml)로 처리하고 36 시간 동안 동일하게 배양하였다. 끝으로, MTS(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-

tetrazolium) 시약(Promega, USA) 20 μl을 첨가하여 490 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 다음의 식 2에 따라 세포 생존율(%)을 계산하였다.

[0093] [식 2]

[0094]
$$\text{세포 생존율 (\%)} = \{(\text{시료첨가군의 흡광도} - \text{시료자체의 흡광도}) / \text{대조군의 흡광도}\} \times 100$$

[0095] 도 2에서 확인할 수 있듯이, 본 발명의 망고 잎 열수 추출물의 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 mg/ml 농도에서 평균 90.0%의 세포 생존율을 나타냈으며, 0.4 mg/ml 농도에서는 77.5%로 감소시키는 것을 확인할 수 있었다. 이에, 세포 독성이 나타나지 않는 농도 범위(~ 0.2 mg/ml) 내에서 이후 실험을 수행하였다.

[0097] **실험예 3. 유전자 발현 분석**

[0098] 모유두 세포를 웰당 $2X10^5$ 세포로 6 웰 플레이트에 분주하고, DMEM/F12 배지에 10 % FBS와 1 % 100 U/ml 페니실린 및 100 μg/ml 스트렙토마이신이 첨가된 배양액으로 5 % CO_2, 37 ℃ 조건을 유지하며 CO_2 incubator에서 24 시간 동안 배양하였다. 그 다음, 본 발명의 망고 잎 열수 추출물을 0.1 mg/ml 농도로 처리한 후 36 시간 동안 추가로 배양하였다. 이때, 본 발명의 망고 잎 열수 추출물을 처리하지 않은 샘플을 대조군으로 설정하였다.

[0099] 배양액을 제거하고 모유두 세포를 DPBS로 세척 후 RNA는 eCube Tissue RNA Mini Kit(PhileKorea, Korea)로 추출하였다. Qubit 2.0 Fluorometer(Invitrogen, USA)을 이용하여 추출한 RNA는 정량하여 RNA 1 μg에 Random hexamer(100 pmol/μl) 1 μl, dNTP mix(10 mM) 1 μl를 각각 첨가하였으며, DEPC-treated water로 총 부피를 8 μl로 맞춰주었다. 그 다음, 65 É항온 수조에서 5 분간 반응시킨 뒤, 곧바로 얼음에 냉각시켰다.

[0100] 각 플레이트에 M-MLV RT reaction buffer(Promega, USA) 4 μl, RNase inhibitor(Enzynomics, Korea) 1 μl, M-MLV reverse transcriptase(Promega, USA) 1 μl, DEPC-treated water 4 μl를 추가하여 총 부피 10 μl를 첨가하였다.

[0101] cDNA 합성은 실온에서 10 분간 반응시킨 후 50 ℃에서 1 시간 동안 반응시켰으며 D.W를 사용하여 1/5로 희석하였다. cDNA 5 μl와 D.W 2 μl, 2X Prime Q-mater Mix(Geneybio, Korea) 10 μl, 하기 표 1의 forward/reverse primer(10 pmol/μl)를 각각 1.5 μl 섞어 사용하였다.

표 1

[0102]

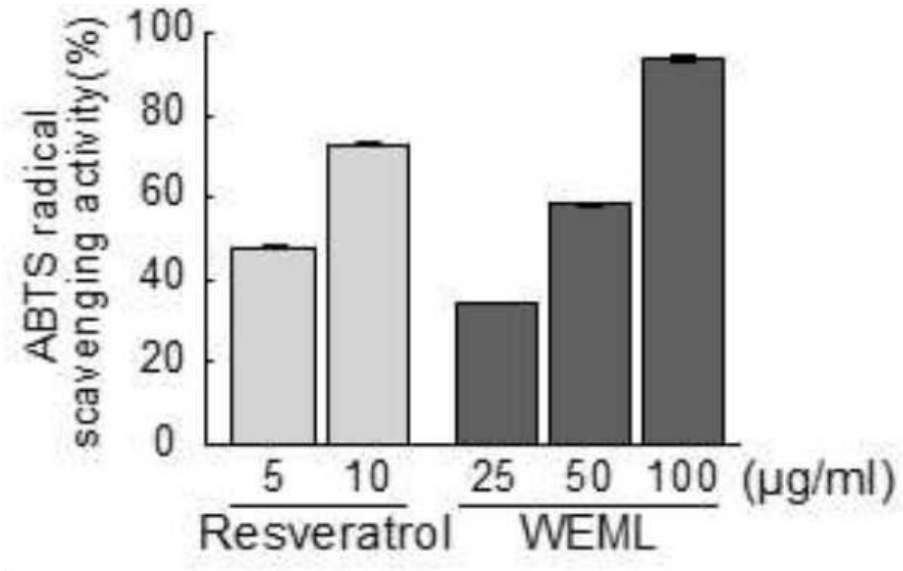
Gene	forward/reverse(서열번호)	프라이머 서열(5'to 3')
SRD5A1	forward(서열번호 1)	CCA ACA GTG GCA TAG GCT TT
	reverse(서열번호 2)	CTA CCA GTA CGC CAG CGA GT
EGR1	forward(서열번호 3)	GGA AAA GCG GCC AGT ATA GG
	reverse(서열번호 4)	AGC CCT ACG AGC ACC TGA C
SGK	forward(서열번호 5)	ATA CAA GAC AGC TCC CAG GC
	reverse(서열번호 6)	TCG GAC TCT GCA AGG AGA AC
DKK1	forward(서열번호 7)	TCT GGA ATA CCC ATC CAA GG
	reverse(서열번호 8)	ATG CGT CAC GCT ATG TGC T
β-actin	forward(서열번호 9)	TCA CCC ACA CTG TGC CCA TCT ACG A
	reverse(서열번호 10)	CAG CGG AAC CGC TCA TTG CCA ATG G

[0103] qRT-PCR은 AriaMx를 이용하여 BMP6, CTNNB1, SRD5A1, SRD5A2, EGR1, SGK, DKK1의 mRNA 발현 변화를 확인하였다. 결과 값의 보정은 β-actin의 mRNA 발현량을 이용하였다.

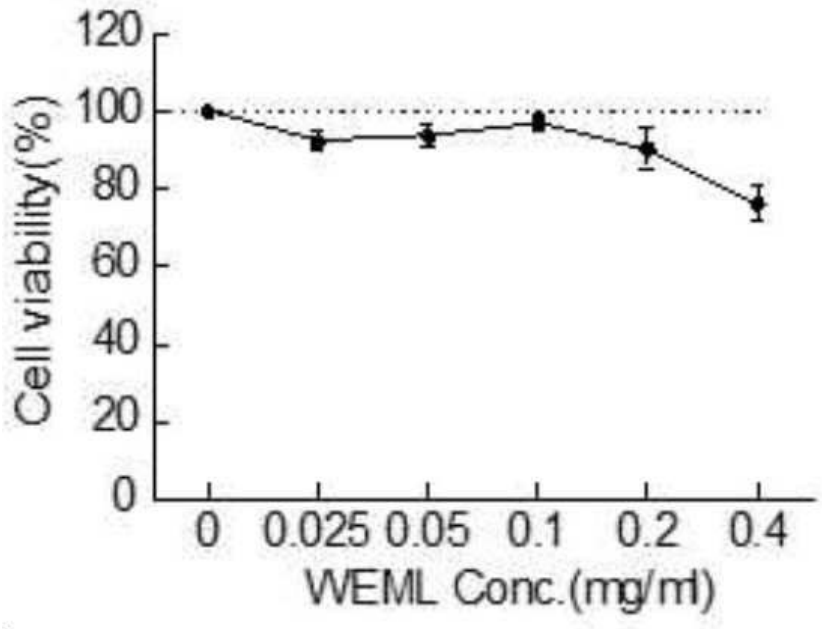
[0104] 도 3에서 확인할 수 있듯이, 본 발명의 망고 잎 열수 추출물을 0.1 mg/ml 농도로 처리한 경우 이를 처리하지 않은 대조군과 비교하였을 때, 모발 성장에 부정적인 작용을 하는 EGR1, SGK, DKK1 유전자의 mRNA 발현량은 68%, 80%, 90% 감소하였으며, 제1형 및 제2형 5알파-리덕타제로 알려진 SRD5A1, SRD5A2 유전자의 mRNA 발현량은 60%, 50% 감소하였다.

도면

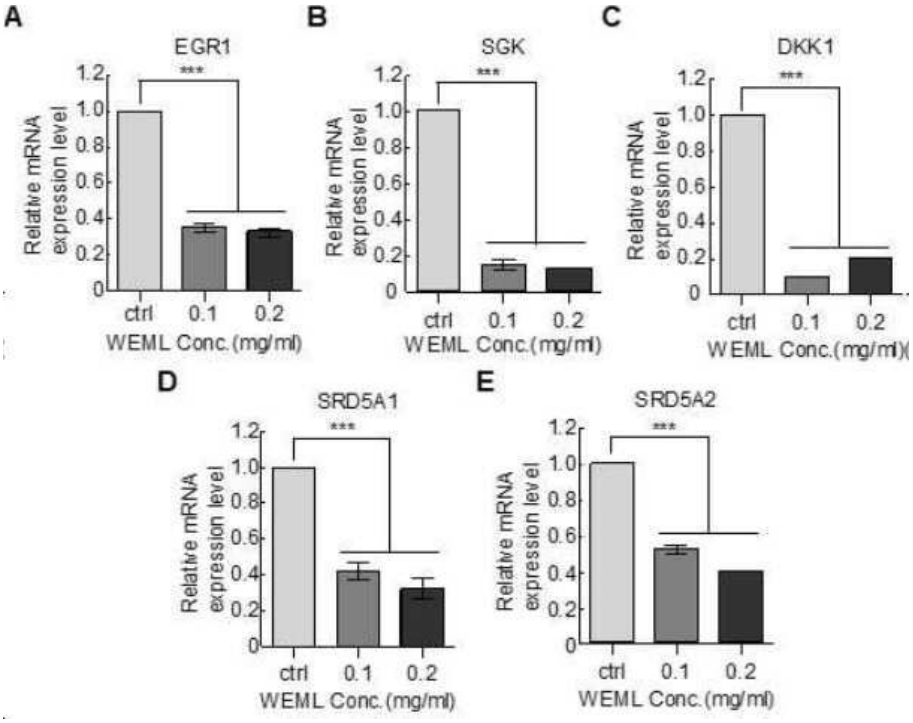
도면1


ABTS radical scavenging activity(%)
100
80
60
40
20
0
5
10
25
50
100
(μg/ml)
Resveratrol
WEML

도면2


Cell viability(%)
120
100
80
60
40
20
0
0
0.025
0.05
0.1
0.2
0.4
WEML Conc.(mg/ml)

도면3



서 열 목 록

<110> The Industry & Academic Cooperation in Chungnam National University

<120> Composition for preventing hair loss comprising extracts of Mangifera indica

<130> DPO211163

<160> 10

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SRD5A1 primer-forward

<400> 1

ccaacagtgg cataggcttt 20

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SRD5A1 primer-reverse

<400> 2

ctaccagtac gccagcgagt 20

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGR1 primer-forward

<400> 3

ggaaaagcgg ccagtatagg 20

<210> 4

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGR1 primer-reverse

<400> 4

agccctacga gcacctgac 19

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SGK primer-forward

<400> 5

atacaagaca gctcccaggc 20

<210> 6

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SGK primer-reverse

<400> 6

tcggactctg caaggagaac 20

<210> 7

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DKK1 primer-forward

<400

> 7

tctggaatac ccatccaagg 20

<210> 8

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DKK1 primer-reverse

<400> 8

atgcgtcacg ctatgtgct 19

<210> 9

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> b-actin primer-forward

<400> 9

tcacccacac tgtgcccatc tacga 25

<210> 10

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> b-actin primer-reverse

<400> 10

cagcggaacc gctcattgcc aatgg 25