

명세서

발명의 명칭: 인간 모유두 세포와 주변 세포들의 염증개선과 5 α -환원효소의 발현억제를 통한 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물에 관한 것으로 특히, 인간 모유두 세포와 주변 세포들의 염증개선과 5 α -환원효소의 발현억제를 통한 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 탈모는 정상적으로 모발이 존재해야 할 부위에 모발이 없는 상태를 말하며, 일반적으로 두피의 성모(굵고 검은 머리털)가 빠지는 것을 의미한다. 성모는 색깔이 없고 굵기가 가는 연모와는 달리 빠질 경우, 미용상 문제를 일으킬 수 있다. 서양인에 비해 모발 밀도가 낮은 우리나라(대한민국) 사람의 경우 약 10 만개 정도의 머리카락이 있으며, 하루에 약 50 내지 80 개까지의 머리카락이 빠지는 것은 정상적인 현상으로 본다. 따라서 자고 나서나 머리를 감을 때 빠지는 머리카락의 수가 100 개가 넘으면 병적인 원인에 의한 것일 가능성이 높다고 볼 수 있다.
- [3] 탈모는 임상적으로 흉터가 형성되는 것(반흔성 탈모)과 형성되지 않는 것(비반흔성 탈모)의 두 종류로 나눌 수 있으며, 반흔성 탈모는 모낭이 파괴되므로 모발의 재생이 되지 않는 반면, 비반흔성 탈모는 모낭이 유지되므로 증상 부위가 사라진 후에 모발이 재생될 수 있다. 흉터가 형성되는 반흔성 탈모로는 루푸스(Lupus erythematosus)에 의한 탈모, 독발성 모낭염, 모공성 편평 태선, 화상 및 외상에 의한 탈모 등을 예로 들 수 있고, 흉터가 형성되지 않는 비반흔성 탈모로는 유전성 안드로젠성 탈모(대머리), 원형 탈모, 곰팡이 감염에 의한 두부 백선, 휴지기 탈모, 발모벽, 모발생성 장애 질환 등을 예로 들 수 있다.
- [4] 탈모증 중에서 빈도가 가장 높은 것은 남성형 탈모증(안드로젠성), 여성형 탈모증과 원형 탈모증(Alopecia areata)이며, 이들은 모두 흉터가 발생하지 않는 비반흔성 탈모들이다.
- [5] 탈모의 원인은 다양하다.
- [6] 남성형 탈모증의 발생에는 유전적 원인과 남성 호르몬인 안드로젠(androgen)이 중요한 인자로 생각되고 있으며, 여성형 탈모에서도 일부는 남성형 탈모와 같은 경로로 일어나는 것으로 추정되고 있으나, 임상적으로 그 양상에 차이가 있다. 원형 탈모증은 일반적으로 극심한 스트레스로 인한 자가 면역 질환으로 여겨지고 있다. 휴지기 탈모증은 내분비 질환, 영양 결핍, 약물 사용, 출산, 발열, 수술 등의 심한 신체적, 정신적 스트레스 후 발생하는 일시적인 탈모로 모발의 일부가 생장 기간을 다 채우지 못하고 휴지기 상태로 이행하여 탈락되어

발생한다.

- [7] 남성형 탈모는 대머리의 가족력이 있는 사람에서 20대나 30대부터 모발이 점차 가늘어지며 탈모가 진행된다. 이마와 머리털의 경계선이 뒤로 밀리면서 양측 측두부로 M자 모양으로 이마가 넓어지며 머리 정수리 부위에도 탈모가 서서히 진행된다.
- [8] 여성형 탈모는 남성형 탈모와 비교하여 이마 위의 모발선이 유지되면서 머리 중심부의 모발이 가늘어지고 머리숱이 적어지는 특징을 갖는다. 탈모의 정도가 약하여 남성형 탈모에서처럼 이마가 벗겨지고 완전한 대머리가 되는 경우는 드물다.
- [9] 원형 탈모증은 다양한 크기의 동전 모양의 원형 또는 타원형의 탈모반(모발이 소실되어 점처럼 보이는 것)이 발생하는 점이 특징이다. 주로 머리에 발생하며, 드물게 수염, 눈썹이나 속눈썹에도 생길 수 있으며, 증상 부위가 확대되면서 큰 탈모반이 형성되기도 한다. 머리카락 전체가 빠지면 온머리 탈모증(전두 탈모증), 전신의 털이 빠지면 전신 탈모증이라 구분하기도 한다. 휴지기 탈모증은 원인 자극 발생 후 2 내지 4 개월 후 부터 탈모가 시작되어 전체적으로 머리숱이 감소하게 되며 원인 자극이 제거되면 수개월에 걸쳐 휴지기 모발이 정상으로 회복됨에 따라 모발 탈락은 감소하게 된다. 정상적으로 모발이 존재해야 할 부위에 모발이 없는 상태, 일반적으로 두피의 성모(굵고 검은 머리털)가 빠지는 것, 탈모증 중에서 빈도가 가장 높은 것은 원형 탈모증과 대머리이고, 이들은 모두 흉터가 발생하지 않는다.
- [10] 남성형 탈모, 여성형 탈모의 치료를 위해서 미녹시딜 등의 바르는 약, 피나스테라이드, 두타스테라이드 등의 먹는 약, 모발 이식술 등이 이용되고 있고, 원형 탈모증의 치료를 위해서는 국소 스테로이드 제제나 전신 스테로이드 제제, 면역 요법 등이 이용되고 있다.
- [11] 미녹시딜(minoxidil)은 그 작용기전이 명료하게 규명되지 않은 채 사용되고 있으나, 대체로 두피의 혈행개선을 통해 모근을 이루는 세포에 영양분과 산소 공급을 원활히 하여 개선하는 것으로 일반적으로 추정되고 있으며, 사용 개시 4 내지 6 개월 이후에 모발이 재성장하고, 치료 중지 시, 효과는 다시 4 내지 6 개월에 걸쳐 소실되며, 피부 건조, 인설, 소양증, 발적 등의 두피 자극, 알레르기 접촉피부염, 광알레르기 접촉피부염 등의 부작용을 나타낸다.
- [12] 피나스테라이드(finasteride)가 남성형 탈모증(안드로겐 탈모증)과 양성 전립선 비대증(BPH: benign prostatic hyperplasia) 치료에 사용되는 원리는 이 질환을 유발하는 디하이드로테스토스테론(DHT: dihydrotestosterone)이라는 호르몬의 생성을 감소시키는 것이다. DHT는 모낭을 축소시켜 남성형 탈모를 일으키고, 전립선을 성장시키기 때문에 DHT를 감소시키면 남성형 탈모와 전립선비대증을 치료할 수 있다. DHT는 5 α -환원효소(5 α -reductase)에 의해 테스토스테론으로부터 생성되는데, 피나스테라이드는 5 α -환원효소를 억제함으로써 DHT의 생성을 감소시킨다. 남성형 탈모증에 사용될 경우, 성인

남성에서만 사용될 수 있으며, 여성에서는 사용될 수 없다. 임부가 피나스테라이드에 노출될 경우, 남자 태아의 외부 생식기가 비정상적으로 될 가능성이 있으므로 임부 또는 임신 가능성이 있는 여성은 이 성분이 함유된 약물과의 접촉을 피해야 할 정도로 심각한 부작용을 나타낸다. 또한, 남성에게 투약 시 성적 부작용(성욕 감퇴, 사정량 감소, 발기 강직도 저하 등) 및 우울증 등의 부작용들도 나타낸다.

- [13] 두타스테라이드(dutasteride)는 피나스테라이드에 비해 더 강한 약리 효과를 나타내나, 역시 남성호르몬인 DHT 생성을 억제하는 약물로서 양성 전립선 비대증과 남성형 탈모증 치료에 사용되며, 동일한 목적으로 사용되는 피나스테라이드와 같은 계열의 약물로 약리작용이 같으며, 차이점은 두타스테라이드는 5 α -환원효소의 1, 2형(type)을 모두 차단하나, 피나스테라이드는 2형만을 차단한다는 것이다. 따라서 두타스테라이드가 피나스테라이드 보다 DHT 농도를 더 감소시키는 것으로 나타났다. 따라서, 남성형 탈모증에 사용될 경우, 성인 남성에서만 사용될 수 있으며, 여성에서는 사용될 수 없다. 임부가 두타스테라이드에 노출될 경우, 남자 태아에서 기형이 유발될 수 있으므로 임부 또는 임신 가능성이 있는 여성은 이 성분이 함유된 약물과의 접촉을 피해야 할 정도로 심각한 부작용을 나타낸다. 또한, 남성에게 투약 시 성적 부작용(성욕 감퇴, 사정량 감소, 발기 강직도 저하 등) 및 우울증 등의 부작용들도 나타낸다.
- [14] 그러나, 아직까지 전립선 비대증과 탈모를 동시에 유발할 수 있는 DHT가 전립선에서는 세포분열을 촉진시켜 전립선 조직을 비대하게 하는 한편, 왜모낭을 이루는 조직은 반대로 위축시켜 머리카락이 가늘어지고 결국 탈모에 이르게 만드는지에 대한 명확한 증거가 없는 상황이다.
- [15] 따라서, 본 발명에서는 먼저 모낭에서 머리카락을 만드는 케라티노사이트(keratinocyte)와 기질세포(matrix cell)의 성장과 분화를 돕는 인간 모유두 세포(Human Dermal Papilla Cell)를 배양한 후, 여기에 테스토스테론이나 DHT를 첨가하여 보았다. 인간 모유두 세포는 이들 안드로겐성 호르몬의 영향으로 특히, 전염증사이토카인(Pro-inflammatory cytokine)인 IL-6가 약 2 내지 4 배 가량 증가하는 것을 발견하였다. 더구나, DHT 뿐만 아니라 테스토스테론도 장시간 인간 모유두 세포에 노출시키면 DHT처럼 인간 모유두 세포에서 다량의 IL-6를 생성 방출되는 것을 발견하였다. 원래 IL-6는 혈액이나 조직에 존재하는 대식세포에서 외부 침입에 대응하여 주로 생성 분비되는 전염증 사이토카인의 일종으로 가장 강력한 염증반응을 일으킨다. 따라서, 본 발명에서는 안드로겐성 탈모증, 원형탈모증, 여성형 탈모증도 모낭에서 머리카락 생성에 가장 중요한 역할을 하는 모유두 세포, 그리고 혈액이나 기타 주변 조직에 존재하는 대식세포에서 과다 생성, 분비되는 염증유도인자인 IL-6 혹은 TNF- α 의 영향으로 염증을 유발하여 서서히 모낭 포함, 주변세포를 파괴하게 만들어 결국 탈모에 이르게 한다고 판단하였다.

- [16] 이를 위해 본 발명에서는 먼저 모유두 세포에 DHT 혹은 테스토스테론을 첨가하여 IL-6을 최대한 많이 생성 분비되는 조건에서 IL-6 생성 분비를 효과적으로 억제하는 물질을 탐색하였다.
- [17] 다음에는 주변조직에서 IL-6을 가장 많이 생성 분비하여 모낭조직에 영향을 미칠 수 있는 대식세포주를 사용하여 여기에 지질다당류(LPS: lipopolysaccharide)라는 강력한 염증유도물질을 첨가, IL-6 혹은 TNF- α 을 최대한 많이 생성 분비하도록 조건을 만든 다음, 이들 염증성 사이토카인의 생성 및 분비를 가장 효율적으로 억제하는 물질을 탐색하였다. 더구나, 일반적으로 프로스타글란딘류와 같이 염증을 직접적으로 유발하는 물질을 만들어내는데 관여하는 COX-2(cyclooxygenase type 2)와 염증을 처음으로 유도할 때 사용하는 일산화질소를 만드는데 관여하는 iNOS(inducible Nitric Oxide Synthase, 유도성 일산화질소 합성효소)라는 염증효소의 발현을 효과적으로 억제하는 물질도 탐색하였다. 여기에 더하여 여러 염증세포를 수월하게 염증부위로 소집하기 위해 혈관을 느슨하게 해주는 일산화질소의 생성을 실제로 효율적으로 억제하는지도 탐색 및 정량적으로 시험하였다.
- [18] 또한, 대부분의 탈모치료제가 테스토스테론에서 DHT로 변환을 촉매하는 5 α -환원효소(5 α -reductase)의 활성을 피나스테라이드(Finasteride)처럼 테스토스테론과 분자구조적으로 유사한 물질로 일종의 경쟁적 억제자 기능을 이용하여 억제하는 것에 초점을 맞추어 개발한 반면, 본 발명에서는 아예 이 5 α -환원효소의 발현을 억제하는 물질을 탐색하였다.
- [19] 여기에 더하여, 비만세포(mast cell)라는 염증세포가 외부 자극을 받아 분비하는 히스타민(histamine)과 류코트리엔(leukotrienes)과 같은 알레르기 유발물질이 더불어 두피를 포함한 모낭에 염증을 유발, 결국 탈모에 이를 수 있다는 가정 하에 비만세포를 진정시켜 히스타민 분비를 효율적으로 억제할 수 있거나, 강력한 알레르기 유발물질인 류코트리엔을 만들어내는 데 관여하는 대표적 염증효소인 5-LO(Lipoxygenase type 5)의 발현을 효과적으로 억제하는 물질을 탐색하였다.
- [20] 마지막으로, 미생물에 의한 감염이나 스트레스, 기타 환경물질에 의해 많이 만들어지는 활성산소가 만성염증을 잘 유발한다는 사실에 기인하여 활성산소를 잘 소거할 수 있는 항산화능이 우수한 물질을 탐색하였다.
- [21] 현재 사용되는 탈모치료제는 크게 혈행개선을 통해 모낭에 영양분과 산소를 공급하는 미녹시딜과 같이 두피에 직접 도포하는 방식, 피나스테라이드나 두테스테라이드와 같이 5 α -환원효소를 억제하여 테스토스테론으로부터 DHT로 변환을 막아 결국 혈중 DHT의 농도를 낮추는 방식, 그리고 트리암시놀론이나 테속시메타손, 베타메타손과 같은 스테로이드제, 그리고 광요법 등이 사용되고 있다. 그러나, 피나스테라이드를 이용한 프로페시아 같은 약물이 성기능 저하 내지는 다른 여러 부작용이 부담되는 환자가 늘어나고 있으며, 특히 여성 탈모증에는 그 사용이 무척 까다롭다는 점에서 부작용이 아예 없거나, 매우 적은

천연물질 유래의 탈모치료제 내지 기능성 식품 개발이 절실히 요구되는 상황이다. 또한, 코르티코이드와 같은 스테로이드제는 장기 사용시 인체에 각종 부작용을 유발하여 의사의 단기적 처방으로만 사용이 권장되고 있다. 또, 도포제로 비교적 다른 약물에 비해 부작용이 적은 미녹시딜은 꾸준히 4 내지 6 개월 이상 사용해야 효과가 기대되는 번거로움이 따른다. 따라서, 이러한 총체적 문제를 해결하기 위해서는 안드로겐성 호르몬의 지속적 자극이나 스트레스나 환경호르몬 및 오염물질, 질병감염 등에 의한 자극들에 의한 모낭 포함 주변조직에서 발생하는 염증을 원천적으로 제거하고, DHT의 생성을 촉매하는 5 α -환원효소의 발현 억제, 활성산소를 효과적으로 소거하는 등의 복합적 기능을 가지면서 장기간 사용해도 인체에 해가 전혀 없거나 아주 적은 자연 유래 물질을 탐색하여 이를 탈모치료제 내지 기능성 식품, 화장품 등으로 개발하는 것이 매우 시급한 실정이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [22] 본 발명자들은 부작용 없이 탈모를 방지하거나 발모 또는 육모를 촉진시킬 수 있는 자연 유래 화합물을 발굴하기 위하여 예의 연구노력 하였다. 약 30 가지 정도의 자연 유래 물질을 탐색한 결과, 제니스테인과 캠페롤을 유효성분으로 포함하는 조성물이 효과적으로 발모 및 육모를 증진하고 탈모를 방지한다는 사실을 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.
- [23] 따라서 본 발명의 목적은 제니스테인과 캠페롤을 유효성분으로 포함하는 인간 모유두 세포와 주변 세포들의 염증개선(알레르기 포함)과 5 α -환원효소의 발현억제를 통한 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물; 및 탈모완화 또는 치료용 의약(외)품, 화장료 조성물 또는 기능성 식품 조성물을 제공하는 데 있다.

과제 해결 수단

- [24] 본 발명의 하나의 구현예에 따르면, 제니스테인과 캠페롤을 유효성분으로 포함하는 인간 모유두 세포와 주변 세포들의 염증개선과 5 α -환원효소의 발현억제를 통한 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.
- [25] 본 발명의 다른 하나의 구현예에 따르면, 제니스테인과 캠페롤을 유효성분으로 포함하는 인간 모유두 세포와 주변 세포들의 염증개선과 5 α -환원효소의 발현억제를 통한 탈모완화 또는 치료용 의약(외)품을 제공한다.
- [26] 본 발명의 또 다른 하나의 구현예에 따르면, 제니스테인과 캠페롤을 유효성분으로 포함하는 인간 모유두 세포와 주변 세포들의 염증개선과 5 α -환원효소의 발현억제를 통한 탈모완화 또는 치료용 화장료 조성물을 제공한다.
- [27] 본 발명의 또 다른 하나의 구현예에 따르면, 제니스테인과 캠페롤을 유효성분으로 포함하는 인간 모유두 세포와 주변 세포들의 염증개선과 5 α -환원효소의 발현억제를 통한 탈모완화 또는 치료용 기능성 식품 조성물을

제공한다.

발명의 효과

- [28] 본 발명에 따르면, 제니스테인과 캠페롤을 유효성분으로 포함하는 인간 모유두 세포와 주변 세포들의 염증개선과 5 α -환원효소의 발현억제를 통한 탈모완화 또는 치료용 기능성 식품 조성물을 제공하며, 만성질환인 탈모에 있어서 장기 투여에도 부작용이 없거나 거의 없는 천연 화합물을 유효성분으로 하고 있을 뿐만 아니라, 발모 및 육모에 뛰어나고 안정적인 효능을 보여 효율적인 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물; 탈모완화 또는 치료용 의약(외)품; 탈모완화 또는 치료용 화장품 조성물; 또는 탈모완화 또는 치료용 기능성 식품 조성물을 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [29] 도 1은 에피갈로카테킨 갈레이트, 제니스테인 및 캠페롤의 iNOS 및 COX-2 발현 억제 효과를 측정한 결과를 나타내는 전기영동 사진(웨스턴 블롯)이다.
- [30] 도 2는 에피갈로카테킨 갈레이트, 제니스테인 및 캠페롤의 일산화질소(NO) 분비 억제 효과를 측정한 결과를 나타내는 그래프이다.
- [31] 도 3은 에피갈로카테킨 갈레이트, 제니스테인 및 캠페롤의 테스토스테론 및 DHT로 생성되는 IL-6 분비 억제 효과를 측정한 결과를 나타내는 그래프이다.
- [32] 도 4는 에피갈로카테킨 갈레이트, 제니스테인 및 캠페롤의 5 α -환원효소 II형의 발현 억제 효과를 측정한 결과를 나타내는 전기영동 사진(웨스턴 블롯)이다.
- [33] 도 5는 에피갈로카테킨 갈레이트, 제니스테인 및 캠페롤의 5-LO 발현 억제 효과를 측정한 결과를 나타내는 전기영동 사진(웨스턴 블롯)이다.
- [34] 도 6 및 도 7은 본 발명의 하나의 구체적인 실시예로서의 탈모개선 조성물(KGE complex: 캠페롤 40중량%, 제니스테인 30중량% 및 에피갈로카테킨 갈레이트 30중량%)의 경구투여 시작 직전(0일), 경구투여 7일, 12일, 17일, 22일, 27일에 모든 마우스의 등 피부를 디지털카메라로 촬영하여 모 성장속도를 육안평가한 결과를 나타내는 도면들이다.
- [35] 도 8은 본 발명의 하나의 구체적인 실시예로서의 탈모개선 조성물(KGE complex: 캠페롤 40중량%, 제니스테인 30중량% 및 에피갈로카테킨 갈레이트 30중량%)의 마우스에의 경구투여 실험 종료(27일차) 후, 발모된 모발의 길이를 측정한 그래프이다.
- [36] 도 9는 본 발명의 하나의 구체적인 실시예로서의 탈모개선 조성물(KGE complex: 캠페롤 40중량%, 제니스테인 30중량% 및 에피갈로카테킨 갈레이트 30중량%)의 마우스에의 경구투여 실험 종료(27일차) 후, 발모된 모발의 무게를 측정한 그래프이다.
- [37] 도 10은 각 경구투여군 별 육안평가 결과를 나타내는 그래프이다.
- [38] 도 11은 각 경구투여군 별 실제 마우스의 모발 성장 상태를 카메라로 촬영한 것을 날짜별로 배열한 사진들이다.

- [39] 도 12는 각 경구투여군 별 마우스의 털의 길이를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.
- [40] 도 13은 각 경구투여군 별 마우스의 털의 총 중량을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.
- [41] 도 14는 본 발명의 하나의 구체적인 실시예로서의 탈모개선 조성물(KGE complex: 캠페롤 40중량%, 제니스테인 30중량% 및 에피갈로카테킨 갈레이트 30중량%)의 인간에의 경구 투여 전 및 투여 8주 후의 모발 밀도를 촬영한 사진이다.
- [42] 도 15는 본 발명의 하나의 구체적인 실시예로서의 탈모개선 조성물(KGE complex: 캠페롤 40중량%, 제니스테인 30중량% 및 에피갈로카테킨 갈레이트 30중량%)의 인간에의 경구 투여 전 및 투여 8주 후의 모발 두께를 촬영한 사진이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [43] 본 발명은 최선의 형태로, 제니스테인과 캠페롤을 유효성분으로 포함함을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물을 제시한다.
- [44] 그리고, 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물을 포함함을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 의약(외)품을 제시한다.
- [45] 그리고, 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물을 포함함을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 화장품 조성물을 제시한다.
- [46] 그리고, 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물을 포함함을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 기능성 식품 조성물을 제시한다.
- [47] 그리고, 제니스타인을 5 내지 950 mg/일 단독 유효성분으로 사용하여 모낭을 비롯, 주변조직과 세포들의 염증을 완화하여 탈모를 치료 내지 개선하는 조성물을 제시한다.

발명의 실시를 위한 형태

- [48] 이하, 본 발명의 구체적인 실시예를 첨부한 도면을 참조하여 상세히 설명한다.
- [49] 본 발명의 하나의 구현예에 따른 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물은, 제니스테인과 캠페롤을 유효성분으로 포함함을 특징으로 하며, 이러한 본 발명에 따른 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물은 인간 모유두 세포와 대식세포를 포함한 주변 세포들의 염증개선과 5 α -환원효소의 발현억제를 통하여 탈모를 완화 또는 치료하는 효과를 제공함을 특징으로 한다.
- [50] 상기 제니스테인(genistein)은 엘씨 라보라토리즈 (LC Laboratories, 미국 매사추세츠주 워번 소재)를 비롯한 수많은 공급처로부터 시중에서 입수가 가능한 BCS 클래스 II 이소플라본이며, 식물계의 에스트로겐 유사체로서 강력한 항산화 효과, 항염증 효과, 항암 효과, 에스트로겐 유사체로서의 호르몬 효과, 세포재생효과와 함께 정상세포의 복제를 촉진한다. 최근에는 광노화를 억제하는 물질로도 임상결과가 보고되었다. 제니스테인에 대한 세포 표적 및

제니스테인에 의해 제어되는 신호전달 경로는 밝혀져 있으며, 암과 관련된 것으로는 세포 성장 및 분열, 아포토시스, 혈관신생, 중앙 침윤 및 전이에 중요한 표적 및 경로가 있다. 제니스테인 자체의 내재된 항종양 효과 외에도, 연구에 의하면, 제니스테인은 또한 인간 암 세포주에서 시험관 내 및 암의 동물 모델에서 생체 내 둘 모두에서 임상적으로 사용되는 여러 화학요법제의 항종양 효과를 증강시키거나 또는 강화하는 것으로 나타났다. 폴리페놀의 일종인 제니스테인은 예를 들어 루팡(lupin), 잠두콩(fava beans), 대두(soy beans), 칠파리 및 회화나무 열매에서 분리 추출할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니고, 합성도 가능하다. 본 발명에서 제니스테인은 그대로 또는 약학적으로 허용가능한 염의 형태, 예를 들어, 결정성 제니스테인의 나트륨, 칼륨, 마그네슘, N-메틸글루카민 (메글루민), 칼슘, L-리신, N-에틸글루카민 (에글루민), 및 디에틸아민 염 및 이들뿐 아니라 제니스테인의 결정성 수화물들, 예를 들어, 일수화물 및 이수화물을 포함하여 약제학적으로 허용가능한 무독성 염이면 특별히 한정되지 않는다. 상기 제니스테인은 1 내지 950 mg/일의 범위 이내의 양으로 복용가능하다.

- [51] 상기 캠페롤(kaempferol)은 플라보노이드 중의 하나인 플라보놀(flavonol)의 대표적인 성분 중의 하나로 식물의 꽃 또는 잎에 널리 분포되어 있다. 플라보놀은 100 개 이상이 이미 알려져 있으며, 캠페롤, 퀘르세틴(quercetin) 및 미리세틴(myricetin)의 3종류가 가장 많이 존재하는 것으로 알려져 있다. 특히, 캠페롤은 항산화, 항염 등의 생리활성이 뛰어난 물질로 다양한 효능이 연구되어지고 있으며, 다양한 분야로의 적용이 이루어지고 있다. 본 발명에서 캠페롤은 그대로 또는 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 사용할 수 있다. 본 발명에서 사용한 염으로는 약제학적으로 허용가능한 무독성 염이면 특별히 한정되지 않는다. 예를 들어, 염산, 황산, 질산, 인산, 불화수소산, 브롬화수소산, 포름산, 아세트산, 타르타르산, 젖산, 시트르산, 푸마르산, 말레산, 숙신산, 메탈술폰산, 벤젠술폰산, 톨루엔술폰산 또는 나프탈렌술폰산 등의 염 형태로 사용할 수 있다. 또한, 캠페롤은 천연 식물인 케이퍼, 샤프론, 케일, 생강, 중국 양배추, 감잎 등에서 추출 농축 분리해서 사용할 수 있으며, 이들에 꼭 한정되는 것은 아니다. 상기 캠페롤은 5 내지 9,500 mg/일의 범위 이내의 양으로 복용가능하다.
- [52] 본 발명의 하나의 구현예에 따른 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물은 제니스테인 5 내지 95중량% 및 캠페롤 5 내지 95중량%, 바람직하게는 제니스테인 20 내지 60중량% 및 캠페롤 40 내지 80중량%의 범위 이내의 양으로 포함할 수 있다.
- [53] 본 발명에 따른 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물은 에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG: epigallocatechin gallate)를 더 포함할 수 있다.
- [54] 에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG)는 갈산염-3-에피갈로카테킨으로도 불리며, 녹차 잎의 추출물인 폴리페놀의 일종인 성분이다. 녹차의 추출물에는

중량기준으로 약 3 내지 4% 정도의 카페인이 존재하며, 카테킨이라고 알려져 있는 폴리페놀계 성분들이 0 내지 18% 정도 함유되어 있어, 카페인과 카테킨은 녹차의 주성분으로 알려져 있다. 상기 카테킨 성분은 카테킨(C: catechin), 에피카테킨(EC: epicatechin), 에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG: epigallocatechin gallate), 에피갈로카테킨(EGC: Epigallocatechin), 에피카테킨 갈레이트(EGC: epicatechin gallate) 등으로 구성되어 있으며, 이중 EGCG가 전체 카테킨의 절반 이상을 차지하고 있다. 에피갈로카테킨 갈레이트는 강한 항산화 작용을 가지고 있으며, 독감 바이러스 및 인플루엔자에 대한 항바이러스 능력을 지니고 있으며, 전립선암의 성장을 저해하고, 백혈병 치료 효과가 있음이 보고된 바 있다. 또한, 주요 성인 질환인 당뇨, 고지혈증, 동맥경화를 지연 또는 예방할 수 있는 효과가 있다는 보고가 이루어진 바 있다.

- [55] 본 발명에 따른 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물은 제니스테인 20 내지 60중량%, 캠페롤 40 내지 80중량% 및 잔량으로서 에피갈로카테킨 갈레이트를 포함할 수 있으며, 바람직하게는 제니스테인 25 내지 45중량%, 캠페롤 35 내지 55중량% 및 잔량으로서 에피갈로카테킨 갈레이트를 포함할 수 있다.
- [56] 본 발명에 따른 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물은 효모 추출물을 더 포함할 수 있다.
- [57] 효모 추출물은 효모의 수 추출물을 의미하며, 상기 효모는 특별한 종류에 한정되는 것은 아니며, 예를 들어, 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*), 사카로마이세스 엘립소이더스(*Saccharomyces ellipsoideus*), 사카로마이세스 사케(*Saccharomyces sake*), 사카로마이세스 포르모센시스(*Saccharomyces formosensis*), 사카로마이세스 코레아누스(*Saccharomyces coreanus*), 사카로마이세스 불라디(*Saccharomyces boulardii*) 등을 들 수 있으며, 바람직하게는 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*)이다. 효모는 아르기닌, 글루탐산, 이소루이신, 루이신, 발린 등 다종의 아미노산을 포함하고 있어, 피부나 모발에 부족한 단백질을 보충해 주는 역할을 한다. 또한, 효모는 비타민 B1(thiamine), 비타민 B2(riboflavin), 판토텐산, 니아신, 비오틴 등 다종의 비타민을 포함하고 있다고 알려져 있으며, 이러한 특성으로 인해 인체 건강에도 다양한 효과를 나타낼 것으로 기대되고 있다. 본 발명에서는 이러한 효모의 수 추출물이 이용되는데, 이때 이용가능한 효모 추출물은 효모를 물에 용해시킨 후, 여과에 의해 용해된 부분과 용해되지 않는 부분을 분리한 후, 용해된 부분을 별도로 취해 농축시킨 후, 여과하여 얻은 효모 추출물 또는, 열 혹은 염 또는 이 둘을 동시에 사용하는 파쇄법으로 파쇄하여 엑기스를 얻고, 이를 50 내지 70%의 에탄올로 침전시킨 침전체를 다시 용해하여 불용성부분을 제거한 효모 추출물을 들 수 있으나, 이들에 한정되는 것은 아니다. 효모 추출물은 본 발명에 따른 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물 100 중량부를 기준으로 10 내지 50 중량부의 범위 이내의 양으로 더 포함될 수 있다.
- [58] 상기한 바와 같은 본 발명에 따른 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물은

인간 모유두 세포와 주변 세포들의 염증개선과 5 α -환원효소의 발현억제를 통하여 탈모증을 치료 및/또는 완화시키고, 발모와 양모를 촉진할 수 있다.

- [59] 본 발명에 따른 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물은 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 제형화될 수 있으며, 제형화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 이런 조성물의 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하며, 일일 투여량은 조성물의 양을 기준으로 약 0.0001 내지 1 g/kg 체중(kg of Body Weight)일 수 있으며, 하루 1 내지 6 회 투여될 수 있다. 이 조성물을 유효성분으로 포함하는 경구투여용 조성물로 제조될 수 있다. 즉, 유효성분으로서 상기 조성물 외에 미세결정 셀룰로오스, 유당, 당류, 전분, 변성 전분, 만니톨, 소비톨 및 다른 폴리올류, 덱스트린, 덱스트란 및 말토덱스트린, 칼슘 카보네이트, 칼슘 포스페이트 및/또는 하이드로젠 포스페이트, 설페이트와 같은 1 이상의 부형제(filler), 유당, 전분, 변형 전분, 덱스트린, 덱스트란 및 말토덱스트린, 미세결정 셀룰로오스, 당류, 폴리에틸렌글리콜, 히드록시프로필 메틸셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 히드록시에틸 셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 소듐 카르복시 메틸 셀룰로오스, 젤라틴, 아카시아검, 트라가칸스(tragacanth), 폴리비닐피롤리돈, 마그네슘 알루미늄 실리케이트와 같은 1 이상의 결합제(binders), 가교 소듐 카르복시 메틸셀룰로오스, 가교 폴리비닐피롤리돈, 가교 카르복시메틸 전분, 전분 및 미세결정 셀룰로오스, 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 폴리아크릴린 포타슘과 같은 1 이상의 붕해제(disintegrating agents), 마그네슘, 칼슘 및 아연 스테아레이트, 칼슘 베헤네이트(behenate), 소듐 스테아릴 푸마레이트, 탈크, 마그네슘 트리실리케이트, 스테아르산, 팔미트산, 카르나우바납(carnauba wax), 실리콘 디옥사이드와 같은 1 이상의 서로 다른 활택제(glidants), 소듐 시트레이트, 디베이직(dibasic) 소듐 포스페이트, 칼슘 카보네이트, 하이드로젠 포스페이트, 포스페이트, 설페이트, 마그네슘 카보네이트, 포타슘 시트레이트, 포타슘 소르베이트, 소듐 아스코르비네이트, 벤조에이트, 하이드로젠 카보네이트, 하이드로젠 포스페이트와 같은 1 이상의 완충제(buffering agents) 또는 MgO, MgOH, NaOH, Ca(OH)₂, 트로메타민(tromethamine), 알루미늄 마그네슘 실리케이트, 라우릴 설페이트(lauryl sulfate)와 같은 1 이상의 염기 물질을 포함할 수 있다. 필요하다면, 상기 제형은 계면활성제(surfactants) 및 고형의 약제학적 제형을 위한 다른 유용한 성분, 예를 들어, 색소(coloring agents), 안료(lakes), 향료(aromas) 및 흡착제(adsorbents) 등을 포함할 수도 있다. 계면활성제로는 다음과 같은 것이 사용될 수 있다: 소듐 라우릴 설페이트와 같은 이온성 계면활성제, 서로 다른 폴록사머(poloxamers)(폴리옥시에틸렌 및 폴리옥시프로필렌 중합체), 천연 또는 합성 레시틴(lecithins), 솔비탄 지방산 에스테르(예를 들어 Atlas Chemie에서 제조된 스판(Span®)),

폴리옥시에틸렌솔비탄 지방산 에스테르(예를 들어 Atlas Chemie에서 제조된 트윈(Tween®)), 폴리옥시에틸레이티드 히드로게네이티드(hydrogenated) 캐스터 오일(예를 들어 BASF에서 제조된 크레모포(Cremophor®)), 폴리옥시에틸렌 스테아레이트(예를 들어 Atlas Chemie에서 제조된 Myrj®)와 같은 비이온성 계면활성제 또는 세틸 피리딘 클로라이드와 같은 양이온성 계면활성제 또는 상기 언급된 계면활성제의 혼합물. 본 발명의 약제학적 제형은 산제, 과립제, 정제 또는 캡슐제와 같은 고형 약제학적 제형 또는 액형 약제학적 제형, 바람직하게 캡슐에 채운 형태로 제조될 수 있다. 본 발명에 따른 고형 약제학적 제형은 하기한 바대로 제조될 수 있다.

- [60] 유효 성분, 부형제, 결합제, 알카리화 또는 완충 물질, 붕해제 및 필요하다면, 계면활성제 및 고형 약제학적 제형에 유용한 다른 성분들의 혼합물을 적절한 혼합기를 사용하여 균질화하고, 상기 혼합물을 적절한 압착기를 사용하여 압착하거나 또는 슬러깅 기계(slugging machines)상에서 슬러깅하고, 상기 압착물 또는 슬러그를 연마 및/또는 체를 치고, 부형제, 붕해제, 완충 물질, 활택제, 윤활제 및 정제 또는 캡슐을 위해 유용한 다른 성분들을 첨가하고 재균질화 한다. 결과 혼합물을 정제로 압축하거나 연질 캡슐 또는 경질 캡슐에 충전한다.
- [61] 유효 성분, 부형제, 결합제, 알카리화 또는 완충 물질, 붕해제 및 필요하다면, 계면활성제 및 고형 약제학적 제형에 유용한 다른 성분들의 혼합물을 적절한 혼합기를 사용하여 균질화하고, 활택제 및 윤활제를 첨가하고 재균질화 한다. 결과 혼합물을 정제로 압축하거나 연질 캡슐 또는 경질 캡슐에 충전한다.
- [62] 유효 성분, 부형제, 결합제, 알카리화 또는 완충 물질, 붕해제 및 필요하다면, 계면활성제 및 고형 약제학적 제형에 유용한 다른 성분들의 혼합물을 적절한 혼합기를 사용하여 균질화 하고, 물, 에탄올, 메탄올, 이소프로필 알코올, n-부틸 알코올, 아세톤, 디에틸에테르, 에틸아세테이트, 이소프로필 아세테이트, 메틸 아세테이트, 에틸아세테이트, 이소프로필 아세테이트, 메틸 아세테이트, 디클로로메탄, 클로로포름, 에탄올과 아세톤, 메탄올과 아세톤, 디클로로메탄과 메탄올과 같은 이들 용매의 혼합물, 및 이들의 혼합물과 같은 적절한 용매로 과립화 한다. 결과물 과립을 표준 트레이 건조기, 유동층 건조기, 진공 및 전자과 건조기와 같은 적절한 건조기 안에서 건조한다. 상기 건조된 과립에, 활택제, 붕해제, 알카리화 또는 완충물질, 활택제 및 윤활제를 첨가하고, 필요하다면 고형 약제학적 제형에 유용한 다른 성분들을 첨가한다. 상기 결과 혼합물을 재균질화 하고 정제로 압축하거나 연질 캡슐 또는 경질 캡슐에 충전시킬 수 있다. 선택적으로, 정제는 추가로 필름 코팅될 수 있다.
- [63] 본 발명의 다른 하나의 구현예에 따르면, 제니스테인과 캄페롤을 유효성분으로 포함하는 인간 모유두 세포와 주변 세포들의 염증개선과 5 α -환원효소의 발현억제를 통한 탈모완화 또는 치료용 의약(외)품을 제공한다. 본 발명에 따른 탈모완화 또는 치료용 의약(외)품 조성물로 사용할 경우, 상기한 탈모완화 또는 치료용 조성물 그대로 또는 다른 의약(외)품 성분과 함께 사용될 수 있고,

통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 본 발명에 따르면 본 발명의 의약(외)품 조성물은 소독청결제, 샤워폼, 가그린, 물티슈, 세제비누, 핸드워시, 가슴기 충전제, 마스크, 연고제 또는 필터 충전제일 수 있다.

- [64] 본 발명의 또 다른 하나의 구현예에 따르면, 제니스테인과 캄페롤을 유효성분으로 포함하는 인간 모유두 세포와 주변 세포들의 염증개선과 5 α -환원효소의 발현억제를 통한 탈모완화 또는 치료용 화장품 조성물을 제공한다. 본 발명에 따른 탈모완화 또는 치료용 화장품 조성물로 사용할 경우, 상기한 탈모완화 또는 치료용 조성물에 더하여 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함할 수 있다. 본 발명의 화장품 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 샴푸, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 두피 앰플 혹은 토너, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [65] 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.
- [66] 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.
- [67] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예를 들어, 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [68] 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, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [69] 본 발명의 제형이 계면활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트,

지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

- [70] 본 발명의 또 다른 하나의 구현예에 따르면, 제니스테인과 캄페롤을 유효성분으로 포함하는 인간 모유두 세포와 주변 세포들의 염증개선과 5 α -환원효소의 발현억제를 통한 탈모완화 또는 치료용 기능성 식품 조성물을 제공한다.
- [71] 본 발명의 조성물이 기능성 식품 조성물 또는 식품 조성물로 제조되는 경우, 유효성분으로서 상기한 바와 같은 탈모완화 또는 치료용 조성물에 더하여, 기능성 식품 또는 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함할 수 있다. 상술한 탄수화물의 예로는 단당류, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 이당류, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 다당류, 예를 들어 덱스트린, 사이클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)) 및 합성 향미제(사카린, 아스 파르탐 등)를 사용할 수 있다. 본 발명의 기능성 식품 조성물이 드링크제로 제조되는 경우에는 상기한 바와 같은 탈모완화 또는 치료용 조성물에 더하여 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 두충 추출액, 대추 추출액 또는 감초 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.
- [72] 본 발명의 의약(외)품, 화장품 조성물, 기능성 식품 조성물은 상술한 약제학적 조성물과 유효성분 및 용도를 공통으로 하기 때문에, 상기 약제학적 조성물과의 관계에서 공통된 내용은 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여, 그 기재 생략한다.
- [73]
- [74] 이하에서 본 발명의 바람직한 실시예 및 비교예들이 기술되어질 것이다.
- [75] 이하의 실시예들은 본 발명을 예증하기 위한 것으로서 본 발명의 범위를 국한시키는 것으로 이해되어져서는 안될 것이다.
- [76] 실시예 1: 항염증 실험
- [77] 1. 유도질소산화물합성효소(iNOS: inducible Nitric Oxide Synthase), 사이클로옥시게나아제-2(COX-2: cyclooxygenase-2) 발현 억제
- [78] 마우스 대식세포 RAW 264.7을 6 $\times 10^5$ cells/well(웰당 세포 수)의 농도로 6-웰 플레이트에 분주하여 24 시간 동안, 섭씨 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Sigma-Aldrich, Cat. No. D7777) 배지를 이용하여 배양한 후, 시료를 농도별로 첨가하였다.
- [79] 시료 첨가 30분 후, 지질다당류(LPS: Lipopolysaccharide, 100 ng/ml)를 첨가하여 20 시간 더 배양하였다. 그 후, 배지를 제거하고 인산염 완충 염수(PBS: phosphate buffered saline)로 세척하여 세포를 수거하였다. 단백질을 추출하기 위하여,

방사성면역침강분석(RIPA: radio immunoprecipitation assay)용 용해 완충제(lysis buffer ; 염화나트륨 150 mM, 소듐도데실설페이트(SDS) 0.1%, 트리스-염산(Tris-HCl: pH 7.5) 50 mM, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 2 mM, 소듐 디옥시콜레이트(sodium deoxycholate) 0.5%, 트리톤 X-100(Triton X-100) 1%)를 첨가하여 반응시킨 후, 10,000 rpm, 4°C에서 15분간 원심분리 한 후, 상등액을 취하였다. 그 후, 595 nm에서 상등액의 흡광도를 측정하여 각 표본의 단백질 농도를 결정하였다. 이후, 세포 단백질 시료를 소듐도데실설페이트(SDS) 및 염색약과 혼합하여 12% SDS 폴리아크릴아미드 겔(polyacrylamide gel)에서 전기영동을 진행하였다. 분리된 단백질을 폴리비닐리덴 플루오라이드(PVDF: polyvinylidene fluoride) 막으로 전이시키고, 10% 탈지유(skim milk)로 1 시간 동안 상온에서 블로킹(blocking)한 후, 1, 2차 항체를 부착시킨 후, 증강화학발광(ECL: enhanced chemiluminescent) 용액으로 발색시켜 iNOS 및 COX-2의 발현을 측정하였다.

- [80] 그 결과를 도 1에 나타내었으며, 캠페롤이 25 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 iNOS의 발현을 대조(CON) 수준으로 억제하였고, 같은 농도(25 $\mu\text{g/ml}$)에서 제니스테인이 COX-2의 발현을 가장 많이 억제하는 것을 확인하였다.

[81] 2. 대식세포에서 일산화질소의 생성 억제 효과

- [82] 마우스 대식세포주인 RAW 264.7 세포를 2×10^5 cells/well의 농도로 24-웰 플레이트에 분주하여 24 시간 동안, 섭씨 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다. 여기에 DMSO에 녹인 시료인 에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG), 제니스테인(genistein), 그리고 캠페롤(kaempferol)을 농도별로 첨가하였다. 이때 DMSO의 최종 농도는 다 0.1%로 맞추었다. 30분 후에 염증유도물질인 LPS(lipopolysaccharide)를 1 $\mu\text{g/ml}$ 되게 첨가하였다. 이후 이들을 다시 섭씨 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24 시간 동안 배양하였다.

- [83] 일산화질소를 정량하기 위해 세포배양액 50 μl 에 Griess reagent A(5% 인산, 1% 술파닐아미드) 50 μl 를 더한 다음 어두운 곳에서 5 분간 방치하였다. 여기에 Griess reagent B(0.1% N-(1—나프틸)에틸렌디아민 이염화물) 50 μl 를 더 첨가하여 어두운 곳에서 5분간 반응시켰다. 이 반응물의 흡광도를 540 nm에서 측정하였고, 이를 표준곡선과 비교하여 최종 일산화질소의 농도를 계산하였다. 표준곡선을 위해서는 아질산나트륨을 세포배양액 대신 사용하여 위와 동일한 방법으로 반응한 후 흡광도를 측정하여 얻었다. 이 결과를 도 2에 나타내었으며, 캠페롤은 20 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 거의 대조수준으로 억제하였고, 다음으로는 EGCG가 잘 억제하였고, 제니스테인은 다소 억제력이 떨어졌다.

[84] 3. 대식세포에서 인터류킨-6(IL-6), 종양괴사인자- α (TNF- α) 분비 억제

- [85] 마우스 대식세포 RAW 264.7를 2×10^5 cells/well의 농도로 24-웰 플레이트에 분주하여 24시간 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂에서 배양한 후, 시료를 농도별로 첨가하였다. 시료 첨가 30분 후, LPS(100 ng/ml)를 첨가하여 섭씨

37도에서 20시간 배양하고, 배지를 수거하여 분비된 IL-6 및 TNF- α 를 각각 Mouse IL-6 ELISA kit(Invitrogen, Thermo Scientific), Mouse TNF- α ELISA kit(Invitrogen, Thermo Scientific)을 사용하여 정량하였다.

- [86] 그 결과를 표 1에 나타내었으며, 대식세포에서는 캠페롤(kaempferol)이 IL-6와 TNF- α 모두 효과적으로 억제하여 에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG), 제니스테인(genistein) 및 캠페롤(kaempferol) 중 가장 높은 억제효과를 나타냄을 확인하였다.

[87] [표1]

마우스 대식세포(RAW 264.7cell)에서 IL-6, TNF- α 방출 억제 효과

	에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG)	제니스테인(Genistein)	캠페롤(Kaempferol)
IL-6 (IC ₅₀)	98.99 $\pm$ 10.87 μ g/ml	8.92 $\pm$ 0.08 μ g/ml	5.93 $\pm$ 0.07 μ g/ml
TNF- α (IC ₅₀)	83.68 $\pm$ 3.45 μ g/ml	14.99 $\pm$ 0.11 μ g/ml	13.58 $\pm$ 0.72 μ g/ml

- [88] 4. 인간 모유두 세포(HFDPC: Human Follicle Dermal Papilla Cell)에서 IL-6 분비 억제

- [89] 인간 모유두 세포(HFDPC)를 1×10^5 cells/well의 농도로 12-웰 플레이트에 분주하여 24 시간 동안 배양하였다. 이후, 우태혈청(FBS: fetal bovine serum) 미함유 둘베코 변형 이글 배지(DMEM: Dulbecco's modified eagle's medium)로 교체하여 24 시간 절식(Starvation)시킨 후, 시료를 농도별(2, 5, 10, 20 μ g/ml)로 첨가하고 시료 첨가 1 시간 후 테스토스테론(TST: Testosterone, 10 μ M) 또는 디하이드로테스토스테론(DHT: dihydrotestosterone, 10 μ M)을 첨가하고 72 시간 배양하였다. 그 후, 배지를 수거하여 배지 중에 분비된 IL-6를 Human IL-6 ELISA kit(Invitrogen, Thermo Scientific)을 사용하여 정량하였다.

- [90] 그 결과를 도 3에 나타내었으며, 제니스테인(genistein)이 5 μ g/ml, 캠페롤(kaempferol)이 10 μ g/ml의 농도에서 DHT 혹은 TST에 의한 IL-6의 방출을 거의 완벽하게 억제하였음을 확인하였다.

- [91] 실시예 2: 인간 모유두 세포(HFDPC)에서 5 α -환원효소 II형(5 α -reductase type II) 발현 억제

- [92] 인간 모유두 세포(HFDPC)를 6 웰 플레이트에 3×10^5 cells/well의 농도로 분주하여 24 시간 DMEM 배지에서 배양한 후, FBS 미함유 DMEM 배지로 교체하여 24시간 절식시켰다. 시료를 농도별(10, 20 μ g/ml)로 첨가하고 30 분 후 테스토스테론(10 μ M)을 첨가하여 72 시간 배양 후, 배지를 제거하고, 단백질을 추출하기 위하여 PBS로 세척하여 세포를 수거하였다. 단백질을 추출하기 위하여, 방사성면역침강분석(RIPA: radio immunoprecipitation assay)용 용해 완충제(lysis buffer; 염화나트륨 150 mM, 소듐도데실설페이트(SDS) 0.1%,

트리스-염산(Tris-HCl: pH 7.5) 50 mM, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 2 mM, 소듐 디옥시콜레이트(sodium deoxycholate) 0.5%, 트리톤 X-100(Triton X-100) 1%)를 첨가하여 반응시킨 후, 10,000 rpm, 4°C에서 15분간 원심분리한 후, 상등액을 취하였다. 이후, 595 nm에서 흡광도를 측정하여 각 표본의 단백질 농도를 결정하였다. 이들 세포 단백질을 시료를 소듐도데실설페이트(SDS) 및 염색약과 혼합하여 12% SDS 폴리아크릴아미드 겔에서 전기영동을 진행하였다. 분리된 단백질을 폴리비닐리덴 플루오라이드(PVDF: polyvinylidene fluoride) 막으로 전이시키고, 10% 탈지유(skim milk)로 1 시간 동안 상온에서 블로킹(blocking)한 후, 5 α -환원효소 II형에 결합하는 1차 항체, 그리고 이 1차 항체에 결합하는 2차 항체를 차례대로 부착시킨 후, 증강화학발광(ECL: enhanced chemiluminescent) 용액으로 발색시켜 5 α -환원효소 II형의 발현을 측정하였다.

- [93] 그 결과를 도 4에 나타내었으며, 제니스테인(genistein), 캠페롤(kaempferol) 및 에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG)의 순으로 5 α -환원효소 II형의 발현을 효과적으로 억제하였음을 확인하였다.

[94] 실시예 3: 항알레르기 효과

[95] 1. 5-리폭시게나아제(5-LO: 5-lipoxygenase) 발현 억제

- [96] 흰쥐 호염기성 백혈병 세포(RBL-2H3)를 3×10^5 cells/well의 농도로 6-웰 플레이트에 분주하고 24 시간 동안, 섭씨 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 DMEM 배지를 이용하여 배양하였다. 시료를 농도별로 첨가하여 24 시간 배양한 후, 알레르기 반응을 유도하는 물질인 화학물 48/80(1 mg/ml)을 첨가하여 1 시간 동안 배양하였다. 이후, 배지를 제거하고 PBS로 세척하여 세포를 수거한 다음 단백질을 추출하였다. 단백질을 추출하기 위하여, 방사성면역침강분석(RIPA: radio immunoprecipitation assay)용 용해 완충제(lysis buffer ; 염화나트륨 150 mM, 소듐도데실설페이트(SDS) 0.1%, 트리스-염산(Tris-HCl: pH 7.5) 50 mM, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 2 mM, 소듐 디옥시콜레이트(sodium deoxycholate) 0.5%, 트리톤 X-100(Triton X-100) 1%)를 첨가하여 반응시킨 후, 10,000 rpm, 4°C에서 15분간 원심분리한 후, 상등액을 취하였다. 이들을 595 nm에서 흡광도를 측정하여 각 표본의 단백질 농도를 결정하였다. 이후, 세포 단백질을 시료를 소듐도데실설페이트(SDS) 및 염색약과 혼합하여 12% SDS 폴리아크릴아미드 겔에서 전기영동을 진행하였다. 분리된 단백질을 폴리비닐리덴 플루오라이드(PVDF) 막으로 전이시키고 10% 탈지유로 1 시간 동안 상온에서 블로킹한 후, 5-리폭시게나아제를 인식하여 결합하는 1차 항체, 그리고 다시 이 1차 항체를 인식하여 결합하는 2차 항체를 부착시킨 후, 증강화학발광(ECL) 용액으로 발색시켜 5-LO의 발현을 측정하였다.

- [97] 그 결과를 도 5에 나타내었으며, 캠페롤이 가장 낮은 농도에서 효과적으로 5-LO 발현을 억제하는 효과를 나타냄을 확인하였다.

[98] 2. 히스타민(histamine) 방출 억제

[99] 흰쥐 호염기성 백혈병 세포(RBL-2H3)를 1×10^5 cells/well의 농도로 24-웰 플레이트에 분주하고 24 시간 배양하였다. 시료를 농도별로 첨가하고 1시간 후, 알레르기 반응을 촉발하는 화합물 48/80(Compound 48/80; 1 mg/ml)을 첨가하고 20 분 동안 배양하였다. 웰 플레이트를 4°C 냉장고에 10분간 방치한 후, 배지를 수거하여 배지에 방출된 히스타민의 양을 Histamine ELISA kit(Neogen)을 사용하여 정량하였으며, 그 결과를 표 2에 나타내었다.

[100] 표 2에 나타낸 바와 같이, 캄페롤이 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 의 낮은 농도에서 히스타민의 방출을 50% 이상 억제하였음을 확인할 수 있었다.

[101] [표2]

RBL-2H3 세포에서 히스타민 방출 억제 효과

	에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG)	제니스테인(Genistein)	캄페롤(Kaempferol)
히스타민 방출 억제 (IC_{50})	$50.0 \pm 9.80 \mu\text{g/ml}$	$> 1000 \mu\text{g/ml}$ 이상임. $1000 \mu\text{g/ml}$ (46%)	$0.20 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$

[102] 실시예 4: 항산화 활성측정

[103] 1. DPPH 라디칼 소거능

[104] 96-웰 플레이트에 100 μl 시료와 동량의 DPPH(2,2-디페닐-1-피크릴히드라질(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), 300 μM) 용액을 혼합하여 암소에서 30분간 반응시킨 후, 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료 대신 에탄올을 동량으로 반응시켜 블랭크(blank)값으로 하여 하기 식으로 계산하였다.

[105] $\text{DPPH 라디칼 소거능}(\%) = [1 - (A-B)/C] \times 100$

[106] 상기 식에서, A는 시료 첨가군의 흡광도(DPPH+샘플)이고; B는 DPPH 대신 에탄올 첨가군의 흡광도(샘플+에탄올)이고; C는 시료 대신 에탄올 첨가군의 흡광도(DPPH+에탄올)임.

[107] 에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG), 제니스테인(genistein) 및 캄페롤(kaempferol)의 IC_{50} 값(50% 소거 농도)으로 DPPH 라디칼을 50% 소거할 때의 시료 농도를 표 3에 나타내었다. 표 3에 나타난 바와 같이, 에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG)의 IC_{50} 값이 3.40 $\mu\text{g/ml}$ 로 가장 강력한 DPPH라디칼 소거능을 나타냄을 확인하였다.

[108] [표3]

	에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG)	제니스테인(Geniste in)	캄페롤(Kaempferol)
DPPH라디칼 소거능 (IC ₅₀)	3.40 ± 0.13 µg/ml	> 100 µg/ml 이상임. 100ppm에서 5.18%	11.66 ± 0.30 µg/ml

[109] 2. ABTS 라디칼 소거능

[110] ABTS(2,2-아지노비스-(3-에틸벤조티아졸린-6-술포네이트)(2,2-azinobis-(3-ethyl benzothiazoline-6-sulphonate)), 증류수 중의 7 mM)와 과황산칼륨(증류수 중의 2.45 mM)를 동량으로 혼합한 후, 암소에서 12 시간 이상 방치하여 ABTS 양이온을 형성시켰다. ABTS 혼합액을 734 nm에서의 흡광도 값이 0.700±0.050이 되도록 증류수에 희석한 후, 반응액으로 사용하였다. 측정을 위해 96-웰 플레이트에 시료 20 µl와 상기에서 제조한 ABTS 반응액 180 µl를 혼합하여 암소에서 10 분간 반응시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하여 ABTS라디칼 소거능을 하기 식으로 계산하였다.

[111] ABTS 라디칼 소거능(%) = [1 - (A-B)/C] × 100

[112] 상기 식에서, A는 시료 첨가군의 흡광도(ABTS+샘플)이고; B는 ABTS 대신 증류수 첨가군의 흡광도(샘플+증류수)이고; C는 시료 대신 에탄올 첨가군의 흡광도(ABTS+에탄올)임.

[113] 에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG), 제니스테인(genistein) 및 캄페롤(kaempferol)의 IC₅₀ 값(50% 억제 농도)으로 ABTS라디칼을 50% 소거할 때의 시료 농도를 표 4에 나타내었다. 표 4에 나타난 바와 같이, 에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG)의 IC₅₀ 값이 1.65 µg/ml로 가장 강력한 ABTS라디칼 소거능을 나타냄을 확인하였다.

[114] [표4]

	에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG)	제니스테인(Geniste in)	캄페롤(Kaempferol)
ABTS라디칼 소거능 (IC ₅₀)	1.65 ± 0.02 µg/ml	> 100 µg/ml 이상임. 100ppm에서 5.29%	6.18 ± 0.08 µg/ml

[115] 실시예 5: 탈모개선 동물 실험

[116] 캄페롤 40중량%, 제니스테인 30중량% 및 에피갈로카테킨 갈레이트 30중량%의 비율로 혼합하여 본 발명에 따른 탈모개선 조성물(KGE complex)을 제조하였다.

- [117] 생후 6주령 C57BL/6 암컷 마우스를 대한민국 소재 (주)샘타코로부터 분양 받아 7일간의 순응기간을 거친 후, 군당 5마리로 그룹을 나누어 탈모 동물 실험을 진행하였다. 사육실은 온도 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50\pm 10\%$, 조명 주기 12 시간으로 설정하여 사료와 식수를 자유 섭취하도록 하였다. 마우스의 등 털은 이발기(hair clipper)를 사용하여 1차적으로 제거한 후, 제모크림(대한민국 소재 일동제약 니크린)을 30초간 적용하여 완전히 제모하였다. 제모 24시간 후, 매일 옥배유(corn oil) 혹은 테스토스테론 프로피오네이트(testosterone propionate)(옥배유 중 1 mg/ml)를 0.1 ml씩 마우스의 피하에 주사하였다. 멸균 생리식염수에 녹인 본 발명에 따른 탈모개선 조성물(KGE complex)을 멸균된 생리식염수에 섞어 녹인 것을 0.1 ml씩 존데로 매일 경구투여 하였다. 그룹별 주사 및 경구투여량은 표 5에 나타내었다. 경구투여 시작 직전(0일), 경구투여 7일, 12일, 17일, 22일, 27일에 모든 마우스의 등 피부를 디지털카메라로 촬영하여 모 성장속도를 육안평가 하였으며, 그 결과를 도 6(모발성장 패턴 점수표 및 그룹별 모발 성장 육안평가 점수) 및 도 7(생쥐 그룹별 모발성장 패턴)에 나타내었다. 실험 종료(27일차) 후, 발모된 정중앙 부분 및 네 가장자리 부분의 모를 핀셋으로 채취하여 해부현미경과 마이크로미터(micrometer)를 사용해 길이를 측정하였으며, 그 결과를 도 8(모발의 길이)에 나타내었다. 제모하였던 등 부위의 남은 모를 이발기로 제모한 후, 발모된 모의 총 무게를 측정하여 비교하였으며, 그 결과를 도 9(모발의 무게)에 나타내었다.

- [118] [표5]

	그룹	주사	경구투여
1	정상대조	옥배유 0.1 ml	생리식염수 0.1 ml/마우스
2	테스토스테론 프로피오네이트	테스토스테론 프로피오네이트(옥배유 중의 1 mg/ml) 0.1 ml	생리식염수 0.1 ml/마우스
3	피나스테라이드	1 mg/ml) 0.1 ml	1 mg/kg
4	KGE 50		50 mg/kg
5	KGE 100		100 mg/kg

- [119] 실시예 6: 2차 탈모개선 동물 시험

- [120] 이번에는 캠페롤과 제니스타인의 시너지 효과를 알아보기 위해 총 6군을 준비하였다. 각 군은 6 마리씩이며 모두 생후 6주령 C57BL/6 암컷 마우스를 (주)샘타코로부터 분양받아 7일 동안 순응시켰다. 사육실의 조건은 전과 동일하게 온도는 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, 상대습도는 $50\pm 10\%$, 조명주기는 12 시간으로 설정하였고, 사료와 식수는 자유롭게 섭취하도록 하였다. 마우스의 등털은 이발기를 이용하여 일차 제거하고, 여기에 제모크림(대한민국 소재 일동제약 니크린)을 바르고 30초 동안 방치한 후, 물티슈로 깨끗하게 닦아내면서 완전히 제모하였다. 제모하고 24 시간이 지난 후에 매일 옥배유(corn oil)(1군 Normal),

혹은 옥배유에 테스토스테론 프로피오네이트(testosterone propionate)를 5 mg/ml 되게 녹인 것을 마우스의 피하에 0.1 ml씩 주사하였다(2군부터 6군까지). 1군은 옥배유만 0.1 ml씩 주사한 Normal군으로 존데로 생리식염수를 0.1 ml씩 경구 투여하였으며, 2군은 테스토스테론 프로피오네이트를 피하에 주사한 군으로 이 군도 생리식염수 0.1 ml을 경구로 섭취시켰다. 3군부터 6군에 속한 모든 마우스는 피하에 매일 옥배유에 테스토스테론 프로피오네이트 5 mg/ml로 녹인 것을 0.1 ml씩 주사하였다. 3군은 피나스테라이드를 1 mg/kg 체중으로 마우스에게 매일 존데로 투여하였고, 4군은 캠페롤만 생리식염수에 녹여 100 mg/kg 체중으로 투여하였다. 5군은 제니스테인만 생리식염수에 녹여 100 mg/kg 체중으로 투여하였으며, 6군은 중량비로 캠페롤과 제니스테인을 1:1로 섞은 것은 100 mg/kg 체중으로 투여하였다. 각 시료 혹은 시료 혼합물들은 투여 시 0.1 ml의 멸균된 생리식염수에 잘 섞여 사용하였다. 이것을 요약한 것은 다음 표 6에 나타내었다.

- [121] 경구투여를 시작하기 직전(0일), 경구투여를 시작하고 11 일, 16 일, 21 일, 28 일, 그리고 35 일에 시험 중인 모든 마우스의 등을 디지털카메라로 촬영하여 털의 성장속도와 밀도를 도 6의 모발 성장 패턴 점수표에 근거하여 각 그룹별 모발 성장에 대한 점수를 매겼다. 이 결과는 도 10에 나타내었고, 도 11은 실제 마우스의 모발 성장 상태를 카메라로 촬영한 것을 날짜별로 배열한 것을 보인 것이다. 경구투여 시작하고 35 일이 경과한 시점에서 사진촬영과 함께 최종 관찰 후, 35 일차에 새로 털이 난 부위의 정중앙 부분 및 네 군데 가장자리 부분의 모를 핀셋으로 채취하여 해부현미경과 마이크로미터를 이용하여 털의 길이를 측정(도 12)하였으며, 남은 털을 이발기로 잘라 새로 발모된 털의 총무게를 측정(도 13)하였다. 이 결과를 보면 캠페롤 단독(TP+K) 혹은, 제니스테인 단독(TP+G)으로 경구투여한 그룹보다는 캠페롤과 제니스테인을 중량무게비로 1:1 혼합(TP+KG)하여 경구투여한 그룹이 털의 성장면에서 더 우수한 결과를 보였으며, 이들 그룹들은 모두 양성대조군으로 사용한 피나스테라이드를 경구투여(TP+F)한 그룹보다 모성장 면에서 비슷하거나 더 우수한 결과를 보였다.

[122] [표6]

각 군별 주사 및 경구투여량

	Group 설정	주사	경구투여
1	Normal	옥배유 0.1 ml	생리식염수 0.1 ml/마우스
2	테스토스테론프로피오네이트(TP)	TP (5 mg/ml 옥배유 중) 0.1 ml 피하주사	생리식염수 0.1 ml/마우스
3	TP + 피나스테라이드 (TP+F)	위와 동일	1 mg/kg 체중
4	TP + 캠페롤 (TP+K)	위와 동일	100 mg/kg 체중
5	TP + 제니스테인 (TP+G)	위와 동일	100 mg/kg 체중
6	TP + KG 조성물 (TP+KG)	위와 동일	100 mg/kg 체중

[123] 실시예 7: 탈모 개선 간이임상 시험

[124] 캠페롤 40중량%, 제니스테인 30중량% 및 에피갈로카테킨 갈레이트 30중량%의 비율로 혼합하여 본 발명에 따른 탈모개선 조성물(KGE complex)을 제조하였다.

[125] 탈모 증상을 호소하는 만 34세 내지 67세 사이의 자발적 참여자(여: 6명, 남: 9명)들을 대상으로 간이임상 시험을 진행하였다.

[126] 상기 탈모개선 조성물(KGE complex)을 캡슐에 80 mg씩 충전 후, 피험자들에게 제공하여 1일 2회(아침, 저녁), 1회 1캡슐을 8주간 섭취하도록 하였다. 시험시작 전 피험자의 두피 건강상태를 확인한 후, 4주, 8주 마다에 육안검사와 모발피부진단기를 통하여 탈모 개선효과를 평가하였다. 모발피부진단기(대한민국 소재 주식회사 아람휴비스)를 사용하여 모발 수(개/cm²), 모발 굵기(mm)를 다음과 같은 방법으로 측정하여 평가하였다:

[127] 1) 모발 밀도 평가

[128] 모발피부진단기를 사용하여 측정한 해당 면적(0.25 cm²)의 모발 수에 4를 곱하여 단위면적(1 cm²)당 모발 수로 계산하여 표기하였다.

[129] 2) 모발 굵기

[130] 모발피부진단기를 사용하여 모발 10 가닥의 굵기를 측정하였으며, 이들의 평균값을 모발 굵기(mm)로 표기하였다.

[131] 또한, 피험자 스스로가 느끼는 탈모개선 여부를 파악하기 위하여 표 7에 나타난 바와 같이 문항을 정하여 설문조사를 실시하였으며, 그 결과 역시 표 7에 나타내었다.

[132] 표 7에 나타난 바와 같이, 설문조사 결과, [정수리 부위의 모발이 풍성해졌음] 항목에서 매우 좋아짐(+3점)을 선택한 피험자는 2명, 좋아짐(+2점)을 선택한

피험자는 9명으로 총점 25점을 나타냈고, [탈락 모발수가 줄어들었음] 항목에서 매우 좋아짐(+3점)을 선택한 피험자는 3명, 좋아짐(+2점)을 선택한 피험자는 5명, 조금 좋아짐(+1점)을 선택한 피험자는 5명으로 총점 24점을 나타냈으며, 결과적으로 시험에 참여했던 피험자 대부분이 탈모증상 개선효과를 느낀 것으로 확인되었다.

[133] [표7]

No.	문항	해당 점수 선택 피험자 수							
		매우 좋아짐 (+3점)	좋아짐 (+2점)	조금 좋아짐 (+1점)	변화 없음 (0점)	조금 나빠 짐 (-1점)	나빠 짐 (-2점)	매우 나빠 짐 (-3점)	
1	정수리 부위의 모발이 풍성해졌음.	2명	9명	1명	3명				25
2	탈락 모발수가 줄어들었음.	3명	5명	5명	2명				24
3	앞 머리선이 좋아졌음.	2명	6명	4명	3명				22

[134] 8주간의 간이임상시험 후, 모발 수와 모발 굵기의 변화 결과를 표 7, 도 14 및 도 15에 나타내었다.

[135] [표8]

No.	성별/나이	모발 수(개/cm ²)			모발 수 증감(%)	모발 굵기(mm)			모발 굵기 증감(%)
		복용 전	4주 후	8주 후		복용 전	4주 후	8주 후	
1	남/47	120	125	125	4.2	0.059	0.062	0.077	30.5
2	여/54	110	120	130	18.2	0.056	0.066	0.080	42.9
3	여/34	119	135	146	22.7	0.055	0.069	0.077	40.0
4	남/49	99	100	110	11.1	0.063	0.075	0.075	19.0
5	여/44	116	140	152	31.0	0.063	0.088	0.083	31.7
6	남/65	101	118	120	18.8	0.062	0.070	0.080	29.0
7	여/35	130	140	158	21.5	0.054	0.064	0.066	22.2
8	남/67	90	108	110	22.2	0.050	0.066	0.070	40.0
9	여/43	78	76	78	0.0	0.068	0.066	0.068	0.0
10	남/55	88	105	109	23.9	0.066	0.000	0.078	18.2
11	남/43	115	120	130	13.0	0.063	0.980	0.1247	96.8
12	남/57	70	88	90	28.6	0.082	0.080	0.100	22.0
13	남/45	68	80	98	44.1	0.062	0.066	0.070	12.9
14	여/59	110	115	115	4.5	0.090	0.110	0.110	22.2
15	남/39	73	103	110	50.7	0.066	0.070	0.076	15.2
평균 증감(%)					21.0				29.5

[136] 피험자의 모발 수는 평균 21.0% 증가하였고, 모발 굵기는 평균 29.5% 증가하였음을 확인하였다. 또한, 15명의 피험자 중 3명을 제외한 12명은 평균 모발 수가 모두 10% 이상 증가하였고, 14명의 피험자의 모발 굵기는 모두 10% 이상 증가하였음을 확인하였다.

[137] 이상에서 본 발명은 기재된 구체예에 대해서만 상세히 설명되었지만 본 발명의 기술사상 범위 내에서 다양한 변형 및 수정이 가능함은 당업자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속함은 당연한 것이다.

청구범위

- [청구항 1] 제니스테인과 캠페롤을 유효성분으로 포함함을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 제니스테인 1 내지 95중량% 및 캠페롤 5 내지 95중량%의 범위 이내의 양으로 포함함을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG: epigallocatechingallate)를 더 포함함을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 제니스테인 2 내지 90중량%, 캠페롤 10 내지 90중량% 및 잔량으로서 에피갈로카테킨 갈레이트를 포함함을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 제니스테인 및 캠페롤은 합성 내지 천연에서 추출하여 농축된 것임을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 6] 제5항에 있어서, 제니스테인이 루팡(lupin), 잠두콩(fava beans), 대두(soy beans), 칩뿌리 또는 회화나무 열매에서 추출하여 농축된 것임을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 7] 제1항에 있어서, 효모 추출물을 더 포함함을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 8] 제7항에 있어서, 효모 추출물이 상기 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물 100 중량부를 기준으로 10 내지 50 중량부의 범위 이내의 양으로 더 포함됨을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 9] 제1항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 따른 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물을 포함함을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 의약(외)품.
- [청구항 10] 제9항에 있어서, 상기 탈모완화 또는 치료용 의약(외)품이 소독청결제, 샤워폼, 세제비누, 핸드워시, 젤, 머리팩, 샴푸, 두피토너, 두피앰플, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 연고제, 오일 또는 샤워 필터 충전제임을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 의약(외)품.
- [청구항 11] 제1항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 따른 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물을 포함함을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 화장품 조성물.
- [청구항 12] 제11항에 있어서, 상기 탈모완화 또는 치료용 화장품 조성물이 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 샴푸, 두피토너, 두피앰플, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이로 제형화된 것임을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 의약(외)품.
- [청구항 13] 제1항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 따른 탈모완화 또는 치료용 약제학적 조성물을 포함함을 특징으로 하는 탈모완화 또는 치료용 기능성 식품

- 조성물.
- [청구항 14] 모유두 세포가 안드로겐성 호르몬에 장기 노출될 경우 전염증인자인 IL-6 혹은 TNF- α 가 생성 분비되어 모낭조직에 염증을 일으켜 결국 모낭을 구성하는 세포 및 조직을 전반적으로 쇠약하게 만들어 탈모를 유발하는 것을 억제하는 기전을 이용하는 제1항 내지 제6항의 조성물.
- [청구항 15] 모낭 및 모낭 주변조직에 산재하는 대식세포가 생성 분비하는 IL-6 혹은 TNF- α 에 장시간 노출되어 탈모가 유발되는 기전을 이용하는 제1항 내지 제6항의 조성물.
- [청구항 16] 모낭 및 모낭 주변에 산재하는 비만세포(mast cell)가 만드는 알레르기 유발물질인 히스타민의 생성 및 분비를 억제하여 탈모가 유발되는 기전을 이용하는 제1항 내지 제6항의 조성물.
- [청구항 17] 모낭 및 모낭 주변에 산재하는 비만세포(mast cell)가 만드는 알레르기 유발물질인 류코트리엔의 합성에 관여하는 5-리폭시게나제의 발현을 억제하여 탈모를 개선 내지 치료하는 제1항 내지 제6항의 조성물.
- [청구항 18] 테스토스테론을 디하이드로테스토스테론으로 변환을 촉매하는 5 α -환원효소의 발현을 억제하여 결국 혈중의 디하이드로테스토스테론의 농도를 낮추어 탈모를 완화 내지 치료하는 제1항 내지 제6항의 조성물.
- [청구항 19] 극심한 스트레스, 외부 오염물질, 환경호르몬 등에 의한 두피 혹은 모낭과 모낭주변 조직의 염증반응을 유발하는 IL-6 혹은 TNF- α 를 비롯한 전염증 사이토카인의 생성 분비를 억제하여 원형탈모증 내지 여성형 탈모증을 개선 내지 치료하는 제1항 내지 제6항의 조성물.
- [청구항 20] 높은 혈중 테스토스테론이나 5 α -환원효소의 촉매로 만들어지는 디하이드로테스토스테론의 높은 혈중 농도로 인하여 유발되는 IL-6 혹은 TNF- α 와 같은 전염증성 사이토카인의 생성 및 분비를 막는 제1항 내지 제6항의 조성물.
- [청구항 21] 캄페롤을 5 내지 9,500 mg/일 단독 유효성분으로 사용하여 모낭을 비롯, 주변조직과 세포들의 염증을 완화하여 탈모를 치료 내지 개선하는 제1항 내지 제6항의 조성물.
- [청구항 22] 제니스타인을 5 내지 950 mg/일 단독 유효성분으로 사용하여 모낭을 비롯, 주변조직과 세포들의 염증을 완화하여 탈모를 치료 내지 개선하는 조성물.