



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년05월27일

(11) 등록번호 10-2115666

(24) 등록일자 2020년05월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/12 (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)*A61K 8/35* (2006.01) *A61Q 5/00* (2006.01)*A61Q 7/00* (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/12 (2013.01)*A23L 33/10* (2016.08)

(21) 출원번호 10-2018-0127811

(22) 출원일자 2018년10월24일

심사청구일자 2018년10월24일

(65) 공개번호 10-2019-0046685

(43) 공개일자 2019년05월07일

(30) 우선권주장

1020170139172 2017년10월25일 대한민국(KR)

(56) 선행기술조사문헌

JP2016540016 A

JP06067820 B2

KR1020100059347 A

(73) 특허권자

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

박태선

서울특별시 종로구 사직로8길 20, 101동 1103호
(내수동, 파크팰리스)

(74) 대리인

특허법인이룸리온

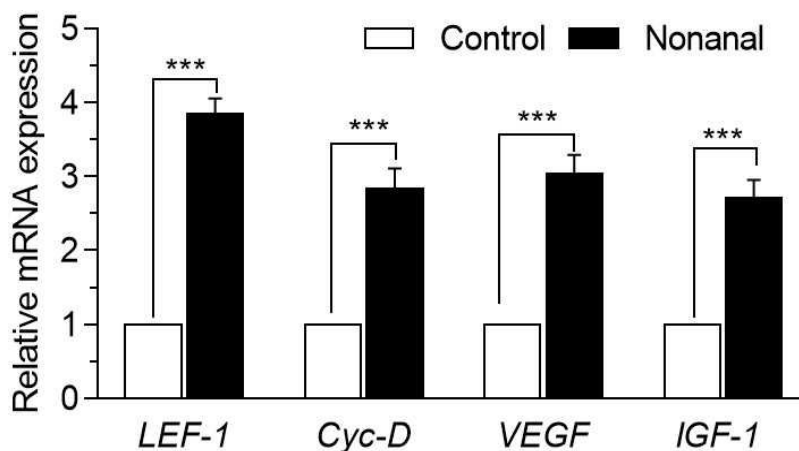
전체 청구항 수 : 총 7 항

심사관 : 성선영

(54) 발명의 명칭 노나날을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 발모 촉진용 조성물

(57) 요약

본 발명은 노나날 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 발모 촉진용 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로 본 발명은 노나날 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 예방, 탈모 치료, 발모 촉진 또는 육모 촉진용 약학적 조성물, 의약품 조성물, 화장품 조성물 및 건강기능식품 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 조성물은 만성질환인 탈모에 있어서 장기 투여시에도 부작용이 없는 천연 화합물을 유효성분으로 포함하고 있을 뿐만 아니라, 발모 및 육모에 뛰어나고 안정적인 효능을 보여 탈모 예방 또는 치료제, 또는 발모 또는 육모 촉진용 약품, 의약품, 화장품, 건강기능식품 조성물로 유용하게 이용될 수 있다.

대 표 도 - 도6

(52) CPC특허분류

A61K 8/35 (2013.01)

A61Q 5/00 (2013.01)

A61Q 7/00 (2019.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/318 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

노나날(Nonanal) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 예방 또는 치료용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 조성물은 β -카테닌(β -catenin), PKA C α (protein kinase A C α), LEF-1(lymphoid enhancer factor-1), IGF-1(insulin-like growth factor-1), VEGF(Vascular endothelial growth factor) 및 사이클린 D(cyclin D)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 발현을 증가시키는 것을 특징으로 하는 탈모 예방 또는 치료용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 피부외용제로서 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 및 카타플라스마제로 이루어진 군 중에서 선택되는 제형인 것을 특징으로 하는 탈모 예방 또는 치료용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 약학적 조성물.

청구항 4

노나날(Nonanal) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 개선용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 의약품 조성물.

청구항 5

노나날(Nonanal) 또는 이의 화장품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 개선용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 화장료 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 화장료 조성물은 두피 토닉, 두피 로션, 두피 크림, 두피 세럼, 두피에센스, 두피 앰플, 두피 트리트먼트, 두피 컨디셔너, 두피 샴푸, 두피 팩, 헤어토닉, 헤어로션, 헤어크림, 헤어스프레이, 헤어무스, 헤어젤, 헤어컨디셔너, 헤어샴푸, 헤어 린스, 헤어팩, 헤어 트리트먼트, 눈썹발모제, 속눈썹발모제, 속눈썹영양제, 애완동물용 샴푸 또는 애완동물용 린스의 제형인 것을 특징으로 하는 탈모 방지 또는 개선용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 화장료 조성물.

청구항 7

노나날(Nonanal) 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 개선용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 건강기능식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 노나날 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 발모 촉진용 조성물에 관한 것으로서, 보다 구체적으로 본 발명은 노나날 또는 이의 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 예방, 탈모 치료, 발모 촉진 또는 육모 촉진용 약학적 조성물, 의약품 조성물, 화장품 조성물 및 건강기능식품 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 국민건강보험공단 건강보험정책연구원이 2001년부터 2008년까지 건강보험 진료비 지급자료를 분석한 내용에 따르면 ‘탈모질환’의 실진료 환자수가 2001년 10만3천 명에서 2005년 14만 2천 명, 그리고 2008년 16만 5천 명으로 나타나, 최근 7년 동안 60% 증가하였다. 연령별로는 20 ~ 40대 실진료 환자수가 11만 4천 명으로 환자의 69.5%를 차지하였으며, 10대 이하 환자도 2만 2천 명 이상인 것으로 나타났다. 성별 실진료 환자수는 2008년 기준으로 남성이 8만 4천 명, 여성이 8만 명으로 나타나, 남성이 여성보다 약간 더 많은 실정이며, ‘탈모’ 질환의 상병별 국내 건강보험 실진료 환자수는 2008년 기준으로 원형탈모증(13만 명), 흉터성탈모증(2만 명), 안드로젠성탈모증(9천 명), 기타 비흉터성모발손실(8천 명) 순으로 나타났다.
- [0003] 한편, 2003년 6월 국제 모발 및 성형미용 연구토론회 자료에 따르면, 세계적으로 2.5억 명이 탈모환자이며, 24 ~ 50세에서 탈모 발병율이 30 ~ 65% 정도로 나타났다. 2008년 기준으로 중국의 탈모인구는 약 3억 명에 이르며, 30대 남성인구의 30%, 그리고 50대 남성인구의 50% 정도가 탈모 증세를 나타내고 있으며 매년 탈모 환자수는 10 ~ 15% 정도 증가하고 있다. 일본인을 대상으로 2007년도 가발 판매 및 모발이식 수술을 실시하는 기업이 조사한 자료에 따르면, 일본인의 탈모 발병율이 26.5%이며, 추정 탈모환자 인구수는 1,293만 명 정도로 예상되었다.
- [0004] 현재 탈모치료를 위한 제제는 크게 의약품과 의약품, 그리고 화장품으로 분류되고 있다. 의사의 처방이 있어야 구입이 가능한 전문의약품에는 미국 Merck사에서 개발 판매하고 있는 ‘프로페시아’가 있다. 프로페시아의 주성분인 피나스테라이드(finasteride)는 1997년 12월 미국 FDA로부터 탈모치료제 승인을 받았다. 피나스테라이드는 테스토스테론을 디하이드로테스토스테론(DHT, dihydrotestosterone)으로 전환하는 5-알파-환원효소(5- α -reductase)를 억제하는 약제로서 연모를 굵고 긴 모발로 성장하게 하는 역할을 한다. 이는 단기적으로는 탈모개선에 효과가 있으나, 발기부전, 성기능 감퇴, 남성의 유방비대 등과 같은 부작용을 동반한다.
- [0005] 안전성과 유효성이 인정되어 의사의 처방 없이도 구입이 가능한 일반의약품으로는 미녹시딜(Minoxidil)이 있으며, 1997년 12월 미국 FDA로부터 최초의 바르는 탈모 치료제로 승인되었다. 이 약품은 혈액순환을 개선시키고 칼슘 채널을 개방시킴으로써 모발성장을 촉진시키는 효과가 있으나 가려움, 발진 등의 국소반응이 올 수 있으며, 빈맥 등이 나타날 수 있다.
- [0006] 식약청에서 탈모 방지와 육모(肉毛) 기능을 허가 받은 제품으로 보건복지부 장관의 고시에 의해 슈퍼마켓이나 편의점에서 판매할 수 있는 의약품으로는 대표적으로 CJ 라이온의 ‘모발력 컴피턴트’, 모라클의 ‘헤어토닉’, LG생활건강의 ‘모앤모아’ 등의 제품이 있으며, 화장품류로는 샴푸류 또는 피부, 모발의 건강을 유지 또는 증진하기 위해 두피나 모발에 사용되는 제품이 판매되고 있다.
- [0007] 사람의 탈모주기는 크게 성장기(anagen), 퇴행기(catagen), 그리고 휴지기(telogen)로 구분된다. 성장기는 모유도의 활동이 활발하면서 세포분열이 왕성하게 일어나 모발이 빠른 속도로 자라는 시기이다. 성장기의 수명은 털의 종류마다 다르지만 머리카락의 경우, 3 ~ 6년 정도이다. 성장기 모발은 전체모발의 80 ~ 90%를 차지하며, 탈모가 진행되고 있는 사람은 성장기가 짧아지고 휴지기가 긴 모발주기를 가지게 되어 전체 모발에서 성장기 모발의 비중이 감소하게 된다. 퇴행기는 모발의 성장기가 끝나고 모발 생성이 점차 느려져 결국 세포분열 및 성장이 멈추는 시기로 1 ~ 1.5개월 정도 지속되며 전체 모발의 1% 정도가 이 단계에 속한다. 휴지기는 성장의 마지막 단계로서 모낭과 모유두가 완전히 분리되어 모낭은 위축되고 모근은 더욱 위쪽으로 올라가 머리카락이 빠지는 단계이다. 휴지기는 3 ~ 4개월간 지속되고 전체모발의 4 ~ 14%가 이 단계에 해당된다. 휴지기가 끝나고 다시 모유두의 활동이 활발해지면, 새로운 모발의 모유두가 만들어지면서 휴지기에 있던 모발은 밀려나서 완전히 두피 밖으로 빠져 나오게 된다.

[0008] 현재까지 잘 알려진 모낭의 발생과 모발 성장에 관여하는 신호전달체계로는 Wnt/ β -Catenin signal pathway가 있다. Wnt ligand가 수용체에 결합하면 세포질 내의 베타카테닌이 안정화되어 분해가 일어나지 않고 세포핵으로의 이동이 증가하여 타겟 유전자의 발현을 조절하게 된다. 2001년 국제학술지 Cell에 등재된 Walter Birchmeier 연구팀의 결과에서, 베타카테닌을 녹다운(knock down)시킨 실험동물에서 탈모가 나타난 것을 확인하였고 이는 베타카테닌이 탈모를 예방하고 발모 촉진에 있어 중요한 역할을 하는 것임을 의미한다. 특히 protein kinase A (PKA), AKT 및 glycogen synthase-3 β (GSK-3 β) 등의 활성화가 Wnt/베타카테닌 신호전달 경로를 활성화 시킨다고 잘 알려져 있다.(Monick, 2001., Akira 2005) PKA는 대표적인 cAMP-dependent enzyme으로 cAMP에 의해 활성화되어 세포질 내에서 베타카테닌의 분해를 저해하고 안정화를 증가시키게 되고, 세포핵으로의 이동이 촉진되고 타겟 유전의 발현을 조절하는 것으로 알려져 있다.(Akira, 2005)

[0009] 한편, 노나날(Nonanal)은 다양한 식물의 정유(essential oil) 성분으로서, 식용 가능한 안전한 물질로 알려져 있다. FEMA(Flavor and Extract Manufacturers' Association), FDA(Food and Drug Administration), KFDA(Korea Food and Drug Administration), COE(Council of Europe), 및 JECFA(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)에 착향료(flavor and fragrance agents) 성분으로 승인되어 있으며, 산업적으로 맛과 향을 내기 위한 목적으로 이용되어 왔다. 또한 노나날은 향수 제조 시 제라늄향, 장미향, 차향을 내기 위해, 그리고 식품에서는 왁스향(waxy), 알데히드향(aldehydic), 장미향(rose), 붓꽃향(fresh orris), 오렌지 껍질향(orange peel), 오이향(cucumber), 시트러스향(citrus), 멜론향(melon), 감자향(potato), 코코넛향(coconut) 등을 내고, 시트러스향에 감미로움을 더하기 위한 착향료로 사용되었다. 그러나 노나날의 탈모 방지 또는 발모 촉진 효과에 대해서는 알려진 바 없다.

선행기술문헌

특허문헌

(특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제10-2011-0125722호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 이에 본 발명자들은 부작용 없이 탈모를 방지하거나 발모 또는 육모를 촉진시킬 수 있는 천연 유래 화합물을 밝혀내고자 노력하였다. 그 결과, 노나날이 효과적으로 발모 및 육모를 증진하고 탈모를 방지한다는 사실을 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

[0011] 따라서, 본 발명의 목적은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로, 노나날 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 치료용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 노나날 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 개선용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 의약품 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 노나날 또는 이의 화장품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 개선용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 화장품 조성물을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 또 다른 목적은 노나날 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 개선용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0015] 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0016] 따라서, 본 발명은 노나날 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 치료용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 약학적 조성물을 제공한다.

[0017] 상기 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 조성물은 β -카테닌(β -catenin), PKA Ca (protein kinase A

Ca), LEF-1(lymphoid enhancer factor-1), IGF-1(insulin-like growth factor-1), VEGF(Vascular endothelial growth factor) 및 사이클린 D(cyclin D)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 발현을 증가시킬 수 있다.

[0018] 상기 본 발명의 바람직한 또 다른 일실시예에 따르면, 상기 약학적 조성물은 피부외용제로서 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 및 카타플라스마제로 이루어진 군 중에서 선택되는 제형인 것일 수 있다.

[0019] 또한, 본 발명은 노나날 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 개선용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 의약품 조성물을 제공한다.

[0020] 또한, 본 발명은 노나날 또는 이의 화장품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 개선용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 화장품 조성물을 제공한다.

[0021] 상기 본 발명의 바람직한 다른 일실시예에 따르면, 상기 화장품 조성물은 두피 토닉, 두피 로션, 두피 크림, 두피 세럼, 두피에센스, 두피 앰플, 두피 트리트먼트, 두피 컨디셔너, 두피 샴푸, 두피 팩, 헤어토닉, 헤어로션, 헤어크림, 헤어스프레이, 헤어무스, 헤어젤, 헤어컨디셔너, 헤어샴푸, 헤어 린스, 헤어팩, 헤어 트리트먼트, 눈썹발모제, 속눈썹발모제, 속눈썹영양제, 애완동물용 샴푸 또는 애완동물용 린스의 제형인 것일 수 있다.

[0022] 또한, 본 발명은 노나날 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 발모 촉진용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0023] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로, 노나날 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 개선용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 조성물을 제공하고자 한다.

[0024] 본 발명의 조성물은 만성질환인 탈모에 있어서 장기 투여시에도 부작용이 없는 천연 화합물을 유효성분으로 포함하고 있을 뿐만 아니라, 발모 및 육모에 뛰어나고 안정적인 효능을 보여 탈모 예방 또는 치료제, 또는 발모 또는 육모 촉진용 의약품, 화장품, 건강기능식품 조성물로 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 인간 모유두세포에서의, 노나날의 독성 평가 결과를 나타내는 그래프이다. 각 값들은 평균±표준오차(SEM)이다. ns = $p > 0.05$, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$ [일원 분산분석(one-way ANOVA), Tukey's 시험]

도 2는 인간 모유두세포에서의, 노나날의 세포 증식 효능 평가 결과를 나타내는 그래프이다. 각 값들은 평균±표준오차(SEM)이다. ns = $p > 0.05$, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$ [일원 분산분석(one-way ANOVA), Tukey's 시험]

도 3은 인간 모유두세포에서의, 노나날의 발모촉진 성장인자(VEGF와 IGF-1)의 농도 증가 효과를 나타내는 그래프이다. 각 값들은 평균±표준오차(SEM)이다. ns = $p > 0.05$, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$ [일원 분산분석(one-way ANOVA), Tukey's 시험]

도 4는 인간 모유두세포에서의, 노나날의 cAMP 농도 증가 효과를 나타내는 그래프이다. 각 값들은 평균±표준오차(SEM)이다. ns = $p > 0.05$, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$ [일원 분산분석(one-way ANOVA), Tukey's 시험]

도 5는 인간 모유두세포에서의, 노나날의 발모조절 신호전달 단백질(PKA Ca, β -catenin) 발현 증가 효과를 나타내는 그래프이다. 각 값들은 평균±표준오차(SEM)이다. ns = $p > 0.05$, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$ [일원 분산분석(one-way ANOVA), Tukey's 시험]

도 6은 인간 모유두세포에서의, 노나날의 발모 촉진 관련 유전자(LEF-1, Cyc-D, VEGF 및 IGF-1)의 발현 증가 효과를 나타내는 그래프이다. 각 값들은 평균±표준오차(SEM)이다. ns = $p > 0.05$, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$ [일원 분산분석(one-way ANOVA), Tukey's 시험]

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0026] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0027] 상술한 바와 같이, 호르몬 분비 변화 외에도 스트레스로 인한 탈모 현상이 증가하면서 탈모 방지 및/또는 발모 촉진에 할 수 있는 약학적 조성물 등의 요구가 증가하게 되었으나, 인체에 안전한 것으로 알려진 천연 유래 화합물 중에서 효과적인 탈모 방지 및/또는 발모 촉진이 가능한 화합물에 관하여 보고된 것은 많지 않다.
- [0028] 본 발명의 노나날은 피부조직의 발모 관련 유전자 및 단백질의 발현을 조절함으로써 털을 제거한 마우스 등에서 발모 촉진 효과를 유의적으로 나타낼 수 있으므로, 탈모 방지 및 모발 성장 촉진에 효과적인 조성물을 제공하는 효과가 있다.
- [0029] 따라서, 본 발명은 노나날 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 치료용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0030] 본 발명의 용어 "노나날(Nonanal)"은 하기 화학식 1로 표시되는 알킬알데히드(alkyl aldehyde)계 화합물로서 IUPAC명칭은 노나날(nonanal)이고, 펠라르곤알데히드(pelargonaldehyde), 노나날데히드(nonanaldehyde), 노닐알데히드(nonyl aldehyde) 및 C-9 알데히드(C-9 aldehyde)로도 불리 운다. 노나날의 구조식은 $C_9H_{18}O$ 이고 분자량은 143 g/mol 이다. 노나날은 무색의 액체이며 물에는 녹지 않고 알코올, 프로필렌 글리콜(propylene glycol)에 잘 용해된다.
- [0031] [화학식 1]
-
- [0032]
- [0033] 노나날은 다양한 식물의 정유 성분으로서, 식용 가능한 안전한 물질로 알려져 있으며, 산업적으로는 맛과 향을 내기 위한 목적으로 이용되고 있다. 경구독성실험 결과에 의하면 노나날의 반수치사량(LD₅₀ 값)은 랫트에서 5,000 mg/kg으로 보고되었다. 한편, 토끼를 대상으로 한 경피독성 실험 결과에 의하면 LD₅₀ 값이 5,000 mg/kg으로 나타났다. 또한 임상시험결과: 1% 용액에서 피부 자극이나 감각반응(민감증)이 나타나지 않음이 보고되었다.
- [0034] 한편, 마우스를 대상으로 한 실험에서 노나날은 지사제 활성을 나타냄이 보고되었다. 마그네슘 설페이트, 아라키돈산, PGE2 복합물을 사용하여 설사를 유도한 마우스에서 피마자유의 장 경유에 미치는 영향을 평가한 결과 피마자유의 정유성분 중 노나날이 설사 억제에 유의한 효과를 보였으며, 변비는 유발하지 않은 것으로 보고되었다. 또한 (Zavala-Sanchez et al., Antidiarrheal activity of nonanal, an aldehyde isolated from *Artemisia ludoviciana*, *Pharmaceutical Biology*, 40(4); 263-268, 2002).
- [0035] 따라서, 노나날을 0.1 mg/kg 내지 1,500 mg/kg, 바람직하게는 10 mg/kg 내지 1,000 mg/kg으로 경구투여 하는 것은 독성이 아주 미미하거나 없으므로, 화장품 조성물, 건강기능식품 조성물, 의약품 또는 의약외품 조성물 등으로 사용될 수 있다.
- [0036] 본 발명에서, 상기 노나날은 이와 동일한 효능을 갖는 범위 내에서 노나날 수화물, 노나날 유도체 등을 포함할 수 있으며, 이의 용매화합물이나 입체 이성질체를 포함할 수 있다.
- [0037] 본 발명에서는 상기 노나날이 피부조직의 발모 관련 유전자 및 단백질 발현을 조절 기작을 밝혀냄으로써 노나날의 탈모 방지 또는 발모 촉진에 관한 신규 용도를 확인하였다.
- [0038] 본 발명의 용어 "탈모"는 모발이 완전히 두피 밖으로 빠져나오는 현상을 의미한다. 탈모가 진행되고 있는 사람은 성장기가 짧아지고 휴지기가 긴 모발 주기를 가지게 되는데, 하기 실시예에서 입증된 바와 같이 노나날은 모발을 휴지기에서 성장기로 전환시키고, 피부조직에서 발모 및 양모와 관련된 성장인자의 발현을 증가시키는 바 탈모를 예방, 개선 또는 치료 효과가 있음을 확인할 수 있었다.
- [0039] 본 발명의 용어 "발모"는 두피에서 모발이 나는 것을 의미하고, "육모"는 모발의 길이가 길어지는 것(즉, 모발 성장)을 의미하며 당업계에서 이용하는 또 다른 용어인 "양모"와 동일한 의미로 사용된다.
- [0040] 본 발명의 조성물은 β -카테닌(β -catenin), PKA Ca(protein kinase A Ca), LEF-1(lymphoid enhancer factor-1), IGF-1(insulin-like growth factor-1), VEGF(Vascular endothelial growth factor) 및 사이클린

D(cyclin D)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 발현을 증가시키는 것일 수 있다. 구체적으로 본 발명의 실시예 2에서 나타난 바와 같이, 본 발명의 조성물이 피부조직에서 모낭 주기를 성장기로 진입시키는 데 관여하는 Wnt/ β -카테닌 신호전달체계와 관련된 β -카테닌의 유전자 발현이 증가하는 것을 확인하였으며, 발모 촉진 관련 유전자인 LEF-1(lymphoid enhancer factor-1), IGF-1(insulin-like growth factor-1), VEGF(Vascular endothelial growth factor) 및 사이클린 D(cyclin D)의 발현이 모두 유의적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 뿐만 아니라, 현재 발모 및 모발 성장을 촉진할 수 있는 대표적인 약물인 미녹시딜을 처리한 군에 비해 유의적으로 증가 상기 단백질 또는 유전자의 발현량이 유의적으로 증가됨을 확인할 수 있었다. 따라서, 본 발명의 조성물은 종래 합성 조성물보다 인체에 무해하며, 다각적이고 안정적인 발모 및 양모 촉진 효능을 보이는 발모 또는 양모제 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

[0041] 상기 노나날은 바람직하게는 피부외용 조성물로서, 본 발명의 노나날을 유효성분으로 포함하는 피부외용 약학적 조성물은 탈모 방지 및 발모 개선, 촉진용 피부외용제로서 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 또는 카타플라스마제의 피부 외용제 형태의 약학조성물로 제조하여 사용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0042] 본 발명의 노나날은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족산류, 지방족 및 방향족 설폰산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.

[0043] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 상기 노나날을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수산화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다. 동량의 노나날 및 물 중의 산 또는 알코올을 가열하고, 이어서 이 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나 또는 석출된 염을 흡입 여과시켜 제조할 수도 있다.

[0044] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 은 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

[0045] 또한, 본 발명의 상기 노나날은 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물 및 용매화물을 모두 포함한다.

[0046] 본 발명에 따른 부가염은 통상의 방법으로 제조할 수 있으며, 예를 들면 노나날을 수산화성 유기용매, 예를 들면 아세톤, 메탄올, 에탄올, 또는 아세토니트릴 등에 녹이고 과량의 유기산을 가하거나 무기산의 산 수용액을 가한 후 침전시키거나 결정화시켜서 제조할 수 있다. 이어서 이 혼합물에서 용매나 과량의 산을 증발시킨 후 건조시켜서 부가염을 얻거나 또는 석출된 염을 흡인 여과시켜 제조할 수 있다.

[0047] 본 발명의 조성물을 의약품으로 사용하는 경우, 노나날 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물은 임상투여 시에 다양한 하기의 경구 또는 비경구 투여 형태로 제제화되어 투여될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0048] 경구 투여용 제형으로는 예를 들면 정제, 환제, 경/연질 캡셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제, 엘릭시르제 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨,

셀룰로즈 및/ 또는 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리 에틸렌 글리콜)를 함유하고 있다. 정제는 또한 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및/또는 폴리비닐피롤리딘과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제 또는 비등 혼합물 및/또는 흡수제, 착색제, 향미제, 및 감미제를 함유할 수 있다.

[0049] 본 발명의 노나날 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효 성분으로 하는 약학적 조성물은 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여는 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사 또는 흉부 내 주사를 주입하는 방법에 의한다. 이 때, 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위하여 상기 노나날 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 안정제 또는 완충제와 함께 물에 혼합하여 용액 또는 현탁액으로 제조하고, 이를 앰플 또는 바이알 단위 투여형으로 제조할 수 있다. 상기 조성물은 멸균되고/되거나 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 보조제, 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 함유할 수 있으며, 통상적인 방법인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 따라 제제화할 수 있다.

[0050] 또한, 본 발명의 화합물의 인체에 대한 투여량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있으며, 몸무게가 60 kg인 성인 환자를 기준으로 할 때, 일반적으로 0.001 ~ 1,000 mg/일이며, 바람직하게는 0.01 ~ 500 mg/일이며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정시간 간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.

[0051] 또한, 본 발명은 노나날 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 개선용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 의약외품을 제공한다. 상기 노나날의 구체적인 내용은 전술한 바와 같다.

[0052] 본 발명의 노나날을 의약외품 조성물의 유효성분으로 사용할 경우, 탈모 방지 및 모발성장 촉진 효과를 나타내는 상기 노나날을 그대로 첨가하거나, 다른 의약외품 또는 의약외품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 사용 목적에 따라 적절하게 결정될 수 있다.

[0053] 본 발명의 탈모 방지 및 모발 성장 촉진용 의약외품 조성물은 그 제형에 있어서 특별히 한정하지 않으며, 탈모 방지 및 모발성장 촉진 효과를 나타내는 것으로 당업계에 공지된 의약외품의 형태로 다양하게 제형화될 수 있다. 상기 제형화된 의약외품은 두피 토닉, 두피 로션, 두피 크림, 두피 세럼, 두피에센스, 두피 앰플, 두피 트리트먼트, 두피 컨디셔너, 두피 샴푸, 두피 팩, 헤어토닉, 헤어로션, 헤어크림, 헤어스프레이, 헤어무스, 헤어젤, 헤어컨디셔너, 헤어샴푸, 헤어 린스, 헤어팩, 헤어트리트먼트, 눈썹발모제, 속눈썹발모제, 속눈썹영양제, 애완동물용 샴푸, 애완동물용 린스, 손 세정제, 세제 비누, 비누, 소독청결제, 물티슈, 마스크, 연고제, 패치 또는 필터 충전제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 의약외품을 모두 포함한다.

[0054] 또한, 각 제형에 있어서 탈모 방지 및 모발 성장 촉진용 의약외품 조성물은 다른 성분들을 기타 의약외품의 제형 또는 사용목적 등에 따라 임의로 선정하여 배합할 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 사용목적에 따라 적절하게 결정될 수 있고, 예를 들면 점증제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 및 담체 등을 포함할 수 있다.

[0055] 상기 조성물의 함량은 총 중량을 기준으로 각각 0.0001 내지 10 중량%인 것이 바람직하고, 10 중량%를 초과하는 경우에는 조성물 제조시 색상 및 안정성이 떨어지며, 0.0001 중량% 미만일 경우에는 그 효과가 미미하다는 단점이 있다. 본 발명의 노나날을 유효성분으로 포함하는 의약외품 조성물은 치료 지수에서 확인한 바와 같이 세포에 대한 독성 및 부작용이 거의 없어 의약외품 재료로서 유용하게 사용될 수 있다.

[0056] 또한, 본 발명은 노나날 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 개선용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 화장품 조성물을 제공한다.

[0057] 본 발명의 화장품 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분으로서의 노나날 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 이외에 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함한다.

[0058] 본 발명의 화장품 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화 될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0059] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전

분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0060] 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.

[0061] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.

[0062] 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.

[0063] 본 발명의 제형이 계면-활성제 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, 식물성유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0064] 또한, 본 발명은 노나날 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 또는 개선용, 또는 발모 또는 육모 촉진용 건강기능성 식품 조성물을 제공한다.

[0065] 본 발명에 따른 식품 조성물은 당업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다. 일반 식품으로는 이에 한정되지 않지만 음료(알콜성 음료 포함), 과실 및 그의 가공식품(예: 과일통조림, 병조림, 잼, 마아말레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(예: 햄, 소시지 콘비이프 등), 빵류 및 면류(예: 우동, 메밀국수, 라면, 스파게이트, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 엿, 유제품(예: 버터, 치즈 등), 식용 식물 유지, 마아가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료(예: 된장, 간장, 소스 등) 등에 본 발명의 노나날을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 영양보조제로는 이에 한정되지 않지만 캡슐, 타블렛, 환 등에 본 발명의 노나날을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한, 건강기능식품으로는 이에 한정되지 않지만 예를 들면, 본 발명의 노나날 자체를 차, 주스 및 드링크의 형태로 제조하여 음용(건강음료)할 수 있도록 액상화, 과립화, 캡슐화 및 분말화하여 섭취할 수 있다. 또한, 본 발명의 노나날을 식품 첨가제의 형태로 사용하기 위해서는 분말 또는 농축액 형태로 제조하여 사용할 수 있다. 또한, 본 발명의 노나날과 탈모 방지 및 발모 촉진 효과가 있다고 알려진 공지의 활성 성분과 함께 혼합하여 조성물의 형태로 제조할 수 있다.

[0066] 본 발명의 노나날을 건강음료로 이용하는 경우, 상기 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스 및 같은 디사카라이드; 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드; 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02~0.03 g 이다.

[0067] 또한, 본 발명의 노나날은 탈모 방지 및 발모 촉진용 건강기능식품의 유효성분으로 함유될 수 있는데, 그 양은 탈모 방지 및 모발 성장 촉진 효과를 달성하기에 유효한 양으로 특별히 한정되는 것은 아니나, 전체 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 100 중량%인 것이 바람직하다. 본 발명의 식품 조성물은 노나날과 함께 탈모 방지 및 모발 성장 촉진 효과가 있는 것으로 알려진 다른 활성 성분과 함께 혼합하여 제조될 수 있다.

[0068] 상기 외에 본 발명의 건강식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산, 펙트산의 염, 알긴산, 알긴산의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강식품은 천연 과일주스, 과일주스 음료, 또는 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0069] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명하기로 한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설

명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0070] <실시예>

[0071] 실시예 1. 노나날의 발모촉진 효능 평가

[0072] 1-1. 실험방법

[0073] 1) 시료준비 및 인간 모유두세포배양

[0074] 본 실험에서 사용된 노나날(Nonanal)은 시그마알드리치(주)에서 구입하였다.

[0075] 인간 모유두 세포는 독일 PromoCell GmbH(Heidelberg, Germany)사에서 구입하였다. 인간 모유두세포는 HFDPC Medium(PromoCell, Germany)에 FBS(fetal bovine serum)과 DMEM(Dulbecoco's modified Eagle's medium; Gibco BRL, Gaithersburg, MD, USA) 배지를 사용하여 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터(incubator)에서 배양하였다. 세포의 특성 상 모든 실험은 패시지(passage) 2-5사이의 세포를 사용하였다.

[0076] 2) MTT assay 분석

[0078] 인간 모유두세포를 24-웰 플레이트(well plate)에 1×10^5 cell/well이 되도록 분주한 후 37℃, 5%, CO₂ 인큐베이터에서 24시간 배양하여 안정화시켰다. 시료를 농도별(0, 10, 20, 50, 100, 200, 400 μg/ml)로 처리하여 24시간 동안 배양 한 뒤, 200 mg/ml의 농도의 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT; Sigma Aldrich, St. Louis, USA) 시약을 100ul 처리하여 4시간 재배양하였다. 배지 제거 후 침전물(formazan)을 DMSO에 용해시켜 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하고, DMSO만 포함된 대조군의 흡광도를 기준으로 증식율을 평가하였다.

[0079] 1-2. 실험결과

[0080] 1) 인간 모유두세포에서 노나날의 독성 유무

[0081] DMSO만 포함된 군을 대조군으로 설정하고, 노나날을 농도에 따라 처리한 후 24시간 동안 배양하여 MTT assay를 통해 세포 생존율을 측정한 결과, 노나날은 400 μg/ml의 농도까지 세포 생존율에 영향을 미치지 않았다(도 1).

[0082] 2) 인간 모유두세포에서 노나날의 세포 증식 효능

[0083] 노나날을 각각 10, 20, 50 μM 농도로 인간 모유두세포에 처리했을 때 증식율은 각각 10%, 25%, 22%로 유의하게 증가한 것을 확인하였다(도 2). 이후 노나날의 최적유효농도를 20 μM로 설정하여 실험을 진행하였다.

[0084] 실시예 2: 노나날에 의한 인간 모유두세포에서의 발모 촉진 메커니즘 규명

[0085] 2-1. 실험방법

[0086] 1) 효소면역 측정 분석법(Enzyme-Linked Immunosorbent assay, ELISA)

[0087] 인간 모유두세포를 12 웰 플레이트(well plate)에 3×10^4 cell/well이 되도록 분주한 후 노나날은 배양액에 20 μM으로 처리하였고, 음성 대조군으로는 DMSO를 사용하였다. 노나날을 처리한 배양액을 24시간 후에 수집하여, 각각 human VEGF ELISA Kit (Enzo Life Sciences, NY, USA), human IGF-1 ELISA kit (Enzo Life Sciences, NY, USA) 및 cAMP complete ELISA kit(Enzo Life Sciences, NY, USA)를 이용하였으며 제조사 프로토콜에 따라 실험을 진행하였다.

[0088] 2) 단백질 추출(Protein extraction) 및 웨스턴 블랏(Western blot) 분석법

[0089] 20 μM 노나날을 처리하여 배양한 인간 모유두세포의 상층액을 용해 버퍼(lysis buffer)와 함께 균질화시킨 후, 13,000 × g, 4 °C에서 20분간 원심분리하여 브래드포드 어세이(Bradford assay)에 의해 단백질을 정량하였다.

[0090] 40 μg의 단백질을 10 % SDS 폴리아크릴아마이드 겔(polyacrylamide gel)에 전기 영동시킨 후 니트로셀룰로오스 멤브레인(nitrocellulose membrane)에 트랜스퍼(transfer)하고 PKA Ca, β-카테닌(β-catenin), β-액틴(β-actin), GAPDH 항체(GAPDH antibody: Cell Signaling Technology 사, Danvers, MA, USA)와 각기 반응시켰다. 각 단백질의 시그널을 화학발광 검출 시스템(chemiluminescent detection system; mersham)으로 가시화한 후

밴드의 두께를 Quantity One Analysis Software (Bio-Rad Laboratories)를 사용하여 정량화하였다.

3) 트리졸 방법(Trizol method)을 이용한 RNA 분리방법

노나날이 인간 모유두세포(DPCs)에 미치는 활성을 확인하기 위해 본 발명에서는 DP cell이 70~80%의 컨플루언시(confluency)가 된 시점에서 노나날을 20 μ M로 처리한 후 5% CO₂, 37 °C 조건 하에 배양하였다. 물질 처리 24 시간 후, 세포를 회수하여 트리졸 시약(Trizol Reagent: Gibco BRL, USA)로 총 RNA(total RNA)를 추출하였고, 260 nm에서 흡광도 측정을 통해 총 RNA(total RNA)를 정량하였다.

4) RT-PCR (Real time-Polymerase Chain Reaction) 분석법

RNA를 분리한 후 올리고 dT 프라이머(oligo dT primer)와 수퍼스크립트 역전사 효소(superscript reverse transcriptase: GIBCOBRL, Gaithersburg, MD, USA)를 이용하여 역전사(reverse transcription)를 수행함으로써 cDNA를 합성하였다. 역전사(Reverse transcription)를 통해 얻은 cDNA를 주형(template)으로 하고, 증폭하고자 하는 유전자 cDNA의 5'과 3'플래킹 서열(flanking sequence)을 프라이머(primer)로 사용하여 PCR을 수행하였다. 이때 필요한 프라이머는 프라이머 제작 전문업체(주, 바이오니아, 한국)에 합성을 의뢰하여 사용하였고, 프라이머 서열(primer sequence)은 [표 1]에 나타내었다. 10 X 반응 완충액 [100 mM KCL, 20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 2.5 mM MgCl₂] 5 μ l, 10 mM dNTP 4 μ l, 0.2 μ M 센스(sense) 및 안티센스 프라이머(antisense primer)를 각각 1 μ l 를 넣은 혼합물에 2 μ l 의 반응시킨 cDNA 반응 혼합액과 2.5 unit의 Taq 중합효소(Takara, Japan)를 넣은 후 증류수 50 μ l로 용량을 맞추고 PCR 기기를 사용하여 PCR을 시행하였다. PCR 조건은 94°C 4분, 94°C(30초), 30 cycle의 [52°C(30초), 72°C(45초)], 그리고 72°C 10분으로 설정하였다.

표 1

RT-PCR에 사용된 프라이머 서열

Gene description	Primers	Sequences (5' →3')	Length (bp)
Lymphoid enhancer factor (LEF)	F	TGCCAAATATGAATAACGACCCA	150
	R	GAGAAAAGTGCTCGTCACTGT	
Cyclin D	F	ATGTTCGTGGCCTCTAAGATGA	138
	R	CAGGTTCCACTTGAGCTTGTC	
Vascular endothelial growth factor (VEGF)	F	TTCATGGATGTCTATCAGCG	234
	R	CATCTCTCTATGTGCTGGC	
Insulin growth factor-1 (IGF-1)	F	CTTCAGTTCGTGTGTGGAGACAG	75
	R	CGCCCTCCGACTGCTG	

2-2. 실험결과

1) 인간 모유두세포에서 노나날의 발모촉진 성장인자(VEGF와 IGF-1)의 농도 증가 효과

인간 모유두세포에서 노나날은 발모촉진에 관여하는 성장인자인 VEGF와 IGF-1의 농도를 각각 38%, 23% 유의하게 증가시켰다(도 3). 따라서 본 발명에 따른 노나날은 우수한 발모 촉진 효능을 가짐을 알 수 있다.

2) 인간 모유두세포에서 노나날의 cAMP의 농도 증가 효과

cAMP는 세포 표면의 수용체와 결합한 호르몬이나 성장인자들의 신호를 증폭시켜 세포 내로 전달하는 매개 물질로서 세포질에서 합성된 cAMP는 PKA C α 의 활성을 조절하는 것으로 알려져 있다. 인간 모유두세포에서 노나날은 cAMP 농도를 60% 유의하게 증가시켰다(도 4). 이는 노나날이 인간 모유두세포에서 cAMP 농도를 증가시켜 PKA C α 로 유도되는 Wnt/ β -catenin 발모조절 신호전달 체계를 활성화시키는 것을 의미한다.

3) 인간 모유두세포에서 노나날의 발모조절 신호전달 단백질(PKA C α , β -Cateinin) 발현 증가 효과

PKA C α 는 세포질에서 β -catenin의 분해를 저해하여 세포핵으로의 이동을 촉진시키고, β -catenin은 세포핵에서 모발성장을 촉진하는 타겟 유전자의 발현을 조절하는 신호전달 단백질로 알려져 있다. 인간 모유두세포에서 노나날은 PKA C α 의 발현을 50 % 유의하게 증가시켰으며(도 5A), 세포핵 내에서 β -catenin의 발현을 90 % 유의하게 증가시켰다(도 5B). 이를 통해 노나날은 발모조절 신호전달 단백질의 발현을 증가시킴으로써 인간 모유두세포의 증식을 유도하고 모발 성장을 촉진하는 것을 알 수 있다.

[0103] 4) 인간 모유두세포에서 노나날의 발모조절 신호전달 유전자(LEF-1, Cyc-D, VEGF 및 IGF-1) 발현 증가 효과

[0104] LEF는 세포핵 내에서 β -catenin과 결합하여 cyclin D (Cyc-D) 발현을 조절하는 중요 전사인자로 알려져 있으며, cyc-D는 wnt/ β -catenin 신호 전달의 타겟 유전자이다. 노나날은 wnt/ β -catenin 신호전달체계의 전사인자인 LEF와 타겟 유전자 cyc-D의 mRNA 발현을 각각 250%, 198% 유의하게 증가시켰고(도 6), 따라서 노나날은 발모조절 신호전달을 활성화시키는 효과가 있음을 알 수 있다.

[0105] 한편 VEGF와 IGF-1은 휴지기 모낭에 신생혈관 생성을 촉진시킴으로써 성장기 모낭으로의 진입을 유도하고 모낭 세포의 분화를 촉진하는 성장인자이다. 노나날은 VEGF와 IGF의 mRNA 발현을 각각 202%, 180% 유의하게 증가시켰고(도 6), 따라서 노나날은 휴지기 모낭을 성장기로 유도하여 우수한 발모촉진 효과가 있음을 알 수 있다.

[0106] 이하, 본 발명에 따른 상기 노나날을 유효성분으로 함유하는 의약품, 식품 또는 화장품의 제조예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다. 상기 탈모질환 예방 및 치료, 또는 탈모 개선 효과가 우수한 성분을 가지고 하기와 같은 조성성분 및 조성비에 따라 제조예 1 내지 3의 의약품, 식품 또는 화장료 조성물을 통상적인 방법에 따라서 제조하였다.

[0107] [제조예 1] 약학적 조성물의 제조

[0108] <1-1> 산제의 제조

[0109] 노나날 20 mg

[0110] 유당수화물 100 mg

[0111] 탈크 10 mg

[0112] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0113] <1-2> 정제의 제조

[0114] 노나날 10 mg

[0115] 옥수수전분 100 mg

[0116] 유당수화물 100 mg

[0117] 스테아르산마그네슘 2 mg

[0118] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0119] <1-3> 캡셀제의 제조

[0120] 노나날 10 mg

[0121] 미결정 셀룰로오스 3 mg

[0122] 유당수화물 14.8 mg

[0123] 스테아르산마그네슘 0.2 mg

[0124] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡셀제의 제조방법에 따라서 젤라틴캡슐에 충전하여 캡셀제를 제조하였다.

[0125] <1-4> 주사제의 제조

[0126] 노나날 10 mg

[0127] 만니톨 180 mg

[0128] 주사용 멸균 증류수 2974 mg

[0129] 인산일수소나트륨 26 mg

[0130] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1앰플당(2mL) 상기의 성분 함량으로 제조하였다.

[0131] <1-5> 액제의 제조

[0132] 노나날 10 mg

[0133]	이성화당 10 mg
[0134]	만니톨 5 mg
[0135]	정제수 적량
[0136]	레몬향 적량
[0137]	상기의 성분을 통상의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 정제수를 가하여 전체 100mL로 조절한 후 멸균시켜 갈색병에 충전하여 액제를 제조한다.
[0138]	[제조예 2] 건강식품의 제조
[0139]	<2-1> 건강보조식품의 제조
[0140]	노나날 10 mg
[0141]	비타민 혼합물 적량
[0142]	비타민 A 아세테이트 70 μ g
[0143]	비타민 E 1.0 mg
[0144]	비타민 B ₁ 0.13 mg
[0145]	비타민 B ₂ 0.15 mg
[0146]	비타민 B ₆ 0.5 mg
[0147]	비타민 B ₁₂ 0.2 μ g
[0148]	비타민 C 10 mg
[0149]	비오틴 10 μ g
[0150]	니코틴산아미드 1.7 mg
[0151]	엽산 50 μ g
[0152]	판토텐산 칼슘 0.5 mg
[0153]	무기질 혼합물 적량
[0154]	황산제1철 1.75 mg
[0155]	산화아연 0.82 mg
[0156]	탄산마그네슘 25.3 mg
[0157]	제1인산칼륨 15 mg
[0158]	제2인산칼슘 55 mg
[0159]	구연산칼륨 30 mg
[0160]	탄산칼슘 100 mg
[0161]	염화마그네슘 24.8 mg
[0162]	상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.
[0163]	<2-2> 건강음료의 제조
[0164]	노나날 10 mg
[0165]	비타민 C 15 g

- [0166] 비타민 E(분말) 100 g
- [0167] 젖산철 19.75 g
- [0168] 산화아연 3.5 g
- [0169] 니코틴산아미드 3.5 g
- [0170] 비타민 A 0.2 g
- [0171] 비타민 B1 0.25 g
- [0172] 비타민 B2 0.3 g
- [0173] 정제수 정량
- [0174] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.
- [0175] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.
- [0176] **[제조예 3] 화장료 조성물의 제조**
- [0177] 하기예 본 발명의 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 제조예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.
- [0178]
- [0179] <3-1> 영양화장수(밀크로션)
- [0180] 노나날 2.0 중량%
- [0181] 스쿠알란 5.0 중량%
- [0182] 밀납 4.0 중량%
- [0183] 폴리솔베이트60 1.5 중량%
- [0184] 솔비탄세스퀴올레이트 1.5 중량%
- [0185] 유동과라핀 0.5 중량%
- [0186] 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드 5.0 중량%
- [0187] 글리세린 3.0 중량%
- [0188] 부틸렌글리콜 3.0 중량%
- [0189] 프로필렌글리콜 3.0 중량%
- [0190] 카르복시비닐폴리머 0.1 중량%
- [0191] 트리에탄올아민 0.2 중량%
- [0192] 방부제, 색소, 향료 적량
- [0193] 정제수 to 100 중량%
- [0194] 상기의 배합비는 비교적 영양화장수에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상적인 화장품 분야에서의 제조방법에 따라 제조할 수 있다.
- [0195]
- [0196] <3-2> 유연화장수(스킨로션)
- [0197] 노나날 2.0 중량 %

[0198]	글리세린 3.0 중량 %
[0199]	부틸렌글리콜 2.0 중량 %
[0200]	프로필렌글리콜 2.0 중량 %
[0201]	카르복시비닐폴리머 0.1 중량 %
[0202]	PEG 12 노닐페닐에테르 0.2 중량 %
[0203]	폴리솔베이트80 0.4 중량 %
[0204]	에탄올 10.0 중량 %
[0205]	트리에탄올아민 0.1 중량 %
[0206]	방부제, 색소, 향료 적량
[0207]	정제수 to 100 중량 %
[0208]	상기의 배합비는 비교적 유연화장수에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상적인 화장품 분야에서의 제조방법에 따라 제조할 수 있다.
[0209]	
[0210]	<3-3> 영양크림
[0211]	노나날 2.0 중량 %
[0212]	폴리솔베이트60 1.5 중량 %
[0213]	솔비탄세스퀴올레이트 0.5 중량 %
[0214]	PEG60 경화피마자유 2.0 중량 %
[0215]	유동파라핀 10 중량 %
[0216]	스쿠알란 5.0 중량 %
[0217]	카프릴릭/카프릭트리글리세라이드 5.0 중량 %
[0218]	글리세린 5.0 중량 %
[0219]	부틸렌글리콜 3.0 중량 %
[0220]	프로필렌글리콜 3.0 중량 %
[0221]	트리에탄올아민 0.2 중량 %
[0222]	방부제 적량
[0223]	색소 적량
[0224]	향료 적량
[0225]	정제수 to 100 중량 %
[0226]	상기의 배합비는 비교적 영양크림에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상적인 화장품 분야에서의 제조방법에 따라 제조할 수 있다.
[0227]	
[0228]	<3-4> 마사지크림
[0229]	노나날 1.0 중량 %
[0230]	밀납 10.0 중량 %
[0231]	폴리솔베이트60 1.5 중량 %

- [0232] PEG 60 경화피마자유 2.0 중량 %
- [0233] 솔비탄세스퀴올레이트 0.8 중량 %
- [0234] 유동파라핀 40.0 중량 %
- [0235] 스쿠알란 5.0 중량 %
- [0236] 카프릴릭/카프릭트리글리세라이드 4.0 중량 %
- [0237] 글리세린 5.0 중량 %
- [0238] 부틸렌글리콜 3.0 중량 %
- [0239] 프로필렌글리콜 3.0 중량 %
- [0240] 트리에탄올아민 0.2 중량 %
- [0241] 방부제, 색소, 향료 적량
- [0242] 정제수 to 100 중량 %
- [0243] 상기의 배합비는 비교적 마사지크림에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상적인 화장품 분야에서의 제조방법에 따라 제조할 수 있다.
- [0244]
- [0245] <3-5> 팩
- [0246] 노나날 1.0 중량 %
- [0247] 폴리비닐알콜 13.0 중량 %
- [0248] 소듐카르복시메틸셀룰로오스 0.2 중량 %
- [0249] 글리세린 5.0 중량 %
- [0250] 알란토인 0.1 중량 %
- [0251] 에탄올 6.0 중량 %
- [0252] PEG 12 노닐페닐에테르 0.3 중량 %
- [0253] 폴리솔베이트60 0.3 중량 %
- [0254] 방부제, 색소, 향료 적량
- [0255] 정제수 to 100 중량 %
- [0256] 상기의 배합비는 비교적 팩에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상적인 화장품 분야에서의 제조방법에 따라 제조할 수 있다.
- [0257]
- [0258] <3-6> 젤
- [0259] 노나날 0.5 중량 %
- [0260] 에틸렌디아민초산나트륨 0.05 중량 %
- [0261] 글리세린 5.0 중량 %
- [0262] 카르복시비닐폴리머 0.3 중량 %
- [0263] 에탄올 5.0 중량 %
- [0264] PEG 60 경화피마자유 0.5 중량 %
- [0265] 트리에탄올아민 0.3 중량 %

[0266] 방부제, 색소, 향료 적량

[0267] 정제수 to 100 중량 %

[0268] 상기의 배합비는 비교적 젤에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상적인 화장품 분야에서의 제조방법에 따라 제조할 수 있다.

[0269]

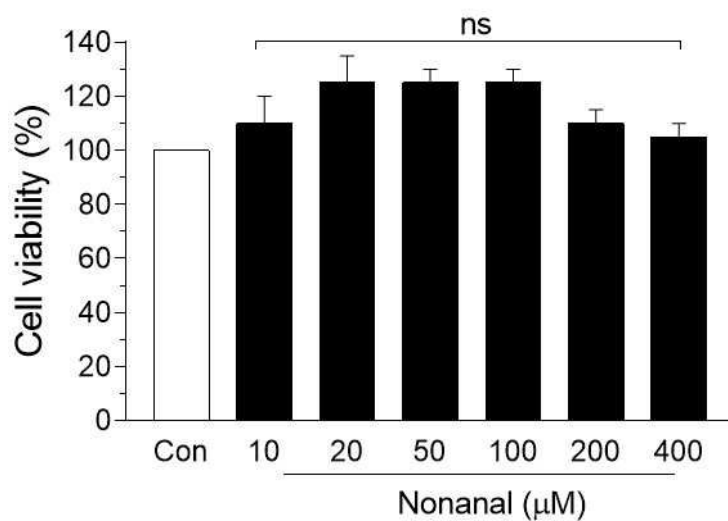
[0270] 상기 배합비는 비교적 화장료 조성물에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그외의 색채 화장품을 포함하는 다양한 용도의 화장품에 적용될 수 있는 것이고, 그 효능에 따라 인체에 얹게 도포하여 바를 수 있는 약제 즉, 연고로 제조에 이용될 수 있으며 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

[0271]

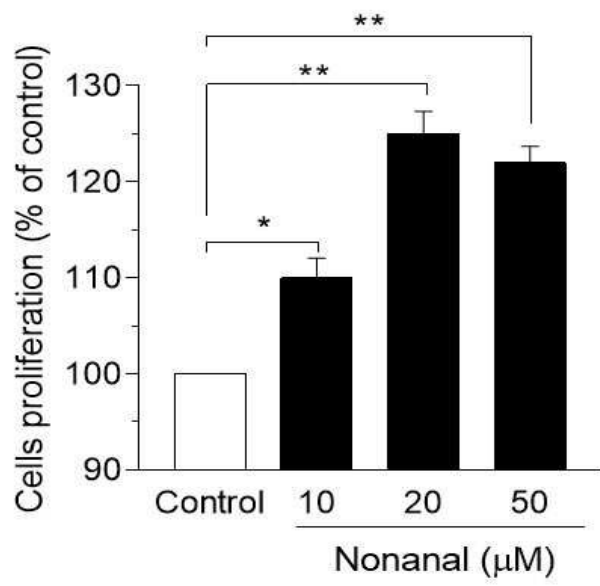
[0272] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

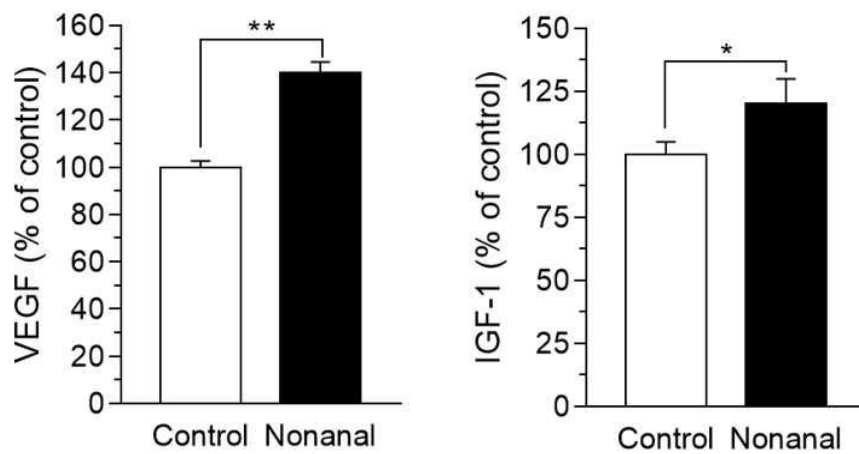
도면1



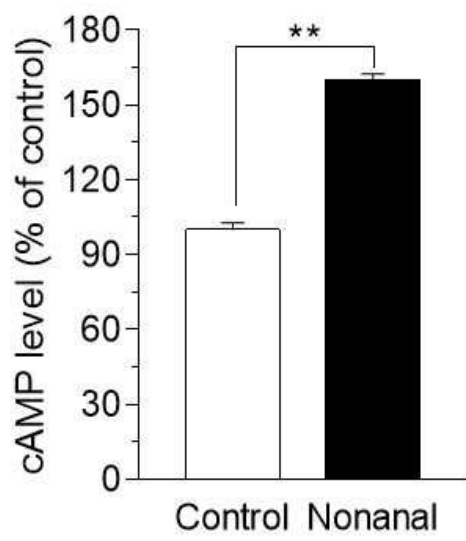
도면2



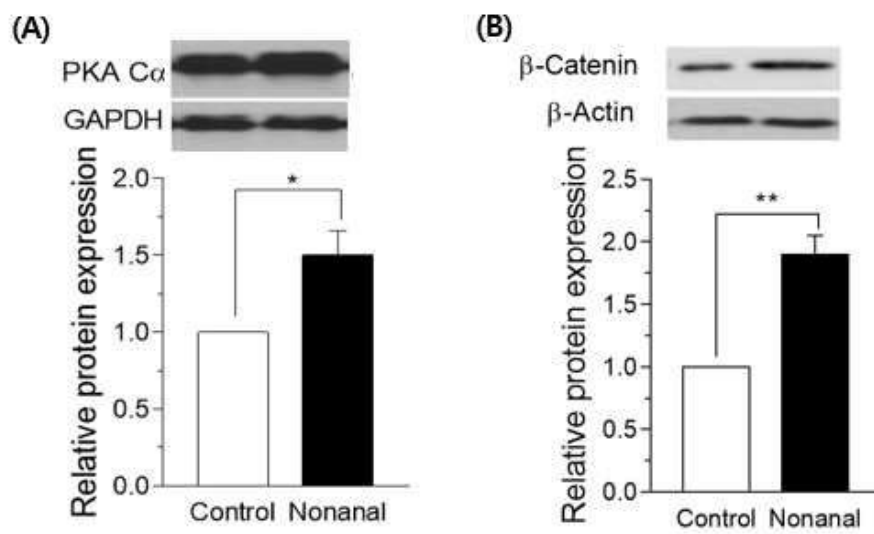
도면3



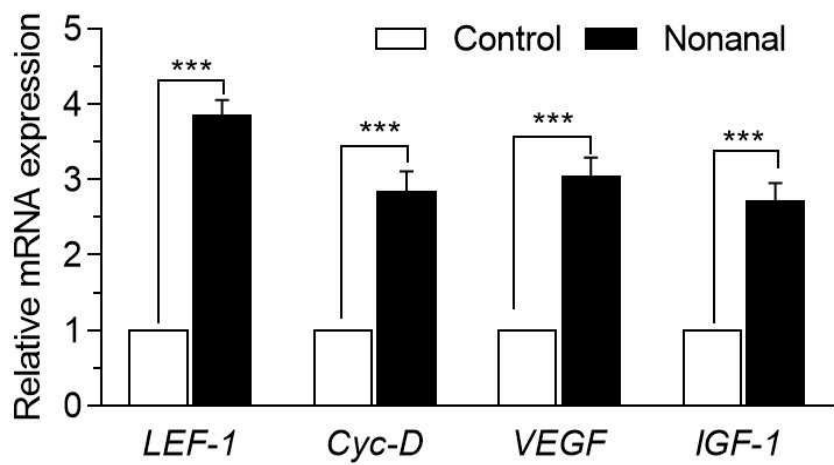
도면4



도면5



도면6



서열 목록

<110> Industry-Academic Cooperation Foundation, Yonsei University

<120> COMPOSITION COMPRISING NONANAL FOR PREVENTING HAIR LOSS OR STIMULATING HAIR GROWTH

<130> 1064738

<150> KR 10-2017-0139172

<151> 2017-10-25

<160> 8

<170> KoPatent In 3.0

<210> 1

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> LEF_F primer

<400> 1

tgccaaatat gaataacgac cca 23

<210> 2

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> LEF_R primer

<400> 2
gagaaaagtg ctgctcactg t 21

<210> 3
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Cyclin D_F primer
<400> 3
atgttcgtgg cctctaagat ga 22

<210> 4
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Cyclin D_R primer
<400> 4
caggttcac ttgagcttgt tc 22

<210> 5
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> VEGF_F primer
<400> 5
ttcatggatg tctatcagcg 20

<210> 6
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> VEGF_R primer
<400> 6
catctctcct atgtgctggc 20

<210> 7
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> IGF-1_F primer

<400> 7

cttcagttcg tgtgtggaga cag

23

<210> 8

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IGF-1_R primer

<400> 8

cgccctccga ctgctg

16