



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년01월12일
(11) 등록번호 10-1695375
(24) 등록일자 2017년01월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/44 (2006.01) A61K 31/185 (2006.01)
A61K 8/02 (2006.01) A61K 8/46 (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01) A61K 9/08 (2006.01)
A61Q 7/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류
A61K 8/447 (2013.01)
A61K 31/185 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0148747

(22) 출원일자 2015년10월26일
심사청구일자 2015년10월26일

(56) 선행기술조사문헌
JP09110645 A*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

한국해양과학기술원

경기도 안산시 상록구 해안로 787 (사동)

(72) 발명자

신희재

경기도 수원시 권선구 금호로 45 103동 1101호 (금곡동, 삼익1차아파트)

이민아

경기도 안산시 상록구 고목로3길 28-21 203호 (본오동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이상문, 박천도

전체 청구항 수 : 총 8 항

심사관 : 김정태

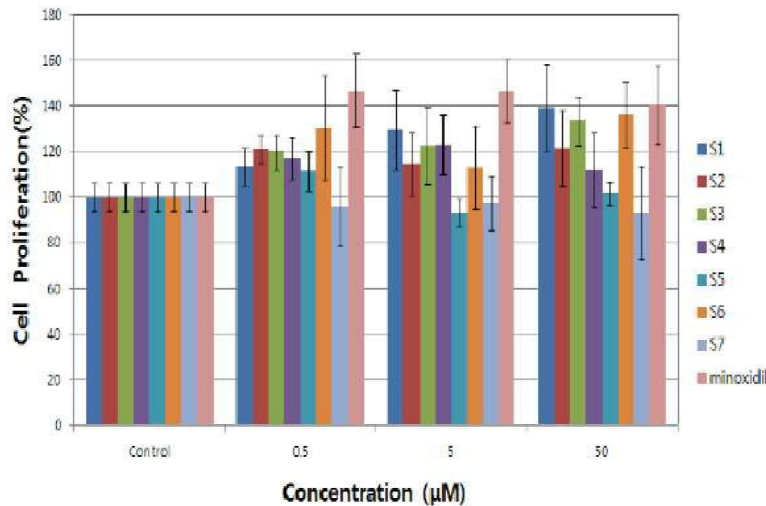
(54) 발명의 명칭 판테테인계 신규 물질을 포함하는 것을 특징으로 하는 발모 또는 육모 촉진용 조성물

(57) 요약

본 발명은 하기 화학식 1의 신규 화합물 및 그 염을 유효성분으로 포함하여 뛰어난 모유두 세포의 성장 촉진 효

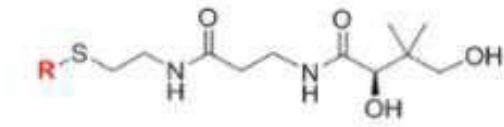
(뒷면에 계속)

대표도 - 도4



과를 통하여 발모 또는 육모의 효과를 나타내는 발모 또는 육모 촉진용 조성물에 관한 것이다.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서 R은 2-methylbutyryl, 3-methylbutyryl, cinnamoyl, 4-pentenoyl, 10-undecenoyl, isobutyl formate, 2,4-dihydroxybenzoyl, geranyl, farnesyl, acryloyl, propanone, 2-pentanone, 1-(4-hydroxyphenyl)ethanone, 1-(2,4-dihydroxyphenyl)ethanone, pentanoic acid, 2-hydroxypropanoic acid, 2-phenylacetic acid, 2-(4-(propanoyl)phenyl)acetic acid, 4-methylbenzoic acid, 4-(4-phenyl)-4-oxobutanoic acid, 2-oxoethyl acetyl, 2-phenoxyacetyl, 2-(benzyloxy)acetyl, 4-methoxybenzoyl, 3,5-dimethylphenol, 6-methoxybenzene-1,4-diol, propenylbenzene 및 4-hydroxycoumarin로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나임.

(52) CPC특허분류

A61K 8/02 (2013.01)
A61K 8/466 (2013.01)
A61K 9/06 (2013.01)
A61K 9/08 (2013.01)
A61Q 7/00 (2013.01)

이종석

경기도 안양시 동안구 귀인로 210 206동 1306호 (평촌동, 현대홈타운아파트)

이연주

경기도 과천시 별양로 12 319동 1602호 (원문동, 래미안슈르아파트)

(72) 발명자

몬돌

경기도 안산시 상록구 해안로 787 (사동)

이희승

서울특별시 광진구 아차산로 552 7동 1105호 (광장동, 극동아파트)

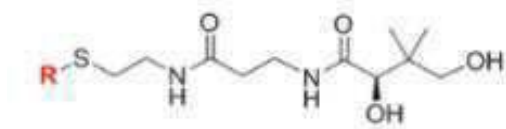
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1의 화합물 또는 이들의 염을 유효성분으로 포함하는 것인 발모 또는 육모 촉진용 조성물.

<화학식 1>



상기 화학식 1에서 R은 2-methylbutyryl, 3-methylbutyryl, cinnamoyl, 4-pentenoyl, 10-undecenoyl, isobutyl formate 및 2,4-dihydroxybenzoyl로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나임.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 화학식 1 화합물이 2-methylbutyryl-D-pantetheine 또는 Isobutyl formate-D-pantetheine인 것을 특징으로 하는 발모 또는 육모 촉진용 조성물.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물이 모유두 세포의 성장 촉진을 효과를 보이는 것을 특징으로 하는 발모 또는 육모 촉진용 조성물.

청구항 4

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물이 D-pantethine을 출발 물질로 하여 제조되는 것을 특징으로 하는 발모 또는 육모 촉진용 조성물.

청구항 5

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물이 탈모 방지 및 모발 성장 촉진용 화장품 조성물인 것을 특징으로 하는 발모 또는 육모 촉진용 조성물.

청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 화장품 조성물이 헤어토닉, 헤어컨디셔너, 헤어에센스, 헤어로션, 헤어영양로션, 헤어샴푸, 헤어린스, 헤어트리트먼트, 헤어크림, 헤어영양크림, 헤어모이스처크림, 헤어맛사지크림, 헤어왁스, 헤어에어로졸, 헤어팩, 헤어영양팩, 헤어비누, 헤어클렌징폼, 머릿기름, 모발건조제, 모발보존처리제, 모발염색제, 모발용 웨이브제, 모발탈색제, 헤어젤, 헤어글레이즈, 헤어드레싱어, 헤어래커, 헤어모이스처라이저, 헤어무스 및 헤어스프레어로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 발모 또는 육모 촉진용 조성물.

청구항 7

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물이 탈모 방지 및 모발 성장 촉진용 약학적 조성물인 것을 특징으로 하는 발모 또는 육모 촉진용 조성물.

청구항 8

제 7항에 있어서, 상기 약학적 조성물이 연고, 페이스트, 젤, 젤리, 세럼(serum), 에어로졸 스프레이, 비-에어로졸 스프레이, 폼, 크림, 로션, 용액 및 현탁액으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 발모 또는 육모 촉진용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 발모 또는 육모 촉진용 조성물에 관한 것이며, 상세하게는 pantetheine계 신규 물질을 포함하여 뛰어난 모유두 세포의 성장 촉진 효과를 통하여 발모 또는 육모의 효과를 나타내는 발모 또는 육모 촉진용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 탈모의 원인으로는 남성호르몬 작용 과잉설, 피지분비 과잉설, 혈액순환 불량설, 과산화물, 세균 등에 의한 두피기능 저하설, 유전적 요인, 노화, 스트레스 등이 논의되고 있다. 아울러, 사회적 스트레스의 증가와 더불어 환경오염 및 인스턴트 식품 등 서구화된 식습관, 잦은 과마와 염색 등으로 인하여 탈모 인구가 점차 증가하고 있다. 모발의 주기는 모발을 성장시키는 성장기(anagen), 성장을 종료하고 모구부가 축소하는 시기인 퇴화기(catagen), 모유두가 활동을 멈추고 모발을 두피에 머무르게 하는 시기인 휴지기(talogen), 모유두가 활동을 시작하거나 또는 새로운 모발을 발생시켜 오래된 모발을 탈모시키는 시기인 발생기로 나눌 수 있다.

[0003] 성장기(Anagen Stage; 2~7년)는 모발이 성장하는 기간으로, 다시 모발이 모구로부터 모포로 나가려는 모발 생성 단계와 딱딱한 케라틴이 모낭 안에서 만들어지는 단계로 나누어진다. 모발은 퇴행기까지 자가성장을 계속한다.

[0004] 퇴행기(Catagen Stage; 2~3주)는 성장기가 끝나고, 모발의 형태를 유지하면서 대사과정이 느려지는 시기로, 이 단계에서는 케라틴을 만들어내지 않는다. 퇴화기는 전체 모발의 1%를 차지한다. 이때 모구부가 수축하여 모유두로 나뉘지며 모낭에 둘러싸여 위쪽으로 올라가고, 세포분열은 정지상태이다.

[0005] 휴지기(Talogen Stage; 3개월)는 모유두가 위축되고 모낭이 차츰 쪼그라들며, 모근이 위쪽으로 밀려 올라가 빠진다. 모발이 없어지는 시기로서 다음 성장기 단계가 시작될 때까지의 수명은 3~4개월이다.

[0006] 정상인 사람은 성장기 상태의 모발이 많은데 비해 탈모증(Alopecia)인 사람은 휴지기 상태의 모발이 많아 눈으로 보이는 탈모현상이 나타나게 된다. 탈모가 진행될수록 성장기의 기간이 짧아지고 이로 인해 모발은 점점 소형화된다. 따라서, 탈모의 치료를 위해서는 휴지기 상태의 모낭을 성장기로 빨리 갈 수 있도록 하고, 짧아진 성장기를 늘려주는 것이 중요하다.

[0007] 남성형 탈모증은 테스토스테론(Testosterone)이라는 남성호르몬에 의해 나타나는 현상으로 이 테스토스테론이 5알파-리덕타아제(α -reductase)라는 효소에 의해 더 강력한 호르몬인 디히드로테스토스테론(Dihydrotestosterone, DHT)으로 바뀌게 되면, 이 호르몬이 모낭에 작용하여 모낭을 성장기 단계에서 퇴화기 단계로 유도하여 탈모가 일어나게 한다. 따라서, 남성형 탈모증을 치료하기 위하여 5알파-리덕타아제에 의한 DHT의 생성을 억제하는 방법이 주로 사용된다.

[0008] 여성형 탈모증은 주로 폐경기 이후 에스트로겐 양의 감소에 의해 발생한다. 여성형 탈모증을 위한 치료제로는 주로 미녹시딜이나 에스트로겐이 사용되고 있다.

[0009] 원형 탈모증은 자가면역질환이나 정신적 스트레스, 유전적 소인에 의해 발생한다. 이러한 원형 탈모증은 안드로겐성 탈모증과는 근본적으로 원인이 다르며, 치료법 또한 달라서 부신피질 호르몬제를 처리하는 방법을 사용하거나, 미녹시딜을 환부에 바르거나 인위적으로 환부에 자극을 유발하는 방법을 사용한다.

[0010] 그러나, 지금까지 탈모를 방지하여 주고 발모촉진 및 모발의 생장에 효과를 가지고 있다고 알려져 있는 미녹시딜(minoxidil)이나 트리코사카라이드(trichosaccharide) 등의 제제들의 경우, 뚜렷한 효능의 부재 및 인체 안정성, 피부자극 유발 등의 부작용 문제가 대두 되고 있어 안전성 및 효능이 확보된 조성물 개발이 시급한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0011] (특허문헌 0001) 1. 대한민국 특허등록 제10-0839704
 (특허문헌 0002) 2. 대한민국 특허등록 제10-1208736

발명의 내용

해결하려는 과제

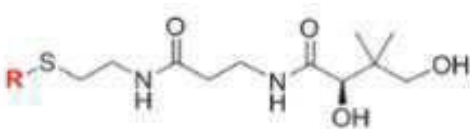
[0012] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 모유두 세포의 증식촉진을 통해 탈모의 예방, 개선 또는 치료할 수 있고, 발모, 양모, 육모 등의 효과가 뛰어난 발모 또는 육모 촉진제 및 이를 함유하는 탈모방지 및 발모 효과가 있는 화장료 조성물 또는 약학 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 기술적 과제를 달성하기 위하여 본 발명은

[0014] 하기 화학식 1의 화합물 또는 이들의 염을 유효성분으로 포함하는 것인 발모 또는 육모 촉진용 조성물을 제공한다.

화학식 1



[0015]

[0016] 상기 화학식 1에서 R은 2-methylbutyryl, 3-methylbutyryl, cinnamoyl, 4-pentenoyl, 10-undecenoyl, isobutyl formate, 2,4-dihydroxybenzoyl, geranyl, farnesyl, acryloyl, propanone, 2-pentanone, 1-(4-hydroxyphenyl)ethanone, 1-(2,4-dihydroxyphenyl)ethanone, pentanoic acid, 2-hydroxypropanoic acid, 2-phenylacetic acid, 2-(4-(propanoyl)phenyl)acetic acid, 4-methylbenzoic acid, 4-(4-phenyl)-4-oxobutanoic acid, 2-oxoethyl acetyl, 2-phenoxyacetyl, 2-(benzyloxy)acetyl, 4-methoxybenzoyl, 3,5-dimethylphenol, 6-methoxybenzene-1,4-diol, propenylbenzene 및 4-hydroxycoumarin로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나임.

[0017] 상술한 바와 같은 본 발명에 따른 발모 또는 육모 촉진용 조성물에 있어서, 상기 화학식 1 화합물은 2-methylbutyryl-D-pantetheine, 3-methylbutyryl-D-pantetheine, Cinnamoyl-D-pantetheine, 4-pentenoyl-D-pantetheine, 10-undecenoyl-D-pantetheine, Isobutyl formate-D-pantetheine, 2,4-dihydroxybenzoyl-D-pantetheine 및 Geranyl-D-pantetheine로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하다.

[0018] 상술한 바와 같은 본 발명에 따른 발모 또는 육모 촉진용 조성물에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은 모유두 세포의 성장 촉진을 효과를 보이는 것을 특징으로 한다.

- [0019] 상술한 바와 같은 본 발명에 따른 발모 또는 육모 촉진용 조성물에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은 D-pantethine을 출발 물질로 하여 제조될 수 있다.
- [0020] 상술한 바와 같은 본 발명에 따른 발모 또는 육모 촉진용 조성물에 있어서, 상기 조성물은 탈모 방지 및 모발 성장 촉진용 화장료 조성물인 것을 특징으로 하는 발모 또는 육모 촉진용 조성물일 수 있다.
- [0021] 상술한 바와 같은 본 발명에 따른 발모 또는 육모 촉진용 조성물에 있어서, 상기 화장료 조성물은 헤어토닉, 헤어컨디셔너, 헤어에센스, 헤어로션, 헤어영양로션, 헤어샴푸, 헤어린스, 헤어트리트먼트, 헤어크림, 헤어영양크림, 헤어모이스처크림, 헤어맛사지크림, 헤어왁스, 헤어에어로졸, 헤어팩, 헤어영양팩, 헤어비누, 헤어클렌징폼, 머릿기름, 모발건조제, 모발보존처리제, 모발염색제, 모발용 웨이브제, 모발탈색제, 헤어겔, 헤어글레이즈, 헤어드레싱어, 헤어래커, 헤어모이스처라이저, 헤어무스 및 헤어스프레이로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 제형을 갖는 것이 바람직하다.
- [0022] 상술한 바와 같은 본 발명에 따른 발모 또는 육모 촉진용 조성물에 있어서, 상기 조성물은 탈모 방지 및 모발 성장 촉진용 약학적 조성물일 수 있다.
- [0023] 상술한 바와 같은 본 발명에 따른 발모 또는 육모 촉진용 조성물에 있어서, 상기 약학적 조성물이 연고, 페이스트, 젤, 젤리, 세럼(serum), 에어로졸 스프레이, 비-에어로졸 스프레이, 폼, 크림, 로션, 용액 및 현탁액으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 제형을 갖는 것이 바람직하다.

발명의 효과

- [0024] 본 발명의 발모 또는 육모 촉진제는 인간 모유두 세포의 증식능 촉진을 통해 탈모방지 및 모발 성장의 효과를 나타낸다. 따라서 상기 발모 또는 육모 촉진제는 탈모방지 및 탈모방지 촉진용 화장료 조성물 및 약학 조성물의 유효성분으로 효과적으로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0025] 도 1은 *Bacillus* sp. 102CH635-3의 배양사진이다.
 도 2는 102CH635-3균주의 배양액으로부터 탈모 예방/육모 촉진 신물질 S1과 S2의 분리 과정을 도시한 것이다.
 도 3은 본 발명에 따른 D-pantetheine계 신규 물질의 합성 방법을 도시한 도면이다.
 도 4는 본 발명에 따른 D-pantetheine계 신규 물질의 모유두 세포 성장 촉진 효과를 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0026] 이하에서는 본 발명을 구체적으로 설명한다.
- [0027] 모발의 발생과 성장, 주기조절은 모낭 기저부의 중배엽 유래 조직인 모유두에 의해 조절 받는다. 모유두는 모세포(hair matrix cell)와 상호작용하고 이들 세포를 자극하여 모낭과 모발을 구성하는 여러 세포로 분화시키는 역할을 담당하고 있는 것으로 알려져 있다.
- [0028] 모낭은 성장기(anagen phase)-퇴행기(categen phase)-휴지기(telogen phase)로 구성된 모발주기를 반복하게 되어 모발이 주기적으로 발생하고 빠지는 과정을 거친다. 이 과정은 중배엽-외배엽 세포 상호작용에 의해 조절되며, 모유두 세포가 조절기능의 핵심을 담당하고 있다. 중배엽(모유두) 세포는 발생기에는 모발의 생성을 유도하고, 이후 모발의 성장을 자극하는 물질을 분비한다. 모유두 세포의 변화에 따라 퇴행기가 시작되고, 모낭이 축퇴됨에 따라 모유두는 위로 이동하여 모발줄기세포가 있는 모발출출부(bulge)의 바로 밑에 존재한다. 휴지기 중

에 모유두 세포의 신호에 의해 모발줄기세포가 분열하여 새로운 모낭을 형성하는 성장기가 시작된다.

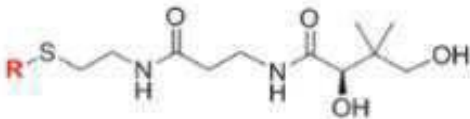
[0029] 문헌에 따르면, 탈모증 환자의 경우 모유두의 크기와 부피가 정상인에 비해 현저히 줄어들어 있다. 모유두의 수는 모발주기 중 성장기 기간에서 증가하며, 이것의 부피는 모유두를 구성하는 세포의 수에 의존적이다. 더구나 모구(hair bulb)의 상피조직의 부피와 분열능 역시 모유두의 부피에 비례한다.

[0030] 휴지기에서 새로운 성장기가 시작될 때는 발생기와 유사한 신호들이 작용한다. 성장기 초기에 모유두 세포에 인접한 모발돌출부(bulge) 부분의 상피세포에서 WNT 단백질 신호가 매우 강해지고, Wnt/ β -카테닌(Wnt/ β -catenin) 신호 등이 중요하게 작용하는 것으로 보고되고 있다.

[0031] Wnt/ β -카테닌(Wnt/ β -catenin) 신호 전달계는 모낭의 형성을 촉진하고(WNT signals are required for the initiation of hair follicle development. Andl T, et al. (2002) Dev Cell. 2: 643-653.), 모발 주기의 성장 동안 발현하는 유전자들을 유지하고 활성화 하는데 중요한 역할을 하며(Wnt signaling maintains the hairinducing activity of the dermal papilla. Kishimoto J, et al. (2000) Genes Dev 14: 1181-1185), 줄기 세포로부터 케라티노사이트로의 분화를 촉진한다(β -catenin controls hair follicle morphogenesis and stem cell differentiation in the skin. Huelsken J, et al.(2001) Cell 105: 533-545)고 보고되어 있다.

[0032] 본 발명자들은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이들의 염을 유효성분으로 포함하는 조성물이 모유두 세포의 증식을 촉진함으로써 모유두 세포의 탈모방지 혹은 육모관련 유전자의 발현량을 증가시키는 것을 발견하여 본 발명을 완성하였다.

[0033] [화학식 1]



[0034]

[0035] 상기 화학식 1에서 R은 2-methylbutyryl, 3-methylbutyryl, cinnamoyl, 4-pentenoyl, 10-undecenoyl, isobutyl formate, 2,4-dihydroxybenzoyl, geranyl, farnesyl, acryloyl, propanone, 2-pentanone, 1-(4-hydroxyphenyl)ethanone, 1-(2,4-dihydroxyphenyl)ethanone, pentanoic acid, 2-hydroxypropanoic acid, 2-phenylacetic acid, 2-(4-(propanoyl)phenyl)acetic acid, 4-methylbenzoic acid, 4-(4-phenyl)-4-oxobutanoic acid, 2-oxoethyl acetyl, 2-phenoxyacetyl, 2-(benzyloxy)acetyl, 4-methoxybenzoyl, 3,5-dimethylphenol, 6-methoxybenzene-1,4-diol, propenylbenzene 및 4-hydroxycoumarin로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나임.

[0036] 바람직하게는 상기 화학식 1의 화합물은 2-methylbutyryl-D-pantetheine, 3-methylbutyryl-D-pantetheine, Cinnamoyl-D-pantetheine, 4-pentenoyl-D-pantetheine, 10-undecenoyl-D-pantetheine, Isobutyl formate-D-pantetheine, 2,4-dihydroxybenzoyl-D-pantetheine 및 Geranyl-D-pantetheine로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나이다.

[0037] 본 발명에서 사용되는 화학식 1 화합물은 유리 물질로써 뿐만 아니라, 그의 약화적을 허용 가능한 염, 약화적으로 허용 가능한 용매화물, 약화적으로 허용 가능한 다형체, 또는 약제학적으로 허용 가능한 진구 약물로써 제공될 수 있는 것으로 이해될 것이다. 또한 상기 유효 성분은 단독으로 또는 다른 약화적 활성 화합물과의 결합체나 집합체의 형태로도 사용될 수 있다.

[0038] 본 발명에 따른 발모 또는 육모 촉진제에 유효성분인 화학식 1 화합물의 염에 있어서는, 의약 또는 화장품 내에서 배합할 수 있는 형태이면 특별히 제한되지 않는다. 무기염 또는 유기염을 포함하며, 산성염 또는 알칼리성염일 수 있다.

[0039] 본 발명에 따른 상기 조성물은 다른 탈모의 예방, 치료, 또는 육모용 약물이나 보조제를 더 포함하여 복합 제제로서 사용될 수 있다. 다른 약물 또는 보조제로는 레티산(retinoic acid), 미녹시딜(minoxidil), 피나스테라이드, 아연 펩타이드(zinc peptide), 아연옥사이드(zinc oxide), 비오틴, 제니스테인, 양파추출물, 호박씨오일, 엠유(Emu) 오일, 녹차 추출물, 버드나무피 추출물 등이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0040] 본 발명의 발모 또는 육모 촉진제는 상기 화학식 1의 화합물을 조성물 전체에 대해 약 0.01 중량% 내지 25 중량% 범위로 함유할 수 있으며, 화학식 1의 화합물의 종류에 따라 증감될 수 있다.

- [0041] 본 발명에 따른 발모 또는 육모 촉진제가 약학 조성물로 사용되는 경우에는 국소투여시 화학식 1의 화합물을 탈모의 예방, 치료, 또는 육모를 위한 부위에 1일 1 회 내지 2회 정도 도포함으로써 투여할 수 있다. 활성성분이 1 중량% 일 때를 기준으로 일일 도포량으로는 0.5-3 mg /cm² (피부표면적) 정도이며, 도포부위의 면적에 따라 증감될 수 있다. 이러한 투여량 및 횟수는 환자의 나이, 성별, 탈모의 진행 정도에 따라 적절히 증감하여 사용될 수 있다.
- [0042] 본 발명의 화학식 1 화합물 또는 그 염을 함유하는 약학 조성물은 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [0043] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 부형제 또는 희석제를 사용하여 제조된다. 향응집제, 윤활제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있으며, 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속, 또는 지연된 방출을 제공하기 위해 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 제형화할 수 있다.
- [0044] 본 발명에 따른 약학 조성물은 본 발명이 속하는 기술분야에 공지되어 있는
- [0045] 통상적인 약제학적 제형으로 제제화될 수 있다. 람직하게는 경피 투여제제 및 국소 적용을 위한 피부 외용 제제로 제제화될 수 있다.
- [0046] 구체적으로, 본 발명의 조성물은 피부 외용 제제로서, 연고, 페이스트, 젤, 젤리, 세럼(serum), 에어로졸 스프레이, 비-에어로졸 스프레이, 폼, 크림, 로션, 용액 또는 현탁액 등 피부에 적용가능한 모든 제형으로 제제화될 수 있다.
- [0047] 발명의 발모 또는 육모 촉진제를 유효성분으로 함유하는 기능성 화장품은 피부에 적용되는 모든 제형에서 적용될 수 있다. 보다 구체적으로, 헤어토닉, 헤어컨디셔너, 헤어에센스, 헤어로션, 헤어영양로션, 헤어샴푸, 헤어린스, 헤어트리트먼트, 헤어크림, 헤어영양크림, 헤어모이스처크림, 헤어맛사지크림, 헤어왁스, 헤어에어로졸, 헤어팩, 헤어영양팩, 헤어비누, 헤어클렌징폼, 머릿기름, 모발건조제, 모발보존처리제, 모발염색제, 모발용 웨이브제, 모발탈색제, 헤어겔, 헤어글레이즈, 헤어드레싱어, 헤어래커, 헤어모이스처라이저, 헤어무스 또는 헤어스프레이의 제형으로 제조될 수 있다. 이 밖에도, 화장, 세제, 및 섬유 등 피부에 접촉하는 피부접촉 물질로서도 제조될 수 있다
- [0048] 각 제형의 화장품 조성물에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물 또는 그 염 이외에 다른 성분들은 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 당업자가 적절하게 선정하여 배합할 수 있다. 첨가가능한 배합 성분으로는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있다.
- [0049] 이하에서는 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범주 및 기술사상 범위 내에서 다양한 변경 및 수정이 가능함은 본 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변경 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속하는 것도 당연한 것이다.
- [0050] **1. *Bacillus* sp. 102CH635-3 균주의 분리 및 동정**
- [0051] 2010년 2월 마이크로네시아 축주 인근에서 채집된 해양 퇴적토로부터 해양 미생물을 분리하였다. 1 g의 해양 퇴적토를 60℃에서 20분간 열처리 한 후에 BN agar plate에 흠뿌리기 하였다. 28℃, 7일간 배양하면서 균을 관찰하였고, 주황색의 납작하게 퍼지며 자라는 102CH635-3 균주의 single colony를 얻었다(도 1 참조). 102CH635-3 균주는 40% glycerol에 보존하여 -70℃에 보관하였다.
- [0052] 102CH635-3의 16S rRNA 염기서열 분석을 위해 16S rRNA proimer, 27F 5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG)3' 와 1492R 5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T)3' 를 사용하여 PCR에 의해 genomic DNA로부터 증폭하였다. 20 ng의 genom DNA과 EF-Taq(SolGent, Korea) 반응용액 30 μ l을 혼합하여 35 cycle 반응을 시켰다. PCR의 반응 조건은 95℃에서 1분간 denaturation, 55℃에서 1분간 primer annealing, 72℃에서 1분 chain extention 시켰으며 35 cycle 후 최종적으로 72℃에서 10분간 chain을 extention 시켰다. 증폭된 DNA로부터 1,380 bp 이상의 염기서열을 얻었고 ABI prism 3730XL DNA analyzer(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 이용하여 분석하였다. 확

보된 해양 미생물들의 염기서열 값은 NCBI에 등록된 균주들과 Blast search를 통하여 homology 유사성을 확인한 결과 *Bacillus subtilis* 99%, *Bacillus amyloliquefaciens* 99%로 나타나 102CH635-3 균주는 *Bacillus* sp. 로 동정되었다.

[0053] **2. 배양 최적 조건 확립**

[0054] *Bacillus* sp. 102CH635-3의 single colony를 BN broth, 50ml가 들어 있는 플라스크에 접종하여 28℃, 7일간 배양한 후 에틸아세테이트로 추출하고 감압 하에 농축하여 조추출물을 얻었다. 조추출물에 대한 ¹H NMR data를 분석한 결과 흥미로운 물질을 생성하는 것이 확인되어 활성 물질분리를 위한 유용 균주로 선정하였다. 균주를 대량배양하기 앞서 활성 물질을 생성하는 최적 배양조건 확립을 위한 실험을 진행 하였다. 하기 1과 같이 이 균주가 분리되었던 BN 배지와 일반적으로 *Bacillus* sp.를 배양하는 NB 배지 조건에 sea salt를 첨가하여 조성한 SWNB 배지를 사용하였다.

표 1

[0055]

Components	BN	SWNB
	g/L	
D-glucose	10	-
Tryptone	2	-
Peptone	-	5
Yeast extract	1	-
Beef extract	1	3
Glucose	5	-
Temperature(℃)	28	28
Shaking speed(rpm)	140	140
Sea salt	32	32
pH	7.0	7.0
Culture duration(day)	7	7

[0056] 배지 조성에 변화를 준 각각의 broth 200 mL에 102CH635-3 균주를 접종하고 28℃, 7일간 배양한 후 에틸아세테이트로 추출하고 감압 하에 농축하여 조추출물을 얻었다. 배지 조성 변화에 따른 배양액 조추출물의 ¹H NMR data를 분석한 결과 SWNB 배지를 사용하였을 때 유의한 물질의 생성에 효과적인 것을 확인 할 수 있었고, 이에 대량배양을 위한 최적 배양조건으로 사용하였다.

[0057] **3. 대량 배양 및 탈모예방/육모촉진 신물질 S1과 S2의 분리 및 구조결정**

[0058] *Bacillus* sp. 102CH635-3 균주의 single colony를 접종하여 28℃에서 120 rpm으로 7일간 중균배양을 하였다. 이 중균은 대량배양을 위해 30 l SWNB 배지를 넣은 대용량 발효기에 접종하여 28℃에서 13일간 배양하였다. 이렇게 하여 얻어진 배양액 30 l 를 연속원심분리기로 분리하여 배양여액은 동일한 양의 에틸아세테이트로 균사체는 메탄올로 각각 2회씩 추출하였다. 이 추출액은 감압 농축기를 통해 농축하여 조추출물을 얻고 -20℃에 보관하며 분리를 위한 시료로 사용하였다.

[0059] 배양여액 에틸아세테이트 추출물을 역상 크로마토그래피로 분획하였다. 용리용매는 물과 메탄올을 혼합하여 20% 메탄올에서 시작하여 100%메탄올까지 5 분획으로 분리하였다. 60%메탄올 분획물을 감압 하에 농축하여 건조시킨 후 분획물을 얻었다. 이 분획물은 C18 역상 HPLC(C18 reversed-phase HPLC, Column: YMC-ODS-A, 5 μm, 10×250 mm, 용매: 45% MeOH, 용출 속도: 1.5 ml/min, RI detector)로 정제하여 2개의 단일 물질을 분리하였으며, 최종적으로 분리된 신규 물질의 수득량은 2-methylbutyryl-D-pantetheine(S1, 0.5 mg), 3-methylbutyryl-D-pantetheine(S2 1.9 mg)이었다(도 2 참조).

[0060] 1D, 2D NMR과 HR-ESIMS 등의 분광학적 data 해석을 통해 구조를 규명한 결과, S1과 S2는 pantetheine 계열의 신물질로 확인되었다. S1은 고분해능 질량분석(HR-ESIMS)에서 *m/z* 385.1778 [M+Na]⁺의 피크를 나타내었으며, 분자식은 C₁₆H₃₀N₂O₅S로 결정되었다. ¹H NMR spectrum에서 4개의 methyl기와 6개의 methylene을 가지는 것으로 나타

났다. 그 중에 4개의 methylene은 COSY 스펙트럼의 해석을 통하여 H-5/H-6과 H-8/H-9의 연결을 확인 할 수 있었고, HMBC spectrum를 통해 amide carbon인 C-4(δ 176.2)와 C-7(δ 174.0)이 주변 수소들과의 연결들로부터 부분구조를 확인 할 수가 있었다. 또한, 문헌치와 비교하여 S1은 panthetheine의 부분구조를 가지고 있는 것을 알 수 있었다. 뿐만 아니라, HMBC스펙트럼에서, C-10(δ 205.0)의 carbonyl carbon과 H-9(δ 3.00), H-12(δ 1.48, 1.71)와 H-14(δ 1.15)와 HMBC 상관관계를 나타내어 S1은 2-methylbutyl 그룹이 panthetheine에 연결된 구조를 가지는 신규 물질임을 알 수 있었다. 그리고 C-3의 입체구조를 확인하기 위하여, D-pantetheine의 문헌의 $[\alpha]_D$ 값과 S1의 $[\alpha]_D$ 의 값을 비교한 결과, 각각 +12.2(c 3.45, H₂O)와 +23.7(c 0.5, H₂O)로 비슷한 값으로 측정되어 S1은 2-methylbutyryl-D-pantetheine으로 결정되었다. S2의 분자식은 고분해능 질량분석 결과, C₁₆H₃₀N₂O₅S로 S1과 동일한 분자량 및 분자식을 가지는 것을 알 수 있었다. ¹H NMR 과 ¹³C NMR 및 HMBC data 등 다양한 1D, 2D NMR data를 분석한 결과, S2는 S1과 매우 비슷한 구조를 가지고 있는 것을 알 수 있었다. 그러나 COSY 및 HMBC 스펙트럼 분석 결과, S2의 경우, δ 0.95(d, $J=5.0$) methyl 그룹이 S1과는 다른 위치에 연결된 3-methylbutyl의 부분구조를 가지고 있는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 S2의 구조는 3-methylbutyryl-D-pantetheine으로 결정되었으며, 데이터베이스 검색결과, S2는 지금까지 보고된 적이 없는 신규 물질임을 알 수 있었다.

[0061] S1: $[\alpha]_D$ +23.7(c 0.5, H₂O), ¹H NMR(CD₃OD, 500 MHz) 0.92(s, CH₃), 0.92(s, CH₃), 0.92(t, CH₃), 1.15(d, $J=5.0$, CH₃), 1.48-1.71(m, CH₂), 2.41(t, CH₂), 2.59(m, CH), 3.00(t, CH₂), 3.32(t, CH₂), 3.38-3.46(d, $J=10.0$, CH₂), 3.47(m, CH₂), 3.89(s, CH), ¹³C NMR(CD₃OD, 125 MHz) 12.1, 17.8, 21.1, 21.5, 28.4, 29.0, 36.5, 36.6, 40.3, 40.5, 51.5, 70.5, 77.4, 174.0, 176.2, 205.0, HRESIMS m/z 385.1778 [M+Na]⁺(calcd for C₁₆H₃₀N₂O₅NaS, 385.1773).

[0062] S2: $[\alpha]_D$ +7.7(c 0.5, H₂O), ¹H NMR(CD₃OD, 500 MHz) 0.92(s, CH₃), 0.92(s, CH₃), 0.95(d, $J=5.0$, CH₃), 0.95(d, $J=5.0$, CH₃), 2.13(m, CH), 2.41(t, CH₂), 2.46(d, $J=5.0$, CH₂), 3.00(t, CH₂), 3.32(t, CH₂), 3.38-3.46(d, $J=10.0$, CH₂), 3.47(m, CH₂), 3.89(s, CH), ¹³C NMR(CD₃OD, 125 MHz) 21.1, 21.5, 22.7, 22.7, 27.8, 29.3, 36.5, 36.6, 40.3, 40.5, 53.8, 70.5, 77.4, 174.0, 176.2, 200.2, HRESIMS m/z 385.1779 [M+Na]⁺(calcd for C₁₆H₃₀N₂O₅NaS, 385.1773).

표 2

[0063]

NMR data for S1 and S2 in CD ₃ OD						
No	S1			S2		
	δ_c	δ_H , mult. (J in Hz)	HMBC	δ_c	δ_H , mult. (J in Hz)	HMBC
1	70.5	3.38, 3.46 d($J=10.0$)	C2,C3	70.5	3.38, 3.46 d($J=10.0$)	C3
2	40.5			40.5		
3	77.4	3.89, s	C2,C4,C15	77.4	3.89, s	C4
4	176.2			176.2		
5	36.5	3.47, m	C4,C6,C7	36.5	3.47, m	C4,C6,C7
6	36.6	2.41, t	C5,C7	36.6	2.41, t	C5,C7
7	174.0			174.0		
8	40.3	3.32, t	C7,C8	40.3	3.32, t	C7,C9
9	29.0	3.00, t	C8,C10	29.3	3.00, t	C8,C10
10	205.0			200.2		
11	51.5	2.59, m	C12	53.8	2.46, d($J=5.0$)	C10,C12, C14
12	28.4	1.48, 1.71, m	C10,C11	27.8	2.13, m	

13	12.1	0.92, t	C11,C12	22.7	0.95, d(J=5.0)	C11,C12, C14
14	17.8	1.15, d(J=5.0)	C10,C11, C12	22.7	0.95, d(J=5.0)	C11,C12, C13
15	21.1	0.92, s	C2,C3, C16	21.1	0.92, s	C2,C3, C16
16	21.5	0.92, s	C1,C15	21.5	0.92, s	C1,C2, C15

[0064] 4. D-Pantetheine계 신규 천연물 S1, S2 및 이들의 신규 유도체의 합성

[0065] Pantethine과 pantetheine은 CoA(coenzyme A)와 ACP(acyl carrier protein)의 구성 성분이며 가수분해 후 지방산과 탄수화물 대사에 관여한다고 알려져 있다. 이들은 지방산의 산화, 아미노산 분해, 콜레스테롤 합성 등의 대사반응에 역할을 하며 고지혈증, 혈액질환, 신장질환, 동맥경화와 당뇨병 등에 효능이 있다고 보고되고 있다. Calcium-D-pantetheine-S-sulfonate는 미백, 보습, 멜라닌 생성 억제와 피부염증 억제 활성 등 항노화 작용을 가진 것으로 알려져 국내외 유명 화장품의 첨가제로 사용 되고 있다. 따라서 102CH635-3 균주로부터 분리된 D-pantetheine계 신규 물질들 및 이들의 신규 유도체들을 합성하기 위하여 D-pantethine을 사용하여 D-pantetheine계 물질에 대한 합성 연구를 통해 신규 천연물인 S1 및 S2 뿐만 아니라 이들의 신규 유도체들을 합성하였다.

[0066] 시판 중인 D-pantethine(P2125, SIGMA)을 이용하여 도 3과 같은 방법으로D-pantetheine 계열의 다양한 신규 유도체들을 합성하였다. 자세한 합성법으로서, D-Pantethine에 DTT와 H₂O:MeOH(1:1, V/V)를 넣어 N₂ 하에 4℃에서 16시간 반응하였다. TLC로 D-pantethine이 사라진 것을 확인 한 후 반응을 종료하고 용매를 제거하였다. 용매가 제거된 반응 중간 생성물인 pantetheine에 dry THF, triethylamine을 넣고 각각 다양한 작용기(R)를 가지는 시약을 첨가한 후 0℃에서 2시간, 상온에서 3시간 반응하였다.

[0067] 여기서 R은 2-methylbutyryl, 3-methylbutyryl, cinnamoyl, 4-pentenoyl, 10-undecenoyl, isobutyl formate, 2,4-dihydroxybenzoyl, geranyl, farnesyl, acryloyl, propanone, 2-pentanone, 1-(4-hydroxyphenyl)ethanone, 1-(2,4-dihydroxyphenyl)ethanone, 1-(2,4-dihydroxyphenyl)ethanone, pentanoic acid, 2-hydroxypropanoic acid, 2-phenylacetic acid, 2-(4-(propanoyl)phenyl)acetic acid, 4-methylbenzoic acid, 4-(4-phenyl)-4-oxobutanoic acid, 2-oxoethyl acetyl, 2-phenoxyacetyl, 2-(benzyloxy)acetyl, 4-methoxybenzoyl, 3,5-dimethylphenol, 6-methoxybenzene-1,4-diol, propenylbenzene, 4-hydroxycoumarin 중 하나이다.

[0068] 반응 용매를 완전히 제거한 후 H₂O:EtOAc(1:1, V/V)를 넣어 용매 분획하고, 에틸아세테이트 층을 회수하여 MgSO₄ 처리 후 농축하여 반응 생성물을 얻었다. LR-APCIMS를 통해 원하는 물질이 합성된 것을 확인하였고 HPLC를 사용하여 생성물을 분리하였다. C18 역상 HPLC(C18 reversed-phase HPLC, Column: YMC-ODS-A, 5 μm, 10 × 250 mm, 용매: 60% MeOH, 용출 속도: 1.5 mL/min, RI detector)로 정제하여 다양한 신규 유도체들을 분리, 정제하였다.

[0069] 합성된 신규 유도체들 중 2-methylbutyryl-D-pantetheine, 3-methylbutyryl-D-pantetheine, Cinnamoyl-D-pantetheine, 4-pentenoyl-D-pantetheine, 10-undecenoyl-D-pantetheine, Isobutyl formate-D-pantetheine, 2,4-dihydroxybenzoyl-D-pantetheine 및 Geranyl-D-pantetheine에 대하여 ¹H, ¹³C NMR 및 MS 분석 결과를 통해 구조를 확인하였으며, 이 실시예에서 확인하지 않은 신규 유도체들 역시 제시된 합성 방법에 따라 합성 가능함은 당연하다.

[0070] S1 (2-methylbutyryl-D-pantetheine): [α]_D +9.9(c 1.0, H₂O), ¹H NMR(CD₃OD, 500 MHz) 0.92(s, CH₃), 0.92(s, CH₃), 0.92(t, CH₃), 1.15(d, J=5.0, CH₃), 1.48-1.71(m, CH₂), 2.41(t, CH₂), 2.59(m, CH), 3.00(t, CH₂), 3.32(t, CH₂), 3.38-3.46(d, J=10.0, CH₂), 3.47(m, CH₂), 3.89(s, CH), ¹³C NMR(CD₃OD, 125 MHz) 12.1, 17.8, 21.1, 21.5, 28.4, 29.0, 36.5, 36.6, 40.3, 40.5, 51.5, 70.5, 77.4, 174.0, 176.2, 205.0, LRAPCIMS m/z

360.99 [M-H]⁻, 362.87 [M+H]⁺, C₁₆H₃₀N₂O₅S.

- [0071] **S2 (3-methylbutyryl-D-pantetheine):** [α]_D +5.9(c 1.0, H₂O), ¹H NMR(CD₃OD, 500 MHz) 0.92(s, CH₃), 0.92(s, CH₃), 0.95(d, J=5.0, CH₃), 0.95(d, J=5.0, CH₃), 2.13(m, CH), 2.41(t, CH₂), 2.46(d, J=5.0, CH₂), 3.00(t, CH₂), 3.32(t, CH₂), 3.38-3.46(d, J=10.0, CH₂), 3.47(m, CH₂), 3.89(s, CH), ¹³C NMR(CD₃OD, 125 MHz) 21.1, 21.5, 22.7, 22.7, 27.8, 29.3, 36.5, 36.6, 40.3, 40.5, 53.8, 70.5, 77.4, 174.0, 176.2, 200.2, LRAPCIMS m/z 363.14 [M+H]⁺, C₁₆H₃₀N₂O₅S.
- [0072] **S3 (Cinnamoyl-D-pantetheine):** ¹H NMR(CD₃OD, 500 MHz) 0.92(s), 2.42(t), 3.15(t), 3.35-3.51(m), 3.89(s), 6.86(d, J=15.0), 7.41-7.42(m), 7.62-7.66(m), ¹³C NMR(CD₃OD, 125 MHz) 21.1, 21.5, 29.4, 36.5, 36.6, 40.3, 40.5, 50.0, 70.5, 77.4, 125.9, 129.8, 130.3, 132.0, 135.6, 142.3, 176.2, 191.2, LRAPCIMS m/z 408.15 [M-H]⁻, 409.02 [M+H]⁺, C₂₀H₂₈N₂O₅S.
- [0073] **S4 (4-pentenoyl-D-pantetheine):** ¹H NMR(CD₃OD, 500 MHz) 0.92(s), 2.36-2.42(m), 2.68(t), 3.01(t), 3.32(t), 3.33-3.53(m), 3.89(s), 4.98(d, J=10.0), 5.05(d, J=15.0), 5.78-5.84(m), ¹³C NMR(CD₃OD, 125 MHz) 21.1, 21.5, 29.3, 30.6, 36.4, 36.5, 40.2, 40.5, 44.1, 70.5, 77.4, 116.3, 137.6, 174.0, 176.1, 199.9, LRAPCIMS m/z 360.90 [M+H]⁺, 721.25 [2M+H]⁺, C₁₆H₂₈N₂O₅S.
- [0074] **S5 (10-undecenoyl-D-pantetheine):** ¹H NMR(CD₃OD, 500 MHz) 0.92(s), 1.38(t), 1.64(m), 2.04(q), 2.41(t), 2.58(t), 3.00(t), 3.32-3.50(m), 3.90(s), 4.90-4.92(dd), 4.96-5.00(m), 5.77-5.81(m) ¹³C NMR(CD₃OD, 125 MHz) 21.1, 21.4, 26.8, 29.2, 30.1, 30.2, 30.2, 30.4, 30.5, 35.0, 36.4, 36.5, 40.2, 40.5, 44.9, 70.5, 77.3, 114.9, 140.2, 173.9, 176.1, 200.7, LRAPCIMS m/z 443.10 [M-H]⁻, 415.10 [M+H]⁺, C₂₂H₄₀N₂O₅S.
- [0075] **S6 (Isobutyl formate-D-pantetheine):** ¹H NMR(CD₃OD, 500 MHz) 0.92(s), 0.94(d, J=10.0), 1.95(m), 2.42(t), 2.98(t), 3.38-3.50(m), 3.89(s), 4.01(d, J=5.0), ¹³C NMR(CD₃OD, 125 MHz) 19.3, 21.0, 21.5, 29.2, 31.3, 36.4, 36.5, 40.4, 40.5, 70.5, 74.6, 77.3, 172.1, 174.0, 176.1, LRAPCIMS m/z 376.95 [M-H]⁻, 378.90 [M+H]⁺, C₁₆H₃₀N₂O₆S.
- [0076] **S7 (2,4-dihydroxybenzoyl-D-pantetheine):** ¹H NMR(CD₃OD, 500 MHz) 0.91(s), 2.43(t), 2.72(t), 3.35-3.51(m), 3.85(s), 3.89(s), 6.27(d, J=2.5), 6.36(dd, J=2.0, 10.0), 7.72(d, J=10.0), ¹³C NMR(CD₃OD, 125 MHz) 21.0, 21.5, 32.8, 36.5, 36.6, 37.3, 39.6, 40.5, 70.5, 77.4, 103.9, 109.5, 112.7, 134.5, 166.9, 167.1, 174.0, 176.2, 201.0, LRAPCIMS m/z 427.13 [M-H]⁻, 429.13 [M+H]⁺, C₁₉H₂₈N₂O₇S.
- [0077] **S8 (Geranyl-D-pantetheine):** ¹H NMR(CD₃OD, 500 MHz) 0.92(s), 1.61(s), 1.67(s), 1.68(s), 2.05(t), 2.12(q), 2.42(t), 2.57(t), 3.18(d, J=8.0), 3.34-3.53(m), 3.89(s), 5.10(t), 5.23(t) ¹³C NMR(CD₃OD, 125 MHz) 16.3, 17.9, 21.1, 21.5, 26.1, 27.7, 29.9, 31.3, 36.5, 36.6, 40.2, 40.5, 40.8, 70.5, 77.4, 122.1, 125.3, 132.6, 140.1, 173.9, 176.2, LRAPCIMS m/z 413.09 [M-H]⁻, 414.84 [M+H]⁺, C₂₂H₄₀N₂O₅S.
- [0078] **5. D-Pantatheine계 신규 물질의 탈모예방/육모 촉진 효과**

[0079] 모유두 세포는 모발의 생성과 성장에 있어서 핵심적인 역할을 담당하고 있어, 모유두 세포의 성장 촉진 물질은 탈모예방 및 육모(양모) 치료제로서 각광을 받고 있다. 본 발명에서는 탈모예방 및 육모용 신물질을 개발하기 위하여 신규 천연물 및 이들의 유도체에 대하여 모유두 세포 성장 촉진 효과를 검증하였다.

[0080] (1) 모유두 세포 생존율 측정

[0081] 세포 배양을 위해 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM), fetal bovine serum(FBS), 0.25% trypsin-1mM EDTA, penicillin-streptomycin을 사용하였고, 세포는 37°C, 5% CO₂조건에서 배양하였다. 배양된 모유두 세포는 일주일에 2회 배지를 교환해 주었고, 6~7일 만에 PBS로 세척한 후 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 부착된 세포를 분리하여 원심분리 한 후 계대배양하면서 실험에 사용하였다. 모유두 세포는 96 well plate에 1×10⁴ cells/well이 되도록 200μl씩 분주하고 18시간 동안 37°C, 5% CO₂조건에서 배양하며 세포가 부착되도록 하였다. 18시간 후 배지를 제거하고, 세포가 부착되어 있는 well에 시료 200μl를 첨가하여 24시간 배양하였다. 배양된 세포에 배지를 제거한 후 PBS에 500μg/ml의 농도로 제조한 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide(MTT) 용액 100μl를 첨가하여 동일한 배양 조건에서 4시간 동안 더 배양하였다. 이때 생성된 formazan결정을 DMSO에 녹여서 ELISA reader로 570nm에서 흡광도를 측정하였고, OD range 0.00~3.50 내의 측정값을 실험 결과에 사용하였다. 처리 시료에 대해선 0.5, 5, 50 μM의 농도로 실험을 진행하였다.

[0082] (2) 모유두 세포 성장 촉진 효과

[0083] 본 연구를 통하여 도출된 pantetheine계 신물질들에 대하여 시험한 결과(도 4 및 표 3 참조) 모유두 세포의 성장 촉진 효과가 뛰어났으며, 그 중에서도 특히 S1과 S6는 모유두 세포 성장률이 최대 140% 가까이 증가한 것을 확인하였다.

[0084] 삭제

표 3

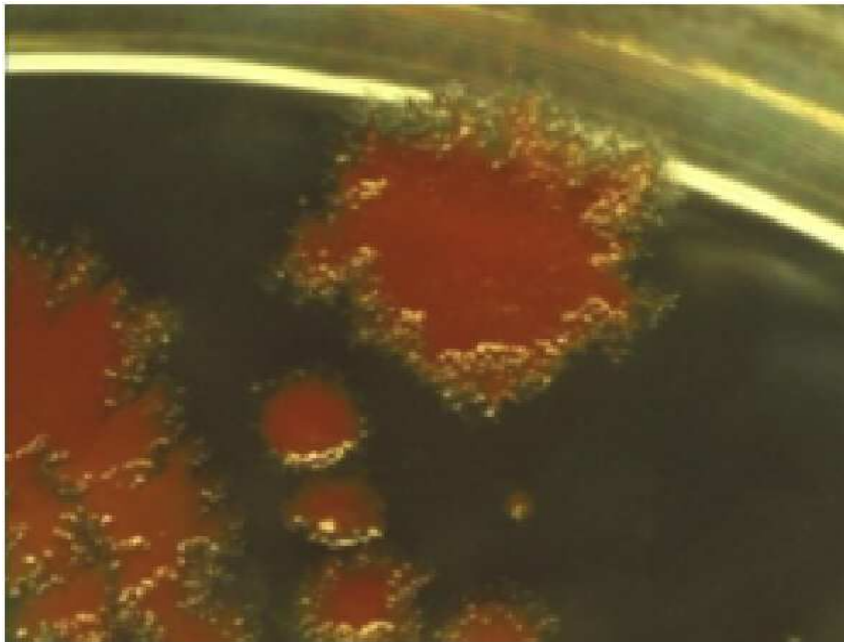
[0085]

Concentration (μM)	Control	0.5	5	50
S1 (2-methylbutyryl-pantetheine)	100	113.31	129.65	139.19
S2 (3-methylbutyryl-pantetheine)	100	121.04	114.65	121.28
S3 (cinnamoyl-pantetheine)	100	119.77	122.38	133.33
S4 (4-pentenoyl-pantetheine)	100	116.88	122.89	111.97
S5 (10-undecenoyl-pantetheine)	100	111.24	93.01	101.62
S6 (Isobutyl formate-pantetheine)	100	130.57	112.94	135.95
S7 (2,4-dihydroxybenzoyl-pantetheine)	100	95.73	97.32	93.12
minoxidil	100	146.66	146.52	140.29

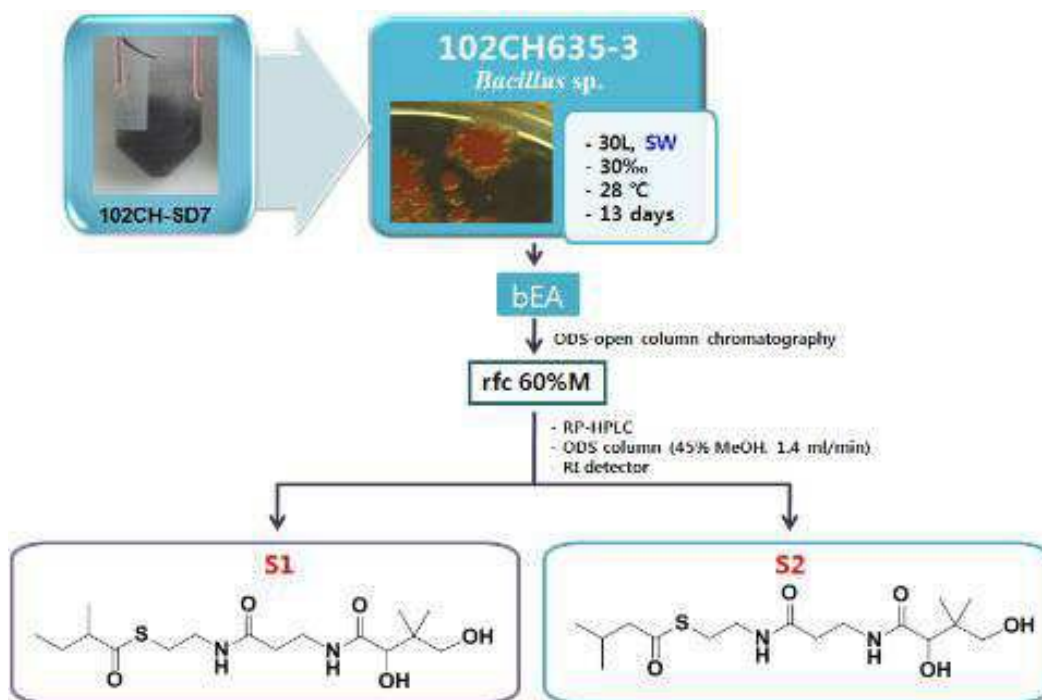
[0086] 이상에서 살펴본 바와 같은 본 발명에 따른 화합물들은 미녹시딜(minoxidil)과 거의 동등한 수준의 모유두 세포 성장 촉진 활성을 보였으며, 지금까지 보고된 적이 없는 신물질로서 분자량이 작고 합성도 용이하여 향후 탈모 방지 및 육모 촉진용 화장품 내지 의약품으로 개발 가능성이 아주 높다.

도면

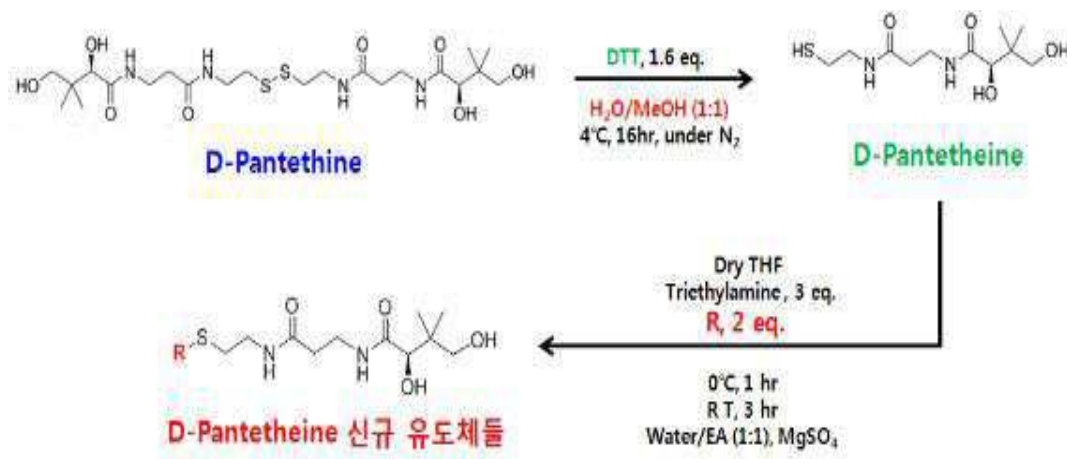
도면1



도면2



도면3



도면4

