

해조류 추출물의 발모효과에 관한 C57BL/6의 쥐 실험연구

하원호·박대환

대구가톨릭대학교 의과대학 성형외과학교실

Effect of Seaweed Extract on Hair Growth Promotion in Experimental Study of C57BL/6 Mice

Won Ho Ha, Dae Hwan Park

Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Catholic University of Daegu School of Medicine, Daegu, Korea

Background: Recently, substances from seaweeds have been widely used in hair growth solutions, and have been proven to be effective. Seaweeds have been documented to possess hair growth activity; however, no report on the effect of seaweed on hair regeneration has been issued to date. In this study, we investigated which exact substance of hair tonic made by JW-bio and our institute shows effects on hair growth by studying the mechanisms of candidate substances.

Methods: The study was conducted to investigate the hair restoring effect of domestic natural substances; we categorized the candidate substances as seaweed, cereal, and herbal medicine. Five experimental groups were included in the study as follows: a saline group, a 50% ethanol group, seaweed group, a cereal group, and a herbal medicine group.

Results: Three extracts (seaweed, cereal, and herbal medicine) were administered to C57BL/6 mice for two weeks after depilation. Depilated areas were found to be completely covered with fully grown hair, and the hair re-growth score was highest in the seaweed group. Using a hair analysis system, hair characteristics were measured in all groups on days 10 and 14 after depilation. The width and length of hair follicles were largest in the seaweed group. Groups treated with seaweed showed significantly increased gene expression of insulin-like growth factor-1. Groups treated with all the three extracts showed decreased expression of transforming growth factor- β 1.

Conclusion: Findings from our study suggest that seaweeds possess hair-growth effects and may be useful for the treatment of alopecia in the future.

Keywords: Seaweed / Hair regrowth / Insulin-like growth factor-1

서 론

모발은 두피를 보호하는 해부학적인 기능뿐만 아니라

개인의 외적 아름다움을 좀 더 돋보이게 꾸며주는 미(美)적인 역할을 하기도 한다. 이러한 모발은 삶의 질이 향상되어 갈수록 미적인 관심이 점점 더 증가되고 있으나[1], 현대생활에서의 과도한 업무량과 스트레스, 그리고 고지방 고칼로리의 음식을 섭취하는 생활 때문에 탈모 인구의 수가 늘어나는 추세이다. 이뿐만 아니라 잦은 젤과 왁스의 사용, 염색, 파마는 탈모를 악화시키는 또 하나의 원인이 되고 있다. 그로 인하여 탈모증을 가지는 환자의 수는 100만명 가까이 조사되고 있으며, 발모제에 대한 한국 시장의 규모는 수억

Correspondence: Dae Hwan Park

Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Daegu Catholic University College of Medicine, 33 Duryugongwon-ro 17-gil, Nam-gu, Daegu 705-718, Korea
Tel: +82-53-650-4578 / Fax: +82-53-650-4584 / E-mail: dhpark@cu.ac.kr

*본 연구는 중소기업청에서 지원하는 2011년도 산학연공동기술개발사업(Grants No. 00046701) 연구수행으로 인한 결과물임을 밝힙니다.

Received January 14, 2013 / Revised February 19, 2013 / Accepted February 20, 2013

원에 달할 것으로 예상하고 있다.

현재 전 세계적으로 탈모를 치료, 개선할 수 있는 제품을 만드는 기업들이 천연자원을 이용한 제품개발에 나서고 있다. 특히, 바다에서 나는 각종 해조류에는 요오드, 알긴산, 후코이단 외에 여러 기능성 성분들이 탈모에 효과가 있다고 알려지면서 해조류 추출물들을 함유한 제품들이 소비자들로부터 큰 인기를 얻고 있다. 최근 연구에 따르면, 갑상선기능저하증 환자가 해초를 섭취할 경우 모발의 성장에 도움이 된다는 연구결과가 보고된 바 있으며[2], 해조류와 탈모의 상관관계에 대하여 많은 연구들이 진행 중에 있다.

본 교실에서는 이전 실험을 통하여 전통적으로 한방에서 많이 사용된 해조류와 천연생약제 및 여러 식품재료들의 추출물을 첨가한 발모제가 효과가 있다는 것을 확인한 바 있다[3]. 이 발모제의 경우 모발 재생장에 필요한 시간을 단축시키고 탈모 방지 및 모근의 강화에 도움을 주는 것으로 밝혀졌다. 따라서 본 연구에서는 발모 및 탈모방지에 효과가 있는 해조류와 곡물류 그리고 천연생약제 성분을 각각 분류하여 성분별 효능을 알아보고자 하였으며, 그 기전 연구를 위하여 모발의 성장을 조절하는 성장인자인 transforming growth factor (TGF)- β 1, insulin-like growth factor (IGF)-1 [4]의 발현과 조직학적 검사를 통하여 분석하였다.

재료 및 방법

1. 해조류 및 대조군 추출물의 제작

본 교실에서는 미녹시딜과의 비교연구를 통하여 여러 국내산 천연 재료를 이용하여 제작된 JW Tonic이 탈모를 방지하고 발모에 도움을 준다는 것을 증명한 바 있다. 본 연구에서는 JW Tonic을 구성하는 물질들을 해조류, 곡물류, 천연생약제류로 크게 3개의 범주로 분류하고 각각의 재료를 이용하여 제작한 추출물이 어떠한 효과를 나타내는지에 대하여 연구하였다. 본 실험에 사용된 추출물 중 해조류는 미역, 다시마, 툇, 김에서 추출한 추출물로 이루어졌으며, 곡물류는 검은콩, 검은깨, 우영 추출물, 천연생약제류는 인삼, 솔잎, 하수오, 당귀, 백복령, 천궁 추출물로 제작되었다. 각각의 추출물은 대구가톨릭대학교 조직공학센터의 도움으로 주식회사 제이더블유바이오에서 제작하였다.

각각의 재료들은 원료별로 20°C, 50°C, 70°C 이하의 저온

추출법 및 막분리(membrane-filtration)추출법, 효소 및 미생물발효법, 단순압박추출법 등 다양한 추출기법을 사용하여 제작되었다. 추출된 재료는 각각의 범주별로 혼합하여 에탄올과 증류수를 넣은 다음 24시간 동안 상온에 방치한 후 진공 감압 농축기에서 45°C의 온도로 3시간 동안 농축시켰다. 농축시킨 추출물은 적갈색 또는 황갈색을 띠고 있고 피부에 빠르게 흡수된다.

2. 실험동물

본 연구에서는 등쪽 피부색이 분홍색을 띠는 휴지기 체모를 가진 5주령의 C57BL/6 수컷 쥐를 구입하여 사용하였다. 실험동물은 온도 24°C \pm 0.5°C, 습도 55%–65% 및 12시간 주기로 명암이 자동으로 조절되는 사육조건하에서 실험동물용 사료를 자유로이 급여하며 관리하였다[5]. 약 7일간 환경에 적응시킨 실험동물을 무작위로 폴리카보네이트 사육장에 분류하여 군을 나누었다. 추출물을 도포하는 군별로 4마리씩 5군을 실험하였으며, 총 20마리의 실험동물 사용하였다(Table 1). 모든 동물실험은 본 의료원의 동물실험윤리위원회의 연구윤리지침에 따라 진행하였다(대구가톨릭대학병원 2012-0216-CU-AEC-02-Y).

Table 1. Grouping of experimental animal models

| Group | Number | Applied material |
|------------------|--------|------------------|
| Negative control | 4 | Normal saline |
| Solvent control | 4 | 50% Ethanol |
| Sample 1 | 4 | Seaweed |
| Sample 2 | 4 | Cereal |
| Sample 3 | 4 | Herbal medicine |

3. 발모효과 검증 실험방법

실험동물은 졸레틸50 (Virbac, Paris, France)과 럽폰 (Bayelkorea Co. Seoul, Korea)을 8:2로 섞은 후 10배 희석하여 몸무게에 따라 복강주사로 마취(10 μ L/10g)하고, 니크린(Ildong Pharmaceutical Co., Ltd., Seoul, Korea) 제모약을 사용하여 등쪽의 털을 제거하였다. 털이 제거된 등에 분류된 군별로 각각의 추출물을 150 μ L씩 1일 2회(오전 10시와 오후 6시), 14일간도포하였다. 14일에 조직검사 및 분자생물학적 분석을 위하여 모든 실험동물을 희생하고 실험을 종료하였다.

4. 육안적 평가 및 고해상도 모발분석 시스템(PSI-2003)을 이용한 발모효과의 분석

실험시작 후 1, 4, 7, 10, 14일에 털이 자라는 상태를 확인하기 위하여 가볍게 마취 후 디지털 카메라를 이용해 사진 촬영하였다. 털이 자란 상태를 육안적으로 판단하여 점수화하고 군별로 비교하였다; 0%–20% (0), 20%–40% (1), 40%–60% (2), 60%–80% (3), 80%–100% (4) (Table 2).

객관적인 발모효과의 분석을 위하여 고해상도 모발분석 시스템(PSI-2003)을 이용해 각군 간의 모발을 분석하였다. 모발 분석은 실험 시작 후 10일과 14일에 실시되었으며, 매 측정 시 같은 부위를 측정하였다. 모발의 밀도는 0.4mm² 당 모발의 수를 측정하였고, 모근의 크기와 모발의 두께는 집게를 이용하여 해당 부위의 털을 채취하여 측정하고 평균을 내어 분석하였다.

5. 조직학적 분석

실험시작 후 14일째에 모든 실험동물을 희생하고 시료 도포부위의 피부를 적출하여 10% 포르말린에 즉시 고정하였다. 고정된 조직은 알코올과 자일렌을 이용하여 탈수시킨 후 파라핀에 포매하고 두께 5µm의 절편을 제작해 헤마톡실린-에오진(Hematoxylin-Eosin) 염색을 하여 현미경상에서 조직학적 변화를 관찰하였다.

6. 실시간 정량적 중합효소 연쇄반응을 이용한 분자생물학적 분석

모발성장인자로 알려진 IGF-1과 모발성장억제 및 탈모 유발인자인 TGF-β1의 발현 정도를 알아보기 위하여 연쇄반응(real time polymerase chain reaction [PCR])을 이용해 분석하였다. 분석조직으로부터 trizol (Takara Bio, Shiga, Japan)을 이용하여 RNA를 분리하고, iNtRON사의 RT premix kit를 사용

하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA는 2×SYBR Premix Ex Taq (Takara bio)을 사용하여 MJ mini thermal cycler system (Biorad, Hercules, CA, USA)으로 측정하였다. 시료는 95°C에서 30초간 반응 후 95°C에서 5초, 60°C에서 30초씩 40회 반응시켰다. 각 유전자의 상대적 정량을 위해 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH: internal control)의 발현 정도를 이용하여 보정하였다.

7. 성분분석

추출한 해조류는 총 4가지의 분획으로 나누어 gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS)를 이용해 성분을 분석하였다. 먼저 해조류 추출물 150 mL를 감압 농축하여 총 8.4g의 농축엑기스를 얻고, 이 추출물을 물 200 mL를 가하여 용해시킨 후 methylene chloride (CH₂Cl₂) 200 mL를 첨가하여 장시간 방치하였다. 장시간 방치한 용액을 CH₂Cl₂층과 수층으로 나누었으며, 이 조작을 3회 반복 실시하였다. 얻어진 CH₂Cl₂층을 감압 농축하여 CH₂Cl₂ 추출물 0.2182g을 얻었다. 다시 수층에 ethyl acetate (EtOAc)를 200 mL가하고 흔들어 장시간 방치한 후 EtOAc층과 수층으로 나누었으며, 이 조작을 3회 반복 실시하였다. 얻어진 EtOAc 층을 감압 농축하여 EtOAc 추출물 0.1201g을 얻었다. 다시 수층에 n-Butanol (n-BuOH) 200 mL를 가하고 흔들어 장시간 방치한 후 n-BuOH층을 감압 농축하여 n-BuOH 추출물 0.6759g을 얻었다. 최종적으로 수층을 감압 농축하여 H₂O 추출물 7.1249g을 얻었다. 본 연구에 사용된 해조류 추출물의 GC-MS를 이용한 성분분석은 한국기초과학지원연구원 대구센터에 의뢰하여 진행하였다.

8. 통계학적 분석

모든 결과는 SPSS 프로그램(SPSS ver. 11.0, SPSS Inc., Chicago, CA, USA)을 이용하여 통계 처리하였다. 실험군의 통

Table 2. Comparison of hair regrowth after topical application of seaweed, cereal and herbal medicines for 2 weeks

| Contents | Normal saline | 50% Ethanol | Seaweed | Cereal | Herbal medicine |
|---------------------|---------------|-------------|---------------------------|-------------------------|-----------------|
| Hair regrowth score | 1.75±0.48 | 1.75±0.63 | 3.75±0.25 ^{a,b)} | 3.25±0.25 ^{b)} | 3.00±0.41 |

Each value represents mean±standard error (n=4).

Hair re growth scoring index: 0%–20% (0), 20%–40% (1), 40%–60% (2), 60%–80% (3), 80%–100% (4).

^{a)}p<0.05, significantly different than the normal saline group; ^{b)}p<0.05, significantly different than the 50% ethanol group.

계학적 유의성은 unpaired *t*-test 방법, kruskal Wallis 방법과 one-way analysis of variance test로 검증하였고 유의수준은 5% 미만에 두었다.

결 과

1. 해조류 및 대조군 추출물의 제작

기존 일반적인 열탕추출로 인하여 발생하는 기능성 생리활성 물질의 열파괴의 단점을 극복하기 위하여 각각의



Fig. 1. Hair tonics made in JW-bio and Daegu Catholic Tissue Engineering Center. 1, seaweed; 2, cereal; 3, herbal medicines.

원료를 건조하여 가루로 분쇄한 후 최첨단 저온 나노추출법으로 추출하였다. 저온 나노추출법의 경우 발모유효 성분의 열파괴 없이 두피로 흡수가 잘되는 나노 크기(10^{-9} m, 분자량 = 10,000 MW 이하)의 극미립 분자량으로 효과적으로 추출하는 방법이다.

본 연구에서는 선행연구를 통하여 기존에 발모 촉진제로 효과가 있다고 밝혀진 JW Tonic을 구성하는 성분들을 크게 3개의 범주로 나누고 각각의 발모효과를 분석하고자 하였다. 3개의 범주는 해조류(미역, 다시마, 김, 톳), 곡류(검은콩, 검은깨, 우영), 천연생약제(인삼, 솔잎, 당귀, 하수오, 백복령, 천궁)로 나누었으며, 각각의 추출물을 이용하여 탈모 방지제품을 제작하였다(Fig. 1). 이 세가지 추출물은 주식회사 제이더블유바이오에서 대량 생산하여 공급받았다.

2. 해조류, 곡물류, 천연생약제 추출물의 육안적 발모효과 평가

제모한 후 제작된 추출물을 매일 도포하면서 털이 자라는 양상을 육안적으로 관찰하고, 디지털 카메라를 이용하여 기록하였다(Fig. 2). 시료 도포 1일에는 모든 군의 등 쪽 피부색이 선홍빛을 띠고 있었으며, 시료 도포 7일부터 조금씩 털이 나기 시작하였다. 10일 후에는 제모되었던 전체 피

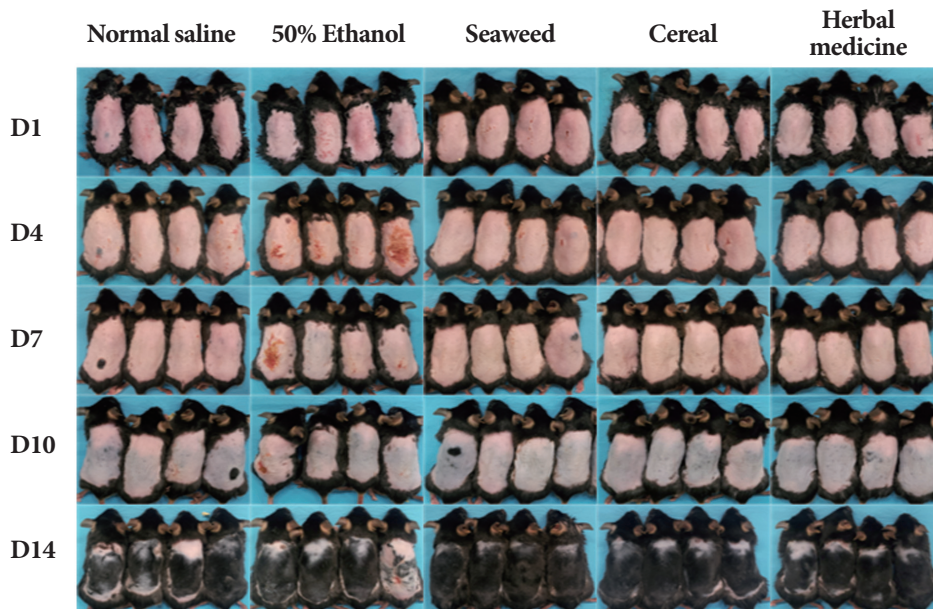


Fig. 2. Time-dependent changes of hair re-growth in C57BL/6 mice treated with seaweed, cereal, and herbal medicines for a period of 2 weeks.

부가 발모가 시작되면서 피부색이 흑색을 띄는 것을 확인할 수 있었다. 시료 도포 14일째에는 군 간의 차이는 있었으나 모든 군에서 발모가 진행되었음을 확인할 수 있었다.

털이 자란 상태를 육안적으로 판단하여 점수화하여 비교한 결과 실험군 모두 대조군보다 높은 발모상태를 보였으며, 그 중에서도 해조류 추출물이 가장 수치가 높았으며, 다음으로 곡물류, 천연생약제 순이었다(Table 2).

3. 고해상도 모발분석 시스템(PSI-2003)을 이용한 모발 분석

1) 모발의 밀도 및 굵기 분석

시료도포 후 10일과 14일째에 고해상도 모발분석 시스템을 이용하여 0.4mm²당 모발의 밀도를 측정하였다. 그 결과 10일 후 대조군에서는 모발이 듬성듬성 나거나 솜털이 하나 둘 올라오는 반면, 실험군에서는 검고 튼튼한 모발이 전반적으로 피부를 메우며 자라나는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 3). 이를 수치화하였을 때 해조류에서 가장 높았으며, 다음으로 천연생약제와 곡물류가 높은 것으로 나타났다 (Table 3). 이는 음성대조군과 용매대조군 모두에서 유의성

이 있었다. 14일에서는 군 간의 밀도에서는 큰 차이가 나지 않는 것으로 보아 발모가 일어나는 모발의 개수가 한정적인 것으로 보이며, 발모가 상대적으로 늦었던 대조군의 경우 자라난 모발이 짧은 것을 확인할 수 있었다. 이를 수치화 하였을 때 해조류와 곡물류를 도포한 군이 음성대조군 및 용매대조군과 유의성이 있는 것을 확인할 수 있었으며, 천연생약제의 경우 유의성이 나타나지 않았다.

모발의 굵기의 경우 시료 도포 14일째에 모발분석 시스템을 이용하여 모발의 굵기를 측정하였다. 그 결과, 해조류를 처리한 군에서 모발의 굵기가 가장 굵었으나 대조군과의 유의성은 나타나지 않았다.

2) 모근의 길이 및 두께 분석

시료도포 후 14일째에 모발분석 시스템을 이용하여 모낭의 길이와 두께를 측정하였다. 각 군의 비교는 모근의 측정값을 평균을 내어 분석하였다. 그 결과 대조군의 경우 모근의 크기가 작을 뿐만 아니라 매끄럽지 못하고 울퉁불퉁한 모양인 것이 확인되었고, 해조류, 곡물류, 천연생약제의 경우 모근의 크기가 크고 매끄러우며 단단해 보였다. 이를 수치화하였을 때, 모낭의 두께와 길이 모두 해조류에서 가장

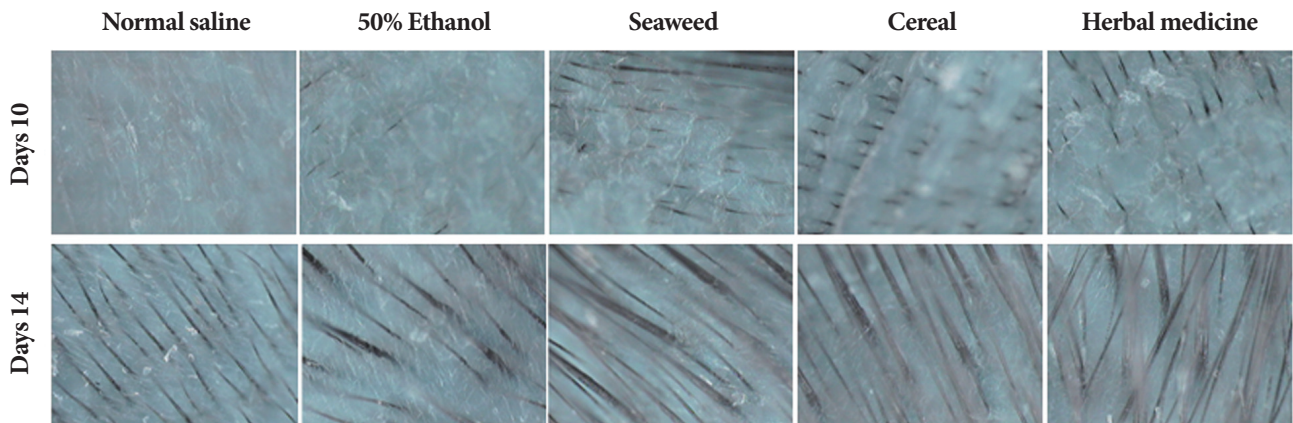


Fig. 3. Photometric comparison of hair density after topical application of the test compounds at 14 days.

Table 3. Comparison of density and thickness after topical application of seaweed, cereal and herbal medicines for 2 weeks

| | Normal saline | 50% Ethanol | Seaweed | Cereal | Herbal medicine |
|--|---------------|-------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Hair density of day 10 (/0.4 mm ²) | 2.25±1.60 | 2.50±1.19 | 14.0±2.00 ^{a,b)} | 10.0±3.42 ^{a,b)} | 11.50±1.85 ^{a,b)} |
| Hair density of day 14 (/0.4 mm ²) | 13.3±0.8 | 12.5±0.7 | 17.3±0.3 ^{a,b)} | 17.5±1.0 ^{a,b)} | 15.4±0.8 |
| Hair thickness (mm) | 0.04±0.00 | 0.04±0.00 | 0.07±0.01 | 0.05±0.01 | 0.05±0.01 |

Each value represents mean±standard error (n=4).

^{a)}p<0.05, significantly different than the normal saline group; ^{b)}p<0.05, significantly different than the 50% ethanol group.

수치가 높았으며, 모근의 길이가 음성대조군 및 용매대조군과 비교하였을 때 유의성이 있는 것으로 나타났다(Figs. 2, 4).

4. 조직병리학적 분석

조직학적 검사결과 모든 군에서 모낭이 원형대로 형성되어 있었으며, 한선 등과 섞여 있는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 5). 음성 대조군 및 용매 대조군의 경우 모낭이 형성되었으나 그 크기가 작으며 개수도 적은 것으로 나타났다. 반

면 실험군의 경우 형성된 모낭의 크기가 크고 많으며 모낭 내 모근의 기저세포 수도 대조군에 비하여 증가되어 있는 것으로 확인되었다.

5. 실시간 정량적 중합효소 연쇄반응을 이용한 분자생물학적 분석

발모 효과를 확인하기 위하여 IGF-1와 TGF-β1의 발현을 real time PCR을 이용하여 분석하고 상대적 정량을 위하여 GAPDH를 이용해 보정하였다. 그 결과, 해조류, 곡물류, 천연연생약제군 모두 대조군에 비하여 발모에 도움을 주는 IGF-1의 발현이 음성 대조군과 비교하였을 때 통계학적으로 유의성있게 증가되는 것을 확인할 수 있었다. 특히, 해조류군에서 IGF-1의 발현이 가장 크게 증가되었다. TGF-β1의 발현의 경우 모든 실험군에서 대조군에 비하여 감소되는 것을 확인할 수 있었으나 유의성이 나타나지는 않았다(Fig. 6).

6. 성분분석

동물실험을 통하여 가장 발모효과가 좋은 것으로 나타난 해조류 추출물의 성분분석을 GC-MS를 이용하여 측정하였다. 해조류 추출물은 농축하여 총 4가지(CH₂Cl₂, EtOAc, n-BuOH, 그리고 H₂O)의 분획으로 나누어 각각의 분획에 포함된 성분을 분석하였다. CH₂Cl₂ 분획으로부터 분류된 유효성분들은 총 30종으로 확인되었다(Table 4). 이 중 보습과 세정작용을 하는 palmitic acid와 nonacosan-10-이 주성분이었으며, 그 밖에 항산화, 항염증, 세포 보호, 보습 등에 영향을 주는 성분이 13종, 알려지지 않은 성분이 14종으로 나타났다. n-BuOH 분획으로부터 분류된 유효성분들은 총 16종을 확인되었으며, 그 중 보습과 세정, 발모 성분 침투제 및 식물성 왁스성분이 7종, 알려지지 않은 성분이 8종으로 나타났다(Table 5). 또한, EtOAc 및 H₂O 분획

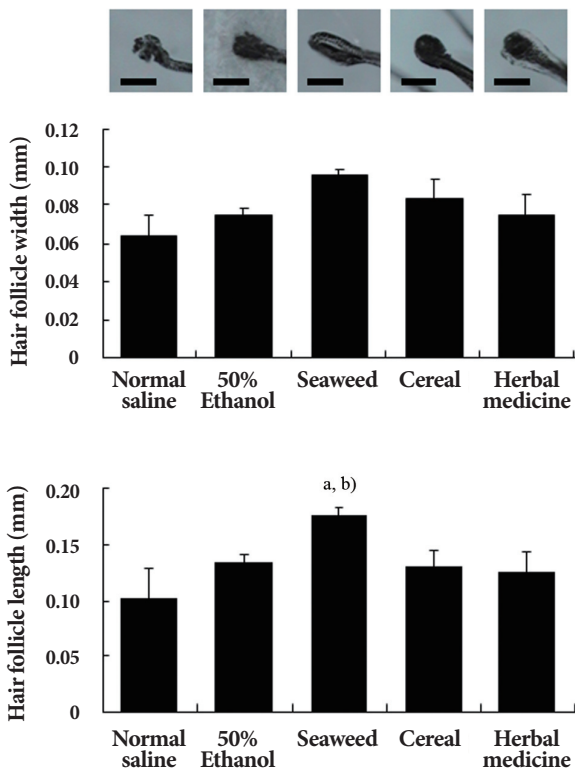


Fig. 4. Comparison of hair follicle width and length after topical application of seaweed, cereal, and herbal medicines for a period of 2 weeks (scale bar, 0.1 mm). Results represent mean ± standard error (n=4). ^ap<0.05, significantly different than the normal saline group; ^bp<0.05, significantly different than the 50% ethanol group.

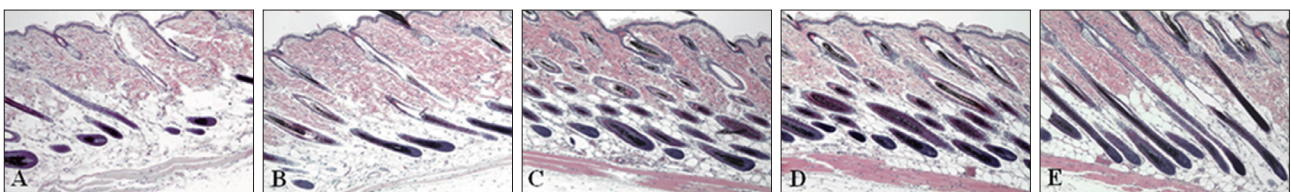


Fig. 5. Histologic observation of hair growth after topical application of seaweed, cereal, and herbal medicines for a period of 2 weeks (H&E, ×100). (A) Normal saline. (B) 50% Ethanol group. (C) Seaweed. (D) Cereal. (E) Herbal medicine.

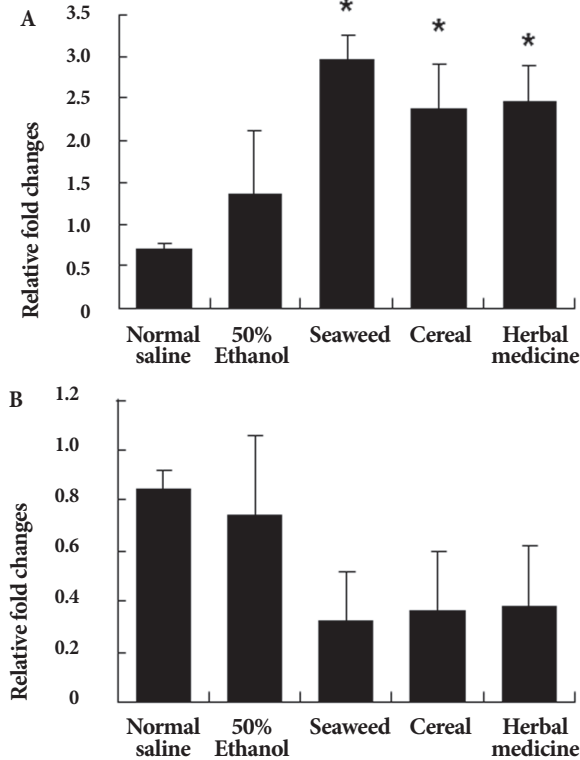


Fig. 6. Effects of seaweed, cereal and herbal medicines on the expression of IGF-1 (A) and TGF-β1 (B) real time PCR. GAPDH was used as a comparative control. Results are expressed as mean±SE (n=4) TGF-β1, transforming growth factor-β1; IGF-1, insulin-like growth factor-1; PCR, polymerase chain reaction; GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. **p*<0.05, significantly different than the normal saline group.

의 경우 각각의 성분들이 총 11종과 8종으로 확인되었으며, 이중 발모유효성분은 각각 8종과 7종으로 나타났으며, 알려지지 않은 성분이 각각 3종과 1종이 있었다(Tables 6, 7).

고찰

탈모의 치료는 크게 모발이식과 같은 수술적 치료와 minoxidil과 같은 약물적 치료로 나눌 수 있다. 모발이식과 같은 수술적 치료는 시간뿐만 아니라 비용도 많이 들어 적은 수의 한정된 경우에서만 시행되고 있으며 대부분의 탈모 환자들은 발모제를 통해 치료하고 있다. 시장에는 많은 발모제가 출시되고 있지만 아직까지 Minoxidil, Propecia만이 Food and Drug Administration을 통과하여 널리 사용되고 있다[5-9]. 두 가지 약 이외에 대다수의 생산품들은 경험적으로 관찰된 발모효과에 근거하고 있어 객관성을 입증하기

Table 4. Chemical compounds of the CH₂Cl₂-fraction of seaweed hair tonic by GC-MS

| RT | Area (%) | MW | Library | Effect |
|-------|----------|-----|---|-----------------|
| 13.84 | 0.18 | 178 | Triethylene glycol dimethyl ether | |
| 16.30 | 0.29 | 182 | Methyl-(2-hydroxy-3-ethoxy-benzyl) ether | |
| 17.77 | 1.02 | 180 | Coniferyl alcohol | Anti-oxident |
| 17.82 | 1.27 | 196 | (-)-Loliolide | Cell protective |
| 19.18 | 0.33 | 278 | Neophytadiene | Fragrance |
| 21.03 | 2.21 | 256 | Palmitic acid | Moisturizing |
| 21.15 | 1.6 | 192 | 1-Isopropyl-5-methylbicyclo [3.2.2]non-3-en-2-one | |
| 21.37 | 0.93 | 284 | Ethyl palmitate | Moisturizing |
| 22.81 | 0.59 | 222 | Isofraxidin | Vasodilation |
| 23.36 | 0.61 | 298 | 9, 12-Octadecadienoyl chloride | Dispersant |
| 23.60 | 1.45 | 308 | Ethyl linoleate | Emollients |
| 24.60 | 0.23 | 288 | (-)-13β-Methyl-13-vinylpodocarpa-7-ene-3β-ol | |
| 24.99 | 0.22 | 288 | (6β)-6-hydroxyestr-4-ene-3,17-dione | |
| 25.59 | 0.28 | 286 | Totarol | Anti-oxidant |
| 25.76 | 0.29 | 304 | Pregnan-18-ol | |
| 26.66 | 0.34 | 306 | 11α,17β-Dihydroxy-5α-androstan-3-one | |
| 27.13 | 0.23 | 360 | 7-Oxo-12-methoxy-6,11,14-trihydroxy-abieta-5,8,11,13-tetraene | |
| 27.73 | 0.33 | 300 | 2-Hydroxyethyl palmitate | Moisturizing |
| 28.16 | 0.17 | 301 | 2,6-Dimethyl-N-(2-methyl-α-phenylbenzyl) aniline | |
| 28.62 | 0.19 | 368 | Ethyl ester of docosanoic acid | |
| 29.67 | 0.24 | 356 | 2-Oleoylglycerol | Moisturizing |
| 29.92 | 0.24 | 358 | Octadecanoic acid | Moisturizing |
| 30.56 | 1.26 | 410 | Putranjivene | |
| 31.70 | 0.24 | 408 | Nonacosane | Oil |
| 32.02 | 0.14 | 344 | 10-Methyl-1,8-diphenyl anthracene | |
| 33.65 | 2.28 | 424 | Nonacosan-10-ol | Oil |
| 35.70 | 0.16 | 507 | Hexatriacontane | Wax |
| 35.80 | 0.27 | 420 | Cyclotriacontane | |
| 35.98 | 0.22 | 364 | 1-Hexacosene | |
| 36.33 | 1.69 | 414 | β-sitosterol | Immunity-boost |

CH₂Cl₂, methylene chloride; GC-MS, gas chromatography-mass spectroscopy; RT, retention time; Area (%), relative amount of the sub-fraction; MW, molecular weight.

에는 한계가 있으며, 이러한 치료제들은 증명되지 않은 효과로 인해 소비자에게 오히려 경제적인 짐만 부여하고 있다. 이를 보완하기 위해 많은 동물 실험과 임상 실험이 발모의 효과를 입증하기 위해 시행되었지만, 객관적으로 입증

Table 5. Chemical compounds of the n-BuOH-fraction of seaweed hair tonic by GC-MS

| RT | Area (%) | MW | Library | Effect |
|-------|----------|-----|---|-------------------|
| 10.38 | 0.07 | 150 | 4-Vinyl-2methoxy-phenol | |
| 10.69 | 0.14 | 178 | Benzeneacetic acid, α -oxo-, ethyl ester | Antibiosis |
| 13.09 | 1.40 | 189 | 1,1,3,3-Tetradeterio-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydrocarbazene | |
| 15.42 | 0.87 | 178 | 2,3,-Di-O-methyl-D-xulopyranose | |
| 16.29 | 0.34 | 182 | Ethyl vanillyl ether | Fragrance |
| 17.74 | 0.28 | 208 | 1-(1-cyclopenten-1-yl)-5,5-dimethyl-1,3-hexanedione | |
| 20.38 | 1.20 | 270 | Methyl palmitate | Moisturizing |
| 21.05 | 0.84 | 192 | 1-Isopropyl-5-methylbicyclo [3.2.2]non-3-en-2-one | |
| 22.78 | 0.39 | 296 | Methyl oleate | Penetration agent |
| 23.10 | 0.29 | 298 | Methyl stearate | Penetration agent |
| 25.68 | 0.34 | 262 | Cyclopentanecarboxylic acid, 3-methylene-, 1, 7,7-trimethylbicyclo [2.2.1]hept-2-yl ester | |
| 27.29 | 0.09 | 200 | Butyl 2-ethylhexanoate | |
| 27.68 | 0.36 | 330 | 2-Palmitoylglycerol | Moisturizing |
| 29.36 | 0.23 | 272 | 1,3-Dihydroxy-6-methoxy-8-methyl-9H-xanthen-9-one | |
| 33.60 | 0.16 | 424 | Nonacosan-10-ol | Oil |

n-BuOH, n-Butanol; GC-MS, gas chromatography-mass spectroscopy; RT, retention time; Area (%), relative amount of the sub-fraction; MW, molecular weight.

하기엔 충분하지 않았다.

최근에 들어 해조류는 다양한 생리활성 물질이 포함된 새로운 자원으로 대두되며 많은 연구가 이루어지고 있다 [10]. 한 연구에서는 해조류의 메탄올 추출물(*Gloiopeltis furcata*)이 간암(hepatoma cancer) 환자에게 잠재적인 치료 가능성이 있다고 주장하였으며[11], 또한 갈색 해조류(*Undaria pinnatifida*)의 추출물은 동물실험에서 부종을 줄이고 염증반응을 억제한다고 입증된 바 있다[12]. 예로부터 이러한 해조류는 아시아에서 풍성하고 검은 머릿결을 위하여 섭취하여 왔으며, 일본에서는 여성의 길고 아름다운 머리카락을 해조류에 비유하기도 하였다[13]. 최근의 연구에 따르면 갑상선기능저하증 환자의 경우 해조류의 섭취가 발모를 증가시키는데 도움이 된다고 주장하였으며, 이는 해조류에 함유된 요오드가 갑상선 호르몬이 원활하게 분비되는데 도움이 되기 때문이다[2]. 이러한 요오드는 해조류인 다시마 등에 많이 포함되어 있으며 음식물 등을 통해 섭

Table 6. Chemical compounds of the H2O-fraction of seaweed hair tonic by GC-MS

| RT | Area (%) | MW | Library | Effect |
|-------|----------|-----|-----------------------------|-----------------------------|
| 20.40 | 16.19 | 270 | Methyl palmitate | Moisturizing |
| 20.93 | 2.20 | 256 | Palmitic acid | Moisturizing |
| 22.63 | 6.26 | 298 | Methyl stearate | Penetration agent |
| 22.80 | 1.91 | 296 | Methyl oleate | Penetration agent |
| 22.86 | 0.84 | 296 | Methyl petroselinatate | Penetration agent |
| 25.16 | 0.99 | 326 | Arachidic acid methyl ester | Epidermal composition lipid |
| 27.31 | 0.94 | 214 | Pentyl 2-ethylhexanoate | |

GC-MS, gas chromatography-mass spectroscopy; RT, retention time; Area (%), relative amount of the sub-fraction; MW, molecular weight.

Table 7. Chemical compounds of the EtOAc-fraction of seaweed hair tonic by GC-MS

| RT | Area (%) | MW | Library | Effect |
|-------|----------|-----|--|-----------------------------|
| 20.42 | 0.72 | 270 | Methyl palmitate | Moisturizing |
| 20.95 | 0.09 | 278 | Butyl isobutyl phthalate | |
| 22.56 | 0.08 | 270 | 1-Octadecanol | Penetration agent |
| 22.63 | 0.29 | 298 | Methyl stearate | Penetration agent |
| 22.80 | 0.11 | 296 | Methyl oleate | Penetration agent |
| 23.66 | 0.05 | 290 | 2-Ethylhexyl 4-methoxycinnamate | |
| 25.16 | 0.05 | 326 | Arachidic acid methyl ester | Epidermal composition lipid |
| 26.44 | 0.06 | 258 | Hexanedioic acid, 1-(2-ethylhexyl) ester | Moisturizing |
| 27.31 | 0.18 | 200 | Butyl 2-ethylhexanoate | |
| 28.14 | 0.75 | 390 | Diisooctyl phthalate | |
| 29.27 | 0.18 | 282 | Phytane | Immunity-boost |

EtOAc, ethyl acetate; GC-MS, gas chromatography-mass spectroscopy; RT, retention time; Area (%), relative amount of the sub-fraction; MW, molecular weight.

취한 요오드는 소장에서 흡수되고 혈액을 통해 갑상선에 섭취된 후 갑상선 호르몬을 만들어내게 된다. 해조류에 들어 있는 요오드 성분이 모발이 자라나는데 필요한 갑상선 호르몬의 원료가 되기 때문에 다시마를 비롯한 해조류는 갑상선 호르몬의 분비를 왕성하게 해준다.

본 실험에서 해조류, 곡물류, 천연생약제 추출물이 함유된 추출물의 발모 효능을 확인하고자 하였으며, 특히 발모에 효과가 있다고 알려진 해조류를 피부에 도포하였을 경우 섭취하는 것과 같은 발모효과가 있을 것인지에 초점을 두었다. 그 결과 3가지 성분들 중 2주간 피부에 도포하였을 때 해조류가 육안적으로 가장 효과가 좋았으며 모발분석에서도

높은 모발의 밀도와 모낭의 성장을 확인할 수 있었다. 또한 분자생물학적 검사와 조직학적 검사에서도 해조류 추출물이 함유된 추출물의 효능이 가장 좋은 것으로 확인되었다.

모발의 성장에 영향을 미치는 내분비계 물질 중 TGF-β1는 성장기인 모발을 퇴행기로 진입하게 하여 성장을 저해하는 기전을 통해 탈모를 유발한다고 알려져 있다. 이와 반대로 IGF-1, EGF, FGF와 같은 성장인자는 모발의 성장주기에 중요한 역할을 하여 모발의 성장을 두드러지게 할 뿐만 아니라 모발의 퇴행을 막아준다[14]. 피부에서 IGF-1을 과발현 시킨 쥐의 경우 대조군보다 빠른 모낭 성장을 보이며 털의 모양이 곧고 길며, 두꺼운 모양으로 변화되는 것으로 알려져 있다[15,16]. 본 실험 결과 3가지 군에서 모두 IGF-1 유전자 발현의 증가와 TGF-β1의 감소를 보였으며, 특히 해조류 추출물에서 가장 많은 양의 IGF-1 발현이 관찰되었다. 이와 같은 결과는 육안적, 조직학적 실험결과와 부합하는 것으로 해조류 추출물이 피부세포의 IGF-1 발현을 증가시킴으로써 모낭의 성장을 촉진시키고 발모에 도움을 주는 것으로 생각된다.

본 실험에서는 GC-MS를 이용하여 해조류 발모제의 성분분석을 시행하였다. 4가지 분획(CH₂Cl₂, EtOAc, n-BuOH, 그리고 H₂O)으로 나누어 분석하였으며 총 52종의 성분들이 검출되었고 25종의 알려지지 않은 물질과 27종의 작용 물질들로 이루어진 것을 알 수 있었다. 이 중 항산화 효과 (coniferyl alcohol) 및 수분(neophytadiene, ethyl palmitate), 유분(nonacosane)을 유지시켜 주어 모발을 보호해 주는 작용을 하는 성분들이 포함되어 있으며, 그리고 표피의 구성 성분인 arachidic acid가 함유되어 있어 두피 및 모발의 성장에 도움이 되는 것으로 생각된다. 이외에 투과도를 높여 이들의 작용을 도와주는 성분들도 관찰되었다.

발모제의 효능을 증명하기 위한 동물실험에는 육안적 평가 및 조직학적인 검사 이외에도 분자생물학적인 연구가 시도되어야 한다. 이 점 때문에 우리 연구에서는 해조류와 발모와의 관계를 규명하기 위해 IGF-1과 TGF-β1와 같은 성장인자에 초점을 두고 증명하려 했다. 실험결과에서 해조류 추출물을 이용한 쥐에서 IGF-1 유전자 발현의 증가, TGF-β1 유전자 발현의 감소가 보여 우리는 해조류가 모발의 성장을 증진시키고 퇴화를 방지한다는 결론을 얻을 수 있었다.

우리는 동물실험을 통해 해조류 추출물의 발모 효과를 살펴보았다. 하지만 동물실험에 사용된 CC57BL/6은 사람

과 유전적으로 차이를 보이기 때문에 임상에서 효능을 장담할 수 없다. 따라서 임상시험과 부작용 등의 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이번 연구에서 통상의 발모실험에 사용되는 30마리의 C57BL/6 쥐를 4마리씩 5그룹으로 나누어 시행하였다. 각 그룹은 제모 후에 normal saline, 50% EtOH, 해조류 추출물, 곡물 추출물, 그리고 생약제로 2주간 치료받았다. 해조류 추출물, 곡물 추출물 그리고 생약제군에서 육안적 분석, 고밀도 모발분석기를 이용한 모발 분석, 조직학적 분석 등의 결과에 근거했을 때 발모효과를 확인하였고, 특히, 해조류 추출물의 경우 가장 높은 결과값을 얻을 수 있었다. PCR의 결과 역시 같은 결과를 나타내었다. 해조류 추출물, 곡물 추출물, 그리고 생약제는 발모의 효과가 있으며, 탈모방지제의 개발에 밑거름이 될 수 있을 것이다. 하지만 이번 연구는 동물실험이라는 한계가 있기 때문에 앞으로 임상적인 실험과 부작용에 대한 추가적인 연구가 필요할 것이다.

Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

1. Dargie HJ, Dollery CT, Daniel J. Minoxidil in resistant hypertension. *Lancet* 1977;2:515-8.
2. Miyai K, Tokushige T, Kondo M; Iodine Research Group. Suppression of thyroid function during ingestion of seaweed "Kombu" (*Laminaria japonica*) in normal Japanese adults. *Endocr J* 2008;55:1103-8.
3. Park Y, Choi W, Choo K, Yoon S, Park D. Effect of JW12 on hair growth promotion in a mice. *Newest Med J* 2006;49:61-7.
4. Ozeki M, Tabata Y. In vivo promoted growth of mice hair follicles by the controlled release of growth factors. *Biomaterials* 2003;24:2387-94.
5. Price VH, Menefee E. Quantitative estimation of hair growth. I. androgenetic alopecia in women: effect of minoxidil. *J Invest Dermatol* 1990;95:683-7.
6. Tsuboi R. Growth factors and hair growth. *Korean J Invest Dermatol* 1997;4:103-8.
7. Shin HS, Oh HY. The effect of platelet-rich plasma on wounds of OLETF rats using expression of matrix metalloproteinase-2 and-9 mRNA. *Arch Plast Surg* 2012;39:106-12.
8. Fiedler-Weiss VC. Potential mechanisms of minoxidil-induced hair growth in alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 1987;16:653-6.
9. Hirata N, Tokunaga M, Naruto S, Iinuma M, Matsuda H. Testosterone 5alpha-reductase inhibitory active constituents of *Piper nigrum* leaf.

- Biol Pharm Bull 2007;30:2402-5.
10. Leonard SG, Sweeney T, Bahar B, O'Doherty JV. Effect of maternal seaweed extract supplementation on suckling piglet growth, humoral immunity, selected microflora, and immune response after an ex vivo lipopolysaccharide challenge. *J Anim Sci* 2012;90:505-14.
 11. Bae SJ, Choi YH. Methanol extract of the seaweed *Gloiopeltis furcata* induces G2/M arrest and inhibits cyclooxygenase-2 activity in human hepatocarcinoma HepG2 cells. *Phytother Res* 2007;21:52-7.
 12. Khan MN, Yoon SJ, Choi JS, Park NG, Lee HH, Cho JY, Hong YK. Anti-edema effects of brown seaweed (*Undaria pinnatifida*) extract on phorbol 12-myristate 13-acetate-induced mouse ear inflammation. *Am J Chin Med* 2009;37:373-81.
 13. Aoi MS. Heart-to-heart. In: Tyler R, editor. *The tale of Genji*. London: Penguin Books; 2006. p.162-85.
 14. Zhang D, Lijuan G, Jingjie L, Zheng L, Wang C, Wang Z, Liu L, Mira L, Sung C. Cow placenta extract promotes murine hair growth through enhancing the insulin-like growth factor-1. *Indian J Dermatol* 2011;56:14-8.
 15. Bol DK, Kiguchi K, Gimenez-Conti I, Rupp T, DiGiovanni J. Overexpression of insulin-like growth factor-1 induces hyperplasia, dermal abnormalities, and spontaneous tumor formation in transgenic mice. *Oncogene* 1997;14:1725-34.
 16. Weger N, Schlake T. Igf-I signalling controls the hair growth cycle and the differentiation of hair shafts. *J Invest Dermatol* 2005;125:873-82.