

In vitro 및 *in vivo*에서 검은콩 추출물의 육모 효과

전희영 · 김승훈 · 김채욱 · 신현정 · 서대방 · 이상준*

(주)아모레퍼시픽 기술연구원

Hair Growth Promoting Effect of Black Soybean Extract *In Vitro* and *In Vivo*

Hee Young Jeon, Seung Hun Kim, Chae Wook Kim, Hyun Jeong Shin, Dae Bang Seo, and Sang Jun Lee*

Amorepacific Corporation R&D Center

Abstract It is commonly believed that black soybean (*Glycine max*: BB) prevents and alleviates hair loss. However, few studies have directly assessed the effect of BB on hair growth. We presently evaluated the mitosis induction on dermal papillae cell and mitogenic effect on NIH3T3 cells *in vitro*. To elucidate the hair growth promoting effect *in vivo*, anagen induction and hair restoration were examined in a shaving model of C57BL/6 mice. We also conducted biochemical analysis of blood plasma. Significant stimulation of dermal papillae and NIH3T3 cell proliferation were observed by treatment of BB in a dose-dependent manner. BB markedly promoted hair growth and significantly improved blood total antioxidant capacity and reduced lipid peroxidation and triglyceride level. These results suggest that BB has hair growth promoting effect and it is a potent candidate for the prevention of hair loss.

Keywords: black soybean, C57BL/6 mice, hair growth promotion

서 론

모발은 계속적으로 성장하는 것이 아니라 성장기(anagen phase, 3-6년), 퇴행기(catagen phase, 2-3주), 휴지기(telogen phase, 2-4개월)로 주기가 구분되며 이러한 주기를 평생 동안 10-20회 정도 반복한다. 전체 모발의 80-90% 정도의 모발은 성장기의 모발이고, 5%는 성장이 멈추고 모구부가 축소되면서 대사 과정이 늦어지는 퇴행기이며, 나머지 10% 정도가 모유두가 활동을 멈추고 모낭이 수축되면서 위쪽으로 올라가며 모발의 성장이 멈추는 휴지기로 정상인은 하루 평균 50-100여 개의 모발이 빠진다(1,2).

탈모는 특정 이유로 인해 모발성장주기의 휴지기가 길어지거나 전체 모낭 중 휴지기 개체수가 증가하여 정상적인 모발 탈락에 비해 과도한 모발 탈락이 일어나게 되는 것을 일컫는다(3). 탈모는 과도한 스트레스, 영양결핍, 두피의 국소 감염, 남성 호르몬에 의한 모포 기능의 저하, 두피 생리 기능의 저하, 모발 관리 제품의 잘못된 사용 등을 통해 나타날 수 있다. 최근에는 스트레스 증가와 식생활의 변화 등으로 인해 탈모 인구가 크게 증가하고 있으며, 최근에는 중년 남성뿐 아니라 젊은 층과 여성층에도 탈모 예방과 양모 등에 대한 관심이 증가하고 있다(4).

탈모에 대한 연구는 오래 전부터 시작되었지만 아직까지 그 정확한 기전은 밝혀져 있지 않다. 최근에는 생화학적, 분자 생물학

적 실험 방법을 이용하여 탈모의 원인 및 기전을 규명하기 위한 연구가 지속적으로 증가하고 있으며, 탈모 치료 및 모발 성장을 촉진시킬 수 있는 소재를 개발하기 위한 연구도 활발히 진행되고 있다.

현재 모발 성장을 촉진하는 약물로는 minoxidil과 finasteride가 가장 대표적이며 이 두 제품은 미국 Food and Drug Administration (FDA)의 승인을 받은 제품들이다. Minoxidil은 원래 고혈압 치료를 위한 혈관 확장제로 개발되었고 그 발모 효과에 대한 작용 기전은 현재까지 명확히 밝혀지지 않았지만 혈관 확장을 통한 영양 공급 증가 및 K⁺ channel opening 효과 등이 모발 성장을 유도하는 것으로 생각되고 있다(5,6). Finasteride는 testosterone을 dihydrotestosterone(DHT)으로 전환시키는 환원 효소인 5 α -reductase의 활성을 억제시킴으로써 DHT에 의한 모낭 세포의 사멸을 방지하는 효과를 갖는 전형적인 남성형 탈모증을 예방하는 발모제이다(7,8).

최근 탈모 방지제 및 발모제에 대한 연구가 심화되어 여러 가지 제품이 개발되고 있으나 효능이 우수하고 안전한 탈모방지제의 개발은 미진한 실정이다. 본 연구에서는 예로부터 탈모를 예방하는 식품으로 알려진 검은콩의 탈모 방지 및 육모 촉진 효과를 확인하고자 하였다. 검은콩은 단백질의 주공급원으로 모발 성장에 필수 성분인 시스테인(cysteine)이 함유되어 있어 탈모를 방지하는 데도 효과가 있는 것으로 알려져 있다(9,10). 검은콩에는 다량의 단백질 외에도 lecithin, phytoestrogen, 불포화지방산, anthocyanins 등이 함유되어 있어, 항산화 작용, 항암 작용, 항비만 작용, estrogenic 활성 작용, 면역조절 작용 등 다양한 약리 작용을 나타낸다(11-16). 또한 검은콩은 혈전 생성 억제를 통한 혈액 순환 개선효과를 가지며 검은콩에 포함되어 있는 비타민 E와 불포화 지방산, anthocyanins은 혈관을 확장시켜 말초혈관의 혈액순환을 원활하게 도와주는 효과도 보고된 바 있다(17,18).

*Corresponding author: Sang Jun Lee, Health Science Research Institute, Amorepacific Corporation R&D Center, Yongin, Gyeonggi 446-729, Korea
Tel: 82-31-280-5810
Fax: 82-31-281-8392
E-mail: leesjun@amorepacific.com
Received June 23, 2011; revised October 12, 2011;
accepted October 19, 2011

이러한 연구 결과를 바탕으로 검은콩이 두피 혈액 순환 개선을 통해 모근에 영양을 공급하여 탈모를 예방하는 효과가 있다고 추정되고 민간에서 탈모 예방 식품으로 널리 활용되고 있지만 검은콩 추출물을 이용하여 검은콩이 모발의 주기 및 성장에 미치는 효과를 체계적으로 연구한 결과는 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 20%(v/v)의 에탄올 용액을 이용하여 추출한 검은콩 추출물이 모발의 주기에 관여하는 모유두 세포의 성장 촉진과 모세 혈관 확장에 미치는 효과를 평가하였으며, C57BL/6 모델을 이용하여 검은콩 추출물의 경구 섭취가 탈모 예방 및 모발 성장에 미치는 효과를 2% minoxidil과 비교하여 평가하였다.

천연물의 경우 어떠한 추출 용매를 사용하는지에 따라 추출물의 특성이 달라져 같은 천연물을 사용하였다 하더라도 생리 활성이 차이가 날 수 있다(19). 20%(v/v)의 에탄올 용액을 이용하여 추출한 검은콩 추출물이 50, 70%(v/v)의 에탄올 용액을 이용하여 추출한 추출물보다 혈전 생성을 억제하는 작용이 높아 혈액 순환 개선 효과가 더욱 우수하다는 Kim 등(17)의 연구 결과를 바탕으로 본 연구에서는 20%(v/v)의 에탄올 용액을 이용하여 추출한 검은콩 추출물을 연구에 사용하였다.

재료 및 방법

시료의 준비

검은콩(서리태)은 충북 농협에서 판매하는 것을 구매하여 사용하였다. 건조된 검은콩 1kg을 50°C의 온도에서 20%(v/v)의 에탄올 용액 10 L에 침지하여 5시간 동안 3회 환류 추출한 다음, 상온에서 12시간 동안 방치하였다. 추출액을 여과하여 감압 농축하고 동결 건조하여 분말 시료를 제조하였다. 평균 수율은 18.3%이었으며, 조제된 분말은 사용시까지 저온에서 보관하였다.

모유두 세포의 증식 활성

모유두 세포의 증식 활성은 temperature sensitive T antigen을 암호화한 polyomavirus large T 유전자를 PVG rat의 vibrissa dermal papilla cell에 transfection하여 만든 PVGDPLTsa 6(DP 6) 세포주를 Dr. W. Filsell(University of Cambridge, UK)로부터 기증받아 평가에 사용하였다(20). 세포 배양에 사용한 배지는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium; Hyclone, Dallas, TX, USA) 배지에 10% FBS(fetal bovine serum; Hyclone)와 1% penicillin-streptomycin(Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 첨가하여 기본 배지로 사용하였고, 37°C, 5% CO₂ 조건 하에서 배양하였다. 모유두 세포를 96 well-plate에 한 well당 1×10⁴ 개로 분주하여 약 80%의 confluency에 도달할 때까지 10% FBS가 들어있는 배지에서 약 24시간 배양하였다. 시료의 처리는 검은콩 추출물을 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 용해시킨 후, 5% FBS로 serum 함량을 맞춘 DMEM 배지로 순차적 희석(serial dilution)하여 검은콩 추출물의 최종 농도가 0.1, 1, 10 ppm이 되도록 하여 well당 200 µL의 양으로 배지를 조절하여 배양기에서 72시간 배양하였다. 세포의 증식과 사멸은 MTT(tetrazole; Sigma Aldrich) assay에 의해 평가하였다. MTT 염색 용액(15 µL of 5 mg/mL)을 각 well에 첨가하고 4시간 배양 후 DMSO를 넣어 발색하고 515 nm에서 흡광도 값을 측정하여 비교하였다.

모세 혈관 확장 효과 평가

모세 혈관 확장 효과는 NIH3T3 cell(ATCC, Manassas, VA, USA)을 이용하여 K⁺ channel opening을 indirect하게 평가하는 방법을 이용하여 평가하였다. 세포 배양에 사용한 배지는 10% FCS

(fetal calf serum; Hyclone)을 포함하며 항생제를 포함하지 않는 DMEM 배지를 기본 배지로 사용하였고, 37°C, 5% CO₂ 조건 하에서 배양하였다. NIH3T3 cell을 24 well-plate에 한 well당 1×10⁴ 개로 분주하여 10% FCS가 들어있는 배지에서 약 24시간 배양한 후, 5% FCS가 포함된 새로운 배지에 검은콩 추출물의 최종 농도가 0.1, 1, 10 ppm이 되도록 희석하여 처리하고 72시간 배양하였다. 세포의 증식은 cell counting kit(CCK-8; Dojindo Molecular Tech, Kumamoto, Japan)를 이용하여 평가하였다.

C57BL/6 마우스의 성장기 모낭 유도 평가

실험동물 및 사육관리: 실험 동물은 평균 체중 18-20 g의 생후 47-53일된 암컷 C57BL/6를 Charles River Laboratories(Wilmington, MA, USA)로부터 구입하여 사용하였으며 동물 입수 후 검역과 일주일간의 순화 기간을 거치도록 하였다. 실험 동물의 사육환경은 온도(23±2°C), 습도(55±10%), 그리고 12시간 light/dark cycle을 유지하도록 하였다. 실험동물 사육관리는 'Guide for the Care and Use of Laboratory Animals'의 기준으로 하였으며, 실험은 Amorepacific Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC)의 승인 하에 진행되었다.

실험군 및 실험물질 처리: C57BL/6 마우스의 등 부위 털을 electric shaver를 이용하여 제거하고, 그 중 등 부위 피부가 양호한 마우스들을 골라 한 군당 7마리의 마우스가 포함되도록 3개의 군으로 나누어 별도의 케이스에서 사육하였다. 정상군과 minoxidil 처리군은 일반 사료를 급여하고 검은콩 추출물 섭취군은 검은콩 추출물이 0.5%로 포함되도록 일반 사료와 검은콩 추출물 시료를 배합한 고품 배합 사료(Feedlab Korea, Seoul, Korea)를 급여하여 사육하였다. 7마리의 각 군의 실험동물은 한 cage에서 사육하였으며 식이와 물은 자유롭게 먹도록 하였다. 양성 대조군으로 사용한 minoxidil 처리군은 minoxidil(Laboratory MAG S.P.A., Milano, Italy)을 70% propylene glycol과 30% EtOH로 구성된 vehicle에 2%의 농도로 녹여서 일주일에 5일간 하루 2회 50 µL씩 제모된 부위에 도포하였다. 정상군과 검은콩 추출물 섭취군은 vehicle을 동일한 방법으로 도포하였다.

육모 효과 평가: 시험 개시 4주차부터 매주 제모 부위 변화를 관찰하고 모발의 길이 및 모발 성장 정도에 따라 점수를 0-6까지 부가하여 육모 평가하였다(Table 1). 또한 제모 부위에 새로 성장한 각 마우스의 모발을 electric shaver로 수거하여 무게를 측정하였다.

혈액 분석: 6주의 실험기간 종료 24시간 전에 절식을 한 후, 각 실험군의 실험 동물로부터 안구의 혈관에서 안와정맥총 채혈 방법을 통하여 혈액 샘플을 채취하였으며, 이를 원심분리를 이용하여(1,000×g, 10분) 혈구와 혈장으로 분리하였고 상등액을 취하여 1.7 mL 마이크로 E-튜브(micro E-tube)에 담아 분석 직전까지 냉동 시켜 보관하였다.

혈액의 총항산화능 평가: 혈액의 총 항산화능은 Miller 등(21,22)의 방법에 의하여 평가하였다. ABTS(2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline 6-sulfonic acid); Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 pH 5.0인 0.05 M의 phosphate-citrate 버퍼에 최종 농도가 150 µM이 되도록 첨가하여 ABTS 용액을 제조하였다. 상기 ABTS 용액에 과산화수소(H₂O₂)와 peroxidase(Sigma Aldrich)를 각기 75 µM과 2.5 µM이 되도록 첨가하여 반응시켜 ABTS 라디칼(ABTS^{•+})을

Table 1. Anagen induction and hair restoration grades of C57BL/6 mouse alopecia model

Index of hair restoration	Description
0	No change
1	0-30% of the shaved dorsal area skin color turns into black
2	30-70% of the shaved dorsal area skin color turns into black
3	70-100% of the shaved dorsal area skin color turns into black or hair covers 0-30% of the shaved dorsal area
4	70-100% of the shaved dorsal area skin color turns into black or hair covers 30-70% of the shaved dorsal area
5	70-100% of the shaved dorsal area skin color turns into black or hair covers 70-90% of the shaved dorsal area
6	70-100% of the shaved dorsal area skin color turns into black or hair covers 90-100% of the shaved dorsal area

생성하였다. 혈장 샘플을 pH 5.0인 0.05 M의 phosphate-citrate 버퍼를 이용하여 5배 희석한 후, 96 well plate에 각 희석 샘플 20 µL를 180 µL의 ABTS 라디칼 용액에 첨가하여 완전히 혼합되도록 하였다. Plate를 상온에서 차광시킨 다음 20분간 반응시키고, 반응이 완료된 후 405 nm에서 시료의 흡광도를 측정하였다. 이와 동시에 pH 5.0인 0.05 M의 phosphate-citrate 버퍼에 Trolox (Sigma Aldrich)를 최종농도가 10, 2, 1 mM, 100 µM 및 10 µM가 되도록 첨가하여 Trolox 시료를 제조한 다음 상기 ABTS 라디칼 용액을 사용하여 위와 동일한 방법으로 반응시키고 흡광도를 측정하여 standard curve를 작성하였고, 그로부터 도출된 수학적식을 이용하여 혈장샘플의 자유기 소거능을 TEAC(Trolox Equivalence Antioxidant Activity) 값으로 계산하여 나타내었다.

혈액 지질 과산화 분석: 혈액의 지질 과산화 정도는 MDA assay kit(MDA-01; Northwest life science specialties LLC, Vancouver, WA, USA)를 이용하여 평가하였다.

혈액 지질 분석: Selectra E Clinical Analyzer(Vital Scientific NV, Dieren, Netherlands)를 이용하여 혈액내의 triglyceride, total cholesterol의 농도를 각각 측정하였다.

통계처리

모든 실험 결과의 통계 분석은 SPSS(statistical package social science, version 12.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA)를 이용하였다. 모든 결과는 각 실험군의 평균±표준오차로 표시하였으며, 각 군의 유의성은 $p < 0.05$ 수준으로 ANOVA와 LSD test에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

모유두 세포의 증식 활성

검은콩은 한의학 문헌에 의하면 양질의 단백질과 칼슘, 칼슘, 철분 등의 미네랄류, 비타민 B군, E 등이 풍부하고 혈액 순환을 원활하게 하는 효과가 있어 탈모를 예방하고 모발을 건강하게 하는 효과가 있다고 기록되어 있어 오래 전부터 탈모 예방에 좋은 식품이라고 여겨져 왔다(23-24). 20%(v/v)의 에탄올 용액을 이용하여 추출한 검은콩 추출물을 쥐의 수염에서 분리하여 immortalization시킨 모유두 세포주(DP 6)의 증식 촉진능을 살펴보았다. 검은콩 추출물을 다양한 농도 (0.1, 1, 10 ppm)으로 처리하여 control 과의 상대적 증식 촉진능을 평가한 결과, 검은콩 추출물 10 ppm을 처리하였을 때 유의적으로 모유두 세포의 증식을 촉진하는 것을 확인하였다($p < 0.05$). 또한 0.1 또는 1 ppm을 처리하였을 때도 유의적이진 않지만 세포의 증식을 촉진시키는 양상이 관찰 되었으며 그 효과가 농도 의존적으로 증가하는 것을 확인하였다(Fig. 1).

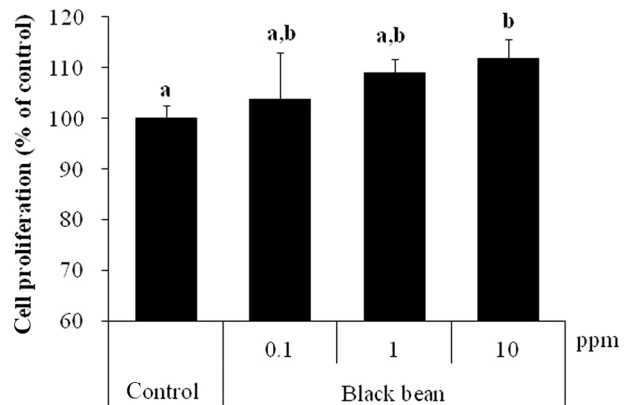


Fig. 1 Relative growth stimulations of rat vibrissa dermal papillar cell (PVGDPPLTsa 6: DP 6) by black soybean extract. DP 6 were treated with different dosage of black soybean (0.1, 1, and 10 ppm) for 72 h. Values represent the relative growth rate ratio of black soybean treated group to that of the normal control. Each column represents the mean±SD. Values not sharing the same letter are significantly different, $p < 0.05$.

모세 혈관 확장 효과 평가

두피 모세 혈관의 혈액 순환이 개선되면 모근의 상피 세포에 영양이 원활이 공급되고 모근을 자극하여 육모가 촉진되며 굵고 건강한 모발의 성장을 유도하는 효과가 있다(25,26). 대표적인 탈모 예방 및 탈모 증상 치료제인 minoxidil은 질소 화합물로서 K⁺ channel에 작용하여 혈관을 팽창시키고 모발의 성장을 촉진시키는 효과를 갖는다(27). K⁺ channel이 열리게 되면 mitogenesis 활성화 및 vascular smooth muscle relax를 통한 vasodilation 효과를 나타내게 된다. 한편, K⁺ channel이 막히면 NIH3T3 cell의 증식이 저해된다고 알려져 있다. 따라서 시료 처리에 의해 NIH3T3 cell의 증식이 촉진되면, K⁺ channel이 열린다고 추정할 수 있고, 나아가 혈관 확장이 촉진된다고 볼 수 있다(28). 검은콩 추출물이 NIH3T3 cell의 증식에 미치는 효과를 측정함으로써 모세혈관 확장 효과가 있는지를 간접적으로 평가한 결과, 검은콩 추출물의 처리가 농도 의존적으로 유의하게 NIH3T3 cell의 증식을 촉진시키는 효과가 있음을 확인할 수 있었다($p < 0.05$). 이러한 결과를 바탕으로 검은콩 추출물이 민간에서 알려지고 널리 믿어지는 것처럼 모세 혈관을 확장하고 두피 혈액순환을 개선하여 육모를 촉진하는 효과가 있음을 추정할 수 있다.

C57BL/6 마우스의 성장기 모낭 유도 평가

검은콩 추출물의 모유두 세포 증식 촉진 활성화와 모세혈관 확장 효과 평가 결과를 바탕으로 검은콩 추출물이 성장기 모낭을 유도하는 효과가 있는지를 평가하기 위하여 C57BL/6 모델을 이

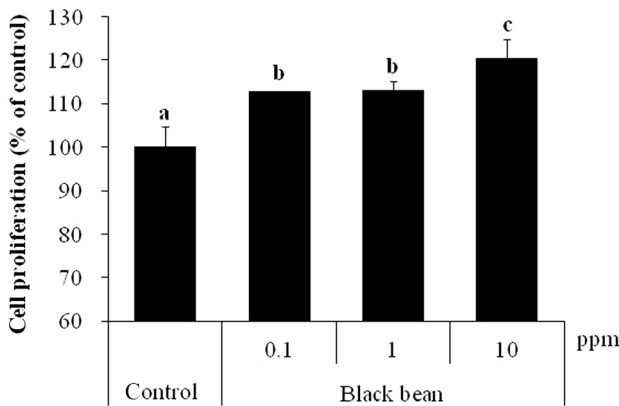


Fig. 2 Relative growth stimulations of NIH 3T3 cells by black soybean extract. NIH 3T3 cells were grown in medium containing 5% FCS supplemented with different dosage of black soybean (0.1, 1, and 10 ppm) in the absence of penicillin and streptomycin. Each column represents the mean±SD. Values not sharing the same letter are significantly different, $p < 0.05$.

용하여 시험을 진행하였다. 기능성 물질의 육모 효과를 평가하기 위한 방법으로 많은 동물 육모 평가 모델 중에서 C57BL/6 마우스 모델을 이용하여 휴지기에서 성장기로의 모발 주기 유도를 측정하는 방법이 널리 이용되고 있다(26,29). C57BL/6 마우스는 생후 45-49일이 지나면 마우스의 모낭은 2번째 휴지기를 거치게 되며, 이 기간에는 마우스 개체별로 동일한 모낭 주기를 가지고 있기 때문에 모낭 주기를 조절하는 물질의 효과를 측정할 수 있다(30,31). 성장기 모낭 유도 효과는 모발의 생장 및 복원 정도를

육안 평가하고, 모발의 무게 측정을 통해 평가하였다. 본 연구에서 사용한 양성 대조군은 minoxidil로 minoxidil은 혈관의 확장 및 혈관 생성을 유도함으로써 모낭에 원활한 혈액 공급을 통해 모발의 성장을 촉진시키는 대표적인 경피 육모제이다(5,6). 검은콩 추출물이 이와 유사한 작용을 통해 효과를 나타낼 것이라고 기대하여 minoxidil을 2% 농도로 vehicle(70% propylene glycol, 30% EtOH)에 녹여서 경피 도포한 것을 양성 대조군으로 하여 검은콩 추출물의 섭취가 성장기 모낭을 유도하는 효과를 비교 평가하였다.

또한 우수한 항산화 물질인 이소플라본을 다량 함유하고 있는 검은콩 추출물이 혈액의 항산화능을 개선하고 혈중 지질을 감소시켜 혈액을 맑게 하고 혈액 순환을 개선시키는 효과가 있는지 평가하기 위하여 혈액의 총 항산화능과 지질 과산화 정도를 평가하고 혈중 총 콜레스테롤과 중성지질의 양을 분석하였다(32).

각 군간의 음수 및 사료 섭취량, 체중은 control과 비교하여 유의적인 차이가 없었으며, 특별한 임상 증상 역시 관찰되지 않았다. 검은콩 추출물의 섭취에 따른 초기의 성장기 모낭 유도능은 minoxidil에 비해 다소 떨어지는 것으로 관찰되었다. 그러나 4주차 이후 급속하게 성장기 모낭이 유도가 증가되면서 5주차에는 minoxidil과 동등 이상의 효과를 나타내었고, 시험이 종료된 6주차에는 군내 대부분의 마우스 등의 90% 이상 부위에서 성장기 모낭이 유도되어 모발이 자라나온 것을 확인할 수 있었다. 육안 평가에 따른 각 군의 평균 값은 minoxidil 처리군과 검은콩 추출물 섭취군 각각 시험 종료 시 5.7과 5.8로 control과 비교하였을 때 유의적으로 우수한 성장기 모낭을 촉진 효과를 나타냈다(Fig. 3A, $p < 0.05$). 제모한 등 부위에 새로 자라나온 모발의 무게를 측정 한 결과, 32.8 mg인 control과 비교하여 minoxidil 처리군은 77.1

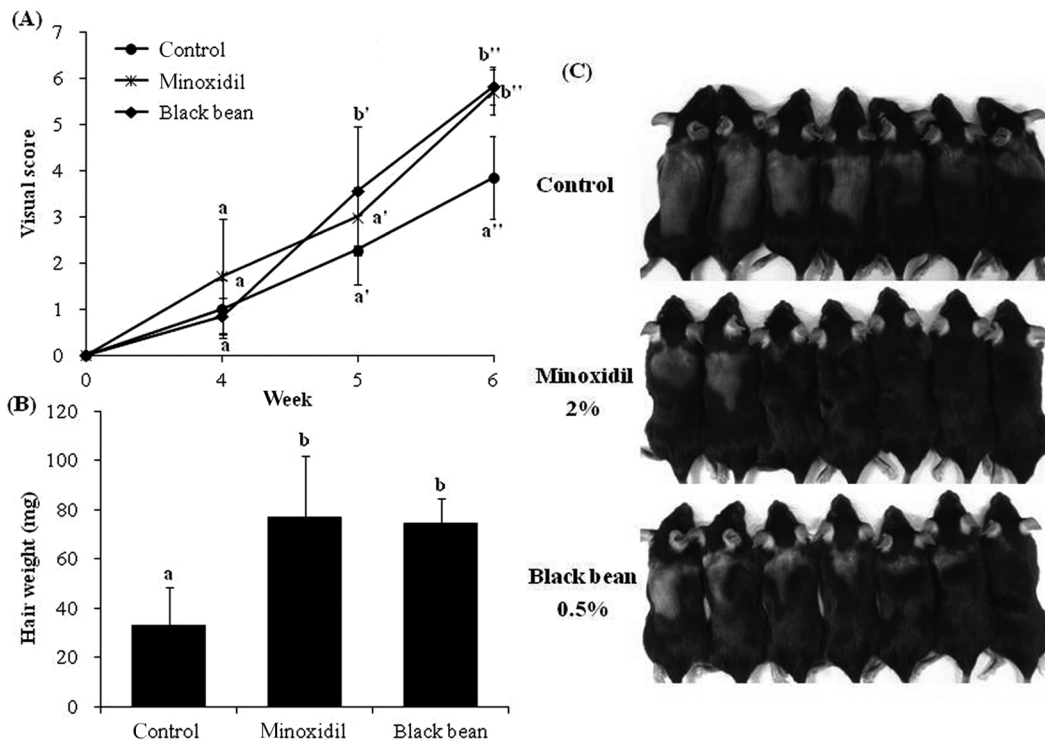


Fig. 3 Comparative anagen induction and hair restoration of female C57BL/6 mice by black soybean supplementation. Comparative anagen induction and hair restoration of female C57BL/6 mice black soybean supplementation or topical application of 2% minoxidil solution were monitored in a time-dependent manner for 6 weeks. (A) visual score, (B) hair weight, (C) hair regrowth. Values represent the mean±SD. The differences between the each group's visual scores were analyzed separately for each week. Values not sharing the same letter are significantly different, $p < 0.05$.

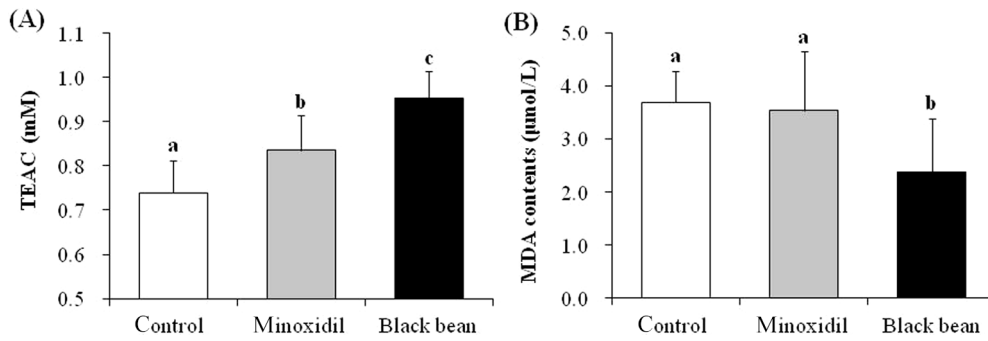


Fig. 4 Effect of black soybean supplementation on the blood total antioxidant capacity (TAC) and lipid peroxidation. At the end of an 6 week oral administration of black soybean extract, blood samples were collected from the orbital sinus in heparinized tubes and centrifuged for plasma separation to measure lipid peroxidation. The TAC was measured as Trolox equivalent antioxidant capacities (TEAC) according to Miller *et al.* MDA contents were analyzed as an indicator of lipid peroxidation. (A) TAC, (B) lipid peroxidation. Each column represents the mean±SD. Values not sharing the same letter are significantly different, $p < 0.05$.

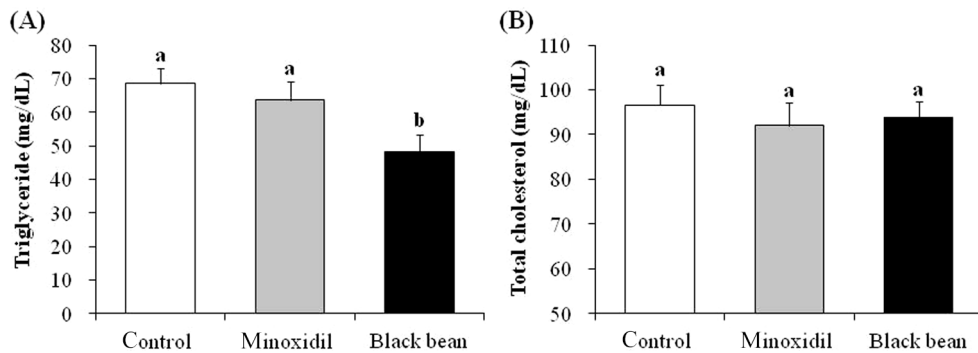


Fig. 5 Effect of black soybean extract on total cholesterol and triglyceride levels in mice. At the end of a 6 week oral administration of black soybean extract, blood samples were collected from the orbital sinus in heparinized tubes and centrifuged for plasma separation to measure total cholesterol and triglyceride. Total cholesterol and triglyceride levels were measured by using a Selectra E clinical analyzer. (A) total cholesterol, (B) triglyceride. Each column represents the mean±SD. Values not sharing the same letter are significantly different, $p < 0.05$.

mg, 검은콩 추출물 섭취군은 74.3 mg으로 유의적인 모발 성장 촉진 효과를 확인할 수 있었다(Fig. 3B, $p < 0.05$). 초기부터 모발이 자라나온 minoxidil 처리군의 모발 길이가 검은콩 추출물 섭취군보다 길어 모발 무게의 평균값이 다소 높았지만 minoxidil 처리군과 검은콩 추출물 섭취군 간의 유의적인 차이는 없어 검은콩 추출물의 섭취가 minoxidil의 처리와 동등하게 우수한 모발 성장 촉진 효과를 갖는다고 판단할 수 있다(Fig. 3).

혈액의 총 항산화능을 평가한 결과 검은콩 추출물의 섭취로 인해 혈액의 총 항산화능이 유의하게 증가하였고, 지질 과산화 정도가 감소한 반면, minoxidil 처리에 의해서는 총 항산화능이 다소 증가하는 양상이 관찰되었으나 유의적인 개선 효과는 없었다(Fig. 4A, 4B). 또한, 혈중 지질 분석을 통해 검은콩 추출물이 중성 지질을 유의적으로 감소시키는 효과가 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 5A). 혈중 총 콜레스테롤의 양은 minoxidil 처리와 검은콩 추출물의 섭취에 의해서 유의적인 변화가 없었다(Fig 5B). 이상의 혈액 분석 결과를 통해 검은콩 추출물이 혈액 항산화능을 개선함으로써 모낭의 주기를 불규칙하게 하고 탈모를 유발하는 원인이 되는 산화적 스트레스를 효과적으로 감소시키는 효과를 가짐으로써 탈모 예방 효과를 나타냄을 예상할 수 있다(33). 또, 혈중 중성 지질을 감소시킴으로써 혈액을 맑게 하고 혈액 순환을 개선하여 두피의 혈액 순환을 개선하고 모발에 영양을 원활히 공급하게 하는 효과가 있을 것이라고 추정할 수 있다. 이러한 효과는 경피 도포를 통해 모발의 성장을 촉진하는 효과를 갖

는 minoxidil에서는 나타나지 않는 것으로 보아 검은콩 추출물을 경구로 섭취하였을 때 나타나는 부가적이고 특징적인 결과인 것으로 추정된다.

종합적으로, 검은콩 추출물은 모유두 세포를 활성화하고 모세혈관을 확장하고 혈액의 상태를 개선해 혈액 순환을 원활히 함으로써 성장기 모낭을 유도하여 탈모의 진행을 억제하고 모발의 성장을 촉진하는 효과가 우수한 것으로 확인되었다. 최근 식생활 패턴의 서구화, 산업화 및 스트레스로 인해 탈모로 고민하고 있는 인구가 증가하고 있으며, 이를 해결하기 위한 다양한 치료제 개발을 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나 가장 널리 사용되고 있는 경피 도포용 minoxidil과 경구 투여용 finasteride의 경우 약물 요법 기간에만 효과가 있으며 장기간 치료 시에는 피부염과 같은 부작용이 보고되고 있어 안전하고 효과적인 탈모제의 개발이 요구되고 있다(34,35). 오랜 시간 식품으로 섭취되어온 검은콩의 경우 그러한 부작용은 없을 것이라고 추정되며, 본 연구를 통해 확인한 우수한 탈모 예방 및 육모 효과를 바탕으로 검은콩 추출물이 우수한 탈모 치료제로서 활용될 수 있을 것이라고 기대할 수 있다.

요약

본 연구에서는 검은콩의 육모 촉진 효과를 평가하기 위하여 검은콩 추출물을 이용하여 모유두 세포의 성장 촉진과 모세혈관 확

장에 미치는 효과를 평가하였으며, C57BL/6 마우스 모델을 이용하여 검은콩 추출물의 경구 섭취가 모발 성장에 미치는 효과를 2% minoxidil과 비교하여 평가하였다. 그 결과 검은콩 추출물이 모유두 세포의 증식을 촉진하고 모세혈관을 확장 시키는 효과가 있으며, 우수한 성장기 모낭 유도 촉진 효과를 통해 모발의 성장을 촉진하는 것을 확인하였다. 또한, 혈액의 항산화능을 증가시키고 혈중 중성 지질을 감소하는 효과를 가져 혈액을 맑게 하고 혈액 순환에 도움을 주어 육모 및 모발 건강 증진에 기여할 수 있음을 확인하였다. 검은콩 추출물의 우수한 육모 효과를 확신하기 위해서는 사람을 대상으로 6개월 이상의 인체 효능 평가와 검은콩 추출물 내의 유효 성분을 규명하는 연구가 후속으로 진행되어야 할 것이다. 그러나 본 연구는 민간에서 널리 알려진 검은콩의 육모 촉진 효과를 체계적으로 평가하였다는 것에 큰 의의가 있으며, 이를 통하여 검은콩 추출물이 혈액 순환 개선 및 모발 성장 주기 조절을 통해 모발 건강 개선 및 육모 촉진제로써 이용될 수 있다고 기대할 수 있다.

문 헌

- Arase S, Sandamoto Y. Co-culture of human hair follicles and dermal papilla in a collagen matrix. *J. Dermatol.* 17: 667-676 (1999)
- Zhao L, Liu LQ, Wang YJ, Yang W, Geng WX, Wei J, Li LW, Chen FL. Treatment of alopecia by transplantation of hair follicle stem cells and dermal papilla cells encapsulated in alginate gels. *Med. Hypothesis* 10: 1-3 (2007)
- Stenn KS, Combates NJ, Gordon JS, Pardinas JR, Parimoo S, Prouty SM. Hair follicle growth controls. *Dermatol. Clin.* 14: 543-58 (1996)
- Stenn KS, Paus R. Controls of hair follicle cycling. *Physiol. Rev.* 81: 449-494 (2001)
- Buhl AE, Waldon DJ, Baker CA, Johnson GA. Minoxidil sulfate is the active metabolite that stimulates hair follicles. *J. Invest. Dermatol.* 95: 553-557 (1990)
- Kaufman KD, Rotonda J, Shah AK, Meehan AG. Long-term treatment with finasteride 1 mg decreases the likelihood of developing further visible hair loss in men with androgenetic alopecia (male pattern hair loss). *Eur. J. Dermatol.* 18: 400-406 (2008)
- Olsen EA, Dunlap FE, Funicella T, Koperski JA, Swinehart JM, Tschien EH, Trancik RJ. A randomized clinical trial of 5% topical minoxidil versus 2% topical minoxidil and placebo in the treatment of androgenetic alopecia in men. *J. Am. Acad. Dermatol.* 47: 377-385 (2002)
- Dallob AL, Sadick NS, Unger W, Lipert S, Geissler LA, Gregoire SL, Nguyen HH, Moore EC, Tanaka WK. The effect of finasteride, a 5 α -reductase inhibitor, on scalp skin testosterone and dihydrotestosterone concentrations in patients with male pattern baldness. *J. Clin. Endocr. Metab.* 79: 703-706 (1994)
- Jones LN, Rivett DE. The role of 18-methyleicosanoic acid in the structure and formation of mammalian hair fibres. *Micron* 28: 469-485 (1997)
- Kovalenko IV, Rippe GR, Hurburgh CR. Determination of amino acid composition of soybeans (*Glycine max*) by near-infrared spectroscopy. *J. Agr. Food Chem.* 54: 3485-3491 (2006)
- Maeda H, Katsuki T, Akaike T, Yasutake R. High correlation between lipid peroxide radical and tumor-promoter effect: suppression of tumor promotion in the Epstein-Barr virus/B-lymphocyte system and scavenging of alkyl peroxide radicals by various vegetable extracts. *Jpn. J. Cancer Res.* 83: 923-928 (1992)
- Liao HF, Chou C, Wu SH, Khoo KH, Chen CF, Wang SY. Isolation and characterization of an active compound from black soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] and its effect on proliferation and differentiation of human leukemic U937 cells. *Anti-cancer Drug.* 12: 841-846 (2001)
- Jang EH, Moon JS, Ko JH, Ahn CW, Lee HH, Shin JK, Park CS, Kang JH. Novel black soy peptides with antiobesity effects: activation of leptin-like signaling and AMP-activated protein kinase. *Int. J. Obesity* 32: 1161-1170 (2008)
- Kim HJ, Bae IY, Ahn CW, Lee S, Lee HG. Purification and identification of adipogenesis inhibitory peptide from black soybean protein hydrolysate. *Peptides* 28: 2098-2103 (2007)
- Zhao QW, Lou YJ. Estrogenic activity and its mechanism of ethanol extract from black soybean. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 31: 825-828 (2006)
- Takahashi R, Ohmori R, Kiyose C, Momiyama Y, Ohsuzu F, Kondo K. Antioxidant activities of black and yellow soybeans against low density lipoprotein oxidation. *J. Agr. Food Chem.* 53: 4578-4582 (2005)
- Kim K, Lim KM, Kim CW, Shin HJ, Seo DB, Lee SJ, Noh JY, Bae ON, Shin S, Chung JH. Black soybean extract can attenuate thrombosis through inhibition of collagen-induced platelet activation. *J. Nutr. Biochem.* 22: 964-970 (2011)
- Shimizu T, Igarashi J, Ohtuka Y, Oguchi S, Kaneko K, Yamashiro Y. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E on colonic mucosal leukotriene generation, lipid peroxidation, and microcirculation in rats with experimental colitis. *Digestion* 63: 49-54 (2001)
- Xiao KJ, Zhong XK, Wang J, Jiang JG. Extraction of brown pigment from *Rosa laevigata* and its antioxidant activities. *Pharm. Biol.* 49: 734-740 (2011)
- Inamatsu M, Matsuzaki T, Iwanari H, Yoshizato K. Establishment of rat dermal papilla cell lines that sustain the potency to induce hair follicles from afollicular skin. *J. Invest. Dermatol.* 111: 767-775. (1998)
- Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.* 84: 407-412 (1993)
- Miller NJ, Johnston JD, Collis CS, Rice-Evans C. Serum total antioxidant activity after myocardial infarction. *Ann. Clin. Biochem.* 34: 85-90 (1997)
- Lee SJ. *Bonchokangmok*. Yeoil Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 137-148 (2007)
- Huh J. *Donguibogam*. DS Print Co., Seoul, Korea. pp. 307-310 (1992)
- Choi SM, Kim DY, Park YA, Lee MK, Song HS, Kwun OS, Lim SY, Pae HJ, Shin DH, Kim JY, Kim HS, Kwack SJ, Ahn MY, Choi YS, Lee BM. Hair growth effects of Sangmosu in mice. *Yakhak Hoeji* 43: 351-357 (1999)
- Hue JJ, Li L, Lyu SH, Baek IJ, Yon JM, Nam SY. Effect of Hwanggungung, a natural product, on hair growth promotion in C57BL6 mice. *Yakhak Hoeji* 49: 518-526 (2005)
- Han JH, Kwon OS, Chung JH, Cho KH, Eun HC, Kim KH. Effect of minoxidil on proliferation and apoptosis in dermal papilla cells of human hair follicle. *J. Dermatol. Sci.* 34: 91-98 (2004)
- Sanders DA, Fiddes I, Thompson DM, Philpott MP, Westgate GE, Kealey T. In the absence of streptomycin, minoxidil potentiates the mitogenic effects of fetal calf serum, insulin-like growth factor 1, and platelet-derived growth factor on NIH 3T3 fibroblasts in a K⁺ channel-dependent fashion. *J. Invest. Dermatol.* 107: 229-234 (1996)
- Chase HB, Rauch R, Smith VW. Critical stages of hair development and pigmentation in the mouse. *Physiol. Zool.* 24: 1-8 (1951)
- Ozeki M, Tabata Y. Promoted growth of murine hair follicles through controlled release of vascular endothelial growth factor. *Biomaterials* 23: 2367-2372 (2002)
- Park WS, Sung DS, Kim DK, Cho WH, Lee HK, Lee CH, Park SK, Sim YC. The effect of hair essence containing five herbal extracts on hair growth and the prevention of alopecia *in vitro* and *in vivo*. *J. Korean Oriental Med.* 25: 152-160 (2004)
- Correa CR, Li L, Aldini G, Carini M, Chen O, Chun H, Cho S, Park K, Russell RM, Blumberg JB, Yeum K. Composition and stability of phytochemicals in five varieties of black soybeans (*glycine max*). *Food Chem.* 123: 1176-1184 (2010)
- Treb RM. Pharmacologic interventions in aging hair. *Clin. Interv. Aging* 1: 121-129 (2006)

34. Suzuki K, Suzuki M, Akamatsu H, Matsungaga K. Allergic contact dermatitis from minoxidil: Study of the cross-reaction to minoxidil. *Am. J. Contact Dermat.* 13: 45-46 (2002)
35. Mella JM, Perret MC, Manzotti M, Catalano HN, Guyatt G. Efficacy and safety of finasteride therapy for androgenetic alopecia: a systematic review. *Arch. Dermatol.* 146: 1141-1150 (2010)