



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년12월01일  
(11) 등록번호 10-2185403  
(24) 등록일자 2020년11월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 8/9789 (2017.01) A61K 8/9761 (2017.01)  
A61Q 5/02 (2006.01) A61Q 7/00 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A61K 8/9789 (2017.08)  
A61K 8/9761 (2017.08)  
(21) 출원번호 10-2019-0035475  
(22) 출원일자 2019년03월28일  
심사청구일자 2019년03월28일  
(65) 공개번호 10-2020-0114189  
(43) 공개일자 2020년10월07일  
(56) 선행기술조사문헌  
JP2017531644 A  
KR101242736 B1  
KR1020070079156 A  
KR1020080032127 A

(73) 특허권자  
이지윤  
경기도 성남시 수정구 위례한빛로 67-18, 101호  
(창곡동)  
고은주  
서울 강남구 삼성로76길 23-13, 501호 (대치동,  
그레이스빌)  
(뒷면에 계속)  
(72) 발명자  
고은주  
서울 강남구 삼성로76길 23-13, 501호 (대치동,  
그레이스빌)  
이지혜  
서울특별시 강남구 삼성로76길 23-13, 501호(대  
치동, 그레이스빌)  
이교은  
대전광역시 유성구 진잠로149번길 30, 208동 110  
3호(교촌동, 한승미메이드)  
(74) 대리인  
정성찬

전체 청구항 수 : 총 4 항

심사관 : 강신권

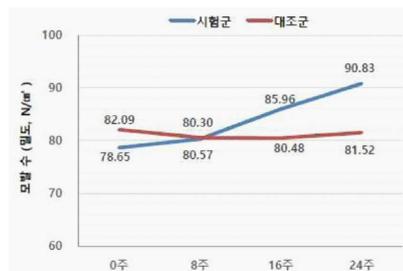
(54) 발명의 명칭 탈모예방 및 발모촉진 기능을 갖는 대자호를 이용한 천연샴푸 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 대자호를 이용하여 향안드로젠, 향아로마테이즈, 모근강화, 향균효과, 산화효과를 통한 생체친화적인 탈모예방 및 발모촉진 기능을 갖는 천연샴푸 및 그 제조방법에 관한 것이다.

본 발명에 따른 탈모방지 및 발모촉진용 샴푸는 대자호 추출물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 한다.

대표도 - 도9a



(52) CPC특허분류

*A61Q 5/02* (2013.01)

*A61Q 7/00* (2019.01)

*A61K 2800/5922* (2013.01)

(73) 특허권자

**이지혜**

서울특별시 강남구 삼성로76길 23-13 ,501호(대  
치동,그레이스빌)

**이교은**

대전광역시 유성구 진잠로149번길 30, 208동 1103  
호(교촌동, 한승미메이드)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

대자호 추출물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 탈모예방 및 발모촉진 기능을 갖는 대자호를 이용한 천연샴푸.

#### 청구항 2

청구항 1에 있어서, 대자호 추출물은 연잎, 편백, 측백, 김정콩, 어성초, 녹차 및 마치현과 함께 사용되는 것을 특징으로 하는 탈모예방 및 발모촉진 기능을 갖는 대자호를 이용한 천연샴푸.

#### 청구항 3

청구항 2에 있어서, 대자호 추출물 100중량을 기준으로 연잎, 편백, 측백, 김정콩, 어성초, 녹차 및 마치현은 각각 2~3중량비로 혼합되는 것을 특징으로 하는 탈모예방 및 발모촉진 기능을 갖는 대자호를 이용한 천연샴푸.

#### 청구항 4

대자호 추출물 100중량을 기준으로 연잎, 편백, 측백, 김정콩, 어성초, 녹차 및 마치현을 각각 2~3중량비를 선택하고 깨끗이 수세한 뒤, 숙성기에 넣어 65~95℃에서 재료에 따라 3~21일간 고온숙성하는 단계와;

고온숙성된 대자호와 생약재 15~25 중량%를 정제수 75~85중량%와 함께 탕기에 투입한 뒤 센불(98℃ 이상)로 끓인 후 약불(40~60℃)로 48~72시간 달여 초탕을 만드는 단계와;

초탕을 다른 용기에 옮겨 담고 초탕 100중량을 기준으로 정제수 37~43 중량비를 투입한 뒤 센불로 끓인 후 약불로 3~4시간 달여 재탕을 만드는 단계와;

재탕된 대자호와 생약재를 제거한 뒤 초탕과 재탕을 혼합한 혼합액을 약불로 24~36시간 달여 혼합액 총중량의 7.5~8.5 중량%의 혼합숙성탕액을 얻는 단계와;

가성칼리 45~55 중량%를 정제수 45~55중량%에 천천히 투입하면서 혼합한 뒤 75~85℃로 냉각하는 단계와;

코코넛오일, 올리브오일, 동백오일, 피마자오일 중 2 이상을 포함하여 혼합된 캐리어오일 63~73 중량%를 75~85℃로 가열하여 상기 냉각된 가성칼리 및 정제수 혼합물 27~37 중량%를 천천히 투입하면서 혼합물을 교반하여 비누화시키는 단계와;

설탕 10~20 중량%와 정제수 80~90 중량%를 혼합한 뒤 교반하면서 80~90℃로 가열하는 단계와;

상기 비누화된 혼합물 70~80 중량%에 상기 설탕물 20~30 중량%를 혼합하여 교반하는 단계와;

상기 비누화된 혼합물과 설탕물의 혼합물을 밀폐용기에 담아 그늘지고 통풍되는 장소에서 1~3주간 22~28℃의 온도에서 실온숙성하여 천연샴푸 페이스트를 얻는 단계와;

상기 실온숙성된 천연샴푸 페이스트 47~57 중량%와 상기 혼합숙성탕액 43~53 중량%를 혼합하여 85~95℃의 온도로 가열하여 12~36시간 교반하는 단계와;

쌀뜨물 90.5~93.5 중량%, 설탕 1~1.5 중량%, 소금 1~1.5 중량%, 당밀 1~1.5 중량%, EM원액 1~1.5 중량%, EM활성액 1~1.5 중량% 및 로즈마리 1.5~2 중량%를 잘 혼합하여 밀봉한 뒤 30~35℃의 온도에서 5~10일간 발효하여 얻어진 EM발효액 12.5~15 중량%를 상기 잘 혼합된 혼합숙성탕액과 천연샴푸 페이스트의 혼합물 85~87.5 중량%에 첨가하고 교반하는 단계와;

상기 EM발효액이 첨가된 천연샴푸 페이스트와 혼합숙성탕액의 혼합물 95~99.9 중량%에 소금 0.1~5 중량%를 첨가하여 80~95℃의 온도에서 교반하는 단계와;

상기 소금이 첨가된 천연샴푸 페이스트와 혼합숙성탕액의 혼합물 98~99 중량%에 기능성 물질인 비타민E와 실크 아미노산을 1~2 중량%를 첨가하여 교반하는 단계와;

상기 기능성 물질이 첨가된 천연샴푸 페이스트와 혼합숙성탕액의 혼합물 94-99 중량%에 라벤더, 레몬, 일랑일랑, 로즈마리, 시더우드 중 2 이상을 포함하여 혼합된 에센셜오일 1-6 중량% 첨가하여 교반하는 단계와;

상기 에센셜오일을 첨가한 천연샴푸 페이스트와 혼합숙성탕액의 혼합물을 밀폐용기에 넣고 그늘지고 통풍되는 장소에서 5~10일 동안 22~28℃의 실온숙성하여 천연샴푸를 얻는 단계;를 포함하여 제조되는 것을 특징으로 하는 탈모예방 및 발모촉진 기능을 갖는 대자호를 이용한 천연샴푸의 제조방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 대자호를 이용하여 항안드로젠, 항아로마테이즈, 모근강화, 항균효과, 산화효과를 통한 생체친화적인 탈모예방 및 발모촉진 기능을 갖는 천연샴푸 및 그 제조방법에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0003] 탈모의 발생은 피로, 스트레스, 질환, 약물 등의 환경 변화 등의 환경적 요인과 유전적 요인으로 구분된다. 남성 탈모의 경우 유전적 요인과 안드로젠(androgen) 호르몬이 중요한 인자로 보고되고 있으며, 여성형 탈모에서도 일부는 남성형 탈모와 같은 경로로 일어나는 것으로 추정되고 있으나 임상적으로 그 양상에 차이가 있다. 여성은 testosterone 호르몬 분비가 적어 DHT생성량이 적으므로 탈모율이 남성에 비해 50%이상 적게 나타내고 있고, 20대에 안드로젠 탈모가 생길수 있으며, 여성호르몬 감소시 모낭 약화 및 aromatase에 의하여 정수리가 빠지거나 가르마가 넓어진다. 두피가 얇아지고 모공 개폐가 원활하지 않아 피지나 땀 등이 밖으로 배출되지 못하여 모낭 안으로 들어가 모근 손상이 원인이 되므로 죽은 각질, 노폐물 제거로 항상 두피를 청결하게 하고 모공과 한선(땀구멍) 열어 영양공급 필요하며 hair follicle 강화 및 dermal cell 증식 유도로 모낭 세포 활성화로 탈모 억제 효과 유도하게 된다.

[0004] 이에 본 발명자는 대자호(백호) 추출물의 항안드로젠(anti-androgen), 항아로마테이즈(anti-aroamase) 효소 활성 억제, dermal papilla cells의 세포증식과 모낭세포 강화 효능, 세포신호전달 기전 및 in vivo에서 hair growth 효능을 확인하여 본 발명을 완성하게 되었다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0006] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 대자호를 이용하여 항안드로젠, 항아로마테이즈, 모근강화, 항균효과, 산화효과를 통한 생체친화적인 탈모예방 및 발모촉진 기능을 갖는 천연샴푸 및 그 제조방법을 제공하는 데 있다.

[0007] 또한, 상기 대자호를 이용한 천연샴푸는 애견샴푸, 여성청결제, 바디워셔, 바디로션, 헤어컨디셔너를 제공하는 것을 또 다른 과제로 하고 있다.

**과제의 해결 수단**

[0009] 상기한 목적을 달성하기 위하여 본 발명에 따른 탈모방지 및 발모촉진용 샴푸는 대자호 추출물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 한다.

[0010] 바람직하게, 대자호 추출물은 연잎, 편백, 측백, 검정콩, 어성초, 녹차 및 마치현과 함께 사용되는 것을 특징으로 한다.

[0011] 바람직하게는 고체 샴푸는 대자호 추출물, 코코넛 오일, 팜오일, 올리브 오일, 동백오일, 피마자 오일 및 노니와 함께 사용되는 것을 특징으로 한다.

[0012] 바람직하게, 대자호 추출물 100중량을 기준으로 연잎, 편백, 측백, 검정콩, 어성초, 녹차 및 마치현을 각각 2~3중량비로 혼합되는 것을 특징으로 한다.

**발명의 효과**

[0014] 본 발명의 대자호를 함유하는 샴푸는 항안드로젠(anti-androgen), 항아로마테이즈(anti-aroamase) 효소 활성 억제, dermal papilla cells의 세포증식과 모낭세포 강화 효능, 세포신호전달 기전 및 in vivo에서 hair growth

효능을 갖는 대자호를 이용하여 생체친화적인 탈모예방 및 발모촉진 기능을 갖는 효과가 있다.

[0015] 또한, 상기 대자호를 이용한 천연샴푸는 애견샴푸, 여성청결제, 바디워셔, 바디로션을 사용하여 모발 보호 및 피부 보습 효과가 있다.

[0016] 또한, 장기간 사용하더라도 인체에 부작용이 없으며 탈모를 방지하고 탁월한 발모 효과가 있다.

**도면의 간단한 설명**

[0018] 도 1은 본 발명에 따른 대자호 추출물의 human hair follicle dermal papilla cell에서 세포증식 효능 그래프.

도 2는 본 발명에 따른 대자호 추출물의 성장증식 기전 VEGF, bFGF, EGF 발현 확인 그래프[(A) ELISA assay (B) Western blot assay]

도 3은 본 발명에 따른 대자호 추출물의 testosterone, reductase 및 aromatase 활성 억제효능을 RNA 수준에서 분석 및 정량 그래프.

도 4a는 본 발명에 따른 대자호 추출물의 keratinocyte 증식 억제율 그래프(MTT assay 72h 분석).

도 4b는 본 발명에 따른 대자호 추출물의 keratinocyte 증식 억제율 그래프(MTT assay 48h 및 92h 분석).

도 5는 본 발명에 따른 대자호 추출물의 염증성 매개인자(TNF- $\alpha$ , PGE2) 감소율 측정 그래프.

도 6은 본 발명에 따른 대자호 추출물의 염증성 사이토카인(IL-1b, IL-6, IL-8)과 케모카인(MCP-1) 감소율 측정 그래프.

도 7은 본 발명에 따른 대자호 추출물의 대자호의 항염 및 항산화 효능 신호전달 기전 그래프.

도 8a, 8b는 본 발명에 따른 대자호를 함유하는 샴푸(실시예)와 대자호를 함유하지 않은 샴푸(비교예)를 사용한 시험군의 Phototrichogram 이미지.

도 9a, 9b는 발명에 따른 대자호를 함유하는 샴푸(실시예)와 대자호를 함유하지 않은 샴푸(비교예)를 사용한 시험군의 모발수 변화그래프.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0019] 이하, 바람직한 실시예를 통하여 본 발명을 상세히 설명하고자 한다. 그러나, 본 실시예들은 본 발명을 보다 잘 이해할 수 있도록 설명하는 것으로 이해되어야 하며, 사용된 용어나 단어는 통상적이거나 사전적인 의미로 한정 해석되어서는 아니되고, 발명자는 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 하며, 본 발명을 이에 한정하는 것으로 이해되어서는 안될 것이다.

[0020] <실시예 1 : 대자호 특성 확인>

[0021] 건조된 대자호를 3~7cm의 크기로 절단하고, 대자호 1Kg 당 정제수 20~30L을 혼합한 후에 열수처리하여 대자호 추출물을 제조하였다. 이때, 정제수의 비율이 20L 미만으로 혼합되는 경우에는 충분한 시간동안 열수 추출 공정을 수행하지 못할 수 있고, 정제수의 비율이 30L 초과하여 혼합되는 경우에는 열수 추출하여 충분히 농축시키는 데 걸리는 시간이 너무 많이 걸리는 문제가 있다.

[0022] 1) 급성 독성 확인

[0023] 대자호의 독성을 조사하고 치사량을 확인하기 위하여 Spradue-Dawley (SD) rat의 암수에 대자호를 경구투여하여 독성을 실험하였다. 각 군당 10마리(암 수 각 5마리)에 0, 500, 1000, 2000 mg/kg용량으로 단회경구투여 실시한 후 14일간 사망률, 일반증상, 체중변화를 관찰하였다. 또한 관찰기간 종료 후 부검을 실시하여 육안적 소견을 관찰하였다. 실험결과, 대자호 투여군에서 사망동물이 관찰되지 않았고, 일반증상, 체중변화 및 부검소견에서 특이적인 변화가 관찰되지 않았다.

[0024] 웅성 ICR 생쥐를 실험 전날 저녁부터 절식하여 약물의 흡수가 용이하도록 하였고, 실험 당일 체중에 따라 균을 나누고 대자호를 체중 당 5g/kg 농도로 경구투여하고 4시간 동안 행동에서의 이상 유무를 관찰하였다. 실험결과 대자호 5g/kg의 고농도에서도 사망동물이 관찰되지 않았고, 일반증상, 체중변화 및 부검소견에서 특이적인 변화가 관찰되지 않았다.

- [0025] 2) 반복 투여 독성 확인
- [0026] 음성 ICR 생쥐를 실험전날 저녁부터 절식을 하여 약물의 흡수가 용이하도록 하였고, 실험 당일 체중에 따라 군을 나누고 대자호 추출물을 체중 당 2g/kg 농도로 경구투여하고 4시간 이상동안 행동에서의 이상 유무를 관찰하고 5일간 약물을 반복하여 경구투여하였다. 치사 개체가 발생한 경우에는 즉각적으로 부검을 실시하였고, 치사 개체가 발생하지 않더라도 약물투여 다음날 에테르로 과마취사시켜 부검을 실시하여 대조군과 비교하여 장기에서의 이상 유무를 육안으로 관찰하였다.
- [0027] 실험결과 대자호추출물은 급성독성 실험과 반복투여 독성 실험에서 치사 개체가 발생하지 않았으며, 투여시 부작용이나 부검 시 장기의 이상이 육안으로 관찰되지 않아 대자호 추출물은 경구투여에 의한 독성은 발현되지 않는 것으로 판단된다.
- [0028] 3) 세포증식 확인
- [0029] 대자호(백호) 추출물에 대한 human epithelial keratinocytes와 fair follicle dermal papilla cell의 세포증식 효능 유무를 분석하였다. 먼저, Human epidermal keratinocytes 및 human hair follicle dermal papilla cells을 Abm(Richmond british columbia, Canada)에서 구입하여 DMEM 배양배지에 100 U/ml penicillin-100 U/ml streptomycin 및 10% fetal bovine serum(FBS, Invitrogen) 첨가하여 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다. 배양된 세포를 96 well plate에 분주한 후 90%가량 배양되었을 때 대자호(AS) 및 모담코리아(주)의 대자호 추출물(P-AS)을 농도별로 처리한 후 72시간 배양한 후 BrdU assay를 실시하였다.
- [0030] 실험결과, 도 1에 나타난 바와 같이 human fair follicle dermal papilla cell에서 대자호(AS)와 대자호추출물(P-AS)은 250 µg/mL, 500 µg/mL, 1000 µg/mL에서 농도 의존적으로 23% ~ 55%가량 세포증식이 증가하였다.
- [0031] 4) 대자호(AS)의 세포증식 기전 연구
- [0032] Human fair follicle dermal papilla cell에서 세포증식 기전을 알아보기 위하여 배양된 세포를 6 well plate에 분주한 후 90%가량 배양되었을 때 VEGF 50 ng/mL, bFGF 50 ng/mL, EGF 20 ng/mL를 각각 2시간동안 먼저 처리한 후 대자호 62.5, 250 µg/mL, 500 µg/mL을 처리하고 48시간 동안 CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다. 배양 후 배양 상층액으로부터 ELISA 방법으로 VEGF, bFGF 및 EGF의 발현정도를 확인하였고, 세포로부터는 단백질을 추출하여 Western방법으로 단백질 발현을 확인하였다. 실험결과, 도 2에 나타난 바와 같이 대자호추출물은 VEGF의 발현을 250 µg/mL, 500 µg/mL에서 유의하게 증가시켰고, bFGF의 발현은 500 µg/mL에서 유의하게 증가시켰다. EGF의 발현은 경우 250 µg/mL, 500 µg/mL에서 유의하게 증켜 Human fair follicle dermal papilla cell에서의 세포증식이 VEGF, bFGF 및 EGF 성장인자 발현촉진에 의한 것임을 확인하였다.
- [0033] 5) 대자호(AS)의 testosterone, reductase 및 aromatase 활성 확인
- [0034] Human fair follicle dermal papilla cell에서 testosterone, reductase 및 aromatase-1의 활성억제를 확인하기 위하여 세포를 6 well plate에 분주한 후 90%가량 배양되었을 때 EGF 20 ng/mL를 각각 2시간동안 먼저 처리한 후 대자호 62.5, 250 µg/mL, 500 µg/mL을 처리하고 48시간동안 CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다. 배양 후 세포로부터 total RNA를 추출하여 RT-PCR 방법으로 RNA 발현 정도를 확인하였다. 실험결과, 도 3에 나타난 바와 같이 대자호 추출물은 62.5 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL에서 testosterone, reductase, aromatase-1의 mRNA 발현을 감소시켰다.
- [0035] 6) 대자호(AS)의 human keratinocyte에서 항염, 항산화 효능 확인
- [0036] 6-1) keratinocyte 증식 억제율 실험
- [0037] 각 웰당  $1 \times 10^5$  세포수가 되도록 96 웰 플레이트에 분주한 후 CO<sub>2</sub> 배양기에서 90% confluent하게 배양시켰다. DMEM 배지로 각 웰을 2회 세척하여 부착되지 않은 세포를 제거한 후 대자호를 0-500 µg/mL 농도별로 희석하였다. 각 웰에 농도별 대자호를 100 µL씩 넣어준 후, LPS 1µg/mL와 IFN-γ 1ng/mL을 첨가하여 세포에 자극을 준 후 72 시간동안 CO<sub>2</sub>배양기에서 배양하였다. 대식세포 증식율은 상기 기술한 비장세포 증식능을 측정할 MTS을 이용하여 동일한 방법을 실험하였다. 실험결과, 도 4a에 나타난 바와 같이 72시간 분석과정에서 염증성 keratinocyte에서 대자호추출물 62.5 µg/mL에서 30%가량 세포증식을 억제시켰고, 250 µg/mL에서 69.1%까지 세포증식을 억제시킴을 확인할 수 있었다. 또한, 도 4b에 나타난 바와 같이 시간별 증식억제 실험에서도 우수한 억제효능이 92시간까지 있음을 확인하였다.

[0038] 6-2) 니트릭 옥사이드 (nitric oxide, NO) 생성양 측정

[0039] 세포 증식억제술 실험과 동일한 조건으로 세포에 대자호추출물 62.5 μg/mL과 250 μg/mL의 약제를 처리하고 30분 후 LPS 1 μg/mL와 IFN-γ 1ng/mL을 처리하고 72시간동안 CO<sub>2</sub>배양기에서 배양한 후 배양 상층액에서 니트릭 옥사이드(NO)양을 Griess reagent을 이용하여 측정하였다. 배양배지 100 μL 와 Griess reagent (1% sulfanilamide + 0.2% N-naphthylethylene diamine 2HCl + 2.5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 100 μL를 혼합하여 새로운 96 웰 플레이트에 분주하고 570nm에서 10분 이내에 흡광도를 측정하였다. NaNO<sub>2</sub>를 이용하여 표준 검량선을 작성하여 샘플에 의한 NO생성량을 구하였다. 실험결과 표 1과 같이 염증성 사이토카인의 분비를 촉진시켜 염증을 유도하는 니트릭 옥사이드의 생성량은 대자호추출물 62.5 μg/mL과 250 μg/mL에서 농도 의존적으로 14.3%, 38.8%의 유의한 억제효과를 보였다.

표 1

[0040]

	NO 억제율 (%)
None	100
LPS+gIFN	0
대자호추출물 62.5 (μg/mL)	14.3 ± 3.2
대자호추출물 250 (μg/mL)	38.9 ± 2.9

[0041] 6-3) 염증성 매개인자(TNF-α, PGE2) 측정

[0042] 대식세포를 24웰 플레이트에 각 웰당 10<sup>6</sup> 세포수가 되도록 분주한 후 RAH13 약제 100 μg/mL과 양성 대조군인 셀레룩시브 100 nM을 처리하고 30분 후 LPS 1 μg/mL 및 IFN-γ 1ng/mL을 처리하여 24시간 동안 CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양한 후 2000 rpm으로 5분간 원심분리하여 상층액을 수거하여 사이토카인 측정에 사용하였다. 수거한 상층액 내의 TNF-α (BD Pharmigen, USA), PGE2(R&D systems, USA)양은 상업적으로 판매되고 있는 키트를 이용하여 효소면역분석법으로 측정하였다. 실험결과, 도 5에 나타난 바와 같이 염증의 진행도와 밀접하게 관련되어 있는 염증성 매개인자인 전염증성 사이토카인(pro-inflammatory cytokine)인 TNF-α와 사이클로옥시게나제-2(COX-2)의 활성에 의해 염증부위에서 과잉 생산되어 염증을 유발하는 PGE2의 생성량을 측정한 결과, 대자호추출물 62.5 μg/mL에서 PGE2와 TNF-α 생성량이 약 10%와 17% 가량의 감소를 각각 보였고, 대자호추출물 250 μg/mL에서 처리군에 PGE2와 TNF-α 생성량은 약 35%, 77%로 유의하게 감소시켰다.

[0043] 6-4) 염증성 사이토카인(IL-1b, IL-6, IL-8)과 케모카인(MCP-1) 측정

[0044] Keratinocytes 에 LPS 1 μg/mL 과 γ IFN 1ng/mL을 처리하여 24시간 동안 CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양한 후 대자호추출물 62.5 μg/mL과 250 μg/mL를 처리하고 48시간 동안 다시 배양하였다. 배양 후 플레이트를 2000 rpm에서 5분간 원심분리하여 배양 상층액을 수거하였다. 배양액 중의 IL-1b, IL-6, IL-8, MCP-1의 양을 상업적으로 판매되고 있는 키트(kits, BD Pharmigen, USA)를 이용하여 효소면역분석법으로 측정하였다. 실험결과, 도 6에 나타난 바와 같이 대자호추출물이 염증성 사이토카인인 IL-1b, IL-6는 저농도인 62.5 μg/mL 에서도 거의 100%가량 억제하였고, IL-8과 MCP-1 발현도 250 μg/mL에서 각각 40.3%, 69%가량 우수하게 감소시켰다.

[0045] 6-5) 대자호의 항염 및 항산화 효능 신호전달 기전

[0046] Keratinocytes 에 LPS 1 μg/mL 과 γ IFN 1ng/mL을 처리하여 24시간 동안 CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양한 후 대자호추출물 62.5 μg/mL과 250 μg/mL를 처리하고 18 시간 동안 다시 배양하였다. 배양후 세포로부터 단백질을 수거하였고, 단백질 정량 후 20 μg씩 4-12% acrylamide gel에 전기영동 한 후 nitrocellulose paper에 단백질을 전달시킨 후 ppERK, pp38, pJNK 및 IκBa 항체를 1:1000 희석하여 24시간동안 반응시켰다. PBST 용액에서 3회 세척 후 2차항체를 붙이고 chemiluminescence를 이용하여 발광시켰다. 실험결과, 도 7에 나타난 바와 같이 pp38, pJNK의 인산화는 농도 의존적으로 감소하였고, IκBa의 경우 62.5 μg/mL에서만 감소하는 경향을 보였다. 결론적으로 염증성 keratinocytes에서의 항염 및 항산화 효능은 pp38, pJNK, IκBa의 신호전달 억제에 의한 것으로 사료된다.

[0047] 이와 같이, 대자호는 경부에 투여하더라도 독성이 확인되지 않고, 중금속 및 잔류농약시험에서 적합한 결과를 받아 대자호의 원료자체의 안정성을 확인할 수 있었으며, 염증성 keratinocyte에서 세포증식을 억제시켰고, 염증성 사이토카인의 분비를 촉진시켜 염증을 유도하는 니트릭옥사이드의 생성량 또한 백호 추출물의 농도 의존적

으로 억제되는 효과를 확인할 수 있었다 . 이외에도 염증성 매개인자(TNF- $\alpha$ , PGE2)와 염증성사이토카인(IL-1b, IL-6, IL-8)과케모카인MCP-1)의 수치 또한 감소되어 백호추출물의 항염 및 항산화기전의 효능을 정량적인 실험 값으로 검증할 수 있었다.

- [0049] <실시예 2 : 대자호를 이용한 천연비누의 제조방법>
- [0050] 하기 제 1 단계부터 제 4 단계까지는 고온숙성된 대자호와 생약재를 포함하는 혼합숙성탕액을 제조하는 과정이며, 제 5 단계 이상의 과정은 이를 이용한 천연비누를 제조하기 위한 과정이다.
- [0051] 제 1 단계 : 고온숙성
- [0052] 본 발명의 천연삼푸가 탈모방지 및 발모촉진 효능을 갖도록 하기 위하여, 대자호와 한약으로 사용되는 생약재들을 선택하여 수세하고 고온숙성을 한다.
- [0053] 본 발명은 대자호 100중량을 기준으로 연잎, 편백, 측백, 검정콩, 어성초, 녹차, 마치현을 각각 2~5중량비를 선택하고 깨끗이 수세한 뒤, 숙성기에 넣어 65~95℃에서 재료에 따라 3~21일간 고온숙성한다. 이때, 숙성기의 설정온도는 80~90℃가 보다 바람직하고, 숙성기간은 재료에 따라 차별적으로 3~21일간 숙성하게 된다.
- [0054] 본 발명의 대자호(산흰썩, 백호)는 1~2년생 초본식물로 향기가 말라리아의 치료제로 쓰이기도하는 개똥썩보다도 향이 진하다. 우리나라 간혹 남부지방에도 보이며 중부 또는 이북에서 자라며 중국에서는 주로 동북화북 및 감숙, 합서 등지에 분포한다. 1년차에는 잎만 사용이 가능하며 2년차에 줄기와 뿌리까지 사용 가능하다. 대자호(백호)의 녹색잎과 줄기부분은 일종의 sesquiterpene류, sieversinin을 함유한다. 건조식물은 알칼로이드, pyrocatechol tannin, flavonoid, lactone, rutin, isoquercetin도 포함하며 대자호(백호)에서 분리한 sesquiterpene,  $\gamma$ -lactone은 황색포도상구균, 대장균 등에 대하여 in vitro에서 억제작용이 있다.
- [0055] 생약재 중 연잎은 연근과 비슷한 효능을 가지되 갈증을 해소시켜주는 효과와 피부 진정 효과 및 정력 향상과 니코틴 해독의 효과가 있다.
- [0056] 편백은 항균, 혈액순환 촉진, 비듬예방, 면역력 강화, 자연 치유력 효과가 뛰어나다. 피톤치드 성분이 함유되어 살균작용이 뛰어나다.
- [0057] 측백(側柏)은 약취제거 및 머리카락이 검어지고 치아와 뼈가 튼튼해지며 간경화 및 간암에 효과가 좋고 고혈압 및 중풍예방에 효과가 있다.
- [0058] 검정콩은 혈압을 정상으로 만들어주고 염증을 가라앉히며 비타민E와 불포화지방산, 안토시안, 베타카로틴이 노화를 방지하고 에스트로겐, 사포닌, 글리시닌 등이 혈관을 확장시켜 백발이나 탈모증상을 완화시켜 준다.
- [0059] 어성초는 항균작용, 면역증강작용, 항염 증작용을 한다. 특히, 쿠에르치트린이라는 성분이 피부에 있는 독소를 제거하고 모세혈관을 확장시켜 피를 맑게 하는 청혈작용이 뛰어나다.
- [0060] 녹차(綠茶)는 강력한 항암효과를 갖는 카테킨 성분이 다량 들어있고, 염증 및 세균감염 억제와, 혈당상승 억제, 항산화작용으로 노화방지, 중금속과 니코틴을 해독하고, 피로회복과 숙취제거, 산성체질의 변화, 충치 및 입냄새 제거, 피부가 맑아지고 노화를 방지하는 효과가 있다.
- [0061] 마치현은 리그닌과 모리브덴 등의 치암의 성분이 풍부하고 발암물질을 분리하는 작용을 하고, 염증제거, 가려움증제거, 아토피성 염증제거 및 각종 피부염을 완화시키고, 피지조절작용 및 항알레르기 효과를 나타낸다.
- [0062] 제 2 단계 : 초탕 제조
- [0063] 고온숙성된 대자호와 생약재 15~25 중량%를 정제수 75~85중량%와 함께 탕기에 투입한 뒤 센불(화기의 레버를 전부 열어 놓은 상태로서 화구에서 나온 불길이 용기 바닥 전체에 닿을 정도의 화력을 의미하는 것으로 98℃ 이상의 온도를 갖는 화력을 의미함)로 끓인후 약불(화기의 레버를 거의 닫아 놓은 상태로서 화구에서 나온 불길이 겨우 살아 있어 재료의 표면이 살짝 끓을 정도의 화력을 의미하는 것으로 40~60℃ 이상의 온도를 갖는 화력을 의미함)로 48~72시간 달여 초탕을 만든다.
- [0064] 제 3 단계 : 재탕 제조
- [0065] 제 2 단계에서 만들어진 초탕을 다른 용기에 옮겨 담고 정제수 37~43 중량%를 투입한 뒤 센불로 끓인 후 약불로 3~4시간 달여 재탕을 만든다.
- [0066] 제 4 단계 : 초탕과 재탕의 혼합숙성탕액 제조

- [0067] 상기 재탕된 대자효와 생약재를 제거한 뒤 초탕과 재탕을 혼합한 혼합액을 약불로 24~36시간 달여 혼합액 총중량의 7.5~8.5 중량%의 혼합숙성탕액을 얻는다.
- [0068] 이와 같은 초탕 및 재탕 제조, 그리고 초탕과 재탕을 혼합하여 달여 혼합숙성탕액을 제조하는 과정을 통해, 1차적으로 고온숙성된 생약재들은 역한 냄새가 감소되고 상호 용해된다.
- [0069] 제 5 단계 : 혼합숙성탕액과 가성소다를 혼합
- [0070] 혼합숙성탕액 65~75 중량%과 가성소다 25~35 중량%를 혼합한 뒤 40~55℃로 냉각한다. 일체의 추가적인 물의 첨가없이 혼합숙성탕액만으로 가성소다와 혼합하여 반응시킨다. 가성소다는 혼합숙성탕액과 반응하여 가스를 방출하며 고열을 발생시키는데, 이를 공기중에서 냉각시켜 40~55℃가 되게 한다.
- [0071] 제 6 단계 : 캐리어오일을 첨가하여 비누화
- [0072] 코코넛오일, 팜오일, 올리브오일, 동백오일, 피마자오일, 미강오일, 해바라기오일, 포도씨오일 중 2 이상을 포함하여 혼합된 캐리어오일 65~75 중량%을 40~55℃로 가열하여 상기 냉각된 가성소다 및 생약숙성탕액 혼합물 25~35 중량%를 천천히 투입하면서 혼합물을 교반하여 비누화시킨다.
- [0073] 캐리어오일을 모두 첨가시에는 캐리어오일은 코코넛오일 1500g, 팜오일 500g, 올리브오일 800g, 동백오일 400g, 피마자오일 300g의 비율로 계량될 수 있다.
- [0074] 제 7 단계 : 비누화된 혼합물에 에센셜오일 첨가
- [0075] 비누화된 혼합물 95~98 중량%에 라벤더, 레몬, 크라리세이지, 일랑일랑, 로즈마리, 티트리, 시더우드 중 2이상을 포함하여 혼합된 에센셜오일 2~5 중량%를 첨가하여 교반한다.
- [0076] 상기 에센셜오일을 첨가하는 이유는 보온숙성 및 초탕, 재탕을 통해 생약재의 역한 냄새를 대부분 감소시켰으나 특유의 한약 냄새가 남아 있어 이를 개선하고 각 오일의 기능적 특성을 부가하고자 첨가한다.
- [0077] 에센셜오일 중 라벤더(Lavender)는 꽃향기가 풍부하고 방부효과 및 여드름, 피부염, 종기, 습진, 벌레물린데, 무좀, 버짐, 상처, 주름살에 효과가 있고 스트레스, 우울증, 불면증, 두통 치료에 도움이 된다.
- [0078] 또한, 레몬(Lemon)은 강한 산미로 피로회복, 혈액순환, 신진대사 활성화, 피부와 점막을 강화, 세균에 대한 저항력을 강화시켜주고, 지성피부의 각질제거 및 상처회복, 모발 세정에 효과가 있다.
- [0079] 또한, 크라리세이지(Clary sage)는 방부, 살균, 신경안정, 약취예방, 해열작용으로 민감성 피부 자생, 스트레스 해소 및 외상치료, 지루성 비듬, 발모효과가 있다.
- [0080] 또한, 일랑일랑(Ylang Ylang)은 안정효과, 최음효과, 방부효과, 여드름치료 효과, 정상혈압 유지, 통증완화 효과, 두피를 자극하여 탈모 예방 및 피부에 수분밸런스 조절과 모발끝 갈라짐 예방에 효과가 있다.
- [0081] 또한, 로즈마리(Rosemary)는 세포재생 촉진, 림프배출촉진 작용이 있고, 섬유아세포 생성촉진 작용으로 노화 피부에 효과적일 뿐 아니라 혈행촉진, 항균, 방부, 진통, 염증완화, 성욕강화, 배뇨촉진 작용이 있으며, 강한 향으로 뇌세포에 활기를 주어 기억력, 집중력, 치매예방, 윤기와 탄력을 유지, 신경통, 비듬, 탈모 예방, 모발성장엔 효과적이다.
- [0082] 또한, 티트리(Tea tree)는 균에 의한 피부질환에 효과적으로 여드름, 습진, 지성피부, 무좀, 사마귀, 벌레물린데, 비듬, 상처에 효과가 있고 면역체계 향상에 효과가 있다.
- [0083] 또한, 시더우드(Cedarwood)는 림프배출을 돕고 셀룰라이트 분해, 여드름, 지성모발, 비듬, 방부에 효과, 배뇨촉진, 수렴, 살균작용이 있어 지성피부에 최고의 효과를 발휘, 여드름 치유, 두피의 지루성 비듬, 탈모증에 좋을 뿐만 아니라 신경완화, 두피 세포의 해독 촉진 작용이 있어 헤어 토닉에 사용되며 탈모 예방에도 효과적이다.
- [0084] 제 8 단계 : 충분한 천연영양성분 생성을 위한 보온숙성
- [0085] 상기 에센셜오일이 첨가된 혼합물을 틀에 붓고 완전 밀폐된 상태에서 30~40℃의 온도에서 48~120시간 동안 보온숙성하여 천연영양성분이 생성되도록 숙성도를 높인다.
- [0086] 본 단계를 완전 밀폐된 상태에서 진행하는 이유는 상기 비누화된 혼합물이 공기와 계속 접촉하게 되면 단시간에 굳어져버리게 된다. 굳어진 채로는 충분히 천연영양성분이 생성되지 않게 되므로, 굳어지기 전에 충분한 천연영양성분과 글리세린이 생성될 수 있도록 밀폐된 상태에서 장시간의 보온숙성을 진행하는 것이다.

- [0087] 제 9 단계 : 비누의 실온숙성
- [0088] 상기 보온숙성후 고체화된 비누를 틀에서 분리하여 그늘지고 통풍되는 장소에서 4~6주간 22~28℃의 실온숙성한다.
- [0089] 제 10 단계(S1000) : PH테스트로 산도측정
- [0090] 실온숙성을 마친 천연비누의 조각을 분리하여 산도를 측정하기 위해 PH테스트를 시행하고 산도가 중성~9(약알칼리) 정도인지 확인하여 제품을 완성하게 된다.
- [0093] 이하, 실시예를 바탕으로 대자호를 함유하는 천연샴푸에 대한 특성에 대하여 자세히 설명한다.
- [0094] <대자호를 함유하는 샴푸의 제조>
- [0095] 본 발명의 실시예와 동일한 과정을 통해서 대자호 추출물이 포함된 샴푸(실시예: 대자호 추출물 1kg, 연잎 300g, 편백 300g, 측백 300g, 검정콩 300g, 어성초 300g, 녹차 300g, 마치연 300g, 정제수 10.2kg)와, 대자호 추출물 없이 제조한 샴푸(비교예: 연잎 300g, 편백 300g, 측백 300g, 검정콩 300g, 어성초 300g, 녹차 300g, 마치연 300g, 정제수 10.2kg)를 주성분으로 사용)를 제조하였다.
- [0096] <실험방법>
- [0097] 피시험자 선정기준 : 18~54세의 안드로겐성 탈모증으로 진단된 남녀, Basic and specific (BASP) 분류에 의해 basic type은 M2이상 또는 C2이상 또는 U1이상, specific type은 V1 이상 또는 F1이상으로 진단된 남녀 안드로겐성 탈모증환자, orwood-Hamilton 분류에 의해 3이상으로 진단된 남성 환자 또는 Ludwig 분류에 의해 이상으로 진단된 여성환자를 대상으로 하였다.
- [0098] 사용장비 : (1) Folliscope<sup>®</sup>(고해상도칼라비디오영상장치(Video microscopic camera)와 별도의 folliscope 소프트웨어 Phototrichogram)가 장착된 컴퓨터를 이용하여 모발의 주요 특성인 밀도, 굵기, 성장속도 등을 분석할 수 있는 시스템 장비이다), (2) 디지털카메라(Canon EOD 750D)(임상 사진 촬영시 사용하여 동일한 각도와 위치에서 피험자의 정수리와 헤어라인 촬영이 가능하도록 고정 거치대에 부착하여 사용하였다).
- [0099] 시험절차 : 시험개시 2주전에 시험대상자 판정, 동의 wash out 제품교부 및 시험부위 점 문신 시행하고, 점 문신을 중심으로 포토트리코그램을 시행하고, 사진촬영하였다. 시험 8주차와 16주차, 24주차에 Folliscope 촬영 및 사진촬영에 의한 육안평가, 안정성평가, 설문평가 후 8주차의 시험시료를 교부하였다.
- [0100] <실험결과>
- [0101] (1) 평균 모발수(N/cm<sup>2</sup>) 변화 확인
- [0102] 대자호 추출물이 함유된 실시예의 샴푸를 사용한 시험군과 대자호 추출물이 함유되지 않은 비교예의 샴푸를 사용한 대조군에 대한 24주차의 모발수 변화를 확인하였으며, Phototrichogram을 통한 기기평가 결과 모발수(N/cm<sup>2</sup>)의 이미지를 도 8a, 도 8b에 나타내었고, 평균 모발수를 표 2에 나타내었으며, 모발수 및 개선율을 도 9a, 도 9b에 각각 나타내었다.

**표 2**

[0103]

구분	0주	8주차	16주차	24주차
시험군	78.65±12.95	80.30±13.98	85.96±14.02	90.83±14.67
비교예	82.65±25.76	80.57±19.30	80.48±18.90	81.52±19.50

[0104] 도 8a, 도 8b, 표 2, 도 9a 및 도 9b에 나타난 바와 같이, 시험군의 경우 0주차 78.65, 8주차 80.30, 16주차 85.96, 24주차 90.83 등과 같이 통계적으로 유의한 수준(p<005)으로 모발수가 증가하였다. 반면에 대조군의 경우 0주차 82.09, 8주차 80.57, 16주차 80.48, 24주차 81.52 등과 같이 통계적으로 유의한 수준(p<005)의 차이를 확인할 수 없었다.

[0105] 또한, 시험군과 대조군 그룹간 차이를 확인한 결과 시험군과 대조군 그룹간의 모발수는 통계적으로 유의한 수준(p<005)의 차이를 가지는 것을 확인하였고, 주차별 모발수 변화양상을 그룹간 비교한 교호작용 분석에서도 시험군과 대조군의 모발수의 주차별 변화양상이 통계적으로 유의한 수준(p<005)의 차이를 가지는 것을 확인할 수 있었다.

[0106] 이와 같이, 대자호 추출물을 함유하는 샴푸는 발모촉진 기능을 갖는 것을 확인할 수 있었다.

[0107] (2) 안정성 평가

[0108] 대자호 추출물을 함유하는 실시예의 샴푸의 사용에 따른 피시험자의 주관적 자극감(가려움, 바늘로 찌르는 느낌, 화끈거림, 따끔거림, 뻣뻣함, 기타 이상감각)과 객관적 자극반응(홍반, 부종, 구진, 기타 이상증)에 대하여 발생건수를 확인하여 표 3에 나타내었다.

표 3

[0109]

경증	구분	경증	중등증	중증
주관적 자극감	가려움	0	0	0
	바늘로 찌르는 느낌	0	0	0
	화끈거림	0	0	0
	따끔거림	0	0	0
	뻣뻣함	0	0	0
	기타 이상감각	0	0	0
객관적 자극반응	홍반	0	0	0
	부종	0	0	0
	구진	0	0	0
	기타 이상증	0	0	0

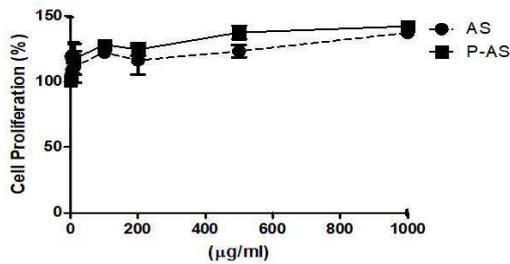
[0110] 표 2과 같이 대자호 추출물을 포함하는 샴푸는 주관적 자극감 및 객관적 자극반응이 모두 확인되지 않았다. 이에 따라 대자호를 함유하는 샴푸는 피시험자들에게 가려움이나 화끈거림 등의 기타 이상징후가 발견되지 않았기에 인체적용 결과 또한 무해한 것으로 판단된다.

[0111] 이처럼, 대자호 추출물을 포함하는 샴푸는 대자호가 대조시료에 비해 통계적으로 유의한 수준의 탈모방지 효과를 나타내었다. 또한 24주간의 임상시험 기간 동안 46명의 모든 피험자에서 특별한 이상반응이 관찰되지 않았다. 결론적으로 모든 대자호가 들어간 시험시료는 탈모방지에 유효하고 안전한 시료로 판단된다.

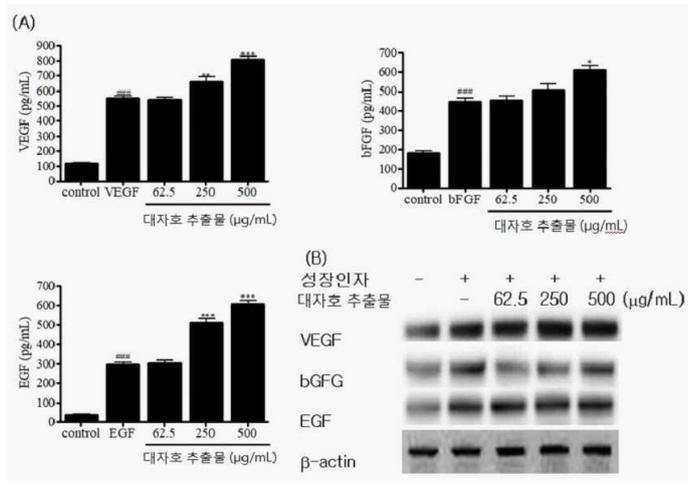
[0113] 이상과 같이, 본 발명은 비록 한정된 실시예와 도면에 의해 설명되었으나, 본 발명은 이것에 의해 한정되지 않으며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 본 발명의 기술사상과 아래에 기재될 청구 범위의 균등범위 내에서 다양한 수정 및 변형이 가능함은 물론이다.

도면

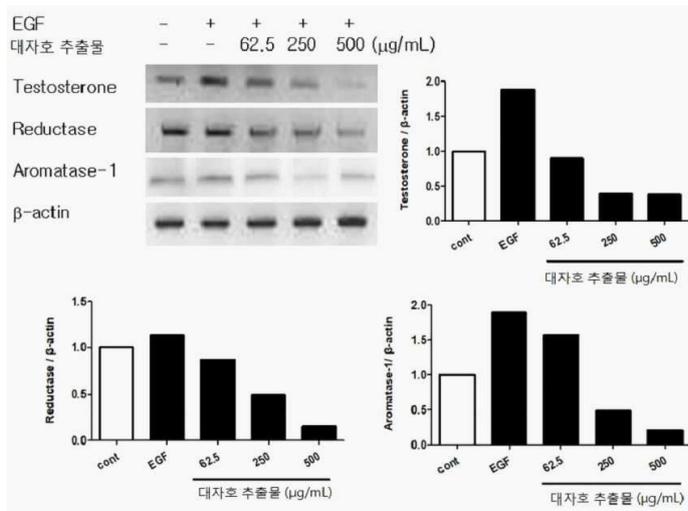
도면1



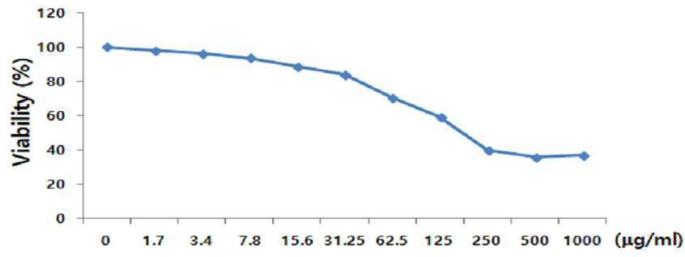
도면2



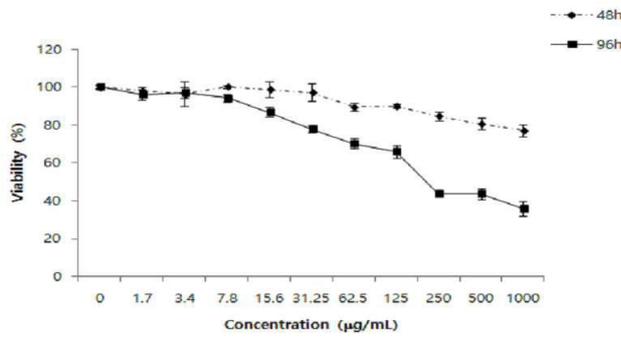
도면3



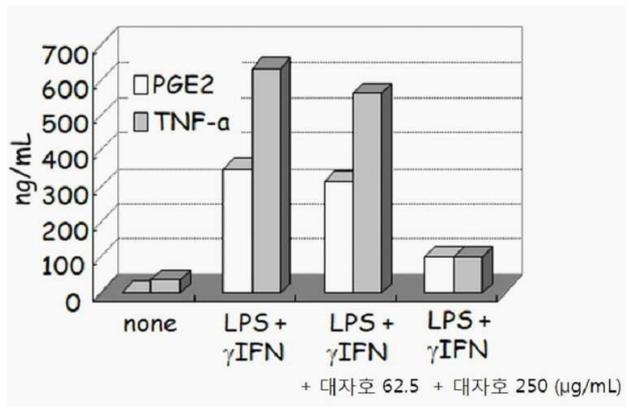
도면4a



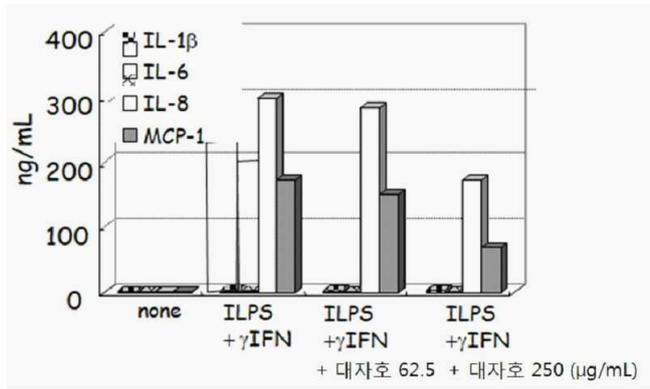
도면4b



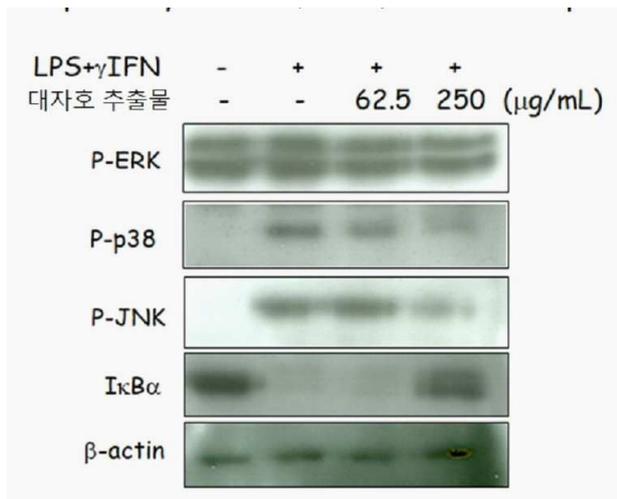
도면5



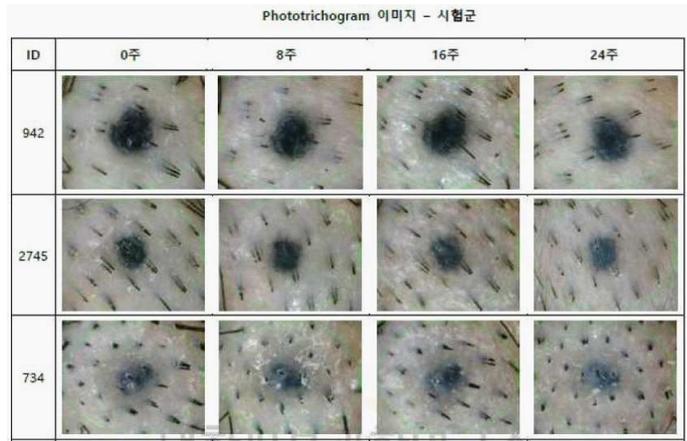
도면6



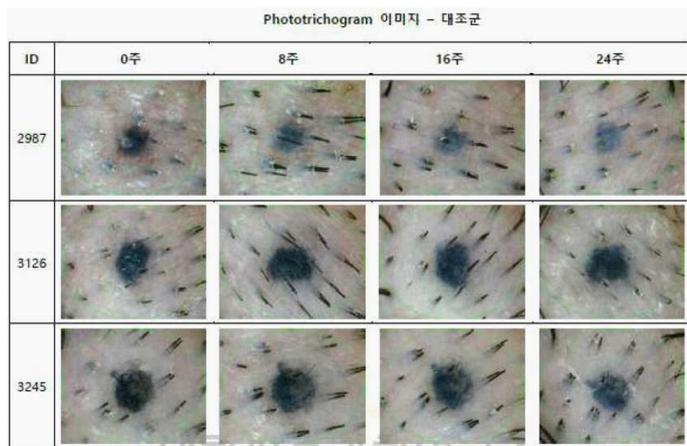
도면7



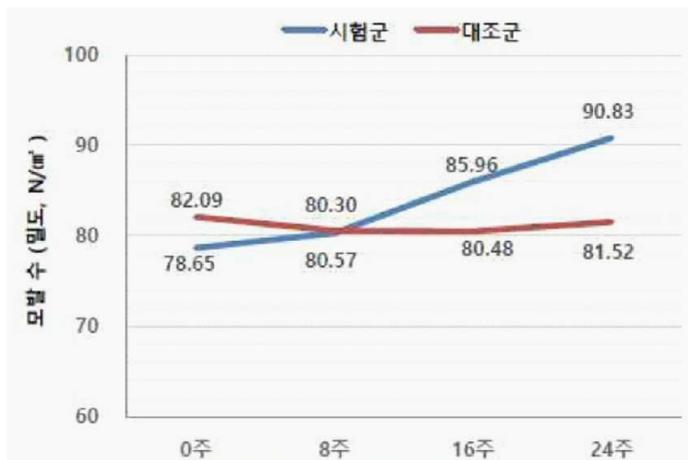
도면8a



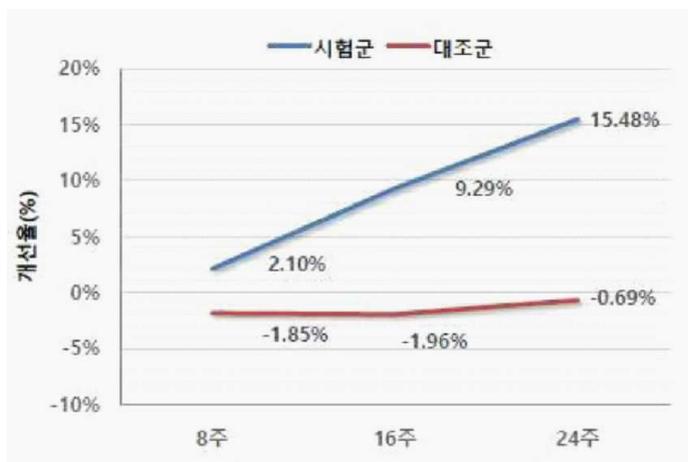
도면8b



도면9a



도면9b



**【심사관 직권보정사항】**

**【직권보정 1】**

**【보정항목】** 청구범위

**【보정세부항목】** 청구항 4

**【변경전】**

대자호 추출물 100중량을 기준으로 연잎, 편백, 측백, 검정콩, 어성초, 녹차 및 마치현을 각각 2~3중량비를 선택하고 깨끗이 수세한 뒤, 숙성기에 넣어 65~95℃에서 재료에 따라 3~21일간 고온숙성하는 단계와;

고온숙성된 대자호와 생약재 15~25 중량%를 정제수 75~85중량%와 함께 탕기에 투입한 뒤 센불(98℃ 이상)로 끓

인후 약불(40~60℃)로 48~72시간 달여 초탕을 만드는 단계와;

초탕을 다른 용기에 옮겨 담고 정제수 37~43 중량%를 투입한 뒤 센불로 끓인 후 약불로 3~4시간 달여 재탕을 만드는 단계와;

재탕된 대자호와 생약재를 제거한 뒤 초탕과 재탕을 혼합한 혼합액을 약불로 24~36시간 달여 혼합액 총중량의 7.5~8.5 중량%의 혼합숙성탕액을 얻는 단계와;

가성칼리 45~55 중량%를 정제수 45~55중량%에 천천히 투입하면서 혼합한 뒤 75~85℃로 냉각하는 단계와;

코코넛오일, 올리브오일, 동백오일, 피마자오일 중 2 이상을 포함하여 혼합된 캐리어오일 63~73 중량%을 75~85℃로 가열하여 상기 냉각된 가성칼리 및 정제수 혼합물 27~37 중량%를 천천히 투입하면서 혼합물을 교반하여 비누화시키는 단계와;

설탕 10~20 중량%와 정제수 80~90 중량%를 혼합한 뒤 교반하면서 80~90℃로 가열하는 단계와;

상기 비누화된 혼합물 70~80 중량%에 상기 설탕물 20~30 중량%를 혼합하여 교반하는 단계와;

상기 비누화된 혼합물과 설탕물의 혼합물을 밀폐용기에 담아 그늘지고 통풍되는 장소에서 1~3주간 22~28℃의 온도에서 실온숙성하여 천연삼푸 페이스트를 얻는 단계와;

상기 실온숙성된 천연삼푸 페이스트 47~57 중량%와 상기 혼합숙성탕액 43~53 중량%를 혼합하여 85~95℃의 온도로 가열하여 12~36시간 교반하는 단계와;

쌀뜨물 90.5~93.5 중량%, 설탕 1~1.5 중량%, 소금 1~1.5 중량%, 당밀 1~1.5 중량%, EM원액 1~1.5 중량%, EM활성액 1~1.5 중량% 및 로즈마리 1.5~2 중량%를 잘 혼합하여 밀봉한 뒤 30~35℃의 온도에서 5~10일간 발효하여 얻어진 EM발효액 12.5~15 중량%를 상기 잘 혼합된 혼합숙성탕액과 천연삼푸 페이스트의 혼합물 85~87.5 중량%에 첨가하고 교반하는 단계와;

상기 EM발효액이 첨가된 천연삼푸 페이스트와 혼합숙성탕액의 혼합물 95~99.9 중량%에 소금 0.1~5 중량%를 첨가하여 80~95℃의 온도에서 교반하는 단계와;

상기 소금이 첨가된 천연삼푸 페이스트와 혼합숙성탕액의 혼합물 98~99 중량%에 기능성 물질인 비타민E와 실크 아미노산을 1~2 중량%를 첨가하여 교반하는 단계와;

상기 기능성 물질이 첨가된 천연삼푸 페이스트와 혼합숙성탕액의 혼합물 94~99 중량%에 라벤더, 레몬, 일랑일랑, 로즈마리, 시더우드 중 2 이상을 포함하여 혼합된 에센셜오일 1~6 중량% 첨가하여 교반하는 단계와;

상기 에센셜오일을 첨가한 천연삼푸 페이스트와 혼합숙성탕액의 혼합물을 밀폐용기에 넣고 그늘지고 통풍되는 장소에서 5~10일 동안 22~28℃의 실온숙성하여 천연삼푸를 얻는 단계;를 포함하여 제조되는 것을 특징으로 하는 탈모예방 및 발모촉진 기능을 갖는 대자호를 이용한 천연삼푸의 제조방법.

**【변경후】**

대자호 추출물 100중량을 기준으로 연잎, 편백, 측백, 김정콩, 어성초, 녹차 및 마치현을 각각 2~3중량비를 선택하고 깨끗이 수세한 뒤, 숙성기에 넣어 65~95℃에서 재료에 따라 3~21일간 고온숙성하는 단계와;

고온숙성된 대자호와 생약재 15~25 중량%를 정제수 75~85중량%와 함께 탕기에 투입한 뒤 센불(98℃ 이상)로 끓인 후 약불(40~60℃)로 48~72시간 달여 초탕을 만드는 단계와;

초탕을 다른 용기에 옮겨 담고 초탕 100중량을 기준으로 정제수 37~43 중량비를 투입한 뒤 센불로 끓인 후 약불로 3~4시간 달여 재탕을 만드는 단계와;

재탕된 대자호와 생약재를 제거한 뒤 초탕과 재탕을 혼합한 혼합액을 약불로 24~36시간 달여 혼합액 총중량의 7.5~8.5 중량%의 혼합숙성탕액을 얻는 단계와;

가성칼리 45~55 중량%를 정제수 45~55중량%에 천천히 투입하면서 혼합한 뒤 75~85℃로 냉각하는 단계와;

코코넛오일, 올리브오일, 동백오일, 피마자오일 중 2 이상을 포함하여 혼합된 캐리어오일 63~73 중량%을 75~85℃로 가열하여 상기 냉각된 가성칼리 및 정제수 혼합물 27~37 중량%를 천천히 투입하면서 혼합물을 교반하여 비누화시키는 단계와;

설탕 10~20 중량%와 정제수 80~90 중량%를 혼합한 뒤 교반하면서 80~90℃로 가열하는 단계와;

상기 비누화된 혼합물 70~80 중량%에 상기 설탕물 20~30 중량%를 혼합하여 교반하는 단계와;

상기 비누화된 혼합물과 설탕물의 혼합물을 밀폐용기에 담아 그늘지고 통풍되는 장소에서 1~3주간 22~28℃의 온도에서 실온숙성하여 천연샴푸 페이스트를 얻는 단계와;

상기 실온숙성된 천연샴푸 페이스트 47~57 중량%와 상기 혼합숙성탕액 43~53 중량%를 혼합하여 85~95℃의 온도로 가열하여 12~36시간 교반하는 단계와;

쌀뜨물 90.5~93.5 중량%, 설탕 1~1.5 중량%, 소금 1~1.5 중량%, 당밀 1~1.5 중량%, EM원액 1~1.5 중량%, EM활성액 1~1.5 중량% 및 로즈마리 1.5~2 중량%를 잘 혼합하여 밀봉한 뒤 30~35℃의 온도에서 5~10일간 발효하여 얻어진 EM발효액 12.5~15 중량%를 상기 잘 혼합된 혼합숙성탕액과 천연샴푸 페이스트의 혼합물 85~87.5 중량%에 첨가하고 교반하는 단계와;

상기 EM발효액이 첨가된 천연샴푸 페이스트와 혼합숙성탕액의 혼합물 95~99.9 중량%에 소금 0.1~5 중량%를 첨가하여 80~95℃의 온도에서 교반하는 단계와;

상기 소금이 첨가된 천연샴푸 페이스트와 혼합숙성탕액의 혼합물 98~99 중량%에 기능성 물질인 비타민E와 실크 아미노산을 1~2 중량%를 첨가하여 교반하는 단계와;

상기 기능성 물질이 첨가된 천연샴푸 페이스트와 혼합숙성탕액의 혼합물 94~99 중량%에 라벤더, 레몬, 일랑일랑, 로즈마리, 시더우드 중 2 이상을 포함하여 혼합된 에센셜오일 1~6 중량% 첨가하여 교반하는 단계와;

상기 에센셜오일을 첨가한 천연샴푸 페이스트와 혼합숙성탕액의 혼합물을 밀폐용기에 넣고 그늘지고 통풍되는 장소에서 5~10일 동안 22~28℃의 실온숙성하여 천연샴푸를 얻는 단계;를 포함하여 제조되는 것을 특징으로 하는 탈모예방 및 발모촉진 기능을 갖는 대자호를 이용한 천연샴푸의 제조방법.