



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0089427
(43) 공개일자 2017년08월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/70 (2006.01) A61K 35/748 (2014.01)
A61K 8/02 (2006.01) A61K 8/97 (2017.01)
A61L 27/18 (2006.01) A61L 27/36 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01) D04H 1/728 (2012.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/7007 (2013.01)
A61K 35/748 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0012884
(22) 출원일자 2017년01월26일
심사청구일자 2017년01월26일
(30) 우선권주장
1020160009450 2016년01월26일 대한민국(KR)

(71) 출원인
인하대학교 산학협력단
인천광역시 남구 인하로 100, 인하대학교 (용현동)
(72) 발명자
신화성
인천광역시 연수구 먼우금로 126, 210동 1201호 (동춘동, 현대대림2차아파트)
변선영
인천광역시 남구 인하로105번길 43, 101호 (용현동)
(74) 대리인
김순웅

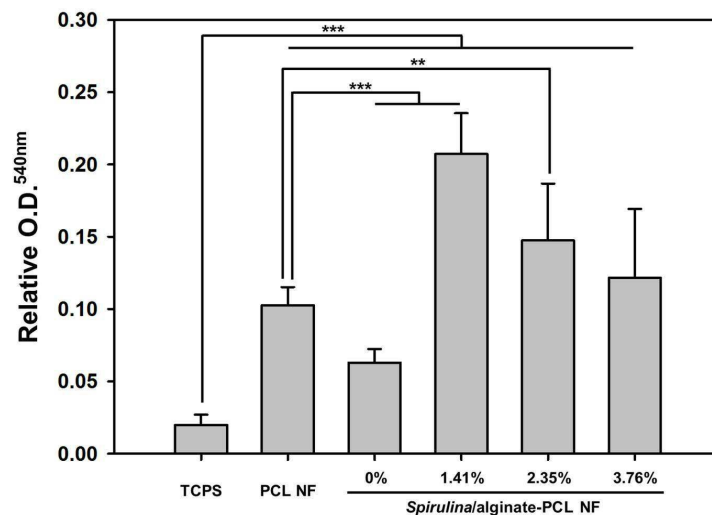
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 보습능 및 피부재생능이 우수한 나노섬유 지지체 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 보습능 및 피부재생능이 우수한 나노섬유 지지체 및 그 제조방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 나노섬유 지지체는 현저한 보습 효과 및 부착능을 가지며, 특히 상기 나노섬유 지지체를 물에 적시는 경우 알지네이트 및 스피루리나가 나노섬유로부터 분비되어 보습능, 즉 피부 상태 개선 효과를 가지는 것이 특징이다. 더욱이 본 발명의 나노섬유 지지체는 생체 적합성이 우수하여 다양한 미용 용품으로 활용될 수 있고, 구체적으로는 화장품, 피부미용 시트 등으로 다양하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도9



(52) CPC특허분류

A61K 8/0208 (2013.01)

A61K 8/975 (2013.01)

A61L 27/18 (2013.01)

A61L 27/3637 (2013.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

D04H 1/728 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 52513-1

부처명 해양수산부

연구관리전문기관 한국해양과학기술진흥원

연구사업명 해양수산생명공학기술개발

연구과제명 해양바이오폐리머 기반 동물실험 대체용 상피조직 개발

기 여 율 1/1

주관기관 인하대학교 산학협력단

연구기간 2015.07.01 ~ 2016.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

(S1) 다공성 중합체를 용매에 용해하여 제1 방사액을 제조하는 단계;
 (S2) 상기 제1 방사액을 1차 전기방사하여 제1 나노섬유층을 형성하는 단계; 및
 (S3) 알지네이트 및 스피루리나를 용매에 용해하여 제2 방사액을 제조하는 단계; 및
 (S4) 상기 제1 나노섬유층에 제2 방사액을 2차 전기방사하여 제2 나노섬유층을 형성하는 단계;
 를 포함하는 것을 특징으로 하는, 복층 구조의 나노섬유 지지체의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,
 상기 복층 구조는 2층 구조인 것을 특징으로 하는, 나노섬유 지지체의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,
 상기 (S1) 단계에서 다공성 중합체는 콜라겐, 젤라틴, 히아루론산(hyaluronic acid), 키토산, 라미닌, 케라틴, 알지네이트(alginate), 피브로넥틴(fibronectin), 폴리카프로락톤(polycaprolactone; PCL), 폴리글리콜산(PGA), 폴리락트산(PLA), 폴리락트산-글리콜산공중합체(PLGA), 폴리- ϵ -카프로락톤(PCL), 폴리아미노산, 폴리안히드라이드(polyanhydride), 폴리오르쏘에스테르(polyorthoester) 및 폴리우레탄(polyurethane)으로 이루어진 군으로부터 하나 이상 선택되는 것을 특징으로 하는, 나노섬유 지지체의 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서,
 상기 (S3) 단계에서 폴리에틸렌 옥사이드(PEO)를 더 포함하여 제2 방사액을 제조하는 것을 특징으로 하는, 나노섬유 지지체의 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,
 상기 (S3) 단계에서 알지네이트는 용매 100중량부에 대하여 1~10중량부로 포함되는 것을 특징으로 하는, 나노섬유 지지체의 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서,
 상기 (S3) 단계에서 스피루리나는 용매 100중량부에 대하여 0.01~10 중량부로 포함되는 것을 특징으로 하는, 나노섬유 지지체의 제조방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 (S3) 단계에서 용매는 물인 것을 특징으로 하는, 나노섬유 지지체의 제조방법.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 (S4) 단계에서 전기방사는 10~25 cm의 거리를 유지한 상태로 0.3~5 ml/h의 속도에서 12~20 kV의 전압범위로 인가하여 수행하는 것을 특징으로 하는, 나노섬유 지지체의 제조방법.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 (S4) 단계 후 가교제를 사용하지 않는 것을 특징으로 하는, 나노섬유 지지체의 제조방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 제조방법으로 제조한, 복층 구조의 나노섬유 지지체.

청구항 11

제10항의 나노섬유 지지체를 포함하는, 피부상태 개선용 화장품 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 피부상태 개선용은 보습 증진용인 것을 특징으로 하는, 화장품 조성물.

청구항 13

제10항의 나노섬유 지지체를 포함하는, 피부미용 시트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 보습능 및 부착능이 우수한 나노섬유 지지체 및 그 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 알지네이트 및 스피루리나를 포함하여 보습능, 부착능 및 피부상태개선 효과를 가지는 복층 구조의 나노섬유 지지체 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 나노섬유는 넓은 표면적과 높은 다공도를 가지고 있다. 나노섬유는 그 직경이 작을수록 부피 대비 면적 비율이 상당히 높다. 넓은 표면적은 습윤 상태를 충분히 조성할 뿐만 아니라 그 구조는 세포외기질의 구조와 유사한 삼차원적인 구조를 가지고 있기 때문에 상처부위에 약물 방출이 용이하고 상처 재생에 효과적이다.

- [0003] 나노섬유는 생체적합성, 생분해성을 가지는 고분자를 이용하여 제조할 수 있다. 상기 생체적합성, 생분해성을 가지는 고분자로는 천연고분자 또는 합성고분자를 모두 사용할 수 있으며, 예를 들어 콜라겐, 젤라틴, 알지네이트, 히알루론산, 키토산 등의 천연고분자나 폴리에틸렌글리콜, 폴리락트산, 폴리글리콜산, 폴리(D,L-락트산-co-글리콜산)의 폴리에스테르, 폴리(카프로락톤), 폴리(하이드록시부티레이트) 등의 합성고분자를 사용할 수 있다.
- [0004] 한편, 나노섬유를 제조하는 방법으로는 자기결합방법(self-assembly), 상분리방법(phase separation), 전기방사법(electrospinning) 등이 있다.
- [0005] 이중 전기방사법으로 제조된 나노섬유는 고분자 용액 또는 용해물의 점탄성을 가진 사출물(jets)의 단축(uniaxial) 연장에 의한 전기방사로부터 형성된다. 상기 절차는 용액의 표면으로부터 수집기의 표면으로 하나 또는 그 이상의 전기적으로 충전된 고분자 용액의 사출물(jets)을 생성하기 위하여 전기장을 이용한다. 고분자 용액(또는 용해물)에 고전압이 걸리면, 상기 용액의 충전된 사출물이 고정된 수집기 방향으로 끌어당겨진다. 상기 사출물은 코일의 내부방향으로 늘어나고 휘어지며, 이것은 접지된 수집기 위의 침전물이 나노미터 범위 내의 직경을 갖는 나노섬유의 형태를 하기 위하여 용매가 증발함에 따라 응고된다. 이렇게 제조된 나노섬유는 약물 전달 시스템이나 조직공학 분야에 이용할 수 있으며, 의류분야, 전기화학분야, 환경 분야 등 여러 분야에 적용 가능하다.
- [0006] 한편, 알지네이트는 인상재료 및 갈조류와 같은 천연재료로부터 추출한 물질로, D-만누론산 및 L-글루론산으로 이루어진 공중합체 형태를 가지고 있으며 끈적거리는 점성의 성분을 가지고 다양한 제형으로 변형이 용이하다는 특징이 있다. 이러한 알지네이트는 일반적으로 2가 양이온, 즉 가교제를 이용한 이온가교(ionic cross-linking)를 통하여 비교적 용이하게 하이드로겔을 생성하는 것이 특징이며, 상기 가교제는 D-만누론산과 L-글루론산과 결합하여 하이드로겔을 형성하여 알지네이트의 안정화를 도모할 수 있다. 다만, 이온가교시 알지네이트와 양이온 용액과의 충분한 혼합이 이루어지지 않는 경우 균일한 물성을 나타내지 못한다는 한계가 있으며, 아울러 상기 가교제를 이용하는 경우 생체에서 독성을 나타내기 때문에 미용 용품으로 활용하기에는 생체 적합성이 떨어진다는 한계가 존재한다.
- [0007] 또한, 미세조류(microalgae)는 해양 생태계의 생산자로서 스스로 광합성을 하는 단세포 생물이다. 스피루리나(Spirulina)는 미세조류 중에서도 녹조류의 일종으로 단백질, 필수지방산, 비타민, 미네랄 등이 풍부하여 인류의 식량자원으로 이용되어 왔고 가축의 사료나 수산양식에서도 널리 활용되어 왔다. 그러나 최근에는 미세조류가 다양한 생리활성 물질을 가지고 있음이 밝혀지면서 식품영양학, 피부미용학, 약학, 의학 등 생명공학 분야에서 주목받고 있다. 미세조류는 그 종류가 수십만에 이르고, 성장환경에 따라 다양한 생리활성 물질을 만들어 낸다. 특히 심해저나 용암지대 등 극한의 환경에서 자라는 미세조류에서는 육상에는 없는 새로운 기능성 물질이 발견되기도 한다.
- [0008] 따라서 미세조류는 그야말로 다양한 생리활성 물질의 보고라 할 수 있다. 그리고 미세조류는 대량생산이 용이하다. 실제로 산업분야에서는 미세조류를 식품이나 수산양식용으로 대량 배양하여 왔다. 최근에는 바이오에너지 분야에서 미세조류를 바이오매스(biomass)로 활용하기 위하여 미세조류의 생산량을 증대하기 위한 연구가 활발하게 이루어지고 있어 앞으로 미세조류의 산업적 가치는 더욱 높아질 것이다. 따라서 미세조류를 생체재료로 활용하는 연구는 해양생명체 유래의 생체 활성 물질을 확보하는 원천기술을 선점하고 조직공학산업과 해양 바이오산업이라는 두 가지의 고부가가치 산업의 복합화를 통한 초고부가가치 산업을 선도할 수 있다는 점에서 큰 의미를 가진다. 더욱이 미세조류는 해양자원으로서 육상자원이 고갈되고 환경관련 규제가 강화될수록 그 중요성이 커질 것이다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0009] (특허문헌 0001) 국내등록특허 제10-1182736호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 이에 본 발명자들은 보습능 및 부착능이 뛰어난 나노섬유 지지체를 연구하던 중, 다공성 중합체, 알지네이트 및

스피루리나의 조합을 통해 현저한 보습능, 부착능 및 피부상태개선 효과가 뛰어난 나노섬유 지지체를 제조하여 본 발명을 완성하였다.

[0011] 따라서, 본 발명의 목적은 (S1) 다공성 중합체를 용매에 용해하여 제1 방사액을 제조하는 단계; (S2) 상기 제1 방사액을 1차 전기방사하여 제1 나노섬유층을 형성하는 단계; 및 (S3) 알지네이트 및 스피루리나를 용매에 용해하여 제2 방사액을 제조하는 단계; 및 (S4) 상기 제1 나노섬유층에 제2 방사액을 2차 전기방사하여 제2 나노섬유층을 형성하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는, 복층 구조의 나노섬유 지지체의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 방법으로 제조한 복층 구조의 나노섬유 지지체 및 이를 포함하는 미용 용품을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 (S1) 다공성 중합체를 용매에 용해하여 제1 방사액을 제조하는 단계; (S2) 상기 제1 방사액을 1차 전기방사하여 제1 나노섬유층을 형성하는 단계; 및 (S3) 알지네이트 및 스피루리나를 용매에 용해하여 제2 방사액을 제조하는 단계; 및 (S4) 상기 제1 나노섬유층에 제2 방사액을 2차 전기방사하여 제2 나노섬유층을 형성하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는, 복층 구조의 나노섬유 지지체의 제조방법을 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 제조한 복층 구조의 나노섬유 지지체를 제공한다.

[0015] 또한, 본 발명은 상기 나노섬유 지지체를 포함하는 피부상태 개선용 화장품 조성물을 제공한다.

[0016] 또한, 본 발명은 상기 나노섬유 지지체를 포함하는 피부미용 시트를 제공한다.

발명의 효과

[0017] 본 발명에 따른 나노섬유 지지체는 현저한 보습 효과 및 부착능을 가지며, 특히 상기 나노섬유 지지체를 물에 적시는 경우 알지네이트 및 스피루리나가 나노섬유로부터 분비되어 보습능, 즉 피부 상태 개선 효과를 가지는 것이 특징이다. 더욱이 본 발명의 나노섬유 지지체는 생체 적합성이 우수하여 다양한 미용 용품으로 활용될 수 있고, 구체적으로는 화장품, 피부미용 시트 등으로 다양하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 복층 구조의 나노섬유 지지체의 제조방법을 도시한 개략도를 나타내는 도이다.

도 2는 SEM을 이용하여 본 발명에 따른 나노섬유 지지체의 외관을 관찰한 결과를 나타내는 도이다.

도 3은 본 발명에 따른 나노섬유 지지체의 외관 관찰을 통하여 도출한 지름을 그래프로 나타내는 도이다.

도 4는 본 발명에 따른 나노섬유 지지체의 외관 관찰을 통하여 도출한 접촉각을 그래프로 나타내는 도이다.

도 5는 SEM을 이용하여 물에 적신 본 발명에 따른 나노섬유 지지체의 외관을 관찰한 결과를 나타내는 도이다.

도 6은 함수율 측정을 통하여 본 발명에 따른 나노섬유 지지체의 보습력을 확인한 결과를 나타내는 도이다.

도 7은 스피루리나 분비량 변화 측정을 통하여 본 발명에 따른 나노섬유 지지체의 물질 분비 효율을 확인한 결과를 나타내는 도이다.

도 8은 점착력 측정을 통하여 본 발명에 따른 나노섬유 지지체의 보습력 및 부착력을 확인한 결과를 나타내는 도이다.

도 9는 MTT 분석을 통하여 본 발명에 따른 나노섬유 지지체의 세포 생존력을 확인한 결과를 나타내는 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 본 발명은 복층 구조의 나노섬유 지지체를 제조하는 방법을 제공한다.

[0020] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0021] 본 발명에 있어서, 복층 구조의 나노섬유 지지체는 단층 이상의 층 구조의 나노섬유 지지체에 관한 것으로, 2층

구조인 것이 바람직하다.

- [0022] 본 발명에 있어서, 상기 복층 구조의 나노섬유 지지체는 도 1에 도시한 바와 같이 (S1) 다공성 중합체를 용매에 용해하여 제1 방사액을 제조하는 단계; (S2) 상기 제1 방사액을 1차 전기방사하여 제1 나노섬유층을 형성하는 단계; (S3) 알지네이트 및 스피루리나를 용매에 용해하여 제2 방사액을 제조하는 단계; 및 (S4) 상기 제1 나노섬유층에 제2 방사액을 2차 전기방사하여 제2 나노섬유층을 형성하는 단계;로 제조할 수 있다.
- [0023] 본 발명에 있어서, 나노섬유 지지체는 일반적으로는 전기방사 시 방사전압이 높으면서 방사거리가 먼 경우 나노섬유의 직경이 가늘어지나, 고분자 용액에 처리되는 방사전압, 방사거리, 방사속도 등에 따라 섬유의 직경과 물성이 정교하게 조절되는 것이다.
- [0024] 본 발명에 있어서, 다공성 중합체는 그 형태를 불문하고 물을 쉽고 빠르게 흡수할 수 있는 중합체라면 어떤 것이든지 사용할 수 있으며, 보다 구체적으로는 콜라겐, 젤라틴, 히아루론산(hyaluronic acid), 키토산, 라미닌, 케라틴, 알지네이트(alginate), 피브로넥틴(fibronectin), 폴리카프로락톤(polycaprolactone; PCL), 폴리글리콜산(PGA), 폴리락트산(PLA), 폴리락트산-글리콜산공중합체(PLGA), 폴리-ε-카프로락톤(PCL), 폴리아미노산, 폴리안하이드라이드(polyanhydride), 폴리오르쏘에스테르(polyorthoester), 폴리우레탄(polyurethane) 등을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 콜라겐, 히알루론산, 키토산, 알지네이트, 피브로넥틴, 폴리카프로락톤일 수 있으며, 폴리카프로락톤인 것이 보다 바람직하나, 이에 본 발명이 제한되는 것은 아니다.
- [0025] 상기 (S1) 단계에서 다공성 중합체는 제1 방사액 제조시 용매에 대하여 10~20 중량부로 포함되는 것이 바람직하며, 13~18 중량부로 포함되는 것이 보다 바람직하다.
- [0026] 상기 (S1) 단계에서 제1 방사액의 제조를 위한 용매는 유기용매를 사용할 수 있고, 상기 유기용매로 테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran, THF), 디메틸포름아미드(dimethylformamide, DMF), 클로로포름(chloroform), 아세톤(acetone), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 에틸아세테이트(ethyl acetate) 등이 포함되며, 바람직하게는 테트라하이드로퓨란 및 디메틸포름아미드의 혼합 용매를 사용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0027] 상기 (S2) 단계에서 본 발명의 나노섬유 지지체의 복층 구조 제조시 1차 전기 방사는 10~25 cm의 방사거리를 유지한 상태로 방사전압 12~25 kV 및 방사속도 0.1~5 ml/h의 전기방사 조건에서 20~40분간 수행하는 것이 특징이며, 보다 바람직하게는 13~22 cm의 방사거리를 유지한 상태로 방사전압 13~18 kV 및 방사속도 0.5~3 ml/h의 전기방사 조건에서 20~40분간 수행할 수 있다.
- [0028] 상기 (S3) 단계에서 폴리에틸렌 옥사이드(PEO)를 더 포함하여 제2 방사액을 제조할 수 있으며, 이때 포함되는 PEO는 용매에 대하여 1~10 중량부로 포함되는 것이 바람직하며, 3 내지 5 중량부로 포함되는 것이 보다 바람직하나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0029] 상기 (S3) 단계에서 알지네이트는 인상재료(수용성인 나트륨알지네이트 및 트리에타놀아민알지네이트), 갈조류에서 추출한 물질을 주재료로 하는 것으로, 나노섬유 지지체의 제조시 용매 100중량부에 대하여 1~10 중량부로 포함되는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 2~8 중량부로 포함될 수 있다. 그 함량이 1 중량부 미만일 경우에는 알지네이트가 가지는 효과가 발현되지 않을 수 있고, 10 중량부를 초과할 경우에는 용액의 점성이 과도하게 강해져 전기 방사 시에 나노섬유 형태로 제형화가 어렵다.
- [0030] 본 발명에 있어서, 스피루리나는 해양유래 남세균으로, 색소단백질인 피코시아닌을 포함하고 있는 것이 특징이며, 천연적으로 재배한 것을 사용하여도 되고, 인공적으로 가공하여 시판되는 것을 제한없이 사용할 수 있다. 상기 피코시아닌은 상처 부위나, 수술 부위 등에 적용 시 세린단백질 가수분해효소(serine protease) 분비를 촉진시키고, 피브린용해성(fibrinolytic)을 증진시켜 섬유아세포의 이동을 도와 진피층의 피부를 재생시키는 역할을 하는바, 이를 구성으로 포함하여 제조하는 본 발명에 따른 나노섬유 지지체는 물과의 접촉으로 분비되는 스피루리나에 의하여 현저한 피부상태 개선, 특히 보습 및 피부재생능을 가진다.
- [0031] 아울러, 본 발명에 있어서, 상기 스피루리나의 형태는 크게 제한되지 않고, 추출물을 분말 형태로 제형화하여 사용하는 것이 바람직하나, 이에 본 발명이 제한되는 것은 아니다. 또한, 본 발명에서 사용되는 스피루리나 추출물은 물, 수용성 알코올, 또는 이들의 혼합용매로 추출한 것일 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 상기 수용성 알코올은 에탄올 또는 메탄올일 수 있다. 추출 방법으로는 여과법, 열수추출, 침지추출, 환류냉각추출, 초음파추출 등 당업계의 통상적인 방법을 이용할 수 있으며, 열수추출법으로 1~5회 추출하는 것일 수 있다. 상기 추출은 20~40℃의 온도에서, 12~48시간 동안 수행될 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 또한 상기 추출 후에는 통상의 방법에 따라 여과한 후 감압농축하고 건조하여 스피루리나 분말을 얻을 수 있다. 이때 상기 감압농축은 진공 감압농축기 또는 진공회전증발기를 이용할 수 있으며, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동

결건조할 수 있다.

- [0032] 상기 (S3) 단계에서 스피루리나는 사용되는 용매 100중량부에 대하여 0.01~10 중량부로 포함되는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 0.01~5 중량부로 포함될 수 있다. 그 함량이 0.01 중량부 미만일 경우에는 보습력이 저해될 수 있고, 5 중량부를 초과할 경우에는 용액의 점성 및 친수성이 과도하게 강해져 전기 방사 시에 나노섬유 형태로 제형되기 어렵다.
- [0033] 상기 (S3) 단계에서 제2 방사액의 제조를 위한 용매는 물, 테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran, THF), 디메틸포름아미드(dimethylformamide, DMF), 클로로포름(chloroform), 아세톤(acetone), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 에틸아세테이트(ethyl acetate) 등이 포함되며, 바람직하게는 물, 테트라하이드로퓨란 및 디메틸포름아미드의 혼합 용매를 사용할 수 있고, 보다 바람직하게는 수용액 상에서 제조하는 것이 바람직하다. 본 발명에서 제1 방사액 제조시 다공성 중합체를 녹이기 위하여 미량의 유기용매가 사용될 수 있으나 전반적으로 방사액 제조시 수용액을 사용하는 것이 바람직한데, 수용액을 사용하는 경우 민감한 피부에서도 독성을 나타내지 않고 보습 및 부착능력을 나타낼 수 있어 미용 패치 등으로의 활용시 현저한 효과를 기대할 수 있다.
- [0034] 상기 (S4) 단계에서 본 발명의 나노섬유 지지체의 복층 구조 제조시 2차 전기 방사는 전압 12~20 kV, 용액의 방사속도 0.01~5 ml/h 및 방사거리 10~25 cm의 전기방사 조건에서 20~40분간 수행하는 것이 바람직하며, 보다 바람직하게는 전압 12~18 kV, 용액의 방사속도 0.1~4 ml/h 및 방사거리 13~18 cm의 전기방사 조건에서 수행할 수 있다.
- [0035] 상기 (S4) 단계 후 일반적인 나노섬유 지지체는 섬유에 포함되는 알지네이트의 안정화를 위하여 CaCl_2 와 같은 가교제를 사용한다. 다만, 본 발명에 있어서는 (S4) 단계 후 가교제를 사용하지 않는 것을 특징으로 하나, 이에 본 발명이 제한되는 것은 아니다. 가교제를 사용하지 않는 경우 물에 적셔진 본 발명에 따른 나노섬유 지지체의 부착면에서 알지네이트가 고르게 분비될 수 있는 바 이에 따라 본 발명의 나노섬유 지지체의 부착력 및 보습력이 현저해진다는 특징이 있다.
- [0036] 한편, 가교제의 미사용은 본 발명의 제조방법에 따라 제조한 나노섬유 지지체가 일반적인 나노섬유 지지체에 비하여 안정성이 뛰어난 것을 나타내며, 동시에 가교제의 미사용으로 나노섬유의 적용에도 화학물질에 의한 독성이 나타나지 않아 보다 생체 적합성인 것이 특징이다.
- [0037] 또한 본 발명은 상기 나노섬유 지지체의 제조방법으로 제조한 복층 구조의 나노섬유 지지체를 제공한다.
- [0038] 본 발명에 있어서, 본 발명의 나노섬유 지지체는 복층 구조인 것이 바람직하며, 2층 구조인 것이 보다 바람직하고, 이에 따라 본 발명의 나노섬유 지지체는 그 지름이 30~200 nm인 것이 바람직하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 그 지름이 30 nm 이하일 경우에는 외부적 힘에 의해 쉽게 파손될 가능성이 크며, 200 nm 이상일 경우에는 스피루리나 방출이 저해될 가능성이 있다. 아울러 2층 이상의 다층구조일 경우에는 두께가 30~200 nm인 것이 바람직하며, 보다 바람직하게는 30~100 nm인 것이 바람직하다.
- [0039] 본 발명에 있어서, 상기 나노섬유 지지체는 보습능, 즉 피부개선효과 및 부착능이 우수한 것을 특징으로 한다.
- [0040] 본 발명에 있어서, 나노섬유 지지체는 필요에 따라 보습능 및 부착능의 개선 효과를 증대시키기 위한 공지의 유효성분을 1종 이상 더 포함할 수 있다.
- [0041] 또한 본 발명은 상기 나노섬유 지지체를 포함하는 피부상태 개선용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0042] 본 발명에 있어서, 피부 상태 개선은 피부톤(tone), 피부 주름, 피부탄력성 및 피부결 등을 포함하는 피부 건강과 아름다움의 상태를 더 나은 상태가 되도록 하는 것으로, 구체적으로 피부 상태 개선용은 보습 증진용인 것을 특징으로 하나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0043] 본 발명에 있어서, 화장료 조성물은 상기 나노섬유 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 사용되는 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료, 향료 등과 같은 통상적인 보조제 및 담체가 더 포함될 수 있다. 예를 들어, 상기 화장료 조성물에는 글리세린, 부틸렌 글라이콜, 폴리옥시에틸렌 경화피마자유, 토크페릴 아세테이트, 시트릭산, 판테놀, 스쿠알란, 소듐 시트레이트, 알란토인 등의 보조성분이 추가로 더 포함될 수 있다.
- [0044] 본 발명에 있어서, 화장료 조성물은 기본적으로 피부에 도포되는 것이므로, 당업계의 화장료 조성물을 참조하여 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있다. 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양

화장수, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 아이크림, 클렌징크림, 클렌징폼, 클렌징워터, 마스크팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

[0045] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화아연 등이 포함될 수 있다.

[0046] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트, 폴리아미드 파우더 등이 포함될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄, 디메틸 에테르 등의 추진체를 포함할 수 있다.

[0047] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로 용매, 용해화제, 유탁화제 등이 포함될 수 있고, 구체적으로 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜, 소르비탄의 지방산 에스테르 등이 포함될 수 있다.

[0048] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로 물, 에탄올, 프로필렌글리콜 등의 액상 희석제; 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르 등의 현탁제; 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가, 트라칸트 등이 포함될 수 있다.

[0049] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성유, 라놀린유도체, 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 포함될 수 있다.

[0050] 또한 본 발명은 상기 나노섬유 지지체를 포함하는 피부미용 시트를 제공한다.

[0051] 상기 피부미용 시트는 마스크팩, 패치 등일 수 있다.

[0052] 본 발명에 있어서, 피부미용 시트는 통상의 방법에 따라 제조할 수 있으며, 일례로 본 발명의 유효성분인 나노섬유와 갈락토미세스발효여과물, 정제수, Carbopol #940(2%), 1,3-부틸렌글리콜, 나트라졸(NATRASOL 250HHR), 프로필렌글리콜, 알란토인, DL-판테놀, 글리세린, HC-60, 복합파라벤(PHENONIP), M.P, PF(W80402), 트리에탄올아민, 폴리감마글루탐산(PGA-BG, 1%), HYAL-JOINT(1%), SKIN SILK OH4, 알로에 추출물, G.P.C, 세라마이드, 바썸(BSASM) 및 실크프로테인을 이용하여 다음과 같이 제조할 수 있다.

[0053] 일례로, 마스크팩은 다음과 같이 제조할 수 있다. 먼저, 정제수, 카보머 및 부틸렌글리콜을 혼합하여 1,500rpm의 속도로 60분간 교반하면서 균일하게 용해시킨다. 그 다음, 수상 원료들을 용해시키고, 향 및 보존제 원료들을 70~75℃로 가온하면서 용해시킨다. 상기 향 및 보존제 원료 혼합물 수상 원료 혼합물에 투여하면서 2,000~3,000rpm의 속도로 30분간 유화 혼합한 다음, 1,500~2,000rpm의 속도로 20분간 더 혼합하여 마스크 원액을 준비한다. 상기 마스크 원액에 본 발명의 나노섬유를 원액 총 중량에 대하여 1~50중량%로 첨가한 후 15분간 충분히 혼합하고, 100메쉬로 여과하여 마스크 원액을 준비한다. 이어서, 통상의 마스크팩에 사용되는 마스크 시트지에 상기 마스크 원액을 충전한 후 마스크 실링기를 사용하여 마스크 접착하여 마스크팩을 제조할 수 있다.

[0054] 중복되는 내용은 본 명세서의 복잡성을 고려하여 생략하며, 본 명세서에서 달리 정의되지 않은 용어들은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상적으로 사용되는 의미를 갖는 것이다.

[0055] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니므로 발명의 요지와 범위로부터 벗어남이 없이 다양한 수정이나 변형을 하는 것이 가능하다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0056] 실시예 1. 스피루리나(spirulina) 추출물의 제조

[0057] 스피루리나 가루(Nature's Care 사(Belrose, Australia))를 1 L의 증류수에 첨가하고 하루동안 교반해 주었다. 그 후 스피루리나 용액을 5분 동안 100 xg로 원심분리하였으며, 상층액을 다른 병에 모았다. 상층액이 분리된 용액을 왓먼(whatman) 여과지로 감압 하에 여과하였고, 상층액은 동결 건조하였다. 상기 일련의 과정을 통해 제조된 스피루리나 추출 용액은 가루 형태로 20℃에 저장해두었다.

[0058] 실시예 2. 복층 구조의 나노섬유 지지체 제조

[0059] 다공성 중합체의 일종으로 폴리카프로락톤을 이용하였다. 먼저, PCL 나노섬유는 전기방사 기술을 이용하여 제조하였다. 이를 위하여 우선, 테트라하이드로퓨란(THF)과 디메틸포름아미드(DMF)를 7:3의 부피비로 혼합시킨 용매 10 mL에 폴리카프로락톤(PCL) 1.5 g을 용해시켜 15 %(w/v)의 제1 방사액을 제조하였다. 상기 제1 방사액 15 mL를 18 G 바늘(needle)을 통해 1 mL/hr의 속도로 분사시켰으며, 제1 방사액이 분사되는 동안 전기방사 방법을 이용하여 30분 동안 바늘과 집전체(collector) 사이에 15 cm의 거리를 두고 15 kV의 전압을 걸어서 나노섬유 형태의 제1 나노섬유층을 제형화하였다.

[0060] 그 다음, 용매인 증류수 10 mL에 알지네이트 0.4 g 및 폴리에틸렌 옥사이드(PEO) 0.5 g을 첨가한 후, 상기 용매에 대하여 0, 1.41, 2.35, 3.76 중량부(w/v)의 스피루리나 추출물 분말을 첨가하여 제2 방사액을 제조하였다. 이 후 22 G 바늘(needle)을 이용하여 상기 제1 나노섬유층 위에 제2 방사액을 0.3 mL/hr의 속도로 분사시켰으며, 제2 방사액이 분사되는 동안 전기방사 방법을 이용하여 30분 동안 바늘과 집전체(collector) 사이에 15 cm의 거리를 두고 15 kV의 전압을 걸어서 나노섬유 형태로 제2 나노섬유층을 제형화하였다. 상기 제형된 2층 구조의 나노섬유는 진공 상태에서 밤 동안 방치하였으며, 이후 유기용매를 제거하여 본 발명에 따른 2층 구조의 나노섬유 지지체를 제조하였다. 별도로 상기 나노섬유 지지체에 2%(w/v) 농도의 CaCl_2 를 처리하여 가교 결합이 형성된 나노섬유 지지체를 추가로 제조하였다. 상기 일련의 과정을 도시한 개략도는 도 1에 나타내었다.

[0061] 실시예 3. SEM 관찰을 통한 나노섬유 지지체의 물리적 특성 확인

[0062] SEM(scanning electron microscope)을 이용한 외관 관찰을 통하여 복층 구조의 나노섬유 지지체의 물리적 특성인 나노섬유 지지체의 지름을 확인하고, 이 후 접촉각 분석기를 이용하여 나노섬유 지지체에 떨어진 물방울의 접촉각을 측정하였다. 먼저, 실시예 2에서 제조한 나노섬유 지지체를 진공 챔버(chamber)에서 건조한 후, 백금으로 코팅하였다. 이 후 15 cm의 거리를 두고 15 kV 하에서 SEM을 이용하여 관찰하고 이미지 J로 분석을 수행하였으며, 그 결과는 도 2에 나타내었고, 섬유의 지름을 환산한 결과를 도 3에 나타내었다. 또한 3 μL 의 물방울을 각 나노섬유 샘플에 떨어뜨린 후 접촉각을 측정한 결과를 도 4에 나타내었다. 구체적으로 도 2a에는 PCL, 2b는 알지네이트, 2c는 알지네이트 및 스피루리나 1.41 중량부, 2d는 알지네이트 및 스피루리나 2.35 중량부, 2e는 알지네이트 및 스피루리나 3.76 중량부로 제조한 나노섬유 지지체에 대한 결과를 나타내었다.

[0063] 도 2에 나타난 바와 같이, SEM 관찰 결과를 통하여 패치의 표면 및 섬유의 지름을 확인하였다. 또한 도 3에 나타난바와 같이 각 나노섬유의 지름은 1843 ± 547 , 173 ± 25 , 77 ± 18 , 73 ± 17 , 및 63 ± 14 nm으로, 1.41 중량부의 스피루리나가 첨가되어 제조된 나노섬유 지지체의 지름이 가장 긴 것을 확인하였고, 3.76 중량부의 스피루리나가 첨가되어 제조된 나노섬유 지지체의 지름이 가장 짧은 것을 확인하였다.

[0064] 아울러 도 4에 나타난 바와 같이 상기 각 나노섬유의 접촉각은 121.06 ± 5.56 , 70.01 ± 6.13 , 55.39 ± 1.49 , 36.15 ± 8.66 , 및 25.41 ± 7.85 °으로, PCL 나노섬유인 기저층이 가장 높은 접촉각을 가지는 것으로 가장 소수성이 높은 물질임을 확인하였고, 스피루리나의 첨가량이 증가함에 따라 친수성도가 높아짐을 확인하였다.

[0065] 실시예 4. 함수율 측정을 통한 나노섬유 지지체의 보습력 확인

[0066] 상기 실시예 3에서 확인한 보습력이 시간 경과에도 유지되는 지 여부를 확인하기 위하여 함수율(moisture content) 측정을 수행하였다. 먼저, 실시예 2에서 제조한 나노섬유 지지체를 증류수를 처리하기 전에 상기 나노섬유 지지체를 2 cm×2 cm 크기로 정리한 후 무게를 측정하였다. 이 후 30분 동안 각각 나노섬유를 증류수가 담긴 60 nm의 페트리 디쉬에 담귀 놓았다. 이 후 젖은 나노섬유를 꺼내었고, 섬유 표면에 맺힌 물기를 제거한 뒤 나노섬유의 무게를 측정하였다. 상기 증류수 처리 전 나노섬유 무게와 처리 후 나노섬유 무게를 비교하였다. 그 결과는 도 5에 나타내었고, 흡습도(hygroscopic degree)는 다음의 식으로 측정하였다.

수학식 1

$$\text{Hydroscopic degree (\%)} = \frac{(\text{Wet weight of fiber}) - (\text{Dry weight of fiber})}{(\text{Dry weight of fiber})} \times 100$$

[0067]

- [0068] 도 5에 나타난 바와 같이, 전체 중량에서 물의 중량이 차지하는 비율을 나타내는 함수율 값을 비교한 결과, 가교결합이 형성되지 않은 나노섬유 지지체에 비하여 스피루리나가 함유된 나노섬유 지지체가 보다 높은 함수율을 가짐을 확인하였다. 특히 스피루리나가 2.35 중량부로 첨가된 경우 가장 현저한 함수율, 즉 보습력을 가짐을 확인하였다.
- [0069] 추가적으로, 본 발명에 따른 나노섬유 지지체의 보습력을 확인하기 위하여 상기 나노섬유 지지체를 물에 적시고 30분이 경과한 후 SEM으로 나노섬유 지지체의 외관을 관찰하고 이미지 J로 분석을 수행하였다. 그 결과는 도 6에 나타내었다.
- [0070] 도 6에 나타난 바와 같이, 단순 다공성 중합체로 제조한 나노섬유인 PCL 나노섬유 지지체는 물에 적신 직후 표면상의 큰 변화가 확인되지 않았다. 다만, 실시예 2에 개시한 바와 같이 알지네이트 및 스피루리나를 추가로 첨가하여 복층으로 제조한 나노섬유 지지체는 물에 적실 경우 섬유 사이의 빈 공간이 채워지는 것을 확인할 수 있었다. 이는 복층의 나노섬유 지지체 중 2층의 알지네이트 및 스피루리나가 녹아 1층의 다공성 중합체인 PCL 나노섬유가 노출되고, 동시에 녹은 알지네이트 및 스피루리나가 섬유 사이사이를 채운 것임을 나타낸다. 이에 따라 섬유 사이사이를 메꾼 알지네이트와 스피루리나에 의하여 현저한 보습력이 발생함을 확인할 수 있다.
- [0071] **실시예 5. 스피루리나 분비량 변화 측정을 통한 나노섬유 지지체 물질 분비 효율 확인**
- [0072] 나노섬유 지지체 물질 중 하나인 스피루리나 분비량 변화를 측정하여 본 발명의 복층 구조의 나노섬유 지지체의 분비 효율을 측정하였다. 먼저, 실시예 1에서 제조한 나노섬유 지지체를 1 cm×1 cm 크기로 자른 후 각 웰에 16 조각씩 24 웰-플레이트에 첨가하였다. 이 후 상기 웰에 증류수를 1 ml씩 첨가한 후 30분 동안 방치하였다. 이 후 마이크로 피펫으로 각 웰의 용액을 200 μ l씩 96 웰-플레이트에 옮겨담는 것을 3회 반복하였다. 이 후 웰 내의 용액을 620 nm에서의 흡광도를 이용하여 정량적으로 측정하였다. 그 결과는 도 7에 나타내었다.
- [0073] 도 7에 나타난 바와 같이, CaCl₂로 가교결합이 형성된 나노섬유 지지체의 경우 광학 밀도를 나타내지 않음을 확인하였다. 아울러, CaCl₂로 가교결합이 형성되지 않은 나노섬유 지지체의 경우 스피루리나의 첨가 중량비가 증가와 함께 스피루리나 방출이 증가함을 확인하였다.
- [0074] **실시예 6. 점착력 측정을 통한 나노섬유 지지체의 보습력 및 부착력 확인**
- [0075] 실제 피부에 본 발명에 따른 복층 구조의 나노섬유 지지체를 부착하여 이에 따른 보습력 및 부착력을 확인하였다. 먼저, 실시예 1에서 제조한 나노섬유 지지체를 2 cm×2 cm 크기로 자른 후 증류수로 적셨으며, 이를 팔 안쪽에 부착하였다. 상기 나노섬유 지지체를 팔에 부착한 직후와 부착 30분이 경과한 후의 부착력을 육안으로 관찰하고 비교하였으며, 그 결과는 도 8에 나타내었다.
- [0076] 도 8에 나타난 바와 같이, 전체적으로 시간이 지남에 따라 모든 표본에서 부착력이 감소함을 확인하였다. CaCl₂ 처리 및 스피루리나를 첨가하지 않고 제조한 나노섬유 지지체가 팔에 완전히 부착되지 못할 정도로 현저하게 부착력이 감소함을 확인한 반면, 스피루리나의 첨가량이 증가됨에 따라 부착력도 함께 증가함을 확인하였다.
- [0077] **실시예 7. MTT 분석을 통한 나노섬유 지지체에서의 세포 독성 확인**
- [0078] 세포 수준에서 본 발명에 따른 나노섬유 지지체의 세포 독성을 확인하기 위하여 MTT 분석을 수행하였다. MTT 분석은 케라틴 세포주(keratinocyte cell line; HaCaT)를 이용하여 수행하였다. 상기 HaCaT는 배양기(5%의 이산화탄소, 37 °C)에서 10% FBS(소태아 혈청) 및 1% 항생-항진균제를 포함하는 DMEM-H 배지로 세포 배양 플라스크에서 배양하였다. 배양된 HaCaT는 310⁴ 세포/웰의 농도로 24-웰 플레이트에 접종하였다. 이들 세포는 무-혈청 배지(1% 항생-항진균제를 포함하는 DMEM-H)로 교체한 후, 배양기 내에서 배양하였다. 하루가 경과한 후에 이 기술분야에서 통상적으로 행해지는 방식으로 MTT 분석을 수행하였다. 용액의 광학밀도(O.D)는 540 nm의 마이크로 플레이트 리더를 사용하여 측정하였다. 그 결과는 도 9에 나타내었다.
- [0079] 도 9에 나타난 바와 같이, 단순 다공성 중합체인 PCL로 제조한 나노섬유 지지체와 이에 알지네이트만을 첨가하여 제조한 나노섬유 지지체에 비하여 스피루리나의 첨가에 의하여 세포 생존률이 증가함을 확인하였다. 즉, 본 발명의 나노섬유 지지체는 높은 생체적합성을 가짐을 나타낸다.
- [0080] 종합적으로, 상기 실험을 통하여 본 발명에 따른 나노섬유 지지체는 높은 함수율, 스피루리나 분비 효율 및 부착력 확인을 통한 현저한 보습능 및 부착능을 가짐을 확인하였으며, 이에 따라 생체 적합한 본 발명의 나노섬

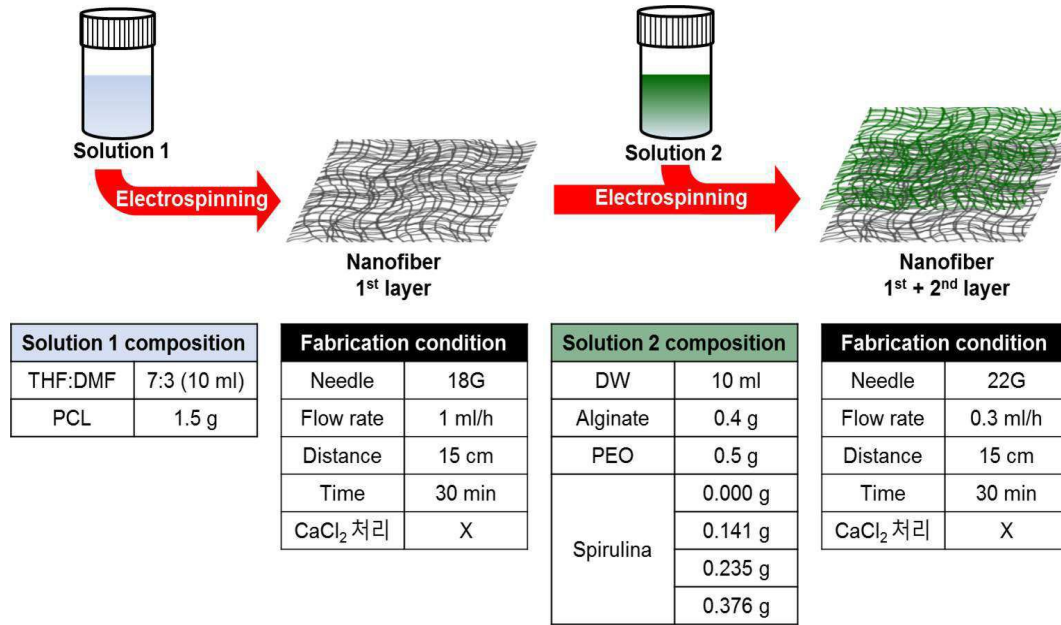
유 지지체는 미용용품, 구체적으로는 화장품, 피부미용 시트 등으로 다양하게 활용될 수 있다.

[0081]

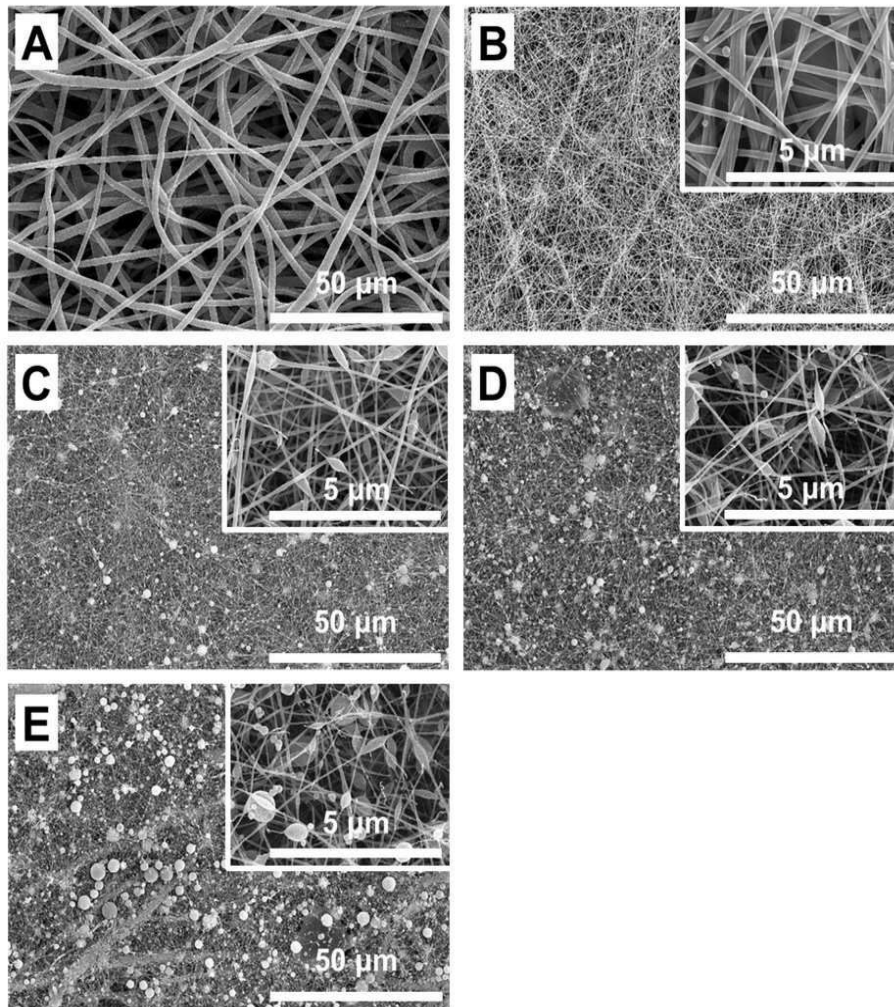
모든 실험은 3회 반복 수행하였으며, 상기 자료의 평균 및 표준편차 값은 시그마 플롯(Sigma Plot)을 이용하여 측정하였다. 아울러 각 실험군의 차이값은 스튜던트 t-테스트를 사용하여 확인하였고, p-값은 차이값의 유의성을 나타낸다(*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

도면

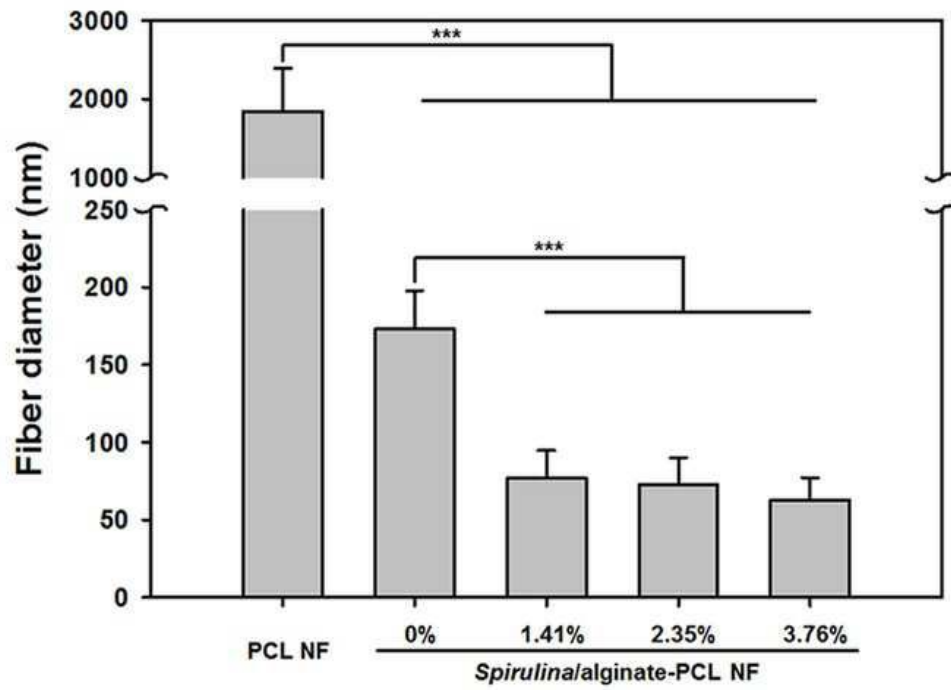
도면1



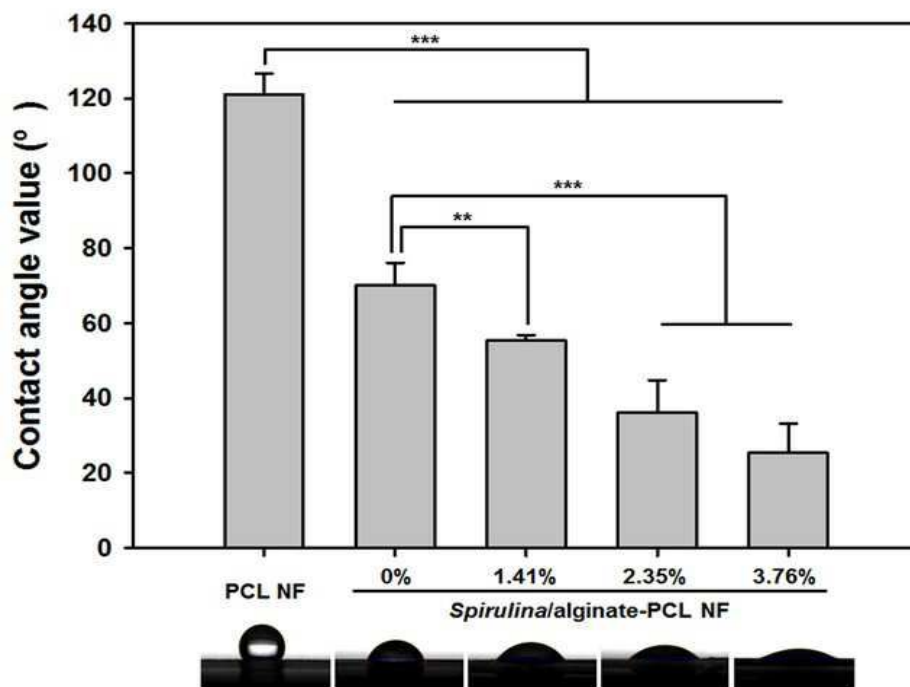
도면2



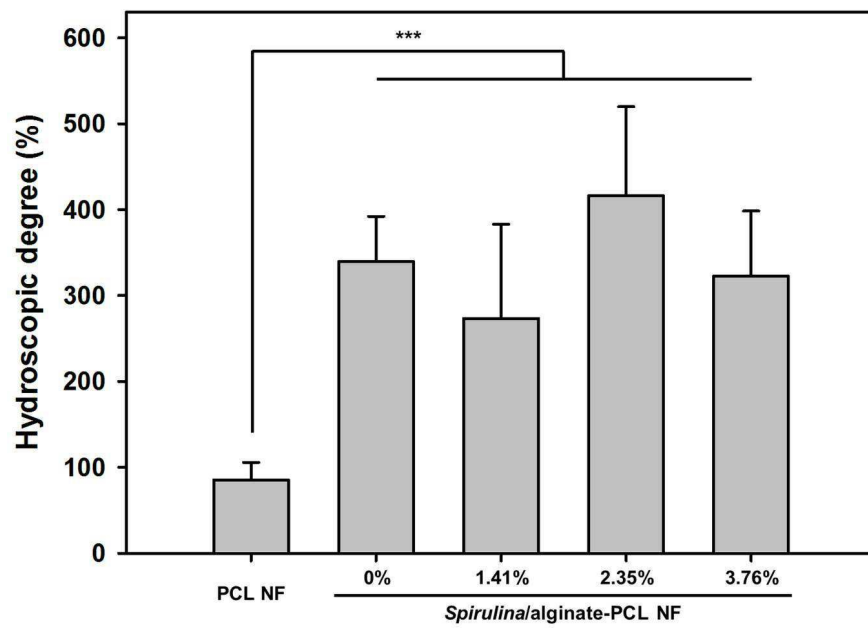
도면3



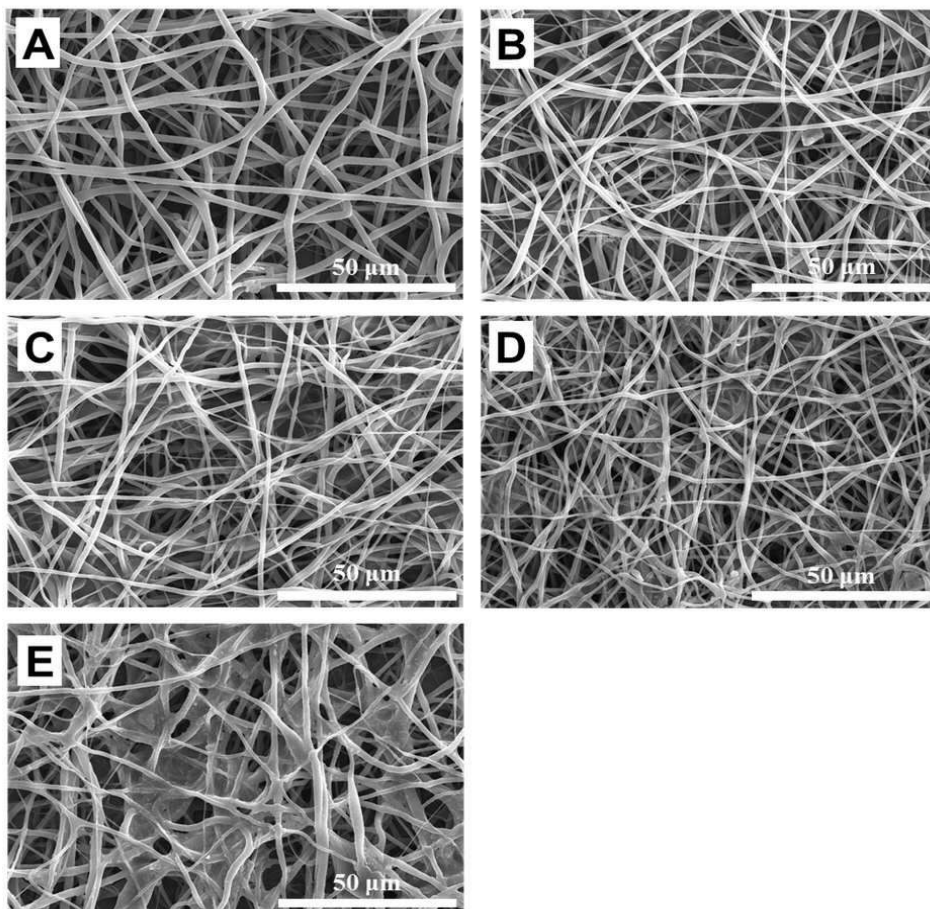
도면4



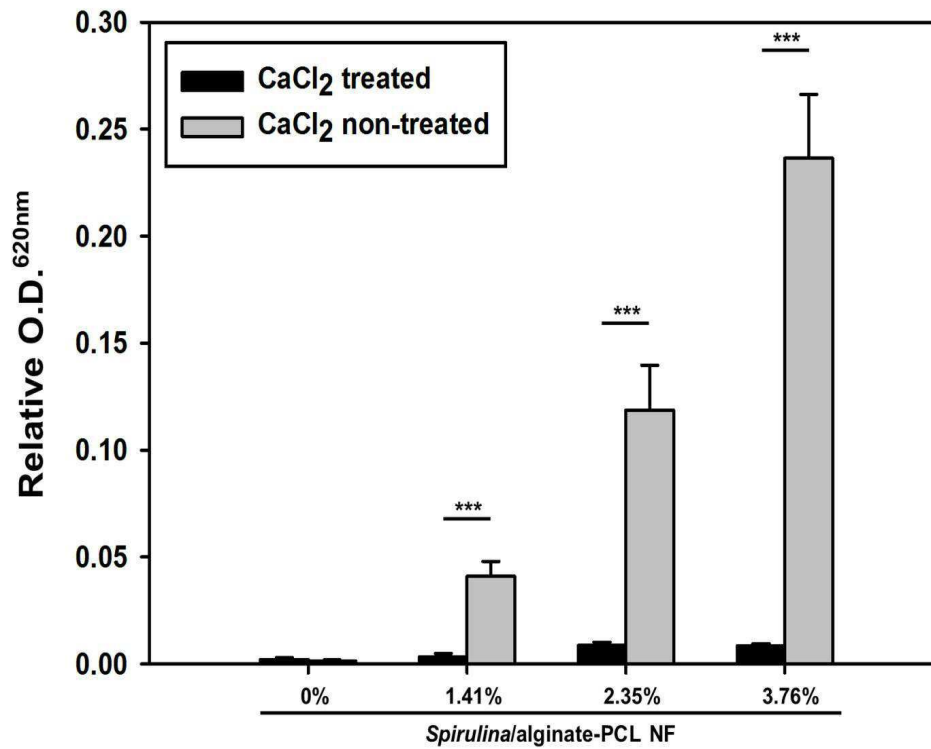
도면5



도면6



도면7



도면8

Spirulina content	0%	1.41%	2.35%	3.76%
Right after attachment				
30 min later				
Adhesiveness	+	++	++	+++

도면9

