(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년07월04일
(11) 등록번호 10-1866518
(24) 등록일자 2018년06월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/644 (2014.01) *A61K 9/06* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 35/644 (2013.01)
A61K 9/06 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0024988
(22) 출원일자 2018년03월02일
심사청구일자 2018년03월02일
(30) 우선권주장
1020170100185 2017년08월08일 대한민국(KR)
(56) 선행기술조사문헌
KR1020160148156 A*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
(주)하치노다카라코리아
서울특별시 강남구 도산대로27길 26, 삼원빌딩 101 (신사동)
이선옥
서울 서초구 잠원로12길 4, 102동 303호 (잠원동, 잠원현대아파트)
(72) 발명자
이선옥
서울 서초구 잠원로12길 4, 102동 303호 (잠원동, 잠원현대아파트)
조경윤
서울특별시 영등포구 당산로36길 12, 당산2차삼성아파트 202동 601호
유지현
전라북도 전주시 덕진구 와룡로 40 쌍용1차아파트 103동604호
(74) 대리인
특허법인 참좋은

전체 청구항 수 : 총 4 항 심사관 : 정혜진

(54) 발명의 명칭 **프로폴리스 추출물을 유효성분으로 함유하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 프로폴리스 추출물를 유효성분으로 함유하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물에 관한 것이다.

더욱 구체적으로는, 본 발명은 활성성분으로 프로폴리스 추출물, 페트롤라툼, 라놀린, 페퍼민트 오일, 스위트 아몬드 오일, 호호바씨오일, 올리브 오일, 참깨오일, 로즈힙열매오일, 아보카도오일, 마카데미아씨오일, 연꽃오일 및 토코페롤이 함유된 것을 특징으로 하고, 각질연화(keratolysis) 및 수분유지능(moisture-retention ability)을 갖는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류
Y10S 514/858 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌
이용림 저, 2008 International Symposium on Apiculture, 42-50 (2008.10.)
Oliveira et al., Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 101(5) 493-497, (2006.8.)
WO2016088093 A1
WO2017037534 A1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명 세 서

청구범위

청구항 1

항산화, 항균 및 항진균 효능을 갖는 제1 제제; 보습효능을 갖는 제2 제제;를 포함하되, 상기 제1 제제 및 제2 제제가 2:1의 중량비로 혼합된 크림 조성물에 있어서,

상기 제1 제제는,

프로폴리스 추출물과 토코페롤을 포함하고,

상기 제2 제제는,

페트로라툼, 라놀린, 페퍼민트오일, 스위트아몬드오일, 호호바씨오일, 올리브오일, 참깨오일, 로즈힙열매오일, 아보카도오일, 마카데미아씨오일 및 연꽃오일을 포함하며, 각질연화 및 수분유지능을 갖는 것을 특징으로 하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 제 1제제는, 프로폴리스 추출물과 토코페롤을 2:1의 중량비로 혼합하여 제조하는 것을 특징으로 하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

상기 제 2제제는,

페트로라툼 15 ~ 30 중량부, 라놀린 1 ~ 5 중량부, 페퍼민트 오일 0.1 ~ 5 중량부, 스위트아몬드오일 0.1 ~ 5 중량부, 호호바씨오일 0.1 ~ 5 중량부, 올리브오일 0.1 ~ 5 중량부, 참깨오일 0.1 ~ 5 중량부, 로즈힙열매오일 0.1 ~ 5 중량부, 아보카도오일 0.1 ~ 5 중량부, 마카데미아씨오일 0.1 ~ 5 중량부 및 연꽃오일 0.1 ~ 5 중량부를 포함하는 것을 특징으로 하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서,

상기 조성물은 조갑진균증 무좀에 있어서 칸디다 알비칸스(Candida albicans), 사카로마이시스 세레비시애(Saccharomyces cerevisiae), 미크로스포룸 오두앵(*Microsporum audouinii*), 트리코피톤 루브룸(Trichophyton rubrum) 및 트리코피톤 멘타그로파이트(Trichophyton mentagrophytes)에 대해 항균 및 항진균 효능을 보유하고, 각질연화 및 수분유지능을 갖는 것을 특징으로 하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 프로폴리스 추출물을 유효성분으로 함유하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물에 관한 것이다.

[0002] 더욱 구체적으로는, 프로폴리스 추출물을 유효성분으로 함유하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물로써, 프로폴리스 추출물, 페트롤라툼, 라놀린, 페퍼민트 오일, 스위트 아몬드 오일, 호호바씨오일, 올리브 오일, 참깨오일, 로즈힙열매오일, 아보카도오일, 마카데미아씨오일, 연꽃오일 및 토코페롤을 함유하고, 각질연화

(keratolysis) 및 수분유지능(moisture-retention ability)을 갖는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0004] 조갑진균증 무좀은 주로 '피부사상균' 곰팡이가 피부에 감염된 것으로 원인균에 따라 백선, 칸디다증 등으로 나눌 수 있다. 이러한 류의 곰팡이가 피부의 겉부분인 각질층이나 머리털, 손톱 또는 발톱 등에 침입하면서 기생하여 피부병을 일으킨다. 특히 온도가 높고 습기가 많은 곳에서 주로 서식하는 곰팡이 균은 축축하게 땀이 잘 차는 발을 좋아한다. 이러한 환자와 직접적인 피부 접촉을 통하거나 수영장, 공중목욕탕 등에서 무좀 환자의 인설에 의해 발로 전염될 수 있다. 이러한 균의 영향을 받은 부위가 벗겨지고 가려움증을 일으키며, 불쾌한 냄새가 나기도 한다.

[0005] 조갑진균증 무좀은 수많은 약리적, 민간요법 또는 기타 치료 방법으로 치료할 수 있다. 일차적으로 항진균제 연고를 발라 치료하며, 한국의 경우 피부사상균 중 인체친화성 피부사상균인 트리코피톤 루브룸(Trichophyton rubrum),트리코피톤 멘타그로파이트(Trichophyton mentagrophytes)에 의한 감염이 많으며 재발이 흔한 이유 중 하나는 재감염률이 높고 치료기간을 지키지 않는 경우가 많기 때문이다.

[0006] 항진균제는 크게 polyene계, azole계, allylamine계 약물 등으로 나눌 수 있으며 Polyene계 약물에는 nyststin, amphotericin B가 있고, Azole계 약물에는 ketoconazole, miconazole과 같은 imidazole계 약물과 itraconazole, fluconazole과 같은 triazole계 약물 그리고 allylamine계에는 Terbinafine이 있다.

[0007] 조갑진균증에 대하여 전신적인 치료방법으로 경구투여와 국소적인 치료방법인 외용연고제로 치료가 행해지고 있다. 터비나핀, 이트라코나졸의 항진균제가 조갑진균증의 전신적 치료에 사용되고 있으나, 위장관 부작용, 두통, 간독성과 같은 부작용이 야기될 수 있다. 국소치료는 아모롤핀(amorolfine), 시클로피록솔아민(ciclopiroxolamine)의 항진균제를 함유한 락커(lacquer) 제제가 사용된다. 락커 제제는 감염 부위에 직접 적용될 수 있으므로, 약물에 대한 전신 노출을 회피할 수 있는 장점이 있다.

[0009] 피부사상균은 원래 토양에 살던 진균으로 발에서 떨어진 각질에 포함된 포자들이 양발, 신발, 깔개 또는 카펫에서 버티면서 재감염을 시키는 경우가 많으며 포자(spore)는 각종 악조건에 버티기 때문에 경우에 따라 짧게는 수주에서 길게는 몇 달의 치료기간이 필요하지만 대부분 환자가 증상이 호전되면 치료를 중단해 버리는 경우가 많다. 최근의 약은 수일만 치료해도 증상이 호전되어 자가 중단하는데 이 경우 균사체는 죽었지만 포자가 남아 있어 치료기간을 준수해야 한다.

[0011] 이에 본 발명자는 조건진균증 개선용 크림을 개발하기 위해 연구하였다. 특히, 수분함량을 조갑 내에 유지 시킬 경우, 조갑 부위에 건조현장을 방지하고, 피부 안으로 쉽게 유효성분의 침투가 가능하게 되어 각질연화 효과를 현저하게 증가시킬 수 있음을 발견하였다.

[0012] 따라서 프로폴리스 추출물, 페트롤라툼, 라놀린, 페퍼민트 오일, 스위트 아몬드 오일, 호호바씨오일, 올리브 오일, 참깨오일, 로즈힙열매오일, 아보카도오일, 마카데미아씨오일, 연꽃오일 및 토코페롤을 조합하여 크림형태로 제제화할 경우, 현저하게 증가된 수분유지능을 가질 뿐만 아니라, 각질연화 활성 및 조갑진균증 개선 효능을 나타내는 것을 발견하였다.

[0013] 이에 본 발명은 프로폴리스 추출물, 페트롤라툼, 라놀린, 페퍼민트 오일, 스위트 아몬드 오일, 호호바씨오일, 올리브 오일, 참깨오일, 로즈힙열매오일, 아보카도오일, 마카데미아씨오일, 연꽃오일 및 토코페롤을 함유하는 각질연화(keratolysis) 및 수분유지능(moisture-retention ability)을 갖는 조갑진균증 개선용 크림을 개발함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0015] 본 발명과 관련된 선행특허를 살펴보면, '등록번호 10-1599260호'에 조갑진균증 무좀의 예방 또는 치료용 약학 조성물 및 이의 제조방법에 대해 기재되어 있으나, 본 발명은 상기 선행특허와 다른 천연물 소재로서 프로폴리스의 항진균 효능 및 조갑진균증 무좀에 대한 특이적 효능을 밝혔으므로 상기 선행특허와는 상이하다 하겠다.

[0016] 본 발명과 관련된 선행특허를 살펴보면, '공개번호 10-2016-0148156호'에 프로폴리스 잔류물 유래 분획추출물을 유효성분으로 포함하는 세균성 또는 진균성 피부질환 개선 및 치료용 조성물에 대해 기재되어 있으나, 본 발명은 상기특허와 달리 프로폴리스 원괴를 추출한 추출물을 함유하는 조갑진균증 무좀 개선 크림에 대한 발명으로 상기 선행 특허와는 상이하다 하겠다.

선행기술문헌

특허문헌

[0018] (특허문헌 0001) 등록특허공보 제10-1599260호(2016.03.03 공고)

(특허문헌 0002) 공개특허공보 제10-2016-0148156호(2016.12.26 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0019] 본 발명은 프로폴리스 추출물을 유효성분으로 함유하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물을 제공하는데 있다.

[0020] 더욱 구체적으로는, 본 발명은 활성성분으로 프로폴리스 추출물, 페트롤라툼, 라놀린, 페퍼민트 오일, 스위트아몬드 오일, 호호바씨오일, 올리브 오일, 참깨오일, 로즈힙열매오일, 아보카도오일, 마카데미아씨오일, 연꽃오일 및 토코페롤이 함유된 것을 특징으로 하고, 각질연화(keratolysis) 및 수분유지능(moisture-retention ability)을 갖는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0022] 본 발명은, 항산화, 항균 및 항진균 효능을 갖는 제1 제제; 보습효능을 갖는 제2 제제;를 포함하되, 상기 제1 제제 및 제2 제제가 2:1의 중량비로 혼합된 크림 조성물에 있어서, 상기 제1 제제는,프로폴리스 추출물과 토코페롤을 포함하고, 상기 제2 제제는,페트로라툼, 라놀린, 페퍼민트오일, 스위트아몬드오일, 호호바씨오일, 올리브오일, 참깨오일, 로즈힙열매오일, 아보카도오일, 마카데미아씨오일 및 연꽃오일을 포함하며, 각질연화 및 수분유지능을 갖는 것을 특징으로 하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물을 제공함으로써 본 발명의 기술적 과제를 해결하고자 한다.

[0023] 본 발명은, 상기 제 1제제는, 프로폴리스 추출물과 토코페롤을 2:1의 중량비로 혼합하여 제조하는 것을 특징으로 하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물을 제공함으로써 본 발명의 기술적 과제를 해결하고자 한다.

[0024] 본 발명은, 상기 제 2제제는, 페트로라툼 15 ~ 30 중량부, 라놀린 1 ~ 5 중량부, 페퍼민트 오일 0.1 ~ 5 중량부, 스위트아몬드오일 0.1 ~ 5 중량부, 호호바씨오일 0.1 ~ 5 중량부, 올리브오일 0.1 ~ 5 중량부, 참깨오일 0.1 ~ 5 중량부, 로즈힙열매오일 0.1 ~ 5 중량부, 아보카도오일 0.1 ~ 5 중량부, 마카데미아씨오일 0.1 ~ 5 중량부 및 연꽃오일 0.1 ~ 5 중량부를 포함하는 것을 특징으로 하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물을 제공함으로써 본 발명의 기술적 과제를 해결하고자 한다.

[0025] 본 발명은, 상기 조성물은 조갑진균증 무좀에 있어서 칸디다 알비칸스(Candida albicans), 사카로마이시스 세레비시애(Saccharomyces cerevisiae), 미크로스포룸 오두앵(Microsporum audouinii), 트리코피톤 브룸(Trichophyton rubrum) 및 트리코피톤 멘타그로파이트(Trichophyton mentagrophytes)에 대해 항균 및 항진균 효능을 보유하고, 각질연화 및 수분유지능을 갖는 것을 특징으로 하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물을 제공함으로써 본 발명의 기술적 과제를 해결하고자 한다.

발명의 효과

[0027] 본 발명의 실험 예에 따라 입증된 바, 무좀의 원인인 칸디다 알비칸스(Candida albicans), 사카로마이시스 세레비시애(Saccharomyces cerevisiae), 미크로스포룸 오두앵(*Microsporum audouinii*), 트리코피톤 루브룸(Trichophyton rubrum),트리코피톤 멘타그로파이트(Trichophyton mentagrophytes)을 대상으로 Paper disk법으로 조사한 결과 상기 조성물은 상기 균에 대한 항균 및 항진균성을 확인할 수 있었다.

[0028] 뿐만 아니라 프로폴리스 추출물, 페트로라툼, 라놀린, 페퍼민트오일, 스위트아몬드오일, 호호바씨오일, 올리브오일, 참깨오일, 로즈힙열매오일, 아보카도오일, 마카데미아씨오일, 연꽃오일 및 토코페롤을 유효성분으로 포함하여 제조한 크림 또한 조갑진균증 무좀 환자에게 도포한 결과 조갑진균증 무좀이 개선되는 것을 확인하였다.

[0029] 본 발명에 따른 조갑진균증 개선용 크림 조성물은 각질연화 및 수분유지능을 가짐으로써, 조갑진균증의 예방 또는 치료에 유용하게 적용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] 본 명세서 및 청구 범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이거나 사전적인 의미로 한정해서 해석되어서는 안되며, 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 한다.

[0033] 따라서 본 명세서에 기재된 실시예, 참조예 및 도면에 기술된 사항은 본 발명의 가장 바람직한 일 예에 불과할 뿐이고 본 발명의 기술적 사상을 모두 대변하는 것은 아니므로, 본 출원시점에 있어서 이들을 대체할 수 있는 다양한 균등물과 변형예들이 있을 수 있음을 이해하여야 한다.

[0035] **제조예 1: 프로폴리스 추출물 제조**

[0036] 프로폴리스의 유효성분 추출방법은 완숙 재래식 제법에 따라 천연상태의 원료를 인위적인 합성 과정 및 기계적인 힘을 빌리지 않고 생산 전문인에 의해 원료상태의 유효성분을 추출하는 자연 숙성 방식으로 추출하였다. 또한 숙성기간에 따라 추출물로써 사용하며, 이는 인체에 유해한 성분을 제거하기 위한 기간으로써 순도 95% 이상의 식용알콜을 사용하여 고도의 필터링 기술을 이용하여 인체에 유해성분을 제거하고 유효성분을 채취하였다.

[0038] 프로폴리스(propolis)는 꿀벌이 생존과 번식을 위해 여러 식물에서 뽑아낸 수지(樹脂)와 같은 물질에 자신의 침과 효소를 섞어서 만든 물질로, 성분으로는 유기물과 미네랄(무기염류)이 가장 많고, 그 외 104종 정도의 성분이 포함되어 있다. 이 중 미네랄, 비타민, 아미노산, 지방, 유기산 및 플라보노이드는 세포 대사에 중요한 기능을 하며, 테르펜류 등은 항암 작용을 하는 것으로 알려져 있다.

[0039] 아울러, 항염, 항산화, 면역 증강에 효능이 있는데, 항염효과는 프로폴리스에 의해 체내의 프로스타글란딘을 생성하는 효소를 억제하기 때문이고, 항산화는 플라보노이드 성분이 활성산소를 제거하기 때문이며, 항암 효과는 케르세틴에 의해 암세포의 유전자가 복제되기 전에 차단함으로써 가능하다.

[0040] 특히 프로폴리스의 경우 항산화에 효능이 있기 때문에 대상의 산폐작용을 저하시킬 수 있으므로, 대상의 유통기한을 늘릴 수도 있다.

[0042] 지용성 프로폴리스의 문제점으로 지용성분이 많아 물에 대한 용해도가 극히 낮으며, 물이나 음료와 혼합할 경우, 수지성분이 석출되어 사용하는데 많은 어려움이 있다.

[0043] 이에 본 출원인은 프로폴리스에 대하여 화장품 및 식품에 사용하기 적합한 형태로 추출한 추출물 '수분산성이 개선된 프로폴리스의 유효성분 추출방법 : 등록번호 10-1375052-0000' 로 등록되어 있는 상태이다.

[0045] 따라서 대두되어져 왔던 특유의 향을 순화시키고 기능적 측면은 그대로 보존하여 원료에 점도를 증진시키고 항산화 및 항균 효능이 우수한 수용성 프로폴리스를 제조한다.

[0047] 본 발명에 따른 프로폴리스 추출물은 지용성 프로폴리스를 수용성 프로폴리스로 제조한 것이다.

[0049] **① 프로폴리스 원괴와 용매를 혼합하여 교반하면서 추출 및 숙성한 프로폴리스추출액을 필터로 1차로 여과하는 단계**

[0050] 프로폴리스 원괴와 용매를 혼합하여 탱크의 내부에 투입하고, 교반하면서 추출 및 숙성한다.

[0052] **② 여과된 프로폴리스 추출액을 냉동고 온도 -20 ℃ 에서 지방, 왁스 및 수지성분을 분리하고, 필터로 2차로 여과하는 단계**

[0053] 추출 및 숙성이 완료된 추출액을 필터를 사용하여 1차적으로 여과하고, 섭씨 영하 20도의 냉동고에서 추출액으로부터 지방, 왁스 및 수지성분을 분리시켜, 필터로 여과한다.

[0055] **③ 2차 여과된 프로폴리스 추출액을 진공농축하고, 알칼리수와 탄산나트륨을 혼합하여 60~ 90℃에서 5 내지 6시간 교반하면서 용해하고, 3차 여과하여 수용성 프로폴리스 추출물을 제조하는 단계**

[0056] 여과된 추출액은 진공농축하여 생성된 프로폴리스 추출물과 알칼리수와 탄산나트륨을 혼합하여 탱크 안에 투입하고, 탱크 안의 온도를 섭씨 60도 내지 90도로 한 상태에서 5 내지 6시간 교반하면서 용해하고, 여과하여 수용성 프로폴리스를 제조한다.

[0058] **제조예 2. 프로폴리스를 유효성분으로 함유하는 조갑진균증 개선용 크림 조성물.**

[0059] 본 발명에 따른 프로폴리스를 유효성분으로 함유하는 크림 조성물은 제1 제제 및 제2 제제의 혼합으로

구성된다.

[0061] 구체적으로, 제 1 제제는 항산화, 항균 및 항진균 효능을 보유한 제제로써, 프로폴리스 추출물 100 중량부 기준으로 토코페롤 50 ~100 중량부를 포함한다.

[0063] 여기서 프로폴리스 추출물은 본 출원인이 권리로 갖고 있는 '수분산성이 개선된 프로폴리스의 유효성분 추출방법 : 등록번호 10-1375052'를 기반으로 제조된다. 상기 실험예 1에 기재하였다.

[0065] 토코페롤(tocopherol)은 비타민 E의 별칭. α-, β-, γ, δ-토코페롤이 천연에 존재한다. 생체에서의 중요한 기능은 항(抗)산화제로서 세포 내에서 산화되기 쉬운 물질, 특히 세포막을 구성하고 있는 불포화 지방산의 산화를 억제함으로써 세포막의 손상과 나아가서 조직의 손상을 막아준다. 이에 피부에서는 강력한 항산화 작용을 하며, 피부 콜라겐층 형성 촉진으로 피부탄력을 유지시킨다. 자유라디컬을 막아주어 피부 손상 및 피부 노화를 개선한다.

[0066] 또한, 손톱과 손톱주변에 발라주면 건조하여 갈라지는 현상 및 큐티클의 발생을 진정시켜준다.

[0068] 제 2제제는 보습효능을 갖는 제제로서, 페트로라툼 15 ~ 30 중량부, 라놀린 1 ~ 5 중량부, 페퍼민트 오일 0.1 ~ 5 중량부, 스위트아몬드오일 0.1 ~ 5 중량부, 호호바씨오일 0.1 ~ 5 중량부, 올리브오일 0.1 ~ 5 중량부, 참깨오일 0.1 ~ 5 중량부, 로즈힙열매오일 0.1 ~ 5 중량부, 아보카도오일 0.1 ~ 5 중량부, 마카데미아씨오일 0.1 ~ 5 중량부 및 연꽃오일 0.1 ~ 5 중량부를 포함한다.

[0069] 바람직하게는 페트로라툼 15 중량부, 라놀린 2 중량부, 페퍼민트 오일 1 중량부, 스위트아몬드오일 1 중량부, 호호바씨오일 1 중량부, 올리브오일 0.5 중량부, 참깨오일 0.5 중량부, 로즈힙열매오일 1 중량부, 아보카도오일 0.5 중량부, 마카데미아씨오일 0.5 중량부 및 연꽃오일 1 중량부를 포함한다.

[0071] 이때 프로폴리스 추출물은 제조예 1 및 제1 제제에서 서술되었으므로 생략한다.

[0073] 페트롤라툼(Petrolatum)은 피부표면에 막을 형성하여 수분손실을 99% 차단해주며, 외부로부터 들어오는 유해물질과 자극으로부터 피부를 보호해준다. 화장품에서는 수분증발파단, 피부보호, 피부유연, 연화, 정전기방지 효과가 있으며, 강력한 보습제이다.

[0075] 라놀린(lanoline)은 아주 빨리 피부에 흡수되는 성질이 있어, 여러 가지 연고(軟膏)의 원료 등으로 사용되고, 양모지는 고약, 녹 방지제, 윤활유 첨가제 등으로 사용된다. 보습작용을 가지고 있으며 높은 수분 흡수력을 가진 유화제, 얇은 막을 형성, 냄새, 끈적임의 단점이다. 기초 화장품, 메이크업 화장품의 원료로 사용된다.

[0077] 페퍼민트 오일은 멘톨이 주성분으로 피부와 점막을 시원하게 해주며, 통증완화에 효과적이다. 항균효과가 탁월하다.

[0079] 스위트 아몬드 오일은 비타민 A, B, D, E를 함유하고 있어, 피부주름을 예방하고, 탄력을 개선한다. 또한, 고보습작용으로 피부를 부드럽게 만들어주며, 건조함을 방지하여 가려움증을 완화시켜 건성피부에 효과적이다.

[0081] 호호바씨오일은 저자극이고 독성이 없으며, 오메가 6, 비타민 A, D, E 미네랄과 지방산이 풍부하다. 이에 항균효과를 보유하고 있어 트러블을 완화시키며, 보습효과, 체내 유해 활성산소의 생성을 예방하여 피부 산화도를 억제한다.

[0083] 올리브 오일은 비타민E, 폴리페놀,피토스테롤이 함유되어 있어 피부노화를 막아주고, 자외선으로부터 피부를 보호한다. 또한 피부건조를 예방하고, 피부 속으로 침투하여 피부를 깨끗하게 청소해 주는 효능이 있어 수분크림 대신 바르면 수분을 공급해 준다. 이외에도 각질제거 효능, 피부탄력증진 효능이 있다.

[0085] 참깨오일의 주성분은 올레인산, 리놀린산이며 그 외에도 비타민 A, D, E, B 그리고 산화를 방지하는 성분인 세사몰, 세사모리놀 등이 함유되어 있다.

[0087] 로즈힙열매오일은 피부를 부드럽게 만들어 보습을 패주고, 약산성의 형태를 가지고 있어 피부에 빠르게 흡수될 수 있다.

[0089] 아보카도오일은 스테롤린, 비타민E를 포함하고 있으며, 피부가 건조하고 까칠할 때는 보습 효과, 민감할 때는 진정시켜주는 효과가 있다.

[0091] 마카데미아씨오(macadamia seed oil)은 사람의 피부와 유사해 자극없이 촉촉하게 피부에 빠르게 흡수되며, 혈액의 흐름을 원활하게 해주어 촉촉하고 윤기있는 피부를 만들어 준다. 또한 피부에 수분이 증발하는 것을 막아주

는 역할을 한다.

[0093] 연꽃오일은 피부를 유연하게 하며, 건강하고 촉촉하게 보습 작용한다. 또한, 캄페롤 성분은 항산화 작용을 해 유해활성산소를 간소시켜 피부세포를 보호한다.

[0095] 상기 제 1제제 및 제2 제제를 가지고, 하기 표 1와 같은 배합비율로 섞어, 다양한 배합비율의 조성물을 제조하였다. 또한, 하기 2제제는 최적의 조건으로 제조한 제제로서 상기 바람직하게 제조한 2제제로 샘플을 배합하여 제조하였다.

표 1

[0097] 샘플의 배합비율

		혼합 중량비					
샘플이름		Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6
1제제	프로폴리스 추출물	1		1	2	2	2
	토코페롤		1	1	1	1	1
2제제						3	1.5

[0099] 상기 실험예에 대해서 하기와 같은 NO 생성 억제 효과 측정 실험, 세포 독성평가 시험, 및 항균력 시험을 시행하였다.

[0101] 바람직하게는 프로폴리스 추출물 10 ~ 40중량부, 토코페롤 0.1 ~ 20 중량부, 페트로라툼15 ~ 25중량부, 라놀린 1 ~ 5 중량부, 페퍼민트 오일 0.1 ~ 5 중량부, 스위트아몬드오일0.1 ~ 5 중량부, 호호바씨오일 0.1 ~ 5 중량부, 올리브오일 0.1 ~ 5 중량부, 참깨오일 0.1 ~ 5 중량부, 로즈힙열매오일 0.1 ~ 5 중량부, 아보카도오일 0.1 ~ 5 중량부, 마카데미아씨오일 0.1 ~ 5 중량부 및 연꽃오일 0.1 ~ 5 중량부를 포함하고 각질연화 및 수분유지능을 갖는 것을 특징으로 하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물로 제조한다.

[0102] 더욱 바람직하게는 프로폴리스 추출물 32 중량부, 토코페롤 16 중량부, 페트로라툼 15 중량부, 라놀린 2 중량부, 페퍼민트 오일 1 중량부, 스위트아몬드오일 1 중량부, 호호바씨오일 1 중량부, 올리브오일 0.5 중량부, 참깨오일 0.5 중량부, 로즈힙열매오일 1 중량부, 아보카도오일 0.5 중량부, 마카데미아씨오일 0.5 중량부 및 연꽃오일 1 중량부를 포함하고 각질연화 및 수분유지능을 갖는 것을 특징으로 하는 조갑진균증 무좀 개선용 크림 조성물로 제조한다.

[0104] **실험예 1: NO(Nitro oxide) 생성 억제 효과 실험**

[0105] 활성 산소 중 하나이며, 염증 유발에 중요한 역할을 하는 NO의 생성량을 griess reagent를 이용하여, 아래와 같은 방법으로, 확인하였다

[0106] ① RAW264.7 세포를 DMEM 배지를 이용하여 1.0×105 cell/㎖로 조절한 후 48 well plate에 접종하고, 18시간 전배양하였다.

[0107] ② 시험물질과 LPS (1㎍/㎖)를 함유한 새로운 배지를 동시에 처리하여 24시간 배양하였다.

[0108] ③ 세포배양 상등액 100㎕와 Griess 시약 100㎕를 혼합하여 96 well plate에서 10분 동안 반응시킨 후, ELISA reader를 이용하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 생성된 NO의 양은 시약을 이용하여 세포배양액 중에 존재하는 NO의 형태로 측정하였다.

[0109] * Positive control:2-Amino-4-methylpyridine (10uM)

[0111] **실험예 2: 세포독성 평가(MTT assay) 실험**

[0112] 살아있는 세포들이 MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-dipheny-Ltertrazolium bromide)를 미토콘드리아에 존재하는 탈수소 효소의 환원 작용으로 bule formazon product로 전환시키고, 이 형성된 청색의 생성물을 용매

(solvent)로 용출하여 ELISA를 이용하여 540nm에서 흡광도를 측정하여 살아있는 세포의 상대적 growth를 측정하였다. 구체적인 확인 방법은 아래와 같았다.

[0113] 확인 방법:

[0114] ① RAW264.7 세포를 DMEM 배지를 이용하여 1.0×105 cells/㎖로 조절한 후 48 well plate 에 접종하고, 18시간 전배양하였다.

[0115] ② 시험물질과 LPS (1 ㎍/㎖)를 함유한 새로운 배지를 동시에 처리하여 24시간 배양하였다.

[0116] ③ MTT solution(2 mg/㎖)을 100 ㎕를 가하고 37℃에서 2-4시간 반응시켰다.

[0117] ④ 배지를 제거하고 300 ~ 500 ㎕정도의 DMSO로 생성된 결정을 녹였다(pipetting).

[0118] ⑤ 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0120] 이상과 같이, 대식세포에서 LPS에 의해 유도되는 염증성인자인 NO 생성에 미치는 영향을 알아보았고, 결과는 하기 표 1(농도별 NO 생성 억제 효과)에 나타낸 바와 같았다.

표 2

[0122] NO 생성 억제 및 세포생존율

	NO production (%)	cell viability (%)
LPS(-)	-6.48	111
LPS(+)	100	100
Y1	60	99
Y2	75	95
Y3	41	96
Y4	32	97
Y5	25	96
Y6	22	98

[0124] 각각의 추출물 처리 시 모두 NO 생성억제 활성을 나타내었으며, 각각의 추출물 중 프로폴리스가 가장 높은 NO 억제활성을 나타내었다.

[0125] 또한, 혼합함으로써, NO 생성억제 활성이 높아지는 것을 물론 세포 독성은 나타나지 않았다. 따라서 단독으로 사용하는 것보다, 혼합하여 사용하는 것이 바람직할 것으로 사료된다. 특히 혼함물 처리시 Y4, Y5, Y6의 NO 억제 활성이 가장 높으며, 독성을 나타내지 않는 것을 확인 할 수 있다. 이에 제1 제제와 제 2제제의 혼합비는 2:1 일때 가장 바람직할 것으로 확인 된다.

[0127] **실험예 3. Paper disk법에 의한 항진균 활성 조사**

[0128] 항균 및 항진균 활성을 조사하기 위해 균배양 후 디스크 주위에 생성된 저지환의 반경(mm)의 크기로 항균력을 측정하였다. 구체적으로 칸디다 알비칸스(Candida albicans), 사카로마이시스 세레비시애(Saccharomyces cerevisiae), 미크로스포룸 오두앵(*Microsporum audouinii*), 트리코피톤 루브룸(Trichophyton rubrum), 트리코피톤 멘타그로파이트(Trichophyton mentagrophytes)에 대해 Paper disk법으로 조사하였다.

[0130] 항진균 활성 측정을 위한 감수성 곰팡이는 Sabourauds agar (Peptone 10 g, Glucose 40 g, agar 20 g) 평판배지, 세균은 YPD agar (Yeast extract 10 g, Peptone 20 g, Dextrose 20 g, agar 15 g) 평판배지에 1 × 10^6 cfu/ml로 도말하였다.

[0131] 상기 Paper disk 법은 균주가 도말된 평판배지 위에 8 mm 직경의 paper disk(ADVANTEC, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Japan)를 놓고 조항진균 물질을 일정하게 가하는 방법으로 수행하였다.

[0132] 항균 및 항진균의 경우 25℃에서 24시간 내지 72시간 동안 배양하여 분리균주가 생산하는 물질에 의한 감수성 균주의 생육저지환 생성 여부를 관찰하는 방법으로 수행하였다.

[0134] 상기 방법으로 효모에 대한 실험에서는 프로폴리스 추출물은 *Candida albicans*, *Saccaromcyes cerevisiae* 에 대한 생육 저해활성 효과가 매우 크게 측정되었다. 또한, 무좀의 원인균인 곰팡이에 대한 실험에서는

Microsporum audouinii, *Trichophyton rubrum*에 대해서도 높은 생육 저해활성을 나타내었다.

표 3

[0136] 항진균 활성 결과

균주	항진균력(mm)					
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6
대조군	1	1	1	1	1	1
Candida albicans	7.2	6.8	8.0	9.1	10.2	10.8
Saccaromcyes cerevisiae	7.5	5.7	9.2	9.7	10.3	10.5
Microsporum audouinii	7.3	4.6	10.3	11.3	15.3	17.3
Trichophyton rubrum	10.6	7.5	15.8	17.8	18.2	20.2
Trichophyton mentagrophytes	10.3	8.5	20.3	25.2	27.2	28.3

[0138] **실험예 4. 피부 보습력 개선 효과 평가**

[0139] 피부 질환이 없는 20~40대 40명을 대상으로 1조당 20명씩 2개 조로 나누고, 각 조별로 상기 제형화한 크림을 매일 2회씩 1개월간 전반부에 도포하게 하였으며, 음성 대조군으로서 동일한 양의 정제수를 사용하였다.

[0140] 미리 도포 시작 전 항온, 항습 조건(24℃, 습도 40%)에서 수분측정기(Corneometer, CM820 courage Khazaka electronic GmbH, Germany)를 이용하여 피부 전도도를 측정하여 기본 값으로 삼고, 2분 단위로 피부 전도도 증가율(%)을 측정하였다.

표 4

[0141] [Moisturising activity(%)]

구분	5분	10분	15분	20분
Y1	14.3	12.5	5.8	3.5
Y2	15.3	11.7	5.9	3.7
Y3	20.25	15.5	8.5	4.5
Y5	40.5	32.6	18.8	9.45
Y6	38.7	29.8	15.8	8.37
대조군	12.5	10.5	1.55	0.76

[0143] 실험결과, 본 발명의 Y5, Y6을 함유하는 크림의 보습력 개선이 높게 나타났으며, 대조군에 비하여 비교하여 피부 전도도 증가율이 우수한 것으로 나타났다.

[0144] 일반적으로 피부 전도도는 피부 수분량에 비례하므로, 타 화장료에 비해 피부 수분 함량을 높게 유지하는 것으로 평가할 수 있다.

[0146] **실험예 5. 각질연화 및 수분 유지능 평가**

[0147] 상기 샘플 제조에 따른 예를 각각 발톱에 5 시간 동안 부착시킨 후, 각질연화 및 수분 유지능을 평가하였다. 수분유지능 평가는 수분 함유로 인한 팽윤성을 측정함으로써 수행하였다. 즉, 수분유지능 평가는 제제의 적용 전 및 후의 조갑 두께 변화량을 측정함으로써 수행하였다. 각질연화 평가는 제제의 적용 전 및 후의 조갑의 경도변화를 분석기(texture analyzer)를 사용하여 측정함으로써 수행하였다. 제제의 적용 전의 경도 및 두께를 100%로 하였을 때, 각각의 제제 적용 후의 두께 변화 및 경도 변화는 하기 표 5 및 표 6과 같다.

표 5

[0148]

	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	대조군
두께 변화(%)	98.3	99.5	97.5	94.2	93.5	92.1	112.1
변화량(%)	-1.7	-0.5	-2.5	-5.8	-6.5	-8.9	12.1

표 6

[0149]

	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	대조군
경도변화(%)	94.2	96.4	91.4	86.9	75.9	72.3	99.2
변화량(%)	-5.8	-3.6	-8.6	-3.1	-24.1	-27.7	-0.8

[0151] **실험예 6. 조갑진균증 크림의 임상평가**

[0152] 조갑진균증 무좀으로 진단받은 환자를 대상으로 진행하였다. 총 10명의 환자들을 대상으로 하였으며, 1일 2회 아침, 저녁으로 1개월간 지속적으로 사용하도록 하여 임상적 효능 평가를 시행하였다. 아래 표 2에 따라 조갑진균증 무좀 개선 정도를 측정하였다. 샘플 각각의 유효성분 함유량에 따른 조갑진균증 증상개선을 평가하였다.

[0153]

표 7

[0154] 조갑진균증 증상 개선 지수

조갑진균증 증상 개선 지수	
1점	발냄새, 각질생성, 가려움증이 심함, 치료 전과 변화 없음
2점	치료 전에 비해 발냄새, 각질생성, 가려움증이 20% 정도 줄어듦
3점	치료 전에 비해 발냄새, 각질생성, 가려움증이 50% 정도 줄어듦
4점	치료 전에 비해 발냄새, 각질생성, 가려움증이 80% 정도 줄어듦
5점	치료 전에 비해 발냄새, 각질생성, 가려움증이 90% 정도 줄어듦

표 8

[0156] 조갑진균증 무좀 개선 효능평가 결과

	가려움	피부각질	손톱 발톱 각질	발냄새
대조군(일반크림)	1.5	1.3	1.2	1.2
Y1	3.5	3.0	2.8	3.2
Y2	4	3.6	3.4	4
Y3	4.2	3.7	3.5	4.2
Y4	4.7	3.5	3.4	4.5
Y5	4.8	4.3	4.3	4.7

Y6	4.9	4.8	4.8	4.9

[0158] 조갑진균증 무좀 개선 효능평가, 대조군 대비 프로폴리스 추출액을 도포하였을 경우에도 발냄새, 각질생성, 가려움증이 약 50% 가량 감소한 것을 확인 할 수 있었다. 더불어 실험예 6에 따라 제조한 프로폴리스 크림을 도포하였을 경우, 약 70% 감소한 것을 확인 할 수 있었다.

[0159] 따라서 프로폴리스 추출물과 토코페롤을 2:1로 혼합한 혼합물의 조갑진균증에 대한 무좀 효능이 가장 높은 것으로 사료된다.

[0160] 또한, Y4, Y5, Y6 임상 결과, 제 1제제와 제 2제제를 혼합하여 제조한 크림이 가장 조갑진균증에 대한 효능이 높은 것으로 사료되며, 특히 제 1 제제와 제 2제제는 2:1로 혼합한 Y6의 조갑진균증에 대한 임상효능이 가장 높은 것으로 사료된다.

[0161] 따라서 바람직하게는 프로폴리스와 토코페롤은 2:1로 혼합하여 제 1제제를 제조하고, 상기 제 1제제와 제 2제제를 2:1의 중량비로 혼합된 크림조성물이 각질연화, 수분유지능 및 조갑진균증에 대한 효능 가장 우수한 것으로 사료된다.

【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】문서전체

【보정세부항목】제1항, 제3항 및 발명의 설명

【변경전】

제재

【변경후】

제제