



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0058504
(43) 공개일자 2020년05월27일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/107 (2006.01) *A61K 47/02* (2006.01)
A61K 47/10 (2017.01) *A61K 47/12* (2006.01)
A61K 47/18 (2017.01) *A61K 47/36* (2017.01)
A61K 47/42 (2017.01) *A61K 9/00* (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01) *A61P 31/04* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 9/1075 (2013.01)
A61K 47/02 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7012086
- (22) 출원일자(국제) 2018년09월24일
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년04월24일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2018/057369
- (87) 국제공개번호 WO 2019/064162
 국제공개일자 2019년04월04일
- (30) 우선권주장
 62/563,114 2017년09월26일 미국(US)

- (71) 출원인
 존슨 앤드 존슨 컨슈머 인코포레이티드
 미국 뉴 저지주 08558 스킨맨 그랜드뷰 로드 199
- (72) 발명자
 노에 상드라
 프랑스 27100 발 드 뢰이 캄뵘 드 메그르몽 존슨 & 존슨 상트 보테 프랑스
 로사노 마농
 프랑스 27100 발 드 뢰이 캄뵘 드 메그르몽 존슨 & 존슨 상트 보테 프랑스
- (74) 대리인
 장훈

전체 청구항 수 : 총 21 항

(54) 발명의 명칭 **박테리아 생물막과 관련된 아토피성 피부염 및 감염을 치료하고 예방하기 위한 국소 조성물 및 방법**

(57) 요약

적어도 20개의 탄소 채를 가진 4차 암모늄 염을 함유하는 나노에멀전은 생물막의 성장을 예방하는 데 효과적이다.

(52) CPC특허분류

A61K 47/10 (2013.01)
A61K 47/12 (2013.01)
A61K 47/186 (2013.01)
A61K 47/36 (2013.01)
A61K 47/42 (2013.01)
A61K 9/0014 (2013.01)
A61P 17/00 (2018.01)
A61P 31/04 (2018.01)

명세서

청구범위

청구항 1

수중유 나노에멀전을 포함하는 국소 조성물로서, 상기 나노에멀전은 적어도 20개의 탄소 원자로 된 적어도 1개의 선형 알킬 쇄를 갖는 4차 암모늄 염 계면활성제, 적어도 1종의 피부연화제(emollient)를 포함하는 유상, 및 수상을 포함하는, 국소 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 4차 암모늄 염 계면활성제는 베헨트라이모늄 클로라이드, 베헨알코늄 클로라이드, 다이베헨다이모늄 클로라이드, 베헨아미도프로필에틸다이모늄 에토설페이트 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는, 국소 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 4차 암모늄 염 계면활성제는 베헨트라이모늄 클로라이드인, 국소 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 4차 암모늄 염 계면활성제는 트라이메틸 4차 암모늄 염인, 국소 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 계면활성제는 상기 조성물의 약 1 중량% 내지 약 7 중량%의 양인, 국소 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 계면활성제는 상기 조성물의 약 2 중량% 내지 약 5 중량%의 양인, 국소 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 나노에멀전은 약 120 nm 미만의 사우터 직경(Sauter diameter) $D[3;2]$ 를 갖는 소적(droplet)을 포함하는, 국소 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 나노에멀전은 약 10 nm 내지 약 100 nm의 사우터 직경 $D[3;2]$ 를 갖는 소적을 포함하는, 국소 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 나노에멀전은 약 30 nm 내지 약 70 nm의 사우터 직경 $D[3;2]$ 를 갖는 소적을 포함하는, 국소 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 국소 조성물이, $45s^{-1}$ 의 전단 속도에서 피지카(Physica) MCR 300(안톤 파르 게엠베하(Anton Paar GmbH))에 의해 측정될 경우, $45s^{-1}$ 에서 360 cP 미만의 점도를 갖는, 국소 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 국소 조성물이, $45s^{-1}$ 의 전단 속도에서 피지카 MCR 300(안톤 파르 게엠베하)에 의해 측정될 경우, $45s^{-1}$ 에서 125 cP 미만의 점도를 갖는, 국소 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 피부연화제는 상기 조성물의 약 1 중량% 내지 약 15 중량%의 양인, 국소 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 조성물의 약 0.5 중량% 내지 약 5 중량%의 양의 레올로지 개질제(rheology modifier)를 추가로 포함하는, 국소 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 레올로지 개질제는 세틸 알코올, 스테아릴 알코올, 카르나우바 왁스, 스테아르산, 하이 드록시에틸셀룰로스, 구아 검, 로커스트 빈 검, 잔탄 검, 젤라틴, 실리카, 벤토나이트, 마그네슘 알루미늄 실리 케이트, 카르보머 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는, 국소 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서, 상기 조성물의 약 5 중량% 내지 약 15 중량%의 양의 적어도 1종의 보습제를 추가로 포함하는, 국소 조성물.

청구항 16

제1항에 있어서, 약 5 중량% 내지 약 15 중량%의 물을 추가로 포함하는, 국소 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, 약 50 중량% 내지 약 90 중량%의 물을 포함하는, 국소 조성물.

청구항 18

제1항에 있어서, 상기 조성물이 추가의 계면활성제를 함유하지 않는, 국소 조성물.

청구항 19

제1항에 있어서, 상기 조성물이 보존제를 함유하지 않는, 국소 조성물.

청구항 20

생물막(biofilm)을 제1항에 기재된 나노에멀전에 노출시키는 단계를 포함하는, 생물막 중의 박테리아를 사멸시 키거나 상기 박테리아의 성장을 억제시키는 방법.

청구항 21

제1항에 있어서, 상기 생물막 중의 박테리아는 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 박테리아 생물막(biofilm)과 관련된 아토피 피부염(atopic dermatitis) 및 감염의 치료 및 예방에 관 한 것이다. 보다 정확하게는 본 발명은 아토피성 피부염에서 발견되는 생물막과 연관된 스태필로코커스 아우레 우스(*Staphylococcus aureus*) 박테리아를 억제하기 위한 국소 조성물을 개시한다. 피부 또는 점막의 치료 방법, 및 상기 국소 조성물의 용도가 개시된다.

배경 기술

[0002] 습진 증후군이라고도 명명되는 아토피성 피부염은 삶의 질을 손상시킬 수 있는 피부의 만성 재발 소양성 염증이 다. 아토피성 피부염은 고도로 산업화된 국가에서 유병률이 높아짐에 따라 전 세계적으로 어린이의 10 내지 20%와 성인의 1 내지 3%에 영향을 미친다. 아토피성 피부염은 손상된 표피 장벽, 선천성 및 적응성 면역의 조 절곤란(dysregulation), 및 박테리아 집락화 및 감염에 대한 높은 감수성을 특징으로 한다. 따라서, 알레르기 및 염증 작용을 촉발하는 물질의 생성을 차단함으로써 면역계에 작용하는, 윤활제(연고 및 크림) 및 국소 또는 경구 코르티코스테로이드가 여전히 일차 치료로 유지되고 있다. 유사하게, 항히스타민제가 또한 투여될 수 있

다. 소양증(pruritus)이 표준적 치료법에 반응하지 않으면, 항생제가 고려될 수도 있다.

[0003] 윤활제는 피부의 수분을 유지하고 피부 장벽을 복구하는 데 효과적이다. 그러나, 이들 유형의 제제의 화장품 승인은 아토피성 피부염 환자들 사이에서의 낮은 순응도를 반영하여 불충분할 수 있다. 더욱이, 이 접근법은 종종 그 자체만으로 충분하지 않다. 반면에 코르티코스테로이드는 강력한 약물이지만, 부작용을 유발하는 것으로 알려져 있으며, 이들 중 일부는 장기간 사용의 경우에 심각할 수도 있다. 항히스타민제는 아토피성 피부염과 연관된 가려움(itch)을 치료하는 데 사용될 수 있지만, 졸음을 야기할 수 있으며 아토피성 피부염의 모든 경우에 도움이 되지 않을 수 있다. 마지막으로, 항생제의 사용은 박테리아 내성의 발생 증가로 인해 논란의 여지가 있다.

[0004] 아토피성 피부염은 또한 변경된 피부 미생물무리(microflora)를 특징으로 하기 때문에, 일부 연구자들은 아토피성 피부염에서 박테리아의 역할을 조사하였다. 보다 일반적으로, 나노에멀전은 강력한 살균작용을 나타내는 것으로 보고되어 아토피성 피부염의 치료에서 주목을 받을 수 있다.

[0005] 그러나, 어느 파라미터가 활성을 담당하는지 이해하기 위한 어떠한 물리-화학적 상관관계도 연구된 적이 없다. 작용 방식은 아직 분명히 명확해지지 않았으나, 나노에멀전을 안정화시키기 위해 사용된 계면활성제가 나노에멀전의 항균 활성을 조절할 수 있는 것으로 보인다.

[0006] 미국 특허 제6559189호(베이커(Baker))는 병원체의 성장을 사멸 또는 억제하기 위한 나노에멀전의 용도를 교시하고 있다. 베이커에 따른 나노에멀전은 계면활성제, 세제 및 양이온성 할로겐 함유 화합물을 포함한다. 베이커는 긴 목록의 가능한 제제 및 제제 중의 4차 암모늄 화합물을 개시하고 있다. 4차 암모늄 화합물 중 어느 것도 18개 초과 탄소 원자의 알킬 선형 쇄를 갖지 않는다. 베이커에 따른 가장 효과적인 조성물은 세제 예컨대 트윈(Tween), 트리톤(Triton) 및 틸록사폴(Tyloxapol)을 함유한다. 손상된 피부(아토피성 피부염)에 이들 제제를 사용하면 환자에게 자극과 불편함을 야기할 것이다. 마지막으로, 베이커는 생물막 및 확립된 또는 성장하는 박테리아 생물막에 대한 나노에멀전의 가능한 사용에 대해 침묵하고 있다.

[0007] 미국 특허 제8747872 호(베이커)는 폐 감염에서 발견되는 것과 같은 생물막과 연관된 박테리아의 치료를 위한 나노에멀전의 용도를 교시하고 있다. 개시된 나노에멀전 제제에 대한 많은 실시양태 중에서, 일부는 4차 암모늄 염을 함유할 수 있다. 개시된 4차 암모늄 염 중 어느 것도 18개의 탄소 원자보다 상급의 알킬 선형 쇄를 갖지 않는다. 생물막에 효과적인 제제의 베이커에 의해 제공되는 예는, 폴록사머, 에탄올 및 세틸피리디늄 클로라이드(P₄₀₇5EC), 또는 트윈 80, 에탄올 및 세틸피리디늄 클로라이드(W₈₀5EC)를 포함한다. 이러한 제제의 사용은 손상된 피부(아토피성 피부염)에 사용된다면 환자에게 자극과 불편함을 야기할 수 있을 것이다.

[0008] 관련 기술분야에 이미 공지된 용액의 부작용을 갖지 않을, 아토피성 피부염 환자의 피부에서 병원체의 성장을 치료 또는 예방하기 위한 국소 조성물을 밝혀낼 필요성이 존재한다. 또한 피부 질환과 관련된 생물막을 포함한 생물막의 성장을 예방하거나 둔화시킬 필요가 있다.

[0009] 놀랍게도, 본 발명자들은 긴 알킬 쇄를 가진 4차 암모늄 염의 나노에멀전이 이전의 조성물의 단점을 극복할 수 있음을 밝혀냈다.

발명의 내용

[0010] 본원에 사용된 바와 같이, 달리 명시되지 않는 한, 모든 백분율은 언급된 조성물의 총 중량을 기준으로 한 중량 기준이다. 본원에 언급된 모든 특허 및 공개된 출원의 개시내용은 그 전문이 참조로 포함된다.

[0011] 본원에 사용된 바와 같이, 성분이 "실질적으로 없는"은, 그 성분의 약 5 중량% 이하를 함유함을 의미한다. 바람직하게는, 성분이 실질적으로 없는 것은, 이러한 성분의 약 2 중량% 이하, 또는 약 1 중량% 이하, 또는 약 0.5 중량% 이하 또는 약 0.1 중량% 이하, 또는 약 0.05 중량% 이하, 또는 약 0.01% 중량 이하를 함유하는 것을 의미한다. 특정 실시 형태에서, 성분이 실질적으로 없는 것은, 성분이 완전히 없는, 즉 그 성분을 전혀 함유하지 않는 것을 의미한다.

[0012] 보다 간결한 설명을 제공하기 위해, 본원에 제공된 정량적 표현 중 일부는 용어 "약"으로 수식되지 않는다. 용어 "약"이 명시적으로 사용되든 아니든, 본원에 주어진 모든 양은 실제 주어진 값을 지칭하는 것을 의미하며, 또한 이러한 주어진 값에 대한 실험 및/또는 측정 조건으로 인한 근사치를 포함한, 관련 기술분야의 통상의 기술에 기초하여 합리적으로 추정될 이러한 주어진 값에 대한 근사치를 지칭하는 것을 의미하는 것으로 이해된다.

[0013] 보다 간결한 설명을 제공하기 위해, 본원에서의 정량적 표현의 일부는 약 X의 양 내지 약 Y의 양의 범위로서 언

급된다. 범위가 언급되는 경우, 범위는 언급된 상한 및 하한으로 제한되는 것이 아니라, 오히려 약 X의 양 내지 약 Y의 양의 전체 범위, 또는 그 안의 임의의 양 또는 범위를 포함하는 것으로 이해된다. 본원에 사용된 바와 같이, "화장품용으로 / 피부과학적으로 허용되는"은 용어가 설명하는 성분이 과도한 독성, 부적합성 (incompatibility), 불안정성, 자극, 알레르기 반응 등이 없이 조직 (예를 들어, 피부 또는 모발)과의 접촉에 사용하기에 적합하다는 것을 의미한다.

[0014] "억제하다" 또는 이의 다른 형태, 예컨대 "억제하는" 또는 "억제"는, 특정의 이벤트 또는 특징을 방해 또는 저지하거나 특정의 이벤트 또는 특징의 빈도 또는 정도를 감소시키는 것을 의미한다. 이는 전형적으로 일부 표준 또는 예상 값과 관련이 있으며, 다시 말해서 상대적인 값이나, 표준 또는 상대 값을 항상 언급할 필요는 없는 것으로 이해된다. 예를 들어, "생물막 형성을 억제하다"는 표준 또는 대조군에 비해 생물막의 형성 또는 추가 성장을 방해 또는 저지하는 것 또는 생물막 형성의 정도를 감소시키는 것을 의미한다.

[0015] "예방하다" 또는 이의 다른 형태, 예컨대 "예방하는" 또는 "예방"은, 특정의 이벤트 또는 특징을 정지시키거나, 특정의 이벤트 또는 특징의 발달 또는 진행을 안정화 또는 지연시키거나, 특정의 이벤트 또는 특징이 발생할 가능성을 최소화시키는 것을 의미한다. 예방하다는 대조군과 비교할 필요가 없는데 그 이유는 그것이, 예를 들어 감소시키다 또는 억제하다보다 전형적으로 더 절대적이기 때문이다. 본원에 사용된 바와 같이, 어떤 것이 감소될 수 있지만 억제되거나 예방되지 않을 수 있으나, 감소되는 어떤 것은 억제되거나 예방될 수도 있다. 또한, 어떤 것이 억제될 수 있지만 감소되거나 예방되지 않을 수 있으나, 억제되는 어떤 것은 감소되거나 예방될 수도 있다. 마찬가지로, 어떤 것이 예방될 수 있지만 억제되거나 감소되지 않을 수 있으나, 예방되는 어떤 것은 억제되거나 감소될 수도 있다. 감소시키다, 억제하다, 또는 예방하다가 사용되는 경우, 구체적으로 달리 지시되지 않는 한, 다른 두 단어의 사용이 또한 명시적으로 개시되는 것으로 이해된다. 따라서, 생물막 형성을 감소시키다가 개시된다면, 생물막 형성을 억제하다와 예방하다가 또한 개시되며, 다른 것도 같다.

[0016] 본 발명은 수중유 나노에멀전을 포함하는 국소 조성물에 관한 것이다. 상기 나노에멀전은 적어도 20개의 탄소 원자로 된 적어도 1개의 선형 알킬 쇄를 갖는 4차 암모늄 염 계면활성제, 적어도 1종의 피부연화제(emollient)를 포함하는 유상, 및 수상을 포함하였다. 4차 암모늄 염 계면활성제는 베헨트라이모늄 클로라이드, 베헨알코늄 클로라이드, 다이베헨닐다이모늄 클로라이드, 베헨아미도프로필에틸다이모늄 에토설페이트 및 이들 계면활성제의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직한 실시 형태에서, 4차 암모늄 염 계면활성제는 베헨트라이모늄 클로라이드이다. 4차 암모늄 염 계면활성제는 트라이메틸 4차 암모늄 염일 수 있다.

[0017] 나노에멀전 중 계면활성제는 조성물의 약 1 중량% 내지 약 7 중량% 또는 조성물의 약 2 중량% 내지 약 5 중량%의 양이다. 나노에멀전은 약 120 nm 미만의 사우터 직경(Sauter diameter) D[3;2]를 갖는 소적(droplet) 또는 약 10 nm 내지 약 100 nm의 사우터 직경 D[3;2]를 갖거나 약 30 nm 내지 약 70 nm의 사우터 직경 D[3;2]를 갖는 소적을 갖는다.

[0018] 본 발명의 조성물은 45s⁻¹의 전단 속도에서 피지카(Physica) MCR 300(안톤 파르 게엠베하(Anton Paar GmbH))에 의해 측정될 경우 45s⁻¹에서 700 cP 미만 또는 보다 바람직하게는 360 cP 미만의 점도, 동일한 방법으로 측정될 경우 125cP 미만의 점도를 가질 수 있다. 상기 조성물은 피부연화제를 조성물의 약 1 중량% 내지 약 15 중량%의 양으로 그리고 레올로지 개질제(rheology modifier)를 조성물의 약 0.5 중량% 내지 약 5 중량%의 양으로 함유할 수 있다. 레올로지 개질제는 세틸 알코올, 스테아릴 알코올, 카르나우바 왁스, 스테아르산, 하이드록시에틸셀룰로스, 구아 검, 로커스트 빈 검, 잔탄 검, 젤라틴, 실리카, 벤토나이트, 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 카르보머 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0019] 국소 조성물은 적어도 1종의 보습제를 조성물의 약 5 중량% 내지 약 15 중량%의 양으로; 그리고 약 5 중량% 내지 약 15 중량%의 물, 또는 약 50 중량% 내지 약 90 중량%의 물을 추가로 포함하였다. 바람직한 실시 형태에서, 상기 조성물은 추가의 계면활성제 및 보습제를 함유하지 않는다.

[0020] 본 발명은 또한 생물막을 본 발명에 따른 나노에멀전에 노출시키는 단계를 포함하는, 생물막의 박테리아의 성장을 사멸 또는 억제시키는 방법에 관한 것이다. 생물막의 예는 스타필로코커스 아우레우스이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 나노에멀전

[0022] 본 발명에 따른 나노에멀전은 적어도 20개의 탄소 원자로 된 적어도 1개의 선형 알킬 쇄를 갖는 4차 암모늄 염

계면활성제를 함유하는 유중수 에멀전이다.

- [0023] 나노에멀전의 유상은 탄화수소유, 예컨대 파라핀유, 퍼셀린유(purcellin oil), 퍼하이드로스쿠알렌, 미세결정질 왁스, 바셀린(petrolatum), 미네랄 오일 (파라피넘 리퀴덤(Paraffinum liquidum)), 폴리알켄, 세라신, 오조케 라이트, 폴리에틸렌, 퍼하이드로스쿠알렌, 폴리 알파 올레핀, 수소화 폴리아이소부텐, 밀랍 및 이들의 혼합물; 포화 에스테르, 예컨대 아이소프로필 팔미테이트, 알킬 미리스테이트, 예컨대 아이소프로필, 부틸 및 세틸 미리스테이트, 헥스테실 스테아레이트, 에틸 팔미테이트, 옥탄산 및 데칸산 트라이글리세라이드 및 세틸 리시놀레에이트, 소듐 포르메이트, 토코페릴 아세테이트, 부틸 아세테이트, 에틸 아세테이트, 메톡시아이소프로필 아세테이트, 글리세릴 라우레이트, PEG-30 글리세릴 라우레이트, 포타슘 라우레이트, 글리세릴 미리스테이트, 아이소프로필 미리스테이트, 포타슘 미리스테이트, 프로필렌 글리콜 미리스테이트, 징크 미리스테이트, 아스코르빌 팔미테이트, 세틸 팔미테이트, 아이소프로필 팔미테이트, 포타슘 팔미테이트, 레티닐 팔미테이트, 아세틸화 글리콜 스테아레이트, 에틸헥실 스테아레이트, 글리세릴 아이소스테아레이트, 글리세릴 스테아레이트, 글리세릴 스테아레이트 SE, 글리콜 다이스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, PEG-150 다이스테아레이트, PEG-3 다이스테아레이트, PEG-30 글리세릴 스테아레이트, PEG-32 스테아레이트, PEG-6 스테아레이트, 폴리글리세릴-2 다이아이소스테아레이트, 폴리글리세릴-3 다이스테아레이트, 포타슘 스테아레이트, 불포화 에스테르 포타슘 소르베이트, 글리세릴 올레에이트, 에틸 리놀레에이트, 글리세릴 리놀레에이트, 토코페릴 리놀레에이트; 실리кон유, 예컨대 다이메틸폴리실록산, 메틸페닐폴리실록산 및 실리кон-글리콜 중합체; 리놀레산 트라이글리세라이드를 포함하는 식물성유, 예컨대 코코스 뉴시페라(Cocos Nucifera) (코코유(coco oil)), 엘라에이스 퀴네엔시스 오일(Elaeis Guineensis Oil) (팜유), 아라키스 히포가에아(Arachis Hypogaea) (아라키드유(arachide oil)), 아르가니아 스피노사(Argania Spinosa) (아르간유), 스위트 아몬드유(sweet almond oil), 아보카도유, 칼로필럼유(calophyllum oil), 라놀린, 피마자유, 올레아 유로파에아(Olea Europaea) 올리브유, 트리티쿰 불가레(Triticum Vulgare) 밀 배아유, 옥수수 배아유, 대두유, 해바라기유, 면실유, 루체른유(Lucerne oil), 양귀비유, 레드 쿠리유(red kuri oil), 세사뭉 인디쿰(Sesamum Indicum) 참깨유, 유채씨유, 달맞이꽃유, 기장유(millet oil), 보리유, 퀴노아유, 호밀유, 잇꽃유, 캔들넛유(candlenut oil), 시계꽃유(passionflower oil), 포도씨유, 유채씨유, 톨 시드유(tall seed oil), 아마씨유, 땅콩유, 갈매나무유(buckthorn oil), 까막까치밥나무씨유(blackcurrant seed oil), 시베리아소나무씨유(Siberian pine seed oil), 앵초유(primrose oil), 글리신 소야(Glycine Soja), 코틸러스 아벨라나(Corylus Avellana) (계암나무유(Hazel oil)), 주글란즈 레기아(Juglans Regia) (견과유(nut oil)), 비티스 비니페라(Vitis Vinifera) (포도유)를 포함할 수 있다.
- [0024] 나노에멀전의 유상은 나노에멀전의 약 5 중량% 내지 약 40 중량% 또는 약 10 중량% 내지 약 30 중량% 또는 약 10 중량% 내지 약 20 중량%를 포함한다.
- [0025] 나노에멀전의 수상은 나노에멀전의 약 60 중량% 내지 약 95 중량%, 또는 나노에멀전의 약 70 중량% 내지 약 90 중량% 또는 약 80 중량% 내지 약 90% 중량%를 포함할 수 있다. 나노에멀전에서 수상에 대한 유상의 바람직한 비는 1:9이다.
- [0026] 나노에멀전에서 사용되는 계면활성제는 적어도 20개의 탄소 원자를 가진 적어도 1개의 선형 알킬 쇄를 갖는 4차 암모늄 염이다. 4차 암모늄 염 계면활성제는 베헨트라이모늄 클로라이드, 베헨알코늄 클로라이드, 다이베헨닐 다이모늄 클로라이드, 베헨아미도프로필에틸다이모늄 에토설페이트 또는 이들의 혼합물을 포함하는 목록으로부터 선택될 수 있다. 특정 실시 형태에서, 본 발명에 따른 나노에멀전을 안정화시키는 4차 암모늄 계면활성제는 5개 초과 탄소 원자로 이루어진 단지 1개의 선형 알킬 쇄를 갖는 것을 추가의 특징으로 할 수 있다. 본 발명에서 사용되는 암모늄 염 계면활성제는 트라이메틸 4차 암모늄 염이다.
- [0027] 본 발명에 따른 나노에멀전은 피부연화제를 포함할 수 있다. 피부연화제는 바셀린, 아이소프로필 팔미테이트, 식물성 오일(수소화되든 아니든), 실리кон유, 임의의 액체 중합된 실록산 예컨대 다이메티콘, 사이클로메티콘, 사이클로펜타실록산, 다이메티콘올, 및 아모다이메티콘, 미네랄 오일, 왁스, 예컨대 파라핀, 파라피넘 리퀴덤, 및 바셀린, 알로에 베라, 지방 알코올 예컨대 아라키딜 알코올, 바틸 알코올, 베헨일 알코올, C12-13 알코올, 세테아릴 알코올, 세틸 알코올, 코코넛 알코올, 아이소세틸 알코올, 옥틸도데카놀 및 팜 알코올, 지방산 및 지방산의 에스테르, 예컨대 바틸 스테아레이트, 세테아릴 베헨에이트, 세테아릴 아이소노나노에이트, 세틸 에스테르, 코코넛 산, 에틸 리놀레에이트, 에틸 리놀레네이트, 에틸 올리베이트, 에틸헥실 코코에이트, 에틸헥실 미리스테이트, 글리세릴 카프릴레이트, 글리세릴 라우레이트/올레에이트, 글리세릴 리시놀레에이트, 아이소세틸 살리실레이트, 아이소스테아릴 알코올, 리놀레산, 리놀렌산, 올레산, 팜 커널 산(palm kernel acid), 팔미트산 및 밀 배아 산(wheat germ acid), 시어 버터(shea butter) (부티로스퍼뮴 파르키이 버터(Butyrospermum parkii butter)), 코코아 버터 (테오브로마 카카오 버터(Theobroma cacao butter)), 왁스, 글리세라이드의 유도체, 예

컨대 카프릭/카프릴릭 트라이글리세라이드, 코코글리세라이드, 및 팜 글리세라이드, 콜레스테롤, 라놀린 및 유도체, PEG의 유도체, 스쿠알란, 스쿠알렌, 수크로스 및 유도체, 글리세롤 유도체, 예컨대 글리세롤 트라이옥타노에이트: 트라이카프릴린, 글리세롤, 트라이스테아레이트: 트라이스테아린, 및 이들의 혼합물을 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다. 피부연화제는 조성물 중에 조성물의 약 1 중량% 내지 약 15 중량%일 수 있다.

[0028] 나노에멀전은 피롤리돈 카복실산(PCA) 및 유도체(아르기닌 PCA, 키토산 PCA, 구리 PCA, 에틸핵실 PCA, 라우릴 PCA, 마그네슘 PCA, 소듐 PCA, 징크 PCA) 부틸렌 글리콜, 칼슘 글루코네이트, 프럭토스, 글루코스, 아이소말트, 락토스, 말티톨, 만니톨, 폴리텍스트로스, 소르비톨, 수크로스, 자일리톨, 글리세롤, 글리시리진산(glycyrrhizic acid) 및 유도체, 히스티딘, 히알루론산 및 그의 염(소듐 히알루로네이트), 실크, 케라틴 또는 콩(soya)의 가수분해물, PEG(-7, -8, -10, -12, -14), 피탄트리올, 프로필렌 글리콜, 실크(세리카(serica)), 우레아 및 이들의 혼합물로부터 선택된 보습제를 포함할 수 있다. 상기 적어도 1종의 보습제가 조성물에 조성물의 약 5 중량% 내지 약 15 중량%의 양으로 존재할 수 있다.

[0029] 나노에멀전은 계면활성제의 평균 활성을 증강시키는 부스터(booster)를 포함할 수 있다. 이들 부스터는 약 0.05 내지 2.0%의 양의 부틸 글리콜, 프로필렌 글리콜 및 카프릴 글리콜일 수 있다.

[0030] 나노에멀전은 국소 조성물의 약 0.5 중량% 내지 약 5 중량%의 양으로 레올로지 개질제를 포함할 수 있다. 레올로지 개질제는 세틸 알코올, 스테아릴 알코올, 카르나우바 왁스, 및 스테아르산, 식물성 검(하이드록시에틸셀룰로스, 구아 검, 로커스트 빈 검, 잔탄 검), 및 젤라틴, 실리카, 벤토나이트, 및 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 카르보머(폴리아크릴산) 및 이들의 혼합물로 이루어진 목록으로부터 선택될 수 있다.

[0031] 본 발명의 나노에멀전은 관련 기술분야에 공지된 고 전단력 블렌더를 사용하여 유상 및 수상을 혼합함으로써 제조된다. 나노에멀전은 1 μm 미만, 바람직하게는 200 nm 미만, 보다 바람직하게는 150 nm 미만의 사우터 직경 D[3;2]를 갖는 소적을 갖는다.

[0032] 국소 조성물

[0033] 본 발명의 국소 조성물은 추가의 보존제를 포함하지 않는다.

[0034] 국소 조성물에 사용되는 보존제는 암모늄 벤조에이트, 부틸 벤조에이트, 칼슘 벤조에이트, 에틸 벤조에이트, 아이소부틸 벤조에이트, 아이소프로필 벤조에이트, 마그네슘 벤조에이트, Mea-벤조에이트, 메틸 벤조에이트, 페닐 벤조에이트, 포타슘 벤조에이트, 프로필 벤조에이트, 벤조산, 소듐 벤조에이트, 프로피온산, 암모늄 프로피오네이트, 칼슘 프로피오네이트, 마그네슘 프로피오네이트, 포타슘 프로피오네이트, 소듐 프로피오네이트, 살리실산, 칼슘 살리실레이트, 마그네슘 살리실레이트, Mea-살리실레이트, 소듐 살리실레이트, 포타슘 살리실레이트, Tea-살리실레이트, 소르브산, 칼슘 소르베이트, 소듐 소르베이트, 포타슘 소르베이트(헥사-2,4-다이엔산 및 그의 염), 포르말데히드, 파라포르말데히드, o-페닐페놀, Mea o-페닐페네이트, 포타슘 o-페닐페네이트, 소듐 o-페닐페네이트, 징크 피리티온, 아황산나트륨, 중아황산암모늄, 아황산암모늄, 아황산칼륨, 아황산수소칼륨, 중아황산나트륨, 메타중아황산나트륨, 메타중아황산칼륨, 클로로부탄올, 부틸파라벤, 프로필파라벤, 소듐 프로필파라벤, 소듐 부틸파라벤, 포타슘 부틸파라벤, 포타슘 프로필파라벤 (부틸 4-하이드록시벤조에이트 및 그의 염) (프로필 4-하이드록시벤조에이트 및 그의 염), 4-하이드록시벤조산, 메틸파라벤, 포타슘 에틸파라벤, 포타슘 파라벤, 소듐 메틸파라벤, 소듐 에틸파라벤, 에틸파라벤, 소듐 파라벤, 포타슘 메틸파라벤, 칼슘 파라벤, 데하이드로아세트산, 소듐 데하이드로아세테이트(3-아세틸-6-메틸피란-2,4(3H)-다이온 및 그의 염), 포름산, 소듐 포르메이트, 다이브로모헥사미딘 이세티오네이트 (3,3'-다이브로모-4,4'-헥사메틸렌다이옥시다이벤즈아미딘 및 그의 염(이세티오네이트 포함)), 티메로살, 페닐 머큐릭 아세테이트, 페닐 머큐릭 벤조에이트, 운데실렌산, 포타슘 운데실레네이트, 소듐 운데실레네이트, 칼슘 운데실레네이트, Mea-운데실레네이트, Tea-운데실레네이트, 헥세티딘(5-피리미딘아민, 1,3-비스(2-에틸핵실)헥사하이드로-5-메틸-), 5-브로모-5-니트로-1,3-다이옥산, 2-브로모-2-니트로프로판-1,3-다이올, 다이클로로벤질 알코올, 트라이클로카르반(1-(4-클로로페닐)-3-(3,4-다이클로로페닐)우레아), p-클로로-m-크레졸, 트라이클로산(5-클로로-2-(2,4-다이클로로페녹시)페놀), 클로로자이레놀, 이미다졸리디닐 우레아 (N,N"-메틸렌비스[N'-(3-(하이드록시메틸)-2,5-다이옥소이미다졸리딘-4-일]우레아)), 폴리아미노프로필 비구아니드 (폴리(헥사메틸렌비구아니드) 하이드로클로라이드; 폴리(이미노이미도카르보닐)이미노헥사메틸렌 하이드로클로라이드; 폴리(이미노카르보닐이미도일이미노카르보닐이미도일이미노-1,6-헥산디일)), 페녹시에탄올, 메텐아민, 쿼터늄(Quaternium)-15 (메텐아민 3-클로로알릴로클로라이드), 클림바졸(Climbazole) (1-(4-클로로페녹시)-1-(이미다졸-1-일)-3,3-다이메틸부탄-2-온), DMDM 히단토인 (1,3-비스(하이드록시메틸)-5,5-다이메틸이미다졸리딘-2,4-다이온), 벤질 알코올, 1-하이드록시-4-메틸-6-(2,4,4-트라이메틸헨틸)-2 피리돈 및 그의 모노에탄올아민 염, 브로모클로로펜 (2,2'-메틸렌비스(6-브로모-4-클로로페놀)), o-시텐-5-올 (4-아이

소프로필-M-크레졸), 메틸클로로아이소티아졸리논 및 메틸아이소티아졸리논 (5-클로로-2-메틸-아이소티아졸-3(2H)-온 및 2-메틸아이소티아졸-3(2H)-온과 염화마그네슘 및 질산마그네슘과의 혼합물), 클로로펜 (2-벤질-4-클로로페놀), 클로로아세트아미드 (2-클로로아세트아미드), 클로르헥시딘, 클로르헥시딘 다이아세테이트, 클로르헥시딘 다이글루코네이트, 클로르헥시딘 다이하이드로클로라이드 (N,N'-비스(4-클로로페닐)-3,12-다이이미노-2,4,11,13-테트라아자테트라데칸다이아미딘 및 그의 다이글루코네이트, 다이아세테이트 및 다이하이드로클로라이드), 페녹시아이소프로판올 (1-페녹시프로판-2-올), 세트라이모늄 브로마이드, 세트라이모늄 클로라이드, 라우르트라이모늄 브로마이드, 라우르트라이모늄 클로라이드, 스테아르트라이모늄 브로마이드, 스테아르트라이모늄 클로라이드 (알킬 (C12-C22) 트라이메틸 암모늄 브로마이드 및 클로라이드), 다이메틸 옥사졸리딘 (4,4-다이메틸-1,3-옥사졸리딘), 다이아졸리디닐 우레아 (N-(하이드록시메틸)-N-(다이하이드록시메틸-1,3-다이옥소-2,5-이미다졸리디닐-4)-N'-(하이드록시메틸)우레아), 헥사미딘, 헥사미딘 다이이세티오네이트, 헥사미딘 다이파라벤, 헥사미딘 파라벤 (벤젠카르복시이미다미드, 4,4'-(1,6-헥산디일비스(옥시))비스-, 및 그의 염 (아이소티오네이트 및 p-하이드록시벤조에이트를 포함)), 글루타랄(Glutaral) (글루타르알데히드 (펜탄-1,5-다이알)), 7-에틸바이사이클로옥사졸리딘 (5-에틸-3,7-다이옥사-1-아자바이사이클로[3.3.0] 옥탄), 클로르페네신 (Chlorphenesin) (3-(p-클로로페녹시)-프로판-1,2-다이올), 소듐 하이드록시메틸글리시네이트, 염화은, 벤제토늄 클로라이드 (벤젠메탄아미늄, N,N-다이메틸-N-[2-[2-[4-(1,1,3,3,-테트라메틸부틸)페녹시]에톡시]에틸]-, 클로라이드), 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈알코늄 브로마이드, 벤즈알코늄 사카리네이트, 벤질헤미포르말 (메탄올, (페닐메톡시)-), 아이오도프로피닐 부틸카르바메이트 (3-아이오도-2-프로피닐부틸카르바메이트), 메틸아이소티아졸리논 (2-메틸-2h-아이소티아졸-3-온), 에틸 라우로일 아르기네이트 HCl, 시트르산 (및) 시트르산은 (1,2,3-프로판트라이카르복실산, 2-하이드록시-, 일수화물 및 1,2,3-프로판트라이카르복실산, 2-하이드록시-은 (1+) 염, 일수화물)을 포함한다.

[0035] 본 발명의 일 실시 형태에서, 본 발명에 따른 국소 조성물 또는 나노에멀전은 4차 암모늄 염 계면활성제 이외의 추가의 세제 또는 계면활성제를 함유하지 않는다. 이들 추가의 세제 또는 계면활성제는, citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.473.424&rep=rep1&type=pdf에서 접속되는, 문헌[A Quantitative Kinetic Theory of Emulsion Type. I. Physical Chemistry of the Emulsifying Agent, Davies, Gas/Liquid and Liquid/Liquid Interfaces Proceedings of 2nd Congress Surface Activity, Butterworths, London 1957]에 기재된 방법을 사용하여 계산된 바와 같이 13 내지 15 범위의 HLB 값을 갖는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0036] 일 실시 형태에서, 국소 조성물은 화장용 활성제(cosmetically active agent)를 추가로 포함한다. "화장용 활성제"의 의미는 피부, 모발, 또는 손톱에 화장 또는 치료 효과를 갖는 화합물, 예를 들어, 라이트닝제(lightening agent), 다크닝제(darkening agent), 예컨대 자가-태닝제(self-tanning agent), 향여드름제, 광택 제어제(shine control agent), 향균제, 향염증제, 향진균제, 항기생충제, 외용 진통제(external analgesics), 일광차단제, 광 보호제, 항산화제, 각질용해제, 세제/계면활성제, 보습제, 영양소, 비타민, 에너지 증강제, 항발한제, 수렴제, 탈취제, 모발 제거제, 고화제(firming agent), 굳은살 방지제(anti-callous agent), 및 모발, 손톱, 및/또는 피부 컨디셔닝제이다.

[0037] 일 실시 형태에서, 화장용 활성제는 하이드록시산, 벤조일 퍼옥시드, 황 레조르시놀, 아스코르브산, D-판테놀, 하이드로퀴논, 옥틸 메톡시신니메이트, 이산화티타늄, 옥틸 살리실레이트, 호모살레이트, 아보벤존, 폴리페놀릭스(polyphenolics), 카로티노이드, 자유 라디칼 스캐빈저, 세라미드, 고도불포화 지방산, 필수 지방산, 효소, 효소 억제제, 미네랄, 호르몬 예컨대 에스트로겐, 스테로이드, 예컨대 하이드로코르티손, 2-다이메틸아미노에탄올, 구리 염, 예컨대 염화구리, 코엔자임 Q10, 리포산, 아미노산, 예컨대 프롤린 및 티로신, 비타민, 락토비온산, 아세틸-코엔자임 A, 니아신, 리보플라빈, 티아민, 리보스, 전자 전달체 예컨대 NADH 및 FADH₂, 및 다른 식물 추출물, 예컨대 알로에 베라, 화란국화(feverfew), 및 소이(soy), 및 그의 유도체 및 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되나, 이에 제한되지는 않는다. 화장용 활성제는 전형적으로 본 발명의 조성물에 조성물의 약 0.001 중량% 내지 약 20 중량%, 예를 들어 약 0.01 중량% 내지 약 10 중량%, 예컨대 약 0.1 중량% 내지 약 5 중량%의 양으로 존재할 것이다.

[0038] 비타민의 예는 비타민 A, 비타민 B군(예컨대, 비타민 B3, 비타민 B5, 및 비타민 B12), 비타민 C, 비타민 K, 및 비타민 E, 및 그의 유도체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0039] 일 실시 형태에서, 조성물은 1종 이상의 항산화제를 또한 함유한다. 항산화제의 예는 수용성 항산화제, 예컨대 설프하이드릴 화합물 및 그의 유도체(예를 들어, 메타중아황산나트륨 및 N-아세틸-시스테인), 리포산 및 다

이하이드로리포산, 레스베라트롤, 락토펜, 아스코르브산 및 아스코르브산 유도체(예를 들어, 아스코르빌 팔미테이트 및 아스코르빌 폴리퀘티드)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 조성물에 사용하기에 적합한 지용성 항산화제는 부틸화 하이드록시톨루엔, 토코페롤(예를 들어, 토코페릴 아세테이트), 토코트라이에놀, 및 유비퀴논을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 조성물에 사용하기에 적합한 항산화제를 함유하는 천연 추출물에는 플라보노이드 및 아이소플라보노이드 및 이들의 유도체(예를 들어, 제니스테인 및 다이아드제인)를 함유하는 추출물, 레스베라트롤을 함유하는 추출물 등이 포함되지만 이에 한정되지 않는다. 이러한 천연 추출물의 예는 포도씨, 녹차, 소나무 껍질, 및 프로폴리스를 포함한다. 항산화제의 다른 예는 ICI 편람(Handbook)의 1612-13 페이지에서 찾을 수 있다.

[0040] 국소 사용

[0041] 본 발명의 나노에멀전 및 조성물의 국소 사용은 피부의 질환 예컨대 습진, 염증, 및 피부 위축을 위한 것이다. 본 발명의 조성물은 또한 피부 질환과 관련된 박테리아의 생물막의 성장을 정지시키거나, 예방하거나, 둔화시키거나 억제하는데 사용된다.

[0042] 본원에 사용된 바와 같이, "국소 사용" 및 "국소 적용하는"은, 예를 들어, 손 또는 어플리케이터, 예컨대 와이프(wipe)의 사용에 의해 피부, 모발, 또는 손톱 위에 직접 놓거나 바르는 것을 의미한다.

[0043] 실시예

[0044] 실시예는 본 발명의 특성 및 수행 방식을 추가로 설명하기 위한 것이다. 그러나, 본 발명은 그의 세부사항으로 제한되는 것으로 간주되어서는 안된다.

[0045] 하기 재료 및 시험 방법을 실시예에서 사용하였다.

[0046] 1. 재료 및 방법

[0047] 1.1 제제

[0048] 표준 베이스(base) 제제 조성물은 표 1에 상세히 열거되어 있다. 계면활성제 및 피부연화제는 하기 단락 1.2에 제공된 목록으로부터 선택되었다. 제제의 각각의 계면활성제 또는 피부연화제는 각각의 성분 카테고리에서 하나 또는 상이한 제품의 조합을 함유할 수 있다.

[0049] [표 1]

총 제제의 중량%로 나타낸 각각의 성분에 대한 조성물의 제제

	제제 1	제제 2	제제 3
글리세린	5%	12%	12%
계면활성제	1%	5%	2.5%
피부연화제	8%	10.75%	9.45% 또는 10.7%
NaCl	0.2%	0.01%	0.01%
물	100%까지 충분량	100%까지 충분량	100%까지 충분량

[0050]

[0051] 1.2 제제의 성분

[0052] 1.2.1 계면활성제

[0053] • INCI 명칭: 포타슘 세틸 포스페이트, 수소화 팜 글리세라이드; 상표명: 에멀시포스(Emulsiphos) 677660; 제 공자: 짐리제 아게(Symrise AG)

[0054] • INCI 명칭: 다이스테아릴다이모늄 클로라이드, 아이소프로필 알코올; 상표명: 배리소프트(Varisoft) TA100; 제 공자: 에보니크 골드슈미트 게엠베하(EVONIK GOLDSCHMIT GmbH)

[0055] • INCI 명칭: 베헨트라이모늄 클로라이드, 다이프로필렌 글리콜; 상표명: 게나민(Genamin) BTLF; 제 공자: 클라리언트 게엠베하(Clariant GmbH)

[0056] • INCI 명칭: 트라이세테아레스-4 포스페이트, 세테아레스 4, 세테아릴 알코올; 상표명: 호스타페트(Hostaphat) KW 340 D; 제 공자: 클라리언트 인터내셔널 리미티드(Clariant International Ltd)

- [0057] 1.2.2 피부연화제
- [0058] * INCI 명칭: 미세결정질 왁스; 파라핀; 미네랄 오일; BHT, 상표명: 바셀린 블랜치 코덱스 신타덱스(Vaseline Blanche Codex Syntadex) 7702, 제공자: 신틸(Synteal)
- [0059] * INCI 명칭: 아이소프로필 팔미테이트, 상표명: 아이소프로필 팔미테이트, 제공자: 코그니스(Cognis)
- [0060] * INCI 명칭: 다이메티콘, 상표명: 엘리먼트(Element)14 PDMS 10-A, 제공자: 아이겐만 앤드 베로넬리 에스.피.에이(EIGENMANN & VERONELLI S.P.A)
- [0061] * INCI 명칭: 세틸 알코올, 상표명: 라네뜨(Lanette) 16, 제공자: 바스프 퍼스널 케어 운트 뉴트리션 게엠베 하(BASF Personal Care & Nutrition GmbH)
- [0062] * INCI 명칭: 카프릴릴 글리콜, 상표명 더모소프트 옥티올(Dermosoft Octiol), 제공자 옥시란 케미컬 컴퍼니 리미티드(Oxyrane Chemical Co. Ltd.)
- [0063] 1.3 미생물학
- [0064] 1.3.1 유발 검사(Challenge test)
- [0065] 유발 검사를 표준 ISO11930 (2012)에 따라 수행하였다. 유발 검사는 보정된 접종물을 사용한 제제의 접종에 기초하였다. 생존한 미생물의 수는 28일의 기간 동안 규정된 간격으로 측정하였다. 각각의 시간 및 각각의 균주에 대해, 로그 감소 값은 상이한 시점에서 회수(recovery)의 로그와 대비해서 계산된 로그 유발 대조군 카운트(challenge control count) (시작점에서 그램당 접종물 밀도)를 사용하여 결정하였다. 로그 감소가 2 내지 3이면 유발 검사는 완전한 성공으로서 간주하고; 로그 감소가 3보다 크면 유발 검사는 분명한 성공으로서 간주하였다.
- [0066] 상기 검사는 시험 미생물로서 하기 균주를 사용하여 시행하였다:
- [0067] - 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*)ATCC®9027TM2;
- [0068] - 스타필로코커스 아우레우스 ATCC®6538TM;
- [0069] - 에셰리키아 콜라이(*Escherichia coli*) ATCC®8739TM;
- [0070] - 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) ATCC®10231TM;
- [0071] - 아스페르길러스 브라질리엔시스(*Aspergillus brasiliensis*) (이전에 에이. 니거(*A. niger*)) ATCC®16404TM.
- [0072] 상기 검사는 멸균 캡핑된 세균학적 용기(bacteriological container)에서 행하였다. 최소 20 g의 검사 물질을 멸균 용기에 옮겼다. 생성물을 접종 직후 대략 1분 동안 완전히 혼합하였다. 접종된 샘플을 검사 기간 동안 20℃로 저장하였다. 각각의 샘플링 전에, 생성물을 신중하게 혼합하여 균질성을 보장하였다. 플레이트 카운트 연속 희석을 중화제 중에서 수행하여 보존 시스템을 중화시켰다. 최소 샘플 크기는 표준 제품 + 9 ml 중화제의 경우 1 ml/그램이었다. 30℃ 또는 20℃에서 4일 동안, TSA 또는 SDA 인큐베이션 배지를 사용하여 한천 플레이트 상에서 미생물을 성장시켰다. 인큐베이션 후, 미생물 콜로니의 수를 세고 복제 플레이트(duplicate plate)에 대한 평균 cfu/ml에 희석 계수를 곱하였다.
- [0073] 1.3.2 생물막 성장, 크리스탈 바이올렛 방법(crystal violet method)
- [0074] 생물막 성장에 대한 실험을 문헌[G. A. O'Toole, *Microtiter Dish Biofilm Formation Assay, J Vis Exp. 2011; (47): 2437*]에 개시된 프로토콜에 따라 수행하였다. 지. 에이. 오톨(G. A. O'Toole)에 의해 개시된 프로토콜은 슈도모나스 아에루기노사에 대한 검정을 교시하며, 이를 스타필로코커스 아우레우스 MFP03 및 스타필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus Epidermidis*) MFP04에 적합화하였다.
- [0075] 두 가지 조건을 연구하였다:
- [0076] - 형성 중인(in formation) 생물막에 대한 에멀전의 효과: 에멀전은 박테리아 성장의 처음부터 배지에 첨가되었다.
- [0077] - 확립된 생물막에 대한 에멀전의 효과: 에멀전은 생물막의 발달을 허용한 최초 24-시간 인큐베이션 후에 박테

리아에 첨가되었다.

- [0078] 지. 에이. 오톨에 의해 교시된 프로토콜은 다음과 같다:
- [0079] 생물막 성장
- [0080] 1. 야생형 슈도모나스 아에루기노사 또는 돌연변이체 균주의 배양액을 풍부한 배지(즉, LB)에서 밤새 성장시킨다.
- [0081] 2. 생물막 검정을 위해 밤새 배양물을 1:100으로 새로운 배지로 희석한다. 피. 아에루기노사(*P. aeruginosa*)에 대한 표준 생물막 검정 배지는 황산마그네슘, 글루코스 및 카사미노산이 보충된 M63 최소 배지이다. 더 적은 플랑크톤 성장 및 보다 강건한 생물막을 자극하는 대안적인 생물막-촉진 배지로서, 글루코스 및 카사미노산은 유일한 탄소 및 에너지 원으로서 아르기닌으로 대체될 수 있다.
- [0082] 3. 96 웰 접시에 웰당 100 μ L의 희석액을 첨가한다. 정량 검정의 경우, 전형적으로 각각의 처리에 대해 4 내지 8개의 복제 웰(replicate well)을 사용한다.
- [0083] 4. 마이크로타이터 플레이트(microtiter plate)를 37°C에서 4-24시간 동안 인큐베이션한다.
- [0084] 생물막 염색
- [0085] 1. 인큐베이션 후, 플레이트를 뒤집어 액체를 털어냄(shaking out)으로써 세포를 쏟아낸다(dump out).
- [0086] 2. 플레이트를 물이 들어 있는 작은 통(tub)에 조심스럽게 잠기게 한다 (즉, P1000 피펫맨(pipetmen)용 피펫 팁 박스의 바닥을 상기 통으로서 사용한다). 물은 털어낸다. 이 과정을 2회 반복한다. 이 단계는 다음 단계에서 염색될 수 있는 부착되지 않은 세포 및 배지 성분을 제거하는 데 도움이 되며 배경 염색(background staining)을 상당히 저하시킨다.
- [0087] 3. 마이크로타이터 플레이트의 각각의 웰에 물 중 크리스탈 바이올렛의 0.1% 용액 125 μ L를 첨가한다.
- [0088] 4. 마이크로타이터 플레이트를 10 내지 15분 동안 실온에서 인큐베이션한다.
- [0089] 5. 상기에 개설했던 바와 같이 물이 들어 있는 통에 잠기게 함으로써 플레이트를 물로 3 내지 4회 헹구고, 종이 타월 더미에서 털어내서 격렬하게 닦아 플레이트에서 모든 과잉 세포 및 염료를 제거한다.
- [0090] 6. 마이크로타이터 플레이트를 뒤엎어서 몇 시간 또는 밤새 건조시킨다.
- [0091] 7. 정성 검정의 경우, 건조시 웰을 촬영할 수 있다.
- [0092] 생물막 정량화
- [0093] 1. 물 중 125 μ L의 30% 아세트산을 마이크로타이터 플레이트의 각각의 웰에 첨가하여 CV를 가용화한다.
- [0094] 2. 마이크로타이터 플레이트를 10 내지 15분 동안 실온에서 인큐베이션한다.
- [0095] 3. 125 μ L의 가용화된 CV를 새로운 편평 바닥 마이크로타이터 접시에 옮긴다.
- [0096] 4. 블랭크로서 물 중 30% 아세트산을 사용하여 550 nm에서 플레이트 판독기에서 흡광도를 정량화한다.
- [0097] 형성 중인 생물막의 조건의 경우: 10% (w/w)의 에멀전을 배지에 첨가하고, 24시간의 인큐베이션 후, 광학 밀도를 측정하였다. 확립된 생물막의 경우: 24시간의 생물막 성장 후, 배양 배지를 제거하고 4시간 동안 에멀전으로 대체하였다. 이어서 광학 밀도를 측정하였다. 결과는 생물막 자체인 대조군 샘플에 비한 흡광도의 백분율로 표시하였다. 형성 중인 생물막의 경우, 이 백분율의 감소는 에멀전의 존재 하에 성장 억제를 나타낸다. 확립된 생물막의 경우, 이 백분율의 감소는 이미 확립된 생물막에 대한 영향을 나타낸다.
- [0098] 1.3.3 생물막 성장 억제, 웰즈 방법(wells method).
- [0099] 생물막 성장에 대한 실험을 문헌[Hui Zhang et al., *Characterization and antimicrobial activity of a pharmaceutical microemulsion, International Journal of Pharmaceutics* 395 (2010) 154-160]에 개시된 프로토콜에 따라 수행하였다.
- [0100] 후이 장(Hui Zhang)에 의해 개시된 프로토콜을 다음과 같이 적합화하였다:
- [0101] a- 100 μ L의 박테리아 균주 배양물 ($DO_{580} = 0,5$)을 LB 배양 플레이트에 산포(spreading)하였다.

- [0102] b- 5 mm 직경의 웰을 배양 플레이트의 겔 표면에 펀치로 형성시킨다. 각각의 웰은 시험 전체에 걸쳐 동일한 제제인 하나의 제제에 속하게 한다.
- [0103] c- 50 μ L의 시험된 제제를 웰당 주사한다.
- [0104] d- 37°C에서 24시간 인큐베이션.
- [0105] e- 웰에서 제제를 비운다.
- [0106] f- 성장 억제 혼탁(halo)을 측정한다.
- [0107] g- 단계 c로부터 반복하여 수일(본 경우에 8일)에 걸쳐 데이터를 취득한다.
- [0108] 1.4 나노에멀전
- [0109] 1.4.1 장비
- [0110] 미세유동화기(Microfluidizer) M110P, 유체 증압기 펌프(Hydraulic intensifier pump) 및 F12Y 상호작용 챔버는 마이크로플루이드스(Microfluidics) (메사추세츠주 웨스트우드)에 의해 제조된 것이다.
- [0111] 1.4.2 에멀전 제조
- [0112] 에멀전은 하기 공정에 따라 실험실에서 제조하였다:
- [0113] 주 용기(main vessel)에 정제수를 도입하고 믹서, 예컨대 VMI 레이네리(Raynerie)로부터의 터보테스트(Turbotest)로 교반하면서 50°C로 가열하였다. 이어서, 염화나트륨을 교반 하에 첨가하였다. 혼합물을 80°C로 가열하였다. 이어서, 계면활성제 및 피부연화제를 교반 하에 연속적으로 첨가하고 완전히 용해될 때까지 혼합하였다. 혼합물을 60°C로 냉각시켰다. 약 60°C에서, 글리세린을 교반 하에 첨가하였다. 상기 공정은 60°C에서 종료시켰다.
- [0114] 1.4.3 나노에멀전 제조
- [0115] 나노에멀전은 고압 미세유체 공정(high-pressure microfluidic process)에 따라 제조하였다. 50°C에서의 조약한 에멀전은 마이크로플루이드스 M110P 기계의 유입 저장소를 통해 시스템에 진입하였다. 이어서 유체 증압기 펌프에 의해 생성된 20,000 psi 압력에 의해 에멀전을 동작시켰다. M110P는 생성물을 F12Y 상호작용 챔버를 통해 추진하였다. 생성물은 고속으로 가속화되며 강한 전단 및 충격에 적용되었다 (속도, 전단 및 충격은 상호작용 챔버를 가진 기계의 고유 특성이다). 6 mL의 생성물이 1초 미만 내에 챔버를 통과하고, 유체는 300 m/s 초과로 챔버를 통과하여야 하였다. 가공 후, 생성물은 출력 저장소에 수집하였다. 달리 명시되지 않는 한, 에멀전은 이 공정에 3회 통과되었다.
- [0116] 1.4.4 소적 크기
- [0117] 소적 크기는 분산된 미립자 샘플을 레이저 빔이 통과함에 따라 산란된 광의 세기에서의 각도 변화를 측정하는 동적 광 산란 기술을 이용한 마스터사이저(Mastersizer) 3000 (멜버른 인스트루먼트즈 리미티드(Malvern Instruments Ltd), 영국)에 의해 측정하였다.
- [0118] 나노에멀전 소적은 하기 공정에 따라 측정하였다:
- [0119] - 실험을 위해 템퍼링(tempering) 및 가스 없는 물을 얻기 위해 하루 전에 탈염수를 취해야 한다.
- [0120] - 장비는 분석 20분 전에 시작된다.
- [0121] - 순환 루프(circulation loop)를 일반 물(normal water)로 행구고 (이는 세정을 용이하게 한다), 이어서 탈염수로 1회 행군다.
- [0122] - 분석 파라미터는 다음과 같다:
- [0123] - 굴절률: 1.450
- [0124] - 흡수 지수: 0.001
- [0125] - 미(Mie) 이론
- [0126] - 모델: 구형

- [0127] - 적색 파장에서의 획득 시간: 10초 + 10초의 배경
- [0128] - 청색 파장에서의 획득 시간: 3초 + 3초의 배경
- [0129] - 5회 측정
- [0130] - 측정 사이와 측정 전에 대기 시간 없음
- [0131] 교반 속도: 1500 rpm
- [0132] - 초기화
- [0133] - 검출기 1 < 100
- [0134] - 검출기 20 < 20
- [0135] - 검출 다이어그램 프로파일(detection diagram profile)은 범프(bump) 없이 규칙적으로 감소하는 지수이어야 한다.
- [0136] - 검출력은 녹색 영역에 있어야 한다.
- [0137] - 신호가 약하고 무작위로 진동할 때까지의 배경
- [0138] - 샘플 제조:
- [0139] - 소량의 생성물(주격의 끝)을 균질해질 때까지 약 2 방울의 정제수에 희석한다.
- [0140] - 약 2 ml의 추가의 물을 첨가하고 혼합물이 균질해질 때까지 수동으로 교반한다.
- [0141] - 균질한 경우, 이 희석액은 샘플러(sampler)의 바닥에 직접 피펫으로 약 5%의 암흑화(obscurat ion)가 될 때까지 도입된다. 암흑화가 안정적인 경우, 측정을 시작한다. RSD 값이 5% 미만이 될 때까지 측정을 반복한다 (d10, d50 및 d90에 대한 정상 곡선(steady curve)).
- [0142] - 허용 기준:
- [0143] - 10개의 포인트가 필요하다. RSD는 < 5%이어야 한다.
- [0144] - 잔차(residual) 및 가중 잔차(weighted residual)는 < 2%이어야 한다.
- [0145] - 피트(Fits) 허용 신호는 배경 잡음보다 3배 높아야 한다.
- [0146] 나노에멀전은 통상적인 에멀전 소적과 비교하여 더 큰 표면적을 갖는 소형 소적을 갖는다. 소적 반경의 감소는 표면적을 크게 증가시킨다. 사우터 직경 D[3;2]는 이들 소적을 특징짓는 데 사용되는 직경이다. 이것은 관심 입자와 동일한 부피/표면적 비를 갖고 작은 입자에 민감한 구의 직경으로서 정의된다.
- [0147] 1.5 점도
- [0148] 점도 측정은 $45s^{-1}$ 의 전단 속도에서 피지카 MCR 300(안톤 파르 게엠베하) 상에서 수행하였다.
- [0149] 시험 방법:
- [0150] - 공급자 권장사항에 따라 설정한다.
- [0151] - 모터(motor) 조정, 초기화 및 제로 갭(Zero Gap)을 실현한다.
- [0152] - 온도조절기를 20℃에 놓았다. 측정/샘플 온도는 20℃이어야 한다.
- [0153] - 마이크로만(Microman) 피펫을 사용하여 장비의 콘(cone)/플레이트 갭 + 10%에 상응하는 생성물의 부피를 취한다.
- [0154] - 생성물을 움직이지 않고 플레이트의 중앙에 서서히 놓아준다. 이는 대칭적인 둥근 볼륨(symmetric round volume)를 형성하여야 한다. 기포 형성을 피한다.
- [0155] - $45s^{-1}$ 의 전단 속도에서 말단절단(Truncation) 점도에 따라 상기 콘을 측정 위치로 아래로 이동시킨다.
- [0156] - 이어서 하기 프로토콜을 적용하여 $45s^{-1}$ 에서 점도를 얻는다:

- [0157] 1. 120초 동안 20℃에서 설정한다. 어떤 전단 속도도 없다.
- [0158] 2. 5s⁻¹에서 10초마다 3회 측정
- [0159] 3. 5s⁻¹에서 45s⁻¹로 증가하는 동안 4초마다 9회 측정
- [0160] 4. 45s⁻¹에서 5초마다 2회 측정
- [0161] 점도에 대해 기록될 값은 45s⁻¹에서 두 번째 측정값이다.
- [0162] **2. 실시예 및 시험 결과**
- [0163] **2.1 유발 검사**
- [0164] 다섯 가지 조성물(실시예 1 내지 5)을 상기에 기재된 유발 검사 프로토콜에 따라서 그의 미생물학적 안정성에 대해 시험하였다. 이들 조성물 중 어느 것도 미세유동화되지 않았다. 유발 검사와 관련하여 가장 효율적인 계면활성제를 선택하는 것이 목적이었다.
- [0165] **실시예 1 (비교예)**
- [0166] 실시예 1의 조성물을 제제 1에 따라 제제화하였다.
- [0167] 계면활성제는 제제 총 중량의 1%인 포타슘 세틸포스페이트였다.
- [0168] **실시예 2 (비교예)**
- [0169] 실시예 2의 조성물을 제제 2에 따라 제제화하였다.
- [0170] 계면활성제는 제제 총 중량의 5%인 트라이세테아레스-4 포스페이트; 및 제제 총 중량의 1.25%인 세틸 알코올이었다.
- [0171] **실시예 3 (비교예)**
- [0172] 실시예 3의 조성물을 제제 2에 따라 제제화하였다.
- [0173] 계면활성제는 제제 총 중량의 5%인 다이스테아릴다이모늄 클로라이드; 및 제제 총 중량의 1.25%인 세틸 알코올이었다.
- [0174] **실시예 4 (비교예)**
- [0175] 실시예 4의 조성물을 제제 2에 따라 제제화하였다.
- [0176] 계면활성제는 제제 총 중량의 5%인 베헨트라이모늄 클로라이드; 및 제제 총 중량의 1.25%인 세틸 알코올이었다.
- [0177] **실시예 5 (비교예)**
- [0178] 실시예 5의 조성물을 제제 2에 따라 제제화하였다.
- [0179] 계면활성제는 제제 총 중량의 5%인 베헨트라이모늄 클로라이드; 및 제제 총 중량의 2.5%인 세틸 알코올이었다.
- [0180] 실시예 1 및 2의 조성물은 실시예 2의 이. 콜라이(*E. Coli*)를 제외하고는 유발 검사에 실패하였다. 미생물학적 성장이 관찰되었다. 실시예 3의 조성물은 유발 검사에 성공하였으나 썸. 알비칸즈(*C. albicans*) 및 에이. 브라실리엔시스(*A. brasiliensis*)에 대해서는 실패하였다. 실시예 4 및 5의 조성물은 유발 검사에 성공하였다. 실시예 5의 조성물은 에이. 브라실리엔시스에 대한 검사를 가까스로 피하였으며, 한편 실시예 4의 조성물은 약간의 성공이었다. 상세한 결과는 표 2에 제시하였다.

[0181] [표 2]

로그 감소로 표시된, 28일 후의, 비교예 제제의 유발 검사

28 일	이. 콜라이	에스. 아우레우스	피. 아에루기노사	씨. 알비칸즈	에이. 브라실리엔시스
실시예 1	-0.7	1.6	0.2	-0.8	0.3
실시예 2	2.1	0.6	1.2	-0.7	0.0
실시예 3	3.7	3.8	3.8	-1	1.0
실시예 4	3.5	3.6	3.5	3.5	2.4
실시예 5	3.7	3.9	3.5	3.5	1.8

[0182]

[0183] 베헨트라이모늄 클로라이드는 유발 검사에 대해 검사된 다른 세 가지 계면활성제보다 우수한 것으로 입증되었다.

[0184] 2.2 나노에멀전 - 유발 검사

[0185] 실시예 4 및 5에 따른 조성물을 상기에 기재된 프로토콜에 따라 미세유동화하여 나노에멀전 (각각 실시예 6 및 7)을 수득하였다.

[0186] 실시예 6

[0187] 실시예 6의 조성물을 실시예 4에서와 동일한 방법으로 제제화하였다. 추가로, 실시예 6의 조성물을 미세유동화시켰다.

[0188] 소적 사우터 직경 D[3;2]: 60 nm, t=0에서 및 3개월 후.

[0189] 실시예 7

[0190] 실시예 7의 조성물을 실시예 5에서와 동일한 방법으로 제제화하였다. 추가로, 실시예 7의 조성물을 미세유동화시켰다.

[0191] 실시예 6 및 7의 두 조성물 모두, 유발 검사에 성공하였다. 실시예 7의 조성물은 에이. 브라실리엔시스에 대하여, 미세유동화(즉, 실시예 5)되지 않은 그의 대응물보다 훨씬 우수한 결과를 나타냈다.

[0192] 상세한 결과는 표 3에 제시하였다.

[0193] [표 3]

로그 감소로 표시된, 28일 후의, 비교예 제제와 대비해서 본 발명에 따른 제제의 유발 검사

28 일	이. 콜라이	에스. 아우레우스	피. 아에루기노사	씨. 알비칸즈	에이. 브라실리엔시스
실시예 4	3.5	3.6	3.5	3.5	2.4
실시예 5	3.7	3.9	3.5	3.5	1.8
실시예 6	3.5	3.6	3.5	3.7	2.2
실시예 7	3.7	3.9	3.5	3.5	2.1

[0194]

[0195] 베헨트라이모늄 나노에멀전은 미세유동화되지 않은 그의 등가물만큼 효율적인 것으로 입증되었다.

[0196] 2.3 생물막에 대한 영향

[0197] 실시예 6 및 7에 따른 조성물(본 발명)을 단락 1.3.2에 개시된 크리스탈 바이올렛 방법에 따라 스타필로코커스 아우레우스 생물막 상에서 시험하였다. 시험은 형성 중인 생물막 및 확립된 생물막에 대해 반복하였다. 실시예 4 및 5(비교예)에 따른 조성물을 미세유동화의 효과를 평가하기 위해, 동일한 성장 억제 시험에 적용시켰다. 트리톤 X-100(알드리치(Aldrich))의 10% 용액을 벤치마크와 동일한 시험에 적용시켰다. 상세한 결과는 표 4에 제시하였다.

[0198] [표 4]

형성 중인 그리고 확립된 박테리아 균주 생물막의 발달에 대한 미세유동화의 효과; 생물막 자체인 대조군과 비교하여, 흡광도 백분율로 표시됨

박테리아 균주	에스. 아우레우스	
	형성 중인	확립된
실시예 4	298	224
실시예 5	219	168
실시예 6	1	36
실시예 7	22	35
트리톤	27	177

[0199]

[0200] 실시예 6 및 7에 따른 조성물은 모두 박테리아 균주 둘 다에 형성 중인 생물막에 대한 생물막 성장의 우수한 억제에 대해 양호함을 나타냈고, 균주 둘 다의 확립된 생물막에 대해 강한 영향을 나타냈다. 이들 결과는 미세유동화되지 않은 등가 조성물보다 분명히 우수하고; 트리톤 기준보다 우수하다.

[0201] 2.4 소적 크기

[0202] 상이한 미세유동화 파라미터를 시험하여 형성 중인 또는 확립된, 박테리아 균주 생물막의 성장 억제에 대한 나노에멀전 소적 크기의 영향을 확인하였다.

[0203] 실시예 8

[0204] 실시예 8의 조성물을 실시예 6에서와 동일한 방법으로 제제화하였다. 실시예 8의 조성물을 미세유동화(1회 통과, 20,000 psi)시켰다. 소적 사우터 직경 D[3;2]: 120 nm, t=1개월에서

[0205] [표 5]

형성 중인 그리고 확립된 박테리아 균주 생물막의 발달에 대한 나노에멀전 소적 직경의 효과; 생물막 자체인 대조군과 비교하여, 흡광도 백분율로 표시된, 단락 1.3.2 에 개시된 크리스탈 바이올렛 방법에 따름

박테리아 균주	에스. 아우레우스	
	형성 중인	확립된
실시예 6	1	36
실시예 8	55	208

[0206]

[0207] 실시예 8은 형성 중인 또는 확립된 생물막에 대해 실시예 6보다 덜 효과적이다. 실시예 8은 생물막의 억제에 대한 활성을 가지나, 본 발명에 따른 다른 조성물만큼 확립된 생물막의 영향에 대해서는 효율적이지 않다. 나노에멀전 소적은, 그의 사우터 직경이 120 nm 미만이면, 확립된 생물막의 영향에 대해 보다 효율적인 것으로 보인다.

[0208] 2.5 생물막에 대한 항균 활성; 에스. 아우레우스와 에스. 에피더미디스의 비교

[0209] 두 조성물(실시예 10 및 12)을 스타필로코커스 아우레우스 및 스타필로코커스 에피더미디스 생물막에 대하여 그의 성장 억제 활성에 대해 시험하였다.

[0210] 실시예 9 (비교예)

[0211] 실시예 9의 조성물을 제제 3에 따라 제제화하였다. 계면활성제는 제제 총 중량의 2.5%인 베헨트라이모늄 클로라이드였고; 피부연화제는 다음을 포함하여, 제제 총 중량의 10.7%였다: 제제 총 중량의 2.5%인 세틸 알코올; 및 제제 총 중량의 0.2%인 카프릴릴 글리콜.

[0212] 실시예 10

[0213] 실시예 10의 조성물을 실시예 9에서와 동일한 방법으로 제제화하였다. 추가로, 실시예 10의 조성물을 미세유동화시켰다. 소적 사우터 직경 D[3;2]: 126 nm, t=0에서 및 3개월 후.

[0214] 실시예 11 (비교예)

[0215] 실시예 11의 조성물을 제제 3에 따라 제제화하였다. 계면활성제는 제제 총 중량의 2.5%인 베헨트라이모늄 클로라이드였고; 피부연화제는 다음을 포함하여, 제제 총 중량의 9.45%였다: 제제 총 중량의 1.25%인 세틸 알코올; 및 제제 총 중량의 0.2%인 카프릴릴 글리콜. 소적 사우터 직경 D[3;2]: 36 μm, t=0에서 및 3개월 후.

[0216] **실시예 12**

[0217] 실시예 12의 조성물을 실시예 11에서와 동일한 방법으로 제제화하였다. 추가로, 실시예 12의 조성물을 미세유동화시켰다. 소적 사우터 직경 D[3;2]: 52 nm, t=0에서 및 3개월 후.

[0218] 2.5.1 실시예 9 내지 12에 따른 조성물에 대한 유발 검사

[0219] 실시예 9, 10 및 12에 따른 조성물은 유발 검사에 성공하였다. 실시예 11에 따른 조성물은 안정적이지 않았으며; 검사는 수행되지 않았다.

[0220] 상세한 결과는 표 6에 제시하였다.

[0221] [표 6]

로그 감소로 표시된, 28 일 후의, 비교예 제제와 대비해서 본 발명에 따른 제제의 유발 검사

28 일	이. 콜라이	에스. 아우레우스	피. 아에루기노사	썸. 알비칸즈	에이. 브라실리엔시스
실시예 9(비교예)	3.9	3.7	3.4	3.7	3.6
실시예 10	3.9	3.7	3.4	3.7	3.6
실시예 12	3.6	3.5	3.6	3.3	3.7

[0222]

[0223] 2.5.2 생물막에 대한 영향. 크리스탈 바이올렛 방법

[0224] 실시예 10 및 12에 따른 조성물을 스타필로코커스 아우레우스 생물막 및 스타필로코커스 에피더미디스 생물막 상에서 시험하였다. 단락 1.3.2(크리스탈 바이올렛)에 개시된 방법에 따라, 형성 중인 생물막 및 확립된 생물막 상에서 시험을 수행하였다. 상세한 결과는 표 7에 제시하였다.

[0225] [표 7]

형성 중인 그리고 확립된 박테리아 균주 생물막의 발달에 대한 실시예 10 및 12에 따른 나노에멀전의 효과; 생물막 자체인 대조군과 비교하여, 흡광도 백분율로 표시된, 단락 1.3.2에 개시된 크리스탈 바이올렛 방법에 따름

박테리아 균주	에스. 아우레우스		에스. 에피더미디스	
	형성 중인	확립된	형성 중인	확립된
실시예 10	60.51	83.04	48.96	114.9
실시예 12	3.9	14.68	3.72	21.54

[0226]

[0227] 실시예 10 및 12에 따른 제제는 에스. 아우레우스 및 에스. 에피더미디스 생물막 둘 다에서 성장 억제를 나타낸다. 실시예 12에 따른 제제는 실시예 10에 따른 제제보다 더 효율적인 것으로 보인다. 둘 다 확립된 생물막보다 형성 중인 생물막에 대해 더 효율적이다.

[0228] 2.5.3 생물막에 대한 영향. 웰즈 방법

[0229] 실시예 10 및 12에 따른 조성물(본 발명)을 스타필로코커스 아우레우스 생물막 및 스타필로코커스 에피더미디스 생물막 상에서 시험하였다. 단락 1.3.3(웰즈(Well's))에 개시된 방법에 따라 생물막 상에서 시험을 수행하였다. 트리톤 X-100(알드리치)의 10% 용액을 동일한 시험에 적용하였고, 2일 후의 결과를 기준으로 사용하였다.

[0230] 억제 혼란을 측정하고 2일 후 트리톤 X-100 용액에 대해 수득된 억제 혼란과 비교하였다. 억제 혼란 차이는 %로 표시된다. 100% 초과에서 억제는 2일째에 트리톤에 대해 관찰된 것보다 더 높았으며; 100% 미만에서는 억제가 2일째에 트리톤에서 관찰된 것보다 더 낮았다. 억제는 2일째 및 8일째에 측정하였다.

[0231] 상세한 결과는 표 8에 제시하였다.

[0232] [표 8]

에스. 아우레우스 및 에스. 에피더미디스 박테리아 균주 생물막의 발달에 대한 제제의 효과;
2 일째에 트리톤 X-100 에 대비해서, 성장 억제%로 표시됨

박테리아 균주	에스. 아우레우스		에스. 에피더미디스	
	2 일째	8 일째	2 일째	8 일째
실시예 10	3.6	4.8	0	0
실시예 12	47.8	93.3	0	0
트리톤 X-100	100	198.5	100	231

[0233]

[0234]

놀랍게도, 실시예 12에 따른 제제는 에스 아우레우스의 생물막의 성장 억제를 나타냈으나, 에스. 에피더미디스 생물막에 대한 어떠한 억제도 나타내지 않았다. 이러한 선택성은 매우 바람직하며 피부 마이크로바이옴 (microbiome)의 균형을 맞추고 아토피성 피부염 상태를 개선하는 데 도움이 될 수 있을 것이다. 표 7 및 8의 관점에서, 실시예 10 및 12에 따른 제제 사이의 억제도의 차이는, 점도의 차이에 의해 설명될 수 있다. 실시예 12에 따른 제제는 실시예 10에 따른 제제보다 더 유동성이며(표 9 참조), 이는 웰즈 방법에서 사용된 겔을 통한 더 양호한 투과를 얻을 수 있다(단락 1.3.3 참조). 단락 2.4의 관점에서 이 결과를 해석하는 것이 또한 가능할 수 있고; 나노에멀전 입자 직경은 실시예 12(52 nm)의 경우보다 실시예 10(126 nm)의 경우에 더 높다.

[0235]

2.6 점도

[0236]

본 발명의 실시예에 따른 조성물의 점도를 단락 1.5에 기재된 공정을 사용하여 측정하였다.

[0237]

[표 9]

본 발명의 실시예에 따른 조성물의 점도.

에멀전	45s ⁻¹ 에서의 점도(cP)
실시예 1 (비교예)	2050
실시예 2 (비교예)	N/A (액체)
실시예 3 (비교예)	575
실시예 4 (비교예)	502
실시예 5 (비교예)	1320
실시예 6	N/A (액체)
실시예 7	359
실시예 8	123
실시예 9 (비교예)	1050
실시예 10	664
실시예 12	15

[0238]

[0239]

실시예 6, 7, 8, 10 및 12는 모두 45s⁻¹에서 700 cP 미만, 실시예 6, 7, 8 및 12의 경우 45s⁻¹에서 심지어 360 cP 미만의 낮은 점도 값을 갖는다. 소적 크기는 유동성과 상관관계가 있는 것으로 보인다 (실시예 7 및 8 참조). 조성물을 산포하기 위한 기계적 작용을 피함으로써, 손상된 피부 또는 점막 상에 조성물을 적용할 때 낮은 점도가 유리할 수 있을 것이고, 예를 들어 조성물은 스프레이 또는 롤-온(roll-on) 스틱으로 컨디셔닝될 수 있다.

[0240]

본 발명을 이의 특정 실시 형태를 참고하여 상기에 설명하였지만, 본 명세서에 개시된 본 발명의 개념으로부터 벗어나지 않고서 많은 변화, 변경 및 변동이 이루어질 수 있음이 명백하다. 따라서, 본 발명은 첨부된 청구범위의 사상 및 넓은 범주 내에 있는 모든 이러한 변화, 변경 및 변동을 포함하는 것으로 의도된다.