



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년11월13일
 (11) 등록번호 10-1797285
 (24) 등록일자 2017년11월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 A61K 8/14 (2006.01) A61K 36/48 (2006.01)
 A61K 36/898 (2006.01) A61K 8/36 (2006.01)
 A61K 8/55 (2006.01) A61K 8/97 (2017.01)
 A61K 9/127 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류
 A61K 8/14 (2013.01)
 A61K 36/48 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0129128
 (22) 출원일자 2015년09월11일
 심사청구일자 2015년09월11일

(65) 공개번호 10-2017-0031496
 (43) 공개일자 2017년03월21일

(56) 선행기술조사문헌
 KR1020050014947 A*
 KR100654841 B1*
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
(주)엠앤씨생명과학
 경기도 성남시 중원구 사기막골로105번길 27 ,
 313, 314호(상대원동, 중앙인더스피아 제3공장)

옥민
 서울특별시 송파구 올림픽로 135, 219동 2603호(잠실동, 리센즈)

(72) 발명자
옥민
 서울특별시 송파구 올림픽로 135, 219동 2603호(잠실동, 리센즈)

윤경훈
 경기도 남양주시 경춘로 377, 102동 903호 (도농동, 마체스타워)
 (뒷면에 계속)

(74) 대리인
윤여광, 염주석, 조우제

전체 청구항 수 : 총 12 항

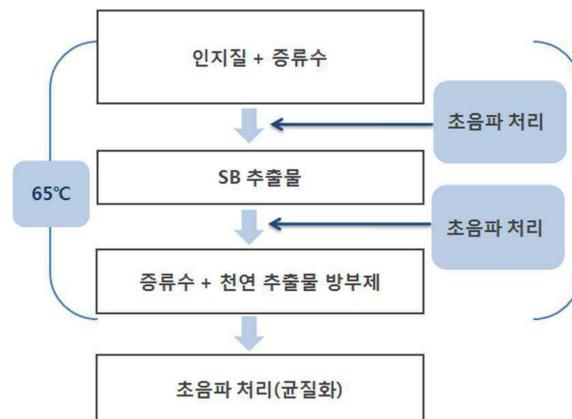
심사관 : 김중호

(54) 발명의 명칭 **천연 리포좀, 그 제조방법, 및 이를 포함하는 화장료 조성물**

(57) 요약

본 발명은 1종 이상의 천연 유화제, 용매 및 천연 방부제를 함유하는 리포좀 구성 물질, 및 포집물질로서 고삼추출물, 백급추출물 또는 이 둘의 혼합물을 함유하는 천연 리포좀, 그 제조방법 및 이를 포함하는 화장료 조성물을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

- A61K 36/898 (2013.01)
- A61K 8/361 (2013.01)
- A61K 8/55 (2013.01)
- A61K 8/97 (2013.01)
- A61K 9/127 (2013.01)
- A61Q 19/00 (2013.01)
- A61K 2236/30 (2013.01)
- A61K 2800/82 (2013.01)

(72) 발명자

박진철

경기도 성남시 분당구 서현로 170, B동 1931호 (서현동, 풍림아이원플러스)

이성은

서울특별시 송파구 백제고분로48길 12-10, 1동 202호 (방이동)

성혜영

경기도 성남시 분당구 백현로 206, 415동 405호 (정자동, 한솔마을주공4단지아파트)

이진아

경기도 성남시 중원구 갈현로 18, 402호 (갈현동)

홍우종

경기도 성남시 중원구 둔촌대로 363, 103동 603호 (하대원동, 자이아파트)

강민정

부산광역시 사상구 백양대로494번길 38, 110동 1503호(주례동, 주례청구아파트)

박성수

경기도 성남시 중원구 금빛로61번길 16-1, 301호 (금광동)

박노환

경기도 성남시 수정구 시민로 165, 샤프망동 203호(신흥동, 샤프망)

명세서

청구범위

청구항 1

1종 이상의 천연 유화제, 용매 및 천연 방부제를 함유하는 리포솜 구성 물질, 및

포집물질로서 고삼추출물, 백급추출물 또는 이 둘의 혼합물

을 함유하는 천연 리포솜으로,

상기 천연 유화제는 포스파티딜콜린, 리소포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 팔미트산, 하이드로지네이티드포스파티딜콜린(콩유래), 포스파티딜 세린, 포스파티딜글리세롤, 포스파티딜이노시톨, 및 이들의 수소첨가 생성물로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 인지질과; 팔미트산, 스테아르산, 올레산, 리놀레산, 및 리놀렌산(콩유래)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 지방산을 포함하고,

상기 천연 방부제는 천연으로부터 유래되는 천연유래추출물이며,

상기 천연 유화제와 상기 용매를 혼합하고 초음파 처리를 한 다음, 여기에 상기 포집물질을 첨가하고 초음파 처리하여 혼합하는 단계를 포함하는 방법에 의하여 형성되는 천연 리포솜.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 포집물질이 고삼추출물과 백급추출물이 1:3 내지 3:1의 중량비로 혼합된 혼합물인 천연 리포솜.

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 용매는 증류수, 부틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 글리세린, 에탄올 중 하나 이상을 포함하는 천연 리포솜.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 천연유래추출물이 초피나무열매추출물, 할미꽃추출물 및 어스니아추출물로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 천연 리포솜.

청구항 7

제1항에 있어서,

천연유화제 2.5 내지 17 중량%,

천연방부제 1 내지 5 중량%,

고삼 추출물과 백급 추출물의 혼합물 1 내지 50 중량% 및

용매 잔량

을 함유하는 천연 리포솜.

청구항 8

제1항에 있어서,

피부 흡수 촉진용 천연 리포솜.

청구항 9

제1항에 있어서,

여드름 치료 및 예방용 천연 리포솜.

청구항 10

제1항, 제2항, 제5항 내지 제9항 중 어느 한 항의 천연 리포솜을 함유하는 화장료 조성물.

청구항 11

1종 이상의 천연 유효제를 용매와 혼합한 다음 50~80℃에서 초음파 처리하는 제1단계,

상기 제1단계의 생성물에 고삼 추출물 또는 백급 추출물 또는 이들의 혼합물을 첨가한 후 초음파 처리하여 혼합하는 제2단계,

상기 제2단계의 생성물에 40~60℃로 가온된 용매와 천연방부제를 첨가하고 초음파 처리하여 리포솜을 형성하는 제3단계

를 포함하는 제1항, 제2항, 제5항 내지 제9항 중 어느 한 항의 천연 리포솜의 제조방법.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 제3단계 이후에 온도를 서서히 낮추면서 초음파 처리하는 제4단계

를 추가로 포함하는 천연 리포솜의 제조방법.

청구항 13

제1항의 천연 리포솜을 포함하는 피부 흡수 촉진제.

청구항 14

제1항의 천연 리포솜을 포함하는 여드름 치료 및 예방용 치료제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 고삼·백급 추출물을 포함하는 천연 리포솜, 그 제조방법, 및 이를 포함하는 화장료 조성물에 관한 것으로, 구체적으로는 향균, 항염, 항여드름 활성을 가지는 천연 리포솜, 그 제조방법, 및 이를 포함하는 화장료 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 여드름은 우리나라 피부과 환자의 6 ~ 8%가 가지고 있는, 흔히 접하는 피부질환의 하나이다. 여드름은 과거에는 주로 사춘기 청소년에게 발생하였으나 최근에는 다양한 연령층에서 발생하고 있다. 즉, 성인의 경우에도 과로, 스트레스, 생리와 임신, 소화기관 및 내분비 기능 장애, 화장품과 같은 화학물질에 의하여 여드름이 발생하고 있다.

[0003] 박정민 등의 문헌(박정민, 한채정. 송화가루와 프로폴리스를 이용한 피부 관리가 여드름 피부에 미치는 효과.

한국미용학회지, 2013, 19.6: 1103-1111)에 따르면, 여드름의 주요 원인으로는 남성 호르몬인 안드로겐의 작용으로 피지선내의 5알파-환원효소(5 α -reductase)에 의해 디하이드로테스토스테론의 생성이 증가하여 생기는 피지분비의 증가, 피지선 내 여드름 균(*Propionibacterium acnes*)의 증식 증가로 인한 염증유발, 피부장벽의 기능 이상 등을 들 수 있다.

- [0004] 여드름의 구체적인 원인을 살펴보면, 첫째는 피지가 비정상적으로 과잉 분비되는 경우를 들 수 있다. 과도한 피지분비는 남성 호르몬인 테스토스테론(testosterone)과 밀접한 관계가 있다. 테스토스테론은 피부 세포내의 5알파-환원효소에 의해 디하이드로테스토스테론(dihydrotestosterone; DHT)으로 전환된다. 이를 통하여 피지분비 세포의 활성이 증진되고 피지 분비가 촉진되는 것으로 알려져 있다(Rosenfield RL et al., The American Journal of Medicine, 16,pp80~88, 1995).
- [0005] 둘째는 모낭 벽이 과각화하여 모공이 폐쇄되는 경우이다. 피지가 생성되면 피부 밖으로 원활하게 배출되어야 한다. 그러나, 모낭의 과각화로 인하여 모공이 막히면 피지의 원활한 배출이 억제되므로 모낭 내에 피지가 정체되어 미세면포를 형성하게 된다. 이 상태가 여드름 발병의 초기 단계이다.
- [0006] 셋째, 모낭내 정체된 피지가 모낭내 상주하는 혐기성 세균인 프로피온박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*)의 성장을 촉진시킴으로써 여드름 병변을 악화시키는 경우이다. 피지선 내에 여드름균이 증식됨에 따라 피지를 구성하는 트리글리세라이드(triglyceride)가 자유 지방산(free fatty acid)으로 전환되어 자극원(irritants)으로 작용하거나, 면포 유발성(comedogenic) 물질로 작용함으로써 여드름 생성을 촉진시키게 되고, 이에 따라 염증 반응까지 수반하게 된다(Sergio Nacht, Cosmetics Toiletries, 101, pp 47-55,1986; 등록특허 제 10-1363028호).
- [0007] 이러한 여드름을 치료하기 위하여 개발된 치료제들은 여드름 세균에 강력한 항균 작용을 하는 벤조일 퍼옥사이드(benzoyl peroxide), 국소 도포 항생제인 클린다마이신(clindamycin), 에리트로마이신(erythromycin) 등과 같이 화학 합성품들이 대부분이다. 이들 치료제들은 염증을 해결할 수 있으나 장기간 사용할 경우 여드름 균에 내성이 생기고 소양증, 기형아 등이 발생하는 등의 부작용이 있다.
- [0008] 여드름 치료제로서 부신피질 호르몬제나 에스트로겐의 사용을 고려할 수도 있으나 이 경우에도 체중이 증가하거나, 기미, 혈전증이 발생하는 등의 부작용이 나타날 수 있어 사용을 제한하고 있는 실정이다.
- [0009] 최근에는 외과적 치료법인 면포의 압출, 화학적 박피, 물리적 박피, 레이저 박피, 광선 요법 등의 국소적 치료 방법 등이 개발되어 이용되고 있으나 예를 들면 박피술의 경우 피부 자극을 주는 등 이러한 경우에도 여러가지 문제점이 발생되고 있다.
- [0010] 이러한 문제점을 해결하기 위해 비교적 피부를 공격하지 않으면서 장시간 편안하게 사용할 수 있고 인체에 무해한, 안전성이 확보된 천연물질로부터 신규의 피부여드름 관련 유용물질을 탐색하고 개발하려는 노력이 시도되고 있다.
- [0011] 예를 들면 식물 추출물 또는 한약재 추출물이 여드름 완화 및 억제용 화장품 조성물로 제안되고 있다. 그러나 지금까지는 화장품 조성물에 단순히 식물추출물을 첨가한 단순유화형 또는 젤형 제품들로 개발되었기 때문에 체내 흡수력이 낮아 추출물이 효능을 그대로 발휘하기에 한계가 있었다.
- [0012] 이러한 문제를 해결하고자 생리활성 성분이 파괴되지 않고 안정하게 전달될 수 있으며, 생리활성 성분이 지용성이든 수용성이든 모두 내포시킬 수 있는 리포솜이 이용될 수 있다.
- [0013] 리포솜은 인지질을 수용액에 현탁할 때 생기는 소포로서 지질 이중층으로 구성된 막에 의해 외막과 격리되어 있으며 막 내에 콜레스테롤 당지질 등의 지질이나 막 단백질을 이입시킬 수 있다. 또한 리포솜은 내포된 수용액층에 이온, 저분자물질, 핵산, 단백질 등의 물질을 포집할 수 있어 이들 원료의 운반을 도와주는 역할을 한다. 예를 들면 민감하고 피부에 흡수되기 어려운 원료들을 리포솜에 포집시켜 운반하면 이들 원료성분이 깨지지 않고 그대로 피부에 흡수될 수 있도록 도와주는 역할을 한다.
- [0014] 그러나 리포솜은 제형이 불안정하고, 포집효율이 매우 낮다는 등의 문제점이 있다. 또한 리포솜의 원료로 사용되는 콜레스테롤은 리포솜의 지질막 형성이 견고해지면서 포집물질의 피부 투과율이 낮아지고 활성물질의 방출이 어렵다는 문제점이 있다. 뿐만 아니라 리포솜 제조에 사용되는 용매, 방부제 등이 피부 자극을 유발하는 경

우도 발생하였다. 이에 따라 다양한 종류의 리포솜이 연구되고 있다.

- [0015] 이러한 문제점을 해결하기 위해 피부에 안전하고, 장시간 노출 시에도 부작용이 없이 사용할 수 있는 천연 물질의 개발이 필요하며, 체내에 흡수가 용이하게 이루어져 보다 쉽게 경피 투여에 관여하여 여드름 완화에 도움이 되는 화장품 조성물의 개발이 요구되고 있다.
- [0016] 한편 등록특허 제1196745호에는 고삼, 대황, 황백, 황금을 용매 추출하여 얻은 여드름 증상 완화 및 예방용 화장품 추출물이 개시되어 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0017] (특허문헌 0001) 등록특허 제1196745호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0018] 본 발명은 상기 종래기술의 문제점을 해결하여 피부 자극 등의 문제를 일으키지 않으면서도 체내에 흡수가 용이할 뿐 아니라 항균효과가 우수한 항여드름용 천연 리포솜 및 이를 포함하는 여드름 개선용 화장품 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0019] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명의 일 예는 1종 이상의 유화제, 용매 및 천연 방부제를 함유하는 리포솜 구성 물질, 및 포집물질로서 고삼추출물, 백급추출물 또는 이들의 혼합물을 함유하는 천연 리포솜을 제공한다.
- [0020] 본 발명의 다른 예는 상기 천연 리포솜을 함유하는 화장품 조성물을 제공한다.
- [0021] 또한 본 발명의 다른 예는 1종 이상의 유화제를 증류수와 혼합한 다음 50~80℃에서 초음파 처리하는 제1단계, 상기 제1단계의 생성물에 고삼 추출물 또는 백급 추출물 또는 이들의 혼합물을 첨가한 후 초음파 처리하여 혼합하는 제2단계, 상기 제2단계의 생성물에 40~60℃로 가온된 증류수와 천연방부제를 첨가하고 초음파 처리하여 리포솜을 형성하는 제3단계를 포함하는 상기 천연 리포솜의 제조방법을 제공한다.
- [0022] 본 발명은 또한 상기 천연 리포솜을 포함하는 피부 흡수 촉진제, 아토피 피부염 치료제를 제공한다.

발명의 효과

- [0023] 본 발명에 따르면, 여드름 예방 및 개선에 유용한 천연 리포솜 및 이를 포함하는 화장품 조성물을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0024] 도 1은 본 발명의 일 태양에 따른 천연 리포솜의 제조방법을 나타낸다.
- 도 2a는 용매를 달리하여 적용한 실시예 1 내지 4의 천연 리포솜에 대한 피부 흡수력 측정 결과를, 도 2b는 추출물 함량을 달리하여 적용한 실시예 5 내지 8의 천연 리포솜에 대한 피부 흡수력 측정 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 3은 실시예 1의 천연 리포솜, 비교예 1의 혼합물, 비교예 2의 리포솜, 비교예 3의 합성 리포솜의 피부 흡수력 측정 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 4a~도 4c는 각각 실시예 1의 리포솜, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 리포솜에 대한 SEM 사진이다.
- 도 5a~도 5c는 각각 실시예 1의 리포솜, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 리포솜에 대한 입자크기 분포도를 나타낸다.
- 도 6은 실시예 1의 리포솜, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 리포솜 등의 처리에 따른 세포독성확인을 위한 흡

광도 그래프이다.

도 7은 실시예 1의 리포좀, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 리포좀 등의 처리에 따른 염증 유발물질 저해율 그래프이다.

도 8은 실시예 1의 리포좀, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 리포좀 등의 처리에 따른 TNF- α 함량 그래프이다.

도 9a ~ 9f는 각각 P.acenes를 처리하지 않은 경우, 처리한 경우, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 리포좀, 트리클로산, 실시예 1의 리포좀을 처리한 경우의 적혈구 응집반응 저해활성 결과를 나타내는 사진이다.

도 10a, 도 10b는 각각 P. acnes를 주입하기 전, 주입한 다음 3일 경과 후의 수컷 마우스의 피부 사진이다.

도 11은 누드 마우스의 등 피부에 여드름 유발 균주를 주입한 후 여드름 병변부위의 사진이다.

도 12는 실시예 1의 리포좀, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 리포좀 등의 처리에 따른 마우스 혈청 내 DHT 함량 그래프이다.

도 13은 실시예 1의 리포좀, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 리포좀 등의 처리에 따른 마우스 혈청 내 TNF- α 함량 그래프이다.

도 14는 실시예 1의 리포좀, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 리포좀 등의 처리에 따른 마우스 혈청 내 IL-6 함량 그래프이다.

도 15는 실시예 1의 리포좀, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 리포좀 등의 처리에 따른 마우스의 비장지수 그래프이다.

도 16은 실시예 1의 리포좀, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 리포좀 등의 처리에 따른 마우스의 귀의 광학현미경 관찰 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0025] 이하 첨부된 도면을 참조하여 본 발명에 따른 천연 리포좀을 보다 상세하게 설명한다.
- [0026] 그러나 이러한 설명은 본 발명의 이해를 돕기 위하여 예시적으로 제시된 것일 뿐 본 발명의 범위가 이러한 예시적인 설명에 의하여 제한되는 것은 아니다.
- [0027] 1. 유화제
- [0028] 유화제는 인지질과 지방산으로 이루어져 있다.
- [0029] 인지질로는 포스파티딜콜린(phosphatidylcholine), 리소포스파티딜콜린 (lysophosphatidylcholine), 포스파티딜에탄올아민(phosphatidylethanolamine), 팔미트산(palmitic acid), 하이드로지네이티드포스파티딜콜린(hydrogenated phosphatidylcholine - 공유래), 포스파티딜세린(phosphatidylserine), 포스파티딜글리세롤(phosphatidylglycerol), 포스파티딜이노시톨(phosphatidylinositol), 및 이들의 수소첨가 생성물로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 인지질이 사용될 수 있다.
- [0030] 지방산으로는 스테아르산(stearic acid), 팔미트산(palmitic acid), 올레산(oleic acid), 리놀레산(linoleic acid), 리놀렌산(linolenic acid - 공유래)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 지방산이 사용될 수 있다. 지방산은 1 내지 10 중량% 포함될 수 있다.
- [0031] 유화제로는 2 이상의 유화제가 함께 사용될 수 있다. 예를 들면 제1 유화제로서 포스파티딜콜린(phosphatidylcholine), 리소포스파티딜콜린(lysophosphatidylcholine), 포스파티딜에탄올아민(phosphatidylethanolamine), 팔미트산(palmitic acid), 스테아르산(stearic acid), 올레산(oleic acid), 리놀레산(linoleic acid), 리놀렌산(linolenic acid - 공유래)의 조성물이, 제2 유화제로서 하이드로지네이티드포스파티딜콜린(hydrogenated phosphatidylcholine -공유래)이 사용될 수 있다.
- [0032] 이 경우 제1 유화제 성분은 1 내지 5 중량%, 제2 유화제 성분은 0.5 내지 2 중량% 포함될 수 있다.
- [0033] 2. 포집물질

- [0034] 리포좀의 인지질층 내부에 포집될 수 있는 포집물질로는 에탄올에서 추출한 고삼 추출물과 백급 추출물이 사용될 수 있으며, 기타 지유, 대황, 감초, 계피, 정향, 복분자 등의 생약제제가 사용될 수 있다.
- [0035] 여기서, 고삼(*Sophora flavescens* Aiton)은 높이가 약 1미터에 달하는 콩과의 여러해살이 풀로서 한국, 중국, 일본, 러시아에 분포한다. 고삼은 맛이 쓰고 효능이 삼과 유사하다고 하여 고삼이라고 부르며 특이한 냄새가 있고 잔류성이며 약성이 매우 쓰고 차다.
- [0036] 뿌리에는 알칼로이드 성분으로서 마트린(소포카르피딘), 옥시마트린, 소포라놀, 아나기린, 메틸시티진, 바브티플린, 소포카르핀, 알로마트린 등이 함유되어 있고, 또한 플라보노이드 성분으로서 잔토희물, 이소잔트�희물 등이 함유되어 있다. 잎과 줄기에는 루테오린-7-글루코사이드가 함유되어 있다.
- [0037] 고삼은 항균, 소염, 항알러지, 항암, 이뇨, 혈당강하, 항종양, 심장근육 강화 등의 작용을 하고, 청열조습(淸熱燥濕), 거풍살충(祛風殺蟲)의 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 그밖에 이질, 대하, 음부소양증, 장염, 피부가려움증 등에 사용될 수 있다고 알려져 있다.
- [0038] 백급은 난초과에 속하는 여러해살이 풀인 자란(*Bietilla striata* R.)의 덩이 줄기로서 약재로 사용된다. 주로 한국, 일본, 중국에서 자생하며, 감근, 연급초라고도 한다.
- [0039] 맛이 쓰고 달며 성질이 서늘하다. 폐경에 작용하여 폐를 강화하고 출혈을 멈추게 하며 부기를 가라앉히고 새살이 잘 돌아나게 한다. 기타 지혈작용, 위 궤양이나 십이지장 궤양 치료, 항균 작용 등의 효능이 있다. 동종, 창양, 화상 등의 치료에도 사용한다.
- [0040] ShuzoT 등의 문헌(ShuzoT, MasaeY, KeikoI. Anti microbial agents from *Bletilla striata*. *Phytochemistry*. 1983; 22(4):1011-1015)에서는 백급의 괴경에 항균작용이 있는 세가지의 새로운 바이벤질(bibenzyl)과 2개의 새로운 디하이드로페난트렌(dihydrophenanthrene) 이 있는 것으로 보고되었다. Yamaki 등의 다른 문헌(YamakiM, BaiL, KatoT, InoueK, TakagiS. Three dihydrophenanthropyrans from *Bletilla striata*. *Phytochemistry*. 1993;32(2):427-430)에서는 백급에서 분리된 세개의 새로운 성분인 블레티롤(bletilol) A, B, C가 보고되었다. Saito 등의 문헌(SaitoN, KuM, TatsuzawaF, LuT, YokoiM, ShigiharaA, HondaT. Acylated cyaniding lycosides in the purple-red flowers of *Bletilla striata*. *Phytochemistry*. 1995;40(5):1523-1529)에서는 백급의 꽃에서 있는 8가지 새로운 시아니딘 글루코사이드(cyanidin glycoside)가 분석되었다.
- [0041] 고삼 추출물과 백급추출물로는 일정한 비율로 혼합된 혼합물이 사용될 수 있으며, 제조시 전체 부피의 1 내지 50 중량 %의 함량으로 포함될 수 있다. 상기 포집물질을 혼합물로 사용할 경우에는 고삼추출물과 백급추출물이 1:3 내지 3:1의 중량비로 혼합된 혼합물을 사용하는 것이 바람직하며, 항균 활성면에서는 특히 1.5~2.5:1의 중량비로 혼합된 혼합물을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0042] 3. 용매
- [0043] 용매로는 증류수, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 글리세린, 에탄올이 사용될 수 있다. 용매로는 천연용매가 바람직하며, 예컨대, 부틸렌 글리콜, 글리세린의 경우 천연유래원료가 사용되며, 에탄올도 발효주정과 같은 천연 유래원료가 사용되는 것이 바람직하다. 더 바람직하게는 증류수, 글리세린이, 가장 바람직하게는 증류수가 사용된다. 용매의 함량은 유화제, 포집물질 및 방부제의 함량의 잔량이다.
- [0044] 4. 방부제
- [0045] 방부제로는 초피나무열매추출물, 할미꽃추출물, 어스니아추출물로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 천연추출물이 사용될 수 있다. 천연추출물이라는 점에서 통상적으로 사용되는 방부제인 벤조산, 파라옥시벤조산 에스테르, 메틸클로로이소티아졸리논의 혼합물, 페녹시에탄올 등과는 구별된다. 방부제는 일반적으로 1 내지 5 중량% 포함될 수 있다.

- [0046] 5. 원료인 고삼 추출물과 백급 추출물의 제조
- [0047] 고삼과 백급을 증류수 또는 알코올에 침지하여 침지하고 상온에서 24시간 동안 정치 추출한 후 여과하여 고형분을 제거한 다음 여과된 추출물을 회수하였다. 용매로서 알코올을 사용하여 추출하는 경우 추출물의 항균력이 더 우수하다는 점에서 더 바람직하다. 알코올로는 메탄올, 에탄올, 부탄올 등이 사용될 수 있는데 별도의 용매 제거 공정이 불필요하다는 점에서 에탄올을 사용하는 것이 특히 바람직하다. 에탄올을 증류수 중에 50%의 농도로 희석한 용매를 사용하는 경우 추출물이 강한 항균 활성을 나타낸다는 점에서 특히 바람직하다.
- [0048] 또한 고삼 추출물과 백급 추출물을 혼합하는 경우 고삼 추출물과 백급 추출물의 혼합비는 1:3 내지 3:1의 범위에서 조절될 수 있다. 항균 활성면에서는 특히 1.5~1 내지 2.5:1 의 비율이 바람직하다.
- [0049] 추출물의 유효성분 회수를 높이기 위해 필요한 경우 초음파 처리를 실시할 수 있다. 초음파 처리는 30 Amp에서 10분간 진행한다.
- [0050] 6. 리포솜의 제조
- [0051] 본 발명에 따른 리포솜은 초음파를 이용하거나 유평장비를 이용하여 제조될 수 있다.
- [0052] 가. 초음파 이용 방법
- [0053] 1종 이상의 유평제를 증류수 일부와 혼합한 후 초음파 파쇄기(Ultrasonic Liquid Processor)를 이용하여 50~80℃에서 초음파 파쇄한다. 초음파 파쇄는 혼합물을 균질화하기 위한 작업이다. 유평제가 균질화되면 포집물질을 첨가한 후 초음파 파쇄하여 혼합한다. 유평제와 포집물질이 완전히 균질화되면 40~60℃로 가온된 나머지 증류수와 천연추출물(방부제)을 넣고 초음파 파쇄를 통하여 혼합하여 리포솜 형태의 입자를 형성한다. 이후 온도를 서서히 낮추면서 최종적으로 5분간 초음파 파쇄를 하여 상기 입자를 보다 작고 균일하게 만들어 최종적으로 천연 리포솜을 제조한다. 그 제조공정을 도 1에 도시하였다.
- [0054] 나. 유평장비 이용 방법
- [0055] 1종 이상의 유평제를 증류수 일부와 혼합한 후 유평장비(homomixer)를 이용하여 1300~1500rpm, 50~80℃에서 10~30분간 교반하여 혼합한다. 유평제가 균질화되면 포집물질을 첨가한 후 다시 유평장비를 이용하여 교반하여 혼합한다. 유평제와 포집물질의 혼합이 종료되면 나머지 증류수와 천연추출물을 넣어 천연 리포솜을 제조한다. 그런 다음 초음파 파쇄기로 입자를 작게 만들어 최종 천연 리포솜을 제조한다.
- [0056] 본 발명에 의한 리포솜은 피부투과율을 높일 수 있어 흡수율을 개선할 수 있어 유효성분이 피부에 효과적으로 작용할 수 있도록 한다. 본 발명에 의한 리포솜은 여드름 치료, 아토피 피부 예방 및 완화용으로 사용될 수 있다. 특히, 본 발명에 의한 리포솜은 이러한 용도로 화장료 조성물에 사용될 수 있다. 예를 들면, 유연화장수, 수렴화장수, 영양화장수, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 아이크림, 아이에센스, 클렌징크림, 클렌징폼, 클렌징워터, 팩, 파우더, 보디로션, 보디크림, 보디오일, 보디에센스, 메이크베이스, 파운데이션, 염모제, 샴푸, 린스, 보디세정제, 치약, 마스크시트 및 구강청정액 형태의 화장료 조성물에 사용될 수 있다.
- [0057] 한편 본 발명에 의한 리포솜은 여드름 치료, 아토피 피부 예방 및 완화용 치료제로서도 사용될 수 있다.
- [0058] <실시예 1>
- [0059] 하기 표 1의 구성에 따라 리포솜을 제조하였다.

표 1

	원료	실시에 1 (단위: 중량 %)
유화제	유화제1	2.5
	유화제2	1
방부제		1
용 매 (유화 공정)	증류수(D.I.Water)	30
용 매 (균질화 공정)	증류수(D.I.Water)	잔량
포집물질	50% 고삼추출물과 50% 백급 추출물 의 혼합물	20

[0061] 유화제 1: 유화제1 전체 100중량%를 기준으로, 포스파티딜콜린 67 중량%, 리소포스파티딜콜린 8 중량%, 포스파티딜에탄올아민 8 중량%, 팔미트산 3 중량%, 스테아르산 1 중량%, 올레산 3 중량%, 리놀레산 7중량%, 리놀렌산 3 중량%

[0062] 유화제 2: 하이드로제네이티드포스파티딜콜린(hydrogenated phosphatidylcholine - 콩유래)

[0063] 방부제: 초피나무열매추출물: 할미꽃추출물: 어스니아추출물이 1:1:1의 중량비로 포함됨

[0064] 구체적인 제조과정은 다음과 같다.

[0065] 먼저 상기 표 1에 기재된 바와 같이 유화제1과 유화제2를 증류수 일부(1/3)와 혼합한 후 초음파 파쇄기(Ultrasonic Liquid Processor, QSONICA, USA)를 이용하여 65℃에서 초음파 파쇄하였다. 상기 유화제가 균질화되면 포집물질인 고삼추출물과 백급추출물을 첨가한 후 초음파 파쇄하여 혼합하였다. 유화제와 포집물질이 완전히 균질화되면 50℃로 가온된 나머지 증류수(2/3)와 천연추출물인 방부제를 넣고 혼합하면서 초음파 파쇄하여 리포솜 형태의 입자를 형성하였다. 이후 온도를 서서히 낮추면서 최종적으로 5분간 초음파 파쇄를 하여 상기 입자를 보다 작고 균일하게 만들어 최종적으로 고삼 추출물과 백급 추출물이 함유된 천연 리포솜을 제조하였다.

[0066] <실시에 2 내지 4>

[0067] 용매로서 각각 에탄올, 글리세린, 프로필렌글리콜을 사용하였다는 점을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시예 2, 3, 4의 천연 리포솜을 제조하였다.

[0068] <실시에 5 내지 8>

[0069] 천연 리포솜에 포집되는 고삼, 백급 추출물의 함량을 각각 10%, 20%, 30%, 40%로 하였다는 점을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시예 5, 6, 7, 8의 천연 리포솜을 제조하였다.

[0070] <비교예 1>

[0071] 비교예 1에서는 실시예 1에서 포집물질로 사용된 고삼 추출물과 백급 추출물을 동일한 농도가 되도록 증류수로 희석하여 사용하였다. 즉, 50% 에탄올에 추출한 고삼 추출물과 백급 추출물을 2:1의 중량비로 혼합하되, 고삼 추출물과 백급 추출물은 실시예 1의 천연 리포솜에 함유된 포집물질과 동일한 양으로 사용하였다. 이를 잔량의 증류수와 혼합하여 실시예 1의 천연 리포솜과 동일한 농도가 되도록 하여 실험에 사용하였다.

[0072] <비교예 2>

[0073] 비교예 2에서는 고삼 추출물과 백급 추출물을 포함하지 않았다는 점을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 천연 리

포솜을 제조하였다.

[0074] <비교예3>

[0075] 비교예 3에서는 종래기술을 이용하여 고삼추출물, 백급추출물, 레시틴, 프로필렌글리콜이 포함된 합성 리포솜을 제조하였다.

[0076] 용매로서 합성용매인 프로필렌글리콜(30%)을 사용하고 여기에 인지질(레시틴-1%)을 혼합하여 65℃까지 가온하였다. 인지질이 완전히 용해되면 실시예 1과 동일한 양의 고삼 추출물과 백급 추출물을 넣고 호모게나이저(homogenizer)로 균질화하였다. 잔량의 물과 방부제(파라벤 0.02%)를 혼합하여 리포솜 입자를 형성시켰고, 초음파 처리를 통해 입자를 균질화시켰다.

[0077] <실험예 1> Franz Diffusion cell을 이용한 피부 흡수력 확인

[0078] (1) 실시예 1 내지 4의 천연 리포솜에 대하여 Franz Diffusion cell을 이용한 피부 흡수력 테스트를 진행하였다. 그 결과를 도 2a에 나타내었다.

[0079] 실험 결과, 도 2a에 도시된 바와 같이 실시예 1의 증류수(D. I. WATER)를 사용한 경우 흡수력이 가장 우수한 것으로 나타났으며, 실시예 3의 프로필렌글리콜과 실시예 4의 글리세린은 추출물보다 흡수력이 더 낮아지는 것으로 나타났다.

[0080] (2) 실시예 5 내지 8의 천연 리포솜에 대하여 Franz Diffusion cell을 이용한 피부 흡수력 테스트를 진행하였다. 그 결과를 도 2b에 나타내었다.

[0081] 실험 결과, 도 2b에 도시된 바와 같이 실시예 1의 고삼 추출물과 백급 추출물의 함량을 50%로 한 경우 흡수력이 가장 우수한 것으로 나타났다.

[0082] (3) 한편, 실시예 1의 천연 리포솜, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 합성 리포솜에 대하여 피부 흡수력 테스트를 진행하였다. 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0083] 실험 결과, 도 3에 도시된 바와 같이 실시예 1의 흡수 효율이 가장 우수한 것으로 나타났다.

[0084] <실험예 2> 포집율 측정

[0085] 실시예 1의 천연 리포솜 현탁액을 일정량 취한 다음 0.45µm syringe filter를 이용하여 리포솜 내 포집되지 않은 물질을 제거하였다. 그런 다음 에탄올을 이용하여 리포솜 막을 파괴시켰다. 고삼, 백급 추출물의 최대 흡수 파장을 확인하여 포집된 고삼, 백급 추출물의 포집율을 확인하였다. 측정된 값을 하기 식에 대입하여 리포솜 내 활성물질의 포집 효율을 확인하고 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

[0086] 포집율(%) = 필터를 통과한 기능성물질의 농도/처음 넣어준 기능성물질의 농도* 100

표 2

[0087]

Sample	포집율(%)
실시예1	92.89
비교예3	89.61

[0088] 측정결과, 비교예 3에 비해 실시예 1의 천연 리포솜이 포집율이 우수한 것으로 나타났다. 비교예 1은 리포솜화하지 않은 원료이므로 포집율을 측정하지 않았다.

[0089] <실험예 3> 전자주사현미경에 의한 리포솜의 형태 및 크기 분석

[0090] 전자주사현미경(Scanning Electron microscope S-1700, Hitachi)을 이용하여 실시예 1의 천연 리포솜, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 합성 리포솜의 입자형태와 크기를 분석하였다. 측정은, 각각의 샘플을 -70℃에서 동결 건조한 다음, 이를 얇게 퍼서 PdPt 혼합촉매로 1회 코팅한 후 이루어졌다.

[0091] 실시예 1의 천연 리포솜, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 합성 리포솜을 전자주사현미경으로 확인한 다음 SEM 사진을 찍어 그 결과를 각각 도 4a, 도 4b, 도4c에 나타내었다.

[0092] 도시된 바와 같이 실시예 1의 천연 리포솜은 비교적 원형의 입자를 형성하였으나, 비교예1의 혼합물은 입자의 형태를 나타내지 않았고 비교예 3의 리포솜은 실시예 1의 천연 리포솜보다 입자 형태가 큰 것으로 나타났다.

[0093] <실험예 4> 레이저 입도분석기에 의한 리포솜의 크기 분석

[0094] 레이저 입도분석기(Electrophoretic Light Scattering Spectrophotometer ELS-8000, Otsuka)를 통하여 빛의 산란을 이용하여 실시예 1, 비교예 1, 비교예 3의 시료의 입자 크기를 측정하고 입도 분포를 분석하였다.

[0095] 평균 입자크기를 하기 표 3에 나타내었고, 실시예 1의 천연 리포솜, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 합성 리포솜의 입자크기의 분포도를 각각 도 5a, 5b, 5c에 나타내었다.

표 3

Sample	평균입자크기(nm)
실시예 1	206.7
비교예 1	246.1
비교예3	914.2

[0097] 상기 표 3에서 보듯이 실시예 1의 천연 리포솜이 평균입자크기가 206.7nm로 가장 작고, 도 5a에 도시된 바와 같이 입자 분포가 안정적이고 균일한 것으로 나타났다.

[0098] <실험예 5> MTT를 이용한 세포독성 확인

[0099] 48 well에 Fibroblast 세포 1×10^5 개를 분주하고, 24시간 뒤에 새 배지로 교체한 후 0.1 내지 5% 농도의 실시예 1의 천연 리포솜, 비교예 1의 혼합물, 실시예 3의 합성 리포솜을 24시간 동안 처리하였다. 이후, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (0.1 mg/ml)을 각 well에 처리하여 3시간 배양한 후 형성된 insoluble formazan을 0.04N HCl/이소프로판올에 녹이고 ELISA reader를 통해 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험결과를 도 6에 도시하였다.

[0100] <실험예 6> 여드름균(p.acnes)에 의한 염증 유발물질(NO) 저해율 측정

[0102] 48 well에 대식세포 1×10^5 개를 분주하고, 24시간 뒤에 일정농도의 실시예 1의 천연 리포솜, 비교예 1의 혼합물, 실시예 3의 합성 리포솜을 각각 48시간동안 처리하였다. 염증의 유발은 여드름균인 p.acnes를 1mg/ml로 처리하여 수행하였다. 처리 후 배양 상등액과 Griess 시약(Sigma G-4410) 용액을 1:1로 혼합하여 15분 동안 반응시킨 후 540nm에서 흡광도를 측정하였다. P.acnes을 처리한 세포의 NO 생성량을 기준으로 NO 생성량을 비교하였다. Positive control로 Indomethacin 0.5%과 triclosan 0.1%을 처리군과 동일한 양으로 세포에 처리하였고, 비교예 1의 혼합물, 실시예 1의 천연 리포솜, 비교예 3의 합성 리포솜을 동일한 농도로 처리하였다. 그 결과를 도 7에 도시하였다.

[0103] 도 7에 도시된 바와 같이 NO 생성저해효과를 확인한 결과, 실시예 1을 처리한 세포에서 66.37%까지 NO 생성량을 감소시켜 항염 효과가 가장 우수한 것으로 나타났다.

[0104] <실험예 7> 여드름균(*p.acnes*)에 의한 염증성 사이토카인의 생성량 측정

[0105] 48 well에 대식세포 1×10^5 개를 분주하고, 24시간 뒤에 일정농도의 실시예 1의 천연 리포솜, 비교예 1의 혼합물, 실시예 3의 합성 리포솜을 각각 48시간 동안 처리하였다. 염증의 유발은 여드름균인 *p.acnes*를 1mg/ml로 처리하여 수행하였다. 처리후 배양 상등액의 TNF- α 생성량을 ELISA kit(ALPCO)를 이용하여 측정하였다. 그 결과를 도 8에 도시하였다.

[0106] 여드름 균을 처리한 세포의 TNF- α 분비량을 통하여 염증반응 완화효과를 확인하였다. 여드름 균에 의해 TNF- α 의 함량이 증가하는 결과가 나타났고, positive control인 indomethacin과 triclosan에 의해 분비량이 감소하는 것으로 나타났다. 실시예 1의 천연 리포솜을 처리하였을 때 비교예 1과 3을 처리하였을 때보다 TNF- α 의 생성량이 감소하는 것으로 나타났다.

[0107] <실험예 8> 여드름 균에 의한 적혈구 응집반응 저해

[0108] 배양된 *P.acnes*를 인산 완충용액으로 물게 만든 후 동량의 적혈구 용액과 혼합하여 실온에서 30분~3시간 동안 약하게 교반하여 반응시켜 이를 양성적혈구 응집반응으로 하였다. 응집반응에 대한 저해활성을 확인하기 위해 *P.acnes* 용액과 추출물, 천연 리포솜을 각각 혼합하여, 실온에서 반응시킨 다음, 다시 적혈구 용액을 혼합하여 반응시킨 후 응집반응을 현미경으로 관찰하였다. *P.acnes*용액에 (-) 반응을 나타내는 경우를 도 9a, (+) 반응을 나타내는 경우를 도 9b에 도시하고, 각각의 실험 결과를 도 9c~9f에 나타내었다.

[0109] 적혈구 응집반응 저해 활성 확인

[0110] *P.acnes*에 의한 적혈구 응집반응을 저해하는 활성을 측정할 결과, 비교예 1의 혼합물과 비교예 3의 합성 리포솜을 처리한 경우에는 *p.acnes*에 의한 적혈구의 응집을 저해하지 못하는 것으로 나타났다(도 9c, 도 9d). positive control인 triclosan을 처리한 경우에는 저해활성이 나타났다(도 9e). 실시예 1의 천연 리포솜을 처리한 경우에도 적혈구에서 triclosan과 유사한 수준의 저해활성이 확인되었다(도 9f).

[0111] [동물실험]

[0112] <실험예 9> *P. acnes*로 유발된 Hairless mouse의 여드름 완화 효과

[0113] 여드름 유발 균주

[0114] 여드름 유발에 사용된 원인균인 *P.acnes*(ATCC 6919)는 한국미생물 균주은행으로부터 분양 받아 사용하였다. 균주는 Reinforced Clostridium Medium(RCM, Oxford, Hampshire England)배지를 이용하여 혐기적 조건으로 37℃, 48시간 배양하여 실험에 사용하였다.

[0115] 실험동물 및 여드름 유발

[0116] 실험에는 Hos:HR-1(hairless mice)를 사용하였으며, 체중 20g 내외의 5주령 수컷 마우스를 대한 바이오링크(대한민국 충청북도 음성군)로부터 제공받아, 1주일의 적응기간을 거친 후 군별로 4주간의 처리기간을 거쳤다. 시험기간 중 사료와 물은 자유로이 섭취시켰으며, 사육실의 온도(22±2℃), 상대습도(55±%)와 명암은 12시간 주기를 유지하였다.

[0117] 여드름 유발은 *P.acnes*(1×10^7 CFUs)20ul를 마우스의 등에 주입하여 수행하였다. 도 10a에 도시된 바와 같이 처음에는 깨끗했던 피부에 3일 후에는 도 10b에 도시된 바와 같이 여드름이 나타났다. 3일 후 여드름이 유발된 시점부터 각각의 군에 따른 시료를 도포하여 여드름 완화 효과를 확인하였다.

[0118] 누드마우스의 등 피부에 여드름 유발 균주를 주입한 후 여드름 병변부위의 완화효과를 확인하고 그 결과를 디지털 카메라로 촬영한 사진을 도 11에 도시하였다.

[0119] 균주를 주입하지 않은 정상군(P. acnes(-))의 경우 깨끗한 피부를 유지하였으며, DW를 도포한 군(P.acnes(+))의 경우 18일 경과 후에도 여드름이 형성되어 있는 것을 확인할 수 있었다.

[0120] 샘플을 처리한 경우에는 모두 여드름이 점점 완화되는 것을 확인할 수 있었다. 여드름 완화 정도는 실시예 1의 천연 리포솜이 가장 높은 것으로 나타났고 그 다음으로 Positive control로 사용된 0.05% Triclosan, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 합성 리포솜 순으로 나타났다.

[0121] <실험예 10> 혈중 DHT 함량 측정

[0122] 실험 최종 일에 마우스를 12시간 이상 절식시킨 후 에테르로 가볍게 마취 시켰으며, 개복 후 복부 심장으로부터 혈액을 채취한 후, 약 15분간 실온에 방치시키고 10,000rpm, 4℃에서 30분간 원심분리 하여 혈청을 분리한 후 DHT(dihydrotestosterone) ELISA kit(Enzo)를 사용하여 DHT 함량을 측정하였다. 그 결과를 도 12에 나타내었다.

[0123] 5알파 환원효소 활성 증가에 의한 DHT의 증가가 여드름 유발에 중요한 역할을 한다는 점을 확인하고, 마우스 혈청 내 DHT 함량을 비교하였다.

[0124] 실험 결과 정상군의 경우 332.25pg/ml의 수치를 나타내었고, 여드름을 유발시킨 후 DW만 처리한 군에서 612.10pg/ml 으로 DHT의 함량이 가장 많이 증가한 것을 확인할 수 있었다. 샘플 처리 군에서는 Positive control(PC)과 실시예 1의 천연 리포솜에서 각각 320.85, 376.15pg/ml의 수치를 나타내어 정상군과 비슷한 DHT 함량을 보였다. 이로부터 실시예 1의 천연 리포솜 처리군의 여드름 완화 효과를 확인할 수 있었다.

[0125] <실험예 11> 혈중 TNF-a 함량 측정

[0126] 염증반응에서 나타나는 사이토카인인 TNF-a의 함량을 확인하기 위하여 분리한 혈청을 이용하여 분비량을 확인하였다. 실험은 TNF-a(mouse) ELISA kit(ALPCO)를 사용하여 진행하였다. 실험 결과를 도 13에 나타내었다.

[0127] 여드름을 유발하는 사이토카인 중 하나인 TNF-a의 함량을 확인함으로써 여드름 완화 정도를 확인할 수 있었다.

[0128] 실험 결과 정상군에서 TNF-a 함량은 13pg/ml이었고, DW 처리군에서는 19.267pg/ml으로 TNF-a 함량이 높아졌다. Positive 대조군인 Triclosan 처리군과 실시예 1의 천연 리포솜 처리군에서는 각각 14.733pg/ml, 11.133pg/ml로 TNF-a 함량이 정상군과 비슷하게 낮아지는 것을 확인할 수 있었다.

[0129] <실험예 12> 혈중 IL-6 함량 측정

[0130] 염증반응에서 나타나는 사이토카인인 IL-6의 함량을 확인하기 위하여 분리한 혈청을 이용하여 분비량을 확인하였다. 실험은 Mouse IL-6 ELISA Kit(KOMABIOTECH)를 사용하여 IL-6의 분비량을 확인하였다. 실험 결과를 도 14에 나타내었다.

[0131] 도 14에 도시된 바와 같이 정상군의 IL-6 함량은 1.32pg/ml이었고, 여드름을 유발한 후 증류수를 처리한 군의 IL-6 함량은 48.68pg/ml로 나타났다. 한편, Positive 대조군인 Triclosan 처리군에서는 28.43pg/ml로 나타났고, 실시예 1의 천연 리포솜 처리군에서는 이보다 더 낮은 22.25pg/ml의 값을 나타내었다. 이에 따라 실시예 1의 천연 리포솜을 처리함으로써 염증반응을 감소시킬 수 있을 것으로 생각된다.

[0132] <실험예 13> 비장지수 확인

[0133] 면역학적 평가를 위하여 실험 최종일에 마우스를 희생시켜 비장을 적출하고 그 무게를 측정하고 그 결과를 도 15에 도시하였다.

[0134] 비장수치는 마우스의 비장무게(mg)를 실험 종료일 마우스의 몸무게(g)로 나눈으로써 얻을 수 있었다.

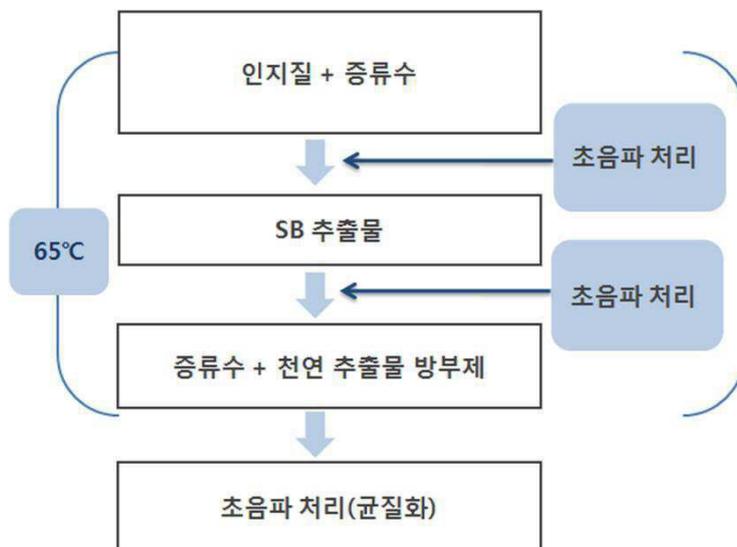
[0135] 여드름을 유발시키지 않은 정상군은 비장지수가 3.09mg/g이었으나, 여드름을 유발한 경우 비장지수가 4.35mg/g

로 증가하는 것으로 나타났다. 실시예 1의 천연 리포솜을 처리한 경우 3.65mg/g으로 정상군과 가장 유사한 수치를 나타내었으며, 정상군을 제외한 다른 군에 비해 가장 낮은 수치를 나타내었다. 이 결과를 통해 실시예 1의 천연 리포솜이 비장 내의 T 림프구의 증가를 현저하게 억제한 것으로 볼 수 있다.

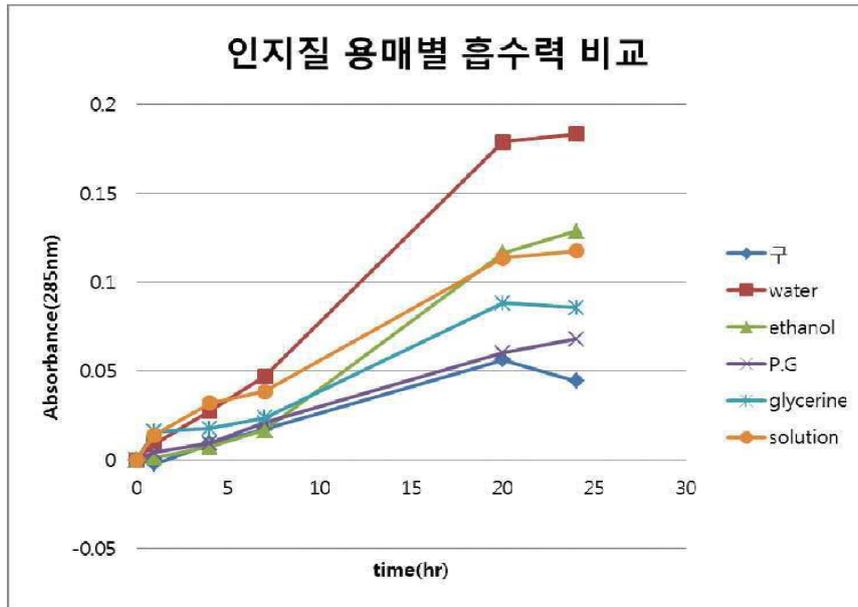
- [0136] <실험예 14> 조직학적 평가
- [0137] 여드름 유발 균주인 *P. acnes*(1×10^7 CFUs) 20ul 균주를 마우스의 귀에 피내 주사한 후 트리클로산, 실시예 1의 천연 리포솜, 비교예 1의 혼합물, 비교예 3의 합성 리포솜 200ul를 각각 도포하였다.
- [0138] 실험 시작 24시간이 지난 후 마우스를 희생시켜 조직을 적출하였으며, 조직에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 귀 조직을 검사하였다. 귀 조직은 10% 포르말린에 고정된 후 파라핀에 포매하여 4 μ m 두께로 박절하여 hematoxylin-eosin(H&E)으로 염색하였으며, 광학현미경으로 조직학적 변화를 관찰하였다.
- [0139] 그 결과를 도 16에 나타내었다.
- [0140] 실험 결과, DW를 적용한 군에서는 여드름이 유발된 것을 뚜렷하게 확인할 수 있었던 반면, 비교예 1의 혼합물, 실시예 1의 천연 리포솜에서는 여드름이 완화된 것을 확인할 수 있었다.
- [0141] 또한 귀 조직 단면의 조직학적 관찰을 위하여 H&E stain을 실시한 결과 여드름균을 주입하지 않은 정상군의 경우 귀 조직이 얇았으나, DW군의 경우 부종으로 인해 귀 조직이 부풀어 있는 것으로 나타났다.
- [0142] Triclosan(PC) 및 비교예 3의 합성 리포솜의 경우 DW군보다는 여드름 조직이 완화되었으나 유의적으로 큰 차이를 보이지는 않았다.
- [0143] 실시예 1의 천연 리포솜의 경우 유의적으로 정상군과 유사한 정도의 여드름 완화 효과를 나타낸 것을 확인할 수 있었다.
- [0144] 이상에서 설명한 본 발명은, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 있어 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 여러 가지 치환, 변형 및 변경이 가능하므로 전술한 실시예 및 첨부된 도면에 한정되는 것이 아니다.

도면

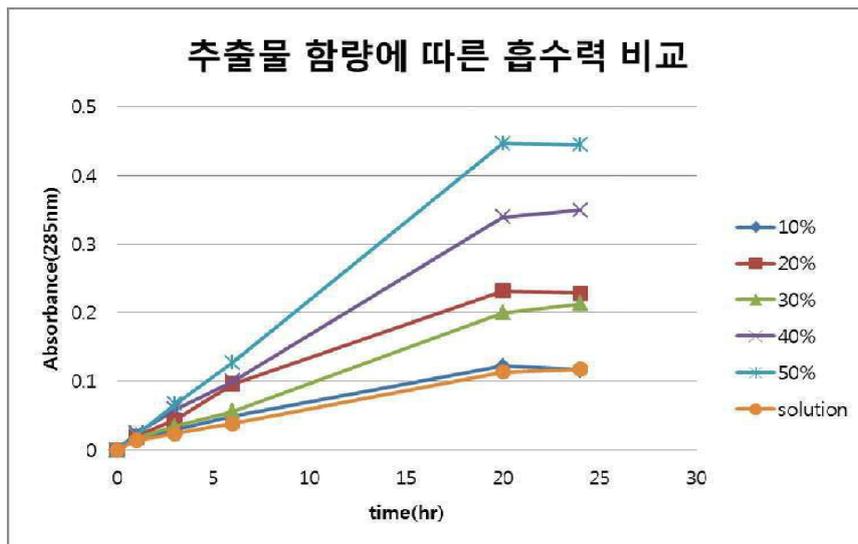
도면1



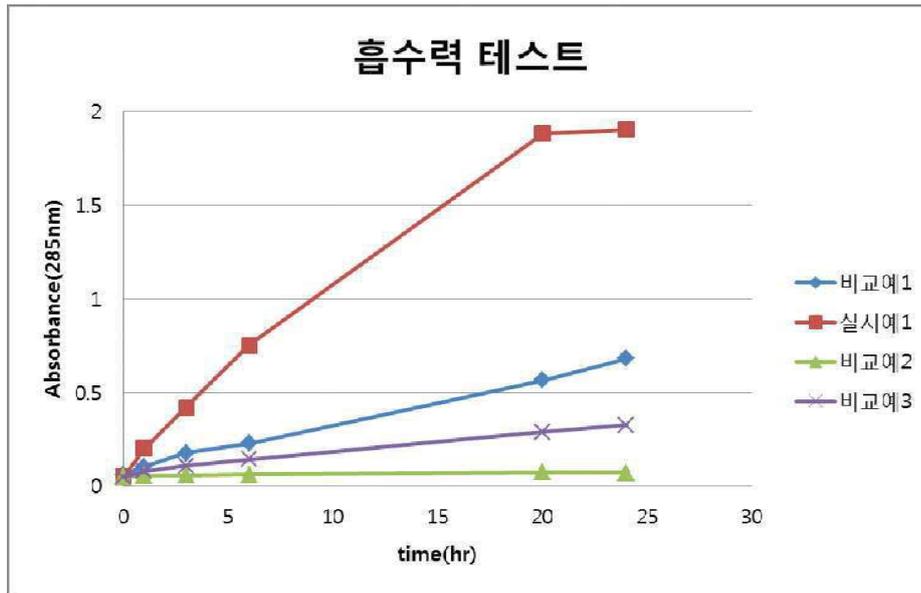
도면2a



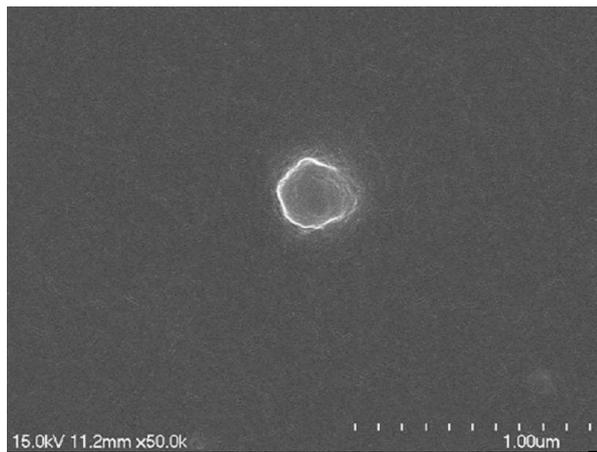
도면2b



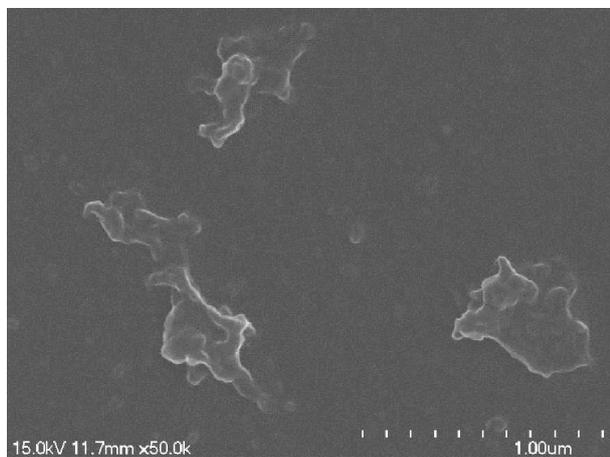
도면3



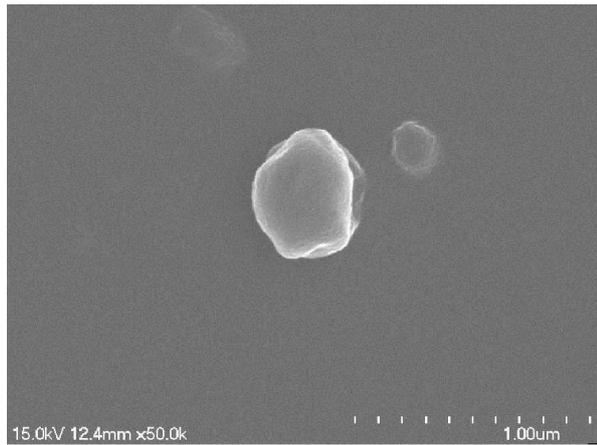
도면4a



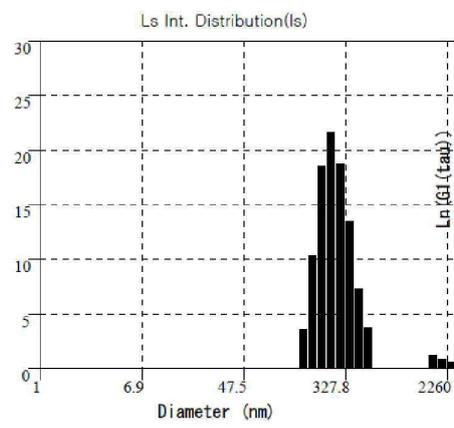
도면4b



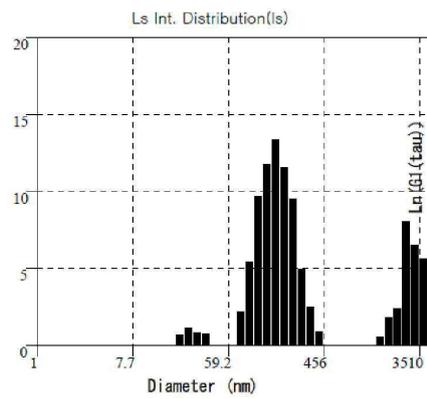
도면4c



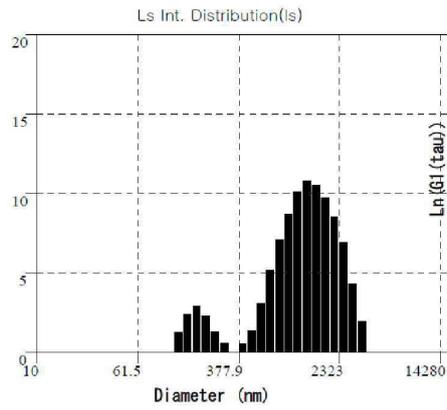
도면5a



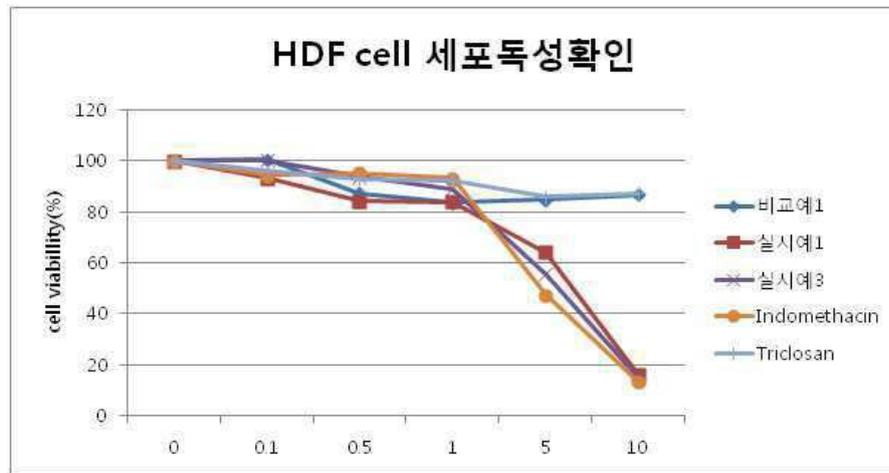
도면5b



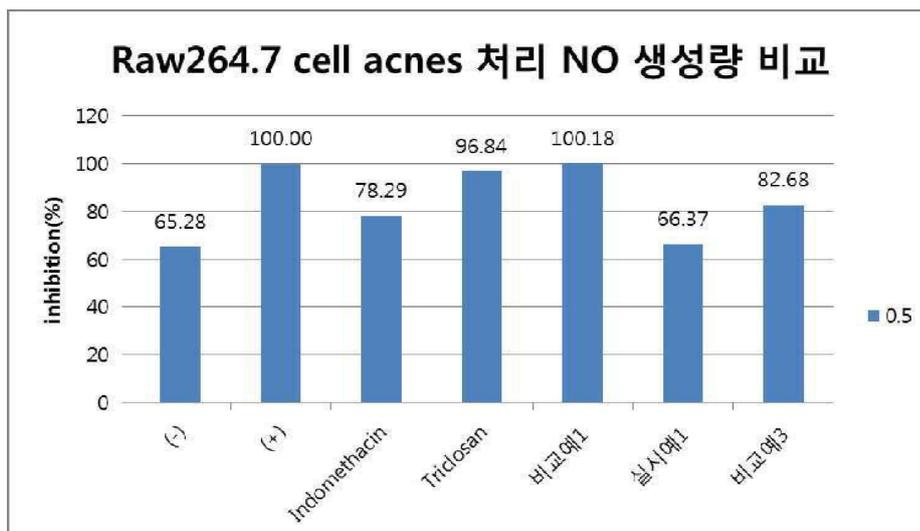
도면5c



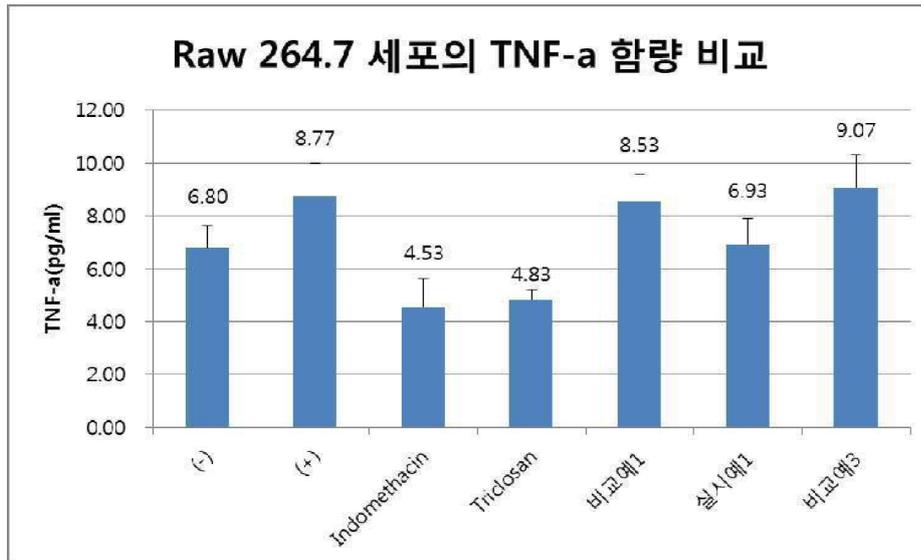
도면6



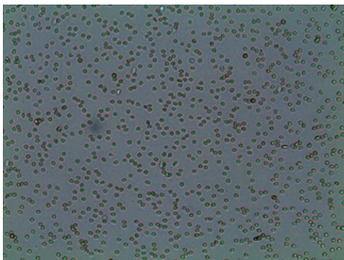
도면7



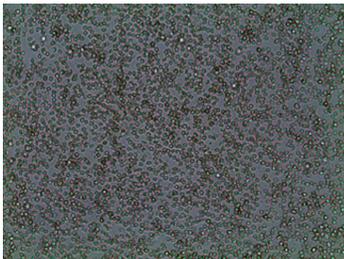
도면8



도면9a



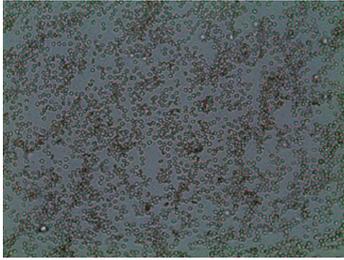
도면9b



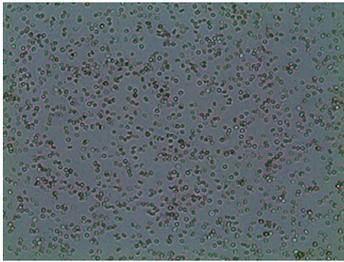
도면9c



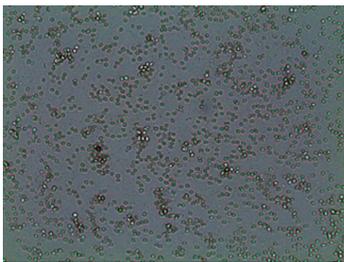
도면9d



도면9e



도면9f



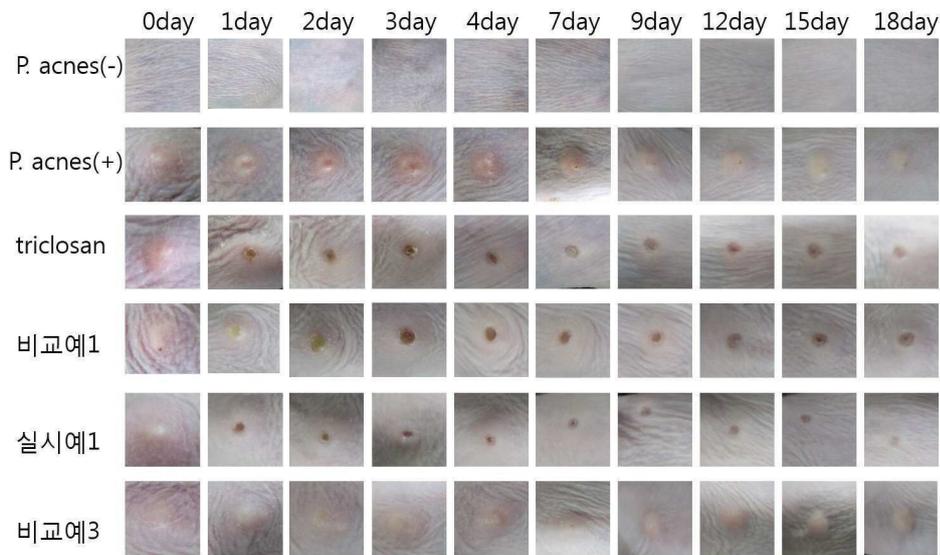
도면10a



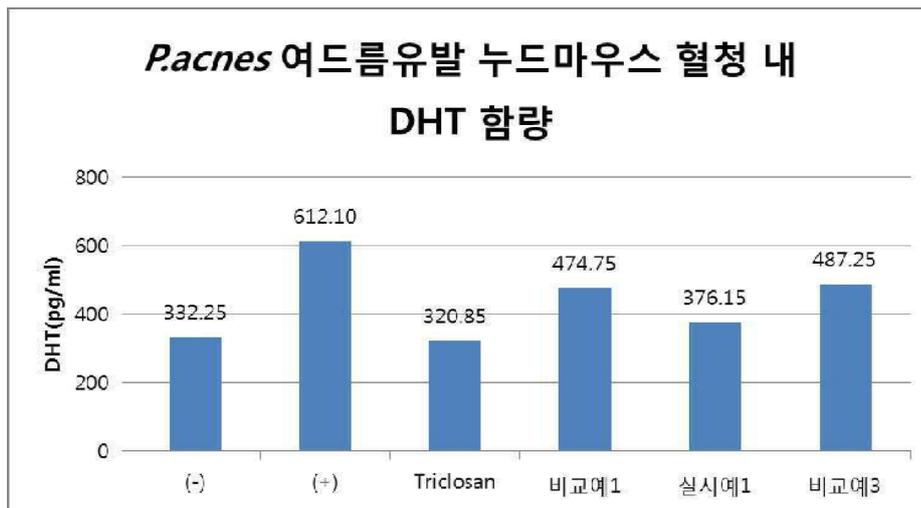
도면10b



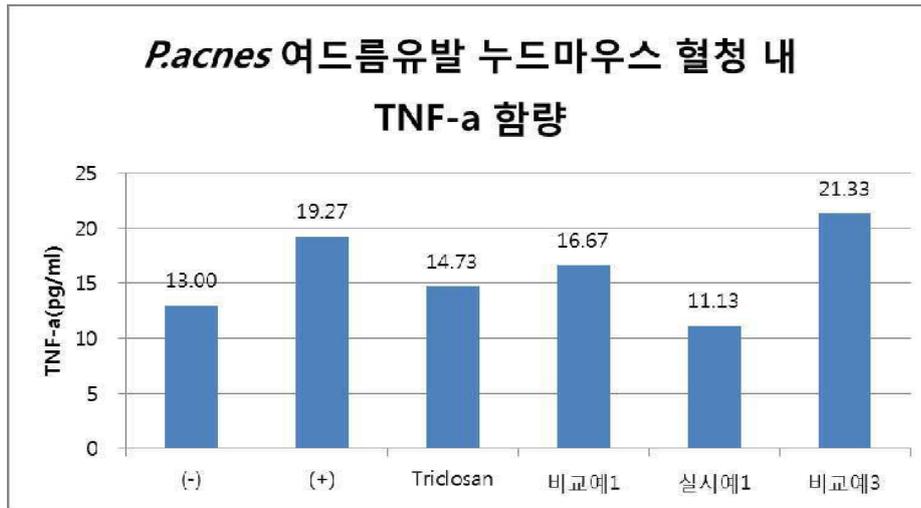
도면11



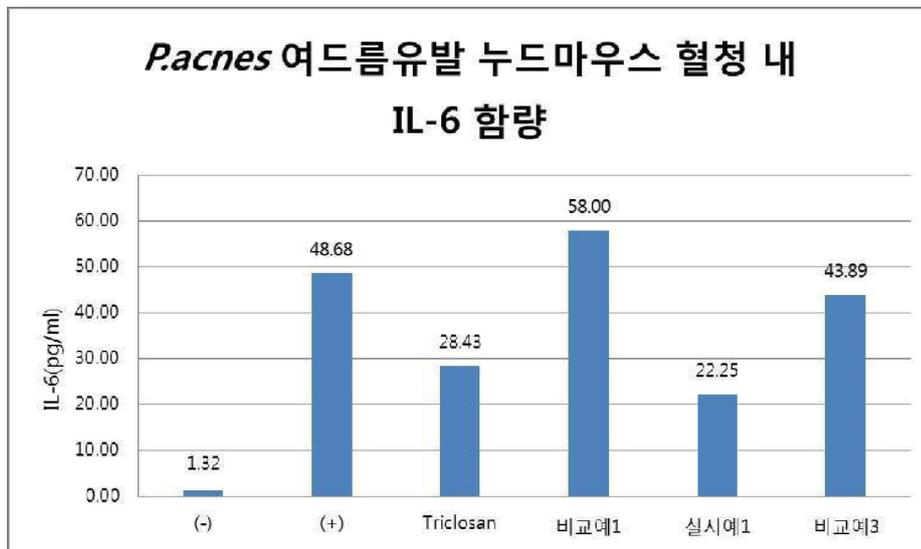
도면12



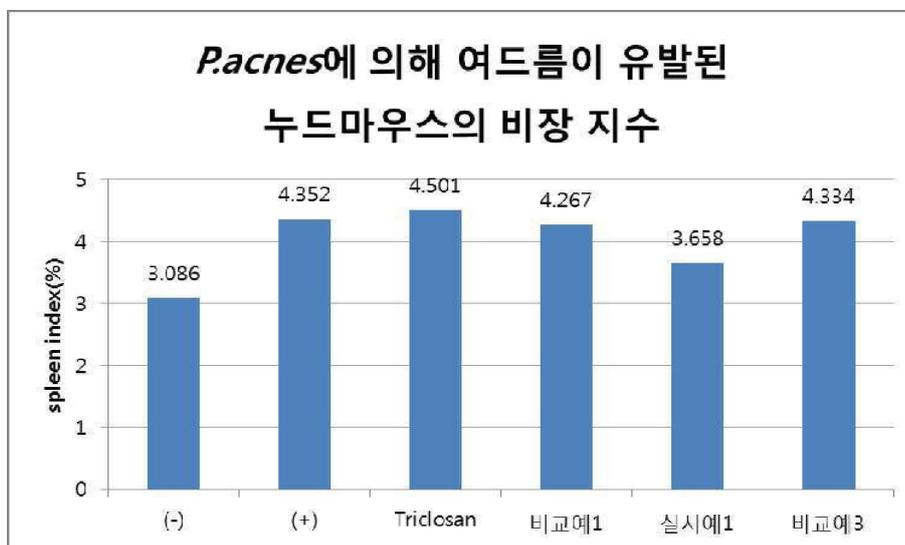
도면13



도면14



도면15



도면16

