

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.⁶
A61K 7/00
A61K 7/48
A62D 3/00

(45) 공고일자 2000년03월02일
(11) 등록번호 10-0242578
(24) 등록일자 1999년11월11일

(21) 출원번호	10-1993-0002188	(65) 공개번호	특1993-0019197
(22) 출원일자	1993년02월17일	(43) 공개일자	1993년10월18일

(73) 특허권자 인데나 에스.피.아 팔리안티 쥬세베
이탈리아, 밀라노, 99 비아 리파몬티

(72) 발명자 에지오 밤바렐리
이탈리아공화국, 20141 밀라노, 비아 발 디 솔레 22
세자르 폰존
이탈리아공화국, 27018 비디겔포 피브이, 비아 타씨 4
피에르 파올로 퍼글리시
이탈리아공화국, 43100 팔마 피알, 보르고 산 니콜로 8

(74) 대리인 목영동, 목선영

심사관 : 이유형

(54) 화장용 및/또는 제약용 조성물 및 이의 사용방법

요약

본 발명은 금속 이온과 결합할 수 있는 금속격리용 성분 및 국소 투여에 적당한 생리학적 불활성 담체로 구성된, 사람이나 동물의 외부 조직을 중금속과의 접촉으로부터 보호하기 위한 국소용 화장용 조성물 및 제약학적 조성물에 관한 것이다. 상기 금속격리용 성분은 높은 비율의 시스템인 잔기를 갖는 하나 이상의 금속결합용 펩티드, 예를 들어 메탈로티오네인을 포함한다.

명세서

[발명의 명칭]

화장용 조성물과 제약학적 조성물 및 이것의 사용방법

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 사람이나 동물의 조직, 특히 상피 조직이 중금속과 접촉하여 손상되는 것을 막기 위한 화장용 조성물 및/또는 제약학적 조성물 및 이러한 조성물의 사용방법에 관한 것이다.

여러 금속 이온들은 생체에 있어 필수 영양소로서 미량으로 필요하게 된다. 예를들어, 효소적 작용, 구조적 작용 및 면역학적 작용과 같이 폴리펩티드에 의해 행해지는 여러 작용들은 금속 보조인자를 필요로 한다.

그러나 기타 금속 이온, 특히 중금속 이온들은 비생리학적 양으로 존재하게되면 상기 작용들에 나쁜 영향을 줄 수 있다. 그러므로 주변 환경내의 금속에 과대 노출하게되면 독성 효과가 나타날 수 있다.

산업화된 국가에서 행해진 생태학 연구로써 환경내에 존재하는 상기 금속들의 양이 증가하고 있음을 알 수 있었다. 이러한 결과로써 오염된 식품을 섭취하고 대기중의 금속에 노출하게 되어 사람을 포함한 생물체의 조직내 중금속 양이 증가하게 된다.

중금속 이온의 축적작용은 매우 위험한데 이들의 독성은 부분적으로 단백질의 3차 구조와 4차 구조가 분열되어 촉매(즉, 효소) 활성을 감소시키는데 기인한다고 생각된다.

그러므로 분열된 단백질은 항원성을 나타내어 면역반응을 일으킨다. 이것에 관해 이들은 자가면역 반응을 일으키는 '외래 폴리펩티드 비오틱 에이전트(biotic agent)'로서 몸체에서 인지될 수 있다(여러가지 일반적인 알레르기는 세제의 사용이나 기타 환경 요인과 관계된 중금속으로 인한 것이다).

금속의 독성작용의 원인이라고 알려진 또다른 메카니즘은 생리학적인 천연 효소 보조인자대신에 비생리학적 농도의 중금속을 사용하는 것이다.

그러므로 금속관련 질환이 예방된다면 대기중의 중금속 오염물의 억제는 필수적이다. 그러므로 중금속 이온이 몸체에 들어갈 수 없도록 중금속 이온을 효율적이고도 선택적으로 차단하여 이들이 독성 작용을 나타낼 수 없도록하는 생성물을 얻는 것이 유리하다.

중금속에 의한 광대한 환경오염과 생태계내에 이들이 편재해 있다는 것은 피부 및 민감한 점막들이 중금속에 대해 영향받을 수 있는 부분들이 되어 이곳에 중금속이 축적되어 몸체내로 흡수된다는 것을 의미한다. 세제나 기타 원인들에 의한 여러가지 피부 알레르기 현상은 그것의 병인론에 있어서 중금속을 포함한

고 있다는 것이 또한 공지되었다.

특히 주목해야 하는 것은 광업에 있어 건강에 매우 위험한 것들인 구리, 코발트, 아연, 망간, 수은 및 니켈과 배기 가스로부터 나오는 납이다. 성장하는 어린이들에게 납이 축적되면 집중력이나 기억력에 해로운 효과를 나타낼 수 있다.

US - A - 4 725 670 호에는 식물로부터 메탈로티오네인을 추출하여 급성 및 만성 중금속 중독과 금속 결핍현상을 치료하기 위한 제약학적 형태로 사용하는 것이 기재되어있다. 그러나 중금속 이온과의 접촉 작용에 대한 보호제로서 메탈로티오네인을 사용하는 것은 언급되지 않았다.

중금속을 격리시키는 능력을 갖고 있는 흑종의 폴리펩티드가 상기 문제점을 해결할 수 있는 화장품 조성물 및/또는 제약학적 조성물을 제조하는데 사용될 수 있다는 것을 발견하였다.

그러므로 본 발명에 따라 사람이나 동물의 외부 조직을 중금속과의 접촉에 의한 독성 작용으로부터 보호하기 위한 국소용의 화장품 조성물 및/또는 제약학적 조성물이 제공되는데 이 조성물은 금속 이온과 결합할 수 있는 금속 격리용 성분 및 국소 투여에 적당한 생리학적 불활성 담체로 구성되며, 상기 금속 격리용 성분이 고비율의 시스테인 잔기를 갖고있는 하나 이상의 금속결합용 펩티드를 포함한다는 것을 특징으로하고 있다.

상기 금속결합용 펩티드가 중금속 이온과의 금속 - 티올레이트 집단을 만들수 있는 리간드를 포함하는 것이 바람직하다.

그러므로 금속결합용 펩티드가 전체 잔기수에 기준해 약 10-50%의 시스테인잔기, 더욱 바람직하기로는 약 25-45%의 시스테인 잔기를 갖는 것이 바람직하다.

시스테인을 많이 함유한 금속결합용 펩티드는 자연중에 존재한다. 이렇게 천연적으로 존재하는 펩티드의 예로는 메탈로티오네인이 있다. 메탈로티오네인에 속하는 부류는 소위 말하는 피토킬라틴이다. 그러나 여러 권위자들은 상기 두개의 용어를 다 포함하여 '메탈로티오네인'으로 사용한다.

상세히 말하자면, 메탈로티오네인(MTs)은 카드뮴 축적에 관한 1957년 Margoshes 및 Vallee의 연구에 의해 말의 신장에서 처음으로 발견된 단백질 그룹이다. 아포단백체(결합 금속 이온이 없음)는 하나 이상의 금속 형태와 결합할 수 있다. 그 아래로, MTs는 특히 카드뮴, 아연, 구리, 수은, 은, 금, 납 및 비스무트와 결합한다고 알려졌다.

MTs는 동물, 식물 및 미생물의 조직에서 분리되었다. 이들은 구형이 아닌 단백질이며 주로 세포질내에 세포내적으로 존재하고 포유동물의 간, 신장, 및 장의 실질(parenchyma) 조직으로부터 다량 분리되었다.

본원에서 언급된 MTs의 분류 및 명명은 1978년 7월 Zurich에서 개최된 메탈로티오네인 및 기타 저분자량의 금속결합용 단백질에 관한 제 1 차 국제 회의에서 'The Committee on the Nomenclature of Metallothionein'에 의해 지정된 것이다.

3가지 종류의 MT는 다음과 같다.

[종류 I]

이 종류에 포함되는 것은 1차 구조에 있어 말의 신장 MT와 관련된 모든 폴리펩티드이다. 이 물질은 다음과 같은 특징들로 특성화된다.

- (i) 분자량 6000-7000 ;
- (ii) 높은 금속 함량 ;
- (iii) 특징적인 아미노산 조성(높은 시스테인 함량, 방향족 아미노산의 부재) ;
- (iv) 아미노산 서열내 시스테인 잔기의 독특한 분포 ;
- (v) 금속과 티올레이트간의 착물 및 금속과 티올레이트의 집단으로 특징되는 분광학적 특성.

[종류 II]

이 종류는 1차 구조에 있어 포유동물의 형태에 약간 상응하거나 상응하지 않는 형태들을 포함한다. 예로는 성게(sea urchin) 및 *N Crassa*의 MTs가 있다. 그러나 이들은 종류 I의 MTs와 같이 금속과 티올레이트간의 착물 및 금속과 티올레이트의 집단을 형성하는 능력을 갖는다.

[종류 III]

이 종류는 일반 구조식이 $(Glu-Cys)_nX$ ($n=2-8$, X는 글리신 또는 β -알라닌같은 아미노산)인 상응하는 불규칙한 올리고펩티드 및 폴리펩티드를 포함한다. 이것은 종종 피토킬라틴으로 칭해지며 식물과 진균의 조직으로부터 분리되었다.

3가지의 MTs는 중량에 있어 500-2000달톤으로 상이하고 금속-티올레이트 결합 및/또는 이황화 결합에 의해 연결된 두개이상의 사슬로 구성된 올리고머 구조로서 존재할 수 있다.

그러므로, 메탈로티오네인이라는 용어가 구조 및 크기에 있어 다양하지만 착물의 금속 이온을 시스테인 측쇄와 결합시켜 별개의 금속-티올레이트 집단을 만드는 일반적인 능력을 갖는 여러가지 단백질을 포함한다는 것을 알수있다. 대표적인 메탈로티오네인 종류 I, II 및 III의 아미노산 서열을 다음 표 1에 기록하였다.

[표 1]

: 종류 I, II 및 III 메탈로티오네인의 아미노산 서열

유기체

아미노산 서열

사람의 (종류 I) MT-2 - Ac-MDPNCSAA GDSCTCAGS CKCKE CKCTSCKKS
CCSCCPVGA KCAQGCICKGASDK CSOCA

Saccharomyces

cerevisiae (종류 II) - QNEGHECQCQCGSCKNNEQCQKSCSCPTGCNSDDKPCPGNKS
EETKKSCCSGK

Rauvolfia

serpentia - (Clu-Cys)_n Gly n = 4 - 8

상기된 바와같은 메탈로티오네인의 작용 특성을 갖고있는 폴리펩티드를 본 발명에 따라 사용할 수 있다. 이들은 펩티드 사슬내에 Cys-Cys, Cys-X-Cys 및 Cys-X-Y-Cys 같은 특정 서열을 갖는 것으로 특징될 수 있는데 여기서 X 및 Y는 Cys 이외의 잔기이다.

그러므로 본 발명에 따라 사용된 금속결합용 펩티드는 비록 높은 비율의 시스테인 잔기를 갖고있는 기타 금속결합용 펩티드가 사용될 수 있더라도, 명명에 관한 국제 회의에 따라 정의된 종류 I, 및/또는 II, 및/또는 III의 메탈로티오네인일 수 있다.

바람직하게, 본 발명에 따른 조성물은 금속 격리 능력이 손상되지 않도록 중금속 이온을 실질적으로 함유하지 않는다. 그러므로, 존재하는 메탈로티오네인은 아포메탈로티오네인이다.

본 발명의 조성물이 젤, 크림, 연고 또는 바디 로션 형태로 제제화되는 것이 바람직하다. 또한, 본 발명의 조성물은 피부의학적으로 불활성인 착색제 및/또는 향료를 함유할 수 있는 배리어 크림 또는 화장용 메이크-업 파운데이션 형태로 몸체의 노출부에 사용되도록 제제화된다.

본 조성물이 예를들어 오일, 왁스, 실리콘 오일 또는 기타 유사한 불활성이고 소수성인 담체 물질을 포함하는 방수성의 필름형상 혼합물 형태로 제제화되는 것이 가장 바람직하다. 물론 이러한 물질들이 금속결합용 펩티드의 설프하이드릴 그룹과 반응하지 않는 것이 바람직하다. 이 조성물은 바람직하게 방수성을 가지며 정상적인 활성을 나타내는 동안 내내 피부상에 남아있을 수 있는 반면 비누같은 세제로 세척하여 간단히 제거될 수 있다.

본 발명의 조성물은 바람직하게 약 0.01-10 중량%의 상기 금속결합용 펩티드, 가장 바람직하게 약 0.1-5 중량%의 상기 금속결합용 펩티드를 함유한다.

본 발명은 또한 금속 이온과 결합할 수 있는 금리거리용 성분 및 국소 투여에 적당한 생리학적 불활성 담체로 구성된 조성물을 도포하는 것으로 구성되고 상기 금속거리용 성분이 높은 비율의 시스테인 잔기를 갖는 하나 이상의 금속결합용 펩티드를 포함하는 것으로 특징되는, 사람이나 동물의 조직을 중금속과의 접촉으로부터 보호하기 위한 화장방법을 제공한다.

금속결합용 펩티드가 본 발명에 따라 사용될 수 있더라도, 이들을 주로 화장품 조성물 및/또는 제약학적 조성물에 함침시키므로써 사람이나 동물 조직에 있어 중금속 이온과의 접촉에 대한 보호효과를 얻기위해 본 발명의 보호효과를 다른 방법으로 얻을 수 있다.

본 발명의 또다른 구체예에서, 환경, 특히 공기중 중금속 이온 오염의 위험한 작용으로부터 사람의 조직을 보호하기 위한 마스크가 제공되는데 이 마스크는 금속 이온과 결합할 수 있는 금속거리용 성분으로 구성된 흡착 물질을 함유하고 있는 필터 매체로 구성되며, 상기 금속거리용 성분은 높은 비율의 시스테인 잔기를 갖는 하나 이상의 금속결합용 펩티드를 포함하는 것으로 특징된다.

본 발명에 따라 금속결합용 펩티드는 또한 공기중 중금속 이온과의 접촉에 의한 위험한 작용으로부터 사람의 상피조직을 보호하기 위한 마스크용의 일회용 카트리지(cartridge)에 사용될 수 있다.

본 발명에 따라 사용된 금속결합용 펩티드는 환경내에 존재하는 여러 중금속 이온들과 결합할 수 있다. 그러나 납, 카드뮴, 크롬, 수은, 구리 및 니켈에 대해 보호하는 것이 가장 중요하다는 것에 직면하게 된다.

본 발명의 조성물, 방법, 마스크 및 일회용 카트리지를 제조하는데 유용한 금속결합용 펩티드는 널리 산재해 있어 식물 및/또는 동물 및/또는 미생물로부터 얻어질 수 있다.

금속결합용 펩티드를 본 발명에 사용하기 위해 상기 공급원중 혹종의 것에서 얻을 수 있지만, 식물이나 미생물로부터 얻은 것이 바람직하다.

예를들어 EP-A 0,242,799호에 식물 물질로부터 메탈로티오네인을 추출하는 방법이 기재되어 있으며 이러한 방법에 따라 얻은 메탈로티오네인을 본 발명에 따른 조성물 제조에 유리하게 사용할 수 있다.

그러므로 메탈로티오네인에 속하는 식물이나 미생물에서 얻은 생성물을 사용하므로써 중금속을 차단하는 효과적인 '분자' 방법이 제공된다. 본 발명의 방법을 사용하게되면 금속들을 폴리펩티드 구조에 대한 티올 결합과 결합시킬 수 있으며 이렇게 결합된 금속들은 몸체내로 확산되지 못한다. 이러한 결과로써 상기 금속들의 독성작용(예를들어, 효소 억제작용 및 면역학적 반응)이 방지된다.

메탈로티오네인 제조에 사용하기에 가장 적당한 식물은 예를들어 Cruciferae 및 Caryophyllaceae과에 속

하는 것들이다.

메탈로티오네인은 선택된 금속을 격리시키는 능력을 가질 수 있으며, 본 발명에 따라 구리 또는 철과 같이 대사에 있어 유용한 금속들보다는 독성이 있는 금속들을 격리시키는데 적합한 메탈로티오네인을 이용하는 것이 특히 바람직하다.

그러므로 크로뮴, 니켈, 납 및/또는 카드뮴을 격리시키는 능력은 비교적 크지만 구리나 철을 격리시키는 능력은 비교적 작은 메탈로티오네인을 사용하는 것이 특히 바람직하다.

금속에 의한 오염이 적은 지역내의 유리화 또는 개방된 들판에서 *Eruca sativa*, *Brassica napus* 같은 식물을 재배하여 미리 알고 있는 양이온을 격리시키는데 적합한 메탈로티오네인을 제조하는 것이 가능하다. 유도제로서 작용하는 선택된 중금속의 적당한 염 존재하에서 계속 성장하게 된다. 가해진 금속에 반응하여 형성된 메탈로티오네인이 일단 분리되면, 이들을 중금속이 제거되도록 처리함으로써 이것이 상기와 동일한 금속과 다시 접촉하게될때 이 금속을 다시 격리시키도록 활성 중심이 제거된다.

이들 메탈로티오네인을 적당한 약품이나 화장품에 함침시킬때, 이들은 특정 금속, 예를들어 특정 금속과 관련된 독성 현상의 병인론에 포함되는 것을 차단할 것이다.

식물성 물질에서 메탈로티오네인을 추출하는 것이 EP-A-0 242 799 호 및 US-373.400 호에 기재되어있어 이들 메탈로티오네인을 본 발명에 따라 사용할 수 있다. 식물성 물질이나 미생물 물질과 물의 균질물을 추출함에 의해 메탈로티오네인을 함유한 식물성 물질, 효모 또는 미생물로부터 유용한 메탈로티오네인을 얻을 수 있다.

상기 균질물을 원심분리하여 세포 잔사를 분리시키고 상등액을 C₁₋₃ 지방족 알콜이나 C₃₋₆ 지방족 케톤으로 부분 희석한후 여과시켜 분자량이 큰 불필요한 당단백질 생성물을 제거한 다음 농축시켜 부피를 줄인다.

비정제 메탈로티오네인(종종 결합된 금속을 여전히 함유하고 있음) 부분은 C₁₋₃ 지방족 알콜이나 C₃₋₆ 지방족 케톤을 부가하여 불용성화된 후에 수성 추출물로부터 분리될 수 있다.

이 침전물은 물에 다시 녹을 수 있고 물의 비율이 40-90%인 상기와 동일한 용매내에 다시 침전될 수 있어서 단순한 당, 아미노산, 및 무기염과 같이 분자량이 작은 생성물을 완전히 제거할 수 있다. 공급원에 따라 분자량이 500-8,000으로 다양한 메탈로티오네인은 문헌에 공지되어 있는 통상적인 방법, 예를들어 세파덱스(Sephadex) G-50 컬럼을 사용하거나 적당한 차단막을 이용한 한외여과법에 의해 침전물로 부터 정제될 수 있다.

분리한 후, 메탈로티오네인은 화장품용 또는 치료용으로 사용하기 전에 불활성 기체하의 산화방지제 존재내에서 산 수지로 처리되어 양이온을 제거할 수 있다.

이것은 수성의 젤, 크린싱 밀크(cleansing milk) 또는 간단한 유제와 같은 제제내 피부 도포용 제제에 상기 형태로 함침될 수 있다. 폴리펩티드의 설프하이드릴 그룹을 저해하지 않는 부형제 및 계면활성제를 사용하는 것이 바람직하다.

본 발명에 따른 화장적 처리의 한 예로서, 상기 제제를 얼굴, 목, 다리등과 같은 몸체의 노출부에 도포할 수 있다. 이러한 것은 도시 교통량이 많은 지역에 가거나 오염도가 높은 지역에 제재해 있을때 아침에 행해진다.

하루일과가 지난후에, 통상적인 세척으로써 하루 동안의 중금속을 보유하고 있는 제제의 잔사를 피부에서 제거하게되어 이 중금속이 피부를 통해 흡수되는 것을 막는다. 지방층을 세척해내고 동시에 미량의 오염 금속을 제거하기 위해 세제를 오래도록 사용한 후에 손이나 몸체의 기타 부위에 적당한 제제를 도포할 수 있다.

다음 실시예는 본 발명의 조성물에 대한 적당한 제제를 설명한다.

[실시예 1]

: Pb, Cr, Cd 및 Ni 격리용 메탈로티오네인을 함유한 젤 제제.

이 제제의 조성 비율은 다음과 같다.

메탈로티오네인	1 %
밀랍	10 %
시클로실리콘 오량체	53 %
바셀린	30 %
스테아릴 암모늄 헥토라이트	2 %
수소첨가된 피마자유	2 %
발열 실리카	1 %
향료	1 %

[실시에 2]

: 손 및 몸체용 유제.

이 제제의 조성 비율은 다음과 같다.

메탈로티오네인	0.5 %
폴리트리메틸실옥시실리케이트/디메티콘	3 %
광유	0.5 %
이소프로필 라놀레이트	3 %
스테아린산	1 %
세틸 알콜	1 %
TEA	1.2 %
향료	0.2 %
물	89.6 %

[실시에 3]

: 바디 밀크 A/O

이 제제의 조성 비율은 다음과 같다.

메탈로티오네인	1 %
세틸 디메틸티콘 코폴리올	5 %
테트라글리세릴 스테아레이트 헥실 라우레이트	3 %
스테아릴 디메티콘	6 %
이소프로필 미리스테이트	6 %
광유	4 %
트리글리세라이드 C8-10	3 %
글리세린	5 %
바셀린	3 %
NaCl	2 %
향료	0.5 %
물	61.5 %

(57) 청구의 범위

청구항 1

젤, 크림, 연고 또는 바디로션의 형태이며 중금속과의 접촉으로부터 사람이나 동물의 외부조직을 보호하기 위한 것으로서 국소투여용으로 적당한 생리학적으로 불활성인 담체를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 메탈로티오네인을 포함하는 화장용 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 메탈로티오네인이 아포메탈로티오네인인 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 메탈로티오네인이 식물로부터 얻어지는 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 메이크업 파운데이션의 형태인 조성물.

청구항 5

제 4 항에 있어서, 국소투여에 적당한 상기 생리학적으로 불활성인 담체가 내수성, 필름-형성 물질을 포함하는 조성물.

청구항 6

제 5 항에 있어서, 상기 생리학적으로 불활성인 담체가 왁스, 오일, 왁스 유액 또는 오일 유액을 포함하는 조성물.

청구항 7

제 1 항에 있어서, 피부의학적으로 불활성인 착색제를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 8

제 1 항에 있어서, 0.01-10중량%의 상기 메탈로티오네인을 포함하는 조성물.

청구항 9

제 8 항에 있어서, 0.1-5중량%의 상기 메탈로티오네인을 포함하는 조성물.