



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0099417  
(43) 공개일자 2016년08월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 9/127 (2006.01) A61K 47/48 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A61K 9/127 (2013.01)  
A61K 31/56 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2015-0021873  
(22) 출원일자 2015년02월12일  
심사청구일자 2015년02월12일  
기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인  
계명대학교 산학협력단  
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095 (신당동)  
(72) 발명자  
이상길  
대구광역시 달서구 성서서로 330, 106동 1209호  
(이곡동, 성서청남타운)  
(74) 대리인  
김중선, 이형석

전체 청구항 수 : 총 14 항

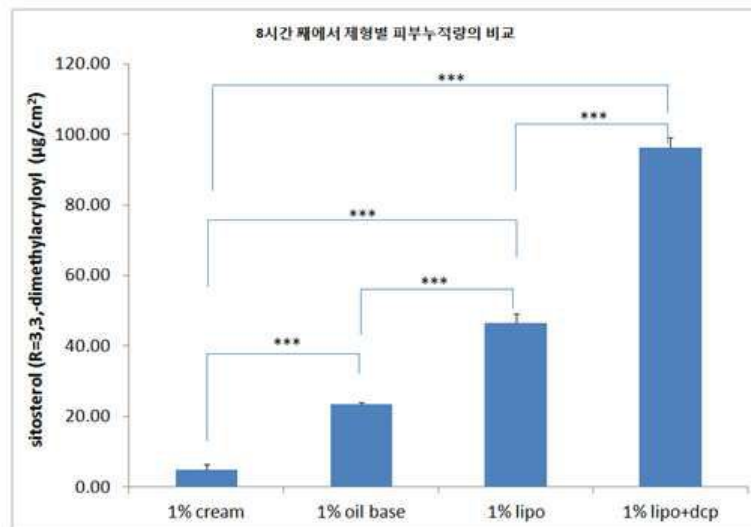
(54) 발명의 명칭 나노 운반체 및 이를 함유하는 피부 외용제 조성물

(57) 요약

본 발명은 시토스테롤 또는 그 유도체의 피부전달 효율을 증가시키는 나노 운반체 및 이를 함유하는 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 의하여 음전하로 표면이 개질된 나노운반체는 시토스테롤 또는 그 유도체들을 봉입하여, 고효율로 피부로 전달할 수 있다. 이를 통하여 본 발명의 피부 외용제 조성물은 탈모방지 및 발모개선훈 등 기능성 화장품을 비롯한 의약품으로써 활용가능하며, 상기 나노 운반체는 화장품, 의약품 전달의 제형개발에도 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

**A61K 47/48815** (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014D7264010101

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 산학협력 선도대학(LINK) 육성사업 산학공동기술개발과제

연구과제명 나노리포좀 약물전달기술 기반 천연발모제 개발

기 여 율 1/1

주관기관 계명대학교 산학협력단

연구기간 2014.07.01 ~ 2015.01.31

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

나노 입자 표면이 음전하 인지질로 수식된 것을 특징으로 하는 나노 운반체.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 인지질은 포스파티딕산, 포스파티딜 세린, 글리세로포스포릭산, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜이노시톨 3-포스페이트, 포스파티딜이노시톨 4-포스페이트, 포스파티딜이노시톨 5-포스페이트, 또는 디세틸 포스페이트인 것을 특징으로 하는 나노 운반체.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 나노 입자는 리포솜인 것을 특징으로 하는 나노 운반체.

#### 청구항 4

제3항에 있어서, 상기 리포솜은 탄성 부여제를 첨가하여 제조된 탄성 리포솜인 것을 특징으로 하는 나노 운반체.

#### 청구항 5

제4항에 있어서, 상기 음전하 인지질 및 탄성 부여제는 각각 1~20 중량부 및 0.02~25 중량부로 첨가하여 제조되는 것을 특징으로 하는 나노 운반체.

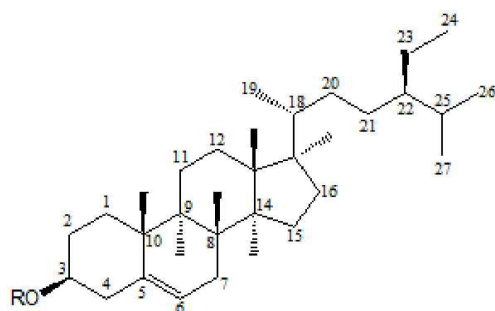
#### 청구항 6

제1항에 있어서, 상기 나노 입자 크기는 250nm 이하인 것을 특징으로 하는 나노 운반체.

#### 청구항 7

제1항에 따른 나노 입자 표면이 음으로 하전된 지질로 수식된 나노 운반체에 하기 화학식 1로 표시되는 시토스테롤 또는 그 유도체가 봉입된 피부 외용제 조성물.

[화학식 1]



여기서, R은 H, 팔미테이트(palmitate), 스테아레이트(stearate), 히드록시스테아레이트(hydroxystearate), 이소스테아레이트(isostearate), 또는 아세틸(acetyl), 3,3-디메일아크릴로일(3,3-dimethylacryloyl) 이다.

#### 청구항 8

제7항에 있어서, 상기 나노 입자는 음전하 인지질로 표면이 수식된 리포솜인 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

#### 청구항 9

제8항에 있어서, 상기 리포솜은 탄성 부여제를 첨가하여 제조된 탄성 리포솜(elastic liposome)인 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

#### 청구항 10

제9항에 있어서, 상기 음전하 인지질 및 탄성 부여제는 각각 1~20 중량부 및 0.02~25 중량부로 첨가하여 제조되는 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

#### 청구항 11

제9항에 있어서, 상기 탄성 부여제는 비이온계면활성제인 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

#### 청구항 12

제11항에 있어서, 상기 비이온계면활성제는 폴리옥시에틸렌(20)소르비탄모노라우레이트 (Tween 20), 폴리옥시에틸렌(20)소르비탄모노팔미테이트 (Tween 40), 폴리옥시에틸렌(20)소르비탄모노스테아레이트 (Tween 60), 또는 폴리옥시에틸렌(20)소르비탄모노올레이트 (Tween 80) 인 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

#### 청구항 13

제8항에 있어서, 상기 나노 입자의 표면 수식에 사용되는 음전하 인지질은 상기 인지질은 포스파티딕산, 포스파티딜 세린, 글리세로포스포릭산, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜이노시톨 3-포스페이트, 포스파티딜이노시톨 4-포스페이트, 포스파티딜이노시톨 5-포스페이트, 또는 디세틸 포스페이트인 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

#### 청구항 14

제9항에 있어서, 상기 리포솜은 고속교반기 또는 고압균질기 (high presusre homogenizer)를 사용하여 제조되는 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

### 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 시토스테롤 또는 그 유도체의 피부전달 효율을 증가시키는 나노 운반체 및 이를 함유하는 피부 외용제 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는, 시토스테롤 또는 그 유도체의 피부전달 효율을 증가시키는 동시에 피부 누적 특성을 증가시켜 시토스테롤의 효능이 발휘될 수 있도록 나노입자 표면을 음으로 하전된 인지질로 수식한 나노 운반체 및 이를 함유하는 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.

## 배경 기술

- [0002] 약물 또는 생리활성물질 등의 활성성분, 각종 피부 미용 성분의 피부 전달 효율을 높이기 위하여 마이크로에멀전, 에멀전, 고체지질나노입자, 리포솜 등의 약물전달시스템들이 이용되어 왔다 (비특허문헌 1). 그 중 리포솜은 생체막의 주요성분인 인지질로 제조하며 수용성 및 지용성의 생리활성 성분을 봉입할 수 있는 장점이 있고, 생체친화적이며, 생분해되고 독성이 적다는 장점이 있어 피부로의 약물전달 연구에 많이 활용되어 왔다. 리포솜의 피부전달효율을 높이기 위하여 입자의 크기를 작게 하거나 피부투과를 높이기 위하여 입자의 표면을 다양한 방법으로 수식하는 노력이 있었다. 그러나 각질세포 사이의 간극이 대략 40~60nm 정도이기 때문에 일반인이 생각할 때에는 나노입자의 크기를 이 간극과 같거나 작은 크기로 제조하여야 우수한 피부전달효율을 기대할 수 있을 것이다.
- [0003] 그러나 일반적으로 콜로이드 입자들은 통상의 약제학적인 방법으로 제조하였을 때 100 nm 이하의 크기로 입자를 얻기가 어려울 뿐만 아니라, 제조 후 시간이 경과되면 계면활성제를 사용한다고 하더라도 열역학적으로 단기간 내에 인력 등에 의한 합일(coalescence)의 현상에 의하여 나노분산이 유지되기가 어렵다는 문제점이 있다. 따라서 약물의 피부전달 효율을 높이기 위한 다른 방법으로서 기존의 리포솜을 개선하고자 하는 노력이 있어 왔는데 transfersome, deformable liposome, ethosome 등이 그 대표적 사례이다. 이러한 약물전달시스템들은 기존의 일반 리포솜에 비하여 초가변형 (ultradeformation) 특성을 지녀 각질층으로의 약물전달효율이 더 높은 것으로 알려져 있고, 이를 위하여 지금까지 개발된 탄성리포솜들에는 Non-phospholipid-based elastic vesicles, Transfersome, Ethosome 등이 있다.
- [0004] 이 중 Non-phospholipid-based elastic vesicle은 비이온계면활성제를 사용한 제형에 탄성부여제 (edge activator)을 사용하여 제형에 탄성을 부여한 것이며, Ethosome은 피부투과 증진제로 흔히 쓰이는 에탄올에 인지질을 용해시켜서 만들어지는 입자로써, 에탄올을 이용하여 인지질 입자 막의 계면장력을 낮추고, 각질층과 입자 막의 유연성을 동시에 증가시키기 위해 시도해 왔다. 또한 Transfersome은 기존의 리포솜에 탄성부여제 (edge activator)로써 sodium cholate와 같은 담즙산류나 lysophosphatidyl choline과 같은 단일사슬 인지질을 적당량 혼합하여 제조한다.
- [0005] 한편 시토스테롤류 화합물들에 관해서는, 종래에 미백용 화장품의 소재로 활용되거나 (특허문헌 1), 발모 및 진립선 치료에도 효과가 있는 화합물로 알려져, 치료적 용도로 가지고 있는 것으로 (특허문헌 2) 다양한 약제학적, 화장품학적 제품 개발에 활용되고 있다. 그러나 상기 화합물은 매우 난용성이어서 제제화가 용이하지 않다는 문제점을 지니고 있고, 지금까지는 피부전달 효율을 높이기 위하여 일반적인 리포솜, 탄성 리포솜 등의 약물전달시스템을 적용한 사례는 전무한 실정이다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

- [0006] (특허문헌 0001) 특허문헌 1: 대한민국공개특허 제10-2003-0037992호  
(특허문헌 0002) 특허문헌 2: 대한민국공개특허 제10-2013-0000121호

### 비특허문헌

- [0007] (비특허문헌 0001) 비특허문헌 1: J Control Release, 115(2006), pp 94; , Int J Pharm, 332 (2007) pp 1; , J Microencapsul, 27(2010), pp 726

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

- [0008] 본 발명자는 시토스테롤 및 그 유도체들의 피부전달 효율을 증가시키기 위한 연구를 수행하던 중 리포솜의 표면을 변형시켜 시토스테롤의 피부투과 효능을 더욱 향상시킬 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.
- [0009] 본 발명의 목적은, 시토스테롤 또는 그 유도체들의 피부전달 효율을 증가시키기 위해 나노 입자의 표면을 음전

하 지질로 수식시킨 나노 운반체를 제공하는 것이다. 본 발명의 또 다른 목적은, 이러한 나노 운반체를 함유하는 피부 외용제 조성물을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

- [0010] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 나노 입자 표면이 음전하 지질로 수식된 것을 특징으로 하는 나노 운반체를 제공한다.
- [0011] 본 발명에 있어서, 상기 음전하 지질은 인지질인 것을 특징으로 하고, 이러한 인지질은 포스파티딘산, 포스파티딜 세린, 글리세로포스포릭산, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜이노시톨 3-포스페이트, 포스파티딜이노시톨 4-포스페이트, 포스파티딜이노시톨 5-포스페이트, 또는 디세틸 포스페이트일 수 있다.
- [0012] 본 발명에서 있어서, 상기 나노 입자 제조를 위한 지질은 예컨대 레시틴일 수 있고, 이것 이외에도, DLPC (Dilauroyl phosphatidylcholine), DMPC (Dimyristoyl phosphatidylcholine), DPPC (Dipalmitoyl phosphatidylcholine), DSPC (Distearoyl phosphatidylcholine), DOPC (Dioleoyl phosphatidylcholine), DEPC (Dierucoyl phosphatidylcholine), POPC (Palmitoyl oleoyl phosphatidylcholine), DMPG (Dimyristoyl phosphatidylglycerol, sodium salt), DPPG (Dipalmitoyl phosphatidylglycerol, sodium salt), DSPG (Distearoyl phosphatidylglycerol, sodium salt), DOPG (Dioleoyl phosphatidylglycerol, sodium salt), POPG (Palmitoyl oleoyl phosphatidylglycerol, sodium salt), DMPE (Dimyristoyl phosphatidylethanolamine), DPPE (Dipalmitoyl phosphatidylethanolamine), DPPE (Dipalmitoyl phosphatidylethanolamine), DSPE (Distearoyl phosphatidylethanolamine), DOPE (Dioleoyl phosphatidylethanolamine), DMPA (Dimyristoyl phosphatidic acid, sodium salt), DPPA (Dipalmitoyl phosphatidic acid, sodium salt), DSPA (Distearoyl phosphatidic acid, sodium salt), DOPS (Dioleoyl phosphatidylserine, sodium salt)) 등이 사용될 수 있다.
- [0013] 상기 레시틴(lecithin)은 인지질의 일종으로서 일명 phosphatidyl choline 으로도 불리며, 본 발명에 사용되는 레시틴은 특별히 정제하거나 합성하지 아니하고, 난황 또는 대두로부터 추출하여 시판되는 레시틴이나 지방산 사슬의 불포화 이중 결합을 제거한 수소화 레시틴도 사용이 가능하다.
- [0014] 이러한 상기 나노 운반체는 리포솜 제형일 수 있고, 일 예시로써, 이러한 리포솜에 탄성이 부여된 탄성 리포솜 일 수 있다.
- [0015] 본 발명에 있어서 상기 리포솜에 탄성을 부여하는 탄성부여제로, 폴리옥시에틸렌(20)소르비탄모노라우레이트 (Tween 20), 폴리옥시에틸렌(20)소르비탄모노팔미테이트 (Tween 40), 폴리옥시에틸렌(20)소르비탄모노스테아레이트 (Tween 60), 폴리옥시에틸렌(20)소르비탄모노올레이트 (Tween 80) 등이 사용될 수 있다. 이 계면활성제들의 HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance)값은 각각 16.7, 15.6, 14.9, 15.0 인 화합물로서 화장품 제조에 있어서 유화제나 가용화제로도 사용되는 화합물이나 본 발명에서는 이 물질이 리포솜의 계면에 탄성을 부여하는 성분으로서 사용될 수 있다.
- [0016] 본 발명에 있어서, 탄성 리포솜의 크기는 250nm 이하, 바람직하게는 200nm 이하, 더 바람직하게는 50~200nm 크기로 조정되어 제공될 수 있다.
- [0017] 본 발명에 있어서, 나노 운반체는 약물, 생리 활성물질 등의 활성성분을 담지할 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니나, 호르몬제, 항산화제, 욱모제, 양모제, 항균제, 미백원료, 콜라겐 합성 촉진제, 주름 제거 완화제, 피부 장벽 강화제, 피부 보습력 증강제 또는 피부 미용제생리활성물질 등 다양한 생리활성 물질들이 봉입될 수 있으며 특히 시토스테롤이 봉입될 수 있다. 이외에도, 우르솔릭산, 올레아놀릭산, 베틀리닉산, 베틀린, 보스웰릭산의 트리테페노이드, 디오스메틴, 퀴세틴, 플로레틴, 레즈베라트롤, 아스타잔틴 (Astaxanthin), 베타 카로틴 ( $\beta$ -Carotene), 라이코펜 (Lycopene), 루테인 (Lutein), 캄페롤 (Kaempferol), 조효소 Q10 (Coenzyme Q10), 폴리페놀(Polyphenol), 비타민 E 및 그의 유도체, 비타민 A 및 그의 유도체, 프로비타민 D3 및 그의 유도체, 진세노사이드 Rh2(Ginsenoside Rh2), 진세노사이드 Rh4(Ginsenoside Rh4), 진세노사이드 Rh6(Ginsenoside Rh6), 진세노사이드 F1(Ginsenoside F1), 진세노사이드 F2(Ginsenoside F2), 진세노사이드 Rg2(Ginsenoside Rg2), 진세노사이드 Rg3(Ginsenoside Rg3), 진세노사이드 Rg6(Ginsenoside Rg6), 비나-진세노사이드 R4(Vina-ginsenoside R4), 진세노사이드 Mc (ginsenoside Mc), Compound K 등의 진세노사이드 및 생전환 진세노사이드 화합물, 리놀레산 (Linoleic acid), 감마 리놀레산 (Gamma-linoleic acid), 도코사헥사노인산(Docosahexaenoic acid, DHA), 에이코사펜타노인산 (Eicosapentaenoic acid, EPA), 포도씨유 (Grape seed oil), 레스베라트롤 (Resveratrol), 제니스테인 (Genistein), 유용성 감초추출물 (Oil soluble licorice extract), 파에오니플로린 (paeoniflorin), 유용성 여로(Veratrum maackii)추출물, 해송 추출물인 피크노제놀(Pycnogenol), 카엠페롤

(kaempferol), 호데닌(hordenine), 알파-피넨(alpha-pinene), 알파 비사볼올(-bisabolol), 피페리틸호노키올(piperidyl honokiol), 푸코스테롤(fucosterol), 악티게닌(arctigenin), 크리신(chrysin), 펩타이드결합 비타민C 유도체, 피페린(piperine) 및 시나린(cynarin), 캄페롤-3-O-루티노사이드(Kaempferol-3-O-rutinoside), 태반 추출물, 베르게닌(bergenin), 레티놀, 레티노익산, 레티닐팔미테이트 또는 이들의 혼합물 또는 이들의 화학적 합성 유도체들을 포함하는 모든 친유성 성분이 활성성분으로써 적용될 수 있다.

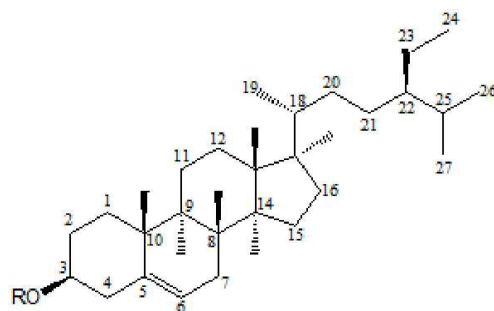
[0018] 또한 콜라겐, 콜라겐 재조합 단백질, 제3형 콜라겐 유래 펩타이드, 엘라스틴, 히아루론산 등의 피부구성 고분자 화합물들, 성장인자류 {표피세포성장인자, 성장호르몬, 섬유아세포성장인자 (aFGF, bFGF), 혈소판유래성장인자 (PDGFa, PDGFb) TGF b1, VEGF}}, 줄기세포 추출물, 줄기세포인자(stem cell factors), 유도만능줄기세포(induced pluripotent stem cell, iPS cell/iPSC), 인슐린, 인터페론베타, 보툴리눔독소이드, 엑세나타이드, 실크펩타이드, 올리고 또는 테트라펩타이드류, 팔미토일펜타펩타이드를 포함하는 펜타펩타이드, 아세틸헥사펩타이드, 상처치생에 도움이 되는 enkephalin, DP-enkephalin, neoendorphin, a-endorphine 등의 다양한 neuropeptides, 글 유래 펩타이드, 그리고 글리신, 프롤린을 포함하는 피부 미용 및 항노화 주름억제에 도움이 되는 아미노산류, 비타민C, 비타민C 팔미테이트 등 비타민C 유도체, 생약으로부터 추출한 주름억제 및 미백효과를 지닌 추출물, 알부틴 및 그 유도체, 하이드로퀴논 및 그 유도체, 코직산 및 그 유도체, 아시아티코사이드 등이 활성성분으로써 적용될 수 있다.

[0019] 본 발명에 있어서, 이러한 나노 운반체 제조의 구체적인 과정은, 상기 나노입자 제조를 위한 지질, 탄성부여제, 음전하 인지질 및 활성 성분은 각각 70~99 중량부: 1~20 중량부: 0.1~20 중량부: 0.02~25 중량부의 비율로 40℃ 이상 90℃ 미만 더욱 바람직하게는 45℃ 이상 80℃ 미만, 예컨대, 60℃ 에서 용융시킨 뒤 60℃ 등으로 가열한 정제수에 첨가하여 균일하게 혼합하고, 혼합된 조성물을 상온으로 서서히 냉각하여 제조를 완료할 수 있다.

[0020] 이러한 혼합은 고압균질기(high presusre homogenizer)나 콜로이드 밀, 고속 세포 파쇄기 등의 균질화 기계, 고속 교반기를 사용한 교반을 포함하며, 예컨대, 상기 나노 운반체는 고압균질기나 콜로이드 밀, 고속 세포 파쇄기 등의 균질화 기계를 사용하여 대량생산할 수 있다. 이러한 교반속도는 크게 제한됨이 없으나, 예컨대, 5,000~25,000 rpm으로 수행할 수 있다. 교반 시간에는 특별히 제한이 없고, 예컨대, 1~20분, 더 바람직하게는 3~15분 정도로 수행될 수 있다.

[0021] 본 발명은 다른 관점에서, 상기 나노 입자 표면이 음으로 하전된 지질로 수식된 것을 특징으로 하는 나노 운반체에 화학식 1로 표시되는 시토스테롤(R=H) 또는 그 유도체(R=palmitate, stearate, hydroxystearate, isostearate, acetyl, 3,3-dimethylacryloyl 등의 다양한 유도체)가 봉입된 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.

[0022] [화학식 1]



[0023]

[0024] 여기서, R은 H, 팔미테이트(palmitate), 스테아레이트(stearate), 히드록시스테아레이트(hydroxystearate), 이소스테아레이트(isostearate), 아세틸(acetyl), 3,3-디메틸아크릴로일(3,3-dimethylacryloyl) 이다.

[0025] 본 발명에 있어서 상기 나노 입자는 음전하 인지질로 표면이 수식된 리포솜일 수 있으며, 이러한 리포솜은 탄성 부여제가 첨가되어 제조된 탄성 리포솜 (elastic liposome)일 수 있다.

[0026] 본 발명에 있어서, 상기 나노입자 제조를 위한 지질, 탄성부여제, 음전하 인지질 및 시토스테롤은 각각 70~99 중량부: 1~20 중량부: 0.1~20 중량부: 0.02~25 중량부의 비율로 40℃ 이상 90℃ 미만 더욱 바람직하게는 45℃

이상 80℃ 미만, 예컨대, 60℃ 에서 용융시킨 뒤 60℃ 등으로 가열한 정제수에 첨가하여 균일하게 혼합하고, 혼합된 조성물을 상온으로 서서히 냉각하여 제조를 완료할 수 있다.

[0027] 본 발명에 있어서, 특히, 상기 시토스테롤은 완두화(*Pisum sativum*), 백작약(*Paeonia lactiflora*), 인삼(*panax ginseng*), 패장(*Patrinia scabiosaefolia*), 동엽, 동피(*Paulownia tomentosa*), 자소(*Perilla frutescens*), 상륙(*Phytolacca acinosa*), 반하(*Pinellia ternata*), 부조(*Piper nigrum*), 강활(*Notopterygium incisum*), 차전자(*Plantago asiatica*), 요실(*Polygonum hydropiper*), 하수오(*Polygonum multiflorum*), 대교(*Polygonum orientale*), 청대(*Polygonum tinctoria*), 기실(*Poncirus trifoliata*), 마치현(*Portulaca oleracea*), 구기자(*Lycium chinense*), 원화(*Daphne genkwa*), 및 한련초(*Eclipta prostrata*)로부터 유래된 것일 수 있으며, 그 함량은 전체 조성물 중량에 대하여 0.0001~10중량% 사용되는 것이 바람직하다.

[0028] 본 발명에 있어서, 상기 시토스테롤은 이러한 상기 열거한 식물체들로부터 얻어질 수 있으며, 통상의 알려진 추출법을 이용하여 비극성 용매층의 분획으로부터 얻는다. 일 예시로써, 먼저, 상기 식물체를 얻어 잘게 분쇄한 후, 메탄올 등의 용 매로 환류 냉각기가 달린 추출기에서 가열추출한다. 이 결과물을 여과포로 여과한 후 잔사를 같은 방법으로 1회 이상 더 추출한 후, 추출액을 합하여 감압 농축한 다음 동결건조 또는 분무건조하여 건조추출물을 얻는다. 건조 추출물을 물에 현탁한 후, 동일 부피의 메탄올을 하고, 액-액 추출하여 메탄올 분획을 얻은 다음, 이를 실리카겔, 활성 알루미늄 등을 충전한 컬럼크로마토그래피와 고속액체크로마토그래피(HPLC) 등으로 정제하면 고순도의 시토스테롤을 얻을 수 있다.

[0029] 본 발명에 있어서, 상기 피부 외용제 조성물은 화장료 조성물 또는 약학적 조성물일 수 있다.

[0030] 상기 피부외용제 조성물이 약학적 조성물일 경우, 이미 공지되어 사용되고 있는 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0031] 또한, 시토스테롤 또는 그 유도체가 가지고 있는 것으로 기 알려져 있는 약제학적 용도, 예컨대, 전립선 치료, 치주질환 (치아지지 조직질환, 치은염, 치주증), 화상 또는 상처 등 다양한 질환의 치료용 조성물로서 활용될 수 있다.

[0032] 본 발명에 따른 추출물을 포함하는 약학조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 외용제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 바람직하게는 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 또는 카타플라스마제의 피부 외용제 형태의 약학 조성물을 제공한다.

[0033] 본 발명의 피부 외용제 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 체제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.

[0034] 본 발명의 피부외용제 조성물은 피부에 적용할 수 있는 피부 외용제 제형으로서 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스타제 또는 카타플라스마제의 피부 외용제 형태의 약학조성물로 제조하여 사용할 수 있으나, 이에 한정하는 것은 아니다.

[0035] 본 발명의 피부외용제 조성물이 화장료 조성물인 경우, 화장료 조성물 등에 통상적으로 이용되는 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제들이 포함 될 수 있다.

[0036] 시토스테롤 또는 그 유도체가 발모 또는 미백용 화장료 조성물로서 활용가능함이 알려져 있어, 이러한 기능성 화장품으로써 활용이 가능하다.

[0037] 또한, 상기 피부 외용제 조성물은 통상적으로 알려진 제조방법을 이용하여, 일반적인 유화 제형 및 가용화 제형의 형태로 제조될 수 있다.

[0038] 화장료 조성물로 제조될 경우, 유화 제형의 화장품으로는 영양화장수, 크림, 에센스 등이 있으며, 가용화 제형의 화장품으로는 유연화장수가 있다. 또한, 피부과학적으로 허용 가능한 매질 또는 기체를 함유함으로써 피부과학 분야에서 통상적으로 사용되는 국소적용 또는 전신적용할 수 있는 보조제 형태로 제조될 수 있다.

[0039] 예컨대, 당업계에서 통상적으로 제조되는 크림, 젤, 패취, 분무제, 연고제, 경고제, 로션제, 리니먼트제, 파스

타제 및 카타플라스마제 등의 약제학적 제형으로 사용이 가능하고, 헤어토닉, 헤어컨디셔너, 헤어에센스, 헤어로션, 헤어영양로션, 헤어샴푸, 헤어린스, 헤어트리트먼트, 헤어크림, 헤어영양크림, 헤어모이스처크림, 헤어맛사지크림, 헤어왁스, 헤어에어로졸, 헤어팩, 헤어영양 팩, 헤어비누, 헤어클렌징폼, 머릿기름, 모발건조제, 모발보존처리제, 모발염색제, 모발용 웨이브제, 모발탈색제, 헤어젤, 헤어글레이즈, 헤어드레싱어, 헤어래커, 헤어모이스처라이저, 헤어무스 및 헤어스프레이 등의 화장학적 제형으로 제조가 가능하다.

### 발명의 효과

[0040] 본 발명에 의하여 음전하로 표면이 개질된 나노운반체는 시토스테롤 또는 그 유도체들을 봉입하여, 대량 생산이 가능하며, 동시에 고효율로 피부로 전달할 수 있다. 이를 통하여 본 발명의 피부 외용제 조성물은 탈모방지 및 발모개선용 등 기능성 화장품을 비롯한 의약품으로써 활용가능하며, 상기 나노 운반체는 화장품, 의약품 전달의 제형개발에도 유용하게 활용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0041] 도1은 음전하 탄성 나노리포좀을 제조한 뒤 제조 전 후로 입자도와 분산도를 측정한 결과이다 (EL:탄성 리포좀, DCP: 디세틸포스페이트).

도2는 시간 및 함량에 따른 피부 누적도를 나타낸 그림이다.

도3은 교반속도 및 이에 의해 줄어든 입자도에 따른 시토스테롤의 피부누적시험 결과이다.

도4는 피부투과시험 8시간째에서 다양한 제형과의 피부누적도를 비교한 실험결과이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0042] 본 발명의 실시를 위한 구체적인 내용을 다음과 같은 실시예와 실험예들을 통하여 제시하는 바이나, 본 발명은 하기의 예들에 의해 한정되는 것은 아니다.

### 실시예 1

[0043] : 본 발명에 따른 시토스테롤 유도체가 봉입된 리포좀, 탄성리포좀, 음전하 리포좀의 제조

[0044] 하기 표 1의 조성과 같이, 레시틴 (Soy lecithin), 비이온계면활성제인 모노올레인산폴리옥시에틸렌소르비탄 (Tween 80), 디세틸포스페이트(dicetylphosphate)와 시토스테롤을 60℃ 에서 용융시킨 뒤 60℃ 로 가열한 정제수에 첨가하여 균일하게 혼합하였다. 혼합된 조성물은 상온으로 서서히 냉각하여 제조를 완료하였다. 제조시에는 고속균질기의 속도를 15,000 rpm과 20,000 rpm 두 조건으로 제조하였다.

표 1

| 성분                      | 탄성리포좀    |          | 음전하탄성리포좀 |          |
|-------------------------|----------|----------|----------|----------|
|                         | 제조예 1    | 제조예 2    | 제조예 3    | 제조예 4    |
| 레시틴                     | 637.5 mg | 637.5 mg | 637.5 mg | 637.5 mg |
| 트윈80                    | 112.5 mg | 112.5 mg | 112.5 mg | 112.5 mg |
| DCP <sup>1)</sup>       |          |          | 75 mg    | 75 mg    |
| 시토스테롤 유도체 <sup>2)</sup> | 15 mg    | 150 mg   | 15 mg    | 150 mg   |
| DW                      | 적량(q.s)  | q.s      | q.s      | q.s      |
| Total                   | 15 ml    | 15 ml    | 15 ml    | 15 ml    |

[0046] 1) 디세틸포스페이트(dicetylphosphate), 2) 화학식 1, R=3,3-디메틸아크틸로일

[0047] 실험예 1: 본 발명에 따른 탄성 리포좀의 입자도 및 제타전위 측정

[0048] 상기의 제조예 1~4에서 제조된 탄성리포좀들을 100nm membrane filter를 통과시킨 뒤 ZetaPAL (Brookhaven, 미국)을 이용하여 막 투과 전후의 입자도와 제타전위를 측정하였다.

[0049] 그 결과, 도 1은 실시예 1에 따라 음전하 탄성 나노리포좀을 제조한 뒤 제조 전 후로 입자도와 분산도를 측정한 결과이다. PDI(Poly dispersity index) 값이 0.3 이하로, 입자 분포가 단분산의 매우 균질한 입자분포를 가짐을 알 수 있었다. 시토스테롤 유도체를 0.1% 및 1.0%를 함유시킨 제조예 1 내지 4의 제형간 비교하였을 때 교반 속도를 15,000 rpm에서 20,000 rpm으로 증가시킬 경우 입자도를 감소시킬 수 있었으며, 100 nm 여과막을 이용하여 막투과 (extrusion) 전 후 입자도에도 큰 차이가 없어 제조된 리포좀이 탄성특성을 유지하고 있음을 알 수 있다.

[0050] 또한, 아래 표 2 및 표 3에 나타난 바와 같이, 탄성리포좀 및 음전하 탄성리포좀은 제조한 뒤 막 투과 전후로 제타전위 값이 대부분 유지되어 본 발명의 제조 방법이 용이하게 음전하 탄성리포좀을 제조할 수 있는 방법임을 알 수 있다.

표 2

[0051]

| 15,500rpm |            |            |            |            |
|-----------|------------|------------|------------|------------|
|           | 막투과 전      |            | 막투과 후      |            |
| 주성분 함량    | 0.10%      | 1%         | 0.10%      | 1%         |
| 탄성리포좀     | -32.342.64 | -34.161.66 | -29.661.52 | -31.175.87 |
| 음전하탄성리포좀  | -35.842.32 | -37.870.31 | -31.43.03  | -37.50.75  |

표 3

[0052]

| 20,000rpm |            |            |            |            |
|-----------|------------|------------|------------|------------|
|           | 막투과 전      |            | 막투과 후      |            |
| 주성분의 함량   | 0.10%      | 1%         | 0.10%      | 1%         |
| 탄성리포좀     | -38.920.57 | -38.680.51 | -34.664.75 | -27.343.77 |
| 음전하탄성리포좀  | -38.640.18 | -38.680.67 | -28.652.23 | -29.625.45 |

[0053] **비교예 1 : 액상 오일 및 크림에 분산된 화장품의 제조**

[0054] 호호바 오일 (jojoba oil)은 화학구조가 사람의 피지성분을 이루는 지방산과 유사하여 피부에 잘 침투되고 끈적임이 없어 사용감이 좋은 식물성 오일으로써 천연 비타민E, 콜라겐, 미네랄 등의 성분함량이 높아 보습효과도 좋은 오일이다. 본 발명의 비교를 위한 실시예로 호호바오일에 시토스테롤 유도체를 분산시켜 녹인 것을 피부투과 시험에 이용하였다. 또한 크림기제는 현재 화장품으로 사용되고 있는 일반적인 조성(표 4)을 공급받아 표 5에 제시된 비율로 본 발명에 따른 시토스테롤 약물을 넣고 40℃ 정도로 가온하여 가용화 시킨 이후 상온으로 냉각하여 제조하였다

표 4

[0055]

|                  | Ingredient            | Contents (%) |
|------------------|-----------------------|--------------|
| water phase      | Distilled water       | 80.6         |
|                  | methyl paraben        | 0.2          |
|                  | ethyl paraben         | 0.1          |
| oil phase        | Macadamia nut oil     | 2.0          |
|                  | Olivem1000            | 1.5          |
|                  | Arlacel 165 VEG       | 0.5          |
|                  | Kalcohol 6870         | 1.5          |
|                  | Lipex 102 Shea butter | 0.5          |
|                  | Myritol 318           | 5.0          |
| Thickening agent | Carbopol 941(1%)      | 8.0          |
| Active           | b-sitosterol          | 0.1          |
|                  | Total                 | 100          |

표 5

[0056]

| 성분        | 비교예1  | 비교예2  |
|-----------|-------|-------|
| 호호바 오일    | 1g    |       |
| 크림기제      |       | 1g    |
| 시토스테롤 유도체 | 10 mg | 10 mg |

[0057]

## 실험예 2: 피부전달 효율 (누적량) 측정

[0058]

통상 발모시험에 사용되는 C57BL/6 마우스를 마취하고 등 피부를 제모한 뒤 적출피부의 피하지방과 혈관을 제거하여 피부를 준비하였다. 그 후 Franz diffusion cell(랩화인 (Labfine, Anyang, Korea))을 이용하여 피부투과 시험을 아래와 같은 방법으로 실시하였다:

[0059]

샘플 채취시간은 4시간 및 8시간으로 하였고, 제제의 loading 양은 1 mL 이었다. receptor 매질은 pH 7.0 인산 완충액을 사용하였고, Franz diffusion cell의 유효확산 면적은  $0.785 \text{ cm}^2$  이었으며, 실험 전 미리 Franz diffusion cell 내의 온도를  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  를 유지하고 magnetic bar를 이용하여 교반시키면서 일정시간 마다 시료를 채취하여 HPLC로 분석하였고, 매회 채취시 동량의 receptor 매질을 보충하였다. 한편 HPLC 분석 조건은 이동상은 아세트나이트릴 : 증류수 = 97 : 3, 측정파장은 223 nm 이었으며, 시료의 주입량은 20 mL, 유속은 분당 1 mL 이었다. 이 때 약물의 피부투과량은 rat skin의 단위면적당 약물의 양 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )으로 계산하였으며, 모든 측정치는 평균표준편차로 나타내었고 Students t-test를 통해 유의성을 검정하였다. 각 시간별로 투과시료 및 피부 조직 중 시토스테롤의 함량을 정량하였다.

[0060]

그 결과, 시토스테롤 유도체의 함량이 증가할수록 피부누적도는 함량에 비례하여 증가하였고, 시간이 경과할수록 피부누적도 역시 증가하였다. 또한 교반속도를 증가시켜 입자도를 작게 하였을 때 피부누적량에도 차이가 있음을 알 수 있었다.

[0061]

구체적으로, 도 2의 인큐베이션 시간 및 함량에 따른 피부 누적도를 나타낸 그래프에서 알 수 있듯이, 제조예 1 내지 4로 제조된 경우, 시토스테롤을 0.1% 사용한 것에 비하여 1%를 사용한 경우 피부 누적도가 높아 약물 농도 의존적인 피부누적 특성이 나타남을 알 수 있었고, 탄성리포솜에 비하여 음전하 탄성리포솜의 피부 누적도가 통계학적으로 유의성 있게 높음을 알 수 있다.

[0062]

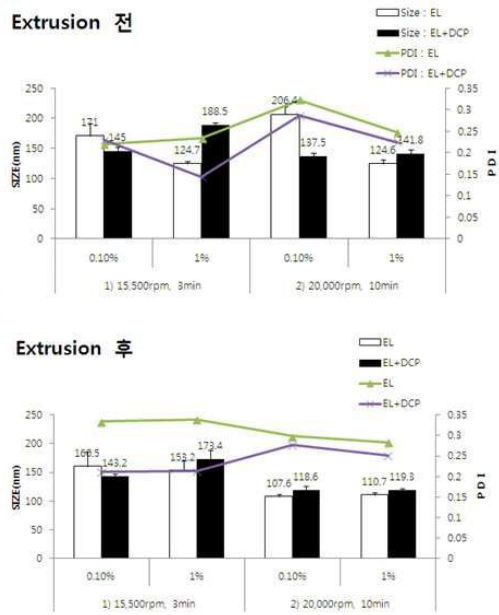
그 결과, 도 3의 교반속도 및 이에 의해 줄어든 입자도에 따른 시토스테롤의 피부누적시험 결과에서 알 수 있듯이, 교반속도를 상승시켜 입자도를 감소시킨 리포솜들이 더 높은 피부누적특성을 나타냄을 알 수 있다.

[0063]

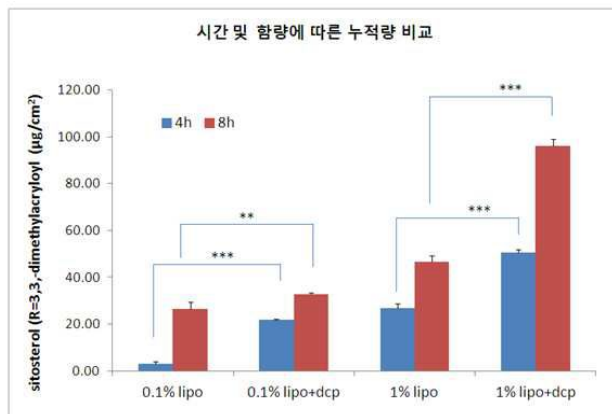
도4의 피부투과시험 8시간째에서 비교예 1 및 2의 다양한 제형과의 피부누적도를 비교한 실험결과에서 알 수 있듯이, 시토스테롤이 매우 난용성이기 때문에 오일에 가용화시키거나 크림 기제에 분산시켜 제형을 제조하게 되나 본 결과에서 보아 알 수 있듯이 통상의 오일기제 또는 크림기제에 비하여 본 발명의 조성이 통계학적으로 매우 유의성 있게 시토스테롤의 피부누적도를 증가시킴을 알 수 있다.

## 도면

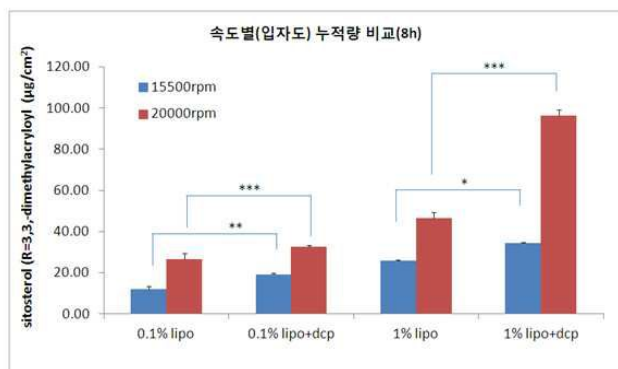
### 도면1



### 도면2



### 도면3



도면4

