(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년08월25일
(11) 등록번호 10-1771483
(24) 등록일자 2017년08월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/48 (2006.01) *A23L 1/30* (2006.01)
A61K 38/24 (2006.01) *A61K 9/50* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/4808 (2013.01)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2016-0103275
(22) 출원일자 2016년08월12일
심사청구일자 2016년08월12일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020120105116 A*
WO2015110656 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
조정원
대전광역시 유성구 은구비남로 34, 816동 701호(노은동, 열매마을8단지)
전혜숙
대전광역시 유성구 봉명로 93, 609동 1206호(봉명동, 도안6단지센트럴시티아파트)
(74) 대리인
특허법인 공간

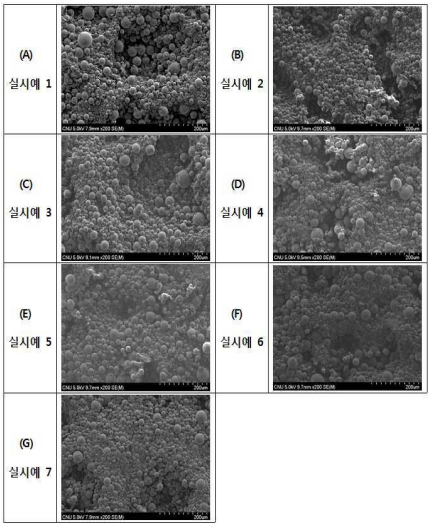
전체 청구항 수 : 총 7 항 심사관 : 김강필

(54) 발명의 명칭 **루테인의 용출률 및 안정성이 개선된 이중층 구조의 고분자 캡슐, 이의 제조방법 및 이를 함유하는 안과질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 루테인을 안정화한 이중층 구조의 고분자 캡슐 및 그 제조 방법 에 관한 것으로서, 상기 이중층 구조의 고분자 캡슐은 산화에 민감한 루테인을 안정화하면서도 지속적인 루테인 용출을 가능하게 하는 효과가 있어, 안과질환 예방 또는 치료용 조성물 또는 화장료 조성물로 유용하게 적용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A23P 10/30 (2016.08)
A61K 38/24 (2013.01)
A61K 8/11 (2013.01)
A61K 8/64 (2013.01)
A61K 9/4866 (2013.01)
A61K 9/5015 (2013.01)
A61K 9/5026 (2013.01)
A61K 9/5036 (2013.01)
A61K 9/5057 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2009-0093815
부처명 교육부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 대학중점연구소
연구과제명 심혈관계 질환 치료제개발기반연구 (No.2009-0093815)
기 여 율 1/1
주관기관 충남대학교
연구기간 2009.09.01 ~ 2018.08.31
공지예외적용 : 있음

명 세 서

청구범위

청구항 1

생리활성 물질로서 루테인 또는 루테인 함유 추출물을 포함하는 코어;

상기 코어를 둘러싸고 있는 생분해성 고분자층;

상기 생분해성 고분자층 위에 코팅된, 점막 부착성 고분자 및 유화제 함유 코팅층;을 포함하며,

상기 생분해성 고분자층은 폴리-L-락트산, 폴리-글리콜산, 폴리-D-락트산-코-글리콜산, 폴리-L-락트산-코-글리콜산, 폴리-D,L-락트산-코-글리콜산, 폴리-카프로락톤, 폴리-발레로락톤, 폴리-하이드록시 부티레이트 및 폴리-하이드록시 발러레이트로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 생분해성 고분자로 이루어지고,

상기 점막 부착성 고분자는 알지네이트 또는 알지네이트 소디움이고,

상기 유화제는 수크로오스(sucrose), 폴리비닐피롤리돈(polyvinyl pyrrolidone) 및 폴리비닐알코올(polyvinyl alcohol)로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 이중층 구조의 고분자 캡슐.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 루테인 함유 추출물은, 루테인을 10~90%(w/w)의 양으로 포함하는 것을 특징으로 하는 고분자 캡슐.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 고분자 캡슐은 고분자 캡슐 총 중량을 기준으로 루테인을 1.0~ 95.0%(w/w)로 함유하는 것을 특징으로 하는 고분자 캡슐.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 기재된 이중층 구조의 고분자 캡슐의 제조방법으로서,

생리활성 물질인 루테인 또는 루테인 함유 추출물과, 생분해성 고분자를 유기용매에 용해시켜, 1차 에멀젼을 생성하는 단계(1단계);

상기 1차 에멀젼을 점막 부착성 고분자와 유화제가 용해된 수용액에 분산시키고 균질화하여 미립구를 형성한 후 원심분리 및 동결건조하는 단계(2단계);

를 포함하는 것을 특징으로 하는 이중층 구조의 고분자 캡슐의 제조방법.

청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 기재된 이중층 구조의 고분자 캡슐을 포함하는 안과질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 기재된 이중층 구조의 고분자 캡슐을 포함하는 안과질환 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 10

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 기재된 이중층 구조의 고분자 캡슐을 포함하는 화장료 조성물.

발명의 설명

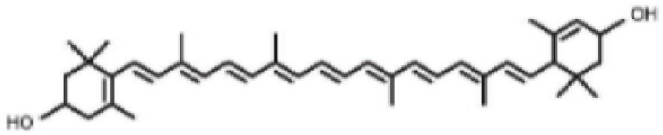
기 술 분 야

[0001] 본 발명은 루테인의 용출률 및 안정성이 개선된 이중층 구조의 고분자 캡슐, 및 그 제조방법에 관한 것이다. 더욱 구체적으로는 산화에 민감한 루테인을 안정화시키고, 안구 내에서 루테인의 효능을 장기간 발휘할 수 있는 고분자 캡슐에 관한 것이다. 또한, 상기 고분자 캡슐을 적용할 수 있는 안과질환 예방 또는 치료용 조성물, 또는 화장료 조성물에 관한 것이다.

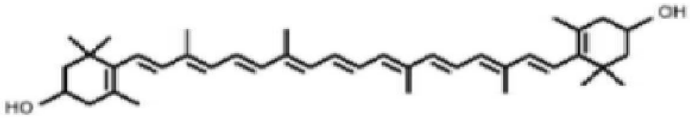
배 경 기 술

[0002] 하기 화학식 1의 루테인은 카로티노이드(carotenoids)의 잔토필류(xanthophyll) 중에서 가장 다량으로 존재하는 색소이며($C_{40}H_{56}O_2$, 주황색 결정, 융점 약 193℃, 빛의 흡수극대 파장은 508, 475, 445 nm), 이의 동질 이성질체인 하기 화학식 2의 제아잔틴 (Zeaxanthin)과 함께 눈의 각막, 동공 및 황반의 주요 구성성분으로서 이 조직에 존재하는 유일한 카로티노이드임이 최근 연구에 의해 밝혀졌다.

화학식 1

[0003] 

화학식 2

[0004] 

[0005] 루테인은 눈에 흡수된 높은 에너지의 청색광에 대한 필터로 작용하거나 광촉매 기(radical)나 활성산소종을 제거함으로써, 눈을 보호해 주는 역할을 한다. 인간의 경우 카로티노이드를 합성하지 못하므로 루테인이 포함된 음식 또는 건강보조식품을 통해 루테인을 섭취할 수 있다.

[0006] 루테인을 섭취하면 황반색소의 밀도가 증가하여 눈 질환이 있는 환자들에게서 시각 기능을 개선시킬 수 있으며, 눈의 유해활성산소에 의한 시세포 손상에 따른 노화과정을 효과적으로 억제함으로써 백내장이나 노인성 황반변성(Age-related macular degeneration)과 같은 안구질환의 발생율을 감소시킬 수 있다(Bernstein P.S. et al., Ophthalmology, 2002(109), 1780-1787; Kvansakul J. et al., Ophthalmic and Physiological Optics, 2006(26), 362-371).

[0007] 그런데, 눈은 생물학적 장벽의 여러 층에 의해 분리되어 있기 때문에 루테인을 황반에 국소 전달시키는 데에 있어 효율성을 어떻게 증진시킬 것인지가 문제되고 있다. 루테인은 황반에 도달하기 위해 각막의 견고한 접합, 점

막 표면, 혈액 망막 장벽을 포함하는 장애물을 극복해야 한다. 경구투여가 간초회 통과 효과(liver first-pass effect)를 피할 수 없는 반면에, 투여 편리한 점안액(eye drops)은 누액과 함께 소실 및 배출됨으로써 안구에 남아서 약효를 발휘하는 양이 적어 안구 생체이용률(ocular bioavailability)이 낮은 문제가 있고 점도를 상승시킨 연고제 등의 경우는 점안감이 불량하고 점안 과정이 불편한 등의 문제가 있다.

[0008] 또한, 루테인은 9개 이상의 이중결합이 있는 불포화 구조를 포함하고 있어 빛, 열, 공기(산소) 등의 환경에 매우 불안정하며 쉽게 산화된다. 따라서, 차광, 저온, 진공 등의 조건에서 저장되어야 하며 보호제를 첨가하여 산화를 방지시켜야 한다. 아울러, 루테인은 물에 아주 난용성이며, 지방 및 오일에도 용해도가 낮다. 특히 루테인의 매우 낮은 수용해도(1.3×10^{9} M)는 생체 이용률에 단점을 나타낸다.

[0009] 일반적으로 난용성 약물은 생체 내에서의 용출속도가 느려 흡수속도가 늦고 이에 따라 약효의 발현 및 생체이용률도 낮아지므로, 난용성 약물의 생체이용률을 증가시키기 위해서는 용출률이 우수한 제제를 설계하는 것이 요구된다.

[0010] 이에 따라, 루테인, 오일 및 계면활성제를 함유하는 액상 제제를 제조하여 루테인의 난용성을 개선시키고자 하는 연구들이 시도되었으나, 용해성이 개선된 제제를 제조하는 것은 어려울 뿐만 아니라, 용해성이 일부 극복되더라도 보관 중에 층 분리 현상 또는 주성분의 침전현상이 일어나는 등 일반적으로 알려져 있는 방법으로는 안정성 및 용출률이 우수한 루테인 약학 제제의 개발이 쉽지 않다. 또한, 루테인 등의 카로티노이드는 세포재생 및 항 산화능에 의해 피부 주름 개선 및 노화방지 등의 우수한 효능으로 인해 화장품에의 도입이 시도되어 왔지만, 공기나 수분 등 외부자극과의 접촉으로 쉽게 변색 및 변취 현상이 일어나고 역가가 장기적으로 떨어져 효능이 감소하는 문제점을 가진다.

[0011] 이러한 문제점들을 개선하기 위한 종래 선행기술로서 한국공개특허 제2009-0070161호는 카로티노이드를 포함하는 양이온성 고분자 캡슐과 상기 캡슐의 표면에 코팅된 음이온성 고분자층을 포함하는 고분자 캡슐을 개시하고 있고, 한국공개특허 제2012-0108170호는 루테인, 인지질, 오일 및 계면활성제의 혼합물을 액상 형태로 연질 또는 경질 캡슐에 충진시켜 약물의 용출률 및 생체이용률을 제고시킨 제제를 개시하고 있으며, 국제공개특허 WO2016/025394는 제인 단백질 또는 폴리머를 포함하는 나노입자로 캡슐화하거나, 또는 상기 나노입자와 하이드로겔의 혼합물 형태의 조성물을 개시하고 있으나, 이들 선행기술도 루테인의 안정성 및 용출률을 모두 개선시키는 데에 한계가 있다.

[0012] 이에, 본 발명자들은, 루테인을 안정화하면서도 지속적인 루테인 용출을 가능하게 하는 새로운 이중층 구조의 고분자 캡슐을 제조하여, 기존 제제의 한계를 극복하는 효과가 있음을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0013] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제2008-0031418호 (신규의 안정화된 카로티노이드 조성, 2008.04.22.)

(특허문헌 0002) 한국공개특허 제2009-0070161호 (카로티노이드를 안정화한 이중층 구조의 고분자 캡슐, 그 제조방법 및 이를 함유하는 화장료 조성물, 2009. 07.01.)

(특허문헌 0003) 한국공개특허 제2010-0022964호 (안질환을 처리하기 위한 고점성 거대분자 조성물, 2010.03.03.)

(특허문헌 0004) 한국공개특허 제2012-0108170호 (루테인의 용출률 및 체내 생체이용률이 개선된 약학 조성물 및 이의 제조방법, 2010.10.05.)

(특허문헌 0005) 한국공개특허 제2014-0122789호 (티올화 글리콜 키토산-거대분자 전송 도메인 복합체를 포함하는 안구질환 치료용 약물전달 시스템 및 그 제조방법, 2014.10.21.)

(특허문헌 0006) 국제공개특허 WO2016/025394 (Delivery of bioactive, nanoencapsulated antioxidants, 2016.02.18. 공개)

비특허문헌

[0014] (비특허문헌 0001) Bernstein, P. S., D. Y. Zhao, et al. (2002). Resonance Raman measurement of macular

carotenoids in normal subjects and in age-related macular degeneration patients, Ophthalmology, 109, 1780-1787.

(비특허문헌 0002) Kvansakul, J., Rodriguez-Carmona, M., Edgar, D. F., et al. (2006). Supplementation with the carotenoids lutein or zeaxanthin improves human visual performance, Ophthalmic and Physiological Optics, 26, 362-371.

(비특허문헌 0003) Shanmugam, S., Baskaran, R., Balakrishnan, P., Thapa, P., Yong, C. S., & Yoo, B. K. (2011). Solid self-nanoemulsifying drug delivery system (S-SNEDDS) containing phosphatidylcholine for enhanced bioavailability of highly lipophilic bioactive carotenoid lutein, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 79 (2), 250-257.

(비특허문헌 0004) Arunkumar, R., Prashanth, K. V. H., Manabe, Y., Hirata, T., Sugawara, T., Dharmesh, S. M., & Baskaran, V. (2015). Biodegradable poly (lactic-co-glycolic acid)-polyethylene glycol nanocapsules: an efficient carrier for improved solubility, bioavailability, and anticancer property of lutein. Journal of Pharmaceutical Sciences, 104 (6), 2085-2093.

(비특허문헌 0005) Lee, J. S., & Lee, H. G. (2016). Chitosan/poly-γ-glutamic acid nanoparticles improve the solubility of lutein. International Journal of Biological Macromolecules, 85, 9-15.

(비특허문헌 0006) Liu, C. H., Lai, K. Y., Wu, W. C., Chen, Y. J., Lee, W. S., & Hsu, C. Y. (2015). In vitro scleral lutein distribution by cyclodextrin containing nanoemulsions. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 63(2), 59-67.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0015] 본 발명의 목적은, 루테인을 안정화할 수 있으며, 루테인의 용출률이 개선된 이중층 구조의 고분자 캡슐 및 그 제조 방법을 제공하는 것이다.

[0016] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 고분자 캡슐을 함유하여, 활성물질의 효능을 장기간 발휘할 수 있는 안과질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물 또는 건강기능식품을 제공하는 것이다.

[0017] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 고분자 캡슐을 함유하여, 항산화 활성을 갖는 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0018] 본 발명은, 생리활성 물질로서 루테인 또는 루테인 함유 추출물을 포함하는 코어; 상기 코어를 둘러싸고 있는 생분해성 고분자층; 및 상기 생분해성 고분자층 상에 코팅된, 점막 부착성 고분자와 유화제의 혼합층;을 포함하는 이중층 구조의 고분자 캡슐에 관한 것이다.

[0019] 상기 루테인 함유 추출물은, 루테인 함유 추출물의 총 중량을 기준으로 루테인을 10~90%(w/w)의 양으로 포함할 수 있다.

[0020] 상기 고분자 캡슐은, 고분자 캡슐 총 중량을 기준으로 루테인을 1.0~95.0%(w/w)로 함유할 수 있다. 바람직하게는 3.0~90.0%(w/w)로 함유할 수 있고, 보다 바람직하게는 5.0~75.0%(w/w)로 함유할 수 있다.

[0021] 상기 생분해성 고분자층은 폴리-L-락트산, 폴리-글리콜산, 폴리-D-락트산-코-글리콜산, 폴리-L-락트산-코-글리콜산, 폴리-D,L-락트산-코-글리콜산, 폴리-카프로락톤, 폴리-발레로락톤, 폴리-하이드록시 부티레이트 및 폴리-하이드록시 발러레이트로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상으로 이루어질 수 있다.

[0022] 상기 점막 부착성 고분자는, 알지네이트 또는 그의 염, 젤라틴, 올리고키토산(chitooligosaccharide), 키토산(chitosan), 글라이신(glycine), 아르기닌(arginine), 라이신(lysine), 및 사이클로덱스트린(cyclodextrin)으로 구성된 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0023] 상기 유화제는 수크로오스(sucrose), 폴리비닐피롤리돈(polyvinyl pyrrolidone) 및 폴리비닐알코올(polyvinyl

alcohol)로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0024] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 상기 이중층 구조의 고분자 미립구 캡슐의 제조방법에 관한 것이다. 구체적으로, 상기 제조방법은, 생리활성 물질인 루테인 또는 루테인 함유 추출물과, 생분해성 고분자를 유기용매에 용해시켜, 1차 에멀젼을 생성하는 단계(1단계); 상기 1차 에멀젼을 점막 부착성 고분자와 유화제가 용해된 수용액에 분산시키고 균질화하여 미립구를 형성한 후 원심분리 및 동결건조하는 단계(2단계);를 포함한다.

[0025] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 상기 이중층 구조의 고분자 캡슐을 포함하는 안과질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0026] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 상기 이중층 구조의 고분자 캡슐을 포함하는 안과질환 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.

[0027] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 상기 이중층 구조의 고분자 캡슐을 포함하는 화장료 조성물에 관한 것이다.

[0028] 이하, 본 발명을 더 상세하게 설명한다.

[0029] 본 발명은 코어-쉘(Core-shell)형태의 이중층 구조의 고분자 캡슐로서, 산화에 민감한 루테인을 생분해성 고분자 입자로 일차 캡슐화하고, 이 일차 캡슐의 외벽에 점막 부착성 고분자와 유화제의 혼합층을 형성함으로써, 루테인을 안정화시키면서도, 루테인의 효능이 안구 내에서 장기간 발휘할 수 있는 효과가 있다.

[0030] 본 명세서에서, '고분자 캡슐'이란 루테인 또는 루테인 함유추출물이 생분해성 고분자, 및 점막 부착성 고분자와 유화제에 의해 캡슐화된 것(encapsulation)을 의미하며, '미립구', '고분자 미립구' 또는 '고분자 미립구 캡슐'이라고도 지칭한다.

[0031] 본 발명의 이중층 구조의 고분자 캡슐의 제조방법은, 생리활성 물질인 루테인 또는 루테인 함유 추출물과, 생분해성 고분자를 유기용매에 용해시켜, 1차 에멀젼을 생성하는 단계(1단계); 상기 1차 에멀젼을 점막 부착성 고분자와 유화제가 용해된 수용액에 분산시키고 균질화하여 미립구를 형성한 후 원심분리 및 동결건조하는 단계(2단계);를 포함한다.

[0032] 상기 1단계에 있어서, 생리활성 물질로서의 루테인은 루테인 자체로써 분리된 순도 90% 이상의 순수한 물질도 이용될 수 있으나, 식물 또는 동물로부터 추출한 루테인 10~90% 함유 추출물이 이용될 수 있다. 본 발명에 있어서, 바람직하게는 루테인 10~40% 함유 추출물이 이용될 수 있고, 이 때 추출물은 식물성 오일에 분산시킨 형태일 수 있으며, 상기 식물성 오일로서 해바라기씨유, 홍화씨유, 올리브유 등이 이용될 수 있다.

[0033] 상기 생분해성 고분자는 미립구 제조시 사용되는 통상의 고분자들이 사용될 수 있으며, 고분자의 종류를 제한하지는 않지만, 본 발명에서는 폴리-L-락트산, 폴리-글리콜산, 폴리-D-락트산-코-글리콜산, 폴리-L-락트산-코-글리콜산, 폴리-D,L-락트산-코-글리콜산, 폴리-카프로락톤, 폴리-발레로락톤, 폴리-하이드록시 부티레이트 및 폴리-하이드록시 발러레이트으로 이루어진 군에서 1종 이상이 사용될 수 있다. 또한, 바람직하게는 폴리-L-락트산, 폴리-D-락트산-코-글리콜산, 폴리-L-락트산-코-글리콜산 및 폴리-D,L-락트산-코-글리콜산 (PLGA)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 고분자를 사용할 수 있다. 바람직하게는 폴리-D,L-락트산-코-글리콜산 (PLGA) 및 폴리-L-락트산 중에서 단독 또는 2종을 혼합하여 사용한다.

[0034] 상기 생분해성 고분자는 중량 평균 분자량이 60,000 이하인 것, 바람직하게는 60,000~5,000인 것이 사용된다. 예를 들면, 분자량 약 13,000인 폴리-D,L-락트산-코-글리콜산(50:50), 분자량 약 33,000인 폴리-D,L-락트산-코-글리콜산(50:50), 분자량 약 52,000인 폴리-D,L-락트산-코-글리콜산 (50:50), 분자량 약 20,000인 폴리-D,L-락트산-코-글리콜산(75:25), 분자량 약 16,000인 폴리-L-락트산 (100:0) 등을 사용하는 것이 가능하다.

[0035] 이와 같은 생분해성 고분자는, 예를 들면, 베링거인겔하임 (Boehringer Ingelheim)사의 Resomer L 206S, L 207S, L 209S, L 210, L 210S, LR 704S, LR 706S, LR 708, LR 927S, LG 824S, LG 855S, LG 857S, LC 703S, R 207S, RG 509S, X 206S, R 202S, R 202H, R 203H, R 205S, RG 502, RG 502H, RG 503, RG 503H, RG 504, RG 504H, RG 505, RG 653H, RG 752H, RG 752S, RG 753S, RG 755S, RG 756S, RG 757S, RG 750S, RG 858S일 수 있다.

[0036] 또한, 상기 1단계에서, 유기용매로는 생분해성 고분자에 대한 용매성과 증발을 통한 제거 용이성이 모두 뛰어난 휘발성 유기용매이면 특별히 제한되지 않으나, 바람직하게는 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이드, 클로로포름, 아세톤, 다이메틸설폭사이드, 다이메틸포름아마이드, N-메틸피롤리돈, 다이옥산, 테트라하이드로퓨란, 에틸아세테이트, 메틸에틸케톤 및 아세트니트릴에서 선택되는 1종의 용매 또는 2종 이상의 혼합용매가 사용될 수

있으며, 더 바람직하게는 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트, 클로로포름 및 테트라하이드로퓨란에서 선택되는 1종의 용매 또는 2종 이상의 혼합용매가 사용될 수 있으며, 가장 바람직하게는 메틸렌클로라이드 및 에틸아세테이트에서 선택되는 1종 또는 2종의 혼합용매가 사용될 수 있다. 이때, 본 발명의 실시예에서는, 생분해성 고분자와 루테인 20% 추출물을 용해시키는 유기용매로서, 수용해도가 20g/L(20℃)로 낮은 편인 메틸렌클로라이드가 사용되었다.

[0037] 다음으로, 상기 1차 에멀젼을 점막 부착성 고분자와 유화제가 용해된 수용액에 분산시키고 균질화하여 미립구를 형성한 후 원심분리 및 동결건조하는 단계(2단계)를 진행한다.

[0038] 이때 사용되는 점막 부착성 고분자는 눈 점막에 부착될 수 있는 물질이라면 어떤 것이라도 사용가능하다. 바람직하게는 알지네이트 또는 그의 염, 젤라틴, 올리고키토산(chitooligosaccharide), 키토산(chitosan), 글라이신(glycine), 아르기닌(arginine), 라이신(lysine), 및 사이클로덱스트린(cyclodextrin)으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 점막 부착성 고분자가 사용되며, 보다 바람직하게는 알지네이트, 또는 그의 염이 사용되며, 가장 바람직하게는 알지네이트 소디움이 사용된다. 점막 부착성 고분자를 사용하여 미립구를 형성함으로써, 눈 점막에서의 체류 시간을 길게 하는 효과가 있다.

[0039] 또한, 상기 유화제로는 고분자 미립구를 제조할 때 사용하는 통상의 유화제를 이용할 수 있으며, 바람직하게는 수용액에 분산되는 친수성 유화제 (hydrophilic emulsifier)를 사용할 수 있고, 보다 바람직하게는 수크로오스(sucrose), 폴리비닐피롤리돈(polyvinyl pyrrolidone) 및 폴리비닐알코올(polyvinyl alcohol)로 이루어지는 군으로부터 1종 이상 선택되는 유화제가 사용되며, 가장 바람직하게는 폴리비닐알코올을 사용한다. 또한, 상기 폴리비닐알코올은 바람직하게는 분자량 10,000~200,000인 것을 사용하며, 더 바람직하게는 50,000~200,000, 가장 바람직하게는 100,000~200,000인 것을 사용한다.

[0040] 또한, 상기 2단계에서, 루테인 분산체 오일 용액과, 유화제 및 점막 부착성 고분자가 용해된 수용액은, 조건에 따라 적절하게 조절가능하나, 바람직하게는 1:1~50, 더 바람직하게는 1:5~30, 가장 바람직하게는 1:5~20의 부피비로 혼합되어 분산될 수 있다.

[0041] 상기 2단계에서 루테인 분산체 용액을 수용액에 분산시킴으로서 O/W형의 이중유화 미립구가 형성될 수 있다.

[0042] 상기 미립구를 포함하는 O/W형 에멀젼 용액에 있어서, 루테인의 함량은 용법, 용량에 따라 적절히 조절가능하나, 바람직하게는 0.01~1.0%(w/v)이고, 더 바람직하게는 0.1~1.0%(w/v), 가장 바람직하게는 0.1~0.5%(w/v)이고, 생분해성 고분자의 함량은 조건에 따라 적절하게 조절가능하나, 바람직하게는 0.05~2.5%(w/v), 더 바람직하게는 0.1~1.0%(w/v), 가장 바람직하게는 0.25~1.0%(w/v)이다.

[0043] 또한, 상기 O/W형 에멀젼 용액에 있어서, 점막 부착성 고분자의 함량은 조건에 따라 적절하게 조절가능하나, 바람직하게는 0.01~3.0% (w/v), 더 바람직하게는, 0.01~1.0% (w/v), 가장 바람직하게는 0.01~0.7% (w/v)이다. 아울러, 유화제의 함량도 적절하게 조절가능하나, 바람직하게는 0.01~10%(w/v), 더 바람직하게는 0.1~5%(w/v), 가장 바람직하게는 0.5~3.0%(w/v)이다.

[0044] 상기 2단계에서의 균질화는 통상적인 균질기를 이용하여 수행할 수 있으며, 어떤 것을 사용해도 균질화 정도는 거의 유사하다. 이 때, 바람직하게는 교반기(Stirrer), 균질기(Homogenizer) 및 초음파 분쇄기(Ultrasonicator)로 이루어진 군에서 선택되는 것을 이용하여 수행할 수 있다.

[0045] 또한, 동결건조하여 미립구를 건조하기 위해, 원심분리법을 통해 미립구를 회수한 후 미립구를 동결건조법, 진공건조법, 분무건조법 등 한 가지 이상의 방법을 사용하여 건조하여, 이중층구조의 생분해성, 점막 부착성 고분자 캡슐을 생산한다.

[0046] 본 발명에 따라 생성된 이중층 구조의 고분자캡슐은, 미립구 형태를 유지하면서 내부에 루테인을 함유하여 루테인을 안정화시키고, 고분자가 서서히 분해되면서 내부의 루테인을 지속적으로 방출해 주는 효과가 있다.

[0047] 상기 고분자 캡슐은, 고분자 캡슐 총 중량을 기준으로 루테인을 1.0~95.0%(w/w)로 함유한다. 바람직하게는 3.0~90.0%(w/w)로 함유하고, 보다 바람직하게는 5.0~75.0%(w/w)로 함유한다.

[0048] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 상기 이중층 구조의 고분자 미립구 캡슐을 포함하는 안과질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.

[0049] 상기 약제학적 조성물은, 백내장, 노인성 황반변성, 녹내장, 당뇨병성 안과질환, 안구건조증, 저시력 등의 안과질환의 예방 또는 치료에 적용될 수 있다.

[0050] 본 발명의 안과질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물은 임상 투여 시에 경구 또는 비경구로 투여할 수 있으며, 예를 들어 정맥 및 동맥 내, 근육 내, 피하, 복강 내, 점막 또는 국소(예, 점안), 안구, 경피 등에 적용될 수 있다.

[0051] 상기 조성물은 경구 투여용 제형, 예를 들면, 정제, 트로키제(troches), 로진지(lozenge), 수용성 또는 유성현탁액, 조제분말 또는 과립, 에멀젼, 경질 또는 연질 캡슐, 시럽 또는 엘릭실제(elixirs) 등으로 제제화된다. 정제 및 캡슐 등의 제형으로 제제화하기 위해, 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 첨가제로서, 락토오스, 사카로오스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아밀로펙틴, 셀룰로오스 또는 젤라틴과 같은 결합제; 디칼슘 포스페이트와 같은 부형제; 옥수수 전분 또는 고구마 전분과 같은 붕괴제; 스테아린산 마그네슘, 스테아린산 칼슘, 스테아릴푸마르산 나트륨과 같은 활택제가 함유될 수 있다. 캡슐 제형의 경우는 상기에서 언급한 물질 이외에도 지방유와 같은 액체 담체를 함유할 수 있다.

[0052] 또한, 본 발명의 조성물은 비경구로 투여할 수 있으며, 비경구 투여는 피하주사, 정맥주사, 근육내 주사, 복강내 주사 주입방식과 점막, 또는 국소에 적용되는데, 분산제, 좌제, 분제, 에어로졸(비강 스프레이 또는 흡입제), 점안제, 겔, 현탁액제(수성, 또는 비수성 액상 현탁액, 수중유 에멀젼 또는 유중수 에멀젼), 용액제 등 비경구 투여에 적합한 액상 투여 형태 등에 의한다. 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위해서는 상기 조성물을 안정화제 또는 완충제 등과 함께 물에서 혼합하여 용액으로 제조하고, 단위 투약 앰플 또는 다수화 투약 형태로 제조할 수 있다.

[0053] 본 발명의 조성물은, 특히 약학적으로 허용가능한 첨가제와 함께 배합하여 점안제로 제형화할 수 있고, 점안제는 통상 등장성 수용액 또는 현탁액인 것이 바람직하다. 상기 약학적으로 허용가능한 첨가제로서, 예를 들면, 염화나트륨, 염화칼륨 등의 등장화제; 아미노카프론산, 인산일수소나트륨, 및 인산이수소나트륨 등의 완충제; 에데트산 나트륨, 과붕산나트륨 등의 안정화제; 염산, 수산화나트륨 등의 pH 조절제 등을 들 수 있다. 용제로는 멸균 정제수 또는 주사용 증류수를 사용하는 것이 바람직하다. 상기 점안제 조성물에는 필요에 따라 보존제, 방부제 등을 부가할 수 있다.

[0054] 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 환자의 질환 종류, 질환의 경중, 제형의 종류, 환자의 연령, 성별, 체중, 건강 상태, 식이, 약제학적 치료용 조성물의 투여 시간 및 투여 방법, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 약제학적 조성물의 투여량은 성인 기준으로 1일당 0.001~100mg/kg이고, 보다 바람직하게는 0.01~80mg/kg(체중)이며, 가장 바람직하게는 0.1~60mg/kg(체중)이다. 또한, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정 시간간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다. 특히, 점안 투여의 경우에는, 0.001 내지 3%(w/v, 이하 동일), 바람직하게는 0.01 내지 1% 정도의 제제를 1일 1회 내지 수회 점안한다.

[0055] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 루테인 함유 이중층 구조의 고분자 캡슐을 포함하는 안과질환 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다. 상기 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태로 제조될 수 있다. 상기 건강기능식품은 식품 제조 시 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어 단백질, 탄수화물, 지방, 각종 비타민, 영양소 및 조미제를 포함한다.

[0056] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 루테인 함유 이중층 구조의 고분자 캡슐을 포함하는 화장료 조성물을 제공한다. 본 발명의 고분자 캡슐은, 루테인의 항산화 효과에 의한 피부 주름개선 또는 피부 노화방지 효과를 가질 뿐만 아니라, 루테인의 안정화 및 지속적 방출을 가능하게 하므로, 화장료 조성물로 유용하게 적용될 수 있다.

[0057] 상기 화장료 조성물은 유연 화장수, 영양 화장수, 영양크림, 맛사지 크림, 에센스, 아이크림, 헤어토닉, 샴푸, 린스, 클렌징 크림, 클렌징폼, 클렌징워터, 팩, 스프레이 및 파우더의 제형으로 제조될 수 있다. 또한, 상기 화장료 조성물은 화장료에 통상적으로 이용되는 성분을 포함할 수 있다. 예를 들면, 유화제, 점증제, 유제, 계면활성제, 윤활제, 알코올류, 수용성 고분자제, 겔화제, 안정화제, 비타민, 무기염류, 유화제, 향료 같은 일반적인 보조성분을 포함할 수 있다. 상기 성분들은 제형 또는 사용목적에 따라 그 첨가량을 화장료 고유의 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 선택할 수 있다.

발명의 효과

[0058] 본 발명의 이중층 구조의 고분자 캡슐은, 안과 질환 치료에 유용하고 항산화한 활성을 갖는 루테인을 안정화하면서, 루테인의 용해도 및 용출률을 개선시켜, 루테인의 효능을 장기간 발휘시킬 수 있는 효과가 있다. 따라서, 상기 고분자 캡슐은, 안과질환 예방 또는 치료용 조성물, 또는 피부 주름개선 또는 피부 노화방지를 위

한 화장료 조성물로 유용하게 적용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0059] 도 1은 실시예 1 내지 7에서 제조된 이중층 미립구에 대한 시차주사 전자현미경(Scanning Electronic Microscope, SEM) 사진이다.

도 2는 비교예 1 내지 8에서 제조된 입자에 대한 시차주사 전자현미경(Scanning Electronic Microscope, SEM) 사진이다.

도 3은 실험예 2(용해도 시험)에 있어서, 루테인 20% 추출물과 실시예 2에 따라 제조된 이중층 미립구의 용해도 비교 시험 결과를 나타낸 그래프이다.

도 4는 실험예 3(In vitro 시험관내 방출)에 있어서, 실시예 1 내지 7의 시간 경과에 따른 루테인 누적 방출량을 측정하여 나타낸 그래프이다.

도 5는 실험예 4(DSC의 분석)에 있어서, 루테인 20% 추출물, PLGA, 및 실시예 1, 2 및 5에 따라 제조된 이중층 미립구의 DSC의 결과를 나타낸 도면이다.

도 6은 실험예 5(PXRD의 분석)에 있어서, 루테인 20% 추출물, 알지네이트소디움, PLGA, 폴리비닐알코올, 및 실시예 1 내지 7에 따라 제조된 이중층 미립구의 PXRD의 결과를 나타낸 도면이다.

도 7은 실험예 6(안정성 시험)에 있어서, 실시예 1, 2 및 5에 따라 제조된 이중층 미립구의 보관온도조건에 따른 루테인의 잔존량(%)을 나타낸 안정성 결과 도면이다.

도 8은 실험예 6(안정성 시험)에 있어서, 비교예 1 내지 6에 따라 제조된 이중층 미립구의 보관온도조건에 따른 루테인의 잔존량(%)을 나타낸 안정성 결과 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0060] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해지고, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

[0061] **<실시예 1 내지 7. 본 발명에 따른 미립구의 제조(O/W형)>**

[0062] 하기 표 1의 실시예 1 내지 7의 성분 조성으로 미립구 제형을 제조하기 위해, 먼저 생분해성 고분자 PLGA 250mg~1,000mg(Boehringer Ingelheim) 및 루테인 20% 추출물 500mg(루테인 100mg 함유, 해바라기씨유에 분산된 마리골드(*Tagetes erecta* L.) 추출물, 프랑스 DSM사 제품)을 메틸렌클로라이드에 완전히 용해시켜 오일 용액(8ml)을 제조하였다.

[0063] 알지네이트 소디움 100mg~500mg(삼전화학 제품) 및 폴리비닐알코올 500mg~1000mg(Sigma사 제품) 이 용해된 수용액 92ml에 상기 오일 용액을 주입하여 O/W형 에멀젼을 형성하였고, 이때 각 실시예에 있어서 O/W형 에멀젼에 함유된 각 성분의 종류 및 농도(%(w/v))를 정리하면 하기 표 1과 같다.

[0064] 이후, 초음파 분쇄기를 사용하여 균질화시킨 후 유화시켜 미립구를 형성하였다. 이렇게 형성된 미립구를 6시간 동안 실온에서, 상압 하에서 교반하여 메틸렌클로라이드를 공기 중으로 서서히 증발시키면서 경화시키고 이를 증류수로 세척을 위해 원심분리한 후(12000 rpm, 10분, 3회) pellet을 회수하였다. -70℃에서 동결한 다음 3일간 동결 건조하여 최종적으로 우수한 안정성을 지닌, 실시예 1 내지 7의 루테인 함유 미립구 제형을 제조하였다.

표 1

[0065]

조건	루테인 20% 추출물	생분해성 고분자	점막 부착성 고분자	유화제
	단위: %(w/v)			
실시예 1	0.5	RG 502H[주1)] 0.25	알지네이트 소디움 0.3	폴리비닐알코올[주2)] 1.0
실시예 2	0.5	RG 502H 0.50	알지네이트 소디움 0.3	폴리비닐알코올 1.0
실시예 3	0.5	RG 502H 1.00	알지네이트 소디움 0.3	폴리비닐알코올 1.0
실시예 4	0.5	RG 502H 0.5	알지네이트 소디움 0.1	폴리비닐알코올 0.5
실시예 5	0.5	RG 502H 0.5	알지네이트 소디움 0.3	폴리비닐알코올 0.5

실시예 6	0.5	RG 502H 0.5	알지네이트 소디움 0.5	폴리비닐알코올 0.5
실시예 7	0.5	RG 502H 0.5	알지네이트 소디움 0.3	폴리비닐알코올 1.5
주1) RG 502H: 폴리-D,L-락트산-코-글리콜산(PLGA, 50:50)으로서 분자량은 7,000-17,000이다. 주2) 폴리비닐알코올의 분자량은 146,000-186,000이다.				

[0066] **<비교예 1 내지 8. 미립구의 제조(O/W형)>**

[0067] 하기 표 2의 비교예 1 내지 8의 성분 조성으로 미립구 제형을 제조하기 위해, 먼저 생분해성 고분자 PLGA 250mg~500mg(Boehringer Ingelheim) 및 루테인 20% 추출물 500mg(루테인 100mg 함유, 해바라기씨유에 분산된 마리골드(*Tagetes erecta* L.) 추출물, 프랑스 DSM사 제품)을 메틸렌클로라이드에 완전히 용해시켜 오일 용액(8ml)을 제조하였다. 점막 부착성 고분자로서 POLYOX™ 또는 Tween, 및/또는 유화제로서 폴리비닐알코올 또는 폴록사머가 용해된 수용액 92ml에 상기 오일 용액을 주입하여 O/W형 에멀젼을 형성하였고, 이때 각 비교예에 있어서 O/W형 에멀젼에 함유된 각 성분의 종류 및 농도(%(w/v))를 정리하면 하기 표 2와 같다.

[0068] 이후, 초음파 분쇄기를 사용하여 균질화시킨 후 유화시켜 미립구를 형성하였다. 이렇게 형성된 미립구를 6시간 동안 실온에서, 상압 하에서 교반하여 메틸렌클로라이드를 공기 중으로 서서히 증발시키면서 경화시키고 이를 증류수로 세 척을 위해 원심분리한 후(12000 rpm, 10분, 3회) pellet을 회수하였다. -70℃에서 동결한 다음 3일간 동결 건조하여 최종적으로 우수한 안정성을 지닌, 비교예 1 내지 8의 루테인 함유 미립구 제형을 제조하였다.

표 2

[0069]

조건	루테인 20% 추출물	생분해성 고분자	점막 부착성 고분자	유화제
	단위: %(w/v)			
비교예 1	0.5	RG 502H 0.25[주1)]	POLYOX™[주2)] 1105 0.3	폴리비닐알코올[주3)] 1.0
비교예 2	0.5	RG 502H 0.5	POLYOX™ 1105 0.3	폴리비닐알코올 0.5
비교예 3	0.5	RG 502H 0.5	POLYOX™ 1105 0.3	폴리비닐알코올 1.0
비교예 4	0.5	RG 502H 0.25	POLYOX™ 1105 0.3	폴록사머 407 1.0
비교예 5	0.5	RG 502H 0.5	POLYOX™ 1105 0.3	폴록사머 407 0.5
비교예 6	0.5	RG 502H 0.5	POLYOX™ 1105 0.3	폴록사머 407 1.0
비교예 7	0.5	RG 502H 0.5	-	폴리비닐알코올 1.3
비교예 8	0.5	RG 502H 0.5	Tween 1.3	-
주1) RG 502H: 폴리-D,L-락트산-코-글리콜산(PLGA, 50:50)으로서 분자량은 7,000-17,000이다. 주2) POLYOX™ 1105: 폴리에틸렌 옥사이드로서 분자량은 약 900,000이다 주3) 폴리비닐알코올의 분자량은 146,000-186,000이다.				

[0070] **<실험예 1. PLGA 함유 미립구의 표면형태 측정>**

[0071] 실시예 1 내지 7, 및 비교예 1 내지 8에 따라 제조된 미립구의 표면을 주사전자현미경(SEM)을 사용하여 관찰하고, 그 측정 결과를 도 1 및 도 2에 각각 나타내었다. 도 1에 의하면, 본 발명의 실시예 1 내지 7에 따라, 이중층 구조의 표면이 매끄러운 미립구(고분자 캡슐)가 형성된 점이 확인된다. 반면에, 비교예 1 내지 8에 의해서는, 도 2에서 확인되는 바와 같이 미립구가 전혀 형성되지 않고 그물 구조의 결정성이 그대로 남아 있거나, 또는 미립구가 완전하지 않은 형태로 형성된 상태였다.

[0072] **<실험예 2. 용해도 시험>**

[0073] 루테인 20% 추출물 및 실시예 2에 의해 제조된 미립구 제형을 루테인으로써 1 mg/mL의 농도로 정제수, 다양한 pH (1.2, 4.0, 6.8, 7.4) 에 분산시킨 후, 초음파 추출 (25℃, 1 h)을 하였다. HPLC 조건에 따라 생리활성물질인 루테인 20% 추출물 및 실시예 2에 의해 제조된 미립구 제형을 루테인으로서 용해도를 측정하였다(n=3). 도 3은 이중층 미립구의 용해도가 비교군인 루테인 20% 추출물에 비해 다양한 pH 조건에서 크게 개선되었음을 나타낸다.

[0074] **HPLC 분석조건**

[0075] 하기 조건을 이용하여 용해도시험의 샘플(n=3)을 HPLC 분석하였다.

[0076] 장비 : Agilent 1100 series

[0077] 검출기: UV (446 nm)

[0078] 컬럼: Prontosil C18 (5 ㎛, 4.6 × 150 mm)

[0079] 이동상: 0.1% 암모늄 아세테이트를 포함한 메탄올 : 아세토니트릴 : 디클로로메탄 = 2:6:2 (V/V/V)

[0080] 유속: 1.0 mL/분

[0081] 주입량: 10 μ

[0082] 유의성 평가 : $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$

[0083] **<실험예 3. 제조된 미립구의 In vitro 시험관 내 방출>**

[0084] 하기의 조건에서 실시예 1~7에서 제조된 루테인 함유 미립구의 시험관 내(in vitro) 루테인 방출 특성 평가를 수행하였다. 루테인으로써 10 ㎎의 건조된 미립구들을 10mL의 PBS (Phosphate buffered saline, pH 7.4, 1M)용액으로 분산시킨 후 프랜즈디퓨젼셀 (Franz Diffusion Cell, 랩화인, FCDV-15)의 멤브레인 free모델을 이용하여 32±0.5℃, 200 rpm조건에서 시간경과에 따라 1mL샘플을 취하고 여과하여 약물의 농도를 실험예 2의 HPLC 분석조건에 따라 HPLC로 측정하여 미립구로부터 방출되는 루테인의 양을 측정하였다. 샘플을 취한 후 신선한 PBS 7.4로 다시 보충하였다. 72시간 동안 측정된 미립구로부터 방출되는 루테인의 방출량(%)를 도 3에 나타내었다(n=3). 도 4를 참고하면, 루테인 20%추출물(대조군)은 72시간 동안 거의 방출이 일어나지 않은 반면에, 실시예 1 내지 7에 따른 미립구는 초기 과다 방출이 없고, 0차 방출을 유지하며 72시간 동안 지속적으로 방출되므로 서방형 제제로 유용하게 사용될 수 있음이 확인된다.

[0085] **<실험예 4. 루테인 20% 추출물 및 제조된 미립구의 시차주사 열량법 (DSC)의 분석>**

[0086] 루테인 20% 추출물, PLGA, 알지네이트 소디움, PVA를 각각 시차 주사 열량기 (DSC1, 메틀러 토레도, 스위스)를 이용하여 측정하였다. 각각의 샘플은 2 ㎎ 정확히 취해 알루미늄 팬에 올려놓고 0-600℃까지 10℃/분 승온 시키며 열 변량 곡선을 측정하였다. 도 5a는 루테인 20% 추출물의 DSC 열곡선이다. 156.12℃, 431.05℃에서 흡열반응을 나타내며 이것은 이 물질의 녹는점과 관계있다.

[0087] 도 5b은 PLGA (50:50)의 DSC 열곡선이다. 46.81℃, 338.63℃에서 흡열반응을 나타낸다. 도 5c 내지 5e는 각각 실시예 1의 미립구(도 5c), 실시예 2의 미립구(도 5d), 실시예 3의 미립구(도 5e)에 대한 열곡선이다. 모두 PLGA와 유사한 상전이 온도를 나타내는 바, 이는 루테인이 외부 환경으로부터 차단되어 PLGA에 안정적으로 봉입되었고, 외부 환경에 노출되는 루테인의 양이 제로화되어 루테인이 효율적으로 안정화되었음을 의미한다.

[0088] **<실험예 5. 제조된 미립구의 분말 X-선 회절(PXRD, Powder X-Ray Diffraction)의 분석>**

[0089] 루테인 20% 추출물, PLGA, 알지네이트 소디움, PVA 및 실시예 1 내지 7을 각각 분말 X-선 회절(D8 DISCOVER, 브룩커, 독일)을 이용하여 측정하였다. 데이터는 산란각 2theta 5~70° , step size 0.02° 으로 얻었다. 도 6는 루테인 20% 추출물 자체에는 2theta 10~30° 에서 결정성을 나타낸 반면 실시예 1 내지 실시예 7의 이중층 미립구에서의 분말 회절은 PLGA와 유사한 패턴의 무정형을 나타내어 PLGA에 봉입이 성공적으로 이루어졌음을 나타낸다. 이는 루테인을 효과적으로 외부 환경으로부터 차단하여 안정성을 보장하고 입자 표면의 결정성 소실로 인해 용해도를 높일 수 있었다는 점을 제시하는 것이다.

[0090] **<실험예 6. 제조된 미립구의 안정성 시험>**

[0091] (1) 루테인 20% 추출물, 및 실시예 1, 실시예 2, 실시예 5를 각각 4℃, 실온, 40℃에 저장 후 시간(초기, 1주, 2주, 4주)의 변화에 따른 안정성을 루테인 보유양으로써 시험 하였다. 초기는 동결건조가 완료된 시점에 측정되었고 샘플은 모두 3회 시험 되었다.

[0092] 4℃에서 비교군인 루테인 20% 추출물 및 실시예 1, 2, 및 5의 이중층 미립구가 4주 동안 안정한 결과를 확인할 수 있었다(도 7a).

[0093] 실온에서 비교군인 루테인 20% 추출물은 초기에 비교해서 4주후 -10.2%의 함량 감소를 보인 반면 실시예 1, 2,

및 5의 이중층 미립구의 시험결과는 각각 -5.1%, -2.7%, 및 -2.5%의 경시변화를 확인할 수 있었다(도 7b).

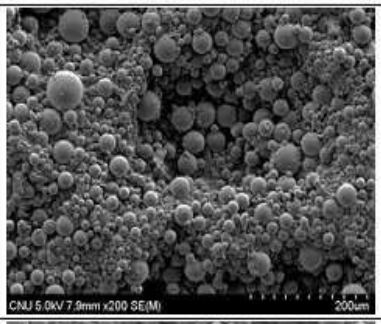
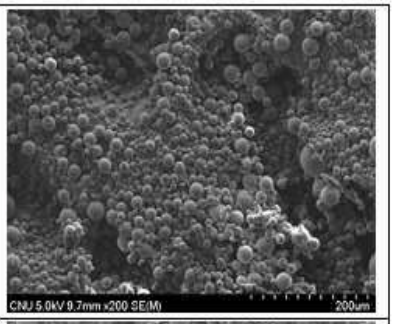
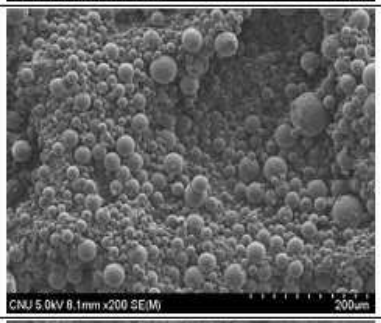
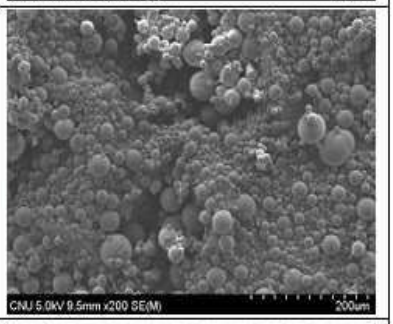
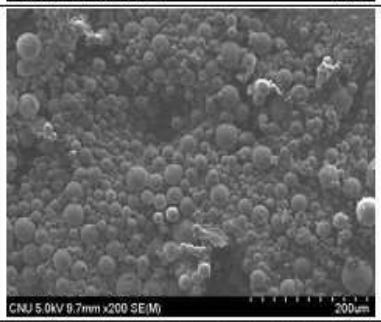
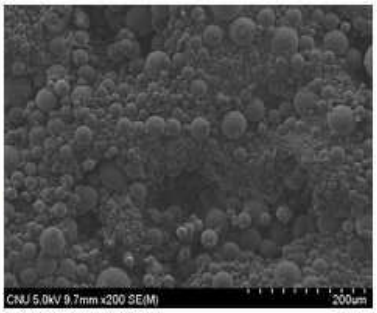
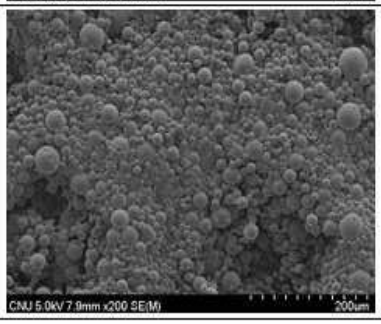
[0094] 40℃에서 저장한 비교군인 루테인 20% 추출물은 초기에 비교해서 1주, 2주 및 4주 후, 각각, -16.3%. -25.2%, -40.8%의 눈에 띄는 함량 감소를 보여 루테인 자체가 열에 취약하다는 사실을 재확인 할 수 있었다. 그러나, 본 발명의 실시예 1, 2, 및 5의 이중층 미립구의 시험결과는 4주 후 측정결과 각각 -4.3%, -6.7%, 및 -4.8%의 경시 변화만을 나타내어, 본 발명이 루테인을 완전히 캡슐화함으로써 온도에 예민한 자체의 성질을 보호함으로써 안정성이 현저히 개선되었음을 확인할 수 있었다(도 7c).

[0095] (2) 루테인 20% 추출물, 및 비교예 1 내지 6을 각각 4℃, 실온, 40℃에 저장 후 시간(초기, 1주 및 2주)의 변화에 따른 안정성을 루테인 보유양으로써 시험 하였다. 초기는 동결건조가 완료된 시점에 측정되었고 샘플은 모두 3회 시험 되었다.

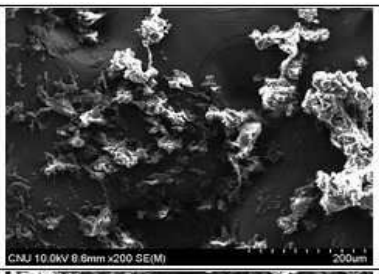
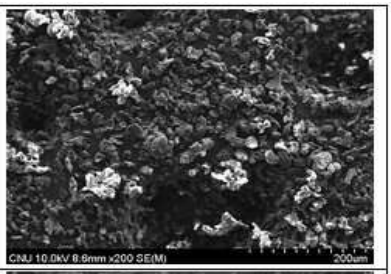
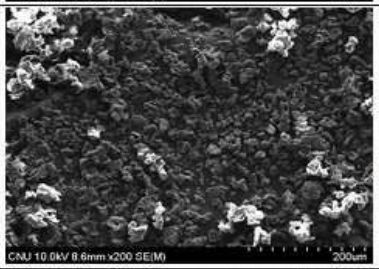
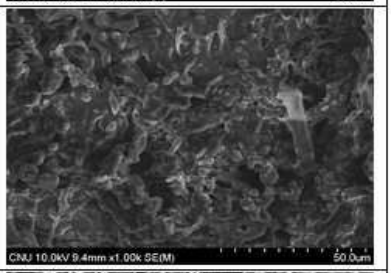
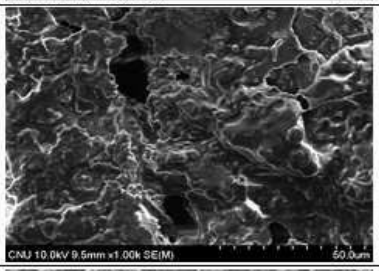
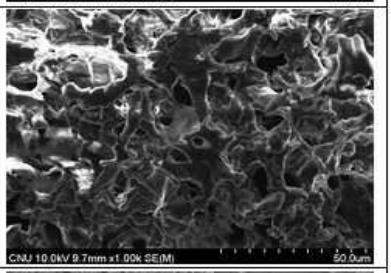
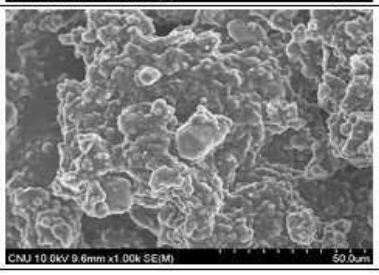
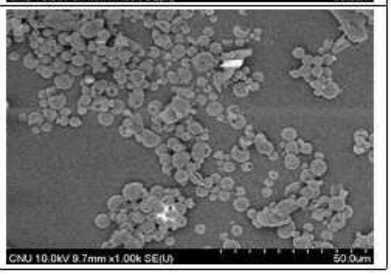
[0096] 비교예 1 내지 6은, 이미 실험예 1을 통해 미립구가 전혀 형성되지 않거나, 불완전한 미립구를 형성하는 것으로 확인되었던 바, 도 8에서와 같이, 4℃, 실온, 및 40℃에서의 2주 안정성 시험 결과, 모든 시험 조건에서 루테인 20% 추출물 보다 역가가 현저히 저하되어 안정성이 확보되지 않는 것으로 나타났다.

도면

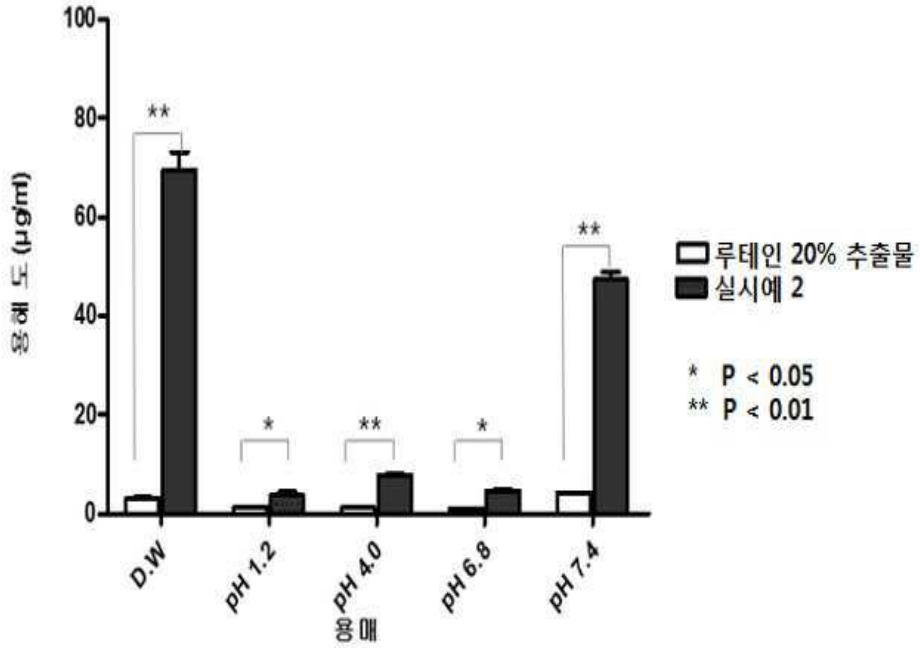
도면1

(A) 실시예 1		(B) 실시예 2	
(C) 실시예 3		(D) 실시예 4	
(E) 실시예 5		(F) 실시예 6	
(G) 실시예 7			

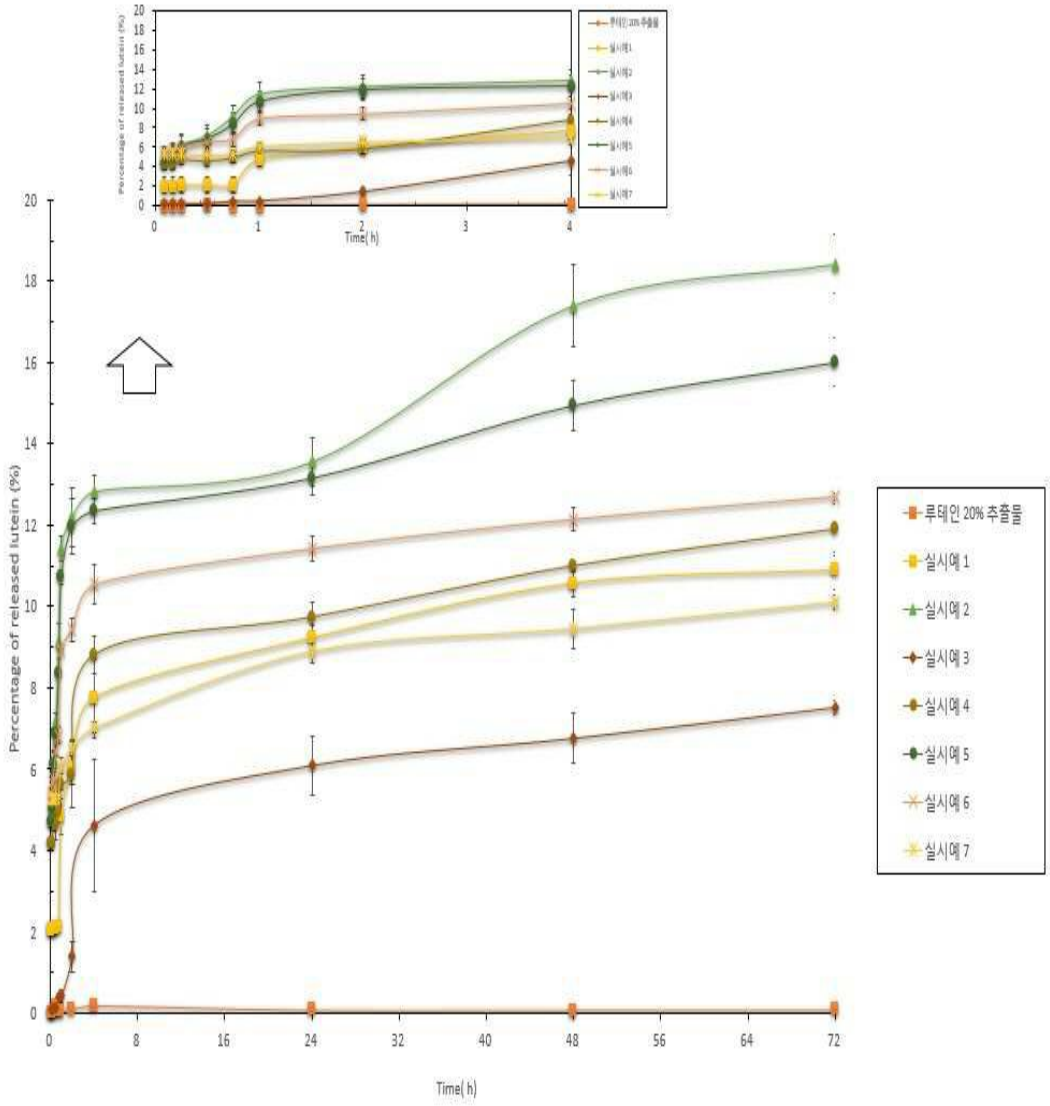
도면2

(A) 비교예 1		(B) 비교예 2	
(C) 비교예 3		(D) 비교예 4	
(E) 비교예 5		(F) 비교예 6	
(G) 비교예 7		(H) 비교예 8	

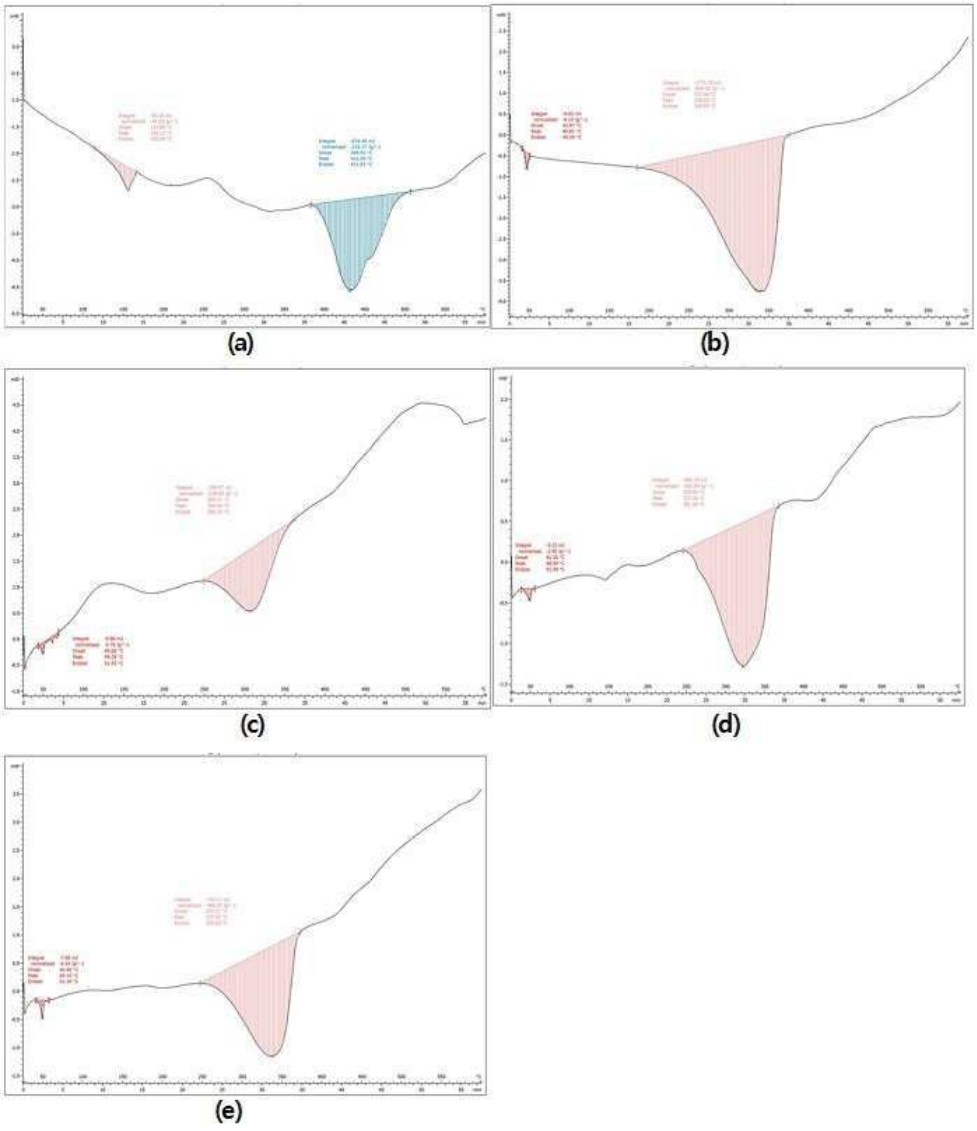
도면3


100
80
60
40
20
0
용해도 (μg/ml)
**
*
**
*
**
D.W
pH 1.2
pH 4.0
pH 6.8
pH 7.4
용매
루테인 20% 추출물
실시예 2
* P < 0.05
** P < 0.01

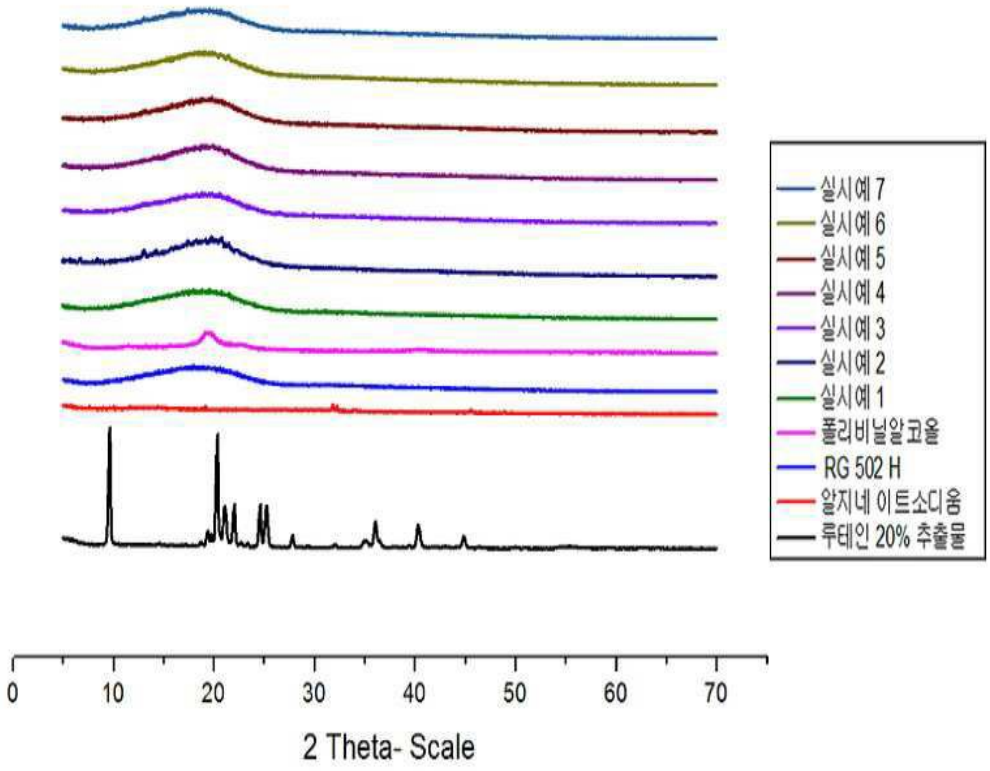
도면4


Percentage of released lutein (%)
Time(h)
0
8
16
24
32
40
48
56
64
72
2
4
6
10
12
14
18
20
루테인 20% 추출물
실시예 1
실시예 2
실시예 3
실시예 4
실시예 5
실시예 6
실시예 7

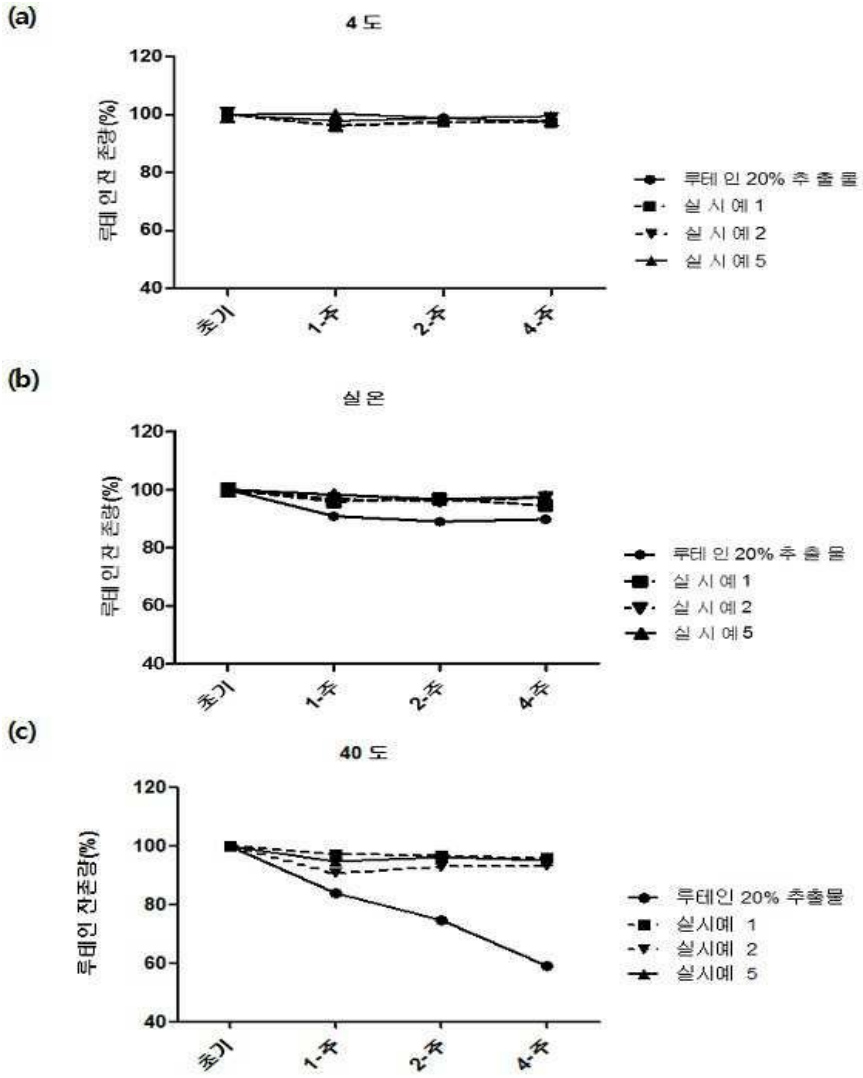
도면5



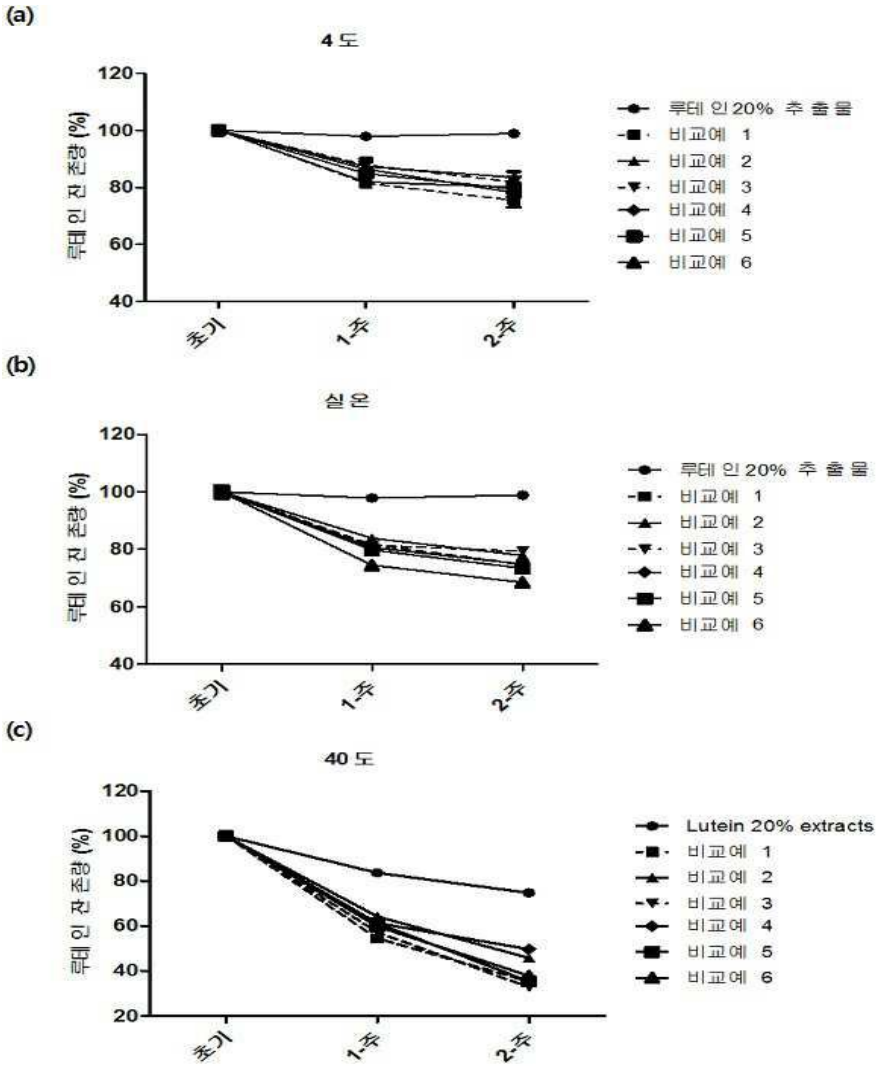
도면6


실시예 7
실시예 6
실시예 5
실시예 4
실시예 3
실시예 2
실시예 1
폴리비닐알코올
RG 502 H
알지네이트소디움
루테인 20% 추출물
0
10
20
30
40
50
60
70
2 Theta- Scale

도면7


(a)
4 도
루테인 잔존량(%)
120
100
80
60
40
초기
1-주
2-주
4-주
루테인 20% 추출물
실시예 1
실시예 2
실시예 5
(b)
실온
루테인 잔존량(%)
120
100
80
60
40
초기
1-주
2-주
4-주
루테인 20% 추출물
실시예 1
실시예 2
실시예 5
(c)
40 도
루테인 잔존량(%)
120
100
80
60
40
초기
1-주
2-주
4-주
루테인 20% 추출물
실시예 1
실시예 2
실시예 5

도면8


(a)
4 도
루테 인 잔 존량 (%)
120
100
80
60
40
초기
1-주
2-주
루테 인 20% 추 출 물
비교예 1
비교예 2
비교예 3
비교예 4
비교예 5
비교예 6
(b)
실 온
루테 인 잔 존량 (%)
120
100
80
60
40
초기
1-주
2-주
루테 인 20% 추 출 물
비교예 1
비교예 2
비교예 3
비교예 4
비교예 5
비교예 6
(c)
40 도
루테 인 잔 존량 (%)
120
100
80
60
40
20
초기
1-주
2-주
Lutein 20% extracts
비교예 1
비교예 2
비교예 3
비교예 4
비교예 5
비교예 6