

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호
WO 2011/129588 A2

(43) 국제공개일
2011년 10월 20일 (20.10.2011)

PCT

- (51) 국제특허분류:
A61K 9/127 (2006.01) A61K 9/38 (2006.01)
A61K 9/32 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2011/002579
- (22) 국제출원일: 2011년 4월 12일 (12.04.2011)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2010-0033710 2010년 4월 13일 (13.04.2010) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여):
(주)아모레퍼시픽 (AMOREPACIFIC CORPORATION) [KR/KR]; 서울특별시 용산구 한강로 2가 181, 140-777 Seoul (KR).
- (72) 발명자: 권
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 박성일 (PARK, Sung il) [KR/KR]; 서울특별시 서초구 서초동 KT 파라곤 304 호, 137-070 Seoul (KR). 이은옥 (LEE, Eun Ok) [KR/KR]; 서울특별시 서초구 잠원동 53 잠원현대아파트 101 동 807 호, 137-907 Seoul (KR). 김연준 (KIM, Youn Joon) [KR/KR]; 서울특별시 노원구 월계 1 동 436 동신아파트 7 동 904 호, 139-909 Seoul (KR). 한상훈 (HAN, Sang Hoon) [KR/KR]; 경기도 수원시 장안

구 읍전동 276-3 천록아파트 2 동 203 호, 440-825 Gyeonggi-do (KR).

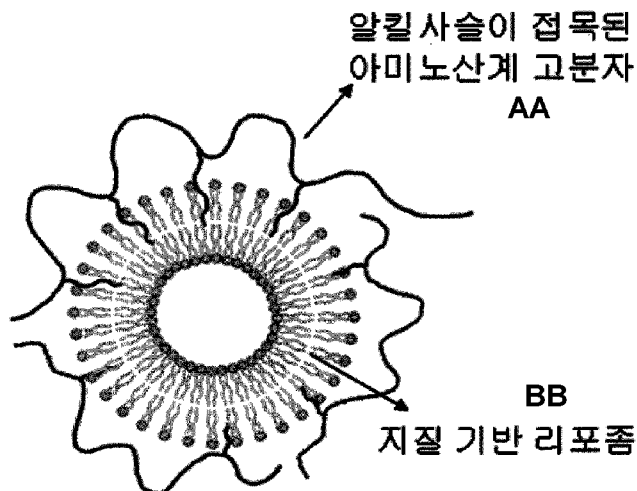
- (74) 대리인: 김순영 (KIM, Sun-young); 서울특별시 종로구 수송동 80-6 석탄회관빌딩 10 층, 110-727 Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[다음 쪽 계속]

(54) Title: POLYMER/LIPOSOME NANOCOMPOSITE COMPOSITION FOR PERCUTANEOUS ABSORPTION, AND METHOD FOR PREPARING SAME

(54) 발명의 명칭 : 경피흡수용 고분자-리포솜 나노복합체 조성물 및 그 제조방법

[Fig. 1]



AA...Poly(amino acids) to which an alkyl chain is grafted
BB...Lipid-based liposome

(57) Abstract: Provided are a polymer/liposome nanocomposite composition comprising lipids and poly(amino acids), and a method for preparing same. The polymer/liposome nanocomposite composition has excellent formation stability with respect to surfactants and salts, and can be used in various ways as a drug delivery system in the fields of medicine and cosmetics.

(57) 요약서: 지질 및 아미노산계 고분자 (poly(amino acid)s)를 포함하는 고분자-리포솜 나노복합체, 및 그 제조방법을 제공한다. 상기 고분자-리포솜 나노복합체는 계면활성제와 염에 대한 제형 안정성이 우수하며, 의약 및 화장품 분야 등에서 약물전달체로서 다양하게 활용 가능하다.



공개:

- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

명세서

발명의 명칭: 경피흡수용 고분자-리포좀 나노복합체 조성물 및 그 제조방법

기술분야

- [1] 본 발명은 아미노산계 고분자를 포함하는 고분자-리포좀 나노복합체 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 최근 리포좀을 이용한 약물전달시스템의 유용성이 대두되면서, 다양한 지질성분 혼합을 통해, 보다 효과적인 지질-기반 나노전달체를 제조하려는 연구들이 주목받고 있다. 특히, 리포좀 내상에 함입된 생리활성성분이 생체세포에 높은 효율로 전달되어 활성성분의 효능을 최대한 발휘할 수 있도록 하기 위해서, 리포좀의 구성성분을 다양하게 하여 제조하는 연구가 활발히 이루어지고 있다.
- [3] 예를 들어, 세포내 소기관의 특이적 환경에 의해 리포좀의 안정성이 저하되어 리포좀 내 함입된 생리활성성분이 세포내로 방출되도록 설계한 리포좀 등에 대한 연구가 진행되고 있다. 또한, pH나 온도에 민감한 지질이나 폴리머를 함께 사용하여 특정 온도나 pH 영역에서 약물이 방출되도록 하는 시스템들이 연구되었다.
- [4] 리포좀은 여러 종류의 지질분자로 구성될 수 있으나, 물리적 안정성이 확보되지 않아서, 리포좀의 안정성을 확보하기 위한 다양한 연구들이 시도되어 왔다. 일부 기술들은, 리포좀에 특정 음이온 계면활성제를 첨가하여 안정성의 증가를 유도하였고, 리포좀 구성요소에 정전하 지질을 첨가하거나, 스테롤, 음이온성 지질 또는 스펡고 지질을 도입하기도 하였다. 또한, 고분자 유화제가 녹아있는 수용상에 리포좀을 혼합하거나, 생리 활성 물질을 안정화하기 위하여 리포좀을 라멜라 액정에 첨가하는 방법을 제시하는 기술도 있었다.
- [5] 이처럼, 리포좀 또는 에멀전 등의 안정성 향상을 위한 연구들이 꾸준히 진행되어 왔으나, 상기 기술들은 물리적 안정성이 충분하지 못하여 식품, 화장품 및 약학 분야에서 활용하기에는 한계가 있었다.
- [6] 일반적으로, 지질-콜레스테롤 기반으로 한 리포좀 역시 수상에서 장기 안정도가 확보되지 못하는 것으로 알려져 있다. 특히 생체환경에 사용되는 각종 염(salt)에는 매우 취약한 것으로 알려져 있다. 이러한 조성물들이 화장품 및 피부 외용제 등에 사용되기 위해서는, 제형내 안정성이 보장되어야 하지만, 제형내 각종 계면활성제들로 인하여 쉽게 그 구조를 잃어버리는 문제점이 있다.

[7]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [8] 본 발명의 일실시예의 목적은 제형 안정성이 우수한 고분자-리포솜 나노복합체를 제공하는 것이다.
- [9] 본 발명의 또 다른 일실시예의 목적은 고분자-리포솜 나노복합체의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [10] 본 발명의 또 다른 일실시예의 목적은 제형 안정성이 우수한 나노복합체를 이용한 약물전달체 및 피부 외용제 조성물을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [11] 상기한 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 고분자 및 리포솜이 복합된 나노 사이즈의 복합체로서, 지질; 및 아미노산계 고분자(poly(amino acid)s)를 포함하며, 상기 아미노산계 고분자는 상기 지질을 포함하는 지질 이중층에 회합되어 있는 구조인 고분자-리포솜 나노복합체를 제공한다.
- [12] 또한, 본 발명은 상기 고분자-리포솜 나노복합체를 제조하는 방법을 제공한다.
- [13] 또한, 본 발명은 상기 고분자-리포솜 나노복합체를 이용한 피부 외용제 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [14] 본 발명에 따른 고분자-리포솜 나노복합체는 계면활성제와 염에 대한 제형 안정성이 우수하며, 의약 및 화장품 분야 등에서 다양하게 활용 가능하다.

도면의 간단한 설명

- [15] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 고분자-리포솜 나노복합체를 개략적으로 나타낸 것이다.
- [16] 도 2는 리포솜의 분해 정도를 확인하기 위하여, 첨가된 계면활성제의 양에 따른 흡광도를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.
- [17]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

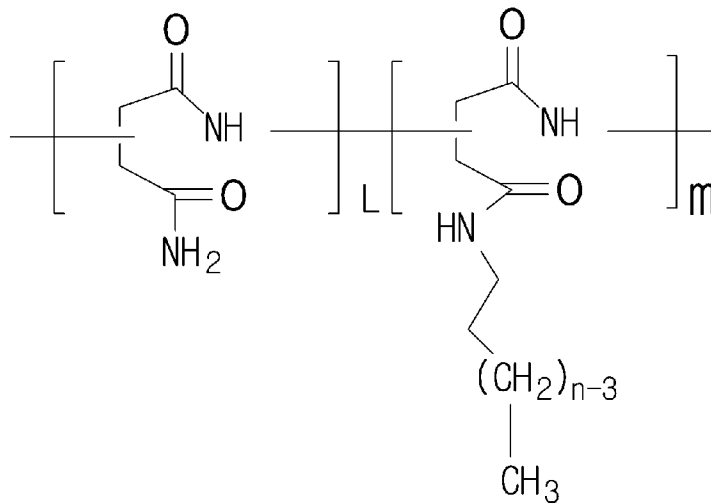
- [18] 본 발명의 고분자-리포솜 나노복합체는, 고분자 및 리포솜이 복합된 나노 사이즈의 복합체로서, 지질; 및 아미노산계 고분자(poly(amino acid)s)를 포함하며, 상기 아미노산계 고분자는 상기 지질을 포함하는 지질 이중층에 회합되어 있는 구조인 것을 특징으로 한다. 본 발명의 예시적인 고분자-리포솜 나노복합체의 구조가 도 1에 도시되어 있다.
- [19] 또한 본 발명의 고분자-리포솜 나노복합체는 콜레스테롤을 더 포함할 수 있다. 콜레스테롤의 첨가는, 지질-고분자 이중층의 자기회합력을 방해하지만, 리포솜의 곡률을 향상시켜 안정한 구형의 리포솜을 형성하는 것을 촉진하게 된다.
- [20] 본 발명의 고분자-리포솜 나노복합체에 사용되는 지질은 탄소수 12~24 개의 지방산 사슬을 갖는 인지질류 또는 질소지질일 수 있으며, 바람직하게 상기 지질은 인지질일 수 있다. 상기 지질은, 예를 들어, 난황 레시틴 (포스파티딜콜린), 대두 레시틴, 리조레시틴 (lysolecithin), 스펡고마이엘린

(sphingomyelin), 포스파티딘산, 포스파티딜세린, 포스파티딜 글리세롤, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜에탄올아민, 디포스파티딜글리세롤, 카르디올리핀 (cardiolipin) 및 플라즈마로겐으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 천연 인지질; 디세틸포스페이트, 디스테아로일포스파티딜콜린, 디올레오일포스파티딜에탄올아민, 디팔미토일포스파티딜콜린, 디팔미토일포스파티딜에탄올아민, 디팔미토일포스파티딜세린, 엘레오스테아로일포스파티딜콜린, 엘레오스테아로일포스파티딜에탄올아민 및 엘레오스테아로일포스파티딜세린으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 합성 지질; 상기 천연 인지질 또는 합성 지질로부터 수득 가능한 수소첨가 생성물; 상기 천연 인지질 또는 합성 지질의 유도체; 및 상기 천연 인지질 또는 합성 지질의 가수분해에 의해 수득 가능한 지방산 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 1 종 이상일 수 있다. 인지질 등을 포함하는 지질은 단독으로 사용할 수 있고, 2 종 이상을 병용할 수도 있다.

[21] 본 발명의 고분자-리포좀 나노복합체에 사용되는 아미노산계 고분자는 지질 혹은 지질/콜레스테롤 이중층과 회합함과 동시에 이중층을 단단히 묶어주며, 외벽을 보호하여 수상에 존재하는 각종 리포좀 구조를 불안정하게 하는 요소들(예, 염(salt), 계면활성제)로부터 안정하게 리포좀의 구조를 유지시키는 역할을 한다. 이를 통해, 피부 외용제 조성물 또는 화장품 조성물의 다양한 제형을 안정적으로 유지할 수 있게 된다. 일실시예에서, 상기 아미노산계 고분자는, 아스파르트산, 아스파라긴 등과 같은 아미노산, 또는 하이드록시에틸 아스파르트아마이드 등과 같은 아미노산 유도체를 어느 하나 이상 포함하는 랜덤공중합체일 수 있다. 일실시예에서, 상기 아미노산계 고분자는 폴리 아스파르트산(poly(aspartic acid)) 또는 폴리 아스파라긴(poly(asparagine))일 수 있다.

[22] 또한 상기 아미노산계 고분자는 지질을 포함하는 아미노산계 고분자일 수 있으며, 구체적으로는, 아미노산 또는 아미노산 유도체에 지질이 접목된 랜덤공중합체일 수 있다. 일실시예에서, 상기 아미노산계 고분자는, 지질 이중층과 같이 회합을 할 수 있도록 도입된 n-알킬 아스파라긴일 수 있으며, 회합되는 지질의 종류에 따라 알킬 사슬의 길이를 나타내는 n의 범위가 정해지게 된다. 구체적으로는, n-알킬 아스파르트산은, 탄소수가 8(옥틸) 이상의 길이를 가지고 있을 때, 지질 또는 지질/콜레스테롤 이중층과 회합이 가능하며, 예를 들어, 탄소수는 12 내지 22의 정수일 수 있다. 목적에 따라서는, n-알킬 사슬 대신에 콜레스테롤이나 피토스핑고신 등의 지질 성분을 고분자에 접목시켜 지질이중층에 회합시킬 수 있다. 일실시예에서, 상기 아미노산계 고분자는 아스파라긴과 n-알킬 아스파르트신의 공중합체일 수 있으며, 예를 들어, 하기 화학식 1과 같이 사슬을 갖는 알킬기가 접목된 양친성 폴리 아스파라긴일 수 있다:

[23] 화학식 1



- [24] 상기 식에서,
- [25] n 은 8 이상의 정수이며, 보다 바람직하게는 12 내지 36의 정수이고,
- [26] L 과 m 은 특별히 한정되지 않지만 고분자 1몰에 대하여 각각 1 내지 1000 정도의 범위를 갖는다. 분자량이 너무 작으면 원하는 안정화 효과를 얻을 수 없고, 분자량이 너무 크면 고분자가 스스로 회합구조를 만들면서 지질과 회합리포좀을 만들기 어렵기 때문이다.
- [27] 또한, 상기 지질 접목된 아미노산계 고분자에서의 지질은, 인지질, 스펡고리피드 및 스테롤류로 구성된 군에서 선택된 1 종 이상을 포함하며, 지방알콜 또는 지방산의 지방족 사슬의 길이가 탄소수 8 이상, 구체적으로는 탄소수 12 내지 36의 모든 모노머를 총칭하는 의미이다.
- [28] 본 발명의 고분자-리포좀 나노복합체에서 상기 아미노산계 고분자의 함량은, 고분자-리포좀 나노복합체 중량을 기준으로, 0.5 내지 50 중량%일 수 있으며, 바람직하게는 1.0 내지 30 중량%, 보다 바람직하게는 5.0 내지 20 중량%일 수 있다. 아미노산계 고분자의 함량이 50 중량%를 초과하면 원하는 이중막 구조의 고분자-리포좀 제형을 얻을 수 없게 되고, 0.5 중량% 미만이면 고분자의 리포좀 안정화 효과가 저해될 수 있다. 또한 본 발명의 고분자-리포좀 나노복합체에서, 아미노산계 고분자의 수평균 분자량은 1,000 내지 200,000 (Dalton)일 수 있으며, 구체적으로는 5,000 내지 50,000일 수 있다. 고분자의 분자량이 200,000을 초과하면 리포좀과의 회합도가 떨어질 수 있고, 1,000 미만일 경우에는 리포좀 안정화 효과가 저하될 수 있다.
- [29] 본 발명에 따른 고분자-리포좀 나노복합체는 나노 사이즈의 입자 크기를 가질 수 있다. 예를 들어, 상기 고분자-리포좀 나노복합체의 입자크기는 50 내지 300 nm일 수 있다. 이는, 안정된 구조의 리포좀을 제공하기 위한 것으로, 고분자의 조성 또는 고분자와 지질의 농도에 따라 달리질 수 있다.
- [30] 또한 본 발명의 고분자-리포좀 나노복합체에 사용되는 콜레스테롤은 지질 함량의 50% 이하로 추가 가능하다. 너무 높은 함량에서는 리포좀의 이중막

구조가 만들어지기 어렵기 때문이다.

- [31] 또한, 본 발명은 상기 고분자-리포좀 나노복합체의 제조방법을 제공한다.
- [32] 구체적으로 본 발명의 고분자-리포좀 나노복합체의 제조방법은,
- [33] (a) 지질; 콜레스테롤 또는 지방알코올; 및 지방산을 유기용매에 혼합 용해한 후, 용매를 휘발시켜 지질 혼합물을 얻는 단계;
- [34] (b) 지질 혼합물에, 지질 결합된 아미노산계 고분자가 용해된 수용액을 첨가하여 혼합액을 제조하는 단계; 및
- [35] (c) 혼합액 내에 형성된 복합체의 입자를 미세 입자화하는 단계를 포함할 수 있다.
- [36] 고분자-리포좀 나노복합체에 사용되는 지질성분으로는 탄소수 12~24 개의 지방산 사슬을 갖는 인지질류 또는 질소지질이 사용될 수 있다. 일반적으로 인지질을 사용할 수 있다. 또한, 필요에 따라, 콜레스테롤을 혼합할 수 있다.
- [37] 또한, 상기 아미노산계 고분자는 지질 결합된 아미노산계 고분자일 수 있다. 또 다른 일실시예에서, 상기 아미노산 고분자는, n-알킬 사슬이 접목된 아스파라긴일 수 있으며, 회합되는 지질의 종류에 따라 알킬 사슬의 길이를 나타내는 n의 범위가 정해지게 된다. 목적에 따라서는, n-알킬 사슬 대신에 콜레스테롤이나 피토스핑고신 등의 지질 성분을 도입할 수 있다. 또한, 상기 (c) 단계는, 특별히 제한되는 것은 아니나, 고압유화기 또는 초음파 처리를 통해 수행될 수 있다.
- [38] (a) 단계에서 용매로 에틸알코올과 메틸렌클로라이드, 클로로포름이 사용가능하다.
- [39] 본 발명의 고분자-리포좀 나노복합체의 예시적인 제조방법은 하기와 같다.
- [40] 먼저, 고분자를 중합하기 위하여 아스파르트산(L-aspartic acid)과 산 촉매인 인산(phosphoric acid)을 용매 메시틸렌 또는 설펀란(mesitylene/sulfolane)에 넣어 질소 환경하에서 180°C를 10 시간 정도 유지하여 반응시켜, 축중합된 폴리석신이미드(poly(succinimide))를 제조한다. 반응용매에 따라 축중합된 폴리석신이미드의 분자량이 달라지질 수 있다. 축중합된 폴리석신이미드는 메탄올과 정제수로 워싱(washing)하여 건조시켜 파우더상의 고분자를 얻는다. 얻어진 파우더상의 고분자를 디메틸포름아마이드(dimethylformamide) 용매에 알킬아민(alkyl amine)과 함께 혼합하여 70°C에서 24 시간 반응시킨다. 그런 다음, 실온에서 5 노르말 농도의 수산화암모늄(NH₄OH) 수용액을 떨어뜨려 가수분해한 후, 과량의 에테르로 침전시킨 후, 건조하여 알킬기가 접목된 양친매성 폴리아미노산 고분자를 얻는다.
- [41] 리포좀의 제조는 초음파를 이용하여 얇은 막(thin film) 제조법으로 제조할 수 있다. 디스테아로일포스파티딜콜린(distearoylphosphatidylcholine)과 같은 지질성분을 둥근목 플라스크(round neck flask)에서 클로로포름(CHCl₃)에 녹인 후, 회전증발기로 용매를 제거하여 플라스크 벽면에 얇은 지질막을 만든다. 여기에 양친매성 폴리아미노산 고분자가 용해된 물을 첨가하여 수화시킨 후,

초음파 처리하여 고분자-리포좀 나노 복합체를 제조할 수 있다.

[42]

[43] 또한, 본 발명에 따른 고분자-리포좀 나노복합체는 내부에 생리 활성성분을 더 포함할 수 있다. 예를 들어, 고분자-리포좀 나노복합체의 내부에 함유되는 활성성분이 약리성분인 경우에는, 약물전달체로서의 역할을 하게 된다.

[44] 상기 고분자-리포좀 나노복합체에 포함되는 생리 활성성분은, 특별히 제한되지 않으나, 수용성 성분일 수 있으며, 미백, 항산화 및/또는 주름개선에 관련된 물질이 사용될 수 있다. 상기 활성성분은, 예를 들어, 미백물질로 알려진 N-부틸디옥시노지리마이신 (N-butyldeoxynojirimycin), 1-디옥시노지리마이신, 카스타노스퍼민 (castanospermin), 방선균 배양 추출물 (SCE), 칼슘펜타센 설포네이트 (Calcium pentatatheine sulfonate), 알부틴(arbutin), 비타민C (ascorbic acid), 에틸 아스코르빌 에테르(ethylascorbyl ether) 등의 비타민C 유도체와 주름개선 물질로 알려진 올레아놀릭 산(oleanolic acid), 레티놀(retinol), 알파-케토 글루타릭 산 (α-ketoglutaric acid), 에피갈로카테킨 갈레이트 (epigallocatechin gallate, EGCG) 등이 있다.

[45] 또한 본 발명은 상기한 고분자-리포좀 나노복합체를 포함하는 피부 외용제 조성물을 제공한다. 또한, 피부 외용제 조성물에 사용되는 고분자-리포좀 나노복합체는 상기한 생리 활성성분들 중 하나 이상을 함유할 수 있으며, 상기 피부 외용제 조성물은, 피부 미백, 항산화 및/또는 주름개선평 조성물일 수 있다. 또한 상기 피부 외용제 조성물의 제형은 특별히 제한되는 것은 아니나, 리포좀, 에멀전 또는 액정상일 수 있다.

[46]

[47] 이하 실시예 및 실험예를 통하여 본 발명을 보다 구체적으로 설명하지만, 본 발명이 이들 예로만 한정되는 것은 아니다.

[48]

[49] 참고예 1: 양친성 아미노산계 고분자 제조

[50] 아스파르트산(L-aspartic acid) 250 g을 인산(phosphoric acid, 85%) 3 ml와 함께 설펴란(sulfolane) 250 g에 넣어 질소 환경하에서 180°C에서 10 시간 정도 유지하여 반응시켰다. 축중합된 폴리석신이미드(poly(succinimide))는 메탄올과 정제수로 수차례 번갈아가면서 워싱(washing)하고 건조시켰다. 이를 통해 얻어진 파우더상의 고분자 1 g을 디메틸포름아마이드(dimethylformamide) 용매에 알킬아민(alkylamine) 0.1 g과 함께 혼합하여 70°C에서 24 시간 반응시켰다. 그런 다음, 실온에서 5 노르말 농도의 수산화암모늄 (NH₄OH) 수용액을 떨어뜨려 실온에서 3 시간 동안 믹싱하면서 가수분해한 후, 과량의 에틸에테르(Ethyl ether)로 침전시키고 건조하여, 알킬기가 접목된 양친매성 폴리아미노산 고분자를 얻었다.

[51]

[52] 실시예 1: 도데실기가 접목된 아미노산계 고분자를 이용한 고분자-리포좀

나노복합체의 제조

[53] 100% 수첨된 올레오일-팔미토일/올레오일-스테아릴 포스파티딜 콜린 혼합물(Lipoid S100-3) 1 g을 둥근목 플라스크(round neck flask)에 넣고 클로로포름(CHCl_3)에 녹인 후, 회전증발기로 용매를 제거하여 플라스크 벽면에 얇은 지질막을 만들었다. 여기에 참고예 1에서 알킬아민으로 도데실아민(dodecyl amine)을 사용하여 제조된 양친매성의 폴리(도데실-아스파라긴) 공중합체 0.1 g이 용해된 물 50 ml를 첨가하여 65°C에서 수화시켰다. 그런 다음, 초음파 처리하여 고분자-리포솜 나노 복합체를 제조하였다.

[54] 상기에서 사용한 인지질 혼합물의 조성은 하기 표 1과 같다.

[55]

[56] 표 1

[Table 1]

성분	중량%
포스파티딜콜린	> 96
인화합물(Phosphorus)	3.7-4.0
에탄올	0-1.0
물	0-2.0

[57]

[58] 실시에 2: 옥타데실기가 접목된 아미노산계 고분자를 이용한 고분자-리포솜 나노복합체의 제조

[59] 100% 수첨된 올레오일-팔미토일/올레오일-스테아릴 포스파티딜 콜린 혼합물(Lipoid S100-3) 1 g을 둥근목 플라스크(round neck flask)에 넣고 클로로포름(CHCl_3)에 녹인 후, 회전증발기로 용매를 제거하여 플라스크 벽면에 얇은 지질막을 만들었다. 여기에 참고예 1에서 알킬아민으로 옥타데실아민(octadecyl amine)을 사용하여 제조된 양친매성의 폴리(옥타데실-아스파라긴) 공중합체 0.1 g이 용해된 물 50 ml를 첨가하여 70°C에서 수화시켰다. 그런 다음, 초음파 처리하여 고분자-리포솜 나노 복합체를 제조하였다.

[60] 실시에 2에서 사용한 인지질 혼합물의 조성은 상기 표 1과 같다.

[61]

[62] 비교예 1. 단순 지질 기반 리포솜의 제조

[63] 생분해성 고분자를 이용한 고분자-리포솜 복합체의 구조 및 용액 내에서의 성질을 지질기반의 일반 리포솜의 성질과 비교하기 위해서, 단순 지질 기반 리포솜을 제조하였다. 100% 수첨된 올레오일-팔미토일/올레오일-스테아릴 포스파티딜 콜린 혼합물(Lipoid S100-3) 1 g을 둥근목 플라스크(round neck

flask)에 넣고 클로로포름(CHCl_3)에 녹인 후, 회전증발기로 용매를 제거하여 플라스크 벽면에 얇은 지질막을 만들었다. 그런 다음, 물 50 ml를 첨가하여 65°C에서 수화시킨 후, 초음파 처리하여 리포솜을 제조하였다.

[64]

[65] 비교예 2. 지질-콜레스테롤 혼합 리포솜의 제조

[66] 100% 수첨된 올레오일-팔미토일/올레오일-스테아릴 포스파티딜 콜린 혼합물(Lipoid S100-3) 1 g과 콜레스테롤 0.05 g을 둥근목 플라스크(round neck flask)에 넣고 클로로포름(CHCl_3)에 녹인 후, 회전증발기로 용매를 제거하여 플라스크 벽면에 얇은 지질막을 만들었다. 그런 다음, 물 50 ml를 첨가하여 65°C에서 수화시킨 후, 초음파 처리하여 리포솜을 제조하였다.

[67]

[68] 비교예 3. 지질-지방알콜 혼합 리포솜의 제조

[69] 100% 수첨된 올레오일-팔미토일/올레오일-스테아릴 포스파티딜 콜린 혼합물(Lipoid S100-3) 1 g과 스테아릴알코올 0.1 g을 둥근목 플라스크(round neck flask)에 넣고 클로로포름(CHCl_3)에 녹인 후, 회전증발기로 용매를 제거하여 플라스크 벽면에 얇은 지질막을 만들었다. 그런 다음, 물 50 ml를 첨가하여 70°C에서 수화시킨 후, 초음파 처리하여 리포솜을 제조하였다.

[70]

[71] 실험예 1. 아미노산계 고분자로 안정화된 지질 라멜라 조성물의 안정성 실험

[72] 상기 실시예 1~2 및 비교예 1~3에서 제조한 리포솜에 대하여, 계면활성제에 의한 안정성을 비교 실험하였다.

[73] 상기 실시예 및 비교예를 통해 제조된 리포솜 용액에 포함된 지질에 대해 0.01에서 100까지의 물비로 계면활성제인 데옥시콜릭산(deoxycholic acid)을 첨가하였다. 그런 다음, 405 nm에서 흡광도를 측정하여, 리포솜이 분해되는 정도를 확인하였다.

[74] 하기 도 2에는, 리포솜의 분해 정도를 확인하기 위하여, 첨가된 계면활성제의 양에 따른 흡광도를 측정한 결과를 나타내었다. 또한, 리포솜의 50%를 분해시키는데 필요한 계면활성제의 양을, 인지질만 있는 용액에 대한 계면활성제의 양을 1로 하여, 하기 표 2에 상대적으로 표시하였다.

[75]

[76] 표 2

[Table 2]

실험 번호	계면 활성제 함량(%)
실시예 1	2.3
실시예 2	3.2
비교예 1	1.0
비교예 2	1.2
비교예 3	1.4

- [77] 표 2과 도 2를 함께 참조하면, 실시예 1~2에 따른 리포솜의 50%를 분해하기 위해서는, 비교예와 비교하여, 상대적으로 많은 양의 계면활성제가 요구된다는 것을 알 수 있다. 특히, 실시예 2의 경우에는, 비교예 1과 비교하여 3 배 이상의 계면활성제가 요구되었다. 이를 통해, 본 발명에 따른 조성물의 계면활성제에 대한 안정성이 현저하게 향상되었음을 알 수 있다.
- [78] 실시예 1 및 2의 비교에서는, 접목된 알킬 사슬의 길이가 긴 고분자의 사용이 알킬사슬이 짧은 고분자 첨가 보다 리포솜 구조를 안정하게 한다는 것을 알 수 있다. 이는, 긴 알킬사슬이 리포솜 이중막과의 소수성 인력(hydrophobic interaction)이 강하여, 짧은 사슬의 알킬을 사용한 경우와 비교하여, 보다 강하게 지질 이중막과 물리적 결합을 하고 있음을 알 수 있다.
- [79] 상기 실험예를 통해서, 본 발명에 따른 고분자-지질 나노 복합체 조성물은 일반적인 지질기반 리포솜과 비교하여 계면활성제가 함유된 제형내에서 안정도가 우수하고, 이로부터 수용상 또는 혼합물에서 불안정하여 사용할 수 없었던 여러 기능성 소재의 안정화에 다양하게 적용할 수 있을 것으로 판단된다.
- [80]
- [81] 실험예 2: 고분자-리포솜 나노복합체의 안정도 평가
- [82] 실시예 1, 2 및 비교예 1, 3 에서 제조된 고분자-리포솜 나노복합체와 지질 기반 리포솜의 염(salt)을 함유한 수용액에서의 장기 안정도를 평가하였다. 구체적으로는, 물 대신 인산나트륨 완충용액에 제조된 용액의 입자 크기를 시간에 따라 측정하였다. 측정결과는 하기 표 3에 나타내었다.
- [83]
- [84] 표 3

[Table 3]

	입자크기 (nm) (다분산도)				
	제조시	1주	2주	3주	4주
실시예 1	153 (0.03)	158 (0.15)	161 (0.13)	162 (0.16)	164 (0.17)
실시예 2	157 (0.02)	159 (0.13)	162 (0.12)	163 (0.16)	165 (0.15)
비교예 1	207 (0.38)	232 (0.4)	침전	침전	침전
비교예 3	189 (0.31)	195(0.35)	199(0.38)	201(0.4)	203(0.42)

- [85] 상기 표 3에서 볼 수 있듯이, 고분자-리포좀 나노복합체의 경우 염이 첨가된 완충용액에 보관하여도 입자의 크기나 다분산도에 장기적으로 큰 차이를 보이지 않는다. 그에 반해, 지질 기반으로 한 리포좀의 경우(비교예 1) 인산나트륨 완충용액에는 크기의 증가와 함께 다분산도가 증가하면서 구조가 불안정해지는 것을 확인하였다. 또한, 다른 첨가제 없이 수첨된 레시친으로만 만들어진 리포좀의 경우에는, 2 주 후에는 구조가 붕괴되어 침전이 되는 것을 관찰할 수 있다. 이로부터, 고분자-리포좀 나노복합체가 지질 기반으로 한 리포좀보다 수용액 상의 기타 염(salt) 존재하에서 훨씬 더 안정한 구조를 유지하는 것을 알 수 있다.

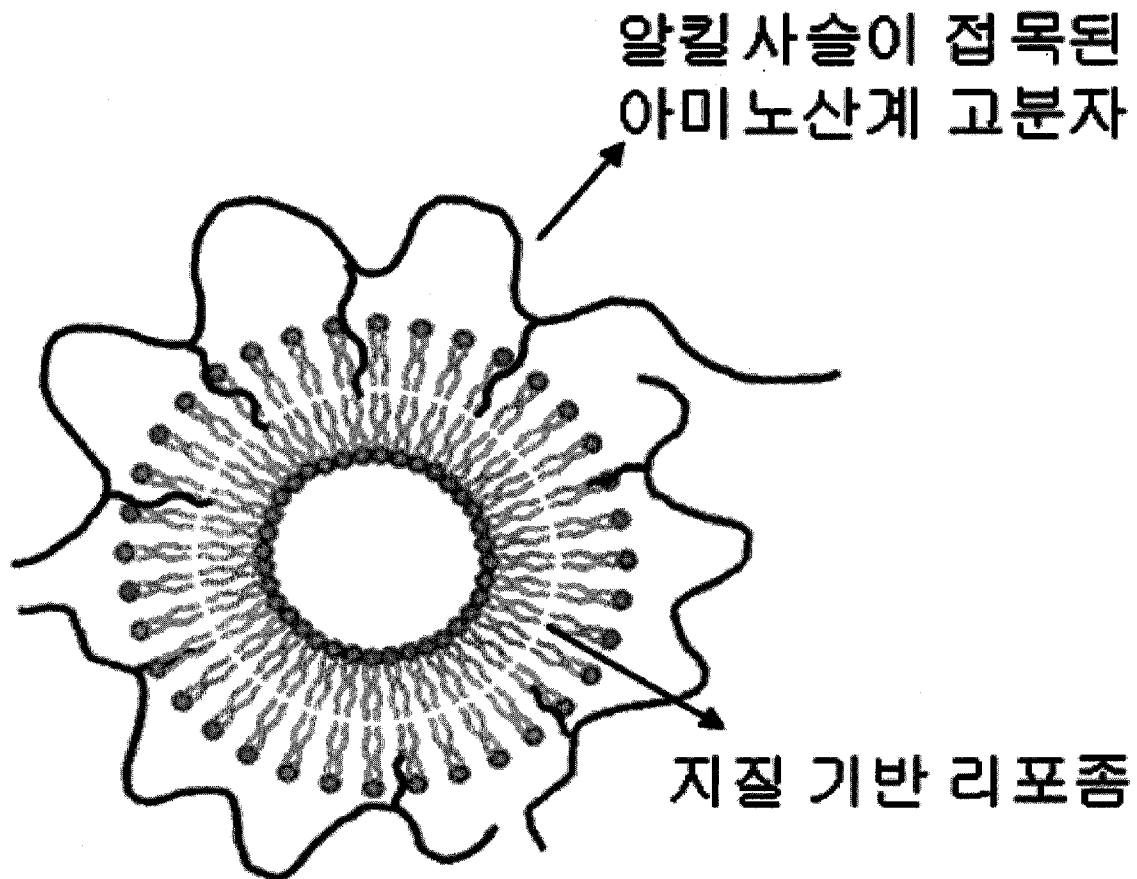
청구범위

- [청구항 1] 고분자 및 리포좀이 복합된 나노 사이즈의 복합체로서, 지질; 및 아미노산계 고분자(poly(amino acid)s)를 포함하며, 상기 아미노산계 고분자는 상기 지질을 포함하는 지질 이중층에 회합되어 있는 구조인 고분자-리포좀 나노복합체.
- [청구항 2] 제 1항에 있어서, 상기 고분자-리포좀 나노복합체는 콜레스테롤을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 고분자-리포좀 나노복합체.
- [청구항 3] 제 1항에 있어서, 상기 지질은 탄소수 12~24 개의 지방산 사슬을 갖는 인지질류 또는 질소지질임을 특징으로 하는 고분자-리포좀 나노복합체.
- [청구항 4] 제 3항에 있어서, 상기 지질은,
 난황 레시틴 (포스파티딜콜린), 대두 레시틴, 리조레시틴 (lysolecithin), 스펡고마이엘린 (sphingomyelin), 포스파티딘산, 포스파티딜세린, 포스파티딜 글리세롤, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜에탄올아민, 디포스파티딜글리세롤, 카르디올리핀 (cardiolipin) 및 플라즈마로젠으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 천연 인지질;
 디세틸포스페이트, 디스테아로일포스파티딜콜린, 디올레오일포스파티딜에탄올아민, 디팔미토일포스파티딜콜린, 디팔미토일포스파티딜에탄올아민, 디팔미토일포스파티딜세린, 엘레오스테아로일포스파티딜콜린, 엘레오스테아로일포스파티딜에탄올아민 및 엘레오스테아로일포스파티딜세린으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 합성 지질;
 상기 천연 인지질 또는 합성 지질로부터 수득 가능한 수소첨가 생성물;
 상기 천연 인지질 또는 합성 지질의 유도체; 및
 상기 천연 인지질 또는 합성 지질의 가수분해에 의해 수득 가능한 지방산 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 1 종 이상임을 특징으로 하는 고분자-리포좀 나노복합체.
- [청구항 5] 제 1항에 있어서, 상기 아미노산계 고분자는 아스파르트산, 아스파라긴 및 하이드록시에틸 아스파르트아마이드로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 아미노산 또는 아미노산 유도체를 포함하는 랜덤공중합체인 것을 특징으로 하는 고분자-리포좀 나노복합체.
- [청구항 6] 제 5항에 있어서, 상기 아미노산계 고분자는 폴리 아스파르트산(poly(aspartic acid)) 또는 폴리

- 아스파라긴(poly(asparagine))임을 특징으로 하는 고분자-리포솜 나노복합체.
- [청구항 7] 제 1항에 있어서, 상기 아미노산계 고분자는 지질을 포함하는 아미노산계 고분자임을 특징으로 하는 고분자-리포솜 나노복합체.
- [청구항 8] 제 7항에 있어서, 상기 아미노산계 고분자에 포함된 지질은 인지질, 스펅고리피드 및 스테롤류로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상임을 특징으로 하는 고분자-리포솜 나노복합체.
- [청구항 9] 제 7항에 있어서, 상기 아미노산계 고분자에 포함된 지질은 지방알콜 또는 지방산의 지방족 사슬의 길이가 탄소수 8 이상임을 특징으로 하는 고분자-리포솜 나노복합체.
- [청구항 10] 제 1항에 있어서, 상기 아미노산계 고분자의 함량은 고분자-리포솜 나노복합체 전체 중량에 대하여 0.5~50 중량%임을 특징으로 하는 고분자-리포솜 나노복합체.
- [청구항 11] 제 1항에 있어서, 상기 아미노산계 고분자의 수평균 분자량은 1,000~200,000 (Dalton)임을 특징으로 하는 고분자-리포솜 나노복합체.
- [청구항 12] 제 1항에 있어서, 상기 나노복합체의 크기는 50~300 nm임을 특징으로 하는 고분자-리포솜 나노복합체.
- [청구항 13] (a) 지질; 콜레스테롤 또는 지방알코올; 및 지방산을 유기용매에 혼합 용해한 후, 용매를 휘발시켜 지질 혼합물을 얻는 단계;
(b) 상기 지질 혼합물에, 지질 결합된 아미노산계 고분자가 용해된 수용액을 첨가하여 혼합액을 제조하는 단계; 및
(c) 상기 혼합액 내에 형성된 복합체의 입자를 미세 입자화하는 단계를 포함하는 고분자-리포솜 나노복합체의 제조방법.
- [청구항 14] 제 13항에 있어서, 상기 (c) 단계는 고압유화기 또는 초음파 처리를 통해 수행됨을 특징으로 하는 고분자-리포솜 나노복합체의 제조방법.
- [청구항 15] 제 1항 내지 제 12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노복합체는 약물전달체용임을 특징으로 하는 고분자-리포솜 나노복합체.
- [청구항 16] 제 1항 내지 제 12항 중 어느 한 항에 의한 고분자-리포솜 나노복합체를 포함하는 피부 외용제 조성물.
- [청구항 17] 제 16항에 있어서, 상기 고분자-리포솜 나노복합체는 생리 활성성분으로서 N-부틸디옥시노지리마이신 (N-butyldeoxynojirimycin), 1-디옥시노지리마이신, 카스타노스퍼민 (castanospermin), 방선균 배양 추출물 (SCE), 칼슘펜타센 설포네이트 (Calcium pentatheine sulfonate), 알부틴(arbutin), 비타민C (ascorbic acid), 에틸 아스코르빌 에테르(ethylascorbyl

- ether), 알파-케토 글루타릭 산 (α-ketoglutaric acid), 올레아놀릭 산(oleanolic acid), 레티놀(retinol) 및 에피갈로카테킨 갈레이트(epigallocatechin gallate, EGCG)로 구성된 군으로부터 선택되는 1종 이상을 더 함유하는 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.
- [청구항 18] 제 16항에 있어서, 상기 조성물은 리포솜, 에멀전 또는 액정상의 제형임을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.
- [청구항 19] 제 16항에 있어서, 상기 조성물은 피부 미백, 항산화 또는 주름개선용임을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

[Fig. 1]



[Fig. 2]

