

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0121834
(43) 공개일자 2014년10월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 8/34 (2006.01) *A61K 8/36* (2006.01)
A61K 8/97 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-7022398

(22) 출원일자(국제) 2013년01월22일

심사청구일자 2014년08월11일

(85) 번역문제출일자 2014년08월11일

(86) 국제출원번호 PCT/RU2013/000047

(87) 국제공개번호 WO 2013/115683

국제공개일자 2013년08월08일

(30) 우선권주장

2012102815 2012년01월30일 러시아(RU)

(71) 출원인

레스코프, 세르게이 유리예비치

러시아 109129 모스크바 13-2-155 텍스틸쉬코프
8-야 유엘.

빅리에바, 니나 세르게예브나

러시아 121471 모스크바 그바르데이스카야 1-18
유엘.

(72) 발명자

레스코프, 세르게이 유리예비치

러시아 109129 모스크바 13-2-155 텍스틸쉬코프
8-야 유엘.

빅리에바, 니나 세르게예브나

러시아 121471 모스크바 그바르데이스카야 1-18
유엘.

크레체토프, 세르게이 페트로비치

러시아 140400 모스코프스카야 오블 콜롬나 18 그
라나트나야 유엘.

(74) 대리인

김해중

전체 청구항 수 : 총 32 항

(54) 발명의 명칭 인간 세포 및 동물 세포에서 열-충격 단백질의 합성을 유도하기 위한 제제, 회복 공정을 향상시키기 위한 화장료 제조물, 침습적 화장용 절차들의 부작용들을 감소시키기 위한 화장료 제조물, 식품 보충물, 식료품, 및 침습적 화장용 절차들의 부작용들을 감소시키는 방법

(57) 요약

신남산 유도체들의 군으로부터 선택된 적어도 하나의 페놀 화합물 또는 이러한 화합물들의 혼합물, 및 비이온성 계면활성제 또는 이들의 혼합물을 포함하는, 인간 세포 및 동물 세포에서 열 충격 단백질 유도를 위한 제제, 및 화장료 제조물, 식품 보충물 및 식료품에서의 상기 제제의 사용이 기술되어 있다.

특허청구의 범위

청구항 1

신남산 유도체들의 군으로부터 선택된 하나 이상의 페놀 화합물 또는 이러한 화합물들의 혼합물, 및 비이온성 계면활성제 또는 이러한 물질들의 혼합물을, 75 중량% 이상의 양으로 포함하는 인간 세포 및 동물 세포에서의 열 충격 단백질 유도를 위한 제제.

청구항 2

제1항에 있어서, 사용되는 신남산 유도체들이 클로로젠산, 페룰산 또는 카페인산, 커큐민, 또는 카페인산의 페닐에틸 에스테르인 제제.

청구항 3

제1항에 있어서, 페놀 화합물들의 혼합물이 식물 기원 또는 동물 기원의 원료로부터의 추출물인 제제.

청구항 4

제3항에 있어서, 식물 기원의 추출물이 커피 콩 추출물, 바람직하게 생 커피 콩 추출물인 제제.

청구항 5

제1항에 있어서, 비이온성 계면활성제가 10 내지 18 범위의 친수성-친유성 밸런스(hydrophilic-lipophilic balance; HLB)를 갖는 물질들의 군으로부터 선택되는 제제.

청구항 6

제5항에 있어서, 비이온성 계면활성제가 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 80, PEG-40 수화된 캐스터 오일, 35-폴리옥시에틸화된 캐스터 오일 또는 PEG-15 하이드록시스테아레이트인 제제.

청구항 7

제1항에 따른 제제를 포함하는, 회복 공정(reparative process)들을 자극하기 위한 화장품 제조물(cosmetic preparation).

청구항 8

제7항에 있어서, 제1항에 따른 제제를 0.1% 이상, 바람직하게 0.5 내지 5%의 양으로 포함하는 화장품 제조물.

청구항 9

제7항에 있어서, 0.01 내지 20 중량% 양의 아스코르브산 또는 이의 유도체들을 추가적으로 포함하는 화장품 제조물.

청구항 10

제7항에 있어서, 0.01 내지 2 중량% 양의 천연 또는 합성 지용성 항산화제 또는 이러한 항산화제들의 혼합물을 추가적으로 포함하는 화장품 제조물.

청구항 11

제10항에 있어서, 천연 또는 합성 지용성 항산화제로서, 토코페롤, 카로틴, 레티놀, 루테인, 라이코펜, 유비퀴논 또는 이들의 유도체들을 포함하는 화장품 제조물.

청구항 12

제7항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 에멀전, 크림, 밀크, 밤, 연고, 젤, 샴푸, 토닉, 로션, 또는 폼 타입인 화장품 제조물.

청구항 13

제1항에 따른 제제를 포함하는 침습적 화장용 절차들의 부작용들을 감소시키기 위한 화장료 제조물.

청구항 14

제13항에 있어서, 0.1% 이상, 바람직하게 0.5 내지 5% 양의 제1항에 따른 제제를 포함하는 화장료 제조물.

청구항 15

제13항에 있어서, 0.01 내지 20 중량% 양의 아스코르브산 또는 이의 유도체들을 추가적으로 포함하는 화장료 제조물.

청구항 16

제13항에 있어서, 0.01 내지 2 중량% 양의 천연 또는 합성 지용성 항산화제 또는 이러한 항산화제들의 혼합물을 추가로 포함하는 화장료 제조물.

청구항 17

제16항에 있어서, 천연 또는 합성 지용성 항산화제로서, 토코페롤, 카로틴, 레티놀, 루테인, 라이코펜, 유비퀴논 또는 이들의 유도체들을 포함하는 화장료 제조물.

청구항 18

제13항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 에멀전, 크림, 밀크, 밤, 연고, 젤, 샴푸, 토닉, 로션, 또는 폼마드 형태인 화장료 제조물.

청구항 19

침습적 화장용 절차의 장소 상에서 제13항 내지 제18항 중 어느 한 항에 따른 화장료 제조물의 적용과 함께 화장용 절차의 수행을 포함하며, 이러한 물질이 이러한 절차 이전 및/또는 동안 및/또는 이후에 적용되는, 침습적 화장용 절차들의 부작용들을 감소시키는 방법.

청구항 20

제1항에 따른 제제를 포함하는 식품 보충물(food supplement).

청구항 21

제20항에 있어서, 1% 이상의 양의 제1항에 따른 제제를 함유하는 식품 보충물.

청구항 22

제20항에 있어서, 0.01 내지 20 중량% 양의 아스코르브산 또는 이의 유도체들을 추가적으로 포함하는 식품 보충물.

청구항 23

제20항에 있어서, 0.01 내지 2 중량% 양의 천연 또는 합성 지용성 항산화제 또는 이러한 항산화제들의 혼합물을 추가적으로 포함하는 식품 보충물.

청구항 24

제23항에 있어서, 천연 또는 합성 지용성 항산화제로서, 토코페롤, 카로틴, 레티놀, 루테인, 라이코펜, 유비퀴논 또는 이들의 유도체들을 포함하는 식품 보충물.

청구항 25

제20항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 캡슐, 정제, 분말, 과립, 미소구체, 환제, 캔디, 현탁액, 에멀전, 또는 가용화물 형태인 식품 보충물.

청구항 26

제1항에 따른 제제를 포함하는 식료품(foodstuff).

청구항 27

제26항에 있어서, 0.001% 이상, 바람직하게 0.01 내지 0.5% 양의 제1항에 따른 제제를 포함하는 식료품.

청구항 28

제26항에 있어서, 0.01 내지 20 중량% 양의 아스코르브산 또는 이의 유도체들을 추가적으로 포함하는 식료품.

청구항 29

제26항에 있어서, 0.01 내지 2 중량% 양의 천연 또는 합성 지용성 항산화제 또는 이러한 항산화제들의 혼합물을 추가적으로 포함하는 식료품.

청구항 30

제29항에 있어서, 천연 또는 합성 지용성 항산화제로서, 토코페롤, 카로틴, 레티놀, 루테인, 라이코펜, 유비퀴논 또는 이들의 유도체들을 포함하는 식료품.

청구항 31

제26항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 소비용으로 준비된 제품(ready-for-consumption product), 인스턴트 식품(instant food), 식품 농축물(food concentrate) 또는 음료인 식료품.

청구항 32

화장용 절차들 이전 및/또는 동안 및/또는 이후에, 화장용 절차들을 제20항 내지 제25항 중 어느 항의 식품 보충물, 및/또는 제26항 내지 제31항 중 어느 한 항의 식료품의 소비와 동시에 수행하는, 침습적 화장용 절차들의 부작용들을 감소시키는 방법.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 생물학 및 의학 분야, 보다 구체적으로 화장품학(cosmetology) 분야에 관한 것으로서, 화장품 제조물들(cosmetic preparations), 생물학적 활성 첨가제들 및 식품들을 생산하고 제작하는데 사용될 수 있다.

배경 기술

[0002] 열 충격 단백질(heat shock protein, HSP)은 상승된 온도 및 여러 다른 유해한 노출(adverse exposure)들에 대한 반응으로 발현이 유도되는 한 부류의 기능적으로 유사한 단백질들이다. 현재까지, 수 개의 HSP 패밀리(family)들은 분자량의 차이로 분리되었다. 열 충격 단백질들을 엔코딩하는 유전자들의 발현은 열 충격 인자(heat shock factor, HSF)에 의해 조절되는데, 이러한 인자는 정상 조건들 하에서 HSP에 결합된 불활성 모노머 형태로 존재한다. 그러한 복합물은 열 충격 또는 다른 스트레스(stress) 이후에 분해되며, 열 충격 인자는 DNA에 결합하고 HSP 전사를 활성화시킬 수 있는 트라이머(trimer)들을 형성한다. 열 충격 단백질들은 박테리아에서 인간 범위의 사실상 모든 살아있는 유기체들의 세포들에서 발견된다.

[0003] 본 발명에 따르면, HSP는 분자 샤페론(molecular chaperone)들의 기능들을 수행하고 새로이 합성된 단백질들 및 일부 손상된 구조를 갖는 단백질들의 폴딩(folding)에 참여하는 단백질들이다. HSP는 정확하지 않게 폴딩되거나 일부 폴딩되지 않은 단백질들의 응집(agggregation), 초거대분자 단백질(supramolecular protein) 구조의 어셈블리(assembly) 및 분해, 막을 통한 단백질들의 수송, 및 또한 이들의 후속 이화작용(catabolism)을 위한 손상된 단백질들의 언폴딩(unfolding)을 방지하는데 참여한다. HSP 함량은 상승된 온도 또는 다른 스트레스들을 받을 뿐만 아니라 HSP 유도 물질들에 노출된 유기체의 세포들에서 증가한다.

[0004] 5개의 규정된 HSP 부류들로부터, 본 발명의 목적을 위하여 HSP60, 70, 90, 및 100이 고려되는데, 이러한 것들은 가장 강력한 샤페론 기능을 지니고 있는 것이다. 상기 HSP의 유도는 세포의 스트레스 저항을 증가시키기 위한

규정된 인자(defining factor)인 것으로 여겨진다.

- [0005] 유기체의 정상 기능화(normal functioning)를 방해하는 스트레스 인자에 노출된 유기체의 세포들에서의 HSP 합성의 활성화는 현재 외부 스트레스에 대한 세포 저항의 향상 및 스트레스에 의해 손상된 구조적 및 기능적 단백질들의 제거에 기여하는 보호 반응인 것으로 여겨진다[Heat Shock Proteins and Whole Body Physiology 1st Edition, A.A.A. Asea and B.K. Pedersen (eds.), 2010, 430 p].
- [0006] 인자들 중에는 가열 뿐만 아니라, HSP 발현과 관련된 저항이 있다. HSP 합성의 유도는 냉각, 중독(intoxication), 자외선, 단식(fasting), 저산소증, 물 부족, 전해질 불밸런스, 매우 격렬한 신체 운동, 기계적 조직 손상, 감염, 및 임의의 병인(etiology)의 염증 반응들에 대한 노출 하에서 입증되었다. 세포 기능화의 붕괴를 야기시키기에 충분하지만 세포, 및 결과적으로 개개의 조직의 빠른 비가역적 손상(괴사)를 야기시키지 않는 세기를 갖는 상기 외부 인자들의 작용은 스트레스(stress)로서 기재된다.
- [0007] 유기체에서 불충분한 HSP 합성은 낮은 세포 성장 속도 및 상승된 아포토시스(apoptosis)가 수반되는데, 이는 노화 유기체(aging organism)의 세포들의 특징이다. 임상적으로 불충분한 HSP 합성은 낮은 상처 치유, 퇴행성 신경질환, 허혈에 대한 유기체의 조직들의 상승된 민감성, 및 생식 결함들이 수반된다.
- [0008] 목적이 있는 세포 HSP 수준 조절은 일반적으로 치료학적 작용, 유해한 생산 인자들에 대한 노출 또는 유해한 환경 인자들에 대한 특정 그룹의 세포들, 조직, 기관 또는 유기체들의 민감성(sensitivity)에 영향을 미칠 수 있는 기회로서 고려된다. 실제적으로 고려되는 것들 중에는 HSP 유도 및 억제 둘 모두가 있다.
- [0009] HSP의 억제는 주로 암세포들에 대한 치료학적 작용으로 적용되는 것으로서 고려된다. 이와 관련하여, 세포들을 수행되는 항암 요법에 대해 민감하게 하는 방식으로 발열 요법(hyperthermia)을 사용하면서 항암 요법의 구성성분으로서 벤조[a]퀴놀리진 트리시클릭 고리를 함유한 HSP 억제제를 적용하는 방법이 알려져 있다[WO 2007/041294, 2007년].
- [0010] HSP 유도는 보다 넓은 적용을 위해 의도된다.
- [0011] 근육 물질(muscular mass)을 성장시키기 위한 HSP 합성을 유도하는 생물학적 활성 물질의 사용이 알려져 있다[US 2011/0189312, 2011년]. 그러한 목적을 위하여, 글루타민, 크레아틴, 및 세포에서 열 충격 단백질의 생산을 유도하는 물질들을 포함하는 조성물이 제시되어 있다.
- [0012] 세포에서 증가된 HSP 수준이 저산소증(hypoxia), 산소과잉증(hyperoxia), 조직들의 허혈(ischemia), 고온, 자외선, 세포독성 또는 방사선 효과, 대사 장애(metabolic disorder), 또는 기계적 손상의 유해한 결과들을 완화시키기 위해 사용된다는 사실이 알려져 있다. 그러한 목적을 위하여, 하이드록실아민 유도체들이 화장품 및 약제 조성물의 구성성분들로서 사용된다[US 7148239, 2006년].
- [0013] 아세틸살리실레이트가 화장품 또는 약제 조성물의 구성성분들로서 그리고 HSP 합성을 유도할 수 있는 제제(agent)들로서 사용되는 것이 알려져 있다[US 20060148767, 2006년]. 상기 조성물들은 피부과 질환(dermatological disease), 심근증(cardiomyopathy), 신경증(neuropathy), 당뇨병, 허혈, 및 신경계의 퇴행성 질환을 치료하는데 사용하는 것으로 제안된다.
- [0014] 상술된 모든 조성물들의 단점은 이의 적용으로부터 초래되는 증가된 HSP 발현이 단지 스트레스, 예를 들어 상승된 온도 이후에 관찰된다는 사실이다. 스트레스 또는 손상 인자의 효과 없이, 상기 경우들에서의 HSP 발현의 상승은 현저하지 않은데, 이는 손상 작용의 발단(outset) 시에 세포에서의 분자 샤프론들의 불충분한 양에 기인한 보호의 유효성(effectiveness)의 크게 감소시킨다. 이는 높은 수준의 일차 손상(primary damage)에 의해 특징되는 집중 노출(intensive exposure)들 하에서 특히 중요하다.
- [0015] 이의 샤프론 기능들 때문에, HSP가 또한 회복 공정에서 중요한 역할을 한다는 것이 주지되어야 한다. 생물학적 시스템에서, 회복 공정은 이들의 손상된 부분들의 재생을 의미한다. 회복(repair)은 구조적 및 기능적 세포 요소들인, 손상된 생체거대분자들 및 초거대분자 형성물질(막, 원섬유(fibril), 세포 기관)의 재생의 경우에서 일어난다. 신규한 거대분자가 합성되거나 신규한 하위-세포 구조가 손상된 것들 대신에 형성되는 것이 아니라 현존하는 분자 또는 구조의 손상된 부분들의 재생이 일어나는 것이다. 이러한 경우에 손상들의 회복 메카니즘은 세포에서의 끊임없는 활성 분자 손상 회복 시스템들, 우선 DNA 회복의 기능화를 기반으로 한다.
- [0016] 환경의 유해 인자들로부터 인간 피부를 보호하는데 있어서 재생 공정들을 유도하기 위한 화장품 조성물들의 구성성분들로서, 피토에스트로젠(phytoestrogen), 이소플라본, 프로시아니톨 올리고머, 안토시아닌, 아미노산, 올리고펩타이드, 피트산 및 다른 칼슘 킬레이트제 및 상기 물질들을 함유한 식물 추출물들의 사용이 알려져 있다

[US 20030138502, 2003년]. 제시된 방법의 단점은 회복 시스템의 기능화와 관련한 기술된 화장료 조성물에 의해 제공된 자극이 지속적이지 않고, 고려되는 유해한 인자와 접촉하기 전날에 준비 처리(preparatory treatment), 및 유해 작용 직전의 처리 둘 모두를 필요로 한다는 사실이다. 그렇긴 하지만, HSP 발현의 상승은 고려되는 유해 인자(배기 가스, 담배 연기)의 작용 이후에만 관찰된다. 이러한 스트레스 또는 손상 작용 없이, HSP 발현의 상승은 유의미하지 않으며, 이는 이미 주지된 바와 같이, 보호의 유효성을 크게 손상시킨다.

- [0017] 현재, 침습적 화장용 절차는 화장 실무에서 피부 회춘, 피부 발달 결함(skin development defect)의 교정 및 피하 지방의 과도한 축적 억제에 위해 널리 사용되고 있으며, 이러한 절차는 문제가 있는 조직 세포의 손상을 조직의 전체 회복 능력을 초과하지 않게 조절한다.
- [0018] 이러한 절차는 세포에서 기능적 및/또는 구조적 붕괴를 야기시킬 수 있는 물리적 또는 화학적 인자들을 적용함으로써 수행된다.
- [0019] 피부 세포 및 조직의 적용된 제한 손상은 한편으로 나이는 세포 및 재생 및 회복이 가능하지 않은 세포의 제거를 초래하고, 다른 한편으로 손상 작용을 일으키는 조직에서 손상의 회복을 보장하는 충분한 회복 가능성을 갖는 안정한 세포의 성장 및 증식의 유도를 초래한다. 이후에, 신생 조직(young tissue)은 손상된 구역 및 인접한 구역들 모두에 형성된다.
- [0020] 그러나, 침습적 화장용 절차는 일반적으로 심각한 부작용들을 갖는다:
- [0021] - 레이저 방사선 및 강력한 펄스 광을 사용할 때, 여드름, 헤르페스성 감염, 침식;
- [0022] - 저온 처리를 적용할 때, 적색화(reddening), 혈종 형성 및 터치에 대한 압통(tenderness); 처리가 이루어진 구역에서의 얼얼한 감각(tingling sensation) 및/또는 이러한 구역의 저림(numbsness);
- [0023] - 화학적 필링(chemical peeling) 및 미세연마술(microdermabrasion) 이후에, 과색소침착 스팟(hyperpigmented spot)의 발생 및 헤르페스성 피부 질환의 악화;
- [0024] - 전기 절차에서, 색시증(chromatopathy)(피부 침착 질환);
- [0025] - 고주파 절차에서, 통증, 피부 적색화, 부종, 수포;
- [0026] - 자외선 절차에서, 피부 아래의 서서히 용해하는 장애성 또는 혈액 스팟.
- [0027] 이에 따라, 침습적 화장용 절차는 일부, 낮은 HSP 세포 함량과 관련한 낮은 수준의 회복 공정의 이유로, 문제가 있는 조직에서 비가역적으로 손상된 세포들의 보다 비율을 야기시킨다. 이에 따라, 정상 피부 구조의 재생은 지연되는 반면, 부작용의 확률은 커진다.
- [0028] 예를 들어, 피부에 의한 에너지의 흡수 및 이의 가열을 수반하는 침습적 화장용 절차를 수행하는데 있어서, HSP 합성 유도제로서, 중금속, 살리실레이트, 비-스테로이드 항염증 제제, 니코틴, 알코올, PPAR-감마 효능제, 카페인 또는 이들의 혼합물을 포함하는 화장료 조성물의 사용이 알려져 있다. 이러한 제제의 적용은 사전에 또는 가열의 개시와 동시에 수행하도록 제안되었다[US 20080031833, 2008년].
- [0029] 제안된 방법의 한계는 HSP 발현의 효과적인 향상의 요구되는 전제 조건은 화장용 절차에서 사용되는 디바이스의 작용에 의해 야기되는 피부의 가열이라는 사실이다. 결과적으로, 화장료 조성물의 적용은 침습적 화장용 절차의 개시 시에 낮은 HSP 수준으로 인하여 가능한 부작용으로부터의 보호를 보장하지 못한다.
- [0030] 피부과용 자외선 절차를 수행함에 있어서, 이들의 추가 구성성분들로서, 열 충격 단백질 합성을 유도하는 제제들, 예를 들어 아세틸살리실산, 살리실산, 아연 화합물들(아연 설페이트, 아연 L-카르노신)을 함유하는 조성물의 사용이 알려져 있다[US 20110269693, 2011년].
- [0031] 상기 조성물들의 한계는 HSP의 가장 큰 유도가 단지 이러한 절차에서 사용되는 스트레스 인자와 함께 관찰된다는 사실이다.
- [0032] 이에 따라, 스트레스 없이 HSP를 효과적으로 유도하는 제제에 대한 연구는 최우선 순위의 실용적 목적이다. 이의 달성은 일반적으로 집중적이고 빠르게 성장하는 손상 스트레스, 예를 들어 침습적 화장용 절차, 육상 운동(athletic workout)을 포함하는 매우 격렬한 신체 운동, 및 신체의 회복 시스템의 정상적인 기능화를 붕괴시키는 불리하고 유해한 조건들에서의 작업에 대한 세포, 조직 및 유기체의 저항을 향상시킬 수 있는 기회를 제공할 것이다.

발명의 내용

[0033] 본 발명의 과제는 추가적인 스트레스 인자를 적용하기 위한 필요성 없이 인간 세포 및 동물 세포에서 가장 강력한 가능한 열 충격 단백질(HSP) 합성을 보장하는 제제(agent)를 형성하고, 상기 제제를 기반으로 하여, 회복 공정을 자극시키고 침습적 화장품 절차들의 부작용들을 감소시키기 위해 의도된 화장품 제조물을 형성하고, 상기 제제를 기반으로 하여, 식품 보충물, 식료품을 형성하고, 침습적 화장품 절차들의 부작용들을 감소시키는 방법을 제공하기 위한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0034] 이러한 목표를 달성하기 위하여, 신남산 유도체들의 군으로부터 선택된 적어도 하나의 페놀 화합물 또는 이러한 화합물들의 혼합물, 및 비이온성 계면활성제 또는 이러한 물질들의 혼합물을 적어도 75 중량%의 양으로 포함하는, 인간 세포 및 동물 세포에서 열 충격 단백질 합성을 유도하기 위한 제제가 제안된다.

[0035] 여기에서, 이러한 신남산 유도체들이 클로로겐산, 페룰산 또는 카페인산, 커큐민 또는 카페인산의 페닐에틸 에스테르인 것이 바람직하다.

[0036] 여기에서, 페놀 화합물들의 혼합물이 식물 또는 동물 기원의 원료들의 추출물에 의해 대표되는 것이 바람직하다.

[0037] 여기에서, 식물 추출물로서 커피 콩 추출물, 바람직하게 생 커피 콩 추출물이 사용되는 것이 바람직하다.

[0038] 여기에서, 비이온성 계면활성제가 10 내지 18의 친수성-친유성 밸런스(hydrophilic-lipophilic balance, HLB)를 갖는 물질들의 군으로부터 선택되는 것이 바람직하다.

[0039] 여기에서, 이러한 비이온성 계면활성제로서 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 80, PEG-40 수산화된 캐스터 왁스, 35-폴리옥시에틸화된 캐스터 오일 또는 PEG-15 하이드록시스테아레이트가 사용되는 것이 바람직하다.

[0040] 또한, 본원에는 신남산 유도체들의 군으로부터 선택된 적어도 하나의 페놀 화합물 또는 이러한 화합물들의 혼합물, 및 비이온성 계면활성제 또는 이러한 물질들의 혼합물을 적어도 75 중량%의 양으로 포함하는 열 충격 단백질 합성 유도제를 포함하는, 회복 공정(reparative process)들을 자극시키기 위한 화장품 제조물(cosmetic preparation)이 기술되어 있다.

[0041] 여기에서, 이러한 제제가 열 충격 단백질 합성 유도제를 적어도 0.1%, 바람직하게 0.5 내지 5%의 양으로 함유하는 것이 바람직하다.

[0042] 여기에서, 이러한 제제가 아스코르브산 또는 이의 유도체들을 0.01 내지 20 중량%의 양으로 추가적으로 함유하는 것이 바람직하다.

[0043] 여기에서, 이러한 제제가 천연 또는 합성 지용성 항산화제 또는 이러한 항산화제들의 혼합물을 0.01 내지 2 중량%의 양으로 추가적으로 함유하는 것이 바람직하다.

[0044] 여기에서, 천연 또는 합성 지용성 항산화제로서, 토코페롤, 카로틴, 레티놀, 루테인, 라이코펜, 유비퀴논 또는 이들의 유도체들을 사용하는 것이 바람직하다.

[0045] 여기에서, 화장품 제조물은 에멀전, 크림(cream), 밀크(milk), 밤(balm), 연고, 젤, 샴푸, 토닉(tonic), 로션, 또는 포마드(pomade)의 형태일 수 있다.

[0046] 또한, 본원에는 신남산 유도체들로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 페놀 화합물 또는 이러한 화합물들의 혼합물, 및 비이온성 계면활성제 또는 이러한 물질들의 혼합물을 적어도 75 중량%의 양으로 포함하는 열 충격 단백질 합성 유도제를 포함하는, 침습적 화장품 절차(aggressive cosmetic procedure)들의 부작용들을 감소시키기 위한 화장품 제조물이 기술된다.

[0047] 바람직하게, 화장품 제조물은 열 충격 단백질 합성 유도제를 적어도 0.1%, 바람직하게 0.5 내지 5%의 양으로 함유한다.

[0048] 여기에서, 화장품 제조물이 아스코르브산 또는 이의 유도체들을 0.01 내지 20 중량%의 양으로 추가적으로 함유하는 것이 바람직하다.

- [0049] 여기에서, 화장료 제조물이 천연 또는 합성 지용성 항산화제 또는 이러한 항산화제들의 혼합물을 0.01 내지 2 중량%의 양으로 추가적으로 함유하는 것이 바람직하다.
- [0050] 여기에서, 천연 또는 합성 지용성 항산화제로서, 토크페롤, 카로틴, 레티놀, 루테인, 라이코핀, 유비퀴논 또는 이들의 유도체들을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0051] 여기에서, 화장료 제조물은 에멀전, 크림, 밀크, 밤, 연고, 젤, 샴푸, 토닉, 로션, 또는 폼의 형태일 수 있다.
- [0052] 또한, 본원에는 침습적 화장용 절차들의 부작용들을 감소시킬 목적을 위하여 피부 상의 이러한 절차들의 위치에서 화장료 제조물의 적용과 함께 이러한 절차들의 수행을 포함하며, 제제가 수행된 절차들 이전 및/또는 동안에 및/또는 이후에 적용되는, 침습성 화장용 절차들의 부작용들을 감소시키는 방법이 기술된다.
- [0053] 또한, 본원에는 신남산 유도체들의 군으로부터 선택된 적어도 하나의 페놀 화합물 또는 이러한 화합물들의 혼합물, 및 비이온성 계면활성제 또는 이러한 물질들의 혼합물을 적어도 75 중량%의 양으로 포함하는 열 충격 단백질 합성 유도제를 포함하는 식품 보충물(food supplement)이 기술된다.
- [0054] 여기에서, 식품 보충물이 열 충격 단백질 합성 유도제를 적어도 1%의 양으로 함유하는 것이 바람직하다.
- [0055] 여기에서, 식품 보충물이 아스코르브산 또는 이의 유도체들을 0.01 내지 20 중량%의 양으로 추가적으로 함유하는 것이 바람직하다.
- [0056] 여기에서, 식품 보충물이 천연 또는 합성 지용성 항산화제 또는 이러한 항산화제들의 혼합물을 0.01 내지 2 중량%의 양으로 추가적으로 함유하는 것이 바람직하다.
- [0057] 여기에서, 천연 또는 합성 지용성 항산화제로서, 토크페롤, 카로틴, 레티놀, 루테인, 라이코핀, 유비퀴논 또는 이들의 유도체들을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0058] 여기에서, 이러한 식품 보충물은 캡슐, 정제, 분말, 과립, 미소구체, 환제, 캔디, 현탁액, 에멀전 또는 가용화물의 형태일 수 있다.
- [0059] 또한, 본원에는 신남산 유도체들의 군으로부터 선택된 적어도 하나의 페놀 화합물 또는 이러한 화합물들의 혼합물, 및 비이온성 계면활성제 또는 이러한 물질들의 혼합물을 적어도 75 중량%의 양으로 포함하는 열 충격 단백질 합성 유도제를 포함하는, 식료품(foodstuff)이 기술된다.
- [0060] 여기에서, 식료품이 열 충격 단백질 합성 유도제를 적어도 0.001%, 바람직하게 0.01 내지 0.5%의 양으로 함유하는 것이 바람직하다.
- [0061] 여기에서, 식료품이 아스코르브산 또는 이의 유도체들을 0.01 내지 20 중량%의 양으로 추가적으로 함유하는 것이 바람직하다.
- [0062] 여기에서, 식료품이 천연 또는 합성 지용성 항산화제 또는 이러한 항산화제들의 혼합물을 0.01 내지 2 중량%의 양으로 추가적으로 함유하는 것이 바람직하다.
- [0063] 여기에서, 천연 또는 합성 지용성 항산화제로서, 토크페롤, 카로틴, 레티놀, 루테인, 라이코핀, 유비퀴논 또는 이들의 유도체들을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0064] 여기에서, 식료품은 소비용으로 준비된 제품(ready-for-consumption product), 인스턴트 식품(instant food), 식품 농축물(food concentrate) 또는 음료 형태일 수 있다.
- [0065] 또한, 본원에는 수행된 절차 이전 및/또는 동안 및/또는 이후에 식품 보충물 또는 식료품의 소비에 의해 수반되는 이러한 절차들의 수행을 포함하는, 침습적 화장용 절차들의 부작용들을 감소시키는 방법이 기술된다.
- [0066] 본 저자들에 의해 검토된 여러 문헌 및 특허 소스들에서는 세포에서 열 충격 단백질 합성을 유도하는 다양한 물질들이 존재함을 나타내고 있다. 여기에서, 본 저자의 연구에 의해 입증된 바와 같이, 가장 큰 관심은 페놀산들로부터 유래된 천연 페놀 화합물들에 있다.
- [0067] 천연 페놀 화합물들은 식물 또는 동물 기원의 생원성 원료(biogenic raw material)로부터의 추출에 의해 그리고 또한 합성적으로, 반-합성적으로 및 바이오기술로 형성된다. 이러한 것들의 화학적 조성은 상당히 다양하다. 페놀산, 플라보노이드, 폴리페놀 아민 및 혼합된 구조 폴리페놀은 천연 페놀 화합물의 주요 대표예로서 확인된다.

- [0068] 식물에서, 페놀 화합물들은 유리 상태(free state) 또는 글리코사이드 형태이다. 가장 다양한 생물학적 성질들을 갖는 경우에, 이러한 것들은 인간 유기체에서 여러 생리학적 과정들에 영향을 미칠 수 있다. 페놀 화합물들은 오래 전에 의학에서의 이들의 사용을 발견하였으며, 여기서 이러한 것들은 이들의 강장성(adaptogenic), 자극화 및 진경성(spasmolytic) 작용을 이유로 가치가 있으며, 이러한 것들은 신경증 및 관상동맥 부전을 치료하는데 사용된다. 페놀 화합물들은 이뇨제, 진정제, 담즙 분비촉진제 및 지혈제 작용을 갖는다.
- [0069] 포유동물 세포에서 HSP의 합성(유도)을 자극시키는 능력은 페놀산들의 유도체들에 속하는 천연 페놀 화합물들, 즉 벤조산 및 신남산에서 발견된다.
- [0070] 퇴행성 질환들, 상처들, 나이-관련 변화들 및 다른 질환들 또는 질병들 동안 중추 및 말초 신경계의 세포가 퇴화(degradation) 및 사멸(perishing)되는 것으로부터 보호하기 위해, HSP를 포함하는, 신경보호 펩티드들을 유도할 수 있는, 신남산 유도체인 페놀산들과 관련된 천연 폴리페놀의 사용이 알려져 있다[US 20040167217, 2004년]. 그러나, 자체적으로, 상기 화합물들은 단지 손상 인자들의 효과의 백그라운드에 대해 HSP의 합성을 자극하는 능력에 의해 특징되는데, 이는 단지, 비-급성 병리학적 과정들, 이러한 것들 중에서 퇴행성 질환, 나이-관련 신경계 변화, 외상후 염증 및 신경계의 허혈 증상에서 신경 세포의 아포토시스를 억제하기 위해 이러한 화합물을 사용하는 것을 가능하게 만든다.
- [0071] 그러나, 유기체에 상기 화합물들의 사전 투여(prior administration)는 손상 작용(damaging action)(스트레스)시에 충분히 높은 HSP 수준을 보장하지 못한다. 요구되는 HSP 수준은 이러한 작용의 시작 이후 단지 얼마 후에 도달된다. 이는 손상된 분자들의 대량 축적을 야기시키고, 특히 빠르고 성장하고 극심한 손상 작용의 경우에, 높은 비율의 비가역적으로 손상된 세포들에 의해 수반된다.
- [0072] 여러 실험들 및 연구를 수행함으로써, 본 저자들은 비이온성 계면활성제(NIS) 마이셀, 예를 들어 폴리소르베이트들 및 에톡실화된 캐스터 오일의 구조에 신남산 유도체들의 군으로부터 선택된 천연 폴리페놀들의 포함이 시험관내 및 생체내 둘 모두에서 높은 HSP 유도 수준을 초래한다는 것을 발견하였다.
- [0073] 여기에서, 얻어진 신남산 유도체들을 지닌 NIS의 제제는 자가-에멀전화되고, 이의 조성에 있어 생물학적 활성 물질들의 높은 생체이용률에 의해 특징된다.
- [0074] "자가-에멀전화 제제(self-emulsifying agent)"는 계면활성제(surfactant)를 기초로 한 물질을 의미하는 것으로서, 이는 분산 매질에 첨가될 때, 적당한 교반과 함께 기술적 절차들로 안정한 분산물을 형성한다. 이러한 제제의 자가-에멀전화 성질들은 유기체에 투여하는 다양한 방법들에서 이러한 제제에서 사용되는 생물학적 활성 물질들의 높은 생체이용률을 보장하고, 다양한 화장품들, 약제들, 및 식료품들에 이러한 제제를 포함시키는 것을 편리하게 만든다. 여기에서, 10 내지 18의 HLB를 갖는 계면활성제들을 사용하는 것이 바람직하다. 화장품, 식품 및 약제 목적을 위하여, 최근에는 이의 낮은 독성을 이유로, 비이온성 계면활성제들이 바람직하다.
- [0075] 추가 스트레스 없이 HSP를 강력하게 유도하기 위한 NIS 마이셀들의 성분들로서 발견된 신남산 유도체들의 능력은 회복 공정들을 자극시키고 강력하고 빠르게 성장하는 타입의 스트레스에 대한 유기체 세포들의 내성을 증가시키기 위해 유망한 것으로서 상기 조성을 갖는 제제를 고려하는 것을 가능하게 한다. 강력하고 빠르게 성장하는 타입의 스트레스의 리스트(list)는, 비제한적으로, 침습적 화장용 절차, 육상 운동(athletic workout)을 포함하는 힘든 신체 운동(hard physical exertion), 및 또한 불리하고 해로운 조건 하에서의 다양한 작업들을 포함한다.
- [0076] 여기에서, 변성 단백질들의 본래 형태(native conformation)를 회복시킴으로써, HSP는 같은 이유로 형성된 손상된 생체거대분자 및 초거대분자 세포 구조의 재생(회복)의 토대를 마련하는 모든 공정들의 높은 효율을 보장한다. 동시에, HSP는, 재생되지 않는 손상된 단백질들과의 상호작용에 의해, 신규한 단백질들의 재합성을 위한 아미노산들의 형성과 함께 세포에서의 이들의 이화작용을 유도한다.
- [0077] 회복 공정들을 자극시키고 침습적 화장용 절차들의 부작용들을 감소시키기 위하여, 제시된 제제는 화장품 제조물들, 식품 보충물들 및 식료품들의 구성성분으로서 사용될 수 있다.
- [0078] 침습적 화장용 절차들의 부작용들을 감소시키는 청구된 방법은 상기 절차 이전, 동안 및 이후에 청구된 HSP 유도제를 함유하는 화장품 제조물의 적용 및/또는 식품 보충물 또는 식료품의 소비를 포함한다.
- [0079] 용어 "침습적 화장용 절차"는 세포에서 기능적 및/또는 구조적 분해를 야기시킬 수 있는 물리적 또는 화학적 인자들의 효과가 사용되는 화장용 절차들을 의미한다. 보상 능력을 배제하지 않는, 이러한 절차들에 적용된 제한된 세포 및 조직 손상은 피부 회춘(skin rejuvenation) 및 이의 정상 구조의 회복을 초래하는 공정들의 활성화

에 기여한다.

- [0080] 청구된 제제의 적용이 이의 효능의 상승 및 수반되는 요망되지 않는 효과의 감소를 초래하는 침습적 화장용 절차들의 리스트는, 비제한적으로 레이저 분할점 광열분해(laser fractional photothermolysis), 레이저 필링(laser peeling), 광제모술(photoepilation), 광회춘술(photorejuvenation), 색소반(pigment spot)의 광-제거, 모세관 확장증의 광-제거 및 레이저 방사선 또는 강력한 펄스 광을 이용하여 수행되는 다른 절차들, 저온(냉온) 및 고열 피부학적 절차들, 전기제모 및 다른 전기적 절차들, 고주파 절차들, 초음파 클리닝 및 다른 초음파 절차들, 미세연마술, 기계적 클리닝, 화학적 필링 등을 포함한다.
- [0081] 청구된 HSP 유도제를 함유한 화장료 제조물의 적용, 및/또는 청구된 HSP 유도제를 함유한 식품 보충물 또는 식료품의 소비는, 침습적 화장용 절차의 과정 이전 및 동안, 뿐만 아니라 후속 회복 기간의 과정에, 이러한 절차에 대해 고유의 부작용들의 수를 줄일 수 있고, 이러한 회복 시기의 기간을 줄일 수 있다.
- [0082] 기술된 제제를 형성하기 위하여, 화장료, 약제 또는 식품을 위해 허용 가능한 하기 물질들이 사용된다:
- [0083] - 0.1 내지 25 중량% 양의 신남산 유도체들의 군으로부터 선택된 적어도 하나의 페놀 화합물 또는 이들의 혼합물;
- [0084] - 75 내지 99.9 중량% 양의 비이온성 계면활성제, 바람직하게 10 내지 18의 친수성-친유성 밸런스(HLB)를 갖는 비이온성 계면활성제, 또는 이러한 물질들의 혼합물.
- [0085] 신남산 유도체들로서, 클로로겐산, 페룰산 또는 카페인산, 커큐민 또는 카페인산의 페닐에틸 에스테르가 사용된다. 그러나, 상기 리스트는 다른 신남산 유도체들의 사용을 제한하지 않을 것이다. 본원에 청구된 본 발명에서 상술된 화합물들의 사용은 식물 또는 동물 기원의 원료들로부터의 추출물들에서의 구성성분들로서 확인되는 이들의 가능성을 가정한다. 이러한 추출물의 예로서, 비제한적으로, 다른 추출물들을 사용하는 가능성은 다른 하이드록시신남산(페룰산 및 카페인산)과 클로로겐산의 혼합물에 풍부한 카페인 제거된 커피 콩 추출물을 제공할 수 있다. 가장 높은 클로로겐산 함량을 갖는 추출물은 생 커피 콩으로부터 얻어진다.
- [0086] 본원에 기술된 본 발명은 높은 가용화 용량을 갖는, 10 내지 18의 HLB를 갖는 마이셀-형성 NIS를 사용한다. 이러한 화합물들은, 본 발명의 목적을 위한 다른 NIS를 사용하는 가능성을 제한하지 않으면서, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 80, PEG-40 수화된 캐스터 오일(Cremophor RH 40), 35-폴리옥시에틸화된 캐스터 오일(Cremophor EL), 및 PEG-15 하이드록시스테아레이트(Solutol HS 15)를 포함한다.
- [0087] 청구된 제제를 형성하기 위하여, 요망되는 양의 천연 페놀 화합물 또는 이러한 화합물들의 혼합물은 80℃로 가열된 NIS에 용해된다. 사용되는 NIS에 따라, 실온으로 냉각 시에, 액체의 투명한 조성물, 또는 30 내지 40℃로 가열 시에 투명한 액체로 변하는 페이스트-형의 불투명한 조성물이 얻어진다. 얻어진 조성물들의 칼라는 이들의 성분들의 칼라들에 의해 결정된다.
- [0088] 조성물들의 자가-에멀전화 특성은 실온에서 이러한 액체 조성물들을 최대 30 중량%의 양으로 물에 첨가하고 와류 믹서에서 2,000 rpm에서 30초 동안 교반할 시에, 투명하거나 약한 유백색의 분산물이 형성되고 실온에서 적어도 3달의 기간 동안 안정적이다. 페이스트-형 조성물의 경우에, 이러한 분산물의 제조는 35℃ 이상의 온도에서 그리고 동일한 교반 조건들 하에서 수행되어야 한다. 그러한 경우에, 적어도 3달의 저장 안정성을 갖는 유백색의 분산 시스템이 형성된다.
- [0089] 증가된 HSP 유도 용량을 갖는 더욱 안정한 제제를 형성하기 위하여, 동물 및 인간 세포들에서 천연 폴리페놀성 화합물들 및 이들의 산소화된 형태들을 환원시킬 수 있는 추가적인 물질들 및 또한 소수성 항산화제들이 조성물에 첨가된다. 본원에 기술된 본 발명에 대하여, 제제로서, 환원된 천연 폴리페놀성 화합물들, 아스코르브산 및 이의 유도체들(아스코르브산 염들, 아스코빌 글루코사이드, 아스코빌 팔미테이트, 아스코빌 스테아레이트)이 사용되는 것이 바람직하다. 본 발명에서 사용되는 소수성 항산화제들의 리스트는 토코페롤, 카로틴, 레티놀, 루테인, 라이코펜, 유비퀴논 및 이들의 유도체들을 포함한다. 상기 리스트들은 다른 환원제들 및 다른 소수성 항산화제들을 사용할 가능성을 제한하지 않는다.
- [0090] 인간 세포 및 동물 세포에서 열 충격 단백질 유도를 위한 본원에 제시된 제제는 하기와 같이 얻어진다.
- [0091] 필수적인 양의 천연 페놀 화합물 또는 이러한 화합물들의 혼합물과 함께, 0.01 내지 20 중량% 양의, 동물 및 인간 세포들에서 상기 페놀 화합물들 및 이들의 산소화된 형태들을 환원시킬 수 있는 물질(예를 들어, 아스코르브산 또는 이의 유도체들), 및 0.01 내지 2 중량% 양의 천연 또는 합성 지용성 항산화제 또는 이러한 항산화제들

의 혼합물은, 이러한 모든 물질들이 소수성(지용성)인 경우에, 80℃로 가열된 NIS에 용해된다. 이러한 것들이 친수성인 경우에, 수중의 친수성 화합물들의 용액은 먼저 80℃에서 제조되며, 이후에 그러한 용액은 NIS 중의 소수성 항산화제의 용액과 혼합된다. 최대 10 중량%의 물 함량이 제제에서 허용된다. 사용되는 NIS에 따라, 실온으로 냉각 시에, 액체의 투명한 조성물, 또는 30 내지 40℃로 가열 시에 투명한 액체로 변하는 페이스트-형의 유백색 조성물이 얻어진다. 얻어진 조성물의 칼라는 이의 구성성분들의 칼라들에 의해 결정된다.

- [0092] 청구된 제제 중에 낮은 함량의 물 또는 물의 부재는 이의 조성물 중에서 오랜 시간 동안 생물학적 활성 물질들의 안정성을 보장한다. 실온에서 본 발명에서 청구되는 제제, 및 이의 액체 또는 페이스트-형 물리적 상태는 이를 화장품 제조물, 식품 보충물, 식료품 및 약제의 생산을 위한 편리한 구성성분으로 제공한다. 또한, 이러한 제제의 무수 구체예들은 성분으로서 물이 허용되지 않는 상품의 생산을 위해 고려된다. 예를 들어, 이러한 제제는 식품 첨가제 또는 약품으로서 사용하기 위해 의도된 연질 젤 캡슐의 충전제로서 사용될 수 있다.
- [0093] 회복 공정들을 자극하기 위한 화장품 제조물들, 및 침습적 화장용 절차들의 부작용들을 감소시키기 위한 화장품 제조물들을 형성하기 위하여, 상술된 바와 같이 얻어진 인간 세포 및 동물 세포에서의 열 충격 단백질 유도를 위한 제제는 임의의 생산 단계에서 첨가된다.
- [0094] 바람직한 구체예에서, 이러한 제제는 화장품 제조물의 생산 공정의 마지막 스테이지에서 페이스트형의 경우에 35 내지 40℃의 온도에서, 및 액체 조성물의 경우에 보다 낮은 온도에서 첨가된다. 청구된 제제의 자가-에멀전화 특성은 생성물 중에 제제의 효과적인 분산을 달성하기 위한 격렬한 교반을 중지하게 할 수 있다. 이에 따라, 균일한 화장품은 에멀전, 현탁액, 크림, 밀크, 젤, 연고, 밤(balm), 샴푸, 토닉, 로션, 또는 폼의 형태로 얻어질 수 있다. 청구된 제제는 수중유 및 유중수 화장품 베이스 모두와 혼화 가능하다.
- [0095] 필수적인 생활성을 보장하기 위하여, 기술된 화장품 제조물들은 청구된 열 충격 단백질 유도제를 적어도 0.1%, 바람직하게 0.5 내지 5%의 양으로 함유할 것이다.
- [0096] 최적의 생활성 징후를 갖는化妆품을 수득하기 위하여, 조성물에 아스코르브산 또는 이의 유도체들이 0.01 내지 20 중량%의 양으로 첨가되고/거나 천연 또는 합성 지용성 항산화제 또는 이러한 항산화제들의 혼합물이 0.01 내지 2 중량%의 양으로 첨가된다. 토코페롤, 카로틴, 레티놀, 루테인, 라이코펜, 유비퀴논 또는 이들의 유도체들은 천연 또는 합성 지용성 항산화제로서 사용될 수 있다.
- [0097] 이러한 화장품 제조물들은 보습 효과, 재생 작용, 콜라겐 합성을 자극하기 위한 능력을 갖는 물질들, 비타민들, 세포 성장 인자들, 및 화장품 목적을 위해 사용하기 위해 허용되는 천연 및 화학물질 기원의 다른 구성성분들을 포함하는, 다양한 생물학적 활성 물질들을 추가적으로 함유할 수 있다.
- [0098] 청구된 열 충격 단백질 유도제의 사용하여 식품 보충물을 생산함에 있어서, 식품 보충물의 조성물에 이의 가장 큰 가능한 양이 포함되는 것이 바람직하다. 1% 미만의 청구된 제제의 사용은 유효 용량의 활성 성분들을 보장하기에 어렵기 때문에 비실용적이다.
- [0099] 이와 관련하여, 열 충격 단백질 유도제의 무수 구체예들이 고려되는데, 이는 가장 큰 가능한 함량의 제제로 연질 젤 캡슐을 채우기 위해 적용 가능하다. 현탁액, 에멀전, 가용화물 및 캔디를 형성하기 위하여, 청구된 제제는 임의의 기술적 스테이지에서 첨가되는데, 여기에서, 또는 이후에, 충분히 지속적이지만 본질적으로 격렬하지 않은 교반이 고려된다.
- [0100] 습식 과립화에 의해 이의 알코올 용액들을 사용한 청구된 제제를 함유한 과립화된 물질의 제조는 각각의 보조 구성성분들의 사용과 함께, 제형에 대한 표준 생산 공정에 따라 젤 캡슐, 정제, 분말, 과립, 미소구체, 및 환제의 생산을 확보한다.
- [0101] 청구된 제제를 함유한 식품 보충물들의 생산은 이러한 제제와 단독으로 그리고 다른 생물학적 활성 성분들과 함께 가능하다.
- [0102] 식품 보충물들의 생산을 위해 기술되는 기술적 방법들은 또한 소비용으로 준비된 제품, 인스턴트 식품, 식품 농축물 또는 음료 형태의 식료품 제품을 수득하기 위해 사용될 수 있다. 식료품들이 다량 소비된다는 것을 고려하여, 식료품 중의 청구된 제제의 함량은 식품 보충물에서 보다 낮아야 한다. 그러나, 식료품 중에 0.001% 미만의 청구된 제제의 함량은 비실용적이다. 바람직하게, 식료품 중의 청구된 제제 함량은 0.01 내지 0.5%이어야 한다. 1% 초과 함량은 소비될 때 희석되는 것을 가정하여 식품 농축물에서 허용 가능하다.
- [0103] 본원에 청구된 열 충격 단백질 유도제를 사용하여 침습적 화장용 절차들의 부작용들을 감소시키는 방법은 하기

와 같이 수행된다:

- [0104] 침습적 화장용 절차들 이전 및/또는 동안 및/또는 이후에, 청구된 제제를 함유한 화장료 제조물은 상기 절차들의 장소에서 피부에 적용되고/거나 환자는 청구된 제제를 함유한 식품 보충물 또는 식료품을 소비한다.
- [0105] 표면 침습적 화장용 절차들(레이저 분할점 광열분해, 레이저 필링, 광제모술, 광회춘술, 색소반의 광-제거, 모세관 확장증의 광-제거 및 레이저 방사선 또는 강력한 펄스 광을 이용하여 수행되는 다른 절차들, 기계적 클린징, 화학적 필링)에서, 청구된 제제의 피부 및 경구 적용의 결합된 사용 및 개별적인 사용이 허용 가능하다.
- [0106] 고려되는 절차가 깊은 피부 층들 및 피하 지방 세포(저온 (냉온) 및 고열 피부학적 절차들, 전기분해 및 다른 전기 절차들, 고주파 절차들, 자외선 클린징 및 다른 자외선 절차들, 미세연마술)를 수반하는 경우에, 개개 적용은 청구된 제제를 함유한 경구 제품들에 대해서만 실용적일 수 있다.
- [0107] 화장료 제조물은 침습적 화장용 절차의 과정에서 처리되는 피부 표면 1 cm² 당 0.05 내지 0.2 g의 양으로 피부 표면 상에 손으로 적용된다. 식품 보충물 또는 식료품은 하루에 체중 1 kg 당 1 내지 15 mg의 청구된 제제, 바람직하게 2 내지 10 mg/kg/일의 청구된 제제를 함유하는 양으로 투여되어야 한다.
- [0108] HSP 유도 시간 특징들을 고려하여, 청구된 제제를 함유한 화장품들의 적용 및/또는 청구된 제제를 함유한 식품 보충물들 또는 식료품들의 투여는 침습적 화장용 절차 1 내지 3일 이전에 개시될 것이다. 상기 절차들을 완료한 후에, 재활 기간의 완료할 때까지 수 주 동안에 상승된 수준의 회복 공정들을 유지하기 위하여 청구된 제제를 함유한 제품들의 적용을 지속하는 것이 타당하다.
- [0109] 침습적 화장용 절차들의 부작용들을 감소시키는 방법에 기술된 청구된 제제를 함유한 식품 보충물들 또는 식료품들의 투여는 또한, 힘든 신체 운동 이후에 근육 세포들에 대한 손상 범위를 줄이는 것을 가능하게 한다. 힘든 신체 운동은 육상 운동, 불리하고 유해한 노동 조건 하에서의 다양한 작업들을 포함하고, 인용된 리스트로 제한되지 않을 것이다.
- [0110] 식품 보충물 또는 식료품은 그러한 경우에서 하루에 체중 1 kg 당 1 내지 15 mg의 청구된 제제, 바람직하게 5 내지 10 mg/kg/일의 청구된 제제를 함유한 양으로 얻어질 것이다. 상기 식품 보충물 또는 식료품의 투여는 힘든 신체 운동 1 내지 3일 이전에 시작되고 재활 기간이 완료될 때까지 수 주 동안에 상승된 수준의 회복 공정들을 유지시키기 하기 위해 지속되어야 한다.
- [0111] 하기 실시예는 본 발명의 범위를 한정하지 않으면서 기술된 발명을 예시하는 것이다.
- [0112] 실시예
- [0113] 실시예 1 내지 12. NIS 및 신남산 유도체의 다양한 옵션(option)들
- [0114] 제제를 생산하기 위하여, 필수적인 양의 NIS를 80℃로 가열하였다. 그러한 후에, 요구되는 양의 신남산 유도체를 표 1에 따라 첨가하였다.
- [0115] 상기 명시된 온도를 유지하면서 첨가되는 물질이 완전히 용해될 때까지 혼합물을 교반하였다. 이후에, 제조된 조성물을 실온으로 냉각시키고, 사용되는 NIS에 따라, 투명한 액체 또는 불투명한 페이스트형 조성물을 수득하였다.

[0116] 표 1

구성성분	실시에에서 구성성분 함량(그램)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
신남산 유도체												
클로로겐산	10.0					10.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	
페룰산		5.0										
카페인산			2.5									
커큐민				0.5								
카페인산의 페닐에틸 에스테르					1.0							
커피 콩 추출물 (Svetol)												25.0
NIS												
Polysorbate 20 (Tween 20)						90.0						
Polysorbate 40 (Tween 40)							95.0					
Polysorbate 60 (Tween 60)								95.0				
Polysorbate 80 (Tween 80)	90.0	95.0	97.5	99.5	99.0							75.0
PEG-40 수화된 캐스터 오일 (Cremophor RH 40)									95.0			
35-폴리옥시에틸화된 캐스터 오일 (Cremophor EL),										95.0		
PEG-15 하이드록시스테아레이트 (Solutol HS 15)											95.0	
얻어진 생성물 상태	L	L	L	L	L	L	P	P	P	P	P	L

주석

L - 37℃로 가열된 물과 혼합할 때 약한 유백색의 가용화물을 형성하는 투명한 액체 조성물:

P - 35℃로 가열되는 경우에 투명한 액체로 변하는 페이스트-형 유백색 조성물. 37℃로 가열된 이러한 액체와 이러한 온도로 가열된 물의 혼합은 상당히 유백색인 분산 시스템을 형성하고, 적어도 3개월 동안 실온에서 안정하다.

[0117]

[0118]

이러한 조성물들은 화장품 제조물, 식품 보충물 및 식료품을 생산하는데 사용될 수 있다.

[0119]

실시에 13. 스트레스 인자에 대한 추가 노출 없이, 폴리소르베이트 80을 갖는 조성물들의 성분들로서 클로로겐산, 페룰산, 카페인산, 커큐민, 카페인산의 페닐에틸 에스테르 및 커피 콩 추출물(Svetol)에 대한 노출 하에서 시험관 내에서 케라틴사이트 배양물의 세포에서의 HSP70 함량의 증가

[0120]

케라틴사이트들을 화장품 개재의 과정에서 이들의 사전 동의를 받은 건강한 지원자들로부터 수집된 피부 샘플들로부터 얻었다. 피하 지방이 제거된, PBS 중에서 세척된 피부 섹션들을 디스파제(dispase)-함유 PBS 용액 중에서 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 이후에, 표피를 피부(derma)로부터 분리하고, 37℃에서 트립신 및 EDTA를 함유한 용액에 넣었다. 인큐베이션의 완료 시에, 대두 트립신 억제제를 첨가하여 매질 중의 트립신 활성을 억제하고, 재현탁 후에, 케라틴사이트들을 원심분리를 이용하여 침전시켰다. 이에 의해 얻어진 세포들을 37℃에서 5% CO₂가 첨가된 배양 플라스크에서 성장 인자들이 첨가된 케라틴사이트를 위한 혈청-부재 매질에서 배양하였다. 매질을 3 내지 4일마다 교체하였다. 실험하기 하루 전에, 3×10^5 개 세포의 샘플들을 6-웰 플레이트의 웰들에 넣었다.

[0121]

HSP 생산에 대한 물질들 및 조성물들의 효과를 연구하기 위하여, 배양 배지를 웰로부터 제거하고, 각 웰을 사전에 준비되고 37℃로 가열된, 실시에 1 내지 5 및 12에 따른 폴리소르베이트 80을 갖는 신남산 유도체들의 조성물들, 또는 수용액들, 또는 낮은 수용해도를 갖는 경우에, 신남산 유도체들의 알코올 용액들을 함유한 케로티노사이트를 위한 완전 배지의 혼합물 2.0 ml로 채웠다. 요구되는 양의 용액 또는 조성물을 첨가하고, 이후에 투명한 분산액 또는 용액을 얻을 때까지 교반하여 혼합물들을 제조하였다. 인큐베이션 매질 중의 최종 농도는 신남산 유도체의 경우에 50 μM, 커피 콩 추출물의 경우에 50 μg/ml, 폴리소르베이트 80의 경우에 최대 0.25 %, 에탄올의 경우에 최대 0.05 %이다. 대조 웰들에는 0.25 % 폴리소르베이트 80 또는 0.05 % 에탄올의 인큐베이션 배지가 함유되었다.

[0122]

연구 하에서 물질 및 조성물을 갖는 배양 배지의 상술된 혼합물들을 첨가한 후에, 플레이트들 중 일부분을 42℃

에서 4시간 동안 인큐베이션하였고, 나머지를 37℃에서 동일한 시간 동안에 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후에, 인큐베이션 배지를 웰들로부터 제거하고, 세포들을 Versen 용액으로 기재로부터 탈착시키고, 원심분리를 이용하여 PBS로 세 차례 세척하였다. 얻어진 세포 잔류물을 면역발효 분석(ELISA)을 위한 샘플 제조 프로토콜에 따라 프로테아제 억제제들을 함유한 용액으로 용리하였다. 얻어진 샘플들 중의 HSP70 함량을 ELISA 방법을 이용하여 측정하였다.

[0123] 도 1은 폴리소르베이트 80을 가지고 수용액(클로로젠산, 커피 콩 추출물 Svetol) 또는 알코올 용액(페룰산, 카페인산, 커큐민, 카페인산의 페닐에틸 에스테르) 형태의 조성물들의 성분들로서 배양 배지에 상기 화합물들을 첨가한 후에 신남산 유도체들의 존재 하, 37℃ 및 42℃(열 충격)의 4시간 인큐베이션 이후 인간 케라틴사이트에서의 HSP70 합성을 나타낸 것이다.

[0124] 상대적 HSP70 함량은 37℃에서 첨가물 없이 인큐베이션을 수행한 웰에서 HSP70의 평균 절대 함량에 대한 특정된 조건을 갖는 웰에서의 절대 수치의 비율로서 계산하고, 3회 실험에 대한 평균 $\pm$ 평균의 표준 오차를 나타낸다. * - 열 충격 및 개개 물질의 첨가가 없는 샘플에서의 수치들과 비교하여 $P < 0.5$. 여기서 그리고 이후에 쌍을 이루지 않은 스튜던트 t-테스트를 사용하였다.

[0125] 얻어진 결과들(도 1)은 열 충격 하에서 달성된 것과 유사한 수준으로 스트레스에 대한 어떠한 추가적인 노출 없이 HSP70 합성을 유도하기 위한, 신남산 유도체들의 군으로부터 선택된 페놀 화합물, 또는 이러한 화합물들의 혼합물, 및 비이온성 계면활성제를 포함하는, 청구된 제제의 능력을 입증한 것이다.

[0126] 실시예 14. 스트레스에 대한 추가적인 노출 없이 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 80, PEG-40 수화된 캐스터 오일(Cremophor RH 40), 35-폴리옥시에틸화된 캐스터 오일(Cremophor EL), PEG-15 하이드록시스테아레이트(Solutol HS 15)를 갖는 조성물들의 일 성분으로서 클로로젠산에 대한 노출 하에서 시험관 내에서 섬유아세포 배양물의 세포들 중의 HSP70 함량의 증가.

[0127] 마우스 섬유아세포 NIH/3T3 세포주의 배양물을 37℃, 5% CO₂에서 L-글루타민, 페니실린, 스트렙토마이신 및 10% 배아 송아지 혈청이 첨가된 DMEM 배지에서 성장시켰다. 모노층이 80 내지 90% 컨플루언시(confluency)에 도달할 때까지, 세포 패시징(cell passaging)을 1주일에 2회 수행하였다. 실험하기 하루 전에, 3×10^5 개 세포를 6-웰 플레이트의 웰들에 첨가하였다.

[0128] HSP 생산에 대한 물질 및 조성물의 효과를 연구하기 위하여, 배양 배지를 웰로부터 제거하고, 각 웰을 사전에 제조되고 37℃로 가열된, 2.0 ml의 완전 DMEM 배지 - NIS 혼합물, 또는 실시예 6 내지 11에 따른 클로로젠산을 갖는 이들의 조성물로 채웠다. 요구되는 양의 NIS 또는 조성물들을 첨가하고 이후에 투명한 분산액 또는 용액을 수득할 때까지 교반하여 혼합물들을 제조하였다. 실시예 7 내지 11에 따른 조성물들 및 각각의 NIS를 갖는 배양 배지 혼합물들을 제조하기 전에, 상기 혼합물들의 성분들을 37℃로 가열하였다. 클로로젠산의 최종 농도는 이를 함유한 모든 웰에서 50 μ M이다. 클로로젠산이 없는 웰 중의 NIS 농도는 0.035 %이다.

[0129] 연구 하에서 물질들 및 조성물들을 갖는 배양 배지의 상술된 혼합물들을 첨가한 후에, 플레이트들 중 일부분을 42℃에서 4시간 동안 인큐베이션하고, 나머지를 37℃에서 동일한 시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 이후에, 인큐베이션 배지를 웰들로부터 제거하고, Versen 용액으로 세포들을 기재로부터 분리시키고, 원심분리를 이용하여 PBS로 세 차례 세척하였다. 얻어진 세포 잔부를 면역발효 분석(ELISA)을 위한 샘플 제조 프로토콜에 따라 프로테아제 억제제들을 함유한 용액으로 용리하였다. 얻어진 샘플들 중의 HSP70 함량을 ELISA를 이용하여 측정하였다.

[0130] 도 2는 다양한 NIS를 갖는 조성물들의 구성성분들로서 그리고 수용액 형태로 배양 배지 중에 상기 화합물들의 첨가 하에서 클로로젠산의 존재 하에 37℃ 및 42℃(열 충격)에서 4시간의 인큐베이션 후에 NIH/3T3 라인 섬유아세포들 중에서의 HSP70 합성을 도시한 것이다.

[0131] 상대적 HSP70 함량은 첨가 없이 웰에서 37℃에서 인큐베이션을 수행한 HSP70의 평균 절대 함량에 대한 특정 조건들을 갖는 웰에서의 절대 값의 비율로서 계산하고, 3회 실험에 대한 평균 $\pm$ 평균의 표준오차로서 나타낸다. * - $P < 0.05$ 는 열 충격 없이 개개 물질들이 첨가된 샘플에서의 수치를 비교한 것이다.

[0132] 얻어진 결과들(도 2)은 열 충격 하에서 달성된 것과 유사한 수준으로의 스트레스에 대한 어떠한 추가 노출 없이 HSP70 합성을 유도하기 위한, 신남산 유도체들의 군으로부터 선택된 페놀 화합물, 및 다양한 비이온성 계면활성제들 중 하나를 포함하는, 청구된 제제의 능력을 입증한 것이다.

[0133] 실시예 15 내지 23. 아스코르브산 유도체 및 소수성 항산화제와 조합한 NIS 및 신남산 유도체들에 대한 다양한

옵션들

[0134] 제제를 생산하기 위하여, 요구되는 양의 NIS를 80℃로 가열하였다. 그러한 후에, 요구되는 양의 신남산 유도체를 표 2에 따라 첨가하였다. 상기 명시된 온도를 유지하면서 첨가된 물질이 완전히 용해될 때까지 혼합물을 교반하였다. 얻어진 투명한 조성물에 아스코르빌 팔미테이트 및 소수성 항산화제를 표 1에 명시된 양으로 첨가하고, 투명한 액체를 얻을 때까지 교반하였다. 이후에, 제조된 조성물을 실온으로 냉각시키고, 사용되는 NIS에 따라, 투명한 액체 또는 불투명한 페이스트형 조성물을 수득하였다.

[0135] 표 2

구성성분	실시예에서 구성성분 함량(그램)									
	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
신남산 유도체										
클로로겐산	10.0	1.0								
커피 콩 추출물 (Svetol)			15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	10.0	
NIS										
Polysorbate 80 (Tween 80)	79.0		74.0	74.95	74.975	74.75	74.75	74.5	78.95	
Polysorbate 60 (Tween 60)		93.5								
아스코르브산 유도체										
아스코르빌 팔미테이트	10.0	5.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	
지용성 항산화제										
α- 토코페롤	1.0	0.5	1.0						0.5	
β- 카로틴				0.05					0.05	
레티놀					0.025					
루테인						0.25				
라이코펜							0.25			
유비퀴논								0.5	0.5	
얻어진 생성물 상태	L	P	L	L	L	L	L	L	L	

주석

L - 37℃로 가열된 물과 혼합할 때 약간 유백색의 가용화물을 형성하는 투명한 액체 조성물;

P - 35℃로 가열되는 경우에 투명한 액체로 변하는 페이스트-형 유백색 조성물. 37℃로 가열된 이러한 액체와 이러한 온도로 가열된 물의 혼합은 상당히 유백색인 분산 시스템을 형성하고, 적어도 3개월 동안 실온에서 안정하다.

[0136]

이러한 조성물들은 화장품 제조물, 식품 보충물 및 식료품을 생산하는데 사용될 수 있다.

[0137]

실시예 24. 제제(폴리페놀+NIS+항산화제+아스코르브산+물)의 제조

[0138]

[0139] 80℃로 가열된 69 g의 폴리소르베이트 80에 1 g의 α-토코페롤 및 10 g의 클로로겐산을 첨가하고, 투명한 조성물을 얻을 때까지 교반하였다. 10 g의 아스코르브산을 80℃로 가열된 10 g의 물에 용해시키고, 폴리소르베이트와 항산화제의 혼합물에 첨가하였다. 투명한 조성물을 얻을 때까지 혼합물을 교반하고, 실온으로 냉각하였다. 투명한 액체 조성물을 수득하고, 이는 물과 혼합될 때 투명한 가용화물을 형성한다. 이러한 조성물은 화장품 제조물, 식품 보충물 및 식료품을 생산하는데 사용될 수 있다.

[0140] 실시예 25. 제제(항산화제+NIS+폴리페놀+아스코르브산+물)의 제조

[0141]

[0141] 80℃로 가열된 78 g의 폴리소르베이트 80에 1 g의 α-토코페롤을 첨가하고, 투명한 조성물을 얻을 때까지 교반하였다. 1 g의 클로로겐산 및 10 g의 아스코르브산을 80℃로 가열된 10 g의 물에 용해시키고, 폴리소르베이트와 항산화제의 혼합물에 첨가하였다. 투명한 조성물을 얻을 때까지 얻어진 혼합물을 교반하고, 실온으로 냉각시켰다. 투명한 액체 조성물을 수득하였으며, 이는 물과 혼합될 때 투명한 가용화물을 형성한다. 이러한 조성물은 화장품 제조물, 식품 보충물 및 식료품을 생산하는데 사용될 수 있다.

[0142] 실시예 26. 생 커피 콩 추출물+NIS+아스코르브산+항산화제+물로의 제제의 제조

- [0143] 80℃로 가열된 77 g의 폴리소르베이트 80에 1 g의 α-토코페롤을 첨가하고, 투명한 조성물을 얻을 때까지 교반하였다. 2 g의 생 커피 콩 추출물 및 10 g의 아스코르브산을 80℃로 가열하고, 폴리소르베이트와 토코페롤의 혼합물에 첨가하였다. 투명한 액체를 얻을 때까지 얻어진 혼합물을 교반하고, 실온으로 냉각하였다. 투명한 액체 조성물을 수득하였으며, 이는 물과 혼합될 때 투명한 가용화물을 형성한다. 이러한 조성물은 화장품 제조물, 식품 보충물, 및 식료품을 생산하는데 사용될 수 있다.
- [0144] 실시예 27. 단지 NIS를 갖는 클로로겐산의 조성물의 노출과 비교하여 NIS, 아스코르브산 유도체 및 항산화제를 갖는 클로로겐산의 조성물의 노출 하에서, 시험관내에서의 섬유아세포 배양 세포 중의 HSP70 함량의 더욱 강력하고 안정한 증가의 측정
- [0145] 마우스 섬유아세포 NIH/3T3 세포주의 배양물을 제조하고, 실시예 14에 기재된 바와 같은 실험을 위해 준비하였다.
- [0146] HSP 생산에 대한 섬유아세포들의 효과를 연구하기 위하여, 배양 배지를 웰들로부터 제거하고, 각 웰을 미리 제조되고 37℃로 가열된, 조성물, 또는 이러한 조성물에 의해 이루어진 물질들의 상기 매질 중의 용액을 갖는 2.0 ml의 완전 DMEM 배지 혼합물로 채웠다. 실시예 1 내지 15에 따른 조성물, 뿐만 아니라 폴리소르베이트와 α-토코페롤의 조성물, 및 폴리소르베이트 80과 아스코르빌 팔미테이트의 조성물을 사용하였으며, 이는 실시예 15에 기술된 비율로 혼합될 때 수득된 것이다. 요구되는 양의 조성물 또는 개개 물질들을 첨가하고 투명 분산액 또는 용액을 얻을 때까지 교반하여 혼합물을 제조하였다. 배양 배지에 첨가되는 물질의 최종 농도는 클로로겐산의 경우에 50 μM, 아스코르빌 팔미테이트의 경우에 42.7 μM, 및 α-토코페롤의 경우에 4.1 μM이었다. 순수한 형태로 첨가될 때 인큐베이션 배지 중의 폴리소르베이트 80의 농도는 0.016%이었으며, 이는 사용되는 조성물들의 구성성분으로서 첨가될 때 이의 가장 높은 농도에 해당하는 것이다.
- [0147] 연구 하에서 배양 배지와 물질들 및 조성물들의 상술된 혼합물들을 첨가한 후에, 플레이트들 중 일부분을 37℃ 및 5% CO₂에서 1, 2, 3 또는 4시간 동안 인큐베이션하였으며, 플레이트의 나머지 부분들에서, 4시간의 인큐베이션 후에 완전 DMEM 배지를 위해 연구 하에서의 혼합물들을 치환하고, 동일한 조건들 하에서 다른 20시간 동안 인큐베이션하였다. 각 인큐베이션 버전 이후에, 인큐베이션 배지를 웰들로부터 제거하고, 세포를 Versen 용액을 이용하여 기재로부터 분리시키고, 원심분리를 이용하여 PBS로 3회 세척하였다. 얻어진 세포 전부를 면역발효 분석(ELISA)을 위한 샘플 제조 프로토콜에 따라 프로테아제 억제제들을 함유한 용액으로 용리시켰다. 얻어진 샘플들 중의 HSP70 함량을 ELISA를 이용하여 측정하였다.
- [0148] 도 3은 클로로겐산, 및 NIS, 아스코르브산 유도체 및 소수성 항산화제를 갖는 이의 조성물의 존재 하에 NIH/3T3 라인 섬유아세포에서의 HSP70 합성을 나타낸 것이다.
- [0149] 상대적 HSP70 함량은 첨가제로의 처리 전의 배양 배지의 제거 후에 HSP70의 평균 절대 함량에 대한 처리 후 절대 수치의 비율로서 계산하고, 3회 실험에 대한 평균 +/- 평균의 표준편차로서 나타낸다. * - P<0.05는 첨가제와 함께 인큐베이션하기 전 수치와 비교한 것이다. ** - P<0.05는 첨가제와 함께 4시간 인큐베이션 후의 수치와 비교한 것이다. 첨가제와 함께 인큐베이션 시간은 수평축의 굵게된 부분에 의해 강조된다.
- [0150] 얻어진 결과들(도 3)은 신남산 유도체들의 군으로부터 선택된 페놀 화합물 및 NIS 이외에 후자가 추가적으로 아스코르브산 유도체 및 소수성 항산화제를 포함하는 경우에 청구된 제제에 의해 더욱 발현되고 보다 양호한 지속된 HSP70 유도를 입증한 것이다.
- [0151] 실시예 28. 시험관내 세포독성 작용에 노출된 섬유아세포 배양 세포들에 대한 청구된 제제들의 보호 작용의 측정
- [0152] 마우스 섬유아세포 NIH/3T3 세포주의 배양물을 제조하고 96-웰 플레이트들을 사용하고 실험하기 하루 전날에 각 웰 당 1×10^5 개 세포를 첨가하는 것을 제외하고 실시예 14에서 기술된 바와 같은 실험을 위해 준비하였다.
- [0153] 이러한 실험들에서, 실시예 17 내지 22에 따른 조성물들을 사용하였으며, 상기 조성물을 0.02%의 양으로 완전 DMEM 배양 배지에 첨가하며, 상기 조성물을 0.012%의 양으로 첨가하였다. 또한, 폴리소르베이트 80과 α-토코페롤의 조성물, 및 폴리소르베이트 80과 아스코르빌 팔미테이트의 조성물을 사용하였으며, 상기 조성물을 실시예 17에 제공된 비율로 혼합하여 수득하였으며, 실시예 17의 완전 조성물을 첨가하는 경우에, 웰들에 이들의 함량에 상응하는 양으로 배양 배지에 첨가하였다. 요구되는 양의 조성물들 또는 개개 물질들을 첨가하고 이후에 투명한 분산액 또는 용액을 얻을 때까지 교반하여 조성물들과 배지의 혼합물들을 제조하였다. 배양 배지 중의 물질들의 최종 농도는 생 커피 콩 추출물(Svetol)의 경우 30 μg/ml, 아스코르빌 팔미테이트의 경우 48.2 μM,

및 α -토코페롤의 경우 4.6 μ M이다. 순수한 형태로 첨가될 때 인큐베이션 혼합물 중의 폴리소르베이트 80의 농도는 0.015%였으며, 이는 사용되는 조성물들의 구성성분으로서 첨가될 때 이의 가장 큰 농도에 해당하는 것이다.

[0154] 세포독성 노출에 있어서의 섬유아세포 민감성에 대한 HSP 유도의 효과를 연구하기 위하여, 배양 배지를 웰들로부터 제거하고, 각 웰을 미리 제조되고 37°C로 가열된 0.2 ml의 상술된 혼합물들로 채웠다. 첨가 후에, 플레이트를 37°C 및 5% CO₂에서 4시간 동안 인큐베이션하였다. 그러한 후에, 연구 하에서의 혼합물을 0.2 ml의 완전 DMEM 배지, 또는 50 μ M의 소듐 아르세네이트를 함유한 완전 DMEM 배지로 교체하고, 동일한 조건들 하에서 다른 20시간 동안 인큐베이션하였다.

[0155] 인큐베이션 이후에, PBS 중에 5 mg/ml 농도를 갖는 MTT (3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸륨 브로마이드) 용액 20 μ l를 각 웰에 첨가하고, 4시간 동안 인큐베이션하였다. 이후에, 배양 배지를 완전히 제거하고, 200 μ l의 디메틸설폭사이드를 각 웰에 첨가하고, 30분 동안 격렬한 교반을 이용하여 혼합하였다. 기능성 세포 활성에 비례하는, 생성된 포르마잔의 양을 550 nm에서 판 광도계(plate photometer) 상에서 웰 함유물의 광학 밀도로 측정하였다.

[0156] 도 4는 독성 노출 하에서 NIS, 아스코르브산 유도체 및 소수성 항산화제를 갖는 생 커피콩 추출물(Svetol) 조성물들의 존재 하에 NIH/3T3 라인 섬유아세포 생존능력을 나타낸 것이다. 웰에서의 세포 생존능력은 첨가물 없는 웰의 함유물의 평균 광학 밀도에 대한 이들의 함유물의 광학 밀도의 비율에 의해 특징분석된다. 데이터는 3회 실험에 대한 평균 + 평균의 표준 편차로서 나타낸다. * -P<0.05는 20시간 동안 50 μ M의 소듐 아르세네이트에 대한 세포독성 노출 없이, 연구 하에서의 물질들 또는 이들의 조성물들이 동일하게 첨가된 웰들에서의 수치들과 비교한 것이다.

[0157] 얻어진 결과들(도 4)은 NIS, 아스코르브산 유도체 및 소수성 항산화제를 갖는 생 커피콩 추출물(Svetol) 조성물의 나타난 항독성 효과를 입증한 것이다. 단지 생 커피콩 추출물 및 NIS를 포함하는 조성물들의 효과는 보다 약간 낮다. 동시에, 순수한 형태의 생 커피콩 추출물은 약한 항독성 작용을 갖는다.

[0158] 실시예 29. 청구된 제제를 포함한, 회복 공정의 자극을 위한 화장료 크림의 제조

[0159] 회복 공정을 자극시키기 위해 사용되는 화장료 제조물로서, 하기 조성의 크림을 사용할 수 있다:

A

카보폴 Ultrez 21	0.30 %
물	53.34 %

B

트리에탄올아민	0.40 %
---------	--------

C

Arlamol E	2.66 %
Brij 721	1.99 %
Brij 72	3.32 %

D

물	31.89 %
---	---------

E

실시예 16에 따른 조성물 (생 커피콩 추출물+NIS+아스코르빌 팔미테이트+항산화제)	5.00 %
--	--------

F

Germaben II	1.00 %
향료	0.10 %

[0160]

[0161] 크림을 제조하기 위하여, 소정 중량의 Carbopol Ultrez 21(상 A)을 물의 표면 상에 넣어서, 이를 충분히 습윤화

되게 하기에 충분한 시간 동안 허용하고, 이후에 균일하게 될 때까지 교반하였다. 이후에, 트리에탄올아민을 첨가하고(상 B), 균일하게 될 때까지 교반하였다(상 AB). Arlamol E, Brij 721, Brij 72(상 C), 물(상 D)을 85℃로 가열하였다. 상 C를 상 D에 첨가하고, 균일한 에멀전이 형성될 때까지 Ultra Turrax 상에서 3분 동안 균질화하였다. 고온의 상 CD를 상 AB에 첨가하고, 프로펠러 교반기를 이용하여 조심스럽게 혼합하였다. 상 ABCD의 혼합물을 교반 하에서 40℃로 냉각시켰다. 그러한 이후에, 실시예 16에 다른 조성물(상 E), Germaben II 및 향료(상 F)를 상 ABCD에 첨가하였다. 크림이 실온에서 달성될 때까지 계속 교반하고, 균일한 농도(consistency)를 수득하였다. 얻어진 크림은 적어도 12달 동안 안정하다.

[0162] 상술된 크림을 유해한 생성물 인자들을 포함하는, 유해한 환경 인자들에 노출된 개방된 피부 구역들에 적용하였다. 크림은 피부의 회춘(rejuvenation) 및 재생을 자극할 뿐만 아니라 이러한 절차들의 부작용들을 줄이기 위해 침습적 화장용 절차들의 과정에서 사용될 수 있다.

[0163] 실시예 30. 회복 공정을 자극시키고 침습적 화장용 절차들의 부작용들을 감소시키기 위한 화장료 크림의 제조

[0164] 회복 공정의 자극화 및 침습적 화장용 절차의 부작용의 감소를 위해 사용되는 화장료 제조물로서, 하기 조성의 크림을 사용할 수 있다:

A

Emulgade SE PF	8.00 %
세테아릴 알코올	5.00 %
아보카도 오일	3.00 %
유탄올 G	3.00 %
디메티콘 DM350	2.00 %
케모마일 오일 추출물	0.50 %

B

물	до 100 %
---	-----------------

C

실시예 12에 따른 조성물	3.00 %
(생 커피 콩 추출물+NIS+아스코르빌 팔미테이트+항산화제)	

D

D-판테놀 75%	1.33 %
Microcare DMP	1.00 %
향료	0.10 %

[0165]

[0166] 크림을 제조하기 위하여, A를 80℃로 가열하고, 균일하게 될 때까지 교반하였다. B를 80℃로 가열하고, A를 격렬한 교반 하에서 B에 첨가하였다. 계속 교반하면서, 혼합물을 냉각시키고, 40℃에 도달할 때에 성분 C 및 D를 첨가하였다. 크림이 실온에 도달할 때까지 계속 교반하고, 균일한 농도를 수득하였다. 얻어진 크림은 적어도 12달의 기간 동안에 저장-안정적이다.

[0167] 상술된 크림을 상기 절차 이전, 동안, 및 이후에 침습적 화장용 절차의 장소에서 피부에 적용하였으며, 이는 피부 회춘 및 재생의 자극화, 뿐만 아니라 이러한 절차의 부작용의 감소를 야기시킨다. 크림은 유해한 생성물 인자들을 포함하는, 유해한 환경 인자들에 노출된 개방된 피부 구역에 적용될 수 있다.

[0168] 실시예 31. 침습적 화장용 절차들의 부작용들을 감소시키기 위한 화장료 크림의 제조

[0169] 침습적 화장용 절차의 부작용의 감소를 위해 사용되는 화장료 제조물로서, 특히 하기 조성의 크림을 사용할 수 있다:

A

Eusolex OCR	9.00 %
Emulgade SE PF	8.00 %
세테아릴 알코올	5.00 %
아보카도 오일	3.00 %
유탄올 G	2.00 %
디메티콘 DM350	2.00 %
Eusolex 9020	2.00 %
비타민 E	0.50 %
카모마일 오일 추출물	0.50 %
아스코르빌 팔미테이트	0.05 %

B

물	до 100 %
베타-1,3-글루칸	0.50 %
알란토인	0.20 %

C

D-판테놀 75%	1.33 %
Microcare DMP	1.00 %
실시에 12에 따른 조성물 (생 커피 콩 추출물+NIS)	2.00 %
Calmosensine™	3.00 %

D

향료	0.10 %
----	--------

[0170]

[0171] 크림을 제조하기 위하여, A를 80℃로 가열하고, 균일하게 될 때까지 교반하였다. B를 80℃로 가열하고, A를 격렬한 교반 하에서 B에 첨가하였다. 계속 교반하면서, 혼합물을 냉각시키고, 40℃에 도달할 때에 성분 C 및 D를 첨가하였다. 크림이 실온에 도달할 때까지 계속 교반하고, 균일한 농도를 수득하였다. 얻어진 크림은 적어도 12달의 기간 동안에 저장-안정적이다.

[0172] 상술된 크림을 상기 절차 이전, 동안, 및 이후에 침습적 화장용 절차의 장소에서 피부에 적용하였으며, 이는 피부 회복 및 재생의 자극화, 뿐만 아니라 이러한 절차의 부작용의 감소를 야기시킨다.

[0173] 실시예 32. 청구된 제제를 포함하는 연질 젤라틴 캡슐 형태의 식품 보충물의 제조

[0174] 실시예 1 내지 12, 15 내지 23에 따른 청구된 제제는 표준 공정들에 의해 연질 젤라틴 캡슐들을 채우기 위해 사용될 수 있다. 이와 관련하여, 시임 용접 방법(seam welding method)에 의해 실시예 17에 따른 조성물(생 커피 콩 추출물 + NIS + 아스코르빌 팔미테이트 + 향산화제)로 채울 때, 연질 젤라틴 캡슐 안정화의 연구를 수행하였다. 타원형 크기의 10개 캡슐 및 직사각형 크기의 11개 캡슐을 사용하였으며, 한 캡슐 중에 0.60 g의 조성물 중량을 갖는다. 수행된 연구는, 캡슐들이 적어도 12달의 기간에 걸쳐 안정하다는 것을 입증하였다. 그러한 시간 동안에, 물리적 및 화학적 성질들의 변화는 캡슐 쉘 및 이들의 함량에서 관찰되지 않았다.

[0175] 기술된 식품 보충물은 유해한 인자 또는 격렬한 신체 운동에 노출된 후 유기체 회복에 악영향을 미치는 식이 부족의 치료를 위해, 그리고 또한 침습적 화장용 절차의 효능 및 안전성을 향상시키기 위해 하루에 1 캡슐의 투여에 대해 제안되었다.

[0176] 실시예 33. 청구된 제제를 포함하는 경질 젤라틴 캡슐 형태의 식품 보충물의 제조

[0177] 청구된 제제는 하기 조성을 갖는 혼합물로 제조된 과립들로 채워진 경질 젤라틴 캡슐 형태의 식품 보충물을 형성시키기 위해 사용될 수 있다:

실시에 12에 따른 조성물 (생 커피 콩 추출물 + NIS)	17.5 %
무수 에틸 알코올	12.7 %
아스코르브산	17.5 %
콜로이드성 무수 이산화규소	21.8 %
미정질 셀룰로오즈	30.5 %

[0178]

[0179] 과립을 제조하기 위하여, 아스코르브산, 미정질 셀룰로오즈 및 이산화규소를 믹서에 로딩하고, 균일하게 될 때까지 교반하였다. 별도의 용기에서, 실시에 12에 따른 조성물을 에틸 알코올과 혼합하고, 얻어진 용액을 건조 혼합물에 서서히 첨가하고, 과립화를 위한 균일한 물질을 얻을 때까지 지속적으로 계속 교반하였다. 또한, 얻어진 물질을 직경이 3 내지 5 mm의 홀을 갖는 과립기 시브로 통과시켜 습식 과립화를 수행하였다. 얻어진 과립들을 팔렛트들 상에 박막으로 증착시키고, 건조 챔버에서 20 내지 35℃에서 건조시켜 알코올 제거를 완료하였다(약 12.5%의 질량 감소). 그러한 후에, 얻어진 물질을 직경이 1 내지 2 mm의 홀을 갖는 과립기 시브로 통과하여 건조 과립화를 수행하였다. 결과적으로, 5%의 생 커피 콩 추출물 함량을 갖는 과립들을 수득하였으며, 이를 경질 젤라틴 캡슐 크기 0의 캡슐 당 400 mg의 양으로 채워진다.

[0180] 기술된 식품 보충물은 유해한 인자 또는 격렬한 신체 운동에 노출된 후 유기체 회복에 악영향을 미치는 식이 부족을 보충할 목적으로, 그리고 또한 침습적 화장용 절차의 효능 및 안전성을 향상시키기 위해 하루에 2 내지 4 캡슐의 투여에 대해 제안되었다.

[0181] 실시에 34. 청구된 제제를 포함하는 정제 형태의 식품 보충물

[0182] 청구된 제제를 포함하는 정제 형태의 식품 보충물을 제조하기 위하여, 하기 조성의 포물레이션을 사용하였다:

실시에 17에 따른 조성물 (생 커피 콩 추출물+NIS+아스코르빌 팔미테이트+항산화제)	17.5 %
무수 에틸 알코올	12.7 %
락토즈 일수화물	55.0 %
소듐 카복시메틸 전분	0.9 %
콜로이드성 무수 이산화규소	13.1 %
마그네슘 스테아레이트	0.9 %

[0183]

[0184] 정제 물질을 제조하기 위하여, 락토즈 일수화물, 소듐 카복시메틸 전분 및 이산화규소를 믹서에 로딩하고, 균일하게 될 때까지 교반하였다. 별도의 용기에서, 실시에 17에 따른 조성물을 에틸 알코올과 혼합하고, 얻어진 용액을 건조 혼합물에 서서히 첨가하고, 과립화를 위한 균일한 물질을 얻을 때까지 지속적으로 계속 교반하였다. 또한, 얻어진 물질을 직경이 3 내지 5 mm의 홀을 갖는 과립기 시브로 통과시켜 습식 과립화를 수행하였다. 얻어진 과립들을 팔렛트들 상에 박막으로 증착시키고, 건조 챔버에서 20 내지 35℃에서 건조시켜 알코올 제거를 완료하였다(약 12.5%의 질량 감소). 건조된 과립 물질을 균질기에 배치시키고 30분 동안 분쇄하였다. 마그네슘 스테아레이트를 첨가하고, 혼합물을 다른 5분 동안 교반하였다. 3% 함량의 생 커피 콩 추출물을 갖는 얻어진 정제 물질을 타원형 500 mg 정제를 제작하기 위해 사용하였다.

[0185] 기술된 식품 보충물은 유해한 인자 또는 격렬한 신체 운동에 노출된 후 유기체 회복에 악영향을 미치는 식이 부족을 보충할 목적으로, 그리고 또한 침습적 화장용 절차의 효능 및 안전성을 향상시키기 위해 하루에 2 내지 4 캡슐의 투여에 대해 제안되었다.

[0186] 실시에 35. 청구된 제제를 포함하는 음료 형태의 식료품의 제조

[0187] 투명하고 약간 불투명한 가용화물을 형성시키면서, 수중에서 조성물이 분산되는 능력을 고려하여, 이는 생물학적 활성 물질 중에 풍부한 투명한 음료 및 불투명한 음료 둘 모두를 제조하기 위해 사용될 수 있다.

[0188] 본원에 기술된 조성물의 도움으로 식료품, 및 특히 음료를 생성시킬 가능성을 제한하지 않으면서, 100 ml 당 mg 단위로 기술된 구성성분들을 갖는 투명한 알코올-부재 음료의 조성물은 하기에 제공된다:

실시에 23에 따른 조성물	50.00
(생 커피 콩 추출물 - 5 mg, 비타민 E - 0.25 mg,	
비타민 A - 0.025 mg, 코엔자임 Q10 - 0.25 mg, 비타민 C - 5 mg 포함)	
니아신	1.80
판토텐산	0.60
비타민 B6	0.20
비타민 B2	0.16
비타민 B1	0.14
폴산, µg	20.00
비오틴, µg	15.00
비타민 B12, µg	0.10
감미제(당)	1000.00
산도 조절제(시트르산)	200.00
커피 풍미를 함유한 풍미제	50.00
식품 염료	30.00
보존제(소듐 벤조에이트)	20.00
식수	잔부

[0189]

[0190] 음료를 제조하기 위하여, 실시에 23에 따른 조성물을 제외하고, 모든 구성성분들을 음료 양에 해당하는 양의 물에 용해시키고, 50℃로 가열시켰다. 제조된 용액을 실온으로 냉각시키고, 실시에 23에 따른 조성물을 여기에 첨가하였다. 투명한 생성물을 얻을 때까지 혼합물을 교반하였다.

[0191] 기술된 음료는 침습적 화장용 절차 이전, 동안 및 이후에 투여하기 위한 것으로 제안된 것인데, 왜냐하면, 이는 피부에 있는 것들을 포함하는 재생 공정들을 효율적이게 하고 침습적 화장용 절차 중에서 침습적 환경 인자들에 대한 이의 저항을 보장하고 또한 유해 인자들 또는 격렬한 신체 운동에 노출된 후에 유기체 회복에 악영향을 미치는 식이 결핍을 보충할 목적으로 소비하기 위해 필수적인 영양 물질들을 함유하기 때문이다.

[0192] 실시에 36. HSP70 유도를 위한 화장료 제조물 적용 효과의 설명(회복 공정의 자극화)

[0193] 화장용 크림의 성분으로서 청구된 제제의 적용에 의해 피부에서 HSP 유도의 효과를 입증하기 위하여, 실시에 29에 기술된 바와 같이 제조된 크림을 사용하였다. 동일한 크림 베이스 및 동일한 생 커피 콩 추출물(Svetol) 함량을 갖는 크림과 비교하였으며, 청구된 조성물 이외에 그리고 이의 다른 성분들 없이 상기 추출물이 첨가된다. 청구된 제제의 추가 성분들의 효과를 조절하기 위하여, 실시에 29에 따른 크림 베이스 및 생 커피 콩 추출물(Svetol) 없이 제조된 실시에 16에 따른 조성물이 첨가된 이러한 성분들을 포함하는 크림을 사용하였다. 조작 및 크림 베이스의 효과를 조절하기 위하여, 동물 그룹들을 사용하였으며, 여기에 실시에 20에 따른 크림 베이스 형태의 청구된 제제를 첨가하지 않은, 즉 상 E 없는 크림을 적용하였다.

[0194] 본 연구를 체중이 20 내지 25 g인 BALB/c 마우스 상에서 수행하였다. 동물들을 자연광 아래에 위치시키고, 물 및 식품(실험실 마우스 및 랫트를 위한 완전한 균형잡힌 식사)에 대해 자유롭게 접근하게 하였다. 실험적 처리가 이루어진 등(back)의 피부 구역으로부터, 헤어 코트(hair coat)를 1차 크림 적용 이전에 직접 절단하였다. 크림을 1 cm² 당 0.1 g의 양으로 1 cm x 1 cm 구역 상에 하루 간격으로 3회 적용하고, 완전히 흡수될 때까지 손가락으로 문질렀다. 각 타입의 크림을 12마리의 마우스에 적용하였다.

[0195] 크림을 마지막으로 적용하고 하루 후에, 각 타입의 크림으로 처리된 동물들 중 절반을 42℃에서 1시간 동안 유지시키고, 이후에 모든 동물들을 실온(23℃)에서 다른 6시간 동안 유지시켰다. 이후에, 동물들을 자궁 탈구(cervical dislocation)를 이용하여 희생시키고, 처리된 피부 구역들을 희생된 동물들로부터 절단하였다. 피부

판(skin flap)을 냉동시키고, 액체 질소 중에 저장하였다.

- [0196] 분석 날에, 샘플을 해동시키고, 프로테아제 억제제들의 혼합물을 1 ml의 완충제 당 100 mg의 조직의 양으로 포함하는 얼음 냉각된 PBS 중에서 Polytron 균질기를 이용하여 균질화시켰다. 얻어진 균질물을 20분의 시간 동안에 10,000 g에서 원심분리하여 조직 단편들 및 세포를 침전시켰다. 얻어진 상청액에서, HSP70 함량을 ELISA로 측정하였으며, 얻어진 수치를 1 g의 조직을 기준으로 계산하였다.
- [0197] 실시예 29에 따른 청구된 제제를 포함하는 화장용 크림으로 처리한 후 마우스 피부에서의 HSP70 합성은 도 5에 나타내었다.
- [0198] 상대적 HSP70 함량은 상 E 없이 실시예 29에 따른 크림 베이스로만 처리된 마우스의 피부에서의 절대 평균 HSP70 함량에 대한 특정된 처리 후 피부에서의 절대 함량의 비율로서 계산한다. 데이터는 6마리의 동물에 대한 평균 $\pm$ 평균의 표준 편차를 나타낸다. * - $P < 0.05$ 는 크림 베이스로 처리된 동물과 비교한 것이다. ** - $P < 0.05$ 는 동일한 크림으로 처리되었지만, 고체온(hyperthermia)을 나타내지 않은 동물과 비교한 것이다.
- [0199] 얻어진 결과들(도 5)은 스트레스에 대한 추가 노출 없이 HSP70 합성을 독립적으로 열 충격 하에서 달성되는 것에 가까운 수준으로 유도하기 위한 청구된 제제를 포함하는 화장용 크림의 능력을 입증한 것이다. 이러한 것은 스트레스 받기 전 피부에서 회복 공정을 자극시키기 위한 청구된 제제의 능력을 확인한 것으로서, 이는 다른 인자들 중에서, 침습적 화장용 절차 동안에 요망되지 않는 효과를 감소시키는 조건들 중 하나이다.
- [0200] 실시예 37. 침습적 화장용 절차에서 화장료 제조물을 적용하는 방법의 설명. 경피 물 손실 및 홍반을 평가함으로써, 청구된 제제를 포함하는 실시예 30에 따른 크림의 적용 동안에 Fraxel SR 1500 레이저를 이용하여 분할점 광열분해 후 염증 반응의 기간의 감소.
- [0201] 침습적 화장용 절차의 부작용의 세기에 대한 화장용 크림의 성분으로서 청구된 제제의 적용에 의한 피부에서 HSP 유도의 효과를 입증하기 위하여, 실시예 30에 기술된 바와 같이 제조된 크림을 사용하였다. 동일한 크림 베이스를 기초로 하고 동일한 생 커피 콩 추출물(Svetol)을 갖는 크림이 비교되었으며, 청구된 조성물 이외에 그리고 이의 다른 성분들 없이 이러한 추출물이 첨가되었다. 청구된 제제의 추가 성분들의 효과를 조절하기 위하여, 실시예 30에 따른 크림 베이스와 함께 그리고 생 커피 콩 추출물(Svetol) 없이 제조된 실시예 17에 따른 조성물의 첨가와 함께 이러한 성분들을 포함하는 크림을 사용하였다. 조작 및 크림 베이스의 효과를 조절하기 위하여, 실시예 30에 따른 크림 베이스 형태의 청구된 제제를 첨가하지 않은, 즉 상 C 없는 크림을 사용하였다.
- [0202] 본 연구에는 피부학적 질환이 없는 Fitzpatrick 스케일에 따른 피부 타입 II-III의 10명의 지원자가 참여하였으며, 이러한 지원자들은 연구에 대한 이들의 고지에 입각한 동의서에 서명하였다. 절차 이전 3일 시간에 걸쳐, 상술된 조성물의 크림을 1 cm² 당 0.1 g의 양으로 시험자들의 내부 팔뚝 모두의 5 cm x 5 cm 비-중첩 피부 크림을 개개 구역에 걸쳐 균질하게 분포시키고 완전히 흡수될 때까지 손가락으로 문질렀다.
- [0203] 크림의 3차 적용하고 다음날에, 시험 피검체들을 대략적으로 동일한 크기의 처리되지 않은 구역을 맞물리게 하면서, 처리된 팔뚝 구역 상에 Fraxel SR 1500 레이저를 사용하면서 분할점 광열분해의 절차로 처리하였다. 마이크로 열구역(MTZ) 당 12 mJ의 에너지 및 2,000 MTZ/cm²의 밀도를 갖는 처리 모드로 사용하였다(각각 250 MTZ/cm²로 8회 통과).
- [0204] 레이저 분할점 광열분해의 부작용으로서 증가된 경피 물 손실(TEWL) 및 홍반 발달을 상이한 크림으로 처리된 피부 구역 및 어떠한 크림에 의해서도 처리되지 않은 피부 구역 상에서 연구하였다. TEWL을 Tewameter® TM 300 디바이스로 측정하였으며, 홍반 지수를 MPA5 멀티프로브 어댑터(Courage & Khazaka Electronic GmbH)가 사용되는 Mexameter® MX 18 디바이스로 측정하였다. 측정 동안에, 디바이스들을 처리된 구역들의 중앙에 위치시켰다. 기술된 측정들을 분할점 광열분해 절차 직전에, 그리고 이후에 다양한 시기 이후에 수행하였다.
- [0205] 상이한 조성물의 화장용 크림으로 처리도니 피부 구역 상에서의 TEWL은 도 6에 나타내었다.
- [0206] 데이터는 평균 $\pm$ 표준 편차로서 나타내었다. * - $P < 0.05$ 는 대조군 크림과 함께, 청구된 제제를 포함하는 실시예 30에 따른 크림으로 처리된 피부 구역 상의 TEWL 수치와 비교한 것이다.
- [0207] 상이한 조성물들의 화장용 크림들로 처리된 피부 구역 상에서의 홍반 지수는 도 7에 나타내었다.
- [0208] 데이터는 평균 $\pm$ 표준 편차로서 나타내었다. * - $P < 0.05$ 는 대조군 크림과 함께, 청구된 제제를 포함하는 실시예 30에 따른 크림으로 처리된 피부 구역 상의 TEWL 수치와 비교한 것이다.

[0209] 얻어진 결과들은 레이저 분할점 광열분해 이후 피부에서 염증 반응 증상을 감소시키기 위한, 청구된 제제를 포함하는 화장품 크림의 능력을 입증한 것이다. 청구된 제제 이외의 독립적인 구성성분으로서 생 커피 콩 추출물(Svetol)을 포함하는 크림을 포함하는, 연구 하에서의 다른 크림들과 비교하여 상기 크림의 선 사용에 따른 배리어 피부 기능 회복 시간의 신뢰성 있는 감소(도 6) 및 보다 낮은 홍반 세기(도 7)를 나타내었으며, 이에 대하여, 부작용의 감소는 현저하지 않았다. 이는 피부에서의 회복 공정의 사전 자극화에 의해 침습적 화장품 절차 동안에 요망되지 않은 부작용의 세기를 효과적으로 감소시키기 위한 청구된 제제의 능력을 확인한 것이다.

[0210] 실시예 38. 육체적 운동 동안 회복 공정을 자극하기 위한 식이 보조제를 사용하는 방법의 설명. 청구된 제제를 포함하는 실시예 33에 따른 식품 보충물의 소비함으로써 육체적 운동 후 근육 세포들에 대한 손상 정도의 감소.

[0211] 본 연구에는 어떠한 스포츠 또는 임의의 다른 부류의 특별한 육체적 훈련에 적극적으로 참여하지 않고 몹시 힘든 육체적 작업을 수행하기 위해 사용 금지 사유를 지니지 않고 연구에 대한 이들의 고지에 입각한 동의를 받은 19세 내지 25세의 18명의 건강한 남성 지원자들이 참여하였다. 30일의 기간에 걸쳐, 6명의 시험 피검체는 청구된 제제를 포함하는 실시예 33에 따른 식품 보충물의 2 캡슐을 매일 섭취하였다. 다른 6명의 시험 그룹들은 청구된 제제 이외에 그리고 이의 다른 성분들 없이 동일한 양의 생 커피 콩 추출물(Svetol)이 첨가된 2 캡슐을 매일 섭취하였다. 제 3 그룹의 6명의 시험 피검체는 실시예 12에 따른 조성물을 제조하기 위해 사용되는 개개 양의 폴리소르베이트 80이 첨가된, 실시예 33에 따른 식품 보충물을 제조하기 위해 사용되는 추가 물질들을 포함하는, 생 커피 콩 추출물(Svetol)이 존재하지 않는 플라시보(placebo)의 2 캡슐을 매일 섭취하였다.

[0212] 식품 보충물을 마지막으로 투여하고 1일 내지 2일 후에, 시험 피검체들은 90분의 시간 동안에, 60 rpm 및 1.5 kgf에서 사이클 에르고 측정기(BodyGuard, Sandnes, Norway) 상에서 운동을 수행하였다.

[0213] 제 1 운동 직전 및 제 2 운동 직후에, 정맥 샘플들을 시험 피검체들로부터 수집하고, 실온에서 30분의 시간에 걸쳐 혈전을 형성시킨 후에, 3,000 g에서 10분 동안 원심분리를 이용하여 혈청을 수득하였다. 얻어진 혈청 샘플들을 냉동시키고, 분석할 때까지 -80℃에서 저장하였다. 혈청에서의 크레아틴 키나아제 활성을 37℃에서 셋팅된 표준 시약을 사용하여 측정하였다. 격렬한 육체적 활동 후에 지원자들의 혈액에서의 크레아틴 키나아제 활성의 변환에 대한 청구된 제제를 포함하는 실시예 33에 따른 식품 보충물의 소비의 효과는 표 3에 나타내었다.

[0214] 표 3

지원자 그룹에 부여된 제조물	지원자 혈청에서의 크레아틴 키나아제 활성 IU/l	
	육체적 운동 전	육체적 운동 후
청구된 제제를 함유한 실시예 33에 따른 식품 보충물의 캡슐	107.3 ± 68.5	175.3 ± 74.2 ***
청구된 제제를 함유하지 않은 생 커피 콩 추출물(Svetol)을 갖는 캡슐	115.8 ± 75.2	258.4 ± 87.8 *
플라시보	98.5 ± 57.4	271.8 ± 85.1 *

주석

1. 데이터는 평균 +/- 평균의 표준 오차로서 표현된다.

2. * - $P < 0.05$ 는 그룹에서 육체적 활동 이전의 값과 비교한 것이다.

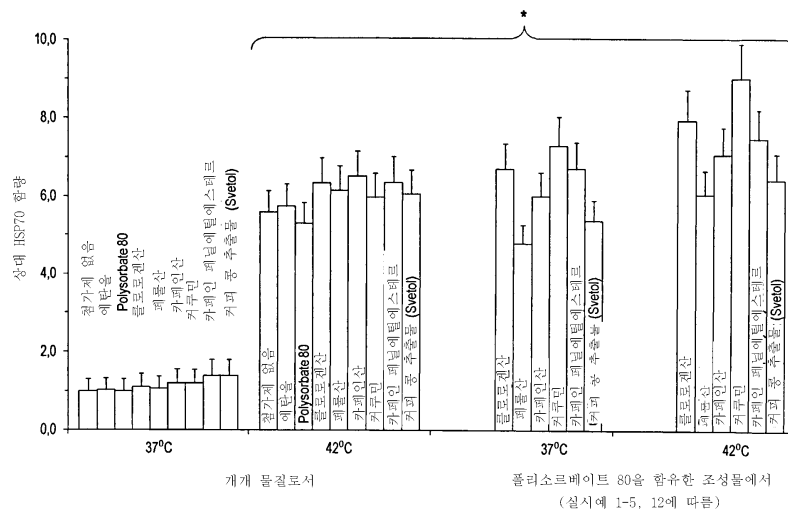
** - $P < 0.05$ 는 그룹에서 육체적 활동 이후에 대조군과 비교한 것이다.

[0215]

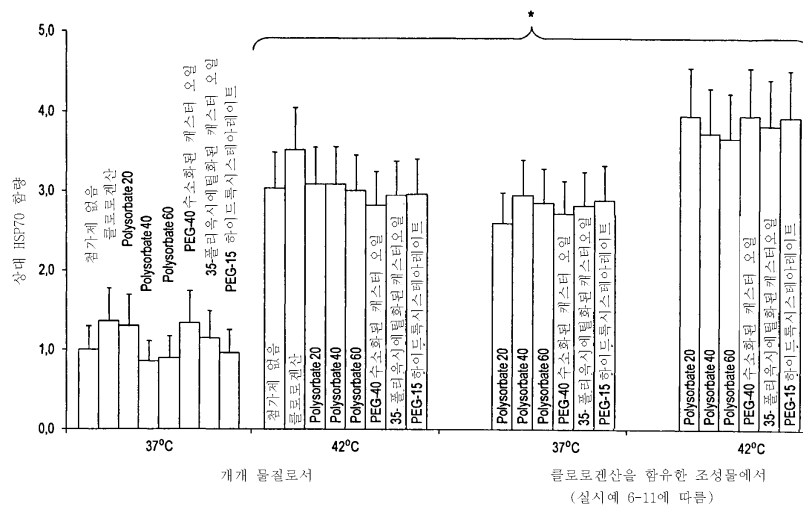
[0216] 연구 하에서의 제조물을 섭취한 지원자들의 상태에서 편차가 관찰되지 않았다. 그렇긴 하지만, 청구된 제제를 포함하는 식품 보충물의 섭취는 다른 그룹과 비교하여 개개 그룹의 시험 피검체들의 혈액에서 보다 적은 크레아틴 키나아제 활성 성장을 야기시킨다(표 3). 혈액에서 크레아틴 키나아제 활성 성장이 몹시 격렬한 육체적 활동 하에서의 근육 세포 손상의 결과이기 때문에, 얻어진 결과는 독립적으로 작용하는 청구된 제제의 성분인 생 커피 콩 추출물과는 대조적으로, 운동 스트레스에 대한 유기체들의 내성을 증가시키는 청구된 제제의 능력을 나타낸 것이다.

도면

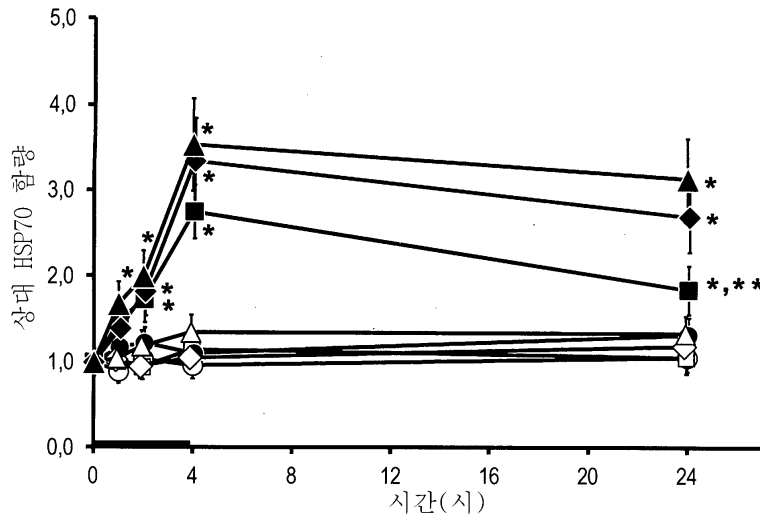
도면1



도면2

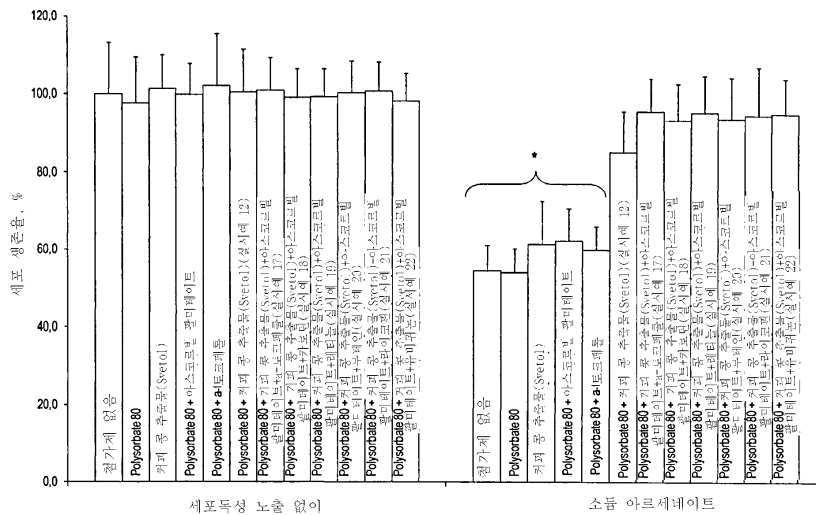


도면3

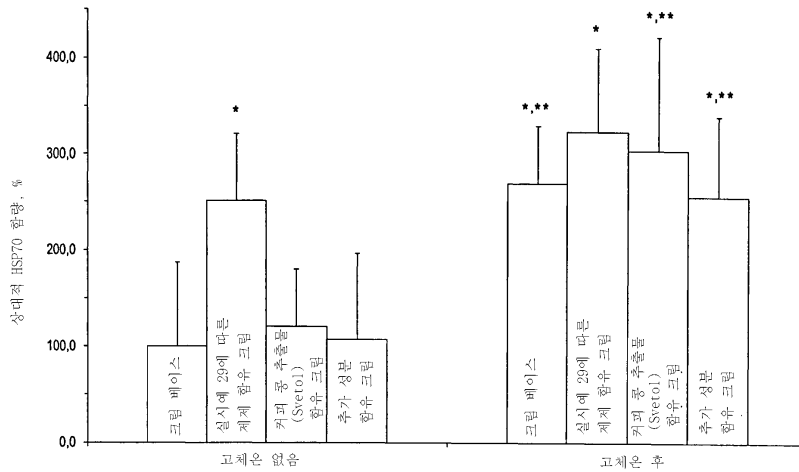


- - 첨가제 없음
- - POLYSORBATE 80
- - 클로로겐산
- ◇ - POLYSORBATE 80 + 아스코르빌 팔미테이트
- △ - POLYSORBATE 80 + A-토코페롤
- - POLYSORBATE 80 + 클로로겐산 (실시예 1)
- ◆ - POLYSORBATE 80 + 클로로겐산+아스코르빌 팔미테이트
- ▲ - POLYSORBATE 80 + 클로로겐산+아스코르빌 팔미테이트 +A-토코페롤 (실시예 15)

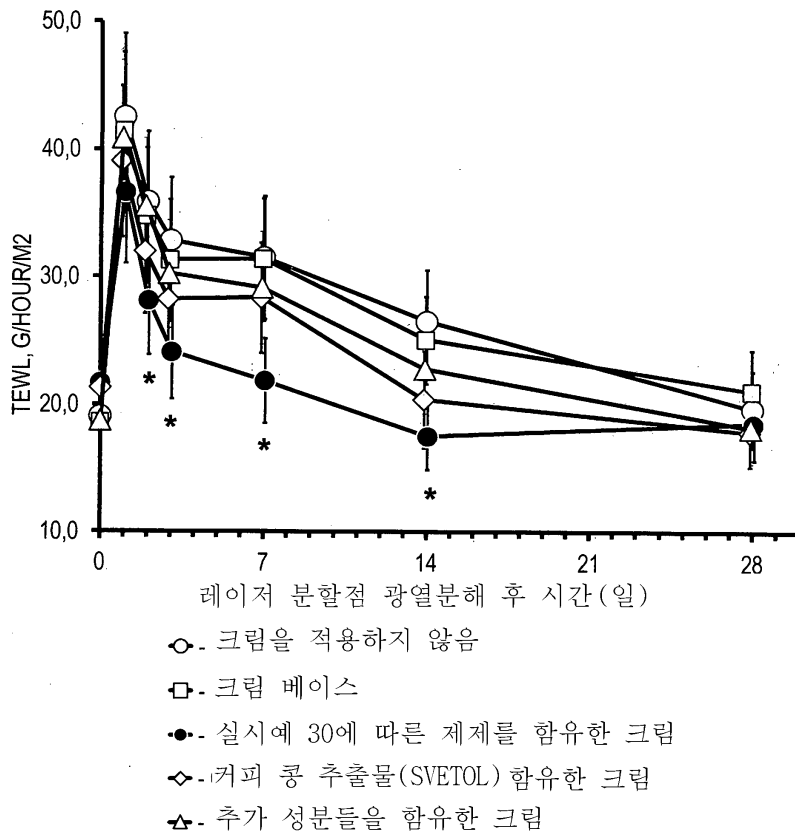
도면4



도면5



도면6



도면7

