



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0066419
(43) 공개일자 2017년06월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/365 (2006.01) A61K 8/67 (2006.01)
A61Q 17/04 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 8/365 (2013.01)
A61K 8/671 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7009641
(22) 출원일자(국제) 2015년10월15일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2017년04월10일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2015/073912
(87) 국제공개번호 WO 2016/059169
국제공개일자 2016년04월21일
(30) 우선권주장
62/065,102 2014년10월17일 미국(US)

(71) 출원인
디에스엠 아이피 어셋츠 비.브이.
네덜란드 엔엘-6411 티이 헤르펜 헤트 오버룬 1
(72) 발명자
임펠트 도미니크
스위스 체하-4303 카이저아우그스트 부르미스베크
576 디에스엠 누트리셔널 프로덕츠 리미티드 파텐
트 데파트먼트
라드스필러 알렉산더
스위스 체하-4303 카이저아우그스트 부르미스베크
576 디에스엠 누트리셔널 프로덕츠 리미티드 파텐
트 데파트먼트
쉬츠 볼프
스위스 체하-4303 카이저아우그스트 부르미스베크
576 디에스엠 누트리셔널 프로덕츠 리미티드 파텐
트 데파트먼트
(74) 대리인
제일특허법인

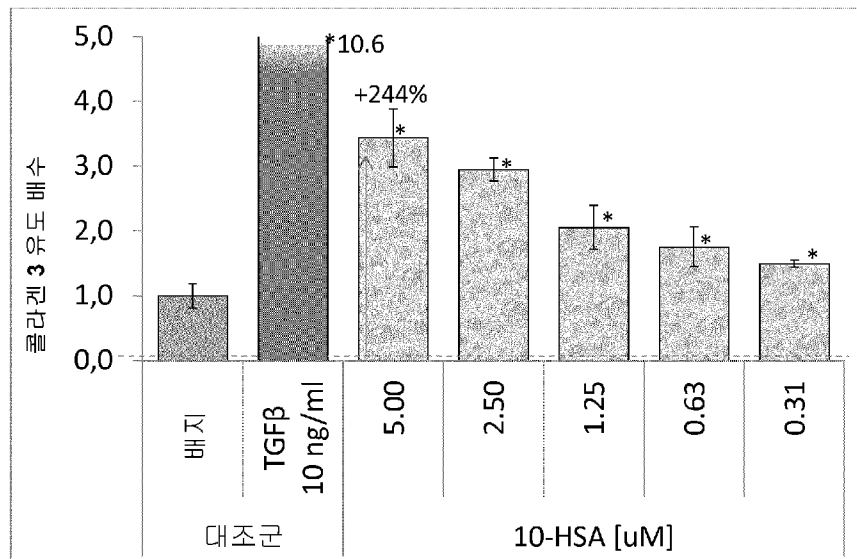
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 10-하이드록시스테아르산을 포함하는 화장품 조성물의 용도

(57) 요약

본 발명은 피부의 상태 및 외관의 개선을 위해, 보다 특히 주름 방지제로서, 균일한 피부톤의 촉진을 위해, 모공 크기의 감소를 위해, 광 보호제로서 및/또는 피부 장벽 기능의 개선을 위해 인간 피부에 도포하기 위한 10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터를 포함하는 국소용 조성물의 화장품 용도에 관한 것이다.

배표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61Q 17/04 (2013.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

A61Q 19/08 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

피부의 상태 및 외관의 개선을 위해, 보다 특히 주름 방지제로서, 균일한 피부톤의 촉진을 위해, 모공 크기의 감소를 위해, 주름 생성의 감소를 위해, 특히 광 피부 손상 및 광 피부 노화의 흔적을 감소시키는 광 보호제로서 및/또는 피부 장벽 기능의 개선을 위해 인간 피부에 도포하기 위한 10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터를 포함하는 국소용 조성물의 화장품 용도.

청구항 2

제1항에 있어서,

피부의 상태 및 외관의 개선이 모공 크기의 감소 및 주름 생성의 감소로부터 선택되는, 화장품 용도.

청구항 3

제1항에 있어서,

피부의 상태 및 외관의 개선이 주름 생성의 감소로부터 선택되는, 화장품 용도.

청구항 4

제1항에 있어서,

피부의 상태 및 외관의 개선이 광 피부 손상 및 광 피부 노화의 흔적의 감소로부터 선택되는, 화장품 용도.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

국소용 조성물이 레티노이드를 추가로 포함하는, 화장품 용도.

청구항 6

제5항에 있어서,

레티노이드가 레티닐 아세테이트, 레티닐 페닐부티레이트, 레티닐 프로피오네이트, 레티닐 옥타노에이트, 레티닐 라우레이트, 레티닐 팔미테이트, 레티닐 올레에이트, 레티닐 리놀레에이트; 레티닐 알킬 카보네이트; 레티녹 시트라이메틸실란; (올 트랜스)-레티날 또는 이의 아세탈; 또는 메톡시 PEG-12 레틴아미드인, 화장품 용도.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

10-하이드록시스테아르산의 양이 총 조성물의 약 0.0001 내지 약 50 중량%인, 화장품 용도.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

10-하이드록시스테아르산의 양이 총 조성물의 0.01 내지 1 중량%인, 화장품 용도.

청구항 9

제5항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

레티노이드 또는 이의 유도체의 양이 총 조성물의 약 0.001 내지 약 50 중량%인, 화장품 용도.

청구항 10

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

10-하이드록시스테아르산 대 레티노이드 또는 이의 유도체의 비가 중량을 기준으로 약 1000 : 1 내지 약 1 : 1000인, 화장품 용도.

청구항 11

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

10-하이드록시스테아르산 대 레티노이드 또는 이의 유도체의 비가 중량을 기준으로 약 30 : 1 내지 약 1 : 30인, 화장품 용도.

청구항 12

10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터를 포함하는 화장품 조성물을 인간 피부에 도포하는 단계를 포함하는, 피부의 상태 및 외관의 개선을 위한, 보다 특히 주름 방지제로서, 균일한 피부톤의 촉진을 위한, 모공 크기의 감소를 위한, 주름 생성의 감소를 위한, 광 보호제로서, 광 피부 손상 또는 광 피부 노화의 흔적의 감소를 위한 및 피부 장벽 기능의 개선을 위한 미용 치료의 방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

10-하이드록시스테아르산의 양이 총 조성물의 0.01 내지 1 중량%인, 방법.

청구항 14

제12항 또는 제13항에 있어서,

화장품 조성물이 레티노이드를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 15

제14항에 있어서,

10-하이드록시스테아르산 대 레티노이드 또는 이의 유도체의 비가 중량을 기준으로 약 30 : 1 내지 약 1 : 30인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 피부의 상태 및 외관의 개선을 위해, 보다 특히 주름 방지제로서, 균일한 피부톤의 촉진을 위해, 모공 크기의 감소를 위해, 특히 광 피부 손상 및 광 피부 노화의 흔적을 감소시키는 광 보호제로서 및/또는 피부 장벽 기능의 개선을 위해 인간 피부에 도포하기 위한 10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터를 포함하는 국소용 조성물의 화장품 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인간 피부, 특히 얼굴 피부는 거친 조건(온도, 습도, 자외선 등의 외부 조건)에 연속적으로 노출되고, 이들 모두는 자연적 피부 노화 과정을 가속화시키는 결과를 야기한다. 최근 몇 년간, 사용하기에 안전하며 상이한 작용의 모드를 통해 상승적으로 작용하는 새로운 보다 효율적인 물질을 필요로 하는 피부의 외관 및 상태의 개선 방법의 요구가 현저하게 증가하였다. 예로서, EP 1931329는 건강한 피부의 생리적 항상성의 음성적 발달에 의해 야기되는 임의의 증상을 치료하거나 예방하는 화장품 효과를 가질 수 있고 모발 성장 촉진 및 탈모 예방을 위한 광범위한 하이드록시 지방산을 개시한다. 그러나, 이들 화합물은, 인간 피부에 도포시 제한된 화장품 효과 때문에, 이들 화합물 중 일부의 경우 상업적 제조의 확립의 어려움 때문에, 및 활성 물질이 가용성인 제품 형태의 확립의 어려움 때문에 상업적 제품으로 개발되지 않았다.

발명의 내용

[0003] 사용하기에 안전하고 여러 모드의 작용을 통해 노화 방지 화장품 성분으로서 작용하고 산업적 규모에서 용이하

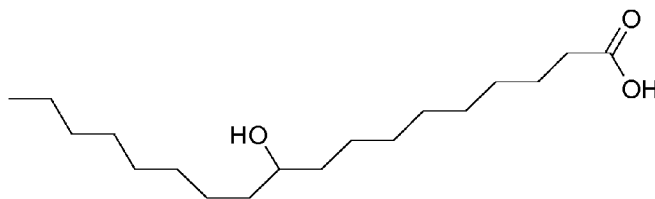
게 생산될 수 있고 화장품 조성물 중에 가용성 성분으로서 용이하게 제형화될 수 있는 하이드록시 지방산을 발견하는 것이 본 발명이 해결해야 할 문제점이다.

[0004] 본 발명자들은 10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터가 상기에 언급된 모든 문제점을 해결하고, 피부의 상태 및 외관의 개선을 위해, 보다 특히 주름 방지제로서, 균일한 피부톤의 축진을 위해, 모공 크기의 감소를 위해, 특히 광 피부 손상 및 광 피부 노화의 흔적을 감소시키는 광 보호제로서 및 피부 장벽 기능의 개선을 위해 인간 피부에 도포하기 위한 국소용 조성물로서 사용될 수 있음을 놀랍게도 발견하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0005] 따라서, 하나의 양상에서, 본 발명은 피부의 상태 및 외관의 개선을 위해, 보다 특히 주름 방지제로서, 균일한 피부톤의 축진을 위해, 모공 크기의 감소를 위해, 특히 광 피부 손상 및 광 피부 노화의 흔적을 감소시키는 광 보호제로서 및 피부 장벽 기능의 개선을 위해 인간 피부에 도포하기 위한 10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터를 포함하는 국소용 조성물의 화장품 용도에 관한 것이다.

[0006] 10-하이드록시스테아르산(CAS: 638-26-6)은 하기 화학식을 갖는다:



[0007] 둘 다의 거울성 이성질체가 본 발명에 따라 사용될 수 있고, 바람직한 거울성 이성질체 형태는 (R)-10-하이드록시스테아르산이다.

[0009] 에스터는 바람직하게는 알킬 에스터이되, 이때 용어 "알킬"은 직쇄 및 분지형 알킬 기를 포괄한다, 즉, "C₁₋₄-알킬"은 직쇄 C₁₋₄-알킬(메틸, 에틸, n-프로필, n-부틸) 및 분지형 C₃₋₄-알킬(이소-프로필, 이소-부틸, tert-부틸)을 포괄한다. 본 발명에 따른 가장 바람직한 알킬 에스터는 선형 C₁₋₃-알킬이다.

[0010] 염은 피부에 독성이 아니고/아니거나 알레르기 반응을 야기하지 않는 임의의 금속 양이온 및 임의의 유기 양이온을 의미하는 임의의 화장품으로 허용되는 양이온에 의해 형성될 수 있다. 이러한 양이온의 예는 암모늄 염 및 알킬 암모늄 염, 알칼리 금속 양이온, 예컨대 나트륨 및 칼륨 이온, 및 알칼리 토금속 양이온, 예컨대 칼슘 및 마그네슘 이온이다.

[0011] 보다 구체적으로, 본 발명은 피부의 상태 및 외관의 개선을 위한, 보다 특히 주름 방지제로서, 균일한 피부톤의 축진을 위한, 모공 크기의 감소를 위한, 특히 광 피부 손상 및 광 피부 노화의 흔적을 감소시키는 광 보호제로서 및 피부 장벽 기능의 개선을 위한 10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터, 및 임의적으로 하나의 레티노이드를 포함하는 화장품 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0012] 본 발명에 따라 사용하기 위한 레티노이드는 예를 들어 레티노산 또는 레티놀 및 이성질체, 예를 들어 이의 9-, 11- 또는 13-시스 이성질체, 및 이의 유도체(레티닐 에스터, 예컨대 레티닐 아세테이트, 레티닐 페닐부티레이트, 레티닐 프로파노에이트, 레티닐 라우레이트, 레티닐 팔미테이트, 레티닐 올레에이트, 레티닐 리놀레이트; 레티닐 알킬 카보네이트; 에터, 예컨대 레티녹시트라이메틸실란; 또는 (올 트랜스)-레티날 또는 이의 아세탈; 또는 레티노산 또는 이의 아마이드, 예컨대 메톡시 PEG-12 레틴아미드("PEG-12" = -(CH₂-CH₂-O-)₁₂)를 포함함)이다.

[0013] 피부의 상태 및 외관의 개선은 주름 또는 건성 피부 또는 민감성 피부의 치료 또는 예방, 표피의 비후화, 피부 세포 노쇠의 억제, 광 손상의 예방 또는 치료, 산화성 스트레스 현상의 예방 또는 치료, 셀룰라이트의 예방 또는 치료, 세라미드 및 지질 합성 방해의 예방 및 치료, 과다한 피지 생성의 예방, 피부의 금속 단백질 분해효소 또는 다른 단백질 분해효소의 활성의 감소, 및 염증성 피부 질환의 치료 및 예방을 포함한다.

[0014] 또 다른 양상에서, 본 발명은 피부의 상태 및 외관의 개선을 위한, 보다 특히 주름 방지제로서, 균일한 피부톤의 축진을 위한, 모공 크기의 감소를 위한, 특히 광 피부 손상 및 광 피부 노화의 흔적을 감소시키는 광 보호제로서 및 피부 장벽 기능의 개선을 위한 미용 방법에 관한 것이다.

- [0015] 본 발명의 모든 실시양태에서, 피부 상태의 개선은 바람직하게는 모공 크기의 감소, 주름 생성의 감소, 또는 광 피부 손상 및 광 피부 노화의 흔적의 감소로부터 선택된다.
- [0016] 본 발명의 바람직한 실시양태는 상기에 제시된 유효량의 10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터를 임의적으로 바람직하게는 레티노이드와 조합하여 이를 필요로 하는 인간에게 국소적으로 투여하는 단계를 포함하는, 주름의 치료 또는 예방 방법이다.
- [0017] 본 발명의 추가적 목적은 상기에 정의된 본 발명에 따른 유효량의 10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터를 이를 필요로 하는 인간에게 국소적으로 투여하는 단계를 포함하는, 색소침착 장애의 예방 또는 치료 방법 및/또는 고른 피부톤의 제공 방법이되, 조성물은 레티노이드를 함유한다.
- [0018] 본 발명의 또 다른 목적은 색소침착의 강화가 필요한 인간에게 상기에 정의된 본 발명에 따른 유효량의 10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터를 국소적으로 투여하는 단계, 및 태닝 활성제를 국소적으로 투여하는 단계를 포함하는, 색소침착의 강화 방법으로서, 이때 태닝 활성제는 본 발명에 따른 유효량의 조성물의 투여 전에, 투여 후에 또는 투여와 동시에 투여될 수 있고, 임의의 레티노이드가 이러한 조성물에 근본적으로 부재한다.
- [0019] 용어 '유효량'은 생리학적 효과를 달성하는데 필요한 양이다. 생리학적 효과는 하나의 도포량 또는 반복된 도포에 의해 달성될 수 있다. 도포되는 투여량은 당연히 공지된 인자, 예컨대 임의적으로 레티노이드와 조합된, 상기에 제시된 정의 및 선호 사항을 갖는 지방산, 또는 이의 염, 에스터 또는 아미드를 포함하는 특정 조성물 및 이의 투여 모드 및 경로; 수용자의 연령, 건강 및 중량; 증상의 성질 및 정도; 병용 치료의 종류; 치료의 빈도; 목적되며 당업자에 의해 조정될 수 있는 효과에 따라 변할 수 있다.
- [0020] 상기에 언급된 바와 같이, 레티노이드는 추가로 존재하여 가산적 또는 상승적 화장품 효과를 제공할 수 있다. 2개 이상의 레티노이드가 존재할 수 있다. 레티노이드가 본 발명의 조성물에 존재하는 경우, 10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터(상기에 제시된 정의 및 선호 사항을 가짐) 내 레티노이드의 비는 적합하게 중량을 기준으로 약 1000:1 내지 1:1000, 보다 바람직하게는 약 100:1 내지 1:100, 특히 약 30:1 내지 1:30이다. 또한, 상기에 정의된 지방산, 또는 이의 염 또는 에스터는 인간 피부에 이미 존재하는 레티노이드와 함께 가산적 또는 상승적 효과를 나타낸다.
- [0021] 본 발명에 제공된 조성물에서, 상기에 제시된 정의 및 선호 사항을 갖는 10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터의 양은 적합하게 총 조성물의 약 0.0001 내지 약 50 중량%, 바람직하게는 약 0.001 내지 약 20 중량%이다. 보다 바람직하게는, 상기에 정의된 10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터는 약 0.01 내지 약 1 중량%의 양, 가장 바람직하게는 약 0.5 중량%의 양으로 조성물에 함유된다. 레티노이드 또는 이의 유도체가 존재하는 경우, 후자의 양은 적합하게 조성물의 총량을 기준으로 약 0.0001 내지 약 50 중량%의 양, 바람직하게는 약 0.001 내지 약 20 중량%의 양, 가장 바람직하게는 약 0.01 내지 약 1 중량%의 양, 특히 약 0.1 중량%의 양이다. 조성물의 총량을 기준으로 약 0.5 중량%의 양의 상기에 제시된 정의 및 선호 사항을 갖는 10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터, 및 약 0.1 중량%의 양의 레티노이드 또는 이의 유도체를 포함하는 조성물이 본 발명에 따라 바람직하다.
- [0022] 본원에 사용된 용어 "화장품 조성물"은 인간 피부의 케어를 위한 국소용 조성물이고, 또한 문헌["Kosmetika" in Rompp Lexikon Chemie, 10th edition 1997, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York]을 참조한다.
- [0023] 국소용 조성물의 종류 및 국소용 조성물의 제조 및 추가로 적합한 첨가제에 관하여, 적절한 문헌, 예를 들어 문헌[Novak G.A., Die kosmetischen Präparate - Band 2, Die kosmetischen Präparate - Rezeptur, Rohstoffe, wissenschaftliche Grundlagen (Verlag für Chem. Industrie H. Ziolkowski KG, Augsburg)]을 찾아볼 수 있다.
- [0024] 피부에 도포될 본 발명에 따른 화장품 조성물의 양은 조성물 내 활성 성분의 농도 및 목적하는 화장품 효과 또는 약학적 효과에 좌우된다. 예를 들어, 크림이 피부에 도포되는 것과 같이 도포가 수행될 수 있다. 크림은 일반적으로 2 mg 크림/cm² 피부의 양으로 도포된다. 그러나, 피부에 도포되는 조성물의 양은 중요하지 않고, 특정한 양의 도포된 조성물을 사용하여 목적하는 효과가 달성될 수 없을 때, 보다 높은 농도의 활성 성분인, 예를 들어 추가량의 조성물을 도포함으로써 또는 추가량의 활성 성분을 함유하는 조성물을 도포함으로써 사용될 수 있다.
- [0025] 본 발명에 따른 화장품 조성물은 바람직하게는 1일 1회 이상, 예를 들어 1일 2회 또는 3회 도포된다. 일반적으

로, 목적하는 효과를 달성하기까지 2주 이상이 걸린다. 그러나, 목적하는 효과가 완전히 최대화될 때까지 몇 주 또는 심지어 몇 개월이 걸릴 수도 있다.

- [0026] 본 발명의 조성물은 상기에 정의된 정의 및 선호 사항을 갖는 10-하이드록시스테아르산, 또는 이의 염 또는 에스터 및 화장품으로 허용되는 부형제 또는 희석제를 함유한다. 달리 언급되지 않는 한, 하기에 언급되는 부형제, 첨가제, 희석제 등이 화장품 조성물에 적합하다. 달리 언급되지 않는 한, 본원에서, 부 및 백분율은 중량 기준이고 조성물의 총 중량을 기준으로 한다.
- [0027] 바람직하게는, 본 발명의 화장품 조성물은 용매 또는 지방질 중의 현탁액 또는 분산액 형태의 국소용 조성물, 또는 대안적으로 유화액 또는 마이크로 유화액(특히 O/W 또는 W/O 유형, O/W/O 또는 W/O/W 유형의 것), PET-유화액, 복합 유화액, 픽커링(pickering) 유화액, 하이드로젤, 알코올성 젤, 리포젤, 단일상 또는 다중상 용액 또는 소포성 분산액 및 다른 일반적 조성물(펜에 의해, 마스크로서 또는 스프레이로서 도포될 수 있음) 형태의 국소용 조성물이다. 또한, 유화액은 음이온성, 비이온성, 양이온 또는 양쪽성 계면활성제를 함유할 수 있다.
- [0028] 본 발명에 따른 바람직한 조성물은 스킨 케어 제제, 헤어 케어 제제, 장식용 제제, 광 보호 제제 및 기능성 제제이다.
- [0029] 스킨 케어 제제의 예는 특히 바디 오일, 바디 로션, 바디 젤, 트리트먼트 크림, 피부 보호 연고, 셰이빙 제제, 예컨대 셰이빙 폼 또는 젤, 피부 파우더, 예컨대 베이비 파우더, 보습 젤, 보습 스프레이, 리바이탈라이징 바디 스프레이, 셀룰라이트 젤 및 필링 제제이다.
- [0030] 헤어 케어 제제의 예는 예를 들어 샴푸 형태의 헤어 세정제, 헤어 컨디셔너, 헤어 케어 제제, 예를 들어 트리트먼트 제제, 프리트리트먼트 제제, 헤어 토닉, 스타일링 크림, 스타일링 젤, 포마드, 헤어 린스, 트리트먼트 팩, 인텐시브 헤어 트리트먼트, 헤어 스트레이트 제제, 액체 헤어 세팅 제제, 헤어 폼 및 헤어 스프레이 및 래커, 펌 제제, 헤어 젤, 헤어 고정액 및 헤어 염색 또는 탈색 제제이다.
- [0031] 장식용 제제의 예는 특히, 립스틱, 아이 섀도, 마스크라, 드라이 및 모이스트 메이크업, 루즈, 파우더 및 섀넌 로션이다.
- [0032] 기능성 제제의 예는 비제한적으로 활성 성분, 예컨대 호르몬 제제, 비타민 제제, 식물 추출물 제제, 노화 방지 제제 및 항미생물(항박테리아 또는 항진균) 제제를 함유하는 화장품 또는 약학적 조성물이다.
- [0033] 본 발명에 따른 화장품 조성물은 액체, 로션, 농후한 로션, 젤, 크림, 밀크, 연고, 페이스트, 파우더, 메이크업 또는 고체 튜브 스틱의 형태일 수 있고, 임의적으로 에어로졸로서 포장될 수 있고, 무스, 예컨대 에어로졸 무스, 폼 또는 스프레이 폼, 스프레이, 스틱, 젤, 플라스터, 파우더, 클렌저, 솜 또는 에어로졸 또는 와이프(wipe)의 형태로 제공될 수 있다.
- [0034] 또한, 본 발명의 조성물은 일반적 화장품 또는 약학적 보조제 및 첨가제, 예컨대 방부제/항산화제, 지방질/오일, 물, 유기 용매, 실리콘, 증점제, 유연제, 유화제, 선크림, 발포 방지제, 보습제, 향수, 계면활성제, 충전제, 금속이온 봉쇄제, 음이온성, 양이온성, 비이온성 또는 양쪽성 중합제 또는 이들의 혼합물, 추진제, 산화제 또는 염기화제, 염료, 착색제, 안료 또는 나노 안료, 예를 들어 자외선의 물리적 차단에 의해 광 보호 효과를 제공하는데 적합화된 것, 또는 일반적으로 화장품 또는 약제로 제형화되는 임의의 다른 성분을 함유할 수 있다.
- [0035] 추가량의 산화 방지제/방부제가 일반적으로 바람직하다. 본 발명을 기반으로, 일반적으로 화장품 또는 약제로 제형화되는 모든 공지된 산화 방지제가 사용될 수 있다. 아미노산(예를 들어 글리신, 히스티딘, 티로신, 트립토판) 및 이의 유도체, 이미다졸(예를 들어 우로칸산) 및 유도체, 펩티드, 예컨대 D,L-카르노신, D-카르노신, L-카르노신 및 유도체(예를 들어 안세린), 카로테노이드, 카로틴(예를 들어 α -카로틴, β -카로틴, 리코펜) 및 유도체, 클로로겐산 및 유도체, 리포산 및 유도체(예를 들어 다이하이드로리포산), 아우로티오글루코사이드, 프로필티오라우실 및 다른 티올(예를 들어 티오레독신, 글루타티온, 시스테인, 시스틴, 시스타민 및 이의 글리코실-, N-아세틸-, 메틸-, 에틸-, 프로필-, 아밀-, 부틸- 및 라우릴-, 팔미토일-, 올레일-, γ -리놀레일-, 콜레스테릴- 및 글리세릴에스터) 및 이의 염, 다이라우틸티오다이프로피오네이트, 다이스테아릴티오다이프로피오네이트, 티오다이프로피온산 및 이의 유도체(에스터, 에터, 펩티드, 지질, 뉴클레오타이드, 뉴클레오시드 및 염) 및 설폭시민 화합물(예컨대 부티오닐설폭시민, 호모시스테인설폭시민, 부티오닐설폰, 펜타-, 헥사-, 헵타티오닐설폭시민)(매우 낮은 적합한 투여량(예를 들어 pmol 내지 μ mol/kg)), 추가적으로 (금속)-킬레이트제(예컨대 α -하이드록시지방산, 팔미산, 피탄산, 락토페린), β -하이드록시산(예컨대, 시트르산, 락트산, 말산), 휴민산, 갈산, 갈릭(gallic) 추출물, 빌리루빈, 빌리베르딘, EDTA, EGTA 및 이의 유도체, 불포화 지방산 및 이의 유도체(예컨대

대 γ -리놀레산, 리놀산, 올레산), 폴산 및 이의 유도체, 유비퀴논 및 유비퀴놀 및 이의 유도체, 비타민 C 및 유도체(예컨대 아스코르빌팔미테이트 및 아스코르빌테트라소팔미테이트, Mg-아스코르빌포스페이트, Na-아스코르빌포스페이트, Na-아스코르빌아세테이트), 토크페롤 및 유도체(예컨대 비타민-E-아세테이트), 천연 및 합성 비타민 E의 혼합물, 비타민 A 및 유도체(비타민-A-팔미테이트 및 -아세테이트) 및 코니페릴벤조에이트, 루틴산 및 유도체, α -글리코실루틴, 페룰산, 푸르푸릴리덴글루시톨, 카르노신, 부틸하이드록시톨루엔, 부틸하이드록시 아니솔, 트라이하이드록시부티로페논, 우레아 및 이의 유도체, 만노즈 및 유도체, 아연 및 유도체(예를 들어 ZnO, ZnSO₄), 셀레늄 및 유도체(예를 들어 셀레노메티오닌), 스틸벤 및 유도체(예컨대 스틸벤옥사이드, 트랜스-스틸벤옥사이드) 및 지정된 활성 성분의 적합한 유도체(염, 에스터, 에터, 당, 뉴클레오티드, 뉴클레오시드, 펩티드 및 지질)로 이루어진 군으로부터 선택된 산화 방지제가 특히 바람직하다. 하나 이상의 방부제/산화 방지제는 본 발명의 조성물의 총 중량의 약 0.01 내지 약 10 중량%의 양으로 존재할 수 있다. 바람직하게는, 하나 이상의 방부제/산화 방지제는 약 0.1 내지 약 1 중량%의 양으로 존재한다.

[0036] 또한, 전형적으로 국소 제형은 표면 활성 성분, 예컨대 유화제, 가용화제 등을 함유한다. 유화제는 2개 이상의 비혼화성 성분이 균질하게 조합되는 것을 가능하게 한다. 또한, 유화제는 조성물을 안정화시키는 작용을 한다. O/W, W/O, O/W/O 또는 W/O/W 유화액/마이크로 유화액을 형성하기 위해 본 발명에 사용될 수 있는 유화제는 소르비탄 올레에이트, 소르비탄 세스퀴올레에이트, 소르비탄 이소스테아레이트, 소르비탄 트라이올레에이트, 폴리글리세릴-3-다이이소스테아레이트, 올레산/이소스테아르산의 폴리글리세롤 에스터, 폴리글리세릴-6 헥사리시놀레에이트, 폴리글리세릴-4-올레에이트, 폴리글리세릴-4 올레에이트/PEG-8 프로필렌 글리콜 코코에이트, 올레아미드 DEA, TEA 미리스테이트, TEA 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 나트륨 스테아레이트, 칼륨 라우레이트, 칼륨 리시놀레에이트, 나트륨 코코에이트, 나트륨 탈로웨이트, 칼륨 카스토레이트, 나트륨 올레에이트, 및 이들의 혼합물을 포함한다. 추가로 적합한 유화제는 포스페이트 에스터 및 이의 염, 예컨대 세틸 포스페이트(암피솔(Amphisol, 등록상표) A), 다이에탄올아민 세틸 포스페이트(암피솔(등록상표)), 칼륨 세틸 포스페이트(암피솔(등록상표) K), 나트륨 글리세릴 올레에이트 포스페이트, 수소화된 식물 글리세리드 포스페이트 및 이들의 혼합물이다. 또한, 하나 이상의 합성 중합체가 유화제로서 사용될 수 있다. 예를 들어, PVP 에이코센 공중합체, 아크릴레이트/C₁₀₋₃₀-알킬 아크릴레이트 가교중합체, 아크릴레이트/스테아레스(Steareth)-20 메타크릴레이트 공중합체, PEG-22/도데실 글리콜 공중합체, PEG-45/도데실 글리콜 공중합체 및 이들의 혼합물이다. 바람직한 유화제는 세틸 포스페이트(암피솔(등록상표) A), 다이에탄올아민 세틸 포스페이트(암피솔(등록상표)), 칼륨 세틸 포스페이트(암피솔(등록상표) K), PVP 에이코센 공중합체, 아크릴레이트/C₁₀₋₃₀-알킬 아크릴레이트 가교중합체, PEG-20 소르비탄 이소스테아레이트, 소르비탄 이소스테아레이트 및 이들의 혼합물이다. 하나 이상의 유화제는 본 발명의 조성물의 총 중량의 약 0.01 내지 약 20 중량%의 총량으로 존재한다. 바람직하게는, 약 0.1 내지 약 10 중량%의 유화제가 사용된다.

[0037] 국소용 조성물의 지질 상은 유리하게 미네랄 오일 및 미네랄 왁스; 오일, 예컨대 카프린산 또는 카프릴산의 트라이글리세리드, 및 피마자 오일; 오일 또는 왁스 및 다른 천연 또는 합성 오일, 바람직한 실시예에서, 지방산과 알코올(예를 들어 이소프로판올, 프로필렌 글리콜, 글리세린)의 에스터 또는 지방 알코올과 카복시산 또는 지방산의 에스터; 알킬벤조에이트; 및/또는 실리콘 오일, 예컨대 다이메틸폴리실록산, 다이에틸폴리실록산, 다이페닐폴리실록산, 사이클로메티콘 및 이들의 혼합물로부터 선택될 수 있다.

[0038] 본 발명의 유화액, 마이크로 유화액, 올레오 젤, 수분산액 또는 유분산액의 오일 상에 혼입될 수 있는 예시적 지방질은 3 내지 30개의 탄소 원자를 갖는 포화 및/또는 불포화, 선형 또는 분지형 알킬 카복시산의 에스터, 및 3 내지 30개의 탄소 원자를 갖는 포화 및/또는 불포화, 선형 및/또는 분지형 알코올, 뿐만 아니라 방향족 카복시산의 에스터, 및 3 내지 30개의 탄소 원자를 갖는 포화 및/또는 불포화, 선형 또는 분지형 알코올의 에스터로부터 선택된다. 이러한 에스터는 유리하게 옥틸팔미테이트, 옥틸코코에이트, 옥틸이소스테아레이트, 옥틸도데실미리스테이트, 세테아릴이소노나노에이트, 이소프로필미리스테이트, 이소프로필팔미테이트, 이소프로필스테아레이트, 이소프로필올레에이트, n-부틸스테아레이트, n-헥실라우레에이트, n-데실올레에이트, 이소옥틸스테아레이트, 이소노닐스테아레이트, 이소노닐이소노나노에이트, 2-에틸 헥실팔미테이트, 2-에틸헥실라우레에이트, 2-헥실데실스테아레이트, 2-옥틸도데실팔미테이트, 스테아릴헵타노에이트, 올레일올레에이트, 올레일에루케이트, 에루실올레에이트, 에루실에루케이트, 트라이데실스테아레이트, 트라이데실트라이멜리테이트, 뿐만 아니라 이러한 에스터의 합성, 반합성 또는 천연 혼합물, 예를 들어 호호바 오일로부터 선택될 수 있다.

[0039] 본 발명의 국소용 조성물에서 사용하기에 적합한 다른 지방 성분은 극성 오일, 예컨대 레시틴 및 지방산 트라이글리세리드, 즉, 8 내지 24개의 탄소 원자, 바람직하게는 12 내지 18개의 탄소 원자를 갖는 포화 및/또는 불포

화, 선형 또는 분지형 카복시산의 트라이글리세롤 에스터(지방산 트라이글리세리드는 바람직하게는 합성, 반합성 또는 천연 오일(예를 들어 코코글리세리드, 올리브 오일, 해바라기 오일, 대두 오일, 땅콩 오일, 평지씨 오일, 스위트 아몬드 오일, 야자 오일, 코코넛 오일, 피마자 오일, 수소화된 피마자 오일, 밀 오일, 포도씨 오일, 마카다미아 너트 오일 등)로부터 선택된다); 비극성 오일, 예컨대 선형 및/또는 분지형 탄화수소 및 왁스, 예를 들어 미네랄 오일, 바셀린(페트로라툼); 파라핀, 스쿠알란 및 스쿠알렌, 폴리올레핀, 수소화된 폴리이소부텐 및 이소헥사데칸(바람직한 폴리올레핀은 폴리데켄임); 다이알킬 에터, 예컨대 다이카프릴레이트; 선형 또는 환형 실리콘 오일, 예컨대 바람직하게는 사이클로메티콘(옥타메틸사이클로테트라실록산; 세틸다이메티콘, 헥사메틸사이클로트라이실록산, 폴리다이메틸실록산, 폴리(메틸페닐실록산) 및 이들의 혼합물을 포함한다.

[0040] 본 발명의 국소용 조성물에 유리하게 혼입될 수 있는 또 다른 지방 성분은 이소에이코산; 네오펜틸글리콜다이헥타노에이트; 프로필렌-글리콜다이카프릴레이트/다이카프레이트; 카프릴릭/카프릭/다이글리세릴석시네이트; 부틸렌글리콜 카프릴레이트/카프레이트; C_{12-13} -알킬락테이트; 다이- C_{12-13} -알킬타르트레이트; 트라이이소스테아린; 다이펜타에리트리톨 헥사카프릴레이트/헥사카프레이트; 프로필렌글리콜모노이소스테아레이트; 트라이카프릴린; 다이메틸이소소르비드이다. C_{12-15} -알킬벤조에이트 및 2-에틸헥실-이소스테아레이트의 혼합물, C_{12-15} -알킬벤조에이트 및 이소트라이데실이소노나노에이트의 혼합물 및 C_{12-15} -알킬벤조에이트, 2-에틸헥실이소스테아레이트 및 이소트라이데실이소노나노에이트의 혼합물을 사용하는 것이 특히 유리하다.

[0041] 또한, 본 발명의 조성물의 오일 상은 천연 식물 또는 동물 왁스, 예컨대 비 왁스, 차이나 왁스, 범블비 왁스 및 다른 곤충의 왁스, 뿐만 아니라 시어 버터 및 코코아 버터를 함유할 수 있다.

[0042] 보습제는 본 발명의 국소용 조성물 내로 혼입되어 보습을 유지하거나 피부에 수분 재공급을 할 수 있다. 보호 코팅을 제공함으로써 피부로부터 물의 증발을 방지하는 보습제는 연화제(emollient)로서 지칭된다.

[0043] 추가적으로 연화제는 피부 표면에 연화 또는 진정 효과를 제공하고 일반적으로 국소 사용에 대하여 안전한 것으로 간주된다. 바람직한 연화제는 미네랄 오일, 라놀린, 페트로라툼, 카프릭/카프릴릭 트라이글리세르알데하이드, 콜레스테롤, 실리콘, 예컨대 다이메티콘, 사이클로메티콘, 아몬드 오일, 호호바 오일, 아보카도 오일, 피마자 오일, 참깨 오일, 해바라기 오일, 코코넛 오일 및 포도씨 오일, 코코아 버터, 올리브 오일, 알로에 추출물, 지방산, 예컨대 올레산 및 스테아르산, 지방 알코올, 예컨대 세틸 및 헥사데실(ENJAY), 다이이소프로필 아디페이트, 하이드록시벤조에이트 에스터, C_{9-15} -알코올의 벤조산 에스터, 이소노닐 이소-노나노에이트, 에터, 예컨대 폴리옥시프로필렌 부틸 에터 및 폴리옥시프로필렌 세틸 에터, C_{12-15} -알킬 벤조에이트 및 이들의 혼합물을 포함한다. 가장 바람직한 연화제는 하이드록시벤조에이트 에스터, 알로에 베라, C_{12-15} -알킬 벤조에이트 및 이들의 혼합물이다. 연화제는 조성물의 총 중량의 약 1 내지 약 20 중량%의 양으로 존재한다. 연화제의 바람직한 양은 약 2 내지 약 15 중량%, 가장 바람직하게는 약 4 내지 약 10 중량%이다.

[0044] 물과 결합하여 이를 피부 표면 상에 유지하는 보습제는 보수제(humectant)로 지칭된다. 적합한 보수제는 본 발명의 국소용 조성물 내로 혼입될 수 있고, 예컨대 글리세린, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 락트산, 피롤리돈 카복시산, 우레아, 인지질, 콜라겐, 엘라스틴, 세라미드, 레시틴 소르비톨, PEG-4 및 이들의 혼합물이다. 추가적 적합한 보습제는 수용성 및/또는 팽윤성 및/또는 수 젤화 폴리사카라이드 부류의 중합체성 보습제, 예컨대 하이알루론산, 키토산 및/또는 푸코스 풍부 폴리사카라이드(예를 들어 솔라비아 에스(SOLABIA S)의 푸코겔(Fucogel, 등록상표)1000(CAS 번호: 178463-23-5)으로서 입수가가능함)이다. 하나 이상의 보수제는 본 발명의 조성물 중에 임의적으로 약 0.5 내지 약 8 중량%, 바람직하게는 약 1 내지 약 5 중량%로 존재한다.

[0045] 바람직한 본 발명의 국소용 조성물의 수상은 화장품 또는 약학적 첨가제, 예컨대 알코올, 특히 저급 알코올, 바람직하게는 에탄올 및/또는 이소프로판올, 저급 다이올 또는 폴리올 및 이들의 에터, 바람직하게는 프로필렌글리콜, 글리세린, 에틸렌글리콜, 에틸렌글리콜 모노에틸- 또는 모노부틸에터, 프로필렌글리콜 모노메틸- 또는 -모노에틸- 또는 -모노부틸에터, 다이에틸렌글리콜 모노메틸- 또는 모노에틸에터 및 유사 생성물, 중합체, 폼 안정화제; 전해질 및 특히 하나 이상의 증점제를 함유할 수 있다.

[0046] 제품의 농도를 적합하게 형성함을 보조하는 본 발명의 제형에 사용될 수 있는 증점제는 카보머, 이산화 규소, 마그네슘 및/또는 알루미늄 실리케이트, 비즈 왁스, 스테아르산, 스테아릴 알코올 폴리사카라이드 및 이들의 유도체, 예컨대 잔탄 검, 하이드록시프로필 셀룰로스, 폴리아크릴아미드, 아크릴레이트 가교중합체, 바람직하게는 카보머, 예컨대 유형 980, 981, 1382, 2984, 5984의 카보폴(carbopole, 등록상표)(단독 또는 이들의 혼합물)을 포함한다.

- [0047] 본 발명의 조성물에 포함되어 성분, 예컨대 유화제 또는 폼 형성제/안정화제를 중화시킬 수 있는 적합한 중화제는 비제한적으로 알칼리 금속 수산화물, 예컨대 나트륨 및 칼륨 수산화물; 유기 염기, 예컨대 다이에탄올아민(DEA), 트라이에탄올아민(TEA), 아미노메틸 프로판올 및 이들의 혼합물; 아미노산, 예컨대 아르기닌 및 리신, 및 전술된 임의의 것의 조합을 포함한다. 중화제는 본 발명의 조성물 중에 약 0.01 내지 약 8 중량%, 바람직하게는, 1 내지 약 5 중량%의 양으로 존재할 수 있다.
- [0048] 본 발명의 조성물 내에 전해질의 첨가는 소수성 유화제의 거동을 바꾸기 위해 필요할 수 있다. 따라서, 본 발명의 유화액/마이크로 유화액은 바람직하게는 음이온, 예컨대 비제한적으로 클로라이드, 설페이트, 카보네이트, 보레이트 및 알루미늄에이트를 포함하는 하나 이상의 염의 전해질을 함유할 수 있다. 다른 적합한 전해질은 유기 음이온, 예컨대 비제한적으로 락테이트, 아세테이트, 벤조에이트, 프로피오네이트, 타르트레이트 및 시트레이트를 기반으로 할 수 있다. 양이온으로서 바람직하게는 암모늄, 알킬암모늄, 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속, 마그네슘-, 철- 또는 아연-이온이 선택된다. 특히 바람직한 염은 칼륨 클로라이드, 나트륨 클로라이드, 마그네슘 설페이트, 아연 설페이트 및 이들의 혼합물이다. 전해질은 본 발명의 조성물에 약 0.01 내지 약 8 중량%의 양으로 존재할 수 있다.
- [0049] 본 발명의 조성물을 제조하기 위한 본 발명에 따라, 활성 성분은 그 자체로 또는 캡슐화된 형태, 예를 들어 리포솜 형태로 사용될 수 있다. 리포솜은 바람직하게는 스테롤 또는 피토스테롤의 첨가와 함께 또는 첨가 없이 레시틴을 사용하여 형성된다. 활성 성분의 캡슐화는 단독으로 또는 다른 활성 성분과 함께 수행될 수 있다. 지방산, 또는 이의 염, 에스터 또는 아마이드(상기에 정의된 선호 사항 및 정의를 가진) 단독 또는 레티노이드 단독을 캡슐화하는 것이 가능하나, 둘 다의 성분을 함께 또는 별개의 캡슐로 캡슐화하는 것도 가능하다.
- [0050] 다른 실시양태는 레티노이드 저하를 방지하고 제어된 전달을 위한 고체 또는 반고체 캡슐을 포함한다. 캡슐은 레티노이드를 단독으로 또는 지방산, 또는 이의 염, 에스터 또는 아마이드(상기에 정의된 선호 사항 및 정의를 가진)와 함께 함유할 수 있다. 적합한 캡슐화 기술은 예를 들어 WO 01/80823, WO 99/03450, WO 93/17784 또는 문헌[Fragrance Journal (2001), 29(2), 83-90]에 기재되어 있다.
- [0051] 또한, 본 발명의 조성물은 특히 여드름, 주름, 라인, 위축, 염증을 방지하거나 감소하기 위한 하나 이상의 추가적 약학적 또는 화장품 활성 성분, 뿐만 아니라 비제한적으로 국소 마취제, 인공 태닝제 및 태닝 촉진제, 향미생물제, 향진균제 및 선크림 첨가제를 함유할 수 있다.
- [0052] 이러한 성분의 예는 펩티드(예를 들어 매트릭실(Matrixyl, 상표)[펜타펩티드 유도체]), 올리고펩티드, 왁스-게합성 펩티드(예를 들어 옥틸 팔미테이트 및 트라이베헤닌 및 소르비탄 이소스테아레이트 및 팔미토일-올리고펩티드), 글리세롤, 우레아, 구아니딘(예를 들어 아미노 구아니딘); 비타민 및 이의 유도체, 예컨대 비타민 C(아스코르브산), 비타민 A(예를 들어 레티노이드 유도체, 예컨대 레티닐 팔미테이트 또는 레티닐 프로피오네이트), 비타민 E(예를 들어 토코페롤 아세테이트), 비타민 B₃(예를 들어 니아신아미드) 및 비타민 B₅(예를 들어 판텐올), 비타민 B₆ 및 비타민 B₁₂, 비오틴, 폴산; 여드름 방지 활성제 또는 약제(예를 들어 레조르시놀, 살리실산 등); 산화 방지제(예를 들어 피토스테롤, 리포산); 플라보노이드(예를 들어 이소플라본, 피토에스트로겐); 피부진정제 및 치유제, 예컨대 알로에 베라 추출물, 알란토인 등; 심미적 목적에 적합한 제제, 예컨대 에센셜 오일, 향수, 스킨 센세이트(sensate), 유백제, 방향족 화합물(예를 들어 클로브 오일, 멘톨, 캄포르, 유칼립투스 오일 및 유게놀), 박리 활성제, 하이드록시산, 예컨대 AHA 산, 라디칼 스캐빈저, 파르네솔, 향진균 활성제, 특히 비사불롤, 알킬다이올, 예컨대 1,2-펜탄다이올, 헥산다이올 또는 1,2-옥탄다이올, 피톨, 폴리올, 예컨대 피탄트라이올, 세라미드 및 슈도세라미드, 아미노산, 단백질 가수분해물, 다불포화 지방산, 식물 추출물, 예컨대 키네틴, DNA 또는 RNA 및 이들의 단편화 생성물, 탄수화물, 공액된 지방산, 카르니틴, 카르노신, 바이오키논(biochinon), 피토플루엔, 피토엔 및 이들의 상응하는 유도체이다.
- [0053] 추가적으로 본 발명의 화장품 및 약학적 국소용 조성물은 UV 차단제(UV 필터)를 함유할 수 있다. 추가적 UV 차단제는 유리하게 IR, UV-A, UV-B, UV-C 및/또는 광대역 필터로부터 선택된다. UV-B 또는 광범위 스펙트럼 차단제(즉, 약 290 내지 340 nm의 최대 흡수를 갖는 물질)의 예는 유기 또는 무기 화합물일 수 있다. 유기 UV-B 또는 광대역 차단제는 예를 들어 아크릴레이트, 예컨대 2-에틸헥실 2-시아노-3,3-다이페닐아크릴레이트(옥토크릴렌, 파르솔(PARSOL, 등록상표) 340), 에틸 2-시아노-3,3-다이페닐아크릴레이트 등; 캄포르 유도체, 예컨대 4-메틸 벤질리텐 캄포르(파르솔(등록상표) 5000), 3-벤질리텐 캄포르, 캄포르 벤즈알코늄 메토설페이트, 폴리아크릴아미도메틸 벤질리텐 캄포르, 설포벤질리텐 캄포르, 설포메틸 벤질리텐 캄포르, 테레프탈리텐 다이캄포르 설포산 등; 신나메이트 유도체, 예컨대 에틸헥실 메톡시신나메이트(파르솔(등록상표) MCX), 메톡시에틸 메톡시신나메이트, 다이에탄올아민 메톡시신나메이트(파르솔(등록상표) 하이드로), 이소아밀 메톡시신나메이트 등, 뿐만

아니라 실록산에 결합된 신남산 유도체; p-아미노벤조산 유도체, 예컨대 p-아미노벤조산, 2-에틸헥실 p-다이메틸아미노벤조에이트, N-옥시프로필렌화된 에틸 p-아미노벤조에이트, 글리세릴 p-아미노벤조에이트; 벤조페논, 예컨대 벤조페논-3, 벤조페논-4, 2,2',4,4'-테트라하이드록시-벤조페논, 2,2'-다이하이드록시-4,4'-다이메톡시벤조페논 등; 벤잘말론산의 에스터, 예컨대 다이-(2-에틸헥실) 4-메톡시벤잘말로네이트; 2-(4-에톡시-아닐리노메틸렌)프로판이산의 에스터, 예컨대 2-(4-에톡시 아닐리노메틸렌) 프로판이산 다이에틸 에스터(EP 0895 776에 기재됨); 벤잘말로네이트 기를 함유하는 유기 실록산 화합물(EP 0358584 B1, EP 0538431 B1 및 EP 0709080 A1에 기재됨), 예컨대 파르솔(등록상표) SLX; 드로메트라이졸 트라이실록산(백소릴(Mexoryl) XL); 이미다졸 유도체, 예컨대 2-페닐 벤즈이미다졸 설펜산 및 이의 염(파르솔(등록상표)HS)이다. 2-페닐 벤즈이미다졸 설펜산의 염은 예를 들어 알칼리 금속 염, 예컨대 나트륨- 또는 칼륨 염, 암모늄 염, 모폴린 염, 1차, 2차 및 3차 아민의 염, 예컨대 모노에탄올아민 염, 다이에탄올아민 염 등; 살리실레이트 유도체, 예컨대 이소프로필벤질 살리실레이트, 벤질 살리실레이트, 부틸 살리실레이트, 에틸헥실 살리실레이트(파르솔(등록상표) EHS, 네오 헬리오판(Neo Heliopan) OS), 이소옥틸 살리실레이트 또는 호모헨틸 살리실레이트(호모살레이트, 파르솔(등록상표) HMS, 네오 헬리오판 HMS) 등; 트리아진 유도체, 예컨대 에틸헥실 트리아존(유비닐(Uvinul) T-150), 다이에틸헥실 부타미도 트리아존(유바졸브(Uvasorb) HEB) 등이다. 캡슐화된 UV 필터, 예컨대 캡슐화된 에틸헥실 메톡시신나메이트(유솔렉스(Eusolex) UV-필) 또는 UV 필터가 적재된 마이크로 캡슐은 예를 들어 EP 1471995 등에 개시된 바와 같다.

[0054] 광범위 스펙트럼 또는 UV A 차단제(즉, 약 320 내지 400 nm의 최대 흡수를 갖는 물질)의 예는 유기 또는 무기 화합물일 수 있다. 유기 광범위 스펙트럼 또는 UV A 차단제는 예를 들어 다이벤조일메탄 유도체, 예컨대 4-tert-부틸-4'-메톡시다이벤조일-메탄(파르솔(등록상표) 1789), 다이메톡시다이벤조일메탄, 이소프로필다이벤조일메탄 등; 벤조트리아아졸 유도체, 예컨대 2,2'-메틸렌-비스-(6-(2H-벤조트리아아졸-2-일)-4-(1,1,3,3,-테트라메틸부틸)-페놀(티노솔브(Tinosorb) M) 등; 비스-에틸헥실옥시페놀 메톡시페닐 트리아진(티노솔브 S) 등; 페닐렌-1,4-비스-벤즈이미다졸설펜산 또는 염, 예컨대 2,2'-(1,4-페닐렌)비스-(1H-벤즈이미다졸-4,6-다이설펜산)(네오헬리오판 AP); 아미노 치환된 하이드록시벤조페논, 예컨대 2-(4-다이에틸아미노-2-하이드록시-벤조일)-벤조산 헥실에스터(유비닐 A 플러스)(EP 1046391에 기재됨); 이온성 UV-A 필터(WO 2005/080341 A1에 기재됨)를 포함한다; 다이벤조일메탄 유도체는 제한된 광 안정성을 갖기 때문에, 이들 UV-A 차단제를 광 안정화시키는 것이 바람직할 수 있다. 따라서, 용어 "종래의 UV-A 차단제"는 예를 들어 3,3'-다이페닐아크릴레이트 유도체(EP 0514491 B1 및 EP 0780119 A1에 기재됨), 벤질리덴 캄포르 유도체(US 5,605,680에 기재됨), 벤잘말로네이트 기를 함유하는 유기 실록산(EP 0358584 B1, EP 0538431 B1 및 EP 0709080 A1에 기재됨)에 의해 안정화된 다이벤조일메탄 유도체, 예컨대 파르솔(등록상표) 1789를 나타낸다.

[0055] 또한, 본 발명의 조성물에 첨가될 수 있는 UV-A 및 UV-B 차단제의 우수한 개요는 DE-A 103 27 432에서 찾아볼 수 있다. 또한, 상기 문헌에 개시된 모든 UV- 차단제는 본 발명의 조성물을 위한 성분으로서 유용하고 본 발명에 참고로 포함된다. 추가적으로 본 발명의 조성물은 UV-A 및 UV-B 필터를 함유할 수 있다. UV- 필터 또는 차단제의 추가적 예는 본원에 참고로 포함된 WO 04/000256, 특히 10 내지 12면에 개시되어 있다.

[0056] UV 차단제의 안전하고 유효한 양이 사용되고, 전형적으로 조성물의 총 중량의 약 1 내지 약 20 중량%, 보다 전형적으로 약 2 내지 약 10 중량%이다.

[0057] 본 발명의 화장품 또는 약학적 국소용 조성물 내로 혼입될 수 있는 다른 적합한 UV 차단제는 무기 안료, 예컨대 미세 미립자화된 금속 산화물(예를 들어 파르솔(등록상표) TX)이다. 이러한 화합물의 예는 예를 들어 약 15 내지 약 100 nm의 평균 일차 입자 크기를 갖는 티타늄 이산화물, 약 15 내지 약 150 nm의 평균 일차 입자 크기를 갖는 아연 산화물, 약 15 내지 약 150 nm의 평균 일차 입자 크기를 갖는 지르코늄 산화물, 약 15 내지 약 500 nm의 평균 일차 입자 크기를 갖는 철 산화물, 및 이들의 혼합물을 포함한다. 또한, 금속 산화물 입자는 금속 산화물, 예컨대 알루미늄 또는 지르코늄 산화물에 의해 또는 유기 코팅, 예컨대 폴리올, 메티콘, 알루미늄 스테아레이트, 알킬 실란에 의해 코팅될 수 있다. 이러한 코팅은 당분야에 주지되어 있다. 본원에 사용시, 무기 선스크린은 조성물의 총 중량의 약 0.1 내지 약 20 중량%, 바람직하게는 약 0.5 내지 약 10 중량%, 보다 바람직하게는 약 1 내지 약 5 중량%의 양으로 존재한다.

[0058] 10-하이드록시스테아르산, 또는 염 또는 에스터는 공지되어 있거나 공지된 부류의 화합물에 속하고, 공지된 방법 또는 그와 유사한 방법으로 제조될 수 있다.

[0059] 피부 주름을 감소시키는 본 발명의 화장품 조성물의 능력은 문헌["Skin topography measurement by interference fringe projection: a technical validation". (Lagarde J M; Rouvrais C; Black D;

Diridollou S; Gall Y, Skin research and technology: official journal of International Society for Bioengineering and the Skin (ISBS) [and] International Society for Digital Imaging of Skin (ISDIS) [and] International Society for Skin Imaging (ISSI) (2001 May), 7(2), 112-21] 또는 ["Direct and non-direct measurement techniques for analysis of skin surface topography". Fischer T W; Wigger-Alberti W; Elsner P., Skin pharmacology and applied skin physiology (1999 Jan-Apr), 12(1-2), 1-11]에 기재된 프로필로메트리 방법(profilometric method)에 의해 평가될 수 있다.

[0060] 하기 실시예는 본 발명을 예시하나, 본 발명을 제한하는 것으로 간주되어서는 안된다.

[0061] 실시예

[0062] 본 발명은 하기 실험에 의해 추가로 예시된다.

[0063] 실시예 1

[0064] 하기에 나타난 성분을 함유하는 노화 방지 제형을 자체로 공지된 방법으로 제조할 수 있다.

[0065] 제형 1

성분	% (w/w)
글리세릴 미리스테이트	4.00
세틸 알코올	2.00
스테아레스-2	2.00
스테아레스-21	2.00
이소프로필 미리스테이트	5.00
토코페릴 아세테이트	0.50
에틸헥실 메톡시신나메이트	4.00
에틸헥실 살리실레이트	2.00
부틸 메톡시다이벤조일메탄	1.00
아몬드 오일	2.00
BHT	0.05
페녹시에탄올 & 메틸파라벤 & 에틸파라벤 & 프로필파라벤 & 부틸파라벤 & 이소프로필파라벤	0.80
이나트륨 EDTA	0.10
D-판텐올	0.30
프로필렌 글리콜	4.00
폴리아크릴아미드 & C ₁₃₋₁₄ 이소파라핀 & 라우레스(Laureth)-7	0.50
10-하이드록시스테아르산	0.50
물	100까지
트라이에탄올아민	충분량

[0066]

[0067] 실시예 2

[0068] 하기에 나타난 성분을 함유하는 노화 방지 제형을 자체로 공지된 방법으로 제조할 수 있다.

[0069] 제형 2

성분	% (w/w)
글리세릴 미리스테이트	4.00
세틸 알코올	2.00
스테아레스-2	2.00
스테아레스-21	2.00
이소프로필 미리스테이트	5.00
토코페릴 아세테이트	0.50
에틸헥실 메톡시신나메이트	4.00
에틸헥실 살리실레이트	2.00
부틸 메톡시다이벤조일메탄	1.00
아몬드 오일	2.00
BHT	0.05
페녹시에탄올 & 메틸파라벤 & 에틸파라벤 & 프로필 파라벤 & 부틸파라벤 & 이소프로필파라벤	0.80
이나트륨 EDTA	0.10
D-판텐올	0.30
프로필렌 글리콜	4.00
폴리아크릴아미드 & C ₁₃₋₁₄ 이소파라핀 & 라우레스-7	0.50
물	100까지
10-하이드록시-스테아르산	0.50
트라이에탄올아민	충분량

[0070]

[0071] 실시예 3

[0072] 하기에 나타난 성분을 함유하는 페이스 트리트먼트 제형을 자체로 공지된 방법으로 제조할 수 있다.

[0073] 제형 3

성분	% (w/w)
글리세릴 미리스테이트	5.00
세틸 알코올	2.00
세틸 포스페이트	2.00
이소프로필 미리스테이트	10.00
토코페릴 아세테이트	0.30
아몬드 오일	2.00
BHT	0.05
페녹시에탄올 & 메틸파라벤 & 에틸파라벤 & 프로필 파라벤 & 부틸파라벤 & 이소프로필파라벤	0.60
트로메타민	0.90
물	100까지
D-판텐올	0.20
이나트륨 EDTA	0.10
프로필렌 글리콜	4.00
폴리아크릴아미드 & C ₁₃₋₁₄ 이소파라핀 & 라우레스-7	2.00
10-하이드록시스테아르산	0.50
트라이에탄올아민	충분량

[0074]

[0075] 실시예 4

[0076] 하기에 나타난 성분을 함유하는 페이스 트리트먼트 제형을 자체로 공지된 방법으로 제조할 수 있다.

[0077] 제형 4

성분	% (w/w)
글리세릴 미리스테이트	5.00
세틸 알코올	2.00
세틸 포스페이트	2.00
이소프로필 미리스테이트	10.00
토코페릴 아세테이트	0.30
아몬드 오일	2.00
BHT	0.05
페녹시에탄올 & 메틸파라벤 & 에틸파라벤 & 프로필 파라벤 & 부틸파라벤 & 이소프로필파라벤	0.60
트로메타민	0.90
물	100까지
D-판텐올	0.20
이나트륨 EDTA	0.10
프로필렌 글리콜	4.00
폴리아크릴아미드 & C ₁₃₋₁₄ 이소파라핀 & 라우레스-7	2.00
10-하이드록시스테아르산	0.50
트라이에탄올아민	충분량

[0078]

[0079] 실시예 5

[0080] 하기에 나타난 성분을 함유하는 탈모 세럼을 자체로 공지된 방법으로 제조할 수 있다.

[0081] 제형 5

성분	% (w/w)
물	100까지
에탄올	8.00
이소프로판올	4.00
프로필렌 글리콜	5.00
D-판텐올	0.20
PEG-12 다이메티콘	0.20
PEG-40 수소화된 피마자 오일	4.00
피탄트라이올	0.05
비타민 E 아세테이트	0.10
10-하이드록시스테아르산	0.50
레티놀 15D (카프릴릭/카프릭 트라이글리세리드 & 레 티놀)	0.50
NaOH 10%	충분량

[0082]

[0083] 실시예 6

[0084] 하기에 나타난 성분을 함유하는 탈모 세럼을 자체로 공지된 방법으로 제조할 수 있다.

[0085] 제형 6

성분	% (w/w)
물	100까지
에탄올	8.00
이소프로판올	4.00
프로필렌 글리콜	5.00
D-판텐올	0.20
PEG-12 다이메티콘	0.20
PEG-40 수소화된 피마자 오일	4.00
피탄트라이올	0.05
비타민 E 아세테이트	0.10
10-하이드록시스테아르산	0.50
NaOH 10%	충분량

[0086]

[0087] 실시예 7

[0088] 하기에 나타난 성분을 함유하는 피부 강화 로션을 자체로 공지된 방법으로 제조할 수 있다.

[0089] 제형 7

성분	% (w/w)
물	100까지
D-판테올	0.05
나트륨 아스코르빌 포스페이트	0.20
프로필렌 글리콜	5.00
아크릴레이트/C ₁₀₋₃₀ 알킬 아크릴레이트 가교중합체	0.50
수산화 나트륨 30%	0.40
이나트륨 EDTA	0.10
스쿠알란	2.00
페녹시에탄올 & 메틸파라벤 & 에틸파라벤 & 프로필파라벤 & 부틸파라벤 & 이소프로필파라벤	0.80
코코-카프릴레이트/카프레이트	4.00
BHT	0.05
토코페릴 아세테이트	0.10
사이클로메티콘	3.00
글리세린	3.00
10-하이드록시스테아르산	0.50
수산화 나트륨 10%	충분량

[0090]

[0091] 실시예 8

[0092] 하기에 나타난 성분을 함유하는 피부 강화 로션을 자체로 공지된 방법으로 제조할 수 있다.

[0093] 제형 8

성분	% (w/w)
물	100까지
D-판테올	0.05
나트륨 아스코르빌 포스페이트	0.20
프로필렌 글리콜	5.00
아크릴레이트/C ₁₀₋₃₀ 알킬 아크릴레이트 가교중합체	0.50
수산화 나트륨 30%	0.40
이나트륨 EDTA	0.10
스쿠알란	2.00
페녹시에탄올 & 메틸파라벤 & 에틸파라벤 & 프로필파라벤 & 부틸파라벤 & 이소프로필파라벤	0.80
코코-카프릴레이트/카프레이트	4.00
BHT	0.05
토코페릴 아세테이트	0.10
사이클로메티콘	3.00
글리세린	3.00
10-하이드록시스테아르산	0.50
수산화 나트륨 10%	충분량

[0094]

[0095] 실시예 9

[0096] 하기에 나타난 성분을 함유하는 검버섯 치료 제형을 자체로 공지된 방법으로 제조할 수 있다.

[0097] 제형 9

성분	% (w/w)
물	100까지
폴리쿼터늄-10	0.10
D-판테올	0.50
나트륨 아스코르빌 포스페이트	1.00
니아신아미드	0.50
프로필렌 글리콜	4.00
글리세린	3.00
PEG-12 다이메티콘	0.20
이나트륨 EDTA	0.10
폴리소르베이트 20	5.00
페녹시에탄올 & 메틸파라벤 & 에틸파라벤 & 프로필파라벤 & 부틸파라벤 & 이소프로필파라벤	0.80
10-하이드록시스테아르산	0.50
수산화 나트륨 10%	충분량

[0098]

- [0099] **실시예 10: 콜라겐-I 합성에 대한 10-하이드록시스테아르산의 효과**
- [0100] 화합물을 10 mM로 DMSO에 용해시키고 분취하고 -20℃에서 저장하였다.
- [0101] 이러한 작업의 목적은 인간 진피 섬유아세포에서 콜라겐 1 합성에 대한 10-하이드록시스테아르산(10-HSA)의 효능을 시험하기 위한 것이었다.
- [0102] 50세 여성 기증자(Fb-D)의 생검으로부터 분리된 인간 진피 섬유아세포를 10% 송아지 태아 혈청(FCS) 및 1% 페니실린/스트렙토마이신(P/S)을 함유하는 돌베코(Dulbecco)의 개질된 이글 배지 고 글루코스(DMEM)에서 유지하였다. 세포를 37℃에서 가습된 5% CO₂-공기 분위기에서 배양하였다.
- [0103] 재료 및 방법
- [0104] 세포 독성 측정: 제조업자의 지침에 따라 MTT를 사용하여 세포 독성을 측정하였다. 간략히: 섬유아세포(4000 세포/웰, 96-웰 세포 배양 플레이트 중, 농크(Nunc))를 DMEM 10% FCS 1% 페니실린/스트렙토마이신(P/S) 중에서 24시간 동안 예비배양한 후에, 0.2% FCS 및 1% P/S를 함유하는 DMEM 저 글루코스에서 2.5시간 동안 스타베이션(starvation)을 수행하였다. 이어서, 스타베이션 배지를 대체하고, 가용화된 화합물을 첨가하고 48시간 동안 항온처리하였다. 이어서, 10 µl MTT 표지 시약을 각각의 웰에 첨가하고(최종 농도 0.5 mg/ml), 마이크로티터 플레이트를 4시간 동안(37℃, 5% CO₂) 항온처리하였다. 100 µl 가용화 용액을 각각의 웰에 첨가한 후에, 플레이트를 밤새 항온처리(37℃, 5% CO₂)에 방치하였다. 흡광도(OD)를 흡광도 플레이트 판독기에서 550 nm에서 측정하였다.
- [0105] 정상 인간 섬유아세포에서 콜라겐 1 합성의 측정: 인간 진피 섬유아세포를 DMEM 10% FCS 1% P/S 중에서 24시간 동안 예비배양한 후에, 0.2% FCS 및 1% P/S를 함유하는 DMEM 저 글루코스에서 2.5시간 동안 스타베이션을 수행하였다. 이어서, 스타베이션 배지를 대체하고, 가용화된 화합물을 첨가하고, 48시간 동안 항온처리하였다. 화합물 항온처리 세포를 4% 폼알데하이드를 함유하는 완충DPBS 중에서 15분 동안 고정하고 DPBS 0.1% 트리톤(Triton)-X100으로 90초 동안 침투시킨 후에, 콜라겐 1을 마우스 항-인간 콜라겐 1 항체를 사용하여 검출하고, 제1 항체를 알렉사플루오르(AlexaFluor) 488 접합된 염소 항-마우스 IgG로 검출하였다. 핵을 DAPI로 대비염색시켰다. 염색된 세포를 써모 피셔 하이 콘텐츠 이미징 시스템(Thermo Fisher High Content Imaging System)으로 분석하였다. 10x 대물렌즈를 사용하여 하나의 웰당 49개의 사진을 취득한 후에, 이미지를 "셀헬스프로파일링(CellHealthProfiling)" 바이오어플리케이션 v4를 사용하여 분석하였다. 콜라겐 1을 핵 주변에 한정된 영역에서 측정하고, 형광 강도 값을 세포 계수에 대하여 정규화하였다.
- [0106] 결과
- [0107] 세포 독성: 48시간 동안 화합물로 처리된 정상 인간 섬유아세포를 MTT 분석을 사용하여 생존능에 대하여 평가하였다. 화합물을 사용하지 않은 대조군 값을 100% 생존능으로 설정하였다. 10-HSA는 임의의 세포 독성 효과(대조군 세포와 비교하여 80% 미만으로 세포 생존 감소)를 나타내지 않았다.
- [0108] 콜라겐 1 합성: 예비배양 기간 후에, 일차 인간 섬유아세포를 48시간 동안 증가하는 양의 화합물과 함께 항온처리하였다. 이어서, 세포를 고정시키고, 콜라겐 1 단백질 수준을 면역형광에 의해 평가하였다. 실험을 2회 반복하였다. 스타베이션 후에, 섬유아세포를 48시간 동안 증가하는 양의 화합물과 함께 항온처리하였다. TGF-β 1을 양성 대조군으로 제공하였다. 주어진 값은 대조군 세포와 비교하여 콜라겐 1 유도의 배수를 나타냈다. 10-HSA는 콜라겐 1의 투여량 의존 유도를 나타낸 반면에, 스테아르산(SA)은 콜라겐 1 발현을 유도하지 않았다. 10-HSA가 5 µM로 사용될 때 콜라겐 1 유도는 2.2배 유도에 도달하였다.
- [0109] **실시예 11: 일광화상 세포 및 콜라겐 3에 대한 10-HSA의 효과**
- [0110] 재료 및 방법
- [0111] 피부 샘플: 복부 성형으로부터 취득한 인간 피부를 사용하였다(기증자: 여성, 1971년생). 동의서를 받았다. 피부 포토타입(phototype)을 분광 비색계를 사용하여 분석하고 "갈색"으로 분류하였다(ITA° 각 = 9.3°)(색소 침착 등급: 매우 연함 < 연함 < 중간 < 황갈색 < 갈색 < 진함)(문헌[Del Bino et al., Pigment Cell Research, 19. 2006]).
- [0112] 피부 샘플 제조: 피부 샘플을 약 8x3 mm(Ø x 두께)의 조각으로 절단하고 6일 이하 동안 배양하였다. 14개의 피부 시편을 각각의 처리를 위해 사용하였다. 2개의 피부 샘플을 배양하여 피부 생존능 시험을 수행하고 6개를

피부 색소침착 및 콜라겐 분석을 수행하고 6개월 SBC 시험을 수행하였다.

- [0113] 기관 배양: 피부 샘플을 배양 배지(개질된 윌리엄즈(Williams) E 배지)와 접촉된 스테인리스 강의 구멍난 고리에서 공기-액체 경계면에서 6일 이하 동안 배양하였다. 배양 배지를 3일 마다(즉, 제0일 내지 제3일) 교체하였다.
- [0114] 처리: 시험 샘플 및 대조군을 둘 다 국소적으로 도포하고 매일 교체하였다. 도포를 하기와 같이 수행하였다: 피부 생검을 면 패드로 부드럽게 닦고 각각의 시험된 샘플에 대하여 각각의 조각의 상부에 4 μ l의 트리트먼트를 도포하고 7 ϕ mm 전달 막으로 덮었다.
- [0115] 피부 생존능: 6일의 항온처리 후에, 2개의 피부 생검을 칭량하고, 경우에 따라 이들 모두에 대하여 거의 동일한 중량을 획득하기 위해 진피 부분을 감소시켰다. 이어서, 샘플을 세척하고 메틸티아졸릴다이페닐-테트라졸륨 브로마이드(MTT)로 처리하였다. MTT를 미토콘드리아 탈수효소에 의해 수-불용성의 짙은 청색 MTT-포르마잔으로 전환시켰다. 이어서, 청색 결정을 가용화시키고, 피부 활력에 정비례하는 색 강도를 플레이트 판독기로 570 nm의 파장에서 측정하였다. 제6일이 피부 생존능 시험의 종료점이기 때문에, 분석을 제2일에 중단된 샘플에 대해서는 수행하지 않았다.
- [0116] 일광화상 세포(SBC) 정량화: SBC는 이들의 DNA를 비가역적이고 심각하게 손상시키는 생리학적 UVB 투여량을 수용한 후에 세포 사멸을 겪는 각질 세포이다. 본 분석은, 조직화학적 염색 후에 UVB 광에 노출에 대한 결과로 일어나는 DNA 손상을 방지 또는 경감함에 있어서 시험된 화합물의 효과 조사한다. 실험 절차 내에서, 헤마톡실린-에오신 염색을 피부 박편 상에 수행하였다. 12개의 피부 박편을 각각의 처리에 속하는 피부 샘플로부터 획득하였다.
- [0117] 콜라겐 3: 피부 박편을 선택된 항체로 면역 염색시켰다. 각각의 슬라이드에 존재하는 항원의 양을 이미지 J(NIH-USA)를 사용하여 진피의 선택된 영역 내에 적색의 강도 및 분포를 추산함으로써 평가하였다. 콜라겐 3에 대하여 선택된 항체는 마우스 단일클론 항-콜라겐 3(시그마(Sigma) 카탈로그 번호: c7805)이었다.
- [0118] 통계적 분석: 모든 정량적 데이터를 각각의 처리에 대하여 평균 점수에 관하여 요약하여 나타냈다. 표준 편차 및 평균의 표준 오차(sem)로서 변량의 척도를 원래 점수에 적용하였다. 군들 사이의 차이를 순열검정을 사용하는 일원 분산분석 후에 쌍대 사후 비교-던넛(Dunnett) 순열검정 및 쌍대 사후 비교-터키(Tukey) HSD 순열검정에 의해 평가하였다.
- [0119] 결과
- [0120] 피부 생존능: 10-HSA는 시험된 3개의 농도(0.1, 1, 및 10 mg/ml) 중 어느 것에서도 피부 생존능에 영향을 미치지 않았다.
- [0121] 일광화상 세포: 예상되는 바와 같이, UV 조사는 일광화상 세포(SBC)의 존재를 현저하게 증가시켰다(+225%). 상업적으로 입수가능한 선택된 일광-보호 크림(즉, 유세린(Eucerin) 50+ 키즈)은 SBC의 형성을 경감시켰다(-25% vs 미처리된 UV). 10-HSA는 27 내지 30%의 UV-유도된 SBC의 증가에 대하여 보호를 나타냈다.
- [0122] **콜라겐 3: 10-HSA는 유형 3 콜라겐의 합성을 유도하였다.** 0.1 mg/ml 및 1 mg/ml에서 시험시 10-HSA는 콜라겐 3의 발현을 현저하게 증가시켰다(각각 +49% 및 +57%).
- [0123] **실시예 12: MMP-1 조절에 대한 10-HSA의 효과**
- [0124] 피부 샘플: 복부 성형으로부터 획득한 인간 피부를 사용하였다(기증자: 여성, 1948년생). 동의서를 받았다. 피부 포토타입을 분광 비색계를 사용하여 분석하고 "연함"으로 분류하였다(ITA° 각 = 50°)(색소침착 등급: 매우 연함 < 연함 < 중간 < 황갈색 < 갈색 < 진함)(문헌[Del Bino et al., Pigment Cell Research, 19, 2006]).
- [0125] 피부 샘플 제조: 피부 샘플을 약 8x3 mm(ϕ x 두께)의 조각으로 절단하고 2일 이하 동안 배양하였다. 각각의 처리를 위해 2개의 피부 시편을 배양하여 MMP-1 분석을 수행하였다.
- [0126] 기관 배양: 피부 샘플을 배양 배지(개질된 윌리엄즈 E 배지)와 접촉된 스테인리스 강의 구멍난 고리에서 공기-액체 경계면에서 2일 이하 동안 배양하였다. 배양 배지를 3일 마다(즉, 제0일 내지 제3일) 교체하였다.
- [0127] 처리: 시험 샘플 및 대조군을 둘 다 국소적으로 도포하고 UVB 조사 1시간 전에 교체하였다. 조사 직전에, 트리트먼트를 부드럽게 주의하여 피부 샘플로부터 제거하였다. 도포를 하기와 같이 수행하였다: 피부 생검을 면 패드로 부드럽게 닦고 각각의 시험된 샘플에 대하여 각각의 조각의 상부에 4 μ l의 트리트먼트를 도포하고 7 ϕ mm

전달 막으로 덮었다.

- [0128] UV 조사: 피부 샘플을 UVB T8-M 램프(312 nm)를 갖춘 UVB 광원(바이오-링크(Bio-Link, 독일 에버르하르트zell 빌버 라우마트 소재))을 사용하여 UVB-조사하였다(60 mJ/cm^2).
- [0129] RT-qPCR에 의한 MMP-1의 발현의 정량화: RT-qPCR 분석을 위해, 총 RNA를 완전한 두께의 피부로부터 제조업자의 지침에 따라 섬유 조직용 RNeasy 미니 키트(퀴아젠(Qiagen))를 사용하여 추출하였다. 정량화 후에, 400 ng의 총 RNA를 랜덤 육량체 및 수퍼스크립트(Superscript) III(인비트로젠(Invitrogen))을 사용하여 레트로-전사하였다. 생성된 cDNA를 사용하여 MMP-1 발현 평가를 위한 구체적 프라이머를 사용하여 리얼 타임(Real Time) PCR(SybrGreen 프로토콜)을 수행하였다. 유비퀴틴 및 YWHAZ를 데이터 정규화를 위한 참조 유전자로서 사용하였다.
- [0130] 데이터 수집 및 통계적 분석: RT-qPCR을 로터진(RotorGene)(코벳 라이프사이언스(Corbet lifescience)) 써멀 사이클러(thermal cycler) 상에 수행하고 REST 2009 V2.0.13 소프트웨어(퀴아젠)를 데이터 분석을 위해 사용하였다.
- [0131] MMP-1 발현 분석의 결과: 예상되는 바와 같이, UVB(1 J/cm^2) 조사는 MMP-1의 발현을 현저하고 극적으로 증가시켰다(+438% vs 미처리된 UV 미사용). 상업적으로 입수가능한 선택된 UV 필터는 UV 촉진된 활성을 현저하게 억제하였다(-45% vs 미처리된 UV). 10-HSA는 이들의 비히클(즉, DMSO)과 비교하여 **MMP-1 발현을 현저하고 상당히 감소시켰다.**
- [0132] **실시예 13: UV-유도된 스트레스 마커 p53의 감소**
- [0133] 세포 배양을 상기 실시예 12에서와 같이 수행하였다.
- [0134] p53 검출 및 정량화: 피부 박편을 p53에 대한 항체(Abcam, #ab7757)로 염색시켰다. p53 양성 세포를 계수하고, 수득된 값을 표피로 덮인 면적으로 나누었다. 각각의 피부 샘플의 2개의 슬라이드를 이미지 수집 및 관련된 분석(즉, 각각의 시험 처리에 대하여 12개의 이미지)으로 처리하였다.
- [0135] 통계적 분석: 모든 정량적 데이터를 각각의 처리에 대하여 평균 점수에 관하여 요약하여 나타냈다. 표준 편차 및 평균의 표준 오차(sem)로서 변량의 척도를 원래 점수에 적용하였다. 군들 사이의 차이를 순열검정을 사용하는 일원 분산분석 후에 쌍대 사후 비교-던넛 순열검정 및 쌍대 사후 비교-터키 HSD 순열검정에 의해 평가하였다.
- [0136] p53 결과: 예상되는 바와 같이, UVB(1 J/cm^2) 조사는 스트레스 마커 p53을 현저하고 극적으로 증가시켰다(+8429% vs 미처리된 UV 미사용). 상업적으로 입수가능한 선택된 UV 필터는 UV 촉진된 유도를 현저하게 억제하였다(-67% vs 미처리된 UV). 0.1 mg/ml에서 시험시, 10-HSA는 p53 UV-유도된 자극에 대하여 보호적 작용을 행사하였다(-46% vs DMSO UV).
- [0137] **실시예 14: 인간 진피 섬유아세포에서 콜라겐 3에 대한 10-HSA의 효과**
- [0138] 세포 배양: 성인 피부(50세 기증자)로부터 수득된 인간 진피 섬유아세포를 96-웰 플레이트에 시딩하고(4000 세포/웰) 10% 송아지 태아 혈청(FCS) 및 1% 페니실린/스트렙토마이신(라이프 테크놀로지스(Life Technologies, 스위스 루체른 소재))을 갖는 돌베코의 개질된 이글 배지에서 37°C 및 5% CO_2 에서 24시간 동안 배양하였다. 배지를 0.2% FCS 및 1% Pen/Strep를 함유하는 DMEM 저 글루코스로 교체한 후에, 세포를 추가적 2.5일 동안 항온처리하였다. 이어서, 스타베이션 배지를 시험 화합물을 함유하는 신선한 배지로 대체하였다. 48시간 항온처리 후에, 세포를 4% 폼알데하이드를 함유하는 돌베코의 포스페이트-완충된 염수(DPBS)(라이프 테크놀로지스(스위스 루체른 소재))에 15분 동안 고정하고 DPBS 중 0.1% 트리톤-X100으로 90초 동안 침투시켰다.
- [0139] 정상 인간 섬유아세포에서 콜라겐 3 합성의 측정: 콜라겐 3을 래빗 항-인간 유형 III 콜라겐(바이오펀드(BioTrend, 독일 쾰른 소재)), 및 이어서 알렉사플루오르488 접합된 이차 IgG 항체(염소 항-래빗 IgG, 라이프 테크놀로지스(스위스 루체른 소재))를 사용하여 검출하였다. 핵을 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich, 스위스 부르크스 소재)의 4',6-다이아미디노-2-페닐인돌(DAPI)로 대비염색시켰다. 염색된 세포를 어레이스캔(ArrayScan) VTI HCS 판독기(써모 피셔 사이언티픽(Thermo Fisher Scientific, 미국 매사추세츠주 윌담 소재))로 분석하였다. 10x 대물렌즈를 사용하여 하나의 웰당 총 49개의 사진을 수득한 후에, 이미지를 "셀헬스프로파일링(CellHealthProfiling)" 바이오어플리케이션 v4를 사용하여 분석하였다. 콜라겐을 핵 주변에 한정된 영역에

서 측정하고, 형광 강도 값을 세포 계수에 대하여 정규화하였다. 데이터는 2개의 독립적 실험의 최소값을 기반으로 한다.

[0140] 결과

[0141] 10-HSA는 처리된 섬유아세포에서 투여량-의존 방법으로 유형 III 콜라겐 합성을 현저하게 유도하였다(* 유의도 $p < 0.01$, 배지 대조군에 비해). 배지 처리된 세포와 비교하여 5 μM 농도의 10-HSA 사용시 244%의 유형 III 콜라겐 증가를 관찰하였다(도 1).

도 1

도 1

