

 (19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0130035 (43) 공개일자 2014년11월07일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 8/49 (2006.01) A61Q 19/02 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01) (21) 출원번호 10-2014-0050707 (22) 출원일자 2014년04월28일 심사청구일자 2014년04월28일 (30) 우선권주장 1020130048235 2013년04월30일 대한민국(KR)	(71) 출원인 경희대학교 산학협력단 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교) (72) 발명자 황재성 서울특별시 송파구 동남로11길 4, 101동 206호 (가락동, 미릉아파트) 박종일 경기도 용인시 수지구 성북1로164번길 20, 110동 1803호 (성북동, 버들치마을성북자이1차아파트) (74) 대리인 유수미

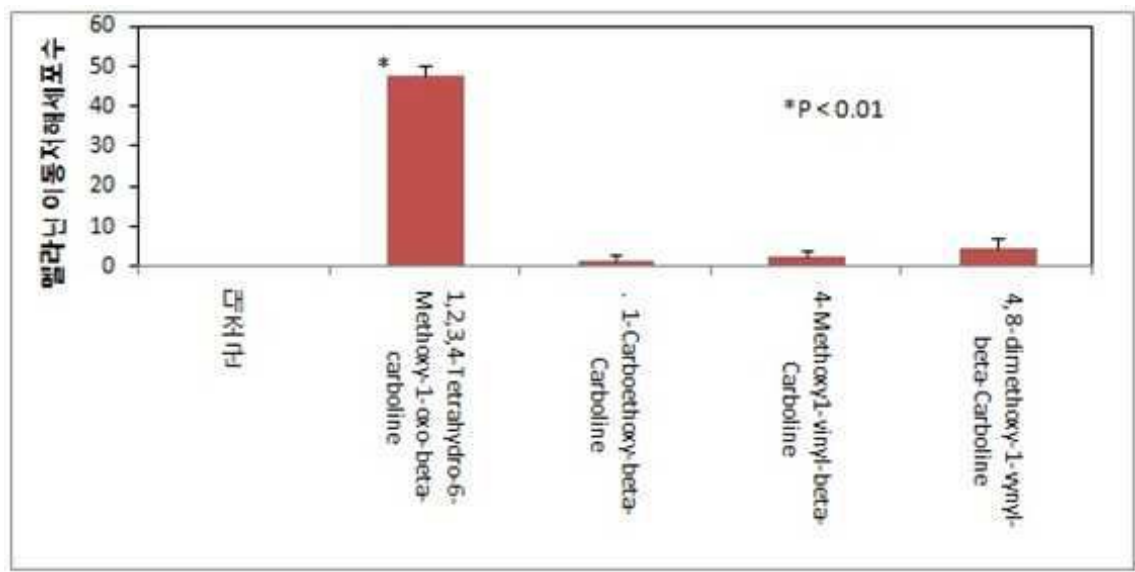
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 **1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물**

(57) 요약

본 발명은 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물을 제공한다. 본 발명에 따른 화장품 조성물은 멜라닌생성세포 내의 멜라노솜이라는 소기관의 운반체인 미오신 Va라는 단백질의 생성을 억제하여, 멜라닌의 이동을 저해하고 궁극적으로는 각질형성세포로의 이동까지 저해함으로써 우수한 미백 효과를 나타낼 수 있다.

대표도 - 도3



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 R-0000451

부처명 지식경제부

연구관리전문기관 KIAT

연구사업명 광역경제권 연계협력사업(코스메틱 클러스터 활성화사업)

연구과제명 뷰티 관련기업 일류화 지원사업

기 여 율 1/2

주관기관 제주 테크노파크

연구기간 2012.05.01 ~ 2013.04.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 RIC 07-06004

부처명 지식경제부

연구관리전문기관 경희대학교 피부생명공학센터

연구사업명 지역혁신센터사업

연구과제명 피부생명

기 여 율 1/2

주관기관 경희대학교 피부생명공학센터

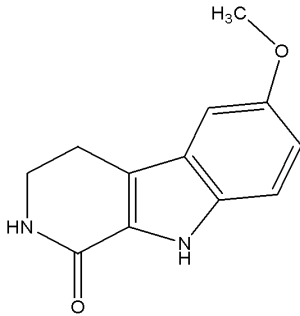
연구기간 2013.03.01 ~ 2014.02.28

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 유효 성분으로 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물:

[화학식 1]



청구항 2

제1항에 있어서, 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린은 0.0001 내지 10 중량%의 범위로 포함되는 것을 특징으로 하는 피부 미백용 화장품 조성물.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 파우더, 또는 스프레이로 제형화되는 것을 특징으로 하는 피부 미백용 화장품 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물에 관한 것이다.

배경기술

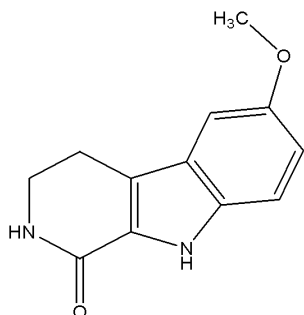
[0002] 피부의 색을 결정하는 멜라닌 생성의 화학적 작용에 대한 내용은 현재로서 많이 알려져 있는데, 멜라닌생성세포인 멜라노사이트(melanocyte)는 멜라노솜(melanosome)이라는 소기관 내에서 자외선으로부터 세포를 보호하는 기능을 가진 멜라닌을 합성하고, 이 멜라노솜은 멜라노사이트 덴드라이트(dendrites)를 통해 각질형성세포(keratinocyte)로 이동한다. 이렇게 각질형성세포로 이동한 멜라닌이 피부색을 결정하는 중요한 요소로 해석되고 있다.

[0003] 멜라노솜을 멜라닌생성세포의 덴드라이트로 이동시키는 데에는 주로 3개의 구성체들이 관여한다. Rab27a, 멜라노필린(Melanophilin) 및 미오신(Myosin) Va라는 세 가지 단백질로 구성되어 있는데, Rab27a는 멜라노솜 표면(membrane)에 결합하여 멜라노필린(melanophilin)이 멜라노솜을 인지하고 이동시킬 수 있도록 모으는 운반체 역할을 하는 단백질로서, 말단으로 이동하기 위해서는 세포내 세포골격(cytoskeleton)인 미오신 Va 단백질을 만나야 하며, 중간에서 이 두 단백질을 인지하고 연결시키는 연결체 역할을 하는 것이 바로 멜라노필린(melanophilin)이라는 단백질이다. 이렇게 세 구성체가 만나 복합체(tripartite complex)를 이루면, 멜라노솜을 세포 덴드라이트 말단(dendrite tips)으로 정상적으로 이동하는 것이 가능하고, 결국에는 각질형성세포로까지 멜라닌 전달이 된다. 만일 이 세 가지 구성체 중에 하나라도 이상이 있으면, 멜라닌의 생성에는 아무런 문제를 주지 않지만 멜라노솜의 이동에 문제가 생겨서, 결국에는 피부색이 밝아지는 현상을 나타내게 된다.

[0004] 따라서, 멜라닌의 이동을 억제하여 피부 미백 효과를 나타낼 수 있는 물질의 개발이 절실히 요구되어 왔다.

[0005] 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린(1,2,3,4-Tetrahydro-6-methoxy-1-oxo-beta-carboline)은 카르볼린의 R기에 OMe가 붙은 하기 화학식 1의 화합물이다.

[0006] [화학식 1]

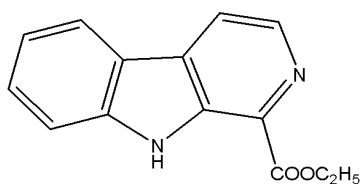


[0007]

[0008] 카르볼린 화합물은 MAPKAP K2의 억제제(inhibitor)로 연구가 되고, 이 방면으로 많은 연구가 진행되고 있다 [참고문헌: Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters Volume 17, Issue 16, 4664-4669, 2007]. 이러한 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 이용하여 HIV 바이러스의 리버스 트랜스크립타아제 억제제(reverse transcriptase inhibitor)로는 미국 공개특허 제2010/0216746호에 공개되어 있으나, 미백 물질로 개발하거나 미백 효능을 검증한 예는 아직까지 없다.

[0009] 대한민국 등록특허 제10-0356720호에는 인삼의 석유에테르 추출 및 분획물(인삼알칼로이드의 혼합물)을 주성분으로 함유하고 통상의 부형제를 함유하는 멜라닌 생성억제 및 피부미백용 화장품이 개시되어 있고, 인삼알칼로이드 중 하나로 하기 화학식 2의 1-카르보에톡시-베타-카르볼린(1-Carboethoxy-beta-Carboline)이 기재되어 있다.

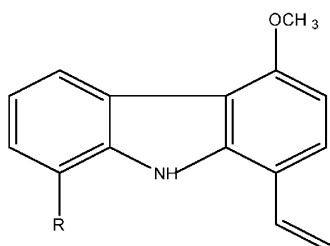
[0010] [화학식 2]



[0011]

[0012] 대한민국 등록특허 제10-0482695호에는 하기 화학식 3의 베타-카르볼린 유도체를 유효 성분으로 포함하는 피부 미백용 조성물이 개시되어 있으며, 이러한 피부 미백용 조성물은 멜라닌의 생성을 억제함으로써 미백 효과를 나타내는 것으로 기재되어 있다.

[0013] [화학식 3]



[0014]

- [0015] 상기 식에서,
[0016] R은 수소 또는 탄소수 1~5의 알콕시기를 나타낸다.

[0017] 그러나 상기 베타-카르볼린 유도체들은 멜라닌의 생성을 억제하는 것으로 알려져 있을 뿐, 멜라닌 이동 저해 효과에 대해서는 언급된 바 없다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0018] (특허문헌 0001) 미국 공개특허 제2010/0216746호
(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 제10-0356720호
(특허문헌 0003) 대한민국 등록특허 제10-0482695호

발명의 내용

해결하려는 과제

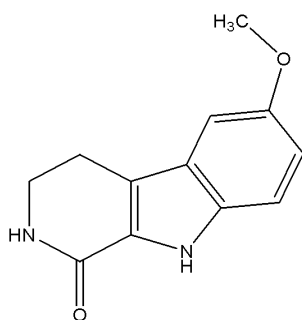
[0019] 본 발명자들은 멜라닌의 이동을 억제하여 피부 미백 효과를 나타내는 화장품 조성물을 개발하고자 예의 연구 검토한 결과, 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린이 멜라닌생성세포 내에서 멜라노솜의 이동을 담당하는 운반체 단백질의 생성을 억제함으로써 멜라노솜의 이동을 저해시키며, 이로 인해 멜라닌 생성은 정상임에도 불구하고 우수한 미백효과를 나타낼 수 있음을 알아내고 본 발명을 완성하게 되었다.

[0020] 따라서, 본 발명의 목적은 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0021] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물에 관한 것이다.

[0022] [화학식 1]



[0023]

[0024] 상기 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린은 멜라닌생성세포 내에서 멜라노솜의 이동을 담당하는 운반체 단백질인 미오신(Myosin) Va라는 단백질의 합성을 억제함으로써 멜라노필린(Melanophilin)과 미오신(Myosin) Va의 결합을 방해함으로써 멜라노솜의 이동을 저해하여, 이로 인해 멜라닌 합성 기능이 정상임에도 미백 효능을 제공한다.

[0025] 본 발명의 화장품 조성물은 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 유효성분으로서 구체적으로 0.0001 내지 10.0 중량%, 보다 구체적으로 0.001 내지 10.0 중량% 포함한다. 상기 함량이 0.0001 중량% 미만

인 경우에는 그 효과를 기대할 수 없고, 10 중량% 초과인 경우에는 조성물 안전성 및 제형 안정성에 어려움이 있다. 상기 유효성분의 함량은 그의 사용 목적에 따라 적절하게 결정될 수 있다.

- [0026] 본 발명의 화장료 조성물은 유효성분으로서 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 사용되는 성분들, 예를 들어 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함한다.
- [0027] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 사용되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 파우더, 스프레이 등으로 제형화될 수 있다.
- [0028] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 진분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0029] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트, 폴리아미드 파우더 등이 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0030] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제, 예를 들어 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방산 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜, 소르비탄의 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0031] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 또는 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가, 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [0032] 본 발명의 화장료 조성물은 스킨, 로션, 크림, 팩, 색조화장품, 선크림, 투웨이케이크, 페이스파우더, 콤팩트, 메이크업베이스, 스킨커버, 아이췌도우, 립스틱, 립글로스, 립픽스, 아이브로우 펜슬 등의 화장품에 적용될 수 있다.

발명의 효과

- [0033] 본 발명에 따른 화장료 조성물은 유효성분으로 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 함유함으로써 멜라닌생성세포 내의 멜라노솜이라는 소기관의 운반체인 미오신 Va라는 단백질의 생성을 억제하여, 멜라닌의 이동을 저해하고 궁극적으로는 각질형성세포로의 이동까지 저해함으로써 우수한 미백 효과를 나타낼 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0034] 도 1은 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 처리한 세포와 처리하지 않은 세포(대조군)에서 멜라노솜의 분포를 나타내는 멜란-에이 세포의 광학현미경 사진이다.
- 도 2는 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 처리한 세포와 처리하지 않은 세포(대조군)에서 멜라닌 이동저해 세포수를 나타낸 그래프이다.
- 도 3은 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 처리한 세포, 처리하지 않은 세포(대조군) 및 유사 화합물에서 멜라닌 이동저해 세포수를 나타낸 그래프이다.
- 도 4는 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 처리한 세포와 처리하지 않은 세포(DMSO)에서 Rab27a, 멜라노필린(M1ph) 및 미오신 Va 단백질의 발현량을 나타낸 웨스턴블랏 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0035] 이하, 실시예에 의해 본 발명을 보다 구체적으로 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오직 본 발명을 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업자에게 있어서 자명하다.

[0036] 실시예 1: 멜라노솜 이동 억제 효과 확인

[0037] 멜라닌생성세포의 배양

[0038] 쥐의 불멸화된 멜라닌생성세포인 멜란-에이(Melan-a) 세포를 10% 우태아혈청(Fetal bovine serum)이 포함된 RPMI 1640 배지에서, 2일에 한번씩 배지를 교환하면서 90% 점유율(Confluency)을 보일 때까지 10% CO₂ 배양기에서 배양하였다.

[0039] 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린에 의한 멜라닌생성세포에서 멜라닌 이동 저해 확인 및 정량화

[0040] 상기에서 배양된 멜란-에이(Melan-a) 세포를 0.25% 트립신(Trypsin)-EDTA로 떼어내고, 6-배양용기(well-plate)에 다시 동일한 숫자(4×10^5 cells/well)로 깔은 후에 24시간 동안 배양하였다. 여기에 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 3가지 농도로 처리하고, 2일 후에 광학현미경을 통해 세포 모양을 관찰하였으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0041] 도 1에서 보는 바와 같이, 검게 보이는 것이 멜라노솜으로 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 처리하지 않은 대조군과 비교하여, 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 처리한 세포에서는 멜라노솜이 세포 전체적으로 고루 분포하지 않고, 핵 주변으로 분포하고 있음을 확인할 수 있었다.

[0042] 그런 다음, 현미경을 통해 관찰한 멜라닌 이동이 저해된 세포 사진을 동일한 면적 하에서 멜라닌 이동이 저해된 세포의 숫자를 세어 하기 표 1 및 도 2에 나타내었다.

표 1

[0043]

		대조군	1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린		
농도			23uM	11.5uM	4.6uM
멜라닌 이동저해 세포수	1차	0	58	50	12
	2차	0	33	45	3
	3차	0	53	48	8
	평균	0	48	47.7	7.7
	표준편차	0	13.2	2.5	4.5

[0044] 상기 표 1 및 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 처리한 세포가 대조군에 비해 멜라닌 이동이 저해된 숫자가 더 많음을 확인할 수 있었다.

[0045] 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린 및 종래의 베타-카르볼린 유도체에 의한 멜라닌생성세포에서 멜라닌 이동 저해 확인 및 정량화

[0046] 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린 및 비교 화합물인 1-카르보에톡시-베타-카르볼린(1-Carboethoxy-beta-Carboline; 화학식 2의 화합물), 4-메톡시-1-비닐-베타-카르볼린(4-Methoxy-1-vinyl-beta-Carboline; R이 수소인 화학식 3의 화합물) 및 4,8-디메톡시-1-비닐-베타-카르볼린(4,8-dimethoxy-1-vinyl-beta-Carboline; R이 메톡시인 화학식 3의 화합물)을 각각 10uM의 농도로 처리하고, 2일 후에 광학현미경을 통해 세포모양을 관찰하였으며, 현미경을 통해 관찰한 멜라닌 이동이 저해된 세포사진을 동일한 면적 하에서 멜라닌 이동이 저해된 세포의 숫자를 세어 하기 표 2 및 도 3에 나타내었다.

표 2

[0047]

	대조군	1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린	1-카르보에톡시-베타-카르볼린	4-메톡시-1-비닐-베타-카르볼린	4,8-디메톡시-1-비닐-베타-카르볼린
농도		10uM	10uM	10uM	10uM

멜라닌 이동저해 세포수	1차	0	50	3	4	2
	2차	0	45	2	2	5
	3차	0	48	0	1	7
	평균	0	47.7	1.7	2.3	4.7
	표준편차	0	2.5	1.5	1.5	2.5

[0048] 상기 표 2 및 도 3에서 볼 수 있는 바와 같이, 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 처리한 세포가 대조군 및 비교 화합물들에 비해 멜라닌 이동이 저해된 숫자가 유의하게 많음을 확인할 수 있었다.

[0049] 실시예 2: Rab27a, 멜라노필린 및 미오신 Va 단백질의 발현량 확인

[0050] 멜란-에이(melan-a)세포에 1,2,3,4-테트라히드로-6-메톡시-1-옥소-베타-카르볼린을 3일간 처리한 후, 용혈 완충액(lysis buffer)(RIPA 완충액, Protease inhibitor cocktail, 1mM PMSF)에 넣은 후 분쇄하였다. 13,000 rpm으로 원심분리한 후 상층액을 취한 다음, NuPage® 10% Bis-Tris 겔을 이용하여 전기영동하고 PVDF 막으로 18시간 동안 전사하였다. PVDF 막을 블로킹 용액(skim milk)에 넣어 1시간 동안 반응시키고, Rab27a(Santa Cruz, 1:500), 멜라노필린(Melanophilin)(ProteinTech Group, Inc, 1:600), 미오신(Myosin) Va(Cell signaling, 1:1000)에 대한 특이적 일차 항체를 넣어준 후 밤새 반응시켰다. 반응이 끝난 후 0.1% 트윈 20이 들어 있는 1X TBS-T 용액으로 3회 세척하고, HRP(Horseradish peroxidase)가 붙어 있는 2차 항체(Bethyl, 1:5000)를 이용하여 반응시킨 후 동일한 방법으로 세척하였다. 이를 X-ray 필름을 이용하여 감광 후 분석하였다. 그 결과를 도 4에 나타내었다.

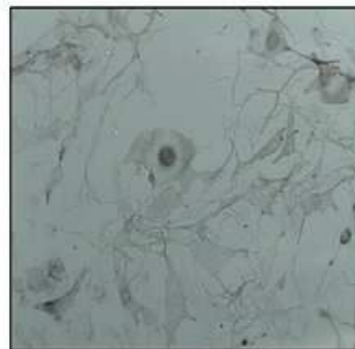
[0051] 웨스턴블랏의 결과를 통해 멜라노솜의 이동에 관여하는 3개의 단백질 중 하나인 미오신(Myosin) Va 단백질의 발현량이 줄어드는 것을 관찰하였다.

도면

도면1

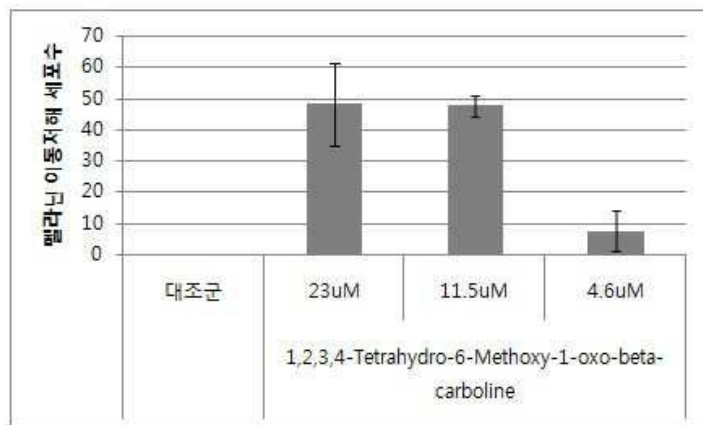


대조군

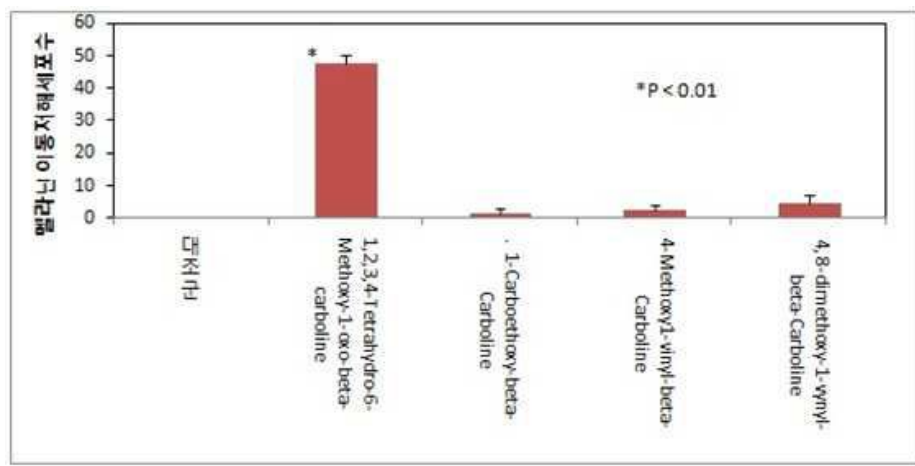


1,2,3,4-Tetrahydro-6-Methoxy-1-oxo-beta-carboline 처리군

도면2



도면3



도면4

