(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0129232
(43) 공개일자 2023년09월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07C 235/08 (2006.01) *A61K 8/68* (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01) *C07C 231/02* (2006.01)
C07C 233/18 (2006.01) *C07H 1/00* (2006.01)
C07H 15/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07C 235/08 (2013.01)
A61K 8/68 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7022527
(22) 출원일자(국제) 2022년01월05일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년07월03일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2022/050107
(87) 국제공개번호 WO 2022/148758
국제공개일자 2022년07월14일
(30) 우선권주장
21150361.0 2021년01월06일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
에보닉 오퍼레이션스 게엠베하
독일 45128 에쎈 렐링하우저 슈트라쎄 1-11
(72) 발명자
루 신
독일 45257 에쎈 묄나이스 노켄 4아
쉘트 예니퍼
독일 42653 졸링겐 폰-갈렌-슈트라쎄 10
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인코리아나

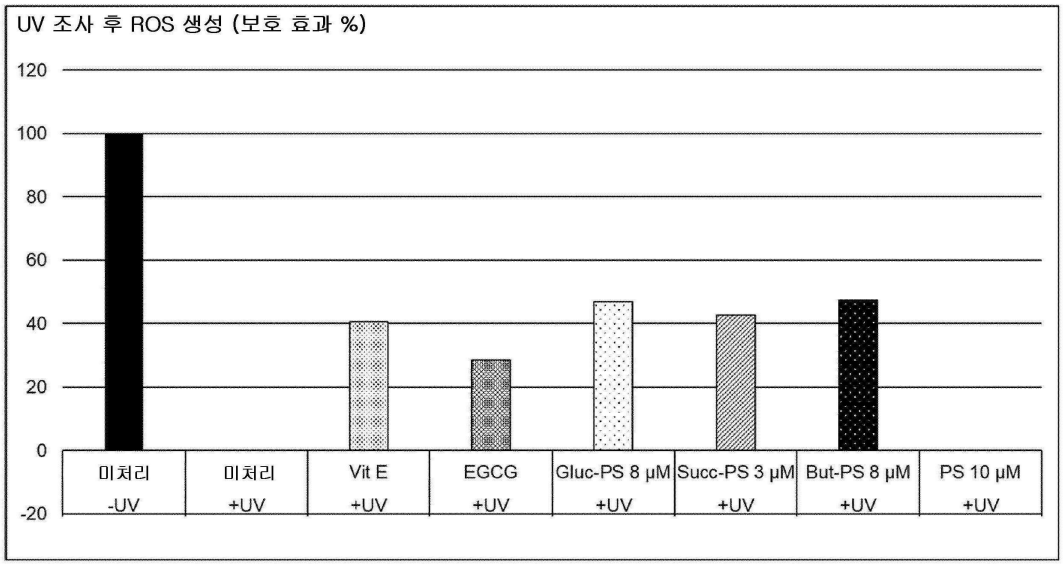
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **히드록시-치환된 스핑고지질**

(57) 요 약

본 발명은 히드록시-치환된 스핑고지질, 이의 제조 및 용도, 및 또한 이들이 구성 성분인 미용 제제를 제공한다.

대 표 도



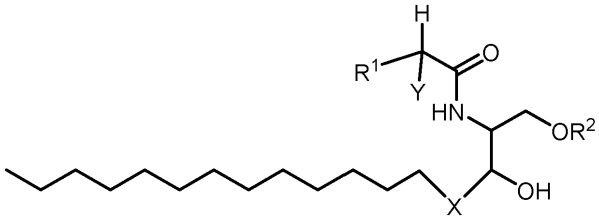
(52) CPC특허분류
A61Q 19/08 (2013.01)
C07C 231/02 (2013.01)
C07C 233/18 (2013.01)
C07H 1/00 (2013.01)
C07H 15/04 (2013.01)
A61K 2800/591 (2013.01)
(72) 발명자
나틀란트 잔드라
독일 45359 에쎈 로슈트라쎄 49데
베트선 마리타 레히나
독일 47661 이숨 안 데어 라이 3
막츠키비츠 우르줄라
독일 45219 에쎈 회젤러 벡 1
벤크 한스 헤닝
독일 45470 뮐하임 안 데어 루어 베슈트민슈터슈트라쎄 47
판 로험 모니카 데시레
네덜란드 4762 피에이 제펜베르헌 하젤돈크세 잔드베흐 93
마우스 리자
독일 47228 뒤스부르크 뢰트겐벡 7아

명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I 의 스핑고지질:



화학식 I

(식 중,

R^1 은 -OH 및 -COOH 에서 선택되는 하나 이상의 기로 치환되고, 임의로 하나 이상의 -O- 가 삽입될 수 있는, 2 내지 54 개, 바람직하게는 2 내지 30 개, 보다 바람직하게는 2 내지 18 개의 탄소 원자를 갖는 탄화수소 라디칼이고,

R^2 는 H, 포스포콜린, 세린, 에탄올아민 또는 당, 바람직하게는 당 또는 H, 보다 바람직하게는 H 이고,

X 는 CH=CH, CH_2-CH_2 또는 CH_2-HCOH, 바람직하게는 CH_2-HCOH 이고,

Y 는 -OH 및 H 에서 선택되고,

단, R^1 이 ω-위치에서 -OH 기로만 치환된 선형 알킬 라디칼인 경우, X 는 CH_2-HCOH 이다).

청구항 2

제 1 항에 있어서,

R^1 이 바람직하게는 -OH 및 -COOH 에서 선택되는 하나 이상의 기로 치환되는, 2 내지 54 개, 바람직하게는 2 내지 30 개, 보다 바람직하게는 2 내지 18 개의 탄소 원자를 갖는 선형 또는 분지형 알킬 라디칼에서 바람직하게 선택되고,

R^2, Y 가 특히 바람직하게는 H 이고,

X 가 CH_2-HCOH 인 것을 특징으로 하는 스핑고지질.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

R^1 이 바람직하게는 -OH 및 -COOH 에서 선택되는 하나 이상의 기로 ω-위치에서 치환되는, 2 내지 54 개, 바람직하게는 2 내지 30 개, 보다 바람직하게는 2 내지 18 개의 탄소 원자를 갖는 탄화수소 라디칼에서 바람직하게 선택되고,

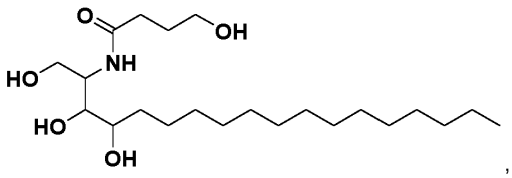
R^2, Y 가 특히 바람직하게는 H 이고,

X 가 CH_2-HCOH 인 것을 특징으로 하는 스핑고지질.

청구항 4

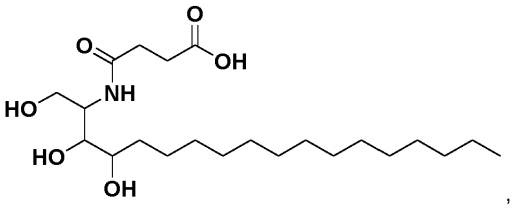
제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

히드록시부티로일 피토스핑고신



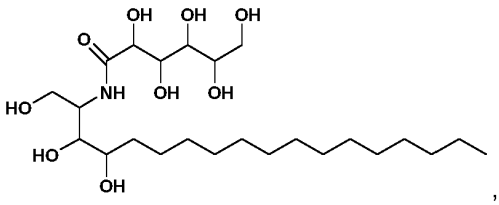
,

숙시노일 피토스핑고신



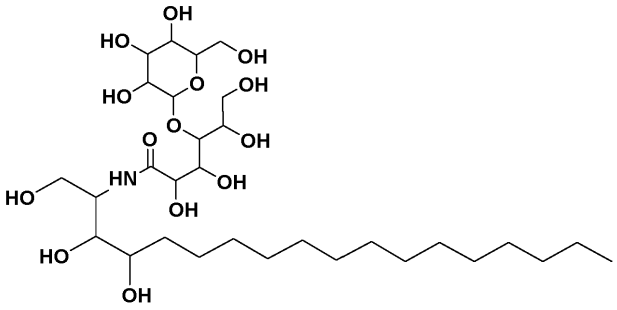
,

글루코노일 피토스핑고신



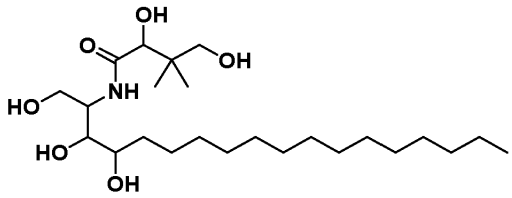
,

락토비오노일 피토스핑고신



, 및

2-히드록시-3,3-디메틸-히드록시부티로일 피토스핑고신



에서 선택되는 스핑고지질.

청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포 손상, 바람직하게는 UV 방사선에 의해 유도된 세포 손상, 특히 피부 세포 손상의 치료에 사용하기 위한, 특히 예방에 사용하기 위한 것이며, 본 발명에 따른 세포 손상이 바람직하게는 DNA 손상인 스핑고지질.

청구항 6

UV 방사선에 의해 야기되는 피부 노화의 예방을 위한, 제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 따른 하나 이상의

스핑고지질의 미용적, 비치료적 용도.

청구항 7

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 따른 하나 이상의 스핑고지질을 바람직하게는 전체 제제에 대해서 0.02 중량% 내지 1.50 중량%, 바람직하게는 0.03 중량% 내지 1.00 중량%, 보다 바람직하게는 0.05 중량% 내지 0.50 중량% 의 양으로 포함하는 미용 제제.

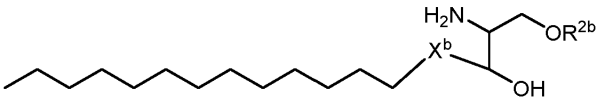
청구항 8

제 7 항에 있어서, 하나 이상의 UV 광 보호 필터 물질을 추가로 포함하는 미용 제제.

청구항 9

하기의 방법 단계를 포함하는, 바람직하게는 제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 따른 스핑고지질의 제조 방법:

I) 제 1 성분, 적어도 하기 화학식 II 의 리소스핑고지질을 제공하는 단계



화학식 II

(식 중,

R^{2b} 는 H, 포스포콜린, 세린, 에탄올아민 또는 당, 바람직하게는 당 또는 H, 보다 바람직하게는 H 이고,

X^{b} 는 CH=CH, CH_2-CH_2 또는 CH_2-HCOH, 바람직하게는 CH_2-HCOH 이다), 및

II) 제 2 성분, 적어도 하기 화학식의 히드록시카르복실산의 분자 내 시클릭 에스테르를 제공하는 단계

$R^{1b}CY^{b}HCOOH$

(식 중,

R^{1b} 는 -OH 및 -COOH 에서 선택되는 하나 이상의 기로 치환되고, 임의로 하나 이상의 -O- 가 삽입될 수 있는, 2 내지 54 개, 바람직하게는 2 내지 30 개, 보다 바람직하게는 2 내지 18 개의 탄소 원자를 갖는 탄화수소 라디칼이고,

Y^{b} 는 -OH 및 H 에서 선택된다), 및

III) 제 1 성분을 제 2 성분과 반응시켜 스핑고지질을 수득하는 단계, 및 임의로

IV) 스핑고지질을 정제하는 단계.

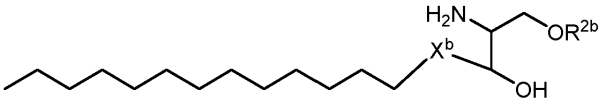
청구항 10

제 9 항에 있어서, 방법 단계 III) 이 40 ℃ 내지 95 ℃, 바람직하게는 50 ℃ 내지 80 ℃, 보다 바람직하게는 60 ℃ 내지 70 ℃ 의 온도 범위 내에서 수행되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

하기의 방법 단계를 포함하는, 바람직하게는 제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 따른 스핑고지질의 제조 방법:

A) 제 1 성분, 적어도 하기 화학식 II 의 리소스핑고지질을 제공하는 단계



화학식 II

(식 중,

R^{2b} 는 H, 포스포콜린, 세린, 에탄올아민 또는 당, 바람직하게는 당 또는 H, 보다 바람직하게는 H 이고,

X^{b} 는 CH=CH, CH_2-CH_2 또는 CH_2-HCOH, 바람직하게는 CH_2-HCOH 이다), 및

B) 제 2 성분, 적어도 하기 화학식의 히드록시카르복실산을 제공하는 단계

$R^{1b}CY^{b}HCOOH$

(식 중,

R^{1b} 는 -OH 및 -COOH 에서 선택되는 하나 이상의 기로 치환되고, 임의로 하나 이상의 -O- 가 삽입될 수 있는, 2 내지 54 개, 바람직하게는 2 내지 30 개, 보다 바람직하게는 2 내지 18 개의 탄소 원자를 갖는 탄화수소 라디칼이고,

Y^{b} 는 -OH 및 H 에서 선택된다), 및

C) 히드록시카르복실산의 활성화를 위한 하나 이상의 커플링 시약을 사용하여, 제 1 성분을 제 2 성분과 반응시켜 스핑고지질을 수득하는 단계, 및 임의로

D) 스핑고지질을 정제하는 단계.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 방법 단계 C) 에서, 사용되는 커플링 시약이 디시클로헥실카르보디이미드, 디이소프로필카르보디이미드, 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카르보디이미드 하이드로클로라이드, N-시클로헥실-N'-(2'-모르폴리노에틸)카르보디이미드 메토-p-톨루엔술포네이트, N-벤질-N'-3' 디메틸아미노프로필카르보디이미드 하이드로클로라이드, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드, N-에틸카르보디이미드 하이드로클로라이드 및 카르보닐디이미다졸, 특히 바람직하게는 디시클로헥실카르보디이미드 및 디이소프로필카르보디이미드를 포함하는 군에서 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

제 11 항 또는 제 12 항에 있어서, 방법 단계 C) 에서, N-에틸디이소프로필아민, 트리알킬아민, 피리딘, 4-디메틸아미노피리딘 및 히드록시벤조트리아졸, 특히 히드록시벤조트리아졸을 포함하는 군에서 선택되는 하나 이상의 촉매가 사용되는 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 히드록시-치환된 스핑고지질, 이의 제조 및 용도, 및 또한 이들이 구성 성분인 미용 제제를 제공한다.

배 경 기 술

[0002] 케어 화장품의 목적은, 예를 들어 피부 및 모발의 외부 발랄한 외관의 인상을 유지하는 것이다. 원칙적으로, 이를 달성하는 다양한 방식이 존재한다. 예를 들어, 불규칙한 색소침착 또는 주름과 같은 기존의 피부 손상은 컨실링 파우더 또는 크림에 의해 교정될 수 있다.

[0003] 또다른 접근 방식은 영구적인 손상, 및 따라서 피부의 노화를 초래하는 환경적인 영향으로부터 피부를 보호하는 것이다. 따라서, 아이디어는 예방적으로 개입하여 노화 과정을 지연시키는 것이다.

[0004] 피부의 가장 중요한 기능은 한편으로는 통제되지 않은 물의 유출로부터 신체를 보호하고, 다른 한편으로는 유해한 화학물질 또는 박테리아 및 태양 방사선에 의한 침투로부터 보호하는 것이다. 태양광에 대한 인간 피부의 장기간 노출은 피부의 광-유도 노화 및/또는 색소침착 장애의 발생을 유발할 수 있다.

[0005] 태양광의 이러한 유해한 영향은 특히 태양광의 스펙트럼에 존재하는 UVB 방사선 (280-320 nm) 에 기인한다.

[0006] 특히 태양광 조사에 의해 야기되는 피부의 노화 징후의 발생을 감소시킬 수 있거나 또는 심지어 예방할 수 있는 피부-케어 물질에 대한 탐구가 계속되고 있다.

[0007] FR 2855049 는 피부 장벽의 강화를 위한 6-히드록시-스핑게닌계 세라미드를 개시하고 있다.

[0008] FR 2874610 은 N-디히드록시알킬 히드록시알칸아미드 유도체 및 화장품에서의 이의 용도를 개시하고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 태양광 조사에 의해 야기되는 노화의 징후를 감소시키는 물질을 제공하는 것이었다.

과제의 해결 수단

[0010] 놀랍게도, 하기 본원에서 기술한 세라미드 유도체가 본 발명의 목적을 달성할 수 있으며, UV 광에 의해 야기되는 반응성 산소 종 (ROS) 의 형성을 억제할 수 있는 것으로 밝혀졌다.

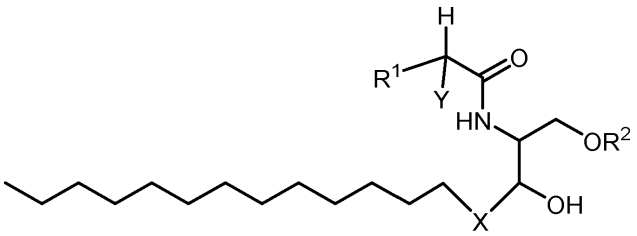
[0011] 따라서, 본 발명은 특정한 히드록시-치환된 스핑고지질 및 또한 이의 제조 및 용도를 제공한다.

[0012] 본 발명은 또한 상기 히드록시-치환된 스핑고지질을 포함하는 미용 제제를 제공한다.

[0013] 본 발명의 스핑고지질의 이점은 특히 피부에서 DNA 손상, 특히 UV-유도된 손상에 대한 이의 보호 효과이다.

[0014] 본 발명의 스핑고지질의 또다른 이점은 특히 미용 제제에서 이의 증점 효과이다.

[0015] 따라서, 본 발명은 하기 화학식 I 의 스핑고지질을 제공한다:



[0016] 화학식 I

[0017] (식 중,

[0018] R^1 은 -OH 및 -COOH 에서 선택되는 하나 이상의 기로 치환되고, 임의로 하나 이상의 -O- 가 삽입될 수 있는, 2 내지 54 개, 바람직하게는 2 내지 30 개, 보다 바람직하게는 2 내지 18 개의 탄소 원자를 갖는 탄화수소 라디칼이고,

[0019] R^2 는 H, 포스포콜린, 세린, 에탄올아민 또는 당, 바람직하게는 당 또는 H, 보다 바람직하게는 H 이고,

[0020] X 는 CH=CH, CH_2-CH_2 또는 CH_2-HCOH, 바람직하게는 CH_2-HCOH 이고,

[0021] Y 는 -OH 및 H 에서 선택되고,

[0022] 단, R^1 이 ω-위치에서 -OH 기로만 치환된 선형 알킬 라디칼인 경우, X 는 CH_2-HCOH 이다).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 화학식 I 의 스핑고지질은 다수의 입체 중심을 가지며, 이들 모두는 화학식 I 에 포함된다.

[0024] 달리 명시하지 않는 한, 명시된 모든 백분율 (%) 은 질량% 이다.

[0025] 본 발명의 바람직한 스핑고지질은,

[0026] R^1 이 바람직하게는 -OH 및 -COOH 에서 선택되는 하나 이상의 기로 치환되는, 2 내지 54 개, 바람직하게는 2 내지 30 개, 보다 바람직하게는 2 내지 18 개의 탄소 원자를 갖는 선형 또는 분지형 알킬 라디칼에서 바람직하게 선택되고,

[0027] R^2, Y 가 특히 바람직하게는 H 이고,

[0028] X 가 CH_2-HCOH 인 것을 특징으로 한다.

[0029] 본 발명의 바람직한 구현예에 있어서, R^1 의 알킬 라디칼은 바람직하게는 직쇄이다.

[0030] 본 발명의 더욱 바람직한 스핑고지질은,

[0031] R^1 이 바람직하게는 -OH 및 -COOH 에서 선택되는 하나 이상의 기로 ω-위치에서 치환되는, 2 내지 54 개, 바람직하게는 2 내지 30 개, 보다 바람직하게는 2 내지 18 개의 탄소 원자를 갖는 탄화수소 라디칼에서 바람직하게 선택되고,

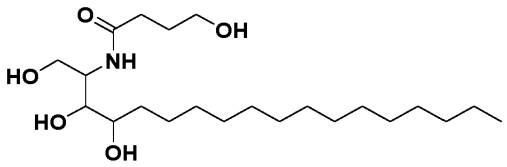
[0032] R^2, Y 가 특히 바람직하게는 H 이고,

[0033] X 가 CH_2-HCOH 인 것을 특징으로 한다.

[0034] 본 발명의 바람직한 구현예에 있어서, R^1 의 탄화수소 라디칼은 바람직하게는 직쇄이다.

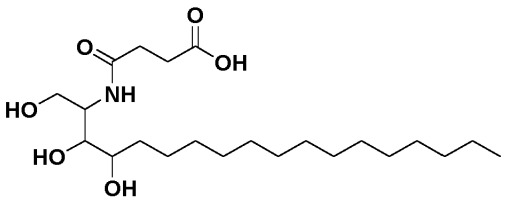
[0035] 본 발명의 특히 바람직한 스핑고지질은,

[0036] 히드록시부티로일 피토스핑고신

[0037] 

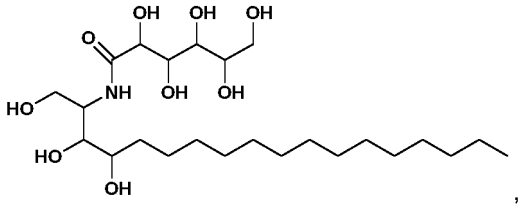
,

[0038] 숙시노일 피토스핑고신

[0039] 

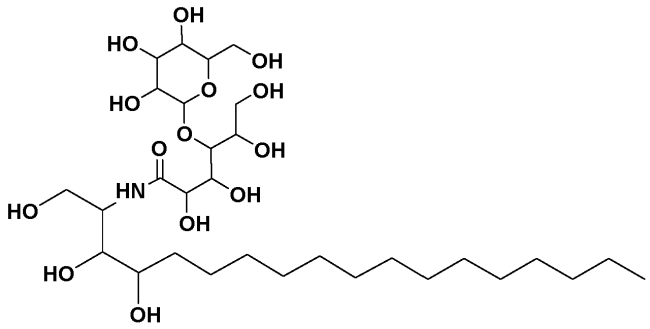
,

[0040] 글루코노일 피토스핑고신

[0041] 

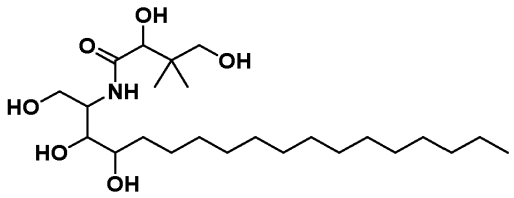
,

[0042] 락토비오노일 피토스핑고신

[0043] 

, 및

[0044] 2-히드록시-3,3-디메틸-히드록시부티로일 피토스핑고신



[0045]

[0046] 에서 선택된다.

[0047] 본 발명의 스핑고지질은 뛰어난 치료 효과를 나타내기 때문에, 본 발명은 또한 세포 손상, 바람직하게는 UV 방사선에 의해 유도된 세포 손상, 특히 피부 세포 손상의 치료에 사용하기 위한, 특히 예방에 사용하기 위한 본 발명의 스핑고지질을 제공하며, 본 발명에 따른 세포 손상은 바람직하게는 DNA 손상이다.

[0048] 본 발명의 스핑고지질은 또한 순전히 미용 용도에 사용될 수 있으며, 따라서 본 발명은 또한 UV 방사선에 의해 야기되는 피부 노화의 예방을 위한, 본 발명의 스핑고지질 중 하나 이상의 미용적, 비치료적 용도를 제공한다.

[0049] 본 발명의 스핑고지질은 미용 제제에 용이하게 혼입될 수 있다. 따라서, 본 발명은 또한 바람직하게는 본 발명의 하나 이상의 스핑고지질을 0.02 중량% 내지 1.50 중량%, 바람직하게는 0.03 중량% 내지 1.00 중량%, 보다 바람직하게는 0.05 중량% 내지 0.50 중량% 의 양으로 포함하는 미용 제제를 제공하며, 여기에서 중량% 는 전체 제제에 대한 것이다.

[0050] 본 발명의 미용 제제는 특히 일광 보호를 위한 제제이며, 따라서 바람직하게는 UV 광 보호 필터를 포함한다.

[0051] 그러므로, 본 발명의 바람직한 제제는 다음을 포함하는 것이다:

[0052] 본 발명의 하나 이상의 스핑고지질, 및

[0053] 하나 이상의 UV 광 보호 필터 물질.

[0054] 사용되는 UV 광 보호 필터는, 예를 들어 자외선을 흡수한 후, 흡수된 에너지를 장파 방사선, 예를 들어 열의 형태로 재방출할 수 있는 유기 물질일 수 있다.

[0055] UVB 필터는 지용성 또는 수용성일 수 있다. 지용성 UVB 광 보호 필터의 예는 다음을 포함한다:

[0056] 3-벤질리덴캄포르 및 이의 유도체, 예를 들어 3-(4-메틸벤질리덴)캄포르,

[0057] 4-아미노벤조산 유도체, 예를 들어 2-에틸헥실 4-(디메틸아미노)벤조에이트 및 아밀 4-(디메틸아미노)벤조에이트,

[0058] 신남산의 에스테르, 예를 들어 2-에틸헥실 4-메톡시신나메이트, 이소펜틸 4-메톡시신나메이트, 2-에틸헥실 2-시아노-3-페닐신나메이트 (옥토크릴렌),

[0059] 살리실산의 에스테르, 예를 들어 2-에틸헥실 살리실레이트, 4-이소프로필벤질 살리실레이트, 호모멘틸 살리실레이트,

[0060] 벤조페논의 유도체, 예를 들어 2-히드록시-4-메톡시벤조페논, 2-히드록시-4-메톡시-4'-메틸벤조페논, 2,2'-디히드록시-4-메톡시벤조페논,

[0061] 벤잘말론산의 에스테르, 예를 들어 디-2-에틸헥실 4-메톡시벤즈말로네이트,

[0062] 트리아진 유도체, 예를 들어 2,4,6-트리아닐리노-(p-카르보-2'-에틸-1'-헥실옥시)-1,3,5-트리아진, 옥틸 트리아존 및 EP 1180359 및 DE 2004/027475 에 기재된 것,

[0063] 프로판-1,3-디온, 예를 들어 1-(4-tert-부틸페닐)-3-(4'-메톡시페닐)프로판-1,3-디온.

[0064] 적합한 수용성 UVB 광 보호 필터는 다음을 포함한다:

[0065] 2-페닐벤즈이미다졸-5-술폰산 및 이의 알칼리 금속, 알칼리 토금속, 암모늄, 알킬암모늄, 알칸올암모늄 및 글루크암모늄 염,

[0066] 벤조페논의 술폰산 유도체, 예를 들어 2-히드록시-4-메톡시벤조페논-5-술폰산 및 이의 염,

[0067] 3-벤질리덴캄포르의 술폰산 유도체, 예를 들어 4-(2-옥소-3-보르닐리덴메틸)벤젠술폰산 및 2-메틸-5-(2-옥소-3-보르닐리덴)술폰산 및 이의 염.

[0068] 적합한 전형적인 UVA 광 보호 필터는 특히 벤조일메탄의 유도체, 예를 들어 1-(4'-tert-부틸페닐)-3-(4'-메톡시페닐)프로판-1,3-디온 또는 1-페닐-3-(4'-이소프로필페닐)프로판-1,3-디온을 포함한다. 물론, UV-A 및 UV-B 필터의 혼합물을 사용하는 것도 가능하다.

[0069] 언급된 가용성 물질 외에도, 불용성 안료, 즉, 미세하게 분산된 금속 산화물 또는 염, 예를 들어 이산화 티탄, 산화 아연, 산화 철, 산화 알루미늄, 산화 세륨, 산화 지르코늄, 실리케이트 (탈크), 황산 바륨 및 아연 스테아레이트가 또한 이 목적에 적합하다. 본원에서 입자는 100 nm 미만, 예를 들어 5 nm 와 50 nm 사이, 및 특히 15 nm 와 30 nm 사이의 평균 직경을 가져야 한다. 이들은 형상이 구형일 수 있지만, 또한 형상이 타원형인 입자 또는 구형으로부터 일부 다른 방식으로 벗어난 형상을 갖는 입자를 사용하는 것도 가능하다. 상대적으로 새로운 부류의 광 보호 필터는, 예를 들어 50 % 수성 분산액으로서 수득 가능한 < 200 nm 의 입자 크기를 갖는 미세화된 유기 안료, 예를 들어 2,2'-메틸렌비스{6-(2H-벤조트리아졸-2-일)-4-(1,1,3,3-테트라메틸부틸)페놀}의 것이다.

[0070] 추가의 적합한 UV 광 보호 필터는 P. Finkel 의 리뷰 SOFW-Journal 122, 543 (1996) 에서 확인할 수 있다.

[0071] 본 발명의 제제와 관련하여, 상기 제제는 바람직하게는 친지성, 소수성 UV 광 보호 필터 물질, 특히 트리아진 유도체를 포함한다.

[0072] UV-B 필터로서 UV 광 보호 필터 물질, 2-에틸헥실 2-시아노-3-페닐신나메이트, 2,4-비스{[4-(2-에틸헥실옥시)-2-히드록시]페닐}-6-(4-메톡시페닐)-1,3,5-트리아진, 디옥틸부틸아미도트리아존, 2-히드록시-4-메톡시벤조페논, 2-히드록시-4-메톡시-4'-메틸벤조페논, 2,2'-디히드록시-4-메톡시벤조페논, 디-2-에틸헥실 4-메톡시벤즈말로네이트, 2,4,6-트리스-[아닐리노-(p-카르보-2'-에틸-1'-헥실옥시)]-1,3,5-트리아진, 2,4-비스[5,1-(디메틸프로필)벤족사졸-2-일-(4-페닐)이미노]-6-(2-에틸헥실)이미노-1,3,5-트리아진, 2,4-비스-{[4-(2-에틸헥실옥시)-2-히드록시]페닐}-6-(4-메톡시페닐)-1,3,5-트리아진 및 2-[4,6-비스(2,4-디메틸페닐)-1,3,5-트리아진-2-일]-5-(옥틸옥시)페놀을 사용하는 것이 본원에서 특히 바람직하다.

[0073] 사용되는 UV-A 필터는 바람직하게는 1-(4'-tert-부틸페닐)-3-(4'-메톡시페닐)프로판-1,3-디온, 1-페닐-3-(4'-이소프로필페닐)프로판-1,3-디온이다.

[0074] 특히 바람직한 UV-A 필터는 DSM 에서 상표명 Parsol® 1789 및 Merck 에서 상표명 Eusolex® 9020 으로 판매되는 4-(tert-부틸)-4'-메톡시디벤조일메탄 (CAS No. 70356-09-1), 및 DE 102004027475 에 따른 히드록시벤조페논, 특히 바람직하게는 BASF 에서 상표명 Uvinul A Plus 로 입수 가능한 헥실 2-(4'-디에틸아미노-2'-히드록시벤조일)벤조에이트 (또한: 아미노벤조페논) 이다.

[0075] 더욱 바람직한 UV 필터 물질은 또한 소위 광대역 필터, 즉, UV-A 및 UV-B 방사선을 모두 흡수하는 필터 물질이다. 이 그룹 내에서, Ciba Chemikalien GmbH 에서 상표명 Tinosorb® M 으로 입수 가능한 2,2'-메틸렌비스(6-(2H-벤조트리아졸-2-일)-4-(1,1,3,3-테트라메틸부틸)페놀), 및 INCI 명칭 드로메트리졸 트리실록산을 갖는 2-(2H-벤조트리아졸-2-일)-4-메틸-6-[2-메틸-3-[1,3,3,3-테트라메틸-1-[(트리메틸실릴)옥시]디실록사닐]프로필]페놀 (CAS No.: 155633-54-8) 을 사용하는 것이 바람직하다.

[0076] 상기에서 언급한 1차 UV 광 보호 필터의 2 개의 그룹 외에도, 또한 UV 방사선이 피부에 침투할 때 개시되는 광화학 반응 사슬을 정지시키는 산화방지제 유형의 2차 광 안정화제를 사용하는 것도 가능하다.

[0077] 본 발명의 미용 제제는 UV 광 보호 필터를 바람직하게는 전체 제제에 대해서 0.01 중량% 내지 15 중량%, 바람직하게는 0.05 중량% 내지 10 중량%, 보다 바람직하게는 0.1 중량% 내지 5 중량% 의 양으로 포함한다.

[0078] 바람직하게는, 본 발명의 미용 제제는 2 종 이상의 상이한 UV 광 보호 필터의 조합을 포함한다.

[0079] UVA 및 UVB 광 보호 필터가 모두 본 발명의 제제에 사용되는 경우, 이들 필터의 중량비는 바람직하게는 1:2 내지 1:4 이다.

[0080] 본 발명의 제제는 하기의 군에서 선택되는 하나 이상의 추가적인 성분을 추가로 포함할 수 있다:

[0081] 연화제,

[0082] 유화제,

[0083] 증점제/점도 조절제/안정화제,

[0084] 산화방지제,

[0085] 굴수성 물질 (또는 폴리올),

[0086] 고체 및 충전제

[0087] 필름 형성제,

[0088] 진주 광택 첨가제,

[0089] 탈취제 및 발한 억제 활성 성분,

[0090] 방충제,

[0091] 셀프-태닝제,

[0092] 방부제,

[0093] 컨디셔닝제,

[0094] 향료,

[0095] 염료,

[0096] 냄새 흡수제,

[0097] 화장품 활성 물질,

[0098] 케어 첨가제,

[0099] 과지방제,

[0100] 용매.

[0101] 개별 그룹의 예시적인 대표로서 사용될 수 있는 물질은 당업자에게 공지되어 있으며, 예를 들어 독일 특허 출원 DE 102008001788.4 에서 확인할 수 있다. 이 특허 출원은 본원에 참고로 포함되며, 따라서 본 발명의 일부를 형성한다.

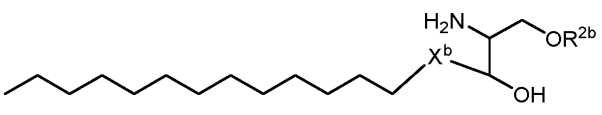
[0102] 추가의 임의적인 성분 및 사용되는 이들 성분의 양에 관해서는, 당업자에게 공지된 관련 핸드북, 예를 들어 K. Schrader, "Grundlagen und Rezepturen der Kosmetika" [Fundamentals and Formulations of cosmetics], 2nd edition, pages 329 to 341, Huthig Buch Verlag Heidelberg 를 명시적으로 참조한다.

[0103] 각각의 첨가제의 양은 의도하는 용도에 따라 결정된다.

[0104] 특정 용도를 위한 전형적인 프레임 제제는 선행 기술에 공지되어 있으며, 예를 들어 특정한 베이스 물질 및 활성 성분의 제조업체의 브로셔에 포함된다. 이들 기존의 제제는 일반적으로 변경없이 채택될 수 있다. 그러나, 조정 및 최적화가 필요한 경우, 간단한 시험을 통해 원하는 수정을 간단한 방식으로 실행할 수 있다.

[0105] 본 발명은 또한 하기의 방법 단계를 포함하는 스핑고지질의 제조 방법, 특히 본 발명의 스핑고지질의 제조 방법을 제공한다:

[0106] I) 제 1 성분, 적어도 하기 화학식 II 의 리소스핑고지질을 제공하는 단계

[0107] 

화학식 II

[0108] (식 중,

[0109] R^{2b} 는 H, 포스포콜린, 세린, 에탄올아민 또는 당, 바람직하게는 당 또는 H, 보다 바람직하게는 H 이고,

[0110] X^{b} 는 CH=CH, CH_2-CH_2 또는 CH_2-HCOH, 바람직하게는 CH_2-HCOH 이다), 및

[0111] II) 제 2 성분, 적어도 하기 화학식의 히드록시카르복실산의 분자 내 시클릭 에스테르를 제공하는 단계

[0112] $R^{1b}CY^{b}HCOOH$

[0113] (식 중,

[0114] R^{1b} 는 -OH 및 -COOH 에서 선택되는 하나 이상의 기로 치환되고, 임의로 하나 이상의 -O- 가 삽입될 수 있는, 2 내지 54 개, 바람직하게는 2 내지 30 개, 보다 바람직하게는 2 내지 18 개의 탄소 원자를 갖는 탄화수소 라디칼이고,

[0115] Y^{b} 는 -OH 및 H 에서 선택된다), 및

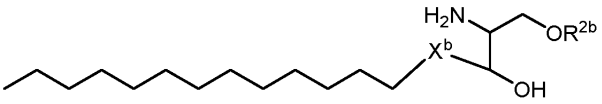
[0116] III) 제 1 성분을 제 2 성분과 반응시켜 스핑고지질을 수득하는 단계, 및 임의로

[0117] IV) 스핑고지질을 정제하는 단계.

[0118] 본 발명의 방법은 바람직하게는 방법 단계 III) 이 40 ℃ 내지 95 ℃, 바람직하게는 50 ℃ 내지 80 ℃, 보다 바람직하게는 60 ℃ 내지 70 ℃ 의 온도 범위 내에서 수행되는 것을 특징으로 한다.

[0119] 본 발명은 또한 하기의 방법 단계를 포함하는 스핑고지질의 대안적인 제조 방법, 특히 본 발명의 스핑고지질의 대안적인 제조 방법을 제공한다:

[0120] A) 제 1 성분, 적어도 하기 화학식 II 의 리소스핑고지질을 제공하는 단계

[0121] 

화학식 II

[0122] (식 중,

[0123] R^{2b} 는 H, 포스포콜린, 세린, 에탄올아민 또는 당, 바람직하게는 당 또는 H, 보다 바람직하게는 H 이고,

[0124] X^{b} 는 CH=CH, CH_2-CH_2 또는 CH_2-HCOH, 바람직하게는 CH_2-HCOH 이다), 및

[0125] B) 제 2 성분, 적어도 하기 화학식의 히드록시카르복실산을 제공하는 단계

[0126] $R^{1b}CY^{b}HCOOH$

[0127] (식 중,

[0128] R^{1b} 는 -OH 및 -COOH 에서 선택되는 하나 이상의 기로 치환되고, 임의로 하나 이상의 -O- 가 삽입될 수 있는, 2 내지 54 개, 바람직하게는 2 내지 30 개, 보다 바람직하게는 2 내지 18 개의 탄소 원자를 갖는 탄화수소 라디칼이고,

[0129] Y^{b} 는 -OH 및 H 에서 선택된다), 및

[0130] C) 히드록시카르복실산의 활성화를 위한 하나 이상의 커플링 시약을 사용하여, 제 1 성분을 제 2 성분과 반응시켜 스핑고지질을 수득하는 단계, 및 임의로

[0131] D) 스핑고지질을 정제하는 단계.

[0132] 본 발명의 대안적인 방법은 바람직하게는 방법 단계 C) 에서, 사용되는 커플링 시약이 디시클로헥실카르보디이미드, 디이소프로필카르보디이미드, 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카르보디이미드 하이드로클로라이드, N-시클로헥실-N'-(2'-모르폴리노에틸)카르보디이미드 메토-p-톨루엔술포네이트, N-벤질-N'-3' 디메틸아미노프로필카르보디이미드 하이드로클로라이드, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드, N-에틸카르보디이미드 하이드로클로라이드 및 카르보닐디이미다졸, 특히 바람직하게는 디시클로헥실카르보디이미드 및 디이소프로필카르보디이미드를 포함하는, 바람직하게는 이것으로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 한다.

[0133] 본 발명의 대안적인 방법은 바람직하게는 방법 단계 C) 에서, N-에틸디이소프로필아민, 트리알킬아민, 피리딘, 4-디메틸아미노피리딘 및 히드록시벤조트리아졸, 특히 히드록시벤조트리아졸을 포함하는, 바람직하게는 이것으

로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상의 촉매가 사용되는 것을 특징으로 한다.

[0134] 본 발명의 방법은 바람직하게는 방법 단계 C) 가 40 ℃ 내지 95 ℃, 바람직하게는 50 ℃ 내지 80 ℃, 보다 바람직하게는 55 ℃ 내지 65 ℃ 의 온도 범위 내에서 수행되는 것을 특징으로 한다.

[0135] 본 발명에 따른 바람직한 방법은 바람직하게는 본 발명에 따라서 바람직한 것으로 상기에서 기술한 스핑고지질을 생성한다.

[0136] 하기의 실시예는 본 발명을 예로서 설명하며, 그 적용 범위가 전체 명세서 및 청구범위로부터 명백한 본 발명을 실시예에서 명시된 구현예로 제한하려는 의도는 없다.

[0137] 하기의 도면은 실시예의 일부를 형성한다:

[0138] 도 1: UV 조사 후 ROS 생성

[0139] 도 2: UV 조사 후 DNA 손상

[0140] 도 3: 2, 4 및 8 주 동안 시험 제제의 적용 후의 ITA° 의 증가

[0141] 도 4: 2, 4 및 8 주 동안 시험 제제의 적용 후의 L^* 의 증가

[0142] 도 5: 2, 4 및 8 주 동안 시험 제제의 적용 후의 피부 거칠기의 감소

[0143] 도 6: 2, 4 및 8 주 동안 시험 제제의 적용 후의 피부 밀도의 증가

[0144] 실시예:

[0145] *실시예 1: 4-히드록시부티로일 피토스핑고신*

[0146] 피토스핑고신 및 γ-부티로락톤을 1:1 몰비로 메탄올에 용해시킨다. 혼합물을 피토스핑고신이 더이상 검출되지 않을 때까지 65 ℃ 에서 반응시킨다. 실온으로 냉각하면 4-히드록시부티로일 피토스핑고신의 결정이 수득되며, 이것을 흡입 여과하고, 1:1 THF/물 혼합물로 세정하였다. 수율은 > 80 % 이며, 순도는 > 90 % 이다.

[0147] *실시예 1b: 6-히드록시헥사노일 피토스핑고신*

[0148] 피토스핑고신 및 ε-카프로락톤을 1:1 몰비로 메탄올에 용해시킨다. 혼합물을 피토스핑고신이 더이상 검출되지 않을 때까지 65 ℃ 에서 반응시킨다. 실온으로 냉각하면 6-히드록시헥사노일 피토스핑고신의 결정이 수득되며, 이것을 흡입 여과하고, 1:1 THF/물 혼합물로 세정하였다. 수율은 > 80 % 이며, 순도는 > 90 % 이다.

[0149] *실시예 1c (본 발명에 따르지 않음): 3-히드록시프로피오일 피토스핑고신*

[0150] 피토스핑고신 및 β-프로피오락톤을 1:1 몰비로 메탄올에 용해시킨다. 혼합물을 피토스핑고신이 더이상 검출되지 않을 때까지 65 ℃ 에서 반응시킨다. 실온으로 냉각하면 3-히드록시프로피오일 피토스핑고신의 결정이 수득되며, 이것을 흡입 여과하고, 1:1 THF/물 혼합물로 세정하였다. 수율은 > 80 % 이며, 순도는 > 90 % 이다.

[0151] *실시예 2: 숙시노일 피토스핑고신*

[0152] 피토스핑고신 및 숙신산 무수물을 1:1 몰비로 메탄올에 용해시킨다. 혼합물을 피토스핑고신이 더이상 검출되지 않을 때까지 65 ℃ 에서 반응시킨다. 실온으로 냉각하면 숙시노일 피토스핑고신의 결정이 수득되며, 이것을 흡입 여과하고, 1:1 THF/물 혼합물로 세정하였다. 수율은 > 80 % 이며, 순도는 > 90 % 이다.

[0153] *실시예 3: 글루코노일 피토스핑고신*

[0154] 피토스핑고신 및 d-글루코노락톤을 1:1 몰비로 메탄올에 용해시킨다. 혼합물을 피토스핑고신이 더이상 검출되지 않을 때까지 65 ℃ 에서 반응시킨다.

[0155] 후처리는 온도를 10 ℃ 로 점진적으로 낮추는 결정화에 의해 이루어진다.

[0156] 생성물을 진공을 이용하여 여과하고, 에탄올로 세정한다. 일정한 질량으로 건조시킨 후, 수율은 > 80 % 이며, 순도는 > 90 % 이다.

[0157] *실시예 4: 락토비오노일 피토스핑고신*

[0158] 71.66 g 의 락토비온산 및 75.44 g 의 피토스핑고신을 디메틸포름아미드 (DMF) 에 용해시킨다. 2 g 의 N-히드록시숙신이미드 (HSU) 및 15 ml 의 N,N-디이소프로필카르보디이미드 (DIC) 를 첨가하고, 혼합물을 60 ℃ 에서 2 h 동안 반응시킨다. 15 ml 의 물을 첨가하여 잔류 DIC 를 켄칭시키고, 혼합물을 추가로 1/2 h 동안 반응시킨다. 후처리를 위해, 디메틸포름아미드를 증류시키고, 이어서 생성물 잔류물을 메탄올에 용해시킨다. 이어서, 생성물을 10 ℃ 로 서서히 냉각시켜 결정화시킨다. 이렇게 수득된 생성물을 여과하고, 메탄올로 세정하고, 건조시킨다. 수율은 > 80 % 이며, 순도는 > 90 % 이다.

[0159] *실시예 5: 2-히드록시-3,3-디메틸-히드록시부티로일 피토스핑고신*

[0160] 피토스핑고신 및 D-판토락톤을 1:1 몰비로 에탄올에 용해시킨다. 혼합물을 60 ℃ 에서 8 h 동안 반응시킨다. 이어서, 생성물을 10 ℃ 로 서서히 냉각시켜 결정화시킨다. 이어서, 이것을 여과하고, 건조시킨다. 수율은 > 80 % 이며, 순도는 > 90 % 이다.

[0161] *실시예 5b: 2-히드록시-3,3-디메틸-히드록시부티로일 스핑가닌*

[0162] 스핑가닌 및 D-판토락톤을 1:1 몰비로 에탄올에 용해시킨다. 혼합물을 60 ℃ 에서 8 h 동안 반응시킨다. 이어서, 생성물을 10 ℃ 로 서서히 냉각시켜 결정화시킨다. 이어서, 이것을 여과하고, 건조시킨다. 수율은 > 80 % 이며, 순도는 > 90 % 이다.

[0163] *실시예 6: UV 손상에 대한 예방*

[0164] 본 발명의 물질이 UV 조사에 노출된 정상 인간 표피 케라티노사이트 (NHEK) 에 대한 보호 효과를 발휘할 수 있는 정도를 평가하였다.

[0165] 이를 위해, 2,7-디클로로디히드로플루오레세인 디아세테이트로 정량화된 반응성 산소 종 (ROS) 에 대한 바이오마커, 및 Comet assay 에 의해 정량화된 DNA 손상 및 복구에 대해 상응하는 조사를 수행하였다.

[0166] 반응성 산소 종 (ROS)

[0167] 반응성 유기 종 (ROS) 의 세포 내 형성은 특히 UV 방사선에 의한 세포 DNA 의 손상을 초래하는 요인이다.

[0168] 96-웰 플레이트에 케라티노사이트를 접종하고, 이것을 배양 배지에서 24 시간 동안 배양한 후, 분석 배지에서 추가로 24 시간 동안 배양하였다. 이어서, 배지를 시험 화합물 또는 참조물 (100 μM 비타민 E 및 10 μM EGCG) 을 함유하는 시험 배지 또는 이들이 부재하는 시험 배지 (조사된 대조군) 로 교체하고, 세포를 24 시간 동안 사전 인큐베이션하였다. 사전 인큐베이션 후, 배지를 제거하고, 분석 배지로 교체하고, 형광 프로브 (2,7-디클로로디히드로플루오레세인 디아세테이트 (분석 배지에서 10 μM 2,7-DCDHF-DA)) 를 첨가하고, 세포를 37 ℃ 에서 30 분 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 세포를 PBS 용액으로 세정하고, 화합물 또는 참조물 없이 100 mJ/㎠ UVB + UVA (+ 0.7 J/㎠) 를 조사하였다. 사용된 램프는 H2 필터가 있는 SOL500 태양열 시뮬레이터 (Dr. Honle, AG) 였다. 조사 후, 세포를 30 분 동안 인큐베이션하였다. 조사되지 않은 대조군 및 샘플이 없는 조건 (배경 잡음) 을 병렬로 수행하였다.

[0169] 모든 실험 조건은 3 회 반복하여 수행하였다.

[0170] 방출된 형광 강도 (ex = 485 nm, em = 538 nm) 는 EnVision® (Perkin Elmer) 마이크로플레이트 판독기를 사용하여 측정하였다.

[0171] 대사된 샘플 (DCF) 의 형광 강도는 ROS 의 형성에 비례하였다. 그러므로, ROS 생성은 상대적인 형광 강도로서 표현되었다.

[0172] 도 1 은 상응하는 결과를 나타낸다.

[0173] 인간 표피 케라티노사이트에서 반응성 산소 종 (ROS) 의 생성은 UV 광의 조사에 의해 유도된다는 것을 알 수 있다 (0 % 보호 효과에 해당). 시험에 사용된 비타민 E 및 에피갈로카테킨 갈레이트 (EGCG) 양성 대조군은 UV 조사에 대한 보호 효과를 갖는 것으로 알려져 있으며, 따라서 ROS 의 형성에 대해 30-40 % 보호 효과를 나타낸다. 본 발명의 사용된 물질은 마찬가지로 농도가 증가함에 따라, 40 % 이상의 실질적인 보호 효과를 나타낸다. 이러한 효과는 이전에 스핑고지질/세라미드에 대해 기술되지 않았다.

[0174] 베이스로서, 스핑고이드 베이스 피토스핑고신 (PS) 을 또한 시험하였다. 여기에서 현저한 보호 효과는 식별

가능하지 않았다.

[0175] 하기의 실험은 도 1 에 나와 있지 않다:

[0176] 상기 설정에서, 2-히드록시-3,3-디메틸-히드록시부티로일 스핑가닌은 5 μM 의 농도에서 22 % 의 보호 효과를 나타내며, 2-히드록시-3,3-디메틸-히드록시부티로일 피토스핑고신은 5 μM 의 농도에서 38 % 의 보호 효과를 나타낸다.

[0177] 상기 설정에서, 세라미드 3 (세라미드 NP 로도 알려짐) 은 10 μM 의 농도에서 4 % 의 보호 효과를 나타내며, 3-히드록시프로피오일 피토스핑고신은 10 μM 의 농도에서 5 % 의 보호 효과를 나타낸다.

[0178] DNA 손상 및 복구

[0179] 6-웰 플레이트에 케라티노사이트를 접종하고, 이것을 배양 배지에서 48 시간 동안 인큐베이션하고, 24 시간 후에 배지를 보충하였다. 이어서, 배지를 시험 화합물 또는 참조물 (0.3 mM 대조군) 을 함유하는 배양 배지 또는 이들이 부재하는 배양 배지 (대조군) 로 교체하고, 세포를 24 시간 동안 인큐베이션하였다. 사전 인큐베이션 후, 배양 배지를 제거하고, 분석 배지를 다시 첨가하고, 화합물의 부재하에서 세포에 250 mJ/㎠ UVB + UVA (+ 1.6 J/㎠) 를 조사하였다. 사용된 램프는 H2 필터가 장착된 SOL500 태양열 시뮬레이터 (Dr. Honle, AG) 였다. 조사되지 않은 대조군 조건을 병렬로 수행하였다. 모든 실험 조건은 2 회 반복하여 수행하였다.

[0180] 조사 종료시, 배양 상청액을 폐기하고, 세포를 분석전에 포스페이트 완충 식염수 (PBS) 로 세정하였다.

[0181] 세포를 트립신 처리하고, 계수하고, 상청액을 원심 분리 후에 제거하였다. 이어서, 세포를 PBS 용액으로 세정하고, 동일한 PBS 용액에 현탁시켜 1×10^5 세포/ml 의 세포 농도를 달성하였다. 이어서, 세포 현탁액을 용융된 (37 ℃) 저융점의 1 % 아가로오스 겔과 혼합하고, Comet 현미경 슬라이드 상에 피펫팅하였다 (각 조건에 대해 중복 분석). 세포 용해를 위해, 현미경 슬라이드를 전기영동 지지체 상의 새로 제조한 알칼리성 용액 (1 mM EDTA 를 함유하는 200 mM NaOH, pH > 13) 에 침지시켰다. 겔 전기영동을 21 볼트에서 30 분 동안 수행하였다. Comet 현미경 슬라이드를 물로 2 회, 매회 5 분 동안 세정한 후, 70 % 에탄올로 5 분 동안 세정하고, 37 ℃ 에서 15 분 동안 공기 건조시켰다.

[0182] 전기영동 후, 각각의 건조된 샘플을 DNA 삽입 형광 염료 (SYBR 그린 용액) 로 염색하였다. 이어서, 자동화된 IN Cell Analyzer™ 2200 현미경 이미지 분석기 (GE Healthcare) (X10 대물 렌즈) 를 사용하여 표면형광에서 세포를 관찰하였다. 여기 (ex = 494 nm, em = 524 nm) 시, DNA-결합된 SYBR® Green 은 녹색 광을 방출한다. 건강한 세포에서, 형광은 핵양체로 제한된다: 손상되지 않은 DNA 는 초나선형이며, 따라서 전류의 영향하에서 핵양체로부터 매우 실질적으로 이동하지 않는다. DNA 손상이 발생한 경우, 알칼리 처리는 DNA 를 말아 올려, 전기장에 노출되었을 때 세포 외부로 이동하는 조각을 방출한다. 음으로 하전된 DNA 는 애노드로 이동하며, 돌출 길이는 손상의 지표인 초나선형 구조의 이완에 비례한다. 알칼리 전기영동 조건이 사용되는 경우, 테일과 코메트 헤드 사이의 DNA 의 분포를 사용하여 DNA 손상의 정도를 결정할 수 있다.

[0183] 세포의 이미지는 ImageJ 소프트웨어와 함께 OpenComet 로 분석하였다. 분석의 각각의 복제에서, 최소 500 개의 이벤트 값이 분석되었다.

[0184] 도 2 는 상응하는 결과를 나타낸다.

[0185] 인간 표피 케라티노사이트에 UV 광을 조사하여 발생하는 DNA 손상은 식별 가능하다. 티론 양성 대조군은 알려진 산화방지제 특성 덕분에 DNA 손상으로부터 보호할 수 있으며, 따라서 UV 조사 후에 DNA 손상에 대해 대략 60 % 보호 효과를 나타낸다. 본 발명의 물질은 마찬가지로 60 % 초과의 보호 효과를 나타낸다. 이러한 효과는 스핑고지질/세라미드에 대해 알려지지 않았으며, 또한 이러한 시험에서 순수한 스핑고이드 베이스 피토스핑고신 (PS) 에 대해 입증할 수 없다.

[0186] 하기의 실험은 도 2 에 나와 있지 않다:

[0187] 상기 설정에서, 2-히드록시-3,3-디메틸-히드록시부티로일 스핑가닌은 5 μM 의 농도에서 24 % 의 보호 효과를 나타내며, 2-히드록시-3,3-디메틸-히드록시부티로일 피토스핑고신은 2 μM 의 농도에서 39 % 의 보호 효과를 나타낸다.

[0188] 상기 설정에서, 세라미드 3 (세라미드 NP 라고도 함) 은 10 μM 의 농도에서 12 % 의 보호 효과를 나타내며, 3-

히드록시프로피오일 피토스핑고신은 10 μM 의 농도에서 13 % 의 보호 효과를 나타낸다.

[0189] *실시예 7: 생체 내 데이터*

[0190] 생체 내 연구를 위해, 햇빛 스트레스를 받은 피부를 가진 24 명의 시험 대상 (남성 및 여성) 을 모집하였다. 햇빛 스트레스를 받은 피부를 확보하기 위해서, 이러한 연구는 9 월 부터 11 월 까지의 기간에 수행하였다. 피부는 여름 시즌이 끝날 때 가장 높은 수준의 햇빛 스트레스를 나타낸다고 가정하였다.

[0191] 시험 대상은 2 가지 상이한 시험 제제를 각각 하나의 팔뚝에 적용하거나, 또는 하나의 시험 제제를 하나의 팔뚝에 적용하고 두번째 팔뚝은 처리하지 않은 채로 남아 있었다 (대조군). 시험 제제는 비히클 및 0.1 % 의 히드록시부티로일 피토스핑고신 (히드록시부티로일 PS) 을 함유하는 제제였다. 다양한 시험 조합이 시험 대상에게 무작위로 할당되었다.

[0192] 시험 제제의 조성을 표 1 에 나타낸다. 시험 대상은 각 경우에 하나의 팔뚝의 내부 및 외부에 8 주의 기간 동안 매일 2 회 시험 제제를 적용하였다. 적용 시작 전 및 적용 2, 4 및 8 주 후에 팔뚝에 대한 하기의 측정을 수행하였다:

[0193] 1. 색상 측정: 비색계 프로브 (Skin-Colorimeter CL 400, Courage & Khazaka, Cologne) 를 사용하여 팔뚝의 외부에서 매개변수 L^* 및 ITA° 를 측정하였다. L^* 은 피부의 흑백 값을 나타내고, ITA° 는 피부 톤을 나타낸다. 피부가 더 밝아지면, 두 값 모두 증가를 나타낸다.

[0194] 2. 피부 거칠기: 이 매개변수는 팔뚝의 내부에서 특수 카메라 (Visioscan VC 98, Courage & Khazaka) 를 통해 결정하였다. 이 카메라는 피부의 디지털 흑백 이미지를 기록한다. 이미지의 그레이스케일 분포를 사용하여 피부 거칠기를 결정할 수 있다.

[0195] 3. 진피의 밀도: 진피의 밀도는 팔뚝의 외부에서 초음파 (SkinLab Combo, Cortex Technologies, Denmark) 에 의해 결정하였다. 이를 위해, 특수 프로브가 초음파 신호를 피부에 전송하고, 반사를 기록한다. 이 반사를 사용하여 피부 밀도에 대한 값을 결정할 수 있다. 감소된 피부 밀도는 특히 태양광에 매우 강하게 노출된 피부 영역에서 나타난다.

[0196] 표 1: 시험 제제의 조성

상	구성성분	비히클 [% w/w]	히드록시부티로일 피토스핑고신 [% w/w]
A	TEGO® Care 450 (폴리글리세릴-3 메틸글루코오스 디스테아레이트)	3.00	3.00
	TEGIN® M Pellets (글리세릴 스테아레이트)	2.00	2.00
	TEGO® Alkanol 1618 (세테아릴 알코올)	1.00	1.00
	TEGOSOFT® CT (카프릴/카프르산 트리글리세라이드)	9.50	9.50
	TEGOSOFT® TN (C12-15 알킬 벤조에이트)	9.50	9.50
B	히드록시부티로일 피토스핑고신		0.10
	물	71.00	70.90
	글리세롤	3.00	3.00
Z	Verstatil PC (페녹시에탄올; 카프릴릴 글리콜)	1.00	1.00

[0197]

[0198] 도 3 은 2, 4 및 8 주 동안 시험 제제의 적용 후의 ITA° 의 증가를 나타낸다.

[0199] 도 4 는 2, 4 및 8 주 동안 시험 제제의 적용 후의 L^* 의 증가를 나타낸다.

[0200] 도 xy1 및 xy2 에서 색상 매개변수 L^* 및 ITA° 의 증가는 피부가 전체 측정 기간에 걸쳐 더 밝아졌다는 것을 나타내며, 밝기의 증가는 비히클 제제 또는 미처리 대조군과 비교하여, 히드록시부티로일 피토스핑고신으로 처리된 피부 영역에서 가장 두드러졌다. 이것은 이 경우에 피부에서 멜라닌의 파괴에 기인하지 않았다.

피부의 태닝은 여름 시즌이 끝날 때 가장 두드러지며, 이후에 정상적인 피부 재생 사이클의 결과로서 가을에 가라 앉는다. 이러한 사이클은 히드록시부티로일 피토스핑고신에 의해 강화되며, 이 경우에 피부는 더 빠르게 밝아진다.

[0201] 도 5 는 2, 4 및 8 주 동안 시험 제제의 적용 후의 피부 거칠기의 감소를 나타낸다.

[0202] 도 5 로부터, 피부 거칠기의 감소는 미처리 대조군 및 특히 비히클 모두와 비교해서, 히드록시부티로일 피토스핑고신을 함유하는 시험 제제에서 가장 현저하였다는 것을 알 수 있다. 이것은 피부 색상 측정 결과를 뒷받침한다: 햇빛 스트레스를 받은 피부의 특징은 피부의 거칠기가 증가한다는 것이다. 이러한 거칠기는 마찬가지로 정상적인 피부 재생의 결과로서 가을에 감소한다. 히드록시부티로일 피토스핑고신은 피부 갱신 사이클을 돕기 때문에, 피부 거칠기의 감소는 비히클 제제 또는 미처리 대조군보다 더 뚜렷하다.

[0203] 도 6 은 2, 4 및 8 주 동안 시험 제제의 적용 후의 피부 밀도의 증가를 나타낸다.

[0204] 태양광 방사선에 더 많이 노출된 피부 영역은 감소된 피부 밀도를 나타낸다. 피부 연구의 결과는 히드록시부티로일 피토스핑고신으로 피부 밀도가, 미처리 대조군 또는 비히클과 비교하여 사용 2 주 후에 이미 현저하게 증가하였다는 것을 나타낸다.

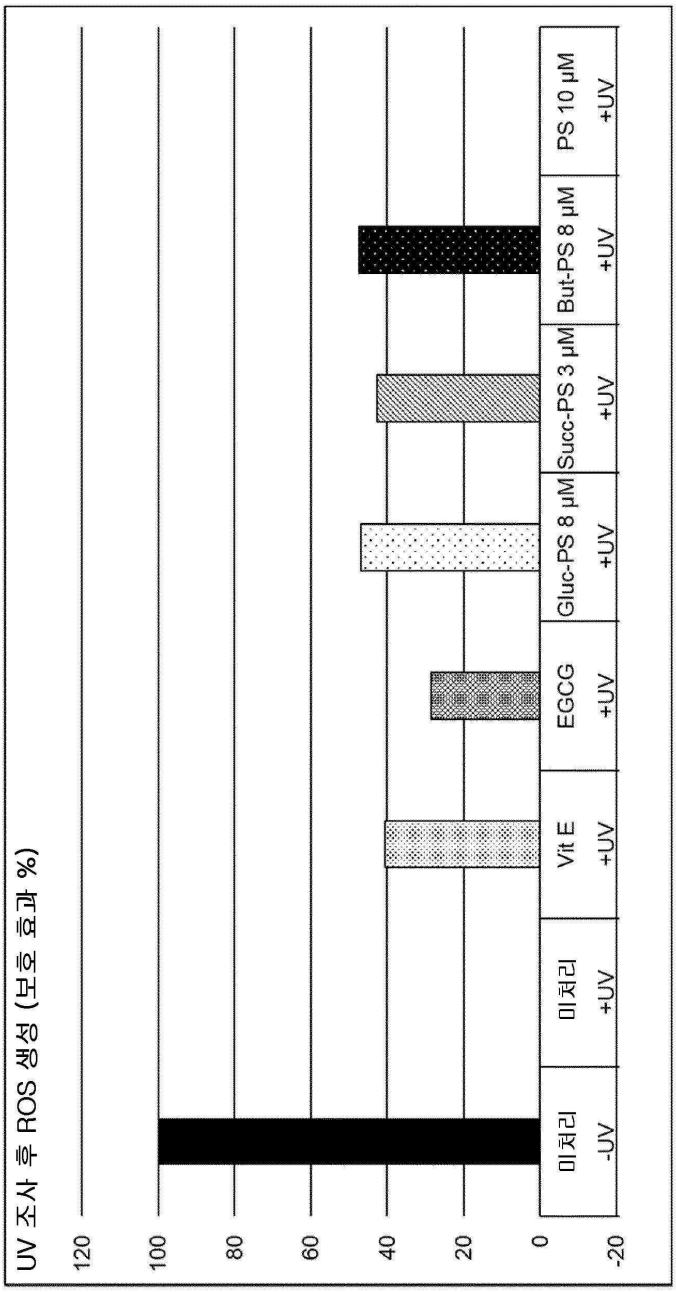
[0205] 6-히드록시헥사노일 피토스핑고신 (실시예 1b), 2-히드록시-3,3-디메틸-히드록시부티로일 스핑가닌 (실시예 5b), 세라미드 3 (세라미드 NP 라고도 함) 및 3-히드록시프로피오일 피토스핑고신 (실시예 1c) 을 사용하여 동일한 방식으로 실험을 반복한다.

[0206]

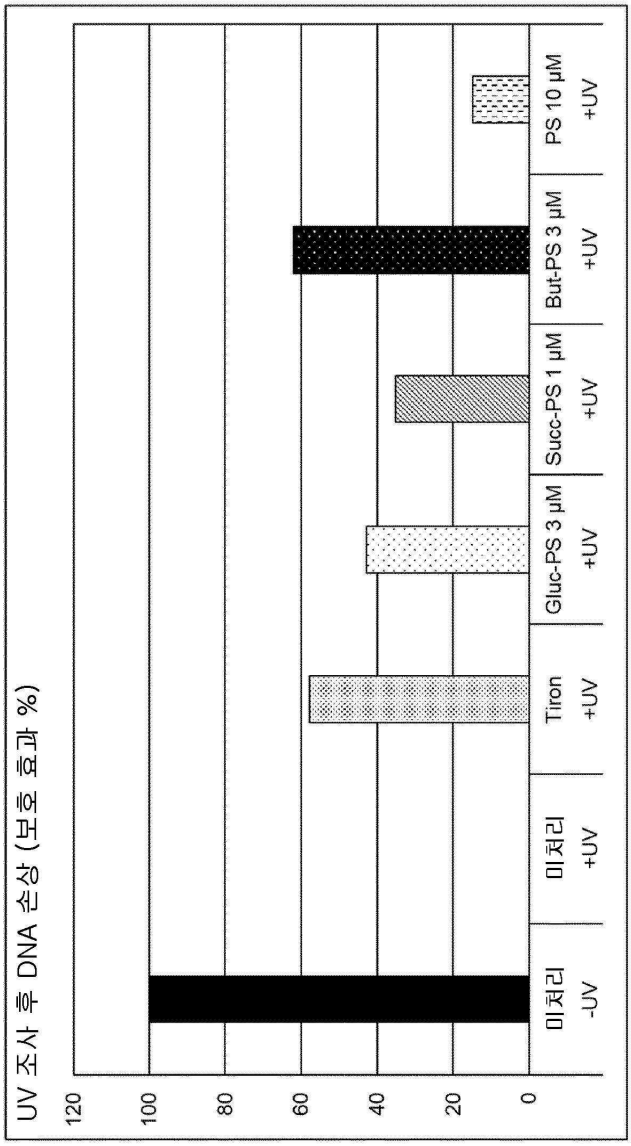
	ΔITA°			ΔL*			거칠기 감소			Δ 피부 밀도		
	W2-W0	W4-W0	W8-W0	W2-W0	W4-W0	W8-W0	W2-W0	W4-W0	W8-W0	W2-W0	W4-W0	W8-W0
Ex 1b	5.11	7.53	12.24	1.38	2.51	4.38	-6.20	-14.36	-15.88	3.33	4.24	4.63
Ex 5b	3.54	6.21	10.52	0.92	2.02	3.28	-3.2	-12.34	-13.63	2.23	3.25	3.64
Cer 3	2.34	5.21	8.79	0.60	1.82	2.61	0.05	- 5.12	-4.66	1.20	1.50	1.80
Ex 1c	2.41	4.89	8.67	0.58	1.92	2.55	-1.20	- 5.55	-6.21	.82	0.98	0.82

도면

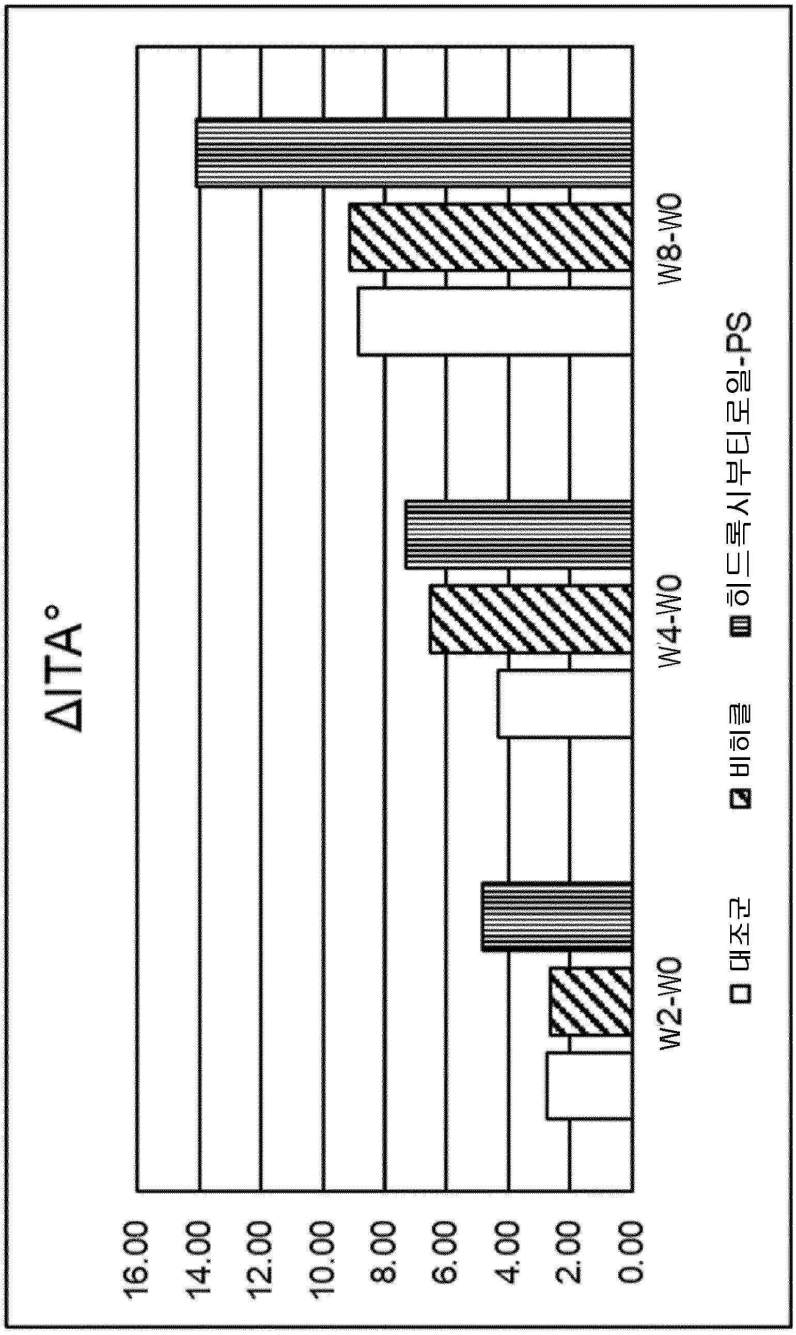
도면1


UV 조사 후 ROS 생성 (보호 효과 %)
120
100
80
60
40
20
0
-20
미처리 -UV
미처리 +UV
Vit E +UV
EGCG +UV
Gluc-PS 8 μM +UV
Succ-PS 3 μM +UV
But-PS 8 μM +UV
PS 10 μM +UV

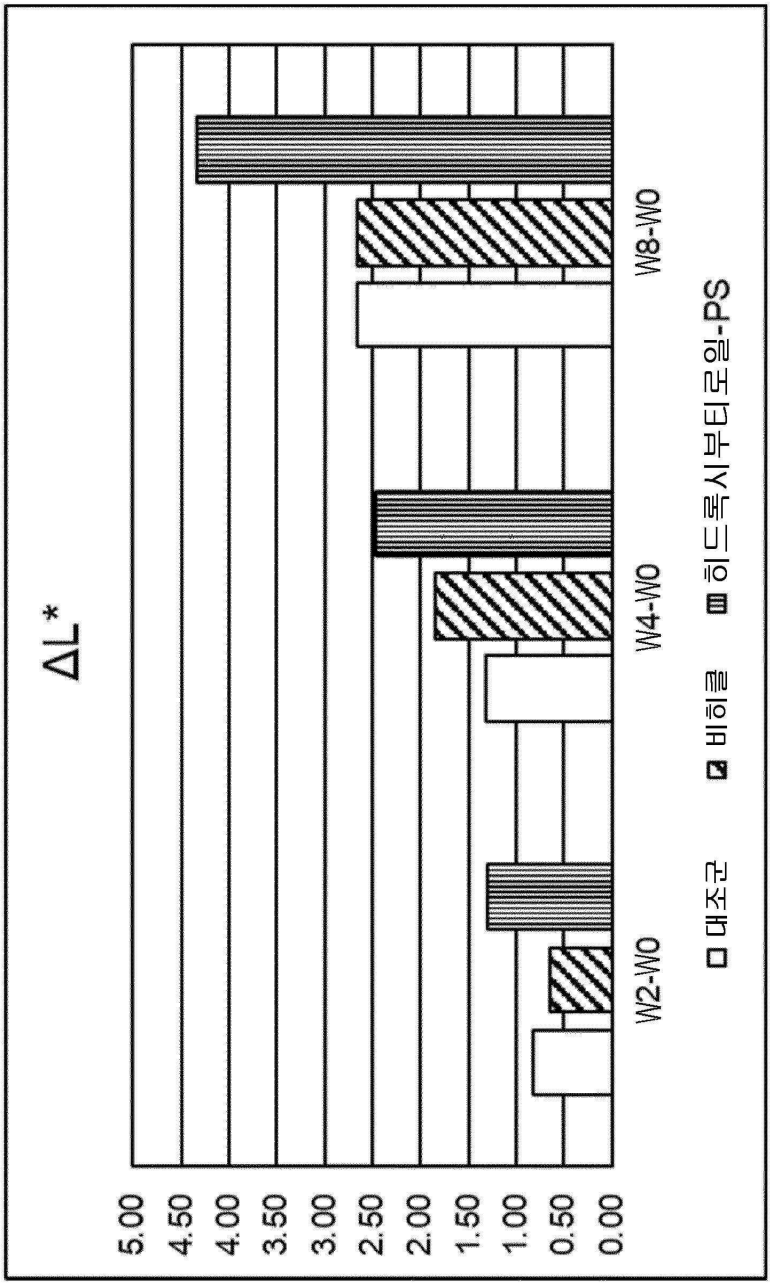
도면2


UV 조사 후 DNA 손상 (보호 효과 %)
120
100
80
60
40
20
0
미처리
-UV
미처리
+UV
Tiron
+UV
Gluc-PS 3 μM
+UV
Succ-PS 1 μM
+UV
But-PS 3 μM
+UV
PS 10 μM
+UV

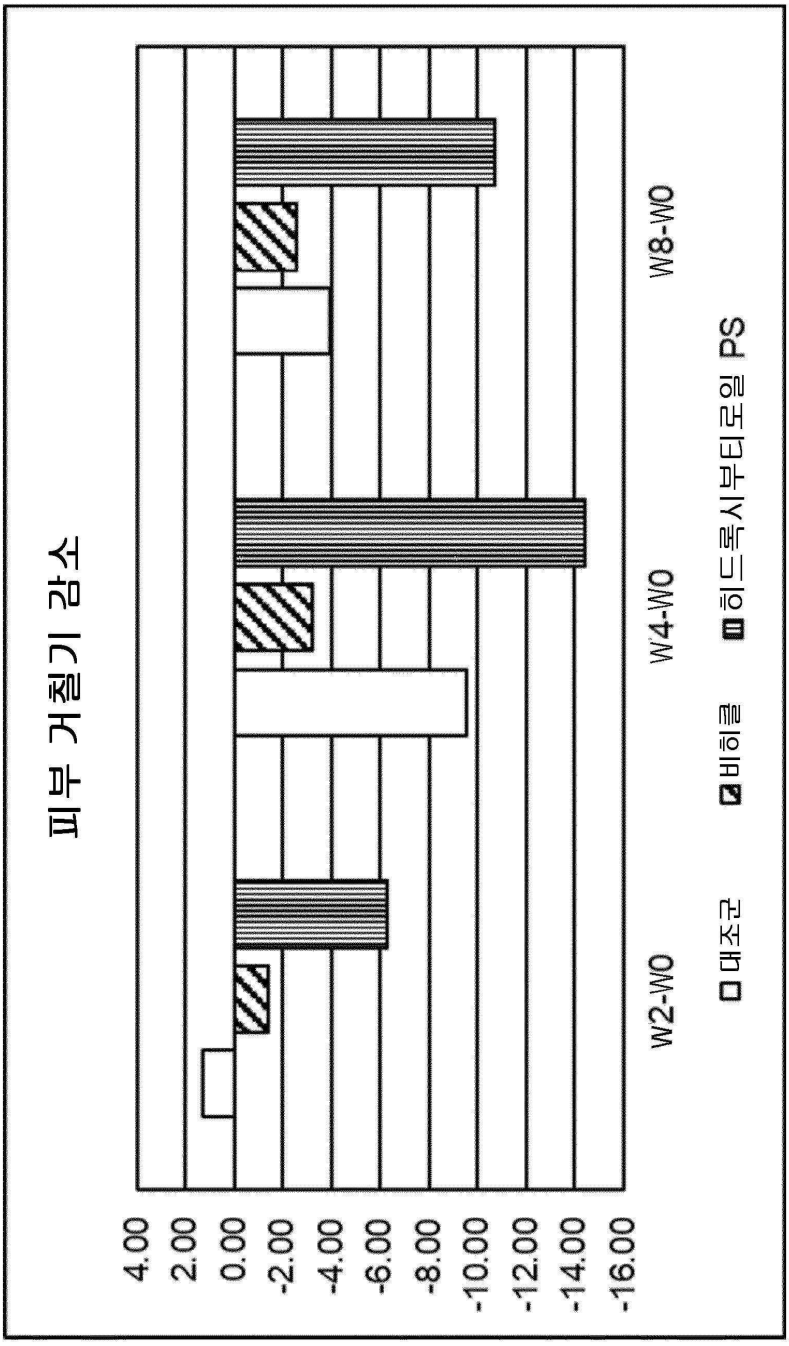
도면3


ΔITA°
16.00
14.00
12.00
10.00
8.00
6.00
4.00
2.00
0.00
W2-W0
W4-W0
W8-W0
대조군
비히클
히드록시부티로일-PS

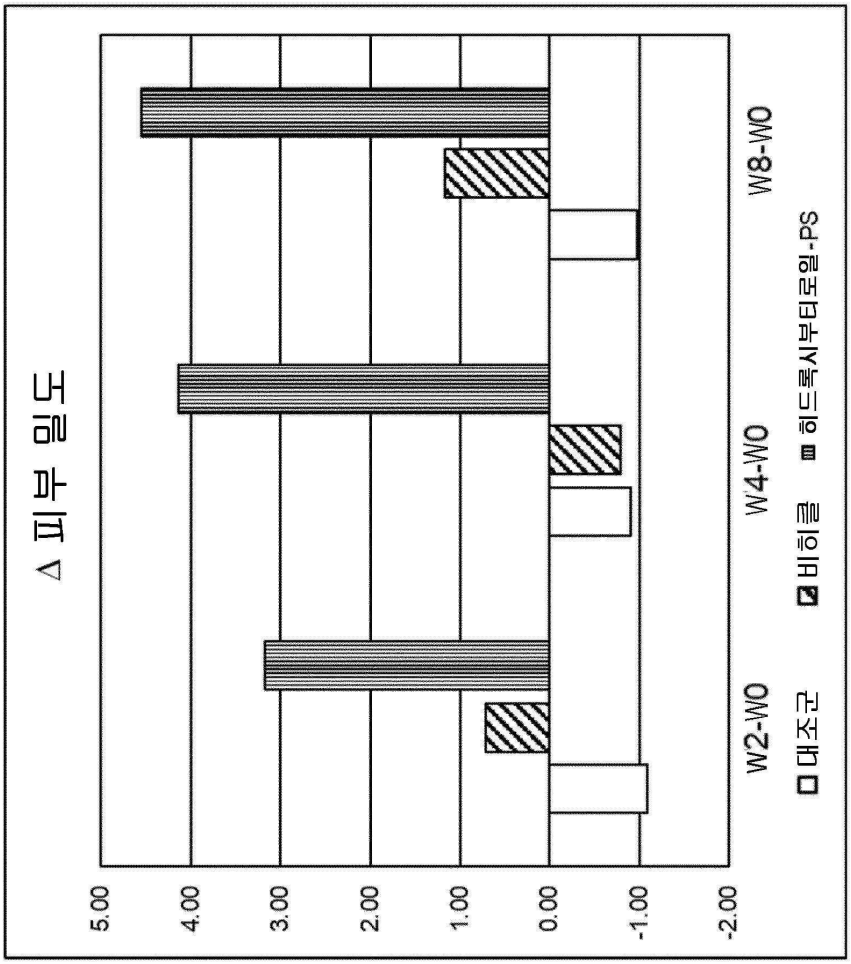
도면4


ΔL*
5.00
4.50
4.00
3.50
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
W2-W0
W4-W0
W8-W0
대조군
비히클
히드록시부티로일-PS

도면5


피부 거칠기 감소
4.00
2.00
0.00
-2.00
-4.00
-6.00
-8.00
-10.00
-12.00
-14.00
-16.00
W2-W0
W4-W0
W8-W0
대조군
비히클
히드록시부티로일 PS

도면6


△ 피부 일도
5.00
4.00
3.00
2.00
1.00
0.00
-1.00
-2.00
W2-W0
W4-W0
W8-W0
대조군
비히클
히드록시부티로일-PS