

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2013년 5월 30일 (30.05.2013)



(10) 국제공개번호
WO 2013/077574 A1

- (51) 국제특허분류:
A61K 31/35 (2006.01) A61K 31/352 (2006.01)
A61K 31/34 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2012/009377
- (22) 국제출원일: 2012년 11월 8일 (08.11.2012)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2011-0122748 2011년 11월 23일 (23.11.2011) KR
10-2012-0125391 2012년 11월 7일 (07.11.2012) KR
- (71) 출원인: 주식회사 아모레퍼시픽 (AMOREPACIFIC CORPORATION) [KR/KR]; 140-777 서울시 용산구 한강로 2가 181 번지, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 이진영 (LEE, Jin Young); 446-904 경기도 용인시 기흥구 보라동 314-1, Gyeonggi-do (KR). 유재원 (YOO, Jae Won); 446-904 경기도 용인시 기흥구 보라동 314-1, Gyeonggi-do (KR). 최향태 (CHOI, Hyang Tae); 446-904 경기도 용인시 기흥구 보라동 314-1, Gyeonggi-do (KR). 김한별 (KIM, Han Byul); 446-904

경기도 용인시 기흥구 보라동 314-1, Gyeonggi-do (KR). 이성훈 (LEE, Sung Hoon); 446-904 경기도 용인시 기흥구 보라동 314-1, Gyeonggi-do (KR). 김지성 (KIM, Ji Seong); 446-904 경기도 용인시 기흥구 보라동 314-1, Gyeonggi-do (KR). 배지현 (BAE, Ji Hyun); 446-904 경기도 용인시 기흥구 보라동 314-1, Gyeonggi-do (KR).

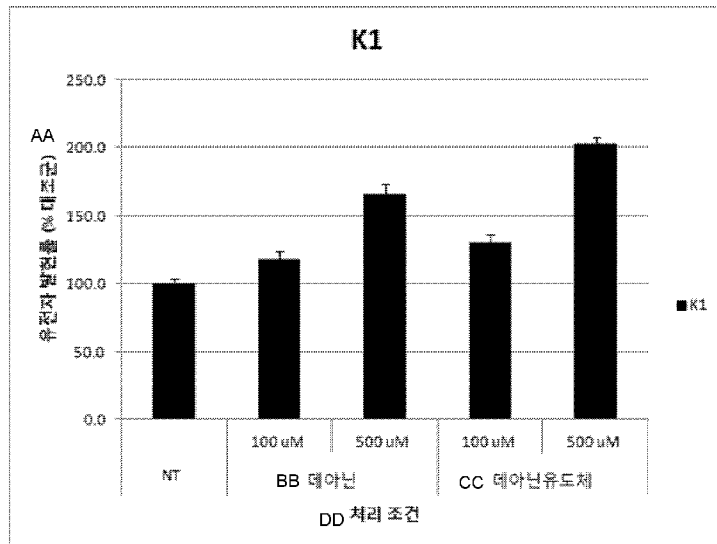
(74) 대리인: 윤동열 (YOON, Dong Yol); 153-803 서울시 금천구 가산디지털1로 226 에이스 하이엔드타워 5차 3층 윤앤리 특허 법률 사무소, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

[다음 쪽 계속]

(54) Title: TOPICAL COMPOSITION CONTAINING THEANINE DERIVATIVES FOR USE ON SKIN

(54) 발명의 명칭: 테아닌 유도체를 함유하는 피부 외용제 조성물



AA ... Gene expression (% control)
BB ... Theanine
CC ... Theanine derivative
DD ... Treatment conditions

(57) Abstract: The present invention relates to a topical composition for use on skin containing theanine derivatives as active components and, more particularly, to a topical composition for use on skin having anti-aging, skin wrinkle repair, skin barrier enhancement, skin immunity enhancement, skin moisturizing, and atopy alleviation effects by containing theanine derivatives as active components.

(57) 요약서: 본 발명은 테아닌 유도체를 유효성분으로 함유하는 피부 외용제 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 테아닌 유도체를 유효성분으로 함유하여 항노화, 피부 주름 개선, 피부 장벽 강화, 피부 면역 강화, 피부 보습 및 아토피 개선 효과를 갖는 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.

WO 2013/077574 A1



(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))
- 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

명세서

발명의 명칭: 테아닌 유도체를 함유하는 피부 외용제 조성물 기술분야

- [1] 본 발명은 테아닌 유도체를 유효성분으로 함유하는 피부 외용제 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 테아닌 유도체를 유효성분으로 함유하여 항노화, 피부 주름 개선, 피부 장벽 강화, 피부 면역 강화, 피부 보습 및 아토피 개선 효과를 갖는 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 테아닌(theanine)은 녹차(*Camellia sinensis*)에 함유된 아미노산으로, 글루타민(L-glutamine)과 에틸아민(ethylamine)의 효소반응에 의해 생성되며, 일반적으로 녹차 잎 건조 중량의 약 1~2%를 차지하며 주로 유리 아미노산 형태로 존재하는 특징을 가진다. 테아닌은 카페인으로 인한 흥분 작용을 억제하고(*Toxicol Lett.* 2001 123(2-3), 159-167, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2000 Feb; 64(2):287-93) 뇌에서 알파파(alpha-waves)를 증가하여 긴장을 완화시키며(*Nippon Nogeikagaku Kaishi* 1998;72:153-157) 스트레스로 인한 심장 박동수 증가 억제 및 스트레스 반응 인자 감소와 같은 항스트레스 작용(*Biol Psychol.* 2007 74(1):39-45)이 있다고 보고되고 있다. 또한, 암세포 내부의 글루타치온 수치를 감소시켜 항암 작용을 하며(*Cancer Lett.* 2004 212(2), 177-184), 혈압 강하(*Biosci Biotechnol Biochem* 1995 59(4) 615-618), 저밀도지질단백 콜레스테롤(LDL-cholesterol)의 산화를 억제시키는(*Exp Toxicol Pathol* 1997;49:329-335) 항산화 효능도 일부 가지고 있으며, 최근에는 항비만작용(*In Vivo* 2004, 18(1) 55-62) 및 알코올 분해 효소 증가(*Biol Pharm Bull* 2005 28(9) 1702, 1706)와 같은 생리활성에 대해서도 연구되고 있다.
- [3] 테아닌이 다양한 생리활성을 가진다는 가능성 검증 및 구체적인 연구가 이루어지고 있으나, 피부 영역에 대해서는, 테아닌과 녹차 성분 카테킨의 단독 혹은 혼합 처리시의 지방분해 효과(한국공개특허공보 제2004-0092538호)와 피부노화 개선(한국공개특허공보 제2007-0028901호), 프롤린 리사이클링 촉진 효과(한국 공개특허공보 제2009-0064743호)를 제외하고는 현재까지 테아닌의 피부 효능에 대해 알려진 연구 사례 및 작용 기전에 대해서는 보고된 바가 없으며, 미국 특허출원 US2006/0134095 A1은 테아닌의 보습효과를 기재하고 있으며, 테아닌 유도체를 세포활성제로서 기재하고 있으나, 테아닌 자체가 아닌 테아닌의 유도체의 우수한 피부 효능에 대하여도 현재까지 알려진 바 없다.

[4]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [5] 이에 본 발명자들은 테아닌 유도체의 생리 활성으로 인하여 테아닌 모핵의

효과를 모방하는 것을 넘어서 보다 우수하며 차별되는 생리 효능으로서 항노화, 피부 주름 개선, 피부 장벽 강화, 피부 면역 강화, 피부 보습 및 아토피 개선 효과를 가짐을 발견하고 본 발명을 완성하였다.

- [6] 따라서 본 발명은 테아닌 유도체를 유효성분으로 함유하여 항노화, 피부 주름 개선, 피부 장벽 강화, 피부 면역 강화, 피부 보습 및 아토피 개선 효과가 뛰어난 피부 외용제 조성물을 제공함을 목적으로 한다.

[7]

과제 해결 수단

- [8] 본 발명은 테아닌 유도체를 유효성분으로 함유하는 항노화, 피부 주름 개선, 피부 장벽 강화, 피부 면역 강화, 피부 보습 및 아토피 개선용 피부 외용제 조성물에 관한 것이다.

발명의 효과

- [9] 본 발명의 테아닌 유도체를 함유하는 피부 외용제 조성물은 테아닌 유도체의 생리 활성으로 인하여 테아닌 모핵의 효과를 모방하는 것을 넘어서 보다 우수하며 차별되는 생리 효능으로서 항노화, 피부 주름 개선, 피부 장벽 강화, 피부 면역 강화, 피부 보습 및 아토피 개선 효과를 갖는다.

[10]

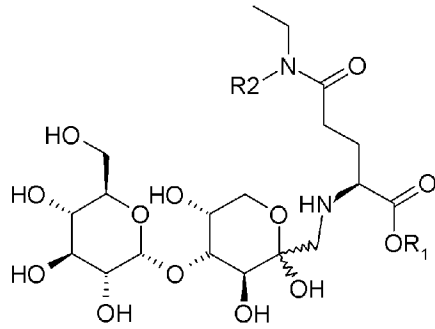
도면의 간단한 설명

- [11] 도 1은 테아닌과 본 발명의 테아닌 유도체에 의한 케라틴 1(keratin 1) 유전자 발현율을 나타낸 그래프이다.
- [12] 도 2은 테아닌과 본 발명의 테아닌 유도체에 의한 트랜스글루타미네이즈 1(transglutaminase 1) 유전자 발현율을 나타낸 그래프이다.
- [13] 도 3은 테아닌과 본 발명의 테아닌 유도체에 의한 필라그린 유전자 발현율을 나타낸 그래프이다.
- [14] 도 4는 테아닌과 본 발명의 테아닌 유도체를 처리한 경우의 세포 내 칼슘 이동 양상을 나타낸 결과이다.

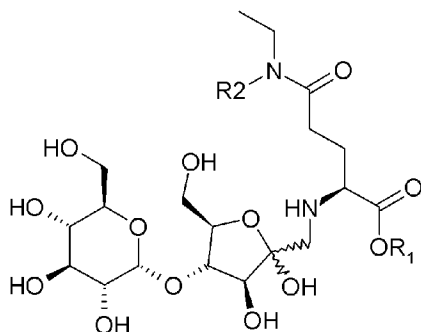
[15]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [16] 이하, 본 발명을 보다 구체적으로 설명한다.
- [17] 본 발명에서 사용되는 테아닌 유도체는 하기 화학식 1 또는 화학식 2의 구조를 가진다.
- [18] 화학식 1



- [19] (상기 식에서, R_1 은 수소, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소 부틸 및 tert-부틸로 이루어진 군에서 선택되며, R_2 는 수소, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소 부틸 및 tert-부틸로 이루어진 군에서 선택된다.)
- [20] 화학식 2



- [21] (상기 식에서, R_1 은 수소, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소 부틸 및 tert-부틸로 이루어진 군에서 선택되며, R_2 는 수소, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소 부틸 및 tert-부틸로 이루어진 군에서 선택된다.)
- [22] 본 발명의 테아닌 유도체는 조성물 총 중량에 대하여 0.0001~20중량%로 함유하는 것이 바람직하다. 0.0001중량% 미만인 경우 원하는 효과를 기대할 수 없으며, 20중량%을 초과하는 경우 화장품 제형의 점도 조절이 쉽지 않기 때문이다.
- [23] 표피층은 증식과 분화의 과정을 통해 완전한 각질층을 만들고 적절한 시기에 탈락되는 항상성을 가진다. 이 과정에 기저층에서 분열된 각질형성세포는 다양한 단백질과 지질을 합성하면서 각질세포로 변화하여 각질층을 형성하게 된다. 표피의 기저세포에서 분화될수록 핵과 세포내 기관이 사라지면서 납작해지고 케라틴 중간미세섬유가 증가된다. 이러한 분화에 있어서 세포내 칼슘 농도가 중요한데 칼슘 농도가 저농도인 표피 하부에서는 각질 형성 세포의 증식이 촉진되고 칼슘 고농도인 상부 표피에서는 증식이 억제되며 분화가 일어난다. 케라틴 중간 미세 섬유를 구성하는 케라틴 단백질은 기저층에서는 keratin5, keratin 14가 발현되고 과립층에서는 keratin 1, keratin 10이 발현된다. 따라서 keratin 1은 표피 분화에 대한 지표로 활용된다.
- [24] 피부의 노화는 광노화와 자연노화로 나뉘어지는데 이때 모두 젊은 피부의 표피와는 다른 양태를 보이게 된다. 광노화에서는 표피의 두께가 비정상적으로

비후되며 자연노화에서는 표피의 두께가 줄어들고 형성된 각질세포가 잘 떨어져나가지 않는 상태가 된다. 이는 모두 표피의 정상적인 턴오버(turn-over) 과정이 이루어지지 않기 때문이며 분화 조절이 적절치 않기 때문이다. 또한 이런 표피의 이런 변화는 무모생쥐에 만성적인 저선량 자외선을 조사하여 주름 형성되는 기전을 연구한 논문 (JDS, 2001, Kambaytashi)에 의하면 광노화의 주름 생성에도 관여됨을 알 수 있다. 이 연구에 따르면 자외선을 조사받은 피부는 주름 생성이 되는데 이때 케라틴 1(keratin 1)과 필라그린(filaggrin)의 양이 현격하게 감소되는 것을 알 수 있다.

- [25] 본 발명의 테아닌 유도체는 케라틴 1의 발현을 증가시키는 효과를 가지며, 이러한 효과는 표피의 증식과 분화의 항상성을 개선하는 결과를 가져올 수 있으며 이러한 항상성 개선을 통해 자연 노화 피부를 개선할 뿐만 아니라 자외선에 의한 주름 생성을 막거나 완화시킬 수 있다.
- [26] 피부가 수행하는 가장 중요한 기능 중 하나는 피부 내외의 각종 물질의 자유로운 이동을 막는 장벽으로의 기능이다. 피부 장벽은 과립층에서 각질층으로 급격히 이행되면서 케라틴 중간 미세 섬유들이 엉겨붙어 섬유다발을 형성하고 각질유리과립에 있던 단백질 성분들 및 다른 세포질 내 단백질과 교차 결합하면서 세포막의 안쪽을 둘러싸는 각질 단백막을 형성하면서 세포막이 대체된다. 각질 단백막과 각질 지질막을 합쳐서 각질세포의 경계를 이루는 각질비후막(cornified envelope)을 형성하게 되며 완전한 피부 장벽 구조를 완성한다. 필라그린(filaggrin)은 각질층과 과립층에서 케라틴 미세 섬유간의 결합을 촉진시켜서 장벽을 강화하는 기능을 수행하며, 트랜스글루타미네이즈 1(Transglutaminase 1)은 각질비후막 형성에 필요한 다양한 단백질들을 크로스링크(cross-linking) 시키며 긴사슬(long chain)의 하이드록시헤라마이드(hydroxyceramide)를 단백질과 연계하여서 각질 지질막 형성에 기여한다.
- [27] 본 발명의 테아닌 유도체는 필라그린(Filaggrin), 트랜스글루타미네이즈1(Transglutaminase 1)의 발현을 증가시키는 효과가 우수하다. 따라서 본 발명의 테아닌 유도체는 각질비후막 형성을 도와 피부의 주기능인 장벽 기능을 강화하는 효과가 있으며, 이를 통해 피부의 물리적 방어막을 견고하게 하여 피부의 선천 면역(innate immunity)를 강화할 수 있다.
- [28] 천연 보습 인자(Natural moisturizing factor, NMF)는 피부 보습에 중요한 요소 중 하나로 아미노산과 그 유도체들로 이루어지며 수분을 함유하고 피부 보습을 유지시킨다. 또한 피부 장벽의 강화 효능 역시 피부 보습 효능에 기여하는 인자이다. 필라그린(Filaggrin)은 각질층과 과립층에서 케라틴 미세 섬유간의 결합을 촉진시켜서 장벽을 강화하는 기능을 수행할 뿐만 아니라, 아미노산으로 분해되어 천연 보습 인자를 형성하게 된다. 또한 필라그린(Filaggrin) 유전자 이상이 아토피피부염의 전조증상과 연관 있을 것이라는 주기적인 연구보고가 있다. 따라서 필라그린은 표피 장벽 기능 강화뿐 아니라 천연 보습 인자로서

작용할 뿐만 아니라, 아토피 피부염에 있어서도 관련이 깊다.

- [29] 본 발명의 테아닌 유도체는 앞서 살핀 바와 같이 펠라그린의 발현을 증가시키며, 이러한 효과로 인해 표피 장벽 기능 강화와 함께 천연보습인자 증가를 통한 피부 보습 효능을 나타낼 수 있으며, 펠라그린의 감소로 인한 아토피 피부염의 증상을 완화시키는 효과를 가진다.
- [30] 상기 화장품 조성물은 제형이 특별히 한정되지 않으며, 목적하는 바에 따라 적절히 선택할 수 있다. 예를 들어, 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 및 바디클린저로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 제형으로 제조될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [31] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [32] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로폴루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [33] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액의 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [34] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [35] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [36] 상기 화장품 조성물에는 상기 첨가된 테아닌 유도체 이외에 기능성 첨가물 및

일반적인 화장품 조성물에 포함되는 성분이 추가로 포함될 수 있다. 예를 들어 상기 기능성 첨가물로는 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스펅고 지질 및 해초 엑기스로 이루어진 군에서 선택된 성분을 포함할 수 있다.

- [37] 본 발명의 화장품 조성물에는 또한, 상기 기능성 첨가물과 더불어 필요에 따라 일반적인 화장품 조성물에 포함되는 성분을 배합해도 된다. 이외에 포함되는 배합 성분으로는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한제, 정제수 등을 들 수 있다.

[38]

발명의 실시를 위한 형태

- [39] 이하, 실시예 및 실험예를 들어 본 발명을 보다 구체적으로 설명하나, 본 발명의 권리범위가 이들에 한정하는 것은 아니다.

- [40] [시험예 1] 사람 신생아 상피 각질형성세포(HEK)에서 Keratin1 유전자 발현 확인

- [41] 사람 신생아 상피 각질형성세포(HEK; Lonza사, NHEK-Neo-Neonatal Normal Human Epidermal Keratinocytes, Pooled)를 6-well에 배지(KBM-gold, Lonza사)에 1×10^5 씩 분주하여 37°C에서 24시간 동안 배양하여 배지를 버리고, 테아닌 유도체를 각각 100 μ M, 500 μ M 포함하는 배지(KBM-gold, Lonza사)로 처리하여 5일간 37°C에서 배양하였다.

- [42] 5일간 배양한 각질형성세포에서 RNeasy mini kit(qiagen사)를 이용하여 RNA를 추출하여, Superscript III kit (invitrogen 사)로 RT-PCR 을 수행하여 cDNA를 합성하였다. Keratin 1의 발현양을 확인하기 위해서 프로브(TaqManTM fluorogenic probe, Hs00196158_m1)를 이용하여 quantitative real-time PCR를 수행하여 Keratin 1의 발현양상을 관찰하였으며, 결과를 도 1에 나타내었다. 대조군으로는 비처리군, 테아닌 유도체 대신에 각각 100 μ M, 500 μ M 테아닌(Sigma, T6576)을 처리한 것을 사용하였다.

- [43] 도 1의 결과에서 비처리군에 비하여 테아닌 유도체는 Keratin 1의 발현을 증가시키는 것을 확인할 수 있었으며, 테아닌 유도체는 테아닌 모핵 자체를 처리한 경우와 비교하여 동일 농도 처리시에 매우 우수한 효과를 나타내는 것을 알 수 있다.

[44]

- [45] [시험예 2] 사람 신생아 상피 각질형성세포(HEK)에서 트랜스글루타미네이즈 1 유전자발현 확인

- [46] 사람 신생아 상피 각질형성세포(HEK; Lonza사, NHEK-Neo-Neonatal Normal Human Epidermal Keratinocytes, Pooled)를 6-well에 배지(KBM-gold, Lonza사)에 1×10^5 씩 분주하여 37°C에서 24시간 동안 배양하여 배지를 버리고, 테아닌

유도체를 각각 100 μ M, 500 μ M 포함하는 배지(KBM-gold, Lonza사)로 처리하여 5일간 37°C에서 배양하였다.

- [47] 5일간 배양한 각질형성세포에서 RNeasy mini kit(qiagen사)를 이용하여 RNA를 추출하여, Superscript III kit (invitrogen 사)로 RT-PCR 을 수행하여 cDNA를 합성하였다. 트랜스글루타미네이즈 1(transglutaminase 1)의 발현양을 확인하기 위해서 프로브(TaqManTM fluorogenic probe, Hs00165929_m1)를 이용하여 quantitative real-time PCR를 수행하여 트랜스글루타미네이즈의 발현양상을 관찰하였으며, 결과를 도 2에 나타내었다. 대조군으로는 비처리군과 데아닌 유도체 대신에 각각 100 μ M, 500 μ M 데아닌(Sigma, T6576)을 처리한 것을 사용하였다.

- [48] 도 2의 결과에서 비처리군에 비하여 데아닌 유도체는 트랜스글루타미네이즈 1의 발현을 증가시키는 것을 확인할 수 있었으며, 데아닌 유도체는 데아닌 모핵 자체를 처리한 경우와 비교하여 동일 농도 처리시에 매우 우수한 효과를 나타내는 것을 알 수 있다.

[49]

- [50] [시험예 3] 사람 신생아 상피 각질형성세포(HEK)에서 필라그린(filaggrin) 유전자 발현 확인

- [51] 사람 신생아 상피 각질형성세포(HEK; Lonza사, NHEK-Neo-Neonatal Normal Human Epidermal Keratinocytes, Pooled)를 6-well에 배지(KBM-gold, Lonza사)에 1x10⁵씩 분주하여 37°C에서 24시간 동안 배양하여 배지를 버리고, 데아닌 유도체를 각각 100 μ M, 500 μ M 포함하는 배지(KBM-gold, Lonza사)로 처리하여 5일간 37°C에서 배양하였다.

- [52] 5일간 배양한 각질형성세포에서 RNeasy mini kit(qiagen사)를 이용하여 RNA를 추출하여, Superscript III kit (invitrogen 사)로 RT-PCR 을 수행하여 cDNA를 합성하였다. 필라그린(filaggrin)의 발현양을 확인하기 위해서 프로브(TaqManTM fluorogenic probe, Hs00856927_g1)를 이용하여 quantitative real-time PCR를 수행하여 트랜스글루타미네이즈의 발현양상을 관찰하였으며, 결과를 도 3에 나타내었다. 대조군으로는 비처리군과 데아닌 유도체 대신에 각각 100 μ M, 500 μ M 데아닌(Sigma, T6576)을 처리한 것을 사용하였다.

- [53] 도 3의 결과에서 비처리군에 비하여 데아닌 유도체는 필라그린의 발현을 증가시키는 것을 확인할 수 있었으며, 데아닌 유도체는 데아닌 모핵 자체를 처리한 경우와 비교하여 동일 농도 처리시에 매우 우수한 효과를 나타내는 것을 알 수 있다.

[54]

- [55] [시험예 4] 사람 신생아 상피 각질형성세포(HEK)에서 칼슘 influx 평가

- [56] 안정화한 사람 신생아 상피 각질형성세포(HEK; Lonza사, NHEK-Neo-Neonatal Normal Human Epidermal Keratinocytes, Pooled)를 컨포컬 디시(confocal dishes)에 2x10⁴ 씩 얻어놓고, 데아닌 2.5 mM과 데아닌 유도체 0.5 mM를 5분간 처리한 후, 1

μm fluo 3-AM을 15분간 처리하여 세포 내에서 분해되어 칼슘과 결합한 fluo 3를 confocal microscopy (Nikon, Japan)로 관찰하여 형광 차이를 측정하여 세포내 칼슘 이동을 평가하였으며, 결과를 도 4에 나타내었다.

- [57] 도 4의 결과에서, 테아닌과 테아닌 유도체는 세포 내 칼슘 이동에 있어서 명확히 다른 결과를 보임을 알 수 있다. 이러한 차이에 의해 본 발명의 테아닌 유도체는 단순히 테아닌 모핵의 효과를 모방하는 것이 아니라 테아닌 모핵의 효능과 다른 새로운 생리 활성 효능을 가짐을 알 수 있다.

[58]

[59] [실시에 1 및 비교예 1]

[60] 하기 표 1의 구성에 따라 실시예 1 및 비교예 1을 제조하였다.

[61] 표 1

[Table 1]

배합성분(단위: 중량%)	실시예 1	비교예 1
정제수	69	70
프로필렌글리콜	30	30
테아닌 유도체	1	-

[62] [시험예 5] 피부 장벽기능 회복 효과 측정

[63] 테아닌 유도체가 피부 손상으로 인해 손상된 피부 장벽기능의 회복에 미치는 효과 측정하기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다. 성인 남녀 10명의 상박을 테이프 스트리핑(Tape Stripping) 방법을 이용하여 피부 장벽에 손상을 주고, 상기 비교예 1 및 실시예 1를 매일 2 mg/cm^2 씩 $3\text{cm} \times 3\text{cm}$ 면적에 1회 도포하면서 7일 동안 하루에 한번씩 경피수분손실량(TWEL)의 회복 정도를 Vapometer(Delfin, 핀란드)로 측정 비교하였다. 테이프 스트리핑 전의 경피수분량을 100%로 하여 경피수분손실량을 계산한 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

[64] 표 2

[Table 2]

시험군	TWEL 변화 (%)						
	처리전	1일	2일	3일	4일	5일	6일
실시예1	100	86	73	54	31	31	31
비교예1	100	120	113	97	70	61	43

[65] 상기 표 2의 결과에서, 테아닌 유도체를 함유한 실시예 1을 처리할 경우 빠른 속도로 경피 수분 손실량이 정상으로 돌아오며 장벽 손상이 회복됨을 확인할 수 있다.

[66]

[67] [실시에 2 및 비교예 2]

[68] 하기 표 3의 조성비에 따라 실시예 2 및 비교예 2의 영양크림의 제형을 제조하였다.

[69] 표 3

[Table 3]

배합성분(중량%)	실시에 2	비교예 2
정제수	To 100	To 100
테아닌 유도체	1	-
식물성 경화유	1.50	1.50
스테아린산	0.60	0.60
글리세롤 스테아레이트	1.00	1.00
스테아릴 알코올	2.00	2.00
폴리글리세릴-10 펜타스테아레이트 & 베헤닐 알코올 & 소듐 스테아로일 락틸레이트	1.00	1.00
아라키딜 베헤닐 알코올 & 아라키딜글루코사이드	1.00	1.00
세틸아릴 알코올 & 세테아릴글루코사이드	2.00	2.00
PEG-100 스테아레이트 & 글리세롤올레이트 & 프로필렌글리콜	1.50	1.50
카프릴릭/카르릭 트리 글리세라이드	11.00	11.00
사이클로메디콘	6.00	6.00
방부제, 향	적량	적량
트리에탄올 아민	0.1	0.1

[70] [시험예 6] 피부 보습력 증가 효과 측정

[71] 테아닌 유도체가 피부 보습력 증가에 미치는 효과를 측정하기 위하여, 하기 실험을 수행하였다.

[72] 건조 피부로 분류된 40~50대 성인 남녀 60명을 30명씩 2개 군으로 나누어 각각 실시예 2 및 비교예 2에 따른 2개 군의 영양크림을 매일 2회씩 4주간 안면에 도포하게 하였다. 도포 개시 전과, 도포 후 1주, 2주, 4주 경과한 시점, 그리고 도포 중지 후 2주 경과(총 6주 경과) 시점에 항온, 항습 조건(24°C, 상대습도 40%)에서 피부수분량측정기(Corneometer CM825, C+K Electronic Co., 독일)로 피부수분량을 측정하였다. 도포 개시 전의 피부 수분량을 기준으로 각 시점의

피부 수분량의 증가율을 백분율로 계산하여 결과를 하기 표 4에 나타내었다.

[73] 표 4

[Table 4]

시험군	수분 증가율 (%)			
	1주 경과	2주 경과	4주 경과	6주 경과
실시예 2	33	40	43	34
비교예 2	30	32	31	22

[74] 상기 표 4의 결과에서, 비교예 2을 도포한 경우에는 도포 후 4주까지는 약 30% 정도의 수분 증가율을 보이지만, 도포를 중지한 후에는 피부수분량이 감소하는 반면, 데아닌 유도체를 함유한 실시예 2를 도포한 경우에는 도포를 중지한 후에도 30% 이상의 피부수분 증가율을 보임을 확인할 수 있다. 이를 통해 데아닌 유도체를 함유한 본 발명에 따른 조성물의 피부 보습 효과가 매우 우수함을 알 수 있다.

[75]

[76] [시험예 7] 피부 주름 개선 효능 확인

[77] 본 발명에 따른 조성물의 피부 주름 개선 효과를 확인하기 위하여 하기의 실험을 수행하였다.

[78] 40대의 건강한 여성 80명을 40명씩 2조로 나누어 각각 실시예 2 및 비교예 2의 2개 군에 따른 영양크림을 매일 1회씩 12주간 안면에 도포하게 한 후, 실리콘을 이용하여 레플리카를 떼서 주름의 상태를 피부측정기(visiometer, SV600, Courage+Khazaka electronic GmbH, Germany)로 측정하여 화상분석하였다. 그 결과는 하기 표 5에 나타내었다. 하기 표 5의 값은, 도포 12주 후의 각각의 변수(parameter)값에서 도포 전 변수값을 뺀 것의 평균을 나타낸 것이다.

[79] 표 5

[Table 5]

사용 8주 후임상 결과	R1	R2	R3	R4	R5
비교예 2	0.28	0.20	0.26	0.03	0.03
실시예 2	-0.19	-0.10	-0.16	-0.03	-0.03
R1 : 주름 등고선의 최고치와 최저치의 차이값 R2 : 주름 등고선을 임의로 5칸씩 나눈 후 그 중 R1값 들의 평균 R3 : 5개씩 나눈 R1값 중 최고 값 R4 : 주름 등고선의 베이스라인(baseline)에서 각 각의 꼭대기와 계곡의 값을 뺀 평균값 R5 : 주름 등고선의 베이스라인(baseline)에서 각 각의 주름 윤곽을 뺀 값의 차이 값					

[80] 상기 표 5의 결과에서, 실시예 2의 외용제 조성물은 피부 주름 개선 효과가 아주 우수함을 알 수 있었다. 따라서, 본 발명의 데아닌 유도체를 함유하는 화장료

조성물은 피부 주름 개선에 매우 효과적임을 확인할 수 있다.

[81]

산업상 이용가능성

[82]

본 발명의 테아닌 유도체를 유효성분으로 함유하여 테아닌 유도체의 생리 활성으로 인하여 테아닌 모핵의 효과를 모방하는 것을 넘어서 보다 우수하며 차별되는 생리 효능으로서 항노화, 피부 주름 개선, 피부 장벽 강화, 피부 면역 강화, 피부 보습 및 아토피 개선 효과를 갖는 피부 외용제 조성물을 제공할 수 있다.

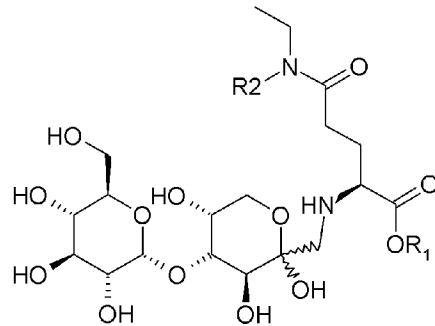
청구범위

[청구항 1]

하기 화학식 1 또는 화학식 2의 구조를 갖는 데아닌

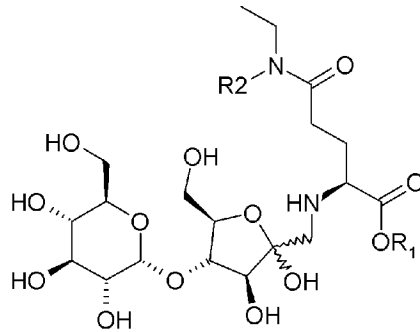
유도체(theanine derivative)를 유효성분으로 함유하는 피부 외용제 조성물.

[화학식 1]



(상기 식에서, R_1 은 수소, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, *n*-부틸, 이소 부틸 및 *tert*-부틸로 이루어진 군에서 선택되며, R_2 는 수소, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, *n*-부틸, 이소 부틸 및 *tert*-부틸로 이루어진 군에서 선택된다.)

[화학식 2]



(상기 식에서, R_1 은 수소, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, *n*-부틸, 이소 부틸 및 *tert*-부틸로 이루어진 군에서 선택되며, R_2 는 수소, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, *n*-부틸, 이소 부틸 및 *tert*-부틸로 이루어진 군에서 선택된다.)

부 외용제 조성물.

[청구항 2]

제 1항에 있어서, 상기 데아닌 유도체는 조성물 총 중량에 대하여 0.0001~20중량%로 함유되는 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

[청구항 3]

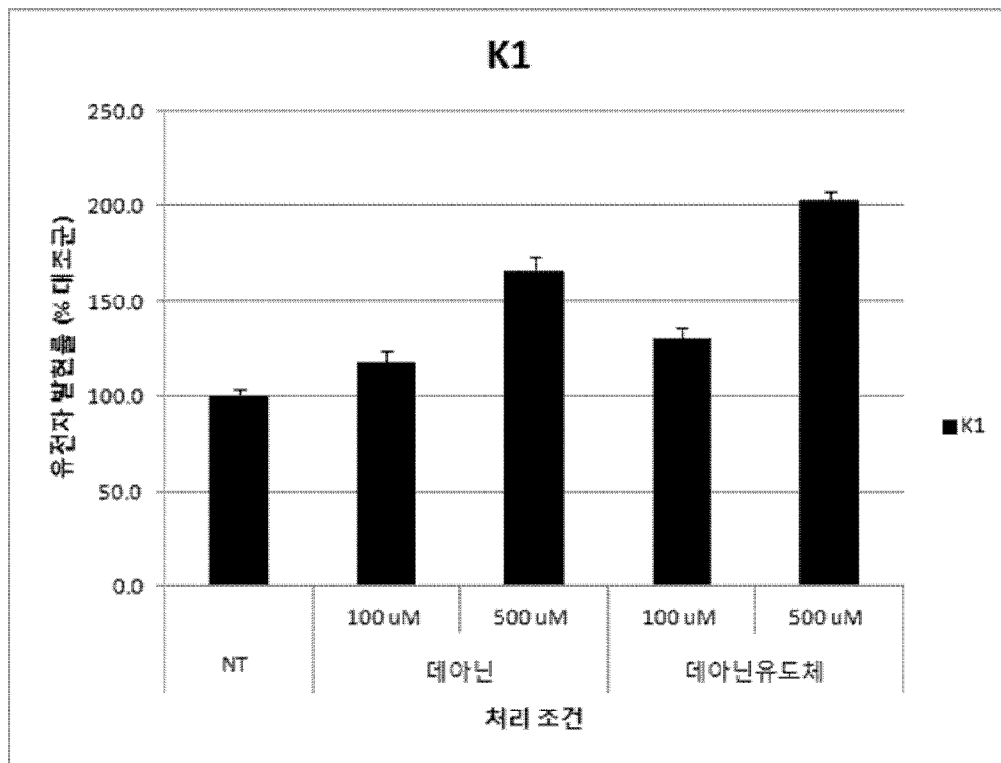
제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 케라틴 1(Keratin 1) 유전자 발현을 촉진시키는 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

[청구항 4]

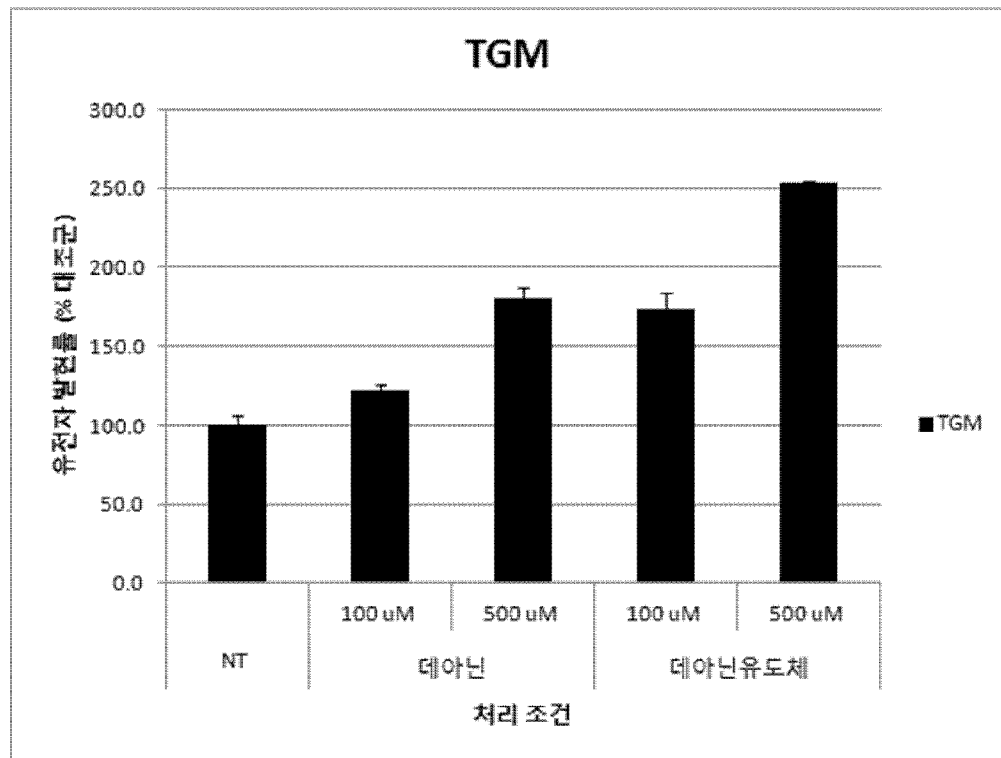
제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은

- 트랜스글루타미네이즈 1 (Transglutaminase 1) 유전자 발현을 촉진시키는 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.
- [청구항 5] 제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 필라그린(filaggrin) 유전자 발현을 촉진시키는 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.
- [청구항 6] 제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 세포내 칼슘 이동을 조절시키는 것을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.
- [청구항 7] 제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 항노화용임을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.
- [청구항 8] 제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 피부 주름 개선용임을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.
- [청구항 9] 제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 표피 항상성 유지 개선용임을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.
- [청구항 10] 제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 피부 장벽 강화용임을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.
- [청구항 11] 제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 피부 면역 강화용임을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.
- [청구항 12] 제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 피부 보습용임을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.
- [청구항 13] 제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 조성물은 아토피 개선용임을 특징으로 하는 피부 외용제 조성물.

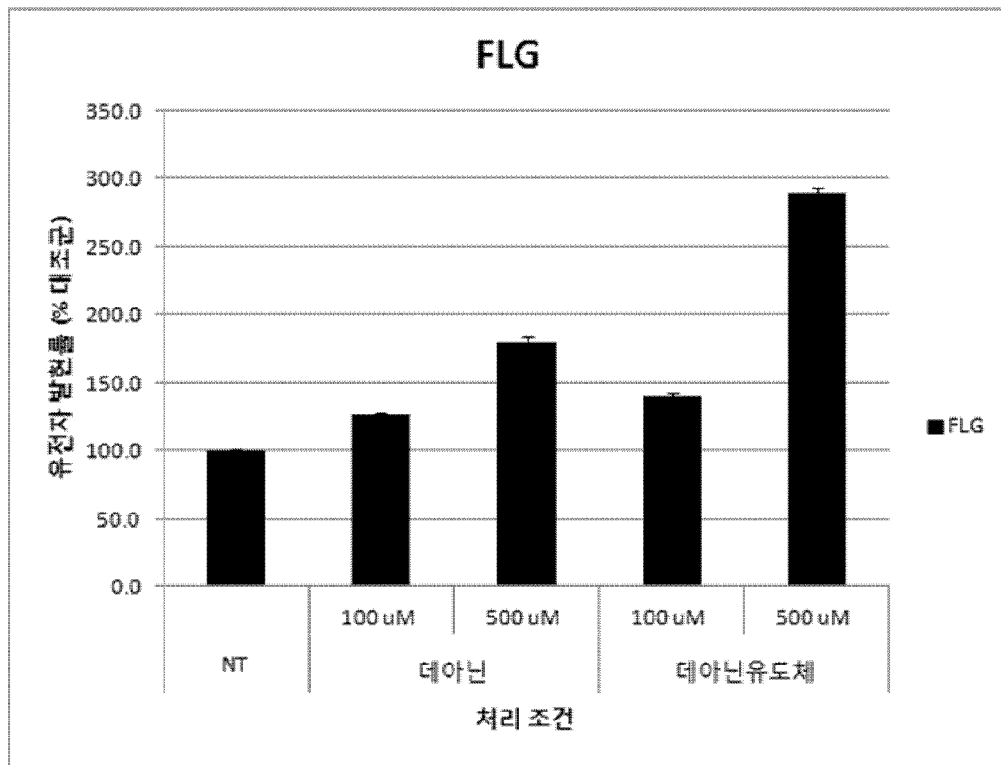
[Fig. 1]



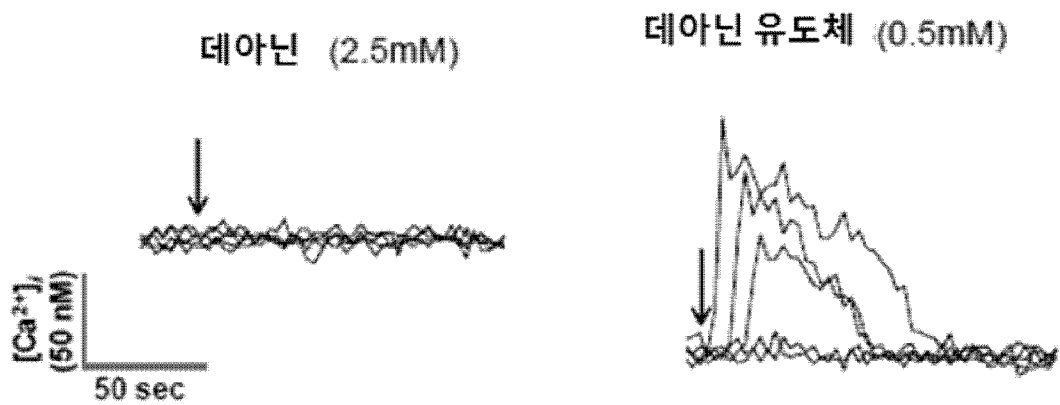
[Fig. 2]



[Fig. 3]



[Fig. 4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2012/009377**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****A61K 31/35(2006.01)i, A61K 31/34(2006.01)i, A61K 31/352(2006.01)i, A61P 17/00(2006.01)i***

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 31/35; A61K 31/4965; A61K 8/44; A61K 31/353; C07D 241/04; A61K 8/40; A61P 3/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: theanine, cutaneous disorder, maltose

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2009-0064743 A (AMOREPACIFIC CORPORATION) 22 June 2009 See the entire description	1-13
A	KR 10-0513616 B1 (AMOREPACIFIC CORPORATION) 09 September 2005 See the entire description	1-13
A	US 2008-0009505 A1 (HODGES, G. et al.) 10 January 2008 See the entire description	1-13



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 MARCH 2013 (26.03.2013)

Date of mailing of the international search report

26 MARCH 2013 (26.03.2013)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2012/009377

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2009-0064743 A	22.06.2009	JP 2011-506429 A	03.03.2011
		US 2010-0317736 A1	16.12.2010
		WO 2009-078597 A2	25.06.2009
		WO 2009-078597 A3	25.06.2009
KR 10-0513616 B1	09.09.2005	CN 101690722 A	07.04.2010
		CN 101690722 B	14.09.2011
		CN 1777418 A	24.05.2006
		CN 1777418 B	08.09.2010
		CN 1777418 C0	24.05.2006
		JP 2006-524236 A	26.10.2006
		KR 10-0998990 B1	09.12.2010
		US 2006-0252706 A1	09.11.2006
		WO 2004-093865 A1	04.11.2004
US 2008-0009505 A1	10.01.2008	CN 101484430 A	15.07.2009
		EP 2041097 A1	01.04.2009
		JP 2009-541445 A	26.11.2009
		JP 2009-541445 T	26.11.2009
		RU 2009103623 A	10.08.2010
		WO 2008-003626 A1	10.01.2008

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) <i>A61K 31/35(2006.01)i, A61K 31/34(2006.01)i, A61K 31/352(2006.01)i, A61P 17/00(2006.01)i</i>		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 31/35; A61K 31/4965; A61K 8/44; A61K 31/353; C07D 241/04; A61K 8/40; A61P 3/04 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 데아닌, 피부질환, 말토오즈		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2009-0064743 A ((주)아모레퍼시픽) 2009.06.22 전체 명세서 참조	1-13
A	KR 10-0513616 B1 (주식회사 태평양) 2005.09.09 전체 명세서 참조	1-13
A	US 2008-0009505 A1 (HODGES, G. et al.) 2008.01.10 전체 명세서 참조	1-13
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2013년 03월 26일 (26.03.2013)		국제조사보고서 발송일 2013년 03월 26일 (26.03.2013)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 82-42-472-7140		심사관 나영민 전화번호 82-42-481-8466

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

KR 10-2009-0064743 A	2009.06.22	JP 2011-506429 A	2011.03.03
		US 2010-0317736 A1	2010.12.16
		WO 2009-078597 A2	2009.06.25
		WO 2009-078597 A3	2009.06.25
KR 10-0513616 B1	2005.09.09	CN 101690722 A	2010.04.07
		CN 101690722 B	2011.09.14
		CN 1777418 A	2006.05.24
		CN 1777418 B	2010.09.08
		CN 1777418 C0	2006.05.24
		JP 2006-524236 A	2006.10.26
		KR 10-0998990 B1	2010.12.09
		US 2006-0252706 A1	2006.11.09
		WO 2004-093865 A1	2004.11.04
US 2008-0009505 A1	2008.01.10	CN 101484430 A	2009.07.15
		EP 2041097 A1	2009.04.01
		JP 2009-541445 A	2009.11.26
		JP 2009-541445 T	2009.11.26
		RU 2009103623 A	2010.08.10
		WO 2008-003626 A1	2008.01.10