



(19) 대한민국특허청(KR)
 (12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0120450
 (43) 공개일자 2013년11월04일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7076 (2006.01) *A61P 17/16* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2013-7001871
- (22) 출원일자(국제) 2011년06월24일
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2013년01월24일
- (86) 국제출원번호 PCT/JP2011/065125
- (87) 국제공개번호 WO 2011/162416
 국제공개일자 2011년12월29일
- (30) 우선권주장
 JP-P-2010-145319 2010년06월25일 일본(JP)
- (71) 출원인
 오츠카 세이야쿠 가부시키가이샤
 일본 도쿄도 지요다구 간다즈카사마치 2-9
- (72) 발명자
 가와무라, 미츠아키
 일본 5410045 오사카 오사카시 추오구 도쇼마치
 1-7-1 오츠카 세이야쿠 가부시키가이샤 내
 시노하라, 시게오
 일본 5410045 오사카 오사카시 추오구 도쇼마치
 1-7-1 오츠카 세이야쿠 가부시키가이샤 내
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
 위혜숙, 장수길

전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성 억제제

(57) 요 약

본 발명의 목적은 자외선과 같은 광 노출에 의해 유발되는 피부 세포 형성의 억제제를 제공하는 것이다. 본 목적은 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위해 퓨린계 핵산을 사용함으로써 달성된다.

(72) 발명자

하라노, 후미키

일본 5410045 오사카 오사카시 추오쿠 도쇼마치
1-7-1 오츠카 세이야쿠 가부시키가이샤 내

아오키, 아키히로

일본 5410045 오사카 오사카시 추오쿠 도쇼마치
1-7-1 오츠카 세이야쿠 가부시키가이샤 내

우에노, 에리

일본 5410045 오사카 오사카시 추오쿠 도쇼마치
1-7-1 오츠카 세이야쿠 가부시키가이샤 내

특허청구의 범위

청구항 1

광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성 억제에 사용하기 위해, 외용되는 퓨린계 핵산.

청구항 2

제1항에 있어서, 아데노신 모노포스페이트 및 그의 염으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 1 종인 퓨린계 핵산.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 비정상적인 피부 세포 형성의 억제가 DNA 수복 또는 DNA 변이의 억제에 의해 수반되는 것인 퓨린계 핵산.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 비정상적인 피부 세포 형성의 억제가 세포자멸사의 유발에 의해 수반되는 것인 퓨린계 핵산.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 비정상적인 피부 세포 형성의 억제가 피부 종양의 예방인 퓨린계 핵산.

청구항 6

제5항에 있어서, 피부 종양의 예방이 종양의 개시를 억제함으로써 수반되는 것인 퓨린계 핵산.

청구항 7

제5항 또는 제6항에 있어서, 피부 종양의 예방이 피부암의 예방을 목적으로 하는 것인 퓨린계 핵산.

청구항 8

활성 성분으로 퓨린계 핵산을 포함하는, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성 억제용 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 아데노신 모노포스페이트 및 그의 염으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 1 종을 조성물의 총 중량을 기준으로, 0.5 내지 20 중량%의 양으로 포함하는 조성물.

청구항 10

광 노출에 의해 DNA 손상이 유발될 수 있는 피부 부위에 퓨린계 핵산의 효과량을 진피에 도포하는 단계를 포함하는, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성의 억제 방법.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성 억제제에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 최근 수년간, 피부 상에 태양광 조사와 같은 광 노출의 효과는 심각한 전 세계적인 문제가 되고 있다. 특히, 미국, 유럽 및 호주에서 피부 암 발병률의 증가가 심각한 문제가 되었다. 피부암 증가의 인자 중 하나는 클로로플루오로카본에 의한 오존층 파괴에서 기인하는 일상 생활에서의 자외선 노출 양의 계속적인 증가이다. 오늘날의 세계에서, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성의 위험성, 구체적으로 광발암 현상 (photocarcinogenesis) (즉, 자외선과 같은 광 노출에 의해 유발되는 피부암)의 위험성을 피하는 것은 불가능하

다.

- [0003] 종래, 피부암 치료를 위해 외과적 치료, 화학 요법, 및 방사선 요법을 병행한다. 그러나, 피부암 증상의 정도 및 발견 시기에 따라서는, 피부암을 유효하게 치료할 수 없고, 치료가 일상 생활에 상당한 부담을 창출할 수 있다는 것이 일반적이다. 이들 문제점들은 개인의 삶의 질 (QOL)을 현저히 저하시킨다. 따라서, 피부암 발생의 예방법의 확립이 강하게 요구되고 있다.
- [0004] 종래, 자외선에 의한 피부암의 예방은 옥틸 메톡시신나메이트, 부틸 메톡시디벤조일메탄, 및 벤조페논과 같은 자외선-흡수제; 산화 티타늄 및 산화 아연과 같은 자외선-산란제를 함유하는 외용 의약품을 사용하여 피부를 자외선으로부터 보호하는 공지된 방법으로 수행된다.
- [0005] 그러나, 자외선-흡수제 및 자외선-산란제가 자외선 노출을 예방하는 반면에, 이들 제제가 피부 자극과 같은 부작용을 가진다는 보고가 있었다. 즉, 이들 제제가 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하는 반면에, 이들 제제는 접촉 자극 등에서 기인하는 질환을 야기하는 잠재력을 가진다.
- [0006] 게다가, 상기 성분들을 함유하는 이런 의약품은, 그 목적이 자외선에 대한 피부 노출을 예방하는 것이므로, 자외선에 노출되기 전에 피부에 도포되어야 한다. 따라서, 자외선-흡수제 및 자외선-산란제의 경우에, 사용자가 피부에 이들 제제를 도포하는 것을 잊어버린다면, 또는 이들 제제가 땀 등에 의해 피부로부터 제거될 때는 피부를 자외선 노출로부터 막을 수 없어 DNA 손상 유발로 이어진다. 결과적으로, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성의 위험성을 피할 수 없다.
- [0007] 따라서, 심지어 피부가 자외선과 같은 태양광에 바로 노출될 때도, 가령 피부에 부작용이 없는 성분에 의해 피부 조직에 비정상적인 세포의 형성을 막는 것이 가능하다면, 자외선-흡수제 또는 자외선-산란제로 실현할 수 없는 비정상적인 피부 세포의 형성에 대한 효과적인 예방 방책일 것이다. 이런 배경 하에서, 피부 자극 등을 유발하지 않고, 피부 조직에서 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제할 수 있는 예방제의 개발이 절실히 요구된다.
- [0008] 한편, 예컨대 아데노신 포스페이트와 같은 퓨린계 핵산은 다음의 효과: 보습 작용 및 주름의 예방 또는 개선 (특허문헌 1 참조); 색소 침착의 예방 또는 개선 (특허문헌 2 참조); 콜라겐 생성의 촉진 (특허문헌 3 참조); 등을 가지고, 피부 상에 향장적으로 및 제약학적으로 유익한 효과를 가지는 성분으로서 주목을 끌고 있다.
- [0009] 게다가, 퓨린계 핵산의 항암 효과에 대해서는, 화학 물질에 의해 유발되는 암 세포의 증식 억제를 조사한 문서들이 알려져 있다 (비특허문헌 1 및 2 참조). 그러나, 이들 조사는 실제로 자외선과 같은 태양광에 의한 암 세포 상에 미치는 퓨린계 핵산의 효과를 확인하지 않았다. 그 효과는 단지 사용자가 쉽게 이용할 수 없는, 복강 내 투여에 의해 조사되었다.
- [0010] 상기 설명한 것처럼, 광발암 현상과 퓨린계 핵산의 외부 (표피) 도포 사이의 관계에 대한 조사는 없었고, 어떻게 퓨린계 핵산이 외부에 도포될 때 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성의 억제, 또는 광발암 현상의 예방 또는 치료에 영향을 미치는지는 전혀 알려져 있지 않다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0011] (특허문헌 0001) 일본 특허 공개 제2006-225271호 공보
 (특허문헌 0002) 일본 특허 공개 제2006-206575호 공보
 (특허문헌 0003) WO 2005/34902 공보

비특허문헌

- [0012] (비특허문헌 0001) Cancer Letters 6 (1979) pp. 291-300
 (비특허문헌 0002) Euro. J. Cancer Clin. Oncol. Vol. 24 (1988) pp. 1491-1497

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명의 목적은 자외선과 같은 광 노출에 의해 유발되는 비정상적인 피부 세포의 형성(구체적으로, 피부암의 발병)을 억제하기 위한 제제를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 본 발명자들은 상기 목적을 달성하려는 시도로 창의적인 연구를 했고, 아데노신 포스페이트와 같은 퓨린계 핵산이 광 노출에 의한 피부 세포의 DNA 변이를 감소시킬 수 있고, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하는 효과, 구체적으로, 변이된 세포에 세포자멸사(apoptosis)를 유발함으로써 광발암 현상을 막는 효과를 발휘할 수 있다는 것; 퓨린계 핵산이, 광 노출 전뿐만 아니라 후에 피부에 도포될 때, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성, 구체적으로 피부암의 발병을 효과적으로 억제하거나 또는 예방할 수 있다는 것을 발견했다. 본 발명은 상기 발견을 기초로 추가의 연구를 통해 완성되었다.

[0015] 구체적으로, 본 발명은 하기에서 설명하는 발명을 제공한다.

[0016] 항 1. 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하는데 사용하기 위한, 외용되는 퓨린계 핵산.

[0017] 항 2. 항 1에 있어서, 아데노신 모노포스페이트 및 그의 염으로 구성되는 군으로부터 선택되는 적어도 1 종인 퓨린계 핵산.

[0018] 항 3. 항 1 또는 2에 있어서, 비정상적인 피부 세포 형성의 억제가 DNA 수복 또는 DNA 변이의 억제에 의해 수반되는 것인 퓨린계 핵산.

[0019] 항 4. 항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 비정상적인 피부 세포 형성의 억제가 세포자멸사의 유발에 의해 수반되는 것인 퓨린계 핵산.

[0020] 항 5. 항 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서, 비정상적인 피부 세포 형성의 억제가 피부 종양의 예방인 퓨린계 핵산.

[0021] 항 6. 항 5에 있어서, 피부 종양의 예방이 피부 종양 개시의 억제에 의해 수반되는 것인 퓨린계 핵산.

[0022] 항 7. 항 5 또는 6에 있어서, 피부 종양의 예방이 피부 종양 촉진의 억제에 의해 수반되는 것인 퓨린계 핵산.

[0023] 항 8. 항 5 내지 7 중 어느 한 항에 있어서, 피부 종양의 예방이 피부암의 예방을 목표로 하는 것인 퓨린계 핵산.

[0024] 항 9. 항 1 내지 8 중 어느 한 항에 있어서, 피부 부위 1 cm² 당 0.01 내지 10 mg의 양으로 진피에 도포되는 퓨린계 핵산.

[0025] 항 10. 항 1 내지 9 중 어느 한 항에 있어서, 하루에 2 내지 5 번의 빈도로 진피에 도포되는 퓨린계 핵산.

[0026] 항 11. 항 1 내지 10 중 어느 한 항에 있어서, 광이 UV-B인 퓨린계 핵산.

[0027] 항 12. 항 1 내지 11 중 어느 한 항에 있어서, 광 조사 전후에 피부에 적용되어 사용되는 퓨린계 핵산.

[0028] 항 13. 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성을 억제하는데 사용되고, 활성 성분으로 퓨린계 핵산을 포함하는 조성물.

[0029] 항 14. 항 13에 있어서, 아데노신 모노포스페이트 및 그의 염으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 1 종을, 조성물의 총 중량을 기준으로 0.5 내지 20 중량%의 양으로 포함하는 조성물.

[0030] 항 15. 항 13 또는 14에 있어서, 외용 의약품, 외용 준 의약품(quasi-drug), 또는 화장품 제품으로서의 조성물.

[0031] 항 16. 광 노출에 기인하여 DNA 변이가 발생했거나 또는 발생할 수 있는 피부 부위에 퓨린계 핵산의 효과량을 진피에 도포하는 단계를 포함하는, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성의 억제 방법.

[0032] 항 17. 광에 노출되었거나 또는 노출될 수 있는 피부 부위에 퓨린계 핵산의 효과량을 진피에 도포하는 단계; 및 퓨린계 핵산이 진피에 도포된 피부 부위에 비정상적인 피부 세포가 형성되지 않음을 확인하는 단계를 포함하는, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성의 억제 방법.

[0033] 항 18. 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성 억제용 제제를 생성하기 위한 퓨린계 핵산의 용도.

발명의 효과

[0034] 본 발명에 따르면, 광 노출에 의해 생성되는 피부 세포에서의 DNA 변이의 양을 감소시키는 것이 가능하고, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성, 구체적으로 광발암 현상을 효과적으로 억제하거나 또는 예방하는 것이 가능하다. 따라서, 본 발명은 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포를 형성하는 위험성, 구체적으로 피부암 발병의 위험성을 감소시키는 효과적인 예방 방책을 제공한다. 게다가, 본 발명의 비정상적인 피부 세포 형성의 억제제가 DNA 수복 작용 및 변이 억제 작용을 하기 때문에, 광 노출 전 또는 후에 제제를 피부에 도포할 때, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성, 예컨대 광발암 현상의 억제 또는 예방이 기대될 수 있다. 따라서, 제제의 규칙적인 사용은 본질적으로 외출 전에 제제의 사용을 요구하지 않고, 피부 자극을 유발하지 않으며 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성의 억제 또는 예방을 허용한다.

도면의 간단한 설명

[0035] [도 1a] 도 1a는 실시예 1의 정상 인체 표피 각질세포(epidermal keratinocyte)의 카스파제(caspase) 활성에 대한 아데노신 모노포스페이트 효과의 평가 결과를 보여준다.

[도 1b] 도 1b는 실시예 1의 자외선-조사된 인체 표피 각질세포의 카스파제 활성에 대한 아데노신 모노포스페이트 효과의 평가 결과를 보여준다.

[도 2] 도 2는 실시예 2의 자외선-조사된 마우스 표피 각질세포의 DNA 변이 (CPD)에 대한 아데노신 모노포스페이트 효과의 평가 결과를 보여준다.

[도 3] 도 3은 실시예 3의 각 군에서 마우스의 등을 보여주는 영상 결과를 보여주고, 여기서 등으로부터 자외선으로 조사한 마우스를 별도의 군: 아데노신 모노포스페이트를 함유하는 에탄올 수용액을 도포한 시험액 도포군; 에탄올 수용액을 도포한 기제(base) 도포군; 및 어떤 도포도 하지 않은 무 도포군으로 사육했다.

[도 4] 도 4는 실시예 3의 각 군에 종양이 관찰된 마우스 집단의 비율을 측정하여 얻어진 결과를 보여주고 (종양 발생률: %), 여기서 등으로부터 자외선 조사된 마우스를 별도의 군: 아데노신 모노포스페이트를 함유하는 에탄올 수용액을 도포한 시험액 도포군; 에탄올 수용액을 도포한 기제 도포군; 및 어떤 도포도 하지 않은 무 도포군으로 사육했다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 본 발명에서, 퓨린계 핵산은 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성을 억제하는데 사용된다.

[0037] 즉, 퓨린계 핵산이 본 발명에서 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성 억제제로서 사용된다. 제제는 때때로 본 명세서에서 "본 발명의 제제"로 지칭한다.

[0038] 게다가, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성을 억제하는데 사용되는 본 발명의 조성물은 활성 성분으로 퓨린계 핵산을 함유한다.

[0039] 본 명세서에서, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성의 예는 피부 종양을 포함한다.

[0040] 본 명세서에서, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성의 억제 및 예방에서 용어 "억제" 및 "예방"은 유사한 의미를 가지는 것으로 해석될 수 있다.

[0041] "광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성의 억제"의 예는 "피부암의 예방"을 포함한다.

[0042] 본 명세서에서, 용어 "~에 의해 수반되는"은 한 사건과 함께 또 다른 사건의 발생을 의미한다. 사건이 원인이거나 또는 결과이거나 관계없고, 이를 사건이 동시에 일어나야 하는 것은 아니다.

[0043] 본 발명에서, 퓨린계 핵산은 퓨린, 골격으로 퓨린계 핵을 가지는 다양한 유도체 및 이들의 염에 대한 공통 용어이다. 본 발명에서 활성 성분으로 사용된 퓨린 및 골격으로 퓨린계 핵을 가지는 다양한 유도체의 예는 제약학적으로 또는 향장적으로 허용되는 한에 있어서는 특별히 제한되지 않는다. 이들의 구체적인 예는 아데닌, 구아닌, 이들의 탈아미노화된 화합물 (히포크산틴 및 크산틴), 아데노신, 구아노신, 이노신, 아데노신 포스페이트 (아데노신 모노포스페이트, 예컨대 아데노신 2'-모노포스페이트, 아데노신 3'-모노포스페이트, 및 아데노신 5'-모노포스페이트; 아데노신 디포스페이트, 예컨대 아데노신 5'-디포스페이트; 및 아데노신 트리포스페이트, 예컨

대 아데노신 5'-트리포스페이트), 구아노신 포스페이트 (구아노신 모노포스페이트, 예컨대 구아노신 3'-모노포스페이트 및 구아노신 5'-모노포스페이트; 구아노신 디포스페이트, 예컨대 구아노신 5'-디포스페이트; 및 구아노신 트리포스페이트, 예컨대 구아노신 5'-트리포스페이트), 아데닐로숙시네이트, 크산틸산, 이노신산, 플라빈 아데닌 디뉴클레오티드 (flavine adenine dinucleotide; FAD), 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 (nicotinamide adenine dinucleotide; NAD) 등을 포함한다. 이들 중, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하거나 또는 예방하는 훌륭한 작용을 하는 이들의 예는 바람직하게는, 아데노신 포스페이트; 더욱 바람직하게는, 아데노신 모노포스페이트; 및 특히 바람직하게는 아데노신 5'-모노포스페이트 (AMP)를 포함한다.

- [0044] 게다가, 퓨린계 핵산의 염 형태는 제약학적으로 또는 향장적으로 허용되는 한에 있어서는 특별히 제한되지 않는다. 이들의 구체적인 예는 알칼리 금속 염, 예컨대 나트륨 염 및 칼륨 염; 알칼리 토금속 염, 예컨대 마그네슘 염, 칼슘 염, 및 바륨 염; 기초 아미노산 염, 예컨대 아르기닌 및 라이신; 암모늄 및 암모늄 염, 예컨대 트리시클로헥실암모늄 염; 및 다양한 알카놀아민 염, 예컨대 모노에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 모노이소프로판올아민, 디이소프로판올아민, 및 트리이소프로판올아민을 포함한다. 이들 중, 알칼리 금속 염이 바람직하고, 나트륨 염이 더욱 바람직하다.
- [0045] 이들 퓨린계 핵산은 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성 억제제의 활성 성분으로서 단독으로, 또는 둘 이상의 임의의 조합으로 사용될 수 있다.
- [0046] 활성 성분으로 퓨린계 핵산을 포함하고, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위해 사용되는 본 발명의 조성물에 퓨린계 핵산의 함량은 퓨린계 핵산의 유형, 제제의 형태, 기대하는 효과 등에 따라 적절하게 결정될 수 있다. 구체적으로, 조성물 내 퓨린계 핵산의 함량은 조성물의 총 중량을 기준으로 0.5 내지 20 중량%, 바람직하게는 0.5 내지 10 중량%, 더욱 바람직하게는 1 내지 10 중량%, 추가로 바람직하게는 1 내지 7 중량%, 및 특히 바람직하게는 2 내지 5 중량%이다. 비정상적인 피부 세포의 형성은 상기 함량 범위를 만족함으로써 더욱 효과적으로 억제되거나 또는 예방될 수 있다.
- [0047] 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제는 퓨린계 핵산에 더하여, 제약학적으로 또는 향장적으로 허용가능한 기체 또는 담체를 함으로써 다양한 형태로 제조될 수 있다. 종래 피부 외용제로 사용된 임의의 공지된 기체 또는 담체가 제약학적으로 또는 향장적으로 허용가능한 기체 및 담체로서 사용될 수 있다.
- [0048] 게다가, 필요하다면, 피부 외용제로 사용할 수 있는 다양한 첨가제가 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제에 첨가될 수 있다. 이런 첨가제의 예는 계면활성제, 착색제 (염료 및 안료), 향료, 방부제, 살균제 (항균제), 증점제, 항산화제, 금속이온봉쇄제(sequestering agent), 냉각제, 탈취제, 보습제, 자외선-흡수제, 자외선-산란제, 비타민, 식물 추출물, 수렴제, 소염제 (염증치료제), 미백제, 세포 활성제, 혈관 확장제, 혈액 순환 촉진제(blood circulation accelerator), 피부 기능 항진제(skin function accelerator) 등을 포함한다.
- [0049] 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제는 자외선과 같은 광에 노출되었거나 또는 노출될 수 있는 피부 부위에 외용될 때, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성에 대한 예방 작용을 발휘한다. 따라서, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제는 외용 의약품, 외용 준 의약품, 또는 화장품 제품 (예를 들어, 피부 관리 제품)과 같은, 매일 사용될 수 있는 피부 외용제로서 제조된다.
- [0050] 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제의 제형은 피부에 사용할 수 있는 한에 있어서는 특별히 제한되지 않는다. 이의 예는 페이스트, 무스, 소프트 젤, 액체, 에멀젼, 혼탁액, 크림, 연고, 젤, 시트, 에어로졸, 스프레이, 도포제 등을 포함한다. 이를 제형 중, 액체, 에멀젼 및 젤이 바람직하다. 이를 제형은 관련 업무 분야의 통상의 방법에 따라 제조된다.
- [0051] 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제는 구체적으로 광 노출에 의해 유발되는 피부 종양 또는 피부암을 예방한다는 목적을 위해 사용된다. 본 발명에서, 본 발명에 의해 억제되거나 또는 예방되는 비정상적인 피부 세포의 형성을 유발하는 광의 유형은 특별히 제한되지 않는다. 이의 예는 자연 태양광, 자외선 및 방사선을 포함하고, 바람직하게는 자외선, 및 더욱 바람직하게는 UV-B이다. 구체적으로, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제는 태양광에 함유되는 자외선 (특히, UV-B) 노출에 의해 유발되는 광발암 현상의 예방을 위해 특히 적합하게 사용된다.
- [0052] 게다가, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제가 광발암 현상의 예방을

위해 사용될 때, 본 발명에 의해 예방되는 피부암의 유형은 광 노출과 관련되어 유발되는 것이면 특별히 제한되지 않는다. 이의 구체적인 예는 악성 흑색종, 기저 세포암 및 편평상피암을 포함한다.

- [0053] 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제는 광에 노출되었거나 또는 노출될 수 있는 피부 부위에 도포된다. 즉, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제는 광에 노출된 피부 부위에 도포될 수 있거나, 또는 사실상 광에 노출되기 전에 광에 노출될 수 있는 피부 부위에 도포될 수 있다.
- [0054] 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제가 피부에 도포될 때, 이의 도포량 및 빈도는, 퓨린계 핵산의 유형 및 농도, 대상의 나이 및 성별, 도포될 피부 부위, 피부가 노출되었거나 또는 노출될 수 있는 광량 등에 따라, 적합한 양이 하루 한 번 또는 하루에 2 내지 5 번의 빈도로 피부에 도포되도록 정해질 수 있다. 게다가, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제의 양은 피부 부위 1 cm^2 당 퓨린계 핵산의 양이 약 0.01 내지 10 mg, 바람직하게는 0.1 내지 5 mg이도록 할 수 있다.
- [0055] 상기로부터 명백한 것처럼, 퓨린계 핵산은 광발암 현상을 예방할 수 있다. 따라서, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제는 광발암 현상 예방 제제로서 제공될 수 있다. 퓨린계 핵산이 광발암 현상 예방제로 사용될 때, 퓨린계 핵산의 유형 및 농도, 다른 성분, 제형, 적용 부위, 적용 방법 등은 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성 억제제에 대해 설명한 것과 같다.
- [0056] 퓨린계 핵산은 광 노출 때문에 비정상적이게 된 피부 세포에서 세포자멸사를 유발할 수 있다. 따라서, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제가 광 노출 때문에 비정상적이게 된 피부 세포의 세포자멸사 유도제로서 제공될 수 있다. 퓨린계 핵산이 광 노출 때문에 비정상적이게 된 피부 세포의 세포자멸사 유도제로서 사용될 때, 퓨린계 핵산의 유형 및 농도, 다른 성분, 제형, 적용 부위, 적용 방법 등은 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성 억제제에 대해 설명한 것과 같다.
- [0057] 퓨린계 핵산이 피부암의 개시를 억제할 수 있다. 따라서, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제가 피부암 개시의 억제제로서 제공될 수 있다. 퓨린계 핵산이 피부암 개시의 억제제로서 사용될 때, 퓨린계 핵산의 유형 및 농도, 다른 성분, 제형, 적용 부위, 적용 방법 등은 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성 억제제에 대해 설명한 것과 같다.
- [0058] 퓨린계 핵산이 피부암의 진전을 억제할 수 있다. 따라서, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제는 피부암 진전의 억제제로서 제공될 수 있다. 퓨린계 핵산이 피부암 진전의 억제제로서 사용될 때, 퓨린계 핵산의 유형 및 농도, 다른 성분, 제형, 적용 부위, 적용 방법 등은 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성 억제제에 대해 설명한 것과 같다.
- [0059] 게다가, 퓨린계 핵산이 광 노출에 의한 피부 세포에서의 변이된 DNA의 양을 감소시킬 수 있고, DNA 수복을 촉진할 수 있다. 따라서, 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포의 형성을 억제하기 위한 본 발명의 제제는 상기 설명한 것과 같은 방법으로 작용할 수 있고, DNA 손상을 수복하거나, DNA 변이를 억제하거나, 또는 DNA 변이를 감소시키기 위한 제제로서 제공될 수 있다. 퓨린계 핵산이 DNA 손상을 수복하거나, DNA 변이를 억제하거나, 또는 DNA 변이를 감소시키기 위한 제제로서 사용될 때, 퓨린계 핵산의 유형 및 농도, 다른 성분, 제형, 적용 부위, 적용 방법 등은 광 노출에 의한 비정상적인 피부 세포 형성 억제제에 대해 설명한 것과 같다.
- [0060] 실시예
- [0061] 본 발명은 하기의 시험 실시예 및 실시예를 참고로 하여 설명될 것이다. 그러나, 본 발명은 이들 실시예에 제한되지 않는다. 다음의 실시예 등에서, 함량을 지시하는 수량적 표현 "%"는 달리 지시되지 않는 한, 중량 백분율임을 명심해야 한다.
- [0062] 실시예 1: 자외선 조사에 의한 변이 세포에서의 세포자멸사 유도 작용
- [0063] 본 실시예는 아데노신 5'-모노포스페이트 이나트륨 (AMP2Na)으로 처리된 인체 표피 세포를 자외선으로 조사하였을 때, 카스파제 활성의 변화를 시험했다.
- [0064] <시험 방법>
- [0065] 인체 표피 각질세포 (쿠라보 인더스트리스 엘티디.(Kurabo Industries Ltd.)사로부터 구입)를, 에피라이프-KG2(EpiLife-KG2) 배양 배지(쿠라보 인더스트리스 엘티디.사에서 제조)를 사용하여 10 cm 콜라겐-코팅된 페트리

접시 (아사히 글래스 코., 엘티디.(Asahi Co., Ltd.)사에서 제조)에서 미리 배양했고, 콜라겐-코팅된 96-웰 마이크로판(microplate) 내에 30,000 세포/웰의 밀도로 접종하였다. 8 시간 동안 에피라이프-KG2 배양 배지에서 배양한 후, 배양 배지를 에피라이프 배양 배지 (쿠라보 인더스트리스 엘티디.사에서 제조)로 교체했고, 이어서 추가로 16 시간 동안 배양했다. 이어서, 배양 배지를 다양한 농도로 조절된 AMP2Na-함유 배양 배지로 교체했다. 2 시간 동안 배지로 처리한 후에, 세포를 PBS (포스페이트 완충 염수)로 세척했고, 세척한 세포를 자외선 조사 장치 (HN-400, 아베 리코사(ABE RIKOSHA)사 제조)를 사용하여 30 mJ/cm^2 의 UV-B를 조사하였다. 에피라이프 배양 배지를 다시 첨가하고, 이어서 6 시간 동안 배양했다. 이어서, 세포에 발현된 카스파제 3의 활성은 센소라이트™(SensoLyte™) Rh110 카스파제 3 분석 키트(Assay Kit) (아나스펙, 인크.(AnaSpec, Inc.)사 제조)를 사용하여 측정했다. UV-B를 조사하지 않거나 또는 AMP2Na로 처리하지 않은 세포를 대조군으로 사용했다. 게다가, AMP2Na가 정상 세포의 카스파제 활성에 영향을 미친다는 것을 시험하기 위해, UV-B를 조사하지 않았으나 AMP2Na로 처리한 세포의 카스파제 활성을 측정했다.

[0066]

<결과>

[0067]

얻어진 결과를 도 1a 및 1b에서 보여준다. 이 결과로부터, 자외선 조사하지 않은 세포는 AMP2Na 처리에도 불구하고 카스파제 활성 증가를 거의 보이지 않는 반면에, AMP2Na 전처리를 하고 자외선 조사한 세포는 카스파제 활성이 크게 증가함을 보였음이 명백하다.

[0068]

카스파제는 세포 내 세포자멸사를 야기하는 시스테인 프로테아제(protease)의 구성원이다. 카스파제 활성을 일반적으로 세포자멸사 활성을 수준을 측정하는 지표로 여겨진다.

[0069]

세포는, X-레이 및 자외선과 같은 DNA를 손상시키는 다양한 자극에 대한 생물학적 방어 메카니즘으로, 그들 자신을 죽이기 위해 그들 자신의 세포자멸사를 촉발하는 메카니즘을 보유한다. 본 시험은 또한 세포의 AMP2Na 처리 여부에 관계 없이 자외선 조사하지 않은 세포에서 카스파제 활성이 변하지 않는다는 것을 보여준다. 이것은 AMP2Na가 카스파제 활성을 증가시키지 않고 정상 세포에서 세포자멸사를 유도하지 않는다는 것을 나타낸다. 그에 반해서, 카스파제 활성의 증가로부터 세포자멸사가 자외선 조사된 세포에서 유발된다는 것이 명백하다. 게다가, 본 시험은 자외선 조사 전에 AMP2Na 처리한 세포에서 활성의 추가적인 증가를 보여주고, 변이 세포에서 세포자멸사가 유발되었음을 나타낸다.

[0070]

실시예 2: 자외선 조사에 의해 유발되는 DNA 변이 저하 작용의 평가

[0071]

본 실시예에서는, 정상 마우스 표피 세포를 자외선 조사했고, 그 후 AMP2Na-함유 배양 배지에서 배양했다. 시클로부탄 피리미딘 이랑체 (CPD)의 양을 지표로 사용하여, AMP2Na의 DNA 변이 저하 작용을 시험했다.

[0072]

<시험 방법>

[0073]

정상 마우스 표피 세포-유래 JB6 세포 (ATCC로부터 구입)를 하부 융합(subconfluent) 할 때까지 FBS-함유 MEM 배양 배지에서 배양했다. 이어서, 4×10^5 개의 배양된 세포를, FBS (소 태아 혈청; fetal bovine serum)를 함유한 MEM (최소 필수 배지; minimum essential medium) 배양 배지를 넣은 3.5 cm 접시에 접종했다. 접종한 다음날, 배양 배지를 혈청 기아 상태를 위해 혈청 불포함 MEM 배양 배지로 교체하였다. 그 후, 배양 배지를 PBS로 교체하고, 이어서 15 mJ/cm^2 의 UV-B를 조사하였다. 자외선 조사 후에, 0.01 mM, 0.1 mM 또는 1 mM의 AMP2Na를 함유하는 혈청 불포함 MEM 배양 배지 또는 AMP2Na 불포함 배양 배지 (대조군)로 교체하였다. 배양 배지의 교체 후에, 37 °C, 5 % CO₂에서 48 시간 동안 세포를 배양했고, 이어서 세포를 모았다.

[0074]

모든 세포로부터, 패스트퓨어(FastPure) (상표명) DNA 키트 (타카라 바이오 인크.; Takara Bio Inc.)를 이용하여 게놈 DNA를 추출했다. 추출은 키트의 메뉴얼에 따라서 실시하였다.

[0075]

각 세포로부터 추출한 게놈 DNA 중 CPD의 양은 엘리사(ELISA) 법을 이용하여 측정하였다. 특히, 추출한 게놈 DNA를 100 °C에서 10 분 동안 가열한 후, 냉장하였다. 그 후, 게놈 DNA를 황산 프로타민으로 코팅한 96-웰 마이크로플레이트에 계량분배하고 (50 μL/well), 건조시켰다. 다음날, 각 웰을 PBS-T (트윈 20 포함 PBS; PBS with Tween 20)로 세척하고, 각 웰에 FBS-함유 PBS를 계량분배했다. 이어서 웰을 37 °C에서 30 분 동안 정치하였다. 다음으로, PBS-T로 세척한 후, 마우스 항-CPD 항체 (코스모 바이오 코., 엘티디.(Cosmo Bio Co., Lt d.)사로부터 구입)를 각 웰에 계량분배하고, 이어서 웰을 37 °C에서 30 분 동안 정치하였다. PBS-T로 세척한 후, 각 웰에 비오틴 표지한 항-마우스 IgG (서던 바이오테크(Southern Biotech)사로부터 구입)를 계량분배하고, 이어서 웰을 37 °C에서 30 분 동안 정치하였다. 웰을 세척한 후에, 각 웰에 스트렙타비딘 표지한 서

양고추냉이 과산화효소(horseradish peroxidase)를 계량 분배하고, 이어서 웰을 실온에서 30 분 동안 정지하였다. 그 후에, 웰을 PBS-T 및 시트레이트 포스페이트 완충 용액으로 세척하고, 이어서 각 웰에 과산화수소 및 o-페닐렌디아민을 함유한 시트레이트 포스페이트 완충 용액을 계량분배하였다. 웰을 37 °C에서 30 분 동안 정지하여 발색시켰다. 그 후, 2 M 황산 수용액을 웰에 첨가하여 발색 반응을 종결시켰다. 그 후, 492 nm에서 흡광도를 측정했고, 게놈 DNA 내 CPD의 양을 산출하여, AMP2Na 불포함 배양 배지에서 배양했을 경우의 CPD 양을 100 % 값으로 했을 때 각 조건 하에서의 CPD 변화율 (상대적인 CPD 양의 변화; %)을 구하였다.

[0076] <결과>

[0077] 얻어진 결과를 도 2에 나타낸다. 이 결과는 자외선 조사 후에 AMP2Na를 첨가한 세포에서는, 대조군에 대한 상대적인 CPD 양이 감소했음을 보인다. 따라서, 이 결과는 AMP2Na가 자외선 조사에 의한 DNA 변이를 저하시킨다는 것을 확인하였다. 이 결과는, 세포가 0.1 mM 및 1 mM의 AMP2Na-함유 배양 배지에서 배양될 때, 대조군에 대한 상대적인 CPD 양이 크게 감소했고, 자외선 조사에 의한 DNA 손상이 현저히 억제되었음을 보인다. 상기 내용을 기초로, 상기 성분은 특히, 발암 현상의 개시에서 예방효과를 가진다고 기대된다.

[0078] 실시예 1은 세포를 사용하여 수행한 체외(in vitro) 시험임을 명심해야 한다. 실제의 적용에서, 개체 차이, 피부 투과성, 및 세포 내 이행성 등을 고려하면, 이 고려로 AMP2Na의 농도를, 상기 설명한 것처럼 체외에서 사용한 AMP2Na의 농도보다 약 10 내지 1000 배로 조절해야 한다.

[0079] 실시예 3: 자외선 조사 마우스에서 피부암의 예방 효과의 평가

[0080] 본 실시예에서는, 털이 없는 마우스에게 자외선을 조사하고, 이 마우스에서 광발암현상에 대한 AMP2Na의 예방 효과를 시험했다.

[0081] <시험 방법>

[0082] 5주령 암컷 Hos:HR-1 마우스를 재팬 SLC, 인크.(Japan SLC, Inc.)사로부터 구입했고, 7주령 시점에서, 마우스의 등에 자외선 (UV-B) 조사를 행하였다. 자외선 조사 (시간 당 조사량: 60 mJ/cm²)는 1일 1회, 주 5일을 12 주간 행하였다.

[0083] 이어서, 3%의 용해된 AMP2Na를 함유한 20 % 에탄올 수용액 (시험액) 및 AMP2Na를 함유하지 않는 20 % 에탄올 수용액 (기제)을 제조했다.

[0084] 자외선 조사된 마우스를 통상의 조건으로 1 주간 사육한 후에, 표 1에 나타내는 조건의 3 군 (각 군 6 마리)으로 나누어 12 주간 사육했다.

표 1

시험 조건	
시험액 도포군	시험액 (0.1 mL)을 주 5일, 1일 2회 마우스의 등 전체에 도포하여 12 주간 사육했다.
기제 도포군	기제 (0.1 mL)를 주 5일, 1일 2회 마우스의 등 전체에 도포하여 12 주간 사육했다.
무 도포군	시험액 또는 기제를 도포하지 않고 마우스를 12 주간 사육했다.

[0085]

[0086] <결과>

[0087] 시험액 및 기제 도포 개시로부터 6 주째에 각 군의 마우스 등의 피부 상태를 관찰하였다. 종양의 발생을 판정하고, 종양의 개수를 세었다. 도 3은 시험액 또는 기제 도포의 개시로부터 6 주째에 있어서 각 군에서 마우스 등의 영상 결과를 보여준다. 도 4는 시험액 또는 기제 도포의 개시로부터 6 주째에 있어서, 각 군에서 종양이 관찰된 마우스의 개체수의 비율 (종양 발생률: %)을 보여준다.

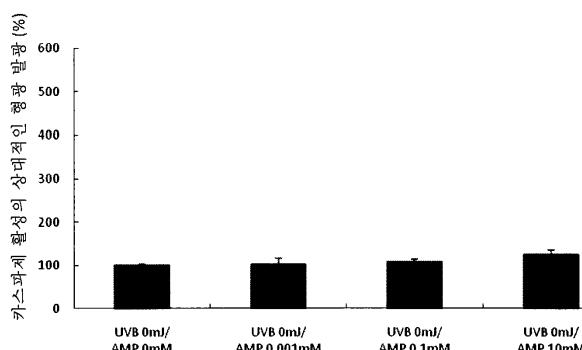
[0088] 도 3으로부터 분명한 바와 같이, 기제 도포군 및 무 도포군에서는 자외선 조사 후 마우스의 등에 종양 형성이 관찰되었지만, 시험액 도포군에서는 관찰되지 않았다. 게다가, 도 4에서 보여주는 바와 같이, 자외선 조사 후 종양 발생률은, 기제 도포군에서 67 %, 무 도포군에서 83 %인데 반해, 시험액 도포군에서는 0 %였다. AMP2Na가 자외선에 의해 유발되는 피부암의 발생을 효과적으로 예방할 수 있다는 것이 분명해졌다.

- [0089] 시험액 또는 기체의 적용 개시로부터 6 주째의 각 군의 마우스 당 발생한 종양의 평균 개수는 다음과 같았다: 시험액 도포군에서 0 개; 기체 도포군에서 2 개; 및 무 도포군에서 1.8 개. 이들 결과로 또한 AMP2Na가 자외선에 의해 유발되는 피부암에 대한 우수한 예방 효과를 가진다는 것이 확인되었다.
- [0090] 게다가, 시험액 또는 기체의 적용 개시로부터 12 주째의 종양 발생률은, 기체 도포군에서 83 %, 무 도포군에서 100 %, 및 시험액 도포군에서 17 %였다. 이는 AMP2Na가 자외선에 의한 종양의 발생을 강하게 억제하는 작용을 가진다는 것을 보여준다. 따라서, 본 성분은 또한 발암 현상의 진전을 억제하는데 효과적일 것이라고 기대된다.
- [0091] 처방예
- [0092] 이하의 조성을 가지는 애멸전 형태의 광발암 현상-예방제를 제조한다.
- [0093] 아데노신 모노포스페이트 이나트륨 3 (증량%)
- [0094] 에탄올 3
- [0095] 글리세린 110
- [0096] 유화제, 유화 보조제 10
- [0097] 중첨제 적량
- [0098] 방부제, pH 조정제, 향료 적량
- [0099] 정제수 나머지
- [0100] 합계 100 증량%

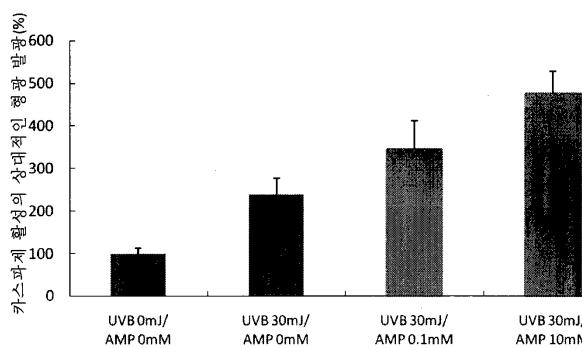
도면

도면1

도 1a

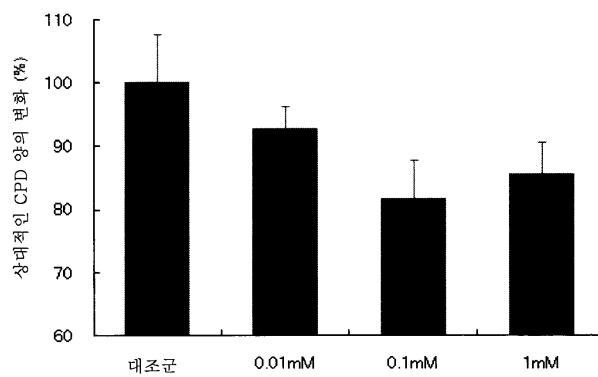


도 1b

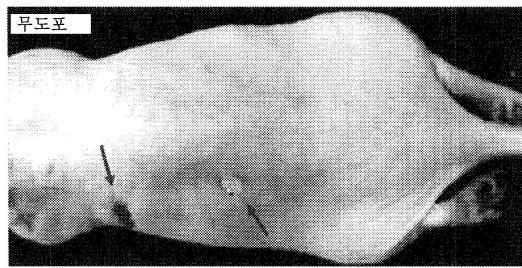
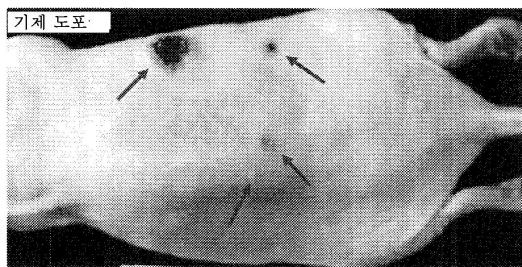
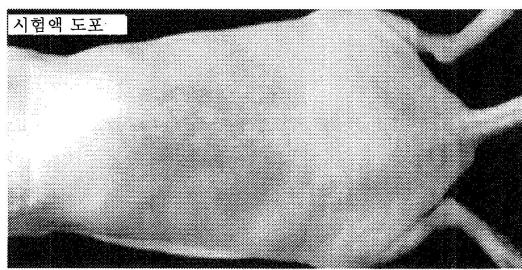


도면2

상대적인 CPD 양의 변화 (%)



도면3



도면4

