

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2018년 3월 1일 (01.03.2018)



(10) 국제공개번호
WO 2018/038425 A1

(51) 국제특허분류:

A61K 31/4035 (2006.01) A61K 8/97 (2006.01)
A61K 36/06 (2006.01) A61Q 19/02 (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2017/008544

(22) 국제출원일:

2017년 8월 8일 (08.08.2017)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2016-0107823 2016년 8월 24일 (24.08.2016) KR

(71) 출원인: (주)아모레퍼시픽 (AMOREPACIFIC CORPORATION) [KR/KR]; 04386 서울시 용산구 한강대로 106, Seoul (KR).

(72) 발명자: 최현정 (CHOI, Hyun Jung); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원, Gyeonggi-do (KR). 배일홍 (BAE, Il Hong); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원, Gyeonggi-do (KR). 김형준 (KIM, Hyung June); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원, Gyeonggi-do (KR). 이영진 (LEE, Young Jin); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원, Gyeonggi-do (KR). 이태룡 (LEE, Tae Ryong); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원, Gyeonggi-do (KR). 조동형 (CHO, Dong-Hyung); 17083 경기도 용인시 기흥구 한보라2로 167, 903동 1403호, Gyeonggi-do (KR). 신지

현 (SHIN, Ji Hyun); 24304 강원도 춘천시 후석로 296, 401호, Gangwon-do (KR). 신동운 (SHIN, Dong Woon); 05652 서울시 송파구 양재대로72길 15, 101동 1009호, Seoul (KR).

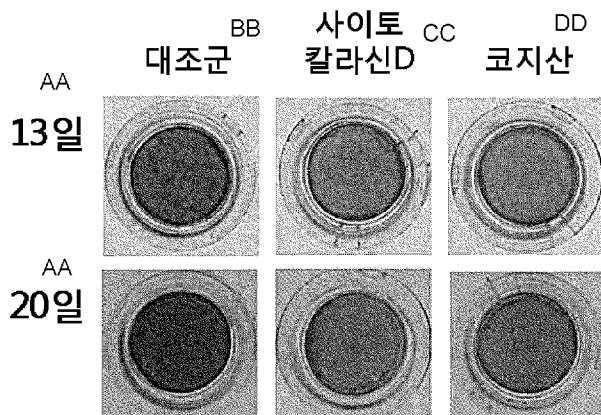
(74) 대리인: 김순영 (KIM, Sun-young); 03151 서울시 종로구 종로5길 58 석탄회관빌딩 10층, Seoul (KR).

(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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, 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.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: SKIN-WHITENING COMPOSITION CONTAINING CYTOCHALASIN D

(54) 발명의 명칭: 사이토칼라신 D를 포함하는 피부 미백용 조성물



AA ... Days
BB ... Comparative group
CC ... Cytochalasin D
DD ... Kojic acid

(57) Abstract: One aspect of the present invention relates to a skin-whitening composition containing, as an active ingredient, cytochalasin D, optical or stereoscopic isomers thereof, pharmaceutically acceptable salts thereof, hydrates thereof, or solvates thereof. Through the one aspect of the present invention, a novel whitening material can be provided to consumers and development of skin whitening-related industries can be promoted.

(57) 요약서: 본 발명은 일측면에서, 사이토칼라신 D(Cytochalasin D), 이의 광학 또는 입체 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 조성물에 관한 것이며, 본 발명의 일 측면을 통해 새로운 미백용 물질을 소비자에게 제공할 수 있고, 피부 미백 관련 산업의 발전을 도모할 수 있다.

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 사이토칼라신 D를 포함하는 피부 미백용 조성물 기술분야

- [1] 본 명세서는 사이토칼라신 D를 포함하는 피부 미백용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 멜라닌(melanin)은 검은 색소와 단백질의 복합체 형태를 지니는 페놀류의 생체 고분자 물질로서, 사과, 감자, 바나나의 잘린 표면이 공기 중에 노출될 때 발생하는 갈변 또는 동물의 외피 깃털, 피부, 머리, 눈 등에서 관찰된다. 멜라닌이 과잉 생산되는 경우 피부에 침착되어 기미, 주근깨 등이 형성되므로 피부 미백 등과 직결되고, 멜라닌으로 인해 피부 노화도 촉진되며 피부암도 유발될 수 있다.
- [3] 자외선, 염증, 호르몬 등에 의해서 멜라닌 형성 세포 자극 호르몬(melanocyte stimulating hormone, MSH)이 분비되고, MSH는 수용체와 반응하여 멜라닌 형성 세포 내에 cAMP를 향상시켜 멜라닌을 합성하며, 합성된 멜라닌은 멜라닌 형성 세포의 외부로 분비되어 자외선 등으로부터 피부를 보호하는 역할을 하게 된다. 멜라닌의 합성은 주로 α -MSH에 의해 조절되고, 멜라닌의 합성에 관여하는 단백질로는 MITF, TYR, TRP1, TRP2 등이 알려져 있다.
- [4] 한편, 사이토칼라신 D는 사이토칼라신으로 알려진 마이코톡신의 한 종류로 알려져 있고, 피부 미백과 사이토칼라신 D와의 관련성에 대해서는 아직 알려진 바가 없다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [5] 본 발명은 일측면에서, 사이토칼라신 D(Cytochalasin D), 이의 광학 또는 입체 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 조성물을 제공하여, 피부 미백 관련 분야의 발전을 도모하기 위한 목적을 가진다.

과제 해결 수단

- [6] 본 발명은 일측면에서, 사이토칼라신 D(Cytochalasin D), 이의 광학 또는 입체 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 조성물에 관한 것이다.
- [7] 본 발명은 다른 측면에서, 사이토칼라신 D(Cytochalasin D), 이의 광학 또는 입체 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물을 개체에 투여하는 것을 포함하는 피부 미백 방법을 제공한다.
- [8] 본 발명은 다른 측면에서, 피부 미백 용도로 사용하기 위한 유효성분으로서 사이토칼라신 D(Cytochalasin D), 이의 광학 또는 입체 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물을 제공한다. 또한, 피부 미백을

위한 유효성분으로서 사이토칼라신 D(Cytochalasin D), 이의 광학 또는 입체 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물의 비치료적 화장 용도를 제공한다.

[9] 본 발명은 또 다른 측면에서, 피부 미백용 조성물의 제조에 사용하기 위한 사이토칼라신 D(Cytochalasin D), 이의 광학 또는 입체 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물의 용도를 제공한다.

[10] 본 발명의 다른 측면에서, 멜라닌 생성 또는 침착을 억제하는 조성물에 관한 것이기도 하다.

[11] 또한, 본 발명의 다른 측면에서, 상기 조성물은 약학 조성물 또는 화장품 조성물일 수 있다.

발명의 효과

[12] 본 발명은 일측면에서, 사이토칼라신 D(Cytochalasin D), 이의 광학 또는 입체 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 새로운 피부 미백용 조성물을 발굴 및 제공함으로써, 피부 미백에 관한 새로운 분야의 개척 및 시장 확장에 기여할 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[13] 도 1a는 α -MSH 및 사이토칼라신 D 처리가 멜라닌 생성량에 미치는 영향을 확인한 것이다.

[14] 도 1b는 α -MSH 및 사이토칼라신 D 처리가 타이로시나제(tyrosinase), 및 TRP1(Tyrosinase-related protein 1) 단백질의 발현에 미치는 영향을 웨스턴 블롯으로 나타낸 것이다.

[15] 도 2a는 B16F1 흑색종 세포주에서 α -MSH 및 사이토칼라신 D 처리가 멜라닌 생성량에 미치는 영향을 확인한 것이다.

[16] 도 2b는 B16F1 흑색종 세포주에서 α -MSH 및 사이토칼라신 D 처리가 타이로시나제(tyrosinase), 및 TRP1 단백질의 발현에 미치는 영향을 확인한 것이다.

[17] 도 3a는 NEHMs에서 사이토칼라신 D 처리에 의해 멜라닌 합성이 감소함을 나타낸 것이다.

[18] 도 3b는 피부 모델에 사이토칼라신 D 를 처리한 뒤 밝기 변화를 확인한 것이다.

[19] 도 3c는 피부 모델에 사이토칼라신 D 를 처리한 뒤 색도계로 밝기 변화를 평가한 것이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[20] 이하, 본 명세서에 대하여 상세히 설명한다.

[21] 본 명세서에서 "피부"라 함은, 동물의 체표를 덮는 조직을 의미하는 것으로서, 얼굴 또는 바디 등의 체표를 덮는 조직뿐만 아니라, 두피와 모발을 포함하는 최광의의 개념이다.

[22] 본 명세서에서 "사이토칼라신 D"는 Cytochalasin D 또는 Cyto D로 표현될 수

있다.

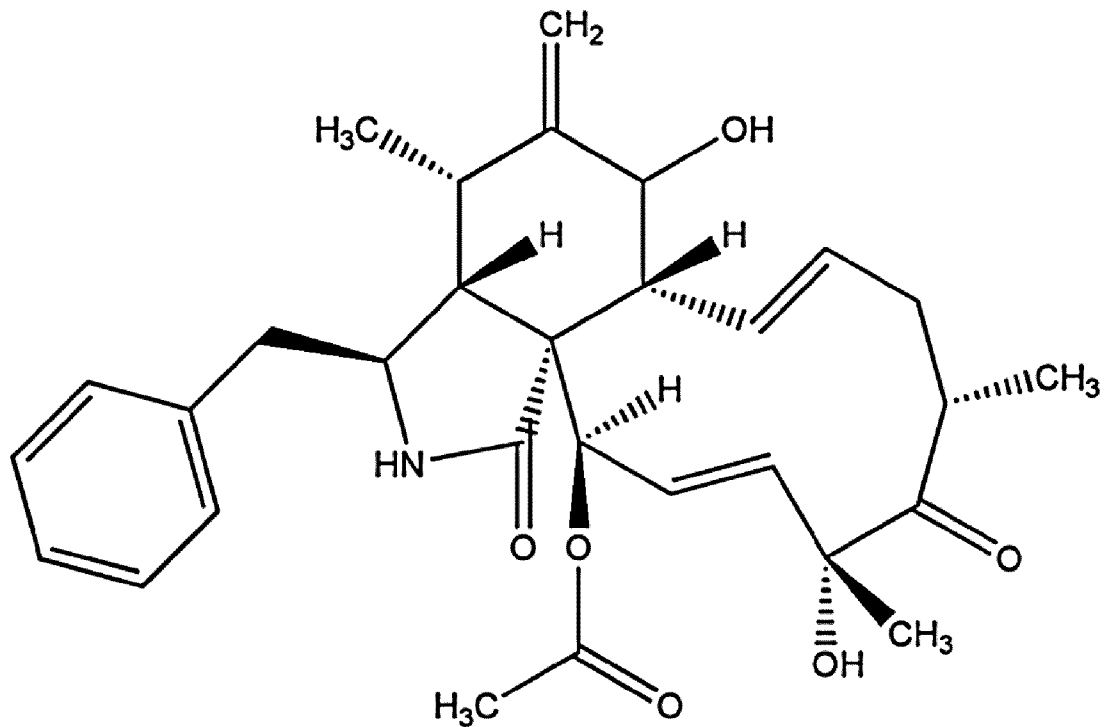
- [23] 본 명세서에서 "이성질체"는 특히 광학 이성질체(optical isomers)(예를 들면, 본래 순수한 거울상 이성질체(essentially pure enantiomers), 본래 순수한 입체 이성질체 또는 이들의 혼합물, 본래 순수한 부분 입체 이성질체(essentially pure diastereomers) 뿐만 아니라, 형태 이성질체(conformation isomers)(즉, 하나 이상의 화학 결합의 그 각도만 다른 이성질체), 구조 이성질체, 위치 이성질체(position isomers)(특히, 호변이성체(tautomers)) 또는 기하 이성질체(geometric isomers)(예컨대, 시스-트랜스 이성질체)를 포함한다.
- [24] 본 명세서에서 "본래 순수(essentially pure)"란, 예컨대 거울상 이성질체, 입체 이성질체, 또는 부분 입체 이성질체와 관련하여 사용한 경우, 거울상 이성질체, 입체 이성질체, 또는 부분 입체 이성질체를 예로 들 수 있는 구체적인 화합물이 약 90% 이상, 바람직하게는 약 95% 이상, 보다 바람직하게는 약 97% 이상 또는 약 98% 이상, 보다 더 바람직하게는 약 99% 이상, 보다 더욱 더 바람직하게는 약 99.5% 이상(w/w) 존재하는 것을 의미한다.
- [25] 본 명세서에서 "허용 가능"이란 통상적 또는 의약학적 사용량(dosage)으로 이용할 때 상당한 독성 효과를 피함으로써, 동물, 더 구체적으로는 인간에게 사용할 수 있다는 정부 또는 이에 준하는 규제 기관의 승인을 받을 수 있거나 승인 받거나, 식품공전(Food code), 건강기능식품공전, 또는 일반적인 약전에 열거되거나 기타 일반적인 문헌에 기재된 것으로 인지되는 것을 의미한다.
- [26] 본 명세서에서 "허용 가능한 염"은 통상적 또는 의약학적으로 허용 가능하고 모 화합물(parent compound)의 바람직한 활성을 갖는 본 발명의 일 측면에 따른 염을 의미한다. 상기 염은 (1) 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등과 같은 무기산으로 형성되거나; 또는 아세트산, 프로파이온산, 헥사노산, 시클로펜테인프로피온산, 글라이콜산, 피루브산, 락트산, 말론산, 숙신산, 말산, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 3-(4-히드록시벤조일) 벤조산, 신남산, 만델산, 메테인설폰산, 에테인설폰산, 1,2-에테인-디설폰산, 2-히드록시에테인설폰산, 벤젠설폰산, 4-클로로벤젠설폰산, 2-나프탈렌설폰산, 4-톨루엔설폰산, 캄퍼설폰산, 4-메틸바이시클로 [2,2,2]-oct-2-엔-1-카르복실산, 글루코헵톤산, 3-페닐프로파이온산, 트리메틸아세트산, tert-부틸아세트산, 라우릴 황산, 글루콘산, 글루탐산, 히드록시나프토산, 살리실산, 스테아르산, 류콘산과 같은 유기산으로 형성되는 산 부가염(acid addition salt); 또는 (2) 모 화합물에 존재하는 산성 프로톤이 치환될 때 형성되는 염을 포함할 수 있다.
- [27] 본 명세서에서 "수화물(hydrate)"은 물이 결합되어 있는 화합물을 의미하며, 물과 화합물 사이에 화학적인 결합력이 없는 내포 화합물을 포함하는 광범위한 개념이다.
- [28] 본 명세서에서 "용매 화물"은 용질의 분자나 이온과 용매의 분자나 이온 사이에 생긴 고차의 화합물을 의미한다.
- [29]

[30] 본 발명은 일측면에서, 사이토칼라신 D(Cytochalasin D), 이의 광학 또는 입체 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 조성물을 제공한다.

[31] 일 구현 예로서, 상기 사이토칼라신 D는 액틴 중합 억제제(actin polymerization inhibitor)일 수 있고, $C_{30}H_{37}NO_6$ 의 알칼로이드일 수도 있으며, 하기 화학식으로 나타나는 것일 수 있다.

[32] [화학식 1]

[33]



[34]

[35] 다른 구현 예로서, 상기 사이토칼라신 D는 곰팡이로부터 유래된 것일 수 있다. 또는, 상기 사이토칼라신 D는 합성을 통해 얻은 것일 수도 있다.

[36] 다른 구현 예로서, 상기 곰팡이는 자이코스포리움 만소니(*Zygosporium mansonii*)일 수 있다.

[37] 다른 구현 예로서, 상기 사이토칼라신 D는 멜라닌 생성 또는 침착을 억제하는 것일 수 있다.

[38] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 사이토칼라신 D는 티로시나제(tyrosinase) 또는 TRP1(Tyrosinase-Related Protein 1)의 발현을 감소시키는 것일 수 있다. 상기 사이토칼라신 D 처리 후 티로시나제 또는 TRP1의 발현이 사이토칼라신 D 처리 전보다 적어지므로, 이를 통해 상기 사이토칼라신 D를 피부 미백용 조성물의 유효성분으로 사용할 수 있음을 알 수 있다. 또한, 사이토칼라신 D를 처리할 경우 티로시나제 또는 TRP1이 발현된 세포수를 감소시키기도 하는데, 이를 통해서도 사이토칼라신 D를 피부 미백용 조성물의 유효성분으로 사용할 수 있음을 알 수 있다.

- [39] 멜라닌(melanin)은 동물의 외피 깃털, 피부, 머리, 눈 등에서 관찰되는데, 멜라닌이 과잉 생산되는 경우 피부에 침착되어 기미, 주근깨 등이 형성되고 피부 노화도 촉진되며, 피부암도 유발될 수 있다. 상기 멜라닌 과다 생성으로 인한 질환 또는 증상은 기미, 주근깨, 검버섯, 잡티, 표피 멜라닌세포성 병변(Epidermal melanocytic lesion), 밀크커피 반점(Cafe's au lait macules), 모반, 베커 모반(Becker's Nevus), 반문상 모반(Nevus Spilus), 흑자(Lentigines), 흑색점, 진피 멜라닌세포성 병변(Dermal melanocytic lesions), 몽고반(Mongolian spot), 오타 모반(Nevus of Ota), 후천성 양측성 오타 모반양 반(Acquired bilateral nevus of Ota-like macules), 이토 모반(Nevus of Ito), 청색 모반(Blue nevus), 멜라닌형성세포성 모반(Melanocytic nevus), 경계 모반(Junctional nevus), 복합 모반(Compound nevus), 진피내 모반(Intradermal nevus), 운륜모반(Halo nevus), 선천성 멜라닌세포성 모반(Congenital nevocytic nevus), 스피츠 모반(Spitz nevus), 이형성 모반(Dysplastic nevus), 흑색종(Melanoma), 악성 흑자 흑색종(Lentigo maligna melanoma), 표재 확장성 흑색종(Superficial spreading melanoma), 선단 흑자성 흑색종(Acral lentiginous melanoma), 결절성 흑색종(Nodular melanoma), 색소성 기저세포암(pigment basal cell carcinoma), 색소성 피부섬유종(dermatofibromas), 색소성 피부낭종(dermoid cyst), 색소성 켈로이드(keloid), 자외선에 의한 색소 침착, 약물에 의한 색소 침착, 염증 후 색소 침착, 및 피부염에서 발생하는 색소 침착, 및 색소성 각질극세포종(keratoacanthomas)으로 구성된 군에서 선택되는 1 이상일 수 있다.
- [40] 본 발명의 일 측면에서, 상기 사이토칼라신 D는 기미, 주근깨, 흑색점, 모반, 흑색종, 자외선에 의한 색소 침착, 약물에 의한 색소 침착, 염증 후 색소 침착, 및 피부염에서 발생하는 색소 침착으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 예방, 개선 또는 치료하는 것일 수 있다.
- [41] 본 발명자들은 사이토칼라신 D를 이용하여 세포 및 피부모델에서 멜라닌 형성 및 침착을 억제시킬 수 있음을 확인하였고 이를 통해 사이토칼라신 D를 피부 미백용 물질로 사용할 수 있음을 알아낸 것이다. 이러한 사이토칼라신 D의 효능을 이용하여 멜라닌과 관계되는 상기 질환이나 증상에 대하여 예방, 개선, 및 치료 등을 도모할 수도 있다.
- [42] 본 발명의 또 다른 측면에 의하면, 상기 조성물 내 사이토칼라신 D, 이의 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물의 함량은 상기 조성물 총중량 대비 0.0001 중량% 내지 20 중량%일 수 있다. 일 구현 예에서, 상기 함량은 상기 조성물 총중량 대비 0.0001 중량% 이상, 0.0005 중량% 이상, 0.001 중량% 이상, 0.005 중량% 이상, 0.01 중량% 이상, 0.05 중량% 이상, 0.1 중량% 이상, 0.3 중량% 이상, 0.5 중량% 이상, 0.8 중량% 이상, 1 중량% 이상, 3 중량% 이상, 5 중량% 이상, 8 중량% 이상, 10 중량% 이상, 12 중량% 이상, 15 중량% 이상, 또는 18 중량% 이상일 수 있다. 또한, 상기 함량은 상기 조성물 총중량 대비 20 중량% 이하, 18 중량% 이하, 15 중량% 이하, 12 중량% 이하, 10

중량% 이하, 8 중량% 이하, 5 중량% 이하, 3 중량% 이하, 1 중량% 이하, 0.8 중량% 이하, 0.5 중량% 이하, 0.3 중량% 이하, 0.1 중량% 이하, 0.05 중량% 이하, 0.01 중량% 이하, 0.005 중량% 이하, 0.001 중량% 이하, 또는 0.0005 중량% 이하일 수 있다.

- [43] 본 발명의 또 다른 측면에 의하면, 상기 사이토칼라신 D, 이의 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물의 투여량은 0.0001mg/kg/일 내지 20mg/kg/일 일 수 있다. 일 구현 예에서, 상기 투여량은 0.0001 mg/kg/일 이상, 0.0005 mg/kg/일 이상, 0.001 mg/kg/일 이상, 0.005 mg/kg/일 이상, 0.01 mg/kg/일 이상, 0.05 mg/kg/일 이상, 0.1 mg/kg/일 이상, 0.5 mg/kg/일 이상, 0.8 mg/kg/일 이상, 1 mg/kg/일 이상, 2 mg/kg/일 이상, 3 mg/kg/일 이상, 5 mg/kg/일 이상, 8 mg/kg/일 이상, 10 mg/kg/일 이상, 12 mg/kg/일 이상, 15 mg/kg/일 이상, 또는 18 mg/kg/일 이상일 수 있다. 또한, 상기 투여량은 20 mg/kg/일 이하, 18 mg/kg/일 이하, 15 mg/kg/일 이하, 12 mg/kg/일 이하, 10 mg/kg/일 이하, 8 mg/kg/일 이하, 5 mg/kg/일 이하, 3 mg/kg/일 이하, 2 mg/kg/일 이하, 1 mg/kg/일 이하, 0.8 mg/kg/일 이하, 0.5 mg/kg/일 이하, 0.1 mg/kg/일 이하, 0.05 mg/kg/일 이하, 0.01 mg/kg/일 이하, 0.005 mg/kg/일 이하, 0.001 mg/kg/일 이하, 또는 0.0005 mg/kg/일 이하일 수 있다.
- [44] 본 발명의 일 측면에 의하면, 상기 조성물은 약학 조성물인 피부 미백용 조성물일 수 있다.
- [45] 상기 약학 조성물은 보존제, 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 약제학적 보조제, 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 추가로 함유할 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 다양한 경구 투여제 또는 비경구 투여제 형태로 제형화할 수 있다.
- [46] 상기 경구 투여제는 예를 들면, 정제, 환제, 경질 및 연질 캡셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 분제, 산제, 세립제, 과립제, 펠렛제 등이 있으며, 이들 제형은 유효성분 이외에 계면 활성제, 희석제(예: 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로오스 및 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및 폴리에틸렌 글리콜)를 함유할 수 있다. 정제는 또한 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로오스, 나트륨 카복시메틸셀룰로오스 및 폴리비닐피롤리돈과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제, 흡수제, 착색제, 향미제, 및 감미제 등의 약제학적 첨가제를 함유할 수 있다. 상기 정제는 통상적인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [47] 또한, 상기 비경구 투여 형태로는 경피 투여형 제형일 수 있으며, 예를 들어 주사제, 점적제, 연고, 로션, 겔, 크림, 스프레이, 현탁제, 유제, 좌제(坐劑), 패취 등의 제형일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [48] 상기 약학 조성물은 비경구, 직장, 국소, 경피, 피하 등으로 투여될 수 있다.

- [49] 상기 유효성분의 투여량 결정은 통상의 기술자의 수준 내에 있으며, 약물의 1일 투여 용량은 투여하고자 하는 대상의 진행 정도, 발병 시기, 연령, 건강상태, 합병증 등의 다양한 요인에 따라 달라질 수 있다.
- [50] 상기 약학 조성물은 피부 외용제일 수 있으며, 상기 피부 외용제는 피부 외부에서 도포되는 어떠한 것이라도 포함될 수 있는 총칭으로서 다양한 제형의 의약품 또는 의약외품이 여기에 포함될 수 있다.
- [51] 본 발명의 또 다른 측면에 의하면, 상기 조성물은 화장품 조성물인 피부 미백용 조성물일 수 있다.
- [52] 상기 화장품 조성물에는 기능성 첨가물 및 일반적인 화장품 조성물에 포함되는 성분이 추가로 포함될 수 있다. 상기 기능성 첨가물로는 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스펅고 지질 및 해초 엑기스로 이루어진 군에서 선택된 성분을 포함할 수 있다. 이외에 포함되는 배합 성분으로서는 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, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있다.
- [53] 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.
- [54] 본 발명의 일 측면에 의한 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [55] 본 발명의 일 측면에 의한 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.
- [56] 본 발명의 일 측면에 의한 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.
- [57] 본 발명의 일 측면에 의한 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.

- [58] 본 발명의 일 측면에 의한 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아마이드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [59] 본 발명의 다른 측면에 의하면, 상기 조성물은 식품 또는 건강식품 조성물인 피부 미백용 조성물일 수 있다.
- [60] 상기 식품 또는 건강식품 조성물은 액상 또는 고체 상태의 제형일 수 있고, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능식품류, 건강보조 식품류 등이 있고, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용될 수 있다. 각 제형의 식품 조성물은 유효성분 이외에 해당 분야에서 통상적으로 사용되는 성분들을 제형 또는 사용 목적에 따라 당업자가 어려움 없이 적의 선정하여 배합할 수 있으며, 다른 원료와 동시에 적용할 경우 상승 효과가 일어날 수 있다.
- [61] 본 명세서에 개시된 유효성분 외에 함유할 수 있는 액체 성분에는 특별한 제한점이 없으며, 통상의 음료와 같이 여러가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가성분으로 포함할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 예로는 모노사카라이드, 포도당, 과당 등의 디사카라이드, 말토스, 슈크로스 등의 폴리사카라이드, 텍스트린, 시클로텍스트린 등의 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당 알코올 등이 있다. 상기의 향미제로는 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(예를 들어 사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 명세서에 개시된 조성물 100ml 당 일반적으로 약 1 내지 20g, 일측면에서 약 5 내지 12g일 수 있다.
- [62] 상기 식품 조성물은 일 측면에서 여러가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그 염, 알긴산 및 그 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있다. 다른 측면에서 천연 과일 주스 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있다. 상기 성분들은 독립적으로 또는 조합하여 사용될 수 있다. 상기 첨가제의 비율은 다양할 수 있으나, 본 명세서에 개시된 조성물 100 중량부 당 0.001 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [63]
- [64] 이하, 실시예, 실험예를 통하여, 본 발명 일측면의 구성 및 효과를 보다

구체적으로 설명한다. 그러나 아래 예는 본 발명에 대한 이해를 돕기 위해 예시의 목적으로만 제공된 것일 뿐 본 발명의 범주 및 범위가 그에 의해 제한되는 것은 아니다.

[65]

[66] [실시예 1]

[67]

[68] 세포 및 피부 모델 준비

[69] 인간 표피 멜라닌 형성 세포(Normal human epidermal melanocytes, NHEMs, Cascade Biologics, Portland, OR, USA)를 입수하고, C57BL/6 J (black, a/a) 마우스에서 유래한 멜라닌 형성 세포인 멜란-A(Melan-A) 세포주를 Dorothy C. Bennett 박사(St. George's Hospital Medical School, London, UK)로부터 입수하였다. B16F1 마우스 흑색종(melanoma) 세포주는 ATCC (Manassas, VA, USA)에서 입수하였다.

[70] 인간 표피 멜라닌 형성 세포는 M-254 배지에서 인간 멜라닌 형성 세포 성장 보충제(Human Melanocyte Growth Supplements, HMGS) (Cascade Biologics, Inc., Mansfield, UK)하에서 유지시켰다. Melan-A세포는 RPMI 1640배지에서 10%(v/v) 우태아혈청, 1%(v/v) 페니실린-스트렙토마이신, 및 0.2 μ M phorbol 12-myristate 13-acetate 하에서 유지시켰다. B16F1 마우스 흑색종 세포주는 10% (v/v) 우태아혈청 및 1% (v/v) 페니실린-스트렙토마이신을 첨가한 DMEM에서 배양하였다.

[71] 3차원 인간 피부 대체제(Three-dimensional human skin substitute, MelanoDerm™, MEL-312-B, MatTek사, Seoul, Korea)는 입수한 뒤 KGF(Keratinocyte Growth Factor), b-FGF(Fibroblast Growth Factor), 및 α -MSH(alpha-melanocyte stimulating hormones)로 최적화한 EPI-100-NMM-113 배지에서 제조자의 지시에 따라 유지하였다.

[72] 상기 피부모델의 밝기 변화(ΔL) 지수는 색도계(colorimeter, CR-300, Konica Minolta사, Tokyo, Japan)에 의해 측정된 L 지수(L value, lightness index)로 계산하였고, $\Delta L = 13$ 일차 또는 20일차의 L (처치 피부) - L (대조군 피부) 로 계산하였다. ΔL 지수의 증가는 피부에서 화합물 유도에 의한 색소의 과소침착을 나타낸다(Lee et al., 2013).

[73]

[74] 시약

[75] 사이토칼라신 D, α -MSH, 알부틴(arbutin), 및 코지산(kojic acid)은 Sigma-Aldrich사 (St. Louis, MO, USA)에서 입수하였다.

[76]

[77] 멜라닌 에세이

[78] 세포를 트립신/EDTA로 처리 후 1000 x g에서 5분간 원심분리하고, PBS로 2회 세척하였다. 튜브 내의 최종 세포 펠렛을 사진으로 찍고, 세포 펠렛은 1 N

NaOH에 용해시켰다. 균질화시킨 세포 추출물을 96-웰(well) 플레이트에 옮기고, ELISA 플레이트 리더를 이용하여 흡광도 405 nm에서 상대적 멜라닌 양을 측정하였다.

[79]

[80] 웨스턴 블롯 분석

[81] 모든 용해물은 2 × 램라이 시료 완충액(2 × Laemmli sample buffer, 62.5 mM Tris-HCl, pH 6.8, 25% [v/v] glycerol, 2% [w/v] SDS, 5% [v/v] β-mercaptoethanol, 및 0.01% [w/v] bromophenol blue) (Bio-Rad, Hercules사, CA, USA)을 이용하여 준비하였다. 모든 세포 단백질은 Bradford solution (Bio-Rad)을 이용하여 측정하였다. 그 후, 상기 시료는 SDS-PAGE로 분리하고, PVDF 멤브레인(Bio-Rad)으로 이전하였다. TBST(25 mM Tris, 140 mM NaCl, 및 0.05% [v/v] Tween® 20) 내의 4% (w/v) 스킴 밀크(skim milk)로 블로킹한 뒤, 멤브레인을 특정 1차 항체들과 함께 오버나이트(overnight) 배양시켰다.

[82] 항-액틴 항체(anti-actin antibody, MAB1501, 1:10,000)는 Millipore사 (Temecula, CA, USA)에서 입수하였고, 항-αPEP7(타이로시나제) 항체(anti-αPEP7(tyrosinase) antibody, 1:1000)와 항-αPEP1(TRP1) 항체(anti-αPEP1(TRP1) antibody, 1:1000)는 V. J. Hearing (NIH, Bethesda, MD)로부터 입수하였다. 단백질 검출을 위하여, 상기 멤브레인은 HRP-컨쥬게이트드 이차 항체를 이용하여 배양하였고, 신호는 SuperSignal® West Dura HRP Detection Kit (Pierce사, Rockford, IL, USA)를 이용하여 측정하였다.

[83]

[84] 통계 분석

[85] 각 데이터는 적어도 3회의 독립적인 실험을 거쳐서 얻었고, 평균±SE(표준오차)로 나타내었다. 결과의 통계적 평가는 일원분산분석(1-way ANOVA)를 이용하여 수행하였다(* p < 0.05, ** p < 0.01).

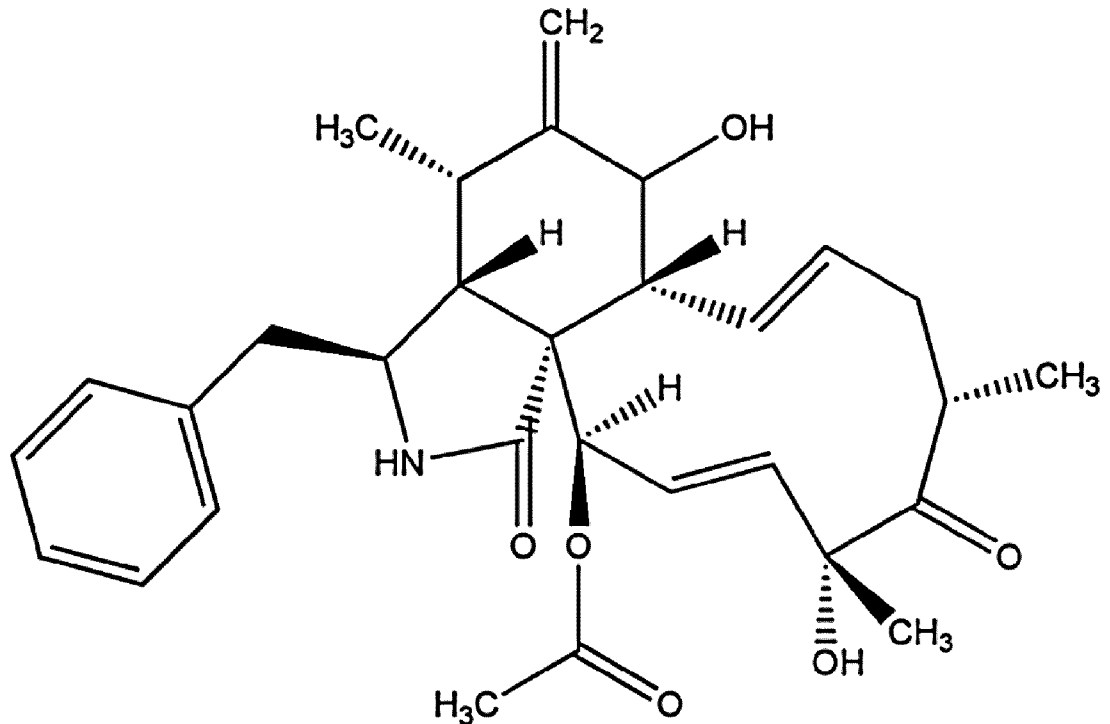
[86]

[87] [실험예 1] 사이토칼라신 D에 의한 멜라닌 생성 조절

[88] 사이토칼라신 D(Cytochalasin D, Cyto D)는 곰팡이 또는 사상균인 자이코스꼬리움 만소니(*Zygosporium mansonii*)에서 생산하는 알칼로이드(alkaloid)로서 아래 화학식 1로 나타난다(C₃₀H₃₇NO₆).

[89] [화학식 1]

[90]



[91]

[92] α -MSH (1 μ M)로 24시간 동안 사전 처리한 멜란-a 세포에 사이토칼라신 D(0.25 및 0.5 μ M)로 처리 뒤 세포의 멜라닌 함량을 측정하였고, 멜라닌 생성 효소인 타이로시나제(tyrosinase) 및 TRP1 단백질 발현 수준을 웨스턴 블롯으로 확인하였다. 그 결과, α -MSH를 처리할 경우 멜라닌 합성이 증가하고 타이로시나제 및 TRP1의 발현 수준이 증가하였는데, 사이토칼라신 D를 처리한 경우에는 그러한 α -MSH에 의한 멜라닌 합성이 현저하게 감소하였고(도 1a), 타이로시나제 및 TRP1 발현 또한 현저히 감소되었다(도 1b).

[93]

[94] 이러한 현상이 B16F1 마우스 흑색종(melanoma) 세포주에서도 나타나는지 확인하였다. 구체적으로, B16F1 세포에 α -MSH(1 μ M)로 선 처리한 뒤, 사이토칼라신 D(0.25 μ M, 0.5 μ M)를 처리하여 48시간 후 세포 멜라닌 양을 측정하였다(도 2a). 또한, 타이로시나제, 및 TRP1를 웨스턴 블롯으로 분석하였다(도 2b).

[95] 그 결과, B16F1 세포주에서도 사이토칼라신 D 처리에 의해 멜라닌 함량이 감소하였으며, 타이로시나제와 TRP1의 발현을 억제시킴을 알 수 있었다(도 2a 내지 도 2b).

[96] 종합하면, 사이토칼라신 D는 타이로시나제(tyrosinase) 및 TRP1 단백질의 수준을 감소시키고, 그에 따라 멜라닌 형성 및 침착이 억제됨을 확인하였다. 즉, 사이토칼라신 D를 이용하여 미백용 특히 피부 미백용 조성물로 사용할 수 있음을 규명한 것이다.

[97]

- [98] [실험예 2] 정상 인간 표피 멜라닌 형성 세포(normal human epidermal melanocytes, NHEMs) 및 인공 피부 실험
- [99] NHEMs와 3차원 인간 피부 대체재(정상 인간 표피 각질세포 및 NHEMs를 포함하는 재구성 표피 모델)를 이용하여 멜라닌 생성의 조절을 실험하였다.
- [100] 구체적으로, NHEMs에 사이토칼라신 D(0.5 μ M 및 1 μ M)를 처리하고 48시간 후 세포 멜라닌 함량을 확인하였다.
- [101] 그 결과, NHEMs에서도 사이토칼라신 D 처리에 의해 멜라닌 합성 감소가 유도됨을 확인하였다(도 3a).
- [102] 또한, 사이토칼라신 D(0.5 μ M), 코지산(kojic acid, KA, 5mM)를 3일에 한번씩 3차원 인간 피부 대체재에 3일에 한번씩 13일 간 및 20일 간 투여하고 색소침착에 미치는 영향을 평가하였다. 색소침착은 색도계(colorimeter)로 평가하였고 도 3c에서 ΔL 는 대조군과 물질 처리군 간의 밝기 차이를 계산한 값이다.
- [103] 그 결과, 사이토칼라신 D에 의해 피부 색소침착이 감소하였다(도 3b 및 도 3c). 이를 통해, 사이토칼라신 D가 멜라닌 형성을 억제하고 색소침착을 억제함을 확인하였다.
- [104]
- [105] 본 발명의 일 측면에 따른 조성물의 제형예를 아래에서 설명하나, 다른 여러 가지 제형으로도 응용 가능하며, 이는 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.
- [106]
- [107] [제형예 1] 연질캡셀제
- [108] 사이토칼라신 D 20mg, L-카르니틴 80~140mg, 대두유 180mg, 팜유 2mg, 식물성 경화유 8mg, 황납 4mg 및 레시틴 6mg을 혼합하고, 통상의 방법에 따라 1캡슐에 충전하여 연질캡셀제를 제조하였다.
- [109]
- [110] [제형예 2] 정제
- [111] 사이토칼라신 D 20mg, 갈락토올리고당 200mg, 유당 60mg 및 맥아당 140mg을 혼합하고 유동층 건조기를 이용하여 과립한 후 당 에스테르(sugar ester)를 6mg을 첨가하여 타정기로 타정하여 정제를 제조하였다.
- [112]
- [113] [제형예 3] 과립제
- [114] 사이토칼라신 D 20mg, 무수결정 포도당 250mg 및 전분 550mg을 혼합하고, 유동층 과립기를 사용하여 과립으로 성형한 후 포에 충전하여 과립제를 제조하였다.
- [115]
- [116] [제형예 4] 드링크제
- [117] 사이토칼라신 D 20mg, 포도당 10g, 구연산 0.6g, 및 액상 올리고당 25g을 혼합한

후 정제수 300ml를 가하여 각 병에 200ml씩 충전한다. 병에 충전한 후 130°C 에서 4~5 초간 살균하여 드링크제를 제조하였다.

[118]

[119] [제형예 5] 주사제

[120] 사이토칼라신 D 50mg, 주사용 멸균증류수 적량, pH조절제 적량을 이용하여 통상적인 방법으로 주사제를 제조하였다.

[121]

[122] [제형예 6] 유연화장수(스킨로션)

[123] 사이토칼라신 D 3.0 중량%, L-아스코르빈산-2-인산마그네슘염 1.00 중량%, 수용성 콜라겐 (1% 수용액) 1.00 중량%, 시트르산나트륨 0.10 중량%, 시트르산 0.05중량%, 감초 엑기스 0.20 중량%, 1,3-부틸렌글리콜 3.00 중량%, 정제수 잔량을 이용하여 유연화장수(스킨로션)을 제조하였다.

[124]

[125] [제형예 7] 크림

[126] 사이토칼라신 D 3.00중량%, 폴리에틸렌글리콜모노스테아레이트 2.00 중량%, 자기유화형 모노스테아르산글리세린 5.00 중량%, 프로필렌글리콜 4.00 중량%, 스쿠알렌 6.00 중량%, 트리2-에틸헥산글리세릴 6.00 중량%, 스펅고당지질 1.00 중량%, 1,3-부틸렌글리콜 7.00 중량%, 밀랍 5.00 중량%, 정제수 잔량을 사용하여 크림형 제제를 제조하였다.

[127]

[128] [제형예 8] 팩

[129] 사이토칼라신 D 3.00 중량%, 폴리비닐알코올 13.00 중량%, L-아스코르빈산-2-인산마그네슘염 1.00 중량%, 라우로일히드록시프롤린 1.00 중량%, 수용성 콜라겐 (1% 수용액) 2.00 중량%, 1,3-부틸렌글리콜 3.00 중량%, 에탄올 5.00 중량%, 정제수 잔량을 사용하여 팩을 제조하였다.

[130]

[131] [제형예 9] 건강식품

[132] 하기 표에 기재된 조성에 따라 통상적인 방법으로 건강 식품을 제조하였다.

[133] [표1]

성분	함량
사이토칼라신 D	10mg
비타민 혼합물	
비타민 A 아세테이트	70 μ g
비타민 E	1.0 mg
비타민 B1	0.13 mg
비타민 B2	0.15 mg
비타민 B6	0.5 mg
비타민 B12	0.2 μ g
비타민 C	10 mg
비오틴	10 μ g
니코틴산아미드	1.7 mg
엽산	50 μ g
판토텐산 칼슘	0.5 mg
무기질 혼합물	
황산제1철	1.75 mg
산화아연	0.82 mg
탄산마그네슘	25.3 mg
제1인산칼륨	15 mg
제2인산칼슘	55 mg
구연산칼륨	90 mg
탄산칼슘	100 mg
염화마그네슘	24.8 mg

[134] 상기 비타민 및 무기질 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분들
 예로 혼합 조성하였으나, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의
 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 통상의 방법에 따라
 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[135]

[136] [제형예 10] 건강음료

[137] [표2]

성분	함량
사이토칼라신 D	15mg
구연산	1000 mg
올리고당	100 g
매실농축액	2 g
타우린	1 g
정제수	잔량
총 부피	900 ml

[138] 상기 표 2와 같이 총 부피 900ml가 되도록 잔량의 정제수를 첨가하여 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85°C에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2리터 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관하여 건강음료를 제조하였다.

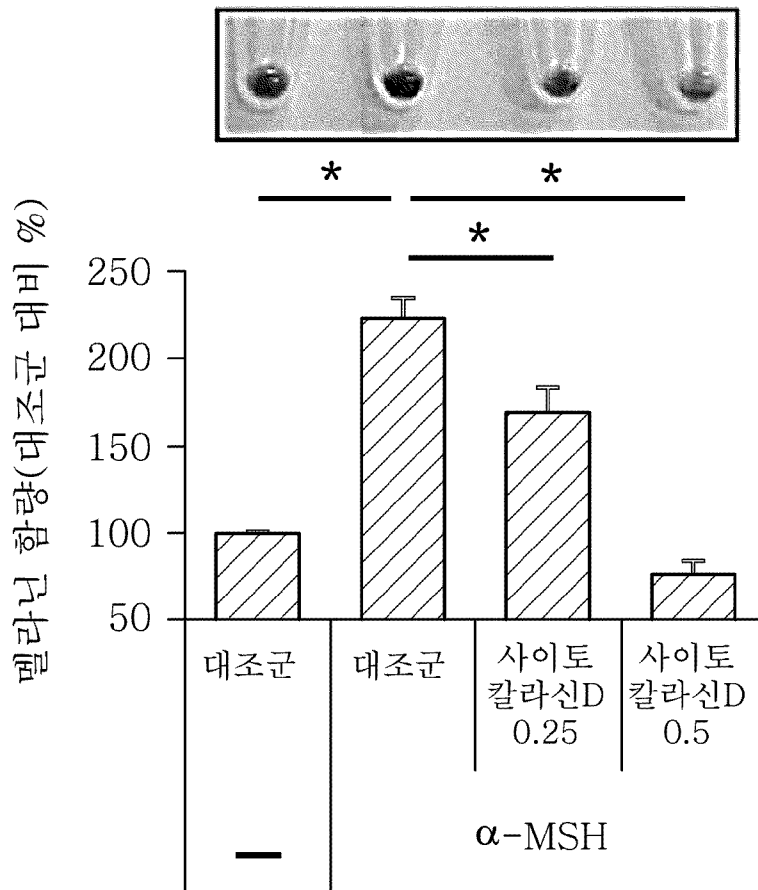
[139]

[140] 이상, 본 발명내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시태양일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의해 정의된다고 할 것이다.

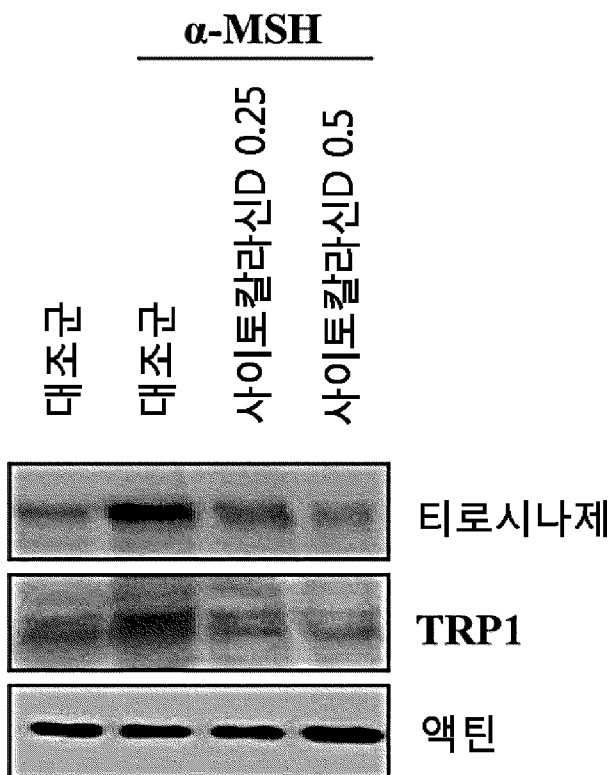
청구범위

- [청구항 1] 사이토칼라신 D(Cytochalasin D), 이의 광학 또는 입체 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 사이토칼라신 D는 곰팡이로부터 유래된 것인, 피부 미백용 조성물.
- [청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 곰팡이는 자이코스포리움 만소니(*Zygosporium mansonii*)인, 피부 미백용 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 사이토칼라신 D는 펠라닌 생성 또는 침착을 억제하는 것인, 피부 미백용 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 사이토칼라신 D는 티로시나제(tyrosinase) 또는 TRP1(Tyrosinase-Related Protein 1)의 발현을 감소시키는 것인, 피부 미백용 조성물.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 사이토칼라신 D는 기미, 주근깨, 흑색점, 모반, 흑색종, 자외선에 의한 색소 침착, 약물에 의한 색소 침착, 염증 후 색소 침착, 및 피부염에서 발생하는 색소 침착으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 예방, 개선 또는 치료하는, 피부 미백용 조성물.
- [청구항 7] 제1항에 있어서, 상기 조성물 내 사이토칼라신 D, 이의 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물의 함량은 상기 조성물 총중량 대비 0.0001 중량% 내지 20 중량%인, 피부 미백용 조성물.
- [청구항 8] 제1항에 있어서, 상기 사이토칼라신 D, 이의 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물의 투여량은 0.0001mg/kg/일 내지 20mg/kg/일인, 피부 미백용 조성물.
- [청구항 9] 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 약학 조성물인 피부 미백용 조성물.
- [청구항 10] 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 화장품 조성물인 피부 미백용 조성물.

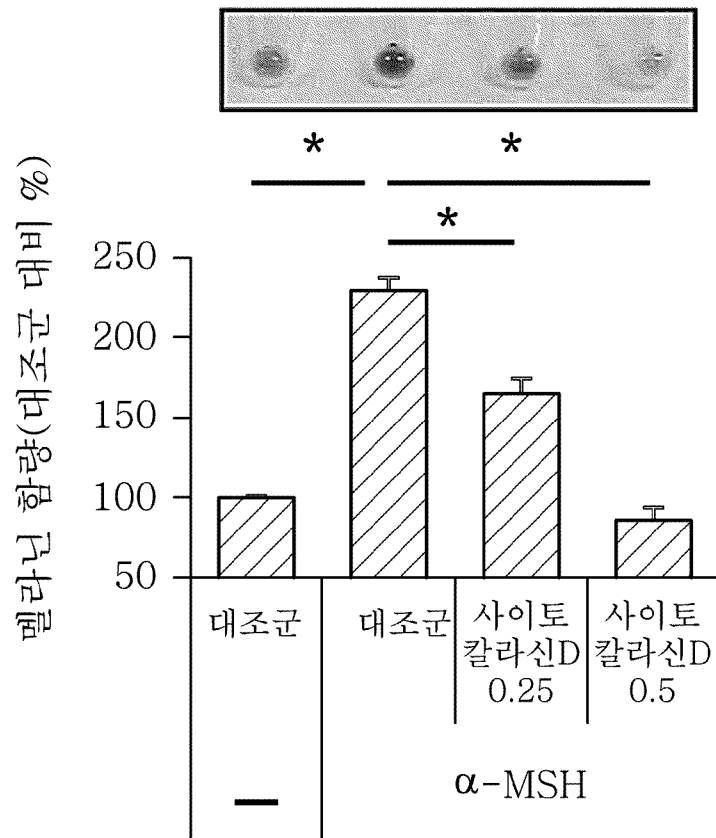
[도 1a]



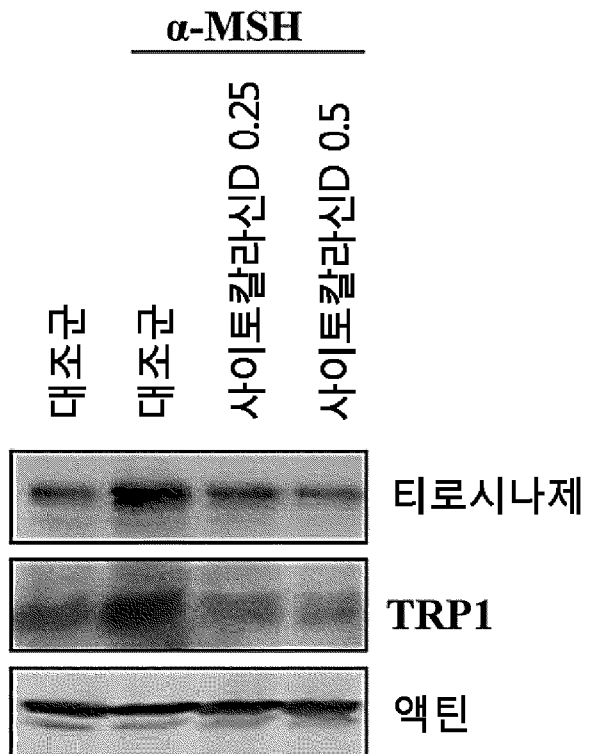
[도 1b]



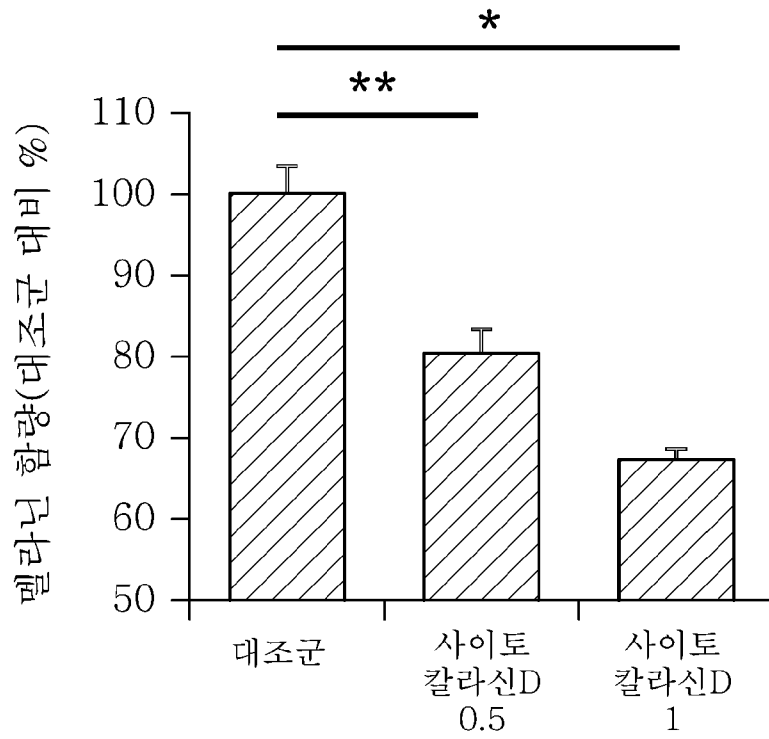
[도2a]



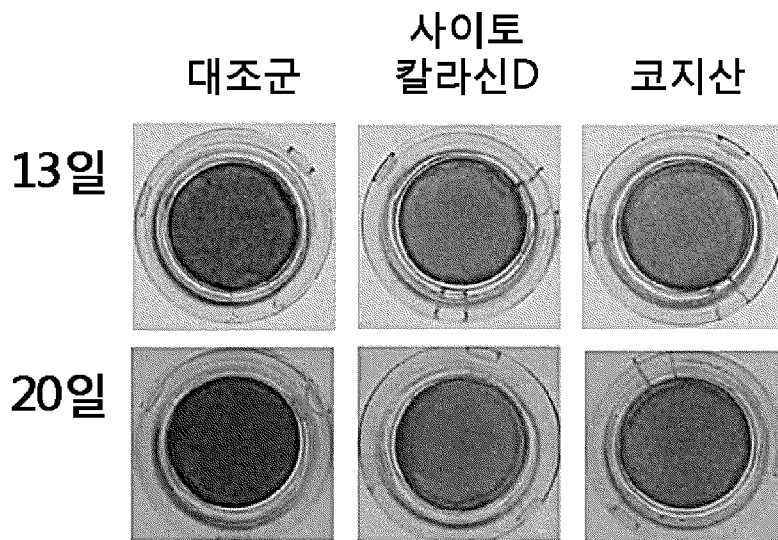
[도2b]



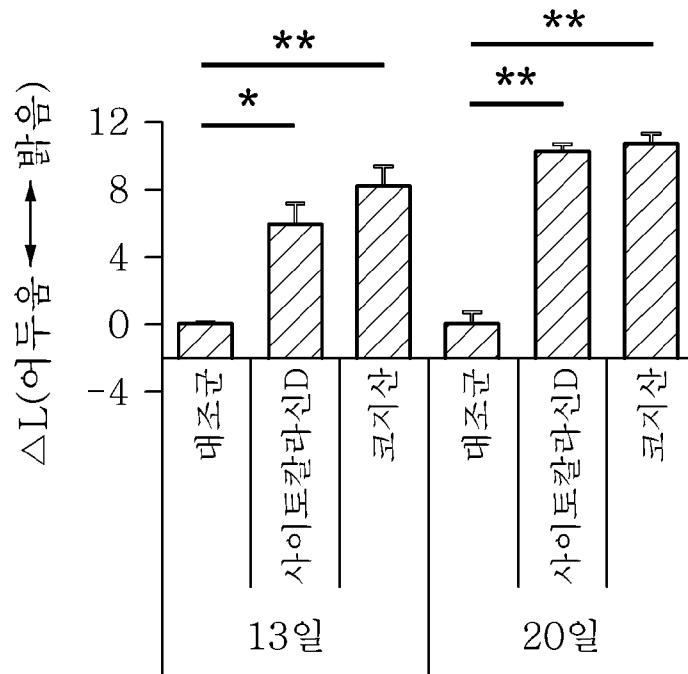
[도3a]



[도3b]



[도3c]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/008544

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/4035(2006.01)i, A61K 36/06(2006.01)i, A61K 8/49(2006.01)i, A61K 8/97(2006.01)i, A61Q 19/02(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 31/4035; A61K 31/337; A61K 31/047; A61K 31/40; A61K 36/06; A61K 8/49; A61K 8/97; A61Q 19/02

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: cytochalasin D, skin whitening, melanin, pigmentation, tyrosinase, TRP1

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2009-069668 A1 (NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION NAGOYA UNIVERSITY) 04 June 2009 See abstract and claims 1, 9, 10.	1-10
A	WINDER, A. J. et al., Induction of Tyrosinase in Human Melanoma Cells by L-tyrosine Phosphate and Cytochalasin D, Experimental Cell Research, 1992, vol. 199, no. 2, pages 248-254 See the entire document.	1-10
A	HUANG, F.-Y. et al., Cytochalasin D, a Tropical Fungal Metabolite, Inhibits CT26 Tumor Growth and Angiogenesis., Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 2012, vol. 5, no. 3, pages 169-174 See the entire document.	1-10
A	HUANG, F.-Y. et al., The Antitumour Activities Induced by Pegylated Liposomal Cytochalasin D in Murine Models., European Journal of Cancer, 2012, vol. 48, no. 14, pages 2260-2269 See the entire document.	1-10
A	WO 93-11763 A1 (USHER, T. C.) 24 June 1993 See the entire document.	1-10



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

14 NOVEMBER 2017 (14.11.2017)

Date of mailing of the international search report

15 NOVEMBER 2017 (15.11.2017)

Name and mailing address of the ISA/KR

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

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2017/008544

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
WO 2009-069668 A1	04/06/2009	JP 5397692 B2	22/01/2014
WO 93-11763 A1	24/06/1993	CA 2057289 A1	10/06/1993
		EP 0616530 A1	28/09/1994

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 31/4035(2006.01)i, A61K 36/06(2006.01)i, A61K 8/49(2006.01)i, A61K 8/97(2006.01)i, A61Q 19/02(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/4035; A61K 31/337; A61K 31/047; A61K 31/40; A61K 36/06; A61K 8/49; A61K 8/97; A61Q 19/02

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: 사이토칼라신 D, 피부 미백, 멜라닌, 색소 침착, 티로시나제, TRP1

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	WO 2009-069668 A1 (NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION NAGOYA UNIVERSITY) 2009.06.04 요약 및 청구항 1, 9, 10 참조.	1-10
A	WINDER, A. J. 등, Induction of tyrosinase in human melanoma cells by L-tyrosine phosphate and cytochalasin D. Experimental Cell Research, 1992, 199권, 2호, 페이지 248-254 전체 문헌 참조.	1-10
A	HUANG, F.-Y. 등, Cytochalasin D, a tropical fungal metabolite, inhibits CT26 tumor growth and angiogenesis. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 2012, 5권, 3호, 페이지 169-174 전체 문헌 참조.	1-10
A	HUANG, F.-Y. 등, The antitumour activities induced by pegylated liposomal cytochalasin D in murine models. European Journal of Cancer, 2012, 48권, 14호, 페이지 2260-2269 전체 문헌 참조.	1-10
A	WO 93-11763 A1 (USHER, T. C.) 1993.06.24 전체 문헌 참조.	1-10

☐ 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

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2017년 11월 14일 (14.11.2017)

국제조사보고서 발송일

2017년 11월 15일 (15.11.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



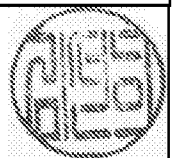
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

김선희

전화번호 +82-42-481-5405



국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

WO 2009-069668 A1

2009/06/04

JP 5397692 B2

2014/01/22

WO 93-11763 A1

1993/06/24

CA 2057289 A1

1993/06/10

EP 0616530 A1

1994/09/28