

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0100062 (43) 공개일자 2014년08월14일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 31/44 (2006.01) A61K 31/4409 (2006.01) A61K 31/095 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)		(71) 출원인 경희대학교 산학협력단 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교)
(21) 출원번호 10-2013-0012822	(22) 출원일자 2013년02월05일 심사청구일자 2013년11월07일	(72) 발명자 황재성 서울 송파구 동남로11길 4, 101동 206호 (가락동, 미릉아파트)
		(74) 대리인 안소영

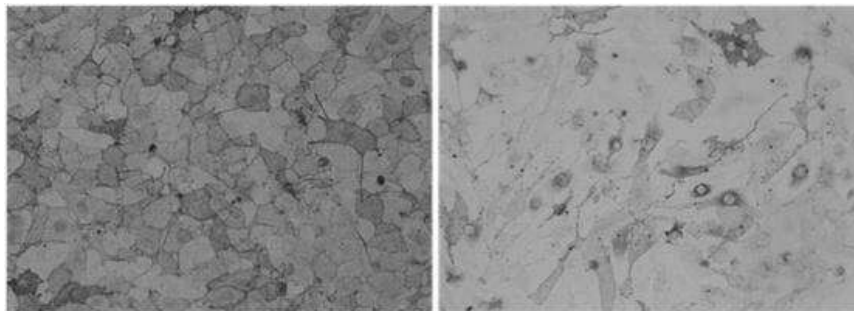
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드를 주성분으로 포함하는 피부 과색소성 질환 치료 또는 피부 미백용 조성물

(57) 요약

본 발명은 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드라는 성분을 유효성분으로 함유한 피부 미백용 조성물 내지 피부 과색소성 질환 예방, 치료 또는 개선용 조성물을 제공한다. 본 발명의 조성물은 멜라닌생성세포 내의 멜라노솜의 운반체인 멜라노필린과 미오신 5a 간의 결합을 억제하여, 멜라닌의 이동을 저해함으로써 우수한 미백효과를 나타내며, 멜라닌의 과다 축적으로 인한 피부 색소성 질환을 예방, 개선 또는 치료 효과를 나타낸다.

대표도 - 도2



대조군

6-[N'-(3,4-Dihydroxy-benzylidene)-hydrazino]-pyridine-3-sulfonic acid diethylamide 처리군

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	A103017
부처명	보건복지부
연구사업명	보건의료연구개발사업
연구과제명	글로벌코스메틱연구개발사업단
기 여 율	1/2
주관기관	(재)대한화장품연구개발사업단
연구기간	2011.11.01 ~ 2012.10.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호	RIC 07-06004
부처명	지식경제부
연구사업명	지역혁신센터사업
연구과제명	피부생명
기 여 율	1/2
주관기관	경희대학교 피부생명공학센터
연구기간	2012.07.01 ~ 2013.02.28

특허청구의 범위

청구항 1

유효성분으로 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드를 함유하는 피부 미백용 외용제 조성물.

청구항 2

유효성분으로 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드를 함유하는 멜라닌의 과다 축적으로 인한 피부 색소성 질환의 개선, 예방 또는 치료용 외용제 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 멜라닌의 과다 축적으로 인한 피부 색소성 질환은 주근깨, 유전성대측성색소이상증, 망상지단 색소침착증, 모반, 기미, 노인성색소반, 백반, 바텐부르크 증후군, 후염증성 백색 비강진, 원인불명 물방울 멜라닌 저하증, 기미, 또는 미노사이클린, 블레오마이신, 부술판, 지도부딘, 및 감염을 통해 전이된 피부 질환 중에서 선택되는 외용제 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드는 조성물 총 중량에 대해 0.001 내지 10 중량% 인 외용제 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 또는 스프레이 제형인 외용제 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 피부 미백용 조성물 또는 피부 과색소성 질환 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 멜라닌생성세포(melanocyte)의 멜라노솜(melanosome)은 자외선에 의한 세포의 파괴를 차단하는 기능을 갖는 멜라닌을 생성하는 세포내 소기관으로서, 각질형성세포로 이 소기관이 전달되어야만 피부에서 자외선에 의한 세포 손상을 최소화 시킬 수 있는 매우 중요한 요소이다.

[0003] 피부의 색을 조절하는 기전으로서, 멜라닌 생성의 화학적 및 효소적 기초에 대한 지식은 잘 알려져 있다. 멜라닌생성세포(melanocyte)는 멜라노솜(melanosome)이라는 소기관 내에서 멜라닌을 합성하고, 이 멜라노솜은 후에 멜라닌생성세포 덴드라이트(dendrites)를 통해 각질형성세포(케라티노사이트, keratinocyte)로 전달된다. 이렇게 각질형성세포로 전달된 멜라닌이 실제로 피부색을 결정하는 중요한 요소가 된다. 멜라노솜을 멜라닌생성세포의 덴드라이트로 이동시키는 데에는 주요 구성체들이 관여한다. 이들은 MTC(Melanosome transport complex)라고 불리며, 멜라노필린(Melanophilin), Rab27a 및 미오신(Myosin) 5a 세가지 단백질로 구성되어 있다. 상기 Rab27a는 멜라노솜의 표면에 결합하여 멜라노솜을 인지하고 이동시키는 운반체역할을 하는 단백질로서, 말단으로 이동하기 위해서는 세포내 세포골격(cytoskeleton)인 미오신 5a 단백질을 만나야 하며, 중간에서 이 두 단백질을 인지하고 연결시키는 어댑터(adapter)역할을 하는 것이 바로 멜라노필린(melanophilin)이라는 단백질이다.

[0004] 이렇게 세 구성체가 만나 복합체(complex)를 이루면, 멜라노솜을 세포 말단으로 정상적으로 이동시키는 것이 가능하고, 궁극에는 각질형성세포로까지 전달이 가능해진다. 만일 이 세가지 구성체 중에 하나라도 이상이 있으면, 멜라닌의 생성에는 아무런 문제를 주지 않으면서도 멜라노솜의 이동에 문제가 생겨서, 결국에는 피부색이 밝아지는 현상이 관찰된다.

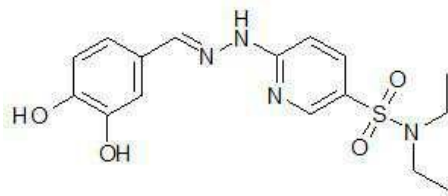
발명의 내용

해결하려는 과제

- [0005] 본 발명은 멜라닌생성세포 내의 멜라노솜의 운반체인 멜라노필린과 미오신5a, 두 단백질간의 결합을 억제하여, 멜라닌의 이동을 저해함으로써 우수한 미백효과를 나타내는 피부 미백용 외용제 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0006] 본 발명자들은 가상신약탐색 방법을 이용하여 멜라노필린 (Melanophilin)과 Rab27a의 결합저해를 통해 멜라노솜의 이동 억제를 위한 물질을 발굴하는 기술을 가지고 있으며, 이를 통해 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드 (6-[N'-(3,4-Dihydroxy-benzylidene)-hydrazino]-pyridine-3-sulfonic acid diethylamide)라는 화합물이 멜라닌생성세포 내에서 멜라노솜의 이동을 담당하는 운반체 단백질간의 결합을 억제함으로써 멜라노솜의 이동을 저해시키며, 이로 인해 멜라닌 합성 기능이 정상임에도 미백효과를 가질 수 있음을 발견하여 본 발명을 완성하였다.
- [0007] 본 발명은 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드라는 성분을 유효성분으로 함유한 피부 미백용 외용제 조성물을 제공한다. 더욱 상세하게는, 본 발명은 유효성분으로 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드를 함유함으로써 멜라닌생성세포 내의 멜라노솜의 운반체인 멜라노필린과 미오신 5a라는 두 단백질간의 결합을 억제하여, 멜라닌의 이동을 저해함으로써 우수한 미백효과를 나타내는 피부 미백용 외용제 조성물을 제공한다.
- [0008] 본 발명의 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드는 하기 화학식 1의 구조를 가진다.



- [0009]
- [0010] 본 발명의 상기 화합물은 멜라닌생성세포내에서 멜라노솜의 이동을 담당하는 운반체 단백질인 멜라노필린과 Rab27a라는 단백질간의 결합을 억제함으로써 멜라노솜의 이동을 저해시켜, 이로 인해 멜라닌 합성 기능이 정상임에도 미백효과를 나타낸다.
- [0011] 본 발명에 의한 피부 미백용 외용제 조성물은 유효성분으로 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드를 조성물 총 중량에 대하여 0.0001~10중량%, 바람직하게는 유효한 효과와 조성물의 안전성 및 제형 안정성을 고려하여 0.001~10중량%로 함유한다. 이는 0.001중량% 미만에서는 그 효과를 기대할 수 없고, 10중량% 초과에서는 조성물 안전성 및 제형 안정성에 어려움이 있기 때문이다.
- [0012] 상기 조성물은 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 또는 스프레이 제형을 가진다.
- [0013] 본 발명은 또한 유효성분으로 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드를 함유하는, 멜라닌의 과다 축적으로 인한 피부 색소성 질환을 예방, 개선 또는 치료하기 위한 약학적 조성물을 제공한다.
- [0014] 멜라닌의 과다 축적으로 인한 피부 색소성 질환은 색소침착증, 예컨대, 주근깨, 유전성대측성색소이상증(遺傳性對側性色素異常症), 망상지단(網狀肢端)색소침착증, 모반(母斑), 예컨대, 편평(扁平)모반, 색소성모반 등과 같은 선천적 색소침착증, 및 기미, 노인성색소반 등과 같은 후천성 색소침착증 및, 유전적 피부 질환, 예를 들어, 백반, 바텐부르그 증후군, 후천적 피부 질환, 예를 들어, 후염증성 백색 비강진, 원인불명 물방울 멜라닌 저하증, 기미, 약물치료에 기인한 피부 질환, 예를 들어, 미노사이클린, 블레오마이신, 부술피판, 지도부딘, 및 감염을 통해 전이된 피부 질환, 예를 들어, 어루러기 등을 포함한다.
- [0015] 본 발명의 약학적 조성물은 유효성분인 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드에 추가로 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함하여

제형화될 수 있으며, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화될 수 있으며, 가장 바람직한 제형은 외용제이다. 제제화에 관한 내용은 Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA 등의 문헌을 참조할 수 있다.

[0016] 본 발명에 따른 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 1일 0.0001 내지 100 mg/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 10 mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0017] 이하, 실시예 및 실험예를 들어 본 발명을 보다 상세히 설명하지만, 본 발명이 이들 예로만 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0018] 본 발명의 유효성분인 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드는 멜라닌생성세포 내의 멜라노솜의 운반체인 멜라노필린과 미오신 5a라는 두 단백질간의 결합을 억제하여, 멜라닌의 이동을 저해함으로써 우수한 미백효과를 나타내며, 멜라닌의 과다 축적으로 인한 피부 색소성 질환을 예방, 개선 또는 치료 효과를 나타낼 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0019] 도 1(a)는 Rab 27a와 멜라노필린의 결합 구조 모델링을 나타낸 도이고, 도 1(b)는 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드의 결합 구조 모델링을 나타낸 도이다.

도 2는 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드에 의한 멜라닌생성세포에서 멜라닌 이동 저해 효과를 확인한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 이하, 본 발명을 실시예 및 시험예를 통하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예 및 시험예는 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예 및 시험예에 한정되는 것은 아니다.

[0021] [실험예 1] 분자 모델링을 이용한 단백질 3차 구조 결정 및 리간드 결정

[0022] 단백질 3차 구조 모델링을 통하여, Rab 27a와 멜라노필린의 결합 구조 모델링하여 도 1(a)에 나타내고, 여기에 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드의 결합을 모델링하여 도 1(b)에 나타내었다.

[0023] [실험예 2] 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드에 의한 멜라노솜 이동 억제 효과 확인

[0024] (1) 멜라닌 생성세포의 배양

[0025] 위의 불멸화된 멜라닌 생성세포인 멜라닌-a(Melan-a) 세포를 10% 우태아혈청(fetal bovine serum)이 포함된 RPMI 1640 배지에서, 3일에 한번씩 배지를 교환하면서 90% 점유율(confluency)을 보일 때까지 10% CO₂ 배양기에서 배양하였다.

[0026] (2) 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드에 의한 멜라닌생성세포에서 멜라닌 이동 저해 확인

[0027] 상기 (1) 단계에서 배양된 멜라닌-a(melan-a) 세포를 0.25% 트립신(Trypsin)-EDTA로 떼어내고, 24-배양용기(well-plate)에 다시 동일한 숫자(1×10^5 cells/well)로 깔은 후에 24시간 동안 배양하였다. 여기에 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드를 3가지 농도로 처리하고, 3일 후에 광학현미경을 통해 세포모양을 관찰하였으며, 결과는 도 2에 나타내었다.

[0028] 도 2에서 보는 바와 같이, 검게 보이는 것이 멜라노솜으로 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드를 처리하지 않은 대조군과 비교하여, 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-

피리딘-3-술폰산 디에틸아미드를 처리한 세포에서는 멜라노솜이 세포 전체적으로 고루 분포하지 못하고, 핵 주변으로 몰려 있음을 확인할 수 있었다.

(3) 정량화

상기 (2) 단계에서 현미경을 통해 관찰한 멜라닌이동이 저해된 세포사진을 동일한 면적하에서 멜라닌이동이 저해된 세포의 숫자를 계수하여 아래 표 1로 나타내었다.

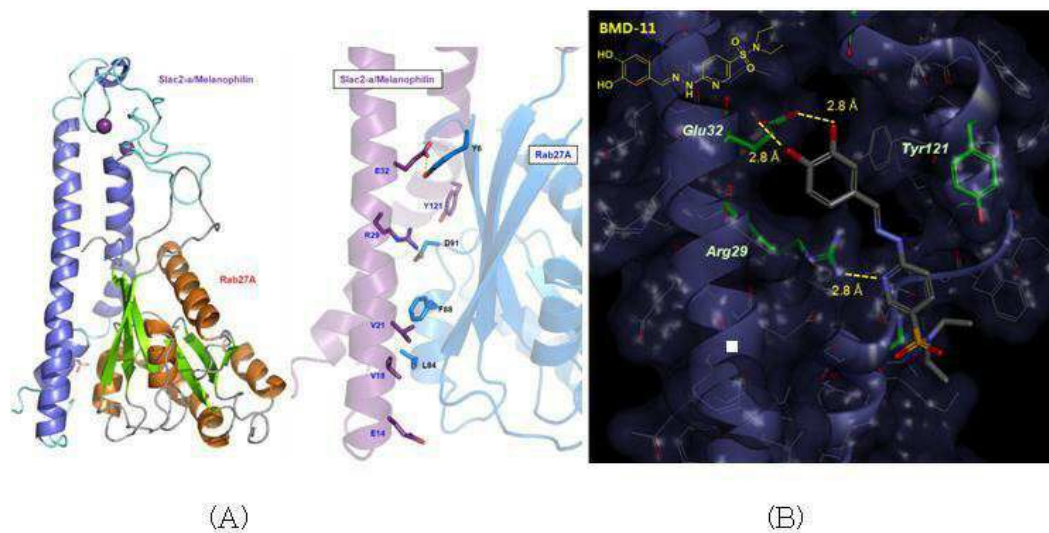
[표 1]

	대조군	6-[N'-(3,4-Dihydroxy-benzylidene)-hydrazino]-pyridine-3-sulfonic acid diethylamide		
		10uM	5uM	1uM
1	0	14	10	2
2	0	15	9	3
3	0	14	7	1
평균	0	14.3	8.7	2.0
표준편차	0	0.6	1.5	1.0

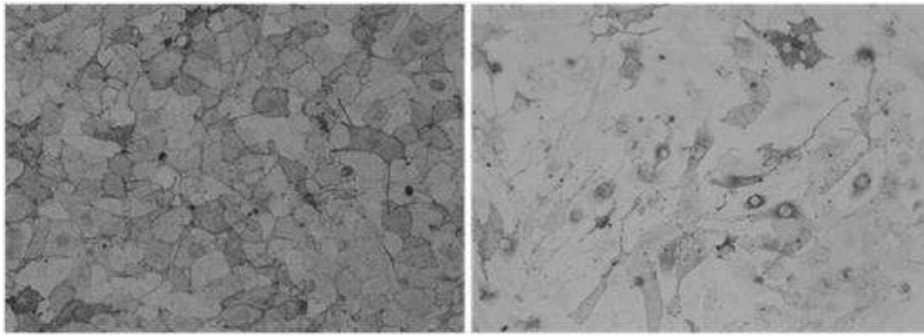
이렇게 정량화된 숫자를 통하여 6-[N'-(3,4-디히드록시-벤질리덴)-히드라지노]-피리딘-3-술폰산 디에틸아미드를 처리한 세포가 대조군에 비해 멜라닌이동이 저해된 숫자가 더 많음을 알수 있었다.

도면

도면1



도면2



대조군

6-[N'-(3,4-Dihydroxy-benzylidene)-hydrazino]-
pyridine-3-sulfonic acid diethylamide 처리군