(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0022439
(43) 공개일자 2018년03월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/381 (2006.01) *A61K 31/4418* (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01) *A61Q 19/02* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/381 (2013.01)
A61K 31/4418 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0107873
(22) 출원일자 2016년08월24일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
(주)아모레퍼시픽
서울특별시 용산구 한강대로 100(한강로2가)
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
최현정
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원
배일홍
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김영철, 김 순 영

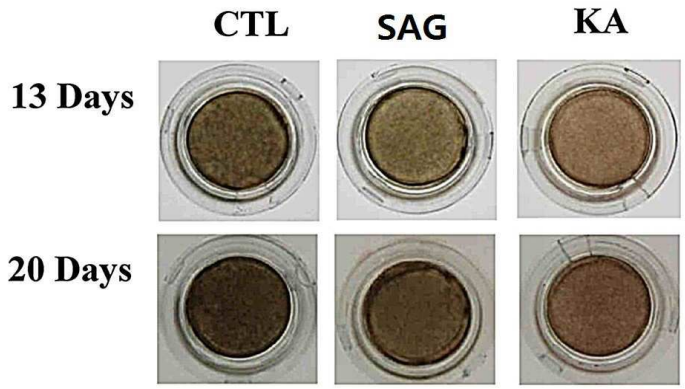
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **3-클로로-N-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-N-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[b]티오펜-2-카복사마이드를 포함하는 피부 미백용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 일측면에서, 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드, 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.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류
A61K 8/4926 (2013.01)
A61K 8/4986 (2013.01)
A61Q 19/02 (2013.01)
(72) 발명자
김형준
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽 기술연구원
이영진
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽 기술연구원
이태룡
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽 기술연구원
조동형
경기도 용인시 기흥구 한보라2로 167, 903동 1403호

명 세 서

청구범위

청구항 1

3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드(3-Chloro-*N*-[*trans*-4-(methylamino)cyclohexyl]-*N*-[[3-(4-pyridinyl)phenyl]methyl]benzo[*b*]thiophene-2-carboxamide), 이의 광학 또는 입체 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드는 멜라닌 생성 또는 침착을 억제하는 것인, 피부 미백용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드는 티로시나제(tyrosinase) 또는 TRP1(Tyrosinase-Related Protein 1)의 발현을 증진시키는 것인, 피부 미백용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드는 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 5

제1항에 있어서, 상기 조성물 내 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드, 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 6

제1항에 있어서, 상기 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드, 이의 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물의 투여량은 0.0001mg/kg/일 내지 20mg/kg/일인, 피부 미백용 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 약학 조성물인 피부 미백용 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 화장료 조성물인 피부 미백용 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 명세서는 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드을 포함하는 피부 미백용 조성물에 관한 것으로서, 구체적으로 멜라닌의 생성 및 침착을 조절하여 피부 미백 효능을 발휘하는 물질을 포함하는 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 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.

[0003] 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.

선행기술문헌

비특허문헌

[0004] (비특허문헌 0001) Bragina Olga et al., Smoothened agonist augments proliferation and survival of neural cells, Neuroscience Letters Vol. 482 No. 2 81p ~ 85p 0304-3940 SCI(E)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 일측면에서, 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드, 이의 광학 또는 입체 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 조성물을 제공하여, 피부 미백 관련 분야의 발전을 도모하고, 피부 미백 관련 소비자의 수요를 충족시키기 위한 목적을 가진다.

과제의 해결 수단

[0006] 본 발명은 일측면에서, 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드, 이의 광학 또는 입체 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 조성물에 관한 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 측면에서, 상기 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드는 멜라닌 생성 및 침착을 억제시키는 것일 수 있다.

[0008] 또한, 본 발명의 다른 측면에서, 상기 조성물은 약학 조성물 또는 화장료 조성물일 수 있다.

발명의 효과

[0009] 본 발명은 일측면에서, 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드, 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

[0010] 도 1는 B16F1 세포에 α-MSH, 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드, 알부틴을 처리한 경우 멜라닌 함량의 변화를 나타낸 것이다.

도 2는 B16F1 세포에 α-MSH, 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드, 알부틴을 처리한 경우 타이로시나제, TRP1의 발현에 미치는 영향을 확인한 것이다.

도 3는 피부 모델에 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티

오펜-2-카복사마이드를 처리한 뒤 밝기 변화를 확인한 것이다.

도 4는 피부 모델에 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드를 처리한 뒤 색도계로 밝기 변화를 평가한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 이하, 본 발명에 대하여 상세히 설명한다.

[0012] 본 명세서에서 "피부"라 함은, 동물의 체표를 덮는 조직을 의미하는 것으로서, 얼굴 또는 바디 등의 체표를 덮는 조직뿐만 아니라, 두피와 모발을 포함하는 최광의의 개념이다.

[0013] 본 명세서에서, "3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드"는 Smo 아고니스트, Smoothened agonist, Smo agonist, 또는 SAG로 표현될 수 있다. 상기 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드는 헷지호그 신호 경로(hedgehog signaling pathway)에서 주요한 역할을 담당하는 Smoothened 단백질의 발현을 유도하는 물질을 포함하는 것일 수 있다.

[0014] 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.

[0015] 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.

[0016] 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.

[0017] 본 명세서에서 "허용 가능한 염"은 통상적 또는 의약학적으로 허용 가능하고 모 화합물(parent compound)의 바람직한 활성을 갖는 본 발명의 일측면에 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, 뮤콘산과 같은 유기산으로 형성되는 산 부가염(acid addition salt); 또는 (2) 모 화합물에 존재하는 산성 프로톤이 치환될 때 형성되는 염을 포함할 수 있다.

[0018] 본 명세서에서 "수화물(hydrate)"은 물이 결합되어 있는 화합물을 의미하며, 물과 화합물 사이에 화학적인 결합력이 없는 내포 화합물을 포함하는 광범위한 개념이다.

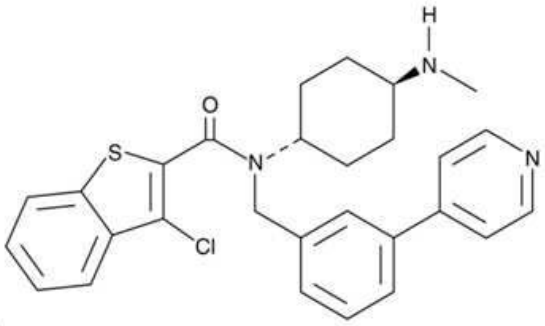
[0019] 본 명세서에서 "용매화물"은 용질의 분자나 이온과 용매의 분자나 이온 사이에 생긴 고차의 화합물을 의미한다.

[0021] 본 발명은 일측면에서, 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드, 이의 광학 또는 입체 이성질체, 이의 허용가능한 염, 이의 수화물, 또는 이의 용매화물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 조성물을 제공한다.

[0022] 일 구현 예로서, 상기 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드(3-Chloro-*N*-[*trans*-4-(methylamino)cyclohexyl]-*N*-[[3-(4-

pyridinyl)phenyl]methyl]benzo[*b*]thiophene-2-carboxamide)는 클로로벤조티오펜계 화합물로서, $C_{28}H_{28}ClN_3OS$ 를 포함하는 것일 수 있으며, 하기 화학식으로 나타나는 것일 수 있다.

[0023] [화학식 1]



[0024]

[0025] 다른 구현 예로서, 상기 화합물은 합성을 통해 얻은 것일 수도 있고, 다른 물질을 가공하여 얻을 수도 있으며, 생물체나 미생물 등으로부터 유래된 것일 수도 있다.

[0026] 다른 구현 예로서, 상기 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드 는 멜라닌 생성 또는 침착을 억제하는 것일 수 있다.

[0027] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드는 티로시나제(tyrosinase) 또는 TRP1(Tyrosinase-Related Protein 1)의 발현을 증진시키는 것일 수 있다. 상기 화합물 처리 후 티로시나제 또는 TRP1의 발현이 상기 화합물 처리 전보다 적어지므로, 이를 통해 상기 화합물을 피부 미백용 조성물의 유효성분으로 사용할 수 있음을 알 수 있다. 또한, 상기 화합물을 처리할 경우 티로시나제 또는 TRP1이 발현된 세포수를 감소시키기도 하는데, 이를 통해서도 상기 화합물을 피부 미백용 조성물의 유효성분으로 사용할 수 있음을 알 수 있다.

[0028] 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 흑생종(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.

[0029] 본 발명의 일 구현 예로서, 상기 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드는 멜라닌 생성 및 축적을 억제하므로, 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.

[0030] 본 발명은 일측면에서, 멜라닌 형성 세포에 멜라닌 형성을 유도하는 물질을 처리하여 멜라닌을 형성하는 과정이 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드에 의해 억제됨을 확인하였다.

[0031] 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드를 피부 미백용 물질로 사용할 수 있음을 알아낸 것이다. 이러한 3-클로로-

N-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드의 효능을 이용하여 멜라닌과 관계되는 상기 질환이나 증상에 대하여 예방, 개선, 및 치료 등을 도모할 수도 있다.

[0032] 본 발명의 또 다른 측면에 의하면, 상기 조성물 내 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드, 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 총 중량 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.

[0033] 본 발명의 또 다른 측면에 의하면, 상기 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드, 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.

[0034] 본 발명의 일 측면에 의하면, 상기 조성물은 약학 조성물인 피부 미백용 조성물일 수 있다.

[0035] 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.

[0036] 상기 경구 투여제는 예를 들면, 정제, 환제, 경질 및 연질 캅셀제, 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 폴리비닐피롤리딘과 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.

[0037] 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.

[0038] 상기 약학 조성물은 비경구, 직장, 국소, 경피, 피하 등으로 투여될 수 있다.

[0039] 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.

[0040] 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.

[0041] 본 발명의 또 다른 측면에 의하면, 상기 조성물은 화장료 조성물인 피부 미백용 조성물일 수 있다.

[0042] 상기 화장료 조성물에는 기능성 첨가물 및 일반적인 화장료 조성물에 포함되는 성분이 추가로 포함될 수 있다. 상기 기능성 첨가물로는 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스핑고 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 방

지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있다.

[0043] 상기 화장료 조성물은 제형이 특별히 한정되지 않으며, 목적하는 바에 따라 적절히 선택할 수 있다. 예를 들어, 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스쳐 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.

[0044] 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.

[0045] 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 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0046] 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.

[0047] 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.

[0048] 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 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0050] 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.

[0052] [실시예 1]

[0054] 세포 및 피부 모델 준비

[0055] 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.

[0056] 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) 우태아혈정, 1%(v/v) 페니실린-스트렙토마이신, 및 0.2 μM phorbol 12-myristate 13-acetate 하에서 유지시켰다. B16F1 마우스 흑색종 세포주는 10% (v/v) 우태아혈청 및 1% (v/v) 페니실린-스트렙토마이신을 첨가한 DMEM에서 배양하였다.

[0057] 3차원 인간 피부 대체재(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.

[0058] 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, ΔL = 13일차 또는 20일차의 L (처치 피부) - L (대조군 피부) 로 계산하였다. ΔL 지수의 증가는 피부에서 화합물 유도에 의한 색소의 과소침착을 나타낸다(Lee et al., 2013).

[0060] 시약

[0061] 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드인 "SAG"는 Calbiochem (San Diego, CA, USA)에서 입수하였다. α-MSH, 알부틴(arbutin), 및 코지산(kojic acid)은 Sigma-Aldrich사 (St. Louis, MO, USA)에서 입수하였다.

[0063] 멜라닌 에세이

[0064] 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.

[0066] 웨스턴 블럿 분석

[0067] 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.

[0068] 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-컨쥬게이티드 이차 항체를 이용하여 배양하였고, 신호는 SuperSignal® West Dura HRP Detection Kit (Pierce사, Rockford, IL, USA)를 이용하여 측정하였다.

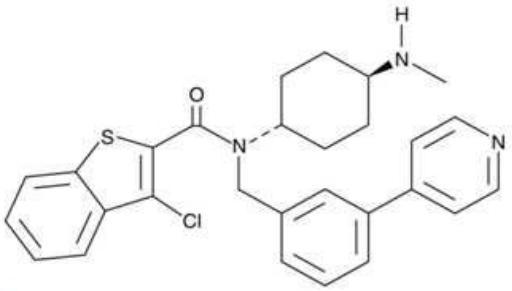
[0070] 통계 분석

[0071] 각 데이터는 적어도 3회의 독립적인 실험을 거쳐서 얻었고, 평균±SE(표준오차)로 나타내었다. 결과의 통계적 평가는 일원분산분석(1-way ANOVA)를 이용하여 수행하였다(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

[0073] [실험예 1] 멜라닌 형성 조절

[0074] 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드는 하기 화학식 1로 나타나는 물질이다.

[0075] [화학식 1]



[0076]

[0077] B16F1세포를 α-MSH(1μM)로 사전처리하고 24시간 후 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드 (5 μM) 또는 알부틴(arbutin, 500 μM)을 처리하였다. 24시간 뒤 세포 멜라닌 함량과 타이로시나제, TRP1 단백질의 발현 수준을 웨스턴블럿으로 분석하였다. 그 결과, 상기 화합물은 α-MSH를 처리하여 배양한 B16F1세포에서 멜라닌 생성을 억제시켰다(도 1). 상기 화합물에 의해 타이로시나제, TRP1 단백질의 발현 수준도 감소하였다(도 2).

[0079] [실험예2] 인공 피부 실험

[0080] 3차원 인간 피부 대체재(정상 인간 표피 각질세포 및 NHEMs를 포함하는 재구성 표피 모델)를 이용하여 멜라닌 생성의 조절을 실험하였다.

[0081] 구체적으로, 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드 (5μM), 코지산(kojic acid, KA, 5mM)를 3차원 인간 피부 대체재에 3일에 한번씩 13일 간 및 20일 간 투여하고 색소침착에 미치는 영향을 평가하였다. 색소침착은 색도계(colorimeter)로 평가하였고 도 4에서 ΔL는 대조군과 물질 처리군 간의 밝기 차이를 계산한 값이다.

[0082] 그 결과, 상기 화합물에 의해 피부 색소침착이 감소하였다(도 3 및 도 4). 이를 통해, 상기 화합물이 3차원 인간 피부 대체재에서도 멜라닌 형성을 조절하고 색소침착을 조절함을 확인하였다.

[0084] 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.

[0086] [제형예 1] 연질캅셀제

[0087] 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드 20mg, L-카르니틴 80~140mg, 대두유 180mg, 팜유 2mg, 식물성 경화유 8mg, 황납 4mg 및 레시틴 6mg을 혼합하고, 통상의 방법에 따라 1캡슐에 충진하여 연질캅셀제를 제조하였다.

[0089] [제형예 2] 정제

[0090] 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드 20mg, 갈락토올리고당 200mg, 유당 60mg 및 맥아당 140mg을 혼합하고 유동층 건조기를 이용하여 과립한 후 당에스테르(sugar ester)를 6mg을 첨가하여 타정기로 타정하여 정제를 제조하였다.

[0092] [제형예 3] 과립제

[0093] 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드 20mg, 무수결정 포도당 250mg 및 전분 550mg을 혼합하고, 유동층 과립기를 사용하여 과립으로 성형한 후 포에 충진하여 과립제를 제조하였다.

[0095] [제형예 4] 드링크제

[0096] 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드 20mg, 포도당 10g, 구연산 0.6g, 및 액상 올리고당 25g을 혼합한 후 정제수 300ml를 가하여 각 병에 200ml씩 충진한다. 병에 충진한 후 130℃ 에서 4~5 초간 살균하여 드링크제를 제조하였다.

[0098] [제형예 5] 주사제

[0099] 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드 50mg, 주사용 멸균증류수 적량, pH조절제 적량을 이용하여 통상적인 방법으로 주사제를 제조하였다.

[0101] [제형예 6] 유연화장수(스킨로션)

[0102] 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드 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.

[0104] [제형예 7] 크림

[0105] 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드 3.00중량%, 폴리에틸렌글리콜모노스테아레이트 2.00 중량%, 자기유화형 모노스테아르산글리세린 5.00 중량%, 프로필렌글리콜 4.00 중량%, 스쿠알렌 6.00 중량%, 트리2-에틸헥산글리세릴 6.00 중량%, 스핑고당지질 1.00 중량%, 1,3-부틸렌글리콜 7.00 중량%, 밀랍 5.00 중량%, 정제수 잔량을 사용하여 크림형 제제를 제조하였다.

[0107] [제형예 8] 팩

[0108] 3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드 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.

[0110] [제형예 9] 건강식품

[0111] 하기 표에 기재된 조성에 따라 통상적인 방법으로 건강 식품을 제조하였다.

표 1

[0112]

성분	함량
3-클로로-N-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-N-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[b]티오펜-2-카복사마이드	10mg
비타민 혼합물	
비타민 A 아세테이트	70 μg
비타민 E	1.0 mg
비타민 B1	0.13 mg
비타민 B2	0.15 mg
비타민 B6	0.5 mg
비타민 B12	0.2 μg
비타민 C	10 mg
비오틴	10 μg
니코틴산아미드	1.7 mg

엽산	50 ㎍
판토텐산 칼슘	0.5 ㎎
무기질 혼합물	
황산제1철	1.75 ㎎
산화아연	0.82 ㎎
탄산마그네슘	25.3 ㎎
제1인산칼륨	15 ㎎
제2인산칼슘	55 ㎎
구연산칼륨	90 ㎎
탄산칼슘	100 ㎎
염화마그네슘	24.8 ㎎

[0113] 상기 비타민 및 무기질 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 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.

[0115] [제형예 10] 건강음료

[0116] 하기 표에 기재된 조성에 따라 통상적인 방법으로 건강 식품을 제조하였다.

표 2

[0117]

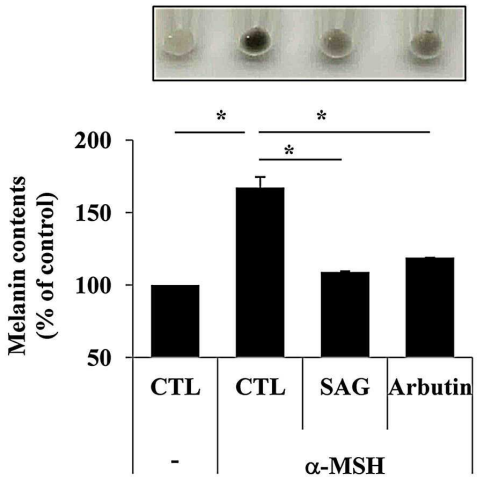
성분	함량
3-클로로-*N*-[트랜스-4-(메틸아미노)사이클로헥실]-*N*-[[3-(4-피리디닐)페닐]메틸]벤조[*b*]티오펜-2-카복사마이드	15㎎
구연산	1000 ㎎
올리고당	100 g
매실농축액	2 g
타우린	1 g
정제수	잔량
총 부피	900 ㎖

[0119] 상기 표 2와 같이 총 부피 900㎖가 되도록 잔량의 정제수를 첨가하여 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2리터 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관하여 건강음료를 제조하였다.

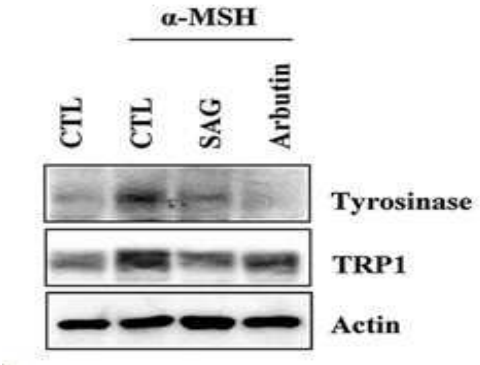
[0121] 이상, 본 발명내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시태양일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의해 정의된다고 할 것이다.

도면

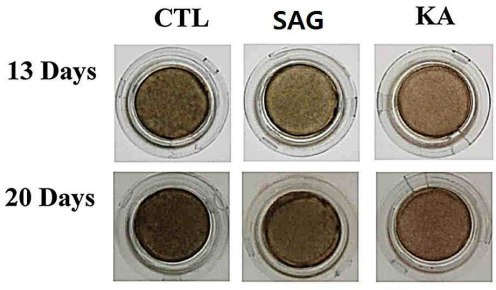
도면1



도면2



도면3



도면4

