(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2025 년 5 월 1 일 (01.05.2025)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2025/089843 A1

(51) 국제특허분류:
A61K 31/405 (2006.01) *A61Q 19/02* (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01) *C12P 17/10* (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2024/016330

(22) 국제출원일: 2024 년 10 월 24 일 (24.10.2024)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2023-0144149 2023 년 10 월 25 일 (25.10.2023) KR

(71) 출원인: 이화여자대학교 산학협력단 (**EWHA UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION**) [KR/KR]; 03760 서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (KR).

(72) 발명자: 남상집 (**NAM, Sang-Jip**); 14247 경기도 광명시 하안로 320, 1012동 706호 (KR). 임경민 (**LIM, Kyung-Min**); 18444 경기도 화성시 메타폴리스로 6, 312동 801호 (KR).

(74) 대리인: 김경교 등 (**KIM, Kyeongkyo** et al.); 06194 서울특별시 강남구 테헤란로70길 13, 2층 (KR).

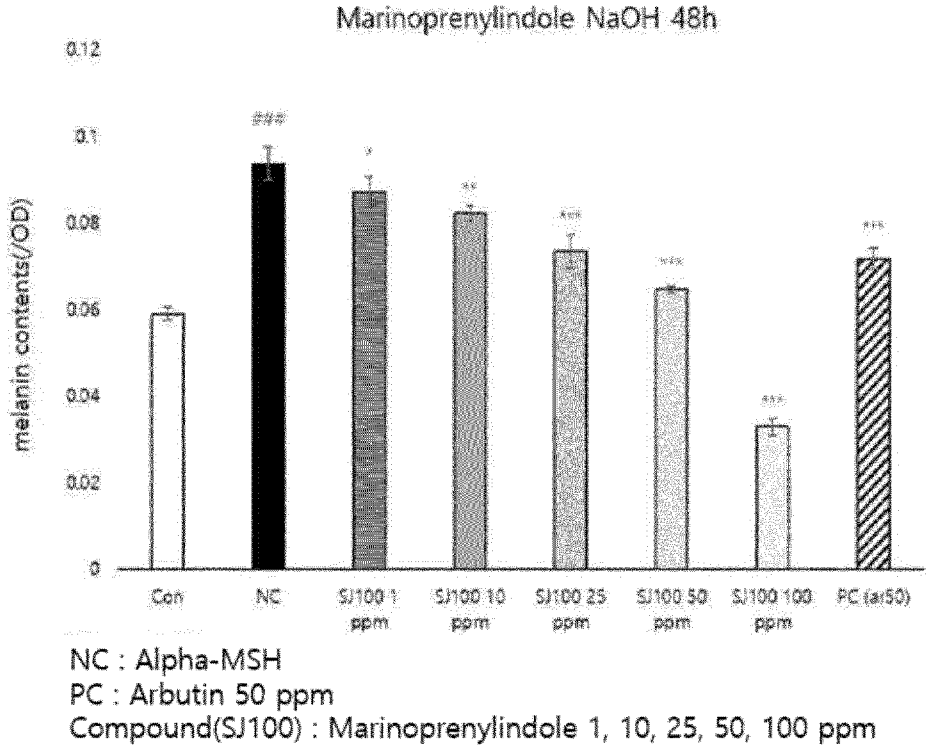
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ,

WO 2025/089843 A1

(54) **Title:** COMPOSITION FOR SKIN WHITENING AND METHOD FOR PREPARING SAME

(54) **발명의 명칭:** 피부 미백용 조성물 및 이의 제조방법



(57) **Abstract:** The present invention relates to a composition for skin whitening and a method for preparing same and, to a composition for skin whitening and a method for preparing same, in which a compound having a specific molecular structure and derived from a culture of Streptomyces sp. strains is used to inhibit the melanin production of melanoma cells and improve skin whitening effects.

(57) **요약서:** 본 발명은 피부 미백용 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 특정한 분자구조를 갖는 화합물 및 상기 화합물을 스트렙토마이세스 속 균주의 배양물로부터 유래된 것을 사용함으로써, 멜라노마 세포의 멜라닌 생성을 저해하고, 피부 미백효과를 향상시키는 피부 미백용 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

[다음 쪽 계속]

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, ME, 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).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 명세서와 별도로 규칙 13의2에 의하여 제출한 기탁된 생물학적 물질에 관한 표시와 함께 (규칙 13의2.4(d)(i) 및 48.2(a)(viii))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

발명의 설명

발명의 명칭: 피부 미백용 조성물 및 이의 제조방법

기술분야

[1] 본 발명은 신규 화학식 1의 화합물 및 이의 용도에 관한 것으로, 특정한 분자구조를 갖는 화합물 및 상기 화합물을 스트렙토마이세스 속 균주의 배양물로부터 유래된 것을 사용한다. 이를 통해 멜라노마 세포의 멜라닌 생성을 저해하고, 피부 미백효과를 향상시키는 피부 미백용 조성물로 우수한 효과를 나타낼 수 있다.

배경기술

[2] 사람의 피부색을 결정하고 기미, 잡티들이 생성되는 현상에는 여러 요인들이 관여하는데, 멜라닌 색소를 만드는 멜라노사이트(melanocyte)의 활동성, 혈관의 분포, 피부의 두께, 카로티노이드, 빌리루빈 등 여러 인자들이 복합적으로 관여되어 있다. 이 중에서도 가장 중요한 인자는 인체 내의 멜라노사이트에서 여러 효소들이 작용하여 생성되게 되는 멜라닌 색소다. 이 멜라닌 색소의 형성에는 유전적 요인, 호르몬 분비, 스트레스, 자외선 등과 같은 생리적 요인 및 환경적 요인 등이 영향을 미친다고 알려져 있다.

[3] 사람의 피부색을 결정하는 멜라닌(melanin)은 멜라노사이트(melanocyte)에서 생성이 되는데 이 멜라노사이트에는 티로시나제 등의 효소가 존재하며, 이들이 함께 작용하여, 생체 내에 항상 존재하는 티로신(tyrosine)이라는 아미노산을 기질로 중합화 산화반응을 함으로 흑갈색의 색소인 멜라닌을 형성하게 된다. 이렇게 형성된 멜라닌은 멜라노사이트의 수지상 돌기를 통하여 케라티노사이트(keratinocyte)라는 표피 세포로 이동한다. 여기서 멜라닌은 핵 주변에 모자와 같은 구조를 형성하여 자외선으로부터 유전자를 보호하고 자유 라디칼(free radical)을 제거하여 세포 내 단백질을 보호하는 등 중요한 역할을 하게 된다. 생체 내에는 멜라닌을 분해하는 효소가 없고 다만 케라티노사이트가 노화되어 제 기능을 다하고 표피에서 떨어져나갈 때 케라티노사이트와 함께 피부로부터 제거된다. 하지만 멜라닌이 필요 이상으로 과다하게 생성되면 기미나 주근깨, 점 등과 같은 과색소침착증을 유발한다. 이에 따라 멜라닌의 과도한 생성을 막아 피부에서 색소 침착을 억제하기 위한 미백제에 대한 연구가 이루어졌으며, 코직산(kojic acid), 알부틴(arbutin) 등과 같은 티로시나제 활성을 저해하는 억제제들, 하이드로퀴논(hydroquinone), 비타민 A등을 비롯하여 대표적인 항산화제인 비타민 C 및 이들의 유도체 등이 보고되었다.

[4] 그러나 상기와 같은 기존의 미백 물질들은 그 효능이 약하거나 세포 독성 등을 동반하는 경우가 많아 안전하고 미백 효능이 높은 천연물을 발굴하고자 하는 노력이 계속되고 있다.

발명의 내용

기술적 과제

[5] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 제주도 이끼뿌리 해양퇴적토에서 분리된 미생물로부터 유래된 2-(6-(3-메틸부트-2-엔-1-일)-1H-인돌-3-일)아세트산 {2-(6-(3-methylbut-2-en-1-yl)-1*H*-indol-3-yl)acetic acid}을 유효성분으로 하여 독성이 낮으며 탁월한 미백 효과를 나타내어, 피부 색소 침착의 예방 또는 치료용 약학 조성물이나 피부 색소 침착의 예방, 개선, 또는 완화용 화장료 조성물로 사용할 수 있는 피부 미백용 조성물 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.

[6] 다만, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 상기 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 하기의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

[7] 본 발명의 하나의 목적은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 것이다.

[8] 본 발명의 또 다른 목적은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 화장품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 피부 미백용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[9] 본 발명의 또 다른 목적은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 피부 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[10] 본 발명의 또 다른 목적은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 피부 색소 침착 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[11] 본 발명의 또 다른 목적은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 화장품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 피부 미백용 화장료 조성물의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

[12] 본 명세서에 있어서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함" 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[13] 본 명세서에 있어서, "A 및/또는 B"는 "A 및 B, 또는 A 또는 B"를 의미한다.

[14] 본 명세서에 있어서, "2-(6-(3-메틸부트-2-엔-1-일)-1H-인돌-3-일)아세트산"은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 의미하는 것일 수 있다.

[15] 본 명세서에 있어서 "피부 미백"은 기미, 주근깨, 검버섯 및 잡티 등의 예방 또는 개선하는 것일 수 있으며, 피부에서의 색소침착을 예방 또는 개선, 치료하는 모든 활성을 포함하는 것을 의미하는 것일 수 있다.

[16] 본 명세서에 첨부된 도면은 발명의 바람직한 실시양태를 예시하는 것이며, 발명의 설명과 함께 본 발명의 원리를 설명하는 것으로, 발명의 범위가 이에 국한되는 것은 아니다. 한편, 본 명세서에 수록된 도면에서의 요소의 형상, 크기, 축척 또는 비율 등은 보다 명확한 설명을 강조하기 위해서 과장될 수 있다.

[17] 또한, 하기에서는 중복되는 내용의 혼잡을 방지하기 위하여, 중복되는 내용의 기재를 생략하고자 하였다. 즉, 하기의 내용만으로 발명의 내용이 한정되는 것은 아니고, 전체적인 발명의 내용에 따라 발명의 내용이 해석되어야 할 것이다.

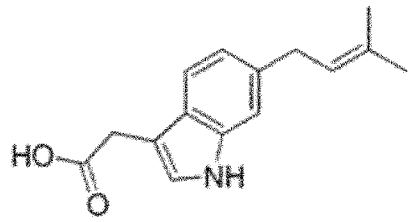
[18] 이하, 본 발명에 대하여 더욱 상세하게 설명한다.

[19] 본 발명자들은 효과적인 멜라닌 합성 저해 효과를 나타내는 물질을 발굴하고자 예의 노력하였고, 그 결과, 이끼뿌리 해양퇴적토에서 분리한 미생물 중 해양 방선균(Marine Streptomyces, APA-053)로부터 2-(6-(3-메틸부트-2-엔-1-일)-1H-인돌-3-일)아세트산을 생산해내었으며, 이러한 2-(6-(3-메틸부트-2-엔-1-일)-1H-인돌-3-일)아세트산이 멜라닌 합성을 효과적으로 저해할 수 있음을 발견하고 본 발명을 완성하였다.

[20] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[21] [화학식 1]

[22]



[23] 본 발명에 따른 상기 화합물은 2-(6-(3-메틸부트-2-엔-1-일)-1H-인돌-3-일)아세트산 {2-(6-(3-methylbut-2-en-1-yl)-1H-indol-3-yl)acetic acid}이다.

[24] 본 발명에서 "약학적으로 허용 가능한 염"은 의약업계에서 통상적으로 사용되는 염을 의미하며, 예를 들어 칼슘, 포타슘, 소듐 및 마그네슘 등으로 제조된 무기이온염; 염산, 질산, 인산, 브롬산, 요오드산, 과염소산 및 황산 등으로 제조된 무기산염; 아세트산, 트라이플루오로아세트산, 시트르산, 말레인산, 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만데르산, 프로피온산, 젖산, 글리콜산, 글루콘산, 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산, 글루쿠론산, 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 하이드로 아이오딕산 등으로 제조된 유기산염; 메탄설폰산, 에탄설폰산, 벤젠설폰산, p-톨루엔설폰산 및 나프탈렌설폰산 등으로 제조된 설폰산염; 글리신, 아르기닌, 라이신 등으로 제조된 아미노산염; 및 트리메틸아민, 트라이에틸아민, 암모니아, 피리딘, 피콜린 등으로 제조된 아민염 등이 있으나, 열거된 이들 염에 의해 본 발명에서 의미하는 염의 종류가 한정되는 것은 아니다. 이러한 약학적으로 허용가능한 염은 화장품학적 또는 식품학적으로도 허용 가능한 염일 수 있다.

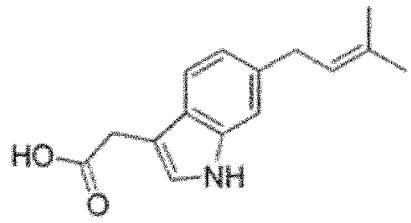
[25] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 피부 미백용 조성물이다.

[26] 보다 구체적으로, 피부 미백용 화장료 조성물, 피부 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물, 또는 피부 색소 침착 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것일 수 있다.

[27] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 화장품학적, 약학적, 또는 식품학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물, 이성질체 또는 유도체; 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 형태로 포함될 수 있다.

[28] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 화장품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 피부 미백용 화장료 조성물을 제공한다.

[29] [화학식 1]

[30] 

[31] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 스트렙토마이세스 속 균주의 배양물로부터 유래된 것일 수 있다. 또한, 화학적 합성에 의해 제조될 수도 있다.

[32] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주(기탁번호: KCTC15538BP)로부터 유래된 것일 수 있다.

[33] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주의 추출물 또는 분획물인 것일 수 있다.

[34] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 멜라노마 세포의 멜라닌 생성을 저해하는 것일 수 있다.

[35] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 피부 미백용 화장료 조성물은 용액, 연고, 외용연고, 크림, 에센스, 폼, 화장수, 영양화장수, 유연수, 유연화장수, 팩, 유액, 메이크업베이스, 비누, 세정료, 입욕제, 선크림, 선오일, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제 함유 클린싱, 오일, 파운데이션, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 패치 및 스프레이로 이루어진 군에서 선택되는 제형을 가지는 것일 수 있다.

[36] 본 발명의 일 실시양태에 따른 피부 미백용 화장료 조성물은 천연물 유래이므로 안전한 물질이며, 멜라닌 생성을 효과적으로 억제함으로써 피부의 색소침착을 예방, 치료 또는 개선할 수 있어 미백용 약학적 제제 또는 화장품 개발을 위한 조성물의 제조에 유용하게 이용될 수 있다.

[37] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 피부 미백용 화장료 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 염, 특히 화장품학적으로 허용 가능한 염의 형태로 포함할 수 있다. 상기 염으로는 당업계에서 통상적으로 사용되는 염을 제한없이 사용할 수 있다.

[38] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 피부 미백용 화장료 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 염을 총 중량에 대하여 0.0025 중량% 이상 0.0100 중량% 이하로 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로 상기 피부 미백용 화장료 조성물이 제품화되는 형태, 상기 화합물이 피부에 적용되는 방법 및 피부에 머무르는 시간 등에 따라 조절할 수 있으며, 피부의 과다 색소 침착에 따른 피부 과적 치료를 위한 의약품으로 제품화되는 경우, 일상적으로 피부에 적용하게 되는 화장품으로 제품화되는 경우에 비해 높은 농도로 상기 화합물을 포함할 수 있다.

[39] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 화합물은 스트렙토마이세스 속 균주의 배양물로부터 유래된 것일 수 있다. 구체적으로 상기 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 생산할 수 있는 능력을 갖고 있으므로 상기 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주의 배양물을 분리 및/또는 정제하여 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 수득할 수 있다.

[40] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 스트렙토마이세스 속 균주는 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주(기탁번호: KCTC15538BP)로부터 유래된 것일 수 있다. 구체적으로 상기 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주(기탁번호: KCTC15538BP)는 2-(6-(3-메틸부트-2-엔-1-일)-1H-인돌-3-일)아세트산을 생성할 수 있는 균주에 해당하며, 본 발명자에 의하여 최초로 2-(6-(3-메틸부트-2-엔-1-일)-1H-인돌-3-일)아세트산을 생성할 수 있는 능력이 있음이 확인된 균주에 해당한다.

[41] 본 발명에 따른 균주를 16S rRNA 염기서열을 통해 분석한 결과, 서열번호 6의 16S rRNA 염기서열을 가지는 새로운 유전학적 성질의 균주로 동정할 수 있었고, 상기 균주를 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주로 명명하였으며, 2023년 08월 04일자로 KCTC(Korean Collection for Type Cultures, 전라북도 정읍시 입신길 181 Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology(KRIBB)에 기탁하여 KCTC15538BP를 부여받았다.

[42] 본 발명에서 선별한 균주는 상기 피부 미백용 화장료 조성물에 포함되는 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는데 사용될 수 있다.

[43] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주의 추출물 또는 분획물인 것일 수 있다. 구체적으로 상기 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 생산할 수 있는 능력을 갖고 있으므로 상기 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주의 추출물 및/또는 분획물을 분리 및/또는 정제하여 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 수득할 수 있다.

[44] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물이 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주의 추출물 또는 분획물인 경우 총 중량에 대하여 0.0010 중량% 이상 50 중량% 이하로 포함하는 것일 수 있다. 구체적

으로 상기 화학식 1로 표시되는 화합물이 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주의 추출물 또는 분획물인 경우 총 중량에 대하여 0.0100 중량% 이상 30 중량% 이하, 0.1000 중량% 이상 10 중량% 이하 또는 1 중량% 이상 5 중량% 이하인 것일 수 있지만, 상기 함량은 본 발명의 제형 또는 상기 피부 미백용 화장료 조성물의 적용 부위(얼굴, 목 등)에 따라 조절될 수 있으며, 상기 함량 범위에 의하여 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 이해되어서는 안 된다.

[45] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 피부 미백용 화장료 조성물은 멜라닌 생성을 저해하는 것일 수 있다. 구체적으로 상기 피부 미백용 화장료 조성물은 멜라노마 세포의 멜라닌 생성을 저해하는 것일 수 있다. 상술한 것과 같이 상기 피부 미백용 화장료 조성물은 멜라닌 생성을 저해하여 피부에 대한 탁월한 미백 효능을 나타낼 수 있다.

[46] 본 명세서에 있어서, "멜라닌 생성 저해"는 피부에서 멜라닌 합성을 억제하는 것, 생성된 멜라닌의 분해를 촉진하는 것과 같이 피부에서 멜라닌의 함량을 낮추고, 색소의 침착을 억제하는 기전을 모두 포함할 수 있는 것을 의미할 수 있다.

[47] 구체적으로 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 알부틴과 비교시, 약 37% 높은 저해 활성도를 보였으며 특히 저농도에서 약 45%의 매우 높은 멜라닌 생성 저해 활성을 나타냄을 확인하였다. 결국 상기 화합물을 포함하는 피부 미백용 화장료 조성물은 탁월한 멜라닌 생성 저해 활성을 나타내어 미백용 제제 또는 화장품에 유용하게 사용될 수 있다.

[48] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 피부 미백용 화장료 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 이외에 미용학적으로 허용 가능한 담체 또는 첨가제를 더 포함할 수 있다.

[49] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 첨가제는 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제, 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제, 방향제, 계면활성제, 유화제, 충전제, 금속이온 봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 등이 있으나, 이에 제한되지 않으며, 화장료 조성물에 적용 가능한 공지된 모든 물질이 포함될 수 있다.

[50] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 화장료 조성물은 페이스트, 겔, 유연화장수, 영양화장수, 수렴화장수, 스킨, 로션, 에센스, 크림, 마사지 크림, 팩, 메이크업 베이스, 비비크림, 파운데이션, 파우더, 클렌징 폼, 클렌징 크림 및 클렌징 워터로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 제형으로 형성될 수 있으나, 이에 제한되지 않으며, 공지된 모든 제형으로 형성될 수 있다.

[51] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 화장료 조성물이 페이스트, 크림 또는 겔 상태로 형성될 경우, 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라가칸트 검, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화아연 등을 더 포함할 수 있다.

[52] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 화장료 조성물이 용액 또는 유탁액 형태로 형성될 경우, 용매, 용해화제, 유탁화제 등을 더 포함할 수 있다.

[53] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 용매, 용해화제, 유탁화제로는 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸카보네이 트, 에틸아세테이트, 벤질알코올, 벤질벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌글리콜, 소르비탄의 지방산 에스테르 등을 포함할 수 있다.

[54] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 화장료 조성물이 현탁액 형태로 형성될 경우, 물, 에탄올, 프로필렌글리콜 등의 액상 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르 등의 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가, 트라가칸트 검 등을 더 포함할 수 있다.

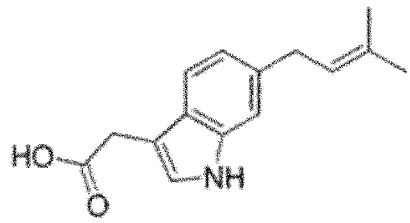
[55] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 화장료 조성물이 클렌징 폼, 클렌징 크림 또는 클렌징 워터일 경우에는 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메칠타우레이트, 사르코시네이트계 화합물, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세라이드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성유, 라놀린 유도체, 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등을 더 포함할 수 있다.

[56] 또한, 각 제형의 화장료 조성물에 있어서 화장료의 제형 또는 사용 목적에 따라 적절한 성분들을 선정하여 배합할 수 있다. 배합 성분 및 방법은 통상의 기술에 따를 수 있으므로 그 구체적인 설명은 본 명세서에서 생략한다.

[57] 또한, 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 피부 미백용 조성물은 약학 조성물인 것일 수 있다.

[58] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 피부 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[59] [화학식 1]

[60] 

[61] 본 명세서에 있어서, "약학적으로 허용되는 염"은 환자에게 비교적 비독성이고 무해한 유효작용을 갖는 농도로서 이 염에 기인한 부작용이 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 이로운 효능을 저하시키지 않는 상기 화합물의 임의의 모든 유기 또는 무기 부가염을 의미하는 것일 수 있다.

[62] 본 발명에 있어서, 상기 피부 색소 침착 질환은 예를 들어, 주근깨, 기미, 자외선 노출 후 과다 색소 침착, 염증 후 과다 색소 침착, 노인흑색점, 갈색반점 및 검버

섯으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다. 즉, 피부의 색소 침착 및 이와 관련된 질환, 예를 들어 주근깨, 기미, 자외선 노출 후 과다 색소 침착, 염증 후 과다 색소 침착, 노인흑색점, 갈색반점 또는 검버섯 등과 같은 질환을 예방, 개선, 완화 또는 치료할 수 있다.

[63] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 약학 조성물은 다른 약학적 활성 화합물과 결합된 형태로 사용될 수 있다.

[64] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 약학 조성물은 공지의 경구투여 또는 비경구투여 제제의 제형일 수 있다.

[65] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 약학 조성물은 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제, 부형제 및/또는 담체를 더 포함할 수 있다.

[66] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 약학 조성물이 경구투여를 위한 고형제제인 경우 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 더 포함될 수 있며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스, 락토오스, 또는 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구투여를 위한 액상제제로는 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[67] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 약학 조성물이 비경구투여를 위한 제제인 경우 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 더 포함될 수 있다.

[68] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 비수성 용제 및 현탁제는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[69] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 좌제의 기재는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[70] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 약학 조성물은 랫트, 마우스, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다.

[71] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 약학 조성물의 투여 방식은 경구 또는 비경구 투여(복강내, 직장, 정맥, 근육 또는 피하 주사, 또는 경피 투여)에 의해 투여될 수 있으며, 상기 비경구 경로는 경피 투여가 바람직하며, 그 중에서도 국소 도포가 가장 바람직할 수 있다.

[72] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 약학 조성물의 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여 경로 및 기간에 따라 조절될 수 있으며, 구체적으로 0.1 ~ 100 mg/kg의 양을 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

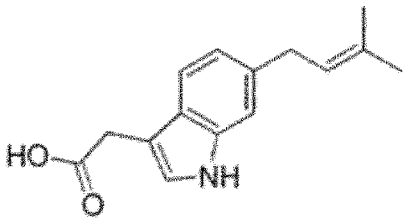
[73] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 약학 조성물의 비경구 경로 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 외용제의 경우 1 일당 1.0 ~ 3.0 ml를 1회 내지 수회로 나누어 도포할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[74] 또한, 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 피부 미백용 조성물은 식품 조성물인 것일 수 있다.

[75] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 피부 색소 침착 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[76] [화학식 1]

[77]



[78] 본 발명의 식품 조성물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 식품 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 식품 조성물은 원료에 대하여 15 중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가될 수 있다.

[79] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.

[80] 상기 음료는 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드, 및 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 당업자의 선택에 의해 적절하게 결정될 수 있다.

[81] 상기 외에 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일쥬스, 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율 또한 당업자에 의해 적절히 선택될 수 있다.

[82] 본 발명의 식품 조성물은 또한 건강기능 식품으로 사용될 수 있다. 건강기능 식품은 식품의 생체 조절 기능을 강조한 식품으로 물리적, 생화학적, 생물공학적인 방법을 이용하여 특정 목적에 작용 및 발현하도록 부가가치를 부여한 식품이다. 본 발명의 식품 조성물은 건강 기능 식품으로 이용될 수 있다. 이러한 건강기능 식품의 성분은 생체 방어와 신체 리듬의 조절, 질환의 방지 및 회복에 관계하는 신체 조절 기능을 생체에 대하여 충분히 발휘하도록 설계하여 가공하게 되며, 식품으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제, 감미료 또는 기능성 원료를 함유할 수 있다. 본 발명의 균주를 건강기능 식품(또는 건강기능 음료 첨가물)으로 사용할 경우, 상기 신규한 균주를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용하고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 상기 균주들의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 개선, 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[83] 본 발명의 일 실시양태는 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주(기탁번호: KCTC15538BP)로 이루어진 군으로부터 선택되는 균주를 포함하는 배양물, 상기 배양물의 건조물, 상기 배양물의 농축물 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하기 위한 조성물에 관한 것이다.

[84] 본 발명의 일 실시양태에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하기 위한 조성물은 상기 화합물의 수득율을 높일 수 있다.

[85] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주(기탁번호: KCTC15538BP)로 이루어진 군으로부터 선택되는 균주를 포함하는 배양물은 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주(기탁번호: KCTC15538BP) 로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 균주와 함께 배양 배지를 포함할 수 있다.

[86] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 배양 배지는 상기 균주를 배양하게 위하여 공지의 적절한 배지를 선택할 수 있으나, 유용한 이차 대사 산물의 생산에 최적 조건을 제공하기 위하여, 배양 배지는 마린 브로스(Marine broth (BD)), SYP 등일 수 있다.

[87] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 마린 브로스(Marine broth)의 배지 형태는 고체배지와 액체배지 모두 가능하며, 바람직하게는 액체배지일 수 있다.

[88] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 마린 브로스의 배지는 녹말(Soluble starch), 효모 추출물(Yeast extract), 펩톤(Peptone), 해양 소금(sea salt)을 사용하는 것일 수 있다.

[89] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 마린 브로스의 배지 형태가 고체배지인 경우 400 mL 기준으로 녹말(Soluble starch) 4g, 효모 추출물(Yeast extract) 1.6g, 펩톤(Peptone) 0.3g, 한천 (Agar) 7.2g, 해양 소금(sea salt) 13.9g에 증류수(Distilled water) 400 mL을 추가한 것일 수 있다.

[90] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 마린 브로스의 배지 형태가 액체배지인 경우 4 L 기준으로 녹말(Soluble starch) 40 g, 효모 추출물(Yeast extract) 16 g, 펩톤(Peptone) 8 g, 해양 소금(sea salt) 139 g에 증류수 (Distilled water) 4 L을 추가한 것일 수 있다.

[91] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 건조물 및/또는 상기 농축물은 상기 배양물을 통상적인 방법으로 건조 및/또는 농축하여 수득된 것일 수 있다.

[92] 본 발명의 일 실시양태는 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 제조방법에 있어서, 스트렙토마이세스 속 균주를 배양하여 배양물을 수득하는 단계(S10); 상기 배양물을 추출용매로 추출하여 추출물을 수득하는 단계(S30); 및 상기 추출물을 전개용매로 크로마토그래피로 분리 및 정제하여 분획물을 수득하여 상기 화합물을 획득하는 단계(S50)를 포함하는 것인 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 제조방법을 제공한다.

[93] 본 발명의 일 실시양태에 따른 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 제조방법은 용이하게 특정한 구조, 즉 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는 화합물을 정제할 수 있으며, 화합물의 수득율을 높일 수 있다.

[94] 본 명세서에서 상기 피부 미백용 화장료 조성물의 제조방법은 상술한 상기 피부 미백용 화장료 조성물에서 설명한 것과 중복되는 부분은 생략하기로 한다.

[95] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 제조방법은 스트렙토마이세스 속 균주를 배양하여 배양물을 수득하는 단계를 포함한다(S10).

[96] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 스트렙토마이세스 속 균주를 배양하여 배양물을 수득하는 단계에서 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주(기탁번호: KCTC15538BP)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 균주를 배양하여 배양물을 수득하는 것일 수 있다.

[97] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 배양물을 수득하기 위한 배양기간은 유효한 이차 대사 산물의 생산이 활발한 약 4일 이상, 바람직하게는 4일 내지 20일, 보다 바람직하게는 6일 내지 15일로 하는 것일 수 있다.

[98] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 제조방법은 상기 배양물을 추출용매로 추출하여 추출물을 수득하는 단계(S30)를 포함한다.

[99] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주로부터 상기 화학식 1로 표시되는 2-(6-(3-메틸부트-2-엔-1-일)-1H-인돌-3-일)아세트산을 추출하는 방법은 공지의 미생물 추출방법을 제한없이 사용할 수 있다.

[100] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 추출물을 수득하는 단계, 즉스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주로부터 상기 화학식 1로 표시되는 2-(6-(3-메틸부트-2-엔-1-일)-1H-인돌-3-일)아세트산을 추출하는 과정에서 사용되는

추출용매는 미생물의 특성에 따라 당업계에 공지된 용매를 적절히 선택하여 추출할 수 있으나, 유기용매, 구체적으로 에틸아세테이트, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올, 아세톤, 에테르, 클로로포름, 메틸렌클로라이드, 헥산, 시클로헥산 및 디클로로메탄로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 유기용매로 추출될 수 있으며, 에틸아세테이트 용매로 추출되는 것이 바람직하다. 상술한 것으로부터 추출물을 수득하는 단계에서 사용되는 용매를 선택함으로써, 화학식 1로 표시되는 화합물을 비롯하여 유용한 이차 대사 산물을 함유하여 우수한 미백 효과를 나타낼 수 있다.

[101] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 추출은 초임계추출, 고압추출 또는 초음파추출법 등의 추출장치를 이용한 방법이나 셀라이트, 폴리스틸렌 또는 폴리아마드 흡착수지를 이용하는 방법으로 대체 가능하나 이에 한정하지 않는다.

[102] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 추출과정에서의 추출 시의 추출용매량이나 추출 온도는 당업자가 적절히 변경할 수 있으나, 추출 시 추출용매를 배양물의 부피에 대하여 1 배 내지 3 배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하며, 상온에서 추출하는 것이 바람직하다.

[103] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 추출과정에서의 추출 회수는 1회 내지 3회인 것이 바람직하며, 감압건조는 회전진공농축기(Rotary Vacuum Evaporator)를 사용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 나아가, 상기 감압건조 시 온도는 20 ℃ 내지 40 ℃인 것이 바람직하고 30 ℃인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[104] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 추출물을 수득하는 단계(S30)와 상기 화합물을 획득하는 단계(S50) 사이에 수득된 추출물에서 추출용매, 즉 유기 용매를 제거하는 단계(S40)를 추가적으로 포함할 수 있다. 나아가, 추출용매인 유기용매의 제거는 당 분야에서 공지된 방법을 제한 없이 사용하여 수행할 수 있다.

[105] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 피부 미백용 화장료 조성물의 제조방법은 상기 추출물을 전개용매로 크로마토그래피로 분리 및 정제하여 분획물을 수득하여 상기 화합물을 획득하는 단계(S50)를 포함한다.

[106] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 크로마토그래피는 크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 크로마토그래피를 제한 없이 사용할 수 있으며, 바람직하게는 플래시크로마그래피(TLC), 역상 액체크로마토그래피일 수 있다.

[107] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 전개용매는 물 및 알코올로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있다.

[108] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 분획물을 수득하여 상기 화합물을 획득하는 단계에서 상기 분획물은 전개용매(분획용매)를 사용하여 제조될 수 있으며, 바람직하게는 물과 알코올(예를 들어, 탄소수 1-3의 저급 알코올)의 혼합용매로 분획된 분획물, 더욱 바람직하게는 물/메탄올 분획물일 수 있다. 상술한 것으로부터 전개용매(분획용매)를 선택함으로써, 화학식 1로 표시되는 화합물을 비롯하여 유용한 이차 대사 산물을 함유하여 우수한 미백 효과를 나타낼 수 있다.

[109] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 상기 분획물은 상기 추출물을 메탄올 20(w/w)%, 40(w/w)%, 50(w/w)%, 60(w/w)%, 70(w/w)%, 80(w/w)% 또는 100(w/w)%의 농도를 갖는 용액으로 추가로 분획하여 얻어진 소분획물일 수 있다. 상술한 것과 같이 상기 분획물 및/또는 소분획물을 이용함으로써, 화학식 1로 표시되는 화합물을 비롯하여 유용한 이차 대사 산물을 함유하여 우수한 미백 효과를 나타낼 수 있다.

[110] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염; 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[111] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 피부 색소 침착 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[112] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 화장품학적으로 허용가능한 염을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 피부 미백 방법을 제공한다.

[113] 또한, 본 발명은 피부 미백을 위한 화장료의 제조에 있어서 상기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 화장품학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공한다.

[114] 또한, 본 발명은 피부 색소 침착 질환의 치료를 위한 약제의 제조에 있어서 상기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공한다.

[115] 또한, 본 발명은 피부 미백에 사용하기 위한 상기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 화장품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 화장료 조성물을 제공한다.

[116] 또한, 본 발명은 피부 색소 침착 질환의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 상기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[117] 본 발명의 일 실시양태에 따른 피부 미백용 조성물은 천연물 유래이므로 안전한 물질이며, 멜라닌 생성을 효과적으로 억제함으로써 피부의 색소침착을 예방, 치료 또는 개선할 수 있어 미백용 약학적 제제 또는 화장품 개발을 위한 조성물의 제조에 유용하게 이용될 수 있다.

[118] 본 발명의 일 실시양태에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하기 위한 조성물은 상기 유효물질의 수득율을 높일 수 있다.

[119] 본 발명의 일 실시양태에 따른 피부 미백용 조성물의 제조방법은 용이하게 특정한 구조를 갖는 화합물을 정제할 수 있으며, 유효물질의 수득율을 높일 수 있다.

도면의 간단한 설명

[120] 도 1은 이끼뿌리 해양퇴적토로부터 분리한 스트렙토마이세스 속 (*Streptomyces sp.*) APA-053 균주의 마린(Marine) 고체배지에서의 형태를 나타내는 사진이다.

[121] 도 2a 내지 도 2d는 실시예 2에서 분리 및 정제하여 수득된 화합물이 화학식 1로 표시되는 화합물인지를 동정하기 위하여 측정된 그래프이다. 구체적으로 도 2a는 실시예 2에서 분리 및 정제하여 수득된 화합물의 ^{1}H NMR 결과, 도 2b는 실시예 2에서 분리 및 정제하여 수득된 화합물의 ^{13}C NMR 결과, 도 2c는 실시예 2에서 분리 및 정제하여 수득된 화합물의 MS(mass spectrum), 도 2d는 실시예 2에서 분리 및 정제하여 수득된 화합물의 자외선 스펙트럼 결과를 각각 나타낸다.

[122] 도 3은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 농도 의존적 멜라닌 억제 효과를 흡광도 측정을 통해 확인한 결과를 나타낸 그래프이다.

[123] 도 4는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 첨가에 따른 세포 내 생존능을 확인한 결과를 나타낸 그래프이다.

[124] 도 5는 3-인돌아세틱산(3-indoleacetic acid)의 농도에 따른 멜라닌 억제 효과를 흡광도 측정을 통해 나타낸 그래프이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[125] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명에 따른 실시예들은 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 아래에서 기술하는 실시예들에 한정되는 것으로 해석되지 않는다. 본 명세서의 실시예들은 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[126] **실시예 1(균주 선별 및 동정)**

[127] 실시예 1-1: 퇴적토 내 균주 분리

[128] 제주도 죽도 해안의 이끼뿌리 해양퇴적토 시료에서 채집된 퇴적토는 3분 동안 오븐에서 65 ℃에서 건조하여 건조물을 수득하였다. 이 후 상기 건조물을 멸균된 해수에 현탁하여 1/2으로 희석한 뒤 ISP4(Inorganic Salts Starch 4 Agar) 고체배지에 접종하고, 27 ℃에서 배양하면서 생성된 단일 균주를 SYP(Starch Yeast Peptone) SW 고체배지에 다시 접종하여 순수한 균주를 분리 및 선별하였다.

[129] 도 1은 이끼뿌리 해양퇴적토로부터 분리한 스트렙토마이세스 속 (*Streptomyces sp.*) APA-053 균주의 마린(Marine) 고체배지에서의 형태를 나타내는 사진이다. 순수하게 분리 및 선별된 상기 APA-053 균주는 상기 도 1과 같이 스트렙토마이세스 속에 속하는 균주들과 같은 형태적 양상이 관찰되었다.

[130] 실시예 1-2: 균주의 동정

[131] 실시예 1-1에서 분리된 균주의 종 동정을 위해 마린 브로스(Marine broth) 액체배지에서 4일 동안 27℃에서 배양된 균주 1ml을 취하고 "Tissue Genomic DNA Isolation kit"(Cosmogenetech co, Ltd.. Seoul, South Korea)를 이용하여 제조회사 프로토콜에 의하여 genomic DNA를 추출하였다. 상기 종 분석을 위해 16S rRNA 유전자 증폭을 518F 및 805R 프라이머를 사용하였다.

[132] PCR 산물은 "PCR purification kit" (Cosmogenetech co, Ltd.. Seoul, South Korea)을 이용하여 정제 후, capillary electrophoresis(Applied Biosystems 3730XL)를 이용하여 염기서열을 분석하였다.

[133] APA-053 균주로부터 얻어진 16S rRNA 유전자 염기서열을 GenBank/EMBL/DDBJ 데이터베이스의 BLAST 서치를 활용하여 이전에 보고된 균주들의 정보와 비교하였다. 그 결과 APA-053 균주의 16S rRNA 유전자 염기서열은 Streptomyces malachitospinus strain NBRC 101004 균주와 99.0% 상동성을 나타냈으며, 상기 스트렙토마이세스 속 APA-053 균주는 스트렙토마이세스(Streptomyces) 속에 속하는 스트렙토마이세스 말라키토스피너스 균주로 판단되었다.

[134] 상기 스트렙토마이세스 속 APA-053 균주의 16S rRNA genes 염기서열을 표 1에 나타내었다 (서열번호 1).

[135] [표1]

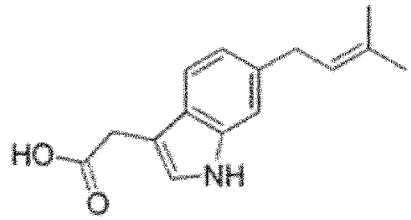
서열번호 1	CATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAA GTCGAACGATGAACCACTTCGGTGGGGATTAGTGGC GAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGG ACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATACTG AACCTCGCAGGCATCTGTGAGGGTCGAAAGCTCCGGCGGTGCA GGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCTAGTTGGTGAGGT AATGGCTCACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGC GACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACT CCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAA GCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCC TTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAAGCGAAAGTGA CGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGC CAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAAT TATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTCACG TCGGTTGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCAGTCGAT ACGGGCAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGATCGGAA TTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACAC CGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCGATACTGACG CTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCT GGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCACTAGGTGTG GGCAACATTCCACGTTGTCCGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTG CCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACT CAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTG GCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC

	TTGACATACACCGGAAACGGCCAGAGATGGTCGCCCCCTTGTG GTCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTC GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC TTGTCCCGTGTTGCCAGCAGGCCCTTGTGGTGCTGG GGACTCACGGGAGACCGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGG GGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCTTGGG CTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATACC GCAAGGTGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGT TCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTCGCT AGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACG TTCCCGGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCG GTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTT

[136] **실시예 2(화학식 1로 표시되는 화합물 분리 및 정제)**

[137] 제주도 죽도 해안의 이끼뿌리 해양퇴적토 시료에서 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주를 분리하여 사용하였으며, 이로부터 하기 화학식 1로 표시되는 화합물(APA053.243, Marinoprenylindole, 2-(6-(3-메틸부트-2-엔-1-일)-1H-인돌-3-일)아세트산)을 분리 및 정제하였다.

[138] [화학식 1]

[139] 

[140] 구체적으로, 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주를 2.5 L 배양 용기에 해수가 포함된 1 L 배양액(10 g/L 전분, 2 g/L 효모 추출물, 4 g/L 펩톤)에 7일 동안 27 ℃, 120 rpm 조건에서 총 40 L를 배양하였다. 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주 배양액에 에틸아세테이트 1 L를 넣어 두 층을 분리하고 이로부터 에틸아세테이트 층을 얻었다. 이후 에틸아세테이트 층으로부터 진공회전 농축기를 이용하여 유기 용매를 제거하고 이의 추출물을 얻었다.

[141] 상기 에틸아세테이트 추출물(743.6 mg)은 물 및 메탄올 혼합용매로 분획하되, 메탄올의 농도를 20 (w/w)% 내지 100 (w/w)%로 단계적 구배에 따르는 C-18 실리카를 이용한 역상 칼럼 크로마토그래피로 분획하였다. 그 중 80 (w/w)% 메탄올로 분획한 첫 번째 분획에서 유기 용매를 제거하였으며, 그 잔류물들은 3 mL 메탄올에 녹이고, 그 용액에 대한 고성능 액체 크로마토그래피를 수행하여 최종적으로 순수한 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 수득하였다.

[142] 사용된 고성능 액체 크로마토그래피의 조건은 다음과 같다.

[143] Phenomenex Luna C18 (2), 250 mm X 10.0 mm

[144] 2.0 mL/분, 5 mm, 100 Å, UV = 254 nm, 물(H_2O) : 아세토나이트릴 (CH_3CN) = 52 : 48

[145] 상기와 같은 방법에 따라 상기 화학식 1로 표시되는 화합물(3.0 mg)를 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주로부터 머무름 시간 34.4분에 분리하였다.

[146] **실시예 3(화학식 1로 표시되는 화합물의 동정)**

[147] 상기 실시예 2에서 분리 및 정제된 화합물이 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 인지 여부를 확인하고자, NMR(nuclear magnetic resonance) 스펙트럼, LC-MS(Liquid chromatography - mass spectrometry) 스펙트럼 및 자외선 스펙트럼을 사용하여 동정하였다.

[148] 도 2a 내지 도 2d는 실시예 2에서 분리 및 정제하여 수득된 화합물이 화학식 1로 표시되는 화합물인지를 동정하기 위하여 측정된 그래프이다. 구체적으로 도 2a는 실시예 2에서 분리 및 정제하여 수득된 화합물의 ^{1}H NMR 결과, 도 2b는 실시예 2에서 분리 및 정제하여 수득된 화합물의 ^{13}C NMR 결과, 도 2c는 실시예 2에서 분리 및 정제하여 수득된 화합물의 MS(mass spectrum), 도 2d는 실시예 2에서 분리 및 정제하여 수득된 화합물의 자외선 스펙트럼 결과를 각각 나타낸다.

[149] 그 결과, 상기 도 2a와 같이, ^{1}H NMR에서 6.00 ppm에서 8.00 ppm 사이의 피크를 통하여 벤젠고리를 포함하고 있는 것을 확인하였으며, 이소프레닐화 인돌(isoprenylated indole)을 포함하는 것을 확인하였다.

[150] 상기 도 2c와 같이 LC-MS을 통하여, 질량으로는 $[M+H]^+$가 244인 것을 확인하였고, 분자량이 243인 천연물이며, 최종적으로 상기 도 2b 및 도 2d 와 같이, ^{13}C NMR 및 자외선 스펙트럼 분석을 통해 상기 실시예 2에서 분리 및 정제된 화합물이 상기 화학식 1로 표시되는 화합물인 것을 확인하였다.

[151] **실시예 4(화학식 1로 표시되는 화합물의 멜라닌 생성 저해능 측정)**

[152] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 멜라닌생성 저해 활성은 Lee 등(2013)(J Invest Dermatol. Lee CS, Park M, Han J, Lee JH, Bae IH, Choi H, Son ED, Park YH, Lim KM. 133, 4, 1063-1071)의 방법을 이용하여 측정하였다.

[153] B16 멜라노마 세포 (ATCC, USA)를 1 x 10^4 cells/well로 48 웰 플레이트에 300 μL씩 분주한 후에 인큐베이터에서 하룻밤 동안 배양하였으며, 배지로는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 배지(ATCC, USA)를 사용하였다(Con).

[154] 상기 Con에 멜라닌 생성 촉진 자극원인 Alpha-MSH(0.1 uM, Sigma-Aldrich, USA)와 DMSO에 용해시킨 것을 주입한 것을 음성대조군(NC)으로 준비하였다. 상기 음성대조군에 1 ppm(SJ100 1 ppm), 10 ppm(SJ100 10 ppm), 25 ppm(SJ100 25 ppm), 50 ppm(SJ100 50 ppm) 및 100 ppm(SJ100 100 ppm) 농도로 제조한 화학식 1로 표시되는 화합물을 동시에 섞은 배지를 제조하였다. 양성대조군(PC)으로는 알부틴 50 ppm을 사용하였다.

[155] 분주된 웰 내의 배지를 제거한 후에 제조된 배지를 웰 당 450 μL씩 넣어주었다. 48 시간 후 배지를 완전히 제거하고, 1N NaOH를 웰 당 200 μL씩 넣어준 후 60 ℃에서 1 시간 동안 배양하여 세포로부터 멜라닌을 용해시켰다. 용해된 멜라닌 시료 100 μL를 96 웰 플레이트에 옮겨 담고 마이크로플레이트 리더(Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[156] 흡광도의 차이로부터 멜라닌 생성 저해도는 다음 수학식 1과 같이 산출하였다.

[157] [수학식 1]

[158] 멜라닌생성 저해도(%) = 1 - (ODS-ODc)/(ODm-ODc)×100

[159] (ODS: 시험물질과 alpha-MSH를 처리한 시료의 흡광도, ODm: alpha-MSH만 처리한 시료의 흡광도, ODc: 시험물질, alpha-MSH를 처리하지 않은 음성대조군(1N NaOH 100 μL)의 흡광도)

[160] 도 3은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 농도 의존적 멜라닌 억제 효과를 흡광도 측정을 통해 확인한 결과를 나타낸 그래프이다.

[161] 상기 도 3에서 확인되는 바와 같이, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 1 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm 및 100 ppm으로 농도가 증가할수록 멜라닌 생성 저해 효과가 감소하는 경향을 보였다.

[162] 상기와 같은 결과에 따라, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 특정한 농도에서 멜라닌 생성 저해 활성이 매우 우수하며, 멜라닌 생성 저해를 통해 피부 색소 침착과 관련된 다양한 질병 및 상태에 적용 가능함을 확인하였다.

[163] **실시예 5(화학식 1로 표시되는 화합물의 세포 독성 확인)**

[164] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 세포 독성을 확인하기 위해, 세포 생존성을 확인하였다. 구체적으로, B16 세포를 $2x10^4$ cells/mL로 현탁하여, 600μL씩 48 웰에 하루 배양한 후 물질을 처리하고 48시간 이후 미토콘드리아 활성을 측정하는 MTT assay를 활용해서 세포생존율을 측정하였다.

[165] 도 4는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 첨가에 따른 세포 내 생존능을 확인한 결과를 나타낸 그래프이다.

[166] 상기 도 4를 참고하면, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 첨가하여도, 세포 생존율에는 크게 영향을 주지 않는 것을 확인하였고, 세포 독성이 없다는 것을 확인하였다.

[167] **실시예 6(3-인돌아세틱산의 멜라닌 생성 저해능 비교)**

[168] 상기 실시예 4에서 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 사용하는 것 대신 3-인돌아세틱산(3-indoleacetic acid)을 사용하는 것을 제외하고 상기 실시예 4와 동일하게 멜라닌 생성 저해도를 측정하였다.

[169] 도 5는 참조예인 3-인돌아세틱산(3-indoleacetic acid)의 농도에 따른 멜라닌 억제 효과를 흡광도 측정을 통해 나타낸 그래프이다.

[170] 상기 도 5를 참고하면, 3-인돌아세틱산(3-indoleacetic acid)을 첨가하고 이의 농도를 증가시키더라도 멜라닌 농도가 높게 유지되어 화학식 1로 표시되는 화합물에 비하여 멜라민 생성 저해 효과가 낮은 것을 확인하였다.

[171] 따라서, 본 발명의 일 실시양태에 따른 피부 미백용 조성물 및 이의 제조방법은 스트렙토마이세스 속 균주의 배양물로부터 유래된 특정한 분자구조를 갖는 화합물을 피부 미백용 조성물의 유효성분으로 사용함으로써, 멜라닌 생성을 저해하고, 피부 미백효과를 향상시킬 수 있다.

[172] [부호의 설명]

[173] S10: 배양물 수득 단계

[174] S30: 추출물 수득 단계

[175] S40: 추출용매 제거 단계

[176] S50: 분획물 수득 단계

[177] [수탁번호]

[178] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)

[179] 수탁번호 : KCTC15538BP

[180] 수탁일자 : 20230804

[181]

[182]

국 제 양 식

특허출원을 위한 부다페스트 국제 조약 하의 미생물 수탁 증명
국제기탁기관에 의해 규칙 7.1에 따라 발행된 원기탁에 대한 수탁증

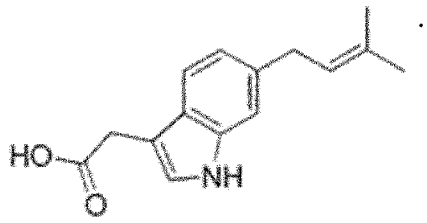
수신: 남상집
한국 서울특별시 서대문구 이화여대길 52,
이화여자대학교

I. 미생물의 표시	
기탁자가 첨부한 미생물 식별에 대한 표시: ***Streptomyces* sp. APA053**	국제 기탁기관이 부여한 수탁번호: **KCTC 15538BP**
II. 과학적 성질의 설명 및/또는 분류학상의 위치	
항목 I에 표시된 미생물에 대하여 다음 사항이 포함되어 있다: □ 과학적 성질의 설명 □ 제안된 분류학상의 위치 (적용시 ■ 표시)	
III. 기탁 및 수탁	
본 국제기탁기관은 **2023년 08월 04일**에 기탁된 항목 I에 표시된 미생물을 수탁하였다.	
IV. 이관청구의 수령	
본 국제기탁기관은 항목 I에 표시된 미생물을 수탁하였으며 원기탁의 부다페스트 조약하의 기탁으로의 이관청구를 수령하였다.	
V. 국제기탁기관	
명칭: **Korean Collection for Type Cultures** 주소: (56212) 한국 전라북도 정읍시 입신길 181 한국생명공학연구원(KRIBB)	국제기탁기관을 대표하는 권한을 가진 자 또는 권한을 부여받은 공무원 서명: Sang-Gun Kim 서명일: 2023.08.04

청구범위

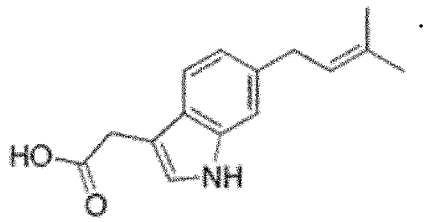
[청구항 1] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염

[화학식 1]



[청구항 2] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 화장품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 피부 미백용 화장료 조성물

[화학식 1]



[청구항 3] 청구항 2에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*) APA-053 균주(기탁번호: KCTC15538BP)로부터 유래된 것인 피부 미백용 화장료 조성물.

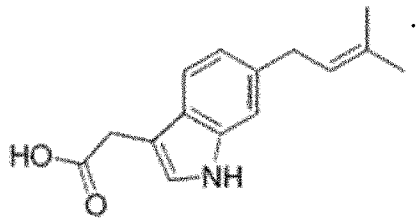
[청구항 4] 청구항 2에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 멜라노마 세포의 멜라닌 생성을 저해하는 것인 피부 미백용 화장료 조성물.

[청구항 5] 청구항 2에 있어서, 상기 피부 미백용 화장료 조성물은 용액, 연고, 외용연고, 크림, 에센스, 폼, 화장수, 영양화장수, 유연수, 유연화장수, 팩, 유액, 메이크업베이스, 비누, 세정료, 입욕제, 선크림, 선오일, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제 함유 클린싱, 오일, 파운데이션, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 패치 및 스프레이로 이루어진 군에서 선택되는 제형을 가지는 것인 피부 미백용 화장료 조성물.

[청구항 6] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 피부 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물

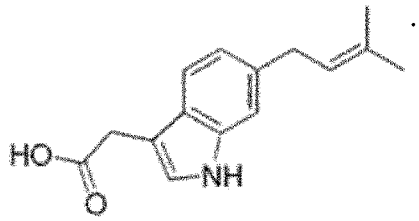
[화학식 1]



[청구항 7] 제6항에 있어서, 상기 피부 색소 침착 질환은 주근깨, 기미, 자외선 노출 후 과다 색소 침착, 염증 후 과다 색소 침착, 노인흑색점, 갈색반점 및 검버섯으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인, 피부 색소 침착 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 8] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 포함하는 피부 색소 침착 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물

[화학식 1]



[청구항 9] 제8항에 있어서, 상기 피부 색소 침착 질환은 주근깨, 기미, 자외선 노출 후 과다 색소 침착, 염증 후 과다 색소 침착, 노인흑색점, 갈색반점 및 검버섯으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인, 피부 색소 침착 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물.

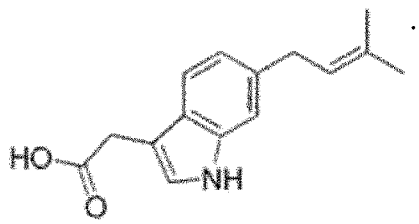
[청구항 10] 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 제조방법에 있어서,

스트렙토마이세스 속 균주를 배양하여 배양물을 수득하는 단계;

상기 배양물을 추출용매로 추출하여 추출물을 수득하는 단계; 및

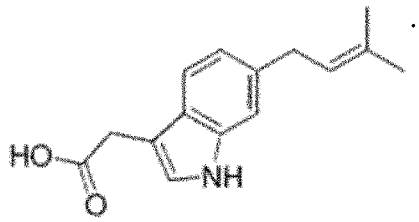
상기 추출물을 전개용매로 크로마토그래피로 분리 및 정제하여 분획물을 수득하여 상기 화합물을 획득하는 단계를 포함하는 것인 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 제조방법:

[화학식 1]



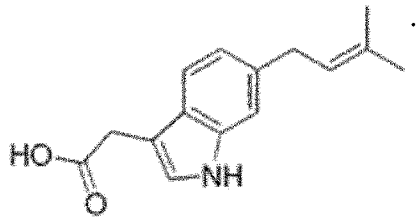
[청구항 11] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염; 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물

[화학식 1]



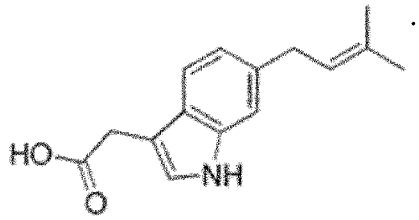
[청구항 12] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 피부 색소 침착 질환의 예방 또는 치료 방법

[화학식 1]



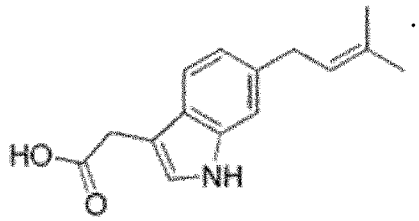
[청구항 13] 피부 색소 침착 질환의 치료를 위한 약제의 제조에 있어서 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도

[화학식 1]

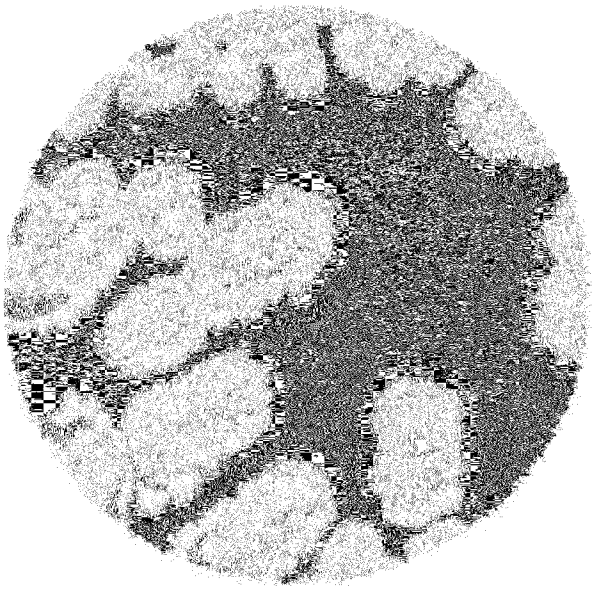


[청구항 14] 피부 색소 침착 질환의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 약학 조성물

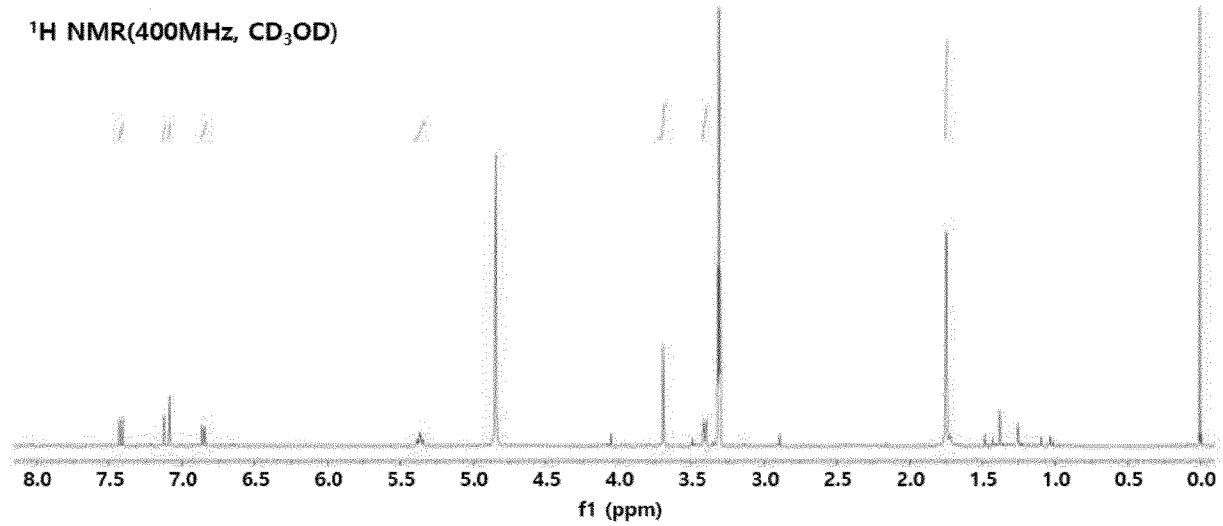
[화학식 1]



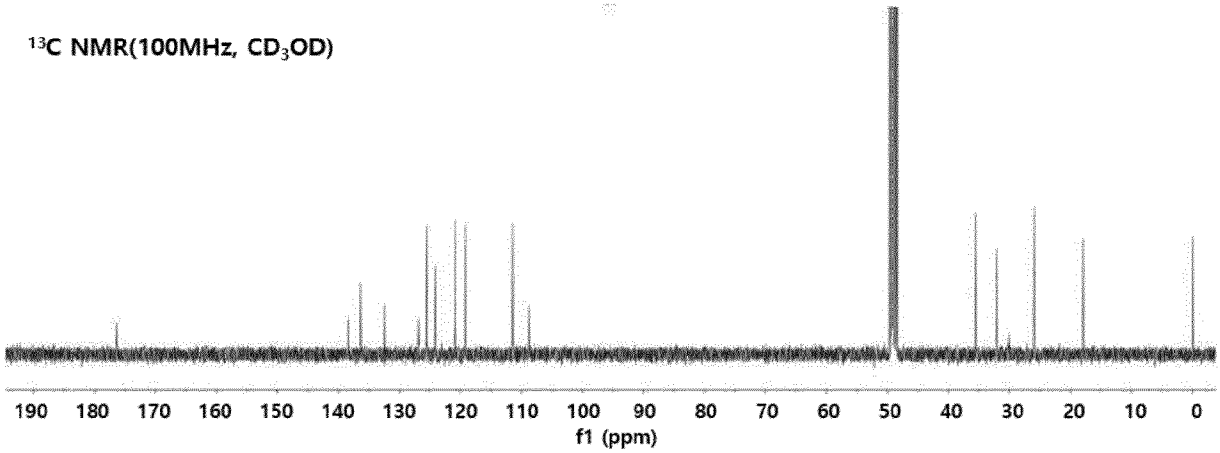
[도1]



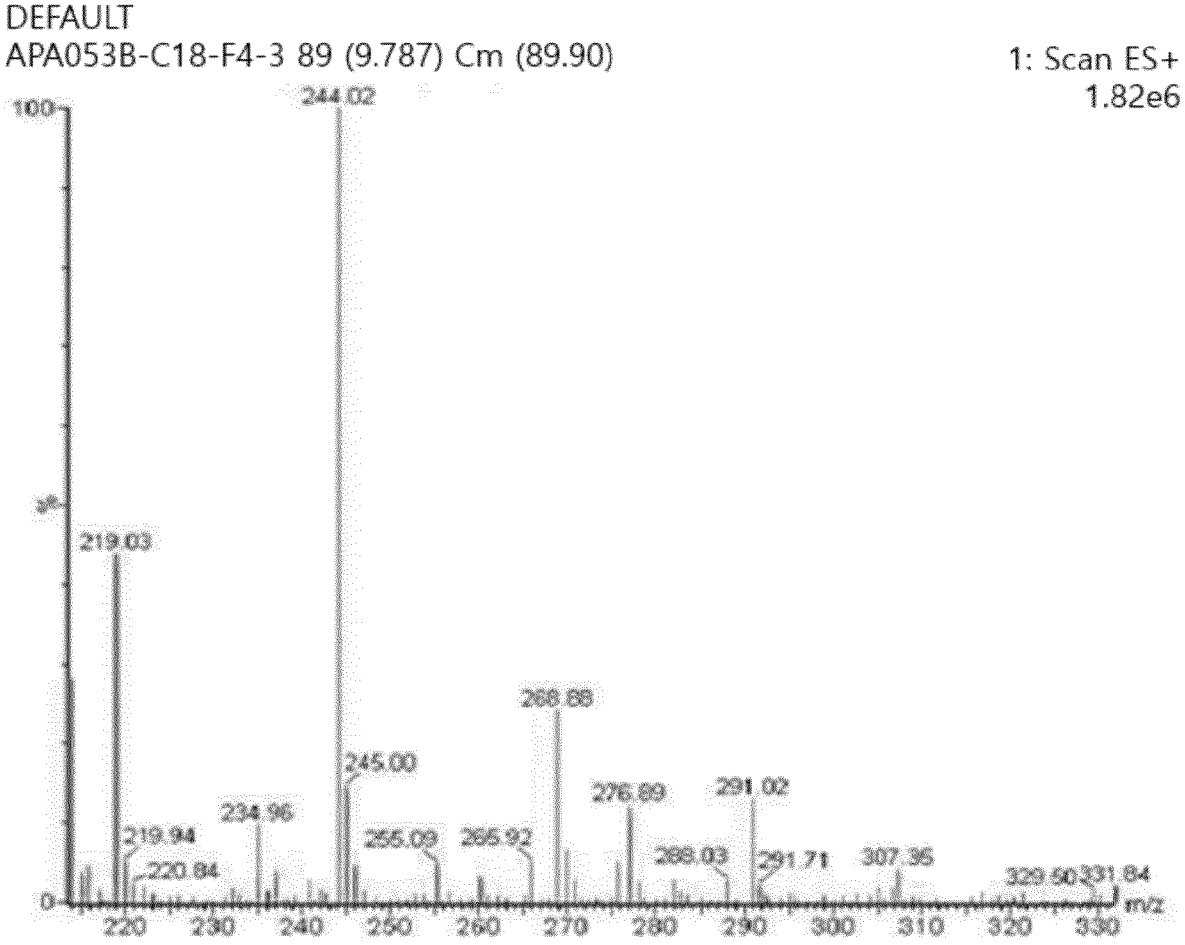
[도2a]


^{1}H NMR(400MHz, CD_3OD)
8.0 7.5 7.0 6.5 6.0 5.5 5.0 4.5 4.0 3.5 3.0 2.5 2.0 1.5 1.0 0.5 0.0
f1 (ppm)

[도2b]

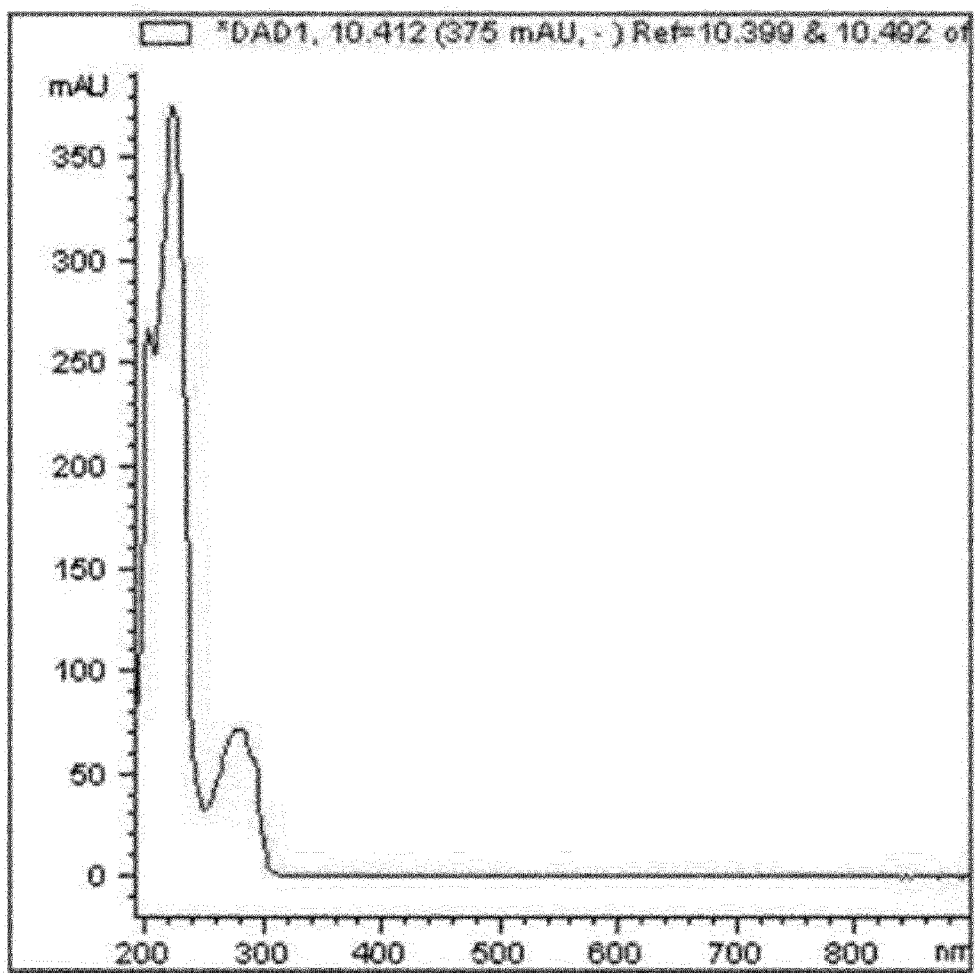

^{13}C NMR(100MHz, CD_3OD)
190 180 170 160 150 140 130 120 110 100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 0
f1 (ppm)

[도2c]

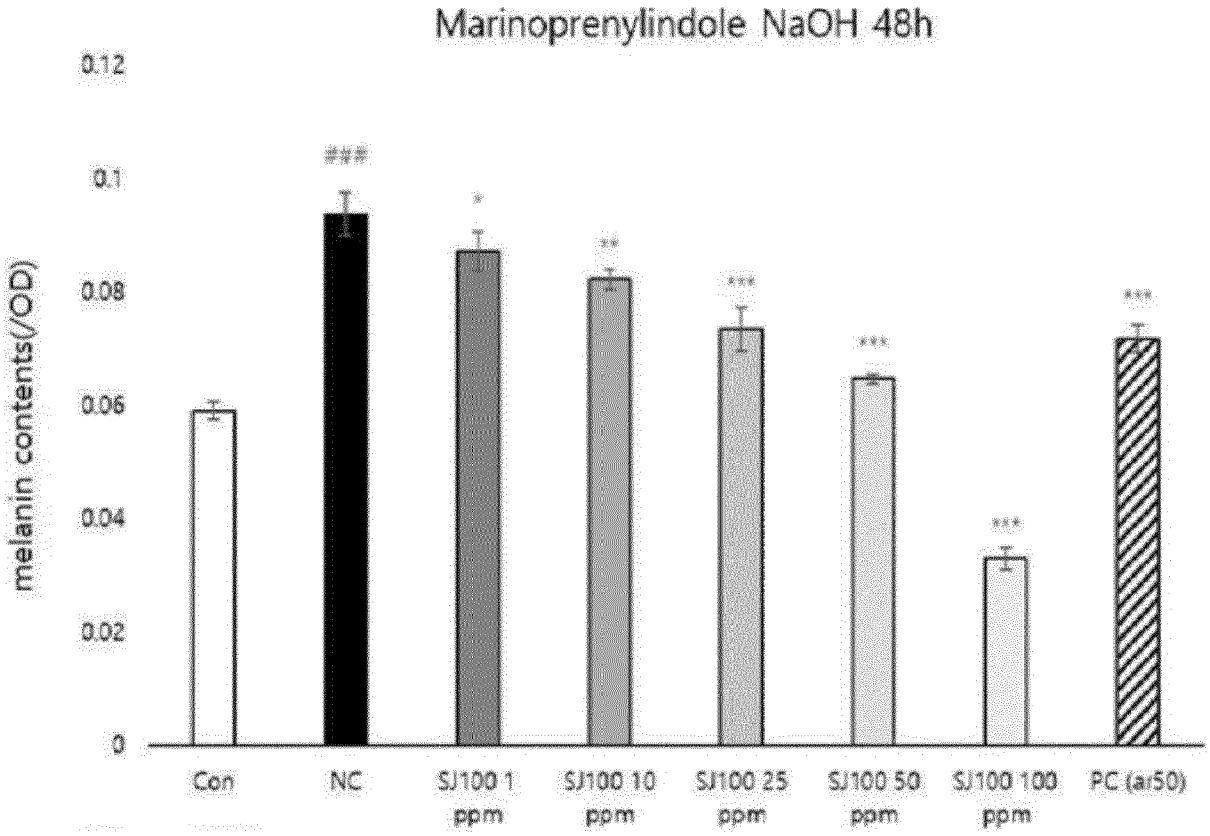

DEFAULT
APA053B-C18-F4-3 89 (9.787) Cm (89.90)
1: Scan ES+
1.82e6
100
%
0
244.02
219.03
268.88
245.00
276.89
291.02
234.96
219.94
255.09
255.92
288.03
291.71
307.35
220.84
329.50
331.84
m/z
220
230
240
250
260
270
280
290
300
310
320
330

$[M+H]^+ = 244.02$

[도2d]

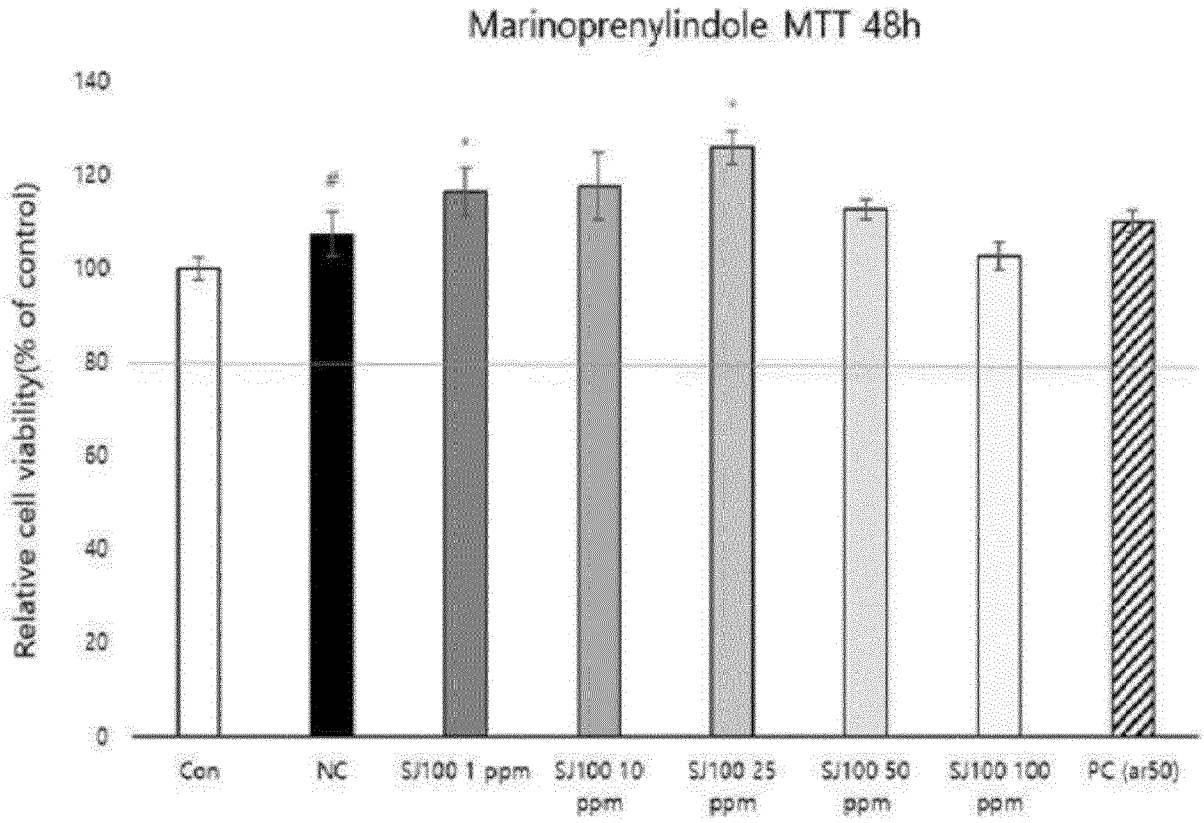

*DAD1, 10.412 (375 mAU, -) Ref=10.399 & 10.492 of
mAU
350
300
250
200
150
100
50
0
200
300
400
500
600
700
800
nm

[도3]



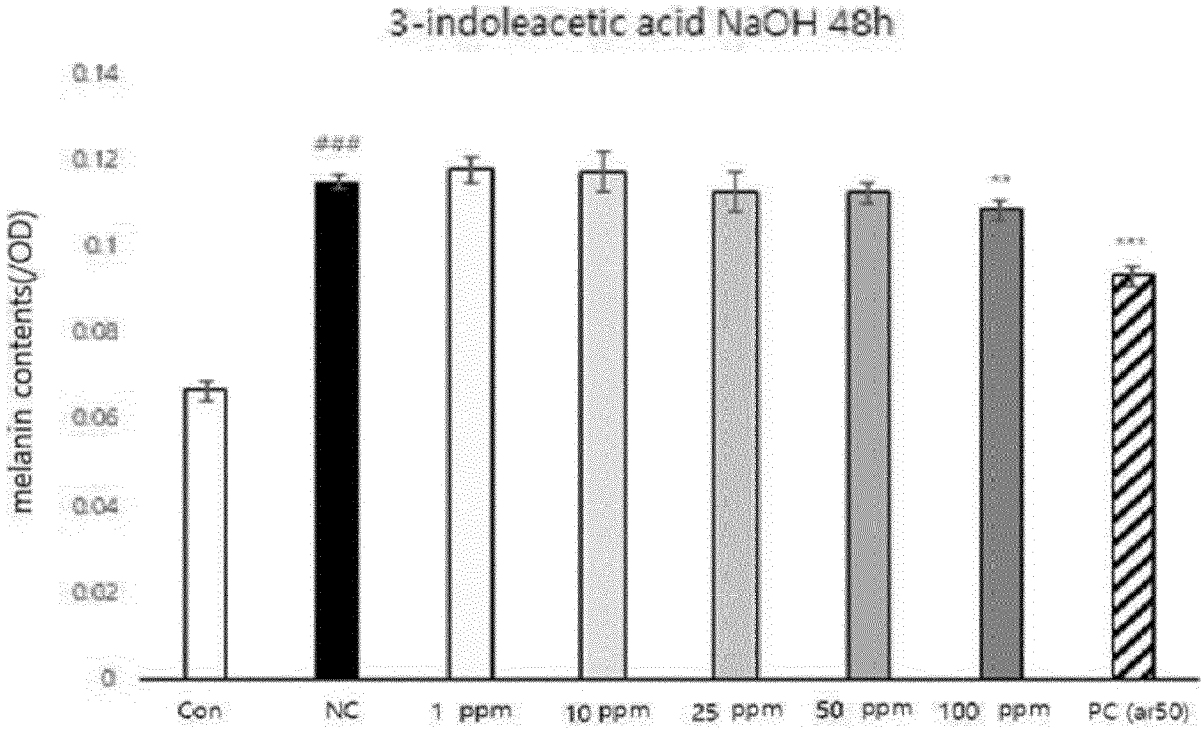
NC : Alpha-MSH
PC : Arbutin 50 ppm
Compound(SJ100) : Marinoprenylindole 1, 10, 25, 50, 100 ppm

[도4]



NC : Alpha-MSH
PC : Arbutin 50 ppm
Compound(SJ100) : Marinoprenylindole 1, 10, 25, 50, 100 ppm

[도5]



NC : Alpha-MSH
PC : Arbutin 50 ppm
Compound : 3-indoleacetic acid 1, 10, 25, 50, 100 ppm

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2024/016330

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/405(2006.01)i; **A61P 17/00**(2006.01)i; **A61K 8/49**(2006.01)i; **A61Q 19/02**(2006.01)i; **C12P 17/10**(2006.01)i; **A23L 33/10**(2016.01)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 31/405(2006.01); A61K 38/00(2006.01)

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), STN (Registry, Caplus), Google & keywords: 피부 미백 (skin whitening), 피부 색소 침착 (pigmentation of skin), 모나프레닐인돌 A (monaprenylindole A)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	KIM, D.-E. et al. Chemical and genomic analyses of a marine-derived Streptomyces sp. V17-9 producing amino acid derivatives and siderophores. Frontiers in Marine Science. 2022, vol. 9, article no. 959690, pp. 1-15.	
X	See pages 1 and 9; and figure 3b.	1,10
A		2-9,11,13,14
	YI, W. et al. New metabolites from the marine-derived bacterium Pseudomonas sp. ZZ820R. Fitoterapia. 2020, vol. 143, article no. 104555, pp. 1-6.	
X	See abstract; page 1; and figure 1.	1,11
	ZHANG, J. et al. A new prenylated indole derivative from endophytic actinobacteria Streptomyces sp. neau-D50. Natural Product Research. 2014, vol. 28, no. 7, pp. 431-437.	
A	See abstract; and figure 1.	1-11,13,14
	JP 09-194344 A (MEIJI MILK PROD. CO., LTD.) 29 July 1997 (1997-07-29)	
A	See abstract; claims 1-3; and paragraphs [0010]-[0011].	1-11,13,14

☑ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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	Date of mailing of the international search report
24 January 2025	**24 January 2025**

Name and mailing address of the ISA/KR	Authorized officer
Korean Intellectual Property Office **Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon 35208**	
Facsimile No. **+82-42-481-8578**	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2024/016330

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 08-217620 A (MEIJI MILK PROD. CO., LTD.) 27 August 1996 (1996-08-27) See abstract; claims 1-3; and paragraphs [0010]-[0011].	1-11,13,14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2024/016330

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed.
   b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2024/016330

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☑ Claims Nos.: **12**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claim 12 pertains to a method for treatment of the human body by surgery or therapy, as well as a diagnostic method (PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv)).

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2024/016330

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 09-194344 A	29 July 1997	None	
JP 08-217620 A	27 August 1996	None	

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2024/016330

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 31/405(2006.01)i; **A61P 17/00**(2006.01)i; **A61K 8/49**(2006.01)i; **A61Q 19/02**(2006.01)i; **C12P 17/10**(2006.01)i; **A23L 33/10**(2016.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/405(2006.01); A61K 38/00(2006.01)

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), STN (Registry, Caplus), 구글 & 키워드: 피부 미백 (skin whitening), 피부 색소 침착 (pigmentation of skin), 모나프레닐인돌 A (monaprenylindole A)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KIM, D.-E. 등, "Chemical and genomic analyses of a marine-derived Streptomyces sp. V17-9 producing amino acid derivatives and siderophores", Frontiers in Marine Science, 2022, 9권, 아티클번호 959690, 페이지 1-15 페이지 1, 9; 도면 3b	1,10
A		2-9,11,13,14
X	YI, W. 등, "New metabolites from the marine-derived bacterium Pseudomonas sp. ZZ820R", Fitoterapia, 2020, 143권, 아티클번호 104555, 페이지 1-6 초록; 페이지 1; 도면 1	1,11
A	ZHANG, J. 등, "A new prenylated indole derivative from endophytic actinobacteria Streptomyces sp. neau-D50", Natural Product Research, 2014, 28권, 7호, 페이지 431-437 초록; 도면 1	1-11,13,14
A	JP 09-194344 A (MEIJI MILK PROD. CO., LTD.) 1997.07.29 초록; 청구항 1-3; 단락 [0010]-[0011]	1-11,13,14
A	JP 08-217620 A (MEIJI MILK PROD. CO., LTD.) 1996.08.27 초록; 청구항 1-3; 단락 [0010]-[0011]	1-11,13,14

☐ 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
"D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 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 문헌과조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2025년01월24일(24.01.2025)	**2025년01월24일(24.01.2025)**

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

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

팩스 번호 **+82-42-481-8578**

심사관

허주형

전화번호 **+82-42-481-5373**

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2024/016330

제1기재란 핵산염기 및/또는 아미노산 서열(첫 번째 용지의 1.c의 계속)

1. 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열과 관련하여, 국제조사는 다음에 기초하여 수행되었습니다.

   a. ☑ 출원시 국제출원의 일부를 구성하는 서열목록

   b. ☐ 국제조사를 목적으로 국제출원일 이후에 제출된 서열목록(규칙 13의3.1(a))

      ☐ 서열목록이 출원시 국제출원의 개시 범위를 넘지 않는다는 취지의 진술서를 첨부

2. ☐ 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열에 대해, 본 보고서는 WIPO 표준 ST.26을 준수하는 서열목록이 없이 유효한 조사를 할 수 있는 범위에서 작성되었습니다

3. 추가 의견:

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2024/016330

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☑ 청구항: **12**
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,

청구항 12는 수술 또는 치료에 의한 사람의 처치방법 및 진단방법에 관한 것입니다 (PCT 제17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1(iv)).

2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,

3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

국 제 조 사 보 고 서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2024/016330

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 09-194344 A	1997/07/29	없음	
JP 08-217620 A	1996/08/27	없음	