



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년08월18일

(11) 등록번호 10-1545462

(24) 등록일자 2015년08월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**A61K 8/40** (2006.01) **A61K 8/30** (2006.01)  
**A61Q 19/02** (2006.01)

(52) CPC특허분류  
**A61K 8/40** (2013.01)  
**A61K 8/30** (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0004063

(22) 출원일자 2015년01월12일

심사청구일자 2015년01월12일

(56) 선행기술조사문헌  
 Hiroshi Kozuka et al., The Journal of Toxicological Sciences, Vol.4., pp221-228, 1979.  
 JP08245346 A  
 Drug and chemical Toxicology, Vol.17., No.3., pp317-358, 1994.

(73) 특허권자  
**강원대학교산학협력단**  
 강원도 춘천시 강원대학길 1 (효자동)

(72) 발명자  
**기윤**  
 (우편번호: 200-701) 강원도 춘천시 강원대학길 1  
 강원대학교 의생명과학대학 시스템면역과학과

**이구연**  
 강원도 춘천시 강원대학길 1 강원대학교 의생명과학대학 생명건강공학과

(뒷면에 계속)

(74) 대리인  
**특허법인 피씨알**

전체 청구항 수 : 총 2 항

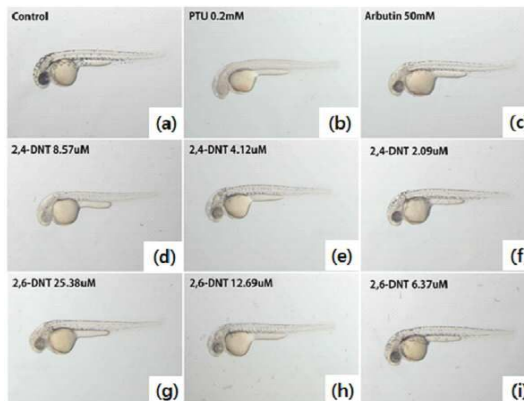
심사관 : 이재영

(54) 발명의 명칭 **니트로톨루엔 유도체를 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물**

**(57) 요약**

본 발명은 니트로톨루엔 유도체를 포함하는 피부 미백 조성물에 관한 것이다. 일 구체예에 따른 니트로톨루엔 유도체를 포함하는 피부 미백 조성물은 티로시나제 활성을 저해하고 멜라닌 생성을 억제하여 우수한 피부 미백 효과를 가지며 미백 기능이 부여된 화장품 개발에 유용하게 활용될 수 있다.

**대표도** - 도1



(52) CPC특허분류

**A61Q 19/02** (2013.01)

(72) 발명자

**황병준**

(우편번호: 200-701) 강원도 춘천시 강원대학길 1  
강원대학교 의생명과학대학 분자생명과학과

**박진아**

강원도 춘천시 강원대학길 1 강원대학교 의생명과학대학 시스템면역과학과

**정유정**

강원도 춘천시 강원대학길 1 강원대학교 의생명과학대학 시스템면역과학과

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 C1011334-01-01

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 LINC

연구과제명 제브라피쉬 배아를 이용한 미백원료 개발

기여율 1/1

주관기관 강원대학교 LINC 사업단

연구기간 2014.07.01 ~ 2015.01.31

---

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

2,4-디니트로톨루엔 또는 2,6-디니트로톨루엔을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물.

**청구항 2**

삭제

**청구항 3**

삭제

**청구항 4**

청구항 1에 있어서, 상기 2,4-디니트로톨루엔 또는 2,6-디니트로톨루엔은 조성물 총 중량에 대하여 0.001 내지 20 중량% 포함하는 것인 조성물.

**발명의 설명**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 니트로톨루엔 유도체를 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 피부 미백이 멜라닌 색소와 직접적으로 관련되어 있다는 것은 널리 알려진 사실이다. 멜라닌은 자외선을 차단하여 진피 이하의 피부 기관을 보호해주는 동시에, 피부 생체 내에 생겨난 자유 라디칼 등에 의한 피부 내 단백질과 유전자들의 손상을 보호해주는 유용한 역할을 하지만, 멜라닌이 필요 이상으로 많이 생기게 되면 피부 노화를 가져오며 기미나 주근깨 등과 같은 과색소침착증을 유발한다.

[0003] 멜라닌은 생물체에 널리 분포되어 있는 색소로 인체에서는 표피층에 있는 멜라노사이트에서 합성된다. 멜라닌 합성 과정에 작용하는 주요 효소가 티로시나제(tyrosinase)이다. 티로시나아제는 폴리페놀 옥시다아제(polyphenol oxidase)의 일종으로 구리를 함유하는 효소로써 멜라노사이트에서 티로신(tyrosine)을 산화시켜 L-3,4-디히드록시페닐알라닌(L-3,4-dihydroxyphenylalanine, DOPA)로 변환시키고, DOPA가 다시 산화되어 도파퀴논(dopaquinone)으로 바뀐 후, 비효소적인 산화반응을 거쳐 만들어진다.

[0004] 따라서 티로시나아제 효소의 활성을 저해하고 멜라닌 생성을 억제시켜 피부 미백 효과를 가질 수 있다.

[0005] 멜라닌 합성을 저해하는 대표적인 화합물로서는 하이드로퀴논(hydroquinone), 코지산(kojic acid), 알부틴 등이 알려져 있다. 그러나 이들은 만족스럽지 않은 미백 효과, 낮은 안정성, 피부 자극 때문에 그 활용도가 높지 않다.

[0006] 따라서, 우수한 미백 효과를 가지면서도 독성이 없으며, 부작용이 적은 물질의 개발이 필요한 실정이다.

**발명의 내용**

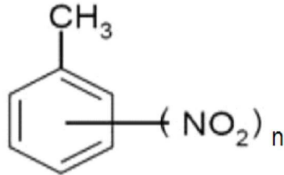
**해결하려는 과제**

[0007] 본 발명의 일 양상은 니트로톨루엔 유도체를 포함하는 피부 미백용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

**과제의 해결 수단**

[0008] 본 발명의 일 양상은 하기 화학식 1의 니트로톨루엔 유도체를 포함하는 피부 미백용 화장료 조성물을 제공한다.

[0009] [화학식 1]



[0010]  
[0011] 상기 n은 1 또는 2이다.

[0012] 본 발명에서 "피부 미백"은 멜라닌의 생성이 저해됨에 따른 결과를 의미하며, 구체적으로는 멜라닌의 생성이 저해됨에 따라 멜라닌의 증가에서 비롯되는 증상, 예컨대 기미, 주근깨 개선, 피부 노화 등의 개선으로 이해될 수 있다.

[0013] 본 발명에서 "니트로" 라는 용어는 -NO<sub>2</sub> 그룹을 의미한다.

[0014] 일 구체예에 따르면 상기 니트로톨루엔 유도체는 공지되어 있고 당업계에 잘 알려진 통상적인 방법을 이용하여 얻어질 수 있다.

[0015] 일 구체예에 따르면 상기 니트로톨루엔 유도체는 모노니트로톨루엔 또는 디니트로톨루엔일 수 있으며, 디니트로톨루엔인 것이 가장 바람직하다.

[0016] 일 구체예에 따르면, 상기 모노니트로톨루엔은 o-톨루엔, m-톨루엔, p-톨루엔 이성질체로 존재할 수 있다. 상기 모노니트로톨루엔은 o-톨루엔, m-톨루엔, p-톨루엔 중에서 선택된 단일 이성질체를 사용할 수 있으며, 언급된 이성질체 중 둘 이상을 포함하는 혼합물, 예컨대, o-톨루엔 및 m-톨루엔을 포함하는 혼합물을 사용하는 것도 가능하다.

[0017] 일 구체예에 따르면, 상기 디니트로톨루엔은 2,3-디니트로톨루엔, 3,4-디니트로톨루엔, 2,4-디니트로톨루엔, 2,5-디니트로톨루엔 또는 2,6-디니트로톨루엔 뿐만 아니라 그의 이성질체를 포함할 수 있다. 상기 디니트로톨루엔은 2,3-디니트로톨루엔, 3,4-디니트로톨루엔, 2,4-디니트로톨루엔, 2,5-디니트로톨루엔 및 2,6-디니트로톨루엔 중에서 선택된 단일 이성질체를 사용할 수 있으며, 언급된 이성질체 중 둘 이상을 포함하는 혼합물, 예컨대 2,4-디니트로톨루엔 및 2,6-디니트로톨루엔을 포함하는 혼합물을 사용하는 것도 가능하다.

[0018] 일 구체예에 따르면, 상기 니트로톨루엔 유도체는 조성물 총 중량에 대하여 0.001 내지 20 중량% 포함할 수 있다. 함량이 0.001중량% 미만이면 상기 니트로톨루엔 유도체 성분에 의한 효능 및 효과가 미약하고, 20중량%를 초과하면 피부 안정성 또는 제형상의 문제가 있기 때문이다.

[0019] 일 구체예에 따르면, 상기 니트로톨루엔 유도체는 멜라닌 생성을 억제하고 티로시나제의 활성을 저해하며 이를 포함하는 조성물은 우수한 피부 미백 효과를 나타낼 수 있다.

[0020] 일 구체예에 따르면, 상기 피부 미백용 화장료 조성물은 피부 미백 효과를 상승 또는 보장시킬 수 있도록 피부 미백 효과가 있다고 알려진 화합물이나 천연 추출물을 포함할 수 있다. 예를 들어, 멸캄토숙신산, 멸캄토크스트란, 테프레논, 디하이드록시-이소퀴놀린, 인도메타신, 3-하이드록시마늘, 비타민 K, 티아졸리돈, 키누레닌, 레몬 추출물, 오이 추출물, 오디 추출물, 로즈마리 추출물, 아세로라 체리 추출물, 은행 추출물, 카롭(carob) 추출물, 제라늄(geranium) 추출물 등을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0021] 일 구체예에 따르면, 상기 피부 미백용 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 이 경우 화장료 조성물의 제형에 통상적으로 사용되는 담체 등을 포함하여 제조될 수 있다.

[0022] 일 구체예에 따르면, 상기 담체는 본 발명의 피부 미백용 화장품 조성물 전체 중량에 대하여 약 1 중량 % 내지 약 99.99 중량 %, 바람직하게는 조성물의 중량의 약 5 중량% 내지 약 99 중량 %로 포함될 수 있다.

- [0023] 일 구체예에 따르면, 상기 피부 미백용 화장품 조성물은 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화 될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 본 발명의 조성물이 화장품 조성물로 사용될 경우에는 화장수, 에멀전, 크림, 에센스, 젤, 팩 및 클렌징크림으로부터 선택되는 기초 화장품용 제형; 화운데이션 등의 메이크업 화장품용 제형으로 구성되는 군으로부터 선택되는 제형으로 제조될 수 있다.
- [0024] 일 구체예에 따른 상기 피부 미백용 화장품 조성물이 페이스트, 크림 또는 젤로 제형되는 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 진분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다. 본 발명의 조성물이 파우더 또는 스프레이로 제형되는 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0025] 일 구체예에 따른 상기 피부 미백용 화장품 조성물이 용액 또는 유탁액으로 제형되는 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대, 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [0026] 일 구체예에 따른 상기 피부 미백용 화장품 조성물이 현탁액으로 제형되는 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제; 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제; 미소 결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

**발명의 효과**

- [0027] 일 구체예에 따른 니트로톨루엔 유도체를 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물은 티로시나제 활성을 저해하고 멜라닌 생성을 억제하여 우수한 피부 미백 효과를 가지며 미백 기능이 부여된 화장품 개발에 유용하게 활용될 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

- [0028] 도 1은 수정 후 14시간이 경과된 제브라피쉬 배아(a)에 PTU(b), 알부틴(c), 2,4-디니트로톨루엔 8.57 μM(d), 4.12 μM(e), 2.09 μM(f), 2,6-디니트로톨루엔 25.38 μM(g), 12.69 μM(h), 6.37 μM(i)를 각각 24시간 처리(38 dpf)한 결과를 나타낸 사진이다.
- 도 2는 수정 후 14시간이 경과된 제브라피쉬 배아(a)에 PTU(b), 알부틴(c), 2,4-디니트로톨루엔 8.57 μM(d), 4.12 μM(e), 2.09 μM(f), 2,6-디니트로톨루엔 25.38 μM(g), 12.69 μM(h), 6.37 μM(i)를 각각 48시간 처리(2.5 dpf)한 결과를 나타낸 사진이다.
- 도 3은 수정 후 40시간이 경과된 제브라피쉬 배아(a)에 알부틴(b), 2,4-디니트로톨루엔 8.57 μM(d), 4.12 μM(e), 2.09 μM(f), 2,6-디니트로톨루엔 25.38 μM(g), 12.69 μM(h), 6.37 μM(i)를 각각 20시간 처리(2.5 dpf)한 결과를 나타낸 사진이다.
- 도 4는 수정 후 14시간이 경과된 제브라피쉬 배아(a)에 PTU(b), 알부틴(c), 2,4-디니트로톨루엔 8.57 μM(d), 4.12 μM(e), 2.09 μM(f), 2,6-디니트로톨루엔 25.38 μM(g), 12.69 μM(h), 6.37 μM(i)를 각각 24시간 처리한 배아(38 hpf)를 아크리딘 오렌지(Acridine Orange)를 처리하여 독성 평가를 실시한 결과를 나타낸 사진이다.
- 도 5는 수정 후 14시간이 경과된 제브라피쉬 배아에 PTU, 알부틴, 2,4-디니트로톨루엔 8.57 μM, 4.12 μM, 2.09 μM, 2,6-디니트로톨루엔 25.38 μM, 12.69 μM, 6.37 μM를 각각 24시간 처리한 배아(38 hpf)를 아크리딘 오렌지(Acridine Orange)를 처리하여 독성 평가를 실시한 결과를 나타낸 그래프이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0029] 이하 하나 이상의 구체예를 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 하나 이상의 구체

예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0030] **실시예 1: 미백 활성 실험**

[0031] 제브라피쉬 배아를 이용하여 미백 활성 실험 및 독성평가를 실시하였다. 제브라피쉬 배아는 충남대학교로부터 분양을 받아 사용하였다. 알부틴(Arbutin) (대조군 1), 페닐티오우레아(PTU) (대조군 2), 2,4-디니트로톨루엔 (실험군 1), 2,6-디니트로톨루엔(실험군 2)을 각각 E3 물(중류수 내 5 mM NaCl, 0.17 mM KCl, 0.33 mM CaCl<sub>2</sub> 및 0.33 mM MgSO<sub>4</sub>)에 용해시킨 후, 수정 후 14시간 또는 40시간이 경과한 제브라피쉬 배아를 분주하여 멜라닌 세포의 생성 또는 멜라닌 합성 저해 효과를 현미경(Olympus stereoscope, 2.5X objective lens)으로 관찰하였다.

[0032] 알부틴(Sigma A4256)은 통상의 화장품에서 약 36.72 mM 농도로 사용되는 것을 고려하여, 50 mM 농도로 처리하였으며, PTU(Sigma P7629)는 0.2 mM, 2,4-디니트로톨루엔(Sigma 101397) 및 2,6-디니트로톨루엔(Sigma D200603)은 최종 농도가 각각 2.09, 4.12, 8.57 μM가 되도록 처리하였다. 도 1은 수정 후 14시간이 경과된 제브라피쉬 배아에 PTU, Arbutin, 2,4-디니트로톨루엔, 2,6-디니트로톨루엔을 각각 24시간 처리(38 hpf)한 결과를 나타낸 것이다. 여기서, hpf란 hours post fertilization를 의미하며, dpf란 days post fertilization를 의미한다.

[0033] 도 1에 나타난 바와 같이, 2,4-디니트로톨루엔을 2~4 μM 농도로 처리한 경우와 2,6-디니트로톨루엔을 12 μM 농도로 처리한 경우 50 mM 농도의 알부틴을 처리했을 때의 미백 효과에 상응하는 것을 확인할 수 있었다.

[0034] 도 2는 수정 후 14시간이 경과된 제브라피쉬 배아에 PTU, 알부틴, 2,4-디니트로톨루엔, 2,6-디니트로톨루엔을 각각 48시간 처리(2.5 dpf)한 결과를 나타낸 것이다. 2,4-디니트로톨루엔 또는 2,6-디니트로톨루엔을 처리한 경우에 알부틴을 처리한 경우보다 한번의 처리를 통한 미백 효과가 더욱 오랫동안 지속됨을 확인할 수 있었다.

[0035] 도 3은 수정 후 40시간이 경과하여 이미 많은 멜라닌 세포가 생성된 제브라피쉬 배아에 알부틴, 2,4-디니트로톨루엔, 2,6-디니트로톨루엔을 각각 20시간 처리(2.5 dpf)한 결과를 나타낸 것이다. 2,4-디니트로톨루엔을 처리한 경우, 멜라닌 세포가 생성되기 전부터 처리한 경우인 도 1과 비교하여 보면 멜라닌 세포가 초기 생성된 후 처리하면 미백 효과가 줄어드는 것을 알 수 있었으며, 4~8 μM 농도로 처리한 경우에는 미백 효과가 50 mM 농도의 알부틴을 처리한 경우보다 우수함을 알 수 있었다. 2,6-디니트로톨루엔을 처리한 경우에는 멜라닌 세포가 생성되기 전부터 처리한 경우인 도 1과 비교하여 보면 이미 멜라닌 세포가 생성된 후 2,6-디니트로톨루엔을 처리하면 그 미백 효과가 알부틴보다 더욱 우수한 것을 확인할 수 있었다.

[0036] **실시예 2: 독성 평가(Acridine Orange staining)**

[0037] 실시예 1에서 사용할 수정 후 14시간이 경과된 제브라피쉬 배아에 PTU, 알부틴, 2,4-디니트로톨루엔, 2,6-디니트로톨루엔을 각각 24시간 처리한 배아(38 hpf)를 아크리딘 오렌지(Acridine Orange)로 염색하여 독성 평가를 실시하였다. Zeiss LSM 780 공초점주사현미경의 10X objective lens를 이용하여 관찰하였으며, 그 결과를 도 4 및 도 5에 나타내었다.

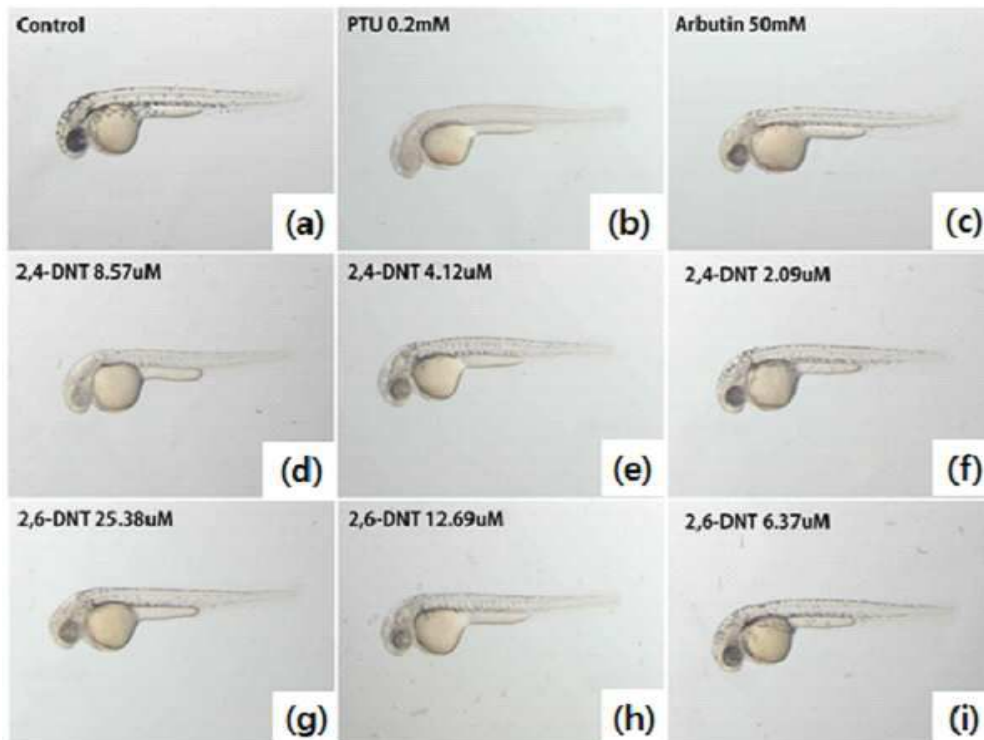
[0038] 도 4는 제브라피쉬 배아의 중간 몸통 부분을 10 μm sections으로 9장 (총 90 μm)을 찍어서 합친 그림이다. 관찰 시 보이는 초록색 점이 사멸한 세포에 해당하며, yolk extension 위쪽의 몸통 부분에 있는 사멸한 세포의 개수를 세어 도 5에 나타내었다.

[0039] 도 4 및 도 5에 나타난 바와 같이, 2,4-디니트로톨루엔 2~9 μM 농도와 2,6-디니트로톨루엔 6~25 μM 농도에서 제브라피쉬 배아를 처리할 경우 세포를 사멸시키는 독성은 거의 없음을 확인할 수 있었다.

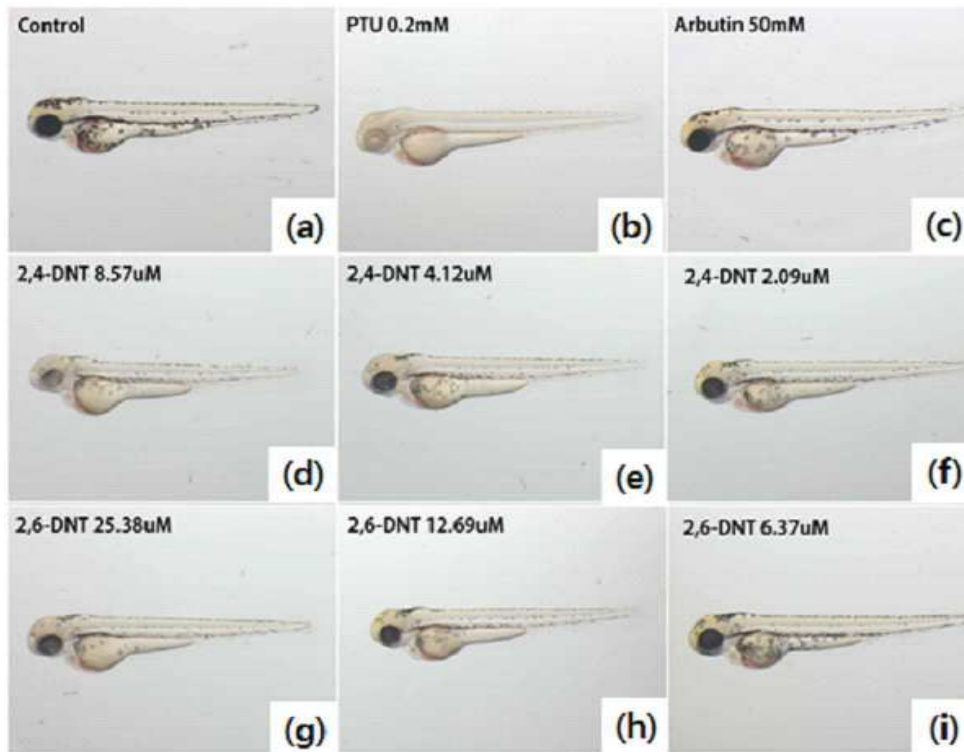
[0040] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

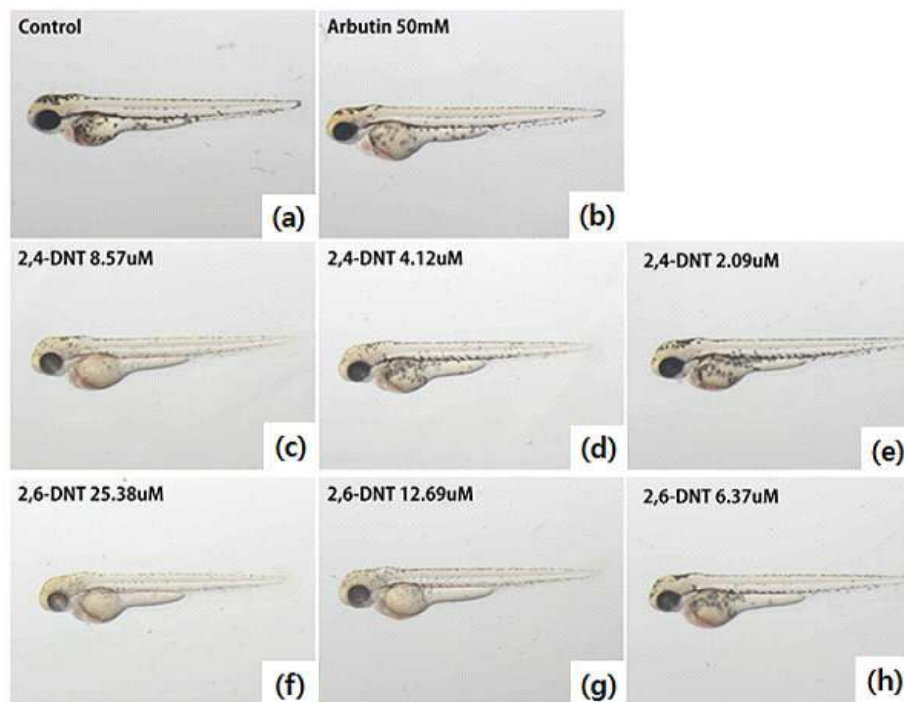
도면1



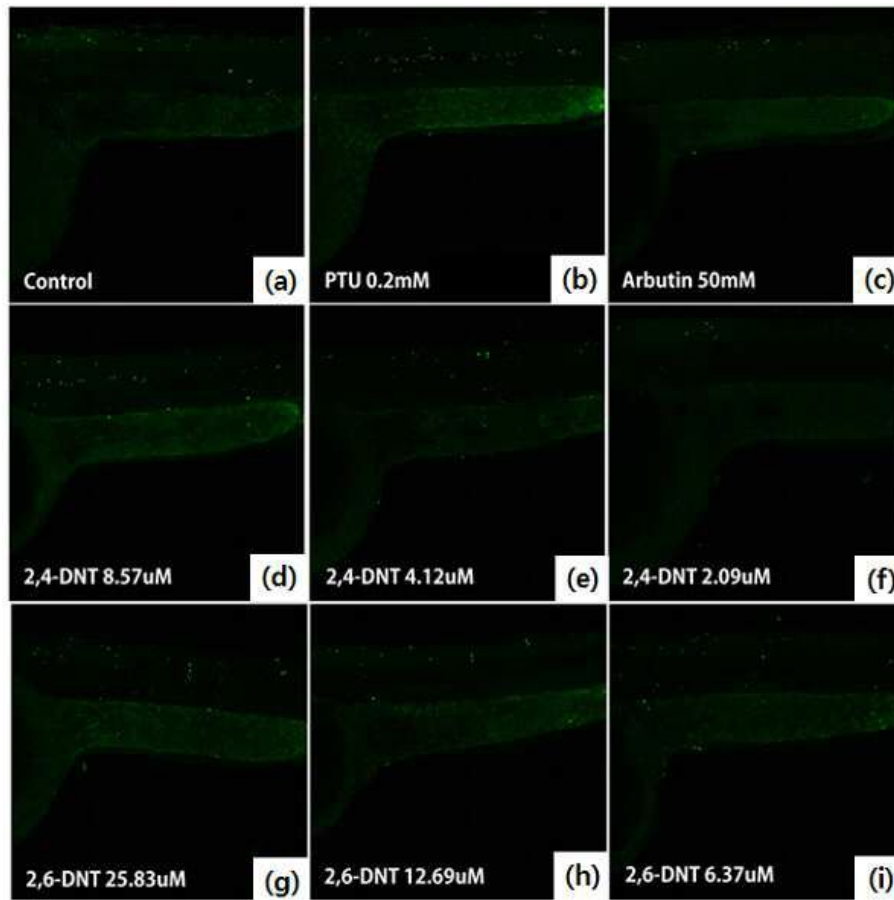
도면2



도면3



도면4



도면5

