



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년06월12일
(11) 등록번호 10-1988329
(24) 등록일자 2019년06월05일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07C 15/04 (2006.01) A61K 8/30 (2006.01)
A61K 8/34 (2006.01) A61Q 19/02 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07C 15/04 (2013.01)
A61K 8/30 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7010241(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2009년07월21일
심사청구일자 2018년04월11일
- (85) 번역문제출일자 2018년04월11일
- (65) 공개번호 10-2018-0041253
- (43) 공개일자 2018년04월23일
- (62) 원출원 특허 10-2016-7026533
원출원일자(국제) 2009년07월21일
심사청구일자 2016년10월26일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2009/051217
- (87) 국제공개번호 WO 2010/011630
국제공개일자 2010년01월28일
- (30) 우선권주장
61/082,422 2008년07월21일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
JP2000095721 A*
KR101661608 B1*
Tetrahedron Letters, Vol.49, pp.2469-2471,
2008.
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
유니젠, 인크.
미국 98121 워싱턴 시애틀 퍼스트 애비뉴 3005
- (72) 발명자
낸디, 샌딕, 케이
미국, 워싱턴 98501, 올림피아, 5132 캠퍼스 크릭
루프. 에스이
리우, 지연
미국, 워싱턴 98021, 보텔, 23730-3번가 플레이스
더블유.
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인한성

전체 청구항 수 : 총 1 항

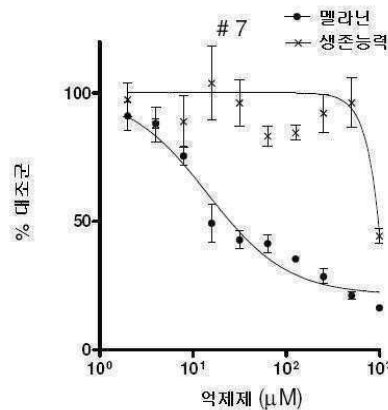
심사관 : 김예훈

(54) 발명의 명칭 일련의 피부-화이트닝(라이트닝) 화합물

(57) 요약

본 발명은 티로시나아제 억제제(tyrosinase inhibitors), 이와 같은 티로시나아제 억제제를 포함하는 약제학적 조성물, 및 이를 제조하고 사용하는 방법에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 티로시나아제의 활성을 억제하고 멜라닌의 과생성을 억제하는 적어도 하나의 2,4-디하이드록시벤젠 유사체로 이루어진 물질의 조성물을 포함한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 8/34 (2013.01)

A61Q 19/02 (2013.01)

(72) 발명자

네스트로프, 알렉산드레, 미하일로비치

미국, 워싱턴 98516, 올림피아, 5321 캐롤 드라이브
브. 엔이

허텔, 카르멘

미국, 워싱턴 98408, 타코마, 7027 에스. 세리단
에비뉴

파드마프리아, 아페이싱헤, 에이

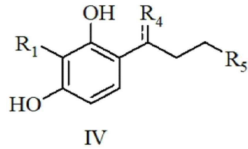
미국, 워싱턴 98502, 레이지, 1331 미라다 드라이브
브 엔이

명세서

청구범위

청구항 1

일반식 IV의 화합물:



여기에서, $\text{C}=\text{C}$ 는 이중 결합을 나타내고,

R₁은 H 또는 C₁-C₁₀ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R₄는 O이며,

R₅는 페닐, 바이페닐, 2-피리딜, 3-피리딜, 4-피리딜, 2-퓨라닐 또는 3-퓨라닐로 이루어진 군으로부터 선택되는 방향족 고리 또는 헤테로방향족 고리로 이루어진 군으로부터 선택되고, C₁-C₁₀ 알킬기, C₁-C₁₀ 알콕시기 또는 하이드록실기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3 모이에티에 의해 치환되며,

단, 상기 화합물은 1-(2,4-디하이드록시페닐)-3-(2,4-디메톡시페닐)-1-프로판 및 1-(2,4-디하이드록시-3-메틸페닐)-3-(2,4-디하이드록시페닐)프로판-1-온이 아니다.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 티로시나아제 억제제(tyrosinase inhibitors), 이와 같은 억제제를 포함하는 약제학적, 피부학적 및 미용학적 조성물 및 이를 제조하고 이용하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인간 피부색은 피부의 기저층(basal layers)에 위치하고 있는 특화된 세포인 멜라노사이트(melanocytes)에 의해 생성되는 멜라닌(melanin)의 양과 타입에 의해 결정된다. 가장 널리 분포되어 있는 천연 색소 중의 하나인 멜라닌은 복잡한 구조를 가지는 동종(homogeneous)의 폴리페놀-유사 바이오폴리머(polyphenol-like biopolymer)이며, 갈색에서 검정색(유멜라닌(eumelanin)) 및 붉은색에서 노란색(페오멜라닌(pheomelanin))으로 색이 변화한다(Prota G. *Med. Res. Rev.* **1988**, 8, 525-556). 인간의 피부에서, 멜라닌은 자외선(ultraviolet radiation)에 대한 보호제(protective agent)로서 작용하는 것으로 여겨진다. 그와 같이, 적도 부근에서 사는 사람들은 적도에서 벗어난 지역에서 사는 사람들에 비하여 더욱 어두운 피부를 가진다.

[0003] 멜라닌의 과생성(overproduction)은 서로 다른 형태의 비정상적인 피부색, 머리색 및 기미(melasma), 검버섯(age spots) 및 광화학선 손상(actinic damage) 부위와 같은 다른 피부질환을 야기할 수 있다. 멜라닌은 일련의 산화 반응 및 아미노산 티로신(tyrosine)과 함께 시작하는 중합 단계(polymerization steps)를 통하여 생성된다. 타입 III의 구리-함유(copper-containing) 효소인 티로시나아제(tyrosinase; EC1.14.18.1)는 멜라닌의 생성에서 두 개의 초기 반응을 촉매한다: 1) 모노페놀라아제(monophenolase) 작용에 의한 L-티로신의 오르토-수산화(ortho-hydroxylation), 및 2) 디페놀라아제(diphenolase) 작용에 의한 3,4-디하이드록시페닐알라닌(3,4-dihydroxyphenylalanine; L-DOPA) → *o*-도파퀴논(*o*-dopaquinone)의 산화. 후자의 산화 단계는 전자보다 훨씬 빠르므로, 티로신의 수산화는 멜라닌 생합성에서 속도 결정 단계(rate determining step)로 간주된다. 그 후 *o*-도파퀴논에서 멜라닌으로의 전환은 일련의 효소 및 비효소적 중합 반응을 통하여 일어난다. 도파크롬 타우토메라아제(dopachrome tautomerase)(티로시나아제 관련 단백질 2(Tyrosinase Related Protein 2; TRP-2)) 및 디하이드록시인돌 카르복실산(dihydroxyindole carboxylic acid; DICH) 옥시다아제(티로시나아제 관련 단백질 1(Tyrosinase Related protein 1; TRP-1))와 같은 다른 효소들 또한 멜라닌의 생합성 과정에 관련되어 있다. 티로시나아제는 멜라닌 생성의 과정에서 중요한 역할을 하기 때문에, 이 효소의 억제제는 종종 피부 화이트닝제로서 사용된다(Mosher et al. In *Dermatology in General Medicine*, **1983**, 205-125, Fitzpatrick T. B.,

Eisen A. Z., Wolff K., Freedberg I. M., Austern K. F. (eds), Mc-Graw-Hill, New York.; Maeda K., Fukuda M, In vitro effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocytes. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **1991**, 42, 361-368).

[0004] 다수의 자연적으로 생성되는 것들뿐만 아니라 합성 티로시나아제 억제제들도 문헌에 기재되어 있다. 대다수의 화합물들이 페놀 구조를 포함한다. 이 화합물들은 금속 킬레이트제(metal chelating agents)로서 작용한다 (Kojima et al. *Biol. Pharma. Bull.* **1995**, 18, 1076-1078.; Seo et al. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 2837-2853.; Fu et al. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 53, 7408-7414.; Kim, Y. -J.; Uyama, H. *Cell. Mol. Life Sci.* **2005**, 62, 1707-1723 및 거기에 인용된 문헌들). 하이드로퀴논(2-4%)을 포함하는 약제학적 제품은 중간수준의 효과(moderately efficacious)를 나타내지만, 하이드로퀴논은 멜라노사이트(melanocytes)에 세포독성을 나타내며 포유동물의 세포에 잠재적으로 돌연변이를 일으킨다. 불행하게도, 몇몇의 활성제로 알려진, 예를 들어 알부틴(arbutin) 및 코직산(kojic acid)은 다른 것들 중에서 신중하게 조절된 연구에서 비판적으로 분석되었을 때 임상적으로 효과가 있는지에 대해서는 아직 증명되지 않았다(Frenk, E. In *Melasma: New Approaches to Treatment*; Martin Dunitz: London, **1995**, 9-15.; Dooley, T. P. In: *Drug Discovery Approaches for Developing Cosmeceuticals: Advanced Skin Care and Cosmetic Products*; Hori. W., Ed.; International business communications: Southborough, MA, **1997**; Dooley, T. P. *J. Dermatol. Treat.* **1997**, 7, 188-200).

[0005] 많은 티로시나아제 억제제들이 레스베라트롤(resveratrol) 또는 그것의 유도체와 같은 플라보노이드(flavonoids) 또는 트랜스-스틸벤(trans-stilbene)의 레조르시놀(resorcinol) 유도체 또는 폴리페놀(polyphenol) 유도체이다. 이러한 타입의 화합물들은 금속 이온과 함께 강력한 킬레이트를 형성하는 것으로 알려져 있다(Seo et al. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 2837-2853.; Fu et al. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 53, 7408-7414.; Kim, Y.-J.; Uyama, H. *Cell. Mol. Life Sci.* **2005**, 62, 1707-1723 및 거기에 인용된 문헌들; Lerch, K. In: *Metal ions in Biological Systems*, pp. 143-186; Sigel, H., Ed.; Marcel Dekker, NY, **1981**.; Wilcox et al. In: *Substrate analogue binding to the coupled binuclear copper active site in tyrosinase*, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 4015-4027.; Sanchez-Ferrer et al. *Biochim. Biophys. Acta* **1995**, 1247, 1-11.; Decker et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 1591-1595.; Decker et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 4546-4550.; Briganti et al. *Pigment Cell Res.* **2003**, 16, 101-110). 레조르시놀 부분(resorcinol moiety)에 기초한 여러가지 화합물들이 티로시나아제 억제제로서 사용되어 왔다(JP 2008-056651 A; JP 2000-095721 A; US 2005/0267047 A1; US 5,339,785; US 6,093,836; US 2008/0032938 A1; US 7,282,592 B2; US 7,339,076 B1; US 5,880,314; US 6,852,310 B2; US 6,077,503; US 2005/0271608 A1; US 5,523,421; US 2007/0098655 A1; US 2005/0267047 A1을 참조).

[0006] 비록 많은 화합물들이 잠재적인 티로시나아제 억제제로서 보고되어 왔으나, 그것들 중 극히 소수만이 피부-화이트너(skin-whitener) 특성을 나타낸다. 또한, 이 약제들 중 대다수가 인간에서 독성을 나타내거나 부작용(adverse side effect)를 가지는 것으로 밝혀졌다. 그와 같이, 낮은 세포독성과 함께 강력한 티로시나아제 활성을 가지는 새로운 천연 생성물 또는 합성 화합물에 대한 탐색이 계속되어 왔다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 신규한 티로시나아제 억제제(tyrosinase inhibitors), 이와 같은 억제제를 포함하는 약제학적, 피부학적 및 미용학적 조성물 및 이를 만들고 이용하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 티로시나아제에 대한 뛰어난 억제 활성 및 매우 낮은 세포독성을 가지는 새로운 일련의 신규한 미백제(depigmenting agents)를 제공한다. 상기 화합물은 안정하며, 상용의 출발 물질로부터 쉽게 합성된다. 더욱 상세하게는, 본 발명은 티로시나아제 억제제인 신규한 2,4-디하이드록시벤젠 유도체(2,4-dihydroxybenzene derivatives)를 제공한다. 본 발명은 이러한 티로시나아제 억제제의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 또한, 적어도 하나의 본 발명의 티로시나아제 억제제 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체로 이루어진 약제학적 조성물을 포함한다. 본 발명의 조성물은 임의의 적절한 약제학적으로 허용가능한 투약 형태로 제조될 수 있다.

- [0009] 본 발명은 또한 그것을 필요로 하는 환자에서 효소 티로시나아제를 억제하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 유효량의 적어도 하나의 본 발명의 2,4-디하이드록시벤젠 티로시나아제 억제제를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0010] 본 발명은 효소 티로시나아제의 활성화에 관련된 질병 및 이상의 예방 및 치료를 위한 방법을 더 제공한다. 본 발명의 방법 및 본 발명에 따른 치료는 치료학적 유효량의 적어도 하나의 본 발명의 신규한 2,4-디하이드록시벤젠 티로시나아제 억제제를 그것을 필요로 하는 환자에게 내부적(internally) 또는 국부적으로 투여하는 것을 포함한다.
- [0011] 본 발명은 또한 그것을 필요로 하는 환자에서 멜라닌의 합성을 억제하기 위한 방법을 제공한다. 이와 같은 방법은 적어도 하나의 본 발명의 2,4-디하이드록시벤젠 화합물을 포함하는 유효량의 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0012] 본 발명은 멜라닌의 과생산(overproduction) 또는 고르지 않은 분포(uneven distribution)에 관련된 질병 및 이상의 예방 및 치료를 위한 방법을 더 제공하며, 상기 방법은 치료학적 유효량의 적어도 하나의 본 발명의 2,4-디하이드록시벤젠 화합물을 그것을 필요로 하는 환자에게 내부적 또는 국부적으로 투여하는 것을 포함한다. 멜라닌의 과생산 또는 고르지 않은 분포에 관련된 질병 및 이상은 피부 노화, 기미, 간 질환, 열화상(thermal burn) 및 국부적 상처에 의해 야기되는 과다색소침착 반점(hyperpigmentation spot), 진균, 세균 및 바이러스 감염에 의해 야기되는 염증성 질환에 의한 피부 착색, 백반증(vitilago), 암(carcinoma), 흑색종(melanoma) 뿐만 아니라 다른 포유동물의 피부 질환을 포함하나, 이로 제한되는 것은 아니다.
- [0013] 상기 방법들은 또한 태양, 자외선, 화학 물질, 열, 바람 및 건조한 환경에 대한 노출로부터 야기되는 피부 다크닝(darkening) 및 손상을 예방하고 치료하는데 사용될 수 있다. 마지막으로, 상기 방법들은 주름(wrinkles), 처진 피부(saggy skin), 눈 주변의 주름(line) 및 다크 서클(dark circles), 수딩 민감성(soothing sensitive) 피부를 예방하고 치료하고, 피부염(dermatitis) 및 다른 피부의 알러지 관련 질환을 치료하는데 사용될 수 있다.
- [0014] 특정 구현에서, 그것을 필요로 하는 환자에게 투여되는 본 발명의 2,4-디하이드록시벤젠 티로시나아제 억제제의 투약량은 최종 체형의 총 중량에 기초하여 0.001% 내지 100%의 범위 및/또는 환자의 체중에 기초하여 1kg 당 0.01mg 내지 200mg의 범위로부터 일반적으로 선택된 효능이 있는 무독성의 양이다. 임상실험을 사용하는 당업자들은 치료될 특정 질환을 위한 최적의 투약량을 결정할 수 있다. 본 발명의 조성물은 당업자들에게 잘 알려진 임의의 방법에 의해 투여될 수 있다. 투여 방법은 장관(경구)투여(enteral administration), 비경구(정맥, 피하 내 및 근육 내) 투여 및 국부 적용을 포함하지만, 이로 제한되지는 않는다. 본 발명에 따른 치료 방법은 치료학적 유효량의 적어도 하나의 본 발명의 2,4-디하이드록시벤젠을 그것을 필요로 하는 환자에게 내부적 또는 국부적으로 투여하는 것을 포함한다.
- [0015] 본 발명은 실시예 1-5에 기재된 것과 같은 본 발명의 2,4-디하이드록시벤젠 티로시나아제 억제제의 합성을 위한 신규한 방법을 포함한다. 따라서, 본 발명은 원하는 생리학적 활성을 가지는 물질의 조성물을 얻기 위하여, 본 발명의 2,4-디하이드록시벤젠의 합성 및/또는 분리, 정제 및 제형화를 위하여 상업적으로 이용가능한 옵션을 제공한다.
- [0016] 또 다른 구현에서, 상기 2,4-디하이드록시벤젠은 과일, 야채, 주스 및 다른 식품에서 갈변(browning) 및 색 변화를 억제하기 위하여 식품 산업에서 사용될 수 있다.
- [0017] 비록 본원에 기재된 것들과 유사하거나 동등한 방법 및 물질들이 본 발명의 실행 또는 실험에 사용될 수 있을지라도, 적절한 방법 및 물질들이 하기에 기재된다. 모든 공개적으로 이용가능한 문헌, 특허 문헌, 특허 및 본원에 언급된 다른 참조문헌들이 전부 참조로서 통합되어 있다.
- [0018] 앞서 언급한 일반적인 설명 및 하기의 상세한 설명 모두 단지 예시 및 설명적인 것이며, 청구된 본 발명을 제한하고자 하는 것이 아닌 것으로 이해된다. 다른 주제, 이점 및 신규한 특성들은 하기의 상세한 설명으로부터 당업자에게 명백해질 것이다.

발명의 효과

- [0019] 본 발명의 신규한 미백제(depigmenting agents)는 티로시나아제에 대한 뛰어난 억제 활성 및 매우 낮은 세포독성을 가지므로,

도면의 간단한 설명

[0020]

도 1은 실시예 7에 기재된 것과 같은 4-(피리딘-일메틸)벤젠-1,3-디올(4-(pyridin-ylmethyl)benzene-1,3-diol)(7)에 의한 멜라닌 생성에서의 억제 프로필(●)을 도표로 나타낸 것이다. 데이터는 멜라닌 함량(비처리된 대조군의 %) 대 억제제 농도(μM)로 나타내었다. 화합물 7의 IC_{50} 은 $14\ \mu\text{M}$ 로 측정되었다. 도 1은 또한 다양한 농도의 화합물 7에서의 세포 생존(cell viability)(LD_{50})(x)을 도표로 나타내었다.

도 2는 실시예 7에 기재된 것과 같은 4-(2-벤조[d][1,3]디옥솔-5-일에틸)벤젠-1,3-디올(4-(2-benzo[d][1,3]dioxol-5-ylethyl)benzene-1,3-diol)(15)에 의한 멜라닌 생성에서의 억제 프로필(●)을 도표로 나타낸 것이다. 데이터는 멜라닌 함량(비처리된 대조군의 %) 대 억제제 농도(μM)로 나타내었다. 화합물 15의 IC_{50} 은 $3.3\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다. 도 2는 또한 다양한 농도의 화합물 15에서의 세포 생존(cell viability)(LD_{50})(x)을 도표로 나타내었다. 화합물 15에 대한 LD_{50} 은 $66\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다.

도 3은 실시예 7에 기재된 것과 같은 4,4'-(에탄-1,2디일)디벤젠-1,3-디올(4,4'-(ethane-1,2diyl)dibenzene-1,3-diol)(16)에 의한 멜라닌 생성에서의 억제 프로필(●)을 도표로 나타낸 것이다. 데이터는 멜라닌 함량(비처리된 대조군의 %) 대 억제제 농도(μM)로 나타내었다. 화합물 16의 IC_{50} 은 $1.7\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다. 도 3은 또한 다양한 농도의 화합물 16에서의 세포 생존(cell viability)(LD_{50})(x)을 도표로 나타내었다. 화합물 16에 대한 LD_{50} 은 $260\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다.

도 4는 실시예 7에 기재된 것과 같은 4-(2,4-디메톡시페네틸)벤젠-1,3-디올(4-(2,4-dimethoxyphenethyl)benzene-1,3-diol)(17)에 의한 멜라닌 생성에서의 억제 프로필(●)을 도표로 나타낸 것이다. 데이터는 멜라닌 함량(비처리된 대조군의 %) 대 억제제 농도(μM)로 나타내었다. 화합물 17의 IC_{50} 은 $11.9\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다. 도 4는 또한 다양한 농도의 화합물 17에서의 세포 생존(cell viability)(LD_{50})(x)을 도표로 나타내었다. 화합물 17에 대한 LD_{50} 은 $157.8\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다.

도 5는 실시예 7에 기재된 것과 같은 4-(3,5-디메톡시페네틸)벤젠-1,3-디올(4-(3,5-dimethoxyphenethyl)benzene-1,3-diol)(18)에 의한 멜라닌 생성에서의 억제 프로필(●)을 도표로 나타낸 것이다. 데이터는 멜라닌 함량(비처리된 대조군의 %) 대 억제제 농도(μM)로 나타내었다. 화합물 18의 IC_{50} 은 $2.97\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다. 도 5는 또한 다양한 농도의 화합물 18에서의 세포 생존(cell viability)(LD_{50})(x)을 도표로 나타내었다. 화합물 18에 대한 LD_{50} 은 $222.2\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다.

도 6은 실시예 7에 기재된 것과 같은 4-(2,4-디메톡시-3-메틸페네틸)벤젠-1,3-디올(4-(2,4-dimethoxy-3-methylphenethyl)benzene-1,3-diol)(19)에 의한 멜라닌 생성에서의 억제 프로필(●)을 도표로 나타낸 것이다. 데이터는 멜라닌 함량(비처리된 대조군의 %) 대 억제제 농도(μM)로 나타내었다. 화합물 19의 IC_{50} 은 $24.7\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다. 도 6은 또한 다양한 농도의 화합물 19에서의 세포 생존(cell viability)(LD_{50})(x)을 도표로 나타내었다. 화합물 19에 대한 LD_{50} 은 $130.3\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다.

도 7은 실시예 7에 기재된 것과 같은 4-(2-(퓨란-2-일)에틸)벤젠-1,3-디올(4-(2-furan-2-yl)ethyl)benzene-1,3-diol)(24)에 의한 멜라닌 생성에서의 억제 프로필(●)을 도표로 나타낸 것이다. 데이터는 멜라닌 함량(비처리된 대조군의 %) 대 억제제 농도(μM)로 나타내었다. 화합물 24의 IC_{50} 은 $1.6\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다. 도 7은 또한 다양한 농도의 화합물 24에서의 세포 생존(cell viability)(LD_{50})(x)을 도표로 나타내었다. 화합물 24에 대한 LD_{50} 은 $345.9\ \mu\text{M}$ 로 측정되었다.

도 8은 실시예 7에 기재된 것과 같은 4-(2-(테트라하이드로퓨란-2-일)에틸)벤젠-1,3-디올(4-(2-tetrahydrofuran-2-yl)ethyl)benzene-1,3-diol)(25)에 의한 멜라닌 생성에서의 억제 프로필(●)을 도표로 나타낸 것이다. 데이터는 멜라닌 함량(비처리된 대조군의 %) 대 억제제 농도(μM)로 나타내었다. 화합물 25의 IC_{50} 은 $5\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다. 도 8은 또한 다양한 농도의 화합물 25에서의 세포 생존(cell viability)(LD_{50})(x)을 도표로 나타내었다. 화합물 25에 대한 LD_{50} 은 $> 1000\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다.

도 9는 실시예 7에 기재된 것과 같은 화합물 30에 의한 멜라닌 생성에서의 억제 프로필(●)을 도표로 나타낸 것

이다. 데이터는 멜라닌 함량(비처리된 대조군의 %) 대 억제제 농도(μM)로 나타내었다. 화합물 30의 IC_{50} 은 $156\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다. 도 9는 또한 다양한 농도의 화합물 30에서의 세포 생존(cell viability)(LD_{50})(x)을 도표로 나타내었다. 화합물 30에 대한 LD_{50} 은 $187.8\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다.

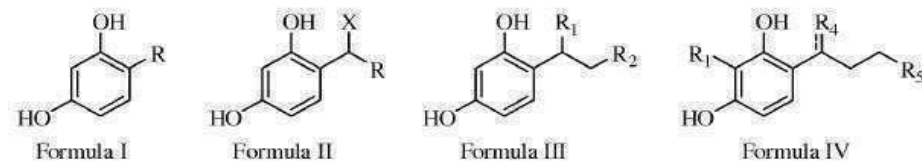
도 10은 실시예 7에 기재된 것과 같은 코직산(kojic acid)에 의한 멜라닌 생성에서의 억제 프로필(●)을 도표로 나타낸 것이다. 데이터는 멜라닌 함량(비처리된 대조군의 %) 대 억제제 농도(μM)로 나타내었다. 마우스 검정법(murine assay) 코직산의 IC_{50} 은 $303.5\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다. 도 10은 또한 다양한 농도의 코직산에서의 세포 생존(cell viability)(LD_{50})(x)을 도표로 나타내었다. 코직산에 대한 LD_{50} 은 $> 1000\ \mu\text{M}$ 가 되는 것으로 측정되었다.

도 11A는 실시예 8에 기재된 것과 같이 제조된 인공 피부(reconstructed skin)를 묘사한 것이다. 상기 인공 피부는 피부 미백제의 국부 적용을 모방할 수 있게 만들어 주는 공기-액체 경계면(air-liquid interface)에서 성장시켰다.

도 11B는 실시예 8에 기재된 것과 같이 연구된 인공 피부의 결과를 사진으로 나타낸 것이다. 실험 15일 경과 후 피부 견본(specimen)의 사진은 어두운 수지상 세포(dendritic cells)로서 사진상에 나타나는, 멜라노사이트 상에서의 현저한 용량-의존성(dose-dependent) 화이트닝 효과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 본 발명은 티로시나아제 효소의 강력한 억제제인 약제학적 약제를 제공한다. 특히, 하기의 일반식 I-IV로 나타내는 구조를 가지는 티로시나아제 억제제 또는 그것의 약제학적으로 허용가능한 염인 치환된 2,4-디하이드록시벤젠(2,4-dihydroxybenzene) 유도체를 제공한다.



[0022] 이 화합물들은 뛰어난 티로시나아제 억제 활성과 낮은 세포독성을 가지는 것으로 나타났다. 버섯의 티로시나아제에 대한 대표적인 화합물의 억제 활성뿐만 아니라, 쥐의 B16-F1 흑색종 세포(melanoma cells)에 의한 멜라닌 생성의 억제도 예증하였다. 대표적 화합물의 피부 화이트닝 특성은 실시예 8에 기재된 것과 같은 인공 인간 피부 모델을 사용하여 평가하였다. 이 화합물들 또는 그것들의 약제학적으로 허용가능한 염은 하기에 상세히 기재된 것과 같이 미용 및 의학적 적용 모두에 유용할 것으로 나타났다.

[0023] 이 화합물들은 뛰어난 티로시나아제 억제 활성과 낮은 세포독성을 가지는 것으로 나타났다. 버섯의 티로시나아제에 대한 대표적인 화합물의 억제 활성뿐만 아니라, 쥐의 B16-F1 흑색종 세포(melanoma cells)에 의한 멜라닌 생성의 억제도 예증하였다. 대표적 화합물의 피부 화이트닝 특성은 실시예 8에 기재된 것과 같은 인공 인간 피부 모델을 사용하여 평가하였다. 이 화합물들 또는 그것들의 약제학적으로 허용가능한 염은 하기에 상세히 기재된 것과 같이 미용 및 의학적 적용 모두에 유용할 것으로 나타났다.

[0024] 본원에서 사용된 것으로서, 용어 "유도체(derivative)" 또는 "유사체(analog)"는 중심 2,4-디하이드록시벤젠 고리를 계속 간직하는 일반식 I-IV의 화합물로서 유사한 화학 구조 또는 기능을 가지는 화합물을 말한다.

[0025] 다양한 용어들이 본 발명의 양상을 나타내기 위하여 본원에서 사용된다. 본 발명의 성분의 기술 설명에 도움을 주기 위하여, 하기의 정의들을 제공한다. 달리 정의하지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술 및 과학 용어들은 본 발명이 속하는 당업계에서 당업자들에 의해 일반적으로 통용되는 의미를 가진다.

[0026] 본원에서 사용된 것으로서, 용어 "하나(a or an)"의 실체(entity)는 하나 또는 그 이상의 실체를 말하며; 예를 들어, 티로시나아제 억제제(a tyrosinase inhibitor)는 하나 또는 그 이상의 티로시나아제 억제제를 말한다. 그와 같이, 상기 용어 "하나(a or an)", "하나 또는 그 이상(one or more)" 및 "적어도 하나(at least one)"은 본원에서 상호교환적으로 사용된다.

[0027] 본원에서 사용된 것으로서, "약(about)"은 당업자에 의해 이해되어 질 것이며, 그것이 사용되는 문맥에 따라 어느 정도 바뀔 것이다. 만약 그것이 사용된 문맥상에 당업자에게 명확하지 않은 용어의 사용이 주어진다면, "약"은 특정 용어의 플러스 또는 마이너스 10% 까지의 평균일 것이다.

[0028] 본원에 사용된 것으로서, 상기 용어 "알킬(alkyl)"은 탄소 원자의 표시 숫자(indicated number)를 가지는 직쇄(straight chain) 또는 분지쇄(branched chain)의 포화 탄화수소를 말한다. 예를 들어, $(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ 알킬은 1개 내지 10개의 탄소 원자를 가지는 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소를 포함하는 것을 의미한다. 알킬기는 본원에 기재된

것과 같은 하나 또는 그 이상의 치환기로 비치환되거나 선택적으로 치환될 수 있다.

- [0029] 본원에 사용된 것으로서, 상기 용어 "알콕시(alkoxy)"는 탄소 원자의 표시 숫자를 가지는 -O-알킬기를 말한다. 예를 들어, (C₁-C₁₀)알콕시기는 10개까지의 탄소 원자를 가지는 -OCH₃, -OCH₂CH₃ 등을 포함한다.
- [0030] 본원에 사용된 것으로서, 상기 용어 "헤테로원자(heteroatom)"는 산소(oxygen; O), 질소(nitrogen; N) 및 황(sulfur; S)을 포함하는 것을 의미한다.
- [0031] 본원에 사용된 것으로서, 상기 용어 "헤테로방향족(heteroaromatic)"은 5 내지 14 원자(member)의 방향족 헤테로시클릭 고리를 말하며, 질소, 산소, 황으로부터 선택된 적어도 하나의 헤테로원자를 가지며, 적어도 하나의 탄소 원자를 포함한다. 대표적인 헤테로방향족은 피리딜(pyridyl), 퓨릴(furyl), 티에닐(thienyl), 피롤릴(pyrrolyl) 및 이미다졸릴(imidazolyl) 등을 포함한다. 상기 헤테로아틸기는 화학적으로 허용가능한 경우에 임의의 헤테로원자 또는 탄소 원자를 통하여 부착될 수 있다. 헤테로아틸기는 본원에 기재된 것과 같은 하나 또는 그 이상의 치환기로 비치환되거나 선택적으로 치환될 수 있다.
- [0032] 본원에 사용된 것으로서, 상기 용어 "헤테로시클(heterocycle)"은 어느 한쪽이 치환, 비치환되고, 질소, 산소 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 포함하며, 여기에서 상기 질소 및 황 헤테로원자는 선택적으로 산화될 수 있고, 상기 질소 헤테로원자는 선택적으로 4차화(quaternized)될 수 있는 비방향성(non-aromatic) 5-14원자 고리 시스템을 말한다. 상기 헤테로시클은 화학적으로 허용가능한 경우 임의의 헤테로원자 또는 탄소 원자를 통하여 부착될 수 있다. 비방향족 헤테로시클의 대표적 예는 테트라하이드로피라닐(tetrahydrofuranyl), 테트라하이드로피롤릴(tetrahydropyrrolyl), 피라닐(pyranyl) 및 테트라하이드로피라닐(tetrahydropyranyl) 등을 포함하나, 이로 제한되지는 않는다. 헤테로시클기는 본원에 기재된 것과 같은 하나 또는 그 이상의 치환기로 비치환되거나 선택적으로 치환될 수 있다.
- [0033] 본원에 사용된 것으로서, 상기 용어 "방향족(aromatic)"은 하나 또는 그 이상의 탄화수소 방향족 고리를 포함하거나 그것으로 구성된 임의의 화합물을 말한다. 상기 고리는 모노시클릭(monocyclic) 또는 폴리시클릭(polycyclic) 고리 시스템일 수 있다. 적절한 고리의 예는 벤젠(benzene), 바이페닐(biphenyl), 터페닐(terphenyl), 나프탈렌(naphthalene) 등을 포함하나, 이로 제한되는 것은 아니다.
- [0034] 본원에 사용된 것으로서, 상기 용어 "하이드록시알킬(hydroxyalkyl)"은 탄소 원자의 표시 숫자를 가지며, 여기에서 알킬기에서 하나 또는 그 이상의 수소 원자가 -OH기로 치환되는 알킬기를 말한다. 하이드록시알킬기의 대표적인 예는 -CH₂OH, -CH₂CH₂OH, -CH₂CH₂CH₂OH, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂OH, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂OH, 그것들의 분지된 형태를 포함하나 이로 제한되는 것은 아니다. 전형적으로, 상기 하이드록시알킬은 일반식 -(C₁-C₁₀)알킬-OH의 화합물이다.
- [0035] 본원에 사용된 것으로서 "치료학적(therapeutic)"은 예방(prevention), 치료 및/또는 예방(prophylaxis)을 포함한다. 치료학적이라는 용어가 사용되는 경우는 인간뿐만 아니라 다른 동물도 말한다.
- [0036] "약제학적 또는 치료학적 유효량(pharmaceutically or therapeutically effective dose or amount)"은 이상적인 생물학적 결과를 유도하기에 충분한 투약 레벨을 말한다. 그 결과는 질병의 징후(signs), 증상(symptoms) 또는 요인(causes)의 완화 또는 원하는 생물학적 시스템의 어떤 다른 변화일 것이다. 정확한 투약량은 나이 및 피험자의 크기, 질병 및 달성할 치료를 포함하나 이로 제한되지는 않는 다양한 인자에 따라 바뀔 것이다.
- [0037] "숙주(host)" 또는 "환자(patient)" 또는 "피험자(subject)"는 치료가 필요한 살아있는 포유류, 인간 또는 동물이다. 상기 "숙주", "환자" 또는 "피험자"는 일반적으로 본 발명의 방법에 따라 수행될 치료의 수용자(recipient)를 말한다. 본원에 기재된 본 발명은 수의학뿐만 아니라 인간 적용에도 사용될 수 있고, 상기 용어 "숙주"는 방법을 제한하는 것으로 이해되어서는 안된다는 것에 주의하여야 한다. 수의학 적용의 경우에 있어서, 투약 범위는 동물의 체중을 고려하여 하기에 기재된 것과 같이 결정될 수 있다.
- [0038] 본원에 사용된 것으로서, 상기 용어 "약제학적으로 허용가능한(pharmaceutically acceptable)"은 동물, 더욱 상세하게는 인간에서 사용하기 위하여 연방정부(federal) 또는 주 정부(state government)의 관리기관 또는 미국 약전(pharmacopoeia) 또는 다른 일반적으로 인정되는 약전(generally recognized pharmacopoeia)에 의해 승인되었음을 의미한다. 상기 용어 "담체(carrier)"는 치료제와 함께 투여되는 희석제(diluent), 보조제(adjunct), 첨가제(excipient) 또는 비히클(vehicle)을 말하며, 물과 오일과 같은 멸균된 용액을 포함하지만 이로 제한되지는 않는다.

[0039] 티로시나아제 억제제의 "약제학적으로 허용가능한 염(pharmaceutically acceptable salt)" 또는 "염(salts)"은 이온결합을 포함하는 기재된 화합물의 생성물이고, 전형적으로 피험자에게 투여하는데 적합한 산 또는 염기 중 하나와 함께 기재된 화합물을 반응시켜 생성된다. 약제학적으로 허용가능한 염은 하이드로클로라이드(hydrochlorides), 하이드로브로마이드(hydrobromides), 포스페이트(phosphate), 설페이트(sulphates), 하이드로젠 설페이트(hydrogen sulphates), 알킬술포네이트(alkylsulphonates), 아릴술포네이트(arylsulphonates), 아릴알킬술포네이트(arylalkylsulfonate), 아세테이트(acetates), 벤조에이트(benzoates), 시트레이트(citrates), 말리에이트(maleates), 푸마레이트(fumarates), 숙시네이트(succinates), 락테이트(lactates) 및 타트레이트(tartrates)를포함하는 산 부가염(acid addition salts); Li, Na, K와 같은 알칼리 금속 양이온(alkali metal cations); Mg 또는 Ca와 같은 알칼리 토금속 염(alkali earth metal salts) 또는 유기 아민 염(organic amine salts)을 포함할 수 있으나 이로 제한되지는 않는다.

[0040] "약제학적 조성물(pharmaceutical composition)"은 피험자에게 투여하기에 적합한 형태로 기재된 화합물을 포함하는 제형이다. 본 발명의 약제학적 조성물은 바람직하게는 그것의 투여 방법에 적합하게 제형화된다. 투여 방법의 예는 경구(oral) 및 비경구(parenteral), 예를 들어, 정맥내(intravenous), 피부내(intradermal), 피하내(subcutaneous), 흡입(inhalation), 국부(topical), 경피(transdermal), 점막(transmucosal) 및 장관내(rectal) 투여를 포함하나 이로 제한되는 것은 아니다.

[0041] 본원에 사용된 것으로서, 상기 용어 "치환(substituted)"은 지정된 원자 상에서 임의의 하나 또는 그 이상의 수소가 지시된 기로부터 선택된 것으로 치환되는 것을 의미하며, 만일 지정된 원자의 표준 원자가(normal valency)가 초과되지 않는다면, 치환은 안정한 화합물을 제공한다. 치환기가 케토(keto)(즉, =O)인 경우, 그 후 원자 상에서 2개의 수소가 치환된다. 치환기의 예는 C₁-C₁₀ 알킬, 하이드록시(-OH); C₁-C₁₀ 알콕시기를 포함하나 이로 제한되는 것은 아니다. 전형적으로, 방향족, 헤테로방향족 또는 헤테로시클릭 고리는 1-3 치환기부터 가질 것이다.

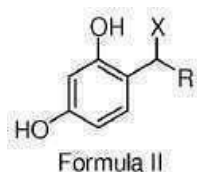
[0042] 본 발명의 양상 중 하나에서, 본 발명은 일반식 I으로 나타내는 구조를 가지는 화합물 또는 그것의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다:



[0043]

[0044] 여기에서, R은 치환 또는 비치환된 방향족, 헤테로방향족 또는 헤테로시클릭 고리로부터 선택된다. 일 구현에서, R은 치환 또는 비치환된: 페닐(phenyl), 바이페닐(biphenyl), 2-피리딜(2-pyridyl), 3-피리딜(3-pyridyl), 4-피리딜(4-pyridyl), 2-퓨라닐(2-furanyl), 3-퓨라닐(3-furanyl)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일 구현에서, R은 C₁-C₁₀ 알킬기, C₁-C₁₀ 알콕시기 또는 하이드록실기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3 부분(moieties)(R', R'', R''')으로 치환된다. 다른 구현에서, R은 1'-(4'-메톡시)페닐(1'-(4'-methoxy)phenyl); 1'-(2,4-디하이드록시)페닐(1'-(2,4-dihydroxy)phenyl); 1'-(3-피리딜)(1'-(3-pyridyl)); 1'-(바이페닐-4-올)(1'-(biphenyl)-4-ol)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0045] 본 발명의 양상 중 하나에 있어서, 본 발명은 일반식 II로 나타내는 구조를 가지는 화합물 또는 그것의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다:



[0046]

[0047] 여기에서, X=H 또는 -OH이고, R은 치환 또는 비치환된 방향족, 헤테로방향족 또는 헤테로시클릭 고리로부터 선택된다. 일 구현에서, R은 치환 또는 비치환된 : 페닐, 바이페닐, 2-피리딜, 3-피리딜, 4-피리딜, 2-퓨라닐, 3-퓨라닐로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일 구현에서, R은 C₁-C₁₀ 알킬기, C₁-C₁₀ 알콕시기 또는 하이드록실

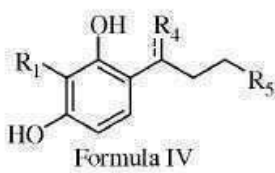
기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3 부분(moieties)(R', R'', R''')으로 치환된다. 다른 구현에서, R은 2'-퓨릴(2'-furyl); 3'-퓨릴(3'-furyl); 3'-피리딜(3'-pyridyl); 3'-(2-메톡시피리딜)(3'-(2-methoxypyridyl)); 1'-(2,4,6-트리메톡시 페닐)(1'-(2,4,6-trimethoxy phenyl)); 1'-(3,4-디옥살란 페닐)(1'-(3,4-dioxalane phenyl))으로 이루어진 군으로부터 선택되고, X=OH일 때 R은 3'-피리딜이다.

[0048] 본 발명의 양상 중 하나에서, 본 발명은 일반식 III으로 나타내는 구조를 가지는 화합물 또는 그것의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다:



[0049] 여기서, R₁은 H 또는 C₁-C₁₀ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고, R₂는 치환 또는 비치환된: 방향족 고리, 헤테로방향족 고리 또는 헤테로시클릭 고리로부터 선택된다. 특정 구현에서, R₁은 H 또는 -CH₃로부터 선택되고, R₂는 치환 또는 비치환된: 방향족 고리, 헤테로방향족 고리 또는 헤테로시클릭 고리로부터 선택된다. 또 다른 구현에서, R₂는 C₁-C₁₀ 알킬기, C₁-C₁₀ 알콕시기 또는 하이드록실기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3 부분(moieties)(R', R'', R''')으로 치환된다. 다른 구현에서, R₂는 치환 또는 비치환된: 페닐, 바이페닐, 2-피리딜, 3-피리딜, 4-피리딜, 2-퓨라닐, 3-퓨라닐 또는 2-테트라하이드로퓨라닐로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현에서, R₂는 R₁이 H이고, R₂가 1'-페닐(1'-phenyl); 1'-(4-하이드록시페닐)(1'-(4-hydroxyphenyl)); 1'-(4-메톡시페닐)(1'-(4-methoxyphenyl)); 1'-(3,4-디옥살란)페닐(1'-(3,4-dioxalane)phenyl)); 1'-(2,4-디하이드록시페닐)(1'-(2,4-dihydroxyphenyl)); 1'-(2,4-디메톡시페닐)(1'-(2,4-dimethoxyphenyl)); 1'-(3,5-디메톡시페닐)(1'-(3,5-dimethoxyphenyl)); 1'-(2,4-디메톡시-3-메틸페닐)(1'-(2,4-dimethoxy-3-methylphenyl)); 1'-(2,4,6-트리메톡시페닐)(1'-(2,4,6-trimethoxyphenyl)); 3-퓨릴(3-furyl); 3-테트라하이드로퓨릴(3-tetrahydrofuryl); 2'-퓨릴(2'-furyl); 2'-테트라하이드로퓨릴(2'-tetrahydrofuryl); 2'-(5'-에틸)-퓨릴(2'-(5'-ethyl)-furyl); 3'-피리딜(3'-pyridyl) 및 또한 R₁=Me이고, R₂=1'-페닐(1'-phenyl)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0051] 본 발명의 구현 중 하나에 있어서, 본 발명은 일반식 IV로 나타내는 구조를 가지는 화합물 또는 그것의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다:



[0052] 여기서, --- 는 이중 또는 단일 결합을 나타내며,

[0053] R₁은 H 또는 C₁-C₁₀ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0054] R₂는 =H, OH 또는 O로 이루어진 군으로부터 선택되며,

[0055] R₅는 치환 또는 비치환된: 방향족 고리, 헤테로방향족 고리, 헤테로시클릭 고리 또는 하이드록실알킬 부분(hydroxylalkyl moiety)으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현에서, R₁은 H 또는 CH₃이고, R₅는 치환 또는 비치환된: 방향족 고리, 헤테로방향족 고리 또는 헤테로시클릭 고리 또는 C₁-C₁₀ 하이드록실알킬 ((-C₁-C₁₀)-OH)로부터 선택된다. 또 다른 구현에서, R₅는 C₁-C₁₀ 알킬기, C₁-C₁₀ 알콕시기 또는 하이드록실기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3 부분(moieties)(R', R'', R''')으로 치환된다. 다른 구현에서, R₅는 치환 또는 비치환된: 페닐, 바이페닐, 2-피리딜, 3-피리딜, 4-피리딜, 2-퓨라닐, 3-퓨라닐 또는 2-테트라하

이드로푸라닐로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현에서, $R_1=R_4=H$, R_5 는 1'-(3',5'-디메톡시)페닐; 1'-(3',5'-디하이드록시)페닐; 1'-(2',4',6-트리메톡시페닐)로부터 선택되고; $R_1=Me$, $R_4=OH$, R_5 는 1'-(2',4'-디하이드록시)페닐이고; $R_1=R_4=H$, R_5 는 $-CH_2CH_2OH$ 이다.

- [0057] 하기의 조건을 가진다:
- [0058] 조건 1 : $R_1=R_4=H$ 인 경우, R_5 는 1'-(2,4-디메톡시-3-메틸)페닐(1'-(2,4-dimethoxy-3-methyl)phenyl)이 될 수 없다.
- [0059] 조건 2 : $R_1=R_4=H$ 인 경우, R_5 는 1'-(2,4-디하이드록시)페닐(1'-(2,4-dihydroxy)phenyl); 1'-(2,4-디알콕시)페닐(1'-(2,4-dialkoxy)phenyl); 1'-(2,4-디알켄옥시)페닐(1'-(2,4-dialkenoxy)phenyl) 또는 1'-(2,4-디벤질옥시)페닐(1'-(2,4-dibenzoyloxy)phenyl)이 될 수 없다.
- [0060] 조건 3 : R_5 는 1'-(4-하이드록시)페닐(1'-(4-hydroxy)phenyl)이 될 수 없다.
- [0061] 조건 4 : $R_1=R_4=H$ 인 경우, R_5 는 1'-(2,4-디(CO)) R^1 (1'-(2,4-di(CO)) R^1)이 될 수 없고, 여기에서 R^1 은 (C₁-C₁₀)-알킬기이다.
- [0062] 조건 5 : $R_1=R_4=H$ 인 경우, R_5 는 1'-(2,4-이치환)페닐(1'-(2,4-disubstituted)phenyl)이 될 수 없고, 여기에서 상기 치환기는 $-OR^2$ 및 $-OR^3$ 로부터 선택되고, 여기에서 R^2 및 R^3 는 독립적으로 H 또는 (C₁-C₂₀)-알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0063] 조건 6 : $R_1=H$ 및 $R_4=OH$ 인 경우, R_5 는 1'-(3,4-디하이드록시)페닐(1'-(3,4-dihydroxy)phenyl), 1'-(3,4-디메톡시)페닐(1'-(3,4-dimethoxy)phenyl), 1'-(2-하이드록시)페닐(1'-(2-hydroxy)phenyl), 1'-(2-메톡시)페닐(1'-(2-methoxy)phenyl), 1'-(4'-메톡시)페닐(1'-(4'-methoxy)phenyl), 페닐, 1'-(3-메톡시-4-하이드록시)페닐(1'-(3-methoxy-4-hydroxy)phenyl)이 될 수 없다.
- [0064] 표 1은 티로시나아제 억제제로서 유용한 일반식 I의 대표적인 신규한 2,4-디하이드록시벤젠 유사체를 열거한 것이다. 표 1에서 확인되는 각각의 화합물을 제조하는데 사용될 수 있는 합성 방법은 실시예 1에 상세히 기재되어 있다. ¹H- 및 ¹³C-NMR 데이터를 확인하기 위하여 각 화합물들을 합성하였다. 일반적으로, 일반식 I의 화합물들은 표준 유기 합성 기술을 사용하여 쉽게 입수할 수 있는 물질로부터 합성될 수 있다. 또 다른 제조 방법은 문헌 및 관련 업계에서 찾을 수 있다. 실시예 6에 기재된 것과 같은 티로시나아제 검정법에 의해 측정된 것과 같은 이 화합물들에 대한 IC₅₀ 값 또한 표 1에 기재하였다. 일반식 I의 화합물을 선택하기 위하여, 표 5는 실시예 7에 기재된 쥐의 흑색종 세포에 기초한 검정법에 의해 측정된 IC₅₀ 값 및 실시예 8에 기재된 방법에 의해 측정된 것과 같은 세포 생존(LD₅₀)을 제공한다.
- [0065] 표 2는 티로시나아제 억제제로서 유용한 일반식 II의 대표적인 신규한 2,4-디하이드록시벤젠 유도체를 열거한 것이다. 표 2에서 확인되는 각 화합물을 제조하는데 사용될 수 있는 합성 방법은 실시예 2에 상세히 기재되어 있다. ¹H- 및 ¹³C-NMR 데이터를 확인하기 위하여 각 화합물들을 합성하였다. 일반적으로, 일반식 II의 화합물들은 표준 유기 합성 기술을 사용하여 쉽게 입수할 수 있는 물질로부터 합성될 수 있다. 또 다른 제조 방법은 문헌 및 관련 업계에서 찾을 수 있다. 실시예 6에 기재된 것과 같은 티로시나아제 검정법에 의해 측정된 것과 같은 이 화합물들에 대한 IC₅₀ 값 또한 표 2에 기재하였다. 일반식 II의 화합물을 선택하기 위하여, 표 5는 실시예 7에 기재된 쥐의 흑색종 세포에 기초한 검정법에 의해 측정된 IC₅₀ 값 및 실시예 8에 기재된 방법에 의해 측정된 것과 같은 세포 생존(LD₅₀)을 제공한다.
- [0066] 표 3은 티로시나아제 억제제로서 유용한 일반식 III의 대표적인 신규한 2,4-디하이드록시벤젠 유사체를 열거한 것이다. 표 3에서 확인되는 각 화합물을 제조하는데 사용될 수 있는 합성 방법은 실시예 3에 상세히 기재되어 있다. ¹H- 및 ¹³C-NMR 데이터를 확인하기 위하여 각 화합물들을 합성하였다. 일반적으로, 일반식 III의 화합물들은 표준 유기 합성 기술을 사용하여 쉽게 입수할 수 있는 물질로부터 합성될 수 있다. 또 다른 제조 방법은 문헌 및 관련 업계에서 찾을 수 있다. 실시예 6에 기재된 것과 같은 티로시나아제 검정법에 의해 측정된 것과

같은 이 화합물들에 대한 IC₅₀ 값 또한 표 3에 기재하였다. 일반식 II의 화합물을 선택하기 위하여, 표 5는 실시예 7에 기재된 쥐의 흑색종 세포에 기초한 검정법에 의해 측정된 IC₅₀ 값 및 실시예 8에 기재된 방법에 의해 측정된 것과 같은 세포 생존(LD₅₀)을 제공한다.

[0067] 표 4는 티로시나아제 억제제로서 유용한 일반식 IV의 대표적인 신규한 2,4-디하이드록시벤젠 유사체를 열거한 것이다. 표 4에서 확인되는 각 화합물을 제조하는데 사용될 수 있는 합성 방법은 실시예 4 및 실시예 5(화합물 34)에 상세히 기재되어 있다. ¹H- 및 ¹³C-NMR 데이터를 확인하기 위하여 각 화합물들을 합성하였다. 일반적으로, 일반식 IV의 화합물들은 표준 유기 합성 기술을 사용하여 쉽게 입수할 수 있는 물질로부터 합성될 수 있다. 또 다른 제조 방법은 문헌 및 관련 업계에서 찾을 수 있다. 실시예 6에 기재된 것과 같은 티로시나아제 검정법에 의해 측정된 것과 같은 이 화합물들에 대한 IC₅₀ 값 또한 표 4에 기재하였다. 일반식 IV의 화합물을 선택하기 위하여, 표 5는 실시예 7에 기재된 쥐의 흑색종 세포에 기초한 검정법에 의해 측정된 IC₅₀ 값 및 실시예 8에 기재된 방법에 의해 측정된 것과 같은 세포 생존(LD₅₀)을 제공한다.

[0068] 요약하자면, 표 1~4에 기재된 화합물들은 버섯의 티로시나아제 효소뿐만 아니라 B16-F1 세포에 의한 멜라닌의 생성에도 뛰어난 억제를 나타내었다(표 5, 도 1-9). 세포독성은 고농도에서만 관찰되었다. 표 5에 예시된 모든 화합물들(즉, 화합물 7, 15, 16, 17, 18, 19, 24, 25, 30)은 도 10에 예를 들어 설명한 것과 같은 일반적으로 사용되는 피부 미백제인 코직산보다 훨씬 더 강력하다. 코직산의 IC₅₀은(티로시나아제 검정법) 20 μM이다. 코직산의 IC₅₀은(마우스 검정법) 303.5 μM이다. 추가적으로, 테스트된 화합물들 중 두개(화합물 16 및 25)는 실시예 8에 기재된 것과 같이 어떠한 측정가능한 세포독성 없이 인공 피부 모델에서 강력한 피부-화이트닝 효과를 나타내었다.

[0069] 본 발명은 본원에 기재된 적어도 하나의 티로시나아제 억제제를 포함하는 약제학적 조성물을 포함한다. 본 발명의 조성물은 약제학적 및/또는 미용학적으로 허용가능한 첨가제, 보조제 및/또는 담체와 같은 다른 성분을 포함하는 약제학적 조성물로서 제형화될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 조성물은 치료될 숙주가 받아들일 수 있는 첨가제에 제형화될 수 있다. 첨가제는 치료제를 위한 희석제 또는 비히클로서 사용되는 활성이 없는(inert) 물질이다. 이와 같은 첨가제의 예는 물(water), 버퍼(buffer), 식염수(saline), 링거 용액(Ringer's solution), 텍스트로오스 용액(dextrose solution), 만니톨(mannitol), 헝크스 용액(Hank's solution), 방부제(preservatives) 및 다른 생리적 평형 염류 수용액(aqueous physiologically balanced salt solution)을 포함하나 이로 제한되는 것은 아니다. 고정유(fixed oil), 참기름(sesame oil), 에틸 올레이트(ethyl oleate) 또는 트리글리세라이드(triglycerides)와 같은 비수성 비히클 또한 사용될 수 있다. 다른 유용한 제형은 소디움 카르복시메틸셀룰로오스(sodium carboxymethylcellulose), 소르비톨(sorbitol) 또는 텍스트란(dextra)과 같은 점도 증강제(viscosity enhancing agent)를 포함하는 현탁액을 포함한다. 첨가제는 또한 등장성(isotonicity) 및 화학적 안정성(chemical stability)을 강화시키는 물질과 같은 미량의 첨가물(additives)을 포함할 수 있다. 버퍼의 예는 포스페이트 버퍼(phosphate buffer), 바이카보네이트 버퍼(bicarbonate buffer), 트리스 버퍼(tris buffer), 히스티딘(histidine), 시트르산(citrate) 및 글리신(glycine) 또는 그것들의 혼합물을 포함하는 한편, 방부제의 예는 EDTA, 디소디움(disodium) EDTA, BHA, BHT, 비타민 C, 비타민 E, 소디움 바이설파이트(sodium bisulfite), SnCl₂, 티메로살(thimerosal), m-크레졸(cresol) 또는 o-크레졸, 포르말린(formalin) 및 벤질 알콜(benzyl alcohol)을 포함하지만 이로 제한되지는 않는다. 표준 제형은 투여를 위한 현탁액 또는 용액과 같은 적절한 액체에서 보호될 수 있는 액체 또는 고체 중 하나일 수 있다. 따라서, 비수성 제형에서 첨가제는 투여 전에 첨가될 수 있는 멸균된 물 또는 식염수에 텍스트로오스, 인간 혈청 알부민(human serum albumin), 방부제 등을 포함할 수 있다.

[0070] 본 발명의 일 구현에서, 상기 조성물은 또한 보조제 또는 담체를 포함할 수 있다. 보조제는 전형적으로 특정 생물활성제(bioactive agent)에 대한 숙주의 생물학적 반응을 일반적으로 증가시키는 물질이다. 적절한 보조제는 프로이드 보조제(Freund's adjuvant), 다른 박테리아 세포벽 성분, 알루미늄(aluminum), 마그네슘(magnesium), 구리(copper), 아연(zinc), 철(iron), 칼슘(calcium) 및 다른 금속 이온에 기초한 염(metal ion based salts), 실리카(silica), 폴리뉴클레오티드(polynucleotides), 독소이드(toxoids), 혈청 단백질(serum proteins), 바이러스 코팅 단백질(viral coat proteins), 다른 박테리아-유래 제조물(preparation), 감마 인터페론(gamma interferon); 헌터 타이터맥스(Hunter's Titermax) 보조제(Vaxcel. TM., Inc., Norcross, Ga), 리비 보조제(Ribi adjuvants)(Ribi ImmunoChem Research, Inc., Hamilton, Mont.로부터 입수가능함)와 같은 블록

공중합체(block copolymer) 보조제; 및 퀴 A(Quil A)(Superfos Biosector A/S, Denmark로부터 입수가가능함)와 같은 사포닌(saponin) 및 그것의 유도체를 포함하나 이로 제한되는 것은 아니다. 담체는 전형적으로 치료된 숙주에서 치료학적 조성물의 반감기를 증가시키는 화합물이다. 적절한 담체는 고분자 방출 조절 제형(polymeric controlled release formulations), 생분해성 이식물(biodegradable implants), 리포솜(liposomes), 박테리아(bacteria), 바이러스(viruses), 오일(oils), 에스테르(esters) 및 글리콜(glycols)을 포함하나 이로 제한되는 것은 아니다. 적절한 담체는 참조로서 본원에 통합되어 있는 리핀코트 윌리엄스 & 윌킨스(Lippincott Williams & Wilkins)에 의해 출판된 "레밍턴: 과학 및 실습(Remington: The sciences and Practice, Twentieth Edition)"에 기재되어 있다.

[0071] 일 구현에서, 상기 조성물은 숙주 내로 본 발명의 조성물을 느리게 방출하는 방출 제어형 제형(controlled release formulation)으로 제조된다. 본원에서 사용된 것으로서, 방출 제어형 제형은 방출 제어형 비히클에 본 발명의 조성물을 포함한다. 적절한 방출 제어형 비히클은 당업계에 잘 알려져 있을 것이다. 바람직한 방출 제어형 제형은 생분해성(즉, 생체 흡수성(bioerodible))이다.

[0072] 본 발명의 조성물은 당업계에 잘 알려진 임의의 방법에 의해 투여될 수 있다. 투여 방법은 장관(enteral)(경구) 투여, 비경구(정맥내, 피하내 및 근육내) 투여 및 국부 적용을 포함하나 이로 제한되는 것은 아니다. 본 발명에 따른 치료 방법은 치료학적 유효량의 본 발명의 적어도 하나의 2,4-디하이드록시벤젠 유사체를 그것을 필요로 하는 환자에게 내부적으로 또는 국부적으로 투여하는 것을 포함한다.

[0073] 일 구현에서, 본 발명의 치료제는 연고(ointment), 겔(gel), 로션(lotion) 또는 크림 베이스(cream base), 또는 치약(toothpaste), 구강 세척제(mouth wash) 또는 치실 물질 상에 코팅, 또는 에멀전(emulsion), 패치(patch), 드레싱(dressing) 또는 마스크(mask), 비점착성 거즈(nonsticking gauze), 붕대(bandage), 스왑(swab) 또는 클로쓰 와이프(cloth wipe)를 포함되지만 이로 제한되지는 않는 치료학적 조성물을 국부적으로 투여하기 위한 당업계에 잘 알려진 임의의 적절한 방법에 의하여 국부적으로 투여된다.

[0074] 치료학적 조성물은 투여 방법에 따라 다양한 단위 투약 형태로 투여될 수 있다. 운반의 특정 방법에 대하여, 본 발명의 치료학적 조성물은 본 발명의 첨가제에 제형화될 수 있다. 본 발명의 치료제는 임의의 숙주, 바람직하게는 포유동물, 더욱 바람직하게는 인간에게 투여될 수 있다. 투여의 특정 방법은 치료될 질환에 의존할 것이다.

[0075] 일 구현에서, 적절한 연고는 국부 제형의 총 중량에 기초하여 0.001% 내지 100%의 범위로부터 일반적으로 선택되는 효과 있고, 무독성의 양인, 이상적인 농도의 본 발명의 적어도 하나의 2,4-디하이드록시 벤젠 유사체, 65 내지 100%(바람직하게는 75 내지 96%)의 백색 소프트 파라핀, 0 내지 15%의 액상 파라핀, 및 0 내지 7%(바람직하게는 3 내지 7%)의 라놀린 또는 그것의 유도체 또는 합성 동등체(equivalent)로 이루어진다. 다른 구현에서, 상기 연고는 폴리에틸렌-액상 파라핀 매트릭스를 포함할 수 있다.

[0076] 일 구현에서, 적절한 크림은 상기에 제공된 것과 같은 이상적인 농도의 본 발명의 적어도 하나의 2,4-디하이드록시벤젠 유사체와 함께 에멀전화 시스템(emulsifying system)으로 이루어진다. 상기 에멀전화 시스템은 하나 또는 그 이상의 방부제, 예를 들어 0.1 내지 1%의 N,N'-메틸렌비스[N'-[3-(하이드록시메틸)-2,5-디옥소-4-이미다졸리딘일]우레아](N,N'-methylenebis[N'-[3-(hydroxymethyl)-2,5-dioxo-4-imidazolidinyl]urea])(이미듀레아(imidurea) USNF라는 명칭으로 입수가가능함), 0.1 내지 1%의 알킬 4-하이드록시벤조에이트(alkyl 4-hydroxybenzoate)(예를 들어, 니파스타트(Nipastat)라는 상표명의 니파 연구소(Nipa Laboratories)로부터 입수가가능한 혼합물), 0.01 내지 0.1%의 소듐 부틸 4-하이드록시벤조에이트(sodium butyl 4-hydroxybenzoate)(니파부틸 소듐(Nipabutyl sodium)이라는 상표명으로 니파 연구소로부터 입수가가능함), 및 0.1 내지 2%의 페녹시에탄올(phenoxyethanol)과 함께; 바람직하게는 2 내지 10%의 폴리옥시에틸렌 알콜(polyoxyethylene alcohols)(예를 들어, 세토마크로골™ 1000(Cetomacrogol™ 1000)이라는 상표명으로 입수가가능한 혼합물), 10 내지 25%의 스테아릴 알콜(stearyl alcohol), 20 내지 60%의 액상 파라핀 및 10 내지 65%의 물로 이루어진다.

[0077] 일 구현에서, 적절한 겔은 액체 상(liquid phase) 고도의 가교결합(cross-linking)을 가지는 3차원 고분자 매트릭스(three dimensional polymeric matrix) 내에 제한되어 있는 반고체(semi-solid) 시스템으로 이루어진다. 상기 액체 상은 예를 들어, 0.1 내지 2%의 메틸 4-하이드록시벤조에이트(methyl 4-hydroxybenzoate)(메틸 파라벤(methyl paraben)) 또는 페녹시에탄올-디퍼렌셜(differential)을 포함하는 군으로부터 선택되지만 이로 제한되지는 않는 하나 또는 그 이상의 방부제와 함께, 이상적인 양의 본 발명의 적어도 하나의 2,4-디하이드록시벤젠 유사체, 예를 들어 글리세롤, 폴리에틸렌 글리콜 또는 프로필렌 글리콜과 같은 0 내지 20%의 물과 섞일 수

있는(water-miscible) 첨가제, 및 트래거캔스(tragacanth), 펙틴(pectin), 카라긴(carrageen), 아가(agar) 및 알긴산(alginic acid)을 포함하는 군으로부터 선택되지만 이로 제한되지는 않는 천연 산물 또는 메틸셀룰로오스(methylcellulose) 및 카르복시폴리메틸렌(carboxypolymethylene)(카르보폴; carbopol)을 포함하는 군으로부터 선택되지만 이로 제한되지는 않는 합성 또는 반-합성 화합물일 수 있는 0.1 내지 10%, 바람직하게는 0.5 내지 2%의 증점제(thickening agent)와 함께 물로 이루어질 수 있다. 다른 적절한 베이스(base)는 70 내지 90%의 폴리에틸렌 글리콜(예를 들어, 미국 국립 처방집(U.S. National Formulary; USNF)에 따라 제조된 40%의 폴리에틸렌 글리콜 3350과 60%의 폴리에틸렌 글리콜 400을 포함하는 폴리에틸렌 글리콜 연고), 5 내지 20%의 물, 0.02 내지 0.25%의 향산화제(예를 들어, 부틸화된 하이드록시톨루엔(butylated hydroxytoluene)) 및 0.005 내지 0.1%의 킬레이트제(chelating agent)(예를 들어, 에틸렌디아민 테트라아세트산(ethylenediamine tetraacetic acid; EDTA))와 함께, 이상적인 양의 본 발명의 적어도 하나의 2,4-디하이드록시벤젠 유사체로 이루어진다.

[0078] 상기에 사용된 것으로서, 용어 소프트 파라핀(soft paraffin)은 크림 또는 연고 베이스 백색 소프트 파라핀 및 노란색 소프트 파라핀을 포함한다. 상기 용어 라놀린(lanolin)은 천연 양모지(wool fat) 및 정제된 양모지를 포함한다. 라놀린의 유도체는 특히 그것들의 물리적 또는 화학적 특성을 변경하기 위하여 화학적으로 변경된 라놀린을 포함하며, 라놀린의 합성 동등체는 특히 라놀린에 대한 대안으로서 약제학적 및 미용학적 업계에서 잘 알려지고 사용되는 합성 또는 반합성 화합물 및 혼합물을 포함하며, 예를 들어 라놀린 대체물로서 칭해질 수 있다.

[0079] 사용될 수 있는 하나의 라놀린의 합성 동등체는 소프트산 649(Softisan 649)로서 알려져 있는 소프트산™(Softisan™)상표명으로 입수가 가능한 물질이다. 다이나마이트 노벨 주식회사(Dynamit Novel Aktiengesellschaft)로부터 입수가 가능한 소프트산 649는 천연 야채 지방산, 이소스테아린산(isostearic acid) 및 아디핀산(adipic acid)의 글리세린 에스테르(glycerine ester)이고; 그것의 특성은 H. 헤름스도르프에 의해 논의되었다(H. Hermsdorf in Fette, Seifen, Anstrichmittel, Issue No. 84, No.3 (1982), pp.3-6).

[0080] 적절한 연고 또는 크림 베이스의 성분으로서 상기에 언급된 다른 물질 및 그것들의 특성들은 표준 참고 도서, 예를 들면 약전(pharmacopoeia)에 논의되어 있다. 세토마크로콜 1000은 일반식 $CH_3(CH_2)_m(OCH_2CH_2)_nOH$ 를 가지며, 여기에서 m은 15 또는 17일 수 있고, n은 20 내지 24일 수 있다. 부틸화된 하이드록시톨루엔은 2,6-디-tert-부틸-p-크레졸(2,6-di-tert-butyl-p-cresol)이다. 니파스타트는 메틸, 에틸, 프로필 및 부틸 4-하이드록시벤조에이트의 혼합물이다.

[0081] 본 발명의 조성물은 기존의 약제학적 기술에 의해 제조될 수 있다. 따라서, 예를 들어 앞서 언급된 조성물들은 높은 온도, 바람직하게는 60-70°C에서 소프트 파라핀, 만일 있다면 액상 파라핀 및 라놀린 또는 그것의 유도체 또는 합성 동등체를 함께 혼합함으로써 전통적으로 제조될 수 있다. 그 후, 상기 혼합물을 상온에서 냉각시키고, 코르티코스테로이드(corticosteroid) 및 임의의 다른 성분과 함께 무피로신(mupirocin)의 수화된 결정성 칼슘 염(hydrated crystalline calcium salt)을 첨가하고, 충분하기 분산시키기 위하여 교반한다.

[0082] 투여 방법에 상관없이, 숙주의 대략적인 체중에 따라 특정 복용량(dose)이 계산된다. 상기 언급된 각 체형을 포함하는 치료를 위한 적절한 투약량(dosage)을 결정하는 데 필요한 상기 계산의 추가 정밀화(definition)는 당업자에 의해 통상적으로 이루어질 수 있고, 그것은 특히 본원에 기재된 투약 정보 및 검정법에 따라 과도한 실험 없이 그들에 의해 통상적으로 수행되는 일의 범위 내에 있다. 이 투약량은 적절한 용량-반응(dose-response) 데이터와 함께 사용되는 투약량을 결정하기 위한 확립된 검정법의 사용을 통하여 확인할 수 있다.

[0083] 본 발명의 티로시나아제 억제제는 공지된 합성 방법을 사용하거나 공지된 합성 방법의 변경을 통하여 쉽게 합성될 수 있다. 당업자들에 의해 쉽게 이해될 수 있는 것과 마찬가지로, 하기에 기재된 방법들도 다양한 치환기를 가지는 2,4-디하이드록시벤젠 유사체의 합성을 가능하게 한다. 본원에 기재된 2,4-디하이드록시벤젠 유사체를 합성하는 방법도 본 발명에 포함된다. 예시적인 합성 방법은 하기의 실시예 1-5에 기재되어 있다.

[0084] 본 발명은 하나 또는 그 이상의 기재된 화합물의 사용을 통하여 의학적 질환을 예방 또는 치료하는(예를 들어, 하나 또는 그 이상의 의학적 질환의 증상을 완화시키는 것) 방법을 포함한다. 예방하거나 치료하는 방법은 치료학적 유효량의 적어도 하나의 본 발명의 티로시나아제 억제제를 그것을 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 본 발명의 조성물은 또한 예방 치료를 위하여 사용될 수 있다.

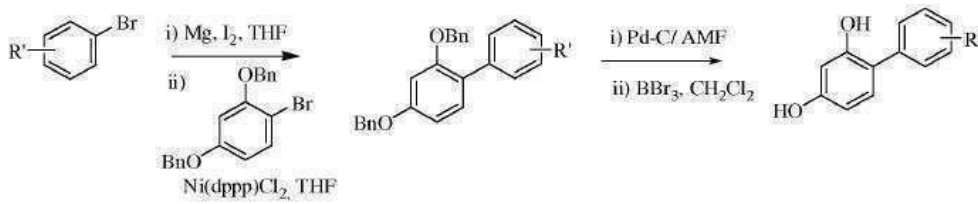
[0085] 본 발명은 티로시나아제의 활성 또는 과량의 멜라닌 생성의 억제에 의하여 완화되는 질병으로 고통받는 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 이와 같은 방법은 본원에 기재된 것과 같은 치료학적 유효량의 티로시나아제 억제제를 환자에게 투여하는 것을 포함한다.

- [0086] 본원에 사용된 것으로서, "치료(treating)"는 질병, 이상 또는 질환을 제거하기 위한 환자의 관리(management) 및 간호(care)를 말하며, 증상 또는 합병증(complication)의 발병을 예방하고, 증상 또는 합병증을 완화시키거나 질병, 이상 또는 질환을 제거하기 위하여 본 발명의 화합물의 투여를 포함한다. 더욱 상세하게는, "치료"는 질병(질환)의 상태, 질병의 경과 또는 다른 비정상적인 상태의 적어도 하나의 해로운(deleterious) 증상 또는 영향을 바꾸고(reversing), 완화시키고(alleviating), 최소화시키고(minimizing), 억제하거나(suppressing), 중지시키는 것을 포함한다. 치료는 증상 및/또는 건강 이상(pathology)이 개선되는 한 지속된다.
- [0087] 더욱 상세하게는, 본 발명은 또한 멜라닌 합성의 억제를 필요로 하는 환자에서 멜라닌 합성을 억제하기 위한 방법을 제공한다. 이와 같은 방법은 적어도 하나의 본 발명의 2,4-디하이드록시벤젠 유사체를 포함하는 유효량의 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0088] 본 발명은 멜라닌의 과생성 또는 고르지 않은 분포에 관련된 질병 및 질환의 예방 및 치료를 위한 방법을 더 제공하며, 상기 방법은 치료학적 유효량의 적어도 하나의 본 발명의 2,4-디하이드록시벤젠 화합물을 그것을 필요로 하는 환자에게 내부적 또는 국부적으로 투여하는 것을 포함한다. 멜라닌의 과생성 또는 고르지 않은 분포에 관련된 질병 및 질환은 피부 노화(skin aging), 기미(melasma), 간 질환(liver disease), 열 화상(thermal burns) 및 국부적 상처(topical wounds)에 의해 야기되는 과다색소침착 반점(hyperpigmentation spots); 진균(fungal), 세균(microbial) 및 바이러스(virus) 감염에 의해 야기되는 염증성 질환에 의한 피부 착색(skin pigmentation), 백반증(vitilago), 암(carcinoma), 흑색종(melanoma) 뿐만 아니라 다른 포유동물의 피부 질환을 포함하나, 이로 제한되는 것은 아니다.
- [0089] 상기 방법은 또한 태양, 자외선, 화학물질, 열, 바람 및 건조한 환경에 노출됨으로써 야기된 피부 다크닝(darkening) 및 손상을 예방하고 치료하기 위하여 사용될 수 있다. 마지막으로, 상기 방법들은 주름(wrinkles), 처진 피부(saggy skin), 눈 주변의 주름(line) 및 다크 서클(dark circles), 수딩 민감성(soothing sensitive) 피부를 예방하고 치료하고, 피부염(dermatitis) 및 다른 피부의 알러지 관련 질환을 치료하는데 사용될 수 있다.
- [0090] 상기 기재된 피부의 질병 및 질환의 예방 및 치료를 위한 그것들의 용도뿐만 아니라, 본원에 기재된 치료학적 조성물은 개선된 피부색, 강화된 탄력성(elasticity), 감소되고 지연된 노화, 강화된 젊은 외관 및 감촉(texture) 및 증가된 유연성(flexibility), 견고성(firmness), 부드러움(smoothness) 및 유연성(suppleness)을 가지는 부드럽고 젊은 피부 외관의 이점을 주는 효과적인 조성물을 제공한다.
- [0091] 또 다른 구현에서, 본 발명의 2,4-디하이드록시벤젠 유도체는 과일, 야채, 주스 및 다른 식품에서 갈변(browning) 및 색 변화를 억제하기 위하여 식품 산업에 사용될 수 있다.
- [0092] 하기의 예들은 본 발명을 설명하게 위하여 주어진 것이다. 그러나, 본 발명은 이 실시예들에 상세하게 기재된 특정 조건으로 한정되는 것이 아님을 이해하여야만 한다. 미국 특허를 포함하는 공개적으로 입수가능한 문서들에 대한 임의의 모든 참고문헌들은 명세서 전반에 걸쳐 참조로서 특별히 통합되어 있다.
- [0094] **실시예**
- [0095] 실시예 1 : 일반식 I의 화합물의 합성을 위한 일반 및 특이적 방법



- [0096]
- [0097] 설명을 위하여 R로서 치환된 브로모벤젠(bromobenzene)을 사용하여, 일반식 I의 화합물을 반응식 1에 기재한 것과 같이 일반적으로 제조하였다. 간단하게는, 일반식 I의 바이페닐 화합물을 적절한 아릴 브로마이드(aryl bromide)를 사용하여 대응하는 그리나르 시약(Grignard reagents)으로부터 Ni(dppp)Cl₂ 촉매를 사용하는 쿠마다 결합 반응(Kumada coupling reaction)(Tamao, K.; Sumitani, K.; Kumada, M, Journal of the American Chemical Society. 1972, 94. 4374-4376)을 시킨 후 벤질기의 환원성 탈벤질화 반응(reductive debenzylation reaction)에 의해 제조하였다.

[0098] [반응식 1]



[0099]

[0100] **반응식 1에 대한 대표적 방법 : 4'-메톡시바이페닐-2,4-디올(4'-Methoxybiphenyl-2,4-diol)(1)의 합성**

[0101] 대응하는 그리나르 시약을 만들기 위하여, 4-브로모안isol(4-bromoanisole)(2.80g, 15mmol)을 THF에 용해시킨 마그네슘 조각(magnesium turnings)(480mg, 20mmol)과 요오드(iodine)(약간(a pinch))로 처리하였다. 그 후, 상기 그리나르 시약을 0℃에서 THF에 용해시킨 벤질 보호된 4-브로모레소르시놀(benzyloxy protected 4-bromoresorcinol)(3.7g, 10mmol)과 Ni(dppp)Cl₂(2.7g, 5mmol)의 교반 용액에 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 4시간 동안 환류를 위해 가열시킨 후 30분간 상온에서 교반하였다. 그 후, 상기 반응 혼합물을 냉각시키고, 암모늄 클로라이드(ammonium chloride)로 퀀칭시키고, 에틸 아세테이트(ethyl acetate)로 추출하고, 염수로 세척하고, 무수 Na₂SO₄(anhydrous Na₂SO₄)로 건조시키고, 여과시키고 회전 증발기(rotary evaporator)에서 농축시키고, 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 황백색(off white) 고체로서 결합성 생성물(coupled product)(1.98g, 50%)을 얻었다.

[0102] 그 결과 얻어진 상기 결합성 생성물(1.5g, 3.7mmol)을 그 후 벤질 보호기를 제거하기 위하여 3시간 동안 환류하여 활성탄(150mg) 상의 촉매량의 10% Pd와 15mL THF/MeOH(1:2) 용액에 용해시킨 과량의 암모늄 포메이트(ammonium formate)(1.9g, 29.6mmol)로 처리하였다. 촉매를 제거하기 위한 셀라이트(celite)를 통한 여과 후, 컬럼 크로마토그래피로 조 생성물(crude product)을 정제하여 황백색 고체로서 화합물 1(720mg, 90%)을 얻었다. ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 7.152(d, 2H, J=8.5Hz), 6.718-6.762(m, 3H), 6.443(d, 1H, J=2.5Hz), 6.241(dd, 1H, J=2.5 & 8.0Hz), 3.663(s, 3H).

[0103] 일반식 I의 대표적 화합물 2-4(표 1을 참조)를 적절한 출발 물질을 사용하여 동일한 프로토콜에 따라 합성하였다. 총 수율은 40-50%로 다양하였다.

[0105] **바이페닐-2,2',4,4'-테트라올(biphenyl-2,2',4,4'-tetraol)(2)**

[0106] ¹H-NMR (MeOD, 300MHz): δ 7.007-6.953(m, 2H), 6.378-6.327(m, 6H). ¹³C-NMR (MeOD, 75MHz): δ 157.971(6C), 130.246(2CH), 107.134(2CH), 102.589(2CH).

[0108] **4-(피리딘-3일)벤젠-1,3-디올(4-(pyridin-3yl)benzene-1,3-diol)(3)**

[0109] ¹H-NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 8.829(s, 1H), 8.539(d, 1H, J=3.6Hz), 7.885(d, 1H, J=7.5Hz), 7.605-7.261(m, 1H), 6.753(s, 1H), 6.711(d, 1H, J=8.4Hz). ¹³C-NMR (CDCl₃, 75MHz): δ 157.036(C), 150.534(CH), 137.420(CH), 136.926(CH), 134.400(C), 131.618(CH), 129.237(C), 127.931(CH), 120.872(C), 106.821(CH), 101.769(CH).

[0111] **4-(4'-하이드록시바이페닐)벤젠-1,3-디올(4-(4'-hydroxybiphenyl)benzene-1,3-diol)(4)**

[0112] ¹H-NMR (MeOD, 300MHz): δ 7.511-7.183(m, 9H), 6.88-6.83(m, 2H). ¹³C-NMR (MeOD, 75MHz): δ 156.949(3C), 141.204(2C), 132.709(2C), 128.557(2CH), 127.893(3CH), 126.256(3CH), 115.472(3CH).

[0113] [표 1]

일반식 I의 대표적 화합물

화합물	구조	버섯의 티로시나아제 검정 IC ₅₀ : =
4'-Methoxybiphenyl-2,4-diol (1)		IC ₅₀ : = 12.8 μM
Biphenyl-2,2',4,4'-tetraol (2)		IC ₅₀ : = 60.0 μM
4-(Pyridin-3-yl)benzene-1,3-diol (3)		IC ₅₀ : = 0.5 μM
4-(4'-Hydroxybiphenyl)benzene-1,3-diol (4)		IC ₅₀ : = 70.0 μM

[0114]

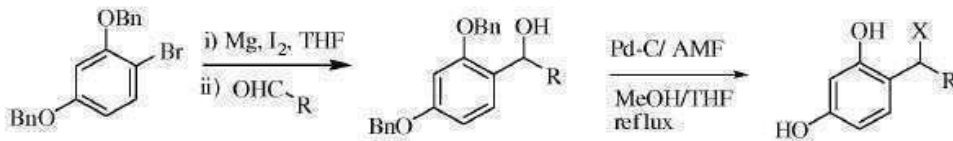
[0116] 실시예 2 : 일반식 II의 화합물의 합성을 위한 일반적 및 특이적 방법



[0117]

[0118] 일반식 II의 화합물을 반응식 2에 나타낸 것과 같이 제조하였다. 간단하게는, 반응식 2를 참조하여, 일반식 II의 실례가 되는 디페닐메탄(diphenylmethane) 화합물을 알데히드(RCHO, 여기에서 R은 방향족 또는 헤테로 방향족 고리)와 함께 그리나르 부가 시약으로 제조한 후, 그 자리에서(in situ) 그 결과 생성된 벤질형 하이드록실기(benzylic hydroxyl group)의 탈수산화(dehydroxylation) 및 벤질옥시 보호기(benzyloxy protecting group)의 탈벤질화를 수행하였다.

[0120] [반응식 2]



[0121]

[0123] 반응식 2에 대한 대표적 방법 : 4-(퓨란-2-일메틸)벤젠-1,3-디올(4-(Furan-2-ylmethyl)benzene-1,3-diol)(5)의 합성

[0124]

대응하는 그리나르 시약을 얻기 위하여, THF에 용해시킨 마그네슘 조각(480mg, 20mmol)과 요오드(약간)로 벤질 보호된 4-브로모레스르시놀(benzyl protected 4-bromoresorcinol)(2.80g, 15mmol)을 처리한 후, 0°C에서 THF에 용해시킨 2-푸르알데히드(2-furaldehyde)(3.97g, 10mmol)의 교반 용액에 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 상온에서 온도를 올리고, 3시간 동안 상온에서 교반하였다. 그 후, 상기 혼합물을 암모늄 클로라이드로 퀀칭하고, 에틸 아세테이트로 추출하고, 염수로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조시키고, 회전 증발기에서 여과, 농축시키고 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 결합성 생성물(3.0g, 80%)을 얻었다.

[0125]

상기 결합성 생성물(2.5g, 6.5mmol)을 그 후 벤질 보호기를 제거하기 위하여 환류하에서 활성탄 상의 촉매량의 10% Pd(250mg)와 THF/MeOH(18mL)에 용해시킨 과량의 암모늄 포메이트(3.33g, 52mmol)로 처리하였다. 벤질 하이드록시기의 부분적 탈수산화 또한 탈벤질화 반응 동안에 일어났다. 완료와 동시에, 촉매를 제거하기 위하여 상기 반응 혼합물을 셀라이트를 통하여 여과하고, 조 생성물을 얻기 위하여 농축한 후, 컬럼 크로마토그래피에

의해 정제하여 황백색 고체로서 화합물 5(740mg, 60%) 뿐만 아니라 수산화된 화합물(X=OH)(270mg, 20%)도 얻었다. ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 7.306(dd, 1H, J=1.0 & 2.0Hz), 6.8565(d, 1H, J=8.5Hz), 6.8085(d, 1H, J=8.5Hz), 6.3155(d, 1H, J=2.5Hz), 6.2965(d, 1H, J=2.5Hz), 6.255-6.223(m, 2H). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 156.604(C), 156.504(C), 156.064(C), 155.556(C), 155.290(C), 140.575(CH), 131.443(CH), 130.325(CH), 116.098(C), 116.973(C), 109.761(CH), 106.303(CH), 106.111(CH), 105.156(CH), 102.513(CH), 102.061(CH), 79.946(CH), 67.489(CH₂), 35.257(CH), 29.875(CH₂), 27.102(CH₂), 25.218(CH₂).

[0126] 일반식 II의 대표적 화합물 6-11(표 2를 참조)를 적절한 출발 물질을 사용하여 동일한 일반 반응식에 따라 합성하였다. 총 수율은 50-60%로 다양하였다.

[0128] 4-(퓨란-3-일메틸)벤젠-1,3-디올(4-(Furan-3-ylmethyl)benzene-1,3-diol)(6)

[0129] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 8.39(d, 1H, J=2Hz), 8.28(dd, 1H, J=5 & 1.5Hz), 6.63-6.69(m, 1H), 7.25-7.28(m, 1H), 6.87(d, 1H, J=8.5Hz), 6.31(d, 1H, J=2.5Hz), 6.24(dd, 1H, J=8 & 2.5Hz), 3.25(s, 2H). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 156.897(C), 155.797(C), 148.727(CH), 145.584(CH), 138.672(C), 137.021(CH), 130.536(CH), 123.476(CH), 117.446(C), 106.221(CH), 102.283(CH), 32.196(CH₂).

[0131] 4-(피리딘-일메틸)벤젠-1,3-디올(4-(Pyridin-ylmethyl)benzene-1,3-diol)(7)

[0132] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 8.39(d, 1H, J=2Hz), 8.28(dd, 1H, J=5 & 1.5Hz), 6.63-6.69(m, 1H), 7.25-7.28(m, 1H), 6.87(d, 1H, J=8.5Hz), 6.31(d, 1H, J=2.5Hz), 6.24(dd, 1H, J=8 & 2.5Hz), 3.25(s, 2H). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 156.897(C), 155.797(C), 148.727(CH), 145.584(CH), 138.672(C), 137.021(CH), 130.536(CH), 123.476(CH), 117.446(C), 106.221(CH), 102.283(CH), 32.196(CH₂).

[0133] 수산화된 생성물(20%) 또한 얻어졌으며, 컬럼 크로마토그래피에 의해 성공적으로 분리되었다(하기의 화합물 11을 참조).

[0135] 4-((2-메톡시피리딘-3-일)메틸)벤젠-1,3-디올(4-((2-Methoxypyridin-3-yl)methyl)benzene-1,3-diol)(8)

[0136] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 7.9015(dd, 1H, J=1.5 & 5.0Hz), 7.277(dt, 1H, J=1.0 & 7.0Hz), 6.778-6.823(m, 2H), 6.313(dd, 1H, J=2.5 & 6.5Hz), 6.239(dt, 1H, J=2.0 & 8.5Hz), 3.935(s, 3H), 3.749(s, 2H). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 161.927(C), 157.766(C), 156.578(C), 155.941(C), 143.115(CH), 137.880(CH), 130.828(CH), 124.794(C), 116.498(CH), 106.133(CH), 102.098(CH), 52.482(CH₃), 28.505(CH₂).

[0138] 4-(2,4,6-트리메톡시벤질)벤젠-1,3-디올(4-(2,4,6-trimethoxybenzyl)benzene-1,3-diol)(9)

[0139] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 6.587(d, 1H, J=8.5Hz), 6.242(s, 1H), 6.239(s, 2H), 6.106(dd, 1H, J=2.5 & 8.0Hz), 3.978(s, 3H), 3.775(s, 6H), 3.703(s, 2H). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125MHz): δ 160.150(C), 158.100(2C), 155.986(C), 155.509(C), 132.723(CH), 119.535(C), 109.882(C), 107.232(CH), 103.475(CH), 91.531(2CH), 56.258(2CH₃), 55.802(CH₃), 23.157(CH₂).

[0141] 4-(벤조[d][1,3]디옥솔-5-일메틸)벤젠-1,3-디올(4-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ylmethyl)benzene-1,3-diol)(10)

[0142] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 6.775(d, 1H, J=8.5Hz), 6.62-6.68(m, 3H), 6.295(d, 1H, J=2.0Hz), 6.202-6.223(m, 1H), 5.842(s, 2H), 3.733(s, 2H). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 155.840(C), 155.124(C), 148.362(C), 146.548(C), 134.234(C), 131.868(CH), 121.597(CH), 119.754(C), 109.431(CH), 108.687(CH), 108.154(CH), 103.761(CH), 101.299(CH₂), 35.949(CH₂).

[0144] 4-(하이드록실(피리딘-3-일)메틸)벤젠-1,3-디올(4-(hydroxyl(pyridine-3-yl)methyl)benzene-1,3-diol)(11)

[0145] ¹H-NMR (MeOD, 300MHz): δ 8.528(d, 1H, J=2.1Hz), 8.355(dd, 1H, J=3.6 & 4.8Hz), 7.820(td, J=1.5 & 7.5Hz), 7.353(t, 1H, J=5.4Hz), 7.086(d, 1H, J=7.8Hz), 6.315-6.267(m, 2H), 6.067(s, 1H); 경미한 부분

(minor partial): 8.497(d, 1H, $J=2.1\text{Hz}$), 7.018(d, 1H, $J=9.3\text{Hz}$), 5.661(s, 1H). $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 125MHz): 8 157.659(C), 155.283(C), 147.120(CH), 146.694(CH), 141.308(C), 135.144(CH), 127.604(CH), 123.495(CH), 120.885(C), 106.466(CH), 102.231(CH), 68.285(CH).

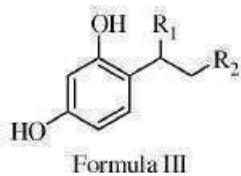
[0146] [표 2]

일반식 II의 대표적 화합물

화합물	구조	버섯의 티로시나아제 검정법
4-(Furan-2-ylmethyl)benzene-1,3-diol (5)		$\text{IC}_{50} = 1.8 \mu\text{M}$
4-(Furan-3-ylmethyl)benzene-1,3-diol (6)		$\text{IC}_{50} = 3.0 \mu\text{M}$
4-(Pyridin-ylmethyl)benzene-1,3-diol (7)		$\text{IC}_{50} = 2.0 \mu\text{M}$
4-((2-Methoxypyridin-3-yl)methyl)benzene-1,3-diol (8)		$\text{IC}_{50} = 50.0 \mu\text{M}$
4-(2,4,6-trimethoxybenzyl)benzene-1,3-diol (9)		$\text{IC}_{50} = 30.0 \mu\text{M}$
4-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ylmethyl)benzene-1,3-diol (10)		$\text{IC}_{50} = 0.85 \mu\text{M}$
4-(hydroxyl(pyridine-3-yl)methyl)benzene-1,3-diol (11)		$\text{IC}_{50} = 4.9 \mu\text{M}$

[0147]

[0149] 실시예 3 : 일반식 III의 화합물의 합성을 위한 일반 및 특이적 방법



[0150]

[0151] 일반식 III의 화합물을 하기의 반응식 3에 나타낸 것과 같이 제조하였다. 간단하게는, 반응식 3을 참고하여, 대응하는 비티히 염(Wittig salt)과 알데히드(aldehyde) 간의 비티히 반응(Wittig reaction) 후 활성탄에 담지된 Pd와 암모늄 포르메이트(ammonium formate; AMF)를 사용하여 수소화시킴으로써 일반식 III의 1,2-디페닐에텐(1,2-diphenylethene) 화합물을 제조하였다.

[0153] [반응식 3]



[0154]

[0156] 반응식 3에 대한 대표적 방법 : 4-페네틸벤젠-1,3-디올(4-Phenethylbenzene-1,3-diol)(12)

[0157] THF(25mL)에 용해시킨 벤질 브로마이드(5.2g, 12mmol)의 포스포늄 염(phosphonium salt) 용액에, 헥산(hexane)에 용해시킨 nBu-Li(6.9mL, 11mmol)을 0°C에서 첨가하였다. 상기 반응 혼합물이 일라이드(ylide) 형성을 나

타내는 빨간색을 발현하는 시간인 1시간 동안 상온에서 교반시켰다. THF(10mL)에 용해시킨 2,4-비스(벤조일옥시)벤즈알데히드(2,4-bis(benzoyloxy)benzaldehyde)(3.2g, 10mmol) 용액을 -80℃에서 상기 일라이드 용액에 첨가하고, 저온 수조에서 이동하지 않고 밤새 교반하였다. 그 기간 동안 빨간색은 없어지고 약간 하얀 현탁액이 형성되면, 헥산으로 희석하고 여과하였다. 상기 여과물을 농축하고, 잔류물을 에틸 아세테이트-헥산(ethyl acetate-hexane)(5:95)을 사용하여 용출하는 단상(short bed)의 실리카 겔에 통과시켜, 미색(pale yellow) 오일로서 (*E/Z*:20/80)의 비율로 결합된 생성물(3.6g, 92%)을 얻었다.

[0158] 상기 결합된 생성물(3g, 7.7mmol)을 그 후 24mL THF/MeOH(1:2)에 용해시키고, 4시간 동안 환류에서 활성탄에 담지된 10% Pd(300mg)와 암모늄 포메이(3.92g, 62mmol)로 처리하였다. 냉각 후, 상기 반응 혼합물을 촉매를 제거하기 위하여 셀라이트를 통하여 여과하였다. 상기 조 생성물을 컬럼 크로마토그래피로 정제하고, 헥산과 에틸 아세테이트(75:25)로 용출하여 황백색 고체로서 화합물 **12**(1.5g, 95%)를 얻었다. ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 7.19-7.09(m, 5H), 7.77(d, 1H, *J*=8Hz), 6.35(t, 1H, *J*=2.5Hz), 6.22(s, 1H), 2.80(d, 2H, *J*=6Hz), 2.78(d, 2H, *J*=4Hz). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 155.911(C), 155.604(C), 142.535(C), 130.302(CH), 128.177(CH), 128.170(CH), 127.815(CH), 127.800(CH), 125.238(CH), 119.561(C), 106.029(CH), 102.150(CH), 36.274(CH₂), 31.803(CH₂).

[0159] 일반식 III의 대표적 화합물 **13-27**(표 3을 참조)을 적절한 시작 물질을 사용하여 동일한 일반 반응식에 따라 합성하였다. 총 수율은 35-55%로 다양하였다. 어떤 경우에 있어서, 최종 생성물을 얻기 위하여 환원성 고압 수소화 반응은 CTH 방법 대신에 파 장치(Parr apparatus)를 사용하여 성공적으로 수행되었다.

[0161] **4-(4-하이드록시페네틸벤젠)-1,3-디올(4-(4-hydroxyphenethyl)benzene-1,3-diol)(13)**

[0162] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 6.985(dd, 2H, *J*=3 & 5Hz), 6.764(d, 1H, *J*=8Hz), 6.716-6.617(m, 2H), 6.326(d, 1H, *J*=2.5Hz), 6.215(dd, 1H, *J*=2.5 & 8.5Hz), 2.719(s, 2H), 2.675(d, 2H, *J*=8.5Hz). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 155.756(C), 155.500(C), 154.560(C), 133.707(C), 130.354(CH), 129.125(2CH), 119.742(C), 114.586(2CH), 106.048(CH), 102.127(CH), 35.393(CH₂), 31.988(CH₂).

[0164] **4-(4-메톡시페네틸)벤젠-1,3-디올(4-(4-methoxyphenethyl)benzene-1,3-diol)(14)**

[0165] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 7.052(d, 2H, *J*=8.5Hz), 6.748-6.772(m, 3H), 6.343(d, 1H, *J*=2.5Hz), 6.222(dd, 1H, *J*=2.5 & 8.0Hz), 3.683(s, 3H), 2.745(t, 4H, *J*=6.0Hz). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 157.000(C), 155.893(C), 155.601(C), 134.660(C), 130.317(CH), 129.073(2CH), 119.608(C), 113.255(2CH), 106.007(CH), 102.139(CH), 54.303(CH₃), 35.350(CH₂), 31.944(CH₂).

[0167] **4-(2-벤조[d][1,3]디옥솔-5-일에틸)벤젠-1,3-디올(4-(2-benzo[d][1,3]dioxol-5-ylethyl)benzene-1,3-diol)(15)**

[0168] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 6.75(d, 1H, *J*=8Hz), 6.67(d, 1H, *J*=8Hz), 6.66(d, 1H, *J*=1.5Hz), 6.61(dd, 1H, *J*=8 & 1.5Hz), 6.27(d, 1H, *J*=2.5Hz), 6.17(dd, 1H, *J*=8 & 2.5Hz), 5.87(s, 2H), 2.71-2.72(m, 4H). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 156.01(C), 155.01(C), 147.41(C), 145.47(C), 136.52(C), 130.14(CH), 120.87(CH), 119.23(C), 108.48(CH), 107.39(CH), 105.82(CH), 102.03(CH), 100.45(CH₂), 35.95(CH₂), 32.03(CH₂).

[0170] **4,4'-(에탄-1,2디일)디벤젠-1,3-디올(4,4'-(ethane-1,2diyl)dibenzene-1,3-diol)(16)**

[0171] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 6.81(d, 2H, *J*=2Hz), 6.29(s, 2H), 6.20(dd, 2H, *J*=2 & 2Hz), 2.68(s, 4H). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 155.83(2C), 155.47(2C), 130.04(2CH), 145.47(C), 120.01(2C), 105.95(2CH), 102.05(2CH), 30.04(2CH₂).

[0173] **4-(2,4-디메톡시페네틸)벤젠-1,3-디올(4-(2,4-dimethoxyphenethyl)benzene-1,3-diol)(17)**

[0174] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 6.93(d, 1H, *J*=8Hz), 6.73(d, 1H, *J*=8Hz), 6.46(d, 1H, *J*=2Hz), 6.37(dd, 1H, *J*=8 & 2Hz), 6.28(d, 1H, *J*=2Hz), 6.17(dd, 1H, *J*=8 & 2Hz), 3.77(s, 3H), 3.74(s, 3H), 2.67-2.73(m, 4H). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 159.177(C), 158.307(C), 155.801(C), 155.564(C), 155.564(C), 130.047(CH),

129.758(CH), 122.988(C), 119.900(C), 105.796(CH), 103.771(CH), 101.991(CH), 97.867(CH), 54.392(CH₃), 54.289(CH₃), 29.901(CH₂), 29.834(CH₂).

[0176] 4-(3,5-디메톡시페네틸)벤젠-1,3-디올(4-(3,5-dimethoxyphenethyl)benzene-1,3-diol)(18)

[0177] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 6.77(d, 1H, J=10Hz), 6.34(d, 2H, J=5Hz), 6.32(d, 1H, J=5Hz), 6.25(t, 1H, J=5Hz), 6.20(dd, 1H, J=10 & 5Hz), 3.68(s, 6H), 2.75(s, 4H). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 160.67(C, 2C), 155.98(C), 155.60(C), 144.91(C), 130.32(CH), 119.38(C), 106.20(CH, 2C), 105.97(CH), 102.08(CH), 97.50(CH), 54.25(2CH₃), 36.48(CH₂), 31.47(CH₂).

[0179] 4-(2,4-디메톡시-3-메틸페네틸)벤젠-1,3-디올(4-(2,4-dimethoxy-3-methylphenethyl)benzene-1,3-diol)(19)

[0180] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 6.972(d, 1H, J=8.5Hz), 6.624(d, 1H, J=9.0Hz), 6.285(dd, 1H, J=1 & 2.5Hz), 6.184(ddd, 1H, J=1.5, 2.5 & 8Hz), 3.783(s, 3H), 3.694(s, 3H), 2.723-2.762(m, 4H), 2.114(s, 3H). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 157.034(C), 156.915(C), 155.953(C), 155.664(C), 130.066(CH), 127.197(C), 126.967(CH), 119.834(C), 118.705(C), 105.855(CH), 105.841(CH), 102.046(CH), 59.749(CH₃), 54.637(CH₃), 31.008(CH₂), 29.916(CH₂), 7.941(CH₃).

[0182] 4-(2,4,6-트리메톡시페네틸)벤젠-1,3-디올(4-(2,4,6-trimethoxyphenethyl)benzene-1,3-diol)(20)

[0183] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 6.698(dd, 1H, J=1.5 & 8Hz), 6.262(t, 1H, J=2.5Hz), 6.135-6.157(m, 3H), 3.775(s, 3H), 3.730(s, 3H), 3.723(s, 3H), 2.750(t, 2H, J=8.0Hz), 2.563(t, 2H, J=8.0Hz). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 159.369(C), 158.799(2C), 155.638(C), 155.556(C), 129.840(CH), 120.359(C), 111.082(C), 105.696(CH), 101.906(CH), 90.367(2CH), 54.744(2CH₃), 54.281(CH₃), 28.790(CH₂), 22.653(CH₂).

[0185] 4-(1-페닐프로판-2-일)벤젠-1,3-디올(4-(1-phenylpropan-2-yl)benzene-1,3-diol)(21)

[0186] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 6.928(d, 2H, J=8.5Hz), 6.854(d, 1H, J=8.0Hz), 6.631(d, 2H, J=8.0Hz), 6.259(d, 1H, J=2.0Hz), 6.219(dd, 1H, J=2.5 & 8.0Hz), 3.231(q, 1H, J=6.5Hz), 2.854(dd, 1H, J=5.5 & 13.0Hz), 2.519(dd, 1H, J=9.0 & 13.5Hz), 1.087(d, 3H, J=7.0Hz). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 155.482(C), 155.093(C), 153.428(C), 154.716(C), 132.452(CH), 129.673(2CH), 124.583(C), 114.242(2CH), 105.870(CH), 102.016(CH), 42.284(CH₂), 33.835(CH), 18.575(CH₃).

[0188] 4-(2-(퓨란-3-일)에틸)벤젠-1,3-디올(4-(2-(furan-3-yl)ethyl)benzene-1,3-diol)(22)

[0189] ¹H-NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 7.348(s, 2H), 7.187(s, 1H), 6.342(d, 1H, J=8.1Hz), 6.282(d, 2H, J=10.2Hz), 2.795-2.663(m, 4H). ¹³C-NMR (CDCl₃, 75MHz): δ 154.903(C), 154.594(C), 143.043(CH), 139.307(CH), 131.236(CH), 124.802(C), 120.509(C), 111.259(CH), 107.970(CH), 103.249(CH), 30.310(CH₂), 25.544(CH₂).

[0191] 4-(2-(테트라하이드로퓨란-3-일)에틸)벤젠-1,3-디올(4-(2-(tetrahydrofuran-3-yl)ethyl)benzene-1,3-diol)(23)

[0192] ¹H-NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 6.933(d, 1H, J=8.4Hz), 6.359-6.283(m, 2H), 3.951-3.709(m, 3H), 3.388(t, 1H, J=7.5Hz), 2.602-2.492(m, 2H), 2.262-2.163(m, 2H), 1.707-1.585(m, 3H). ¹³C-NMR (CDCl₃, 75MHz): δ 155.056, 154.544, 132.595, 120.639, 110.008, 107.810, 103.074, 68.188, 64.108, 33.905, 32.718, 28.432.

[0194] 4-(2-(퓨란-2-일)에틸)벤젠-1,3-디올(4-(2-(furan-2-yl)ethyl)benzene-1,3-diol)(24)

[0195] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 7.31(d, 1H, J=2Hz), 6.78(d, 1H, J=8Hz), 6.28(d, 1H, J=2Hz), 6.24(dd, 1H, J=3 & 2Hz), 6.18(dd, 1H, J=8 & 2.5Hz), 5.95(dd, 1H, J=3Hz), 2.78-2.82(m, 4H). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 156.145(C), 156.104(C), 155.675(C), 140.334(CH), 129.995(CH), 118.790(C), 109.576(CH), 105.867(CH),

104.315(CH), 102.020(CH), 28.209(CH₂), 28.150(CH₂).

[0197] 4-(2-(테트라하이드로퓨란-2-일)에틸)벤젠-1,3-디올(4-(2-(tetrahydrofuran-2-yl)ethyl)benzene-1,3-diol)(25)

[0198] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 6.83(d, 1H, J=8Hz), 6.26(d, 1H, J=2.5Hz), 6.21(dd, 1H, J=8 & 2.5Hz), 3.79-3.85(m, 2H), 3.70-3.73(m, 1H), 2.57-2.60(m, 1H), 2.51-2.56(m, 1H), 1.98-2.01(m, 1H), 1.86-1.90(m, 2H), 1.77-1.80(m, 1H), 1.70-1.71(m, 1H), 1.48-1.54(m, 1H). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 156.01(C), 155.619(C), 155.675(C), 129.958(CH), 119.326(C), 105.855(CH), 102.130(CH), 79.187(CH), 67.104(CH₂), 35.728(CH₂), 30.771(CH₂), 25.951(CH₂), 25.218(CH₂).

[0200] 4-(2-(5-에틸로퓨란-2-일)에틸)벤젠-1,3-디올(4-(2-(5-ethylfuran-2-yl)ethyl)benzene-1,3-diol)(26)

[0201] ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 6.786(d, 1H, J=8.0Hz), 6.278(d, 1H, J=2.5Hz), 6.1845(dd, 1H, J=2.5 & 8.0Hz), 5.189(s, 2H), 2.766(s, 4H), 2.578(q, 2H, J=7.5Hz), 1.194(td, 3H, J=7.5 & 1.0Hz). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 156.090(C), 155.649(C), 155.401(C), 154.142(C), 129.999(CH), 118.938(C), 105.852(CH), 104.734(CH), 103.779(CH), 102.006(CH), 28.309(CH₂), 28.268(CH₂), 20.828(CH₂), 11.443(CH₃).

[0203] 4-(2-(피리딘-3일)에틸)벤젠-1,3-디올(4-(2-(pyridin-3yl)ethyl)benzene-1,3-diol)(27)

[0204] ¹H-NMR (MeOD, 300MHz): δ 8.293(dd, 1H, J=4.8 & 1.5Hz), 8.250(d, 1H, J=1.8Hz), 7.605(dt, 1H, J=8.1 & 1.5Hz), 7.291(ddd, 1H, J=7.5, 4.5 & 0.6Hz), 6.673(d, 1H, J=8.4Hz), 6.270(d, 1H, J=2.4Hz), 6.139(dd, 1H, J=8.4 & 2.1Hz), 2.880(td, 2H, J=6.6 & 1.8Hz), 2.778(td, 2H, J=6.6 & 1.2Hz). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 156.06(C), 156.04(C), 149.00(CH), 146.00(CH), 138.90(C), 137.34(CH), 130.57(CH), 123.72(CH), 118.31(C), 106.03(CH), 102.25(CH), 33.14(CH₂), 31.48(CH₂).

[0205] [표 3]

일반식 III의 대표적 화합물

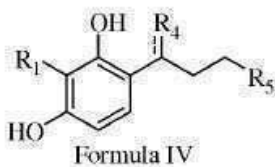
화합물	구조	버섯의 티로시나아제 검정
4-Phenethylbenzene-1,3-diol (12)		IC ₅₀ : = 2.8 μM
4-(4-hydroxyphenethylbenzene)-1,3-diol (13)		IC ₅₀ : = 2.9 μM
4-(4-methoxyphenethylbenzene)-1,3-diol (14)		IC ₅₀ : = 1.2 μM
4-(2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ylethyl)benzene)-1,3-diol (15)		IC ₅₀ : = 0.25 μM
4,4'-(ethane-1,2-diyl)dibenzene-1,3-diol (16)		IC ₅₀ : = 0.35 μM

[0206]

4-(2,4-dimethoxyphenethyl)benzene-1,3-diol (17)		IC ₅₀ : = 3.0 μM
4-(3,5-dimethoxyphenethyl)benzene-1,3-diol (18)		IC ₅₀ : = 2.8 μM
4-(2,4-dimethoxy-3-methylphenethyl)benzene-1,3-diol (19)		IC ₅₀ : = 0.80 μM
4-(2,4,6-trimethoxyphenethyl)benzene-1,3-diol (20)		IC ₅₀ : = 40.0 μM
4-(1-phenylpropan-2-yl)benzene-1,3-diol (21)		IC ₅₀ : = 8.4 μM
4-(2-(furan-3-yl)ethyl)benzene-1,3-diol (22)		IC ₅₀ : = 1.0 μM
4-(2-(tetrahydrofuran-3-yl)ethyl)benzene-1,3-diol (23)		IC ₅₀ : = 5.8 μM
4-(2-(furan-2-yl)ethyl)benzene-1,3-diol (24)		IC ₅₀ : = 0.2 μM
4-(2-(tetrahydrofuran-2-yl)ethyl)benzene-1,3-diol (25)		IC ₅₀ : = 4.5 μM
4-(2-(5-ethylfuran-2-yl)ethyl)benzene-1,3-diol (26)		IC ₅₀ : = 0.86 μM
4-(2-(pyridin-3-yl)ethyl)benzene-1,3-diol (27)		IC ₅₀ : = 1.8 μM

[0207]

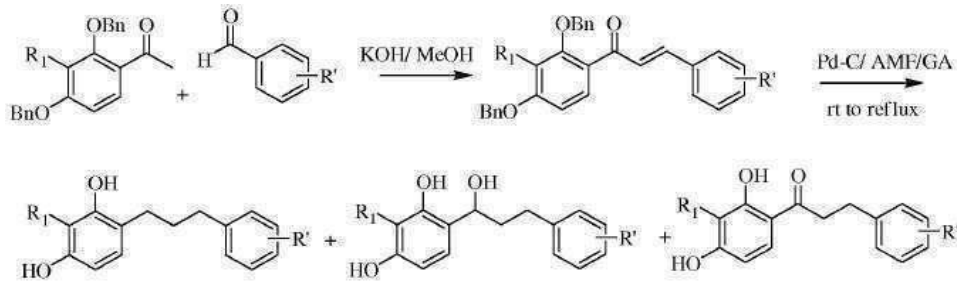
[0209] 실시예 4 : 일반식 IV의 화합물의 합성을 위한 일반 및 특이적 방법



[0210]

[0211] 일반식 IV의 화합물을 반응식 4에 기재된 것과 같이 제조하였다. 간단하게는, 대표적인 칼콘(chalcone)을 얻기 위하여 촉매형 알돌 축합(catalyzed Aldol condensation) 후, 암모늄 포르메이트(AMF)와 Pd-C 촉매를 사용하여 수소의 촉매성 전이(catalytic transfer)에 의해 환원시킴으로써 일반식 IV의 실례가 되는 1,3-디페닐프로판(1,3-diphenylpropanes)을 제조하였다.

[0213] [반응식 4]



[0214]

[0216]

반응식 4에 대한 대표적 방법 : 화합물 28, 29 및 30의 합성

[0217]

알돌 축합반응을 위한 일반적 방법

[0218]

100mL 무수 MeOH에 용해시킨 2,4-디벤질옥시아세토펜론(2,4-dibenzoyloxyacetophenone)(7.67g, 23.1mmol)과 3,5-디메톡시벤즈알데히드(3,5-dimethoxybenzaldehyde)(3.80g, 23mmol)을 포함하는 용액에 KOH(1.4g, 25mmol)을 첨가한 후, 상기 혼합물을 상온에서 5시간 동안 교반하였다. 여과하고 물로 세척하여 노란색 고체가 침전되었다. 조 생성물을 마지막으로 MeOH로 결정화시켜 노란색 결정질의 고체(9.97g, 87%)를 얻었다.

[0220]

CTH 환원을 위한 일반적 방법

[0221]

축합 생성물, α, β -불포화된 케톤(α, β -unsaturated ketone)(3g, 7.5mmol)을 24mL 빙초산(glacial acetic acid)에 용해시킨 후, 활성탄에 담지시킨 10% Pd(300mg)와 암모늄 포르메이트(3.92g, 62mmol)을 첨가하고, 상기 반응 혼합물을 4시간 동안 환류하였다. 냉각시킨 후, 촉매를 제거하기 위하여 상기 반응 혼합물을 셀라이트로 여과하였다. 조 생성물을 회전 증류기에서 농축시키고, 헥산과 에틸 아세테이트(75:25)을 사용하여 용출하는 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여, 황백색 고체로서 화합물 28(1.1g, 50%)과 진한 노란색 액체로서 화합물 29(0.57g, 25%)를 얻었다.

[0223]

탈메틸화를 위한 일반적 방법

[0224]

-80°C 아르곤하에서 건조 CH_2Cl_2 (20mL)에 용해시킨 화합물 28(1.4g, 4.9mmol)의 교반 용액에 BBr_3 (2.67g, 10.7mmol)을 첨가하고, 상기 혼합물을 천천히 0°C로 승온시켰다. 상기 반응 혼합물에 얼음 냉각수를 첨가하여 쿨링하고, 메탄올을 첨가하였다. 그 후, 용매를 회전 증류기에서 제거하고, 조 생성물을 에틸 아세테이트/헥산(25:75)을 사용하여 용출하는 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 고체로서 화합물 30(1.14g, 90%)을 얻었다.

[0226]

4-(3-(3,5-디메톡시페닐)프로필)벤젠-1,3-디올(4-(3-(3,5-dimethoxyphenyl)propyl)benzene-1,3-diol)(28)

[0227]

$^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 500MHz): δ 6.828(d, 1H, $J=8.5\text{Hz}$), 6.344(d, 2H, $J=2.5\text{Hz}$), 6.288(d, 1H, $J=2.5\text{Hz}$), 2.265(t, 1H, $J=2.0\text{Hz}$), 6.226(dd, 1H, $J=2.5\text{Hz}$ & 8.0Hz), 3.723(s, 6H), 2.503-2.558(m, 4H), 1.800-1.826(m, 2H).
 $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 125MHz): δ 160.772(2C), 155.860(C), 155.597(C), 145.065(C), 130.080(CH), 119.774(C), 106.055(2CH), 105.937(CH), 102.094(CH), 97.326(CH), 54.226(2CH₃), 35.587(CH₂), 31.563(CH₂), 28.924(CH₂).

[0229]

4-(3-(3,5-디메톡시페닐)-1-하이드록시프로필)벤젠-1,3-디올(4-(3-(3,5-dimethoxyphenyl)-1-hydroxypropyl)benzene-1,3-diol)(29)

[0230]

$^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 500MHz): δ 6.977(d, 1H, $J=8.0\text{Hz}$), 6.316-6.337(m, 3H), 6.309(t, 1H, $J=2.5\text{Hz}$), 6.259(t, 1H, $J=2.5\text{Hz}$), 4.781(dd, 1H, $J=5.5\text{Hz}$, $J_2=7.5\text{Hz}$), 3.704(s, 6H), 2.623(ddd, 1H, $J=13.5\text{Hz}$, $J_2=10.0\text{Hz}$, $J_3=5.5\text{Hz}$), 2.5222(ddd, 1H, $J=20.0\text{Hz}$, $J_2=9.5\text{Hz}$, $J_3=6.5\text{Hz}$), 2.031-1.908(m, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 125MHz): δ 160.806(2C), 157.356(C), 156.189(C), 144.503(C), 128.070(CH), 118.275(C), 106.640(CH), 106.155(2CH), 102.239(CH), 97.515(CH), 78.440(CH), 54.185(CH₃), 54.059(CH₃), 37.786(CH₂), 32.070(CH₂).

[0232]

4-(3-(3,5-디하이드록시페닐)프로필)벤젠-1,3-디올(4-(3-(3,5-dihydroxyphenyl)propyl)benzene-1,3-diol)(30)

[0233]

$^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 500MHz): δ 6.827(d, 1H, $J=8.0\text{Hz}$), 6.267(d, 1H, $J=2.0\text{Hz}$), 6.211(dd, 1H, $J=2.5$ & 8.5Hz),

6.142(d, 2H, $J=2.0\text{Hz}$), 6.074(t, 1H, $J=2.5\text{Hz}$), 2.507(t, 2H, $J=8.0\text{Hz}$), 2.455(t, 2H, $J=8.0\text{Hz}$), 1.76-1.84(m, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 125MHz): δ 157.848(2C), 155.849(C), 155.582(C), 145.065(C), 129.995(CH), 119.793(C), 106.559(2CH), 105.859(CH), 102.054(CH), 99.514(CH), 35.420(CH₂), 31.593(CH₂), 28.961(CH₂).

[0235] 4-(3-(2,4,6-트리메톡시페닐)프로필)벤젠-1,3-디올(4-(3-(2,4,6-trimethoxyphenyl)propyl)benzene-1,3-diol)(31)

[0236] 출발 물질로서 2,4-디벤질옥시아세토페논 및 2,4,6-트리메톡시벤즈알데히드를 사용하여, 상기 화합물 28에 대하여 기재된 것과 같이 유사한 방법에 따라 화합물 31을 합성하였다. $^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 500MHz): δ 6.822(d, 1H, $J=8.0\text{Hz}$), 6.250(d, 1H, $J=2.5\text{Hz}$), 6.197(dd, 1H, $J=2.5$ & 8.0Hz), 6.165(s, 2H), 3.768(s, 3H), 3.764(s, 6H), 2.562(t, 2H, $J=7.5\text{Hz}$), 2.461(t, 2H, $J=7.5\text{Hz}$), 1.617-1.653(m, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 125MHz): δ 159.273(C), 158.729(2C), 155.556(C), 155.449(C), 129.655(2CH), 120.426(C), 111.382(C), 105.789(CH), 101.968(CH), 90.285(CH), 54.655(2CH₃), 54.274(CH₃), 29.716(CH₂), 29.064(CH₂), 22.142(CH₂).

[0238] 4-(3-(2,4-디하이드록시페닐)프로필)-2-메틸벤젠-1,3-디올(4-(3-(2,4-dihydroxyphenyl)propyl)-2-methylbenzene-1,3-diol)(32)

[0239] 출발 물질로서 2,4-디벤질옥시아세토페논 및 2,4-디메톡시-3-메틸벤즈알데히드를 사용하여 화합물 30에 대하여 기재된 것과 같은 유사한 방법에 따라 화합물 32를 합성하였다. $^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 500MHz): δ 6.879 (d, 1H, $J=8.5\text{Hz}$), 6.747(d, 1H, $J=8.0\text{Hz}$), 6.352(d, 1H, $J=1.5\text{Hz}$), 6.341(d, 1H, $J=4.0\text{Hz}$), 6.285(dd, 1H, $J=8.0\text{Hz}$ & 2.5Hz), 2.567(dd, 4H, $J= 8.0$ & 7.5Hz), 2.133(s, 3H), 1.786-1.817 (m, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 125MHz): δ 155.486(C), 155.316(C), 153.428(C), 152.906(C), 130.295(CH), 126.523(CH), 120.933(C), 120.518(C), 111.556(C), 106.788(CH), 106.377(CH), 102.283 (CH), 30.767(CH₂), 29.649(CH₂), 29.127(CH₂), 7.833(CH₃).

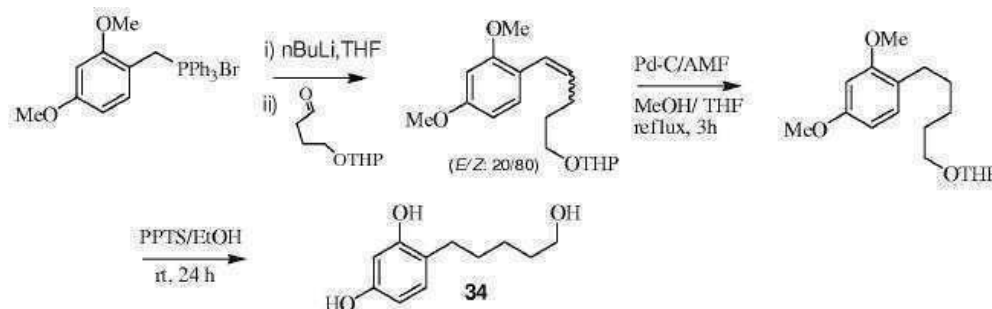
[0241] 1-(2,4-디하이드록시-3-메틸페닐)-3-(2,4-디하이드록시페닐)프로판-1-온(1-(2,4-dihydroxy-3-methylphenyl)-3-(2,4-dihydroxyphenyl)propane-1-one)(33)

[0242] 출발 물질로서 2,4-디벤질옥시아세토페논 및 2,4-디메톡시-3-메틸벤즈알데히드를 사용하여 화합물 28에 대하여 기재된 것과 같은 유사한 방법에 따라 화합물 33을 합성하였다. Pd-C/암모늄 포메이트를 사용한 환원을 환류 대신 상온에서 수행하였다. 보론트리브로마이드(borontribromide)를 사용한 탈메틸화 반응을 화합물 30에 대한 방법에서와 같이 기재된 유사한 프로토콜을 사용하여 수행하였다. $^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 500MHz): δ 7.628 (d, 1H, $J=9.0\text{Hz}$), 6.868 (d, 1H, $J=8.0\text{Hz}$), 6.349(d, 1H, $J=9.0\text{Hz}$), 6.283(d, 1H, $J=2.5\text{Hz}$), 6.203(dd, 1H, $J=2.5$ & 8.0Hz), 3.127(t, 2H, $J=7.5\text{Hz}$), 2.862(t, 2H, $J=7.5\text{Hz}$), 2.031(s, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 500Hz): δ 205.420(C), 162.894(C), 162.264(C), 156.438(C), 155.782(C), 130.710(CH), 129.510(CH), 118.364(C), 112.249(C), 110.820(C), 106.596(CH), 105.970(CH), 102.142(CH), 47.089(CH₂), 25.810(CH₂), 6.361(CH₃).

[0244] 실시예 5: 4-(5-하이드록시페닐)벤젠-1,3-디올(4-(5-hydroxyphenyl)benzene-1,3-diol)의 합성 (34)

[0245] 화합물 34를 반응식 5에 기재된 것과 같이 합성하였다.

[0247] [반응식 5]



[0248] THF(25mL)에 용해시킨 2,4-비스(벤질옥시)벤질 브로마이드(2,4-bis(benzoyloxy)benzyl bromide)(7.72m, 12mmol)의 포스포늄 염 용액에 0°C에서 헥산에 용해시킨 nBu-Li(6.9mL, 11mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을

상기 혼합물이 일라이드의 형성을 나타내는 빨간색을 발현하는 기간 동안, 1시간 동안 상온에서 교반하였다. THF(10mL)에 용해시킨 4-(테트라하이드로피라닐옥시)부탈날(4-(tetrahydropyranyloxy)butanal)(1.72g, 10mmol) 용액을 -80℃에서 상기 일라이드 용액에 첨가하고, 빨간색이 없어지는 동안 상기 혼합물을 저온 수조에서 옮기지 않고 밤새 교반하고, 헥산으로 희석하고 여과하여 약간 흰색의 현탁액이 형성되었다. 여과물을 농축하고, 잔류물을 에틸 아세테이트-헥산(5:95)을 사용하여 용출하는 단상의 실리카 겔에 통과시켜 미색 오일로서 (E/Z:20/80)의 비율로 결합된 생성물(5.2g, 92%)을 얻었다.

[0250] 그 후, 상기 결합된 생성물(3.6g, 7.7mmol)을 24mL THF/MeOH(1:2)에 용해시키고, 4시간 동안 환류에서 활성탄에 담지시킨 10% Pd(360mg)과 암모늄 포메이트(3.92g, 62mmol)로 처리하였다. 냉각 후, 상기 반응 혼합물을 촉매를 제거하기 위하여 셀라이트로 여과하였다. 농축 후, 조 생성물을 헥산과 에틸 아세테이트(80:20)을 사용하여 용출하는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 무색의 진한 액체로서 환원된 생성물(2.15g, 95%)을 얻었다.

[0251] 상온에서 에탄올(20mL)에 용해시킨 상기 환원된 생성물(1.2g, 4mmol)의 교반 용액에 피리디늄 톨루엔-4-술포네이트(pyridinium toluene-4-sulfonate)(350mg, 1.39mmol)를 첨가하고, 상기 혼합물을 24시간 동안 교반하였다. 진공하에서 용매를 제거한 후, 잔류물을 에틸 아세테이트-헥산(10:90)을 이용하여 용출하는 실리카 겔 상에서 크로마토그래피하여 황백색 고체(690mg, 88%)로서 목적 화합물(34)을 얻었다. ¹H-NMR (MeOD, 500MHz): δ 8.825(d, 1H, J=7.5Hz), 6.2705 (d, 1H, J=0.5Hz), 6.215(d, 1H, J=7.5Hz), 3.538(t, 2H, J=6.5Hz), 2.491(t, 2H, J=7.5Hz), 1.526-1.585(m, 4H), 1.358-1.40(m, 2H). ¹³C-NMR (MeOD, 125MHz): δ 155.705(C), 155.482(C), 129.984(CH), 120.108(C), 105.926(CH), 102.061(CH), 61.722(CH₂), 32.189(CH₂), 29.182(CH₂), 29.086(CH₂), 25.322(CH₂), 103.761(CH).

[0252] [표 4]

일반식 IV의 대표적 화합물

화합물	구조	버섯의 티로시나아제 검정
4-(3-(3,5-dimethoxyphenyl)propyl)benzene-1,3-diol (28)		IC ₅₀ : = 1.02 μM
4-(3-(3,5-dimethoxyphenyl)-1-hydroxypropyl)benzene-1,3-diol (29)		IC ₅₀ : = 5.15 μM
4-(3-(3,5-dihydroxyphenyl)propyl)benzene-1,3-diol (30)		IC ₅₀ : = 0.5 μM
4-(3-(2,4,6-trimethoxyphenyl)propyl)benzene-1,3-diol (31)		IC ₅₀ : = 0.165 μM
4-(3-(2,4-dihydroxyphenyl)propyl)-2-methylbenzene-1,3-diol (32)		IC ₅₀ : = 2.3 μM
1-(2,4-dihydroxy-3-methylphenyl)-3-(2,4-dihydroxyphenyl)propane-1-one (33)		IC ₅₀ : = 2.54 μM
4-(5-hydroxypentyl)benzene-1,3-diol (34)		IC ₅₀ : = 1.0 μM

[0253]

[0255] 실시예 6 : 티로시나아제 검정

[0256] 버섯 종인 아가리쿠스 비스포루스(Agaricus bisporus)로부터 분리된 티로시나아제를 시그마-알드리치사(Sigma-Aldrich Inc.; Cat# T3824-50KU)로부터 구입하였다. 상기 효소를 10U/μl의 농도로 티로시나아제 검정 버퍼(100mM 소듐 포스페이트, pH 6.8)에 용해시키고, -70℃에 저장하였다. 실험을 위하여, 상기 효소를 0.2U/μl

의 농도로 검정 버퍼에 새롭게 희석하였다.

- [0257] 모든 테스트 화합물들을 처음에 400mM의 농도로 100% DMSO에 용해시켰다. 상기 화합물들을 80 μM의 농도로 100% DMSO에 또 희석하였다. 상기 화합물들의 80 μM 스톡 용액(stock solution)을 그 후 8 μM의 농도가 되도록 티로시나아제 검정 버퍼로 10배 희석하였다. 상기 화합물들을 그 후 모든 샘플에 걸쳐서 DMSO 함량의 농도를 유지하면서 10% DMSO를 포함하는 검정 버퍼로 3배(three-fold increment) 연속 희석하였다. 이 연속 희석된 화합물들을 그 후 티로시나아제 활성 검정에서 2배 농축된 스톡 용액으로서 사용하였다.
- [0258] 티로시나아제 기질 L-DOPA(Sigma-Aldrich Inc, Cat# 37830)를 4mM의 농도로 티로시나아제 검정 버퍼에 용해시켰다. 이 용액을 그 후 티로시나아제 활성 검정에서 4배 농축된 스톡 기질로서 사용하였다.
- [0260] **검정 조건**
- [0261] 상온에서, 티로시나아제 검정을 투명바닥 96-웰(clear-bottom 96-well)에서 수행하였다. 검정의 최종 부피는 웰 당 200 μl이었다. 100 μl의 2배 농축된 테스트 화합물을 50 μl의 4mM L-DOPA와 함께 혼합하였다. 50 μl의 버섯 티로시나아제(0.2U/μl, 반응 당 10U)를 첨가함으로써 반응을 개시하고, 15분간 반응을 진행하였다. 색이 있는 생성물의 측적을 빅터 2 플레이트 리더(Victor 2 plate reader; Perkin-Elmer Inc.)를 사용하여 250nm에서 광 흡수(light absorption)에 의해 관찰하였다.
- [0263] **결과**
- [0264] 검정은 4 μM 내지 5.5nM의 테스트 화합물의 농도 범위에 걸쳐 세 번 수행하였다. 효소를 포함하지 않는 웰의 평균(n=3) 흡수는 블랭크(blank)로서 제거하였다. 데이터는 티로시나아제는 포함되어 있지만 테스트 화합물은 포함되어 있지 않은 웰의 활성을 백분율로서 계산하였다. IC₅₀ 값을 그래프패드 프리즘 소프트웨어(GraphPad Prism software)를 사용하여 비-선형 회귀 핏(non-linear regression fits)으로부터 계산하였다. 일반식 I-IV의 대표적 화합물에 대한 결과를 표 1-4 및 하기의 도 1-9에 기재하였다.
- [0266] 실시에 7 : 쥐의 흑색종 세포에 기초한 검정
- [0267] 선택된 화합물을 그 후 하기에 상세히 기재한 것과 같은 쥐의 흑색종 세포 B16-F1에 의한 멜라닌 생성을 억제하기 위한 능력에 대하여 테스트하였다.
- [0269] **재료**
- [0270] 쥐의 흑색종 세포 B16-F1을 ATCC로부터 구입하였다(Cat# CRL-6323). 셀타이터 96 아쿠어스 원 솔루션(CellTiter 96 Aqueous One Solution)을 프로메가(Promega)로부터 구입하였다(Cat# G3581). 0.2 μm의 공극 크기(pore size)의 낮은 단백질 결합 필터(low protein binding filters)를 팔 라이프 사이언스사(PALL Life Science)로부터 구입하였다(Cat# PN4454). 알파-MSH(alpha-MSH)를 벡햄(Bachem Inc.)로부터 구입하였다(Cat# H-1075.0005). 모든 조직 배양 시약들은 인비트로젠(Invitrogen Inc.)으로부터 구입하였다.
- [0271] 95% 공기 및 5% CO₂의 가습된 분위기하의 37°C에서, B16-F1 세포를 세포 성장 배지(DMEM/글루타민이 보충된 고포도당(High Glucose supplemented with glutamine), 소디움 피루베이트(sodium pyruvate), 10% 투석된 소 태아 혈청(fetal calf serum), 1% 비필수 아미노산(non-essential amino acids), 50 unit/mL 페니실린(penicillin) 및 50 μg/mL의 스트렙토마이신(streptomycin))에 유지시켰다.
- [0272] 모든 테스트 화합물을 처음에 400mM의 농도로 100% DMSO에 용해시켰다. 그 후, 테스트 화합물에 대하여 2mM의 최종 농도와 DMSO에 대하여 0.5%의 농도를 가지도록, 200nM 알파-MSH가 보충된 1.2mL의 세포 성장 배지에 6 μl의 400mM 테스트 화합물을 첨가하였다. 화합물을 20,000xg에서 1시간 동안 원심분리 하였다. 상층액(1mL)을 수집하고, 멸균된 0.26 μm 필터를 통하여 여과하였다. 모든 샘플에 대한 알파-MSH의 농도 및 DMSO 함량을 유지하면서, 상기 화합물을 0.5% DMSO와 200nM 알파-MSH가 보충된 멸균된 세포 성장 배지에 2배 연속 희석하였다. 이 연속 희석된 화합물을 이어서 멜라닌 생성 및 세포 생존 검정에서 2배 농축된 스톡 용액으로서 사용하였다.
- [0274] **방법**
- [0275] B16-F1 세포를 100 μl의 세포 성장 배지에 웰 당 40,000 세포로 투명바닥 96-웰 플레이트의 웰에 씨딩하였다. 다음날, 100 μl의 새롭게 제조된 2배 농축된 테스트 화합물을 상기 웰에 첨가하였다. 세포를 72시간 동안 95% 공기 및 5% CO₂의 가습된 분위기하의 37°C에서 유지하였다. 배양 기간의 마지막에 멜라닌을 포함하고 있는 상 태의 배지를 세포로부터 제거하고 다른 플레이트로 옮겼다. 멜라닌 함량을 측정하기 위하여, 멜라닌을 포함하

고 있는 상태의 배지의 빛 흡수를 빅터 2 플레이트 리더(Perkin-Elmer Inc.)를 사용하여 450nm에서 얻었다.

[0276] 살아있는 세포의 산화환원 전위(redox potential)에 기초한 표준 테트라졸리움 환원 검정(standard tetrazolium reduction assay)을 사용하여 세포의 생존을 측정하였다. 멜라닌을 포함하고 있는 상태의 배지의 흡인 후, 세포에 즉시 테트라졸리움 염을 포함하는 16% 셀타이터 96 아쿠어스 원 솔루션이 보충된 100 μ l의 새로운 배지를 공급하였다. 세포를 추가로 20-40분간 37 $^{\circ}$ C에서 유지하였다. 테트라졸리움의 전환을 빅터 2 플레이트 리더(Perkin-Elmer Inc.)를 사용하여 450nm에서 세포벽의 흡광도 측정에 의하여 관찰하였다.

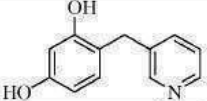
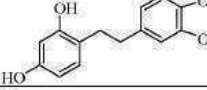
[0278] **결과**

[0279] 대표적 실험의 결과를 표 5 및 도 1-9에 요약하였다. 배양된 흑색종 세포에 의해 생성된 멜라닌의 90% 이상이 세포 밖 배지에서 발견되었다. 따라서, 실험의 마지막에 멜라닌을 포함하고 있는 배지를 수집하였고, 상대적인 양의 멜라닌을 450nm에서 흡수에 의해 측정하였다. 세포의 생존을 (프로메가의 셀타이터 96 아쿠어스 원 검정법을 사용하여) 테트라졸리움 화합물의 유색 포마잔(colored formazan) 생성물로의 전환에 기초한 일반적으로 사용되는 비색 방법(colorimetric procedure)에 의해 측정하였다. 대사 활성(metabolically active) 세포에서의 탈수소화 효소로 이 전환을 달성하였고, 포마잔 생성물의 양은 배양시 살아있는 세포의 수에 비례하였다.

[0280] 2 μ M 내지 1000 μ M의 테스트 화합물의 농도 범위에 걸쳐 검정을 4번 거듭하여 수행하였다. 세포를 포함하지 않는 웰의 평균(n=4) 흡수를 블랭크로서 제거하였다. 그 결과를 세포를 포함하지만 테스트 화합물은 포함하지 않는 웰의 백분율로서 계산하였다. IC₅₀ 값을 그래프패드 프리즘 소프트웨어를 사용하여 비선형 회귀 핏으로부터 계산하였다. 그 결과를 표 5에 나타내었다.

[0282] 일반식 I-IV의 대표적 화합물에 대한 버섯 티로시나아제 검정, 멜라닌 생성 검정 및 세포 생존 연구 결과

[0283] [표 5]

화합물	구조	버섯 티로시나아제 검정	멜라닌 생성	세포 생존
7		IC ₅₀ : = 2.0 μ M	IC ₅₀ : = 14 μ M	
15		IC ₅₀ : = 0.25 μ M	IC ₅₀ : = 3.3 μ M	LD ₅₀ : = 66 μ M

[0284]

16		IC ₅₀ : = 0.35 μM	IC ₅₀ : = 1.7 μM	LD ₅₀ : = 260 μM
17		IC ₅₀ : = 3.0 μM	IC ₅₀ : = 11.9 μM	LD ₅₀ : = 157.8 μM
18		IC ₅₀ : = 2.8 μM	IC ₅₀ : = 2.97 μM	LD ₅₀ : = 222.2 μM
19		IC ₅₀ : = 0.80 μM	IC ₅₀ : = 24.7 μM	LD ₅₀ : = 130.3 μM
24		IC ₅₀ : = 0.2 μM	IC ₅₀ : = 1.60 μM	LD ₅₀ : = 345.9 μM
25		IC ₅₀ : = 4.5 μM	IC ₅₀ : = 5 μM	LD ₅₀ : >1000 μM
31		IC ₅₀ : = 0.165 μM	IC ₅₀ : = 156.1 μM	LD ₅₀ : = 187.8 μM
코직산		IC ₅₀ : = 20 μM	IC ₅₀ : = 303.5 μM	LD ₅₀ : = >1000 μM

[0285]

[0287]

실시예 8: 인공 인간 피부 연구

[0288]

재료 및 방법

[0289]

제작자의 설명서에 따라 MatTek Corp.사(Ashland, MA)로부터 제공된 인공 피부 모델 멜라노덤™(Melanoderm™)을 사용하여 테스트 화합물의 피부 화이트닝 효과를 연구하였다. 간단하게는, 피부색이 어두운 기증자로부터 유래된 보통의 인간 표피 각질세포(epidermal keratinocytes) 및 보통의 인간 멜라노사이트를 콜라겐이 코팅된 막의 표면상에서 공배양하여, 다중층(multi-layered)의 고분화된(highly differentiated) 피부 조직(MEL-300-B)을 형성하였다. 이 조직을 37°C CO₂ 배양기에서 유지하였다. 인공 피부의 선단면(apical surface)(9mm의 지름)을 공기에 노출시킨 반면, 바닥면(9mm의 지름)은 피부 분화 인자(skin differentiating factor; EPI-100-NNM-113)를 포함하는 5mL의 보존 배지(maintenance medium)와 접촉한 대로 두었다. 테스트 화합물을 하기와 같이 80% 프로필렌 글리콜에 제형화시켰다: 10mg의 각각의 테스트 화합물을 1mL의 프로필렌 글리콜(1,2-프로판디올; Sigma-Aldrich)에 밤새 용해시켰다. 상기 화합물을 그 후 0.2μm 필터에 통과시켜 멸균하고, 최종 농도가 0.2%, 0.4% 및 0.8%가 되도록 멸균된 물/프로필렌 글리콜로 희석하였다. 상기 농도의 프로필렌 글리콜을 모든 샘플에 대하여 80%로 유지하였다. 또한, 하기의 대조군을 사용하였다: 멸균수, 80% 프로필렌 글리콜, 및 물에 용해시킨 1% 코직산.

[0290]

테스트 화합물을 하기와 같이 조직의 선단면에 적용하였다: 10 μL의 각각의 테스트 화합물, 10 μL의 80% 프로필렌 글리콜(비히클 대조군), 25 μL의 멸균수(음성 대조군) 및 25 μL의 1% 코직산(양성 대조군). 샘플을 15일 동안 이틀에 한번씩 재적용하였다. 모든 샘플들은 두 번씩 테스트하였다. 실험의 마지막에, 25X 위상차 대물렌즈(phase contrast objective) 및 칼라 CCD 카메라(color CCD camera)가 장착된 현미경 사진기(photo-microscope)를 사용하여 현미경 이미지를 얻었다.

[0292]

결과

[0293]

인공 피부 모델에서 테스트 화합물의 잠재적 피부-화이트닝 특성을 더 조사하였다. 보통의, 인간-유래의 표피 각질세포 및 멜라노사이트로 이루어진 모델을 공배양하여 다중층의 고분화된 인간 표피를 형성하였다. 이 연구에 있어서, 상기 멜라노사이트는 고착색된(high pigmented) 제공자로부터 얻었다. 상기 인공 피부는 피부 미백제의 국부 적용을 모방할 수 있게 만들어 주는 공기-액체 경계면(air-liquid interface)에서 성장시켰다(도

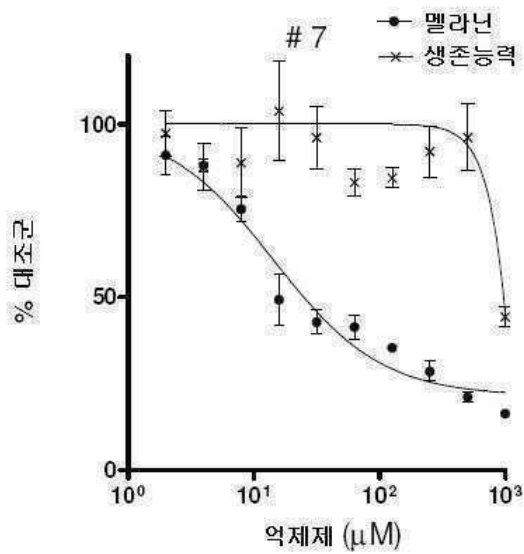
10A).

[0294]

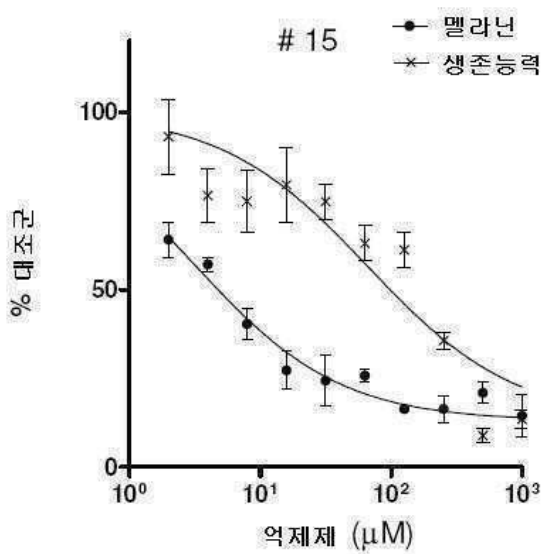
서로 다른 농도의 테스트 화합물, 80% 프로필렌 글리콜(비히클 대조군), 물(음성 대조군) 또는 1% 코직산(양성 대조군)을 15일간 인공 피부의 표면에 국부적으로 반복 적용하였다. 테스트 화합물 중 2개, 즉 화합물 #16 및 화합물 #25가 세포 형태의 어떠한 관찰 가능한 변형도 야기하지 않고 피부 멜라노사이트 상에서 현저한 화이트닝 효과를 나타내었다. 그것들 중에서, 화합물 #16은 실험을 시작한 후 초기 3일에 관찰된 멜라노사이트의 현저한 화이트닝과 함께 가장 큰 효과를 나타내었다(데이터 미도시). 실험 15일 후 얻어진 피부 견본의 사진은 어두운 수지상 세포로서 사진상에 나타나는 멜라노사이트에서 현저한 용량-의존적 화이트닝 효과를 나타낸다.

도면

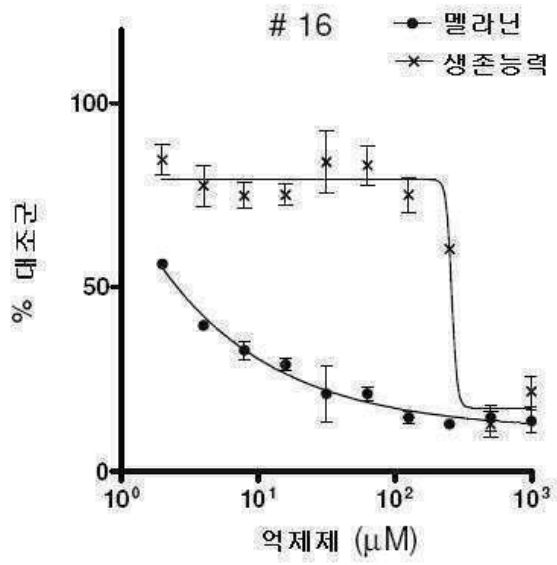
도면1



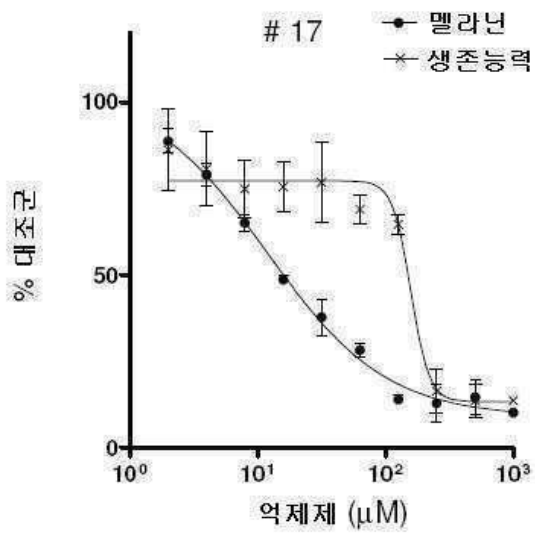
도면2



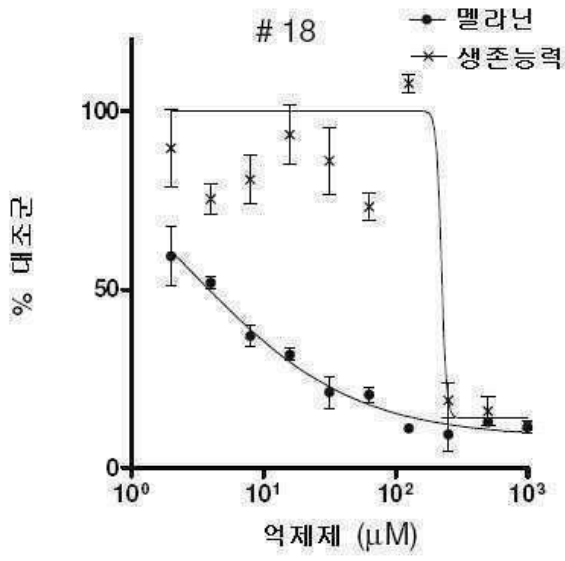
도면3



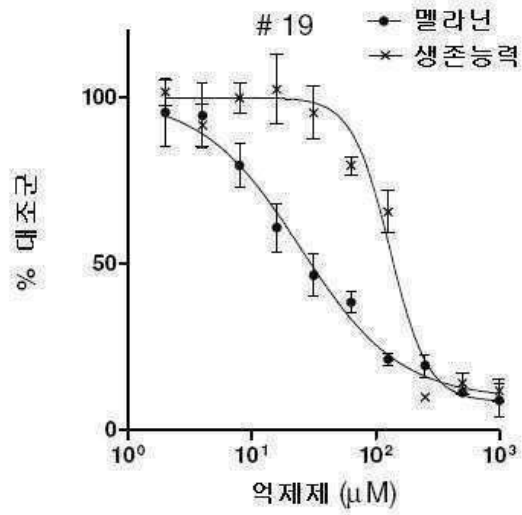
도면4



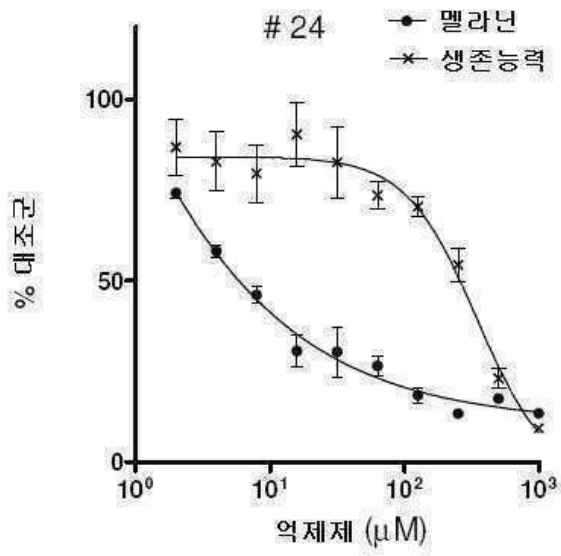
도면5



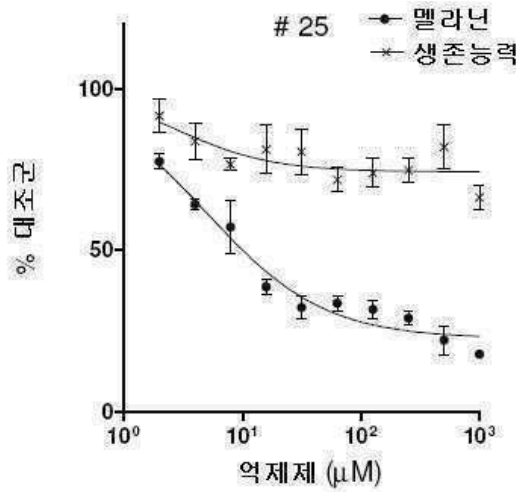
도면6



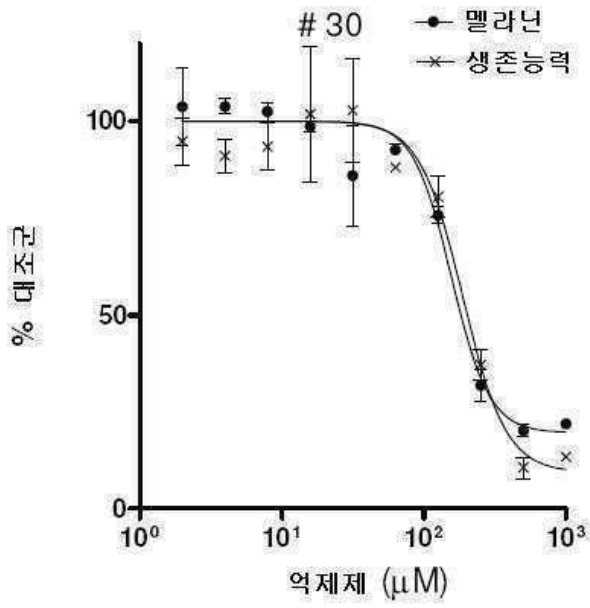
도면7



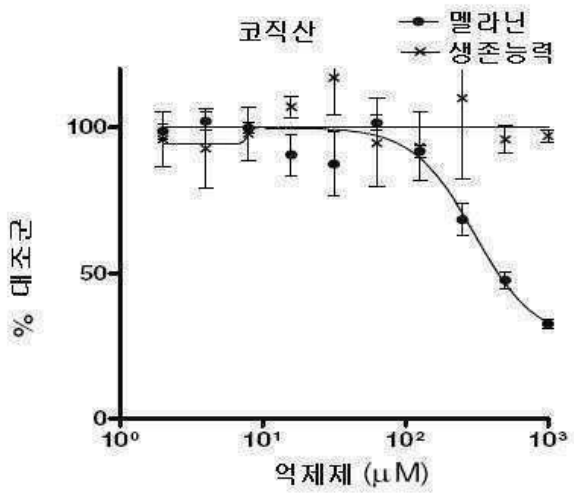
도면8



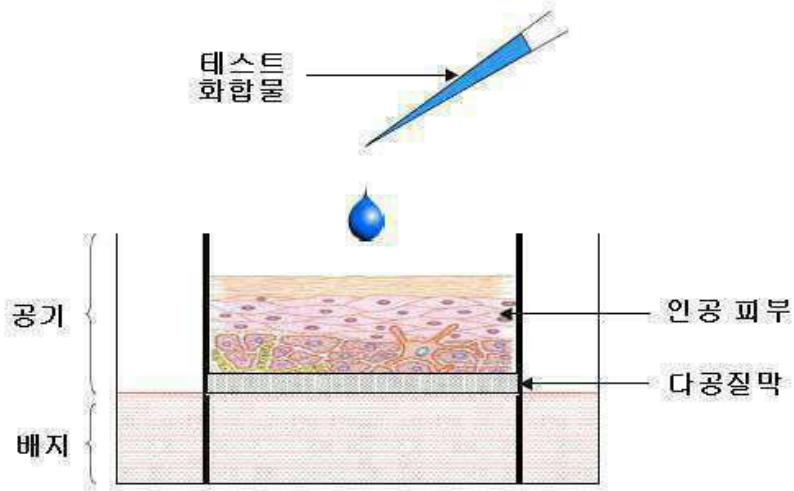
도면9



도면10



도면11a



도면11b

