(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2011 년 7 월 28 일 (28.07.2011)

PCT

(10) 국제공개번호
WO 2011/090357 A2

(51) 국제특허분류:
C07C 233/64 (2006.01) *A61K 8/42* (2006.01)
C07C 233/81 (2006.01) *A61Q 19/02* (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2011/000510

(22) 국제출원일: 2011 년 1 월 25 일 (25.01.2011)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2010-006479 2010 년 1 월 25 일 (25.01.2010) KR

(71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): **가톨릭대학교 산학협력단 (CATHOLIC UNIVERSITY INDUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION)** [KR/KR]; 서울시 서초구 반포동 505 가톨릭의과대학, 137-701 Seoul (KR).

(72) 발명자; 겸
(75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): **신동헌 (SHIN, Dong-Heon)** [KR/KR]; 서울시 용산구 서빙고동 신동아 아파트 3-1305, 140-751 Seoul (KR).

(74) 대리인: **이희숙 (LEE, Hee Sook)** 등; 서울시 강남구 역삼동 837-11 번지 유니온센타 1404 호 시공국제특허법률사무소, 135-754 Seoul (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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, 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, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

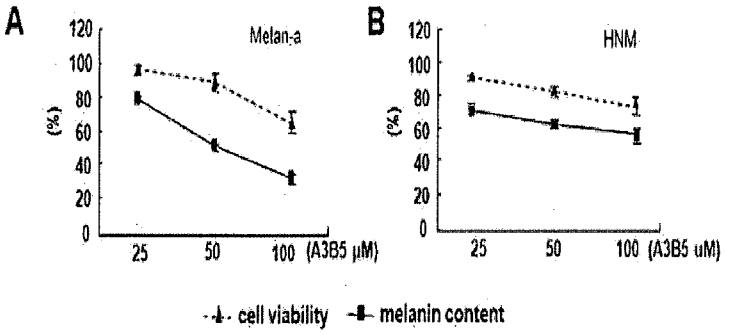
공개:

— 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

(54) Title: NOVEL BIARYLAMIDE DERIVATIVE AND COMPOSITIONS CONTAINING THE DERIVATIVE AS AN ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭 : 신규한 바이아릴아미드 유도체 및 이를 유효성분으로 함유하는 조성물

【도 1】



(57) Abstract: The present invention relates to a novel biarylamide derivate, and pharmaceutical and cosmetic compositions containing the derivative as an active ingredient. More specifically, the present invention relates to a novel biarylamide derivative, and therapeutic pharmaceutical and cosmetic compositions containing the derivative as an active ingredient for the prevention or treatment of pigment disorders caused by abnormal melanin pigmentation, or of diseases caused by an abnormal proliferation of melanin cells. As the biarylamide derivative of the present invention suppresses the melanin generation as well as the abnormal proliferation of melanin cells, any cosmetic composition containing the biarylamide derivative as an active ingredient exhibits an excellent whitening effect; and any pharmaceutical composition containing the biarylamide derivative as an active ingredient is effective for the prevention and treatment of pigment disorders of the skin (e.g., liver spots, freckles, lentigines), and malignant melanoma.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]

WO 2011/090357 A2

본 발명은 신규한 바이아릴아미드 유도체 및 이를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물 및 화장료 조성물에 관한 것으로 보다 상세하게는 신규한 바이아릴아미드 유도체 및 이를 유효성분으로 함유하는 멜라닌 이상 과다에 의한 색소질환 또는 멜라닌 세포 이상 증식에 의한 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 화장료 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 바이아릴아미드 유도체는 멜라닌 생성을 억제하며 멜라닌 세포의 이상 증식을 억제하므로 상기 바이아릴아미드 유도체를 유효 성분으로 함유하는 화장료 조성물은 미백 효과가 뛰어나며 상기 바이아릴아미드 유도체를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물은 기미, 주근깨, 흑자 등의 피부의 색소질환과 악성흑색종 예방 및 치료에 효과적이다.

【명세서】

【발명의 명칭】

신규한 바이아릴아미드 유도체 및 이를 유효성분으로 함유하는 조성물

【기술분야】

<1> 본 발명은 신규한 바이아릴아미드 유도체 및 이를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물 및 화장료 조성물에 관한 것으로 보다 상세하게는 신규한 바이아릴아미드 유도체, 이를 유효성분으로 함유하는 멜라닌 이상 과다에 의한 색소 질환 또는 멜라닌 세포 이상 증식에 의한 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 화장료 조성물, 이들의 용도에 관한 것이다.

【배경기술】

<2> 피부흑화(melanogenesis)는 피부 세포내에 있는 멜라닌 색소 생성 세포(melanocyte, 이하 '멜라닌 세포'라 함)에서 자외선 등의 어떤 요인에 의해 멜라닌 생성활동이 증가되고 이로 말미암아 만들어진 다량의 멜라닌이 각질형성세포(keratinocyte)로 전달되어 피부표피층(epidermis)에 축적된 결과이다. 기미, 주근깨, 피부염증 후의 피부흑화, 노인성 색소반점 등으로 인한 피부의 과색소 침착은 당사자에게 미용상의 불편뿐만 아니라 정신적으로 부정적인 영향을 미쳐 사회활동에 불편을 초래하기도 한다. 이러한 요구도 증가로 인하여 이를 예방 및 개선하기 위한 미백용 화장품, 의약품 등이 시판되고 있다.

<3> 화장품으로서의 미백제의 연구는 최근 10년 미만의 역사를 가지고 있으며, 정서적으로 흰 피부를 선호하는 동양권의 생활수준 향상과 더불어 피부흑화가 자외선에 의한 피부노화로 인식되면서 그 필요성이 점차 증대되고 있다. 90년도 이후, 아르부틴, 코지산, 비타민 C 및 그 유도체 등이 개발되어 이를 함유한 미백화장품이 시판되고 있으나 실질적인 임상효과는 만족스럽지 못한 실정이며, 과도한 색소침착을 개선하기 위한 의약품으로써 히드로퀴논(hydroquinone), 설퓨레(sulfure), 아젤란산(azelaic acid), 레틴산(retinoic acid) 등이 사용되고 있으나 큰 자극성과 독성을 갖고 있다.

<4> 초기의 미백제 개발은 멜라닌 색소생성 과정의 첫 단계인 타이로시나제에 의한 타이로신의 산화 억제기능에 초점이 맞추어져 시험관내 실험(in vitro)에서 타이로시나제 활성 억제제를 선별하는 것이 중요한 미백제 개발수단이었다.

<5> 특히 사용되는 타이로시나제는 버섯에서 유래된 것으로 사람의 것과는 유사성에 있어서 많은 차이가 있고 여기서 선별된 미백제를 실제 인체에 적용할 경우 피부투과, 세포독성의 문제나 제형 안정성 등에 문제가 있어 실질적인 임상효과로

는 부족한 면이 있으나 이 과정에서 찾아낸 아르부틴, 코지산, 비타민 C 등이 현재까지도 폭넓게 사용되고 있다.

<6> 따라서 상기와 같은 부작용이나 독성 없이 효과적으로 멜라닌 발현을 감소시킬 수 있는 물질의 개발이 시급한 실정이다.

<7> 흑색종은 신경능으로부터 분파된 세포인 멜라닌세포의 악성 종양이다.

<8> 흑색종은 주로 통상적인 피부 영역에서 발견되나, 다른 점막 표면에서도 또한 발생할 수 있다. 피부 모반은 보다 짙게 보이거나 가변적인 변색을 갖는 경우, 또는 가렵거나 크기가 증가하거나 부수체들이 발생하는 경우 악성 변화를 겪고 있음을 의심할 수 있다. 흑색종은 다른 유형의 암보다 훨씬 더 전이가 잘 되고 국소 또는 원위 림프절, 또는 신체의 임의의 주요 기관계로 확산될 수 있다는 점에서 특이하다. 피부 이외에 가장 흔한 전이 부위는 폐, 간, 뇌 및 림프절이다. 흑색종은 남성에서 보다 빈번히 발생하고 모든 연령의 성인에서 발견된다. 미국 암 협회(ACS)에 따르면 2005년 동안 미국에서 59,580 건의 흑색종이 발생되었으며 7,770명이 흑색종에 의하여 사망하였다.

<9> 다카바진과 함께 인터페론 및 인터류킨을 사용하여 수행된 시험은 진행된 흑색종에서 다카바진 단독요법에 대해 임상적 이점을 보이지 못했다. 림포카인-활성화된 림프구와 병용된 면역요법제는 반응율을 개선시키거나 영속적인 완화에 영향을 미치지 못하는 것으로 밝혀졌다. DTIC(Dimethyl Triazeno Imidazole Carboxamide)는 현재 전이성 흑색종에 사용이 승인된 유일한 화학요법제이다. 전이성 흑색종의 치료에서 다카바진의 효능은 질병 부위에 매우 의존적이며, 최근의 공보 및 초록에 따르면(Journal of Clinical Oncology and ASCO annual meeting proceedings, 2004), DTIC에 대한 실제 전체 반응율이 5.5 내지 6.8%이고, 이 반응은 일시적이다(즉 3 내지 6 개월). 이들 반응이 상기 환자의 전체 생존에 어떠한 영향을 미친다는 증거는 없다.

<10> 따라서 멜라닌 세포의 이상증식을 억제하여 악성 흑색종을 예방 또는 치료할 수 있는 새로운 물질의 개발이 시급한 실정이다.

【발명의 상세한 설명】

【기술적 과제】

<11> 본 발명은 부작용이나 독성 없이 멜라닌 발현을 감소시킬 수 있는 바이아릴 아미드 유도체를 제공하기 위한 것이다.

<12> 본 발명은 부작용이나 독성 없이 멜라닌 발현을 감소시킬 수 있는 바이아릴 아미드 유도체를 유효성분으로 함유하는 조성물을 제공하기 위한 것이다.

<13> 본 발명은 멜라닌 세포의 이상 과다 혹은 증식을 억제하여 색소 질환을 예방 또는 치료할 수 있는 바이아릴아미드 유도체를 제공하기 위한 것이다.

<14> 본 발명은 멜라닌 세포의 이상 과다 혹은 증식을 억제하여 색소 질환을 예방 또는 치료할 수 있는 바이아릴아미드 유도체를 유효성분으로 함유하는 조성물을 제공하기 위한 것이다.

<15> 본 발명자들은 새로운 멜라닌 이상 과다에 의한 색소 질환 또는 멜라닌 세포 이상 증식에 의한 질환의 예방 또는 치료용 물질에 대하여 연구하던 중 바이아릴아미드 유도체가 멜라닌 생성율을 감소시키고, 멜라노마 세포의 증식을 억제하는 기능이 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

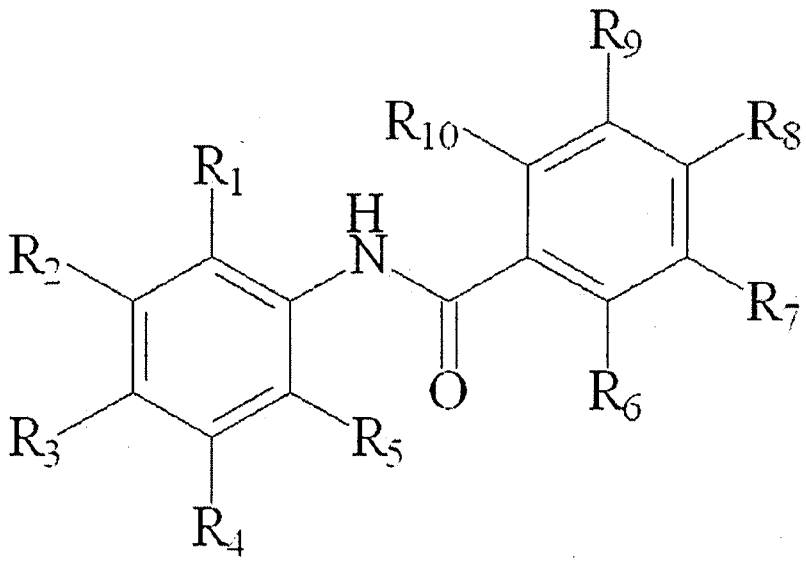
<16>

【기술적 해결방법】

<17> 상기와 같은 과제의 해결을 위하여, 본 발명은 하기 일반식 1의 바이아릴 아미드 유도체를 제공한다.

<18>

<19> <일반식 1>



<20>

<21> 상기 일반식 1에서,

<22> R1 내지 R5는 각각 독립적으로 수소, C1-4의 알킬, 에스테르기(-COOR) 또는 케톤기(-COR)이고, R6 내지 R10은 각각 독립적으로 수소, C1-4의 알킬, C1-4의 알콕시 또는 시아노기(-CN)이다.

<23> 바람직한 실시예 중 하나로, 상기 R1 내지 R5 중에서 적어도 하나는 C1-4의 알킬, 에스테르기(-COOR) 및 케톤기(-COR)로 이루어진 그룹에서 선택되고, 나머지

는 수소이며, 여기서 R은 C1-4의 알킬기; 및 R6 내지 R10은 각각 독립적으로 수소, C1-4의 알킬, C1-4의 알콕시 또는 시아노기(-CN)로 구성될 수 있다.

<24> 다른 실시예로, 상기 R2 또는 R4는 메틸기이며 상기 R1, R3 및 R5는 수소로 구성될 수 있다.

<25> 다른 실시예로, 상기 R1 내지 R5는 수소이며, 상기 수소인 R1 내지 R5로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나는 메틸 아세테이트기(-CO_2Me)로 치환될 수 있다.

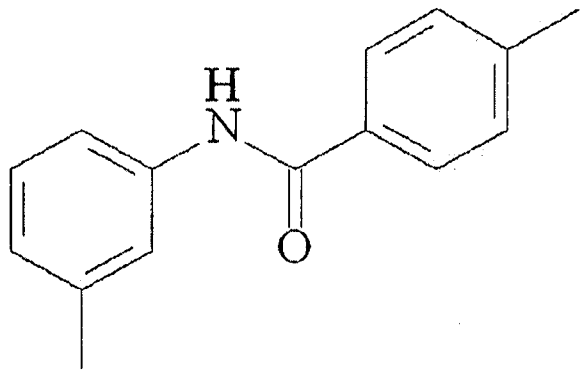
<26> 다른 실시예로, 상기 R8이 메톡시, 메틸기 및 시아노기로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나이며, R6, R7, R9 및 R10이 수소로 구성될 수 있다.

<27> 다른 실시예로, 상기 R7이 메톡시이며, R8 내지 R10, 및 R6이 수소로 구성될 수 있다.

<28> 다른 실시예로, 상기 R7이 메톡시이며, R2 및 R4는 메틸기이며, R8 내지 R10, R1, R3, R5, 및 R6이 수소로 구성될 수 있다.

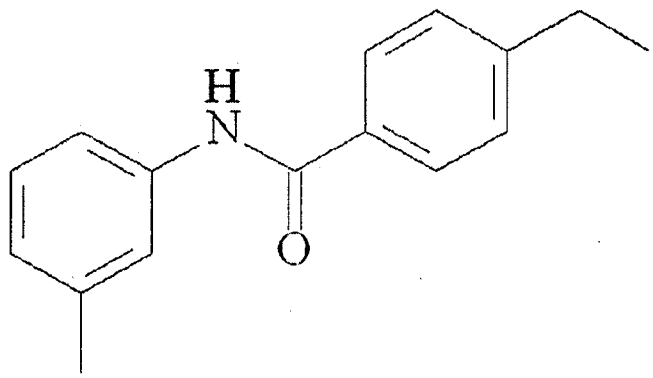
<29> 다른 실시예로, 상기 일반식 1의 바이아릴아미드 유도체가 하기 화학식 14 내지 화학식 27로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 구성될 수 있다.

<30> <화학식 14>



<31>

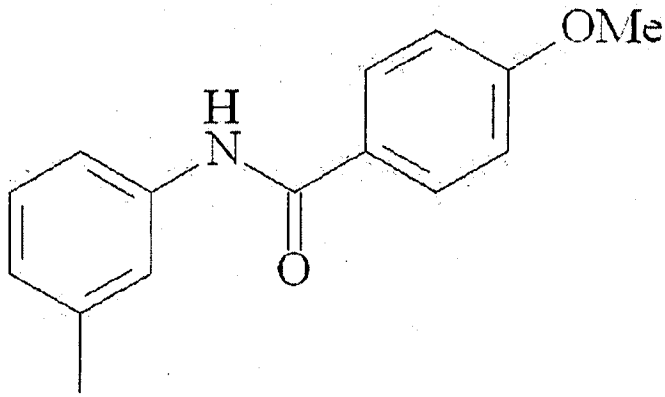
<32> <화학식 15>



<33>

<34>

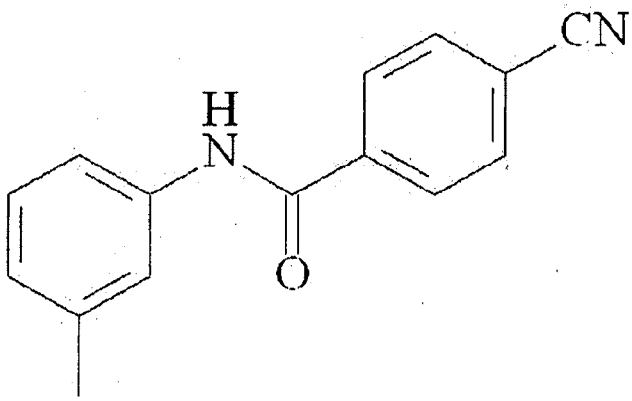
<35> <화학식 16>



<36>

<37>

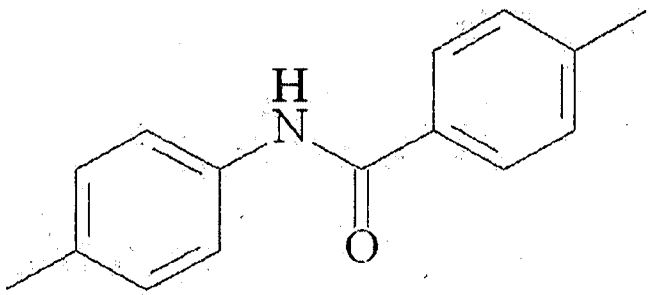
<38> <화학식 17>



<39>

<40>

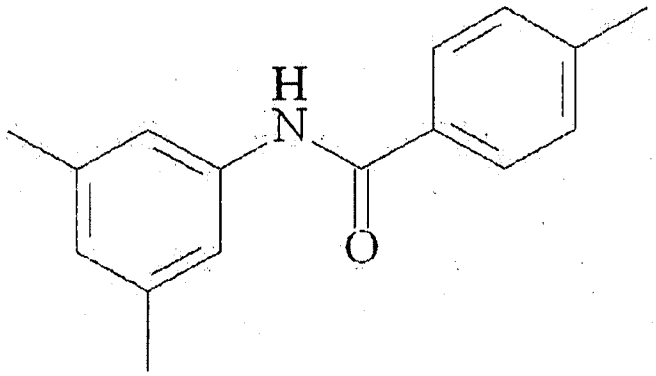
<41> <화학식 18>



<42>

<43>

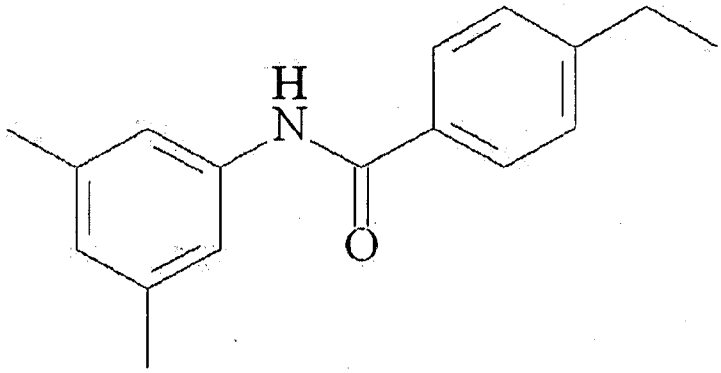
<44> <화학식 19>



<45>

<46>

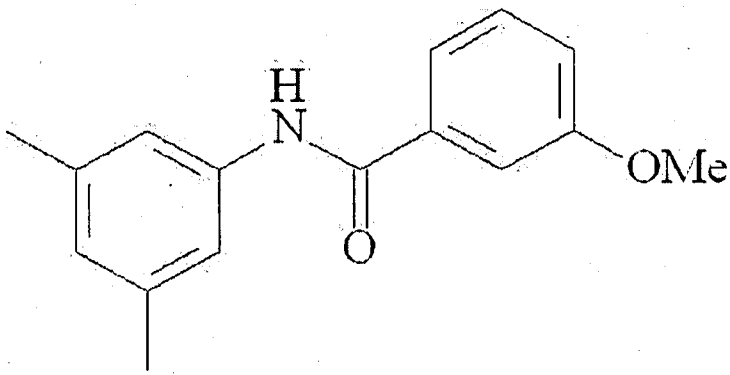
<47> <화학식 20>



<48>

<49>

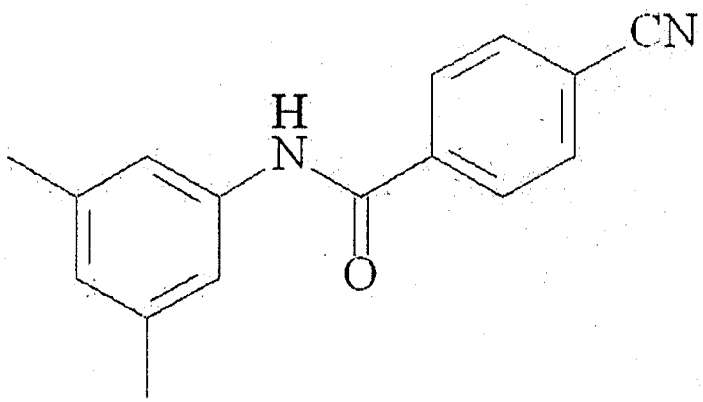
<50> <화학식 21>



<51>

<52>

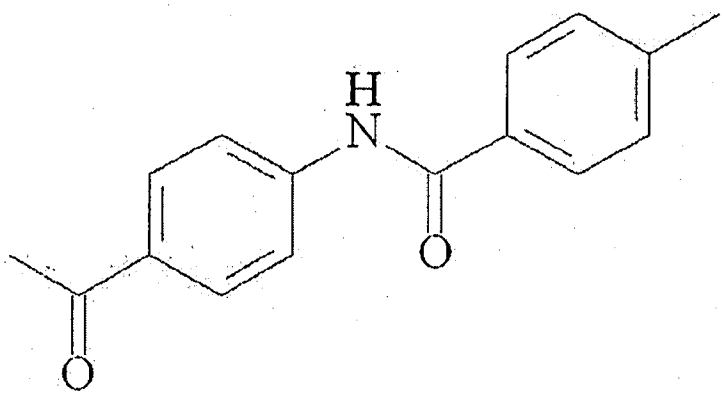
<53> <화학식 22>



<54>

<55>

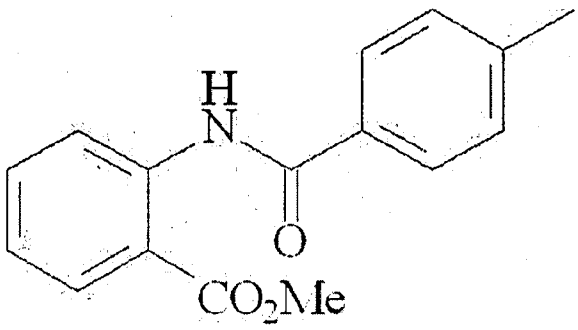
<56> <화학식 23>



<57>

<58>

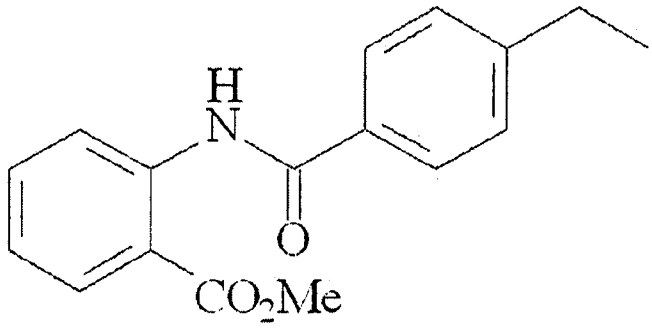
<59> <화학식 24>



<60>

<61>

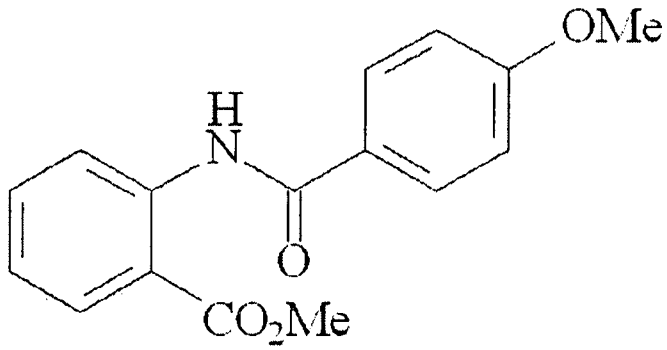
<62> <화학식 25>



<63>

<64>

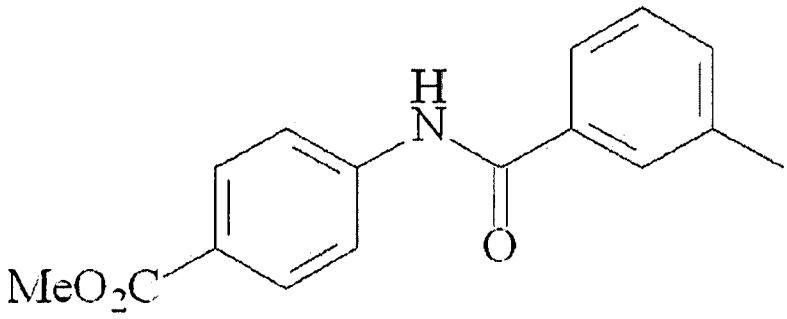
<65> <화학식 26>



<66>

<67>

<68> <화학식 27>



<69>

<70>

<71> 또한 본 발명은 상기 일반식 1의 화합물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물을 제공한다.

<72> 또한 본 발명은 상기 일반식 1 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 이상 과다에 의한 색소 질환 또는 멜라닌 세포 이상 증식에 의한 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

<73> 또한 본 발명은 멜라닌 이상 과다에 의한 색소 질환 또는 멜라닌 세포 이상

증식에 의한 질환의 예방 및 치료제의 제조를 위한 상기 일반식 1 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공한다.

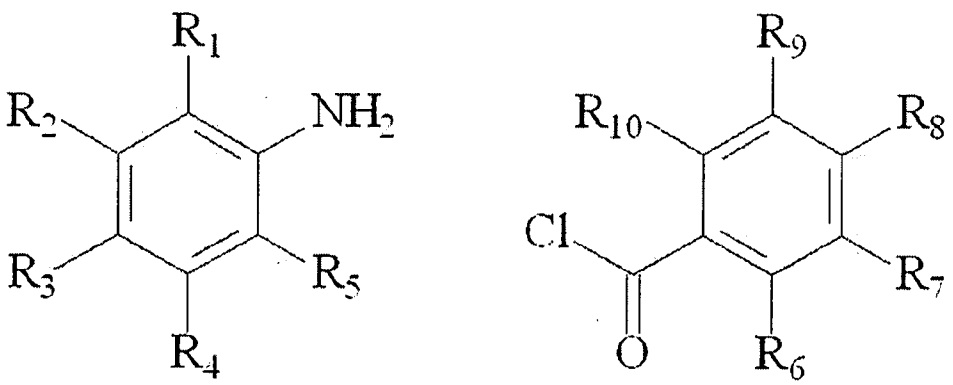
<74> 또한 본 발명은 화장료 조성물의 제조를 위한 상기 일반식 1 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공한다.

<75> 또한 본 발명은 상기 일반식 1 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 유효량을 필요한 개체에 투여하는 것을 특징으로 하는 멜라닌 이상 과다에 의한 색소 질환 또는 멜라닌 세포 이상 증식에 의한 질환의 치료 방법을 제공한다.

<76> 또한 본 발명은 하기 일반식 2의 화합물 및 하기 일반식 3의 화합물을 트리에틸렌아민, DMAP 및 메틸렌클로라이드 존재 하에 반응시켜 상기 일반식 1 화합물을 수득하는 단계를 포함하는 상기 일반식 1 화합물의 제조방법을 제공한다.

<77>

<78> <일반식 2> <일반식 3>



<79>

<80> 상기식에서, R1 내지 R5는 각각 독립적으로 수소, C1-4의 알킬, 에스테르기(-COOR) 또는 케톤기(-COR)이고; R6 내지 R10은 각각 독립적으로 수소, C1-4의 알킬, C1-4의 알콕시 또는 시아노기(-CN)이다.

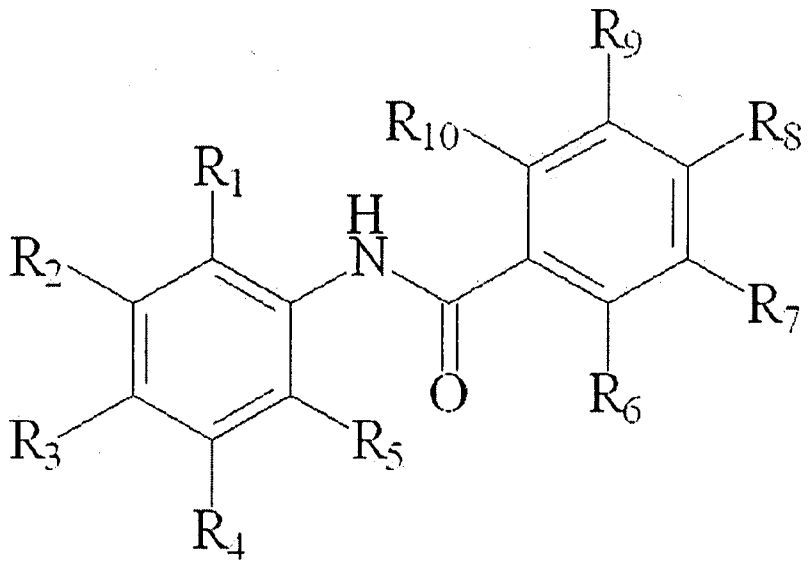
<81>

<82> 이하 본 발명의 내용을 보다 상세히 설명하기로 한다.

<83>

<84> 본 발명은 하기 일반식 1의 바이아릴 아미드 유도체에 관한 것이다.

<85> <일반식 1>



<86>

<87> 상기 식에서, R1 내지 R5는 각각 독립적으로 수소, C1-4의 알킬, 에스테르기(-COOR) 또는 케톤기(-COR)이고, R6 내지 R10은 각각 독립적으로 수소, C1-4의 알킬, C1-4의 알콕시 또는 시아노기(-CN)이다.

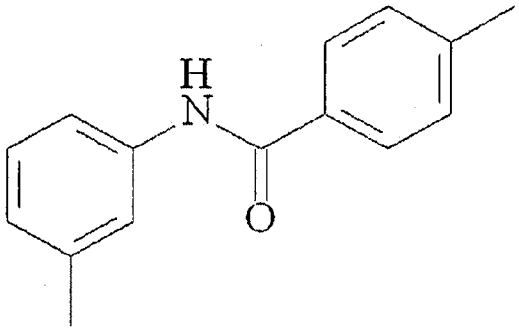
<88> 상기 일반식 1 화합물은 바람직하게는 R1 내지 R5 중에서 적어도 하나는 C1-4의 알킬, 에스테르기(-COOR) 및 케톤기(-COR)로 이루어진 그룹에서 선택되고, 나머지는 수소이며, 여기서 R은 C1-4의 알킬기; 및 R6 내지 R10은 각각 독립적으로 수소, C1-4의 알킬, C1-4의 알콕시 또는 시아노기(-CN)이다. 더 바람직하게는 상기 R2 또는 R4는 메틸기이며 상기 R1, R3 및 R5는 수소인 바이아릴아미드 유도체; 상기 R1 내지 R5는 수소이며, 상기 수소인 R1 내지 R5로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나는 메틸 아세테이트기(-CO_2Me)로 치환된 바이아릴아미드 유도체; 상기 R8이 메톡시, 메틸기 및 시아노기로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나이며, R6, R7, R9 및 R10이 수소인 바이아릴아미드 유도체; 또는 R7이 메톡시이며, R8 내지 R10, 및 R6이 수소인 바이아릴아미드 유도체일 수 있다.

<89> 더욱 더 바람직하게는 상기 일반식 1 화합물은 하기 화학식 14 내지 27로 표시되는 화합물 군 중에서 선택된 어느 하나인 바이아릴아미드 유도체일 수 있다.

<90>

<91> <화학식 14> <화학식 15>

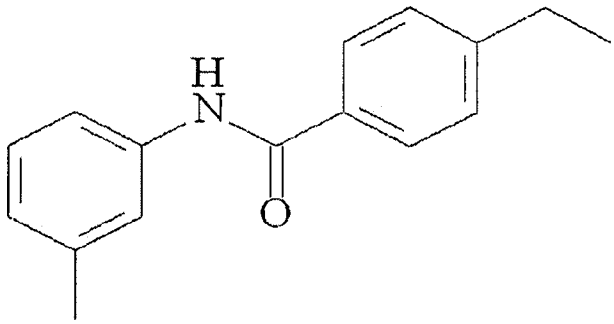
<92>



<93>

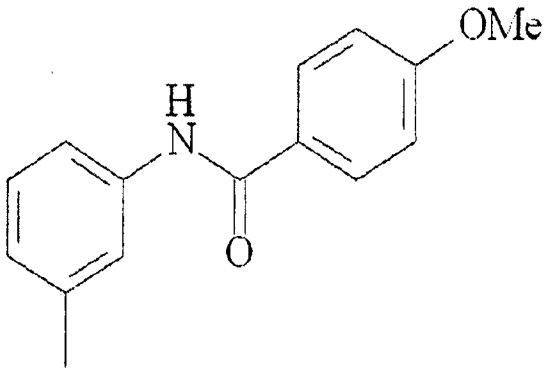
<94>

<95> <화학식 16>



<화학식 17>

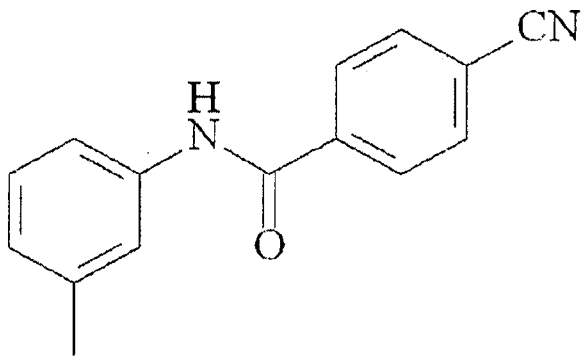
<96>



<97>

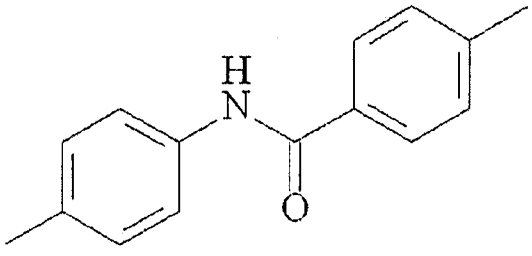
<98>

<99> <화학식 18>



<화학식 19>

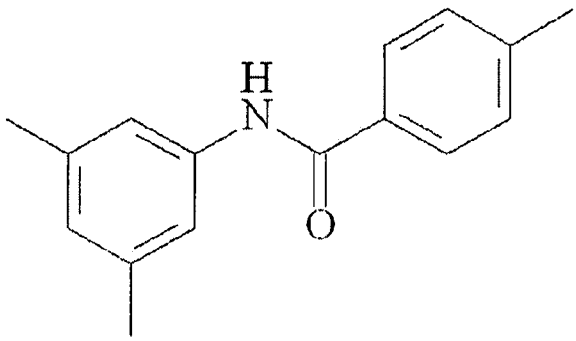
<100>



<101>

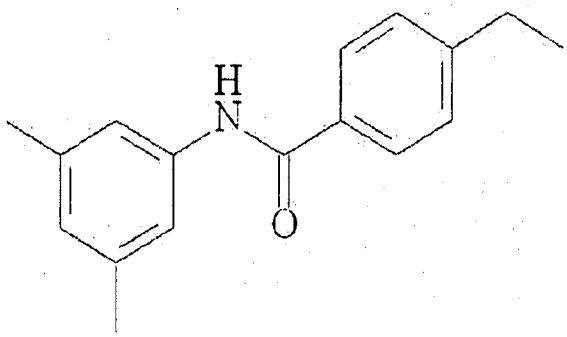
<102>

<103> <화학식 20>



<화학식 21>

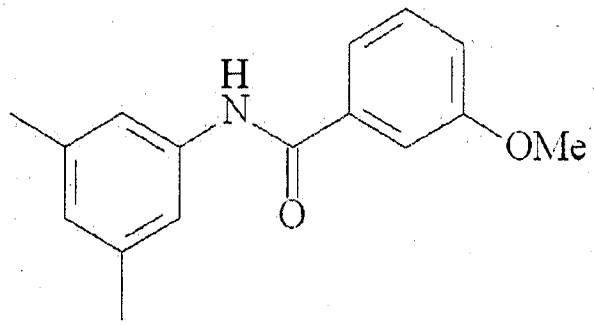
<104>



<105>

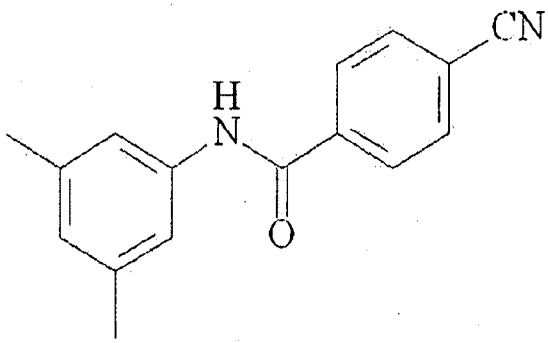
<106>

<107> <화학식 22>



<화학식 23>

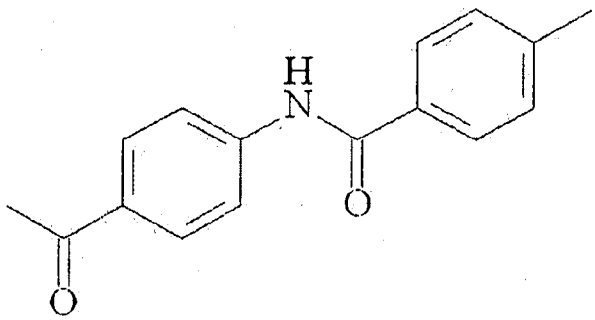
<108>



<109>

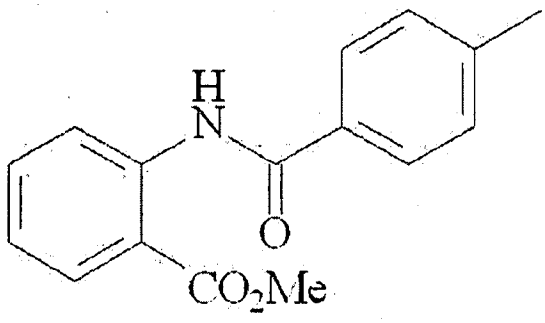
<110>

<111> <화학식 24>



<화학식 25>

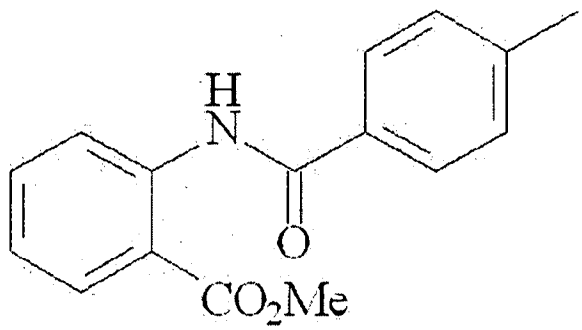
<112>



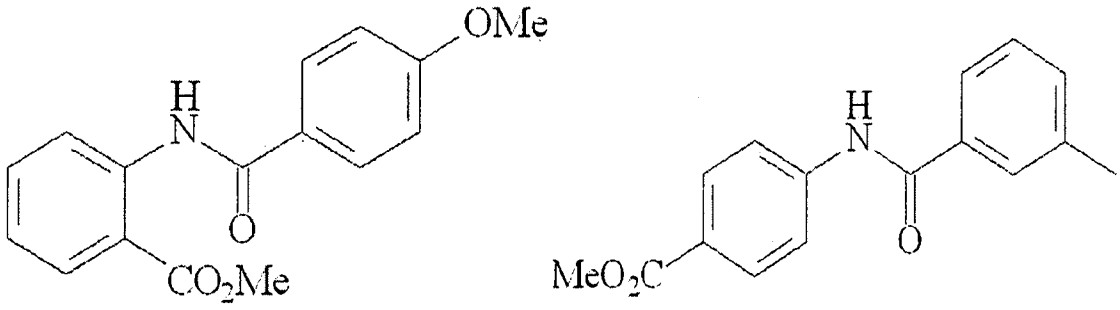
<113>

<114>

<115> <화학식 26>



<화학식 27>



<116>

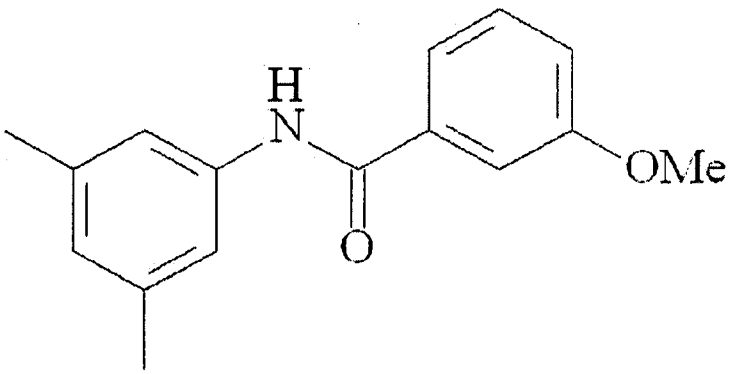
<117>

<118> 가장 바람직하게는 상기 일반식 1 화합물은 상기 화학식 21로 표시되는 R7이 메톡시이며, R2 및 R4는 메틸기이며, R8 내지 R10, R1, R3, R5, 및 R6이 수소인 바이아릴아미드 유도체일 수 있다.

<119>

<120> 본 발명의 일실시예에서는 하기 화학식 21로 표시되는 바이아릴아미드를 다음과 같은 방법으로 제조하였다.

<121> <화학식 21>

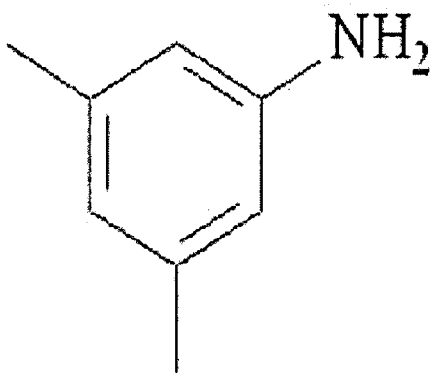


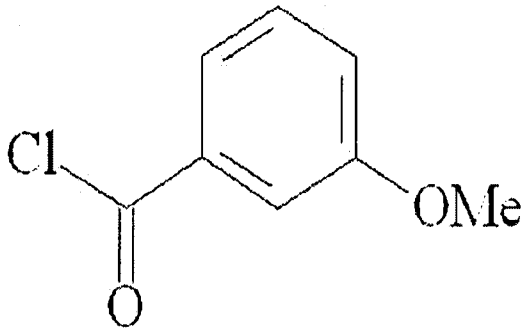
<122>

<123>

<124> 하기 화학식 3으로 표시되는 아릴 아민 0.2mmol을 메틸렌클로라이드(CH_2Cl) 1ml에 녹인 후, 화학식 11로 표시되는 방향족 산염화물 0.3mmol, 트리에틸렌아민(triethylamine) 0.4mmol, DMAP(4-Dimethylaminopyridine) 0.02mmol을 첨가하였다.

<125> <화학식 3> <화학식 11>





<126>

<127>

<128>

<129> 혼합물은 5시간 동안 섞은 후 아세트산에 0.5M 농도로 녹아 있는 Girard's reagent T((Carboxymethyl)trimethylammonium chloride hydrazide) 0.5ml을 첨가하였다. 실온에서 밤새 교반 한 후 에틸아세테이트 3ml로 희석하였다. 반응물은 이후 1N HCl(2ml, 2회), brine(2ml), 수 포화 탄산수소나트륨(saturated aqueous NaHCO3)(2ml, 2회), brine(2ml)로 세척하여 정제하였다. 유기층을 건조제($NaSO_4$)로 수분을 제거하고 농축하여 화학식 21로 표시되는 본 발명의 화합물을 수득하였다(실시예 1 참조).

<130>

<131> 본 발명의 바이아릴아미드 유도체는 멜라닌 생성을 억제하고, 멜라닌 세포의 이상 증식을 억제하는 특징이 있다.

<132> 멜라닌 세포(melanocyte)는 멜라닌을 합성하는 세포로 피부 표피층 가장 아래 부분에 존재한다. 멜라닌은 동물계에서 발견되는 가장 흔한 흡광 색소로 일정량 이상의 자외선을 차단하는 기능이 있어 자외선으로부터 피부를 보호한다. 그러나 자외선 등 다양한 요인에 의하여 과발현되는 경우 환자에게 미용상의 불편뿐만 아니라 정신적으로 부정적인 영향을 미치게 된다.

<133>

<134> 본 발명의 일실시예에서는 본 발명의 바이아릴아미드 유도체 중 대표적인 14종의 화합물을 제조하고 이의 멜라닌 생성 억제 능력을 측정하였다. melan-a 세포를 배양하여 본 발명의 바이아릴아미드를 처리하고 3일 후 배양된 세포를 용해(lysis)하여 생성된 멜라닌의 양을 대조군과 비교하였다.

<135> 그 결과 본 발명의 바이아릴아미드 유도체는 멜라닌 생성을 효과적으로 억제하는 것을 확인하였다(실시예 2 및 3 참조).

<136>

<137> 본 발명의 다른 일실시예에서는 멜라닌 생성 과정 및 멜라닌 형성세포 성장에 관여하는 TRP-2(Tyrosinase related protein-2, Dopachrom tautomerase) 발현에 미치는 본 발명 바이아릴아미드 유도체의 영향을 알아보기 위하여 본 발명의 바이아릴아미드 유도체를 처리한 melan-a 세포를 배양하여 TRP-2 발현량을 웨스턴 블롯으로 확인하였다.

<138> 그 결과 본 발명의 바이아릴아미드 유도체를 처리한 군은 TRP-2 단백질의 발현량이 현저히 감소하는 것을 확인하였다(실시예 4 참조).

<139>

<140> 본 발명의 다른 일실시예에서는 인간 멜라노마 세포주(A375)에 본 발명의 바이아릴아미드 유도체를 처리하여 멜라노마 세포의 증식 억제 효과를 확인하였다.

<141> 그 결과 본 발명의 바이아릴아미드 유도체는 A375 멜라노마 세포의 성장을 농도의존적으로 억제하는 것을 확인하였다(실시예 5 참조).

<142>

<143> 본 발명의 다른 일실시예에서는 생쥐 동물 모델을 이용하여 멜라노마 세포 증식 억제 효과를 확인하였다. 털이 없는 생쥐의 등에 생쥐 멜라노마 세포주인 B16F10 세포를 주입하고 본 발명의 바이아릴아미드 유도체를 5일간 처리한 후 B16F10 세포 부분을 절단하여 그 크기와 무게를 인산완충액을 대신 투여한 대조군과 비교하였다.

<144> 그 결과 본 발명의 바이아릴아미드 유도체를 처리한 군의 경우 대조군에 비하여 그 크기 및 무게가 작은 것을 확인하였다(실시예 6 참조).

<145>

<146> 이로써 본 발명의 바이아릴아미드 유도체는 멜라닌 생성을 억제하고, 멜라닌 세포의 이상 증식을 억제하는 효능이 우수함을 확인하였다.

<147>

<148> 또한 본 발명은 본 발명의 바이아릴아미드 유도체를 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물을 제공한다.

<149> 본 발명의 화장료 조성물은 멜라닌 세포의 멜라닌 발현을 감소시켜 미백효과가 탁월하다.

<150>

<151> 상기 본 발명의 화장료 조성물은 본 발명의 바이아릴아미드 유도체를 유효성분으로 함유하며 피부학적으로 허용 가능한 부형제와 함께 기초 화장품 조성물(화장수, 크림, 에센스, 클렌징 폼 및 클렌징 워터와 같은 세안제, 팩, 보디오일), 색

조 화장품 조성물(화운데이션, 립스틱, 마스카라, 메이크업 베이스), 두발 제품 조성물(샴푸, 린스, 헤어컨디셔너, 헤어젤) 및 비누 등의 형태로 제조될 수 있다.

<152> 상기 부형제로는 이에 한정되지는 않으나 예를 들어, 피부연화제, 피부 침투 증강제, 착색제, 방향제, 유화제, 농화제 및 용매를 포함할 수 있다. 또한, 향료, 색소, 살균제, 산화방지제, 방부제 및 보습제 등을 추가로 포함할 수 있으며, 물성 개선을 목적으로 점증제, 무기염류, 합성 고분자 물질 등을 포함할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 화장료 조성물로 세안제 및 비누를 제조하는 경우에는 통상의 세안제 및 비누 베이스에 본 발명의 바이아릴아미드 유도체를 첨가하여 용이하게 제조할 수 있다. 크림을 제조하는 경우에는 일반적인 수중유적형(O/W)의 크림베이스에 본 발명의 바이아릴아미드 유도체를 첨가하여 제조할 수 있다. 여기에 향료, 킬레이트제, 색소, 산화방지제, 방부제 등과 물성개선을 목적으로 한 단백질, 미네랄, 비타민 등 합성 또는 천연소재를 추가로 첨가할 수 있다.

<153> 본 발명의 화장료 조성물에 함유되는 본 발명의 바이아릴아미드 유도체의 함량은 이에 한정되지 않지만 전체 조성물 총중량에 대하여 0.001 내지 10 중량%인 것이 바람직하고, 0.01 내지 5 중량%인 것이 더욱 바람직하다. 상기 함량이 0.001 중량% 미만에서는 목적하는 본 발명의 효과를 기대할 수 없고, 10중량% 초과에서는 안전성 또는 제형상의 제조에 어려움이 있을 수 있다.

<154>

<155> 본 발명의 화장료 조성물을 첨가할 수 있는 제품으로는 이에 한정되는 것은 아니나 스킨로션, 스킨 소프너, 스킨토너, 수렴화장수, 유연화장수, 영양화장수, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 바디크림, 마사지크림, 영양크림, 모이스처 크림, 핸드크림, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 샴푸, 클렌징 폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션, 바디클렌저, 트리트먼트, 미용액, 유액, 프레스파우더, 루스파우더, 아이섀도 등의 제형을 포함한다.

<156>

<157> 또한 본 발명은 본 발명의 바이아릴아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 이상 과다에 의한 색소 질환 또는 멜라닌 세포 이상 증식에 의한 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

<158> 본 발명의 약학적 조성물은 멜라닌 발현량을 감소시키며, 멜라노마 세포의 증식을 효과적으로 억제하는 효능이 있다.

<159> 본 발명의 멜라닌 이상 과다에 의한 색소 질환은 멜라닌 색소가 정상범위를 벗어나 과다하게 발생됨으로 인하여 발생하는 질환을 말하며 바람직하게는 기미,

주근깨, 잡티, 오타모반, 밀크반점, 피부염증 후의 피부흑화, 흑자, 또는 노인성 색소반점일 수 있다.

<160> 본 발명의 멜라닌 세포 이상 증식에 의한 질환은 멜라닌 세포가 세포조절기능을 상실하여 조절되지 않는 증식을 반복하는 질환을 말하며 바람직하게는 악성흑색종일 수 있다.

<161>

<162> 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 바이아릴아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 단독으로 함유하거나 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 함유할 수 있다.

<163> 약학적으로 허용되는 담체로는 예컨대, 경구 투여용 담체 또는 비경구 투여용 담체를 추가로 포함할 수 있다. 경구 투여용 담체는 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등을 포함할 수 있다. 또한, 비경구 투여용 담체는 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코오스 및 글리콜 등을 포함할 수 있으며, 안정화제 및 보존제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 안정화제로는 아황산수소나트륨, 아황산나트륨 또는 아스코르브산과 같은 항산화제가 있다. 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 메틸- 또는 프로필-파라벤 및 클로로부탄올이 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현택제 등을 추가로 포함할 수 있다. 그 밖의 약학적으로 허용되는 담체로는 다음의 문헌에 기재되어 있는 것을 참고로 할 수 있다(Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995).

<164>

<165> 본 발명의 조성물은 인간을 비롯한 포유동물에 어떠한 방법으로도 투여할 수 있다. 예를 들면, 경구 또는 비경구적으로 투여할 수 있다. 비경구적인 투여방법으로는 이에 한정되지는 않으나, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장내 투여일 수 있다.

<166>

<167> 본 발명의 약학적 조성물은 상술한 바와 같은 투여 경로에 따라 경구 투여용 또는 비경구 투여용 제제로 제형화 할 수 있다.

<168>

<169> 경구 투여용 제제의 경우에 본 발명의 조성물은 분말, 과립, 정제, 환제, 당의정제, 캡슐제, 액제, 겔제, 시럽제, 슬러리제, 현탁액 등으로 당업계에 공지된

방법을 이용하여 제형화될 수 있다. 예를 들어, 경구용 제제는 활성성분을 고체 부형제와 배합한 다음 이를 분쇄하고 적합한 보조제를 첨가한 후 과립 혼합물로 가공함으로써 정제 또는 당의정제를 수득할 수 있다. 적합한 부형제의 예로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨 및 말티톨 등을 포함하는 당류와 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분 및 감자 전분 등을 포함하는 전분류, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오즈 및 하이드록시프로필메틸-셀룰로즈 등을 포함하는 셀룰로즈류, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈 등과 같은 충전제가 포함될 수 있다. 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨 알기네이트 등을 붕해제로 첨가할 수 있다. 나아가, 본 발명의 약학적 조성물은 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

<170>

<171> 비경구 투여용 제제의 경우에는 주사제, 크림제, 로션제, 외용연고제, 오일제, 보습제, 겔제, 에어로졸 및 비강 흡입제의 형태로 당업계에 공지된 방법으로 제형화할 수 있다. 이들 제형은 모든 제약 화학에 일반적으로 공지된 처방서인 문헌(Remington's Pharmaceutical Science, 15th Edition, 1975. Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania 18042, Chapter 87: Blaug, Seymour)에 기재되어 있다.

<172> 본 발명의 바이아릴아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법(fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있다. 바람직하게 본 발명의 바이아릴아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 바람직한 전체 용량은 1일당 환자 체중 1kg 당 약 0.01㎍ 내지 1,000mg, 가장 바람직하게는 0.1㎍ 내지 100mg일 수 있다. 그러나 상기 바이아릴아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용량은 약학적 조성물의 투여 경로 및 치료 횟수뿐만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환의 중증도, 식이 및 배설율 등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정되는 것이므로, 이러한 점을 고려할 때 당 분야의 통상적인 지식을 가진 자라면 상기 바이아릴아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염를 멜라닌 이상 과다에 의한 색소 질환 또는 멜라닌 세포 이상 증식에 의한 질환의 예방 또는 치료제로서의 특정한 용도에 따른 적절한 유효 투여량을 결정할 수

있을 것이다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지 아니한다.

<173> 본 발명에서 '유효한 양' 이라 함은 본 발명의 조성물 또는 제제가 투여 대상인 개체(subject) 내에서 멜라닌 이상 과다에 의한 색소 질환에 대하여 예방 또는 치료하는 효과를 나타내는 양을 말한다. 여기서, 상기 '개체'란 동물, 바람직하게는 포유동물, 특히 인간을 포함하는 동물일 수 있으며, 동물에서 유래한 세포, 조직, 기관 등일 수 있다. 상기 개체는 치료가 필요한 환자(patient)일 수 있다.

<174> 본 발명의 조성물은 상기 바이아릴아미드 유도체 또는 이의 약학적으로 허요가능한 염 0.001 내지 99.999 중량% 및 잔량의 담체를 포함하는 조성을 가질 수 있다.

【유리한 효과】

<175> 따라서 본 발명은 멜라닌 생성을 억제하며 멜라닌 세포 이상 증식을 억제하는 바이아릴아미드 유도체 및 이를 유효성분으로 함유하는 조성물을 제공한다. 본 발명의 바이아릴아미드 유도체는 멜라닌 생성을 억제하며 멜라닌 세포의 이상 증식을 억제하므로 상기 바이아릴아미드를 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물은 미백 효과가 뛰어나며 상기 바이아릴아미드를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물은 흑자, 기미, 주근깨 등의 피부의 색소질환과 악성흑색종 예방 및 치료에 효과적이다.

【도면의 간단한 설명】

<176> 도 1은 본 발명의 바이아릴아미드 유도체에 의해 멜라닌 생성정도가 감소하는 것을 melan-a 세포주와 인간 멜라닌 세포에서 확인한 결과 그래프이다. 도 1A는 생쥐 멜라닌 세포로 실험한 결과이며, 도 1B는 인산 멜라닌 세포로 실험한 결과이다(Y축은 세포 생존율 또는 멜라닌 생성비율(%), X축은 본 발명의 바이아릴아미드 유도체의 투여 농도를 나타냄, ▲: 세포 생존율(%), ■: 음성대조군 대비 멜라닌 생성비율(%)).

<177> 도 2는 본 발명의 바이아릴아미드 유도체에 의해 TRP-2 발현이 감소함을 확인한 실험 결과 사진이다. 도 2A는 본 발명의 바이아릴아미드 유도체를 매일 처리한 경우의 결과이며, 도 2B는 본 발명의 바이아릴아미드 유도체를 처음 한 번 처리한 경우의 결과이다.

<178> 도 3은 본 발명의 바이아릴아미드 유도체에 의해 인간 멜라노마 세포주인 A375의 성장이 억제되는지 여부를 확인한 결과 그래프이다(Y축은 450nm의 파장으로 조사하여 측정한 흡광도(Abs), X축은 본 발명의 바이아릴아미드 유도체의 투여 농

도를 나타냄).

<179> 도 4는 생쥐에 생쥐 멜라노마 세포주인 B16F10을 주입하고 본 발명의 바이아릴아미드 유도체가 그 증식을 억제하는지 여부를 확인한 동물모델 실험 결과 사진이다(A3B5 : 본 발명의 바이아릴아미드를 처리한 B16F10, PBS : 음성대조군, 인산생리식염수(PBS)를 처리한 B16F10).

【발명의 실시를 위한 형태】

<180> 이하 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.

<181> 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

<182>

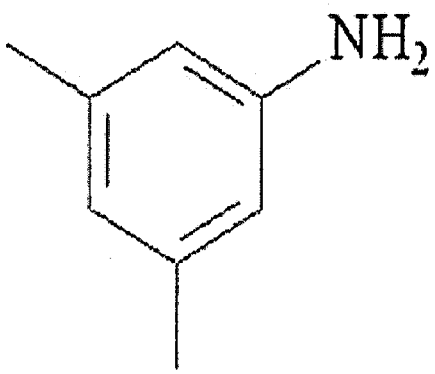
<183> **<실시예 1>**

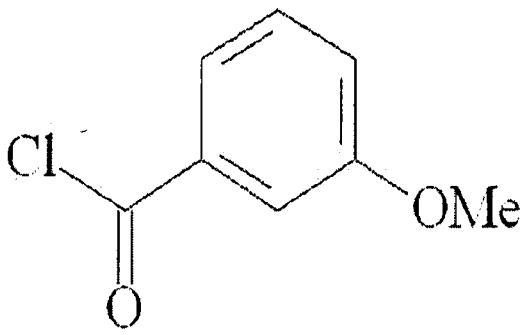
<184> **A3/B5(N-(3,5-디메틸페닐)-3-메톡시벤즈아미드)의 제조**

<185>

<186> 화학식 3으로 표시되는 아릴 아민 0.2mmol을 메틸렌클로라이드(CH2Cl) 1ml에 녹인 후, 화학식 11로 표시되는 방향족 산염화물 0.3mmol, 트리에틸렌아민(triethylamine) 0.4mmol, DMAP(4-Dimethylaminopyridine) 0.02mmol을 첨가하였다.

<187> <화학식 3> <화학식 11>





<188>

<189>

<190> 혼합물은 5시간 동안 섞은 후 아세트산에 0.5M 농도로 녹아 있는 Girard's reagent T((Carboxymethyl)trimethylammonium chloride hydrazide) 0.5ml을 첨가하였다. 실온에서 밤새 교반 한 후 에틸아세테이트 3ml로 희석하였다. 반응물은 이후 1N HCl(2ml, 2회), brine(2ml), 수 포화 탄산수소나트륨(saturated aqueous $NaHCO_3$)(2ml, 2회), brine(2ml)로 세척하여 정제하였다. 유기층을 건조제($NaSO_4$)로 수분을 제거하고 농축하여 화학식 21로 표시되는 본 발명의 화합물을 수득하였다.

<191>

<192> 수득한 화합물은 ZORBAX Eclipse plus C18 column(4.6 mm x 150 mm, 5m; ultraviolet absorption detector at 225 nm; gradient, 30-100% MeOH/H2O, 40 min)을 이용한 HPLC로 정제하였으며, 그 순도, 구조 및 분자량 분석 결과는 다음과 같다.

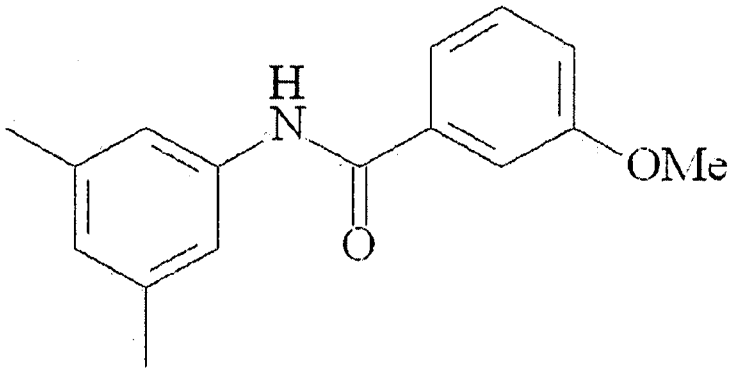
<193>

<194> N-(3,5-dimethylphenyl)-3-methoxybenzamide (A3/B5): Yield 94%; 1H NMR (300 MHz, CDCl3): = 7.48-7.45 (m, 2H), 7.39 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.29 (s, 2H), 7.11 (dd, J = 2.1, 8.2 Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 2.23 ppm (s, 6H); MS (FAB): m/z (%): 240 (72) [M+H]+, 239 (51), 154 (100), 136 (72), 119 (47); HRMS-FAB: m/z [M+H]+ calcd for $C_{16}H_{18}NO$: 240.1388, found 240.1379; purity by HPLC: 99.0%.

<195> 이로써 본 발명의 화합물은 화학식 21로 표시되는 분자량 240의 N-(3,5-디메틸페닐)-3-메톡시벤즈아미드로 동정되었다(Me는 메틸기).

<196>

<197> <화학식 21>



<198>

<199> **<실시예 2>**

<200> **바이아릴아미드 유도체의 멜라닌 생성 억제 효과**

<201>

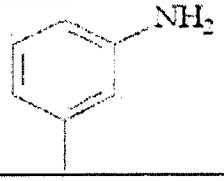
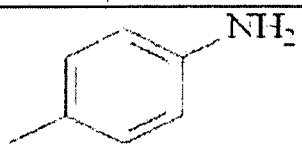
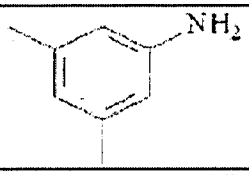
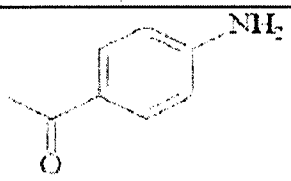
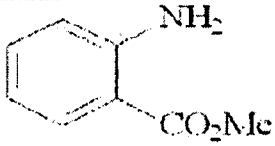
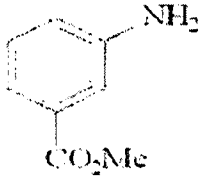
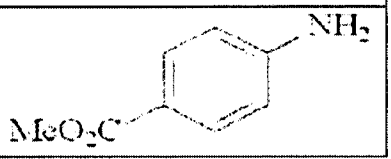
<202> **<2-1> 바이아릴아미드 제조**

<203> 하기 [표 1]의 화학식으로 표시되는 아릴 아민과 하기 [표 2]의 화학식으로 표시되는 방향족 산염화물을 이용하여 실시예 1과 동일한 방법으로 본 발명의 화합물을 제조하였다.

<204>

<205> 【표 1】

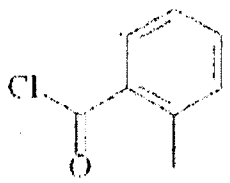
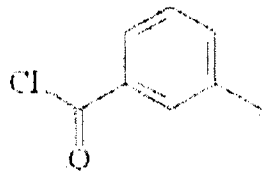
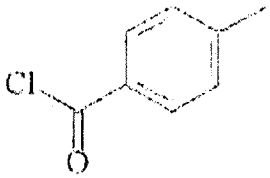
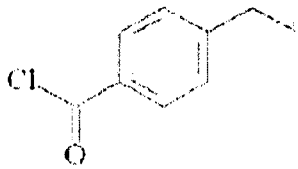
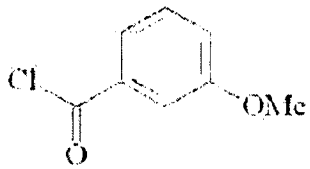
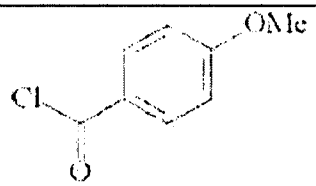
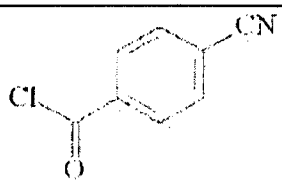
<206> 바이아릴아미드 합성에 사용된 아릴아민 종류

화학식 번호	ID	분자구조
<화학식 1>	A1	
<화학식 2>	A2	
<화학식 3>	A3	
<화학식 4>	A10	
<화학식 5>	A12	
<화학식 6>	A13	
<화학식 7>	A14	

<207>

<208> 【표 2】

<209> 바이아릴아미드 합성에 사용된 방향족 산염화물 종류

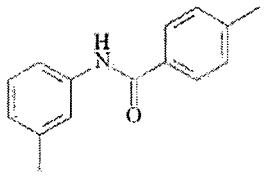
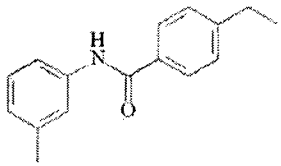
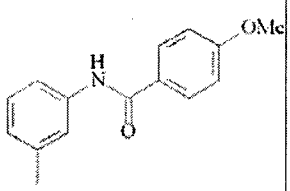
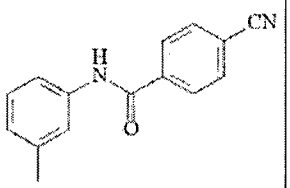
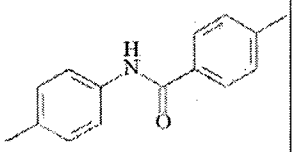
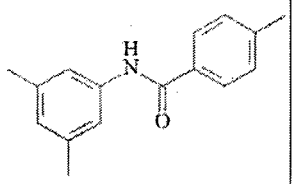
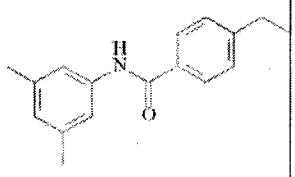
화학식 번호	ID	분자구조
<화학식 8>	B1	
<화학식 28>	B2	
<화학식 9>	B3	
<화학식 10>	B4	
<화학식 11>	B5	
<화학식 12>	B6	
<화학식 13>	B7	

<210>

<211> 수득한 화합물의 순도, 분자구조 및 분자량은 실시예 1과 같은 방법으로 측정하여 화합물의 종류를 동정하였으며 그 결과는 [표 3] 내지 [표 5]와 같다.

<212> 【표 3】

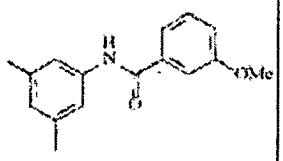
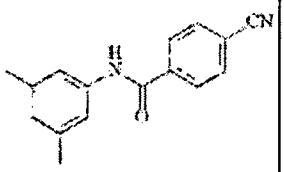
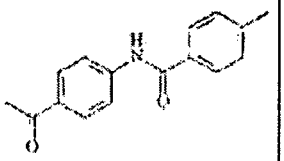
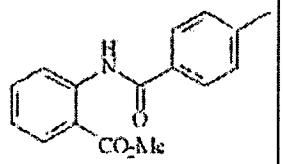
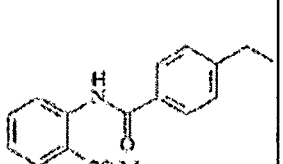
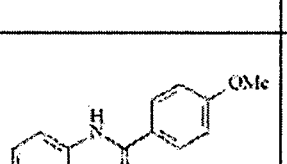
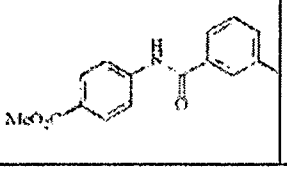
<213> 바이아릴아미드 유도체의 분자구조 및 분자량 측정 결과

ID 및 화학식 번호	구조	이름 및 HPLC, NMR 결과
A1/B3 <화학식 14>		**4-methyl-*N*-*m*-tolylbenzamide(A_1/B_3):** Yield 97%; ^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ=7.95(br s, 1H),7.77(d,*J*=8.3Hz,2H),7.52(s,1H),7.43(d,*J*=8.1Hz,1H),7.25(d,*J*=8.6Hz,3H),6.96(d,*J*=7.5Hz,2H),2.42(s,3H),2.35ppm(s,3H);MS(FAB):*m/z*(%):226(60)[*M*+H]$^+$,154(100),136(70);HRMS-FAB:*m/z*[*M*+H]$^+$ calcdfor$C_{15}H_{15}NO$:226.1232,found:226.1221;puritybyHPLC:99.0%.
A1/B4 <화학식 15>		**4-ethyl-*N*-*m*-tolylbenzamide(A_1/B_4):** Yield 94%; ^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ=7.85(br s, 1H),7.79(d,*J*=8.4Hz,2H),7,51(s,1H),7.42(d,*J*=8.1Hz,1H),7.23(d,*J*=8.4Hz,2H),7.22(d,*J*=7.8Hz,1H),6.96(d,*J*=7.5Hz,1H),2.71(q,*J*=7.7Hz,2H),2.36(s,3H),1.27ppm(t,*J*=7.7Hz,3H);MS(FAB):*m/z*(%):240(100)[*M*+H]$^+$,239(41),133(71);HRMS-FAB:*m/z*[*M*+H]$^+$calcdfor$C_{16}H_{18}NO$:240.1388,found:240.1384;puritybyHPLC:99.0%.
A1/B6 <화학식 16>		**4-methoxy-*N*-*m*-tolylbenzamide(A_1/B_6):** Yield 90%; ^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ=7.80(br s, 1H),7.85(td,*J*=2.9,8.8Hz,2H),7.52(s,1H),7.44(d,*J*=8.1Hz,1H),7.24(t,*J*=7.8Hz,1H),6.91-6.98(m,3H),3.87(s,3H),2.36ppm(s,3H);MS(FAB):*m/z*(%):242(83)[*M*+H]$^+$,154(100),136(74),135(63);HRMS-FAB:*m/z*[*M*+H]$^+$calcdfor$C_{15}H_{16}NO_2$:242.1181,found:242.1193;puritybyHPLC:99.0%.
A1/B7 <화학식 17>		**4-cyano-*N*-*m*-tolylbenzamide(A_1/B_7):** Yield 92%; ^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ=8.05(d,*J*=8.4Hz,2H),7.87(d,*J*=8.4Hz,2H),7.51(s,1H),7.47(d,*J*=8.2Hz,1H),7.24(t,*J*=7.8Hz,1H),6.99(d,*J*=7.0Hz,1H),2.35ppm(s,3H);MS(FAB):*m/z*(%):242(83)[*M*+H]$^+$,154(100),136(74),135(63);HRMS-FAB:*m/z*[*M*+H]$^+$calcdfor$C_{15}H_{16}NO_2$:242.1181,found:242.1193;puritybyHPLC:99.0%.
A2/B3 <화학식 18>		**4-methyl-*N*-*p*-tolylbenzamide(A_2/B_3):** Yield 91%; ^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ=7.81(br s, 1H),7.73(d,*J*=8.3Hz,2H),7.49(d,*J*=8.4Hz,2H),7.23(d,*J*=7.9Hz,2H),7.13(d,*J*=8.3Hz,2H),2.38(s,3H),2.31ppm(s,3H);MS(FAB):*m/z*(%):226(77)[*M*+H]$^+$,154(100),136(70),119(45);HRMS-FAB:*m/z*[*M*+H]$^+$calcdfor$C_{15}H_{16}NO$:226.1232,found226.1240;puritybyHPLC:99.0%.
A3/B3 <화학식 19>		***N*-(3,5-dimethylphenyl)-4-methylbenzamide (A_3/B_3):** Yield 91%; ^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ=7.71(d, J = 8.1 Hz, 3H), 7.22-7.24 (m, 3H), 6.75 (s, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.28 ppm (s, 6 H); MS(FAB):*m/z*(%):240(72)[*M*+H]$^+$,239(51),154(100),136(72),119(47);HRMS-FAB:*m/z*[*M*+H]$^+$calcdfor$C_{16}H_{18}NO$:240.1388,found240.1379;puritybyHPLC:99.0%.
A3/B4 <화학식 20>		***N*-(3,5-dimethylphenyl)-4-ethylbenzamide (A_3/B_4):** Yield 96%; ^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ=7.74(d,*J*=8.3Hz,3H),7.22-7.26(m,3H),6.74(s,1H),2.46(q,*J*=7.7Hz,2H),2.27(s,6H),1.22ppm(t,*J*=7.7Hz,3H);MS(FAB):*m/z*(%):254(100)[*M*+H]$^+$,133(67);HRMS-FAB:*m/z*[*M*+H]$^+$calcdfor$C_{17}H_{20}NO$:254.1545,found254.1551;puritybyHPLC:99.0%.

<214>

<215> 【표 4】

<216> 바이아릴아미드 유도체의 분자구조 및 분자량 측정 결과

ID 및 화학식 번호	구조	이름 및 HPLC, NMR 결과
A3/B5 <화학식 21>		***N*-(3,5-dimethylphenyl)-3-methoxybenzamide (A_3/B_5):** Yield 94%; ^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ=7.48-7.45(m, 2H),7.39(t,*J*=8.0Hz,1H),7.29(s,2H),7.11(dd,*J*=2.1,8.2Hz,1H),7.80(s, 1H),3.85(s,3H),2.23ppm(s,6H);MS(FAB):*m/z*(%):240(72)[*M*+H]$^+$,2 39(51),154(100),136(72),119(47);HRMS-FAB:*m/z*[*M*+H]$^+$calcdfor $C_{16}H_{18}NO$:240.1388,found240.1379;puritybyHPLC:99.0%.
A3/B7 <화학식 22>		**4-cyano-*N*-(3,5-dimethylphenyl)benzamide(A_3/B_7):** Yield 95%; ^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ =8.04(d,*J*=8.3Hz,2H),7.87(d,*J*=8.4Hz,2H),7.30(s,2H),6.83(s,1H),2.3 1ppm(s,6H);MS(FAB):*m/z*(%):240(72)[*M*+H]$^+$,239(51),154(100),1 36(72),119(47);HRMS-FAB:*m/z*[*M*+H]$^+$calcdfor$C_{16}H_{18}NO$:240.13 88,found240.1379;puritybyHPLC:99.0%.
A10/B3 <화학식 23>		***N*-(4-acetylphenyl)-4-methylbenzamide (A_{10}/B_3):** Yield 94%; ^{1}HNMR(300MHz,CD_3OD):δ =8.01(td,*J*=2.0,8.8Hz,2H),7.83-7.89(m,4H),7.33(d,*J*=7.9Hz,2H),2.5 9(s,3H),2.42ppm(s,3H);MS(FAB):*m/z*(%):254(6)[*M*+H]$^+$,154(100), 136(70);HRMS-FAB:*m/z*[*M*+H]$^+$calcdfor$C_{16}H_{16}NO_2$:254.1181,fou nd254.1194;puritybyHPLC:98.8%.
A12/B3 <화학식 24>		**methyl 2-(4-methylbenzamido)benzoate (A_{12}/B_3):** Yield 90%; ^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ=12.00(br s,1H),8.94(dd,*J*=1.1,8.6Hz,1H),8.08(dd,*J*=1.7,8.3Hz,1H),7.95(td,*J*= 1.9,8.4Hz,2H),7.57-7.63(m,1H),7.32(d,*J*=7.8Hz,2H),7.09-7.14(m,1 H),3.97(s,3H),2.43ppm(s,3H);MS(FAB):*m/z*(%):270(49)[*M*+H]$^+$,15 4(100),136(68),119(68);HRMS-FAB:*m/z*[*M*+H]$^+$calcdfor$C_{16}H_{16}NO$ $_3$:270.1130,found270.1124;puritybyHPLC:98.4%.
A12/B4 <화학식 25>		**methyl 2-(4-ethylbenzamido)benzoate (A_{12}/B_4):** Yield 94%; ^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ=12.00(br s,1H),8.94(dd,*J*=0.9,8.7Hz,1H),8.05(dd,*J*=1.5,8.1Hz,1H),7.98(td,*J*= 2.0,8.4Hz,2H),7.55-7.61(m,1H),7.33(d,*J*=8.4Hz,2H),7.05-7.11(m,1 H),3.93(s,3H),2.71(q,*J*=7.6Hz,2H),1.27ppm(t,J=7.5Hz,3H);MS(FAB):*m/z*(%):284(49)[*M*+H]$^+$,283(25),133(100);HRMS-FAB:*m/z*[*M*+H] $^+$calcdfor$C_{17}H_{18}NO_3$:284.1287,found284.1277;puritybyHPLC:98.8 %.
A12/B6 <화학식 26>		**methyl 2-(4-methoxybenzamido)benzoate (A_{12}/B_6):** Yield 91%; ^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ =8.75(d,*J*=8.5Hz,1H),8,05(dd,*J*=1.2,7.9Hz,1H),7.94(d,*J*=8.8Hz,2H) ,7.56(dt,*J*=1.4,8.6Hz,1H),7.11(t,*J*=7.4Hz,1H),7.00(d,*J*=8.8Hz,2H),3. 94(s,3H),3.85ppm(s,3H);MS(FAB):*m/z*(%):284(49)[*M*+H]$^+$,283(25) ,133(100);HRMS-FAB:*m/z*[*M*+H]$^+$calcdfor$C_{17}H_{18}NO_3$:284.1287,fo und284.1277;puritybyHPLC:99.2%.
A14/B2 <화학식 27>		**Methyl 4-(3-methylbenzamido)benzoate (A_{14}/B_2):** Yield 93%;^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ =2.39ppm(s,3H),3.89(s,3H),7.33(dt,*J*=0.6,7.5Hz,1H),7.34(m,1H),7. 63(m,1H),7.67(m,1H),7.74(d,*J*=8.7Hz,2H),8.02(d,*J*=8.7Hz,2H),8.22 (brs,1H);EI-MS(*m/z*)269(M$^+$,19),119(100),91(38),52(8);purity by HPLC: 98.0%.

<217>

<218>

<219> **<2-2> 바이 아릴아미드 유도체의 멜라닌 생성 억제 효과**

<220> 실시예 2-1에서 수득한 화합물의 멜라닌 생성 억제효과를 측정하였다.

<221> 마우스 멜라닌 생성세포(mouse melanocyte)인 melan-a 세포를 24웰 배양접시에 105 개수의 세포가 되도록 접종한 후, 우태아 혈청 (fetal bovine serum, FBS) 10 %와 200 nM의 phorbol 12-myristate 13-acetate (TPA) 가 포함된 RPMI1640 배지에서 24시간 배양하였다. 그리고 각 웰에 우태아 혈청 10 %와 200 nM TPA가 포함된 RPMI1640 배지 990㎕에 30mM의 본 발명의 바이아릴아미드 유도체를 10㎕씩 매일 3일 동안 처리하였다(최종농도 300). 처리 마지막 날 인산 완충액(Phosphate buffered saline, PBS)으로 3회 수세한 후 1M의 수산화 나트륨(NaOH)용액 1ml로 세포를 용해시킨 후 ELISA Leader를 사용하여 흡광도 400nm에서 측정하였다.

<222>

<223> 그 결과 [표 5]에서 보는 바와 같이 본 발명의 바이아릴아미드 유도체는 멜라닌 생성을 효과적으로 억제하는 것을 확인하였다.

<224>

<225> 【표 5】

<226> 멜라닌 생성 감소율

ID 및 화학식 번호	이 름	멜라닌 감소율(%)
A1/B3 <화학식 14>	4-methyl-*N*-*m*-tolylbenzamide	32.6
A1/B4 <화학식 15>	4-ethyl-*N*-*m*-tolylbenzamide	23.3
A1/B6 <화학식 16>	4-methoxy-*N*-*m*-tolylbenzamide	24.3
A1/B7 <화학식 17>	4-cyano-*N*-*m*-tolylbenzamide	34.2
A2/B3 <화학식 18>	4-methyl-*N*-*p*-tolylbenzamide	8.6
A3/B3 <화학식 19>	*N*-(3,5-dimethylphenyl)-4-methylbenzamide	35.8
A3/B4 <화학식 20>	*N*-(3,5-dimethylphenyl)-4-ethylbenzamide	36.5
A3/B5 <화학식 21>	*N*-(3,5-dimethylphenyl)-3-methoxybenzamide	48.7
A3/B7 <화학식 22>	4-cyano-*N*-(3,5-dimethylphenyl)benzamide	50.6
A10/B3 <화학식 23>	*N*-(4-acetylphenyl)-4-methylbenzamide	10.4
A12/B3 <화학식 24>	methyl 2-(4-methylbenzamido)benzoate	9.4
A12/B4 <화학식 25>	methyl 2-(4-ethylbenzamido)benzoate	9.4
A12/B6 <화학식 26>	methyl 2-(4-methoxybenzamido)benzoate	39.0
A14/B2 <화학식 27>	Methyl 4-(3-methylbenzamido)benzoate	30.6

<227>

<228> **<실시예 3>**

<229> **A3/B5의 멜라닌 세포(melanocyte)에서의 멜라닌생성 억제 효과**

<230>

<231> A3/B5의 멜라닌 억제 효과를 알아보기 위하여 생쥐 멜라닌 세포(mouse melanocyte)인 melan-a cell과 인간 멜라닌 세포(human normal melanocyte)를 이용하여 멜라닌 생성정도를 알아보았다. 멜라닌 생성세포를 24웰 배양접시에 105 개수

의 세포가 되도록 접종한 후, 우태아 혈청 (fetal bovine serum, FBS) 10 %와 200 nM phorbol 12-myristate 13-acetate (TPA) 가 포함된 RPMI1640 배지에서 24시간 배양하였다. 그리고 각 웰에 우태아 혈청 10 %와 200 nM의 TPA가 포함된 RPMI1640 배지 990㎕에 100, 1000, 2500의 A3/B5를 10㎕씩 매일 3일 동안 처리하였다 (최종 농도 1,10,25). 처리 마지막날 인산 완충액(Phosphate buffered saline, PBS)으로 3회 수세한 후 1M의 수산화 나트륨(NaOH)용액 1ml로 용해시킨 후 ELISA Leader를 사용하여 흡광도 400nm에서 측정하였다. 이와 함께 멜라닌 생성억제가 세포 사멸에 의한 것인지 아닌지 알아보기 위해 위와 같은 조건에서 세포의 생존 정도(Cell viability)를 확인하였다. 이를 위하여 처리 마지막날 인산 완충액(Phosphate buffered saline, PBS)으로 3회 수세한 후 각 웰의 세포를 200㎕의 크리스탈 바이올렛(Crystal Violet 0.1%, EtOH 10%, PBS 89.9%)으로 5분 동안 염색한 다음 인산 완충액으로 수세 한 후 1ml의 에탄올 용액으로 용해하고 590nm의 흡광도에서 측정하였으며 위의 실험을 인간 멜라닌 세포(human normal melanocyte)에서도 동일하게 실시하였다.

<232> 그 결과 도 1에서 보듯이 A3/B5 처리시 멜라닌 세포의 멜라닌 생성정도가 그렇지 않은 실험군에 비해 세포의 생존률에 대비 멜라닌 생성량은 melan-a cell에서는 40%정도 감소된 것을 관찰 할 수 있었으며 인간 멜라닌 세포에서도 20%정도의 감소 효과를 나타내었다. 이러한 결과로 보아 A3/B5가 멜라닌 형성을 효과적으로 감소시키는 것을 알 수 있다.

<233>

<234> **<실시예 4>**

<235> **멜라닌 세포의 TRP-2 억제 효과**

<236>

<237> TRP-2(Tyrosinase related protein-2, Dopachrom tautomerase)는 타이로시네이즈(tyrosinase)와 함께 멜라닌 세포에서 멜라닌 생성 과정에 관여하는 효소(Laurence Guyonneau et al, MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, 2004, 33963403)로 타이로시네이즈 다음에 작용하여 도파크롬(DOPAchrome)을 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA)로 분해하여 유멜라닌(Eumelanin) 형성에 작용할 뿐만 아니라 세포 생장에도 중요한 역할을 한다(Gertrude-E. COSTIN et al, Biochem. J. 2005. 391, 249259). 그러므로 TRP-2의 발현을 억제하는 것은 멜라닌 세포의 멜라닌 생성량을 줄이는 동시에 멜라닌 세포의 성장을 억제할 수 있는 장점을 가지고 있다.

<238> A3/B5의 TRP-2 발현에 대한 효과를 알아보기 위해 마우스 멜라닌 세포(melan-a)를 우태아 혈청(fetal bovine serum, FBS) 10 %와 200 nM phorbol 12-myristate 13-acetate (TPA) 가 포함된 RPMI1640 배지에서 24시간 배양한 후 A3/B5를 50uM의 농도로 3일 동안 매일 처리하며 3일 동안의 TRP-2 발현량을 알아보기 위해 각 시험군을 2 mM EDTA, 137 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM 바나듐산나트륨(sodium vanadate), 10 mM NaF, 1 mM PMSF (phenylmethanesulfonyl fluoride), 1% NP-40, 10% 글리세롤 및 프로테아제 억제제 칵테일(a protease inhibitor cocktail)이 들어 있는 RIPA 완충액로 용해하여 10% 아크릴아마이드 겔(acrylamide gel)을 이용하여 SDS-PAGE 전기영동으로 단백질을 분리하였다. 이를 나일론 멤브레인에 옮긴 후 항-TRP2 항체(anti TRP-2 antibody, santacuz, 미국)와 이차 항체인 항-rabbit IgG-HRP 결합 항체(anti-Rabbit IgG horse Radish Peroxidase conjugation antibody, 1;10000, zymed)를 이용하여 TRP-2 단백질을 분석하였다. 이를 화학발광 키트(Chemiluminescence reagent kit, ECL, Amersham, 미국)를 이용하여 검출한 후 영상분석기인 RAS 3000 Imaging system (FUJI film, 일본)으로 형상화하였다. 또한 A3B5를 3일 동안 첫날 한번만 처리한 후 위와 동일한 방법으로 3일 동안의 TRP-2 발현량을 함께 조사하였다.

<239>

<240> 그 결과 도 2에서 보는 바와 같이 A3/B5를 3일 동안 매일 또는 한번만 처리한 시험군 모두에서 A3/B5를 처리하지 않은 군에 비해 TRP-2 단백질의 발현량이 현저히 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이로써 본 발명의 바이아릴아미드가 TRP-2의 발현량을 감소시킴으로써 멜라닌 생성을 억제한다는 것을 확인하였다.

<241>

<242> **<실시예 5>**

<243> **<u>멜라노마 세포에서의 A3/B5의 세포성장 억제효과</u>**

<244>

<245> 실시예 4에서 언급한 바와 같이 TRP-2는 멜라닌 세포에서의 멜라닌 생성과정에 중요한 역할을 하는 동시에 세포의 생장을 조절하는 기능 또한 가지고 있다. 그러므로 세포의 성장이 빠른 암세포인 A375 인간 멜라노마 세포주 (melanoma cell)를 이용하여 A3/B5가 세포 성장을 억제할 수 있는지 알아보았다.

<246> A375 세포를 96웰 플레이트에 3X103 개를 접종한 후 우태아 혈청 (fetal bovine serum, FBS) 10 %가 포함된 DMEM에 16시간 배양한 후 여기에 A3/B5를 각각의 농도로 처리하고 48시간 배양한 후 BrdU cell proliferation assay kit (Roche,

독일)을 사용하여 A3/B5의 세포 성장 억제 정도를 알아보았다.

<247> 그 결과 도 3에서 보듯이 A3/B5의 농도에 따라 A375 멜라노마 세포의 성장이 억제되는 것을 확인할 수 있었으며 이는 A3/B5가 멜라닌 세포 및 멜라노마 세포의 생장을 조절할 수 있다는 것을 보여준다.

<248>

<249> **<실시예 6>**

<250> **생쥐 동물 모델을 이용한 A3/B5의 B16F10 멜라노마세포 증식 억제 효과**

<251>

<252> A3/B5의 멜라노마세포 증식 억제 효과를 알아보기 위해 5마리의 털이 없는 생쥐 (hairless mice)의 등에 5X105의 B16F10 세포(B16F10 mouse melanoma cell)를 생쥐의 등 피하(sub-cutaneous)조직 양쪽에 주입한 후 48시간 후부터 세포가 주입된 부분에 인산완충액 용액에 1mM의 농도로 희석된 A3/B5 100㎕와 이에 대한 대조군인 인산완충액 용액 100㎕를 5일 동안 각각 주사한 후 6일째 되는 날 주입된 세포 부분을 절단하여 그 크기 및 무게를 조사하였다.

<253> 그 결과 도 4에서 보듯이 A3/B5를 처리한 실험군의 세포의 크기 및 무게가 인산완충액 용액만 처리한 대조군에 비해 작은 것을 알 수 있었다. 이는 A3/B5가 멜라노마 세포의 성장을 효과적으로 억제할 수 있다는 것을 보여준다.

【산업상 이용가능성】

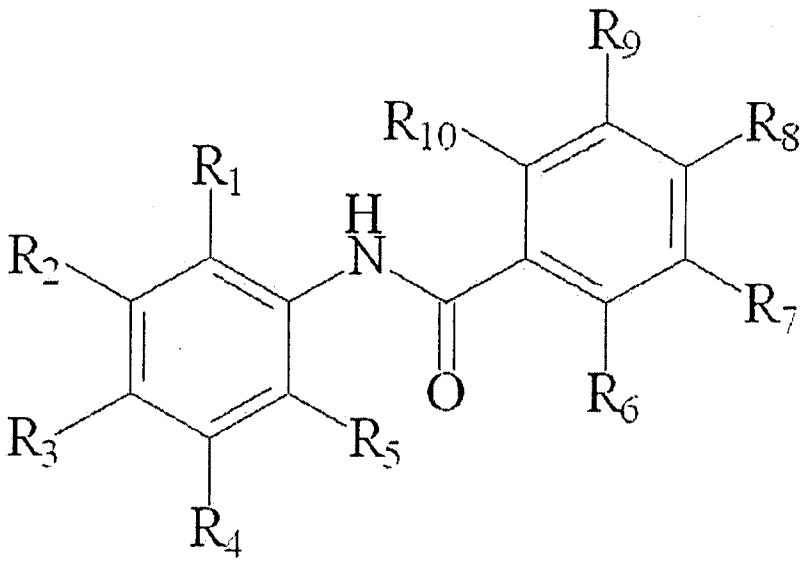
<254> 이상 살펴본 바와 같이, 본 발명은 멜라닌 생성을 억제하며 멜라닌 세포 이상 증식을 억제하는 바이아릴아미드 유도체 및 이를 유효성분으로 함유하는 조성물을 제공한다. 본 발명의 바이아릴아미드 유도체는 멜라닌 생성을 억제하며 멜라닌 세포의 이상 증식을 억제하므로 상기 바이아릴아미드를 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물은 미백 효과가 뛰어나며 상기 바이아릴아미드를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물은 기미, 주근깨, 흑자 등의 피부의 색소질환과 악성흑색종 예방 및 치료에 효과적이어서 산업상 이용가능성이 높다.

【청구의 범위】

【청구항 1】

하기 일반식 1의 바이아릴아미드 유도체:

<일반식 1>



상기 일반식 1에서,

R1 내지 R5는 각각 독립적으로 수소, C1-4의 알킬, 에스테르기(-COOR) 또는 케톤기(-COR)이고;

R6 내지 R10은 각각 독립적으로 수소, C1-4의 알킬, C1-4의 알콕시 또는 시아노기(-CN)이다.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 상기 R1 내지 R5 중에서 적어도 하나는 C1-4의 알킬, 에스테르기(-COOR) 및 케톤기(-COR)로 이루어진 그룹에서 선택되고, 나머지는 수소이며, 여기서 R은 C1-4의 알킬기; 및 R6 내지 R10은 각각 독립적으로 수소, C1-4의 알킬, C1-4의 알콕시 또는 시아노기(-CN)인 유도체.

【청구항 3】

제1항에 있어서, 상기 R2 또는 R4는 메틸기이며 상기 R1, R3 및 R5는 수소인 유도체.

【청구항 4】

제1항에 있어서, 상기 R1 내지 R5는 수소이며, 상기 수소인 R1 내지 R5로 이

루어진 군에서 선택된 어느 하나는 메틸 아세테이트기(-CO_2Me)로 치환된 유도체.

【청구항 5】

제1항에 있어서, 상기 R8이 메톡시, 메틸기 및 시아노기로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나이며, R6, R7, R9 및 R10이 수소인 유도체.

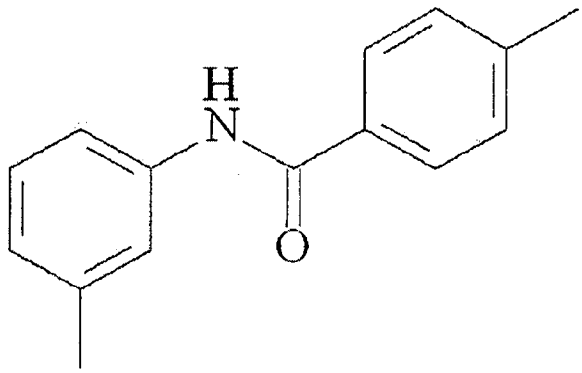
【청구항 6】

제1항에 있어서, 상기 R7이 메톡시이며, R8 내지 R10, 및 R6이 수소인 유도체.

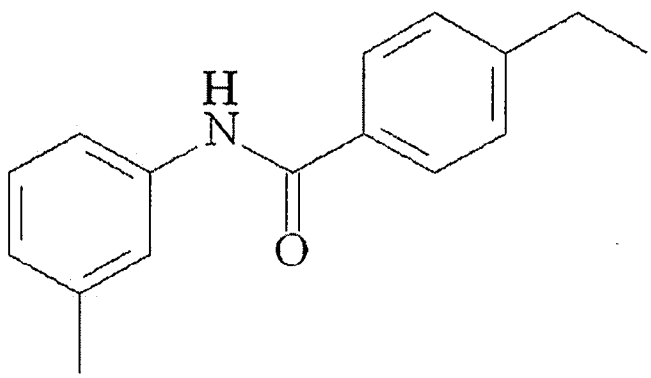
【청구항 7】

제1항에 있어서, 상기 바이아릴아미드 유도체는 하기 화학식 14 내지 화학식 27로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 유도체.

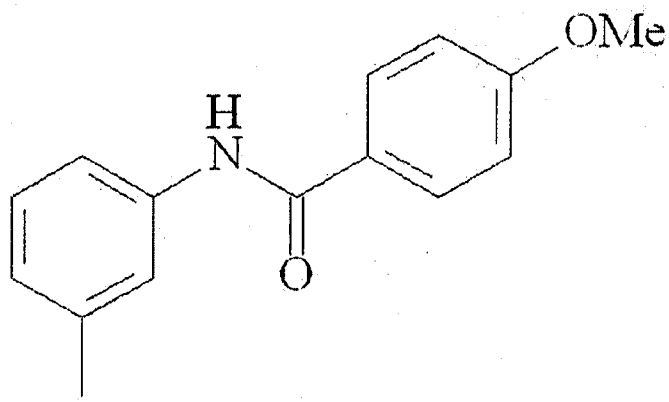
<화학식 14>



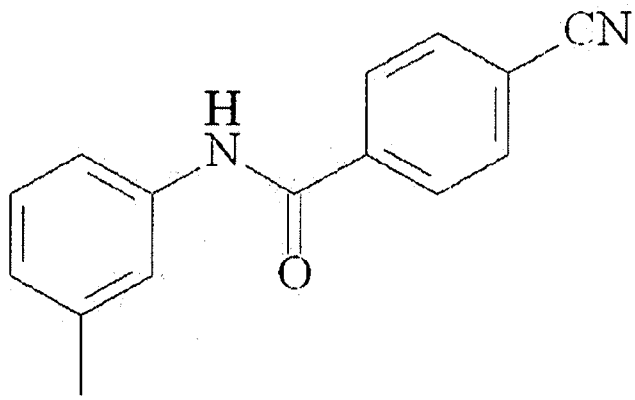
<화학식 15>



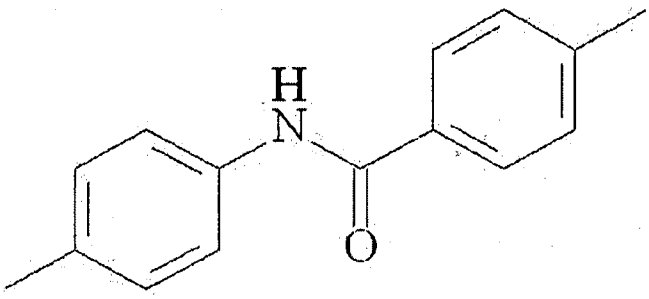
<화학식 16>



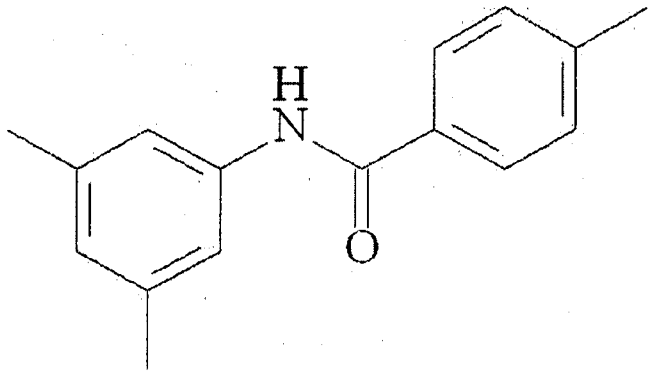
<화학식 17>



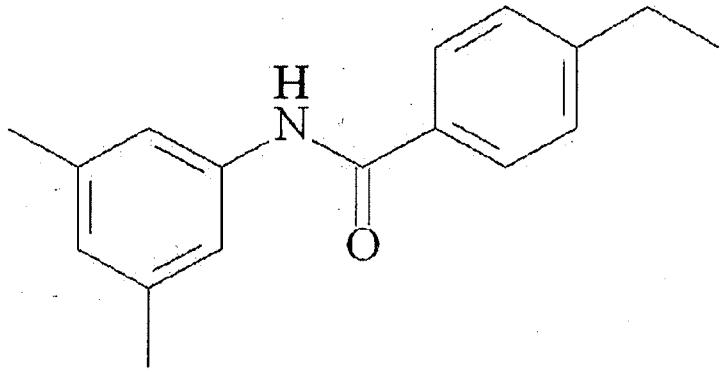
<화학식 18>



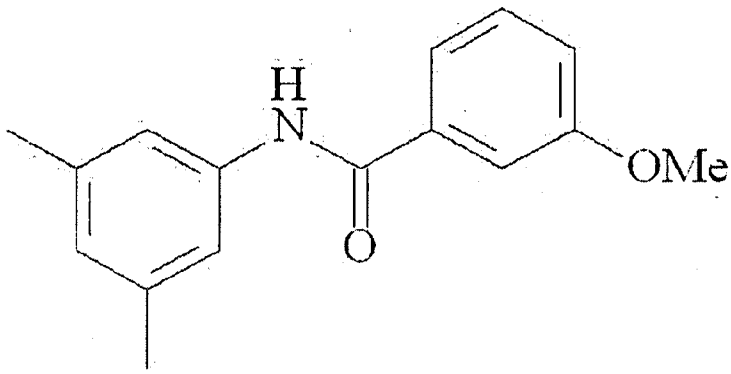
<화학식 19>



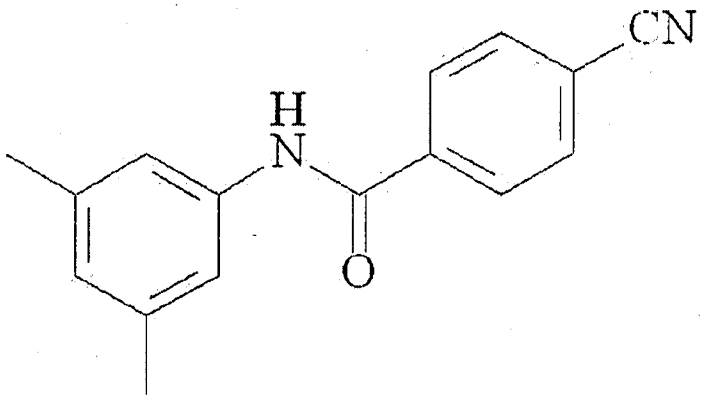
<화학식 20>



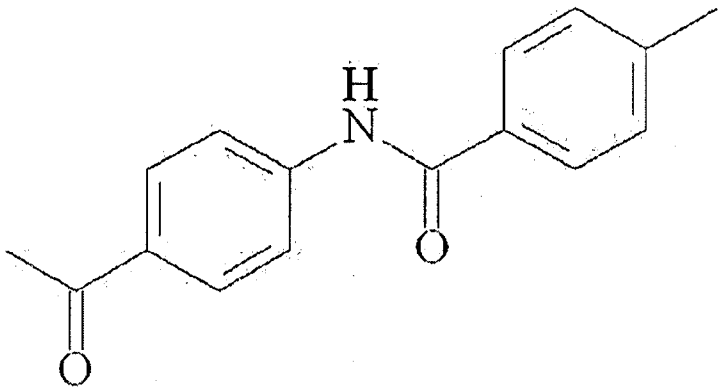
<화학식 21>



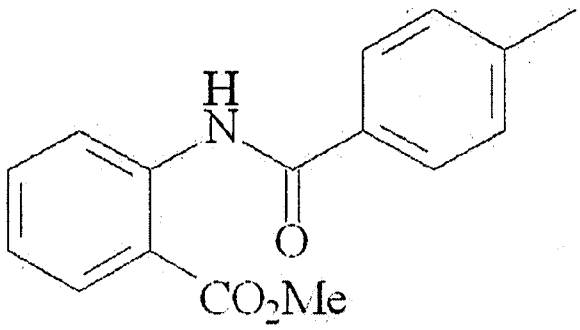
<화학식 22>



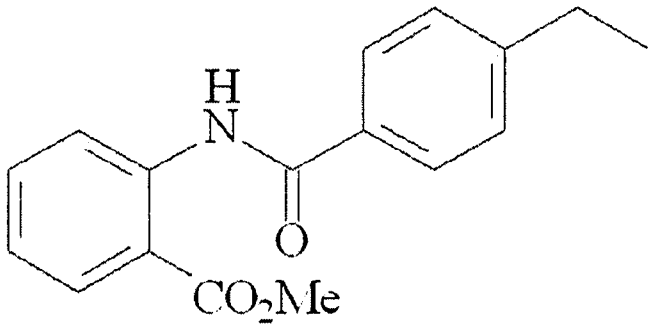
<화학식 23>



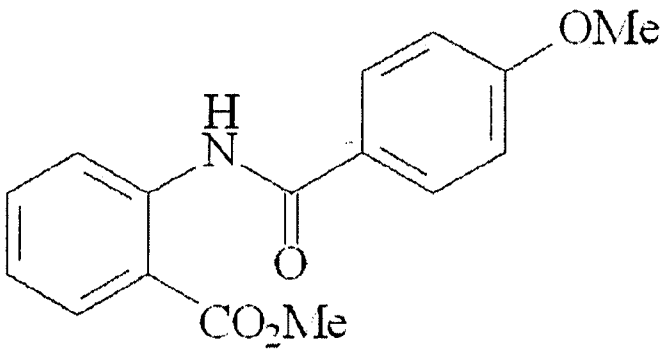
<화학식 24>



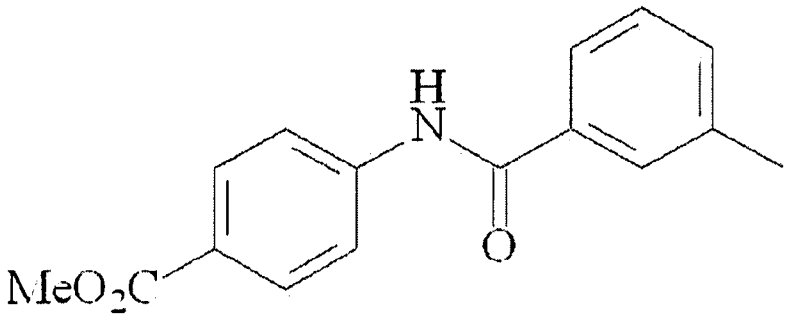
<화학식 25>



<화학식 26>



<화학식 27>



【청구항 8】

제1항에 있어서, 상기 R7이 메톡시이며, R2 및 R4는 메틸기이며, R8 내지 R10, R1, R3, R5, 및 R6이 수소인 유도체.

【청구항 9】

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 일반식 1 화합물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물.

【청구항 10】

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 일반식 1 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 이상 과다에 의한 색소 질환 또는 멜라닌 세포 이상 증식에 의한 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

【청구항 11】

제10항에 있어서, 상기 멜라닌 이상 과다에 의한 색소 질환 또는 멜라닌 세포 이상 증식에 의한 질환은 악성흑색종, 흑자, 기미, 주근깨, 잡티, 오타모반, 밀크반점, 피부염증 후의 피부흑화 및 노인성 색소반점으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 질환인 것을 특징으로 하는 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

【청구항 12】

멜라닌 이상 과다에 의한 색소 질환 또는 멜라닌 세포 이상 증식에 의한 질환의 예방 및 치료제의 제조를 위한 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 일반식 1 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도.

【청구항 13】

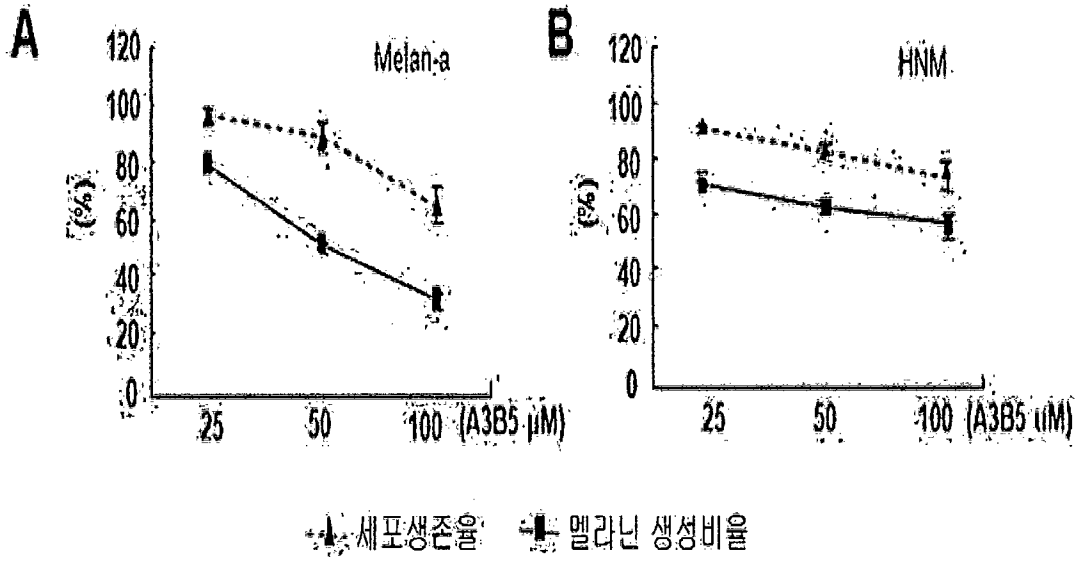
화장료 조성물의 제조를 위한 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 일반식 1 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도.

【청구항 14】

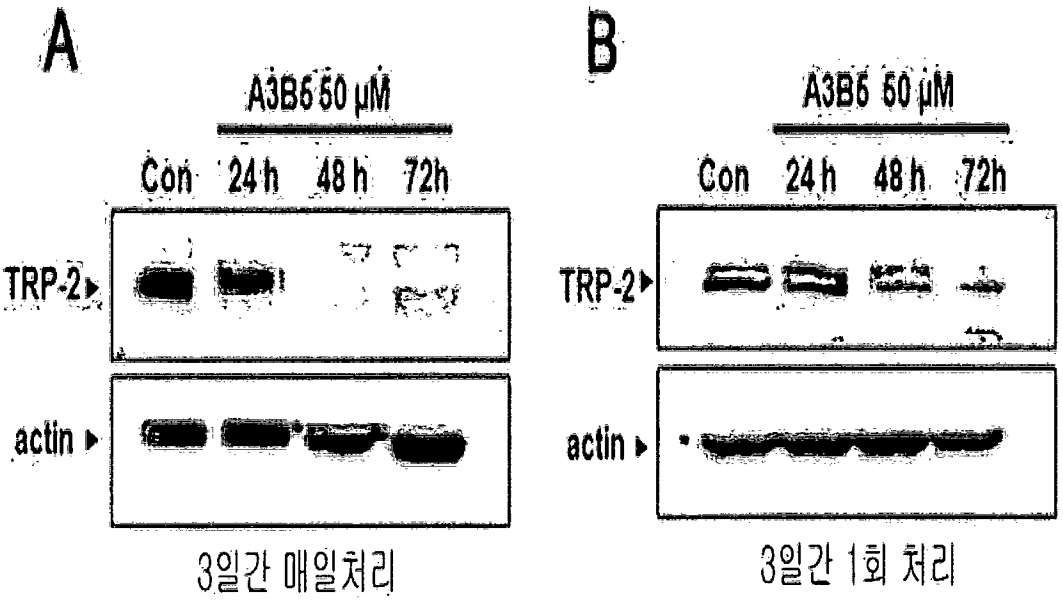
제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 일반식 1 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 유효량을 필요한 개체에 투여하는 것을 특징으로 하는 멜라닌 이상 과다에 의한 색소 질환 또는 멜라닌 세포 이상 증식에 의한 질환의 치료방법.

【도면】

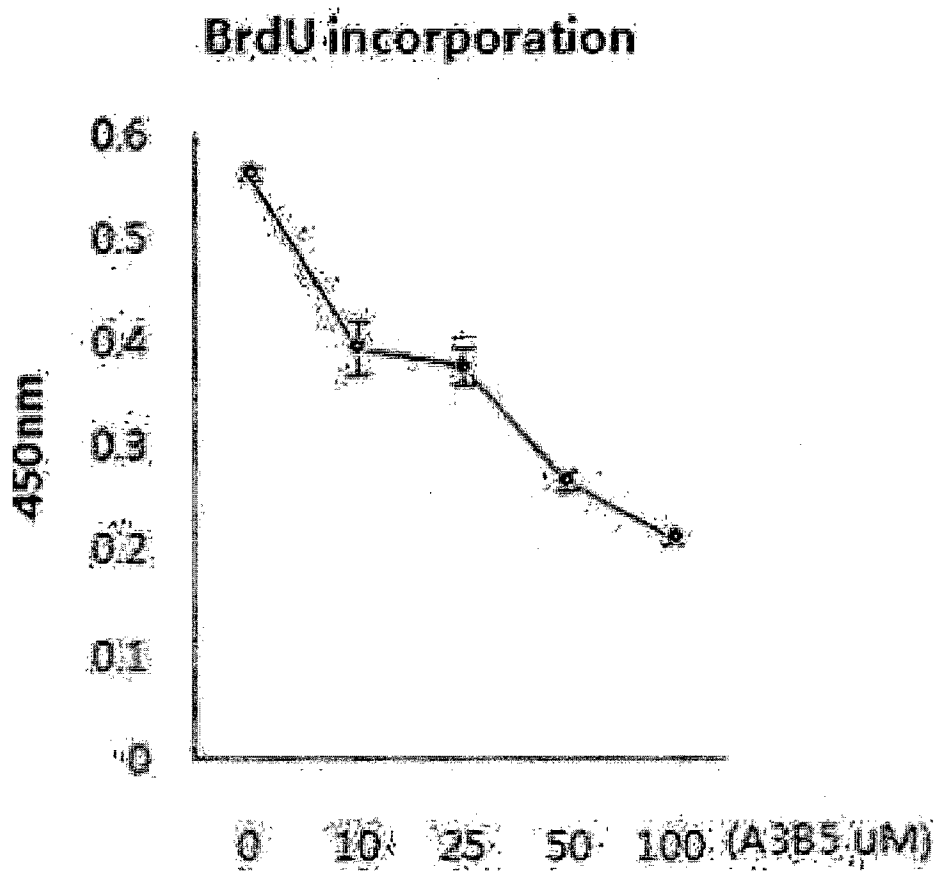
【도 1】


A
Melan-a
120
100
80
60
40
20
0
(%)
25
50
100 (A3B5 μM)
B
HNM
120
100
80
60
40
20
0
(%)
25
50
100 (A3B5 μM)
세포생존율
멜라닌 생성비율

【도 2】


A
A3B6 50 μM
Con
24 h
48 h
72h
TRP-2
actin
3일간 매일처리
B
A3B5 50 μM
Con
24 h
48 h
72h
TRP-2
actin
3일간 1회 처리

【도 3】


BrdU incorporation
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
450nm
0
10
25
50
100
(A3B5 uM)

【도 4】

