

 (19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2011-0097700 (43) 공개일자 2011년08월31일
(51) Int. Cl. <i>A61K 8/44</i> (2006.01) <i>A61K 8/40</i> (2006.01) <i>A61K 8/30</i> (2006.01) <i>A61Q 19/02</i> (2006.01) (21) 출원번호 10-2011-0016191 (22) 출원일자 2011년02월23일 심사청구일자 2011년02월23일 (30) 우선권주장 1020100015954 2010년02월23일 대한민국(KR)	(71) 출원인 충남대학교산학협력단 대전 유성구 궁동 220 충남대학교 충북대학교 산학협력단 충청북도 청주시 흥덕구 개신동 12 (72) 발명자 정상현 대전 유성구 신성동 대림두레아파트 102동 804호 김영수 충청북도 청주시 흥덕구 사창동 사창대원칸타빌아파트 105동 101호 (74) 대리인 백경업

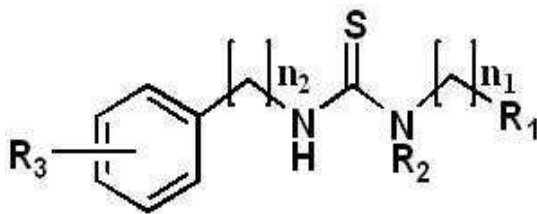
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 아릴티오우레아 유도체를 함유한 미백용 조성물

(57) 요약

본 발명은 N-페닐티오우레아 보다 멜라닌 생성 억제율이 우수한 하기 화학식 I을 갖는 아릴티오우레아 유도체를 유효 성분으로 함유하는 미백용 조성물에 관한 것이다:

[화학식 I]



상기 화학식 I에서,

R₁은 수소, C₁ 내지 C₆ 알킬, C₃ 내지 C₈ 사이클로알킬, 또는 치환기를 갖거나 갖지 않는 페닐을 나타내고, 상기 치환기는 C₁ 내지 C₃ 알킬, 할로젠, 히드록시, 또는 C₁ 내지 C₃ 알콕시이고,

R₂는 수소, 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬을 나타내고,

R₃은 수소, C₁ 내지 C₉ 알킬, C₁ 내지 C₆ 알콕시, 히드록시, 할로젠 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬아민을 나타내고,

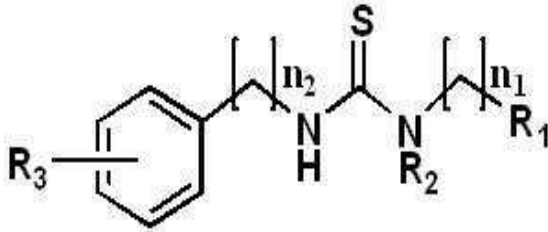
n₁ 및 n₂는 각각 독립적으로 0, 1, 2, 3 또는 4를 나타낸다(단, R₁, R₂, 및 R₃가 모두 수소이고, n₁ 및 n₂가 모두 0인 경우를 제외한다).

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 I의 아릴티오우레아 유도체를 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물:

[화학식 I]



상기 화학식 I에서,

R₁은 수소, C₁ 내지 C₆ 알킬, C₃ 내지 C₈ 사이클로알킬, 또는 치환기를 갖거나 갖지 않는 페닐을 나타내고, 상기 치환기는 C₁ 내지 C₃ 알킬, 할로젠, 히드록시 또는 C₁ 내지 C₃ 알콕시이고,

R₂는 수소, 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬을 나타내고,

R₃은 수소, C₁ 내지 C₉ 알킬, C₁ 내지 C₆ 알콕시, 히드록시, 할로젠 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬아민을 나타내고,

n₁ 및 n₂는 각각 독립적으로 0, 1, 2, 3 또는 4를 나타낸다(단, R₁, R₂, 및 R₃가 모두 수소이고, n₁ 및 n₂가 모두 0인 경우를 제외한다).

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 화학식 I의 아릴티오우레아 유도체 화합물은,

4-메틸페닐티오우레아, 3-메틸페닐티오우레아, 4-에틸페닐티오우레아, 4-클로로페닐티오우레아, 4-히드록시페닐티오우레아, 4-*tert*-부틸페닐티오우레아, 4-메톡시페닐티오우레아, 1,3-디페닐티오우레아, 1-페닐-3-*para*-톨릴티오우레아, 1-(4-클로로페닐)-3-페닐티오우레아, 1-(4-메톡시페닐)-3-페닐티오우레아, 1-(4-히드록시페닐)-3-페닐티오우레아, 1-사이클로헥실-3-페닐티오우레아, 1-벤질-3-페닐티오우레아, 1-페네틸-3-페닐티오우레아, 및 1-페닐-3-(3-페닐프로필)티오우레아로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 화합물인 것을 특징으로 하는 피부 미백용 조성물.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 따른 피부 미백용 조성물을 포함하는 것을 특징으로 하는 피부 과색소 침착 피부질환의 예방 및 치료용 의약조성물.

청구항 4

제 3항에 있어서,

상기 조성물의 제형이 크림제, 연고제, 겔, 로오션제, 액제, 또는 패치임을 특징으로 하는 피부 과색소 침착 질환의 예방 및 치료용 의약 조성물.

청구항 5

제 1항 또는 제 2항에 따른 피부 미백용 조성물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 미백 화장품 조성물.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 미백 화장료 조성물은 에센스, 미백크림, 로션, 에멀전, 팩, 일반화장수, 스킨밀크, 크림, 세럼, 미용비누, 유연화장수, 약용화장수, 헤어토닉, 전신세정제 또는 오일젤인 것을 특징으로 하는 미백 화장료 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 미백 화장료 조성물은 유분, 물, 계면활성제, 보습제, 증점제, 킬레이트제, 색소, 방부제 및 향료로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1 종 이상의 첨가제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 미백 화장료 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 아릴티오우레아 유도체의 미백용도와 아릴티오우레아 유도체를 유효 성분으로 하는 미백용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 사람의 피부색은 멜라닌, 카로틴, 헤모글로빈의 양에 따라 결정되며, 그 중 멜라닌이 가장 결정적인 요소로 작용한다. 멜라닌 색소는 검은 색소와 단백질의 복합체 형태를 갖는 페놀계 고분자 물질로서 자외선 차단 역할을 하여, 멜라닌 색소가 부족한 사람은 햇빛에 매우 민감하여 화상을 입기 쉬우며 어린 나이에도 피부암의 발생 확률이 높다. 한편, 단파장의 자외선 및 발암물질은 피부에서 유해한 자유 라디칼을 형성하는데 멜라닌은 이러한 자유 라디칼 등을 제거하여 단백질과 유전자들을 보호해 주는 유용한 역할을 한다.

[0003] 멜라닌은 색소 세포 내에 존재하는 티로시나아제의 작용에 의해 티로신으로부터 복잡한 과정을 거쳐 생성된다. 이 때 생성된 멜라닌은 피부 세포에 전달되고 표피 박리와 함께 멜라닌이 상실되어 소멸되는 순환 작용을 보인다. 이러한 멜라닌 생성 과정은 자연적으로 일어나는 현상으로서, 정상 상태의 피부에서는 멜라닌의 과다 생성이 일어나지 않는다. 그러나 피부가 외부의 자극, 예를 들면 자외선, 환경오염 또는 스트레스 등에 반응하면 멜라닌이 과다 생성되어 피부 밖으로 배출되지 못하고 각질형성세포(keratinoocyte)로 전달되어 피부 표피층에 축적되어 기미, 주근깨 및 노인성 흑자 등 심각한 미용상의 문제를 일으킬 뿐만 아니라, 피부노화를 촉진하며 피부암을 유발하기도 한다.

[0004] 희고 고운 피부를 갖고자 하는 것은 모든 사람의 한결같은 소망이다. 멜라닌 색소의 생성을 억제할 수 있다면, 미백효과에 의해 하얀 피부를 얻을 수 있을 것이다. 뿐만 아니라, 피부에 과도한 멜라닌 색소의 침착을 방지하거나 또는 이미 침착된 멜라닌 색소의 색을 엷게하는 것에 의해 기미, 주근깨, 흑자와 같은 색소 침착으로 인한 병변을 치료하는 것이 가능하다. 이러한 대표적인 미백제로서 코직산(Kojic acid), 비타민 C, 하이드로퀴논, 알부틴 등이 알려져 있다. 그러나, 코직산은 in vitro 상의 티로시나아제의 저해 능력에 비해 in vivo 상의 멜라닌 생성 억제효과가 미비할 뿐 아니라 제형의 안정성에 문제가 있으며, 최근에는 장기 사용시 간암을 유발할 수 있다고 보고된 바 있다. 비타민 C는 매우 불안정하여 제형 내에서 상 안정성이 낮아 시간이 경과하면서 그 유효성분의 활성도가 떨어지는 문제점이 있다. 최근에는 캡슐 또는 리포솜으로 비타민 C의 제형을 안정화시키기 위한 다양한 방법이 제안되고 있으나 아직 뚜렷한 안정화 방법이 제시되지 못하고 있다. 하이드로퀴논은 미백효과가 우수하나 발암성 물질로 규정되어 그 사용이 제한적이다. 알부틴은 하이드로퀴논에 당이 붙어있는 화합물로서 화장료 등에 적용 시 피부 효소에 의해 당이 분리되면 발암물질인 하이드로퀴논이 형성되어 세포 독성을 유발한다는 문제가 있다. 미백제의 부작용 등이 발표됨에 따라 최근에는 감초, 닥나무 등 생약과 천연물을 이용한 기능성 미백제와 관련하여 다양한 연구 개발이 이루어지고 있으나 대부분의 식물 추출물은 고농도에서만 미백 효능을 나타내고 저농도에서는 거의 효과가 없는 것으로 알려져 있으며 아직까지 그 독성에 대한 검증이 충분하지 못하다. 따라서 소량으로도 효능이 우수하고 부작용이 적은 안전한 대체 미백제의 개발이 시급한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

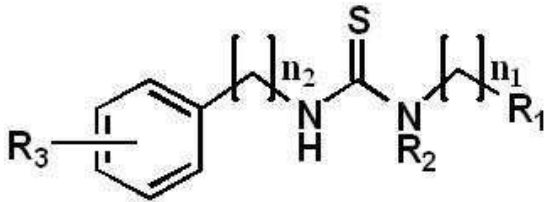
[0005] 본 발명의 목적은 보다 안전하면서도 우수한 미백 효과를 낼 수 있는 피부 미백용 조성물 또는 이를 포함하는 미백 화장품 조성물을 제공하는 데에 있다.

[0006] 본 발명의 다른 목적은 과색소 침착과 관련된 피부질환의 예방 및 치료용 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명은, 상기 및 그 밖의 목적을 달성하기 위하여, 하기 화학식 I의 아릴티오우레아 유도체를 유효 성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물을 제공한다:

[0008] [화학식 I]



[0009]

[0010] 상기 화학식 I에서,

[0011] R₁은, 수소, C₁ 내지 C₆ 알킬, C₃ 내지 C₈ 사이클로알킬, 또는 치환기를 갖거나 갖지 않는 페닐을 나타내고, 상기 치환기는 C₁ 내지 C₃ 알킬, 할로젠, 히드록시, 또는 C₁ 내지 C₃ 알콕시이고,

[0012] R₂는, 수소, 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬을 나타내고,

[0013] R₃은 수소, C₁ 내지 C₉ 알킬, C₁ 내지 C₆ 알콕시, 히드록시, 할로젠 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬아민을 나타내고,

[0014] n₁ 및 n₂는, 각각 독립적으로 0, 1, 2, 3 또는 4를 나타낸다(단, R₁, R₂, 및 R₃가 모두 수소이고, n₁ 및 n₂가 모두 0인 경우를 제외한다).

[0015] 본 발명의 피부 미백용 조성물은, 상기 화학식 I의 아릴티오우레아 유도체 화합물로서, 4-메틸페닐티오우레아, 3-메틸페닐티오우레아, 4-에틸페닐티오우레아, 4-클로로페닐티오우레아, 4-히드록시페닐티오우레아, 4-*tert*-부틸페닐티오우레아, 4-메톡시페닐티오우레아, 1,3-디페닐티오우레아, 1-페닐-3-*p*-톨릴티오우레아, 1-(4-클로로페닐)-3-페닐티오우레아, 1-(4-메톡시페닐)-3-페닐티오우레아, 1-(4-히드록시페닐)-3-페닐티오우레아, 1-사이클로헥실-3-페닐티오우레아, 1-벤질-3-페닐티오우레아, 1-페네틸-3-페닐티오우레아, 및 1-페닐-3-(3-페닐프로필)티오우레아로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 화합물을 유효성분으로 포함한다.

[0016] 본 발명은, 다른 양태에 따르면, 상기 화학식 I의 아릴티오우레아 유도체 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 조성물을 포함하는 과색소 침착 질환의 예방 및 치료용 의약조성물에 관한 것이다.

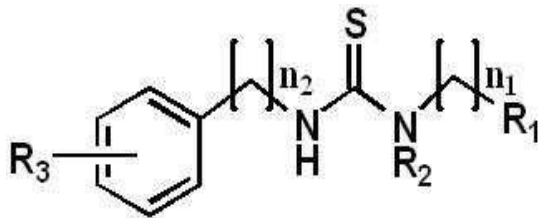
[0017] 본 발명은, 또 다른 양태에 의하면, 상기 화학식 I의 아릴티오우레아 유도체 화합물을 유효성분으로 포함하는 미백용 조성물을 포함하는 미백 화장품 조성물에 관한 것이다.

[0018] 이하, 본 발명을 더 상세하게 설명한다.

[0019] N-페닐티오우레아는 티로시나아제(tyrosinase)에 대한 대표적인 억제제로 알려져 왔다. 이러한 효소는 카테콜 옥사다아제(catechol oxidase)와 함께 타입-3 구리 단백질 그룹에 속한다. 페닐티오우레아 결합된 카테콜 옥시다아제의 결정 구조가 보고되어 있다[참고문헌: Gerdemann, C.; Eicken, C.; Krebs, B. Acc.Chem.Res. 2002, 35, 183. 및 Klabunde, T.; Eicken, C.; Sacchettini, J. C.; Krebs, B. Nat.Struct.Biol. 1998, 5, 1084]. 이러한 화합물의 항 원자는 상기 효소의 활성부위(active site)에 있는 양쪽 구리 이온에 결합된다[참고문헌: Klabunde, T.; Eicken, C.; Sacchettini, J. C.; Krebs, B. Nat.Struct.Biol. 1998, 5, 1084]. 2중 구리 중심과의 작용 이외에도, 소수성 공동을 라이닝하는 잔기들 사이의 반데르 발스 상호 작용력(van der Waals interaction)은 상기 효소에 대한 페닐티오우레아의 고친화성에 기여한다[참고문헌: Klabunde, T.; Eicken, C.; Sacchettini, J. C.; Krebs, B. Nat.Struct.Biol. 1998, 5, 1084]. 페닐티오우레아 결합된 티로시나아제의 결정 구조는 공지되어 있지 않음에도 불구하고, 티로시나아제의 활성 자리가 주로 보존되고 Tyr 98과 유사한 소수성 공동을 갖기 때문에 이러한 화합물의 결합 모드는 매우 유사할 것이다.

[0020] 본 발명자들이 알고 있는 바로는, 아릴티오우레아 유사체의 구조 활성 관계(structure activity relationship : SAR)에 관해서는 보고된 바가 없다. 그러므로, 본 발명자들은 일련의 아릴티오우레아 유도체의 억제 활성을 평가하고 멜라노닌 형성에 대한 SAR을 연구하였다. 본 발명의 아릴티오우레아의 일반 구조식은 하기 화학식 I과 같다.

[0021] [화학식 I]



[0022]

[0023] 상기 화학식 I에서,

[0024] R₁은 수소, C₁ 내지 C₆ 알킬, C₃ 내지 C₈ 사이클로알킬, 또는 치환기를 갖거나 갖지 않는 페닐을 나타내고, 상기 치환기는 C₁ 내지 C₃ 알킬, 할로젠, 히드록시 또는 C₁ 내지 C₃ 알콕시이고,

[0025] R₁은 수소, 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬을 나타내고,

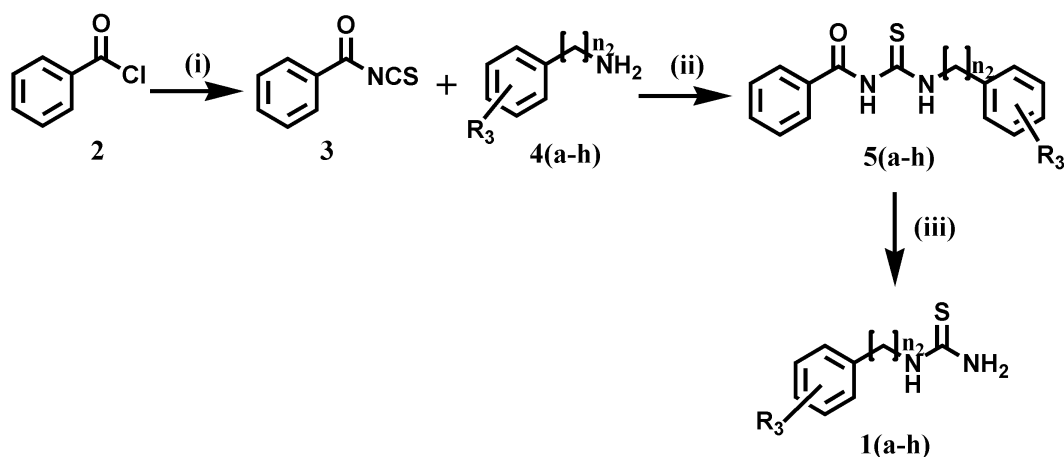
[0026] R₃은 수소, C₁ 내지 C₉ 알킬, C₁ 내지 C₆ 알콕시, 히드록시, 할로젠 또는 C₁ 내지 C₆ 알킬아민을 나타내고,

[0027] n₁ 및 n₂는 각각 독립적으로 0, 1, 2, 3 또는 4를 나타낸다(단, R₁, R₂, 및 R₃가 모두 수소이고, n₁ 및 n₂가 모두 0인 경우를 제외한다).

[0028] 본 발명의 상기 화학식 I의 아릴티오우레아 유도체를 제조하는 방법을 설명하면 다음과 같다.

[0029] 본 발명의 아릴티오우레아 유도체는, 하기 반응식 1에 따라, 벤조일 이소티오시아네트와 상업적으로 입수 가능한 아민으로부터 제조될 수 있다. 즉, 벤조일 클로라이드를 아세트니트릴 중에서 약 30분 동안 환류시키면서 암모늄이소티오시아네이트로 처리하여 중간체인 벤조일 이소티오시아네이트를 제조한다. 그런 다음, 수득한 벤조일 이소티오시아네이트를 약 30분 동안 환류시키면서 아민으로 처리하여 중간체(5)를 수득한 후, 20분 동안 고온의 5% NaOH에 의해 가수분해시켜 원하는 화합물인 아릴티오우레아 유도체를 제조한다.

[0030] 반응식 1



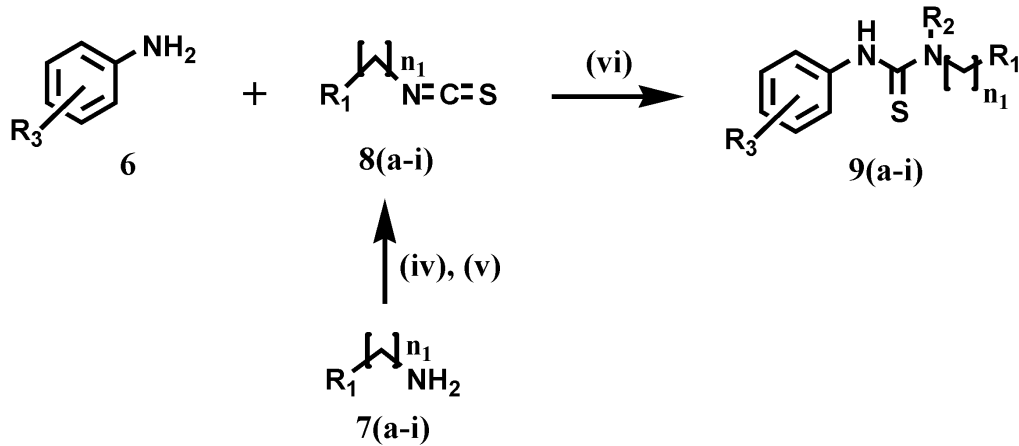
[0031]

[0032] 상기 반응식 1에서, R₃은 하기 표 1에 제시되어 있는 치환기를 나타내고, 상기 (i)에서는 NH₄SCN, 환류, 15분 조건, (ii)에서는 R-NH₂, 30분 동안 환류 그리고 (iii)에서는 5% NaOH, 20분 동안 가온 조건이다.

[0033] 또는, 본 발명의 아릴티오우레아 유도체(arylthiourea derivatives)는, 하기 반응식 2에 따라, 벤조일 이소티오시아네트와 상업적으로 입수 가능한 아민으로부터 제조될 수 있다. 즉, 알킬아민을 벤젠에 용해한 후, 이황화탄소와 트리에틸아민으로 처리하고 나서, 얻어진 용액을 여과하여 고체를 얻은 다음, 클로로포름에 용해한 후,

트리에틸아민과 에틸 클로로카보네이트의 혼합물 용액을 첨가하여 얻어진 용액으로부터, 이소티오시아네이트를 수득하고, 상기 이소티오시아네이트를 아민 화합물과 반응시켜 원하는 아릴티오우레아 유도체 화합물을 얻었다.

[0034] 반응식 2



[0035]

[0036] 상기 반응식 2에서, R₁ 및 R₂는 하기 표 1에 제시되어 있는 치환기이고, R₃는 수소이며, (iv)에서는 이황화탄소와 트리에틸아민 처리, (v)에서는 에틸클로로카보네이트와 트리에틸아민의 혼합 용액 점적, (vi)에서는 아세트니트릴에서 2시간 동안 교반 조건 하에 반응이 진행된다.

[0037] 본 발명의 아릴티오우레아 유도체 화합물은, 조성물의 총 중량에 대하여 0.0001-5중량%로 포함되는 것이 바람직하다.

[0038] 본 발명의 의약 조성물은 기미, 주근깨, 노인성 색소반 등의 과멜라닌 색소 침착증을 예방 또는 치료하기 위한 목적으로 사용되는 것으로, 약제학적으로 허용가능한 담체, 부형제, 및/또는 첨가제를 포함하는 경우에는 다양한 형태의 제형으로 제제화될 수 있다.

[0039] 대표적인 예로는 크림제, 연고제, 겔, 로오션제, 액제 또는 패치 등 경피용 제제를 들 수 있다.

[0040] 본 발명의 화장료 조성물의 제형은 임의로 선택할 수 있으며, 종래의 화장료제형인 에센스, 미백크림, 로션, 에멀전, 팩, 일반화장수, 스킨밀크, 크림, 세럼, 미용비누, 유연화장수, 약용화장수, 헤어토닉, 전신세정제, 오일 젤과 같은 여러 가지 형태로 제조할 수 있다.

[0041] 본 발명의 화장료 조성물은 유분, 물, 계면활성제, 보습제, 증점제, 킬레이트제, 색소, 방부제, 및 향료로 이루어지는 군으로부터 1 종 이상 선택되는 첨가제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물을 제조할 수 있다.

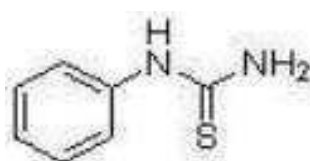
발명의 효과

[0042] 본 발명에 피부 미백용 조성물은 하기 표 1에서와 같이 공지된 N-페닐티오우레아(화합물 1a) 보다 멜라닌 생성 억제 효능에 있어서 매우 우수한 효과를 갖는다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0043] 이하, 본 발명은 하기의 실시예로 설명된다. 이들 실시예는 본 발명을 설명하기 위한 것이며, 이들 실시예에 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0044] 실시예 1 : 하기 화합물 1a(페닐티오우레아)의 제조



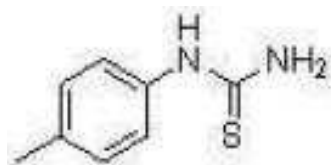
[0045]

[0046] 아세톤 중의 암모늄 클로라이드 용액 0.012mol에 벤조일클로라이드 0.01mol을 5분에 걸쳐 첨가하고, 그 혼합물

을 15분 동안 환류시키면서 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고 적량의 아세톤 중의 아닐린(aniline)을 약 15분에 걸쳐 적가하였다. 그런 다음, 다시 반응 혼합물을 30분 동안 환류시킨 후 얼음에 부었다. 생성된 고체를 수거하고 물로 세척하였다. 수거한 고체를 예열시킨 소듐하이드록사이드 수용액에 첨가하고 20분 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 5% 염산에 부었다. 소듐 카보네이트로 반응 처리하여 벤조산을 분리 제거하였다. 미정제 생성물을 수거하여, 건조하고 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물을 수득하였다(반응 메카니즘은 상기 반응식 1 참조).

[0047] 수율 70 %; 황색 고체; mp 159-161°C; IR(neat); 3412, 3172, 1655, 1637, 1588; ^1H NMR (CDCl_3): δ 6.15(bs, 2H, NH_2), 7.25(d, 2H, Ar-H, $J=7.6\text{Hz}$), 7.33(t, 1H, Ar-H, $J=7.6\text{Hz}$), 7.45(t, 2H, Ar-H, $J=7.6\text{Hz}$), 8.31(bs, 1H, NH).

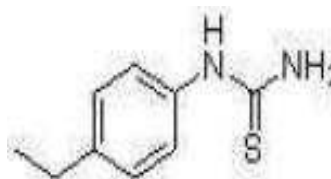
[0048] 실시예 2 : 하기 화합물 1b(4-메틸페닐티오우레아)의 제조



[0049]

[0050] 수율 80 %; 황색 고체; mp 160-162°C; IR(neat); 3435, 3159, 1614, 1582, 1560; ^1H NMR(CDCl_3): δ 2.36 (s, 3H, CH_3), 6.02 (bs, 2H, NH_2), 7.12 (d, 2H, Ar-H, $J=8.0\text{Hz}$), 7.24(d, 2H, Ar-H, $J=8.0\text{Hz}$), 7.82(bs, 1H, NH).

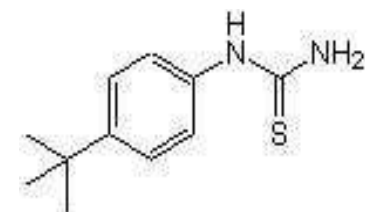
[0051] 실시예 3 : 하기 화합물 1c(4-에틸페닐티오우레아)의 제조



[0052]

[0053] 수율 80 %; 옅은 황색 고체; mp 125-127°C; IR (neat) ; 3436, 3160, 1738, 1616, 1581; ^1H NMR (CDCl_3): δ 1.23(t, 3H, CH_3 , $J=7.6\text{Hz}$), 2.66(q, 2H, CH_2 , $J=7.6\text{Hz}$), 6.16(bs, 2H, NH_2), 7.15(d, 2H, Ar-H, $J=8.4\text{Hz}$), 7.25(d, 2H, Ar-H, $J=8.0\text{Hz}$), 8.18(bs, 1H, NH).

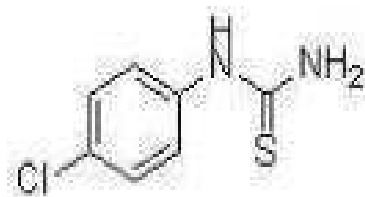
[0054] 실시예 4 : 하기 화합물 1d(4-tert-부틸페닐티오우레아)의 제조



[0055]

[0056] 수율 89 %; 백색 고체; mp 154-156°C; IR (neat): 3435, 3160, 1734, 1615, 1580 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3): δ 1.30 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 6.10 (bs, 2H, NH_2), 7.12 (d, $J = 8.8 \text{ Hz}$, 2H, Ar-H), 7.44 (d, $J = 8.8 \text{ Hz}$, 2H, Ar-H), 8.00 (bs, 1H, NH).

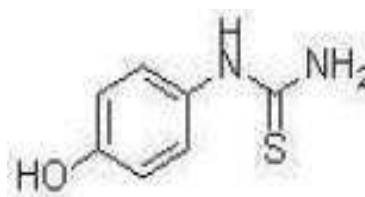
[0057] 실시예 5 : 하기 화합물 1e(4-클로로페닐티오우레아)의 제조



[0058]

[0059] 수율 80 %; 옅은 황색 고체; mp 170-172°C; IR(neat) : 3412, 3160, 3156, 1621, 1581 cm^{-1} ; ^1H NMR(CDCl_3): δ 6.04(bs, 2H, NH_2), 7.20(d, 2H, Ar-H, $J=8.8\text{Hz}$), 7.42(d, 2H, Ar-H, $J=8.8\text{Hz}$), 7.90(bs, 1H, NH).

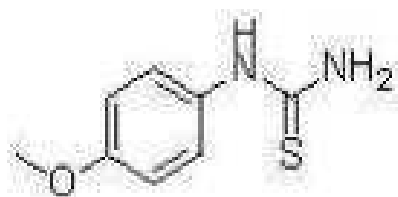
[0060] 실시예 6 : 하기 화합물 1f(4-히드록시페닐티오우레아)의 제조



[0061]

[0062] 수율 68 %; 적색 고체; mp 199-201°C; IR(neat): 3399, 3303, 3185, 1650, 1548 cm^{-1} ; ^1H NMR(DMSO): δ 6.72(d, 2H, Ar-H, $J=8.0\text{Hz}$), 7.06 (d, 2H, Ar-H, $J=7.6\text{Hz}$), 9.1 (bs, 1H, NH), 9.28(bs, 1H, OH).

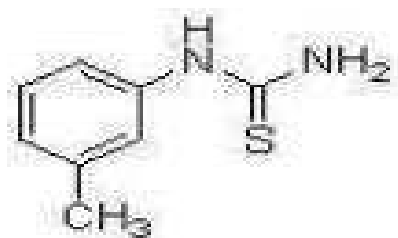
[0063] 실시예 7 : 하기 화합물 1g(4-메톡시페닐티오우레아)의 제조



[0064]

[0065] 수율 70 %; 백색 고체; mp 155-156°C; IR(neat): 3422, 3330, 3145, 1645, 1589, 1446 cm^{-1} ; ^1H NMR(CDCl_3): δ 3.85(s, 3H, OCH_3), 6.88(d, 2H, Ar-H, $J=7.6\text{Hz}$), 7.22(bs, 2H, NH_2), 7.40(d, 2H, Ar-H, $J=7.6\text{Hz}$), 9.10(bs, 1H, NH).

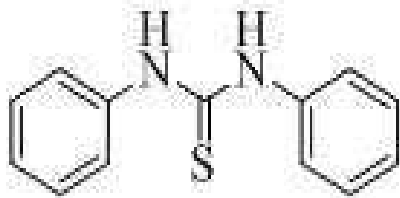
[0066] 실시예 8 : 하기 화합물 1h(3-메틸페닐티오우레아)의 제조



[0067]

[0068] 수율 80 %; 백색 고체; mp 151-153°C; IR (neat): 3421, 3161, 1621, 1538, 1458 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3): δ 2.30(s, 3H, Ar- CH_3), 6.32(bs, 2H, NH_2), 7.11(d, 2H, Ar-H, $J=7.6\text{Hz}$), 7.29-7.33(m, 2H, Ar-H), 8.45(bs, 1H, NH).

[0069] 실시예 9 : 하기 화합물 9a(1,3-디페닐티오우레아)의 제조



[0070]

[0071]

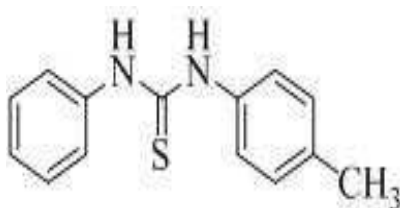
아닐린 0.1mol을 최소량의 벤젠에 용해한 후, 아이스베스에서 이황화탄소 6ml와 트리에틸아민 14ml를 처리한 후, 용액을 여과하여 고체를 얻은 다음, 75ml의 클로로포름에 용해하였다. 트리에틸아민 14ml와 에틸 클로로카보네이트 10.2ml의 혼합물 용액을 점적하여 첨가하고 나서, 1시간 동안 교반하였다. 상기 클로로포름 용액을 3N 염산, 물로 차례로 씻은 후, 황산나트륨으로 건조하였다. 그리고 나서, 얻어진 유기상을 감압하에서 증발시켜 원료 고체(crude solid)를 얻은 후, 에탄올로 재결정하여 이소티오시아네이트(8a의 화합물)를 수득하였다. 상기 이소티오시아네이트를 최소량의 아세토니트릴(2ml)에서 용해하고, 아세토니트릴(10ml)에 아닐린 0.1ml를 넣은 용액에 점적하면서 교반하였다. 생성된 고체를 여과하여, 건조하고 나서, 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 1,3-디페닐티오우레아(화합물 9a)를 수득하였다(반응 메카니즘은 상기 반응식 2 참조).

[0072]

수율 96%; 백색 고체; mp 157-159°C; IR (neat): 3200, 2850, 1475, 1455, 1190 cm^{-1} ; ^1H NMR(CDCl_3): δ 6.07(bs, 1H, NH), 7.22(m, 2H, Ar-H), 7.35(m, 4H, Ar-H), 7.59(m, 4H, Ar-H), 7.82(bs, 1H, NH). HRMS calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}$ m/z 228.0721, found 228.0724.

[0073]

실시예 10 : 하기 화합물 9b(1-페닐-3-*p*-톨릴티오우레아)의 제조



[0074]

[0075]

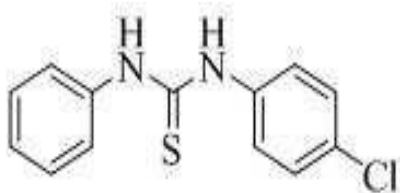
상기 실시예 9에 기재된 반응 조건을 이용하여, 상기 화합물 9b를 *p*-톨루이딘(화합물 7b)으로부터 수득하였다.

[0076]

수율 94 %; 백색 고체; mp 146-148°C; IR (neat): 3200, 2850, 1470, 1457, 1320, 1280 cm^{-1} ; ^1H NMR(CDCl_3): δ 2.48 (s, 3H, CH_3), 6.02(bs, 1H, NH), 7.09(d, $J=8.0\text{Hz}$, 2H, Ar-H), 7.21(d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.25-7.46(m, 4H, Ar-H), 7.59(t, $J=8.4\text{Hz}$, 2H, Ar-H), 7.79(bs, 1H, NH). HRMS calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{S}$ m/z 242.0878, found 242.0873.

[0077]

실시예 11 : 하기 화합물 9c(1-(4-클로로페닐)-3-페닐티오우레아)의 제조



[0078]

[0079]

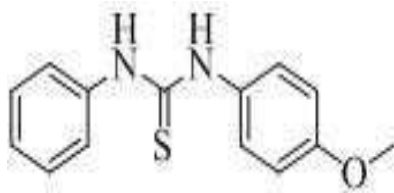
상기 실시예 9에 기재된 반응 조건을 이용하여, 상기 화합물 9c를 *p*-클로로아닐린(화합물 7c)으로부터 수득하였다.

[0080]

수율 94 %; 백색 고체; mp 153-155°C; IR(neat): 3200, 3020, 2980, 1620, 1500, 1475 cm^{-1} ; ^1H NMR(CDCl_3): δ 5.99(bs, 1H, NH), 7.18(d, $J=8.0\text{Hz}$, 2H), 7.27(t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H, Ar-H), 7.44(t, $J=8.4\text{Hz}$, 2H, Ar-H), 7.82(bs, 1H, NH). HRMS calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{S}$ m/z 262.0331, found 262.0327.

[0081]

실시예 12 : 하기 화합물 9d(1-(4-메톡시페닐)-3-페닐티오우레아)의 제조

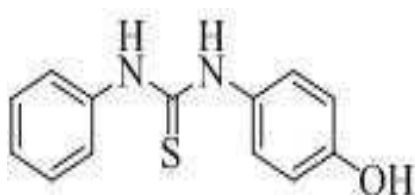


[0082]

[0083] 상기 실시예 9에 기재된 반응 조건을 사용하여, 상기 화합물 9d를 *p*-아니시딘(화합물 7d)으로부터 수득하였다.

[0084] 수율 92%; 백색 고체; mp 163-165°C; IR(neat): 3200, 3173, 3020, 2920, 1620, 1580, 1480, 1450, 1325cm⁻¹; ¹H NMR(CDC1₃): δ 3.85(s, 1H, OCH₃), 6.02(bs, 1H, NH), 6.99(d, *J*=7.8Hz, 2H, Ar-H), 7.20(m, 3H, Ar-H), 7.36(t, *J*=8.0Hz, 2H, Ar-H), 7.59(m, 2H, Ar-H), 7.84(bs, 1H, NH). HRMS calcd for C₁₄H₁₄N₂OS *m/z* 258.0827, found 258.0823.

[0085] 실시예 13 : 하기 화합물 9e(1-(4-히드록시페닐)-3-페닐티오우레아)의 제조

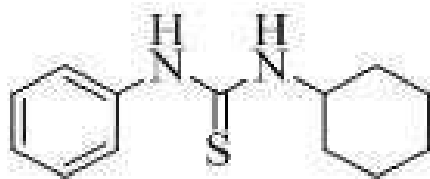


[0086]

[0087] 상기 실시예 9에 기재된 반응 조건을 사용하여, 상기 화합물 9e를 *p*-히드록시아닐린(화합물 7e)로부터 수득하였다.

[0088] 수율 87%; 백색 고체; mp 191-193°C; IR(neat): 3221, 3175, 2840, 1660, 1610, 1510, 1455, 1405cm⁻¹; ¹H NMR(CDC1₃): δ 5.98(bs, 1H, NH), 6.88(d, *J*=8.0Hz, 1H, Ar-H), 6.99(d, *J*=8.0Hz, 2H, Ar-H), 7.21(t, *J*=8.0Hz, 1H, Ar-H), 7.40-7.56(m, 4H, Ar-H), 7.78(bs, 1H, NH), 10.9(s, 1H, OH). HRMS calcd for C₁₃H₁₂N₂OS *m/z* 244.0670, found 244.0667.

[0089] 실시예 14 : 하기 화합물 9f(1-사이클로헥실-3-페닐티오우레아)의 제조

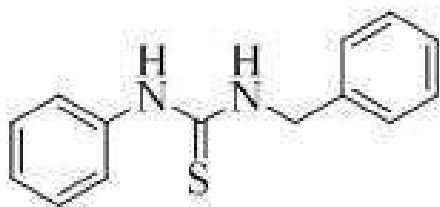


[0090]

[0091] 상기 실시예 9에 기재된 반응조건을 이용하여, 상기 화합물 9f를 사이클로헥실아민(화합물 7f)으로부터 수득하였다.

[0092] 수율 93%; 백색 고체; mp 149-151°C; IR(neat): 3203, 3164, 2854, 1470, 1320, 1285, 1240cm⁻¹; ¹H NMR(CDC1₃): δ 1.07-2.07(m, 10H, C₆H₁₁), 3.68(m, 1H), 5.91(bs, 1H, NH), 7.13(d, *J*=8.0Hz, 2H, Ar-H), 7.27(t, *J*=7.6Hz, 1H, Ar-H), 7.45(t, *J*=8.0Hz, 1H, Ar-H), 7.89(bs, 1H, NH). HRMS calcd for C₁₃H₁₈N₂S *m/z* 234.1191, found 234.1195.

[0093] 실시예 15 : 하기 화합물 9g(1-벤질-3-페닐티오우레아)의 제조

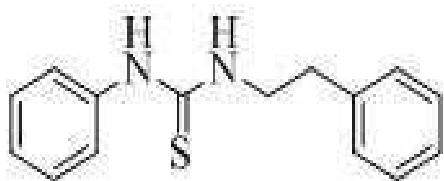


[0094]

[0095] 상기 실시예 9에 기재된 반응 조건을 이용하여, 상기 화합물 9g를 벤질아민(화합물 7g)으로부터 수득하였다.

[0096] 수율 96%; 백색 고체; mp154-156°C; IR(neat): 3200, 3167, 2927, 2750, 1620, 1609, 1500, 1457, 1430cm⁻¹; ¹H NMR(CDC1₃): δ 5.01(s, 2H, NCH₂Ph), 5.99(bs, 1H, NH), 7.06-7.18(m, 5H, Ar-H), 7.23(t, J=8.0Hz, 2H, Ar-H), 7.40(t, J=8.0Hz, 1H, Ar-H), 7.44(t, J=8.0Hz, 2H, Ar-H), 7.85(bs, 1H, NH). HRMS calcd for C₁₄H₁₄N₂S m/z 242.0878, found 242.0873.

[0097] **실시예 16** : 하기 화합물 9h(1-페네틸-3-페닐티오우레아)의 제조

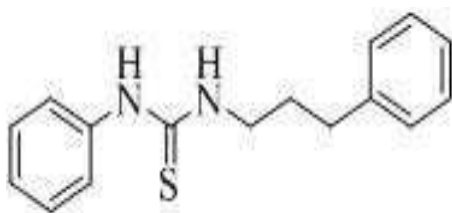


[0098]

[0099] 상기 실시예 9에 기재된 반응 조건을 이용하여, 상기 화합물 9h를 페닐에틸아민(화합물 7h)으로부터 수득하였다.

[0100] 수율 93%; 백색 고체; mp 112-114°C; IR(neat): 3258, 2925, 2680, 1667, 1605, 1454, 1327cm⁻¹; ¹H NMR(CDC1₃): δ 2.78(t, J=5.6Hz, 2H, CH₂Ph), 3.87(t, J=6.0Hz, 2H, NCH₂), 5.99(bs, 1H, NH), 7.09-7.18(m, 5H, Ar-H), 7.26(t, J=7.6Hz, 2H, Ar-H), 7.37-7.49(m, 3H, Ar-H), 7.87(bs, 1H, NH). HRMS calcd for C₁₅H₁₆N₂S m/z 256.1034, found 256.1031.

[0101] **실시예 17** : 하기 화합물 9i(1-페닐-3-(3-페닐프로필)티오우레아)의 제조



[0102]

[0103] 상기 실시예 9에 기재된 반응 조건을 이용하여, 상기 화합물 9i를 페닐프로필아민(화합물 7i)으로부터 수득하였다.

[0104] 수율 97%; 백색 고체; mp 130-132°C; IR(neat): 3252, 3020, 2980, 2857, 1620, 1475, 1370, 1320 cm⁻¹; ¹H NMR(CDC1₃): δ 1.90-1.96(m, 2H, CH₂-), 2.63(t, J=6.0Hz, 2H, CH₂Ph), 3.69(t, J=6.4Hz, 2H, NCH₂-), 5.98(bs, 1H, NH), 7.04-7.16(m, 5H, Ar-H), 7.26 (t, J=8.0Hz, 2H, Ar-H), 7.32(t, J=8.0Hz, 1H, 7.52(t, J=8.0Hz, 2H, Ar-H), 7.79 (bs, 1H, NH). HRMS calcd for C₁₆H₁₈N₂S m/z 270.1191, found 270.1187.

[0105] **실험예**

[0106] **cAMP/단백кина제 A를 통한 멜라닌 생성 억제효과의 측정**

[0107] 알파-멜라노사이트 자극 호르몬을 가한 세포주 멜라노마(melanoma) B16은 cAMP/단백кина제 A의 신호전이를 통하여 멜라닌을 생성한다 (Rasmussen, N., *et al.*, *Neuroendocrinol. Lett.*, 20:265-282, 1999; Scott, M. C., *et al.*, *J. Cell. Sci.* 115:2349-55, 2002). 상기한 모든 합성된 유도체들은 하기 표 1에 나타낸 바와 같이

멜라노마 B16 세포주에서의 멜라닌 형성에 대한 이들의 억제 활성을 테스트하였다. 본 실험예에서 티로시나아제 자체를 이용하지 않은 이유는 이들 억제체가 멜라닌 형성을 감소시키는데 그 목적이 있기 때문이다. 알파-멜라노사이트 자극 호르몬과 함께 상기한 실시예들에서 제조된 화합물들을 동시에 처리한 후 생성된 멜라닌의 양과, 실시예들의 화합물을 처리하지 않은 경우 생성된 멜라닌 양을 비교하여 하기 수식에 의해 멜라닌 생성 저해효과를 계산하였다.

수학식 1

$$\text{억제율(\%)} = \frac{M_i - M_c}{M_c - M_0} \times 100$$

상기 식에서,

M_c 는 알파-멜라노사이트 자극 호르몬만을 첨가한 대조군의 멜라닌 생성 양이고;

M_0 는 알파-멜라노사이트 자극 호르몬을 첨가하지 않고 배양한 세포주의 멜라닌 생성양이며,

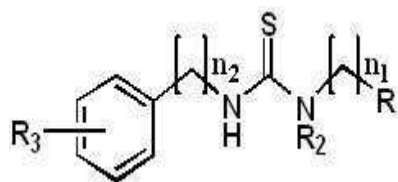
M_i 는 실시예를 통해 수득한 화합물(1a~1h, 9a~9i)과 알파-멜라노사이트 자극 호르몬이 첨가된 시험군의 멜라닌 생성 양을 나타낸다.

보다 구체적으로, 세포주 멜라노마(melanoma) B16을 96-웰 플레이트의 웰당 2,500개씩 분주한 다음 10% 소태반 혈청을 함유한 DMEM 배지에서 37℃, 5% CO₂ 조건에서 24시간 배양하였다. 배양 후 알파-멜라노사이트 자극 호르몬(최종농도 1 nM)과 실시예에서 제조한 유도체(1a~1h, 9a~9i) 각각을 다양한 시료농도(10 μM, 5 μM, 3 μM, 1 μM, 0.5 μM, 또는 0.05 μM)로 동시에 처리하고 3일간 추가로 배양한 다음 배지로 방출된 멜라닌의 양을 파장 405 nm에서의 흡광도 측정을 통하여 정량하였다. 본 발명에 의한 모든 화합물들은 본 실시예의 측정 농도에서 B16 세포의 성장을 억제하지 않아 세포 독성이 없음을 확인할 수 있었다.

10% 소태반 혈청을 함유한 DMEM 배지에서 알파-멜라노사이트 자극 호르몬을 첨가하지 않고 3일간 배양한 세포주 멜라노마(melanoma) B16은 59±1 μg/ml의 멜라닌을 방출하였고, 동일한 배지에 알파-멜라노사이트 자극 호르몬을 첨가하였을 때는 156±2 μg/ml의 멜라닌을 방출하였다.

이하에서는, 하기 표 1을 토대로 하여 본 발명에 이르기까지의 과정과 결과 그리고 세부적인 설명이 제시되어 있다.

표 1

									
화합물	R ₁	R ₂	R ₃	n ₁	n ₂	10 μM 에서의 억제율	3 μM 에서의 억제율	IC ₅₀ (μM)	Clog P
1a	H	H	4-H	0	0	30	-	54.4	0.745 ¹⁾
1b	H	H	4-CH ₃	0	0	83	-	5.5	1.244 ¹⁾
1c	H	H	4-CH ₂ CH ₃	0	0	88	-	4.9	1.213 ¹⁾
1d	H	H	4-C(CH ₃) ₃	0	0	95	-	3.7	2.571 ¹⁾
1e	H	H	4-Cl	0	0	84	-	4	1.764 ¹⁾
1f	H	H	4-OH	0	0	70	-	6.3	0.073 ¹⁾

1g	H	H	4-OCH ₃	0	0	80	-	5.6	0.847 ¹⁾
1h	H	H	3-CH ₃	0	0	78	-	5	1.244 ¹⁾
9a	-Ph	H	H	0	0	88	40	4.5	2.170 ²⁾
9b	-Ph(4-CH ₃)	H	H	0	0	79	24	6.3	2.669 ²⁾
9c	-Ph(4-Cl)	H	H	0	0	>100	47	3.4	3.185 ²⁾
9d	-Ph(4-OCH ₃)	H	H	0	0	59	39	8.2	2.272 ²⁾
9e	-Ph(4-OH)	H	H	0	0	24	10	20.7	1.503 ²⁾
9f	-cyclohexyl	H	H	0	0	>100	62	2.4	2.192 ²⁾
9g	-Ph	H	H	1	0	91	47	4.7	2.649 ²⁾
9h	-Ph	H	H	2	0	>100	87	2.2	2.978 ²⁾
9i	-Ph	H	H	3	0	>100	89	1.8	3.357 ²⁾
코직산								261	-
알부틴								151	-
¹⁾ ClogP 값이 Chemdraw9.0에 의해 계산됨.									
²⁾ ClogP 값이 Chemdraw11.0에 의해 계산됨.									

[0117]

상기 표 1을 통해 알 수 있는 바와 같이, 동일한 실험 모델에서 코직산과 알부틴의 50% 저해 농도 결과는 각각 261 μM 및 151 μM이었으며, 이는 본 발명에 따른 아릴티오우레아 유도체가 억제 효능이 우수함을 알 수 있다. 페닐티오우레아(화합물 1a)는 멜라닌 형성에 대하여 양호한 억제율(10 μM에서 30% 억제율, IC₅₀=54.4 μM, Clog P=0.745)을 보였다. 페닐티오우레아의 페닐 고리에 대한 치환체의 역할을 조사하기 위해, 본 발명자들은 페닐 고리의 다른 위치에 다양한 치환체를 도입시켰다. p-메틸 치환된 유사체(화합물 1b)는 상기한 페닐티오우레아(화합물 1a) 보다 매우 우수한 억제율(10 μM에서 83% 억제율, IC₅₀=5.5 μM, Clog P=1.244)을 보였다. 이 위치에서 부피를 증가시키면서 테스트한 결과, 4-에틸페닐티오우레아(화합물 1c, 10 μM에서 88% 억제율, IC₅₀=4.9 μM, Clog P=1.773), 4-tert-부틸페닐티오우레아(화합물 1d, 10 μM에서 95% 억제율, IC₅₀=3.7 μM, Clog P=2.571) 그리고 4-클로로페닐티오우레아(화합물 1e, 10 μM에서 84% 억제율, IC₅₀=4.0 μM, Clog P=1.764)가 우수한 억제 효능을 보여 주었다. 소수성 또는 주로 전자 공여 그룹의 영향을 조사하기 위해, 본 발명자들은 히드록실 유사체와 메톡시 화합물을 제조하였다. 이들 4-히드록실 유사체(화합물 1f, 10 μM에서 70% 억제율, IC₅₀=6.3 μM, Clog P=0.073)와 4-메톡시 화합물(화합물 1g, 10 μM에서 80% 억제율, IC₅₀=5.6 μM, Clog P=0.847)도 모두 상기 페닐티오우레아(화합물 1a) 보다 현저하게 우수한 억제율을 나타냈다.

[0118]

또한, 상기 표 1에서 확인되는 바와 같이, 티오우레아의 양쪽 아민기에 페닐기가 결합되어 있는 경우, 페닐티오우레아(화합물 1a) 보다 멜라닌 형성에 대해 우수한 억제 효능을 보였다. 즉, 화학식 I의 아릴티오우레아 유도체 화합물의 R₁기가 페닐기(화합물 9a, 10 μM에서 88% 억제율, IC₅₀=4.5 μM, Clog P=2.170)이거나, 상기 R₁기가 치환기를 갖는 페닐기로서, p-톨릴(화합물 9b, 10 μM에서 79% 억제율, IC₅₀=6.3 μM, Clog P=2.669), 클로로페닐(화합물 9c, 10 μM에서 100% 초과 억제율, IC₅₀=3.4 μM, Clog P=3.185), 또는 메톡시페닐(화합물 9d, 10 μM에서 59% 억제율, IC₅₀=8.2 μM, Clog P=2.272)인 경우, 우수한 멜라닌 형성 억제 효능을 보였다.

[0119]

아울러, 상기 화학식 I의 아릴티오우레아 유도체 화합물의 R₁기가 아민의 질소원자와 결합됨에 있어 알킬기가 개재되어 있는 화합물들, 즉, 1-벤질-3-페닐티오우레아(9g, 10 μM에서 91% 억제율, IC₅₀=4.7 μM, Clog P=2.649), 1-페네틸-3-페닐티오우레아(9h, 10 μM에서 87% 억제율, IC₅₀=2.2 μM, Clog P=2.978), 1-페닐-3-(3-페닐프로필)티오우레아(9i, 10 μM에서 89% 억제율, IC₅₀=1.8 μM, Clog P=3.357)과, 상기 R₁기가 사이클로알킬인 화합물, 예컨대, 1-사이클로헥실-3-페닐티오우레아(9f, 10 μM에서 100% 초과 억제율, IC₅₀=2.4 μM, Clog P=2.191)도, 멜

라닌 형성에 대하여 우수한 억제 효능을 나타내었다.

[0120] 제형예 1

[0121] 영양크림의 조제

[0122] 하기 표 2와 같은 조성으로 화합물 1b~1h, 및 9a~9i 중의 하나가 유효성분으로 함유된 영양크림을 통상의 방법에 따라 조제하였다.

표 2

성분명	첨가량 (중량%)
화합물 1b~1h, 및 9a~9i 중 1종	0.5
유동과라핀	5.0
스쿠알란	10.0
글리세린	10.0
밀랍	5.0
글리세틸스테아레이트	2.0
스테아린산	3.0
폴리솔베이트 60	1.5
솔비탄세스퀴스테아레이트	0.3
카르복시폴리머	0.3
방부제, 향, 색소, pH 조절제	적량
정제수	up to 100

[0124] 제형예 2

[0125] 유연화장수의 조제

[0126] 하기 표 3과 같은 조성으로 화합물 1b~1h, 및 9a~9i 중의 하나가 유효성분으로 함유된 유연화장수를 통상의 방법에 따라 조제하였다.

표 3

성분명	첨가량 (중량%)
화합물 1b~1h, 및 9a~9i 중 1종	0.2
초산 토크페롤	5.0
에탄올	10.0
글리세린	5.0
1,3-부틸글리콜	5.0
카르복시폴리머	0.3
방부제, 향, 색소, pH 조절제	적량
정제수	up to 100

[0128] 제형예 3

[0129] 팩의 조제

[0130] 하기 표 4와 같은 조성으로 화합물 1b~1h, 및 9a~9i 중의 하나가 유효성분으로 함유된 팩을 통상의 방법에 따라 조제하였다.

표 4

성분명	첨가량 (중량%)
화합물 1b~1h, 및 9a~9i 중 1종	1.0
폴리비닐알코올	15.0
에탄올	10.0
글리세린	5.0
폴리옥시에틸렌올레일에틸	1.0

방부제, 향, 색소, pH 조절제	적량
정제수	up to 100

[0132] 제형예 4

[0133] 연고의 조제

[0134] 하기 표 5와 같은 조성으로 화합물 1b~1h, 및 9a~9i 중의 하나가 유효성분으로 함유된 연고를 통상의 방법에 따라 조제하였다.

표 5

성분명	첨가량 (중량%)
화합물 1b~1h, 및 9a~9i 중 1종	2.0
디에틸세바케이트	8.0
경납	5.0
폴리옥시에틸렌올레일테르 포스페이트	6.0
파라옥시안식향산에스테르	적량
바셀린	up to 100

[0135] 피부 자극 시험

[0137] 폐쇄 첩포 시험방법으로 건강한 남녀 20명을 대상으로 24시간 동안 상기 제형예 1의 영양크림의 피부자극 정도를 확인한 바, 대상자 모두에게서 특이한 자극반응이 발생되지 않았다.