



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0099189
(43) 공개일자 2007년10월09일

(51) Int. Cl.

A61K 31/122(2006.01) A61P 17/00(2006.01)

A61K 8/49(2006.01)

(21) 출원번호 10-2006-0030254

(22) 출원일자 2006년04월03일

심사청구일자 2006년04월03일

(71) 출원인

경상대학교산학협력단

경상남도 진주시 가좌동 900

(72) 발명자

박기훈

경남 진주시 초전동 현대아파트 101동 1402호

김진효

경남 마산시 자산동 326-9번지

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이원희

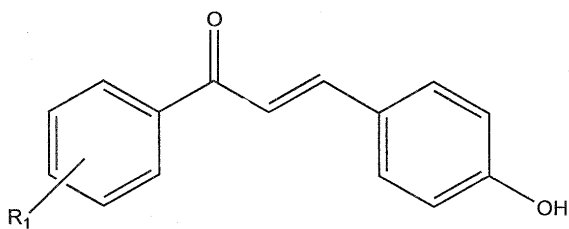
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 타이로시나아제 및 멜라닌 생성 저해 활성을 갖는 칼콘유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을유효 성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물

(57) 요약

본 발명은 타이로시나아제 및 멜라닌 생성 저해 활성을 갖는 칼콘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 의하면, 우수한 타이로시나아제 활성 및 멜라닌 생성 저해 활성을 갖는 화학식 1의 칼콘 유도체들은 여러가지 용도의 의약 및 화장품에 유용하게 사용될 수 있다.

<화학식 1>



(상기 식에서, R₁은 명세서 내에 정의되어 있는 바와 같다)

(72) 발명자

서우덕

경남 진주시 신안동 420-5번지

류영배

경남 남해군 남면 죽전리 617번지

류형원

경남 마산시 구산면 수정리 대신빌라 401호

이우송

대전광역시 유성구 어은동 한빛아파트 106-901호

갈상완

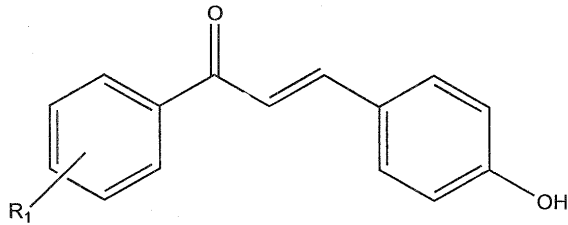
경남 진주시 평거동 192-1 들말한보아파트 105동
1505호

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 타이로시나아제 및 멜라닌 생성 저해 활성을 갖는 칼콘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 조성물.

<화학식 1>



(상기 식에서, R₁은 수소, 히드록시기 또는 R₂NH-이고, R₂는 수소 또는 R₃SO₂- 이고, R₃는 C₁~C₅의 알킬, 또는 수소, 할로젠, 니트로 및 C₁~C₅의 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1 이상의 치환기를 갖는 C₆~C₁₀의 아틸이다.)

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 R₃는 메틸, 벤질, p-톨루일, p-니트로페닐 및 p-플루오로페닐로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 타이로시나아제 및 멜라닌 생성 저해 활성을 갖는 칼콘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물의 치환기 R₁은 3번 또는 4번 위치 중 어느 하나의 위치에 치환되는 것을 특징으로 하는 타이로시나아제 및 멜라닌 생성 저해 활성을 갖는 칼콘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 화학식 1로 표시되는 칼콘 유도체는

- 1) 4'-(p-톨루엔설폰아미노)-4-하이드록시칼콘;
- 2) 4'-(p-톨루엔설폰아미노)-3,4-디하이드록시칼콘;
- 3) 4'-(벤젠설폰아미노)-4-하이드록시칼콘;
- 4) 4'-(메탄설폰아미노)-4-하이드록시칼콘;
- 5) 4'-(p-플루오로벤젠설폰아미노)-4-하이드록시칼콘;
- 6) 4'-(p-니트로벤젠설폰아미노)-4-하이드록시칼콘;
- 7) 3'-아미노-4-하이드록시칼콘;
- 8) 3'-(p-톨루엔설폰아미노)-4-하이드록시칼콘;
- 9) 4-하이드록시칼콘; 및
- 10) 4',4-디하이드록시칼콘으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 타이로시나아제 및 멜라닌 생성 저해 활성을 갖는 칼콘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 피부 미백 조성물.

청구항 5

제1항의 화학식 1의 칼콘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 타이로시나아제 활성 저해제.

청구항 6

제1항의 화학식 1의 칼콘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 멜라닌 생성 저해제.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- <1> 본 발명은 타이로시나아제 및 멜라닌 생성 저해 활성을 갖는 칼콘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물에 관한 것이다.
- <2> 칼콘은 식용 식물에 풍부하게 존재하는 물질로서, 플라보노이드 또는 이소플라보노이드의 전구체로 알려져 있다. 이러한 칼콘의 유도체들은 식물의 황색 색소의 구성성분으로 식물의 색깔에 영향을 줄 뿐만 아니라, 유해한 자외선으로부터 식물을 보호하는 역할을 하기도 한다(천연물화학 연구법, 우원식 저, 서울대학교 출판부). 칼콘 유도체들은 국화과 식물인 코레옵시스(Coreopsis) 속에 많이 존재한다. 대표적인 칼콘류에는 2',6'-디히드록시-4'-메톡시칼콘, 카르타민 등이 있으며, 이들은 계피, 홍화, 후추 등과 같은 식물에 함유되어 있다. 디히드로 칼콘은 주로 장미과 및 진달래과 식물에 함유되어 있고, 사과에 존재하는 디히드로 칼콘인 플로리드진(phloridzin)은 사과의 병에 대한 저항력과 관계가 있다. 이러한 칼콘 유도체는 예를 들면, 향원충성(Liu, M. et. al., J. Med. Chem. **2001**, 44, 4443), 항염증성(Babu, M. A., et. al., Bioorg. Med. Chem. **2003**, 10, 4035), 면역조절(Barfod, L., et. al., Int. Immunopharmacol. **2002**, 2, 545), 일산화질소 저해(Rojas, J., et. al., Bioorg. Med. Chem. Lett. **2002**, 12, 1951), 항암(Kumar, S. K., et. al., J. Med. Chem. **2003**, 46, 2813), 항HIV(Artico, M., et. al., J. Med. Chem. **1998**, 41, 3984) 활성 등 매우 다양한 약물학적 활성을 나타내는 것으로 잘 알려져 있다. 나아가, Nerya 등에 의하면 일부 칼콘계 화합물들이 타이로시나아제 저해 활성을 갖는 것으로 보고된 바 있다.
- <3> 상기 타이로시나아제(EC. 1. 14. 18. 1)는 식물, 미생물, 포유동물 세포에서 일어나는 멜라닌 생합성의 가장 중요한 효소이다. 이 효소는 타이로신으로부터 도파(dopa), 도파퀴논(dopaquinone)으로 변환되고 도파크롬(dopachrome)을 거쳐 갈색 또는 검은색의 멜라닌을 생성한다(G. Prota, **1992**, Melanins and Melanogenesis). 이렇게 생성된 멜라닌은 피부에 존재하여 자외선 등으로부터 신체를 보호하는 중요한 기능을 수행한다. 그러나, 멜라닌의 과잉생산은 기미, 주근깨 등을 유발함으로써 피부노화를 촉진하며, 피부암을 유발하는 원인 중에 하나로 알려져 있다. 따라서 멜라닌생성 저해제는 미백화장품 소재뿐만 아니라 부분색소침착(localized hyperpigmentation) 치료제로도 활용되고 있다(K, Maeda, J. Soc. Cosmet. Chem., **1991**, 42, 361).
- <4> 종래, 멜라닌 생성 저해제로서 파라메톡시페놀(*p*-methoxy phenol), 하이드로퀴논(hydroquinone), 코직산(kojic acid) 또는 알부틴(arbutin) 등이 사용되어 왔다. 그러나, 이들 저해제들은 활성이 약하거나 색소 세포를 변형 시킴으로써 세포 본래의 기능을 손상시키는 등의 부작용을 나타내는 문제가 있다.
- <5> 또한, 멜라닌 생성을 저해하기 위한 목적으로 비타민 C 및 그 유도체 등이 사용되어 왔다. 그러나, 이들 역시 타이로시나아제 저해 활성이 낮다는 문제가 있다. 따라서, 세포독성이 낮고, 소량에 의해서도 타이로시나아제 활성 및 멜라닌 생성을 저해할 수 있는 새로운 저해제의 개발이 시급한 실정이다(Chen, J., J. Agric. Food., **1991**, 39).
- <6> 이에, 본 발명자들은 상술한 종래의 멜라닌 생성 저해제보다 우수한 타이로시나아제 활성 또는 멜라닌 생성을 저해할 수 있는 물질을 합성하기 위해 노력하던 중, 칼콘 유도체가 우수한 저해제로서의 작용할 수 있음을 알아내고, 본 발명을 완성하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

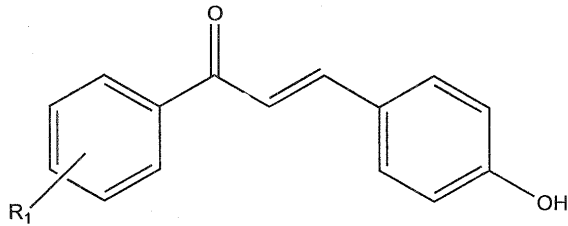
- <7> 본 발명의 목적은 타이로시나아제 및 멜라닌 생성 저해 활성을 갖는 칼콘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가

능한 염을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물을 제공하는 데 있다.

발명의 구성 및 작용

- <8> 상기의 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 타이로시나아제 및 멜라닌 생성 저해 활성을 갖는 칼콘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물을 제공한다.
- <9> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- <10> 본 발명의 조성물은 하기 화학식 1로 표시되는 칼콘 유도체를 유효성분으로 함유한다.

화학식 1



- <11>
- <12> 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 칼콘 유도체에 있어서,
- <13> R_1 은 수소, 히드록시기 또는 R_2NH- 이고;
- <14> 상기 R_2 는 수소 또는 R_3SO_2- 이고;
- <15> 상기 R_3 는 $C_1\sim C_5$ 의 알킬, 또는 수소, 할로젠, 니트로 및 $C_1\sim C_5$ 의 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1 이상의 치환기를 갖는 $C_6\sim C_{10}$ 의 아릴이며, 바람직하게는 이들 중에서 메틸, 벤질, p-톨루일, p-니트로페닐 또는 p-플루오로페닐이다.
- <16> 또한, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 칼콘 유도체에 있어서, 치환기 R_1 은 3번 또는 4번 위치 중 어느 하나의 위치에 치환되는 것이 바람직하다.
- <17> 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 타이로시나아제 및 멜라닌 생성 저해 활성을 갖는 칼콘 유도체의 바람직한 예는 하기와 같다:
- <18> 1) 4'-(p-톨루엔설폰아미노)-4-하이드록시칼콘;
- <19> 2) 4'-(p-톨루엔설폰아미노)-3,4-디하이드록시칼콘;
- <20> 3) 4'-(벤젠설폰아미노)-4-하이드록시칼콘;
- <21> 4) 4'-(메탄설폰아미노)-4-하이드록시칼콘;
- <22> 5) 4'-(p-플루오로벤젠설폰아미노)-4-하이드록시칼콘;
- <23> 6) 4'-(p-니트로벤젠설폰아미노)-4-하이드록시칼콘;
- <24> 7) 3'-아미노-4-하이드록시칼콘;
- <25> 8) 3'-(p-톨루엔설폰아미노)-4-하이드록시칼콘;
- <26> 9) 4-하이드록시칼콘; 및
- <27> 10) 4',4-디하이드록시칼콘
- <28> 본 발명에 따른 상기 화학식 1의 칼콘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 함유함으로써, 본 발명의 조성물은 타이로신으로부터 멜라닌을 생성하는 타이로시나아제의 활성을 저해하고, 결과적으로 멜라닌 생성을 저해할 수 있다.
- <29> 구체적으로, 본 발명에 따른 상기 화학식 1의 칼콘 유도체는 종래, 타이로시나아제 활성 및 멜라닌 생성 저해제

로 사용되고 있는 파라메톡시페놀, 코직산, 알부틴 등과 비교할 때, 우수한 저해 효과를 나타내는 것으로 실험적으로 증명되었다. 따라서, 본 발명의 화학식 1의 화합물은 타이로시나아제 및 멜라닌 생성 저해제로 사용될 수 있다.

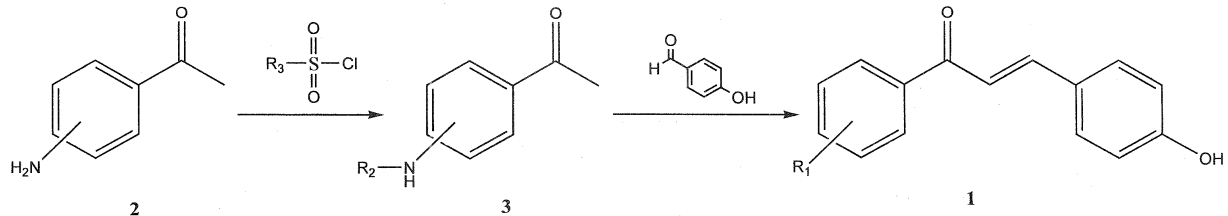
<30> 또한, 본 발명에 따른 상기 화학식 1의 칼콘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 조성물은 갈색 또는 검은색의 멜라닌 생성을 저해함으로써, 피부 미백제 또는化粧료의 조성물로서 유용하게 사용될 수 있다.

<31> 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 칼콘 유도체는 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 사용할 수 있다. 상기 염으로는 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 상기 화학식 1로 표시되는 칼콘 유도체는 당해 기술분야에서 통상적인 방법에 따라 약학적으로 허용되는 산부가염으로 형성될 수 있다. 유리산으로는 무기산과 유기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 브롬산, 황산, 인산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 구연산, 초산, 젖산, 말레산, 푸마린산, 글루콘산, 메탄설폰산, 아세트산, 글리콘산, 석신산, 타타르산, 4-톨루엔설폰산, 갈록투론산, 엠본산, 글루탐산 또는 아스파르트산 등을 사용할 수 있다. 바람직하게, 무기산으로는 염산, 유기산으로는 메탄설폰산을 사용할 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 칼콘 유도체는 약학적으로 허용가능한 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물, 용매화물을 모두 포함할 수 있다.

<32> 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 칼콘 유도체는 하기의 제조방법에 의해 제공되거나 또는 상업적으로 제조되어 시판되는 것을 사용할 수 있다. 상기 칼콘 유도체의 제조방법을 살펴보면 다음과 같다.

<33> 본 발명에 따른 상기 화학식 1의 칼콘 유도체는 하기 반응식 1로 표시되는 바와 같이, 화학식 2의 화합물을 적당한 염기 존재하에 설포닐클로라이드(R_3SO_2Cl)와 반응시켜 화학식 3의 화합물을 제조한 후(단계 1), 이렇게 제조된 화학식 3의 화합물을 적당한 촉매 존재하에 하이드록시벤즈알데히드와 반응시킴으로써, 화학식 1의 칼콘 유도체를 제조할 수 있다.

반응식 1



<34> (상기 식에서, R_1 , R_2 및 R_3 는 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다)

<36> 이를 단계별로 분설하면 다음과 같다.

<37> **단계 1** : 단계 1에서 사용되는 상기 염기로는 피리딘, 루티딘 등과 같은 방향족 아민, 또는 트리에틸아민, 트리프로필아민, N-메틸모폴린 등과 같은 3차 아민 등을 사용할 수 있으며, 그 중에서도 피리딘을 사용하는 것이 더욱 바람직하다. 이때, 반응의 용매로는 클로로포름, 디클로로메탄 등을 사용할 수 있으며, 그 중에서도 디클로로메탄을 사용하는 것이 더욱 바람직하다. 나아가, 상기 반응은 실온에서 1~24시간 동안 수행된다. 이러한 방법에 의해 제조된 화합물(3)은 결정성 화합물로 생성될 수 있으며, 이들 화합물은 용매의 극성차이를 이용한 재결정 방법과 같은 통상적인 기술로 분리될 수 있다.

<38> **단계 2** : 본 단계에서는 상기 단계 1에서 제조된 화합물(3)을 적당한 촉매, 예를 들면, 황산을 사용할 수 있다. 단계 2의 반응용매로는 메탄올 또는 에탄올 등과 같은 알코올을 사용하며, 상기 반응은 60~80 °C의 온도에서, 바람직하게는 70 °C의 온도에서 5~6시간 동안 수행되도록 한다. 이러한 방법에 의해 본 발명의 화학식 1의 칼콘 유도체를 얻을 수 있으며 이때, 부생성물이 함께 얻어질 수도 있다. 이러한 경우, 이들 혼합물들은 컬럼크로마토그래피와 같은 통상적인 분리방법에 의해 분리될 수 있다.

<39> 본 발명에 따른 피부 미백용 조성물은 의약품으로 직접 사용하거나, 화장품, 식품 등에 함유되어 피부 질환 치료 및 피부 미백 효과를 발현 또는 식품의 갈변을 방지하게 된다.

<40> 본 발명의 피부 미백용 조성물을 의약품으로 사용하는 경우, 상기 화학식 1로 표시되는 칼콘 유도체 또는 이의

약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 피부 미백용 조성물은 임상 투여 시에 하기의 다양한 경구 또는 비경구 투여 형태로 제제화되어 투여될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

<41> 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조된다. 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 본 발명의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스 또는 락토스 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제에는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 포함되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

<42> 본 발명의 화합물의 인체에 대한 투여량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여 형태, 건강 상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있다. 구체적으로, 몸무게가 70 kg인 성인 환자를 기준으로 할 때, 일반적으로 0.1~1000 mg/일이고, 바람직하게는 1~500 mg/일이다. 또한, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정시간 간격으로 1일 1회 내지 수 회로 분할 투여할 수도 있다.

<43> 또한, 본 발명의 피부 미백용 조성물을 화장품으로 사용하는 경우, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 화장수, 크림, 에센스, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩 등과 같은 기초제품 화장료; 바디 로션, 바디 오일, 바디 젤 등과 같은 바디 제품 화장료; 화운데이션, 립스틱, 마스크라, 메이크업 베이스 등과 같은 색조 제품 화장료; 샴푸, 린스, 헤어컨디셔너, 헤어젤 등과 같은 두발제품 화장료 등에 화장료의 건조 중량에 대하여 0.01 ~ 20.0 중량%의 함량으로 배합하여 사용할 수 있다.

<44> 또한, 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 식료품에 사용하는 경우, 각종 식료품의 건조 중량에 대하여 0.01 ~ 20.0 중량%의 함량으로 배합하여 사용할 수 있다.

<45> 이하, 본 발명을 제조에 및 실시예에 의해 더욱 상세히 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

<46> <제조예 1> 4'-(p-톨루엔설폰닐아미노)-4-하이드록시칼콘의 제조

<47> 단계 1: 4-p-톨루엔설폰닐아미노아세트페논의 제조

<48> 4-아미노아세트페논(3.06 g, 22.6 mmol)과 p-톨루엔설폰닐크로라이드(5.18 g, 27.2 mmol)를 디클로로메탄(200 ml)에 희석시킨 후, 피리딘 용매(2.20 ml, 27.2 mmol)에 넣고 3시간 동안 실온에서 교반시켰다. 상기 반응 혼합용액을 포화탄산수소나트륨으로 pH 8이 될 때까지 세척하였다. 수용액 층을 디클로로메탄(100 ml)으로 3회 추출하였다. 유기층을 모두 수거하여 소듐 설페이트로 건조시킨 후, 감압 농축하였다. 반응 혼합물을 디클로로메탄, 디에틸에테르, 헥산 혼합 용매에서 재결정하여 목적 화합물(6.28 g, 96 %)을 얻었다.

<49> ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) d 2.41 (3H, s), 2.55 (3H, s), 7.09 (1H, s), 7.16 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.28 (2H, m), 7.75 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.87 (2H, d, $J = 8.6$ Hz)

<50> 단계 2: 4'-(p-톨루엔설폰닐아미노)-4-하이드록시칼콘의 제조

<51> 상기 단계 1에서 제조된 4-p-톨루엔설폰닐아미노아세트페논(2.50 g, 8.6 mmol)과 4-하이드록시벤즈알데히드(1.42 g, 11.7 mmol)를 메탄올(100 ml)에 녹인 후, 황산(2 ml) 존재하에 실온에서 상기 반응 혼합용액을 8시간 동안 환류시켰다. 반응 용매를 감압 농축한 다음, 에틸아세테이트(150 ml)를 첨가하여 녹인 후, 포화탄산수소나트륨으로 pH 8이 될 때까지 세척하였다. 수용액 층을 에틸아세테이트(100 ml)로 3회 추출하였다. 유기층을 모두 수거하여 소듐 설페이트로 건조시킨 후, 감압 농축하였다. 상기 반응 혼합물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피에 의해 분리하고, 목적화합물(노란색 분말, 2.9 g, 94 %)을 얻었다.

<52> 녹는점 : 106 ~ 107 °C

<53> ^1H NMR (300 MHz; MeOD) d 2.25 (3H, s), 6.82 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.23 (4H, m), 7.42 (1H, d, $J = 15.5$ Hz), 7.51 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.66 (1H, d, $J = 15.5$ Hz), 7.73 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.90 (2H, dd, $J_1 = 8.7$, $J_2 = 2.0$ Hz)

- <54> HERIMS m/z 393.1035 [M^+] (calcd for $C_{22}H_{19}NO_4S$, 393.1034)
- <55> <제조예 2> 4'-아미노-4-하이드록시칼콘의 제조
- <56> 4-p-톨루엔설폰아미노아세트페논 대신 4-아미노아세트페논을 사용한 것을 제외하고는 상기 제조예 1의 단계 2에서와 동일한 방법에 의해 목적화합물(분홍색 분말, 3.53 g, 80%)을 얻었다.
- <57> 녹는점 : 80 ~ 81 °C
- <58> 1H NMR (300 MHz; MeOD) d 6.44 (2H, dd, $J_1 = 6.9$, $J_2 = 1.9$ Hz), 6.85 (2H, dd, $J_1 = 6.9$, $J_2 = 1.8$ Hz), 7.55 (3H, m), 7.68 (1H, d, $J = 15.5$ Hz), 7.91 (2H, dd, $J_1 = 7.9$, $J_2 = 2.0$ Hz)
- <59> HERIMS m/z 239.0946 [M^+] (calcd for $C_{15}H_{13}NO_2$, 239.0944)
- <60> <제조예 3> 4'-벤젠설폰아미노-4-하이드록시칼콘의 제조
- <61> 제조예 1의 단계 1에서 p-톨루엔설폰아미노클로라이드 대신 벤젠설폰아미노클로라이드를 사용한 것을 제외하고는 상기 제조예 1에서와 동일한 방법에 의해 목적화합물(노란색 분말, 2.85 g, 80%)을 얻었다.
- <62> 녹는점 : 98 ~ 99 °C
- <63> 1H NMR (300 MHz; MeOD) d 6.84 (1H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.27(2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.55 (6H, m), 7.71 (1H, d, $J = 15.5$ Hz), 7.88 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.96 (2H, d, $J = 8.7$ Hz)
- <64> HERIMS m/z 379.0878 [M^+] (calcd for $C_{21}H_{17}NO_4S$, 379.0875)
- <65> <제조예 4> 4'-메탄설폰아미노-4-하이드록시칼콘의 제조
- <66> 제조예 1의 단계 1에서 p-톨루엔설폰아미노클로라이드 대신 메탄설폰아미노클로라이드를 사용한 것을 제외하고는 상기 제조예 1에서와 동일한 방법에 의해 목적화합물(노란색 분말, 3.04 g, 82%)을 얻었다.
- <67> 녹는점 : 85 ~ 86 °C
- <68> 1H NMR (300 MHz; MeOD) d 3.08 (3H, s), 6.86 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.37 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.58 (1H, d, $J = 15.5$ Hz), 7.62 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.75 (1H, d, $J = 15.4$ Hz), 8.07 (2H, d, $J = 8.8$ Hz).
- <69> HERIMS m/z 317.0722 [M^+] (calcd for $C_{16}H_{15}NO_4S$, 317.0720).
- <70> <제조예 5> 4'-(p-플루오로벤젠설폰아미노)-4-하이드록시칼콘의 제조
- <71> 제조예 1의 단계 1에서 p-톨루엔설폰아미노클로라이드 대신 p-플루오로벤젠설폰아미노클로라이드를 사용한 것을 제외하고는 상기 제조예 1에서와 동일한 방법에 의해 목적화합물(갈색 분말, 2.77 g, 82%)을 얻었다.
- <72> 녹는점 : 101 ~ 102 °C
- <73> 1H NMR (300 MHz; MeOD) d 6.87 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.28 (4H, m), 7.59 (1H, d, $J = 15.4$ Hz), 7.68 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.89 (1H, d, $J = 15.5$ Hz), 7.91 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.96 (2H, dd, $J_1 = 8.6$)
- <74> HERIMS m/z 397.0784 [M^+] (calcd for $C_{21}H_{16}FNO_4S$, 397.0783)
- <75> <제조예 6> 4'-(p-니트로벤젠설폰아미노)-4-하이드록시칼콘의 제조
- <76> 제조예 1의 단계 1에서 p-톨루엔설폰아미노클로라이드 대신 p-니트로벤젠설폰아미노클로라이드를 사용한 것을 제외하고는 상기 제조예 1에서와 동일한 방법에 의해 목적화합물(노란색 분말, 2.81 g, 85%)을 얻었다.
- <77> 녹는점 : 90 ~ 91 °C
- <78> 1H NMR (300 MHz; MeOD) d 6.72 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.14 (4H, m), 7.32 (1H, d, $J = 15.5$ Hz), 7.41 (2H,

d, $J = 8.6$ Hz), 7.54 (1H, d, $J = 15.5$ Hz), 7.62 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.80 (2H, dd, $J_1 = 8.7$, $J_2 = 2.0$ Hz)

<79> HERIMS m/z 424.0729 [M^+] (calcd for $C_{21}H_{16}N_2O_6S$, 424.0727).

<80> <제조예 7> 3'-아미노-4-하이드록시칼콘의 제조

<81> 4-p-톨루엔설폰닐아미노아세트페논 대신 3-아미노아세트페논을 사용한 것을 제외하고는 상기 제조예 1의 단계 2에서와 동일한 방법에 의해 목적화합물(흰색 분말, 3.63 g, 82%)을 얻었다.

<82> 녹는점 : 80 ~ 81 °C

<83> 1H NMR (300 MHz; MeOD) d 6.56 (1H, m), 6.68 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 6.77 (3H, m), 7.13 (3H, m), 7.27 (1H, m), 7.75 (2H, dd, $J_1 = 8.0$, $J_2 = 1.5$ Hz)

<84> HERIMS m/z 239.0946 [M^+] (calcd for $C_{15}H_{13}NO_2$, 239.0945)

<85> <제조예 8> 3'-(p-톨루엔설폰닐아미노)-4-하이드록시칼콘의 제조

<86> 상기 제조예 1의 단계 1에서 4-아미노아세트페논 대신 3-아미노아세트페논을 사용한 것을 제외하고는 상기 제조예 1에서와 동일한 방법에 의해 목적화합물(노란색 분말, 2.79 g, 82%)을 얻었다.

<87> 녹는점 : 184 ~ 185 °C

<88> 1H NMR (300 MHz; MeOD) d 2.35 (3H, s), 6.86 (2H, dd, $J_1 = 6.8$, $J_2 = 1.9$ Hz), 7.29 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.37 (3H, m), 7.58 (2H, m), 7.69 (5H, m)

<89> HERIMS m/z 393.1035 [M^+] (calcd for $C_{22}H_{19}NO_4S$, 393.1033)

<90> <제조예 9> 4-하이드록시칼콘의 제조

<91> 4-p-톨루엔설폰닐아미노아세트페논 대신 아세트페논을 사용한 것을 제외하고는 상기 제조예 1의 단계 2에서와 동일한 방법에 의해 목적화합물(노란색 분말, 3.96 g, 85%)을 얻었다.

<92> 녹는점 : 187 ~ 188 °C

<93> 1H NMR (300 MHz; MeOD) d 6.86 (2H, dd, $J_1 = 6.70$ Hz, $J_2 = 1.8$ Hz), 7.49-7.64 (6H, m), 7.75 (1H, d, $J = 15.5$ Hz), 8.04 (2H, m)

<94> HERIMS m/z 224.0837 [M^+] (calcd for $C_{15}H_{12}O_2$, 224.0837).

<95> <제조예 10> 4',4-디하이드록시칼콘의 제조

<96> 4-p-톨루엔설폰닐아미노아세트페논 대신 4-하이드록시아세트페논을 사용한 것을 제외하고는 상기 제조예 1의 단계 2에서와 동일한 방법에 의해 목적화합물(노란색 분말, 3.57 g, 81%)을 얻었다.

<97> 녹는점 : 238 ~ 239 °C

<98> 1H NMR (300 MHz; MeOD) d 6.85 (2H, dd, $J_1 = 8.64$ Hz, $J_2 = 2.0$ Hz), 6.90 (2H, dd, $J_1 = 6.83$, $J_2 = 2.0$ Hz), 7.52 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 7.53 (2H, d, $J = 8.9$ Hz), 7.70 (1H, d, $J = 15.5$ Hz), 7.98 (2H, d, $J_1 = 6.8$ Hz, $J_2 = 2.0$ Hz)

<99> HERIMS m/z 240.0786 [M^+] (calcd for $C_{15}H_{12}O_3$, 240.0786).

<100> 하기 표 1에는 상기 제조예 1~10의 칼콘 유도체의 구조식을 나타내었다.

【표 1】

제조예	구조식	제조예	구조식
1		6	
2		7	
3		8	
4		9	
5		10	

본 발명의 화학식 1의 칼콘 유도체에 의한 타이로시나아제 및 멜라닌 생성 저해 활성을 측정하기 위해 하기의 실험을 실시하였다.

<실시예 1> 타이로시나아제 저해 활성 측정

본 발명의 칼콘 유도체에 의한 타이로시나아제 저해 활성을 알아보기 위하여 머쉬룸 타이로시나아제(mushroom tyrosinase)를 이용하였다. 기질로서는 멜라닌 생합성의 전구체인 타이로신을 사용하여, 타이로시나아제에 의한 기질의 산화과정에서 생성되는 도파와 도파퀴논의 생성량의 흡광도를 이용하여 타이로시나아제 활성을 조사하였다. (Y. Ishihara, *J. Antibiotics*, 44, 25 (1991))

머쉬룸 타이로시나아제(mushroom tyrosinase)를 96 웰 플레이트에 250 unit/ml 수준으로 인산완충용액(Potassium phosphate buffer, 0.075M, pH 6.5)으로 녹여 100 μ l로 정량하였다. 다음으로 기질인 타이로신을 인산 완충용액에 1.5 mM 농도로 녹여 100 μ l 정량하고, 제조예 1~10에서 제조된 칼콘 유도체 및 코직산을 용매인 50% DMSO에 각각 녹여 50 μ l 정량한 후, 37 $^{\circ}$ C에서 20분간 반응시켜 490 nm에서 흡광도를 측정하고, 하기 수화식 1에 의해 타이로시나아제의 저해율을 구하였다. 상기 제조예 1~10에서 제조된 칼콘 유도체의 타이로시나아제에 대한 IC₅₀값을 하기 표 2에 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = \frac{(A - B)}{A} \times 100$$

A : 저해제가 첨가된 것의 490 nm에서의 흡광도 값

B : 저해제가 첨가되지 않은 것의 490 nm에서의 흡광도 값

【표 2】

<110>

칼콘 유도체	IC ₅₀ (μ M)
제조예 1	4.5
제조예 2	11.8
제조예 3	14.1
제조예 4	18.9
제조예 5	16.3
제조예 6	18.4
제조예 7	15.5
제조예 8	10.4
제조예 9	14.6
제조예 10	18.5
비교예(코직산)	21.3

<111>

표 2에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 제조예 1~10의 칼콘 유도체는 비교예로 사용된 코직산보다도 우수한 IC₅₀값을 나타냄으로써, 타이로시나아제 저해 활성이 우수함을 알 수 있다.

<112>

<실시예 2> 멜라닌 생성 저해 활성 측정

<113>

본 발명의 칼콘계 유도체의 멜라닌 생성 저해 활성을 알아보기 위하여 B-16 멜라노마를 이용하여 미백효과를 측정하였다. 블랙 마우스(black mouse)에서 유래된 B-16 멜라노마를 10% FBS가 함유된 DMEM으로 6 웰 플레이트에 2×10^4 cells/well의 농도로 각 웰에 2 ml씩 첨가하고 5% CO₂, 37 °C 조건하에서 24 시간 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고 10% FBS, 0.2 mM a-MSH와 2 mM theophylline이 함유된 DMEM으로 교체한 다음, 상기 제조예 1~10의 칼콘계 화합물을 동일 배지에 적당량 희석한 후 각각 첨가하고, 5% CO₂, 37 °C 조건하에서 세포가 약 80% 이상 될 때까지 배양하였다. 배양 후 배지를 제거한 다음 PBS로 세척하고 트립신으로 처리하여 세포 pellet을 회수하였다. 회수된 pellet을 1.5 ml 에펜도르프 튜브로 옮겨 5,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 상등액을 제거하였다. 상등액이 제거된 pellet을 60 °C 항온기에서 24시간 건조시킨 후, 1N NaOH를 첨가하여 세포 내의 멜라닌을 용해시켰다. 용해된 멜라닌을 PBS로 적당량 희석하여 490 nm에서 흡광도를 측정하여 멜라닌 저해율을 상기 수학적 식 1을 이용하여 구하였다(T. Mosmann, J. Immunol. Methods, **1983**, 65, 55; P. R. Gorden, J. Invest. Dermatol., **1989**, 92, 565). 비교예로는 알부틴(albutin)을 사용하여 동일한 실험을 수행하였다. 멜라닌 생성 저해율이 50%에 달하는 IC₅₀값을 하기 표 3에 나타내었다.

【표 3】

<114>

칼콘 유도체	IC ₅₀ (μ M)
제조예 1	14.8
제조예 2	12.5
제조예 3	20.6
제조예 4	ND ^a
제조예 5	23.7
제조예 6	20.3
제조예 7	ND
제조예 8	25.6
제조예 9	ND
제조예 10	ND
비교예(알부틴)	92

- <115> ^aND : 화합물의 세포독성이 50% 이상 나타나므로 B-16 멜라노마 내의 멜라닌 생성 저해 활성에 관한 실험을 실시하지 않았음을 나타낸다.
- <116> 표 3에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 제조예 1, 2, 3, 5, 6, 및 8의 칼콘 유도체는 알부틴에 비하여 약 4-8배의 우수한 IC₅₀값을 나타냄으로써, 멜라닌 생성을 저해하는 피부 미백용 조성물로 유용하게 사용할 수 있음을 알 수 있다.
- <117> 이하, 본 발명의 조성물을 위한 제제예를 예시한다.
- <118> 1. 산제의 제조
- <119> 화학식 1의 칼콘 유도체 2 g
- <120> 유당 1 g
- <121> 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.
- <122> 2. 정제의 제조
- <123> 화학식 1의 칼콘 유도체 100 mg
- <124> 옥수수전분 100 mg
- <125> 유 당 100 mg
- <126> 스테아린산 마그네슘 2 mg
- <127> 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.
- <128> 3. 캡슐제의 제조
- <129> 화학식 1의 칼콘 유도체 100 mg
- <130> 옥수수전분 100 mg
- <131> 유 당 100 mg
- <132> 스테아린산 마그네슘 2 mg
- <133> 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.
- <134> 4. 주사액제의 제조
- <135> 화학식 1의 칼콘 유도체 10 µg/ml
- <136> 묽은 염산 BP pH 3.5로 될 때까지
- <137> 주사용 염화나트륨 BP 최대 1 ml
- <138> 적당한 용적의 주사용 염화나트륨 BP 중에 화학식 1의 칼콘 유도체를 용해시키고, 생성된 용액의 pH를 묽은 염산 BP를 사용하여 pH 3.5로 조절하고, 주사용 염화나트륨 BP를 사용하여 용적을 조절하고 충분히 혼합하였다. 용액을 투명유리로 된 5 ml 타입 I 앰플 중에 충전시키고, 유리를 용해시킴으로써 공기의 상부 격자하에 봉입시키고, 120 °C에서 15분 이상 오토클레이브시켜 살균하여 주사액제를 제조하였다.
- <139> 5. 연고제의 제조
- <140> 화학식 1의 칼콘 유도체 5 g
- <141> 세틸팔미테이트 20 g
- <142> 세탄올 40 g
- <143> 스테아릴알콜 40 g
- <144> 미리스테인이소프로필 80 g
- <145> 모노스테아린산 소르비탄 20 g

<146>	폴리솔베이트	60 g
<147>	파라옥시안식향산 프로필	1 g
<148>	파라옥시안식향산 메틸	1 g
<149>	인산 및 정제수	적당량
<150>	<u>6. 화장료의 제조</u>	
<151>	화학식 1의 칼콘 유도체	10.0 mg
<152>	글리세린	3.0 mg
<153>	EDTA	0.05 mg
<154>	벤조페논-9	0.04 mg
<155>	카르복시비닐 폴리머	0.2 mg
<156>	트리에탄올 아민	0.18 mg
<157>	옥시도테세스-25	0.6 mg
<158>	글리세틸모노스테아레이트	1.0 mg
<159>	방부제	0.01 mg
<160>	향료	0.01 mg
<161>	정제수	잔량

발명의 효과

- <162> 본 발명에 의하면, 우수한 타이로시나아제 및 멜라닌 생성 저해 활성을 갖는 화학식 1의 칼콘 유도체들은 여러가지 용도의 의약 및 화장품에 유용하게 사용될 수 있다.