



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년06월07일
 (11) 등록번호 10-1623702
 (24) 등록일자 2016년05월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 405/06 (2006.01) *A61K 31/41* (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01) *C07D 405/02* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0141636
 (22) 출원일자 2014년10월20일
 심사청구일자 2014년10월20일

(65) 공개번호 10-2016-0046136
 (43) 공개일자 2016년04월28일

(56) 선행기술조사문헌
 STN 검색(CAS Registry Number 1448195-21-8 및 1448195-20-7, 2013.08.12. 데이터베이스 입력)*
 Synthesis of Novel Compounds as New Potent Tyrosinase Inhibitors, Biomed Research International, Volume 2013, Article ID 207181, 7 pages
 Flavone 유도체들의 Tyrosinase 저해활성화 반응에서 Hydroxyl 치환기들의 역할, J. Appl. Biol. Chem. 54(1), 56-62 (2011)
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
 한밭대학교 산학협력단
 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

(72) 발명자
 박정호
 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
 장미
 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
 김범철
 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

(74) 대리인
 특허법인 플러스

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 박수진

(54) 발명의 명칭 **신규한 코직산 컨쥬게이트 화합물 및 그의 용도**

(57) 요약

본 발명은 코직산과 항산화제 유도체를 클릭 반응을 통해 컨쥬게이트시킨 신규 코직산 컨쥬게이트(conjugated) 화합물 및 이를 함유하는 항산화용 건강보조식품 및 피부의 미백, 항산화, 항노화 효과를 갖는 피부외용제 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 코직산 컨쥬게이트(conjugated) 화합물은 티로시나아제를 효과적으로 저해하므로 항산화용 건강보조식품 조성물 및 항산화, 노화방지 및 미백 기능을 가진 피부외용제 조성물의 유효성분으로 활용 가능하다.

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014011619

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 일반기초연구지원

연구과제명 천연항산화제 유도체를 이용한 콜린에스터분해효소 저해제 개발

기 여 율 1/1

주관기관 한밭대학교

연구기간 2012.05.01 ~ 2014.04.30

명세서

청구범위

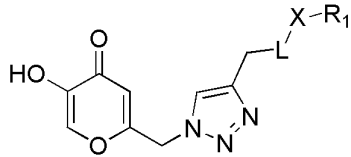
청구항 1

삭제

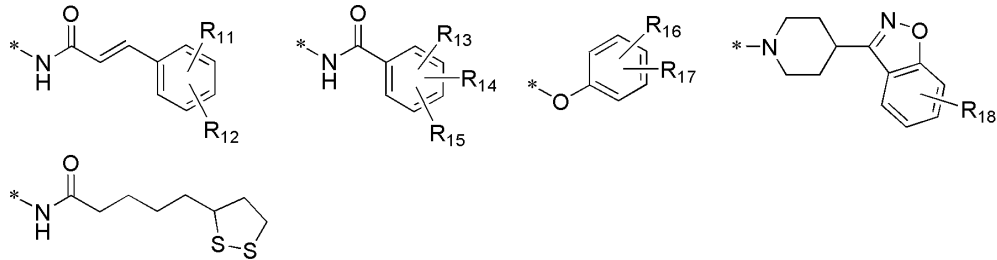
청구항 2

하기 화학식 1로 표시되는 코직산 컨쥬게이트 화합물.

[화학식 1]



상기 *L-X-R₁는 하기 구조에서 선택되고;



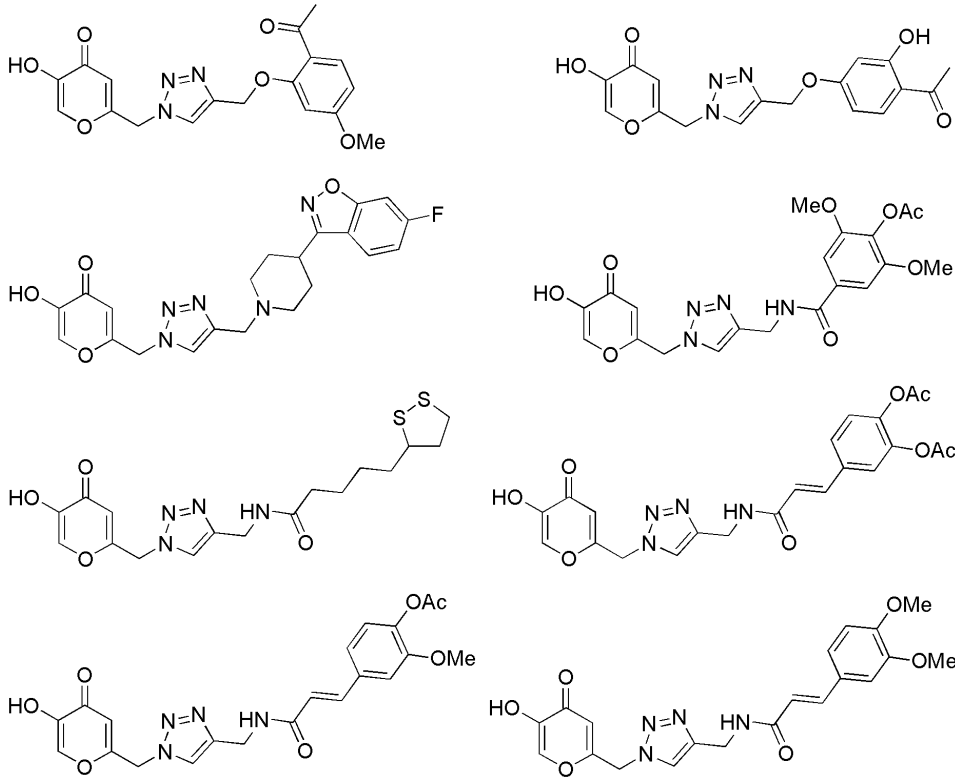
R₁₁ 내지 R₁₇은 각각 독립적으로 (C1-C10)알콕시, (C1-C10)알킬카보닐옥시, 히드록시 및 (C1-C10)알킬카보닐이고;

R₁₈은 할로겐이다.]

청구항 3

제 2항에 있어서,

하기 화합물로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 코직산 컨쥬게이트 화합물.



청구항 4

제 2항 내지 제 3항에서 선택되는 어느 한 항에 따른 코직산 컨쥬게이트 화합물을 유효성분으로 함유하는 향산 화용 건강보조식품 조성물.

청구항 5

제 2항 내지 제 3항에서 선택되는 어느 한 항에 따른 코직산 컨쥬게이트 화합물을 유효성분으로 함유하는 피부 외용제 조성물.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 피부외용제 조성물은 항산화, 노화방지, 주름완화, 미백, 자극 완화 및 여드름 방지 기능을 지니는 것인 피부외용제 조성물.

청구항 7

제 5항에 있어서,

상기 피부외용제 조성물은 화장수, 젤, 수용성 리퀴드, 크림, 에센스, 팩, 수중유(O/W)형 또는 유중수(W/O)형의 제형의 화장료 조성물 중에서 선택되는 것인 피부외용제 조성물.

발명의 설명

기술분야

- [0001] 본 발명은 코직산과 항산화제 유도체를 클릭 반응을 통해 트리아졸로 연결하여 킨주게이트시킨 신규 코직산 킨주게이트(conjugated) 화합물 및 이를 함유하는 항산화용 건강보조식품 및 피부의 미백, 항산화, 항노화 효과를 갖는 피부외용제 조성물에 관한 것이다.
- [0002] 본 발명에 따른 코직산 킨주게이트(conjugated) 화합물은 티로시나아제를 효과적으로 저해하므로 항산화용 건강보조식품 조성물 및 항산화, 노화방지 및 미백 기능을 가진 피부외용제 조성물의 유효성분으로 활용 가능하다.

배경기술

- [0003] 최근 인구의 노령화, 레저 활동을 즐기는 인구의 증가로 인하여, 자외선에의 노출 빈도 증가, 사회적 스트레스의 증가, 그리고 환경오염에 의한 오존층의 파괴에 따른 자외선 조사량이 증가함에 따라 피부의 색소침착 이상 현상을 일으킬 수 있는 가능성이 증대되고 있다. 이러한 변화에 따라 피부 미백에 관한 관심도 증대되고 있다. 이러한 피부 미백에 대한 사회적 수요가 증가함에 따라 생체친화적이면서도 미백 활성이 높은 피부 미백 물질을 개발하는 것이 중요한 기술적 과제로 대두되고 있다.
- [0004] 사람의 피부색은 혈액내의 적혈구, 카로틴 및 멜라닌에 의해서 복합적으로 결정된다. 특히, 인종간의 피부색 차이나 기미, 주근깨 등의 과색소증은 멜라닌의 영향으로 발생하는 것으로 알려져 있다.
- [0005] 멜라닌은 피부 표피 내 기저층에 존재하는 색소세포인 멜라노사이트 내에 존재하는 티로시나아제(tyrosinase)에 의하여 티로신(tyrosine)으로부터 도파(DOPA), 도파퀴논(dopaquinone)으로 변환된 후 비효소적인 산화 반응을 통해 생성되며, 피부에서 자유 라디칼(free radical) 생성이 많아지거나, 염증반응이 있거나 또는 자외선 등에 지속적으로 노출되면 생성이 증가한다. 내외부의 스트레스적 자극에 의해 생겨난 멜라닌은 스트레스가 사라져도 피부 각질화를 통해서 외부로 배출되지 않는 안정한 물질로서, 과잉 생산된 멜라닌은 기미, 주근깨 등을 유발하는 등 문제가 되고 있다.
- [0006] 기미, 주근깨는 연속적인 자외선 조사를 받으면 표피 기저층에 존재하는 멜라노사이트(melanocyte)에서 성장인자 분비를 촉진시키고, 이러한 멜라노사이트(Melanocyte) 성장인자는 멜라닌 색소를 증가시키고 색소의 병리 현상을 일으켜 부분적인 색소 침착을 유발한다.
- [0007] 이러한 자외선에 대한 피부 장애 인자로서 활성 산소가 큰 역할을 한다는 것은 많은 연구를 통하여 밝혀지고 있다. 활성 산소 중에서도 가장 안정한 형태인 과산화수소(hydrogen peroxide)는 멜라노마(melanoma) 세포의 티로시나아제(tyrosinase)의 활성을 상승시키는 것으로 알려져 있고, 히드록실 라디칼인 경우는 멜라닌 생성의 첫 번째 합성 단계인 티로시나아제(tyrosinase)에 의한 티로신(tyrosine)이 도파(DOPA)의 수산화 반응 및 도파퀴논(dopaquinone)의 산화반응에서 촉진 역할을 하는 것으로 알려져 있다.
- [0008] 현재 유통되고 있는 피부 미백제는 멜라닌 색소가 생성되는 것을 억제하는 성분과 각질 등에 이미 침착돼 있는 멜라닌 색소를 제거하는 성분 등이 함유돼 있다. 멜라닌 색소의 형성을 억제하는 미백 성분으로는 알부틴, 코직산, 아스코르빈산 등이 있으며, 색소가 침착된 각질을 제거하는 물질로는 AHA(alpha hydroxy acid), BHA(butylated hydroxyanisole), 레티노이드 등이 있다. 이러한 기준을 만족시키는 미백제를 합성하기 위해서 당 업계에서는 기존의 미백 활성이 있는 것으로 알려진 물질에 생체친화적인 물질을 도입시켜 미백 활성과 생체친화성을 적절히 조절하는 것과 동시에 저장 안정성을 확보하기 위한 노력을 해왔다.
- [0009] 현재까지 알려진 티로시나아제의 활성 억제제로 사용할 수 있는 미백 물질은, 티로신의 가지에 있는 페놀과 유사한 구조를 가지는 환원성을 가지는 물질들이며, 코직산, 알부틴, 아스코르빈산 등이 이에 속한다.
- [0010] 코직산(kojic acid)은 타이로시나아제 활성을 억제하는 작용이 있다는 것이 밝혀졌다. 코직산의 멜라닌 생성 억제 작용은 크게 세 가지로 설명하고 있으며, 그 첫번째는 타이로신으로부터 도파 및 도파퀴논(DOPA-quinone)으로의 산화를 촉진하는 타이로시나아제의 불활성화이고, 다른 하나는 도파크롬(DOPochrome)으로부터 5,6-디히드록시인돌-2-카르복산(HD12C)의 생성을 억제하는 작용이다. 상기 두 반응 모두 구리 이온과 같은 2가의 금속이온을 필요로 하며, 코직산이 구리 이온을 킬레이트화시켜 결과적으로 멜라닌 생성을 억제한다고 생각된다. 그리고 코직산은 DH12C등의 멜라닌 단량체로부터의 멜라닌 생성도 억제한다.
- [0011] 그러나 코직산은 빛과 열, 그리고 pH에 대한 안정성 등이 좋지 아니하여 화장품 원료로 배합이 어렵다는 단점이

있다. 이러한 단점을 개선하기 위하여 코직산-비타민C 복합체, 코직산-아미노산 복합체, 코직산-코직산 복합체 (W002/053562), 코직산-신남산 복합체(US5,486,624), 코직산-옥소티아졸리딘 복합체(US5,968,487), 코직산 모노지방산 에스테르(일본특허공개 소60-9722), 코직산 디지방산 에스테르(일본특허공개 61-60801), 코직산 배당체(일본특허공개 평6-56872) 등의 코직산 유도체가 개발된 바 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0012] (특허문헌 0001) W002/053562
- (특허문헌 0002) US5,486,624
- (특허문헌 0003) US5,968,487
- (특허문헌 0004) 일본특허공개 소60-9722
- (특허문헌 0005) 일본특허공개 61-60801
- (특허문헌 0006) 일본특허공개 평6-56872

발명의 내용

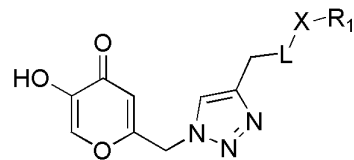
해결하려는 과제

- [0013] 본 발명자들은 티로시나아제를 효과적으로 저해하는 코직산과 항산화 기능을 갖는 항산화제 유도체를 클릭 반응을 통해 트리아졸로 연결하여 컨쥬게이트시킨 코직산 컨쥬게이트(conjugated) 화합물을 제조하여 항산화 기능과 함께 티로시나아제의 저해 활성을 동시에 가짐을 발견하고 본 발명을 완성하였다.
- [0014] 따라서, 본 발명의 목적은 항산화 기능과 함께 티로시나아제의 저해 활성을 동시에 갖는 신규한 코직산 컨쥬게이트 화합물을 제공하는 것이다.
- [0015] 본 발명의 다른 목적은 상기 코직산 컨쥬게이트 화합물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 건강보조식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0016] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 코직산 컨쥬게이트 화합물을 유효성분으로 함유하는 피부의 미백, 항산화, 항노화 효과를 갖는 피부외용제 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0017] 본 발명의 일 측면은, 하기 화학식 1로 표시되는 코직산 컨쥬게이트(conjugated) 화합물을 제공한다:

[0018] [화학식 1]


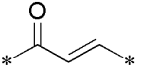
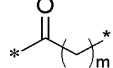
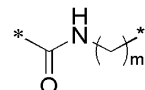


[0019]

[0020] 상기 화학식 1에서,

[0021] R₁는 (C6-C20)아릴, (C3-C20)헤테로아릴 또는 5원 내지 7원의 헤테로시클로알킬이고, 상기 R₁의 아릴 및 헤테로아릴은 독립적으로 할로겐, (C1-C10)알콕시, (C1-C10)알킬카보닐옥시, 히드록시 및 (C1-C10)알킬카보닐로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상으로 더 치환될 수 있고;

[0022] L은 NH, O 또는 이고;

[0023] X는 단일결합, , ,  또는  이고;

[0024] m은 1 내지 5의 정수이다.

[0025] 본 발명의 다른 측면은 상기 코직산 컨쥬게이트 화합물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 건강보조식품 조성물을 제공한다.

[0026] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 코직산 컨쥬게이트 화합물을 유효성분으로 함유하는 피부외용제 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0027] 본 발명의 코직산 컨쥬게이트 화합물은 티로시나아제를 효과적으로 저해하는 코직산과 항산화 기능을 갖는 항산화제 유도체를 클릭 반응을 통해 트리아졸로 연결하여 컨쥬게이트시킨 신규한 구조의 화합물이다.

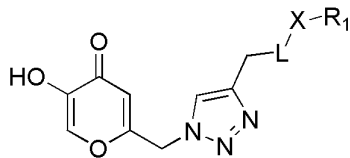
[0028] 또한, 본 발명의 코직산 컨쥬게이트 화합물은 항산화 기능과 함께 티로시나아제의 저해 활성을 동시에 가지고 있어 항산화용 건강보조식품 조성물 및 피부외용제 조성물의 유효성분으로 사용될 수 있으며, 특히 피부외용제 조성물에 유효성분으로 적용시 노화방지 및 멜라닌 생성 억제에 따른 미백 효과가 우수하다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

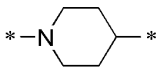
[0029] 이하, 본 발명에 대하여 보다 구체적으로 설명한다. 이 때 사용되는 기술 용어 및 과학 용어에 있어서 다른 정의가 없다면, 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하고 있는 의미를 가지며, 하기의 설명에서 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대한 설명은 생략한다.


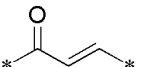
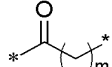
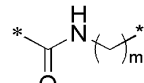
[0030] 본 발명의 일 측면은, 하기 화학식 1로 표시되는 코직산 컨쥬게이트(conjugated) 화합물을 제공한다:

[0031] [화학식 1]



[0032] 상기 화학식 1에서,
 [0033] R₁는 (C₆-C₂₀)아릴, (C₃-C₂₀)헤테로아릴 또는 5원 내지 7원의 헤테로시클로알킬이고, 상기 R₁의 아릴 및 헤테로아릴은 독립적으로 할로젠, (C₁-C₁₀)알콕시, (C₁-C₁₀)알킬카보닐옥시, 히드록시 및 (C₁-C₁₀)알킬카보닐로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상으로 더 치환될 수 있고;

[0035] L은 NH, O 또는  이고;

[0036] X는 단일결합, , ,  또는  이고;

[0037] m은 1 내지 5의 정수이다.

[0038] 본 발명에 따른 화학식 1의 코직산 컨쥬게이트(conjugated) 화합물은 코직산과 항산화제 유도체를 클릭 반응을 통해 트리아졸로 연결하여 컨쥬게이트시킨 신규 구조의 화합물로서, 항산화 기능과 함께 티로시나아제의 저해

활성을 동시에 가지고 있어 활성 상소에 의한 피부의 손상을 방지할 뿐만 아니라 멜라닌 생성 억제에 따른 노화 방지 및 멜라닌 생성 억제에 따른 미백 효과가 우수하다. 즉, 본 발명의 코직산 컨주게이트 화합물은 항산화용 건강보조식품 조성물 및 피부외용제 조성물의 유효성분으로 사용될 수 있다.

[0039] 본 발명에 기재된 용어 「알킬」은 탄소 및 수소 원자만으로 구성된 1가의 직쇄 또는 분쇄 포화 탄화수소 라디칼을 의미하는 것으로, 이러한 알킬 라디칼의 예는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸, 펜틸, 헥실, 옥틸 등을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.

[0040] 본 발명에 기재된 용어 「알콕시」는 O-알킬 라디칼을 의미하는 것으로, 여기서 ‘알킬’은 상기 정의한 바와 같다. 이러한 알콕시 라디칼의 예는 메톡시, 에톡시, 이소프로폭시, 부톡시, 이소부톡시, t-부톡시 등을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.

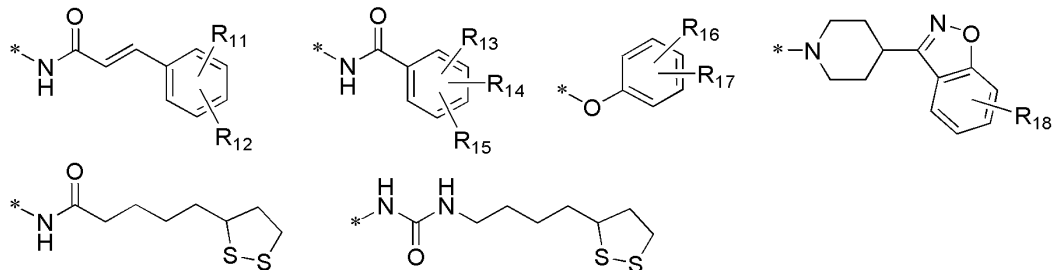
[0041] 본 발명에 기재된 용어 「아릴」은 하나의 수소 제거에 의해서방향족 탄화수소로부터 유도된유기 라디칼로, 각 고리에 적절하게는 4 내지 7개, 바람직하게는 5 또는 6개의 고리원자를 포함하는 단일 또는 융합고리계를 포함하며, 다수개의 아릴이 단일결합으로 연결되어 있는 형태까지 포함한다. 구체적인 예로 페닐, 나프틸, 비페닐, 안트릴, 인데닐(indenyl), 플루오레닐 등을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다.

[0042] 본 발명에 기재된 용어 「헤테로아릴」은 방향족 고리 골격 원자로서 N, O 및 S로부터 선택되는 1 내지 4개의 헤테로원자를 포함하고, 나머지 방향족 고리 골격 원자가 탄소인 아릴 그룹을 의미하는 것으로, 5 내지 6원 단환 헤테로아릴, 및 하나 이상의 벤젠환과 축합된 다환식 헤테로아릴이며, 부분적으로 포화될 수도 있다. 또한, 본 발명에서의 헤테로아릴은 하나 이상의 헤테로아릴이 단일결합으로 연결된 형태도 포함한다. 상기 헤테로아릴기의 예는 피롤, 퀴놀린, 이소퀴놀린, 피리딘, 피리미딘, 옥사졸, 티아졸, 티아디아졸, 트리아졸, 이미다졸, 벤조 이미다졸, 이소옥사졸, 벤조이소옥사졸, 티오펜, 벤조티오펜, 퓨란, 벤조퓨란 등을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다.

[0043] 본 발명에 기재된 용어 「헤테로사이클로알킬」은 N, O 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 포함하는 5원 내지 7원의 고리로, 피롤리딘, 다이티올란, 피페리딘, 모폴린, 이미다졸리딘, 테트라하이드로티오펜, 테트라하이드로퓨란 등을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다.

[0044] 본 발명에 기재된 용어 「할로젠」은 불소, 염소, 브롬 또는 요오드 원자를 의미한다.

[0045] 본 발명의 일 구현예에서 상기 $*-L-X-R_1$ 는 하기 구조에서 선택된다.

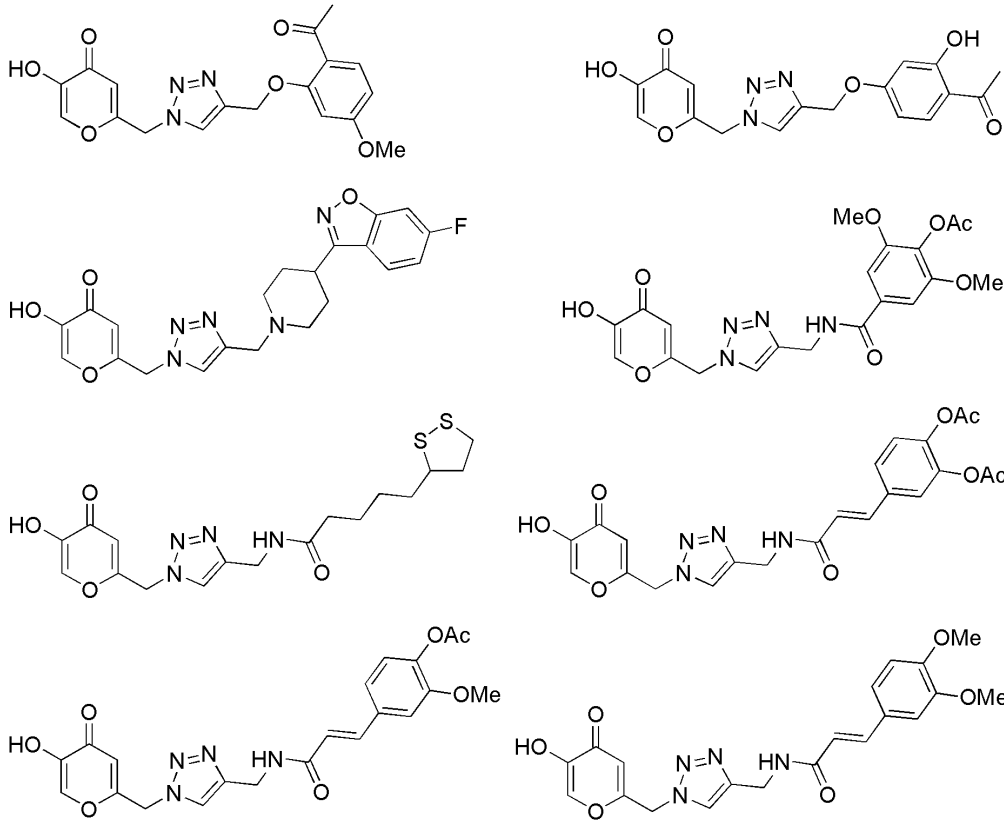


[0046]

[0047] [상기 구조에서, R₁₁ 내지 R₁₇은 각각 독립적으로 (C1-C10)알콕시, (C1-C10)알킬카보닐옥시, 히드록시 및 (C1-C10)알킬카보닐이고;

[0048] R₁₈은 할로젠이다.]

[0049] 본 발명의 일 구현예에서 상기 코직산 컨쥬게이트 화합물은 하기 화합물로부터 선택될 수 있다:

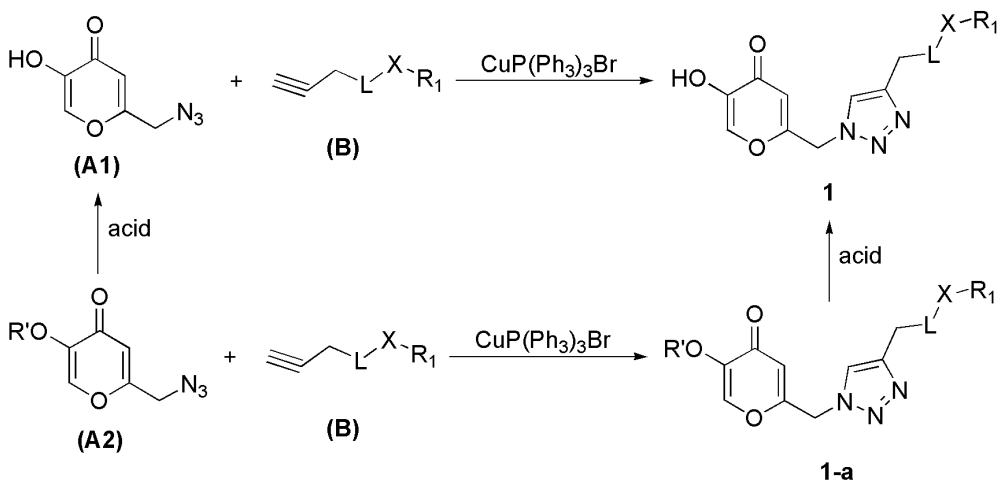


[0050]

[0051] 본 발명에 따른 상기 코직산 컨쥬게이트 화합물 화합물들은, 이후 설명하는 바와 같이, 공지된 방법 및/또는 유기합성 분야의 기술에 근간한 다양한 방법들에 의해 제조될 수 있으며, 하기의 제조방법들은 일부 예시에 지나지 않으며, 그 이외의 방법들도 존재할 수 있음은 물론이다.

[0052] 예를 들어, 상기 화학식 1의 코직산 컨쥬게이트 화합물들은 하기와 같이 아자이드 화합물(A1 또는 A2)과 알킨 화합물(B)의 클릭 반응으로 통해 합성될 수 있다:

[0053] [반응식 1]



[0054]

[0055] (상기 반응식에서, R'는 페놀 보호기이고, L, X 및 R₁은 화학식 1에서의 정의와 동일하다.)

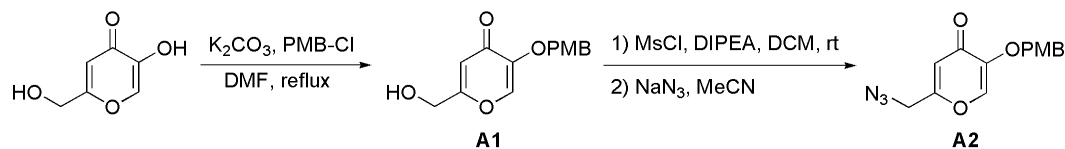
[0056] 상기 R'의 페놀 보호기는 유기 합성에서 사용될 수 있는 통상의 보호기로 제한되지는 않지만, 보다 바람직하게는 메틸, 에틸, *tert*-부틸, 벤질, 4-메톡시벤질, 트리메틸실릴, 트리에틸실릴, 트리이소프로필실릴, *tert*-부틸

디페닐실릴, *tert*-부틸디메틸실릴 또는 알릴에테르일 수 있다.

- [0057] 상기 페놀 보호기의 탈 보호방법으로는 메틸, 에틸, *tert*-부틸, 벤질, 4-메톡시벤질, 알릴에테르 보호기의 경우, 트리메틸실릴요오드, 에탄티오알코올나트륨염, 리튬요오드, 알루미늄 할로겐화물, 붕소 할로겐화물, 트리플루오로아세트산 등의 루이스산류가 사용될 수 있고, 트리메틸실릴, 트리에틸실릴, *tert*-부틸디페닐실릴, 트리아이소프로필실릴, *tert*-부틸디메틸실릴 등의 실릴화보호기는 테트라부틸암모늄불소 ($\text{Bu}_4\text{N}^+\text{F}^-$), 할로겐산(불소산, 염산, 브롬산, 요오드산), 불소화칼륨 등의 불소화물 등을 사용할 수 있다.
- [0058] 경우에 따라 상기 반응 생성물을 통상적인 방법, 예를 들어, 재결정과 크로마토그래피를 이용하여 분리 정제할 수 있다.
- [0059] 본 발명에 따른 상기 화학식 1의 코직산 컨쥬게이트 화합물은 물 또는 기타 유기 용매와 함께 수화물 또는 용매 화물을 형성할 수 있다. 이러한 수화물 또는 용매화물도 마찬가지로 본 발명의 범주 내에 포함된다. 염 및 용매 화물의 경우에 추가적인 이온 및 용매 잔기는 또한 무독성이어야 한다. 본 발명의 화합물은 상이한 동질이상 형태로 존재할 수 있으며, 본 발명은 상기와 같은 모든 형태들을 포함하고자 한다.
- [0060] 상기 본 발명에 따른 신규 코직산 컨쥬게이트 화합물, 그의 염, 그의 용매화물 또는 전구약물은 우수한 항산화 효과 및 티로시나아제 억제 작용 효과를 나타낸다.
- [0061] 본 발명의 다른 측면은 상기 코직산 컨쥬게이트 화합물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 건강보조식품 조성물을 제공한다.
- [0062] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [0063] 또한, 본 발명의 또 다른 측면은 상기 코직산 컨쥬게이트 화합물을 유효성분으로 함유하는 피부의 미백, 항산화 및 항노화 효과를 갖는 피부외용제 조성물을 제공한다.
- [0064] 상기 피부외용제 조성물은 본 발명에 따른 코직산 컨쥬게이트 화합물의 함량이 피부외용제 조성물 전체에 대해 동결건조중량 기준 0.001 내지 30.0중량%일 수 있다. 상기 코직산 컨쥬게이트 화합물의 함량이 0.001 중량% 미만인 경우에는 피부개선 효과가 거의 없으며, 30.0중량% 초과하는 경우에는 함유량 증가에 따른 효과의 증대 정도가 미미하여 비경제적이다.
- [0065] 또한, 상기 피부외용제 조성물은 화장수, 젤, 수용성 리퀴드, 크림, 에센스, 팩, 수중유(O/W)형 또는 유중수(W/O)형의 제형으로 제형화될 수 있다.

[0066] 이하, 실시예 및 실험예를 통해 본 발명을 상세히 설명한다. 단, 하기의 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0067] [제조예 1] PMB-코직 아자이드 화합물 **A2**의 제조



[0068] PMB-코직산 화합물 **A1**의 제조

[0070] 코직산(Kojic acid) (300 mg, 2.11 mmol)를 디클로로포름알데히드(DMF) (40 mL)에 용해시킨 다음, 오일 배스(Oil bath)를 설치하고 80°C까지 가열시켰다. 상기 반응물에 K_2CO_3 (320 mg, 2.32 mmol)와 4-메톡시벤질 클로라이드(PCM-Cl) (0.315 mL, 2.32 mmol)을 첨가하고 2시간동안 교반하였다. 반응이 완결되면, 물로 켄칭(quenching)후 디클로로메테인(DCM)으로 3번 추출하고 유기층을 브린(brine)으로 1번 씻어주었다. 수득된 유기층을 무수 MgSO_4 로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 극소량의 DCM으로 녹인 후, 디에틸에

세트(diethyl ether)로 재결정하여 PMB-코직산 화합물 **A1**를 수득하였다(황토색 고체상, 1.30 g, 82.19 %).

[0071] TLC 확인: EA:EtOH=19:1, $R_f=0.7$

[0072] IR (KBr, ν , cm^{-1}) : 3434 (alcohol, OH); ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ 3.79(s, 3H), 4.44(d, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 5.00(s, 2H), 6.47(s, 1H), 6.87(d, $J=9.2\text{Hz}$, 2H), 7.30(d, $J=9.2\text{Hz}$, 2H), 7.49(s, 1H)

[0073] PMB-코직 아자이드 화합물 **A2**의 제조

[0074] PMB-코직산 화합물 **A1** (5.17 g, 19.71 mmol)을 DCM (100 mL)에 녹인 후 아이스 배스 하에서 DIPEA(N,N-diisopropylethylamine) (7.755 mL, 43.36 mmol)와 메실 클로라이드(MesyI chloride) (1.82 mL, 23.66 mmol)을 가하고 12시간동안 반응시켰다. 반응이 완료되면 물로 킨칭(quenching) 후 DCM으로 3번 추출하고 회수된 유기층을 무수 MgSO_4 로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(에틸아세테이트(EA)/헥산(HEX)=2/1 v/v)로 정제시켜 메실레이션된 화합물을 수득하였다(황토색 고체상, 4.36 g, 65 %).

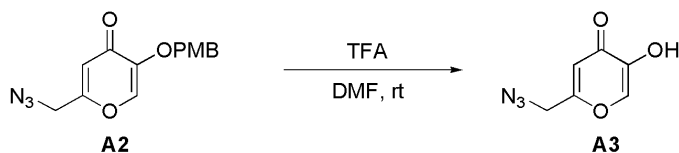
[0075] TLC 확인: EA:HEX=2:1, $R_f=0.5$

[0076] 상기 메실레이션된 화합물 (4.36 mg, 12.81 mmol)을 아세토나이트릴 (70 mL)에 녹이고 소듐 아자이드 (1.67 g, 25.62 mmol)를 가하고 밤새도록 교반하였다. 반응이 완료되면, 회전 증발기로 용매를 제거하고, 물로 워-업(work-up)한 후, 수득된 유기층을 무수 MgSO_4 로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(DCM/EA=7/1 v/v)로 정제시켜 PMB-코직 아자이드 화합물 **A2**를 수득하였다(황토색 분말상, 3.4855 g, 94.7 %).

[0077] TLC 확인: EA:DCM=1:7, $R_f=0.5$

[0078] IR (KBr, ν , cm^{-1}) : 2098(azide, N_3); ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ 3.81(s, 3H), 4.14(s, 2H), 5.02(s, 2H), 6.42(s, 1H), 6.90(d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.32(d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.54(s, 1H)

[0079] [제조예 2] 코직 아자이드 화합물 **A3**의 제조



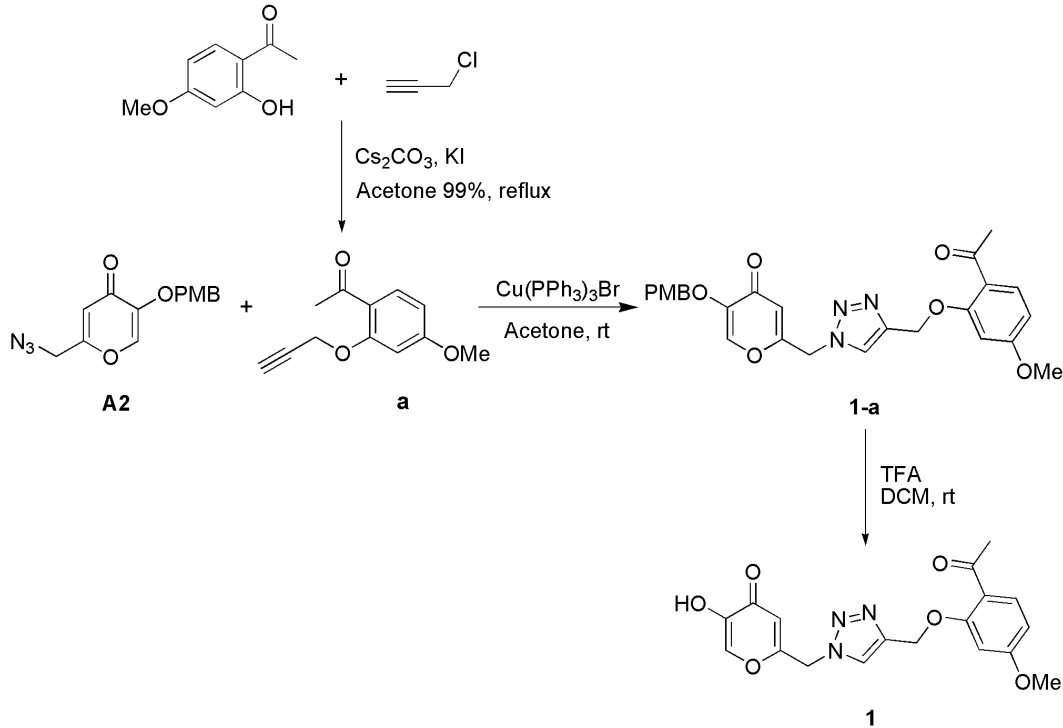
[0080]

[0081] PMB-코직 아자이드 화합물 **A2** (1.0 g, 3.48 mmol)을 DMF (10 mL)에 녹이고 과량의 TFA(trifluoroacetic acid)를 적가하고 30분간 반응시켰다. 반응이 완료되면, 회전 증발기로 용매를 제거하고, DCM과 물로 워-업(work-up)하였다. 수득된 유기층을 무수 MgSO_4 로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 극소량의 DCM으로 녹인 후 헥산으로 재결정하여 코직 아자이드 화합물 **A3**를 수득하였다(황토색 분말상, 79 mg, 82.5%).

[0082] TLC 확인: EA:DCM=1:7, $R_f=0.4$

[0083] IR (KBr, ν , cm^{-1}) : 2115(azide, N_3), 3435(alcohol, OH); ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ 4.17(s, 2H), 6.45(s, 1H), 7.82(s, 1H)

[0084] [실시예 1] 코직산 퀴누게이트 화합물 1의 합성



[0085]

[0086] 화합물 a의 제조

[0087] 페오놀(paeonol) (2 g, 12.04 mmol)을 아세톤 (15 mL)에 녹인 다음, Cs_2CO_3 (7.845 g, 24.08 mmol)와 KI (200 mg, 1.204 mmol)를 넣어주고, 프로파길 클로라이드(Propargyl chloride) (1.045 mL, 14.45 mmol)을 적가하고 환류반응시켰다. 5시간 후 반응 완결 확인(EA : HEX = 1 : 3으로 TLC확인, $R_f=0.45$)하고, 온도가 내려가면, DCM 과 물로 워-업(work-up)한 후, 유기층을 회전 증발기로 용매를 제거하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(EA : HEX = 1 : 4 부피비)로 정제시켜 화합물 **a**를 수득하였다(수율 94.85%).

[0088] TLC 확인: EA : HEX = 1 : 3, $R_f=0.45$

[0089] ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ 2.53(s, 1H), 2.59(s, 3H), 3.86(s, 3H), 3.86(s, 3H), 4.79(s, 2H), 6.41(d, 2.4Hz, 1H), 6.51(dd, 8.8Hz, 2.2Hz, 1H), 7.80(d, 8.8Hz, 1H)

[0090] 화합물 1-a의 제조

[0091] PMB-코직 아자이드 화합물 **A2** (0.074 g, 0.26 mmol)을 아세톤 (12 mL)에 용해시킨 다음, 화합물 **a** (0.058 g, 0.283 mmol) 및 $\text{Cu}(\text{PPh}_3)_3\text{Br}$ (0.01 g, 0.013 mmol)을 가하고 상온에서 밤새도록 반응시켰다. 반응이 완료되면, 회전 증발기로 용매를 제거한 후 DCM으로 녹였다. 물로 워-업(work-up)한 후, 수득된 유기층을 무수 MgSO_4 로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 극소량의 DCM으로 녹인 후 디에틸에테르로 재결정하여 화합물 **1-a**를 수득하였다(흰색 분말상, 0.063 mg, 49.0 %).

[0092] 코직산 퀴누게이트 화합물 1의 제조

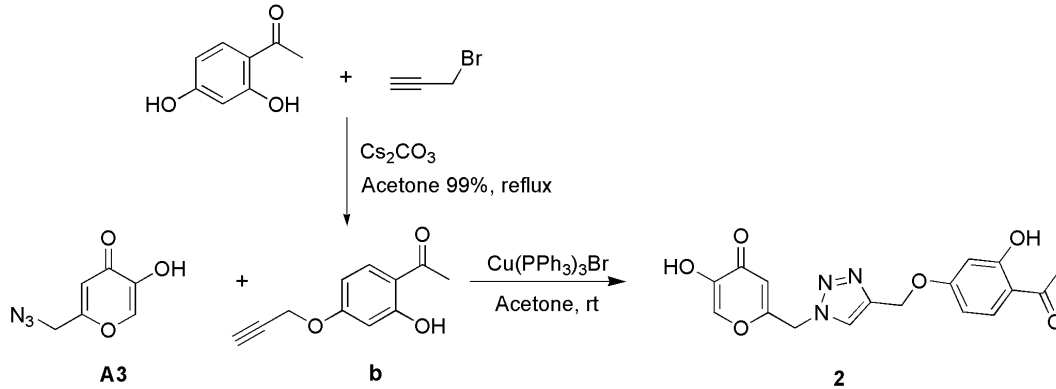
[0093] 화합물 **1-a** (220 mg, 0.39 mmol)을 DCM (8 mL)에 용해시킨 후 TFA (0.5 mL)에 적가하면서 1시간동안 교반하였다. 반응이 완결되면, 회전 증발기로 용매를 제거하고, 물로 워-업(work-up)한 후, 수득된 유기층을 무수 MgSO_4 로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(전개 용매 DCM/MeOH=19/1 v/v)로 정제시켜 코직산 퀴누게이트 화합물 **1**을 수득하였다(흰색 분말상, 130 mg, 90 %).

[0094] TLC 확인: EA:DCM=1:1, $R_f=0.1$

[0095] ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 2.53(s, 3H), 3.86(s, 3H), 5.32(s, 2H), 5.44(s, 2H), 6.38(s, 1H), 6.57(d,

J=8.8Hz, 1H), 6.62(s, 1H), 7.27(s, 1H), 7.62(s, 1H), 7.01(d, J=8.8Hz, 1H); ESI-HRMS : $[M+H]^+$ 372.3 (calcd 372.3).

[0096] [실시예 2] 코직산 컨쥬게이트 화합물 2의 합성



[0097]

[0098] 화합물 b의 제조

[0099] 2,4-디하이드록시아세토페논 (1.15 g, 7.57 mmol)을 아세톤 (10 mL)에 녹인 다음, Cs_2CO_3 (0.82 g, 2.522 mmol)를 넣어주고, 프로파길 브로마이드(Propargyl bromide) (0.223 mL, 2.522 mmol)을 적가하고 환류반응시켰다. 24시간 후 반응 완결 확인(EA : HEX = 1 : 5으로 TLC확인, $R_f=0.3$)하고, 온도가 내려가면, DCM과 물로 워-업(work-up)한 후, 유기층을 회전 증발기로 용매를 제거하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(EA : HEX = 1 : 6부피비)로 정제시켜 화합물 **b**를 수득하였다(860 mg, 수율 50 %).

[0100] TLC 확인: EA : HEX = 1 : 5, $R_f=0.3$

[0101] 1H NMR ($CDCl_3$, 400MHz) δ 2.52(s, 1H), 2.53(s, 3H), 4.68(s, 2H), 6.47(dd, 9.6Hz, 2.4Hz, 1H), 6.48(d, 2.4Hz, 1H), 7.62(d, 2.4Hz, 1H), 7.62(d, 9.6Hz, 1H), 12.66(s, 1H)

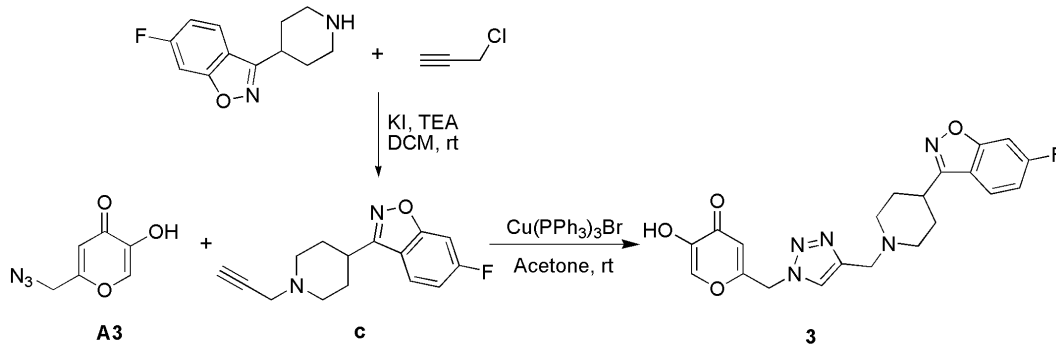
[0102] 코직산 컨쥬게이트 화합물 2의 제조

[0103] 코직 아자이드 화합물 **A3** (100 mg, 0.598 mmol)을 아세톤 (7 mL)에 용해시킨 다음, 화합물 **b** (125 mg, 0.658 mmol) 및 $Cu(PPh_3)_3Br$ (28 mg, 0.0299 mmol)을 가하고 상온에서 밤새도록 반응시켰다. 반응이 완료되면, 회전 증발기로 용매를 제거한 후 물로 워-업(work-up)하고, 수득된 유기층을 무수 $MgSO_4$ 로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(전개 용매 DCM/MeOH=19/1 v/v)로 정제시켜 코직산 컨쥬게이트 화합물 **2**을 수득하였다(황토색 분말상, 36 mg, 16.1 %).

[0104] TLC 확인: DCM:MeOH=19:1, $R_f=0.4$

[0105] 1H NMR ($CDCl_3$, 400MHz): δ 2.53(s, 3H), 5.22(s, 2H), 5.39(s, 2H), 6.34(s, 1H), 6.49(s, 1H), 6.50(d, J=9.6Hz, 1H), 7.62(d, J=9.6Hz, 1H), 7.70(s, 1H), 7.80(s, 1H), 12.67(s, 1H); ESI-HRMS : $[M+H]^+$ 358.3 (calcd 358.3).

[0106] [실시예 3] 코직산 컨쥬게이트 화합물 3의 합성



[0107]

[0108] 화합물 c의 제조

[0109] 6-플루오로-3-(피페리딘-4-일)벤조[d]이소자졸(6-fluoro-3-(piperidin-4-yl)benzo[d]isoxazole) (2 g, 9.08 mmol)을 DCM (25 mL)에 녹인 후, TEA(triethyl amine) (4.45 mL, 31.8 mmol)을 넣고 30분간 교반시키고, 프로파길 클로라이드 (1.67 mL, 10 mmol)를 첨가하여 상온에서 4시간동안 교반시켰다. 반응이 완결되면, DCM과 물로 워-업(work-up)한 후, 수득된 유기층을 MgSO₄로 수분을 제거하여 감압필터한 뒤 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 극소량의 EA로 녹인 후, 과량의 HEX으로 재결정하여 화합물 c를 수득하였다(흰색 고체상, 1.83 g, 7.1 mmol, 수율 78.03 %).

[0110] TLC 확인: EA : HEX = 1 : 1, R_f=0.6

[0111] ¹H NMR (CDCl₃, 400MHz) δ 2.09(m, 4H), 2.27(m, 1H), 2.42(m, 2H), 3.05(m, 3H), 3.37(d, 2.4Hz, 2H), 7.03(td, 8.8Hz, 2.0Hz, 1H), 7.22(dd, 8.8Hz, 2.0Hz, 1H), 7.67(dd, 8.8Hz, 5.2Hz, 1H)

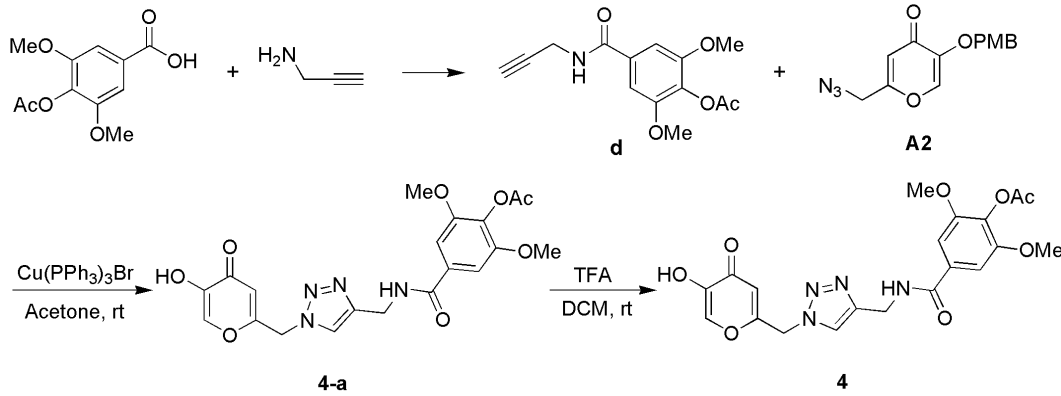
[0112] 코직산 컨쥬게이트 화합물 3의 제조

[0113] 코직 아자이드 화합물 A3 (100 mg, 0.598 mmol)을 아세톤 (8 mL)에 용해시킨 다음, 화합물 c (170 mg, 0.658 mmol) 및 Cu(PPh₃)₃Br (28 mg, 0.0299 mmol)을 가하고 상온에서 밤새도록 반응시켰다. 반응이 완료되면, 회전 증발기로 용매를 제거한 후 물로 워-업(work-up)하고, 수득된 유기층을 무수 MgSO₄로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(전개 용매 DCM/MeOH=19/1 v/v)로 정제시켜 코직산 컨쥬게이트 화합물 3을 수득하였다(황토색 고체상, 119.4 mg, 28.1 %).

[0114] TLC 확인: DCM:MeOH=19:1, R_f=0.3

[0115] ¹H NMR (CDCl₃, 400MHz): δ 2.08(m, 4H), 2.30(m, 2H), 3.08(m, 2H), 3.09(m, 1H), 3.78(s, 2H), 5.41(s, 2H), 6.36(s, 1H), 7.05(m, 1H), 7.24(m, 1H), 7.62(s, 1H), 7.67(m, 1H); ESI-HRMS : [M+H]⁺ 426.4 (calcd 426.41).

[0116] [실시예 4] 코직산 컨쥬게이트 화합물 4의 합성



[0117]

[0118] 화합물 d의 제조

[0119] 4-아세톡시-3,5-디메톡시벤조산(4-acetoxy-3,5-dimethoxybenzoic acid) (1 g, 4.163 mmol)을 DCM (5 mL)에 녹인 다음, DMAP(4-dimethylaminopyridine) (102 mg, 0.83 mmol)과 EDC(1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide) (840 mg, 4.37 mmol)을 차례로 넣어준 후 20분간 교반하고, 프로파질 아민(Propargylamine) (0.28 mL, 4.37 mmol)을 적가하고 상온에서 6시간동안 교반시켰다. 반응 완결 확인(MC:MeOH=19:1로 TLC 확인) 후 반응이 완료되면 물로 워-업(work-up)한 후 MgSO₄로 수분을 제거하여 감압필터한 뒤 감압농축하였다. 얻어진 잔사를 소량의 DCM으로 용해 후, HEX으로 재결정하여 화합물 **d**를 수득하였다(흰색 고체상, 수율 80%).

[0120] TLC확인 : MC:MeOH=19:1, R_f=0.7

[0121] ¹H NMR (CDCl₃, 400MHz) δ 2.27(t, 2.4Hz, 1H), 2.33(s, 3H), 3.84(s, 6H), 4.21(q, 2.4Hz, 2H), 6.32(bs, 1H), 6.98(s, 2H)

[0122] 화합물 4-a의 제조

[0123] PMB-코직 아자이드 화합물 **A2** (300 mg, 1.04 mmol)을 아세톤 (12 mL)에 용해시킨 다음, 화합물 **d** (320 mg, 1.14 mmol) 및 Cu(PPh₃)₃Br (93 mg, 0.1 mmol)을 가하고 상온에서 밤새도록 반응시켰다. 반응이 완료되면, 회전 증발기로 용매를 제거한 후 DCM으로 녹였다. 물로 워-업(work-up)한 후, 수득된 유기층을 무수 MgSO₄로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(전개 용매 DCM/MeOH=19/1 v/v)로 정제시켜 화합물 **4-a**를 수득하였다(황토색 고체상, 465.2 mg, 79.2 %).

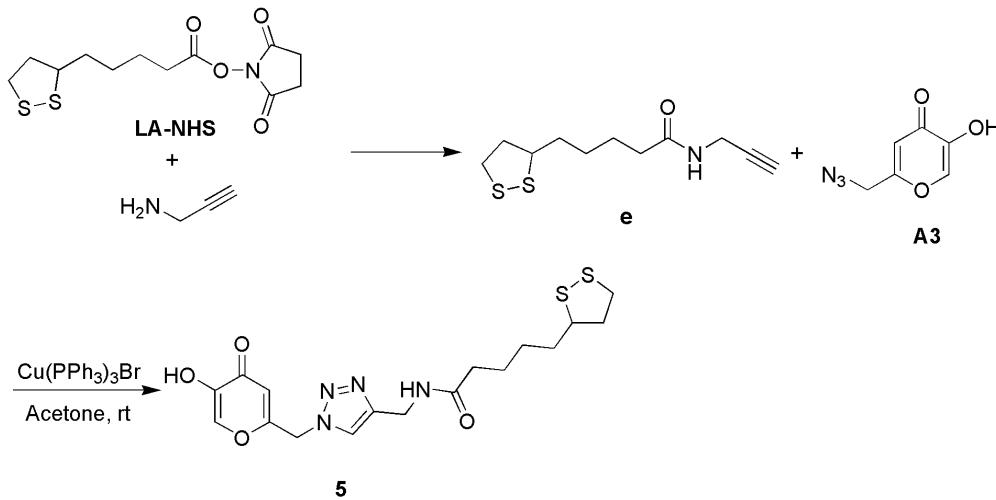
[0124] 코직산 컨쥬게이트 화합물 4의 제조

[0125] 화합물 **4-a** (220 mg, 0.39 mmol)을 DCM (8 mL)에 용해시킨 후 TFA (0.5 mL)에 적가하면서 30분동안 교반하였다. 반응이 완결되면, 회전 증발기로 용매를 제거하고, 물로 워-업(work-up)한 후, 수득된 유기층을 무수 MgSO₄로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 극소량의 DCM으로 녹인 후 헥산으로 재결정하여 코직산 컨쥬게이트 화합물 **4**를 수득하였다(분말상, 148.6 mg, 85.7 %).

[0126] TLC 확인: MeOH:DCM:Acetic acid=1:19:0.5 R_f=0.5

[0127] ¹H NMR (CDCl₃, 400MHz): δ 2.33(s, 3H), 3.84(s, 6H), 4.71(d, J=5.6Hz, 2H), 5.37(s, 2H), 6.35(s, 1H), 6.88(s, 1H), 7.01(s, 2H), 7.74(s, 1H), 7.81(s, 1H); ESI-HRMS : [M+H]⁺ 445.4 (calcd 445.39).

[0128] [실시예 5] 코직산 컨쥬게이트 화합물 5의 합성



[0129]

[0130] 화합물 e의 제조

[0131] LA-NHS (300 mg, 0.99 mmol)를 DCM (5 mL)에 용해 후 프로파길아민 (0.056 mL, 0.99 mmol)과 TEA (3.069 mL, 4.94 mmol)를 넣고 상온에서 12시간동안 교반시켰다. 반응 완결 확인(MC : MeOH = 9 : 1으로 TLC 확인, $R_f=0.6$) 하고, 반응 완료되면 물로 워-업(work-up)한 후 $MgSO_4$ 로 수분을 제거하여 감압필터한 뒤 감압농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(MC : MeOH = 19 : 1 부피비)로 정제시켜 화합물 e를 수득하였다(수율 85%).

[0132] TLC 확인 : DCM : MeOH = 9 : 1, $R_f=0.6$

[0133] 1H NMR ($CDCl_3$, 400MHz) δ 1.43(m, 2H), 1.64(m, 4H), 1.87(m, 1H), 2.16(m, 3H), 2.41(m, 1H), 3.27(m, 2H), 3.76(m, 1H), 4.01(m, 2H), 5.56(s, 1H)

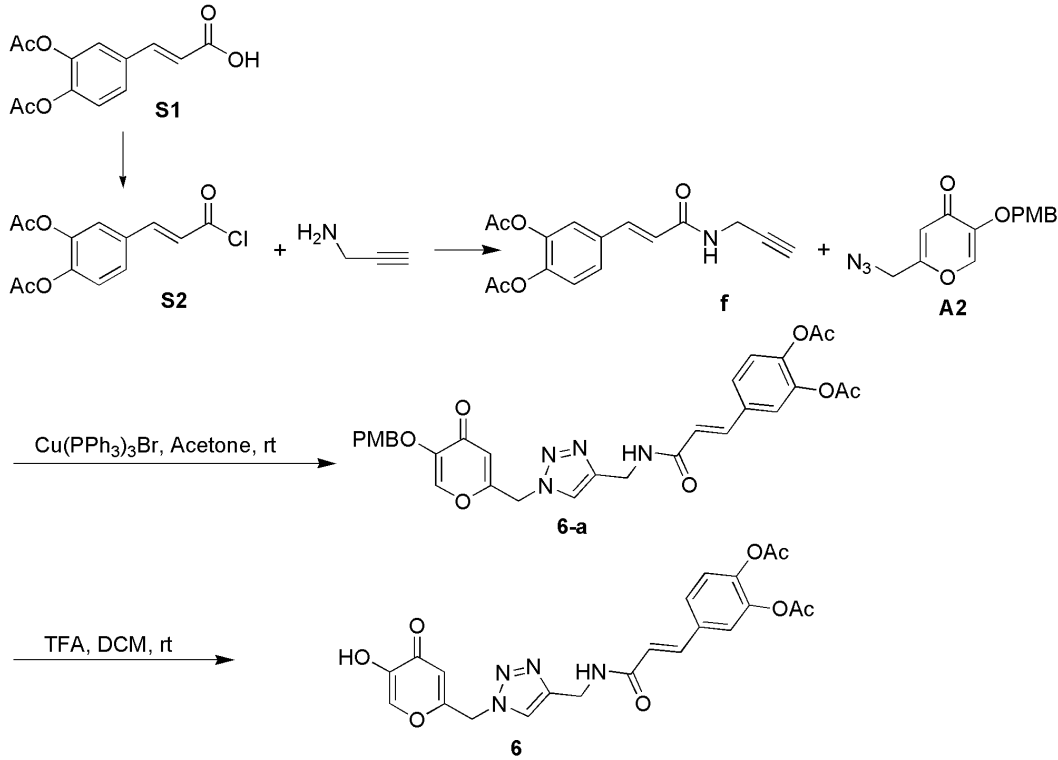
[0134] 코직산 컨쥬게이트 화합물 5의 제조

[0135] 코직 아자이드 화합물 A3 (200 mg, 1.20 mmol)을 아세톤 (20 mL)에 용해시킨 다음, 화합물 e (320 mg, 1.32 mmol) 및 $Cu(PPh_3)_3Br$ (110 mg, 0.12 mmol)을 가하고 상온에서 밤새도록 반응시켰다. 반응이 완료되면, 회전 증발기로 용매를 제거한 후 물로 워-업(work-up)하고, 수득된 유기층을 무수 $MgSO_4$ 로 건조시킨 후 여과 및 감압농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(전개 용매 DCM/MeOH=9/1 v/v)로 정제시켜 코직산 컨쥬게이트 화합물 5을 수득하였다(황토색 고체상, 40.9 mg, 8.3 %).

[0136] TLC 확인: DCM:MeOH=19:1, $R_f=0.4$

[0137] 1H NMR ($CDCl_3$, 400MHz): δ 1.29(m, 2H), 1.46 m, 2H), 1.59(m, 2H), 1.80(m, 1H), 2.04(t, 2H), 2.33(m, 1H), 3.06(m, 2H), 3.52(m, 1H), 4.24(d, $J=5.6Hz$, 2H), 5.50(s, 2H), 6.29(s, 1H), 7.94(s, 1H), 7.99(s, 1H), 8.24(s, 1H); ESI-HRMS : $[M+Na]^+$ 433.4 (calcd 433.51).

[0138] [실시예 6] 코직산 컨쥬게이트 화합물 6의 합성



[0139]

[0140] 화합물 f의 제조

[0141] 화합물 S1 (1 g, 3.78 mmol)에 SOCl₂ (0.83 mL, 11.4 mmol)를 가한 후 70℃로 3시간동안 환류시켰다. 반응 완결 확인(DCM : MeOH = 19 : 1로 TLC 확인) 후 반응이 완결되면, 용매를 감압증류하여 제거하고 조 생성물로 화합물 S2를 수득하였으며, 정제하지 않고 바로 다음 반응에 바로 사용하였다.

[0142] 상기 얻어진 화합물 S2 (1.07 g, 3.78 mmol)를 DCM (100 mL)에 용해 후 프로파길아민 (0.291 mL, 4.54 mmol), TEA (3.069 mL, 4.94 mmol)과 DMAP (0.92 g, 0.76 mmol)를 가하고 상온에서 30분동안 교반시켰다. 반응 완결 확인(EA : HEX = 2 : 1로 TLC 확인) 후 반응이 완료되면 물로 워-업(work-up)한 후 MgSO₄로 수분을 제거하여 감압필터한 뒤 감압농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(EA : HEX = 2 : 1 부피비)로 정제시켜 화합물 f를 수득하였다(수율 20%).

[0143] TLC 확인 : EA : HEX = 2 : 1, R_f=0.6

[0144] ¹H NMR (CDCl₃, 400MHz) δ 2.20(s, 1H), 2.26(s, 6H), 4.13(q, 2.8Hz, 2H), 5.86(bs, 1H), 6.25(d, 15.6Hz, 1H), 7.14(d, 8Hz, 1H), 7.28(d, 2Hz, 1H), 7.31(dd, 8Hz, 2Hz, 1H), 7.53(d, 15.6Hz, 1H)

[0145] 화합물 6-a의 제조

[0146] PMB-코직 아자이드 화합물 A2 (100 mg, 0.35 mmol)을 아세톤 (10 mL)에 용해시킨 다음, 화합물 f (110 mg, 0.38 mmol) 및 Cu(PPh₃)₃Br (40 mg, 0.04 mmol)을 가하고 상온에서 밤새도록 반응시켰다. 반응이 완료되면, 회전 증발기로 용매를 제거한 후 DCM으로 녹였다. 물로 워-업(work-up)한 후, 수득된 유기층을 무수 MgSO₄로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(1차 전개 용매 DCM/EA=1/1 v/v, 2차 전개 용매 DCM/MeOH=19/1 v/v)로 정제시켜 화합물 6-a를 수득하였다(황토색 고체상, 133.4 mg, 64.8 %).

[0147] 코직산 컨쥬게이트 화합물 6의 제조

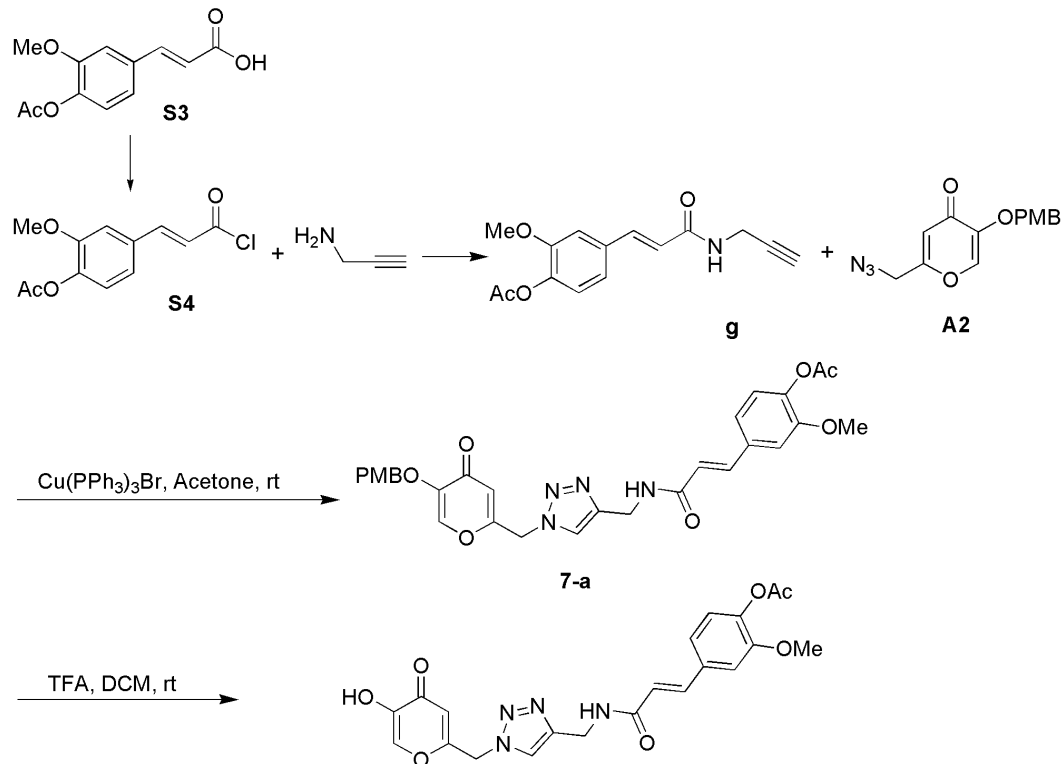
[0148] 화합물 6-a (130mg, 0.22 mmol)을 DCM (10 mL)에 용해시킨 후 TFA (0.5 mL)에 적가하면서 30분동안 교반하였다. 반응이 완결되면, 회전 증발기로 용매를 제거하고, 물로 워-업(work-up)한 후, 수득된 유기층을 무수 MgSO₄로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 극소량의 DCM으로 녹인 후 헥산으로 재결정하

여 코직산 컨쥬게이트 화합물 **6**을 수득하였다(흰색 고체상, 95.4 mg, 92.6 %).

[0149] TLC 확인: DCM:MeOH=19:1, $R_f=0.4$

[0150] ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 2.31(s, 6H), 4.64(d, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 5.28(s, 2H), 6.32(d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.34(s, 1H), 7.18(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 7.29(s, 1H), 7.31(s, 1H), 7.35(d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 7.56(d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 7.70(s, 1H), 7.81(s, 1H); ESI-HRMS : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 469.4 (calcd 469.42).

[0151] [실시예 7] 코직산 컨쥬게이트 화합물 **7**의 합성



[0152]

[0153] 화합물 **g**의 제조

[0154] 화합물 **S3** (1 g, 4.23 mmol)에 SOCl_2 (0.92 mL, 12.69 mmol)를 가한 후 70°C 로 3시간동안 환류시켰다. 반응 완결 확인(DCM : MeOH = 19 : 1로 TLC 확인) 후 반응이 완결되면, 용매를 감압증류하여 제거하고 조 생성물로 화합물 **S4**를 수득하였으며, 정제하지 않고 바로 다음 반응에 바로 사용하였다.

[0155] 상기 얻어진 화합물 **S4** (0.915 g, 3.593 mmol)를 DCM (100 mL)에 용해 후 프로파길아민 (0.28 mL, 4.31 mmol), TEA (2.51 mL, 18 mmol)과 DMAP (0.92 g, 0.76 mmol)를 가하고 상온에서 30분동안 교반시켰다. 반응 완결 확인 (DCM : MeOH = 19 : 1로 TLC 확인) 후 반응이 완료되면 물로 워-업(work-up)한 후 MgSO_4 로 수분을 제거하여 감압필터한 뒤 감압농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(EA : HEX = 2 : 1 부피비)로 정제시켜 화합물 **g**를 수득하였다(수율 66%).

[0156] TLC 확인 : DCM : MeOH = 19 : 1, $R_f=0.5$

[0157] ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ 1.99(s, 1H), 2.25(s, 1H), 3.82(s, 3H), 4.16(q, 2.8Hz, 2H), 5.93(bs, 1H), 6.30(d, 15.2Hz, 1H), 7.01(d, 8.4Hz, 1H), 7.03(d, 4.4Hz, 1H), 7.06(dd, 8.4Hz, 4.4Hz, 1H), 7.57(d, 15.2Hz, 1H)

[0158] 화합물 **7-a**의 제조

[0159] PMB-코직 아자이드 화합물 **A2** (200 mg, 0.70 mmol)을 아세톤 (10 mL)에 용해시킨 다음, 화합물 **g** (210 mg,

0.77 mmol) 및 $\text{Cu}(\text{PPh}_3)_3\text{Br}$ (65 mg, 0.070 mmol)을 가하고 상온에서 밤새도록 반응시켰다. 반응이 완료되면, 회전 증발기로 용매를 제거한 후 DCM으로 녹였다. 물로 워-업(work-up)한 후, 수득된 유기층을 무수 MgSO_4 로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(1차 전개 용매 DCM/EA=1/1 v/v, 2차 전개 용매 DCM/MeOH=19/1 v/v)로 정제시켜 화합물 **7-a**를 수득하였다(황토색 분말상, 251.6 mg, 64.5 %).

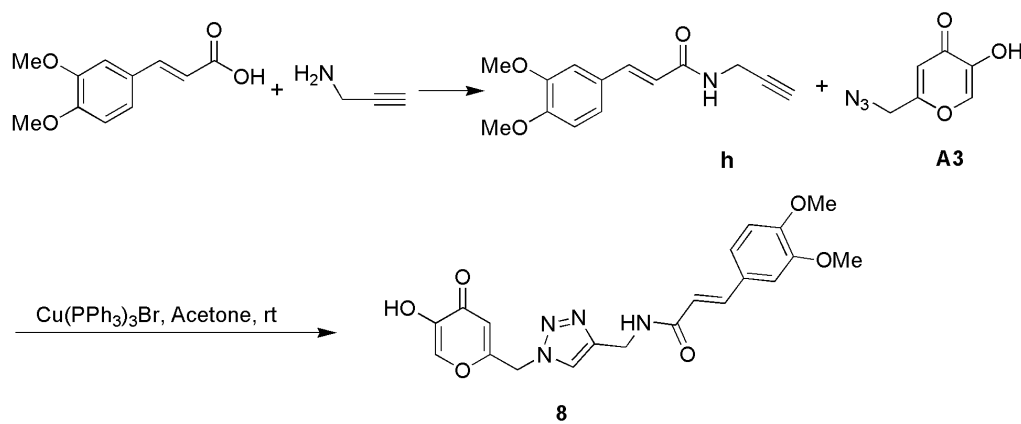
[0160] 코직산 컨쥬게이트 화합물 7의 제조

[0161] 화합물 **7-a** (140 mg, 0.25 mmol)을 DCM (10 mL)에 용해시킨 후 0°C의 TFA (0.5 mL)에 적가하면서 30분동안 교반하였다. 반응이 완결되면, 회전 증발기로 용매를 제거하고, 물로 워-업(work-up)한 후, 수득된 유기층을 무수 MgSO_4 로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 극소량의 DCM으로 녹인 후 헥산으로 재결정하여 코직산 컨쥬게이트 화합물 **7**을 수득하였다(흰색 분말상, 50 mg, 45.4 %).

[0162] TLC 확인: MeOH:DCM=1:9, $R_f=0.1$

[0163] ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 2.32(s, 3H), 3.85(s, 3H), 4.66(d, J=6.0Hz, 2H), 5.38(s, 2H), 6.24(s, 1H), 6.34(d, J=15.6Hz, 1H), 6.35(s, 1H), 7.03(d, J=8.0Hz, 1H), 7.07(s, 1H), 7.09(d, J=8.0Hz, 1H), 7.59(d, J=15.6Hz, 1H), 7.72(s, 1H), 7.83(s, 1H); ESI-HRMS : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 427.4 (calcd 426.38).

[0164] [실시예 8] 코직산 컨쥬게이트 화합물 **8**의 합성



[0165]

[0166] 화합물 h의 제조

[0167] 3-(3,4-디메톡시페닐)아크릴산(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acrylic acid) (500 mg, 2.40 mmol)를 DCM (60 mL)에 녹인 다음, HOBT(hydroxybenzotriazole) (40 mg, 0.24 mmol), EDC (550 mg, 2.89 mmol), DIPEA (1.25 mL, 7.20 mmol)과 프로파질아민 (0.19 mL, 2.88 mmol)을 넣어주고 밤새도록 반응시켰다. 반응이 완료되면 DCM과 물로 워-업(work-up)한 후, 수득된 유기층을 MgSO_4 로 수분을 제거하여 감압필터한 뒤 감압농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(EA : DCM = 1 : 4 부피비)로 정제시켜 화합물 **h**을 수득하였다(수율 40 %).

[0168] TLC 확인 : DCM : MeOH = 19 : 1, $R_f=0.6$

[0169] ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 2.22(d, 2Hz, 1H), 3.87(s, 6H), 4.16(q, 2Hz, 2H), 5.64(bs, 1H), 6.22(d, 16.4Hz, 1H), 6.83(d, 8Hz, 1H), 6.99(s, 1H), 7.06(d, 8Hz, 1H), 7.55(d, 16.4Hz, 1H)

[0170] 코직산 컨쥬게이트 화합물 8의 제조

[0171] 코직 아자이드 화합물 **A3** (150 mg, 0.90 mmol)을 아세톤 (10 mL)에 용해시킨 다음, 화합물 **h** (230 mg, 0.99 mmol) 및 $\text{Cu}(\text{PPh}_3)_3\text{Br}$ (80 mg, 0.09 mmol)을 가하고 상온에서 밤새도록 반응시켰다. 반응이 완료되면, 회전 증발기로 용매를 제거한 후 물로 워-업(work-up)하고, 수득된 유기층을 무수 MgSO_4 로 건조시킨 후 여과 및 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카 컬럼 크로마토그래피(전개 용매 DCM:MeOH=23:2 v/v)로 정제시켜 코직산 컨쥬게이트 화합물 **8**을 수득하였다(황토색 고체상, 32.1 mg, 15.4 %).

- [0172] TLC 확인: DCM:MeOH=9:1, $R_f=0.4$
- [0173] ^1H NMR (CDCl₃, 400MHz): δ 3.89(s, 6H), 4.65(d, J=5.6Hz, 2H), 5.36(s, 2H), 6.21(s, 1H), 6.26(d, J=15.6Hz, 1H), 6.33(s, 1H), 6.84(d, J=8.0Hz, 1H), 7.07(d, J=8.0Hz, 1H), 7.56(d, J=15.6Hz, 1H), 7.70(s, 1H), 7.81(s, 1H); ESI-HRMS : [M+H]⁺ 413.4 (calcd 413.4).
- [0174] **[시험예 1] 티로시나아제 억제 효과 측정 실험(Tyrosinase assay)**
- [0175] 상기 실시예에서 제조된 코직산 컨쥬게이트 화합물에 대하여, 티로시나아제 억제 효과를 다음과 같은 방법으로 측정하였다.
- [0176] 티로신(Tyrosine)으로부터 멜라닌을 형성하는 일련된 산화 반응에서 티로시나아제는 처음 티로신이 도파(Dopa)로 산화되는 과정과 다음 단계인 도파가 도파퀴논(Dopaquinone)으로 산화되는 과정의 두 단계의 반응을 촉진하는 효소이다.
- [0177] <시료의 준비>
- [0178] 0.1M Pi 완충액(PH 6.8)의 제조: Pi acid form (NaH₂PO₄, 8.199g)과 Pi base form (Na₂HPO₄, 4.6g)을 1L의 증류수에 용해시킨 후, 볼텍스믹서(voltex mixer)를 이용하여 잘 섞어준다.
- [0179] L-티로신(0.1mg/mL)의 제조: L-티로신(0.81mg)를 0.1M Pi 완충액(PH 6.8)으로 용해시킨 후, 볼텍스믹서(voltex mixer)를 이용하여 잘 섞어준다.
- [0180] 티로시나아제 수용액의 제조: 티로시나아제는 1715 유닛(unit)을 사용하였다. 티로시나아제(1.16mg)을 0.1M Pi 완충액(PH 6.8) (1.16mL)로 용해시킨 후, 볼텍스믹서(voltex mixer)를 이용하여 잘 섞어 1715 유닛의 티로시나아제를 수용액 상태로 제조한다.
- [0181] 10% DMSO의 제조: 삼차수(9mL)와 DMSO(1mL)를 섞어준다. (삼차수:DMSO=9:1)
- [0182] 코직산 용액 (대조군): 코직산 1mg 당 1mL의 10% DMSO로 녹여준 후, 볼텍스믹서(voltex mixer)를 이용하여 잘 섞어준다.
- [0183] 코직산 컨쥬게이트 화합물 용액: 용해도가 좋은 경우 코직산과 같은 방법으로 용해시키고, 용해도가 좋지 않은 경우 1.04mg의 코직산 컨쥬게이트 화합물을 먼저 DMSO(134uL)에 용해시킨 후, 삼차수(1206uL)를 넣어준 다음, 볼텍스믹서(voltex mixer)를 이용하여 잘 섞어준다.
- [0184] <시료의 흡광도 측정>
- [0185] - control: micro tube를 준비하여 0.1M Pi 완충액(PH 6.8) 400uL, L-티로신(0.1mg/mL) 300uL 그리고 티로시나아제 수용액 200uL를 넣어준 후, 볼텍스믹서(voltex mixer)를 이용하여 잘 섞어준다.
- [0186] - sample (1mg당 1mL로 녹인 KA와 각 sample들을 사용하여 만든다.): 코직산 또는 코직산 컨쥬게이트 화합물 용액 100uL, 0.1M Pi 완충액(PH 6.8) 400uL, L-티로신(0.1mg/mL) 300uL 그리고 티로시나아제 수용액 200uL를 넣어준 후, 볼텍스믹서(voltex mixer)를 이용하여 잘 섞어준다.
- [0187] - sample 자체: 코직산 또는 코직산 컨쥬게이트 화합물 용액 100mL와 0.1M Pi 완충액(PH 6.8) 900uL를 볼텍스믹서(voltex mixer)를 이용하여 잘 섞어준다.
- [0188] 상기 control, sample 및 sample 자체를 각각 30분간 반응개시와 정지를 거쳐 흡광도를 480nm에서 측정하고, 다음 식을 이용하여 티로시나아제 활성 억제효과를 구하였으며, 티로시나아제 효소 활성의 50%를 저해하는 값을 IC₅₀으로 나타내어 하기 표 1에 나타내었다.

$$(1 - \frac{\text{sample 흡광값} - \text{sample 자체 흡광값}}{\text{control 값}}) \times 100 = \quad \%$$

[0189]

표 1

[0190]

실시 화합물	티로시나아제 저해 IC ₅₀ (μM)
화합물 1 (실시예 1)	0.88±0.39
화합물 2 (실시예 2)	0.0044±0.7433
화합물 3 (실시예 3)	0.43±0.74
화합물 4 (실시예 4)	1.52±0.73
화합물 5 (실시예 5)	37.79±0.12
화합물 6 (실시예 6)	11.13±4.96
화합물 8 (실시예 8)	12.75±4.31
대조군	코직산(KA)
	45.2±4.6

[0191]

상기 결과에서 볼 수 있듯이, 실시예의 코직산 컨쥬게이트 화합물들은 티로시나아제 활성을 저해하는 효과가 뛰어나며, 그 효과는 코직산보다 우수하다. 따라서 본 발명에 따른 코직산 컨쥬게이트 화합물들은 티로시나아제의 활성을 저해하여 뛰어난 피부 미백 효과를 가짐을 알 수 있다.

【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 제6항

【변경전】

미백, 자극 완화

【변경후】

미백, 자극 완화