



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년12월08일
(11) 등록번호 10-1806485
(24) 등록일자 2017년12월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/357 (2006.01) A61K 31/16 (2006.01)
A61K 31/165 (2006.01) A61K 31/36 (2006.01)
A61K 8/02 (2006.01) A61K 8/42 (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01) A61Q 19/02 (2006.01)

(73) 특허권자
서울대학교산학협력단
서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)

(52) CPC특허분류
A61K 31/357 (2013.01)
A61K 31/16 (2013.01)

(72) 발명자
김상희
서울특별시 강남구 압구정로 321, 6동 308호 (압구정동, 한양아파트)

(21) 출원번호 10-2015-0125499
(22) 출원일자 2015년09월04일
심사청구일자 2016년08월24일
(65) 공개번호 10-2017-0028640
(43) 공개일자 2017년03월14일

(72) 발명자
김선여
서울특별시 강남구 삼성로 150, 105동 603호 (대치동, 미도맨션)
(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌
논문(Med Chem Res (2013) 22:4173-4182)*
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
특허법인 공간

전체 청구항 수 : 총 6 항

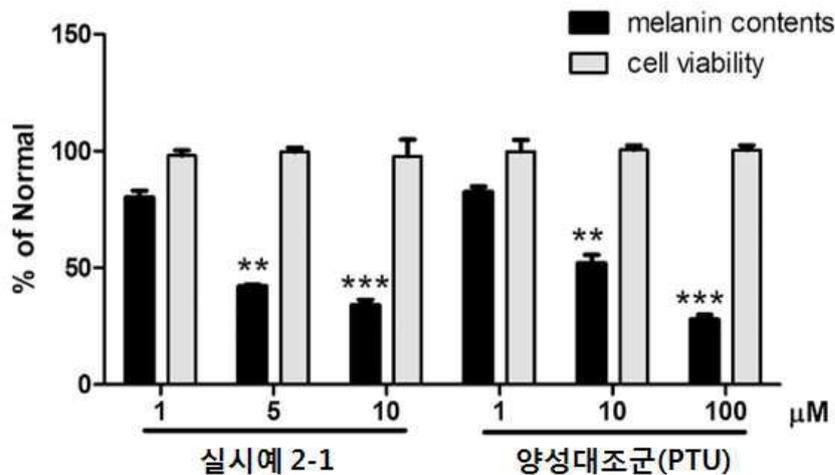
심사관 : 박수진

(54) 발명의 명칭 **파이퍼 아마이드 유도체를 포함하는 피부 미백용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 파이퍼 아마이드 유도체를 포함하는 피부 미백용 조성물에 관한 것으로, 상기 화합물은 멜라닌 합성을 저해하는 효과 및 멜라닌형성과 관련이 있는 티로시나아제, TRP-1, TRP-2 및 MITF 단백질의 발현을 감소시키는 효과가 우수하여 피부 미백용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/165 (2013.01)
A61K 31/36 (2013.01)
A61K 8/02 (2013.01)
A61K 8/42 (2013.01)
A61K 8/498 (2013.01)
A61Q 19/02 (2013.01)

(72) 발명자

조현경

광주광역시 서구 치평로 35, 209동 804호 (치평동, 금호쌍용아파트)

황은선

경기도 용인시 수지구 광교마을로 90, 4109동 503호 (상현동, 광교마을휴먼시아41단지)

심원식

서울특별시 관악구 관악로30길 27, 109동 1401호 (봉천동, 관악푸르지오1단지아파트)

(56) 선행기술조사문헌

논문(Biological & Pharmaceutical Bulletin (20090228), 32(2), pp. 301-303)*

US20020168369 A1

WO2010062900 A2

WO2003049702 A2

KR1020140109273 A

논문(Carcinogenesis. 2011 May; 32(5): 779-785)

KR1020140124987 A

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 370C-20150037

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 기초연구사업/중견연구자지원사업

연구과제명 구조 유사성 기반 스마트 라이브러리 제작 및 기능성 바이오·신약 소재 개발

기여율 1/1

주관기관 서울대학교

연구기간 2015.06.01 ~ 2016.05.31

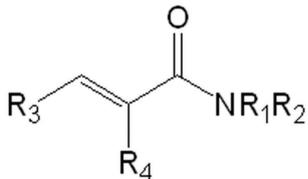
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 α, β -불포화 아마이드(α, β -unsaturated amides) 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 조성물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R₁은 수소이며,

R₂는 수소, 2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxine), 2-티아졸(thiazol), 벤질, 알콕시벤질, 페닐알킬, 하나 이상의 알콕시기로 치환된 페닐알킬 또는 히드록시페닐알킬이고;

R₃은 C1 내지 C10의 알킬, C1 내지 C10의 알케닐, 퓨라닐, 페닐, 하나 이상의 알킬기가 치환된 페닐, 할로젠이 치환된 페닐, 히드록시페닐, 니트로페닐, 하나 이상의 알콕시가 치환된 페닐, 알콕시알킬페닐, 할로겐알콕시페닐 또는 벤조[d][1,3]디옥솔(benzo[d][1,3]dioxole)이며;

R₄는 수소 또는 C1 내지 C10의 알킬이다.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 화학식 1의 화합물은,

(E)-3-(4-(t-부틸)페닐)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드;

(E)-3-(4-클로로페닐)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드;

(E)-3-(벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드; 및

(E)-N-(3-메톡시페닐)-3-(4-메톡시페닐)아크릴아마이드;로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 피부 미백용 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항의 미백용 조성물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 약학 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 약학 조성물은 연고제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 크림제, 젼제 및 젼 중에서 선택되는 1종의 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 피부 미백용 약학 조성물.

청구항 5

제1항 또는 제2항의 미백용 조성물을 유효성분으로 포함하는 피부 미백용 화장품 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 화장품 조성물은 유연화장수, 수렴화장수, 영양화장수, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 팩, 피부접착용 패취 및 피부접착용 겔 중에서 선택되는 1종의 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 피부 미백용 화장품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 파이프 아마이드 유도체를 포함하는 피부 미백용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 멜라닌은 피부, 모발, 망막(retina), 부신(adrenal gland), 내이(inner ear) 및 흑질(substantia nigra)에서 발견되는 페놀성 생체고분자 물질이다(Alaluf, S. et al., 2002). 인체에서 멜라닌은 두 가지 중요한 기능을 갖는데 먼저, 멜라닌의 양에 따라 피부색이 결정된다. 멜라닌의 양이 많을수록 검은 피부색을 띄며, 인종마다 피부색이 다른 것은 멜라닌세포 수의 차이 때문이 아니라, 멜라닌세포의 크기와 만들어지는 멜라닌의 양이 다르기 때문이다. 또한, 멜라닌은 일정량 이상의 자외선을 흡수하여 유해한 자외선이 인체 내로 침투하는 것을 차단하여 인체를 보호하는 역할을 한다. 햇빛에 의해 피부가 갈색으로 변하는 것은, 피부 아래층에 존재하는 멜라닌세포가 자외선에 의해 자극을 받아 신체를 보호하기 위해 멜라닌을 만들고, 만든 멜라닌을 피부 위쪽으로 올려 보내어 자외선이 피부 깊숙이 침투하는 것을 방지하기 때문이다. 같은 논리로 햇빛에 많이 노출된 사람일수록 자외선으로부터 피부를 보호하기 위해 멜라닌이 많이 생성되므로 피부가 검다(Quevedo, W. C. et al., 1974; Slominski, A. et al., 2012).

[0003] 멜라닌형성 과정을 살펴보면, 신경릉(neural crest)으로부터 유래된 멜라닌아세포(melanoblast)가 표피로 이동하여 수지상돌기(dendrite)가 있는 세포인 멜라노사이트(melanocyte)로 분화되고 이곳에서 멜라닌이 형성된다. 멜라닌은 티로시나아제(tyrosinase), TRP-1(tyrosinase-related protein 1), DCT(DOPAchrome tautomerase) 효소들의 단계적인 조절에 의해서 티로신(tyrosine)이 도파퀴논(dopaquinone)으로 전환되고, 상기 도파퀴논이 멜라닌으로 전환되며 생성된다(Jimbow, K. et al., 1994; Sulaimon, S. S. et al., 2003).

[0004] 티로시나아제와 TYRP(tyrosinase-related protein) 유전자의 발현에 있어, 가장 중요한 전사인자는 MITF(microphthalmia-associated transcription factor)이며(Vance, K. W. et al., 2004), cAMP-dependent protein kinase A의 활성화와 PKA에 의한 CREB(cAMP response element-binding protein)의 활성화를 통해 MITF 발현을 유도한다(Karin, M., 1994). 또한, MITF에 의해 TRPM1(transient receptor potential cation channel subfamily M member 1)의 발현이 조절되며, TRPM1의 발현은 멜라노사이트에서 멜라닌의 함량과 대응한다(Oancea, E. et al., 2009). 선행문헌 [Devi, S. et al., 2009]에는, 멜라노사이트에서 TRPM1의 knockdown은 세포내 Ca²⁺를 감소시켰고, 그 결과 티로시나아제 활성화와 멜라닌 색소침착의 감소를 가져왔음을 보고하였다.

[0005] 색소침착(pigmentation)은 4 가지 단계에 의해 발생할 수 있으며, 이는 멜라닌형성 효소(melanogenic enzyme)의 발현, 멜라닌 합성 전이나 도중에 멜라닌형성 효소 활성의 조절, 각질형성세포로의 멜라노솜(melanosome) 전이 및 멜라노솜의 저하 및 턴오버를 통해 조절된다. 그 중에서도, 멜라닌형성(melanogenesis) 과정은 색소침착 조절을 위한 가장 중요한 단계이다.

[0006] 멜라닌형성 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(keratinocyte)로 전달되어 피부 표피층에 축적되어 기미, 주근깨 및 노인성 색소침착(geriatric pigment spot) 등의 심각한 미용상 문제를 일으킬 뿐만 아니라, 피부노화를 촉진하며 피부암을 유발하기도 한다.

[0007] 현재까지 다양한 피부보호제 및 미백제가 개발되어 사용되고 있으나, 여러 가지 문제점이 제기되고 있다. 미백제인 4-하이드록시아니솔(4-hydroxyanisole) 및 하이드로퀴논(hydroquinone) 등은 기미, 주근깨, 반점 및 임신기 과잉 색소증 치료에 국부적으로 사용되고 있으나, 이들 화합물은 강력한 멜라닌 생성 저해 활성을 보이는 반면, 색소 세포의 변성 또는 치사를 일으키고 세포 본래의 기능을 손상시키는 등의 부작용을 나타낸다. 특히 하이드로퀴논 계열은 강력한 멜라닌 생합성 저해활성을 나타내어 미백용 크림으로 개발되었으나, 세포 독성으로

인한 피부자극과 피부병을 유발하여 일부 국가에서만 사용이 허가되고 있는 실정이다. 또한, 코직산(Kojic acid)은 현재 알부틴(arbutin; hydroquinone-β-D-glucopyranoside), 아스코빈산(비타민 C)등과 함께 식품의 갈변 방지제, 화장품, 의약품용 미백제 성분으로 사용되고 있으며, 세정제, 세안제, 욕류 갈변 방지제, 항산화제, 선도 유지제 등의 기능도 보고되고 있다. 그러나 코직산의 낮은 저해활성, 사용중의 변색, 물질 자체의 불안정성 등의 문제점이 제기되고 있다. 그밖에 4-하이드록시인돌(4-hydroxyindole), 4-헥실레조시놀(4-hexylresorcinol) 등 많은 물질이 티로시나아제 저해 활성을 나타내어 피부 색소합성을 저하하는 효과가 있지만, 대부분의 물질이 암, 돌연변이 등을 유발시키거나, 강한 독성을 나타낸다고 보고되어, 독성이 적은 미백용 조성물에 대한 연구가 요구된다.

[0008] 또한, 과색소침착(hyperpigmentation)은 자외선에 의한 손상과 흑색종의 개시에 저항하기 위한 멜라노사이트의 보호로 인해 발생하며(Quevedo, W. C. et al., 1974; Slominski, A. et al., 2012), 악성 흑색종(malignant melanoma)은 자외선에 장기간 노출 시, DNA에 직접적인 손상 및 변이가 나타나 형성될 수 있다. 전이성 흑색종 환자(metastatic melanotic melanoma)의 사망률은 다른 피부암에 비해 높은 수치를 나타내며, 이의 치료법은 수술이나, 화학적요법 및 방사선치료에 의해 이루어진다. 종래의 화학적요법이나 방사선치료는 효과적이지 못한 치료법이나, 최근에는, 생화학적 치료요법이나 보조요법(adjutant therapy) 등이 암 환자에게 완화효과를 제공한다고 보고되었다(Bhatia, S. et al., 2009). 특히, 피부 전이암이나 흑색종 환자에게 보조요법으로서, 멜라닌 형성 조절이나 티로시나아제의 발현 저해(멜라닌형성 중간체로서, L-DOPA는 흑색종 환자에서 높은 수치로 검출됨)는 유용하게 이용될 수 있으며, 멜라닌형성 저해제인 p-아미노벤조산(aminobenzoic acid)은 흑색종암(melanotic cancer)과 흑색종전이(melanoma metastasis)의 치료를 위해 사용될 수 있음이 국제공개공보 WO 2005/070043에 보고되었다. 이에, 전이성 피부암에 대항하는 새로운 치료법으로서, 과색소침착의 저항성에 대한 연구가 요구되는 실정이다.

[0009] 파이프 아마이드(Piper amide)는 파이프 속에 주로 구성되어 있으며 α,β-불포화 아마이드기(α,β-unsaturated amide group)의 존재에 의해 구조적인 특징이 나타난다. 파이프 아마이드 천연물은 항염증, 항진균, 살충, 진통, 항우울, 항암 작용과 같은 다양한 생리 활성을 나타낸다고 알려져 있다.

[0010] 일반적으로 파이프 아마이드의 구조는 α,β-불포화 아마이드기(α,β-unsaturated amide group)를 모핵으로 갖는 것을 특징으로 하며 상기 모핵은 약물이나 약물 후보 물질로서 개발된 바 있다. 예를 들면 AMG-9810과 SB-355791은 매우 강력한 바닐로이드 수용체 TRPV1 길항제(vanilloid receptor TRPV1 antagonist)로 알려져 있으며, 트라닐라스트(tranilast)는 실제 임상에서 사용되는 항알레르기제로 사용되고 있다. 그러나 아직까지 파이프 아마이드 유도체의 멜라닌 생성 저해 활성을 통한 피부 미백용 약학 조성물 또는 화장품 조성물로서의 이용 가능성에 대해서는 개시된 바 없다.

선행기술문헌

특허문헌

[0011] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제2014-0109273호, 붐베신 수용체 아형-3 조절제로서의 파이프 아마이드 계열 화합물, 2014년 09월 15일, 공개.

(특허문헌 0002) 국제공개공보 WO 2005/070043, Methods for treating non-melanoma cancers with paba, 2005년 08월 04일, 공개.

(특허문헌 0003) 국제공개공보 WO 2008/057300, TRPV1 antagonists and uses thereof, 2008년 05월 15일, 공개.

비특허문헌

[0012] (비특허문헌 0001) Alaluf, S. et al., The impact of epidermal melanin on objective measurements of human skin colour, Pigment Cell Res., 15(2), 119-126, 2002.

(비특허문헌 0002) Bhatia, S. et al., Treatment of Metastatic Melanoma: An Overview, Oncology(Williston Park), 23(6), 488-496, 2009.

(비특허문헌 0003) Busca, R. et al., Inhibition of the phosphatidylinositol 3-kinase/p70(S6)-kinase

pathway induces B16 melanoma cell differentiation, J Biol Chem., 271(50), 31824-31830, 1996.

(비특허문헌 0004) Devi, S. et al., Calcium homeostasis in human melanocytes: role of transient receptor potential melastatin 1(TRPM1) and its regulation by ultraviolet light, Am J Physiol Cell Physiol, 297(3), C679-687, 2009.

(비특허문헌 0005) Hosoi, J. et al., Regulation of melanin synthesis of B16 mouse melanoma cells by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 and retinoic acid, Cancer research, 45, 1474-1478, 1985.

(비특허문헌 0006) Jimbow, K. et al., Molecular control of melanogenesis in malignant melanoma: functional assessment of tyrosinase and lamp gene families by UV exposure and gene co-transfection, and cloning of a cDNA encoding calnexin, a possible melanogenesis "chaperone", J Dermatol., 21(11), 894-906, 1994.

(비특허문헌 0007) Karin, M., Signal transduction from the cell surface to the nucleus through the phosphorylation of transcription factors, Curr Opin Cell Biol., 6(3), 415-424, 1994.

(비특허문헌 0008) Kim, D. S. et al., Delayed ERK activation by ceramide reduces melanin synthesis in human melanocytes, Cell Signal., 14(9), 779-785, 2002.

(비특허문헌 0009) Kim, J. H. et al., Downregulation of Melanin Synthesis by Haginin A and Its Application to In Vivo Lightening Model, J Invest Dermatol., 128(5), 1227-1235, 2008.

(비특허문헌 0010) Kim, S. M. et al., Column chromatography-free solution-phase synthesis of a natural piper-amide-like compound library, ACS Comb Sci., 15(4), 208-215, 2013.

(비특허문헌 0011) Oancea, E. et al., TRPM1 forms ion channels associated with melanin content in melanocytes, Sci Signal., 2(70), ra21, 2009.

(비특허문헌 0012) Park, K. T. et al., Inhibitory effect of mulberroside A and its derivatives on melanogenesis induced by ultraviolet B irradiation, Food Chem Toxicol., 49, 3038-3045, 2011.

(비특허문헌 0013) Quevedo, W. C. et al., Light and skin color. In "Sunlight and Man", Univ. of Tokyo Press, 165-194, 1974.

(비특허문헌 0014) Slominski, A. et al., Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation, Physiol Rev., 84(4), 1155-1228, 2004.

(비특허문헌 0015) Slominski, A. et al., L-tyrosine and L-dihydroxyphenylalanine as hormone-like regulators of melanocyte functions, Pigment Cell Melanoma Res., 25(1), 14-27, 2012.

(비특허문헌 0016) Sulaimon, S. S. et al., The biology of melanocytes, Vet Dermatol., 14(2), 57-65, 2003.

(비특허문헌 0017) Vance, K. W. et al., The transcription network regulating melanocyte development and melanoma, Pigment Cell Res., 17(4), 318-325, 2004.

(비특허문헌 0018) Xu, X. Z. et al., Regulation of melastatin, a TRP-related protein, through interaction with a cytoplasmic isoform, Proc Natl Acad Sci U S A., 98(19), 10692-10697, 2001.

발명의 내용

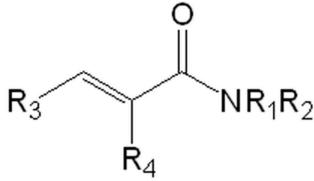
해결하려는 과제

[0013] 본 발명의 목적은 파이프 아마이드 유도체를 포함하는 피부 미백용 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0014] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 α, β -불포화 아마이드(α, β -unsaturated amides) 화합물을 함유하는 피부 미백용 조성물에 관한 것이다.

[0015] [화학식 1]



[0016]

[0017]

[0018]

[0019]

[0020]

[0021]

[0022]

[0023]

[0024]

[0025]

[0026]

[0027]

[0028]

[0029]

[0030]

[0031]

[0032]

상기 화학식 1에서,

R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소, C1 내지 C10의 알킬, 알킬페닐, 2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxine), 2-티아졸(thiazol), 벤질, 알콕시벤질, 페닐알킬, 하나 이상의 알콕시기로 치환된 페닐알킬 또는 히드록시페닐알킬이거나, 상기 아미드기의 질소를 포함하여 고리를 형성하는 것이고;

R₃은 C1 내지 C10의 알킬, C1 내지 C10의 알케닐, 퓨라닐, 페닐, 하나 이상의 알킬기가 치환된 페닐, 할로겐이 치환된 페닐, 히드록시페닐, 니트로페닐, 하나 이상의 알콕시가 치환된 페닐, 알콕시알킬페닐, 할로겐알콕시페닐 또는 벤조[d][1,3]디옥솔(benzo[d][1,3]dioxole)이며;

R₄는 수소 또는 C1 내지 C10의 알킬이다.

본 발명의 용어 “알킬”은 단일결합의 직쇄 또는 분지쇄의 포화탄화수소기를 말하며, 예를 들어 메틸, 에틸, 프로필, n-부틸, 이소부틸, tert-부틸, 1-메틸프로필 등이 있다.

본 발명의 용어 “알콕시”는 단일결합의 직쇄 또는 분지쇄의 포화 탄화수소가 결합된 산소기를 말하며, 예를 들어 메톡시, 에톡시, 프로폭시, n-부톡시, tert-부톡시, 1-메틸프로폭시 등이 있다.

또한, 본 발명의 상기 화학식 1의 화합물은,

(E)-3-(4-(t-부틸)페닐)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드;

(E)-3-(4-브로모페닐)-N-(4-히드록시페네틸)아크릴아마이드;

(E)-3-(2-플루오로-4-메톡시페닐)-N-(4-히드록시페네틸)아크릴아마이드;

(E)-3-(2,5-디메틸페닐)-N-(4-히드록시페네틸)아크릴아마이드;

(E)-3-(4-클로로페닐)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드;

(E)-3-(벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드; 및

(E)-N-(3-메톡시페닐)-3-(4-메톡시페닐)아크릴아마이드;로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상인 것이 바람직하다.

본 발명은 또한, 상기 화학식 1의 파이퍼 아마이드 유도체를 포함하는 피부 미백용 약학 조성물을 제공하며, 상기 약학 조성물은 기미, 주근깨, 간반, 갈색 또는 흑점, 임신성 갈색 반점, 노인성 반점, 자외선 노출로 인한 반점, 약물 사용 후의 과색소침착, 찰상 및 화상을 비롯한 상처 또는 피부염으로 인한 염증 후 과색소침착 등의 멜라닌 과다 생성에 의한 과색소침착 질환의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.

상기 화학식 1의 파이퍼 아마이드 유도체를 포함하는 피부 미백용 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제 화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화학식 1의 파이퍼 아마이드 유도체에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제,

내용 액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는 데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로폴, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0033] 또한, 제형에 특별한 제한을 두지는 않으나, 연고제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 크림제, 젤제 및 젤 중에서 선택되는 1종의 제형을 갖는 피부 외용제로 사용될 수 있으며, 상기 피부 외용제를 피부에 도포하여 피부 과색 소침착 질환의 예방 또는 치료용 조성물로 사용할 수 있고, 경피 흡수를 증가시키는 제제, 예를 들면 비한정적인 의미로 특히 디메틸설폭사이드, 디메틸아세트아마이드, 디메틸포름아마이드, 계면활성제, 알콜, 아세톤, 프로필렌글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜을 포함할 수 있다. 도포 빈도는 치료받을 대상의 연령, 성별, 체중, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여경로 및 처방자의 판단에 따라 상당히 변할 수 있으며, 도포 빈도는 매달 내지 1일 10회, 바람직하게는 매주 내지 1일 4회, 더 바람직하게는 1주당 3회 내지 1일 3회, 보다 더 바람직하게는 1일 1회 또는 2회가 제안된다.

[0034] 한편, 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있으며, 본 발명의 용어 “투여”란, 적절한 방법으로 개체에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미한다. 상기 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장, 정맥, 근육, 피하, 복강 또는 국소 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0035] 상기 용어 “개체”는 질병의 치료를 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐(mouse), 쥐(rat), 개, 고양이, 말 및 소 등의 포유류를 의미한다.

[0036] 상기 용어 “약학적으로 유효한 양”이란 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 성별, 연령, 체중, 건강상태, 질병의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로, 및 배출 비율, 치료 기간, 배합 또는 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 바람직하게 본 발명의 상기 화학식 1의 파이프 아마이드 유도체는 고형분을 기준으로 1일 0.0001 내지 100mg/체중kg으로, 보다 바람직하게는 0.001 내지 100mg/체중kg으로 투여할 수 있다. 투여는 상기 권장 투여량을 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 나아가, 초기 약물 투여시에는 목적하는 효과에 필요한 양보다 적은 양으로 투여를 시작하여, 목적하는 효과를 얻을 때까지 점차적으로 투여량을 증가시킬 수 있다.

[0037] 또 다른 일면에 있어서, 본 발명의 상기 화학식 1의 파이프 아마이드 유도체는 피부 미백 효과가 있는 화장료 조성물로 이용될 수 있으며, 상기 화장료 조성물은 파이프 아마이드 유도체 이외에, 화장료에 일반적으로 이용되는 성분 모두를 포함할 수 있다. 예를 들면, 유화제, 점증제, 유제, 계면활성제, 윤활제, 알코올류, 수용성 고분자제, 겔화제, 안정화제, 비타민, 무기염류, 유화제, 향료 같은 일반적인 보조 성분을 포함할 수 있다. 상기 성분들은 제형 또는 사용목적에 따라 그 첨가량을 화장료 고유의 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 선택할 수 있다.

[0038] 또한, 상기 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 바람직하게는, 유연화장수(스킨), 수렴화장수, 영양화장수, 영양크림, 마사지크림, 에센스, 팩, 피부 접착용 패취 및 피부접착용 젤 중에서 선택되는 1종의 제형을 가질 수 있다.

[0039] 상기 화학식 1의 파이프 아마이드 유도체가 함유된 화장료 조성물은 매일 사용할 수 있으며, 또한, 정해지지 않은 기간 동안에도 사용할 수 있고, 바람직하게는 사용자의 연령, 피부상태 또는 피부타입, 상기 파이프 아마이드 유도체의 농도에 따라 사용량, 사용횟수 및 기간을 조절할 수 있다.

발명의 효과

[0040] 본 발명은 파이프 아마이드 유도체를 포함하는 피부 미백용 조성물에 관한 것으로, 상기 화합물은 멜라닌 합성을 저해하는 효과 및 멜라닌형성과 관련이 있는 티로시나아제, TRP-1, TRP-2 및 MITF 단백질의 발현을 감소시키

는 효과가 우수하여 피부 미백용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0041] 도 1은 본 발명의 실시예 2-1에 대한 멜란-A 세포에서의 세포생존율 및 멜라닌 함량을 나타내는 그래프이다.
- 도 2는 본 발명의 실시예 2-1에 대한 티로시나아제 활성 측정 결과를 나타내는 그래프로, 도 2A는 멜란-A 세포에서의 측정 결과이며, 도 2B 및 도 2C는 멜란-A 세포 및 NHEM 세포에서 측정하여 L-DOPA 염색법으로 나타낸 결과이다.
- 도 3은 본 발명의 실시예 2-1을 과색소침착이 유도된 기니피그 피부에 국소적용한 결과(도 3A) 및 이에 대한 멜라닌지수(도 3B)를 나타내는 결과이다.
- 도 4는 본 발명의 실시예 2-1을 과색소침착이 유도된 기니피그 피부에 국소적용한 후, 표피 세포를 분리하여 멜라닌 함량을 계산한 결과(도 4A) 및 Fontana-Masson silver 염색(도 4B)을 나타내는 결과이다.
- 도 5는 본 발명의 실시예 2-1을 과색소침착이 유도된 기니피그 피부에 국소적용한 후, 표피 세포를 분리하여 티로시나아제 활성을 측정된 결과이다.
- 도 6은 본 발명의 실시예 2-1에 대한 멜란-A 세포에서의 티로시나아제, TRP-1, TRP-2 및 MITF의 mRNA 발현을 나타내는 결과이다.
- 도 7은 본 발명의 실시예 2-1에 대한 티로시나아제, TRP-1, TRP-2 및 MITF의 단백질 발현을 멜란-A 세포(도 7A 및 도 7B) 및 기니피그 표피 세포(도 7C)에서 측정하여 웨스턴 블롯으로 나타내는 결과이다.

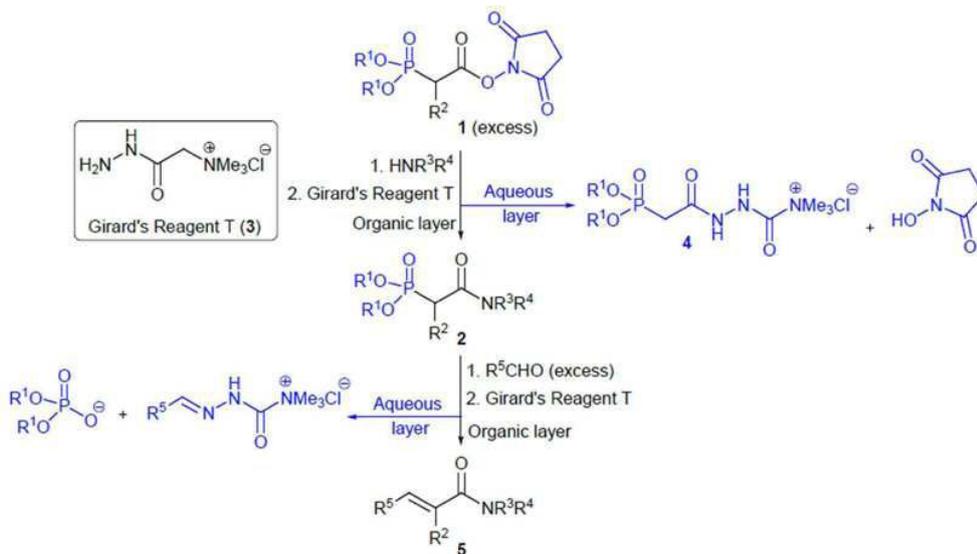
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0042] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해지고, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

[0043] <실시예 1. 파이퍼 아마이드 유도체의 합성>

- [0044] 본 발명의 파이퍼 아마이드 유도체는 한국공개특허 제2014-0109273호의 실시예 2 및 선행문헌[Kim, S. M. et al., 2013]을 참고하여, 컬럼 크로마토그래피 정제 과정 없이 화합물을 순수하게 얻을 수 있는 하기 반응식 1의 용액상 합성법으로 진행하였다.

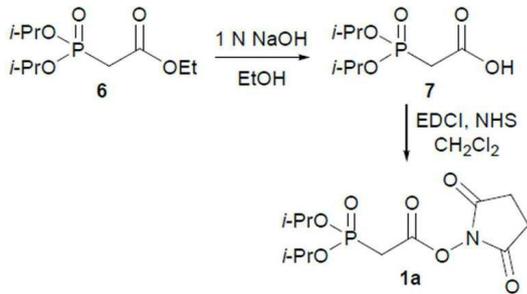
[0045] [반응식 1]



- [0046]
- [0047] 상기 반응식 1을 참고하여, 물에 잘 녹는 핵심 중간체 1(β-phosphono-N-hydroxysuccinimide ester)을 0.85 당량의 아민과 축합반응하여 2(β-phosphono amides)와 물에 녹는 N-히드록시숙신이미드(N-hydroxysuccinimide)를 얻었다. 남아있는 1에 카보닐 화합물 제거제(scavenger)인 Girard's reagent T(3)를 처리하여 물에 녹는 4(히드라진 유도체)로 만든 후 aqueous work-up을 통해 제거하였다. 상기 과정으로 얻은 2는

1.5 당량의 알데하이드와 HWE 반응(Horner-Wadsworth-Emmons reaction)을 통해, 물에 녹는 인산 및 5(α, β-불포화 아미드)를 생성하며, 마찬가지로 남아있는 알데하이드는 제거제인 Girard's reagent T(3)를 처리하여 제거하였다.

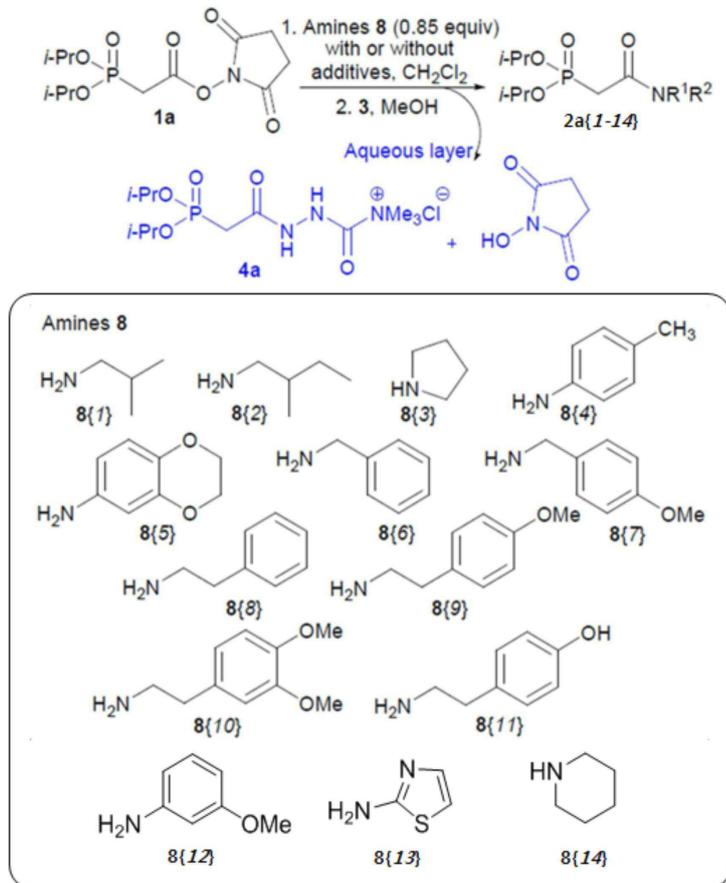
[0048] [반응식 2]



[0049]

[0050] 상기 반응식 2를 참고하여, 핵심 중간체 1a(β-포스포노-N-히드록시숙신이미딜 에스테르)는 상업적으로 이용가능한 6(β-포스포노 에스테르)으로부터 두 스텝에 걸쳐 컬럼 크로마토그래피 정제 과정 없이 쉽게 합성하였다. HWE 반응에서 (E)-선택성을 높이기 위해 입체적으로 크기가 큰 이소프로필 포스포네이트기(isopropyl phosphonate group)를 선택하였다. 에탄올 용매 조건에서 6에 1N의 NaOH를 가하여 가수분해 한 후 7(phosphoryl acetic acid)을 얻었다. 추가적인 정제 과정 없이 aqueous work-up만으로 얻은 7에 메틸렌클로라이드(methylene chloride) 용매 조건에서 EDCI(1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide)와 NHS(N-hydroxysuccinimide)를 처리하여 반응성이 좋은 1a를 얻었다. 상기 반응도 aqueous work-up만으로 좋은 순도의 화합물을 얻었으며 얻은 화합물은 바로 다음 반응에 사용하였다.

[0051] [반응식 3]



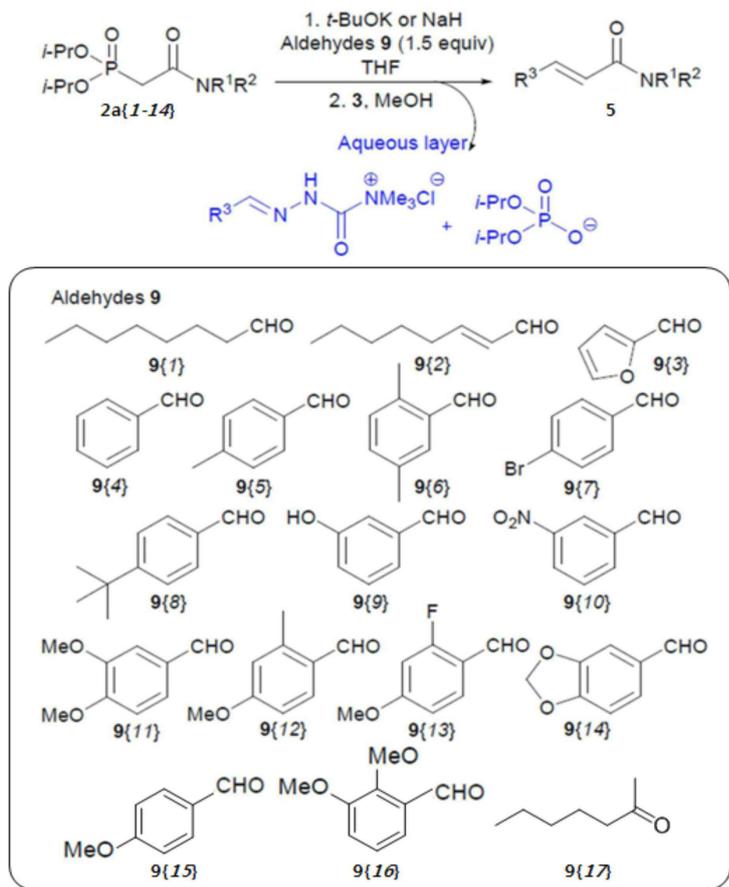
[0052]

[0053] 상기 과정에서 수득한 중간체 1a를 반응식 3을 참고하여, 메틸렌클로라이드 용매 조건에서 14 종의 다양한 아민 8{1} 내지 8{14}를 0.85 당량으로 축합반응 하여 14 종의 아미드 2를 얻었다. 1a와 알킬아민 8{1} 내지 8{3} 및 8{6} 내지 8{14}의 반응은 상온에서 4시간 안에 종결되었으며, 친핵성이 낮은 아릴아민 8{4} 및 8{5}와의 반

응은 트리에틸아민(triethylamine)과 DMAP(4-Dimethylaminopyridine) 촉매하에서 종결되었고, 상기와 같은 첨가제(additives)를 넣지 않는 조건에서는 고온(40℃)에서 12시간 만에 종결되었다. TLC로 **아민 8**이 사라졌음을 확인한 후, 남아있는 **1a**를 가용성 유도체 **4a**로 만들기 위해 **Girard's reagent T(3)**을 처리하였다. **1a**와 **Girard's reagent T(3)**의 축합반응은 상온에서 12시간 만에 종결되었으며, aqueous work-up 후 좋은 수율과 순도의 β-포스포노 아마이드 **2a{1-14}**를 수득하였다.

[0054]

[반응식 4]

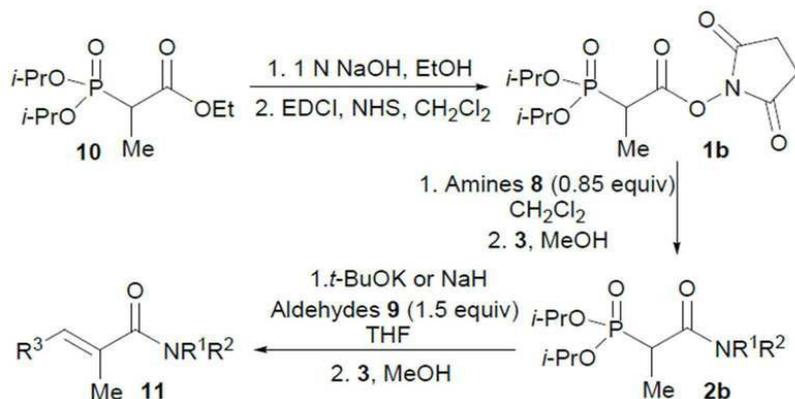


[0055]

상기 반응식 4를 참고하여, **2a**와 1.5 당량의 알데하이드에 대한 HWE 반응은 *t*-BuOK가 가장 적절한 염기로 작용하였다. 대부분의 알데하이드는 테트라히드로퓨란(tetrahydrofuran; THF) 용매 조건에서 *t*-BuOK를 처리한 **2a**와 반응하여 **5**(α,β-불포화 아마이드)를 높은 수율로 생성하였으며, 상기 생성물들은 높은 (E)-선택성을 보였다. 하지만, **9{9}**(3-hydroxy benzaldehyde)의 경우 NaH가 더 적절한 염기로 작용하였다. 17종의 알데하이드 **9{1}** 내지 **9{17}**를 조합화학적으로 14종의 **2a{1-14}**와 HWE 반응시켰다. 반응 종결 후, 남아있는 알데하이드 **9**는 **Girard's reagent T(3)**를 처리하여 aqueous work-up을 통해 제거하였으며, 상기 과정으로 HPLC로 측정된 순도가 평균 95%인 238개의 파이퍼 아마이드 계열 화합물 라이브러리를 합성하였다.

[0056]

[0057] [반응식 5]



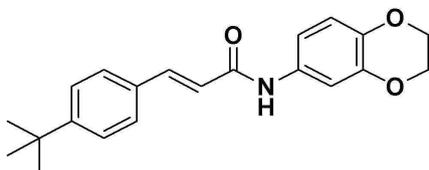
[0058]

[0059] 반응식 5는, 파이퍼 아마이드 골격에 다양성을 주기 위하여 α 위치에 치환체가 있는 **1b** (α -methyl β -phosphono-N-hydroxysuccinimidyl ester)를 고안하였다. 반응식 2의 **1a** 합성과 동일한 방법으로 **10** (α -methyl β -phosphono ester)으로부터 **1b**를 합성하였다. 6종의 아민(8{1}, 8{3}, 8{5}, 8{6}, 8{8} 및 8{10})을 **1b**와 축합 반응하여 6종의 **2b** (β -포스포노 아마이드)를 수득하였다. 상기 **2b**와 17종의 알데하이드 9{1-17}를 조합화학적으로 HWE 반응하여 **11**을 수득하였다. 상기 과정에서도 컬럼 크로마토그래피 정제 과정 없이 aqueous work-up만으로 **11**을 분리하였으며, 상기 과정을 통해 제조된 α -메틸 파이퍼 아마이드 화합물은 대부분의 경우 높은 수율과 (E)-선택성을 나타내었다.

[0060] <실시예 2. 파이퍼 아마이드 유도체의 물리화학적 구조 확인>

[0061] 상기 실시예 1의 반응식 1 내지 5를 참고하여 하기 실시예 2-1 내지 2-45의 화합물을 합성할 수 있었으며, 합성된 화합물의 물리화학적 특성은 다음과 같다.

[0062] 실시예 2-1. (E)-3-(4-(t-부틸)페닐)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드



[0063]

[0064] (E)-3-(4-(t-butyl)phenyl)-N-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)acrylamide;

[0065] light yellow solid;

[0066] m.p. 86-89°C;

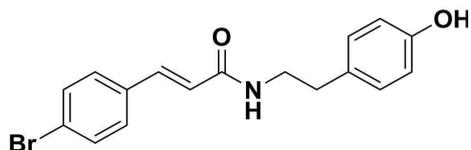
[0067] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.33 (s, 9H), 4.26 (s, 4H), 6.47 (1H, d, J = 15.3 Hz), 6.83 (1H, d, J = 8.7 Hz), 6.99 (1H, br d), 7.13 (1H, s), 7.41 (2H, d, J = 8.7 Hz), 7.48 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.72 (1H, d, J = 15.3 Hz);

[0068] ¹³C NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 31.2 (3C), 34.9, 64.3, 64.4, 109.9, 113.5, 117.2 (2C), 119.9, 125.8 (2C), 127.7 (2C), 131.9, 141.9, 141.8, 142.0, 143.5, 153.4;

[0069] FT-IR (neat): ν_{max} 2956, 1658, 1607, 1507, 1215 cm⁻¹;

[0070] HRMS (FAB): m/z calc'd for C₂₁H₂₄NO₃; [M+H]⁺: 338.1756; found: 338.1767.

[0071] 실시예 2-2. (E)-3-(4-브로모페닐)-N-(4-히드록시페네틸)아크릴아마이드



[0072] (E)-3-(4-bromophenyl)-N-(4-hydroxyphenethyl)acrylamide;

[0074] yield 66%;

[0075] yellow solid;

[0076] m.p. 179-180°C;

[0077] ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ_{H} 2.75 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, CH_2Ph), 3.46 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, NHCH_2), 6.57 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.71 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, Ph), 7.05 (2H, d, $J = 8.6\text{Hz}$, Ph), 7.46 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, Ph), 7.50 (1H, d, $J = 16.3$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.54 (2H, d, $J = 8.6\text{Hz}$, Ph);

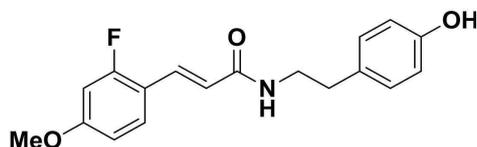
[0078] ^{13}C NMR (125MHz, CD_3OD): δ_{C} 35.7, 42.5, 116.3 (2C), 122.8, 124.6, 130.4 (2C), 130.7 (2C), 131.2, 133.1 (2C), 135.5, 140.2, 156.9, 168.3;

[0079] FT-IR (neat): ν_{max} 3289, 2452, 1649, 1609, 816 cm^{-1} ;

[0080] MS (FAB): m/z 346 154 (100) 136(70);

[0081] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{BrNO}_2$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 346.0443; found: 346.0456.

[0082] 실시예 2-3. (E)-3-(2-플루오로-4-메톡시페닐)-N-(4-히드록시페네틸)아크릴아마이드



[0083] (E)-3-(2-fluoro-4-methoxyphenyl)-N-(4-hydroxyphenethyl)acrylamide;

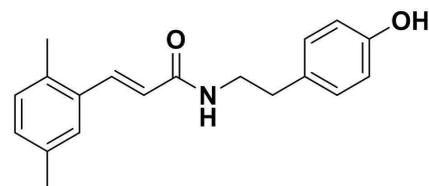
[0085] yield 93%;

[0086] yellow solid;

[0087] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 2.76 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, CH_2Ph), 3.57 (2H, q, $J = 6.6$ Hz, NHCH_2), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 5.76 (br s, 1H, NH), 6.33 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.58 (1H, dd, $J = 2.6, 12.6$ Hz, Ph), 6.64 (1H, dd, $J = 2.6, 8.6\text{Hz}$, Ph), 6.80 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, Ph), 7.01 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, Ph), 7.34 (1H, t, $J = 8.6$ Hz, Ph), 7.60 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0088] MS (FAB): m/z 316 154 (100) 136(70).

[0089] 실시예 2-4. (E)-3-(2,5-디메틸페닐)-N-(4-히드록시페네틸)아크릴아마이드



[0090] (E)-3-(2,5-dimethylphenyl)-N-(4-hydroxyphenethyl)acrylamide;

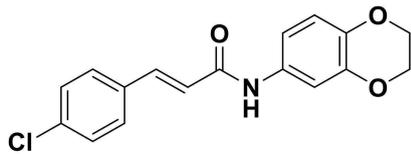
[0092] yield 82%;

[0093] yellow solid;

[0094] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 2.29 (3H, s, PhCH_3), 2.35 (3H, s, PhCH_3), 2.80 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_2Ph), 3.62 (2H, td, $J = 6.0, 7.2$ Hz, CH_2NH_2), 5.77 (1H, br t, $J = 5.4$ Hz, NH), 6.23 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, CH=CH), 6.83 (2H, td, $J = 2.1, 8.7$ Hz, Ph), 7.02-7.10 (4H, m, Ph), 7.29 (1H, s, Ph), 7.89 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, CH=CH);

[0095] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{NO}_2$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 296.1651; found: 296.1653.

[0096] 실시예 2-5. (E)-3-(4-클로로페닐)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드



[0097]

[0098] (E)-3-(4-chlorophenyl)-N-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)acrylamide;

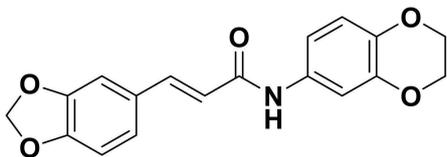
[0099] yield 95%;

[0100] brown solid;

[0101] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 4.25 (4H, s, CH_2), 6.50 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, CH=CH), 6.82 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, Ph), 7.01 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, NH), 7.33 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, Ph), 7.37 (1H, s, Ph), 7.43 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, Ph), 7.67 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, CH=CH);

[0102] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{ClNO}_3$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 316.0740; found: 316.0727.

[0103] 실시예 2-6. (E)-3-(벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드



[0104]

[0105] (E)-3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-N-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)acrylamide;

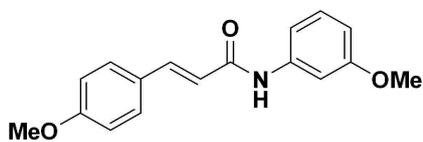
[0106] yield 79%;

[0107] brown solid;

[0108] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 4.20 (4H, s, CH_2), 5.96 (2H, s, CH_2), 6.38 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, CH=CH), 6.74 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, Ph), 6.78 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, Ph), 6.90-6.93 (2H, m, Ph), 7.01 (1H, s, NH), 7.28 (1H, s, Ph), 7.59 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, CH=CH), 7.83 (1H, s, Ph);

[0109] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{NO}_5$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 326.1028; found: 326.1039.

[0110] 실시예 2-7. (E)-N-(3-메톡시페닐)-3-(4-메톡시페닐)아크릴아마이드



[0111]

[0112] (E)-N-(3-methoxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)acrylamide;

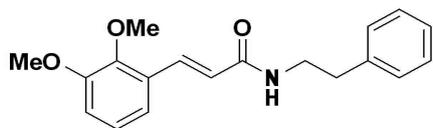
[0113] yield 75%;

[0114] yellow oil;

[0115] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 3.78 (3H, s, OCH_3), 3.81 (3H, s, OCH_3), 6.46 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.66 (1H, ddd, $J = 0.9, 2.4, 8.1$ Hz, Ph), 6.85 (2H, td, $J = 2.1, 8.7$ Hz, Ph), 7.21 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, Ph), 7.41 (2H, td, $J = 2.7, 9.0$ Hz, Ph), 7.45 (1H, s, Ph), 7.69 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.84 (1H, br s, NH);

[0116] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{NO}_3$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 284.1287; found: 284.1292.

[0117] 실시예 2-8. (E)-3-(2,3-디메톡시페닐)-N-페네틸아크릴아마이드



[0118]

[0119] (E)-3-(2,3-dimethoxyphenyl)-N-phenethylacrylamide;

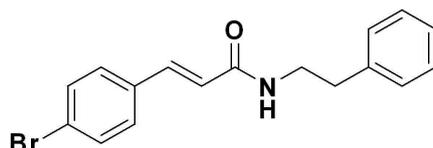
[0120] yield 99%;

[0121] white solid;

[0122] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 2.87 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_2Ph), 3.63 (2H, dt, $J = 6.3, 6.8$ Hz, CH_2NH_2), 3.81 (3H, s, OCH_3), 3.85 (3H, s, OCH_3), 5.67 (1H, br s, NH), 6.39 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.88 (1H, dd, $J = 1.2, 8.0$ Hz, Ph), 7.00 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, Ph), 7.20-7.24 (3H, m, Ph), 7.28-7.32 (2H, m, Ph), 7.83 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0123] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{NO}_3$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 312.1600; found: 312.1591.

[0124] 실시예 2-9. (E)-3-(4-브로모페닐)-N-페네틸아크릴아마이드



[0125]

[0126] (E)-3-(4-bromophenyl)-N-phenethylacrylamide;

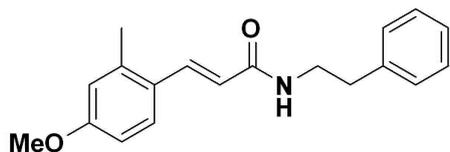
[0127] yield 99%;

[0128] white solid;

[0129] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 2.87 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_2Ph), 3.63 (2H, dt, $J = 6.0, 6.8$ Hz, CH_2NH_2), 5.70 (1H, br s, NH), 6.29 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.17-7.27 (3H, m, Ph), 7.32-7.41 (4H, m, Ph), 7.44-7.47 (2H, m, Ph), 7.53 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0130] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{BrNO}$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 330.0494; found: 330.0493.

[0131] 실시예 2-10. (E)-3-(4-메톡시-2-메틸페닐)-N-페네틸아크릴아마이드



[0132] (E)-3-(4-methoxy-2-methylphenyl)-N-phenethylacrylamide;

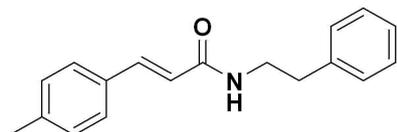
[0134] yield 100%;

[0135] white solid;

[0136] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 2.40 (3H, s, CH_3), 2.89 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, CH_2Ph), 3.65 (2H, dt, $J = 6.3$, 6.6 Hz, CH_2NH_2), 3.79 (3H, s, OCH_3), 5.85 (1H, br s, NH), 6.17 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.67-6.70 (2H, m, Ph), 7.21-7.32 (5H, m, Ph), 7.43 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, Ph), 7.85 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0137] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{NO}_2$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 296.1651; found: 296.1655.

[0138] 실시예 2-11. (E)-N-페네틸-3-(p-톨릴)아크릴아마이드



[0139] (E)-N-phenethyl-3-(p-tolyl)acrylamide;

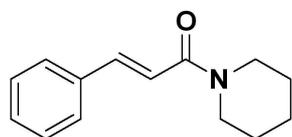
[0141] yield 100%;

[0142] white solid;

[0143] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 2.34 (3H, s, CH_3), 2.87 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_2Ph), 3.65 (2H, q, $J = 6.6$ Hz, CH_2NH_2), 5.52 (1H, br s, NH), 6.24 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.98-7.23 (5H, m, Ph), 7.29-7.37 (4H, m, Ph), 7.57 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0144] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NO}$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 266.1545; found: 266.1550.

[0145] 실시예 2-12. (E)-3-페닐-1-(피페리딘-1-일)프로프-2-엔-1-온



[0146] (E)-3-phenyl-1-(piperidin-1-yl)prop-2-en-1-one;

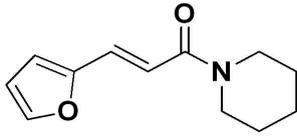
[0148] yield 100%;

[0149] white solid;

[0150] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1.58-1.70 (6H, m, CH_2), 3.56-3.65 (4H, m, CH_2), 6.88 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.28-7.37 (3H, m, Ph), 7.46-7.51 (2H, m, Ph), 7.63 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0151] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{NO}$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 216.1388; found: 216.1382.

[0152] 실시예 2-13. (E)-3-(퓨란-2-일)-1-(피페리딘-1-일)프로프-2-엔-1-온



[0153]
[0154] (E)-3-(furan-2-yl)-1-(piperidin-1-yl)prop-2-en-1-one;

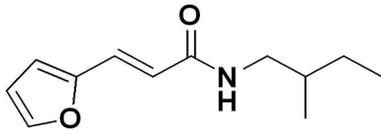
[0155] yield 86%;

[0156] yellow solid;

[0157] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1.59-1.69 (6H, m, CH_2), 3.57-3.65 (4H, m, CH_2), 6.43 (1H, dd, $J = 1.8, 3.3$ Hz, furan), 6.52 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, furan), 6.81 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.42 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, furan), 7.44 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0158] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NO}_2$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 206.1181; found: 206.1180.

[0159] 실시예 2-14. (E)-3-(퓨란-2-일)-N-(2-메틸뷰틸)아크릴아마이드



[0160]
[0161] (E)-3-(furan-2-yl)-N-(2-methylbutyl)acrylamide;

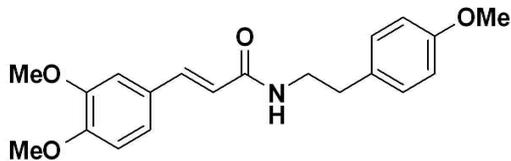
[0162] yield 89%;

[0163] yellow solid;

[0164] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.88 (3H, s, CH_3), 0.90 (3H, s, CH_3), 1.07-1.19 (1H, m, CH_2), 1.22-1.45 (1H, m, CH_2), 1.47-1.63 (1H, m, CH), 3.11-3.20 (1H, m, CH_2), 3.25-3.33 (1H, m, CH_2), 5.78 (1H, br s, NH), 6.30 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.41 (1H, dd, $J = 1.8, 3.3$ Hz, furan), 6.49 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, furan), 7.37 (1H, d, $J = 15.2$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.39 (1H, d, $J = 1.3$ Hz, furan);

[0165] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{NO}_2$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 208.1338; found: 208.1341.

[0166] 실시예 2-15. (E)-3-(3,4-디메톡시페닐)-N-(4-메톡시페네틸)아크릴아마이드



[0167]
[0168] (E)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-N-(4-methoxyphenethyl)acrylamide;

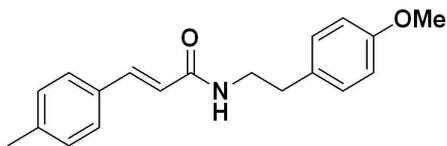
[0169] yield 52%;

[0170] white solid;

[0171] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 2.81 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_2Ph), 3.61 (2H, td, $J = 6.2, 6.6$ Hz, NHCH_2), 3.78 (3H, s, OCH_3), 3.88 (6H, s, OCH_3), 5.53 (1H, br s, NH), 6.17 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.81-6.86 (3H, m, Ph), 6.98 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, Ph), 7.05 (1H, dd, $J = 1.8, 8.3$ Hz, Ph), 7.13 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, Ph), 7.54 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0172] HRMS (FAB): calc'd for C₂₀H₂₄NO₄; [M+H]⁺: 342.1705; found: 342.1703.

[0173] 실시예 2-16. (E)-N-(4-메톡시페네틸)-3-(p-톨릴)아크릴아마이드



[0174]

[0175] (E)-N-(4-methoxyphenethyl)-3-(p-tolyl)acrylamide;

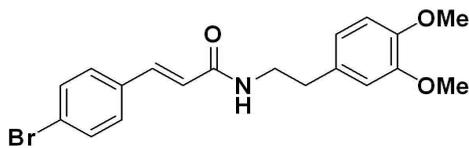
[0176] yield 58%;

[0177] white solid;

[0178] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ_H 2.34 (3H, s, CH₃), 2.81 (2H, t, J = 6.8 Hz, CH₂Ph), 3.60 (2H, td, J = 6.2, 6.8 Hz, NHCH₂), 3.78 (3H, s, OCH₃), 5.64 (1H, br s, NH), 6.26 (1H, d, J = 15.5 Hz, CH=CH), 6.84 (2H, td, J = 1.7, 8.2 Hz, Ph), 7.12 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ph), 7.14 (2H, d, J = 7.7 Hz, Ph), 7.36 (2H, d, J = 8.1 Hz, Ph), 7.57 (1H, d, J = 15.6 Hz, CH=CH);

[0179] HRMS (FAB): calc'd for C₁₉H₂₂NO₂; [M+H]⁺: 296.1651; found: 296.1653.

[0180] 실시예 2-17. (E)-3-(4-브로모페닐)-N-(3,4-디메톡시페네틸)아크릴아마이드



[0181]

[0182] (E)-3-(4-bromophenyl)-N-(3,4-dimethoxyphenethyl)acrylamide;

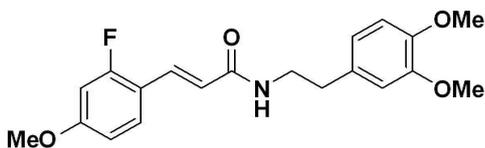
[0183] yield 100%;

[0184] white solid;

[0185] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ_H 2.80 (2H, t, J = 7.0 Hz, CH₂Ph), 3.6 (2H, td, J = 6.2, 6.8 Hz, NHCH₂), 3.83 (6H, s, OCH₃), 5.75 (1H, br s, NH), 6.29 (1H, d, J = 15.5 Hz, CH=CH), 6.72 (1H, d, J = 7.5 Hz, Ph), 6.74 (1H, s, Ph), 6.79 (1H, d, J = 7.9 Hz, Ph), 7.30 (2H, d, J = 8.6 Hz, Ph), 7.44 (2H, d, J = 8.6 Hz, Ph), 7.52 (1H, d, J = 15.6 Hz, CH=CH);

[0186] HRMS (FAB): calc'd for C₁₉H₂₁BrNO₃; [M+H]⁺: 390.0705; found: 390.0716.

[0187] 실시예 2-18. (E)-N-(3,4-디메톡시페네틸)-3-(2-플루오로-4-메톡시페닐)아크릴아마이드



[0188]

[0189] (E)-N-(3,4-dimethoxyphenethyl)-3-(2-fluoro-4-methoxyphenyl)acrylamide;

[0190] yield 93%;

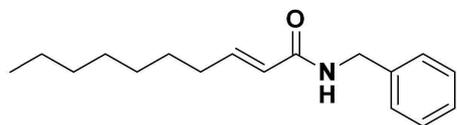
[0191] white solid;

[0192] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ_H 2.81 (2H, t, J = 6.8 Hz, CH₂Ph), 3.6 (2H, td, J = 6.1, 6.8 Hz, NHCH₂), 3.79

(3H, s, OCH₃), 3.84 (6H, s, OCH₃), 5.67 (1H, br s, NH), 6.32 (1H, d, *J* = 15.8 Hz, CH=CH), 6.59 (1H, dd, *J* = 2.6, 12.6 Hz, Ph), 6.65 (1H, dd, *J* = 2.4, 8.5 Hz, Ph), 6.75-6.81 (3H, m, Ph), 7.35 (1H, t, *J* = 8.6 Hz, Ph), 7.60 (1H, d, *J* = 15.8 Hz, CH=CH);

[0193] HRMS (FAB): calc'd for C₂₀H₂₃FNO₄; [M+H]⁺: 360.1611; found: 360.1621.

[0194] 실시예 2-19. (E)-N-벤질데카-2-엔아미드



[0195]

[0196] (E)-N-benzyldeca-2-enamide;

[0197] yield 95%;

[0198] white solid;

[0199] m.p. 68-70 °C;

[0200] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ_H 0.85 (3H, t, *J* = 6.7Hz, CH₃), 1.15-1.33 (8H, m, CH₂), 1.35-1.44 (2H, m, CH₂), 2.15 (2H, td, *J* = 7.2, 7.3 Hz, CH₂), 4.49 (2H, d, *J* = 5.7 Hz, CH₂Ph), 5.65 (1H, br s, NH), 5.75 (1H, td, *J* = 1.5, 15.2Hz, CH=CH), 6.87 (1H, td, *J* = 7.0, 15.2 Hz, CH=CH), 7.25-7.35 (5H, m, Ph);

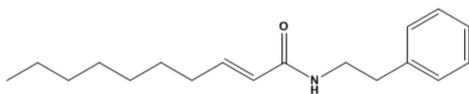
[0201] ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ_C = 14.1, 22.6, 28.2, 29.0, 29.1, 31.7, 32.0, 43.5, 123.2, 127.4, 127.8 (2C), 128.6 (2C), 138.3, 145.3, 165.9;

[0202] FT-IR (neat): ν_{max} 3291, 2921, 1669, 1622, 1552 cm⁻¹;

[0203] MS (FAB): *m/z* 260 (100);

[0204] HRMS (FAB): calc'd for C₁₇H₂₆NO; [M+H]⁺: 260.1970; found: 260.2019.

[0205] 실시예 2-20. (E)-N-페네틸데카-2-엔아미드



[0206]

[0207] (E)-N-phenethyldeca-2-enamide;

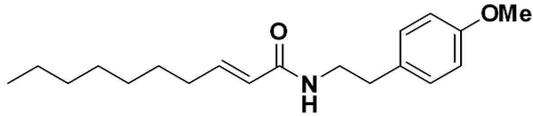
[0208] yield 97%;

[0209] yellow solid;

[0210] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ_H 0.85 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, CH₃), 1.24 (8H, s, CH₂), 1.35-1.42 (2H, m, CH₂), 2.12 (2H, dq, *J* = 1.3, 7.0 Hz, CH₂), 2.82 (2H, t, *J* = 7.0 Hz, CH₂Ph), 3.56 (2H, dt, *J* = 6.1, 7.0 Hz, NHCH₂), 5.46 (1H, br s, NH), 5.66 (1H, td, *J* = 1.5, 15.4 Hz, CH=CH), 6.80 (1H, td, *J* = 6.8, 15.4 Hz, CH=CH), 7.14-7.32 (5H, m, Ph);

[0211] HRMS (FAB): calc'd for C₁₈H₂₈NO; [M+H]⁺: 274.2171; found: 274.2167.

[0212] 실시예 2-21. (E)-N-(4-메톡시페네틸)데카-2-엔아미드



[0213]

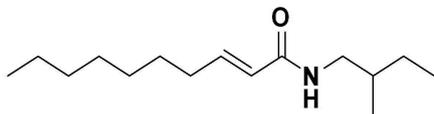
[0214] (E)-N-(4-methoxyphenethyl)deca-2-enamide;

[0215] yield 96%;

[0216] yellow solid;

[0217] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.85 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 1.23 (8H, s, CH_2), 1.34-1.41 (2H, m, CH_2), 2.12 (2H, dq, $J = 1.3, 7.0$ Hz, CH_2), 2.75 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, CH_2Ph), 3.51 (2H, dt, $J = 6.1, 7.0$ Hz, NHCH_2), 3.77 (3H, s, OCH_3), 5.47 (1H, br s, NH), 5.66 (1H, td, $J = 1.5, 15.2$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.81 (2H, d, $J = 9.2$ Hz, Ph), 7.09 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, Ph).

[0218] 실시예 2-22. (E)-N-(2-메틸뷰틸)데카-2-엔아미드



[0219]

[0220] (E)-N-(2-methylbutyl)deca-2-enamide;

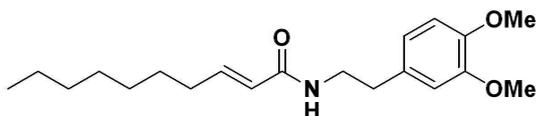
[0221] yield 98%;

[0222] yellow solid;

[0223] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.83-0.90 (9H, m, CH_3), 1.20-1.31 (10H, m, CH_2), 1.29-1.45 (2H, m, CH_2), 1.49-1.60 (1H, m, CH), 2.14 (2H, dq, $J = 1.5, 7.0$ Hz, CH_2), 3.10-3.28 (2H, m, CH_2), 5.45 (1H, br s, NH), 5.73 (1H, td, $J = 1.5, 15.2$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.80 (1H, td, $J = 7.0, 15.2$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0224] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{15}\text{H}_{30}\text{NO}$; $[\text{M}+\text{H}]^{\dagger}$: 240.2327; found: 240.2333.

[0225] 실시예 2-23. (E)-N-(3,4-디메톡시페네틸)데카-2-엔아미드



[0226]

[0227] (E)-N-(3,4-dimethoxyphenethyl)deca-2-enamide;

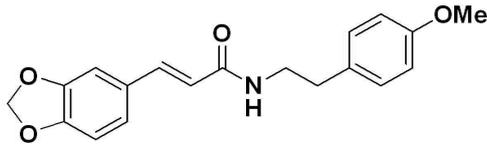
[0228] yield 98%;

[0229] yellow solid;

[0230] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.85 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 1.21-1.31 (8H, m, CH_2), 1.37-1.42 (2H, m, CH_2), 2.12 (2H, dq, $J = 1.5, 7.0$ Hz, CH_2), 2.77 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_2Ph), 3.53 (2H, dt, $J = 6.0, 6.8$ Hz, NHCH_2), 3.84 (s, 6H), 5.43 (1H, br s, NH), 5.66 (1H, td, $J = 1.5, 15.4$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.67-6.85 (4H, m, Ph);

[0231] MS (FAB): m/z 334 164 (100) 136(70).

[0232] 실시예 2-24. (E)-3-(벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)-N-(4-메톡시페네틸)아크릴아마이드



[0233]
[0234] (E)-3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-N-(4-methoxyphenethyl)acrylamide;

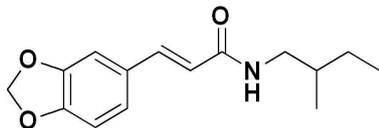
[0235] yield 75%;

[0236] yellow solid;

[0237] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 2.80 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_2Ph), 3.89 (2H, td, $J = 6.0, 6.8$ Hz, NHCH_2), 3.77 (3H, s, OCH_3), 5.60 (1H, br s, NH), 5.96 (2H, s, CH_2), 6.12 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.76 (1H, dd, $J = 1.3, 7.2$ Hz, Ph), 6.84 (2H, td, $J = 2.0, 8.6$ Hz, Ph), 6.94 (2H, dd, $J = 1.8, 7.9$ Hz, Ph), 7.11 (2H, td, $J = 1.8, 8.4$ Hz, Ph), 7.50 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0238] MS (FAB): m/z 326 164 (100) 136(70).

[0239] 실시예 2-25. (E)-3-(벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)-N-(2-메틸뷰틸)아크릴아마이드



[0240]
[0241] (E)-3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-N-(2-methylbutyl)acrylamide;

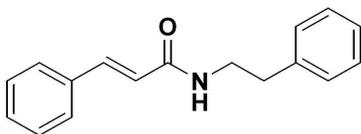
[0242] yield 99%;

[0243] yellow solid;

[0244] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.92 (3H, s, CH_3), 0.94 (3H, s, CH_3), 1.16-1.23 (2H, m, CH_2CH_3), 1.39-1.62 (1H, m, CHCH_2), 3.15-3.37 (2H, m, CH_2), 5.64 (1H, br s, NH), 5.98 (2H, s, CH_2), 6.22 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.79 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, Ph), 6.98 (2H, dd, $J = 1.2, 9.6$ Hz, Ph), 7.53 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0245] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{NO}_3$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 262.1443; found: 262.1451.

[0246] 실시예 2-26. N-페네틸신남산아마이드



[0247]
[0248] N-phenethylcinnamamide;

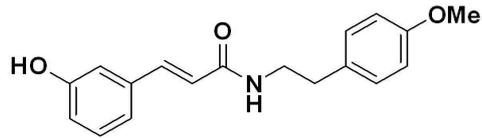
[0249] yield 93%;

[0250] yellow solid;

[0251] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 2.89 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_2Ph), 3.66 (2H, td, $J = 6.0, 6.7$ Hz, NHCH_2), 5.79 (1H, br s, NH), 6.34 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.21-7.49 (10H, m, Ph), 7.62 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0252] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{NO}$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 252.1388; found: 252.1390.

[0253] 실시예 2-27. (E)-3-(3-히드록시페닐)-N-(4-메톡시페네틸)아크릴아마이드



[0254]

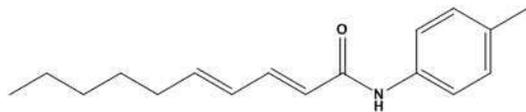
[0255] (E)-3-(3-hydroxyphenyl)-N-(4-methoxyphenethyl)acrylamide;

[0256] yield 76%;

[0257] yellow solid;

[0258] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 2.81 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_2Ph), 3.60 (2H, td, $J = 6.2, 6.8$ Hz, NHCH_2), 3.77 (3H, s, OCH_3), 5.68 (1H, br s, NH), 6.26 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.84 (3H, d, $J = 8.6$ Hz, Ph), 7.02 (2H, d, $J = 7.9$ Hz, Ph), 7.12 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, Ph), 7.20 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, Ph), 7.58 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$).

[0259] 실시예 2-28. (2E,4E)-N-(p-톨릴)데카-2,4-디엔아마이드



[0260]

[0261] (2E,4E)-N-(p-tolyl)deca-2,4-dienamide;

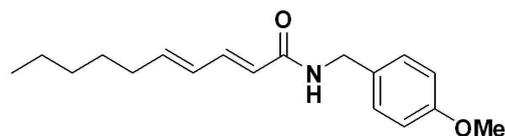
[0262] yield 88%;

[0263] yellow solid;

[0264] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.87 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_3), 1.20-1.43 (6H, m, CH_2), 2.14 (2H, q, $J = 6.8$ Hz, CH_2), 2.29 (3H, s, CH_3), 5.88 (1H, d, $J = 14.8$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.03-6.19 (2H, m, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.08-7.14 (3H, m, Ph), 7.28-7.45 (2H, m, Ph);

[0265] MS (FAB): m/z 258 154 (100) 107(70).

[0266] 실시예 2-29. (2E,4E)-N-(4-메톡시벤질)데카-2,4-디엔아마이드



[0267]

[0268] (2E,4E)-N-(4-methoxybenzyl)deca-2,4-dienamide;

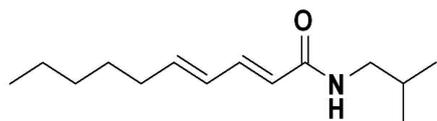
[0269] yield 94%;

[0270] yellow solid;

[0271] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.86 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, CH_3), 1.20-1.44 (6H, m, CH_2), 2.11 (2H, td, $J = 6.0, 6.8$ Hz, CH_2), 3.76 (3H, s, OCH_3), 4.41 (2H, d, $J = 5.7$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 5.72 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 5.77 (1H, br t, NH), 5.99-6.14 (1H, m, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.83 (2H, td, $J = 2.0, 8.6$ Hz, Ph), 7.16-7.23 (2H, m, Ph);

[0272] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{NO}_2$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 288.1964; found: 288.1973.

[0273] 실시예 2-30. (2E,4E)-N-이소뷰틸데카-2,4-디엔아마이드



[0274]

[0275] (2E,4E)-N-isobutyldeca-2,4-dienamide;

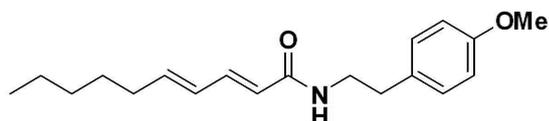
[0276] yield 99%;

[0277] yellow solid;

[0278] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.87 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, CH_3), 0.91 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, CH_3), 0.92 (3H, s, CH_3), 1.25-1.45 (6H, m, CH_2), 1.74-1.83 (1H, m, CH), 2.13 (2H, td, $J = 6.3, 7.2$ Hz, CH_2), 3.15 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, CH_2), 5.64 (1H, br s, NH), 5.76 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, CH=CH), 5.99-6.16 (2H, m, CH=CH), 7.18 (1H, dd, $J = 6.6, 15.0$ Hz, CH=CH);

[0279] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{NO}$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 224.2014; found: 224.2016.

[0280] 실시예 2-31. (2E,4E)-N-(4-메톡시페네틸)데카-2,4-디엔아마이드



[0281]

[0282] (2E,4E)-N-(4-methoxyphenethyl)deca-2,4-dienamide;

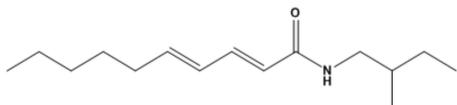
[0283] yield 98%;

[0284] yellow solid;

[0285] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.88 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_3), 1.21-1.45 (6H, m, CH_2), 2.04-2.22 (2H, m, CH_2), 2.78 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_2), 3.55 (2H, td, $J = 6.6, 6.9$ Hz, CH_2), 3.78 (3H, s, OCH_3), 5.56 (1H, br s, NH), 5.68 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, CH=CH), 6.05-6.15 (2H, m, CH=CH), 6.82-6.85 (2H, m, Ph), 7.08-7.26 (3H, m, Ph);

[0286] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{NO}_2$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 302.2120; found: 302.2127.

[0287] 실시예 2-32. (2E,4E)-N-(2-메틸뷰틸)데카-2,4-디엔아마이드



[0288]

[0289] (2E,4E)-N-(2-methylbutyl)deca-2,4-dienamide;

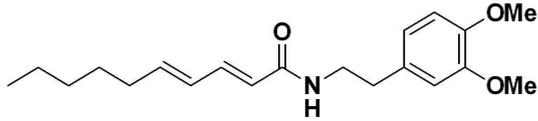
[0290] yield 98%;

[0291] yellow solid;

[0292] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.86-0.92 (6H, m, CH_3), 1.08-1.48 (6H, m, CH_2), 1.52-1.60 (1H, m, CH), 2.14 (2H, q, $J = 6.6$ Hz, CH_2), 3.10-3.32 (2H, m, CH_2), 5.49 (1H, br s, NH), 5.75 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, CH=CH), 6.01-6.17 (2H, m, CH=CH), 7.19 (1H, dd, $J = 15.0$ Hz, CH=CH);

[0293] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{NO}$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 238.2171; found: 238.2175.

[0294] 실시예 2-33. (2E,4E)-N-(3,4-디메톡시페네틸)데카-2,4-디엔아마이드



[0295] (2E,4E)-N-(3,4-dimethoxyphenethyl)deca-2,4-dienamide;

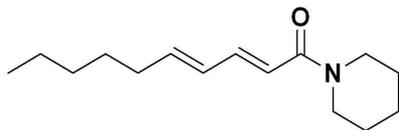
[0297] yield 91%;

[0298] yellow solid;

[0299] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.87 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_3), 1.24-1.45 (6H, m, CH_2), 2.13 (2H, td, $J = 5.4, 7.2$ Hz, CH_2), 2.79 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_2Ph), 3.56 (2H, td, $J = 6.0, 6.6$ Hz, NHCH_2), 3.85 (6H, s, OCH_3), 5.57 (1H, br s, NH), 5.68 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.00-6.15 (2H, m, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.71-6.82 (3H, m, Ph), 7.18 (1H, dd, $J = 1.8, 15.0$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0300] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{NO}_3$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 332.2226; found: 332.2223.

[0301] 실시예 2-34. (2E,4E)-1-(피페리딘-1-일)데카-2,4-디엔-1-온



[0302] (2E,4E)-1-(piperidin-1-yl)deca-2,4-dien-1-one;

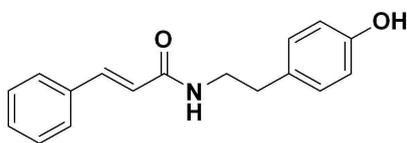
[0304] yield 78%;

[0305] yellow solid;

[0306] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.88 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_3), 1.24-1.46 (6H, m, CH_2), 1.52-1.68 (6H, m, CH_2), 2.14 (2H, q, $J = 7.2$ Hz, CH_2), 3.48-3.61 (4H, m, CH_2), 5.99-6.09 (1H, m, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.17 (1H, ddd, $J = 0.6, 10.5, 15.0$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.25 (1H, d, $J = 14.7$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.21 (1H, dd, $J = 10.5, 14.7$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0307] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{NO}$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 236.2014; found: 236.2015.

[0308] 실시예 2-35. N-(4-히드록시페네틸)신남산아마이드



[0309] N-(4-hydroxyphenethyl)cinnamamide;

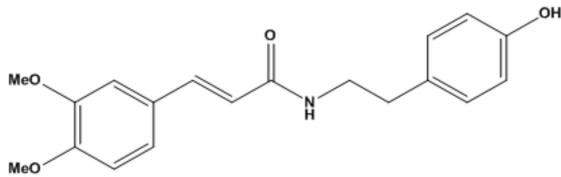
[0311] yield 57%;

[0312] yellow solid;

[0313] ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ_{H} 2.75 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, CH_2Ph), 3.47 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, NHCH_2), 6.57 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.71 (2H, td, $J = 2.1, 8.4$ Hz, Ph), 7.05 (2H, td, $J = 2.1, 8.7$ Hz, Ph), 7.34-7.39 (3H, m, Ph), 7.51 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.52-7.55 (2H, m, Ph);

[0314] HRMS (FAB): calc'd for C₁₇H₁₈NO₂; [M+H]⁺: 268.1338; found: 268.1342.

[0315] 실시예 2-36. (E)-3-(3,4-디메톡시페닐)-N-(4-히드록시페네틸)아크릴아마이드



[0316] (E)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-N-(4-hydroxyphenethyl)acrylamide;

[0318] yield 60%;

[0319] white solid;

[0320] m.p. 161-162°C;

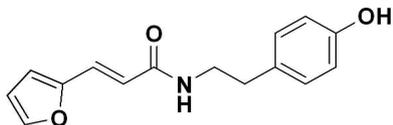
[0321] ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ_H 2.79 (2H, t, J = 6.9 Hz, CH₂), 3.60 (2H, q, J = 6.6 Hz, CH₂), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃), 5.55 (1H, br s, OH), 5.57 (1H, br s, NH), 6.17 (1H, d, J = 15.5 Hz, CH), 6.79 (2H, td, J = 2.5, 9.0 Hz, Ph), 6.82 (1H, d, J = 8.2 Hz, Ph), 6.98 (1H, d, J = 1.8 Hz, Ph), 7.03-7.06 (3H, m, Ph), 7.54 (1H, d, J = 15.6 Hz, CH);

[0322] ¹³C NMR (150MHz, CDCl₃): δ_C 34.8, 40.9, 55.9, 56.0, 109.7, 111.1, 115.6 (2C), 118.3, 122.0, 127.7, 129.9(2C), 130.6, 141.1, 149.1, 150.6, 154.6, 166.3;

[0323] FT-IR (neat): ν_{max} 3271, 3015, 1654, 1595, 1260 and 1140 cm⁻¹;

[0324] HRMS (FAB): calc'd for C₁₉H₂₂NO₄; [M+H]⁺: 328.1549; found: 328.1557.

[0325] 실시예 2-37. (E)-3-(퓨란-2-일)-N-(4-히드록시페네틸)아크릴아마이드



[0326] (E)-3-(furan-2-yl)-N-(4-hydroxyphenethyl)acrylamide;

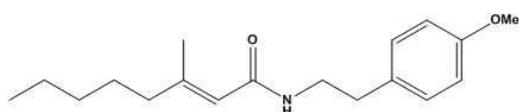
[0328] yield 62%;

[0329] white solid;

[0330] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ_H 2.80 (2H, t, J = 6.9 Hz, CH₂Ph), 3.60 (2H, td, J = 6.0, 7.2 Hz, NHCH₂), 5.56 (1H, br s, NH), 6.21 (1H, d, J = 15.3 Hz, CH=CH), 6.44 (1H, dd, J = 1.8, 3.3 Hz, furan), 6.54 (1H, d, J = 3.3 Hz, furan), 6.80 (2H, td, J = 2.1, 8.4 Hz, Ph), 7.07 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ph), 7.37-7.42 (2H, m, furan);

[0331] HRMS (FAB): calc'd for C₁₅H₁₆NO₃; [M+H]⁺: 258.1130; found: 258.1136.

[0332] 실시예 2-38. (E)-N-(4-메톡시페네틸)-3-메틸옥트-2-엔아마이드



[0333] (E)-N-(4-methoxyphenethyl)-3-methyloct-2-enamide;

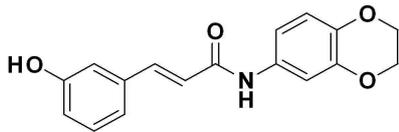
[0335] yield 76%;

[0336] yellow oil;

[0337] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.87 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_3), 1.23-1.34 (4H, m, CH_2), 1.39-1.44 (2H, m, CH_2), 2.04 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, CH_2), 2.11 (3H, d, $J = 1.2$ Hz, CH_3), 2.76 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_2Ph), 3.49 (2H, td, $J = 6.6$ Hz, NHCH_2), 3.78 (3H, s, OCH_3), 5.45 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.84 (2H, td, $J = 2.1, 8.4$ Hz, Ph), 7.11 (2H, td, $J = 1.8, 8.7$ Hz, Ph);

[0338] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{NO}_2$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 290.2120; found: 290.2125.

[0339] 실시예 2-39. (E)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)-3-(3-히드록시페닐)아크릴아마이드



[0340]

[0341] (E)-N-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)-3-(3-hydroxyphenyl)acrylamide;

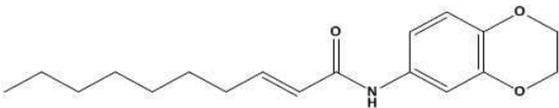
[0342] yield 58%;

[0343] white solid;

[0344] ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ_{H} 4.17-4.23 (4H, m, CH_2), 6.67 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.75-6.82 (2H, m, Ph), 6.98-7.05 (3H, m, Ph), 7.20 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, Ph), 7.29 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, Ph), 7.53 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0345] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{NO}_4$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 298.1079; found: 298.1090.

[0346] 실시예 2-40. (E)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)데카-2-엔아마이드



[0347]

[0348] (E)-N-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)deca-2-enamide;

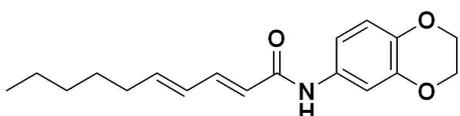
[0349] yield 89%;

[0350] yellow oil;

[0351] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.88 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_3), 1.27-1.29 (8H, m, CH_2), 1.43-1.45 (2H, m, CH_2), 2.20 (2H, td, $J = 6.6, 7.5$ Hz, CH_2), 4.23 (4H, s, CH_2), 5.88 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.78 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, Ph), 6.90-6.99 (2H, m, Ph), 7.21 (2H, br s, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0352] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{NO}_3$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 304.1913; found: 304.1907.

[0353] 실시예 2-41. (2E,4E)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)데카-2,4-디엔아마이드



[0354]

[0355] (2E,4E)-N-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)deca-2,4-dienamide;

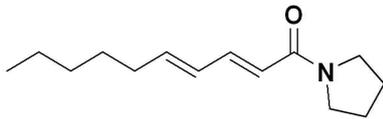
[0356] yield 90%;

[0357] yellow oil;

[0358] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.89 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_3), 1.23-1.47 (6H, m, CH_2), 2.12-2.19 (2H, m, CH_2), 4.23 (4H, s, CH_2), 5.86 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.05-6.21 (2H, m, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.79 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, Ph), 6.95 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, Ph), 7.21 (1H, br s, NH), 7.25-7.33 (2H, m, Ph);

[0359] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{NO}_3$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 302.1756; found: 302.1766.

[0360] 실시예 2-42. (2E,4E)-1-(피롤리딘-1-일)데카-2,4-디엔-1-온



[0361]

[0362] (2E,4E)-1-(pyrrolidin-1-yl)deca-2,4-dien-1-one;

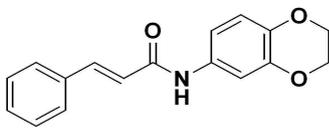
[0363] yield 98%;

[0364] yellow oil;

[0365] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.88 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, CH_3), 1.25-1.46 (6H, m, CH_2), 1.81-2.00 (4H, m, CH_2), 2.14 (2H, q, $J = 6.9$ Hz, CH_2), 3.52 (4H, q, $J = 6.9$ Hz, CH_2), 6.05-6.22 (3H, m, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.22-7.31 (1H, m, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0366] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{NO}$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 222.1858; found: 222.1865.

[0367] 실시예 2-43. N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)신남산아마이드



[0368]

[0369] N-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)cinnamamide;

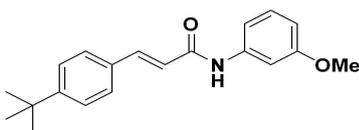
[0370] yield 100%;

[0371] white solid;

[0372] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 4.23 (4H, s, CH_2), 6.54 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.81 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, Ph), 7.02 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, Ph), 7.28 (1H, s, Ph), 7.34-7.37 (3H, m, Ph), 7.40-7.50 (2H, m, Ph), 7.55 (1H, br s, NH), 7.72 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0373] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{NO}_3$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 282.1130; found: 282.1138.

[0374] 실시예 2-44. (E)-3-(4-(t-부틸)페닐)-N-(3-메톡시페닐)아크릴아마이드



[0375]

[0376] (E)-3-(4-(t-butyl)phenyl)-N-(3-methoxyphenyl)acrylamide;

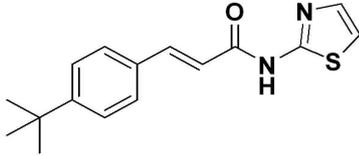
[0377] yield 91%;

[0378] yellow oil;

[0379] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1.32 (9H, s, CH_3), 3.80 (3H, s, OCH_3), 6.58 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.67 (1H, dd, $J = 2.1, 8.4$ Hz, Ph), 7.10 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, Ph), 7.21 (1H, t, $J = 8.4$ Hz, Ph), 7.36 (2H, td, $J = 2.1, 8.4$ Hz, Ph), 7.43-7.46 (3H, m, Ph), 7.73 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.84 (1H, br s, NH);

[0380] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{NO}_2$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 310.1807; found: 310.1820.

[0381] 실시예 2-45. (E)-3-(4-(t-부틸)페닐)-N-(티아졸-2-일)아크릴아마이드



[0382] (E)-3-(4-(t-butyl)phenyl)-N-(thiazol-2-yl)acrylamide;

[0384] yield 96%;

[0385] yellow solid;

[0386] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1.34 (9H, s, CH_3), 6.71 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.07 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, Ph), 7.45 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, Ph), 7.52 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, Ph), 7.55 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, Ph), 7.88 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$);

[0387] HRMS (FAB): calc'd for $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{OS}$; $[\text{M}+\text{H}]^+$: 287.1218; found: 287.1223.

[0388] <실시예 3. 세포배양>

[0389] 본 발명의 파이퍼 아마이드 유도체에 대한 미백 활성을 측정하기 위해 사용된 세포배양 조건은 하기와 같다.

[0390] 먼저, 무린 멜라노사이트 멜란-A 세포(murine melanocyte melan-A cell)는 (주)아모레퍼시픽 피부연구소(용인, 한국)에서 제공받았으며, 상기 멜란-A 세포는 10%[v/v] FBS(fetal bovine serum), 1%[v/v] PS(페니실린-스트렙토마이신) 및 200nM TPA(phorbol 12-myristate 13-acetate)이 포함된 RPMI-1640 배지(Gibco, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 배양하였다.

[0391] NHEM(normal human epidermal melanocytes) 세포는 ATCC에서 구입하였으며, 멜라노사이트 성장 배지(PromoCell, Heidelberg, Germany)에서 배양하였다. 세포는 37°C, 5% CO_2 조건의 습윤 인큐베이터에서 4일 동안 배양시켜 세포로 단층(monolayer)이 이루어지게 하였다. 상기 단층으로 배양된 세포는 트립신-EDTA로 재부유하였으며, 이를 24웰 플레이트에 10^5 세포/웰로 접종한 뒤, 24시간 동안 배양하였다.

[0392] 이후, 상기 배양된 멜란-A 또는 NHEM 세포에 본 발명의 파이퍼 아마이드 유도체를 농도별로 처리하여, 3일 동안 매일 990 μl 의 새 배양액과 10 μl 의 파이퍼 아마이드 유도체(DMSO에 용해된 농도별 화합물)로 교체하여 배양하였으며, 양성대조군으로는 멜라닌형성 저해제인 PTU(1-phenyl-2-thiourea, Sigma Chemical Co. USA)를 사용하였다(Poma et al., 1999).

[0393] <실시예 4. 세포생존율 측정>

[0394] 본 발명의 파이퍼 아마이드 유도체에 대한 세포생존율을 측정하기 위해 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 어세이를 실시하였다.

[0395] 먼저, 상기 실시예 3의 파이퍼 아마이드 유도체가 처리된 멜란-A 세포 배양액을 600 μl 로 줄인 다음 0.5mg/ml의 MTT 시약 100 μl 를 더하여, 각 웰에 분주하고 5% CO_2 , 95% O_2 , 37°C 조건에서 2시간 동안 배양하였다. 이후, 기질이 포함된 배지를 제거하여, 각 웰의 포르마잔 결정에 500 μl 의 DMSO(dimethyl sulfoxide)를 분주하여 용해시키고, 플레이트를 실온에서 30분 동안 교반한 다음, 100 μl 씩 분주하여 마이크로플레이트 리더(microplate reader, Molecular Devices E09090, USA)로 570nm에서 흡광도를 측정하여 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

조건	세포생존율 (%)	조건	세포생존율 (%)
실시예 2-1	97.81	실시예 2-24	88.07
실시예 2-2	98.95	실시예 2-25	100.72
실시예 2-3	102.99	실시예 2-26	100.38
실시예 2-4	95.89	실시예 2-27	101.94
실시예 2-5	99.99	실시예 2-28	101.94
실시예 2-6	101.75	실시예 2-29	94.01
실시예 2-7	89.73	실시예 2-30	100.22
실시예 2-8	101.03	실시예 2-31	98.19
실시예 2-9	101.56	실시예 2-32	101.28
실시예 2-10	93.32	실시예 2-33	105.65
실시예 2-11	90.62	실시예 2-34	100.21
실시예 2-12	98.72	실시예 2-35	100.76
실시예 2-13	100.93	실시예 2-36	97.90
실시예 2-14	92.64	실시예 2-37	101.28
실시예 2-15	97.84	실시예 2-38	100.19
실시예 2-16	99.78	실시예 2-39	101.52
실시예 2-17	104.67	실시예 2-40	96.37
실시예 2-18	97.34	실시예 2-41	101.60
실시예 2-19	95.50	실시예 2-42	104.96
실시예 2-20	101.21	실시예 2-43	84.94
실시예 2-21	102.20	실시예 2-44	81.96
실시예 2-22	99.42	실시예 2-45	91.51
실시예 2-23	101.99	양성대조군(PTU)	100.12

[0397] 상기 표 1을 참고하면, 멜란-A 세포에서 본 발명의 파이퍼 아마이드 유도체는 세포독성을 나타내지 않아, 피부 미백용 조성물로 유용하게 사용할 수 있다.

[0398] <실시예 5. 멜라닌 함량 및 티로시나아제 활성 측정>

[0399] 파이퍼 아마이드 유도체에 대한 미백 활성을 평가하기 위해, 멜라닌 함량 및 티로시나아제 활성을 in vitro 및 in vivo에서 실시하여 분석하였다.

[0400] 실시예 5-1. 멜라닌 함량의 측정-in vitro

[0401] In vitro에서의 멜라닌 함량을 측정하기 위해, 선행문헌 [Hosoi et al., 1985]에 의해 보고된 방법을 수정하여 적용하였다.

[0402] 먼저, 상기 실시예 3의 멜란-A 세포에 실시예 2-1 내지 2-7의 파이퍼 아마이드 유도체를 10 μM의 농도로 3일 동안 처리한 후, 배양된 배지를 제거하여, 각 웰을 PBS(phosphate buffer saline)로 두 번씩 세척하였다. 이후, 멜라닌을 용해하기 위해, 1N의 NaOH 400 μl를 각 웰에 더한 다음, 마이크로플레이트 리더로 405nm의 흡수파장에 서 멜라닌을 측정하여 표 2 및 도 1에 나타내었다.

표 2

조건	멜라닌 함량 (%)
실시예 2-1	33.90
실시예 2-2	49.90
실시예 2-3	74.77
실시예 2-4	67.38
실시예 2-5	58.53
실시예 2-6	45.28
실시예 2-7	63.48
양성대조군(PTU)	10uM : 51.95
	100uM : 27.85

[0404] 상기 표 2는 본 발명의 파이퍼 아마이드 유도체에 대한 멜라닌 함량을 비교하여 나타낸 것으로서, 특히, 실시예 2-1의 경우, 멜라닌 함량이 가장 낮게 측정되었음을 확인할 수 있다. 이에, 실시예 2-1을 각 농도별(1, 5 및 10 μM)로 처리하여, 도 1에 결과를 나타낸 바, 5 μM 의 농도에서는 58%, 10 μM 의 농도에서는 66%로 멜라닌 함량이 농도의존적으로 낮아지는 것을 확인할 수 있고, 이는 양성대조군인 PTU와 유사한 경향을 나타내어, 멜라닌형성을 저해하는 활성이 우수함을 확인할 수 있다.

[0405] **실시예 5-2. 티로시나아제 활성 측정-in vitro**

[0406] In vitro에서 티로시나아제 활성을 측정하기 위해, 멜란-A 세포를 사용하였으며, 또 다른 방법으로서 L-DOPA 염색을 실시하여 멜란-A 세포와 NHEM 세포에 대해 티로시나아제 활성을 분석하였다. 상기 L-DOPA 염색에 의한 티로시나아제 활성(in situ tyrosinase activity)은, 멜라닌형성에 대한 변화를 좀 더 민감하게 제공하므로, 선행 문헌 [Richard et al., 2007]에 보고된 방법을 참고하여 분석하였다.

[0407] 먼저, 멜란-A 세포에서의 티로시나아제 활성을 측정하기 위해, 플레이트(100mm culture dish)당 $\sim 5 \times 10^5$ 세포로 접종하여 배양하였으며, 24시간 후, 상기 배양된 세포에 양성대조군인 코직산(kojic acid, 티로시나아제 저해제) 또는 실시예 2-1을 각각 1 μM , 5 μM 및 10 μM 의 농도로 처리하여 3일 동안 매일 배지를 교체하면서 배양하였다. 3일 후, 배지를 제거한 뒤, PBS로 세포를 세척하였으며, 트립신-EDTA를 사용하여 세포의 분리 및 재부유를 실시한 뒤, 7500rpm에서 5분 동안 원심분리 하였다. 세포 펠렛(pellet)에 티로시나아제 버퍼(80mM phosphate buffer, 1% Triton-X100 및 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ PMSF)를 넣고 초음파분쇄기(ultrasonicator)를 2분간 사용하여 세포를 파쇄한 뒤, 1시간 동안 차가운 곳에서 방치하였다. 이후, 세포를 원심분리(12500rpm, 15분, 4 $^{\circ}\text{C}$)하여 상등액을 얻었으며, 상등액의 단백질 농도는 BSA(bovine serum albumin)를 표준물질로 하여 브래드포드법(bradford method, Bio-Rad, USA)으로 측정하였다. 상기 브래드포드법으로 측정된 단백질 150 μg 과 120 μl 의 L-DOPA(8.3mM in 80mM phosphate buffer, pH6.8)를 혼합하여 암실에서 20분 동안 37 $^{\circ}\text{C}$ 조건으로 반응하였다. 이후, 마이크로플레이트 리더로 490nm에서 흡광도를 측정하여 티로시나아제 활성을 나타내었고(대조군에 대비하여 %로 나타냄), 표 3 및 도 2A에 나타내었다.

[0408] 티로시나아제의 활성 측정을 위한 또 다른 방법으로서 L-DOPA 염색을 실시하기 위해, 상기 실시예 3에서 배양된 멜란-A 세포와 NHEM 세포에 PBS로 용해된 4%[w/v] 파라포름알데히드(paraformaldehyde)를 사용하여 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 10분 동안 고정하였다. 이후, 마찬가지로 PBS로 용해된 0.1%[v/v] Triton X-100(Sigma Chemical Co., USA)을 사용하여 2분 동안 투과(permeabilization)한 다음, PBS로 세포를 세척하고 0.1%[w/v] L-DOPA(Sigma Chemical Co. USA)를 더하여 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 2시간 동안 반응하였다. 2시간 후, 세포를 PBS로 세척하고, 현미경(Olympus Corp., Tokyo, Japan)으로 티로시나아제의 활성을 측정하여 도 2B 및 도 2C에 나타내었다.

표 3

조건	농도(μM)	티로시나아제 활성(%)
실시예 2-1	1	90.2 \pm 3.3
	10	31.6 \pm 1.3
양성대조군 (kojic acid)	1	92.8 \pm 6.8
	10	78.3 \pm 4.4
	100	50.5 \pm 0.2

[0410] 상기 표 3 및 도 2A를 참고하면, 본 발명의 실시예 2-1이 멜란-A 세포에서 농도의존적으로 티로시나아제 활성을 감소시키는 것을 확인할 수 있으며, 이는 L-DOPA 염색에 의한 멜란-A 세포(도 2B)와 NHEM 세포(도 2C)에서도 동일하게 나타나는 결과임을 확인할 수 있다. 또한, 양성대조군보다 티로시나아제 활성을 감소시키는 효과가 우수하므로, 피부 미백용 조성물로 유용하게 사용할 수 있다.

[0411] **실시예 5-3. UVB에 의한 과색소침착 유도-국소 적용**

[0412] 기니피그의 피부에서 UVB에 의한 과색소침착을 유도한 뒤, 본 발명의 파이퍼 아마이드 유도체를 국소 적용하여 미백 효과를 측정하였다.

[0413] 과색소침착은 브라운 기니피그($\sim 350\text{g}$, Central Lab Animals, Inc. Seoul, Korea)에서 유도하였으며, 이는 선행 문헌 [Candan et al., 2012]에 보고된 방법을 수정하여 실시하였고, 본 연구의 실험 과정(IA1300229)은 한국건실생활환경시험연구원(Korea Conformity Laboratories)의 동물실험 관련 위원회(Institutional Animal Care

and Use Committee)에 의해 승인되었다.

- [0414] 상기 브라운 기니피그의 등에 1.5×1.5cm의 사각형으로 이루어진 6개 구역에 대해 1주일 동안 적용한 후, 피부를 면도하여 310nm의 조도로 UVB(G8T5E lamps, Sankyo Denki, Hiratsuka, Japan)를 노출시켰다. 전구는 15cm위에 위치하였으며, 램프는 UVB 센서가 장착된 IL1700 Research Radiometer(International Light, Newburyport, MA, USA)로 측정하였다.
- [0415] 기니피그는 처음 1주 동안 적용 후, UVB 350mJ/cm²(4분, 7초)로 일주일에 3번씩 2주 동안 조사되었으며(총 2100 mJ/cm²), 상기 기간 동안에는 UVB에만 노출되었다. 이후, 기니피그에 양성대조군인 1% 알부틴(arbutin, tyrosinase inhibitor), 0.1% 실시예 2-1, 1% 실시예 2-1 및 음성대조군(propylene glycol:ethanol, 7:3, v/v) 각각을 일주일에 5번씩 2주 동안 국소 적용하여, 5주 후의 기니피그 등 피부에 대한 결과를 도 3A에 나타내었다. 또한, 이때, skin colorimeter(DermaLab[®] Combo, Cortex Technology, Denmark)를 사용하여 3, 4 및 5주가 끝나는 시점에 대한 멜라닌지수(melanin index)를 측정하여 도 3B에 나타내었다.
- [0416] 도 3A 및 도 3B를 참고하면, 기니피그의 피부에서 본 발명의 파이프 아마이드 유도체를 국소 적용하여 처리하는 경우, 붉은 반점과 같은 독성 증상은 나타나지 않으며, 본 발명의 실시예 2-1을 처리하는 경우, 양성대조군과 유사하게 시간의존적으로 3%, 17% 및 20%로 멜라닌지수가 감소하는 것을 확인할 수 있다.
- [0417] **실시예 5-4. 멜라닌 함량의 측정-in vivo**
- [0418] In vivo에서 멜라닌 함량을 측정하기 위해, 상기 실시예 5-3에서 UVB에 의한 과색소침착을 유도한 기니피그에 대해, 본 발명의 실시예 2-1을 국소 적용하여 평가하였다. 멜라닌 함량은 두 가지 방법으로 측정하였으며, 첫 번째 방법으로는 마이크로플레이트 리더를 사용하여 멜라닌 함량을 계산하였고, 두 번째 방법으로는 Fontana-Masson silver 염색법을 사용하였다.
- [0419] 마이크로플레이트 리더를 사용하여 멜라닌 함량을 계산하기 위해, 국소 적용한 기니피그의 진피에 2M의 NaBr을 더한 뒤 37℃에서 5시간 동안 반응시켜 표피를 분리하였다. 상기 분리된 표피를 10%[v/v] DMSO가 포함된 1N의 NaOH 용액으로 80℃에서 1시간 동안 용해하고, 16,000×g에서 30분 동안 원심분리하여 상등액을 취하였다. 상등액의 단백질 농도는 단백질 농도는 BSA를 표준물질로 하여 브래드포드법으로 405nm에서 마이크로플레이트 리더를 사용하여 측정하였으며, 멜라닌 함량은 [발현된 멜라닌(μg)/총 발현된 단백질(μg)]으로 계산하여 도 4A에 나타내었다.
- [0420] 다음으로, Fontana-Masson silver 염색법에 의한 멜라닌 함량을 측정하기 위해, 선행논문 [Park et al., 2011]을 참고하였다. 멜라닌 생성은 435×325μm의 면적에서 계산되었고, 이의 밀도 측정은 NIS elements imaging software(ver. 4.0, Nikon, Japan)를 사용하여 도 4B에 나타내었다.
- [0421] 도 4A의 결과를 참고하면, 본 발명의 실시예 2-1을 0.1% 또는 1%의 농도로 처리하는 경우, 멜라닌 함량이 각각 25%, 26%로 감소하였다. 또한, 도 4B의 결과를 참고하면, 무처리군(정상상태)에 비해 UVB를 조사하는 경우에는 검은 반점(dark spot)이 증가되었으나, UVB 조사 후 양성대조군이나 본 발명의 실시예 2-1을 0.1% 또는 1%로 처리하는 경우, UVB만 조사된 군에 비해 각각 66%, 67% 및 77%로 검은 반점이 감소하였다.
- [0422] 또한, 도 4에는 나타나지 않았으나, 세포나 조직 구조 관찰에 보편적으로 사용되는 H&E(Hematoxylin and eosin) 염색을 실시한 결과, 피부 조직에 대한 형태 변화(morphological change)에는 영향이 없는 것으로 확인되어, 본 발명의 화합물이 피부 조직의 형태 변화에는 영향을 미치지 않으면서 멜라닌 함량만을 감소시키는 효과를 나타내는 것임을 확인할 수 있었다.
- [0423] **실시예 5-5. 티로시나아제 활성 측정-in vivo**
- [0424] In vivo에서 티로시나아제 활성을 측정하기 위해, 상기 실시예 5-4와 마찬가지로 기니피그의 진피로부터 표피를 분리하여 티로시나아제 활성 측정에 사용하였다.
- [0425] 티로시나아제 활성을 측정하기 위해, 상기 진피로부터 분리된 표피를 0.1mM PMSF이 포함된 1% Triton X-100 용액(MP fast prep, MP Biomedicals, Solon, USA)으로 균질화하고, 10,000×g, 25분, 4℃의 조건에서 원심분리하여 상등액을 얻었다. 추출된 단백질(30μg)은 0.2ml의 PBS와 2mg/ml의 L-DOPA로 재부유하였고, 도파크롬 형성은 마이크로플레이트 리더를 사용하여 490nm, 37℃ 조건에서, 1시간 동안 10분 간격으로 측정하여 도 5에 나타내었다.
- [0426] 도 5를 참고하면, 본 발명의 실시예 2-1을 0.1% 또는 1%의 농도로 처리하는 경우, 티로시나아제 활성이 각각

34% 및 38%로 감소하였다. 이는 상기 도 4A와 유사한 것으로서, 본 발명의 화합물이 피부 미백용 조성물로 용이하게 적용될 수 있음을 확인할 수 있다.

[0427] <실시예 6. 멜라닌 형성과 관련된 단백질의 분석-티로시나아제, TRP-1, TRP-2 및 MITF>

[0428] 본 발명의 파이프 아마이드 유도체에 대한 미백 활성을 평가하기 위해, in vitro 및 in vivo에서, 멜라닌형성과 관련이 있는 티로시나아제, TRP-1, TRP-2 및 MITF 단백질을 분석하였다.

[0429] 실시예 6-1. mRNA 발현 분석-in vitro

[0430] In vitro에서 멜라닌형성과 관련된 단백질인 티로시나아제, TRP-1, TRP-2 및 MITF에 대한 영향을 알아보기 위해, mRNA를 추출하여 발현 및 분석하였다.

[0431] RNA는 TRIzol 시약(Invitrogen, USA)의 프로토콜을 참고하여 준비하였다. 먼저, 배양된 멜란-A 세포를 PBS로 두 번 세척한 뒤, 원심분리하여 펠렛을 얻었다. 상기 펠렛에 TRIzol 시약을 더하고, 세포를 피펫팅(pipetting)으로 용해한 뒤, 5분 동안 얼음에서 방치하였다. 이후, 클로로포름(chloroform)을 더하여 12,000rpm, 15분, 4°C 조건에서 원심분리를 하고, 물층(aqueous phase)은 새 튜브에 옮긴 뒤, 이소프로판올(isopropanol)을 더하였다. 이후, 상등액을 4°C에서 10분 동안 방치한 뒤, 12,000rpm, 10분, 4°C 조건에서 원심분리 하였다. RNA 펠렛에 75%[v/v] 에탄올 수용액을 더한 다음, 건조 및 DEPC(diethylpyrocarbonate)가 처리된 증류수로 재부유하였다. total RNA는 전기영동으로 확인하였으며, RNA의 양은 260nm에서 OD(optical density)를 측정하여 분석하였다. 역전사효소와 total RNA(1µg)로부터 합성하여 cDNA를 얻었으며, cDNA 증폭시 사용된 프라이머 및 RT-PCR(Reverse transcription-PCR) 조건은 하기와 같다.

[0432] * 사용된 프라이머 서열

[0433] tyrosinase upstream : 5' -GGC CAG CTT TCA GGC AGA GGT-3'

[0434] tyrosinase downstream : 5' -TGG TGC TTC ATG GGC AAA ATC-3'

[0435] TRP-1 upstream : 5' -GCT GCA GGA GCC TTC TTT CTC-3'

[0436] TRP-1 downstream : 5' -AAG ACG CTG G TCT-3'

[0437] TRP-2 upstream : 5' -TAC CAT CTG TTG TGG CTG GA-3'

[0438] TRP-2 downstream : 5' -TGG CAC TGC TG GTC ATC TTG TCT TGC TG-3'

[0439] MITF upstream : 5' -CTA GAG CGC ATG GAC TTT CC-3'

[0440] MITF downstream : 5' -AAG TTG GAG CCC ATC TTC CT-3'

[0441] GAPDH upstream : 5' -CGT CTT CAC CAT GGA GA-3'

[0442] GAPDH downstream : 5' -CGG CCA TCA CGC AGT TT-3' .

[0443] * RT-PCR 수행 조건 : 94°C에서 150초로 35 사이클, 60°C에서 30초로 1 사이클, 72°C에서 60초로 1 사이클.

[0444] 상기 조건으로 수행하여 얻어진 PCR 생성물은 전기영동(2%[w/v] agarose gel)을 실시하여 확인하였으며, 이때, GAPDH는 대조군으로 사용하였다. 각각의 실험은 3번 이상 반복하였고, 전기영동시 밴드에 대한 밀도 분석(Densitometry analysis)은 ImageMaster 2D Elite software(version 3.1, Amersham Pharmacia Biotech, USA)를 사용하여 측정한 뒤 도 6에 나타내었다.

[0445] 도 6을 참고하면, 본 발명의 실시예 2-1을 멜란-A 세포에 처리하는 경우, 티로시나아제, TRP-1, TRP-2 및 MITF의 mRNA 발현 수치가 0시간에 비해 6시간 후에는 각각 79%, 91%, 87% 및 93%로 현저하게 감소되어, 본 발명의 실시예 2-1이 시간의존적으로 mRNA 발현 수치를 감소시키는 효과가 있음을 확인할 수 있다.

[0446] 실시예 6-2. 웨스턴 블롯 분석-in vitro 및 in vivo

[0447] In vitro 및 in vivo에서의 멜라닌형성과 관련된 단백질인 티로시나아제, TRP-1, TRP-2 및 MITF에 대한 영향을 알아보기 위해, 멜란-A 세포 및 기니피그의 피부 세포의 상기 단백질에 대한 웨스턴 블롯을 실시하였다.

[0448] 먼저, 멜란-A 세포에 대한 티로시나아제, TRP-1, TRP-2, MITF의 단백질 발현을 평가하기 위해, 멜란-A 세포에 본 발명의 실시예 2-1을 농도별로 3일 동안처리하였으며, 마찬가지로 기니피그의 피부 세포에 대한 티로시나아제, TRP-1, TRP-2 및 MITF의 단백질 발현을 평가하기 위해, 기니피그의 피부로부터 표피 세포를 분리하여 실시

예 2-1을 1, 5 및 10 μM의 농도로 각각 처리 하였다.

[0449] 멜란-A세포와 기니피그의 표피 세포는 차가운 lysis 버퍼(50mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.1% SDS, 150mM NaCl, 1% NP-40, 0.02% sodium azide, 0.5% sodium deoxycholate, 100μg/ml PMSF, 1μg/ml aprotinin 및 phosphatase inhibitors)로 용해하였으며, 단백질 농도는 BSA를 표준물질로 하여 BSA를 표준물질로 하여 브래드포드법으로 측정하였다. 이후, 40μg의 단백질을 취하여 SDS-PAGE(10%[w/v] acrylamide gels)를 실시한 뒤, 나이트로셀룰로스 멤브레인(Amersham Pharmacia Biotech)으로 전이시켰다. 상기 멤브레인을 TBS-T(Tris-buffered saline-Tween buffer)에 용해된 5%[w/v] 탈지유로 블록킹하고, 1차 항체(티로시나아제, TRP-1, TRP-2, MITF 및 α-tubulin; Santa Cruz Biotech, USA 및 Amersham Pharmacia Biotech, UK)를 첨가한 뒤 4℃에서 16시간 동안 반응하였다. 상기 항체 처리된 멤브레인을 TBS-T로 3번 세척한 뒤, 2차 항체(goat anti-rabbit IgG, Amersham Pharmacia Biotech, UK; donkey anti-goat IgG, Santa Cruz Biotechnology, USA)를 넣어 실온에서 1시간 동안 반응하였다. 이후, ECL 시약(Amersham Pharmacia Biotech, UK)을 첨가하여 단백질이 전이된 멤브레인의 분석을 실시하였으며, ImageMaster 2D Elite software(ver.3.1, Amersham Pharmacia Biotech, UK)를 사용하여 밴드의 밀도 분석을 하여 도 7A 내지 도 7C에 나타내었다.

[0450] 도 7A 및 도 7B는 멜란-A 세포에 대한 티로시나아제, TRP-1, TRP-2 및 MITF의 단백질 발현을 나타낸 결과로서, 본 발명의 실시예 2-1을 처리하면 상기 4개의 단백질 발현 수치가 감소하는 것을 확인할 수 있다. 특히, 도 7A에서는 농도의존적으로 단백질 발현이 감소하는 것을 확인할 수 있으며, 도 7B에서는 시간의존적으로 단백질 발현이 감소하는 것을 확인할 수 있다. 또한, 도 7C는 기니피그의 표피 세포에 대한 티로시나아제, TRP-1, TRP-2 및 MITF의 단백질 발현을 나타낸 결과로서, 무처리군에 비해 UVB만 조사하는 군의 경우에는, 4 가지 단백질의 발현 수치가 각각 158%, 230%, 133% 및 133%로 증가하였으나, 본 발명의 실시예 2-1을 1% 농도로 국소 적용한 경우에는, UVB만 조사하는 군에 비해 4 가지 단백질 각각의 발현이 각각 51%, 34%, 21% 및 66%로 감소하였다. 이는, 멜라닌 형성과 관련된 단백질의 발현을 감소시키는 효과가 우수한 것임을 알 수 있다.

[0451] <제제예 1. 약학적 제제>

[0452] 제제예 1-1. 친수성 연고제의 제조

[0453] 본 발명의 실시예 2-1의 (E)-3-(4-(t-부틸)페닐)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드를 이용하여, 하기 표 4에 기재된 조성에 따라 통상의 방법으로 친수성 연고제를 제조하였다.

표 4

원료명	함량(중량%)
실시예 2-1	8.0
백색 바세린	35.0
스테아릴 알콜	30.0
에칠(또는 메칠)p-옥시벤조에이트	미량
프로필렌글리콜	20.0
라우릴 황산 나트륨	3.4
프로필 p-옥시벤조에이트	미량

[0455] 제제예 1-2. 정제의 제조

[0456] 본 발명의 실시예 2-1의 (E)-3-(4-(t-부틸)페닐)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드를 이용하여, 하기 표 5에 기재된 성분을 혼합한 후, 통상의 정제 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

표 5

원료명	중량(mg)
실시예 2-1	100mg
옥수수전분	100mg
유당	100mg
스테아린산 마그네슘	2mg

[0458] <제제예 2. 화장료의 제조>

[0459] 제제예 2-1. 유연 화장수의 제조

[0460] 본 발명의 실시예 2-1의 (E)-3-(4-(t-부틸)페닐)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드를 이용하여, 하기 표 6에 기재된 조성에 따라 통상의 방법으로 유연 화장수를 제조하였다.

표 6

원료명	함량(중량%)
실시예 2-1	4.0
부틸렌글리콜	3.5
글리세린	2.5
폴리옥시에틸렌 경화 피마자유	0.1
에탄올	2.5
베타인	1.0
구연산	0.01
구연산나트륨	0.03
방부제	적량
향료	적량
정제수	to 100

[0462] 제제예 2-2. 영양 에센스의 제조

[0463] 본 발명의 실시예 2-1의 (E)-3-(4-(t-부틸)페닐)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드를 이용하여, 하기 표 7에 기재된 조성에 따라 통상의 방법으로 영양 에센스를 제조하였다.

표 7

원료명	함량(중량%)
실시예 2-1	7.0
세토스테아릴알코올	1.0
자기유화형모노스테아린산	1.0
밀납	0.5
스쿠알란	5.0
이소세틸옥타노에이트	3.0
디메틸실록산	0.3
모노스테아린산소르비탄	0.5
모노스테아린산폴리에틸렌글리콜	8.0
글리세린	4.0
프로필렌글리콜	0.2
카르복시폴리머	0.22
트리에탄올아민	0.25
방부제	적량
향료	적량
착색료	적량
정제수	to 100

[0465] 제제예 2-3. 크림의 제조

[0466] 본 발명의 실시예 2-1의 (E)-3-(4-(t-부틸)페닐)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드를 이용하여, 하기 표 8에 기재된 조성에 따라 통상의 방법으로 크림을 제조하였다.

표 8

원료명	함량(중량%)
실시예 2-1	7.0
세토스테아릴알코올	3.0
자기유화형모노스테아린산	1.5
친유형모노스테아린산	1.5

밀납	0.5
유동과라핀	8.0
스쿠알란	7.0
이소세틸옥타노에이트	4.0
정제호호바유	4.0
디메틸실록산	0.3
모노스테아린산소르비탄	1.0
모노스테아린산폴리에틸렌글리콜	1.2
글리세린	6.0
프로필렌글리콜	4.0
베타인	4.0
산탄검	0.06
트리에탄올아민	0.10
방부제	0.25
향료	적량
착색료	적량
정제수	to 100

[0468] 제제예 2-4. 팩의 제조

[0469] 본 발명의 실시예 2-1의 (E)-3-(4-(t-부틸)페닐)-N-(2,3-디히드로벤조[b][1,4]디옥신-6-일)아크릴아마이드를 이용하여, 하기 표 9에 기재된 조성에 따라 통상의 방법으로 팩을 제조하였다.

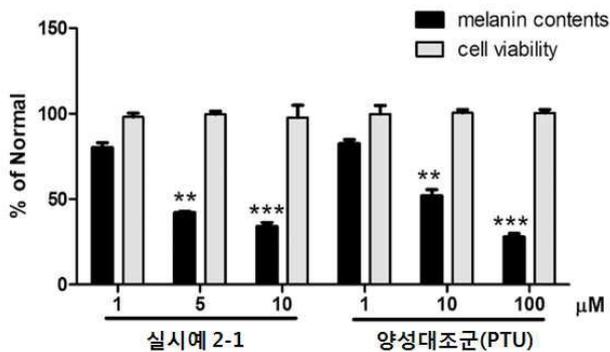
표 9

[0470]

원료명	합량(중량%)
실시예 2-1	8.0
글리세린	7.0
1,3-부틸렌글리콜	3.0
스쿠알렌	3.0
디메치콘	3.0
소듐하이루로네이트	0.1
글리신	2.0
폴리아크릴아마이드	5.0
트리에탄올아민	0.1
EDTA	0.1
정제수	to 100

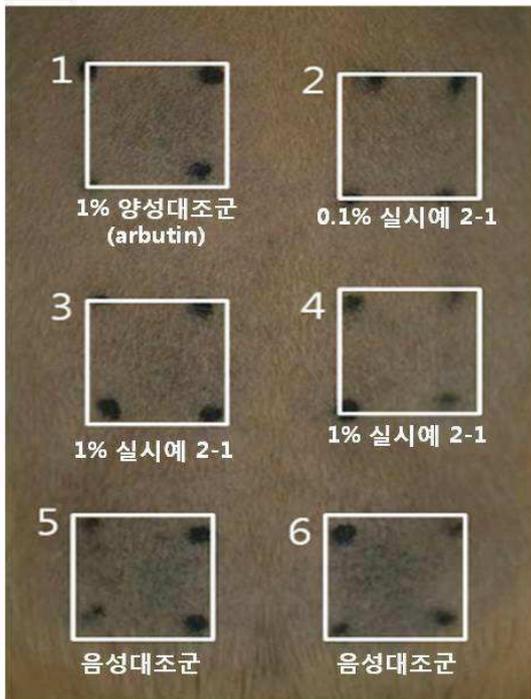
도면

도면1

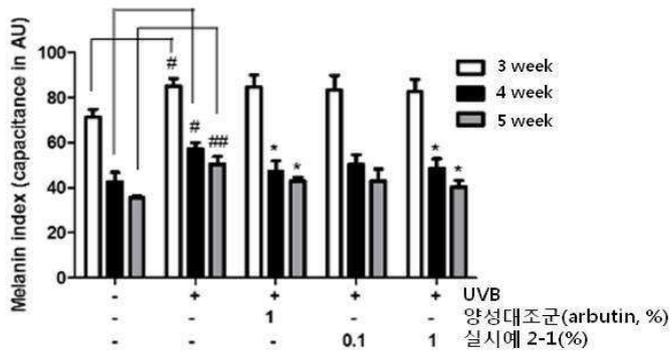


도면3

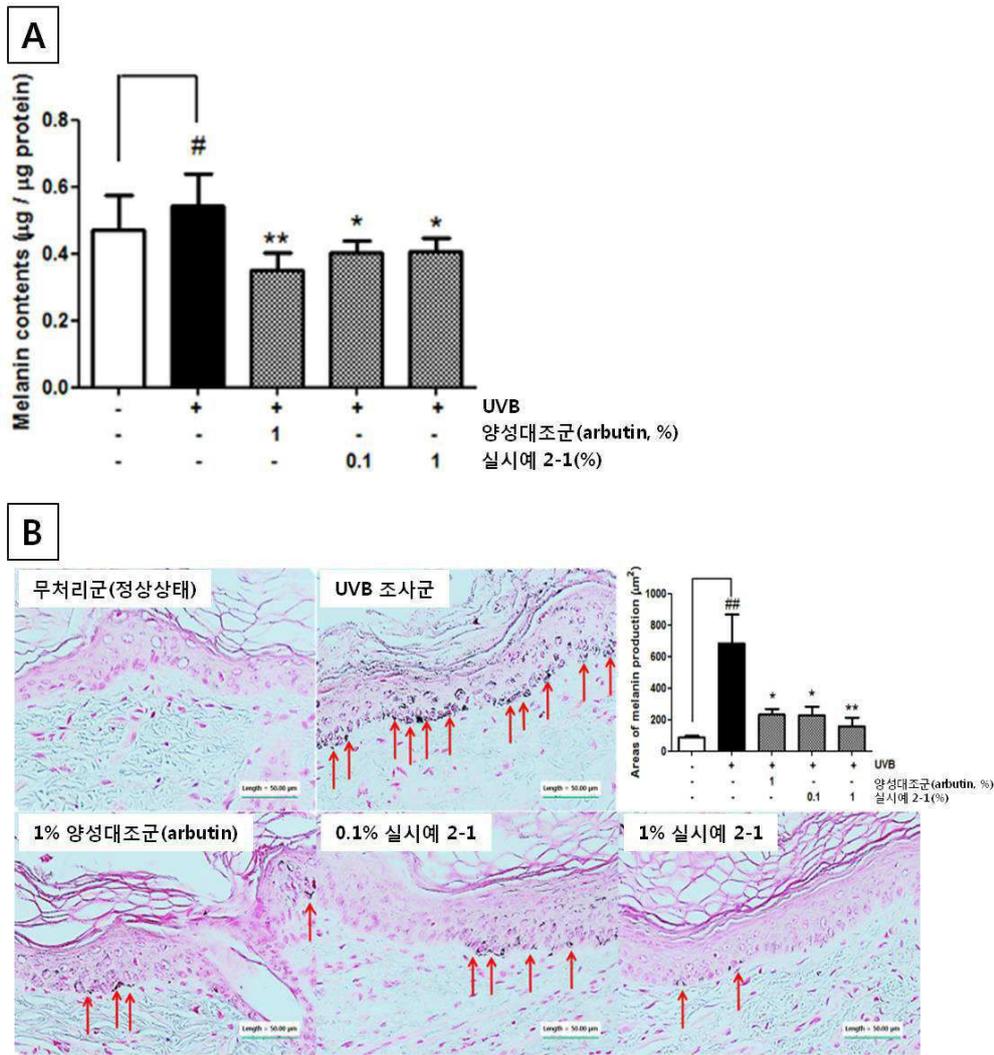
A



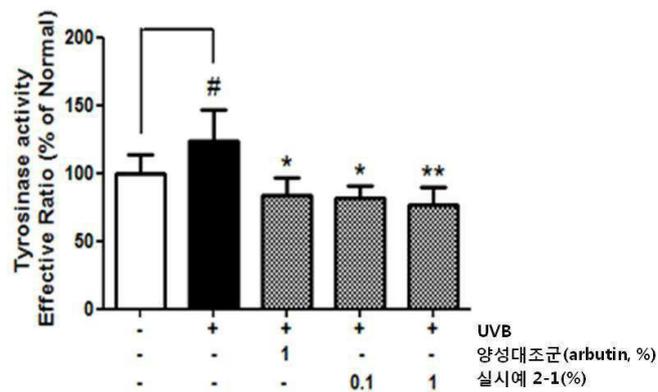
B



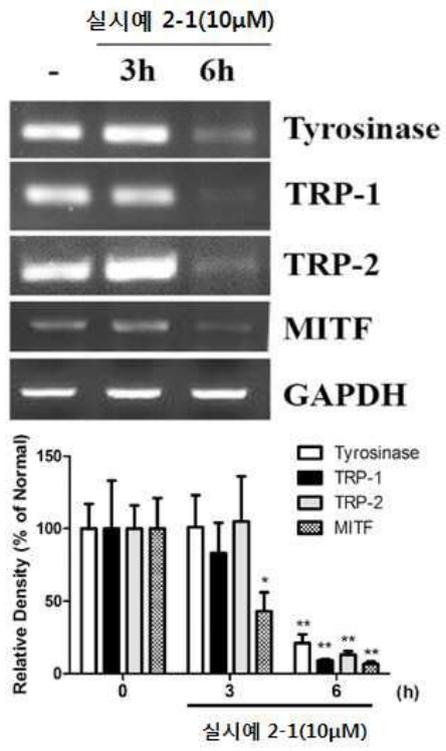
도면4



도면5



도면6



도면7

