(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0094010
(43) 공개일자 2008년10월22일

(51) Int. Cl.
*A61K 31/496* (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-7018507
(22) 출원일자 2008년07월28일
심사청구일자 2008년07월28일
번역문제출일자 2008년07월28일
(86) 국제출원번호 PCT/KR2006/000997
국제출원일자 2006년03월17일
(87) 국제공개번호 WO 2007/108566
국제공개일자 2007년09월27일

(71) 출원인
**이화여자대학교 산학협력단**
서울 서대문구 대현동 11-1 이화여자대학교내
(72) 발명자
**박혜영**
서울 강남구 압구정동 현대아파트 86-603
**나홍식**
서울특별시 서초구 서초4동 1682 서초래미안아파트 101-1301
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**안소영**

전체 청구항 수 : 총 13 항

**(54) 통증 억제용 조성물**

## *(57) 요 약*

본 발명은 통증 억제용 조성물에 관한 것으로, 화학식 1의 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 함유한다.

본 발명의 조성물은 통증을 억제하며 특히 신경병증성 통증과 염증성 통증을 억제하여, 기존의 진통제로 잘 제어되지 않는 통증의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

(72) 발명자

**백승근**

서울특별시 은평구 녹번동 21-251

**임은정**

서울특별시 동대문구 제기동 136-331

**감유림**

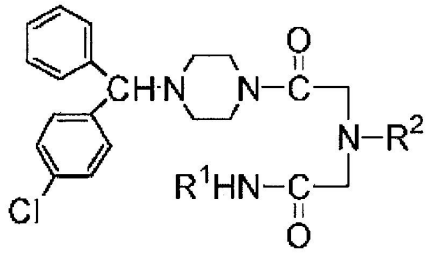
서울 강서구 방화3동 830-3, 샤르망오피스텔 1동 614호

## *특허청구의 범위*

**청구항 1**

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 함유하는 통증 억제용 조성물.

<화학식 1>



상기 화학식 1에서

$R^1$은 이소프로필, 벤질, 4-메틸벤질, 4-메톡시벤질, 1-메틸-3-페닐 프로필, 3,4,5-트리메톡시벤질, 2-(4-(4-클로로페닐)티아졸), 3-(5-t-부틸이소옥사졸), 2-(4-(4-브로모페닐)티아졸), 사이클로헥실, 5-(3-메틸이소옥사졸) 및 3,4-디벤질옥시펜에틸로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종을 나타내며, $R^2$는 H 또는 $R^3CO$ 이고,

$R^3$는 메틸, 페닐, 벤질, 나프틸($C_{10}H_7$) 및 $C_{10}H_7CH_2$로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종을 나타낸다.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 화학식 1의 화합물이 *N*-(3,4,5-트리메톡시벤질)-*N'*-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 디아미드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염인 조성물.

**청구항 3**

제1항에 있어서, 화학식 1의 화합물이

N-페닐아세틸-N'-(4-메톡시벤질)-N"-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 트리아미드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염인 조성물.

**청구항 4**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 통증이 신경병증성 통증인 조성물.

**청구항 5**

제4항에 있어서, 신경병증성 통증이 냉각 이질통 또는 온각 이질통인 조성물.

**청구항 6**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 통증이 염증성 통증인 조성물.

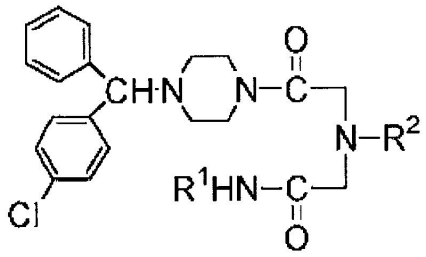
**청구항 7**

제1항 내지 제3항의 어느 한 항의 조성물을 유효성분으로 포함하는 패치제제.

**청구항 8**

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 함유하는 약학적 조성물을 투여하여 통증을 완화시키는 방법.

<화학식 1>



상기 화학식 1에서

$R^1$은 이소프로필, 벤질, 4-메틸벤질, 4-메톡시벤질, 1-메틸-3-페닐 프로필, 3,4,5-트리메톡시벤질, 2-(4-(4-클로로페닐)티아졸), 3-(5-t-부틸이소옥사졸), 2-(4-(4-브로모페닐)티아졸), 사이클로헥실, 5-(3-메틸이소옥사졸) 및 3,4-디벤질옥시펜에틸로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종을 나타내며, $R^2$는 H 또는 $R^3CO$ 이고,

$R^3$는 메틸, 페닐, 벤질, 나프틸($C_{10}H_7$) 및 $C_{10}H_7CH_2$로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종을 나타낸다.

**청구항 9**

제8항에 있어서, 화학식1의 화합물이 *N*-(3,4,5-트리메톡시벤질)-*N'*-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 디아미드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염인 방법.

**청구항 10**

제8항에 있어서, 화학식1의 화합물이

N-페닐아세틸-N'-(4-메톡시벤질)-N"-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 트리아미드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염인 방법.

**청구항 11**

제8항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 통증이 신경병증성 통증인 방법.

**청구항 12**

제11항에 있어서, 신경병증성 통증이 냉각 이질통 또는 온각 이질통인 방법.

**청구항 13**

제8항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 통증이 염증성 통증인 방법.

# *명 세 서*

## *기 술 분 야*

<1> 본 발명은 통증 억제용 조성물에 관한 것이다.

## *배 경 기 술*

<2> 통증은 실제 또는 잠재적인 조직 손상과 관련된 불쾌한 감각적 및 감정적 경험으로 정의된다. 통증은 다양한 질환에서 주요 증상으로 나타나고 있으나, 그 지각은 매우 주관적이므로 효과적으로 진단 및 치료하기에 가장 어려운 병리 중의 하나이다. 통증은 기능적 능력의 심한 손상을 유도하고 환자의 업무, 사회 및 가정 생활을 위태롭게 한다.

<3> 통증은 크게 급성통증과 신경병증성 통증 등과 같은 만성통증으로 구분된다.

<4> 급성통증(acute pain)은 일반적으로 염증 또는 연조직 손상으로부터 야기되며, 그 원인이 되는 뉴론성 기전이

잘 밝혀져 있어 비스테로이드성 항염증약(NSAID)이나 아편 제제 등의 일반적인 진통제에 의한 치료가 가능하다.

<5> 신경병증성 통증(neuropathic pain)은 말초 감각신경의 손상에 의해 야기되며, 그 통증의 정도가 매우 심할 뿐 아니라 아편제를 비롯한 통상의 진통제를 사용해도 자주 재발되므로 효과적인 치료가 어려운 실정이다.

<6> 신경병증성 통증을 유발하는 원인은 말초신경 외상 외에도 헤르페스 바이러스 감염, 당뇨병, 작열통, 신경총 결출(plexus avulsion), 신경종, 사지 절단, 맥관염, 만성 알콜중독, 인간 면역결핍성 바이러스 감염, 갑상선 기능 저하증, 요독증 또는 비타민 결핍증으로 인한 신경 손상 등 다양하다.

<7> 신경병증성 통증은 크게 과통증(hyperalgesia), 이질통(allodynia), 자발적 동통(spontaneous pain)의 3가지로 분류된다. 정상 수준 이상의 과도한 통증을 유발하는 경우를 "과통증"이라 하고, 정상적으로는 통증을 유발시킬 수 없을 정도의 미약한 자극에 민감하게 반응하여 통증을 유발하는 경우를 "이질통"이라 하며, 아무런 자극이 없는 경우에도 통증이 나타나는 것을 "자발적 동통"이라고 한다. 예를 들면 이질통은 미약한 기계적 자극에 의해서도 통증을 느끼게 되거나(기계적 이질통), 정상적으로는 불쾌감을 느끼지 않는 범위의 온도 변화에도 통증을 느끼는 경우(냉각/온각 이질통) 등이 있다. 이처럼 다양한 통증들을 예방, 억제 및 치료할 수 있는 물질에 대한 연구가 계속 이루어지고 있다.

<8> 현재 이용되고 있는 진통제는 크게 두 종류로 구분된다. 첫번째는 비스테로이드성 항염증약(NSAID)및 이와 관련된 COX-2 억제제로 이루어지는 군, 그리고 두번째는 모르핀과 같은 아편성 제제이다. 이들 진통제는 통상적인 반응을 억제하는데 효과적이다. 그러나 이들은 신경병증성 통증과 같은 일부 유형에는 거의 효과를 나타내지 못한다. 다만 아편성 제제를 고용량 투여함으로써 다소 진통 효과를 얻을 수 있으나 용량 증가로 인한 심각한 부작용 또는 중독의 가능성이 있다. 아편제제보다 진통효과가 낮은 NSAID는 그보다 더 높은 용량을 투여해야 효과를 얻을 수 있을 뿐만 아니라, NSAID 특유의 위장관 부작용까지 초래하는 문제가 있다.

<9> 따라서 기존에 공지된 진통제와는 다른 기전에 의해 신경병증성 통증을 억제할 수 있는 신규한 화합물 또는 그 용도의 발명이 시급하다.

<10> 이와 같은 연구의 표적물질이 될 수 있는 대표적 예가 통증, 혈관투과성 증가 및 혈관확장 등을 유발하는 생리활성물질인 브라디키닌(bradykinin)이다.

<11> 브라디키닌은 칼리크레인이라는 일 군의 단백 분해 효소에 의해서 전구체인 키니노겐으로부터 생성되는 9개 아미노산의 내인성 펩타이드 호르몬이다. 브라디키닌은 염증, 외상, 화상, 쇼크, 알러지 및 특정의 심혈관 질환에 의하여 분비되며, 일단 분비되면 백혈구로부터 통각 구심성 신경 말단을 자극하는 매개자의 분비를 개시하거나 증가시킨다. 브라디키닌이 유발하는 여러가지 병리생리학적인 반응으로는, 패혈성 쇼크, 출혈성 쇼크, 과민증, 관절염, 비염, 천식, 염증성 장 질환, 급성 췌장염, 위 절제후 낙하증, 카르시노이드증, 편두통, 유전성 혈관부종증 등이다.

<12> 브라디키닌의 수용체는 여러 가지 브라디키닌 유사체의 효능에 따라 주로 B1과 B2형으로 분류된다. B1 수용체에서의 브라디키닌의 작용은 주로 동맥 및 정맥을 수축시킴을 포함하지만, 말초 저항 혈관을 이완시킬 수도 있다. 그러나, 브라디키닌의 보다 중요한 다수의 기능은 B2 수용체에 의해 조정된다. B2 수용체에서 브라디키닌은 저혈압과 염증을 유발하고, 모세혈관 투과성을 높여서 부종 및 통증을 유발하므로, 염증, 심혈관 질환, 통증 및 감기와 같은 다수의 질환에서 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다. 그럼에도 불구하고 지금까지 브라디키닌의 길항제를 통증 완화제로 사용한 바가 없다.

<13> 한편 본 발명자들은 브라디키닌에 대해 길항 작용을 갖는 신규한 비펩타이드성 화합물을 발명한 바 있다(대한민국 특허등록 제10-0446711호). 그러나, 본 발명자의 상기 특허 등록 제10-0446711호에서도 브라디키닌에 의한 내장근 수축 활성의 억제 효과만이 보고되었을 뿐 진통 효과에 대해서는 확인된 바가 없다.

<14> 본 발명자들은 이에 착안하여 다양한 통증의 예방 또는 치료에 적용할 수 있는 브라디키닌 길항제의 진통용도를 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

## *발명의 상세한 설명*

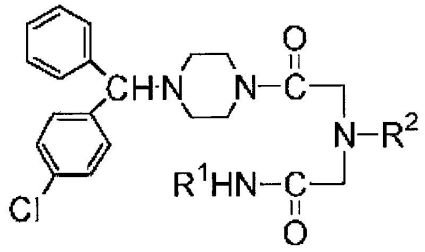
<15> **기술적 과제**

<16> 본 발명은 비펩타이드성 화합물을 유효성분으로 함유하는 통증 억제용 조성물, 조성물 제조방법 및 이를 이용한 통증의 완화 방법을 제공하고자 한다.

<17> **기술적 해결방법**

<18> 본 발명은 화학식 1의 화합물 및 또는 그 화합물들의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 통증 억제용 조성물을 제공한다.

<19> [화학식1]



<20>

<21> 상기 화학식 1에서 $R^1$은 이소프로필, 벤질, 4-메틸벤질, 4-메톡시벤질, 1-메틸-3-페닐프로필, 3,4,5-트리메톡시벤질, 2-(4-(4-클로로페닐)티아졸), 3-(5-t-부틸이소옥사졸), 2-(4-(4-브로모페닐)티아졸), 사이클로헥실, 5-(3-메틸이소옥사졸), 3,4-디벤질옥시펜에틸을 나타내며, $R^2$는 H 또는 $R^3CO$이며, $R^3$는 메틸, 페닐, 벤질, 나프틸($C_{10}H_7$), $C_{10}H_7CH_2$을 나타낸다.

<22> 본 발명의 조성물에서 상기 화합물은 *N*-(3,4,5-트리메톡시벤질)-*N'*-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 디아미드 (*N*-(3,4,5-trimethoxybenzyl)-*N'*-1-(4-chlorobenzhydryl)piperazine iminodiacetic acid diamide)이거나 또는 N-페닐아세틸-N'-(4-메톡시벤질)-N"-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 트리아미드((N-phenylacetyl-N'-(4-methoxybenzyl)-N"-1-(4-chlorobenzhydryl)-piperazine iminodiacetic triamide)인 것이 바람직하다.

<23> 본 발명의 조성물은 다양한 통증을 억제하며, 특히 신경병증성 통증, 예를 들면 냉각 이질통, 온각 이질통을 억제한다.

<24> 본 발명의 조성물은 통증 중에서도 특히 염증성 통증을 억제한다.

<25> 따라서 본 발명의 조성물은 기존의 진통제로 잘 제어되지 않는 통증의 완화에 유용하게 사용될 수 있다.

<26> 이하 본 발명의 조성물의 제조방법을 설명한다.

<27> 본 발명의 조성물이 함유하는 화합물은 공지된 방법을 이용하여 제조한다. 즉, 이미노디아세트산 무수물을 주형으로 하고, 아민류, 1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 및 카르복실산을 순차적으로 결합하는 액상 조합화학 방법을 이용하여 제조한다.

<28> 상기에서 얻은 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 하여 약제학적으로 허용되는 담체와 혼합을 특징으로 하여 통증 억제용 조성물을 제조한다.

<29> 약제학적으로 허용가능한 담체는 당분야의 전문가에게는 잘 알려져 있다. 액상 용액으로 제형화되는 조성물에 허용가능한 담체로는 식염수와 멸균수가 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 및 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물에 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제형화할 수 있다. 당분야의 전문가는 본 발명의 화합물을 적정한 방법으로, 또는 Remington's Pharmaceutical Sciences, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA 1990.에 기재된 바와 같이 공인된 방법으로 제형화할 수 있다. 또는 본 발명의 조성물을 경피투여용으로 패치 제제화 할 수 있다.

<30> 또한 본 발명은 상기 약학적 조성물을 이용하여 통증을 완화시키는 방법을 함께 제공한다.

<31> 본 발명에 따라서 제조된 약제학적 화합물은 경구 또는 비경구 투여경로에 의한 광범위한 종류의 투약형으로 제조되어 투여될 수 있다. 예를 들어, 이들 약제학적 조성물은 고체이거나 액체인 불활성의 약제학적으로 허용되는 담체 중에서 제조될 수 있다. 고체형 제제에는 분말, 정제, 분산성 과립제, 캅셀제, 카제(cachets), 패치제 및 좌제가 포함된다. 그 밖에 다른 고체 및 액체형 제제는 본 기술분야의 공지된 방법에 따라서 제조될 수 있다. 적절한 제제로 경구 경로에 의해서, 또는 액체 제제로서 정맥내, 근육내 또는 피하주사와 같은 비경구적

경로에 의해서 투여될 수도 있으며, 고체 제제로서 패치제제와 같은 비경구적 경로에 의해서 투여될 수도 있다.

<32> 제제의 단위용량에서, 본 발명에 따른 유효성분의 양은 환자당, 일일 1-100mg/kg 용량으로 투여할 수 있으며, 직접 환자의 필요조건, 치료할 상태의 중증도 및 사용되는 화합물에 따라서 변화될 수 있다. 따라서 적절한 농도 및 일회분 투여량은 당분야의 전문가에 의해서 변화될 수 있다. 또한 유효성분의 양을 1-100㎍으로 하여 1회 패치제로 국소 경피투여할 수 있다.

<33> 이하 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

## *산업상 이용 가능성*

<122> 본 발명의 조성물은 통증 완화에 효과가 있으며, 특히 신경병증성 통증, 예를 들면 냉각 이질통, 온각 이질통을 억제하는 효과가 있다.

<123> 본 발명의 조성물은 또한 통증 중에서도 특히 염증성 통증을 효과적으로 억제하였다.

<124> 따라서 본 발명의 조성물은 기존의 진통제로 잘 제어되지 않는 통증의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

## *도면의 간단한 설명*

<34> 도 1은 만성 신경병성 통증 동물모델의 제작과정을 나타낸 도이다.

<35> 도 2a, 도 2b 및 도 3b는 본 발명의 조성물에 의한 기계적 이질통의 억제 효과를 나타낸 도이다.

<36> 도 3a 및 도 3b는 본 발명의 조성물에 의한 냉각 이질통의 억제 효과를 나타낸 도이다.

<37> 도 4는 본 발명의 조성물에 의한 온각 이질통의 억제 효과를 나타낸 도이다.

<38> 도 5는 본 발명의 조성물을 복강내 투입시 염증성 통증의 억제 효과를 나타낸 도이다.

<39> 도 6은 본 발명의 조성물을 경피 투여시 염증성 통증의 억제 효과를 나타낸 도이다.

<40> **발명의 실시를 위한 형태**

<41> **[제조예 1] *N*-(3,4,5-트리메톡시벤질)-*N'*-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 디아미드를 함유하는 본 발명의 조성물의 제조**

<42> **1) N-((t-부틸옥시)카르보닐)이미노디아세트산의 제조**

<43> N-페닐아세틸-N'-(4-메톡시벤질)-N"-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 트리아미드를 얻기 위해, 우선 그 주형인 N-((t-부틸옥시)카르보닐)이미노디아세트산을 다음과 같이 제조하였다. 1ℓ 플라스크에 이미노디아세트산(13.3g, 100mmol), 다이옥산(200㎖), 물 200㎖에 녹인 수산화나트륨(8g, 200mmol)을 넣고, 용액이 균일해질 때까지 교반하였다. 상기 용액에 디-t-부틸디카보네이트(25㎖, 110mmol)를 소량 넣고, 실온에서 72시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 에테르(2×100㎖)로 세척하였다. 수용액층을 10% 염산(100㎖)으로 산성화하고, 에틸아세테이트(3×150㎖)로 추출하였다. 모아진 유기층을 포화 소금물(2×150㎖)로 세척하고, $Na_2SO_4$로 수분을 제거한 후, 재결정(에틸아세테이트 : 헥산 = 1 : 2)하여 무색의 결정을 얻었다.

<44> 수율 : 10.33g(44%)

<45> $^1$H-NMR(Acetone-$d_6$, 400MHz) : 4.12 and 4.08(two s, 4H), 1.4(s, 9H)

<46> **2) N-((t-부틸옥시)카르보닐)-N'-(3,4,5-트리메톡시벤질)이미노디아세트산 모노아미드의 제조**

<47> 상기 1)에서 제조한 N-((t-부틸옥시)카르보닐)이미노디아세트산의 첫번째 작용기에 3,4,5-트리메톡시벤질아민을 결합시킨 표제의 화합물을 다음과 같이 제조하였다. 플라스크에 상기 1에서 제조한 N-((t-부틸옥시)카르보닐)이미노디아세트산(0.5g, 2.14mmol)과 EDCI(0.41g, 2.14mmol)가 녹아있는 DMF 6.4㎖를 넣고, 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 여기에 3,4,5-트리메톡시벤질아민(0.42g, 2.14mmol)을 주사기를 통해 천천히 적가한 후, 실온에서 20시간동안 교반하였다. 반응물을 에틸아세테이트(60㎖)로 희석시키고, 10% 염산 수용액(2×40㎖), 포화된 소금물(40㎖)로 세척한 후, $Na_2SO_4$로 수분을 제거하고, 용매를 감압하에 제거하여 미색 오일을 얻었다.

<48> 수율 : 0.66g(75%)

<49> $^1$H-NMR(Acetone-$d_6$, 400MHz) 6.5(2H, d), 4.4(2H, dd), 4.0(4H, d), 3.8(9H, dd), 1.4(9H, s)

<50> FABMS *m/z* 413.18

<51> **3) N-((t-부틸옥시)카르보닐)-N'-(3,4,5-트리메톡시벤질)-N"-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 디아미드의 제조**

<52> 상기 2)에서 제조한 화합물에 1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진을 결합시켜 표제의 화합물을 다음과 같이 제조하였다.

<53> 상기 2)에서 제조한 화합물(0.5g, 1.21mmol), 4-클로로-벤즈하이드릴피페라진(0.35g, 1.21mmol) 및 벤조트리아졸-1-일-옥시-트리스피롤리디노 포스포니움 헥사플루오로포스페이트(PyBOP)(0.72g, 1.33mmol)을 DMF 15ml에 넣고 *N,N*-디이소프로필에틸아민(0.62mL, 2.42mmol)을 가하였다. 반응 혼합물을 16시간 동안 25℃에서 교반한 후 250mL 분별깔때기에 넣었다. 상기 반응물을 100mL의 에틸아세테이트로 희석시킨 후 50mL의 10% 염산으로 3번 씻은 후 $NaHCO_3$(50mL)로 2번 씻어주었다. 이후 포화 소금물로 연속해서 씻어준 후 $Na_2SO_4$로 수분을 건조시켜 진공증발기로 용매를 제거하여 연한 노란색 고체를 얻었다.

<54> 수율: 0.67g (81%)

<55> $^1$H-NMR(Acetone-$d_6$, 400MHz) 7.2-7.5(9H, m), 6.6(2H, d), 4.4(1H, d), 4.3(2H, d), 4.2(2H, d), 4.1(2H, d), 3.8(9H, d), 3.6(4H, d), 1.3(9H, d)

<56> FABMS *m/z* 681.30

<57> **4) *N*-(3,4,5-트리메톡시벤질)-*N'*-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 디아미드의 제조**

<58> 클로로포름(5mL)과 4M의 HCl-디옥산(5mL)에 상기 3)에서 제조한 물질(0.3g, 0.44mmol)를 녹이고 3시간 동안 교반하였다. 반응이 끝난 후 용매와 여분의 산을 진공증발기로 제거한 후 약 염기를 띄는 $NaHCO_3$ 용액으로 씻었다. 이후 용매를 제거한 후 EtOAc와 MeOH 10:1의 비율로 관크로마토그래피를 하여 노란색의 고체의 표제 화합물을 얻었다.

<59> 수율: 138mg (54%)

<60> $^1$H-NMR(Acetone-$d_6$, 400MHz) 7.2-7.5(9H, m), 6.6(2H, d), 4.4(1H, d), 4.3(2H, d), 4.2(2H, d), 4.1(2H, d), 3.8(9H, d), 3.6(4H, d), 2.4(4H, d)

<61> FABMS *m/z* 581.30.

<62> **5) 본 발명의 조성물1의 제조**

<63> 상기에서 제조한 *N*-(3,4,5-트리메톡시벤질)-*N'*-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 디아미드를 Tween 80: 100% 에탄올: 식염수를 8:1:1로 혼합한 용액에 녹여 본 발명의 조성물1(각 도에서는 sub1로 나타내었다)을 제조하였다.

<64> **[제조예 2] N-페닐아세틸-N'-(4-메톡시벤질)-N"-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 트리아미드를 함유하는 본 발명의 조성물의 제조**

<65> **1) N-((t-부틸옥시)카르보닐)이미노디아세트산의 제조**

<66> N-페닐아세틸-N'-(4-메톡시벤질)-N"-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 트리아미드를 얻기 위해, 우선 그 주형인 N-((t-부틸옥시)카르보닐)이미노디아세트산을 다음과 같이 제조하였다.

<67> 1ℓ 플라스크에 이미노디아세트산(13.3g, 100mmol), 다이옥산(200㎖), 물 200㎖에 녹인 수산화나트륨(8g, 200mmol)을 넣고, 용액이 균일해질 때까지 교반하였다. 상기 용액에 디-t-부틸디카보네이트(25㎖, 110mmol)를 소량 넣고, 실온에서 72시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 에테르(2×100㎖)로 세척하였다. 수용액층을 10% 염산(100㎖)으로 산성화하고, 에틸아세테이트(3×150㎖)로 추출하였다. 모아진 유기층을 포화 소금물(2×150㎖)로 세척하고, $Na_2SO_4$로 수분을 제거한 후, 재결정(에틸아세테이트 : 헥산 = 1 : 2)하여 무색의 결정을 얻었다.

<68> 수율 : 10.33g(44%)

<69> $^1$H-NMR(Acetone-$d_6$, 400㎒) : 4.12 and 4.08(two s, 4H), 1.4(s, 9H)

<70> **2) N-((t-부틸옥시)카르보닐)-N'-(4-메톡시벤질)이미노디아세트산 모노아미드의 제조**

<71> 상기 1)에서 제조한 N-((t-부틸옥시)카르보닐)이미노디아세트산의 첫번째 작용기에 아민을 결합시킨 표제의 화합물을 다음과 같이 제조하였다.

<72> 플라스크에 상기 1에서 제조한 N-((t-부틸옥시)카르보닐)이미노디아세트산(0.5g, 2.14mmol)과 EDCI(0.41g, 2.14mmol)가 녹아있는 DMF 6.4㎖를 넣고, 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 여기에 4-메톡시벤질아민(0.23g, 2.14mmol)을 주사기를 통해 천천히 적가한 후, 실온에서 20시간동안 교반하였다. 반응물을 에틸아세테이트(60㎖)로 희석시키고, 10% 염산 수용액(2×40㎖), 포화된 소금물(40㎖)로 세척한 후, $Na_2SO_4$로 수분을 제거하고, 용매를 감압하에 제거하여 미색 오일을 얻었다.

<73> 수율 : 0.43g(55%)

<74> $^1$H-NMR(Acetone-$d_6$, 400㎒) : 6.8(2H,dt), 7.2 and 7.3(2H,t), 4.4(2H,d), 4.2(2H,d), 4.0(2H,d), 3.8(3H,s), 1.4(9H, two s)

<75> FABMS *m/z* : 353.16

<76> **3) N-((t-부틸옥시)카르보닐)-N'-(4-메톡시벤질)-N"-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 디아미드의 제조**

<77> 상기 2)에서 제조한 화합물에 1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진을 결합시켜 표제의 화합물을 다음과 같이 제조하였다.

<78> 30㎖ 바이알에 N-((t-부틸옥시)카르보닐)-이미노디아세트산 모노아미드(0.48g, 1.31mmol), 1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진(0.41g, 1.441mmol), 벤조트리아졸-1-일-옥시-트리스피롤리디노 포스포니움 헥사플루오로포스페이트(PyBOP)(0.75g, 1.44mmol)을 넣은 뒤, DMF(15㎖), N,N-디이소프로필에틸아민(i-$Pr_2$NEt; 0.5㎖, 2.62mmol)을 넣고, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 에틸아세테이트(100㎖)로 희석시키고, 10% 염산 수용액(100㎖), 포화 $NaHCO_3$ 수용액(2×50㎖), 포화 소금물(50㎖)로 차례로 세척하고, $Na_2SO_4$로 수분을 제거한 후, 감압하에 용매를 제거하여 오렌지색 고체를 얻었다.

<79> 수율 : 0.67g(89%)

<80> $^1$H-NMR(Acetone-$d_6$, 400㎒) : 7.2-7.6(11H,m), 6.8(2H,t), 4.4(1H,s), 4.3(2H,d), 4.2(2H,d), 3.8(2H,d), 3.7(3H,s), 3.6(4H,m), 2.4(4H,m), 1.4(9H,d)

<81> FABMS *m/z* : 621.28

<82> **4) N-페닐아세틸-N'-(4-메톡시벤질)-N"-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 트리아미드의 제조**

<83> 상기 3)에서 제조한 화합물에 카르복실산을 반응시켜 표제의 화합물을 다음과 같이 제조하였다.

<84> 4㎖ 바이알에 클로로포름(1㎖), 4M의 염산-다이옥산(1㎖), 상기 3에서 제조한 화합물 0.031g(0.050mmol)을 넣고, 3시간 동안 교반하였다. 용매와 과량의 산을 증발시켜 제거하고, 잔여물을 DMF 1㎖에 녹이고, i-$Pr_2$NEt 26.1㎕(0.15mmol)를 가한 뒤, 페닐아세트산 7.49㎎(0.055mmol), PyBrOP 25.64㎎(0.055mmol)을 넣고, 16시간 동안 교반시켰다. 교반한 후, 반응혼합물을 에틸아세테이트(40㎖)로 희석시키고, 10% 염산 수용액(3×30㎖), 포화 $NaHCO_3$ 수용액(2×30㎖), 포화 소금물(30㎖)로 세척한 후, $Na_2SO_4$로 수분을 제거하고 농축하여, 갈색빛의 노란색 오일을 얻었다.

<85> 수율 : 25㎎(77%)

<86> $^1$H-NMR(Acetone-$d_6$, 400㎒) : 7.2-7.6(11H,m), 7.0-7.2(5H,m) 6.8(2H,t), 4.4(1H,s), 4.3(2H,d), 4.2(2H,d), 3.8(2H,d), 3.7(3H,s), 3.6(4H,m), 3.4(2H,s), 2.4(4H,m)

<87> FABMS *m/z* : 639.10

<88> **5) 본 발명의 조성물2의 제조**

<89> 상기에서 제조한 N-페닐아세틸-N'-(4-메톡시벤질)-N"-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 트리아미드를 Tween 80: 100% 에탄올: 식염수를 8:1:1로 혼합한 용액에 녹여 본 발명의 조성물2(각 도에서는 sub2로 나타내었다)을 제조하였다.

<90> **[실시예 1] 만성 신경병증성 통증에 대한 본 발명 조성물의 진통효과 확인**

<91> **1. 만성 신경병증성 통증의 유발 - 꼬리 신경 손상 모델의 제조**

<92> 만성 신경병증성 통증 모델을 다음과 같이 제작하였다.

<93> 생후 8주된 스프래그-돌리 래트(Sprague-Dawley rat)를 한 우리당 4마리씩 넣어, 12시간 간격의 일조 주기(light-dark cycle, 빛은 오전 7시부터)를 두고 섭씨 22-25℃를 유지하면서 음식과 물은 자유롭게 주어 사육하였다.

<94> 신경병증성 통증을 유발시키기 위해, 흰쥐를 0.5-2% 엔플루란(enflurane)으로 마취시킨 후 쥐꼬리에 분포하는 아래/위꼬리줄기(inferior/superior caudal trunks)를 도 1 오른쪽 그림의 왼쪽 그림에서 보이는 S1과 S2 척수신경 사이에서 절단하였다(도 1 ). 잘린 줄기의 근위부와 원위부 말단끼리 다시 연결되는 것을 막기 위해, 근위부를 1mm 더 잘랐다.

<95> 이렇게 하여 제조된 모델은 꼬리 부위의 신경을 지배하는 S1 척수 신경이 손상되어, 만성 신경병증성 통증을 느끼게 된다.

<96> **2. 본 발명의 조성물에 의한 신경병증성 통증의 억제 효과**

<97> **1) 본 발명의 조성물의 투여 및 행동 검사**

<98> 본 발명의 조성물에 의한 신경병증성 통증의 억제 효과를 알아보기 위해, 상기 1에서 제조한 실험동물모델의 이질통이 최고조에 달할 시기인 신경손상 14일 후에 본 발명의 조성물들을 각각 복강 내에 주입하였다.

<99> 상기 제조예 1에서 제조된 *N*-(3,4,5-트리메톡시벤질)-*N'*-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 디아미드를 함유하는 조성물1의 6 또는 60 mg/kg, 상기 제조예 2에서 제조된 N-페닐아세틸-N'-(4-메톡시벤질)-N"-1-(4-클로로벤즈하이드릴)피페라진 이미노디아세트산 트리아미드를 함유하는 조성물2의 3 mg/kg을 각각 복강 내에 주입하였다. 또한 조성물1을 60㎍을 피하주사 하였다. 이때 대조군으로 상기 조성물 제조에 사용한 용매액을 사용하였다.

<100> 꼬리에서 신경병증성 통증 검사를 하기 위해, 수술 1일 전과 수술 1, 7, 14 일 후에 행동 검사를 실시하였다. 꼬리에 기계적, 냉자극 및 온자극을 주기 위해, 실험동물을 투명한 플라스틱 튜브(4.5×12, 5.5×5, 6.5×18cm; 지름 ×길이)에 넣어 제압하였다. 행동 검사 전에 실험동물을 1시간 동안 실험 환경에 적응시켰다.

<101> 수술 14일 후에 각 약물을 주입하고, 1, 3, 5 시간 경과 후, 행동검사를 시행하여 본 발명의 조성물의 항-이질통 효과를 측정하였다.

<102> 그 결과를 각각의 도에 나타내었으며, 각 도에서 약물을 주입한 시기는 수직점선으로 나타내었다(단, 도면에서 n값은 실험에 사용된 쥐의 마리수를 의미한다).

<103> **2) 기계적 이질통증 검사**

<104> 본 발명의 조성물에 의한 기계적 이질통증의 억제 효과를 확인하기 위해, 다음과 같이 기계적 이질통증 검사를 수행하였다.

<105> 실험동물의 꼬리에서 기계적 민감도를 측정하기 위해, 상하법(up-down method)을 이용하여 회피 역치(withdrawal threshold)를 측정하였다. 8 가지의 폰 프레이 필라멘트 (von Frey filaments, 0.4, 0.6, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 15.0 g, Stoelting, Wood Dale, IL, USA)를 이용하여, 필라멘트로 찔렀을 때 꼬리를 확 휘두르는 경우를 회피 반응으로 평가하였다. 첫번째 자극을 20 g으로 하고 회피 반응이 나타나면 다음번 약한 필라멘트를 사용하였으며, 아무 반응이 나타나지 않으면 좀 더 강한 필라멘트를 사용하였다. Dixon 법에 따라 50% 역치를 내삽(interpolation)하였다.

<106> 도 2에 나타난 바와 같이, 본 발명의 조성물1(sub1) 및 조성물2(sub2)는 대조군(vehicle)을 처리한 동물군에 비

해 진통의 경향을 나타내었다.

<107> **3) 냉각 및 온각 이질통증 검사**

<108> 본 발명의 조성물에 의한 냉각 및 온각 이질통증의 억제 효과를 확인하기 위해, 다음과 같이 회피 잠복기(withdrawal latency)를 측정함으로써 꼬리에서 냉각 및 온각에 대한 민감도를 평가하였다.

<109> 각각 4℃(냉) 및 40℃(온)의 수욕에 실험동물의 꼬리를 담근 후 회피 반응을 보일 때까지의 시간을 측정하였으며, 15초까지 반응을 보이지 않을 경우는 15초를 측정결과로 하였다. 이를 5분 간격으로 각각 5회씩 시행하여 이들 값의 평균치를 계산하였으며, 반응시간이 짧을수록 냉각 및 온각 이질통이 심한 것으로 판정하였다.

<110> 도 3a 및 도 3b에 나타난 바와 같이, 냉각 이질통을 유발하는 자극에 대해 본 발명의 조성물1(sub 1)은 주사 후 1시간에서 통계적으로 유의한 진통효과를 나타내었다.

<111> 도 4에 나타난 바와 같이, 온각 이질통에 대한 자극에 대해 본 발명의 조성물1(sub 1)은 주사 후 1시간에서 유의한 진통효과를 나타내었다.

<112> **[실시예 2] 본 발명의 조성물에 의한 염증성 통증의 억제 효과**

<113> 1) 복강 내에 주입한 경우

<114> 본 발명의 조성물에 의한 염증성 통증의 억제 효과를 확인하기 위해, 염증 유발 물질인 포르말린(formalin)을 이용하여 실험을 수행하였다.

<115> 포르말린을 주입하기 10분 전에 본 발명의 조성물 1을 60 mg/kg의 용량으로 실험 동물의 복강 내에 주입하였다. 흰쥐의 한쪽 뒷발에 5% 포르말린 50 ㎕를 피하주사하고, 관찰용 체임버(가로,세로 16 cm × 14 cm)에 넣어 5분 단위로 60분간 쥐가 발을 핥거나 무는 시간을 측정하였다. 포르말린을 주입한 후 10분까지는 1차 시기(phase I), 10분에서 60분까지는 2차 시기(phase II)로 구분하여 결과를 분석하였다.

<116> 도 5에 나타난 바와 같이, 본 발명의 조성물 1은 대조군에 비하여 2차시기(약 투여 후 10 분에서 60분까지)에 진통효과가 관찰되었다. 1차시기(약 투여 직후부터 10분까지)에서는 아무런 진통효과가 관찰되지 않았다.

<117> 2) 피하주사 한 경우

<118> 본 발명의 조성물에 의한 염증성 통증의 억제 효과를 확인하기 위해, 염증 유발 물질인 포르말린(formalin)을 이용하여 실험을 수행하였다.

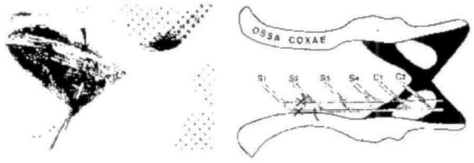
<119> 흰쥐의 한쪽 뒷발에 5% 포포르말린 50 ㎕와 본발명의 조성물 1을 60 ug/kg의 용량을 실험 동물에 피하 주사하였다. 흰쥐의 한쪽 뒷발에 5% 포르말린 50 ㎕만을 피하주사한 것을 대조군으로 하였다. 이 후 관찰용 체임버(가로,세로 16 cm × 14 cm)에 넣어 5분 단위로 60분간 쥐가 발을 핥거나 무는 시간을 측정하였다. 포르말린을 주입한 후 10분까지는 1차 시기(phase I), 10분에서 60분까지는 2차 시기(phase II)로 구분하여 결과를 분석하였다.

<120> 도 6에 나타난 바와 같이, 본 발명의 조성물 1은 대조군에 비하여 1차시기 및 2차시기에서 우수한 진통효과를 나타내었다.

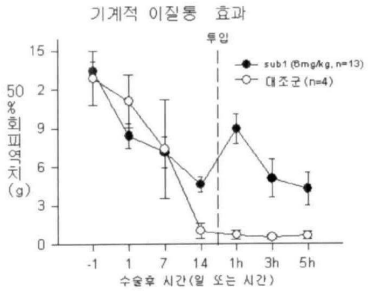
<121> 상기와 같은 실험으로 본 발명의 조성물은 염증성 통증을 억제함을 알 수 있다.

## *도면*

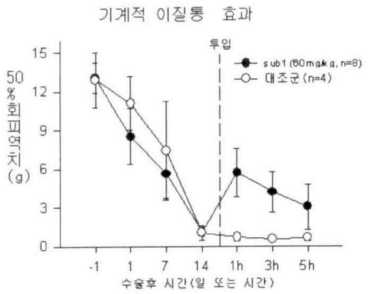
### *도면1*



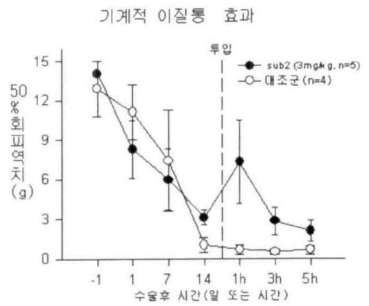
도면2a



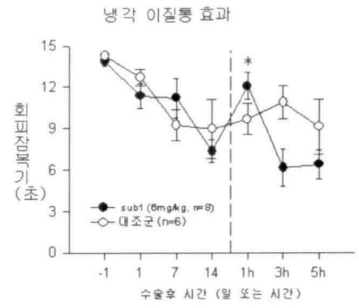

도면2b



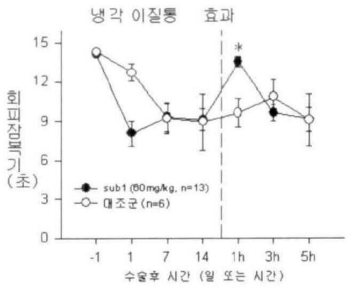

도면2c



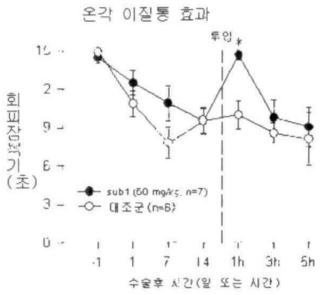

도면3a



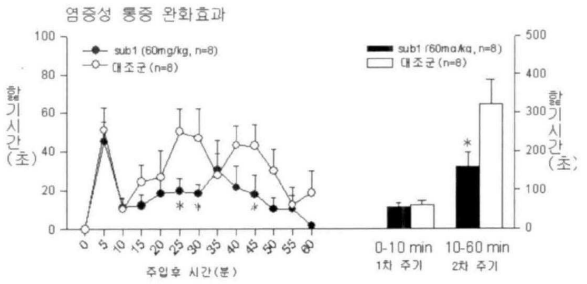
도면3b




도면4




도면5




도면6

