(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0090050
(43) 공개일자 2007년09월04일

(51) Int. Cl.
C07D 405/06(2006.01) *C07D 405/14*(2006.01)
C07D 409/14(2006.01)
(21) 출원번호 10-2007-7019022(분할)
(22) 출원일자 2007년08월20일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2002-7007836
원출원일자 2002년06월19일
심사청구일자 2005년12월15일
번역문제출원일자 2007년08월20일
(86) 국제출원번호 PCT/SE2000/002562
국제출원일자 2000년12월15일
(87) 국제공개번호 WO 2001/46174
국제공개일자 2001년06월28일
(30) 우선권주장
9904674-0 1999년12월20일 스웨덴(SE)

(71) 출원인
아스트라제네카 아베
스웨덴 에스이-151 85 쇠더탈제
(72) 발명자
브라운, 윌리암
캐나다 에이치4에스 1제트9 퀘벡 세인트 로렌트 프레드릭-반팅7171 아스트라제네카 알 앤드 디 몬트리올
월폴, 크리스토퍼
캐나다 에이치4에스 1제트9 퀘벡 세인트 로렌트 프레드릭-반팅7171 아스트라제네카 알 앤드 디 몬트리올
(74) 대리인
김영, 장수길

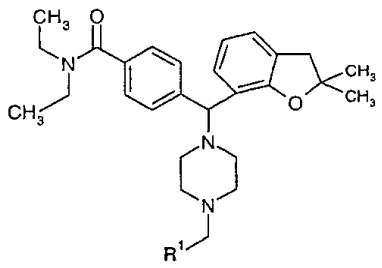
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 신규 화합물

(57) 요 약

하기 화학식 1의 화합물:

<화학식 1>



상기 식에서,

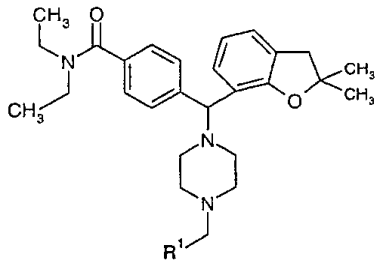
R^1은 페닐, 피리디닐, 티오페닐, 푸라닐 및 이미다졸릴로부터 선택되고, 여기서, 각각의 페닐 고리 및 헤테로방향족 고리는 임의로 및 독립적으로 직쇄 및 분지쇄 C_1-C_6 알킬, NO_2, CF_3, C_1-C_6 알콕시, 염소, 불소, 브롬 및 요오드로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 치환체에 의해 추가로 치환될 수 있다.

특허청구의 범위

청구항 1

동통 치료용 의약의 제조를 위한 하기 화학식 1의 화합물의 용도.

<화학식 1>



상기 식에서,

R^1 은 (i) 페닐; (ii) 피리디닐 ; (iii) 티오페닐 ; (iv) 푸라닐 ; (v) 이미다졸릴 ; 및 (vi) 트리아졸릴 로부터 선택되고,

여기서, 각각의 페닐 고리 및 헤테로방향족 고리는 임의로 및 독립적으로 직쇄 및 분지쇄 C_1-C_6 알킬, NO_2, CF_3, C_1-C_6 알콕시, 염소, 불소, 브롬 및 요오드로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 치환체에 의해 추가로 치환될 수 있고, 페닐 고리 및 헤테로방향족 고리 상에서의 치환은 상기 고리 시스템의 임의의 위치에서 일어날 수 있다.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<1> 본 발명은 신규 화합물, 이들의 제조 방법, 이들의 용도 및 상기 신규 화합물을 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다. 상기 신규 화합물은 치료, 특히 동통의 치료에 유용하다.

<2> δ수용체는 순환계 및 동통계 (pain system) 등과 같은 많은 신체 기능에서 역할을 하는 것으로 확인되었다. 그러므로, δ수용체에 대한 리간드는 마취제 및(또는) 항-고혈압제로서의 잠재적 용도가 있을 수 있다. 또한, δ수용체에 대한 리간드는 면역조정 활성도 보유하는 것으로 확인되었다.

<3> 현재, 3종 이상의 상이한 아편양제제 수용체 집단 (μ, δ 및 κ)이 확인되었고, 상기 3종 모두가 인간을 포함하는 많은 종의 중추 및 말초 신경계 모두에서 뚜렷하다. 이들 수용체 중 1종 이상이 활성화된 여러가지 동물 모델에서는 무통(無痛)이 관찰되었다.

<4> 거의 예외 없이, 현재 사용가능한 선택적인 아편양제제 δ리간드는 특성상 펩티드이고 전신적 경로로 투여하기에 부적합하다. 비-펩티드성 δ-아고니스트의 한 예는 SNC80 [Bilsky E. J. et al., Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 273(1), pp.359-366 (1995)]이다. 그러나 선택성 뿐만 아니라 부작용 프로파일까지도 개선된 선택적인 δ-아고니스트가 여전히 요구된다.

<5> 따라서, 본 발명의 근본적인 과제는 마취 효과 및 현행의 μ아고니스트에 비해 부작용 프로파일이 개선되었을 뿐 아니라 전신적 효능도 개선된 신규 마취제를 밝혀내는 것이었다.

<6> 당업계에서 이미 확인된 기존의 마취제는 전신에 투여되는 경우 약물이 잘 듣지 않고 마취가 되지 않는다는 점

에서 많은 단점이 있었다. 또한, 당업계에서 바람직한 것으로 기재되었던 δ아고니스트 화합물들이 전신에 투여되는 경우 상당한 발작 효과를 일으킨다는 것이 입증된 바 있다.

<7> 본 발명에 이르러, 본 출원인들은 WO 98/28270의 명세서에서 구체적으로 기술되지는 않았지만 그의 범위내에 포함되는 특정 화합물들이 전신 투여되는 경우 δ-아고니스트 성질 및 생체내 효능이 WO 98/28270에 개시된 화합물에 비해 놀랍도록 개선된다는 것을 밝혀냈다. WO 98/28270에 개시한 화합물에 비하여, 본 발명의 화합물은 δ-수용체의 작동성 (agonism) 및 대사 안정성을 괄목할만하고 예상치 못했던 수준으로 증가시켰다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

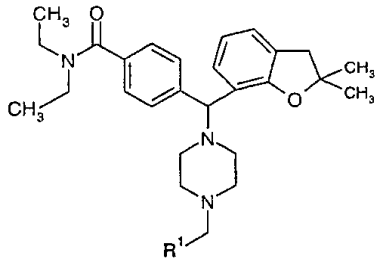
<8> 본 발명은 마취 효과 및 현행의 μ아고니스트에 비해 부작용 프로파일이 개선되었을 뿐 아니라 전신적 효능도 개선된 신규 마취제를 밝혀내기 위한 것이다.

발명의 구성 및 작용

<9> **<u>발명의 개요</u>**

<10> 본 발명에 따른 신규 화합물은 하기 화학식 1에 의해 정의된다:

화학식 1

<11> 

<12> 상기 식에서,

<13> R^1은 (i) 페닐; (ii) 피리디닐 ; (iii) 티오페닐 ; (iv) 푸라닐 ; (v) 이미다졸릴 ; 및 (vi) 트리아졸릴 로부터 선택되고,

<14> 여기서, 각각의 R^1 페닐 고리 및 R^1 헤테로방향족 고리는 임의로 및 독립적으로 직쇄 및 분지쇄 C_1-C_6 알킬, NO_2, CF_3, C_1-C_6 알콕시, 염소, 불소, 브롬 및 요오드로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 치환체에 의해 추가로 치환될 수 있다. 페닐 고리 및 헤테로방향족 고리 상에서의 치환은 상기 고리 시스템의 임의의 위치에서 일어날 수 있다.

<15> 화학식 1의 화합물의 제약상 허용가능한 염 및 이의 이성질체도 본 발명의 범위에 포함된다.

<16> 페닐 고리 및 헤테로방향족 고리(들)이 치환된 경우, 바람직한 치환기는 CF_3, 메틸, 요오드, 불소 및 염소의 임의의 치환기 중에서 선택되었다.

<17> 본 발명의 바람직한 실시양태에서, 화학식 1의 화합물은 (+)-거울상이성질체 또는 (-)-거울상이성질체로 존재한다.

<18> "이성질체"라는 용어는 관능기의 위치 및(또는) 방향이 상이한 화학식 1의 화합물들을 의미한다. "방향"이라는 용어는 입체이성질체, 부분입체이성질체, 위치이성질체 및 거울상이성질체를 의미한다.

<19> 본 발명의 신규 화합물은 치료에 유용하며, 특히, 여러가지 동통 상태, 예를 들면, 만성 동통, 신경병증 동통, 급성 동통, 암 동통, 류마티스성 관절염에 의해 초래된 동통, 편두통, 내장 동통 등의 치료에 유용하다. 그러나, 상기 목록은 제한하는 의미로 해석되어서는 안된다.

<20> 본 발명의 화합물들은 면역조정제, 특히 자가면역 질환, 예를 들어 관절염, 피부 이식, 기관 이식 및 유사한 수술이 필요한 질환, 콜라겐 질환, 여러가지 알레르기의 면역조정제로서 유용하며, 항-종양제 및 항-바이러스제로서도 유용하다.

<21> 본 발명의 화합물들은 전형적으로 아편양제제 수용체의 퇴행 또는 기능장애가 있거나 그와 연루된 질환 상태에 유용하다. 이는 양전자 방사 단층촬영술 (PET)과 같은 화상 적용 및 진단 기술에 본 발명의 화합물을 동위원소로 표지하여 사용하는 것을 포함할 수 있다.

<22> 본 발명의 화합물은 설사, 우울증, 불안증, 요실금, 다양한 정신 질환, 기침, 폐수종, 다양한 위장 장애, 척추 손상 및 알콜, 니코틴, 아편양제제 및 다른 약물들의 남용을 포함하는 약물 중독 및 고혈압과 같은 교감 신경계 장애의 치료에 유용하다.

<23> 본 발명의 화합물은 통상적인 마취 동안 사용하여 마취 상태를 모니터링하기 위한 마취제로서 유용하다. 종종 상이한 특성을 갖는 작용제들의 조합물을 사용하여 마취 상태 (예를 들어 기억 상실, 무통, 근육 이완 및 진정)의 유지에 필요한 효과들의 균형을 맞춘다. 이 조합물에는 흡입용 마취제, 수면제, 불안 치료제, 신경근 차단제 및 아편양제제가 포함된다.

<24> 또한, 상기 언급한 상태 중 임의의 상태의 치료용 의약을 제조하기 위한, 상기 화학식 1의 임의의 화합물의 용도 역시 본 발명의 범위 내에 포함된다.

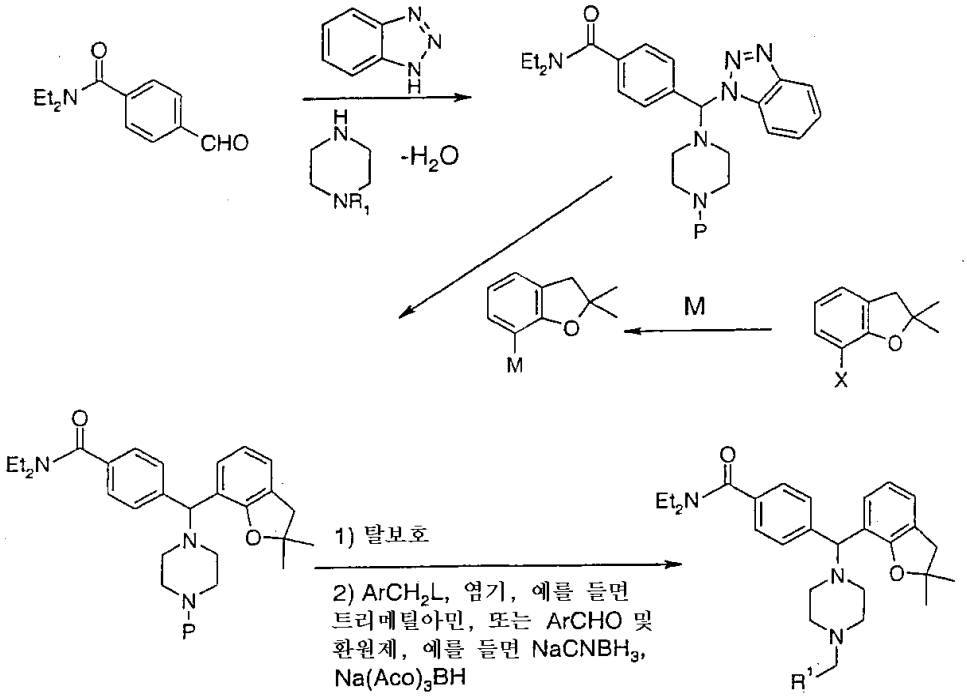
<25> 본 발명의 추가의 측면은 상기 화학식 1의 화합물의 유효량을 상기 언급한 상태 중 임의의 상태의 치료가 필요한 환자에게 투여함으로써 그 상태를 앓는 환자를 치료하는 방법을 제공하는 것이다.

<26> 또한 상기 화학식 1의 화합물의 합성에 유용한 반응식 1 (후술함)에 기재된 바와 같은 임의의 신규 중간체 역시 본 발명의 범위 내에 포함된다.

<27> **제조 방법**

<28> 본 발명에 따른 화합물은 하기 반응식 1에 기재된 합성법에 따라 제조할 수 있다. 이 공지된 방법들은 문헌 [J. March, Advanced Organic Chemistry, 4th Edition, John Wiley and sons (1992); Katritsky, A.R., Lan, X. Chem. Soc. Rev., pp.363-373 (1994)]에 기재되어 있으며, 상기 문헌은 본원에 참고문헌으로 도입된다.

반응식 1



P= 보호기, 예를 들면, Bn, Boc, CBz
M= Li, Mg, Zn
X=Br, I
L=Cl, Br, OM, OT, I
R^1= 상기 화학식 I에서 정의된 바와 같음

<29>

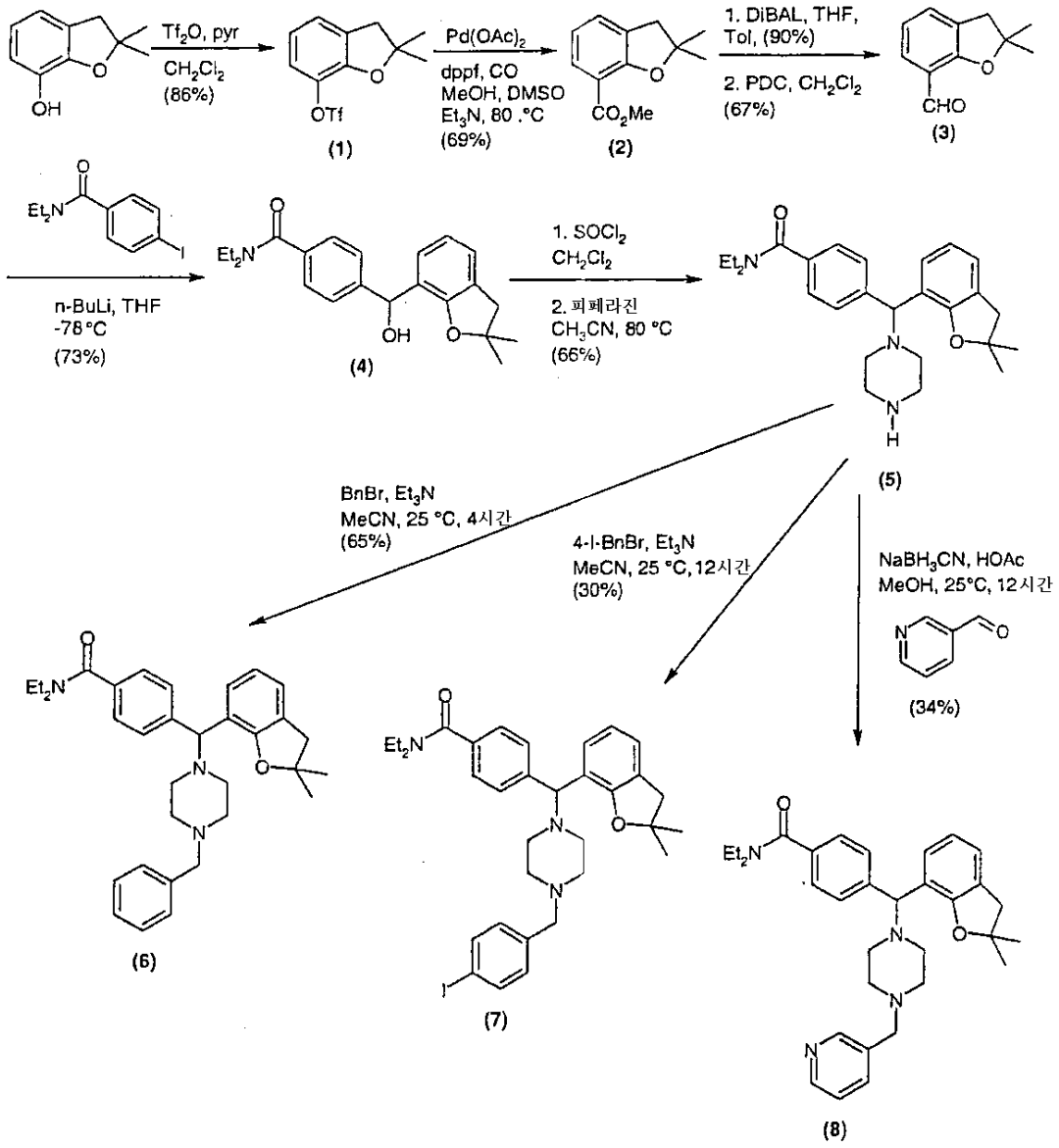
<30> [실시예]

<31> 하기의 실시예를 통해 본 발명을 더욱 상세히 기술할 것이나, 이는 본 발명을 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

<32> 실시예 1 내지 3에 따른 화합물을 하기의 반응식 2에 기술된 합성 방법에 따라 제조하였다.

<33> <반응식 2>

<34>



<35> **실시예 1**

<36> 4-[(4-벤질-1-피페라지닐)(2,2-디메틸-2,3-디히드로-1-벤조푸란-7-일)메틸]-N,N-디에틸벤즈아미드디히드로클로라이드 (화합물 6)의 제조

<37> i) 2,2-디메틸-2,3-디히드로-1-벤조푸란-7-일 트리플루오로메탄술포네이트 (화합물 1)의 제조

<38> 2,2-디메틸-2,3-디히드로-1-벤조푸란-7-올 (19 g, 0.11 몰) 및 피리딘 (18 ml, 0.23 몰)을 0 ℃의 CH_2Cl_2에 용해시켰다. 트리플산 무수물 (23 ml, 0.14 몰)을 적가하였다. 25 ℃에서 1 시간 동안 교반시킨 후 혼합물을 CH_2Cl_2로 희석하고 HCl (aq.)로 세척하고, 건조시키며 (MgSO) 진공으로 증발시켰다.

<39> 화합물 1을 32 g (96 %) 수득하였는데, 화합물 1을 정제하지 않고 하기 단계에서 직접 사용하였다.

<40> ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 1.50 (s, 6H), 3.09 (s, 2H), 6.81 (m, 1H), 7.03 (m, 1H), 7.11 (m, 1H);
MS (EI) *m/e* 296, 163, 135, 107.

<41> ii) 메틸 2,2-디메틸-2,3-디히드로-1-벤조푸란-7-카르복실레이트 (화합물 2)의 제조

<42> 상기 단계에서 제조된 화합물 1 (32 g, 0.11 몰)을 DMSO (200 ml), MeOH (100 ml) 및 Et_3N (34 ml, 0.25 몰)에

용해시켰다. 일산화탄소를 2 내지 3분 동안용액으로 통과시킨 후, 팔라듐 아세테이트 (0.24 g) 및 dppf (1.1 g)를 첨가하고 혼합물을 70 ℃의 CO 분위기에서 가열하였다. 4 시간 후, 추가의 팔라듐 아세테이트 (0.10 g) 및 dppf (0.50 g)를 첨가하였다. 12 시간 후, EtOAc 및 물을 첨가하고 유기상을 HCl (aq.), 염수로 세척하고, 건조시키며 ($MgSO_4$) 증발시켰다. 실리카 (헵탄 중 0 내지 20 % EtOAc)에서 크로마토그래피하여 화합물 2를 12 g (52 %) 수득하였다.

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 1.52 (s, 6H), 3.00 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 6.82 (m, 1H), 7.27 (m, 1H), 7.70 (m, 1H). MS (EI) *m/e* 206, 174, 159, 146, 131.

<43>

<44> iii) 2,2-디메틸-2,3-디히드로-1-벤조푸란-7-카르브알데히드 (화합물 3)의 제조

<45> 화합물 2 (5.0 g, 24 mmol)를 톨루엔 (100 ml)에 용해시키고 톨루엔 중 DIBAL(Diisobutylaluminium hydride; 디이소부틸알루미늄 히드라이드)(33 ml, 1.5 M, 50 mmol)을 -78 ℃의 질소 분위기에서 첨가하였다. 30 분 후에, HCl (aq.)을 첨가하여 반응물을 후처리하고, 유기상을 건조시키고 ($MgSO_4$) 진공으로 증발시켰다. 잔류물을 CH_2Cl_2 (50 ml)에 용해시키고 미세 연마한 피리디늄 디크로메이트 (PDC) (11 g, 29 mmol)를 나누어 첨가하였다. 혼합물을 40 ℃에서 가열하였고 PDC의 일부 (1 g)를 반응이 완료될 때까지 첨가하였다. 헵탄으로 희석시키고, 실리카로 여과하며 증발시켜 조 생성물을 수득하였고, 이를 실리카 (헵탄 중 0 내지 20 % EtOAc) 크로마토그래피로 정제하여 화합물 3 (3.3 g, 19 mmol, 화합물 2의 67 %)을 수득하였다.

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 1.54 (s, 6H), 3.03 (s, 2H), 6.88 (m, 1H), 7.34 (m, 1H), 7.58 (m, 1H), 10.22 (s, 1H). MS (EI) *m/e* 176, 161, 147, 130.

<46>

<47> iv) & v) 4-[(2,2-디메틸-2,3-디히드로-1-벤조푸란-7-일)(히드록시)메틸]-N,N-디에틸벤즈아미드(화합물 4) 및 4-[(2,2-디메틸-2,3-디히드로-1-벤조푸란-7-일)(1-피페라지닐)메틸]-N,N-디에틸벤즈아미드 (화합물 5)의 제조

<48> N,N-디에틸-4-요오도벤즈아미드 (화합물 I) (14 g, 47 mmol)을 THF (150 ml)에 용해시키고 질소 분위기에서 -78 ℃로 냉각시켰다. n-BuLi (21 ml, 헥산 중 2.2 M 용액, 47 mmol)을 적가하였다. 교반을 -78 ℃에서 30 분 동안 지속하였다. 알데히드 (화합물 3) (4.1 g, 24 mmol)를 THF (2 ml)에 적가하여 용해시켰다. NH_4Cl (aq.)을 30 분 후에 첨가하였다. 진공으로 농축한 후에, EtOAc/물로 추출하고, 건조시키고 ($MgSO_4$) 유기상을 증발시키며, 잔류물을 실리카 크로마토그래피로 정제하여 화합물 4 (6.1 g, 17 mmol)를 수득하였다. 0 내지 25 ℃에서 1 시간 동안 건조 CH_2Cl_2 (200 ml)중에서 $SOCl_2$ (1.5 ml, 20 mmol)로 처리한 후, 용매를 진공으로 증발시켰다. 잔류물을 MeCN (100 ml)에 용해시키고 피페라진 (5.8 g, 68 mmol)과 80 ℃에서 12 시간 동안 반응시켰다. 진공으로 농축시킨 후 실리카 (1 % NH_4OH와 함께 CH_2Cl_2 중 0 내지 15 % MeOH)로 크로마토그래피하여 화합물 5 (4.9 g, 11 mmol)을 수득하였다. HCl (aq)로 디히드로클로라이드를 만들고 동결 건조하였다.

융점 130-40 °C (이염산염).

IR (KBr, ν_{max}) 2982, 2722, 2481, 1628, 1450, 1371, 1292, 1140.

^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1.1,1.2 (2m, 6H), 1.36, 1.43 (2s, 6H), 2.72 (m, 4H), 2.95 (m, 2H), 3.25 (m, 6H), 3.5 (m, 2H), 4.8 (s, 1H), 6.74 -7.60 (m, 7H). 분석치 ($C_{26}H_{35}N_3O_2$) C, H, N.

<49>

<50> vi) 표제 화합물 4-[(4-벤질-1-피페라지닐)(2,2-디메틸-2,3-디히드로-1-벤조푸란-7-일)메틸]-N,N-디에틸벤즈아미드 디히드로클로리드 (화합물 6)의 제조

<51> 화합물 5 (0.62 g, 1.5 mmol) 및 트리에틸아민 (0.41 ml, 2.9 mmol)을 MeCN (5 ml)에 용해시키고 25 ℃에서 벤질 브로마이드 (0.17 ml, 1.5 mmol)와 반응시켰다. 2 시간 후에 제 2 부분의 벤질 브로마이드를 첨가하고, 4 시간 후에 진공으로 농축함으로써 반응물을 후처리하고 실리카 (CH_2Cl_2 중 0 내지 10 % MeOH)로 크로마토그래피하여 표제 화합물 6 (0.49 g, 0.95 mmol)을 수득하였다. HCl (aq)로 디히드로클로라이드를 만들고 동결 건조하였다. MS (ES) 512.08 (MH+).

IR (NaCl, 유리 아민 , ν_{max}) 2969, 2806, 2360, 1630, 1451, 1368, 1289, 1135 cm^{-1}.

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 유리 아민) δ 1.1, 1.2 (2m, 6H,아미드-Me), 1.36, 1.46 (2s, 6H, Me2C), 2.5 (m, 8H, 피페라진-H), 2.92 (m, 2H, ArCH2), 3.2, 3.5 (2m,아미드-CH2), 3.51 (s, 2H, ArCH2N), 4.62 (s, 1H, Ar2CH), 6.72 -7.52 (m, 7H, Ar-H).

<52> 분석치 ($C_{33}H_{41}N_3O_2$ x 3.4 HCl) C, H; N: 계산치 , 6.61;실측치, 7.19.

<53> **실시예 2**

<54> 4-{(2,2-디메틸-2,3-디히드로-1-벤조푸란-7-일)[4-(4-요오도벤질)-1-피페라지닐]메틸}-N,N-디에틸벤즈아미드디히드로클로라이드 (화합물 7)의 제조

<55> 화합물 6과 같이 제조. 화합물 5 (0.12 g, 0.29 mmol)를 48 시간 동안 4-요오도벤질 브로마이드 (96 mg, 0.32 mmol)와 반응시켜 표제 화합물 7 (56 mg, 88 μmol)을 수득하였다.

MS (ES) 638.24 (MH+). IR (NaCl, 유리 아민 , ν_{max}) 2969, 2810, 1630, 1451, 1288, 1135, 1007 cm^{-1}.

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 유리 아민) δ 1.1, 1.2 (2m, 6H,아미드-Me), 1.36, 1.45 (2s, 6H, Me2C), 2.4 (m, 8H, 피페라진 -H), 2.94 (m, 2H, ArCH2), 3.2, 3.5 (2m, 아미드-CH2), 3.43 (s, 2H, ArCH2N), 4.62 (s, 1H, Ar2CH), 6.73 (m, 1H, Ar-H), 6.94 (d, J = 7.3 Hz, 1H, ArH), 7.05 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.19 (d, J = 6.6 Hz, 1H, ArH), 7.25 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.48 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.61 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH). 분석치 ($C_{26}H_{37}Cl_2N_3O_2$) C, H, N.

<56>

<57> **실시예 3**

<58> 4-{(2,2-디메틸-2,3-디히드로-1-벤조푸란-7-일)[4-(3-피리디닐메틸)-1-피페라지닐]메틸}-N,N-디에틸벤즈아미드디히드로클로라이드 (화합물 8)의 제조

<59> 화합물 5 (0.20 g, 0.47 mmol)를 3-피리딘 카르복스알데히드 (90 ㎕, 0.95 mmol) 및 HOAc (3 ㎕, 50 μmol)과 함께 MeOH (2 ml)에 용해시켰다. 수소화 시아노 붕소 나트륨 (60 mg, 0.95 mmol)을 0 ℃에서 첨가하였고 반응물을 25 ℃에서 48 시간 동안 교반시켰다. 진공으로 농축시켜 반응물을 후처리하고, 추출하며 (CH_2Cl_2/K_2CO_3(aq)) 실리카 (CH_2Cl_2 중 0 내지 10 % MeOH)로 크로마토그래피하여 표제 화합물 8 (82 mg, 0.16 mmol)을 수득하였다. HCl (aq)로 디히드로클로라이드를 만들고 동결 건조하였다.

MS 513.25 (MH+). IR (NaCl, 유리 아민 , ν_{max}) 2970, 2808, 2360, 1631, 1452, 1425, 1290, 1135, 1096, 1009 cm^{-1}.

<60>

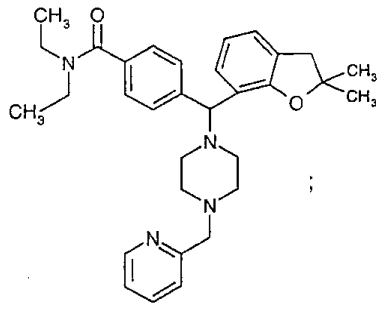
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 유리 아민) δ 1.1, 1.2 (2m, 6H,아미드-Me), 1.36, 1.46 (2s, 6H, Me2C), 2.5 (m, 8H, 피페라진 -H), 2.94 (m, 2H, ArCH2), 3.2, 3.5 (2m,아미드-CH2), 3.51 (s, 2H, ArCH2N), 4.64 (s, 1H, Ar2CH), 6.72 -7.66 (m, 9H, Ar-H), 8.44 -8.54 (m, 2H, Ar-H).

<61> 분석치 ($C_{32}H_{42}Cl_2N_4O_2$) C, H, N.

<62> **실시예 4**

<63> 4-{(2,2-디메틸-2,3-디히드로-1-벤조푸란-7-일)[4-(2-피리디닐메틸)-1-피페라지닐]메틸}-N,N-디에틸벤즈아미드디트리푸로아세테이트 (화합물 9)의 제조

<64> <화합물 9>



;

<65>

<66> 표제 화합물 9는 MeOH (10 ml)에 화합물 5 (0.45 g, 0.98 mmol)를 2-피리딘 카르복스알데히드 (110 ㎕, 1.18 mmol) 및 HOAc (3 ㎕, 50 μmol)과 함께 용해시켜서 제조하였다. 수소화 시아노 붕소 나트륨 (70 mg, 1.18 mmol)을 0 ℃에서 첨가하였고 반응물을 25 ℃에서 48 시간 동안 교반시켰다. 진공으로 농축하여 반응물을 후처리하고, 추출하며 (CH_2Cl_2/K_2CO_3(aq)) 역상 HPLC로 크로마토그래피하여 461 mg (63 %)의 표제 화합물 9를 수득하였다.

<67> MS 513.04 (MH+).

<68> 제약 조성물

<69> 본 발명에 따른 신규 화합물은 경구, 근육내, 피하, 국소적, 비내, 복강내, 흉곽내, 정맥내, 경막외, 경막내, 뇌실내 투여 및 관절 주사에 의해 투여할 수 있다.

<70> 바람직한 투여 경로는 경구, 정맥내 또는 근육내 투여이다.

<71> 투여량은 투여 경로, 질환의 심각도, 환자의 연령 및 체중 및 담당 의사가 통상적으로 고려하는 다른 요인들에 따라 달라지며, 이때, 개별적인 섭생(攝生) 및 투여량 수준은 특정 환자에 가장 적합한 정도로 결정된다.

<72> 본 발명의 화합물로부터 제약 조성물을 제조하기 위한 불활성의 제약상 허용가능한 담체는 고체 또는 액체일 수 있다. 고체 형태의 제제로는 산제, 정제, 분산가능한 과립제, 캡슐제, 카세제 및 좌제 등이 있다.

<73> 고체 담체는 희석제, 향미제, 가용화제, 윤활제, 현탁제, 결합제 또는 정제 붕해제로도 작용할 수 있는 1종 이상의 물질일 수 있다; 이는 또한 캡슐화 물질일 수도 있다.

<74> 산제에서, 담체는 미분된 활성 성분과의 혼합물로 존재하는 미분된 고체이다. 정제에서, 활성 성분은 필요한 결합 특성이 적당한 비율로 있고 원하는 형태 및 크기로 압축된 담체와 혼합된다.

<75> 좌제 조성물을 제조하기 위해, 저-용융 왁스 (low-melting wax), 예를 들어 지방산 글리세리드 및 코코아 버터의 혼합물을 먼저 용융시키고 그 안에 교반 등을 통해 활성 성분을 분산시킨다. 그 다음, 용융된 균질한 혼합물을 편리한 크기의 성형틀에 붓고 냉각시켜 고형화한다.

<76> 적당한 담체는 탄산 마그네슘, 스테아르산 마그네슘, 활석, 락토스, 당, 펙틴, 덱스트린, 전분, 트라가칸트, 메틸 셀룰로스, 카르복시메틸 셀룰로스 나트륨, 저-용융 왁스, 코코아 버터 등이다.

<77> 제약상 허용가능한 염은 아세테이트, 벤젠술포네이트, 벤조에이트, 비카르보네이트, 비타르트레이트, 브로마이드, 칼슘 아세테이트, 캄실레이트, 카르보네이트, 클로라이드, 시트레이트, 디히드로클로라이드, 에데테이트, 에디실레이트, 에스톨레이트, 에실레이트, 푸마레이트, 글루캅테이트, 글루코네이트, 글루타메이트, 글리콜릴아르사닐레이트, 헥실레소르시네이트, 히드라브아민, 히드로브로마이드, 히드로클로라이드, 히드록시나프토에이트, 요오다이드, 이세티오네이트, 락테이트, 락토비오네이트, 말레이트, 말리에이트, 만델레이트 메실레이트, 메틸브로마이드, 메틸니트레이트, 메틸술페이트, 무케이트, 나프실레이트, 니트레이트, 파모에이트 (엠보네이트), 판토테네이트, 포스페이트/디포스페이트, 폴리갈락투로네이트, 살리실레이트, 스테아레이트, 서브아세테이트, 숙시네이트, 술페이트, 탄네이트, 타르트레이트, 테오클레이트, 트리에트요오다이드, 벤자틴, 클로로프로카인, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 메글루민, 프로카인, 알루미늄, 칼슘, 리튬, 마그네슘, 칼륨, 나트륨 및 아연이다. 바람직한 제약상 허용가능한 염은 히드로클로라이드 및 비타르트레이트이다. 히드로클로라이드 염이 특히 바람직하다.

<78> 조성물이라는 용어는 활성 성분 및 담체로서의 캡슐화 물질 (다른 담체의 존재 여부와 관계 없이 활성 성분을

둘러싸서 그와 회합된 캡슐을 제공)의 제제도 의도적으로 포함한다. 유사하게, 카세제가 포함된다.

<79> 정제, 산제, 카세제 및 캡슐제를 경구 투여에 적당한 고체 투여 형태로 사용할 수 있다.

<80> 액체 조성물로는 용액제, 현탁액제 및 유제 등이 있다. 활성 화합물들의 살균수 또는 물-프로필렌 글리콜 용액은 비경구 투여에 적당한 액체 제제의 한 예로서 언급될 수 있다. 액체 조성물은 폴리에틸렌 글리콜 수용액 중의 용액제로 제제화될 수도 있다.

<81> 경구 투여용 수용액제는 활성 성분을 물 중에 용해하고 필요에 따라 적당한 착색제, 향미제, 안정화제 및 증점제를 첨가하여 제조할 수 있다. 경구용 수용액제는 미분된 활성 성분을 점성 물질, 예를 들어 천연 합성 고무, 수지, 메틸 셀룰로스, 카르복시메틸 셀룰로스 나트륨, 및 제약 제제 업계에 공지된 기타의 현탁제와 함께 물 중에 분산시켜 제조할 수 있다.

<82> 제약 조성물은 단위 투여량 형태인 것이 바람직하다. 이러한 형태에서, 상기 조성물은 활성 성분을 적당량 함유하는 단위 용량으로 나뉘어 있다. 단위 투여량 형태는 포장 안에 제제가 분리된 양으로 함유된, 예를 들어, 바이알 또는 앰플 내 포장된 정제, 캡슐제 및 산제인 포장된 제제일 수 있다. 단위 투여량 형태는 캡슐제, 카세제 또는 정제 자체일 수도 있고, 또는 상기 포장된 형태의 개수가 임의의 수일 수 있다.

<83> **생물학적 평가**

<84> 시험관내 모델

<85> 세포 배양

<86> 클로닝된 인간 μ, δ 및 κ 수용체를 발현하고 네오마이신 내성을 갖는 인간 293S 세포를 37℃ 및 5% CO_2에서 칼슘이 없는 DMEM 10% FBS, 5% BCS(Bovine calf serum; 송아지 혈청), 0.1% 플루로닉 F-68, 및 600 ㎍ 제네티신을 함유하는 진탕 플라스크 중의 현탁액에서 성장시켰다.

<87> 막의 제조

<88> 세포를 펠렛화하고 용균 완충액 (50 mM 트리스, pH 7.0, 2.5 mM EDTA, 사용하기 직전에 에탄올 중 0.1 M PMSF(Phenylmethylsulfonyl fluoride; 페닐메틸술포닐 플루오라이드) 스톡을 PMSF의 농도가 0.1 mM이 되도록 첨가함) 중에 재현탁하여 15분 동안 빙상에서 인큐베이션한 후, 30초 동안 폴리트론으로 균질화시켰다. 현탁액을 4℃에서 10분 동안 1000 g (최대)에서 회전시켰다. 상층액을 빙상에 방치하고 펠렛을 상기와 같이 재현탁하고 회전시켰다. 상기 2회의 회전으로부터 얻어진 상층액을 합하고 30분 동안 46,000 g (최대)에서 회전시켰다. 펠렛을 냉각 트리스 완충액 (50 mM 트리스/Cl, pH 7.0)에 재현탁시키고 다시 회전시켰다. 최종 펠렛을 막 완충액 (50 mM 트리스, 0.32 M 수크로스, pH 7.0)에 재현탁시켰다. 폴리프로필렌 튜브에 분액 (1 mL)을 넣어 드라이 아이스/에탄올 중에서 냉동시키고 사용할 때까지 -70℃에 저장하였다. 단백질 농도는 SDS를 사용하는 변형된 라우리 (Lowry) 분석법으로 측정하였다.

<89> 결합 분석법

<90> 막을 37℃에서 해동시켜 빙상에서 냉각시키고, 25-게이지의 바늘에 3 회 통과시켜 결합 완충액 (50 mM 트리스, 3 mM $MgCl_2$, 1 mg/mL BSA 시그마(Sigma A-7888) pH 7.4, 0.22 m 필터로 여과한 후 4℃에 보관함. 5 ㎍/mL 아프로티닌, 10 μM 베스타틴, 10 μM 디프로틴 A를 새로 첨가하였고, DTT(Dithiothreitol; 디티오트레이톨)는 첨가하지 않았음)에 희석시켰다. 100 ㎕의 분액 (단백질 1 ㎍ 당, 표 1 참조)을 적절한 방사성리간드 (표 1 참조) 100 ㎕ 및 다양한 농도의 시험 펩티드 100 ㎕를 함유하는 냉각된 12 ×75 mm 폴리프로필렌 튜브에 첨가하였다. 전체 (TB) 결합 및 비특이성 (NS) 결합을 10 μM 날록손의 부재 및 존재하의 각각의 경우에 측정하였다. 튜브를 볼텍싱하고 60 내지 75분 동안 25℃에서 인큐베이션한 후, 내용물을 0.1% 폴리에틸렌이민에 2시간 이상 미리 담궈둔 GF/B 필터 (왓트만 (Whatman))를 통해 신속하게 진공-여과시키고 냉각된 세척 완충액 (50 mM 트리스, pH 7.0, 3 mM $MgCl_2$)을 약 12 mL/튜브로 세척하였다. 6 내지 7 mL의 섬광계수용 액을 함유하는 미니바이알에 필터를 12시간 이상 담가둔 후, 필터에 남아있는 방사능 (dpm)을 베타 계수기로 측정하였다. 분석이 96개의 깊은 웰이 있는 플레이트에서 수행된 경우, 96개의 PEI(Polyethylenimine; 폴리에틸렌이민)에 담궈둔 단일필터에서 여과하여 1 mL 세척 완충액으로 세척 (×3)하고, 2시간 동안 55℃의 오븐에서 건조시켰다. 필터 플레이트에 50 ㎕ MS-20 섬광계수용 액/웰을 첨가한 후 탑카운트 (TopCount) (팩커드 (Packard) 제품)에서 계수하였다.

<91> 데이타 분석

<92> 특이적 결합 (SB)을 TB-NS로 계산하였고, 다양한 시험 펩티드의 존재하에서의 SB를 대조군 SB에 대한 비율(%)로 나타내었다. 특이적으로 결합된 방사성리간드의 교체시, 리간드에 대한 IC_{50} 값 및 힐 (Hill) 계수 (n_H)를 로짓 플롯 (logit plot) 또는 곡선 피팅 프로그램, 예를 들어 리간드 (Ligand), 그래프패드 프리즘 (GraphPad Prism), 시그마플롯 (SigmaPlot) 또는 리셉터핏 (ReceptorFit)으로 계산하였다. K_i 값을 쳉-프루소프 (Cheng-Prussoff) 방정식으로부터 계산하였다. 3개 이상의 변위 곡선에서 시험한 리간드에 대해 IC_{50}, K_i 및 n_H 값의 평균 ±S.E.M. 값을 기록하였다. 생물학적 데이타는 하기 표 1에 기록했다.

【표 1】

<93>

생물학적 데이타의 요약

실시예 번호	HDelta	HDelta		래트 뇌		마우스 뇌		MLM		RLM	
		EC50	%EMAX	EC50	%EMAX	EC50	%EMAX	10000 % rem.	100000 % rem.	10000 % rem.	100000 % rem.
3	3.519	19.47	103.1	133.72	92.97						
4	3.264	7.38	103.9	72.59	118.04	144.13	118.5	44.5	93	42.5	90.5

<94> 수용체 포화 실험

<95> 방사성리간드 Kδ 값은 추정된 K δ농도의 0.25 내지 5 배 (필요한 방사성리간드의 양이 가능한 것이라면 10 배 이하)의 농도 범위의 적절한 방사성리간드를 사용한 세포 막에서의 결합 분석법으로 측정하였다. 특이적 방사성리간드 결합을 pmole/mg 막 단백질로서 나타내었다. 개개의 실험에서 Kδ 및 B_{max} 값은 1-부위 모델에 따른 개개의 특이적 결합 방사성리간드 (B) 대 nM 유리 방사성리간드 (F)의 비선형 작도로부터 구하였다.

<96> 폰 프레이 (Von Frey) 시험법을 이용한 기계적 이질통(異質痛) (allodynia)의 측정

<97> 채플란 (chaplan) 등이 기술한 방법 (1994)을 이용하여 08:00과 16:00 시 사이에 시험하였다. 래트의 발에 접근할 수 있도록, 바닥이 철조망으로 되어 있는 플렉시글라스 (Plexiglas) 우리안에 래트를 가두고, 10 내지 15 분 동안 익숙해지도록 했다. 왼쪽 뒷발에서 덜 민감한 풋패드 (foot pad)를 제외하고 중앙의 편평한 부분을 시험 영역으로 하였다. 강도가 대수적으로 증가 (0.41, 0.69, 1.20, 2.04, 3.63, 5.50, 8.51 및 15.14 g; 미국 일리노이주 소재 스틸팅 (stoelting))하는 폰 프레이 털 8 가닥으로 발을 자극하였다. 철조망 바닥 아래에서 발의 편평한 표면에 수직으로 폰 프레이 털을 넣어 발이 약간 뒤틀릴 정도의 충분한 힘을 가하여 약 6 내지 8초 동안 유지하였다. 곧바로 발이 뒤로 물러나는 경우를 양성 반응으로 기록하였다. 털을 빼자마자 움찔하는 것 또한 양성 반응으로 고려하였다. 움찔함이 없이 움직이는 것은 모호한 반응이었으므로, 이 경우에는 자극을 반복하였다.

<98> 시험 프로토콜

<99> 조작후 1일 째에 FCA(Freund's complete adjuvant; 프로인드 완전 애주반트)-처리 군 동물들을 시험하였다. 딕손 (Dixon)의 업-다운 (up-down) 방법 (1980)을 이용하여 50% 도피반사 역치를 측정하였다. 털들 중 중간 정도인 2.04 g 털로 시험을 시작하였다. 강도를 증가 또는 감소시키면서 연속하여 끊임없이 자극하였다. 처음 선택한 털에 대하여 발을 뒤로 빼는 반응이 없는 경우에는 보다 강하게 자극하고, 발을 뒤로 빼는 경우에는 그 다음으로 약한 자극을 선택하였다. 이 방법에 의한 최적의 역치는 50% 역치의 중간 부근에서 6 개의 반응으로 계산하였으며, 반응에 대하여 최초의 변화가 발생할 때, 예를 들어 역치를 최초로 넘었을 때, 이 6 개의 반응을 계수하기 시작하였다. 역치가 자극의 범주외에 있는 경우, 각각 15.14 (정상 민감성) 또는 0.41 (최대 이질통)의 값을 지정하였다. 양성 및 음성 반응이 생성되는 양상을 표 (X = 도피반사 없음; O = 도피반사)로 만들었으며, 50% 도피반사 역치는 하기 식을 이용하여 계산하였다.

<100> 50% g 역치 = $10^{(Xf+k\delta)}/10,000$

<101> 여기서, Xf= 사용된 폰 프레이 털의 마지막 값 (로그 단위); k= 양성/음성 반응의 양상에 대하여 표로 계산한 값 [채플란 등 (1994)]이고, δ=자극들 사이의 평균 차 (로그 단위)이며, 여기서 δ=0.224였다.

<102> 폰 프레이 역치를 채플란 등의 방법 (1994)에 따라서 최대 가능한 효과율 (% MPE)로 전환하였다. 하기 방정식을 사용하여 % MPE를 산정하였다(MPE; Maximum possible effect; 최대 가능한 효과).

<103>
$$\%MPE = \frac{\text{약물처리된역치}(g) - \text{이질통역치}(g)}{\text{대조군역치}(g) - \text{이질통역치}(g)} \times 100$$

<104> 시험 물질의 투여

<105> 폰 프레이 시험 전에 시험 물질을 래트에 주사하고 (피하, 복강내, 정맥내 또는 경구), 시험 화합물의 투여와 폰 프레이 시험 사이의 시간을 시험 물질의 특성에 따라 변화시켰다.

<106> 뒤틀림 (writhing) 시험

<107> 아세트산을 마우스에 복강내 투여하여 마우스의 복부 수축을 야기시켰다. 이후, 아세트산은 전형적인 양상으로 마우스의 신체를 쭉 뻗게 만들었다. 마취 약물이 투여될 때, 이러한 움직임은 자주 관찰되지 않았으므로 이 약물을 잠재적으로 양호한 후보 물질로 선택하였다.

<108> 동물의 움직임이 없고 등 아래쪽으로는 약간 힘이 빠져서 늘어져 있으며 양 발의 편평한 면을 관찰할 수 있는 경우에만 완벽하고 전형적인 뒤틀림 반사로 고려하였다.

<109> (i) 용액의 제조:

<110> 아세트산 (AcOH): 아세트산 120 ㎕를 증류수 19.88 ㎖에 첨가하여 최종 부피가 20 ㎖이고, 최종 농도가 0.6%인 AcOH가 되게 하였다. 이후, 용액을 혼합 (볼텍싱)하고 주사용으로 만들어 두었다.

<111> 화합물(약물): 각 화합물을 제조하고 표준 방법에 따라 가장 적합한 비히클에 용해시켰다.

<112> (ii) 용액의 투여

<113> 시험 전에 화합물 (약물)을 (화합물의 종류 및 그의 특성에 따라서) 20, 30 또는 40분 동안 (마우스의 평균 체중을 고려하여) 10 ㎖/kg씩 경구, 복강내, 피하 또는 정맥내 투여하였다. 화합물이 중추 (심실내 또는 경막내)에 전달되는 경우 5 ㎕의 부피를 투여하였다.

<114> 시험 직전에 AcOH를 (마우스의 평균 체중을 고려하여) 10 ㎖/kg씩 2 부위에 복강내 투여하였다.

<115> (iii) 시험

<116> 동물 (마우스)을 20분 동안 관찰하고, 반응 (뒤틀림 반사)의 횟수를 기록하여 실험의 후반부에 데이타를 수집하였다. 마우스를 깔개가 있는 개개의 "신발 상자" 모양의 우리에 넣었다. 일반적으로, 마우스를 총 4마리씩 (1마리는 대조군이며 3마리는 약물 투여군임) 동시에 관찰하였다.

발명의 효과

<117> 본원발명에 의해 동통, 위장관 장애, 척추 손상 및 교감신경계 장애 치료에 유용한 화학식 1의 화합물, 및 이를 포함하는 제약 조성물이 제공된다.