



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0056584
(43) 공개일자 2009년06월03일

(51) Int. Cl.
A61K 31/16 (2006.01) *A61K 31/13* (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2007-0123798
(22) 출원일자 2007년11월30일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
(주)아모레퍼시픽
서울 용산구 한강로2가 181번지 태평양빌딩
재단법인서울대학교산학협력재단
서울특별시 관악구 봉천7동 산4의 2번지
(72) 발명자
고재영
서울 동작구 상도4동 221-1 현진빌라 C동 203호
한은실
경기 용인시 기흥구 보라동 314-1 아모레퍼시픽기
술연구원비전하우스 315호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
장성구, 위정호

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 스핑고실포스포틸콜린의 작용을 조절하는 약학 조성물

(57) 요약

본 발명은 스핑고실포스포틸콜린 (sphingosylphosphorylcholine, SPC)의 작용을 조절하는 약학 조성물에 관한 것으로서, 본 발명에 따른 약학 조성물은 SPC의 생체내 및 생체외 작용에 따른 세포 분열 증식, 염증 반응 및 가려움증 등을 효과적으로 조절하므로, 아토피성 피부염 또는 기타 질환에서 나타나는 염증, 소양증 및 피부 감염증 등의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

(72) 발명자

김 혁

경기 용인시 기흥구 보라동 314-1 아모레퍼시픽기
술연구원비전하우스 112호

김정주

서울 강남구 대치1동 503 개포1차 우성아파트 9동
203호

노민수

경기 수원시 영통구 영통동 황골주공아파트 129동
301호

김상희

서울 강남구 압구정동 490 21/1 한양아파트 6-308

임채민

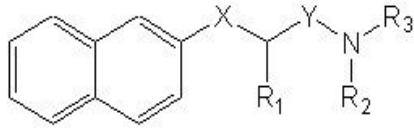
광주 북구 우산동 631-1 현대아파트 101-1401

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 스핑고실포스포틸콜린 (sphingosylphosphorylcholine, SPC)의 작용을 조절하는 약학 조성물:

화학식 1



상기 식에서,

X는 O 또는 S 이고,

Y는 CH₂ 또는 카보닐이고,

R₁은 수소 또는 C₁₋₁₀ 알킬이고,

R₂는 수소 또는 메틸이고, 단 X가 O일때 R₁ 및 R₂ 둘 다 수소인 경우는 없으며,

R₃는 C₁₋₄ 알킬이다.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

화학식 1의 화합물이 하기 화합물들로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, SPC의 작용을 조절하는 약학 조성물:

N-메틸-2-(나프탈렌-2-일옥시)-N-프로필-프로피온아마이드;

[2-(나프탈렌-2-일옥시)-프로필]-프로필-아민;

N-메틸-2-(나프탈렌-2-일옥시)-N-프로필-부틸아마이드;

2-(나프탈렌-2-일옥시)-펜탄산 메틸-프로필-아마이드;

2-(나프탈렌-2-일옥시)-헥산산 메틸-프로필-아마이드;

[2-(나프탈렌-2-일옥시)-부틸]-프로필-아민;

[2-(나프탈렌-2-일옥시)-펜틸]-프로필-아민;

[2-(나프탈렌-2-일옥시)-헥실]-프로필-아민;

2-(나프탈렌-2-일옥시)-에탄산 메틸-프로필-아마이드;

N-(2-(나프탈렌-6-일티오)에틸)부탄-1-아민;

N-메틸-2-(나프탈렌-6-일티오)-N-프로필아세트아마이드;

N-(2-(나프탈렌-6-일티오)에틸)프로판-1-아민; 및

N-부틸-N-메틸-2-(나프탈렌-6-일티오)아세트아마이드.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

외상 후 상처 치유를 촉진하는 것을 특징으로 하는, SPC의 작용을 조절하는 약학 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

외상 후 흉터 형성을 억제하는 것을 특징으로 하는, SPC의 작용을 조절하는 약학 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

세포의 주화성 이동 반응을 억제하는 것을 특징으로 하는, SPC의 작용을 조절하는 약학 조성물.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

염증 반응을 억제하는 것을 특징으로 하는, SPC의 작용을 조절하는 약학 조성물.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

가려움증을 억제하는 것을 특징으로 하는, SPC의 작용을 조절하는 약학 조성물.

명세서

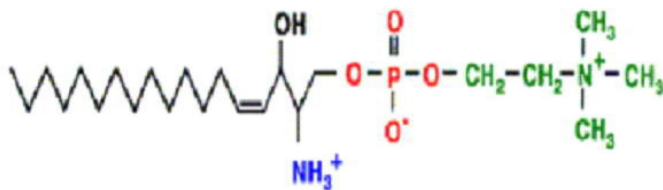
발명의 상세한 설명

기술 분야

<1> 본 발명은 스핑고실포스포틸콜린 (sphingosylphosphorylcholine, SPC)의 작용을 효과적으로 조절하는 약학 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

<2> 하기 구조식으로 나타내어지는 SPC는 라이소스핑고리피드류 (lysosphingolipids)로서 스핑고미엘린 (sphingomyelin, SM)의 N-탈아실화된 형태로 인산기에 콜린이 결합되어 있는 것을 특징으로 하며, 스핑고미엘린 N-탈아실화 효소에 의해 스핑고미엘린으로부터 생성된다 (문헌[Higuchi K 등, *Biochem J.*, 350, 747-56, 2000] 참조).



<3>

<4> 상기 SPC는 여러 종류의 세포에 대해 미토겐 (mitogen)으로서 작용하고, 특정 사이토카인의 분비를 촉진하는 것으로 알려져 있으며 (문헌[Meyer 등, *Biochim Biophys Acta.*, 1582: 178-89, 2002] 참조), 다양한 세포의 성장 및 증식 (문헌[Desai 등, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 181, 361-366, 1991] 참조), 혈관 신생 (문헌[Boguslawski 등, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 272, 603-609, 2000] 참조), 및 세포 사멸 (문헌[김이 관여하는 것으로 알려져 있다. 특히, 각질형성세포 및 섬유아세포의 증식을 촉진하여 상처를 치유하는 역할을 하기도 한다 (문헌[Wakita 등, *J. Invest. Dermatol.*, 110, 253-258, 1998] 및 [Berger 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 92, 5885-5889, 1995] 참조). 한편, SPC는 세포의 소포체로부터 Ca^{2+} 를 유리시키고 (문헌[Desai 등, *J. Cell. Biol.*, 121, 1385-1395, 1993] 및 [Okajima 등, *J. Biol. Chem.*, 270, 26332-26340, 1995] 참조), 다양한 세포에서 세포 골격 재구성 및 세포 이동 (문헌[Seufferlein 등, *J. Biol. Chem.*, 270, 24343-24351, 1995] 및 [Rumenapp 등, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 361, 1-11, 2000] 참조)에

관여한다.

- <5> SPC와 관련된 주요 질환의 예로는 니이만-픽 병(Niemann-Pick Disease; NPD)을 들 수 있는데, 이는 스핑고미엘린을 분해하는 산성 스핑고미엘리나아제 (acid sphingomyelinase; ASM)의 결핍으로 많은 양의 지질이 세포에 축적되어 세포가 파괴되고 주요 기관들의 기능 부전을 일으키는 유전성 대사질환이다.
- <6> SPC 관련 질환의 또 다른 예는 아토피성 피부염이다. 아토피성 피부염은 각질층의 지질 함량 감소로 인하여 항균력이 감소되고 장벽 기능이 약화되어 외부 자극 물질에 대한 방어력이 떨어지게 되므로, 염증 반응이 일어나고 이에 따른 가려움증이 나타나게 된다. 또한, 가려움증은 2차 감염을 유발시키므로 과면역 반응으로 악순환하게 된다.
- <7> 아토피의 병리에서 무엇보다 중요한 사실은 환부 또는 그 인근 부위에서 스핑고미엘린 탈아실화효소 (sphingomyelin deacylase)의 활성이 증가되고, 아토피성 피부염 환자들의 피부에서 SPC가 정상인의 1000배 이상 증가된 양상을 보인다는 점이다(문헌 [Higuchi K 등, *Biochem. J.*, 350, 747-756, 2000] 및 [Reiko Okamoto 등, *Journal of Lipid Research*, 44, 93-102, 2003] 참조). 이는 아토피성 피부염 환자의 각질층에서 세포간 지질(ceramide) 결핍 현상의 중요한 원인이 된다(문헌[Junko Hara 등, *J. invest. Dermatol.*, 115, 406-413, 2000] 참조). 또한, SPC는 아토피 질환에서 특징적으로 발생하는 비정상적 각질화 현상에도 중요한 역할을 담당한다(문헌[Higuchi 등, *J. Lipid Res.*, 42, 1562-1570, 2001] 참조). 이 같은 연구 결과들은 SPC가 아토피성 피부염의 대표적 증상 중 하나인 피부 장벽기능 장애의 직접적인 원인일 뿐만 아니라, 2차적으로 나타나는 염증 반응의 원인이 될 수 있음을 시사한다.
- <8> 염증 반응에서의 SPC의 작용을 뒷받침하는 연구로서, 각질형성세포에 SPC를 처리하면 TNF- α 및 ICAM-1 등의 염증 매개 인자의 발현이 대폭 증가한다는 보고가 있다 (문헌 [Imokawa 등, *J. Invest. Dermatol.*, 112, 91-96, 1999], 및 [Ito 등, *J. Biol. Chem.*, 270, 24370-24374, 1995] 참조). 또한, 염증 반응이 일어나게 되면 호중구(neutrophil)가 주화성 (chemotaxis) 이동을 통해 염증 부위에 몰려들어 병원 등에 대항하게 되는데, 이러한 주화성 이동의 핵심 조절 인자가 로(rho) 키나아제이며 (문헌[Verena Niggli, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 35, 1619-1638, 2003] 참조), 로 키나아제는 동시에 SPC에 의한 세포내 Ca^{2+} 농도 변화를 매개하는 물질이기도 하다(문헌 [Zhu 등, *Exp Dermatol.*, 14, 509-514, 2005] 및 [Todoroki-Ikeda 등, *FEBS Lett.*, 482, 85-90, 2000] 참조). 따라서, SPC에 의해 유발되는 세포 반응의 기전은 염증 반응 기전과 핵심 요소를 공유한다고 볼 수 있다.
- <9> 한편, 호산구는 천식을 비롯하여 알레르기 비염, 호산구성 폐렴, 호산구성 장염, 혈액성·조직성 호산구 과다증(hypereosinophilic syndrome) 등에서 기도 및 장관, 기타 조직에 염증을 유발하는 염증 세포로, 알러지성 질환과 천식 등의 병인 과정에서 염증성 (pro-inflammatory) 사이토카인을 유도하는 역할을 한다고 알려져 있다. 정상적인 상황에서 호산구는 소화기에만 제한되어 존재하고 다른 대부분의 장기에는 존재하지 않는다. 반면 급성과 만성 아토피 환자 모두에서 조직 내 호산구 증가 현상이 관찰되며, 아토피성 피부염 마우스 모델에서 표피와 진피층의 피부 비대증 (skin hypertrophy)은 호산구 주요 염기성 단백질 (eosinophil major basic protein) 또는 호산구 양이온 단백질 (eosinophil cationic protein; ECP)의 세포독성후 치유의 과정에 기인한 것이다.
- <10> 호산구가 골수로부터 타 조직으로 이동하는 현상에는 스핑고리피드 계열이 밀접하게 관여하고 있는데, 예를 들어, S1P (sphingosine-1-phosphate)에 의해 사람 호산구의 주화성과 유도 (recruitment)가 일어난다는 연구 결과가 최근에 발표되었다 (문헌[Fiorentina Roviezzo 등, *Proc Natl Acad Sci.*, 101, 11170-11175, 2004] 참조). 랫트 발바닥 조직 (paw tissue)에 S1P를 국소적으로 주입시킨 실험에서는, 발바닥 조직에 호산구 증가증이 관찰되었으며, 세포 실험에서는 S1P가 호산구의 세포 이동을 야기하고, S1P 수용체 mRNA, 케모카인 CCR3 및 사이토카인 RANTES (regulated on activation, normal T cell-expressed and secreted)를 증가시켰다 (문헌 [Fiorentina Roviezzo 등, *Proc Natl Acad Sci.*, 101, 11170-11175, 2004] 참조). 상기 연구 결과와 함께 SPC와 S1P의 구조적 유사성에 근거하여, 생체내에서 SPC 작용을 조절하는 물질은 아토피성 피부염 등 호산구가 병인으로 작용하는 여러 질환에 효과를 보일 것으로 추측할 수 있다.
- <11> 한편, 아토피성 피부염의 증상 중 환자에게 고통과 삶의 질 저하를 가져오는 가려움증에 대해서는, SPC와 구조적으로 유사한 라이소포스파티드산 (lysophosphatidic acid; LPA)이 가려움증을 유발시킨다는 연구 결과가 발표되었다 (문헌[Hashimoto 등, *Pharmacology*, 72, 51-56, 2004] 참조). 따라서, SPC 역시 체내에서 가려움증을 유발할 수 있음을 유추할 수 있으며, 아울러, 본 발명자들은 SPC를 피내 주사하면 가려움증을 직접 유발시킬 수 있다는 사실을 최근 입증한 바 있다 (국제공개특허 제WO 06/049451호).

- <12> 이에, 본 발명자들은 SPC의 작용을 조절하는 물질을 사용하여 상기와 같은 SPC의 부정적인 작용을 조절할 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.
- <13> [문헌 1] Meyer 등, *Biochim Biophys Acta.*, 1582: 178-89, 2002
- <14> [문헌 2] Desai 등, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 181, 361-366, 1991
- <15> [문헌 3] Boguslawski 등, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 272, 603-609, 2000
- <16> [문헌 4] Wakita 등, *J. Invest. Dermatol.*, 110, 253-258, 1998
- <17> [문헌 5] Berger 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 92, 5885-5889, 1995
- <18> [문헌 6] Desai 등, *J. Cell. Biol.*, 121, 1385-1395, 1993
- <19> [문헌 7] Okajima 등, *J. Biol. Chem.*, 270, 26332-26340, 1995
- <20> [문헌 8] Seufferlein 등, *J. Biol. Chem.*, 270, 24343-24351, 1995
- <21> [문헌 9] Rumenapp 등, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 361, 1-11, 2000
- <22> [문헌 10] Higuchi K 등, *Biochem. J.*, 350, 747-756, 2000
- <23> [문헌 11] Reiko Okamoto 등, *Journal of Lipid Research*, 44, 93-102, 2003
- <24> [문헌 12] Junko Hara 등, *J. invest. Dermatol.*, 115, 406-413, 2000
- <25> [문헌 13] Higuchi 등, *J. Lipid Res.*, 42, 1562-1570, 2001
- <26> [문헌 14] Imokawa 등, *J. Invest. Dermatol.*, 112, 91-96, 1999
- <27> [문헌 15] Ito 등, *J. Biol. Chem.*, 270, 24370-24374, 1995
- <28> [문헌 16] Verena Niggli, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 35, 1619-1638, 2003
- <29> [문헌 17] Zhu 등, *Exp Dermatol.*, 14, 509-514, 2005] 및 [Todoroki-Ikeda 등, *FEBS Lett.*, 482, 85-90, 2000
- <30> [문헌 18] Fiorentina Roviezzo 등, *Proc Natl Acad Sci.*, 101, 11170-11175, 2004
- <31> [문헌 19] Hashimoto 등, *Pharmacology*, 72, 51-56, 2004
- <32> [문헌 20] WO 06/049451 ((주)아모레퍼시픽) 2006. 11. 5

발명의 내용

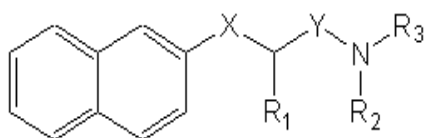
해결 하고자하는 과제

- <33> 따라서, 본 발명의 목적은 SPC의 작용을 효율적으로 조절할 수 있는 약학 조성물을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

- <34> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, SPC의 작용을 조절하는 약학 조성물을 제공한다:

화학식 1



- <35>
- <36> 상기 식에서,
- <37> X는 O 또는 S 이고,

- <38> Y는 CH₂ 또는 카보닐이고,
- <39> R₁은 수소 또는 C₁₋₁₀ 알킬이고,
- <40> R₂는 수소 또는 메틸이고, 단 X가 0일때 R₁ 및 R₂ 둘 다가 수소인 경우는 없으며,
- <41> R₃는 C₁₋₄ 알킬이다.

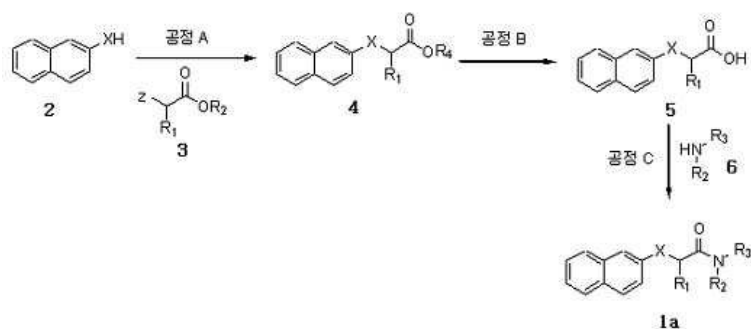
효 과

- <42> 본 발명에 따른 약학 조성물은 SPC의 생체내 및 생체외 작용에 따른 세포 분열 증식, 염증 반응 및 가려움증 등을 효과적으로 조절함으로써, 아토피성 피부염 또는 기타 질환에서 나타나는 염증, 소양증 및 피부 감염증 등의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- <43> 본 발명에 사용되는 용어 “알킬”은 포화된 직쇄 또는 분지쇄의 탄화수소를 의미하며, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, n-부틸, 3급-부틸, 네오펜틸 및 헥실 등이 바람직하다.
- <44> 상기 화학식 1의 화합물의 바람직한 화합물로는,
- <45> N-메틸-2-(나프탈렌-2-일옥시)-N-프로필-프로피온아마이드;
- <46> [2-(나프탈렌-2-일옥시)-프로필]-프로필-아민;
- <47> N-메틸-2-(나프탈렌-2-일옥시)-N-프로필-부틸아마이드;
- <48> 2-(나프탈렌-2-일옥시)-펜탄산 메틸-프로필-아마이드;
- <49> 2-(나프탈렌-2-일옥시)-헥산산 메틸-프로필-아마이드;
- <50> [2-(나프탈렌-2-일옥시)-부틸]-프로필-아민;
- <51> [2-(나프탈렌-2-일옥시)-펜틸]-프로필-아민;
- <52> [2-(나프탈렌-2-일옥시)-헥실]-프로필-아민;
- <53> 2-(나프탈렌-2-일옥시)-에탄산 메틸-프로필-아마이드;
- <54> N-(2-(나프탈렌-6-일티오)에틸)부탄-1-아민;
- <55> N-메틸-2-(나프탈렌-6-일티오)-N-프로필아세트아마이드;
- <56> N-(2-(나프탈렌-6-일티오)에틸)프로판-1-아민; 및
- <57> N-부틸-N-메틸-2-(나프탈렌-6-일티오)아세트아마이드
- <58> 를 예로 들 수 있다.
- <59> 상기 화학식 1의 화합물은 Y가 카보닐인 경우 (화학식 1a의 화합물) 하기의 반응식 1과 같이 제조될 수 있다:

반응식 1



<60>

<61> 상기 식에서,

<62> X, R₁, R₂ 및 R₃은 상기에서 정의한 바와 같고,

<63> Z는 Cl, Br 또는 I이고,

<64> R₄는 메틸 또는 에틸이다.

<65> 상기 반응식 1의 "공정 A"에서, 화학식 2의 화합물을 화학식 3의 화합물과 염기 존재 하에서 용매 중에서 반응시켜 화학식 4의 화합물을 제조할 수 있다.

<66> 공정 A에 사용되는 용매로는 비프로톤성 극성용매가 바람직하며, 아세톤이 더욱 바람직하다.

<67> 공정 A에서, 염기로는 피리딘, 트리에틸아민, 이미다졸, N,N-디메틸아미노피리딘 등의 아민류, 또는 탄산칼슘, 탄산칼륨 등의 무기염류를 사용할 수 있으며, 탄산칼륨이 바람직하다.

<68> 공정 A의 반응 온도는 사용되는 용매에 따라 달라질 수 있으나, 통상은 -10 내지 80℃, 바람직하게는 0℃ 내지 실온(25℃)일 수 있다. 반응시간은 반응 온도와 사용되는 용매에 따라 달라질 수 있으나, 통상 1시간 내지 1일, 바람직하게는 4시간 이내일 수 있다.

<69> 이어, "공정 B"에서, 화학식 4의 화합물을 염기 존재 하에서 용매 중에서 교반시켜 화학식 5의 화합물을 제조할 수 있다.

<70> 공정 B에서, 염기로는 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화리튬 등을 사용할 수 있으며, 수산화나트륨이 바람직하다.

<71> 공정 B에서, 용매로는 메탄올, 에탄올, 프로판올 등을 100% 사용하거나 상기 알코올을 물과 1:1의 부피비로 희석하여 사용할 수 있으며, 에탄올 단독용매가 바람직하다.

<72> 공정 B의 반응 온도는 사용되는 용매에 따라 달라질 수 있으나, 통상은 -10 내지 80℃, 바람직하게는 0℃ 내지 실온(25℃)일 수 있다. 반응시간은 반응 온도와 사용하는 용매에 따라 달라질 수 있으나, 통상 1시간 내지 1일, 바람직하게는 6시간 이내일 수 있다.

<73> 또한, "공정 C"에서, 화학식 5의 화합물을 화학식 6의 화합물과 용매중에서 펩타이드 결합 형성반응시켜 목적하는 화학식 1a의 화합물을 제조할 수 있다.

<74> 상기 펩타이드 결합 형성반응을 촉진하기 위해, 반응액에 n-메틸피롤리돈(NMP), 4-(5,6-디메톡시-1,3,5-트리아진-2-일)-4-메틸-모폴리늄 클로라이드(DMTMM) 또는 이들의 혼합물을 첨가할 수 있다.

<75> 공정 C에 사용되는 용매로는 디클로로메탄, 클로로포름, 테트라하이드로퓨란 등이 있으며, 테트라하이드로퓨란이 바람직하다.

<76> 공정 C의 반응 온도는 사용되는 용매에 따라 달라질 수 있으나, 통상은 -10 내지 80℃, 바람직하게는 0℃ 내지 실온(25℃)일 수 있다. 반응시간은 반응 온도와 사용되는 용매에 따라 달라질 수 있으나, 통상 1시간에서 1일, 바람직하게는 12시간 이내일 수 있다.

<77> 또한, 상기 화학식 1의 화합물은 Y가 CH₂인 경우 (화학식 1b의 화합물) 하기의 반응식 2와 같이 제조될 수

있다:

반응식 2



<78>

<79>

상기 식에서,

<80>

X, R₁, R₂ 및 R₃은 상기에서 정의한 바와 같다.

<81>

상기 반응식 2의 "공정 D"에서, 화학식 1a의 화합물을 환원제의 존재하에서 용매 중에서 환원시켜 화학식 1b의 화합물을 제조할 수 있다.

<82>

공정 D에 사용되는 환원제로는 리튬알루미늄하이드라이드, 하이드로보론(BH₃) 등이 있으며, 하이드로보론(BH₃)이 바람직하다.

<83>

공정 D에서, 용매로는 에테르류를 사용할 수 있으며, 테트라하이드로퓨란이 바람직하다.

<84>

반응 온도는 사용되는 용매에 따라 달라질 수 있으나, 통상은 -50 내지 50℃, 바람직하게는 25℃일 수 있다. 반응시간은 통상 1 내지 2일, 바람직하게는 1일일 수 있다.

<85>

상기 화학식 1의 화합물은 생체내 및 생체외에서 SPC의 부정적인 작용을 조절하므로, 본 발명은 유효성분으로서 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 SPC의 작용 조절용 약학 조성물을 제공하며, 따라서 본 발명의 약학 조성물은 외상 후 상처 치유를 촉진하고 흉터 형성을 억제하고, 세포의 주화성 이동 반응, 염증 반응 및 가려움증을 억제하는 효과를 나타낸다.

<86>

화학식 1의 화합물의 약학적으로 허용가능한 염은 무기산, 유기산 또는 염기와 부가염 형태로 존재할 수 있다. 예를 들면, 염기로서 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속인 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘 등을, 무기산으로서 염산, 황산 등을, 유기산으로서 아세트산, 말레산 등을 사용할 수 있다.

<87>

또한, 본 발명의 조성물은 통상적인 방법에 따라 약학 제형으로 제조될 수 있다. 제형의 제조에 있어서, 활성 성분을 담체와 함께 혼합 또는 희석하거나, 용기 형태의 담체 내에 봉입시키는 것이 바람직하다. 담체가 희석제로 사용되는 경우에는 활성 성분에 대한 담체, 부형제 또는 매질 (medium)로 작용하는 고형, 반고형 또는 액상의 물질일 수 있다. 따라서, 제형은 정제, 환제, 분제, 새세이, 엘릭시르, 현탁제, 유제, 용액제, 시럽제, 에어로졸, 연질 또는 경질 젤라틴 캡셀제, 멸균 주사제, 멸균 분제 등의 형태일 수 있다.

<88>

적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제형은 충전제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 제형화될 수 있다.

<89>

본 발명의 약학 조성물은 경구, 경피, 피하, 정맥 및 근육을 포함하는 다양한 여러 경로를 통해 투여될 수 있다. 사람의 경우, 활성 화합물의 통상적인 1일 투여량은 0.001 내지 1000 mg/kg, 바람직하게는 0.1 내지 10 mg/kg의 범위일 수 있고, 1회 또는 수회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나, 활성 성분의 실제 투여량은 치료할 질환, 투여 경로, 환자의 연령, 성별 및 체중, 및 질환의 중증도 등의 여러 관련 인자에 비추어 결정되어야 하며, 따라서, 상기 투여량은 어떠한 방법으로도 본 발명의 범위를 한정하는 것이 아니다.

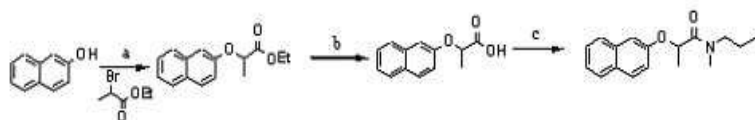
<90>

이하, 본 발명을 실시예에 의거하여 보다 상세하게 설명하고자 하나, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

<91>

[실시예]

실시예 1: N-메틸-2-(나프탈렌-2-일옥시)-N-프로필-프로피온아마이드의 제조



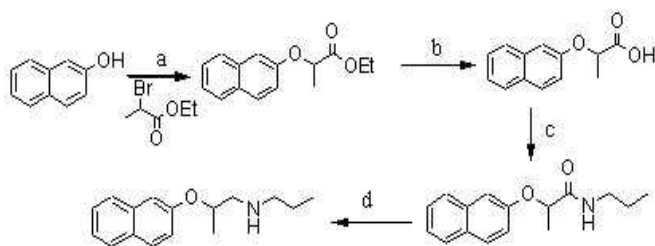
(a) K₂CO₃, 아세톤; (b) 1N NaOH, EtOH; (c) N-메틸프로필아민, DMTMM, NMP, THF

2-나프톨(500 mg, 3.468 mmol)을 아세톤에 녹인 다음, 탄산칼륨(1.2 g, 8.67mmol)을 첨가한 후, 5분 동안 교반하였다. 그 후, 반응 혼합물에 에틸 2-브로모프로피오네이트 (903 μ l, 6.936 mmol)를 첨가하고 24시간 동안 교반하였다. 반응 종결 후, 탄산칼륨을 여과하고 에틸 아세테이트와 물을 이용하여 추출하였다. 유기층을 MgSO₄로 건조하고 농축한 후, 실리카겔 컬럼 크로마토그래피 (용리액- 헥산:에틸아세테이트 = 50:1)로 정제하여 2-(나프탈렌-2-일옥시)-프로핀산 에틸 에스터를 수득하였다 (90.2%).

2-(나프탈렌-2-일옥시)-프로핀산 에틸 에스터(886 mg, 3.545 mmol)에 1 노르말 수산화나트륨/에탄올 용액 (7 ml)을 첨가한 후, 30분간 교반하였다. 이 반응 혼합물을 농축시킨 다음, 1 노르말 HCl을 과량 첨가하여 반응 혼합물을 산성화시키고, 에틸 아세테이트와 물로 추출하고 MgSO₄로 건조하고 농축하여 염화나트륨 염이 소량 포함된 2-(나프탈렌-2-일옥시)-프로핀산 (669 mg)을 얻었다. 2-(나프탈렌-2-일옥시)-프로핀산 (200 mg, 0.925 mmol)을 테트라하이드로퓨란에 녹인 다음, N-메틸 프로필 아민 (189.8 μ l, 1.850 mmol)과 NMP (305 μ l, 2.775 mmol)을 첨가한 후, 마지막으로 DMTMM(307 mg, 1.11 mmol)을 넣고 10시간 교반하였다. 반응 종결 후, 클로로포름과 1 노르말 HCl로 추출한 다음, 유기층을 다시 NaHCO₃로 추출하였다. 유기층을 MgSO₄로 건조하고 농축한 후, 실리카겔 컬럼 크로마토그래피 (용리액- 헥산:에틸아세테이트 = 3:1)로 정제하여 N-메틸-2-(나프탈렌-2-일옥시)-N-프로필-프로피온아마이드를 수득하였다 (194.2 mg, 77.4%).

¹H NMR (300MHz, CDCl₃) (ppm) 7.78-7.65 (m, 3H), 7.42-7.27 (m, 2H), 7.16-7.07 (m, 2H), 5.10-5.00 (m, 1H), 3.36-3.25 (m, 2H), 3.05 (s, 1.5H), 2.89 (s, 1.5H), 1.63 (d, J=6.9 Hz, 3H), 1.51-1.42 (m, 2H), 0.86-0.74 (m, 3H).

실시예 2: [2-(나프탈렌-2-일옥시)-프로필]-프로필-아민의 제조



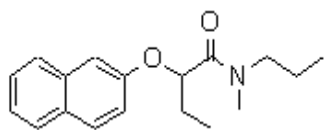
(a) K₂CO₃, 아세톤; (b) 1N NaOH, EtOH; (c) N-프로필아민, DMTMM, NMP, THF; (d) BH₃, THF

실시예 1과 동일한 출발물질 및 동일한 제조방법을 이용하여 N-메틸-2-(나프탈렌-2-일옥시)-N-프로필-프로피온아마이드를 수득하였다. N-메틸-2-(나프탈렌-2-일옥시)-N-프로필-프로피온아마이드 (46 mg, 0.189 mmol)를 무수 테트라하이드로퓨란에 녹인 후, 질소 분위기 하에서 하이드로보론 1.0M 테트라하이드로퓨란 용액 (1.5 ml, 1.516 mmol)을 첨가하고 교반 없이 실온에서 24시간을 방치하였다. 반응액에 과량의 메탄올을 첨가하여 반응을 종결시키고, 1 노르말 소듐하이드록사이드를 첨가하고 환류시켰다. 3시간 후에, 메탄올을 제거하고, 에틸 아세테이트와 물을 이용하여 [2-(나프탈렌-2-일옥시)-프로필]-프로필-아민을 수득하였다 (31.4%).

¹H NMR (300MHz, CDCl₃) (ppm) 7.79-7.73 (m, 2H), 7.48-7.34 (m, 2H), 7.28 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.17-7.13 (m, 1H), 5.26-5.19 (m, 1H), 3.82 (s, 1H NH), 3.03-2.68 (m, 4H), 1.86-1.70 (m, 2H), 1.32 (d, J=6Hz, 3H), 0.99 (t, J=7.8 Hz, 3H).

실시예 3: N-메틸-2-(나프탈렌-2-일옥시)-N-프로필-부틸아마이드의 제조

<102> 출발물질로서 2-나프톨과 에틸 2-브로모부틸레이트를 사용한 것 외에는, 상기 실시예 1과 같은 방법으로 하기 화합물을 제조하였다.

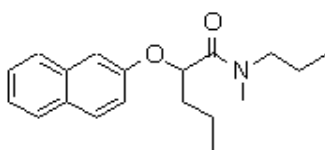


<103>

<104> ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) (ppm) 7.72-7.64 (m, 3H), 7.41-7.27 (m, 2H), 7.16-7.07 (m, 2H), 4.79 (q, $J=6.9$ Hz, 1H), 3.28-3.22 (m, 2H), 3.06 (s, 1.5H), 2.87 (s, 1.5H), 2.03-1.95 (m, 2H), 1.44 (q, $J=7.5$ Hz, 2H), 1.13-1.06 (m, 3H), 0.82 (t, $J=7.5$ Hz, 1.5H), 0.75 (t, $J=7.5$ Hz, 1.5H).

<105> **실시예 4: 2-(나프탈렌-2-일옥시)-펜탄산 메틸-프로필-아마이드의 제조**

<106> 출발물질로서 2-나프톨과 에틸 2-브로모발로네이트를 사용한 것 외에는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 하기 화합물을 제조하였다.

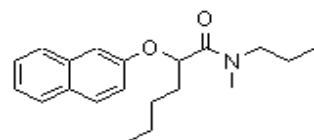


<107>

<108> ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) (ppm) 7.77-7.68 (m, 3H), 7.45-7.31 (m, 2H), 7.19-7.10 (m, 2H), 4.96-4.86 (m, 1H), 3.36-3.26 (m, 2H), 3.13 (s, 1.5H), 2.91 (s, 1.5H), 2.10-1.86 (m, 2H), 1.76-1.43 (m, 4H), 1.03-0.76 (m, 6H).

<109> **실시예 5: 2-(나프탈렌-2-일옥시)-헥산산 메틸-프로필-아마이드의 제조**

<110> 출발물질로서 2-나프톨과 에틸 2-브로모헥사노에이트를 사용한 것 외에는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 하기 화합물을 제조하였다.

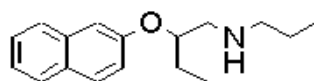


<111>

<112> ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) (ppm) 7.76-7.69 (m, 3H), 7.45-7.39 (m, 1H), 7.35-7.30 (m, 1H), 7.20-7.10 (m, 2H), 4.93-4.86 (m, 1H), 3.36-3.28 (m, 2H), 3.10 (s, 1.5H), 2.91 (s, 1.5H), 2.09-1.90 (m, 2H), 1.69-1.36 (m, 6H), 0.97-0.76 (m, 6H).

<113> **실시예 6: [2-(나프탈렌-2-일옥시)-부틸]-프로필-아민의 제조**

<114> 출발물질로서 2-나프톨과 에틸 2-브로모부틸레이트를 사용한 것 외에는, 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 하기 화합물을 제조하였다.



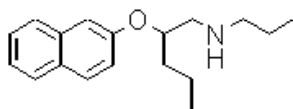
<115>

<116> ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) (ppm) 7.79-7.73 (m, 3H), 7.48-7.43 (m, 1H), 7.39-7.34 (m, 1H), 7.31 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 7.19-7.15 (m, 1H), 5.13-5.08 (m, 1H), 3.74 (s, 1H NH), 3.04-2.88 (m, 3H), 2.79-2.68 (m, 1H), 1.88-1.64 (m, 4H), 0.99-0.94 (m, 6H).

<117> **실시예 7: [2-(나프탈렌-2-일옥시)-펜틸]-프로필-아민의 제조**

<118> 출발물질로서 2-나프톨과 에틸 2-브로모발로네이트를 사용한 것 외에는, 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 하기

화합물을 제조하였다.

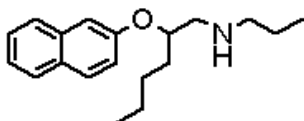


<119>

<120> ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) (ppm) 7.78-7.73 (m, 3H), 7.48-7.43 (m, 1H), 7.39-7.31 (m, 3H), 7.18-7.14 (m, 1H), 5.19-5.11 (m, 1H), 3.73 (s, 1H NH), 3.03-2.87 (m, 3H), 2.78-2.63 (m, 1H), 1.83-1.36 (m, 6H), 0.89-0.87 (m, 6H).

<121> 실시예 8: [2-(나프탈렌-2-일옥시)-헥실]-프로필-아민의 제조

<122> 출발물질로서 2-나프톨과 에틸 2-브로모헥사노에이트를 사용한 것 외에는, 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 하기 화합물을 제조하였다.



<123>

<124> ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) (ppm) 7.78-7.73 (m, 3H), 7.48-7.30 (m, 3H), 7.17-7.44 (m, 1H), 5.17-5.11 (m, 1H), 3.73 (s, 1H NH), 3.03-2.88 (m, 3H), 2.28-2.64 (m, 1H), 1.84-1.32 (m, 6H), 0.99-0.84 (m, 6H).

<125> 실시예 9 내지 13

<126> 출발물질을 변화시켜 상기 실시예 1 또는 2와 같은 방법으로 하기 표 1에 제시된 화합물을 제조하였다:

표 1

실시예 9	구조식	화합물 2-(나프탈렌-2-일 옥시)-에탄산 메틸-프로필-아미 드	NMR ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) 7.38-7.72(m, 7H), 4.91(s, 2H), 3.2(m, 2H), 3.0(d, 3H), 1.6(m, 2H), 0.9(t, 3H)
10		N-(2-(나프탈렌-6-일티오)에틸)부탄-1-아민	^1H NMR (300MHz, CDCl_3) 7.19-7.78(m, 7H), 2.8-3.0(m, 4H), 2.62(m, 2H), 1.2-1.5(m, 4H), 0.96(q, 3H)
11		N-메틸-2-(나프탈렌-6-일티오)-N-프로필아세트아마이드	^1H NMR (300MHz, CDCl_3) 7.15-7.78(m, 7H), 3.62(s, 2H), 3.2(m, 2H), 3.0(d, 3H), 1.6(m, 2H), 0.9(t, 3H)
12		N-(2-(나프탈렌-6-일티오)에틸)프로판-1-아민	^1H NMR (300MHz, CDCl_3) 7.21-7.98(m, 7H), 2.8-3.0(m, 4H), 2.62(m, 2H), 1.1-1.5(m, 2H), 0.96(q, 3H)
13		N-부틸-N-메틸-2-(나프탈렌-6-일티오)아세트아마이드	^1H NMR (300MHz, CDCl_3) 7.11-7.67(m, 7H), 3.62(s, 2H), 3.2(m, 2H), 3.0(d, 3H), 1.6(m, 2H), 1.43(m, 2H), 0.9(t, 3H)

<127>

<128> 하기의 시험예에서 실험 결과는 모두 표준편차를 포함한 평균값으로 나타내었다. 구체적으로, 두 표본에 있어 평균간의 차의 유의성을 결정하기 위해서 사용되는 통계적 방법인 스튜던트 t-검정법 (student's t-test)을 이용하여 검증하였다. 대조군과 실험군을 검정하여 산출된 P 값이 0.05보다 작을 경우에 대조군과 실험군의 차이

를 유의한 것으로 평가하였다.

<129> 시험예 1: 본 발명에 따른 화합물의 세포주 분열 증식 반응 조절

<130> SPC는 세포에 처리되었을 때, 과도한 세포 분열 증식 반응을 유도하는데, 이는 아토피성 피부염 등의 피부병의 병리적 증상의 원인이 될 수 있다 (문헌[Desai, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1991, 181, 361-366] 참조). 이에, 본 발명자들은 SPC에 의해 유발되는 세포의 분열 증식 반응에 대한 실시예 1 내지 13에서 제조된 화합물들의 조절 효과를 시험하였다.

<131> 일차적으로, NIH 3T3 세포 (American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA) 1×10^5 개 (보통 $1 \times 10^4 \sim 10^6$ 개)를 배양 플레이트에 분주하여 배양한 후, 24시간 동안 우혈청이 포함되지 않은 RPMI 배지에서 배양하여 혈청을 고갈 (serum starvation)시켰다. 여기에, 실시예 1 내지 13의 화합물, 또는 대조 화합물로서 스프링고신-1-포스페이트(S1P)의 작용제(agonist)로 알려진 FTY720(서울대 Lipidomics NRL.)을 각각 0.001 μ M, 0.01 μ M, 0.1 μ M, 및 1 μ M으로 처리하여 30분간 배양한 후, SPC(Biomol, Plymouth Meeting, PA, USA)를 7 μ M 농도로 첨가하여 24시간 동안 37°C에서 배양하였다. 세포 증식량을 세포분열 때 복제되는 DNA 가닥에 삽입되는 [3H]-티미딘(thymidine) 반응법을 이용하여 측정하고 (문헌[Beales IL, *Life Sci.*, 2004, 75, 83-95] 참조) 증식율(%)을 하기 수식식 1에 의해 산출하여, 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

수식식 1

$$\% \text{증식율} = \frac{(\text{시험약물 처리군} - \text{SPC 비처리군})}{(\text{SPC 단독 처리군} - \text{SPC 비처리군})} \times 100$$

표 2

실시예	%증식율	
	1 ppm	10 ppm
1	-2.1	52.1
2	17.1	79.1
3	-9.9	50.6
4	21.7	77.8
5	23.9	73.4
6	30.1	49.3
7	47.8	89.5
8	30.2	92.9
9	18.6	56.1
10	5.9	46.4
11	12.7	66.6
12	21.7	77.6
13	5.6	51.6

<134> 상기 표 2에서 보는 바와 같이, 실시예에서 제조된 화합물들은 SPC에 의해 유도되는 선택적인 세포 분열 증식 반응에 대해 작용적 (agonistic) 또는 길항적 (antagonistic) 작용을 나타내었다. 외상을 입었을 때 상처가 아무는 과정에서 일어나는 염증 반응으로 인한 과도한 세포 분열 증식이 흉터를 형성시키므로, 세포 분열 증식을 억제하는 물질은 불필요한 흉터의 형성을 예방하기 위한 용도로 사용될 수 있다. 동시에, 세포 분열 증식을 증대시키는 물질은 외상 후 상처 치유를 촉진하기 위해 사용될 수 있다.

<135> 실시예 1 내지 13의 화합물은 물질에 따라 차이는 있으나, SPC에 의한 세포 분열 증식 반응을 용량 의존적으로 억제함을 알 수 있었다. 특기할 만한 점은, 이러한 SPC에 의한 세포 분열 증식에 대해 억제하는 효과가 SPC와 유사한 화학 구조를 가지며 일부 막수용체를 공유하는 S1P 작용제인 FTY720에 의해서는 나타나지 않았다는 사실이다. 따라서, 세포 분열 증식 억제 작용은 본 발명의 화합물만의 고유한 구조 활성화에 의한 것이며, 외상을 입었을 때 상처가 아무는 과정에서 일어나는 염증 반응으로 인해 과도한 세포 분열 증식이 일어나 흉터가 형성되는 현상을 억제할 수 있을 것으로 판단된다.

<136> 시험예 2: SPC에 의해 유발된 주화성 세포 이동 반응에 대한 억제 효과

<137> 최근 SPC가 혈관내피세포 성장인자(VEGF)와 유사하게 주화성 세포 이동에도 중요한 역할을 수행한다는 연구 결과가 보고되었다 (문헌[Boguslawski 등, *Biochem Biophys Res Commun.*, 2000, 272, 603-609] 참조). 생체 내

에서 특정한 사이토카인이나 케모카인 등의 물질에 끌려 세포가 이동하는 현상은 면역 세포가 염증 부위로 이동하거나, 내피세포 이동에 의한 혈관신생(angiogenesis) 같은 과정에서 핵심적인 단계이다. 이에 SPC에 의해 유발되는 세포의 주화성 이동 반응에 대하여, 상기 실시예에서 제조된 화합물들의 효과를 보이든 챔버 (boyden chamber) 분석으로 시험하였다.

<138> 먼저, 8 μ m 포어를 가진 25 $\times$ 80mm 폴리카보네이트 막 (polycarbonate membrane; Neuro Probe, Inc.)을 0.01% 젤라틴, 0.1% 아세트산 용액에 담가 하룻밤 동안 코팅한 다음 실온에서 자연 건조시켜 준비하였다.

<139> 한편, 2% 우태아 혈청을 포함한 완전 EBM-2 배지에서 배양한 HUVEC (Human umbilical vein endothelial cell)을 4시간 동안 우혈청이 포함되지 않은 EBM-2 배지 (Cambrex사, 카탈로그 넘버 CC-3121)에 배양하여 혈청을 고갈 (serum starvation)시킨 후, 트립신/EDTA 용액으로 수확하였다. HUVEC 세포를 0.1% 우혈청 알부민이 포함된 EBM-2 배지에 현탁시킨 후, 실리콘 코팅된 에펜도르프 튜브에 분주하여 실험 약물로서 실시예 9의 화합물을 0 내지 10 μ g/ml의 양으로 가하여 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 처리하였다. 보이든 챔버의 아랫쪽 챔버의 각 웰에 10 μ M SPC를 포함한 EBM-2 배지 또는 SPC를 포함하지 않은 EBM-2 배지를 27 μ L씩 분주하고, 젤라틴 코팅해 준비한 막을 윤기 있는 면이 아래로 향하게 올려놓고 그 위에 개스킷 (gasket)을 올려놓은 다음 위쪽 챔버를 조립하였다. 위쪽 챔버에 약물처리한 HUVEC 세포를 5×10^4 (부피 56 μ L)씩 분주하고 37 $^{\circ}$ C의 CO₂ 배양기에서 8시간 배양하였다. 막을 분리해 내어 디프-퀵 (Diff-Quik) 염색약 (Sysmex Corporation사)으로 염색하고 탈이온수로 세척한 다음, 윤기 있는 면이 아래로 향하도록 슬라이드 글라스에 붙였다. 막 위쪽에 붙어있는 세포들을 킴와이퍼나 면봉으로 조심스럽게 닦아낸 다음, 각 웰당 임의로 5 필드씩 사진을 찍어서 (배율 200배), 세포 수를 측정하였다. 반응 억제율(%)은 하기의 수학적 식 2에 따라 산출하고, 그 결과를 하기 표 3에 나타내었다.

수학적 식 2

$$\text{억제율(\%)} = \frac{(\text{SPC 단독 처리군} - \text{시험약물 처리군})}{(\text{SPC 단독 처리군} - \text{SPC 비처리군})} \times 100$$

표 3

실시예	억제율(%)		
	0.1 ppm	1 ppm	10 ppm
9	60	71	87

표 3에서 보는 바와 같이, 실시예 9의 화합물은 SPC에 의한 세포의 주화성 이동 반응을 강력하게 억제함을 알 수 있었으며, 이는 생체 내에서 내피 세포 또는 면역세포의 이동을 억제함으로써, 종양 내부의 혈관 신생, 외부에서 침입한 항원에 대한 면역반응 증폭 등의 과정을 조절할 수 있음을 시사한다.

시험예 3: 마우스 TPA 유발성 귀 염증 모델에서의 염증 반응 조절

<144> 염증 반응의 억제 효능을 확인하기 위하여, 테트라데카노일 포볼 아세테이트 (tetradecanoyl phorbol acetate, TPA) 유발성 염증 모델을 사용하여 다음과 같은 실험을 수행하였다. TPA 유발성 염증 모델은 염증 반응의 작용 기전과 억제물질의 효능을 시험하기 위해 널리 사용되어 온 실험방법이다 (문헌[De Young LM 등, *Agents and Actions*, 1989, 26, 335-341] 참조). TPA는 염증 반응을 일으키는 물질로서 피실험체의 귀에 도포하게 되면 홍반과 부종이 발생하게 되는데, 이러한 염증 반응은 백혈구의 세균 공격에 필수 물질인 MPO (myeloperoxidase)의 활성 증가로 측정 가능하다.

<145> 6 주령의 ICR (Institute of cancer research, USA) 마우스 수컷 40 마리를 준비하여 아세톤에 125 μ g/ml 농도로 녹인 TPA 용액 (시그마 알드리치 코리아)을 왼쪽 귀에 20 μ L씩 도포하였다. TPA 도포 1시간 후에 아세톤, 아세톤에 녹인 0.5%의 실시예 9, 12 및 13의 화합물, 또는 아세톤에 녹인 0.5% 하이드로코티손 (hydrocortisone; 시그마 알드리치 코리아)을 TPA 도포 부위에 20 μ L씩 도포하였고, TPA 도포 6시간 후에 동일 부위에 20 μ L씩 재도포하였다. TPA 도포 후 24시간이 경과한 시점에 마우스를 경추 탈골법으로 안락사시키고, 왼쪽 귀를 일정한 넓이로 채취하여 무게를 측정하였다. 반응 억제율(%)은 하기의 수학적 식 3에 따라 산출하고, 그 결과를 하기 표 4에 나타내었다.

수학식 3

$$\text{억제율(\%)} = \frac{(TPA \text{ 단독 처리군} - \text{시험약물 처리군})}{(TPA \text{ 단독 처리군} - TPA \text{ 비처리군})} \times 100$$

표 4

실시예	억제율(%)
9	66
12	38
13	50
하이드로코티손	97

표 4에 나타난 바와 같이, 실시예 9, 12 및 13의 화합물들은 TPA에 의해 유발된 염증 반응을 유의한 정도로 억제하였으며, 그 효능 강도는 항염증 약물로서 가장 우수한 활성을 나타내는 것으로 알려진 하이드로코티손의 약 50~60%에 달하는 비교적 우수한 활성임을 알 수 있었다. 상기 실험결과는 실시예 9, 12 및 13의 화합물들의 피부 항염증 효능이 특히 염증을 일으킨 귀 부위에 호중구가 침윤되는 것을 억제함으로써 이루어졌음을 의미한다.

시험예 4: 마우스 D-스핑고실포스포릴콜린(D-SPC, D-sphingosylphosphorylcholine) 유발성 가려움증 모델에서의 가려움증 조절

마우스에게 D-SPC를 투여하여 가려움의 증가를 유발한 다음, 여기에 실시예 9의 화합물을 피내 (intradermal)로 투여하여 가려움증 조절 효과를 관찰하였다.

일차적으로 웅성 ICR 마우스 (8주령)의 등과 뒷목 부분을 제모한 후 우리에서 안정화 시키고, 2일 후 D-SPC와 실시예 9의 화합물을 적합한 용매 (PBS (인산염 완충 염수, phosphate buffered saline) 또는 PEG (폴리에틸렌 글리콜) 400)에 각각 2mM이 되게 잘 섞어주어 50 μ l씩 피내로 투여했다. 피내 주사 후 우리에 마우스를 넣고 30분간 마우스를 녹화, 관찰하여 가려움증 정도로서 마우스가 뒷다리로 등 부분을 긁는 횟수를 셈하였다. 반응 억제율(%)은 하기의 수학식 4에 따라 산출하여, 그 결과를 하기 표 5에 나타내었다.

수학식 4

$$\text{억제율(\%)} = \frac{(\text{시험약물 투여군의 긁는 횟수} - \text{무처치군의 긁는 횟수})}{(\text{D-SPC 단독 투여군의 긁는 횟수} - \text{무처치군의 긁는 횟수})} \times 100$$

표 5

실시예	억제율(%)
9	46.7

*실시예 9의 화합물의 농도: 25 nmol/부위

표 5에 나타난 바와 같이, 실시예 9의 화합물은 SPC에 의해 유발된 가려움증에 대해 현저한 억제력을 나타내었다.