



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2009년02월20일  
(11) 등록번호 10-0885100  
(24) 등록일자 2009년02월16일

(51) Int. Cl.

*C07D 401/06* (2006.01)

- (21) 출원번호 10-2003-7014950
- (22) 출원일자 2003년11월17일  
심사청구일자 2007년01월22일  
번역문제출일자 2003년11월17일
- (65) 공개번호 10-2004-0000471
- (43) 공개일자 2004년01월03일
- (86) 국제출원번호 PCT/SE2002/000956  
국제출원일자 2002년05월16일
- (87) 국제공개번호 WO 2002/94794  
국제공개일자 2002년11월28일
- (30) 우선권주장  
0101772-2 2001년05월18일 스웨덴(SE)  
0103820-7 2001년11월15일 스웨덴(SE)
- (56) 선행기술조사문헌  
KR 1999-0076648 A\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

아스트라제네카 아베  
스웨덴 에스이-151 85 쇠더탈제

(72) 발명자

브라운, 윌리엄  
캐나다에이치4에스1제트9퀘백주몬트리알세인트로렌트프레더릭-밴팅7171아스트라제네카알앤디몬트리알

왈폴, 크리스토퍼

캐나다에이치4에스1제트9퀘백주몬트리알세인트로렌트프레더릭-밴팅7171아스트라제네카알앤디몬트리알

플로백, 니콜라스

스웨덴에스-15185쇠더탈제아스트라제네카알앤디쇠더탈제

(74) 대리인

김영, 장수길

전체 청구항 수 : 총 9 항

심사관 : 김용

**(54) 4-(페닐-피페라지닐-메틸)벤즈아미드 유도체 및 통증, 불안증 또는 위장관 장애 치료를 위한 이들의 용도**

**(57) 요약**

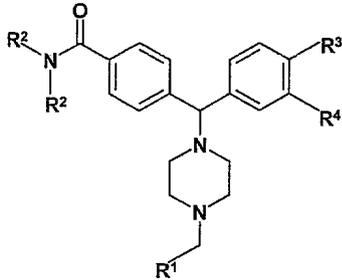
R<sup>1</sup>이 페닐, 피리디닐, 티에닐, 푸라닐, 이미다졸릴, 피롤릴, 트리아졸릴, 티아졸릴 및 피리딘 N-옥시드 중 어느 하나 중에서 선택되고; R<sup>2</sup>는 독립적으로 에틸 및 이소프로필 중에서 선택되고; R<sup>3</sup>은 독립적으로 수소 및 플루오로 중에서 선택되고; R<sup>4</sup>는 독립적으로 -OH, -NH<sub>2</sub> 및 -NHSO<sub>2</sub>R<sup>5</sup> 중에서 선택되고; R<sup>5</sup>는 독립적으로 수소, -CF<sub>3</sub> 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 중에서 선택되는 화합물 또는 그의 염, 또는 개별적인 거울상이성질체 및 그의 염에 관한 것이며, 여기서 각각의 R<sup>1</sup> 헤테로방향족 고리는 임의로 및 독립적으로 직쇄 및 분지쇄 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, NO<sub>2</sub>, CF<sub>3</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알콕시, 클로로, 플루오로, 브로모 및 요오도 중에서 선택된 1, 2 또는 3개의 치환체로 더 치환될 수 있으며, 헤테로방향족 고리에서의 치환은 상기 고리계의 임의 위치에서 수행될 수 있는 화학식 I의 화합물, 및 또한 상기 화합물의 개별적인 거울상이성질체 및 염, 상기 신규 화합물을 포함하는 제약 조성물, 및 치료, 특히 통증, 불안증 및 기능성 위장관 장애 관리에서의 이들의 용도가 본 출원에 기재 및 청구된다.

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 염, 또는 개별적인 거울상이성질체 또는 그의 염.

<화학식 I>



상기 식에서,

R<sup>1</sup>은

(i) 페닐



(iii) 티에닐



(iv) 푸라닐



(v) 이미다졸릴



(vii) 피롤릴



중 어느 하나로부터 선택되고,

여기서, R<sup>1</sup> 고리 중 티에닐, 푸라닐, 이미다졸릴 또는 피롤릴은 임의로 및 독립적으로 CF<sub>3</sub>, 메틸, 클로로, 플루오로, 브로모 및 요오도 중에서 선택된 1 또는 2개의 치환체로 더 치환될 수 있고;

R<sup>2</sup>는 독립적으로 에틸 및 이소프로필 중에서 선택되고;

R<sup>3</sup>은 독립적으로 수소 및 플루오로 중에서 선택되고;

R<sup>4</sup>는 독립적으로 -NH<sub>2</sub> 및 -NHSO<sub>2</sub>R<sup>5</sup> 중에서 선택되고;

R<sup>5</sup>는 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 중에서 선택된다.

**청구항 2**

삭제

**청구항 3**

제1항에 있어서, R<sup>1</sup>이 페닐, 피롤릴, 푸라닐, 티에닐 또는 이미다졸릴이고; R<sup>2</sup>가 에틸 또는 이소프로필이고; R<sup>3</sup>이 수소이고; R<sup>4</sup>가 -NHSO<sub>2</sub>R<sup>5</sup>이고; R<sup>5</sup>가 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬인 화합물.

**청구항 4**

제1항에 있어서, R<sup>1</sup> 고리 중 티에닐, 푸라닐, 이미다졸릴 또는 피롤릴이 CF<sub>3</sub>, 메틸, 요오도, 브로모, 플루오로 또는 클로로에 의해 치환된 화합물.

**청구항 5**

제1항에 있어서, R<sup>1</sup> 고리 중 티에닐, 푸라닐, 이미다졸릴 또는 피롤릴이 메틸에 의해 치환된 화합물.

**청구항 6**

- 4-[1-(4-벤질-피페라진-1-일)-1-(4-플루오로-3-히드록시-페닐)-메틸]-N,N-디이소프로필-벤즈아미드;
- 4-[1-(4-플루오로-3-히드록시-페닐)-1-(4-티오펜-3-일메틸-피페라진-1-일)-메틸]-N,N-디이소프로필-벤즈아미드;
- 4-{1-(4-플루오로-3-히드록시-페닐)-1-[4-(1H-이미다졸-2-일메틸)-피페라진-1-일]-메틸}-N,N-디이소프로필-벤즈아미드;
- 4-[1-(3-아미노-페닐)-1-(4-벤질-피페라진-1-일)-메틸]-N,N-디이소프로필-벤즈아미드;
- 4-[1-(3-아미노-페닐)-1-(4-티오펜-3-일메틸-피페라진-1-일)-메틸]-N,N-디이소프로필-벤즈아미드;
- 4-{1-(3-아미노-페닐)-1-[4-(1H-이미다졸-2-일메틸)-피페라진-1-일]-메틸}-N,N-디이소프로필-벤즈아미드;
- N,N-디이소프로필-4-[1-(3-메탄술폰닐아미노-페닐)-1-(4-티오펜-3-일메틸-피페라진-1-일)-메틸]-벤즈아미드;
- 4-([4-(3-푸릴메틸)-1-피페라지닐]{3-[(메틸술폰)아미노]페닐}-N,N-디이소프로필-벤즈아미드;
- 4-[(3-아미노페닐)[4-(3-티에닐메틸)-1-피페라지닐]메틸]-N,N-디에틸벤즈아미드;
- 4-[(3-아미노페닐)(4-벤질-1-피페라지닐)메틸]-N,N-디에틸벤즈아미드; 또는
- 4-((4-벤질-1-피페라지닐){3-[(메틸술폰)아미노]페닐}메틸)-N,N-디에틸벤즈아미드 중 어느 하나로부터 선택된 화합물 또는 그의 염, 또는 개별적인 거울상이성질체 또는 그의 염.

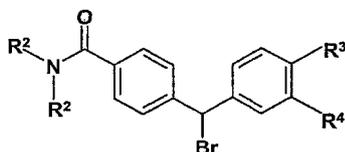
**청구항 7**

제1항 및 제3항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 히드로클로라이드, 디히드로클로라이드, 술페이트, 타르트레이트, 디트리플루오로아세테이트 또는 시트레이트 염 형태인 화합물.

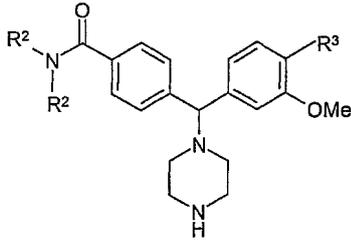
**청구항 8**

하기 화학식 II의 화합물을 표준 조건하에서 트리에틸아민의 존재하에 아세토니트릴 중의 Boc-피페라진과 반응시킨 후, 표준 조건하에서 Boc 보호기를 제거하여 하기 화학식 III의 화합물을 얻고, 그 후 환원 조건하에서 화학식 R<sup>1</sup>-CHO의 화합물로 알킬화한 후, 디클로로메탄 중의 BBr<sub>3</sub>를 사용하여 메틸 에테르를 절단하여 R<sup>4</sup>가 -OH인 화학식 I의 화합물을 얻는 것을 포함하는, R<sup>4</sup>가 -OH인 화학식 I의 화합물의 제조 방법.

<화학식 II>



<화학식 III>

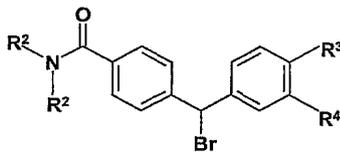


식 중, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 제1항에서 정의된 바와 동일하고, R<sup>4</sup>는 OMe이다.

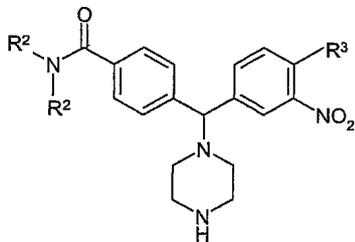
**청구항 9**

하기 화학식 IV의 화합물을 표준 조건하에서 트리에틸아민의 존재하에 아세트니트릴 중의 Boc-피페라진과 반응시킨 후, 표준 조건하에서 Boc 보호기를 제거하여 화학식 V의 화합물을 얻고, 그 후 환원 조건하에서 화학식 R<sup>1</sup>-CHO의 화합물로 알킬화한 후, 목탄 상의 팔라듐 및 수소를 이용하여 니트로기를 환원하여 R<sup>4</sup>가 -NH<sub>2</sub>인 화학식 I의 화합물을 얻는 것을 포함하는, R<sup>4</sup>가 -NH<sub>2</sub>인 화학식 I의 화합물의 제조 방법.

<화학식 IV>



<화학식 V>

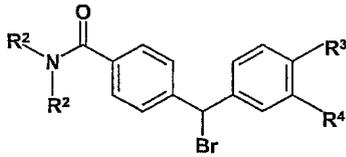


식 중, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 제1항에서 정의된 바와 동일하고, R<sup>4</sup>는 NO<sub>2</sub>이다.

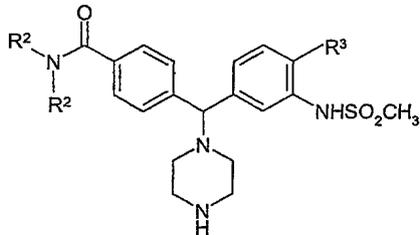
**청구항 10**

하기 화학식 VI의 화합물을 표준 조건하에서 트리에틸아민의 존재하에 아세트니트릴 중의 Boc-피페라진과 반응시킨 후, 촉매로 목탄 상의 팔라듐을 이용하여 가수소분해에 의해 니트로기를 환원시키고, 트리에틸아민의 존재하에 디클로로메탄 중의 메탄술포닐무수물을 이용하여 메탄술포닐화한 후, 표준 조건하에서 Boc 보호기를 제거하여 하기 화학식 VII의 화합물을 얻고, 그 후 환원 조건하에서 화학식 R<sup>1</sup>-CHO의 화합물로 알킬화한 후, 목탄 상의 팔라듐 및 수소를 사용하여 니트로기를 환원하여 R<sup>4</sup>가 -NHSO<sub>2</sub>R<sup>5</sup>인 화학식 I의 화합물을 얻는 것을 포함하는, R<sup>4</sup>가 -NHSO<sub>2</sub>R<sup>5</sup>인 화학식 I의 화합물의 제조 방법.

<화학식 VI>



<화학식 VII>



식 중, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> 및 R<sup>5</sup>는 제1항에서 정의된 바와 동일하고, R<sup>4</sup>는 NO<sub>2</sub>이다.

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

## 명세서

### 기술분야

<1> 본 발명은 신규 화합물, 그의 제조 방법, 그의 용도 및 상기 신규 화합물을 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다. 신규 화합물은 치료, 특히 통증, 불안증 및 기능성 위장관 장애의 치료에 유용하다.

### 배경기술

<2> δ 수용체는 순환계 및 통증계 (pain system) 등과 같은 많은 신체 기능에서 역할을 하는 것으로 확인된 바 있다. 따라서, δ 수용체에 대한 리간드는 마취제 및(또는) 항-고혈압제로서의 잠재적 용도가 있을 수 있다. 또한, δ 수용체에 대한 리간드는 면역조절 활성화도 보유하는 것으로 나타난 바 있다.

<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 예외없이, 현재 사용가능한 선택적인 아편양제제 δ 리간드는 특성상 펩티드이고 전신 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  $\delta$ -아고니스트가 여전히 요구된다.

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

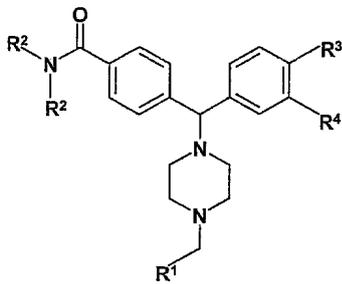
<6> 당업계에서 이미 확인된 기존의 마취제는 전신 경로로 투여되는 경우에 약동학적으로 불량하고 마취가 되지 않는다는 점에서 많은 단점이 있었다. 또한, 당업계에서 바람직한 것으로 기재되었던  $\delta$ 아고니스트 화합물들은 전신에 투여되는 경우에 상당한 경련 효과를 일으킨다는 것이 입증된 바 있다.

<7> 본 발명에 이르러, 본 출원인은 놀랍도록 개선된 성질, 예를 들어 개선된  $\delta$ -아고니스트 효능, 생체내 효능, 약물동력학적 특성, 생체이용률, 시험관내 안정성 및(또는) 낮은 독성을 나타내는 특정 화합물들을 밝혀내었다.

<8> **발명의 개요**

<9> 본 발명에 따른 신규 화합물은 하기 화학식 I에 의해 정의된다:

**화학식 I**



<10>

<11> 상기 식에서,

<12> R<sup>1</sup>은

(i) 페닐



(ii) 피리디닐



(iii) 티에닐



(iv) 푸라닐



(v) 이미다졸릴



<13>

(vi) 트리아졸릴



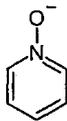
(vii) 피롤릴



(viii) 티아졸릴



(ix) 피리딜-N-옥시드



<14>

<15> 중 어느 하나 중에서 선택되고,

<16> 여기서, 각각의 R<sup>1</sup> 헤테로방향족 고리는 임의로 및 독립적으로 직쇄 및 분지쇄 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, 할로겐화 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, NO<sub>2</sub>, CF<sub>3</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알콕시, 클로로, 플루오로, 브로모 및 요오도 중에서 선택된 1, 2 또는 3개의 치환체로 더 치환될 수 있고;

<17> R<sup>2</sup>는 독립적으로 에틸 및 이소프로필 중에서 선택되고;

<18> R<sup>3</sup>은 독립적으로 수소 및 플루오로 중에서 선택되고;

<19> R<sup>4</sup>는 독립적으로 -OH, -NH<sub>2</sub> 및 -NHSO<sub>2</sub>R<sup>5</sup> 중에서 선택되고;

<20> R<sup>5</sup>는 독립적으로 수소, -CF<sub>3</sub> 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 중에서 선택되며,

<21> 단, R<sup>2</sup>가 에틸이고 R<sup>3</sup>이 수소인 경우, R<sup>4</sup>는 -OH일 수는 없다.

<22> 헤테로방향족 고리에 대한 치환은 상기 고리계의 임의의 위치에서 일어날 수 있다.

<23> R<sup>1</sup> 페닐 고리 및 R<sup>1</sup> 헤테로방향족 고리(들)가 치환되는 경우, 바람직한 치환체는 CF<sub>3</sub>, 메틸, 요오도, 브로모, 플루오로 및 클로로 중 어느 하나 중에서 선택되고, 메틸이 가장 바람직하다.

<24> 예를 들어, 본 발명의 다른 실시양태는 R<sup>1</sup>이 상기 정의된 바와 같고, 각각의 R<sup>1</sup> 페닐 고리 및 R<sup>1</sup> 헤테로방향족 고리는 독립적으로 메틸기로 더 치환될 수 있는 화학식 I의 화합물이다.

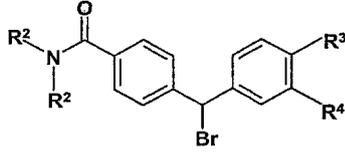
<25> 본 발명의 다른 실시양태는 R<sup>1</sup>이 페닐, 피롤릴, 푸라닐, 티에닐 또는 이미다졸릴이고; R<sup>2</sup>가 에틸 또는 이소프로필이고; R<sup>3</sup>이 수소 또는 플루오로이고; R<sup>4</sup>가 -NH<sub>2</sub> 또는 -NHSO<sub>2</sub>R<sup>5</sup>이고; R<sup>5</sup>가 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬이고, 임의로 R<sup>1</sup> 페닐 또는 R<sup>1</sup> 헤테로방향족 고리에는 바람직한 치환체 1 또는 2개를 갖는 화학식 I의 화합물이다.

<26> 본 발명의 추가의 실시양태는 R<sup>1</sup>이 페닐, 피롤릴, 푸라닐, 티에닐 또는 이미다졸릴이고; R<sup>2</sup>가 에틸 또는 이소프로필이고; R<sup>3</sup>이 수소이고; R<sup>4</sup>가 -NHSO<sub>2</sub>R<sup>5</sup>이고; R<sup>5</sup>가 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬이고, 임의로 R<sup>1</sup> 페닐 또는 R<sup>1</sup> 헤테로방향족 고리에는 바람직한 치환체 1 또는 2개를 갖는 화학식 I의 화합물이다.

- <27> 본 발명의 다른 실시양태는 a)  $R^1$ 이 페닐, 피롤릴 또는 푸라닐이고;  $R^2$ 가 에틸 또는 이소프로필이고;  $R^3$ 이 수소 또는 플루오로이고;  $R^4$ 가  $-NH_2$ 이고; b)  $R^1$ 이 티에닐 또는 이미다졸릴이고;  $R^2$ 가 에틸 또는 이소프로필이고;  $R^3$ 이 수소 또는 플루오로이고;  $R^4$ 가  $-NH_2$ 이고; c)  $R^1$ 이 페닐, 피롤릴, 푸라닐, 티에닐 또는 이미다졸릴이고;  $R^2$ 가 에틸 또는 이소프로필이고;  $R^3$ 이 수소 또는 플루오로이고;  $R^4$ 가  $-NHSO_2R^5$ 이고;  $R^5$ 가  $C_1-C_6$ 알킬이고; d)  $R^1$ 이 페닐, 피롤릴, 푸라닐, 티에닐 또는 이미다졸릴이고;  $R^2$ 가 에틸 또는 이소프로필이고;  $R^3$ 이 수소 또는 플루오로이고;  $R^4$ 가  $-NHSO_2R^5$ 이고;  $R^5$ 가  $C_1-C_6$ 알킬인 화학식 I의 화합물이며, a) 내지 d)의 모든 실시양태는 임의로  $R^1$  페닐 또는  $R^1$  헤테로방향족 고리에 바람직한 치환체 1 또는 2개가 치환될 수 있다.
- <28> 화학식 I의 화합물의 개별적인 거울상이성질체 및 염, 및 또한 거울상이성질체들의 염도 본 발명의 범위 내에 있다. 라세미 혼합물과 같은 개별적인 거울상이성질체들의 혼합물 및 또한 개별적인 거울상이성질체들의 혼합물의 염도 본 발명의 범위 내에 있다.
- <29> 라세미 혼합물을 개별적인 거울상이성질체로 분리하는 것은 당업계에 잘 알려져 있으며, 예를 들어 적합한 키랄 크로마토그래피 칼럼에서의 분리에 의해 달성될 수 있다. 염의 제조 또한 당업계에 잘 알려져 있으며, 예를 들어 적합한 용매 중에서 원하는 양성자성 산과 화학식 I의 화합물을 혼합하고, 당업계의 표준 방법에 의해 단리하는 것에 의해 달성될 수 있다. 화학식 I의 화합물의 염에는 제약학상 허용가능한 염 및 또한 제약학상 허용 불가능한 염이 포함된다.
- <30> 본 발명의 신규 화합물은 치료에 유용하며, 특히 여러가지 통증 상태, 예를 들어 만성 통증, 신경병증 통증, 급성 통증, 압 통증, 류마티스성 관절염에 의한 통증, 편두통, 내장 통증 등의 치료에 유용하다. 그러나, 이러한 목록이 제한적 의미로 해석되어서는 안된다.
- <31> 본 발명의 화합물들은 면역조절제, 특히 관절염 등과 같은 자가면역 질환, 피부 이식, 기관 이식 및 유사한 수술이 요구되는 질환, 콜라겐 질환, 여러가지 알레르기의 면역조절제로서 유용하며, 항-종양제 및 항-바이러스제로서도 유용하다.
- <32> 본 발명의 화합물들은 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 표시하여 사용하는 것을 포함할 수 있다.
- <33> 본 발명의 화합물은 설사, 우울증, 불안증 및 스트레스-관련 장애, 예를 들어 외상후 스트레스성 장애, 공황 장애, 범불안 장애, 대인 공포증 및 강박 장애; 요실금, 여러가지 정신 질환, 기침, 폐수종, 여러가지 위장관 장애, 예를 들어 변비, 과민성 대장 증후군 및 기능성 소화불량 등과 같은 기능성 위장관 장애, 파킨슨병 및 다른 운동 장애, 외상성 뇌 손상, 졸중, 심근 경색 후의 심보호, 척추 손상 및 알콜, 니코틴, 아편양제제 및 기타 약물의 남용을 포함하는 약물 중독 및 고혈압과 같은 교감 신경계 장애의 치료에 유용하다.
- <34> 본 발명의 화합물은 전신 마취 및 모니터링하는 마취 상태 중에 사용하기 위한 마취제로서 유용하다. 종종 상이한 특성을 갖는 작용제들의 배합물을 사용하여 마취 상태 (예를 들어 기억 상실, 무통, 근육 이완 및 진정)의 유지에 필요한 효과들의 균형을 맞춘다. 이러한 배합물에는 흡입용 마취제, 수면제, 불안 치료제, 신경근 차단제 및 아편양제제 등이 포함된다.
- <35> 또한, 상기에서 논의한 임의의 상태를 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서, 상기 화학식 I의 임의의 화합물의 용도 역시 본 발명의 범위 내에 포함된다.
- <36> 본 발명의 추가의 측면은 유효량의 상기 화학식 I의 화합물을 상기에서 논의한 임의의 상태의 치료가 필요한 환자에게 투여함으로써 그 상태를 앓는 대상체를 치료하는 방법이다.
- <37> 제조 방법
- <38> 본 발명의 화합물은 하기의 일반 방법을 이용하여 제조될 수 있다.
- <39> 페놀의 제조: 실시예 1-3
- <40>  $R^4$ 가  $-OH$ 인 화학식 I의 화합물은 하기 화학식 II의 화합물을 표준 조건하에서 트리에틸아민의 존재하에 아세트니

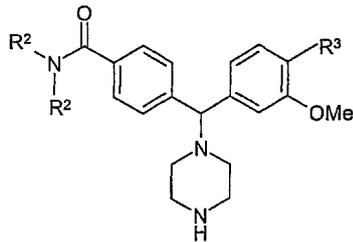
트릴 중의 Boc-피페라진과 반응시킨 후, 표준 조건하에서 Boc 보호기를 제거하여 하기 화학식 III의 화합물을 얻고, 그 후 환원 조건하에서 화학식 R<sup>1</sup>-CHO의 화합물로 알킬화한 후, 디클로로메탄 중의 BBr<sub>3</sub>를 사용하여 메틸 에테르를 절단하여 R<sup>4</sup>가 -OH인 화학식 I의 화합물을 얻는 방법으로 제조한다.

**화학식 II**



<41>

**화학식 III**



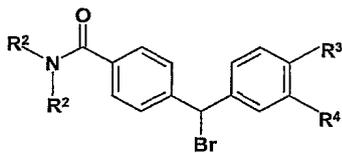
<42>

<43> 식 중, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 화학식 I에서 정의된 바와 동일하고, R<sup>4</sup>는 OMe이다.

<44> 아닐린의 제조: 실시예 4-6

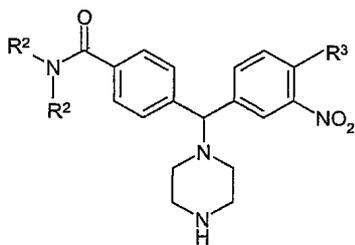
<45> R<sup>4</sup>가 -NH<sub>2</sub>인 화합물은 하기 화학식 IV의 화합물을 표준 조건하에서 트리에틸아민의 존재하에 아세토니트릴 중의 Boc-피페라진과 반응시킨 후, 표준 조건하에서 Boc 보호기를 제거하여 화학식 V의 화합물을 얻고, 그 후 환원 조건하에서 화학식 R<sup>1</sup>-CHO의 화합물로 알킬화한 후, 목탄 상의 수소 및 팔라듐을 이용하여 니트로기를 환원하여 R<sup>4</sup>가 -NH<sub>2</sub>인 화학식 I의 화합물을 얻는 방법으로 제조한다.

**화학식 IV**



<46>

**화학식 V**



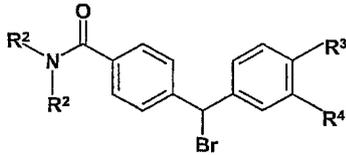
<47>

<48> 식 중, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 화학식 I에서 정의된 바와 동일하고, R<sup>4</sup>는 NO<sub>2</sub>이다.

<49> 메틸 술폰아닐리드의 제조: 실시예 7-8

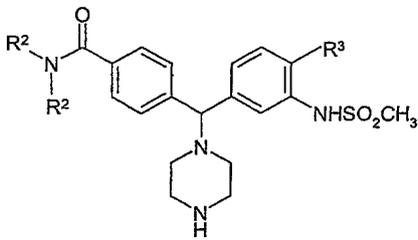
<50>  $R^4$ 가  $-NHSO_2R^5$ 인 화합물은 하기 화학식 VI의 화합물을 표준 조건하에서 트리에틸아민의 존재하에 아세트니트릴 중의 Boc-피페라진과 반응시킨 후, 촉매로 목탄 상의 팔라듐을 이용하여 가수소분해에 의해 니트로기를 환원시키고, 트리에틸아민의 존재하에 디클로로메탄 중의 메탄술폰닐무수물을 이용하여 메탄술폰닐화한 후, 표준 조건하에서 Boc 보호기를 제거하여 하기 화학식 VII의 화합물을 얻고, 그 후 환원 조건하에서 화학식  $R^1-CHO$ 의 화합물로 알킬화한 후, 목탄 상의 수소 및 팔라듐을 사용하여 니트로기를 환원하여  $R_4$ 가  $-NHSO_2R^5$ 인 화합물을 얻는 방법으로 제조한다.

**화학식 VI**



<51>

**화학식 VII**

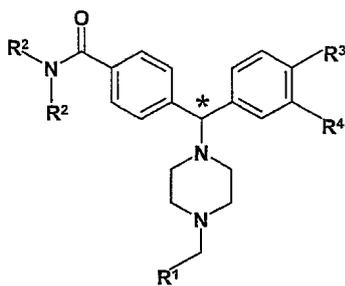


<52>

<53> 식 중,  $R^2$  및  $R^3$ 은 화학식 I에서 정의된 바와 동일하고,  $R^4$ 는  $NO_2$ 이다.

<54> 화학식 I의 화합물의 개별적인 거울상이성질체 및 염, 및 또한 거울상이성질체들의 염도 본 발명의 범위 내에 있다. 화학식 I의 화합물은 입체 중심인 디아릴메틸피페라진기가 있는 키랄 화합물이다 (하기 화학식 I' 참조).

**화학식 I'**



<55>

<56> 예를 들어, 본 발명의 다른 실시양태는 화학식 I의 화합물의 (-)-거울상이성질체 및 또한 상기 화합물의 염이다.

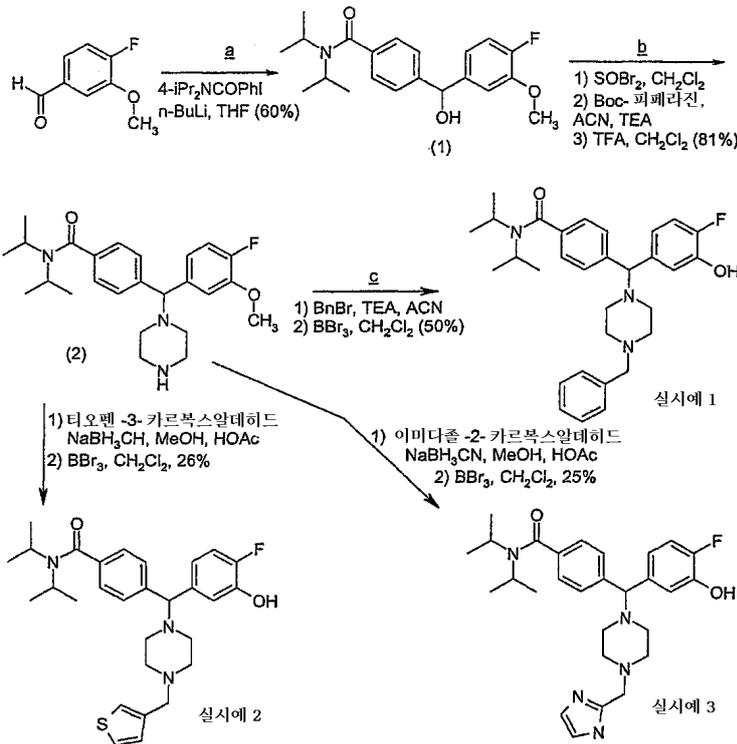
<57> 예를 들어, 본 발명의 다른 실시양태는 화학식 I의 화합물의 (+)-거울상이성질체 및 또한 상기 화합물의 염이다.

**실시예**

<58> 본 발명은 이제 하기의 실시예에 의해 보다 상세히 기재될 것이며, 이는 본 발명을 제한하는 것으로 해석되서는 안된다.

**반응식 1**

플루오로 페놀의 제법; 실시예 1-3



<59>

<60> 중간체 1: 4-[(4-플루오로-3-메톡시페닐)(히드록시)메틸]-N,N-디이소프로필-벤즈아미드

<61> N,N-디이소프로필-4-요오도벤즈아미드 (6.0 g, 18 mmol)를 THF (200 ml) 중에 용해시키고, 질소 분위기하에 -78 °C로 냉각시켰다. n-BuLi (14 ml, hexan 중 1.3 M 용액, 18 mmol)을 -65 내지 -78 °C에서 10분간 적하하였다. 4-플루오로-3-메톡시벤즈알데히드 (2.8 g, 18 mmol)를 THF (5 ml)에 적하하여 용해시켰다. 30분 후 NH<sub>4</sub>Cl (수용액)을 가하였다. 진공하 농축 후, EtOAc/물로 추출, 건조 (MgSO<sub>4</sub>) 및 유기상을 증발시키고, 잔류물은 실리카에서 크로마토그래피로 정제하여 (0-75% EtOAc/헵탄) 표적 생성물 (3.9 g, 60%)을 얻었다.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 1.0-1.6 (m, 12H), 2.65 (d, J = 4Hz, 1H), 3.4-3.9 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 6.10 (d, J = 4Hz, 1H), 6.76 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 7.04 (m, 1H), 6.76 (m, 1H), 7.25, 7.40 (2d, J = 7.5Hz, 4H).

<62>

<63> 중간체 2: 4-[(4-플루오로-3-메톡시페닐)(1-피페라지닐)메틸]-N,N-디이소프로필벤즈아미드

<64> 중간체 1 (3.9 g, 11 mmol)을 무수 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml) 중에 용해시키고, 0 내지 25 °C에서 30분간 SOBr<sub>2</sub> (0.88 ml, 11 mmol)로 처리하였다. KHCO<sub>4</sub> (수용액)으로 중화하고, 유기상을 건조 (K<sub>2</sub>CO<sub>4</sub>)한 후, 진공하에 용매 증발시켰다. 잔류물 및 Et<sub>3</sub>N (1.8 ml, 13 mmol)을 MeCN (50 ml) 중에 용해시키고, 25 °C에서 12 시간 동안 Boc-피페라진 (2.1 g, 11 mmol)과 교반시켰다. 진공하에 농축시키고, 실리카에서 크로마토그래피하여 (헵탄 중 0 내지 50% EtOAc) 4.6 g을 얻었다. 1.6 g을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 중의 TFA (1:1)로 처리하고, 진공하에 농축시키고, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/K<sub>2</sub>CO<sub>4</sub> (수용액)으로 추출하고, 건조하고 (K<sub>2</sub>CO<sub>4</sub>), 진공하에 증발시켜 중간체 2 (1.3 g, 중간체 1로부터 81%)를 얻었다. MS (ES) 428.21 (MH<sup>+</sup>).

<65> 실시예 1: 4-[1-(4-벤질-피페라진-1-일)-1-(4-플루오로-3-히드록시-페닐)-메틸]-N,N-디이소프로필-벤즈아미드

<66> 중간체 2 (0.41 g, 0.96 mmol) 및 트리에틸아민 (0.20 ml, 1.4 mmol)을 MeCN (10 ml) 중에 용해시켰다. 브롬화벤질 (0.14 ml, 1.1 mmol)을 25 °C에서 교반하면서 가하였다. 12 시간 후, 용액을 농축시키고, 역상 크로마토그래피 (LiChroprep RP-18, 물 중 10-80% MeCN, 0.1% TFA)에 의해 정제하였다. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/K<sub>2</sub>CO<sub>4</sub> (수용액)으로

추출하고, 건조하고 (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), 진공하에 증발시켜 유리 염기 0.53 g을 얻었다. -78 °C에서 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 중 삼브롬화붕소 (4 당량, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 중 1M 용액)로 처리하고, 물을 첨가하고, 진공하에 농축하고, 역상 크로마토그래피에 의해 트리플루오로아세테이트로서 실시예 1의 화합물 (0.35 g, 50%)을 얻었다.

MS (ES) 504.22 (MH<sup>+</sup>). IR (NaCl) 3222, 1677, 1592, 1454, 1346, 1201, 1135 (cm<sup>-1</sup>). <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ = 1.1, 1.5 (m, 12H), 2.3 (m, 3H), 2.9-3.8 (m, 7H), 4.33 (s, 2H), 4.75 (s, 1H), 6.60 (m, 1H), 6.83 (m, 1H), 6.94 (m, 1H), 7.24 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.47 (m, 7H). C<sub>31</sub>H<sub>38</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>2</sub> x0.8C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>F<sub>6</sub>O<sub>4</sub>에 대한 분석 계산치 C:59.87, H:5.82, N:6.12. 실측치 C:60.06, H:5.83, N:6.19.

<67>

<68> 실시예 2: 4-[1-(4-플루오로-3-히드록시-페닐)-1-(4-티오펜-3-일메틸-피페라진-1-일)-메틸]-N,N-디이소프로필-벤즈아미드

<69> 중간체 2 (0.43 g, 1.0 mmol)를 3-티오펜-카르복스알데히드 (0.11 ml, 1.2 mmol) 및 HOAc (57 μl, 1.0 mmol)과 함께 MeOH (5 ml) 중에 용해시키고, 1 시간 동안 교반하였다. 나트륨 시아노보로히드라이드 (63 mg, 1.0 mmol)를 6 시간에 걸쳐 나누어 가하고, 반응을 추가 12 시간 동안 25 °C에서 교반한 후, 진공하에 농축 및 추출 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(수용액))하여 후처리하였다. 실시예 1에서와 동일한 역상 크로마토그래피에 의해 정제하여 유리 염기로 0.32 g (0.62 mmol)을 얻었다. 실시예 1에서와 동일하게 삼브롬화붕소로 처리하고, 크로마토그래피하여 트리플루오로아세테이트로서 실시예 2의 화합물 (0.20 g, 26%)을 얻었다.

MS (ES) 510.17 (MH<sup>+</sup>). IR (NaCl) 3281, 1674, 1606, 1454, 1346, 1200, 1135 (cm<sup>-1</sup>). <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ = 1.1, 1.5 (m, 12H), 2.30 (m, 2H), 2.9-3.7 (m, 10H), 4.37 (s, 2H), 4.75 (s, 1H), 6.60 (m, 1H), 6.84 (m, 1H), 6.94 (m, 1H), 7.18 (m, 1H), 7.25, 7.48 (2d, J = 8.0Hz, 4H), 7.55 (m, 1H), 7.65 (m, 1H). C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S x0.8 C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>F<sub>6</sub>O<sub>4</sub> x0.5 H<sub>2</sub>O에 대한 분석 계산치, C:55.16, H:5.55, N:5.99. 실측치, C:55.12, H:5.39, N:6.07.

<70>

<71> 실시예 3: 4-[1-(4-플루오로-3-히드록시-페닐)-1-[4-(1H-이미다졸-2-일메틸)-피페라진-1-일]-메틸]-N,N-디이소프로필-벤즈아미드

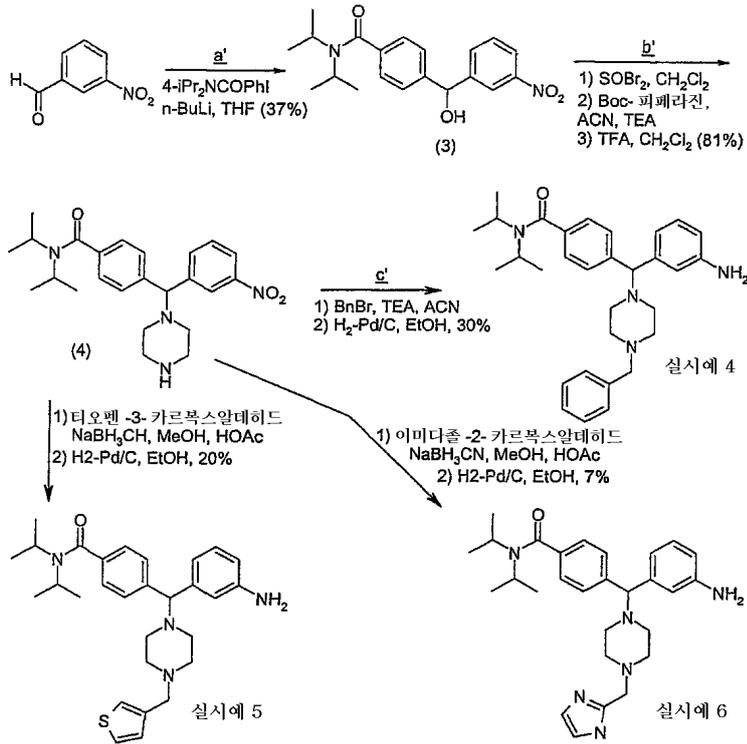
<72> 실시예 2에서와 동일한 방법을 이용하여 2-이미다졸-카르복스알데히드 (0.10 g, 1.1 mmol)와 반응시킨 후, 삼브롬화붕소 (6 당량)로 처리하여 트리플루오로아세테이트로서 실시예 3의 화합물 (0.18 g, 25%)을 얻었다.

MS (ES) 494.23 (MH<sup>+</sup>). IR (NaCl) 3123, 1673, 1592, 1454, 1350, 1201, 1135 (cm<sup>-1</sup>). <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ = 1.1, 1.5 (m, 12H), 2.7-3.8 (m, 10H), 3.95 (s, 2H), 5.20 (m, 1H), 6.70 (m, 1H), 6.94 (m, 1H), 7.02 (m, 1H), 7.32, 7.58 (2d, J = 8.0Hz, 4H), 7.46 (s, 1H). C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>2</sub> x1.2 C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>F<sub>6</sub>O<sub>4</sub> x0.7 H<sub>2</sub>O에 대한 분석 계산치, C:50.51, H:5.14, N:8.98. 실측치, C:50.44, H:5.18, N:9.11.

<73>

반응식 2

아닐린의 제법: 실시예 4-6



<74>

<75>

중간체 3: 4-[히드록시(3-니트로페닐)메틸]-N,N-디이소프로필벤즈아미드

<76>

n-BuLi를 첨가한 후, 이 용액을 톨루엔/THF (약 1:1, 100 ml) 중의 3-니트로벤즈알데히드 (2.7 g, 18 mmol) 용액으로 -78 °C에서 캐놀러 삽입하는 것을 제외하고는 중간체 1과 동일한 방법을 수행하였다. 후처리 및 크로마토그래피에 의해 중간체 3 (2.4 g, 37%)을 얻었다.

<sup>1</sup>H NMR

(CDCl<sub>3</sub>) δ 1.1-1.7 (m, 12H), 3.90 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 3.4-3.9 (m, 2H), 5.91 (s, J = 3.5Hz, 1H), 7.27, 7.35 (2d, J = 8Hz, 4H), 7.51 (m, 1H), 7.71 (m, 1H), 8.13 (m, 1H), 8.30 (s, 1H).

<77>

<78>

중간체 4: N,N-디이소프로필-4-[(3-니트로페닐)(1-피페라지닐)메틸]벤즈아미드

<79>

중간체 2와 동일한 방법을 사용하여, 중간체 3 (2.4 g, 6.7 mmol)을 이용하여 Boc-보호된 중간체 4 (2.83 g, 81%)를 얻었다. TFA 처리에 의해 정량적으로 중간체 4를 얻었다. MS (ES) 425.23 (MH<sup>+</sup>).

<80>

실시예 4: 4-[1-(3-아미노-페닐)-1-(4-벤질-피페라진-1-일)-메틸]-N,N-디이소프로필-벤즈아미드

<81>

실시예 1과 동일하게 중간체 4 (0.40 g, 0.94 mmol)를 브롬화벤질과 반응시킨 후, EtOH (25 ml) 및 2N HCl (1.2 ml, 2.4 mmol) 중 10% Pd/C (50 mg)으로 2 시간 동안 수소화 (H<sub>2</sub>, 40 psi)하였다. 실시예 1과 동일한 조건을 이용하여 역상 크로마토그래피에 의해 정제하여 트리플루오로아세테이트로서 실시예 4 (0.20 g, 30%)를 얻었다.

MS (ES) 485.40

(MH<sup>+</sup>). IR (NaCl) 3414, 1673, 1605, 1455, 1345, 1201, 1134 (cm<sup>-1</sup>). <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ = 1.1, 1.5 (m, 12H), 2.3 (m, 2H), 2.9-3.8 (m, 8H), 4.31 (s, 2H), 4.47 (s, 1H), 7.02 (m, 1H), 7.21-7.52 (m, 12H). C<sub>31</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O x1.2 C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>F<sub>6</sub>O<sub>4</sub> x0.5 H<sub>2</sub>O에 대한 분석 계산치, C:56.04, H:5.70, N:7.30. 실측치, C:56.06, H:5.67, N:7.41.

<82>

<83>

실시예 5: 4-[1-(3-아미노-페닐)-1-(4-티오펜-3-일메틸-피페라진-1-일)-메틸]-N,N-디이소프로필-벤즈아미드

<84>

실시예 2와 동일하게 중간체 4 (0.40 g, 0.94 mmol)를 3-티오펜-카르복스알데히드와 반응시킨 후, EtOH (25

m1) 및 2N HCl (1.0 ml, 2.0 mmol) 중 10% Pd/C (50 mg)로 12 시간 동안 수소화 (H<sub>2</sub>, 30 psi) 하였다. 실시예 1과 동일한 조건을 이용하여 역상 크로마토그래피에 의해 정제하여 디트리플루오로아세테이트로 실시예 5의 화합물 (0.13 g, 20%)을 얻었다.

MS (ES) 491.28 (MH<sup>+</sup>). IR (NaCl) 3408, 1673, 1605, 1455, 1345, 1201, 1134 (cm<sup>-1</sup>). <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ = 1.1, 1.5 (m, 12H), 2.3 (m, 2H), 2.9-3.8 (m, 8H), 4.35 (s, 2H), 4.44 (s, 1H), 6.98 (m, 1H), 7.16-7.32 (m, 6H), 7.49 (d, J = 8Hz, 2H), 7.55 (m, 1H), 7.64 (m, 1H). C<sub>29</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub> x1.3 C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>F<sub>6</sub>O<sub>4</sub> x0.6 H<sub>2</sub>O 에 대한 분석 계산치, C:51.48, H:5.28, N:7.02. 실측치, C:51.51, H:5.20, N:7.01.

<85>

<86> 실시예 6: 4-{1-(3-아미노-페닐)-1-[4-(1H-이미다졸-2-일메틸)-피페라진-1-일]-메틸}-N,N-디이소프로필-벤즈아미드

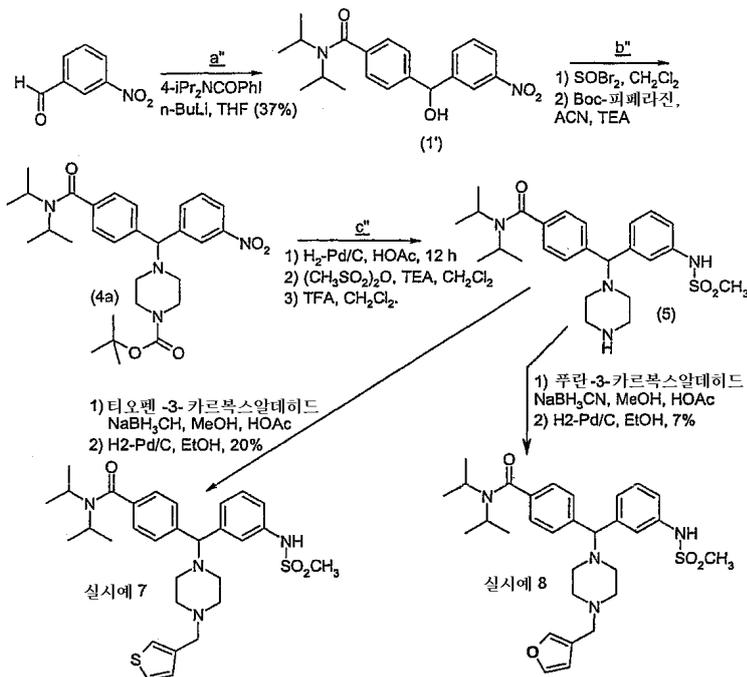
<87> 실시예 2와 동일한 방법을 사용하여 중간체 4를 2-이미다졸-카르복스알데히드 (0.10 g, 1.1 mmol)와 반응시킨 후 수소화하여 디트리플루오로아세테이트 염으로서 실시예 6의 화합물 (45 mg, 7%)을 얻었다.

MS (ES) 475.30 (MH<sup>+</sup>). IR (2x TFA, NaCl) 3351, 1674, 1621, 1455, 1349, 1202, 1134 (cm<sup>-1</sup>). <sup>1</sup>H NMR (2x TFA, CD<sub>3</sub>OD) δ = 1.1, 1.5 (m, 12H), 2.9-3.8 (m, 8H), 4.35 (s, 2H), 4.44 (s, 1H), 6.98 (m, 1H), 7.16-7.32 (m, 6H), 7.49 (d, J = 8Hz, 2H), 7.55 (m, 1H), 7.64 (m, 1H). C<sub>28</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>O x1.6 C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>F<sub>6</sub>O<sub>4</sub> x0.8 H<sub>2</sub>O 에 대한 분석 계산치, C:48.39, H:5.05, N:9.84. 실측치, C:48.43, H:5.06, N:9.85.

<88>

**반응식 3**

메틸 술폰아닐리드의 제법: 실시예 7-8



<89>

<90> 중간체 5: N,N-디이소프로필-4-{3-[4-(메틸술폰닐)아미노]페닐}(1-피페라진일)메틸}벤즈아미드

<91> 상기 중간체 4에 대해 기재된 바와 동일하게 중간체 3을 이용하여 Boc-보호된 중간체 4를 얻었다. Boc-보호된 중간체 4 (1.21 g, 2.3 mmol)를 30 psi의 H<sub>2</sub>하에 AcOH (25 ml) 중의 10% Pd/C (150 mg)로 12 시간 동안 수소화 하였다. 진공하에 증발시키고, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (수용액)으로 추출시켜 중간체 아닐린 1.1 g (2.3 mmol)을 얻고, 이를 MeCN/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 10 ml) 중에 용해시켰다. Et<sub>3</sub>N (0.48 ml, 3.4 mmol), 이어서 메탄술폰닐무수물 (0.41 g, 2.4 mmol)을 0 °C에서 가하였다. 실온으로 가온한 후, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/염수로 추출하여 반응을 후처리 하였다. 실리카에서 크로마토그래피 (0-5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)에 의해 정제하여 Boc-보호된 중간체 5 (1.3 g, 97%)를 얻었다.

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 중의 TFA로 처리하여 중간체 5를 정량적으로 얻었다. MS (ES) 473.16 (MH<sup>+</sup>).

<92> 실시예 7: N,N-디이소프로필-4-[1-(3-메탄술폰닐아미노-페닐)-1-(4-티오펜-3-일메틸-피페라진-1-일)-메틸]-벤즈아미드

<93> 실시예 2와 동일하게 환원성 아민화 방법을 수행하였다. 중간체 5 (0.20 g, 0.43 mmol)를 이용하여 디트리플루오로아세트이트 염으로서 실시예 7의 화합물 (90 mg, 26%)을 얻었다. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (수용액)으로 유리 염기를 추출하고, 2 당량 HCl (수용액)으로 처리하여 디히드로클로라이드 염을 얻었다.

MS (ES) 569.21 (MH<sup>+</sup>). IR (유리 염기, NaCl) 1604, 1455, 1340, 1151 (cm<sup>-1</sup>). <sup>1</sup>H NMR (유리 염기, CDCl<sub>3</sub>) δ = 0.9-1.7 (m, 12H), 2.5 (m, 8H), 2.85 (s, 3H), 3.55 (s, 2H), 3.8 (m, 2H), 4.22 (s, 1H), 7.00-7.40 (m, 12H). C<sub>30</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub> x2.6 HCl 에 대한 분석 계산치, C:54.30, H:6.47, N:8.44. 실측치, C:54.33, H:6.20, N:8.32.

<94>

<95> 실시예 8: 4-([4-(3-푸릴메틸)-1-피페라지닐]{3-[(메틸술폰닐)아미노]페닐}-N,N-디이소프로필-벤즈아미드

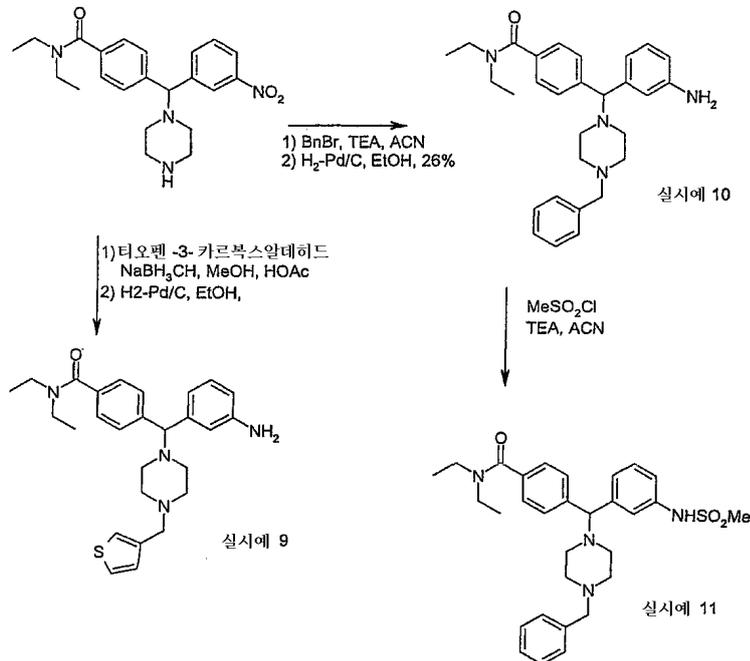
<96> 실시예 7과 동일한 방법을 이용하였다. 중간체 5 (0.21 g, 0.45 mmol)를 이용하여 유리 염기로 실시예 8의 화합물 (80 mg, 32%)을 얻었다.

MS (ES) 553.23 (MH<sup>+</sup>). IR (free base, NaCl) 1604, 1455, 1340, 1151 (cm<sup>-1</sup>). <sup>1</sup>H NMR (유리 염기, CDCl<sub>3</sub>) δ = 1.0-2.6 (m, 20H), 2.91 (s, 3H), 3.40 (s, 2H), 4.22 (s, 1H), 6.39 (s, 1H), 7.06-7.42 (m, 11H). C<sub>30</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S x2.8 HCl 에 대한 분석 계산치, C:55.03, H:6.59, N:8.56. 실측치, C:54.93, H:5.93, N:8.49.

<97>

**반응식 4**

실시예 9-11의 제법



<98>

<99> 실시예 9: 4-((3-아미노페닐)[4-(3-티에닐메틸)-1-피페라지닐]메틸)-N,N-디에틸벤즈아미드

<100> N,N-디에틸-4-[(3-니트로페닐)(1-피페라지닐)메틸]벤즈아미드 (반응식 2에서 중간체 4와 유사하게 제조) (0.85 g, 2.1 mmol)를 3-티오펜카르복스알데히드 (0.40 ml, 4.3 mmol) 및 HOAc (60 μl, 1.0 mmol)와 함께 MeOH (5 ml) 중에 용해시키고, 1 시간 동안 교반시켰다. 나트륨 시아노보로히드라이드 (135 mg, 2.1 mmol)를 6 시간에 걸쳐 나누어 가하고, 반응을 25 °C에서 추가 12 시간 동안 교반시킨 후, 진공하에 농축 및 추출 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (수용액))에 의해 후처리 하였다. 실리카에서 크로마토그래피에 의해 정제하여 3-티에닐메틸 유도체 (0.45 g, 43%)를 얻었다. 생성물의 수소화 (0.30 g, 0.61 mmol) 및 역상 크로마토그래피에 의해 트리스-트리플루오로아

세테이트로서 표제 화합물 (0.17 g, 35%)을 얻었다.

MS (ES) 463.34 (MH+). IR

(NaCl) 3418, 1673, 1600, 1461, 1200, 1135 (cm-1). <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ = 1.17, 1.31 (m, 6H), 2.45 (m, 2H), 3.11 (m, 2H), 3.24-3.66 (m, 10H), 4.47 (s, 2H), 4.62 (s, 1H), 7.21 (m, 1H), 7.31 (m, 1H), 7.39-7.56 (m, 5H), 7.61-7.68 (m, 3H), 7.77 (m, 1H).

<101>

실시예 10: 4-[(3-아미노페닐)(4-벤질-1-피페라지닐)메틸]-N,N-디에틸벤즈아미드

<102>

N,N-디에틸-4-[(3-니트로페닐)(1-피페라지닐)메틸]벤즈아미드 (1.7 g, 4.3 mmol) 및 트리에틸아민 (1.2 ml, 8.6 mmol)을 MeCN (10 ml) 중에 용해시켰다. 브롬화벤질 (0.56 ml, 4.7 mmol)을 25 °C에서 교반시키면서 가하였다. 12 시간 후, 용액을 진공하에 농축시켰다. 추출 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (수용액)) 및 실리카에서 크로마토그래피에 의해 정제하여 벤질화 생성물 (1.4 g, 2.9 mmol)을 얻었다. EtOH (25 ml) 및 2N HCl (2.5 ml, 5 mmol) 중 10% Pd/C (100 mg)로 4 시간 동안 수소화 (H<sub>2</sub>, 40 psi)한 후, 진공하 농축 및 역상 크로마토그래피에 의해 트리스-트리플루오로아세테이트로서 표제 화합물 (0.9 g, 26%)을 얻었다.

<103>

MS (ES) 457.26 (MH+). IR (NaCl) 3422, 1672, 1603,

1458, 1209, 1133 (cm-1). <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ = 1.1, 1.2 (m, 6H), 2.3 (m, 2H), 2.9-3.6 (m, 10H), 4.33 (s, 2H), 4.49 (s, 1H), 5.48 (s, 2H), 7.01 (m, 1H), 7.24-7.34 (m, 5H), 7.47 (m, 5H), 7.52 (d, J = 7.5 Hz, 2H).

<104>

실시예 11: 4-((4-벤질-1-피페라지닐){3-[(메틸술폰닐)아미노]페닐}메틸)-N,N-디에틸벤즈아미드

<105>

실시예 10의 생성물 (0.35 g, 0.76 mmol) 및 트리에틸아민 (0.12 ml, 0.84 mmol)을 MeCN (10 ml) 중에 용해시키고, 메탄술폰산 무수물 (0.14 g, 0.84 mmol)을 0 °C에서 가하였다. 25 °C에서 10분간 교반시킨 후, 용액을 진공하 농축시키고, 역상 크로마토그래피에 의해 정제하여 비스-트리플루오로아세테이트로서 표제 화합물 (0.23 g, 40%)을 얻었다.

<106>

MS (ES) 535.21 (MH+). IR (NaCl) 3479, 1673, 1604,

1458, 1337, 1200, 1150 (cm-1). <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ = 1.18, 1.31 (m, 6H), 2.41 (m, 2H), 2.98 (s, 3H), 3.13 (m, 2H), 3.28-3.65 (m, 8H), 4.44 (s, 2H), 4.57 (s, 1H), 5.57 (d, J=2Hz, 2H), 7.15 (m, 1H), 7.30 (m, 1H), 7.37 (m, 1H), 7.42 (m, 2H), 7.54-7.60 (m, 6H), 7.63 (m, 2H).

<107>

제약 조성물

<108>

본 발명에 따른 신규 화합물은 경구, 근육내, 피하, 국소, 비측(鼻側), 복강내, 흉곽내, 정맥내, 경막외, 경막내, 뇌실내 투여 및 관절 주사에 의해 투여할 수 있다.

<109>

바람직한 투여 경로는 경구, 정맥내 또는 근육내 투여이다.

<110>

투여량은 투여 경로, 질환의 중증도, 환자의 연령 및 체중 및 담당 의사가 통상적으로 고려하는 다른 요인들에 따라 달라지며, 이때, 개별적인 섭생(攝生) 및 투여량 수준은 특정 환자에게 가장 적합한 것으로 결정된다.

<111>

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.

<112>

고체 담체는 희석제, 향미제, 가용화제, 유탕제, 현탁제, 결합제 또는 정제 붕해제로도 작용할 수 있는 1종 이상의 물질일 수 있고, 캡슐화 물질일 수도 있다.

<113>

산제에서, 담체는 미분된 활성 성분과의 혼합물로 존재하는 미분된 고체이다. 정제에서, 활성 성분은 필요한 결합 특성을 갖는 담체와 적당한 비율로 혼합되어 원하는 형태 및 크기로 압착된다.

<114>

좌제 조성물을 제조하기 위해, 저-용융 왁스 (low-melting wax), 예를 들어 지방산 글리세리드와 코코아 버터의 혼합물을 먼저 용융시키고, 교반 등을 통해 활성 성분을 그 안에 분산시킨다. 이어서, 용융된 균질 혼합물을 편리한 크기의 성형틀에 붓고 냉각시켜 고형화한다.

<115>

적합한 담체는 탄산마그네슘, 스테아르산마그네슘, 활석, 락토스, 당, 펙틴, 텍스트린, 전분, 트라가칸트, 메틸

<116>

셀룰로스, 카르복시메틸 셀룰로스 나트륨, 저-용융 왁스, 코코아 버터 등이다.

- <117> 염에는 제약상 허용가능한 염이 포함되나 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 범위 내의 제약상 허용가능한 염의 예로는 아세테이트, 벤젠술포네이트, 벤조에이트, 비카르보네이트, 비타르트레이트, 브로마이드, 칼슘 아세테이트, 캄실레이트, 카르보네이트, 클로라이드, 시트레이트, 디히드로클로라이드, 에테데이트, 에디실레이트, 에스틀레이트, 에실레이트, 푸마레이트, 글루카테이트, 글루코네이트, 글루타메이트, 글리콜릴아르사닐레이트, 핵실레소르시네이트, 히드라브아민, 히드로브로마이드, 히드로클로라이드, 히드록시나프토에이트, 이세티오네이트, 락테이트, 락토비오네이트, 말레이트, 말레에이트, 만델레이트, 메실레이트, 메틸브로마이드, 메틸나트레이트, 메틸술포에이트, 무케이트, 나프실레이트, 니트레이트, 파모에이트 (엠보네이트), 판토테네이트, 포스페이트/디포스페이트, 폴리갈락투로네이트, 살리실레이트, 스테아레이트, 서브아세테이트, 숙시네이트, 술포에이트, 탄네이트, 타르트레이트, 테오클레이트, 트리에트요오다이드, 벤자틴, 클로로프로카인, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 메글루민, 프로카인, 알루미늄, 칼슘, 리튬, 마그네슘, 칼륨, 나트륨 및 아연 등이 있다. 본 발명의 범위 내에서 제약상 허용불가능한 염의 예로는 히드로요오다이드, 퍼콜레이트, 테트라플루오로보레이트 등이 있다. 제약상 허용불가능한 염은 결정성 등과 같은 그의 유리한 물리적 및(또는) 화학적 성질 때문에 유용할 수는 있다.
- <118> 바람직한 제약상 허용가능한 염은 히드로클로라이드, 술포에이트 및 비타르트레이트이다. 히드로클로라이드 및 술포에이트 염이 특히 바람직하다.
- <119> 조성물이라는 용어는 활성 성분과 담체로서의 캡슐화 물질의 제제를 포함하도록 의도되며, 이때 담체가 (다른 담체의 존재 여부와 관계 없이) 활성 성분을 둘러싸서 그와 회합되어 있는 캡슐이 제공된다. 유사하게, 카세제가 포함된다.
- <120> 정제, 산제, 카세제 및 캡슐제를 경구 투여에 적합한 고체 투여 형태로 사용할 수 있다.
- <121> 액체 조성물로는 용액제, 현탁액제 및 에멀전제 등이 있다. 활성 화합물들의 멸균수 또는 물-프로필렌 글리콜 용액은 비경구 투여에 적합한 액체 제제의 한 예로서 언급될 수 있다. 액체 조성물은 폴리에틸렌 글리콜 수용액 중의 용액제로서 제제화될 수도 있다.
- <122> 경구 투여용 수용액제는 활성 성분을 물 중에 용해하고 필요에 따라 적합한 착색제, 향미제, 안정화제 및 증점제를 첨가하여 제조할 수 있다. 경구용 수성 현탁액제는 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.
- <123> 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 포장된 제제, 예를 들어 포장된 정제, 캡슐제 및 바이알 또는 앰플 내의 산제일 수 있다. 또한, 단위 투여량 형태는 캡슐제, 카세제 또는 정제 자체이거나 또는 적당한 개수의 상기 임의의 포장된 형태일 수 있다.
- <124> **생물학적 평가**
- <125> **시험관내 모델**
- <126> **세포 배양**
- <127> A. 클로닝된 인간  $\mu$ ,  $\delta$  및  $\kappa$  수용체를 발현하고 네오마이신에 내성인 인간 293S 세포를 37°C 및 5% CO<sub>2</sub>에서 칼슘-무함유 DMEM, 10% FBS, 5% BCS, 0.1% 플루로닉 (Pluronic) F-68 및 600  $\mu$ g/ml 제네티신을 함유하는 진탕 플라스크 중의 현탁액에서 성장시켰다.
- <128> B. 마우스 및 래트의 뇌를 칭량하고 빙냉 PBS (2.5 mM EDTA 함유, pH 7.4)에서 행구었다. 뇌를 빙냉 용균 완충액 (50 mM 트리스, pH 7.0, 2.5 mM EDTA, 사용 직전에 DMSO : 에탄올 중의 0.5 M 페닐메틸술포닐 플루오라이드 스톡 (stock)을 페닐메틸술포닐 플루오라이드의 농도가 0.5 mM이 되도록 첨가함) 중에서 15초 (마우스) 동안 또는 30초 (래트) 동안 폴리트론으로 균질화시켰다.
- <129> **막의 제조**
- <130> 세포를 펠렛화하고 용균 완충액 (50 mM 트리스, pH 7.0, 2.5 mM EDTA, 사용 직전에 에탄올 중의 0.1 M PMSF 스톡을 PMSF의 농도가 0.1 mM이 되도록 첨가함) 중에 재현탁하여 15분 동안 빙상에서 인큐베이션한 후, 30초 동안 폴리트론으로 균질화시켰다. 현탁액을 4°C에서 10분 동안 1000 g (최대)에서 회전시켰다. 상등액을 빙상에 방

치하고 펠렛을 상기와 같이 재현탁하고 회전시켰다. 상기 2회의 회전으로 얻은 상등액을 등하고 30분 동안 46,000 g (최대)에서 회전시켰다. 펠렛을 냉각 트리스 완충액 (50 mM 트리스/Cl, pH 7.0) 중에 재현탁하고 다시 회전시켰다. 최종 펠렛을 막 완충액 (50 mM 트리스, 0.32 M 수크로스, pH 7.0) 중에 재현탁시켰다. 폴리프로필렌 튜브 중의 분취액 (1 mL)을 드라이 아이스/에탄올 중에서 냉동시키고 사용할 때까지 -70°C에 저장하였다. 단백질 농도는 나트륨 도데실 술페이트를 사용하는 변형된 라우리 (Lowry) 분석법으로 측정하였다.

<131> 결합 분석

<132> 막을 37°C에서 해동시켜 빙상에서 냉각시키고, 25-게이지의 바늘에 3회 통과시켜 결합 완충액 (50 mM 트리스, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mg/mL BSA (시그마 (Sigma) A-7888), pH 7.4, 0.22 m 필터로 여과한 후 4°C에 보관함. 5 µg/mL 아프로티닌, 10 µM 베스타틴, 10 µM 디프로틴 A를 새로 첨가하였고, DTT는 첨가하지 않았음)에 희석시켰다. 100 µl의 분취액을 적절한 방사성리간드 100 µl 및 다양한 농도의 시험 화합물 100 µl를 함유하는 냉각된 12 × 75 mm 폴리프로필렌 튜브에 첨가하였다. 전체 (TB) 결합 및 비특이적 (NS) 결합을 10 µM 날록손의 부재 및 존재하의 각각의 경우에 측정하였다. 튜브를 볼텍싱하고 60 내지 75분 동안 25°C에서 인큐베이션한 후, 내용물을 0.1% 폴리에틸렌이민에 2시간 이상 미리 담겨둔 GF/B 필터 (왓트만 (Whatman) 제품)를 통해 신속하게 진공-여과시키고, 튜브 당 냉각된 세척 완충액 (50 mM 트리스, pH 7.0, 3 mM MgCl<sub>2</sub>) 약 12 mL로 세척하였다. 6 내지 7 mL의 섬광계수액을 함유하는 미니바이알에 필터를 12시간 이상 적셔둔 후, 필터에 남아있는 방사능 (dpm)을 베타 계수기로 측정하였다. 분석이 96개의 깊은 웰이 있는 플레이트에서 수행된 경우, PEI로 적셔둔 96개의 단일 필터에서 여과하여 1 mL 세척 완충액으로 세척 (×3)하고, 2시간 동안 55°C의 오븐에서 건조시켰다. 필터 플레이트에 웰 당 MS-20 섬광계수액 50 µl를 첨가한 후, 탑카운트 (TopCount) (팩커드 (Packard) 제품)에서 계수하였다.

<133> 기능 분석

<134> 화합물 수용체 복합체가, G-단백질 (수용체가 커플링됨)과 GTP의 결합을 활성화시키는 정도를 측정함으로써 화합물의 아고니스트 활성을 측정하였다. GTP 결합 분석에서, GTP[γ]<sup>35</sup>S를 시험 화합물 및 클로닝된 인간 아편양제제 수용체를 발현하는 HEK-293S 세포의 막 또는 균질화된 래트 및 마우스의 뇌의 막과 결합하였다. 아고니스트는 이들 막에서의 GTP[γ]<sup>35</sup>S 결합을 자극시킨다. 화합물의 EC<sub>50</sub> 및 E<sub>max</sub> 값은 투여량-반응 곡선으로부터 결정된다. δ 길항제인 날트린돌에 의한 투여량 반응 곡선의 우측 이동은 아고니스트 활성이 δ 수용체를 통해 매개됨을 입증한다.

<135> 래트의 뇌 GTP에 대한 방법

<136> 래트의 뇌 막을 37°C에서 해동시키고 말단이 평평한 25-게이지 니들을 통하여 3회 통과시키고, GTP γ S 결합제 (50 mM HEPES, 20 mM NaOH, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.4, 새로 1 mM DTT, 0.1% BSA를 첨가함) 중에 희석시켰다. 최종 120 µM의 GDP를 막 희석액에 첨가하였다. 화합물의 EC<sub>50</sub> 및 E<sub>max</sub>는 적당량의 막 단백질 (20 µg/웰) 및 웰 당 100000 내지 130000 dpm (0.11 내지 0.14 nM)의 GTP γ <sup>35</sup>S를 함유하는 300 µl 중에서 수행한 10-점 투여량-반응 곡선으로부터 평가하였다. 기저 및 최대 자극 결합을 3 µM SNC-80의 부재 및 존재하에서 결정하였다

<137> 데이터 분석

<138> 특이적 결합 (SB)을 TB-NS로서 계산하였고, 다양한 시험 화합물들의 존재하에서의 SB를 대조군 SB에 대한 비율 (%)로 나타내었다. 특이적으로 결합된 방사성리간드를 대체하면서, 리간드에 대한 IC<sub>50</sub> 값 및 힐 (Hill) 계수 (n<sub>H</sub>)를 로짓 플롯 (logit plot) 또는 곡선 작도 프로그램, 예를 들어 리간드 (Ligand), 그래프패드 프리즘 (GraphPad Prism), 시그마플롯 (SigmaPlot) 또는 리셉터핏 (ReceptorFit)으로 계산하였다. K<sub>i</sub> 값을 쉹-프루소프 (Cheng-Prussoff) 방정식으로부터 계산하였다. 3개 이상의 대체 곡선에서 시험한 리간드에 대해 IC<sub>50</sub>, K<sub>i</sub> 및 n<sub>H</sub> 값의 평균 ± S.E.M. 값을 기록하였다. 본 발명의 화합물들의 생물학적 데이터를 하기 표 1에 기록했다.

표 1

<139>

| 생물학적 데이터  |                  |                  |        |                  |         |                  |         |
|-----------|------------------|------------------|--------|------------------|---------|------------------|---------|
| 실시에<br>번호 | HDELTA<br>(nM)   |                  |        | 랫트의 뇌<br>(nM)    |         | 마우스의 뇌<br>(nM)   |         |
|           | IC <sub>50</sub> | EC <sub>50</sub> | %EMax  | EC <sub>50</sub> | %EMax   | EC <sub>50</sub> | %EMax   |
| 1-11      | 0.50-13          | 0.32-104         | 94-106 | 2.9-867          | 125-159 | 4.9-1441         | 126-154 |

<140>

수용체 포화 실험

<141>

방사성리간드 K<sub>8</sub> 값은 K<sub>8</sub> 추정치의 0.2 내지 5배 농도 범위의 적절한 방사성리간드 (가능하다면, 필요한 방사성리간드의 양이 10배 이하임)를 사용한 세포 막에서의 결합 분석법으로 측정하였다. 특이적 방사성리간드 결합을 pmol/막 단백질 (mg)로서 나타내었다. 개개의 실험에서의 K<sub>8</sub> 및 B<sub>max</sub> 값은, 1-부위 모델에 따른 각각의 실험에서 특이적으로 결합한 방사성리간드 (B) 대 유리 방사성리간드 (F) (nM)의 비선형 작도로부터 구하였다.

<142>

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

<143>

채플란 (Chaplan) 등이 기술한 방법 (1994)을 이용하여 08:00시와 16:00시 사이에 시험하였다. 랫트의 발에 접근할 수 있도록, 바닥이 철조망으로 되어 있는 플렉시글라스 (Plexiglas) 우리 안에 랫트를 가두고, 10 내지 15분 동안 적응시켰다. 왼쪽 뒷발에서 덜 민감한 풋패드 (foot pad)를 제외한 중앙의 편평한 부분을 시험 영역으로 하였다. 뺏뺏함이 대수적으로 증가하는 일련의 폰 프레이 털 8 가닥 (0.41, 0.69, 1.20, 2.04, 3.63, 5.50, 8.51 및 15.14 g; 미국 일리노이주에 소재하는 스텔팅 (Stoelting) 제품)으로 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 발을 떼는 경우를 양성 반응으로 기록하였다. 털을 빼자마자 움찔하는 것 또한 양성 반응으로 고려하였다. 움찔하는 것으로는 모호한 반응이라 여겨져서, 이 경우에는 자극을 반복하였다.

<144>

시험 프로토콜

<145>

조작후 1일 째에 FCA-처리 군 동물들을 시험하였다. 디손 (Dixon)의 업-다운 (up-down) 방법 (1980)을 이용하여 50% 도피반사 역치를 측정하였다. 뺏뺏함이 중간 정도인 2.04 g 털로 시험을 시작하였다. 뺏뺏한 정도를 증가 또는 감소시키면서 연속하여 끊임없이 자극하였다. 처음 선택한 털에 대하여 발을 떼는 반응이 없는 경우에는 더욱 강하게 자극하고, 발을 떼는 경우에는 그 다음으로 약한 자극을 선택하였다. 이 방법에 의한 최적의 역치는 50% 역치 근접 부근의 6개 반응으로 계산하였으며, 반응에서 최초의 변화가 발생할 때, 예를 들어 역치를 최초로 넘었을 때, 이 6개의 반응을 계수하기 시작하였다. 역치가 자극의 범위에서 벗어나 있는 경우에는 각각 15.14 (정상 민감성) 또는 0.41 (최대 이질통)의 값을 주었다. 양성 및 음성 반응이 생성되는 양상을 관례 (X = 도피반사 없음; 0 = 도피반사)에 따라 표에 적용하였으며, 50% 도피반사 역치는 하기 식을 이용하여 계산하였다:

<146>

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

<147>

여기서, Xf = 사용된 마지막 폰 프레이 털의 값 (로그 단위); k = 양성/음성 반응의 양상에 대한 표의 값 [채플란 등 (1994)의 방법에 따름]이고, δ = 자극들 사이의 평균 차 (로그 단위)이며, 여기서 δ = 0.224였다.

<148>

폰 프레이 역치를 채플란 등의 방법 (1994)에 따라서 최대 가능한 효과율 (% MPE)로 전환하였다. 하기 방정식을 사용하여 % MPE를 산정하였다:

<149>

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

<150>

시험 물질의 투여

<151>

폰 프레이 시험 전에 시험 물질을 랫트에 주사하고 (피하, 복강내, 정맥내 또는 경구), 시험 화합물의 투여와 폰 프레이 시험 사이의 시간은 시험 물질의 특성에 따라 변화시켰다.

- <152> 뒤틀림 (Writhing) 시험
- <153> 마우스에게 아세트산을 복강내 투여하여 마우스에서 복부 수축을 야기시켰다. 이후, 이로 인해 마우스의 신체가 전형적인 양상으로 늘어졌다. 마취 약물이 투여될 경우에는 이러한 움직임이 덜 빈번하게 관찰되었으므로 이 약물을 잠재적으로 양호한 후보 물질로서 선택하였다.
- <154> 동물의 움직임이 없고 등 아래쪽으로는 약간 힘이 빠져 있으며 양쪽 발의 편평한 면을 관찰할 수 있는 경우에만 완벽하고 전형적인 뒤틀림 반사로 고려하였다. 상기 분석법에서, 본 발명의 화합물들을 1 내지 100  $\mu\text{mol/kg}$ 으로 경구 투여한 후에는 뒤틀림 반사가 유의하게 억제됨이 입증되었다.
- <155> (i) 용액의 제조:
- <156> 아세트산 (AcOH): 아세트산 120  $\mu\text{l}$ 를 증류수 19.88 mL에 첨가하여, 최종 부피가 20 mL이고 최종 농도가 0.6%인 AcOH를 수득했다. 이어서, 상기 용액을 혼합 (볼텍싱)하고 주사용으로 만들어 두었다.
- <157> 화합물 (약물): 각각의 화합물을 제조하고 표준 방법에 따라 가장 적합한 비히클 중에 용해시켰다.
- <158> (ii) 용액의 투여
- <159> 시험 전에 화합물 (약물)을 (화합물의 종류 및 그의 특성에 따라서) 20, 30 또는 40분 동안 (마우스의 평균 체중을 고려하여) 10 mL/kg씩 경구, 복강내 (i.p.), 피하 (s.c.) 또는 정맥내 (i.v.) 투여하였다. 화합물이 중추 (심실내 (i.c.v.) 또는 경막내 (i.t.))로 전달되는 경우에는 5  $\mu\text{l}$ 의 부피를 투여하였다.
- <160> 시험 직전에 AcOH를 (마우스의 평균 체중을 고려하여) 10 mL/kg씩 2군데 부위에 복강내 (i.p.) 투여하였다.
- <161> (iii) 시험
- <162> 동물 (마우스)을 20분 동안 관찰하고 반응 (뒤틀림 반사)의 횟수를 기록하여, 실험의 종결시에 데이터를 수집하였다. 마우스를 깔개에 있는 개개의 "신발 상자" 모양의 우리에 넣었다. 일반적으로, 마우스를 총 4 마리씩 (1 마리는 대조군이며 3 마리는 약물 투여군임) 동시에 관찰하였다.
- <163> 불안증 및 불안증-유사 증상의 경우, 래트에서의 겔러-세이프터 충돌 시험 (geller-seifter conflict test)으로 효능을 확립하였다.
- <164> 기능성 위장관 장애 증상의 경우, 래트에서 문헌 [Coutinho SV et al, in American Journal of Physiology - Gastrointestinal & Liver Physiology. 282 (2): G307-16, 2002 Feb]에 기재된 분석법으로 효능을 확립할 수 있다.