(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년01월14일
(11) 등록번호 10-1351338
(24) 등록일자 2014년01월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 403/12 (2006.01) *A61K 31/496* (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0043180
(22) 출원일자 2011년05월06일
심사청구일자 2011년05월06일
(65) 공개번호 10-2012-0125098
(43) 공개일자 2012년11월14일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020100042111 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
한국과학기술연구원
서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)
(72) 발명자
조용서
서울특별시 동대문구 고산자로 534 (제기동, 한신아파트) 112-1103
민선준
서울특별시 강남구 언주로130길 30, 동양파라곤아파트 104동 501호 (논현동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
한라특허법인

전체 청구항 수 : 총 2 항 심사관 : 신창훈

(54) 발명의 명칭 **칼슘 채널에 활성을 지닌 신규 피라조일 피페라진 화합물**

(57) 요 약

본 발명은 칼슘 채널에 약학적 활성을 보이는 피라조일 피페라진 화합물 및 약제학적으로 허용 가능한 이의 염, 이들 화합물의 제조방법, 그리고 이들 화합물이 유효성분으로 함유된 약제조성물에 관한 것이다.

(72) 발명자

배애님

서울특별시 송파구 마천로7길 4 (오금동, 대림아파트) 7-108

이재균

서울특별시 노원구 중계로 116, 현대아파트 104-902 (중계동)

서선희

서울특별시 성북구 보국문로32길 53, 중앙하이츠아파트 2동 1302호 (정릉동)

송치만

서울특별시 관악구 신림로8길 34, 302호 (신림동)

신선미

경기도 성남시 분당구 양현로 507, 주공3단지아파트 304-801 (야탑동, 매화마을)

아미드, 압둘 와히드

서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동, 한국과학기술연구원)

특허청구의 범위

청구항 1

삭제

청구항 2

N-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(3-(트라이플로로메틸)벤조일)피페라진-1-일)아세트아마이드 (화합물번호 1);

2-(4-(2-클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 (화합물번호 2);

2-(4-(4-플로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 (화합물번호 3);

2-(4-(3-플로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 (화합물번호 4);

2-(4-(3-클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 (화합물번호 5);

N-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(4-(트라이플로로메틸)벤조일)피페라진-1-일)아세트아마이드 (화합물번호 6);

2-(4-(3,5-다이클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 (화합물번호 7);

2-(4-(3,4-다이클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 (화합물번호 8);

2-(4-(3-브로모벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 (화합물번호 9);

N-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(페닐술폰닐)피페라진-1-일)아세트아마이드 (화합물번호 10);

N-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(2-(트라이플로로메틸)페닐술폰닐)피페라진-1-일)아세트아마이드 (화합물번호 11);

2-(4-(4-플로로페닐술폰닐)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 (화합물번호 12);

2-(4-(3-플로로페닐술폰닐)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 (화합물번호 13);

N-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸-2-(4-(4-(트라이플로로메틸)벤조일)피페라진-1-일)아세트아마이드 (화합물번호 18);

N-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸-2-(4-(3-(트라이플로로메틸)벤조일)피페라진-1-일)아세트아마이드 (화합물번호 19);

2-(4-(4-플로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸아세트아마이드 (화합물번호 20) ;

2-(4-(3-플로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸아세트아마이드 (화합물번호 21);

2-(4-(3,4-다이클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸아세트아마이드 (화합물번호 22);

(4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)(4-(트라이플로로메틸)페닐)메탄온 (화합물번호 23);

(4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)(3-(트라이플로로메틸)페닐)메탄온 (화합물번호 24);

(4-플로로페닐)(4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)메탄온 (화합물번호 25);

(3-플로로페닐)(4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)메탄온 (화합물번호 26);

(3,4-다이클로로페닐)(4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)메탄온 (화합물번호 27); 및

이의 약제학적으로 허용 가능한 이의 염으로부터 선택된 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 3

제 2 항의 화합물을 유효성분으로 하는 간질 (epilepsy), 우울증, 파킨스씨병 (Parkinson's disease), 치매 (dementia), 수면장애 (sleep disorder)로부터 선택된 뇌질환 치료 및 예방제용; 암 치료; 고혈압 (hypertensive), 심부정맥, 협심증, 심근 경색증, 울혈성 심부전증으로부터 선택된 심장질환 치료 및 예방제용; 또는 신경성 통증 (neuropathic pain), 만성 및 급성 통증 (chronic and acute pain)으로부터 선택된 통증 완화제용으로 유용한 약학적 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 칼슘 채널에 약학적 활성을 보이는 피라조일 피페라진 화합물 및 약제학적으로 허용 가능한 이의 염, 이들 화합물의 제조방법, 그리고 이들 화합물이 유효성분으로 함유된 약제조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 칼슘채널은 신경세포의 자극에 의해 칼슘의 농도를 높여줌으로써 세포내 다양한 신호전달에 중요한 역할을 하게 된다. 이러한 칼슘채널은 고전압 활성화 칼슘채널 (high*H*-voltage activated calcium channel)과 저전압 활성화 칼슘채널 (low-voltage activated calcium channel)로 나뉘게 되는데, 대표적인 저전압 활성화 칼슘채널이 T-형 칼슘채널이다.

[0003] T-형 칼슘채널은 중추 근육, 부신의 내분비선, 동방결절, 심장 등에 존재하며, T-형 칼슘채널의 길항제는 간질, 고혈압, 협심증 등의 뇌질환과 심장질환 치료에 효과가 있다고 이미 잘 알려져 있다. [1) Hosravani, Houman et al., "Effects of Cav3.2 channel mutations linked to idiopathic generalized epilepsy", *Annals of Neurology*, 2005, *57(5)*, 745-749; 2) Vitko, Iuliia et al., "Functional characterization and neuronal modeling of the effects of childhood absence epilepsy variants of CACNA1H, a T-type calcium channel", *Journal of Neuroscience*, 2005, *25(19)*, 4844-4855; 3) Clozel, *Cardiovas Drugs Ther.*, 1990, *4*, 731-736; 4) Hefti, *Arzneimittelforschung*, 1990, *40*, 417-421; 5) Moosmang, Sven et al., "Antihypertensive Effects of the Putative T-Type Calcium Channel Antagonist Mibefradil Are Mediated by the L-Type Calcium Channel Cav1. 2", *Circulation Research*, 2006, *98(1)*, 105-110]

[0004] 또한, 최근에는 T-형 칼슘채널의 길항제가 만성 통증치료에 효과가 있다고 발표되었다. [Flatters, Sarah J. L., "T-type calcium channels: A potential target for the treatment of chronic pain", *Drugs of the Future*, 2005, *40*, 573-580] α1G 넉아웃 (knock-out) 마우스에 척수신경결찰 (spinal nerve ligation)을 일으켜 신경성 통증을 유발한 결과, T-형 칼슘채널의 길항제가 신경성 통증을 경감하는 효과가 있다고 발표된 바도 있다. [*Molecules & Cells*, 2008, *25*, 242-246]. 그리고, T-형 칼슘채널의 길항제로서 미베프라딜 (Mibefradil)과 에소숙시마이드 (Ethosuximide)가 척수신경결찰 (spinal nerve ligation) 동물모델에서 기계적

열적 유발 반응의 저해 정도가 약물 투여량에 따른다고 보고됨으로써 T-형 칼슘채널의 길항제가 신경성 통증치료에 효과가 있다는 것을 보였다. [Dogrul, Ahmet et al., "Reversal of experimental neuropathic pain by T-type calcium channel blockers", *Pain*, 2003, *105*, 159-168]

[0005] 또한, 칼슘은 세포내 신호전달물질로서 중요한 역할을 하고 다양한 세포작용을 조절하는데, 세포작용 중에서 칼슘은 세포성장에 관여하는 것으로 알려져 있어 T-형 칼슘채널의 길항제가 항암 효과를 낼 것이라는 예측이 가능하다. [*Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2003, *4*, 517-529]

[0006] T-형 칼슘채널의 길항제로서 시판되었던 미베프라딜 (Mibefradil, Ro 40-5967, WO 98/49149)은 고혈압과 협심증 치료제로서 사용되었으나, 미베프라딜은사이토크롬 (cytochrome) P-450 3A4와 2D6에 의해 다른 약물들과 대사되어 약물 동력학적 결합을 함으로써 여러 부작용을 일으켜 약물로 사용이 부적합한 것으로 밝혀짐에 따라 판매가 금지되었다. 이로써 T-형 칼슘채널의 길항제의 시급한 개발이 요구되어지고 있다.

[0007] 현재까지 T-형 칼슘채널의 길항제을 개발하려는 많은 노력을 하였으나 선택적인 T-형 칼슘채널의 길항제는 많지 않은 것으로 알려져 있다.

[0008] T-형 칼슘채널에 선택적이고 약물동력학 프로파일이 좋고, ADME(흡수, 분배, 대사, 배출)이 좋으면서도 T-형 칼슘채널에 선택적이고 약물동력학 프로파일이 좋고, ADME(흡수, 분배, 대사, 배출)이 좋으면서도 간질 (epilepsy), 우울증, 파킨스씨병 (Parkinson's disease), 치매 (dementia), 수면장애 (sleep disorder)와 같은 뇌질환 치료; 암 치료; 고혈압 (hypertensive), 심부정맥, 협심증, 심근 경색증, 울혈성 심부전증과 같은 심장 질환 치료; 신경성 통증 (neuropathic pain), 만성 및 급성 통증 (chronic and acute pain)과 같은 통증 완화; 에 유효한 T-형 칼슘채널의 길항제가 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 피라조일 피페라진 화합물 또는 약제학적으로 허용 가능한 이의 염을 제공하는데 그 목적이 있다.

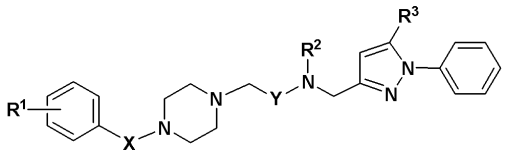
[0010] 또한, 본 발명은 상기한 피라조일 피페라진 화합물 또는 약제학적으로 허용 가능한 이의 염이 유효성분으로 포함되어 있는 칼슘채널 길항작용을 갖는 약제조성물을 제공하는데 또 다른 목적이 있다.

[0011] 또한, 본 발명은 상기한 피라조일 피페라진 화합물 또는 약제학적으로 허용 가능한 이의 염이 유효성분으로 포함되어 있는 간질 (epilepsy), 우울증, 파킨스씨병 (Parkinson's disease), 치매 (dementia), 수면장애 (sleep disorder)와 같은 뇌 질환치료; 암 치료; 고혈압 (hypertensive), 심부정맥, 협심증, 심근 경색증, 울혈성 심부전증과 같은 심장 질환치료; 신경성 통증 (neuropathic pain), 만성 및 급성 통증 (chronic and acute pain)과 같은 통증 완화를 위한 약제조성물을 제공하는데 또 다른 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기의 목적을 실현하기 위하여, 본 발명은 칼슘채널 길항제로서 유효한 하기 화학식 1로 표시되는 피라조일 피페라진 화합물 및 약제학적으로 허용 가능한 이의 염을 그 특징으로 한다.

화학식 1

[0013] 

[0014] 상기 화학식 1에서, R^1은 수소원자, 할로겐원자, C_1-C_6 알킬기, C_1-C_6 알콕시기, 및 C_1-C_6 할로알킬기 중에서 선

택되고; R^2 및 R^3은 서로 같거나 다른 것으로서 수소원자, 및 C_1-C_6 알킬기 중에서 선택되고; X는 C(O), S(O) 또는 $S(O)_2$를 나타내고; Y는 C_1-C_6 알킬렌기, 또는 C(O)를 나타낸다.

발명의 효과

[0015] 본 발명의 화합물은 칼슘채널에 길항활성을 보이므로 뇌질환, 심장질환, 암, 간질, 통증 등과 관련 질병의 예방 또는 치료제로서 유용하게 사용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 피라조일 피페라진 화합물은 당해 기술 분야에서 통상적인 방법에 의해 약제학적으로 허용 가능한 염을 형성할 수 있다. 예를 들면, 염산, 브롬산, 술폰산, 아미도황산, 인산, 질산과 같은 무독성의 무기산, 또는 아세트산, 프로피온산, 숙신산, 글리콜산, 스테아르산, 젖산, 타르타르산, 시트르산, 파라톨루엔설폰산, 메탄설폰산과 같은 무독성의 유기산과 함께 약제학적으로 허용 가능한 이들의 산이 부가된 염을 형성할 수도 있다.

[0017] 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 피라조일 피페라진 화합물을 정의하기 위해 사용된 치환기를 좀 더 자세히 설명하면 다음과 같다.

[0018] 본 발명에서의 "할로겐원자"는 플루오로, 클로로, 브로모, 또는 아이오도이다. 본 발명에서의 "알킬기"는 1 내지 6개의 탄소원자를 가진 직쇄상 또는 분쇄상의 탄소사슬기로서, 구체적으로는 메틸기, 에틸기, 노말프로필기, 아이소프로필기, 노말부틸기, 아이소부틸기, *tert*-부틸기 등이다. 본 발명에서의 "할로알킬기"는 플루오로, 클로로, 브로모, 아이오도와 같은 할로겐원자가 1 내지 13개 포함되고, 1 내지 6개의 탄소원자를 가진 직쇄상, 분쇄상 및 고리상의 탄소사슬기로서, 구체적으로는 플루오로메틸기, 트라이플루오로메틸기, 1,2-디클로로에틸기, 1,1-디클로로에틸기, 펜타플루오로에틸기 등이다. 본 발명에서의 "알콕시기"는 산소에 연결된 탄소의 알킬기이고, 이때 알킬은 상기에서 정의한 바와 같다.

[0019] 상기 화학식 1로 표시되는 피라조일 피페라진 화합물에 있어서, 바람직하기로는 상기 R^1은 수소원자, 3-플로로, 4-플로로, 2-클로로, 3-클로로, 4-클로로, 3,4-다이클로로, 3,5-다이클로로, 2,3,5-트라이클로로, 3-브로모, 2-트라이플로로메틸, 3-트라이플로로메틸, 4-트라이플로로메틸, 2-메틸, 3-메틸, 4-메틸, 3-메톡시, 4-메톡시, 또는 3,4-다이메톡시를 나타내고; R^2는 수소원자, 메틸, 또는 노말프로필을 나타내고; R^3은 수소원자, 메틸, 노말프로필, 아이소프로필, 노말부틸, 아이소부틸, *tert*-부틸을 나타내고; X는 카보닐 (C=O), 술파이닐 (S=O), 또는 술폰닐 (SO_2)을 나타내고; Y는 메틸렌 (CH_2), 에틸렌 (CH_2CH_2), 또는 카보닐 (C=O)을 나타내는 화합물의 경우이다.

[0020] 상기 화학식 1로 표시되는 피라조일 피페라진 화합물을 구체적으로 예시하면 다음과 같다:

[0021] *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(3-(트라이플로로메틸)벤조일)피페라진-1-일)아세트아마이드 [화합물번호 1];

[0022] 2-(4-(2-클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 [화합물번호 2];

[0023] 2-(4-(4-플로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 [화합물번호 3];

[0024] 2-(4-(3-플로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 [화합물번호 4];

[0025] 2-(4-(3-클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 [화합물번호 5];

[0026] *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(4-(트라이플로로메틸)벤조일)피페라진-1-일)아세트아마

이드 [화합물번호 6];

[0027] 2-(4-(3,5-다이클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 [화합물번호 7];

[0028] 2-(4-(3,4-다이클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 [화합물번호 8];

[0029] 2-(4-(3-브로모벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 [화합물번호 9];

[0030] *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(페닐술폰닐)피페라진-1-일)아세트아마이드 [화합물번호 10];

[0031] *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(2-(트라이플로로메틸)페닐술폰닐)피페라진-1-일)아세트아마이드 [화합물번호 11];

[0032] 2-(4-(4-플로로페닐술폰닐)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 [화합물번호 12];

[0033] 2-(4-(3-플로로페닐술폰닐)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 [화합물번호 13];

[0034] *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(3-(트라이플로로메틸)페닐술폰닐)피페라진-1-일)아세트아마이드 [화합물번호 14];

[0035] *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(2,3,5-트라이클로로페닐술폰닐)피페라진-1-일)아세트아마이드 [화합물번호 15];

[0036] 2-(4-(3-클로로페닐술폰닐)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 [화합물번호 16];

[0037] 2-(4-(3,4-다이메톡시페닐술폰닐)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드 [화합물번호 17];

[0038] *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸-2-(4-(4-(트라이플로로메틸)벤조일)피페라진-1-일)아세트아마이드 [화합물번호 18];

[0039] *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸-2-(4-(3-(트라이플로로메틸)벤조일)피페라진-1-일)아세트아마이드 [화합물번호 19];

[0040] 2-(4-(4-플로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸아세트아마이드 [화합물번호 20];

[0041] 2-(4-(3-플로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸아세트아마이드 [화합물번호 21];

[0042] 2-(4-(3,4-다이클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸아세트아마이드 [화합물번호 22];

[0043] (4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)(4-(트라이플로로메틸)페닐)메탄온 [화합물번호 23];

[0044] (4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)(3-(트라이플로로메틸)페닐)메탄온 [화합물번호 24];

[0045] (4-플로로페닐)(4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)메탄온 [화합물번호 25];

[0046] (3-플로로페닐)(4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)메탄온 [화합물번호 26];

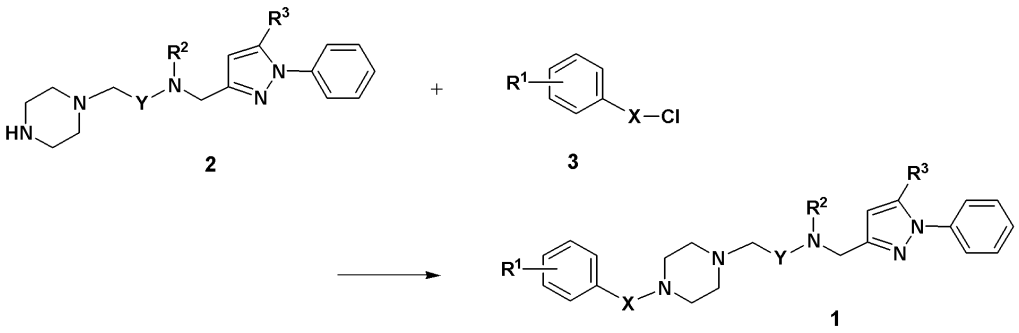
[0047] (3,4-다이클로로페닐)(4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)메

탄온 [화합물번호 27].

[0048] 한편, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 피라조일 피페라진 화합물의 제조방법을 포함한다.

[0049] 하기 반응식 1에 의하면, 하기 화학식 2로 표시되는 피페라진 화합물과 하기 화학식 3으로 표시되는 클로라이드 화합물을 결합반응시켜, 목적하는 하기 화학식 1로 표시되는 피라조일 피페라진 화합물을 제조할 수 있다.

[0050] [반응식 1]

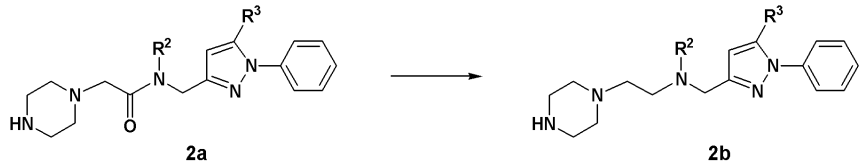
[0051] 

[0052] 상기 반응식 1에서, R^1, R^2, R^3, X 및 Y는 각각 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

[0053] 상기 반응식 1에 따른 결합반응은 염기 존재하에서 수행하는 바, 염기는 유기합성 분야에서 통상적으로 사용되는 유기 또는 무기염기를 사용할 수 있다. 유기염기는 아민계 염기로서 예를 들면 트라이에틸아민 (TEA), *N*-메틸몰포린 (NMM), 피리딘 등을 사용할 수 있다. 무기염기는 알칼리 또는 알칼리토금속의 산화물, 수산화물, 탄산염, 탄산수소염, 황산염, 황산수소염 등을 사용할 수 있다. 반응용매로는 다이클로로메탄, 테트라하이드로퓨란 (THF), 다이메틸포름아마이드 (DMF), 다이메틸아세트아마이드 (DMAc), 다이옥산 등을 비롯한 통상의 비활성 용매를 사용할 수 있다. 반응온도는 20℃ 내지 30℃의 상온 주변의 온도를 유지할 수 있다.

[0054] 또한, 상기 반응식 1에서 출발물질로 사용된 상기 화학식 2로 표시되는 피페라진 화합물은 하기 반응식 2에 나타낸 환원반응에 의해 제조할 수 있다.

[0055] [반응식 2]

[0056] 

[0057] 상기 반응식 2에서, R^2, 및 R^3은 각각 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

[0058] 상기 반응식 2에 따른 환원반응에서는, Y=카보닐기인 상기 화학식 2a로 표시되는 피페라진 화합물을 Y=메틸렌인 상기 화학식 2b로 표시되는 피페라진 화합물으로 전환한다. 상기 환원반응에서는 $LiAlH_4$, $NaBH_4$ 등의 통상의 환원제를 사용한다. 반응용매로는 다이클로로메탄, 테트라하이드로퓨란 (THF), 다이메틸포름아마이드 (DMF), 다이메틸아세트아마이드 (DMAc), 다이옥산 등을 비롯한 통상의 비활성 용매를 사용할 수 있다. 반응온도는 -10℃ 내지 20℃ 온도 범위를 유지한다.

[0059] 상기 반응식 1과 2의 제조방법을 통하여 제조된 화합물은 일반적인 분리 정제과정 예를 들면 유기 용매로 희석 및 세척한 후 유기층을 감압 농축할 수 있으며, 필요시 관 크로마토그래피로 정제할 수 있다.

[0060] 한편, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 피라조일 피페라진 화합물 또는 약제학적 허용 가능한 이의 염을 질환의 예방 및 치료를 목적으로 유효성분으로 포함하는 약제조성물을 포함한다.

[0061] 본 발명의 약제조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 피라조일 피페라진 화합물 또는 약제학적 허용 가능한 이의 염과 함께 기타 통상적인 담체, 보조제 또는 희석제 등을 포함시켜 통상의 제제화 방법으로 제형화하여 경구투여 또는 비경구투여에 적합한 형태로 제조될 수 있다. 경구투여의 경우에는 정제, 캡슐제, 용액, 시럽제, 현탁제 등의 형태로 제조될 수 있고, 비경구투여의 경우에는 복강, 피하, 근육, 경피에 대한 주사제의 형태로

제조될 수 있다.

[0062] 본 발명의 약제조성물의 T-형 칼슘채널 길항제로서 1일 유효투여량은 성인을 기준으로 0.01 내지 1000 mg/day이나, 투여용량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있으며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정 시간간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.

[0063] 따라서, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 피라조일 피페라진 화합물 또는 약제학적으로 허용 가능한 이들의 염 또는 이를 함유하는 약제학적 조성물을 질환의 예방 및 치료를 목적으로 사용하는 의약적 용도를 제공한다.

[0064] 즉, 본 발명은 T-형 칼슘채널에 대한 활성을 가지므로, 간질 (epilepsy), 우울증, 파킨스씨병 (Parkinson's disease), 치매 (dementia), 수면장애 (sleep disorder)와 같은 뇌질환 치료; 암 치료; 고혈압 (hypertensive), 심부정맥, 협심증, 심근 경색증, 울혈성 심부전증과 같은 심장질환 치료; 신경성 통증 (neuropathic pain), 만성 및 급성 통증 (chronic and acute pain)과 같은 통증 완화; 를 목적으로 사용되는 의약적 용도를 포함한다.

[0065] 상기한 바와 같은 본 발명은 다음의 실시예 및 실험예를 통하여 보다 상세히 설명하겠는 바, 본 발명이 이들 실시예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0066] [실시예]

[0067] 참고예. *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸-2-(피페라진-1-일) 에탄아민 (화학식 2b)의 합성

[0068] 건조된 테트라하이드로퓨란 (THF)에 *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸-2-(피페라진-1-일) 아세트아마이드 (화학식 2a; 2.029 mmol)를 넣고 0 ℃로 냉각시킨 후 $LiAlH_4$ (5.074 mmol)를 가하고 상온에서 1시간 교반 후 물과 10% NaOH로 처리하고 추출, 건조 정제하여 목적 화합물을 74% 수율로 얻었다.

[0069] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.47~7.34(m, 5H), 6.18(s, 1H), 3.62(s, 2H), 2.90~2.87(m, 4H), 2.89~2.44(m, 10H), 2.34(s, 3H), 1.85~1.79(m, 1H), 0.87(d, 6H, *J* = 6.60 Hz).

[0070] 실시예 1. *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(3-(트라이플로로메틸)벤조일)피페라진-1-일)아세트아마이드 (화학식 1)의 합성

[0071] *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(피페라진-1-일)아세트아마이드 (화학식 2; 83.2 mg, 0.234 mmol)를 테트라하이드로퓨란 (THF)에 녹인 후, 트라이에틸아민 (TEA, 0.098 mL, 0.702 mmol)를 가하였다. 그 다음 3-트라이플로로메틸벤조일 클로라이드 (화학식 3; 0.046 mL, 0.304 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 1시간 교반 후 물로 세척해준 다음 혼합물에서 다이클로로메탄으로 유기층을 분리하여 추출하였다. 분리한 유기층은 무수 $MgSO_4$로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축 정제하여 목적 화합물 123 mg (84%)을 얻었다.

[0072] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.76(d, *J* = 16.18 Hz, 6H), 1.69~1.78(m, 1H), 2.42~2.45(dd, *J* = 4.70, 2.42 Hz, 2H), 2.52(s, 4H), 3.04(s, 2H), 3.30(bs, 2H), 3.70(bs, 2H), 4.45~4.47(t, *J* = 2.79 Hz, 2H), 6.07(d, *J* = 2.38 Hz, 1H), 7.27~7.37(m, 5H), 7.47~7.48(dd, *J* = 2.57, 1.20 Hz, 2H), 7.58(s, 2H), 7.61(d, *J* = 4.18 Hz, 1H);

[0073] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.36, 28.36, 35.14, 37.00, 61.45, 76.64, 77.06, 77.49, 104.56, 124.04, 124.09, 125.58, 126.56, 129.14, 130.33, 130.91, 131.34, 136.33, 139.80, 144.46, 149.29, 168.72, 169.36.

[0074] 실시예 2. 2-(4-(2-클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드의 합성

[0075] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (56 mg, 0.156 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA(0.066 mL, 0.473 mmol)를 가하였다. 그 다음 2-클로로벤조일 클로라이드(0.026 mL, 0.248 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물 75.6 mg (97%)을 얻었다.

[0076] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.84(d, *J* = 6.62 Hz, 6H), 1.75~1.84(m, 1H), 2.40~2.45(m, 1H), 2.49(d, *J* = 7.17 Hz, 2H), 2.59~2.65(m, 3H), 3.10(s, 2H), 3.20~3.23(bs, 2H), 3.80(q, *J* = 4.96 Hz, 2H), 4.52(d, *J* = 5.63 Hz, 2H), 6.11(s, 1H), 7.29~7.44(m, 9H), 7.65(s, 1H);

[0077] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 21.02, 22.35, 28.34, 35.14, 36.98, 41.58, 46.63, 52.96, 53.38, 60.36, 61.42, 76.65, 77.07, 77.50, 104.57, 125.57, 127.21, 127.77, 128.04, 129.09, 129.65, 130.26, 130.30, 135.59, 139.77, 144.43, 149.30, 166.84, 169.50.

[0078] 실시예 3. 2-(4-(4-플로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드의 합성

[0079] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (120 mg, 0.339 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.142 mL, 1.069 mmol)를 가하였다. 그 다음 4-플로로벤조일 클로라이드 (0.052 mL, 0.441 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 1시간 동안 반응하여 목적 화합물 133 mg (82%)을 얻었다.

[0080] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.83(d, *J* = 6.60 Hz, 6H), 1.73~1.82(m, 1H), 2.47(d, *J* = 7.16 Hz, 2H), 2.54(s, 4H), 3.09(s, 2H), 3.40(bs, 2H), 3.70(bs, 2H), 4.51(d, *J* = 5.60 Hz, 2H), 6.11(s, 1H), 7.04~7.09(t, *J* = 8.62 Hz, 2H), 7.33~7.46(m, 7H), 7.62~7.65(t, *J* = 5.08 Hz, 1H);

[0081] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.36, 28.34, 35.12, 36.96, 53.28, 61.44, 76.71, 77.14, 77.34, 77.56, 104.59, 115.44, 115.73, 125.58, 128.02, 129.09, 129.31, 129.42. 131.48, 131.15, 139.77, 144.42, 149.32, 161.74, 165.05, 169.39, 169.46.

[0082] 실시예 4. 2-(4-(3-플로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드의 합성

[0083] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (89.1 mg, 0.251 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.102 mL, 0.752 mmol)를 가하였다. 그 다음 3-플로로벤조일 클로라이드 (0.039 mL, 0.326 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물 107 mg (93%)을 얻었다.

[0084] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.83(d, *J* = 6.60 Hz, 6H), 1.74~1.83(m, 1H), 2.48(d, *J* = 7.16 Hz, 2H), 2.58(s, 4H), 3.09(s, 2H), 3.36(bs, 2H), 3.74(bs, 2H), 4.51(d, *J* = 5.58 Hz, 2H), 6.11(s, 1H), 7.04~7.13(m, 3H), 7.32~7.46(m, 6H), 7.62(s, 1H);

[0085] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.35, 28.34, 35.13, 36.99, 53.35, 61.45, 76.68, 77.11, 77.53, 104.54, 114.30, 116.80, 122.65, 125.58, 128.02, 128.04, 129.09, 130.30, 130.40, 137.60, 139.80, 144.42, 149.30, 160.85, 164.14, 169.40.

[0086] 실시예 5. 2-(4-(3-클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드의 합성

[0087] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (57.7 mg, 0.162 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.066 mL, 0.487 mmol)를 가하였다. 그 다음 3-클로로벤조일 클로라이드 (0.027 mL, 0.211 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물 36.8 mg (47%)을 얻었다.

[0088] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.84(d, *J* = 6.62 Hz, 6H), 1.74~1.83(m, 1H), 2.48(d, *J* = 7.17 Hz, 2H), 2.57(s, 4H), 3.10(s, 2H), 3.36(bs, 2H), 3.74(bs, 2H), 4.52(d, *J* = 5.65 Hz, 2H), 6.12(s, 1H), 7.22(d, *J* = 7.42 Hz, 1H), 7.33~7.45(m, 8H), 7.67(s, 1H);

[0089] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.35, 28.34, 35.13, 36.96, 53.29, 61.39, 76.67, 77.10, 77.52, 104.60, 125.09, 125.61, 127.18, 128.09, 129.10, 129.92, 134.61, 137.25, 139.74, 144.47, 149.28, 168.73, 169.51.

[0090] 실시예 6. *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(4-(트라이플로로메틸)벤조일)피페라진-1-일)아세트아마이드의 합성

[0091] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (60.6 mg, 0.170 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.069 mL, 0.511 mmol)를 가하였다. 그 다음 4-(트라이플로로메틸)벤조일 클로라이드 (0.076 mL, 0.222 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물 40.8 mg (45%)을 얻었다.

[0092] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.85(d, *J* = 6.35 Hz, 6H), 1.76~1.84(m, 1H), 2.49(d, *J* = 7.04 Hz, 2H), 2.65(s, 4H), 3.14(s, 2H), 3.35(bs, 2H), 3.79(bs, 2H), 4.54(d, *J* = 5.26 Hz, 2H), 4.8(s, 1H), 6.14(s, 1H), 7.28~7.48(m, 7H), 7.68(d, *J* = 7.60 Hz, 3H).

[0093] 실시예 7. 2-(4-(3,5-다이클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드의 합성

[0094] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (61.2 mg, 0.172 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.070 mL, 0.516 mmol)를 가하였다. 그 다음 3,5-다이클로로벤조일 클로라이드 (46.88 mg, 0.224 mmol)을 THF에 녹여 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물 50 mg (55%)을 얻었다.

[0095] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.84(d, *J* = 6.61 Hz, 6H), 1.74~1.83(m, 1H), 2.47(d, *J* = 7.18 Hz, 2H), 2.57(s, 4H), 3.11(s, 2H), 3.34(bs, 2H), 3.73(bs, 2H), 4.52(d, *J* = 5.60 Hz, 2H), 6.11(s, 1H), 7.22(d, *J* = 1.80 Hz, 1H), 7.32~7.47(m, 6H), 7.75(s, 1H), 7.84(s, 1H);

[0096] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.34, 28.34, 35.10, 36.93, 53.08, 61.20, 76.67, 77.10, 77.52, 104.64, 125.45, 125.64, 128.19, 128.36, 129.11, 129.87, 134.78, 135.42, 138.26, 139.62, 144.57, 149.12, 167.28, 169.66.

[0097] 실시예 8. 2-(4-(3,4-다이클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드의 합성

[0098] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (60.6 mg, 0.170 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.069 mL, 0.511 mmol)를 가하였다. 그 다음 3,4-다이클로로벤조일 클로라이드 (46.4 mg, 0.216 mmol)을 THF에 녹여 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물 75 mg (83%)을 얻었다.

[0099] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.81(d, *J* = 18.34 Hz, 6H), 1.74~1.83(m, 1H), 2.54(s, 4H), 3.09(s, 2H), 3.36(bs, 2H), 3.71(bs, 2H), 4.51(d, *J* = 5.58 Hz, 2H), 6.11(s, 1H), 7.17(d, *J* = 8.18 Hz, 1H), 7.32~7.48(m, 7H), 7.63(s, 1H);

[0100] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.35, 28.34, 35.13, 36.99, 53.17, 61.41, 76.70, 77.13, 77.55, 104.54, 125.58, 126.36, 128.04, 129.08, 129.22, 123.63, 132.99, 134.16, 135.30, 139.80, 144.44, 149.27, 167.81, 169.35.

[0101] 실시예 9. 2-(4-(3-브로모벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드의 합성

[0102] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (114.8 mg, 0.323 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.090 mL, 0.646 mmol)를 가하였다. 그 다음 3-브로모벤조일 클로라이드 (0.055 mL, 0.420 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물 130 mg (77%)을 얻었다.

[0103] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.85(d, *J* = 6.62 Hz, 6H), 1.23~1.28(m, 1H), 2.54(d, *J* = 7.18 Hz, 2H), 2.58(s, 4H), 3.12(s, 2H), 3.37(bs, 2H), 3.74(bs, 2H), 4.53(d, *J* = 5.66 Hz, 2H), 6.13(s, 1H), 7.26~7.41(m, 6H), 7.42(s, 1H), 7.43~7.46(m, 1H), 7.55(s, 1H);

[0104] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.36, 28.35, 35.13, 36.94, 61.37, 76.65, 77.07, 77.49, 104.64, 122.67, 125.54, 125.63, 128.13, 129.12, 130.04, 130.15, 132.87, 137.46, 139.70, 144.50, 149.28, 168.61, 169.57.

[0105] 실시예 10. *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(페닐술폰닐)피페라진-1-일)아세트아마이드의 합성

[0106] *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(피페라진-1-일)아세트아마이드 (64.2 mg, 0.181 mmol)을 THF에 녹인 후 TEA (75.3 ㎕, 0.540 mmol)와 벤젠술폰닐 클로라이드 (29.8 ㎕, 0.234 mmol)를 가하여 상온에서 2시간 동안 교반 후 물로 세척해준 다음 혼합물에서 다이클로로메탄으로 유기층을 분리하여 추출하였다. 분리한 유기층은 무수 $MgSO_4$로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축 정제하여 목적 화합물 45.2 mg (51 %)을 얻었다.

[0107] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.85(d, *J* = 6.60 Hz, 6H), 1.74~1.83(m, 1H), 2.48(d, *J* = 7.16 Hz, 2H), 2.64~2.61(t, *J* = 4.82 Hz, 4H), 3.02(s, 4H), 3.06(s, 2H), 4.47(d, *J* = 5.85 Hz, 2H), 6.09(s, 1H), 7.32(d, *J* = 7.00 Hz, 3H), 7.44~7.49(m, 5H), 7.53(d, *J* = 7.68 Hz, 1H), 73.70(d, *J* = 7.23 Hz, 2H);

[0108] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.35, 28.32, 35.32, 36.76, 45.93, 52.45, 61.16, 76.69, 77.12, 77.54, 104.68, 125.56, 127,68, 128.05, 129.12, 132.99, 135.49, 139.78, 144.37, 149.47, 169.27.

[0109] 실시예 11. *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(2-(트라이플로로메틸)페닐술폰닐)피페라진-1-일)아세트아마이드의 합성

[0110] 상기 실시예 10과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (84.4 mg, 0.237 mmol)을 THF에 녹인 후 TEA (0.099 mL, 0.712 mmol)와 2-(트라이플로로메틸)벤젠-1-술폰닐 클로라이드 (75.5 mg, 0.308 mmol)를 가하여 상온에서 1시간 동안 반응하여 목적 화합물 98.2 mg (73%)을 얻었다.

[0111] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.84(d, *J* = 7.82 Hz, 6H), 1.74~1.83(m, 1H), 2.48(d, *J* = 7.18 Hz, 2H), 2.58~2.61(t, *J* = 4.85 Hz, 4H), 3.07(s, 4H), 3.23~3.26(t, *J* = 4.67 Hz, 4H), 4.49(d, *J* = 5.70 Hz, 2H), 6.09(s, 1H), 7.32~7.35(dd, *J* = 6.85, 1.62 Hz, 2H), 7.48~7.49(m, 4H), 7.67~7.70(m, 2H), 7.88(s, 1H), 8.04(d, *J* = 3.96 Hz, 1H);

[0112] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.33, 28.34, 35.14, 36.92, 45.57, 52.77, 61.29, 76.65, 77.07, 77.50, 104.58, 120.62, 124.25, 125.56, 127,93, 128.01, 128.36, 128.53, 128.61, 129.09, 131.95, 132.17, 132.78, 137.43, 139.82, 144.40, 149.36, 169.27.

[0113] 실시예 12. 2-(4-(4-플로로페닐술폰닐)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아

마이드의 합성

[0114] 상기 실시예 10과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (79.4 mg, 0.223 mmol)을 THF에 녹인 후 TEA (0.093 mL, 0.670 mmol)와 4-플로로벤젠-1-술폰닐 클로라이드(56.5 mg, 0.29 mmol)를 가하여 상온에서 3시간 동안 교반하여 목적 화합물 79.3 mg (70%)을 얻었다.

[0115] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) 0.83(d, J = 3.10 Hz, 6H), 1.81~1.72(m, 1H), 2.46(d, J = 3.58 Hz, 2H), 2.63~2.60(t, J = 4.67 Hz, 4H), 2.99(s, 4H), 3.05(s, 2H), 4.45(d, J = 5.78 Hz, 2H), 6.08(s, 1H), 7.17(d, J = 8.71 Hz, 2H), 7.32~7.30(m, 3H), 7.48~7.44(m, 3H), 7.68~7.65(m, 2H);

[0116] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.30, 28.31, 35.12, 36.77, 45.92, 52.40, 60.34, 61.14, 76.67, 77.09, 77.51, 104.66, 116.23, 116.53, 125.56, 128.05, 129.11, 130.30, 130.42, 131.67, 139.84, 144.39, 149.44, 163.56, 166.94, 169.16.

[0117] 실시예 13. 2-(4-(3-플로로페닐술폰닐)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드의 합성

[0118] 상기 실시예 10과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (62.5 mg, 0.174 mmol)을 THF에 녹인 후 TEA (0.036 mL, 0.261 mmol)와 3-플로로벤젠-1-술폰닐 클로라이드 (0.025 mL, 0.191 mmol)를 가하여 상온에서 1시간 동안 반응하여 목적 화합물 83.9 mg (94%)을 얻었다.

[0119] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.80~0.92(dd, J = 22.75, 6.76 Hz, 6H), 1.71~1.80(m, 1H), 2.45(d, J = 7.15 Hz, 2H), 2.61(d, J = 4.37 Hz, 4H), 3.04(bs, 2H), 4.44(d, J = 5.81 Hz, 2H), 6.07(s, 1H), 7.27(d, J = 5.72 Hz, 3H), 7.30~7.40(m, 2H), 7.43~7.52(m, 5H);

[0120] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.34, 28.31, 35.08, 36.72, 45.93, 52.38, 61.12, 76.73, 77.16, 77.58, 104.65, 114.81, 115.13, 120.11, 120.39, 123.41, 123.45, 125.55, 128.09, 129.14, 130.94, 131.04, 137.54, 139.73, 144.39, 149.45, 160.74, 164.08, 169.22.

[0121] 실시예 14. *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(3-(트라이플로로메틸)페닐술폰닐)피페라진-1-일)아세트아마이드의 합성

[0122] 상기 실시예 10과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (61.8 mg, 0.176 mmol)을 THF에 녹인 후 TEA (0.036 mL, 0.264 mmol)와 3-(트라이플로로메틸)벤젠-1-술폰닐 클로라이드 (0.031 mL, 0.193 mmol)를 가하여 상온에서 1시간 동안 반응하여 목적 화합물 93.5 mg (96%)을 얻었다.

[0123] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.79(d, J = 6.60 Hz, 6H), 1.69~1.78(m, 1H), 2.43(d, J = 7.90 Hz, 2H), 2.58~2.61(t, J = 4.54 Hz, 4H), 3.00(s, 4H), 3.03(bs, 2H), 4.42(d, J = 5.88 Hz, 2H), 6.06(s, 1H), 7.26~7.33(m, 3H), 7.38~7.47(m, 3H), 7.65(d, J = 7.84 Hz, 1H), 7.83(d, J = 6.83 Hz, 2H), 7.94(s, 1H);

[0124] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.31, 28.28, 35.05, 36.69, 45.35, 60.36, 61.11, 76.77, 77.19, 77.62, 104.69, 121.33, 124.60, 125.53, 128.07, 129.11, 129.70, 130.04, 130.85, 131.55, 132.00, 136.90, 139.70, 144.38, 149.45, 169.15.

[0125] 실시예 15. *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-2-(4-(2,3,5-트라이클로로페닐술폰닐)피페라진-1-일)아세트아마이드의 합성

[0126] 상기 실시예 10과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (80 mg, 0.225 mmol)을 THF에 녹인 후 TEA (0.063 mL, 0.450 mmol)와 2,3,5-트라이클로로벤젠-1-술폰닐 클로라이드 (80.9 mg, 0.293 mmol)를 THF에 녹인 후 가하여 상온에

서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물 80 mg (63%)을 얻었다.

[0127] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.84(d, *J* = 6.61 Hz, 6H), 1.77~1.81(m, 1H), 2.48(d, *J* = 7.18 Hz, 2H), 2.62(d, *J* = 4.33 Hz, 4H), 3.10(s, 2H), 3.28~3.31(t, *J* = 4.65 Hz, 4H), 4.50(d, *J* = 5.72 Hz, 2H), 6.10(s, 1H), 7.32~7.52(m, 6H) 7.62(s, 1H), 8.10(s, 1H);

[0128] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.63, 28.59, 35.02, 36.94, 46.28, 52.50, 56.15, 56.22, 60.39, 104.82, 110.20, 110.67, 121.64, 125.70, 127.16, 128.13, 129.66, 139.75, 143.84, 149.07, 149.39, 152.79, 169.28.

[0129] 실시예 16. 2-(4-(3-클로로페닐술폰닐)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드의 합성

[0130] 상기 실시예 10과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (57.6 mg, 0.162 mmol)을 THF에 녹인 후 TEA (0.033 mL, 0.243 mmol)와 3-클로로벤젠-1-술폰닐 클로라이드 (46.06 mg, 0.220 mmol)를 THF에 녹인 후 가하여 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물 62 mg (69%)을 얻었다.

[0131] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.82(d, *J* = 6.62 Hz, 6H), 1.72~1.83(m, 1H), 2.46(d, *J* = 7.17 Hz, 2H), 2.60~2.63(t, *J* = 4.74 Hz, 4H), 3.01(s, 4H), 3.05(bs, 2H), 4.45(d, *J* = 5.88 Hz, 2H), 6.08(s, 1H), 7.29~7.32(m, 3H), 7.41~7.47(m, 4H), 7.53~7.55(m, 2H), 7.68(d, *J* = 1.71 Hz, 1H);

[0132] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.35, 28.32, 35.10, 36.75, 45.92, 52.41, 60.38, 61.16, 76.70, 77.12, 77.54, 104.67, 125.56, 125.75, 127.63, 128.08, 129.13, 130.46, 133.14, 135.41, 137.40, 139.77, 144.39, 149.47, 169.19.

[0133] 실시예 17. 2-(4-(3,4-다이메톡시페닐술폰닐)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)아세트아마이드의 합성

[0134] 상기 실시예 10과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (65.3 mg, 0.184mmol)을 THF에 녹인 후 TEA (0.038 mL, 0.275 mmol)와 3,4-다이메톡시벤젠-1-술폰닐 클로라이드 (0.031 mL, 0.220 mmol)를 가하여 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물 65 mg (67%)을 얻었다.

[0135] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.82(d, *J* = 6.62 Hz, 6H), 1.70~1.83(m, 1H), 2.46(d, *J* = 7.17 Hz, 2H), 2.59~2.62(t, *J* = 4.69 Hz, 4H), 3.00(s, 4H), 3.04(bs, 2H), 3.90(d, *J* = 12.39 Hz, 6H), 4.45(d, *J* = 5.93 Hz, 2H), 6.09(s, 1H), 6.91(d, *J* = 8.49 Hz, 1H), 7.16(d, *J* = 2.01 Hz, 1H) 7.29~7.32(m, 4H), 7.41~7.45(m, 3H);

[0136] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 22.34, 28.31, 35.12, 36.72, 45.92, 52.50, 56.15, 56.25, 60.38, 61.19, 76.69, 77.11, 77.54, 104.82, 110.20, 110.67, 121.64, 125.50, 127.16, 128.02, 129.11, 139.75, 144.34, 149.07, 149.54, 152.79, 169.28.

[0137] 실시예 18. *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸-2-(4-(4-(트라이플로로메틸)벤조일)피페라진-1-일)아세트아마이드의 합성

[0138] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (0.234 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.702 mmol)를 가하였다. 그 다음 4-(트라이플로로메틸)벤조일 클로라이드 (0.304 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물을 77% 수율로 얻었다.

[0139] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.67~7.33 (m, 9H), 6.11(s, 1H), 6.04(s, 1H), 4.61(s, 2H), 4.58 (s, 2H), 3.83(b, 4H), 3.28(2H), 3.04(s, 3H), 3.00 (s, 3H), 2.83(b 4H), 2.54~2.44(m, 2H), 1.83~1.70(m, 1H),

0.84～0.80 (m,6H).

[0140] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 169.2, 168.8, 168.7, 148.7, 148.4, 144.5, 144.3, 139.7, 139.6, 131.8, 131.4, 130.0, 129.2, 129.1, 128.2, 127.9, 127.4, 125.6, 125.0, 122.3, 105.3, 104.2, 60.2, 59.9, 53.3, 52.8, 47.4, 44.9, 42.0, 35.1, 34.6, 34.0, 28.3, 28.2, 22.3.

[0141] 실시예 19.

[0142] *N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸-2-(4-(3-(트라이플로로메틸)벤조일)피페라진-1-일)아세트아마이드의 합성

[0143] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (0.234 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.702 mmol)를 가하였다. 그 다음 3-(트라이플로로메틸)벤조일 클로라이드 (0.304 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물을 83% 수율로 얻었다.

[0144] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.66～7.26(m,9H), 6.11(s,1H), 6.05(s,1H), 4.61(s,2H), 4.59(s,2H), 3.83(b,2H), 3.42(b,4H), 3.04(s,3H), 3.01(s,3H), 2.68(b,4H), 3.51～2.43(m,2H), 1.81～1.73(m,1H), 0.84～0.79(m,6H).

[0145] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 168.6, 150.0, 145.5, 143.2, 139.3, 136.5, 130.4, 129.2, 129.1, 128.2, 127.9, 126.5, 125.6, 125.1, 105.3, 104.2, 60.2, 59.8, 47.4, 44.9, 47.9, 44.9, 35.1, 34.6, 34.1, 28.4, 28.2, 22.3.

[0146] 실시예 20. 2-(4-(4-플로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸아세트아마이드의 합성

[0147] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (0.234 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.702 mmol)를 가하였다. 그 다음 4-플로로벤조일 클로라이드 (0.304 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물을 86% 수율로 얻었다.

[0148] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.46～7.32(m, 7H), 7.08～7.03(m, 2H), 6.10(s, 1H), 6.03(s, 1H), 4.60(s, 2H), 4.57(s, 2H), 3.77(b, 4H), 3.37(s, 2H), 3.25(s, 2H), 3.02(s, 3H), 2.98(s, 3H), 2.58(b, 4 H), 2.48～2.43(m, 2H), 1.78～1.71(m, 1H), 0.83～0.79 (m, 6H).

[0149] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 169.4, 168.7, 164.6, 162.1, 148.8, 148.5, 144.5, 144.3, 131.7, 129.4, 129.3, 129.1, 129.0, 128.1, 127.9, 125.7, 125.6, 115.6, 115.4, 105.3, 104.2, 60.4, 60.1, 53.2, 47.4, 44.9, 42.3, 35.1, 34.6, 34.0, 28.4, 28.2, 22.4.

[0150] 실시예 21. 2-(4-(3-플로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸아세트아마이드의 합성

[0151] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (0.234 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.702 mmol)를 가하였다. 그 다음 3-플로로벤조일 클로라이드 (0.304 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물을 83% 수율로 얻었다.

[0152] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.67～7.07(m, 9H), 6.11(s, 1H), 6.04(s, 1H), 4.61(s, 2H), 4.58(s, 2H), 3.81(b, 4H), 3.39(s, 2H), 3.27(s, 2H), 3.04(s, 3H), 3.00(s, 3H), 2.65(b, 4H), 2.55～2.44(m, 2H), 1.81～1.73(m, 1H), 0.84～0.80(m, 6H);

[0153] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 169.3, 168.7, 163.7, 161.2, 148.7, 148.5, 144.3, 139.8, 137.7, 130.3,

129.1, 129.0, 128.1, 127.9, 125.6, 122.6, 116.8, 116.6, 114.4, 114.2, 105.3, 104.2, 60.3, 60.0, 53.3, 47.4, 44.9, 42.0, 35.1, 34.6, 34.0, 28.3, 28.2, 22.3.

[0154] 실시예 22. 2-(4-(3,4-다이클로로벤조일)피페라진-1-일)-*N*-((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)-*N*-메틸아세트아마이드의 합성

[0155] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (0.234 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.702 mmol)를 가하였다. 그 다음 3,4-다이클로로벤조일 클로라이드 (0.304 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물을 80% 수율로 얻었다.

[0156] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.50~7.21(m, 8H), 6.12(s, 1H), 6.05(s, 1H), 4.62(s, 2H), 4.59(s, 2H), 3.80(b, 4H), 3.40(s, 2H), 3.27(s, 2H), 3.04(s, 3H), 3.01(s, 3H), 2.64(b, 4H), 2.57~2.45(m, 2H), 1.82~1.76(m, 1H), 0.85~0.82(m, 6H);

[0157] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 169.26, 168.67, 167.79, 148.80, 148.55, 144.52, 144.37, 139.64, 135.50, 134.10, 133.00, 130.6, 129.3, 129.2, 128.2, 127.9, 126.4, 125.6, 105.3, 104.2, 60.3, 60.1, 53.2, 47.4, 44.9, 42.2, 35.2, 34.6, 34.1, 28.4, 28.3, 22.4.

[0158] 실시예 23. (4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)(4-(트라이플로로메틸)페닐)메탄온의 합성

[0159] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (0.234 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.702 mmol)를 가하였다. 그 다음 4-트라이플로로메틸벤조일 클로라이드 (0.304 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물을 52% 수율로 얻었다.

[0160] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.73~7.26 (m, 9H), 6.1(s, 1H), 3.79(bs, 2H), 3.66(s, 2H), 3.45(bs, 2H), 2.61~2.41(m, 10H), 2.34(s, 3H), 1.85~1.75(m, 1H), 0.85(d, 6H, J = 6.5 8Hz);

[0161] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 168.7, 149.8, 143.8, 139.9, 139.4, 129.0, 127.8, 127.4, 125.7, 125.6, 105.9, 56.2, 55.5, 53.8, 53.0, 47.5, 42.8, 42.0, 28.3, 22.3.

[0162] 실시예 24. (4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)(3-(트라이플로로메틸)페닐)메탄온의 합성

[0163] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (0.234 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.702 mmol)를 가하였다. 그 다음 3-트라이플로로메틸벤조일 클로라이드 (0.304 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물을 95% 수율로 얻었다.

[0164] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.68~7.26 (m, 9H), 6.16(s, 1H), 3.79(bs, 2H), 3.63(s, 2H), 3.46(bs, 2H), 2.66~2.42(m, 10H), 2.34(s, 3H), 1.73~1.77(m, 1H), 0.86(d, 6H, J = 6.61Hz);

[0165] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 168.6, 149.9, 143.8, 139.9, 136.6, 130.3, 129.0, 127.7, 126.4, 125.7, 124.0, 105.9, 56.3, 55.5, 53.1, 47.6, 42.9, 35.2, 28.3, 22.3.

[0166] 실시예 25. (4-플로로페닐)(4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)메탄온의 합성

[0167] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (0.234 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.702 mmol)를 가하였다. 그 다음 4-플로로벤조일 클로라이드 (0.304 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응

하여 목적 화합물을 83% 수율로 얻었다.

[0168] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.50~7.36(m, 7H), 7.11~7.06(m, 2H), 6.18(s, 1H), 3.76(bs, 2H), 3.66(s, 2H), 3.43(bs, 2H), 2.63~2.49(m, 8H), 2.37(s, 3H), 2.04(b, 2H), 1.84~1.79(m, 1H), 0.85(d, 6H, *J* = 3.18 Hz);

[0169] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 167.6, 149.0, 143.85, 136.5, 129.4, 129.3, 129.0, 127.8, 125.7, 115.6, 115.4, 106.0, 56.1, 55.3, 53.7, 42.7, 35.2, 29.7, 28.3, 22.4.

[0170] 실시예 26. (3-플로로페닐)(4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)메탄온의 합성

[0171] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (0.234 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.702 mmol)를 가하였다. 그 다음 3-플로로벤조일 클로라이드 (0.304 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물을 68% 수율로 얻었다.

[0172] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.52~7.11(m, 9H), 6.17(s, 1H), 3.78(bs, 2H), 3.63(s, 2H), 3.47(bs, 2H), 2.62~2.40(m, 10H), 2.35(s, 3H), 1.85~1.75(m, 1H), 0.86(d, 6H, *J* = 6.60 Hz);

[0173] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 168.7, 149.9, 143.8, 139.9, 137.8, 130.3, 129.0, 127.7, 125.7, 122.7, 116.7, 116.5, 114.4, 114.2, 105.9, 56.3, 55.5, 53.9, 53.1, 47.6, 42.1, 35.2, 28.3, 22.4.

[0174] 실시예 27. (3,4-다이클로로페닐)(4-(2-(((5-아이소부틸-1-페닐-1*H*-피라졸-3-일)메틸)(메틸)아미노)에틸)피페라진-1-일)메탄온의 합성

[0175] 상기 실시예 1과 같은 방법으로 피페라진 화합물 (0.234 mmol)을 THF에 녹인 후, TEA (0.702 mmol)를 가하였다. 그 다음 3,4-다이클로로벤조일 클로라이드 (0.304 mmol)를 천천히 가하면서 상온에서 2시간 동안 반응하여 목적 화합물을 72% 수율로 얻었다.

[0176] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.50~7.24(m, 8H), 6.16(s, 1H), 3.75(bs, 2H), 3.62(s, 2H), 3.47(bs, 2H), 2.66~2.39(m, 10H), 2.34(s, 3H), 1.86~1.79(m, 1H), 0.86(d, 6H, *J* = 6.61 Hz);

[0177] ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 167.7, 149.9, 143.8, 139.9, 134.0, 132.9, 130.5, 129.2, 129.0, 127.8, 126.4, 125.7, 105.9, 56.3, 55.5, 53.9, 53.0, 47.9, 42.9, 42.2, 35.2, 28.3, 22.4.

[0178] [제제예]

[0179] 한편, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 신규 화합물은 목적에 따라 여러 형태로 제제화가 가능하다. 다음은 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 제제화 방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0180] 제제 1 : 정제(직접 가압)

[0181] 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후, 락토스 14.1 mg, 크로스포비돈 USNF 0.8 mg 및 마그네슘 스테아레이트 0.1 mg을 혼합하고 가압하여 정제로 만들었다.

[0182] 제제 2 : 정제(습식 조립)

[0183] 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후, 락토스 16.0 mg과 녹말 4.0 mg을 섞었다. 폴리솔베이트 80 0.3 mg을 순수한

물에 녹인 후 이 용액의 적당량을 첨가한 다음, 미립화하였다. 건조 후에 미립을 체질한 후 콜로이달 실리콘 디옥사이드 2.7 ㎎ 및 마그네슘 스테아레이트 2.0 ㎎과 섞었다. 미립을 가압하여 정제로 만들었다.

[0184] 제제 3 : 분말과 캡슐제

[0185] 활성성분 5.0 ㎎을 체로 친 후에, 락토스 14.8 ㎎, 폴리비닐 피롤리돈 10.0 ㎎, 마그네슘 스테아레이트 0.2 ㎎와 함께 섞었다. 혼합물을 적당한 장치를 사용하여 단단한 No. 5 젤라틴 캡슐에 채웠다.

[0186] 제제 4 : 주사제

[0187] 활성성분으로서 100 ㎎을 함유시키고, 그 밖에도 만니톨 180 ㎎, $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 26 ㎎ 및 증류수 2974 ㎎를 함유시켜 주사제를 제조하였다.

[0188] [실험예]

[0189] 한편, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 신규화합물을 다음에서와 같이 T-형 칼슘채널에 대한 길항작용에 대해 테스트를 하였다. 합성된 화합물을 다음 실험예의 방법으로 FDSS6000를 이용하여 T-형 칼슘채널에 대한 %억제율을 구하고 여기에 효과가 좋은 화합물을 중심으로 자동 패치클램프를 이용하여 IC_{50}를 구하였다.

[0190] 실험예 1: FDSS6000을 이용한 T-형 칼슘채널 활성검색 방법

[0191] 활성 검색 12 시간 내지 24 시간 전에 폴리-L-라이신 (0.05 ㎎/㎖)으로 처리된 96-웰 플레이트에 96-웰 세포 분배기 (Titertek 제품)를 이용하여 α1G T-형 칼슘채널과 Kir2.1이 안정적으로 발현되어 있는 HEK293 세포주 (α1G 세포주: KCTC 10519BP, 한국생명공학연구원 유전자은행)의 세포를 한 웰당 4×10^4 밀도로 분주해 주었다.

실험 당일 96-웰 플레이트에 부착된 세포들은 96-웰 플레이트 자동 세척 기기 (Bio Tek)를 이용하여 HEPES 완충용액 (단위 mM: 150 NaCl, 5 KCl, 1 $MgCl_2$, 2 $CaCl_2$, 10 HEPES, 10 글루코스, pH 7.4)으로 3회 세척한 후 5 μM 플루오-3/AM과 0.001% 플루로닉 (Pluronic) F-127을 포함하는 HEPES 완충용액의 실온 조건에서 1 시간 반응시켜 형광 염료로 표지한 후 HEPES 완충용액으로 다시 2 회 세척하였다. 그 후 FDSS6000 기기 측정 10분 전에 10 mM $CaCl_2$을 포함하는 HEPES 완충용액으로 1회 씻고 최종 부피를 81 μL로 조정하였다. 세포가 준비된 96-웰 플레이트와는 별도로 T-형 칼슘 채널을 활성화시킬 KCl (최종농도 75 mM)과 차단제 약물을 포함할 2개의 96-웰 약물 플레이트를 준비하였다. 대부분의 세포기반 HTS 기기의 경우 약물 주입에 필요한 액체 애플리케이션 시스템은 있지만 액체 흡입 시스템은 없기 때문에 검색하고자 하는 차단제 약물 및 KCl을 5 배의 고농도로 10 mM $CaCl_2$ HEPES 완충용액에 27 μL씩 준비하여 세포 플레이트의 최종 부피인 135 μL에서 1/5 로 희석하여 측정하였다. 구체적인 FDSS6000 측정조건으로는 20초의 기준 수치 기록 후 75초간의 약물 전처리 후 KCl 투여에 의해 변화되는 세포내 칼슘농도 변화를 측정한 것으로, 시험물질을 처리하지 않은 대조군에서의 340/380 비율값의 면적을 100%로 잡고, 시험물질의 억제 효과에 대한 백분율(%) 억제효과를 구하였고, 항상 10 μM의 미베프라딜을 대조약물로 사용하였다.

[0192] 자세한 칼슘 영상화 기술로는 FDSS6000에 장착된 크세논 램프 4개의 광원을 비추어 컴퓨터 제어 필터 휠 (computer-controlled filter wheel)에 의해 여기 파장 (340 nm 및 380 nm)을 선택적으로 세포에 노출시켰다.

매 1.23초 간격으로 데이터를 얻었으며 515 nm 고대역 통과 여파기 (long-pass filter)를 통과하여 들어온 방출 형광 (emitter fluorescence light)은 기기안에 내장된 냉각 CCD 카메라를 지나 디지털 형광 분석기에 의해 96-웰 상에서의 웰 각각에 대해 평균 340/380의 비율값으로 얻었다. 모든 영상 데이터와 분석은 하마마쯔 포노닉스 (Hamamatsu Photonics)에서 제공된 FDSS6000 전용 프로그램을 이용하였다.

[0193] 본 발명에 따른 신규 화합물의 T-형 칼슘채널에 대한 칼슘이동의 %억제율 결과는 하기 표 1에 나타내었다.

[0194] 시험예 2: hERG 칼륨 이온 채널 저해효능 시험

[0195] hERG가 안정적으로 발현된 HEK-hERG 세포주 (IonGate Biosciences, Frankfurt, Germany사)를 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Sigma사, St. Louis, MO, USA)에 10% 소 태아혈청 (fetal bovine serum; FBS, Cambrex, Walkersville, MD, USA), 0.5 mg/mL 제오신 (zeocin, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 첨가하여 배양하였다. 사용된 모든 세포주는 배양 5일 후 80% 정도 배양 플라스크를 덮었을 때 계대 배양하였다.

[0196] 칼륨 이온 전류의 측정을 위해 사용된 전극 내 용액의 조성은 115 mM K-아스파르테이트 (aspartate), 20 mM KCl, 10 mM EGTA, 10 mM HEPES, 2.5 mM 트리스-포스포크레아틴 (tris-phosphocreatine), 0.1 mM Na_2GTP 및 5 mM $MgCl_2$ (pH 7.2, 290 mOsm/Kg H_2O)로 하였고, 세포 외 관류액의 조성은 135 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM $MgCl_2$, 2 mM $CaCl_2$, 10 mM 글루코스 (glucose), 및 10 mM HEPES (pH 7.2, 300 mOsm/Kg H_2O)로 하였다.

[0197] 시험 화합물은 세포외 관류액으로 원하는 농도로 희석하여 사용하였다. 약물은 7-어레이 폴리에틸렌 튜브 (7-array polyethylene tube)와 연결된 가스크로마토그래피용 모세관 끝을 HEK-hERG 세포주의 100 ㎛ 이내에 위치하도록 하여 중력에 의해 가해지도록 하였다.

[0198] 칼륨 이온 전류의 측정은 EPC10 (Instrutech Co., NY, USA) 패치 클램프 증폭기 (patch clamp amplifier)를 사용한 전형적인 전세포 파열 패치 클램프 (whole-cell patch clamp) 방법을 이용하였다. 또한 전극으로는 보로실리케이트 유리 모세관 (borosilicate glass capillary, 외경: 1.65 mm, 내경: 1.2 mm, Corning 7052, Garner Glass Co.,사 Claremont, CA, USA)을 P-97 플레이밍-브라운 마이크로피펫 풀러 (P-97 Flaming-Brown micropipette puller, Sutter Instrument Co.사)로 제작하여 사용하였다. 상기 전극은 실가드 184 (Sylgard 184, Dow Corning사, Midland, MI, USA)로 코팅하여 마이크로퍼지 (microforge, Narishige사, Tokyo, Japan)로 다듬은 후, 전극 내부에 용액을 채웠을 때 저항이 2 내지 3 MΩ이 되는 것을 사용하였다. 세포가 들어있는 배양접시 (culture dish)를 도립현미경 (inverted microscope, Nikon사) 위에 올려놓고, 시험 화합물이 포함된 세포외 관류액을 1~2 mL/min 속도로 관류하였다. 세포막의 전기용량 (membrane capacitance)과 직렬저항 (series resistance)을 80% 이상 보정하였으며, 실험시 샘플링율 (sampling rate)은 2 kHz로, 패스필터 (lowpass filter)는 2 kHz (-3 dB; 8-pole Bassel filter)로 하여 칼륨 이온 전류를 측정하였다. 모든 실험은 실온 (21~24 ℃)에서 시행하였다.

[0199] 실험 결과는 Pulse/Pulsefit (v9.0, HEKA Elcktronik, Lambrecht, Germany)과 Igor 매크로를 이용하여 분석하였다. 모든 결과는 평균 ± 표준오차로 표시하였다. 농도반응 곡선을 구한 경우 Hill 공식 [Block = $(1+IC_{50}/[drug]^n)^{-1}$]으로 계산하여 이온전류를 50% 만큼 억제하는 농도 (IC_{50})를 산출하였다. 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

[0200]

실험화합물	FDSS a_{1G}		FDSS a_{1H}		hERG IC_{50} (μM)
	10 μM	1 μM	10 μM	1 μM	
화합물번호 1	82.25	13.68	76.66	28.68	8.40±0.50
화합물번호 2	67.31	13.38	64.80	5.09	14.25±1.89
화합물번호 3	80.43	30.34	74.48	15.68	8.23±1.05
화합물번호 4	69.59	18.93	64.95	11.87	3.04±0.71
화합물번호 5	81.74	14.83	72.77	8.53	2.07± 0.23
화합물번호 6	69.86	5.84	60.57	12.59	3.07±0.56
화합물번호 7	72.57	12.88	61.34	11.59	5.00±0.67
화합물번호 8	73.65	16.55	62.47	11.76	8.58±0.71
화합물번호 9	76.74	15.92	72.86	17.51	2.80±0.51
화합물번호 10	75.30	21.66	66.31	18.38	12.67±1.20
화합물번호 11	61.32	16.57	45.83	6.82	7.53±1.02
화합물번호 12	69.23	9.76	58.46	9.04	14.33±2.03
화합물번호 13	69.51	8.55	60.38	7.23	2.66±0.37
화합물번호 14	42.34	17.59	36.78	4.54	-
화합물번호 15	18.73	14.71	19.96	17.47	-
화합물번호 16	44.16	8.02	40.48	11.82	-
화합물번호 17	13.33	7.20	3.91	10.28	-
화합물번호 18	83.89	20.40	79.87	12.49	1.43±0.34
화합물번호 19	81.68	18.66	74.76	11.96	6.68±0.56

화합물번호 20	66.99	18.91	71.44	15.48	6.03±0.64
화합물번호 21	67.51	23.13	63.89	14.49	16.75±2.81
화합물번호 22	86.35	23.97	78.76	25.30	6.90±0.661
화합물번호 23	74.48	16.81	71.68	18.94	0.61±0.02
화합물번호 24	80.23	28.44	74.19	23.45	0.69±0.02
화합물번호 25	64.88	11.53	66.85	12.49	0.26±0.02
화합물번호 26	63.37	12.29	63.20	11.83	0.28±0.02
화합물번호 27	71.89	8.76	61.83	9.20	0.38±0.03

[0201]

[0202]

산업상 이용가능성

[0203] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 신규 피라조일 피페리딘 화합물은 T-형 칼슘채널에 길항작용을 하여 심장질환, 암, 간질, 신경성 통증등과 관련 질병의 예방 또는 치료제로서 유용하게 사용될 수 있다.