



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

약학석사 학위논문

5-Membered Heterocycle계  
C-region을 갖는  
Benzimidazolone Acetamide 계  
TRPV1 Antagonist 개발 연구

Discovery of 5-Membered heterocycle  
C-region analogs of Benzimidazolone  
Acetamide as potent TRPV1 Antagonists

2021년 8월

서울대학교 대학원

약학과 약품화학 전공

정진주

5-Membered Heterocycle계  
C-region을 갖는  
Benzimidazolone Acetamide 계  
TRPV1 Antagonist 개발 연구

Discovery of 5-Membered heterocycle  
C-region analogs of Benzimidazolone Acetamide as potent  
TRPV1 Antagonists

지도교수 이 지 우

이 논문을 약학석사 학위논문으로 제출함  
2021년 7월

서울대학교 대학원  
약학과 약품화학 전공  
정 진 주

정 진 주의 약학석사 학위논문을 인준함  
2021년 7월

위 원 장 \_\_\_\_\_

부위원장 \_\_\_\_\_

위 원 \_\_\_\_\_

# 초 록

Transient receptor potential (TRP) channel은 뉴런, 피부, 심장, 호흡기관, 신장 등 다양한 조직에서 다양한 수준으로 발현되어 있는 비선택적 양이온 채널로, TRPV1 기능의 억제를 통해 정상적인 감각은 유지하면서도 부적절한 통증 인식을 선택적으로 차단할 수 있어 진통제 개발의 타겟으로 각광받고 있다. 특히 낮은 효능 및 부작용으로 인해 전문치료제의 개발이 절실한 신경병성 통증, 만성 통증의 주요 치료인자로 주목받고 있다.

TRPV1 길항제(antagonist)는 capsaicin, pH, heat, 내인성인자에 의한 수용체 활성화를 억제하여 통증, 소양, 작열감과 같은 해로운 자극의 전달을 저해한다. TRPV1 길항제는 효현제가 유발하는 작열감, 초기 통증과 같은 강한 자극성의 부작용이 없어 경구 투여 제제로 개발이 가능한 장점을 가지고 있으나, (1) 이상고열 (hyperthermia) (2) 열역치 (heat threshold) 증가 (3) 난용성 (poor solubility) (4) 종특이성 (species-related difference)이 극복해야할 난제이다.

본 연구에서는 선행연구를 통해 도출한 화합물의 C-region에 pyrazole과 thiazole 유도체를 도입한 신규 화합물의 구조-활성 상관관계 분석을 통해, 우수한 길항작용을 보이며, human과 rat의 중간 활성 차이가 적은 TRPV1 길항제 선도 물질을 도출하고자 하였다.

**주요어** : TRPV1, 길항제, 중간 활성 차이, 이상고온현상  
**학 번** : 2019-23968

# 목 차

1. 서론.....	1
1.1. 신경병증성 통증.....	1
1.2. TRPV1 channel.....	2
2. 본론.....	4
2.1. TRPV1 antagonist 디자인.....	4
2.2. 합성.....	5
2.2.1. C-region 중간체 합성.....	5
2.2.2. A-region 중간체 합성.....	8
2.2.3. Final compound의 합성.....	9
2.3. 생물학적 활성 평가.....	10
2.3.1. In vitro test.....	10
2.3.2. In vivo test.....	13
2.3.3. DMPK test.....	14
2.3.4. In vitro Toxicity test.....	18
2.3.5. 영장류 시험.....	20
3. 결론.....	22
4. Experimental data.....	23
4.1. General procedure.....	23
4.2. Spectra data.....	25
참고문헌.....	41
Abstract.....	42

## Table 목차

Table 1. pyrazole type 화합물의 Capsaicin antagonism 결과.....	11
Table 2. thiazole type 화합물의 Capsaicin antagonism 결과.....	12
Table 3. pH antagonism 결과.....	13
Table 4. in vivo efficacy 결과.....	14
Table 5. PAMPA-BBB 결과.....	15
Table 6. PAMPA-BBB 결과.....	16
Table 7. Plasma stability 결과.....	16
Table 8. Plasma Protein Binding 결과.....	17
Table 9. Liver microsomal stability 결과.....	17
Table 10. CYP inhibition 결과.....	17
Table 11. In vitro MN test 결과.....	19
Table 12. Ames test 결과.....	20
Table 13. Monkey body temperature 결과.....	21
Table 14. Monkey 효능 평가 결과.....	21
Table 15. Monkey PK 결과.....	21

## Figure 목차

Figure 1. TRPV1 channel의 구조 및 신호 전달.....	2
Figure 2. TRPV1 길항제 디자인.....	4
Figure 3. FLIPR assay.....	10

## Scheme 목차

Scheme 1. Synthesis of pyrazole intermediate 30-41.....	5
Scheme 2. Synthesis of pyrazole intermediate 52-54.....	5
Scheme 3. Synthesis of pyrazole intermediate 67-69.....	6
Scheme 4. Synthesis of pyrazole intermediate 75.....	6
Scheme 5. Synthesis of pyrazole intermediate 81.....	7
Scheme 6. Synthesis of thiazole intermediate 88-93.....	7
Scheme 7. Synthesis of thiazole intermediate 173-202.....	8
Scheme 8. Synthesis of thiazole intermediate 218-223.....	8
Scheme 9. Synthesis of A-region intermediate 229.....	9
Scheme 10. Synthesis of final compound 230-296.....	9

# 1. 서론

## 1.1. 신경병증성 통증

신경병증성 통증(Neuropathic pain)이란 신경계의 손상, 기능적 이상으로 인한 일차적 병변 또는 신경기능 변화에 의해 초래되는 통증 질환을 의미한다. 이는 외상 또는 손상에 의해 나타날 수 있고, 당뇨병성 신경병증의 경우에는 대사성에 문제로, 뇌졸중 후 중추성 통증은 혈관성의 문제, 다발 경화증은 면역매개성의 문제 등 다양한 원인이 있다.

신경병증성 통증의 증상으로는, 지속적으로 화끈거리거나, 저린 통증, 간헐적으로 나타나는 날카로운 통증이 나타날 수 있고, 가벼운 자극에도 통증을 느끼는 이질통, 같은 자극에도 더 예민하게 느끼는 통각과민(hyperalgesia)을 동반한다.

이러한 신경병증성 통증은 말초적 및 중추적 기전이 복합하여 작용 하고 있다. 말초적 기전으로는 일차성 구심섬유(primary afferent neuron)와 후근신경절(dorsal root ganglion)에서  $\text{Na}^+$  통로 유전자의 표현 변화에 의해  $\text{Na}^+$  통로가 비정상적으로 변하고, 따라서 후근신경절의 전기생리학적 변화를 초래하여 나타난다.

말초신경이 손상되면, 중추신경계에 일차성 구심섬유의 척수후각에 종말부의 구조 변화, A-섬유의 척수 후각에 발아 등의 변화가 일어나게 된다.

전 세계 인구의 약 7~10 % 정도가 만성통증을 가진다고 알려져 있고 특히 앞서 말했듯, 신경병증성 통증에는 그 종류와 원인이 다양하게 나타나기 때문에 치료제의 개발이 절실하다. 이와 같은 이유로 2022년, 신경병증성 통증 치료제 시장이 35억 3,000만 달러 규모로 확대될 것이라 전망된다.

신경병증성 통증은 일반 통증과는 달리 근본적인 병의 해결이 우선시된다. 마약성 진통제로는 조절되지 않고, 현재 말초 및 중추 신경에서의 이온 통로 활성화도 조절을 통한 치료, 내인성 억제 기전의 보강 등이 사용되어오고 있다. 하지만 최종 진통제로 주로 쓰이는 아편(Opioid) 계열의 약은 마약성을 가지고 있는 등의 부작용이 존재한다. 또한 현재 발매 중인 약물들의 상당수가 통증 완화의 측면에서는 어느 정도의 효과를 나타내지만, 효능 및 안정성, 약물 전달, 복용의 편의성 등에는 아직 개선되어야 할 여지가 많다.

따라서 많은 제약기업들이 여전히 충족되지 못한 부분들을 타겟으로 한 신경병증성 통증 치료제를 개발 중에 있고, 그 중 TRPV1은 기능의 억제를 통해 정상적인 감각은 유지하면서도 부적절한 통증 인식을 선택적으로 차단할 수 있어 진통제 개발의 타겟으로 각광받고 있다

## 1.2. TRPV1 channel

통증 연구 분야에 있어 활발한 연구가 진행되어 오고 있는 Transient Receptor Potential (TRP) channel은 뉴런, 심장, 피부, 호흡기관, 신장 등 다양한 조직에 다양한 수준으로 발현되어 있으며, 30개 이상의 종류가 있고, 크게 6개의 subfamily로 분류한다.

그 중에서 Transient Receptor Potential Vanilloid 1 (TRPV1)은 primary sensory neuron에 발현되어 있다. TRPV1을 이루는 peptide chain의 N-terminal과 C-terminal이 모두 세포 안쪽에 위치하고, 5번과 6번 domain 사이에 이온이 통과할 수 있는 pore가 존재하고 있다.

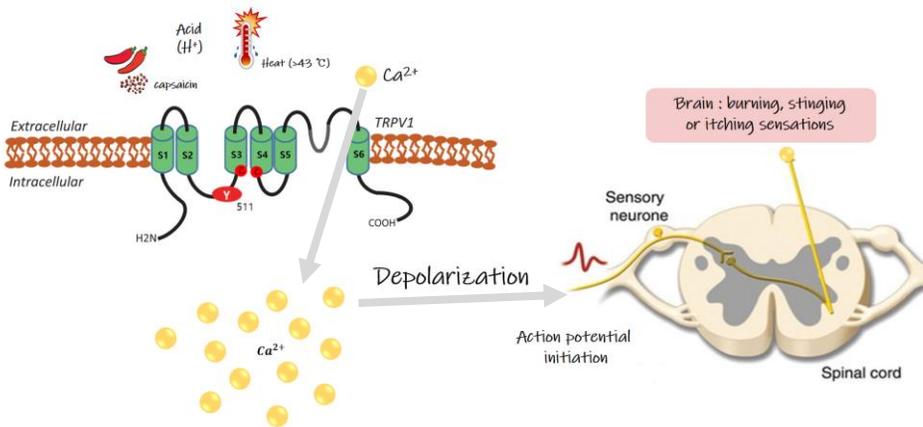


Figure 1. TRPV1 channel의 구조 및 신호 전달

TRPV1은 capsaicin, RTX와 같은 vanilloid 계열 화합물뿐만 아니라, 낮은 pH, 높은 열 등을 통해 활성화되는 비선택적 양이온 채널이다. 이와 같이 다양한 통증 유발 물질에 의해 channel이 활성화되면,  $\text{Ca}^{2+}$ 과 같은 양이온이 유입되어 세포막이 탈분극 되고, 역치에 도달하면 발생하는 활동 전위에 의해 중추신경계가 통증을 인지하게 된다.

TRPV1을 타겟으로 하는 진통제 개발 연구는 효현제 (agonist)와 길항제 (antagonist)로 분류할 수 있다.

효현제의 경우에는 앞서 설명한 리간드들과 마찬가지로 수용체와 결합하여 활성화시키고, 양이온이 세포 내로 유입되지만, 세포 막 내부의 칼슘 이온 농도가 증가하며 수용체의 감도가 떨어져 효능제의 효과가 차단된다. 하지만 효현제의 경우에는 전신 부작용의 문제가 있고, 초기 작열감과 같은 강한 자극성으로 인해 토피칼 제제로 주로 개발이 이루어지고 있다.

반면 길항제는 통증 유발 물질과 경쟁적으로 수용체 활성화를 억제하여 통증 자극의 전달을 억제함으로써 진통 억제 효과를 나타내고, 강한 자극성으로 인해 경구 투여제로의 개발이 어려운 효현제와 달리 길항제는 경구 투여제로의 개발이 가능한 장점을 가진다.

하지만 다수의 길항제에서 나타난 이상고온현상(hyperthermia)과 종특이성(species-related difference), 난용성(poor solubility), 열 역치(heat threshold) 증가 등이 극복해야 할 난제이다.

열 역치가 증가되면, 열에 대한 감각이 저하되기 때문에 화상의 위험이 증가된다. 또한 이상고온현상의 부작용은 현재까지 알려진 여러 TRPV1 길항제에서 보고된 바 있다. 이는 full pH inhibition을 나타내는 길항제에서 공통적으로 나타났다.

따라서 capsaicin에 대해서는 완벽한 진통 효과를 나타내면서, pH에 의한 TRPV1 활성화 차단은 부분적으로 (20~80 %) 나타내는 화합물을 도출하는 것을 목표로 연구를 수행하였다.

## 2. 본론

### 2.1. TRPV1 antagonist 디자인

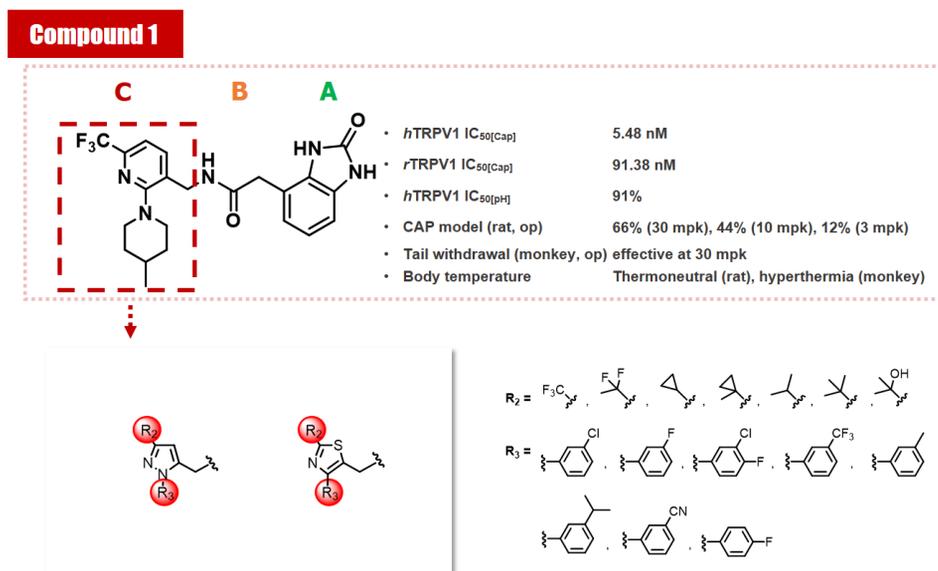


Figure 2. TRPV1 길항제 디자인

본 연구의 선행 도출 화합물은 compound 1은 *in vitro*와 *in vivo*에서 모두 우수한 효능을 나타내었지만, 설치류와 영장류간의 중간 차이를 보였고, pH 저해 농도 실험에서 91.99 %를 나타냈다. 선행 연구 결과, full pH antagonism이 발열과 관계 있음이 확인되었고, 따라서 compound 1은 발열 부작용도 확인 되었다.

따라서 본 연구에서는 compound 1의 optimization을 통해 효능은 높이지만 발열 문제를 해결하고, 중간차이 역시 줄이는 것을 목표로 신규 화합물을 디자인하였다.

Compound 1을 A, B, C region을 구체화 하였고, 이 중에서 C-region의 optimization을 진행하였다. C-region의 골격을 pyrazole, thiazole로 하고, R<sub>2</sub>(CF<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub>Me, cyclopropyl, methyl cyclopropyl, iso-propyl, tert-butyl, hydroxy dimethyl)와 R<sub>3</sub>(3-chlorophenyl, 3-fluorophenyl, 3-chloro-4-fluorophenyl, 3-trifluoromethylphenyl, 3-methylphenyl, 3-isopropylphenyl, 3-cyanophenyl, 4-fluorophenyl)에 다양한 치환기를 도입한 신규 화합물 67종을 디자인하였다.

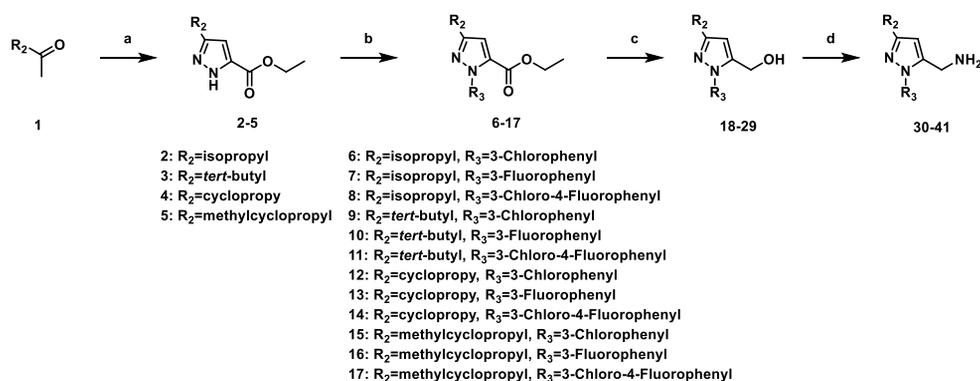
## 2.2. 합성

### 2.2.1. C-region 중간체 합성

#### 2.2.1.1. Pyrazole type의 중간체 합성

Acetyl기에 R<sub>2</sub>가 도입된 화합물을 시작물질로 하여, hydrazine을 이용해 pyrazole ester를 합성하고, Lam-Chan coupling을 통해 R<sub>3</sub>를 도입하였다. 이후 LAH로 환원하였고, amination을 통해 중간체를 합성하였다. (Scheme 1.)

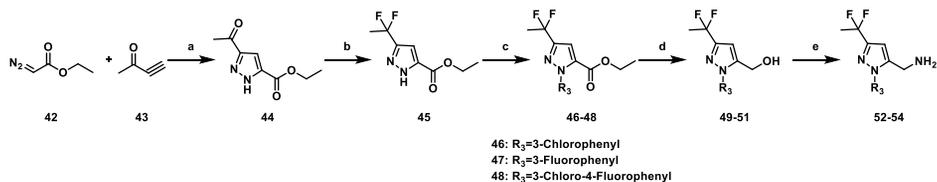
Scheme 1.



**Reactions and Conditions :** (a) i)  $\gamma$ -BuOK, diethyloxalate, THF, N<sub>2</sub>(g), r.t., overnight ii) AcOH, NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, reflux, 5h; (b) R<sub>3</sub>-boronic acid, Cu(OAc)<sub>2</sub>, pyridine, DCM, r.t., overnight; (c) LAH, THF, r.t., 30 min; (d) i) SOCl<sub>2</sub>, DCM r.t., 5 h ii) NH<sub>4</sub>OH, ACN, 35 °C, overnight

R<sub>2</sub>에 CF<sub>2</sub>Me이 도입된 중간체는 구입이 가능한 ethyl 2-diazoacetate와 but-3-yn-2-one을 이용하여 acetyl기가 도입된 pyrazole ester를 합성하였고, Deoxo-Fluor를 이용해 acetyl기를 CF<sub>2</sub>Me로 치환하였다. 이후 Lam-Chan coupling을 통해 R<sub>3</sub>를 도입하고, LAH로 환원하였고, amination을 통해 중간체를 합성하였다. (Scheme 2.)

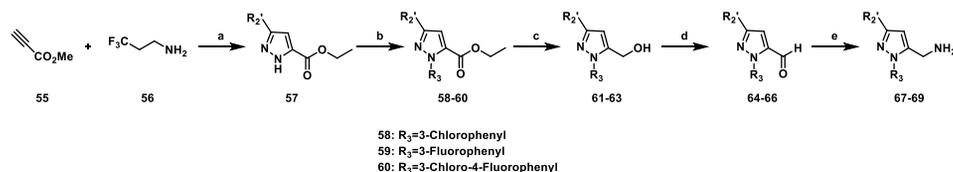
Scheme 2.



**Reactions and Conditions :** (a) InCl<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, r.t., 3h; (b) Deoxo-Fluor, DCM, r.t., overnight; (R<sub>2</sub>=CF<sub>2</sub>Me) ; (c) R<sub>3</sub>-boronic acid, Cu(OAc)<sub>2</sub>, pyridine, DCM, r.t., overnight; (d) LAH, THF, r.t., 30 min; (e) i) SOCl<sub>2</sub>, DCM r.t., 5 h ii) NH<sub>4</sub>OH, ACN, 35 °C, overnight

R<sub>2</sub>에 CF<sub>3</sub>가 도입된 중간체는 구입이 가능한 methyl propiolate와 3,3,3-trifluoropropan-1-amine을 이용하여 pyrazole ester를 합성하였다. 이후 Lam-Chan coupling을 통해 R<sub>3</sub>를 도입한 후, LAH로 환원하였고, MnO<sub>2</sub>를 이용해 aldehyde로 산화 후, amination을 통해 중간체를 합성하였다. (Scheme 3.)

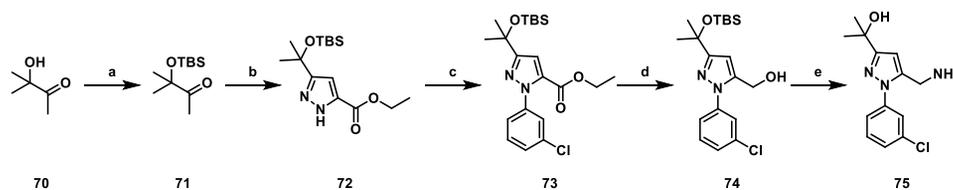
Scheme 3.



**Reactions and Conditions :** (a) NaNO<sub>2</sub>, DCM, 0°C 1h to r.t., overnight; (R<sub>2</sub>'=CF<sub>3</sub>) (b) R<sub>3</sub>-boronic acid, Cu(OAc)<sub>2</sub>, pyridine, DCM, r.t., overnight; (c) LAH, THF, r.t., 30 min; (d) MnO<sub>2</sub>, toluene, 80 °C, 1h; (e) i) SOCl<sub>2</sub>, DCM r.t., 5 h ii) NH<sub>4</sub>OH, ACN, 35 °C, overnight

구입이 가능한 3-hydroxy-3-methylbutan-2-one에 TBS로 protection하고, diethyloxalate를 이용해 pyrazole ester를 합성하였다. 이후 Lam-Chan coupling을 통해 R<sub>3</sub>를 도입한 후, LAH로 환원하였고, amination을 통해 중간체를 합성하였다. (Scheme 4.)

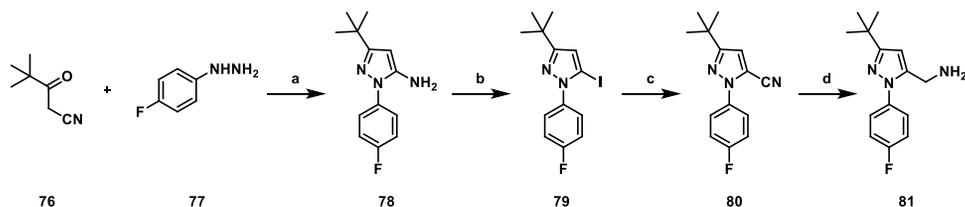
Scheme 4.



**Reactions and Conditions :** (a) TBSCl, imidazole, DMF, 100 °C, overnight; (b) i) *t*-BuOK, diethyloxalate, THF, N<sub>2</sub>(g), r.t., overnight ii) AcOH, NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O, reflux, 5h; (c) (3-chlorophenyl)-boronic acid, Cu(OAc)<sub>2</sub>, pyridine, DCM, r.t., overnight; (d) LAH, THF, r.t., 30 min; (e) i) SOCl<sub>2</sub>, DCM r.t., 5 h ii) NH<sub>4</sub>OH, ACN, 35 °C, overnight

R<sub>2</sub>에 *t*-butyl, R<sub>3</sub>에 4-fluorophenyl기가 도입된 중간체는 구입 가능한 4,4-dimethyl-3-oxopentanenitrile과 (4-fluorophenyl)hydrazine을 이용하여 amine을 합성하고, iodination, cyanation, reduction을 거쳐 중간체를 합성하였다. (Scheme 5.)

Scheme 5.

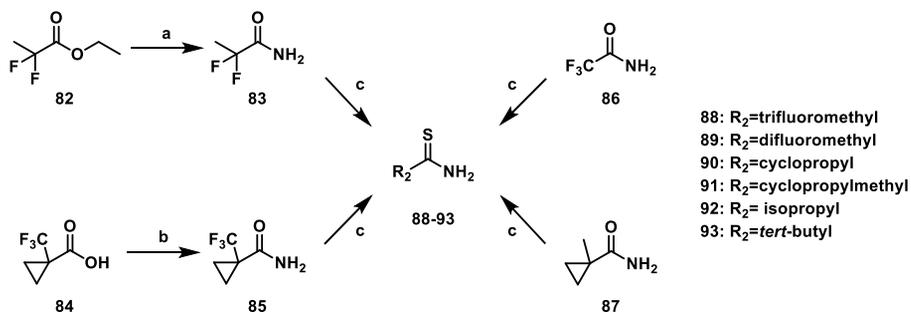


**Reactions and Conditions :** (a) EtOH, 0 °C, 30 min to reflux, overnight; (b) CuI, ACN, *t*-BuONO, r.t. 1h to 65 °C, overnight; (c) Zn(CN)<sub>2</sub>, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, reflux, overnight; (d) LAH, THF, r.t., 30 min

### 2.2.1.2. Thiazole type의 중간체 합성

Thiazole 중간체 합성에 필요한 thioamide의 합성은 R<sub>2</sub>가 도입된 amide로부터 Lawesson's reagent를 이용하였다. R<sub>2</sub>가 CF<sub>2</sub>Me인 경우에는, 구입 가능한 ethyl 2,2-difluoropropanoate으로부터, R<sub>2</sub>가 CF<sub>3</sub>-cyclopropyl인 경우에는 구입 가능한 1-(trifluoromethyl)cyclopropane-1-carboxylic acid로부터 amination을 진행하여 합성하였다. (Scheme 6.)

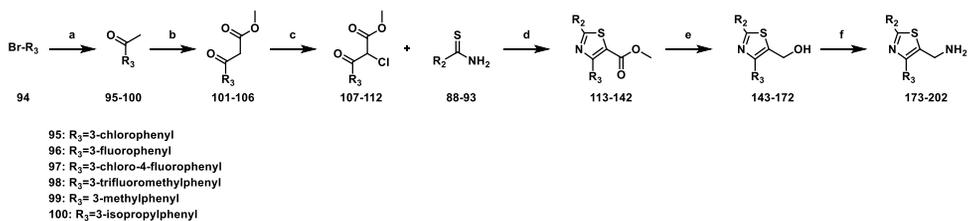
Scheme 6.



**Reactions and Conditions :** (a) NH<sub>3</sub> in MeOH, reflux, overnight; (b) i) SOCl<sub>2</sub>, toluene, r.t., 5h ii) NH<sub>4</sub>OH, r.t., overnight; (c) Lawesson's reagent, THF or Toluene, 80 °C, 2h

구입 가능한 R<sub>3</sub>-Br에 acetyl기를 도입하고, dimethylcarbonate를 이용하여 ester로 전환 후, Chlorine을 α-carbon에 도입하였다. 이후 thioamide와 반응하여 thiazole 골격을 합성하였고, LAH reduction, amination을 거쳐 amine 중간체를 합성하였다. (Scheme 7.)

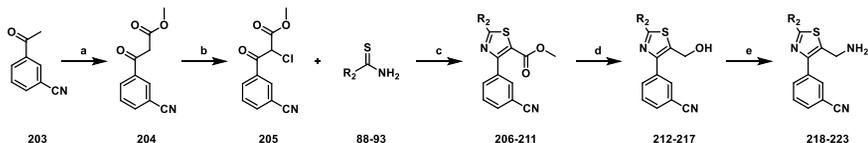
## Scheme 7.



**Reactions and Conditions :** (a) i) THF, n-BuLi,  $\text{N}_2(\text{g})$ ,  $-78^\circ\text{C}$ , 30 min ii) N,N-dimethoxyacetamide,  $0^\circ\text{C}$ , 1h ( $\text{R}_2=\text{CF}_2\text{Me}$ ,  $\text{R}_3=\text{isopropylbenzene}$ ); (b) dimethyl carbonate, NaH, THF,  $50^\circ\text{C}$ , overnight; (c) sulfonyl chloride, chloroform, reflux, overnight; (d) TEA, ACN, r.t., 1 h or MeOH or *i*-PrOH:BuOH(1:1), reflux, overnight; (e) LAH, THF or ether, r.t., 30 min - 2h; (f) i)  $\text{SOCl}_2$ , DCM, r.t., 2h - overnight ii)  $\text{NH}_4\text{OH}$ , ACN,  $35\text{-}60^\circ\text{C}$ , overnight

$\text{R}_3$ 에 3-cyanophenyl이 도입된 화합물의 경우, 구입 가능한 3-acetylbenzonitrile에 dimethylcarbonate를 이용하여 ester를 합성하였다. 이후 Chlorine을  $\alpha$ -carbon에 도입 하고, thioamide와 반응하여 thiazole 골격을 합성하였고, LAH reduction, amination을 거쳐 amine 중간체를 합성하였다. . (Scheme 8.)

## Scheme 8.

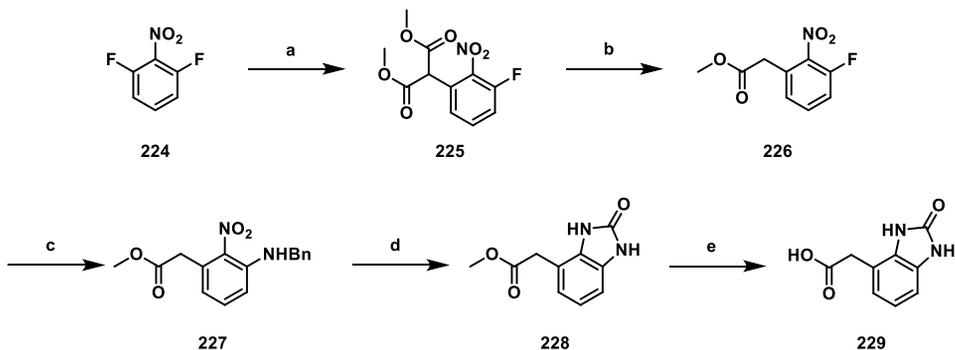


**Reactions and Conditions :** (a) dimethyl carbonate, NaH, THF,  $50^\circ\text{C}$ , overnight; (b) sulfonyl chloride, chloroform, reflux, overnight; (c) MeOH, reflux, overnight or *i*-PrOH:BuOH(1:1), reflux, overnight or TEA, ACN, r.t., 1h; (d)  $\text{NaBH}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$ , EtOH, THF, r.t. or  $\text{NaBH}_4$ , diglyme,  $125^\circ\text{C}$ ; (e) i)  $\text{SOCl}_2$ , DCM, r.t., 2h - overnight ii)  $\text{NH}_4\text{OH}$ , ACN,  $35\text{-}60^\circ\text{C}$ , overnight

### 2.2.2. A-region 중간체 합성

구입 가능한 1,3-difluoro-2-nitrobenzene을 시작 물질로 하여 base로 Sodium hydride를 이용해 dimethylmalonate를 도입하였다. 이후 Lithium Chloride를 이용해 decarboxylation 하여 ester 중간체를 합성하였다. TEA, DMF 조건 하에서 Benzyl기로 protection 된 amine을 도입하고, 10% Pd 촉매를 이용해 Benzyl기의 deprotection을 진행하고, Triphosgen을 이용해 ring formation을 하였다. 이후 Sodium hydroxide를 이용해 hydrolysis 반응을 진행하여 benzimidazolone acetic acid 중간체를 합성하였다. (Scheme 9.)

Scheme 9.

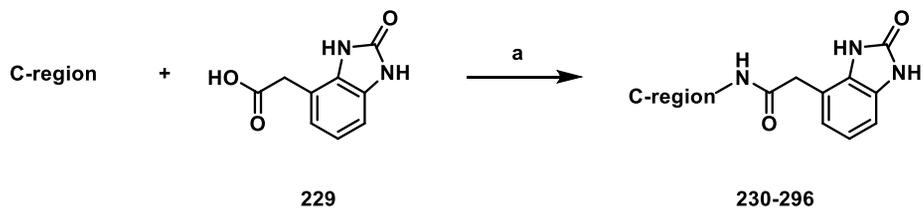


**Reagents and Conditions:** (a) Dimethyl malonate, NaH, DMF, 60°C, overnight; (b) LiCl, DMSO/H<sub>2</sub>O=3:1, 100°C, overnight; (c) BnNH<sub>2</sub>, TEA, DMF, 60°C, overnight; (d) 1) H<sub>2</sub>, Pd/C, THF/CH<sub>3</sub>OH, r.t., 20 min 2) Triphosgen, pyridine, CH<sub>3</sub>CN, r.t., 30 min; (e) NaOH, CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O=2:1, 4 h

### 2.2.3. Final compound의 합성

합성한 A-region 중간체와 C-region 중간체의 EDC coupling을 통해 최종 화합물을 합성하였다. (Scheme 10.)

Scheme 10.



**Reagents and Conditions:** (a) EDC-HCl, DMAP, r.t., overnight.

## 2.3. 생물학적 활성 평가

### 2.3.1. In vitro test

#### 2.3.1.1. In vitro 평가 방법

합성한 화합물의 capsaicin 및 proton에 대한 저해 정도를 측정하기 위해 Fluorescence imaging plate reader (FLIPR) assay를 이용하였다.  $\text{Ca}^{2+}$  indicator이자 형광 물질로 Fluo-4-NW를 사용하여, 10 nM Capsaicin일 때 human-TRPV1이 발현된 세포에서의 channel 활성 억제 정도를 측정해  $\text{IC}_{50}$  값을 확인하였다. 또한 TRPV1 channel의 최대 활성 조건인  $\text{pH}=6.0$ 의 산성 조건에서 초기 화합물의 농도가  $3\mu\text{M}$  일 때,  $\text{Ca}^{2+}$  유입이 억제되는 정도를 백분율로 나타내 pH antagonism을 확인하였다.

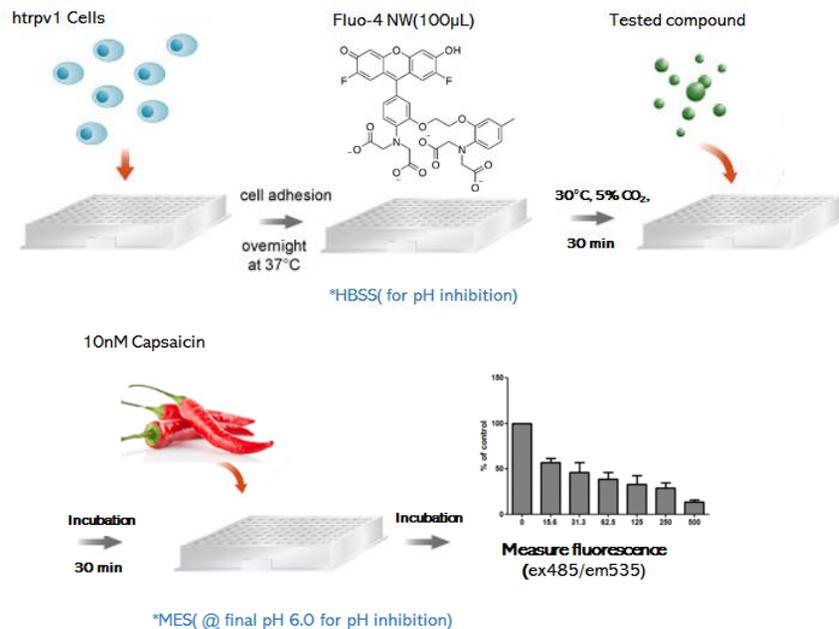


Figure 3. FLIPR assay

#### 2.3.1.2. In vitro 평가 결과

Benzimidazoline acetic acid 구조를 갖는 A-region과 다양한 치환기를 갖는 C-region을 coupling 하여 합성한 최종 화합물들의 in vitro 활성 결과를 확인하였다. 활성 결과는  $\text{K}_i$  값을 BCTC 2.5 nM 저해 값을 기준으로 하여 환산하여 확인하였고,

human-TRPV1의 IC<sub>50</sub> 값이 10 nM 이하, rat-TRPV1에서 full antagonism을 보이는 화합물을 1차 선별 기준으로 하였다.

Pyrazole 골격에 R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>에 다양한 치환기를 도입한 최종 화합물 총 22종을 합성하였다. human-TRPV1에 대해 대부분 좋은 활성 결과를 나타내지만, 1차 선별 기준에 부합하는 총 7종을 선별하였다.

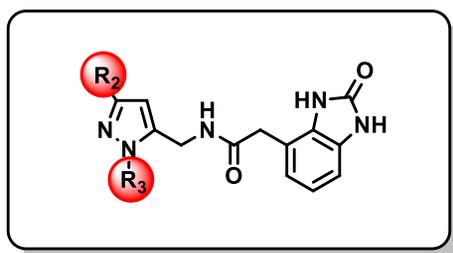


Table 1. Pyrazole type 화합물의 Capsaicin antagonism 결과

Code	R2	R3	IC <sub>50</sub> (nM)		Code	R2	R3	IC <sub>50</sub> (nM)		Code	R2	R3	IC <sub>50</sub> (nM)	
			human	rat				human	rat				human	rat
<b>BCTC</b>			<b>2.5</b>	<b>2.5</b>	237			9.6	75.37	245			6.88	31.92
230			100.23	NT	238			>160	197.23	246			9.88	85.78
231			15.46	111.5	239			6.12	40.88	247			>40	NT
232			9.62	67.42	240			16.78	67.09	248			17.4	106.29
233			6.81	29.46	241			>40	NT	249			10.38	65.81
234			14.69	117.38	242			37.72	NT	250			37.36	NT
235			>40	>1000	243			9.36	74.46	251			1321	305
236			18.06	>500	244			20.84	NT					

\*NT: Not Tested

Thiazole 골격에 R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>에 다양한 치환기를 도입한 최종 화합물 총 46종을 합성하였다. thiazole 화합물은 pyrazole 화합물에 비해 보다 좋은 활성 결과를 나타내었고, 1차 선별 기준에 부합하는 총 26종을 선별하였다.

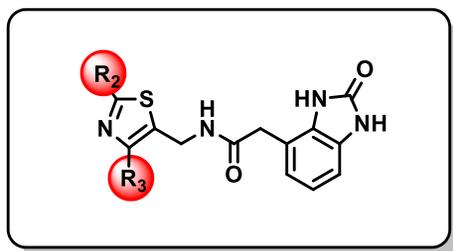


Table 2. Thiazole type 화합물의 Capsaicin antagonism 결과

Code	R2	R3	IC <sub>50</sub> (nM)		Code	R2	R3	IC <sub>50</sub> (nM)		Code	R2	R3	IC <sub>50</sub> (nM)	
			human	rat				human	rat				human	rat
252			6.8	6.41	259			1.7	4.00	266			3.31	7.43
253			6.01	19.21	260			9.16	95.58	267			13.57	25.38
254			19.24	>250	261			19.11	>500	268			74.47	442.34
255			5.18	115.05	262			25.74	76.16	269			12.35	16.2
256			6.25	7.61	263			5.47	64.62	270			28.26	85.89
257			4.22	11.33	264			4.75	21.44	271			3.96	8.04
258			6.12	6.69	265			9.05	42.6	272			4.56	8.01

Code	R2	R3	IC <sub>50</sub> (nM)		Code	R2	R3	IC <sub>50</sub> (nM)		Code	R2	R3	IC <sub>50</sub> (nM)	
			human	rat				human	rat				human	rat
273			2.85	10.74	281			2.98	2.48	289			10.09	17.52
274			6.05	8.27	282			18.2	47.27	290			8.74	12.54
275			18.83	>500	283			8.28	16.58	291			57.44	288.89
276			7.3	17.66	284			18.13	7.99	292			8.1	14.94
277			15.86	27.04	285			14.16	6.04	293			12.33	13.34
278			6.99	11.27	286			7.34	6.54	294			10.91	16.71
279			3.81	14.21	287			1.58	5.81	295			2.1	12.3
280			31.67	NA	288			41.31	>250	296			60.07	>250

Pyrazole과 thiazole 화합물에 대해 1차 선별한 총 33종의 화합물에 대해 pH inhibition 결과를 확인하였다. 이는 앞서 언급했듯, full pH antagonism과 발열이 관계 있음이 확인된 선행 연구에 따라 발열 문제를 해결하기 위해 진행하였다.

human-TRPV1에서 20~80 %의 pH inhibition을, rat-TRPV1의 경우에는 결과의 유의성을 확인하기 위해 80 % 저해능을 기준으로 화합물을 2차 선별하였고, 기준에 부합하는 17종의 화합물을 도출하였다.

**Table 3. pH antagonism 결과**

\*NT: Not Tested

Code	pH(% 3uM)		Code	pH(% 3uM)		Code	pH(% 3uM)		Code	pH(% 3uM)		Code	pH(% 3uM)	
	human	rat		human	rat		human	rat		human	rat		human	rat
232	58.49	NT	252	55	54.57	260	9.61	1.29	273	48.67	50.87	286	52.33	22.75
233	61.82	NT	253	62.42	22.27	263	2.45	10.76	274	37.74	0.69	287	36.36	1.6
237	19.88	NT	256	43.73	32.8	264	83.48	52.04	276	76.43	80.95	289	34.32	NT
239	35.83	NT	257	99.45	NT	265	38.24	0.56	278	6.99	11.27	290	0.41	6.08
243	-1.97	NT	258	26.07	38.35	266	24.29	1.03	279	27.73	36.2	292	18.31	14.73
245	10.80	NT	259	31.91	13.39	271	61.72	23.6	281	27.68	0.41	295	7.8	0.42
246	5.21	NT				272	31.75	0.19	283	35.56	21.32			

### 2.3.2. In vivo test

#### 2.3.2.1. In vivo 평가 방법

In vitro 평가에서 선별한 화합물을 대상으로 효능을 확인하기 위해 acute model에서 Capsaicin-induced mechanical hyperalgesia 방법에 Electric Von Frey를 이용하였다. 이는 TRPV1 agonist인 capsaicin을 이용하여 유도하는 통증 모델로, 화합물을 경구투여하고, 30분 후에 capsaicin( $10 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ )을 rat의 left hind paw에 intraplantar injection 하였고, 이로부터 30분 후 8 von Frey hairs로 threshold를 5회 측정하였다.

또한, 최종 선별된 화합물에 대해 진행한 발열 평가는 약물 투여 후 15, 30, 60, 90, 120 분마다 rat의 체온을 측정하여 발열 정도를 확인하였다.

#### 2.3.2.2. In vivo 평가 결과

In vitro 평가 결과가 좋았던 17종의 화합물에 대해 in vivo efficacy를 확인하였다. 265, 272, 281번 화합물이 rat에서의 효능 평가 결과가 높게 나타났지만, 이 중에서 287번 화합물이 human과 rat에서의 활성이 모두 좋고, 중간 차이가 적으며, pH inhibition 정도도 기준에 부합하고, rat에서 가장 좋은 효능이 확인되었다.

Table 4. In vivo efficacy 결과

Code	R2	R3	IC <sub>50</sub> (nM)		pH(% 3uM)		In vivo Efficacy (30 mpk)	Code	R2	R3	IC <sub>50</sub> (nM)		pH(% 3uM)		In vivo Efficacy (30 mpk)
			human	rat	human	rat					human	rat	human	rat	
		(Ref) compound1	5.48	91.38	91.99	-	66 %	272			4.56	8.01	31.75	0.19	44 %
252			6.8	6.41	55	54.57	22 %	273			2.85	10.74	48.67	50.87	17 %
253			6.01	19.21	62.42	22.27	9 %	274			6.05	8.27	37.74	0.69	41 %
256			6.25	7.61	43.73	32.8	28 %	276			7.3	17.66	76.43	80.95	12 %
258			6.12	6.69	26.07	38.35	14 %	279			3.81	14.21	27.73	36.2	18 %
259			1.7	4.00	31.91	13.39	24 %	281			2.98	2.48	27.68	0.41	43 %
265			9.05	42.6	38.24	0.56	44 %	283			8.28	16.58	35.56	21.32	0 %
266			3.31	7.43	24.29	1.03	38 %	286			7.34	6.54	52.33	22.75	0 %
271			3.96	8.04	61.72	23.6	13 %	287			1.58	5.81	36.36	1.6	55 %

### 2.3.3. DMPK test

#### 2.3.3.1. DMPK 평가 방법

In vitro 평가와 in vivo 평가에서 가장 좋은 결과를 나타낸 **287**번 화합물에 대해 PK, PAMPA, PPB, PS, Microsomal stability, CYP inhibition의 DMPK test를 진행하였다.

Brain Barrier Blood(BBB) 투과성을 Parallel Artificial Membrane Permeability Assay(PAMPA)를 통해 알아보았다. Reference compound로는 Lidocaine과 Theophylline을 이용하였고, donor plate에 pH 7.4의 donor buffer와 -번 화합물을 200  $\mu$ l씩 분주하고, acceptor plate의 membrane은 5  $\mu$ l의 BBB lipid solution으로 적신 후, acceptor plate에 acceptor sink buffer 200  $\mu$ l를 분주하여 두 plate를 합쳐 4시간 동안 25  $^{\circ}$ C에서 incubation 하여 UV값을 측정하여 비교하였다.

장내(GIT) 투과성 또한 PAMPA를 통해 알아보았다. Reference compound로는 Verapamil, Carbazepine, Raniridine을 이용하였고, membrane에 GIT-lipid solution 5  $\mu$ l를 분주 하여 BBB PAMPA와 같은 방법으로 평가를 진행하였다.

혈장 안정성(Plasma Stability) 평가는 human과 rat plasma를 tube에 -번 compound (10  $\mu$ l 농도)와 함께 넣고, 37  $^{\circ}$ C에서 시간에 따라 (0, 30, 120 min) 배양한 후, 각 시간마다 남아있는 시료의 양을 측정하였다. 이 때, Reference compound로는 Procaine과 Enalapril을 사용하였다.

Plasma Protein Binding(PPB)는 Rapid Equilibrium Dialysis (RED)방법을 사용하였고, 혈장 안정성 평가와 동일한 과정으로 진행 후, 37 °C에서 4시간동안 배양 후, LC-MS/MS 시스템에 주입하여 시료의 혈장단백결합률을 평가하였다.

간에서의 대사를 확인하는 Liver microsomal stability 평가는 human과 rat의 liver microsomes(0.5 mg/ml)과 0.1M 인산 완충용액(pH7.4), 287번 compound를 1  $\mu$ l 농도로 첨가하고, 37 °C에서 5분간 배양한 후, NADPH regeneration system 용액을 첨가해 배양하였다. 반응을 종결시킨 후 원심분리 하여 얻은 상층액을 LC-MS/MS 시스템에 주입하여 기질 약물을 분석하였으며 Reference compound로는 Verapamil을 사용하였다.

CYP450 inhibition 평가는 human liver microsome (0.25 mg/ml)과 0.1M 인산 완충용액 (pH7.4), 5종의 약물대사효소의 기질 약물 각테일(Phenacetin 50  $\mu$ M, Diclofenac 10  $\mu$ M, S-mephenytoin 100  $\mu$ M, Dexromethorphan 5  $\mu$ M, Midazolam 2.5 Mm) 및 287번 compound를 각각 0, 10  $\mu$ M 로 첨가하고 37 °C에서 배양하였다. 반응을 종결시킨 후 원심분리 하여 얻은 상층액을 LC-MS/MS 시스템에 주입하여 기질 약물을 분석하였으며 Reference compound로는 Ketoconazole을 사용하였다.

### 2.3.3.2. DMPK 평가 결과

PAMPA-BBB, GIT 결과, 287번 compound는 모두 높은 투과성을 나타냈다.

Table 5. PAMPA-BBB 결과

Test	Concentration	Incubation time	$P_e$ ( $10^{-6}$ cm/sec)	BCS code	Method
Lidocaine	50 $\mu$ M	4 hrs	20.86	High(CNS+)	U.V
Theophylline	50 $\mu$ M	4 hrs	0	Low(CNS-)	
compound 287	50 $\mu$ M	4 hrs	10.98	High(CNS+)	U.V

Table 6. PAMPA-BBB 결과

Test	Concentration	Incubation time	$P_e$ ( $10^{-6}$ cm/sec)	BCS code	Method
Verapamil	50 $\mu$ M	4 hrs	73.75	HIGH	
Carbamazepine	50 $\mu$ M	4 hrs	46.47	HIGH	U.V
Ranitidine	50 $\mu$ M	4 hrs	0.275	LOW	
compound 287	25 $\mu$ M	4 hrs	33.49	HIGH	U.V

약물의 혈장 안정성 평가(Plasma Stability)는 Drug discovery 단계에서 약물의 중요한 평가 요소이다. 이는 혈장에서 빠르게 소실되어 버리는 약물의 경우, in vivo 효능이 나쁘게 평가될 수 있고, Plasma Protein Binding과 같은 in vitro 실험에서 결과 해석을 어렵게 하거나, 잘못된 결과를 도출하게 만들 수 있기 때문이다.

287번 compound의 혈장 안정성 시험에서 혈장 안정성이 좋은 것으로 나타나, in vivo 혈장 안정성이 좋을 것으로 예상되었다.

Table 7. Plasma stability 결과

Compound	Human		Rat	
	30min	120min	30min	120min
<b>compound 287</b>	95.4	97.0	> 100	97.7
Procaine (Reference)	2.4 (5min)	0.4 (10min)	95.2	44.6
Enalapril (Reference)	91.4	91.5	27.7	< 1

Plasma Protein Binding 평가 또한 Drug discovery 단계에서 중요한 평가 요소이다. Free-drug 가정은 모든 약물의 경우에 일반적으로 적용되어진다. 비결합형 혹은 유리된 약물이 약효와 체내 분포 및 독성에 영향을 준다는 것을 일반적으로 잘 알려진 사실이며, 특히 약효 발생 조직 내 비결합성 약물농도는 receptor와 작용 및 체내 소실에 중요한 영향을 끼친다. 따라서 PPB 평가가 필요하다.

287번 compound은 혈장단백결합률이 매우 높게 나타났는데, 이렇게 높은 결합률을 보이는 약물의 경우에는 다른 약물과의 결합 사이트 치환이나 여러 질병상태에서의 혈장 단백질량의 변화가 발생할 시, 비결합형 약물 농도의 변화에 의한 efficacy와 toxicity가 큰 영향을 받을 수 있으므로 주의해야한다.

Table 8. Plasma Protein Binding 결과

Compound	Human (% Bound)	Rat (% Bound)
<b>compound 287</b>	<b>99.6</b>	<b>99.4</b>
<b>Dexamethasone (Reference)</b>	<b>67.4</b>	<b>84.1</b>
<b>Warfarin (Reference)</b>	<b>99.1</b>	<b>99.1</b>

약물의 대사 안정성은 Clearance, Half-life, Oral Bioavailability와 같은 PK parameter 등에 영향을 미칠 수 있는 요인으로서, drug candidate가 지녀야 할 중요한 특성으로 간주되고 있다. 약물 대사의 주요 장기인 간에 의한 약물의 대사 정도를 in vitro 실험을 통해 예측하는 liver microsome을 통해 287번 compound의 liver microsomal stability가 매우 불안정하여, in vivo 대사가 빠르게 진행될 것으로 예상되었다. 또한, 이러한 결과를 통해 경구 투여 시, 낮은 BA가 예상되었다.

Table 9. Liver microsomal stability 결과

Compound	Human (%)	Rat (%)
<b>compound 287</b>	<b>10.0</b>	<b>8.6</b>
<b>Verapamil (Reference)</b>	<b>11.9</b>	-

CYP inhibition 평가 결과에서는, 대다수의 thiazole 계 화합물과 마찬가지로 CYP3A4에 대해 50 % 이상의 저해를 나타내었다. 따라서 이 동효소에 의해 대사되는 약물과의 약물 상호작용을 고려할 필요가 있을 것으로 판단하였다.

Table 10. CYP inhibition 결과

	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4
<b>compound287</b>	<b>89.6</b>	<b>87.8</b>	<b>95.0</b>	<b>85.2</b>	<b>26.6</b>
<b>Ketoconazole (Reference)</b>	<b>99.0</b>	<b>&gt; 100</b>	<b>&gt; 100</b>	<b>&gt; 100</b>	<b>31.9</b>

## 2.3.4. In vitro Toxicity test

### 2.3.4.1. In vitro Toxicity 평가 방법

In vitro 평가와 in vivo 평가에서 가장 좋은 결과를 나타낸 287번 화합물에 대해 MN test, Ames test, hERG ligand binding assay의 in vitro toxicity test를 진행하였다.

287번 compound가 유전독성을 일으키는지 알아보기 위한 Micronucleus test는 24 wells plate에 CHO-K1 세포를 준비하고, 287번 compound를 세포에 처리 후, positive control로 10  $\mu$ M Vinblastine(aneugen type), 10  $\mu$ M mitomycin C(clastogen type)을 각각 처리하고 37 °C CO<sub>2</sub> incubator에서 배양했다.

이렇게 준비한 세포는 in vitro MicroFlow kit(from Litron Laboratories, USA) 제품을 사용하여 분석했고, 세포가 배양된 plate를 ice에서 20분간 보관한 뒤, media를 버리고 well 당 300  $\mu$ l의 Nucleic acid dye A를 처리 후, cool white fluorescent light source에 30분간 노출시켰다. 이를 buffer solution으로 washing 후, 각 well에 500  $\mu$ l complete lysis solution 1을 처리하고 37 °C에서 1시간 보관 뒤, 동량의 complete lysis solution 2를 처리 후, Flow cytometer(488 nm excitation, BD Aria III)를 이용하여 형광 발현 정도를 측정, 비교하였다.

287번 compound이 돌연변이 인자인지 알아보기 위한 Ames test는 배양한 salmonella strains의 O.D.를 측정한 후, 실험 대상 compounds에 대해 최고 5mM부터 serial dilution하여 적정량의 mixture를 준비하였다. Positive control의 경우, S9의 유무에 따라 서로 다른 chemical stock을 이용하였고, indicator medium을 첨가해 384-well plate에 triplicate로 plating한 후, 287번 compound에 대해 positive와 negative wells을 비롯하여, 6 농도의 compound를 처리한 각 영역의 역돌연변이가 일어난 wells의 숫자를 세어 기록하고, 'fold induction over the baseline'을 계산하였다. (fold induction의 값이 2 이상이면 mutagen으로 간주하였다.)

심독성이 있는지 알아보기 위한 hERG channel 결합 저해능 평가는 hERG Fluorescence Polarization Assay (Invitroen: PV5365) kit를 이용하였고, Synergy Neo(Biotek)을 이용하여 측정하였다.

Positive control로서 E-4031 화합물을 3-fold로 단계적으로 희석시킨 후, 미리 준비된 hERG channel이 함유된 membrane과 형광성 tracer와 함께 섞어 약 4시간 반응시킨 뒤, 농도 별 polarization값을 측정해 IC<sub>50</sub>를 얻었다. 이 때, 287번 compound에 대해 10  $\mu$ M 단일 농도에서의 Fluorescence Intensity(Excitation at 530

nm, Emission at 590 nm)를 측정하여 DMSO 용매 control과 비교하였다.

### 2.3.4.2. In vitro Toxicity 평가 결과

MN test결과, Mitomycin C 처리 결과 MN induction을 확인했고, Vinblastine 처리 결과 MN induction 및 강한 수준의 hypodiploid induction을 확인하여, 신뢰할 수 있는 실험 결과로 판단하였다.

In vitro micronucleus test를 통해 MN induction과 hypodiploid induction 비율로써 287번 compound의 유전 독성 가능성이 없음을 확인하였다.

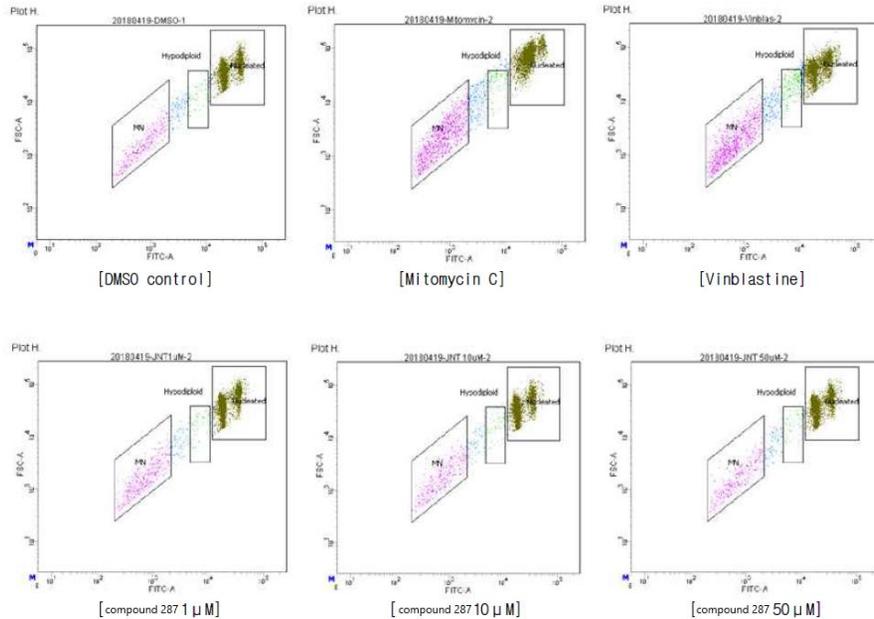


Table 11. In vitro MN test 결과

	Nucleated (%)	micronucleus (%)	hypodiploid (%)
Control (DMSO)	88.7	7.2	1.4
Mitomycin C (10 μM)	69.9	22.7	2.0
Vinblastine (10 μM)	69.2	21.3	4.6
compound 287 1 μM	87.8	8.9	1.2
compound 287 10 μM	88.2	8.0	1.6
compound 287 50 μM	89.4	7.0	1.3

또한 Ames test를 통해 역돌연변이 가능성이 없음을 확인하였다.

Table 12. Ames test 결과

화합물명	S9 추출물 (-) (TA98/TA100)	S9 추출물 (+) (TA98/TA100)
compound 287	X/X	X/X

hERG channel 결합 저해능 평가에서는 287번 compound가 단일 농도인 10  $\mu$ M에서 DMSO control의 fluorescence intensity 값과 비교하였을 때, percent inhibition이 50 % 이상 나타나지 않아, 심독성 평가에서 이상이 없음을 확인하였다.

### 2.3.5. 영장류 시험

#### 2.3.5.1. 영장류 시험 평가 방법

287번 compound는 monkey에서의 발열, 효능, PK test를 진행하였다.

발열 평가는 30 mpk에서 시간마다 체온 측정, 변화를 확인하였고, 효능 평가는 Tail withdrawal latency를 통해 capsaicin patch 제거 후 시간에 따른 변화를 확인하였다.

#### 2.3.5.2. 영장류 시험 평가 결과

287번 compound의 영장류 시험 결과, 발열은 확인되지 않았으나, 효능이 없음을 확인하였다. 이는 낮은 대사 안정성에 기인하는 낮은 경구 흡수율로 인해 효과가 없는 것으로 생각된다.

Table 13. Monkey body temperature 결과

Table 4 Body temperature

Drug	Animal No.	Date of experiment (2019)	Body weight (kg)	Body temperature (°C)		
				Time after drug administration (h)		
				pre.	1	2
Vehicle, 5 mL/kg, po	2	Jan. 22	6.97	38.9	38.5	38.0
	55	Jan. 29	6.51	38.9	39.1	39.2
	64	Feb. 5	6.88	39.0	38.9	38.8
	Mean		6.79	38.9	38.8	38.7
	SD		0.24	0.1	0.3	0.6
compound 287, 30 mg/kg, po	55	Jan. 22	6.44	38.9	39.5	39.5
	64		6.68	38.8	39.1	39.1
	Mean		6.56	38.9	39.3	39.3
	SD		0.17	0.1	0.3	0.3

Vehicle: 10% DMSO/10% cremophor/80% water solution

Table 14. Monkey 효능 평가 결과

Table 2 Summary of tail withdrawal latency

Drug	Animal No.	Time after capsaicin patch removal (min)					Unit: s
		Pre	5	15	30	60	
Vehicle, 5 mL/kg, po	2	20.0	1.6	1.0	0.6	0.7	
	55	20.0	1.1	0.8	1.1	0.9	
	64	20.0	0.8	0.8	1.1	1.2	
	Mean	20.0	1.1	0.8	0.9	0.9	
	SD	0.0	0.4	0.1	0.3	0.3	
compound 287, 30 mg/kg, po	55	20.0	1.1	0.9	0.9	0.7	
	64	20.0	0.9	2.1	0.7	0.9	
	Mean	20.0	1.0	1.5	0.8	0.8	
	SD	0.0	0.1	0.8	0.1	0.1	

Vehicle: 10% DMSO/10% cremophor/80% water solution

Table 15. Monkey PK 결과

## PK parameters in Cynomolgus monkey

Compound No.		compound 287	
Lot. No.			
Parameter	Unit	IV	PO
N	(Number)	1	1
Dose	(mg/kg)	1	5
T <sub>max</sub>	(hr)	(0.05)	3.0
C <sub>max</sub>	(ng/ml)	(2390.0)	63.7
AUC <sub>0-t</sub>	(hr.ng/ml)	1318.0	214.2
AUC <sub>0-inf</sub>	(hr.ng/ml)	1325.2	221.7
CL	(L/hr/kg)	0.75	-
V <sub>ss</sub>	(L/kg)	0.8	-
t <sub>1/2</sub>	(hr)	1.3	0.7
MRT <sub>inf</sub>	(hr)	1.1	2.4
F	(%)	-	3.3

### 3. 결론

본 연구에서는 *in vitro*와 *in vivo*에서 모두 우수한 효능을 보였으나, 설치류와 영장류 간의 중간 차이와 발열 부작용이 확인된 선행 도출 화합물을 바탕으로, 효능은 높이지만 발열 문제를 해결하고, TRPV1 수용체의 중 특이성으로 인한 *in vivo* 실험의 용이성을 위해 human과 rat에서의 활성 차이를 줄이는 신규 화합물을 도출하고자 하였다.

선행 도출 화합물의 구조에서 C-region의 골격을 pyrazole, thiazole로 하고, 다양한 치환기를 도입한 신규 화합물 67 종을 디자인, 합성하였다.

합성한 화합물들에 대해 *in vitro* 활성 평가를 진행하였다. 그 결과, pyrazole 보다는 thiazole 골격을 가지는 화합물들이 더 좋은 활성 결과를 나타냈고, human의 IC50 값이 10 이하인 33종의 화합물을 선별하여 pH inhibition을 확인하였다. 이 중에서 partial inhibition을 보이는 17종의 화합물에 대해서는 효능 평가도 진행하였다.

이 중에서 *in vitro*와 *in vivo*에서 가장 좋은 활성 결과를 나타낸 287번 compound에 대해 추가적인 실험을 진행하였다.

287번 compound는 rat에서 dose dependent한 진통 효과를 확인하였고, 발열이 없음을 확인하였다. 그리고 *in vitro* ADME 결과, BBB와 위장관에서 높은 투과도를 확인하였고, 높은 혈장 안정성을 보였으나 낮은 대사 안정성을 보여 경구 투여시 낮은 BA가 예상되었다. 또한, 높은 혈장 단백질 결합율을 나타냈고, 대다수의 thiazole 계 화합물들과 마찬가지로 CYP 3A4에 대해 50 % 이상의 저해를 보였다. 그리고 *In vitro* 독성 시험 결과에서는 유전 독성과 심독성 평가에서 이상이 없음을 확인하였다.

영장류 시험 결과, 발열은 확인되지 않았으나, 효능이 없음을 확인하였고, 이는 낮은 대사안정성에 기인하는 낮은 경구 흡수율로 인해 효과가 없는 것으로 생각되었다.

따라서 287번 compound는 TRPV1 antagonist 경구 투여제 약물로의 개발을 위해 thiazole 모획의 변경을 통한 CYP inhibition 개선과 치환기 도입을 통한 대사 안정성 및 BA 개선을 목표로 추가적인 연구를 진행할 예정이다.

## 4. Experimental data

### 4.1. General procedure

합성에 사용한 시약은 sigma-aldrich, TCI, Alfa, Acros 사에서 구입, 용매는 대정화금에서 구입하여 사용하였다. 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피는 silica gel (silica gel 60, 70-230 mesh, Merck)를 사용하였고, TLC는 precoated silica gel plates (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Merck)를 사용하였다.

<sup>1</sup>H NMR spectra는 JEOL, JNM-ECZ400S (400MHz, 500MHz)를 이용하였고, TMS를 내부 표준 물질로 하여 chemical shift는 ppm 단위로, coupling constant는 Hz로 나타내었다. Mass spectra는 Agilent, Q-TOF 6530 LC-MS를 이용하였다.

#### 4.1.1. General procedure A (pyrazole formation)

*t*-BuOK (1.4 eq.)를 THF에 녹인 뒤, 0 °C에서 N<sub>2</sub>(g) charge 해주고, 시작 물질 (1 eq.)과 diethyloxalate(1 eq.)를 넣어 상온에서 15시간 교반하였다. 이후 AcOH와 NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O (1.1 eq.)를 0 °C에서 넣어주고, 5시간동안 reflux하였다. 반응이 종결되면, 물을 넣은 뒤 EtOAc로 추출하였고, MgSO<sub>4</sub>로 건조시킨 후 감압농축하였다. 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 하여 생성물을 얻었다.

#### 4.1.2. General procedure B (Lam-Chan coupling)

시작물질(1 eq.)을 DCM에 녹인 뒤, boronic acid(1.5 eq.)와 pyridine(2 eq.)를 넣어 산소가 존재하는 상태로 상온에서 15시간 교반하였다. 반응이 종결되면, DCM을 이용하여 celite filtration을 이용하였고, 감압농축하여 생성물을 얻었다

#### 4.1.3. General procedure C (LAH reduction)

0 °C, N<sub>2</sub>(g) 조건하에서 LAH(1 eq.)를 THF에 녹이고, 시작물질(1 eq.)을 천천히 넣어주었다. 상온에서 교반하고, 반응이 종결되면, 물과 NaHCO<sub>3</sub>로 quenching 한 후, EtOAc를 이용하여 celite filtration을 진행하였고, 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 하여 생성물을 얻었다.

#### 4.1.4. General procedure D (amination)

시작물질 (1 eq.)을 DCM에 녹이고, SOCl<sub>2</sub>(2 eq.)를 0 °C에서 넣어준 후,

5시간동안 상온에서 교반하였다. 반응이 종결되면, 감압농축하여 solvent를 모두 날리고, ACN을 넣어준 뒤, NH<sub>4</sub>OH를 넣어 35 °C에서 15시간 교반하였다. 반응이 종결되면, 물을 넣은 뒤 EtOAc로 추출하였고, MgSO<sub>4</sub>로 건조시킨 후 감압농축하였다. 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 하여 생성물을 얻었다.

#### 4.1.5. General procedure E (synthesis of thioamide)

시작물질 (1.7 eq.)을 THF에 녹이고, Lawesson' s reagent (1 eq.)를 넣어준 뒤, 2시간동안 reflux하였다. 반응이 종결되면, 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 하여 생성물을 얻었다.

#### 4.1.6. General procedure F (addition of dimethylcarbonate)

0 °C, N<sub>2</sub>(g) 조건하에서 NaH(3 eq.)를 THF에 녹이고, 시작물질(1 eq.)과 dimethylcarbonate(3 eq.)를 천천히 넣어주었다. 50 °C에서 15시간 교반하고, 반응이 종결되면, 물을 넣은 뒤 EtOAc로 추출하였고, MgSO<sub>4</sub>로 건조시킨 후 감압농축하였다. 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 하여 생성물을 얻었다.

#### 4.1.7. General procedure G (addition of Chlorine)

0 °C에서 시작물질 (1 eq.)을 chloroform에 녹이고, sulfuryl chloride(2 eq.)를 N<sub>2</sub>(g) 조건하에서 넣어준 뒤 15시간 동안 reflux하였다. 반응이 끝나면 감압농축한 뒤, 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 하여 생성물을 얻었다.

#### 4.1.8. General procedure H (formation of thiazole)

시작물질 (1 eq.)을 acetonitrile(또는 MeOH 또는 *i*-PrOH:BuOH(1:1))에 녹이고, thioamine(1.5 eq.)와 TEA(1.5 eq.)를 넣어준 뒤 실온에서 1시간 교반하였다. 반응이 종결되면, 감압하여 용매를 제거하고, 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 하여 생성물을 얻었다.

#### 4.1.9. General procedure I (EDC coupling)

Acid 중간체 (1 eq.)를 DMA에 녹이고, EDC HCl (2 eq.)와 DMAP (2 eq.)을 넣어준 뒤 교반하여 amine 중간체 (1 eq.)를 넣어준다. 반응이 종결되면, 물을 넣은 뒤 EtOAc로 추출하였고, MgSO<sub>4</sub>로 건조시킨 후 감압농축하였다. 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 하여 생성물을 얻었다.

## 4.2. Procedure and spectra data

### 4.2.1.2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)-N-((1-phenyl-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)acetamide (230)

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 한 후, 10 % Pd/C, H<sub>2</sub>(g), MeOH/THF를 이용해 reduction 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 53 %, white solid; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.6030(s, 1H, NH), 10.5667(s, 1H, NH), 8.4707(br, 1H, NH), 7.5458-7.5237(m, 5H, CHx5), 6.8368(t, 1H, CH, J=7.55Hz), 6.7972(d, 1H, CH, J=7.65Hz), 6.7593(s, 1H, CH), 6.7158(d, 1H, CH, J=7.65Hz), 4.3456(d, 2H, CH<sub>2</sub>, J=5.4Hz), 3.9905(s, 2H, CH<sub>2</sub>); Mass (ESI) m/z 416.10 [M+H]<sup>+</sup>

### 4.2.2.N-((1-(3-chlorophenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (231)

methyl propiolate와 3,3,3-trifluoropropan-1-amine을 DCM에 녹이고, NaNO<sub>2</sub>를 넣어 15시간동안 실온에서 교반하여 얻은 중간체를 이용하여 General procedure B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 40 %, white solid; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.5978(s, 1H, NH), 10.5608(s, 1H, NH), 8.4652(t, 1H, NH, J=5.35Hz), 7.7042(s, 1H, CH), 7.6036-7.5908(m, 1H, CH), 7.5597-7.5493(m, 2H, CHx2), 6.8477(t, 1H, CH, J=7.65Hz), 6.7917(d, 1H, CH, J=7.6Hz), 6.7817(s, 1H, CH), 6.6960(d, 1H, CH, J=7.6Hz), 4.3832(d, 2H, CH<sub>2</sub>, J=5.4Hz), 3.4814(s, 2H, CH<sub>2</sub>); Mass (ESI) m/z 450.0 [M+H]<sup>+</sup>

### 4.2.3.N-((1-(3-fluorophenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (232)

methyl propiolate와 3,3,3-trifluoropropan-1-amine을 DCM에 녹이고, NaNO<sub>2</sub>를 넣어 15시간동안 실온에서 교반하여 얻은 중간체를 이용하여 General procedure B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 46%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-D6) δ 10.551(d, J=14.4Hz,2H), 8.239(t, J=5.6Hz,1H), 7.547-7.477 (m,2H), 7.401-7.375 (m, 2H), 6.827-6.742 (m, 3H), 6.666 (m, 1H), 4.356 (d, J=5.6Hz,2H), 3.442 (s, 2H); Mass (FAB) m/z 434 [M+H]<sup>+</sup>

### 4.2.4.N-((1-(3-chloro-4-fluorophenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (233)

methyl propiolate와 3,3,3-trifluoropropan-1-amine을 DCM에 녹이고, NaNO<sub>2</sub>를 넣어 15시간동안

안 실온에서 교반하여 얻은 중간체를 이용하여 General procedure B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 54%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-D6) δ 10.543(d, J=20Hz,2H), 8.393(t, J=5.6Hz,1H), 7.859 (d, 1H), 7.563-7.524 (m,2H), 6.802-6.745 (m, 3H), 6.634 (m, 1H), 6.666 (m, 1H), 4.326 (d, J=5.6Hz,2H), 3.442 (s, 2H); Mass (FAB) m/z 468 [M+H]<sup>+</sup>

#### **4.2.5.N-((1-(3-chlorophenyl)-3-(1,1-difluoroethyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (234)**

InCl<sub>3</sub> (1 eq.)을 H<sub>2</sub>O에 녹이고, 2-diazoacetate (5.5 eq.)와 but-3-yn-2-one (5 eq.)을 차례로 천천히 넣어준 뒤 3시간동안 실온에서 교반하여 중간체를 얻었다. 이후 중간체를 DCM으로 녹인 후 Deoxo-Fluoro를 넣어 실온에서 15시간 교반하여 얻은 중간체를 이용하여 General procedure B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 19%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-D6), δ10.5947(s,1H,NH), 10.5607(s,1H), 8.4696(t,1H,J=5.35Hz), 7.6528(s,1H), 7.5353(m,3H), 6.8469(t,1H,J=7.45Hz), 6.7916(d,1H, J=7.50Hz), 6.7014(d,1H,J=7.45Hz), 6.5837(s,1H), 4.3784(d,2H,J=5.40Hz), 3.4821(s,2H), 1.9969(t,3H ,J=18.85Hz); Mass m/z 468.00[M+Na]<sup>+</sup>

#### **4.2.6.N-((3-(1,1-difluoroethyl)-1-(3-fluorophenyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (235)**

InCl<sub>3</sub> (1 eq.)을 H<sub>2</sub>O에 녹이고, 2-diazoacetate (5.5 eq.)와 but-3-yn-2-one (5 eq.)을 차례로 천천히 넣어준 뒤 3시간동안 실온에서 교반하여 중간체를 얻었다. 이후 중간체를 DCM으로 녹인 후 Deoxo-Fluoro를 넣어 실온에서 15시간 교반하여 얻은 중간체를 이용하여 General procedure B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 99%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-D6), δ10.564(s,1H), 10.540(s,1H), 8.452(t,1H, J=5.20Hz), 7.506(m,1H), 7.433(m,1H), 7.354(m,1H), 7.296(m,1H), 6.807(t,1H, J=7.60Hz), 6.751(d,1H, J=7.20Hz), 6.663(d,1H, J=8.0Hz), 6.542(s,1H), 4.349(d,2H, J=5.60Hz), 3.442(s,2H), 1.957(t,3H,J=19.0Hz); Mass m/z 452.0[M+Na]<sup>+</sup>

#### **4.2.7.N-((1-(3-chloro-4-fluorophenyl)-3-(1,1-difluoroethyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (236)**

InCl<sub>3</sub> (1 eq.)을 H<sub>2</sub>O에 녹이고, 2-diazoacetate (5.5 eq.)와 but-3-yn-2-one (5 eq.)을 차례로 천천히 넣어준 뒤 3시간동안 실온에서 교반하여 중간체를 얻었다. 이후 중간체를 DCM으로 녹인 후 Deoxo-Fluoro를 넣어 실온에서 15시간 교반하여 얻은 중간체를 이용하여 General

procedure B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 85%, white solid;  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO-D<sub>6</sub>),  $\delta$ 10.565(s,1H),10.518(s,1H),8.400(t,1H,J=5.60Hz),7.797(dd,1H,J<sub>1</sub>=2.0Hz,J<sub>2</sub>=6.40Hz), 7.515(m,2H),6.777(m,2H),6.638(m,1H),6.547(s,1H),4.332(d,2H,J=5.60Hz),3.419(s,2H),1.953(t,3H,J=18.80Hz); Mass m/z 486.0[M+Na]<sup>+</sup>

#### **4.2.8.N-((1-(3-chlorophenyl)-3-isopropyl-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (237)**

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 17%, white solid;  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO-D<sub>6</sub>),  $\delta$ 10.6052(s,1H), 10.5580(s,1H),8.4413(t,1H,J=5.30Hz), 7.5599(s,1H),7.4424(m,3H),.8532(t,1H,J=7.60Hz),6.7965(d,1H,J=7.55Hz),6.7323(d,1H,J=7.55Hz),6.1941(s,1H),4.3629(d,2H,J=5.40Hz),3.4772(s,2H),2.8878(m,1H),1.1940(d,6H,J=6.90Hz); Mass m/z 424.10[M+H]<sup>+</sup>

#### **4.2.9.N-((1-(3-fluorophenyl)-3-isopropyl-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (238)**

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 47%, white solid;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>)  $\delta$  10.544 (d,  $J$ =19.2Hz, 2H), 8.404(t,  $J$ =5.2Hz, 1H), 7.438-7.422 (m, 1H), 7.834-7.309 (m, 2H), 7.176 (m, 1H), 6.833-6.748 (m, 2H), 6.702-6.684 (m, 1H), 6.149 (s, 1H), 4.333 (d,  $J$ =5.6Hz, 2H), 3.436 (s, 2H), 2.882-2.812 (m, 1H), 1.163-1.145 (m, 6H).; Mass (FAB) m/z 408 [M+H]<sup>+</sup>

#### **4.2.10.N-((1-(3-chloro-4-fluorophenyl)-3-isopropyl-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (239)**

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 67%, white solid;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>)  $\delta$  10.537 (d,  $J$ =27.2Hz, 2H), 8.365(t,  $J$ =5.6Hz, 1H), 7.671-7.665 (m, 1H), 7.442-7.412 (m, 2H), 7.176 (m, 1H), 6.826-6.745 (m, 2H), 6.674-6.656 (m, 1H), 6.158 (s, 1H), 4.316 (d,  $J$ =5.6Hz, 2H), 3.414 (s, 2H), 2.882-2.812 (m, 1H), 1.195-1.145 (m, 6H).; Mass (FAB) m/z 464 [M+Na]<sup>+</sup>

#### 4.2.11.N-((1-(3-chlorophenyl)-3-cyclopropyl-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (240)

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 14%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ10.6251(s,1H),10.5726(s,1H),8.4264(m,1H),7.4378(m,4H),6.8342(m,2H), 6.7177(m,1H),6.0232(s,1H),4.3228(d,2H,J=7.08Hz),3.4668(s,2H),1.8857(m,1H),0.8763(m, 2H),0.6304(m,2H); Mass m/z 422.10[M+H]<sup>+</sup>

#### 4.2.12.N-((3-cyclopropyl-1-(3-fluorophenyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (241)

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 43%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ10.572(s,1H), 10.517(s,1H), 8.372(t,1H,J=5.0Hz), 7.427(dd,1H,J<sub>1</sub>=8.0Hz,J<sub>2</sub>=14.4Hz),7.292(m,2H),7.172(m,1H),6.816(t,1H,J=7.6Hz),6.759(d, 1H,J=7.6Hz),6.683(d,1H,J=7.6Hz),5.977(s,1H),4.295(d,2H,J=5.6Hz),3.428(s,2H),1.844(m, 1H),0.847(m,2H), 0.588(m,2H); Mass m/z 406.1683[M+H]<sup>+</sup>

#### 4.2.13.N-((1-(3-chloro-4-fluorophenyl)-3-cyclopropyl-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (242)

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 59%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ10.576(s,1H), 10.503(s,1H), 8.335(t,1H,J=5.6Hz), 7.669(m,1H), 7.427(m,2H), 6.810(t, 1H, J=7.6Hz), 6.757(d, 1H, J=6.4Hz),6.657(d,1H,J=7.6Hz),5.988(s,1H),4.275(d, 2H,J=5.6Hz), 3.407(s,2H), 1.840(m,1H), 0.847(m,2H), 0.587(m,2H); Mass m/z 440.1300[M+H]<sup>+</sup>

#### 4.2.14.N-((1-(3-chlorophenyl)-3-(1-methylcyclopropyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (243)

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 23%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.6142(s, 1H, NH), 10.5641(s, 1H, NH), 8.4237(t, 1H, NH, J=5.30Hz), 7.5456(s, 1H, CH), 7.4289(m, 3H, CHx3), 6.8551(t, 1H, CH, J=7.6Hz), 6.7976(d, 1H, CH, J=7.55Hz), 6.7292(d, 1H, CH, J=7.55Hz), 6.0745(s, 1H, CH), 4.3294(d, 2H, CH<sub>2</sub>, J=5.35Hz), 3.4676(s, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.3659(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.8581(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 0.7273(m, 2H, CH<sub>2</sub>); Mass (ESI) m/z 436.10 [M+H]<sup>+</sup>

**4.2.15.N-((1-(3-fluorophenyl)-3-(1-methylcyclopropyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (244)**

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 63%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.574(s,1H), 10.524(s,1H,NH), 8.388(t,1H, J=4.8Hz), 7.418(m,1H), 7.288(m,2H), 7.174(m,1H), 6.816(t,1H,J=7.6Hz), 6.758(d,1H,J=8.0Hz), 6.691(d,1H, J=7.6Hz), 6.03(s,1H), 4.301(d,2H,J=5.6Hz), 3.428(s,2H), 0.814(m,2H), 0.685(m,2H), 1.326 (s,3H); Mass m/z 420.1836[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.16.N-((1-(3-chloro-4-fluorophenyl)-3-(1-methylcyclopropyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (245)**

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 80%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.578(s,1H), 10.511(s,1H), 8.349(t,1H,J=5.2Hz), 7.659(m,1H),7.419(m,2H),6.810(t,1H,J=7.6Hz),6.757(d,1H,J=6.4Hz),6.665(d,1H,J=6.8Hz) ,6.038(s,1H),4.281(d,2H,J=5.6Hz),3.408(s,2H),1.325(s,3H),0.818(m,2H),0.686(m,2H); Mass m/z 454.1457[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.17.N-((3-(tert-butyl)-1-(3-chlorophenyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (246)**

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 42%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.6044(s, 1H), 10.5622(s, 1H), 8.4483(m, 1H, ), 7.5549(m, 1H), 7.4445(m, 3H), 6.8788-6.7231(m, 3H), 6.2173(s, 1H), 4.3572(d, 2H, J=5.31Hz), 3.4760(s, 2H), 1.2425(s, 9H).; Mass (ESI) m/z 438.10 [M+H]<sup>+</sup>

**4.2.18.N-((3-(tert-butyl)-1-(4-fluorophenyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (247)**

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 63%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 10.59(s,1H), 10.52(s,1H),8.37(t,1H,J=5.3Hz),7.45(m,2H), 7.21(m,2H), 6.82(t,1H,J=7.6Hz), 6.76(d,1H, J=6.4Hz), 6.69(m,1H), 6.15(s,1H), 4.26(d,2H, J=5.5Hz), 3.42(s,2H),1.20(s,9H,); Mass m/z 422.1998[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.19.N-((3-(tert-butyl)-1-(3-fluorophenyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (248)**

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 70%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.58(s,1H), 10.53(s,1H), 8.42(t,1H, J=5.5Hz),7.43(m,1H),7.30(m,1H),7.17(m,1H),6.81(t,1H,J=7.5Hz),6.76(d,1H,J=6.4Hz),6.70(m,1H),6.17(s,1H),4.34(d,2H,J=5.0Hz), 3.43(s,2H), 1.20(s,9H); Mass m/z 422.1997[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.20.N-((3-(tert-butyl)-1-(3-fluorophenyl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (249)**

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 68%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.58(s,1H), 10.51(s,1H), 8.37(t,1H,J=5.5Hz),7.67(m,1H),7.42(m,2H),6.80(t,1H,J=7.5Hz),6.75(d,1H,J=6.4Hz), 6.67(m,1H), 6.18(s,1H), 4.32(d,2H), 3.41(s,2H),1.199(s,9H); Mass m/z 456.1606[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.21.N-((3-(tert-butyl)-1-phenyl-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (250)**

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 46%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.6169(s, 1H, NH), 10.5742(s, 1H), 8.4438(t, 1H, J=5.3Hz), 7.4476-7.4202(m, 4H), 7.3647(m, 1H), 6.8590(t, 1H, J=7.7Hz), 6.8030(d, 1H, J=7.45Hz), 6.7532(d, 1H, J=7.55Hz), 6.1863(s, 1H), 4.3166(d, 2H,J=5.35Hz), 3.4789(s, 2H, ), 1.2416(s, 9H); Mass (ESI) m/z 404.10 [M+H]<sup>+</sup>

**4.2.22.N-((1-(3-chlorophenyl)-3-(2-hydroxypropan-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (251)**

General procedure A,B,C,D 에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 38%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.565(s,1H), 10.532(s,1H), 8.448(m,1H), 7.524(s,1H), 7.415(m,3H), 6.812(t,1H,J=7.60Hz), 6.753(d,1H,J=6.40Hz), 6.678(d,1H,J=8.0Hz), 6.341(s,1H), 4.96(s,1H), 4.332(d,2H,J=5.20Hz),3.422(s,2H), 1.394(s,6H)

**4.2.23.N-((4-(3-chlorophenyl)-2-(trifluoromethyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (252)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 82%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.572(s,1H), 10.559(s,1H), 8.812(t,1H,J=6.0Hz), 7.701(s,1H), 7.620(m,1H), 7.509(m,2H), 6.827(t, 1H, J=7.6Hz), 6.767(d, 1H, J=6.4Hz), 6.722(d,1H, J=7.6Hz), 4.583(d,2H, J=6.0Hz), 3.511(s,2H); Mass m/z 467.0564[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.24.N-((4-(3-fluorophenyl)-2-(trifluoromethyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (253)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 76%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.57 (d, J = 3.7 Hz, 2 H), 8.83 (t, J = 5.7 Hz, 1 H), 7.47-7.55 (m, 3 H), 7.26-7.31 (m, 1 H), 6.71-6.84 (m, 3 H), 4.59 (d, J = 5.5 Hz, 2 H), 3.51 (s, 2 H)

**4.2.25.2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)-N-((2-(trifluoromethyl)-4-(3-(trifluoromethyl)phenyl)thiazol-5-yl)methyl)acetamide (255)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 90%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.589(m,2H), 8.845(m,1H), 7.971(m,2H),7.821(m,1H),7.732(m,1H),6.823(t, 1H,J=7.60Hz),6.741(m,2H),4.598(d,2H,J=5.20Hz), 3.510(s,2H); Mass m/z 522.9[M+Na]<sup>+</sup>

**4.2.26.2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)-N-((4-(m-tolyl)-2-(trifluoromethyl)thiazol-5-yl)methyl)acetamide (256)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 75%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.58 (s, 2H), 8.84 (d, J = 5.0 Hz, 1 H), 7.43 (d, J = 6.9 Hz, 2 H), 7.35 (t, J = 8.0 Hz, 1 H), 7.24 (d, J = 7.8 Hz, 1 H), 6.71-6.85 (m, 3 H), 4.56 (d, J = 4.6 Hz, 2 H), 3.49 (d, J = 9.6 Hz, 2 H), 2.33 (s, 3 H)

**4.2.27.N-((4-(3-isopropylphenyl)-2-(trifluoromethyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (257)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 59%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz,

DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.57-10.62 (m, 2H), 8.81 (t, J = 5.7 Hz, 1 H), 7.31-7.46 (m, 4 H), 6.72-6.85 (m, 3 H), 4.57 (d, J = 5.5 Hz, 2 H), 3.49 (d, J = 12.3 Hz, 2 H), 1.19 (q, J = 3.4 Hz, 6 H)

#### **4.2.28.N-((4-(3,4-dimethylphenyl)-2-(trifluoromethyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (258)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 99%, white solid;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.571 (s, 1H), 10.555 (s, 1 H), 8.792 (t, J = 5.2 Hz, 1 H), 7.681 (dd, J<sub>1</sub>=2.4 Hz, J<sub>2</sub>= 7.2 Hz), 7.674(m, 1H), 7.511 (t, J=9.0 Hz, 1H), 6.824 (t, J= 7.8 Hz, 1H), 6.766 (d, J=7.2 Hz, 1H), 6.7145 (d, J=7.6 Hz, 1H), 4.572 (d, J= 5.6 Hz, 2H), 3.506(s, 2H)

#### **4.2.29.N-((4-(3-chlorophenyl)-2-(1,1-difluoroethyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (259)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 69%, white solid;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.562(s,1H), 10.550(s,1H), 8.77(t,1H ,J=5.7Hz), 7.689(m,1H), 7.61(m,1H), 7.48(m,2H), 6.824(t,1H,J=7.6Hz), 6.762(d,1H,J=6.8Hz), 6.720(d,1H,J=8.0Hz), 4.55(d,2H, J=5.9Hz), 3.497(s,2H), 2.09(t,3H,J=19.0Hz); Mass m/z 463.0826[M+H]<sup>+</sup>

#### **4.2.30.N-((2-(tert-butyl)-4-(m-tolyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (260)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 61%, white solid;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.56 (d, J = 4.6 Hz, 2H), 8.78 (t, J = 5.7 Hz, 1 H), 7.46-7.53 (m, 3 H), 7.25 (td, J = 9.2, 2.5 Hz, 1 H), 6.71-6.84 (m, 3 H), 4.55 (d, J = 5.5 Hz, 2 H), 3.50 (s, 2 H), 2.09 (t, J = 19.1 Hz, 3 H)

#### **4.2.31.N-((2-(1,1-difluoroethyl)-4-(3-(trifluoromethyl)phenyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (262)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 68%, white solid;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.584(s,2H), 8.787(t,1H ,J=5.60Hz), 7.951(d,2H,J=6.40Hz),7.785(d,1H, J=8.40Hz), 7.698(t,1H,J=7.60Hz), 6.821(t,1H,J=7.60Hz), 6.738(d,2H),4.561(d,2H, J=5.60Hz),3.495(s,2H),2.101(t,3HJ=19.0Hz);Mass m/z 519.0[M+Na]<sup>+</sup>

**4.2.32.N-((2-(1,1-difluoroethyl)-4-(m-tolyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (263)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 96%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.572(m,2H), 8.770(t,1H,J=5.20Hz), 7.412(d,2H, J=6.40Hz), 7.329(t,1H, J=7.60Hz), 7.211(d,1H,J=7.20Hz), 6.824(t,1H,J=7.60Hz), 6.744(m,2H), 4.525(d,2H,J=5.60Hz), 3.493(s,2H), 2.320(s,3H), 2.086(t,3H,J=19.0Hz); Mass m/z 443.0[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.33.N-((2-(1,1-difluoroethyl)-4-(3-isopropylphenyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (264)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 74%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.587(s,1H), 10.575(s,1H), 8.764(t,1H,J=5.60Hz), 7.429(m,2H), 7.366(t,1H, J=7.20Hz), 7.284(d,1H,J=7.20Hz), 6.825(t,1H,J=7.20Hz), .746(m,2H), 4.529(d,2H,J=5.20Hz), 3.495(s,2H), 2.900(m,1H), 2.088(t,3H,J=19.0Hz), 1.184(d,6H,J=6.80Hz); Mass m/z 471.10[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.34.N-((2-(1,1-difluoroethyl)-4-(3,4-dimethylphenyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (265)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 72 %, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.56 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 8.75 (t, J = 6.2 Hz, 1 H), 7.84 (dd, J = 7.1, 2.1 Hz, 1 H), 7.64-7.68 (m, 1 H), 7.49 (t, J = 9.0 Hz, 1 H), 6.70-6.84 (m, 4 H), 4.54 (d, J = 5.5 Hz, 2 H), 3.49 (s, 2 H), 2.09 (t, J = 19.1 Hz, 3 H)

**4.2.35.N-((4-(3-chlorophenyl)-2-isopropylthiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (266)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 61%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.566(s,1H), 10.525(s,1H), 8.658(t,1H,J=5.6Hz), 7.649(m,1H), 7.563(m,1H), 7.431(m,1H), 6.826(t,1H,J=7.6Hz), 6.748(dd,2H,J<sub>1</sub>=7.2Hz,J<sub>2</sub>=10.4Hz), 4.468(d,2H,J=5.2Hz), 3.469(s,2H), 3.198(m,1H), 1.281(d,6H,J=6.8Hz); Mass m/z 441.1158[M+H]<sup>+</sup>

#### 4.2.36.N-((4-(3-fluorophenyl)-2-isopropylthiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (267)

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 63 %, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.55 (d, J = 15.6 Hz, 2H), 8.67 (t, J = 5.5 Hz, 1 H), 7.41-7.48 (m, 3 H), 7.16-7.21 (m, 1 H), 6.72-6.84 (m, 3 H), 4.46-4.50 (m, 2 H), 3.47 (s, 2 H), 1.27-1.31 (m, 6 H)

#### 4.2.37.N-((4-(3-cyanophenyl)-2-isopropylthiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (268)

General procedure EF,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 54%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.57(s, 1H), 10.53(s, 1H), 8.67(t, 1H, J=6.0Hz), 8.03(s, 1H), 7.94(d, 1H, J=8.4Hz), 7.81(d, 1H, J=8.0Hz), 7.61(t, 1H, J=8.0Hz), 6.82(t, 1H, J=8.0Hz), 6.76(d, 1H, J=7.6Hz), 6.72(d, 1H, J=7.2Hz), 4.48(d, 2H, J=5.6Hz), 3.46(s, 2H), 3.29(m, 1H), 1.28(d, 6H, J=6.8Hz).

#### 4.2.38.N-((2-isopropyl-4-(3-(trifluoromethyl)phenyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (269)

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 64%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.567(s,1H), 10.533(s,1H,NH), 8.671(t,1H,J=5.6Hz),7.911(m,2H),7.713(d, 1H,J=7.6Hz),7.642(t,1H,J=7.6Hz),6.821(t,1H,J=7.2Hz),6.742(dd,2H,J1=6.8Hz,J2=12.00Hz),4.483(d,2H,J=6.0Hz),3.466(s,2H),3.224(s,1H), 1.285(d,6H,J=7.2Hz);

Mass m/z 475.1417[M+H]<sup>+</sup>

#### 4.2.39.N-((2-isopropyl-4-(m-tolyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (270)

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 39%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ 10.543 (d, J=19.2Hz,2H), 8.618 (t, J=5.2Hz,1H), 7.375-7.357 (m, 2H), 7.293-7.254 (m, 1H), 7.154-7.135 (m, 1H), 6.844-6.806 (m, 2H), 6.768-6.731 (m, 2H), 4.443 (d, J=5.6Hz, 2H), 3.462 (s, 2H), 3.230-3.162 (m, 1H), 2.291(s, 3H), 1.276 (d, J=7.2Hz, 6H).; Mass (FAB) m/z 421 [M+H]<sup>+</sup>

**4.2.40.N-((2-isopropyl-4-(3-isopropylphenyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (271)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 45%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ 10.5475 (m, 2H), 8.620 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.410-7.369 (m, 2H), 7.330-7.369 (m, 1H), 7.224-7.205 (m, 1H), 6.826(t, J=7.6Hz, 1H), 6.754 (t, J=6.4Hz, 2H), 4.442 (d, J=5.6Hz, 2H), 3.464 (s, 2H), 3.241-3.172 (m, 1H), 2.895-2.826 (m, 1H), 1.279 (d, J=6.8Hz, 6H), 1.165(d, J=6.8Hz, 6H).; Mass (FAB) m/z 419 [M+H]<sup>+</sup>

**4.2.41.N-((4-(3-fluoro-4-methylphenyl)-2-isopropylthiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (272)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 77%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.562 (s, 1H), 10.515 (s, 1 H), 8.640 (t, J = 5.6 Hz, 1 H), 7.793 (dd, J<sub>1</sub>=2.4 Hz, J<sub>2</sub>= 7.2 Hz), 7.614(m, 1H), 7.429 (t, J=8.8 Hz, 1H), 6.821 (t, J= 7.4 Hz, 1H), 6.749 (m, 2H), 4.485 (d, J= 5.6 Hz, 2H), 3.461 (s, 2H), 3.181 (m, 1H), 1.266 (d, J=6.8 Hz, 6H)

**4.2.42.N-((4-(3-chlorophenyl)-2-cyclopropylthiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (273)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 51%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR(400MHz,DMSO-D<sub>6</sub>)δ10.569(s,1H), 10.530(s,1H),8.632(t,1H, J=5.6Hz),7.622(s,1H),7.533(m,1H),7.413(m,2H),6.829(t,1H,J=7.6Hz),6.743(q,2H,J=7.6Hz),4.420(d,2H,J=6.0Hz),3.462(s,2H),2.316(m,1H),1.068(m,2H),0.904(m,2H);Mass m/z 439.1000[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.42.N-((2-cyclopropyl-4-(m-tolyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (274)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 68%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ 10.55 (d, J = 15.2 Hz, 2H), 8.63 (t, J = 5.7 Hz, 1 H), 7.38-7.46 (m, 3 H), 7.15-7.20 (m, 1 H), 6.71-6.85 (m, 3 H), 4.42 (d, J = 5.5 Hz, 2 H), 3.46 (s, 2 H), 2.28-2.35 (m, 1 H), 1.05-1.09 (m, 2 H), 0.88-0.91 (m, 2 H)

**4.2.43.N-((2-cyclopropyl-4-(3-(trifluoromethyl)phenyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (276)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 73%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ 10.566(s,1H), 10.532(s,1H), 8.630(m,1H), 7.881(m,2H), 7.695(m,1H), 7.641(m,1H), 6.816(m,1H), 6.738(m,2H), 4.437(d,2H,J=5.2Hz), 3.461(s,2H), 2.316(m,1H), 1.08(m,2H), 0.893(m,2H); Mass m/z 473.1260[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.44.N-((2-cyclopropyl-4-(*m*-tolyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (277)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 40%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ 10.552 (d, J=17.6Hz, 2H), 8.599 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.350-7.332(m, 2H), 7.264 (t, J=8Hz, 1H), 7.148-7.129 (m, 1H), 6.848-810 (m, 1H), 6.771-6.721(m, 2H), 4.4005 (d, J=5.6Hz, 2H), 3.455 (s, 2H), 2.285-2.317 (m, 3H), 1.192 (s, 1H), 1.087-1.039 (m, 2H), 0.899-0.811 (m, 2H).; Mass (FAB) m/z 419 [M+H]<sup>+</sup>

**4.2.45.N-((2-cyclopropyl-4-(3-isopropylphenyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (278)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 34%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) δ 10.548 (d, 2H), 8.595 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.387-7.281 (m, 3H), 7.217-7.199 (m, 1H), 6.849-6.810 (m, 1H), 6.772-6.726 (m, 2H), 4.4005 (d, J=5.2Hz, 2H), 3.459 (s, 2H), 2.890-2.820 (m, 1H), 2.335-2.283(m, 1H), 1.171-1.153 (m, 6H), 1.092-1.045 (m, 2H), 0.897-0.858 (m, 2H).; Mass (FAB) m/z 447 [M+H]<sup>+</sup>

**4.2.46.N-((4-(3-chloro-4-fluorophenyl)-2-cyclopropylthiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (279)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 74%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.562 (s, 1H), 10.482 (s, 1 H), 8.608 (t, J = 4 Hz, 1 H), 7.758 (dd. J<sub>1</sub>=2 Hz, J<sub>2</sub>= 7.2 Hz, 1H), 7.584(m, 1H), 7.417 (t, J=9.2 Hz, 1H), 6.825 (t, J= 7.2 Hz, 1H), 6.741 (m, 2H), 4.400 (d, J= 5.6 Hz, 2H), 3.456 (s, 2H), 2.314 (m, 1H), 1.055 (m, 2H), 0.896(m, 2H)

**4.2.47.N-((4-(3-chlorophenyl)-2-(1-(trifluoromethyl)cyclopropyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (280)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 77%, white solid, <sup>1</sup>H NMR 400MHz,DMSO(2.462) δ10.571(s,1H), 10.545(s,1H), 8.727(t,1H,J=5.60Hz), 7.655(m,1H), 7.570(m,1H), 7.446(m,2H), 6.818(t,1H, J=7.20Hz), 6.744(m,2H ),4.496(d,2H, J=6.0Hz), 3.480(s,2H), 1.529(m,4H); Mass m/z 507.0[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.48.N-((4-(3-chlorophenyl)-2-(1-methylcyclopropyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (281)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 63%, white solid; <sup>1</sup>H NMR 400MHz,DMSO(2.463)δ 10.572(s,1H), 10.529(s,1H), 8.637(t,1H,J=5.2Hz),7.616(s,1H), 7.532(m,1H),7.414(m,2H),6.828(t,1H,J=7.2Hz),6.749(dd,2H,J1=7.2Hz,J2=11.2Hz),4.432(d,2H,J=5.6Hz),3.462(s,2H),1.461(s,3H),1.144(m,2H),0.950(m,2H); Mass m/z 453.1159[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.49.N-((4-(3-fluorophenyl)-2-(1-methylcyclopropyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (282)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 75%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.55 (d, J=18 Hz, 2H), 8.642 (t, J1=5.6 Hz, J2=5.6 Hz, 1H), 7.168-7.429 (m, 3H), 7.152-7.168 (m, 1H), 6.723-6.845 (m, 3H), 4.435 (d, J= 6 Hz, 2H), 3.462 (s, 2H), 1.457 (s, 3H), 1.115-1.155(m, 2H), 0.931-0.957 (m, 2H)

**4.2.50.N-((4-(3-cyanophenyl)-2-(1-methylcyclopropyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (283)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 50%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.570(s, 1H), 10.527(s, 1H), 8.652(t, 1H, J=6.0Hz), 8.011(s, 1H), 7.910(d, 1H, J=7.6Hz), 7.803(d, 1H, J=8.4Hz), 7.600(t, 1H, J=7.6Hz), 6.826(t, 1H, J=8.0Hz), 6.760(d, 1H, J=7.6Hz), 6.726(d, 1H, J=7.2Hz), 4.447(d, 2H, J=5.6Hz), 3.461(s, 2H), 1.461(s, 3H), 1.154(m, 2H), 0.954(m, 2H); Mass (ESI) m/z 444.1479 [M+H]<sup>+</sup>

**4.2.51.N-((2-(1-methylcyclopropyl)-4-(3-(trifluoromethyl)phenyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (284)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 79%, white solid; <sup>1</sup>H NMR 400MHz,DMSO(2.461) δ 10.581(s,1H), 10.542(s,1H), 8.653(t,1H ,J=5.6Hz), 7.877(d,2H, J=8.4Hz), 7.707(d,1H,J=8.4Hz), 7.634(t,1H,J=7.2Hz), 6.825(t,1H,J=7.6Hz),6.745(dd,2H, J<sub>1</sub>=6.8Hz,J<sub>2</sub>=12.0Hz),4.447(d,2H,J=6.0Hz),3.461(s,2H),1.467(s,3H),1.142(m,2H),0.958(q,2 H, J=4.0Hz); Mass m/z 487.1406[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.52N-((2-(1-methylcyclopropyl)-4-(m-tolyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (285)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 41%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-D6) δ 10.5485 (d, 2H), 8.600 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.339-7.327(m, 2H), 7.283-7.244 (m, 1H), 7.146-7.127 (m, 1H), 6.826-6.808 (m, 1H), 6.771-6.732(m, 2H), 4.410 (d, J=5.6Hz, 2H),3.456 (s, 2H), 2.283(s, 3H), 1.457(s, 3H), 1.142-1.117(m, 2H), 0.945-0.920 (m,2H); Mass (FAB) m/z 433 [M+H]<sup>+</sup>

**4.2.53.N-((4-(3-isopropylphenyl)-2-(1-methylcyclopropyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (286)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 72 %, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-D6) δ 10.55 (d, J = 19.8 Hz, 2H), 8.60 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 7.28-7.38 (m, 3H), 7.21 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.74-6.85 (m, 3H), 4.41 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 3.46 (s, 2H), 1.46 (s, 3H), 1.12-1.18 (m, 8H), 0.94 (q, J = 3.5 Hz, 2H)

**4.2.54.N-((4-(3-chloro-4-fluorophenyl)-2-(1-methylcyclopropyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (287)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 82 %, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-D6) δ 10.56 (d, J = 10.5 Hz, 2H), 8.66 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 7.76 (dd, J = 7.1, 2.1 Hz, 1H), 7.59 (qd, J = 4.5, 2.2 Hz, 1H), 7.42 (t, J = 8.9 Hz, 1H), 6.72-6.84 (m, 3H), 4.42 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 3.46 (s, 2H), 1.45 (s, 3H), 1.14 (q, J = 3.5 Hz, 2H), 0.95 (q, J = 3.5 Hz, 2H)

**4.2.55.N-((2-(tert-butyl)-4-cyclohexylthiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (288)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 72%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.54 (d, J = 22.9 Hz, 2H), 8.38 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 6.71-6.83 (m, 3H), 4.31 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 3.42 (s, 2H), 1.43-1.52 (m, 2H), 1.29 (s, 3H), 1.11-1.23 (m, 2H)

**4.2.56.N-((2-(tert-butyl)-4-(3-chlorophenyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (289)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 24%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.6037(s, 1H), 10.5534(s, 1H), 8.6875(t, 1H, J=5.5Hz), 7.6837(s, 1H), 7.5996(m, 1H), 7.4866-7.4379(m, 2H), 6.8610(t, 1H, J=7.75Hz), 6.7882(m, 2H), 4.5074(d, 2H, J=5.5Hz), 3.5050(s, 2H), 1.3756(s, 9H); Mass (ESI) m/z 455.1313 [M+H]<sup>+</sup>

**4.2.57.N-((2-(tert-butyl)-4-(3-fluorophenyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (290)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 86%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.569(s,1H), 10.521(s,1H), 8.663(t,1H,J=5.6Hz), 7.434(m,3H), 7.180(m,1H), 6.822(t,1H,J=7.6Hz), 6.748(m,2H), 4.474(d,2H,J=6.0Hz), 3.466(s,2H), 1.334(s,9H); Mass m/z 439.1615[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.58.N-((2-(tert-butyl)-4-(3-(trifluoromethyl)phenyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (292)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 82%, white solid; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.580(s,1H), 10.535(s,1H), 8.670(t,1H, J=5.6Hz), 7.905(d,2H,J=11.2Hz), 7.716(d,1H,J=8.0Hz), 7.646(t,1H,J=8.0Hz), 6.746(dd,2H,J1=6.8Hz,J2=11.2Hz), 4.484(d,2H,J=5.6Hz), 3.465(s,2H), 1.343(s,9H); Mass m/z 489.1574[M+H]<sup>+</sup>

**4.2.59.N-((2-(tert-butyl)-4-(m-tolyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (293)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 34%, white solid; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,

DMSO-D6)  $\delta$  10.559 (d, 2H), 8.5785(d, 1H), 8.629(t,  $J=5.6\text{Hz}$ , 1H), 7.373-7.358(m, 2H), 7.296-7.257 (m, 1H), 7.156-7.137 (m, 1H), 6.844-6.807 (m, 1H), 6.771-6.737(m, 2H), 4.444 (d,  $J=5.6\text{Hz}$ , 2H), 3.460 (s, 2H), 2.292(s, 3H), 1.334 (s, 9H).; Mass (FAB)  $m/z$  435  $[\text{M}+\text{H}]^+$

#### **4.2.60.N-((2-(tert-butyl)-4-(3-isopropylphenyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (294)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 29%, white solid;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO-D6)  $\delta$  10.553 (d, 2H), 8.622 (t,  $J=5.6\text{Hz}$ , 1H), 7.403-7.371(m, 2H), 7.334-7.296 (m, 1H), 7.225-7.207 (m, 1H), 6.845-6.807 (m, 1H), 6.771-6.739(m, 2H), 4.444 (d,  $J=5.6\text{Hz}$ , 2H), 3.463 (s, 2H), 1.338(s, 9H), 1.173-1.156 (m, 7H); Mass (FAB)  $m/z$  463  $[\text{M}+\text{H}]^+$

#### **4.2.61.N-((2-(tert-butyl)-4-(3-chloro-4-fluorophenyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (295)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 75%, white solid;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO-D6)  $\delta$  0.569(s,1H), 10.513(s,1H), 8.639(t,1H, $J=5.6\text{Hz}$ ),7.781(dd,1H, $J_1=2.0\text{Hz}$ ,  $J_2=7.2\text{Hz}$ ),7.609(m,1H),7.431(t,1H , $J=9.0\text{Hz}$ ),6.819(t,1H , $J=7.6\text{Hz}$ ),6.744(dd,2H, $J_1=7.2\text{Hz}$ ,  $J_2=11.2\text{Hz}$ ),4.457(d,2H, $J=5.6\text{Hz}$ ),3.460(s,2H),1.331(s,9H); Mass  $m/z$  473.1223 $[\text{M}+\text{H}]^+$

#### **4.2.62.N-((2-(tert-butyl)-4-(4-methylcyclohexyl)thiazol-5-yl)methyl)-2-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-4-yl)acetamide (296)**

General procedure E,F,G,H,C,D에 따라 amine을 합성하고, General procedure I에 따라 EDC coupling 하여 최종 화합물을 합성하였다. Yield = 74 %, white solid;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO-D6)  $\delta$  10.55 (d,  $J = 23.3 \text{ Hz}$ , 2H), 8.39 (t,  $J = 5.5 \text{ Hz}$ , 1H), 6.71-6.83 (m, 3H), 4.31 (d,  $J = 5.5 \text{ Hz}$ , 2H), 3.42 (s, 2H), 1.68-1.77 (m, 2H), 1.57 (s, 1H), 1.47-1.53 (m, 2H), 1.39-1.43 (m, 2H), 1.27-1.32 (m, 9H), 0.91-0.95 (m, 3H)

## 참고 문헌

1. Andras Garami. et al. *The Journal of Neuroscience*. 2010 ; 30(4):1435.
2. Andras Garami, et al. *Acta Physiol*. 2018 ; 223(3): e13038.
3. Birkhauser Verlag. et al. *Cytokines and pain*, 1999
4. Baron R. et al. *Clin J Pain*. 2000 ;16(2 Suppl): S12-20.
5. Changhoon K. et al. *Bioorg Med Chem Lett*. 2018; 28: 2539.
6. Fan Yang. et al. *Protein cell*. 2017; 8(3): 169.
7. G Dussor. et al. *Brain Res Rev*. 2009; 60.
8. JL Jongen. et al. *Pain Pract*. 2014 ;14(3): 283.
9. Kathleen Meacham. et al. *Curr Pain Headache Rep*. 2017; 21: 28.
10. K Meacham. et al. *Curr Pain Headache Rep*. 2017; 21: 28.
11. Larry V. et al. *J Med Chem*. 2017; 60: 8246.
12. Martin J. et al. *Drug Discovery Today*. 2009; Jan:14.
13. Marcello Trevisani. et al. *The Open Pain Journal*. 2013;6 :108.
14. Myeong Seop K. et al. *J Med Chem*. 2012; 55: 8392.
15. *National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS)*. 2005.
16. Sunho L. et al. *Bioorg Med Chem*. 2017; 25: 2451.
17. Simon Beggs. et al. *Drug Development Research*. 2006; 67: 289.
18. Susan M. Westaway. et al. *J Med Chem*. 2007; 50: 2589.

## Abstract

# Discovery of 5–Membered heterocycle C–region analogs of Benzimidazolone Acetamide as potent TRPV1 Antagonists

Jinju Jeong

Department of Pharmacy, Pharmaceutical Chemistry  
The Graduate School  
Seoul National University

The Transient receptor potential (TRP) channel is a non-selective cation channel expressed at various levels in various tissues, including neurons, skin, heart, respiratory tract, and kidneys. By inhibiting TRPV1 function, it can selectively block inappropriate pain recognition while maintaining a normal sense of pain, making it a target of painkiller development.

TRPV1 antagonist inhibits receptor activation by capsaicin, pH, heat, and endogenous factors, thus inhibiting the delivery of harmful stimuli such as pain, intolerance, and burning sensation.

TRPV1 antagonists have the advantage of being able to develop as oral administrative agents because they do not have strong irritating side effects such as burning sensation and initial pain caused by agonists, (1) Hyperthermia (2) increased heat

threshold (3) poor solubility (4) specificity is a challenge to overcome.

In this study, we tried to derive TRPV1 antagonists leading materials with excellent antagonism and low species-related differences between human and rat through structural-active correlation analysis of new compounds that introduced pyrazole and thiazole derivatives to C-region of compounds derived from prior research.

**Keywords :** TRPV1, antagonists, species-related differences, hyperthermia

**Student Number :** 2019-23968