



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0114197
(43) 공개일자 2007년11월29일

- (51) Int. Cl.
C07C 275/06 (2006.01) C07C 275/16 (2006.01)
C07D 211/90 (2006.01) A61K 31/17 (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2007-7022098
(22) 출원일자 2007년09월27일
심사청구일자 없음
번역문제출일자 2007년09월27일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2006/001290
국제출원일자 2006년02월13일
- (87) 국제공개번호 WO 2006/092204
국제공개일자 2006년09월08일
- (30) 우선권주장
RM2005A000090 2005년03월02일 이탈리아(IT)
- (71) 출원인
시그마타우 인두스트리에 파르마슈티케 리우니테
에스.피.에이.
이탈리아 로마 00144 비알레 샤케스파아레 47
- (72) 발명자
기아네시, 파비오
이탈리아 포메지아 아이-00040 7/비 비아 베를링
거
타소니, 에마누엘라
이탈리아 시암피노 11/에프 라르고 엔리코 페르미
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
백남훈

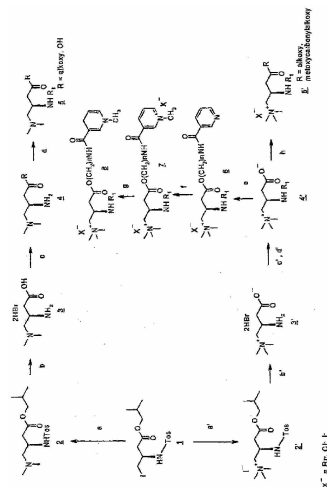
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 씨피티를 억제하는 아미노부탄산의 유도체

(57) 요약

본 발명은 카르니틴 팔미토일 트랜스퍼라제(CPT)를 억제하는 작용을 하는 신규 부류의 화합물, 본 발명에 따른 하나 이상의 신규 화합물을 함유하는 약학 화합물, 및 고혈당증, 예를 들어 당뇨병 및 상기와 관련된 병리상태, 울혈성 심부전 및 비만증의 치료에서 그의 치료학적 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

틴티, 마리아, 오르넬라

이탈리아 로마 아이-00128 81 비아 에르네스토 바
슬리에

콘티, 로베르토

이탈리아 로마 아이-00136 15/에이 비아 안젤로 예
모

델워모, 나탈리나

이탈리아 포메지아 아이-00040 7 비아 베를링거

브루네티, 티지아나

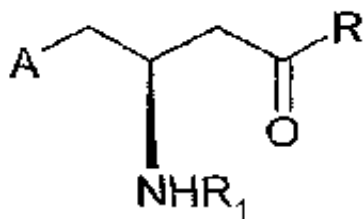
이탈리아 포메지아 아이-00040 59 비알레 프리아모

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 I을 갖는, 라세미 형태(R,S) 또는 그의 R 및 S 에난티오머 형태의 화합물 및 그의 약리학적으로 허용 가능한 염:

화학식 I



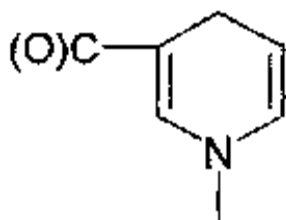
(I)

상기 식에서,

A는 $-N(R_2R_3)$, $-N(R_2R_3R_4)^+$ 및 $-C(R_2R_3R_4)$ 중에서 선택되고, 여기에서 동일하거나 상이한 R_2 , R_3 , R_4 는 H, 알킬 C_1-C_2 , 페닐, 페닐-알킬 C_1-C_2 중에서 선택되며;

R은 $-OH$, $-O^-$, 카복시 또는 알콕시카보닐 그룹 C_1-C_4 또는 그룹 Y-Z에 의해 임의로 치환되는 선형 또는 분지된 알콕시 C_1-C_4 중에서 선택되고, 여기에서

Y는 $-O-(CH_2)_n-O-$, $-O-(CH_2)_n-NH-$, $-S-(CH_2)_n-O-$, $-S-(CH_2)_n-NH-$ (여기에서 n은 1, 2 및 3 중에서 선택된다), 또는 $-O-(CH_2)_n-NH-$ (이때 n은 0, 1, 2 및 3 중에서 선택된다)이고,



Z는 이고;

R_1 은 $-COOR_5$, $-CONHR_5$, $-SOR_5$, $-SONHR_5$, $-SO_2R_5$ 및 $-SO_2NHR_5$ 중에서 선택되고, 여기에서

R_5 는 아릴 C_6-C_{10} , 아릴옥시 C_6-C_{10} , N, O 및 S 중에서 선택된 하나 이상의 원자를 함유하는 헤테로아릴 C_4-C_{10} , N, O 및 S 중에서 선택된 하나 이상의 원자를 함유하는 헤테로아릴옥시 C_4-C_{10} 에 의해 치환되고, 차례로 포화되거나 불포화된, 선형 또는 분지된 알킬 또는 알콕시 C_1-C_{20} 에 의해 치환되는, 포화되거나 불포화된 선형 또는 분지된 알킬 C_1-C_{20} 이나; 단

A가 $-N(R_2R_3R_4)^+$ 이고 R_2 , R_3 및 R_4 가 동일하고 알킬인 경우, R은 $-OH$ 또는 $-O^-$ 가 아니다.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

R_2 , R_3 및 R_4 가 메틸인 화합물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,
R₁이 -CONHR₅인 화합물.

청구항 4

제 3 항에 있어서,
R₅가 탄소수 7 내지 20의 선형 또는 분지된, 포화되거나 불포화된 알킬인 화합물.

청구항 5

제 3 항 또는 제 4 항에 있어서,
R₅가 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 트라이데실, 테트라데실, 펜타데실, 헥사데실, 헵타데실, 옥타데실, 노나데실 및 에이코실 중에서 선택되는 화합물.

청구항 6

제 1 항에 있어서,
(R)-4-(다이메틸 아미노)-3-(테트라데실 카바모일)-메틸 아미노부티레이트인 화합물.

청구항 7

제 1 항에 있어서,
(R)-4-(다이메틸 아미노)-3-(테트라데실 카바모일)-아미노부티르산인 화합물.

청구항 8

제 1 항에 있어서,
(R)-4-(트라이메틸 아미노)-3-(테트라데실카바모일)-메틸 아미노부티레이트 클로라이드인 화합물.

청구항 9

제 1 항에 있어서,
{2[-(N-메틸-(1,4-다이하이드로-피리딘)-3-일)카보닐]-아미노}에틸 아이오다이드의 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트인 화합물.

청구항 10

제 1 항에 있어서,
-3-(메톡시카보닐)-프로필 브로마이드의 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트인 화합물.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항의 화합물의 제조 방법.

청구항 12

치료에 사용하기 위한 제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 따른 화합물.

청구항 13

유효 성분으로서 하나 이상의 제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 따른 화합물을 부형제 및/또는 약학적으로 허용 가능한 희석제와 함께 함유하는 약학 조성물.

청구항 14

하나 이상의 제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 따른 화합물을 부형제, 안정제 및/또는 약학적으로 허용 가능한 희석제와 혼합함을 포함하는, 제 13 항에 따른 약학 조성물의 제조 방법.

청구항 15

카르니틴 팔미토일 트랜스퍼라제의 과잉활성과 관련된 질환의 치료를 위한 약물의 제조를 위한 제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 따른 화합물의 용도.

청구항 16

제 15 항에 있어서,

비만증, 고혈당증, 당뇨병 및 관련 질환, 및 울혈성 심부전의 예방 및 치료를 위한 용도.

청구항 17

치료 유효량의 하나 이상의 제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 따른 화합물을 투여함을 포함하는, 고혈당증, 당뇨병, 비만증 및 관련 질환을 앓고 있는 포유동물의 치료 방법.

명세서

기술 분야

- <1> 본 발명은 카르니틴 팔미토일 트랜스퍼라제(CPT)를 억제할 수 있는 신규 부류의 화합물을 개시하며; 본 발명은 또한 본 발명에 따른 하나 이상의 신규 화합물을 포함하는 약학 조성물, 및 고혈당증, 예를 들어 당뇨병 및 상기와 관련된 병리상태, 예를 들어 울혈성 심부전 및 비만증의 치료에서 그의 치료학적 용도에 관한 것이다.

배경 기술

- <2> 공지된 혈당 강하 치료는 상이한 작용 기전을 갖는 약물들의 사용을 기본으로 한다(Arch. Intern. Med. 1997, 157, 1802-1817).
- <3> 보다 통상적인 치료는 인슐린 또는 그의 동족체를 기본으로 하며, 상기 호르몬의 직접적인 혈당 강하 작용을 이용한다.
- <4> 다른 화합물들은 인슐린의 방출을 자극함으로써 간접적으로 작용한다(설폰닐 유레아). 상기 혈당 강하 약물의 또 다른 표적은 장 글루코시다제의 억제를 통한 글루코스의 장 흡수 감소 또는 인슐린 내성의 감소이다. 고혈당증은 또한 바이구나이드와 같은 글루코스 신합성(gluconeogenesis)의 억제제로 치료된다.
- <5> 일부 저자들은 글루코스 신합성과 효소 카르니틴 팔미토일 트랜스퍼라제 간의 관계를 입증하였다.
- <6> 카르니틴 팔미토일 트랜스퍼라제는 카르니틴 및 팔미토일 조효소 A로부터 팔미토일 카르니틴(활성화된 지방산)의 세포질에서의 형성을 촉진시킨다. 팔미토일 카르니틴은 상기가 미토콘드리아 막을 쉽게 가로지른다는 점에서 팔미트산과 다르다. 팔미토일 조효소 A는 미토콘드리아 기질 내에서 자신을 재구성하여 카르니틴을 방출시킨다. 팔미토일 조효소 A는 아세틸-조효소 A로 산화되며, 이는 글루코스 신합성 경로의 주요 효소인 피루브산 카복실라제를 활성화시킨다.
- <7> 일부 저자들은 당뇨병 환자들이 높은 혈중 지방산 수준을 가지며, 상기 지방산은 간에서 산화되어 아세틸조효소 A, ATP 및 NADH를 생산함을 보고한다. 상기 물질의 높은 이용도는 글루코스 신합성의 과도한 조절을 유발시켜, 후속적으로는 혈당 수준을 증가시킨다. 이러한 상황에서, CPT의 억제는 상기 지방산의 산화를 제한할 것이며, 결과적으로 글루코스 신합성 및 고혈당증을 제한할 것이다. CPT의 억제제는 문헌[J.Med.Chem., 1995, 38(18), p.3448-50] 및 관련된 유럽 특허 출원 EP-A-574355에 혈당 강하 작용을 갖는 잠재적인 유도체로서 개시되었다.
- <8> 본 출원인 이름의 국제 특허 출원 W099/59957은 CPT에 대해 억제 작용을 나타내는 부티르산의 유도체 부류를 개시 및 청구하고 있다. 이러한 화합물의 예는 R-4-트라이메틸 암모늄-3-(테트라데실 카바모일)-아미노부티레이트(ST1326)이다.

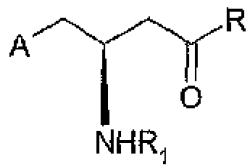
<9> 최근, 뇌심실내 억제제(icv)를 투여함으로써 실험적으로 생성된, 시상하부에서의 CPT-1의 억제는 상기 효과의 정도 및 지속 면에서 음식 섭취 및 글루코스 신합성을 현저하고 일관되게 감소시킬 수 있음이 입증되었다 (Nature Medicine, 2003, 9(6), 756-761). 이러한 성질은 또한 화합물 ST1326을 사용하여 입증되었다.

<10> 따라서 CPT-1의 억제에 관하여, 혈액-뇌 장벽을 가로질러 시상하부에서 CPT-1을 억제할 수 있는 화합물을 합성할 수 있고 따라서 음식 섭취 및 글루코스 신합성의 감소에 유효한 화합물을 갖는 것이 중요할 것이다. 따라서 약물로서 상기 화합물은 비만증 및/또는 당뇨병의 치료에 이로울 것이다.

발명의 상세한 설명

<11> 본 발명은 상기 요건을 만족시키며, 특히 하기 화학식 I을 갖는 카르니틴 팔미토일 트랜스퍼라제의 신규 억제제에 관한 것이다:

화학식 I



(I)

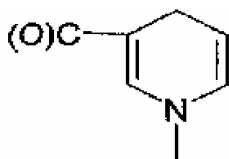
<12>

<13> 상기 식에서,

<14> A는 $-N(R_2R_3)$, $-N(R_2R_3R_4)^+$ 및 $-C(R_2R_3R_4)$ 중에서 선택되고, 여기에서 동일하거나 상이한 R_2 , R_3 , R_4 는 H, 알킬 C_1-C_2 , 페닐, 페닐-알킬 C_1-C_2 중에서 선택되며;

<15> R은 $-OH$, $-O^-$, 카복시 또는 알콕시카보닐 그룹 C_1-C_4 또는 그룹 Y-Z에 의해 임의로 치환되는 선형 또는 분지된 알콕시 C_1-C_4 중에서 선택되고, 여기에서:

<16> Y는 $-O-(CH_2)_n-O-$, $-O-(CH_2)_n-NH-$, $-S-(CH_2)_n-O-$, $-S-(CH_2)_n-NH-$ (여기에서 n은 1, 2 및 3 중에서 선택된다), 또는 $-O-(CH_2)_n-NH-$ (이때 n은 0, 1, 2 및 3 중에서 선택된다)이고,



<17> Z는 이고;

<18> R_1 은 $-COOR_5$, $-CONHR_5$, $-SOR_5$, $-SONHR_5$, $-SO_2R_5$ 및 $-SO_2NHR_5$ 중에서 선택되고, 여기에서

<19> R_5 는 아릴 C_6-C_{10} , 아릴옥시 C_6-C_{10} , N, O 및 S 중에서 선택된 하나 이상의 원자를 함유하는 헤테로아릴 C_4-C_{10} , N, O 및 S 중에서 선택된 하나 이상의 원자를 함유하는 헤테로아릴옥시 C_4-C_{10} 에 의해 치환되고, 차례로 포화되거나 불포화된, 선형 또는 분지된 알킬 또는 알콕시 C_1-C_{20} 에 의해 치환되는, 포화되거나 불포화된 선형 또는 분지된 알킬 C_1-C_{20} 이나; 단

<20> A가 $-N(R_2R_3R_4)^+$ 이고, 여기서, R_2 , R_3 및 R_4 는 동일하고 알킬기이며, R은 $-OH$ 또는 $-O^-$ 가 아니다.

<21> 구조 및 작용적으로 유사한 것으로 공지된 다른 화합물들에 대해서, 본 발명의 화합물은 상기 BBB를 보다 용이하게 가로지르는 동시에 탁월한 CPT 활성 억제 수준을 유지하는 이점을 갖는다. 따라서 상기는 시상하부에서 CPT의 활성을 억제할 수 있으며, 따라서 상술한 바와 같이 음식 섭취의 감소에 효과를 제공한다.

- <22> 바람직하게는 R_1 은 $-\text{CONHR}_5$ 이고 R_5 는 탄소수 7 내지 20의 포화되거나 불포화된 선형 또는 분지된 알킬이다. 따라서 바람직한 R_5 는 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 트라이데실, 테트라데실, 펜타데실, 헥사데실, 헵타데실, 옥타데실, 노나데실 및 에이코실 중에서 선택된다.
- <23> 바람직하게는 R_6 또는 R_9 또는 이들 모두는 메틸이다.
- <24> 화학식 I의 화합물에서 라디칼 A, R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , Y 및 Z의 의미에 따라, 하나 이상의 키랄 중심(탄소 또는 질소 원자 상에)이 존재할 수 있다. 본 발명의 목적을 위해서, 화학식 I의 생성물들이 각각 라세미 혼합물 R/S, 및 분리된 이성체 형태 R 및 S 모두로서 존재할 수 있음을 지적한다.
- <25> A가 $-\text{N}(\text{R}_2\text{R}_3\text{R}_4)^+$ 이고 R이 $-\text{OH}$ 또는 $-\text{O}^-$ 가 아닌 화학식 I의 생성물은 오직 약리학적으로 허용 가능한 음이온과의 염으로서만 존재할 수 있다. 상기 음이온을 본 발명에서는 라디칼 $\bar{\text{X}}$ 로 나타낸다.
- <26> A가 $-\text{N}(\text{R}_2\text{R}_3)$ 인 화학식 I의 생성물은 내부 염으로서, 약리학적으로 허용 가능한 산과의 염으로서, 및 그룹 A의 질소 상에 양의 순 전하 없이 음이온의 형태로 존재할 수 있다.
- <27> A가 질소를 함유하지 않는 화학식 I의 생성물은 중성 또는 음이온 형태로 존재할 수 있다.
- <28> 본 발명은 화학식 I의 화합물에 대한 모든 이러한 상이한 염화 가능성들을 포함한다.
- <29> 바람직한 약학적으로 허용 가능한 염 I은 약학적으로 허용 가능한 산과 형성된 산 부가염, 예를 들어 하이드로 클로라이드, 하이드로브로마이드, 하이드로요오다이드, 설페이트 또는 바이설페이트, 포스페이트 또는 수소 포스페이트, 아세테이트, 벤조에이트, 숙시네이트, 푸마레이트, 말리에이트, 락테이트, 시트레이트, 타르트레이트, 글루코네이트, 메탄설포네이트, 벤젠설포네이트 및 파라-톨루엔설포네이트 염이다.
- <30> 본 발명의 화합물에 적합한 약학적으로 허용 가능한 염기 부가염으로는 알루미늄, 칼슘, 리튬, 마그네슘, 칼륨, 나트륨 및 아연으로부터 제조된 금속염, 또는 리신, N,N'-다이벤질에틸렌다이아민, 클로로프로카인, 콜린, 다이 에탄올아민, 에틸렌다이아민, 메글루민(N-메틸글루카민) 및 프로카인으로부터 제조된 유기염이 있다. 나트륨 염이 특히 바람직하다.
- <31> 양 또는 음의 순 전하를 함유하지 않는 화학식 I의 화합물은 혈액-뇌 장벽을 가로지르기에 매우 효율적일 것으로 예상된다.
- <32> 화학식 I의 바람직한 화합물은 하기와 같다:
- <33> (R)-4-(다이메틸 아미노)-3-(테트라데실카바모일)-메틸 아미노부티레이트;
- <34> (R)-4-(다이메틸 아미노)-3-(테트라데실카바모일)-아미노부티르산;
- <35> (R)-4-(트라이메틸 아미노)-3-(테트라데실카바모일)-메틸 아미노부티레이트 클로라이드;
- <36> $\{2[-(\text{N-메틸}-(1,4\text{-다이하이드로-피리딘})-3\text{-일})\text{카보닐}]-\text{아미노}\}$ 에틸 아이오다이드의 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트; 및
- <37> -3-(메톡시카보닐)-프로필 브로마이드의 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트.
- <38> 상기 화합물의 합성 및 구조를 실시예 표제의 섹션에 상세히 보고한다.
- <39> 화학식 I의 생성물을 현재의 기술 수준으로 공지된 반응들을 사용하여 제조할 수 있다.
- <40> 이들 반응의 예는 W099/59957, 문헌[Eur. J. Org. Chem. 2003, 4501-4505, Eur. J. Med. Chem. 39(2004), 715-727, 및 Helv. Chim. Acta 1996, 79, 1203-1216]에 보고되어 있다.
- <41> 상기 방법의 예로서, 도 1은 A가 $-\text{N}(\text{R}_2\text{R}_3\text{R}_4)^+$ 이고, R_1 이 지시된 의미들 중 어느 하나를 가지며, R_2 , R_3 및 R_4 가 메틸이고 R이 지시된 의미들 중 어느 하나를 갖는 화학식 I 화합물의 합성 반응식을 나타낸다. 이 경우에 하기의 단계들을 수행할 수 있다.
- <42> 단계 a
- <43> 문헌[Eur. J. Org. Chem. 2003, 4501-4505]에 개시된 바와 같이 수득한 화합물 1에 CH_3OH 또는 THF, 바람직하게

는 THF 중의 다이메틸아민의 용액을 가한다. 상기 반응 혼합물을 20 내지 40 °C 범위의 온도, 바람직하게는 25 °C에서 4 내지 8 시간 범위의 시간, 바람직하게는 4 시간 동안 자기 교반 하에 둔다. 상기 용매의 증발에 의해 수득한 잔기를 극성 용매, 바람직하게는 다이에틸 에테르로 수회 연마한다. 상기 에테르성 층들을 진공 하에서 증발시키고 잔사를 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제시킨다.

<44> 단계 b

<45> 화합물 2를 130 내지 140 °C 범위의 온도에서 24 내지 48 시간 범위의 시간 동안 방향족 알콜, 바람직하게는 페놀의 존재 하에 수 중 무기산, 예를 들어 염산 또는 수소 브로마이드, 바람직하게는 48% HBr/H₂O와 반응시켜 화합물 3의 제조를 수행한다.

<46> 단계 c

<47> 화합물 3을 12 내지 24 시간 범위의 시간 동안 0 내지 40 °C 범위의 온도에서 알콜, 바람직하게는 메탄올 및 산성 클로라이드, 예를 들어 염화 옥살릴 또는 염화 티오닐, 바람직하게는 염화 티오닐과 반응시켜 화합물 4의 제조를 수행한다.

<48> 단계 d

<49> 먼저 화합물 4를 20 내지 30 °C 범위의 온도에서 24 내지 48 시간 범위의 시간 동안 1:2 내지 1:5 범위의 비, 바람직하게는 1:3의 비로, 유기 염기, 바람직하게는 트라이에틸아민의 존재 하에 무수 극성 유기 용매, 예를 들어 CH₃OH 또는 DMF 또는 DMSO 중의 알킬아이스시아네이트, 알킬클로로포메이트, 알킬설폰일클로라이드, 바람직하게는 알킬아이스시아네이트알킬아이스시아네이트중에서 선택된 적합한 반응 생성물과 반응시켜 화합물 5(R = 알콕시)를 수득한다. 실리카겔 크로마토그래피에 의해 순수한 생성물을 수득한다. 최종적으로, 화합물 5(R = OH)를 3 내지 7일의 시간 동안 25 °C에서 1N 내지 6N 범위, 바람직하게는 2N의 무기산, 바람직하게는 염산에 의해 수행된 산 가수분해에 의해 수득한다.

<50> 단계 h

<51> W044/59957(W099/59957)에 개시된 바와 같이 수득된 화합물 4'를, 무수 알콜, 예를 들어 CH₃OH, CH₃CH₂OH, 아이소프로판올, 바람직하게는 CH₃OH 및 산성 클로라이드, 예를 들어 염화 옥살릴 또는 염화 티오닐, 바람직하게는 염화 티오닐과의 반응에 의해, 또는 DMF, CH₃CN, 바람직하게는 무수 DMF와 같은 무수 용매 중의 브로모알킬메톡시카보닐에 의해 에스터화시킨다.

<52> 용매 증발에 의해 순수한 화합물 5'를 수득한다.

<53> 단계 e

<54> 화합물 6을, 화합물 4' 및 하이드록시알킬니코틴아미드와 20 내지 30 °C 범위의 온도, 바람직하게는 25 °C에서 24 내지 36 시간 범위의 시간 동안 극성 비양성자성 용매, 예를 들어 CH₂Cl₂, CHCl₃ 또는 CH₃CN, 바람직하게는 CH₂Cl₂ 중의 DCC 또는 CDI, 바람직하게는 DCC와 같은 축합제를 반응시켜(비 1:1:4-5) 수득한다.

<55> 단계 f

<56> 생성물 7을, 24 내지 36 시간 범위의 시간 동안 20 내지 30 °C 범위의 온도에서 무수 극성 비양성자성 용매, 예를 들어 CH₃CN, Et₂O 또는 DMF, 바람직하게는 무수 CH₃CN 중의 1:10-15 비의 메틸 요오다이드와 같은 메틸화제에 의해 화합물 6을 메틸화시켜 수득한다.

<57> 단계 g

<58> 생성물 8을, 용매로서 수 중의 CH₂Cl₂ 또는 CHCl₃의 혼합물, 바람직하게는 CH₂Cl₂(9:2)를 사용하여 무기 염기, 바람직하게는 NaHCO₃의 존재 하에서 Na₂S₂O₄와의 반응(1:1-2 비)에 의해 생성물 7에 의해 수득한다. CH₂Cl₂ 또는 CHCl₃와 같은 유기 용매에 의한 추출 및 증발에 의해 순수한 최종 생성물 8을 수득한다.

<59> 화학식 I의 화합물은 카르니틴 팔미토일 트랜스퍼라제에 대해 억제 활성을 갖는다. 이러한 작용은 상기를 비만증, 고혈당증, 당뇨병 및 관련 질환, 예를 들어 당뇨병 망막병증, 당뇨병 신장병증 및 당뇨병 심혈관 질환의 치료 및/또는 예방에 사용할 수 있게 한다. 화학식 I의 화합물을 또한 울혈성 심부전과 같은 심장 질환의 예방

및 치료에 사용한다.

- <60> 상기 화학식 I 화합물의 억제 작용은 주로 카르니틴 팔미토일 트랜스퍼라제의 동형 1(CPT-1) 및 특히 또한 시상하부에서 일어난다.
- <61> 본 발명의 추가의 목적은 앞서 개시한 하나 이상의 화학식 I의 생성물을 부형제 및/또는 약리학적으로 허용 가능한 희석제와 함께 함유하는 약학 화합물이다.
- <62> 문제의 화합물은 화학식 I의 화합물들과 함께 공지된 활성 성분들을 함유할 수 있다.
- <63> 본 발명에 따른 약학 조성물은 경구, 비 경구, 직장 및 경피 투여에 적합할 수 있다. 경구 형으로는 캡슐, 정제, 과립, 분말, 시럽 및 엘릭서가 있다. 비 경구형에는 용액 또는 유화액이 포함된다.
- <64> 본 발명 생성물의 투여량은 사용되는 생성물의 유형, 투여 경로, 및 치료하려는 질병의 발병 정도에 따라 변한다. 일반적으로 유효 치료 효과는 0.1 내지 100 mg/kg의 투여량에서 획득될 수 있다.
- <65> 본 발명은 또한 혈당강하 및 비만 방지 작용을 하는 약물의 제조를 위한 화학식 I의 생성물의 용도를 포함한다.
- <66> 본 발명의 추가의 실시태양은 하나 이상의 화학식 I의 화합물을 적합한 부형제, 안정제 및/또는 약학적으로 허용 가능한 희석제와 혼합함을 특징으로 하는 약학 조성물의 제조 방법이다.
- <67> 본 발명의 또 다른 목적은 치료 유효량의 화학식 I의 화합물을 투여함을 포함하는, 고혈당증, 당뇨병, 비만증 및 앞서 보고한 바와 같은 관련 질환을 앓고 있는 포유동물의 치료 방법이다.
- <68> 본 발명을 이제 하기의 비 제한적인 실시예에 의해 예시할 것이다.

실시예

<70> 화학식 I 화합물의 제조

<71> 실시예 1

<72> 메틸 (R)-4-(다이메틸아미노)-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트(ST2669)의 제조

<73> 중간체 아이소부틸 (R)-4-다이메틸아미노-3-(톨루엔-4-설폰닐아미노)-부티레이트의 제조

<74> 아이소부틸의 (R)-4-아이오도-3-(톨루엔-4-설폰닐아미노)-부티레이트(문헌[Eur. J. Org. Chem. 2003, 4501-4505]에 개시된 바와 같이 제조) 10 g(22.76 밀리몰)에 다이메틸 아민(THF 중의 2.0 M)(28.5 ml, 57 밀리몰)을 가하였다. 상기와 같이 수득된 현탁액을 4 시간 동안 자기 교반 하에 두었다. 이 시간 후에, 상기 용매를 진공 하에서 증발시키고 잔사를 에틸 에테르로 수회 연마시켰다. 결합된 에테르 상들을 진공 하에서 증발시키고 수득된 잔사를 용출제로서 CHCl₃/MeOH(99.5:0.5)를 사용하여 실리카겔 컬럼 상에서 크로마토그래피에 의해 정제시켜 목적하는 생성물 5.84 g(72% 수율)을 제공하였다. TLC: 실리카겔, 용출제 CHCl₃/MeOH 9.6:0.4,

<75>

$R_f=0.33$; $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, MeOH- d_4) δ : 7.84 (d, 2 H, ArH), 7.46 (d, 2 H, ArH), 3.88-3.81 (m, 2H, CH₂), 3.80-3.63 (m, 1H, CH), 2.61-2.44 (m, 5H, CH, CH₃), 2.38-2.25 (m, 2H, CH₂), 2.15 (s, 6H, CH₃), 2.01-1.87 (m, 1H, CH), 1.00 (d, 6H, CH₂); HPLC: SCX column (5 μ m-4.6 x 250 mm), 이동 상 CH₃CN/50 mM NH₄H₂PO₄ 60/40 v/v, 실온, 유속: 0.8 ml/분, 검출기: UV 205 nm, 체류 시간: 6.73 분.

<76> 중간체 메틸 (R)-3-아미노-4-(다이메틸아미노)-부티레이트 다이브로모하이드레이트의 제조

<77> 상기 제조된 화합물(3.0 g, 8.4 mmol) 및 페놀(2.37 g, 25.2 mmol)의 혼합물에 H₂O(45 ml) 중의 48% HBr을 가하였다. 상기 수득된 용액을 하룻밤 동안 135 °C로 만들었다(N.B. 오일 욕은 상기 용액을 함유하는 플라스크가 도입될 때 이미 실온까지 되어야 한다). 이 시간 후에 상기 용액을 물로 희석하고 AcOEt로 2 회 추출하고 수성

상을 진공 하에서 증발시켰다. 수득된 잔사를 아세트나이트릴에 용해시키고 진공 하에서 수회 증발시켰다. (R)-3-아미노-4-(다이메틸 아미노)부티르산 다이브로모하이드레이트(2.47 g)를 수득하였으며(^1H NMR: (300 MHz, MeOH- d_4) δ : 3.60(m, 1H, CH), 2.70-2.42(m, 4H, 2CH₂), 2.40(s, 6H, 2CH₃)), 상기를 그 자체로서 다음 반응에 사용하였다.

<78> 0 °C로 냉각시킨, 무수 메탄올(7.5 ml) 중의 상술한 바와 같이 제조된 산(2.47 g, 8 mmol)의 용액에 염화 티오닐(2.78 g, 1.7 ml, 24 mmol)을 가하였다. 상기 반응 혼합물을 0 °C에서 10 분간, 이어서 실온에서 동일 기간 동안, 및 최종적으로 40 °C에서 12 시간 동안 자기 교반 하에 두었다. 이 시간 후에 상기 반응 혼합물을 진공 하에서 건조시키고 용출제로서 CHCl₃/MeOH 9:1에서 CHCl₃/MeOH 7:3의 구배를 사용하여 실리카젤 상에서 플래시 크로마토그래피에 의해 정제시켰다. 상기 중간체 다이브로모하이드레이트(1.37 g, 71% 수율)를 수득하였다.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -15.1^\circ$$

(c = 1.6%, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, MeOH- d_4) δ : 3.80 (s, 3H, CH₃), 3.63-

<79>

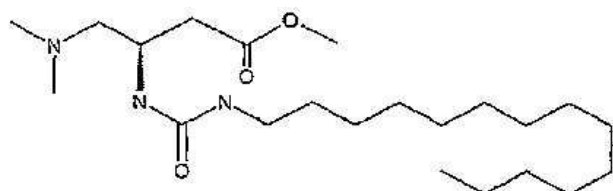
3.57 (m, 1H, CH), 2.78-2.35 (m+s, 10H, CH₂, CH₃)

<80>

; A.E. C₇H₁₈Br₂N₂O₂와 일치한다.

<81>

메틸 (R)-4-(다이메틸아미노)-3-(3-테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트(ST2669)의 제조



<82>

<83>

무수 메탄올(50 ml) 중의 메틸 (3R)-3-아미노-4-(다이메틸아미노)-부티레이트 다이브로모하이드레이트(1.28 g, 3.97 mmol)의 용액에 트라이에틸 아민(1.20 g, 1.65 ml, 11.91 mmol)을 먼저 가한 다음, 0 °C에서 테트라데실 아이소시아네이트(1.42 g, 1.63 ml, 5.95 mmol)를 가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 24 시간 동안 자기 교반 하에 두고, 이어서 용매를 진공 하에서 증발시켰다. 수득된 조 생성물을 EtOAc에 용해시키고 H₂O에 이어서 Na₂CO₃의 포화 용액으로 세척하였다. 유기 상을 진공 하에서 증발시키고 잔사를 CHCl₃/MeOH 9.6/0.4로 용출시키면서 실리카젤 상에서 플래시 크로마토그래피에 의해 정제시킨다. 목적하는 생성물(1.22 g, 77% 수율)을 수득하였다. M.p. 44-45 °C; TLC: 실리카젤, 용출제 CHCl₃/MeOH 8:2, **M.p. 44-45° C; TLC: silica**,

gel, eluent CHCl₃/MeOH 8:2, R_f = 0.32; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -28.4^\circ$ (c = 1%, MeOH); ^1H

NMR (300 MHz, MeOH- d_4) δ : 4.21-4.10 (m, 1H, CH), 3.65 (s, 3H, CH₃), 3.08 (t,

2H, CH₂), 2.59-2.45 (m, 2H, CH₂), 2.43-2.29 (m, 2H, CH₂), 2.24 (s, 6H, CH₃),

1.45 (m, 2H, CH₂), 1.28 (s, 22H, CH₂), 0.89 (t, 3H, CH₃)

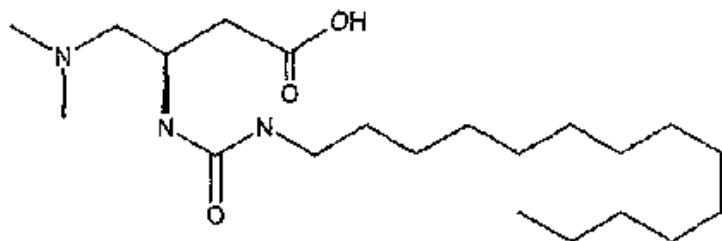
<84>

HPLC: SCX 컬럼(5 μm -4.6 x 250 mm), 이동 상 CH₃CN/50 mM NH₄H₂PO₄ 60/40 v/v, 실온, 유속: 0.8 ml/분, 검출기: UV 205 nm, 체류 시간: 5.69 분; MS(ESI) 400[M+1]⁺, 422[M+Na]⁺; H₂O; A.E. C₂₂H₄₅N₃O₃와 일치한다.

<85>

실시예 2

<86> (R)-4-(다이메틸아미노)-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티르산(ST2837)의 제조



<87>

<88> 실시예 1에 개시된 바와 같이 제조된 생성물(ST2669, 0.180 g, 0.45 mmol)에 6N HCl의 수용액(3.5 mL)을 가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 1 주일간 자기 교반 하에 두었다. 이 시간 후에 상기 반응 혼합물을 진공 하에서 증발시키고 잔사를 용출제로서 CHCl₃/MeOH 8:2에서 CHCl₃/MeOH 1:1의 구배를 사용하여 실리카젤 상에서 플래시 크로마토그래피에 의해 정제시켰다. 목적하는 생성물(67 mg, 38% 수율)을 수득하였다. TLC: 실리카젤, 용출제: CHCl₃/MeOH 7:3, R_f=

0.40; $[\alpha]_D^{20} = -8.4^\circ$ (c = 0.5%, MeOH); ¹H NMR (300 MHz, MeOH-d₄) δ: 4.34-

<89>

4.26 (m, 1H, CH), 3.30-3.10 (m, 4H, CH₂), 2.90 (s, 6H, CH₃), 2.58 (d, 2H,

<90>

CH₂), 1.55 (m, 2H, CH₂), 1.40 (s, 22H, CH₂), 1.00 (t, 3H, CH₃);

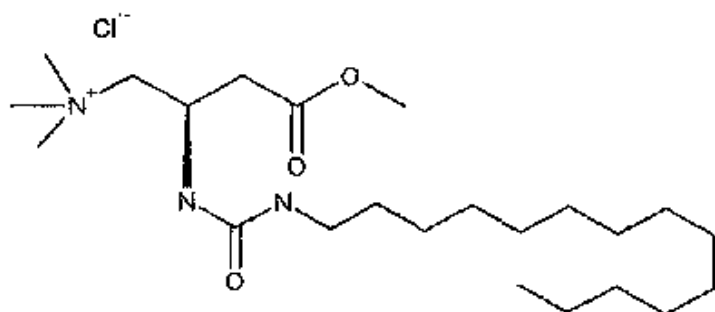
HPLC: SCX 컬럼(5 μm-4.6 x 250 mm), 이동 상 CH₃CN/50 mM NH₄H₂PO₄ 40/60 v/v, pH = 3.7(H₃PO₄), 실온, 유속: 0.8 mL/분, 검출기: UV 205 nm, 체류 시간: 8.09 분; K.F. = 2.3% H₂O; A.E. C₂₁H₄₃N₃O₃와 일치한다.

<91>

실시예 3

<92>

메틸 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트 클로라이드(ST2822)의 제조



<93>

<94>

무수 MeOH(6 mL) 중의 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트(ST1326, W099/59957)에 개시된 바와 같이 제조됨(1.20 g, 3.00 mmol)의 용액에 염화 티오닐(1.80 g, 1.10 mL, 15.13 mmol)을 0 °C에서 한 방울씩 가하고, 상기 용액을 40 °C에서 72 시간 동안 교반 하에 두었다. 진공 하에서 건조 후에, 상기 반응 혼합물을 무수 에틸 에테르로 세척하였다. 수득된 오일을 실리카젤 상에서 플래시 크로마토그래피를 사용하여 정제시켰다(MeOH/CHCl₃ 1:1 사용하여 용출). 수득된 생성물을 무수 다이클로로메탄에 용해시키고 밀렉스(Millex)-HV 친수성 PVDF 0.45 μm(Millipore) 필터를 통해 여과하였다. 진공 하에서 용매를 증발시킴으로써 목적하는 생성물을 수득하였다(164 mg, 12% 수율). TLC: 실리카젤, 용출제(42:7:28:10.5:10.5 CHCl₃/아이소프로

판올/MeOH/CH₃COOH/H₂O), R_f = 0.83; $[\alpha]_D^{20} = -8.5^\circ$ (c = 1%,

MeOH); ^1H NMR (300 MHz, MeOH- d_4) δ : 4.65 (br s, 1H, CH), 3.70 (s, 3H, CH₃), 3.65-3.40 (m, 2H, CH₂); 3.20 (s, 9H, CH₃), 3.10 (t, 2H, CH₂), 2.70 (m, 2H, CH₂), 1.45-1.40 (m, 2H, CH₂), 1.30 (s, 22H, CH₂), 0.90 (t, 3H, CH₃);

HPLC: SCX 컬럼(5 μm -4.6 x 250 mm), 이동 상 CH₃CN/50 mM NH₄H₂PO₄ 40/60 v/v, 실온, 유속: 0.8 ml/분, 검출기: UV 205 nm, 체류 시간: 10.94 분; MS(ESI) 355[M-(CH₃)₃N]⁺, 414[M]⁺; K.F. = 1.8% H₂O; A.E. C₂₃H₄₈N₃O₃Cl과 일치한다.

<96> 실시예 4

<97> {2[-(N-메틸-(1,4-다이하이드로-피리딘)-3-일)카보닐]-아미노}에틸아이오다이드(ST3496)의 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트의 제조

<98> 중간체 N-(2-하이드록시-에틸)-니코틴아미드의 제조

<99> SOCl₂(455 μl , 6.26 mmol)를 무수 톨루엔(15 ml) 중의 니코틴산(0.385 g, 3.13 mmol)의 현탁액에 가하고 반응 혼합물을 140 °C에서 4 시간 동안 환류시켰다. 이어서 등명한 용액을 냉각시키고 용매를 진공 하에서 제거하였다. 고체 잔사를 다이에틸 에테르로 3 회 세척하고 새로운 무수 톨루엔(15 ml) 및 에탄올아민(756 μl , 12.52 mmol)을 가하였다. 상기 혼합물을 밤새 50 °C까지 가온하였다.

<100> 이어서 상기 용매를 진공 하에서 제거하고 고체 잔사를 용출제로서 다이클로로메탄/메탄올 9.2/0.8을 사용하여 실리카젤 크로마토그래피에 의해 정제시켰다. 목적하는 생성물을 백색 고체로서 수득하였다(450 mg, 86% 수율).

m.p. = 84.5-85.5°C; ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ : 9.00 (s, 1H, NH), 8.68, (m, 2H, Ar), 8.17 (d, 1H, Ar), 7.60 (m, 1H, Ar), 4.74 (m, 1H, OH), 3.51 (m, 2H, CH₂), 3.36 (m, 2H, CH₂).

<102> {2-[(피리딘-3-일)카보닐]-아미노}에틸 클로라이드의 중간체 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트의 제조

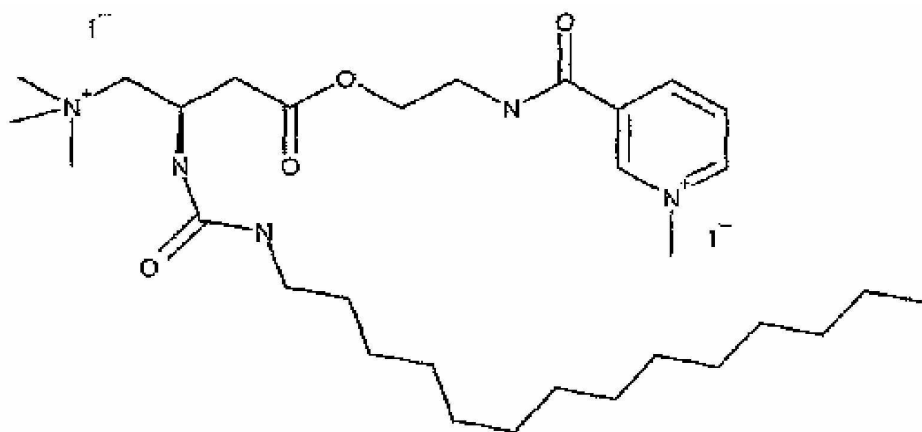
<103> 무수 다이클로로메탄(16 ml) 중의 N-(2-하이드록시-에틸)-니코틴아미드(0.274 g, 1.65 mmol)의 용액에 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트 하이드로클로라이드(0.719 g, 1.65 mmol, W099/59957에 개시된 바와 같이 제조된 ST1326에 1N 염산 1 당량을 가하여 제조함) 및 다이사이클로헥실카보다이이미드(DCC)(1.018 g, 5.00 mmol)를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 자기 교반 하에 밤새 방치하였다. 이어서 상기 혼합물을 여과하고 유기층을 진공 하에서 농축시켰다. 잔사를 다이에틸 에테르로 수회 세척하여, 진공 하에서 건조시킨 후에, 백색 고체로서 목적하는 생성물을 제공하였다(769 mg, 79% 수율). TLC: 실리카젤, 용출제(42:7:28:10.5:10.5 CHCl₃/아이소프로판올/MeOH/CH₃COOH/H₂O), R_f=0.5; ^1H

NMR (300MHz, MeOH- d_4) δ : 9.05 (d, 1H, Ar), 8.70 (d, 1H, Ar), 8.30 (dm, 1H, Ar), 7.55 (m, 1H, Ar), 4.70 (brs, 1H, CH), 4.31 (t, 2H, CH₂), 3.70 (t, 2H, CH₂), 3.70-3.50 (m, 2H, CH₂), 3.25 (s, 9H, N(CH₃)₃), 3.04 (t, 2H, CH₂), 2.68 (t, 2H,

CH₂), 2.43 (brn, 2H, CH₂), 2.28 (s, 24H, (CH₂)₁₂), 0.95 (t, 3H, CH₃); MS (ESI)

548 [M]⁺.

{2[-(N-메틸피리딘-3-일)카보닐]-아미노}에틸 다이아이오다이드(ST3474)의 중간체 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트의 제조



메틸 아이오다이드(747 μ l, 12.00 mmol)를 무수 CH₃CN(40 ml) 중의 {[-(피리딘-3-일)카보닐]-아미노}에틸 클로라이드(0.700 g, 1.2 mmol)의 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트의 용액에 가하고 상기와 같이 수득된 반응 혼합물을 실온에서 밤새 자기 교반 하에 두었다. 이어서 상기 용매를 진공 하에서 제거하고 목적하는 생성물(957 mg, 98% 수율)을 수득하였다. M.p.: 179-181 °C; TLC: 실리카겔, 용출제 (42:7:28:10.5:10.5 CHCl₃/아이소프로판올/MeOH/CH₃COOH/H₂O),

R_f: 0.3; [α]_D²⁰ = -0.8° (c = 2%, MeOH); ¹H NMR (300MHz, MeOH-d₄) δ : 9.48

(s, 1H, Ar), 9.00 (dd, 2H, Ar), 8.20 (t, 1H, Ar), 4.75 (brn, 1H, CH), 4.51 (s, 3H,

CH₃), 4.32 (t, 2H, CH₂), 3.70 (m, 4H, 2CH₂), 3.25 (s, 9H, N(CH₃)₃), 3.10 (t, 2H,

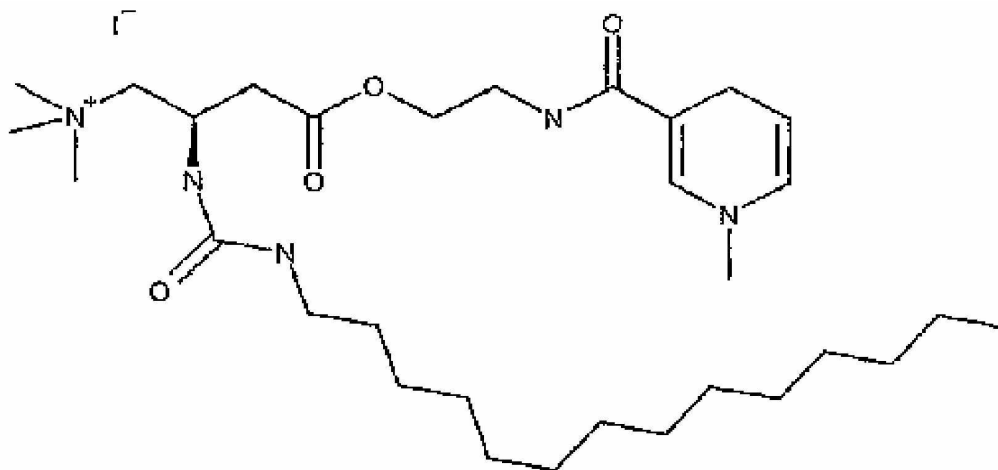
CH₂), 2.75 (dd, 2H, CH₂), 1.42 (brn, 2H, CH₂), 1.30 (s, 22H, (CH₂)₁₁), 0.90 (t,

3H, CH₃);

HPLC: 컬럼: 워터스 스페리소브(Waters Spherisorb) S5 SCX(4.6 x 250 mm), 이동 상 CH₃CN/200 mM NH₄H₂PO₄ 60/40 v/v, pH 그대로, 실온, 유속: 1.0 ml/분, 검출기: UV 254 nm, 체류 시간: 20.60 분; MS(ESI)

281[M]⁺/2; K.F. = 2.70% H₂O; A.E. C₃₁H₅₇N₅O₄I₂와 일치한다.

{2[-(N-메틸-(1,4-다이하이드로-피리딘)-3-일)카보닐]-아미노}에틸아이오다이드(ST3496)의 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트의 제조



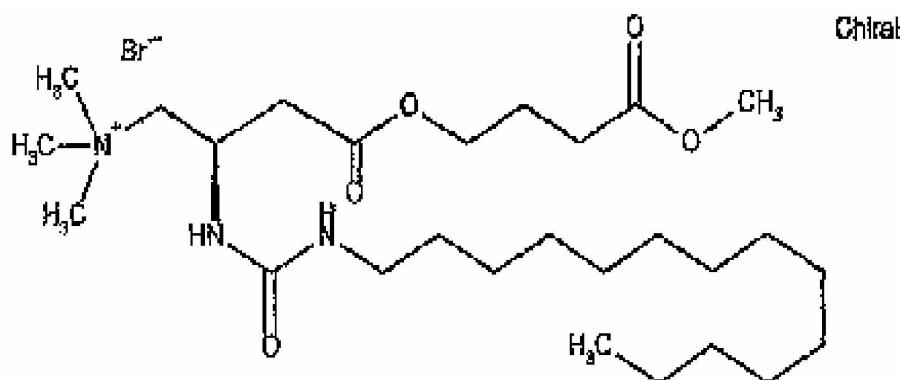
0 °C로 냉각시킨 탈기된 물(18 ml) 중의 상술한 바와 같이 제조된 {2-[-(N-메틸피리딘-3-일)카보닐]-아미노}에틸 다이아이오다이드의 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트(ST3474, 0.100 g, 0.12 mmol)의 용액에 아르곤 분위기 하에서 NaHCO₃(0.200 g, 1.2 mmol), Na₂S₂O₄(0.046 g, 0.26 mmol)(이들 모두 물과 다이클로로메탄의 9/2 혼합물 11 ml에 용해됨)를 가하였다. 반응 혼합물을 0 °C에서 15 분 및 이어서 실온에서 추가로 30 분간 자기 교반 하에 두었다. 이어서 유기층을 물로부터 분리시키고 수성층을 다이클로로메탄으로 수회 추출하였다. 합한 유기층들을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 이어서 농축시켜 최종 생성물(0.084 g, 94% 수율)을 제공하고, 이를 분해를 피하기 위해 진공 하에서 보관하였다. TLC: 실리카겔, 용출제 (42:7:28:10.5:10.5 CHCl₃/아이소프로판올/MeOH/CH₃COOH/H₂O),

Rf: 0.7; ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ: 7.16 (t, 1H, NH), 6.80 (s, 1H, CH=CH), 6.25 (m, 2H, 2NH), 5.80 (d, 1H, CH=CH), 4.60 (m, 1H, CH=CH), 4.48 (brm, 1H, CH), 4.05 (m, 2H, CH₂), 3.75-3.05 (brm, 4H, 2CH₂), 3.09 (s, 9H, N(CH₃)₃), 2.95 (brs, 4H, 2CH₂), 2.87 (s, 3H, NCH₃), 2.57 (brt, 2H, CH₂), 1.32 (brs, 2H, CH₂), 1.20 (s, 22H, (CH₂)₁₁), 0.82 (t, 3H, CH₃); MS (ESI) 564 [M]⁺;

A.E. C₃₁H₅₈N₅O₄I와 일치한다.

실시예 5

-3-(메톡시카보닐)-프로필 브로마이드(ST3193)의 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트의 제조



무수 DMF 12 ml 중의 (R)-4-트라이메틸암모늄-3-(테트라데실카바모일)-아미노-부티레이트(1.015g, 2.54 mmol)

의 용액에 메틸-4-브로모-부티레이트를 가하였다(0.460 mg, 2.54 mmol). 반응 혼합물을 자기 교반 하에 밤새 50 °C에서 보관하였다. 이어서 용매를 증발시켜 담황색 왁스질 고체로서 목적하는 생성물을 제공하였다(1.108 g, 87% 수율); TLC: 실리카겔, 용출제(42:7:28:10.5:10.5 CHCl₃/아이소프로판올/MeOH/CH₃COOH/H₂O), R_f=

0.6; $[\alpha]_D^{20} = -7.6^\circ$ (c = 1%, MeOH); ¹H NMR (300 MHz, MeOH-d₄) δ: 4.67 (brm, 1H, CH), 4.17 (t, 2H, CH₂), 3.70 (s, 3H, CH₃), 3.72-3.46 (m, 2H, CH₂), 3.30 (s, 9H, CH₃), 3.12 (t, 2H, CH₂), 2.68 (m, 2H, CH₂), 2.44 (t, 2H, CH₂), 1.96 (brm, 2H, CH₂), 1.48 (brs, 2H, CH₂), 1.30 (s, 24H, (CH₂)₁₂), 0.91 (t, 3H, CH₃);

HPLC: SCX 컬럼(5 μm-4.6 x 250 mm), 이동 상 CH₃CN/50 mM NH₄H₂PO₄ 40/60 v/v, pH 3.6, 실온, 유속: 0.8 mL/분, 검출기: UV 205 nm, 체류 시간: 10.08 분; MS(ESI) 500[M]⁺; K.F. = 0.88% H₂O; A.E. C₂₇H₅₄N₃O₅Br와 일치한다.

화학식 I 화합물의 약리학적 활성의 측정

시험 1: CPT의 억제 작용 측정

CPT의 억제를 통상적으로 사육한 피셔 래트의 간 또는 심장에서부터 수득한 신선한 미토콘드리아 제제 상에서 평가하였으며; 상기 간 또는 심장에서 취한 미토콘드리아를 75 mM 슈크로스 완충제, EGTA 1 mM, pH 7.5에 현탁시킨다. 50 μM의 [¹⁴C] 팔미토일-CoA(특이 활성 10000 dpm/mole) 및 10 mM의 L-카르니틴을 함유하는 미토콘드리아 현탁액 100 μL를 단계적 농도(0-3 mM)의 검사중인 생성물의 존재 하에 37 °C에서 배양한다.

체류 시간: 1 분

이어서 IC₅₀을 측정한다. 결과를 표 1에 나타낸다.

표 1

래트 미토콘드리아에서 CPT1의 억제 곡선의 IC ₅₀		
물질	CPT1 간의 IC ₅₀ (μM)	CPT1 심장의 IC ₅₀ (μM)
ST1326	0.36	48.8
ST2837	5.7	70

시험 2: 올리에이트에 의해 자극된 β-하이드록시부티레이트의 생산 측정

β-하이드록시부티레이트의 합성은 CPT 활성의 지표이다. 실제로 미토콘드리아 베타-산화의 최종 산물인 케톤체의 생산은 CPT의 활성과 연관된다.

문헌[Venerando R. et al.(1994) Am. J. Physiol. 266:C455-C461]에 개시된 기법에 따라 수득된 간세포 제제를 사용한다.

상기 간세포를 O₂/CO₂ 95/5% 분위기 하에 37 °C에서 KRB 바이카보네이트 완충액(pH 7.4), 글루코스 6 mM, 1% BSA 중에서 2.5 x 10⁶ 세포/mL의 농도로 배양한다. 상이한 농도로 분석할 화합물과 40 분의 예비 배양 후에, 첫 번째 일련의 샘플을 취하고(T_{0 min}) 올리에이트를 가한다(KRB + BSA 1.4% 중의 최종 1 mM). 20 분 후에 두 번째 샘플을 취한다(T_{20 min}).

시험 3: 처리된 래트 혈청 중의 β-하이드록시 부티레이트

통상적으로 사육된 피셔 래트를 24 시간 동안 금식 상태로 유지시키고 이어서 시험 화합물로 처리한다. 상기

처리 후 1 시간째에 상기 동물을 죽이고 β -하이드록시 부티레이트의 혈청 농도를 측정한다.

<134> 다른 시험

<135> 경구 또는 정맥 내 투여 후 래트 또는 마우스에서 혈액-뇌 장벽을 가로지르는 상기 화합물들의 능력을 HPLC-MS 기법을 사용하여 뇌 균질물상에서 측정한다. 예비 데이터로부터 본 발명의 화합물들이 상기 혈액-장벽을 효율적으로 가로지를 수 있음이 입증되었다.

<136> 더욱 또한 경구 또는 정맥 내 투여 후 음식 섭취의 평가를 급성 또는 금식 투여에 대해, 래트를 먹이에 자유롭게 접근시키거나 또는 제한 시간 접근시켜 측정한다.

<137> 최종적으로 당뇨병 마우스, 예를 들어 db/db 마우스에서 경구 또는 뇌심실내 투여에 대한 혈당증 강하를 측정한다.

도면의 간단한 설명

<69> 도 1은 A가 $-N(R_2R_3R_4)^+$ 이고, R_1 이 화학식 I의 화합물에 대해 지시된 의미들 중 어느 하나를 가지며, R_2 , R_3 및 R_4 가 메틸이고 R이 화학식 I의 화합물에 대해 지시된 의미들 중 어느 하나를 갖는 화학식 I 화합물의 합성 반응식을 나타낸다.

도면

도면1

