(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0120106
(43) 공개일자 2023년08월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/5377 (2006.01) *A61P 3/04* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/5377 (2013.01)
A61P 3/04 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2023-0016160
(22) 출원일자 2023년02월07일
심사청구일자 2023년02월07일
(30) 우선권주장
1020220016377 2022년02월08일 대한민국(KR)

(71) 출원인
주식회사 엘지화학
서울특별시 영등포구 여의대로 128 (여의도동)
(72) 발명자
박희동
서울특별시 강서구 마곡중앙10로 30 엘지사이언스파크 E8블럭
황혜경
서울특별시 강서구 마곡중앙10로 30 엘지사이언스파크 E8블럭
여수진
서울특별시 강서구 마곡중앙10로 30 엘지사이언스파크 E8블럭
(74) 대리인
특허법인한성

전체 청구항 수 : 총 8 항

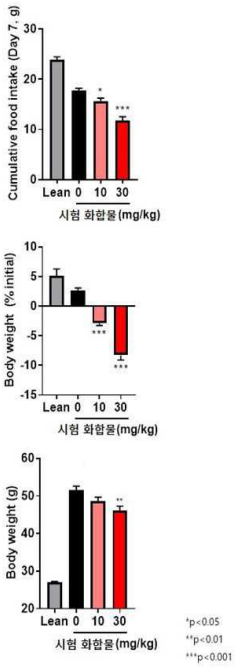
(54) 발명의 명칭 **멜라노코르틴-4 수용체 효능제의 희귀성 유전적 비만질환의 예방 또는 치료에서의 용도**

(57) 요 약

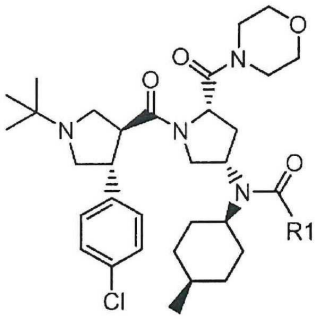
본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 멜라노코르틴-4 수용체(MC4R) 경로와 연관된 희귀성 유전적 비만질환, 특히 프로오피오멜라노코르틴(proopiomelanocortin, POMC) 결핍과 연관된 희귀성 유전적 비만질환의 예방 또는 치료하는 목적으로 사용하는 용도에 관한 것이다:

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1



[화학식 1]



상기 화학식 1에서, R1은 C_2-C_5 알킬이다.

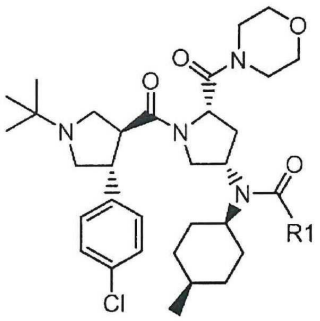
명 세 서

청구범위

청구항 1

치료적 유효량의 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 프로오피오멜라노코르틴(proopiomelanocortin, POMC) 결핍과 연관된 희귀성 유전적 비만질환의 예방 또는 치료용 약제:

[화학식 1]

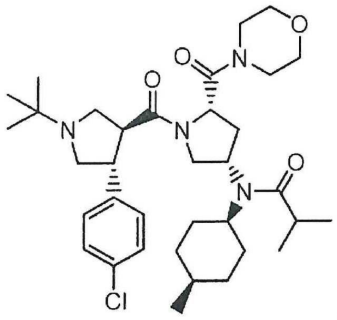


상기 화학식 1에서, R1은 C_2-C_5 알킬이다.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물이 하기 화학식 2의 *N*-((3*S*,5*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-5-(모르폴린-4-카보닐)피롤리딘-3-일)-*N*-((1*s*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아마이드인 것을 특징으로 하는 약제:

[화학식 2]



청구항 3

제1항에 있어서, 상기 약제학적으로 허용되는 염이 염산, 황산, 질산, 인산, 브롬화수소산 및 요오드화수소산으로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약제.

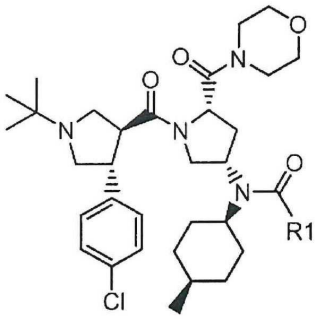
청구항 4

제1항에 있어서, 경구 제형인 것을 특징으로 하는 약제.

청구항 5

치료적 유효량의 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을, 약제학적으로 허용되는 담체와 함께 포함하는, 프로오피오멜라노코르틴(proopiomelanocortin, POMC) 결핍과 연관된 희귀성 유전적 비만질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물:

[화학식 1]

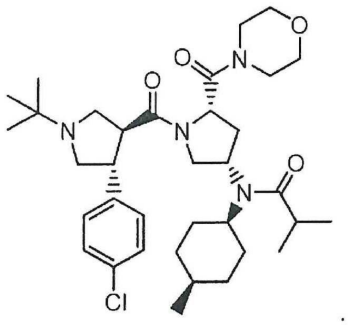


상기 화학식 1에서, R1은 C_2-C_5 알킬이다.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물이 하기 화학식 2의 *N*-((3*S*,5*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-5-(모르폴린-4-카보닐)피롤리딘-3-일)-*N*-((1*s*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아마이드인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물:

[화학식 2]



청구항 7

제5항에 있어서, 상기 약제학적으로 허용되는 염이 염산, 황산, 질산, 인산, 브롬화수소산 및 요오드화수소산으로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 8

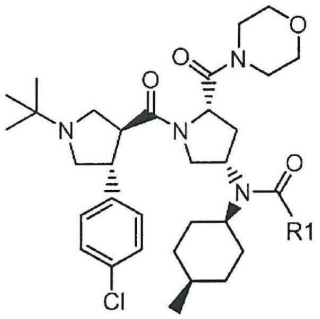
제5항에 있어서, 경구 제형인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 멜라노코르틴-4 수용체(MC4R) 경로와 연관된 희귀성 유전적 비만질환, 특히 프로오피오멜라노코르틴(proopiomelanocortin, POMC) 결핍과 연관된 희귀성 유전적 비만질환의 예방 또는 치료하는 목적으로 사용하는 용도에 관한 것이다:

[0002] [화학식 1]

[0003] 

[0005] 상기 화학식 1에서, R1은 C_2-C_5 알킬이다.

배 경 기 술

[0006] 멜라노코르틴 수용체(melanocortin receptor, MCR)는 G-단백질 결합 수용체(GPCR)의 일종으로, G-단백질의 주된 역할은 2차 전달자를 활성화시켜 신호전달을 통해 많은 생리학적 자극에 대한 세포의 반응을 조절한다. 멜라노코르틴 수용체는 현재까지 모두 5가지 종류가 밝혀져 있다. MC1R은 멜라닌 세포, 대식세포에서 발현되며 멜라닌 세포에서는 멜라닌 색소를 조절함으로써 피부와 모발의 색을 결정한다. MC2R은 부신과 지방조직에서 발현되며 부신에서의 부신피질 자극 호르몬에 의한 부신호르몬 분비조절의 매개기능이 잘 알려져 있다. MC3R, MC4R 및 MC5R은 신경 말단 뿐만 아니라 뇌에서도 발현되어 행동, 학습, 기억, 식욕, 신경의 발생과 재생 등에 대한 효과로 나타나는 멜라노코르틴 펩티드들에 의한 중추 신경 작용을 매개하는 것으로 생각되고 있다. 현재까지 MC3R은 발기부전 및 염증반응, MC4R은 비만 및 당뇨병에 관여한다고 알려져 있고, 각 수용체의 작용 특이성에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다 (MacNeil DJ et al., Eur J Pharmacol 2002, 450, 93). 그 결과, 비만이 활발히 진행된 사람에서의 유전학적 연구에서 MC4R이 깊이 관여됨을 알았고, MC4R이 제거된 유전자 변이 마우스(knockout mice)가 과식에 의해 비만으로 발전함을 보여주어 이 수용체가 식욕조절에서 중요한 역할을 한다는 것을 증명해주고 있다(Lu D, Willard D et al., Nature 1994, 371(6500), 799; Huszar D et al., Cell 1997, 88(1), 131; Hinney A et al., J Clin Endocrinol Metab 1990, 84(4), 1483).

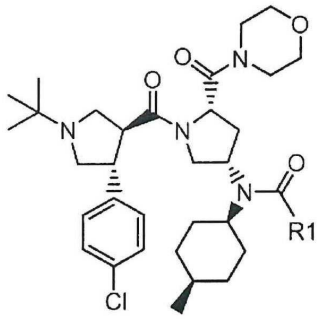
[0007] 한편, 기존 개발된 비만치료제로서는 중추신경계에 작용하는 식욕 저해제가 주종이며, 그 중에서도 신경신호전달 물질의 작용을 조절하는 약물(예로, 펜터민, 마진돌, 로카세린, 플루옥세틴 및 시부트라민)이 대부분이었다. 그러나 상기 신경신호전달 물질 조절제의 경우는 수 많은 subtype 수용체들을 통하여 식욕저해 이외에 다양한 생리작용에도 광범위한 영향을 미친다. 따라서 상기 약물의 경우 각 subtype별 선택성이 결여되어 장기간 투여시, 다양한 부작용을 수반하게 되는 단점이 있다. 반면 멜라노코르틴 항진제는 신경신호전달 물질이 아닌 신경펩타이드로서, MC4R 유전자제거(knockout, KO) 마우스에서 에너지 대사 이외의 다른 기능들은 모두 정상적인 점을 볼 때, 다른 생리 기능에 대한 영향 없이 식욕저해를 통한 체중 감소만을 유도할 수 있다는 점에서 작용점으로서의 장점을 가질 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 멜라노코르틴-4 수용체(MC4R) 경로와 연관된 희귀성 유전적 비만질환, 특히 프로오피오멜라노코르틴(proopiomelanocortin, POMC) 결핍과 연관된 희귀성 유전적 비만질환의 예방 또는 치료에서 사용하기 위한 용도를 제공하고자 하는 것이다:

[0009] [화학식 1]

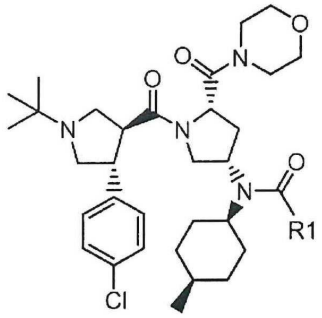
[0010] 

[0012] 상기 화학식 1에서, R1은 C_2-C_5 알킬이다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명은 치료적 유효량의 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 프로오피오멜라노코르틴(proopiomelanocortin, POMC) 결핍과 연관된 희귀성 유전적 비만질환의 예방 또는 치료용 약제를 제공한다:

[0014] [화학식 1]

[0015] 

[0017] 상기 화학식 1에서, R1은 C_2-C_5 알킬이다.

[0019] 또한, 본 발명은 치료적 유효량의 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을, 약제학적으로 허용되는 담체와 함께 포함하는, 프로오피오멜라노코르틴(POMC) 결핍과 연관된 희귀성 유전적 비만질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.

[0020] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 치료적 유효량으로 치료 대상에게 투여하는 것을 포함하여, 프로오피오멜라노코르틴(POMC) 결핍과 연관된 희귀성 유전적 비만질환을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.

[0021] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의, 프로오피오멜라노코르틴(POMC) 결핍과 연관된 희귀성 유전적 비만질환을 예방 또는 치료하기 위한 용도를 제공한다.

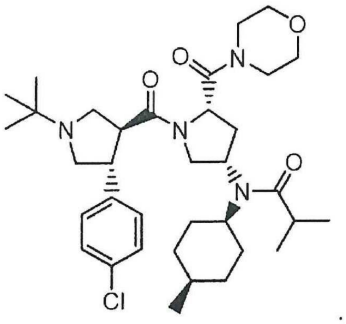
[0023] 이하에서 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0025] 본 발명의 일 측면에 따르면, 치료적 유효량의 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 프로오피오멜라노코르틴(POMC) 결핍과 연관된 희귀성 유전적 비만질환(rare genetic obesity)의 예방 또는 치료용 약제가 제공된다.

[0026] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 치료적 유효량의 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을, 약제학적으로 허용되는 담체와 함께 포함하는, 프로오피오멜라노코르틴(POMC) 결핍과 연관된 희귀성 유전적 비만질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물이 제공된다.

[0028] 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 화학식 1의 화합물은 하기 화학식 2의 *N*-((3*S*,5*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-5-(모르폴린-4-카보닐)피롤리딘-3-일)-*N*-((1*s*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아마이드이다:

[0029] [화학식 2]

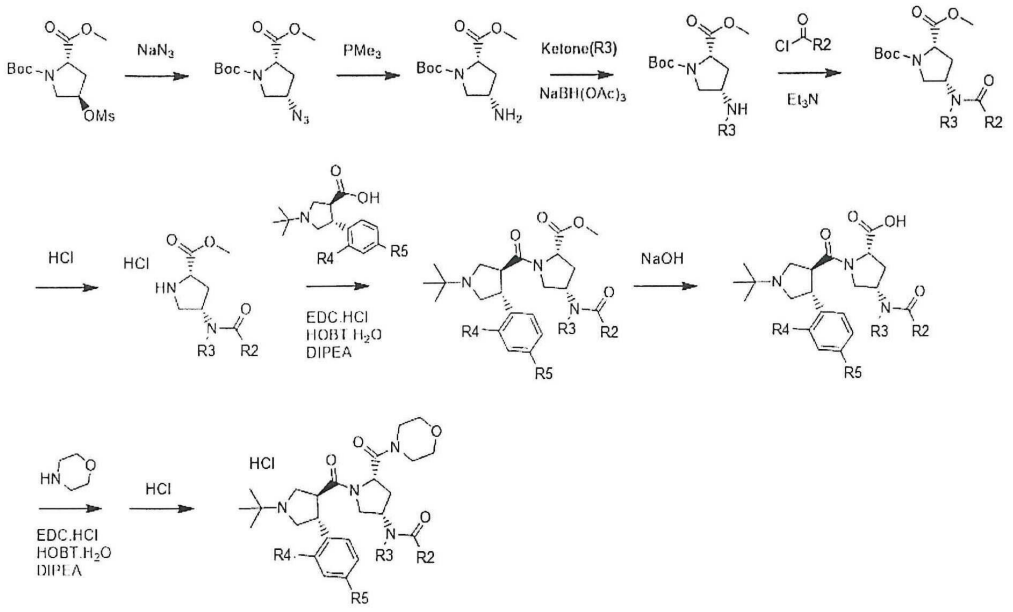
[0030] 

.

[0032] 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 약제학적으로 허용되는 염은, 예를 들면 염산, 황산, 질산, 인산, 브롬화수소산, 요오드화수소산 등과 같은 무기산, 타타르산, 포름산, 시트르산, 아세트산, 트리클로로아세트산, 트리플루오로아세트산, 글루콘산, 벤조산, 락트산, 푸마르산, 말레인산 등과 같은 유기 카본산, 메탄설폰산, 벤젠설폰산, p-톨루엔설폰산 또는 나프탈렌설폰산 등과 같은 설폰산 등에 의해 형성된 산부가염을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 약제학적으로 허용되는 염은 염산, 황산, 질산, 인산, 브롬화수소산 및 요오드화수소산으로 이루어지는 그룹으로부터 선택될 수 있다. 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 약제학적으로 허용되는 염은 염산염이다.

[0034] 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 화학식 1의 화합물의 염산염은 하기 반응식 1에 따라 제조될 수 있다. 그러나 본 발명이 속한 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 화학식 1의 구조를 바탕으로 다양한 방법에 의해 화학식 1의 화합물을 제조할 수 있다.

[0035] [반응식 1]



[0036]

[0038] 상기 반응식 1에서,

[0039] R2는 C_1-C_5 알킬이고;

[0040] R3는 비치환되거나 1개 또는 2개의 C_1-C_5 알킬로 치환된 C_3-C_8 사이클로알킬이며;

[0041] R4 및 R5는 각각 독립적으로 수소 또는 할로겐이다.

[0043] 본 발명에 따르면 상기 화학식 1의 화합물은 프로오피오멜라노코르틴(POMC) 결핍과 연관된 희귀성 유전적 비만 질환을 효율적으로 예방 또는 치료할 수 있다. 프로오피오멜라노코르틴(POMC)은 241 아미노산 잔기를 갖는 전구체(precursor) 폴리펩타이드로, 뇌하수체 전엽과 중엽에서 합성되고 멜라닌세포 자극호르몬(melanocyte-stimulating hormone, MSH), 엔돌핀(endorphin), 부신피질 자극호르몬(corticotrophin) 등 여러 가지 펩타이드 호르몬의 전구체 역할을 한다. 멜라노코르틴-4 수용체(MC4R)의 리간드(ligand)인 alpha-MSH는 MC4R의 상위(upstream)에서 작용을 하는데, 이를 encoding하는 Pomc 유전자가 결핍되어 정상적으로 발현이 되지 않을 경우 심각한 조기발병(early-onset) 비만을 유발할 수 있다.

[0045] 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 개개의 대상에 대한 "치료적 유효량(therapeutically effective amount)"은 상기한 약리학적 효과, 즉 치료 효과를 달성하는데 충분한 양을 의미하고, 화합물의 양은 대상의 상태 및 그의 중증도, 투여 방식, 및 치료될 대상의 연령에 따라 달라질 것이나, 관련 기술분야의 통상의 기술자가 그들 자신의 지식에 기초하여 결정할 수 있다.

[0047] 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 화학식 1의 화합물의 치료 유효 투여량은, 예를 들면 성인 치료에 필요한 투여량은 투여의 빈도와 강도에 따라 하루에 약 0.1 내지 500 ㎎ 범위가 통상적이다. 성인에게 근육 내 또는 정맥 내 투여 시 일회 투여량으로 분리하여 하루에 보통 약 0.1 내지 300 ㎎의 전체 투여량이면 충분할 것이나, 일부 환자의 경우 더 높은 일일 투여량이 바람직할 수 있다.

[0049] 본 발명에서 "약제학적 조성물"은 본 발명에 따른 활성 화합물에 추가하여 담체, 희석제, 부형제 등과 같은 다른 화학 성분들을 포함할 수 있다. 따라서, 상기 약제학적 조성물에는 필요에 따라 약제학적으로 허용되는

담체, 희석제, 부형제, 또는 이들의 조합이 포함될 수 있다. 약제학적 조성물은 생물체 내로 활성 화합물의 투여를 용이하게 한다. 화합물을 투여하는 다양한 기술이 존재하며, 여기에는 경구, 주사, 에어로졸, 비경구, 및 국소 투여 등이 포함되지만, 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

[0050] 본 명세서에서 "담체(carrier)"란 세포 또는 조직 내로 화합물의 투입을 용이하게 하는 화합물을 의미한다. 예를 들어, 디메틸설폭사이드(DMSO)는 생물체의 세포 또는 조직 내로 많은 유기 화합물의 투입을 용이하게 하는 통상의 담체이다.

[0051] 본 명세서에서 "희석제(diluent)"란 대상 화합물의 생물학적 활성 형태를 안정화시킬 뿐만 아니라, 화합물을 용해시키는 물에서 희석되는 화합물로 정의된다. 완충액에 용해되어 있는 염은 당해 분야에서 희석제로 사용된다. 통상 사용되는 완충액은 인체 용액의 염 형태를 모방하고 있는 포스페이트 완충 식염수이다. 완충제 염은 낮은 농도에서 용액의 pH를 제어할 수 있기 때문에, 완충 희석제가 화합물의 생물학적 활성을 변형시키는 일은 드물다.

[0052] 본 명세서에서 "약제학적으로 허용되는(pharmaceutically acceptable)"이란, 화합물의 생물학적 활성과 물성들을 손상시키지 않는 성질을 의미한다.

[0053] 본 발명에서 화합물은 목적하는 바에 따라 다양한 약제학적 투여 형태로 제형화될 수 있다. 본 발명에 따른 약제학적 조성물을 제조하는 경우, 유효 성분, 구체적으로 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을, 제조하고자 하는 제형에 따라 선택될 수 있는 다양한 약제학적으로 허용되는 담체와 함께 혼합한다. 예를 들어, 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 목적하는 바에 따라 주사용 제제, 경구용 제제 등으로 제형화될 수 있다.

[0054] 본 발명의 화합물은 공지된 제약용 담체와 부형제를 이용하는 공지의 방법으로 제제화되어 단위 용량 형태 또는 다용량 용기에 내입될 수 있다. 제제의 형태는 오일 또는 수성 매질 중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태일 수 있으며, 통상의 분산제, 현탁제 또는 안정화제를 함유할 수 있다. 또한, 예를 들어, 사용 전에 무균, 발열물질이 제거된 물에 녹여 사용하는 건조 분말의 형태일 수도 있다. 본 발명의 화합물은 또한, 코코아버터 또는 기타 글리세리드와 같은 통상의 좌약 기제를 이용하여 좌약형으로 제제화될 수도 있다. 경구 투여용 고체투여 형태는 캅셀제, 정제, 환제, 산제 및 과립제가 가능하고, 특히 캅셀제와 정제가 유용하다. 정제 및 환제는 장용피제로 제조하는 것이 바람직하다. 고체투여 형태는 본 발명의 화합물을 수크로오즈, 락토오즈, 전분 등과 같은 하나 이상의 불활성 희석제 및 마그네슘 스테아레이트와 같은 윤활제, 붕해제, 결합제 등과 같은 담체와 혼합시킴으로써 제조할 수 있다. 또한, 경피(transdermal) 투여 형태로 제제화될 수 있고, 예를 들면 로션, 연고, 겔, 크림, 패취 또는 분무제 등으로 제형화될 수 있다. 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 약제 또는 약제학적 조성물은 경구 제형일 수 있다.

[0055] 본 명세서에서 "예방"이란 질병에 걸릴 가능성을 감소시키거나 가능성을 제거하는 것이다.

[0056] 본 명세서에서 "치료"란 발병 증상을 보이는 객체에 사용될 때 질병의 진행을 중단, 지연 또는 완화시키는 것을 의미한다.

발명의 효과

[0057] 본 발명에 따른 약제 또는 약제학적 조성물은 멜라노코르틴-4 수용체(MC4R) 경로와 연관된 희귀성 유전적 비만질환, 특히 프로오피오멜라노코르틴(proopiomelanocortin, POMC) 결핍과 연관된 희귀성 유전적 비만질환을 효율적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

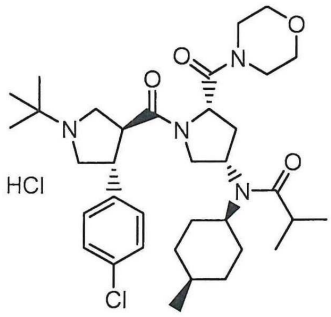
[0058] 도 1은 고지방 식이 POMC 이형접합 결핍 마우스(HFD POMC heterozygous deficient mouse) 모델에서 항비만(anti-obesity) 효능을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 2는 고지방 식이 POMC 동형접합 결핍 마우스(HFD POMC homozygous deficient mouse) 모델에서 항비만(anti-obesity) 효능을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0059] 이하에서 본원 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 하나 이상의 구체예를 예시적으로 설명하기 위한 것일 뿐 발명의 범위가 이들에 의해서 한정되는 것은 아니다.

[0061] **제조예: *N*-((3*S*,5*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-5-(모르폴린-4-카보닐)피롤리딘-3-일)-*N*-((1*s*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아마이드 염산염의 합성**

[0062] 

[0064] 하기 단계 A, B, C 및 D의 과정을 거쳐 표제 화합물을 얻었다.

[0065] 단계 A: 메틸 (2*S*,4*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-4-(*N*-((1*s*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아미도)피롤리딘-2-카복실레이트의 제조

[0066] 제조예 1에서 얻은 메틸 (2*S*,4*S*)-4-(*N*-((1*s*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아미도)피롤리딘-2-카복실레이트 염산염 (28.7 g, 82.73 mmol), 제조예 2에서 얻은 (3*S*,4*R*)-1-(*tert*-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카복실산 (24.5 g, 86.87 mmol), 1-(3-다이메틸아미노프로필)-3-에틸카르보디이미드 염산염(22.2 g, 115.83 mmol) 및 1-하이드록시벤조트리아졸 하이드레이트(15.7 g, 115.83 mmol)을 *N*,*N*'-다이메틸폼아마이드 (400ml)에 녹이고 *N*,*N*'-다이아이소프로필에틸아민 (72.0 ml, 413.66 mmol)을 천천히 첨가하였다. 상온에서 16시간 동안 교반을 하고 반응 용매를 감압 농축시킨 후, 0.5N 수산화 소듐 수용액을 넣고 에틸 아세테이트로 두 번 추출을 하였다. 유기층을 염화 소듐 수용액과 물로 두 번씩 씻어 준 후, 무수 황산 마그네슘으로 건조 여과하였다. 여액을 감압 농축하고 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물 (41.19 g, 87%)을 얻었다.

[0067] MS [M+H] = 575 (M+1)

[0069] 단계 B: (2*S*,4*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-4-(*N*-((1*s*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아미도)피롤리딘-2-카복실산의 제조

[0070] 상기 단계 A에서 얻은 메틸 (2*S*,4*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-4-(*N*-((1*s*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아미도)피롤리딘-2-카복실레이트 (39. 4 g, 68.62 mmol)를 메탄올 (450 ml)에 녹인 후, 6N 수산화 소듐 수용액 (57.2 ml, 343.09 mmol)을 첨가하였다. 상온에서 16시간 동안 교반을 하고 6N 염산 수용액으로 pH 5 정도 맞춘 후, 반응 용액을 감압 농축시켰다. 농축액을 다이클로로메탄으로 녹인 후, 녹지 않는 고체는 종이 필터로 여과하였다. 여과액을 감압 농축하여 crude (38.4 g, 99%)를 얻었고 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0071] MS [M+H] = 561 (M+1)

[0073] 단계 C: *N*-((3*S*,5*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-5-(모르폴린-4-카보닐)피롤리딘-3-일)-*N*-((1*s*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아마이드의 제조

[0074] 상기 단계 B에서 얻은 (2*S*,4*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-4-(*N*-((1*s*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아미도)피롤리딘-2-카복실산 (38.4 g, 68.60 mmol), 1-(3-다이메틸아미노프로필)-3-에틸카르보디이미드 염산염(18.4 g, 96.04 mmol) 및 1-하이드록시벤조트리아졸 하이드레이트 (13.0 g, 96.04 mmol)를 *N*,*N*'-다이메틸폼아마이드 (200ml)에 녹인 후, 순차적으로 모르폴린 (5.9 ml, 68.80 mmol)과 *N*,*N*'-다이아이소프로필에틸아민 (59.7 ml, 343.02 mmol)를 천천히 첨가하였다. 상온에서 16시간 동안 교반을 하고 반응 용액을 감압 농축시킨 후, 0.5N 수산화 소듐 수용액을 넣고 에틸 아세테이트로 두 번 추출을 하였다. 유기층을 염화 소듐 수용액과 물로 두 번씩 씻어준 후, 무수 황산 마그네슘으로 건조 여과하였다. 여과액을 감

압 농축하고 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물 (37.05 g, 86%)을 얻었다.

[0075] MS [M+H] = 630 (M+1)

[0077] 단계 D: *N*-((3*S*,5*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-5-(모르폴린-4-카보닐)피롤리딘-3-일)-*N*-((1*s*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아마이드 염산염의 제조

[0078] 상기 단계 C에서 얻은 *N*-((3*S*,5*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-5-(모르폴린-4-카보닐)피롤리딘-3-일)-*N*-((1*s*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아마이드 (5.0 g, 7.95 mmol)를 에틸 아세테이트 (50 ml)에 녹인 후, 2N 염산 에틸 아세테이트 용액 (3.97 ml, 15.89 mmol)를 천천히 첨가하였다. 상온에서 30분 동안 교반을 시킨 후, 반응 용매를 감압 농축시켰다. 생성된 crude 고체는 헥산과 다이에틸 에테르를 사용하여 trituration으로 정제하여 표제 화합물 (5.23 g, 99%)를 얻었다.

[0079] MS [M+H] = 630 (M+1)

[0080] ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.49-7.44 (m, 4H), 4.83 (m, 1H), 4.23-4.20 (m, 1H), 3.95-3.91 (m, 2H), 3.79-3.47 (m, 14H), 3.03-3.00 (m, 1H), 2.86-2.82 (m, 1H), 2.73-2.67 (m, 1H), 2.20-2.14 (m, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.80-1.62 (m, 5H), 1.50 (s, 9H), 1.44-1.27 (m, 3H), 1.06-1.04 (m, 9H)

[0082] **실시예: Pomc knock-out 마우스 모델 실험**

[0083] 프로오피오멜라노코르틴(proopiomelanocortin, POMC)은 멜라노코르틴-4 수용체(MC4R)의 리간드인 alpha-MSH의 전구체 폴리펩타이드로 멜라노코르틴-4 수용체의 upstream에서 작용하는데, 이 프로오피오멜라노코르틴 단백질이 제대로 발현되지 않는 Pomc knock-out 마우스는 유전적 비만 질환인 POMC 결핍 비만 (POMC deficiency obesity)을 반영하는 모델로, 이상식욕항진 및 심각한 비만과 같은 비정상적인 대사질환관련 표현형을 나타내는 마우스이다.

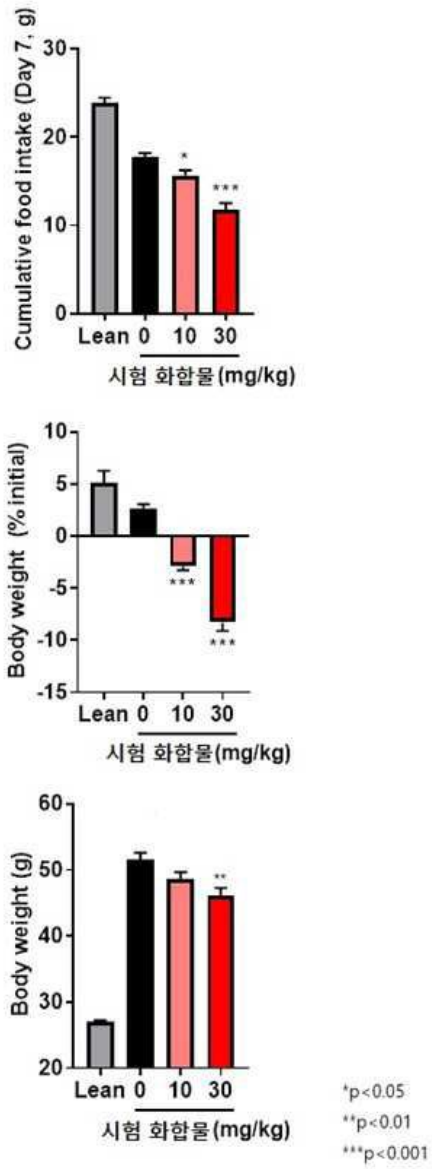
[0084] 프로오피오멜라노코르틴(POMC)을 encoding하는 Pomc 유전자가 정상적으로 발현되지 않는 Pomc heterozygous knock-out 마우스에 60 kcal% 고지방 사료(diet with 60 kcal% fat)를 급이하면서 제조예에서 얻은 *N*-((3*S*,5*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-5-(모르폴린-4-카보닐)피롤리딘-3-일)-*N*-((1*s*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아마이드 염산염(이하에서 “시험 화합물”)을 10 mg/kg 또는 30 mg/kg의 용량으로 약 3주간 투여하여 항비만 효능을 확인한 다음 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0085] 프로오피오멜라노코르틴(POMC)을 encoding하는 Pomc 유전자가 발현되지 않는 Pomc homozygous knock-out 마우스에 45 kcal% 고지방 사료(diet with 45 kcal% fat)를 급이하면서 시험 화합물을 10 mg/kg 또는 30 mg/kg의 용량으로 약 10일 간 투여하여 항비만 효능을 확인한 다음 그 결과를 도 2에 나타내었다.

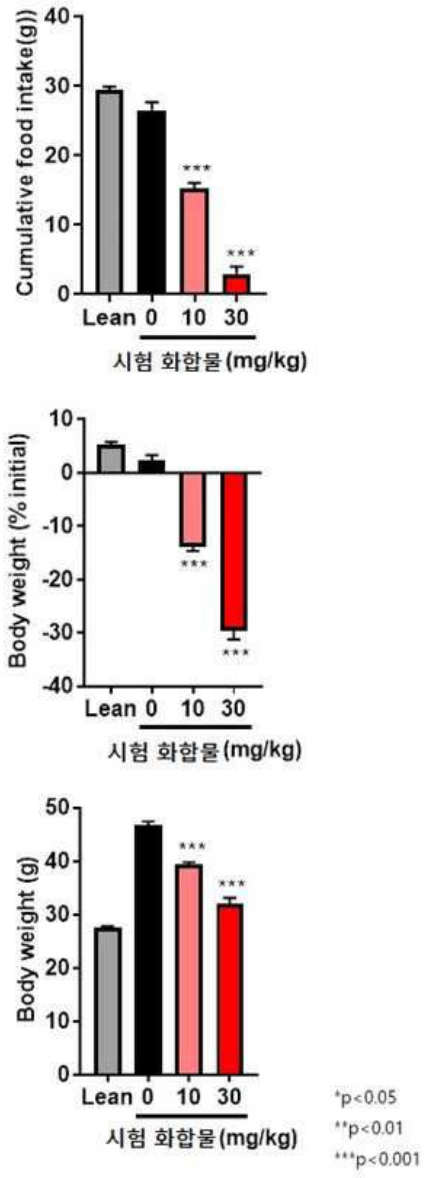
[0086] 도 1 및 2로부터 볼 수 있듯이, 본 발명의 시험 화합물이 우수한 항비만 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

도면

도면1


Cumulative food intake (Day 7, g)
30
20
10
0
*
***
Lean 0 10 30
시험 화합물(mg/kg)
Body weight (% initial)
10
5
0
-5
-10
-15
***
***
Lean 0 10 30
시험 화합물(mg/kg)
Body weight (g)
60
50
40
30
20
**
Lean 0 10 30
시험 화합물(mg/kg)
*p<0.05
**p<0.01
***p<0.001

도면2


Cumulative food intake(g)
40
30
20
10
0
***
***
Lean 0 10 30
시험 화합물(mg/kg)
Body weight (% initial)
10
0
-10
-20
-30
-40
***
***
Lean 0 10 30
시험 화합물(mg/kg)
Body weight (g)
50
40
30
20
10
0
***
***
Lean 0 10 30
시험 화합물(mg/kg)
*p<0.05
**p<0.01
***p<0.001