



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년02월04일

(11) 등록번호 10-2359191

(24) 등록일자 2022년01월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07J 11/00 (2006.01) A61K 47/54 (2017.01)

C07J 31/00 (2006.01) C07J 9/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07J 11/00 (2013.01)

A61K 47/542 (2017.08)

(21) 출원번호 10-2018-7028967

(22) 출원일자(국제) 2017년03월07일

심사청구일자 2020년03월06일

(85) 번역문제출일자 2018년10월08일

(65) 공개번호 10-2018-0117702

(43) 공개일자 2018년10월29일

(86) 국제출원번호 PCT/US2017/021194

(87) 국제공개번호 WO 2017/156024

국제공개일자 2017년09월14일

(30) 우선권주장

62/306,914 2016년03월11일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020160007586 A*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

인터셉트 파마슈티컬즈, 인크.

미국 10001 뉴욕주, 뉴욕, 씨티세븐쓰 에프엘, 허드슨 야드 10

(72) 발명자

펠리치아리, 로베르토

이탈리아 06100 페루자 비아 올리세 로키 60

지오이엘로, 안티모

이탈리아 06125 페루자 비아 에이. 페센티 51

(74) 대리인

양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 8 항

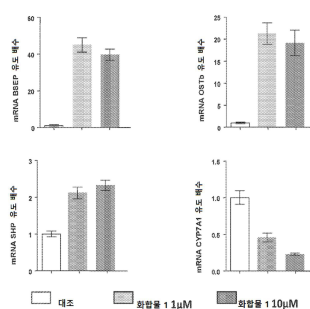
심사관 : 김지은

(54) 발명의 명칭 3-데옥시 유도체 및 이의 약제학적 조성물

(57) 요약

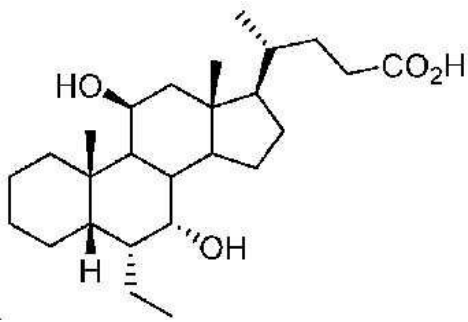
본 출원은 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 제공한다. 본 발명은 FXR (뒷면에 계속)

대표도 - 도1



활성제 및 상기 화합물을 제조 및 사용하는 방법에 관한 것이다.

[화합물 1]



(52) CPC특허분류

C07J 31/006 (2013.01)

C07J 9/005 (2013.01)

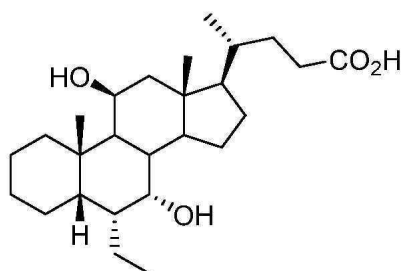
명세서

청구범위

청구항 1

하기 구조식의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염:

[화합물 1]



청구항 2

제1항의 화합물의 유리산.

청구항 3

제1항의 화합물의 약제학적으로 허용 가능한 염.

청구항 4

유효량의 제1항의 화합물을 포함하는, FXR에 의해 활성화되는 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하기 위한 제약 조성물이며, 여기서 FXR에 의해 활성화되는 질환 또는 병태는 심혈관 질환, 만성 간 질환, 지질 장애, 위장관 질환, 신장 질환, 대사 질환, 암, 및 신경 질환으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 질환 또는 병태가 만성 간 질환인 제약 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 만성 간 질환이 원발성 담관성 간경화 (PBC) (원발성 담관성 담관염으로도 알려짐), 뇌힘줄 황색종증 (CTX), 원발성 경화성 담관염 (PSC), 약물 유도성 담즙정체, 임신중 간내 담즙정체, 비경구 영양 관련 담즙정체(PNAC), 박테리아 과다증식 또는 패혈증 관련 담즙정체, 자가면역성 간염, 만성 바이러스성 간염, 알코올성 간 질환, 비알코올성 지방간 질환(NAFLD), 비알코올성 지방간염(NASH), 간 이식 관련 이식편대숙주병, 생존 공여자 이식 간 재생, 선천적 간 섬유증, 총담관결석증, 육아종성 간 질환, 간내 또는 간외 악성종양, 쇼그렌 증후군, 유육종증, 윌슨병, 고세병, 혈색소증, 및 알파 1-항트립신 결핍증으로부터 선택된 것인 제약 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 만성 간 질환이 NAFLD인 제약 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서, 만성 간 질환이 NASH인 제약 조성물.

발명의 설명

기술분야

배경기술

[0001]

간 장애는 인구에서 광범위하게 발생하고 조기 사망에 대한 위험 인자이다. 예를 들어, 비-알코올성 지방간 질환(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 미국에서 수백만 명의 성인에 발생하는 장애이고 알코올을 거의 또는 전혀 마시지 않는 사람의 간에서 과도한 지방의 축적이 있는 병태를 말한다. NAFLD의 가장 흔한 형태는 간 지방증(지방간)으로 불리는 비-중증의 병태로, 여기에서는 지방이 간 세포에 축적된다. NAFLD는 대사 증후군으로 불리는 일군의 위험 인자를 갖는 개체에서 가장 흔히 생기는데, 이는 식후 글루코오스 불내성이 있거나 없는 증가된 공복 혈장 글루코오스, 과체중 또는 비만, 높은 혈중 지질, 예를 들어 콜레스테롤 및 중성지방 및 낮은 저밀도 리포단백 콜레스테롤 수준, 그리고 고혈압을 특징으로 하지만; 모든 환자가 모든 대사 증후군의 징후를 갖는 것은 아니다. 비만은 NAFLD의 가장 흔한 원인으로 생각되고 일부 전문가들은 비만 성인의 약 2/3 및 비만 아동의 1/2이 지방간을 가질 수 있다고 추정한다.

[0002]

NAFLD가 있는 사람은 비-알코올성 지방간염(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)으로 불리는 더 중증의 병태를 발생시킬 수 있다. 성인 미국인의 약 2 내지 5퍼센트 및 비만인 사람의 20%까지 NASH로 고통받을 수 있다. NASH에서는, 간에서의 지방 축적이 염증 및 상이한 정도의 흉터 형성과 연관된다. NASH는 말기 간 장애, 간경화 및 간세포 암종으로 진행할 실질적인 위험을 갖는 잠재적으로 중증의 병태이다. 간경화를 발생시키는 일부 환자는 간부전의 위험이 있고 결국 간 이식을 필요로 할 수 있다. NASH는 말기 간 장애의 주된 원인인 한편, NAFLD, 그리고 한층 더 심한 단계의 NASH는 인슐린 저항성 및 제2형 진성 당뇨병, 그리고 복부 비만을 포함하는 대사 증후군의 상태와 긴밀하게 관련된다.

[0003]

NAFLD 또는 NASH를 예방 또는 치료하도록 현재 승인된 약물은 없다. 많은 약리학적 개입이 시도되고 있으나 전체적으로 제한된 혜택을 갖는다. 항산화제는 지질 과산화작용을 저지시킬 수 있고 세포보호제는 인지질 막을 안정화시키지만, 시도되었으나 실패하였거나 어느 정도까지 보통의 혜택만을 갖는 약제로는 다른 것들 중에서도 우르소데옥시콜산, 비타민 E 및 C, 그리고 펜톡시필린을 포함한다. 올리스타트와 같은 체중-감량 약제는 단지 체중 감량만을 달성하기 위한 식이요법 및 운동의 사용과 비교하여 유의미한 혜택이 없었다. NAFLD/NASH에서 대부분의 체중-감량 연구는 단기간 및 제한된 성공의 예비 연구이고, 과사 염증 또는 섬유증에서 단지 중증도의 개선만이 보고되었다. 더욱이, 시험용 신약은 이의 추가적 개발을 방해할 수 있는 다양한 장애와 부딪힌다. 이러한 장애는 불량한 조직 분포, 부적절한 약동학 프로파일, 안전성 문제, 예를 들어 독성, 및/또는 원치않는 약물-약물 상호작용을 포함할 수 있다. 진행 중인 노력에도 불구하고, NAFLD 및 NASH의 진행을 둔화시키거나 이를 치료할 수 있는 효과적이고 잘 용인되는 화합물에 대한 충족되지 못한 상당한 임상적 요구가 남아있다.

[0004]

본 출원은 이러한 필요성을 다룬다. 따라서, 공지의 화합물보다 우수한 물리화학적, 시험관내 및/또는 생체내 ADME(흡수, 분포, 대사 및 배설) 특성 및/또는 우수한 생체내 약동학을 나타내면서 NAFLD 및 NASH와 같은 간 장애를 치료하기 위한 신규의 치료제를 제공하는 것이 본 발명의 목적이다.

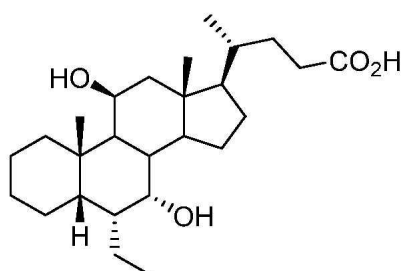
발명의 내용

[0005]

본 발명의 목적은 파네소이드 X 수용체(Farnesoid X receptor, FXR)를 활성화시키고, 이에 따라 NAFLD 및 NASH를 포함하는 FXR 관련 장애를 치료하는 데 유용한 화합물을 제공하는 것이다. 따라서, 본 발명은 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 제공한다:

[0006]

[화합물 1]



[0007]

- [0008] 본 발명은 추가로, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0009] 본 발명은 또한, 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, FXR에 의해 활성화되는 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다.
- [0010] 본 발명은 또한, FXR에 의해 활성화되는 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하기 위한 약제의 제조를 제공하는데, 여기에서 약제는 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 포함한다.
- [0011] 본 발명은 추가로, FXR에 의해 활성화되는 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하는 데 사용하기 위한 약제학적 조성물을 포함하는 조성물을 제공하는데, 여기에서 조성물은 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 포함한다.
- [0012] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명이 속한 관련 기술 분야의 당업자에 의해서 일반적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기술된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에서 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 물질은 하기에 기술되어 있다. 물질, 방법 및 실시에는 단지 예시이며, 제한적인 것으로 의도되지 않는다. 본 발명의 다른 특징 및 이점은 하기 상세한 설명으로부터 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0013] 도 1은 FXR 표적 유전자 패널의 발현 수준을 나타낸다.

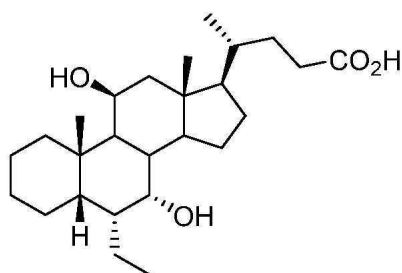
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0014] 본 발명은 화합물 1이 파네소이드 X 수용체(FXR)의 강력하고 선택적인 활성제라는 발견을 기반으로 한다. FXR은 콜레스테롤 항상성, 중성지방 합성 및 지질생성의 핵심 조절제로서의 역할을 하는 핵 수용체이다(Crawley, Expert Opinion Ther. Patents 2010, 20, 1047-1057). 이 수용체는 다양한 장기에서 발현되고, 간 질환, 폐 질환, 신장 질환, 장 질환, 및 심장 질환을 포함하는 많은 질환 및 병태, 그리고 글루코오스 대사, 인슐린 대사, 및 지질 대사와 같은 생물학적 과정에 관여되는 것으로 밝혀졌다.

- [0015] 정의

- [0016] 본원에서 사용되는 "화합물 1" 또는 "본 발명의 화합물"은 다음 화학 구조를 갖는 7 α ,11 β -디하이드록시-6 α -에틸-5 β -콜란-24-오익산을 의미한다:

- [0017] [화합물 1]



- [0018]

- [0019] 본 발명은 또한, 하나 이상의 원자가 자연에서 가장 통상적으로 발견되는 원자의 원자 질량 또는 질량수와는 상이한 원자 질량 또는 질량수를 갖는 원자에 의해 치환된 것을 제외하고는 위의 구조로 인화된 화합물과 동일한, 동위원소 표지된 화합물 1, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 포괄한다. 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체로 도입될 수 있는 동위원소의 예는 수소, 탄소, 질소, 불소의 동위원소, 예를 들어 ^3H , ^{11}C , ^{14}C , 및 ^{18}F 를 포함한다.

- [0020] 삼중수소, 즉 ^3H , 및 탄소-14, 즉 ^{14}C , 동위원소는 이들의 제조 용이성 및 검출가능성을 위해 사용될 수 있다. 또한, 중수소, 즉 ^2H 와 같은 더 무거운 동위원소로의 치환은, 더 큰 대사 안정성에서 생기는 특정 치료적 이점, 예를 들어 증가된 생체내 반감기 또는 감소된 투여량 요건을 제공할 수 있으며, 이에 따라 일부 상황에서 사용

될 수 있다. 동위원소 표지된 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체는 일반적으로 반응식 및/또는 실시예에 개시된 절차를 수행함으로써, 비-동위원소 표지된 시약을 쉽게 입수 가능한 동위원소 표지된 시약으로 치환함으로써 제조될 수 있다. 그러나, 당업자는 모든 동위원소가 비-동위원소 표지된 시약의 치환에 의해 포함될 수는 없다는 것을 인식할 것이다. 일 구현예에서, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체는 동위원소 표지되지 않는다. 일 구현예에서, 중수소화된 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체는 생분식 검정에 유용하다. 다른 구현예에서, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체는 방사성 표지된다.

[0021] 본원에서 사용되는 "약제학적으로 허용 가능한 염"은, 모 화합물이 카복실산 모이어티의 염을 형성함으로써 변형된 화합물 1의 유도체를 의미한다. 약제학적으로 허용 가능한 염의 예는 Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , 및 NH_4^+ 와 같은 양이온을 포함하지만, 이로 제한되지 않고 약제학적으로 허용 가능한 염에 존재하는 양이온의 예이다. 적합한 무기 염기는 수산화칼륨, 수산화칼슘, 탄산나트륨 및 수산화나트륨을 포함한다. 염은 또한 유기 염기, 예를 들어 이소프로필아민, 트리메틸아민, 디에틸아민, 트리에틸아민, 트리프로필아민, 에탄올아민, 2-디메틸아미노에탄올, 트로메타민, 리신, 아르기닌, 히스티딘, 카페인, 프로카인, 하이드라바민, 콜린, 베타인, 에틸렌디아민, 글루코사민, N-알킬글루카민, 테오브로민, 푸린, 피페라진, 피페리딘, N-에틸피페리딘 등을 포함하는 1급, 2급 및 3급 아민, 천연적으로 존재하는 치환된 아민을 포함하는 치환된 아민, 및 사이클릭 아민의 염을 사용하여 제조될 수 있다.

[0022] "약제학적으로 허용 가능한 담체"라는 구절은 당업계에 인식되어 있고, 예를 들어 임의의 대상 조성물을 신체의 한 장기 또는 일부로부터 신체의 다른 장기 또는 일부로 운반하거나 수송하는 데 관여하는 약제학적으로 허용 가능한 물질, 조성물 또는 비히클, 예를 들어, 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 용매 또는 캡슐화 물질이 포함된다. 각각의 담체는 대상 조성물의 다른 성분과 상용성이고 환자에 유해하지 않다는 의미에서 "허용 가능"하다. 특정 구현예에서, 약제학적으로 허용 가능한 담체는 비-발열원이다. 약제학적으로 허용 가능한 담체로서 작용할 수 있는 물질의 일부 예는 다음을 포함한다: 당, 예를 들어 락토오스, 글루코오스 및 수크로오스; 전분, 예를 들어 옥수수 전분 및 감자 전분; 셀룰로오스, 및 이의 유도체, 예를 들어 카복시메틸 셀룰로오스 나트륨, 에틸 셀룰로오스 및 셀룰로오스 아세테이트; 분말 트래거캔스; 맥아; 젤라틴; 탈크; 부형제, 예를 들어 코코아 버터 및 좌제 왁스; 오일, 예를 들어 낙화생유, 면실유, 해바라기씨유, 참기름, 올리브유, 옥수수유 및 대두유; 글리콜류, 예를 들어 프로필렌 글리콜; 폴리올류, 예를 들어 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜; 에스테르류, 예를 들어 에틸 올리에이트 및 에틸 라우레이트; 한천; 완충제, 예를 들어 수산화마그네슘 및 수산화알루미늄; 알긴산; 무-발열물질 물; 등장성 식염수; 링거액; 에틸알코올; 인산염 완충 용액; 및 약제학적 제형에 이용되는 다른 비-독성 상용성 물질.

[0023] "조성물" 또는 "약제학적 조성물"은 본 발명의 화합물 또는 이의 염 또는 아미노산 접합체를 함유하는 제형이다. 일 구현예에서, 약학 조성물은 대용량의 것 또는 단위 제형의 것이다. 단위 제형은 예를 들어 캡슐, IV 백, 정제, 에어로졸 흡입기에서의 단일 펌프 또는 바이알을 포함하는 임의의 다양한 형태이다. 조성물의 단위 용량 중 활성 성분(예를 들어, 본 발명의 화합물 또는 이의 염의 제형)의 양은 유효량이며, 관련된 특정 처치에 따라 달라진다. 당업자는 환자의 연령 및 상태에 따라 투약량에 일상적 변경을 가하는 것이 필요할 수 있다는 것을 인정할 것이다. 또한, 투여량은 투여 경로에 따라 달라질 것이다. 경구, 안구, 안과, 폐, 직장, 비경구, 경피, 피하, 정맥내, 근육내, 복강내, 비강내 등을 포함하는 다양한 경로가 고려된다. 본 발명의 화합물의 국소 투여 또는 경피 투여를 위한 제형으로서는 분말, 분사, 연고, 페이스트, 크림, 로션, 겔, 용액, 패치 및 흡입제를 포함한다. 다른 구현예에서, 화합물 1은 멸균 조건 하에 약제학적으로 허용 가능한 담체, 그리고 필요한 임의의 보존제, 완충제 또는 추진제와 함께 혼합된다.

[0024] 본원에서 사용되는 "치료"라는 용어는 질환 상태 또는 병태의 경감, 약화, 감소, 제거, 조절, 또는 완화, 즉 퇴행 유발을 의미한다.

[0025] 본원에서 사용되는 "예방"이라는 용어는, 특히, 환자 또는 대상이 질환 상태 또는 병태에 걸리기 쉽거나 걸릴 위험이 있을 때 환자 또는 대상에서 질환 상태 또는 병태의 발생을 완전히 또는 거의 완전히 저지하는 것을 의미한다. 또한, 예방은 예를 들어, 질환 상태 또는 병태가 이미 존재할 수 있을 때, 질환 상태 또는 병태의 억제, 즉 발생의 저지, 및 질환 상태 또는 병태의 경감 또는 완화, 즉 퇴행 유발을 포함할 수 있다.

[0026] 본원에서 사용되는 "~의 위험을 감소시킨다"는 구절은, 특히 대상이 중추 신경계 질환, 염증성 질환 및/또는 대사 질환이 발생하기 쉬운 경우에, 환자에서 이러한 발생 가능성 또는 확률을 낮추는 것을 의미한다.

- [0027] "조합 요법(combination therapy)"(또는 "공동-요법(co-therapy)")은 치료제들(즉, 본 발명의 화합물 및 적어도 제2 약제)의 공동-작용으로부터 유익한 효과를 제공하도록 의도된 특정 처치 계획의 일부로서의 본 발명의 화합물 및 적어도 제2 약제의 투여를 의미한다. 조합의 유익한 효과는 치료제의 조합으로부터 야기되는 약동학적 또는 약력학적 공동-작용을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 이들 치료제의 조합 투여는 통상적으로, 정의된 기간(대개 선택되는 조합에 따라 수 분, 수 시간, 수 일 또는 수 주일)에 걸쳐 실시된다. "조합 요법"은 본 출원의 조합을 우연적 및 인위적으로 야기하는 별도의 단독요법 계획의 일부로서 이들 치료제 중 둘 이상의 투여를 포함하는 것으로 의도될 수 있지만, 일반적인 것은 아니다. "조합 요법"은 이 치료제의 순차적 방식의 투여, 즉, 치료제가 상이한 시간에 투여되는 것뿐만 아니라, 이 치료제, 또는 치료제들 중 적어도 두 개의 실질적으로 동시적인 방식으로의 투여를 포함하도록 의도된다. 실질적으로 동시적인 투여는, 예를 들어, 고정 비율의 치료제를 갖는 단일 캡슐을 대상에 투여함으로써 수행되거나, 또는 각각의 치료제에 대한 단일 캡슐을 다회로 대상에 투여함으로써 수행될 수 있다. 각 치료제의 순차적이거나 실질적으로 동시적인 투여는, 경구 경로, 정맥내 경로, 근육내 경로, 및 점막 조직을 통한 직접 흡수를 포함하지만, 이로 제한되지 않는 임의의 적절한 경로에 의해 시행될 수 있다. 치료제는 동일한 경로에 의해 또는 상이한 경로에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 선택된 조합의 제1 치료제는 정맥내 주사에 의해 투여될 수 있으며, 조합의 다른 치료제는 경구 투여될 수 있다. 대안적으로, 예를 들어, 모든 치료제가 경구 투여될 수 있거나 모든 치료제가 정맥내 주사에 의해 투여될 수 있다. 치료제가 투여되는 순서는 엄밀하게는 중요하지 않다.
- [0028] "조합 요법"은 또한 위에 기술된 치료제를 기타 생물학적 활성 성분 및 비-약물 요법(예를 들어, 수술 또는 기계적 처치)과의 추가적 조합으로 투여하는 것을 포함한다. 조합 요법은 비-약물 처치를 추가로 포함하는 한편, 비-약물 처치는, 치료제 및 비-약물 처치의 조합의 공동-작용으로부터의 유익한 효과가 달성되는 한, 임의의 적합한 시간에 수행될 수 있다. 예를 들어, 적절한 경우, 비-약물 처치가 치료제의 투여로부터 한시적으로, 아마도, 수 일 또는 심지어 수 주일 동안 배제되었을 때에도 유익한 효과가 여전히 달성된다.
- [0029] 본 발명의 화합물의 "유효량"은 요망되는 약리학적 효과를 생산하는 화합물의 양(분량 또는 농도)이다. 일 구현예에서, 치료가 필요한 대상에 유효량의 화합물이 투여될 때, 질환에 따른 증상은 즉시 또는 화합물을 1회 이상 투여한 후에 완화된다. 대상에 투여되는 화합물의 양은 특정 장애, 투여 방식, 공동 투여되는 화합물(존재하는 경우) 및 대상의 특성, 예를 들어 일반적인 건강, 다른 질환, 연령, 성별, 유전자형, 체중 및 내약성에 의존할 것이다. 당업자는 이들 및 기타 인자에 따라 적절한 투여량을 결정할 수 있을 것이다.
- [0030] "예방적으로 유효한 양"이라는 용어는, 질환을 예방하거나 질환의 위험을 감소시키기 위해 투여되는 본 발명의 화합물 또는 화합물의 조합의 양(분량 또는 농도), 다시 말하면 방지적 또는 예방적 효과를 제공하는 데 필요한 양을 의미한다. 대상에 투여되는 본 화합물의 양은 특정 장애, 투여 방식, 공동 투여되는 화합물(존재하는 경우) 및 대상의 특성, 예를 들어, 일반적인 건강, 다른 질환, 연령, 성별, 유전자형, 체중 및 내약성에 의존할 것이다. 당업자는 이들 및 기타 인자에 따라 적절한 투여량을 결정할 수 있을 것이다.
- [0031] "대상"은 포유류, 예를 들어 인간, 반려 동물(예를 들어, 개, 고양이, 새 등), 가축(예를 들어, 소, 양, 돼지, 말 등), 및 실험실 동물(예를 들어, 래트, 마우스, 기니피그 등)을 포함한다. 통상적으로, 대상은 인간이다.
- [0032] 약제학적 조성물
- [0033] "약제학적 조성물"은 본 발명의 화합물을 대상에 투여하기 적절한 형태로 함유하는 제형이다. 일 구현예에서, 약학 조성물은 대용량의 것 또는 단위 제형의 것이다. 투여의 용이성 및 제제의 균일성을 위하여 조성물을 단위 제형으로 제형화하는 것이 유리할 수 있다. 본원에서 사용되는 단위 제형은 치료받는 대상을 위해 단위 용량으로서 적절한 물리적으로 분리된 단위를 말하고; 각각의 단위는 필요한 약제학적 담체와 함께 요망되는 치료 효과를 생산하도록 계산된 예정된 양의 활성 시약을 함유한다. 단위 제형에 대한 규격은 활성 시약의 독특한 특징 및 달성되는 특정한 치료 효과, 그리고 개인의 치료를 위한 이러한 활성제의 배합 분야에 고유한 제한에 좌우되고 이들에 직접적으로 의존한다.
- [0034] 가능한 제형은 경구, 설하, 협측, 비경구(예를 들어, 피하, 근육내, 또는 정맥내), 직장, 경피, 비강내 및 흡입 투여를 포함하는 국소용으로 적절한 것들을 포함한다. 특정 환자에 가장 적절한 투여 수단은 치료되는 질환의 성질 및 중증도 또는 사용되는 요법의 성질 및 활성 화합물의 성질에 의존할 것이지만, 가능한 경우, 경구 투여가 FXR 활성화 질환 및 병태의 예방 및 치료를 위해 사용될 수 있다. 경구 투여에 적절한 제형은 정제, 캡슐, 카세제, 로젠지와 같이 각각 예정된 양의 활성 화합물을 함유하는 분리된 단위로서; 산제 또는 과립제로서; 수성 또는 비-수성 액체 중 용액 또는 현탁액으로서; 또는 수중유 또는 유중수 유제로서 제공될 수 있다. 설하 또는 협측 투여에 적절한 제형은 활성 화합물 및, 전형적으로 풍미 기재, 예를 들어 당 및 아카시아 또는 트래거

캔스를 포함하는 로젠지 및 불활성 기재, 예를 들어 젤라틴 및 글리세린 또는 수크로오스 아카시아에 활성 화합물을 포함하는 향정(pastille)을 포함한다.

- [0035] 비경구 투여에 적절한 제형은 전형적으로 예정된 농도의 활성 화합물을 함유하는 멸균 수용액을 포함하는데; 용액은 의도된 수용자의 혈액과 등장성일 수 있다. 비경구 투여에 적절한 추가의 제형은 생리적으로 적절한 공동-용매 및/또는 착화제, 예를 들어 계면활성제 및 사이클로텍스트린을 함유하는 제형을 포함한다. 수중유 유제도 비경구 제형을 위한 적절한 제형이다. 비록 이러한 용액은 정맥내 투여될 수 있지만, 피하 또는 근육내 주사에 의해 투여될 수도 있다.
- [0036] 직장 투여에 적절한 제형은 좌제 기제를 형성하는 하나 이상의 고체 담체, 예를 들어 코코아 버터에 활성 성분을 포함하는 단위-용량 좌제로서 제공될 수 있다.
- [0037] 국소 또는 비강내 적용에 적절한 제형은 연고, 크림, 로션, 페이스트, 젤, 스프레이, 에어로졸 및 오일을 포함한다. 이러한 제형에 적절한 담체는 바셀린, 라놀린, 폴리에틸렌글리콜, 알코올, 및 이의 조합을 포함한다.
- [0038] 본 발명의 제형은 임의의 적절한 방법에 의해, 통상적으로 액체 또는 미세하게 분할된 고체 담체 또는 둘 다와 활성 화합물을 요구되는 비율로 균일하고 밀접하게 혼합한 다음, 필요에 따라, 생성된 혼합물을 원하는 형상으로 성형하는 것에 의해 제조될 수 있다.
- [0039] 예를 들어, 정제는 활성 성분 및 하나 이상의 선택적 성분, 예를 들어 결합제, 윤활제, 불활성 희석제, 또는 계면활성 분산제의 분말 또는 과립을 포함하는 밀접한 혼합물을 압축하는 것에 의해, 또는 분말화된 활성 성분과 불활성 액체 희석제의 밀접한 혼합물을 성형하는 것에 의해 제조될 수 있다. 흡입에 의한 투여를 위한 적절한 제형은 다양한 유형의 계량된 용량의 가압된 에어로졸, 분무기, 또는 취분기에 의해 생성될 수 있는 미세 입자 더스트 또는 분무를 포함한다.
- [0040] 구강을 통한 폐 투여의 경우, 분말 또는 액적의 입자 크기는, 기관지 수상 구조로의 전달을 보장하기 위해, 전형적으로 0.5 내지 10 μm 의 범위이거나, 또는 약 1 내지 5 μm 일 수 있다. 비강 투여의 경우, 10 내지 500 μm 범위의 입자 크기가 비강내 보유를 보장하기 위해 사용될 수 있다.
- [0041] 계량된 용량 흡입기는, 전형적으로 액화된 추진제에 활성 성분의 현탁액 또는 용액 제형을 함유하는 가압된 에어로졸 분배기이다. 사용 중에, 이들 기구는 전형적으로 10 내지 150 μm 인 계량된 용량을 전달하기 위해 조정된 밸브를 통해 제형을 배출하여, 활성 성분을 함유하는 미세 입자 스프레이를 생산한다. 적절한 추진제는 특정 클로로플루오로카본 화합물, 예를 들어 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 및 이의 혼합물을 포함한다. 제형은 추가로 하나 이상의 공동-용매, 예를 들어 에탄올 계면활성제, 예를 들어 올레산 또는 소르비탄 트리올리에이트, 항산화제 및 적절한 풍미제를 함유할 수 있다.
- [0042] 분무기는 전형적으로 공기 또는 산소인 압축된 가스의 좁은 벤투리 구멍을 통한 가속화에 의하거나, 또는 초음파 교반에 의해 활성 성분의 용액 또는 현탁액을 치료적 에어로졸 분무로 변환시키는 상업적으로 이용 가능한 기구이다. 분무기에 사용하기 적절한 제형은 액체 담체 중 활성 성분으로 구성되고 제형의 40% w/w까지, 바람직하게는 20% w/w 미만을 포함한다. 담체는, 바람직하게는, 예를 들어 염화나트륨의 첨가에 의해 체액과 등장성으로 만들어진, 전형적으로 물 또는 희석된 알코올 수용액이다. 선택적 첨가제는 제형이 멸균으로 제조되지 않을 경우 보존제, 예를 들어 메틸 하이드록시-벤조에이트, 항산화제, 풍미제, 휘발성 오일, 완충제 및 계면활성제를 포함한다.
- [0043] 흡입에 의한 투여에 적절한 제형은 취분기에 의해 전달되거나 코로 들이쉬는 방식으로 비강에 넣을 수 있는 미세하게 분쇄된 분말을 포함한다. 취분기에서 분말은, 전형적으로 젤라틴 또는 플라스틱으로 만들어진 캡슐 또는 카트리지에 함유되는데, 이는 사용시 천공 또는 개방되고 흡입시 기구를 통해 들어온 공기에 의해, 또는 수동으로 작동되는 펌프에 의해 분말이 전달된다. 취분기에 이용되는 분말은 활성 성분 단독으로, 또는 활성 성분, 적절한 분말 희석제, 예를 들어 유당, 및 선택적인 계면활성제를 포함하는 혼합 분말로 구성된다. 활성 성분은 전형적으로 제형의 0.1 내지 100% w/w를 포함한다.
- [0044] 추가의 구현예에서, 본 발명은 활성 성분으로서 본 발명의 화합물을 적어도 하나의 약제학적 담체 또는 희석제와 함께, 및/또는 이의 혼합물로 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 이들 약제학적 조성물은 전술한 질환 또는 병태의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.
- [0045] 담체는 약제학적으로 허용 가능하고 조성물 중의 다른 성분과 상용성을 가져야 한다(즉, 다른 성분에 유해한 영향을 끼치지 않아야 한다). 담체는 고체 또는 액체일 수 있고 바람직하게는 단위 용량 제형, 예를 들어 0.05 내

지 95 중량%의 활성 성분을 함유할 수 있는 정제로 제형화된다. 요망될 경우, 다른 생리적으로 활성인 성분이 또한 본 발명의 약제학적 조성물에 도입될 수 있다.

[0046] 위에 특별히 언급된 성분에 추가하여, 본 발명의 제형은 문제의 제형의 유형과 관련하여 약학 분야의 당업자에게 알려진 다른 물질을 포함할 수 있다. 예를 들어, 경구 투여에 적절한 제형은 품미제를 포함할 수 있고 비강 내 투여에 적절한 제형은 향료를 포함할 수 있다.

[0047] 처치의 방법

[0048] 본 발명의 화합물은 인간을 포함하는 포유류와 같은 대상에서의 요법에 유용하다. 특히, 본 발명의 화합물은, 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하는 방법에 유용하다. 일 구현예에서, 질환 또는 병태는 FXR-활성화에 의해 활성화된다(예를 들어, FXR이 질환 또는 병태의 개시 또는 진행에 역할을 한다). 일 구현예에서, 질환 또는 병태는 심혈관 질환, 만성 간 질환, 지질 장애, 위장관 질환, 신장 질환, 대사 질환, 암, 및 신경 질환으로부터 선택된다.

[0049] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 심혈관 질환을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 심혈관 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 심혈관 질환은 아테롬성 동맥경화증, 동맥경화증, 이상지질혈증, 고콜레스테롤혈증, 고지질혈증, 고리포단백혈증, 및 고중성지방혈증으로부터 선택된다.

[0050] "고지질혈증"이라는 용어는, 혈중 지질의 비정상적으로 상승된 수준의 존재를 의미한다. 고지질혈증은 다음의 적어도 3가지 형태로 나타날 수 있다: 고콜레스테롤혈증, 즉 상승된 콜레스테롤 수준; 고중성지방혈증, 즉 상승된 중성지방 수준; 및 조합된 고지질혈증, 즉 고콜레스테롤혈증 및 고중성지방혈증의 조합.

[0051] "이상지질혈증"이라는 용어는 하락 및/또는 상승 수준의 리포단백질 둘 다를 포함하는 혈장 중 리포단백질의 비정상적인 수준을 의미한다(예를 들어, 상승 수준의 LDL, VLDL 및 하락 수준의 HDL).

[0052] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 콜레스테롤 수준을 감소시키는 방법, 또는 콜레스테롤 대사, 이화 작용,식이 중 콜레스테롤의 흡수, 및 콜레스테롤 역 수송을 조정하는 방법으로부터 선택되는 방법에 관한 것이다.

[0053] 다른 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 콜레스테롤, 중성지방, 또는 담즙산 수준에 영향을 미치는 질환을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다.

[0054] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 중성지방을 저하시키는 방법에 관한 것이다.

[0055] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 상승된 콜레스테롤 수준과 관련된 질환 상태를 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 대상에서 상승된 콜레스테롤 수준과 관련된 질환 상태를 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 대상에서 상승된 콜레스테롤 수준과 관련된 질환 상태를 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 질환 상태는 관상 동맥 질환, 협심증, 경동맥 질환, 뇌졸중, 뇌 동맥경화증, 및 황색종으로부터 선택된다.

[0056] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 지질 장애를 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 지질 장애를 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 지질 장애를 예방하는 방법에 관한 것이다.

[0057] 지질 장애는 콜레스테롤 및 중성지방의 이상에 대한 용어이다. 지질 이상은 혈관 질환, 그리고 특히 심장 마비 및 뇌졸중의 증가된 위험과 관련된다. 지질 장애에서의 이상은 유전적 소인뿐만 아니라 식이 섭취의 성질의 조합이다. 많은 지질 장애는 과체중과 관련된다. 지질 장애는 또한 당뇨병, 대사 증후군(때때로 인슐린 저항성 증후군으로 호칭됨), 갑상선 기능저하 또는 (이식받은 사람에서 항-거부반응 요법에 사용되는 것과 같은) 특정 약

물치료의 결과를 포함하여, 다른 질환과 관련될 수 있다.

- [0058] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 지질 대사에 영향을 미치는 질환(즉, 지방이영양증)의 하나 이상의 증상을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 지질 대사에 영향을 미치는 질환의 하나 이상의 증상을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 지질 대사에 영향을 미치는 질환의 하나 이상의 증상을 예방하는 방법에 관한 것이다.
- [0059] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 지질 축적을 저하시키는 방법에 관한 것이다.
- [0060] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 만성 간 질환을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 만성 간 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 만성 간 질환을 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 만성 간 질환은 원발성 담관성 간경화(primary biliary cirrhosis, PBC)(원발성 담관성 담관염(primary biliary cholangitis, PBC)으로도 알려짐), 뇌하수체 황색종증(CTX), 원발성 경화성 담관염(PSC), 약물 유도성 담즙정체, 임신중 간내 담즙정체, 비경구 영양 관련 담즙정체(PNAC), 박테리아 과다증식 또는 패혈증 관련 담즙정체, 자가면역성 간염, 만성 바이러스성 간염, 알코올성 간 질환, 비알코올성 지방간 질환(NAFLD), 비알코올성 지방간염(NASH), 간 이식 관련 이식편대숙주병, 생존 공여자 이식 간 재생, 선천적 간 섬유증, 총담관결석증, 육아종성 간 질환, 간내 또는 간의 악성종양, 쇼그렌 증후군(Sjogren's syndrome), 유육종증, 윌슨병(Wilson's disease), 고세병(Gaucher's disease), 혈액소증, 및 알파 1-항트립신 결핍증으로부터 선택된다.
- [0061] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 담즙정체의 합병증을 포함하는, 담즙정체의 하나 이상의 증상을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 담즙정체의 하나 이상의 증상을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 담즙정체의 하나 이상의 증상을 예방하는 것에 관한 것이다.
- [0062] 담즙정체는 전형적으로 간 내부(간내) 또는 간 외부(간의) 인자에 의해 야기되고, 혈류 중 담즙산염, 담즙 색소 빌리루빈, 및 지질이 정상적으로 제거되는 대신 이의 축적을 초래한다. 간내 담즙정체는, 소관의 광범위한 폐색 또는, 신체의 담즙 제거 능력에 손상을 주는 간염과 같은 장애를 특징으로 한다. 간내 담즙정체는 또한 알코올성 간 질환, 원발성 담관성 간경화, 신체의 다른 부위로부터 확산된(전이된) 암, 원발성 경화성 담관염, 담석, 담석산통, 및 급성 담낭염에 의해 야기될 수 있다. 또한 이것은 수술, 중증 외상, 낭포성 섬유증, 감염, 또는 정맥내 영양공급의 합병증으로서 발생하거나, 약물로 유도될 수 있다. 담즙정체는 임신 합병증으로서 발생할 수도 있고, 종종 임신 중기 및 후기 동안 발생한다. 간의 담즙정체는 총담관결석증(담관 결석), 양성 담관 협착(총담관이 비-암성으로 좁아지는 것), 담관암종(관의 암종), 및 췌장 암종에 의해 가장 빈번히 야기된다. 간의 담즙정체는 많은 약제의 부작용으로서 발생할 수 있다.
- [0063] 본 발명의 화합물은, 담관 폐쇄, 산과 담즙정체, 신생아 담즙정체, 약물 유도성 담즙정체, C형 간염 감염으로부터 발생한 담즙정체, 만성 담즙정체 간 질환, 예를 들어 원발성 담관성 간경화(PBC), 및 원발성 경화성 담관염(PSC)을 포함하지만, 이로 한정되지 않는 간내 또는 간의 담즙정체의 하나 이상의 증상을 치료 또는 예방하기 위해 사용될 수 있다.
- [0064] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 간 재생을 증진시키는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 이 방법은 간 이식을 위해 간 재생을 증진시키는 것이다.
- [0065] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 섬유증을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 섬유증을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 섬유증을 예방하는 방법에 관한 것이다.
- [0066] 이에 따라, 본원에서 사용되는 섬유증이라는 용어는, 병리학적 상태 또는 질환으로 인한 섬유증, 신체 외상으로 인한 섬유증("외상성 섬유증"), 방사선 손상으로 인한 섬유증, 및 화학요법에 대한 노출로 인한 섬유증을 포

함하는, 모든 인식된 섬유증 장애를 말한다. 본원에서 사용되는 "장기 섬유증"이라는 용어는 간 섬유증, 신장의 섬유증, 폐의 섬유증, 및 장의 섬유증을 포함하지만, 이로 한정되는 것은 아니다. "외상성 섬유증"은 수술에 부차적인 섬유증(수술 흉터), 우발적 신체 외상, 화상, 및 비후성 흉터를 포함하지만, 이로 한정되는 것은 아니다.

[0067] 본원에서 사용되는 "간 섬유증"은 B형 또는 C형 간염 바이러스에 기인하는 것과 같은 바이러스-유도 간 섬유증; 알코올(알코올성 간 질환), 메토트렉세이트, 일부 화학요법제, 및 비소제의 만성적 섭취 또는 비타민 A 대량 투여를 포함하지만, 이로 한정되지 않는 특정 약제학적 화합물, 산화적 스트레스, 암 방사선 요법, 또는 사염화탄소 및 디메틸니트로사민을 포함하지만, 이로 한정되지 않는 특정 공업용 화학물질에 대한 노출; 및 원발성 담관성 간경화, 원발성 경화성 담관염, 지방간, 비만, 비알코올성 지방간염, 낭포성 섬유증, 혈색소증, 자가면역성 간염, 및 지방간염과 같은 질환을 포함하지만, 이로 한정되지 않는 임의의 원인에 기인한 간 섬유증을 포함한다. 현재의 간 섬유증 요법은 1차적으로 원인 물질을 제거하는 것, 예를 들어 과량의 철을 제거하는 것(예를 들어, 혈색소증의 경우), 바이러스 부하를 저하시키는 것(예를 들어, 만성 바이러스성 간염의 경우), 또는 독소에 대한 노출을 제거하거나 저하시키는 것(예를 들어, 알코올성 간 질환의 경우)을 향하고 있다. 항염 약물, 예를 들어 코르티코스테로이드 및 콜히친도 간 섬유증을 초래할 수 있는 염증을 치료하는데 사용되는 것으로 알려져 있다. 당업계에서 알려져 있는 바와 같이, 간 섬유증은 보통 생검 표본의 조직학적 검사를 기반으로 하여, 임상적으로 5단계의 중증도(S0, S1, S2, S3, 및 S4)로 분류될 수 있다. S0는 섬유증이 없는 단계를 나타내는 반면, S4는 간경화를 나타낸다. 간 섬유증의 중증도를 구분하는 다양한 기준이 존재하지만, 일반적으로 초기 단계의 섬유증은 간의 한 문맥(구역)에서의 별개의 국제화된 영역의 흉터에 의해 확인되는 반면, 후기 단계의 섬유증은 가교 섬유증(간의 구역을 가로지르는 흉터)에 의해 확인된다.

[0068] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 장기 섬유증을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 섬유증은 간 섬유증이다.

[0069] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 위장관 질환을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 위장관 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 위장관 질환을 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 위장관 질환은 염증성 장 질환(IBD), 과민성 대장 증후군(IBS), 박테리아 과다증식, 흡수장애, 방사선조사-후 대장염, 및 미세 대장염으로부터 선택된다. 일 구현예에서, 염증성 장 질환은 크론병(Crohn's disease) 및 궤양성 대장염으로부터 선택된다.

[0070] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 신장 질환을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 신장 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 신장 질환을 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 신장 질환은 당뇨병성 신증, 국소 분절성 사구체경화증(FSGS), 고혈압성 신경화증, 만성 사구체신염, 만성 이식 사구체병증, 만성 간질성 신염, 및 다낭성 신장 질환으로부터 선택된다.

[0071] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 대사 질환을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 신장 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 신장 질환을 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 대사 질환은 인슐린 저항성, 고혈당증, 진성 당뇨병, 과체중에 따른 당뇨병, 및 비만으로부터 선택된다. 일 구현예에서, 진성 당뇨병은 제I형 당뇨병이다. 일 구현예에서, 진성 당뇨병은 제II형 당뇨병이다.

[0072] 통상적으로 당뇨병으로 불리는 진성 당뇨병은 일반적으로 체내 적절한 혈당 수준을 유지하지 못하게 되는, 글루코오스의 생산 및 이용에서의 대사 결함을 특징으로 하는 질환 또는 병태를 말한다.

[0073] 제II형 당뇨병의 경우, 질환은 인슐린이 광범위한 농도에 걸쳐 이의 생물학적 효과를 발휘하는 능력을 상실한, 인슐린 저항성을 특징으로 한다. 인슐린 반응성에 대한 이러한 저항성은 글루코오스 섭취, 산화 및 근육내 저장에서 인슐린의 불충분한 활성화 및 지방 조직에서 지방분해 및 간에서 글루코오스 생산 및 분비의 인슐린의 부적당한 억제를 초래한다. 결과로서 생성되는 병태는 소위 "고혈당증"으로 불리는 상승된 혈중 글루코오스이다. 조절되지 않은 고혈당증은, 망막병증(눈에서 혈관 손상으로 인한 시력의 손상 또는 손실); 신경병증(신경계의 혈관 손상으로 인한 신경 손상 및 발 문제); 및 신증(신장에서 혈관 손상으로 인한 신장 질환), 고혈압, 뇌혈관

질환 및 관상동맥성 심장 질환을 포함하는, 미세혈관성 및 대혈관성 질환에 대한 증가된 위험으로 인한 사망률 증가 및 조기 사망과 관련된다. 따라서, 글루코오스 항상성의 조절은 당뇨병의 치료에 대한 극히 중요한 접근법이다.

[0074] 인슐린 저항성은 고혈압, 글루코오스 불내성, 고인슐린혈증, 증가된 수준의 중성지방 및 저하된 HDL 콜레스테롤, 그리고 중심성 및 전체 비만의 군집을 통합하기 위해 제기되었다. 글루코오스 불내성, 혈장 중성지방 증가 및 고밀도 리포단백 콜레스테롤 농도 저하, 고혈압, 고요산혈증, 더 작고 더 치밀한 저밀도 리포단백 입자, 그리고 플라스미노겐 활성화 억제제-1의 더 높은 순환 수준과 인슐린 저항성의 연계는 "증후군 X"로 언급된다. 따라서, "증후군 X"를 구성하는 질환 상태, 병태 또는 장애의 군집을 포함하는 인슐린 저항성과 관련된 임의의 장애를 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 대사 증후군을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 대사 증후군을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 대사 증후군을 예방하는 방법에 관한 것이다.

[0075] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 암을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 암을 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서 암은 간세포 암종, 대장암, 위암, 신장암, 전립선암, 부신암, 췌장암, 유방암, 방광암, 침샘암, 난소암, 자궁체암, 및 폐암으로부터 선택된다. 일 구현예에서, 암은 간세포 암종이다. 일 구현예에서, 암은 대장암이다. 일 구현예에서, 암은 위암이다. 일 구현예에서, 암은 신장암이다. 일 구현예에서, 암은 전립선암이다. 일 구현예에서, 암은 부신암이다. 일 구현예에서, 암은 췌장암이다. 일 구현예에서, 암은 유방암이다. 일 구현예에서, 암은 방광암이다. 일 구현예에서, 암은 침샘암이다. 일 구현예에서, 암은 난소암이다. 일 구현예에서, 암은 자궁체암이다. 일 구현예에서, 암은 폐암이다.

[0076] 다른 구현예에서, 암을 치료하기 위해 소라페닙, 수니티닙, 에를로티닙, 또는 이마티닙으로부터 선택되는 적어도 하나의 약제가 본 발명의 화합물과 공동-투여된다. 일 구현예에서, 암을 치료하기 위해 아바렐릭스, 알데류킨, 알로푸리놀, 알트레타민, 아미포스틴, 아나스트로졸, 베바시주맙, 카페시타빈, 카보플라틴, 시스플라틴, 도세탁셀, 독소루비신, 에를로티닙, 엑세메스탄, 5-플루오로우라실, 폴베스트란트, 젬시타빈, 고세렐린 아세테이트, 이리노테칸, 라파티닙 디토실레이트, 레토졸, 류코보린, 레바미솔, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 파니투무맙, 페메트렉세드 이나트륨, 프로피머 나트륨, 타목시펜, 토포테칸, 및 트라스투주맙으로부터 선택되는 적어도 하나의 약제가 본 발명의 화합물과 공동-투여된다.

[0077] 암에 대한 적절한 처치는 종양이 유래되는 세포의 유형, 악성종양의 단계 및 중증도, 그리고 종양의 원인이 되는 유전적 이상에 의존한다.

[0078] 암 시기결정 시스템은 암 진행의 정도를 기술한다. 일반적으로, 시기결정 시스템은 종양이 어느 정도까지 확산되었는지를 기술하고 유사한 예후 및 처치를 갖는 환자를 동일한 시기결정 군에 넣는다. 일반적으로, 침습성 또는 전이성으로 된 종양에 더 불량한 예후가 존재한다.

[0079] 시기결정 시스템의 한 유형에서, 사례는 로마 숫자 I 내지 IV로 표시되는 4 단계로 분류된다. 단계 I에서, 암은 종종 국재화되고 보통 치유 가능하다. 단계 II 및 IIIA 암은 보통 더 진행되고 주위 조직을 침범하고 림프절까지 확산될 수 있다. 단계 IV 암은 림프절의 바깥 부위까지 확산된 전이성 암을 포함한다.

[0080] 또 다른 시기결정 시스템은 종양, 절, 및 전이의 카테고리를 의미하는 TNM 시기결정이다. 이 시스템에서, 악성종양은 개별 카테고리의 중증도에 따라 기술된다. 예를 들어, T는 원발성 종양의 정도를 0 내지 4로 분류하는데, 0은 침습성 활동을 갖지 않는 악성종양을 나타내고 4는 원래의 부위로부터 확장에 의해 다른 장기를 침범한 악성종양을 나타낸다. N은 림프절 연관 정도를 분류하는데 0은 림프절 연관이 없는 악성종양을 나타내고 4는 광범위한 림프절 연관이 있는 악성종양을 나타낸다. M은 전이의 정도를 0 내지 1로 분류하는데, 0은 전이가 없는 악성종양을 나타내고 1은 전이가 있는 악성종양을 나타낸다.

[0081] 이들 시기결정 시스템 또는 이들 시기결정 시스템의 변형 또는 다른 적절한 시기결정 시스템이 간세포 암종과 같은 종양을 기술하기 위해 사용될 수 있다. 암의 단계 및 특징에 따라 간세포암의 처치를 위해 이용 가능한 선택은 거의 없다. 처치는 수술, 소라페닙 처치 및 표적화 요법을 포함한다. 일반적으로, 수술은 초기 단계의 국재화된 간세포암에 대한 제1선의 처치이다. 추가의 전신적 처치가 침습성 및 전이성 종양을 치료하기 위해 사용될 수 있다.

- [0082] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 담석을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 담석을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 담석을 예방하는 방법에 관한 것이다.
- [0083] 담석은 담즙 성분의 부착 성장에 의해 담낭 내에 형성된 결정성 결석이다. 이들 결석은 담낭에 형성되지만, 멀리 담낭관, 총담관, 췌관, 또는 바터 팽대부(ampulla of Vater)와 같은 담도의 다른 부위를 통과할 수 있다. 드물게, 중증 염증의 경우 담석은 담낭을 통과하여 침식되어 부착된 장으로 들어가 잠재적으로 담석성 장폐색으로 호칭되는 폐색을 유발할 수 있다. 담낭에 담석이 존재하면, 담낭에서의 담즙의 체류를 특징으로 하는 염증성 병태인 급성 담낭염을 유발할 수 있으며, 종종 장내 미생물, 주로 대장균(*Escherichia coli*) 및 박테로이데스(*Bacteroides*) 종에 의한 2차 감염이 유발될 수 있다.
- [0084] 담도의 다른 부위에서의 담석의 존재는 담관의 폐색을 야기할 수 있고, 이는 상승적 담관염 또는 췌장염과 같은 중증 병태를 유발할 수 있다. 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 콜레스테롤 담석증을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 콜레스테롤 담석증을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 콜레스테롤 담석증을 예방하는 방법에 관한 것이다.
- [0085] 일 구현예에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 신경 질환을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 신경 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 신경 질환을 예방하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 신경 질환은 뇌졸중이다.
- [0086] 일 구현예에서, 본 발명은 본원에 기술된 바와 같은 방법과, 추가로 본 화합물이 경구, 비경구, 근육내, 비강내, 설하, 기관내, 흡입, 눈, 질, 직장, 및 뇌실내로부터 선택되는 경로에 의해 투여되는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 경로는 경구이다.
- [0087] 일 구현예에서, 본원에 기술되는 하나 이상의 방법에 이용되는 화합물은 FXR 효능제이다. 일 구현예에서, 화합물은 선택적 FXR 효능제이다. 다른 구현예에서, 화합물은 TGR5를 활성화시키지 않는다. 일 구현예에서, 화합물은 대사 경로에 연관되는 다른 핵 수용체를 활성화시키지 않는다(예를 들어, 알파스크린(AlphaScreen) 검정에 의해 측정된 바와 같이). 일 구현예에서, 대사 경로에 연관되는 이러한 다른 핵 수용체는 LXR β , PXR, CAR, PPAR α , PPAR δ , PPAR γ , RAR, RAR α , VDR, TR, PR, RXR, GR, 및 ER로부터 선택된다. 일 구현예에서, 화합물은 세포자멸을 유도한다.
- [0088] 일 구현예에서, 본 발명은 담즙산 항상성에 관여하는 하나 이상의 유전자의 발현 수준을 조절하는 방법에 관한 것이다.
- [0089] 일 구현예에서, 본 발명은 세포에 본 발명의 화합물을 투여하는 것에 의해 세포에서 CYP7 α 1 및 SREBP-1C로부터 선택되는 하나 이상의 유전자의 발현 수준을 하향 조절하는 방법에 관한 것이다. 일 구현예에서, 본 발명은 세포에 본 발명의 화합물을 투여하는 것에 의해 세포에서 OST α , OST β , BSEP, SHP, UGT2B4, MRP2, FGF-19, PPAR γ , PLTP, APOCII, 및 PEPCCK로부터 선택되는 하나 이상의 유전자의 발현 수준을 상향 조절하는 방법에 관한 것이다.
- [0090] 본 발명은 또한, 질환 또는 병태(예를 들어, FXR에 의해 활성화되는 질환 또는 병태)를 치료 또는 예방하기 위한 약제의 제조에 관한 것으로, 여기에서 약제는 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 포함한다. 일 구현예에서, 본 발명은 본원에서 위에 기술된 질환 또는 병태 중 임의의 하나를 치료 또는 예방하기 위한 약제의 제조에 관한 것으로, 여기에서 약제는 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 포함한다.
- [0091] 본 발명은 또한, 질환 또는 병태(예를 들어, FXR에 의해 활성화되는 질환 또는 병태)를 치료 또는 예방하기 위한 방법에 사용하기 위한 조성물에 관한 것으로, 여기에서 조성물은 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 포함한다. 일 구현예에서, 본 발명은 본원에서 위에 기술된 질환 또는 병태 중 임의의 하나를 치료 또는 예방하기 위한 방법에 사용하기 위한 조성물에 관한 것으로, 여기에서 조성물은 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 아미노산 접합체를 포함한다.
- [0092] 본 발명의 방법은 유효량의 본 발명의 화합물을 투여하는 단계를 포함한다. 본원에서 사용되는 "유효량"이라는

용어는 명시된 효과를 달성하는 데 충분한 본 발명의 화합물의 양을 말한다. 따라서, FXR 활성화 질환 또는 병태의 예방 또는 치료를 위한 방법에 사용되는 본 발명의 화합물의 유효량은 FXR 활성화 질환 또는 병태를 예방 또는 치료하는 데 충분한 양일 것이다.

[0093] 유사하게, 담즙정체성 간 질환의 예방 또는 치료, 또는 담즙 흐름을 증가시키기 위한 방법에 사용하기 위한 본 발명의 화합물의 유효량은 장으로의 담즙의 흐름을 증가시키는 데 충분한 양일 것이다.

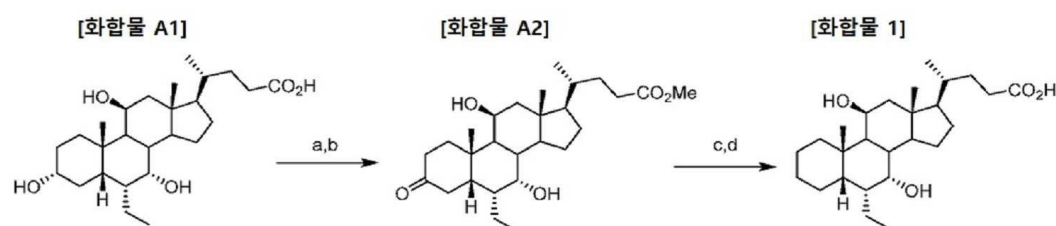
[0094] 요망되는 생물학적 효과를 달성하기 위해 요구되는 본 발명의 화합물의 양은 의도된 용도, 투여의 수단, 및 수 용자와 같은 많은 인자에 의존할 것이고, 궁극적으로는 수행 의사 또는 수의사의 재량에 따를 것이다. 일반적으로, FXR 활성화 질환 및 병태의 치료를 위한 전형적인 1일 용량은, 예를 들어 약 0.01 mg/kg 내지 약 100 mg/kg 의 범위에 있을 것으로 예상될 수 있다. 이 용량은 단일의 단위 용량으로서, 또는 몇 개의 별개의 단위 용량으로서, 또는 연속 주입으로서 투여될 수 있다. 유사한 투여량이 담즙정체성 간 질환의 예방 및 치료를 포함하는 요법 및 다른 질환, 병태의 치료에 적용 가능할 것이다.

[0095] 실험 부문

[0096] 실시예 1. 화합물 1의 합성

[0097] 화합물 1은 반응식 1에 기술된 절차에 따라, 출발 물질로서 7 α ,11 β -디하이드록시-6 α -에틸-5 β -콜란-24-오익산(A1)으로부터 제조되었다. A1은 해당 분야에 공지된 방법에 의해 제조되었다. 예를 들어, A1은 PCT 공보 제WO 2014/184271호에 기술된 절차에 따라 제조될 수 있다.

[0098] [반응식 1]



[0099]

[0100] 시약 및 조건: a) MeOH, *p*-TSA; b) 페티존 시약(Fetizon's Reagent), 건조 톨루엔, 환류; c) NaOH, MeOH; d) KOH, NH₂NH₂ · H₂O, 에틸렌글리콜, 환류.

[0101] 메틸 7 α ,11 β -디하이드록시-6 α -에틸-3-옥소-5 β -콜란-24-오에이트(A2):

[0102] MeOH(5 mL) 중 A1(0.46 mmol) 및 *p*-TSA(0.046 mmol)의 용액을 밤새 반응시켰다. 용매를 감압 하에 제거하고, 잔류물을 에틸아세테이트(10 mL)에 용해시키고 중성 pH까지 포화 NaHCO₃ 용액으로 세척하였다. 수상을 EtOAc로 추출하고 유기층을 합하여 염수로 세척하고, 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조하고 진공 하에 농축하였다. 조 생성물을 톨루엔(6.5 mL)에 용해시키고 페티존 시약과 함께 18시간 동안 환류시켰다. 혼합물을 셀라이트 패드 상에서 여과하고, 여액을 진공 하에 농축하여 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0103] ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.87-0.95 (9H, m, CH₃-18, CH₃-21, CH₃-26), 1.23 (3H, s, CH₃-19), 3.0 (1H, t, J = 14.2 Hz, CH-4), 3.65 (3H, s, COOCH₃), 3.87 (1H, s, CH-7), 4.32 (1H, s, CH-11).

[0104] 7 α ,11 β -디하이드록시-6 α -에틸-5 β -콜란-24-오익산(1):

[0105] 메틸 7 α ,11 β -디하이드록시-6 α -에틸-3-옥소-5 β -콜란-24-오에이트(A2)(150 mg)를 NaOH의 메탄올 용액과 함께 밤새 교반하였다. 용매를 감압 하에 증발시키고 잔류물을 물에 용해시켜 Et₂O로 세척하였다. 수상을 HCl 3 N으로 pH 1까지 산성화하여, CHCl₃로 추출하고 유기층을 모아 H₂O, 염수로 세척하고 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조하여 진공 하에 농축하였다. 조 생성물을 플래시 크로마토그래피에 의해 실리카겔 상에서 석유에테르와 에틸아세테이트의 혼합물을 용출 용매 시스템으로 사용하여 정제하였다. 에틸렌글리콜(2 mL) 중 7 α ,11 β -디하이드록시-6 α -에틸-3-옥소-5 β -콜란-24-오익산(0.21 mmol)의 현탁액을 30시간 동안 KOH(0.518 mmol) 및 NH₂NH₂ · H₂O(2.07 mmol)와 함께 환류시켰다. 혼합물을 실온까지 냉각하고 H₂O로 희석하여 Et₂O(3 x 5 mL)로 세척하였다. HCl 3 N으로 pH 1까지 산성화한 후, 수상을 EtOAc로 추출하고 유기층을 모아 H₂O, 염수로 세척하고 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조

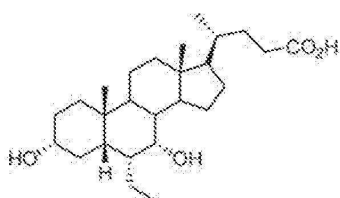
하여 감압 하에 농축하였다. 조 생성물을 역상 C18 플래시 크로마토그래피에 의해 H₂O-MeOH를 용출 용매 시스템으로 사용하여 정제하여 7 α ,11 β -디하이드록시-6 α -에틸-5 β -콜란-24-오익산(1)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0106] ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 0.87-0.92 (6H, m, CH₃-18, CH₃-25), 1.00 (3H, d, J = 6.4 Hz, CH₃-21), 1.14 (3H, s, CH₃-19), 3.73 (1H, s, CH-7), 4.19 (1H, s, CH-11). ¹³C-NMR (100.6 MHz, CD₃OD): 12.1, 14.7, 19.0, 23.2, 23.5, 24.7, 25.5, 28.6, 29.0, 29.1, 34.1, 36.3, 37.5, 37.8, 38.3, 38.5, 38.8, 42.8 (x2), 50.1, 51.5, 52.3, 58.1, 69.3, 71.8, 183.6.

[0107] 약리학적 데이터 및 생물학적 데이터

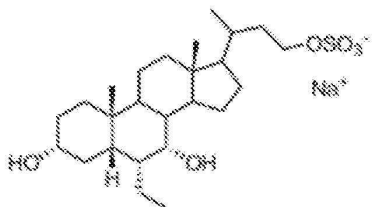
[0108] 일반적으로, 화합물의 약물 후보로서의 가능성은 해당 분야에 알려진 다양한 검정을 사용하여 평가할 수 있다. 예를 들어, FXR의 시험관내 검증을 위해, 이의 활성 및 선택성은 알파스크린(AlphaScreen)(생화학적 검정)을 사용하여 평가할 수 있고; 유전자 발현은 RT-PCR(FXR 표적 유전자)을 사용하여 평가할 수 있고; 그리고 세포독성(예를 들어, HepG2)은 ATP 함량, LDH 방출, 및 카스파제-3(Caspase-3) 활성화를 사용하여 평가할 수 있다. TGR5의 시험관내 검증을 위해, 이의 활성 및 선택성은 HTR-FRET(세포-기반 검정)를 사용하여 평가할 수 있고; 유전자 발현은 RT-PCR(TGR5 표적 유전자(즉, cFOS))을 사용하여 평가할 수 있고; 그리고 세포독성(예를 들어, HepG2)은 ATP 함량, LDH 방출, 및 카스파제-3 활성화를 사용하여 평가할 수 있다. 다음 화합물이 아래 실시예에서 대조로서 사용되었다.

[0109] 본원에서 사용되는 화합물 A는



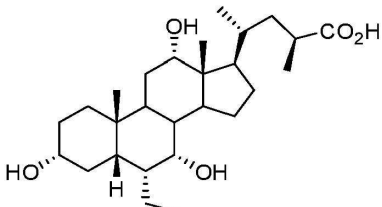
[0110] 로, 이는 또한 오베티콜산, INT-747, 6-ECDCA, 6-알파-에틸 케노데옥시콜산, 또는 6 α -에틸-3 α ,7 α -디하이드록시-5 β -콜란-24-오익산으로서 알려져 있다.

[0111] 본원에서 사용되는 화합물 B는



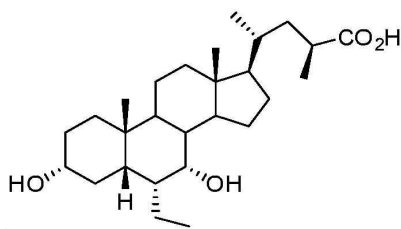
[0112] 로, 이는 또한 INT-767 또는 6 α -에틸-3 α ,7 α ,23-트리하이드록시-24-노르-5 β -콜란-23-설페이트 나트륨염으로서 알려져 있다.

[0113] 본원에서 사용되는 화합물 C는



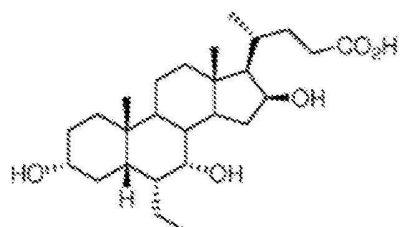
[0114] 로, 이는 또한 INT-777 또는 6 α -에틸-23(S)-메틸-3 α ,7 α ,12 α 트리하이드록시-5 β -콜란-24-오익산으로서 알려져 있다.

[0115] 본원에서 사용되는 화합물 D는



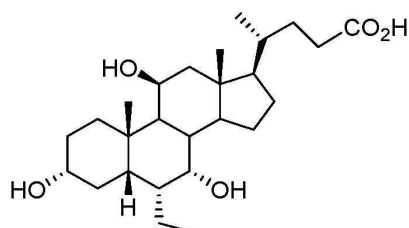
[0116] 로, 이는 또한 6 α -에틸-23(R)-메틸케노데옥시콜산, 및 S-EMCDCA로서 알려져 있다.

[0117] 본원에서 사용되는 화합물 E는



[0118] 이다.

[0119] 본원에서 사용되는 화합물 F는



[0120] 로, 이는 또한 3 α ,7 α ,11 β -디하이드록시-6 α -에틸-5 β -콜란-24-오익산으로서 알려져 있다.

[0121] 실시예 2. FXR / TGR5 활성화

[0122] 핵에서, 리간드-결합 핵 수용체(NR)는 기저 전사 기구와 직접적으로 상호작용하는 것에 의하거나 공활성화인자(coactivator)라고 불리는 가교 인자와 접촉하는 것에 의해 전사의 개시를 조절한다(Onate, *et al.*, Science, 1995, 270, 1354-1357; Wang, *et al.*, J Biol Chem, 1998, 273, 30847-30850; 및 Zhu, *et al.*, Gene Expr, 1996, 6, 185-195). NR과 이의 공활성화인자의 리간드-의존성 상호작용은 수용체 리간드-결합 도메인(LBD)에 위치한 활성화 기능 2(AF-2)와 공활성화인자에 위치한 핵 수용체 박스(NR box) 사이에서 일어난다(Nolte, *et al.*, Nature, 1998, 395, 137-143). 몇 가지 일련의 증거에서는 NR 박스에 존재하는 LXXLL 펩티드 서열이 상이한 단백질과 AF-2 영역의 상호작용을 용이하게 하는 특징적인 모티브를 나타냄을 입증하였다(Heery, *et al.*, Nature, 1997, 387, 733-736; 및 Torchia, *et al.*, Nature, 1997, 387, 677-684).

[0123] 알파스크린(AlphaScreen)은 스테로이드 수용체 공활성화인자 1(SRC-1)의 NR 박스에 존재하는 LXXLL 모티브와 FXR 사이에 우세한 이분자 상호작용을 이용하는 것에 의해 신규 조절제를 확인하는 목적으로 사용되었다.

[0124] 인간 FXR-LBD-GST를 비오틴화된 LXXLL SRC-1 펩티드의 존재 중 증가하는 농도의 지시된 리간드와 함께 배양하였다. 알파스크린 신호는 수용체-공활성화인자 복합체가 형성될 때 증가한다. 본 발명의 화합물은 강력한 FXR 효능제이다. 데이터는 표 1에 제공된다.

[0125] 담즙산(BA)은 몇 가지 핵 호르몬 수용체를 조절할 뿐만 아니라, G 단백질-결합 수용체(GPCR) TGR5에 대한 효능제이다(Makishima, *et al.*, Science, 1999, 284, 1362-1365; Parks, *et al.*, Science, 1999, 284, 1365-1368; Maruyama, *et al.*, Biochem Biophys Res Commun, 2002, 298, 714-719; 및 Kawamata, *et al.*, J Biol Chem, 2003, 278, 9435-9440). FXR 및 TGR5를 통한 신호 전달은 몇 가지 대사 경로를 조절하여, BA 합성 및 장간 재순환을 조절할 뿐만 아니라, 중성지방, 콜레스테롤, 글루코코르티코이드, 및 에너지 항상성을 조절한다. TGR5를 활성화시키는 화합물 1의 능력을 평가하기 위해, 이 화합물 및 다른 비교 화합물을 TGR5 활성화에 대한 판독으로서 세포내 cAMP의 증가에 대하여 스크리닝하였다. TGR5를 구성적으로 발현하는 인간 장내분비 NCI-H716 세포를 증가하는 농도의 본 발명의 화합물에 노출시켰고, 세포내 cAMP 수준을 TR-FRET에 의해 측정하였다. 리토콜산(LCA)은 양성 대조로서 사용되었다. 본 발명의 화합물은 TGR5보다 FXR에 대한 높은 선택성을 보여준다. 데이터는 표 1에

제공된다.

표 1

FXR / TGR5 활성		
화합물	알파스크린 검정 인간 FXR	HTR-FRET (cAMP) 인간 TGR5 (NCI-H716 세포)
	기준 CDCA = 15±3µM	기준 LCA = 7±3 µM
화합물 1	0.14±0.04	> 200
화합물 A	0.2±0.018	15±5
화합물 B	0.03	0.63
화합물 C	175	0.9
화합물 F	0.15±0.05	> 200

[0126]

표 2

화합물 1 FXR 중간 활성			
hFXR	mFXR	rFXR	dFXR
EC ₅₀ (µM)	EC ₅₀ (µM)	EC ₅₀ (µM)	EC ₅₀ (µM)
0.14±0.04	0.6±0.02	0.49±0.01	1.65±0.05

[0127]

표 3

화합물 1 TGR5 중간 활성			
hTGR5	mTGR5	rTGR5	dTGR5
EC ₅₀ (µM)	EC ₅₀ (µM)	EC ₅₀ (µM)	EC ₅₀ (µM)
> 200	> 200	> 200	> 200

[0128]

실시예 3. 핵 수용체 선택성 프로파일

[0129]

알파스크린 검정을 사용하여, 대사 경로에 연관된 다음 핵 수용체에 대한 화합물 1의 선택성을 평가할 수 있다:
LXR α, LXR β, PXR, CAR, PPAR α, PPAR δ, PPAR γ, RAR, RAR α, VDR, TR, PR, RXR α, GR, 및 ER.

[0130]

표 4

표 4a. 핵 수용체 프로파일 (효능제 방식)

	LXR α EC ₅₀ (μ M)	CAR EC ₅₀ (μ M)	LXR β EC ₅₀ (μ M)	PPAR α EC ₅₀ (μ M)	PPAR δ EC ₅₀ (μ M)	PPAR γ EC ₅₀ (μ M)	PXR EC ₅₀ (μ M)
기준 화합물	TO91317 0.12	CITCO 0.005	TO91317 0.06	GW7647 0.003	GW0742 0.004	GW1929 0.012	SR-12183 0.06
화합물 1	> 300	> 300	> 300	> 300	> 300	> 300	> 300

표 4b. 핵 수용체 프로파일 (효능제 방식)

	RAR EC ₅₀ (μ M)	RXR α EC ₅₀ (μ M)	VDR EC ₅₀ (μ M)	ER EC ₅₀ (μ M)	GR EC ₅₀ (μ M)	PR EC ₅₀ (μ M)	TR EC ₅₀ (μ M)
기준 화합물	ATRA 0.001	9cisRA 0.004	디하이드록시 VitD3 0.0001	에스트라디올 0.001	부데노사이드 0.002	프로게스테론 0.050	T3 0.0001
화합물 1	> 300	> 300	> 300	> 300	> 300	> 300	> 300

[0131]

[0132]

실시예 4. FXR 표적 유전자 패널

[0133]

화합물 1이 FXR 표적 유전자를 조절하는 능력을 평가하기 위해, 정량적 RT-PCR 검정을 수행한다(도 1 참고). 본 발명의 화합물이 내인성 FXR 유전자 네트워크를 조정할 수 있는지 여부를 결정하기 위한 관련 세포주로서 HepG2 세포가 선택된다. FXR 표적 유전자를 유도하는 본 발명의 화합물의 능력은 1 μ M의 비교 화합물 및 본 발명의 화합물로 밤새 처리된 세포로부터 총 RNA를 분리하는 것에 의해 평가된다. 화합물 A는 강력한 FXR 선택적 효능제로서 설정되고 화합물 B는 강력한 이중 FXR/TGR5 효능제로서 설정된다.

[0134]

FXR은 BA 항상성에 연관된 몇 가지 표적 유전자의 발현을 조정한다. 간단히, FXR은 몇 가지 대사 경로, 즉 지질 대사, 담즙산 대사, 및 탄수화물 대사를 포함하는 몇 가지 대사 경로에서 중심 역할을 한다. 유전자 발현 프로파일과 관련하여, 지질 대사에 연관된 단백질을 암호화하는 유전자는, 예를 들어 APOCII, APOE, APOAI, SREBP-1C, VLDL-R, PLTP, 및 LPL을 포함하고; 담즙산 대사에 연관된 단백질을 암호화하는 유전자는, 예를 들어 OST α / β , BSEP, MRP2, SHP, CYP7A1, FGF19, SULT2A1, 및 UGT2B4를 포함하고; 그리고 탄수화물 대사에 연관된 단백질을 암호화하는 유전자는, 예를 들어 PGC 1-알파, PEPCK, 및 GLUT2를 포함한다.

[0135]

실시예 5. 시험관내 세포독성

[0136]

화합물 1의 시험관내 세포독성을 평가하기 위해, 2가지 상이한 검정 방법이 이용된다. 이들 검정법은 ATP 수준을 측정하는 것에 의해 세포 생존력을, 그리고 LDH 방출을 측정하는 것에 의해 세포독성을 평가한다. 아데노신 트리포스페이트(ATP) 뉴클레오티드는 기초 분자 수준에서 에너지의 원천을 나타내는데, 이것이 모든 세포에서 조효소로서 사용되는 다기능 분자이고 미토콘드리아 DNA의 구성 요소이기 때문이다(Kangas, et al., Medical Biology, 1984, 62, 338-343; Crouch, et al., J Immunol. Methods, 1993, 160, 81-88; 및 Petty, et al., J Biolumin. Chemilumin. 1995, 10, 29-34). 이것은 세포내 에너지 전달에 관한 한 "분자 단위의 통화"로 호칭된다. 이것은 대사에서 ATP의 중요한 역할을 보장하는 것이고, ATP 함량의 하락은 세포 손상을 밝히는 첫 단계이다(Storer, et al., Mutation Research, 1996, 368, 59-101; 및 Cree and Andreotti, Toxicology In-Vitro, 1997, 11, 553-556). 세포 생존력은 시험 화합물의 농도 및 노출의 시간과 관련하여 세포내 ATP의 측정으로서

결정된다(Sussman, Promega Cell Notes, Issue 3, 2002).

[0137] 세포의 생존력을 결정하는 또 다른 방법은 세포 구획화를 정의하는 막의 보전을 검출하는 것이다. 손상된 세포 막에서 세포질 밖으로 성분의 누출을 측정하는 것은 막 보전의 손실을 나타내고, LDH 방출은 세포에서 공통의 독성을 결정하기 위해 사용되는 방법이다. HepG2 세포를 본 발명의 화합물로 처리하고, 연속 희석을 수행한다. LCA 희석물을 도말된 세포에 검정 대조로서 세포 없이, 그리고 비처리 세포와 함께 첨가한다. 검정은 각각의 시험 화합물 농도에 대하여 3회 수행된다.

표 5

화합물 1 시험관내 세포독성

LDH EC ₅₀ (μM) 기준 타목시펜 EC ₅₀ 35±4 μM	ATP 함량 EC ₅₀ (μM) 기준 타목시펜 EC ₅₀ 49±9 μM
> 300	> 300

[0138]

[0139] 실시예 6. CYP450 스크리닝

[0140] 화합물 1의 약물-약물 상호작용에 대한 가능성을 평가하기 위해, 6개의 주요 CYP450 동형(CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4)을 조사한다(Obach, *et al.*, J Pharmacol. Exp. Ther, 2006, 316, 336-348).

[0141] 화합물 1과 사이토크롬 P450 효소 사이의 상호작용을 결정하기 위해, 재조합 CYP450 단백질(바큘로솜(baculosome); Invitrogen), 기질 및 억제제를 사용하여, 형광 신호의 생산을 억제하는(또는 억제하지 않는) 능력으로 본 발명의 화합물을 분석한다(Bidstrup, *et al.*, Br J Clin. Pharmacol, 2003, 56, 305-14). 양성 대조로서, 각각의 CYP450 동형에 대한 선택적 억제제를 동일 플레이트에서 시험한다.

표 6

CYP450 스크리닝

CYP450	화합물 1 IC ₅₀ (μM)
CYP1A2 기준: 푸라필린=0.5μM	>10
CYP3A4(녹색 기질) 기준: 케토코나졸 = 0.044μM	>10
CYP3A4(청색 기질) 기준: 케토코나졸 = 0.04μM	>10
CYP2C9 기준: 설파페나졸 = 0.4μM	>10
CYP2C19 기준: 미코나졸 = 0.06μM	>10
CYP2D6 기준: 퀴니딘 = 0.01μM	>10
CYP2E1 기준: DCC = 0.4μM	>10

[0142]

[0143]

실시예 7. 인간 ERG 칼륨 채널

[0144]

이온 채널 기능을 결정하기 위해, Predictor™ hERG 형광 분극 검정을 이용하는데, 이것이 hERG 채널을 차단하는 시험 화합물의 성향의 초기 결정을 위한 효율적인 방법을 제공하기 때문이다(Dorn, *et al.* J Biomol. Screen, 2005, 10, 339-347). 이 검정은, hERG 칼륨 채널 활성이 영구적으로 형질감염된 세포에서 안정 막 전위에 기여하고, 따라서 hERG 채널의 차단이 세포막의 탈분극을 초래할 것이라는 가정을 기반으로 한다. 이 검정은 패치-클램프 전기생리학적 연구와 정확히 상관되는 데이터를 생산함으로써 잠재적 hERG 채널 차단제를 확인하기 위해 고안된다. Predictor™ 검정으로부터의 결과는 패치 클램프 기법으로부터 얻어진 것과 높은 상관관계를 보여준다(Dorn, *et al.* J Biomol Screen, 2005, 10, 339-347).

[0145]

hERG 칼륨 채널로 안정적으로 형질감염된 차이니스 햄스터 난소 세포로부터의 막 조제물을 사용하여, 이 채널에 대한 본 발명의 화합물의 잠재적 억제 효과를 Predictor™ 형광 분극 검정을 사용하여 평가한다. hERG 칼륨 채널 억제의 결과로서의 막 분극의 감소는 형광 분극(FP)의 감소와 직접적으로 상관된다.

[0146]

검정은 시험 화합물 및 양성 대조 E-4031 및 타목시펜의 16-포인트 용량-반응을 사용하여 3회 수행된다. E-4031에서의 15 nM(AmP = 163), 그리고 타목시펜에서의 1.4 μM($\Delta n \tau P$ = 183)의 IC₅₀가 얻어진다. 100 mP(밀리분극; millipolarization)이 넘는 검정 윈도우는 양호한 것으로 고려된다. 비-선형 회귀 곡선은 GraphPad Prism(GraphPad Software Inc.) 분석에 의해 얻어져, IC₅₀ 값을 계산한다.

표 7

화합물 1 hERG 칼륨 채널 활성

hERG 억제
IC ₅₀ (μM)
>100

[0147]

[0148] 실시예 8. Pgp ATP아제 활성

[0149] Pgp ATP아제 활성에 대한 화합물 1의 영향을 Pgp-Glo™ 검정(Technical Bulletin; 산물 V3591 및 V3601의 사용을 위한 Pgp-Glo™ 검정 시스템 설명; 2015년 11월 개정)으로 제조자의 표준 프로토콜에 따라 시험하였다.

표 8

Pgp 기질로서의 화합물 1

Pgp 기질
EC ₅₀ (μM)
> 300

[0150]

[0151] 실시예 9. 생리화학적 특성

[0152] 수용성, 임계 미셀 농도, 표면 장력, 및 LogP_A와 같은 화합물 1의 생리화학적 특성을 해당 분야에 공지된 방법을 사용하여 결정하였다. 데이터는 표 9에 제공된다.

표 9

생리화학적 특성

	Ws ^(a) (mM)	CMC ^(b) (mM)	ST _{CMC} ^(c)	LogP _A ^(d)
화합물 1		2.0		1.8
화합물 A	9	2.9	43.2-48.8	2.5
화합물 B	hs	1.3	43.3-47.9	2.0
화합물 C	99	2	50.1	1.4
화합물 D	15	-	-	2.9
화합물 E	120	5.9	52.4	1.6
화합물 F	143-150	15.8	47.8	0.8

[0153]

[0154] ^a Ws: 수용성은 양성자화된 종으로서 BA를 의미하고, 따라서 잘 녹는(highly soluble, hs) 화합물 B, TCDCA 및 TUDCA에 대해서는 평가되지 않는다.

[0155] ^b CMC: 0.15 M NaCl 수용액에서 결정된 임계 미셀 농도

[0156] ^c ST_{cmc}: 0.15 M NaCl 수용액의 CMC에서의 표면 장력

[0157] ^d LogP_A⁻: 이온화 종으로서 연구된 담즙산의 1-옥탄올-물 분배 계수

[0158] 실시예 10. 담즙-누관 래트에서 화합물 1의 대사 및 담즙 분비

[0159] 목적 및 근거: 화합물의 구조 변형은 이의 간 섭취, 간 수송, 그리고 분비 및 장관 흡수에 영향을 미친다. 따라서, iv 또는 id 투여 이후 이들의 대사와 함께 담즙 분비의 지식은 후보 선택에서 추가적 연구를 위한 요점이다. 장관 흡수의 방식 및 효율을 평가하기 위해, 화합물 1을 동일한 용량으로 정맥내(대퇴부 주입) 및 경구(십이지장 주입) 둘 다로 투여하고 이의 담즙 분비율을 담즙 누관 래트 모델에서 평가한다. 담즙 생산에 대한 담즙분비촉진 효과도 평가한다. iv 투여와 id 투여 사이의 시간에 대한 담즙 분비의 곡선 아래 면적(AUC)에서의 차이는 이의 장관 흡수를 설명하고 이의 생체이용률에 대한 정보를 제공한다. 더욱이, 간 및 장관 대사는 또한 상당히 상이할 수 있을 것이고, 따라서 화합물 1 및 이의 주요(장관) 및 간 대사물의 담즙 분비를 결정한다.

[0160] 담즙분비촉진 효과 - 십이지장 주입

[0161] 담즙 누관 래트 모델은 볼로냐 대학 연구소(University of Bologna Lab) 시설에서 개발되었다. 화합물 1을 약 1 μmol/kg/분(1 시간 주입)의 용량으로 래트 군에 십이지장 주입(id)을 통해 투여한다. 래트는 주입 전 및 주입 중 상이한 시간에 담즙 샘플을 수집하도록 담즙 누관을 갖는다. 십이지장 주입 실험을 위해, 래트(250±10g)를 처치한다. 담즙 샘플을 15분 마다 4시간 동안 수집한다. 또한, 3마리의 대조 래트를 시기 및 샘플링에 대하여 동일한 조건 하에 식염수로 처치한다(십이지장 대조 래트).

[0162] 담즙분비촉진 효과 - 정맥내 주입

[0163] 대퇴부 주입 실험을 위해, 래트를 화합물 1 약 1 μmol/분/kg으로 처치한다. 대퇴부 주입은 정상 상태 약 75분 후 개시하고 약 60분 동안 지속한다. 담즙 샘플을 15분 마다 4시간 동안 수집한다. 또한, 래트를 시기 및 샘플

링에 대하여 동일한 조건 하에 식염수로 처치한다(대퇴부 대조 래트).

도면

도면1

