



등록특허 10-2752714



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년01월10일

(11) 등록번호 10-2752714

(24) 등록일자 2025년01월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/4192 (2006.01) A23L 33/10 (2022.01)

C07D 249/04 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/4192 (2013.01)

A23L 33/10 (2022.01)

(21) 출원번호 10-2021-0125105

(22) 출원일자 2021년09월17일

심사청구일자 2021년09월17일

(65) 공개번호 10-2022-0039625

(43) 공개일자 2022년03월29일

(30) 우선권주장

1020200122540 2020년09월22일 대한민국(KR)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020180110499 A

KR102017324 B1

(73) 특허권자

경북대학교 산학협력단

대구광역시 북구 대학로 80, 경북대학교내(산격동)

(72) 발명자

배재성

대구광역시 수성구 들안로 325, 101동 1702호 (수성동2가, 롬바드아파트)

진희경

대구광역시 남구 효성중앙길 82, 105동 1703호 (봉덕동, 래미안웰리스트 1단지아파트)

박민희

경상북도 경산시 성암로 8, 103동 307호 (옥산동, 옥산협화타운)

(74) 대리인

이희숙, 김석만

기술이전 희망 : 기술양도

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 김미화

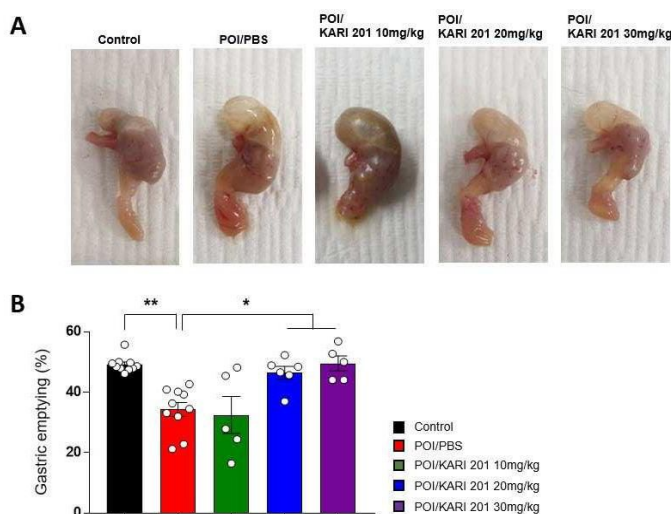
(54) 발명의 명칭 그렐린 수용체 작용제로서의 트리아졸 화합물의 용도

(57) 요약

본 발명은 그렐린 수용체 작용제로서의 트리아졸 화합물의 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 그렐린 수용체와 매우 높은 특이도로 강하게 결합하는 트리아졸 화합물의 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

본 발명이 제공하는 화합물은 그렐린 수용체에 매우 높은 특이도로 강한 결합력을 나타내어, 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 치료제 개발에 매우 유용하게 활용될 수 있다.

대표도



(52) CPC특허분류

C07D 249/04 (2013.01)

A23V 2002/00 (2023.08)

A23V 2250/30 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1465000000

과제번호 HN21C0438

부처명 보건복지부

과제관리(전문)기관명 한국보건산업진흥원

연구사업명 국가신약개발사업

연구과제명 그렐린 수용체 타겟의 저분자 화합물을 이용한 기능성 소화장애 및 암악액질 치료제

에 대한 선도물질 도출 연구

기 여 율 1/1

과제수행기관명 경북대학교

연구기간 2021.07.01 ~ 2021.12.31

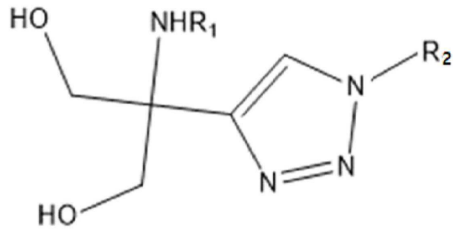
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물:

[화학식 1]



상기 식에서

R₁은 수소이며,

R₂는 탄소수 9, 10 및 12의 직쇄 또는 측쇄 알킬이며,

상기 그렐린 수용체로 매개된 질환은 섭식장애; 암 거식증 또는 악액질; 항암제로 인한 악액질 또는 거식증; 항암제로 인한 통각 과민증; COPD 또는 COPD 악액질; 근육 감소증; 체중 감소; 암 환자의 수술 후 전신 쇠약; 만성 기도 감염; 염증; IBD; FD; 변비; 당뇨병성 위 마비; 심부전; 심근경색; 당뇨병성 신경병증; 성장 호르몬 결핍증; 척추 손상 환자들의 배변 장애; 수술 후 장폐색증; 무산증; 및 모르핀 유발 장 폐색증으로 이루어진 군에서 선택되는 것인 약학적 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은 2-아미노-2-(1-노닐-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올, 2-아미노-2-(1-데실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올 또는 2-아미노-2-(1-도데실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은 그렐린 수용체 작용제(agonist)인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

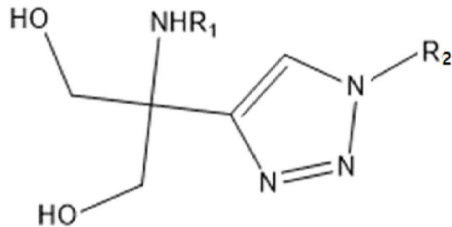
청구항 6

삭제

청구항 7

하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물:

[화학식 1]



상기 식에서

R₁은 수소이며,

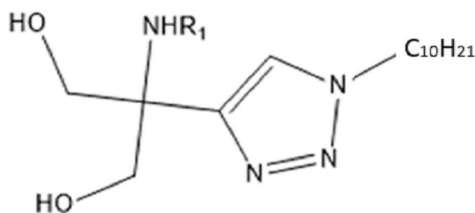
R₂는 탄소수 9, 10 및 12의 직쇄 또는 측쇄 알킬이며,

상기 그렐린 수용체로 매개된 질환은 섭식장애; 암 거식증 또는 악액질; 항암제로 인한 악액질 또는 거식증; 항암제로 인한 통각 과민증; COPD 또는 COPD 악액질; 근육 감소증; 체중 감소; 암 환자의 수술 후 전신 쇠약; 만성 기도 감염; 염증; IBD; FD; 변비; 당뇨병성 위 마비; 심부전; 심근경색; 당뇨병성 신경병증; 성장 호르몬 결핍증; 척추 손상 환자들의 배변 장애; 수술 후 장폐색증; 무산증; 및 모르핀 유발 장 폐색증으로 이루어진 군에서 선택된 것인 약학적 조성물.

청구항 8

하기 화학식 2의 화합물 또는 이의 염:

[화학식 2]



상기 식에서

R₁은 수소이다.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 화학식 2의 화합물은 2-아미노-2-(1-데실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올인 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 염.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 그렐린 수용체 작용제로서의 트리아졸 화합물의 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 그렐린 수용체와 매우 높은 특이도로 강하게 결합하는 트리아졸 화합물의 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 치료용

조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 그렐린은 성장 호르몬 (GH) 분비 촉진 수용체를 위한 내인성 리간드이다. 그렐린은 원래 위에서 정화된 것으로, 위치 3의 세린이 n-옥탄올화되는 28 아미노산 펩티드 호르몬이다. 그렐린은 잠재적인 GH 방출 작용을 가지고 있으므로 GH 방출과 에너지 항상성 유지에 있어 중요한 역할을 수행하는 것으로 여겨진다(비특허문헌 1). 특히, 잠재적인 식욕 증진 작용을 가지고 있는 것으로 보인다. 또한, 그렐린 작용제는 암 거식증/악액질의 치료 및/또는 예방(비특허문헌 2, 3, 4); 항암제에 의한 악액질 및 거식증(비특허문헌 4, 5); 항암제에 의한 통각과민증(비특허문헌 5); COPD/COPD 악액질(비특허문헌 6, 7); 근육 감소증(비특허문헌 8); 섭식 장애 및 신경성 섭식 장애(비특허문헌 9); 체중 감소 억제(비특허문헌 10); 암 환자의 수술 후 전신 쇠약(비특허문헌 11); 만성 기도 감염증(비특허문헌 7); 염증(비특허문헌 12); IBD(비특허문헌 12); FD(비특허문헌 4); 변비(비특허문헌 9); 당뇨병성 위마비 및 위마비(비특허문헌 4, 13); 심부전(비특허문헌 14, 15, 16); 심근경색(비특허문헌 14, 15, 16); 당뇨병성 신경병(비특허문헌 17); 성장 호르몬 결핍의 진단 및 치료(비특허문헌 18); 고령자의 삶의 질 개선(비특허문헌 18); 척수 손상 환자의 배변 장애(비특허문헌 19); 수술 후 장폐색증(비특허문헌 4, 20); 무산증(비특허문헌 1) 그리고 모르핀 유발 장폐색증(비특허문헌 20)에 유용한 것으로 알려져 있다.

[0005] {비특허문헌 1} Scientifica 2013, Article ID 518909 (<http://dx.doi.org/10.1155/2013/518909>), 25 pages, 2013{비특허문헌 2} The Oncologist 12, 594-600, 2007.{비특허문헌 3} Support Care Cancer 21, 2409-2415, 2013{비특허문헌 4} Neurogastroenterol Motil 20, 177-184, 2008{비특허문헌 5} Endocrinology 149, 455-460, 2008{비특허문헌 6} BMC Pulmonary Medicine 13, 37-46, 2013{비특허문헌 7} Methods in Enzymology 514, 399-407, 2012{비특허문헌 8} Arch Med Sci 9, 166-171, 2013{비특허문헌 9} Frontiers in Endocrinology 4, 1-27, 2013{비특허문헌 10} Ann intern Med 149, 601-611, 2008{비특허문헌 11} Gastric Cancer 17, 200-205, 2014{비특허문헌 12} Mol Nutr Food Res 52, 855-866, 2008{비특허문헌 13} Neurogastroenterol Motil 25, e140-e150, 2013{비특허문헌 14} Journal of Cardiology 59, 8-13, 2012{비특허문헌 15} Curr Opin Clin Nutr Metab Care 16, 619-624, 2013{비특허문헌 16} Endocrinology 153, 2436-2443, 2012{비특허문헌 17} Biochemical and Biophysical Research Communications 389, 405-408, 2009{비특허문헌 18} Drug Discovery Today 4, 497-506, 1999{비특허문헌 19} Neurogastroenterol Motil 21, 71-77, 2009{비특허문헌 20} Peptides 26, 1598-1601, 2005, {특허문헌 1} KR20147036310A

[0007] 따라서, 그렐린 수용체 작용을 조절하는 새로운 화합물을 찾는 것이 바람직하다.

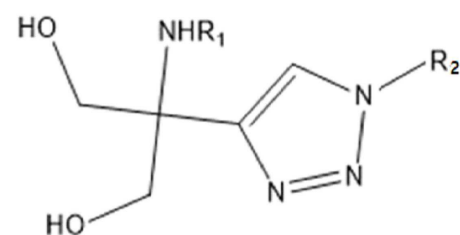
발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명자는 그렐린 수용체에 매우 높은 특이도로 결합하는 그렐린 수용체 작용제를 개발하기 위해 예의 연구를 거듭한 결과, 트리아졸계 화합물들이 이와 같은 효능을 나타낸다는 것을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다.

[0011] 따라서, 본 발명의 목적은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다:

[0012] [화학식 1]



[0013]

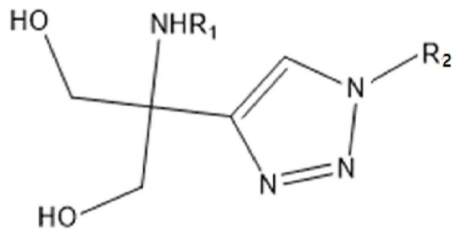
[0014] 상기 식에서

[0015] R1은 수소; 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

[0016] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 탄소수 2 내지 10의 알케닐; 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이다.

[0018] 본 발명의 다른 목적은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다:

[0019] [화학식 1]



[0020]

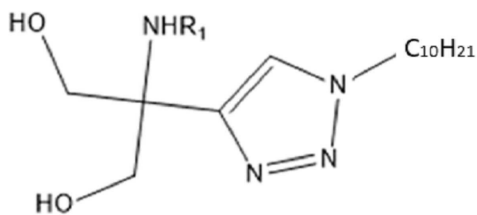
[0021] 상기 식에서

[0022] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

[0023] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 탄소수 2 내지 10의 알케닐; 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이다.

[0025] 본 발명의 다른 목적은 하기 화학식 2의 화합물 또는 이의 염을 제공하는 것이다:

[0026] [화학식 2]



[0027]

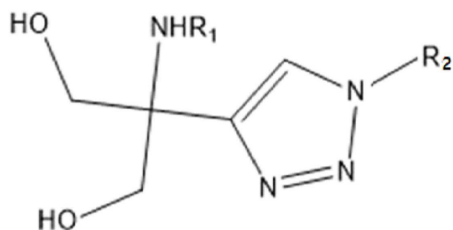
[0028] 상기 식에서

[0029] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이다.

과제의 해결 수단

[0031] 전술한 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다:

[0032] [화학식 1]



[0033]

[0034] 상기 식에서

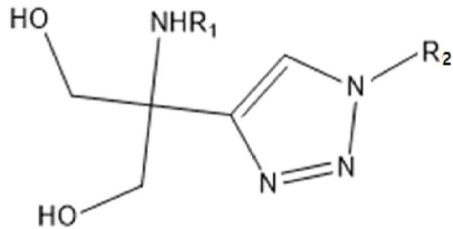
[0035] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐

이며,

[0036] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 탄소수 2 내지 10의 알케닐; 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이다.

[0038] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다:

[0039] [화학식 1]



[0040]

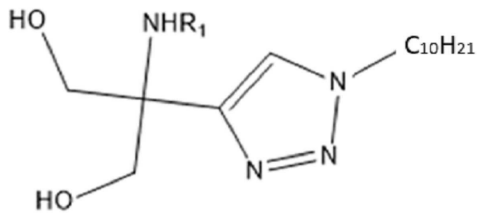
[0041] 상기 식에서

[0042] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,

[0043] R_2 는 수소; 또는 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 탄소수 2 내지 10의 알케닐; 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이다.

[0045] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 2의 화합물 또는 이의 염을 제공한다:

[0046] [화학식 2]



[0047]

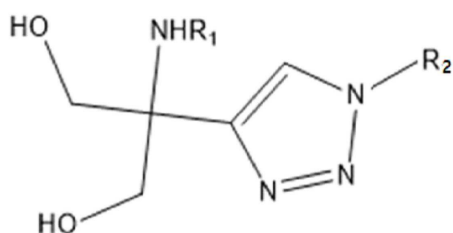
[0048] 상기 식에서

[0049] R_1 은 수소; 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이다.

[0051] 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.

[0053] 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다:

[0054] [화학식 1]



[0055]

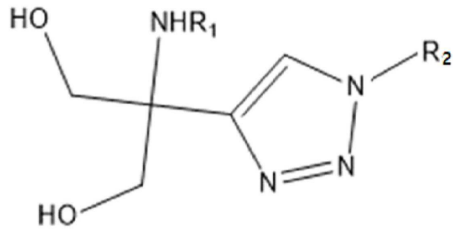
[0056] 상기 식에서

- [0057] R₁은 수소; 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐이며,
- [0058] R₂는 수소; 또는 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 탄소수 2 내지 10의 알케닐; 또는 탄소수 2 내지 10의 알키닐이다.
- [0060] 본 발명에서 상기 "알킬"은 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 탄화수소를 의미한다. 대표적인 알킬의 예는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소-프로필, n-부틸, 2급-부틸, 이소-부틸, 3급-부틸, n-펜틸, 이소펜틸, 네오펀틸, n-헥실, 3-메틸헥실, 2,2-디메틸펜틸, 2,3-디메틸펜틸, n-헵틸, n-옥틸, n-노닐 및 n-데실, 언데실, 도데실을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0062] 본 발명에서 사용된 용어 "카보닐"은 -C(=O)- 그룹을 의미한다.
- [0063] 본 발명에서 상기 "알킬카보닐"은 상기 정의된 바와 같은 카보닐 그룹을 통해 모 분자 잔기에 결합된, 상기 알킬 그룹을 의미한다. 대표적인 알킬카보닐의 예는 아세틸, 1-옥소프로필, 2,2-디메틸-1-옥소프로필, 1-옥소부틸 및 1-옥소펜틸을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0065] 본 발명에서 상기 알킬카보닐이 "치환된" 알킬카보닐인 경우, 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로 및 아미노로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 치환기로 치환된 것일 수 있다.
- [0067] 본 발명에서 상기 "알케닐"은 2개의 수소의 제거로 형성된 하나 이상의 탄소-탄소 이중결합을 함유하는 탄소수 2 내지 10의 직쇄 또는 측쇄 탄화수소를 의미한다. 알케닐의 대표적인 예는 에테닐, 2-프로페닐, 2-메틸-2-프로페닐, 3-부테닐, 4-펜테닐, 5-헥세닐, 2-헵테닐, 2-메틸-1-헵테닐 및 3-데세닐을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0069] 본 발명에서 상기 "알키닐"은 하나 이상의 탄소-탄소 삼중결합을 포함하는 탄소수 2 내지 10의 직쇄 또는 측쇄 탄화수소 그룹을 의미한다. 대표적인 알키닐의 예는 아세틸레닐, 1-프로피닐, 2-프로피닐, 3-부티닐, 2-펜티닐 및 1-부티닐을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0071] 바람직하게는, 본 발명에서 상기 R₁은 수소 또는 아세틸이고, 상기 R₂는 탄소수 1 내지 15의 알킬일 수 있다. 더 바람직하게는, 본 발명에서 상기 R₁은 수소이고, 상기 R₂는 탄소수 4 내지 15의 알킬일 수 있다. 보다 더 바람직하게는, 본 발명에서 상기 R₁은 수소이고, 상기 R₂는 탄소수 6 내지 12의 알킬일 수 있다. 가장 바람직하게는, 본 발명에서 상기 R₁은 수소이고, 상기 R₂는 탄소수 9 내지 12의 알킬일 수 있다.
- [0073] 구체적으로, 본 발명에서 상기 화학식 1의 화합물은 상기 화학식 1의 화합물은 2-아미노-2-(1-헥실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올, 2-아미노-2-(1-헵틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올, 2-아미노-2-(1-옥틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올, 2-아미노-2-(1-노닐-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올, 2-아미노-2-(1-데실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올, 2-아미노-2-(1-언데실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올 또는 2-아미노-2-(1-도데실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올일 수 있다.
- [0075] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 화학식 1의 화합물은 그렐린 수용체와 매우 강한 결합력을 나타내며, 그렐린 수용체와의 결합 특이도가 매우 높은 것으로 확인되었다. 따라서, 그렐린 수용체 작용제로서 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 치료 효과를 나타내면서도, 다른 수용체의 활성화에는 영향을 미치지 않아 부작용이 낮을 것으로 기대할 수 있다.
- [0077] 그렐린 수용체에서 내인성 리간드 그렐린의 작용은 잠재적 성장호르몬 방출 작용, 식욕 촉진, 위 운동 촉진, 산분비, 양성 심혈관 효과, 직접적인 뼈 형성 작용으로 이끄는 것으로 나타났다. 따라서, 그렐린 수용체 작용제는 성장호르몬 결핍, 섭식 장애, 위장 질환, 심혈관 질환, 골다공증, 노화 및 이화 또는 만성 소모성 증후군(Kojima and Kangawa, Nature Clinical Practice, Feb 2006, Vol. 2, No.2, 80-88)의 치료에서 좋은 효과를 거둘 수 있다. 그렐린 수용체 작용제는 또한 수면 장애의 치료(Brain Research, 1088 (2006) 131-140)에서도 좋은 효과를 거둘 수 있다.
- [0079] 그렐린 수용체와 관련된, 따라서 그렐린 수용체로 매개된, 그렐린 수용체 작용제나 좋은 효과를 거둘 수도 있는 특정 질환에는 비만과 비만 관련 위험 요인들도 포함된다. 또한 비만 관련 위험 요인에는 당뇨, 당뇨 관련 합병증, 대사 증후군, 심혈관 이상(아테롬성 동맥경화증과 이상지질혈증을 포함) 등이 포함되나 이에 한정되지 않는다.

- [0081] 그렐린 수용체로 매개된 다른 질환 및/또는 상태에서 그렐린은 다음을 포함한다: 성장호르몬 결핍 상태 치료, 근육 질량 증가, 골 밀도 증가, 남성 및 여성의 성기능 장애 치료, 원활한 체중 증가, 원활한 체중 유지, 원활한 식욕 증진(예를 들어, 체중 증가, 체중 유지, 또는 식욕 증진을 원활하게 하는 것은 체중 감소를 동반한 장애를 가진 환자나 치료 중인 환자에게 유용하다). 체중 감소를 동반한 질환이나 이상의 예에는 거식증, 폭식증, 암 악액질, AIDS, 소모증, 악액질, 허약 노인의 소모증이 포함된다. 체중 감소를 동반하는 치료의 예에는 화학적 치료 요법, 방사선 치료 요법, 일시적 또는 영구적 고정, 그리고 투석이 포함된다.
- [0083] 그 밖의 질환 또는 상태에는 수면 장애, 울혈성 심부전, 대사 장애, 기억 기능 개선, 유방암, 갑상선 암, 허혈성 신경 또는 근육 손상 개선이 포함된다.
- [0085] 섭식 장애에는 제한형, 폭식 및 제거형의 하위 유형을 포함하는 거식증; 제거형, 비제거형의 하위 유형을 포함하는 폭식증; 비만; 충동적 섭식 장애; 폭식 장애; 그 밖에 특정되지 않은 섭식 장애가 포함된다.
- [0087] 그렐린 수용체 작용제가 효과를 나타낼 수 있는 위장 질환에는 위장 폐색, 위궤양, 크론병과 같은 염증성 장 질환, 궤양성 대장염이 포함된다. 본 발명의 화합물은 또한 식욕/대사 관련 악액질을 동반 또는 동반하지 않는, 식도역류 및/또는 소화불량과 관련된 증상을 경감하는 치료, 그리고 마비성 장폐색 또는 가성폐색 및 변비 우선 과민성 대장 증후군 등의 변비 관련 증상의 치료에 유용하다.
- [0089] 상기 심혈관 질환에는 심부전과 확장성 심근병증이 포함된다.
- [0091] 이화 상태 또는 만성 소모성 증후군은 수술 후 환자들에게서 나타날 수 있고 또한 AIDS 관련 소모성 증후군과 암 악액질과 같은 암 관련 소모성 증후군을 포함한다.
- [0093] 그렐린 수용체 작용제는 위산 분비를 촉진하는 것으로 알려져 있다(KR20147036310A). 따라서, 위산 분비의 향상에서의 효과는 낮은 위산 분비 또는 무-위산 분비가 수반되는 여러가지 질병에 본 발명의 그렐린 수용체 작용제가 효과를 나타낼 수 있음을 알 수 있다.
- [0095] 본 발명에서 상기 무산증은 그 종류가 특별히 제한되지 않으며, 예를 들어, 노화과정을 동반하는 연령-관련 무산증; 만성 위염-관련 무산증; 빈혈 증상을 동반하는 빈혈성 무산증; 부분적 위절제술-관련 무산증; 칼슘 흡수-관련 무산증; 비타민 D 흡수-관련 무산증; 칼시토닌 합성-관련 무산증; 및 약물-유발된 무산증을 포함할 수 있다.
- [0097] 본 발명의 일 양태에서, 상기 화학식 1의 화합물은 암 거식증 또는 악액질; 항암제로 인한 악액질 또는 거식증; 항암제로 인한 통각 과민증; COPD 또는 COPD 악액질; 근육 감소증; 섭식 장애; 체중 감소; 암 환자의 수술 후 전신 쇠약; 만성 기도 감염; 염증; IBD; FD; 변비; 당뇨병성 위 마비; 심부전; 심근경색; 당뇨병성 신경병증; 성장 호르몬 결핍증; 척추 손상 환자들의 배변 장애; 수술 후 장폐색증; 무산증; 및 모르핀 유발 장 폐색증으로 이루어진 군에서 선택되는, 그렐린 수용체로 매개된 장애를 예방 또는 치료하는 효과를 나타낼 수 있다.
- [0099] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 허용되는 담체와 함께 적합한 형태로 제형화 될 수 있으며, 부형제 또는 희석제를 추가로 함유할 수 있다. 상기에서 '약학적으로 허용되는'이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증 등과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 비독성의 조성물을 말한다.
- [0101] 이와 같은 염의 예는 이에 한정되지 않지만, 무기산 (inorganic acid)[예를 들어, 염산 (hydrochloric acid), 브롬화수소산 (hydrobromic acid), 황산 (sulfuric acid), 인산 (phosphoric acid), 질산 (nitric acid) 등]으로 형성되는 산 부가 염, 및 아세트산 (acetic acid), 옥살산 (oxalic acid), 타르타르산 (tartari acid), 호박산 (succinic acid), 말산 (malic acid), 푸마르산 (fumaric acid), 말레산 (maleic acid), 아스코르브산 (ascorbic acid), 벤조산 (benzoic acid), 타닌산 (tannic acid), 파모산 (pamoic acid), 알긴산 (alginic acid), 폴리글루타민산 (polyglutamic acid), 나프탈렌 술폰산 (naphthalene sulfonic acid), 나프탈렌 디술폰산 (naphthalene disulfonic acid), 및 폴리-갈락투론산(poly-galacturonic acid)과 같은 유기산 (organic acid)으로 형성된 염을 포함한다. 상기 화합물은 또한 당업자에게 알려진 약학적으로 허용가능한 사차 염의 형태로 투여될 수 있는데, 특히, 클로라이드, 브로마이드, 요오다이드, -O-알킬, 톨루엔술포네이트, 메틸술포네이트, 술포네이트, 포스페이트, 또는 카르복실레이트 (예를 들어, 벤조에이트, 숙시네이트, 아세테이트, 글리코레이트, 말리에이트 (maleate), 말레이트 (malate), 푸마레이트, 시트레이트, 타르트레이트, 아스코르베이트, 시나모에이트, 만델로에이트 및 디페닐아세테이트)를 포함한다.
- [0102]

- [0103] 약학적으로 허용되는 담체로는 예컨대, 경구 투여용 담체 또는 비경구 투여용 담체를 추가로 포함할 수 있다. 경구 투여용 담체는 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등을 포함할 수 있다. 또한, 비경구 투여용 담체는 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코오스 및 글리콜 등을 포함할 수 있으며, 안정화제 및 보존제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 안정화제로는 아황산수소나트륨, 아황산나트륨 또는 아스코르브산과 같은 항산화제가 있다. 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 메틸-또는 프로필-파라벤 및 클로로부탄올이 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제 등을 추가로 포함할 수 있다. 그 밖의 약학적으로 허용되는 담체 및 제제는 다음의 문헌에 기재되어 있는 것을 참고로 할 수 있다 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995).
- [0104]
- [0105] 본 발명의 조성물은 인간을 비롯한 포유동물에 어떠한 방법으로도 투여할 수 있다. 예를 들면, 경구 또는 비경구적으로 투여할 수 있다. 비경구적인 투여방법으로는 이에 한정되지는 않으나, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장내 투여될 수 있다.
- [0106]
- [0107] 본 발명의 약학적 조성물은 상술한 바와 같은 투여 경로에 따라 경구 투여용 또는 비경구 투여용 제제로 제형화할 수 있다.
- [0108] 경구 투여용 제제의 경우에 본 발명의 조성물은 분말, 과립, 정제, 환제, 당의정제, 캡슐제, 액제, 겔제, 시럽제, 슬러리제, 현탁액 등으로 당업계에 공지된 방법을 이용하여 제형화될 수 있다. 예를 들어, 경구용 제제는 활성성분을 고체 부형제와 배합한 다음 이를 분쇄하고 적합한 보조제를 첨가한 후 과립 혼합물로 가공함으로써 정제 또는 당의정제를 수득할 수 있다. 적합한 부형제의 예로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨 및 말티톨 등을 포함하는 당류와 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분 및 감자 전분 등을 포함하는 전분류, 셀룰로즈, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필메틸셀룰로오스 등을 포함하는 셀룰로오스류, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈 등과 같은 충전제가 포함될 수 있다. 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨 알기네이트 등을 붕해제로 첨가할 수 있다. 나아가, 본 발명의 약학적 조성물은 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0109]
- [0110] 비경구 투여용 제제의 경우에는 주사제, 크림제, 로션제, 외용연고제, 오일제, 보습제, 겔제, 에어로졸 및 비강 흡입제의 형태로 당업계에 공지된 방법으로 제형화할 수 있다. 이들 제형은 모든 제약 화학에 일반적으로 공지된 처방서인 문헌 (Remington's Pharmaceutical Science, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995)에 기재되어 있다.
- [0111]
- [0112] 본 발명의 조성물의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)으로 장기간 투여되는 분할 치료 방법(fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있다. 바람직하게 본 발명의 약학적 조성물의 바람직한 전체 용량은 1일당 환자 체중 1kg 당 약 0.01 μ g 내지 10,000mg, 가장 바람직하게는 0.1 μ g 내지 1000mg일 수 있다. 그러나 상기 약학적 조성물의 용량은 제제화 방법, 투여 경로 및 치료 횟수뿐만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환의 중증도, 식이 및 배설을 등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정되는 것이므로, 이러한 점을 고려할 때 당 분야의 통상적인 지식을 가진 자라면 본 발명의 조성물의 적절한 유효 투여량을 결정할 수 있을 것이다. 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법은 특별히 제한되지 아니한다.
- [0114] 본 발명은 또한 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다:

[0115] [화학식 1]



[0116]

[0117] 상기 식에서

[0118] R₁은 수소; 탄소수 1 내지 10의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐
이며,

[0119] R₂는 수소; 또는 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 탄소수 2 내지 10의 알케닐; 또는 탄소수 2 내지 10
의 알키닐이다.

[0121] 본 발명에 따른 식품용 조성물은 기능성 식품(functional food), 영양보조제(nutritional supplement), 건강식
품(health food) 및 식품첨가제(food additives) 등의 모든 형태를 포함한다. 상기 유형들은 당업계에 공지된
통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다.

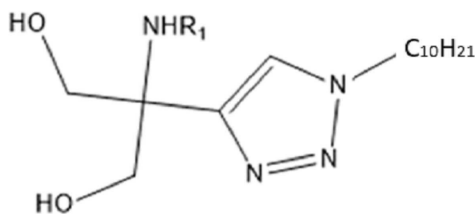
[0122] 예를 들면, 건강식품으로는 본 발명의 식품용 조성물 자체를 차, 주스 및 드링크의 형태로 제조하여 음용하도록
하거나, 과립화, 캡슐화 및 분말화하여 섭취할 수 있다. 또한 본 발명의 식품용 조성물은 퇴행성 신경질환 또는
우울증 예방, 개선 또는 치료 효과가 있다고 알려진 공지의 물질 또는 활성 성분과 함께 혼합하여 조성물의 형
태로 제조할 수 있다.

[0124] 또한 기능성 식품으로는 음료(알콜성 음료 포함), 과일 및 그의 가공식품(예를 들어 과일 통조림, 병조림, 잼,
마아말레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(예를 들어 햄, 소시지콘비이프 등), 빵류 및 면류(예를 들어 우
동, 메밀국수, 라면, 스파게티, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 엿, 유제품(예를 들어 버터, 치즈
등), 식용식물유지, 마아가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료(예를 들어 된장, 간장,
소스 등) 등에 본 발명의 식품용 조성물을 첨가하여 제조할 수 있다.

[0126] 본 발명에 따른 식품용 조성물의 바람직한 함유량으로는 이에 한정되지 않지만 바람직하게는 최종적으로 제조된
식품 총 중량 중 0.01 내지 50중량% 이다. 본 발명의 식품용 조성물을 식품첨가제의 형태로 사용하기 위해서는
분말 또는 농축액 형태로 제조하여 사용할 수 있다.

[0128] 본 발명은 또한 하기 화학식 2의 화합물 또는 이의 염을 제공한다:

[0129] [화학식 2]



[0130]

[0131] 상기 식에서

[0132] R₁은 수소; 탄소수 1 내지 15의 직쇄 또는 측쇄 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 5의 알킬카보닐
이다.

[0134] 상기 식에서 알킬, 알킬카보닐은 전술한 바가 동일하게 적용될 수 있다.

[0136] 바람직하게는, 상기 R₁은 수소 또는 아세틸이다.

[0138] 가장 바람직하게는, 상기 화학식 2의 화합물은 2-아미노-2-(1-데실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올일

수 있다.

- [0140] 본 발명이 제공하는 상기 화학식 2의 화합물은 그렐린 수용체 특이적인 효능제로 작용하여 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 치료제로 활용될 수 있는 것을 특징으로 한다.
- [0142] 본 발명의 일 양태에서, 본 발명이 제공하는 상기 화학식 2의 화합물에는 이의 염(salt) 형태가 포함되며, 상기 염은 바람직하게는 약학적으로 허용가능한 염의 형태일 수 있다.
- [0144] 이와 같은 염의 예는 이에 한정되지 않지만, 무기산 (inorganic acid)[예를 들어, 염산 (hydrochloric acid), 브롬화수소산 (hydrobromic acid), 황산 (sulfuric acid), 인산 (phosphoric acid), 질산 (nitric acid) 등]으로 형성되는 산 부가 염, 및 아세트산 (acetic acid), 옥살산 (oxalic acid), 타르타르산 (tartaric acid), 호박산 (succinic acid), 말산 (malic acid), 푸마르산 (fumaric acid), 말레산 (maleic acid), 아스코르브산 (ascorbic acid), 벤조산 (benzoic acid), 타닌산 (tannic acid), 파모산 (pamoic acid), 알긴산 (alginic acid), 폴리글루타민산 (polyglutamic acid), 나프탈렌 술폰산 (naphthalene sulfonic acid), 나프탈렌 디술폰산 (naphthalene disulfonic acid), 및 폴리-갈락투론산(poly-galacturonic acid)과 같은 유기산 (organic acid)으로 형성된 염을 포함한다. 상기 화합물은 또한 당업자에게 알려진 약학적으로 허용가능한 사차 염의 형태로 투여될 수 있는데, 특히, 클로라이드, 브로마이드, 요오다이드, -O-알킬, 톨루엔술포네이트, 메틸술포네이트, 술포네이트, 포스페이트, 또는 카르복실레이트 (예를 들어, 벤조에이트, 숙시네이트, 아세테이트, 글리코레이트, 말리에이트 (maleate), 말레이트 (malate), 푸마레이트, 시트레이트, 타르트레이트, 아스코르베이트, 시나모에이트, 만델로에이트 및 디페닐아세테이트)를 포함한다.

발명의 효과

- [0146] 본 발명이 제공하는 화합물은 그렐린 수용체에 매우 높은 특이도로 강한 결합력을 나타내어, 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 치료제 개발에 매우 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0148] 도 1은 그렐린 수용체를 과발현시킨 HEK293 (human embryonic kidney 293)세포에 그렐린 및 트리아졸 화합물 (KARI001, KARI101, KARI201)의 처리 농도에 따른 세포내 칼슘 유입을 50%로 나타낼 수 있는 EC50를 나타낸 도이다.
- 도 2는 그렐린 수용체를 과발현시킨 HEK293 세포에 그렐린 및 트리아졸 화합물 10 μ M(KARI001, KARI101, KARI201)처리에 의한 그렐린 수용체 하위 시그널 인자의 변화를 나타낸 도이다 (n = 3, ***p<0.01, ***p<0.001).
- 도 3은 그렐린 수용체를 과발현시킨 HEK293 세포에 그렐린 및 트리아졸 화합물 10 μ M(KARI001, KARI101, KARI201)처리에 의한 그렐린 수용체의 세포내 유입 효능을 나타낸 도이다 (n = 6, ***p<0.01).
- 도 4는 트리아졸 화합물(KARI201)의 그렐린 수용체를 포함한 170개의 G 단백질 연결 수용체 (G-protein coupled receptor)에 대한 작용제 또는 길항제로서의 효능을 나타낸 도이다.
- 도 5는 수술후 장폐색(POI, Postoperative ileus) 마우스 모델에 트리아졸 화합물의 농도에 따른 구강 투여 후 위장의 운동기능을 평가할 수 있는 위배출 지연(Delayed gastric emptying) 개선 효과를 나타낸 도이다 (n = 5-10, *p<0.05, **p<0.01).
- 도 6은 수술후 장폐색(POI, Postoperative ileus) 마우스 모델에 트리아졸 화합물 30mg/kg 구강 투여 후 대장의 운동기능을 평가할 수 있는 배설물의 대장 통과 시간(A)과 배설물의 개수 및 무게(B), 사료섭취량(C) 및 체중(D)을 나타낸 도이다 (n = 4, *p<0.05).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0149] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명이 이들에 의해 제한되는 것은 아니다.
- [0151] 실험재료 및 실험방법
- [0152] 0. 화합물의 합성
- [0153] 물질명 KARI001, KARI201은 기존의 문헌을 참고하여 제조 및 합성되었으며 (국내 등록특허, 10-2017324). 양성

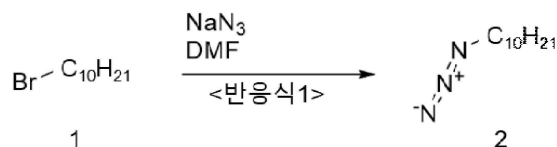
대조군으로 사용한 Ghrelin 단백질은 TORIS로부터 구입하였다.

[0154] KARI001: 2-아미노-2-(1-도데실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올

[0155] KARI201: 2-아미노-2-(1-노닐-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올

[0157] 물질명 KARI101, 화합물명 2-아미노-2-(1-데실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올은 하기 일련의 공정을 통해 제작하였다.

[0159] 0-1. 반응식 1, 1-아지도데칸(1-azidodecane) 합성

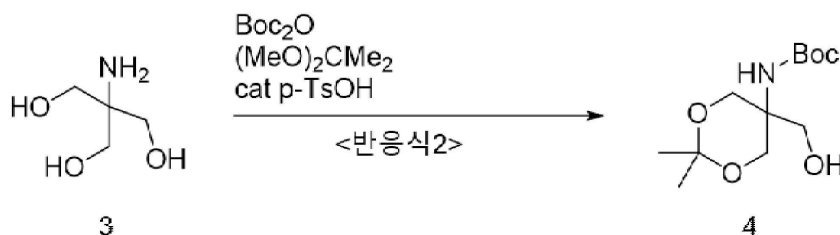


[0160]

[0161] 반응식 1의 1-아지도데칸을 합성하기 위해, DMF(50 ml) 중 화학식 1의 1-브로모데칸(9.9g, 37mmole)의 용액에 소듐아자이드(4.9g, 75mmol, 2eq)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2일 동안 교반하고 Ice water (200ml)을 추가하여 에테르로 추출하였다. 유기층을 H₂O, 염수, MgSO₄ 상에서 건조시키고 농축시켜 화학식 2의 1-아지도데칸(6.2g, 91 %)을 수득하였다.

[0162] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ 3.28 (t, 2H), 1.62 (m, 2H), 1.40-1.29 (m, 14H), 0.91 (t, 3H)

[0164] 0-2. 반응식 2, 2-아미노-2-(하이드록시메틸)프로판-1,3-디올 (2-amino-2-(hydroxymethyl)propane-1,3-diol) 합성

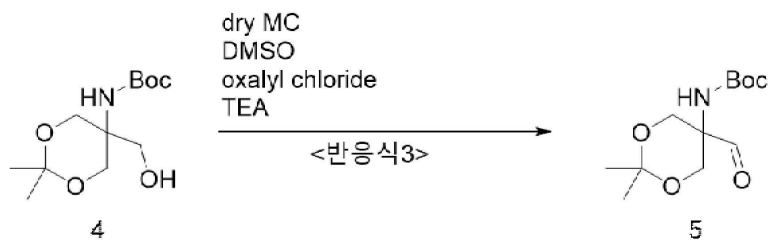


[0165]

[0166] 반응식 2의 2-아미노-2-(하이드록시메틸)프로판-1,3-디올을 합성하기 위해, DMF(500ml) 중 화학식 3의 트리스(하이드록시메틸)아미노-메탄(25.0g, 0.206mol)의 현탁액에 Boc₂O(49.5g, 1.1eq)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반 한 후, 2,2-다이메톡시프로판 (30.4ml, 1.2eq) 및 p-TsOH.H₂O (2.0g, 0.05eq)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 시간 동안 교반하고 Et₂O (500ml)로 희석시켰다. 유기층을 포화된 NaHCO₃ 용액 (300ml) 및 염수 (200ml)로 세척하였다. 유기층을 MgSO₄ 상에서 건조시키고 농축시켰다. 잔류물을 n-헥산으로 결정화하여 화학식 4인 tert-부틸 5-(하이드록시메틸)-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트를 백색 고체로서 수득 하였다 (32.0g, 59.4%).

[0167] ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) : δ 5.32 (s, 1H), 3.86-3.80 (m, 4H), 3.73 (s, 2H), 3.68 (s, 1H), 1.46-1.44 (m, 15H)

[0169] 0-3. 반응식 3, 2-아미노-2-(하이드록시메틸)프로판-1,3-디올 (2-amino-2-(hydroxymethyl)propane-1,3-diol) 합성



[0170]

[0171]

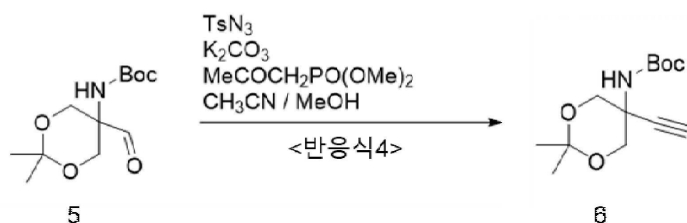
반응식 3의 tert-부틸 5-포르밀-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트를 합성하기 위해, 먼저 -78℃에서 건조 MC(340ml) 중 옥살릴클로라이드(33.4 ml, 3.17eq)의 용액에 DMSO(43.7ml, 5 eq)를 혼합하였다. 혼합물을 15 분 동안 교반 한 다음, 무수 MC(340ml) 중 화학식 4의 tert-부틸 5-(히드록시메틸)-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트(32.0g, 0.123mol)을 혼합하였다. 혼합물을 2 시간 동안 교반 한 후, Et₃N(171 ml, 10 eq)을 첨가하였다. 혼합물을 10 분 동안 교반 한 다음, 냉각 조를 제거하고, 혼합물을 실온으로 두었다. 담갈색 현탁액을 EA(300ml)로 희석하고 10% NH₄OH(1,500 ml)로 세척하였다. 유기층을 농축시키고, 잔류물을 EA/n-헥산 = 1/10으로 용출시키는 SiO₂ 칼럼 크로마토그래피에 적용하여 화학식 5의 tert-부틸 5-포르밀-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트(15.0g, 47.2%)를 백색 고체로서 수득 하였다.

[0172]

¹H NMR (400 MHz, C₆D₁₃) : δ 9.64 (s, 1H), 5.56 (s, 1H), 4.07 (d, 2H, J=12.0 Hz), 3.95 (d, 2H, J=12.0 Hz), 1.47 (s, 15H)

[0174]

0-4. 반응식 4, 2-아미노-2-(하이드록시메틸)프로판-1,3-디올 (2-amino-2-(hydroxymethyl)propane-1,3-diol) 합성



[0175]

[0176]

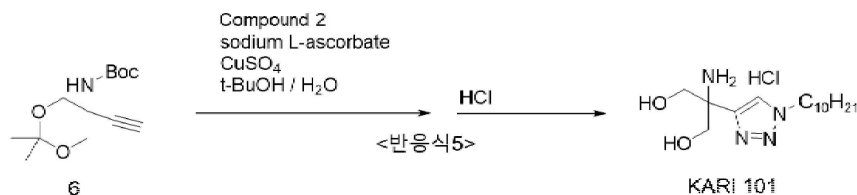
반응식 4의 tert-부틸 5-에티닐-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트를 합성하기 위해, K₂CO₃ (3.0g, 2.25eq) 및 p-톨루엔술포닐아지드(톨루엔 중 14 % 용액, 15.8ml, 1.05eq)이 포함된 아세토니트릴 (50ml) 현탁액에 디메틸-2-옥소 프로필-포스포네이트(1.6g, 1.02eq)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2.5 시간 동안 격렬하게 교반 하였다. 메탄올(40ml)에 포함된 화학식 5의 tert-부틸 5-포르밀-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트(2.5g, 9.64mmol)의 용액을 첫 반응 혼합물에 첨가하였다. K₂CO₃ (2.7g, 2.06eq) 첨가 후, 혼합물을 1.5시간 동안 교반하고, 감압 하에 농축시키고, 잔류 물을 MC (200ml) 및 H₂O (200ml)로 희석시켰다. 유기층을 H₂O (200ml)로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 감압하에 농축시켰다. 잔류물을 EA/n-헥산 = 1/9로 용리하면서 SiO₂ 칼럼 크로마토그래피에 적용하여 화학식 6의 tert-부틸 5-에티닐-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트를 백색 고체로서 수득 하였다 (2.3g, 93.4 %)을 얻었다.

[0177]

¹H NMR (400 MHz, C₆D₁₃) : δ 5.15 (s, 1H), 4.05-3.95 (m, 4H), 2.43 (s, 1H), 1.48-1.38 (m, 15H)

[0179]

0-5. 반응식 5, 2-아미노-2-(1-데실-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올 (2-amino-2-(1-decyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)propane-1,3-diol hydrochloride) 합성



[0180]

[0181]

반응식 5의 KARI101인 2-아미노-2-(1-에틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올을 합성하기 위해, 화학식 6의 tert-부틸 5-에티닐-2,2-디메틸-1,3-디옥산-5-일카르바메이트 (4.0g, 15mmol), 반응식 1의 1-아지도데칸 (3.16g, 17mmol), 나트륨 L (4.03g, 20mmol), t-BuOH (60ml), H₂O (128ml), MC(104ml)의 용액에 CuSO₄·5H₂O (1.56g, 6mmol)를 첨가하였다. 2상 용액을 18시간 동안 공기중에서 교반하고, 수층을 MC로 추출하였다. 유기층을 MgSO₄ 상에서 건조시키고 감압하에 농축시켰다. 잔류물을 EA/n-헥산 = 1/6로 용리하면서 SiO₂ 칼럼 크로마토그래피에 적용하여 고체 (6.5g)를 수득하였다. 얻어진 고체에 진한 HCL(21ml)과 에탄올(210ml)과 혼합하고, 실온에서 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 농축시키고 아세톤에서 재결정화하여 2-아미노-2-(1-에틸-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)프로판-1,3-디올을 백색 고체로서 수득하였다 (2.6g, 52.4%, 분자량 298.4).

[0182]

¹H NMR (500 MHz, methanol-d₄) : δ 8.06 (s, 1H), 4.41 (t, 2H), 3.95 (dd, J= 20Hz, 15Hz, 4H), 1.91 (t, 2H), 1.29-1.33 (m, 14H), 0.89 (t, 3H)

[0183]

¹³C NMR (500 MHz, methanol-d₄) : δ 144.9, 124.3, 63.7(2C), 60.8, 51.5, 33.0, 31.3, 30.6, 30.5, 30.4, 30.1, 27.5, 23.7, 14.4

[0185]

1. 세포배양

[0186]

HEK293 (human embryonic kidney 293)세포를 ATCC에서 구입하여 10% FBS를 포함하는 DMEM 배지에서 37℃ 및 5%의 CO₂에서 배양하였다. 그렐린 수용체 과발현을 위해 HEK293 세포에 인간 그렐린 수용체 cDNA 벡터(hGHSRα-pcDNA3.1+, cDNA Resource Center)를 감염시킨 후 48시간 동안 배양하였다. 이 후 상기 세포주에 합성된 각 트리아졸 화합물 및 Ghrelin을 처리하여 세포내 칼슘 유입, 그렐린 수용체 하위 시그널 인자, 그렐린 수용체 세포내 유입과 같은 그렐린 수용체 작용제로서의 효능을 평가하였다.

[0188]

2. 세포내 칼슘 유입 실험

[0189]

그렐린 수용체를 과발현시킨 HEK293 세포에 칼슘 특이적인 형광인자인 Fluo-2AM을 처리한 후 1시간 후에 20 mM Hepes, 1 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 0.7 mg/mL probenecid가 포함된 wash 버퍼로 2번 세척하였다. 세포에 wash 버퍼 100ul를 처리한 후 온습도 조절 장치가 장착된 레이저 스캐닝 공초점 현미경 아래에서 1분 동안 10초의 셔터 간격으로 형광 표시된 세포 내 칼슘을 여기 파장 485nm와 방출 파장 520nm로 이미지화 하였다. 그 후 Ghrelin 및 트리아졸 화합물을 각 농도별로 추가한 후 동일 조건으로 이미지화 하였다. 화합물 처리에 의한 세포 내 칼슘 형광 강도는 처리하지 않았을 때 형광 강도를 기준으로 환산하여 정량화 하였다.

[0191]

3. 면역형광법

[0192]

그렐린 수용체를 과발현시킨 HEK293 세포에 Ghrelin 및 트리아졸 화합물을 각 10 μM을 처리한 후 1시간 뒤에 세포를 고정시키고 그렐린 수용체에 대한 항-그렐린수용체(토끼, 1:500, abcam)을 함께 배양하였다. 하루 뒤에 세포를 세척하고 항-토끼 488 항체를 1시간 배양한 뒤, Fluoview SV1000 이미징 소프트웨어(Olympus FV1000, Japan)를 장착한 레이저 스캐닝 공초점 현미경을 이용하여 분석하였다. Metamorph software(Molecular Devices)를 이용하여 세포내로 유입된 그렐린 수용체의 염색된 부위의 넓이의 퍼센트를 정량화하였다.

[0194]

4. 웨스턴블롯

[0195]

웨스턴 블롯팅을 이용하여 pAMPK, AMPK, pPI3K, PI3K, pERK, ERK의 단백질 발현을 분석하였다. pAMPK, AMPK, pPI3K, PI3K, pERK, ERK(cell signaling) 및 beta-액틴(Santa Cruz)에 대한 항체를 이용하였고, 밀도 정량화(densitometric quantification)는 ImageJ 소프트웨어(US National Institutes of Health)를 이용하여 수행하였다.

[0197]

5. G 단백질 연결 리셉터 작용제 및 길항제 분석

- [0198] 총 170 종류의 G 단백질 연결 리셉터에 대해 트리아졸 화합물(10 μ M)의 작용제 및 길항제로서의 효능은 Eurofins Discovery사에서 수행되었다.
- [0200] **6. 수술 후 장폐색 마우스 모델 설립**
- [0201] 6-8주령의 마우스를 하루 동안 금식 시킨 후 케타민과 자일라진 혼합물로 마취시켰다. 그 후 복부와 복막을 절개한 뒤 소장을 살균된 거즈 패드 위에 드러내었다. 살균된 면봉을 사용하여 5분 동안 십이지장에서 맹장까지 조작하였다. 수술 후 복부를 봉합한 뒤 32도의 온도로 유지되는 케이지에서 4시간 동안 회복되도록 하였다.
- [0203] **7. 위배출 지연 평가**
- [0204] POI 수술 20시간 후 트리아졸 화합물(10mg/kg, 20mg/kg, 30mg/kg)을 구강투여 하였다. 4시간 뒤 1.5% 메틸셀룰로오스 수용액과 0.05% 페놀 레드 (Sigma)를 구강 투여하였다. 30분 후 마우스의 위를 적출하여 0.1N NaOH 2ml 용액에 넣고 균질화하였다. 3ml의 0.1N NaOH 용액을 추가하고 4도의 3000rpm에서 10분동안 원심분리하였다. 상층액에 100 μ l의 20 % 트리클로로 아세트산을 첨가한 후 4도의 3000rpm에서 10분동안 원심분리하였다. 500 μ l 상층액에 400 μ l의 0.5N NaOH 용액을 첨가한 뒤 562nm에서 흡광도를 측정하였다. Baseline control을 위해 1.5% 메틸셀룰로오스 수용액과 0.05% 페놀 레드를 구강 투여한 직후 위를 적출하여 상기 위의 과정으로 획득한 샘플에서 흡광도를 측정하였다. 위배출 지연 퍼센트는 (1-(테스트 샘플의 흡광도)/(baseline control 흡광도) x 100) 으로 계산되었다.
- [0206] **8. 대장통과 시간 평가**
- [0207] 배설물의 대장통과 시간을 평가하기 위해 POI 수술 후 봉합전에 200 μ l의 트리판블루 염료를 근위 결장에 주입되었다. POI 수술 4시간 후 트리아졸 화합물(30mg/kg)을 구강투여 하였다. 마우스를 대사케이지로 옮겨 무게를 측정한 사료를 투여하고 24시간 동안 트리판블루로 염색된 첫번째 배설물이 나타나는 시간을 측정하였다. 24시간 내에 배설물의 개수 및 무게를 측정하고 섭취한 사료의 무게와 마우스의 체중이 측정되었다.
- [0209] **9. 암악액질 모델 설립**
- [0210] 암액질 모델 설립을 위해 CT26 (colon tumor 26 cell line)세포를 ATCC (CRL-2638)에서 구입하여 10% FBS를 포함하는 RPMI1640 배지에서 37 $^{\circ}$ C 및 5%의 CO₂에서 배양하였다. 배양한 1x10⁶ 개의 세포를 10주령의 마우스 우측 복부피하에 주입하였다. 세포 주입 후 매 1회 우측 복부에 자란 암 크기, 체중, 사료섭취량을 측정한 후 9일째부터 트리아졸 화합물 10mg/kg을 매일 구강투여하였다. 암 세포 주입 18일째에 근육 기능 평가를 위한 Grip test, Rota-rod test를 각 1일씩 시행하였으며, 20일째에 마우스의 피하지방, 내장지방 및 근육(대퇴부, 종아리)을 분리하여 무게를 측정하였다.
- [0212] **10. 근육 기능 평가를 위한 Grip test, Rota-rod test**
- [0213] 근육 기능 평가를 위해 Grip test는 그립 강도 측정기에 장치된 금속 격자에 마우스가 격자를 잡게 한 뒤 꼬리를 잡고 수평으로 뒤에서 당겼다. 그립을 잃기 직전에 금속 격자에 가해진 힘이 g 단위로 최대 장력으로 측정기에 기록되었으며, 개체당 9회 실시하여 그 평균값을 기록하였다. Rota-rod test (Ugo Basile, Comerio, VA, Italy)는 그립을 제공하기 위해 적절하게 가공된 직경 3cm의 막대가 설치되어 있는 기계를 4rpm의 회전속도로, 3회 이상 Rota-rod 운동을 실시하여 실험 동물의 지시간(endurance time)을 초단위로 측정하고, 그 평균값을 기록하였다. 상기 각 Rota-rod 행동시험은 회 당 5분을 초과하지 않도록 하였다.
- [0215] **11. 통계학적 분석**
- [0216] 다수의 그룹의 비교를 위해서 SAS 통계학적 패키지 (release 9.1; SAS Institute Inc., Cary, NC)에 따라서 Tukey's HSD 테스트 및 분산 테스트의 반복측정분석을 수행하였다. *p<0.05, ***p<0.01, ****p<0.001, *****p<0.0001 를 유의적인 것으로 간주하였다.
- [0218] **실험결과**
- [0219] **1. 세포 내 칼슘 유입증가를 통한 그렐린 수용체 작용제로서의 효과 확인**
- [0220] 트리아졸 화합물들의 그렐린 수용체 작용제로서의 효능을 확인하기 위해 먼저 그렐린의 주요 기능인 세포내 칼슘 유입 변화를 측정하였다. 인간 그렐린 수용체를 과발현시킨 HEK293 세포에 칼슘 표지 형광인자를 1시간동안 반응시킨 후 그렐린 및 트리아졸 화합물 KARI001, KARI101, KARI201을 각각 농도별로 처리하였다. 그 결과 3종의 트리아졸 화합물이 농도가 높아짐에 따라 세포 내 칼슘 유입이 증가하는 것을 확인하였다 (도1). 세포내 칼

습 유입을 50퍼센트 유도할 수 있는 농도인 EC50가 그렐린 = 39.45nM, KARI001 = 128.3nM, KARI101 = 188.5nM, KARI201 = 272.9nM로 확인되었다.

[0221] 즉, 3종의 트리아졸 화합물은 그렐린 수용체 작용제로서 세포내 칼슘 유입을 유도할 수 있음을 확인하였다.

[0223] 2. 그렐린 수용체의 G 단백질 의존 하위 인자 조절을 통한 그렐린 수용체 작용제로서의 효과

[0224] 그렐린 수용체는 G 단백질 연결 수용체로서 그렐린이 그렐린 수용체에 결합할 경우 크게 3종류의 G 단백질에 의존하여 각기 다른 하위 시그널 인자들의 활성이 조절된다고 알려져 있다. 그 예로, Gαq-의존 시그널링은 세포내 칼슘 유입을 증가시켜 AMPK 인자의 인산화를 증가시키며, Gαi/o-의존 시그널링은 PI3K 인자의 인산화를 증가시킨다. B-arrestin-의존 시그널링은 ERK 인자의 인산화를 증가시키거나 그렐린 수용체를 세포내로 유입시킨다 (FASEB J. 2019;33(1):518-531).

[0225] 먼저 3종의 트리아졸 화합물이 그렐린 수용체의 G 단백질 의존 시그널 하위 인자의 인산화를 조절할 수 있는지 확인하였다. 인간 그렐린 수용체를 과발현시킨 HEK293 세포에 그렐린 및 3종의 트리아졸 화합물 10 μM을 처리한 후 1시간 뒤에 세포의 단백질을 추출하여 웨스턴 블롯으로 하위 인자의 인산화 여부를 확인하였다. 그 결과 3종의 트리아졸 화합물은 AMPK 인자의 인산화를 증가시킬 수 있는 것을 관찰하였다 (도 2).

[0226] 추가로 그렐린 수용체의 세포내 유입 효과를 확인하기 위해 인간 그렐린 수용체를 과발현시킨 HEK293 세포에 그렐린 및 3종의 트리아졸 화합물 10 μM을 처리한 후 1시간 뒤에 그렐린 수용체 항체를 배양한 뒤 세포 내 그렐린 수용체 발현 여부를 확인하였다. 그 결과, 그렐린 및 3종의 트리아졸을 처리하지 않은 세포는 세포막에 그렐린 수용체가 발현하는 반면, 그렐린 및 3종의 트리아졸을 처리한 세포는 핵 주위 세포질에 그렐린 수용체가 발현하는 것으로 관찰되었다 (도 3).

[0227] 즉, 3종의 트리아졸 화합물은 그렐린 수용체의 Gαq-의존 시그널링과 B-arrestin-의존 시그널링을 조절할 수 있는 작용제로서의 효과가 있음을 알 수 있었다.

[0229] 3. 트리아졸 화합물의 그렐린 수용체 특이적인 작용제로서의 효과

[0230] G 단백질 연결 수용체 계열은 그렐린 수용체를 포함하여 많은 종류의 수용체들이 포함된다. 트리아졸 화합물이 다른 종류의 G 단백질 연결 수용체의 작용제 또는 길항제로서의 효능이 있는지 확인하였다. 그렐린 수용체를 포함한 총 170종의 G 단백질 연결 수용체를 발현하는 각기 다른 세포주에 트리아졸 화합물인 KARI201 10 μM을 단독 처리 (작용제 효과) 또는 각 수용체에 대한 리간드를 함께 처리 (길항제 효과)하였다. 그 결과, KARI201은 오로지 그렐린 수용체 작용제로서의 효능만 83.2% 나타내는 것으로 확인되었다 (도 4).

[0231] 즉, 본 결과를 통해 KARI201 트리아졸 화합물이 그렐린 수용체 특이적인 작용제로서 효과가 있음을 알 수 있었다.

[0233] 4. 트리아졸 화합물의 위배출 지연 개선 효과

[0234] 그렐린 수용체인 그렐린의 대표적인 생리학적인 효과 중 하나인 위 운동 촉진 효과를 확인하기 위해 수술 후 장 폐색(POI) 마우스를 이용하였다. 장폐색을 유도한 POI 마우스는 정상 마우스에 비해 위배출 지연 효과를 나타내는 반면, POI 수술 20시간 후 KARI201 및 KARI101을 투여한 POI 마우스는 농도가 높아짐에 따라 위배출 지연이 유의성 있게 개선되는 것을 확인되었다 (도 5A, 5B, 도 6A, 6B).

[0235] 즉, 트리아졸 화합물인 KARI201, KARI101은 그렐린 수용체 작용제로서 위 운동기능을 개선시켜 위배출 지연 개선에 효과가 있음을 알 수 있었다.

[0237] 5. 트리아졸 화합물의 대장 운동 기능 개선 효과

[0238] 트리아졸 화합물인 KARI201, KARI101의 위배출 지연 효과를 바탕으로 POI 마우스에서 배설물의 대장 통과 시간을 개선시켜 줄 수 있는지 확인하였다. POI 수술 4시간 후 PBS를 투여한 마우스는 배설물의 대장 통과 시간이 긴 반면, KARI201 또는 KARI101 30mg/kg을 투여한 마우스는 배설물 대장 통과 시간이 유의성 있게 감소하였다 (도 7A와 도 8A). 배설물의 개수 및 무게 또한 KARI201 투여로 인해 증가하였다(도 7B와 도 8B) 사료섭취량 또한 PBS를 투여한 POI 마우스보다 증가하였으며, 그에 반해 체중의 변화는 없었다 (도 7C, 7D, 8C, 8D).

[0239] 즉, 트리아졸 화합물인 KARI201과 KARI101은 그렐린 수용체 작용제로서 대장 운동기능 또한 개선시켜 배설물의 배출 시간 개선에 효과가 있음을 알 수 있었다. 따라서 트리아졸 화합물은 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 치료제로서 매우 유용하게 활용될 수 있음을 알 수 있었다.

[0241] 6. 트리아졸 화합물의 근력 기능 향상 효과

[0242] 그렐린 수용체인 그렐린의 또 다른 생리학적인 효과 중 하나인 사료섭취량 증가와 이에 따른 지방 및 근육 감소 개선 효과를 확인하기 위해 암악액질 마우스를 이용하였다. 암악액질 마우스 모델을 설립하기 위해 10주령의 마우스의 우측 복부피하에 CT26 암세포를 주입하였다. 세포 주입 후 9일째에 우측복부에 암세포가 자란 것을 확인하였으며, KARI101, KARI201 10mg/kg을 매일 1회 구강투여하였다. 18일째에 근력 기능을 평가하기 위해 Grip test와 Rota-rod 테스트를 실시하였다 (도 9A). Vehicle을 주입한 암악액질 마우스는 근력 기능이 감소되는 반면, KARI101 또는 KARI201을 투여한 암악액질 마우스는 근력 기능이 유의성 있게 향상되는 것을 확인하였다 (도 9B와 9C).

[0244] 7. 트리아졸 화합물의 사료섭취량, 지방 및 근육 감소 개선 효과

[0245] 트리아졸 화합물인 KARI101, KARI201의 암악액질 마우스 모델의 근력 기능 향상 효과를 바탕으로 암 크기, 체중, 사료섭취량을 평가하였다. KARI101, KARI201 투여는 암악액질 마우스의 암 크기 (도 10A) 및 체중 (도 10B)에 영향을 주지 않았으나, vehicle을 투여한 마우스에 비해 하루 사료섭취량을 증가시켰다 (도 10C와 10D). 또한 KARI101, KARI201 투여는 vehicle 투여 암악액질 마우스에 비해 감소된 전체 지방 (도 11A), 내장 (도 11B) 및 피하 지방 (도 11C)을 증가시켰으며, 감소된 근육량 (도 11D) 또한 증가시켰다.

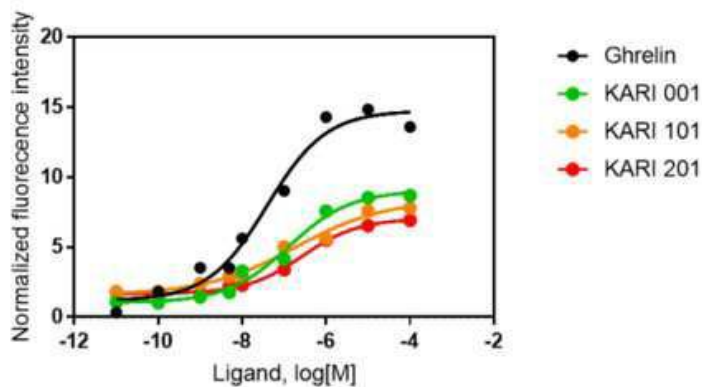
[0246] 즉, 트리아졸 화합물인 KARI201과 KARI101은 그렐린 수용체 작용체로서 암악액질 마우스의 감소된 사료섭취량을 증가시켜줄 수 있으며, 이로 인해 감소된 지방 및 근육량, 근력기능 개선에 효과가 있음을 알 수 있었다.

산업상 이용가능성

[0248] 본 발명이 제공하는 화합물은 그렐린 수용체에 매우 높은 특이도로 강한 결합력을 나타내어, 그렐린 수용체로 매개된 질환의 예방 또는 치료제 개발에 매우 유용하게 활용될 수 있어 산업상 이용가능성이 높다.

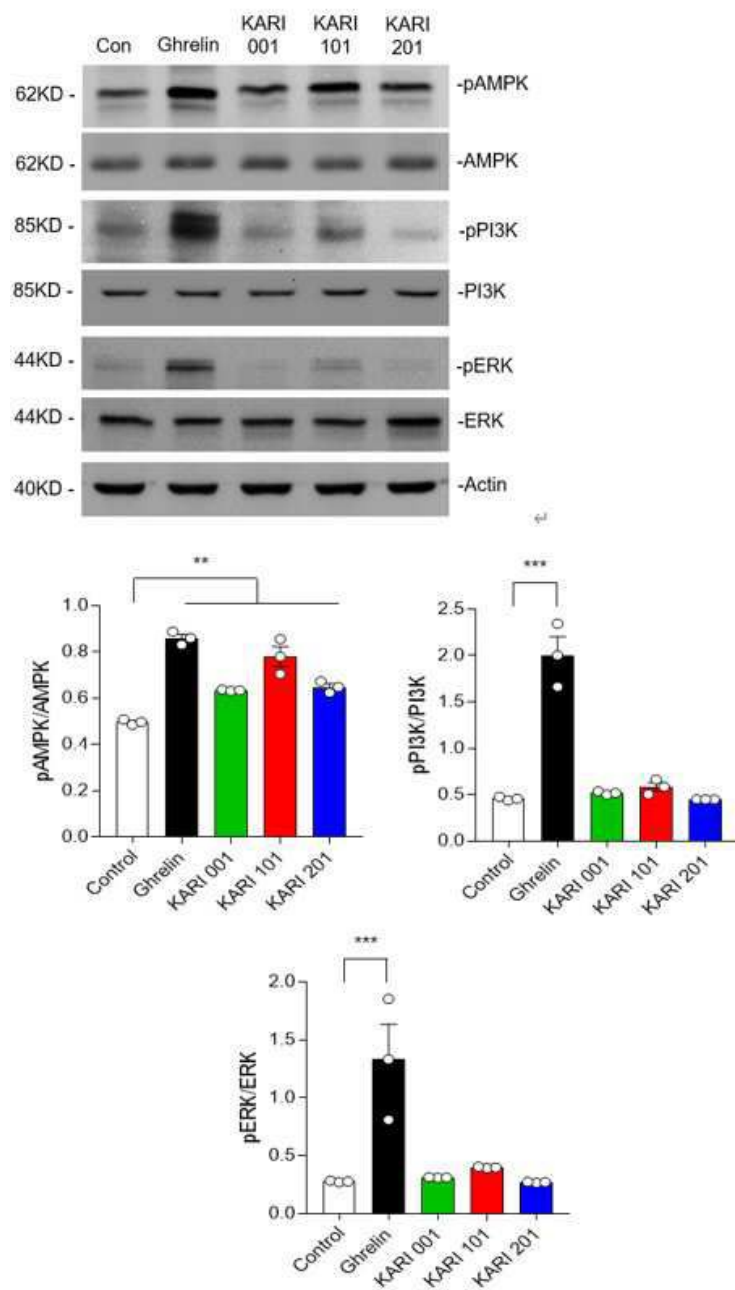
도면

도면1

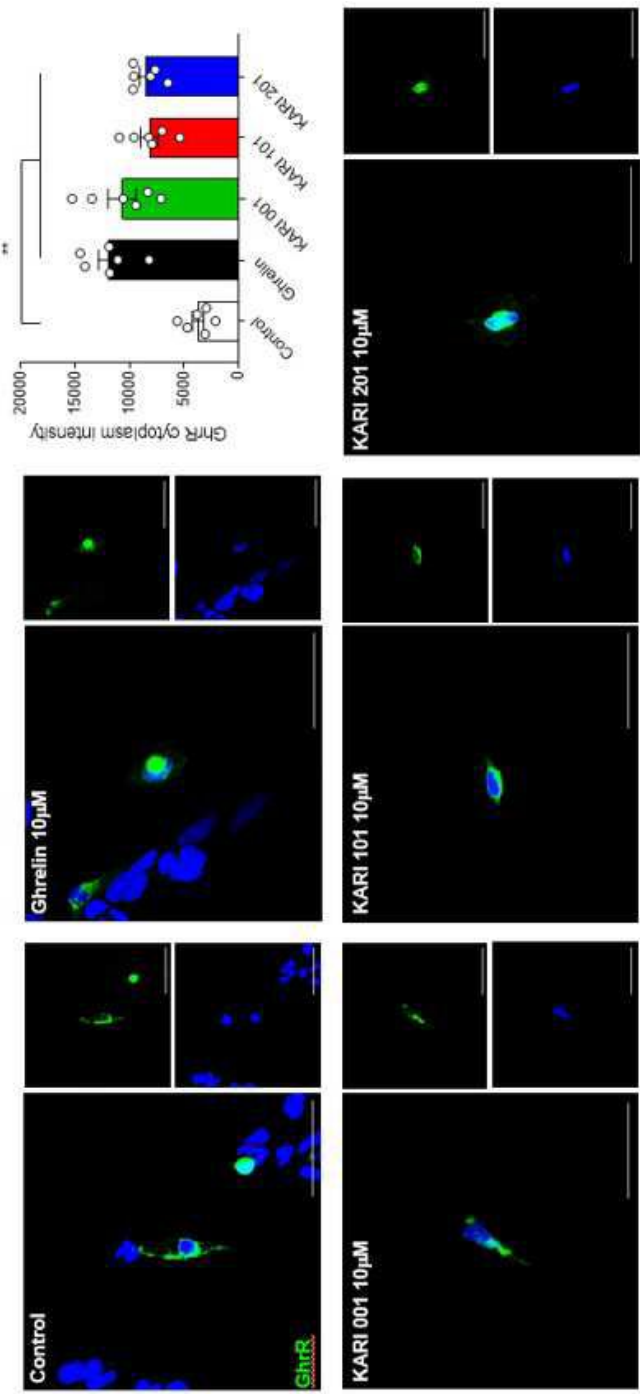


	EC50
Ghrelin	39.45 nM
KARI001	128.3 nM
KARI101	188.5 nM
KARI201	272.9 nM

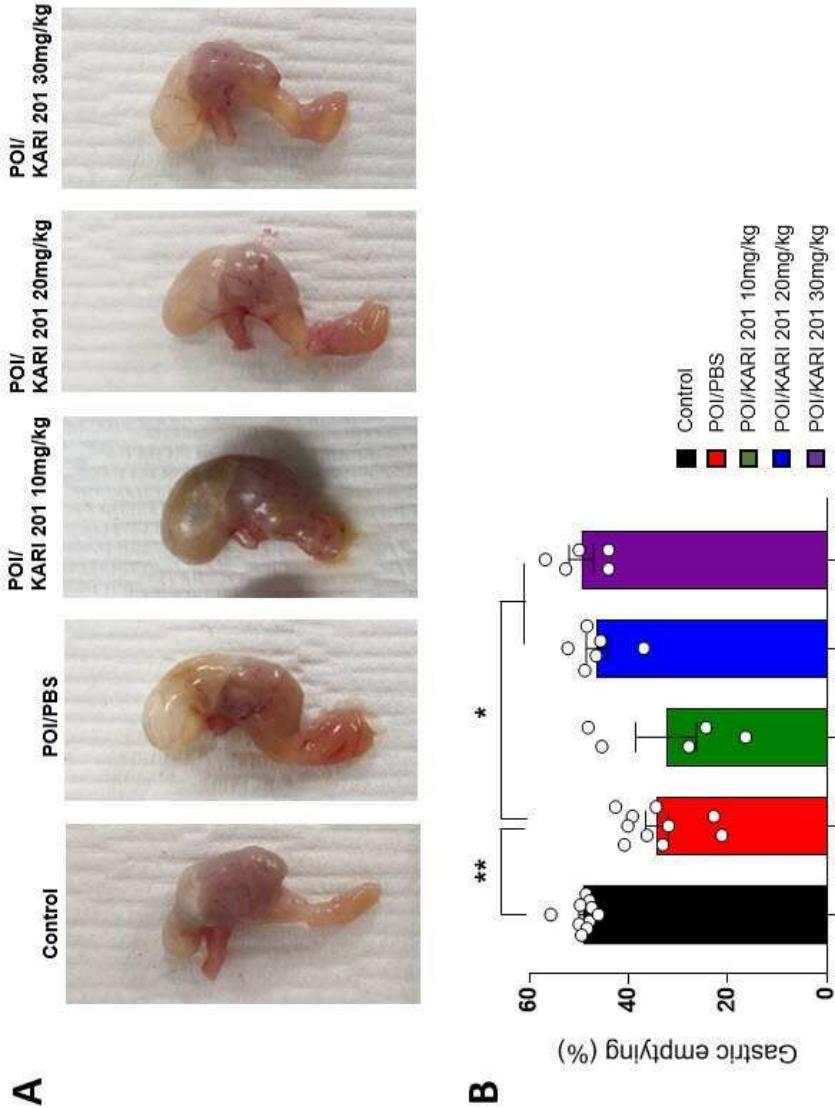
도면2



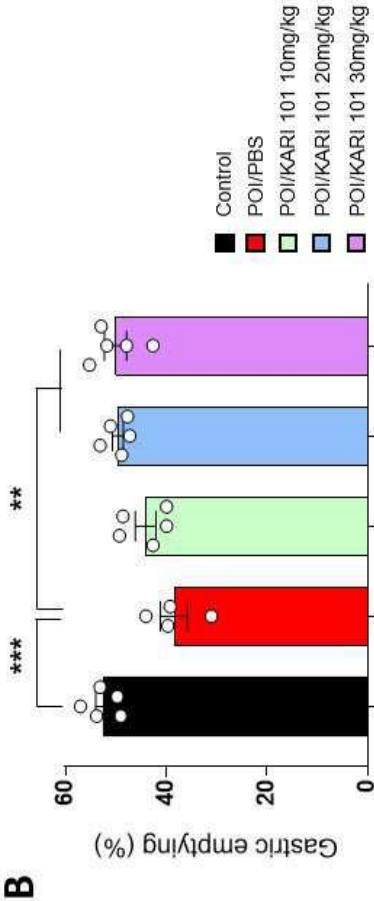
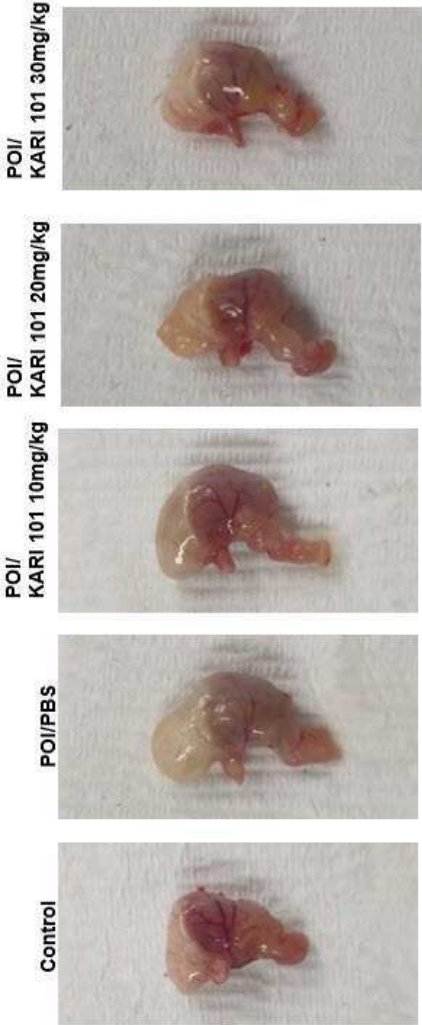
도면3



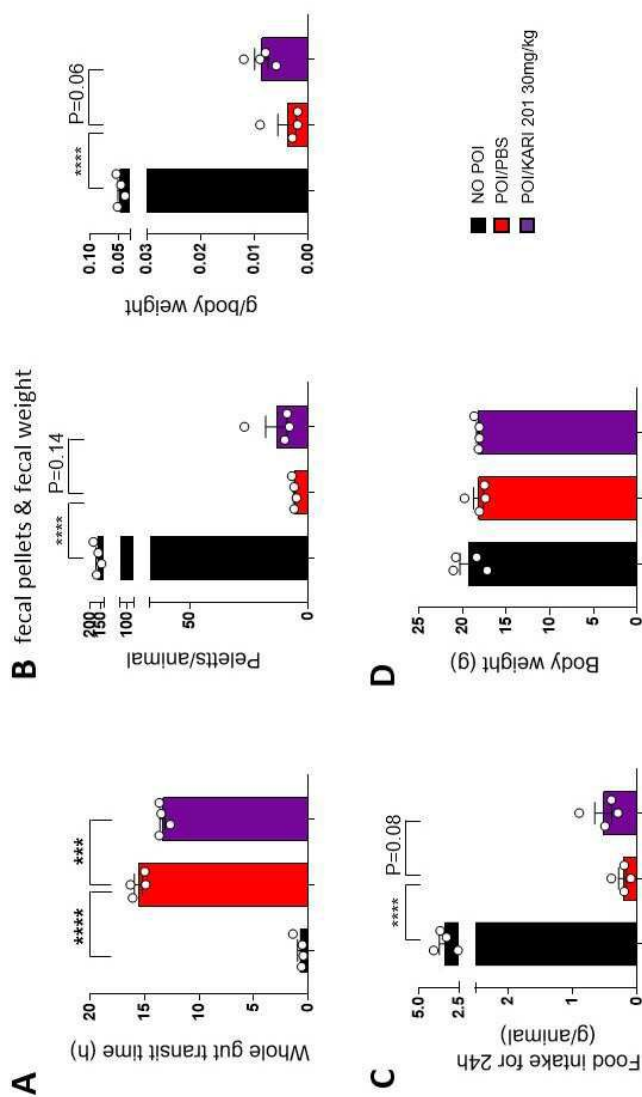
도면5



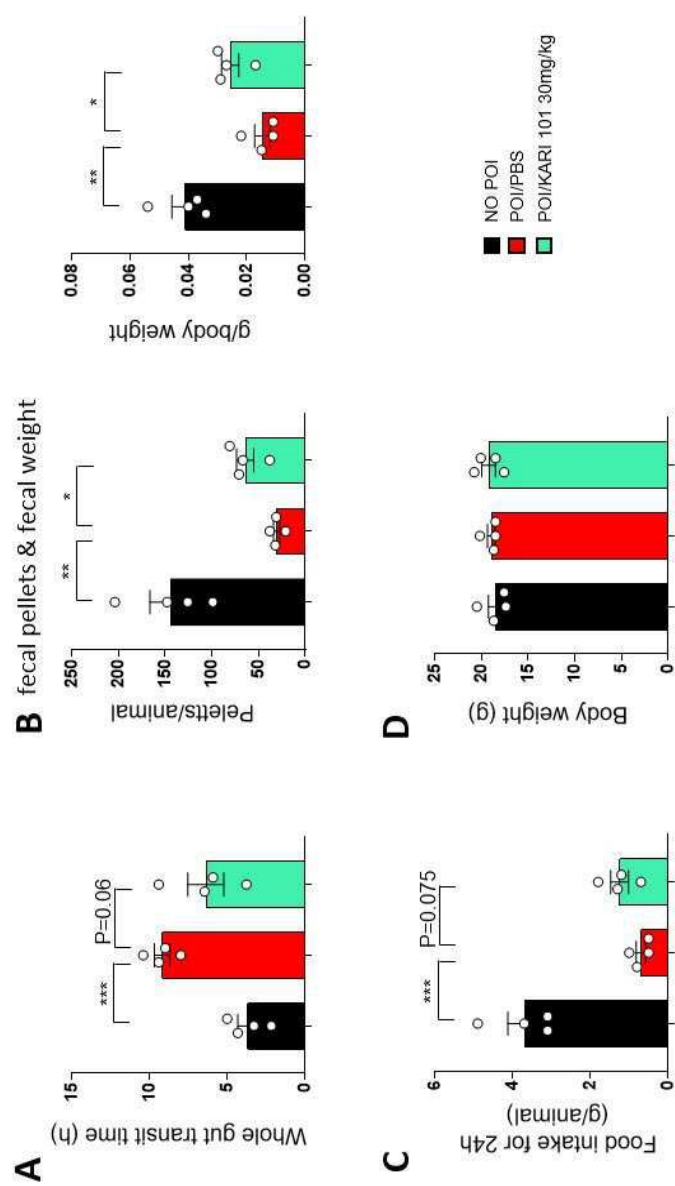
도면6



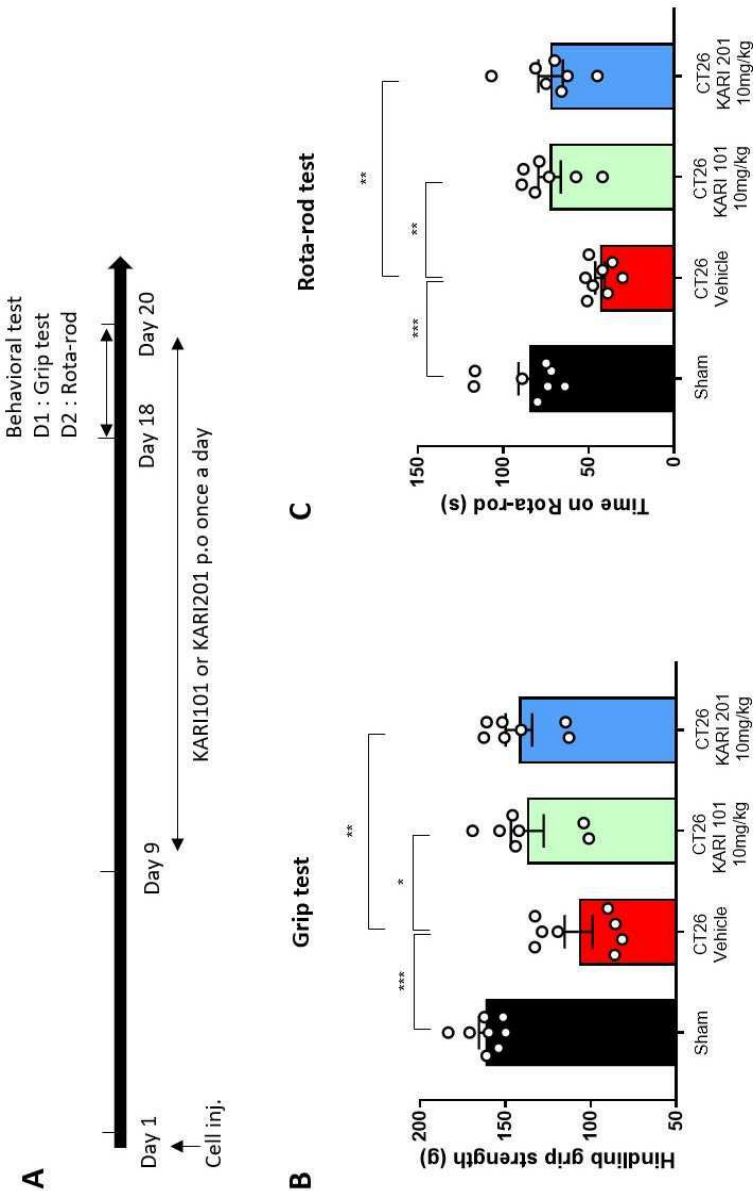
도면7



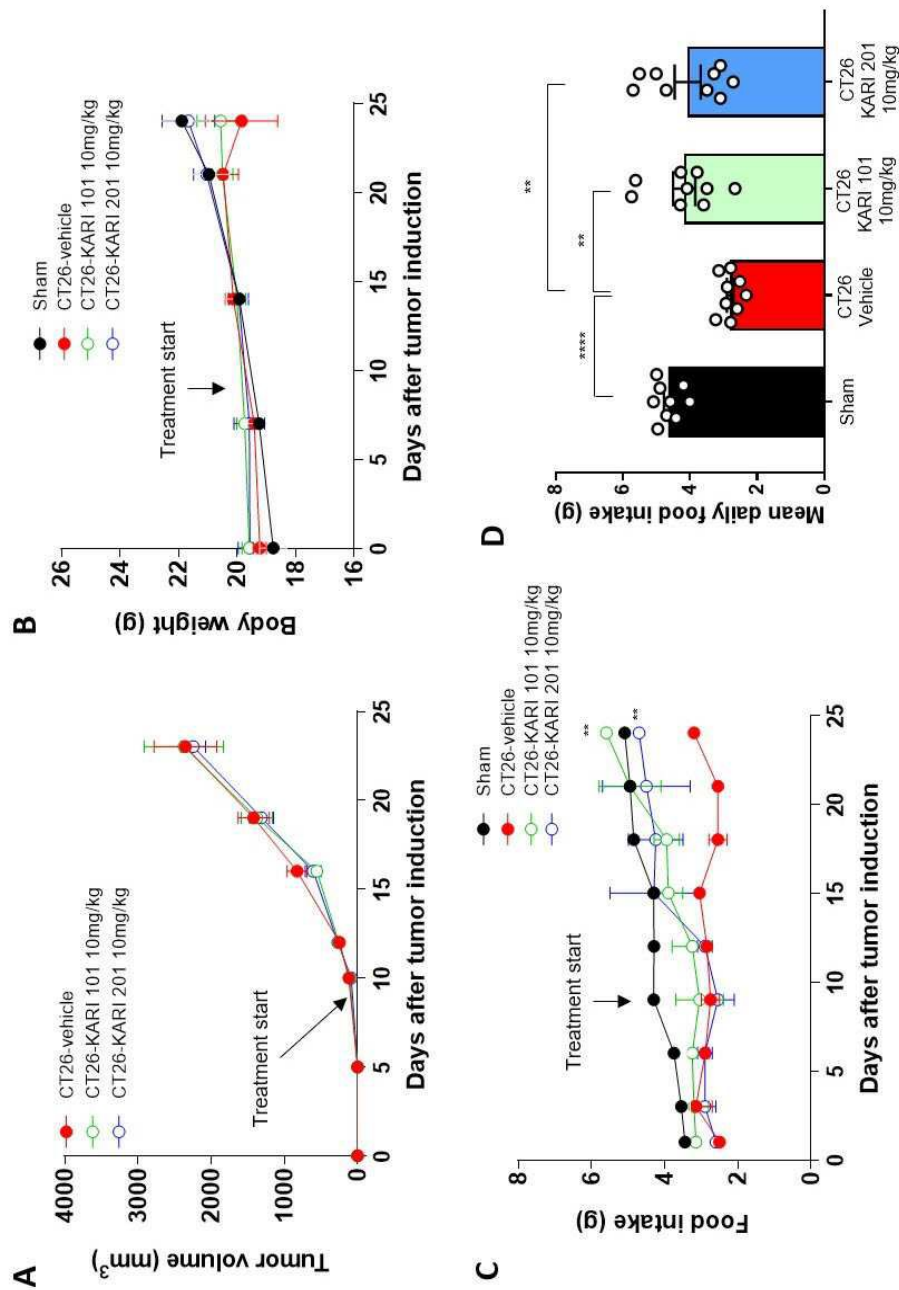
도면8



도면9



도면10



도면11

