

명세서

발명의 명칭: 멜라노코르틴 수용체 작용제 화합물의 결정형 III 및 이의 제조방법

기술분야

- [1] 관련 출원과의 상호 인용
- [2] 본 출원은 2020년 10월 29일자 한국특허출원 제10-2020-0142398호에 기초한 우선권의 이익을 주장하며, 해당 한국특허출원이 문헌에 개시된 모든 내용은 본 명세서의 일부로서 포함된다.
- [3] 기술분야
- [4] 본 발명은 멜라노코르틴 수용체에 대한 우수한 항진 활성을 나타내는 신규 화합물의 결정형 III, 이의 제조 방법 및 이를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경기술

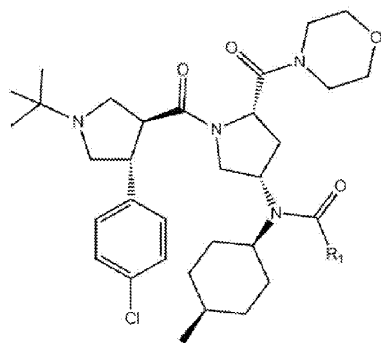
- [5] 렙틴(leptin) 단백질은 체지방세포(adipocyte)에 의해 분비되는 호르몬으로서, 체내 지방 함량 증가에 따라 분비량이 증가하며 시상하부(hypothalamus)에서 생성되는 다양한 신경펩타이드(neuropeptide)의 기능을 조절함으로써 식욕, 체지방 함량 및 에너지 대사를 비롯한 다양한 생체 내 기능을 조절한다(Schwartz, et al., Nature 404, 661-671 (2000)). 렙틴 단백질에 의한 식욕과 체중조절의 신호전달은 그 하류(downstream)에 많은 요인들의 조절을 통하여 이루어지는데, 그 중 가장 대표적인 것이 멜라노코르틴(melanocortin), AgRP(agoutirelated peptide) 및 신경펩타이드 Y(neuropeptide Y, NPY) 호르몬이다.
- [6] 생체 내 칼로리 과다로부터 오는 결과로 혈액 내 렙틴의 농도가 증가하면, 뇌하수체(pituitary gland)에서의 proopiomelanocortin(POMC) 단백질 호르몬의 분비는 증가하게 되고 AgRP와 NPY의 생성은 감소된다. POMC 신경세포로부터 작은 펩티드 호르몬인 alpha-MSH(melanocyte stimulating hormone)가 생성되며, 이 호르몬은 2차 신경세포의 멜라노코르틴-4 수용체(Melanocortin-4 Receptor, MC4R) 항진제(agonist)로서 식욕 감소를 궁극적으로 유도한다. 반면 칼로리 결핍에서 오는 결과로부터 렙틴의 농도가 감소하면 MC4R 길항제(antagonist)인 AgRP의 발현이 증가되고 NPY의 발현도 증가되어 궁극적으로 식욕을 증진시키게 된다. 즉, 렙틴의 변화에 따라 alpha-MSH 호르몬과 AgRP 호르몬은 MC4R에 대해 항진과 길항 역할을 함으로써 식욕조절에 관여한다.
- [7] Alpha-MSH 호르몬은 MC4R 이외에 3개의 MCR subtype에도 결합해서 다양한 생리반응을 유도하게 된다. 현재까지 5가지의 MCR subtype이 규명되어 있는데, 그 중 MC1R의 경우 주로 피부 세포에서 발현되고 멜라닌 색소 조절(skinpigmentation)에 관여하며, MC2R은 부신(adrenal gland)에서 주로 발현되며 글루코코르티코이드 호르몬(glucocorticoid hormone)의 생성에

관여하는 것으로 알려져 있으며 POMC로부터 유래된 ACTH(adrenocorticotrophic hormone)만이 그 리간드이다. 중추 신경계에서 주로 발현되는 MC3R과 MC4R은 식욕, 에너지대사 및 체내지방 저장효율 조절 등에 관여하며, 다양한 조직에서 발현되는 MC5R은 외분비 기능(exocrine function)을 조절하는 것으로 알려져 있다(Wikberg, et al., Pharm Res 42 (5) 393-420 (2000)). 특히, MC4R 수용체의 활성화는 식욕의 감소와 에너지 대사의 증가를 유도함으로써 체중을 효율적으로 감소시키는 효과를 나타내므로 비만치료제 개발의 주요 작용점으로 입증되었다(Review: Wikberg, Eur. J. Pharmacol 375, 295-310 (1999)); Wikberg, et al., Pharm Res 42 (5) 393-420 (2000); Douglas et al., Eur J Pharm 450, 93-109 (2002); O'Rahilly et al., Nature Med 10, 351-352 (2004)).

- [8] 식욕과 체중조절에 있어서 MC4R의 역할은 agouti 단백질의 이상발현 동물모델(agouti mouse) 실험을 통하여 일차적으로 입증되었다. Agouti mouse의 경우 유전적 변이에 의해 agouti 단백질이 중추신경계에도 높은 농도로 발현되고, 시 상하부에서 MC4R의 길항제(antagonist) 역할을 함으로써 비만을 유도하는 것이 밝혀졌다(Yen, TT et al., FASEB J. 8, 479-488 (1994); Lu D., et al. Nature 371, 799-802 (1994)). 이후 연구결과에서는 시상하부 신경에서 실제 agouti 단백질과 유사한 AgRP(agouti-related peptide)가 발현되는 것이 관찰되었으며, 이들도 MC4R에 대한 길항제로서 식욕조절에 관여하는 것으로 알려졌다(Shutter, et al., Genes Dev., 11, 593-602 (1997); Ollman, et al. Science 278, 135-138 (1997)).
- [9] 생체 내 MC4R 항진제인 alpha-MSH를 동물에 대뇌투여하면 식욕을 감소하는 효과가 나타나며, 여기에 MC4R 길항제(antagonist)인 SHU9119(peptide) 또는 HS014(peptide)를 처리하면 식욕을 다시 증가시키는 현상이 관찰 되었다(Kask et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 245, 90-93 (1998)). 뿐만 아니라, Melanotan II (MTII, Ac-Nle-c[Asp-His-DPhe-Arg-Trp-Lys]-NH₂)와 그 유사한 항진제인 HP228을 이용한 동물 시험에서 대뇌, 복강 또는 피하 투여 후 식욕억제, 체중 감소, 에너지대사의 증가 효능 등이 확인되었다. (Thiele T. E., et al. Am J Physiol 274 (1 Pt 2), R248-54 (1998); Lee M. D., et al. FASEB J 12, A552 (1998); Murphy B., et al. J Appl Physiol 89, 273-82 (2000)). 이와는 반대로 대표적인 SHU9119을 동물에 투여하면, 현저하며 지속적인 사료섭취 및 체중증가를 보여 주어, MCR 항진제가 비만치료제가 될 수 있다는 약리학적 증거를 제공한다. MTII 투여 시 뚜렷이 나타나는 식욕감소 효과가 MC4R KO(knock-out) 마우스에서는 나타나지 않는데, 이 실험 결과는 식욕감소 효과가 주로 MC4R의 활성화를 통하여 이루어지고 있음을 다시 증명해 준다(Marsh, et al., Nat Genet 21, 119-122 (1999)).
- [10] 현재까지 개발된 비만치료제로서는 중추신경계에 작용하는 식욕 저해제가 주종이며, 그 중에서도 신경신호전달 물질(neurotransmitter)의 작용을 조절하는 약물들이 대부분이었다. 그 예로서는 noradrenalin agent(phentermine과 mazindol), serotonergic agent인 fluoxetine 및 sibutramine 등이 있다. 그러나 상기 신경신호전달 물질 조절제의 경우는 수 많은 subtype 수용체들을 통하여 식욕

저해 이외에 다양한 생리작용에도 광범위한 영향을 미친다. 따라서 상기 조절제들의 경우 각 subtype별 선택성이 결여되어 장기간 투여 시 다양한 부작용을 수반하게 되는 큰 단점이 있다.

- [11] 반면, 멜라노코르틴 항진제는 신경신호전달 물질이 아닌 신경펩타이드(neuropeptide)로서, MC4R 유전자 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 가진다. 특히 그 수용체가 현재까지 개발된 신약 작용점 중 가장 성공적인 범주에 속하는 G-단백질 결합 수용체(G-protein coupled receptor, GPCR)로서 subtype 수용체에 대한 선택성 확보가 상대적으로 용이하다는 면이 기존의 작용점들과는 크게 구별된다.
- [12] 이러한 멜라노코르틴 수용체를 작용점으로 활용한 예로, 국제공개번호 WO 2008/007930호 및 WO 2010/056022호에서는 멜라노코르틴 수용체의 항진제로서의 화합물들을 개시하고 있다.
- [13] 또한, 본 발명의 발명자들은 예의 연구를 거듭하여 멜라노코르틴 수용체, 특히 멜라노코르틴-4 수용체(MC4R)에 대한 선택적인 항진 활성이 우수한 하기 화학식 1의 신규한 화합물 및 이의 제조 방법을 발명한 바 있다(출원번호 제10-2019-0141649호(2019.11.07.출원)).
- [14] [화학식 1]
- [15] (R_1 은 C_2 - C_5 알킬이다.)



- [16] 한편, 약학적으로 활성인 성분의 결정 구조는 종종 그 약물의 화학적 안정성에 영향을 미친다. 상이한 결정화 조건 및 저장 조건은 그 화합물의 결정 구조를 변화시킬 수 있고, 때로는 다른 형태의 결정형의 동반되는 생산을 야기할 수 있다. 일반적으로 무정형 약물 생성물은 규칙적인 결정 구조를 갖지 않고, 종종 불량한 생성물 안정성, 더 작은 입자 크기, 어려운 여과, 쉬운 응집 및 불량한 유동성과 같은 기타 결함을 갖는다. 따라서, 생성물의 다양한 물성을 개선시킬 필요가 있다. 이와 같이, 하나의 화합물에 대하여 고순도 및 좋은 화학적 안정성을 가진 결정 구조를 연구할 필요가 있다.
- [17] [선행기술문헌]

- [18] [특허문헌]
 [19] (특허문헌 1) 국제특허출원 공개번호 WO 2008/007930호
 [20] (특허문헌 2) 국제특허출원 공개번호 WO 2010/056022호

발명의 상세한 설명

기술적 과제

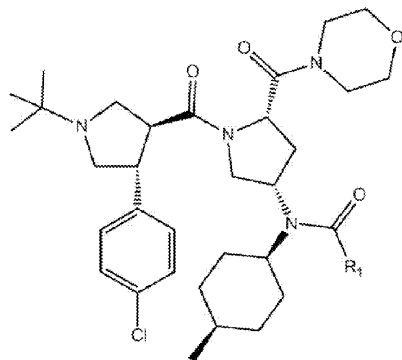
- [21] 본 발명의 목적은 멜라노코르틴 수용체, 특히 멜라노코르틴-4 수용체(MC4R)에 대한 선택적인 항진 활성이 우수한 신규한 화합물의 안정한 결정형 및 이의 제조방법을 제공하는 것에 있다.
 [22] 본 발명의 다른 목적은 상기 신규한 화합물의 안정한 결정형을 포함하는 약학적 조성물을 제공하는 것에 있다.

과제 해결 수단

- [23] 상기 목적을 달성하기 위하여,
 [24] 일 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 1의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 용매화물의 결정형 III로서,
 [25] X선 분말 회절 패턴에서 하기 회절각 (2 θ 값): 6.62 $\pm$ 0.2°, 7.44 $\pm$ 0.2°, 9.18 $\pm$ 0.2°, 9.89 $\pm$ 0.2°, 10.83 $\pm$ 0.2°, 11.42 $\pm$ 0.2°, 12.92 $\pm$ 0.2°, 14.61 $\pm$ 0.2°, 15.36 $\pm$ 0.2°, 15.79 $\pm$ 0.2°, 15.95 $\pm$ 0.2°, 17.37 $\pm$ 0.2°, 18.20 $\pm$ 0.2°, 18.99 $\pm$ 0.2°, 19.34 $\pm$ 0.2°, 19.69 $\pm$ 0.2°, 20.40 $\pm$ 0.2°, 21.66 $\pm$ 0.2°, 21.98 $\pm$ 0.2°, 22.45 $\pm$ 0.2°, 22.85 $\pm$ 0.2°, 24.66 $\pm$ 0.2°, 25.52 $\pm$ 0.2°, 26.55 $\pm$ 0.2°, 28.08 $\pm$ 0.2°, 29.31 $\pm$ 0.2° 및 29.54 $\pm$ 0.2° 중에서 선택되는 3개 이상, 5개 이상, 7개 이상, 9개 이상 또는 10개 이상의 특징적인 피크를 갖는 것인, 결정형 III을 제공한다.

- [26] [화학식 1]

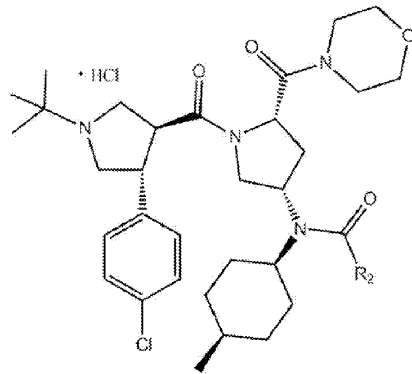
[27]



- [28] 상기 화학식 1에서,
 [29] R₁은 C₂-C₅ 알킬이다.
 [30]
 [31] 상기 화학식 1의 화합물은 비대칭 탄소중심과 비대칭축 또는 비대칭평면을 가질 수 있으므로 cis 또는 trans 이성질체, R 또는 S 이성질체, 라세미체, 부분입체이성질체 혼합물 및 개개의 부분입체이성질체로서 존재할 수 있으며,

- 이들 모든 이성질체 및 혼합물은 상기 화학식 1의 화합물의 범위에 포함된다.
- [32] 본 명세서에서 편의상 달리 명시되지 않는 한, 화학식 1의 화합물은 화학식 1의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 이성질체 및 이의 용매화물을 모두 포함하는 의미로 사용된다.
- [33] 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 화학식 1의 R_1 은 C_2 내지 C_5 알킬이다. 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 화학식 1의 R_1 은 직쇄 또는 분지형 C_2 내지 C_5 알킬, 예를 들면 에틸, n-프로필, iso-프로필, n-부틸, iso-부틸, sec-부틸 또는 tert-부틸이다.
- [34] 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 화학식 1의 R_1 은 C_2 또는 C_3 알킬이다. 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 화학식 1의 R_1 은 직쇄 또는 분지형 C_2 또는 C_3 알킬, 예를 들면 에틸, n-프로필 또는 iso-프로필이다.
- [35] 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 약학적으로 허용 가능한 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.
- [36] 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 용매화물(solvate)은 수화물; 메탄올, 에탄올, 2-프로판올, 1,2-프로판디올, 1,3-프로판디올, n-부탄올, 1,4-부탄디올, tert-부탄올, 아세트산, 아세톤, 부틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 에틸 아세테이트, 프로필 아세테이트, t-부틸 아세테이트, 이소부틸 아세테이트, 메틸에틸케톤, 2-펜타논, 테트라하이드로퓨란, 아세토나이트릴, 클로로포름, 톨루엔 및 이들의 혼합물 등의 유기 용매와의 용매화물을 포함할 수 있다.
- [37] 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 결정형 III은 화학식 1의 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염의 결정형일 수 있다.
- [38] 상기 화학식 1의 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염은 하기 화학식 2의 염산염 화합물일 수 있다.
- [39] [화학식 2]

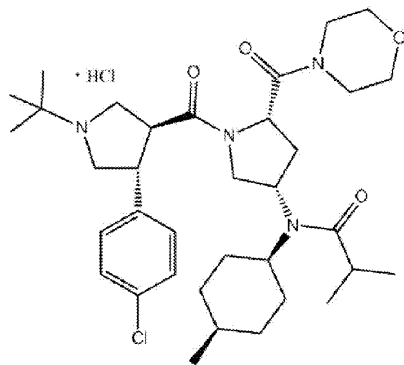
[40]

[41] 상기 화학식 2에서, R_2 은 C_2 - C_5 알킬이다.

[42] 본 발명에 따른 또 다른 구체예에서, 상기 화학식 1의 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염은 하기 화학식 3의 *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 염산염일 수 있다.

[43] [화학식 3]

[44]



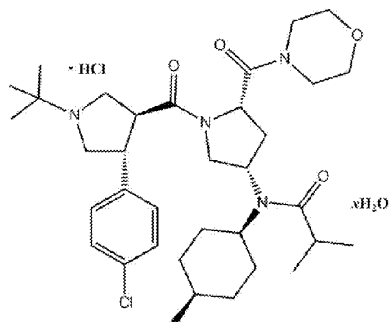
[45] 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 결정형 III은 화학식 1의 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염의 용매화물, 구체적으로 수화물의 결정형일 수 있다.

[46] 보다 구체적으로, 상기 결정형 III은 화학식 1의 화합물의 염산염의 수화물의 결정형일 수 있다.

[47] 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 결정형 III은 하기 화학식 4의 화합물의 결정형일 수 있다.

[48] [화학식 4]

[49]



[50]

[51] 본 발명에 따른 결정형 III은, X선 분말 회절(XRD) 분석 시, $6.62 \pm 0.2^\circ$, $7.44 \pm 0.2^\circ$, $9.18 \pm 0.2^\circ$, $9.89 \pm 0.2^\circ$, $10.83 \pm 0.2^\circ$, $11.42 \pm 0.2^\circ$, $12.92 \pm 0.2^\circ$, $14.61 \pm 0.2^\circ$, $15.36 \pm 0.2^\circ$, $15.79 \pm 0.2^\circ$, $15.95 \pm 0.2^\circ$, $17.37 \pm 0.2^\circ$, $18.20 \pm 0.2^\circ$, $18.99 \pm 0.2^\circ$, $19.34 \pm 0.2^\circ$, $19.69 \pm 0.2^\circ$, $20.40 \pm 0.2^\circ$, $21.66 \pm 0.2^\circ$, $21.98 \pm 0.2^\circ$, $22.45 \pm 0.2^\circ$, $22.85 \pm 0.2^\circ$, $24.66 \pm 0.2^\circ$, $25.52 \pm 0.2^\circ$, $26.55 \pm 0.2^\circ$, $28.08 \pm 0.2^\circ$, $29.31 \pm 0.2^\circ$ 및 $29.54 \pm 0.2^\circ$ 중에서 선택되는 3개 이상, 5개 이상, 7개 이상, 9개 이상 또는 10개 이상의 특징적인 피크를 나타낸다.

[52] 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 결정형 III은 도 4에 나타낸 XRD 패턴을 갖는 것일 수 있다.

[53] 본 발명에 따른 결정형 III은 시차 주사 열량 측정(DSC) 프로파일에서, $40 \sim 170^\circ\text{C}$ 에서 2개의 흡열 피크가 나타나며, 220°C 이상에서 분해에 의한 흡열 피크가 나타난다.

[54] 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 결정형 III은 도 5에 나타낸 DSC 프로파일을 갖는 것일 수 있다.

[55] 본 발명에 따른 결정형 III은 열 중량 분석(TGA) 프로파일에서, 160°C 이하의 온도로 가열 시 15% 이하, 예를 들어 1% 내지 15%, 1% 내지 10%, 5% 내지 10% 또는 7%의 중량 손실을 갖는 것일 수 있다.

[56] 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 결정형 III은 도 6에 나타낸 TGA 프로파일을 갖는 것일 수 있다.

[57] 본 발명에 따른 결정형 III은 안정성시험 결과(HPLC), 가속조건(40°C , 75% RH) 및 가혹조건(80°C)에서 4주 동안 화학적 안정성을 보였으므로 열 및 습도에 안정한 결정형임을 알 수 있다.

[58] 본 명세서에 있어서,

[59] X선 회절(XRD) 분석은 PANalytical X' Pert Pro MPD system, Malvern Panalytical Ltd를 이용하여 수행한 결과를 나타낸다.

[60] 시차 주사 열량(DSC) 분석은 DSC1, Mettler-Toledo AG를 이용하여 수행한 결과를 나타낸다.

[61] 열 중량 분석(TGA)은 TGA/DSC 1, Mettler-Toledo AG를 이용하여 수행한 결과를 나타낸다.

- [62] 안정성 분석은 HPLC, Agilent Technologies, Inc을 이용하여 수행한 결과를 나타낸다.
- [63]
- [64] 상기 결정형 III은 조질의 화학식 1의 화합물, 무정형의 화학식 1의 화합물 또는 화학식 1의 화합물의 다른 결정형 대비 순도가 더 높을 수 있으며, 물리적 및 화학적으로 더 안정한 것일 수 있다.
- [65] 뿐만 아니라, 상기 화학식 1의 화합물의 결정형 III은 공지된 멜라노코르틴-4 수용체 작용제 대비 멜라노코르틴-4 수용체에 대한 항진 능력, 비만, 당뇨, 염증, 발기부전 등의 질병에 대한 예방 또는 치료 효과가 더욱 우수한 것일 수 있으나, 본 발명의 효과가 이에 제한되는 것은 아니다.
- [66]
- [67] 다른 측면에서, 본 발명은 결정화 용매에 상기 화학식 1의 화합물을 용해시켜 혼합 용액을 제조하는 단계, 및 상기 혼합 용액으로부터 결정을 수득하는 단계를 포함하는, 결정형 III의 제조 방법을 제공한다.
- [68] 먼저, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 결정화 용매에 용해시킨다.
- [69] 상기 결정형 III의 제조를 위한, 상기 화학식 1의 화합물은 화학식 1의 화합물, 이의 염, 이의 이성질체, 또는 이들의 용매화물일 수 있다.
- [70] 상기 화학식 1의 화합물은 출원번호 제10-2019-0141649호(2019.11.07.출원)의 명세서에 기재된 제조 방법에 의해 수득되는 것일 수 있다.
- [71] 상기 결정화 용매는 화합물의 결정화를 위한 적절한 용매라면 특별히 제한되지 않고 사용할 수 있다. 일 구체예에서 상기 결정화 용매는 물 및 극성 비양성자성 유기 용매의 혼합물을 포함하는 것일 수 있다.
- [72] 상기 극성 비양성자성 유기 용매는, 에틸아세테이트(Ethyl Acetate), 메틸아이소부틸케톤(Methyl isobutyl ketone), 디메틸설폭사이드(Dimethylsulfoxide), 테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran), 아세톤(acetone), 디메틸포름아마이드(dimethylformamide), 아세토니트릴(acetonitrile) 또는 이들의 혼합물을 포함하는 것일 수 있다.
- [73] 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 극성 비양성자성 유기 용매는 에틸아세테이트를 포함하는 것일 수 있다.
- [74] 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 결정화 용매는 물 및 극성 비양성자성 유기 용매가 15:1 내지 1:15의 부피비로 혼합된 혼합 용매일 수 있으며, 구체적으로 10:1 내지 1:10, 8:1 내지 1:8, 1:1 내지 1:10, 1:3 내지 1:8, 1:5 내지 1:7, 1:6.5 내지 1:6.8, 또는 1:6.7의 부피비로 혼합된 혼합 용매일 수 있다.
- [75] 상기 화학식 1의 화합물 1 g에 대하여 결정화 용매는 0.5 내지 5 mL, 0.7 내지 3 mL, 0.8 내지 2 mL, 0.9 내지 1.5 mL, 1 내지 1.5 mL, 1.0 내지 1.3 mL 또는 1.15 mL를 사용하는 것일 수 있다.
- [76]
- [77] 상기 화학식 1의 화합물의 결정화 용매로의 용해는 30 내지 85 °C, 구체적으로

35 내지 80°C, 40 내지 75°C, 45 내지 70°C, 50 내지 65°C, 또는 60°C에서 교반 없이 또는 교반 하에 수행되는 것일 수 있다.

- [78] 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 화학식 1의 화합물 1 g에 대하여 EtOAc 1 mL 및 증류수 0.15 mL를 이용하여 60°C에서 화학식 1의 화합물이 용해된 혼합 용액을 수득할 수 있다.
- [79] 다음으로, 상기 화학식 1의 화합물이 용해된 혼합 용액으로부터 결정을 수득하는 단계를 포함한다. 상기 결정의 수득은 예를 들어 용액을 냉각시키거나, 용액에 산을 적가하여 침전물을 형성하거나, 용매를 증발시키거나, 역용매를 첨가하여 과포화시키거나, 슬러리 전환 등의 방법을 사용함으로써 이루어질 수 있다.
- [80] 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 결정화 단계는, 상기 혼합 용액을 냉각하는 것을 포함할 수 있다. 상기 냉각은 상기 산이 적가된 혼합 용액의 온도가 0°C 내지 5°C가 되도록 수행하는 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 냉각은 상기 혼합 용액의 온도가 0°C 내지 3°C가 되도록 수행하는 것일 수 있다.
- [81] 또한, 상기 결정화 단계는, 상기 혼합 용액을 교반하는 것을 포함할 수 있다. 상기 교반은 공지의 수단으로 수행할 수 있으며, 교반 시간은 이에 제한되는 것은 아니나 예를 들어 15 시간 이상 50 시간 이하, 구체적으로 15 시간 내지 50시간, 15 시간 내지 45 시간, 15 시간 내지 40시간, 15 시간 내지 35시간, 20 시간 내지 30 시간, 23 시간 내지 28 시간 또는 25시간 동안 수행하는 것일 수 있다.
- [82] 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 혼합 용액을 냉각하고, 냉각된 혼합 용액의 온도를 유지하면서 교반하여 형성된 침전물을 여과 및 세척하여 결정을 수득할 수 있다.
- [83] 본 발명에 따른 또 다른 구체예에서, 상기 혼합 용액의 냉각 전, 냉각 후 또는 냉각과 동시에, 또는 교반 전, 교반 후 또는 교반과 동시에 혼합 용액에 비극성 유기 용매를 첨가하는 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 비극성 유기 용매를 첨가하여 결정화 입자의 생성 속도를 증가시킴으로써 수득되는 결정형 III의 수율 또는 생산 안정성을 우수하게 할 수 있으나, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 비극성 유기 용매는 비극성 특성을 갖는 유기 용매이라면, 특별히 제한없이 사용될 수 있으나, 예를 들어 헥산, 헵탄, 시클로헥산, 사염화탄소, 벤젠, 클로로포름 등을 사용할 수 있다. 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 혼합 용액으로부터 결정화 시 용액에 헵탄(heptane)을 투입하는 단계를 포함할 수 있다.
- [84] 상기와 같이 수득된 결정형 III은 조질의 화학식 1의 화합물, 화학식 1의 무정형 화합물 또는 화학식 1의 임의의 결정형 대비 순도가 더 높을 수 있으며, 물리적 및 화학적으로 더 안정한 것일 수 있으나, 본 발명의 효과가 이에 제한되는 것은 아니다.
- [85]
- [86] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (i) 상기 결정형 III; 및 (ii) 약학적으로 허용 가능한

담체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

- [87] 본 발명에 따른 결정형 III은 멜라노코르틴 수용체, 특히 멜라노코르틴-4 수용체(MC4R)에 대하여 우수한 항진작용을 나타내므로, 또한, 본 발명은 상술한 결정형 III을 유효성분으로 포함하는 멜라노코르틴 수용체의 기능 항진용 약학적 조성물을 제공할 수 있다. 구체적으로, 상기 약학적 조성물은 멜라노코르틴-4 수용체 기능 항진용 조성물일 수 있다.
- [88] 또한, 상기 약학적 조성물은 비만, 당뇨, 염증 및 발기부전증에 대한 예방 또는 치료에 우수한 효과를 나타낼 수 있으므로, 비만의 예방 또는 치료용, 당뇨의 예방 또는 치료용, 염증의 예방 또는 치료용, 또는 발기부전의 예방 또는 치료용 조성물일 수 있으나, 본 발명의 용도가 이들 질병에만 제한되는 것은 아니다.
- [89] 본 명세서에서 "담체(carrier)"란 세포 또는 조직 내로 화합물의 투입을 용이하게 하는 화합물을 의미한다.
- [90] 본 발명의 결정형 III을 임상적인 목적으로 투여 시에 단일용량 또는 분리용량으로 숙주에게 투여될 총 일일 용량은 체중 1kg 당 0.01 내지 10 mg의 범위가 바람직하나, 개개 환자에 대한 특이적인 용량 수준은 사용될 특정 화합물, 환자의 체중, 성, 건강상태, 식이, 약제의 투여시간, 투여방법, 배설률, 약제혼합 및 질환의 중증도 등에 따라 변화될 수 있다.
- [91] 본 발명의 결정형 III은 목적하는 바에 따라 어떠한 경로로도 투여될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 무정형의 화합물은 주사 또는 경구 투여를 할 수 있다.
- [92] 본 발명의 약학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 캡슐제, 입제, 시럽 또는 에멀전과 같은 다양한 경구 투여 형태일 수 있으며, 또는 근육 내, 정맥 내 또는 피하 투여를 위한 주사용 제제와 같은 비경구 투여 형태일 수 있다.
- [93] 주사용 제제는 공지된 기술에 따라 적합한 분산제, 습윤제, 현탁제, 또는 부형제를 사용하여 제조할 수 있다.
- [94] 본 발명의 약학적 제제에 사용될 수 있는 부형제로는 감미제, 결합제, 용해제, 용해보조제, 습윤제, 유화제, 등장화제, 흡착제, 붕해제, 산화방지제, 방부제, 활택제, 충전제, 방향제 등이 포함될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 예를 들면 부형제로서 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로오스, 글라이신, 실리카, 마그네슘 알루미늄 규산염, 녹말, 젤라틴, 트라가칸트 고무, 알지닌산, 소듐알지닌산염, 메틸셀룰로오스, 소듐카복실메틸셀룰로오스, 물, 에탄올, 폴리에틸렌글리콜, 폴리비닐피롤리돈, 염화나트륨, 염화칼슘, 오렌지 엷센스, 딸기 엷센스, 바닐라 향 등이 사용될 수 있다.
- [95] 본 발명의 약학적 조성물이 경구 투여 형태인 경우, 사용되는 담체의 예로는 셀룰로오스, 규산칼슘, 옥수수전분, 락토오스, 수크로스, 덱스트로스, 인산칼슘, 스테아르산, 스테아르산 마그네슘, 스테아르산 칼슘, 젤라틴, 탈크 등을 들 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [96] 본 발명의 약학적 조성물이 주사용 제제 형태인 경우, 상기 담체로는 물, 식염수, 포도당 수용액, 유사 당수용액, 알콜, 글리콜, 에테르, 오일, 지방산,

지방산에스테르, 글리세라이드 등을 들 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[97]

[98] 또 다른 측면에서, 멜라노코르틴 수용체, 특히 멜라노코르틴-4 수용체(MC4R)의 기능 향진 용도에 사용하기 위한 상술한 결정형 III을 제공한다.

[99] 일 구현예에서, 비만, 당뇨, 염증 또는 발기부전의 치료 또는 예방 용도에 사용하기 위한, 상술한 결정형 III을 제공한다.

[100] 또 다른 측면에서, 상술한 결정형 III을 대상체(subject)에 투여하는 단계를 포함하는 멜라노코르틴 수용체, 특히 멜라노코르틴-4 수용체(MC4R)의 기능 향진 방법을 제공한다.

[101] 또 다른 측면에서, 상술한 결정형 III을 대상체(subject)에 투여하는 단계를 포함하는 비만, 당뇨, 염증 또는 발기부전을 치료하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[102] 본 발명에 따른 결정형 III은 멜라노코르틴 수용체, 특히 멜라노코르틴-4 수용체(MC4R)에 대하여 우수한 향진작용을 나타내므로, 비만, 당뇨, 염증 및 발기부전증에 대한 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[103] 본 발명에 따른 결정형 III은 멜라노코르틴-4 수용체에 대한 on-target 효과를 나타내어 체중 감소 및 식이 감소 효과를 나타내면서도 불안감 및 우울에 영향을 미치지 않고, hERG(human ether-a-go-go related gene) 저해에 대한 부작용이나 돌연변이 유발 같은 안전성의 문제 없이 투여가 가능하다.

[104] 또한, 본 발명에 따른 결정형 III은 조질의 화학식 1의 화합물, 화학식 1의 무정형 화합물 또는 화학식 1의 임의의 다른 결정형 대비 순도, 수율, 물리적 및 화학적 안정성이 우수하다.

[105] 구체적으로, 상기 결정형 III은 조질의 화학식 1의 화합물, 화학식 1의 무정형 화합물 또는 화학식 1의 임의의 다른 결정형 대비 용해성, 저장 안정성, 생성 안정성이 우수할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[106] 도 1은 제조예 4의 XRD 결과 그래프이다.

[107] 도 2는 제조예 4의 DSC 결과 그래프이다.

[108] 도 3은 제조예 4의 TGA 결과 그래프이다.

[109] 도 4은 실시예 1의 XRD 결과 그래프이다.

[110] 도 5는 실시예 1의 DSC 결과 그래프이다.

[111] 도 6은 실시예 1의 TGA 결과 그래프이다.

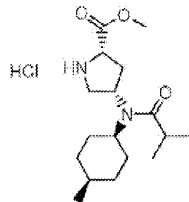
발명의 실시를 위한 최선의 형태

[112] 이하 제조예 및 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 구체적으로 설명한다. 단, 이들 실시예는 본 발명의 예시일 뿐, 본 발명의 범위가 이들에 의해 한정되는 것은 아니다.

[113]

- [114] 제조예 1: 메틸 (2*S*,4*S*)-4-(*N*-((1*S*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아미도)피롤리딘-2-카복실레이트 염산염의 제조

[115]



- [116] 하기 단계 A, B, C, D 및 E의 과정을 거쳐 표제 화합물을 얻었다.
- [117] 단계 A: 1-(*tert*-부틸) 2-메틸 (2*S*,4*S*)-4-아지도피롤리딘-1,2-다이카복실레이트의 제조
- [118] 질소 하에 1-(*tert*-부틸) 2-메틸 (2*S*,4*R*)-4-((메틸설포닐)옥시)피롤리딘-1,2-다이카복실레이트 (48.5 g, 150 mmol)를 *N,N'*-다이메틸폼아마이드(250ml)에 녹이고 소듐 아자이드 (19.5 g, 300 ml)를 첨가하였다. 80°C에서 16시간 동안 교반을 하고 반응 용매를 감압 농축시킨 후, 물을 첨가하고 에틸 아세테이트로 두 번 추출을 하였다. 유기층을 염화소듐 수용액과 물로 씻은 후, 무수 황산 마그네슘으로 건조 여과하였다. 여액을 감압 농축하여 조질의(crude) 1-(*tert*-부틸) 2-메틸 (2*S*,4*S*)-4-아지도피롤리딘-1,2-다이카복실레이트(39.59 g, 98%)을 얻었고 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.
- [119] MS [M+H] = 271 (M+1)
- [120] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 4.43-4.37 (m, 1H), 4.35-4.27 (br, 1H), 3.77 (s, 1.8H), 3.76 (s, 1.2H), 3.73-3.66 (m, 1H), 3.44-3.38 (m, 1H), 2.63-2.49 (m, 1H), 2.19-2.11 (m, 1H), 1.50 (s, 4.5H), 1.44 (s, 4.5H)
- [121]
- [122] 단계 B: 1-(*tert*-부틸) 2-메틸 (2*S*,4*S*)-4-아미노피롤리딘-1,2-다이카복실레이트의 제조
- [123] 상기 단계 A에서 얻은 1-(*tert*-부틸) 2-메틸 (2*S*,4*S*)-4-아지도피롤리딘-1,2-다이카복실레이트(24.59g, 91.0mmol)를 테트라하이드로퓨란 (180 ml)에 녹인 후, 0°C에서 1M 트라이메틸포스핀 테트라하이드로 용액 (109.2 ml, 109.2mmol)을 천천히 첨가하였다. 동일 온도에서 1시간 동안 교반을 한 다음, 상온에서 3시간 동안 교반을 하였다. 반응 용매를 감압 농축시킨 후, 다이클로로메탄 (100 ml)과 물 (150 ml)를 넣고 30분 정도 교반을 시켰다. 층 분리를 하고 다이클로로메탄으로 한번 더 추출한 후, 유기층을 무수 황산 마그네슘으로 건조 여과하였다. 여액을 감압 농축하여 조질의 1-(*tert*-부틸) 2-메틸 (2*S*,4*S*)-4-아미노피롤리딘-1,2-다이카복실레이트

(20.62 g, 93%)을 얻었고 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[124] MS [M+H] = 245 (M+1)

[125] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 4.27 (m, 1H), 3.77 (s, 1.8H), 3.76 (s, 1.2H), 3.75-3.67 (m, 1H), 3.50-3.42 (m, 1H), 3.22-3.17 (m, 1H), 2.58-2.47 (m, 1H), 1.82-1.71 (m, 1H), 1.48 (s, 4.5H), 1.42 (s, 4.5H)

[126]

[127] 단계 C: 1-(tert-부틸) 2-메틸

(2S,4S)-4-(((1S,4R)-4-메틸사이클로헥실)아미노)피롤리딘-1,2-다йка복실레이트
의 제조

[128] 상기 단계 B에서 얻은 1-(tert-부틸) 2-메틸

(2S,4S)-4-아미노피롤리딘-1,2-다йка복실레이트 (20.62 g, 84.4 mmol)를 다이클로로에탄 (150 ml)에 녹이고 4-메틸사이클로헥사논 (9.5 ml, 101.3 mmol)을 첨가하였다. 0°C에서 소듐 트라이아세톡시보로하이드라이드 (26.8 g, 126.6 mmol)를 첨가하고, 상온에서 16시간 동안 교반을 하였다. 반응 용매를 감압 농축시키고 물을 첨가하고 에틸 아세테이트로 두 번 추출을 하였다. 유기층을 염화 소듐 수용액으로 씻은 후, 무수 황산 마그네슘으로 건조 여과하였다. 여액을 감압 농축하고 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 1-(tert-부틸) 2-메틸 (2S,4S)-4-(((1S,4R)-4-메틸사이클로헥실)아미노)피롤리딘-1,2-다йка복실레이트 (22.9 g, 80%)를 얻었다.

[129] MS [M+H] = 341 (M+1)

[130] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 4.26 (m, 1H), 3.76 (s, 1.8H), 3.75 (s, 1.2H), 3.78-3.71 (m, 1H), 3.49-3.40 (m, 1H), 3.22-3.16 (m, 1H), 2.69-2.60(br, 1H), 2.58-2.46 (m, 1H), 1.87-1.77 (m, 1H), 1.73-1.63 (m, 1H), 1.62-1.35(m, 8H), 1.48 (s, 4.5H), 1.42 (s, 4.5H), 0.96 (d, 3H)

[131]

[132] 단계 D: 1-(tert-부틸) 2-메틸

(2S,4S)-4-(N-((1S,4R)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아미도)피롤리딘-1,2-다йка복실레이트의 제조

[133] 상기 단계 C에서 얻은 1-(tert-부틸) 2-메틸

(2S,4S)-4-(((1S,4R)-4-메틸사이클로헥실)아미노)피롤리딘-1,2-다йка복실레이트 (37.29 g, 109.5 mmol)를 다이클로로메탄 (500 ml)에 녹이고 트라이에틸 아민 (61.1 ml, 438.1 mmol)를 넣은 후, 0°C에서 아이소뷰티릴 클로라이드 (11.7 ml, 219 mmol)를 천천히 첨가하였다. 상온에서 16시간 동안 교반을 시킨 후, 반응 용매를 감압 농축 시키고 나서 탄산 수소 소듐 수용액을 첨가하고 에틸 아세테이트로 두 번 추출을 하였다. 유기층을 염화 소듐 수용액과 물로 씻은 후, 무수 황산 마그네슘으로 건조 여과하였다. 여액을 감압 농축하고 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 1-(tert-부틸) 2-메틸 (2S,4S)-4-(N-((1S,4R)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아미도)피롤리딘-1,2-다

이카복실레이트 (38.79 g, 86%)을 얻었다.

[134] MS [M+H] = 411 (M+1)

[135] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 4.27 (m, 1H), 3.76 (s, 1.8H), 3.75 (s, 1.2H), 3.78-3.72 (m, 1H), 3.50-3.41 (m, 1H), 3.33-3.14 (m, 1H), 2.69-2.60 (m, 2H), 2.57-2.43 (m, 1H), 1.87-1.79 (m, 1H), 1.70-1.61 (m, 1H), 1.60-1.32 (m, 8H), 1.47 (s, 4.5H), 1.41 (s, 4.5H), 1.10 (dd, 6H), 0.99 (d, 3H)

[136]

[137] 단계 E: 메틸

(2S,4S)-4-(N-((1S,4R)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아미도)피롤리딘-2-카복실레이트 염산 염의 제조

[138] 상기 단계 D에서 얻은 1-(tert-뷰틸) 2-메틸

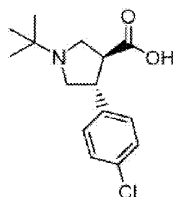
(2S,4S)-4-(N-((1S,4R)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아미도)피롤리딘-1,2-다이카복실레이트(34.0 g, 82.8 mmol)를 다이클로로메탄 (200 ml)에 녹인 후, 0°C에서 4N 염산 1,4-다이옥산 용액 (82.8 ml, 331.3 mmol)을 첨가하였다. 상온에서 6시간 동안 교반 시킨 후, 반응 용매를 감압 농축하여 crude (28.7 g, 99%)를 얻었고 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[139] MS[M+H] = 311 (M+1)

[140]

[141] **제조예 2: (3S,4R)-1-(tert-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카복실산의 제조**

[142]



[143] 국제공개번호 WO 2004/092126호에 기재된 방법으로 표제 화합물을 얻었다.

[144] MS[M+H] = 282 (M+1)

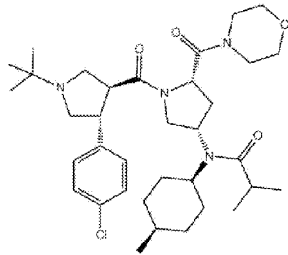
[145] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.43-7.33 (m, 4H), 3.90-3.69 (m, 3H), 3.59 (dd, J = 11.2, 10.0 Hz, 1H), 3.29 (dd, J = 11.2, 11.2 Hz, 1H), 3.18-3.09 (m, 1H), 1.44 (s, 9H)

[146]

[147] **제조예 3: N-((3S,5S)-1-((3S,4R)-1-(tert-뷰틸)-4-(4-클로로페닐)피**

[148] **롤리딘-3-카보닐)-5-(모르폴린-4-카보닐)피롤리딘-3-일)-N-((1S,4R)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아마이드의 제조**

[149]



[150]

[151] 하기 단계 A, B 및 C의 과정을 거쳐 표제 화합물을 얻었다.

[152] 단계 A: 메틸

(2S,4S)-1-((3S,4R)-1-(tert-부틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-4-(N-((1S,4R)-4-메틸사이클로헥실)아이소부티르아미도)피롤리딘-2-카복실레이트의 제조

[153] 제조예 1에서 얻은

메틸(2S,4S)-4-(N-((1S,4R)-4-메틸사이클로헥실)아이소부티르아미도)피롤리딘-2-카복실레이트 염산염 (28.7 g, 82.73 mmol), 제조예 2에서 얻은

(3S,4R)-1-(tert-부틸)-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 메틸

(2S,4S)-1-((3S,4R)-1-(tert-부틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-4-(N-((1S,4R)-4-메틸사이클로헥실)아이소부티르아미도)피롤리딘-2-카복실레이트 (41.19 g, 87%)을 얻었다.

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

[155]

[156] 단계 B:

(2S,4S)-1-((3S,4R)-1-(tert-부틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-4-(N-((1S,4R)-4-메틸사이클로헥실)아이소부티르아미도)피롤리딘-2-카복실산의 제조

[157] 상기 단계 A에서 얻은 메틸

(2S,4S)-1-((3S,4R)-1-(tert-부틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-4-(N-((1S,4R)-4-메틸사이클로헥실)아이소부티르아미도)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 맞추는 후, 반응 용액을 감압농축시켰다. 농축액을

다이클로로메탄으로 녹인 후, 녹지 않는 고체는 종이 필터로 여과하였다.
여과액을 감압 농축하여 조질의 표제 화합물(38.4 g, 99%)을 얻었고 정제 없이
다음 단계에 사용하였다.

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

[159]

[160] 단계 C:

N-((3S,5S)-1-((3S,4R)-1-(tert-부틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-5-(모르폴린-4-카보닐)피롤리딘-3-일)-N-((1s,4R)-4-메틸사이클로헥실)아이소부티르아마이드의 제조

[161] 상기 단계 B에서 얻은

(2S,4S)-1-((3S,4R)-1-(tert-부틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-4-(N-((1s,4R)-4-메틸사이클로헥실)아이소부티르아미도)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 (59.7ml, 343.02 mmol)를 천천히 첨가하였다. 상온에서 16시간 동안 교반을 하고 반응 용액을 감압 농축 시킨 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 감압 농축하고 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 N-((3S,5S)-1-((3S,4R)-1-(tert-부틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-5-(모르폴린-4-카보닐)피롤리딘-3-일)-N-((1s,4R)-4-메틸사이클로헥실)아이소부티르아마이드(37.05 g, 86%)를 얻었다.

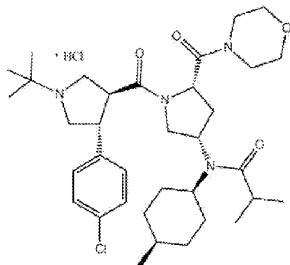
[162] MS [M+H] = 630 (M+1)

[163]

[164] **제조예 4:** N-((3S,5S)-1-((3S,4R)-1-(tert

-부틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-5-(모르폴린-4-카보닐)피롤리딘-3-일)-N-((1s,4R)-4-메틸사이클로헥실)아이소부티르아마이드 염산염의 무정형 화합물의 제조

[165]



[166] 상기 제조예 3에서 제조한 화합물 (MC70) 1g을 기준으로 MBTE 19 mL를

사용하여 25°C에서 화합물(MC70)를 용해하였다. 용해를 완료한 후 헵탄(heptane) 1 mL를 투입한 후 -5~0°C로 냉각하였다. 설정 온도에 도달한 후 4 M HCl/EtOAc를 1당량 적가한 후 약 90분간 교반하고 여과하여 표제 화합물(MC71)을 수득하였다. (수율: 약 90 %)

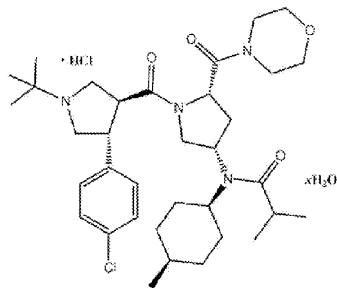
[167] 제조에 4의 화합물에 대한 XRD(도 1), DSC(도 2) 및 TGA(도 3) 분석 결과를 각각 도 1 내지 도 3에 첨부하였으며, 분석 결과 무정형 화합물인 것으로 확인되었다. XRD, DSC 및 TGA 각각의 분석 방법은 이하의 실시예 1에 대한 실험예에서 후술하는 바와 같다.

[168]

[169] **실시예 1.**

[170] *N*-((3*S*,5*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-부틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-5-(모르폴린-4-카보닐)피롤리딘-3-일)-*N*-((1*S*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소부티르아마이드 염산염의 수화물의 결정형 III의 제조

[171]



[172] 상기에서 제조한 제조예 4의 화합물(MC71) 1g을 EtOAc 1 mL 및 증류수 0.15 mL를 사용하여 60°C에서 용해하였다. 용해를 완료한 후 3°C로 냉각하여 온도를 유지하면서 25시간 전자식 교반기를 사용하여 교반한 후 질소가압 여과하여 표제의 결정형 III을 수득하였다. (수율: 약 80 %)

[173]

[174] **비교예 1**

[175] 상기에서 제조한 제조예 4의 화합물(MC71) 1g을 EtOAc 1 mL 를 사용하여 상온에서 용해하였다. 용해를 완료한 후 전자식 교반기에서 약 43시간 교반하였으나, 실시예 1과 같은 결정이 수득되지 않았다.

[176]

[177] **실험예 1. XRD 평가**

[178] 분말 XRD 회절 패턴은 고체상 검출기로 monochromatized radiation source와 Ni filter를 갖춘 PANalytical X'Pert Pro MPD system을 사용하여 다음의 방법으로 수득했다.

[179] 약 20~30 mg의 시료를 glass sample holder에 평평한 표면을 갖도록 다져 올려놓은 후, 기기의 generator를 45kV(acceleration voltage), 40 mA(filament emission)로 설정한 후 reflection mode (not-spin)로 측정했다. 0.026°의 스텝

사이즈(step size) 및 51초의 Time per step 조건으로 4~40°범위의 Bragg 각(2 θ)을 측정했다.

[180] 수득한 결정형 III을 XRD로 측정한 결과를 도 4에 도시하였다.

[181] 도 4에 나타낸 스펙트럼에서 확인되는 바와 같이, 본 발명에 따른 결정형 III은 6.62°, 7.44°, 9.18°, 9.89°, 10.83°, 11.42°, 12.92°, 14.61°, 15.36°, 15.79°, 15.95°, 17.37°, 18.20°, 18.99°, 19.34°, 19.69°, 20.40°, 21.66°, 21.98°, 22.45°, 22.85°, 24.66°, 25.52°, 26.55°, 28.08°, 29.31° 및 29.54°에서 특성 피크(2 θ)를 나타내었으며, XRD의 구체적인 값은 하기 표 1에 나타내었다.

[182] [표 1]

[183]

2θ	상대적 세기(I/I_0)
6.62	7382
7.44	10482
9.18	10553
9.89	7839
10.83	27272
11.42	8606
12.92	7884
14.61	13364
15.36	9156
15.79	15689
15.95	15513
17.37	5715
18.20	17330
18.99	24271
19.34	8183
19.69	6034
20.40	19335
21.66	19881
21.98	29653
22.45	7952
22.85	9459
24.66	9301
25.52	4605
26.55	8252
28.08	6739
29.31	9733
29.54	9744

[184]

[185] 실험예 2. 시차 주사 열량측정(DSC)

[186] Mettler Toledo DSC1 system을 사용하여 DSC를 측정했다. 약 2~5 mg의 시료를 칭량하여 40 μ L Al crucible(flat-bottomed aluminum pan with one pin-hole lid)에 넣고 1개의 pin hole을 만들어준다. 이후, 시료를 10°C/min의 속도로 25°C에서

350°C까지 가열하며 DSC를 측정한다. 측정하는 동안 장비의 내부에 70 mL/min의 속도로 질소 가스를 공급하여 산소 및 다른 기체의 유입을 막는다. 데이터 수집 및 평가는 소프트웨어 STARe를 이용하여 수행하였다.

[187] 수득한 결정형 III을 DSC 측정한 결과를 도 5에 도시하였다.

[188] 도 5에서 확인되는 바와 같이, 결정형 III은 약 42.3°C(Onset)에서 첫 번째 흡열 피크가 관찰되었고, 약 124.7°C(Onset)에서 두 번째 흡열 피크가 관찰되었다. 약 220°C 이후 decomposition에 의한 흡열 피크가 나타났다. 온도 값은 $\pm 5^\circ\text{C}$ 의 오차를 갖는다.

[189]

[190] 실험예 3. 열 중량 분석(TGA)

[191] Mettler Toledo TGA/DSC 1 module을 사용하여 TGA를 측정했다. 약 4~8 mg의 시료를 칭량하여 100 μL Al crucible(flat-bottomed aluminum crucibles)에 넣는다. 이후, 시료를 10°C/min 속도로 30°C에서 350°C까지 가열하며 TGA를 측정한다. 측정하는 동안 장비의 내부에 80 mL/min의 속도로 질소 가스를 공급하여 산소 및 다른 기체의 유입을 막는다. 데이터 수집 및 평가는 소프트웨어 STARe를 이용하여 수행하였다.

[192] 수득한 결정형 III을 TGA 측정한 결과를 도 6에 도시하였다.

[193] 도 6에서 확인되는 바와 같이, 결정형 III은 100°C 미만의 온도에서 약 2.4%의 무게 감소가 관찰되었다. 이후 110~150°C에서 약 4.8%의 무게 감소가 발생했다. 약 220°C 이후 decomposition에 의한 무게 감소가 발생하였다. 온도 값은 $\pm 5^\circ\text{C}$ 의 오차를 갖는다.

[194]

[195] 실험예 4. 안정성 평가

[196] 약 10-30 mg의 시료를 가속조건(40°C, 75% RH)에서는 개봉상태로, 가혹조건인 경우 80°C 오븐에서 밀폐상태로 4주동안 보관하였다. 해당 시료들을 실온에 보관한 시료와 비교하고자 하기 표 2의 방법으로 HPLC 분석을 진행하였다.

[197] [표 2]

[198]

칼럼 온도	30℃	
이동상 A	Acetonitrile/Trifluoroacetic acid = 100/0.1 (% , v/v)	
이동상 B	Water/Trifluoroacetic acid = 100/0.1 (% , v/v)	
Gradient 시스템		
시간(분)	이동상 A(%)	이동상 B(%)
0	40	60
10	50	50
13	50	50
18	40	60
유속	1 mL/min	
검출파장	UV 214 nm	
주입량	5 μL	

[199]

[200] 수득한 결정형 III의 안정성을 평가한 결과를 하기 표에 나타내었다.

[201] [표 3]

[202]

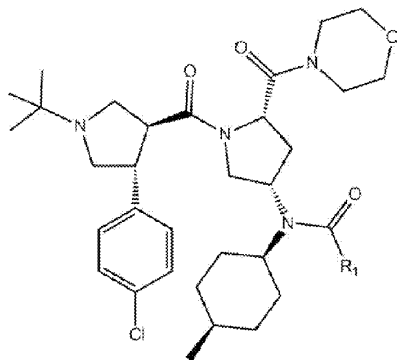
Time	실시에 1	
	Open ACC	Closed STR
Initial	99.68	
Week 2	99.27	99.11
Week 4	99.26	98.76

[203]

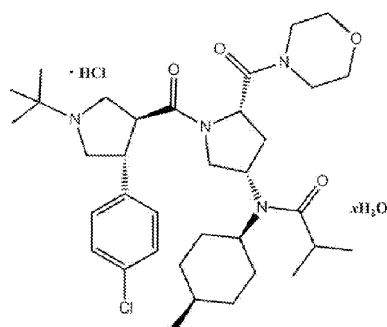
[204] 위 표 3에서 확인할 수 있는 바와 같이, 본 발명에 따른 결정형 III은 가속조건(40℃, 75% RH) 및 가혹조건(80℃)에서 4주동안 화학적안정성을 보였으므로 열 및 습도에 우수한 안정성을 나타냄을 확인하였다.

청구범위

- [청구항 1] 하기 화학식 1의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 용매화물의 결정형 III로서,
X선 분말 회절 패턴에서 하기 회절각 (2 θ 값): $6.62\pm 0.2^\circ$, $7.44\pm 0.2^\circ$, $9.18\pm 0.2^\circ$, $9.89\pm 0.2^\circ$, $10.83\pm 0.2^\circ$, $11.42\pm 0.2^\circ$, $12.92\pm 0.2^\circ$, $14.61\pm 0.2^\circ$, $15.36\pm 0.2^\circ$, $15.79\pm 0.2^\circ$, $15.95\pm 0.2^\circ$, $17.37\pm 0.2^\circ$, $18.20\pm 0.2^\circ$, $18.99\pm 0.2^\circ$, $19.34\pm 0.2^\circ$, $19.69\pm 0.2^\circ$, $20.40\pm 0.2^\circ$, $21.66\pm 0.2^\circ$, $21.98\pm 0.2^\circ$, $22.45\pm 0.2^\circ$, $22.85\pm 0.2^\circ$, $24.66\pm 0.2^\circ$, $25.52\pm 0.2^\circ$, $26.55\pm 0.2^\circ$, $28.08\pm 0.2^\circ$, $29.31\pm 0.2^\circ$ 및 $29.54\pm 0.2^\circ$ 중에서 선택되는 3개 이상의 특징적인 피크를 갖는 것인,
결정형 III:
[화학식 1]



- 상기 화학식 1에서,
 R_1 은 C_2 - C_5 알킬이다.
- [청구항 2] 청구항 1에 있어서,
상기 화학식 1의 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염은 상기 화합물의 염산염, 황산염, 질산염, 인산염, 브롬화수소산염 및 요오드화수소산염으로 이루어지는 군에서 선택되는 것인, 결정형 III.
- [청구항 3] 청구항 1에 있어서,
상기 화학식 1의 화합물의 염산염의 용매화물의 결정형인 것인, 결정형 III.
- [청구항 4] 청구항 3에 있어서,
상기 용매화물은 수화물인 것인, 결정형 III.
- [청구항 5] 청구항 4에 있어서,
하기 화학식 4의 화합물의 결정형인 것인, 결정형 III:
[화학식 4]



- [청구항 6] 청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항에 기재된 결정형 III의 제조 방법으로서,
결정화 용매에 상기 화학식 1의 화합물을 용해시켜 혼합 용액을 제조하는 단계, 및
상기 혼합 용액으로부터 결정을 수득하는 단계를 포함하는, 결정형 III의 제조 방법.
- [청구항 7] 청구항 6에 있어서,
상기 결정화 용매는 물, 극성 비양성자성 유기 용매 또는 이의 혼합물을 포함하는 것인, 결정형 III의 제조 방법.
- [청구항 8] 청구항 7에 있어서,
상기 극성 비양성자성 유기 용매는 에틸아세테이트(Ethyl Acetate), 메틸아이소부틸케톤(Methyl isobutyl ketone), 다이메틸설폭사이드(Dimethylsulfoxide), 테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran), 아세톤(acetone), 디메틸포름아마이드(dimethylformamide), 아세토니트릴(acetonitrile) 또는 이들의 혼합물을 포함하는 것인, 결정형 III의 제조 방법.
- [청구항 9] 청구항 7에 있어서,
상기 결정화 용매는 물 및 극성 비양성자성 유기 용매가 15 : 1 내지 1 : 15의 부피비로 혼합된 혼합 용매인 것인, 결정형 III의 제조 방법.
- [청구항 10] 청구항 6에 있어서,
상기 결정화 단계는, 상기 혼합 용액을 냉각하는 단계를 포함하는 것인, 결정형 III의 제조 방법.
- [청구항 11] 청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항에 따른 결정형 III, 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.
- [청구항 12] 청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항에 따른 결정형 III 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는, 펠라노코르틴-4 수용체 기능 항진용 약학적 조성물.
- [청구항 13] 청구항 12에 있어서, 상기 조성물은 비만, 당뇨, 염증 또는 발기부전의 예방 또는 치료용인 것인, 약학적 조성물.