

명세서

발명의 명칭: 비알콜성지방간염의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 GPR119(G protein coupled receptor 119) 작용제를 유효성분으로 포함하며 타기전 약물 1종 이상을 포함하는 비알콜성 지방간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 지방간은 간세포에 중성지방이 과다하게 축적되는 병적 상태로서 의학적으로는 중성지방이 간 무게의 5% 이상을 차지하는 상태로 정의된다. 지방간은 과도한 알콜 섭취에 기인한 것인지 여부에 따라 알코올성과 비알콜성 지방간으로 분류된다. 비알콜성 지방간 질환(non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD)은 비알콜성 지방간에서 지방간염, 간경변까지 전체 질환의 양상을 포괄하는 질환군이다. 단순 비알콜성 지방간(non-alcoholic fatty liver)은 간 내 지방 침착만 있고 간세포 손상 및 섬유화 소견이 없이 인슐린 저항성 등의 원인으로 간 조직에 지방 침착만 높아져 있는 질환이다. 비알콜성 지방간은 산화적 스트레스 등에 따른 염증반응으로 인한 간세포 손상에 의해 섬유화를 동반하는 비알콜성 지방간염(non-alcoholic steatohepatitis; NASH)으로 진행될 수 있다.
- [3] 단순 지방간과는 달리 비알콜성 지방간염은 비가역적 간손상을 일으키는 간경변 및 간암으로 진행될 수 있으며, 간질환과 연관된 사망률 및 전체적인 사망률을 높인다(Hepatology, 2012(55):2005-2023). 이로 인해 미국의 통계자료에 따르면 2013년 현재 간 이식의 원인 질환으로서 C형 간염에 이어 비알콜성 지방간염이 두 번째로 많은 상황이며, 2020년 이후는 C형 간염을 제치고 간 이식의 첫 번째 원인질환이 될 것으로 예상되고 있어 이를 예방하고 치료할 약물의 개발이 절실한 상황이다(Clinical Gastroenterology and Hepatology, 2019(17):748-755).

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [4] 본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 광학 이성질체, 이들의 수화물 또는 용매화물 또는 이들의 혼합물; 및 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR2/5 dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나;를 포함하는 비알코올성지방간염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것을 일 목적으로 한다.

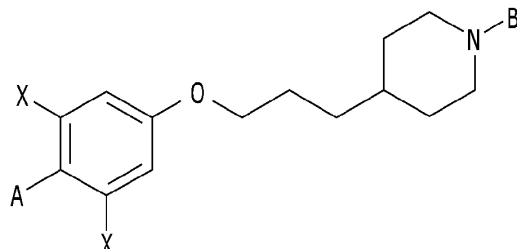
기술적 해결방법

- [5] 본 발명의 일 실시예에 따른 비알코올성지방간염의 예방 또는 치료용 약학적

조성물은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 광학 이성질체, 이들의 수화물 또는 용매화물 또는 이들의 혼합물; 및 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR2/5 dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나;를 포함할 수 있다.

[6] [화학식 1]

[7]

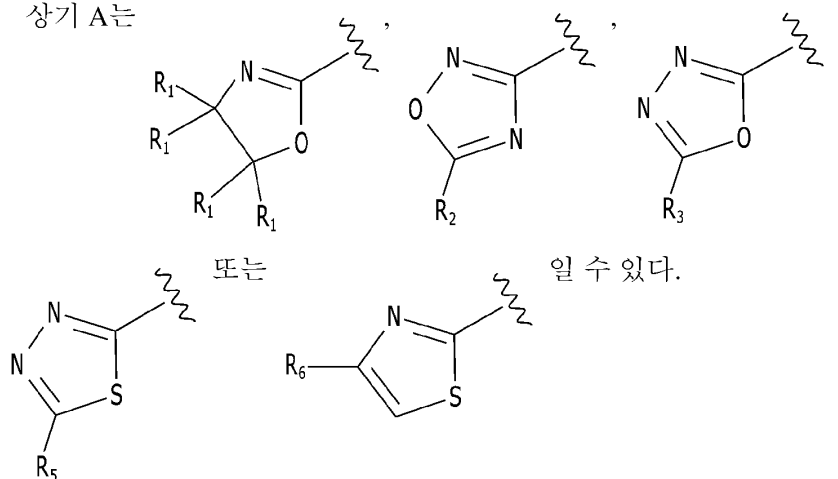


[8] 상기 화학식 1에서, A는 옥사디아졸기, 디히드로옥사졸기, 티아졸기 또는 티아디아졸기일 수 있다. 상기 A는 비치환되거나 또는 할로젠 원자, C1-C6 직쇄 또는 분지쇄 알킬기 및 C1-C6 직쇄 또는 분지쇄 히드록시알킬기로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있다. 상기 알킬기 또는 상기 히드록시알킬기는 각각 독립적으로 비치환되거나 또는 할로젠 원자 또는 C1-C6 알콕시기로 치환될 수 있다.

[9] B는 피리딘기, 피리미딘기, 피라진기 또는 옥사디아졸기일 수 있다. 상기 B는 비치환되거나 또는 할로젠 원자, C1-C6 직쇄 또는 분지쇄 알킬기, C1-C6 직쇄 또는 분지쇄의 히드록시알킬기, C1-C6 알콕시기 및 옥사디아졸기로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있다. 상기 C1-C6 직쇄 또는 분지쇄 알킬기, C1-C6 직쇄 또는 분지쇄의 히드록시알킬기, C1-C6 알콕시기 또는 옥사디아졸기는 각각 독립적으로 비치환되거나 또는 할로젠, C1-C6 알킬기 또는 C1-C6 알콕시기로 치환될 수 있다.

[10] X는 F, Cl, Br 또는 I일 수 있다.

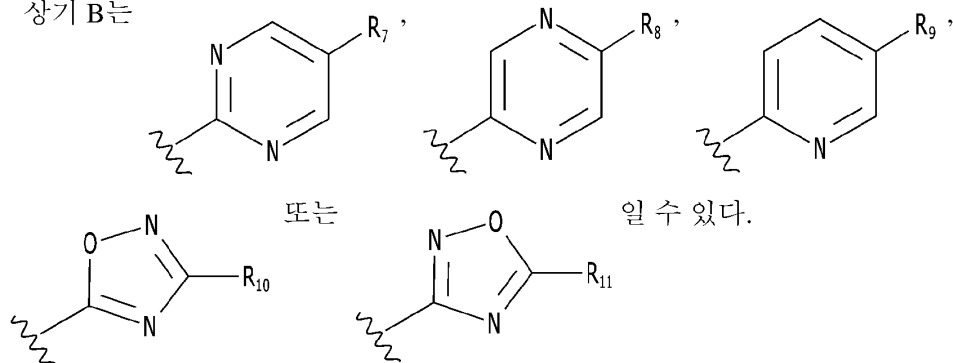
[11] 상기 A는



[12]

[13] R_1 내지 R_3 , R_5 , 및 R_6 은 각각 독립적으로 수소 원자, 할로젠 원자, C1-C6 직쇄 또는 분지쇄 알킬기 및 C1-C6 직쇄 또는 분지쇄의 히드록시알킬기로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기일 수 있다. 상기 알킬기 또는 상기 히드록시알킬기는 각각 독립적으로 비치환되거나 또는 할로젠 원자 또는 C1-C6 알콕시기로 치환될 수 있다.

[14] 상기 B는



[15] 상기 R_7 내지 R_{11} 은 각각 독립적으로 수소 원자, 할로젠 원자, C1-C6 직쇄 또는 분지쇄 알킬기, C1-C6 직쇄 또는 분지쇄의 히드록시알킬기, C1-C6 알콕시기 및 옥사디아졸기로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있다. 상기 알킬기, 히드록시알킬기, 알콕시기 또는 옥사디아졸기는 각각 독립적으로 비치환되거나 또는 할로젠 원자, C1-C6 알킬기 또는 C1-C6 알콕시기로 치환될 수 있다.

[16] X는 F일 수 있다.

[17] 상기 화학식 1에서, 상기 A는 C1-C6 직쇄 또는 분지쇄 알킬기로 치환된 옥사디아졸기이고, 상기 B는 C1-C6 직쇄 또는 분지쇄 알킬기로 치환된 피리미딘기이고, X는 F일 수 있다.

[18] 본 실시예에서, 용어 "할로젠"은 불소, 염소, 브롬 또는 요오드를 의미한다.

[19] 일 실시예에서, 용어 "알킬"은 다른 언급이 없으면, 직쇄형 또는 분지형의 탄화수소 잔기를 의미한다. 상기 C1-C6 알킬의 예는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, 펜틸, 헥실 등을 포함한다.

[20] 일 실시예에서, 용어 "알콕시"는 다른 언급이 없는 한, 상기와 같이 정의되어 있는 알킬을 갖는 알킬-산소 라디칼을 포함한다. 상기 C1-C6 알콕시의 예는 메톡시, 에톡시, 프로톡시, 부톡시, 펜톡시 등을 포함한다.

[21] 일 실시예에서, 용어 "헤테로사이클" 또는 "헤테로사이클릭"은 다른 언급이 없으면, N, O, 및 S로 구성된 군으로부터 선택되는 1 내지 3개의 헤테로 원자를 포함하는 5 내지 13원의 헤테로 방향족 또는 비방향족 화합물을 의미한다.

[22] 일 실시예에서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 구체적으로 하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 화합물일 수 있다.

- [23] 2-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-4,5-디히드로옥사졸,
- [24] (R)-2-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-4-메틸-4,5-디히드로옥사졸,
- [25] (S)-2-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-4-메틸-4,5-디히드로옥사졸,
- [26] (S)-2-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-메틸-4,5-디히드로옥사졸,
- [27] (R)-2-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-메틸-4,5-디히드로옥사졸,
- [28] 2-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5,5-디메틸-4,5-디히드로옥사졸,
- [29] (R)-(2-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-4,5-디히드로옥사졸-5-일)메탄올,
- [30] (S)-(2-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-4,5-디히드로옥사졸-5-일)메탄올,
- [31] (R)-3-(2-(4-(3-(3,5-디플루오로-4-(5-메틸-4,5-디히드로옥사졸-2-일)페녹시)프로필)피페리딘-1-일)피리미딘-5-일)-5-이소부틸-1,2,4-옥사디아졸,
- [32] (R)-5-(4-(3-(3,5-디플루오로-4-(4-메틸-4,5-디히드로옥사졸-2-일)페녹시)프로필)피페리딘-1-일)-3-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [33] (S)-5-(4-(3-(3,5-디플루오로-4-(5-메틸-4,5-디히드로옥사졸-2-일)페녹시)프로필)피페리딘-1-일)-3-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [34] 5-(4-(3-(4-(5,5-디메틸-4,5-디히드로옥사졸-2-일)-3,5-디플루오로페녹시)프로필)피페리딘-1-일)-3-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [35] 3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-메틸-1,2,4-옥사디아졸,
- [36] 3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [37] 3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [38] 5-(tert-부틸)-3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸,
- [39] (3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)메탄올,
- [40] 2-(3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)에탄-1-올,
- [41] (S)-1-(3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)프로판-1-올,

- [42] (R)-1-(3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)프로판-2-올,
- [43] (S)-1-(3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)프로판-2-올,
- [44] 2-(3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-2-메틸프로판-1-올,
- [45] 3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-프로필피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [46] 3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-펜틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [47] 3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-(트리플루오로메틸)피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [48] 3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-메톡시피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [49] 3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-이소프로폭시피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [50] 3-(4-(3-(1-(5-클로로피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [51] 3-(4-(3-(1-(5-브로모피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [52] 3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-(5-이소부틸-1,2,4-옥사디아졸-3-일)피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-메틸-1,2,4-옥사디아졸,
- [53] 3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-(5-이소부틸-1,2,4-옥사디아졸-3-일)피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-에틸-1,2,4-옥사디아졸,
- [54] 3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-(5-이소부틸-1,2,4-옥사디아졸-3-일)피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [55] 5-(세크-부틸)-3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-(5-이소부틸-1,2,4-옥사디아졸-3-일)피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-1,2,4-옥사디아졸,
- [56] 3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-(5-이소부틸-1,2,4-옥사디아졸-3-일)피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-(메톡시메틸)-1,2,4-옥사디아졸,
- [57] (S)-1-(3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-(5-이소부틸-1,2,4-옥사디아졸-3-일)피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)프로판-1-올,
- [58] 2-(3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-(5-이소부틸-1,2,4-옥사디아졸-3-일)피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)-2-메틸프로판-1-올,
- [59] 3-(4-(3-(1-(5-클로로피라진-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [60] 3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-(트리플루오로메틸)피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,

- [61] 3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(3-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸-5-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-메틸-1,2,4-옥사디아졸,
- [62] 3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(3-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸-5-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [63] (3-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(3-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸-5-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-1,2,4-옥사디아졸-5-일)메탄올,
- [64] 2-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-메틸-1,3,4-옥사디아졸,
- [65] 2-에틸-5-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-1,3,4-옥사디아졸,
- [66] 2-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,3,4-옥사디아졸,
- [67] 5-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-N-이소프로필-1,3,4-옥사디아졸-2-아민,
- [68] 2-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-(트리플루오로메틸)피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-메틸-1,3,4-옥사디아졸,
- [69] 2-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-(트리플루오로메틸)피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-에틸-1,3,4-옥사디아졸,
- [70] 2-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-(트리플루오로메틸)피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-이소프로필-1,3,4-옥사디아졸,
- [71] 2-(4-(3-(1-(5-클로로피라진-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-메틸-1,3,4-옥사디아졸,
- [72] 2-(4-(3-(1-(5-클로로피라진-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-에틸-1,3,4-옥사디아졸,
- [73] 2-(4-(3-(1-(5-클로로피라진-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,3,4-옥사디아졸,
- [74] 5-(4-(3-(3,5-디플루오로-4-(5-메틸-1,3,4-옥사디아졸-2-일)페녹시)프로필)피페리딘-1-일)-3-프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [75] 5-(4-(3-(3,5-디플루오로-4-(5-에틸-1,3,4-옥사디아졸-2-일)페녹시)프로필)피페리딘-1-일)-3-프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [76] 5-(4-(3-(3,5-디플루오로-4-(5-이소프로필-1,3,4-옥사디아졸-2-일)페녹시)프로필)피페리딘-1-일)-3-프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [77] 5-(4-(3-(3,5-디플루오로-4-(5-메틸-1,3,4-옥사디아졸-2-일)페녹시)프로필)피페리딘-1-일)-3-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [78] 5-(4-(3-(4-(5-에틸-1,3,4-옥사디아졸-2-일)-3,5-디플루오로페녹시)프로필)피페리딘-1-일)-3-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [79] 5-(4-(3-(3,5-디플루오로-4-(5-이소프로필-1,3,4-옥사디아졸-2-일)페녹시)프로필)피페리딘-1-일)-3-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,

- [80] 5-(4-(3-(3,5-디플루오로-4-(5-메틸-1,3,4-옥사디아졸-2-일)페녹시)프로필)피페리딘-1-일)-3-(2,2,2-트리플루오로에틸)-1,2,4-옥사디아졸,
- [81] 3-(4-(3-(3,5-디플루오로-4-(5-이소프로필-1,3,4-옥사디아졸-2-일)페녹시)프로필)피페리딘-1-일)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸,
- [82] 2-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,3,4-티아디아졸,
- [83] 2-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-프로필피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-이소프로필-1,3,4-티아디아졸,
- [84] 2-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-펜틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-이소프로필-1,3,4-티아디아졸,
- [85] 2-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-플루오로피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-이소프로필-1,3,4-티아디아졸,
- [86] 2-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-(트리플루오로메틸)피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-이소프로필-1,3,4-티아디아졸,
- [87] 2-(2,6-디플루오로-4-(3-(1-(5-(트리플루오로메틸)피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)페닐)-5-이소프로필-1,3,4-티아디아졸, 및
- [88] 4-에틸-2-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)티아졸.
- [89] 일 실시예에서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은
3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸일 수 있다.
- [90] 일 실시예의 약학적 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물; 및 상기 상기 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, 상기 ACC 저해제, 상기 FXR 작용제 및 상기 CCR2/5 dual 길항제 중 선택되는 어느 하나;를 포함할 수 있다.
- [91] 상기 PPAR 작용제는 피오글리타존, 로베글리타존, 일라피브라나, 라니피브라나 및 사로글리타자 중 적어도 하나일 수 있다. 상기 DPPIV 저해제는 시타글립틴, 빌다글립틴, 삭사글립틴, 리나글립틴, 제미글립틴, 아나글립틴, 테넬리글립틴, 알로글립틴, 트렐라글립틴, 오마리글립틴, 에보글립틴, 고소글립틴 및 듀토글립틴 중 적어도 하나일 수 있다. 상기 ACC 저해제는 퍼소코스타트일 수 있다. 상기 FXR 작용제는 오베티쿨릭산, 트로피펙사 및 GW4064(3-(2,6-Dichlorophenyl)-4-(3'-carboxy-2-chlorostilben-4-yl)oxymethyl-5-isopropylisoxazole) 중 적어도 하나일 수 있다. 상기 CCR 2/5 dual 길항제는 세니크리비락일 수 있다.
- [92] 예를 들어, 상기 약학적 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 및 상기 PPAR 작용제, 상기 DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 또는 CCR 2/5 dual 길항제를 포함할 수 있다. 상기 약학적 조성물은 상기
3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸 및 PPAR 작용제를 포함할 수 있다. 상기 약학적

조성물은 상기

3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸 및 상기 DPPIV 저해제를 포함할 수 있다. 상기 약학적 조성물은 상기

3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸 및 상기 ACC 저해제를 포함할 수 있다. 상기 약학적 조성물은 상기

3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸 및 상기 FXR 작용제를 포함할 수 있다. 상기 약학적 조성물은 상기

3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸 및 상기 CCR 2/5 dual 길항제를 포함할 수 있다.

[93] 상기 PPAR 작용제는 일라피브라나일 수 있다. 상기 DPPIV 저해제는 에보글립틴, 시타글립틴중 적어도 하나일 수 있다. 상기 ACC 저해제는 퍼소코스타트일 수 있다. 상기 FXR 작용제는 오베티콜릭산일 수 있다. 상기 CCR 2/5 dual 길항제는 세니크리비락일 수 있다.

[94] 상기 약학적 조성물은 상기 3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸 및 상기 일라피브라나, 에보글립틴, 시타글립틴, 퍼소코스타트, 오베티콜릭산 또는 세니크리비락을 포함할 수 있다.

[95] 상기 비알콜성 지방간 질환은 비알코올성 지방간, 비알콜성 지방간염, 간섬유화 및 간경화로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[96] 상기 약학적 조성물은 간 조직 내 중성지방 침착을 억제하는 비알콜성 지방간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물일 수 있다.

[97] 상기 약학적 조성물은 간 조직 내 염증 발생을 억제하는 비알콜성 지방간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물일 수 있다.

[98] 상기 약학적 조성물은 간 조직의 섬유화를 억제하는 비알콜성 지방간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물일 수 있다.

[99] 본 명세서에서 약학적 조성물이 A와 B를 포함한다고 기재된 경우, 상기 약학적 조성물은 A와 B를 포함하는 조성물; A와 B를 각각 분리된 제제로써 포함하는 조합물; 또는 상기 조합물을 포함하는 조성물;을 의미하는 것으로 해석된다. 따라서, 본 발명에 있어서 상기 조성물은 조합물과 혼용되어 사용될 수 있다.

[100] 상기 약학적 조성물은, 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 광학 이성질체, 이들의 수화물 또는 용매화물 또는 이들의 혼합물; 및 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR2/5 dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나;를 분리된 제제로 각각 포함하거나 또는 복합제제 형태로 모두 포함하는 것일 수 있다.

[101] 상기 약학적 조성물은 분리된 제제의 조합물, 또는 복합제제일 수 있다.

- [102] 상기 약학적 조성물은 제1 활성성분을 포함하는 제1 구획, 제2 활성성분을 포함하는 제2 구획을 포함할 수 있다.
- [103] 상기 제1 활성성분은 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 광학 이성질체, 이들의 수화물 또는 용매화물 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 상기 제2 활성성분은 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR2/5 dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나를 포함하는 것일 수 있다.
- [104] 본 발명의 실시예들에 따르면, 상기 약학적 조성물에서 상기 제1 활성성분을 포함하는 제1구획 및 상기 제2 활성성분을 포함하는 제2구획은 병용 투여되는 것으로 상기 약학적 조성물은 병용 투여를 위한 조성물일 수 있다. 구체적으로 상기 약학적 조성물은 두 성분이 별개의 단위 제형으로 제제화된 조합물일 수 있다. 이 경우, 상기 제1 활성성분과 제2 활성성분은 별개의 제형으로 병용 투여될 수 있다.
- [105] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, 특수사료 공급에 따라 비알콜성 지방간 질환이 유도된 C57BL/6J 마우스 모델에서, 조직학적 검사, 염증 및 섬유화 관련 단백질 농도 확인 및 혈중 AST 및 ALT 측정 실험 등을 통해, 일 실시예의 약학적 조성물이 비알콜성 간질환의 치료 및 예방에 효과가 있음을 밝혀내었다.
- [106] 보다 구체적으로, 일 실시예에 따른 약학적 조성물을 투여하는 경우, GPR119 작용제로서 화학식 1로 표시되는 화합물 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 광학 이성질체, 이들의 수화물 또는 용매화물 또는 이들의 혼합물; 또는 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 또는 CCR2/5 dual 길항제; 각각을 병용 투여한 경우에 비하여 NAFLD(Non-alcoholic fatty liver disease) activity score가 감소되고, 단위 면적 중 지방구의 상대적 비율이 감소되고, 간 조직 중 염증 세포의 침윤이 감소되고, 간 조직의 섬유화가 억제되고, 혈중 염증 및 섬유화 지표의 개선 효과가 상승하며, ALT 및 AST 혈중 농도가 감소한 것이 확인된다.
- [107] 본 발명에 있어, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 약제학적으로 허용 가능한 염의 비제한적인 예로는, 염산, 브롬산, 인산 또는 황산과 같은 무기산과의 염; 아세트산, 트리플루오로아세트산, 구연산, 말레인산, 수산, 호박산, 벤조산, 주석산, 푸마르산, 만델산, 아스코르브산 또는 말산과 같은 유기 카르복실산이나, 메탄설폰산 또는 파라-톨루엔설폰산과 같은 설폰산과의 염; 나트륨, 칼륨 또는 리튬과 같은 알칼리 금속과의 염; 혹은 기타 약제학적으로 허용 가능한 염을 형성할 수 있는 것으로 알려진 다양한 산과의 염 등을 포함할 수 있다.
- [108] 일 실시예의 비알콜성 지방간 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있다. 의약품 제제는 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있으며, 제형은 사용방법에 따라 다양하게 결정될 수 있다.

- [109] 일 실시예의 약학적 조성물을 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 제제화할 경우에는 일반적으로 사용하는 충전제, 희석제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 부형제를 사용하여 제조할 수 있다.
- [110] 경구투여를 위한 고형 제제로는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함될 수 있으며, 이러한 고형 제제는 상기 약학적 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 제조할 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 등의 활택제들도 사용된다.
- [111] 또한, 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [112] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [113] 또한, 본 발명에 따른 비알콜성 지방간 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 약 1 내지 약 1,000 mg 투여 범위에서 유효량을 나타낼 수 있다. 투여량 또는 복용량은 대상체의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여 시간, 투여 방법, 배설율 및 질환의 중증도에 따라 하루 일회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있는 등 다양한 투여 용량 및 방법으로 투여 가능하다.
- [114] 본 발명에서 비알콜성 지방간 질환(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 원발성과 속발성에 따른 비알콜성 지방간 질환을 모두 포함한다. 구체적으로, 본 발명에서 비알콜성 지방간 질환(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 단순 지방간(simple steatosis), 비알콜성 지방간염(non-alcoholic steatohepatitis, NASH) 및 이러한 질환의 진전에 의해 발생하는 간섬유화(liver fibrosis)와 간경화(liver cirrhosis)를 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [115] 일 실시예의 약학적 조성물은 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분; 및 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR2/5 dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나;를 포함할 수 있다.
- [116] 본 발명은 또한, 치료학적으로 유효한 양의 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 광학 이성질체, 이들의 수화물 또는 용매화물 또는 이들의 혼합물; 및 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR2/5 dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나;를 포함하는 약학적 조성물을 치료가 필요한 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 비알콜성 지방간 질환의 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [117] 본 명세서에서 용어 "치료가 필요한 대상체"는, 인간을 위시한 포유동물을

의미하고, 용어 "투여"는 임의의 적절한 방법으로 대상체에게 소정의 물질을 제공하는 것을 의미한다. 용어 "치료학적으로 유효한 양"은 연구자, 의사, 의사 또는 기타 임상가에 의해 생각되는 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 활성 성분 또는 약학적 조성물의 양을 의미하는 것으로, 이는 치료되는 질환 또는 장애의 증상 완화를 유도하는 양을 포함한다. 본 발명의 유효 성분에 대한 치료상 유효 투여량 및 투여 횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 것임은 당업자에게 자명하다.

- [118] 일 실시예에서 용어, 본 발명의 약학적 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다.
- [119] 경구 투여, 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 내피 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여, 강내 투여, 복강내 투여, 경막내 투여될 수 있으며, 이에 제한되지 않는다.
- [120] 일 실시예의 약학적 조성물은 1일 1회 또는 일정한 시간 간격을 두고 1일 2회 이상 투여될 수 있다.
- [121] 일 실시예의 약학적 조성물은 비알콜성 지방간 질환의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [122] 일 실시예는 또한, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 광학 이성질체, 이들의 수화물 또는 용매화물 또는 이들의 혼합물; 및 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR2/5 dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나;를 유효성분으로 포함하는 비알콜성 지방간 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [123] 일 실시예에서, 용어 "개선"은 상기 조성물의 투여로 질환이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [124] 일 실시예에서, 용어 "식품"은 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 견류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료, 비타민 복합제, 건강 기능 식품, 건강 식품 및 건강 보조 식품 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.
- [125] 상기 "건강기능(성)식품(functional food)"은 특정 보건용 식품(food for special health use, FoSHU)과 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료 효과가 높은 식품을 의미한다. 여기서 "기능(성)"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다.
- [126] 상기 "건강식품(health food)"은 일반식품에 비해 적극적인 건강 유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, "건강보조식품(health supplement food)"은 건강보조 목적의 식품을 의미한다. 경우에 따라, 건강기능식품, 건강식품, 건강보조식품의 용어는 혼용될 수 있다.

- [127] 본 발명의 식품은 당 업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조 가능하며, 상기 제조시에는 당 업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 구체적으로, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제, 및 향미제를 포함할 수 있으며, 상기 탄수화물의 예는 포도당, 과당, 말토스, 수크로스, 올리고당, 텍스트린, 사이클로텍스트린, 자일리톨, 소르비톨, 에리트룰, 사카린, 또는 합성 향미제가 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 식품 조성물은 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있다.
- [128] 본 발명은 또한, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 광학 이성질체, 이들의 수화물 또는 용매화물 또는 이들의 혼합물; 및 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR2/5 dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나;를 유효성분으로 포함하는 식품 조성물을 개선이 필요한 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 비알콜성 지방간 질환의 예방 또는 개선하는 방법을 제공한다.
- [129] 본 발명은 또한, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 광학 이성질체, 이들의 수화물 또는 용매화물 또는 이들의 혼합물; 및 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR2/5 dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나;를 유효성분으로 포함하는 비알콜성 지방간 질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공한다.
- [130] 본 발명의 용어, "사료"는 가축이 섭취하고, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분을 의미한다. 상기 사료는 사료 첨가제 또는 보조 사료를 포함할 수 있다.
- [131] 상기 사료의 종류는 특별히 제한되지 않으며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 사료를 사용할 수 있다. 상기 사료의 비제한적인 예로는, 곡물류, 근과류, 식품 가공 부산물류, 조류, 섬유질류, 제약 부산물류, 유지류, 전분류, 박류 또는 곡물 부산물류 등과 같은 식물성 사료; 단백질류, 무기물류, 유지류, 광물성류, 유지류, 단세포 단백질류, 동물성 플랑크톤류 또는 음식물 등과 같은 동물성 사료를 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다.
- [132] 본 발명은 또한, 비알콜성 지방간 질환의 예방 또는 치료를 위한 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 광학 이성질체, 이들의 수화물 또는 용매화물 또는 이들의 혼합물; 및 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR2/5 dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나;를 유효성분으로 포함하는 약학 조성물의 용도를 제공한다.
- [133] 본 발명은 또한, 비알콜성 지방간 질환의 예방 또는 치료를 위한 약학적 제제를 제조하기 위한 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 광학 이성질체, 이들의 수화물 또는 용매화물 또는 이들의 혼합물; 및 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR2/5

dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나;를 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물의 용도를 제공한다.

- [134] 본 발명은 또한, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 광학 이성질체, 이들의 수화물 또는 용매화물 또는 이들의 혼합물; 및 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR2/5 dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나;를 포함하는 약학적 조성물의 치료학적 유효량을 치료가 필요한 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 비알코올성지방간염의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [135] 본 발명은 또한, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 광학 이성질체, 이들의 수화물 또는 용매화물 또는 이들의 혼합물; 및 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR2/5 dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나;의 조합을 제공한다.
- [136] 본 발명은 또한, PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR2/5 dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나;와 조합하여 사용되는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이들의 광학 이성질체, 이들의 수화물 또는 용매화물 또는 이들의 혼합물을 포함하는 비알코올성지방간염의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물을 제공한다.
- [137] 상기 치료 방법, 식품 조성물, 개선 방법, 사료 조성물, 용도 및 조합에서 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 구체적으로 3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸일 수 있다.
- [138] 본 발명의 실시예에 따른 약학적 조성물, 치료 방법, 식품 조성물, 개선 방법, 사료 조성물, 용도 및 조합 각각에서 언급된 사항은, 모순되지 않는 한 각각의 실시예들에 서로 동일하게 적용된다.

발명의 효과

- [139] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 지질 대사를 개선하고, 간 조직 중 지방축적을 줄이며, 간 조직의 염증과 섬유화를 통한 조직학적 손상을 막는 우수한 효과를 나타내므로, 비알콜성 지방간 질환의 예방 또는 치료 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [140] 도 1은 정상 마우스에 약물을 경구로 단 회 투여 후 식후 혈장 중 총 GLP-1 및 활성형 GLP-1의 농도 변화에 대한 병용 투여 효과를 나타낸 것이다.
- [141] 도 2는 비알콜성 지방간염을 유발한 마우스에 약물을 반복 투여하기 전/후의 NAFLD activity score를 비교하여 DPPIV 저해제와의 병용 투여 효과를 나타낸 것이다.
- [142] 도 3은 비알콜성 지방간염을 유발한 마우스에 약물을 반복 투여하기 전/후의 NAFLD activity score를 비교하여 PPAR α/δ 작용제와의 병용 투여 효과를 나타낸

것이다.

- [143] 도 4는 비알콜성 지방간염을 유발한 마우스에 약물을 반복 투여한 후 간 조직 중 지방구의 상대적 비율을 정량하여 DPPIV 저해제와의 병용 투여 유효성을 나타낸 것이다.
- [144] 도 5는 비알콜성 지방간염을 유발한 마우스에 약물을 반복 투여한 후 간 조직 중 지방구의 상대적 비율을 정량하여 PPAR α / δ 작용제와의 병용 투여 유효성을 나타낸 것이다.
- [145] 도 6은 비알콜성 지방간염을 유발한 마우스에 약물을 반복 투여한 후 간 조직 중 활성화된 대식 세포의 지표로서 galectin-3의 발현의 상대적 비율에 대한 DPPIV 저해제와의 병용 투여 유효성을 나타낸 것이다.
- [146] 도 7은 비알콜성 지방간염을 유발한 마우스에 약물을 반복 투여한 후 간 조직 중 활성화된 대식 세포의 지표로서 galectin-3의 발현의 상대적 비율에 대한 PPAR α / δ 작용제와의 병용 투여 유효성을 나타낸 것이다.
- [147] 도 8은 비알콜성 지방간염을 유발한 마우스에 약물을 반복 투여한 후 간 조직 중 활성화된 간성상세포의 지표로서 α smooth muscle actin (α SMA)의 발현의 상대적 비율에 대한 DPPIV 저해제와의 병용 투여 유효성을 나타낸 것이다.
- [148] 도 9는 비알콜성 지방간염을 유발한 마우스에 약물을 반복 투여한 후 간 조직 중 활성화된 간성상세포의 지표로서 α smooth muscle actin (α SMA)의 발현의 상대적 비율에 대한 PPAR α / δ 작용제와의 병용 투여 유효성을 나타낸 것이다.
- [149] 도 10은 비알콜성 지방간염을 유발한 마우스에 약물을 반복 투여한 후 혈장 중 염증 및 섬유화 관련 지표에 대한 DPPIV 저해제와의 병용 투여 유효성을 나타낸 것이다.
- [150] 도 11은 비알콜성 지방간염을 유발한 마우스에 약물을 반복 투여한 후 혈장 중 간 손상지표인 ALT 및 AST의 농도에 대한 DPPIV 저해제와의 병용 투여 유효성을 나타낸 것이다.
- [151] 도 12는 사람 단핵구세포를 대식세포로 분화시키는 과정에서 상기 화합물 1 및 PPAR α / δ 작용제, ACC 저해제, FXR 작용제 또는 CCR2/5 dual 길항제와 병용처리에 의한 염증성 사이토카인인 CCL2, TNF α , IL1 β 의 분비억제능 증가효과를 나타낸 것이다.
- [152] 도 13은 primary 사람 간 성상세포를 TGF β 로 활성화시키는 과정에서 상기 화합물 1 및 PPAR α / δ 작용제, ACC 저해제 또는 FXR 작용제와 병용처리에 의한 섬유화 단백질 발현 감소능 증가효과를 나타낸 것이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [153] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어있는 실시 예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시 예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본

발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

- [154] 비알콜성 지방간염은 단일 인자에 의해 야기되는 질환이 아니므로, 단일 약물로 우수한 치료효과를 기대하기 어려울 수 있다. 이에 따라, 복수 개의 유효 성분을 포함하는 본 발명의 일 실시예에 따른 약학적 조성물은 다양한 기전의 상호보완적 약물의 병용 투여에 따라 비알콜성 지방간염의 예방 또는 치료 효과를 향상시킬 수 있다.
- [155] 현재 비알콜성 지방간염치료제로 개발 중인 약물은 크게 i) 대사적 개선을 통해 간 조직에 지방 축적을 감소시키는 약물, ii) 간 조직 중 산화적 스트레스를 경감하거나 직접적인 염증반응 조절을 통해 염증반응을 억제하는 약물, iii) 간 세포의 세포사멸을 억제하는 약물, iv) 세포 외에 섬유화단백의 축적을 억제하는 약물로 대별된다.
- [156] 특히 비만, 당뇨와 같은 대사질환 이환율이 높으며 대사적 불균형이 간 조직 중 지방축적을 초래하는 병인론적 특징을 가지므로, 기존에 대사개선을 목적으로 개발된 다양한 기전의 당뇨치료제들이 비알콜성 지방간염 동물모델에서 유효성을 확인하거나 임상적인 탐색 연구를 진행하고 있다.
- [157] 본 발명의 일 실시예에 따른 약학적 조성물은 GPR119 작용제 및 퍼옥시좀 증식체 활성화 수용체(peroxisome proliferator-activated receptor; PPAR) 작용제, 디펩티딜펩티다제 IV(dipeptidyl peptidase IV; DPPIV) 저해제, 아세틸조효소A 카르복실라아제(acetyl-CoA carboxylase; ACC) 저해제, 파네소이드 X 수용체(farnesoid X receptor; FXR) 작용제 및 C-C 케모카인 수용체(C-C chemokine receptor 2/5; CCR2/5) dual 길항제 중 선택되는 적어도 하나를 포함할 수 있다. 따라서, 상술한 유효 성분들의 상호 보완적 효과에 의해 우수한 비알콜성 지방간염의 치료 또는 예방 효과를 나타낼 수 있다. 보다 구체적으로, 일 실시예의 약학적 조성물은 전술한 유효 성분들 각각을 개별 투여 하는 경우에 비하여 비알콜성 지방간염의 치료 또는 예방에 대한 상승 효과(synergistic effect)를 나타낼 수 있다.
- [158] 본 명세서에서, "적어도 하나"는 복수 개의 구성에서 도출되는 모든 조합을 나타내는 것으로 해석된다. 예를 들어, "A, B 및 C 중 적어도 하나"는 "A, B 또는 C", "A, B 및 C 중 선택되는 두 개" 및 "A, B 및 C"로 도출되는 모든 조합을 포함하는 것으로 해석된다.
- [159] GPR119는 Gs가 커플링되어 cAMP를 통한 신호전달을 활성화 시키는 G protein-coupled receptor (GPCR) 중 하나이다. GPR119는 췌장 베타세포 및 소장 L세포에서 발현양이 높으며, 간에도 존재하며 간에서 일어나는 지방산 생합성의 조절 인자이다. 또한 GP119가 활성화되면 염증세포의 분화 및 활성화를 억제하고 간 정상세포의 활성화를 억제하여 비알콜성 지방간염에서 지방간, 염증, 섬유화를 모두 제어할 수 있다.

- [160] 기전적으로 소장의 GPR119가 섭취한 음식물에서 유래한 지방산유도체에 의해 활성화되면 glucagon-like peptide-1 (GLP-1)의 분비를 증가시킨다. 분비된 GLP-1은 혈중에서 수 분 이내에 Dipeptidyl peptidase IV (DPPIV)라는 효소에 의해 불활성화된다.
- [161] GLP-1은 대사 개선에 대하여 약리 효과가 있으며, GLP-1 유사펩타이드는 임상에서 비알콜성 지방간염환자의 지방간을 개선할 수 있다.
- [162] 전술한 기전을 참조하면, GPR119 작용제(예를 들어, 전술한 화학식 1로 표시되는 화합물)와 혈당강하제로 개발된 DPPIV 저해제를 병용 투여 시, 활성형 GLP-1의 혈중에서 작용시간이 연장될 수 있다. 이에 따라, GPR119 작용제의 비알콜성 지방간염의 치료 또는 예방 효과와 GLP-1의 대사 개선 약리효과를 동시에 나타낼 수 있다.
- [163] 즉, GPR119 작용제와 DPPIV 저해제를 모두 포함하는 일 실시예의 약학적 조성물은 GPR119 작용제 자체의 작용에 의한 비알콜성 지방간염 개선 약효에 더해 GLP-1에 의한 대사 개선 효과가 상호 보완될 수 있다. 따라서, 비알콜성 지방간염에 대한 상승적인 치료 및 예방 효과를 보이는 것으로 판단된다.
- [164] GPR119 작용제는 GPR119 리간드일 수 있으며, 보다 구체적으로 전술한 화학식 1로 표시되는 화합물일 수 있다.
- [165] 일 실시예에 따른 약학적 조성물은 GPR119 작용제와 DPPIV 저해제의 조합 외에도 다양한 조합의 유효 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 일 실시예에 따른 약학적 조성물은 GPR119 작용제와 대사 개선 효과를 나타내는 성분인 DPPIV 저해제 외에도, GPR119 작용제와 병용 시 대사개선 효과를 증대시켜 비알콜성 지방간염의 치료 또는 예방에 대한 유효성을 높여주는 성분으로 전술한 PPAR 작용제, 또는 ACC 저해제를 포함할 수 있다. 또는 GPR119 작용제와 병용시 비알콜성 지방간염 환자의 염증, 섬유화를 더욱 개선할 수 있는 FXR 작용제, 또는 CCR 2/5 dual 길항제를 포함할 수 있다.
- [166] 보다 구체적으로, PPAR 작용제는 피오글리타존(pioglitazone), 로베글리타존(lobeglitazone), 일라피브라나(elafibranor), 라니피브라나(lanifibranor) 및 사로글리타자(saroglitazar) 중 적어도 하나일 수 있고, DPPIV 저해제는 시타글립틴(sitagliptin), 빌다글립틴(vildagliptin), 삭사글립틴(saxagliptin), 리나글립틴(linagliptin), 제미글립틴(gemigliptin), 아나글립틴(anagliptin), 테넬리글립틴(teneligliptin), 알로글립틴(alogliptin), 트렐라글립틴(trelagliptin), 오마리글립틴(omarigliptin), 에보글립틴(evogliptin), 고소글립틴(gosogliptin) 및 듀토글립틴(dutogliptin) 중 적어도 하나일 수 있고, ACC 저해제는 퍼소코스타트(firsocostat)일 수 있다. FXR 작용제는 오벤티콜릭산(obeticholic acid), 트로피펙사(tropifexor) 및 GW4064(3-(2,6-Dichlorophenyl)-4-(3'-carboxy-2-chlorostilben-4-yl)oxymethyl-5-isopropylisoxazole) 중 적어도 하나일 수 있다. CCR 2/5 dual 길항제는 세니크리비락(cenicriviroc)일 수 있다.

- [167] 일 실시예의 약학적 조성물은 GPR119 작용제; 및 전술한 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR 2/5 dual 길항제 중 적어도 하나;를 포함할 수 있다.
- [168] 일 실시예의 약학적 조성물은 전술한 화학식 1로 표시되는 화합물; 및 PPAR 작용제, DPPIV 저해제, ACC 저해제, FXR 작용제 및 CCR 2/5 dual 길항제 중 적어도 하나;를 포함할 수 있다.
- [169] 일 실시예의 약학적 조성물은
3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸{3-(4-(3-(1-(5-ethylpyrimidin-2-yl)piperidin-4-yl)propoxy)-2,6-difluorophenyl)-5-isopropyl-1,2,4-oxadiazole}; 및 피오글리타존, 로베글리타존, 일라피브라나, 라니피브라나, 사로글리타자, 시타글립틴, 빌다글립틴, 삭사글립틴, 리나글립틴, 제미글립틴, 아나글립틴, 테넬리글립틴, 알로글립틴, 트렐라글립틴, 오마리글립틴, 에보글립틴, 고소글립틴 듀토글립틴, 퍼소코스타트, 오베티콜릭산, 트로피펙사, GW4064, 및 세니크리비락 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [170] 일 실시예의 약학적 조성물은 복합 성분을 포함한다. 따라서, 일 실시예의 약학적 조성물을 투여하는 경우, 개별 성분을 단독 투여하는 경우에 비하여 우수한 비알코올성 지방간염의 치료 또는 예방 효과를 나타낼 수 있다.
- [171] 이하부터는, 실시예 및 비교예를 참조하여 본 발명의 일 실시예에 따른 약학적 조성물에 대하여 상세히 설명한다.
- [172] <실시예 1> 특수사료를 공급한 지방간염 유도 마우스 모델에서 **GPR119** 리간드 및 타 기전 약물과의 병용 효능 확인
- [173] 본 발명의 일 실시예에 따른 약학적 조성물의 비알코올성 지방간 질환에 대한 치료 효과를 확인하기 위하여 다음과 같은 실험을 수행하였다.
- [174] 정상마우스에서 작용기전 확인
- [175] ICR 7주령 웅성 마우스에 화학식 1로 표시되는 화합물 중 3-(4-(3-(1-(5-에틸피리미딘-2-일)피페리딘-4-일)프로폭시)-2,6-디플루오로페닐)-5-이소프로필-1,2,4-옥사디아졸{3-(4-(3-(1-(5-ethylpyrimidin-2-yl)piperidin-4-yl)propoxy)-2,6-difluorophenyl)-5-isopropyl-1,2,4-oxadiazole}(이하, '화합물 1'이라 함)와 DPPIV 저해제로서 시타글립틴을 각각 3 mg/kg 및 10 mg/kg 용량에서 단독 및 병용으로 단 회 경구투여 하였다. 투여 후 30분 경과시점에서 포도당용액을 경구로 주입 하였다. 포도당용액을 경구로 주입한 후 10분 시점에서 채혈하여 혈장 중 총 GLP-1농도(ALPCO, 43-GPTHU-E01)와 활성형 GLP-1농도(ALPCO, 43-GPIHU-E01)를 ELISA kit을 사용하여 정량 하였으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다.
- [176] 도 1에서 확인된 바와 같이, GPR119작용제와 DPPIV 저해제를 병용하면 혈장 중 GLP-1의 총 농도 및 활성형의 최고 농도가 화합물 1의 단독 투여 시보다 증가하였다. 이는 두 기전의 약물을 병용할 경우 소장에서 GLP-1분비가

증가되고, 혈중에서 GLP-1의 생물학적 반감기가 연장되는 효과를 갖는다는 것을 의미한다.

[177] 비알콜성 지방간염 마우스 모델의 제조

[178] 6주령 웅성의 C57BL/6J 마우스에 고지방, 고과당, 고콜레스테롤의 특수사료(Research Diet, D09100301)를 27주 이상 공급하여 비알콜성 지방간염을 유발시켰다. 이후 화합물 1을 1일 용량이 100 mg/kg/day이 되도록 단독 또는 병용 투여 하였다. DPPIV 저해제로는 에보글립틴을 200 mg/kg/day, 또는 시타글립틴 150 mg/kg/day을 단독 또는 병용 투여 하였다. PPAR 작용제로서 일라피브라나 30 mg/kg/day가 되도록 단독 및 병용 투여 하였다. 단독 또는 병용 투여의 방법으로는, 전술한 화합물 1, DPPIV 저해제, 및/또는 PPAR 작용제를 약물혼합사료로 제작하여 8~12주간 공급하였다.

[179] 조직학적 검사

[180] 조직학적 검사를 위해 상기 제조한 비알콜성 지방간염 유도 마우스 모델을 약물투여 전/후에 생검 및 부검을 통해 분리한 간 조직을 10% 포르말린에 고정하고 파라핀 블록을 제조하여 2 μ m 두께의 조직절편을 얻었다. 이후, 염증세포 침윤을 확인하기 위해 자동염색기(Autostainer XL, Leica)를 이용하여 Hematoxylin and Eosin (HE) Stain을 실시하였다. 염색된 간 조직 중 침착된 지방구의 비율, 염증세포 침윤 정도 및 세포괴사의 정도를 NAFLD activity score (NAS)로 표시하여 그 결과를 도 2 및 도 3에 나타내었다.

[181] 간 조직 중 지방축적의 정량적 비교를 위해 HE염색을 실시한 표본을 영상분석하여 단위 면적 중 지방구의 상대적 비율을 산출하여 병용 투여 약효를 평가하였다. 그 결과를 도 4 및 도 5에 나타내었다.

[182] 간 조직 중 염증세포 침윤의 정도를 비교하기 위해 활성화된 대식세포에서 발현이 증가하는 지표인 galectin-3의 발현 정도를 면역염색을 통해 측정하였다. 이후 영상분석을 통해 단위 면적 중 galectin-3 항체에 의해 염색된 면적의 비율을 산출하여 병용 투여에 따른 염증 개선 약효를 평가하였다. 그 결과를 도 6 및 도 7에 나타내었다.

[183] 섬유화에 대한 유효성 평가를 위해 활성화된 성상세포의 비율을 비교하고자 간 조직 절편 중 α smooth muscle actin (α SMA)의 발현을 면역염색을 통해 측정하였다. 이후 영상분석을 통해 단위 면적 중 α SMA 항체에 의해 염색된 면적의 비율을 산출하였다. 그 결과를 도 8 및 도 9에 나타내었다.

[184] 염증 및 섬유화 관련 단백질 농도 확인

[185] 혈장 중 염증 (CCL2, CXCL10, CXCL2, IL2, TNF α) 및 섬유화 관련 단백질 (TIMP1) 농도에 대한 영향을 평가하기 위해 상기 마우스 모델에서 획득한 혈장에서 상용화된 ELISA kit을 이용하여 마우스 혈장 중 CCL2, CXCL10, CXCL2, IL2, TNF α (MSD, K15255D-1) 및 TIMP1(R&D Systems, MTM100) 단백질 농도를 정량 하였다. 그 결과를 도 10에 나타내었다.

[186] 혈중 AST 및 ALT 측정

- [187] 상기 비알콜성 지방간염 유도 마우스 모델을 부검 후 혈장을 분리하여 자동 혈액분석기(Konelab 20i)를 이용해 AST(aspartate aminotransferase) 및 ALT (alanine aminotransferase)를 정량 하였다. 그 결과를 도 11에 나타내었다.
- [188]
- [189] 도 2에서 확인된 바처럼, 화합물 1을 단독 투여한 마우스에서 치료 전에 비해 NAS가 유의적으로 개선되었으나, DPPIV 저해제 에보글립틴의 단독 투여에 대한 효과는 미미하였다. 그러나 두 약물을 병용 투여하는 경우 NAS 개선 약효가 현저하게 증가하였다.
- [190] 도 3을 참조하면, 화합물 1 또는 PPAR 작용제인 일라피브라나를 단독 투여한 경우 치료전에 비해 NAS가 유의적으로 개선되었으며, 두 약물을 병용 투여하는 경우 NAS 개선 약효가 더욱 증가하였다.
- [191] 도 4을 참조하면, 화합물 1을 단독 투여한 마우스에서 간 조직 중 지방구의 크기가 감소하여 지방구의 상대적 면적이 유의적으로 감소하였다. DPPIV 저해제 에보글립틴을 단독 투여한 경우 지방구의 상대면적이 감소한 경향을 나타냈다. 무엇보다 화합물 1을 DPPIV 저해제와 병용 투여한 경우 간 조직 중 지방구의 상대면적이 더욱 감소함을 보여 두 약물 병용에 따른 지방간 개선 약효의 증대를 확인하였다.
- [192] 도 5에서 확인된 바와 같이, 간 조직 중 지방침착의 정도를 정량적으로 평가한 결과 화합물 1 또는 PPAR 작용제의 단독 투여에 의해 간 조직 중 지방의 비율이 유의적으로 감소하였다. 화합물 1에 PPAR 작용제를 더해 병용 투여한 결과 지방구의 면적 비율이 더욱 감소하여 대조군(NASH Co.)대비 94% 개선됨을 보였다. 이는, 두 약물 병용에 따른 지방간 개선 약효의 증대를 나타낸다
- [193] 도 6을 참조하면, 화합물 1 또는 DPPIV 저해제 에보글립틴을 단독 투여한 마우스에서 간 조직 중 활성화된 대식세포의 지표인 galectin-3의 발현이 유의적으로 감소했으며, 두 약물을 병용한 경우 galectin-3의 발현 감소효과가 더욱 증대됨을 보여준다. 이로써 두 약물 병용 투여 할 경우 간 조직 중 염증세포의 침윤이 감소되는 효과가 증대될 것임이 시사된다.
- [194] 도 7을 참조하면 화합물 1을 단독 투여한 마우스에서 간 조직 중 활성화된 대식세포의 지표인 galectin-3의 발현이 유의적으로 감소하였다. PPAR 작용제인 일라피브라나를 단독 투여한 경우에는 galectin-3의 발현의 유의적인 감소 효과를 나타내지 않았으나, 두 약물을 병용한 경우 galectin-3의 발현 감소효과가 더욱 증대됨이 확인되었다. 이로써 두 약물 병용에 따른 간 조직 중 염증세포 침윤 감소효과의 증대가 시사된다.
- [195] 도 8을 참조하면, 화합물 1 또는 DPPIV 저해제 에보글립틴을 단독 투여한 마우스에서 간 조직 중 섬유화를 유도하는 간 정상세포의 활성화 지표인 α SMA의 발현이 유의적으로 감소하였다. 두 약물을 병용 투여한 경우 α SMA의 발현 억제효과가 더욱 증가함이 제시되었다. 이는 두 약물 병용에 따른 간 조직의 섬유화 억제 효과가 증대함을 시사한다.

- [196] 도 9를 참조하면, 화합물 1을 단독 투여한 마우스에서 간 조직 중 섬유화를 유도하는 간 정상세포의 활성화 지표인 α SMA의 발현이 유의적으로 감소했으며, PPAR 작용제인 일라피브리나를 단독 투여한 경우에는 α SMA의 발현의 유의적인 감소 효과를 나타내지 않았다. 그러나, 두 약물을 병용 투여한 경우 α SMA의 발현 억제효과가 더욱 증가함이 확인 되었다. 이는 두 약물의 병용 투여에 따른 간 조직의 섬유화 억제효과의 증대를 시사한다.
- [197] 도 10은 화합물 1을 단독 또는 DPPIV 저해제인 시타글립틴과 병용 투여할 경우 혈중 염증 및 섬유화지표의 농도에 대해 영향을 미침을 제시한다. 염증세포의 침윤을 유도하는 chemokine인 CCL2, CXCL10, CXCL2의 혈중 농도는 NASH 마우스에서 증가되었으며, 화합물 1을 단독 투여한 경우 이들의 혈중 농도는 유의적으로 감소했다. 화합물 1을 DPPIV 저해제와 병용한 경우 chemokine 감소 효과가 더욱 증대되었다. 염증성 cytokine인 IL2, TNF α 는 화합물 1 단독에 의해서는 감소경향을 보였으나 DPPIV 저해제와 병용한 경우 유의적인 감소를 나타냈다. 섬유화 지표인 TIMP1도 NASH마우스에서 유의적으로 증가되었으나 화합물 1 단독투여에 의해 유의적으로 감소하였고 DPPIV 저해제 병용에 의해 감소효과가 증가하였다. 이를 통해 화합물 1과 DPPIV 저해제를 병용할 경우 조직학적 변화를 뒷받침하는 혈중 염증 및 섬유화 지표의 개선 효과가 증대됨이 확인된다.
- [198] 도 11은 간 손상지표로서 혈중 ALT와 AST에 대한 일 실시예에 따른 약학적 조성물의 영향을 제시한다. 화합물 1 또는 DPPIV 저해제 에보글립틴 단독 반복 투여 시 ALT와 AST의 혈중 농도가 유의적으로 감소했으며, 화합물 1을 DPPIV 저해제와 병용 투여한 경우 ALT 및 AST농도가 두 약물 단독 투여에 비해 유의적인 차이를 보이며 더욱 감소했다. 이는 화합물 1과 DPPIV 저해제를 병용 투여하는 경우 비알콜성지방간염에 따른 간 세포의 손상을 방지하는 효과가 증대됨을 시사한다.
- [199] 상기와 같은 결과는 본 발명의 일 실시예에 따른 약학적 조성물이 GPR119 작용제와 DPPIV 저해제 또는 PPAR 작용제와 같은 대사질환 개선제를 병용 투여함으로써 지방간 개선, 간 조직의 손상, 염증 및 섬유화를 억제하여 비알콜성 지방간 질환에 대해 효과가 있으며, 더욱 우수한 치료효과를 나타낼 수 있음을 시사하는 것이다.
- [200] <실시예 2> 사람 대식세포에서 GPR119 리간드 및 타 기전 약물과의 병용 효능 확인
- [201] 배지 중 분비된 염증성 cytokine 단백질 농도 확인
- [202] GPR119 리간드와 타 기전 약물의 병용처리에 따른 비알콜성지방간 질환 개선효과 중 염증개선 효과 증대 가능성을 in vitro에서 평가하기 위해, 배지 중 염증성 cytokine을 정량하여 GPR 119 리간드와 타 기전 약물의 병용이 사람 단핵구세포의 분화에 미치는 효과를 확인하였다.
- [203] 사람 단핵구세포주(THP-1, ATCC® TIB-202째)를 50 ng/ml PMA(Phorbol

12-myristate 13-acetate)로 48시간 처리하여 대식세포로 분화시키는 동안 화합물 1과 PPAR 작용제인 일라피브라나, ACC 저해제인 퍼소코스타트, FXR 작용제인 오베티콜릭산 또는 CCR2/5 dual 길항제인 세니크리비락을 병용 처리한 다음 혈청이 포함되지 않은 배지로 교체하고 LPS (Lipopolysaccharides; 0.5 ng/ml)를 4시간 처리하여 배지 중으로 분비된 염증성 cytokine인 IL-1 β (interleukin-1 β ; R&D Systems, DY201), TNF α (tumor necrosis factor α ; R&D Systems, DY210), CCL2 (C-C motif chemokine ligand 2; R&D Systems, DY279)를 상용화된 ELISKA kit으로 정량하여 단핵구 분화에 대한 영향을 평가하였으며, 그 결과를 도 12에 나타냈다.

- [204] 도 12에서 확인되는 바와 같이, 단핵구가 대식세포로 분화하는 과정에서 본 발명의 화합물 1을 처리한 경우, 농도 의존적으로 대식세포 활성화에 따른 IL-1 β , TNF α 및 CCL2 분비가 감소됨을 확인하였고, 상기 PPAR 작용제, ACC 저해제, FXR 작용제 또는 CCR2/5 dual 길항제를 병용 처리 시 화합물 1의 염증성 cytokine 분비 억제능이 증가했다.
- [205] 상기와 같은 결과는 본 발명의 화합물 1이 면역세포 분화를 억제해서 선천면역(innate immunity)으로 인한 염증성 cytokine 분비를 억제하므로써 비알콜성 지방간 질환의 진행을 억제할 수 있으며, 이러한 작용이 상기 PPAR 작용제, ACC 저해제, FXR 작용제 또는 CCR2/5 dual 길항제를 병용 처리할 경우 증대될 수 있음을 시사하는 것이다.
- [206] <실시예 3> 사람 간 정상세포에서 GPR119 리간드 및 타 기전 약물과의 병용 효능 확인
- [207] 세포 내 발현된 섬유화 단백질 발현량 확인
- [208] GPR119 리간드와 타 기전 약물의 병용 처리에 따른 비알콜성 지방간 질환 개선효과 중 섬유화 억제효과 증대 가능성을 in vitro에서 평가하기 위해 primary 사람 간 정상세포에서 발현된 섬유화 단백질 농도를 정량하였다.
- [209] Primary 사람 간 정상세포(ScienCell, #5300)를 24시간 안정화시킨 후 24시간 동안 혈청이 포함되지 않은 배지에서 배양한 다음, 5 ng/ml의 유전자 재조합 TGF β 1 (tumor growth factor β 1)과 함께 상기 화합물 1 및 PPAR 작용제인 일라피브라나, ACC 저해제인 퍼소코스타트 또는 FXR 작용제인 오베티콜릭산을 병용 처리한 다음 18시간 후 세포를 회수하여 세포 총 단백질 중 pro-collagen 1 α 1의 양을 상용화된 ELISKA kit (R&D Systems, DY6220)으로 정량하였고, 세포 총 단백질량은 BCA법으로 정량하여 보정하였으며, 각 약물의 농도반응성 곡선과 30% 저해활성을 나타내는 농도(IC₃₀)를 산출한 결과를 도 13에 나타냈다.
- [210] 도 13에서 확인되는 바와 같이, 상기 화합물 1은 단독으로 처리했을 때 TGF β 1에 의해 유도된 pro-collagen 1 α 1의 단백질 발현을 농도 의존적으로 억제했으며, 30% 억제하는 농도는 0.55 μ M로 산출되었다. 상기 PPAR 작용제, ACC 저해제 또는 FXR 작용제는 상대적으로 낮은 반응성을 나타냈다. 병용 처리 시 30%

저해를 유도할 것으로 예상되는 농도로서 상기 화합물 1 0.3 μ M을 상기 PPAR 작용제, ACC 저해제 또는 FXR 작용제와 함께 처리하여 procollagen 1a1 발현을 30% 억제하는 농도를 산출하고, 두 약물이 단독 대비 병용처리 시 30% 저해활성을 나타내는 농도의 분율을 산출하여 그 합을 Combination Index (CI)로 나타냈다(Chou TC & Talalay P., Adv Enzyme Regul, 1984;22:27-55). 화합물 1을 PPAR 작용제 또는 ACC 저해제와 병용처리할 경우 CI가 1보다 작은 0.7, 0.6으로 산출되어 상승효과를 나타냄을 확인했으며, FXR 작용제와 병용처리할 경우 CI가 1로 나타나 상승효과를 확인했다.

- [211] 상기와 같은 결과는 본 발명의 화합물1이 간 정상세포의 활성화를 억제해서 섬유화 단백질인 콜라겐의 발현을 억제하므로써 비알콜성 지방간 질환의 진행을 억제할 수 있으며, 이러한 작용이 상기 PPAR 작용제, ACC 저해제 또는 FXR 작용제를 병용처리할 경우 증대될 수 있음을 시사하는 것이다.