

명세서

발명의 명칭: 비만의 예방 또는 치료용 병용 요법

기술분야

- [1] 본 발명은 비만을 효율적으로 예방 또는 치료하기 위한 병용 요법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 멜라노코르틴-4 수용체(MC4R) 효능제와 글루카곤-유사 펩타이드-1(GLP-1) 수용체 작용제의 병용 투여시의 상승적 효과를 통하여 효율적으로 비만을 예방 또는 치료하기 위한 것에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 멜라노코르틴 수용체(melanocortin receptor, MCR)는 G-단백질 결합 수용체(GPCR)의 일종으로, G-단백질의 주된 역할은 2차 전달자를 활성화시켜 신호전달을 통해 많은 생리학적 자극에 대한 세포의 반응을 조절한다. 멜라노코르틴 수용체는 현재까지 모두 5가지 종류가 밝혀져 있다. MC1R은 멜라닌 세포, 대식세포에서 발현되며 멜라닌 세포에서는 멜라닌 색소를 조절함으로써 피부와 모발의 색을 결정한다. MC2R은 부신과 지방조직에서 발현되며 부신에서의 부신 피질 자극 호르몬에 의한 부신호르몬 분비조절의 매개기능이 잘 알려져 있다. MC3R, MC4R 및 MC5R은 신경 말단뿐만 아니라 뇌에서도 발현되어 행동, 학습, 기억, 식욕, 신경의 발생과 재생 등에 대한 효과로 나타나는 멜라노코르틴 펩티드들에 의한 중추 신경 작용을 매개하는 것으로 생각되고 있다. 현재까지 MC3R은 발기부전 및 염증반응, MC4R은 비만 및 당뇨병에 관여한다고 알려져 있고, 각 수용체의 작용 특이성에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다 (MacNeil DJ et al., Eur J Pharmacol 2002, 450, 93). 그 결과, 비만이 활발히 진행된 사람에서의 유전학적 연구에서 MC4R이 깊이 관여됨을 알았고, MC4R이 제거된 유전자 변이 마우스(knockout mice)가 과식에 의해 비만으로 발전함을 보여주어 이 수용체가 식욕조절에서 중요한 역할을 한다는 것을 증명해주고 있다(Lu D, Willard D et al., Nature 1994, 371(6500), 799; Huszar D et al., Cell 1997, 88(1), 131; Hinney A et al., J Clin Endocrinol Metab 1990, 84(4), 1483).
- [3] 기존 개발된 비만치료제로서는 중추신경계에 작용하는 식욕 저해제가 주종이며, 그 중에서도 신경신호전달 물질의 작용을 조절하는 약물(예로, 펜터민, 마진돌, 로카세린, 플루옥세틴 및 시부트라민)이 대부분이었다. 그러나 상기 신경신호전달 물질 조절제의 경우는 수 많은 subtype 수용체들을 통하여 식욕저해 이외에 다양한 생리작용에도 광범위한 영향을 미친다. 따라서 상기 약물의 경우 각 subtype별 선택성이 결여되어 장기간 투여 시, 다양한 부작용을 수반하게 되는 단점이 있다. 반면 멜라노코르틴 항진제는 신경신호전달 물질이 아닌 신경 펩타이드로서, MC4R 유전자제거(knockout, KO) 마우스에서 에너지 대사 이외의 다른 기능들은 모두 정상적인 점을 볼 때, 다른 생리 기능에 대한 영향 없이 식욕저해

를 통한 체중 감소만을 유도할 수 있다는 점에서 작용점으로서의 장점을 가질 수 있다.

- [4] 한편, 글루카곤-유사 펩타이드-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)은 베타세포로부터 인슐린 분비를 촉진하고, 말초조직에서 당 이용을 증가시키며, 알파세포에서 글루카곤 분비를 억제하고 간에서 당 생성을 감소시키는 역할을 하는 인크레틴(cretin)이다. 그러나 체내에서 생성되는 GLP-1은 디펩티딜 펩티다아제-4(dipeptidyl peptidase-4, DPP-4)에 의해서 수분 이내에 빠르게 분해되어 활성을 잃게 된다. GLP-1 수용체 작용제(GLP-1 receptor agonist)는 DPP-4에 의해서 가수분해되지 않는 GLP-1 유사체이다.

발명의 상세한 설명

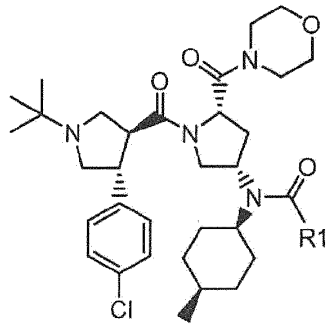
기술적 과제

- [5] 본 발명은 우수한 체질 개선 효과 및 안전성을 가지며 비만을 효율적으로 예방 또는 치료할 수 있는 병용 요법을 제공하는 것을 그 기술적 과제로 한다.

과제 해결 수단

- [6] 상기 과제를 해결하고자 본 발명은 글루카곤-유사 펩타이드-1(GLP-1) 수용체 작용제와 병용하기 위한, 멜라노코르틴-4 수용체(melanocortin-4 receptor, MC4R) 작용제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.
- [7] 또한, 본 발명은 다음의 (i) 및 (ii)의 세트를 포함하는 비만의 병용 예방 또는 치료용 키트를 제공한다:
- [8] (i) 글루카곤-유사 펩타이드-1(GLP-1) 수용체 작용제를 함유하는 제제 및
- [9] (ii) 멜라노코르틴-4 수용체(melanocortin-4 receptor, MC4R) 작용제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 함유하는 제제.
- [10] 또한, 본 발명은 글루카곤-유사 펩타이드-1(GLP-1) 수용체 작용제 및 멜라노코르틴-4 수용체(melanocortin-4 receptor, MC4R) 작용제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 치료적 유효량으로 이를 필요로 하는 대상에게 병용 투여하는 것을 포함하여, 비만을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [11]
- [12] 이하에서 본 발명에 대하여 상세히 설명한다.
- [13]
- [14] 본 발명에서는 MC4R 작용제와 GLP-1 수용체 작용제의 병용 투여가 상승적 효과로 우수한 비만의 예방 또는 치료 효능을 보일 수 있다는 것을 입증하였다.
- [15]
- [16] 본 발명의 일 측면에 따르면, 글루카곤-유사 펩타이드-1(GLP-1) 수용체 작용제와 병용하기 위한, 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물이 제공된다:
- [17] [화학식 1]

[18]



[19]

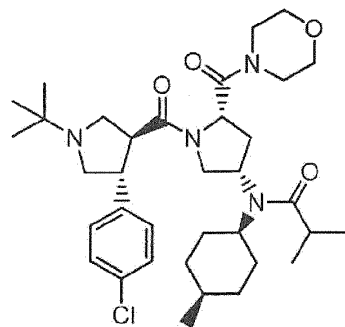
[20] 상기 화학식 1에서, R1은 C₂-C₅ 알킬이다.

[21]

[22] 본 발명에 따른 일 구체예에서, 상기 화학식 1의 화합물은 하기 화학식 2의 *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)아이소부티르아마이드이다:

[23] [화학식 2]

[24]



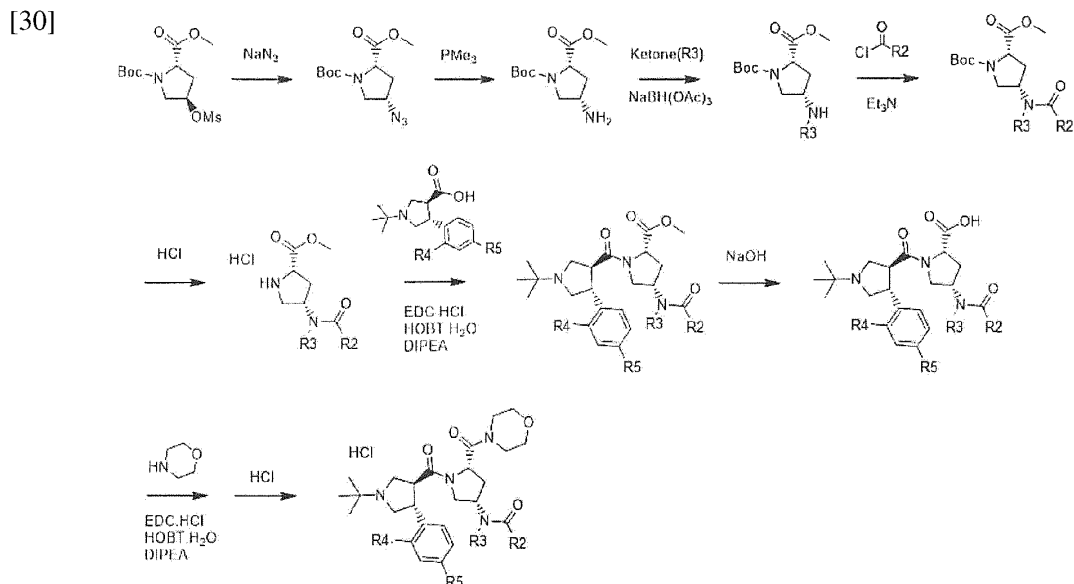
[25]

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

[27]

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

[29] [반응식 1]



[31]

[32] 상기 반응식 1에서,

[33] R₂는 C₁-C₅ 알킬이고;

[34] R₃는 비치환되거나 1개 또는 2개의 C₁-C₅ 알킬로 치환된 C₃-C₈ 사이클로알킬이며;

[35] R₄ 및 R₅는 각각 독립적으로 수소 또는 할로젠이다.

[36]

[37] 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 GLP-1 수용체 작용제는 펩타이드 약물 또는 저분자 화합물일 수 있다. 상기 저분자 화합물(small molecule)은 당 분야에서 통용되는 의미처럼 아미노산으로 구성된 펩타이드 약물이 아닌 대략 900 달톤 미만의 분자량을 갖는 유기 화합물을 일컫는다. 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 펩타이드 약물은 예를 들면, 세마글루타이드(semaglutide), 엑세나타이드(exenatide), 리라글루타이드(liraglutide), 리시세나타이드(lixisenatide), 알비글루타이드(albiglutide), 둘라글루타이드(dulaglutide), 베나글루타이드(benaglutide), 폴리에틸렌 글리콜 록세나타이드(PEG-loxanatide), 에페글레나타이드(efpeglenatide) 및 부로레나타이드(vurolenatide)로 이루어지는 그룹으로부터 선택될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 저분자 화합물은 다누글립론(danuglipron, PF-06882961) 또는

LY-3502970일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 GLP-1 수용체 작용제는 세마글루타이드(semaglutide), 엑세나타이드(exenatide), 리라글루타이드(liraglutide), 리시세나타이드(lixisenatide), 알비글루타이드(albiglutide) 및 둘라글루타이드(dulaglutide)로 이루어지는 그룹으로부터 선택될 수 있다. 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 GLP-1 수용체 작용제는 세마글루타이드(semaglutide) 또는 다누글립론(danuglipron, PF-06882961)일 수 있다.

[38]

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

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

[41]

[42] 본 발명에서 "약제학적 조성물"은 본 발명에 따른 활성 화합물에 추가하여 담체, 희석제, 부형제 등과 같은 다른 화학 성분들을 포함할 수 있다. 따라서, 상기 약제학적 조성물에는 필요에 따라 약제학적으로 허용되는 담체, 희석제, 부형제, 또는 이들의 조합이 포함될 수 있다. 약제학적 조성물은 생물체 내로 활성 화합물의 투여를 용이하게 한다. 화합물을 투여하는 다양한 기술이 존재하며, 여기에는 경구, 주사, 에어로졸, 비경구, 및 국소 투여 등이 포함되지만, 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

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

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

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

- [46] 본 발명에서 화합물은 목적하는 바에 따라 다양한 약제학적 투여 형태로 제형화될 수 있다. 본 발명에 따른 약제학적 조성물을 제조하는 경우, 유효 성분, 구체적으로 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을, 제조하고자 하는 제형에 따라 선택될 수 있는 다양한 약제학적으로 허용되는 담체와 함께 혼합한다. 예를 들어, 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 목적하는 바에 따라 주사용 제제, 경구용 제제 등으로 제형화될 수 있다.
- [47] 본 발명의 화합물은 공지된 제약용 담체와 부형제를 이용하는 공지의 방법으로 제제화되어 단위 용량 형태 또는 다용량 용기에 내입될 수 있다. 제제의 형태는 오일 또는 수성 매질 중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태일 수 있으며, 통상의 분산제, 현탁제 또는 안정화제를 함유할 수 있다. 또한, 예를 들어, 사용 전에 무균, 발열물질이 제거된 물에 녹여 사용하는 건조 분말의 형태일 수도 있다. 본 발명의 화합물은 또한, 코코아버터 또는 기타 글리세리드와 같은 통상의 좌약 기제를 이용하여 좌약형으로 제제화될 수도 있다. 경구 투여용 고체투여 형태는 캡셀제, 정제, 환제, 산제 및 과립제가 가능하고, 특히 캡셀제와 정제가 유용하다. 정제 및 환제는 장용피제로 제조하는 것이 바람직하다. 고체투여 형태는 본 발명의 화합물을 수크로오즈, 락토오즈, 전분 등과 같은 하나 이상의 불활성 희석제 및 마그네슘 스테아레이트와 같은 윤활제, 붕해제, 결합제 등과 같은 담체와 혼합시킴으로써 제조할 수 있다. 또한, 경피(transdermal) 투여 형태로 제제화될 수 있고, 예를 들면 로션, 연고, 젤, 크림, 패취 또는 분무제 등으로 제형화될 수 있다. 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 약제 또는 약제학적 조성물은 경구 제형일 수 있다.
- [48] 본 명세서에서 “예방”이란 질병에 걸릴 가능성을 감소시키거나 가능성을 제거하는 것이다.
- [49] 본 명세서에서 “치료”란 발병 증상을 보이는 객체에 사용될 때 질병의 진행을 중단, 지연 또는 완화시키는 것을 의미한다.
- [50]
- [51] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 다음의 (i) 및 (ii)의 세트를 포함하는 비만의 병용 예방 또는 치료용 키트가 제공된다:
- [52] (i) 글루카곤-유사 펩타이드-1(GLP-1) 수용체 작용제를 함유하는 제제, 및
- [53] (ii) 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 함유하는 제제.
- [54]
- [55] 본 발명에 따른 다른 구체예에서 상기 키트는 GLP-1 수용체 작용제를 함유하는 제제, 및 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 함유하는 제제의 동시, 순차적 또는 별도의 투여를 허용한다.
- [56]
- [57] 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 상기 각각의 활성성분을 함유하는 제제는 약제학적으로 허용되는 부형제를 추가로 포함할 수 있다.
- [58]

- [59] 본 발명에 따른 다른 구체예에서, 키트는 상기 활성성분을 함유하는 제제 이외에, 포장 용기, 취급 설명서, 첨부 문서 등을 포함할 수 있다. 포장 용기, 취급 설명서, 첨부 문서 등에는 물질을 병용하여 사용하기 위한 조합을 기재할 수 있다. 또한, 별개의 물질을 투여시에 병용하는 형태 또는 혼합물로서의 형태나, 용법, 용량 등을 기재할 수도 있다.

발명의 효과

- [60] 본 발명에 따르면, 상기 화학식 1의 멜라노코르틴-4 수용체(melanocortin-4 receptor, MC4R) 작용제 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염과 글루카곤-유사 펩타이드-1(GLP-1) 수용체 작용제의 병용 사용을 통한 상승적 효과로 인하여 우수한 체질 개선 효과 및 안전성을 가지며 비만을 효율적으로 예방 또는 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [61] 도 1은 식이 유도 비만(DIO) 마우스 모델에서 제조예의 화합물(이하 “시험 화합물”)과 세마글루타이드의 병용 투여에 따른 18일 동안 체중 감소 효과를 측정된 결과를 나타낸 그래프이다.
- [62] 도 2는 식이 유도 비만(DIO) 마우스 모델에서 시험 화합물과 세마글루타이드의 병용 투여에 따른 18일 후 체중 감소 효과를 측정된 결과를 나타낸 그래프이다.
- [63] 도 3은 식이 유도 비만(DIO) 마우스 모델에서 시험 화합물과 세마글루타이드의 병용 투여에 따른 3주 후 간 및 지방 무게 감소 효과를 측정된 결과를 나타낸 그래프이다.
- [64] 도 4는 식이 유도 비만(DIO) 마우스 모델에서 시험 화합물과 세마글루타이드의 병용 투여에 따른 18일 후 체중 감소 효과를 측정된 결과를 나타낸 그래프이다.
- [65] 도 5는 식이 유도 비만(DIO) 마우스 모델에서 시험 화합물과 PF-06882961의 병용 투여에 따른 28일 동안 사료 섭취량 감소 효과를 측정된 결과를 나타낸 그래프이다.
- [66] 도 6은 식이 유도 비만(DIO) 마우스 모델에서 시험 화합물과 PF-06882961의 병용 투여에 따른 28일 동안 체중 감소 효과를 측정된 결과를 나타낸 그래프이다.
- [67] 도 7은 식이 유도 비만(DIO) 마우스 모델에서 시험 화합물과 PF-06882961의 병용 투여에 따른 28일 후 체지방 질량 감소 효과를 측정된 결과를 나타낸 그래프이다.
- [68] 도 8은 식이 유도 비만(DIO) 마우스 모델에서 시험 화합물과 PF-06882961의 병용 투여에 따른 28일 후 내당능 개선 효과를 측정된 결과를 나타낸 그래프이다.

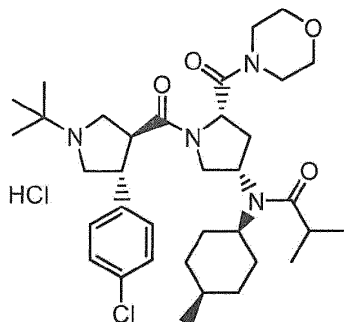
발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [69] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 구체적으로 설명한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명의 이해를 돕기 위하여 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[70]

- [71] 제조예: *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)아이소뷰티르아마이드 염산염의 합성

[72]



[73]

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

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

- [76] 메틸 (2*S*,4*S*)-4-(*N*-((1*S*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아미도)피롤리딘-2-카복실레이트 염산염 (28.7 g, 82.73 mmol), (3*S*,4*R*)-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 표제 화합물 (41.19 g, 87%)을 얻었다.

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

[78]

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

- [80] 상기 단계 A에서 얻은 메틸 (2*S*,4*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-부틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-4-(*N*-((1*S*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아미도)피롤리딘-2-카복실레이트 (39.4 g, 68.62 mmol)를 메탄올 (450 ml)에 녹인 후, 6N 수산화 소듐 수용액 (57.2 ml, 343.09 mmol)을 첨가하였다. 상온에서 16시간 동안 교반을 하고 6N 염산 수용액으로 pH 5 정도 맞춘 후, 반응 용액을 감압 농축시켰다. 농

축액을 다이클로로메탄으로 녹인 후, 녹지 않는 고체는 종이 필터로 여과하였다. 여과액을 감압 농축하여 crude (38.4 g, 99%)를 얻었고 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

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

[82]

[83] 단계 C: *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)아이소뷰티르아마이드의 제조

[84] 상기 단계 B에서 얻은 (2*S*,4*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-부틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-4-(*N*-((1*S*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소뷰티르아미도)피롤리딘-2-카복실산 (38.4 g, 68.60 mmol), 1-(3-다이메틸아미노프로필)-3-에틸카르보디이미드 염산염 (18.4 g, 96.04 mmol) 및 1-하이드록시벤조트리아졸 하이드레이트 (13.0 g, 96.04 mmol)를 *N,N'*-다이메틸폼아마이드 (200ml)에 녹인 후, 순차적으로 모르폴린 (5.9 ml, 68.80 mmol)과 *N,N'*-다이아이소프로필에틸아민 (59.7 ml, 343.02 mmol)를 천천히 첨가하였다. 상온에서 16시간 동안 교반을 하고 반응 용액을 감압 농축시킨 후, 0.5N 수산화 소듐 수용액을 넣고 에틸 아세테이트로 두 번 추출을 하였다. 유기층을 염화 소듐 수용액과 물로 두 번씩 씻어준 후, 무수 황산 마그네슘으로 건조 여과하였다. 여과액을 감압 농축하고 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물 (37.05 g, 86%)을 얻었다.

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

[86]

[87] 단계 D: *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)아이소뷰티르아마이드 염산염의 제조

[88] 상기 단계 C에서 얻은 *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)아이소뷰티르아마이드 (5.0 g, 7.95 mmol)를 에틸 아세테이트 (50 ml)에 녹인 후, 2N 염산 에틸 아세테이트 용액 (3.97 ml, 15.89 mmol)를 천천히 첨가하였다. 상온에서 30분 동안 교반을 시킨 후, 반응 용매를 감압 농축시켰다. 생성된 crude 고체는 헥산과 다이에틸 에테르를 사용하여 trituration으로 정제하여 표제 화합물 (5.23 g, 99%)를 얻었다.

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

[90] ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.49-7.44 (m, 4H), 4.83 (m, 1H), 4.23-4.20 (m, 1H), 3.95-3.91 (m, 2H), 3.79-3.47 (m, 14H), 3.03-3.00 (m, 1H), 2.86-2.82 (m, 1H), 2.73-2.67 (m, 1H), 2.20-2.14 (m, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.80-1.62 (m, 5H), 1.50 (s, 9H), 1.44-1.27 (m, 3H), 1.06-1.04 (m, 9H)

[91]

[92] 실시예 1: 체중감소 효과 측정

[93] 고지방 식이를 이용해 비만을 유도한 DIO(diet-induced obesity) 마우스 모델에서 GLP-1 수용체 작용제인 세마글루타이드(semaglutide, 상품명: Ozempic) 및 MC4R 작용제인 제조예에서 얻은 *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 염산염(이하에서 “시험 화합물”)을 18일 동안 반복 병용 투여하며 체중감소 효과를 측정하였다. 체중 측정은 1일 1회 시험물질 투여 전에 실시하였으며, 시험물질 투여 전 (D1) 무게 대비 체중 변화를 계산하여 도 1 및 2에 나타내었다. 단독 투여군 대비 병용 투여군에서의 체중감소 효과를 비교함으로써 GLP-1 수용체 작용제와 시험 화합물의 병용 투여에 의한 효과를 확인하였다. 그 결과, 도 1 및 2로부터 볼 수 있듯이, GLP-1 수용체 작용제인 세마글루타이드와 시험 화합물을 병용 투여 시 상승적인 체중감소 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

[94]

[95] 실시예 2: 간/지방 무게 감소 효과 측정

[96] 고지방 식이를 이용해 비만을 유도한 DIO(diet-induced obesity) 마우스 모델에서 GLP-1 수용체 작용제인 세마글루타이드(semaglutide, 상품명: Ozempic) 및 MC4R 작용제인 시험 화합물을 3주 간 반복 병용 투여한 후 간 및 지방 무게 감소 효과를 측정하여 그 결과를 도 3에 나타내었다. 도 3으로부터 볼 수 있듯이, GLP-1 수용체 작용제인 세마글루타이드와 시험 화합물을 병용 투여 시 상승적인 간 무게 및 지방 무게 감소 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

[97]

[98] 비교예

[99] 고지방 식이를 이용해 비만을 유도한 DIO(diet-induced obesity) 마우스 모델에서 GLP-1 수용체 작용제인 세마글루타이드(semaglutide, 상품명: Ozempic)와 함께 MC4R 작용제인 시험 화합물 또는 펩타이드 MC4R 작용제인 세트멜라노타이드(setmelanotide (RM-493), 이하에서 “비교 물질”)을 18일 동안 반복 병용 투여한 후 체중감소 효과를 비교하였다. 시험 화합물과 비교 물질의 투여 용량은 단독 투여 시 약효를 나타내는 용량으로 선정하여 시험을 진행하였다(시험 화합물: 15 mg/kg/day, 비교 약물: 3 mg/kg/day). 체중 측정은 1일 1회 시험물질 투여 전에 실시하였으며, 시험물질 투여 전 (D1) 무게 대비 18일 후의 체중 변화를 계산하여 도 4에 나타내었다. GLP-1 수용체 작용제와의 병용 투여에 의한 효과를 비교한 결과, 도 4에서 볼 수 있듯이, 병용 투여군에서 유의적인 수준의 상승적인 체중감소 효과를 보인 시험 화합물과 달리, 비교 물질의 경우 병용 투여군에서 상승적인 체중 감소 효과를 확인할 수 없었다.

[100]

[101] 실시예 3: PF-06882961(danuglipron)와의 병용 실험

[102] 고지방 식이를 이용해 비만을 유도한 DIO(diet-induced obesity) 마우스 모델에서 경구 GLP-1 수용체 작용제인 PF-06882961 (danuglipron) 및 MC4R 작용제인 시

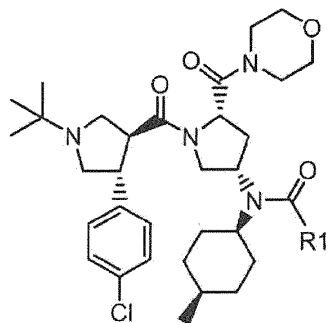
험 화합물을 4주 동안 반복 병용 투여하면서 사료 섭취량과 체중의 변화를 측정하였다. 사료 섭취량 및 체중 측정은 1일 1회 시험물질 투여 전에 실시하였고, 시험물질 투여 전 (D1) 무게 대비 체중 변화를 계산하였으며, 그 결과를 각각 도 5 및 6에 나타내었다. 또한, 시험물질 투여 후 28일째에 체지방 질량(body fat mass)과 경구당부하검사(oral glucose tolerance test)를 측정하여 그 결과를 각각 도 7 및 8에 나타내었다. 체지방 질량은 ¹H-Mini-spec system (LF-90II, Bruker Optics GmbH, Germany)을 사용하여 측정하였고, 혈당은 꼬리 정맥으로부터 수집된 혈액 샘플을 GM9 (Analox Instruments Ltd., UK)을 사용하여 측정하였다.

- [103] 도 5 및 6으로부터 볼 수 있듯이, GLP-1 수용체 작용제인 PF-06882961과 시험 화합물을 병용 투여 시 각각의 단독 투여 대비 사료 섭취의 유의성 있는 감소에 비례하는 상승적인 체중감소 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 도 7 및 8에서 볼 수 있듯이, 병용 요법이 단독 투여 대비 체지방 질량의 감소 및 당내성(glucose tolerance)의 향상에 있어 훨씬 큰 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

청구범위

- [청구항 1] 글루카곤-유사 펩타이드-1(GLP-1) 수용체 작용제와 병용하기 위한, 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물:

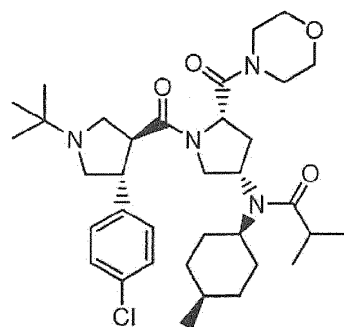
[화학식 1]



상기 화학식 1에서, R1은 C₂-C₅ 알킬이다.

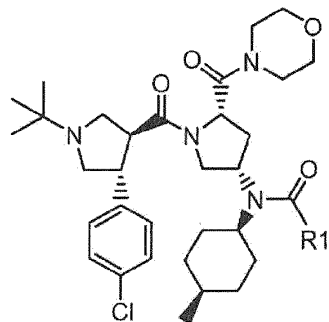
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물이 하기 화학식 2의 *N*-((3*S*,5*S*)-1-((3*S*,4*R*)-1-(*tert*-부틸)-4-(4-클로로페닐)피롤리딘-3-카보닐)-5-(모르폴린-4-카보닐)피롤리딘-3-일)-*N*-((1*S*,4*R*)-4-메틸사이클로헥실)아이소부티르아마이드인 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물:

[화학식 2]



- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 약제학적으로 허용되는 염이 염산염, 황산염, 질산염, 인산염, 브롬화수소산염 및 요오드화수소산염으로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 GLP-1 수용체 작용제가 펩타이드 약물 또는 저분자 화합물인 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 5] 다음의 (i) 및 (ii)의 세트를 포함하는 비만의 병용 예방 또는 치료용 키트:
 (i) 글루카곤-유사 펩타이드-1(GLP-1) 수용체 작용제를 함유하는 제제, 및
 (ii) 하기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 함유하는 제제:

[화학식 1]

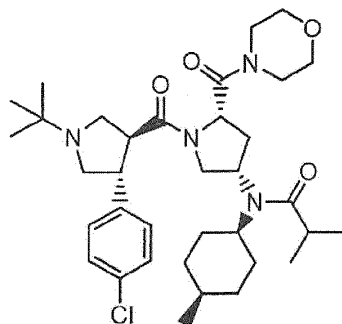


상기 화학식 1에서, R1은 C₂-C₅ 알킬이다.

[청구항 6]

제5항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물이 하기 화학식 2의 *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)아이소부티르아마이드인 것을 특징으로 하는 비만의 병용 예방 또는 치료용 키트:

[화학식 2]



[청구항 7]

제5항에 있어서, 상기 약제학적으로 허용되는 염이 염산염, 황산염, 질산염, 인산염, 브롬화수소산염 및 요오드화수소산염으로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 비만의 병용 예방 또는 치료용 키트.

[청구항 8]

제5항에 있어서, 상기 GLP-1 수용체 작용제가 펩타이드 약물 또는 저분자 화합물인 것을 특징으로 하는 비만의 병용 예방 또는 치료용 키트.

[청구항 9]

제5항에 있어서, GLP-1 수용체 작용제를 함유하는 제제, 및 상기 화학식 1의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 함유하는 제제가 동시에, 순차적으로 또는 별도로 투여되는 것을 특징으로 하는 비만의 병용 예방 또는 치료용 키트.