



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0112568
(43) 공개일자 2023년07월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/605 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01) C07K 14/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07K 14/605 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0008488
(22) 출원일자 2023년01월20일
심사청구일자 없음

(30) 우선권주장
63/301,311 2022년01월20일 미국(US)
22154309.3 2022년01월31일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
노보 노르디스크 에이/에스
덴마크 박스바에르트 (우편번호 디케이-2880) 노
보 알레 1

(72) 발명자
크너 패트릭 제임스
미국 인디애나 46241 인디애나폴리스 익스플로레
이션 드라이브 5225
피난 브라이언 패트릭
미국 인디애나 46241 인디애나폴리스 익스플로레
이션 드라이브 5225

(74) 대리인
특허법인와이에스장

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **프로드러그 및 이의 용도**

(57) 요약

디펩티드가 아미드 결합을 통해 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용체에 연결됨으로써 변형된 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용체의 프로드러그 화합물이 제공된다. 본원에 개시된 프로드러그은 연장된 반감기를 가지며, 생리학적 조건에서 화학적 불안정성에 의해 유도되는 비-효소적 반응을 통해 활성 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용체로 전환된다.

(52) CPC특허분류

A61P 3/10 (2018.01)

C07K 14/001 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

식 I의 화합물:

B-Z (식 I)

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 아마이드, 또는 에스테르로서,

식 중 B는 디펩티드 또는 이의 유도체이고;

Z는 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제 또는 이의 유도체이고;

GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 아미노산 서열은

YX₂EGTX₆TSDYSX₁₂X₁₃LX₁₅X₁₆X₁₇AX₁₉X₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLX₂₇X₂₈GX₃₀X₃₁X₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇X₃₈X₃₉(서열번호 1)이고, 식 중

X₂는 Aib 또는 A이고,

X₆은 F 또는 V이고,

X₁₂는 I 또는 Y이고,

X₁₃은 Y, A, L, I, 또는 Aib이고,

X₁₅는 D 또는 E이고,

X₁₆은 K 또는 E이고,

X₁₇은 Q 또는 I이고,

X₁₉는 A 또는 Q이고,

X₂₀은 Q, R, E, H, 또는 K이고,

X₂₁은 A 또는 E이고,

X₂₃은 I 또는 V이고,

X₂₄는 E, Q, 또는 N이고,

X₂₇은 L 또는 I이고,

X₂₈은 A 또는 R이고,

X₃₀은 G이거나 없고,

X₃₁은 P이거나 없고,

X₃₂는 E, S이거나 없고,

X₃₃은 S, K이거나 없고,

X₃₄는 G이거나 없고,

X₃₅는 A이거나 없고,

X₃₆은 P이거나 없고,

X₃₇은 P이거나 없고,

X₃₈은 P이거나 없고,

X₃₉는 S이거나 없으며;

GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 N-말단 아미노기는 펩티드 결합을 통해 B에 연결되는, 화합물.

청구항 2

제1항에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 아미노산 서열은 다음과 같고:

Y-Aib-EGTFTSDYSILLEX₁₆QAAREFIEWLLAGGPSX₃₃GAPPPS (서열번호 3), 식 중

X₁₆은 K 또는 E이고,

X₃₃은 S 또는 K인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, X₁₆은 E이고 X₃₃은 K인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, X₁₆은 K이고 X₃₃은 S인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제는 치환기 z를 포함하고, 치환기 z는 위치 16 또는 33에서 리신(K)을 통해 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제에 부착되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

청구항 6

제5항에 있어서, 치환기 z는 화학식 7, 화학식 8, 화학식 10, 및 화학식 11로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 디펩티드 B는 식 II의 것이고:

X-Y (식 II),

식 중 X는 X의 알파-카르복시산기와 Y의 알파-아미노기 사이에 형성된 아마이드 결합을 통해 Y에 연결된 임의의 알파-아미노산이고,

Y는 Y의 알파-카르복시산기와 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 N-말단 아미노기 사이에 형성된 펩티드 결합을 통해 Z에 연결된 N-알킬화된 알파-아미노산인, 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

청구항 8

제7항에 있어서, Y는 사르코신, N-세크-부틸글리신, 프롤린, 트랜스-4-하이드록시프롤린, N-메틸글루타메이트, N-메틸노르류신, N-메틸호모알라닌, N-메틸알라닌, N-메틸리신, N-(2-아미노에틸)글리신, N-헥실호모알라닌, N-프로필알라닌, 호모프롤린, N-프로필글리신, N-에틸글리신, 및 N-메틸페닐알라닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물.

청구항 9

제7항 또는 제8항에 있어서, X는 리신, 4-아미노페닐알라닌, D-리신, 알라닌, 글리신, 프롤린, D-발린, 호모프롤린, D-프롤린, D-호모프롤린, D-알라닌, 및 아제티딘-2-카르복시산으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물.

청구항 10

제7항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, Y는 사르코신 또는 N-(2-아미노에틸)글리신인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.

청구항 11

제7항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, X는 리신, D-리신, 및 글리신으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.

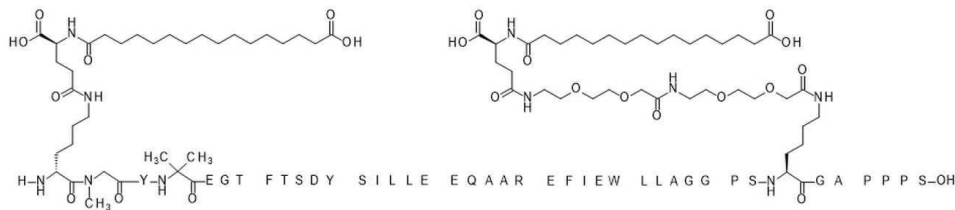
청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 디펩티드는 치환기 b를 갖고, 임의로 치환기 b는 화학식 16, 화학식 17, 화학식 18, 화학식 19, 화학식 20, 화학식 21, 및 화학식 22로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.

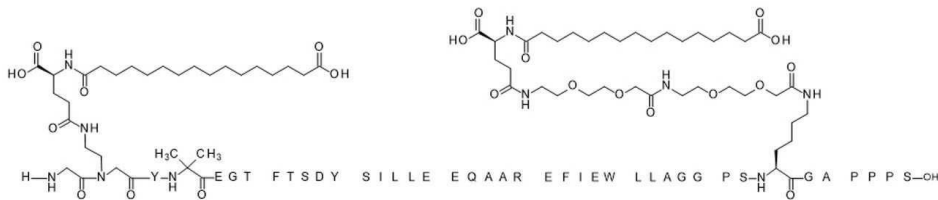
청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물:

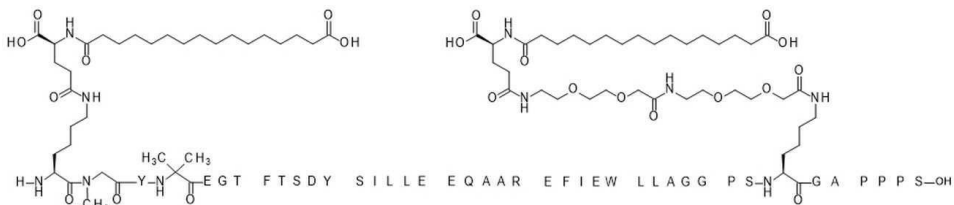
화합물 번호 1



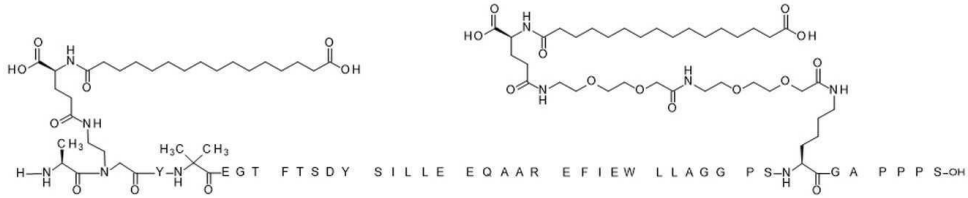
화합물 번호 2



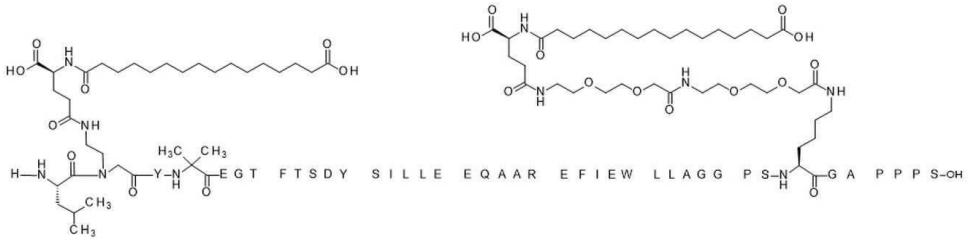
화합물 번호 3



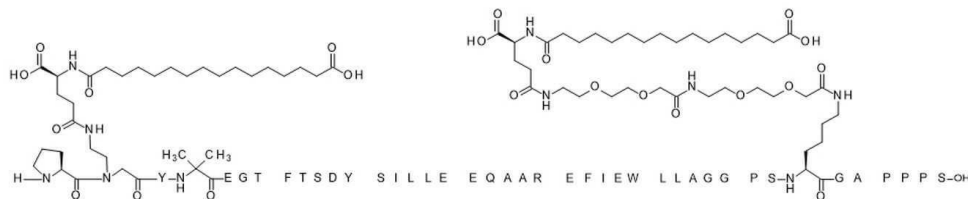
화합물 번호 4



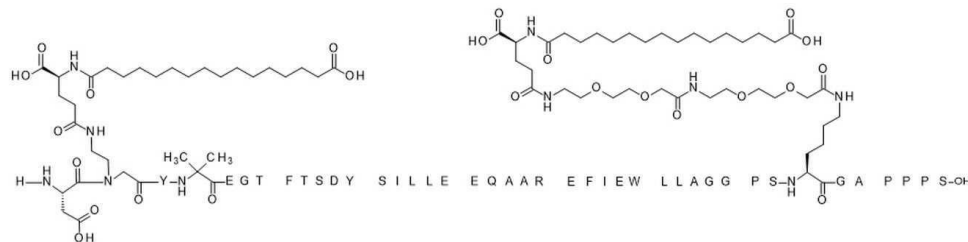
화합물 번호 5



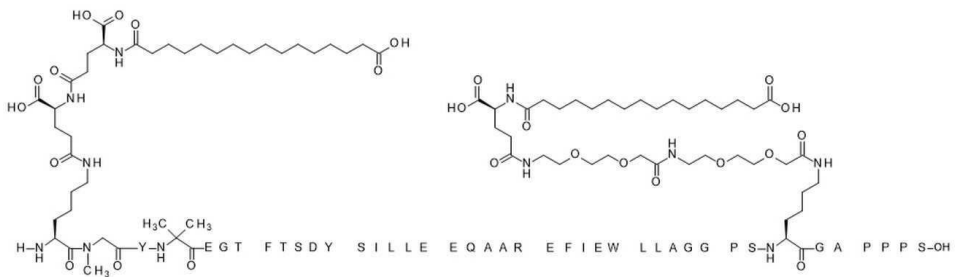
화합물 번호 6



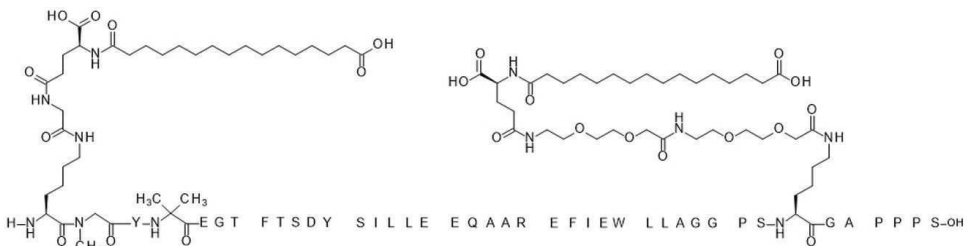
화합물 번호 7

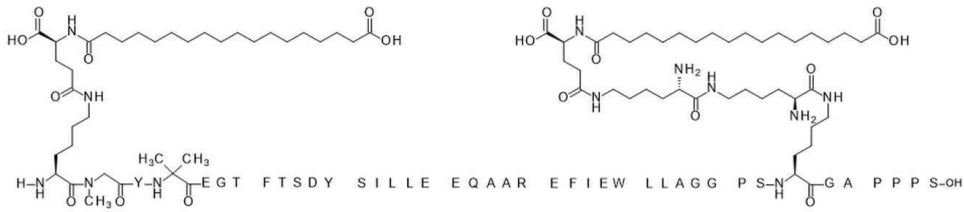


화합물 번호 8

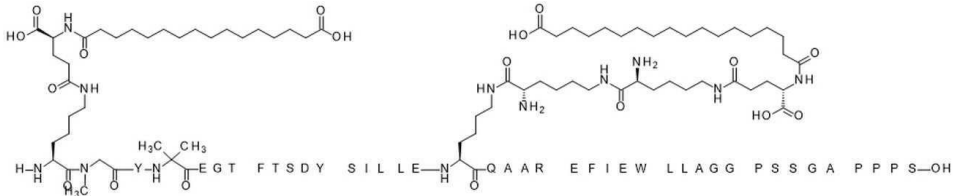


화합물 번호 9

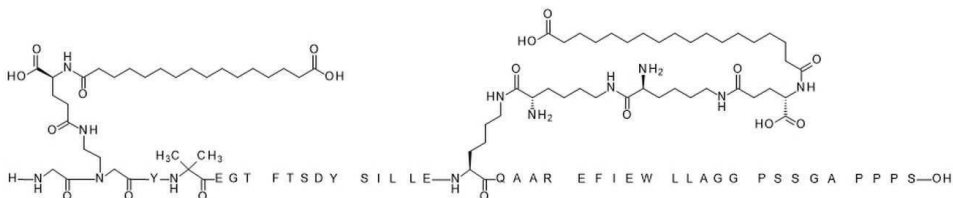




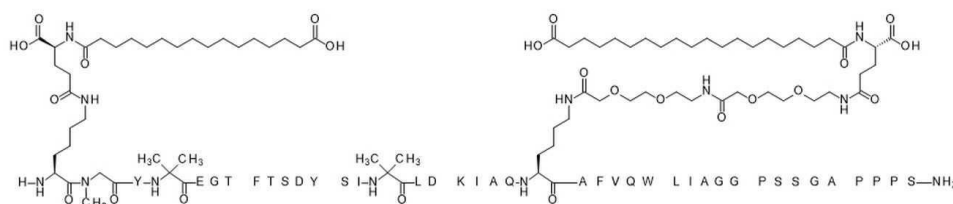
화합물 번호 16



화합물 번호 17



화합물 번호 18



청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 의약으로서 사용하기 위한, 화합물.

청구항 15

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 2형 당뇨병의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한, 화합물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 연장된 작용 프로파일을 갖고 인간에게 경구 투여하기에 적합한 글루카곤-유사 펩티드 1(GLP-1) 수용체 및 포도당-의존적 인슐린 방출성 폴리펩티드(GIP) 수용체의 공동-작용제인 화합물의 2,5-디케토피페라진(DKP) 기반 프로드러그 및 이의 치료적 용도에 관한 것이다.

[0003] 참조에 의한 서열 목록의 통합

[0004] 본 출원은 전자 형식의 서열 목록과 함께 출원된다. 서열 목록의 전체 내용은 참조로서 본원에 통합된다.

배경기술

[0005] 많은 치료적 활성제는 흡수 불량 또는 초회 통과 대사에 대한 민감성으로 인해 경구 투여 후 낮은 생체이용률을

경험한다(예: Salama N. N., Fasano A., Thakar M., Eddington N. D.의 문헌[The impact of ΔG on the oral bioavailability of low bioavailable therapeutic agents, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2005, 312, 199-205]).

[0006] 프로드러그는 그 자체로 거의 비활성이지만 활성 분자 엔티티로 예측 가능하게 변환되는 치료제이다.(예: Testa B., Mayer J. M의 문헌[Hydrolysis in Drug and Prodrug Metabolism, Wiley-VCH, 2003, page 4]). 프로드러그 화학은 약물이 투여 부위로부터 제거된 후 약물 작용의 개시와 지속 기간, 및 혈장 내에서 고도로 정의된 농도로 평형화하는 것을 정확하게 조절할 수 있는 기회를 제공한다. 오늘날 임상에서 사용되는 대부분의 프로드러그는 활성 약물로 전환되기 위해 효소 촉매를 필요로 한다. 위장 흡수 후 혈류에서 유리되어야 하는 약물에는 종종 효소 촉매를 통한 프로드러그 접근법이 사용된다. 일반적인 프로드러그 접근법은 에스테라아제-촉매된 가수분해에 의해 활성 약물로 쉽게 전환되는 약물의 에스테르 유도체를 사용하는 것이다(예: Yu L.X., Straughn A.B., Faustion P.J., Yang Y., Parekh A., Ciavarella A.B., Asafu-Adjaye E., Mehta M.U., Conner D.P., Lesko L.J., Hussain A.S.의 문헌[The effect of food on the relative bioavailability of rapidly dissolving immediate-release solid oral products containing highly soluble drugs, *Mol. Pharm.* 2004, 1, 357-362]) 대부분의 효소 절단의 단점은 환자간 변동성이다. 효소 수준은 개체들 간에 상당히 상이할 수 있으며, 이로 인해 효소 절단에 의한 프로드러그 활성화에 생물학적 차이가 발생한다. 효소 수준은 투여 부위에 따라 달라질 수도 있다. 예를 들어, 피하 주사의 경우, 신체의 특정 부위는 다른 부위보다 더 예측 가능한 치료 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다. 이러한 예측 불가능한 효과를 감소시키기 위해, 비-효소적 절단 또는 분자 내 촉매 작용이 특히 각광받는다(예: Testa B., Mayer J. M의 문헌[Hydrolysis in Drug and Prodrug Metabolism, Wiley-VCH, 2003, page 5]).

[0007] DKP-기반 프로드러그 기술은, 2개의 알파-아미노산으로 이루어진 모이어티가 고리화하여 6-원 고리를 형성하고 동시에 활성 약물을 유리시키는 화학적 전환에 기초한다. DKP-기반 프로드러그 기술은 이전에 기술된 적이 있다. 예를 들어, WO2010/071807, WO2010080605, WO2011/163012, 및 WO 2011/162968에는 아마이드 결합을 통해 예를 들어 글루카곤 상과 펩티드 또는 다른 알려진 약제에 연결된 다양한 펩티드 기반 프로드러그가 기술되어 있다. WO2014152460 및 WO2016049174에는 연장된 반감기를 갖는 인슐린과 글루카곤 상과 펩티드로 이루어진 펩티드 기반 프로드러그가 기술되어 있다.

[0008] 예를 들어 GLP-1 및 GIP의 작용을 하나의 제제에 조합하는 것에 의한 GLP-1 및 GIP 수용체의 이중 활성화가 시판 중인 GLP-1 작용제인 리라글루티드와 비교해 2형 당뇨병(T2D) 및 비만증을 가진 마우스에서 혈당 수준의 상당히 더 양호하게 감소시키고, 인슐린 분비를 증가시키고, 체중을 감소시킨다는 치료 원리로 이어지는 것으로 기술되어 있다(예: V A Gault 등의 문헌[Clin Sci (Lond), 121, 107-117, 2011]). 고유 GLP-1 및 GIP는 인간에게 공동 주입된 후 부가적인 방식으로 상호작용하고, GLP-1 단독과 비교하여 인슐린분비 효과를 유의하게 증가시킨다는 것이 입증되었다(M A Nauck 등의 문헌[J. Clin. Endocrinol. Metab., 76, 912-917, 1993]).

[0009] GLP-1/GIP 공동-작용제 및 이들의 잠재적 의료적 용도는 WO 2010/011439, WO 2013/164483, WO 2014/192284, WO 2015/067715, WO 2015/022420, WO 2015/086728, WO 2015/086729, WO 2016/111971, WO 2020/023386, US 9745360, US 2014/162945, 및 US 2014/0357552와 같은 여러 특허 출원에 기술되어 있다. GLP-1 유도체의 경구 전달이 개시된 특허 출원은 예를 들어 WO 2011/080103, WO 2012/080471, WO 2013/189988, 및 WO 2019/149880에 기술되어 있다.

[0010] 그러나, 경구 투여에 적합하고 GIP 및 GLP-1 수용체에서 작용제 활성을 갖는 화합물에 대한 요구가 여전히 존재한다. 이러한 화합물의 투여 빈도를 줄이기 위해서는 GIP 및 GLP-1 수용체 모두에서 연장된 작용 지속 기간을 갖는 화합물이 바람직하다. 따라서, T2D와 같은 질환을 치료함에 있어서 완전한 효능을 실현하기 위해 작용 기간이 더 긴 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제가 필요하다.

발명의 내용

[0011] 펩티드 기반 약물은 매우 효과적인 약물로서, 작용 기간이 비교적 짧고 치료 지수가 가변적이다. 약물을 특정 투여 요법에 적합하게 하는(예: 1주 1회 투여) 방식으로 약물의 특성을 최적화하는 데 프로드러그 기술이 사용될 수 있다. 프로드러그는 생체 내에서 효소적 또는 비-효소적 화학 과정에 의해 전환되어 생물학적 활성 약물 분자(본원에서 활성 약물로 지칭됨)를 서서히 유리시킨다.

[0012] 본 개시는, 바람직한 특성을 갖는 (예: 1주 1회 경구 투여용) GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제 프로드러그에 관한 것이다. 본원에 기술된 프로드러그는 활성 약물, 즉 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 작용 개시를 지연시키고

반감기를 연장시키도록 설계된다. 작용 개시의 지연은, 프로드러그가 활성화되기 전에 전신에 분포시킬 수 있다는 점에서 유리하다. 따라서, 프로드러그의 투여는 투여 시 피크 활성화에 의해 야기되는 합병증을 제거할 수 있고 활성 약물의 치료 지수를 증가시킨다. 온전한 프로드러그는 활성 약물과 비교하여 유의한 정도로 생물학적 활성을 발휘하지는 않는다. 생물학적 활성은 프로드러그가 전환될 때 유리되는 활성 약물에서 유래된다. 유리된 활성 약물과 비교하여 감소된 프로드러그의 생물학적 활성은 장점인데, 이는 비교적 많은 양의 프로드러그를 동반 부작용과 과량 투여의 위험 없이 투여할 수 있기 때문이다.

[0013] 본 발명은 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제 프로드러그에 관한 것이다. 또한 또는 대안적으로, 본 발명은 생체내 최종 반감기가 연장된 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제 프로드러그에 관한 것이다.

[0014] 제1 양태에서, 본 발명은 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 프로드러그인 화합물에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 화합물은 식 I: B-Z를 포함하며, 식 중 Z는 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제(활성 약물)이고, B는 디펩티드("디펩티드 B")이고, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 N-말단 아미노기는 펩티드 결합을 통해 B에 연결된다. 일부 구현예에서, 디펩티드 B는 공유 연결된 모이어티, 예컨대 포유류 혈청 알부민과 같은 포유류 혈장 단백질과 비공유 결합 상호작용을 형성할 수 있는 치환기를 포함한다. 일부 구현예에서, 디펩티드 B는, 활성 약물(GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제)을 방출하고 부산물로서 2,5-디케토포피페라진(DKP)을 형성하는 분자내 반응을 통해 활성 약물 Z로부터 절단될 수 있다. 일부 구현예에서, 분자내 반응은 생리학적 조건 하에서 발생한다. 또한 또는 대안적으로, 일부 구현예에서, 분자내 반응은 효소 활성이 없는 상태에서 발생한다.

[0015] 제2 양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 것과 같은 화합물을 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0016] 제3 양태에서, 본 발명은 의약으로서 사용하기 위한 본원에 기술된 것과 같은 화합물 또는 본원에 기술된 것과 같은 화합물을 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0017] 하나의 관능적 양태에서, 본 발명은 1주 1회 투여에 적합한 전환 반감기를 갖는 프로드러그(예: 본원에 기술된 것과 같은 화합물)를 제공한다. 또한 또는 대안적으로, 또 다른 관능적 양태에서, 본 발명은 관찰된 최종 반감기가 1주 1회 투여에 적합한 프로드러그를 제공한다. 또한 또는 대안적으로, 또 다른 관능적 양태에서, 본 발명은 놀랍게도 높은 경구 생체이용률을 갖는 프로드러그를 제공한다.

[0018] 본 발명의 추가의 양태는 본원에 기술된 화합물의 의학적 용도에 관한 것이다. 또한 또는 대안적으로, 본 발명은 2형 당뇨병의 예방 및/또는 치료를 위한 본원에 기술된 화합물의 용도에 관한 것이다. 또한 또는 대안적으로, 본 발명은 비만증의 예방 및/또는 치료를 위한 본원에 기술된 화합물의 용도에 관한 것이다. 또한 또는 대안적으로, 본 발명은 간 질환의 예방 및/또는 치료를 위한 본원에 기술된 화합물의 용도에 관한 것이다.

[0019] 본 발명의 추가의 양태는 본원에 기술된 것과 같은 화합물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여함으로써 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 질환은 2형 당뇨병이다. 일부 구현예에서, 질환은 과체중이다. 일부 구현예에서, 질환은 비만증이다.

[0020] 본 발명은 추가의 문제를 해결할 수도 있으며, 이는 예시적인 구현예의 개시로부터 명백해질 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 다음에서, 그리스 문자는 고유 기호 또는 상응하는 명칭으로 표시될 수 있다(예: α = 알파; β = 베타; ϵ = 엡실론; γ = 감마; ω = 오메가 등). 또한, 그리스 문자 μ 는 "u"로 표시될 수 있다(예: $\mu 1 = u1$, 또는 $\mu M =$

uM). 화학 도면에서의 기호 $\frac{2}{3}$ 는 이웃하는 모이어티에 대한 부착 지점을 나타낸다. 다음에서, 명세서에 달리 표시되지 않는 한, 단수 형태로 제시된 용어는 복수의 상황도 포함하며, 예를 들어 "화합물"을 지칭할 때, 이는 상기 화합물의 광범위한 정의에 포함되는 모든 개별 변이체를 포괄하는 것으로 이해해야 한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 단수 표현("a")은 "하나 이상"을 의미한다. 본 발명은 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 프로드러그, 예컨대 바람직한 특성(예: 1주 1회 투여용)을 갖는 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 프로드러그인 화합물에 관한 것이다. 화합물은 생리학적 조건 하에서 조절된 방식으로 활성 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제(활성 약물)로 전환된다.

[0022] 제1 양태에서, 본 발명은 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 프로드러그인 화합물에 관한 것으로서, 상기 화합물은 식 I: B-Z를 포함하며, 식 중 Z는 프로드러그의 전환 시 B로부터 유리되는 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제(활성 약물)이다. 제2 양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 화합물을 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 추가의 양태는 본원에 기술된 화합물의 의학적 용도에 관한 것이다. 또한 또는 대안적으로, 본 발명은 2형

당뇨병의 예방 및/또는 치료를 위한 본원에 기술된 화합물의 용도에 관한 것이다. 또한 또는 대안적으로, 본 발명은 비만증의 예방 및/또는 치료를 위한 본원에 기술된 화합물의 용도에 관한 것이다. 또한 또는 대안적으로, 본 발명은 간 질환의 예방 및/또는 치료를 위한 본원에 기술된 화합물의 용도에 관한 것이다.

[0024] **일반 정의**

[0025] 용어 "화합물"은 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 프로드러그에 관한 것이다. 본 발명의 화합물은 "화합물"로서 지칭될 수 있고, 용어 "화합물"은 또한 이의 약학적으로 관련된 형태, 즉 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 아마이드, 또는 에스테르를 포괄하도록 의미를 갖는다.

[0026] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "폴리펩티드" 또는 "폴리펩티드 서열"은 아마이드 결합(예: 펩티드 결합)을 통해 상호 연결된 일련의 2개 이상의 아미노산을 지칭한다. 용어 폴리펩티드는 용어 "펩티드" 및 용어 "단백질"과 상호 교환적으로 사용된다.

[0027] 용어 "유도체"는 화학적으로 변형된 폴리펩티드(예: GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제)를 지칭하거나 하나 이상의 치환기(예를 들어 ε-아미노기에 대한 Lys의 결합을 통해) 폴리펩티드 또는 디펩티드의 아미노산 서열에 공유 결합된 디펩티드를 일반적으로 지칭한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 화합물은, 연장 특성을 갖는 하나 이상의 치환기가 폴리펩티드 또는 디펩티드의 아미노산 서열에 공유 연결되도록 변형된 유도체(예: GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 유도체 및/또는 디펩티드의 유도체)를 포함한다.

[0028] 용어 "디펩티드 유도체"는 디펩티드가 적어도 하나의 치환기(예: 본원에 기술된 것과 같은 치환기 b)를 갖도록 화학적으로 변형되는 것을 의미한다. 일부 구현예에서, 2개 이상의 치환기를 가질 수 있다.

[0029] 용어 "GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제 유도체"는 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제가 치환기를 갖도록 화학적으로 변형되는 것을 의미한다. 예를 들어, 이러한 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제 유도체는, 예를 들어 ε-아미노기에 대한 Lys의 결합을 통해 폴리펩티드의 아미노산 서열에 공유 결합된 하나 이상의 치환기를 포함할 수 있다.

[0030] 용어 "지방산에 접합된 아미노산"은, 지방산에 대한 공유 결합을 통하거나 바람직하게는 링커를 통해 지방산에 접합되도록 화학적으로 변형된 작용기를 갖는 임의의 단백질 생성 또는 비-단백질 생성 아미노산을 지칭한다. 이러한 작용기의 예는 아미노(예: Lys), 티올(예: Cys), 및 카르복실(예: Glu 또는 Asp)을 포함한다. 일부 구현예에서, 접합된 아미노산은 Lys이다. 작용기를 갖는 상기 단백질 생성 또는 비-단백질 생성 아미노산에 지방산을 접합시킬 때, 디-카르복시산(예: CO₂H-(CH₂)_n-CO₂H, 식 중 n = 10~22임)과 같은 지방산 전구체가 사용될 수 있다.

[0031] 용어 "지방산"은 포화 또는 불포화 지방족 사슬 또는 환형 탄화수소 사슬로 임의 치환된 카르복시산을 지칭한다. 일부 구현예에서, 지방산은 C₁₂-C₂₄ 포화 카르복시산, 예컨대 C₁₆-C₂₂ 포화 카르복시산이다. 일부 구현예에서, 지방산은 추가 작용기를 포함한다.

[0032] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "친유성 모이어티"는 총 탄소 원자가 6개 초과 30개 미만, 바람직하게는 8개 초과 20개 미만인 지방족 및/또는 환형 탄화수소 모이어티를 포함하는 모이어티를 지칭한다. 일부 구현예에서, 친유성 모이어티는 적어도 8개의 연속 -CH₂- 기를 함유하는 탄소 사슬을 포함한다. 일부 구현예에서, 친유성 모이어티는 적어도 10개의 연속 -CH₂- 기, 예컨대 적어도 12개의 연속 -CH₂- 기, 적어도 14개의 연속 -CH₂- 기, 적어도 16개의 연속 -CH₂-기, 또는 적어도 18개의 연속 -CH₂- 기를 포함한다. 일부 구현예에서, 친유성 모이어티는 6개 내지 30개(예: 6, 7, 8, 9개 등)의 연속 -CH₂- 기를 포함할 수 있다.

[0033] 친유성 모이어티의 맥락에서 본원에서 사용되는 용어 "원위 카르복시산"은, 인접 모이어티에 대한 친유성 모이어티의 부착점 대비 친유성 모이어티의 가장 먼(말단) 부착점에 부착된 카르복시산을 지칭하며, 예를 들어 본원에 기술된 것과 같은 화합물에서, 원위 카르복시산을 갖는 친유성 모이어티(예: 화학식 1)는 연장 모이어티이고, 카르복시산은 인접한 링커 요소(예: 화학식 2, 화학식 3, 화학식 4, 또는 화학식 5)에 대한 친유성 모이어티의 부착점 대비 친유성 모이어티의 가장 먼(말단) 부착점에 부착된다. 원위 카르복시산을 갖는 친유성 모이어티의 비제한적인 예는 화학식 1이다.

[0034] 용어 "치료 지수"는 약물이 독성으로 되는 혈중 농도와 약물이 효과적인 농도를 비교하는 비율을 기술한다. 치료 지수(TI)가 클수록 약물은 더 안전하다. TI가 작은 경우(두 농도 간의 차이가 매우 적은 경우), 약물을 신중

하게 투여해야 하며 약물을 투여받는 사람은 약물 독성의 징후에 대해 면밀히 모니터링해야 한다.

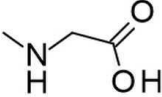
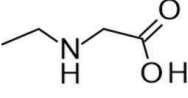
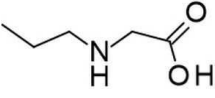
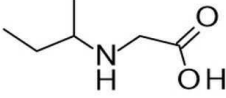
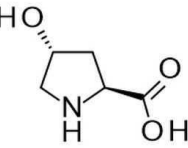
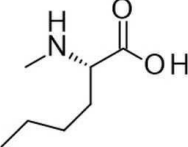
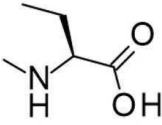
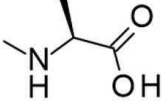
[0035] **아미노산**

[0036] 본원에서 사용되는 용어 "아미노산"은 임의의 아미노산, 즉, 단백질 생성 아미노산 및 비-단백질 생성 아미노산 둘 다를 지칭한다. 본원에서 사용되는 용어 "단백질 생성 아미노산"은 인간에서 유전자 코드에 의해 암호화된 20개의 표준 아미노산을 지칭한다. 본원에서 사용되는 용어 "비-단백질 생성 아미노산"은 단백질 생성 아미노산으로서 적격하지 않은 임의의 아미노산을 지칭한다. 비-단백질 생성 아미노산은 단백질에서는 발견되지 않거나, 표준 세포 기구에 의해 생성되지 않는다(즉, 번역 후 변형의 대상이 될 수 있다). 비-단백질 생성 아미노산의 비제한적인 예에는 Aib(α -아미노이소부티르산 또는 2-아미노시소부티르산), 노르류신, 노르발린뿐만 아니라 단백질 생성 아미노산의 D-이성질체도 있다.

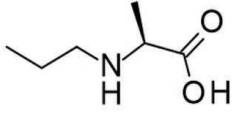
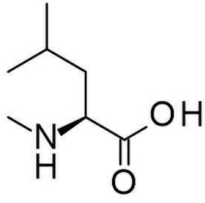
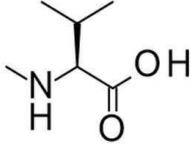
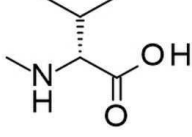
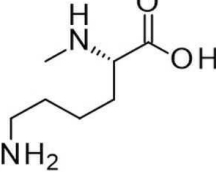
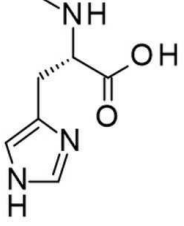
[0037] 일반적으로, 예를 들어 폴리펩티드 서열의 맥락에서 본원에서 사용된 것과 같은 아미노산 잔기는 이들의 완전한 명칭, 이들의 1자 코드, 및/또는 3자 코드에 의해 식별될 수 있다. 이들 세 가지 방법은 완전히 동등하며 상호 교환적으로 사용된다. 다음으로, 광학 이성질체가 명시되지 않은 본원에 기술된 것과 같은 펩티드의 각 아미노산은 (달리 명시되지 않는 한) L-이성질체를 의미하는 것으로 이해될 것이다. 본 발명의 화합물에 혼입할 수 있는 비-단백질 생성 아미노산의 예는 표 1에 나열되어 있다.

표 1

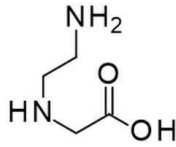
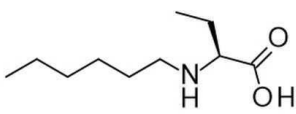
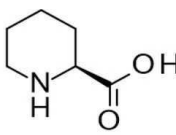
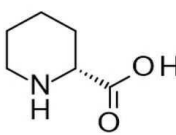
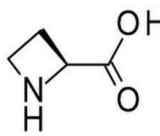
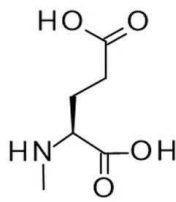
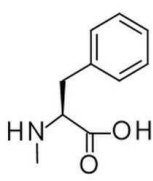
본 발명의 화합물에 혼입할 수 있는 비-단백질원성 아미노산의 비제한적인 예.

아미노산 명칭	아미노산 짧은 명칭	구조
N-메틸글리신, 사르코신	Sar	
N-에틸글리신	N-Et-Gly	
N-프로필글리신	N-Pr-Gly	
N-세크-부틸글리신	N-sBu-Gly	
트랜스-4-하이드록시-L-프롤린	Pro(4-OH)	
N-메틸-L-노르류신	N-Me-Nle	
N-메틸-L-호모알라닌	N-Me-homoAla	
N-메틸-L-알라닌	N-Me-Ala	

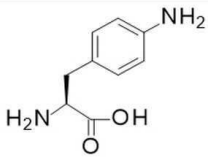
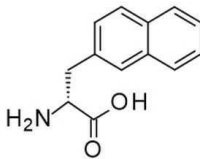
[0038]

N-프로필-L-알라닌	N-Pr-Ala	
N-메틸-L-류신	N-Me-Leu	
N-메틸-L-발린	N-Me-Val	
N-메틸-D-발린	N-Me-D-Val	
N-메틸-L-리신	N-Me-Lys	
N-메틸-L-히스티딘	N-Me-His	

[0039]

N-(2-아미노에틸)글리신	Aeg	
N-헥실-L-호모알라닌	N-Hex-homoAla	
L-호모프롤린	homoPro	
D-호모프롤린	D-homoPro	
(S)-아제티딘-2-카르복시산	Aze	
N-메틸-L-글루탐산	N-Me-Glu	
N-메틸-L-페닐알라닌	N-Me-Phe	

[0040]

4-아미노-L-페닐알라닌	Phe(4-NH ₂)	
2-나프틸-D-알라닌	D-2-Nal	

[0041]

[0042]

프로드러그

[0043]

본원에서 사용되는 용어 "프로드러그"는 생체 내에서 효소적 또는 비효소적 화학적 프로세스에 의한 화학적 전환을 거쳐 활성 약물을 유리시키는 화합물을 지칭한다. 본원에서 사용되는 용어 "활성 약물"은 프로드러그가 전환된 후 프로드러그로부터 유리되는 약리학적 활성 화합물을 지칭한다. 활성 약물의 비제한적인 예는 본원에 기

술된 것과 같은 부모 화합물 1-5이다. 프로드러그의 맥락에서 본원에서 사용되는 용어 "전환"은, 프로드러그가 효소적 또는 비-효소적 방식으로 전환되어 활성 약물을 유리시키는 프로세스를 지칭한다. 전환이 일어나는 속도는 "전환 반감기"에 의해 정량화될 수 있다. "전환 반감기"는 전환의 결과로서 프로드러그의 농도가 절반으로 감소되는 데 필요한 시간의 길이이다. "전환 반감기"는 "프로드러그 대 약물 전환 반감기" 또는 "프로드러그 대 활성 약물의 전환 반감기"로서 지칭될 수도 있다.

[0044] 프로드러그는 의도된 약리학적 활성을 상당한 정도로 발휘하지 않는다. 예를 들어 프로드러그는 의도된 약리학적 활성을 의도된 치료 요법과 비슷한 정도로 발휘하지 않는다. 프로드러그의 의도된 치료와 연관된 약리학적 활성은 활성 약물이 유리된 후 활성 약물로부터 유래된다. 활성 약물이 프로드러그로부터 유리될 때, 이는 활성 약물의 "유리 형태"라고 한다. 프로드러그는 말단 디펩티드-기반 아마이드 연장부가 분자내에서 고리화된 후 원하는 전환을 달성할 수 있으며, 여기서 연장부는 활성 약물로부터 절단되어 활성 약물을 이의 유리 형태로 유리시킨다. 이러한 분자내 고리화는 생리학적 조건 하에서, 예를 들어 2,5-디케토피페라진(DKP) 형성을 통해 효소 비 의존적 프로세스로서 이루어질 수 있다. DKP를 형성하는 상기 분자내 고리화를 통해 활성 약물로 전환되는 프로드러그에서, 전환 후 활성 약물이 유리되는 모이어티는 "DKP 모이어티"로서 지칭된다. "DKP 모이어티"는 디펩티드 모이어티(예: 디펩티드 또는 디펩티드 유도체)를 포함한다. 일부 구현예에서, 프로드러그는 DKP 모이어티의 디펩티드 모이어티와 활성 약물의 지방족 아민기 사이의 펩티드 결합과 같은 일시적인 아마이드 결합을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, DKP 모이어티는 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제 백본의 위치 1에서 아미노산의 알파-아미노기를 통해, 즉 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제 백본의 위치 1에서 DKP 모이어티의 카르복시산기와 Tyr의 알파-아미노기 사이에 형성된 아마이드 결합을 통해 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제에 부착된다. 일부 구현예에서, DKP 모이어티는 아실화를 통해, 즉 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제 백본에서 DKP 모이어티의 카르복시산기와 Tyr1의 알파-아미노기 사이에 형성된 아마이드 결합을 통해 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제 백본에서 Tyr1의 아미노기에 부착된다.

[0045] 전환 반감기는 DKP 모이어티의 구조적 성질에 의해 영향을 받을 수 있다. 예를 들어, 바람직한 전환 반감기는 본원에서 예시된 것과 같이 디펩티드 B를 사용함으로써 획득될 수 있다. 전환 반감기는 DKP 모이어티가 연결되는 활성 약물의 아미노산의 구조적 성질에 의해 영향을 받을 수 있다. 일부 구현예에서, 바람직한 전환 반감기는 본원에서 예시된 활성 약물의 N-말단 아미노산 잔기를 사용함으로써 획득될 수 있다. 일부 구현예에서, DKP 모이어티는 활성 약물에 부착된 디펩티드-기반 연장부이다. 일부 구현예에서, DKP 모이어티는 추가의 구조적 요소, 예를 들어 디펩티드에 공유 결합된 치환기(본원에서 "디펩티드 유도체"로도 지칭됨)를 포함한다. 프로드러그가 전환되고 활성 약물이 방출된 후, DKP는 부산물로서 형성된다. DKP는 비활성일 수 있거나 약리학적 활성과 관련이 있을 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 프로드러그의 전환은 주로 비-효소적 방식으로 발생한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 프로드러그의 전환은 비-효소적 방식으로만 발생한다.

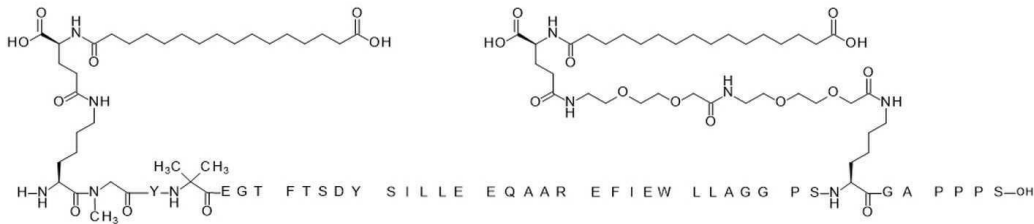
[0046] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 화합물은 프로드러그 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드이다. 일부 구현예에서, 프로드러그는 식 I에 따른 화합물이며, 여기서 B는 치환기 b를 임의로 포함하는 디펩티드이고, 치환기 b는 프로트랙터 및 임의로 링커를 포함하거나 이들로 구성된다. 일부 구현예에서, Z는 치환기 z를 갖는 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제이고; 여기서 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 N-말단 아미노기는 펩티드 결합을 통해 B에 연결된다. 본 발명의 일부 구현예에서, B는 DKP 모이어티이다.

[0047] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 화합물은 DKP 모이어티를 포함한다.

[0048] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 화합물은 DKP 모이어티 및 활성 약물을 포함하는 프로드러그를 포함한다. 일부 구현예에서, 활성 약물은 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제(예: 활성 약물 Z)이다. 일부 구현예에서, DKP 모이어티는 하나 이상의 치환기를 임의로 갖는 디펩티드(예: 디펩티드 B)를 포함한다.

[0049] 활성 약물로서 DKP 모이어티 및 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제를 포함하는, 본원에 기술된 것과 같은 화합물(본원에서 "프로드러그"로도 지칭됨)에 사용된 명명법의 일례가 하기에 제공된다: K[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]-Sar-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEQAAREFIEWLLAGGPS-K[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]-GAPPPS-OH. 이 화합물에서 DKP 모이어티는 아마이드 결합을 통해 상호연결된 Lys 잔기 및 Sar 잔기를 포함한다. 모이어티 (4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일은 아마이드 결합을 통해 디펩티드의 Lys 잔기의 ε-질소 원자에 공유 연결되고, 모이어티 2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미노]에톡시]에톡시] 아세틸은 아마이드 결합을 통해 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 Lys 잔기의 ε-질소 원자에 공유 연결된다. Sar 잔기의 카르복실기는 아마이드

결합을 통해 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 아미노산 서열의 N-말단 아미노기에 공유 연결된다. 화합물의 전체 구조가 아래에 예시되어 있다:



[0050]

[0052] 치환기

[0053] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치환기"는 디펩티드 또는 폴리펩티드(예: GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제)의 아미노산에 공유 부착된 모이어티를 지칭한다. 일부 구현예에서, 치환기 z는 Lys를 통해 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제에 부착된다. 일부 구현예에서, 치환기 b는 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 DKP 모이어티, 예컨대 본 발명의 화합물에 존재하는 디펩티드 모이어티(예: 디펩티드 B)의 아미노산 잔기에 부착되어 DKP 모이어티의 일부를 형성한다. 치환기가 폴리펩티드 또는 디펩티드에 부착되는 경우, 폴리펩티드 또는 디펩티드는 "치환되었다"고 한다. 치환기가 폴리펩티드에 또는 아미노산 잔기에 공유 부착될 때, 상기 폴리펩티드 또는 아미노산은 치환기를 "갖는다"고 한다. 치환기는 일련의 개별적으로 정의된 모이어티를 포함할 수 있고; 이들 모이어티는 "치환기 요소"로서 지칭될 수 있다. "치환기 요소"의 비제한적인 예는 "프로트랙터" 및 "링커"이다.

[0054] 치환기는 알부민과 비공유 결합 상호작용을 형성하여, 혈류에서 화합물의 순환을 촉진함으로써, 화합물이 혈류 내에 존재하는 시간을 연장시키는 효과를 가질 수 있는데, 이는 치환기 보유 화합물과 알부민의 응집체가 오직 서서히 분해되어 화합물의 유리 형태를 방출하기 때문이다. 따라서, 치환기는 그 전체로서 "알부민-결합 모이어티"로서 지칭될 수도 있고, 치환기는 "연장 효과"를 갖는다고 말할 수 있다. 치환기는 알부민 결합 및 이에 의한 연장(protraction)과 특히 관련된 부분을 포함하는데, 이 부분은 "프로트랙터(protractor)" 또는 "연장 모이어티"로서 지칭될 수 있다. 용어 "프로트랙터" 및 "연장 모이어티"는 본원에서 상호교환적으로 사용된다. "프로트랙터"는 친유성 모이어티(예: 지방산)일 수 있다. "프로트랙터"는 지방산(예: C₁₆-C₂₂ 카르복시산)일 수 있다.

"프로트랙터"의 비제한적인 예는 표 2에 나타나 있다. 화학식 1의 화학식에서, 는 공유 결합을 통한 링커 또는 폴리펩티드에 대한 부착점을 기술하는 데 사용된다.

표 2

“프로트랙터”의 비제한적인 예.

기준	구조
화학식 1	식 중 n = 12, 14, 16, 18, 또는 20임

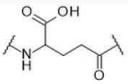
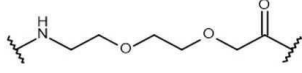
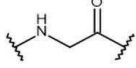
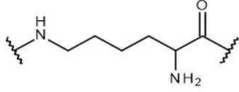
[0056]

[0057] 치환기는 연장 모이어티와 폴리펩티드의 아미노산 잔기에 대한 부착점 사이의 부분을 포함할 수 있으며, 이 부분은 "링커"로서 지칭될 수 있다. 링커는 여러 "링커 요소"를 포함할 수 있다. 링커 요소는, 분자의 전반적인 특성을 링커 요소가 개선하도록, 예를 들어 경구 생체이용률, 전환 반감기, 또는 연장 효과를 링커 요소가 개선함으로써, 화합물이 경구 투여된 후 전반적인 노출 프로파일을 개선하도록 선택될 수 있다.

[0058] 링커 요소의 비제한적인 예는 표 3에 열거되어 있다. 화학식 2~5의 화학식에서, 는 프로트랙터 또는 폴리펩티드에 대한 부착점을 기술하는 데 사용된다.

표 3

링커 요소의 비제한적인 예

기준	구조	약어
화학식 2		γ Glu
화학식 3		Ado
화학식 4		Gly
화학식 5		ϵ Lys;

[0059]

[0060] 일부 구현예에서, 치환기는 L-P(식 III)이고, 식 중 P는 원위 카르복시산을 갖는 친유성 모이어티를 포함하거나 이로 이루어지고, P는 연장 특성을 갖는다. 일부 구현예에서, P는 화학식 1이다. 일부 구현예에서, P는 화학식 1이고, L은 링커 요소 A₁-A₅를 포함하는 링커이며:

[0061] L-P (식 III),

[0062] 식 중 P는 화학식 1이고 L은 식 IV이고:

[0063] A₁-A₂-A₃-A₄-A₅ (식 IV),

[0064] 식 중 A₁은 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 아미노산 또는 디펩티드에 공유 결합되고 화학식 2, 화학식 3, 화학식 4, 및 화학식 5로 이루어진 군으로부터 선택되며; A₅는 P에 공유 결합되고 화학식 2이며; A₂, A₃, 및 A₄ 각각은 화학식 2, 화학식 3, 화학식 4, 및 화학식 5로 이루어진 군으로부터 선택되거나 없고, A₂, A₃, A₄, 및 A₅가 없는 경우, A₁ 또한 P에 공유 결합된다.

[0065] 친유성 모이어티를 포함하는 치환기의 비제한적인 예는 표 4에 열거되어 있다. 일부 구현예에서, 치환기는 표 4로부터 선택된다.

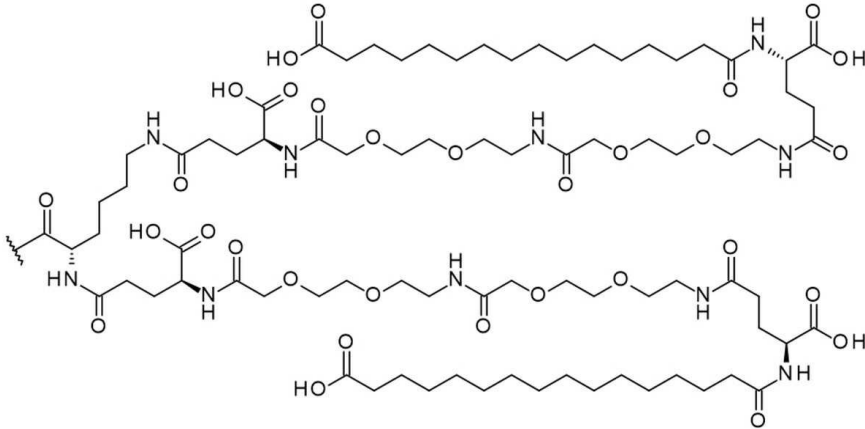
표 4

치환기의 비제한적인 예.

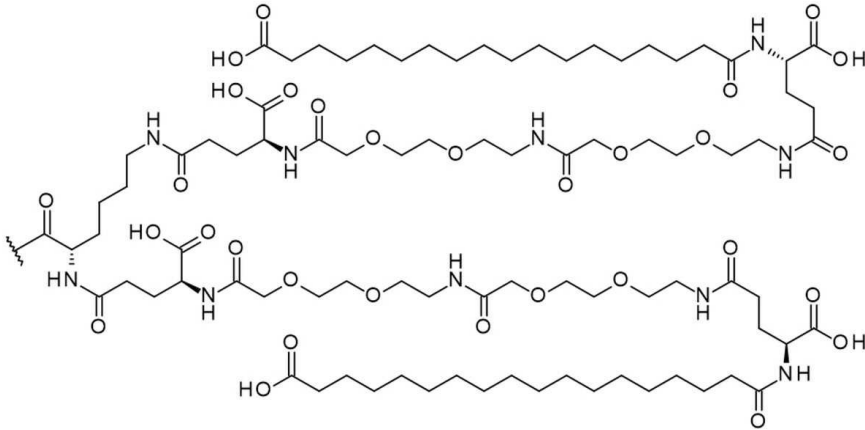
<p>화학식 6</p>
<p>화학식 7</p>
<p>화학식 8</p>
<p>화학식 9</p>
<p>화학식 10</p>
<p>화학식 11</p>

[0066]

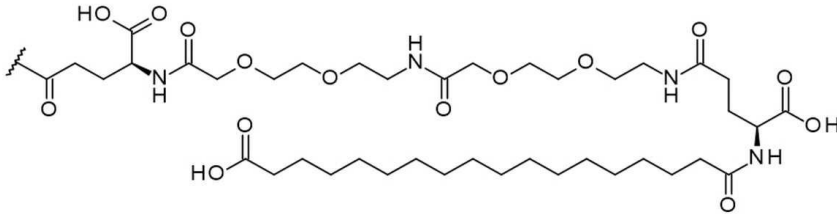
화학식 12:



화학식 13:

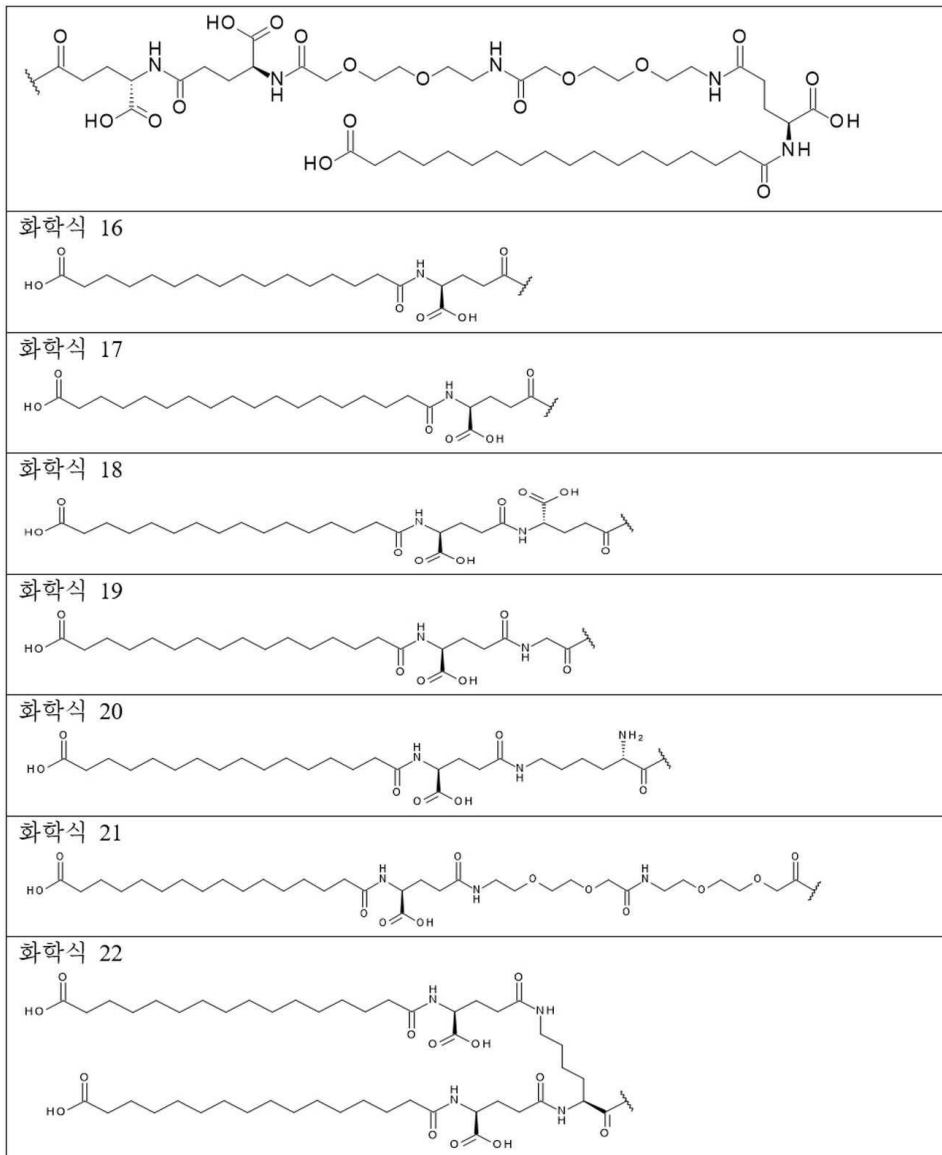


화학식 14:



화학식 15:

[0067]



[0068]

[0070] 치환기가 본원에 기술된 것과 같은 화합물의 디펩티드 모이어티(예: 디펩티드 B)에 부착되는 경우, 치환기는 본원에서 "치환기 b"로서 지칭된다. 일부 구현예에서, 치환기 b는 화학식 1에 따른 프로트랙터(식 중 n은 14, 16 또는 18임); 및 임의로 링커(링커는 하나 이상의 γ Glu(화학식 2), 및/또는 하나 이상의 Ado(화학식 3) 및/또는 하나 이상의 Gly(화학식 4) 및/또는 하나 이상의 ϵ Lys(화학식 5)를 포함함)를 포함한다. 일부 구현예에서, 치환기 b는 화학식 16, 화학식 17, 화학식 18, 화학식 19, 화학식 20, 화학식 21, 및 화학식 22로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0071] 치환기가 본원에 기술된 것과 같은 화합물의 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제(예: 활성 약물 Z)에 부착되는 경우, 치환기는 본원에서 "치환기 z"로서 지칭된다. 일부 구현예에서, 치환기 z는 화학식 1에 따른 프로트랙터(식 중 n은 14, 16, 또는 18임); 및 링커(링커는 하나 이상의 γ Glu(화학식 2), 및/또는 하나 이상의 Ado(화학식 3) 및/또는 하나 이상의 ϵ Lys(화학식 5)를 포함하거나 이들로 구성됨)를 포함한다. 일부 구현예에서, 치환기 z는 화학식 7, 화학식 8, 화학식 10, 및 화학식 11로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0072] 일부 구현예에서, 본 발명의 화합물은 치환기 b 및/또는 치환기 z를 포함한다.

[0074] GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제

[0075] 본원에서 사용되는 바와 같이, "GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제"는 GLP-1 수용체 작용제 및 GIP 수용체 작용제인

화합물이다. 본원에 기술된 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제는 폴리펩티드 및 임의로 정의된 것과 같은 치환기 z 를 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제는, 전술한 것과 같이 임의로 링 커를 통해 C₁₆-C₂₂ 지방산에 접합된 공동-작용제의 아미노산 잔기에 의해 수득된 연장된 반감기를 나타낸다.

- [0076] 일부 구현예에서, 펩티드의 카르복시 말단은 -CO₂H 기를 보유한다. 일부 구현예에서, 화합물은 C-말단에서 임의로 아미드기(C(=O)-NH₂)를 포함할 수 있는데, 이는 부모 화합물 5에서 보이는 것과 같은, -OH를 NH₂로 치환하는 변형이다.
- [0078] 일부 구현예에서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제는
- [0079] YX₂EGTX₆TSDYSX₁₂X₁₃LX₁₅X₁₆X₁₇AX₁₉X₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLX₂₇X₂₈GX₃₀X₃₁X₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇X₃₈X₃₉(서열번호 1)이고
- [0080] C-말단의 임의 아미드 변형을 가지며, 식 중
- [0081] X₂는 Aib 또는 A이고,
- [0082] X₆은 F 또는 V이고,
- [0083] X₁₂는 I 또는 Y이고,
- [0084] X₁₃은 Y, A, L, I, 또는 Aib이고,
- [0085] X₁₅는 D 또는 E이고,
- [0086] X₁₆은 K 또는 E이고,
- [0087] X₁₇은 Q 또는 I이고,
- [0088] X₁₉는 A 또는 Q이고,
- [0089] X₂₀은 Q, R, E, H, 또는 K이고,
- [0090] X₂₁은 A 또는 E이고,
- [0091] X₂₃은 I 또는 V이고,
- [0092] X₂₄는 E, Q, 또는 N이고,
- [0093] X₂₇은 L 또는 I이고,
- [0094] X₂₈은 A 또는 R이고,
- [0095] X₃₀은 G이거나 없고,
- [0096] X₃₁은 P이거나 없고,
- [0097] X₃₂는 E, S이거나 없고,
- [0098] X₃₃은 S, K이거나 없고,
- [0099] X₃₄는 G이거나 없고,
- [0100] X₃₅는 A이거나 없고,
- [0101] X₃₆은 P이거나 없고,
- [0102] X₃₇은 P이거나 없고,

- [0103] X_{38} 은 P이거나 없고,
- [0104] X_{39} 는 S이거나 없고;
- [0105] 임의로 식 중, 지방산(예: C_{16} - C_{22} 카르복시산)과 같은 친유성 모이어티를 포함하는 치환기 z 는 위치 16, 20, 또는 33에서 리신(K)을 통해 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제에 부착된다.
- [0106] 일부 구현예에서, 치환기 z 는 화학식 1에 따른 프로트랙터(식 중 n 은 14, 16 또는 18임) 및 임의로 링커(링커는 하나 이상의 γ Glu(화학식 2) 및/또는 하나 이상의 Ado(화학식 3) 및/또는 하나 이상의 Gly(화학식 4) 및/또는 하나 이상의 ϵ Lys(화학식 5)를 포함함)를 포함하거나 이들로 구성된다. 일부 구현예에서, 치환기 z 는 화학식 7, 화학식 8, 화학식 10, 및 화학식 11로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0107] 디펩티드 B
- [0108] 일부 구현예에서, 디펩티드 B는 DKP 모이어티이다. 일부 구현예에서, 디펩티드 B는 X-Y(식 II)로 지칭될 수 있으며, 식 중 X 및 Y는 알파-아미노산이다. 일부 구현예에서, X와 Y 간의 아마이드 결합의 형태는 바람직하게는, 친핵성 공격을 위해 X의 알파-아미노기를 Y의 알파-카르보닐기의 적절한 근위에 위치시킴으로써 DKP 형성을 용이하게 하는 시스템이다. 일부 구현예에서, 디펩티드 B는 치환기 b 를 갖는다. 일부 구현예에서, Y는 *N*-알킬화된 알파-아미노산이다. 일부 구현예에서, Y는 Y의 알파-카르복시산 기와 활성 약물 Z의 아민 사이에 형성된 아마이드 결합을 통해 B에 연결된 *N*-알킬화된 알파-아미노산이다. "*N*-알킬화된 알파-아미노산"은 아미노산의 알파-아미노기에서 C_1 - C_{12} 알킬 또는 C_1 - C_6 알킬과 같은 알킬기로 치환된 임의의 알파-아미노산이고, 여기서 상기 알킬기는 선형 또는 환형일 수 있고, 치환되지 않거나 (예컨대 *N*-(2-아미노에틸)글리신의) 아미노기와 같은 추가 작용기로 치환될 수 있다. 일부 구현예에서, 알킬기는 메틸, 에틸, 2-아미노에틸, *n*-프로필, 이소프로필, *n*-부틸, *sec*-부틸, 이소부틸, *tert*-부틸, 펜틸, *n*-헥실로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 알킬기는 메틸, 에틸, 2-아미노에틸, *n*-프로필, *sec*-부틸, 및 *n*-헥실로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 알킬기는 메틸이다. 일부 구현예에서, Y는 *N*-secBu-Gly, Pro, Pro(4-OH), *N*-Me-Glu, *N*-Me-Nor, *N*-Me-homoAla, *N*-Me-Ala, *N*-Me-Lys, Aeg, *N*-Hex-homoAla, *N*-Pr-Ala, homoPro, *N*-Et-Gly, *N*-Pr-Gly, 및 *N*-Me-Phe로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, Y는 Aeg 또는 Sar이다.
- [0109] 일부 구현예에서, X는 임의의 알파-아미노산이다. 일부 구현예에서, X는 X의 알파-카르복시산기와 Y의 알파-아미노기 사이에 형성된 아마이드 결합을 통해 Y에 연결된 임의의 알파-아미노산이다. 일부 구현예에서, X는 Lys, Phe(4-NH₂), D-Lys, Ala, Gly, Pro, D-Val, homoPro, D-Pro, D-homoPro, D-Ala, 및 Aze로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, X는 Gly, Asp, Leu, Lys, D-Lys, 및 Pro로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0110] 일부 구현예에서, Y는 Sar, *N*-sBu-Gly, Pro, Pro(4-OH), *N*-Me-Glu, *N*-Me-Nor, *N*-Me-homoAla, *N*-Me-Ala, *N*-Me-Lys, *N*-Hex-homoAla, *N*-Pr-Ala, homoPro, *N*-Pr-Gly, *N*-Et-Gly, 및 *N*-Me-Phe로 이루어진 군으로부터 선택되고, X는 Lys, Phe(4-NH₂), 및 D-Lys로 이루어진 군으로부터 선택된다. 또한 또는 대안적으로, 일부 구현예에서, Y는 Sar 및 Aeg로부터 선택되고, X는 Ala, Gly, D-Lys, Pro, D-Val, homoPro, D-Pro, D-homoPro, D-Ala, 및 Aze로부터 선택된다.
- [0111] 일부 구현예에서, 치환기 b 를 임의로 포함하는 디펩티드는 표 5a로부터 선택된다.
- [0112] 일부 구현예에서, 디펩티드 유도체는 표 5b로부터 선택된다.

[0113] [표 5a]

DKP 모이어티의 디펩티드 유도체의 비제한적인 예.

X	Y
Lys	Sar
Lys	N-sBu-Gly
Lys	Pro
Phe(4-NH ₂)	Pro
Lys	Pro(4-OH)
D-Lys	N-Me-Glu
Lys	N-Me-Nle
Lys	N-Me-homo-Ala
D-Lys	Sar
D-Lys	N-Me-Ala
Lys	N-Me-Glu
Lys	N-Me-Lys
Ala	N-Me-Lys
Gly	Aeg
Lys	N-Hex-homoAla
D-Lys	Aeg
D-Lys	N-Pr-Ala
Pro	Aeg
D-Val	Aeg
Lys	homoPro
homoPro	Aeg
D-Pro	Aeg
D-homoPro	Aeg
D-Lys	homoPro
D-Ala	Aeg
Ala	Aeg
Aze	Aeg
D-Lys	N-sBu-Gly
Lys	N-Me-Ala
Lys	N-Pr-Gly

[0114]

Lys	N-Et-Gly
Lys	N-Me-Phe
D-Lys	N-Pr-Gly
Asp	Aeg
Leu	Aeg

[0115]

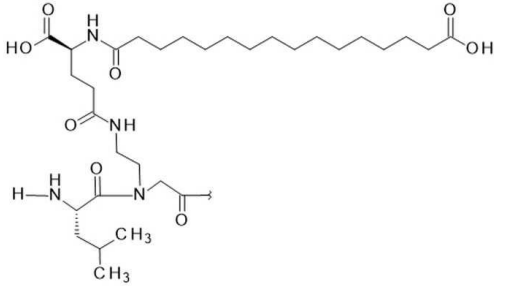
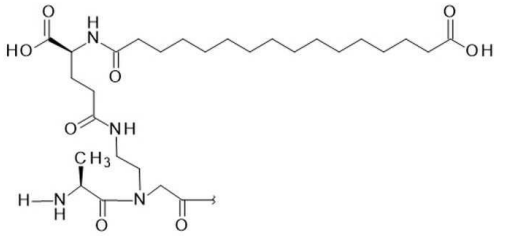
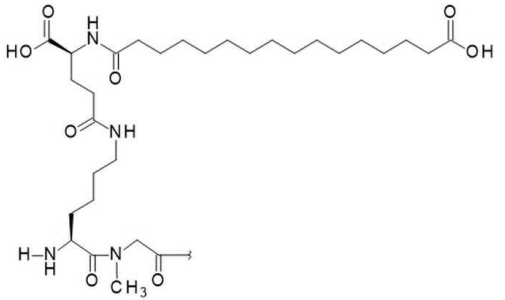
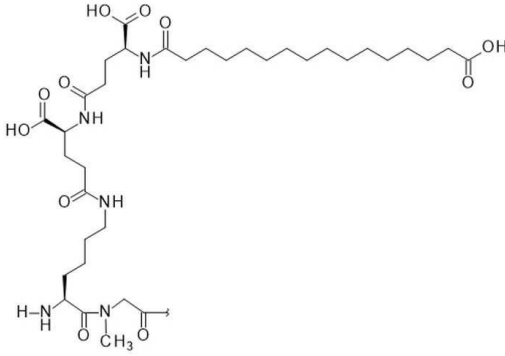
[0116]

[표 5b]

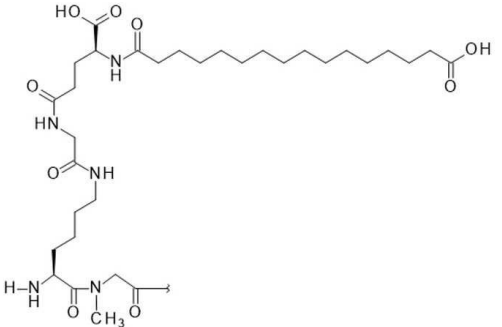
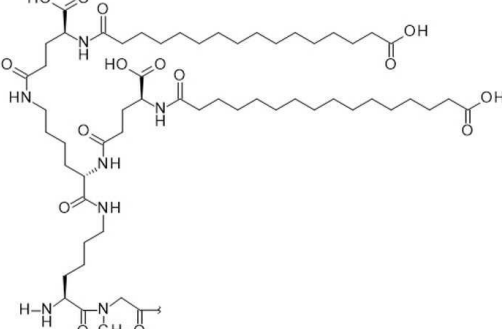
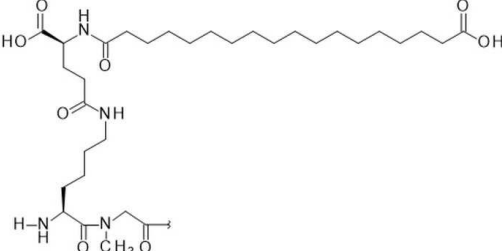
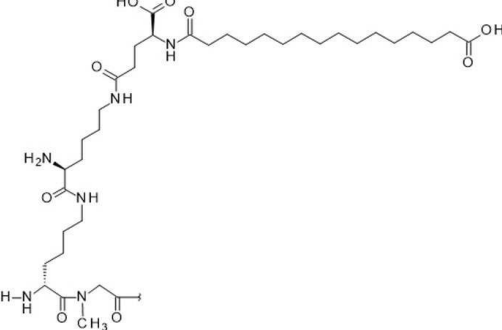
DKP 모이어티의 치환된 디펩티드의 비제한적인 예.

치환된 디펩티드	디펩티드	치환기 b
	Gly-Aeg	화학식 16
	Pro-Aeg	화학식 16
	Asp-Aeg	화학식 16

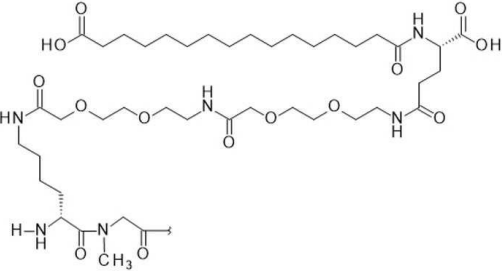
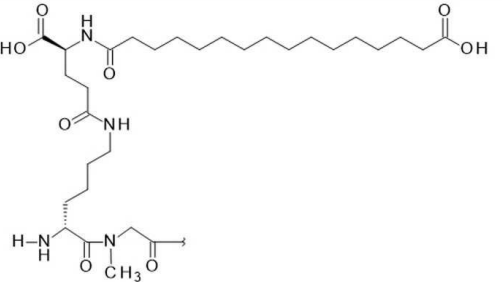
[0117]

	<p>Leu-Aeg</p>	<p>화학식 16</p>
	<p>Ala-Aeg</p>	<p>화학식 16</p>
	<p>Lys-Sar</p>	<p>화학식 16</p>
	<p>Lys-Sar</p>	<p>화학식 18</p>

[0118]

 <p>The structure shows a lysine residue (left) and a sarcosine residue (right) linked by a peptide bond. The lysine side chain is a 4-aminobutyl group, and the sarcosine side chain is a methyl group. The carboxyl groups of both residues are shown in their protonated form (COOH).</p>	<p>Lys-Sar</p>	<p>화학식 19</p>
 <p>This structure is identical to the one in the first row, showing the Lys-Sar dipeptide with both carboxyl groups protonated.</p>	<p>Lys-Sar</p>	<p>화학식 22</p>
 <p>This structure is identical to the previous ones, showing the Lys-Sar dipeptide with both carboxyl groups protonated.</p>	<p>Lys-Sar</p>	<p>화학식 17</p>
 <p>The structure shows a D-lysine residue (left) and a sarcosine residue (right) linked by a peptide bond. The D-lysine side chain is a 4-aminobutyl group, and the sarcosine side chain is a methyl group. The carboxyl groups of both residues are shown in their protonated form (COOH).</p>	<p>D-Lys-Sar</p>	<p>화학식 20</p>

[0119]

	<p>D-Lys-Sar</p>	<p>화학식 21</p>
	<p>D-Lys-Sar</p>	<p>화학식 16</p>

[0120]

[0122]

활성 약물 Z

[0123]

본원에 기술된 활성 약물 Z는 위에 정의된 것과 같은 치환기 z를 포함하는 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제이며, 여기서 치환기 z는 아미노산 잔기를 통해 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제에 부착된다.

[0124]

관능적 특성

[0125]

약리학적 활성 화합물의 치료적 용도는 부적절한 약동학적 특성에 의해, 예를 들어 약동학적 특성이 화합물의 투여 후 원하는 노출에 도달하기에 적합하지 않기 때문에 방해받을 수 있다. 프로드러그 기술은 약동학적 특성을 개선하기 위해, 예를 들어 1주 1회 경구 투여용으로 적합하게 만들기 위해 사용될 수 있다. 프로드러그의 투여 후 활성 약물의 노출 수준은 프로드러그 대 약물 전환 반감기에 의존하므로, 적절한 전환 반감기를 획득하면 화합물을 특정 투여 요법(예: 1주 1회 투여)에 적합하게 만들 수 있다. 프로드러그의 투여 후 활성 약물의 노출 수준은 활성 약물의 관찰된 말단 반감기에 의존하므로, 적절한 말단 반감기를 획득하면 화합물을 특정 투여 요법(예: 1주 1회 투여)에 적합하게 만들 수 있다. 경구 투여될 프로드러그의 적합성은 이들이 위장관에서 흡수된 후 전신 순환에 도달하는 능력에 의존하므로, 적절한 경구 생체이용률을 획득하면 화합물을 경구 투여(예: 1주 1회 경구 투여)에 적합하게 만들 수 있다.

[0127]

제1 관능적 양태에 따르면, 본원에 기술된 것과 같은 화합물은 활성 약물과 비교하여 인간 GLP-1 및/또는 GIP 수용체에서 임의의 유의한 정도로 의도된 효능을 발휘하지 않는다. 또한 또는 대안적으로, 제2 관능적 양태에서, 본원에 기술된 것과 같은 프로드러그는 생리학적 조건 하에서 활성 약물로 전환된다. 또한 또는 대안적으로, 제3 관능적 양태에서, 본원에 기술된 것과 같은 프로드러그는 i.v., s.c., 및/또는 p.o. 투여 후 연장된 말단 반감기와 같은 개선된 약동학적 특성을 갖는다.

[0129]

관능적 수용체 활성화 활동

[0130]

제1 관능적 양태에 따르면, 본 발명의 프로드러그는 활성 약물과 비교하여 임의의 유의한 정도로 인간 GIP-1 수용체 및/또는 인간 GIP 수용체를 활성화시키지 않는다. 본원에 기술된 것과 같은 GLP-1/GIP 수용체 작용제의 관능적 활동은 본원의 시험관내 관능적 효능을 측정하기 위한 일반적인 방법에서 기술된 것과 같이 시험관 내에서 시험될 수 있다.

[0131]

반치 유효 농도(EC₅₀)는, 투여량 반응 곡선을 참조하여 베이스라인과 최대 값의 절반에 해당하는 반응을 유도하는 농도를 일반적으로 지칭한다. EC₅₀은 화합물의 효능의 척도로서 사용되며, 화합물의 최대 효과의 50%가 관찰되는 농도를 나타낸다.

- [0132] 따라서, 화합물의 시험관 내 효능은 본원에 기술된 바와 같이 결정될 수 있고, EC₅₀이 결정될 수 있다. EC₅₀ 값이 낮을수록 효능이 더 좋다.
- [0133] 이러한 화합물의 특성을 분석하기 위해서는, 각 수용체의 천연 호르몬에 대한 상대적인 시험관내 효능을 고려하는 것이 더 적절할 수 있다.
- [0134] 시험관 내 효능은, 예를 들어, 적절한 GLP-1 및/또는 GIP 수용체를 발현하는 막을 함유하는 매질에서 및/또는 적절한 GLP-1 및/또는 GIP 수용체를 발현하는 전체 세포를 이용한 검정에서 결정될 수 있다.
- [0135] 예를 들어, 인간 GLP-1 및/또는 GIP 수용체의 기능적 반응은 리포터 유전자 검정에서, 예를 들어, 안정하게 형질감염된 BHK 세포주에서 측정되며, 상기 세포주는 인간 GLP-1 및/또는 GIP 수용체를 발현하고, 프로모터에 결합된 cAMP 반응 요소(CRE)에 대한 DNA 및 반딧불이 루시페라아제(CRE 루시페라아제)에 대한 유전자를 함유한다. GLP-1 및/또는 GIP 수용체의 활성화의 결과로서 cAMP가 생성되는 경우, 이는 결과적으로 루시페라아제의 발현으로 이어진다. 루시페라아제는, 효소에 의해 옥시루시페린으로 전환되고 생체 발광을 생성하는 루시페린을 첨가함으로써 결정될 수 있으며, 이는 시험관 내 효능의 리포터로서 측정된다. 이러한 검정의 일례는 본원에 기술된 실시예 5에서 기술된다. 화합물은 알부민에 결합하도록 설계된 하나 이상의 치환기를 포함할 수 있기 때문에, 수용체 활성이 검정 배지에 인간 혈청 알부민(HSA)의 있거나 없는 것에 의해 영향을 받을 수 있다는 점에 유의하는 것도 중요하다. HSA가 존재할 때 화합물의 효능이 감소하는 것(HSA가 없을 때의 EC₅₀ 대비 EC₅₀의 증가로 표시됨)은 HSA와 화합물의 상호 작용을 나타내며, 이를 통해 생체 내에서 작용 시간이 연장될 것을 예측할 수 있다.
- [0136] 일 구현예에서, 활성 약물은 인간 GLP-1 및 GIP 수용체를 활성화시키는 강력한 시험관 내 효과를 갖는다.
- [0137] 일 구현예에서, 부모 화합물은 본원의 실시예 2에서 기술된 것과 같은 CRE 루시페라아제 리포터 검정(HSA 없이 수행될 경우)에서 20 pM 미만의 EC₅₀으로 시험관 내에서 인간 GLP-1 및 GIP 수용체를 활성화할 수 있다.
- [0138] 일 구현예에서, 부모 화합물은, 실시예 2의 방법을 사용해 결정했을 때, 인간 GLP-1 및 GIP 수용체에서 100 pM 이하, 보다 바람직하게는 50 pM 미만, 또는 가장 바람직하게는 20 pM 미만의 EC₅₀에 반응하는 시험관 내 효능을 갖는다.
- [0139] 일 구현예에서, 인간 GLP-1 및 GIP 수용체 검정에서 EC₅₀은 모두 1~25 pM, 예컨대 1~20 pM, 예컨대 1~15 pM, 또는 예컨대 1~10 pM이다.
- [0141] 전환 반감기
- [0142] 제2 관능적 양태에 따르면, 본 발명의 프로드러그는 놀랍도록 양호한 전환 반감기를 갖는다.
- [0143] 프로드러그가 활성 약물로 전환되는 속도는 전환 반감기에 의해 정량화될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "전환 반감기"는 프로드러그의 농도가 전환에 의해 절반으로 감소되는 데 필요한 시간의 길이를 지칭한다.
- [0144] 인간에게 1주 1회 경구 투여용으로 의도된 프로드러그에 대한 바람직한 전환 반감기는, 본원의 '전환 반감기를 측정하기 위한 일반적인 방법'에 기술된 것과 같이 pH 7.4 및 37°C에서 측정했을 때 24~500시간, 예컨대 50~400시간, 예컨대 75~300시간, 또는 예컨대 100~200시간일 수 있다.
- [0145] 프로드러그는 DKP 모이어티가 분자내에서 고리화된 후 원하는 전환을 달성할 수 있는데, 그 이후 모이어티는 활성 약물로부터 절단되어, 활성 약물이 유리된다. 이러한 분자내 고리화는 생리학적 조건 하에서, 예를 들어 2,5-디케토피페라진(DKP) 형성을 통해 효소 비의존적 프로세스로서 이루어질 수 있다. DKP 형성을 통해 활발한 활성 약물로 전환될 수 있는 프로드러그에서, 전환 후 활성 약물이 유리되는 모이어티는 DKP 모이어티로서 지칭된다. 전환 반감기는 DKP 모이어티의 성질에 특히 의존하므로, 전환 반감기를 (예를 들어 1주 1회 경구 투여에 적합하게 만들기 위해) 예를 들어 DKP 모이어티의 분자 설계에 의해 개선하여, 프로드러그의 특성을 특정 투여 요법에 적합하게 (예를 들어 1주 1회 경구 투여용으로) 만들 수 있다.
- [0146] 일부 구현예에서, 전환 반감기는 1일 1회 투여에 적합하다. 일부 구현예에서, 전환 반감기는 1주 1회 투여에 적합하다. 일부 구현예에서, 전환 반감기는 >24시간이다. 일부 구현예에서, 전환 반감기는 >50시간이다. 일부 구현예에서, 전환 반감기는 >75시간이다. 일부 구현예에서, 전환 반감기는 >100시간이다. 일부 구현예에서, 전환

반감기는 <500시간이다. 일부 구현예에서, 전환 반감기는 <400시간이다. 일부 구현예에서, 전환 반감기는 <300시간이다. 일부 구현예에서, 전환 반감기는 <200시간이다.

[0147] 일부 구현예에서, 전환 반감기는 24~500시간이다. 일부 구현예에서, 전환 반감기는 50~400시간이다. 일부 구현예에서, 전환 반감기는 75~300시간이다. 일부 구현예에서, 전환 반감기는 100~200시간이다.

[0149] 관찰된 최종 반감기

[0150] 많은 약물은, 초기에 가파른 기울기를 따라가고 이어서 얇은 기울기를 따라가는 이상성 혈장 분포 곡선을 나타낸다. 얇은 기울기를 따라가는 상은 "최종 상"으로서 지칭될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "최종 반감기"는 최종 상 동안에 화합물의 혈장 농도가 절반으로 감소되는 데 필요한 시간을 지칭한다. 유리 형태로 투여될 때 약물의 최종 반감기는 프로드러그로서 투여될 때 약물의 최종 반감기와 상이한데, 이는 약물이 프로드러그로서 투여될 때, 프로드러그가 생체 내에서 전환된 후에 약물이 유리 형태로 지속적으로 유리되기 때문이다.

[0151] 프로드러그로서 투여되는 활성 약물의 혈장 농도는, 특히 혈류로부터 활성 약물의 제거 뿐만 아니라, 프로드러그에서 활성 약물로의 점진적 전환의 결과이다. 프로드러그의 점진적 전환은 활성 약물의 지속적인 공급을 보장하므로, 약물이 유리된 형태로 투여될 때와 비교했을 때, 원하는 노출 수준에 요구되는 필요 투여 횟수를 감소시킨다. 혈류로 활성 약물의 지속적 공급은 관찰된 최종 반감기(즉, 측정 가능한 최종 반감기)에 반영되는데, 최종 반감기는 활성 약물이 유리 형태로 투여될 때에 비해 프로드러그로서 투여될 때가 더 높다.

[0152] 본 발명의 프로드러그 또는 프로드러그의 활성 약물의 약동학적 특성은 생체 내 약동학 연구를 통해 적절히 결정될 수 있다. 이러한 연구는 약학적 화합물이 어떻게 신체에 흡수되고, 분포되고, 제거되는지 및 이러한 프로세스가 시간의 경과에 따라 신체 내 화합물의 농도에 어떤 영향을 미치는지를 평가하기 위해 수행된다. 약학적 약물 개발의 발견 및 전임상 단계에서는 마우스, 랫트, 원숭이, 개, 미니피그 또는 돼지와 같은 동물 모델을 사용해 이러한 특성 분석을 수행할 수 있다. 이들 모델 중 어느 하나를 사용해 본 발명의 프로드러그의 약동학적 특성을 시험할 수 있다. 이러한 연구에서, 동물에게는 일반적으로 약물의 1회 투여량이 연관된 제형으로 정맥내(i.v.), 피하(s.c.), 또는 경구(p.o.) 투여된다. 투여 후 미리 정의된 시점에 혈액 샘플을 채취하고, 관련된 정량 검정을 사용해 약물 농도에 대해 샘플을 분석한다. 이러한 측정에 기초하여, 임상시험 화합물에 대한 혈장 농도 프로파일을 도표화하고, 데이터에 대한 소위 비구획 약동학 분석(non-compartmental pharmacokinetic analysis)을 수행한다. 대부분의 화합물의 경우, 반대수 그래프로 그렸을 때 혈장 농도 프로파일의 말단 부분이 선형이 되는데, 이는 약물이 일정한 분획 속도로 신체로부터 제거됨을 반영하는 것이다. 속도(람다 Z 또는 l_2)는 그래프의 말단 부분 기울기의 음수와 같다. 이 속도로부터, 말단 반감기를 $t_{1/2} = \ln(2) / l_2$ 로서 계산할 수도 있다(예를 들어, Johan Gabrielsson 및 Daniel Weiner의 문헌[Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications, 3rd Ed., Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm (2000)] 참조). 프로드러그로서 투여되는 활성 약물을 조사할 때, 활성 약물의 최종 반감기는 프로드러그의 점진적 전환으로 인한 활성 약물의 지속적인 공급에 의해 영향을 받는데, 이는 프로드러그가 약물을 서서히 방출시키는 데모로서 작용하기 때문이다. 따라서, 프로드러그로서 투여되는 활성 약물의 최종 반감기의 분석은 가장 편리하게는 "관찰된 최종 반감기"로서 지칭되는데, 이는 활성 약물이 유리 형태로 투여될 때와 동일하지 않을 것이기 때문이다.

[0153] 일부 구현예에서, 본 발명의 프로드러그의 최종 반감기는 본원의 '미니피그에서 최종 반감기를 측정하기 위한 일반적인 방법'에 기술된 것과 같이 결정된다. 미니피그에서 결정했을 때, 인간에게 1주 1회 경구 투여하기에 적합한 관찰된 최종 반감기는 >50시간, 또는 바람직하게는 >70시간, 또는 가장 바람직하게는 >90시간일 수 있다. 미니피그에서 결정했을 때, 인간에게 1주 1회 경구 투여하기에 적합한 관찰된 최종 반감기는 <250시간, 또는 바람직하게는 <180시간일 수 있다. 미니피그에서 결정했을 때, 인간에게 1주 1회 경구 투여하기에 적합한 관찰된 최종 반감기는 50~250시간의 범위, 또는 바람직하게는 90~180시간의 범위일 수 있다.

[0154] 경구 생체이용률

[0155] 약리학적 활성 화합물을 이용한 경구 치료는 불량한 생체이용률로 인해 방해받을 수 있다. 용어 "생체이용률"은 투여 후 전신 순환에 도달할 수 있는 화합물의 능력을 지칭하며, 이는 투여 후 전신 순환에 도달하는 화합물 투여량의 분획 범위로서 정량화될 수 있다. 경구 투여용으로 의도된 약물은 높은 경구 흡수율(즉, 경구 투여 후 위장관에서 높은 흡수율)을 갖는 것이 바람직한데, 이는 약물의 의도된 전신 농도에 도달하는 데 필요한 투여량을 감소시킬 수 있고, 따라서 예를 들어 정제 크기와 제조 비용을 줄일 수 있기 때문

이다.

- [0156] 본원에서 사용되는 용어 "경구 생체이용률"은 화합물이 경구 투여된 후 전신 순환에 도달하는 능력을 지칭한다. 경구 생체이용률은 화합물이 경구 투여된 후 위장관에서 흡수되는 정도를 반영한다. 즉, 높은 경구 생체이용률은 높은 경구 흡수와 연관된다. 약물의 높은 경구 생체이용률은 경구 투여 후 높은 약물 노출과 연관이 있다. 경구 생체이용률은 WO2019/149880에 기술된 것과 같이, 비글견을 대상으로, 흡수 강화제인 N-(8-[2-하이드록시벤조일]아미노)카프릴산 나트륨(SNAC)과의 공동-제형으로 측정될 수 있다.
- [0157] 경구 생체이용률은 본원의 비글견에서 경구 생체이용률을 측정하기 위한 일반적인 방법에 기술된 것과 같이 측정될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 화합물은 높은 경구 생체이용률을 갖는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 화합물은 활성 약물의 경구 생체이용률과 유사한 경구 생체이용률을 갖는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 화합물은 활성 약물의 경구 생체이용률에 못지 않는 경구 생체이용률을 갖는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 화합물은 적어도 활성 약물의 경구 생체이용률만큼 높은 경구 생체이용률을 갖는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 화합물은 인간에게 1주 1회 경구 투여하기에 적합한 경구 생체이용률을 갖는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 화합물은 비글견에서 결정되고 $C_{max}/\text{투여량}[\text{kg/L}]$ 으로서 측정되는 경구 생체이용률을 갖는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 화합물은 비글견에서 $C_{max}/\text{투여량}[\text{kg/L}]$ 으로서 측정되는 경구 생체이용률을 가지며; 여기서 $C_{max}/\text{투여량}[\text{kg/L}]$ 은 >0.10 이고, 바람직하게는 >0.15 이고, 가장 바람직하게는 >0.20 이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 화합물은 비글견에서 결정되고 $AUC/\text{투여량}[\text{kg*시간/L}]$ 으로서 측정되는 경구 생체이용률을 갖는다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 화합물은 비글견에서 결정되고 $AUC/\text{투여량}[\text{kg*시간/L}]$ 으로서 측정되는 경구 생체이용률을 가지며; 여기서 $AUC/\text{투여량}[\text{kg*시간/L}]$ 은 >2.0 이고, 바람직하게는 >5.0 이고, 가장 바람직하게는 >10.0 이다.
- [0158] **약학적 조성물**
- [0159] 본원에 기술된 것과 같은 프로드러그 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 임의로 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물은 당업계에 공지된 바와 같이 제조될 수 있다.
- [0160] 용어 "부형제"는 활성 치료 성분(들) 이외의 임의의 성분을 광범위하게 지칭한다. 부형제는 불활성 물질, 비활성 물질, 및/또는 의약적 비활성 물질일 수 있다. 부형제는 다양한 목적으로, 예를 들어, 담체, 운송체, 필러, 결합제, 윤활제, 활택제, 붕해제, 유동 조절제, 결정화 억제제, 가용화제, 안정화제, 착색제, 향미제, 계면활성제, 유화제 또는 이들의 조합으로서 사용될 수 있고/있거나 활성 물질의 흡수를 개선하는 데 사용될 수 있다. 사용된 각각의 부형제의 양은 당업계의 통상적인 범위 내에서 다양할 수 있다. 경구 투여 형태를 제형화하는 데 사용될 수 있는 기술 및 부형제는, Handbook of Pharmaceutical Excipients(예를 들어, 제8판, Sheskey 등 편저, American Pharmaceuticals Association and Pharmaceutical Press, publications department of the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain (2017), 및 이후의 판 중 하나); 및 Remington: The Science and Practice of Pharmacy(예를 들어, 제22판, Remington 및 Allen 편저, Pharmaceutical Press (2013), 및 이후의 판 중 하나)에 기술되어 있다.
- [0161] 본원에 기술된 것과 같은 화합물을 포함하는 약학적 조성물은 여러 투여 형태, 예를 들어 용액, 현탁액, 정제, 및 캡슐일 수 있다. 본 발명의 프로드러그를 포함하는 약학적 조성물은 이를 필요로 하는 환자의 여러 부위에, 예를 들어 국소 부위(예: 피부 또는 점막 부위)에; 흡수를 우회하는 부위(예: 동맥 내, 정맥 내, 심장 내)에; 및 흡수를 동반하는 부위(예: 피내, 피하, 근육 내, 경구, 또는 복부 내)에 투여될 수 있다. 투여되는 양은 $0.1 \mu\text{g/kg}$ 내지 100 mg/kg 의 본 발명의 화합물을 함유할 수 있다.
- [0162] 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 고형 제형, 예를 들어 동결 건조되거나 분무 건조된 조성물일 수 있으며, 이들은 그대로 사용되거나, 사용 전에 의사나 환자가 용매 및/또는 희석제를 여기에 첨가할 수 있다. 일 구현예에서, 약학적 조성물은 정제의 형태이다. 추가의 구현예에서, 약학적 조성물은 본 발명의 프로드러그, N-[8-(2-하이드록시벤조일)아미노]카프릴레이트의 염(예: N-[8-(2-하이드록시벤조일)아미노]카프릴산 나트륨(SNAC), 및 당업계에 알려진 것과 같은 하나 이상의 추가 부형제를 포함하거나 이들로 이루어진 고형 제형, 예를 들어 WO 2012/080471, WO 2013/189988, 또는 WO 2019/149880에 기술된 제형 중 임의의 하나 이상을 사용하는 고형 제형일 수 있다. 일 구현예에서, 약학적 제형은 본 발명의 프로드러그, SNAC, 및 하나 이상의 추가 부형제를 포함하는 정제이다.
- [0163] 대안적으로, 약학적 조성물은 수성 제형과 같은 액체 제형이다. 주사에 적합한 액체 조성물은 제약 산업의 통상

적인 기술을 사용하여 제조할 수 있으며, 상기 기술은 성분을 적절히 용해시키고 혼합하여 원하는 최종 생성물을 수득하는 단계를 포함한다. 따라서, 하나의 절차에 따르면, 본 발명에 따른 화합물은 적절한 pH의 적절한 완충액에 용해된다. 조성물은, 예를 들어 멸균 여과에 의해 멸균될 수 있다.

[0165] 약학적으로 허용 가능한 염

[0166] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 프로드러그는 약학적으로 허용 가능한 염의 형태이다. 염은 예를 들어 다음과 같은 염기와 산 사이의 화학 반응에 의해 형성된다: $2\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. 염은 염기성 염 또는 산성 염이거나, 둘 다 아닐 수도 있다(즉, 중성 염). 염기성 염은 물에서 수산화물 이온과 산성 염 하이드로늄 이온을 생성한다. 프로드러그의 염은 각각 음이온성 기 또는 양이온성 기 사이에서 부가 양이온 또는 음이온으로 형성될 수 있다. 이들 기는 펩티드 및/또는 유도체의 치환기 내에 위치할 수 있다.

[0167] 음이온성 기의 비제한적인 예는 치환기 내의 임의의 유리 카르복시산기(존재하는 경우) 뿐만 아니라 펩티드 내의 임의의 유리 카르복실산기도 포함한다. 펩티드는 C-말단에서의 유리 카르복실산기(존재하는 경우) 뿐만 아니라 아스파르트산 및 글루탐산과 같은 아미노산 잔기의 임의의 유리 카르복시산기도 포함할 수 있다.

[0168] 양이온성 기의 비제한적인 예는 치환기 내의 임의의 유리 아미노기(존재하는 경우) 뿐만 아니라 펩티드 내의, 임의의 유리 아미노기도 포함한다. 펩티드는 N-말단에서의 유리 아미노기(존재하는 경우) 뿐만 아니라 히스티딘, 아르기닌, 및 리신과 같은 아미노산 잔기의 임의의 유리 이미다졸, 구아니딘, 또는 아미노기도 포함할 수 있다.

[0169] 특정 구현예에서, 본 발명의 프로드러그는 약학적으로 허용 가능한 염의 형태이다.

[0170] **약학적 적응증**

[0171] 본 발명의 추가 양태는 의약으로서 사용하기 위한 본원에 기술된 것과 같은 화합물에 관한 것이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료(treatment)"는 치료를 필요로 하는 임의의 인간 시험대상자의 의학적 치료를 지칭한다. 치료는 예방적(preventive, prophylactic), 완화적, 대증적, 및/또는 치유적일 수 있다. 상기 치료의 시기 및 목적은 시험대상자의 상태에 따라 개인마다 다를 수 있다.

[0172] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 화합물은 다음의 의학적 치료에 사용하기 위한 것이다:

[0173] (i) 고혈당증, 2형 당뇨병, 내당능 장애, 1형 당뇨병, 비-인슐린 의존성 당뇨병, MODY(연소자의 성인발증형당뇨병), 임신성 당뇨병 및/또는 HbA1C의 감소와 같은 모든 형태의 당뇨병에 대한 예방 및/또는 치료;

[0174] (ii) 2형 당뇨병의 진단과 같은 당뇨병 질병 진단의 지연 또는 예방, 내당능 장애(IGT)의 인슐린 요구성 2형 당뇨병으로의 진단의 지연, 인슐린 내성의 지연 또는 예방, 및/또는 비-인슐린 요구성 2형 당뇨병의 인슐린 요구성 2형 당뇨병으로의 진단의 지연;

[0175] (iii) 예를 들어 음식 섭취량 감소, 체중 감소, 식욕 억제, 포만감 유발에 의한 섭식 장애(예: 과체중 또는 비만)의 예방 및/또는 치료; 항정신 약물 또는 스테로이드의 투여에 의해 유도된 폭식 장애, 신경성 폭식증 및/또는 비만의 치료 또는 예방; 위 운동의 감소; 위 공복의 지연; 신체 운동성의 증가; 및/또는 골관절염 및/또는 요실금과 같은 비만 동반 질환의 예방 및/또는 치료;

[0176] (iv) (약물 유도성 또는 식단 조절과 운동에 의한) 성공적인 체중 감량 후의 체중 유지 - 즉, 성공적인 체중 감량 후 체중 증가의 예방;

[0177] (v) 간 지방증, 비-알코올성 지방간 질환(NAFLD), 비-알코올성 지방간염(NASH), 간 염증 또는 지방 간 등과 같은 간 장애의 예방 및/또는 치료.

[0178] 일부 구현예에서, 화합물은 당뇨병 및/또는 비만증의 예방 및/또는 치료 방법에 사용하기 위한 것이다. 일부 구현예에서, 화합물은 당뇨병 및/또는 비만증의 치료 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0179] 일부 구현예에서, 화합물은 2형 당뇨병의 치료 또는 예방 방법에 사용하기 위한 것이다. 일부 구현예에서, 화합물은 2형 당뇨병의 치료 방법에 사용하기 위한 것이다. 일부 구현예에서, 화합물은 비만증의 치료 또는 예방 방법에 사용하기 위한 것이다. 일부 구현예에서, 화합물은 비만증의 치료 방법에 사용하기 위한 것이다. 일부 구현예에서, 화합물은 체중 관리 방법에 사용하기 위한 것이다. 일부 구현예에서, 화합물은 식욕 감소 방법에 사용하기 위한 것이다. 일부 구현예에서, 화합물은 음식 섭취량 감소 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0181] **생산 프로세스**

[0182] 본 발명의 프로드러그(또는 이의 단편)는 고전적인 펩티드 합성, 예를 들어 t-Boc 또는 Fmoc 화학물질을 사용하는 고상 펩티드 합성 또는 잘 확립된 다른 기술을 사용하여 생산될 수 있다(예를 들어 Greene 및 Wuts의 문헌 ["Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, 1999]; Florencio Zaragoza Dorwald의 문헌 ["Organic Synthesis on Solid Phase", Wiley-VCH Verlag GmbH, 2000]; 및 W.C. Chan 및 P.D. White(편집)의 문헌["Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis", Oxford University Press, 2000] 참조).

[0183] 프로드러그를 제조하는 방법의 구체적인 실시예는 실험 파트에 포함되어 있다.

[0184] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 것과 같은 화합물을 제조하는 방법은 고상 펩티드 합성의 단계를 포함한다. 펩티드 모이어티 및/또는 치환기는 고상 펩티드 합성의 일부로서 순차적으로 제조되거나, 펩티드 합성 후에 별도로 생산되어 펩티드의 적절한 관능기를 통해 부착될 수 있다.

[0185] 일 구현예에서, 화합물은, 치환기가 펩티드 단편 중 하나에 부착된 후에 2개의 펩티드 단편이 연결되는 2단계 프로세스에 의해 생산된다.

[0187] **구현예**

[0188] 본 발명은 다음의 비제한적 구현예에 의해 추가로 기술된다:

[0190] 1. 식 I의 화합물:

[0191] B-Z (식 I)

[0192] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 아마이드, 또는 에스테르로서,

[0193] 식 중 B는 디펩티드이고, 상기 디펩티드는 치환기 b를 임의로 포함하고;

[0194] Z는 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제이고, 상기 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제는 치환기 z를 임의로 포함하고;

[0195] GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 N-말단 아미노기는 펩티드 결합을 통해 B에 연결되는, 화합물.

[0197] 2. 구현예 1에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 아미노산 서열은 다음과 같고:

[0198] YX₂EGTX₆TSDYSX₁₂X₁₃LX₁₅X₁₆X₁₇AX₁₉X₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLX₂₇X₂₈GX₃₀X₃₁X₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇X₃₈X₃₉ (서열번호 1), 식 중

[0199] X₂는 Aib 또는 A이고,

[0200] X₆은 F 또는 V이고,

[0201] X₁₂는 I 또는 Y이고,

[0202] X₁₃은 Y, A, L, I, 또는 Aib이고,

[0203] X₁₅는 D 또는 E이고,

[0204] X₁₆은 K 또는 E이고,

[0205] X₁₇은 Q 또는 I이고,

[0206] X₁₉는 A 또는 Q이고,

[0207] X₂₀은 Q, R, E, H, 또는 K이고,

[0208] X₂₁은 A 또는 E이고,

- [0209] X_{23} 은 I 또는 V이고,
- [0210] X_{24} 는 E, Q, 또는 N이고,
- [0211] X_{27} 은 L 또는 I이고,
- [0212] X_{28} 은 A 또는 R이고,
- [0213] X_{30} 은 G이거나 없고,
- [0214] X_{31} 은 P이거나 없고,
- [0215] X_{32} 는 E, S이거나 없고,
- [0216] X_{33} 은 S, K이거나 없고,
- [0217] X_{34} 는 G이거나 없고,
- [0218] X_{35} 는 A이거나 없고,
- [0219] X_{36} 은 P이거나 없고,
- [0220] X_{37} 은 P이거나 없고,
- [0221] X_{38} 은 P이거나 없고,
- [0222] X_{39} 는 S이거나 없는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

[0224] 3. 구현예 1에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 아미노산 서열은 다음과 같고:

[0225] Y-Aib-EGTFTSDYSIX₁₃LX₁₅X₁₆X₁₇AX₁₉X₂₀X₂₁FX₂₃X₂₄WLX₂₇AGGPSX₃₃GAPPPS(서열번호 2), 식 중

- [0226] X_{13} 은 L 또는 Aib이고,
- [0227] X_{15} 는 D 또는 E이고,
- [0228] X_{16} 은 K 또는 E이고,
- [0229] X_{17} 은 Q 또는 I이고,
- [0230] X_{19} 는 A 또는 Q이고,
- [0231] X_{20} 은 R 또는 K이고,
- [0232] X_{21} 은 A 또는 E이고,
- [0233] X_{23} 은 I 또는 V이고,
- [0234] X_{24} 는 E 또는 Q이고,
- [0235] X_{27} 은 L 또는 I이고,
- [0236] X_{33} 은 S 또는 K인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

[0238] 4. 구현예 1에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 아미노산 서열은 다음과 같고:

- [0239] Y-Aib-EGTFTSDYSILLEX₁₆QAAREFIEWLLAGGPSX₃₃GAPPPS (서열번호 3), 식 중
- [0240] X₁₆은 K 또는 E이고,
- [0241] X₃₃은 S 또는 K인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.

- [0243] 5. 구현예 2 내지 4 중 어느 하나에 있어서, X₁₆은 E이고 X₃₃은 K인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0245] 6. 구현예 2 내지 4 중 어느 하나에 있어서, X₁₆은 K이고 X₃₃은 S인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0247] 7. 구현예 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 아미노산 서열은 Y-Aib-EGTFTSDYSI-Aib-LDKIAQKAFVQWLIAGGPSSGAPPPS(서열번호 4)인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0249] 8. 구현예 1 내지 7 중 어느 하나에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 아미노산 서열은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드:
- [0250] Y-Aib-EGTFTSDYSI-Aib-LDKIAQKAFVQWLIAGGPSSGAPPPS (서열번호 4),
- [0251] Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPSKGAPPPS (서열번호 5), 및
- [0252] Y-Aib-EGTFTSDYSILLEKQAAREFIEWLLAGGPSSGAPPPS (서열번호 6).
- [0254] 9. 구현예 1 내지 구현예 8 중 어느 하나에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 아미노산 서열은 Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPSKGAPPPS(서열번호 5) 또는 Y-Aib-EGTFTSDYSILLEKQAAREFIEWLLAGGPSSGAPPPS(서열번호 6)인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0256] 10. 구현예 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제는 치환기 z를 포함하고, 치환기 z는 리신(K)을 통해 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용체에 부착되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0258] 11. 구현예 2 내지 10 중 어느 하나에 있어서, X₁₆ 및/또는 X₂₀ 및/또는 X₃₃은 리신인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0260] 12. 구현예 2, 3, 11, 또는 6 중 어느 하나에 있어서, X₁₆은 리신인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0262] 13. 구현예 2, 11, 또는 7 중 어느 하나에 있어서, X₂₀은 리신인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0264] 14. 구현예 2, 3, 11, 또는 5 중 어느 하나에 있어서, X₃₃은 리신인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한

염, 에스테르, 또는 아마이드.

- [0266] 15. 구현예 1 내지 14 중 어느 하나에 있어서, 치환기 z는 위치 16, 20, 또는 33에서 리신(K)을 통해 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제에 부착되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0268] 16. 구현예 1 내지 15 중 어느 하나에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제는 C-말단의 아마이드 변형을 갖는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0270] 17. 구현예 5, 8, 또는 9 중 어느 하나에 있어서, 위치 33에서의 리신은 엡실론-아미노기에 대한 리신 측쇄의 집합을 통해 화학식 8, 화학식 7, 또는 화학식 10으로 화학적으로 변형되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0272] 18. 구현예 6, 8, 또는 9 중 어느 하나에 있어서, 위치 16에서의 리신은 엡실론-아미노기에 대한 리신 측쇄의 집합을 통해 화학식 7로 화학적으로 변형되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0274] 19. 구현예 7 또는 구현예 8에 있어서, 위치 20에서의 리신은 엡실론-아미노기에 대한 리신 측쇄의 집합을 통해 화학식 11로 화학적으로 변형되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0276] 20. 구현예 1 내지 19 중 어느 하나에 있어서, 디펩티드 B는 식 II의 것이고: X-Y (식 II),
- [0277] 식 중 X는 X의 알파-카르복시산기와 Y의 알파-아미노기 사이에 형성된 아마이드 결합을 통해 Y에 연결된 임의의 알파-아미노산이고,
- [0278] Y는 Y의 알파-카르복시산기와 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 N-말단 아미노기 사이에 형성된 펩티드 결합을 통해 Z에 연결된 N-알킬화된 알파-아미노산인, 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0280] 21. 구현예 1 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 디펩티드 B는 식 II의 것이고: X-Y (식 II),
- [0281] 식 중 X는 X의 알파-카르복시산기와 Y의 알파-아미노기 사이에 형성된 아마이드 결합을 통해 Y에 연결된 임의의 알파-아미노산이고,
- [0282] Y는 Y의 알파-카르복시산기와 Z의 N-말단 아미노기 사이에 형성된 펩티드 결합을 통해 Z에 연결된 N-알킬화된 알파-아미노산인, 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0284] 22. 구현예 20 또는 구현예 21에 있어서, Y는 사르코신, N-세크-부틸글리신, 프롤린, 트랜스-4-하이드록시프롤린, N-메틸글루타메이트, N-메틸노르류신, N-메틸호모알라닌, N-메틸알라닌, N-메틸리신, N-(2-아미노에틸)글리신, N-헥실호모알라닌, N-프로필알라닌, 호모프롤린, N-프로필글리신, N-에틸글리신, 및 N-메틸페닐알라닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0286] 23. 구현예 20 내지 22 중 어느 하나에 있어서, X는 리신, 4-아미노페닐알라닌, D-리신, 알라닌, 글리신, 프롤린, D-발린, 호모프롤린, D-프롤린, D-호모프롤린, D-알라닌, 및 아제티딘-2-카르복시산으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

- [0288] 24. 구현예 20 내지 23 중 어느 하나에 있어서, Y는 사르코신, N-세크-부틸글리신, 프롤린, 트랜스-4-하이드록시프롤린, N-메틸글루타메이트, N-메틸노르류신, N-메틸호모알라닌, N-메틸알라닌, N-메틸리신, N-헥실호모알라닌, N-프로필알라닌, 호모프롤린, N-프로필글리신, N-에틸글리신, 및 N-메틸페닐알라닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0290] 25. 구현예 20 내지 24 중 어느 하나에 있어서, Y는 사르코신 또는 N-(2-아미노에틸)글리신인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0292] 26. 구현예 20 내지 25 중 어느 하나에 있어서, X는 리신, D-리신, 알라닌, 류신, 글리신, 프롤린, 및 아스파르타산으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0294] 27. 구현예 20 내지 26 중 어느 하나에 있어서, X는 리신, D-리신, 및 글리신으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0296] 28. 구현예 1 내지 27 중 어느 하나에 있어서, 디펩티드는 분자내 고리화를 거쳐, A와 Z 사이의 아미드 결합이 절단되도록 2,5-디케토피페라진(DKP)을 형성할 수 있는, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0298] 29. 구현예 1 내지 27 중 어느 하나에 있어서, 디펩티드는 분자내 고리화를 거쳐, A와 Z 사이의 펩티드 결합이 절단되도록 2,5-디케토피페라진(DKP)을 형성할 수 있는, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0300] 30. 구현예 1 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 디펩티드는 치환기 b를 포함하는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0302] 31. 구현예 1 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 디펩티드는 치환기 b를 보유하는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0304] 32. 구현예 1 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 디펩티드는 치환기 b를 갖는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0306] 33. 구현예 21 내지 30 중 어느 하나에 있어서, 치환기 b는 아미드 결합을 통해 X에 임의로 공유 부착되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0308] 34. 구현예 21 내지 30 중 어느 하나에 있어서, 치환기 b는 아미드 결합을 통해 Y에 임의로 공유 부착되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0310] 35. 구현예 1 내지 34 중 어느 하나에 있어서, 치환기 b는 알부민 결합 모이어티인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.

[0312] 36. 구현에 1 내지 35 중 어느 하나에 있어서, 치환기 b는 프로트랙터 및 임의로 링커를 포함하거나 이로 이루어지는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

[0314] 37. 구현에 36에 있어서, 프로트랙터는 C₁₆-C₂₂ 카르복시산과 같은 지방산인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

[0316] 38. 구현에 36 또는 구현에 37에 있어서, 프로트랙터는 화학식 1인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

[0318] 39. 구현에 1 내지 38 중 어느 하나에 있어서, 치환기는 링커를 포함하고, 임의로 링커는 링커 요소를 포함하거나 이들로 이루어지는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

[0320] 40. 구현에 38 내지 39 중 어느 하나에 있어서, 링커는 식 IV의 것이고:

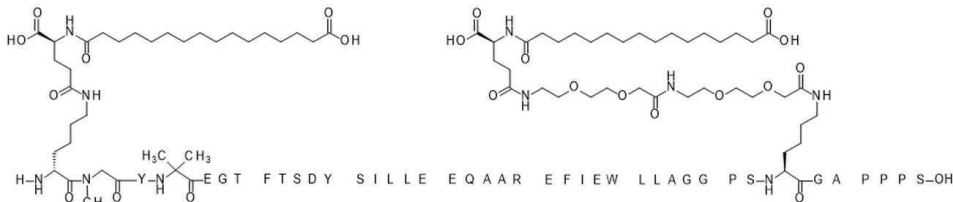
[0321] A₁-A₂-A₃-A₄-A₅ (식 IV),

[0322] 식 중 A₁은 아마이드 결합을 통해 디펩티드의 아미노산에 공유 결합되고 아마이드 결합을 통해 프로트랙터에도 임의로 공유 결합되며, 화학식 2, 화학식 3, 화학식 4, 및 화학식 5로 이루어진 군으로부터 선택되고; A₅는 화학식 1에 공유 결합되고 화학식 2이거나 없으며; A₂, A₃, 및 A₄ 각각은 화학식 2, 화학식 3, 화학식 4, 및 화학식 5로 이루어진 군으로부터 개별적으로 선택되거나 없는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

[0324] 41. 구현에 1 내지 40 중 어느 하나에 있어서, 치환기 b는 화학식 16, 화학식 17, 화학식 18, 화학식 19, 화학식 20, 화학식 21, 및 화학식 22로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

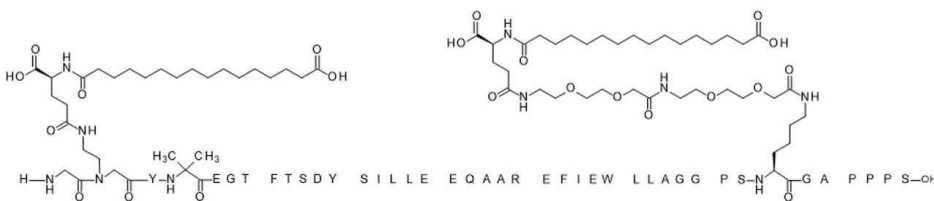
[0326] 42. 구현에 1 내지 41 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드:

[0327] 화합물 1



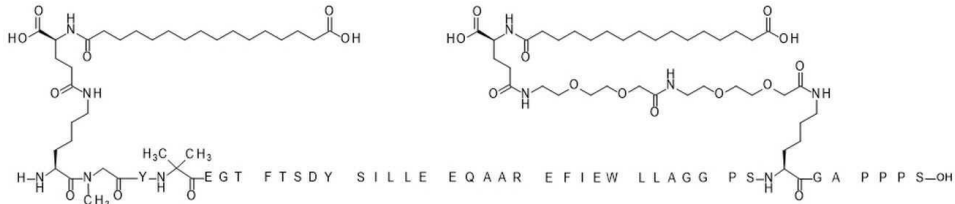
[0328]

[0329] 화합물 2

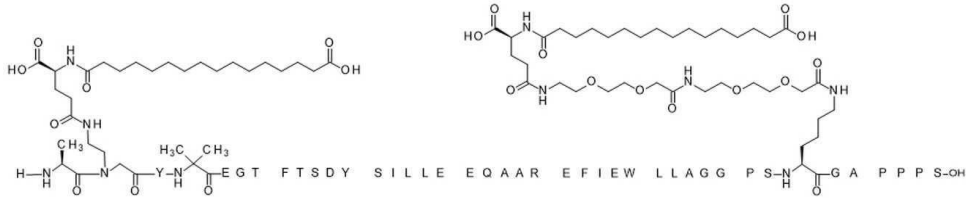


[0330]

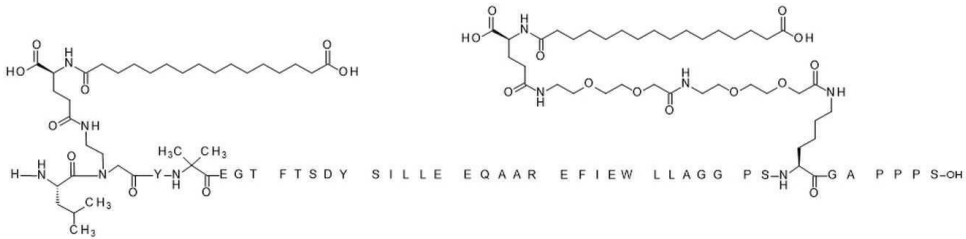
[0331] 화합물 3



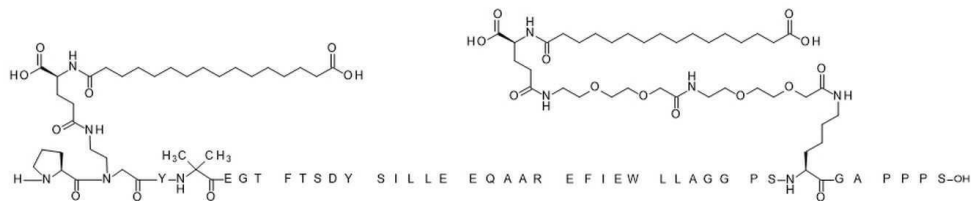
[0333] 화합물 4



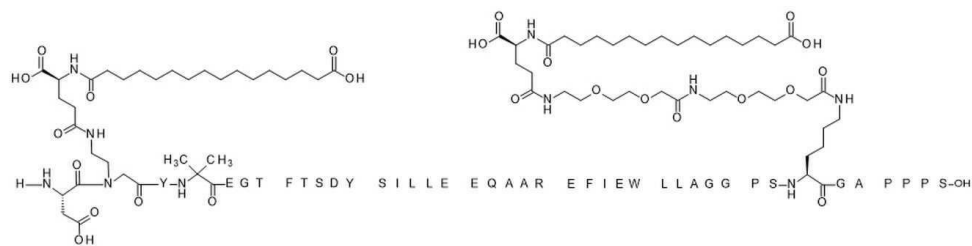
[0335] 화합물 5



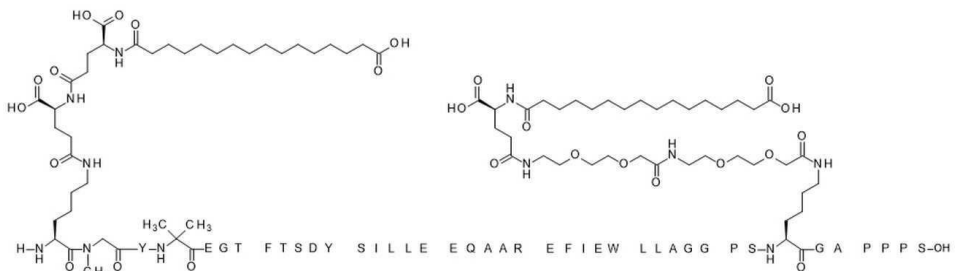
[0337] 화합물 6



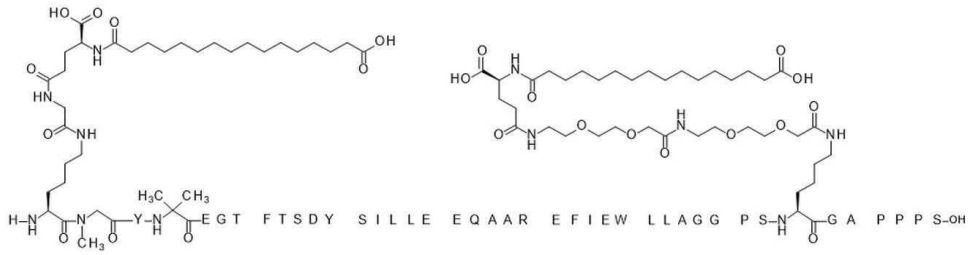
[0339] 화합물 7



[0341] 화합물 8

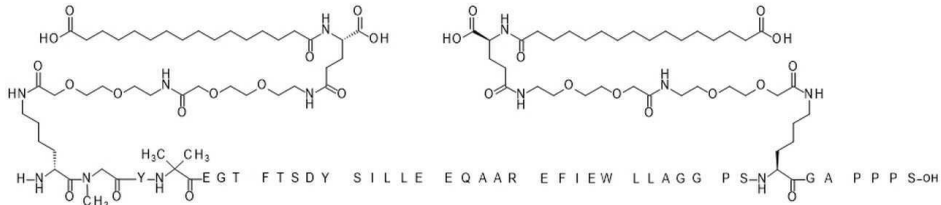


[0343] 화합물 9



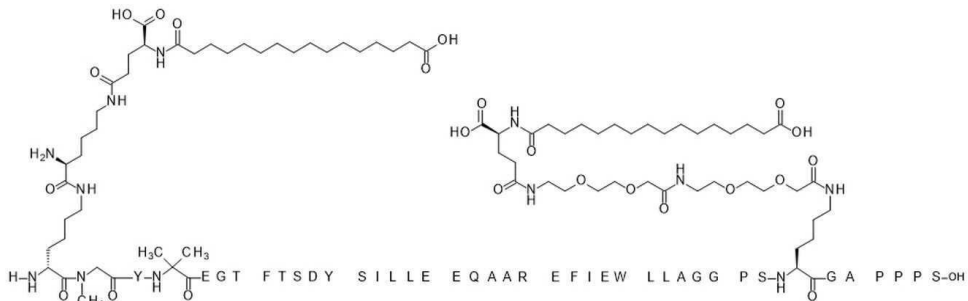
[0344]

[0345] 화합물 10



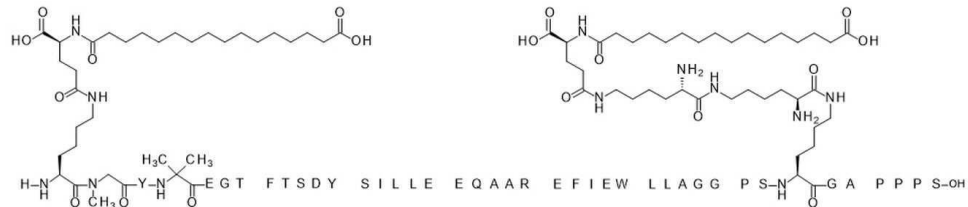
[0346]

[0347] 화합물 11



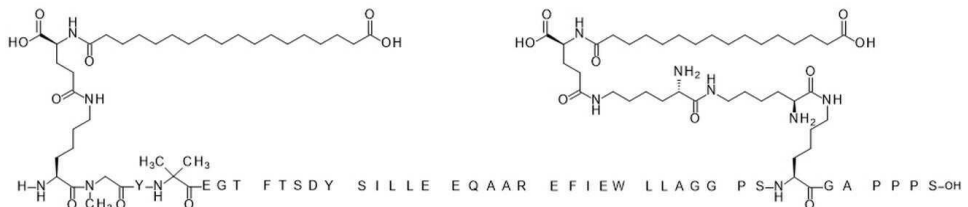
[0348]

[0349] 화합물 12



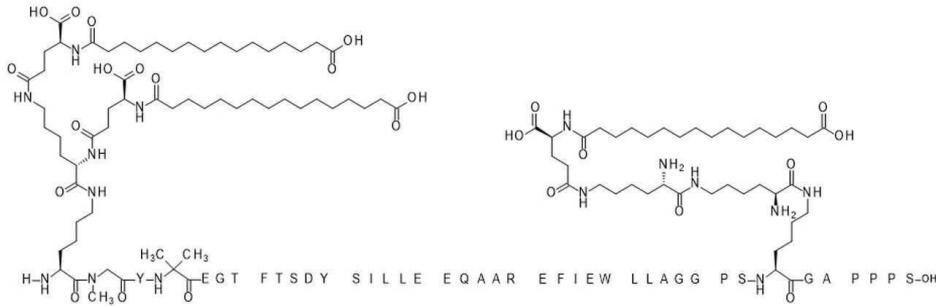
[0350]

[0351] 화합물 13

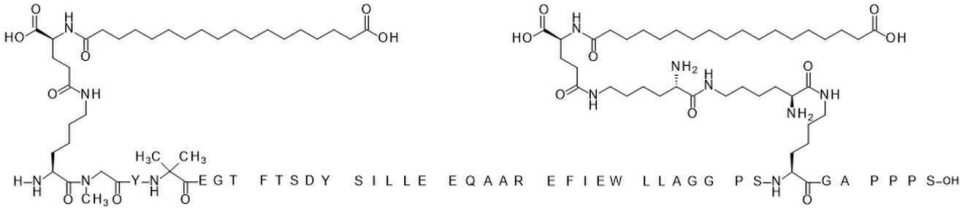


[0352]

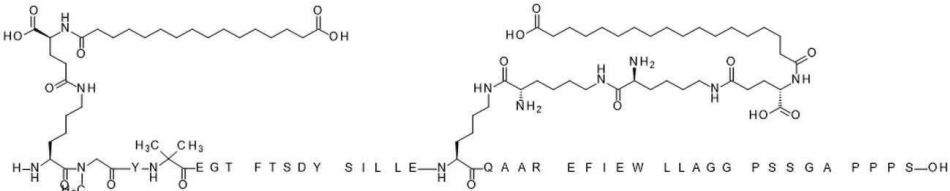
[0353] 화합물 14



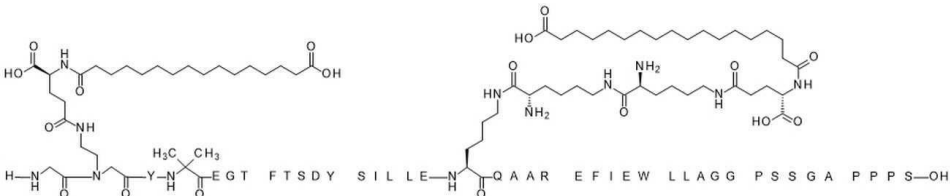
[0355] 화합물 15



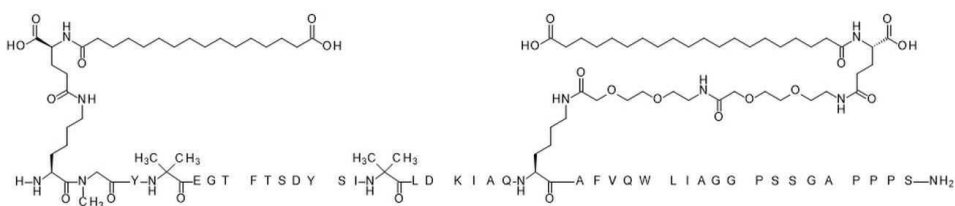
[0357] 화합물 16



[0359] 화합물 17



[0361] 화합물 18.



[0364] 43. 구현예 1 내지 42 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 화합물 번호 1, 2, 3, 9, 및 10으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

[0366] 44. 구현예 1 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 화합물 번호 1인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

[0368] 45. 구현예 1 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 화합물 번호 2인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용

가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.

- [0370] 46. 구현예 1 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 화합물 번호 3인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0372] 47. 구현예 1 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 화합물 번호 4인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0374] 48. 구현예 1 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 화합물 번호 5인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0376] 49. 구현예 1 내지 48 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 프로드러그이고 시험관 내에서 임의의 유의한 효능을 발휘하지 않는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0378] 50. 구현예 1 내지 49 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 프로드러그이고 전환 반감기를 갖는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0380] 51. 구현예 50에 있어서, 전환 반감기는 37°C에서 pH 7.4에서 시험관 내에서 측정되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0382] 52. 구현예 50 또는 51에 있어서, 전환 반감기는 본원의 전환 반감기를 측정하기 위한 일반적인 방법에서 기술된 것과 같이 측정되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0384] 53. 구현예 50 내지 52 중 어느 하나에 있어서, 전환 반감기는 1일 1회 투여에 적합한, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0386] 54. 구현예 50 내지 52 중 어느 하나에 있어서, 전환 반감기는 매주 매일 투여에 적합한, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0388] 55. 구현예 50 내지 52 중 어느 하나에 있어서, 시험관 내에서 측정된 전환 반감기는 90~4300 시간인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0390] 56. 구현예 50 내지 52 중 어느 하나에 있어서, 시험관 내에서 측정된 전환 반감기는 90~4300 시간인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0392] 57. 구현예 50 내지 52 중 어느 하나에 있어서, 시험관 내에서 측정된 전환 반감기는 300~1100 시간인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0394] 58. 구현예 50 내지 52 중 어느 하나에 있어서, 시험관 내에서 측정된 전환 반감기는 450~650 시간인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.

- [0396] 59. 구현예 50 내지 52 중 어느 하나에 있어서, 시험관 내에서 측정된 전환 반감기는 적어도 100 시간인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0398] 60. 구현예 50 내지 52 중 어느 하나에 있어서, 시험관 내에서 측정된 전환 반감기는 적어도 200 시간인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0400] 61. 구현예 50 내지 52 중 어느 하나에 있어서, 시험관 내에서 측정된 전환 반감기는 적어도 300 시간인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0402] 62. 구현예 1 내지 61 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 최종 반감기를 갖는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0404] 63. 구현예 1 내지 61 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 최종 반감기를 갖고, 최종 반감기는 1일 1회 투여에 적합한, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0406] 64. 구현예 1 내지 61 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 최종 반감기를 갖고, 최종 반감기는 1주 1회 투여에 적합한, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0408] 65. 구현예 62 또는 64 중 어느 하나에 있어서, 전환 반감기는 미니피그에서 결정되고, 본원의 전환 반감기를 측정하기 위한 일반적인 방법에서 기술된 것과 같이 측정되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0410] 66. 구현예 62 내지 65 중 어느 하나에 있어서, 최종 반감기는 미니피그에서 결정했을 때 >90 시간인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0412] 67. 구현예 62 내지 65 중 어느 하나에 있어서, 최종 반감기는 미니피그에서 결정했을 때 >110 시간인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0414] 68. 구현예 62 내지 65 중 어느 하나에 있어서, 최종 반감기는 미니피그에서 결정했을 때 >250 시간인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0416] 69. 구현예 62 내지 65 중 어느 하나에 있어서, 최종 반감기는 미니피그에서 결정했을 때 >180 시간인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0418] 70. 구현예 62 내지 65 중 어느 하나에 있어서, 최종 반감기는 미니피그에서 결정했을 때 80~240 시간인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0420] 71. 구현예 62 내지 65 중 어느 하나에 있어서, 최종 반감기는 미니피그에서 결정했을 때 110~191 시간인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.

- [0422] 72. 구현예 1 내지 71 중 어느 하나에 따른 화합물, 및 적어도 하나의 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물.
- [0424] 73. 구현예 72에 있어서, 약학적 조성물은 액체 제형인, 약학적 조성물.
- [0426] 74. 구현예 72에 있어서, 약학적 조성물은 고형 제형인, 약학적 조성물.
- [0428] 75. 구현예 72에 있어서, 약학적 조성물은 경구 투여용인, 약학적 조성물.
- [0430] 76. 구현예 74 내지 76 중 어느 하나에 있어서, 조성물은 정제 형태인, 약학적 조성물.
- [0432] 77. 구현예 74 내지 77 중 어느 하나에 있어서, 적어도 하나의 약학적으로 허용 가능한 부형제는 N-(8-(2-하이드록시벤조일)아미노)카프릴산의 염이고, 예컨대 N-(8-(2-하이드록시벤조일)아미노)카프릴산은 N-(8-(2-하이드록시벤조일)아미노)카프릴산 나트륨(SNAC)인, 약학적 조성물.
- [0434] 78. 구현예 74 내지 78 중 어느 하나에 있어서, 스테아린산마그네슘과 같은 윤활제를 추가로 포함하는, 약학적 조성물.
- [0436] 79. 구현예 1 내지 71 중 어느 하나에 따른 화합물, N-(8-(2-하이드록시벤조일)아미노)카프릴산의 염, 윤활제, 및 임의로 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는, 정제.
- [0438] 80. 구현예 79에 있어서, N-(8-(2-하이드록시벤조일)아미노)카프릴산의 염은 N-(8-(2-하이드록시벤조일)아미노)카프릴산 나트륨(SNAC)인, 정제.
- [0440] 81. 구현예 79 또는 구현예 80에 있어서, 윤활제는 스테아린산 마그네슘인, 정제.
- [0442] 82. 의약으로서 사용하기 위한 구현예 1 내지 71 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 구현예 72 내지 78 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물 또는 구현예 79 내지 81 중 어느 하나에 따른 정제.
- [0444] 83. 2형 당뇨병을 치료하는 데 사용하기 위한 구현예 1 내지 71 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 구현예 72 내지 78 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물 또는 구현예 79 내지 81 중 어느 하나에 따른 정제.
- [0446] 84. 비만증을 치료하는 데 사용하기 위한 구현예 1 내지 71 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 구현예 72 내지 78 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물 또는 구현예 79 내지 81 중 어느 하나에 따른 정제.
- [0448] 85. 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환(NAFLD), 비알코올성 지방간염(NASH), 간 염증, 및/또는 지방간과 같은 간 질환을 치료하는 데 사용하기 위한 구현예 1 내지 71 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 구현예 72 내지 78 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물 또는 구현예 79 내지 81 중 어느 하나에 따른 정제.

- [0450] 86. 다음을 위한 의약의 제조에 있어서 구현예 1 내지 71 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 구현예 72 내지 78 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물 또는 구현예 79 내지 81 중 어느 하나에 따른 정제의 용도:
- [0451] a. 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환(NAFLD), 비알코올성 지방간염(NASH), 간 염증, 및/또는 지방간과 같은 간 질환의 예방 및/또는 치료;
- [0452] b. 비만증의 예방 및/또는 치료; 및/또는
- [0453] c. 2형 당뇨병의 예방 및/또는 치료.
- [0455] 87. 2형 당뇨병의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 구현예 1 내지 71 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 구현예 72 내지 78 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물 또는 구현예 79 내지 81 중 어느 하나에 따른 정제의 용도.
- [0457] 88. 비만증용 의약의 제조에 있어서 구현예 1 내지 71 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 구현예 72 내지 78 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물 또는 구현예 79 내지 81 중 어느 하나에 따른 정제의 용도.
- [0459] 89. 구현예 1 내지 71 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 구현예 72 내지 78 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물 또는 구현예 79 내지 81 중 어느 하나에 따른 정제를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하여 2형 당뇨병을 예방 및/또는 치료하기 위한 방법.
- [0461] 90. 구현예 1 내지 71 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 구현예 72 내지 78 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물 또는 구현예 79 내지 81 중 어느 하나에 따른 정제를 이를 필요로 하는 시험대상자에게 투여하여 비만증을 예방 및/또는 치료하기 위한 방법.
- [0463] 91. 구현예 1 내지 71 중 어느 하나에 따른 화합물 또는 구현예 72 내지 78 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물 또는 구현예 79 내지 81 중 어느 하나에 따른 정제를 이를 필요로 하는 시험대상자에게 투여하여 간 지방증, 비알코올성 지방간 질환(NAFLD), 비알코올성 지방간염(NASH), 간 염증, 및/또는 지방간과 같은 간 질환을 예방 및/또는 치료하기 위한 방법.
- [0465] 본 발명은 다음의 추가 비제한적 구현예에 의해 추가로 기술된다:
- [0466] 1. 식 I의 화합물: B-Z (식 I)
- [0467] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 아마이드, 또는 에스테르로서,
- [0468] 식 중 Z는 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제 또는 이의 유도체이고;
- [0469] B는 식 II의 디펩티드이고: X - Y (식 II),
- [0470] 식 중 X는 X의 알파-카르복시산기와 Y의 알파-아미노기 사이에 형성된 아마이드 결합을 통해 Y에 연결된 임의의 알파-아미노산이고,
- [0471] Y는 Y의 알파-카르복시산기와 Z의 아민 사이에 형성된 아마이드 결합을 통해 Z에 연결된 N-알킬화된 알파-아미노산인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0473] 2. 구현예 1에 있어서, Y는 사르코신, N-세크-부틸글리신, 프롤린, 트랜스-4-하이드록시프롤린, N-메틸글루타메이트, N-메틸노르류신, N-메틸호모알라닌, N-메틸알라닌, N-메틸리신, N-(2-아미노에틸)글리신, N-헥실호모알라닌, N-프로필알라닌, 호모프롤린, N-프로필글리신, N-에틸글리신, 및 N-메틸페닐알라닌으로 이루어진 군으로부터

터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

- [0475] 3. 구현예 1 내지 2 중 어느 하나에 있어서, X는 리신, 4-아미노페닐알라닌, D-리신, 알라닌, 글리신, 프롤린, D-발린, 호모프롤린, D-프롤린, D-호모프롤린, D-알라닌, 및 아제티딘-2-카르복시산으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0477] 4. 구현예 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, Y는 사르코신, N-세크-부틸글리신, 프롤린, 트랜스-4-하이드록시프롤린, N-메틸글루타메이트, N-메틸노르류신, N-메틸호모알라닌, N-메틸알라닌, N-메틸리신, N-핵심호모알라닌, N-프로필알라닌, 호모프롤린, N-프로필글리신, N-에틸글리신, 및 N-메틸페닐알라닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0479] 5. 구현예 1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, Y는 사르코신 또는 N-(2-아미노에틸)글리신인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0481] 6. 구현예 1 내지 5 중 어느 하나에 있어서, X는 리신, D-리신, 알라닌, 류신, 글리신, 프롤린, 및 아스파르트산으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0483] 7. 구현예 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, X는 리신, D-리신, 및 글리신으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0485] 8. 구현예 1 내지 7 중 어느 하나에 있어서, 디펩티드는 분자내 고리화를 거쳐, B와 Z 사이의 아마이드 결합이 절단되도록 2,5-디케토피페라진(DKP)을 형성할 수 있는, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0487] 9. 구현예 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 디펩티드는 치환기 b를 포함하는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0489] 10. 구현예 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 디펩티드는 치환기 b를 갖는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0491] 11. 구현예 1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 치환기 b는 아마이드 결합을 통해 X에 임의로 공유 부착되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0493] 12. 구현예 1 내지 11 중 어느 하나에 있어서, 치환기 b는 프로트랙터 및 임의로 링커를 포함하거나 이로 이루어지는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0495] 13. 구현예 1 내지 12 중 어느 하나에 있어서, 프로트랙터는 화학식 1인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0497] 14. 구현예 1 내지 13 중 어느 하나에 있어서, 치환기 b는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드: 화학식 16, 화학식 17, 화학식 18, 화학식 19, 화

학식 20, 화학식 21, 및 화학식 22.

- [0499] 15. 구현예 1 내지 구현예 14 중 어느 하나에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 아미노산 서열은
- [0500] $YX_2EGTX_6TSDYSX_{12}X_{13}LX_{15}X_{16}X_{17}AX_{19}X_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}W LX_{27}X_{28}GX_{30}X_{31}X_{32}X_{33}X_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}$ (서열번호 1)이고, 식 중
- [0501] X_2 는 Aib 또는 A이고,
- [0502] X_6 은 F 또는 V이고,
- [0503] X_{12} 는 I 또는 Y이고,
- [0504] X_{13} 은 Y, A, L, I, 또는 Aib이고,
- [0505] X_{15} 는 D 또는 E이고,
- [0506] X_{16} 은 K 또는 E이고,
- [0507] X_{17} 은 Q 또는 I이고,
- [0508] X_{19} 는 A 또는 Q이고,
- [0509] X_{20} 은 Q, R, E, H, 또는 K이고,
- [0510] X_{21} 은 A 또는 E이고,
- [0511] X_{23} 은 I 또는 V이고,
- [0512] X_{24} 는 E, Q, 또는 N이고,
- [0513] X_{27} 은 L 또는 I이고,
- [0514] X_{28} 은 A 또는 R이고,
- [0515] X_{30} 은 G이거나 없고,
- [0516] X_{31} 은 P이거나 없고,
- [0517] X_{32} 는 E, S이거나 없고,
- [0518] X_{33} 은 S, K이거나 없고,
- [0519] X_{34} 는 G이거나 없고,
- [0520] X_{35} 는 A이거나 없고,
- [0521] X_{36} 은 P이거나 없고,
- [0522] X_{37} 은 P이거나 없고,
- [0523] X_{38} 은 P이거나 없고,
- [0524] X_{39} 는 S이거나 없는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0526] 16. 구현예 1 내지 15 중 어느 하나에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 아미노산 서열은
- [0527] $Y-Aib-EGTFTSDYSIX_{13}LX_{15}X_{16}X_{17}AX_{19}X_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}W LX_{27}AGGPSX_{33}GAPPPS$ (서열번호 2)이고, 식 중

- [0528] X_{13} 은 L 또는 Aib이고,
- [0529] X_{15} 는 D 또는 E이고,
- [0530] X_{16} 은 K 또는 E이고,
- [0531] X_{17} 은 Q 또는 I이고,
- [0532] X_{19} 는 A 또는 Q이고,
- [0533] X_{20} 은 R 또는 K이고,
- [0534] X_{21} 은 A 또는 E이고,
- [0535] X_{23} 은 I 또는 V이고,
- [0536] X_{24} 는 E 또는 Q이고,
- [0537] X_{27} 은 L 또는 I이고,
- [0538] X_{33} 은 S 또는 K인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0540] 17. 구현예 1 내지 16 중 어느 하나에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 아미노산 서열은
- [0541] Y-Aib-EGTFTSDYSILLEX₁₆QAAREFIEWLLAGGPSX₃₃GAPPPS(서열번호 3)이고, 식 중
- [0542] X_{16} 은 K 또는 E이고,
- [0543] X_{33} 은 S 또는 K인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0545] 18. 구현예 1 내지 17 중 어느 하나에 있어서, X_{16} 은 E이고 X_{33} 은 K인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0547] 19. 구현예 1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, X_{16} 은 K이고 X_{33} 은 S인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0549] 20. 구현예 1 내지 19 중 어느 하나에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제의 아미노산 서열은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드:
- [0550] Y-Aib-EGTFTSDYSI-Aib-LDKIAQKAFVQWLIAGGPSSGAPPPS (서열번호 4),
- [0551] Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPSKGAPPPS (서열번호 5), 및
- [0552] Y-Aib-EGTFTSDYSILLEKQAAREFIEWLLAGGPSSGAPPPS (서열번호 6).
- [0554] 21. 구현예 1 내지 20 중 어느 하나에 있어서, GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제는 치환기 z 를 포함하고, 치환기 z 는 리신(K)을 통해 GLP-1/GIP 수용체 공동-작용제에 부착되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아미드.
- [0556] 22. 구현예 1 내지 21 중 어느 하나에 있어서, 치환기 z 는 위치 16, 20, 또는 33에서 리신(K)을 통해 GLP-

1/GIP 수용체 공동-작용제에 부착되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.

- [0558] 23. 구현예 1 내지 22 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 화합물 번호 1, 화합물 번호 2, 화합물 번호 3, 화합물 번호 4, 화합물 번호 5, 화합물 번호 6, 화합물 번호 7, 화합물 번호 8, 화합물 번호 9, 화합물 번호 10, 화합물 번호 11, 화합물 번호 12, 화합물 번호 13, 화합물 번호 14, 화합물 번호 15, 화합물 번호 16, 화합물 번호 17, 및 화합물 번호 18로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0560] 24. 구현예 1 내지 23 중 어느 하나에 있어서, 화합물은 화합물 번호 1, 2, 3, 9, 및 10으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 아마이드.
- [0562] 25. 구현예 1 내지 24 중 어느 하나에 따른 화합물 및 적어도 하나의 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물.
- [0564] 26. 구현예 25에 있어서, 약학적 조성물은 액체 제형인, 약학적 조성물.
- [0566] 27. 구현예 25에 있어서, 약학적 조성물은 고형 제형인, 약학적 조성물.
- [0568] 28. 구현예 25 내지 27 중 어느 하나에 있어서, 약학적 조성물은 경구 투여용인, 약학적 조성물.
- [0570] 29. 구현예 25 내지 27 중 어느 하나에 있어서, 약학적 조성물은 비경구 투여용인, 약학적 조성물.
- [0572] 30. 구현예 25 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 약학적 조성물은 정제 형태인, 약학적 조성물.
- [0574] 31. 의약으로서 사용하기 위한, 구현예 1 내지 24 중 어느 하나에 따른, 화합물.
- [0576] 32. 2형 당뇨병의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 구현예 1 내지 24 중 어느 하나에 따른 화합물.
- [0578] 33. 비만증의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 구현예 1 내지 24 중 어느 하나에 따른 화합물.
- [0580] 34. 간 지방증, 비-알코올성 지방간 질환(NAFLD), 비-알코올성 지방간염(NASH), 간 염증, 또는 지방 간과 같은 간 질환의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 구현예 1 내지 24 중 어느 하나에 따른 화합물.

[0582] **실시예**

[0583] 본 실험 파트는 약어 목록으로 시작하며, 화합물 제조를 위한 일반적인 방법에 대한 섹션 및 노출 프로파일에 관련된 특성을 측정하는 방법에 대한 섹션이 이어진다. 섹션 각각에는 본 발명을 예시하기 위한 다수의 특정 실시예가 포함되어 있다. 모든 실시예 화합물은 본원에 기술된 일반적인 방법에 따라 제조하였다. 해당되는 경우, 치환기의 화학명은 Accelrys Draw 버전 4.1 SP1 소프트웨어 및 IUPAC 명명법을 사용하여 생성하였다.

- [0585] 약어
- [0586] 알파벳 순서로 나열된 다음의 약어가 하기에서 사용된다:
- [0588] Ado: 8-아미노-3,6-디옥사옥탄산
- [0589] Aeg: N-(2-아미노에틸)글리신
- [0590] Aib: α-아미노이소부티르산
- [0591] Alloc: 알릴옥시카르보닐
- [0592] API: 대기압 이온화
- [0593] AUC: 곡선 아래 면적
- [0594] BHK: 베이비 햄스터 신장
- [0595] Boc: *t*-부틸옥시카르보닐
- [0596] Cl-HOBt: 6-클로로-1-하이드록시벤조트리아졸
- [0597] DCM: 디클로로메탄
- [0598] DIC: 디이소프로필카르보디이미드
- [0599] DIPEA: *N,N*-디이소프로필에틸아민
- [0600] DKP: 2,5-디케토피페라진
- [0601] DMEM: Dulbecco의 변형된 이글 배지(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)
- [0602] DPBS: Dulbecco 인산염 완충 식염수
- [0603] EDTA: 에틸렌디아민테트라아세트산
- [0604] ELISA - 효소-결합 면역흡착 분석
- [0605] equiv: 몰당량
- [0606] FBS: 소 태아 혈청
- [0607] Fmoc: 9-플루오레닐메틸옥시카르보닐
- [0608] GIP: 포도당-의존적 인슐린 방출성 폴리펩티드
- [0609] GIPR: 포도당-의존적 인슐린 방출성 폴리펩티드 수용체
- [0610] GLP-1: 글루카곤-유사 펩티드 1
- [0611] GLP-1R: 글루카곤-유사 펩티드 1 수용체
- [0612] h: 시간
- [0613] HEPES: 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄술폰산
- [0614] HFIP: 1,1,1,3,3,3-헥사플루오로-2-프로판올 또는 헥사플루오로이소프로판올
- [0615] HPLC: 고성능 액상 크로마토그래피
- [0616] HSA: 인간 혈청 알부민
- [0617] i.v. 정맥 내
- [0618] LCMS: 액체 크로마토그래피 질량 분광법
- [0619] MeCN: 아세토니트릴
- [0620] MeOH: 메탄올

- [0621] mM: 밀리몰
- [0622] mmol: 밀리몰
- [0623] min: 분
- [0624] Mtt: 4-메틸트리틸
- [0625] NMP: 1-메틸-피롤리딘-2-온
- [0626] OtBu: *tert*-부틸 에스테르
- [0627] Oxyma Pure®: 시아노-하이드록시이미노-아세트산 에틸 에스테르
- [0628] Pbf: 2,2,4,6,7-펜타메틸디하이드로벤조푸란-5-설포닐
- [0629] PBS: 인산 완충 식염수
- [0630] PK: 약동학
- [0631] pM: 피코몰
- [0632] p.o.: 경구
- [0633] rpm: 분당 회전수
- [0634] Rt: 유지 시간
- [0635] Sar: 사르코신
- [0636] s.c.: 피하
- [0637] SNAC: 나트륨 *N*-[8-(2-하이드록시벤조일)아미노]카프릴레이트
- [0638] SPPS: 고상 펩티드 합성
- [0639] tBu: *tert*-부틸
- [0640] T2D: 2형 진성 당뇨병
- [0641] TFA: 트리플루오로아세트산
- [0642] TIS: 트라이소프로필실란
- [0643] Trt: 트리페닐메틸 또는 트리틸
- [0644] UPLC: 초고성능 액체 크로마토그래피

[0647] **본 발명의 화합물의 제조를 위한 일반적인 방법**

[0648] 고상 펩티드 합성 방법(아미노산의 탈보호 방법, 수지로부터 펩티드를 절단하고 정제하는 방법을 포함하는 SPPS 방법)뿐만 아니라 생성된 펩티드를 검출하고 특징을 분석하는 방법(LCMS 방법)이 다음에서 기술된다.

[0649] C-말단 펩티드 아미드의 제조에 사용된 수지는 H-Rink Amide-ChemMatrix 수지(예를 들어, 0.5 mmol/g 로딩)였다. C-말단 펩티드 산의 제조에 사용된 수지는, 적절하게 보호된 C-말단 아미노산 유도체가 미리 로딩된(예를 들어 0.5 mmol/g이 로딩된) Wang-폴리스티렌 수지였다. 아래에 명시된 모든 작업은 0.1~1.0 mmol 합성 규모 범위 내에서 수행하였다. 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 사용된 Fmoc 보호된 아미노산 유도체는, 권장 표준 물질: 예를 들어 AAPTEC, Anaspec, Bachem, ChemImpex, Iris Biotech, Midwest Biotech, Gyros Protein Technologies, 또는 Novabiochem으로부터 공급되는 Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Lys(Mtt)-OH, Fmoc-Aib-OH 등이었다. 그의 다른 것들이 명시되지 않는 경우, 아미노산의 단백질생성 L-형태가 사용된다. 각 화합물의 N-말단

아미노산의 커플링을 위해, 알파-아미노기에서 보호된 Boc를 함유하는 시약을 사용하였다.

[0650] SPPS를 사용해 디펩티드를 부착하는 경우, Alloc-Aeg(Fmoc)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OtBu)-OH, Boc-Gly-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(Fmoc)-OH, Boc-D-Lys(Fmoc)-OH, Boc-Pro-OH, Fmoc-Aeg(N₃)-OH, 및 Fmoc-Sar-OH와 같은 (이에 한정되지는 않음) 적절히 보호된 빌딩 블록을 사용하였다. SPPS를 사용해 치환기를 부착하는 경우, Fmoc-8-아미노-3,6-디옥사옥탄산 (Fmoc-Ado-OH), Boc-Lys(Fmoc)-OH, Fmoc-Glu-OtBu, Fmoc-Gly-OH, 헥사데칸이산 모노-*tert*-부틸 에스테르, 옥타데칸이산 모노-*tert*-부틸 에스테르, 또는 에이코산이산 모노-*tert*-부틸 에스테르와 같은 (이에 한정되지는 않음) 적절히 보호된 빌딩 블록을 사용하였다.

[0652] 1. 수지 결합된 보호된 펩티드 백본의 합성:

[0653] *방법: SPPS_A*

[0654] SPPS는 제조업체가 제공한 프로토콜을 약간 수정해서 사용하여, Protein Technologies SymphonyX 고상 펩티드 합성기 상에서 Fmoc 기반 화학물질을 사용하여 수행하였다. 혼합은 가끔씩 질소로 버블링하여 수행하였다. 다음의 단계를 사용하여 단계적 조립을 수행하였다: 1) DMF 중 수지를 미리 팽윤시키는 단계; 2) 1%(v/v) TFA가 있거나 없는 DMF 중 20%(v/v) 피페리딘을 사용해 각각 10분씩 2회 처리하여 Fmoc-탈보호하는 단계; 3) DMF로 세척하여 피페리딘을 제거하는 단계; 4) 2,4,6-콜리딘이 있거나 없는 DMF 중 용액으로서 Fmoc-아미노산, Oxyma Pure®, 및 DIC를 각각 3-12 당량씩 첨가하여 Fmoc-아미노산을 커플링시킨 다음, 적어도 30분 동안 혼합하는 단계; 4) DMF로 세척하여 과량의 시약을 제거하는 단계; 5) 조립 완료 시점에 DCM으로 최종 세척하는 단계. 입체적으로 제약된 아미노산(예: Aib)에 연결되는 것들과 같은, 그러나 이들로 한정되지 않는 일부 아미노산을 연장된 반응 시간(예: 4시간 또는 밤새) 동안 커플링시켜 반응이 완료되도록 하였다.

[0656] *방법: SPPS_B*

[0657] SPPS는 제조업체가 제공한 일반적인 Fmoc 프로토콜을 사용하여, Applied Biosystems 431A 고상 펩티드 합성기 상에서 Fmoc 기반 화학물질을 사용하여 수행하였다. 와동과 함께 가끔씩 질소로 버블링하여 혼합을 수행하였다. 다음의 단계를 사용하여 단계적 조립을 수행하였다: 1) NMP 중 Cl-HOBt의 1 M 용액에 고품 Fmoc-산을 10 당량씩 용해시켜 Fmoc-아미노산을 활성화한 다음, 단계 2-3까지 동시에 혼합하는 단계; 2) NMP 중 20%(v/v) 피페리딘을 사용해 3분 동안 1회 처리한 다음 15분 동안 한 번 더 처리하여 Fmoc-탈보호하는 단계; 3) NMP로 세척하여 피페리딘을 제거하는 단계; 4) 활성화된 Fmoc-아미노산 용액을 수지에 첨가한 다음, 45분 동안 혼합하는 단계; 4) NMP로 세척하여 과량의 시약을 제거하는 단계; 5) 조립 완료 시점에 DCM으로 최종 세척하는 단계. 입체적으로 제약된 아미노산(예: Aib)에 연결되는 것들과 같은, 그러나 이들로 한정되지 않는 일부 아미노산을 연장된 반응 시간(예: 4시간) 동안 커플링시키고/시키거나 신성한 커플링 시약으로 반복 처리하여 반응이 완료되도록 하였다.

[0659] 2. 수지 결합된 보호된 펩티드 백본에 디펩티드 및 치환기 부착하기

[0660] *방법: DS_A*

[0661] 치환기 보유 N-말단 Lys 또는 D-Lys를 함유하는 화합물의 경우, SPPS_A에서의 동일한 프로토콜을 사용해 SPPS를 계속하여 디펩티드 B의 아미노산 및 치환기 b의 요소를 부착하였다.

[0663] *방법: DS_B*

[0664] 디펩티드 B 내에서 치환기를 보유하는 Aeg를 함유하는 화합물의 경우, SPPS_A에서의 동일한 프로토콜을 사용해 SPPS를 계속하여 Fmoc-Aeg(N₃)-OH 및 Nⁿ-Boc-보호된 N-말단 아미노산을 부착하였다. 9:1 DMF/물 중의 용액으로서 5-10당량의 트리스(2-카르복시에틸) 포스핀으로 수지-결합된 펩티드를 2-3시간 동안 처리하여 아지도 보호기를 아민으로 환원시켰다. 수지를 배출시키고, 9:1 DMF/물 및 DMF로 세척한 다음, SPPS_A에서의 동일한 프로토콜을 사용하여 치환기 b의 요소를 부착하였다.

[0665] 방법: DS_C

[0666] 디펩티드 B 내에서 치환기를 보유하는 Aeg를 함유하는 화합물을 위한 DS_B에 대한 대안으로서, SPPS_A에서와 동일한 프로토콜을 사용해 SPPS를 계속하여 Alloc-Aeg(Fmoc)-OH 및 치환기 b의 요소를 부착하였다. 아르곤 대기 하에, DMF 중 용액으로서 10 당량의 보란 디메틸아민 복합체 및 20 당량의 모르폴린으로 수지-결합된 펩티드를 5분 동안 처리하여 Alloc 보호기를 제거한 다음, DMF 중 용액으로서 0.1 당량의 팔라듐-테트라키스(트리페닐포스핀)를 첨가하고, 30분 동안 추가로 처리하였다. 수지를 배출시키고, DCM, DMF, MeOH, 물, 및 DMF로 세척하였다. 그런 다음, SPPS_A에서와 동일한 프로토콜을 사용하여 N^α-Boc-보호된 N-말단 아미노산을 부착하였다.

[0668] 방법: DS_D

[0669] 치환기 z를 부착하기 위해, DCM 중 30% HFIP로 각각 45분씩 2회 처리하거나 DCM 중 80% HFIP로 5분, 5분, 10분, 10분, 15분, 20분, 및 30분 처리함으로써 세척하여 치환기-보유 Lys의 Nε-Mtt 보호를 제거하였다. 수지를 배출시키고 DCM, DMF, 10% DIPEA/DCM, DCM, 및 DMF로 세척하였다. SPPS_A에서와 동일한 프로토콜을 사용해 SPPS를 계속하여 치환기 z의 요소를 부착하였다.

[0671] 3. 수지 결합된 펩티드의 절단 및 정제

[0672] 방법: CP_A

[0673] 측쇄 합성을 완료한 후, 펩티드 수지를 DCM으로 세척하여 건조시킨 후, 95:2.5:2.5(v/v/v)의 TFA/물/TIS 또는 92.5:5:2.5(v/v/v)의 TFA/물/TIS로 2~3시간 동안 처리한 다음, 디에틸 에테르로 침전시켰다. 침전물을 (예를 들어 여과 또는 원심분리에 의해) 단리하고, 디에틸 에테르로 세척하고, 적절한 용매(예: 2:1의 물/MeCN)에 용해시키고, 모든 불안정한 부가물이 분해될 때까지 방지하였다. 정제는 Phenomenex Luna C8(2) 컬럼(10 μm 입자 크기, 100 Å 기공 크기, 250 x 21.2 mm 치수) 또는 Phenomenex Gemini-NX C18 컬럼(5 μm 입자 크기, 110 Å 기공 크기, 250 x 50 mm 치수)을 이용해 역상 분취 HPLC에 의해 수행하였다. 불순물의 분리 및 생성물의 용리는 0.1% TFA가 포함된 물 중 증가하는 MeCN의 구배를 사용하여 달성하였다. 분석 LCMS로 관련 분획을 식별하고 순도를 측정하였다. 순수한 목적하는 생성물을 함유하는 분획을 풀링하고 동결 건조시켜 펩티드의 TFA 염을 백색 고형물로서 수득하였다.

[0675] 4. TFA에서 나트륨 염으로의 염 교환:

[0676] 방법: SX_A

[0677] 방법 CP_A로부터 단리된 동결 건조된 펩티드를 적절한 수성 완충액(예를 들어, 4:1 물/MeCN, 0.2 M 아세트산 나트륨)에 5-20 mg/mL까지 용해시키고, 필요한 경우 1 M NaOH로 pH 7 내지 8로 조정하여 완전히 용해시켰다. 펩티드를 함유하는 완충액을 Sep-Pak C18 카트리지(0.5 내지 2 g)를 사용하여 염 교환하였다. 4 컬럼 부피의 이소프로판올, 이어서 4 컬럼 부피의 MeCN, 이어서 8 컬럼 부피의 물을 사용하여 카트리지를 먼저 평형화하였다. 펩티드 용액을 카트리지에 붓고, 흘러 넘친 것들을 다시 부어 펩티드가 완전히 보유되도록 하였다. 카트리지를 4 컬럼 부피의 물로 세척한 다음, NaHCO₃, NaOAc, 또는 Na₂HPO₄와 같은, 그러나 이들로 한정되지 않는 나트륨 염을 함유하는 10 컬럼 부피의 완충액(예를 들어, pH 7.5)으로 세척하였다. 컬럼을 4 컬럼 부피의 물로 세척하고, 펩티드를 5 내지 10 컬럼 부피의 물 중 50 내지 80% MeCN으로 용리시켰다. 펩티드 함유 용리액을 동결 건조시켜 펩티드 나트륨 염을 백색 고형분으로서 수득하였고, 이를 이와 같이 사용하였다.

[0679] 일반적인 검출 및 특징 분석 방법

[0680] LCMS 방법:

[0681] 방법: LCMS_A

[0682] 분석은 37°C에서 평형화된 Phenomenex Kinetex C8 컬럼(2.6 μm 입자 크기, 100 Å 기공 크기, 4.6 x 75 mm 치수) 상에 적절한 부피의 샘플을 주입하고, Agilent 1260 Infinity 시리즈 HPLC/MS 시스템을 이용해 수행하였다.

[0701] 서열번호: 5; 치환기: 화학식 10 (Lys33에 부착됨)

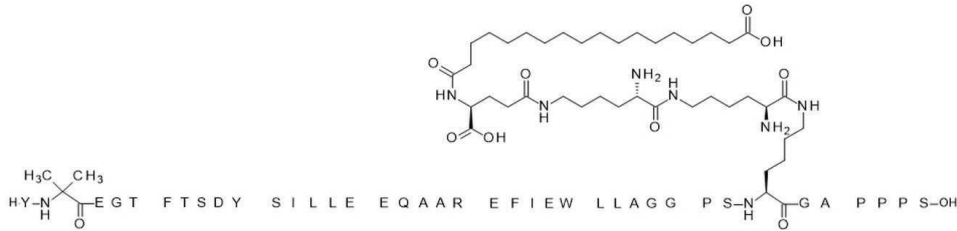
[0702] 합성 방법: SPPS_A; DS_D; CP_A

[0703] 계산된 (평균) 분자량: 4867.5 Da

[0704] LCMS_A: Rt = 6.1분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1623.1, $[M+4H]^{4+}$ 1217.6

[0706] 부모 화합물 번호 3

[0707] Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPS-K[(2S)-2-아미노-6-[[(2S)-2-아미노-6-[[(4S)-4-카르복시-4-(17-카르복시헵타데카노일아미노)부타노일]아미노]헥사노일]아미노]헥사노일]-GAPPPS-OH



[0708]

[0709] 서열번호: 5; 치환기: 화학식 7 (Lys33에 부착됨)

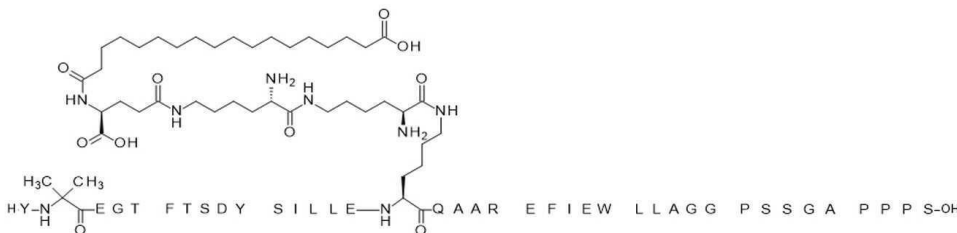
[0710] 합성 방법: SPPS_A; DS_D; CP_A

[0711] 계산된 (평균) 분자량: 4895.5 Da

[0712] LCMS_A: Rt = 6.3분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1632.4, $[M+4H]^{4+}$ 1224.6

[0714] 부모 화합물 번호 4

[0715] Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-아미노-6-[[(2S)-2-아미노-6-[[(4S)-4-카르복시-4-(17-카르복시헵타데카노일아미노)부타노일]아미노]헥사노일]아미노]헥사노일]-QAAREFIEWLLAGGPSSGAPPPS-OH



[0716]

[0717] 서열번호: 6; 치환기: 화학식 7 (Lys16에 부착됨)

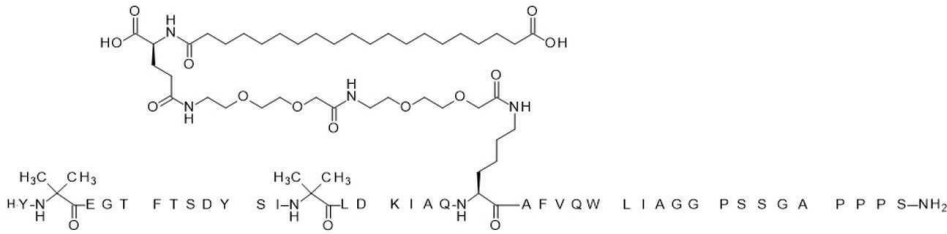
[0718] 합성 방법: SPPS_A; DS_D; CP_A

[0719] 계산된 (평균) 분자량: 4853.5 Da

[0720] LCMS_A: Rt = 5.9분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1618.5, $[M+4H]^{4+}$ 1214.2

[0722] 부모 화합물 번호 5

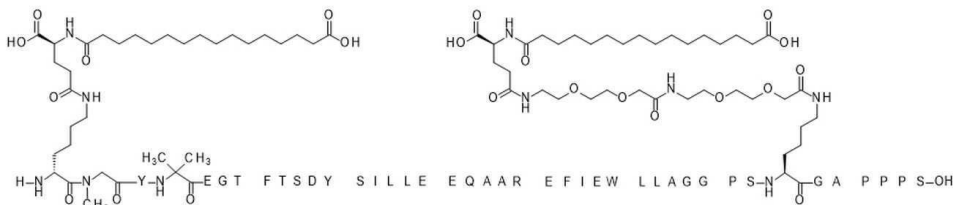
[0723] Y-Aib-EGTFTSDYSI-Aib-LDKIAQK[2-[2-[2-[[[2-[2-[2-[[(4S)-4-카르복시-4-(19-카르복시노나데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]-AFVQWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂



- [0724]
- [0725] 서열번호 4 (C-말단 아미드 변형을 가짐); 치환기: 화학식 11 (Lys20에 부착됨)
- [0726] 합성 방법: SPPS_A; DS_D; CP_A
- [0727] 계산된 (평균) 분자량: 4813.5 Da
- [0728] LCMS_A: Rt = 6.2분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1605.2, $[M+4H]^{4+}$ 1204.3

[0730] 화합물 번호 1

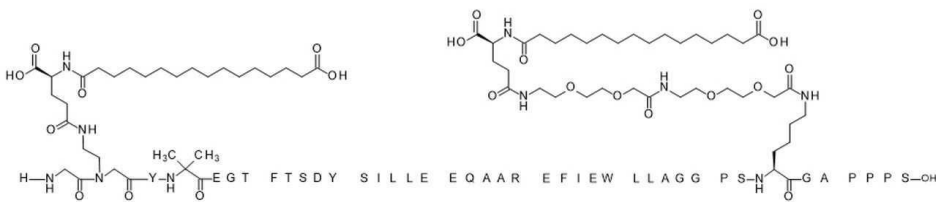
- [0731] (D-Lys)[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]-Sar-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPS-K[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]-GAPPPS-OH



- [0732]
- [0733] Z: 부모 화합물 번호 1; X = D-Lys; Y = Sar; 치환기 b: 화학식 16 (X에 부착됨); 치환기 z: 화학식 8 (Z의 Lys33에 부착됨).
- [0734] 합성 방법: SPPS_A; DS_A; DS_D; CP_A
- [0735] 계산된 (평균) 분자량: 5498.2 Da
- [0736] LCMS_A: Rt = 6.8분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1833.4, $[M+4H]^{4+}$ 1375.3

[0738] 화합물 번호 2

- [0739] G-Aeg[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPS-K[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]-GAPPPS-OH

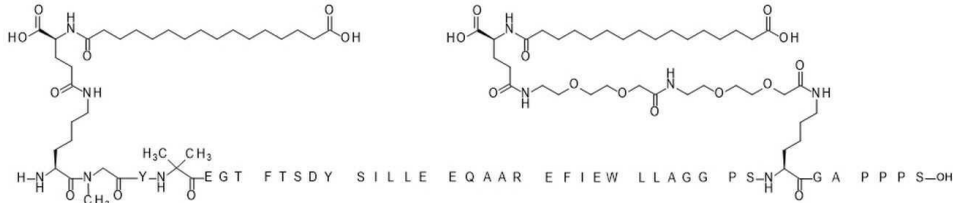


- [0740]
- [0741] Z: 부모 화합물 번호 1; X = Gly; Y = Aeg; 치환기 b: 화학식 16 (Y에 부착됨); 치환기 z: 화학식 8 (Z의 Lys33에 부착됨)
- [0742] 합성 방법: SPPS_B; DS_B; DS_D; CP_A
- [0743] 계산된 (평균) 분자량: 5456.1 Da

[0744] LCMS_A: Rt = 7.0분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1819.4, $[M+4H]^{4+}$ 1364.8

[0746] 화합물 번호 3

[0747] K[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]-Sar-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPS-K[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미노]에톡시]에톡시] 아세틸]-GAPPPS-OH



[0748]

[0749] Z: 부모 화합물 번호 1; X = Lys; Y = Sar; 치환기 b: 화학식 16 (X에 부착됨); 치환기 z: 화학식 8 (Z의 Lys33에 부착됨)

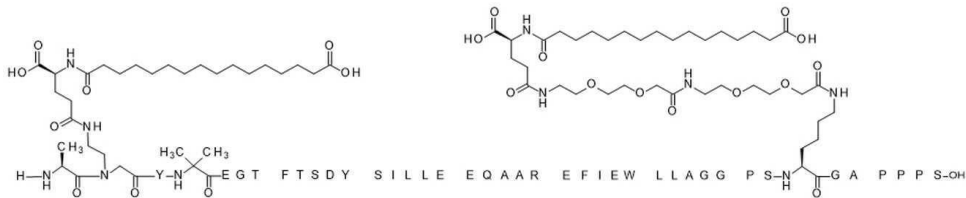
[0750] 합성 방법: SPPS_A; DS_A; DS_D; CP_A

[0751] 계산된 (평균) 분자량: 5498.2 Da

[0752] LCMS_A: Rt = 6.9분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1833.7, $[M+4H]^{4+}$ 1375.6

[0754] 화합물 번호 4

[0755] A-Aeg[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPS-K[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미노]에톡시]에톡시] 아세틸]-GAPPPS-OH



[0756]

[0757] Z: 부모 화합물 번호 1; X = Ala; Y = Aeg; 치환기 b: 화학식 16 (Y에 부착됨); 치환기 z: 화학식 8 (Z의 Lys33에 부착됨)

[0758] 합성 방법: SPPS_B; DS_B; DS_D; CP_A

[0759] 계산된 (평균) 분자량: 5470.1 Da

[0760] LCMS_A: Rt = 7.0분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1823.8, $[M+4H]^{4+}$ 1368.2

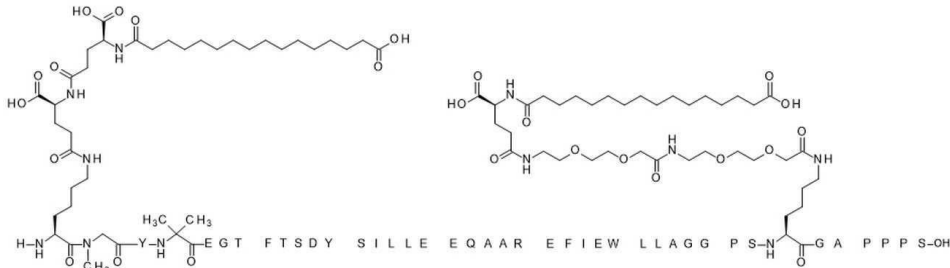
[0762] 화합물 번호 5

[0763] L-Aeg[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPS-K[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미노]에톡시]에톡시] 아세틸]-GAPPPS-OH

- [0782] 합성 방법: SPPS_A; DS_C; DS_D; CP_A
- [0783] 계산된 (평균) 분자량: 5514.1 Da
- [0784] LCMS_B: Rt = 10.2분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1838.8, $[M+4H]^{4+}$ 1379.3.

[0786] 화합물 번호 8

[0787] K[(4S)-4-카르복시-4-[[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]부타노일]-Sar-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAAREFIEWLLAGGPS-K[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미노]에톡시]에톡시] 아세틸]-GAPPPS-OH

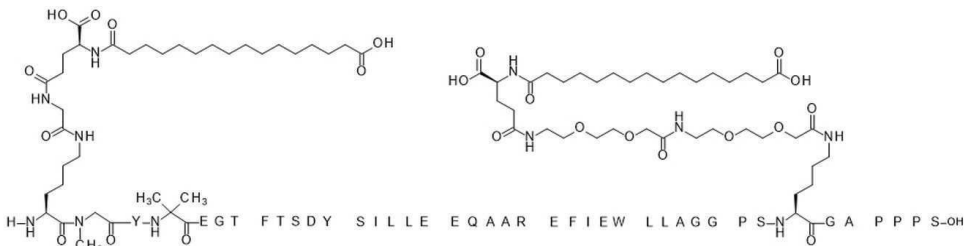


- [0788] Z: 부모 화합물 번호 1; X = Lys; Y = Sar; 치환기 b: 화학식 18 (X에 부착됨); 치환기 z: 화학식 8 (Z의 Lys33에 부착됨)

- [0790] 합성 방법: SPPS_B; DS_A; DS_D; CP_A
- [0791] 계산된 (평균) 분자량: 5627.3 Da
- [0792] LCMS_A: Rt = 6.9분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1876.3, $[M+4H]^{4+}$ 1407.6

[0794] 화합물 번호 9

[0795] K[2-[[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]아세틸]-Sar-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAAREFIEWLLAGGPS-K[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미노]에톡시]에톡시] 아세틸]-GAPPPS-OH



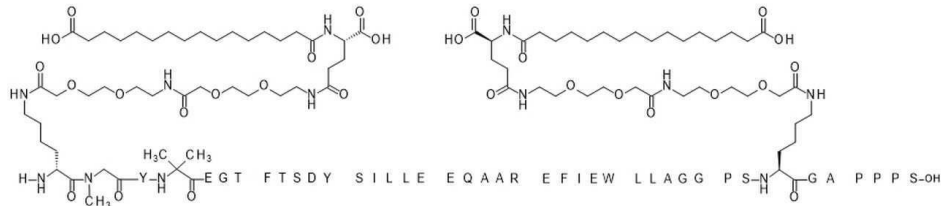
- [0796] Z: 부모 화합물 번호 1; X = Lys; Y = Sar; 치환기 b: 화학식 19 (X에 부착됨); 치환기 z: 화학식 8 (Z의 Lys33에 부착됨)

- [0798] 합성 방법: SPPS_B; DS_A; DS_D; CP_A
- [0799] 계산된 (평균) 분자량: 5555.2 Da
- [0800] LCMS_A: Rt = 6.9분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1852.3, $[M+4H]^{4+}$ 1389.7

[0802] 화합물 번호 10

[0803] (D-Lys)[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에

톡시]아세틸]아미노]에톡시]에톡시] 아세틸]-Sar-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAAREFIEWLLAGGPS-K[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-
[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미노]에톡
시]에톡시] 아세틸]-GAPPPS-OH



[0804]

[0805] Z: 부모 화합물 번호 1; X = D-Lys; Y = Sar; 치환기 b: 화학식 21 (X에 부착됨); 치환기 z: 화학식 8 (Z의 Lys33에 부착됨)

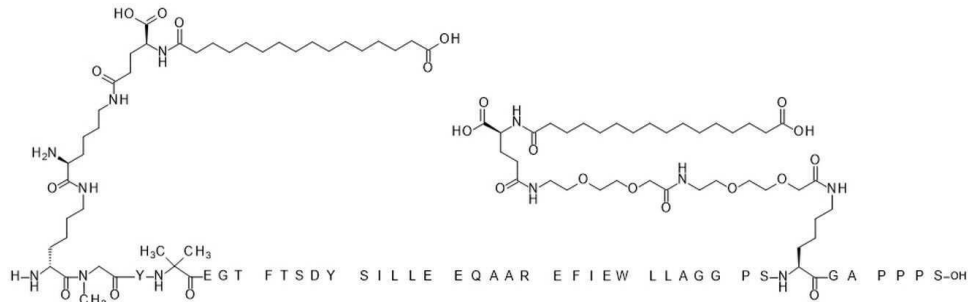
[0806] 합성 방법: SPPS_B; DS_A; DS_D; CP_A

[0807] 계산된 (평균) 분자량: 5788.5 Da

[0808] LCMS_A: Rt = 6.9분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1930.3, $[M+4H]^{4+}$ 1447.8

[0810] 화합물 번호 11

[0811] (D-Lys)[(2S)-2-아미노-6-[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]헥사노일]-
Sar-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAAREFIEWLLAGGPS-K[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카
노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미노]에톡시]에톡시] 아세틸]-GAPPPS-OH



[0812]

[0813] Z: 부모 화합물 번호 1; X = D-Lys; Y = Sar; 치환기 b: 화학식 20 (X에 부착됨); 치환기 z: 화학식 8 (Z의 Lys33에 부착됨)

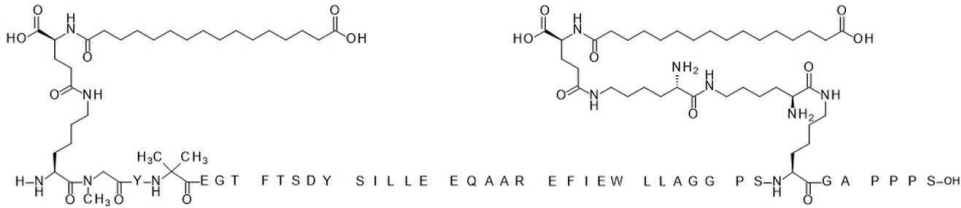
[0814] 합성 방법: SPPS_B; DS_A; DS_D; CP_A

[0815] 계산된 (평균) 분자량: 5626.4 Da

[0816] LCMS_A: Rt = 6.7분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1876.2, $[M+4H]^{4+}$ 1407.2

[0818] 화합물 번호 12

[0819] K[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]-Sar-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAAREFIEWLLAGGPS-
K[(2S)-2-아미노-6-[[(2S)-2-아미노-6-[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]
헥사노일]아미노]헥사노일]-GAPPPS-OH



[0820]

[0821] Z: 부모 화합물 번호 2; X = Lys; Y = Sar; 치환기 b: 화학식 16 (X에 부착됨); 치환기 z: 화학식 10 (Z의 Lys33에 부착됨)

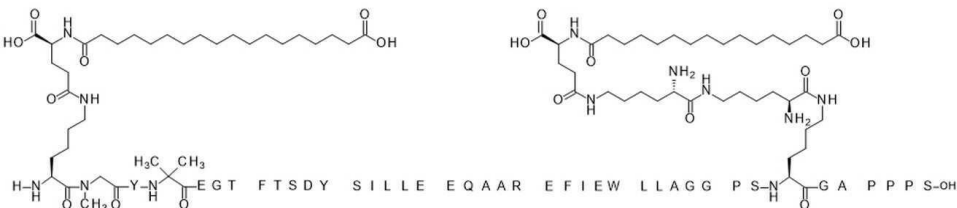
[0822] 합성 방법: SPPS_A; DS_A; DS_D; CP_A

[0823] 계산된 (평균) 분자량: 5464.2 Da

[0824] LCMS_A: Rt = 6.6분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1822.2, $[M+4H]^{4+}$ 1366.7

[0826] 화합물 번호 13

[0827] K[(4S)-4-카르복시-4-(17-카르복시 헵타데카노일아미노)부타노일]-Sar-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPS-K[(2S)-2-아미노-6-[[[(2S)-2-아미노-6-[[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시 펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]헥사노일]아미노]헥사노일]-GAPPPS-OH



[0828]

[0829] Z: 부모 화합물 번호 2; X = Lys; Y = Sar; 치환기 b: 화학식 17 (X에 부착됨); 치환기 z: 화학식 10 (Z의 Lys33에 부착됨)

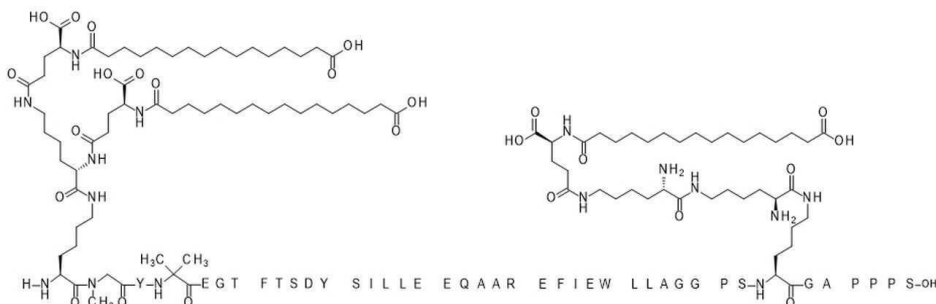
[0830] 합성 방법: SPPS_B; DS_A; DS_D; CP_A

[0831] 계산된 (평균) 분자량: 5492.3 Da

[0832] LCMS_A: Rt = 6.8분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1831.4, $[M+4H]^{4+}$ 1373.7

[0834] 화합물 번호 14

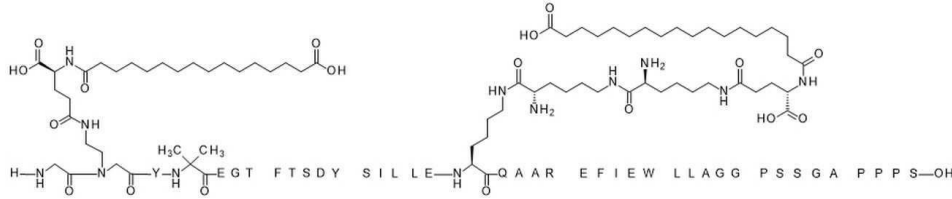
[0835] K[(2S)-2,6-bis[[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시 펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]헥사노일]-Sar-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPS-K[(2S)-2-아미노-6-[[[(2S)-2-아미노-6-[[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시 펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]헥사노일]아미노]헥사노일]-GAPPPS-OH



[0836]

[0837] Z: 부모 화합물 번호 2; X = Lys; Y = Sar; 치환기 b: 화학식 22 (X에 부착됨); 치환기 z: 화학식 10 (Z의

사노일]-QAAREFIEWLLAGGPSSGAPPPS-OH



[0860]

[0861] Z: 부모 화합물 번호 4; X = Gly; Y = Aeg; 치환기 b: 화학식 16 (Y에 부착됨); 치환기 z: 화학식 7 (Z의 Lys16에 부착됨)

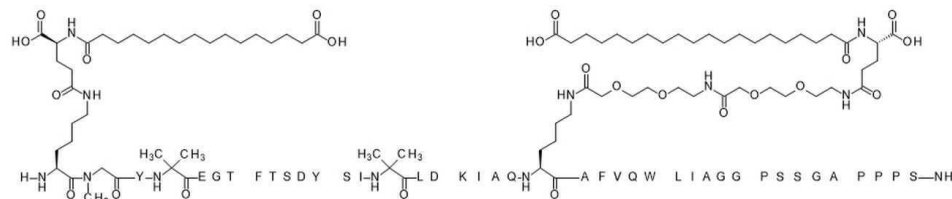
[0862] 합성 방법: SPPS_A; DS_C; DS_D; CP_A

[0863] 계산된 (평균) 분자량: 5408.2 Da

[0864] LCMS_B: Rt = 9.5분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1803.6, $[M+4H]^{4+}$ 1353.0

[0866] 화합물 번호 18

[0867] K[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]-Sar-Y-Aib-EGTFTSDYSI-Aib-LDKIAQK[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-카르복시-4-(19-카르복시노나데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]-AFVQWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂



[0868]

[0869] Z: 부모 화합물 번호 5; X = Lys; Y = Sar; 치환기 b: 화학식 16 (X에 부착됨); 치환기 z: 화학식 11 (Z의 Lys20에 부착됨)

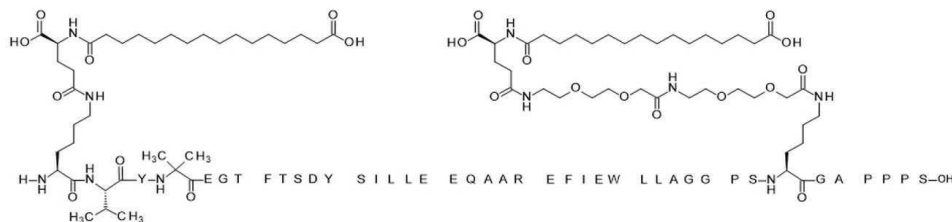
[0870] 합성 방법: SPPS_A; DS_A; DS_D; CP_A

[0871] 계산된 (평균) 분자량: 5410.2 Da

[0872] LCMS_A: Rt = 6.6분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1804.0, $[M+4H]^{4+}$ 1353.5

[0874] 비전환 화합물 번호 1

[0875] K[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]-Val-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEEQAAREFIEWLLAGGPS-K[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]-GAPPPS-OH



[0876]

[0877] Z: 부모 화합물 번호 1; X = Lys; Y = Val; 치환기 b: 화학식 16 (X에 부착됨); 치환기 z: 화학식 8 (Z의 Lys33에 부착됨)

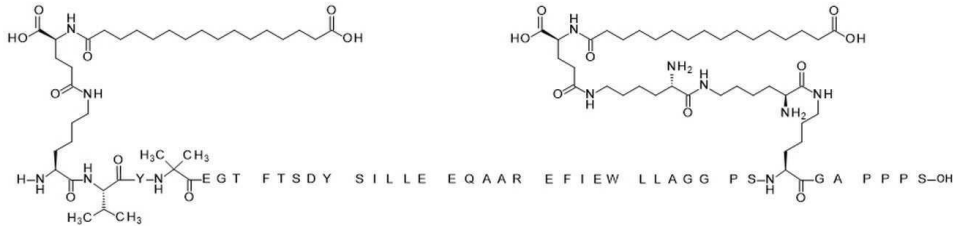
[0878] 합성 방법: SPPS_A; DS_A; DS_D; CP_A

[0879] 계산된 (평균) 분자량: 5526.2 Da

[0880] LCMS_A: Rt = 6.9분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1842.8, $[M+4H]^{4+}$ 1382.2

[0882] 비전환 화합물 번호 2

[0883] K[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]-Val-Y-Aib-EGTFTSDYSILLEQAAREFIEWLLAGGPS-K[(2S)-2-아미노-6-[[[(2S)-2-아미노-6-[[[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]아미노]헥사노일]아미노]헥사노일]-GAPPPS-OH



[0884]

[0885] Z: 부모 화합물 번호 2; X = Lys; Y = Val; 치환기 b: 화학식 16 (X에 부착됨); 치환기 z: 화학식 10 (Z의 Lys33에 부착됨)

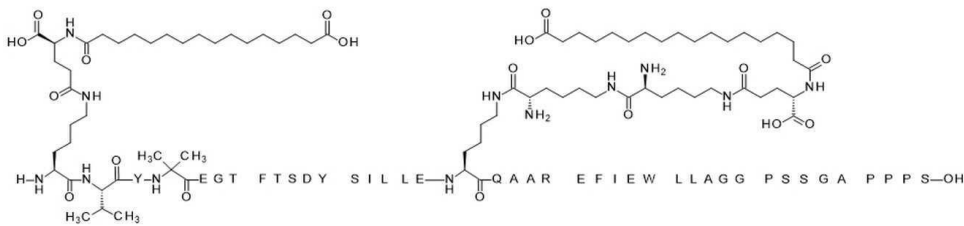
[0886] 합성 방법: SPPS_A; DS_A; DS_D; CP_A

[0887] 계산된 (평균) 분자량: 5492.3 Da

[0888] LCMS_A: Rt = 6.6분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1831.4, $[M+4H]^{4+}$ 1373.9

[0890] 비전환 화합물 번호 3

[0891] K[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]-Val-Y-Aib-EGTFTSDYSILLE-K[(2S)-2-아미노-6-[[[(2S)-2-아미노-6-[[[(4S)-4-카르복시-4-(17-카르복시헵타데카노일아미노)부타노일]아미노]헥사노일]아미노]헥사노일]-QAAREFIEWLLAGGPSSGAPPPS-OH



[0892]

[0893] Z: 부모 화합물 번호 4; X = Lys; Y = Val; 치환기 b: 화학식 16 (X에 부착됨); 치환기 z: 화학식 7 (Z의 Lys16에 부착됨)

[0894] 합성 방법: SPPS_A; DS_A; DS_D; CP_A

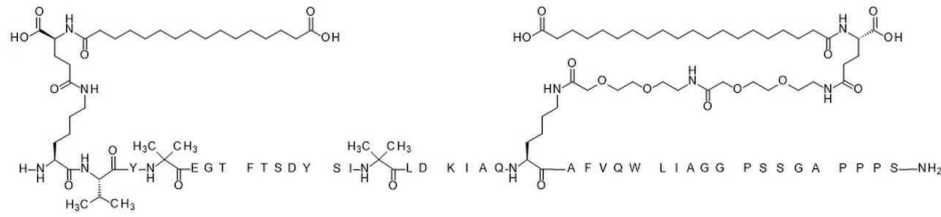
[0895] 계산된 (평균) 분자량: 5478.3 Da

[0896] LCMS_A: Rt = 6.1분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1826.7, $[M+4H]^{4+}$ 1370.3

[0898] 비전환 화합물 번호 4

[0899] K[(4S)-4-카르복시-4-(15-카르복시펜타데카노일아미노)부타노일]-Val-Y-Aib-EGTFTSDYSI-Aib-LDKIAQK[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-카르복시-4-(19-카르복시노나데카노일아미노)부타노일]아미노]에톡시]에톡시]아세틸]아미

노]에톡시]에톡시] 아세틸]-AFVQWLIAGGPSSGAPPPS-NH₂



[0900]

[0901] Z: 부모 화합물 번호 5; X = Lys; Y = Val; 치환기 b: 화학식 16 (X에 부착됨); 치환기 z: 화학식 11 (Z의 Lys20에 부착됨)

[0902] 합성 방법: SPPS_A; DS_A; DS_D; CP_A

[0903] 계산된 (평균) 분자량: 5438.3 Da

[0904] LCMS_A: Rt = 6.6분; 확인된 값 $[M+3H]^{3+}$ 1813.4, $[M+4H]^{4+}$ 1360.2

[0906] **전환 반감기를 측정하기 위한 일반적인 방법**

[0907] 프로드러그에서 본 발명의 프로드러그의 약물로의 전환 반감기를 조사하기 위한 검정을 수행하였다. 전환 반감기는 37°C에서 인큐베이션 후, pH 7.4의 시험관 내에서 조사하였다.

[0909] 제형의 제조 및 샘플링

[0910] 시험 화합물을 인산 완충 식염수(140 mM NaCl, 2.07 mM KCl, 8.05 mM Na₂HPO₄, 1.96 mM KH₂PO₄, pH 7.4)에 100 μM의 농도로 용해시켰다. 용해 후 용액 pH를 측정하고, 필요한 경우 수성 NaOH로 pH 7.4로 조정하였다. 용액을 0.22 μm 주사기 필터를 통해 여과한 다음, 37°C의 수조에서 인큐베이션하였다. LCMS 분석을 위해 정의된 시점 (예: 24~72시간마다)에 분획을 추출하였다.

[0912] 분석 및 계산

[0913] LCMS 분석은 상기 LCMS_A에 정의된 절차를 사용하여 수행하였다.

[0914] 프로드러그, 활성 약물, 및 DKP의 AUC를 214 nm에서 UV 검출을 사용하여 결정하였고, 프로드러그 + 활성 약물 + DKP의 총 AUC 대비 프로드러그 AUC의 비율을 계산하였다. 이 비율의 음의 자연 로그를 시간 경과에 따라 도표화한 다음, 이 관계에 대한 선형 회귀를 수행하였다. 본 선형 회귀로부터, 전환 반감기를 AUC 비율 = 0.5인 시간 으로서 계산하였다.

[0916] **실시예 2**

[0917] 본 발명의 화합물의 프로드러그에서 약물로의 전환 반감기를 **전환 반감기를 측정하기 위한 일반적인 방법**에 기술된 것과 같이 측정하였다. 결과는 **표 6**에 제시되어 있다. 본 발명의 화합물은 놀랍도록 긴 전환 반감기와 연관이 있는데, 이는 DKP 모이어티의 화학 구조의 미묘한 변형을 통해 조정될 수 있다.

표 6

pH 7.4 및 37°C의 PBS 완충액에서 프로드러그의 전환 반감기

화합물 번호	전환 반감기 [시간]
1	244
2	363
3	111
4	97
5	74
6	440
7	38
8	125
9	132
10	195
11	182
12	129
13	137
14	166
15	127
16	117
18	101

[0918]

[0919]

미니피그에서 최종 반감기를 측정하기 위한 일반적인 방법

[0920]

본 방법의 목적은 미니피그에게 본 발명의 유도체를 정맥 내(i.v.) 투여한 후 이 유도체의 생체 내 반감기, 즉 신체 내에서 이들의 잔류 시간 연장 및 이에 의한 이들의 작용 시간 연장을 결정하는 것이다. 이는 약동학(PK) 연구에서 수행되며, 여기에서 해당 유도체의 최종 반감기가 결정된다. 최종 반감기란, 일반적으로 특정 혈장 농도가 절반으로 줄어드는 데 걸리는 시간을 의미하며, 초기 분포 단계로부터 측정한다.

[0922]

연구.

[0923]

대략 7 내지 14월령의 암컷 코팅겐 미니피그를 Ellegaard Goettingen Minipigs(Dalmoose, Denmark)로부터 입수였고, 체중이 대략 16 내지 35 kg인 것들을 연구에 사용하였다. 미니피그를 개별적으로 수용하고 SDS 미니피그 식단(Special Diets Services, Essex, UK)으로 매일 1회 제한적으로 먹이를 주었다.

[0924]

순응 3주 후, 각 동물에게 2개의 영구 중심 정맥 카테터를 대정맥 뒷면에 이식하였다. 수술 후 1주일 동안 동물을 회복시킨 다음, 반복적인 약동학 연구에 사용하였으며, 연속적으로 유도체를 투여하는 중간에 적절한 휴약 기간(wash-out period)을 두었다.

[0925]

동물에게 투여 전 약 18시간 동안 및 투여 후 0 내지 4시간 동안 먹이를 주지 않았지만, 전체 기간 동안 물은 자유롭게 마시게 하였다.

[0926]

실시에 1의 화합물의 나트륨 염은 본 발명의 화합물을 제조하기 위한 일반적인 방법에 따라 방법 SX_A를 사용하여 제조하였다. 생성된 나트륨 염을 0.007% 폴리소르베이트 20, 50 mM 인산나트륨, 70 mM 염화나트륨이 함유된 pH 7.4의 완충액에 50~300 nmol/mL의 농도로 용해시켰다. 하나의 카테터를 통해 화합물을 정맥 내 주사(일반적으로 1~20 nmol/kg에 상응하는 부피, 예를 들어 0.02~0.05 ml/kg)하고, 투여 후 최대 21일차까지 미리 정의된 시점에 (바람직하게는 다른 하나의 카테터를 통해) 혈액을 샘플링하였다. 혈액 샘플(예를 들어, 0.8 mL)을 8 mL의 EDTA 완충액에 모은 다음 4°C에서 10분 동안 1942 G로 원심 분리하였다.

[0928]

샘플링 및 분석

[0929]

혈장을 드라이아이스 상의 마이크로닉 튜브에 피펫팅하고, ELISA 또는 유사한 항체 기반 검정 또는 LCMS를 사용하여 화합물의 혈장 농도를 분석할 때까지 -20°C에서 보관하였다. 개별 혈장 농도-시간 프로파일은 Phoenix WinNonLin ver. 6.4 (Pharsight Inc., Mountain View, CA, USA)의 비구획 모델로 분석하여, 생성된 최종 반감

기(조화 평균)를 결정하였다.

[0931] 실시예 3

[0932] 본원의 미니피그에서 최종 반감기를 측정하기 위한 일반적인 방법에서 기술된 것과 같이 측정된 최종 반감기 및 /또는 관찰된 최종 반감기는 표 7에 나타나 있다. 유리 형태로 투여된 부모 화합물 번호 1, 2, 및 4는 놀랍도록 높은 관찰 최종 반감기와 연관이 있는데, 이는 비전환 디펩티드 및 치환기(예: 비전환 화합물 번호 1)의 첨가에 의해 추가로 연장된다. 전환 프로드러그(예: 화합물 번호 1, 3, 9, 및 10)를 사용하면 비전환 상대 화합물(예: 비전환 화합물 번호 1)보다 반감기가 짧아지는데, 이는 전환이 전환 프로드러그의 제거에 기여하지만 비전환 화합물의 제거에는 기여하지 않고, 전환이 다른 제거 메커니즘과 구별될 수 없기 때문이다. 이는 프로드러그에서 부모 화합물로의 전환이 생체 내에서 일어나고 있다는 증거를 제공한다. 프로드러그의 최종 반감기는 상응하는 부모 화합물보다 더 빠르거나 느릴 수 있는데, 이는 전환이 프로드러그의 최종 반감기에 기여하기 때문이다.

표 7

미니피그에게 정맥내(i.v.) 투여 후 측정했을 때의 최종 반감기

화합물 번호	시험 화합물의 투여량 (nmol/kg)	최종 t _{1/2} (시간)
부모 화합물 1	2	121
부모 화합물 2	1	104
부모 화합물 4	1	106
비전환 화합물 1	2	170
화합물 1	20	118
화합물 3	2	119
화합물 9	20	102
화합물 10	20	118

[0934]

[0936] 비글견에서 경구 생체이용률을 측정하기 위한 일반적인 방법

[0937] 본 방법의 목적은 본 발명의 화합물을 비글견에게 p.o. 투여한 후 생체 내에서 이들 화합물의 최종 반감기 및 혈장 노출, 즉 시간에 따라 순환에 도달하는 시험 물질의 최종 반감기 및 농도를 결정하는 것이다. 본 방법은, 해당 화합물의 파라미터를 결정하는 약동학(PK) 연구에서 수행하였다. 최종 반감기란, 일반적으로 특정 혈장 농도가 절반으로 줄어드는 데 걸리는 시간을 의미하며, 초기 분포 단계로부터 측정한다.

[0939] 정제 조성물의 제조

[0940] 실시예 1에서 수득한 시험 화합물 및 SNAC(나트륨 N-(8-(2-하이드록시벤조일)아미노)카프릴레이트)를 포함하는 정제 조성물은, 예를 들어 WO 2019/149880에 기술된 것과 같이, 당업자에게 알려진 방법에 따라 시험 물질을 롤러 압축된 SNAC 및 스테아린산 마그네슘과 혼합하여 제조하였다. 각 정제는 7.7 mg의 스테아린산 마그네슘, 2~4 mg의 시험된 각 화합물, 및 300 mg의 SNAC를 포함하였다.

[0942] 동물, 투여, 및 샘플링

[0943] 임상시험 기간 동안 1~7세령이고 체중이 9~17 kg인 수컷 비글견을 임상시험에 포함시켰다. 공복 상태의 개에게 투여하였다. 개들을 무리지어 우리에 수용하고(12시간 채광 : 12시간 차광) 개별적으로 급식하되, 중형견용 사료(Royal Canin Medium Adult dog food, Royal Canin Products, China Branch, 또는 Brogaarden A/S, Denmark)를 1일 1회 제한 급식하였다. 개들을 반복적인 PK 연구에 사용하였고, 각각의 투여 사이에 적절한 휴약

기간을 두었다. 1차 PK 연구를 개시하기 전에 적절한 순응 기간을 주었다. 동물의 모든 핸들링, 투여, 및 채혈은 훈련을 받은 숙련된 직원이 수행하였다. 연구 전에 개들을 밤새 굶기고, 투여 후에는 0 내지 4시간 동안 굶겼다. 개들은 투여 1시간 전부터 투여 4시간 후까지 물을 마시지 못하게 하지만, 그렇지 않은 경우에는 전체 기간 동안 언제든지 물을 마실 수 있게 하였다.

[0944] 조성물은 6~8 마리의 개로 이루어진 군의 개에게 1회 경구 투여에 의해 투여하였다. 정제는 다음의 방식으로 투여하였다: 정제 투여 10분 전에 대략 3 nmol/kg의 서열번호 7(HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT)을 피하 투여한 다음, 씹지 못하도록 정제를 개의 입 뒤쪽에 넣었다. 그런 다음, 개의 주둥이를 다물게 하고 정제를 쉽게 삼킬 수 있도록 10 mL의 수돗물을 주사기나 위관으로 주입하였다.

[0945] 시험 물질의 전체 혈장 농도-시간 흡수 프로파일을 적절히 포괄하도록, 투여 전 혈액 샘플을 1회 채취하고, 투여 후 미리 정의된 시점, 예를 들어 최대 600시간 동안 추가 샘플을 채취하였다. 각각의 혈액 샘플링 시점별로, EDTA가 코팅된 1.5 mL 튜브에 대략 0.8 mL의 전혈을 채취하고, 튜브를 부드럽게 회전시켜 샘플이 EDTA와 잘 혼합되도록 하였다. 혈액 샘플을 EDTA 완충액(8 mM)에 모은 다음 4°C에서 10분 동안 2000 G로 원심 분리하였다. 혈장을 드라이아이스 상의 마이크로닉 튜브에 피펫팅하고, 분석할 때까지 -20°C 이하의 온도로 유지시켰다. 혈액 샘플은 적절히 채취하는데, 예를 들어, 첫 2시간 동안은 앞 다리의 요측피정맥(cephalic vein)에 삽입된 벤플론(venflon)을 통해 채취한 다음, 나머지 시점 동안에는 경정맥에서 주사기로 채취한다(첫 몇 방울을 벤플론에서 흘려보내 벤플론의 헤파린 식염수가 샘플에 들어가는 것을 방지한다). 첫 몇 방울을 벤플론에서 흘려보내 벤플론의 헤파린 식염수가 샘플에 들어가는 것을 방지하였다.

[0946] 모든 혈액 샘플을 안정화를 위해 EDTA를 함유하는 시험관에 수집하고 원심분리 전까지 얼음 위에 두었다. 원심분리로 혈장을 전혈로부터 분리하고, 분석 시까지 -20°C 이하에서 보관하였다.

[0948] 분석 및 계산

[0949] 당업자에게 공지된 LC-MS(액상 크로마토그래피-질량 분광법)를 사용하여 시험 물질에 대해 혈장을 분석하였다. 시스템은, 10-밸브 인터페이스 모듈 TurboFlow 시스템, CTC HTS PAL 자동샘플러, Accela 1250 펌프, 및 Hot Pocket 컬럼 오븐이 장착된 Thermo Fisher QExactive 질량 분광계, 또는 밸브 인터페이스 모듈 TurboFlow 시스템, TriPlus RSI 자동샘플러, Dionex UltiMate 3000 펌프 및 Hot Pocket 컬럼 오븐이 장착된 Thermo Fisher QExactive Plus 질량 분광계로 구성되었다. 역상-HPLC 분리는 다음 중 하나를 사용하여 1% 수성 포름산 중 1:1 아세토니트릴/메탄올의 선형 구배를 사용하여 이루어졌다: 30°C에서 Phenomenex Onyx Monolithic C18 컬럼(50 x 2.0 mm) 및 0.8 mL/분의 유속; 또는 60°C에서 Agilent Poroshell 120 SB-C18 컬럼(50 x 2.1 mm, 2.7 μm) 및 0.4 mL/분의 유속. 질량 분광계는 양이온화 SIM 모드 또는 양이온화 PRM 모드로 작동시켰다.

[0950] 각각의 개별 동물에 대해, PK 분석을 위한 Pharsight Phoenix WinNonLin ver. 6.4 소프트웨어 또는 다른 관련 소프트웨어에서 비구획 모델로 혈장 농도 - 시간 프로파일을 분석하였고, 결과적인 최종 반감기($t_{1/2}$), 투여량당 최대 혈장 농도(C_{max}/D), 최대 혈장 농도에 대한 시간(t_{max}), 및 투여량당 무한대까지의 곡선 하 면적(AUC/D)을 결정하였다. 약동학 결과의 요약 통계는 중앙값(t_{max} 의 경우), 조화 평균($t_{1/2}$ 의 경우), 또는 산술 평균(C_{max} , AUC 의 경우)으로 제시하였다.

[0952] 실시예 4

[0953] 비글견에서 경구 생체이용률을 측정하기 위한 일반적인 방법에 기술된 것과 같이 측정한 약동학적 특성은 표 8에 나타나 있다. 본 발명의 모든 시험된 화합물은, 경구 투여 후 혈장 내 화합물의 농도를 검출했을 때의 경구 생체이용률($C_{max}/D > 0$ 및 $AUC/D > 0$)을 본 모델에서 나타낸다. 모든 시험된 화합물은 실시예 3에서 관찰된 것과 같이 놀랍도록 높은 관찰된 최종 반감기와 연관이 있다.

표 8

[0955]

비글견에게 p.o. 투여 후 측정했을 때의 약동학적 파라미터					
화합물 번호	시험 화합물의 투여량 (mg/정)	T _{max} (시간)	최종 t _{1/2} (시간)	C _{max} /투여량 (kg/L)	AUC/투여량 (kg*h/L)
부모 화합물 1	3	1.5	104	0.67	60.7
부모 화합물 3	2.9	1.5	131	0.22	21.4
부모 화합물 4	2.9*	1.3*	56*	0.35*	17.9*
부모 화합물 5	3	1.0	134	0.22	13.0
비전환 화합물 1	2.8	1.5	137	0.21	20.1
비전환 화합물 2	3.5	1.3	130	0.13	10.8
비전환 화합물 3	3.0	4.0	115	0.27	31.4
비전환 화합물 4 (3.0	7.0	136	0.16	18.9
화합물 1	3.1	4.0	146	0.66	41.2
화합물 2	2.9	4.0	142	0.18	22.9
화합물 3	3.0	7.0	139	0.32	38.5
화합물 5	2.8	7.0	106	0.25	23.4
화합물 12	2.7	1.3	143	0.46	50.8
화합물 13	2.8	4.3	121	0.36	41.3
화합물 14	3.2	5.5	119	0.38	43.6
화합물 15	2.0	1.5	124	0.20	21.7
화합물 16	2.9	4.0	96	0.73	67.6
화합물 17	3.2	1.5	105	0.30	30.4
화합물 18	2.9	4.0	88	0.15	13.3

* = 3개의 실험으로부터의 평균화된 데이터

[0956]

시험관내 관능적 효능을 측정하기 위한 일반적인 방법

[0957]

본 실시예의 목적은 인간 GLP-1 및 GIP 수용체에서 시험관 내에서의 화합물의 관능적 활성 또는 효능을 시험하는 것이다. 시험관 내 관능적 효능은 전세포 분석에서 표적 수용체 활성화의 척도이다. 실시예 1의 부모 화합물 번호 1~5의 효능을 아래에 기술된 바와 같이 결정하였다. 인간 GLP-1(7-37)(HAEGT FTSDV SSSYLE GQAAK EFLAW LVKGR G; 서열번호 8) 및 인간 GIP(YAEGT FISDY SIAMD KIHQQ DFNW LLAQK GKKND WKHNI TQ; 서열번호 9)를 비교를 위해 기준 화합물로서 적절한 검정에 포함시켰다.

[0959]

원리

[0960]

시험관 내 관능적 효능은 개별 세포주를 대상으로 한 리포터 유전자 검정에서 표적 수용체의 반응을 측정하여 결정하였다. 분석은, 다음의 G-단백질 결합 수용체, 인간 GLP-1 수용체 또는 인간 GIP 수용체 중 하나를 발현하는 안정적으로 형질감염된 BHK 세포주에서 수행되었고, 각각의 세포주는 프로모터에 결합된 cAMP 반응 요소 (CRE)에 대한 DNA 및 반딧불이 루시페라아제(CRE 루시페라아제)에 대한 유전자를 함유한다. 각각의 수용체가 활성화되면 cAMP가 생성되며, 결과적으로 루시페라아제 단백질이 발현된다. 분석 배양이 완료되면 루시페라아제 기질(루시페린)을 첨가하고, 효소는 루시페린을 옥실루시아린으로 전환시켜 생물발광을 생성한다. 발광은 분석에 대한 판독 값으로서 측정된다.

[0962]

세포 배양 및 제조

[0963]

이들 분석에 사용된 세포주는 부모 세포주가 BHKTS13인 BHK 세포이다. 세포주는 CRE 루시페라아제 요소가 포함된 클론에서 유래된 것으로서, 관련 세포주를 수득하기 위해 각각의 인간 수용체로 추가 형질감염시켜 확립하였다: BHK CRE luc2P hGLP-1R 또는 BHK CRE luc2P hGIPR. 세포는 5% CO₂ 하에 37°C의 세포 배양 배지에서 배양하였다. 이들을 분취하여 액체 질소 중에 저장하였다. 세포를 연속 배양 상태로 유지하고 각각의 검정 하루 전에 시딩하였다.

[0965] 물질

[0966] 다음의 화학 물질을 분석에 사용하였다: 플루로닉 F-68 10%(Gibco 2404), 인간 혈청 알부민(HSA, Sigma A9511), 10% 소 태아 혈청(FBS, Invitrogen 16140-071), 계란 흰자 오브알부민(Sigma A5503), 페놀 레드가 없는 DMEM(Gibco 21063-029), DMEM(Gibco 12430-054), 1 M HEPES(Gibco 15630), Glutamax 100x(Gibco 35050), G418(Invitrogen 10131-027), 히그로마이신(Invitrogen 10687-010), 및 스테디라이트 플러스(steadylite plus, PerkinElmer 6016757).

[0968] 완충액

[0969] GLP-1R 세포 배양 배지는 10% FBS, 500 µg/mL G418, 및 300 µg/mL 히그로마이신을 갖는 DMEM 배지로 구성되었다. GIPR 세포 배양 배지는 10% FBS, 400 µg/mL G418, 및 300 µg/mL 히그로마이신을 갖는 DMEM 배지로 구성되었다. 분석 완충액은 최종 분석 농도의 2배의 HSA를 첨가한, 페놀 레드가 없는 DMEM, 10 mM HEPES, 1 x Glutamax, 1% 오브알부민, 및 0.1% Pluronic F-68로 구성되었다. 분석 완충액을 분석 완충액 중에서 동일한 부피의 시험 화합물과 1:1로 혼합하여 HSA의 최종 분석 농도를 얻었다.

[0971] 절차

- [0972] 1) 세포를 5000 세포/웰로 플레이팅하고 분석 플레이트에서 밤새 배양하였다.
- [0973] 2) 세포를 DPBS에서 1회 세척하였다.
- [0974] 3) 100 내지 300 µM 범위의 농도에서 시험 화합물 및 기준 화합물의 스톱을 분석 완충액에서 1:150으로 희석시켰다. 이어서, 화합물을 96 웰 희석 플레이트의 컬럼 1에서 1:10으로 희석시키고, 행을 가로질러 운반하여 3.5배, 12점 희석 곡선을 생성하였다.
- [0975] 4) HSA의 유무와 상관없이 분석 완충액(50 µl 분취액)을 분석 플레이트 내 각 웰에 첨가하였다.
- [0976] 5) 50 µl의 화합물 분취액 또는 블랭크를 희석 플레이트에서 HSA를 갖거나 갖지 않는 분석 완충액을 함유하는 분석 플레이트로 옮겼다.
- [0977] 6) 분석 플레이트를 5% CO₂하 37°C의 배양기에서 3시간 동안 배양하였다.
- [0978] 7) 세포를 DPBS로 1회 세척하였다.
- [0979] 8) 100 µl의 DPBS 분취액을 분석 플레이트의 각 웰에 첨가하였다.
- [0980] 9) 스테디라이트 플러스 시약(감광성)의 100 µl 분취액을 분석 플레이트의 각 웰에 첨가하였다.
- [0981] 10) 각 분석 플레이트를 알루미늄 호일로 덮어 차광하고, 실온에서 250 RPM으로 30분 동안 진탕하였다.
- [0982] 11) 각 분석 플레이트를 마이크로역가 플레이트 판독기로 판독하였다.

[0984] 계산 및 결과

[0985] 마이크로역가 플레이트 판독기로부터의 데이터를 먼저 엑셀에서 회귀시켜 개별 시험 화합물의 스톱 농도 및 분석의 희석에 기초하여 x-축, 로그 스케일 농도를 계산하였다. 이어서, 그래프 작성 및 통계 분석을 위해 이 데이터를 GraphPad Prism 소프트웨어로 전송하였다. 소프트웨어는 비선형 회귀(log(작용제) 대 반응)를 수행한다. 소프트웨어에 의해 계산되어 pM 단위로 보고된 EC50 값은 아래 표 9에 나타나 있다. 각 샘플에 대해 최소 2회 반복 측정하였다. 기록된 값은 반복 값의 평균이다. 본 발명의 화합물은 주어진 조건 하에서 인간 GLP-1R 및 인간 GIPR 수용체의 강력한 관능적 활성화를 나타낸다.

[0987] 실시예 5

[0988] 본원의 시험관내 관능적 효능을 측정하기 위한 일반적인 방법에서 기술된 것과 같이 측정된 GLP-1 및 GIP 수용

체의 관능적 효능은 표 9에 나타나 있다. 유리 형태로 투여된 부모 화합물 1~5는 주어진 조건 하에서 인간 GLP-1 수용체 및 인간 GIP 수용체의 강력한 관능적 활성화를 나타낸다.

표 9

[0990]

0% 및 1% HSA가 존재할 때 인간 GLP-1R 및 GIPR에서의 관능적 효능.				
화합물 번호	hGLP-1R, CRE Luc 0% HSA EC ₅₀ (pM)	hGLP-1R, CRE Luc 1% HSA EC ₅₀ (pM)	hGIPR, CRE Luc 0% HSA EC ₅₀ (pM)	hGIPR, CRE Luc 1% HSA EC ₅₀ (pM)
hGLP-1(7-37)	8.4	6.7	nd	nd
hGIP	nd	nd	11.3	6.4
부모 화합물 1	2.1	154.5	3.1	155.7
부모 화합물 2	1.5	110.8	1.8	97.0
부모 화합물 3	4.0	359.5	5.6	444.5
부모 화합물 4	4.2	202.0	4.7	188.5
부모 화합물 5	9.7	530.9	4.2	136.8
nd = 결정되지 않음				

[0991]

본 발명의 특정 특징들이 본원에 예시되고 기술되었지만, 많은 변형, 치환, 변경 및 균등물이 이제 당업자에게 발생할 것이다. 따라서, 첨부된 청구범위는 본 발명의 진정한 사상 내에 속하는 모든 이러한 수정 및 변경을 포함하도록 의도된 것임을 이해해야 한다.