



(19)대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl. A61K 31/20 (2006.01)	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2007년04월02일 10-0701502 2007년03월23일
---------------------------------------	-------------------------------------	--

(21) 출원번호	10-2000-7012281	(65) 공개번호	10-2001-0043314
(22) 출원일자	2000년11월04일	(43) 공개일자	2001년05월25일
심사청구일자	2004년02월19일		
번역문 제출일자	2000년11월04일		
(86) 국제출원번호	PCT/NO1999/000135	(87) 국제공개번호	WO 1999/58121
국제출원일자	1999년04월23일	국제공개일자	1999년11월18일

(81) 지정국

국내특허 : 아랍에미리트, 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 남아프리카, 짐바브웨, 시에라리온, 그라나다, 가나, 감비아, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기스스탄, 세르비아 앤 몬테네그로, 크로아티아, 인도, 인도네시아,

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 시에라리온, 가나, 감비아, 짐바브웨,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기스스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 사이프러스, 독일, 덴마크, 스페인, 핀란드, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기니 비사우,

(30) 우선권주장      PCT/NO98/00143      1998년05월08일      노르웨이(NO)

(73) 특허권자      티아 메디카 에이에스  
노르웨이, 엔-5052 베르겐, 입셴뜨, 104

(72) 발명자      베르게,롤프  
노르웨이,엔-5152뵈네스,티요른하우젠50

(74) 대리인      강영수

심사관 : 김은희

전체 청구항 수 : 총 26 항

(54) 비만 치료를 위한 신규한 지방산 유도체

(57) 요약

본 발명은 명세서에서 정의한 바와같은  $CH_3-[CH_2]_m-[X_i-CH_2]_n-COOR$ 의 화학식(1)을 갖는 신규 지방산 유도체에 관한 것이다. 이러한 지방산 유도체는 비만, 지방간 및 고혈압의 치료에 이용될 수 있다. 또한, 본 발명은 이러한 지방산 유도체를 포함하는 영양 조성물, 및 동물의 체중 또는 지방 조직의 양을 감소시키는 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 고기, 우유 및 계란과 같은 제품의 품질을 개선하기 위한 방법에 관한 것이다.

대표도

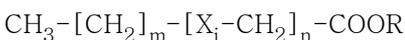
도 1

특허청구의 범위

청구항 1.

하기 화학식(1)의 지방산 유도체, 또는 이의 염을 유효 성분으로 하는 비만의 치료 및 예방을 위한 약학적 조성물용 제제:

[화학식 1]



상기 식에서, n은 1 내지 12의 정수이고, m은 0 내지 23의 정수이고, i는 홀수로서, COOR에 대한 위치를 나타내고,  $X_i$ 는 각각 독립적으로, O, S, SO,  $SO_2$ , Se 및  $CH_2$ 로 이루어진 그룹에서 선택되고, R은 수소 또는 1 내지 4 탄소수의 알킬이며, 상기  $X_i$ 중 최소한 하나는  $CH_2$ 가 아니다.

청구항 2.

제 1 항에 있어서, m이 13 이상인 약학적 조성물용 제제.

청구항 3.

제 1 항에 있어서,  $X_{i=3}$ 가 O, S, SO,  $SO_2$ , 및 Se로 이루어진 그룹에서 선택되고  $X_{i=5-25}$ 가  $CH_2$ 인 약학적 조성물용 제제.

청구항 4.

제 3 항에 있어서,  $X_{i=3}$ 가 황인 약학적 조성물용 제제.

청구항 5.

제 3 항에 있어서,  $X_{i=3}$ 가 셀레늄인 약학적 조성물용 제제.

청구항 6.  
삭제

청구항 7.  
삭제

청구항 8.  
삭제

청구항 9.  
삭제

청구항 10.  
삭제

청구항 11.  
삭제

청구항 12.  
삭제

청구항 13.  
삭제

청구항 14.  
삭제

청구항 15.  
삭제

청구항 16.  
삭제

청구항 17.  
삭제

청구항 18.  
삭제

청구항 19.  
삭제

청구항 20.  
삭제

청구항 21.

하기 화학식(1)의 신규 지방산 유도체, 또는 이의 염:

[화학식 1]



상기 식에서, n은 1 내지 12의 정수이고, m은 0 내지 23의 정수이고, i는 홀수로서, COOR에 대한 위치를 나타내고, X<sub>i</sub>는 각각 독립적으로, O, S, SO, SO<sub>2</sub>, Se 및 CH<sub>2</sub>로 이루어진 그룹에서 선택되고, R은 수소 또는 1 내지 4 탄소수의 알킬이며, 상기 X<sub>i</sub>중 최소한 하나는 CH<sub>2</sub>가 아니며, 상기 화학식이 -CH<sub>2</sub>-가 아닌 하나의 X<sub>i</sub>만을 함유하는 경우 X<sub>i=3</sub>는 O, S, SO, SO<sub>2</sub>, Se가 아니다.

**청구항 22.**

제 1 항에 있어서, 동물의 비만 치료 및 예방용 약학적 조성물용 제제.

**청구항 23.**

제 22 항에 있어서, 상기 동물은 사람으로서, 사람의 비만 치료 및 예방을 위한 약학적 조성물용 제제.

**청구항 24.**

제 22 항에 있어서, 상기 동물은 순계류의 새, 소, 양, 염소 또는 돼지와 같은 농업용 동물인 약학적 조성물용 제제.

**청구항 25.**

제 22 항에 있어서, 상기 동물은 개 또는 고양이와 같은 가축 또는 애완동물인 약학적 조성물용 제제.

**청구항 26.**

제 22 항에 있어서, 상기 동물은 연어, 대구, 킬라피아, 대합조개, 굴, 바다가재 또는 게와 같은 어류 또는 조개류인 약학적 조성물용 제제.

**청구항 27.**

삭제

**청구항 28.**

삭제

**청구항 29.**

삭제

**청구항 30.**

삭제

**청구항 31.**

삭제

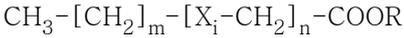
**청구항 32.**

삭제

**청구항 33.**

화학식(1)의 지방산 유도체, 또는 이의 염을 유효 성분으로 하는 동물의 비만 치료 및 예방을 위한 약학적 조성물:

[화학식 1]



상기 식에서, n은 1 내지 12의 정수이고, m은 0 내지 23의 정수이고, i는 홀수로서, COOR에 대한 위치를 나타내고, X<sub>i</sub>는 각각 독립적으로, O, S, SO, SO<sub>2</sub>, Se 및 CH<sub>2</sub>로 이루어진 그룹에서 선택되고, R은 수소 또는 1 내지 4 탄소수의 알킬이며, 상기 X<sub>i</sub>중 최소한 하나는 CH<sub>2</sub>가 아니며, 상기 화학식이 -CH<sub>2</sub>-가 아닌 하나의 X<sub>i</sub>만을 함유하는 경우 X<sub>i=3</sub>는 O, S, SO, SO<sub>2</sub>, Se가 아니다.

**청구항 34.**

제 33 항에 있어서, 상기 지방산 유도체와 혼합된 약학적으로 허용되는 담체나 부형제를 포함하는 약학적 조성물.

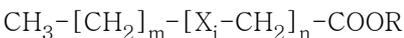
**청구항 35.**

제 33 항에 있어서, m이 13 이상인 약학적 조성물.

**청구항 36.**

하기 화학식(1)의 지방산 유도체, 또는 이의 염을 유효 성분으로 하는 사람 또는 동물의 체중 또는 체지방 중량 감소 또는 그 증가를 예방하기 위한 영양 조성물:

[화학식 1]

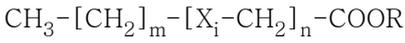


상기 식에서, n은 1 내지 12의 정수이고, m은 0 내지 23의 정수이고, i는 홀수로서, COOR에 대한 위치를 나타내고, X<sub>i</sub>는 각각 독립적으로, O, S, SO, SO<sub>2</sub>, Se 및 CH<sub>2</sub>로 이루어진 그룹에서 선택되고, R은 수소 또는 1 내지 4 탄소수의 알킬이며, 상기 X<sub>i</sub>중 최소한 하나는 CH<sub>2</sub>가 아니며, 상기 화학식이 -CH<sub>2</sub>-가 아닌 하나의 X<sub>i</sub>만을 함유하는 경우 X<sub>i=3</sub>는 O, S, SO, SO<sub>2</sub>, Se가 아니다.

**청구항 37.**

하기 화학식(1)의 지방산 유도체, 또는 이의 염을 유효 성분으로 하는 사람 또는 동물의 지방 중량을 감소시키기 위한 약학적 조성물용 제제:

[화학식 1]



상기 식에서, n은 1 내지 12의 정수이고, m은 0 내지 23의 정수이고, i는 홀수로서, COOR에 대한 위치를 나타내고, X<sub>i</sub>는 각각 독립적으로, O, S, SO, SO<sub>2</sub>, Se 및 CH<sub>2</sub>로 이루어진 그룹에서 선택되고, R은 수소 또는 1 내지 4 탄소수의 알킬이며, 상기 X<sub>i</sub>중 최소한 하나는 CH<sub>2</sub>가 아니다.

### 청구항 38.

제 37 항에 있어서, 상기 동물은 비만 상태가 발생된 것인 약학적 조성물용 제제.

### 청구항 39.

제 37 항에 있어서, 상기 동물은 저에너지를 소비하는 것인 약학적 조성물용 제제.

### 청구항 40.

제 37 항에 있어서, m이 13 이상인 약학적 조성물용 제제.

### 청구항 41.

제 39 항에 있어서, X<sub>i=3</sub>가 O, S, SO, SO<sub>2</sub>, 및 Se로 이루어진 그룹에서 선택되고 X<sub>i=5-25</sub>가 CH<sub>2</sub>인 약학적 조성물용 제제.

### 청구항 42.

제 41 항에 있어서, X<sub>i=3</sub>가 황인 약학적 조성물용 제제.

### 청구항 43.

제 41 항에 있어서, X<sub>i=3</sub>가 셀레늄인 약학적 조성물용 제제.

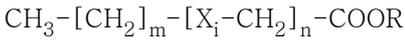
### 청구항 44.

제 37 항에 있어서, 상기 동물은 사람으로서, 사람의 지방 중량 감소를 위한 약학적 조성물용 제제.

### 청구항 45.

하기 화학식(1)의 지방산 유도체, 또는 이의 염을 유효 성분으로 하는 고기, 우유 또는 계란과 같은 제품의 품질을 개선하기 위하여 동물의 지방 분포, 농도 및 함량을 변화시키기 위한 사료:

[화학식 1]



상기 식에서, n은 1 내지 12의 정수이고, m은 0 내지 23의 정수이고, i는 홀수로서, COOR에 대한 위치를 나타내고, X<sub>i</sub>는 각각 독립적으로, O, S, SO, SO<sub>2</sub>, Se 및 CH<sub>2</sub>로 이루어진 그룹에서 선택되고, R은 수소 또는 1 내지 4 탄소수의 알킬이며, 상기 X<sub>i</sub>중 최소한 하나는 CH<sub>2</sub>가 아니다.

#### 청구항 46.

제 45 항에 있어서, 상기 동물은 순계류의 새, 소, 양, 염소 또는 돼지와 같은 농업용 동물인 사료.

#### 청구항 47.

제 45 항에 있어서, 상기 동물은 연어, 대구, 틸라피아, 대합조개, 굴, 바다가재 또는 게와 같은 어류 및 조개류인 사료.

#### 청구항 48.

삭제

#### 청구항 49.

삭제

#### 청구항 50.

삭제

### 명세서

#### 기술분야

본 발명은 비만, 지방 간 및 고혈압의 치료에 사용될 수 있는 신규 지방산 유도체에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 지방산 유도체를 함유하는 영양 조성물(nutritional composition) 및 동물의 체중 또는 지방 조직 중량을 감소시키는 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 고기, 우유 및 계란과 같은 제품의 품질을 개선하기 위한 방법에 관한 것이다.

#### 배경기술

고지방혈증 및 비만에 시달리는 서양인들의 수가 증가하고 있으며, 이러한 고지방혈증 및 비만은 죽상경화증, 고혈압, 지방간 및 인슐린 저항성과 같은 심각한 상태의 발생에 관계한다. 이러한 상태는 실제로 관상동맥심질환(CD) 및 비인슐린 의존성 당뇨병(NIDDM)의 임상학적 징후를 초래할 수 있다.

이러한 질병을 치료하기 위한 대표적인 새로운 방법은 변형된 지방산을 이용하여 치료하는 것이다.

유럽특허 EP 345.038호에는, 고지질혈증을 치료하고 포유류의 혈중콜레스테롤 및 트리글리세리드의 농도를 감소시키기 위하여 비-β-산화성 지방산 유도체(non-β-oxidizable fatty acid analogue)를 사용하는 것이 개시되어 있다.

국제특허출원 PCT/NO95/00195호에는, ldl의 산화 변형을 억제하기 위한 알킬-S-CH<sub>2</sub>COOR이 개시되어 있다.

### 발명의 상세한 설명

본 발명의 발명자들은 상기의 종래 공보에 기술된 유도체, 즉 3 위치에서 황또는 셀레늄으로 치환된 비-β-산화성 지방산이 더욱 광범위한 용도를 가진다는 것을 확인하였다.

또한, 본 발명의 발명자들은 비만, 고혈압, 지방간에 효과가 있는 신규 지방산 유도체를 합성 및 특성화했다.

본 발명에 따른 지방산 유도체를 이용하여 실험을 수행한 결과, 상기 화합물은 지방 조직 및 체중을 감소시키기 때문에, 비만 및 과잉체중의 치료에 효능있는 약물이라는 것을 확인하였다.

또한, 본 발명의 발명자들은 상기 지방산 유도체가 글루코스 및 인슐린 수준에 상당한 효과를 갖는 효능있는 항당뇨성 화합물이라는 것을 확인하였다.

또한, 상기 화합물은 재협착증(restenosis)에 유리한 효과를 가지며, 우수한 항산화성을 나타내는 것으로 입증되었다.

### 비만

비만은 현대사회에서 아주 일반적인 만성병으로서, 사회적인 단점뿐 아니라, 수명의 단축 및 하기와 같은 다수의 의학적 상태에 관계한다: 유해한 정신적 현상; 다낭성 난소 질환과 같은 생식 장애; 감염, 정맥류성 정맥, 표피증식 및 습진과 같은 피부병; 운동 불능; 당뇨병; 인슐린 저항성; 고혈압; 과콜레스테롤혈증; 담석증; 골관절염; 정형외과적 상해; 혈전색전증; 암 및 관상동맥심질환.

비만의 치료를 위한 오늘날의 방법으로는 규정 식이 및 운동; 초저칼로리 식이; 행동 요법; 식용억제약, 열발생약 또는 음식물 흡수 억제제의 사용을 포함하는 약물요법; 조오 와이어링(jaw wiring), 웨스트 코드(waist cord) 및 벌룬(balloon)과 같은 기구의 사용; 및 수술이 있다. 비만의 치료를 위해 칼로리를 제한하면, 인체 단백질 저장물의 이화작용이 발생하고 음질소평형이 얻어진다.

상술한 바와같이 우리 사회에서 크게 유행하는 비만 및 이와 관련된 심각한 결과를 고려할 때, 비만인의 체중을 감소시키는데 효과적으로 사용될 수 있는 치료약이 상기 비만인의 건강에 아주 유리한 효과를 제공할 수 있다. 따라서, 당업계에서는 비만인의 체중을 큰 부작용없이 이상적 체중으로 감소시킬 수 있을뿐 아니라 이와같이 감소된 체중으로 유지하는데 도움이 될 수 있는 약물의 필요성이 존재한다.

따라서, 본 발명의 목적은 비만인의 체중을 정상적이고 이상적인 체중으로 감소시키는데 유용하게 사용되는 치료 섭생을 제공함에 있다.

또한, 본 발명의 다른 목적은 장기간동안 상기 감소된 체중으로 유지할 수 있는 비만증 치료법을 제공함에 있다. 또한, 본 발명의 다른 목적은 지방 풍부 식이에 의해 일반적으로 유도되는 체중 증가를 감소 또는 억제함에 있다.

또한, 본 발명의 다른 목적은 비만을 방지하고, 치료가 시작된 후에는 비만결과로서 발생하거나 또는 비만에 이어 2차적으로 발생하는 고혈압 또는 지방간과 같은 질병의 진행을 저지하거나 또는 상기 질병의 발병을 방지함에 있다.

본원에서 기술한 비만은 유전적이건 또는 환경적이건 상관없이 어떤 원인에 의한 것일 수 있다. 비만을 초래할 수 있거나 또는 비만의 원인이 될 수 있는 장애의 예로는 과식 및 이상 식용항진, 다낭성 난소 질환, 두개인두종, 프레더-윌리 증후군(Prader-Willi Syndrome), 프로리치 증후군(Frohlich's Syndrome), 제 2 종 당뇨병(type II diabetes), GH-결핍 환자, 정상 변이 단신, 터너 증후군, 및 대사 활성의 감소를 나타내는 기타 병리학적 상태가 있다.

### 고혈압

혈압의 증가는 사람이 너무 많이 먹고 충분한 운동을 하지 않는 선진국에서의 일반적인 상태이다. 고혈압은 다수의 불편하고 위험한 부작용을 가질 수 있으며 관상동맥심질환에 관한 주된 위험 요인으로 간주되고 있다. 고혈압은 신장병 또는 부신 종양과 같은 특수한 질병에 관계할 수도 있지만 대부분의 경우는 그렇지 않다. 비만은 고혈압에 관한 위험 인자로 간주되며 비만한 고혈압 환자에 관한 첫번째 치료 방법은 체중을 감소시키는 것이다. 따라서, 비만의 치료에 효과가 있는 본 발명의 화합물(예, TTA 및 TSA)이 고혈압을 감소시키게 된다는 것을 알 수 있다.

고혈압에 원인이 있는 병으로는 심부전, 심근경색증, 뇌혈관의 파열 및 혈전, 신장 손상이 있다.

따라서, 본 발명의 목적은 혈압을 감소시키는데 유용하게 되는 치료 섭생을 제공하는 것이다.

### 지방간

지방간 형성 매커니즘은 완전히 명백하지는 않지만, 하기와 같은 몇 가지 요인들의 조합인 것으로 판단된다: 간의 트리아실글리세롤의 이용에 관한 에탄올 산화 작용, 호르몬의 방출시에 에탄올의 작용에 부분적으로 기인하는 것으로 지방 조직으로부터 간으로의 트리아실글리세롤의 이동, 및 아미노산 이용률의 변경으로 인해 트리아실글리세롤의 운반에 충분한 지방단백질을 합성하지 못하는 것.

지방성 간경화증은 간세포에 지방(트리아실글리세롤)이 침투한다는데 특징이 있다. 이러한 침투는 일반적으로 알코올의 섭취로 인해 발생하는 것이다.

간의 지방의 석출이 에탄올에 의해 증가된다는 설명은 아직도 충분히 이해되지 않는다. 그러나, 대다수의 연구원들은 에탄올이 간의 지방산 산화를 억제하여, 지방산이 트리아실글리세롤로 2차적으로 저장되는 것으로 판단하고 있다.

고지방 식이, 알코올 또는 염소화 탄화수소의 섭취에 따라 발생하는 지방간은 잘 알려진 현상이다. 에탄올을 상습적으로 섭취하면, 무엇보다도, 트리글리세리드의 축적으로 인해 간이 손상되어 궁극적으로는 간경화가 초래된다.

따라서, 본 발명의 목적은 간에서 트리글리세롤의 농도를 저하시키는데 유용한 치료 섭생을 제공함에 있다. 이러한 섭생은 지방간 상태의 발생에 억제 효과를 나타낼뿐 아니라, 상기 지방간의 치료 방법으로서 적합하다는 것을 알 수 있다.

본 발명의 화합물은 상기  $\beta$ -산화를 활성화할뿐 아니라, 간에서 트리글리세리드의 농도를 감소시킨다.

### 작용 매커니즘

천연 지방산 백본의 하나 이상의 탄소를 황, 셀레늄 또는 산소로 치환하여 상기 지방산을 약간 변형한다. 일반식(I)의 화합물은 생물학적 효과들이 독특하게 결합된 특성을 가진다.

테트라데실티오아세트산(TTA)이 가장 완전하게 연구되었다. 본 발명의 발명자들은 상기 화합물이 여러가지 시험 동물에서 몇 가지의 유익한 효과를 나타낸다는 것을 확인했다.

연구 결과, TTA는 천연 지방산과 아주 유사한 특성을 가지는데, 주된 차이로서 TTA는 미토콘드리아의  $\beta$ -산화계에 의해 산화되지 않는다는 것을 확인하였다. 그러나, 본 발명의 화합물이 존재하면, 다른 것(비치환 지방산)의  $\beta$ -산화가 증가한다는 것을 확인하였다.

쥐에게 TTA를 12주간 투여한 결과, 간 및 혈장에서 단일불포화 지방산(주로, 올레산)의 함량은 거의 두배가 되는 반면에, 다중불포화 지방산(주로, 리놀레산 및 DHA)은 감소하였다. 따라서, 본 발명의 화합물은 여러가지 조직에서 지질의 조성을 변화시킨다. 또한, 본 발명의 화합물은 지방 함량을 변화시킬뿐 아니라 지방 분포를 변화시킬 수 있는 것으로 확인되었다.

쥐, 마우스, 토끼 및 개와 같은 동물에게 적당한 양의 TTA를 공급한 결과, 혈장내 콜레스테롤 및 트리아실글리세롤 수준이 감소되었다. 또한, 본 발명의 발명자들은 TSA의 경우에도 동일한 효과를 확인하였는데, 위치 5 또는 7에서 황으로 치환된 본 발명의 화합물은 상기  $\beta$ -산화를 증가시킨다는 것을 확인하였다. 따라서, 이러한 지방산 유도체는 혈장내 트리글리세리드 및 콜레스테롤의 수준을 감소시키게 된다는 것을 알 수 있다. 따라서, TTA 및 TSA는 EPA와 같은 다중불포화 지방산보다 아주 더 효능이 있다.

상술한 바와같이, 3-티아 지방산의 중요한 작용 매커니즘은 미토콘드리아의 지방산 산화를 상당히 증가시켜서 에스테르화를 위한 지방산의 이용률을 감소시키는 것이다. 트리아실글리세롤 및 콜레스테롤의 합성이 감소되고, 간으로부터 VLDL의 분비가 감소됨으로써, LDL의 생성을 감소시킨다. 모든 이러한 효과는 지질 대사의 조절에 관여하는 편재된 전사 인자인 퍼옥시솜 증식 활성화 수용체(PPAR)에 의해 최소한 부분적으로 매개되는 것으로 판단된다. 본 발명의 발명자들은 TTA가, 지방산 및 이코사노이드(eicosanoid)의 이화작용을 조절하는 전사 인자인 PPAR $\alpha$ 의 효능있는 리간드이며, 또 지방 세포 분화의 조절에 관여하는 PPAR $\gamma$ 의 덜 효력있는 리간드라는 것을 확인하였다.

비만은 비인슐린 의존성 당뇨병(NIDDM)의 일반적 특징이며 이러한 당뇨병의 발생에 관한 위험 요인이다. 흔히, NIDDM은 고혈압, 이상지질증, 혈장 유리 지방산의 증가 및 심혈관 질환의 위험의 증가와 이어진다. NIDDM 환자는 말초조직에서 인슐린 흡수시에 인슐린 작용에 대하여 저항성을 나타내고 이상조절 인슐린을 분비하는데 특징이 있다.

본 발명의 발명자들은 TTA가 과인슐린증을 감소시키고, 글루코스 이용에 관한 인슐린 작용을 현저히 개선한다는 것을 확인하였다. 또한, TTA는 식이에 의해 유도되는 인슐린 저항성을 방지한다. 종래의 공지된 항당뇨성 글리타존과 대조적으로, TTA는 체중을 증가시키지 않는다.

이러한 효과는 간의 지방산 유입의 증가 및 간에서 지방산 산화의 개선에 의해 최소한 부분적으로 설명될 수 있다. 따라서, 이러한 데이터로부터, 생체내 지질 및 글루코스 항상성에서 TTA의 역할을 알 수 있다.

실시예에서 명백히 나타내는 바와같이, 본 발명의 화합물은 고지방 또는 고자당 식이를 섭취한 동물의 체중 및 지방 조직의 증가를 억제한다. 따라서, 본 발명의 화합물은 비만의 치료를 위한 약제 및/또는 영양제로 아주 적당하게 된다. 즉, 본 발명의 화합물은 체중 또는 지방 조직의 무게를 감소시키기 슬리밍제(slimming agent)로 사용될 수 있다.

또한, 본 발명의 화합물은 혈당 농도를 감소시킴으로써 항당뇨약으로 사용될 수 있다. 또한, 본 발명의 발명자들은 본 발명의 화합물은 과인슐린증 동물의 혈장내 인슐린 농도를 감소시킨다는 것을 확인하였다. 인슐린에 대한 감소된 민감성을 가지는 동물의 경우, 본 발명의 화합물은 내생 인슐린의 효과를 강화하는 것으로 확인되었다.

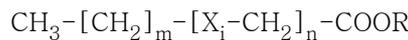
용어 "대사 증후군"(metabolic syndrome)은 과인슐린증, 인슐린 저항성, 비만, 글루코스 비내성(glucose intolerance), 제 2종 당뇨병, 이상지질증(dyslipidemia) 또는 고혈압에 특징이 있는 다중대사 증후군을 설명하기 위해 사용되는 것이다.

상술한 바와같이, 본 발명의 화합물은 글루코스 및 지질 항상성을 조절함으로써 상기의 모든 상태들에 유익한 효과를 제공하는 것으로 확인되었다. 따라서, 본 발명의 화합물은 상기의 대사 증후군(경우에 따라서는 증후군 X로 나타냄)의 조절을 위한 적당한 물질이라는 것을 알 수 있다.

본 발명은 비세포독성 농도의 변형된 지방산 유도체가 비만, 고혈압, 및 지방간의 치료 및/또는 예방에 사용될 수 있음을 개시하는 것이다.

본 발명은 비만의 치료 및/또는 예방을 위한 약학적 조성물을 제조하기 위한, 하기 화학식(1)의 지방산 유도체, 이의 염, 프로드럭 및 착물의 용도에 관한 것이다:

**화학식 1**



상기 식에서, n은 1 내지 12의 정수이고, m은 0 내지 23의 정수이고, i는 홀수로서, COOR에 대한 위치를 나타내고, X<sub>i</sub>는 각각 독립적으로, O, S, SO, SO<sub>2</sub>, Se 및 CH<sub>2</sub>로 이루어진 그룹에서 선택되고, R은 수소 또는 1 내지 4 탄소수의 알킬이며, 상기 X<sub>i</sub>중 최소한 하나는 CH<sub>2</sub>가 아니다.

특히, 본 발명은 m이 13 이상인 화학식(1) 화합물의 용도에 관한 것이다. 즉, 본 발명은 상기 X 기의 ω 측에서 최소한 14개의 탄소수를 가지는 화합물의 용도에 관한 것이다.

본 발명의 바람직한 구현에는 X<sub>i=3</sub>가 O, S, SO, SO<sub>2</sub>, 및 Se로 이루어진 그룹에서 선택되고 X<sub>i=5-25</sub>가 CH<sub>2</sub>인 화학식(1) 화합물의 용도에 관한 것이다.

X<sub>i=3</sub>가 황 또는 셀레늄을 나타내는 화합물인 테트라테실티오아세트산(TTA) 및 테트라테실셀레니오아세트산이 바람직한 화합물이다.

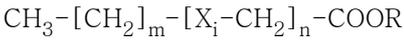
또한, 본 발명은 고혈압의 치료 및/또는 예방을 위한 약학적 조성물의 제조를 위한 화학식(1) 화합물의 용도에 관한 것이다.

또한, 본 발명은 지방간의 치료 및/또는 예방을 위한 약학적 조성물의 제조를 위한 화학식(1) 화합물의 용도에 관한 것이다.

또한, 본 발명은 "대사 증후군"(metabolic syndrome)은 과인슐린증, 인슐린 저항성, 비만, 글루코스 비내성(glucose intolerance), 타입 2 당뇨병, 이상지질증(dyslipidemia) 또는 고혈압에 특히 특징이 있는 다중대사 증후군(대사 증후군)의 치료 및/또는 예방을 위한 약학적 조성물의 제조를 위한 화학식(1) 화합물의 용도에 관한 것이다.

또한, 본 발명의 발명자들은 신규 지방산 유도체를 합성 및 특성화하였다. 따라서, 본 발명은 하기 화학식(1)의 신규 화합물을 제공한다:

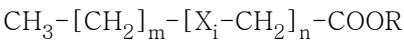
[화학식 1]



상기 식에서, n은 1 내지 12의 정수이고, m은 0 내지 23의 정수이고, i는 홀수로서, COOR에 대한 위치를 나타내고, X<sub>i</sub>는 각각 독립적으로, O, S, SO, SO<sub>2</sub>, Se 및 CH<sub>2</sub>로 이루어진 그룹에서 선택되고, R은 수소 또는 1 내지 4 탄소수의 알킬이며, 상기 X<sub>i</sub>중 최소한 하나는 CH<sub>2</sub>가 아니다.

또한, 본 발명은 비만 또는 과잉체중 상태를 치료 또는 예방하기 위한 방법으로서, 하기 화학식(1)의 지방산 유도체, 이의 염, 프로드럭 및 착물을 상기 치료 또는 예방을 필요로 하는 동물에게 유효량으로 투여하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다:

[화학식 1]



상기 식에서, n은 1 내지 12의 정수이고, m은 0 내지 23의 정수이고, i는 홀수로서, COOR에 대한 위치를 나타내고, X<sub>i</sub>는 각각 독립적으로, O, S, SO, SO<sub>2</sub>, Se 및 CH<sub>2</sub>로 이루어진 그룹에서 선택되고, R은 수소 또는 1 내지 4 탄소수의 알킬이며, 상기 X<sub>i</sub>중 최소한 하나는 CH<sub>2</sub>가 아니다.

상기 방법의 바람직한 구현예는 다음과 같다:

- 상기 동물은 사람이다.
- 순계류의 새, 소, 양, 염소 또는 돼지와 같은 농업용 동물이다.
- 상기 동물은 개 또는 고양이와 같은 가축 또는 애완동물이다.
- 상기 동물은 연어, 대구, 틸라피아, 대합조개, 굴, 바다가재 또는 게와 같은 어류 또는 조개류이다.

상기 치료에는, 상기 화합물의 투여 기간동안, 치료를 필요로 하는 동물의 혈액중에서 상기 화합물이 치료에 유효한 농도로 연속적으로 유지되도록, 상기 화합물을 상기 동물에게 투여하는 것이 포함된다.

또한, 본 발명은 비만, 고혈압, 또는 지방간의 치료 및/또는 예방을 위한 약학적 조성물에 관한 것이다. 상기 약학적 조성물은 상기 지방산 유도체와, 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제의 혼합물을 포함하는 것이 바람직하다.

또한, 본 발명은 사람 또는 동물의 체중 또는 체지방을 감소시키거나 또는 그 증가를 예방하는데 유효한 양의 화학식(1)의 지방산 유도체를 포함하는 영양 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 사람 또는 동물의 지방 중량을 감소시키는 방법으로서, 화학식(1)의 지방산 유도체, 또는 이의 염, 프로드럭 또는 착물을 포함하는 조성물을 상기 동물에게 유효량으로 투여하는 것을 포함하는 방법에 관한 것이다.

본 발명의 바람직한 구현에는 비만 상태에 있거나 또는 저에너지를 소비하는 동물의 치료에 관한 것이다.

또한, 본 발명의 다른 구현에는 고기, 우유 또는 계란과 같은 제품의 품질을 소비자가 만족할 수 있게 시각 및 영양학적으로 개선하기 위하여 동물의 지방 분포, 농도 및 함량을 변화시키는 것에 관한 것이다.

상기 동물의 바람직한 예로는 순계류의 새, 소, 양, 염소 또는 돼지와 같은 농업용 동물, 또는 연어, 대구, 틸라피아, 대합조개, 굴, 바다가재 또는 개와 같은 어류 및 조개류가 있다.

### 용어 정의

#### 비만

용어 "비만"은 25.9 이상의 체중 지수(Body Mass Index; BMI)를 갖는 동물의 상태를 일반적으로 의미하는 것이다. 그러나, 본 명세서 및 청구의 범위에서, 용어 "비만"은 더욱 광범위한 의미를 가진다. 즉, BMI가 원하는 값 이상 (즉, 정상 이상 및 BMI 이하)인 상태를 나타낸다. 또한, 용어 "비만"은 칼로리 섭취가 에너지 소비를 초과할 때 일어나는 상태인 의학적 정의 "단순 비만"을 포함한다.

#### 저에너지 소비(low energy adapted)

용어 "저에너지 소비"는 동물이 정상 이하의 낮은 에너지를 소비하는 상태를 의미하는 것이다.

#### 동물

본원에서 사용되는 용어 "동물"은 사람 및 농장(농업용) 동물과 같은 포유류, 특히 순계류의 새, 소, 양, 염소 및 돼지와 같은 경제적으로 중요한 동물, 더욱 특히, 고기, 계란 및 우유와 같이 사람의 소비에 적당한 제품을 생산하는 동물을 포함한다. 또한, 용어 "동물"은 연어, 대구, 틸라피아, 대합 조개 및 굴과 같은 어류 및 조개류를 포함하는 의미로 사용된다. 또한 용어 "동물"은 개 및 고양이와 같은 가축을 포함한다.

#### 치료

비만에 관하여, 용어 "치료"는 예를들어 체중 또는 지방 무게를 감소시킴으로써, 질병의 심각성을 감소시키는 것을 의미한다.

#### 예방

비만과 관련하여, 용어 "예방"은 비만 상태가 개시되기 전에 본 발명의 화합물을 투여함으로써, 비만이 발생하는 것을 예방하는 것을 의미한다. 이러한 용어는 본 발명의 화합물이 체중 증가를 억제하거나 또는 체지방 무게의 증가를 저지하기 위한 예방제로서 사용될 수 있음을 의미하는 것이다.

#### 본 발명의 화합물의 투여

약물로서, 본 발명의 화합물은 비경구투여, 경비투여, 경구 투여, 또는 피부에의 흡수에 의한 투여를 포함한 어떤 적당한 방법에 의해 동물에게 직접 투여될 수 있다. 이러한 화합물은 국소 또는 전신 투여될 수 있다. 상기 화합물의 투여 경로는 예를들어 동물의 병력에 의존하게 된다.

비경구 투여의 예로는 피하 투여, 근육내 투여, 정맥내 투여, 동맥내 투여, 및 복막내 투여가 있다.

일반적인 조건으로서, 용량당 비경구 투여되는 각 화합물의 약학적으로 유효한 전체량은 의사의 재량에 달려있지만, 환자의 체중 1kg당 하루 약 5mg 내지 약 1000mg의 범위인 것이 바람직하다. TTA의 경우, 100-500 mg/kg/day의 용량이 바람직하며, TSA의 경우, 10 내지 100 mg/kg/day의 용량이 바람직한 것으로 판단된다.

연속적으로 투여되는 경우, 본 발명의 화합물은 하루에 1-4회 주사하거나 또는 예를들어 소형 펌프를 이용하여 연속적으로 피하에 주입함으로써 투여된다. 또한, 정맥내 백 용액을 이용할 수도 있다. 적절한 용량을 선택하는데 있어서 중요한 인자는, 체중 또는 무지방 무게에 대한 지방의 비의 감소를 측정함으로써 얻어지거나, 또는 의사가 적절하다고 판단하는 것으로 비만의 억제 또는 예방 또는 비만-관련 상태의 예방을 측정하기 위한 다른 기준에 의해 얻어지는 결과이다.

비경구 투여의 경우, 본 발명의 화합물은 원하는 순도를 갖는 단위 용량 주사 형태(예, 용액, 현탁액, 또는 에멀션)를 약학적으로 허용되는 담체(즉, 이용되는 용량 및 농도에서 환자에게 유독하지 않고 다른 제제 성분과 양립할 수 있는 것)와 일반적으로 혼합함으로써 제형화된다.

일반적으로, 상기 제제는 본 발명의 화합물을 액상 담체 또는 미립자 분말 또는 이들의 혼합물과 균일하고 긴밀하게 접촉 시킴으로써 제조된다. 다음에, 필요한 경우, 상기 생성물은 원하는 제제로 성형된다. 상기 담체는 비경구용 담체인 것이 바람직하고, 환자의 혈액에 대하여 등장성인 용액이 더욱 바람직하다. 이러한 담체의 예로는 물, 염수, 링거 용액, 및 텍스트로스 용액이 있다. 또한, 비휘발성 기름 및 에틸 올레이트와 같은 비수성 담체뿐 아니라 리포솜을 사용할 수도 있다.

상기 담체는 등장성 및 화학적 안정성을 강화하는 물질과 같은 첨가제를 소량으로 함유하는 것이 적당하다. 이러한 물질은 이용되는 농도 및 용량에서 환자에게 유독하지 않는 것이다. 이러한 물질의 예로는 포스페이트, 시트레이트, 숙신에이트, 아세트산, 및 기타 유기산 또는 이들의 염과 같은 완충제; 아스코르브산과 같은 항산화제; 면역글로불린; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 글리신, 글루탐산, 아스파르트산, 또는 아르기닌과 같은 아미노산; 단당류, 이당류, 및 셀룰로오스 또는 이의 유도체, 글루코스, 만노오스 또는 텍스트린을 포함한 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트제; 만니톨 또는 소르비톨과 같은 당 알콜; 나트륨과 같은 반대 이온; 및/또는 폴리소르베이트, 폴록사머 또는 PEG와 같은 비이온성 계면활성제가 있다.

경구용 약학적 조성물에 사용될 수 있는 담체 물질의 예로는 물, 젤라틴, 락토오스, 검, 전분, 스테아르산마그네슘, 톨크, 오일, 폴리알켄 글리콜, 석유 젤리 등이 있다. 이러한 약학적 조성물은 단위 용량 형태를 가질 수 있고, 방부제, 안정화제, 에멀션화제, 완충제 등과같은 기타 치료적으로 값어치있는 물질 또는 통상적인 약학적 보조제를 추가로 함유할 수 있다. 상기 약학적 조성물은 정제, 캡슐, 당의정, 앰플 등과 같은 통상적인 액체 형태를 가지거나, 또는 앰푸울 및 좌약 등과 같은 통상적인 단위 용량 형태를 가질 수 있다.

본 발명의 화합물을 이용한 치료는 환자의 요구에 따라, 식사 또는 칼로리 섭취를 제한하는 것과 같이 식이를 제한하거나 제한하지 않으면서 수행될 수 있다.

또한, 본 발명의 화합물은 비만을 억제 또는 예방하기 위한 다른 치료제와 함께 투여되는 것이 적당하다.

## 실시예

본 발명은 하기의 실시예를 참조로 더욱 충분히 이해될 수 있다. 그러나, 실시예가 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니다.

### 실험 섹션

#### 방법

#### 비만한 Zucker (fa/fa) 쥐

이 연구에서 사용되는 Zucker (fa/fa) 쥐들은 Harriet G. Bird Laboratory (미합중국 메사추세츠주 스토크에 소재)가 최초로 공급한 쌍둥이로부터 U 465 INSERN 동물 시설에서 번식시킨 것이다. 달리 나타내지 않는한, 상기 동물들은 일정한 밝음-어둠 사이클(오전 7시부터 오후 7시 까지 밝음)하에서  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지되고, 먹이 및 물에 자유로이 접근할 수 있도록 하였다. 케이지(cage)당 3 마리의 쥐를 수용하였다. 체중 증가를 매일 기록하였다.

#### Wistar 쥐

체중이 280-358g인 Wistar Charles River 수컷쥐를 AnLab Ltd.(체코 Prague)로부터 구입하여, 22±1℃의 온도로 유지되며 빛이 조절되는 (오전 7시부터 오후 7시까지 밝음) 룸에서 와이어 매시 케이지에 수용시켰다. 케이지(cage)당 3 마리의 쥐를 수용하였다. 체중 증가량 및 음식물 섭취량을 매일 기록하였다.

#### 사육 실험에 사용되는 식이(중량%)

##### 표준 chow 식이

체코의 Prague에 소재한 Velaz로부터 입수한 Standard Laboratory Chow ST1을 쥐들에게 공급했다.

##### 고자당 식이(HS)

50.3% 자당, 4.8% 젤라틴, 3.2% 건초, 2.3% 비타민 및 무기물, 8.7% 이스트, 8.7% 건조 우유, 12.3% 카세인, 9% 우지, 1% 해바라기유.

HS + TTA: HS + 우지에 용해한 0.3% TTA.

HS + 생선기름(FO): 우지 및 해바라기유가 10% Triomar로 교체된다. Triomar는 노르웨이의 Pronova Biocare로부터 구입한 것으로서, 33.4% EPA, 3.1% DPA 및 20.2% DHA를 함유한다.

고지방(HF): 1.9% 젤라틴, 5.7% 밀겨, 7.7% 비타민 및 무기물, 25.4% 옥수수 전분, 25.7% 카세인, 26.8% 우지 및 7.1% 해바라기유.

HF + TTA: HF + 우지에 용해된 0.4% TTA.

HF + FO: 10% 우지가 10% Triomar로 교체된다.

#### 정맥내 글루코스 내성 테스트

5주된 Zucker (fa/fa) 쥐를 5 시간 금식시킨 후, 나트륨 펜토바비탈(50mg/kg)을 복막내 주사하여 마취시켰다. 상기 쥐의 복재 정맥에 글루코스(0.55 g/kg)를 주사하고, 글루코스 주사후 0, 5, 10, 15, 20 및 30분이 되었을 때 꼬리 정맥으로부터의 혈액 시료를 헤파린 처리관에 채취하였다. 시료를 얼음위에서 유지하고, 원심분리하여 혈장을 분석시까지 -20℃에서 저장했다.

#### 과인슐린증 클램프 및 과혈당증 고정(hyperinsulinemic euglycemic clamp)

상기의 개개의 식이를 21일간 공급한 후, 쥐들에게 크실라진 히드로클로라이드(체코의 Prague에 소재한 Rometar SPOFA; 10mg/ml) 및 케타민 히드로클로라이드(체코의 Prague에 소재한 Narkamon SPOFA; 75mg/ml)을 주사하여 마취시키고, 다음문헌[Koopmans, S. J. 등, Biochim Biophys Acta, 1115, 2130-2138, 1992]에 기술된 바와같이 만성 경동맥 및 경부 정맥에 캐놀라를 끼웠다. 다음에, 상기 쥐들을 수술후 2일간 회복시킨 후 다음문헌[Kraegen, E.W 등, Am J Physiol, 248, E353-E362, 1983]에 따라 클램핑 연구(clamping study)를 수행하였다. 따라서, 수술후 3일이 되었을 때, 제어되지 않는 의식있는 쥐들에게 돼지 인슐린(덴마크의 Novo Nordisk에 소재한 Actrapid)을 6.4 mU/kg/min의 용량으로 연속적으로 주입하여 혈장 인슐린 수준이 생리학적 범위 이상이 되도록 하였다. 30% w/v 글루코스 용액(체코 Prague의 Leciva)을 가변적으로 주입하여 동맥혈중 글루코스 농도를 기본 금식 수준으로 고정하였다. 글루코스 주입 개시후 15분 마다 혈장 글루코스 및 인슐린 농도 측정을 위한 혈액 시료를 얻었다. 90분후, 쥐들에의 주입을 중단하고 쥐들의 목을 베어, 혈장 분리용 혈액을 채취하고, 간 및 부고환 지방 조직 패드(epididymal adipose tissue pad)를 절개하여 칭량하였다.

#### 혈장 파라미터의 측정

효소적 방법을 이용하여, 글루코스(GLU, Goehringer Mannheim, 독일), 유리 지방산(NEFA, C ACS-ACOD 키트; 미합중국 Dalton에 소재한 Wako Chemicals), 및 b-히드록시부티레이트(310-A 키트; 미합중국 세인트루이스에 소재한 Sigma Diagnostics Inc.)의 농도를 측정하였다. Zucker 쥐의 인슐린을 표준으로 이용하여 인슐린 농도를, 프랑스 Gif sur

Yvette에 소재한 CIS bio International의 장치에 의하여 방사면역검정법으로 측정했다. Wistar Charles River 쥐의 경우, 혈장 글루코스 농도를 Beckman Glucose Analyzer(미합중국 캘리포니아에 소재한 Fullerton)를 이용하여 측정했다. 혈장 인슐린 수준은 미합중국 매릴랜드주 세인트 찰스에 소재한 Linco Research Inc.로부터 구입한 RIA 키트를 이용하여 측정하였다. 인지질은 프랑스 Marcy l'Etoile에 소재한 bioMerieux의 효소적 방법을 이용하여 측정하였고, 트리글리세롤은 미합중국의 Techninon Method No. SA4-0324L90을 이용하여 측정하였고, 콜레스테롤은 미합중국의 Techninon Method No. SA4-0305L90을 이용하여 측정하였다.

후-핵 및 미토콘트리아 분획(post-nuclear and mitochondrial fractions)의 제조 및 효소 활성의 측정

Zucker 쥐로부터 새로이 분리한 간을 얼음-냉각 차당 완충액(0.25M 차당, 10 mM HEPES (pH7.4) 및 2mM EDTA)에서 균질하였다. 다음문헌[DeDuve, C 등, Biochem. J., 60, 604-617, 1955]에 따른 정제 분획 원심분리(preparative differential centrifugation)를 이용하여 후-핵(post-nuclear) 및 미토콘트리아 분획을 제조하였다. 변형, 순도 및 수율은 다음문헌[Carras, A 등, Biochim. Biophys. Acta, 1255, 154-160, 1995]에 기술된 바와 같았다. 다음문헌[Willumsen, N. 등, J. Lipid Res., 34, 13-22, 1993]에 기술된 바와같이 기질로서 [1-<sup>14</sup>C]-팔미토일-CoA 및 [1-<sup>14</sup>C]-팔미토일-L-카르니틴(영국 Amersham에 소재한 Radio-chemical Centre)를 이용하여, 후-핵 및 미토콘트리아 함유 분획의 산 가용성 생성물을 측정했다. 다음문헌[Bremer, J., Biochem. Biophys. Acta, 665, 628-631, 1981]에 기술된 바와같이 상기 후-핵 및 미토콘트리아 분획의 카르니틴 팔미토일트랜스퍼라아제-I 및 -II 활성을 측정하고, 다음문헌[Clinkenbeard, K. D. 등, J. Biol. Chem., 250, 3108-3116, 1975]에 따라 상기 미토콘트리아 분획내의 3-히드록시-3-메틸글루타릴-CoA 신타아제를 측정하였다.

RNA 분석

RNA 추출(Chomczynski, P. 등, Anal. Biochem., 162, 156-159, 1987), 나일론 필터상에서의 RNA의 노던 흡입 분석(Northern blot analysis) 및 슬롯트 흡입(slot blotting), 및 고정된 RNA에의 교잡을 다음문헌[Vaagenes, H. 등, Biochem. Pharmacol., 56, 1571-1582, 1998]에 기술된 바와같이 수행하였다. 프로브(probe)로서 하기의 cDNA 분절을 사용했다: CPT-I (Esser, V. 등, J. Biol. Chem., 268, 5817-5822, 1993), CPT-II (Woeltje, K. F. 등, J. Biol. Chem., 265, 10720-10725, 1990), 3-히드록시-3-메틸글루타릴-CoA 신타아제(Ayte, J. 등, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 87, 3874-3878, 1990), 및 호르몬 감응성 리파아제(Holm, C. 등, Biocjim. Biophys. Acta, 1006, 193-197 (1989)). 개개 수준의 28S rRNA에 교잡된 방사성 프로브의 양으로 RNA 발현의 상대 수준을 평가했다.

결과

실시예 1: 화합물의 제조 및 특성화

a) 신규 화합물의 합성

하기의 변형을 갖는 3-치환 유도체에 대한 일반적 설명(하기 참조)에 따라, 가변 위치에서 헤테로 원자를 갖는 지방산을 합성했다:

알킬-Hal을 알카노-Hal로 치환하고 HS-CHCOOR을 알킬-SH로 치환하였다.

하기의 지방산 유도체를 제조 및 특성화했다:

화합물	반응물	녹는점 (°C)
도데카닐티오부탄산	4-브로모부탄산 + 도데카닐티올	54-55
도데카닐티오헥산산	6-브로모헥산산 + 도데카닐티올	50-51
옥타닐티오옥탄산	8-브로모옥탄산 + 옥타닐티올	39-40

생성물의 정제는 하기에 기술한 바와 같다. 순도: 95% 이상. 구조는 질량 분석법으로 확인되었다.

b) 3-치환 지방산 유도체의 합성

치환체 X<sub>i=3</sub>가 황 원자 또는 셀레늄 원자인 본 발명에 따라 사용되는 화합물은 하기의 일반적 방법에 따라 제조될 수 있다:

X = 황 원자

본 발명에 따라 사용되는 티오-치환 화합물은 하기에 나타낸 일반적 과정에 따라 제조할 수 있다:

염기



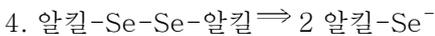
황-화합물, 즉 테트라데실티오아세트산(TTA) ( $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{13}\text{-S-CH}_2\text{-COOH}$ )를 EP-345.038호에서 나타낸 바와같이 제조했다.

X = 셀레늄 원자

본 발명에 따라 사용되는 셀레노-치환 화합물은 하기의 일반적 과정에 따라 제조될 수 있다:



상기 화합물을 메탄올 또는 에탄올로부터 조심스럽게 결정화함으로써 정제했다.



알킬이 테트라데실인 경우의 최종 화합물, 즉  $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{13}\text{-Se-CH}_2\text{-COOH}$  (테트라데실셀레니오아세트산; TSA)은 디에틸 에테르 및 헥산으로부터의 결정화에 의하여 정제될 수 있다. 이러한 생성물은 BNR, IR 및 분자량 측정에 의하여 충분히 특성화될 수 있다.

이러한 황 및 셀레늄 화합물, 및 화학식(1)의 X가 산소(O), 황-I-산화물(SO) 및 이산화황(SO<sub>2</sub>)인 화합물의 합성 및 분리 는 유럽 특허 제 345.038 호 및 국제 특허 출원 제 WO97/03663호에 기술되어 있다.

실시예 2

TTA의 독성 연구

GLP 지침에 따라 개에 있어서 28 일간의 독성 연구가 영국의 Corning Hazleton (Europe)에 의해 수행되었다. 500 mg/kg/day이하의 용량 수준의 TTA의 경구 투여는 일반적으로 내성(tolerance)이 있었다. 고용량이 투여된 동물의 경우에는 일부의 지질-관련 파라미터들이 저하되었다. 이것은 TTA의 약리학적 활성과 일치하는 것이다.

또한, 500 mg/kg/day의 용량 수준은 체중 감소를 유도했다. 50 또는 500 mg/kg/day의 용량 수준에서 독성의 흔적은 없었다.

돌연변이유발 활성 시험이 영국의 Covance Laboratories Limited에 의해 수행되었다. TTA 및 TSA는 살모넬라 티피무리움(Salmonella typhimurium) 및 에스케리시아 콜리(Escherichia coli) 균주에서 돌연변이를 유발하지 않았다. 또한, TTA는 마우스의 림프종 세포 및 L5178Y에서 시험된 때에도 돌연변이를 유발하지 않았다.

상기 살모넬라 티피무리움 및 에스케리시아 콜리에서 시험된 화합물의 농도는 3-1000mg/플레이트 (TTA) 및 2-5000 mg/플레이트 (TSA)였다. 마우스의 림프종 세포 (L5178Y)의 경우, 상기 화합물의 농도는 2.5-50 mg/ml였다.

TSA 및 TTA는 상기 시험에서 돌연변이를 유발하지 않는 것으로 확인되었다. TTA 및 TSA를 중국 햄스터의 배양된 난소 세포에서 염색체 이상에 대하여 시험한 결과, 시험된 투여량 수준(12-140 mg/ml)에서는 이상이 발생하지 않았다.

따라서, 본 발명의 화합물은 약학적 화합물로서 아주 유용하다.

실시예 3

TTA는 비만 동물에서 지질 저하 효과를 유도한다

실험의 출발시의 체중이 100g인 비만한 Zucker fa/fa 수컷쥐들을 12 시간 밝음-어둠 사이클 및 20 ±3℃ 의 일정 온도로 유지되는 룸에서 금속 와이어 케이지 안에 수용하였다. 실험을 출발하기 전에 상기 동물들을 1 주일 이상 상기 조건에 순응시켰다.

위에서 설명한 방법에 따라 제조한 TTA(테트라데실티오아세트산), 및 팔미트산(대조군)을 0.5% (w/v) 카르복시메틸 셀룰로오스 (CMC)에 현탁하였다. 여섯 마리의 동물이 상기 두 그룹에서 사용되었다. 각각 300 mg/day/체중kg 용량의 TTA (테트라데실메틸티오아세트산) 및 팔미트산을 10 일간 하루에 한 번씩 위 삽관법(gavage)으로 투여했다. 실험을 종료하기 전에 상기 쥐들을 2 시간동안 금식시켰다. 혈액 및 기관을 채취했다. 상기 방법 섹션에서 설명한 바와 같이 자동 분석기를 이용하여 혈장중의 지질 농도를 측정했다. 얻어진 결과는 하기 표 1에서 기록된다.

**[표 1]**  
비만한 Zucker fa/fa 쥐의 지질 수준에 관한 TTA의 효과

혈장의 지질 수준의 감소 (대조군의 %)			
	트리글리세리드	콜레스테롤	인지질
TTA	72	73	71

상기의 결과로부터, TTA는 혈장내의 트리글리세리드, 콜레스테롤 및 인지질 수준을 감소시킨다는 것을 알 수 있다,

실시예 4

TTA 및 TSA는 정상 동물(Wistar 쥐)에서 지질 감소 효과를 유도한다

실험의 출발시의 체중이 180-200g인 Wistar 수컷쥐들을 12 시간 밝음-어둠 사이클 및 20 ±3℃ 의 일정 온도로 유지되는 룸에서 금속 와이어 케이지 안에 수용하였다. 실험을 출발하기 전에 상기 동물들을 1 주일 이상 상기 조건에 순응시켰다.

TTA, TSA 및 이코사펜타엔산(eicosapentaenoic acid; EPA)을 0.5% (w/v) 카르복시메틸 셀룰로오스 (CMC)에 현탁하였다. 각각의 처리마다 6 마리의 동물이 사용되었고, 대조 그룹으로서 0.5% CMC 용액이 쥐들에게 투여되었다. 상기 시험 화합물을 투여한 후, 상기 쥐들을 12 시간동안 금식시키고 할로에탄(haloethan)으로 마취하였다. 상기 EPA 및 지방산 유도체를 7일동안 하루에 한번씩 위 삽관법(gavage)으로 상기 쥐들에게 투여했다. 심장을 천공하여 혈액 시료를 채취하고, 상기 방법 섹션에서 나타낸 바와같이 혈장내의 지질 농도를 측정했다. 결과는 표 2에서 나타낸다.

**[표 2]**

쥐에 있어서 혈장중 지질 수준에 관한 TTA, TSA 및 EPA의 효과

화합물	용량(mg/day/체중kg)	혈장내 지질(대조 그룹의 감소%)	
		트리글리세리드	콜레스테롤
TSA	15	25	20
EPA	1500	20	18
TTA	150	45	30

표 2로부터, TTA는 쥐의 혈중 지질 저하 효과가 우수하다는 것을 알 수 있다. TSA의 경우에 얻어진 바와같은 혈장중 지질 농도의 감소를 얻기 위하여는 100 배 더 많은 용량의 EPA가 필요하다는 것을 알 수 있다. 또한, 본 발명의 치환된 지방산 화합물은 혈장내 지질을 감소시키는데 있어서 순수 EPA 및 생선 기름보다 아주 더 효과적이다. 따라서, 본 발명의 화합물은 아주 유용한 약학적 화합물이다.

실시예 5

Wistar Charles River 쥐에게 공급된 고지방 식이에 관한 TTA의 효과

Wistar Charles River 수컷쥐(280-360g)들에게 3 가지의 상이한 식이를 무작위로 먹였다. 다음에, 상기 쥐들을 목을 베어 죽이고, 간 및 부고환 지방 조직 패드를 절개하여 칭량했다.

따라서, 상기 Wistar 쥐들에게 고지방 식이를 먹인 결과, 부고환 및 후복막 패드 중량이 증가하였다. TTA 치료 결과, 지방 조직 중량의 증가가 방지되었으며, 이러한 효과는 먹이 소비와 무관하게 동일했다 (고지방: 15.1 ± 1.1g/쥐/day; 고지방 + TTA: 14.8 ± 1.3 g/쥐/day).

**[표 3]**

TTA를 함유하거나 또는 함유하지 않는 고지방 식이를 섭취한 Wistar Charles River 쥐에 있어서 체중 증가, 간 중량 및 지방 조직 중량에 관한 고지방 식이의 영향

파라미터	표준 chow 식이	고지방 식이-TTA	고지방 식이+TTA
부고환 지방중량(g)	3.0 ± 0.1	5.3 ± 0.3	3.1 ± 0.2
체중에 대한 부고환지방중량의 %	0.8 ± 0.03	1.3 ± 0.1	1.0 ± 0.1
후복막 지방 조직(g)	2.2 ± 0.2	5.5 ± 0.3	2.7 ± 0.2
체중에 대한 후복막 지방조직의 %	0.6 ± 0.1	1.4 ± 0.1	0.8 ± 0.05

데이터는 평균 ± SEM으로 나타내었음.

실시예 6

TTA는 정상적인 쥐의 체중을 감소시킨다

각각 6마리씩의 Wistar 쥐들로 이루어지는 2 그룹의 쥐들을 무작위로 선택하여, 12주 동안 중량 증가에 대하여 연구했다. 실험의 출발시에 각각의 Wistar 쥐의 체중을 측정했다. 상기 두 그룹의 쥐들에게 12주의 실험 기간동안 동일한 양의 먹이(영양물)를 공급했다. 상기 두 그룹중 한 그룹에게는 TTA를 포함하는 약물을 경구 투여했다. 다른 그룹은 대조 그룹(CMC)이었다. 12주후, 쥐들의 체중을 다시 측정했다.

하기의 표 4의 결과는 TTA를 경구 투여하면 체중이 상당히 감소된다는 것을 나타내고 있다.

**[표 4]**  
12주 처리후 Wistar 수컷쥐의 체중에 관한 TTA의 효과

	체중 증가량/g
대조 그룹(TTA로 처리하지 않은 쥐)	293 ±27
TTA	234 ±20

실시예 7

Wistar Charles River 쥐에게 공급한 고지방 식이에 관한 TTA의 효과

도 1은 전체 섭취한 먹이 (g)에 대한 중량 증가량(g)의 3주간의 누적값을 도시한다. 이러한 값들은 하루 평균 중량 증가량을 구하고 이를 그날에 먹은 먹이의 평균량으로 나눔으로써 계산되었다. 약어 및 식이의 명세에 대하여는 상기의 방법 섹션을 참조한다.

상기 식이의 조성은 상기 방법 섹션에 기재되어 있다.

실시예 8

Wistar Charles River 쥐에게 공급된 고지방 식이에 관한 TTA의 효과

도 2는 전체 섭취한 먹이 (g)에 대한 중량 증가(g)의 3주간의 누적값을 도시한다. 이러한 값들은 하루 평균 중량 증가량을 구하고 이를 그날에 먹은 먹이의 평균량으로 나눔으로써 계산하였다. 약어 및 식이의 명세에 대하여는 상기의 방법 섹션을 참조한다.

상기 식이의 조성은 상기 방법 섹션에 기재되어 있다.

실시예 9

비만 동물에 있어서 체중 증가, 간 및 지방 조직 중량에 관한 TTA의 효과

또한, TTA를 간 및 지방 조직 중량에 관한 효과에 대하여 시험하였다. 결과는 하기 표 5에서 기록된다.

0.5% CMC에 현탁된 TTA를 5주된 비만한 Zucker (fa/fa) 쥐에게 300mg/kg/day의 용량으로 공급했다. 대조 동물에게는 CMC만을 공급했다. 11일간 처리한 후, 쥐들을 목을 베어 죽이고, 간 및 부고환 지방 조직 패드를 절개하여 칭량했다. 데이터는 대조 그룹의 6 마리 및 실험 그룹의 6 마리에 대한 것으로, 평균 ±SD로 나타낸다.

**[표 5]**  
비만한 Zucker (fa/fa) 쥐에 있어서 체중 증가, 간 및 지방 조직 중량에 관한 TTA의 효과

파라미터	비교 그룹	처리 그룹
간 중량(g)	7.79 ±0.26	10.6 ±0.70
체중에 대한 부고환 지방 조직의 %	0.98 ±0.02	0.78 ±0.02
체중 증가량(g/day)	5.91 ±0.37	6.23 ±0.28

실시예 10

TTA는 개의 체중을 감소시킨다

3 마리의 4-6 개월된 수개를 실험 기간동안 한 마리씩 사육했다. 각각의 동물에게 아침마다 400g의 SQC 식이 A를 공급하고 오후에 어떤 잔류 식이를 치웠다. 28일 동안 하루에 한번씩 캡슐 형태의 약물을 경구 투여했다.

**[표 6]**

500mg/kg/day의 TTA로 처리한 수개의 평균 체중

주	0	1	2	3	4
체중(kg)	9.22 ± 1.77	8.95 ± 1.61	8.75 ± 1.58	8.58 ± 1.66	8.50 ± 1.74

실시예 11

TTA 처리는 정상적인 동물에 있어서 HF 유도 과인슐린증을 예방한다

체중이 280-360g인 쥐들을 3 그룹(n=6)으로 나누고 하기와 같은 세가지의 상이한 식이를 공급했다: 표준 쥐 chow, 고지방 식이(HF) 및 TTA 보충 HF. 상기 개개의 식이를 이용하여 21 일간 시험하고 밤새 금식시킨후 꼬리 정맥으로부터 혈액을 채취했다. 데이터는 평균 ±SEM으로 나타낸다. 결과는 ANOVA에 의해 분석되었으며, 상이한 문자들은 통계학적 유의성(p<0.05)을 나타낸다.

도 3은 Wistar Charles River 쥐에 있어서 TTA 처리가 고지방 식이-유도 과인슐린증을 예방한다는 것을 도시한다.

실시예 12

TTA 처리는 정상적인 쥐에 있어서 HF 식이 유도 인슐린 저항성을 예방한다

체중이 330±20g인 쥐들을 3 그룹(n=9)으로 나누고 하기와 같은 세가지의 상이한 식이를 공급했다: 표준 쥐 chow, 고지방 식이(HF) 및 TTA 보충 HF. 상기 개개의 식이를 이용하여 21 일간 시험한 후, 상기 물질 및 방법 섹션에서 기술한 바와 같이, 억제되지 않는 의식있는 동물에 대한 90분 과혈당증 및 과인슐린증 고정화를 수행했다. 혈당증(glycemia)이 안정화되는 기간부터, 즉 고정화 개시후 45-90분 동안 글루코스 주입 속도(GIR)를 측정했다. 데이터는 평균 ±SEM으로 나타낸다.

과혈당증 및 과인슐린증 고정화 실험을 수행하여, 식이 TTA 섭취가 쥐에 있어서 고지방 식이에 의한 인슐린 작용의 감소를 개선할 수 있는지에 관하여 시험하였다. 상기 90분 과인슐린증 고정화 결과, 상기 연구된 세 그룹의 혈장중 글루코스 및 인슐린 수준은 각기 상이하였다. HF 그룹의 경우 외인성 글루코스 주입 속도(GIR)가 표준 식이 공급 Wistar 쥐와 비교하여 상당히 감소되었다(도 4). 흥미롭게도, HF 식이에 TTA를 보충한 결과, 완전히 정상적인 GIR로 입증되는 바와같이 상기 쥐들에 있어서 인슐린 저항성의 발생이 방지되었다. 이러한 사실로부터, 생체내 인슐린 작용에 관한 TTA의 유의한 효과를 알 수 있다.

도 4는 Wistar Charles River 쥐에 있어서 TTA 처리가 고지방 식이 유도 인슐린 저항성을 방지한다는 것을 도시한다.

실시예 13

비만 동물에 있어서 인슐린 및 글루코스의 혈장내 수준에 관한 TTA의 효과

5주된 Zucker (fa/fa) 쥐

도 5에서 도시한 바와같이, TTA 처리는 혈중 인슐린 농도를 약 40% 감소시키는 반면에, 글루코스의 혈중 농도는 약 15% 만큼 감소시켰다.

0.5% CMC (n=6)에 현탁된 300 mg/kg/day 용량의 TTA를 쥐들에게 경구 섭생법으로 투여했다. 11일간 처리한 후, 쥐들을 목을 베어 죽였다. 혈액을 채취하여, 상기 방법 섹션에서 기재한 바와같이 인슐린 및 글루코스 수준을 측정했다. 데이터는 평균  $\pm$ S.D.로 기록된다.

다음문헌[Sparks, J. D. 등, Metabolism, 47, 1315-1324, 1998]에서 Zucker등의 발표에 따르면, 상기 동물들은 과혈당증을 전개하지 않았다.

#### 4 개월된 비만한 Zucker (fa/fa) 쥐

도 6은 4 개월된 비만한 Zucker (fa/fa) 쥐, 즉 과혈당증을 발생하지 않는 쥐(Sparks, J. D. 등, Metabolism, 47, 1315-1324, 1998)에 있어서 혈중 인슐린 및 글루코스 수준에 관한 TTA의 효과를 도시한다.

상기 쥐들에게 TTA를 함유하지 않거나(n=6) 또는 0.15% TTA를 함유하는(n=5) 표준 chow 식이를 공급했다. 21일간 처리한 후, 혈액을 채취하여 인슐린 및 글루코스 수준을 측정했다. 데이터는 평균  $\pm$ S.D.로 기록된다.

#### 실시예 15

##### TTA 처리는 글루코스에 대한 혈장 인슐린 반응을 감소시킨다

TTA 처리가 글루코스 이용에 관한 인슐린 작용을 개선하는지의 여부를 평가하기 위하여, 정맥내 글루코스 내성 시험(IVGTT)을 수행했다. 5주된 Zucker (fa/fa) 쥐에 있어서, TTA 처리 결과, 글루코스에 대한 혈장 인슐린 반응이 상당히 저하되었다(도 7). 상기 TTA로 처리한 쥐와 대조 그룹의 쥐에 대한 IVGTT 커브들은 정상적이고 서로 유사했다(도 7b).

#### 실시예 16

##### 미토콘드리아의 $\beta$ -산화에 관한 TTA의 효과

TTA를 함유하지 않거나(n=5) 또는 0.15% TTA를 함유하는(n=6) 표준 chow 식이를 비만한 Zucker (fa/fa) 쥐들에게 공급했다. 21 일간 처리한 후, 상기 쥐들을 목을 베어 죽이고, 간을 제거했다. 상기 간으로부터 미토콘드리아 분획을 분리했다. 기질 (A) CPT-I 및 (B) CPT-II로서  $[1-^{14}C]$ -팔미토일 CoA 또는  $[1-^{14}C]$ -팔미토일-L-카르니틴을 이용하여 상기 미토콘드리아 분획에서의 지방산 산화 속도를 측정했다. RNA 정제 및 교잡 실험을 수행했다. 자동 방사선 사진의 농도 주사에 의하여 상대 mRNA 수준을 측정하고, 상이한 mRNA 수준들을 개개의 28S rRNA로 표준화하고, 비교 그룹에 대한 평균을 1로 설정하였다. 팔미토일 CoA 및 팔미토일-L-카르니틴을 기질로 이용한 비만한 동물의 산 가용성 생성물의 형성은 각각  $1.3 \pm 0.7$  nmol/간 g/min 및  $5.3 \pm 2.2$  nmol/간 g/min이었다. 대조그룹의 쥐에 있어서 CPT-I 활성은  $22.4 \pm 4.9$  nmol/간 g/min 이며, 비교 그룹의 쥐에 있어서 CPT-II 활성은  $270 \pm 115$  nmol/간 g/min 이었다. 상기 값들은 평균  $\pm$ S.D.로 나타낸 것이다.

TTA를 투여한 결과, 혈장내 케톤체 농도가 증가됨으로써 FFA/케톤체의 비가 현저히 감소되었다(표 7). 이러한 데이터로부터, 4 개월된 비만한 Zucker (fa/fa) 쥐를 TTA로 처리하면 간에서 미토콘드리아에 의한  $\beta$ -산화 및 케톤체생성이 증가된다는 것을 알 수 있다. 실제로, 비만한 Zucker (fa/fa) 쥐를 TTA로 처리한 결과, 간의 지방산 산화가 팔미토일-CoA 및 팔미토일-L-카르니틴을 기질로 이용하여 처리한 경우와 비교하여 7배 이상 증가되었다(도8a). 이러한  $\beta$ -산화의 유도는 CPT-I(도8b) 및 CPT-II(도 8c)의 활성 및 mRNA 수준의 증가에 의해 얻어진 것이었다. 그 밖에, 케톤체 생성에서 속도-제한 효소의 활성이 증가되었다(표 7).

#### **[표 7]**

**비만한 Zucker 쥐에 있어서 유리지방산(FFA) 및 케톤체(4-히드록시 부티레이트)의 혈장내 농도에 관한 TTA의 효과**

	FFA(mEq/L)	4-OH 부티레이트 (mmol/L)	FFA/케톤의 비	HMG-CoA 신타아제 활성 (nmol/min/단백질mg)
비교 그룹	0.76 ±0.13	1.97 ±0.33	0.40 ±0.10	13 ±4
TTA	0.53 ±0.21	3.44 ±1.37	0.17 ±0.09	27 ±6

비교 그룹 및 실험 그룹의 6 마리의 동물에 대한 상기 데이터는 평균 ±SD이다. 지방산(FFA) 및 케톤체(4-히드록시 부티레이트)는 혈장에서 측정되었고, 3-히드록시-3-메틸글루타릴(HMG)-CoA 신타아제 활성은 표준 식이(대조 그룹) 또는 0.15% TTA를 함유하는 표준 식이가 공급된 21주된 비만한 Zucker 수컷쥐의 간으로부터 분리한 미토콘트리아 분획에서 측정된 것이다.

실시에 17

간의 트리아실글리세롤 수준에 관한 TTA의 효과

TTA에 의한 미토콘트리아 지방산 산화의 상당한 증가는 에스테르화에의 지방산의 이용률을 감소시키게 된다. 따라서, 트리아실글리세롤 및 콜레스테롤의 합성이 감소되고, 간으로부터 VLDL의 분비가 감소된다. 따라서, 간에서 트리아실글리세롤의 수준이 감소되고, 혈장내 트리아실글리세롤이 감소되고, 지방 조직 중량이 감소된다. 기본 및 전체 지방 분해가 변화되지 않으며(데이터는 나타내지 않음), 혈장중 유리 지방산과 케톤체의 비가 감소된다(데이터는 나타내지 않음). 이러한 사실로부터, 말초 조직으로부터 간으로의 지방산의 유입이 증가된다는 것을 알 수 있다.

간에서 트리아실글리세롤의 수준의 증가가 TTA에 의해 억제될 수 있다. 쥐에게 지방산 산화 억제제를 공급하면, 간에서 트리아실글리세롤의 수준이 증가됨으로써 지방간이 초래될 수 있다. 테트라데실-4-티아프로피온산(TTP)은 4 위치에서 황 원자를 갖는 지방산 유도체이다. 이러한 유도체는 미토콘트리아 억제제를 형성함으로써 지방산의 β-산화를 억제한다. 이러한 유도체를 쥐에게 공급하면, 지방간이 초래된다. 그러나, TTA와 TTP의 혼합물을 쥐에게 공급하는 경우, 지방간의 형성이 회피된다(표 8). 이러한 사실로부터, TTA는 간에서 트리아실글리세롤의 수준이 증가되는 상태의 치료에 사용될 수 있음을 알 수 있다.

Wistar 수컷쥐들이 물 및 쥐 부양 chow에 자유로이 접근할 수 있도록 하였다. 0.5% CMC에 현탁된 지방산 유도체 또는 팔미트산을 6 일간 공급했다. 일부의 실험에 있어서는, 상기 두 개의 것을 공급하기 전에 TTA 또는 TTP를 3일간 공급했다. 실험의 종료시, 상기 쥐들을 밤새 금식시킨 후 죽이고, 간을 제거하여 균질화하였다. 얻어지는 균질물내의 트리아실글리세롤을 측정하였다.

**[표 8]**

팔미트산 및 지방산 유도체를 이용하여 6일간 처리한 쥐에 있어서 간의 트리아실글리세롤 수준(TTA: 150 mg/kg/day; TTP: 300 150 mg/kg/day)

3일 사전공급				TTA	TTP
6일 공급	팔미트산	TTA	TTP	TTA+TTP	TTP+TTA
TG(μmol)	10.9 ±3.3	7.7 ±2.9	95.4 ±14.7	15.1 ±1.7	33.1 ±7.6

실시에 18

항원자가 지방산의 카르복시기로부터 다른 위치로 이동한 지방산 유도체를 합성했다. 상기 황 원자가 홀수(5, 7, 8 등)의 탄소 사슬 위치에 배치되는 경우, 상기 유도체는 부분적으로 β-산화될 수 있다. 이러한 β-산화에 의하여, 두 개의 탄소 원자가 지방산의 카르복시 말단으로부터 동시에 제거된다. 따라서, 상기 유도체는 상기 황 원자가 3-위치에 있게될 때 까지 β-산화될 수 있다. 따라서, 이러한 유도체는 TTA와 유사한 생물학적 효과를 가질 수 있다는 것을 알 수 있다. 실험 결과, 탄소 사슬의 홀수 위치에서 황 원자를 가지는 모든 지방산 유도체는 미토콘트리아에 의한 β-산화를 증가시킬 수 있다는 것을 확인했다(표 9).

상기 미토콘드리아에 의한 β-산화는 [1-<sup>14</sup>C]-팔미토일-L-카르니틴을 기질로 이용하여 실시예 16에서와 같이 측정된다.

**【표 9】**

쥐의 간에 있어서 미토콘드리아 β-산화에 관한 상이한 지방산 유도체들의 효과

항 원자의 위치	3	5	7	대조 그룹(팔미트산)
활성(nmol/min/단백질 mg)	0.81 ±0.16	0.61 ±0.06	0.58 ±0.09	0.47 ±0.06

**실시예 19**

실험의 출발시의 체중이 100g인 비만한 Zucker fa/fa 수컷쥐들을 12 시간 밝음-어둠 사이클 및 20 ±3℃ 의 일정 온도로 유지되는 룬에서 금속 와이어 케이지 안에 수용하였다. 실험을 출발하기 전에 상기 동물들을 1 주일 이상 상기 조건에 순응시켰다.

TTA, 및 팔미트산(대조 그룹)을 0.5% (w/v) 카르복시메틸 셀룰로오스 (CMC)에 현탁하였다. 각각 300 mg/day/체중kg 용량의 TTA 및 팔미트산을 10 일간 하루에 한 번씩 위 삽관법(gavage)으로 투여했다. 실험을 종료하기 전에 상기 쥐들을 2 시간동안 금식시켰다. 혈액 및 기관을 채취했다. 간 및 혈장으로부터 총 지질을 추출했다. 상기 지질을 증발, 비누화 및 에스테르화한 후, Carlo Erba 2900 가스-크로마토그래프를 이용하여 분리했다.

**【표 10】**

비만한 Zucker fa/fa 쥐에 있어서 지방산에 관한 화합물 I (테트라데실티오아세트산)의 효과

간의 지방산 조성(전체의 %)			
	올레산	단일불포화	테트라데실티오아세트산
대조 그룹	9.9 ±1.4		0.0
화합물 I	14.9 ±1.0		1.1 ±0.2
혈장의 지방산 조성(전체의 %)			
	올레산	단일불포화	테트라데실티오아세트산
대조 그룹	18.3 ±0.9		0.0
화합물 I	22. 1±0.5		0.2 ±0.1

표 10의 결과로부터, TTA를 경구 투여하면 간 및 혈장 모두에 있어서 올레산의 수준이 증가한다는 것을 알 수 있다. 또한, TTA의 델타-탈불포화화 생성물이 혈장 및 간 모두에 축적되었다.

**도면의 간단한 설명**

도 1은 고지방 식이를 공급한 쥐에 있어서 체중에 관한 TTA의 효과를 도시한다.

도 2는 고지방 식이를 공급한 쥐에 있어서 체중에 관한 TTA의 효과를 도시한다.

도 3은 TTA가 고지방 식이 유도 과인슐린증을 예방한다는 것을 도시한다.

도 4는 TTA가 고지방 식이 유도 인슐린 저항성을 예방한다는 것을 도시한다.

도 5는 TTA가 5주된 Zucker (fa/fa) 쥐의 혈중 인슐린 및 글루코스 농도를 감소시킨다는 것을 도시한다.

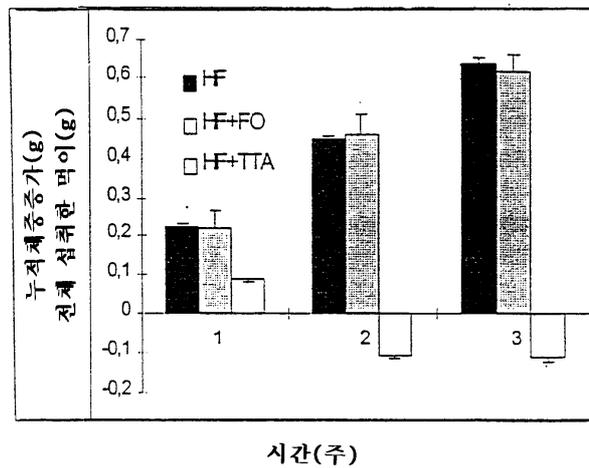
도 6은 TTA가 4개월된 Zucker (fa/fa) 쥐의 혈중 인슐린 및 글루코스 농도를 감소시킨다는 것을 도시한다.

도 7은 TTA 치료가 글루코스에 대한 혈중 인슐린 반응을 감소시킨다는 것을 도시한다.

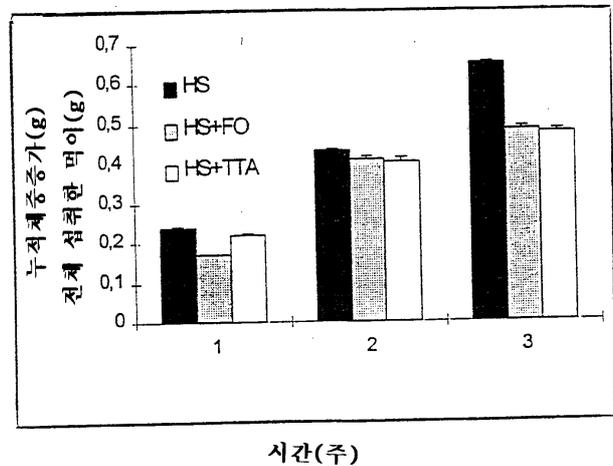
도 8은 TTA가 미토콘드리아에 의한  $\beta$ -산화를 증가시킨다는 것을 도시한다.

도면

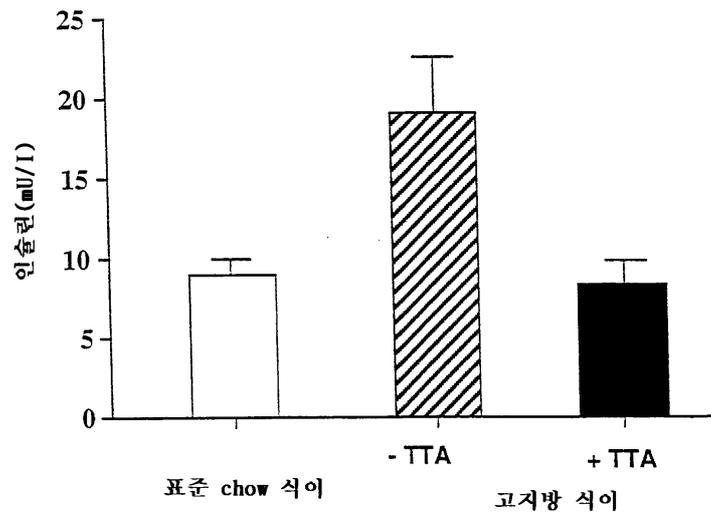
도면1



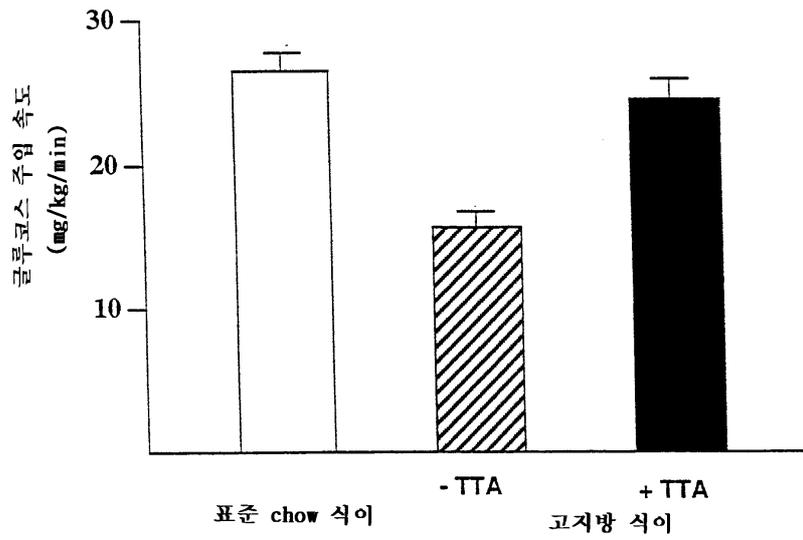
도면2



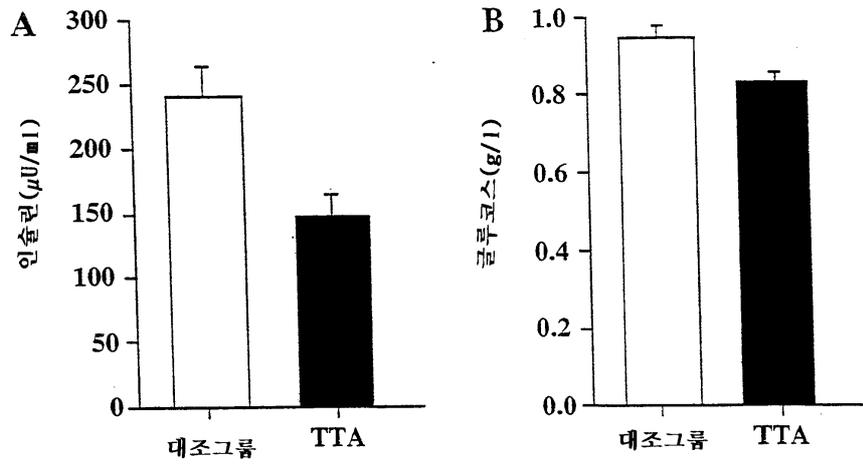
도면3



도면4

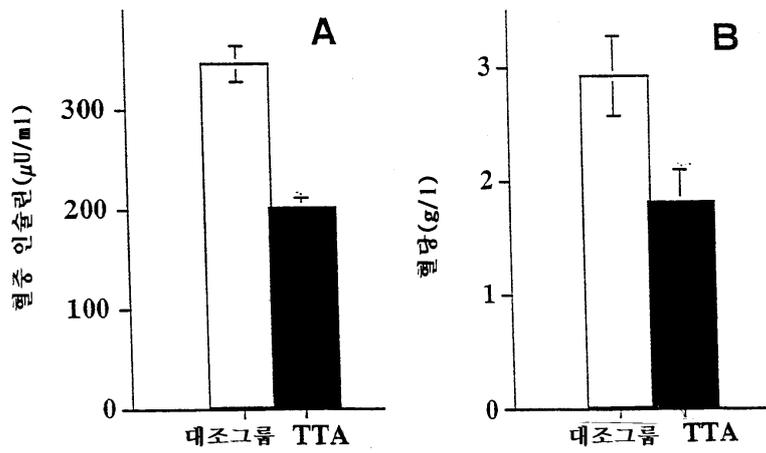


도면5

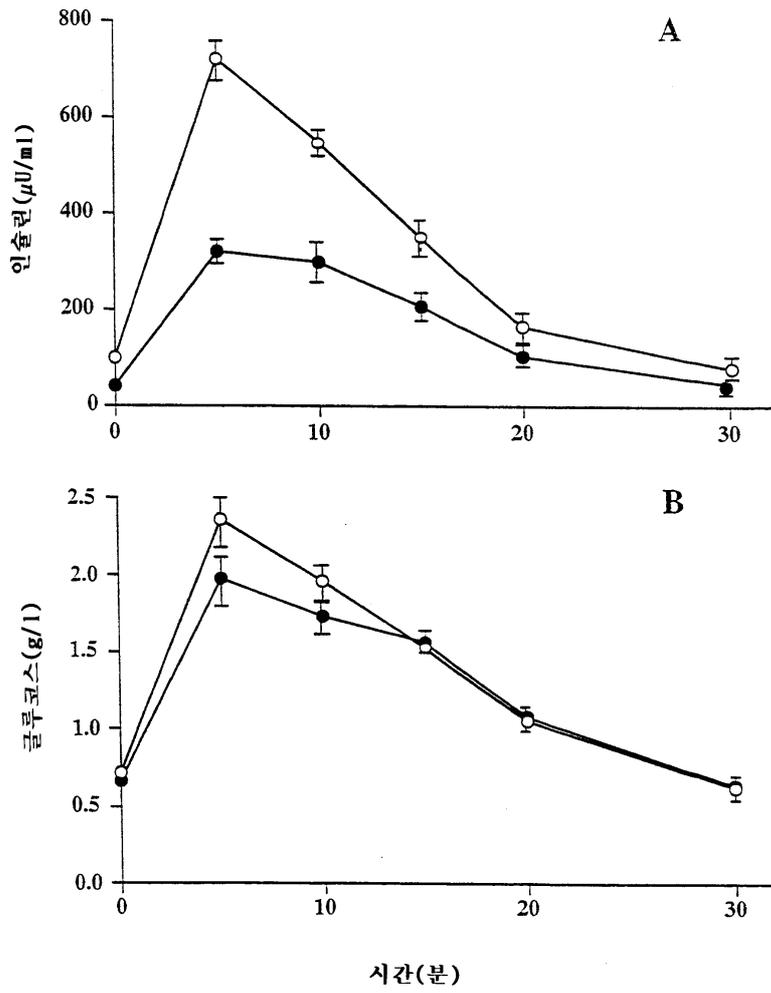


처리

도면6



도면7



인슐린	대조그룹	TTA
AUC:	7309 ± 1796	3575 ± 856
글루코스	대조그룹	TTA
AUC:	21.2 ± 2.4	19.5 ± 4.3

도면8

