



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년04월19일
(11) 등록번호 10-2522963
(24) 등록일자 2023년04월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/53 (2006.01) A23L 33/10 (2022.01)
A61P 3/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/53 (2013.01)
A23L 33/10 (2022.01)
(21) 출원번호 10-2020-0151076
(22) 출원일자 2020년11월12일
심사청구일자 2020년11월12일
(65) 공개번호 10-2022-0064693
(43) 공개일자 2022년05월19일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020150029175 A
KR1020170036037 A
TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMACOLOGY, VOLUME
398, 115018, 2020.04.22
Biochemical and Biophysical Research
Communications (2021), 553, 30-36

(73) 특허권자
중앙대학교 산학협력단
서울특별시 동작구 흑석로 84 (흑석동)
(72) 발명자
정태우
서울특별시 용산구 원효로31길 6-5, 302호
정지훈
경기도 안양시 동안구 흥안대로223번길 47, 샘마을 아파트 101동 1102호
(74) 대리인
특허법인 피씨알

전체 청구항 수 : 총 3 항

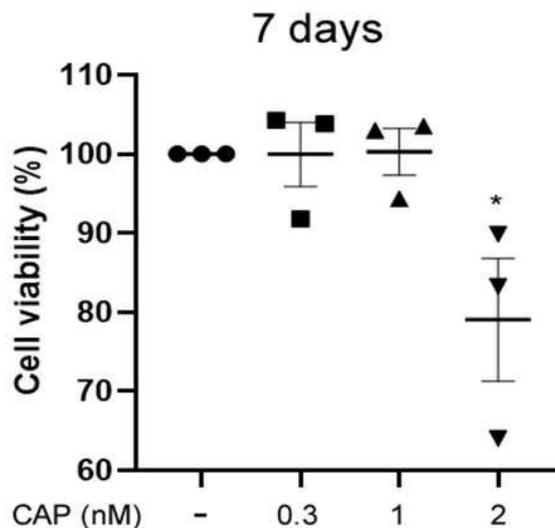
심사관 : 광희찬

(54) 발명의 명칭 **캡마티닙을 포함하는 항비만 조성물**

(57) 요약

본 발명은 캡마티닙(Cabmatinib) 화합물을 포함하는 비만 예방용, 개선용 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 지방을 분해하고, 지방 합성을 억제하는 효과를 나타내므로, 본 발명은 비만의 예방 또는 치료에 널리 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

- A61P 3/04 (2018.01)
- A23V 2002/00 (2013.01)
- A23V 2200/332 (2013.01)
- A23V 2250/30 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711110722
과제번호	2019R1A2C4070189
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	내인성 대사물질 키누렌산의 소포체스트레스 호전을 통한 비알코올성 지방간 치료효
과 연구	
기 여 율	1/1
과제수행기관명	중앙대학교
연구기간	2020.03.01 ~ 2021.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

[화학식 1]



청구항 2

제1항에 있어서, 상기 화합물은 지질침착 억제, 지방합성 억제 또는 지방분해에 활성을 갖는 것인 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수용성제, 동결건조제 또는 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가지는 것을 특징으로 하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 캅마티닙을 포함하는 항비만 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 비만은 일반적으로 체내에 지방 조직이 과다한 상태인 것을 의미하며, 음식물로 섭취한 에너지가 신체활동 등으로 소비한 에너지와 균형을 이루지 못하여 잉여의 에너지가 체지방으로 축적되는 현상이다. 비만의 정도는 체질량지수(BMI, body mass index)로 평가하는데, 체질량지수는 사람의 체중(kg)을 신장의 제곱(m²)으로 나누어 계산한다.

[0003] 최근 연구결과에 따르면, 비만의 기준이 되는 체질량지수가 높을수록 암종의 유병률이 높아졌다는 연구 결과가 있다. 상기 연구에서는 백혈병, 다발골수종, 췌장암, 자궁 내막암, 직장암, 콩팥세포암종, 악성흑색종, 비호지킨 림프종, 식도암, 뇌종양과 중추신경계 종양, 유방암, 대장암, 담낭암, 폐암, 간암, 난소암, 갑상선암, 방광암, 위암, 전립선암 등 20종의 암에 대하여 체질량지수와 상관을 연구해본 결과, 3종의 암(방광암, 위암, 전립선암)을 제외한 모든 암에서 체질량지수가 암 유형의 관련 요인이 될 수 있다고 밝혀졌다.

[0004] 따라서 암의 치료제인 동시에 비만의 억제 기능을 하는 약물이 개발된다면 비만을 예방할 수 있어, 관련 암의 발병을 사전에 예방할 수 있을 것이라 예상하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국 등록공보 제10-1900244호(2018.08.03)

발명의 내용

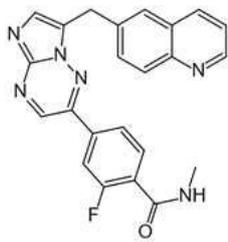
해결하려는 과제

[0006] 일 양상은 캅마티닙(Capmatinib)을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0007] 일 양상은 하기 화학식 1의 화합물을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0008] [화학식 1]



[0009]

[0010] 본 발명에서, 상기 화합물은 캅마티닙(Capmatinib)이다. 상기 캅마티닙은 c-Met 억제제로 전이된 MET 엑손14 스킵핑(METex14) 변이를 특징으로 하는 비소세포폐암(NSCLC)의 치료에 사용되는 화합물 일 수 있다. 상기 c-Met은 티로신-단백질 키나아제 Met 또는 간세포 성장 인자 수용체(HGFR, hepatocyte growth factor receptor)라고도 하며, 암 발병을 일으킬 수 있는 요인이 될 수 있다.

[0011] 일 구체예에 따르면 상기 화합물은 암의 억제할 수 있으며, 동시에 비만을 예방 또는 치료할 수 있는 것일 수 있다.

[0012] 일 구체예에 따르면 상기 화합물의 농도는 0.3nM 내지 1.5nM 일 수 있다. 예를 들면 0.8nM 내지 1.2nM일 수 있다.

[0013] 본 발명의 실시예에 따르면 화합물의 농도가 2nM일 때는 세포 생존율이 급격히 떨어지는 것을 확인하였다. 상기 결과는 본 발명의 화합물이 높은 농도로 사용하였을 때는 지방 세포 생성을 억제하거나, 중성지방을 분해하는 것이 아닌 세포 자체를 공격할 수 있음을 나타내는 것일 수 있다.

[0014] 일 구체예에 따르면 상기 화합물은 지질침착을 억제하는 것일 수 있고, 지방 합성을 억제하는 것일 수 있다. 예를 들면, 상기 화합물은 지방 합성에 관여하는 SREBP1, C/EBP α, FAS 및 SCD1의 단백질 발현을 억제하는 것일 수 있다.

[0015] 일 구체예에 따르면 상기 화합물은 지방을 분해하는 것일 수 있다. 예를 들면, 상기 화합물은 중성지방을 지방산과 글리세롤로 분해하는 것일 수 있으며, 글리세롤을 방출하는 것일 수 있다.

[0016] 본 발명의 용어 "예방"은 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여로 비만의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"는 상기 약학적 조성물의 투여로 비만의 발병 및 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0017] 일 구체예에 따르면 상기 약학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수용제, 동결건조제 또는 좌제로 제형화하여 제공될 수 있다.

[0018] 이때, 상기 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 용어 "약학적으로 허용 가능한"이란 상기 조성물에 노출되는 세포나 인간에게 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다. 상기 담체는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제, 기체, 부형제, 윤활제 등 당업계 에 공지된 것이라면 제한 없이 사용할 수 있다. 또한 본 발명의 약학적 조성물은 각각 통상의 방법에 따라

산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 나아가, 연고제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 크림제, 산제, 현탁제, 겔제 또는 젤의 형태의 피부 외용제의 형태로 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 캡마티닙에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트 (calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 유허제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는 데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용성제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수용성제, 현탁제로는 프로필렌 글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈 (tween) 61, 카카오 지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0019] 한편, 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명의 용어 "투여"란, 적절한 방법으로 개체에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며 상기 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 복강 내 투여, 정맥 내 투여, 근육 내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비 내 투여, 폐 내 투여, 직장 내 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0020] 상기 용어 "개체"란 비만이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 쥐, 생쥐, 가축 등의 모든 동물을 의미한다. 바람직하게는, 인간을 포함한 포유동물일 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물을 개체에게 투여함으로써 상기 비만을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있으며, 본 발명의 약학적 조성물은 비만의 예방 또는 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0021] 상기 용어 "약학적으로 유효한 양"이란 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 성별, 연령, 체중, 건강 상태, 질병의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로, 및 배출 비율, 치료 기간, 배합 또는 동시에 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

발명의 효과

[0022] 본 발명의 캡마티닙을 포함하는 조성물은 지방을 분해하고, 지방 합성을 억제하는 효과를 나타내므로, 본 발명은 비만의 예방 또는 치료에 널리 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0023] 도 1은 캡마티닙의 처리 농도에 따른 세포의 생존율을 나타낸 것이다.
- 도 2는 캡마티닙 투여시 지방세포의 분화에서 중성지방의 축적이 억제되는 것을 확인한 데이터로, 4일 및 7일차에 오일 레드 오(Oil-Red O) 염색기법을 통해 중성지방의 축적을 확인한 것이다.
- 도 3은 도 2에서 확인한 중성지방 함량을 정량화한 데이터이다. (A:4일차, B:7일차)
- 도 4는 분화된 3L3-L1에서 캡마티닙의 중성지방 분해 정도를 확인한 데이터이다.
- 도 5는 웨스턴 블롯팅을 통해 분화된 지방세포에서 발현한 초기 지질 신생합성에 관련된 SREBP1 단백질을 확인한 수치를 나타낸 데이터이다.
- 도 6은 웨스턴 블롯팅을 통해 분화된 지방세포에서 발현한 초기 지질 신생합성에 관련된 C/EBP α 단백질을 확인한 수치를 나타낸 데이터이다.
- 도 7은 웨스턴 블롯팅을 통해 분화된 지방세포에서 발현한 후기 지질 신생합성에 관련된 FAS 단백질을 확인한

수치를 나타낸 데이터이다.

도 8은 웨스턴 블롯팅을 통해 분화된 지방세포에서 발현한 후기 지질 신생합성에 관련된 SCD1 단백질을 확인한 수치를 나타낸 데이터이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

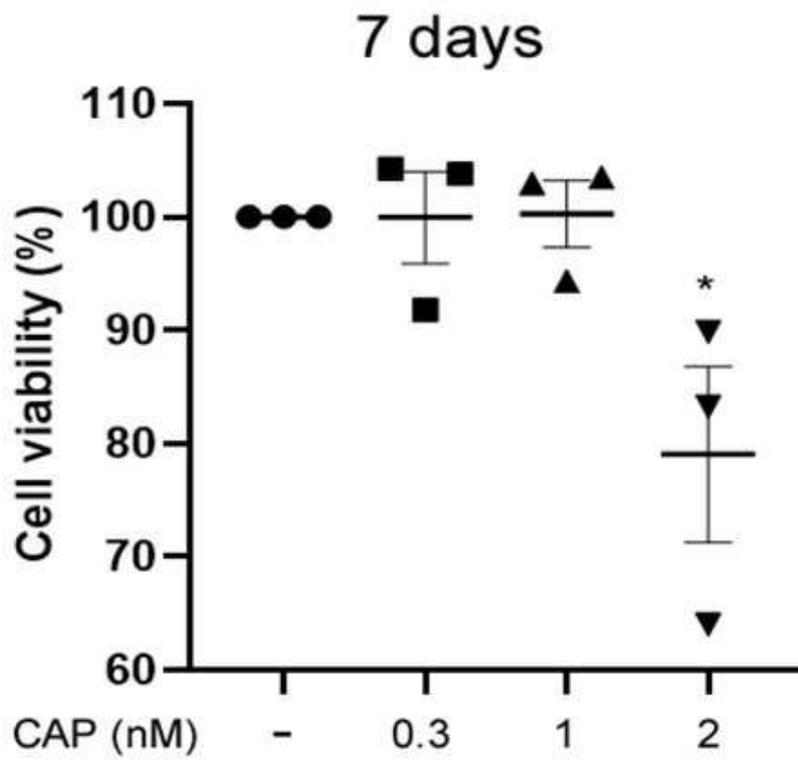
- [0024] 이하 하나 이상의 구체 예를 실시예를 통해 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 하나 이상의 구체 예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0026] **실험방법 1. 시약 및 처리 시간**
- [0027] 캡마티닙(Capmatinib, CAP)은 Selleckchem에서 구입하여 사용하였다. 캡마티닙(Capmatinib, CAP) 농도는 0.3, 1, 2nM로 각각 24시간 처리하였다.
- [0028] 3-이소부틸-1-메틸잔틴 (3-Isobutyl-1-methylxanthine, M; 0.5mM), 덱사메타손 (dexamethasone, D; 1 μM), 인슐린 (insulin, I; 10ug/ml)을 조합하여 지방전구세포의 지방 분화 유도제(MDI)로 3일간 사용하였으며, 인슐린 (10ug/ml)을 3일간 추가로 처리하여 분화를 완성하였다.
- [0030] **실험방법 2. 세포 준비 및 시료 처리**
- [0031] 마우스의 전지방세포인 3T3-L1을 ATCC에서 구입하여 사용하였다. 상기 세포는 10% 소태아혈청(Fetal calf serum, FCS)과 1% 페니실린 스트렙토마이신(penicillin streptomycin)이 포함된 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium)배지를 이용하여 37℃를 유지하는 CO₂ 배양기에서 배양하였다. 지방세포분화 kit (Sigma)를 사용하여 6~7일간 분화를 시행하였다.
- [0033] **실험방법 3. 세포생존율 확인**
- [0034] 캡마티닙의 독성을 확인하기 위하여 3T3-L1 지방 세포에 각 농도로 처리하고, 유동세포계수분석 (Flow cytometry analysis)을 통해 세포생존율을 확인하였다.
- [0035] 이를 위해, 100 μl PBS를 세포에 첨가하여 재부유시키고 95% 에탄올 200 μl를 첨가하여 세포를 와류시킨 후 4℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 그 후 세포를 PBS로 세척하고 12.5 μg 리보뉴클레아제(ribonuclease, RNase)가 포함된 pH8.4의 1.12% 시트르산나트륨(sodium citrate) 용액 250 μl을 첨가하여 재부유시키고 37℃에서 30분간 추가로 인큐베이션하였다.
- [0036] 그 후 세포에 35.4 μg/ml 농도의 MTT 용액 100 μl를 첨가하고 실온에서 1시간 동안 세포를 염색시켰다. 염색된 세포를 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 용해하여 470nm에서 흡광도를 측정하여 세포 생존율을 측정하였다.
- [0038] **실험방법 4. 오일 레드 오(Oil red-O) 염색**
- [0039] 3T3-L1 지방 세포를 오일 레드 오(Oil red-O) 방법으로 염색하여 세포의 중성지방(TG) 축적 정도를 측정하였다. 40분동안 10% 포르말린으로 고정시킨 후, 간세포를 Oil-Red-O 용액(Sigma)으로 37℃에서 1시간동안 염색하였다. Oil red-O 염색된 중성지방(TG) 함량을 각 샘플에 이소프로판올을 첨가하여 정량화하였다. 혼합물을 8분간 25℃에서 부드럽게 교반하였다. 마지막으로, 100 μl의 이소프로판올 추출 샘플을 510nm에서 분광광도계로 분석 하였다.
- [0041] **실험방법 5. 글리세롤 방출 측정**
- [0042] 지방세포 분화 및 약물 처리가 완료된 세포를 대상으로 Glycerol Assay Kit (Abcam)를 사용하여 시행하였다.
- [0044] **실험방법 6. 웨스턴 블롯팅**
- [0045] 분화 완료된 3T3-L1 지방 세포를 수득하고 단백질을 4℃에서 60분동안 용해완충액(PRO-PREP; Intron Biotechnology, Seoul Korea)으로 추출하였다. 추출한 단백질을 35 μg을 12% SDS-PAGE로 실시하고 니트로셀룰로오스막(Amersham Bioscience, Westborough, MA, USA)에 옮겼다. 그 후 1차 항체로 검출한 후, 홀스래디슈 퍼옥시다제(Santa Cruz Biotechnology)를 접합시킨 2차 항체로 탐침하였다. 샘플은 ECL키트로 검출하였다.
- [0047] **실시예 1: 캡마티닙(Capmatinib)의 세포생존도**
- [0048] 캡마티닙을 과량으로 투여시 세포에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 실험방법 3을 따라 실험하였다. 캡마티닙

을 0.3nM, 1nM 및 2nM 농도로 각각 세포에 투여하고, 세포의 생존율을 확인하였다.

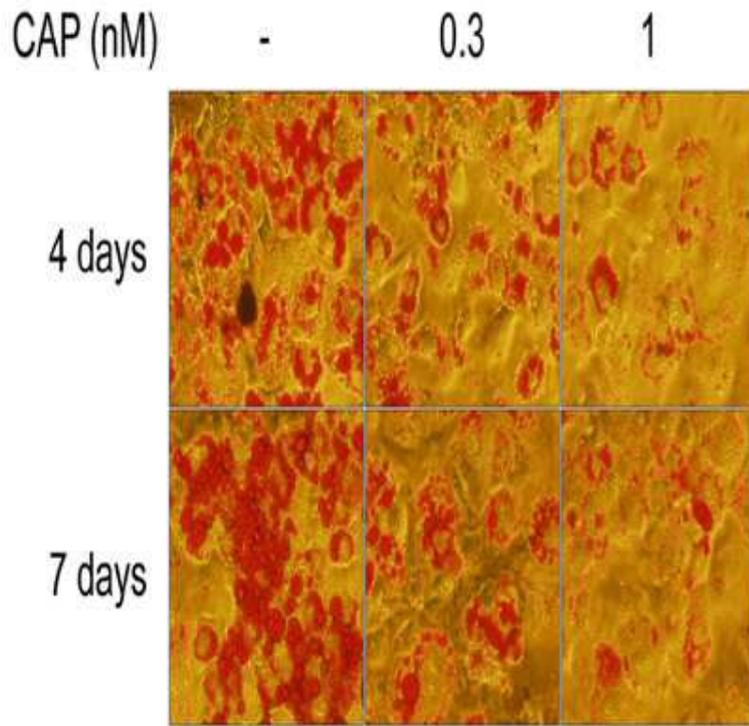
- [0049] 도 1과 같이, 캅마티닙을 0.3nM 및 1nM 투여한 세포에서는 세포생존율에 영향이 없었으나, 2nM에서는 세포생존율이 현저히 감소하는 것을 확인하였다.
- [0051] **실시예 2: 지방 축적 억제 효과 확인**
- [0052] 캅마티닙을 투여시 지방세포의 분화에서 중성지방의 축적이 억제되는 것을 확인하기 위하여 오일 레드 오(Oil red-O) 염색을 하였다.
- [0053] 도 2 및 3과 같이, 캅마티닙 처리농도 및 처리기간의 증가에 따라 중성지방이 더 많이 억제되는 것을 확인하였다.
- [0055] **실시예 3: 중성지방 분해 효과 확인**
- [0056] 분화된 지방세포에서 캅마티닙에 의한 지방 분해효과를 확인하기 위하여 글리세롤의 방출을 측정하였다.
- [0057] 도 4와 같이, 캅마티닙을 처리하였을 때 글리세롤 방출량이 농도 의존적으로 증가되는 것을 확인하였다. 상기 결과를 통해 캅마티닙은 지방세포에 축적된 중성지방의 분해를 유도할 수 있음을 알 수 있다.
- [0059] **실시예 4: 분화된 지방세포에서 초기 지질 신생합성 단백질 발현 억제 확인**
- [0060] 캅마티닙에 의해 초기 지질 신생합성과 관련된 유전자의 단백질 발현이 억제되는지 확인하기 위하여 웨스턴 블롯팅을 하였다.
- [0061] 도 5 및 도 6과 같이, 지방생성과정의 핵심 전사인자인 SREBP1과 C/EBP α 의 단백질 모두 캅마티닙의 처리농도에 의존적으로 발현이 감소하는 것을 확인하였고, 캅마티닙 1nM 처리한 경우는 SREBP1 단백질 발현이 MDI를 처리하지 않은 대조군과 비슷할 정도로 억제되는 효과를 확인하였다.
- [0063] **실시예 5: 분화된 지방세포에서 후기 지질 신생합성 단백질 발현 억제 확인**
- [0064] 분화된 지방세포에서 후기 지질 신생합성 관련된 지방산 합성효소 FAS 및 스테로일 코에이 불포화효소 SCD1의 단백질 발현이 억제되는지 확인하기 위하여, 웨스턴 블롯팅을 하였다.
- [0065] 캅마티닙 농도에 의존적으로 FAS 및 SCD1 단백질 발현이 모두 감소하는 것을 확인하였고, 특히 캅마티닙의 농도가 1nM인 경우, FAS 및 SCD1 단백질 발현이 현저히 감소하는 것을 확인하였다.

도면

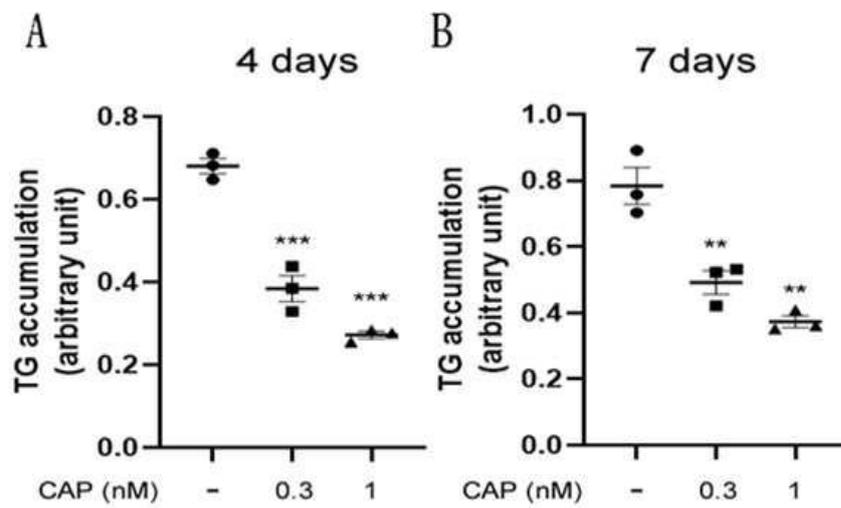
도면1



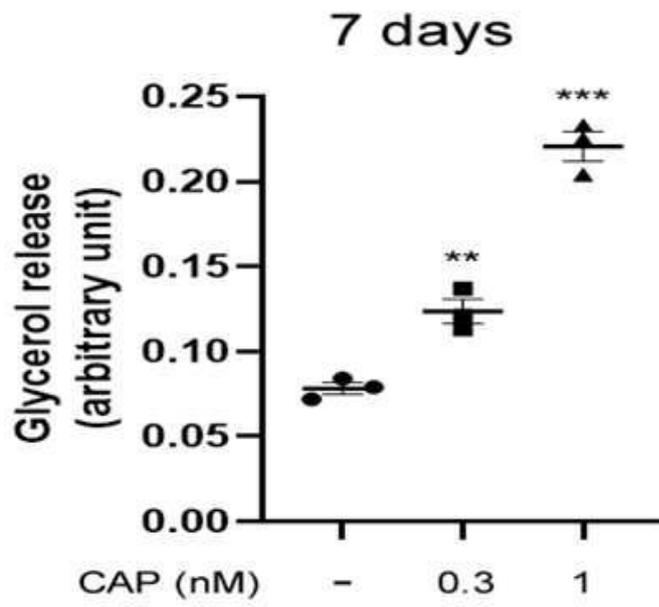
도면2



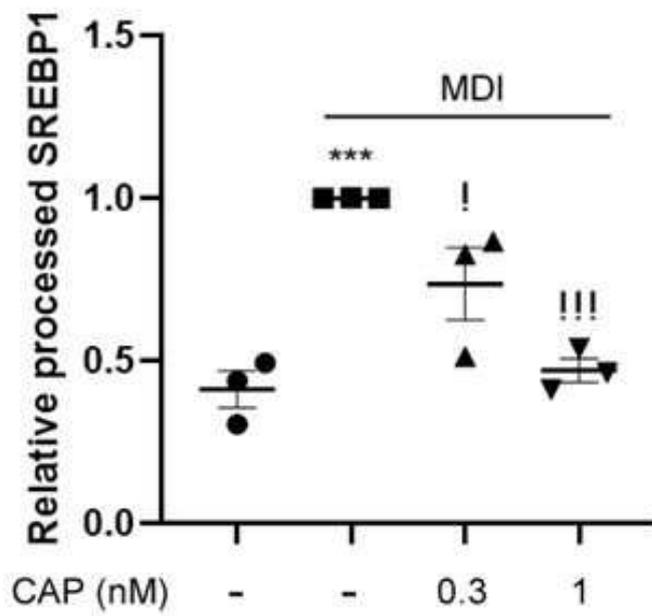
도면3



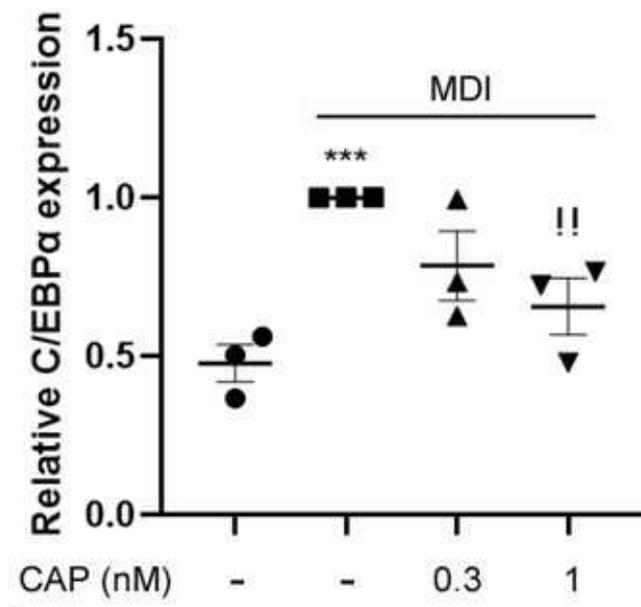
도면4



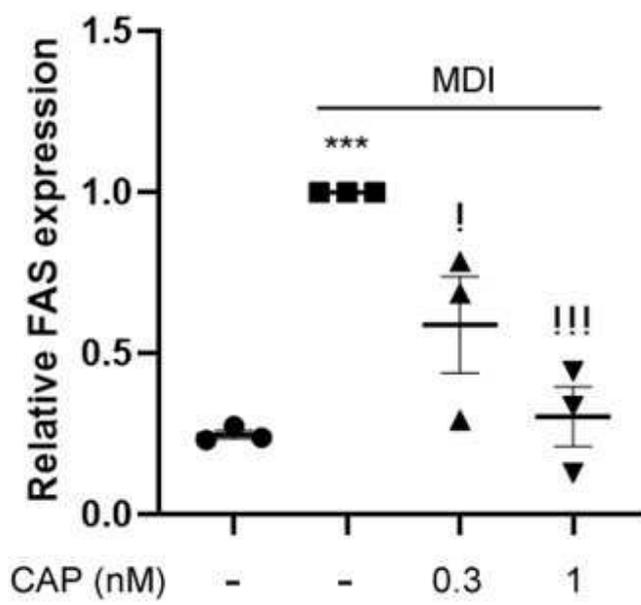
도면5



도면6



도면7



도면8

