



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0075269
(43) 공개일자 2009년07월08일

(51) Int. Cl.

A61K 31/195 (2006.01) A61K 31/185 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0001056
(22) 출원일자 2008년01월03일
심사청구일자 2008년01월14일

(71) 출원인

전북대학교산학협력단

전라북도 전주시 덕진구 덕진동 1가 664-14 본부
별관 3층

(72) 발명자

전설희

전북 전주시 덕진구 덕진동1가 150-13번지

김기범

전북 익산시 어양동 부영2차아파트 207동 902호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

정창수

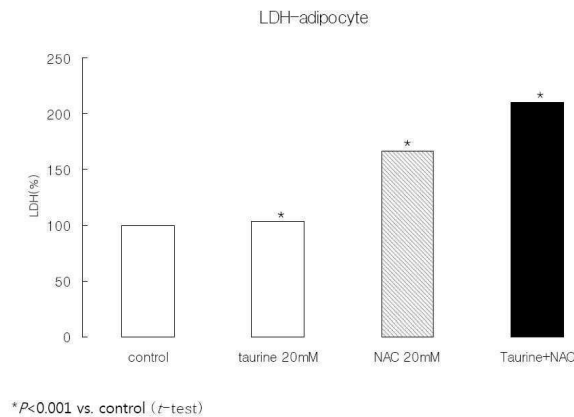
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 비만 예방 및 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 비만 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로, 특히 N-아세틸시스테인(N-acetylcysteine, NAC) 및 타우린을 유효성분으로 포함하여 전지방세포의 지방세포로의 분화를 억제하고, 지방세포의 증식을 단계적으로 억제하여 지방세포의 증가를 효과적으로 차단할 수 있는 비만 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도2



(72) 발명자

강형섭

전북 전주시 덕진구 호성동1가 진흥더블파크 106동
703호

김진상

전북 전주시 덕진구 호성동1가 동아아파트 102동
1803호

김성주

전북 전주시 완산구 서신동 765-1 현대아파트 106
동 302호

박병현

전북 전주시 완산구 중화산동2가 현대 에코르아파
트 107동 104호

홍철운

전북 전주시 완산구 중화산동2가 현대에코르아파트
102동 802호

특허청구의 범위

청구항 1

N-아세틸시스테인(N-acetylcysteine, NAC) 및 타우린을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 조성물은 N-아세틸시스테인 35 내지 100 중량부 및 타우린 20 내지 50 중량부를 포함하는 것을 특징으로 하는 비만 예방 및 치료용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 조성물은 전지방세포의 지방세포로의 분화 및 지방세포의 증식을 억제하는 것을 특징으로 하는 비만 예방 및 치료용 조성물.

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

- <1> 본 발명은 비만 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 N-아세틸시스테인(N-acetylcysteine, NAC) 및 타우린을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- <2> 비만은 체내 지방량의 과도한 증가로 정의되며, 유전적 소인과 환경적 인자가 복합적으로 관여하여 유발된다.
- <3> 비만은 당뇨병이나 심혈관 질환의 위험을 높일 뿐만 아니라 심부전증, 고혈압, 골 관절염, 수면 무호흡증 및 일부 암과 같은 다양한 만성 질환의 위험인자로 작용한다.
- <4> 이와 같이 비만은 우리나라를 비롯하여 전세계적으로 문제시되는 질병이다. 비만 그 자체로도 충분히 위험하지 만 더 큰 문제는 비만이 여러 대사성 질병과 연관되어 있다는 점이다. 실제로 비만에 대한 연구가 다방면에서 이루어지고 있으며, 비만 치료와 관련하여 여러 가지 약제가 개발되었고 또한 개발 중에 있다.
- <5> 전지방세포의 분화에 관여하는 분자적 기전은 매우 복잡하나 일반적으로 CCAAT/enhancer-binding protein(C/EBP)이 관여한다고 알려져 있다. 여러 비만 촉발 인자에 의해 먼저 C/EBP^β가 발현되면 C/EBP^α, peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR)의 발현이 이어진다. 이는 최종적으로 mitotic clonal expansion(MCE)를 유도하여 전지방세포를 지방세포로 분화시키게 된다.
- <6> 한편, N-아세틸시스테인(N-acetylcysteine)은 약 50년 전에 개발되어 주로 거담제로 사용되거나, 진통제인 아세트아미노펜(acetaminophen) 중독의 치료에 사용되는 산화 스트레스 억제용 약물이다.
- <7> NAC는 과산화물, 과산화 수소, 수산화(hydroxyl radical) 등과 직접 반응하여 산화 스트레스를 줄이거나, 또는 글루타티온(glutathione) 생합성의 원료인 시스테인(cysteine)을 제공하여 간접적으로 글루타티온 합성을 증가 시킴으로써 항(抗)산화효과를 나타내는 것으로 알려져 있다.
- <8> NAC는 급성 호흡 곤란 증후군의 치료, 급성 폐 산소 독성의 치료 및 조영제에 의한 급성 신부전의 예방 등 다양한 임상 분야에서 수십 년간 사용되어 오면서 부작용을 유발하지 않는 안전한 약물로 알려져 있다.
- <9> 또한 타우린(taurine, 2-aminoethane sulfonic acid)은 체내에서 단백질 합성에 이용되지 않고 산화되어 에너지를 낼 수 있는 황(S)을 포함한 아미노산으로서 주로 뇌, 심장, 근육 및 간에 다량 함유되어 있으며, 신경조절 작용, 세포막의 안정화, 해독 작용, 항산화작용을 나타내고 고혈압 개선에도 관여하는 것으로 알려져 있다 (Chang K.J., Korean J. Nutr. 32(3): 213-220. 1999; Kishida T. et al., J. Nutr. 133(8): 2616-2621,

2003; Chen W. et al., Life Sci. 74(15): 1889-1898, 2004).

<10> 이에 본 발명자들은 비만과 지방세포의 분화, 증식 간의 연관성에 중점을 두어 연구한 결과, N-아세틸시스테인과 타우린을 함께 투여할 경우 전지방세포의 분화와 지방세포의 증식 억제에 효과가 있음을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

<11> 상기와 같은 종래기술의 문제점을 해결하고자, 본 발명은 전지방세포의 지방세포로의 분화를 억제하고, 지방세포의 증식을 단계적으로 억제하여 지방세포의 증가를 효과적으로 차단할 수 있는 비만 예방 및 치료용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결수단

<12> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 N-아세틸시스테인(N-acetylcysteine, NAC) 및 타우린(taurine)을 유효 성분으로 포함하는 비만 예방 및 치료용 조성물을 제공한다.

<13> 바람직하게, 상기 조성물은 N-아세틸시스테인을 35 내지 100 중량부, 타우린을 20 내지 50 중량부로 포함하는 것이다.

<14> 또한 상기 조성물은 전지방세포의 지방세포로의 분화 및 지방세포의 증식을 억제하는 작용을 한다.

효 과

<15> 본 발명의 조성물은 전지방세포의 지방세포로의 분화를 억제하고, 지방세포의 증식을 단계적으로 억제하여 지방세포의 증가를 효과적으로 차단하여 비만을 예방 및 치료 할 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<16> 이하 본 발명을 상세하게 설명한다.

<17> 본 발명의 비만 예방 및 치료용 조성물은 N-아세틸시스테인(N-acetylcysteine, NAC) 및 타우린(taurine)을 유효 성분으로 포함한다.

<18> 일반적으로 전지방세포의 분화는 여러 비만 촉발 인자에 의해 C/EBP^β (CCAAT/enhancer-binding protein)가 발현 되면 C/EBP^α, peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR)의 발현이 이어지고, 최종적으로 이는 mitotic clonal expansion(MCE)를 유도하여 전지방세포를 지방세포로 분화시키게 된다. 이 과정에서 상기 N-아세틸시스테인은 C/EBP^β의 DNA-binding site에 경쟁적으로 결합해 이 유전자의 발현을 막는 CHOP-10을 유도하는 작용을 한다.

<19> 상기 N-아세틸시스테인은 본 발명의 조성물 100 중량부에 대하여 35 내지 100 중량부, 바람직하게는 60 중량부로 포함되는 것이다. 그 함량이 상기 범위내일 경우에는 전지방세포의 지방세포로의 전환 억제에 있어 더욱 좋다.

<20> 또한 상기 타우린은 백색지방세포에서 PGC-1^α (peroxisome proliferator-activated receptor coactivator)의 발현을 증가시켜 지방산 산화를 포함해 에너지 소모율을 증가시킴으로써 이미 분화 완료된 지방세포를 태워 없애는 작용을 한다. 뿐만 아니라, 지방세포가 taurine transporter를 발현하고 있기 때문에 상기 타우린은 지방세포에 직접적인 영향을 끼친다. 이와 같은 이유로 상기 타우린은 식이적으로 공급했을 때 보다 확실한 효과를 얻을 수 있어 바람직하다.

<21> 상기 타우린은 본 발명의 조성물 100 중량부에 대하여 20 내지 50 중량부, 바람직하게는 40 중량부로 포함하는 것이다. 그 함량이 상기 범위내일 경우에는 지방세포의 증가를 차단하는데 있어 더욱 좋다.

<22> 상기와 같은 N-아세틸시스테인과 타우린은 두 성분 모두를 함께 사용할 경우 각각의 성분을 단독으로 사용할 때 보다 지방세포의 증가를 효과적으로 차단할 수 있고, 이는 비만과 직결되는 요소이므로 본 발명의 N-아세틸시스테인과 타우린을 함유하는 조성물은 비만의 예방 및 치료에 탁월한 효과를 나타낼 수 있다.

- <23> 또한 본 발명의 조성물은 필요에 따라 N-아세틸시스테인 또는 타우린과 동일 또는 유사한 기능을 지닌 성분을 더 포함할 수 있다.
- <24> 본 발명의 조성물은 본 발명의 조성물은 상기 유효성분 이외에, 약제학적으로 적합하며 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 용매, 봉해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등의 가용화제를 사용할 수 있다.
- <25> 본 발명의 조성물은 투여를 위해 상기 기재한 유효성분 이외에, 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 추가로 포함하여 제제화할 수 있다.
- <26> 약제학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 하나 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다.
- <27> 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 당분야의 적절한 방법으로, 또는 Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라, 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.
- <28> 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 복강내, 흉골내, 경피, 비측내, 흡입, 국소, 직장, 경구, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.
- <29> 본 발명의 조성물의 투여량은 성인을 기준으로 1일 600~1200 mg의 범위 내에서 조절하는 것이 바람직하나, 500 mg/kg/day까지도 비교적 안전하게 사용할 수 있다고 알려져 있다. 투여량은 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 종류 및 함량, 제형의 종류 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다.
- <30> 본 발명의 조성물은 별도의 부작용 없이 안전하게 비만, 그리고 비만과 관련된 질병을 예방하고 치료하기 위한 약제학적 조성물로서 유용하게 사용될 수 있으며, 단독으로, 또는 식이요법, 운동요법, 지방흡입술, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 기타 방법들과 병행하여 사용할 수 있다.
- <31> 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- <32> [실시예]
- <33> N-아세틸시스테인 60 중량부 및 타우린 40 중량부를 혼합하고, 이들의 비만 예방 및 치료 효과를 확인하기 위하여 다음과 같은 방법으로 실험하였다.
- <34> 이하 실험에서 사용되는 쥐의 3T3-L1 전지방세포는 ATCC에서 구입하여 사용하였다. DMEM(Dulbeccos modified eagles medium)에 10% 우혈청(FCS, fetal calf serum), 5 mM L-글루타민, 50 U/ml 페니실린 및 50 µg/ml의 스트렙토마이신(streptomycin)을 첨가하여 5% CO₂ 존재하에서 37 °C로 배양하였다. 전지방세포의 분화를 위해 1 µM의 텍사메타손(dexamethasone), 0.5 mM의 이소부틸잔틴(isobutylxanthine), 10 µg/ml의 인슐린(insulin)을 배지에 첨가하여 2 일간 배양시키고, 다음 2 일간은 배지에 5 µg/ml 인슐린만 첨가하여 배양하였다. 그 결과 도 1과 같이 약 50 %의 전지방세포가 지방세포로 변화하였고, 이 상태의 세포를 실험에 이용했다.
- <35> 실시예 1. LDH(Lactate dehydrogenase) test
- <36> N-아세틸시스테인과 타우린에 의한 세포 증식 억제 효과를 검증하기 위해 LDH test를 수행하였다.
- <37> 상기 준비한 세포를 먼저 6 웰(well)에 깔고 24 시간 동안 배양한 뒤 대조군과 실험군으로 나누었다. 대조군에는 배지만 넣고 실험군에는 20 mM의 타우린 단독, 20 mM N-아세틸시스테인 단독, 20 mM N-아세틸시스테인과 타우린 병용 투여로 설정하여 배지에 각각 첨가하였다. 상기와 같이 약물을 처리한 상태로 24 시간 동안 배양한 뒤 분광광도계(SpectraMax fluorometer with SoftMax Programme Molecular Probes, USA)를 이용하여 490 nm 파장에서 LDH를 측정했다.
- <38> 실험결과, 도 2에 나타낸 바와 같이 N-아세틸시스테인과 타우린을 병용 투여한 실험군에서 가장 높은 LDH 증가(210 %)를 나타냄을 확인할 수 있었다. 이는 N-아세틸시스테인과 타우린이 비만세포의 사멸과 증식 억제에 효과

가 있기 때문이며, N-아세틸시스테인과 타우린을 각각 투여했을 경우보다 동시에 투여했을 때 매우 큰 상승효과를 나타내어 N-아세틸시스테인과 타우린의 혼합물은 비만 억제에 유효함을 알 수 있었다.

<39> 실시예 2. Mg²⁺의 총량 변화 측정

<40> Mg는 세포의 지속적인 성장과 생존 유지에 관여하는 이온으로, 이 이온 값이 낮아지는 경우 세포를 둘러싼 환경이 성장에 부적합하게 되어 변성되거나 죽게 된다. 따라서, 본 실시예에서는 상기 준비한 세포에 N-아세틸시스테인과 타우린을 병용 투여한 후 세포내 Mg 총량을 측정하였다.

<41> 먼저, 상기 준비한 세포를 먼저 6 웰(well)에 깔고 24 시간 동안 배양한 뒤 대조군과 실험군으로 나누었다. 대조군에는 배지만 넣고 실험군에는 20 mM N-아세틸시스테인과 타우린을 병용 투여하였다. 그 다음 대조군과 실험군 각각의 세포를 긁어 수거한 뒤, 수거한 세포를 초음파분쇄하고 10,000 rpm에서 15 분간 원심분리하여 상층액을 모았다. 상기 상층액을 원자흡광분광계(Analab 9200, Seoul, Korea)를 이용하여 285.2 nm 파장에서 Mg²⁺ 총량을 측정하였다.

<42> 실험결과 도 3에 나타난 바와 같이, Mg²⁺ 총량은 N-아세틸시스테인과 타우린을 동시에 처리한 실험군이 대조군에 비해 현저한 감소를 보임을 확인할 수 있었다. 이같은 결과로부터 N-아세틸시스테인과 타우린을 동시에 처리할 경우 지방세포가 증식하기 어려운 방향으로 환경이 변화함을 알 수 있었다. 세포질 내 이온의 변화는 이온 총량의 변화보다 민감하게 세포에 영향을 끼치는데 세포질 내에서도 Mg²⁺은 N-아세틸시스테인과 타우린을 주입했을 때 유의성 있는 감소를 나타내었다.

<43> 실시예 3. 세포질 내 Ca²⁺, Mg²⁺의 측정

<44> 세포질 내 이온의 변화는 직접적으로 세포의 사멸, 증식에 영향을 준다. 그 중 Ca은 그 값이 증가할 경우 세포의 급작스러운 사멸을 가져온다고 알려져 있다.

<45> Ca²⁺-sensitive fluorescent dye(Fura-2)와 Mg²⁺-sensitive fluorescent dye(Mg fura-2)를 이용하여 형광현미경(Epifluorescence microscopy)으로 지방세포 세포질 내 Ca²⁺, Mg²⁺를 측정하였다. 이 염색약은 세포 내로 들어가 각각 Ca²⁺와 Mg²⁺에 붙어 형광을 나타낸다. 염색처리한 지방세포를 심은 커버유리(coverglass)를 특수 챔버(chamber)에 붙이고 그 위에 일정속도로 완충액을 흘려 보낸 후, N-아세틸시스테인과 타우린의 혼합물이 첨가된 완충액으로 변화시켰을 때 이온의 변화를 아래와 같은 방법으로 측정했다. 형광는 1 초 간격으로 dual-excitation wavelength spectrophotometer로 측정하였으며, excitation 파장은 Fura-2와 Mg fura-2 모두 340 nm 및 380 nm로, emission 파장은 510 nm로 23 °C에서 측정하였다.

<46> 실험 결과 도 4에 나타난 바와 같이, N-아세틸시스테인과 타우린을 동시에 처리했을 때 급격한 칼슘이온의 증가를 보임을 확인할 수 있었으며, 이같이 칼슘이온의 증가로 인해 지방세포의 급작스러운 사멸이 유도될 것임을 알 수 있었다.

<47> 실시예 4. Blood chemistry의 측정

<48> 쥐(Rat)를 4개의 군으로 나누고 그 중 3개의 군에는 비만 유도한 쥐를 사용하였다. 대조군, 비만군, 비만군에 타우린(2.5%) 음수를 투여한 투여군, 비만군에 N-아세틸시스테인(2.5%)과 타우린(2.5%)의 혼합 음수를 투여한 투여군으로 각각 나누는 후 3 주간 지속적으로 관찰하였다. 3 주 후 각각의 군에서 혈액을 뽑아 혈청화학검사를 하고, 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

구분	대조군	비만군	타우린 음수 투여군	NAC+타우린 음수 투여군
AST (U/l)	150.0±7.3	276.5±46.1*	127.0±4.7**	95.3±1.8 ⁺
ALT (U/l)	48.6±4.0	196.0±38.8*	75.0±8.8 ⁺	43.5±3.2 ⁺
글루코tm (mg/dl)	279.6±27.0	393.6±28.2*	296.4±11.4 ⁺	292.0±17.3 ⁺

콜레스테롤 (mg/dl)	47.0±1.4	57.5±3.1*	55.0±2.0*	47.8±2.8
*<0.05 vs. 대조군(t-test), +<0.05 vs. 비만군(t-test)				

<50> 상기 표 1과 같이 비만에 연관성 있는 인자들을 정리한 결과, 비만에 가장 직접적인 연관이 있는 포도당과 콜레스테롤 수치가 N-아세틸시스테인과 타우린을 동시에 처리한 군에서 가장 정상에 가까운 값을 나타냄을 확인할 수 있었다. 이는 비만인 쥐에 직접 음수를 통해 N-아세틸시스테인과 타우린을 투여한 결과로 N-아세틸시스테인과 타우린이 비만 억제 및 치료에 상당한 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

<51> 상기와 같은 생체와 생체 외 실험 모두에서 N-아세틸시스테인과 타우린을 동시에 투여한 결과, 비만의 억제에 탁월한 효과가 있음이 증명되었다.

도면의 간단한 설명

<52> 도 1은 쥐의 3T3-L1 전지방세포가 분화유도에 의해 50%의 지방세포로 변화한 사진이다.

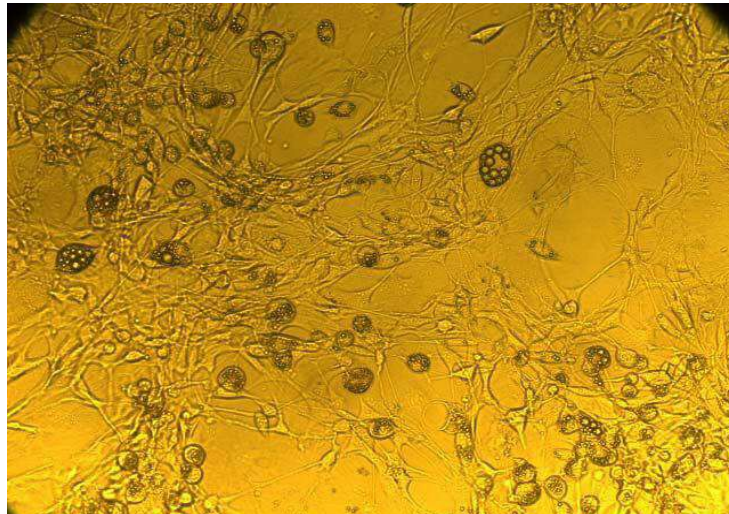
<53> 도 2는 본 발명의 일실시예에 따라 N-아세틸시스테인과 타우린의 LDH test 결과를 나타낸 그래프이다.

<54> 도 3은 본 발명의 일실시예에 따라 N-아세틸시스테인과 타우린에 의한 세포내 Mg²⁺ 총량의 변화를 나타낸 그래프이다.

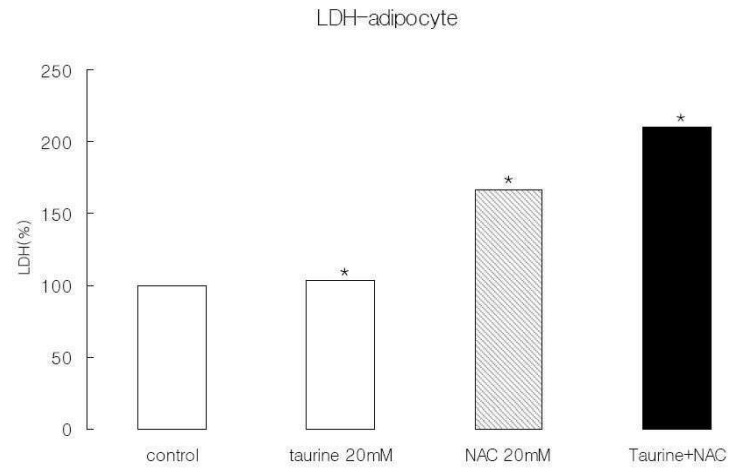
<55> 도 4는 본 발명의 일실시예에 따라 N-아세틸시스테인과 타우린에 의한 세포질내 Ca²⁺의 변화를 나타낸 그래프이다.

도면

도면1

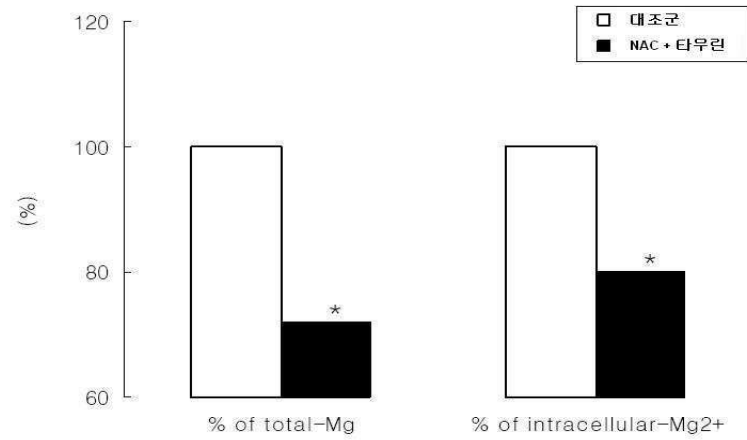


도면2



* $P < 0.001$ vs. control (t -test)

도면3



* $P < 0.01$ vs. control (t -test)

도면4

