



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년12월02일

(11) 등록번호 10-2333926

(24) 등록일자 2021년11월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

*A61K 38/16* (2006.01) *A23L 33/195* (2017.01)

*A61P 1/16* (2006.01) *A61P 3/06* (2006.01)

*A61P 3/10* (2006.01)

(52) CPC특허분류

*A61K 38/162* (2013.01)

*A23L 33/195* (2016.08)

(21) 출원번호 10-2020-0030180

(22) 출원일자 2020년03월11일

심사청구일자 2020년03월11일

(65) 공개번호 10-2021-0114717

(43) 공개일자 2021년09월24일

(56) 선행기술조사문헌

WO2010039461 A2

US10300111 B2

KR1020020082271 A

WO2001013957 A2

(73) 특허권자

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

허만옥

서울특별시 마포구 상암산로1길 92, 717동 501호 (상암동, 상암월드컵파크 7단지)

박수진

인천광역시 서구 버들로 46, 308동 202호(오류동, 검단힐스테이트3차2단지)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

파도특허법인유한회사, 특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 6 항

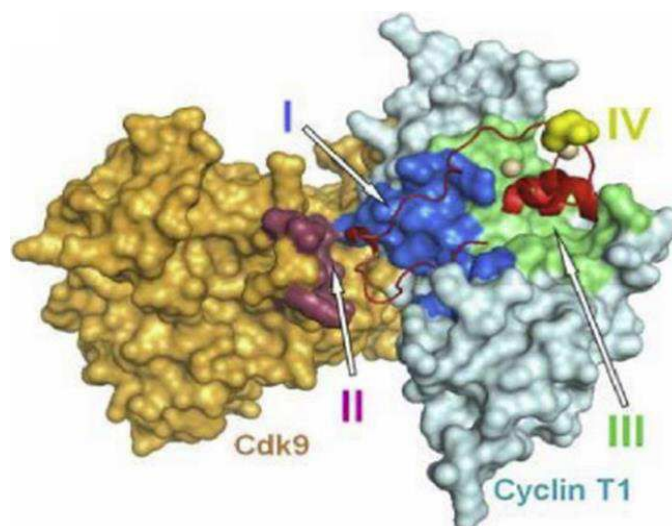
심사관 : 최홍석

(54) 발명의 명칭 **Tat 펩타이드 변이체를 유효성분으로 포함하는 대사질환의 예방 또는 치료용 조성물**

### (57) 요약

본 발명은 일정 길이의 내부 잔기가 지방족 아미노 카르복실산으로 치환된 Tat 펩타이드 변이체를 유효성분으로 포함하는 대사질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물 및 기능성 식품 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 조성물은 천연의 Tat 펩타이드의 지방 감소 효능을 그대로 유지하면서도 수용성 및 수율이 현저하게 상승하여, 생산이 보다 용이하고 보다 생체적합성이 뛰어난 대사질환 치료제 조성물로 유용하게 이용될 수 있다.

### 대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

**A61P 1/16** (2018.01)

**A61P 3/06** (2018.01)

**A61P 3/10** (2018.01)

**A23V 2002/00** (2013.01)

**A23V 2200/3262** (2013.01)

**A23V 2200/328** (2013.01)

**A23V 2200/332** (2013.01)

(72) 발명자

**송지양**

대전광역시 서구 둔산남로 127, 305동 1407호(둔산동, 목련아파트)

**최서현**

서울특별시 용산구 회나무로28길 30-14, 402호(이태원동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016R1E1A1A02921938

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 전략공모

연구과제명 KR-POK와 KAISO 유전자 knock-out mice에서 기능, 작용기전 규명 및 원천 기술 개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 연세대학교 산학협력단

연구기간 2019.08.01 ~ 2019.11.30

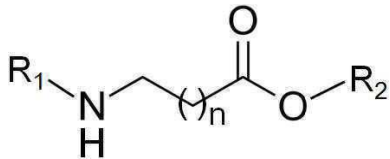
## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

하기 일반식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 비만, 당뇨, 고지혈증 및 지방간으로 구성된 군으로부터 선택되는 대사질환(metabolic disorder)의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물:

#### 일반식 1



상기 일반식에서, R<sub>1</sub>은 서열목록 제3서열의 아미노산 서열을 가지는 폴리펩타이드이고, R<sub>2</sub>는 서열목록 제4서열의 아미노산 서열을 가지는 폴리펩타이드이며, n은 6이다.

#### 청구항 2

삭제

#### 청구항 3

삭제

#### 청구항 4

삭제

#### 청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 지방간은 비알콜성 지방간인 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 6

삭제

#### 청구항 7

삭제

#### 청구항 8

삭제

#### 청구항 9

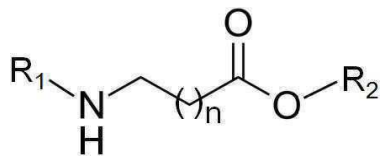
삭제

#### 청구항 10

하기 일반식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 비만, 당뇨, 고지혈증 및 지방간으로 구성된 군으로부터 선택되는 대사질환(metabolic disorder)의 개선 또는 완화용 기능성

식품 조성물:

**일반식 1**



상기 일반식에서, R<sub>1</sub>은 서열목록 제3서열의 아미노산 서열을 가지는 폴리펩타이드이고, R<sub>2</sub>는 서열목록 제4서열의 아미노산 서열을 가지는 폴리펩타이드이며, n은 6이다.

**청구항 11**

삭제

**청구항 12**

삭제

**청구항 13**

삭제

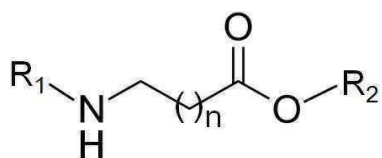
**청구항 14**

제 10 항에 있어서, 상기 지방산은 비알콜성 지방산인 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 15**

하기 일반식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물:

**일반식 2**

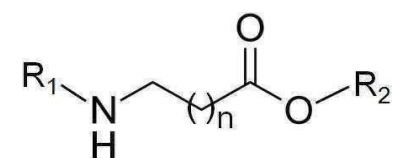


상기 일반식에서, R<sub>1</sub>은 서열목록 제3서열의 아미노산 서열을 가지는 폴리펩타이드이고, R<sub>2</sub>는 서열목록 제4서열의 아미노산 서열을 가지는 폴리펩타이드이며, n은 3이다.

**청구항 16**

하기 일반식 2로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 비만의 개선 또는 완화용 기능성 식품 조성물:

**일반식 2**



상기 일반식에서,  $R_1$ 은 서열목록 제3서열의 아미노산 서열을 가지는 폴리펩타이드이고,  $R_2$ 는 서열목록 제4서열의 아미노산 서열을 가지는 폴리펩타이드이며,  $n$ 은 3이다.

## 청구항 17

삭제

## 청구항 18

삭제

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 일정 길이의 내부 잔기가 지방족 아미노 카르복실산으로 치환된 Tat 펩타이드 변이체를 유효성분으로 포함하는 대사질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0003] 비만은 열량 섭취 및 소모 간의 불균형으로 인해 발생하는 대사성 질환으로, 체내 지방세포의 크기 증가(hypertrophy) 또는 수의 증가(hyperplasia)를 직접적인 원인으로 한다. 비만은 서구사회에서 가장 흔한 영양 장애일 뿐만 아니라, 최근 우리나라에서도 경제발전으로 인한 생활의 향상과 생활 방식의 서구화로 비만의 빈도가 급속히 증가하는 추세에 있고, 2017년 OECD 통계에 따르면 한국의 고도 비만 인구는 전 인구의 5.3% 가량으로 OECD 평균 비만율에 비해 높은 편은 아니나, 남자 아동 및 청소년 비만율(26%, 과체중 포함)은 OECD 평균(25.6%)수준보다 높으며, 비만율은 매년 증가추세를 보이면서 2030년에는 고도비만 인구가 2배로 증가할 것으로 예측하였다. 뿐만 아니라 비만으로 인한 사회경제적 손실은 2015년 기준 9조 2천억원으로 최근 10년간 2배로 증가되었고, 고령화 등으로 더욱 가속화 될 전망이다.

[0004] 당뇨, 고혈압, 지질대사이상, 인슐린저항성 등을 수반하는 대사증후군(metabolic syndrome)은 그 높은 유병률로 인해 인류의 건강을 위협하는 주요 질환군으로 떠올랐으며 미국, 유럽 등 선진국에서는 국가 경쟁력을 위협하는 심각한 보건 문제로 간주되어 이의 해결에 막대한 인적, 물적 역량이 투입되고 있다. 대사증후군에 속하는 질환들은 상호간의 발생위험을 증가시키며, 노화, 스트레스 및 면역기능저하 등의 다원적인 생체대사변화와 관련이 있는 공통 질환군이다.

[0005] 한편, HIV-1(Human Immunodeficiency Virus-1)에 의한 감염은 AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome)의 병인으로, 대사이상, 체중손실, 식욕부진 및 신체조직의 파손이 HIV 감염의 주된 임상적인 증상이다. 종합적으로 체중의 급격한 손실(wasting)이라고 불리우는 이러한 변화들은 AIDS 환자들의 병적인 상태 및 사망의 주요 원인 중 하나가 된다.

[0006] Tat는 HIV-1에 의해 인코딩되는 작은 핵 내 전사활성 단백질이며, 그 아미노산 서열은 모든 영장류 렌티바이러스에서 보존되어 있다(Myers et al., 1996). Tat는 HIV-1의 전사 및 복제에 가장 중요한 조절인자 중 하나이며, T-림프구 활성화, 세포사멸 및 유전자 발현의 조절과 같은 세포내 여러 생물학적 조절 기능을 담당하는 것으로 알려져 왔다.

[0008] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) 특허문헌 1. 대한민국 출원 제10-2015-0187948호

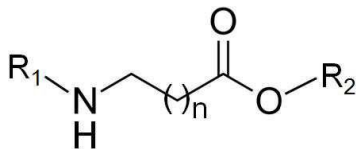
## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

- [0011] 본 발명자들은 비만, 당뇨, 이상지방혈증, 지방간 및 인슐린 저항성 증후군 을 포함하는 대사질환에 대한 우수한 치료 활성을 가지면서 장기 투여 시에도 부작용이 적고 합성이 용이한 효율적인 치료제 조성물을 개발하기 위해 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 항비만 활성을 가지는 HIV-1 유래 전장 Tat 펩타이드(72a.a) 중 지방 감소에 핵심적인 역할을 하는 CDK9 결합 부위와 사이클린 T1 결합 부위를 동정하고, 이들 도메인을 보존한 채 이들 사이의 11개 아미노산 잔기를 지방족 아미노 카르복실산으로 치환할 경우 Tat 펩타이드의 항비만 활성을 그대로 유지하면서 수용성 및 수율이 현저하게 상승한다는 사실을 발견함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.
- [0012] 따라서 본 발명의 목적은 대사질환(metabolic disorder)의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물 및 기능성 식품 조성물을 제공하는 데 있다.
- [0014] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

### 과제의 해결 수단

- [0016] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 하기 일반식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 비만, 당뇨, 이상지방혈증(dyslipidemia), 지방간 및 인슐린 저항성 증후군(insulin resistance syndrome)으로 구성된 군으로부터 선택되는 대사질환(metabolic disorder)의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다:
- [0017] 일반식 1



- [0018]
- [0019] 상기 일반식에서, R<sub>1</sub>은 서열목록 제1서열의 아미노산 서열을 가지는 폴리펩타이드 또는 이의 C-말단 부위의 일부 절편이고, R<sub>2</sub>는 서열목록 제2서열의 아미노산 서열을 가지는 폴리펩타이드 또는 이의 N-말단 부위의 일부 절편이며, n은 3 내지 7의 정수이다.
- [0020] 본 발명자들은 비만, 당뇨, 이상지방혈증, 지방간 및 인슐린 저항성 증후군 을 포함하는 대사질환에 대한 우수한 치료 활성을 가지면서 장기 투여 시에도 부작용이 적고 합성이 용이한 효율적인 치료제 조성물을 개발하기 위해 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 항비만 활성을 가지는 HIV-1 유래 전장 Tat 펩타이드(72a.a) 중 지방 감소에 핵심적인 역할을 하는 CDK9 결합 부위와 사이클린 T1 결합 부위를 동정하고, 이들 도메인을 보존한 채 이들 사이의 11개 아미노산 잔기를 상기 일반식 1의 지방족 아미노 카르복실산으로 치환할 경우 천연의 Tat 펩타이드의 항비만 활성을 그대로 유지하면서 수용성 및 수율이 현저하게 상승하여 보다 생산이 용이하고 생체적합성이 우수한 효율적 치료 조성물로 이용될 수 있음을 발견하였다.
- [0022] 본 발명에 따르면, 서열목록 제1서열의 아미노산 서열은 Tat 펩타이드(72a.a)의 1 - 37 잔기이고, 서열목록 제2서열의 아미노산 서열은 Tat 펩타이드의 48 - 72 잔기이다. 따라서, 상기 일반식 1은 CDK9 결합 부위인 염기성 PTD 도메인과 사이클린 T1 결합 부위인 시스테인 징크핑거 도메인 사이의 11개 잔기(38 - 48)가 지방족 아미노 카르복실산으로 치환된 변이 Tat 펩타이드이다.
- [0023]
- [0024] 본 명세서에서 용어 “대사질환”은 신진대사 이상을 원인으로 발생하는 각종 심혈관 질환과 제2형 당뇨병의 위험 요인들이 서로 군집을 이루는 현상을 한 가지 질환군으로 개념화시킨 것으로 인슐린 저항성 및 이와 관련된 복잡하고 다양한 여러 대사이상과 임상 양상을 모두 포괄하는 개념이다.
- [0025] 본 명세서에서 용어 “비만(obesity)” 장기간에 걸쳐 에너지 섭취량이 에너지 소비량을 초과하여 잉여 에너지가 지방으로 저장됨으로써 체내에 지방조직이 과다해지는 상태를 의미한다. 통상 체질량지수(Body mass index: 체중(kg)/[신장(m)]<sup>2</sup>)가 25 이상이면 임상적으로 비만으로 정의된다.

- [0026] 본 명세서에서 용어 “당뇨”는 포도당-비관용(intolerance)을 초래하는 인슐린의 상대적 또는 절대적 부족으로 특징되는 만성질환을 의미한다. 본 발명의 조성물로 치료 또는 예방되는 당뇨병은 모든 종류의 당뇨병을 포함하며, 예를 들어, 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병 및 유전성 당뇨병을 포함한다. 제1형 당뇨병은 인슐린 의존성 당뇨병으로서,  $\beta$ -세포의 파괴에 의해 주로 초래된다. 제2형 당뇨병은 인슐린 비의존성 당뇨병으로서, 식사 후 불충분한 인슐린 분비에 의해 초래되거나 또는 인슐린 내성에 의해 초래된다.
- [0027] 본 명세서에서 용어 “이상지방혈증(dyslipidemia)”은 혈액 내의 지방농도 수치가 정상범위 밖에 있는 병적 상태(pathologic condition)를 의미하며, 예를 들어 고콜레스테롤혈증, 고중성지방혈증, 저-HDL-콜레스테롤혈증 및 고-LDL-콜레스테롤혈증 외에도 지단백의 대사 이상을 원인으로 하는 비정상적 지질상태를 모두 포함한다.
- [0028] 본 명세서에서 용어 “지방간”은 간의 지방대사 장애로 지방이 간세포에 과도한 양으로 축적된 상태를 말하며, 이는 협심증, 심근경색, 뇌졸중, 동맥경화, 지방간 및 췌장염 등과 같은 다양한 질병의 원인이 된다.
- [0029] 본 명세서에서 용어 “인슐린 저항성”은 혈당을 낮추는 인슐린의 기능이 떨어져 세포가 포도당을 효과적으로 연소하지 못하는 상태를 의미한다. 인슐린 저항성이 높을 경우, 인체는 너무 많은 인슐린을 만들어 내고 이로 인해 고혈압이나 이상지방혈증은 물론 심장병, 당뇨병 등까지 초래할 수 있다. 특히 제2형 당뇨병에서는 근육과 지방조직에서 인슐린의 증가를 알아채지 못하여, 인슐린의 작용이 일어나지 않는다. 용어 “인슐린 저항성 증후군”은 상기 인슐린 저항성에 의하여 유발된 질환을 총칭하는 개념으로 인슐린 작용에 대한 세포의 저항성, 고인슐린혈증 및 초저밀도지단백(very low density lipoprotein, VLDL)과 중성지방의 증가, 고밀도지단백(high density lipoprotein, HDL)의 감소 및 고혈압 등을 특징으로 하는 질환을 의미하며, 심혈관질환과 제2형 당뇨병의 위험인자로 인식되고 있는 개념이다(Reaven GM, Diabetes, 37: 1595-607, (1988)).
- [0031] 본 명세서에서 용어 “약제학적으로 허용되는 염”은 약학적으로 허용되는 무기산, 유기산, 또는 염기로부터 유도된 염을 포함한다. 적합한 산의 예로는 염산, 브롬산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글리콜산, 락트산, 살리실산, 숙신산, 툴루엔-p-설폰산, 타르타르산, 아세트산, 트리플루로초산, 시트르산, 메탄설폰산, 포름산, 벤조산, 말론산, 나프탈렌-2-설폰산, 벤젠설폰산 등을 들 수 있다. 적합한 염기로부터 유도된 염은 나트륨 등의 알칼리 금속, 마그네슘 등의 알칼리 토금속, 및 암모늄 등을 포함할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 n은 5 내지 7의 정수이고, 보다 구체적으로는 6이다.
- [0033] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물로 예방 또는 치료되는 이상지방혈증은 고지혈증이다.
- [0034] 본 명세서에서 사용되는 용어 “고지혈증”은 중성지방과 콜레스테롤 등의 지방대사가 제대로 이루어지지 않아 혈액 중에 높은 지질농도가 유지되어 유발되는 질환을 의미한다. 보다 구체적으로 고지혈증이란 혈액내의 중성지방, LDL 콜레스테롤, 인지질 및 유리 지방산 등의 지질 성분이 증가된 상태로 발생빈도가 높은 고콜레스테롤혈증 또는 고중성지방혈증을 포함한다.
- [0035] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물로 예방 또는 치료되는 지방간은 비알콜성 지방간이다.
- [0036] 본 명세서에서 용어 “비알콜성 지방간(Non-alcoholic fatty liver, NAFL)”은 알코올의 흡수와 무관하게 간세포에 과도한 양의 지방이 축적되는 질환을 의미하고, 여기에는 단순지방간(steatosis)과 비알코올성 지방간염(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)이 포함된다. 단순 지방간은 임상적으로 예후가 양호한 편이나, 염증 혹은 섬유화를 동반하는 NASH는 진행성 간질환으로 간경변 또는 간암을 유발하는 전구질환으로 인지되고 있다. 비만과 인슐린저항성은 대표적인 비알콜성 지방간질환의 위험인자이다. 간섬유증 진행의 위험인자로는 가령, 비만(BMI>30), 혈중 간기능지표 비율(AST/ALT >1) 및 당뇨를 들 수 있고, 특히 C형 간염 보균자가 비알콜지방간일 경우 간암까지 진행될 수 있다. 비알콜성 지방간 환자의 69-100%는 비만환자이고, 비만환자의 20-40%는 비알콜성 지방간을 동반하며, 특히 유럽, 미국, 아시아의 비만아동의 10~77%가 비알콜성 지방간 병변을 보이는데, 이는 비알콜성 간질환의 가장 중요한 위험인자가 비만이기 때문이다.
- [0038] 본 명세서에서 용어 “예방”은 질환 또는 질병을 보유하고 있다고 진단된 적은 없으나, 이러한 질환 또는 질병에 걸릴 가능성이 있는 대상체에서 질환 또는 질병의 발생을 억제하는 것을 의미한다.
- [0039] 본 명세서에서 용어 “치료”는 (a) 질환, 질병 또는 증상의 발전의 억제; (b) 질환, 질병 또는 증상의 경감; 또는 (c) 질환, 질병 또는 증상을 제거하는 것을 의미한다. 본 발명의 조성물을 대상체에 투여하면 지방 조직의 무게를 감소시키고 인슐린과 포도당 민감도를 증가시키며, 지방생성과 콜레스테롤 합성 등에 관여하는 단백질의 발현을 크게 감소시킴으로써, 과도한 지방의 축적으로 인한 대사질환 증상의 발전을 억제하거나, 이를 제거하거나 또는 경감시키는 역할을 한다. 따라서, 본 발명의 조성물은 그 자체로 이들 질환 치료의 조성물이 될 수도

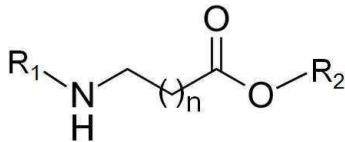


있고, 혹은 다른 약리성분과 함께 투여되어 상기 질환에 대한 치료 보조제로 적용될 수도 있다. 이에, 본 명세서에서 용어 “치료” 또는 “치료제”는 “치료 보조” 또는 “치료 보조제”의 의미를 포함한다.

- [0040] 본 명세서에서 용어 “투여” 또는 “투여하다”는 본 발명의 조성물의 치료적 유효량을 대상체에 직접적으로 투여함으로써 대상체의 체내에서 동일한 양이 형성되도록 하는 것을 말한다.
- [0041] 본 발명에서 용어 “치료적 유효량”은 본 발명의 약제학적 조성물을 투여하고자 하는 개체에게 조성물 내의 약리성분이 치료적 또는 예방적 효과를 제공하기에 충분한 정도로 함유된 조성물의 함량을 의미하며, 이에 “예방적 유효량”을 포함하는 의미이다.
- [0042] 본 명세서에서 용어 “대상체”는 제한없이 인간, 마우스, 래트, 기니아 피그, 개, 고양이, 말, 소, 돼지, 원숭이, 침팬지, 비비 또는 붉은털 원숭이를 포함한다. 구체적으로는, 본 발명의 대상체는 인간이다.
- [0044] 본 발명의 구체적인 구현 예에 따르면, 상기 일반식 1의  $R_1$ 은 서열목록 제1서열의 아미노산 서열을 가지는 폴리펩타이드 또는 서열목록 제1서열의 C-말단에서 N-말단 방향으로 연속된 18개 이상의 아미노산 잔기를 가진다. 보다 구체적으로는, 상기 절편은 서열목록 제3서열의 아미노산 서열을 가지는 폴리펩타이드이다.
- [0046] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 일반식 1의  $R_2$ 는 서열목록 제2서열의 아미노산 서열을 가지는 폴리펩타이드 또는 서열목록 제2서열의 N-말단에서 C-말단 방향으로 연속된 9개 이상의 아미노산 잔기를 가진다. 보다 구체적으로는, 상기 절편은 서열목록 제4서열의 아미노산 서열을 가진다.
- [0047] 본 발명에 따르면, 서열목록 제3서열의 아미노산 서열은 Tat 펩타이드(72a.a)의 20 - 37 잔기이고, 서열목록 제4서열의 아미노산 서열은 Tat 펩타이드의 49 - 57 잔기이다.
- [0049] 본 발명의 조성물이 약제학적 조성물로 제조되는 경우, 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다.
- [0050] 본 발명의 약제학적 조성물에 포함되는 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유효제, 현탁제, 보존제 등을 추가로포함할 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 Remington's Pharmaceutical Sciences (19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.
- [0051] 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구 투여할 수 있으며, 구체적으로는 경구, 정맥, 피하 또는 복강 투여될 수 있다.
- [0052] 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물의 바람직한 투여량은 성인 기준으로 0.001-100 mg/kg 범위 내이다.
- [0053] 본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액, 시럽제 또는 유효액 형태이거나 엑스제, 산제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡셀제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0054] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기 일반식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 식품학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 비만, 당뇨,
- [0055] 이상지방혈증(dyslipidemia), 지방간 및 인슐린 저항성 증후군(Insulin resistance syndrome)으로 구성된 군으로부터 선택되는 대사질환(metabolic disorder)의 개선 또는 완화용 식품 조성물을 제공한다:



[0056] 일반식 1



[0057]

[0058] 상기 일반식 1의 합성 펩타이드 및 이를 이용하여 증상이 개선 또는 완화되는 대사질환에 대해서는 이미 상술하였으므로, 과도한 중복을 피하기 위해 그 기재를 생략한다.

[0059] 본 명세서에서 용어 “식품학적으로 허용되는 염”은, 양이온과 음이온이 정전기적 인력에 의해 결합하는 염 중에서도 식품 조성물에 사용될 수 있는 형태의 염을 의미하며, 그 구체적인 예는 상술한 “약제학적으로 허용되는 염”의 예를 포함한다.

[0060] 본 발명의 조성물이 식품 조성물로 제조되는 경우, 유효성분으로서 본 발명의 화합물 뿐 만 아니라, 식품 제조시에 통상적으로 첨가되는 탄수화물, 조미제 및 향미제를 포함할 수 있다. 탄수화물의 예는 포도당, 과당 등의 단당류; 말토스, 수크로스 등의 이당류 및 텍스트린, 사이클로덱스트린 등과 같은 다당류 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜을 포함하나 이에 제한되는 것은 아니다. 향미제로서 천연 향미제[타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)] 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제로 제조되는 경우에는 본 발명의 유효성분인 소나무 수피 추출물 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 두충 추출액, 대추 추출액, 감초 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.

### 발명의 효과

[0062] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

- [0063] (a) 본 발명은 일정 길이의 내부 잔기가 지방족 아미노 카르복실산으로 치환된 Tat 펩타이드 변이체를 유효성분으로 포함하는 대사질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물 및 기능성 식품 조성물을 제공한다.
- [0064] (b) 본 발명의 조성물은 천연의 Tat 펩타이드의 지방 감소 효능을 그대로 유지하면서도 수용성 및 수율이 현저하게 상승하여, 생산이 보다 용이하고 보다 생체적합성이 뛰어난 대사질환 치료제 조성물로 유용하게 이용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

- [0066] 도 1은 Tat-사이클린 T1-CDK9 복합체 X-ray 회절 분석 결정 구조를 보여주는 그림이다. Tat의 시스테인 징크핑거 도메인(IV, 빨간색)과 염기성 도메인(II, 자주색)이 선형의 펩타이드로 연결되어 있다.
- 도 2는 Tat 단백질의 도메인 기능 연구를 기반으로 새롭게 설계된 신규 폴리펩타이드(X-FAT8)의 구조를 보여주는 그림이다. 11개의 아미노산 폴리펩타이드(적색)가 1개의 8-아미노-옥탄산(8-amino-octanoic acid)로 치환되어 있다.
- 도 3은 X-FAT8 및 X-FAT5가 지방 전구세포인 3T3-L1의 분화를 억제하고 지방생성을 억제하며(도 3a 및 3b), 인간 간세포인 HepG2에서의 올레산 합성 및 축적을 억제함(도 3c)을 각각 보여주는 그림이다.
- 도 4는 인간 HepG2 세포에서 지방조직 분화 및 지방생성, 콜레스테롤 합성 조절에 관여하는 단백질이 X-FAT8의 투여에 의해 발현이 감소함을 보여주는 웨스턴 블롯팅 분석 결과를 나타낸다.
- 도 5는 DIO 비만 마우스 모델에 X-FAT8 처리에 따른 유의한 체중 감소를 보여주는 그림이다.
- 도 6은 DIO 비만 마우스 모델에 X-FAT8 처리 후 먹이 섭취량의 변화를 보여주는 그림이다.
- 도 7은 DIO 비만 마우스 모델에서 X-FAT8의 복강 투여 이후 복부 지방의 상태 및 부고환 갈색지방(eWAT), 간 조직 및 갈색지방(BAT)의 변화 양상을 보여주는 그림이다.
- 도 8은 DIO 비만 마우스 모델에서 X-FAT8의 복강투여 후 글루코스 항상성의 변화를 조사하기 위해 GTT(글루코스 내성 검사)(도 8a) 및 ITT(인슐린 내성 검사)를 수행한 결과를 각각 보여주는 그림이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0067] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.
- [0069] **실시예**
- [0070] **동물 모델**
- [0071] 본 발명의 항비만 펩타이드의 인 *비*보 효능 실험을 위해 DIO (diet induced obese) 비만 모델 마우스(수컷, C57BL/6J DIO 12 주령, JAX LAB, 중앙실험동물 수입원)를 이용하였으며, DIO 목적으로 60% 고지방 식이를 공급하였다. 실험군은 모두 3개 그룹으로 나누어 본 발명의 항비만 펩타이드를 복강투여 하였다.
- [0073] **신규 항비만 펩타이드의 스크리닝**
- [0074] 본 발명자들은 선행연구에서 HIV-1 바이러스 감염 시 0.5 - 2년 사이에 관찰되는 20 ~ 30%에 달하는 급격한 체중 감소(slim disease)(1-3)가 HIV-1 유전자 산물의 하나인 Tat 펩타이드에 의한 지방이영양증(Lipodystrophy)에 기인함을 규명하고, Tat 펩타이드의 도메인 매핑 연구를 통해 이 중 비만 억제 활성을 가지는 Tat-38 도메인(TACTNCYCAKCCFH-FITKALGISYG-RAKRRARQRRR)을 발굴한 바 있다(미국 등록특허 제10,300,111호)(4). 발굴된 Tat-38 펩타이드는 지방 조직의 무게를 감소시키고 인슐린과 포도당 민감도를 증가시킴이 확인되었다.
- [0075] 본 발명에서는, Tat-38보다 약물학적 특성이 우수하며 합성이 용이한 Tat-38의 개량 펩타이드를 개발하고자 하였다. 본 발명자들은 Tat-38의 지방대사 조절 활성이 전사 인자로서의 작용에 중요한 CDK9 - 사이클린 T1 - Tat 결합체의 형성을 통하여 유전자의 발현을 조절한 결과일 것으로 가정하고, 3개 단백질의 복합체의 결정 구조에 대한 X-ray 회절 분석을 수행하였다. 도 1에서 보는 바와 같이, Tat의 시스테인 징크핑거 도메인(붉은 색)과 염기성 PTD 도메인(자주색)이 각각 사이클린 T1 및 CDK9과 상호작용하고, 이들 도메인은 선형의 10개 아미노산 잔기를 통해 서로 연결되어 있음을 확인하였다. 이에, 이들 도메인 간의 공간적인 거리가 5개 내지 8개 탄소가 선형으로 결합된 펜탄(pentane) 내지는 옥탄(octane)의 길이와 비슷하다는 사실에 근거하여 10개의 아미노산을 제거하고 5-아미노 판탄산(5-amino-pentanoic acid)와 8-아미노 옥탄산(8-amino octanoic acid)으로 대체한 펩타이드를 설계하였다(도 2). 본 발명자들은 이와 같은 변형 Tat-38 펩타이드를 각각 X-FAT5 및 X-FAT8이라 명명하였다.
- [0077] **X-FAT8의 특성 분석**
- [0078] X-FAT8을 소규모로 합성하여 약 효능을 검증한 후, 전임상 관련 실험 등의 수요에 대비하여 대용량 합성(10g) 및 분주(5mg/vial, 진공)에 성공하였다. X-FAT8은 Tat-38에 비하여 10배 이상의 합성 수율을 보이며 물에 매우 잘 녹음을 확인하였다.
- [0080] **세포 실험**
- [0081] 지방 전구세포 배양시에는 최종 10% 농도로 송아지 혈청(calf serum; Gibco-BRL-Cat# 16170-078)이 녹여진 DMEM(포도당 4.5 g/리터, GibcoBRL-Cat# 11995-065) 배지를 사용했다. 지방 전구세포가 배양 플라스크 면적의 70~80% 정도 자라면 0.05% Trypsin-EDTA(GibcoBRL-Cat#15400-054)를 처리하여 세포를 배양기에서 분리한 후, 배지에 희석시키고 세포 현탁액을 1,200rpm, 2분 동안 원심분리한 다음 상층액을 제거하고 새 배지 첨가하여 부유시켰다. 세포수를 측정한 후 60mm 원형 배양접시에  $5 \times 10^4$  세포/배양접시로 분주하였다. 세포가 부착되면 배지 10% FBS/DMEM(Fetal Bovine Serum, GibcoBRL-Cat#10437-028; Dulbecco's Modified Eagles Medium; DMEM/포도당 4.5 g/리터, GibcoBRL-Cat# 11995-065)로 교환하여 주고 세포가 배양기에 가득찬(confluent) 상태까지 배양했다. 세포를 분화용 배지이소부틸메틸잔틴;I BMX, 인슐린, 텍사메타손 및 로지글리타존이 함유된 분화 카테일(3T3-L1 분화 키트, cat # DIF001, Sigma) 1μl를 1 ml 10% FBS/DMEM 배양액에 첨가하고 추가로 X-FAT8를 각각 1μM, 3μM 및 10 μM을 더한 후 2일간 배양했다(0일째). 오래된 배지를 1μg/ml 인슐린이 첨가된 10% FBS/DMEM 배지로 교환하여 주고 배지에 X-FAT8를 1μM, 3μM 및 10 μM을 첨가하고 2일 더 배양했다(2일째). 인슐린이 함유된 배지로 교환한 뒤부터 대조군에서 세포내에 지방이 축적되는 것이 관찰되었다. 추가로 10% FBS/DMEM 배지로 교환한 배양액에 X-FAT8를 1μM, 3μM 및 10 μM을 첨가하고 2일, 4일, 6일, 8일 더 배양했다. 분화 여부를 처리된 세포의 현미경 관찰과 Oil Red O 염색을 통해서도 확인하였다. 대조군에서 2일 후에 완전히 분화된 지방세포가 관찰됨에 반하여, X-FAT8를 1μM, 3μM 및 10 μM을 첨가한 실험군에서는 3T3-L1의 지방세포로의 분화 및 지방 생성이 X-FAT8의 용량 의존적으로 현저히 억제되었다(도 3a). 또한, X-FAT5 1μM 및 10 μM를 이용하여 동일한 과정으로 Oil Red O 염색을 수행한 결과, 역시 3T3-L1의 지방세포로의 분화 및 지방 생성

이 유의하게 억제됨을 확인하였다(도 3b).

[0082] 아울러, 인간 간세포인 HepG2는 올레산이 존재할 경우 세포 내 지방 축적을 현저히 증가시키는데, 투여된 X-FAT8에 의하여 HepG2 간 유래 세포에서의 지방 축적이 매우 효과적으로 억제됨을 확인하였다(도 3c).

[0083] 아울러, HepG2 세포의 X-FAT8 처리에 의하여 변화되는 단백질들이 지방세포 분화, 지방생성, 콜레스테롤 합성 등에 관여하는 단백질들이라 추정되어 LDLR, PCSK9, SREBP1c, SREBP2, PPAR- $\gamma$  및 C/EBP- $\beta$  단백질들의 발현을 웨스턴 블롯팅으로 분석하였다. HepG2 세포를 X-FAT8(10  $\mu$ M)로 처리하고 세포 추출물(50  $\mu$ g)을 8% SDS-PAGE로 분리하고 PVDF 막지에 옮긴 후, 여러 항체(PCSK9, custom 제작, 연세대학교 의과대학; 그 외의 항체는 Santa Cruz 제품; SC-8984; PPAR- $\gamma$ , SC7273; GAPDH, SC-32233; C/EBP  $\alpha$  (14a.a), SSC-61; SREBP-2, SC271616; PGC-1  $\alpha$  (H300), SC-13067))를 이용하여, 단백질의 발현을 조사한 결과, 이들의 발현이 현저히 감소되어 있음을 발견하였다(도 4). X-FAT8이 세포내의 지방을 감소시키는 작용은, 비정상적인 지질대사를 원인으로 하는 다양한 대사 질환의 유용한 치료 조성물로 적용될 수 있음을 확인하였다.

[0085] 비만 마우스 모델 실험

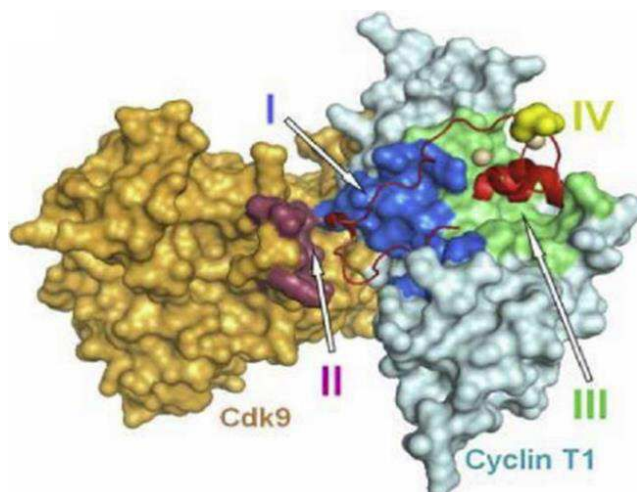
[0086] 고지방 식이로 유도된 비만 마우스 모델(DIO)에 대해 이틀마다 1회 1 mg/ea 씩 X-FAT8을 34일간 투여하였다. 그 결과, 10-15% 달하는 체중 감소 효과를 보였으며(도 5), 먹이 섭취량에 있어서는 통계적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았다(도 6). X-FAT8 투여 종료 후 마우스를 희생시키고 장기의 상태 및 내장 지방을 관찰하였다. 그 결과 특별한 장기 이상은 관찰되지 않았으며, X-FAT8 투여군에서는 부고환 백색지방(eWAT) 크기가 현저히 감소함을 확인하였다(도 7).

[0087] 대사의 이상 유무를 조사하기 위해 GTT(글루코스 내성 시험) 및 ITT(인슐린 내성 시험)를 수행하였다. GTT 결과 혈당의 농도가 대조군에 비하여 낮으며 더 빨리 평형 상태에 도달함을 알 수 있었다(도 8a). 한편 인슐린 민감성에는 큰 차이가 없었다(도 8b). 이를 통해 X-FAT8이 비만을 비롯한 다양한 지질대사 이상에 대한 치료 조성물로 이용될 수 있음을 확인하였다.

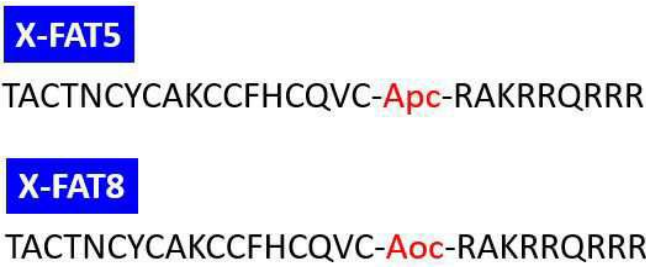
[0089] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

## 도면

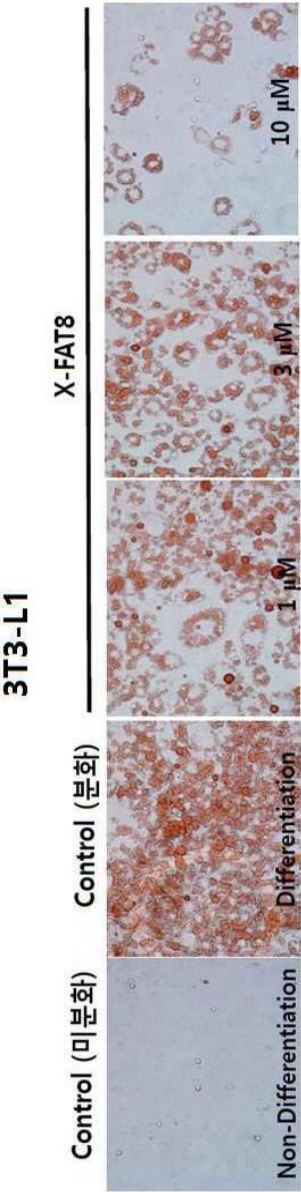
### 도면1



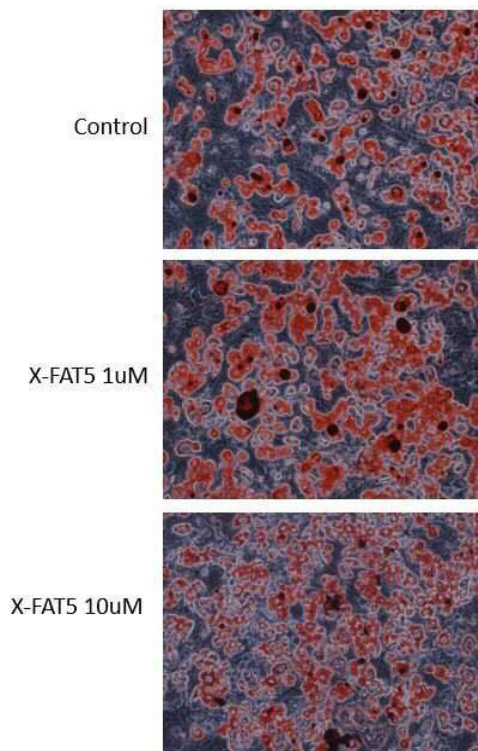
도면2



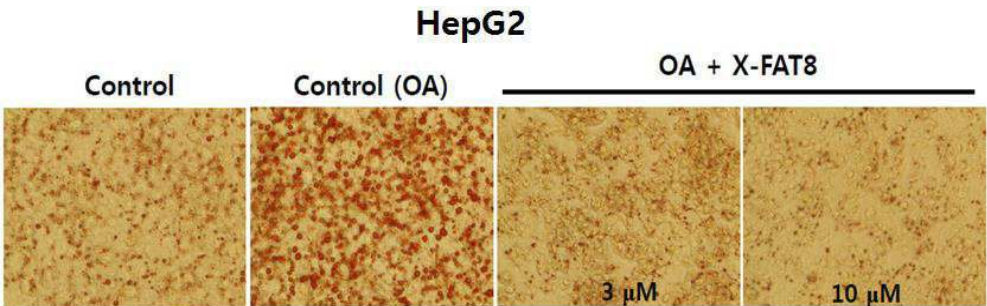
도면3a



도면3b

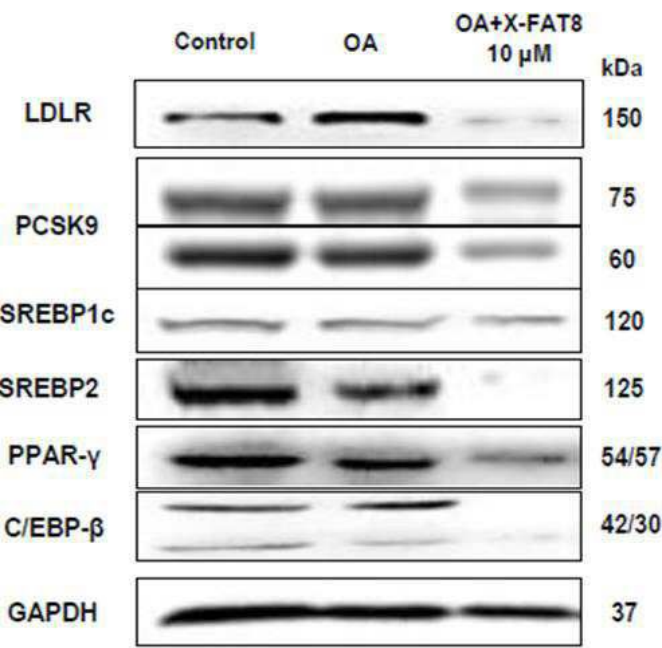


도면3c

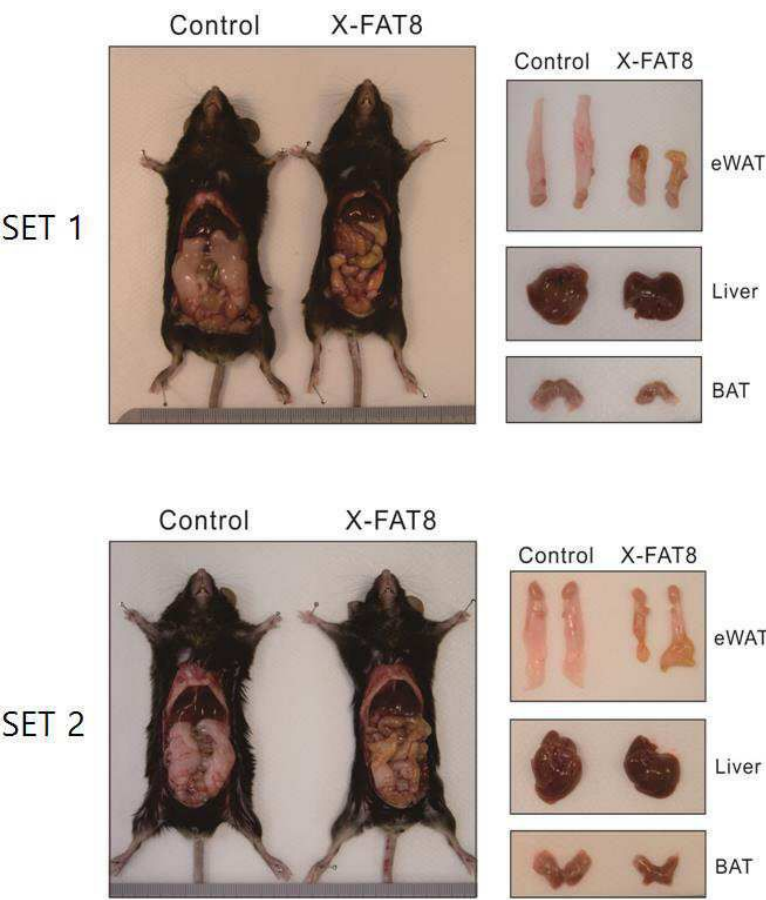




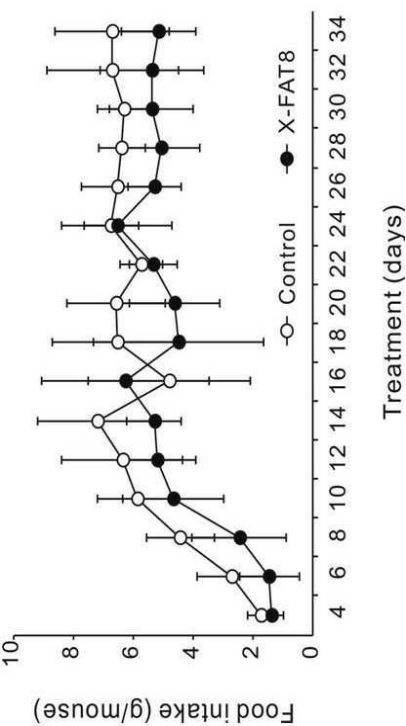
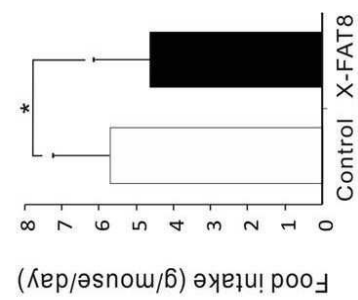
도면4



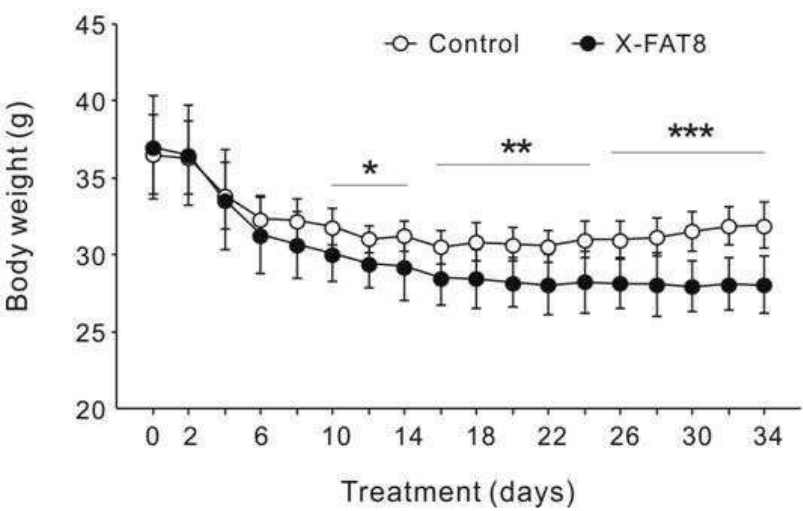
도면5



도면6

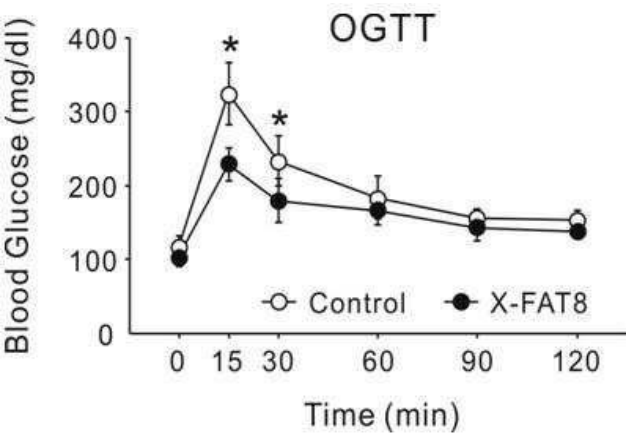


도면7

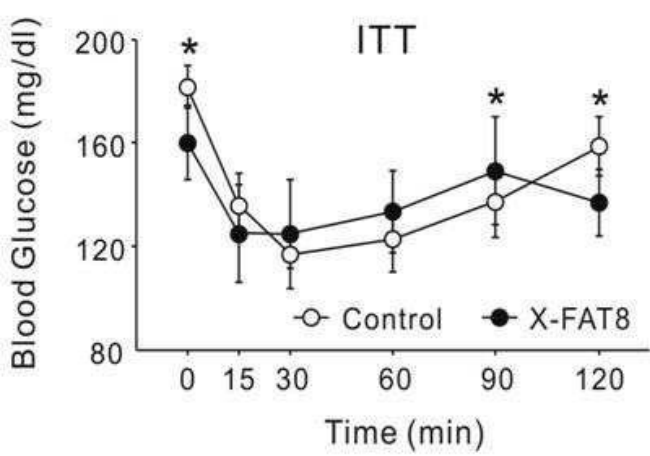




도면8a



도면8b



서열목록

- <110> Industry-Academic Cooperation Foundation, Yonsei University
- <120> A Composition for Preventing or Treating Metabolic Disorders  
Comprising a Tat Peptide Variant as an Active Ingredient
- <130> HPC-9191
- <160> 5
- <170> KoPatentIn 3.0
- <210> 1
- <211> 37
- <212> PRT
- <213> Human immunodeficiency virus type 1
- <400> 1

Met Glu Pro Val Asn Pro Arg Leu Glu Pro Trp Lys His Pro Gly Ser

1 5 10 15

Gln Pro Lys Thr Ala Cys Thr Asn Cys Tyr Cys Ala Lys Cys Cys Phe

20 25 30

His Cys Gln Val Cys

35

<210> 2

<211> 24

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 2

Arg Ala Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln Gly Ser Gln Thr

1 5 10 15

His Gln Val Ser Leu Ser Lys Gln

20

<210> 3

<211> 18

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 3

Thr Ala Cys Thr Asn Cys Tyr Cys Ala Lys Cys Cys Phe His Cys Gln

1 5 10 15

Val Cys

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 4

Arg Ala Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg

1 5

<210> 5

<211> 72

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 5

Met Glu Pro Val Asn Pro Arg Leu Glu Pro Trp Lys His Pro Gly Ser

1 5 10 15

Gln Pro Lys Thr Ala Cys Thr Asn Cys Tyr Cys Ala Lys Cys Cys Phe

20 25 30

His Cys Gln Val Cys Phe Ile Thr Lys Ala Leu Gly Ile Ser Tyr Gly

35 40 45

Arg Ala Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln Gly Ser Gln Thr

50 55 60

His Gln Val Ser Leu Ser Lys Gln

65 70