

기술명 : 4-하이드록시 타목시펜 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 치료 또는 예방용 조성물

IPC : A61K 31/138|A23L 29/00

발명자 : 성균관대학교 박승범

요 약

본 발명은 4-하이드록시 타목시펜 유사체인 GSK5182를 유효성분으로 포함하는 당뇨병 치료 또는 예방용 조성물에 관한 것으로, 글루코스 생성 유전자 발현을 억제하고, 혈액 중 글루코스 수치를 낮출 수 있는 4-하이드록시 타목 시펜 유사체인 GSK5182를 유효성분으로 포함하는 당뇨병 치료 또는 예방용 조성물에 관한 것이다. - 도5 한국생명공학연구원 대전광역시 유성구 과학로 125 (어은동) 서울대학교산학협력단 서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동) 이철호 대전광역시 유성구 과학로 125 (어은동) 구승회 서울특별시 서초구 신반포로33길 15, 107동 1001호 (잠원동, 동아아파트) 이 발명을 지원한 국가연구개발사업 과제고유번호 20100019512 부처명 교육과학기술부 연구사업명 의학-첨단과학기술융합원천기술개발 연구과제명 ER-Stress에 의한 대사성질환 조절 기전 연구 주관기관 전남대학교 연구기간 2010.06.30 ~ 2011.06.29 이 발명을 지원한 국가연구개발사업 과제고유번호 KBM4141022 부처명 과학기술부 연구사업명 주요사업(연구개발과제) 연구과제명 동물자원 활용기반 구축 및 지원사업 주관기관 한국생명공학연구원 연구기간 2010.01.01 ~ 2010.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1의 4-하이드록시 타목시펜 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하며, 간 및 혈액에서 글루코스 수치를 감소시키면서 간독성을 나타내지 않는, 당뇨병 치료 또는 예방용 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함하는 것인, 당뇨병 치료 또는 예방용 약제학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 투여 후 혈장 GPT 수치 및 GOT 수치가 각각 40 ± 5 (IU/L) 및 80 ± 10 (IU/L)인 것인, 당뇨병 치료 또는 예방용 약제학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 혈액에서의 글루코스 수치를 72-126 mg/dl로 감소시키는 것인, 당뇨병 치료 또는 예방용 약제학적 조성물.

청구항 5

하기 화학식 1의 4-하이드록시 타목시펜 유사체 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유

효성분으로 포함하며, 간 및 혈액에서 글루코스 수치를 감소시키면서 간독성을 나타내지 않는, 당뇨병 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 식품 조성물은 식품학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함하는 것인, 당뇨병 예방 또는 개선용 식품 조성물.

기술분야

본 발명은 4-하이드록시 타목시펜 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 치료 또는 예방용 조성물, 상기 조성물을 이용한 당뇨병 치료 또는 예방 방법, 및 4-하이드록시 타목시펜 유사체를 포함하는 당뇨병 예방 또는 개선용 식품 조성물에 관한 것이다.

배경기술

당뇨병[糖尿病, diabetes mellitus]은 인슐린이 부족하거나 인슐린에 대한 감수성이 떨어져 탄수화물대사(carbohydrate metabolism)에 이상이 생기는 질환이다. 폴리펩티드성 호르몬인 인슐린은 췌장에 있는 랑게르한스섬의 베타세포에서 만들어지며, 신체 내의 대부분의 세포가 글루코스 즉, 포도당을 사용하는 데 필요한 물질이다. 당뇨병 환자의 경우에는 신체 세포들이 글루코스를 정상적으로 사용할 수 있는 능력에 장애가 생겨 혈당치가 증가하고 글루코스가 혈액 속에 점점 많이 쌓이게 됨에 따라 과량의 당분이 소변으로 배설되게 된다. 당뇨병에는 두 가지 형이 있다. I형은 전에는 연소당뇨병이라 부르던 인슐린의존성 당뇨병(insulin-dependent diabetes mellitus/IDDM)으로, 인슐린 주사가 필요하다. 이는 췌장에서 인슐린이 분비되지 않기 때문에 주사를 통해 인슐린을 공급해주어야 한다. II형은 성인형당뇨병이라 일컬어지던 인슐린비의존성 당뇨병(non-insulin-dependent diabetes mellitus/NIDDM)으로, 식이요법으로 조절이 가능하다. 이것은 췌장의 인슐린 분비 기능이 떨어지거나 인슐린에 대한 조직의 거부반응에서 비롯되며, 베타세포가 인슐린을 분비하는 데 일어나는 미묘한 변화로 인해 더욱 악화된다. 2종의 당뇨병을 이전에는 연소당뇨병과 성인형당뇨병으로 분류했지만, 2종 모두 어느 나이에서나 발생할 수 있다. 그렇지만 전체 당뇨병 환자 중 90%를 차지할 정도로 인슐린비의존성 당뇨병이 훨씬 더 흔하다. 상기한 바와 같이 인슐린의존성 당뇨병 즉, 타입 1(I형) 당뇨병의 치료 방법으로는 현재까지 인슐린 주사가 거의 대부분이다. 한편, 종래 인슐린비의존성 당뇨병 즉, 타입 2(II형) 당뇨병을 치료하기 위한 많은 물질들이 연구 개발되었다. 구체적으로, PPAR- γ 활성제, GLP-1 유도체, DPP-IV 저해제, PTP1B 저해제 등이 개발되어 있는 주요 당뇨병 치료제들이다. PPAR- γ 활성제의 경우 인슐린 감수성을 증가시켜 당뇨병에 효과적인 것으로 알려져 있으며, 구체적인 예로서 티아졸리딘디온 등이 있다. 한편, GLP-1 유도체는, 체내의 인슐린 분비를 촉진하는, 장에서 분비되는 강력한 인크레틴(incretin) 호르몬의 일종으로서 저혈당의 부작용 없이, 베타세포를 활성화하고, 인슐린의 감수성을 회복시키며, 장관운동을 조절해 음식물 섭취량을 줄임으로써 당뇨병에 효과적인 것으로 알려져 있다. 또한, DPP-IV 저해제는 식후 위장에서 생성돼 인슐린의 분비를 촉진하고 혈당을 떨어뜨리는 역할을 하는 인크레틴 하위 당뇨병에 효과적인 것으로 알려져 있다. 가장 최신의 약물표적으로는 PTP1B가 있는데, PTP1B가 제거된 생쥐가 개선된 포도당 대사기능, 인슐린농도 저하, 그리고 체중 증가에 대한 저항성 등을 보임을 확인하였다. 이에

효율적이고 특이적인 PTP1B 저해제의 개발이 진행되고 있으며, antisense를 이용한 PTP1B 발현억제법도 동물 실험에서 좋은 결과를 보여주는 것으로 나타났다. 그러나, 이러한 종래의 약제들은 각각의 기작에 기인한 부작용을 보이고 있다. 예를 들어, 간이나 신장, 근육 및 심장에 대한 독성과 함께 체중증가 증상 등이 대표적인 부작용이라 할 수 있다. 따라서, 부작용이 적고 체중 증가 등을 유발하지 않으면서, 동시에 효과적으로 당뇨병을 치료 또는 예방할 수 있는 당뇨병 치료제에 대한 개발의 필요성이 절실이 요구되고 있다. 이에 본 발명자들은 상기와 같은 점을 감안하여 당뇨병에 효과적인 물질을 찾던 중, 4-하이드록시 타목시펜 유사체인 GSK5182가 글루코스 생성 유전자 발현을 억제하고, 혈액 중 글루코스 수치를 낮추어 당뇨병 치료에 효과를 나타낼 수 있음이 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

해결하려는 과제

본 발명의 목적은 4-하이드록시 타목시펜 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 치료 또는 예방용 약제학적 조성물을 제공하고자 하는 것이다. 본 발명의 또 하나의 목적은 4-하이드록시 타목시펜 유사체 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하고자 하는 것이다. 본 발명의 또 하나의 목적은 상기 당뇨병 치료 또는 예방용 약제학적 조성물을 투여하여 당뇨병을 치료하는 방법을 제공하고자 하는 것이다.

과제의 해결 수단

하나의 양태로서, 본 발명은 하기 화학식 1의 4-하이드록시 타목시펜 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 당뇨병 치료 또는 예방용 조성물을 제공한다. 화학식 1 본 발명에서, 상기 4-하이드록시 타목시펜 유사체는 (Z)-4-(1-{4-[2-(디메틸아미노)에톡시]페닐}-5-하이드록시-2-페닐펜트-1-에닐)페놀 [(Z)-4-(1-{4-[2-(dimethylamino)ethoxy]phenyl}-5-hydroxy-2-phenylpent-1-enyl)phenol]로 명명되는 화합물이다. 상기 화학식 1의 화합물은 GSK5182로도 불린다. GSK5182는 ERR γ (estrogen-related receptor gamma)의 억제제로 알려져 있으나, 질병 치료 용도에 대해 개시된 바는 없으며, 본 발명자들에 의해 최초로 당뇨병 치료 용도가 있음이 규명되었다. 본 발명에서, GSK5182는 공지된 합성 방법으로 합성하여 사용할 수도 있고, 또는 상업적으로 입수하여 사용할 본 발명에서, GSK5182는 당해 기술분야에서 통상적인 방법에 따라 약학 또는 식품학적으로 허용가능한 염 및 용 매화물로 제조될 수 있다. 약학 또는 식품학적으로 허용가능한 염으로는 유리산(free acid)에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 산부가염은 통상의 방법, 예를 들면 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴과 같은 수혼화성 유기 용매를 사용하여 침전시켜서 제조한다. 동물량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알콜(예, 글리콜 모노메틸에테르)을 가열하고 이어서 상기 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과시킬 수 있다. 이때, 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 인산, 황산, 질산, 주석산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 메탄설폰산, p-톨루엔설폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 시트르산, 말레인산(maleic acid), 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만데르산, 프로피온산(propionic acid), 젖산(lactic acid), 글리콜산(glycollic acid), 글루콘산(gluconic acid), 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산(glutaric acid), 글루쿠론산(glucuronic acid), 아스파르트산, 아스코르빈산, 카본산, 바닐릭산, 히드로아미오딕산 등을

사용할 수 있다. 또한, 염기를 사용하여 약학 또는 식품학적으로 허용가능한 금속염을 제조할 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토 금속염은, 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리토 금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물염을 여과한 후 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로서는 특히 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 적합하며, 또한 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리토 금속염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다. 본 발명의 GSK5182를 포함하는 조성물은 간에서의 글루코스 수치를 감소시켜서 당뇨병을 예방 또는 치료할 수 있는 특징이 있으며, 또한 혈액에서의 글루코스 수치를 감소시켜서 당뇨병을 예방 또는 치료할 수 있다. 본 발명에서 용어 "당뇨병"이란 인슐린의 분비량이 부족하거나 인슐린의 작용 및 기능이 충분히 이루어지지 않을 때 나타나는 질병을 의미하며, 이 병에 걸릴 경우 글리코겐, 단백질 및 지방질의 과도한 분해로 간 또는 혈액 중 글루코스 농도의 비정상적인 증가를 일으켜 당뇨 및 케톤뇨를 초래하고, 수분 및 전해질 대사의 이상으로 전해질 상실에 의한 혈액 농축 상태와 함께 순환장애, 신장장애 등의 병적 상태를 가져오게 된다. 인슐린은 췌장 내에 존재하는 랑게르한스섬의 베타 세포에서 분비되고, 혈중 글루코스 농도가 증가하면 분비되며, 감소하면 분비가 억제되어 에너지원의 적절한 활동을 조절하게 된다. 이 병은 인슐린 의존형 당뇨병 (I형)과 인슐린 비의존성 당뇨병(II형)으로 구분된다. 당뇨병 진단은 일반적으로 혈중 글루코스 농도 측정을 통해서 가능한데, 기준에 따라서 차이를 나타낸다. 인간에게서는 일반적으로 혈중에서 글루코스가 평소 200 mg/dl 이상, 공복시 140 mg/dl 이상일 때 당뇨병으로 진단한다. 따라서, 혈액 내 또는 간에서의 글루코스 농도를 낮추면 당뇨병의 치료 또는 예방을 할 수 있다. 본 발명에서 용어 "예방"은 본 발명에 따른 조성물의 투여로 당뇨병의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 말한다. 본 발명에서 사용되는 용어 "치료"는 본 발명에 따른 조성물의 투여로 상기 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 말한다. 본 발명의 일 실시예에서는, GSK5182가 글루코스 생성 유전자 발현을 억제하고, 혈액 또는 간에서 글루코스 수치를 낮추어 당뇨병 치료에 효과를 나타낼 수 있음을 확인하였다. 특히, 본 발명의 일 실시예에서는 글루코스 생성의 조절에서 GSK5182의 역할을 확인하기 위한 실험결과, 대조군과 비교할 때 혈액 중 포도당 수치의 피루베이트-의존적 유도를 강하게 억제한 것을 확인하였다 (도 4). 또한, GSK5182와 제 2 당뇨병 치료제인 metformin의 항-당뇨 효과 및 독성을 마우스에서 비교 실험한 결과, GSK5182가 정상적 음식 포도당수치 범위내로 정상 혈당을 복구 시킨 것을 확인하였으며, GSK5182가 당뇨병 표현형에 의해 초래된 간 독성에 관해서 metformin에 비해 큰 개선을 보이는 것을 확인하였다 (도 5-도 6, 및 도 7a-도 7b). 본 발명의 바람직한 양태로서, 본 발명의 조성물은 약제학적 조성물이다. 상기 본 발명의 조성물이 약제학적 조성물인 경우 상기 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있고 제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스 (sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜

(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테로 등이 사용될 수 있다. 상기 약제학적 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있다. 상기 본 발명의 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에서 용어 "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 감염된 바이러스 종류, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함 한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 상기 화학식 1의 4-하이드록시 타목시펜 유사체 또는 그의 염은 1일 0.0001 내지 100mg/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 10mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 본 발명의 당뇨병 예방제 또는 치료제는, 매일 투여 또는 간헐적으로 투여해도 좋고, 1일당 투여 횟수는 1회 또는 2~3회로 나누어 투여하는 것이 가능하다. 두 유효성분이 각각 단제인 경우의 투여횟수는 같은 횟수여도 좋고, 다른 횟수로 해도 된다. 또한, 본 발명의 조성물은 당뇨병 질환의 예방 또는 치료를 위하여 단독으로, 또는 다른 약물 치료와 병용하여 사용할 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 본 발명의 바람직한 양태로서, 본 발명의 조성물은 식품 조성물이다. 즉, GSK5182 또는 이의 염은 당뇨병의 예방 또는 개선을 목적으로 식품 조성물에 첨가될 수 있다. GSK5182 또는 이의 염을 식품 첨가물로 사용할 경우, GSK5182 또는 이의 염을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 GSK5182 또는 이의 염은 원료 조성물 중 0.0001 ~ 1 중량%, 바람직하게는 0.001 ~ 0.1중량%의 양으로 첨가된다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하로도 사용될 수 있다. 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다. 본 발명의 건강 음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스 및 같은 디사카라이드, 및 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g 이다. 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하지 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다. 그밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01 ~ 10 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적

이다. 이들 성분들은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 4-하이드록시 타목시펜 유사체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 유효량을 당뇨병의 발병 또는 발병가능성이 있는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 당뇨병 치료 방법을 제공한다. 상기 당뇨병은 1형 당뇨병 및 2형 당뇨병을 포함한다. 본 발명에서 용어, "개체"란 당뇨병이 이미 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 모든 동물을 의미하고 GSK5182 또는 이의 염을 포함하는 조성물을 개체에게 투여함으로써, 상기 질환을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있다. 본 발명 화합물의 개별적인 투약의 최적량 및 투약 간격은 치료되고 있는 병의 성질 및 정도, 투여 제형, 경로 및 부위, 그리고 치료되고 있는 특정 환자의 나이와 건강상태에 의해 결정될 것이고, 의사가 궁극적으로 사용될 적절한 투약을 결정할 것이라는 것은 당해 분야의 당업자가 알 수 있을 것이다. 이러한 투약은 적절한 정도로 자주 반복될 수 있다. 부작용이 생긴다면, 보통의 임상 진료에 따라서 투여량 및 빈도를 변경하거나 또는 감소시킬 수 있다. 상기 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물은 목적하는 바에 따라 복강내 투여, 정맥내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한 상기 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.

발명의 효과

본 발명은 4-하이드록시 타목시펜 유사체인 GSK5182가 글루코스 생성 유전자 발현을 억제하고, 혈액 중 글루코스 수치를 낮추어 당뇨병 치료에 효과적임을 확인함으로써 4-하이드록시 타목시펜 유사체인 GSK5182를 유효성분으로 포함하는 당뇨병 치료 또는 예방용 조성물을 제공할 수 있는 효과가 있다. 이는 또한 당뇨병 예방 또는 개선용 식품 조성물에 응용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 GSK5182(40mg/kg/일)를 db/db 마우스(n=6)에 5일 동안 복강 내로 투여한 다음, 뒤이어 4시간의 금식 후 혈액 중 글루코스를 측정함으로써 GSK5182가 in vivo에서 혈액 중 글루코스 수치를 낮출 수 있음을 확인한 결과이다. 도 2는 GSK5182(40mg/kg/일)를 db/db 마우스(n=6)에 5일 동안 복강 내로 투여한 다음, 간에서 GSK5182 처리에 의한 글루코스 생성 유전자 발현이 의미있게 감소된 것을 보여주는 그래프이다. 이때 Q-PCR은 db/db 마우스의 간으로부터 분리된 총 RNA를 이용하여 수행하였다. 도 3은 GSK5182(40mg/kg/일)를 db/db 마우스(n=6)에 5일 동안 복강 내로 투여한 db/db 마우스의 간에서 PEPCK 프로모터의 ERRE 상에서 PGC-1 α 의 점유를 보여주는 ChIP 분석 결과이다. 도 4는 GSK5182가 피루베이트 채널인에 대하여 글루코스 생성을 억제함을 보여주는 그래프이다. 이때 17 시간 동안 금식시킨 DIO 마우스(n=5)는 비히클 또는 GSK5182(40 mg/kg)을 투여한 후 1g/kg의 피루베이트로 챌린지되었다. 도 5는 db/db 마우스 (n=5)에서 GSK5182 및 metformin의 항-당뇨 효과를 나타내는 그래프이다. 상기 항당뇨 효과는 혈액 중 글루코스 수치를 21일 동안 비히클, GSK5182(40mg/kg/일) 또는 metformin(40mg/kg/일)을 투여한 db/db 마우스에서 4시간 동안 금식 후 측정하였다. 도 6은 GSK5182(40mg/kg/일) 또는 metformin(40mg/kg/일)을 복강 내로 21일 동안 투여한 db/db 마우스의 간 RNA를 사용한 글루코스 생성 유전자 발현의 Q-PCR 분석 결과이다. 도 7은 GSK5182(40mg/kg/일) 또는 metformin(40mg/kg/일)

을 복강 내로 21일 동안 투여하기 전의 db/db 마우스 혈액 글루코스 수치 및 체중을 측정한 결과이다. 이때 혈액 글루코스 수치(a) 및 체중(b)은 GSK5182 또는 도 8은 GSK5182 (40mg/kg/일) 또는 metformin (40mg/kg/일)을 복강 내로 21일 동안의 투여에 따른 식이 섭취량 (a)과 체중(b)에 대한 영향을 보여주는 그래프이다. 이때 식이 섭취량과 체중은 21일 동안 측정하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다. 재료 및 방법 실시예 1: 화합물의 준비 인슐린, 8-브로모아데노신 3', 5'-시클릭 모노포스페이트(8-Br-cAMP) 및 덱사메타손은 Sigma로부터 구입하였고 권고된 용매에 녹여 사용하였다. GSK5182는 HCl 염 형태로 사용하였고, in vivo 실험을 위하여 무균의 여과된 30% PEG-400 수용액에 용해시켜 40mg/kg의 농도로 제조하여 사용하였다. 또한 항-당뇨 및 독성제거 효능 등에 비교분석을 위하여 당뇨병 치료제로서 널리 사용되고 있는 메트포민(metformin)을 Sigma로부터 구입하여 사용하였다. 실시예 2: 크로마틴 면역침강법(ChIP) 분석 간 샘플 상의 핵 분리 및 교차결합을 이전 공지된 바와 같이 수행하였다 (Dufour C.R. et al. Cell Metab, 2007, 5, p. 345-356; Lee Y.S. et al. Biochem J, 2008, 413, p. 559-569). 초음파 분해 처리 후에, anti- PGC-1 α (Santa Cruz)을 이용한 면역침강법을 위해, 가용성 크로마틴을 넣어주었다. DNA는 페놀/클로로폼 추출물 로 회복시켜주고 상응하는 프로모터에 대한 프라이머를 사용하여 PCR 또는 Q-PCR에 의해서 분석하였다. 실시예 3: 동물 실험 동물실험은 당뇨병 모델동물로서 널리 사용되고 있는 7주령의 수컷 db/db 마우스와 식습관-유도적 비만모델동물 (DIO)로서 사용되는 8주령의 수컷 C57BL/6 마우스를 Charles River laboratories로부터 도입하여 12시간씩 명/ 암 주기에서 유지하면서 충분히 사료를 섭취토록 하여 실험을 실시하였다. 먼저, db/db 마우스를 활용한 실험은, 단기간의 GSK5182 투여에 따른 항-당뇨병 효능을 관찰하기 위하여 그룹당 n=6마리씩 배정하여 실험군에는 GSK5182(40mg/kg/일)를, 대조군에는 비히클을 5일 동안 투여하면서 2, 3, 4 및 5일째에 4시간 동안 금식한 상태의 혈액 내 글루코스 수치를 측정하였다. 또한, 장기간의 GSK5182 투여에 의한 지속적인 항-당뇨병 효능을 알아보기 위하여 db/db 마우스를 그룹당 5마리씩 배정하고, GSK5182(40mg/kg/일), 당뇨병 치료제로서 널리 사용 되고 metformin(40mg/kg/일) 및 대조군에는 비히클을 3주간(21일) 복강으로 투여하면서 2일 간격으로 혈당 및 체중변화를 측정하였다. GSK5182와 metformin을 21일간 처리한 후에는 db/db 마우스의 조직 또는 장기 등에 대한 독성관련 효능 분석을 위하여 db/db 마우스를 희생시켜 혈장을 수거하였고, GOT, GPT, BUN, CRE 및 CK 등의 혈액화학지표 등을 자동혈액화학분석기(automatic blood chemistry analyzer)를 사용해 측정하였다 (Hitachi7150, Japan). 한편, 피루베이트 챌린지에 대한 간에서의 글루코스 생성억제에 대한 분석을 위한 동물 실험은, 8주령의 수컷 C57BL/6마우스를 그룹별로 n=5로 배정하여 8주 동안 고지방 식이(60 kcal % 지방, D12492, Research Diets)를 지속적으로 공급하여 식습관-유도적 비만(DIO) 모델을 얻고, 17시간 동안 금식시킨 후에, GSK4182 (40mg/kg)을 투여한 후 1g/kg의 피루베이트로 챌린지하고 30, 60, 90, 120, 150 및 180분에 혈 액의 글루코스 농도를 측정하였다. 실시예 4: 정량적 PCR 정량적 PCR을 위하여 db/db 마우스의 간으로부터 일차적으로 총 RNA를 RNeasy mini-kit(Qiagen)를 사용하여 추출하였다. 그 후 Superscript II 효소(Invitrogen)를 사용해

cDNA를 만들고 SYBR green PCR 키트와 TP800, L32 발현으로 표준화시켰다. 실시예 5: 통계적 분석 모든 수치는 평균값±표준 오차(S.E.M)로 나타내었다. 평균 값 간의 유의성은 two-tailed unpaired Students t-test에 의해서 평가하였다. 결과 실험예 1: In vivo 모델에서의 GSK5182의 단기투여 혈당강하 효능 및 간의 글루코스 생성억제 분석 GSK5182가 in vivo 당뇨병 동물모델로서 db/db 마우스에 5일간 복강 내 투여를 통해 GSK5182를 처리하지 않은 경우와 처리한 경우의 마우스의 금식 혈액 중의 글루코스 수치를 측정하였다. 실제로, GSK5182-투여된 마우스는 대조군 그룹과 비교하였을 때 금식 혈액 중 글루코스 수치가 현저하게 감소를 보였다 (도 1). 또한, GSK5182는 글루코스 생성 유전자의 발현(도 2) 및 db/db 마우스에서 PEPCCK ERREs 상에 PGC-1 α 의 점유(도 3)를 유의하게 감소시켰다. 또한, 간의 글루코스 생성의 조절에서 GSK5182의 역할을 확인하기 위해서, 본 발명자들은 식습관-유도적 비만 (DIO) 모델을 이용하여 글루코스 생성을 위한 전구체인, 피루베이트의 투여에 반응하는 혈액 중 글루코스 수치 의 변화를 모니터링하기 위해서 피루베이트 챌린지 테스트를 수행하였다. 기대한 바와 같이 GSK5182는 대조군과 비교할 때 혈액 중 글루코스 수치의 피루베이트-의존적 유도를 강하게 억제하였다 (도 4). 실험예 2: GSK5182의 항-당뇨 효과 및 독성 조사 결과 GSK5182의 항-당뇨 효과 및 독성을, 표준 항-당뇨 약물인 metformin과 직접적으로 평가하고 비교하기 위하여, 본 발명자들은 db/db 마우스에 21일 동안 GSK5182 또는 metformin을 복강 내로 투여하였다. GSK5182에 의한 혈액 중 글루코스 및 글루코스 생성 유전자 억제의 정도를 metformin에 의한 것과 비교하였다 (도 5-도 6, 및 도 7a-도 7b). 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다. 놀랍게도, GSK5182의 처리는 db/db 마우스(110 대 241 mg/dl) 에서 정상적인 혈당수준으로 거의 복구시켰다 (110 mg/dl의 금식 혈액 중 글루코스는 사람에서 정상적 금식 글루코스 수치(72-126 mg/dl) 범위 이내임). 반면에, metformin의 21일간의 처리는 혈액 중 글루코스 수치를 유의하게 감소시켰음에도 불구하고(154 대 241 mg/dl), 글루코스 수치는 정상적인 생리학적 범위에 다다르지 못했다. 또한, db/db 마우스에서 당뇨 표현형의 발현에 의해 초래된 간 독성은, GOT 및 GPT 테스트에 의해 증명된 바와 같이, GSK5182 처리 시에는 크게 개선되었으나, metformin 처리 시에는 아니었다. 실제로, GSK5182 처리는 혈장 GPT 수치를 정상적 생리학 범위까지 복구시켰고(9-60 IU/L 사이), 혈장 GOT 수치를 유의미하게 감소시켰다. 본 발명에서 사용된 GSK5182 또는 metformin의 투여량에 대해서는 신장, 근육 및 심장 독성에 대한 징후가 나타나지 않았다. GPT: glucamic-pyruvic transaminase BUN: blood urea nitrogen CRE: creatinine CK: creatin kinase GLU: blood glucose (): normal physiological range *P<0.05, **P<0.01 by two-tailed Student t-test 데이터는 평균±표준오차로 기재됨. 한편, GSK5182 처리 시 식품섭취 및 체중에 있어 어떠한 유의적인 변화도 나타나지 않았다 (도 8a 및 도 8b). 종합적으로, 이러한 결과들은 GSK5182가 타입 2 당뇨병 마우스에서 간의 글루코스 생성을 조절함으로써 고혈당 표현형을 개선한다는 것을 시사한다. 아울러, GSK5182가 당뇨병을 치료할 수 있을 뿐만 아니라, 이와 같은 GSK5182가 독성이 없으며, 섭취에 따른 생체 내 부작용이 없다는 것을 시사한다.