



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2009년04월22일
(11) 등록번호 10-0894365
(24) 등록일자 2009년04월14일

(51) Int. Cl.

A61K 31/198 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2003-7016184

(22) 출원일자 2003년12월11일

심사청구일자 2007년06월08일

번역문제출일자 2003년12월11일

(65) 공개번호 10-2004-0008217

(43) 공개일자 2004년01월28일

(86) 국제출원번호 PCT/IB2002/002149

국제출원일자 2002년06월10일

(87) 국제공개번호 WO 2002/102360

국제공개일자 2002년12월27일

(30) 우선권주장

TO2001A000580 2001년06월15일 이탈리아(IT)

(56) 선행기술조사문헌

EP00483614 B1

JP04264024 A*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

프로페셔널 디에테틱스 에스.알.엘.

이탈리아, 밀라노 아이-20123, 비아 에프. 페트라르카, 22

(72) 발명자

콘티, 프랑코

이탈리아, 밀라노아이-20121, 비아텔라스피가, 33

디오구르아디, 프란세스코사베리오

이탈리아, 밀라노아이-20122, 비아마나라15

(74) 대리인

강명구, 강석용

전체 청구항 수 : 총 17 항

심사관 : 반용병

(54) 당뇨병 환자에서 심실 심근 기능을 개선하기 위한 분지쇄아미노산에 기초한 조성물

(57) 요약

당뇨병, 특히 II형 당뇨병 환자에서 심실 심근 기능을 개선하기 위한 아미노산 기초한 조성물을 제시한다. 본원 발명에 따른 조성물은 분지쇄 아미노산 루이신, 이소루이신, 발린을 활성 성분으로 최대 75%까지 함유한다. 적절하게는, 상기 조성물은 트레오닌과 리신을 추가 활성 성분으로 최대 50%까지 함유한다. 또한, 다른 필수 아미노산, 특히 메티오닌, 페닐알라닌, 히스티딘, 트립토판 및 비-필수 아미노산, 특히 티로신 및/또는 시스틴(테인)(즉, 시스틴과 시스테인)을 함유한다. 다른 아미노산을 첨가할 수 있는데, 단 이들의 총합은 다른 활성 성분과 비교하여 20% 미만, 각 단일 추가 아미노산과 비교하여 10% 미만이어야 한다.

특허청구의 범위

청구항 1

트레오닌, 리신 및 메티오닌, 페닐알라닌, 히스티딘, 트립토판에서 선택되는 하나이상의 다른 필수 아미노산과 공동으로, 분지쇄 아미노산 루이신, 이소루이신, 발린의 활성 성분으로 함유하고 당뇨병 환자에서 심실 심근 기능을 개선하는 조성물에 있어서, 트레오닌과 리신의 분자량 기초한 함량의 총합은 제공된 다른 필수 아미노산의 함량의 총합보다는 크지만 제공된 분지쇄 아미노산의 함량의 총합보다는 작은 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 분지쇄 아미노산은 분자량으로 표시하는 경우에, 제공된 아미노산 또는 활성 성분의 최대 75%인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 트레오닌 + 리신은 분자량으로 표시하는 경우에, 존재하는 아미노산 또는 활성 성분의 최대 50%인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제 3 항에 있어서, 메티오닌, 페닐알라닌, 히스티딘, 트립토판을 추가 활성 성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

제 4 항에 있어서, 티로신 또는 시스틴과 시스테인을 추가 활성 성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 트레오닌과 리신의 분자량 기초한 함량 각각은 제공된 다른 필수 아미노산의 단일 함량보다는 많지만 제공된 분지쇄 아미노산의 단일 함량보다는 적은 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7

제 5 항에 있어서, 하나이상의 추가 아미노산을 함유하고, 이들의 분자량 기초한 총합은 다른 활성 성분과 비교하여 20% 미만이고 각 단일 추가 아미노산이 10% 미만인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 8

제 1 항에 있어서, 루이신, 이소루이신, 발린은 2:1:1의 화학량 비율로 존재하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 9

제 1항에 있어서,

- 분자량에 기초하여 40-60%의 루이신;
- 분자량에 기초하여 20-40%의 이소루이신;
- 분자량에 기초하여 20-40%의 발린을 함유하고,

여기서, 분지쇄 아미노산 루이신, 이소루이신, 발린의 함량의 총합은 제공된 전체 활성 성분의 분자량 기초한 총합의 30 내지 60%를 구성하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 10

제 9 항에 있어서, 트레오닌 + 리신은 분지쇄 아미노산과의 몰 비율(Mw/Mw)이 20 내지 50%인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 11

제 9 항에 있어서, 분지쇄 아미노산 및 트레오닌 + 리신은 히스티딘과의 몰 비율(Mw/Mw)이 50 내지 70%인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 12

제 9 항에 있어서, 히스티딘은 하기 아미노산의 최대 50% 몰 비율(Mw/Mw)로 존재하는 것을 특징으로 하는 조성물:

- 시스틴과 시스테인 및 메티오닌;
- 페닐알라닌과 티로신;
- 트립토판.

청구항 13

제 12 항에 있어서, 시스틴과 시스테인은 메티오닌의 함량의 50 내지 200% 몰 비율(Mw/Mw)로 존재하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 14

제 12 항에 있어서, 티로신은 페닐알라닌 몰 중량의 최대 50%로 존재하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 15

제 9 항에 있어서, 경구나 비경구 복용에 적합한 약리학적 형태로, 수용액 내에서 6.5 내지 8.5의 pH를 보유하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 16

분지쇄 아미노산 루이신, 이소루이신, 발린을 활성 성분으로 함유하고 당뇨병 환자에서 심장 부전의 출현을 지연시키거나 예방하는 조성물.

청구항 17

제 16 항에 있어서, 트레오닌과 리신을 추가 활성 성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

명세서

기술분야

<1> 본원 발명은 당뇨병, 특히 II형 당뇨병을 앓는 환자에서 심실 심근 기능을 개선하기 위한 아미노산 기초한 조성물에 관한다.

배경 기술

- <2> 이런 유형의 환자에서 실시된 실험 연구에서 심근 수준에서 에너지 대사의 저하, 합성 속도의 감소, 단백질 분해의 증가가 확인되었다. 이로 인하여 심근의 기계적 기능에서 점진적인 퇴행이 발생하는데, 이의 주요 병원성 기전은 에너지 물질의 이용효율 감소 및 낮은 ATPase 활성을 갖는 수축성 단백질의 존재이다.
- <3> 현재, 당뇨병 환자 개체군에서 이환률과 사망률의 주원인인 심부전의 발생을 지연시키거나 예방하여 상기 환자의 자연사(natural history)에 긍정적인 영향을 발휘함으로써 상기 환자에서 심실 심근 기능의 현저한 향상을 결과하는 치료 방법은 없다.
- <4> 본원 발명은 전술한 문제에 극히 혁신적인 치료 방법의 제시를 목적으로 한다.

발명의 상세한 설명

- <5> 이런 배경에서, 본원의 첫 번째 목적은 당뇨병, 특히 II형 당뇨병 환자에서 심실 심근 기능의 현저한 향상을 결과할 수 있는 조성물을 제시하는 것이다.
- <6> 본원의 다른 목적은 휴식기 및 등척성 운동(isometric exercise)의 최고점에서 심실 박출 계수(ventricular ejection fraction)의 현저한 향상을 상기 유형의 환자에서 결과할 수 있는 조성물을 제시하는 것이다.
- <7> 본원의 또 다른 목적은 당뇨병 환자에서 등척성 긴장(isometric strain)동안 발생하는 심실 박출 계수의 감소를 배제시킬 수 있는 조성물을 제시하는 것이다.
- <8> 본 발명자들은 본원의 특허청구범위에 청구된 바와 같은 아미노산 기초한 조성물의 제제를 완성하였는데, 이들 조성물은 상기 제시된 목적에 특히 효과적인 것으로 입증되었다.
- <9> 특히 경구 또는 장관의 복용으로 제공되는 상기 조성물은 분자량으로 표시하는 경우에, 전체 아미노산 또는 활성 성분의 최대 75%까지 분지쇄 아미노산 루이신, 이소루이신, 발린을 주요 활성 성분으로 함유한다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 조성물은 트레오닌과 리신을 추가 활성 성분으로 함유하는데, 여기서 특히 트레오닌 + 리신은 분자량으로 표시하는 경우에, 전체 아미노산 또는 활성 성분의 최대 50%까지 존재한다.
- <10> 이에 더하여, 상기 조성물은 다른 필수 아미노산, 특히 메티오닌, 페닐알라닌, 히스티딘 및/또는 트립토판 및 비-필수 아미노산, 특히 티로신 및/또는 시스틴(테인)을 추가 활성 성분으로 함유할 수 있다.
- <11> 적절하게는, 트레오닌과 리신의 분자량 기초한 함량의 총합은 제공된 다른 필수 아미노산의 단일 함량의 총합보다는 크지만, 제공된 분지쇄 아미노산의 단일 함량의 총합보다는 작다. 이에 더하여, 트레오닌과 리신의 분자량 기초한 함량은 제공된 다른 필수 아미노산의 단일 함량보다는 많지만, 제공된 분지쇄 아미노산의 단일 함량보다는 적다.
- <12> 또한, 본 발명에 따른 조성물은 전술한 바와 같이 하나이상의 추가 아미노산을 함유할 수 있는데, 이들의 분자량 총합은 다른 활성 성분과 비교하여 20% 미만, 각 단일 추가 아미노산과 비교하여 10% 미만이다.
- <13> 일반적으로, 사람에서 영양분으로 사용하기 적합한 아미노산 혼합물은 상이한 요구를 충족시켜야 한다:
- <14> - 혼합물 용액의 pH는 요 칼슘 손실을 예방하기 위하여 실질적으로 중성이어야 한다;
- <15> - 혼합물은 칼슘 균형(즉, 요 손실없음) 및 호모시스틴(테인) 생산(즉, 모든 아미노산의 함량과 관련하여, 화학량에 기초하여 적어도 2:1의 시스틴(테인)/메티오닌 비율로 아미노산을 함유하는 황의 정확한 비율)의 측면에서 안전해야 한다.
- <16> 이에 더하여, 혼합물에서 필수 아미노산의 함량은 사람에서 실질적인 영양 요구를 충족시키는데 적합한 적절한 비율이어야 한다(이는 적절하고 작은 비율의 일부 비-필수 아미노산의 협력적인 조정으로 최적화될 수 있다).
- <17> 이를 위하여, 상이하지만 고정되고 협력적인 몰비율로 필수 아미노산(루이신, 이소루이신, 발린, 트레오닌, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 히스티딘, 트립토판) 및 일부 비-필수 아미노산(티로신과 시스틴(테인))을 함유하는 본 발명에 따른 가능 제제는 다음과 같이 구성된다:
- <18> - 전체 혼합물 중량의 30 내지 60% 범위에서 2:1:1 화학량 비율의 분지쇄 아미노산 루이신(40-60%, 분자량 단위), 이소루이신(20-40%, 분자량 단위), 발린(20-40%, 분자량 단위);
- <19> - 상기 분지쇄 아미노산과 20 내지 50% w/w 비율의 트레오닌 + 리신, 트레오닌 대 리신 비율에서 리신은 트레오

닌보다 10 내지 50% 더 많이 존재한다;

- <20> - 상기 분지쇄 아미노산 + 트레오닌과 리신, 이들의 분자량 총합은 히스티딘과 다른 아미노산을 추가로 함유하는 혼합물의 50 내지 70%의 화학량 비율로 존재하고, 여기서 히스티딘은 하기 아미노산의 최대 50% 몰 분율(molar fraction)로 존재한다:
- <21> - 히스티딘의 최대 50% 몰비율의 시스틴(테인)(시스틴과 시스테인) 및 메티오닌 (여기서, 시스틴(테인)과 메티오닌간 비율은
- <22> 몰비율에서 시스틴(테인)이 50 내지 200% 더 높다);
- <23> - 히스티딘의 최대 50% 몰비율의 페닐알라닌과 티로신(여기서,
- <24> 티로신은 페닐알라닌 분자량의 최대 50%로 존재한다);
- <25> - 몰중량에 기초하여 모든 다른 아미노산 중량의 최대 10%의
- <26> 트립토판.
- <27> 소요의 효과를 변화시키지 않으면서 임의의 다른 아미노산을 상기 제제에 첨가할 수 있는데, 추가 아미노산의 총합은 다른 활성 성분과 비교하여 20% 미만(각 단일 아미노산에 대하여 10% 미만)으로 존재한다.
- <28> 상기 제제의 격별한 특성은 수용액에서 6.5 내지 8.5의 pH를 보유하고, 따라서 이를 필요로 하는 사람이나 동물에서 안전한 경구 또는 장관의 복용에 적합하다는 점이다. 이런 특성은 아미노산의 단백질 공급원에 의해 초래되는 과도한 칼슘 요 손실을 예방한다.

실시예

- <29> 상기 제안된 제제에 따른 아미노산 혼합물의 효과는 비교 연구를 실시하였다.
- <30> 이를 위하여, II형 당뇨병(인슐린 의존성)을 앓는 18명의 환자를 참여시켰다(M/F 16/2, 연령 62 ± 6 년, 신체질량 지수(BMI) $27.4 \pm 3.0 \text{ kg/m}^2$). 질병의 평균 지속기간은 12 ± 8 년이었다. 글리케이트 헤모글리빈(glycate hemoglobin)은 $8.2 \pm 0.8\%$ 이었다. 기초 평가후, 환자는 본원의 바람직한 제제에 따른 아미노산 조성물(12 g/die)로 또는 위약으로 3주동안 무작위로 치료하였다. 이후, 치료는 교대하고 추가로 3주동안 유지시켰다.
- <31> 분석된 주요 대사 파라미터는 다음과 같다:
- <32> 혈당증, 인슐린혈증, C-펩티드, 유리 지방산(FFA), 전체와 분액된 콜레스테롤, 트리글리세리드, 피브리노겐.
- <33> 좌심실 기능은 에코-스트레스(echo-stress) 방법의 전용 실행 프로그램이 갖춰진 Hewlett-Packard Sonon 5500 시스템을 이용한 2D 심장초음파 검사(echocardiography) 및 심실 영상의 정량으로 평가하였다. 심장초음파 검사는 환자의 신원 및 실험 조건을 알지 못하는 2명의 독립된 관찰자가 기록하고 맹검 분석하였다. 심장초음파 분석은 디지털 시네-루프(cine-loop) 방법(Prevue System, Nova Microsonics Inc.)으로 실시하였다. 다양한 실험 조건에서 복엽기 면적-길이 방법(biplane area-length method)으로 심실 용적을 계산하였는데, 이로부터 박출 계수(EF)는 심실 펌프 함수: $EF = VTD - VTS / VTD$ 의 지수로 유도되었고, 여기서 VTD와 VTS는 좌심실의 심확장 용적과 심수축 용적을 나타낸다.
- <34> 산분비(parietal) 수축 기능은 좌심실을 16개 분절로 세분하여(American Society of Echocardiography 기준에 따라) 얻은 각 분절에서 심근 수축 비후를 분석하고 반정량 스코어 시스템(1=정상, 2=운동과소증, 3=무동증, 4=운동이상)을 이용하여 평가하였다.
- <35> 전반적·국부적 심실 기능은 휴식기 및 등척성 긴장동안 핸드-그립(hand-grip) 검사로 조사하였다.
- <36> 동력시험기(dynamometer)로 최대 자발적 수축을 측정한 이후, 40% 등척성 긴장을 3분동안 실시하였다. 긴장동안, 심실 기능은 2D 심장초음파 검사로 모니터하고, 동맥혈압은 연속 오실로메트릭 방법(oscillometric method)(Nippon Colin Co. Ltd)으로 모니터하였다.
- <37> 연구 결과는 평균 \pm SD로 표시한다. 다중 비교는 이원 반복측정 분산분석, 이후 피셔 검증으로 실시하였다. 양쪽-꼬리 값 ≤ 0.05 는 유의하게 간주되었다.
- <38> 본원 발명에 따른 아미노산 혼합물로 치료하거나 위약을 투여하는 경우에, 대사 파라미터는 유의하게 변화지 않

았다.

<39> 표 1에서 제시된 바와 같이, 본원 발명에 따른 화합물로 치료는 인슐린 관용 검사(insulin tolerance test) 기술을 통하여 고찰된 공복시 혈당증, 인슐린혈증, 인슐린 민감도와 관련하여 유의한 변화를 유발하지 않았다.

<40> 또한, 지질 대사와 관련하여, 전체 콜레스테롤, HDL, 트리글리세리드, 유리 지방산, Lp(a)에서 변화가 관찰되지 않았다. 이에 더하여, 양 압력값 및 신체질량지수와 관련하여 실질적인 변화는 발생하지 않았다.

표 1

<41> 환자의 임상적 특징

	위약	본원 발명	p
인구통계			
연령(year)	62±6		
임상적 평가			
질병 지속기간(Year)	10±7		
신체질량지수(SD)(kg/m ²)	27±3	27±3	n.s.
항-고혈압 치료(%)	77%		
수축압(SD)(mmHg)	151±12	154±17	n.s.
확장압(SD)(mmHg)	84±5	84±6	n.s.
HbA1c(SD)(%)	8.7±1.7	8.6±1.6	n.s.
인슐린혈증(μm/ml)	14±8	20±15	n.s.
콜레스테롤혈증(SD)(mg/dl)	225±27	214±24	n.s.
HDL 콜레스테롤(SD)(mg/dl)	47±13	46±15	n.s.
고지혈증(SD)(mg/dl)	165±91	115±66	n.s.
유리 지방산(SD)(μmol/l)	699±395	656±370	n.s.
Lp(a)(SD)(mg/dl)	12±10	13±10	n.s.
단백뇨(mg/die)	40±35	45±29	n.s.
항-당뇨 요법(D/ADO/ADO+I/I)	2/9/3/4		

<42> 본 연구에 참여한 환자의 전반적인 심실 기능을 분석하여, 다음의 결론을 도출할 수 있었다:

<43> 1) 본원 발명에 다른 아미노산 혼합물로 치료는 휴식기(77±24 vs. 78±24 ml/m², p=ns) 및 등척성 긴장의 최고 점(86±26 vs. 88±25 ml/m², p=ns)에서 심실 용적(심확장 용적)을 유의한 방식으로 변화시키지 않는다. 이에 더하여, 등척성 긴장에 의해 유도된 동일 증분(increment)은 유지된다;

<44> 2) 본원 발명에 다른 아미노산 혼합물로 치료동안, 박출 계수는 휴식기(58±8 vs. 52±12%, p=0.009) 및 등척성 긴장의 최고점(58±10 vs. 43±13%, p=0.0001) 모두에서 유의한 방식으로 증가한다;

<45> 3) 등척성 운동동안 박출 계수의 감소는 기본 조건에서는 배제되지만(p=0.188), 위약에서는 일정하게 유지된다(p<0.0001).

<46> 환자의 국부적 심근 수축 기능을 분석하면 다음의 결론이 가능하다:

<47> - 본원 발명에 따른 아미노산 혼합물의 투여는 휴식기에서 국부적 수축 기능장애의 확대를 감소시킨다(벽 운동 스코어 지수, WMSI로 고려됨)(1.32±0.42 vs. 1.26±0.41, p=0.005);

<48> - 등척성 긴장은 치료 유형과 무관하게 국부적 수축 기능장애의 확대를 유발하지만, 긴장 최고점에서 수축 기능장애의 확대는 본원 발명에 따른 아미노산 혼합물로 치료동안 좀더 소규모로 나타난다(1.49±0.45 vs. 1.29±0.41, p<0.05).

<49> 이런 결과로부터 본원 발명에 따른 아미노산 혼합물의 투여가 당뇨병, 특히 II형 당뇨병 환자에서 심근과 심실 기능의 현저한 변화를 결과한다는 분명하다.

<50> 이런 투여는 휴식기와 등척성 긴장동안 좌심실 심근 기능에 실제로 긍정적인 영향을 주었다. 이런 투여가 당뇨

병 환자에서 특징적으로 나타나는 등척성 긴장에 의한 기능의 저하를 예방한다는 것은 특히 흥미롭다.

- <51> 또한, 상기 데이터는 증가된 부하 조건(예, 직무의 갑작스런 증가로 특성화되는 핸드-그립동안)에서 심근 수축 촉진 및 수축 점증(recruitment)에 대한 긍정적인 작용을 보여준다. 이런 효과는 에너지 대사의 개선 및 수축 단백질의 합성에서 공복 ATPase 활성 요소의 생산으로 시프트(shift) 반전의 통합 작용에 기인할 수 있다.
- <52> 국부적 수축 기능의 연구로부터 유추된 결과는 가역적 만성 수축 기능장애의 확대에서 감소를 보여주는데, 이는 동면 심근에 대한 긍정적인 영향의 표시이다.
- <53> 최종적으로, 본원 발명에 따른 아미노산 혼합물의 투여는 등척성 긴장동안 급성 허혈에 의해 유발된 수축 기능 장애의 확대를 감소시킨다.
- <54> 제시된 상세한 설명으로부터, 본원 발명의 특징 및 이의 장점은 분명하다. 특히, 본원 발명에 따른 아미노산 혼합물의 경구 투여는 당뇨병, 특히 II형 당뇨병 환자의 심실 심근 기능에 긍정적인 영향을 준다. 이런 긍정적인 영향은 심근 동면 현상의 확대 및 등척성 긴장동안 급성 허혈에 의해 유도된 수축 기능장애의 확대를 감소시킴으로써, 휴식기에서 그리고 핸드-그립동안 등척성 긴장에 의해 유발된 급성 과부하에서 분명하고, 또한 산분비 수축 기능에서도 분명하다.
- <55> 따라서, 이런 결과는 아미노산 치료가 당뇨병 환자 개체군에서 이환률과 사망률의 주원인인 심부전의 발생을 지연시키거나 예방함으로써 상기 환자의 자연사(natural history)에 긍정적인 영향을 준다는 것을 입증한다.