

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0002097

(43) 공개일자 2023년01월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 38/06 (2006.01) *A23L 33/18* (2016.01)*A61K 38/08* (2019.01) *A61K 38/10* (2006.01)*A61P 21/00* (2006.01) *A61P 3/04* (2006.01)*C07K 14/00* (2006.01) *C07K 5/08* (2006.01)*C07K 7/06* (2006.01) *C07K 7/08* (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 38/06 (2013.01)*A23L 33/18* (2016.08)

(21) 출원번호 10-2022-0079088

(22) 출원일자 2022년06월28일

심사청구일자 2022년06월28일

(30) 우선권주장

1020210084288 2021년06월28일 대한민국(KR)

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

신민정

서울특별시 강남구 영동대로 230, 3동 101호(대치동, 우성1차아파트)

정인혁

경기도 고양시 덕양구 무원로 63, 1002동 1201호 (행신동, 무원마을10단지아파트)

(74) 대리인

특허법인다나

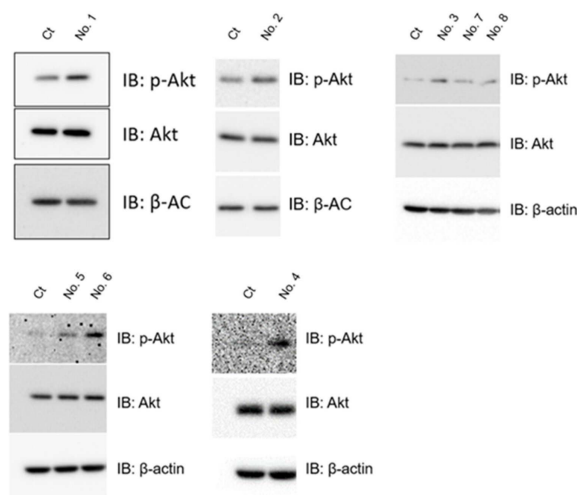
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 비만 및 근감소 억제 활성을 갖는 펩타이드 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 비만 및 근감소 억제 활성을 갖는 펩타이드 및 이의 용도에 관한 것으로 상기 펩타이드는 식욕 억제, 에너지 대사 촉진, 지방 축적 억제 및 지방 분해 촉진 효과가 우수하고, 근육 합성을 촉진하면서 근위축은 억제하므로 비만 및 근감소증의 예방 또는 치료 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도8



(52) CPC특허분류

A61K 38/08 (2021.08)

A61K 38/10 (2013.01)

A61P 21/00 (2018.01)

A61P 3/04 (2018.01)

C07K 14/00 (2013.01)

C07K 5/0802 (2013.01)

C07K 7/06 (2013.01)

C07K 7/08 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 1, 2, 3 및 5로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드는 서열번호 1, 4, 6, 7 또는 8로 표시되는 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드인 것인, 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 펩타이드는 식욕을 억제하는 것인, 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 식욕 억제는 AgRP (agouti-related protein) 또는 NPY (neuropeptide Y)의 발현 억제에 의한 것인, 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 펩타이드는 지방조직 내 열 발생과 에너지 항상성을 활성화시키는 UCP-1(uncoupling protein-1)의 발현을 증가시키는 것인, 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 펩타이드는 지방세포에서 지방 축적을 억제하거나, 지방 분해를 촉진하는 것인, 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 펩타이드는 근육 생합성을 촉진하거나 근위축을 억제하는 것인, 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 8

서열번호 1, 2, 3 및 5로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 개선용 건강 기능성 식품 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드는 서열번호 1, 4, 6, 7 또는 8로 표시되는 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드인 것인, 비만의 예방 또는 개선용 건강 기능성 식품 조성물.

청구항 10

서열번호 1, 2, 3 및 5로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드는 서열번호 1, 4, 6, 7 또는 8로 표시되는 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드인 것인, 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 12

서열번호 1, 2, 3 및 5로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 근감소증의 예방 또는 개선용 건강 기능성 식품 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드는 서열번호 1, 4, 6, 7 또는 8로 표시되는 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드인 것인, 근감소증의 예방 또는 개선용 건강 기능성 식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 비만 및 근감소 억제 활성을 갖는 신규한 펩타이드와 상기 펩타이드의 항비만, 근감소증 억제 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 비만은 내분비적 요인, 유전적 요인, 식습관, 사회 환경적 요인 등에 의해 대사 과정의 불균형이 발생하여 체내에 과잉된 에너지가 지방으로 축적되는 현상이다. 비만은 겉으로 드러나는 숨찬 증상, 관절통 등을 유발하지만 각종 합병증을 유발하는 것이 더 심각하다. 비만으로 인한 합병증에는 심혈관 질환, 고혈압, 수면중 무호흡증, 이상지질혈증 등이 있다. 따라서 세계보건기구에서는 비만을 건강을 해치는 단순 위험인자가 아닌 치료해야 할 질병으로 여기고 있다.

[0004] 한편, 최근에는 비만과 근감소증(sarcopenia)이 같이 나타나는 근감소성 비만 (sarcopenic obesity)의 유병률이 높다. 근감소성 비만은 근육의 단백 대사를 저해하여 근육량의 감소를 야기하고, 또한 인슐린 저항성을 증가시킴으로써 신체 활동의 감소 및 기초대사량이 줄게 되어 다시 체지방량을 증가시키는 방향으로 작용하게 되어 악순환을 야기한다. 근감소성 비만은 근육량과 근기능의 저하로 결국 낙상, 기능장애, 삶의 질 저하, 사망률의 증가와 같은 문제를 야기할 뿐 아니라, 심혈관질환, 대사장애의 위험을 증가시킨다. 그러나 아직까지 근감소성 비만에 대한 치료제는 없는 실정이다.

[0005] 현재 비만 치료제는 작용기전에 따라, 중추 신경계에 작용하여 식욕에 영향을 주는 약제와 위장관에 작용하여 흡수를 저해하는 약제로 분류될 수 있다. 중추 신경계에 작용하는 약물로는 세로토닌 (5-HT) 재흡수를 억제하는 펜플 루라민과 텍스펜플루라민, 노르아드레날린 재흡수를 억제하는 에페드린 및 카페인, 및 최근에는 세로토닌과 노르아드레날린 신경계에 동시 작용하는 시부트라민 등이 있다. 위장관에 작용하여 비만을 저해하는 약물로는, 췌장에서 생성되는 리파아제를 저해하여 지방의 흡수를 줄여줌으로써 비만 치료제로 허가된 오를리스타트 (orlistat)가 있다. 그러나 기존에 사용된 약물 중 식욕억제제인 펜플루라민은 마약 성분으로 분류되었을 뿐 아니라 원발성 폐고혈압이나 심장 판막 병변과 같은 부작용을 일으켜 사용이 금지되었으며, 다른 식욕억제 약물들도 혈압 감소 또는 유산 산증을 발생시킬 수 있어 심부전, 신장 질환 환자에는 사용이 제한되고 있다. 지방 분해 억제제인 오를리스타트도 위장관 부작용을 일으켜 불쾌감을 유발하고 지용성 비타민의 흡수를 저해하며, 미국 FDA에서 장기적 비만 치료를 목적으로 승인 받은 시부트라민은 심계 항진과 같은 심혈관계 질환 또는 현기증 등을 초래하여 시판이 금지되었다.

[0006] 따라서, 상기 약물들의 부작용은 없으면서 보다 근본적으로 비만을 예방 및 억제할 수 있고, 근감소 또한 개선할 수 있는 치료제가 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 1. 대한민국 공개특허 제10-2022-0055887호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위해 것으로서, 본 발명자들은 여러 종의 신규 펩타이드를 발굴하여 이의 식욕 억제 효능, 에너지 대사 촉진 효능, 지방 축적 억제 및 지방 분해 촉진과 같은 항비만 효과를 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.
- [0010] 이에 더하여, 상기 펩타이드가 근육 생합성 촉진 및 근 위축 억제 활성을 나타내므로 근감소성 비만 혹은 근감소증 자체의 치료 용도로도 사용될 수 있음을 확인하였다.
- [0011] 따라서, 본 발명의 목적은 항비만 및 근감소 억제 활성을 갖는 펩타이드, 상기 펩타이드를 포함하는 비만의 예방 또는 치료/개선용 조성물, 근감소증 예방 또는 치료/개선용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0013] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명의 일 양상은 서열번호 1, 2, 3 및 5로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드("항비만 펩타이드")를 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0014] 본 발명에서 사용되는 용어, "예방"은 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 질환의 진행을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0015] 본 발명에서 사용되는 용어, "치료"는 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 질환의 증상이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0016] 본 발명의 일 예에 따르면, 서열번호 1, 4, 6, 7 및 8의 아미노산 서열은 서열번호 1의 서열을 공통으로 포함하며, 서열번호 2, 4, 7 및 8의 아미노산 서열은 서열번호 2의 서열을 공통으로 포함한다. 또한, 서열번호 3, 7 및 8의 서열은 서열번호 3의 서열을 공통으로 포함하며, 서열번호 5, 6의 서열은 서열번호 5의 서열을 공통으로 포함한다.
- [0017] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드는 서열번호 1, 4, 6, 7 또는 8로 표시되는 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드일 수 있다.
- [0018] 또한, 상기 서열번호 2, 3 및 5로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드는 각각 2, 3 및 5로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드일 수 있다.
- [0019] 본 발명의 일 예에 따르면, 상기 약학적 조성물은 서열번호 1 내지 8로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드, 상기 아미노산 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩타이드 또는 그 단편인 펩타이드를 포함할 수 있다.
- [0020] 보다 구체적으로 본 명세서에 개시된 펩타이드는 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩타이드를 포함할 수 있다. 또한, 본 명세서에 개시된 펩타이드는, 서열번호 1 내지 8로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드 또는 그 단편들과 1개 이상의 아미노산, 2개 이상의 아미노산, 3개 이상의 아미노산, 4개 이상의 아미노산, 5개 이상의 아미노산, 6개 이상의 아미노산 또는 7개 이상의 아미노산이 변환된 펩타이드를 포함할 수 있다.
- [0021] 본 발명의 일 측면에서, 아미노산 변화는 펩타이드의 물리화학적 특성이 변경되도록 하는 성질에 속한다. 예를 들어, 펩타이드의 열안정성을 향상시키고, 기질 특이성을 변경시키고, 최적의 pH를 변화시키는 등의 아미노산 변화가 수행될 수 있다.
- [0022] 본 명세서에서 "아미노산"이라 함은 자연적으로 펩타이드로 통합되는 22개의 표준 아미노산을 뿐만 아니라 D-아미노산 및 변형된 아미노산들을 포함한다. 이에 따라, 본 발명의 일 측면에서 펩타이드는 D-아미노산을 포함하는 펩타이드일 수 있다. 한편, 본 발명의 다른 측면에서 펩타이드는 번역 후 변형(post-translational

modification)된 비표준 아미노산 등을 포함할 수 있다. 번역 후 변형의 예는 인산화(phosphorylation), 당화(glycosylation), 아실화(acylation) (예컨대, 아세틸화(acetylation), 미리스토일화(myristoylation) 및 팔미토일화 (palmitoylation)를 포함), 알킬화(alkylation), 카르복실화(carboxylation), 히드록실화(hydroxylation), 당화반응(glycation), 비오틴닐화(biotinylation), 유비퀴티닐화(ubiquitinylation), 화학적 성질의 변화(예컨대, 베타-제거 탈아미드화, 탈아미드화) 및 구조적 변화(예컨대, 이황화물 브릿지의 형성)를 포함한다. 또한, 펩타이드 컨쥬게이트를 형성하기 위한 가교제(crosslinker)들과의 결합과정에서 일어나는 화학 반응들에 의해 생기는 아미노산의 변화, 예컨대 아미노기, 카르복시기 또는 사이드 체인에서의 변화와 같은 아미노산의 변화를 포함한다.

[0023] 본 명세서에 개시된 펩타이드는 자연 그대로의 공급원으로부터 동정 및 분리된 야생형 펩타이드일 수 있다. 한편, 본 명세서에 개시된 펩타이드는 서열번호 1 내지 8로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드와 비교하여 하나 이상의 아미노산이 치환, 결실 및/또는 삽입된 아미노산 서열을 포함하는, 인공 변이체일 수 있다. 인공 변이체에서뿐만 아니라 야생형 폴리펩타이드에서의 아미노산 변화는 단백질의 폴딩(folding) 및/또는 활성에 유의한 영향을 미치지 않는 보존성 아미노산 치환을 포함한다. 보존성 치환의 예들은 염기성 아미노산(아르기닌, 리신 및 히스티딘), 산성 아미노산(글루탐산 및 아스파르트산), 극성 아미노산(글루타민 및 아스파라긴), 소수성 아미노산(루신, 이소로이신, 발린 및 메티오닌), 방향족 아미노산(페닐알라닌, 트립토판 및 티로신), 및 작은 아미노산(글리신, 알라닌, 세린 및 트레오닌)의 군의 범위 내에 있다. 일반적으로 특이적 활성을 변경시키지 않는 아미노산 치환이 본 분야에 공지되어있다. 가장 흔하게 발생하는 교환은 Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, 및 Asp/Gly, 그리고 이들과 반대인 것들이다.

[0024] 펩타이드의 생물학적 특성에 있어서의 실제적인 변형은 (a) 치환 영역 내의 폴리펩타이드 골격의 구조, 예를 들면 시트 또는 나선 입체 구조를 유지하는데 있어서의 이들의 효과, (b) 표적 부위에서의 상기 분자의 전하 또는 소수성을 유지하는데 있어서의 이들의 효과, 또는 (c) 측쇄의 벌크를 유지하는데 있어서의 이들의 효과가 상당히 상이한 치환부를 선택함으로써 수행된다. 천연 잔기는 통상의 측쇄 특성에 기준하여 다음 그룹으로 구분된다:

[0025] (1) 소수성: 노르류이신, met, ala, val, leu, ile;

[0026] (2) 중성 친수성: cys, ser, thr;

[0027] (3) 산성: asp, glu;

[0028] (4) 염기성: asn, gln, his, lys, arg;

[0029] (5) 쇠 배향에 영향을 미치는 잔기: gly, pro; 및

[0030] (6) 방향족: trp, tyr, phe.

[0031] 비-보존적 치환은 이들 부류 중의 하나의 구성원을 또다른 부류로 교환함으로써 이루어질 것이다. 펩타이드의 적당한 입체 구조를 유지하는 것과 관련이 없는 어떠한 시스테인 잔기도 일반적으로 세린으로 치환되어 상기 분자의 산화적 안정성을 향상시키고 이상한 가교결합을 방지할 수 있다. 역으로 말하면, 시스테인 결합(들)을 상기 펩타이드에 가하여 그의 안정성을 향상시킬 수 있다.

[0032] 펩타이드의 다른 유형의 아미노산 변이체는 글리코실화 패턴이 변화된 것이다. 변화란 의미는 펩타이드에서 발견된 하나 이상의 탄수화물 잔기의 결실 및/또는 펩타이드 내에 존재하지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위의 부가를 나타낸다.

[0033] 펩타이드의 글리코실화는 전형적으로 N-연결되거나 O-연결된 것이다. N-연결된이란 탄수화물 잔기가 아스파라긴 잔기의 측쇄에 부착된 것을 말한다. 트리펩타이드 서열 아스파라긴-X-세린 및 아스파라긴-X-트레오닌 (여기서, X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산임)은 탄수화물 잔기를 아스파라긴 측쇄에 효소적 부착시키기 위한 인식 서열이다. 따라서, 이들 트리펩타이드 서열 중의 하나가 폴리펩타이드에 존재함으로써, 잠재적인 글리코실화 부위가 생성된다. O-연결된 글리코실화는 당 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스 또는 크실로스 중의 하나를 히드록시아미노산, 가장 통상적으로는 세린 또는 트레오닌에 부착시키는 것을 의미하지만, 5-히드록시프롤린 또는 5-히드록시리신을 사용할 수도 있다.

[0034] 펩타이드로의 글리코실화 부위의 부가는 하나 이상의 상기 언급된 트리펩타이드 서열을 함유하도록 아미노산 서열을 변화시킴으로써 편리하게 수행된다 (N-연결된 글리코실화 부위의 경우). 이러한 변화는 하나 이상의 세린

또는 트레오닌 잔기를 최초 항체의 서열에 부가하거나 이들 잔기로 치환함으로써 이루어질 수도 있다 (0-연결된 글리코실화 부위의 경우).

- [0035] 본 발명의 일 예에 따른 약학적 조성물은 인간, 개, 닭, 돼지, 소, 양, 기니아피그 또는 원숭이를 포함하는 모든 동물에 적용될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 일 예에 따른 약학적 조성물은 필요에 따라 희석제, 부형제, 활택제, 결합제, 봉해제, 완충제, 분산제, 계면 활성제, 착색제, 향료 또는 감미제 등의 첨가제를 포함할 수 있다. 본 발명의 일 예에 따른 약학적 조성물은 당업계의 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0037] 본 발명에서, 상기 약학 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.
- [0038] 본 발명의 일 예에 따른 약학적 조성물은 경구, 직장, 경피, 정맥 내, 근육 내, 복강 내, 골수 내, 경막 내 또는 피하 등으로 투여될 수 있다.
- [0039] 경구 투여를 위한 제형은 정제, 환제, 연질 또는 경질 캡슐제, 과립제, 산제, 액제 또는 유탁제일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 비경구 투여를 위한 제형은 주사제, 점적제, 겔, 현탁제, 유제, 좌제, 패취 또는 분무제일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0040] 상기 약학적 조성물은 멸균 주사용 수성 또는 유성 현탁액으로서 멸균 주사용 제제의 형태일 수 있다. 이 현탁액은 적합한 분산제 또는 습윤제(예, 트윈80) 및 현탁화제를 사용하여 본 분야에 공지된 기술에 따라 제형될 수 있다. 멸균 주사용 제제는 또한 무독성의 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매중의 멸균 주사용액 또는 현탁액(예, 1,3-부탄디올중의 용액)일 수 있다. 허용적으로 사용될 수 있는 비히클 및 용매로는 만니톨, 물, 링겔 용액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 멸균 불휘발성 오일이 통상적으로 용매 또는 현탁화 매질로서 사용된다. 이러한 목적을 위해, 합성 모노 또는 디글리세라이드를 포함하여 자극성이 적은 어떠한 불휘발성 오일도 사용할 수 있다. 올레산 및 이의 글리세라이드 유도체와 같은 지방산이 약제학적으로 허용되는 천연오일(예, 올리브유 또는 피마자유), 특히 이들의 폴리옥시에틸화된 것과 마찬가지로 주사 제제에 유용하다.
- [0041] 본 발명에 따른 약학적 조성물의 비경구 투여는 목적하는 치료가 국소 적용으로 접근이 용이한 부위 또는 기관과 관련이 있을 때 특히 유용하다. 본 발명의 조성물을 국소 투여하기 위한 담체로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 광유, 유동 파라핀, 백색 와셀린, 프로필렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌, 폴리옥시프로필렌 화합물, 유화 왁스 및 물이 포함된다.
- [0042] 본 발명에 따른 약학적 조성물의 유효 성분은 투여 받을 대상의 연령, 성별, 체중, 병리 상태 및 그 심각도, 투여 경로 또는 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 적용량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 이의 1일 투여 용량은 예를 들어 10 ng/kg/일 내지 10 mg/kg/일, 구체적으로는 0.1 μ g/kg/일 내지 1mg/kg/일, 더 구체적으로는 1 μ g/kg/일 내지 100 μ g/kg/일, 보다 더 구체적으로는 2 μ g/kg/일 내지 50 μ g/kg/일이 될 수 있으나, 용량에 따른 효과의 차이를 보이는 경우 이를 적절히 조절할 수 있다. 본 발명의 일 예에 따른 약학적 조성물은 1일 1회 내지 3회 투여될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0044] 본 발명의 다른 양상은 서열번호 1 내지 14로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드를 제공한다.
- [0045] 본 발명의 일 예에 따르면, 서열번호 1, 4, 6, 7 및 8의 아미노산 서열은 서열번호 1의 서열을 공통으로 포함하며, 서열번호 2, 4, 7 및 8의 아미노산 서열은 서열번호 2의 서열을 공통으로 포함한다. 또한, 서열번호 3, 7 및 8의 서열은 서열번호 3의 서열을 공통으로 포함한다. 서열번호 5와 6의 서열은 서열번호 5의 서열을 공통으로 포함한다.
- [0046] 서열번호 1 내지 8의 서열은 인간 유래 서열로 상응하는 마우스 서열은 다음 표 1과 같다.

표 1

[0047]

인간 서열의 서열번호	펩타이드 서열 (마우스)	마우스 서열의 서열번호
1	YFR	-
2	EKAEEDR	9
3	REAGGAFGKR	-
4	EKAEEDRYFR	10
5	EKTKEQLAALRKHH	11
6	YFREKTKEQLAALRKHH	12
7	AGSIREAGGAFGKREKAEDRYFR	13
8	MDTGAGSIREAGGAFGKREKAEDRYFR	14

[0049]

상기 표 1에서 볼 수 있듯이, 서열번호 1의 서열은 인간과 마우스가 동일하며 서열번호 1의 서열은 서열번호 10, 12-14의 서열에도 포함된다. 또한, 서열번호 9의 서열은 서열번호 10, 13 및 14의 서열에 포함된다. 서열번호 10의 서열은 서열번호 13 및 14의 서열에 포함되며, 서열번호 11의 서열은 서열번호 12에 포함된다. 한편, 서열번호 3의 서열도 인간과 마우스가 동일하다.

[0051]

본 발명의 다른 양상은 서열번호 1, 2, 3 및 5로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 또는 개선용 건강 기능성 식품 조성물을 제공한다.

[0052]

본 발명에서 사용되는 용어, "개선"은 대사 질환이 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[0053]

상기 건강 기능성 식품 조성물에서 펩타이드와 관련한 내용은 전술한 바와 동일하므로, 중복된 내용에 대해서는 기술을 생략한다.

[0054]

본 발명의 일 예에 따른 식품 조성물의 제형은 특별히 한정되지 않으나, 예를 들어, 정제, 과립제, 분말제, 액제, 고형 제제 등으로 제형화될 수 있다. 각 제형은 유효 성분 이외에 해당 분야에서 통상적으로 사용되는 성분들을 제형 또는 사용 목적에 따라 당업자가 어려움 없이 적의 선정하여 배합할 수 있으며, 다른 원료와 동시에 적용할 경우 상승 효과가 일어날 수 있다.

[0055]

본 명세서에서 사용된 용어들은 특정 구체예들을 설명하기 위한 목적으로만 의도된 것이지 본 발명을 한정하고자 하는 의도가 아니다. 명사 앞에 개수가 생략된 용어는 수량을 제한하고자 하는 것이 아니라 언급된 명사 물품이 하나 이상 존재하는 것을 나타내는 것이다. 용어 "포함하는", "갖는", 및 "함유하는"은 열린 용어로 해석된다 (즉, "포함하지만 이에 한정되지는 않는"의 의미).

[0056]

수치의 범위를 언급하는 것은 단지 그 범위 내에 속하는 각각의 별개의 수치들을 개별적으로 언급하는 것을 대신하는 쉬운 방법이기 때문이며, 그것이 아님이 명시되어 있지 않는, 각 별개의 수치는 마치 개별적으로 명세서에 언급되어 있는 것처럼 본 명세서에 통합된다. 모든 범위의 끝 값들은 그 범위 내에 포함되며 독립적으로 조합 가능하다.

[0057]

본 명세서에 언급된 모든 방법들은 달리 명시되어 있거나 문맥에 의해 명백히 모순되지 않는 한 적절한 순서로 수행될 수 있다. 어느 한 실시예 및 모든 실시예 또는 예시적 언어 (예컨대, "~과 같은")를 사용하는 것은, 청구범위에 포함되어 있지 않는 한, 단지 본 발명을 더 잘 기술하기 위함이지 본 발명의 범위를 제한하고자 함이 아니다. 명세서의 어떤 언어도 어떤 비청구된 구성요소를 본 발명의 실시예 필수적인 것으로 해석되어서는 아니된다. 다른 정의가 없는 한, 본 명세서에 사용되는 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 갖는 사람에 의해 통상 이해되는 것과 같은 의미를 갖는다.

[0059]

본 발명자들은 항비만 펩타이드를 지방세포에 처리한 결과 에너지 대사가 촉진되며, 이는 FABP4 (fatty acid binding protein 4)와 LPL (lipoprotein lipase), HSL (hormone-sensitive lipase) 유전자의 발현 억제에 의해 이루어지는 것을 확인하였다.

[0060] 이외에도 항비만 펩타이드는 시상하부세포에서 식욕을 촉진하는 펩타이드인 AgRP (agouti-related protein) 및 NPY (neuropeptide Y)의 발현을 억제하여 식욕을 억제할 수 있다. 또한, 당뇨로 유도된 체중 증가 마우스 모델에서는 체중 증가를 억제한다.

[0061] 한편, 상기 항비만 펩타이드는 Akt (도 8), S6 (도 9) 및 FoxO1 (도 10) 단백질의 인산화를 증가시켜 근육 생합성을 촉진하는 동시에 근 위축을 억제할 수 있으므로 근감소증 비만 및 근감소증 치료 용도로 사용될 수 있다.

[0063] 따라서, 본 발명의 다른 양상은 서열번호 1, 2, 3 및 5로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 근감소증의 예방 또는 개선용 건강 기능성 식품 조성물을 제공한다.

[0064] 상기 근감소증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 근감소증의 예방 또는 개선용 건강 기능성 식품 조성물에서 펩타이드, 약학적 조성물 및 건강 기능성 식품 조성물과 관련한 내용은 전술한 바와 동일하므로, 중복된 내용에 대해서는 기술을 생략한다.

발명의 효과

[0066] 본 발명의 일 예에 따른 펩타이드는 식욕 억제, 에너지 대사 촉진, 지방 축적 억제 및 지방 분해 촉진 효과가 우수하고, 근육 생합성을 촉진하는 동시에 근 위축을 억제할 수 있으므로 비만 및 근감소증의 예방 또는 치료 용도로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0068] 도 1은 지방세포(3T3-L1 adipocyte)에서 펩타이드 (No. 1, 2, 3, 5 및 8) 처리에 따른 UCP-1 단백질의 변화를 확인한 것이다.

도 2는 지방세포(3T3-L1 adipocyte)에서 펩타이드 (No. 1, 3, 4, 5 및 6) 처리에 따른 ACC 단백질의 인산화 수준 변화를 확인한 것이다.

도 3은 지방세포(3T3-L1 adipocyte)에서 펩타이드 (No. 3, 5 및 8) 처리에 따른 지질대사 관련 유전자의 발현 변화를 확인한 것이다 (* $p < 0.05$, 및 *** $p < 0.001$ compared with control).

도 4는 지방세포(3T3-L1 adipocyte)에서 펩타이드 (No. 3, 5 및 8) 처리에 따른 지방구 크기, 세포당 지방구 총 면적, 각 세포별 가장 큰 지방구 직경의 변화를 정량하여 비교한 것이다 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, 및 *** $p < 0.001$ compared with control).

도 5는 N41 신경세포에서 펩타이드 (No. 1, 2, 4, 5, 6, 7 및 8) 처리에 따른 식욕촉진 인자인 Agrp와 NPY의 발현 변화를 확인한 것이다 (* $p < 0.05$ compared with control).

도 6은 고지방식으로 유도된 체중 증가 마우스 모델에서 펩타이드 (No. 7 및 8) 처리에 따른 체중 (A), 체중 증가량 (B) 및 식이섭취량(C) 변화를 비교한 것이다 (* $p < 0.05$ compared with control).

도 7은 당뇨로 유도된 체중 증가 마우스 모델에서 펩타이드 (No. 7 및 8) 처리에 따른 지방조직 내 UCP-1의 발현량 변화를 정량하여 나타낸 결과이다 (* $p < 0.05$ compared with control).

도 8은 근육세포 (L6 skeletal muscle cell line)에서 펩타이드 (No. 1 내지 8) 처리에 따른 Akt의 인산화 변화를 관찰한 것이다.

도 9는 근육세포 (L6 skeletal muscle cell line)에서 펩타이드 (No. 3, 6 및 7) 처리에 따른 S6의 인산화 변화를 관찰한 것이다.

도 10은 근육세포 (L6 skeletal muscle cell line)에서 펩타이드 (No. 1 내지 8) 처리에 따른 FoxO1의 인산화 변화를 관찰한 것이다.

도 11은 당뇨로 유도된 체중 증가 마우스 모델에서 펩타이드 (No. 7 및 8) 처리에 따른 근육량 변화를 나타낸다

(* p<0.05 compared with control).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하 하나 이상의 구체예를 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 하나 이상의 구체예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

펩타이드

본 발명에서 사용한 항비만 펩타이드를 하기 표 2에 기재하였다.

표 2

	펩타이드 서열	서열번호
No. 1	YFR	1
No. 2	EQAEER	2
No. 3	REAGGAFGKR	3
No. 4	EQAEERYFR	4
No. 5	AQSREQLAALKK	5
No. 6	YFRAQSREQLAALKKHH	6
No. 7	AGSIREAGGAFGKREAEERYFR	7
No. 8	VDRGAGSIREAGGAFGKREAEERYFR	8

실시예 1: 지방세포에서의 에너지 대사 촉진 및 지질 대사 개선 효과 검증

본 발명의 항비만 펩타이드가 UCP-1 (uncoupling protein-1) 발현 및 Acc α (Acetyl-CoA carboxylase α) 단백질의 인산화에 미치는 영향을 다음과 같이 확인하였다. UCP-1은 발열 (thermogenesis), 갈색지방화 (browning effect)와 같이 에너지 대사 촉진에 주요한 역할을 하며, Acc α는 UCP-1에 반응하여 에너지 저장 및 소비에 관여한다.

지방전구 세포인 3T3-L1 세포를 지방세포로 분화시키기 위하여 6-웰 플레이트에 접종한 후, 10% FBS, 10 μg/ml 인슐린, 1 μM 덤사메타손 (dexamethasone) 및 0.5 mM IBMX (isobutylmethylxanthin)를 포함하는 배지로 2일 동안 배양하여 1차 분화를 유도하였다. 이후 10% FBS와 10 μg/ml 인슐린을 포함하는 배지로 2일에 한번 배지를 갈아주며 4일 동안 유지하여 2차 분화를 유도하였다. 2차 분화 후에 각 펩타이드를 100 nM로 처리하여 36시간 동안 배양하였다. 세포에서 단백질을 취하고, 웨스턴 블롯으로 UCP-1의 발현 변화 및 Acc α의 인산화 변화를 확인하였다.

확인 결과 펩타이드 처리에 의해 UCP-1의 발현은 증가하고 (도 1), ACC α의 인산화 역시 증가되는 것(도 2)을 확인하여 본 발명의 펩타이드가 에너지 대사를 촉진한다는 것을 알 수 있었다.

한편, 지방세포에서 에너지 대사 촉진은 지방산 산화 및 지방 분해로 이어지므로 관련 유전자인 FABP4 (fatty acid binding protein 4)와 LPL (lipoprotein lipase), HSL (hormone-sensitive lipase)의 발현량을 펩타이드 처리 (100 nM, 24 시간) 이후 RT-PCR로 확인하였다.

그 결과, 지질 저장을 유도하고 분해를 억제하는 FABP4의 발현량이 감소하였으며, 조직 및 세포 내로 지질 운반을 유도하는 LPL의 발현량도 감소하였다. 반면, 중성 지방의 분해를 촉진하는 HSL의 발현량은 증가하였다 (도 3). 상기 결과를 통해 본 발명의 펩타이드가 지방의 지질 대사를 개선하는 것을 확인하였다.

실제 지방 세포에 있어 에너지 대사와 지질 대사에 따른 변화를 관찰하고자, 분화된 3T3-L1 지방세포에 펩타이드를 100 nM 농도로 24시간 동안 처리하고, 후 Bodipy 염색을 진행하였다. 공초점 현미경으로 형광 이미지를 취득, 신호를 분석하여 지방구 (Lipid droplet, LD)의 변화를 확인하였다.

[0084] 확인 결과, 지방구의 크기, 최대 직경, 세포별 면적이 모두 감소하여 본 발명의 펩타이드가 지질 대사를 개선하는 것을 더욱 검증하였다 (도 4).

[0086] 실시예 2: 신경 세포에서의 식욕 억제 효과 검증

[0087] 본 발명의 항비만 펩타이드가 체중 증가에 직결되는 요인인 식욕 관련 인자에 미치는 영향을 확인하였다.

[0088] 신경세포 (N41 mHyopE hypothalamus cell line)를 배양한 후 펩타이드를 100 nM 농도로 처리하여 24시간 동안 추가로 배양하였다. 이후 세포를 회수하여 시상하부에서 발현, 식욕을 촉진하는 것으로 알려진 AgRP (agouti-related peptide)와 NPY (Neuropeptide Y) 인자의 발현 변화를 RT-PCR로 확인하였다.

[0089] 확인 결과, 펩타이드 처리에 의해 AgRP와 NPY의 발현이 유의미하게 감소하는 것을 알 수 있었다 (도 5).

[0091] 실시예 3: 체중 증가 마우스 모델 분석

[0092] 3-1. 비만 마우스 모델 구축

[0093] C57BL/6N 5주령 수컷을 오리엔트 바이오에서 분양받아 1주간 보통식이를 제공하여 적응기간을 거친 이후 사용하였다. 사육환경은 18~24℃, 50~60%의 습도를 유지하였으며 적응기간 및 실험기간 모두 사료와 물에 자유롭게 접근이 가능한 자유급식을 이행하였다. 1주간의 적응기를 거친 마우스는 내당능 장애를 유도하기 위하여 고지방식이를 통해 비만을 유도하였다. 정상식이와 고지방식이는 하기 표 3과 같이 제조하여 제공하였다.

표 3

정상 (ND; Normal Diet) 및 고지방식이 (HFD; 40% High Fat Diet) 조성표

Ingredients	ND (g)	HFD (g)
corn starch	15	15
Casein	20	20
Sucrose	50	34
corn oil	5	3
Mineral mix	3.5	3.5
Vitamin mix	1	1
Cellulose	5	5
DL-methionine	0.3	0.3
choline bitartrate	0.2	0.2
Lard		17
Cholesterol		1
BHT	0.001	0.001
Total	100 (g)	100 (g)

[0094]

[0095] 적응기를 마친 마우스는 대조군(Control) 및 펩타이드 처리군으로 구분하였다. 대조군에는 PBS를, 펩타이드 처리군에는 No. 7 또는 8의 펩타이드(2.5 mg/kg)를 총 24일간 매일 복강에 주사하였다.

[0096] 시험 기간 동안의 식이 섭취량 및 체중 변화를 관찰한 결과, 대조군과 비교하여 펩타이드 투여군에서 유의미한 체중 감소 효과를 확인하였다 (도 6A). 초기 체중으로부터의 체중 증가분 또한 펩타이드 투여군에서 유의미하게 감소하였으며 (도 6B), 식이섭취량을 최종 비교한 결과 유의미한 식이섭취량의 감소를 확인하여 (도 6C) 각 펩타이드의 항비만 효과를 검증하였다.

[0098] 3-2. 당뇨 마우스 모델 구축

[0099] 렙틴(leptin) 수용체의 결함으로 당뇨병이 유도되는 동물 모델에 체중 증가를 유도하여 펩타이드의 비만 개선 효과를 확인하였다. 구체적으로 C57BLKS / J-db / db 5주령 수컷 마우스를 중앙실험동물에서 분양 받아 1주간 보

통식이를 제공하여 적응기간을 거친 이후 사용하였다. 사육환경은 18~24℃, 50~60%의 습도를 유지하였으며 적응기간 및 실험기간 모두 정상 사료와 물에 자유롭게 접근이 가능한 자유급식을 이행하였다.

[0100] 적응기를 마친 마우스는 대조군(Control) 및 펩타이드 처리군으로 구분하였다. 대조군에는 PBS를, 펩타이드 처리군에는 No. 7 또는 8의 펩타이드(2.5 mg/kg)를 총 8주 동안 매일 복강에 주사하였다.

[0101] 해당 마우스 모델로부터 펩타이드의 항비만 효과를 보다 자세히 관찰하고자, 분리한 지방 조직에서 UCP-1의 발현 변화를 조직 염색으로 확인하였다. 그 결과 세포 수준에서 확인한 결과(도 1)와 마찬가지로 펩타이드 처리에 의해 지방 조직 내 UCP-1 발현이 유의미하게 증가한 것을 관찰하여 생체 시스템에서의 에너지 대사 촉진 작용을 확인하였다 (도 7).

[0103] 실시예 4: 근육 생합성과 근위축 억제 효능 검증

[0104] 본 발명의 펩타이드가 근육에 미치는 영향을 확인하였다. L6 골격근 세포 (skeletal muscle cell)를 6-웰 플레이트에서 배양한 후, 0.5% FBS로 starvation시켰다. 이후 각 펩타이드를 100 nM 농도로 1시간 동안 처리하고 단백질을 회수한 후 웨스턴 블롯을 수행하였다.

[0105] 수행 결과, 근육 생합성의 주요한 지표로 세포 신호경로를 활성화하는 것으로 알려진 Akt (도 8) 및 S6 (No 3, 6, 7, 도 9)단백질의 인산화가 펩타이드에 의해 증가하는 것을 관찰하여 근육 생합성 촉진 효능을 확인할 수 있었으며 근 위축을 억제하는 것으로 알려진 FoxO1 (도 10)의 인산화를 관찰하여 더욱 근 감소증에 대한 본 발명의 효능을 검증하였다. 이 때, S6 단백질의 인산화는 펩타이드 No. 1에 의해 188%, No. 2에 의해 365%, No. 4에 의해 224%, No. 5에 의해 494%, No. 8에 의해 414% 증가하였다. 또한, No. 1의 펩타이드는 FoxO1의 인산화를 증가시키는 동시에 total FoxO1의 발현량 역시 감소시켰다.

[0107] 또한, 실시예 3-2로부터 얻어진 마우스 모델의 근육 조직을 살펴본 결과 근육량이 증가한 것을 알 수 있었다 (도 11). RT-PCR을 수행한 결과, No. 7 또는 8의 펩타이드 처리에 의해 지질 축적에 연관된 AP2 (adipocyte protein 2) 및 C/EBP α (CCAAT enhancer binding protein α) 유전자의 발현은 감소하고, 지방산 산화에 연관된 PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptor α) 유전자의 발현은 증가하는 것을 확인하였다. 또한, 근감소 및 근위축에 기여하는 Murf-1 (Muscle RING Finger-1) 유전자의 감소를 확인하여 근 감소 개선 효과를 더욱 검증하였다 (표 4).

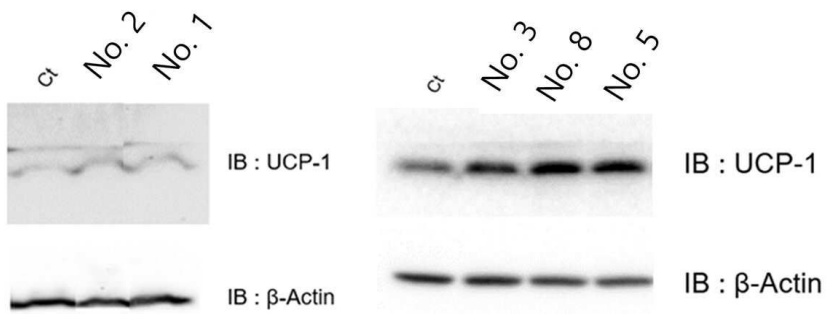
표 4

항목 / 물질	No. 7	No. 8
AP2	-52.5 %	-54.7 %
PPAR α	+94.1 %	+12.9 %
C/EBP α	-18.6 %	-45.5 %
Murf-1	-90.1 %	-36.0 %

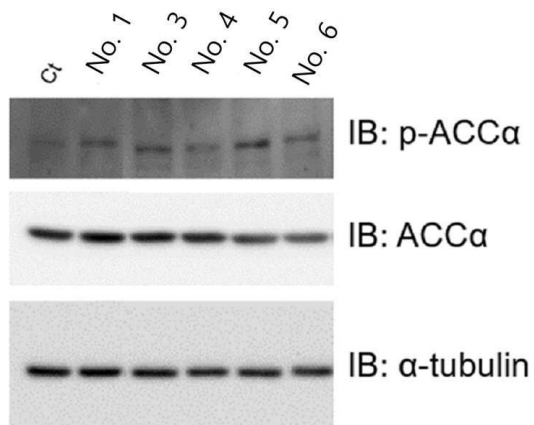
[0110] 지금까지의 결과들을 통하여 본 발명의 펩타이드는 항비만 및 근감소 개선 효과가 있음을 확인하였다.

도면

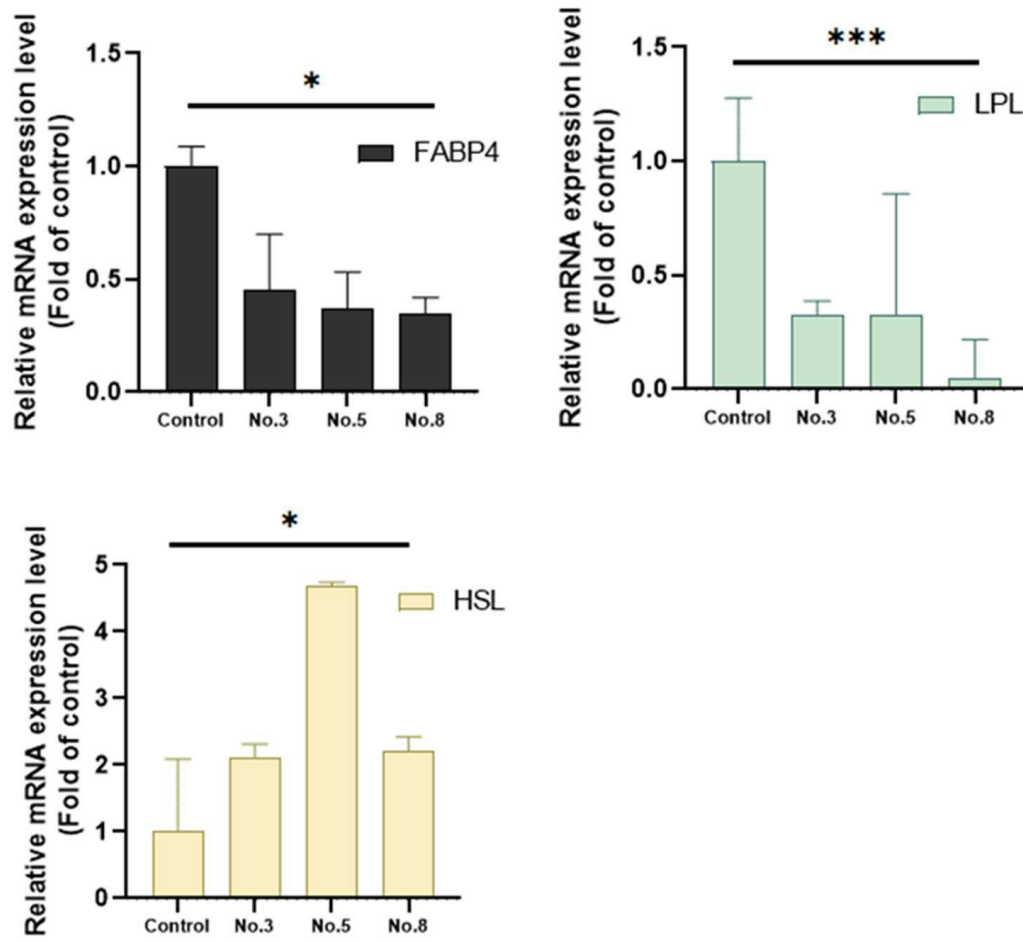
도면1



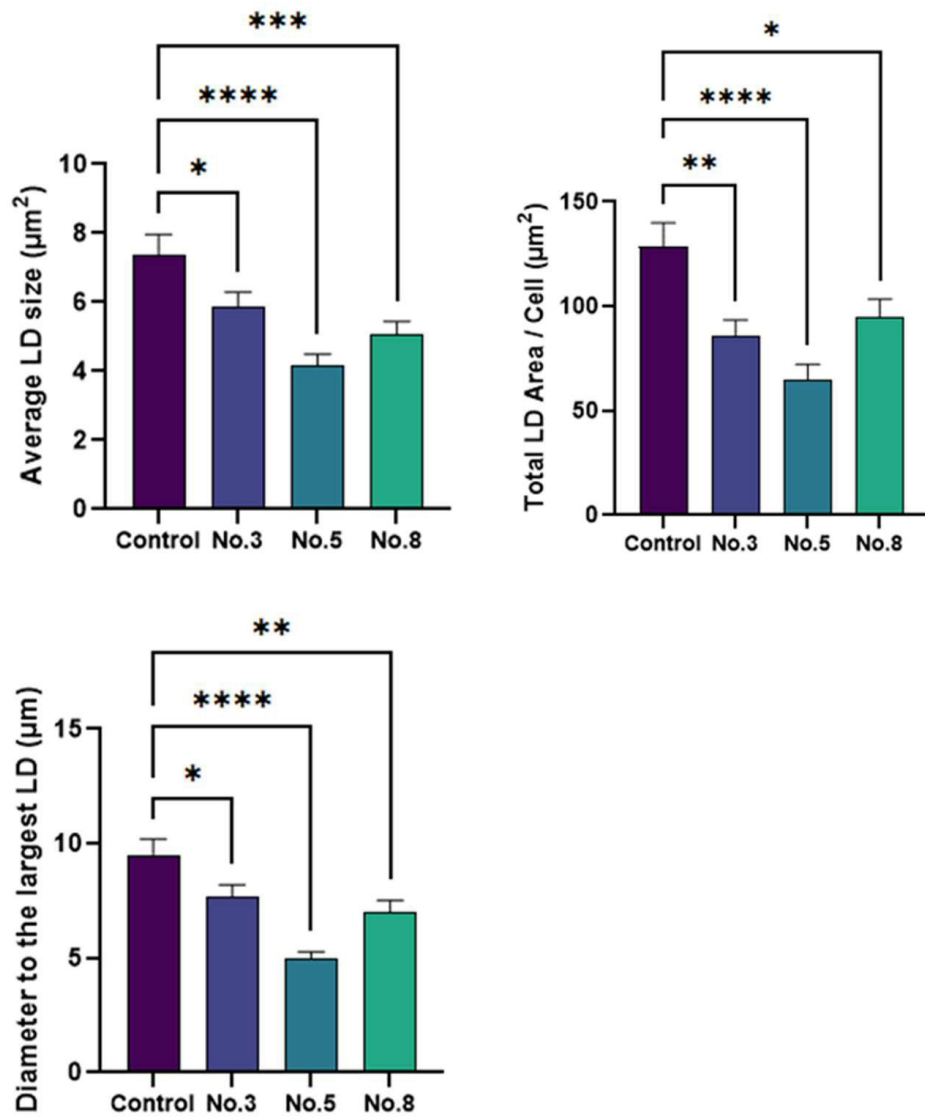
도면2



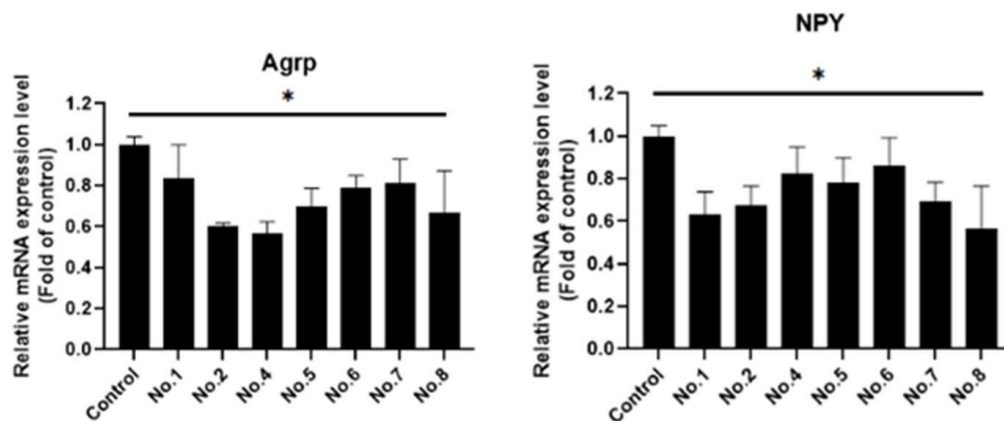
도면3



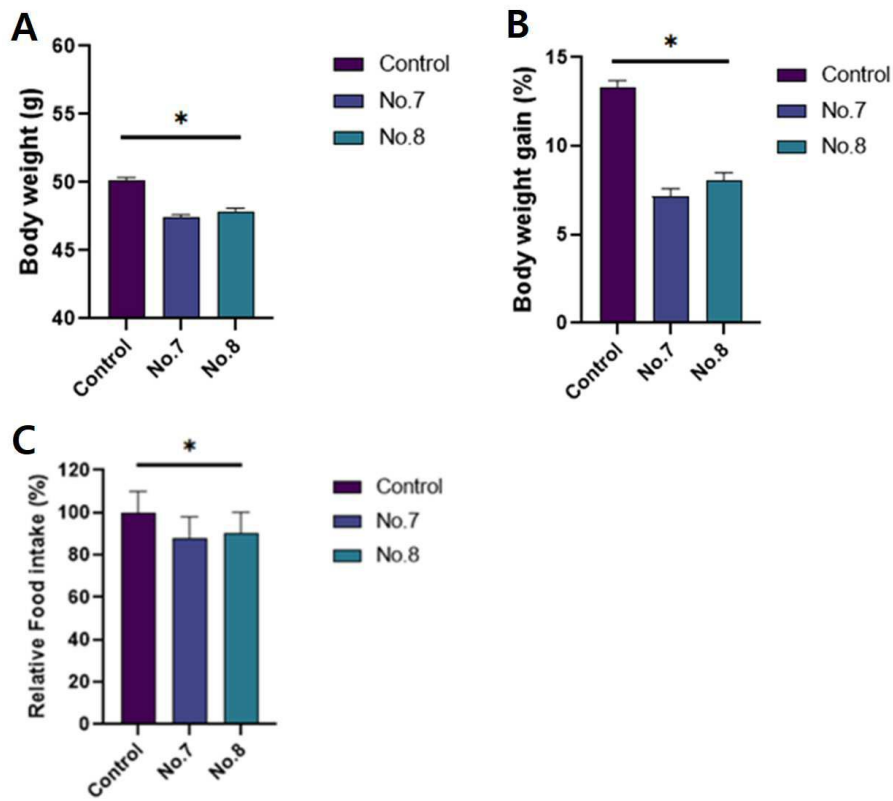
도면4



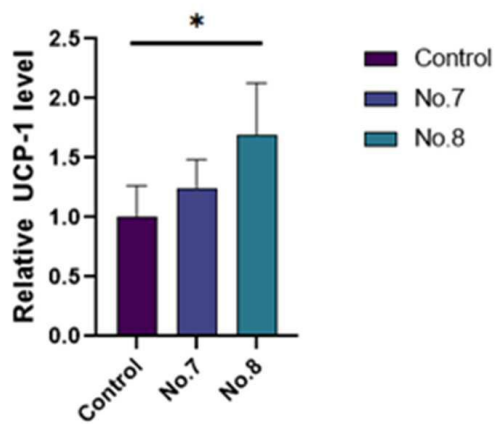
도면5



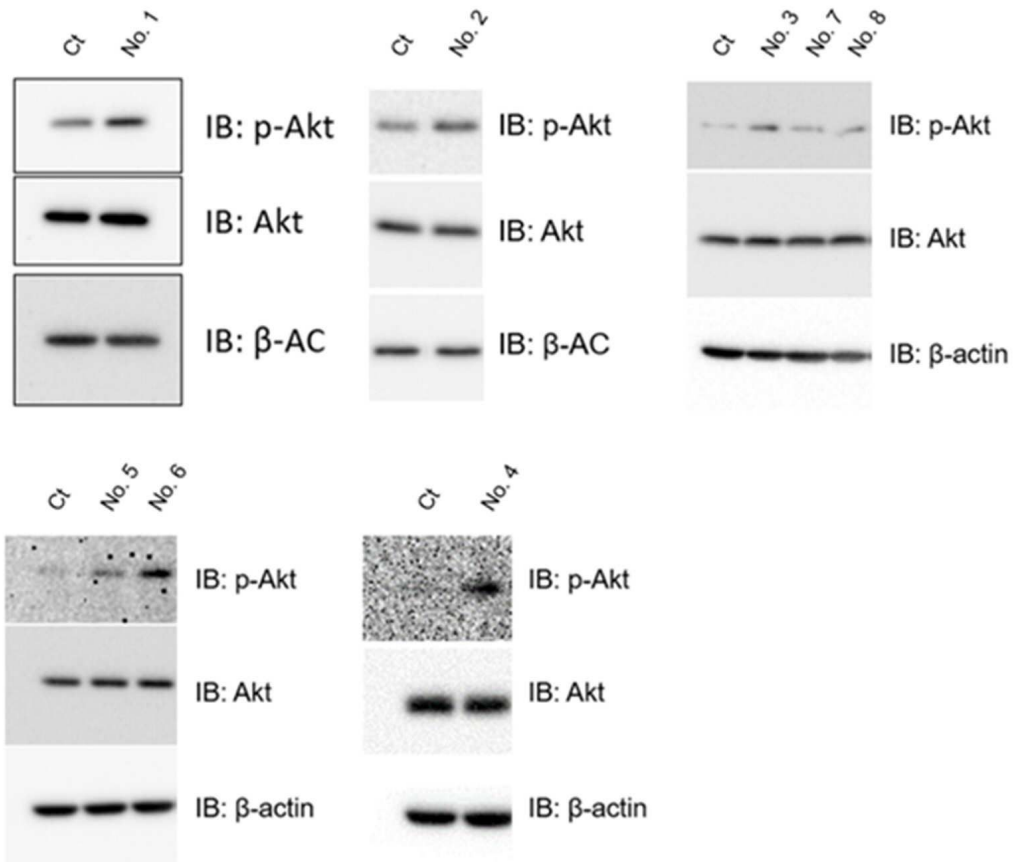
도면6



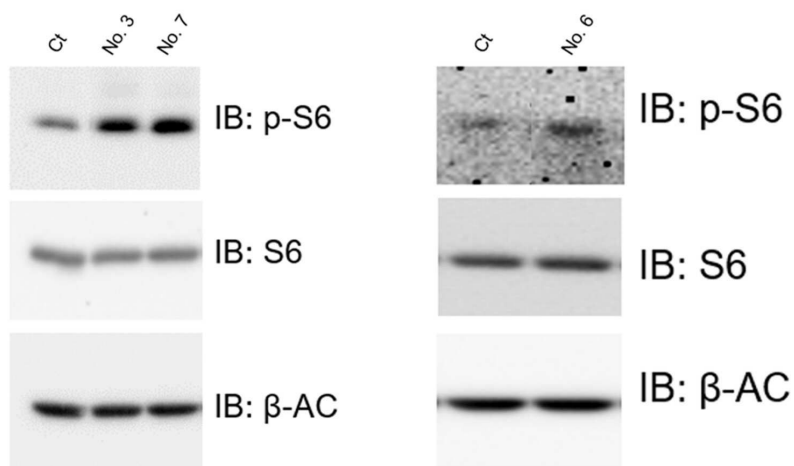
도면7



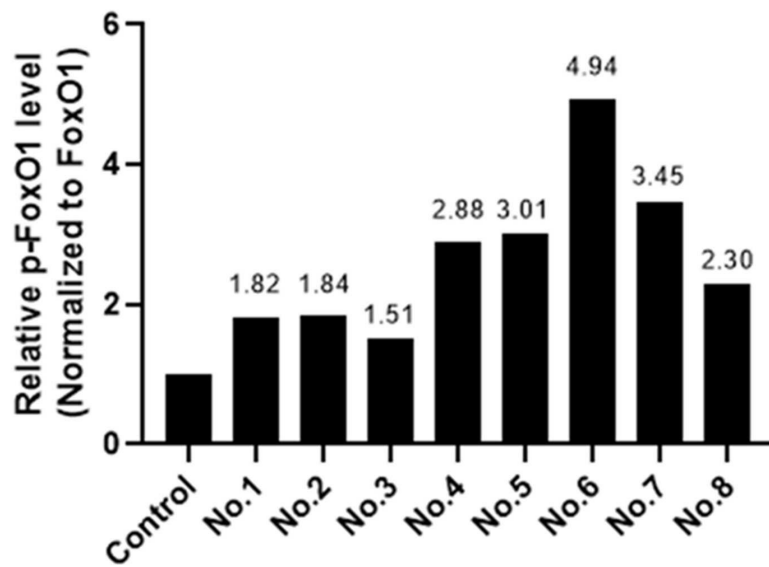
도면8



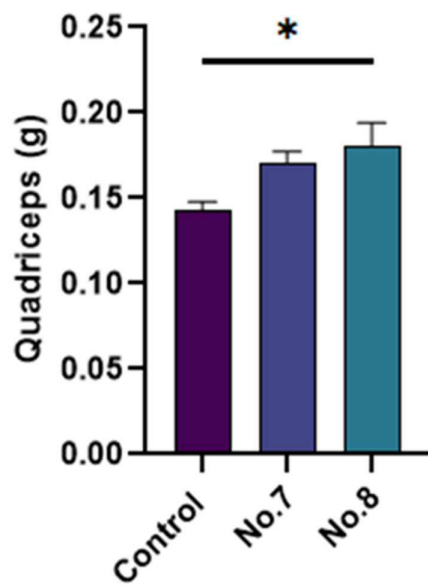
도면9



도면10



도면11



서 열 목 록

- <110> Korea University Research and Business Foundation
- <120> PEPTIDES HAVING ANTI-OBESITY AND MUSCLE LOSS INHIBITORY ACTIVITY AND USES THEREOF
- <130> P22U13C11114
- <150> KR 10-2021-0084288
- <151> 2021-06-28
- <160> 14
- <170> KoPatentIn 3.0
- <210> 1

<211> 3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Tyr Phe Arg

1

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Glu Gln Ala Glu Glu Glu Arg

1

5

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Arg Glu Ala Gly Gly Ala Phe Gly Lys Arg

1

5

10

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Glu Gln Ala Glu Glu Glu Arg Tyr Phe Arg

1

5

10

<210> 5

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Ala Gln Ser Arg Glu Gln Leu Ala Ala Leu Lys Lys

1

5

10

<210> 6

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Tyr Phe Arg Ala Gln Ser Arg Glu Gln Leu Ala Ala Leu Lys Lys His

1 5 10 15

His

<210> 7

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Ala Gly Ser Ile Arg Glu Ala Gly Gly Ala Phe Gly Lys Arg Glu Gln

1 5 10 15

Ala Glu Glu Glu Arg Tyr Phe Arg

20

<210> 8

<211> 28

<212>

PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Val Asp Arg Gly Ala Gly Ser Ile Arg Glu Ala Gly Gly Ala Phe Gly

1 5 10 15

Lys Arg Glu Gln Ala Glu Glu Glu Arg Tyr Phe Arg

20

25

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 9

Glu Lys Ala Glu Glu Asp Arg

1 5
 <210> 10
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 10
 Glu Lys Ala Glu Glu Asp Arg Tyr Phe Arg

1 5 10
 <210> 11
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 11
 Glu Lys Thr Lys Glu Gln Leu Ala Ala Leu Arg Lys His His

1 5 10
 <210> 12
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 12
 Tyr Phe Arg Glu Lys Thr Lys Glu Gln Leu Ala Ala Leu Arg Lys His

1 5 10 15
 His

<210> 13
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 13
 Ala Gly Ser Ile Arg Glu Ala Gly Gly Ala Phe Gly Lys Arg Glu Lys
 1 5 10 15
 Ala Glu Glu Asp Arg Tyr Phe Arg

<210> 14
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 14

Met Asp Thr Gly Ala Gly Ser Ile Arg Glu Ala Gly Gly Ala Phe Gly
 1 5 10 15
 Lys Arg Glu Lys Ala Glu Glu Asp Arg Tyr Phe Arg
 20 25