(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 102712685 B
(45)授权公告日 2014.08.06

(21)申请号 200980161923.2
(22)申请日 2009.11.24
(30)优先权数据
10-2009-0081817 2009.09.01 KR
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2012.04.13
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/KR2009/006933 2009.11.24
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2011/027941 KO 2011.03.10
(73)专利权人 凯尔格恩有限公司
地址 韩国京畿道
(72)发明人 郑镕池 金银美 宋尚洙 曹囧美
(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 11038
代理人 罗菊华
(51)Int.Cl.
C07K 14/47(2006.01)
A61K 38/17(2006.01)
A61Q 9/04(2006.01)

(56)对比文件
US 20060115460 A1,2006.06.01, 说明书全文.
KR 1020070120559 A,2007.12.24, 说明书全文.
US 20020114772 A1,2002.08.22, 说明书全文.
Yukiteru Ouji et al..Effects of Wnt-10b on hair shaft growth in hair follicle cultures.《Biochemical and biophysical research communications》.2007, 第359卷516-522.
Stefanie Sick et al..WNT and DKK Determine Hair Follicle Spacing Through a Reaction-Diffusion Mechanism.《SCIENCE》.2006, 第314卷摘要.

审查员 谢德

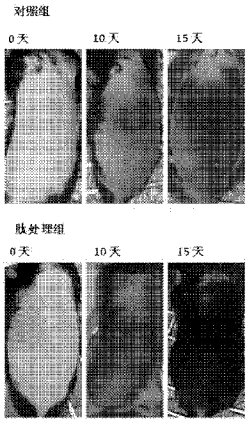
权利要求书1页 说明书16页
序列表1页 附图13页

(54)发明名称

WNT10- 来源肽及其用途

(57)摘要

本发明涉及一种WNT10- 来源肽及一种包含该肽的改善脱发及改善皮肤的组合物以及Wnt-10信号传递－关联疾病及DKK-1蛋白质－衍生疾病治疗用组合物。本发明的WNT10- 来源肽起到与天然的WNT10蛋白质相同或者类似的作用，与天然的WNT10蛋白质相比，具有非常优秀的稳定性，而且皮肤渗透度也非常优秀。因此，包含本发明的肽的组合物不仅对改善脱发（例如，促进生发或者生成毛发）具有非常优秀的功效，而且还能够对治疗WNT10信号传递－关联疾病及DKK-1蛋白质－衍生疾病发挥卓越的功效。并且，本发明的肽的优秀的活性及稳定性能够非常有利地应用在医药、医药外用品及化妆品上。



CN 102712685 B

1. 一种肽，其特征在于，其由序列目录第一序列的氨基酸序列组成。

2. 根据权利要求 1 所述的肽，其特征在于，上述肽具有角质细胞及纤维芽细胞的成长促进能力。

3. 根据权利要求 1 所述的肽，其特征在于，上述肽将 β - 联蛋白传递至核内。

4. 一种脱发治疗或预防用组合物，其特征在于，作为有效成分包含上述权利要求 1 至 3 中的任一项的肽。

5. 根据权利要求 4 所述的组合物，其特征在于，上述组合物追加包含具有序列目录第 2 序列的氨基酸序列的肽、具有序列目录第 3 序列的氨基酸序列的肽或者上述所有肽。

6. 根据权利要求 4 所述的组合物，其特征在于，上述脱发治疗或者预防用于促进生发或者生成毛发。

7. 一种皮肤状况改善用组合物，其特征在于，作为有效成分包含上述权利要求 1 至 3 中的任一项的肽，其中所述皮肤状况改善为改善皱纹或皮肤弹力、或改善皮肤保湿。

8. 根据权利要求 7 所述的组合物，其特征在于，上述组合物追加包含具有序列目录第 2 序列的氨基酸序列的肽、具有序列目录第 3 序列的氨基酸序列的肽或者上述所有肽。

9. 一种 WNT10 信号传递 - 关联疾病预防或者治疗用组合物，其特征在于，作为有效成分包含上述权利要求 1 至 3 中的任一项的肽，其中所述 WNT10 信号传递 - 关联疾病包括骨疾病或者肿瘤疾病。

10. 根据权利要求 9 所述的组合物，其特征在于，上述组合物追加包含具有序列目录第 2 序列的氨基酸序列的肽、具有序列目录第 3 序列的氨基酸序列的肽或者上述所有肽。

11. 一种 DKK-1 蛋白质 - 衍生疾病预防或者治疗用组合物，其特征在于，作为有效成分包含上述权利要求 1 至 3 中的任一项的肽，其中所述 DKK-1 蛋白质 - 衍生疾病包括糖尿病或者肌肉复原或再生。

12. 根据权利要求 11 所述的组合物，其特征在于，上述组合物追加包含具有序列目录第 2 序列的氨基酸序列的肽、具有序列目录第 3 序列的氨基酸序列的肽或者上述所有肽。

WNT10- 来源肽及其用途

【技术领域】

[0001] 本发明涉及一种 WNT10- 来源肽及包含该肽的改善脱发及改善皮肤的组合物以及 WNT10 信号传递 - 关联疾病及 DKK-1 蛋白质 - 衍生疾病治疗用组合物。

【背景技术】

[0002] 毛囊作为哺乳动物皮肤的独特器官，是原始表皮的下部成长，并延伸到更深的皮肤层的器官。在毛囊的基部存在着嗉囊或者被称为真皮乳头细胞的细胞的塞子 (Stenn and Paus, Physiol. Rev., 81 :449(2002))，乳头对于毛囊的正常循环 (Oliver, Embryol. Exp. Morph. 15 :331(1966) ;Oliver, Embryol. Exp. Morph. 16 :231(1967)) 及毛干的生长而言是所必需的。毛干是一种踏面形状的结构，该踏面形状的结构由角蛋白丝和纤丝成束蛋白质填充的紧紧地紧贴的上皮细胞所制备。

[0003] 人类的毛发按周期反复生长期、萎缩期及休息期，并会经过毛发脱落再生成的过程。毛发的周期通过激素调节或者很多的生长因子等的调节而完成。另一方面，由于过度的压力或者营养缺乏等，导致毛发提早经过萎缩期进入到休息期，从而引发严重的脱发症状 (Vladimir A. Botchkarev, American Journal of Pathology, 162(3) :709-712(2003))。对于男性型秃头来说，头皮的前表面及上部的毛囊受到雄激素的很大影响。因此，就男性型秃头而言，比起毛囊的破坏，更相当于毛囊的小型化，其原因是，由于作为男性荷尔蒙的雄激素的过度分泌，导致 5- α 还原酶 (5-alpha reductase) 激活，从而睾酮变形为双氢睾酮 (dihydrotestosterone, DHT)，如此生成的双氢睾酮缩短毛发生长的期限，且将使毛囊实现小型化，来减少粗而结实的成毛的数，从而引发脱发。并且，脱发女性的 20％常常显出头皮上部的毛发变薄的特征，由此能够推定出她们一生可能经历几个种类的脱发。随着上年纪，脱发面积也会扩大。追加地，例如，像伤疤脱发症、烧伤或者与压迫伤害相关的伤疤形成状态的不同的疾病状态可能引起明显的脱发。与原因无关的，随着越来越多的现代女性走向社会，男性也开始注重外貌，因此脱发最终会导致丧失自尊心和自豪心的同时，在精神上、社会上及性上产生深刻的影响。到现在为止，为了治疗这种脱发症状，将多种物质等作为医药品来使用，但是这些医药品价格昂贵，并且引发多种副作用。而且，这种医药品需要持续使用，中断使用时，存在重新引起脱发的缺点。并且，存在着对每个人的疗效差异很大，且每个人的副作用也出现差异的缺点。

[0004] 此外，利用为化妆品的原料具有价格便宜的优点，但，由于是由植物提取物来源成分构成的，所以具有实际上其疗效不大的缺点。因此，为了弥补对人体缺乏稳定而有效的功效且价格昂贵的缺点，开发有利用化学的合成方法，比蛋白质更便宜的价格大量生产疗效优秀的具有与 WTN10 类似的功能的 WNT10 来源肽的方法，并开发有为了能够更容易地渗透到皮肤内，利用纳米微脂囊技术，由于皮肤内渗透度高而能够见到很大的效果的产品。该肽诱导在能够生成毛根的皮肤组织的毛发卵泡 (hair follicle- 毛囊) 的干细胞的增殖，且诱导分化以便向毛根移动，从而能够使新的毛囊生成。并且，即使在存在从双氢睾酮衍生的 DKK-1 脱发基因，而抑制 WNT 功能的状况下，肽使 WNT- β - 联蛋白的信号激活，来表达生发

促进基因。并且，肽起到促进作为生成毛发且生长的时期的生长期的作用，且使因各种环境因素向萎缩期进入的毛发的周期停留在生长期，从而显现出脱发抑制效果，在正常毛发中，对毛发的生长有很大的影响，且给毛发供应营养素，从而对健康的毛发有着很大的影响。目前为止为人所知的两种可利用的药物（米诺地尔及非那雄胺）能够延迟追加的脱发，但是实际上为了诱导再生新的毛囊，不能利用其中的任何一种。并且，在很多头发化妆品中，有很多利用植物提取物等的防止脱发产品出品，特别是，含有苦参、辣椒、当药、桑白皮、桑叶、人参、甘草、芍药、地黄、茴香、山茱萸、大蒜等的提取物的产品，添加含有黄嘌呤及生长激素的组合物来改善双氢睾酮过剩而导致的细胞代谢抑制的同时，随着生长激素促进毛发生长，防止脱发及再生毛发，来呈现毛发生长促进效果的产品，即，为了促进生发及毛发的生长，开发含有矿物质及维生素类、绿茶、迷迭香、艾草、甘草提取液的产品，给头皮和毛发供应营养，且混合对预防脱发及毛发生长促进有效的生发促进用产品，即，混合维生素 B、维生素 C、维生素 D、维生素 E、烟酸、泛酸、生物素及叶酸等物质和植物提取物，来抑制人体内的 5-α 还原酶，以便在男性荷尔蒙的代谢过程中防止形成双氢睾酮，并且帮助毛发的新陈代谢作用开发有男性型脱发产品，但是很难找到影响至新生毛发生成的产品。另一方面，开发利用被日本的东京慈惠会医科大学健康医学中心研究团体临床组判定为对糖尿病等有很好的疗效的科罗索酸 (Corosolic Acid) 等的产品，来开发抑制人体内的 5-α 还原酶，且对毛发生长具有卓越的功能的产品。

[0005] 在毛发的生长及退化过程中有很多因素相互联系，本研究者执行了，促进对毛根的生成最为重要的毛发的角质细胞的增殖，用于诱导向毛发的分化的研究及供应毛发周围的营养素，利用用于促进血管内皮生长因子的活性的一连的生长因子的研究。特别是，在推荐毛发的周期的各种生长因子中，人类来源 WNT10 在细胞中传递信号来影响毛发，这样的 WNT10 的信号传递路径借助分泌的 WNT10 与作为它们的受体的卷曲 (Frizzled) 蛋白质之间的相互作用来进行激活，此时，作为 LDL（低密度脂蛋白 -LOW DENSITY LIPOPROTEIN) 受体 - 关联蛋白质的 LRP5（迟受体电位 5-LATE RECEPTOR POTENTIAL5) 及 LRP6（迟受体电位 6-LATE RECEPTOR POTENTIAL6) 作为辅助受体起作用 (Clin Cancer Res 2007 ;13(14) July 15,2007, WNT 信号通路与干细胞信号网络）。WNT10 信号传递的下流影响，包含蓬乱蛋白 (DVL, Disheveled) 的激活，来使蛋白激酶 B(Akt) 激活之后，调动为轴蛋白 (Axin)- β - 联蛋白 -GSK3 β - 复合体 (Fukumoto et al., J.Biol.Chem.,276 :17479-17483(2001))。此后，GSK3 β 实现磷酸化及惰性，导致 β - 联蛋白的磷酸化及分解受到抑制。蓄积的 β - 联蛋白转位成核，与淋巴增强因子 -T 细胞因子 (LEF-TCF) 类的转印因子相互作用来诱导目标基因的转印。如此表达的蛋白质重要地作用于毛发的生长和分化，并能够使毛细胞重新生成。并且，降低由于男性荷尔蒙的双氢睾酮 (DHT,Dihydrotestosterone) 的功能，从而具有防止脱发的功能。

[0006] 本说明书的全部内容参照多数的论文及专利文献，且表示对其的引用。引用的论文及专利文献的公开内容以其全部的内容作为参照插入到本说明书中，能够更加明确地说明本发明所属的技术领域的水准及本发明的内容。

【发明内容】

[0007] 本发明人员是为了开发能够起到与天然 WNT10 相同或者类似的功能或者作用，且

相比 WNT10 蛋白质，活性、皮肤渗透度及稳定性更为优秀的物质而努力的。其结果，在很多肽候选物质中，通过合成不仅生理活性（例如，改善脱发、细胞成长促进能力、纤连蛋白的表达促进等）优秀，而且稳定性及皮肤渗透度也优秀的 WNT10- 来源肽，来完成本发明。

[0008] 因此，本发明的目的在于，提供一种序列目录第一序列的肽。

[0009] 本发明的再一个目的在于，提供一种脱发改善用组合物。

[0010] 本发明的另一个目的在于，提供一种皮肤状况 (skin condition) 改善用组合物。

[0011] 本发明的还有一个目的在于，提供一种 WNT10 信号传递 - 关联疾病改善或者治疗用组合物。

[0012] 本发明的又一个目的在于，提供一种 DKK-1 蛋白质 - 衍生疾病治疗用组合物。

[0013] 本发明的其他目的及优点将通过下述的发明的详细说明、权利要求范围及附图而更为明确。

[0014] 本发明人员是为了开发能够起到与天然 WNT10 相同或者类似的功能或者作用，且相比 WNT10 蛋白质，活性、皮肤渗透度及稳定性更为优秀的物质而努力的。其结果，在很多肽候选物质中，合成了不仅生理活性（例如，改善脱发、细胞成长促进能力、纤连蛋白的表达促进等）优秀，而且稳定性及皮肤渗透度也优秀的 WNT10- 来源肽。

[0015] 就本发明人员而言，即使 WNT10 蛋白质的效能非常出色，但是为了得到激活型 WNT10 蛋白质，需要再折叠的补充工序和时间，在纯化过程中需要用于除去大肠菌来源的污染源的复杂的纯化过程，为了弥补因稳定性及高分子量而难以超越毛发的保护膜的问题以及因昂贵的价格而相应地降低利用度的缺点，开发出具有与 WNT10 蛋白质类似的功能且稳定性优秀的肽，并应用于产品上，从而开发出新颖，且能够具有经济竞争力的类似物。

[0016] 本发明的肽包含从由 WNT10- 来源的氨基酸序列组成的组中选择的氨基酸序列。优选地，本发明中的肽必需由序列目录第一序列的氨基酸序列构成。本说明书中的术语“肽”是指，借助肽结合，氨基酸残基相互结合而形成的线形分子。

[0017] 本发明的肽能够根据在本发明技术领域公知的化学合成方法来制备，特别是可以根据固相合成技术 (solid-phase synthesis techniques) 来制备 (Merrifield, J.Amer. Chem.Soc.85 :2149-54(1963) ;Stewart, et al., Solid Phase Peptide Synthesis,2nd. ed., Pierce Chem.Co. :Rockford,111(1984))。

[0018] 就本发明的肽而言，对存在于 WNT10 蛋白质内的多个部位进行随机部分合成，并对受体蛋白质的可结合部位进行一次探索之后，对预测到的该部位的氨基酸序列进行最优化，并选定、制备为本发明的肽，从这些候选肽中筛选出活性最优秀的肽，从而提供本发明的肽。

[0019] 序列目录第一序列肽是执行与天然 WNT10 类似的作用，并与受体结合，执行与生长因子相同的功能的肽。

[0020] 根据本发明的优选实施例，本发明的肽具有角质细胞及纤维芽细胞的成长促进能力。根据本发明的优选实施例，本发明的肽促进纤连蛋白的表达。

[0021] 并且，本发明的肽具有激活 WNT 信号的功能。根据本发明的优选实施例，本发明的肽将 β - 联蛋白传递至核内。

[0022] 本发明的肽其本身与天然的 WNT10 蛋白质相比具有更为出色的稳定性。但是，借助氨基酸的变形，其能够进一步提高稳定性。

[0023] 根据本发明的优选实施例，在上述肽的 N- 末端结合有从包含乙酰基、芴甲氧羰基、甲酰基、棕榈酰基、十四烷基、硬脂基及聚乙二醇 (PEG) 的组中选择的保护基。

[0024] 根据本发明的优选实施例，本发明的肽能够与从包含乙酰基、芴甲氧羰基、甲酰基、棕榈酰基、十四烷基、硬脂基及聚乙二醇 (PEG，Polyethylene Glycol) 的组中选择的保护基结合，提供稳定性高于天然 (naturally occurring) 变形生长因子的肽。

[0025] 如上所述的氨基酸的变形起到大幅度改善本发明的肽的稳定性的作用。本说明书中的术语“稳定性”不仅意味着“在体内”的稳定性，而且还意味着储存稳定性（例如，常温储存稳定性）。上述保护基起到从生物体内的蛋白质裂解酶的攻击中保护本发明的肽的作用。

[0026] 根据本发明的再一个实施例，本发明提供一种将上述本发明的肽作为有效成分包含在内的脱发治疗或者改善用组合物。

[0027] 根据本发明的另一个实施例，本发明提供一种将上述本发明的肽作为有效成分包含在内的皮肤状况 (skin condition) 改善用组合物。

[0028] 由于本发明的组合物将上述本发明的生长因子 - 关联肽作为有效成分包含在内，因此为了避免本说明书的过度的复杂性，省略这两种之间共同的内容。

[0029] 根据本发明的优选实施例，本发明的组合物额外包含 :具有序列目录第二序列的氨基酸序列的肽或具有序列目录第三序列的氨基酸序列的肽，或者将上述肽全部包含在内。

[0030] 根据本发明的优选实施例，借助本发明的肽的治疗或者改善脱发是促进生发或者生成毛发。

[0031] 如下述实施例中所证实，本发明的肽具有纤维芽细胞及角质细胞成长促进能力，促进作为 WNT 蛋白质的代表性信号的 β - 联蛋白信号。并且，确认到了即使存在称为 DKK-1 的 WNT 抑制剂，借助本发明的肽处理，WNT 的信号也能够正常工作。作为 WNT 的目标基因的纤连蛋白的表达也借助本发明的肽处理而增加，并且，确认到即使存在 DKK-1，如果进行本发明的肽处理，则纤连蛋白的表达量也能够增加。通过以这样的结果为基础实施的动物实验，能够知道本发明的肽能够显著地促进毛发生长。因此，本发明的组合物对毛发的生长及皮肤状况的改善非常有效。

[0032] 根据本发明的优选实施例，借助本发明的肽的皮肤状况的改善是改善皱纹、改善皮肤弹力、防止皮肤老化、改善皮肤保湿、除去伤疤或者皮肤再生。

[0033] 根据本发明的还一个实施例，本发明提供一种将上述本发明的肽作为有效成分包含在内的 WNT10 信号传递 - 关联疾病改善或者治疗用组合物。

[0034] 根据本发明的又一个实施例，本发明提供一种将上述本发明的肽作为有效成分包含在内的 DKK-1 蛋白质 - 衍生疾病治疗用组合物。

[0035] 由于本发明的组合物作为有效成分包含上述的本发明的生长因子 - 关联肽，因此为了避免本说明书的过度的复杂性，省略这两种之间共同的内容。

[0036] 根据本发明的优选实施例，上述的 WNT10 信号传递 - 关联疾病是眼疾病、脂肪 - 调节疾病 (lipid-modulated disorder)、骨疾病或者肿瘤疾病，更优选为骨疾病或者肿瘤疾病。

[0037] 根据本发明的优选实施例，上述骨疾病从包含骨疾病、骨折、老年性骨损伤、软骨

营养障碍、高钙血症、骨质增生症、骨脆症、骨软化症、骨髓炎、骨质疏松症、变形性骨炎、骨关节炎及佝偻病的组中选择。

[0038] 根据本发明的优选实施例，上述的肿瘤疾病是大肠肿瘤、乳房肿瘤或者是黑瘤。

[0039] 根据本发明的优选实施例，上述的脂肪－调节疾病从包含心脏状态、动脉粥样硬化、家族性脂蛋白脂肪酶缺乏症、高脂蛋白血症III型、家族性高胆固醇血症、家族性高甘油三脂血症、多发性脂蛋白型高脂蛋白血症、透析和／或糖尿病的脂肪增加及家族性脱辅基蛋白质 C II缺乏症的组中选择。

[0040] 根据本发明的优选实施例，上述 DKK-1 蛋白质－衍生疾病是糖尿病或者肌肉恢复及再生，并且上述的糖尿病与耐胰岛素性及低胰岛素血症的治疗相关联。

[0041] 根据本发明的优选实施例，本发明的组合物是一种药剂学的组合物，该药剂学的组合物包含：(a) 上述的本发明的生长因子－关联肽的药剂学的有效量；以及 (b) 药剂学所容许的担体。

[0042] 本说明书中的术语“药剂学的有效量”是指，能够实现上述生长因子－关联肽的效能或者活性的充分的量。

[0043] 包含在本发明的药剂学的组合物的药剂学上容许的担体是在制药时通常被利用的，包含乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇、淀粉、刺槐树胶、磷酸钙、藻酸盐、明胶、硅酸钙、微晶性纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆、甲基纤维素、甲基羟基苯甲酸、羟苯丙酯、滑石、硬脂酸镁及矿物质油等，但是不局限于这些。本发明的药剂学的组合物除了上述成分以外还可以额外包含润滑剂、湿润剂、甜味剂、香味剂、乳化剂、悬浮剂以及保鲜剂等。适合的药剂学上容许的担体及制剂详细记载在雷明顿的制药科学 (Remington′ s Pharmaceutical Sciences,19th ed.,1995) 中。

[0044] 本发明的药剂学的组合物是根据本发明所属技术领域的普通技术人员容易实施的方法，利用药剂学上容许的担体和／或赋形剂进行制剂化，从而制备成单位容量形态或者放入大容量容器内而进行制备。此时，剂型可以是油或者水性媒质中的溶液、悬浮液或者乳化剂形态，或者也可以是提取物、粉末剂、颗粒剂、片剂、胶囊或者胶状（例如，水凝胶）形态，并且可以额外包含分散剂或者稳定剂。

[0045] 根据本发明的优选实施例，本发明的组合物是一种化妆品组合物，该化妆品组合物包含：(a) 上述的本发明的生长因子－关联肽的化妆品学的有效量 (cosmetically effective amount)；以及 (b) 化妆品学上容许的担体。

[0046] 本说明书中的术语“化妆品学上的有效量”是指，实现上述的本发明的组合物的皮肤改善效能而充分的量。

[0047] 本发明的化妆品组合物还可以制备成在该本发明属于技术领域中通常制备的任意剂型。例如，可以剂型化成溶液、悬浮液、乳浊液、糊剂、凝胶、乳霜、乳液、散粉、肥皂、含表面活性剂洗面液、油、粉末粉底、乳浊液粉底、蜡粉底及喷剂等，但是不局限于这些。更详细的，可以制备成柔软化妆水、营养化妆水、营养乳霜、按摩乳霜、精华素、眼霜、洗面霜、洁面泡沫、洁肤水、面膜、喷剂或者散粉的剂型。

[0048] 本发明的剂型是糊剂、乳霜或者凝胶时，作为担体成分可以利用动物油、植物油、蜡、石蜡、淀粉、西黄蓍胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅、皂土、二氧化硅、滑石粉或者氧化锌等。

[0049] 本发明的剂型是散粉或者喷剂时，作为担体成分可以利用乳糖、滑石粉、二氧化硅、氢氧化铝、硅酸钙或者聚酰胺散粉，特别是喷剂时，可以额外包含如含氯氟烃、丙烷 / 丁烷或者二甲醚的推进剂。

[0050] 本发明的剂型是溶液或者乳浊液时，作为担体成分利用溶剂、溶解化剂或者乳浊化剂，比如说存在水、乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、醋酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1，3- 丁二醇油、丙三醇脂肪族酯、聚乙二醇或者甘油酯的脂肪酸酯。

[0051] 本发明的剂型是悬浮液时，作为担体成分可以利用如水、乙醇或者丙二醇的液相的稀释剂、如乙氧基异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇酯及聚乙二醇甘油酯的悬浮剂、微晶性纤维素、偏氢氧化铝、皂土、琼脂或者西黄蓍胶等。

[0052] 本发明的剂型是含表面活性剂的清洁剂时，作为担体成分可以利用脂肪族醇硫酸盐、脂肪族醇醚硫酸盐、磺基琥珀酸单酯、羟乙磺酸盐、咪唑啉盐衍生物、甲基牛磺酸钠、肌氨酸、脂肪酸酰胺醚硫酸盐、烷基酰胺甜菜碱、脂肪族醇、脂肪酸甘油酯、脂肪酸二乙醇酰胺、植物性油、羊毛脂衍生体或者乙氧基化脂肪酸甘油酯等。

[0053] 包含在本发明的化妆品组合物的成分除了作为有效成分的肽类和担体成分以外，包含通常利用在化妆品组合物的成分，例如能够包含，如抗氧化剂、稳定剂、溶解化剂、维生素、颜料及香料的通常的辅助剂。

[0054] 归纳本发明的特征及优点如下：

[0055] (i) 本发明的 WNT10- 来源肽起到与天然的 WNT10 蛋白质相同或类似的作用。

[0056] (ii) 就本发明的肽而言，与天然的 WNT10 蛋白质相比，其稳定性更加优秀，皮肤渗透度非常优秀。

[0057] (iii) 因此，包含本发明的肽的组合物不仅对改善脱发（例如，促进生发或者生成毛发）具有非常优秀的功效，也能够对治疗 WNT10 信号传递 - 关联疾病及 DKK-1 蛋白质 - 衍生疾病发挥卓越的功效。

[0058] (iv) 就上述的本发明的肽的优秀的活性及稳定性而言，能够使其非常有利地适用于医药、医药外用品及化妆品。

【附图说明】

[0059] 图 1 是表示借助本发明的合成例制备的序列目录第一序列肽的高性能液相色谱法分析结果图。

[0060] 图 2a 是表示处理借助本发明的合成例制备的肽的角质细胞的细胞成长促进效果的图表。

[0061] 图 2b 是表示处理借助本发明的合成例制备的肽的纤维芽细胞的细胞成长促进效果的图表。

[0062] 图 3 是表示用显微镜确认处理本发明的肽的角质细胞及纤维芽细胞的细胞成长促进效果的照片。

[0063] 图 4 表示在处理本发明的肽时，ki-67 细胞增殖蛋白质的表达量有所增加的免疫染色结果。

[0064] 图 5a 表示与对根据本发明的合成例来制备的各肽进行单独处理的情况相比较，对肽复合体进行处理时，角质细胞的成长得到更大促进的结果。

[0065] 图 5b 表示与对根据本发明的合成例来制备的各肽进行单独处理的情况相比较，对肽复合体进行处理时，纤维芽细胞的成长得到更大促进的结果。

[0066] 图 6a 表示测量基于本发明的肽的 β-联蛋白的表达变化的蛋白印迹结果，是表示被 WNT 抑制剂及脱发基因的 DKK-1 所减少的 β-联蛋白的表达借助本发明的肽处理而恢复，且再增加的蛋白质印迹结果。

[0067] 图 6b 表示借助本发明的肽，β-联蛋白的活性增加的免疫染色结果。

[0068] 图 7 表示与对根据本发明的合成例来制备的各肽进行单独处理的情况相比较，对肽复合体进行处理时，β-联蛋白的表达更加有所增加的蛋白质印迹结果。

[0069] 图 8 表示借助本发明的肽，β-联蛋白的活性增加，与对根据本发明的合成例来制备的各肽进行单独处理的情况相比较，对肽复合体进行处理时，β-联蛋白的活性更能增加的细胞免疫染色结果。

[0070] 图 9a 是借助本发明的肽的处理表示纤连蛋白的表达变化的图表，随着肽的处理时间，纤连蛋白的表达也有所增加。

[0071] 图 9b 是测量基于本发明的肽的纤连蛋白的表达变化的结果，被 WNT 抑制剂及为脱发基因的 DKK-1 减少的纤连蛋白的表达，借助本发明的肽处理而恢复，且再增加。

[0072] 图 10 表示与对根据本发明的合成例来制备的各肽进行单独处理的情况相比较，对肽复合体进行处理时，纤连蛋白的表达更加增加的蛋白质印迹结果。

[0073] 图 11 是表示对本发明的肽的列稳定性进行比较的图表。

[0074] 图 12 是表示处理本发明的肽的老鼠等皮肤的毛发生长效果图。

[0075] 图 13a 是表示，白老鼠的毛发卵泡培养中，不仅借助本发明的肽复合体处理生成毛发卵泡，被 DKK-1 蛋白质所退化的毛发卵泡还由于同时处理肽复合体，从而毛发卵泡不退化反而生成的结果。

[0076] 图 13b 表示在白老鼠的毛发卵泡培养中，基于本发明的肽复合体处理，在毛发卵泡的 β-联蛋白的表达有所增加的结果。

[0077] 图 13c 表示在白老鼠的毛发卵泡培养中，基于本发明的肽复合体处理，在毛发卵泡中 WNT 蛋白质的表达增加的结果。

[0078] 图 13d 表示在白老鼠的毛发卵泡培养中，基于本发明的肽复合体处理，在毛发卵泡中 Ki-67 蛋白质的表达增加的结果。

【具体实施方式】

[0079] 以下，将通过实施例对本发明进行更详细的说明。这些实施例仅仅是为了更加具体说明本发明，根据本发明的要旨，本发明的范围不局限于这些实施例，这对本发明所属技术领域的普通技术人员来说是显而易见的。

[0080] 【实施例】

[0081] 【合成例 1 :Arg-Gln-Thr-Arg-Val-Gln-Arg-Cys-His-Cys（序列目录第 1 序列）的合成】

[0082] 将 700mg 氯三苯甲基氯树脂 (Chloro trityl chloride resin ;CTLresin，Nova biochem Cat No.01-64-0021) 放入反应容器内，加入 10ml 二氯甲烷 (MC) 搅拌 3 分钟。除去溶液，放入 10ml 二甲基甲酰胺 (DMF) 搅拌 3 分钟后，再除去溶剂。在反应器中放入

10ml 的二氯甲烷溶液，放入 200mmole 的 Fmoc-Cys(trt)-OH（巴亨公司，瑞士）及 400mmole 的二异丙基乙胺 (DIEA) 后搅拌且进行溶解，搅拌 1 个小时并进行反应。反应后清洗，在 DCM(dichloromethane，二氯甲烷）溶解甲醇和 DIEA(2 ： 1) 并反应 10 分钟，用过量的 DCM/DMF(1 ： 1) 清洗。除去溶液，放入 10ml 的二甲基甲酰胺搅拌 3 分钟后，再除去溶剂。将 10ml 脱保护溶液 (20％的哌啶 (Piperidine)/DMF) 放入反应容器内，在常温下搅拌 10 分钟后除去溶液。放入同量的脱保护溶液再维持 10 分钟的反应后除去溶液，用 DMF 清洗两次、用 MC 清洗一次、用 DMF 清洗一次，上述清洗分别进行 3 分钟来制备 Cys(trt)-CTL 树脂。在新的反应器中放入 10ml 的 DMF 溶液，放入 200mmole 的 Fmoc-His(trt)-OH（巴亨公司，瑞士）、200mmole 的 1- 羟基苯并三唑 (HoBt，NHydroxybenzotrizole) 和 200mmole 的苯并三氮唑 -1- 基氧基三（二甲基氨基）磷鎓六氟磷酸盐 (Bop) 后通过搅拌进行溶解。将 400mmole 的 DIEA 分 2 次放入到反应器后，至少搅拌 5 分钟，直到所有固体溶解。在经过脱保护的树脂的反应容器中放入溶解的氨基酸混合溶液，在常温下搅拌 1 小时并进行反应。除去反应液，用 DMF 溶液按每次 5 分钟，进行 3 次搅拌后除去。取少量的反应树脂，利用茚三酮测试 (Nihydrin Test) 来检查反应程度。按照上述步骤，用脱保护溶液进行 2 次脱保护反应来制备 His(trt)-Cys(trt)-CTL 树脂。用 DMF 和 MC 充分清洗后再执行一次茚三酮测试之后，按照上述步骤执行以下的氨基酸附着实验。依据被选定的氨基酸序列，依次对 Fmoc-Cys(trt)、Fmoc-Arg、Fmoc-Gln(trt)、Fmoc-Val、Fmoc-Arg、Fmoc-Thr、Fmoc-Gln(trt) 及 Fmoc-Arg(pbf) 进行连锁反应。用脱保护溶液将 Fmoc- 保护基按每次 10 分钟，进行 2 次反应后，充分清洗并除去。放入乙酸酐和 DIEA 及 HoBt 执行 1 小时的乙酰化后，将制备的肽基树脂用 DMF、MC 和甲醇分别清洗三次，慢慢流出氮空气来进行干燥，然后在 P_2O_5 下用真空减压，完全干燥后，放入 30ml 的脱漏溶液 [三氟乙酸 (Trifluroacetic acid)95％、蒸馏水 2.5％、茴香硫醚 (Thioanisole)2.5％] 后，在常温下通过间歇性摇晃维持进行 2 小时反应。进行过滤来过滤树脂，用少量的三氟乙酸 (TFA) 溶液清洗树脂后与母液合并。利用减压蒸馏成全部体积剩一半，加入 50ml 的凉的乙醇来诱导沉淀后，进行离心分离来聚集沉淀，再用更凉的乙醇清洗 2 次。除去母液，在氮下充分干燥后，纯化前合成 0.65g 的 NH_2-Arg-Gln-Thr-Arg-Val-Gln-Arg-Cys-His-Cys-OH 肽 1（迁移数 :92.6％）。利用分子量检测仪检测的分子量为 1287.1（理论值 :1286.5)。

[0083] 【合成例 2 :其他肽的合成】

[0084] 利用与上述合成例 1 相同的方法合成序列目录第 2 序列及第 3 序列的肽。上述的肽的序列如下 :序列目录第 2 序列 (Ac-Tyr-Lys-Ser-Lys-Lys-Gly-Gly-Trp-Thr-HisAc-YKSKKGGWTH) 及序列目录第 3 序列 (Glu-Leu-Ile-Glu-His- 接头 -Arg-Pro-Ala-Asp : ELIEH- 接头 -RPAD，接头 :Gly-Gly-Gly)。

[0085] （表 1)

[0086]

序号	氨基酸序列	分析值（质量分析仪）	
		分析值	理论值
序列 1	RQTRVERCHC	1287.1	1286.5
序列 2	Ac-YKSKKGGWTH	1233.8	1233.4
序列 3	ELIEH-接头-RPAD	1250.9	1250.35

[0087] 【试验例 1：合成肽的细胞成长效果】

[0088] 为了对在合成例 1 及合成例 2 中合成的序列肽的生长因子的类似功效及抑制功效进行分析，参照立蒂诺等方法 (Rizzino, et al.Cancer Res.48:4266(1988)) 来通过采用 HaCaT 角质细胞株（韩国细胞株银行）和 NIH3T3 纤维芽细胞（韩国细胞株银行）的 SRB（硫酸盐还原细菌，Sulforhodamine B，西格玛公司）比色法来测量。

[0089] 将 HaCaT 角质细胞株及 NIH3T3 纤维芽细胞，分别利用 250ml 容量的组织培养用烧瓶，在包含 10％牛胎血清 (FBS, fetal bovine serum，西格玛公司）的达尔伯克氏改良伊格尔培养基 (DMEM，Dulbecco's modified Eagle's medium，鞠步科公司 (Gibco)，美国）中进行培养。利用 1％的胰蛋白酶溶液将培养的细胞株从培养容器底面拿下来后，进行离心分离来仅聚集细胞沉淀物。在不包含胎牛血清 (FBS) 的 DMEM 培养液中再将此悬浮后，按每孔 3×10^3 的细胞放入到 96- 孔组织培养用平板，并在 37℃、5％的 CO_2 条件下培养 24 小时。24 小时后，以完全除去血清的相同的培养液替换培养基之后，在用于确定标准的 10％的 DMSO（二甲基亚砜，dimethy sulfoxide) 中，按上述条件，对溶解成灭菌状态的供试料、合成肽 (1ng/ml、10ng/ml、100ng/ml、1μg/ml 及 10μg/ml) 及肽复合体 (1μg/ml) 进行 72 小时培养。结束培养后，除去培养上层液，并利用乙醇将细胞固定化，然后结束细胞固定后，用 PSB（磷酸盐缓冲液，phosphate buffer saline) 清洗 3 次。除去清洗溶液后，用青瓷绿 SRB 溶液进行处理，并用 1％乙酸 (acetic acid) 充分清洗后，用显微镜观察细胞来观察生存细胞的状态，且在 590nm 紫外线中测量吸光度来测量细胞的生存状态。并且，按上述方法培养后，将组织使用 ki-67 抗体（圣克鲁兹公司，美国）来执行免疫染色化学法，来观察作为细胞增殖标志的 ki-67 蛋白质的表达量。

[0090] 图 2 显示本发明的肽处理很大程度地增加了角质细胞（图 2a) 及纤维芽细胞（图 2b) 的成长。

[0091] 图 3 表示在细胞进行肽处理后，72 小时后用显微镜观察细胞的形状变化的结果。显示出本发明的肽使角质细胞及纤维芽细胞的成长及形态学上的模样产生变化。

[0092] 图 3 表示本发明的肽使角质细胞及纤维芽细胞的成长及形态学上的模样产生变化。

[0093] 图 4 表示本发明的肽使角质细胞中细胞增殖标志 (ki-67 蛋白质）的表达增加的结果。

[0094] 图 5 是对肽处理后的角质细胞（图 5a) 及纤维芽细胞（图 5b) 的成长的结果。由图 5a 和图 5b 可以看出，与仅处理各肽的情况相比较能够确认出，处理本发明的肽复合体的情况下，角质细胞和纤维芽细胞的成长具有很大的增加。

[0095] 【试验例 2：分析合成肽的 β- 联蛋白表达量增加效果】

[0096] 在进行 48 小时培养的 HaCaT 细胞上处理在合成例 1 中所合成的肽且经过 5 小时后，用 WNT 蛋白质的代表性的信号测量作为对生发促进所必需的信号物质的 β- 联蛋白的表达度。利用 β- 联蛋白的抗体（圣克鲁兹公司，美国）通过蛋白质印迹观察表达量，利用相同的抗体，利用免疫染色化学法观察 β- 联蛋白是否向核内传递。确认了处理本发明的肽时 β- 联蛋白的表达随之增加，确认了即使存在 DKK-1 的 WNT 抑制剂及 β- 联蛋白信号抑制剂，在处理肽时仍出现 β- 联蛋白的活性（图 6a)。并且，可以确认在肽在 HaCaT 细胞上利用免疫染色化学法来测量是否传递至 β- 联蛋白的核内时，β- 联蛋白也被肽从细胞

质传递至核内，仍然存在于细胞质中从而具有活性（图 6b）。

[0097] 图 6a 显示在处理本发明的肽时 β-联蛋白的表达有所增加，显示在与 DKK-1 基因同时处理时 β-联蛋白的表达也再有所增加。

[0098] 图 6b 是借助本发明的肽，用免疫染色化学法观察 β-联蛋白的核内传递过程的结果，显示 β-联蛋白传递至核内。

[0099] 由图 7 及图 8 中可以看出，与仅处理各肽的情况相比较，可以确认到在处理本发明的肽复合体的情况下 β-联蛋白的表达更加有所增加。

[0100] 综合试验例 1 及试验例 2 的实验结果，可以知道本发明的肽发挥非常优秀的促进生发及抑制脱发的作用，在抗老化方面也发挥作用。

[0101] 【试验例 3：基于合成肽的纤连蛋白表达量增加】

[0102] 纤连蛋白是在合成例 1 中所合成的肽的 WNT 的目标蛋白质，为了观察是否使纤连蛋白的表达量增加的结果，将纤维芽细胞放入 6 孔组织培养用平板，每孔放入 4×10^3 个细胞，在 37℃、5％的 CO_2 条件下培养 24 小时。24 小时后，以完全除去血清的相同的培养液替换培养基后，在用于确定标准的 10％的 DMSO 中，以 1μg/ml 的浓度处理溶解成灭菌状态的供试料、合成肽及肽复合体后，按上述条件，进行 3 小时、10 小时、24 小时或者 48 小时的培养。培养 72 小时后，回收培养溶液，利用纤连蛋白 ELISA kit（酶联免疫检测试剂盒-enzyme linked immunosorbent assay kit）（安迪生物科技有限公司，美国）来测量培养液中纤连蛋白的表达量。

[0103] 如图 9a 所示，可以确定纤连蛋白的表达量随着肽的处理时间而增加。并且，处理 DKK-1 蛋白质来按上述培养条件培养后观察纤连蛋白的表达量时，如图 9b 所示，能够看出被 DKK-1 抑制的纤连蛋白表达在同时处理肽和 DKK-1 时纤连蛋白的表达量重新恢复并且增加。

[0104] 图 9a 是在纤维芽细胞按时间类别处理本发明的肽来测量纤连蛋白的表达的结果，随着本发明的肽的处理时间纤连蛋白的表达增加。

[0105] 图 9b 表示本发明的肽恢复在纤维芽细胞中被 WNT 抑制剂及脱发基因（DKK-1）所诱导的纤连蛋白的减少的效果的结果。在与图 9a 相同的培养条件下被 DKK-1 所减少的纤连蛋白的表达量借助本发明的肽处理而恢复。

[0106] 由图 10 可以确认，与对照组相比较，对各肽进行 72 小时处理时，纤连蛋白的表达量增加；将各肽处理成复合体时，能够观察到最多的纤连蛋白的表达量。

[0107] 这种结果意味着，即使存在作为 DKK-1 的 WNT 抑制剂及脱发基因，借助本发明的肽启动 WNT-β-联蛋白信号路径，从而贡献于促进生发、抑制脱发以及抗老化。

[0108] 【试验例 4：制备的肽的列稳定性】

[0109] 将根据合成例 1 所制备的肽和在英国国家生物制品检定所（英国）购买的标准品生长因子（WNT10）制备成 0.1mg/ml 浓度的磷酸缓冲液。将准备好的溶液按 1ml 放入玻璃瓶后在 37℃中定置。将定置在 37℃中的溶液在第 0、5、10、20、30、40 以及 70 日取样，并按日期进行离心分离，除去变性的肽或蛋白质，并取上层液，利用 HPLC（高效液相色谱法）来进行定量（图 11）。

[0110] 【试验例 5：处理所制备的肽的小老鼠的毛发生长效果】

[0111] 将通过合成例 1 而制备的肽进行纳米微脂囊化，并在后背皮肤去毛的 C57BL/6 小

老鼠上按每天两次，涂敷 15 日。给对照组按每天两次涂敷磷酸缓冲溶液。在涂敷到第 9 日时，能够确认到小老鼠的后背皮肤长出黑色，在涂敷到第 15 日时，能够确认到相比对照组长出更多量的毛（图 12）。

[0112] 【试验例 6：观察通过毛发卵泡培养的在所制备的肽复合体的毛发卵泡中的蛋白质表达量】

[0113] 用手术用刀切开 balb/C 小老鼠的毛发卵泡，用乙醇清洗后额外用 PBS 和 DMEM 培养溶液进行清洗。在如此结束清洗的毛发卵泡以 5μg/ml 的浓度处理在 DMEM 培养溶液制备的各肽复合体后，在 37℃、5％的 CO_2 条件下培养 5 天。5 天后将培养结束的毛发卵泡制备成石蜡块，通过伊红染色法 (H&E，hematoxylin-eosin staining) 对与对照组处理肽复合体的组织、DKK-1、与 DKK-1 处理肽复合体的组织分别进行比较（图 13a-13d）。

[0114] 图 13a 表示借助本发明的肽复合体，抑制 DKK-1- 衍生的毛发卵泡细胞的退化的结果。如果在对照组处理 DKK-1，则毛发卵泡退化，相反，在同时处理 DKK-1 和本发明的肽复合体处，可以确认到毛发卵泡没有退化，反而生成。

[0115] 图 13b 表示借助本发明的肽复合体能够恢复 DKK-1- 衍生的 β - 联蛋白的表达抑制的结果。如果对对照组处理 DKK-1，则 β - 联蛋白的表达被抑制，此时可以确认到，如果同时处理 DKK-1 和本发明的肽复合体，则 β - 联蛋白的表达不会被抑制，反而会急剧增加。

[0116] 由图 13c 可以确认，对对照组处理 DKK-1 后，在毛发卵泡中 WNT 的表达受到抑制。但是，在同时处理 DKK-1 和本发明的肽复合体的毛发卵泡中 WNT 的表达有所增加。这意味着本发明的肽复合体与在毛发周围的细胞生长一起促进毛发卵泡的生成。

[0117] 由图 13d 可以确认，对对照组处理 DKK-1 后在毛发卵泡中 ki-67 的表达受到抑制。但是，在同时处理 DKK-1 和本发明的肽复合体的毛发卵泡中 ki-67 的表达有所增加。

[0118] 这种结果意味着，在毛发卵泡的部分中细胞不会借助 DKK-1 而成长，反而细胞会死掉并引发毛发卵泡的退化，这能够借助本发明的肽复合体的处理而克服。并且，显示本发明的肽复合体能够促进毛发卵泡的增殖及生成。

[0119] 【实施例 1：制备纳米化肽】

[0120] 分别正确地称量 50mg 在上述合成例中得到的肽后，用 500ml 蒸馏水充分搅拌并进行溶解。将配合体溶液与 5g 卵磷脂、0.3ml 油酸钠 (sodium oleate)、50ml 乙醇，还有若干的乳相一起混合后，用蒸馏水对准成总量为 1L 后，用微流化器利用高压来进行乳化，制备大小为 100nm 左右的纳米微脂囊。所制备的纳米微脂囊以最终浓度为约 50ppm 单独或者复合地使用为化妆品原料。

[0121] 【剂型例 1：柔软化妆水】

[0122] 按照一般的化妆水制备方法制备包含在上述实施例中制备的肽纳米微脂囊，且由下述组成所构成的柔软化妆水。

[0123] （表 2）

[0124]

成分	含量（重量％）
肽纳米微脂囊	2.5

1,3- 丁二醇	6.0
甘油	4.0
聚乙二醇 1500	1.0
透明质酸钠	1.0
聚山梨醇酯 20	0.5
乙醇	8.0
防腐剂、色素	适量
苯甲酮 -9	0.05
香	微量
纯净水	余量
合计	100

[0125] 【剂型例 2 :营养霜】

[0126] 按照一般的营养霜制备方法制备包含在上述实施例中制备的肽纳米微脂囊，且由下述组成所构成的营养霜。

[0127] （表 3）

[0128]

成分	含量（重量%）
肽纳米微脂囊	2.5
绣线菊油	3.0
棕榈酸酯	1.5
硬脂酸	1.5
硬脂酸甘油酯	1.5
油桐石蜡	10.0
蜜蜡	2.0
聚山梨醇酯 60	0.6
山梨糖醇酐倍半异硬脂酸酯	2.5

角鲨烷	3.0
1,3- 丁二醇	3.0
甘油	5.0
三乙醇胺	0.5
生育酚乙酸酯	0.5
防腐剂、色素	适量
香	适量
纯净水	余量
合计	100

[0129] 【剂型例 3 :营养化妆水】

[0130] 按照一般的化妆水制备方法制备包含在上述实施例中制备的肽纳米微脂囊，且由下述组成所构成的营养化妆水。

[0131] （表 4）

[0132]

成分	含量（重量%）
肽纳米微脂囊	2.5
1,3- 丁二醇	4.0
甘油	4.0
棕榈酸酯	0.8
硬脂酸甘油酯	1.0
三乙醇胺	0.13
生育酚乙酸酯	0.3
油桐石蜡	5.0
角鲨烷	3.0
夏威夷果仁油	2.0
聚山梨醇酯 60	1.5

去水山梨醇单油酸酯	0.5
羧乙烯基聚合物	1.0
防腐剂、色素	适量
香	适量
纯净水	余量
合计	100

[0133] 【剂型例 4 :精华素】

[0134] 按照一般的精华素制备方法制备包含在上述实施例中制备的肽纳米微脂囊，且由下述组成所构成的精华素。

[0135] （表 5）

[0136]

成分	含量（重量%）
肽纳米微脂囊	2.5
甘油	10.0
1,3- 丁二醇	5.0
聚乙二醇 1500	2.0
尿囊素	0.1
DL- 泛醇	0.3
EDTA-2NA	0.02
羟乙基纤维素	0.1
透明质酸钠	8.0
羧乙烯基聚合物	0.2
三乙醇胺	0.18
辛基十二醇聚醚 -16	0.4
乙醇	6.0
香、防腐剂、色素	适量

纯净水	余量
合计	100

[0137] 【剂型例 5 :护发精华素】

[0138] 按照一般的护发精华素制备方法制备包含在上述实施例中制备的肽纳米微脂囊，且由下述组成所构成的护发精华素。

[0139] （表 6）

[0140]

成分	含量（重量%）
肽纳米微脂囊	1
甘油	10.0
1,3- 丁二醇	5.0
聚乙二醇 1500	2.0
尿囊素	0.1
DL- 泛醇	0.3
乙二胺四乙酸二钠	0.02
羟乙基纤维素	0.1
透明质酸钠	8.0
羧乙烯基聚合物	0.2
三乙醇胺	0.18
辛基十二醇聚醚 -16	0.4
乙醇	6.0
香、防腐剂、色素	适量
纯净水	余量
合计	100

[0141] 【剂型例 6 :护发水】

[0142] 按照一般的护发水制备方法制备包含在上述实施例中制备的肽纳米微脂囊，且由下述组成所构成的护发水。

[0143] （表 7）

[0144]

成分	含量（重量%）
肽纳米微脂囊	1
甘油	2.0
1,3- 丁二醇	2.0
聚乙二醇 1500	2.0
尿囊素	0.1
DL- 泛醇	0.3
乙二胺四乙酸二钠	0.02
透明质酸钠	8.0
羧乙烯基聚合物	0.2
三乙醇胺	0.18
乙醇	10.0
香、防腐剂、色素	适量
纯净水	余量
合计	100

[0145] 以上对本发明的特定的部分进行了详细的记述，对于本发明所属技术领域的普通技术人员来说，这些具体的记述仅仅是优选的实施例，本发明的范围不限于此是显而易见的。因此，本发明的实际上的范围借助所附的权利要求书及其等价物来定义。

[0001]

序列表

<110> caregen

<120> WNT10-来源肽及其用途

<160> 3

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> WNT10-来源肽1

<400> 1
Arg Gln Thr Arg Val Gln Arg Cys His Cys
1 5 10

<210> 2
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 角蛋白2-来源肽1

<400> 2
Tyr Lys Ser Lys Lys Gly Gly Trp Thr His
1 5 10

<210> 3
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 头蛋白-来源肽1

<220>
<221> PEPTIDE
<222> (6)
<223> Xaa可为任何氨基酸或肽接头.

<400> 3
Glu Leu Ile Glu His Xaa Arg Pro Ala Asp
1 5 10

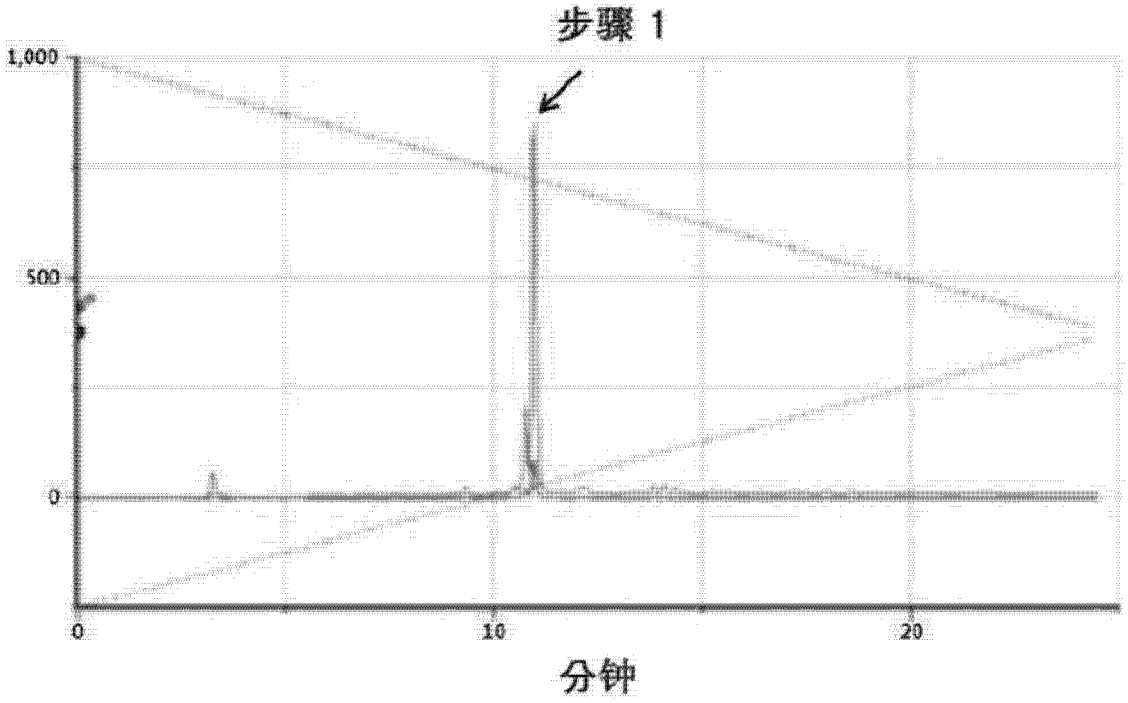

步骤 1
1,000
500
0
0
10
20
分钟

图 1

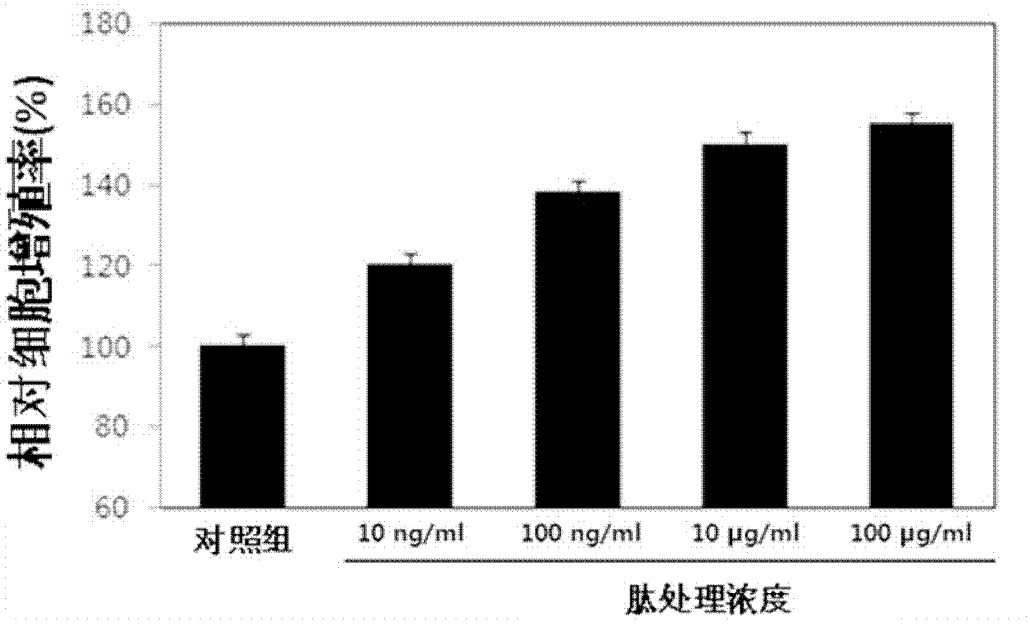

180
160
140
120
100
80
60
相对细胞增殖率(%)
对照组
10 ng/ml
100 ng/ml
10 μg/ml
100 μg/ml
肽处理浓度

图 2a

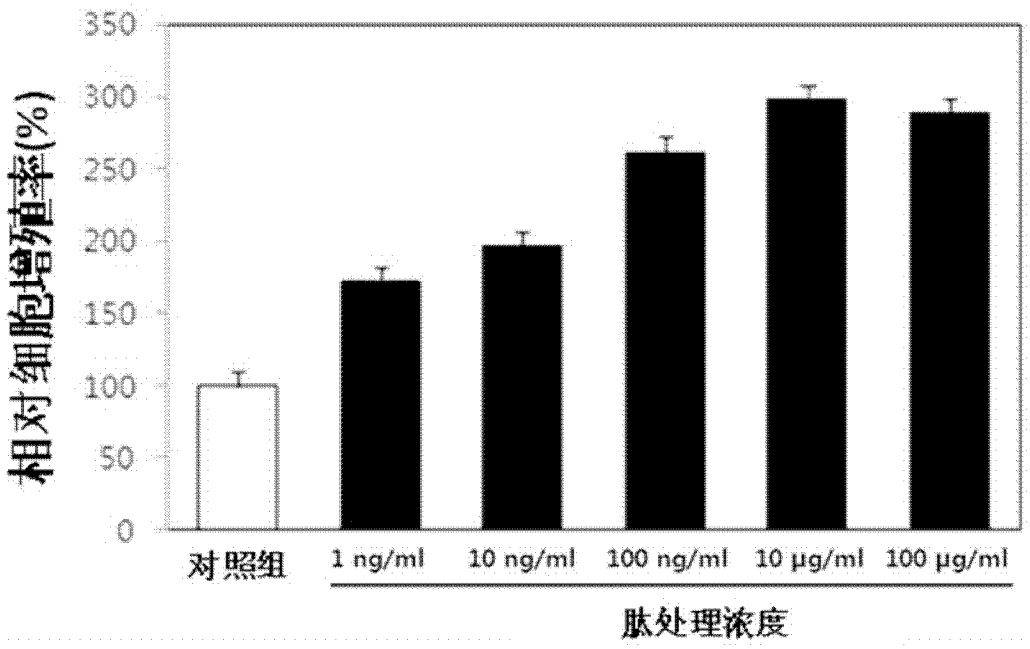

相对细胞增殖率(%)
350
300
250
200
150
100
50
0
对照组
1 ng/ml
10 ng/ml
100 ng/ml
10 μg/ml
100 μg/ml
肽处理浓度

图 2b

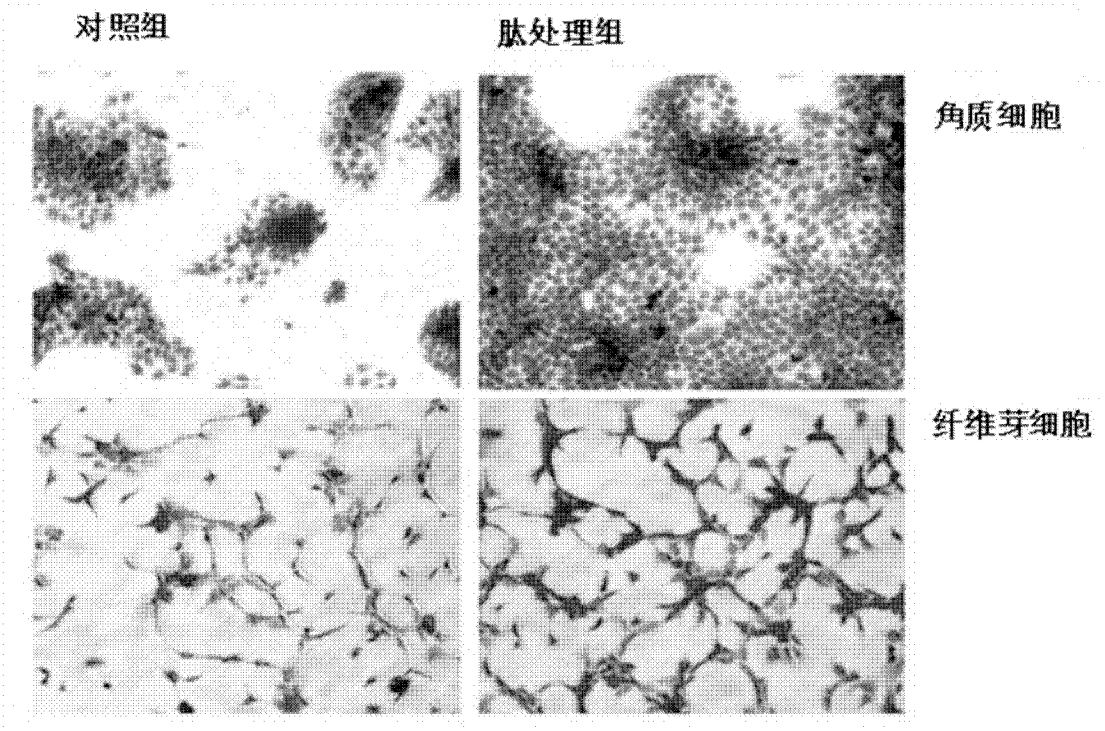

对照组
肽处理组
角质细胞
纤维芽细胞

图 3

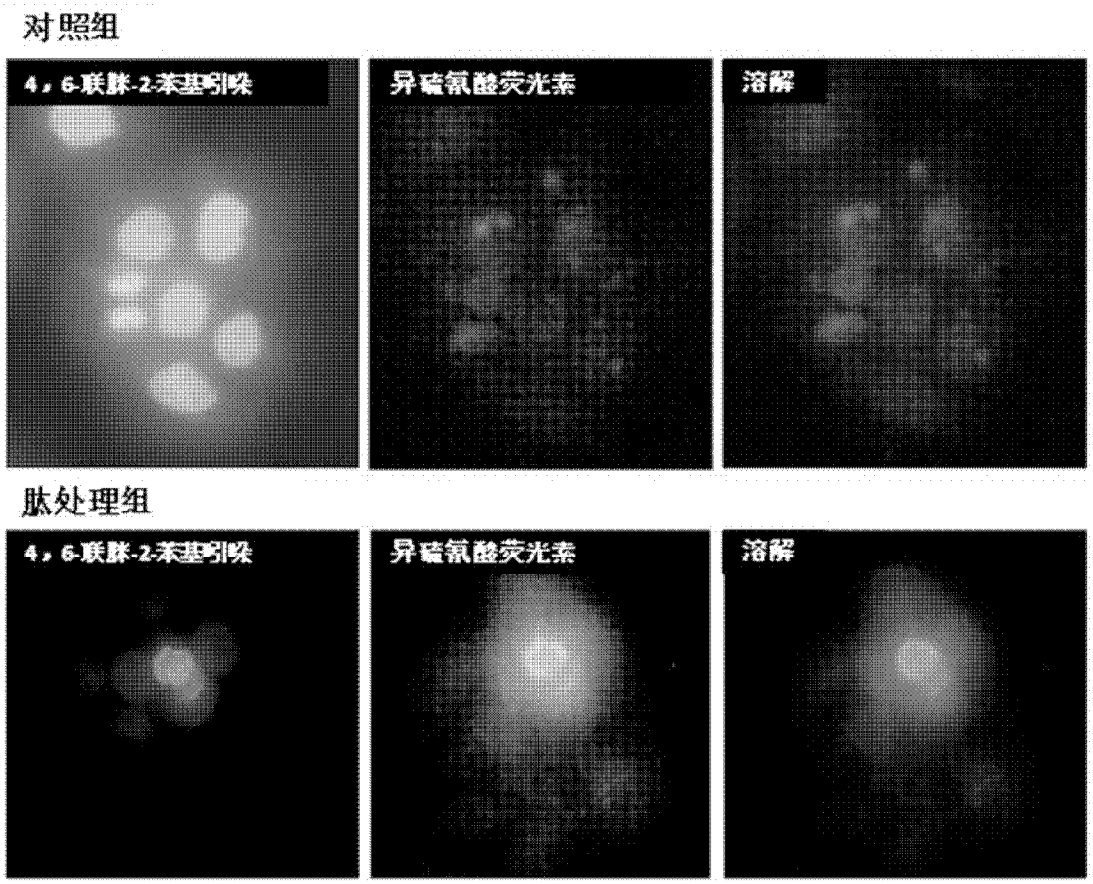

对照组
4，6-联脒-2-苯基吲哚
异硫氰酸荧光素
溶解
肽处理组
4，6-联脒-2-苯基吲哚
异硫氰酸荧光素
溶解

图 4

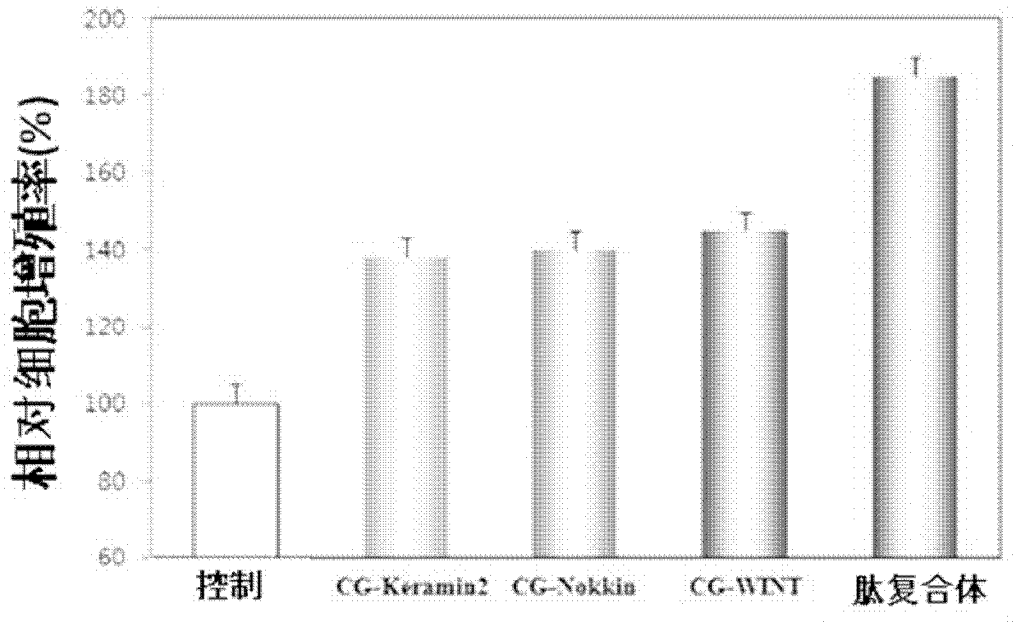

相对细胞增殖率(%)
200
180
160
140
120
100
80
60
控制
CG-Keramin2
CG-Nokkin
CG-WINT
肽复合体

图 5a

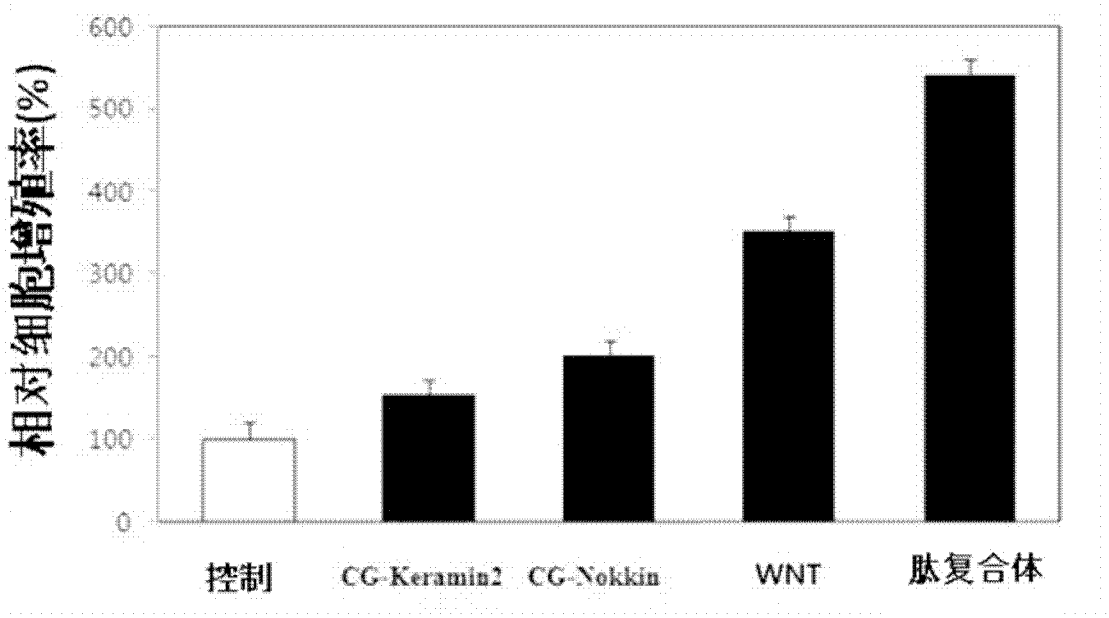

相对细胞增殖率(%)
600
500
400
300
200
100
0
控制
CG-Keramin2
CG-Nokkin
WNT
肽复合体

图 5b

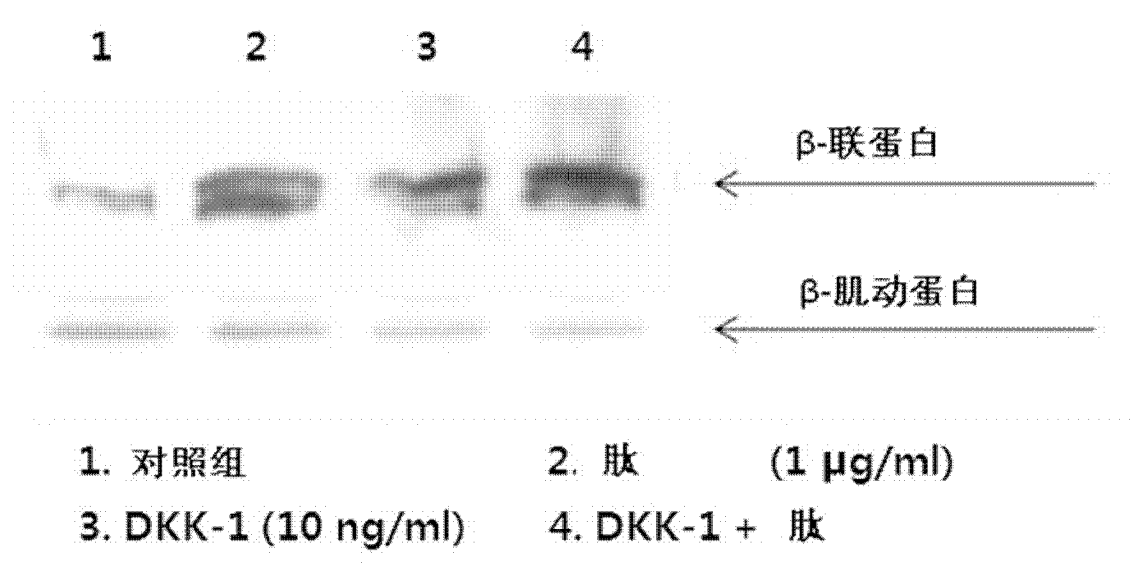

1
2
3
4
β-联蛋白
β-肌动蛋白
1. 对照组
2. 肽 (1 μg/ml)
3. DKK-1 (10 ng/ml)
4. DKK-1 + 肽

图 6a

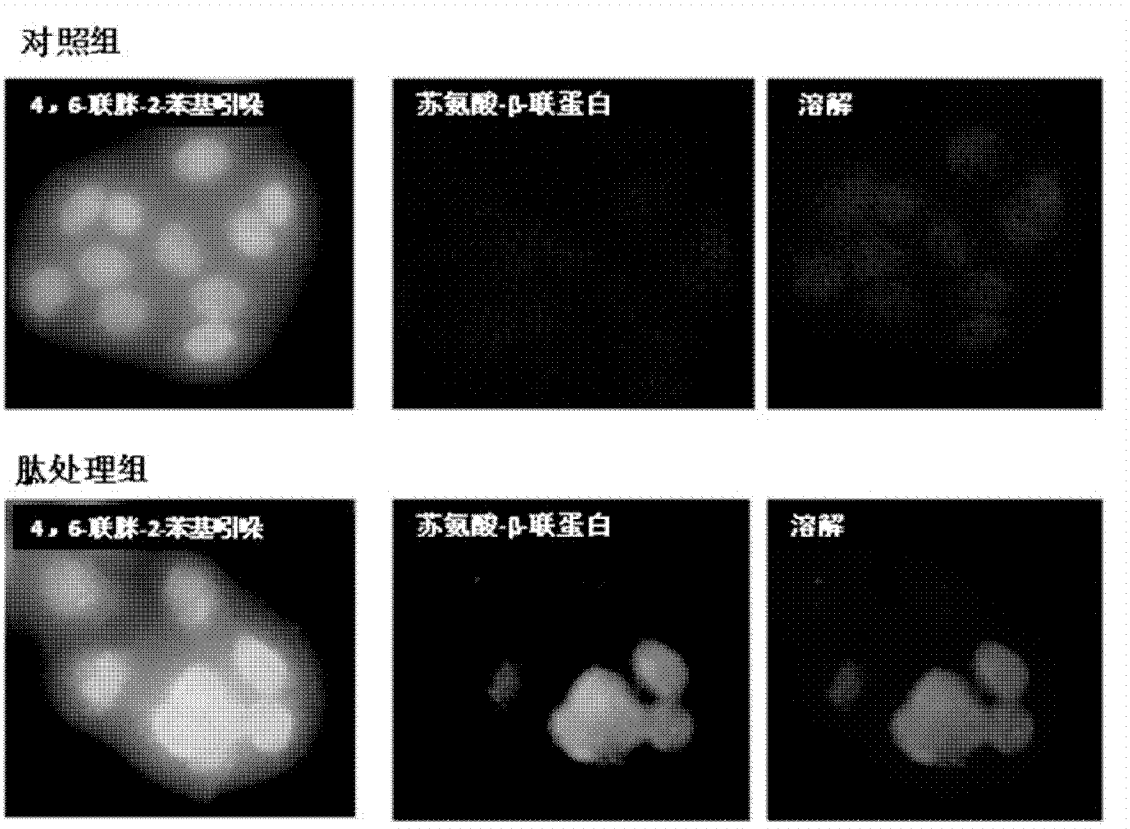

对照组
4，6-联脒-2-苯基吲哚
苏氨酸-β-联蛋白
溶解
肽处理组
4，6-联脒-2-苯基吲哚
苏氨酸-β-联蛋白
溶解

图 6b

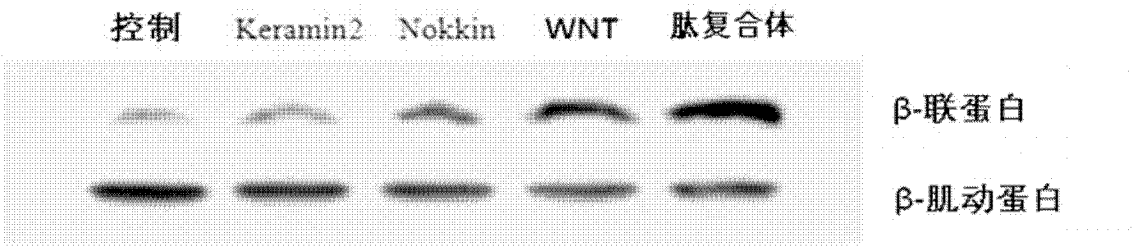

控制
Keramin2
Nokkin
WNT
肽复合体
β-联蛋白
β-肌动蛋白

图 7

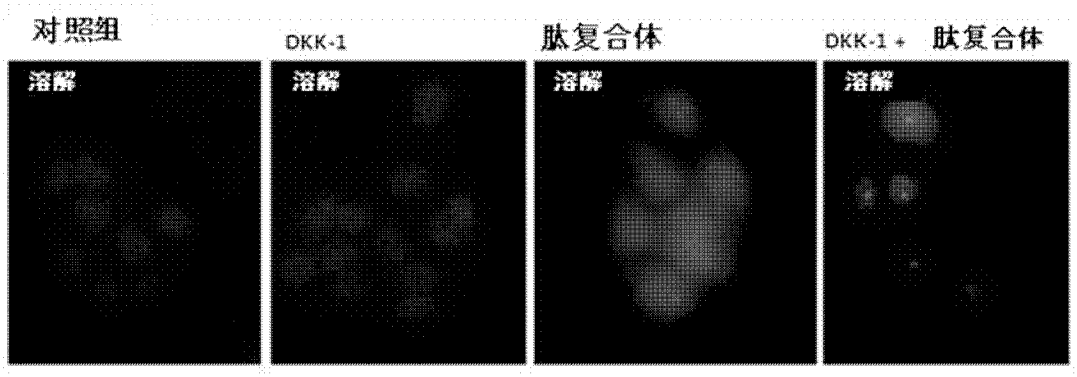

对照组
溶解
DKK-1
溶解
肽复合体
溶解
DKK-1 + 肽复合体
溶解

图 8

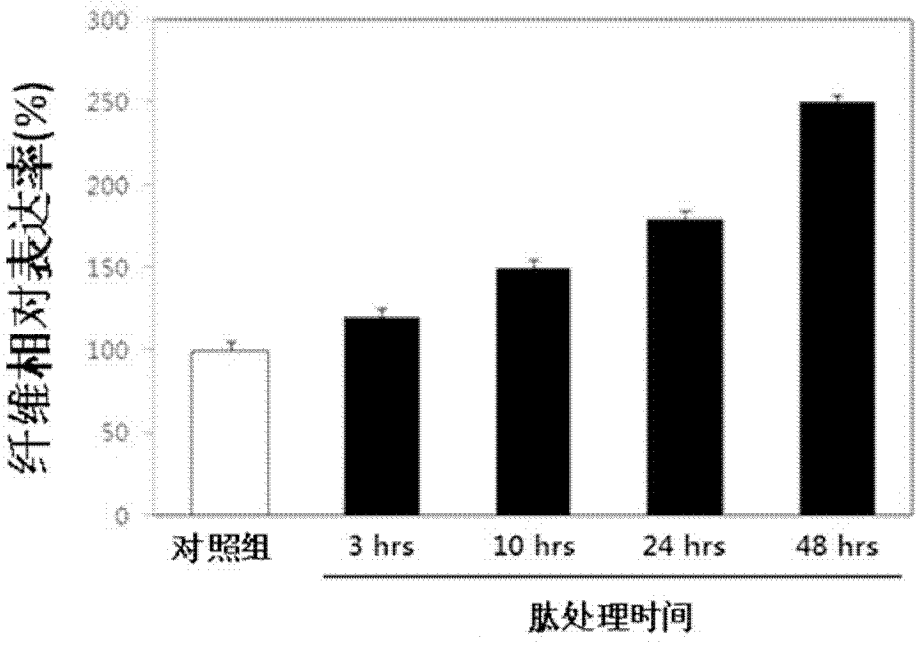

纤维相对表达率(%)
300
250
200
150
100
50
0
对照组
3 hrs
10 hrs
24 hrs
48 hrs
肽处理时间

图 9a

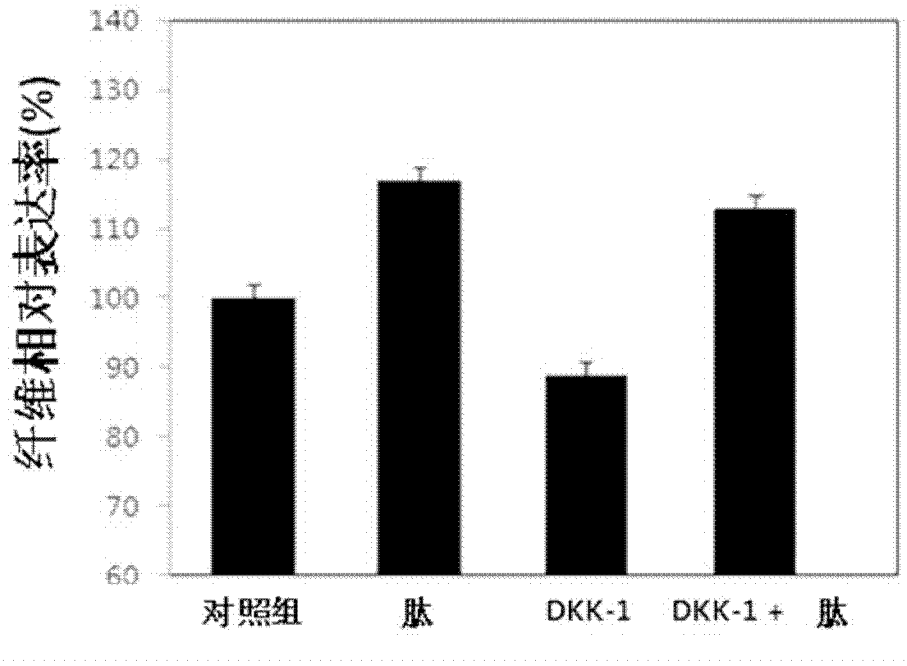

纤维相对表达率(%)
140
130
120
110
100
90
80
70
60
对照组
肽
DKK-1
DKK-1 +
肽

图 9b

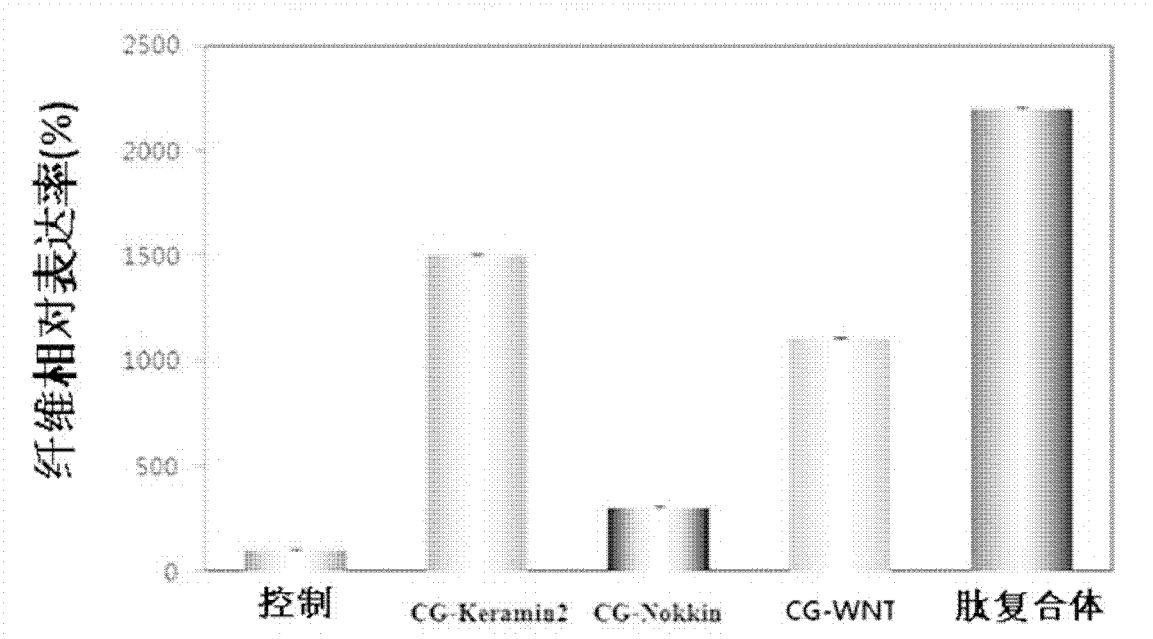

纤维相对表达率(%)
2500
2000
1500
1000
500
0
控制
CG-Keramin2
CG-Nokkin
CG-WNT
肽复合体

图 10

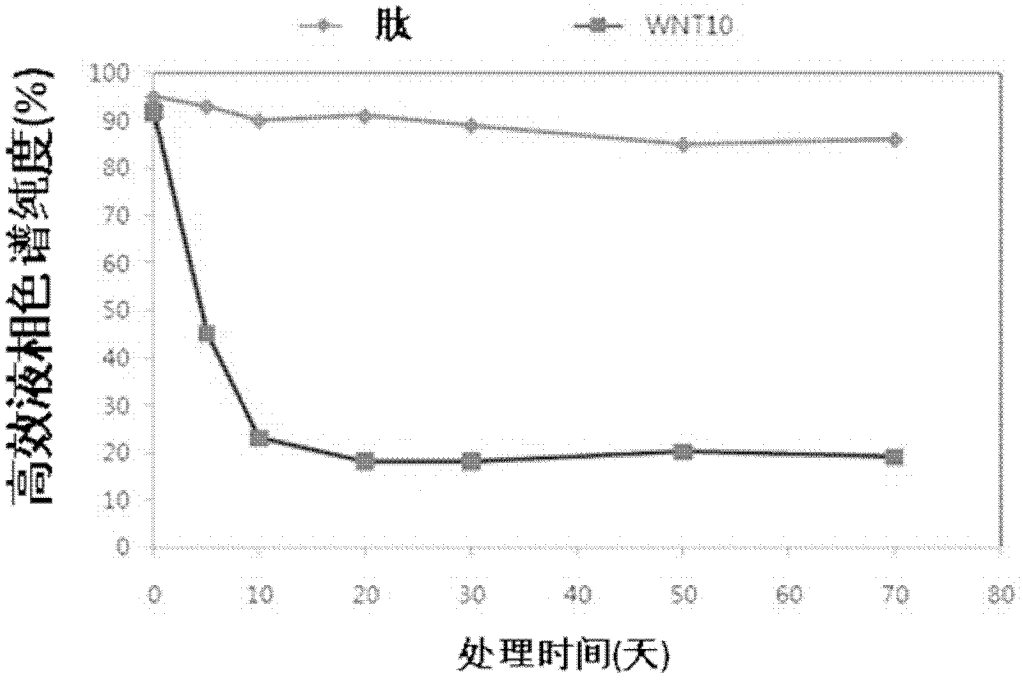

肽
WNT10
高效液相色谱纯度(%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
10
20
30
40
50
60
70
80
处理时间(天)

图 11

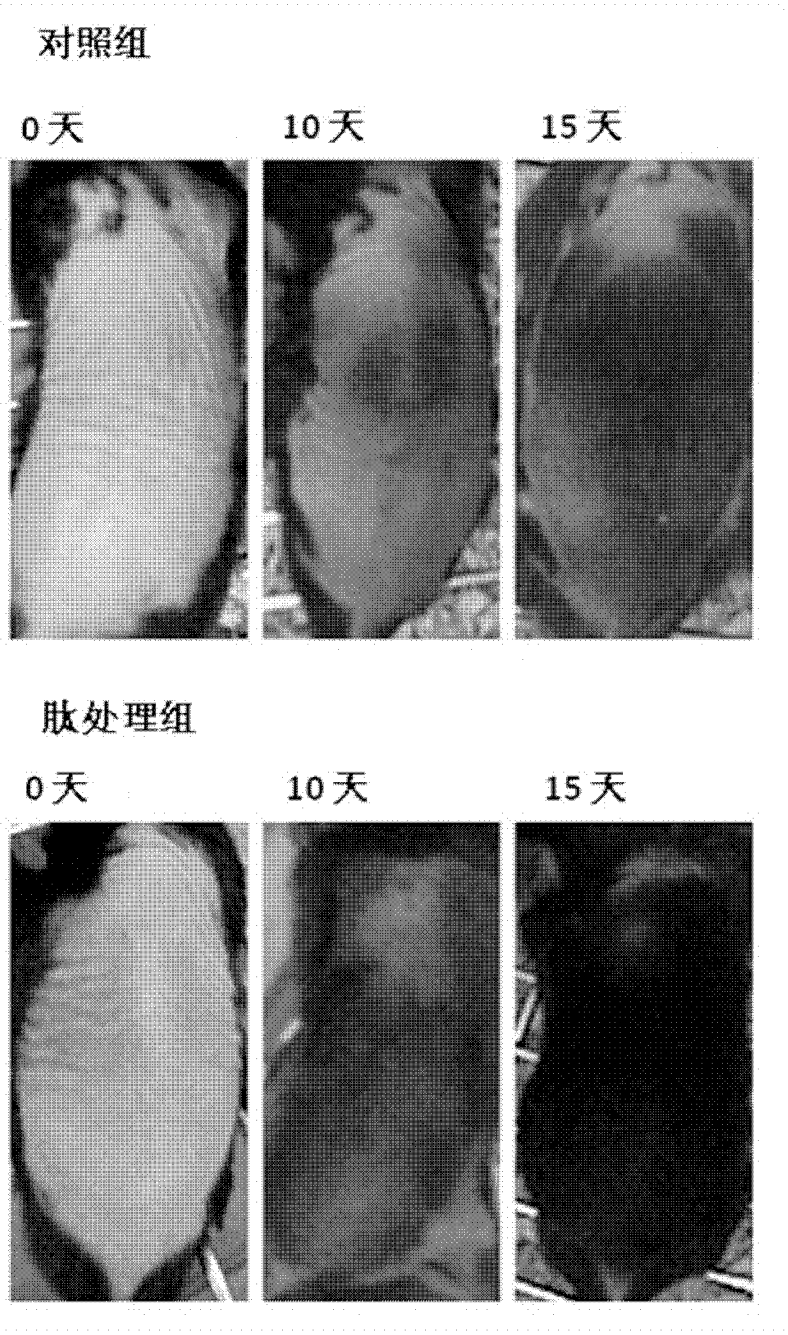


图 12

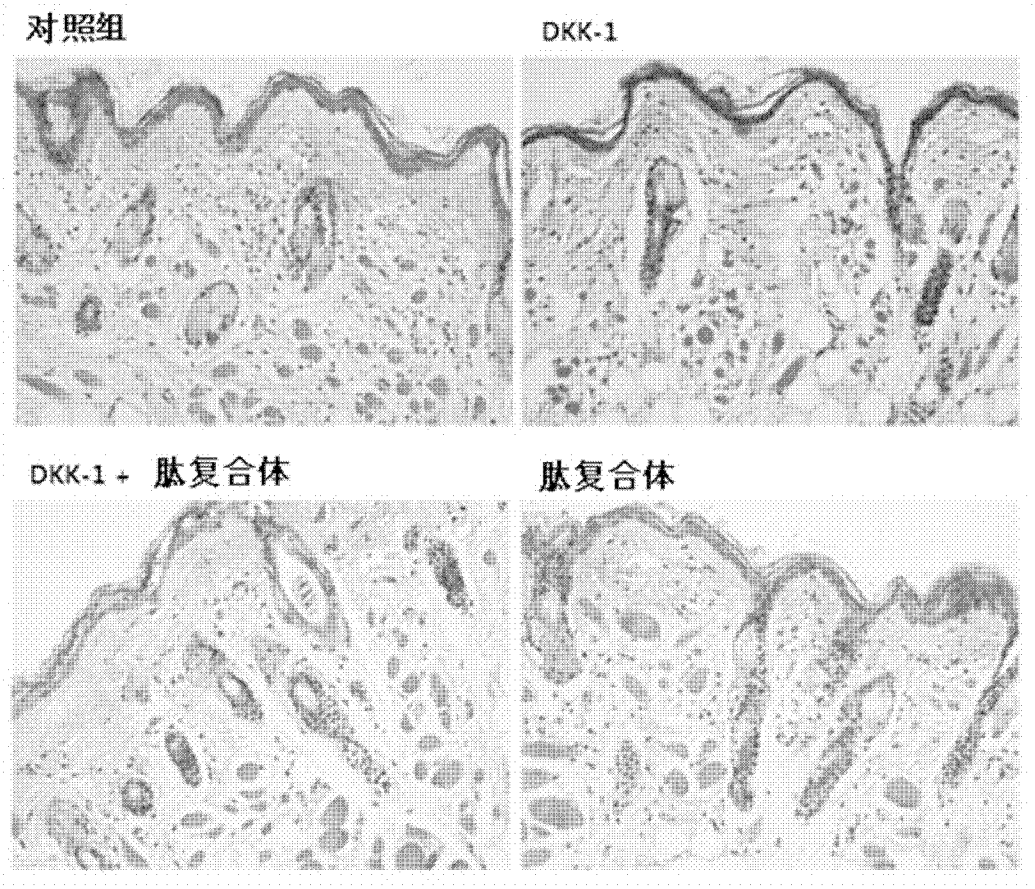


图 13a

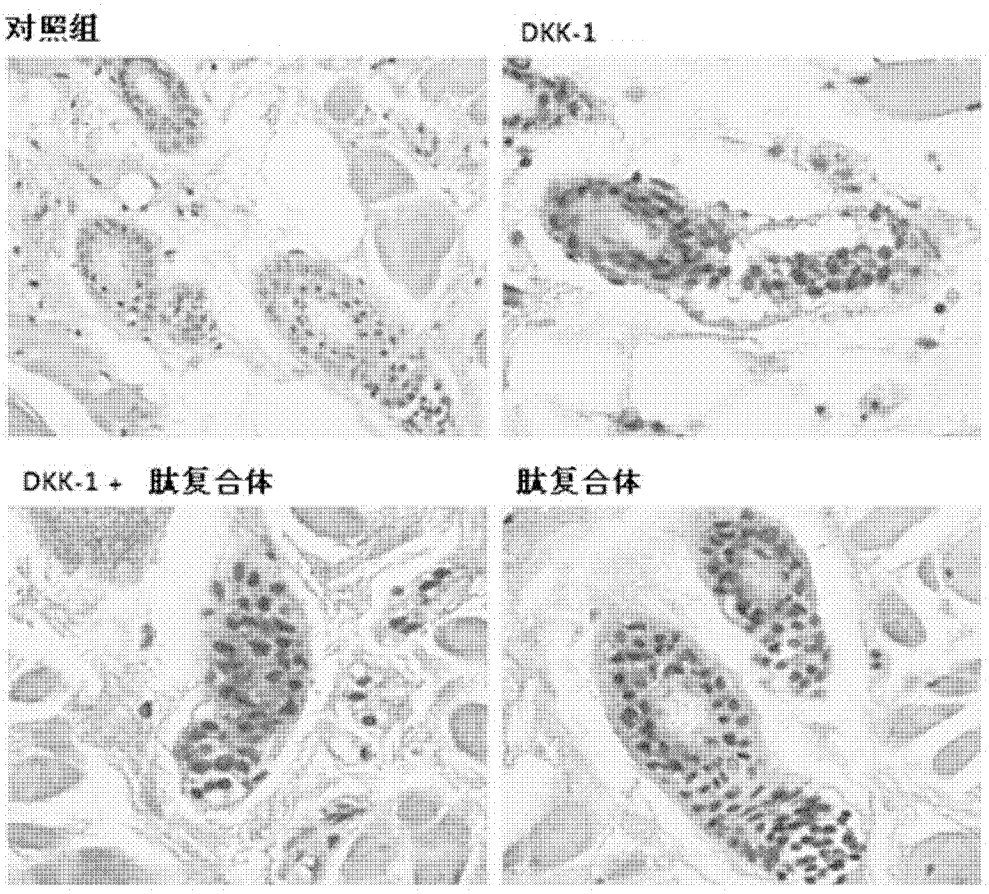


图 13b

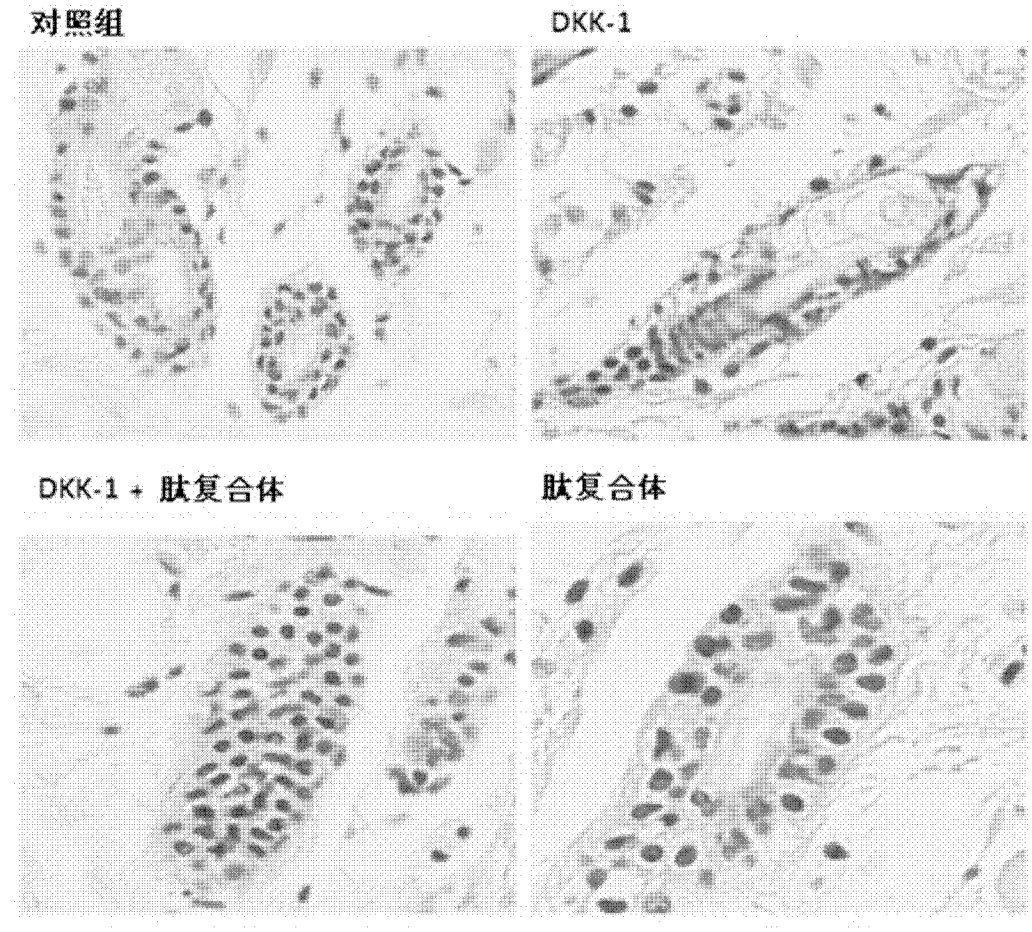


图 13c

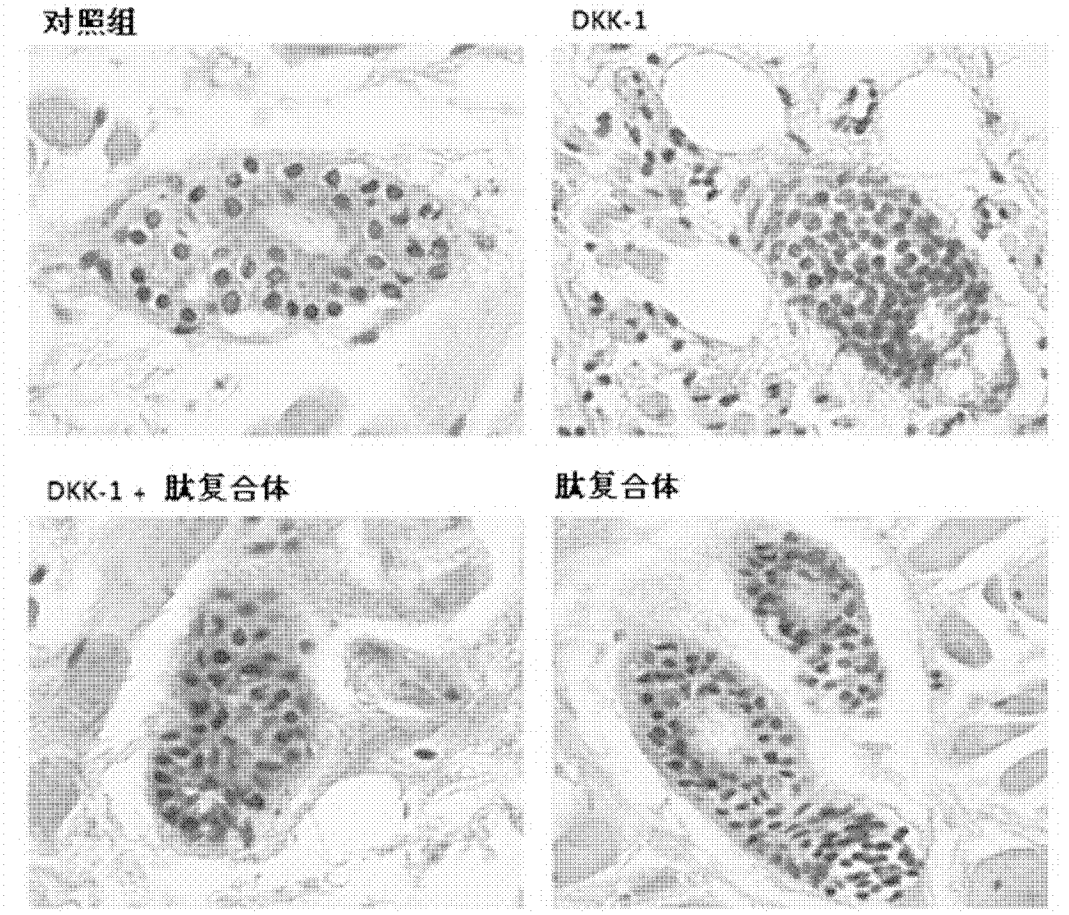


图 13d