

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2013년 2월 7일 (07.02.2013)



(10) 국제공개번호
WO 2013/018976 A1

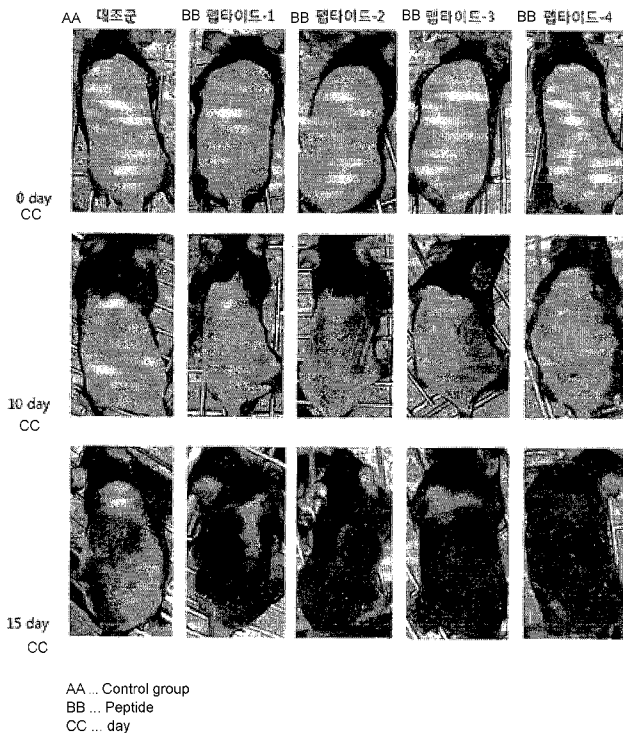
- (51) 국제특허분류:
C07K 14/71 (2006.01) A61Q 7/02 (2006.01)
A61K 38/18 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2012/003638
- (22) 국제출원일: 2012년 5월 9일 (09.05.2012)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2011-0077566 2011년 8월 4일 (04.08.2011) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): (주) 케어젠 (CAREGEN CO., LTD.) [KR/KR]; 435-050 경기도 군포시 금정동 690-3, Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자; 겸
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 정용지 (CHUNG, Yong Ji) [KR/KR]; 448-140 경기도 용인시 수지구 성북동 155 성동마을 LG 빌리지 1차 101동 1202호, Gyeonggi-do (KR). 김은미 (KIM, Eun Mi) [KR/KR]; 435-040 경기도 군포시 산본동 75-92 거성빌라 A-501, Gyeonggi-do (KR).
- (74) 대리인: 양부현 (YANG, Boo-Hyun); 151-832 서울특별시 관악구 인현동 1659-2 청동빌딩 301호, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

[다음 쪽 계속]

(54) Title: WNT FAMILY-DERIVED PEPTIDE AND USES THEREOF

(54) 발명의 명칭 : WNT 계열 유래 펩타이드 및 이의 용도

Fig. 8



(57) Abstract: The present invention relates to a WNT family-derived novel peptide and uses thereof. The WNT-derived peptide according to the present invention performs similar functions as a naturally-occurring WNT protein, is more stable compared to same, and also has excellent skin permeability. Accordingly, a compound comprising the peptide according to the present invention enhances hair growth and provides improved prevention against hair loss, has an anti-aging effect, and is effective in treating, preventing or alleviating diseases or conditions requiring the activation of WNT proteins. Additionally, the superior activation and safety of the peptide can be used beneficially in drugs, quasi-drugs, and cosmetics.

(57) 요약서: 본 발명은 WNT 계열 유래 신규한 펩타이드 및 이의 용도에 관한 것이다. 본 발명의 WNT 유래 펩타이드는 천연의 WNT 단백질과 유사한 기능을 수행하며, 안정성이 천연 WNT와 비교하여 매우 우수하며, 피부 투과도도 매우 우수하다. 따라서 본 발명의 펩타이드를 포함하는 조성물은, 모발 성장 및 탈모 방지를 개선하고 항노화 효능을 가지며 WNT 단백질의 활성이 요구되는 질환 또는 상태를 치료, 예방 및 개선 하는데 효능을 발휘한다. 또한, 본 발명의 펩타이드의 우수한 활성 및 안정성은 의약, 의약품 및 화장품에 매우 유리하게 적용될 수 있도록 한다.

WO 2013/018976 A1



(84) **지정국** (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

【명세서】

【발명의 명칭】

WNT 계열 유래 펩타이드 및 이의 용도

5 【기술 분야】

본 발명은 WNT 계열 유래 신규한 펩타이드 및 이의 용도에 관한 것이다.

【배경 기술】

10 모낭은 포유동물 피부의 독특한 기관으로서, 원시 표피의 하부가 성장하여 보다 깊은 피부 층으로 신장된 기관이다. 모낭의 기부에는 소낭 또는 진피 유두 세포로서 알려진 세포의 플러그가 존재하며(Stenn and Paus, *Physiol. Rev.*, 81:449(2002)) 유두는 모낭의 정상적인 순환(Oliver, *Embryol. Exp. Morph.* 15:331(1966)) 및 모간의 성장에 필수적이다.

15 모간은 케라틴 필라멘트와 필라멘트 응집 단백질로 충전된 단단하게 밀착된 상피 세포로 제조된 트레드 형상의 구조이다.

인간의 모발은 주기적으로 생장기, 퇴행기, 휴지기를 반복하며 모발이 빠지고 다시 생성되는 과정을 거치게 된다. 모발의 주기 조절은 호르몬 조절이나 많은 성장인자 등의 조절을 통하여 이루어진다.

20 심한 스트레스나 영양 결핍 등에 의해서도 조기 퇴행기를 거친 휴지기 도입에 의한 심한 탈모증상이 유발되기도 한다(Arck, *American Journal of Pathology*, 162(3): 803(2003)). 남성형 대머리에 있어서, 두피의 전면 및 상부의 모낭은 안드로겐에 대해 감수성이다. 그래서 남성형 대머리의 경우 모낭의 파괴보다는 모낭의 소형화에 해당 되는데 그 원인으로는 남성

25 호르몬인 안드로겐의 과한 분비로 인해 5-알파 환원효소가 활성화 되어 테스토스테론(testosterone)이 하이드로테스토스테론(dihydrotestosterone, DHT)으로 변형 되며, 이렇게 생성된 디하이드로테스토스테론은 모발이 자라는 기간을 단축시키고, 모낭을 소형화 시켜 굵고, 튼튼한 성모의 수를 감소시킴으로서 탈모를 유발시킨다. 또한, 탈모여성의 20% 는, 종종 두피

30 상부의 모발이 얇아지는 것을 특징으로 하는 이들의 일생에서 몇몇 종류의 탈모를 겪는 것으로 추정된다. 나이가 들어감에 따라 탈모가 확산된다.

예를 들면, 흉터 탈모증, 화상 또는 압박 상해와 관련된 흉터형성 상태와 같은 상이한 질환 상태가 현저한 탈모를 일으킬 수 있다. 원인과 무관하게 탈모는 현대사회의 여성 진출이 많아지고, 남성도 외모에 신경을 쓰게 됨으로서 최종적으로 자존심과 자긍심의 상실과 함께 현저한 정신적, 사회적 및 성적 영향력을 행사하는 결과를 초래할 수 있다. 이런 5 탈모현상을 치료하기 위해 지금까지는 의약품으로 여러 가지 물질 등을 사용되어 왔으나 가격이 너무 비싸고, 여러 가지 부작용들이 유발 되고 있다. 또한 이런 의약품들은 지속적인 사용을 필요로 하며 사용을 중단하였을 때에는 다시 탈모가 유발되는 단점이 있다. 또한 효능에 대한 10 개개인의 차이가 심하며, 부작용도 개개인 마다 차이가 나는 단점이 있다.

그 외 화장품으로 이용되고 있는 원료들은 가격이 저렴하다는 장점이 있지만, 식물 추출물 유래 성분들로 구성 되어 있기 때문에 실제 그 효능은 크지 않다는 단점이 있다.

따라서 보다 효과적이면서도 비용적인 측면에서 보다 경제적인 15 새로운 유효성분에 대한 요구가 당업계에 대두하고 있다.

지금까지 알려진 2 가지 이용 가능한 약물(미녹시딜 및 피나스테라이드)은 추가의 탈모를 지연시킬 수는 있지만, 실제로 새로운 모낭의 재생을 유도하는 효과는 나타내지 못했다. 또한 많은 두발 화장품 20 중에서 식물 추출물 등을 이용한 탈모방지 제품이 많이 출시되었는데, 특히, 고삼, 고추, 당약, 상백피, 상엽, 인삼, 감초, 작약, 지황, 회향, 산수유, 마늘등의 추출물을 함유한 제품, 크산틴 및 성장호르몬을 함유하는 조성물을 첨가하여 디하이드로테스토스테론의 과잉에 따른 세포대사 억제를 개선함과 동시에 성장 호르몬의 성장 촉진 효과를 이용함으로써 탈모방지 및 모발재생을 통한 모발성장 촉진 효과를 나타내는 제품, 미네랄 및 25 비타민류, 녹차, 로즈마리, 쑥, 감초 추출액을 함유하여 두피와 모발에 대한 영양 공급을 통해 탈모 예방 및 모발 성장 촉진 효과를 나타내는 제품, 그리고 비타민 B, 비타민 C, 비타민 D, 비타민 E, 니코틴산, 판토텐산, 비오틴 및 엽산 등의 물질과 식물추출물을 혼합하여 체내의 5-알파 환원효소를 억제하고 남성호르몬의 대사과정에서 디하이드로테스토스테론이 30 형성되지 않도록 하며 모발의 신진대사작용을 도와 남성형 탈모의 개선을 도와주는 제품들이 개발되었으나, 신생모발의 생성까지 영향을 미치는

제품은 찾기 힘들었다. 한편 일본의 도쿄 자혜회 의과대학 건강의학센터 연구그룹 임상팀에 의해 당뇨 등에 효능을 보이는 것으로 밝혀진 콜로소린산(corosolic acid)을 이용한 제품이 개발 되어 체내의 5-알파 환원효소를 억제하고 모발 성장에 탁월한 효능을 보이는 제품이 개발되기도 하였다.

5 모발의 성장 및 퇴화의 과정에는 매우 많은 요인들이 서로 연계되어 있는데, 본 연구자들은 모근의 생성에 있어서 가장 중요한 모발의 각질세포의 증식을 촉진 하고, 모발로의 분화를 유도하기 위한 연구 및 모발 주위의 영양분을 공급하고, 혈관내피 성장인자의 활성을 촉진시키는 10 일련의 성장인자를 활용한 연구를 수행하였다.

특히 모발의 주기를 권장하는 여러 가지 성장인자 중에서 인간 유래 WNT 는 세포에서 신호를 전달하여 모발에 영향을 주는데, 이런 WNT 의 신호전달 경로는 분비된 WNT 와 이들의 수용체인 곱슬곱슬한(frizzled) 단백질 사이의 상호작용에 의해 활성화 되며, 이때 LDL 수용체-관련 15 단백질인 LRP5 및 LRP6 가 보조수용체로서 작용한다. WNT 의 신호전달의 하류 영향은 헝클어진(disheveled) 단백질의 활성화를 포함하여, Akt 를 활성화시킨 후에 Axin- β -카테닌-GSK3 β -복합체로 동원시킨다(Fukumoto et al., *J.Biol. Chem.*, 276:17479-17483(2001)). 이후에는 GSK3 β 가 인산화 및 불활성화되어, β -카테닌의 인산화 및 분해가 억제된다. 축적된 β - 20 카테닌은 핵으로 전위하여 림프양 인핸서인자-T 세포인자(LEF-TCF) 족의 전사 인자와 상호작용하여 표적 유전자의 전사를 유도한다. 이렇게 발현된 단백질들은 모발의 성장과 분화에 중요하게 작용하며 모세포가 새롭게 생성될 수 있게 한다. 또한, 남성 호르몬으로 인한 디하이드로테스토스테론의 기능을 저하시킴으로써 탈모를 방지 하는 기능을 25 가지고 있다.

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 30 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

【발명의 상세한 설명】

본 발명자들은 성장인자 중 WNT 와 동일한 기능 또는 유사한 기능 유지하면서도 자연의 WNT 단백질보다 활성, 피부 투과도 및 안정성이 우수한 물질을 개발하고자 노력한 결과, 자연의 WNT 단백질의 아미노산 서열에 기초하여 상술한 특성을 나타내는 다수의 WNT 관련 펩타이드를 합성함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

따라서, 본 발명의 목적은 서열목록 제 1 서열, 제 2 서열, 제 3 서열 및 제 4 서열에 기재된 아미노산 서열로 구성된 군으로부터 선택되는 1 종의 아미노산 서열로 이루어진 WNT 단백질의 활성을 나타내는 펩타이드를 제공하는 데 있다.

본 발명의 다른 목적은 상기 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 발모 촉진 및 모발 생성 개선용 조성물을 제공하는 데 있다.

본 발명의 또 다른 목적은 상기 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 개선용 조성물을 제공하는 데 있다.

본 발명의 다른 목적은 상기 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 피부상태(skin conditions) 개선용 조성물을 제공하는 데 있다.

본 발명의 다른 목적은 상기 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 WNT 관련 신호전달 부전-연관 질환의 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 데 있다.

본 발명의 또 다른 목적은 상기 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 WNT 의 길항제인 DKK-1 단백질-연관 질환의 치료용 조성물을 제공하는 데 있다.

본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

본 발명의 일 양태에 따르면, 서열목록 제 1 서열, 제 2 서열, 제 3 서열 및 제 4 서열에 기재된 아미노산 서열로 구성된 군으로부터 선택되는 1 종의 아미노산 서열로 이루어진 WNT 단백질의 활성을 나타내는 펩타이드를 제공한다.

본 발명자들은 성장인자 중 WNT 단백질과 동일한 기능 혹은 유사한 기능을 유지하면서도 천연 WNT 단백질보다 활성, 피부 투과도 및 안정성이 우수한 물질을 개발하고자 노력한 결과, 천연의 WNT 단백질의 아미노산 서열에 기초하여 상술한 특성을 나타내는 다수의 성장인자 관련 펩타이드를 합성하였다.

본 발명의 펩타이드는 인간 WNT 단백질 에서 유래된 것으로서, WNT 계열 유래의 서열목록 제 1 서열(펩타이드 1) 내지 제 4 서열 (펩타이드 4)로 아미노산 서열들로부터 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 바람직하게는, 본 발명에서의 펩타이드들은 서열목록 제 1 서열내지 서열목록 제 4 서열의 아미노산 서열들로부터 구성된 군으로부터 선택되는 아미노산 서열로 필수적으로 구성되어 있다. 본 명세서에서 용어 “펩타이드”는 펩타이드 결합에 의해 아미노산 잔기들이 서로 결합되어 형성된 선형의 분자를 의미한다.

본 발명의 펩타이드는 당업계에 공지된 화학적 합성 방법, 특히 고상 합성 기술(solid-phase synthesis techniques)에 따라 제조될 수 있다(Merrifield, *J. Amer. Chem. Soc.* 85:2149-54(1963); Stewart, et al., *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2nd. ed., Pierce Chem. Co.: Rockford, 111(1984)).

본 발명의 펩타이드는 WNT 단백질의 여러 부위를 무작위적으로 부분 합성하여 수용체 단백질에 대한 결합가능 부위를 1 차 탐색한 후, 이 예측된 부위의 아미노산 서열을 최적화 하여 본 발명의 펩타이드로 선정 제조하였으며 이들 후보 펩타이드들 중에서 가장 활성이 우수한 펩타이드를 스크리닝 함으로써, 본 발명의 펩타이드가 제공된다.

서열목록 제 1 서열 펩타이드(펩타이드-1), 제 2 서열 펩타이드(펩타이드-2), 제 3 서열 펩타이드(펩타이드-3) 및 제 4 서열 펩타이드(펩타이드-4)는 천연 WNT 단백질과 유사한 작용을 수행한다. 이는 수용기와 결합하여 성장인자와 같은 기능을 수행하는 펩타이드이다.

본 발명의 펩타이드는 그 자체로서 천연의 WNT 단백질보다 안정성이 매우 우수하다.

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 펩타이드의 N-말단은 아세틸기, 플루오레닐 메톡시 카르보닐기, 포르밀기, 팔미토일기,

미리스틸기, 스테아릴기 및 폴리에틸렌글리콜(PEG)로 구성된 군으로부터 선택되는 보호기가 결합되어 있다.

상술한 아미노산의 변형은 본 발명의 펩타이드의 안정성을 크게 개선하는 작용을 한다. 본 명세서에서 용어 “안정성”은 “인 비보”
 5 안정성뿐만 아니라, 저장 안정성(예컨대, 상온 저장 안정성)도 의미한다. 상술한 보호기는 생체 내의 단백질 절단효소의 공격으로부터 본 발명의 펩타이드를 보호하는 작용을 한다.

본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명의 펩타이드를 유효성분으로
 10 포함하는 발모 촉진 및 모발 생성 개선용 조성물을 제공한다.

본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명의 펩타이드를 대상(subject)에게 처리하는 단계를 포함하는 발모 촉진 및 모발 생성 개선방법을 제공한다.

본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 발모 촉진 및 모발
 15 생성 개선용 의약품(medicaments)을 제조하기 위한 본 발명의 펩타이드의 용도를 제공한다.

본 발명의 조성물은 상술한 본 발명의 성장인자-관련 펩타이드를 유효성분으로 포함하기 때문에, 이 둘 사이에 공통된 내용은 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여 그 기재를 생략한다.

20 하기의 실시예에서 입증된 바와 같이, 본 발명의 성장인자-관련 펩타이드 서열 들은 섬유아세포, 각질세포 또는 모낭세포 성장 촉진능력을 가지며 또한 WNT 단백질의 대표적인 시그널인 β -카테닌 시그널을 따라가는 것을 볼 수 있다. 또한 DKK-1 이라는 WNT 의 억제제가 존재하더라도 WNT 의 시그널이 그대로 전달되는 것을 볼 수 있다. WNT 의 타겟 유전자인
 25 파이브로넥틴의 발현도 펩타이드에 의해 증가되는 것을 볼 수 있고, DKK-1 이 존재하였을 때에도 파이브로넥틴의 발현양이 증가하는 것을 볼 수 있다. 이는 동물실험을 통해 모발의 성장을 매우 높게 촉진하는 기능을 수행한다.

본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명의 펩타이드를 유효성분으로
 30 포함하는 탈모 방지 개선용 조성물을 제공한다.

본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명의 펩타이드를

대상(subject)에게 처리하는 단계를 포함하는 탈모 방지 개선방법을 제공한다.

본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 탈모 방지 개선용 의약품을 제조하기 위한 본 발명의 펩타이드의 용도를 제공한다.

- 5 본 발명의 펩타이드는 모근을 생성할 수 있게 하는 피부조직의 머리카락 난포(hair follicle)에 있는 줄기세포의 증식을 유도하고, 모근으로 갈 수 있게 분화를 유도하여 새로운 모낭이 생성할 수 있게 한다. 더욱이 디하이드로테스토스테론으로부터 유도된 DKK-1(Dickkopf-1) 탈모 유전자가 존재하여 WNT 기능을 억제하는 상황에서도 펩타이드는 WNT- β -
- 10 카테닌(beta-catenin)의 시그널을 활성화 시켜 탈모 촉진 유전자를 발현 시킨다. 또한, 펩타이드는 모발이 생성되고 성장되는 시기인 성장기를 촉진 시키는 역할을 하며 여러 가지 환경적인 요인으로 인해 퇴행기로 가는 모발의 주기를 성장기에 유지함으로써, 탈모억제 효과를 나타내고 정상 모발에서는 모발 성장과 모발에 영양분을 공급하여 건강한 모발에 크게
- 15 영향한다. 따라서, 본 발명의 조성물은 모발의 성장 및 피부 상태의 개선에 매우 효과적이다.

본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명의 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 피부상태(skin conditions) 개선용 조성물을 제공한다.

- 20 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명의 펩타이드를 대상(subject)에게 처리하는 단계를 포함하는 피부상태(skin conditions) 개선방법을 제공한다.

- 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 피부상태(skin conditions) 개선용 의약품(medicament)을 제조하기 위한 본 발명의
- 25 펩타이드의 용도를 제공한다.

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 주름개선, 피부탄력 개선, 피부노화 방지, 피부보습 개선, 상처제거 또는 피부재생을 포함하는 피부 상태의 개선에 이용되는 것이 바람직하다.

본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명의 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 WNT 관련 신호전달의 부전에 의한 여러 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

5 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명의 펩타이드를 대상(subject)에게 처리하는 단계를 포함하는 WNT 관련 신호전달 부전-연관 질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 WNT 관련 신호전달 부전-연관 질환의 예방 또는 치료용 의약품(medicament)을 제조하기 위한 본 발명의 펩타이드의 용도를 제공한다.

10 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 골질환, 골 발생 질환, 골 골절, 골의 노인성 손실, 연골이영양증, 고칼슘혈증, 과골화증, 불완전골형성증, 골연화증, 골수염, 골다공증, 파렛병, 골관절염, 구루병 또는 비만을 포함하는 WNT 관련 신호전달의 부전-연관 질환의 예방 또는 치료가 바람직하며, 보다 바람직하게는 골다공증, 골질환 또는
15 비만이다.

본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명의 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 WNT 의 길항제인 DKK-1 단백질-연관 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

20 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명의 펩타이드를 대상(subject)에게 처리하는 단계를 포함하는 WNT 의 길항제인 DKK-1 단백질-연관 질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 WNT 의 길항제인 DKK-1 단백질-연관 질환의 예방 또는 치료용 의약품(medicament)을 제조하기 위한
25 본 발명의 펩타이드의 용도를 제공한다.

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 DKK-1 단백질-연관 질환은 인슐린-내성, 저인슐린혈증, 고인슐린혈증, 당뇨병 또는 비만을 포함하는 DKK-1 단백질-연관 질환의 예방 또는 치료에 이용되는 것이 바람직하다.

본 발명의 조성물은 (a) 상술한 본 발명의 성장인자-관련 펩타이드의 약제학적 유효량; 및 (b) 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물로 이용될 수 있다.

본 명세서에서 용어 “약제학적 유효량”은 상술한 성장인자-
5 관련펩타이드의 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분한 양을 의미한다.

본 발명의 약제학적 조성물에 포함되는 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물,
10 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, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

본 발명의 약제학적 조성물은 비경구로 투여하는 것이 바람직하며,
15 예를 들어 피부 국소 투여에 의해 투여할 수 있다.

본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로
20 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다. 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 약제학적 조성물의 1일 투여량은 0.001-1000 mg/kg이다.

본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라,
25 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제, 캡셀제 또는 젤(예컨대, 하이드로젤) 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로
30 포함할 수 있다.

또한, 본 발명의 조성물은 (a) 상술한 본 발명의 성장인자-관련 펩타이드의 화장품학적 유효량(cosmetically effective amount); 및 (b) 화장품학적으로 허용되는 담체를 포함하는 화장품 조성물로 이용될 수 있다.

본 명세서에서 용어 “화장품학적 유효량”은 상술한 본 발명의
5 조성물의 피부 개선 효능을 달성하는 데 충분한 양을 의미한다.

본 발명의 화장품 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로
10 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체
15 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서
20 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서
25 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.

본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올
30 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄

에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 5 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아마이드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

10 본 발명의 화장품 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분으로서의 펩타이드류와 담체 성분 이외에, 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제를 포함할 수 있다.

15 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

(i) 본 발명의 WNT-관련 펩타이드는 천연의 WNT 단백질과 동일하거나 유사한 기능을 할 수 있다.

(ii) 본 발명의 펩타이드는 안정성이 천연의 WNT 단백질과 비교하여 매우 우수하며, 피부 투과도가 매우 우수하다.

20 (iii) 따라서 본 발명의 펩타이드를 포함하는 조성물은, 모발의 성장 및 생성에 활성을 갖고, 성장인자의 활성이 요구되는 질환 또는 상태를 치료, 예방 또는 개선하는 데 매우 우수한 효능을 발휘한다.

(iv) 상술한 본 발명의 펩타이드의 우수한 활성 및 안정성은, 의약, 의약외품 및 화장품에 매우 유리하게 적용될 수 있도록 한다.

25

【도면의 간단한 설명】

도 1 은 본 발명의 합성예에 의하여 제조된 서열목록 제 1 서열(펩타이드-1) 내지 제 4 서열(펩타이드-4)의 펩타이드의 고성능 액상 크로마토그래피 분석 결과를 나타내는 그래프이다.

도 2a 는 본 발명의 합성예에 의하여 제조된 펩타이드(서열 1; 펩타이드-1, 서열 2; 펩타이드-2, 서열 3; 펩타이드-3, 서열 4; 펩타이드-4)를 처리한 각질세포의 세포성장 촉진 효과를 나타낸 그래프이다.

5 도 2b 는 본 발명의 합성예에 의하여 제조된 펩타이드(서열 1; 펩타이드-1, 서열 2; 펩타이드-2, 서열 3; 펩타이드-3, 서열 4; 펩타이드-4)를 처리한 섬유아세포의 세포성장 촉진 효과를 나타낸 그래프이다.

도 2c 는 본 발명의 합성예에 의하여 제조된 펩타이드(서열 1; 펩타이드-1, 서열 2; 펩타이드-2, 서열 3; 펩타이드-3, 서열 4; 펩타이드-4)를 처리한 모낭세포의 세포성장 촉진 효과를 나타낸 그래프이다.

10 도 3a 는 본 발명의 펩타이드(서열 1; 펩타이드-1, 서열 2; 펩타이드-2, 서열 3; 펩타이드-3, 서열 4; 펩타이드-4)를 처리한 각질세포의 세포성장 촉진 효과를 현미경으로 확인한 사진이다.

도 3b 는 본 발명의 펩타이드(서열 1; 펩타이드-1, 서열 2; 펩타이드-2, 서열 3; 펩타이드-3, 서열 4; 펩타이드-4)를 처리한 섬유아세포의 세포성장
15 촉진 효과를 현미경으로 확인한 사진이다.

도 3c 는 본 발명의 펩타이드(서열 1; 펩타이드-1, 서열 2; 펩타이드-2, 서열 3; 펩타이드-3, 서열 4; 펩타이드-4)를 처리한 모낭세포의 세포성장 촉진 효과를 현미경으로 확인한 사진이다.

20 도 4 는 본 발명의 펩타이드(서열 1; 펩타이드-1, 서열 2; 펩타이드-2, 서열 3; 펩타이드-3, 서열 4; 펩타이드-4)에 의한 수용체인 LRP5 의 인산화가 증가되는 것을 확인한 데이터이다.

도 5a 는 본 발명의 펩타이드(서열 1; 펩타이드-1, 서열 2; 펩타이드-2, 서열 3; 펩타이드-3, 서열 4; 펩타이드-4)에 의해 β -카테닌의 활성이 증가되는 것을 확인한 데이터이다.

25 도 5b 는 본 발명의 펩타이드(서열 1; 펩타이드-1, 서열 2; 펩타이드-2, 서열 3; 펩타이드-3, 서열 4; 펩타이드-4)에 의해 활성화된 β -카테닌이 WNT 억제제인 DKK-1 및 탈모유전자가 존재하였을 때에도 발현양을 나타낸 웨스턴 블롯팅 데이터이다.

30 도 6 은 본 발명의 펩타이드(서열 1; 펩타이드-1, 서열 2; 펩타이드-2, 서열 3; 펩타이드-3, 서열 4; 펩타이드-4)에 의한 전사인자인 LEF-1 의 활성을 나타낸 데이터이다.

도 7a는 본 발명의 펩타이드(서열 1; 펩타이드-1, 서열 2; 펩타이드-2, 서열 3; 펩타이드-3, 서열 4; 펩타이드-4)의 처리시간에 따른 파이브로넥틴의 발현이 증가됨을 보여주는 그래프이다.

도 7b는 본 발명의 펩타이드(서열 1; 펩타이드-1, 서열 2; 펩타이드-2, 서열 3; 펩타이드-3, 서열 4; 펩타이드-4)에 의해 DKK-1 인 WNT 억제제 및 탈모유전자가 존재하였을 때에도 파이브로넥틴의 발현이 증가됨을 보여주는 그래프이다.

도 7c는 본 발명의 펩타이드(서열 1; 펩타이드-1, 서열 2; 펩타이드-2, 서열 3; 펩타이드-3, 서열 4; 펩타이드-4)를 세포에 처리하였을 때 면역염색 화학법을 통하여 펩타이드가 세포에 존재함을 보여 주는 사진이다.

도 8는 본 발명의 펩타이드(서열 1; 펩타이드-1, 서열 2; 펩타이드-2, 서열 3; 펩타이드-3, 서열 4; 펩타이드-4)를 처리한 마우스 등 피부의 모발성장 효과이다.

15 **【실시예】**

이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

실시예

합성예 1: Leu-Cys-Cys-Gly-Arg-Gly-His-Arg-Thr-Arg-Thr-Gln-Arg(서열목록)의 합성

25 클로로 트리틸 클로라이드 레진(Chloro trityl chloride resin; CTL resin, Nova biochem Cat No. 01-64-0021) 700 mg 을 반응용기에 넣고 메틸렌 클로라이드(MC) 10 ml를 가하여 3 분간 교반하였다. 용액을 제거하고 디메틸포름 아마이드(DMF) 10 ml를 넣어 3 분간 교반한 후 다시 용매를 제거하였다. 반응기에 10 ml의 디클로로메탄용액을 넣고 Fmoc-Arg(pbf)-OH (Bachem, Swiss) 200 mmole 및 디이소프로필 에틸아민(DIEA) 30 400 mmole 을 넣은 후 교반하여 잘 녹이고, 1 시간 동안 교반하면서

반응시켰다. 반응 후 세척하고 메탄올과 DIEA(2:1)를 DCM(dechloromethane)에 녹여 10 분간 반응시키고 과량의 DCM/DMF(1:1)로 세척하였다. 용액을 제거하고 디메틸포름 아마이드(DMF)를 10 ml 넣어 3 분간 교반한 후 다시 용매를 제거하였다. 탈보호 용액(20%의

5 피페리딘(Piperidine)/DMF) 10 ml를 반응 용기에 넣고 10 분간 상온에서 교반한 후 용액을 제거하였다. 동량의 탈보호 용액을 넣고 다시 10 분간 반응을 유지한 후 용액을 제거하고 각각 3 분씩 DMF 로 2 회, MC 로 1 회, DMF 로 1 회 세척하여 Arg(pbf)-CTL Resin 을 제조하였다. 새로운 반응기에 10 ml의 DMF 용액을 넣고 Fmoc-Gln(trt)-OH (Bachem, Swiss) 200 mmole,

10 HoBt 200 mmole 및 Bop 200 mmole 을 넣은 후 교반하여 잘 녹였다. 반응기에 400 mmole DIEA 를 분획으로 2 번에 걸쳐 넣은 후 모든 고체가 녹을 때까지 최소한 5 분간 교반하였다. 녹인 아미노산 혼합용액을 탈보호된 레진이 있는 반응용기에 넣고 1 시간 동안 상온에서 교반하면서 반응시켰다. 반응액을 제거하고 DMF 용액으로 3 회 5 분씩 교반한 후

15 제거하였다. 반응 레진을 소량 취하여 카이저 테스트(Nihydrin Test)를 이용하여 반응 정도를 점검하였다. 탈보호 용액으로 상기와 같이 동일하게 2 번 탈보호 반응시켜 Gln(trt)-Arg(pbf)-CTL Resin 을 제조하였다. DMF 와 MC 로 충분히 세척하고 다시 한 번 카이저 테스트를 수행한 다음 상기와 동일하게 아래의 아미노산 부착 실험을 수행하였다. 선정된

20 아미노산 서열에 의거하여 Fmoc-Thr(tBu), Fmoc-Arg(pbf), Fmoc-Thr(tBu), Fmoc-Arg(pbf), Fmoc-His(trt) 및 Fmoc-Gly, Fmoc-Arg(pbf), Fmoc-Gly, Fmoc-Cys, Fmoc-Cys 및 Fmoc-Leu 순으로 연쇄반응을 시켰다. Fmoc-보호기를 탈보호 용액으로 10 분씩 2 번 반응시킨 후 잘 세척하여 제거하였다. 무수초산과 DIEA, HoBt 를 넣어 한시간동안 아세틸화를

25 수행한 뒤 제조된 펩티딜 레진을 DMF, MC 및 메탄올로 각각 3 번을 세척하고, 질소 공기를 천천히 흘려 건조한 후, P₂O₅ 하에서 진공으로 감압하여 완전히 건조한뒤 탈루 용액[트리플로로화 초산(Trifluoroacetic acid) 95%, 증류수 2.5%, 티오아니졸(Thioanisole) 2.5%] 30 ml을 넣은 후 상온에서 가끔 흔들어주며 2 시간 반응을 유지하였다. 필터링을 하여 레진을 거르고,

30 레진을 소량의 TFA 용액으로 세척한 후 모액과 합하였다. 감압을 이용하여 전체 볼륨이 절반 정도 남도록 증류하고 50 ml의 차가운 에테르를

가하여 침전을 유도한 후, 원심분리하여 침전을 모으고, 2 번 더 차가운 에테르로 세척하였다. 모액을 제거하고 질소 하에서 충분히 건조하여 정제 전 Leu-Cys-Cys-Gly-Arg-Gly-His-Arg-Thr-Arg-Thr-Gln-Arg 펩타이드 1 을 0.65 g 합성하였다(수율: 92.6%). 분자량 측정기를 이용하여 측정시
 5 분자량 1543.8(이론값 : 1543.81)를 얻을 수 있었다. 다른 서열 2, 서열 3 및 서열 4 펩타이드도 위와 같은 방법으로 합성을 진행하였다(도 1).

【표 1】

번호	아미노산 서열	분석값(질량분석기)	
		분석치	이론치
서열 1(펩타이드-1)	LCCGRGHRTRTQR	1240.4	1239.5
서열 2(펩타이드-2)	LCCGRGHNAR	1447.6	1446.5
서열 3(펩타이드-3)	AERRRELCRC	1240.4	1239.5
서열 4(펩타이드-4)	LCCGRGHNVL	1447.6	1446.5

시험예 1: 합성 펩타이드를 활용한 세포 성장효과의 확인

10 합성예 에서 합성된 서열 펩타이드에 대한 성장인자의 유사 효능 및 억제 효능을 분석하기 위해 리지노 등의 방법(Rizzino, et al. *Cancer Res.* 48:4266(1988))을 참조하여 HaCaT 각질세포주와 NIH3T3 섬유아세포, 그리고 HHFDPC 모낭세포를 이용한 SRB(Sulforhodamine B) 비색법을 이용하여 측정하였다.

15 HaCaT 각질세포주(한국세포주은행) 및 NIH3T3 섬유아세포(한국세포주은행), HHFDPC 모낭세포 (cell science) 를 각각 250 ml 용량의 조직 배양용 플라스크를 이용하여 10% 우태아혈청(FBS; fetal bovine serum, Sigma)을 포함하는 DMEM(Dulbecco's modied Eagle's medium, Gibco, U.S.A.)에서 배양하였다. 배양된 세포주들을 1% 트립신
 20 용액으로 배양용기 바닥에서 떼어낸 후 원심분리하여 세포 침전물만을 모았다. 배양된 세포주들을 1% 트립신 용액으로 배양용기 바닥에서 떼어낸 후 원심 분리하여 세포 침전물만을 모았다. 이를 FBS 가 함유되지 않은 DMEM 배양액에 다시 현탁한 후, 96-웰 조직 배양용 평판에 각 웰 당 3 X 10³ 세포가 되도록 넣고 24 시간 동안 37℃, 5% CO₂ 조건 하에서

배양하였다. 24 시간 뒤 혈청을 완전히 제외한 동일한 배양액으로 배지를 교환한 뒤 표준을 잡기위한 공 시료와 합성 펩타이드를 10% DMSO 에 멸균상태로 녹인 뒤 1 ng/ml, 10 ng/ml, 100 ng/ml, 1 μ g/ml 및 10 μ g/ml의 농도로 72 시간을 위와 동일 조건으로 배양하였다. 배양이 완료된 후 배양 상층액을 제거하고 에탄올을 이용하여 세포를 고정화 한 다음 세포 고정이 끝난 후, PBS(phosphate buffer saline)로 3 회 세척하였다. 세척용액을 제거한 뒤 비색 SRB 용액으로 처리하고 1% 아세트산(acetic acid)으로 충분히 세척을 한 뒤 현미경으로 세포를 관찰하여 생존 세포의 상태를 관찰하였으며, 자외선 590 nm 에서 흡광도를 측정하여 세포의 생존 상태를 측정하였다.

도 2 는 펩타이드 처리 후의 각질세포(도 2a) 및 섬유아세포(도 2b), 모낭세포 (도 2c)의 성장에 대한 결과가 나타나 있으며, 도 3 에는 세포에 펩타이드 처리 후 72 시간 뒤 세포의 형태변화를 현미경으로 관찰하여 각질세포 및 섬유아세포, 모낭세포의 성장을 확인하였다.

도 2 는 본 발명의 펩타이드가 각질세포와 섬유아세포, 모낭세포의 성장을 크게 증진 시킴을 나타내었으며, 도 3 에서는 본 발명의 펩타이드가 각질세포 및 섬유아세포, 모낭세포의 성장 및 형태학적 모양을 변화시킨다는 것을 나타낸다.

20 시험예 2: 합성 펩타이드의 수용체 및 시그널 유전자의 발현양 증가 효과 분석

48 시간을 배양한 HaCaT 세포에 합성예 1 에서 합성한 펩타이드들을 처리하고 5 시간 경과 후, WNT 단백질의 수용체인 LRP5 의 인산화 증가와 시그널인 β -카테닌의 발현양을 측정하였다. 발현양은 Phospho-LRP5 의 항체(cell signaling) 와 β -카테닌의 항체(산타크루즈, 미국) 를 이용하여 웨스턴 블롯팅을 통해 관찰 하였고, β -카테닌에 의해 증가하는 전사인자인 LEF-1 의 발현도 함께 관찰하였다. 본 발명의 펩타이드를 처리하였을 경우 Phospho-LRP5 의 발현이 증가되는 것을 확인하였으며(도 4), 다음 시그널인 β -카테닌의 발현도 증가 하는 것을 확인하였다(도 5a). DKK-1 의 WNT 억제제 및 β -카테닌 시그널 억제제가 존재 하더라도, 펩타이드를 처리하였을 때에 베타-카테닌의 활성이 띄는 것을 확인 하였다(도 5b).

또한, 전사인자 (transcription factor)인 LEF-1 의 발현도 펩타이드를 처리 하였을 때 증가 되는 것을 확인 할 수 있었다(도 6).

5 시험예 1 및 2 의 실험 결과를 종합하면, 본 발명의 펩타이드는 매우 우수한 발모촉진 및 탈모 억제 기능을 발휘하며 항노화에도 기능을 발휘하는 것을 알 수 있다.

시험예 3: 합성 펩타이드에 의해 파이브로넥틴 발현양 증가

합성예 1 에서 합성한 펩타이드의 WNT 의 타겟 단백질인 파이브로넥틴의 발현양을 증가하는지에 대한 결과를 관찰 하기위해
 10 섬유아세포를 6-웰 조직 배양용 평판에 각 웰 당 4×10^3 세포가 되도록 넣고 24 시간 동안 37°C, 5% CO₂ 조건 하에서 배양하였다. 24 시간 뒤 혈청을 완전히 제외한 동일한 배양액으로 배지를 교환한 뒤 표준을 잡기위한 공 시료와 합성 펩타이드를 10% DMSO 에 멸균상태로 녹인 뒤 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 펩타이드를 처리한 뒤, 3 시간, 10 시간, 24 시간, 48 시간 동안
 15 위와 동일 조건으로 배양하였다. 72 시간 배양후 배양 용액을 회수하여 파이브로넥틴 ELISA KIT (RnD systems, 미국)을 이용하여 배양액 속에 파이브로넥틴의 발현양을 측정하였다. 도 7a 에서 확인 할 수 있듯이, 펩타이드의 처리에 따라 파이브로넥틴의 발현양이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 도 7b 에서 볼 수 있듯이, DKK-1 단백을 처리하여 위와
 20 동일한 배양 조건으로 배양한 뒤 파이브로넥틴의 발현양을 관찰하였을 때 DKK-1 에 의해 억제된 파이브로넥틴 발현이 펩타이드와 DKK-1 을 동시에 처리하였을 때 파이브로넥틴의 발현양이 다시 증가하는 것을 볼 수 있었다. 도 7c 는 섬유아세포에 처리한 본 발명의 펩타이드를 면역염색 화학법을 통하여 관찰한 것으로, 세포에서 염색이 되는 것을 통해 세포에 존재
 25 하는지 보여 준다.

이러한 결과는 DKK-1 이라는 WNT 억제제 및 탈모유전자가 존재 하더라도, 펩타이드에 의해 WNT-베타-카테닌 시그널이 전달되어 발모 촉진 및 탈모 억제 또한 항노화에 효능을 보임을 의미 한다.

30 시험예 4: 제조된 펩타이드를 처리한 마우스의 모발 성장 효과

합성예를 통해 제조된 펩타이드를 나노졸화 하여 등피부에 제모를 한 C57BL/6 마우스에 하루에 두차례씩, 15 일 동안 도포하였다. 대조군으로는 인산완충용액을 하루에 두차례씩 도포하였다. 도포한 지 10 일째 되는날 마우스의 등피부가 검게 올라 오는 것을 확인 할 수 있었으며 도포한 지 5 15 일째에는 대조군에 비해 많은 양이 털이 자라나는 것을 확인 할 수 있었다(도 8).

실시에 1: 나노화 펩타이드의 제조

상기 합성예에서 얻은 펩타이드 2 종을 50 mg 을 각 각 정확히 칭량한 뒤 증류수 500 ml로 충분히 교반하여 용해하였다. 배합체 용액을 레시틴 10 5 g, 소듐 올리에이트(sodium oleate) 0.3 ml, 에탄올 50 ml 그리고 약간의 유상과 함께 혼합한 후, 총량이 1 L 가 되도록 증류수로 양을 맞춰 준 다음, 마이크로플루다이저로 고압을 이용하여 유화시켜 사이즈 100 nm 정도의 나노졸을 제조하였다. 제조된 나노졸은 최종 농도가 약 50 ppm 으로 단독 15 혹은 복합적으로 화장품 제조용으로 사용되었다.

제형예 1: 유연화장수

상기 실시예에서 제조된 펩타이드 나노졸을 포함하며, 하기 조성으로 이루어진 유연화장수를 일반적인 화장수 제조방법에 따라 제조하였다.

20 【표 2】

성분	함량(중량%)
펩타이드 나노졸	2.5
1,3-부틸렌글리콜	6.0
글리세린	4.0
PEG 1500	1.0
소듐히알루로네이트	1.0
폴리솔베이트 20	0.5
에탄올	8.0
방부제, 색소	적량
벤조페논-9	0.05

향	미량
정제수	잔량
합계	100

제형예 2: 영양크림

상기 실시예에서 제조된 펩타이드 나노좀을 포함하며, 하기 조성으로 이루어진 영양크림을 일반적인 영양크림 제조방법에 따라 제조하였다.

5 【표 3】

성분	함량(중량%)
펩타이드 나노좀	2.5
메도우폼오일	3.0
세테아릴알콜	1.5
스테아린산	1.5
글리세릴스테아레이트	1.5
유동 파라핀	10.0
밀납	2.0
폴리솔베이트 60	0.6
솔비탄 세스퀴올레이트	2.5
스쿠알란	3.0
1,3-부틸렌글리콜	3.0
글리세린	5.0
트리에탄올아민	0.5
토코페릴아세테이트	0.5
방부제, 색소	적량
향	적량
정제수	잔량
합계	100

제형예 3: 영양화장수

상기 실시예에서 제조된 펩타이드 나노솜을 포함하며, 하기 조성으로 이루어진 영양화장수를 일반적인 화장수 제조방법에 따라 제조하였다.

【표 4】

성분	함량(중량%)
펩타이드 나노솜	2.5
1,3-부틸렌글리콜	4.0
글리세린	4.0
세테아릴알콜	0.8
글리세틸스테아레이트	1.0
트리에탄올아민	0.13
토코페릴아세테이트	0.3
유동파라핀	5.0
스쿠알란	3.0
마카다미아너트오일	2.0
폴리솔베이트 60	1.5
솔비탄세스퀴올레이트	0.5
카르복시비닐폴리머	1.0
방부제, 색소	적량
향	적량
정제수	잔량
합계	100

5 제형예 4: 에센스

상기 실시예에서 제조된 펩타이드 나노솜을 포함하며, 하기 조성으로 이루어진 에센스를 일반적인 에센스 제조방법에 따라 제조하였다.

【표 5】

성분	함량(중량%)
펩타이드 나노솜	2.5
글리세린	10.0
1,3-부틸렌글리콜	5.0

PEG 1500	2.0
알란토인	0.1
DL-판테놀	0.3
EDTA-2Na	0.02
히드록시에틸 셀룰로오스	0.1
소듐히알루로네이트	8.0
카르복시비닐폴리머	0.2
트리에탄올아민	0.18
옥틸도데세스-16	0.4
에탄올	6.0
향, 방부제, 색소	적량
정제수	잔량
합계	100

제형예 5: 헤어세럼

상기 실시예에서 제조된 펩타이드 나노솜을 포함하며, 하기 조성으로 이루어진 헤어세럼을 일반적인 헤어세럼 제조방법에 따라 제조하였다.

5 【표 6】

성분	함량(중량%)
펩타이드 나노솜	1
글리세린	10.0
1,3-부틸렌글리콜	5.0
PEG 1500	2.0
알란토인	0.1
DL-판테놀	0.3
EDTA-2Na	0.02
히드록시에틸 셀룰로오스	0.1
소듐히알루로네이트	8.0
카르복시비닐폴리머	0.2
트리에탄올아민	0.18

옥틸도데세스-16	0.4
에탄올	6.0
향, 방부제, 색소	적량
정제수	잔량
합계	100

제형예 6: 헤어토너

상기 실시예에서 제조된 펩타이드 나노솜을 포함하며, 하기 조성으로 이루어진 헤어세럼을 일반적인 헤어세럼 제조방법에 따라 제조하였다.

5 【표 7】

성분	함량(중량%)
펩타이드 나노솜	1
글리세린	2.0
1,3-부틸렌글리콜	2.0
PEG 1500	2.0
알란토인	0.1
DL-판테놀	0.3
EDTA-2Na	0.02
소듐히알루로네이트	8.0
카르복시비닐폴리머	0.2
트리에탄올아민	0.18
에탄올	10.0
향, 방부제, 색소	적량
정제수	잔량
합계	100

이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은

명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

【청구의 범위】

【청구항 1】

서열목록 제1서열, 제2서열, 제3서열 및 제4서열에 기재된 아미노산 서열로 구성된 군으로부터 선택되는 1종의 아미노산 서열로 이루어진 WNT 단백질의 활성을 나타내는 펩타이드.

【청구항 2】

제 1 항에 있어서, 상기 펩타이드의 N-말단은 아세틸기, 플루오레닐 메톡시 카르보닐기, 포르밀기, 팔미토일기, 미리스틸기, 스테아릴기 및 폴리에틸렌글리콜(PEG)로 구성된 군으로부터 선택되는 보호기가 결합되어 있는 것을 특징으로 하는 펩타이드.

【청구항 3】

제 1 항에 있어서, 상기 펩타이드는 인간 WNT 단백질 에서 유래된 것을 특징으로 하는 펩타이드.

【청구항 4】

제 1 항에 있어서, 상기 펩타이드는 섬유아세포, 각질세포 또는 모낭세포의 성장 촉진능을 갖는 것을 특징으로 하는 펩타이드.

【청구항 5】

제 1 항에 있어서, 상기 펩타이드는 베타-카테닌 시그널을 촉진시키는 것을 특징으로 하는 펩타이드.

【청구항 6】

제 1 항에 있어서, 상기 펩타이드는 탈모에 관여하는 DKK-1(Dickkopf-1) 단백질 존재 하에서도 베타-카테닌 시그널을 촉진시키는 것을 특징으로 하는 펩타이드.

【청구항 7】

제 1 항에 있어서, 상기 펩타이드는 WNT의 타겟 단백질이며, 모발

성장에 중요한 단백질인 파이프록틴의 발현을 촉진시키는 것을 특징으로 하는 펩타이드.

【청구항 8】

5 상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 발모 촉진 및 모발 생성 개선용 조성물.

【청구항 9】

10 상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 탈모 방지 개선용 조성물.

【청구항 10】

15 상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 피부상태(skin conditions) 개선용 조성물.

【청구항 11】

20 제 10 항에 있어서, 상기 피부 상태의 개선은 주름개선, 피부탄력 개선, 피부노화 방지, 피부보습 개선, 상처제거 또는 피부재생인 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 12】

25 상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 WNT 관련 신호전달 부전-연관 질환의 예방 또는 치료용 조성물.

【청구항 13】

 상기 제 12 항에 있어서, 상기의 WNT 관련 신호전달 부전-연관 질환은 골다공증, 골질환 또는 비만인 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 14】

30 상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드를

유효성분으로 포함하는 WNT의 길항제인 DKK-1 단백질-연관 질환의 예방 또는 치료용 조성물.

【청구항 15】

5 제 14 항에 있어서, 상기 DKK-1 단백질-연관 질환은 인슐린-내성, 저인슐린혈증, 고인슐린혈증, 당뇨병 또는 비만을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 16】

10 상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드를 대상(subject)에게 처리하는 단계를 포함하는 발모 촉진 및 모발 생성 개선방법.

【청구항 17】

15 상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드를 대상(subject)에게 처리하는 단계를 포함하는 탈모 방지 개선방법.

【청구항 18】

20 상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드를 대상(subject)에게 처리하는 단계를 포함하는 피부상태(skin conditions) 개선방법.

【청구항 19】

25 제 18 항에 있어서, 상기 피부 상태의 개선은 주름개선, 피부탄력 개선, 피부노화 방지, 피부보습 개선, 상처제거 또는 피부재생인 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 20】

30 상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드를 대상(subject)에게 처리하는 단계를 포함하는 WNT 관련 신호전달 부전-연관 질환의 예방 또는 치료방법.

【청구항 21】

상기 제 20 항에 있어서, 상기의 WNT 관련 신호전달 부전-연관 질환은 골다공증, 골질환 또는 비만인 것을 특징으로 하는 방법.

5 【청구항 22】

상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드를 대상(subject)에게 처리하는 단계를 포함하는 WNT의 길항제인 DKK-1 단백질-연관 질환의 예방 또는 치료방법.

10 【청구항 23】

제 22 항에 있어서, 상기 DKK-1 단백질-연관 질환은 인슐린-내성, 저인슐린혈증, 고인슐린혈증, 당뇨병 또는 비만을 특징으로 하는 방법.

【청구항 24】

15 발모 촉진 및 모발 생성 개선용 의약품(medicaments)을 제조하기 위한 상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드의 용도.

【청구항 25】

20 탈모 방지 개선용 의약품을 제조하기 위한 상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드의 용도.

【청구항 26】

25 피부상태(skin conditions) 개선용 의약품을 제조하기 위한 상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드의 용도.

【청구항 27】

30 제 26 항에 있어서, 상기 피부상태의 개선은 주름개선, 피부탄력 개선, 피부노화 방지, 피부보습 개선, 상처제거 또는 피부재생인 것을 특징으로 하는 펩타이드의 용도.

【청구항 28】

WNT 관련 신호전달 부전-연관 질환의 예방 또는 치료용 의약품(medicament)을 제조하기 위한 상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드의 용도.

5 **【청구항 29】**

상기 제 28 항에 있어서, 상기의 WNT 관련 신호전달 부전-연관 질환은 골다공증, 골질환 또는 비만인 것을 특징으로 하는 펩타이드의 용도.

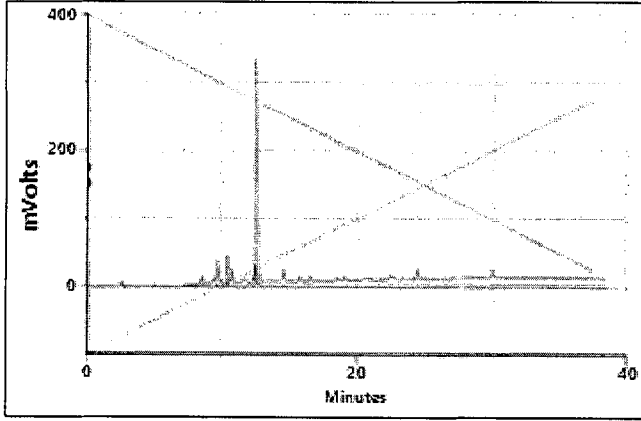
【청구항 30】

10 WNT의 길항제인 DKK-1 단백질-연관 질환의 예방 또는 치료용 의약품(medicament)을 제조하기 위한 상기 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 펩타이드의 용도.

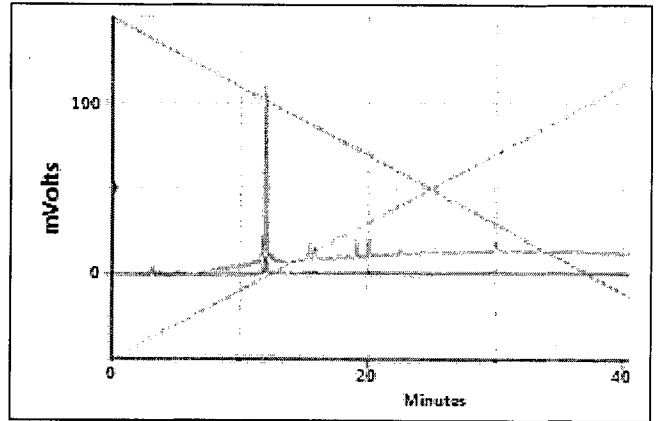
【청구항 31】

15 제 30 항에 있어서, 상기 DKK-1 단백질-연관 질환은 인슐린-내성, 저인슐린혈증, 고인슐린혈증, 당뇨병 또는 비만을 특징으로 하는 펩타이드의 용도.

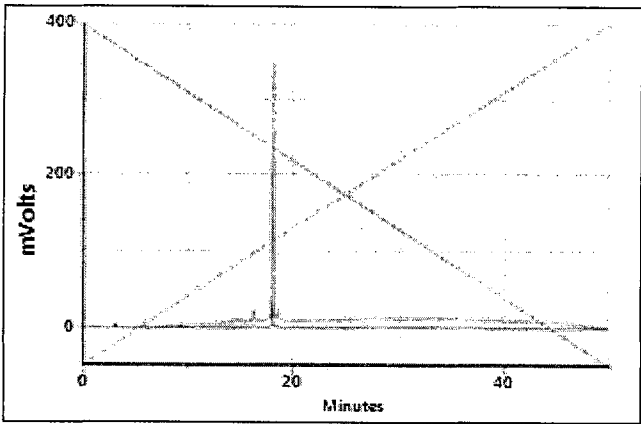
Fig. 1



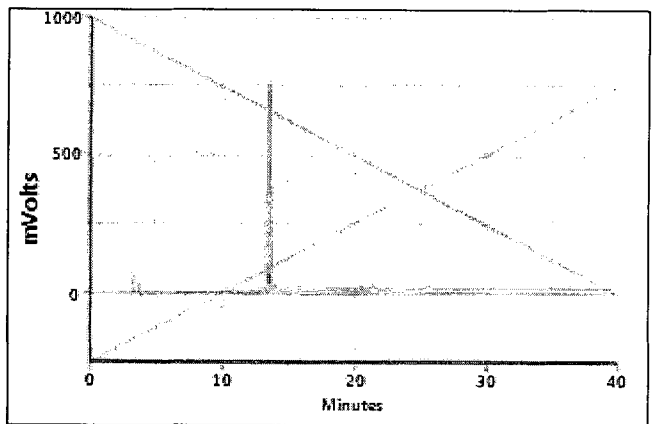
펩타이드-1



펩타이드-2



펩타이드-1



펩타이드-2

Fig. 2a

HacaT Keratinocyte cell

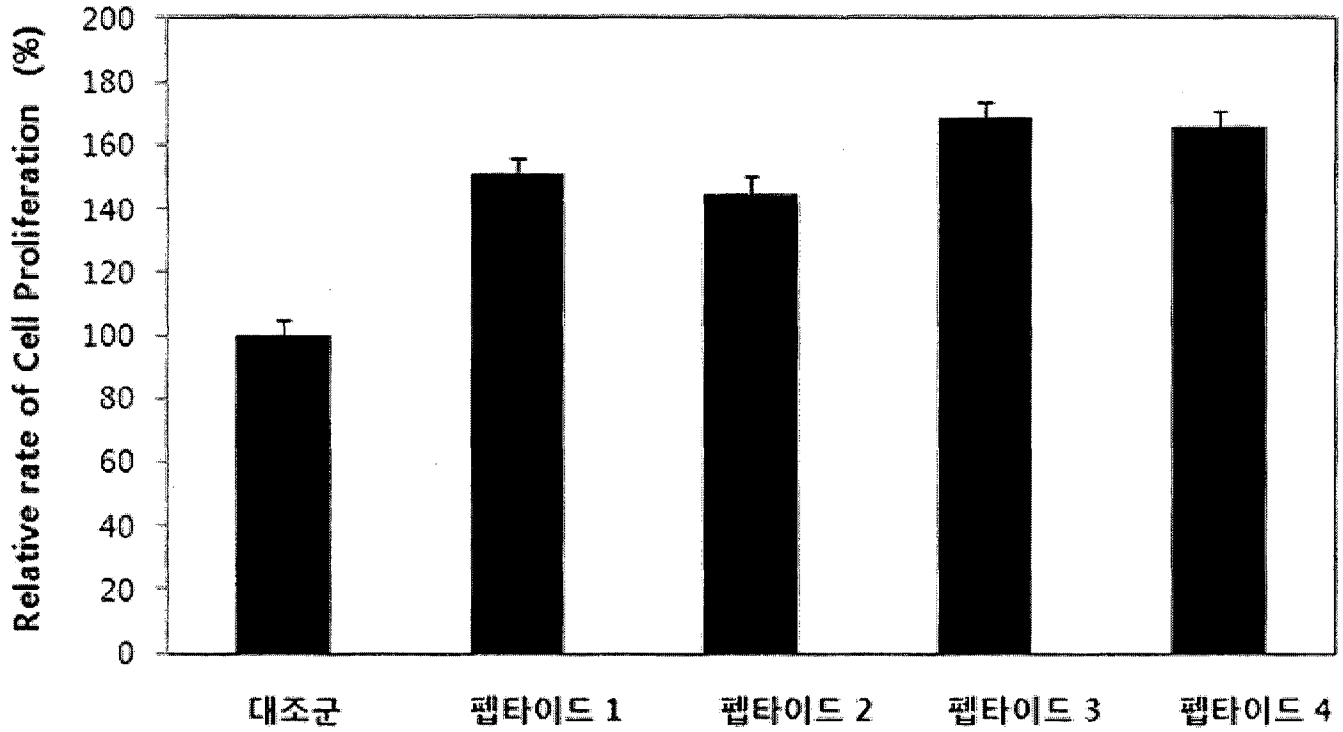


Fig. 2b

NIH3T3 Fibroblast cell

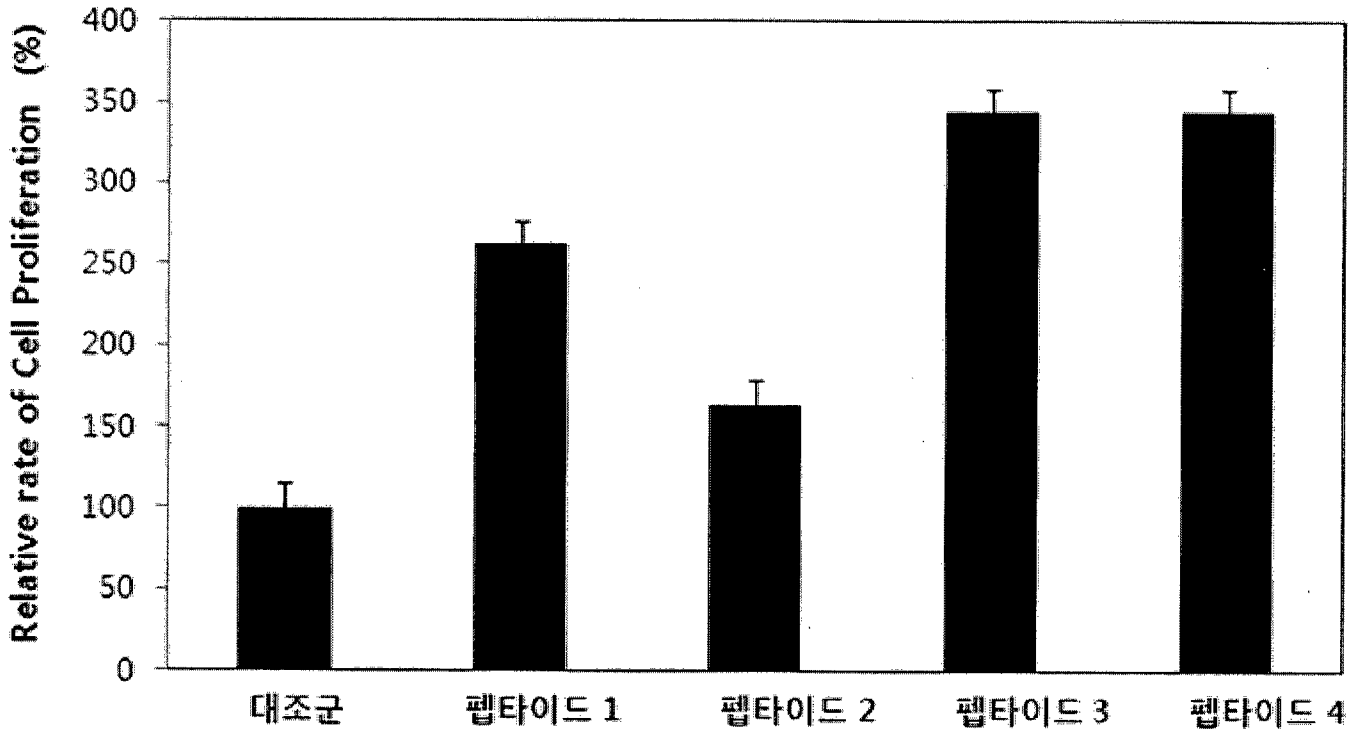


Fig. 2c

Human Hair Follicle Dermal Papilla cell (P.3)

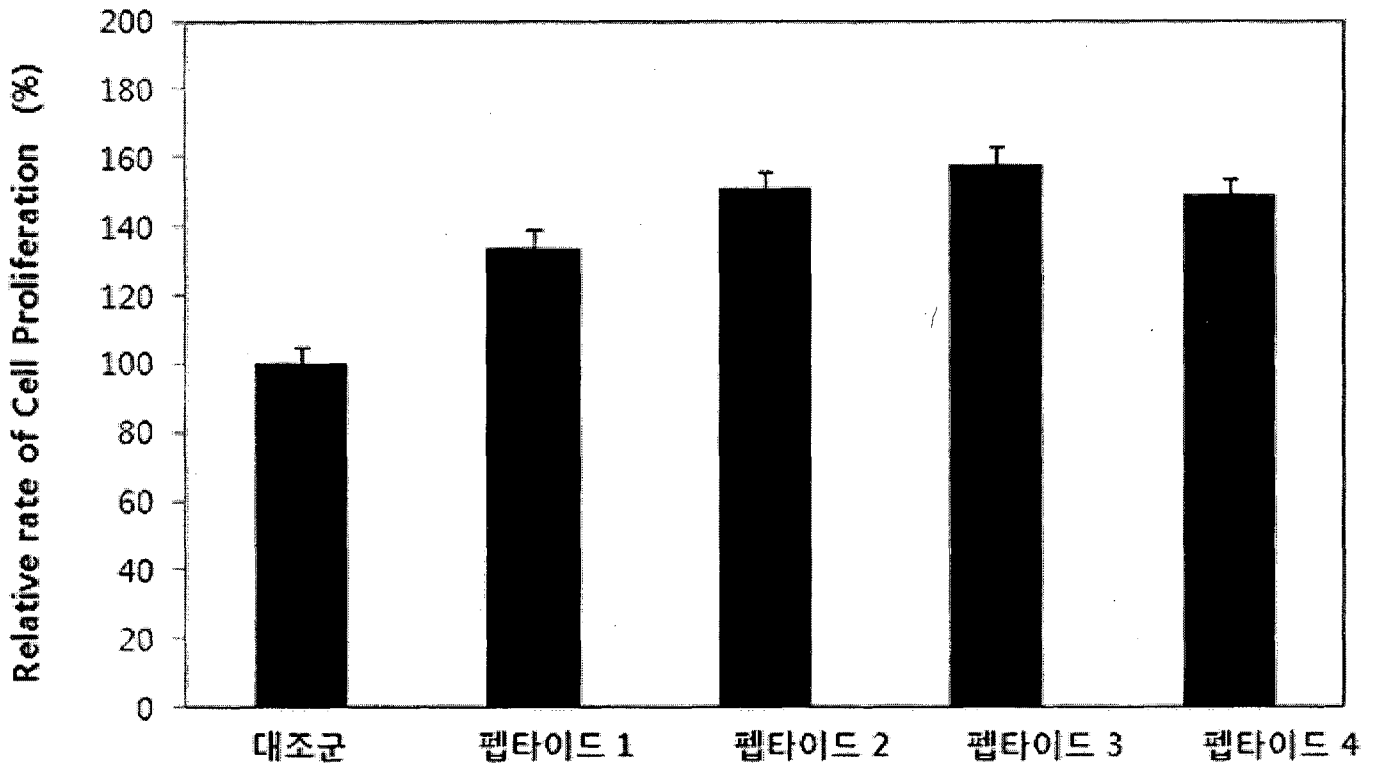
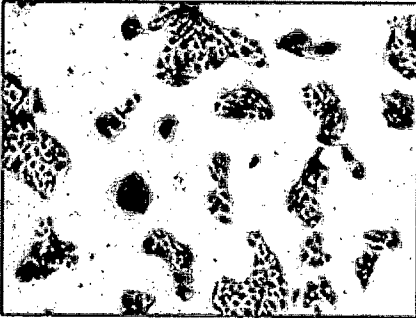


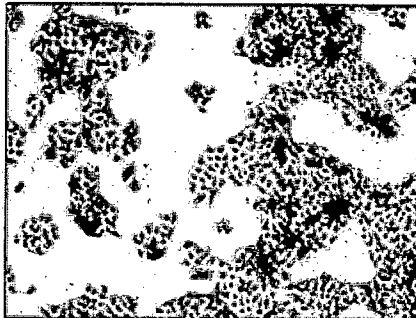
Fig. 3a

Cell Morphology. < 각질세포 >

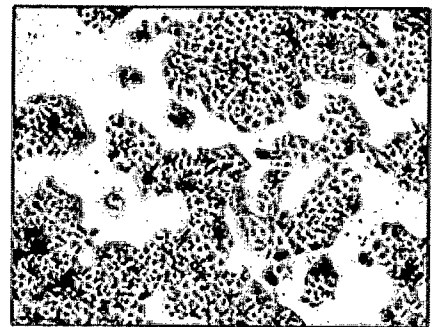
대조군



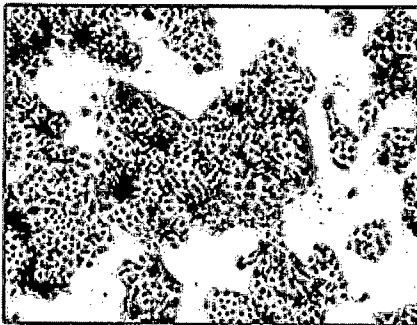
펩타이드-1 처리군



펩타이드-2 처리군



펩타이드-3 처리군



펩타이드-4 처리군

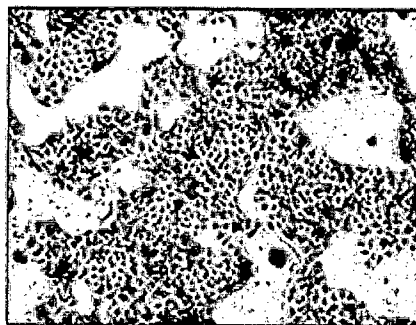
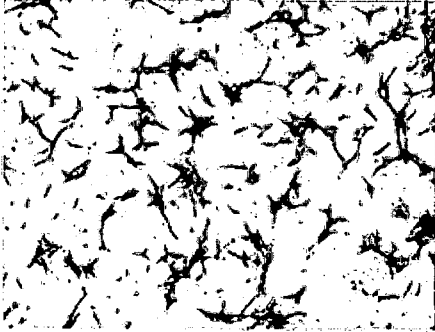


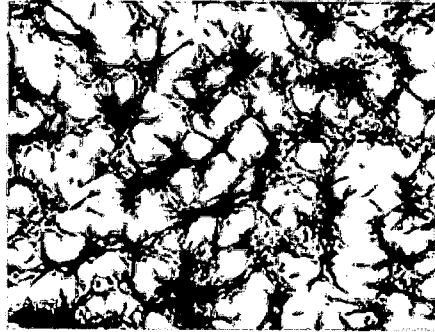
Fig. 3b

Cell Morphology. < 섬유아세포 >

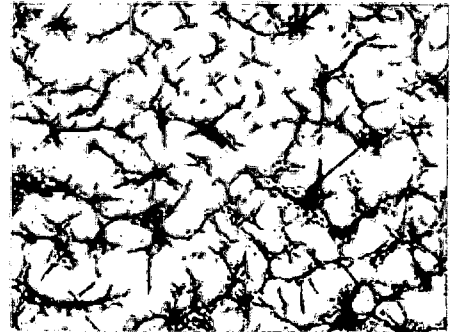
대조군



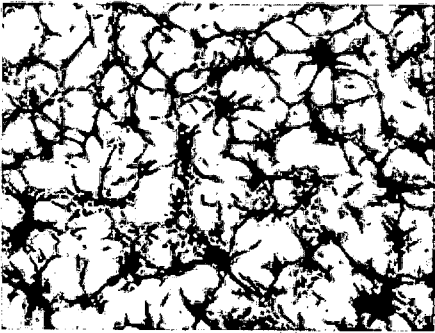
펩타이드-1 처리군



펩타이드-2 처리군



펩타이드-3 처리군



펩타이드-4 처리군

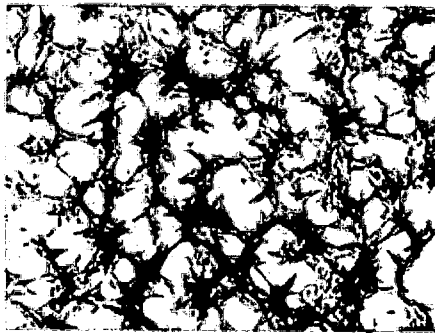


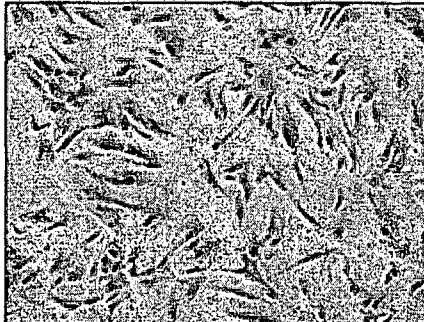
Fig. 3c

Cell Morphology. < 모낭세포 >

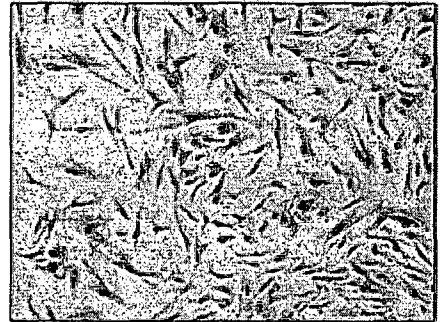
대조군



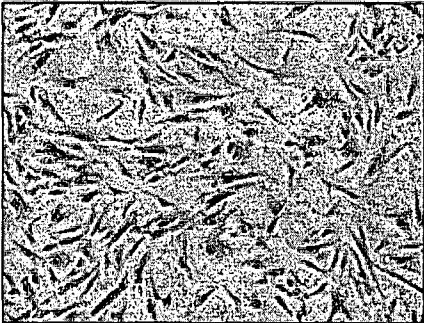
펩타이드-1 처리군



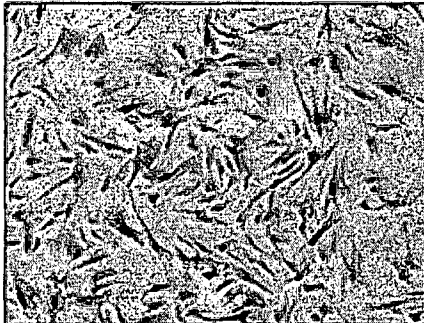
펩타이드-2 처리군



펩타이드-3 처리군

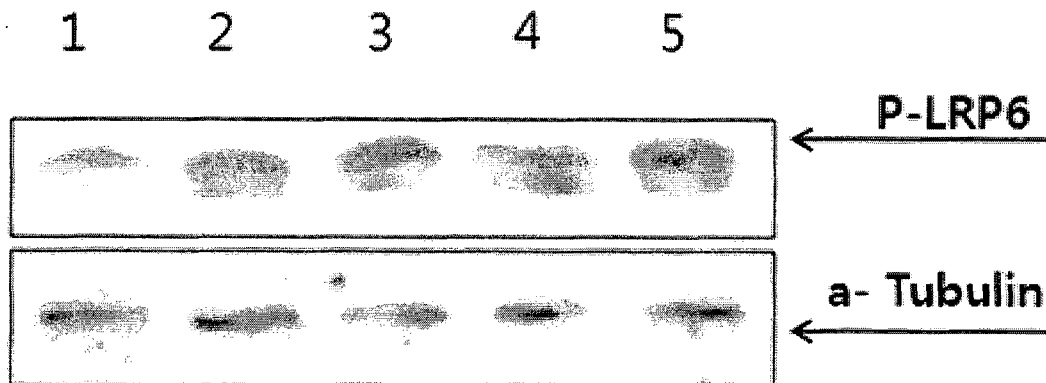


펩타이드-4 처리군



8/15

Fig. 4

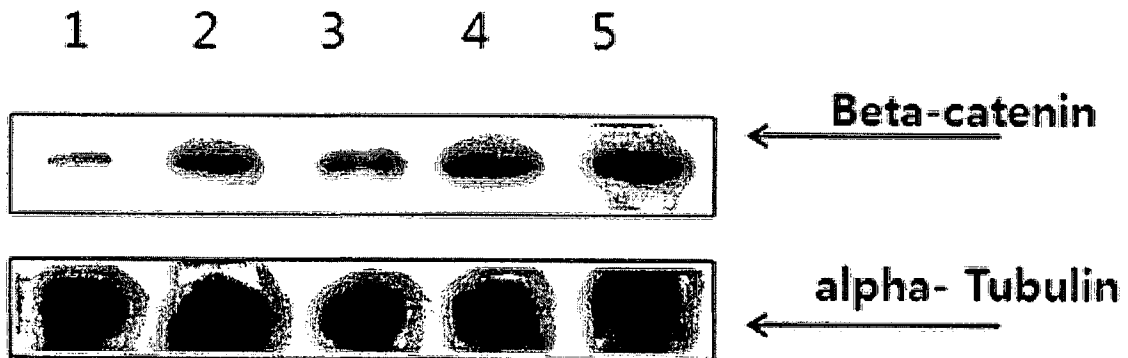
Peptide 에 의한 p-LRP6 receptor activation.

1: Control 2: 펩타이드-1 3: 펩타이드-2
4: 펩타이드-3 5: 펩타이드-4

Peptide concentration : 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Fig. 5a

Peptide 에 의한 Beta-catenin Activation.

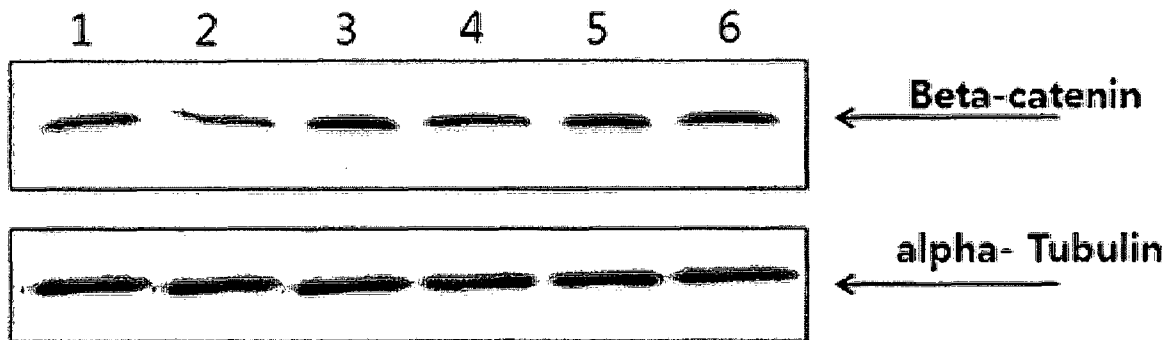


1: Control 2: 펩타이드-1 3: 펩타이드-2
 4: 펩타이드-3 5: 펩타이드-4

Peptide concentration : 1 $\mu\text{g}/\text{m}\ell$

10/15

Fig. 5b

Peptide 에 의한 Beta-catenin Activation.

1: Control 2: DKK-1 3: DKK-1 + 펩타이드-1 4: DKK-1+펩타이드-2
5: DKK-1 + 펩타이드-3 6: DKK-1 + 펩타이드-4

Peptide concentration : 1 $\mu\text{g}/\text{m}\ell$

DKK-1 concentration : 10 $\text{ng}/\text{m}\ell$

Fig. 6

Peptide 에 의한 LEF-1 mRNA level.

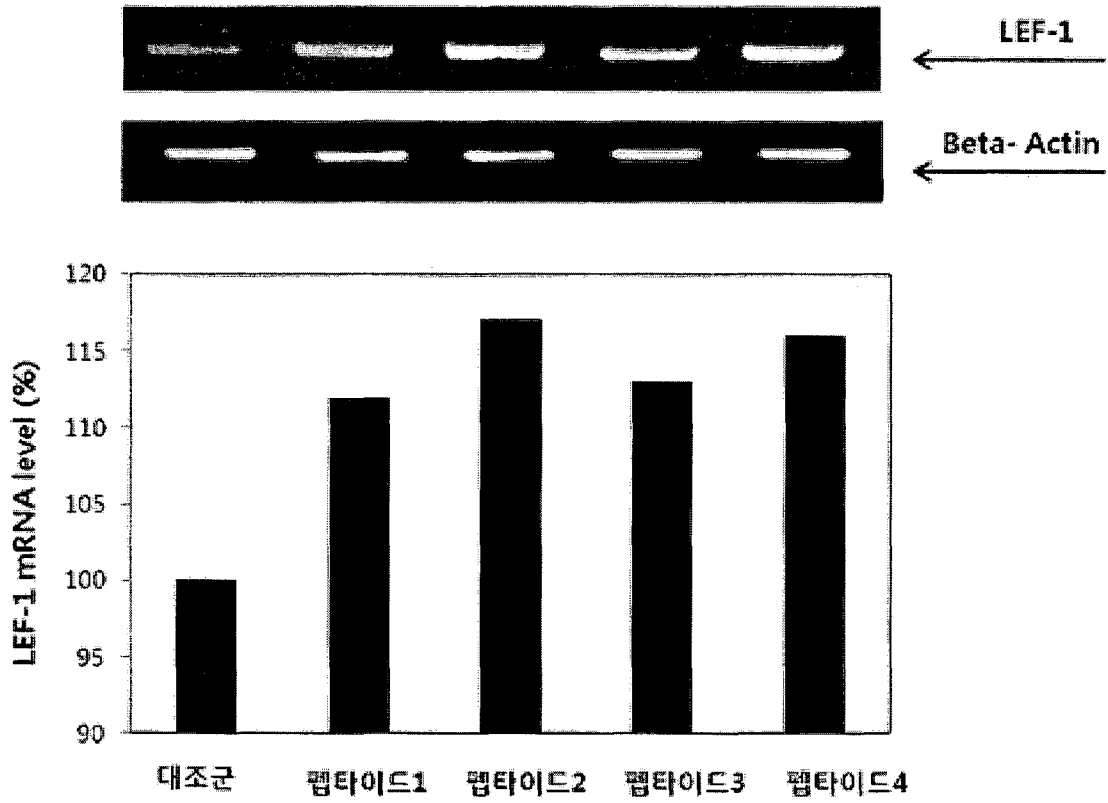


Fig. 7a

Peptide 에 의한 Fibronectin expression

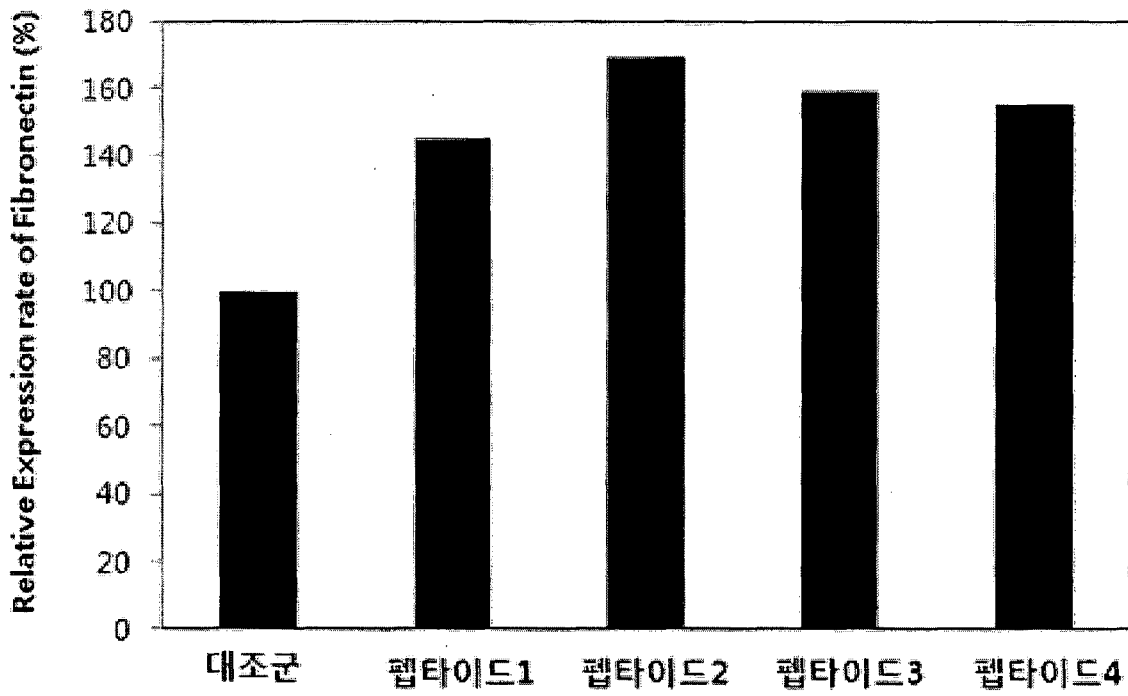


Fig. 7b

Peptide 에 의한 Fibronectin expression

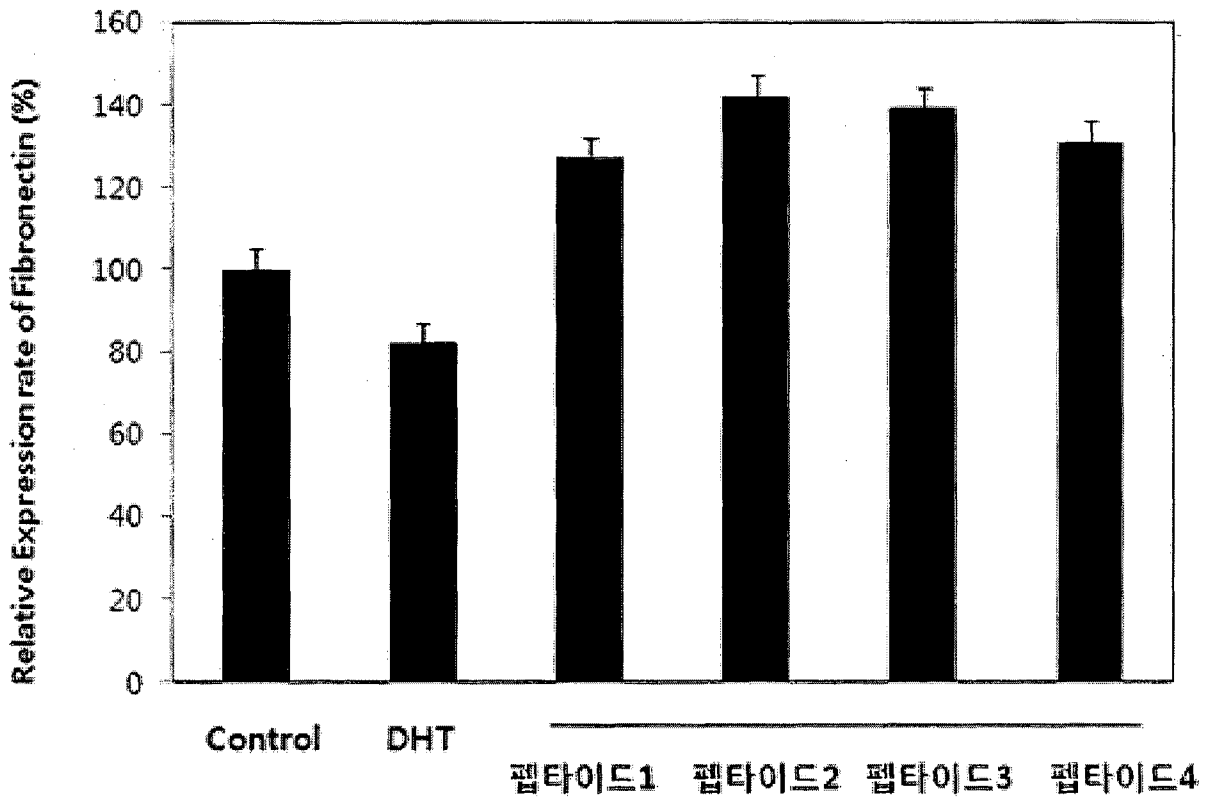
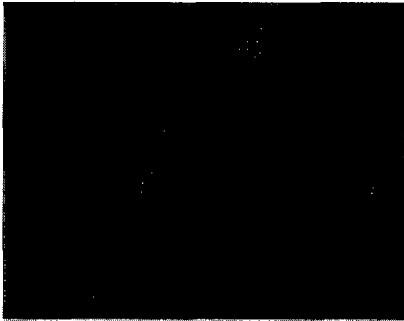


Fig. 7c

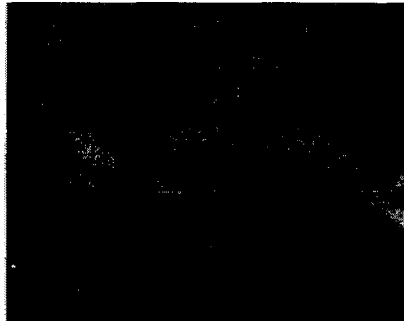
Peptide 에 의한 Fibronectin expression

DAPI : Nuclear
T-Red : Fibronectin

대조군



펩타이드-1 처리군



펩타이드-2 처리군



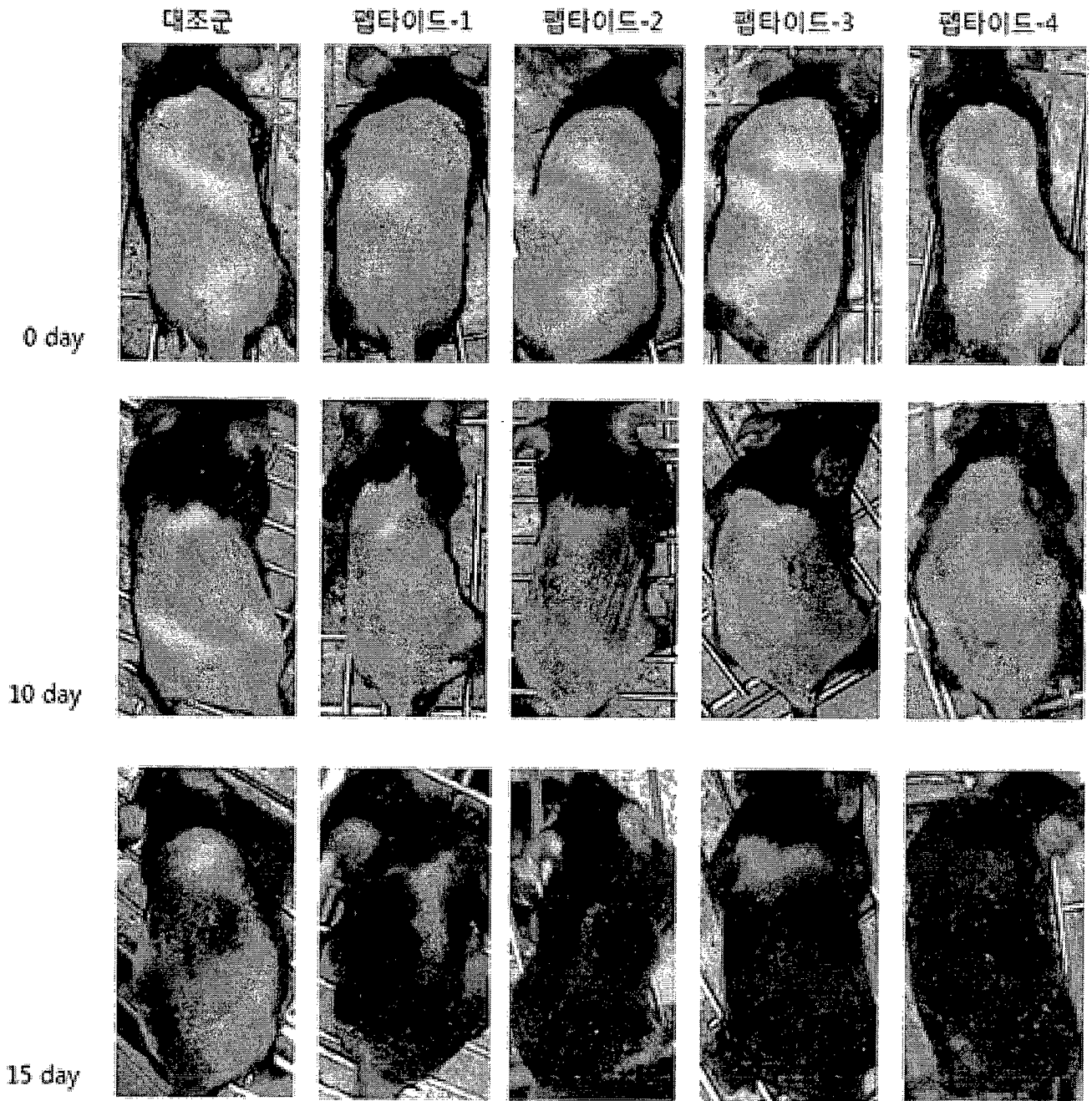
펩타이드-3 처리군



펩타이드-4 처리군



Fig. 8



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2012/003638

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 14/71(2006.01)i, A61K 38/18(2006.01)i, A61Q 7/02(2006.01)i, A61Q 19/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K 14/71; C07K 14/47; A61K 33/14; C12N 5/08; A61K 48/00; A61K 38/17; A61K 7/06

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: WNT, beta-catenin, Dkk, hair follicle

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2011-0023991 A (CAREGEN CO., LTD.) 09 March 2011 See the entire document, especially paragraph [0020], table 1, and the claims	1-15,24-31
A	OUIJI et al., "Effects of Wnt-10b on hair shaft growth in hair follicle cultures" Biochemical and Biophysical Research Communications, Vol.359, pp.516-522 (29 May 2007) See the entire document	1-15,24-31
A	SICK et al., "WNT and DKK determine hair follicle spacing through a reaction-diffusion mechanism" Science, Vol.314, pp.1447-1450 (01 December 2006) See the entire document	1-15,24-31
A	US 2006-0115460 A1 (NAUGHTON) 01 June 2006 See the entire document	1-15,24-31
A	US 2002-0114772 A1 (MORGAN et al.) 22 August 2002 See the entire document	1-15,24-31

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 NOVEMBER 2012 (13.11.2012)

Date of mailing of the international search report

14 NOVEMBER 2012 (14.11.2012)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2012/003638**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **16-23**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 16-23 pertain to a method for treatment of the human body, and thus pertain to subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17 (2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2012/003638

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2011-0023991 A	09.03.2011	EP 2474555 A1	11.07.2012
		US 2012-0245086 A1	27.09.2012
		WO 2011-027941 A1	10.03.2011
US 2006-0115460 A1	01.06.2006	US 2006-134074 A1	22.06.2006
		US 2006-154365 A1	13.07.2006
		WO 2006-026617 A2	09.03.2006
		WO 2006-026617 A3	27.07.2006
US 2002-0114772 A1	22.08.2002	US 2004-0170611 A1	02.09.2004
		US 2005-0271632 A1	08.12.2005
		US 2008-286261 A1	20.11.2008
		US 6924141 B2	02.08.2005
		US 7175842 B2	13.02.2007
		US 7985587 B2	26.07.2011

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))
C07K 14/71(2006.01)i, A61K 38/18(2006.01)i, A61Q 7/02(2006.01)i, A61Q 19/00(2006.01)i

B. 조사된 분야
조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
C07K 14/71; C07K 14/47; A61K 33/14; C12N 5/08; A61K 48/00; A61K 38/17; A61K 7/06

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌
한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))
eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: WNT, beta-catenin, Dkk, hair follicle



C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2011-0023991 A ((주)케어젠) 2011.03.09 전체 문헌, 특히 단락 [0020], 표1, 및 청구항 참조	1-15,24-31
A	O Uji 외, 'Effects of Wnt-10b on hair shaft growth in hair follicle cultures' Biochemical and Biophysical Research Communications, Vol.359, pp.516-522 (2007.05.29) 전체 문헌 참조	1-15,24-31
A	SICK 외, 'WNT and DKK determine hair follicle spacing through a reaction-diffusion mechanism' Science, Vol.314, pp.1447-1450 (2006.12.01) 전체 문헌 참조	1-15,24-31
A	US 2006-0115460 A1 (NAUGHTON) 2006.06.01 전체 문헌 참조	1-15,24-31
A	US 2002-0114772 A1 (MORGAN 외) 2002.08.22 전체 문헌 참조	1-15,24-31

추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:
 "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 윌리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌
 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일 2012년 11월 13일 (13.11.2012)	국제조사보고서 발송일 2012년 11월 14일 (14.11.2012)
--	--

ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 82-42-472-7140	심사관 김승범 전화번호 82-42-481-8746 
--	--

제1기재란 핵산염기 및/또는 아미노산 서열(첫 번째 용지의 1.c의 계속)

1. 국제출원에 게시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열과 관련하여, 국제조사는 다음에 기초하여 수행되었습니다.

a. 출원시 또는 추후 제출된 서열목록

- 서면
- 전자적 형태

b. 제출시기

- 출원시 국제출원에 포함
- 전자적 형태로 국제출원과 함께 제출
- 조사를 위해 본 기관에 추후 제출

2. 추가로 서열목록에 대하여 하나 이상의 버전이나 사본이 제출된 경우, 후속 버전 또는 추가된 사본에 기재되어 있는 정보가 출원시의 정보와 동일하거나 또는 출원시의 개시범위를 벗어나지 않는다는 진술서가 제출되었습니다.

3. 추가 의견:

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. 청구항: 16-23
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉, 청구항 16-23은 인체에 대한 치료방법에 관한 것이므로 PCT 조약 제17조(2)(a)(i) 및 조약규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
2. 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

- 이의신청에 관한 기재
- 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
 - 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
 - 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2011-0023991 A	2011.03.09	EP 2474555 A1	2012.07.11
		US 2012-0245086 A1	2012.09.27
		WO 2011-027941 A1	2011.03.10
US 2006-0115460 A1	2006.06.01	US 2006-134074 A1	2006.06.22
		US 2006-154365 A1	2006.07.13
		WO 2006-026617 A2	2006.03.09
		WO 2006-026617 A3	2006.07.27
US 2002-0114772 A1	2002.08.22	US 2004-0170611 A1	2004.09.02
		US 2005-0271632 A1	2005.12.08
		US 2008-286261 A1	2008.11.20
		US 6924141 B2	2005.08.02
		US 7175842 B2	2007.02.13
		US 7985587 B2	2011.07.26