(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0057588
(43) 공개일자 2020년05월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 7/06 (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01) *A61P 17/10* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 7/06 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0063697
(22) 출원일자 2019년05월30일
심사청구일자 2019년05월30일
(30) 우선권주장
1020180141724 2018년11월16일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
조대호
서울특별시 강남구 압구정로 201, 81동 1406호
(74) 대리인
정은열

전체 청구항 수 : 총 7 항

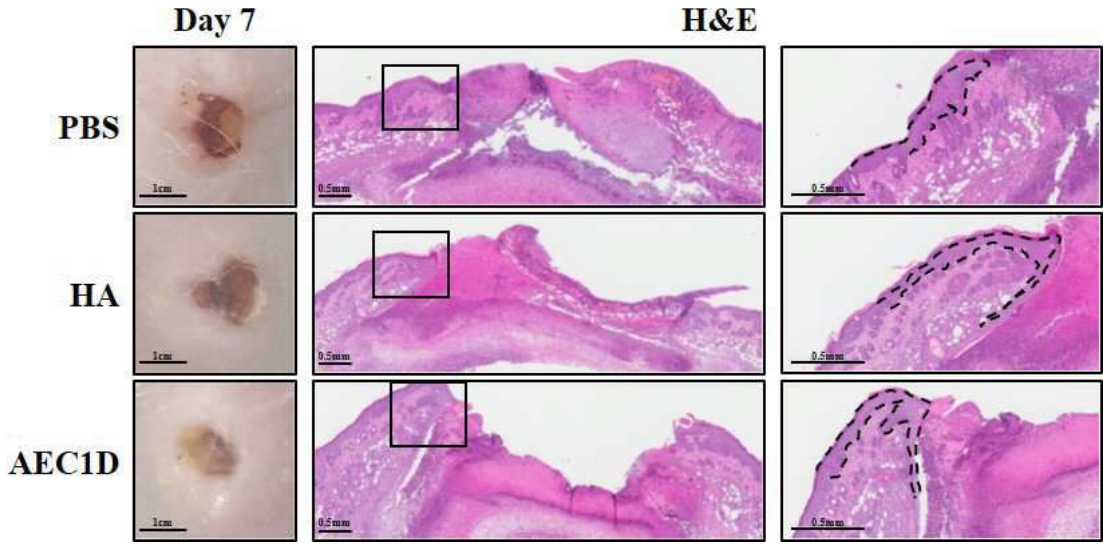
(54) 발명의 명칭 **피부 재생 또는 상처 치료용 펩타이드 AEC1D 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 피부 재생 또는 상처 치료용 펩타이드 AEC1D 및 이의 용도에 관한 것이다.

본 발명에 따른 신규 합성 펩타이드(AEC1D)는 섬유아세포에 의한 콜라겐 합성량을 증가시켜 손상된 피부의 재생 및 상처 치료 효과가 매우 우수하며, 6개의 아미노산으로 구성된 매우 작은 규모으 펩타이드로 저분자이며 생분해성이기 때문에 체내 잔류기간이 길지 않아 과민반응 유발 가능성이 적어 외부 물질의 투여에 따른 부작용을 최소화시킬 수 있는바, 기존의 피부 재생 또는 상처 치료용 제제를 대체할 수 있는 유효 물질로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 17/02 (2018.01)
A61P 17/10 (2018.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2016M3D1A1021387
부처명 과학기술정보통신부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 미래소재디스커버리사업
연구과제명 기능면역체기술 기반 생분해성 혁신형 펩타이드 소재 개발
기 여 율 1/1
주관기관 고려대학교
연구기간 2018.02.01 ~ 2019.01.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

서열번호 1로 표시되는 아미노산을 포함하는 펩타이드.

청구항 2

서열번호 1로 표시되는 아미노산으로 이루어진, 펩타이드 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 유효성분으로 포함하는, 피부 재생 또는 상처 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 상처는 심상성 좌창(여드름) 또는 창상에 의한 것임을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 창상은 비-치유 외상성 창상, 방사선조사에 의한 조직의 파괴, 찰과상, 열상, 결출상, 관통상, 총상, 절상, 화상, 동상, 피부건조, 피부각화증, 갈라짐, 터짐, 수술상 또는 혈관질환 창상, 타박상, 각막창상, 욕창, 와창, 수술 후 봉합부위, 척추상해성 창상, 부인과적 창상 및 화학적 창상으로 구성되는 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 5

제2항에 있어서,

상기 피부 재생은 피부궤양, 피부염 및 여드름 치료를 위한 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 6

서열번호 1로 표시되는 아미노산으로 이루어진, 펩타이드를 유효성분으로 포함하는, 피부 재생 또는 상처 개선용 화장품 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 조성물은 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 왁스 또는 스프레이 형태임을 특징으로 하는, 화장품 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 피부 재생 또는 상처 치료용 펩타이드 AEC1D 및 이의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 여드름은 피지선에 존재하는 Propionibacterium acnes (P. acnes)균에 의해 발생하는 만성 염증성 피부 질환으로, 전 세계적으로 6억명 이상이 여드름 질환을 앓고 있고 세계적으로 8번째 해당되는 공통적 질환으로 알려져 있다(Hagstrom E.L.; Patel S.; Karimkhani C.; Boyers L.N.; Williams H.C; Hay R.J.; Weinstock M.A.; Armstrong A.W.; Dunnick C.A.; Margolis D.J.; Dellavalle R.P. Comparing cutaneous research funded by the US National Institutes of Health (NIH) with the US skin disease burden. J. Am. Acad. Dermatol.

2015, 73, 383). 여드름을 일으키는 P. acnes균은 그람 양성균, 혐기성, 피부 공생의 균이며, 피지선에서 증식될 경우, 세포외기질의 재형성과 피부 손상 또는 흉터를 유발한다. 게다가, 면포를 형성하는 여드름의 경우는 모낭 벽의 과각화의 발달로 인해 표피의 과형성과 농축을 일으킨다. 이러한 과정은 괴사성 부식 및 심각한 상처와 같은 피부 상처를 일으키며 이 과정이 길어지면 2차 감염이나 후에 깊은 상처를 발생할 수도 있어서 큰 피해를 준다 (Connolly D.; Vu H.L.; Mariwalla K.; Saedi N. Acne Scarring-Pathogenesis, Evaluation, and Treatment Options. J. Clin. Aesthet. Dermatol. 2017, 10, 12.). 그러므로, 여드름 괴사성 상처의 빠른 회복이 중요한데, 실제 환자에게는 항균제 및 항염증제로 P. acnes균의 수치를 줄이는 치료를 수행하고 있다. 그러나 P. acnes균은 항생제의 내성을 보이고 또한 피부 상주 미생물의 항상성 불균형과 같은 부작용을 일으킬 뿐만 아니라(Dessinioti C.; Katsambasa A. Propionibacterium acnes and antimicrobial resistance in acne. Clin. Dermatol. 2017, 35, 163.), 항생제가 상처 회복에는 긍정적인 영향이 없고 오히려 상처 회복을 지연시킨다는 연구 결과도 보고된바 있다(Ki V.; Rotstein C. Bacterial skin and soft tissue infections in adults: A review of their epidemiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and site of care. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* 2008, *19*, 173.).

[0003] 이처럼 기존 여드름에 의한 상처 치유를 위해 사용되는 방법들은 다양한 부작용들이 보고되고 있는바, 이들 부작용을 최소화시키면서 유효한 치료 효과를 갖는 새로운 치료제의 개발이 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로서, 본 발명자들은 피부 재생 또는 상처 치료용 제제에 대해서 예의 연구한 결과, 6개의 아미노산으로 이루어진 생분해성 펩타이드를 제조하였으며, 상기 펩타이드를 처리한 경우, 섬유아세포의 활성 촉진, 콜라겐 합성량 증진, 손상된 피부의 효과적인 재생 효과를 확인하고, 이에 기초하여 본 발명을 완성하였다.

[0005] 이에, 본 발명의 목적은, 서열번호 1로 표시되는 아미노산으로 이루어진, 피부 재생 또는 상처 치료용 펩타이드를 제공하는 것이다.

[0006] 또한, 본 발명의 다른 목적은, 상기 펩타이드 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 유효성분으로 포함하는, 피부 재생 또는 상처 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 또한, 본 발명의 또 다른 목적은, 상기 펩타이드를 유효성분으로 포함하는, 피부 재생 또는 상처 개선용 건강기능식품/화장품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 상기 과제를 해결하기 위하여, 서열번호 1로 표시되는 아미노산으로 이루어진, 펩타이드(AEC1D)를 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 서열번호 1로 표시되는 아미노산으로 이루어진, 펩타이드 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 유효성분으로 포함하는, 피부 재생 또는 상처 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0010] 이때, 상기 상처는 심상성 좌창(여드름) 또는 창상에 의한 것일 수 있다.

[0011] 또한, 상기 창상은 비-치유 외상성 창상, 방사선조사에 의한 조직의 파괴, 찰과상, 열상, 결출상, 관통상, 총상, 절상, 화상, 동상, 피부건조, 피부각화증, 갈라짐, 터짐, 수술상 또는 혈관질환 창상, 타박상, 각막창상, 욕창, 와창, 수술 후 봉합부위, 척추상해성 창상, 부인과적 창상 및 화학적 창상으로 구성되는 군에서 선택될 수 있다.

[0012] 또한, 상기 피부 재생은 피부궤양, 피부염 및 여드름 치료를 위한 것일 수 있다.

[0013] 또한, 본 발명은 서열번호 1로 표시되는 아미노산으로 이루어진, 펩타이드를 유효성분으로 포함하는, 피부 재생 또는 상처 개선용 화장품 조성물을 제공한다.

[0014] 이때, 상기 조성물은 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 왁스 또는 스프레이 형태일 수 있다.

[0015] 또한, 본 발명은 상기 펩타이드를 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 피부 재생 또는 상처 치료방법을 제공한다.

[0016] 또한, 본 발명은 상기 펩타이드의 피부 재생 또는 상처 치료 용도를 제공한다.

발명의 효과

[0017] 본 발명에 따른 신규 합성 펩타이드(AEC1D)는 섬유아세포에 의한 콜라겐 합성량을 증가시켜 손상된 피부의 재생 및 상처 치료 효과가 매우 우수하며, 6개의 아미노산으로 구성된 매우 작은 규모으 펩타이드로 저분자이며 생분해성이기 때문에 체내 잔류기간이 길지 않아 과민반응 유발 가능성이 적어 외부 물질의 투여에 따른 부작용을 최소화시킬 수 있는바, 기존의 피부 재생 또는 상처 치료용 제제를 대체할 수 있는 유효 물질로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 본 발명의 펩타이드 AEC1D 처리에 따른 여드름 동물모델에서의 괴사성 피부 손상의 회복 속도를 조직학적으로 비교한 결과를 나타낸 것이다.

도 2는 본 발명의 펩타이드 AEC1D 처리에 따른 여드름성 피부 조직에서의 콜라겐 합성을 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 본 발명의 펩타이드 AEC1D 처리에 따른 섬유아세포의 활성화 정도를 확인한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 이하, 본 발명을 더욱 구체적으로 설명하기로 한다.

[0021] 본 발명은 서열번호 1로 표시되는 아미노산으로 이루어진, 펩타이드(AEC1D)를 제공한다.

[0022] 본 발명에서, "펩타이드 (peptide)"는 아마이드 결합 (또는 펩타이드 결합)으로 연결된 2개 이상의 아미노산으로 이루어진 폴리머를 의미하며, 본 발명의 목적상, 피부 재생 또는 상처 치유 활성을 가지는 펩타이드를 의미한다. 펩타이드 치료제에 대한 다양한 연구에도 불구하고, 펩타이드 자체 크기가 너무 커서 표적 조직 또는 세포에 효과적으로 유입되지 못하거나 반감기가 짧아 단기간에 체내에서 소멸되는 단점을 드러내었는바, 본 발명은 유효한 치료 효과를 가짐과 동시에 6개의 아미노산으로 이루어진 펩타이드를 개발하였다는 점에 기술적 의의가 있다.

[0023] 본 발명의 펩타이드는 서열번호 1로 표시되는 아미노산으로 이루어질 수 있고, 상기 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열과 각각 75% 이상, 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 서열 상동성을 가지는 아미노산 서열을 포함할 수 있으며, 표적화 서열, 태그 (tag), 표지된 잔기, 반감기 또는 펩타이드 안정성을 증가시키기 위한 특정 목적으로 제조된 아미노산 서열도 추가적으로 포함할 수 있다.

[0024] 또한, 본 발명의 펩타이드에 대한 기능성 변이체도 포함할 수 있다. 상기 기능성 변이체는 본 명세서에 기재된 펩타이드 서열 (서열번호 1)의 생물학적 균등물들을 포함한다. 예를 들면, 펩타이드의 결합 친화도 및/또는 기타 생물학적 특성을 보다 개선시키기 위하여 펩타이드의 아미노산 또는 폴리뉴클레오티드 서열에 추가적인 변화를 줄 수 있다. 이러한 변형은 펩타이드의 아미노산 서열 잔기의 결실. 삽입, 및/또는 치환을 포함하며, 아미노산 곁사슬 치환체의 상대적인 유사성, 예컨대, 소수성, 친수성, 전하 크기 등에 기초하여 이루어질 수 있다.

[0025] 또한, 본 발명의 펩타이드는 당해 분야에서 널리 공지된 다양한 방법으로 획득할 수 있다. 일례로서, 폴리뉴클레오타이드 재조합과 단백질 발현 시스템을 이용하여 제조하거나 펩타이드 합성과 같은 화학적 합성을 통하여 시험관 내에서 합성하는 방법, 및 무세포 단백질 합성법 등으로 제조될 수 있다.

[0026] 또한, 보다 나은 화학적 안정성, 강화된 약리 특성 (반감기, 흡수성, 역가, 효능 등), 변경된 특이성 (예를 들어, 광범위한 생물학적 활성 스펙트럼), 감소된 항원성을 획득하기 위하여, 펩타이드의 N- 또는 C-말단에 보호기가 결합되어 있을 수 있다. 바람직하게, 상기 보호기는 아세틸기, 플루오레닐 메톡시 카르보닐기, 포르밀기, 팔미토일기, 미리스틸기, 스테아릴기 또는 폴리에틸렌글리콜(PEG)일 수 있으나, 펩타이드의 개질, 특히 펩타이드의 안정성 증진시킬 수 있는 성분이라면, 제한없이 포함할 수 있다. 본 발명에서 사용되는 용어, "안정성"은 생체 내 단백질 절단효소의 공격으로부터 본 발명의 펩타이드를 보호하는 인 비보 안정성 뿐만 아니라, 저장 안정성 (예컨대, 상온 저장 안정성)도 의미한다. 본 발명에서, "폴리뉴클레오타이드 (polynucleotide)"는 뉴클레오티드가 결합된 중합체로서, 유전 정보를 전달하는 역할을 한다. 본 발명의 목적상, 서열번호 1의 펩타이드를

코딩하며, 상기 펩타이드를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열과 각각 75% 이상, 바람직하게는 85% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상 서열 상동성을 가지는 서열을 포함할 수 있다. 상기 "상동성"은 야생형 아미노산 서열 또는 폴리뉴클레오타이드 서열과의 유사한 정도를 나타내기 위한 것으로서, 이러한 상동성의 비교는 당업계에서 널리 알려진 비교 프로그램을 이용하여 수행할 수 있으며, 2개 이상의 서열간 상동성을 백분율 (%)로 계산할 수 있다.

[0027] 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 서열번호 1로 표시되는 아미노산으로 이루어진, 펩타이드 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 유효성분으로 포함하는, 피부 재생 또는 상처 치료용 약학적 조성물; 피부 재생 또는 상처 치료를 위한 상기 펩타이드의 용도; 및 치료상 유효량의 상기 펩타이드를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 피부재생 또는 상처 치료방법을 제공한다.

[0028] 본 발명에서 사용되는 용어, "치료"는 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 상처에 대한 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0029] 본 발명에서, "개체"는 상처의 치료를 필요로 하는 대상을 의미하며, 보다 구체적으로 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐(mouse), 개, 고양이, 말 및 소 등의 포유류를 의미한다.

[0030] 본 발명에서 사용되는 용어, "피부 재생"은 전반적인 피부 노화 및 피부에 유발된 외부 자극에 대응하여 피부 조직이 재구성되는 일련의 반응을 일컫는 것으로서, 한 구체예로서 피부궤양, 피부염 및 여드름의 치료, 피부 미백, 피부 탄력 증진, 주름 개선 효과를 나타낸다. 상기 "피부 미백"은 멜라닌 색소의 합성을 저해함으로써 피부 톤을 밝게 할 뿐만 아니라, 자외선, 호르몬 또는 유전에 기인한 기미나 주근깨 등의 피부 과색소 침착을 개선하는 것을 말한다.

[0031] 본 발명에서 사용되는 용어, 상처 (wound)는 외부 자극에 의해 조직이 손상되는 현상을 의미하는 것으로서, 일반적인 상처의 치유는 대개 세포의 변성 및 사멸, 주위의 조직으로부터 유주세포, 조직액의 유출, 및 섬유소의 석출과 육아조직의 형성 등의 과정을 거치게 된다. 본 발명의 목적상, 상기 상처 치료는 전술한 바와 같은 과정을 촉진시켜 정상 피부 조직으로의 재구성을 돕는 것을 일컫는다, 한편, 상기 상처는 심상성 좌창(여드름) 또는 창상에 의한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 창상은 비-치유 외상성 창상, 방사선조사에 의한 조직의 파괴, 찰과상, 열상, 결출상, 관통상, 총상, 절상, 화상, 동상, 피부건조, 피부각화증, 갈라짐, 터짐, 수술상 또는 혈관질환 창상, 타박상, 각막창상, 욕창, 와창, 수술 후 봉합부위, 척추상해성 창상, 부인과적 창상 및 화학적 창상으로 구성되는 군에서 선택될 수 있다.

[0032] 한편, 본 발명의 펩타이드 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 콜로이드 현탁액, 분말, 식염수, 지질, 리포좀, 미소구체 microspheres), 또는 나노 구형입자와 같은 약학적으로 허용될 수 있는 담체에 운반될 수 있다. 이들은 운반 수단과 복합체를 형성하거나 관련될 수 있고, 지질, 리포좀, 미세입자, 금, 나노입자, 폴리머, 축합 반응제, 다당류, 폴리아미노산, 덴드리머, 사포닌, 흡착 증진 물질 또는 지방산과 같은 당업계에 공지된 운반 시스템을 사용하여 생체 내 운반될 수 있다.

[0033] 이 외에도, 약학적으로 허용되는 담체는 제제시 통상적으로 이용되는 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아, 고무, 인산칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세 결정성 셀룰로스, 폴리비닐 피로리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필 히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0034] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 본 발명의 목적상, 피부 재생 효과를 위하여 바람직하게 본 발명의 펩타이드를 1 내지 10000ng/ml 농도로 함유할 수 있으나, 세포 독성이 없이 유효한 치료 효과를 기대할 수 있는 농도라면, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0035] 본 발명의 약학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구투여 (예를 들어, 근육 내, 정맥 내, 복강 내, 피하, 피내, 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.

[0036] 특히, 본 발명의 약학적 조성물을 피부 외용제로 사용하는 경우, 추가로 지방 물질, 유기 용매, 용해제, 농축제 및 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 유화제, 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온 봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수오일, 염료, 안료, 친수성 활성제, 친유성 활성제 또는 지질 소낭 등 피부 외용제에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 피부 과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 또한 상기 성분들은

피부 과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입될 수 있다. 또한, 상기 약학적 조성물이 피부 외용제로 제공될 경우, 이에 제한되는 것은 아니나, 연고, 패취, 겔, 크림 또는 분무제 등의 제형일 수 있다.

[0037] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명에 다른 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 동시에, 별도로, 또는 순차적으로 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0038] 구체적으로 본 발명의 약학적 조성물의 유효량은 환자의 연령, 성별, 상태, 체중, 체내에 활성 성분의 흡수도, 불활성율, 배설 속도, 질병 종류, 병용되는 약물에 따라 달라질 수 있으며, 투여 경로, 비만의 중증도, 성별, 체중, 연령 등에 따라 증감될 수 있다.

[0039] 또한, 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 서열번호 1로 표시되는 아미노산으로 이루어진, 펩타이드 또는 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 유효성분으로 포함하는, 피부 재생 또는 상처 개선용 건강기능식품/화장품 조성물을 제공한다.

[0040] 본 발명에서 사용되는 용어, "개선"이란 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면, 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다. 이때, 상기 건강기능식품/화장품 조성물은 피부 재생, 피부 노화 또는 상처의 예방 또는 개선을 위하여, 관련 질환의 발병 단계 이전 또는 발병 후, 치료를 위한 약제와 동시에 또는 별개로서 사용될 수 있다.

[0041] 본 발명의 건강기능식품 조성물에서, 유효성분을 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적 (예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 조성물은 원료에 대하여 바람직하게 15 중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가될 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있다.

[0042] 본 발명의 건강기능식품 조성물은 상기 유효성분을 함유하는 것 외에 특별한 제한없이 다른 성분들을 필수 성분으로서 함유할 수 있다. 예를 들면, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당 알코올일 수 있다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제 (타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어, 레바우디오시드 A, 글리시르히진등)) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 당업자의 선택에 의해 적절하게 결정될 수 있다.

[0043] 상기 외에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있으며, 이러한 첨가제의 비율 또한 당업자에 의해 적절히 선택될 수 있다.

[0044] 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 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

[0045] 본 발명의 화장품 조성물에 함유된 유효한 담체는 제형에 따라, 당업계에서 통상적으로 이용되는 담체가 이용될 수 있다. 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아

연 등이 이용될 수 있다.

[0046] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 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.

[0047] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 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.

[0048] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 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.

[0049] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0050] 본 발명의 화장품 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분과 담체 성분 이외에, 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제를 포함할 수 있다.

[0052] [실시예]

[0053] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[0055] **펩타이드 AEC1D의 제조**

[0056] 먼저, 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드 AEC1D를_제조하였다. 이후, 고성능액체크로마토그래피 (SHIMADZU Prominence HPLC)를 이용하여 합성된 펩타이드를 순수 분리하였으며, 컬럼은 Shiseido capcell pak C18 Column (4.6 x 50mm)을 이용하였다. 또한, 질량분석기 (HP 1100 series LC/MSD)를 이용하여, 합성된 펩타이드의 질량을 확인하였다.

[0058] **여드름 균의 준비**

[0059] 여드름 균으로, 한국생명공학연구원 생물자원센터 (KCTC)에서 P. acnes균을 구입하였으며, 상기 균을 무산소의 상태를 유지하는 용기에 넣어 배양하였다. 5 X 10^9 colony forming units(CFU)/mL의 숫자로 균을 모아 이 중에 100 μl 즉, 5 X 10^8 CFU를 생쥐의 등 중앙 내피에 주입하였다.

[0061] **여드름 동물 모델의 확립 및 피부재생, 콜라겐 합성양 측정**

[0062] 여드름 질환 동물 모델을 확립하기 위해, 6주령의 Hairless-1 쥐를 이용하였다. 상기 6주령의 Hairless-1 쥐는 실험 전에 일주일 정도 안정화 기간을 가졌다. 여드름의 생성을 위해, P. acnes균을 생쥐의 등 중앙 부위 내피에 주입하였다.

[0063] 균 주입 후 다음날부터, 본 발명에 따라 합성된 펩타이드 AEC1D을 10μg/kg의 농도로 매 2일 마다 1주일간 피하

에 주입하고, 여드름에 의한 괴사성 상처 부위를 매일 사진 촬영하여 관찰하였다. 이와 함께, collagen 합성의 양성 실험군으로 Hyaluronic acid를 (HA, 24 mg/kg) 주입하였고(Quan T.; Wang F.; Shao Y.; Rittie L.; Xia W.; Orringer J.S.; Voorhees J.J.; Fisher G.J. Enhancing structural support of the dermal microenvironment activates fibroblasts, endothelial cells, and keratinocytes in aged human skin in vivo. *J. Invest. Dermatol.* 2013, *133*, 658.), 음성 대조군으로는 phospho-buffered saline (PBS)를 주입하였다.

[0065] **조직학적 검사**

[0066] 상처 크기의 면적을 조직학적으로 관찰하기 위해 펩타이드 주입 7일 후 여드름 괴사성 상처 부위를 잘라 고정한 뒤 피부조직 관찰 자료를 만들어 염색, 관찰하였다. 구체적으로, 피부 조직을 4% paraformaldehyde에 고정한 후, 얇게 절개한 뒤, 헤마톡신&에오신 염색을 통해 조직학적 양상을 실험하였고, Picro-Sirius Red solution을 이용하여 collagen의 양을 염색 후 확인하였으며, fibronectin은 면역염색을 수행하여 확인하였다.

[0068] **세포 배양**

[0069] primary human dermal fibroblast 세포는 국제생물자원센터 (ATCC)에서 구입하고, fibroblast basal medium (FBM)에서 배양하였다. 세포를 6-웰 플레이트에서 1 X 10^5/ml 씩 배양하였다. TGF-β는 양성 대조군으로 10ng/ml로 처리되었다 (Das F.; Bera A.; Ghosh-Choudhury N.; Abboud H.E.; Kasinath B.S.; Choudhury G.G. TGFb-induced deptor suppression recruits mTORC1 and not mTORC2 to enhance collagen I (a2) gene expression. *PLoS One.* 2014, *9*, e109608.). β-actin 단백질은 정량의 비교용으로 사용하였다.

[0071] **웨스턴 블랏**

[0072] 배양 후 처리된 세포들은 세포벽을 깨트린 뒤 단백질만 추출하였다. 추출된 단백질 20 μg을 sodium dodecyl sulfate (SDS) sample 버퍼로 변성시켜서, 10% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) gels에서 분리 전기영동한 뒤, polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane 에 부착시켰다. membrane은 비특이적 결합을 막기 위해 5% skim milk에 1시간 넣어두었다. collagen 단백질의 양은 anti-goat collagen type I antibody를 이용하여 면역 염색하였다. β-actin 단백질은 정량의 비교용으로 사용하였다.

[0074] **통계적 분석**

[0075] 대조군과 실험군의 차이는 paired Student's t-test에 의해서 평가되었으며, *P*-values<0.05인 경우 유의한 차이로 고려되었다.

[0077] **실시예 1. 합성 펩타이드 AEC1D에 의한 여드름 손상 피부 재생 효과 확인**

[0078] 도 1은 본 발명의 펩타이드 AEC1D 처리에 따른 여드름 동물모델에서의 괴사성 피부 손상의 회복 속도를 조직학적으로 비교한 결과를 나타낸 것이다. 도 1에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 합성 펩타이드 AEC1D가 10μg/kg의 농도로 주입된 여드름 피부는 음성 대조군에 비해 괴사성 피부 손상이 닫히는 속도가 빠름을 확인할 수 있으며, 피부 재생의 초기 단계인 회복 부위 세포 이동의 속도 또한 활성되어 있음을 확인할 수 있다. 또한, 괴사성 피부 손상부위의 크기가 확연하게 줄어들고, 헤마톡신&에오신 염색을 통한 조직학적 분석에서도 상처 사이의 크기가 줄어들었음을 확인할 수 있다. 또한, 세포 재생의 초기 단계인 세포이동 부위는 도 1의 상자로 표시된 부분의 확대 부위에서 점선으로 표시하여 관찰하였는데, 이를 통해 피부 재생의 초기 단계인 회복 부위 세포 이동의 양상이 증가함을 확인함으로써 본 발명에 따른 합성 펩타이드 AEC1D이 여드름에 의해 손상된 피부를 효과적으로 재생하는 능력이 있음을 확인하였다.

[0080] **실시예 2. 손상된 피부 재생 부위의 collagen 합성 평가**

[0081] 본 발명의 펩타이드 AEC1D 처리에 따른 여드름성 피부 조직에서 콜라겐 의 합성량을 확인하였으며, 그 결과를 하기 도 2에 나타내었다. 이때, 염색된 콜라겐의 양을 image J 프로그램으로 수치화하여 검증하였다(error bar, mean ±SD. *** *P*-values<0.005, 음성 대조군에 대하여 수행하였다).

[0082] 이를 통해, 본 발명의 펩타이드 AEC1D 처리시 대조군에 비해 피부 상처 부위에서 콜라겐 합성이 현저하게 증가함을 확인하였다.

[0084] **실시예 3. 손상된 피부 재생 부위의 섬유아세포 활성화 평가**

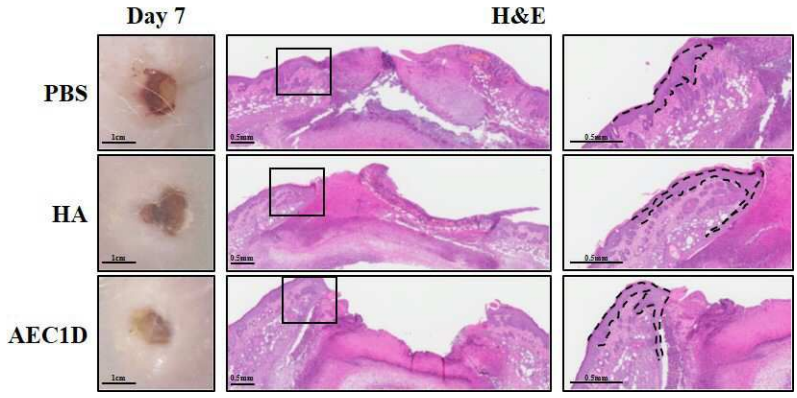
[0085] 본 발명의 펩타이드 AEC1D 처리에 따른 섬유아세포의 활성화 정도를 확인하였으며, 그 결과를 하기 도 3에 나타내었다. 구체적으로 본 발명의 합성 펩타이드 AEC1D가 10㎍/kg의 농도로 주입된 여드름 피부의 재생 부위 근처에서 collagen 합성을 주도하는 섬유아세포(fibroblast)의 활성화를 확인하기 위해, 면역 염색된 피브로넥틴(fibronectin)의 수를 image J 프로그램으로 수치화하여 검증하였다(error bar, mean ±SD., ** *P*-values<0.05, 음성 비교군에 대하여 수행하였다).

[0086] 이를 통해, 본 발명의 펩타이드 AEC1D 처리시 섬유아세포의 인지 단백질인 피브로넥틴의 양이 증가하며, 따라서 콜라겐(collagen) 합성을 위한 섬유아세포의 활성이 현저하게 향상됨을 확인하였다.

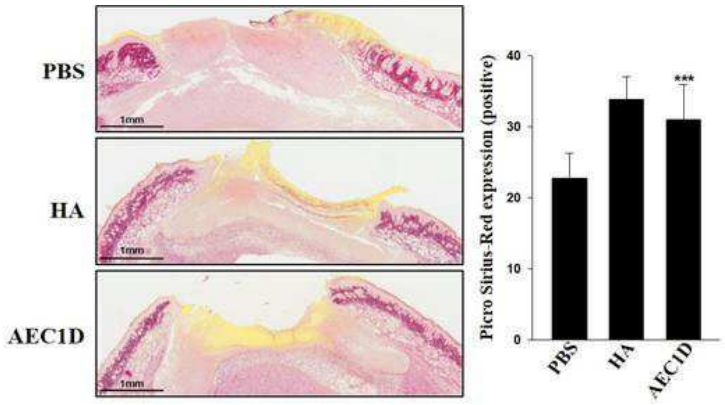
[0088] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시태양일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

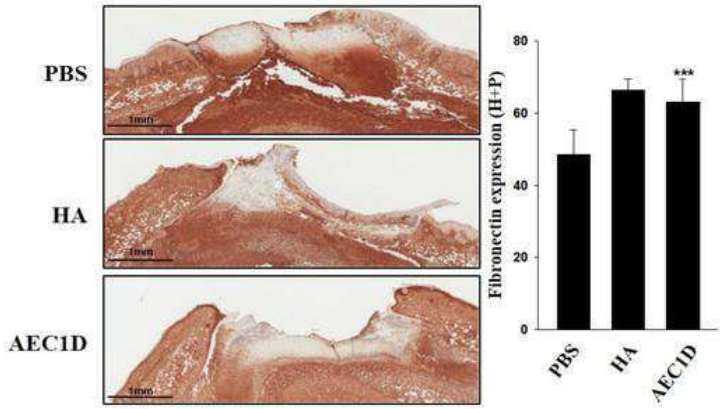
도면1



도면2



도면3



서 열 목 록

<110> Korea University Research and Business Foundation

<120> Peptide AEC1D for skin regenerating or wound healing and use thereof

<130> JKP1163R1

<150> KR 10-2018-0141724

<151> 2018-11-16

<160> 1

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide sequence for AEC1D

<400> 1

Arg Thr Asp Arg Thr Asp

1 5