

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일

2024년 12월 19일 (19.12.2024) WIPO | PCT



(10) 국제공개번호

WO 2024/258216 A1

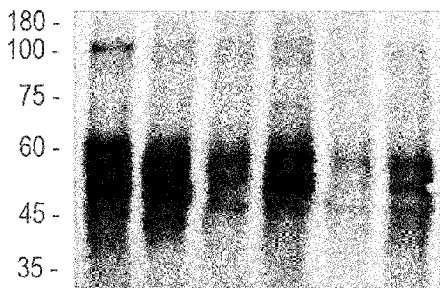
- (51) 국제특허분류: C07K 7/08 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
A23L 33/18 (2016.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2024/008142
- (22) 국제출원일: 2024년 6월 13일 (13.06.2024)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2023-0076674 2023년 6월 15일 (15.06.2023) KR
10-2024-0076255 2024년 6월 12일 (12.06.2024) KR
- (71) 출원인: 주식회사 겐백스앤카엘 (GEMVAX & KAEL CO., LTD.) [KR/KR]; 34036 대전광역시 유성구 테크노 11로 58, 1층 (탑립동), Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 김상재 (KIM, Sang Jae); 06360 서울특별시 강남구 광평로10길 15, 101동 405호 (일원동, 상록수아파트), Seoul (KR).
- (74) 대리인: 특허법인리체 (LEECHAE INTELLECTUAL PROPERTY); 06236 서울특별시 강남구 테헤란로 26길12, 3층, 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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, 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, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 공개:
— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(54) Title: NOVEL PEPTIDE AND USE THEREOF

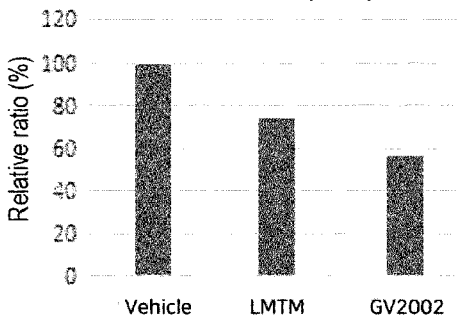
(54) 발명의 명칭: 신규 펩티드 및 이의 용도

Insoluble Tau (Tau5)

Vehicle LMTM GV2002



Insoluble tau (Tau5)



(57) Abstract: The present invention relates to: a peptide which has the effects of preventing, alleviating, and/or treating 4R tauopathy, and which is safe with respect to the human body, and thus has reduced side effects including an abnormal reaction; and a pharmaceutical composition and a health functional food, which comprise same.

(57) 요약서: 본 발명은 4R 타우병증에 대한 예방, 개선 및/또는 치료 효능을 갖고, 생체에 안전하여 이상반응을 포함하는 부작용이 적은 펩티드, 이를 포함하는 약학 조성물 및 건강기능식품에 관한 것이다.

WO 2024/258216 A1

명세서

발명의 명칭: 신규 펩티드 및 이의 용도

기술분야

- [1] 본 발명은 신규 펩티드 및 이의 용도에 관한 것이다.
[2]

배경기술

- [3] 타우(tau)는 중추 신경계(CNS)의 신경세포에 풍부하게 존재하여 주로 축삭(axon)의 미세소관의 안정성을 유지하는 역할을 한다.
[4] 타우 단백질에 인(phosphate)이 과도하게 부착되는 과인산화(hyperphosphorylation)가 일어나면 타우는 미세소관으로부터 분리되어 불용성 응집체인 신경원섬유 농축체(neurofibrillary tangle, NFT)를 형성한다. 이러한 비정상적인 타우의 응집과 관련된 신경퇴행성 질환을 총칭하여 타우병증(tauopathy)이라고 한다.
[5] 타우병증은 이의 병인이 되는 타우 단백질의 아이소폼에 따라 3R 타우병증 및 4R 타우병증으로 구분된다.
[6] 4R 타우병증은 진행성핵상마비(Progressive supranuclear palsy, PSP), 피질기저핵변성(Corticobasal degeneration, CBD), 은친화입자병(Argyrophilic grain disease, AGD), 구상교세포 타우병증(Globular glial tauopathy, GGT) 및 연령관련 타우 성상교세포병증(Aging-related tau astrogliaopathy, ARTAG) 등을 포함한다.
[7] 고령화에 따라 4R 타우병증 환자 수가 증가하고 있지만, 현재 이를 효과적으로 치료하거나 예방할 수 있는 약물은 없다.
[8] 타우 응집 저해제로 알려진 LMTM에 대해 임상3상이 진행하고 있으나 LMTM의 4R 타우병증에 대한 구체적인 효능에 대해서는 보고된 바가 없다. 또한 LMTM은 타우 응집 저해구간($EC_{50} = 2.2 \pm 0.2 \mu M$)에서 세포 독성($GI_{50} = 6.4 \pm 0.3 \mu M$)이 나타난다는 문제점이 있다.
[9] 이에 본 발명자들은 타우 과인산화 및 응집화를 억제함으로써 4R 타우병증을 치료하고자 예의 연구한 결과 본 발명을 완성하였다.

[10]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [11] 본 발명은 4R 타우병증의 예방 또는 치료 효능을 갖는 신규 펩티드를 제공하는 것을 목적으로 한다.
[12] 본 발명은 4R 타우병증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
[13] 본 발명은 4R 타우병증의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[29] 본 발명의 화학식 1의 펩티드 또는 이의 염을 포함하는 약학 조성물 및 건강기능식품은 타우 단백질 과인산화 및 응집화를 억제함으로써 4R 타우병증의 예방, 개선 및/또는 치료 효과를 나타낼 수 있다.

[30] 본 발명의 펩티드, 약학 조성물 및 건강기능식품은 생체내에서 안정적으로 오랫동안 약효를 낼 수 있다.

[31]

도면의 간단한 설명

[32] 도 1은 GV2002의 인간 혈장내 안정성을 확인한 실험 결과를 나타낸다.

[33] 도 2는 랫드에게 GV2002를 정맥투여한 후 이의 약동학적 프로파일 (pharmacokinetic profile, PK profile)을 확인한 결과를 나타낸다.

[34] 도 3은 랫드에게 GV2002를 피하투여한 후 이의 약동학적 프로파일을 확인한 결과를 나타낸다.

[35] 도 4는 GV2002의 효능을 검증하기 위한 생체내 실험에 사용한 마우스 그룹을 나타낸 것이다.

[36] 도 5는 4R 타우병증 마우스 모델을 대상으로 수행한 GV2002의 효능 평가 실험 일정을 나타낸다.

[37] 도 6 및 7은 4R 타우병증 마우스 모델의 운동 능력 개선 평가 실험 결과를 나타낸다.

[38] 도 8은 4R 타우병증 마우스 모델의 인지 능력 개선 평가 실험 방법 및 결과를 나타낸다.

[39] 도 9는 4R 타우병증 마우스 모델의 공간 기억 능력 개선 평가 실험 방법 및 결과를 나타낸다.

[40] 도 10은 뇌조직 면역형광염색을 통한 GV2002의 타우 과인산화 억제 효능 평가 실험 결과를 나타낸다.

[41] 도 11은 뇌조직 Tau-BiFC 이미징을 통한 GV2002의 타우 올리고머 형성 억제 효능 평가 실험 결과를 나타낸다.

[42] 도 12는 뇌 용해물 분석을 통한 GV2002의 타우 과인산화 및 응집화 억제 효능 평가 실험 결과를 나타낸다.

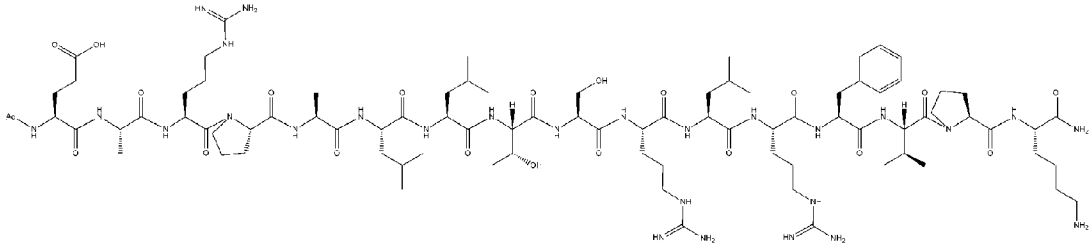
[43]

발명의 실시를 위한 형태

[44] 본 발명은 하기 화학식 1의 펩티드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 제공한다:

[45] [화학식 1]

[46]



[47] 본 발명에서 화학식 1의 펩티드는 이의 기능적 동등물을 포함한다. "기능적 동등물"이란 화학식 1의 펩티드와 실질적으로 동질의 생리활성을 나타내는 펩티드를 의미한다.

[48]

[49] 본 발명은 화학식 1의 펩티드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 4R 타우병증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[50] 본 발명에서 "약학적으로 허용되는"이란 조성물에 노출되는 세포나 개체에 독성이 없는 특성을 나타내는 것을 의미한다.

[51] 본 발명에서 4R 타우병증은 4R 타우 단백질의 응집화에 기인하는 신경퇴행성 질환을 총칭하는 것으로서, 진행성핵상마비, 피질기저핵변성, 은친화입자병, 구상교세포 타우병증 및 연령관련 타우 성상교세포병증 등을 포함한다.

[52] 본 발명에서 "예방"은 4R 타우병증을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[53] 본 발명에서 "개선" 및 "치료"는 4R 타우병증이 발병한 것으로 의심되거나, 발병한 개체의 증상을 호전시키거나 이롭게 변경시키는 모든 행위를 의미한다.

[54] 일 실시예에서 예방, 개선 및/또는 치료는 타우 단백질의 과인산화를 억제함으로써 이루어질 수 있다.

[55] 일 실시예에서 예방, 개선 및/또는 치료는 타우 단백질 응집화를 억제함으로써 이루어질 수 있다.

[56] 일 실시예에서 예방, 개선 및/또는 치료는 4R 타우병증이 발병한 것으로 의심되거나, 발병한 개체의 운동 능력을 향상시키는 것일 수 있다.

[57] 일 실시예에서 예방, 개선 및/또는 치료는 4R 타우병증이 발병한 것으로 의심되거나, 발병한 개체의 인지 능력을 향상시키는 것일 수 있다.

[58] 일 실시예에서 예방, 개선 및/또는 치료는 4R 타우병증이 발병한 것으로 의심되거나, 발병한 개체의 공간 기억 능력을 향상시키는 것일 수 있다.

[59] 본 발명의 약학 조성물은 유효성분을 단독으로 포함하거나, 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다.

[60] 본 발명의 약학 조성물이 포함할 수 있는 담체, 부형제 또는 희석제는 락토오스, 덱스트로즈, 수크로즈, 덱스트린, 말토덱스트린, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈,

물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [61] 본 발명의 약학 조성물은 개체에 투여하여 제공될 수 있다.
- [62] 본 발명에서 "투여"란 적절한 방법으로 개체에 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며, "개체"란 4R 타우병증이 발병하였거나 발병할 수 있는 가축 및 마우스 등의 모든 동물을 의미하며, 예컨대 인간을 포함한 포유동물일 수 있다.
- [63] 본 발명의 약학 조성물의 투여 경로는 구강, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [64] 일 실시예에서, 본 발명의 조성물은 경구 또는 비경구 투여될 수 있다.
- [65] 본 발명의 조성물을 비경구 투여하는 경우, 피부 외용 또는 복강내주사, 직장내주사, 피하주사, 정맥주사, 근육내 주사 또는 흉부내 주사 주입방식을 선택하는 것이 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [66] 본 발명의 약학 조성물은 경구 투여를 위한 고형 제제, 예컨대 정제, 환제, 산제, 과립제 또는 캡슐제로 제공될 수 있다.
- [67] 본 발명의 약학 조성물은 경구 투여를 위한 액상 제제, 예컨대 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제로 제공될 수 있다.
- [68] 본 발명의 약학 조성물은 비경구 투여를 위한 제제, 예컨대 멸균된 수용액, 비수용성제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 또는 좌제로 제공될 수 있다.
- [69] 본 발명의 약학 조성물은 개체에 약학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있으며, "약학적으로 유효한 양"이란 의학 적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 4R 타우병증을 치료하기에 충분한 양을 의미한다.
- [70] 본 발명의 약학 조성물의 약학적으로 유효한 양은 4R 타우병증의 중증도, 약학 조성물의 활성도, 개체 또는 환자의 약학 조성물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로, 배출 비율, 치료 기간 및 병용 약물을 포함한 요소, 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있으며 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.
- [71] 본 발명의 약학 조성물은 개별 치료제로 투여되거나 종래의 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있으며, 병용 투여되는 경우 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있고, 단일 또는 다중 투여될 수 있으며, 이는 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [72]
- [73] 본 발명은 화학식 1의 펩티드 또는 이의 식품학적으로 허용되는 염을 포함하는 4R 타우병증의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [74] 본 발명의 건강기능식품은 건강기능식품에 관한 법률에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, 기능성은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

- [75] 본 발명의 식품 조성물은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전처에서 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [76] 식품 첨가물 공전에 기재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 들 수 있다.
- [77] 본 발명의 건강기능식품은 4R 타우병증의 예방 및/또는 개선을 목적으로, 건강기능식품 총 중량에 대하여 화학식 1의 펩티드를 0.01 내지 95 중량%, 바람직하게는 1 내지 80 중량%로 포함할 수 있다. 또한, 4R 타우병증의 예방 및/또는 개선을 목적으로, 정제, 캡셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공될 수 있다.
- [78]
- [79] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[80]

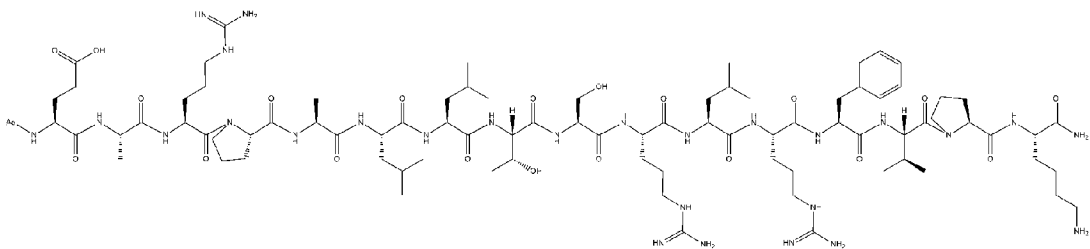
[81] 실시예

[82]

[83] **[실시예 1] GV2002의 제조**

[84] 하기 화학식 1의 구조식을 갖는 펩티드(이하 GV2002)를 제조하였다.

[85]

[86] **[화학식 1]**

[87] GV2002를 공지된 Fmoc 고상 펩티드 합성법(solid phase peptide synthesis, SPPS)에 따라 C-말단부터 아미노산을 하나씩 커플링함으로써 합성하였다.

[88] 펩티드 합성에 사용한 모든 아미노산 원료는 N-말단이 Fmoc으로 보호(Protection)되고, 잔기는 모두 산에서 제거되는 Boc, t-Bu(t-butylester) 또는 Pbf(2,2,4,6,7-pentamethyl dihydro-benzofuran-5-sulfonyl) 등으로 보호된 것을 사용하였다. 펩티드 합성에 사용한 아미노산 원료는 예컨대 다음과 같다:

[89] Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Ser-OH, Fmoc-Thr-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH.

- [90] 커플링 시약(Coupling reagent)으로는 DIC(Diisopropylcarbodiimide), DMF(Dimethylformamide), Oxyma(Ethyl(hydroxyamino)Cyanoacetate) 및 IPA(Isopropyl alcohol)를 사용하였다. Fmoc 제거에는 DMF 중 20% 피페리딘(20% piperidine in DMF)을 사용하였다. 합성된 펩티드를 수지에서 분리하고 잔기의 보호기를 제거하는데 절단 칵테일(Cleavage Cocktail)[95% TFA(trifluoroacetic acid) / 5% H₂O / 50 mg/mL DTT(Dithiothreitol)]을 사용하였다.
- [91] 펩티드의 N-말단 캡핑(capping)을 위해 Ac₂O(Acetic anhydride) / DIEA(Diisopropylethylamine) / DMF(Dimethylformamide)를 사용하여 N-말단을 아세틸화하였다. 펩티드의 C-말단은 아미노화하였다.
- [92] 아미노산 보호기가 결합된 출발 아미노산이 고상 지지체에 결합되어 있는 상태에서 순차적으로 각각의 아미노산들을 반응시키고 용매로 세척하고 탈보호하는 과정을 반복함으로써 펩티드를 합성하였다. 합성된 펩티드를 수지로부터 끊어낸 후 HPLC로 정제하고, 합성 여부를 MS로 확인하고 동결 건조하였다.
- [93] 카운터 이온 교환(counter ion exchange)과정으로는 HOAc 염 형태로 물에 용해되어 있는 GV2002를 AmberChrom 이온교환 수지를 사용하여 염화물 형태로 치환하였다. 치환된 GV2002는 PVDF 필터로 여과하여 동결건조하였다.
- [94] GV2002의 구체적인 합성 과정은 다음과 같다:
- [95] (1) 커플링
- [96] Fmoc-Rink Methylbenzhydrylamine 수지에 C-말단부터 N-말단까지의 각각의 아미노산과 DMF에 녹여진 커플링 시약 DIC/Oxyma/IPA를 첨가함으로써 아미노산들을 커플링화 하였다. 그런 다음 DMF로 세척하였다.
- [97] (2) Fmoc 탈보호 및 N-말단 캡핑
- [98] DMF 중 20%의 피페리딘을 처리하여 Fmoc 탈보호화 한 후, N-말단을 아세틸화하였다.
- [99] (3) 절단
- [100] 합성이 완료된 펩티드가 결합된 수지에 절단 칵테일을 처리하여 펩티드를 수지에서 분리하였다.
- [101] (4) 여과
- [102] 수득한 혼합물을 농축하고 MTBE/hexane으로 침전시켰다. 그런 다음 침전물을 여과한 후 건조시켰다.
- [103] (5) 정제
- [104] 수득한 건조 여과물을 Prep-HPLC로 정제 후 LC/MS로 분자량을 확인하고 동결 건조 하였다.
- [105] (6) 분말 제조
- [106] AmberChrom 수지를 이용해 염화물로 치환하고 PVDF에 여과시킨 후 동결건조하여 분말로 제조하였다.
- [107]
- [108] [실시예 2] GV2002의 인간 혈장내 안정성 확인

[109] 펩티드를 100% 인간 혈장에 첨가하여 5 μ M 희석하고 37°C에서 10, 60 및 240분 동안 교반 반응시킨 후 수집하여 0.1% 포름산이 함유된 메탄올을 이용하여 혈장 단백질을 침전법으로 전처리하였다. 상등액을 수집하고 아래 표 1의 조건으로 LC-MS 분석을 진행하여 반응 전 펩티드 량 대비 잔여 펩티드 비율(%)을 측정하였다.

[110] [표1]

HPLC 조건	컬럼	ACQUITY UPLC® BEH C ₁₈ Column (2.10 mm x 50 mm, 1.7 μ m)		
	컬럼온도	35°C		
	이동상	시간(분)	A: 0.1% Formic acid in Water	B: 0.1% Formic acid in Acetonitrile
		0.00	95%	5%
		0.02	95%	5%
		2.80	5%	95%
		3.20	5%	95%
		3.50	95%	5%
5.00	95%	5%		
유속	0.4 mL/분			
투여량	2 μ L			
MS 조건	Ion source	ES + Source		
	Capillary (kV)	1.00		
	Desolvation Temperature	500°C		
	Gas flow	- Desolvation (L/hr): 800 - Con (L/hr): 150		
	Nebulizer	7.0 bar		

[111] 도 1에 나타낸 바와 같이 GV2002의 반응 전 펩티드 량 대비 잔여 펩티드 비율이 60분에서 57.23%로 나타났고, 240분에서는 46.54%로 나타났다. 이를 통해 GV2002의 혈장내 안정성을 확인할 수 있었다.

[112]

[113] [실시예 3] GV2002의 약동학적 프로파일 확인

[114] 실시예 1에서 제조한 GV2002의 약동학적 프로파일을 확인하기 위하여 GV2002를 투여한 랫드의 혈장을 채취하고 9배의 0.1% 포름산이 함유된 메탄올을 가해 단백질을 침전법으로 전처리하고 16,100 g에서 10분간 원심분리 후 상층액을 취해 아래 표 2의 조건으로 LC-MS 분석을 실시하였다.

[115] [표2]

HPLC 조건	컬럼	ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (2.10 mm x 50 mm, 1.7 μm)		
	컬럼온도	35°C		
	이동상	시간 (분)	A: 0.1% Formic acid in Water	B: 0.1% Formic acid in Acetonitrile
		0.00	95%	5%
		0.02	95%	5%
		0.07	5%	95%
		1.70	5%	95%
		1.75	95%	5%
	3.00	95%	5%	
유속	0.5 mL/분			
투여량	2 μL			
MS 조건	Ion source	ES + Source		
	Capillary (kV)	1.00		
	Desolvation Temperature	500°C		
	Gas flow	- Desolvation (L/hr): 800 - Con (L/hr): 150		
	Nebulizer	7.0 bar		

[116]

[117] **3-1. 정맥투여를 통한 GV2002의 약동학적 프로파일 확인**

[118] 그룹당 3마리의 Sprague Dawley Rats에 GV2002를 정맥(IV) 경로로 투여하였다. 투여 후 0.033, 0.083, 0.17, 0.25, 0.5, 1 및 2시간에 혈액을 수득하였다. 혈액 샘플은 원심분리하여 혈장을 분리하고 전처리후 LC-MS를 이용한 분석을 수행하고 Phoenix WinNonlin(Pharsight ver 6.4, USA)프로그램의 Non-compartmental analysis 모델을 이용하여 약동학적 파라미터를 산출하였다.

[119] 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, GV2002의 AUC_t 값이 0.438 ug·h/mL으로 나타났다. 이를 통해 생체내에서도 GV2002가 안정한 상태로 분해되지 않고 오래 남아 있음을 확인하였다.

[120]

[121] **3-2. 피하투여를 통한 GV2002의 약동학적 프로파일 확인**

[122] 그룹당 3마리의 Sprague Dawley Rats에 GV2002를 피하(SC) 경로로 투여하였다. 투여 후 0.033, 0.083, 0.17, 0.25, 0.5, 1 및 2시간에 혈액을 수득하였다. 혈액 샘플은 원심분리하여 혈장을 분리하고 전처리후 LC-MS를 이용한 분석을 수행하고 Phoenix WinNonlin(Pharsight ver 6.4, USA)프로그램의 Non-compartmental analysis 모델을 이용하여 약동학적 파라미터를 산출하였다.

[123] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 피하투여를 진행하였을 때에도 생체내에서 GV2002가 안정한 상태로 분해되지 않고 오래 남아 있음을 알 수 있다.

[124]

[125] [실시예 4] 4R 타우병증 동물 모델기반 GV2002 효능 평가

[126] 도 4에 나타낸 4R 타우병증 마우스 그룹을 대상으로 도 5에 나타낸 일정 및 하기 표 3의 개요에 따라 생체내(in vivo) 실험을 수행하였다.

[127] [표3]

동물	4R Tau ^{P301L} -BiFC 마우스
연령	7.5개월 (최초 주사 시점)
시험 화합물	GV2002 (2 mg/kg, 식염수에 용해하여 사용) - 피하주사
참조 화합물	LMTM (15 mg/kg, 식염수에 용해하여 사용) - 경구투여
비히클	식염수 - 피하주사
피하주사제 부피	< 5 mL/kg 수컷 : 130 μ L (평균 체중 : 33.2g) 암컷 : 110 μ L (평균 체중 : 27.0g)
주사 기간	3회/주, 21주(총 63회)
행동 실험	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rota-rod 실험 ▪ 개방 공간 실험(Open Field Test, OFT) ▪ 신규 물체 인식 실험(Novel Object Recognition Test, NOR test) ▪ Y-maze 실험
뇌조직 분석	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 뇌조직 면역형광염색 ▪ 뇌조직 지질 염색(Sudan Black B stain)
뇌 용해물분석	타우 면역블롯

[128]

[129] **4-1. Rota-rod 실험을 통한 운동 능력 개선 평가**

[130] 7.5개월령부터 12.5개월령까지 5개월간 약물을 투여한 4R 타우병증 마우스 모델을 대상으로 Rota-rod 실험을 진행하여 GV2002의 운동 능력 개선 효능을 평가하였다.

[131]

[132] **(1) 실험 방법**

[133] 1일차에 적응훈련을 진행하고, 2일차에 행동 실험을 진행하였다. 적응훈련 및 행동실험 수행 전에 마우스가 공간에 적응할 수 있도록 1시간 동안 시간을 주었다. 적응훈련에서 마우스를 5 rpm에서 25 rpm의 속도의 트레드밀 위에서 300초 동안 걷게 하였으며, 균형을 잃고 바닥에 떨어지는 마우스를 다시 걷게 하였다. 행동실험에서 마우스를 5 rpm에서 40 rpm까지 점차적으로 증가되는 속도의 트레드밀 위에서 300초 동안 걷게 하였으며, 마우스가 균형을 잃고 바닥에 떨어질

때까지의 시간(초)을 측정하였다. 측정된 값을 Dunnett's multiple comparisons test를 이용한 Two-way ANOVA로 분석하였다.

[134]

[135] **(2) 실험 결과**

[136] 도 6에 나타난 바와 같이, GV2002 투여군이 비히클 투여군에 비해 유의미하게 개선된 운동 능력을 보였으며, 참조 화합물 LMTM 투여군보다 상대적으로 향상된 운동 능력을 보였다.

[137]

[138] **4-2. 개방 공간 실험을 통한 운동 능력 개선 평가**

[139] 7.5개월령부터 12.5개월령까지 5개월간 약물을 투여한 4R 타우병증 마우스 모델을 대상으로 개방 공간 실험을 진행하여 GV2002의 운동 능력 개선 효능을 평가하였다.

[140]

[141] **(1) 실험 방법**

[142] 마우스의 행동 반응이 변하는 것을 방지하기 위해 실험 전 5일간(1일 내지 5일차) 핸들링을 진행하였다. 핸들링은 매 세션마다 2분씩 수행되었다. 6일차에 40 cm x 40 cm 크기의 칸막이에 마우스를 넣고 10분간 개방 공간 실험을 진행하였다. 실험 수행 전에 마우스가 공간에 적응할 수 있도록 1시간 동안 시간을 주었다. 개방 공간 실험에서 마우스의 이동 궤적, 이동 거리 및 운동 속도를 기록하였다. 실험을 진행하는 동안 일정한 조도를 유지하였다. 기록한 값을 Dunnett's multiple comparisons test를 이용한 One-way ANOVA로 분석하였다.

[143]

[144] **(2) 실험 결과**

[145] 도 7에 나타난 바와 같이, 개방 공간에서의 총 이동 거리 및 운동 속도는 비히클 투여군에 비해 GV2002 투여군에서 유의미하게 높았으며, 이는 GV2002 투여군의 운동 능력이 개선되었음을 의미한다.

[146]

[147] **4-3. 신규 물체 인식 실험을 통한 인지 능력 개선 평가**

[148] 7.5개월령부터 12.5개월령까지 5개월간 약물을 투여한 4R 타우병증 마우스 모델을 대상으로 신규 물체 인식 실험을 진행하여 GV2002의 인지 능력 개선 효능을 평가하였다.

[149]

[150] **(1) 실험 방법**

[151] 실시예 4-2의 실험 방법에 따라 1일 내지 6일차까지 실험을 진행한 마우스를 대상으로 7일차 및 8일차에 걸쳐 신규 물체 인식 실험을 수행하였다. 7일차에는 도 8a에 도시된 바와 같이 유사한 두 물체가 배치되어 있는 40 cm x 40 cm 크기의 칸막이에 마우스를 넣고 10분간 학습하도록 하고, 8일차에는 두 물체 중 하나를 신규한 것으로 교체한 후 칸막이에 마우스를 넣고 10분간 행동을 관찰하면서 신

규한 물체에 머무는 시간을 측정하였다. 7일차 및 8일차 실험 수행 전에 마우스가 공간에 적응할 수 있도록 1시간 동안 시간을 주었다. 실험을 진행하는 동안 일정한 조도를 유지하였다. 기록한 값을 Sidak's multiple comparisons test를 이용한 Two-way ANOVA로 분석하였다.

[152]

[153] (2) 실험 결과

[154] 도 8b에 나타난 바와 같이, 비히클 투여군이 학습된 물체와 신규한 물체를 유의미하게 구분하지 못한 반면 GV2002 투여군은 신규한 물체를 탐색한 시간이 학습된 물체를 탐색한 시간에 비해 유의미하게 증가하여 신규한 물체에 대한 인지 능력 개선을 보였다.

[155]

[156] **4-4. Y-maze 실험 통한 공간 기억 능력 개선 평가**

[157] 7.5개월령부터 12.5개월령까지 5개월간 약물을 투여한 4R 타우병증 마우스 모델을 대상으로 Y-maze 실험을 진행하여 GV2002의 공간 기억 능력 개선 효능을 평가하였다.

[158]

[159] (1) 실험 방법

[160] 실험 수행 전에 마우스가 공간에 적응할 수 있도록 1시간 동안 시간을 주었다. 그럼 다음, 도 9a에 도시된 바와 같은 Y 모양 플랫폼의 시작점 A에 마우스를 두었다. 8분 동안 마우스의 행동을 기록하였다.

[161]

[162] (2) 실험 결과

[163] 도 9b에 나타난 바와 같이, GV2002 투여군은 비히클 투여군에 비해 이전에 탐구했던 구역이 아닌 새로운 구역을 탐구하는 spontaneous alternation 행동 비율이 유의미하게 증가하였으며, 이는 공간 기억 능력이 개선되었음을 의미한다.

[164]

[165] **4-5. 뇌조직 면역형광염색을 통한 타우 과인산화 억제 평가**

[166] 7.5개월령부터 12.5개월령까지 5개월간 약물을 투여한 4R 타우병증 마우스 모델의 뇌를 적출하여 면역형광염색을 통해 뇌조직을 분석하였다.

[167]

[168] (1) 실험 방법

[169] 뇌조직 샘플링을 위해 마우스 모델을 마취하고 심장으로 식염수를 주입한 후 관류 펌프 기계를 사용해 체내 혈액을 제거하였다. 그럼 다음 뇌를 적출한 뒤, 무게를 측정하였다. 조직 염색 실험에 사용할 뇌를 4% PFA 용액에 담가 24시간 동안 고정시켰다. 고정된 뇌조직을 20% 수크로스 용액에 24시간 동안 담근 후 30% 수크로스 용액에 48시간 동안 담가 수분을 제거하였다. 수분이 제거된 뇌조직을 꺼내서 여분의 수분을 제거해준 뒤, 몰드에 뇌조직과 동결조직 포매제(OCT compound)를 함께 넣어 조직을 보호하면서 드라이아이스로 뇌조직을 최대한 빠

르게 얼렸다. 얼린 뇌조직 볼드를 -80°C의 냉동기에 보관하였다. 이후, 동결 절편 용 크라이오스탯(cryostat)을 사용하여 30 μm 두께로 뇌조직을 자르고 0.05% 아자이드화 나트륨 용액에 보관하였다.

[170] 뇌조직 면역형광염색을 위해 30 μm 두께의 뇌조직 동결 절편을 뇌 영역별로 선별한 뒤, PBS 용액에 담가 10분간 3회 세척하였다. 3.7% 포름알데히드로 5분간 고정시켰다. PBS 용액에 10분간 3회 세척하였다. 뇌조직 샘플을 0.3% PBS-T 용액에서 투과화(permeabilization) 시켰다. 뇌조직 샘플을 PBS 중 5% BSA 용액에 담가 1시간 동안 블로킹(blocking) 시켰다. 1차 항체로서 타우 과인산화 항체인 AT8(phospho-Tau S202/T205)을 1:200 비율로 희석시킨 PBS 중 3% BSA 및 0.1% Tween-20 용액에 뇌조직을 넣어 하룻밤 결합시켰다. 뇌조직을 PBS 용액에 담가 10분간 3회 세척하였다. 2차 항체를 1:500으로 희석시킨 PBS 중 3% BSA 및 0.1% Tween-20 용액에 뇌조직을 넣어 1시간 동안 실온에서 결합시켰다. 뇌조직을 PBS 용액에 담가 10분간 1회 세척하였다. 1:2000 비율로 희석된 PBS 중 Hoechst(stock conc. 1 mg/mL) 용액에 뇌조직을 담가 핵을 염색하였다. 뇌조직을 PBS 용액에 담가 10분간 3회 세척하였다. 슬라이드 스캐너를 사용해서 뇌조직 형광 이미징을 진행하였다.

[171] 염색된 뇌조직의 형광 이미지를 얻기 위해 Zeiss Axio Scan(Zeiss, Oberkochen, Germany)을 사용하여 뇌조직 슬라이드를 스캔하였다. 형광 이미징을 통해 얻은 부위별 뇌조직, 즉, 감각운동피질(somatosensory cortex), 해마(hippocampus, CA1), 운동피질(motor cortex) 및 흑색질(substantia nigra)에서 AT8 형광 수치를 Image J software(NIH)를 통해 계산하였다. 계산된 값을 Dunnett's multiple-comparisons test 을 이용한 One-way ANOVA로 분석하였다.

[172]

[173] (2) 실험 결과

[174] 도 10에 나타난 바와 같이, GV2002 투여군의 모든 뇌영역에서 타우 과인산화가 비히클 투여군 대비 유의미하게 억제되었다.

[175] 도 10a에 나타난 바와 같이, 감각운동피질영역에서 GV2002 투여군의 AT8 형광 강도는 비히클 투여군에 비해 57%로 유의미하게 감소하였다.

[176] 도 10b에 나타난 바와 같이, 해마영역에서 GV2002 투여군의 AT8 형광 강도는 비히클 투여군에 비해 62%로 유의미하게 감소하였다.

[177] 도 10c에 나타난 바와 같이, 운동피질영역에서 GV2002 투여군의 AT8 형광 강도는 비히클 투여군에 비해 65%로 유의미하게 감소하였다.

[178] 도 10d에 나타난 바와 같이, 흑색질영역에서 GV2002 투여군의 AT8 형광 강도는 비히클 투여군에 비해 69%로 유의미하게 감소하였다.

[179] 이로써 GV2002의 4R 타우 과인산화 억제 효능을 확인하였다.

[180]

[181] **4-6. 뇌조직 Tau-BiFC 이미징을 통한 타우 올리고머 형성 억제 평가**

[182] 7.5개월령부터 12.5개월령까지 5개월간 약물을 투여한 4R 타우병증 마우스 모델의 뇌를 적출하여 지질염색을 통해 뇌조직을 분석하였다.

[183]

[184] **(1) 실험 방법**

[185] 실시예 4-5와 동일한 방법으로 마우스 모델의 뇌조직 샘플링을 수행했다.

[186] 뇌조직 지질염색을 통한 자가 형광 제거를 위해 70% 에탄올 중 0.05% Sudan Black B 용액을 밤새 저어준 다음 0.22 μm 필터를 통해서 입자를 걸렀다. 30 μm 두께의 영역별 뇌조직 동결 절편을 탈이온수에 담가 5분간 3회 세척하였다. 준비한 0.05% Sudan Black B 용액에 뇌조직을 담가 10분간 염색을 진행하였다. Sudan Black B에 염색된 뇌조직을 0.1% PBS-T 용액에 담가 30초 간격으로 세척하며 염색 정도를 조절하였다. 탈이온수에서 5분간 3회 세척하였다. 탈이온수 중 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Hoechst 용액에 뇌조직을 담가 20분 동안 핵 염색을 진행하였다. 탈이온수에서 5분간 3회 세척하였다. 슬라이드 스캐너를 사용해서 Tau-BiFC 이미징을 진행하였다.

[187] 염색된 뇌조직의 형광 이미지를 얻기 위해 Zeiss Axio Scan을 사용하여 뇌조직 슬라이드를 스캔하였다. 형광 이미징을 통해 얻은 부위별 뇌조직, 즉, 감각운동 피질, 해마, 운동피질 및 흑색질에서 Tau-BiFC 형광 수치를 Image J software를 통해 계산하였다. 계산된 값을 Dunnett's multiple-comparisons test을 이용한 One-way ANOVA로 분석하였다.

[188]

[189] **(2) 실험 결과**

[190] 도 11에 나타난 바와 같이, GV2002 투여군의 모든 뇌영역에서 타우 올리고머 형성이 비히클 투여군 대비 유의미하게 억제되었다.

[191] 도 11a에 나타난 바와 같이, 감각운동피질영역에서 GV2002 투여군의 Tau-BiFC 형광 강도는 비히클 투여군에 비해 58%로 유의미하게 감소하였다.

[192] 도 11b에 나타난 바와 같이, 해마영역에서 GV2002 투여군의 Tau-BiFC 형광 강도는 비히클 투여군에 비해 63%로 유의미하게 감소하였다.

[193] 도 11c에 나타난 바와 같이, 운동피질영역에서 GV2002 투여군의 Tau-BiFC 형광 강도는 비히클 투여군에 비해 56%로 유의미하게 감소하였다.

[194] 도 11c에 나타난 바와 같이, 흑색질영역에서 GV2002 투여군의 Tau-BiFC 형광 강도는 비히클 투여군에 비해 56%로 유의미하게 감소하였다.

[195] 이로써 GV2002의 타우 올리고머 형성 억제 효능을 확인하였다.

[196]

[197] **4-7. 뇌 용해물 분석을 통한 타우 과인산화 및 응집화 억제 평가**

[198] 7.5개월령부터 12.5개월령까지 5개월 간 약물을 투여한 4R 타우병증 마우스 모델의 뇌용해물을 얻어 가용성 분획(soluble fraction) 샘플 및 불용성 분획(insoluble fraction) 샘플을 가지고 전체 타우(Tau5) 및 인산화 타우(pS199, pS396) 항체를 이용한 면역블롯을 진행하고 전체 타우 및 인산화 타우 정도를 정량 분석하였다.

[199]

[200] (1) 실험 방법

[201] 마우스 모델을 마취하고 심장으로 식염수를 주입한 후 관류 펌프 기계를 사용하여 체내 혈액을 제거하였다. 그런 다음 뇌를 적출한 뒤, 무게를 측정하였다. 적출한 뇌에 1 mL RIPA 완충액(프로테아제 및 포스파타제 억제 각테일 함유)을 넣고 균질화시켰다.

[202] 균질화된 뇌 용해물을 ep-튜브에 옮긴 다음 4°C 오비탈 셰이커(orbital shaker)에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 4°C에서 20분 동안 13,000 rpm으로 원심분리한 후 상층액(가용성 분획)을 새 ep-튜브에 모아 -80°C에 보관하였다.

[203] 면역블롯 샘플 준비를 위해, 브래드포드(Bradford) 단백질 정량 방법으로 용해시켜 분획 샘플의 농도를 정량화하였다. 각 샘플에 RIPA 완충액 및 4X SDS Laemmli 샘플 완충액(환원 조건을 위한 2.5% β-머캅토에탄올 함유)을 첨가하여 최종 농도가 2 mg/mL이 되도록 만들었다. 그런 다음 샘플을 97°C에서 5분 동안 끓여주었다.

[204] 한편, 불용성 분획을 샘플링하기 위해 상층액을 옮기고 남은 펠렛을 1 mL의 1 M 수크로스 및 DNaseI(1 mg/mL 농도)을 함유하는 RIPA 완충액으로 풀어주었다. 4°C에서 20분 동안 13,000 rpm으로 원심분리한 다음 상층액을 제거하고 남은 펠렛을 2% SDS 용액(조직 1 g 당 1 mL)으로 재현탁한 후 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 실온에서 1분 동안 13,000 rpm으로 원심분리하고, 상층액(불용성 분획)을 모아 새 ep-튜브에 옮기고 동량의 2x SDS Laemmli 샘플 완충액(환원 조건을 위한 2.5% β-머캅토에탄올)을 첨가하였다. 샘플을 97°C에서 5분 동안 끓여주었다.

[205] 가용성 분획 및 불용성 분획의 뇌 용해물 샘플 20 μg을 각각 10% SDS-PAGE 겔에 로딩하였다(SDS-PAGE running buffer: 1X Tris/Glycine/SDS buffer in 3'D.W.). 80 V에서 30분 그리고 90 V로 바꾸어서 1시간 동안 전기영동을 진행했다. Transfer tray 사이즈에 맞게 잘라 둔 PVDF 멤브레인을 100% 메탄올에 1분, 오토클레이브 3'DW에 3분 그리고 차갑게 둔 1X Transfer buffer(Transfer buffer: 1X Tris/Glycine buffer w/ 20% Methanol in 3'D.W.)에 10분 동안 담가 두었다. 100 V에서 1시간 20분 동안 Wet-Transfer를 진행했다. TBS-T(0.1% Tween-20 함유) 중 5% BSA 용액에 멤브레인을 담가 상온에서 1시간 동안 블로킹시켰다. 1차 항체(Anti-Tau(Tau5) antibody(ab80579, 1:5000), Anti-Tau(phospho S199) antibody(ab109390, 1:5000) 및 Anti-Tau(phospho S396) antibody(ab81268, 1:5000))가 포함된 TBS-T(0.1% Tween-20 함유) 중 2.5% BSA 용액에 멤브레인을 담가 4°C, 오비탈 셰이커에서 하룻밤동안 결합시켰다. 멤브레인을 TBS-T(0.1% Tween-20 함유) 용액에 담가 10분간 3회 세척하였다. 2차 항체(Goat Anti-Mouse IgG H&L (HRP) secondary antibody (ab6789, 1:10000) 및 Goat Anti-Rabbit IgG H&L (HRP) secondary antibody (ab6721, 1:10000))가 포함된 TBS-T(0.1% Tween-20 함유) 중 2.5% BSA 용액에 멤브레인을 담가 실온에서 1시간 동안 결합시켰다. 멤브레인을 TBS-T(0.1% Tween-20 함

유) 용액에 담가 10분간 3회 세척하였다. HRP substrate인 ECL 용액을 사용하여 ChemiDoc을 통해 멤브레인의 밴드를 검출하였다. 검출된 밴드의 강도는 Image J software (NIH)를 통해 정량화하였다.

[206]

[207] **(2) 실험 결과**

[208] 도 12에 나타난 바와 같이, 가용성 분획을 이용한 타우 면역블롯 결과, GV2002 투여군에서 인산화 타우 pS199 및 pS396 정도가 비히클 투여군 대비 유의미하게 감소하였으며, 불용성 분획을 이용한 타우 면역블롯 결과에서도 GV2002 투여군에서 전체 타우가 비히클 투여군 대비 유의미하게 감소하였다.

[209] 도 12a에 나타난 바와 같이, GV2002 투여군에서 인산화 타우 pS199가 비히클 투여군 대비 66%로 유의미하게 감소하였다.

[210] 도 12b에 나타난 바와 같이, GV2002 투여군에서 인산화 타우 pS396가 비히클 투여군 대비 56%로 유의미하게 감소하였다.

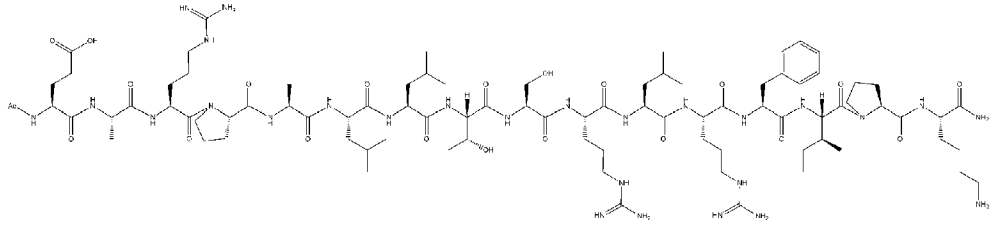
[211] 도 12c에 나타난 바와 같이, GV2002 투여군에서 불용성 타우 수준이 비히클 투여군 대비 57%로 유의미하게 감소하였다.

[212] 이로써 GV2002가 인산화 타우 형성 억제 효능 및 불용성 타우 응집 억제 효능을 갖는 것을 확인하였다.

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1의 펩티드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염:

[화학식 1]



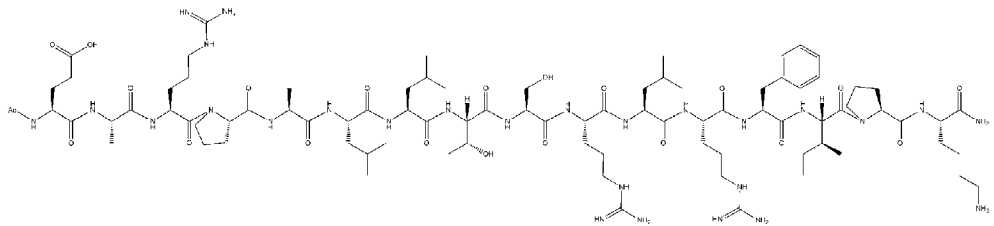
[청구항 2] 청구항 1의 펩티드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는, 4R 타우병증(tauopathy)의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 3] 청구항 2에 있어서, 상기 4R 타우병증은 진행성핵상마비(Progressive supranuclear palsy, PSP), 피질기저핵변성(Corticobasal degeneration, CBD), 은친화입자병(Argyrophilic grain disease, AGD), 구상교세포 타우병증(Globular glial tauopathy, GGT) 및 연령관련 타우 성상교세포병증(Aging-related tau astroglialopathy, ARTAG)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인, 4R 타우병증의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 4] 청구항 3에 있어서, 상기 4R 타우병증의 예방 또는 치료는 타우 단백질의 과인산화 및 응집화 억제에 의한 것인, 4R 타우병증의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 5] 하기 화학식 1의 펩티드 또는 이의 식품학적으로 허용되는 염을 포함하는, 4R 타우병증의 예방 또는 개선용 건강기능식품:

[화학식 1]

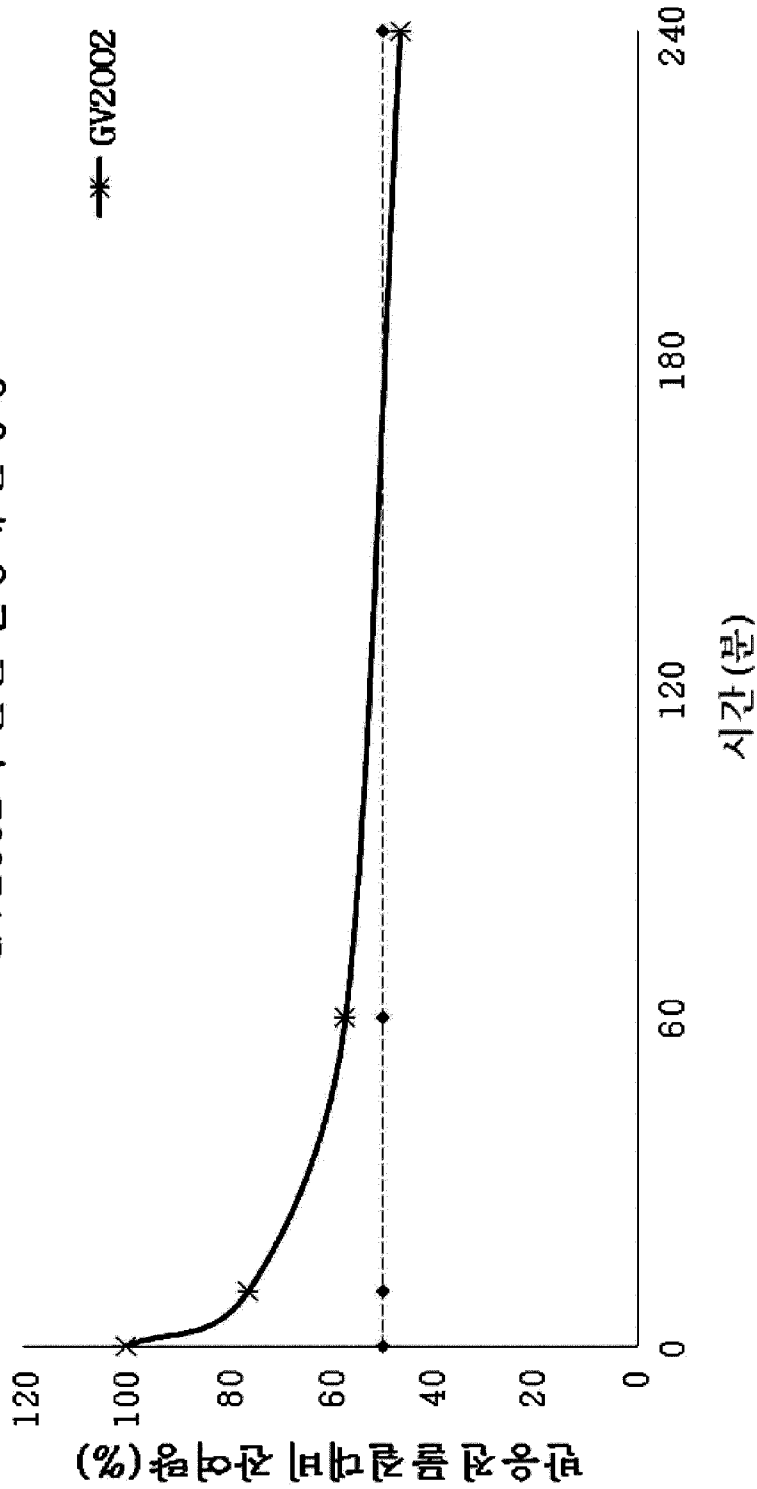


[청구항 6] 청구항 5에 있어서, 상기 4R 타우병증은 진행성핵상마비, 피질기저핵변성, 은친화입자병, 구상교세포 타우병증 및 연령관련 타우 성상교세포병증으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인, 4R 타우병증의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

[청구항 7] 청구항 6에 있어서, 상기 4R 타우병증의 예방 또는 개선은 타우 단백질의 과인산화 및 응집화 억제에 의한 것인, 4R 타우병증의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

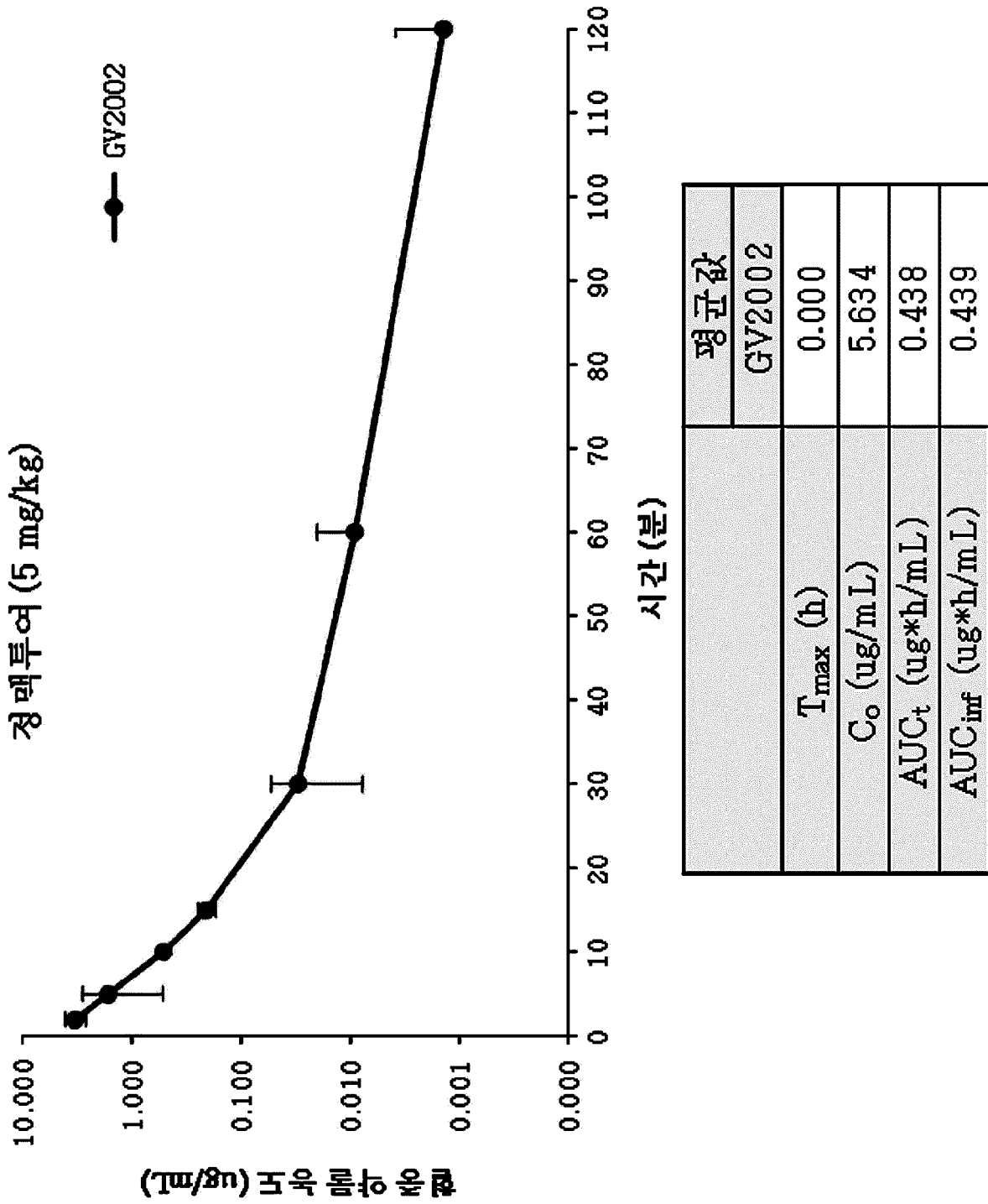
[도1]

GV2002의 인간 혈장내 안정성

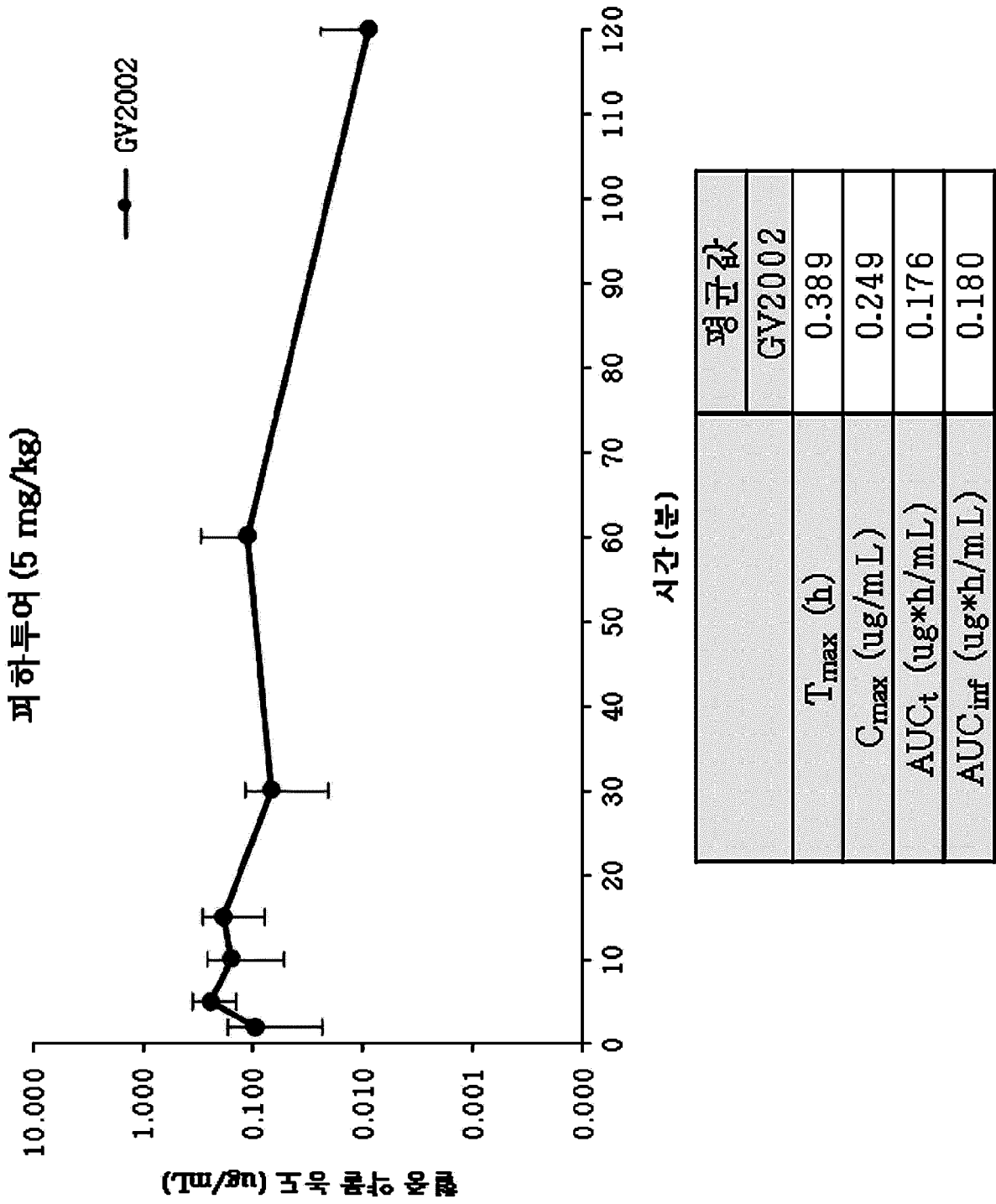


펩티드	반응전 물질대비 잔여량 (%)				반감기
	0 분	10 분	60 분	240 분	
GV2002	100	76.19	57.23	46.54	170 분

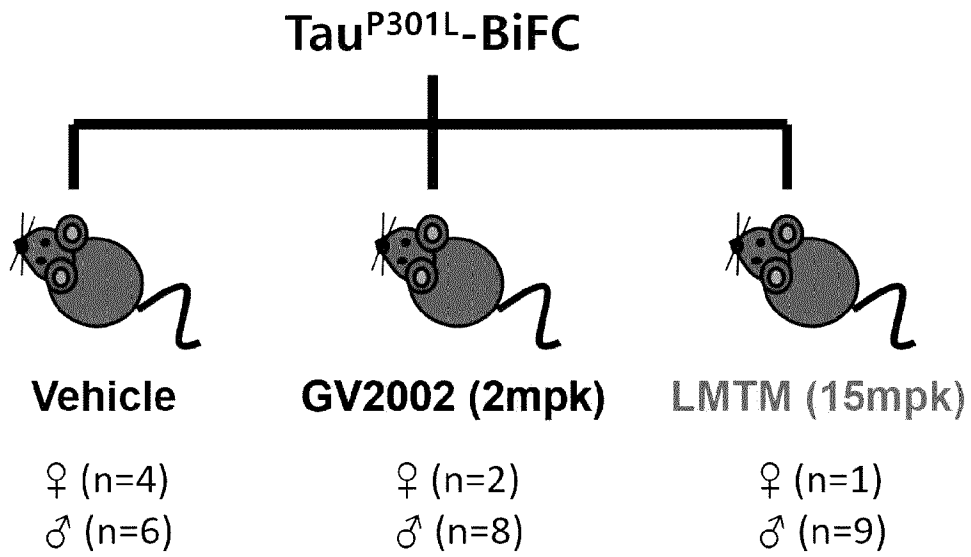
[도2]



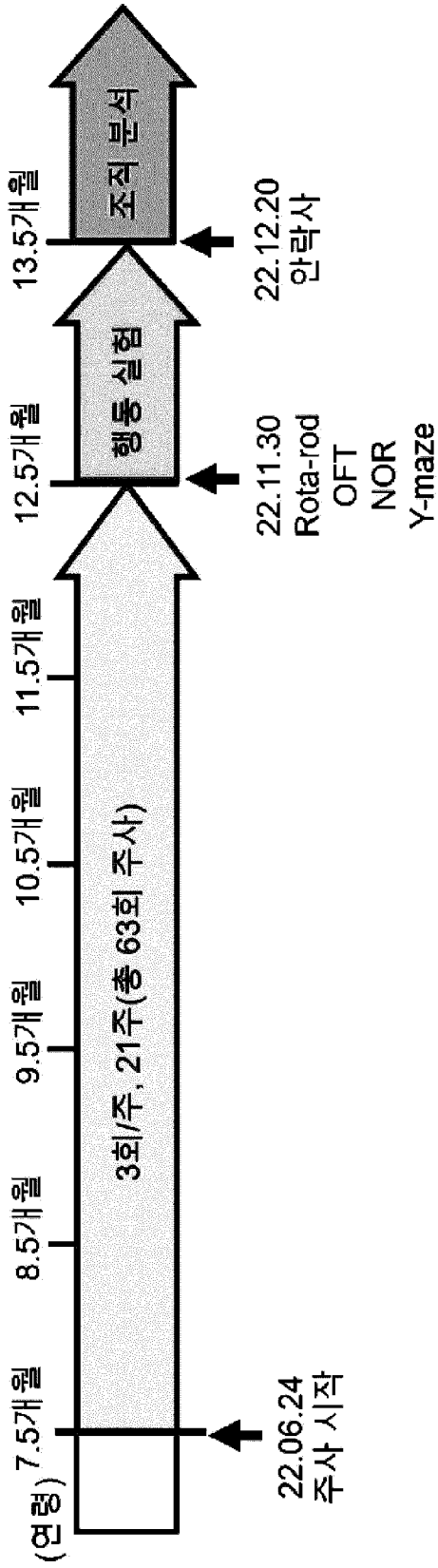
[도3]



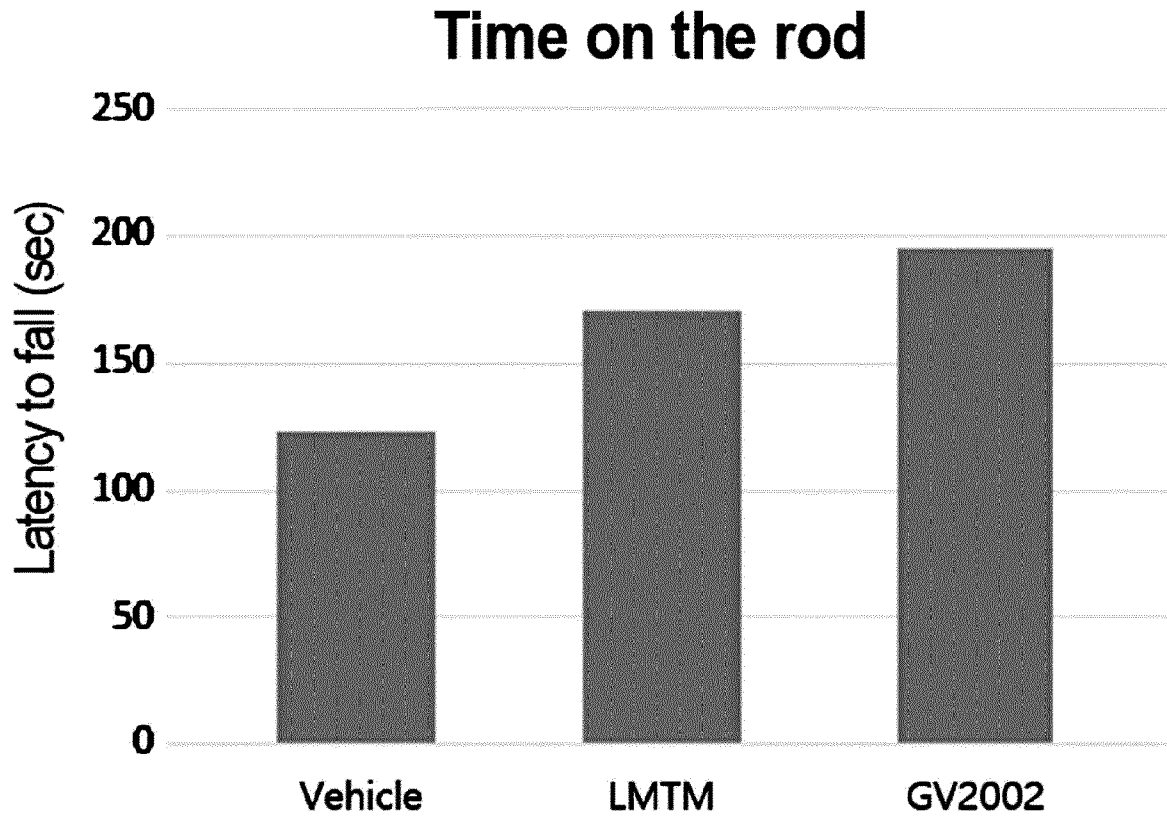
[도4]



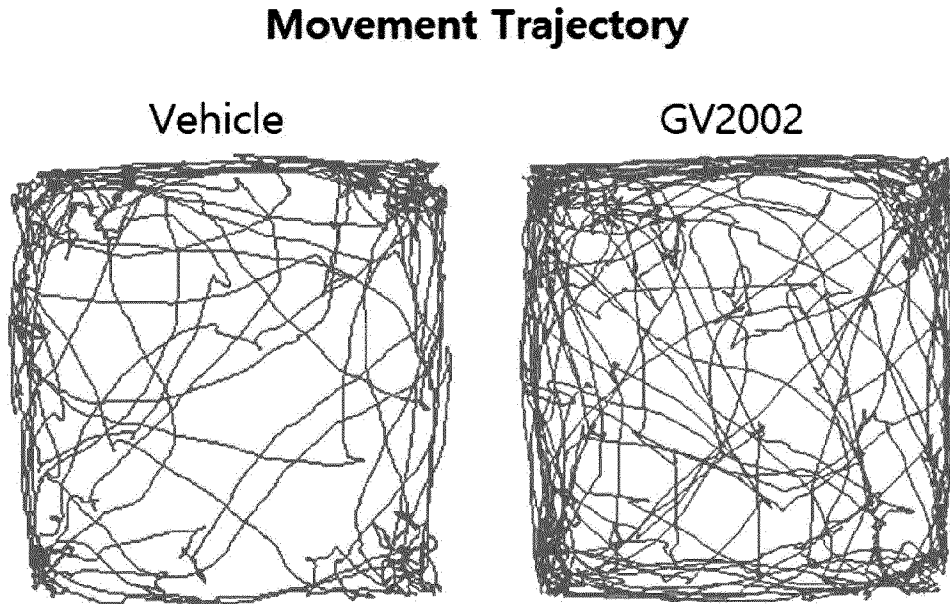
[도5]



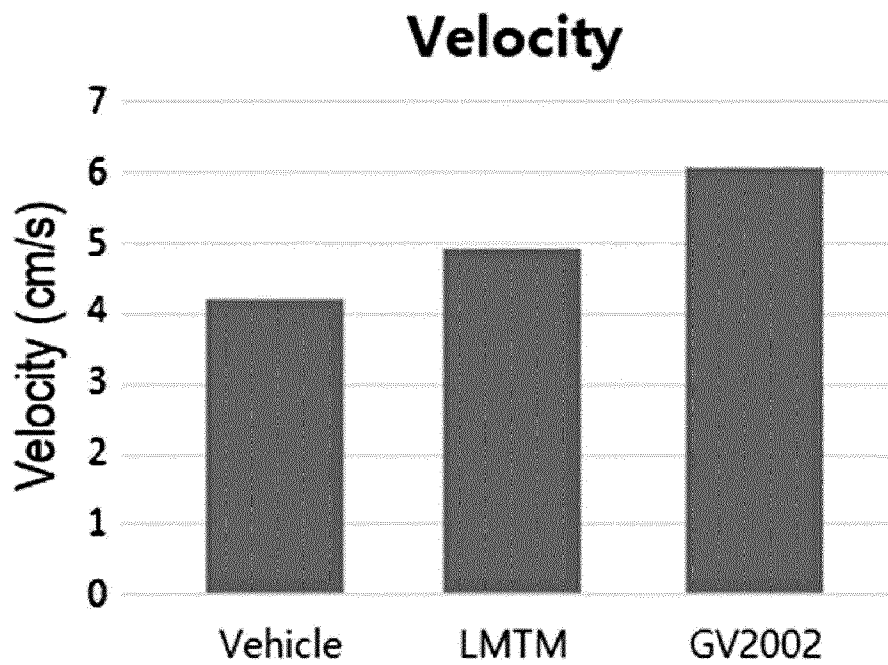
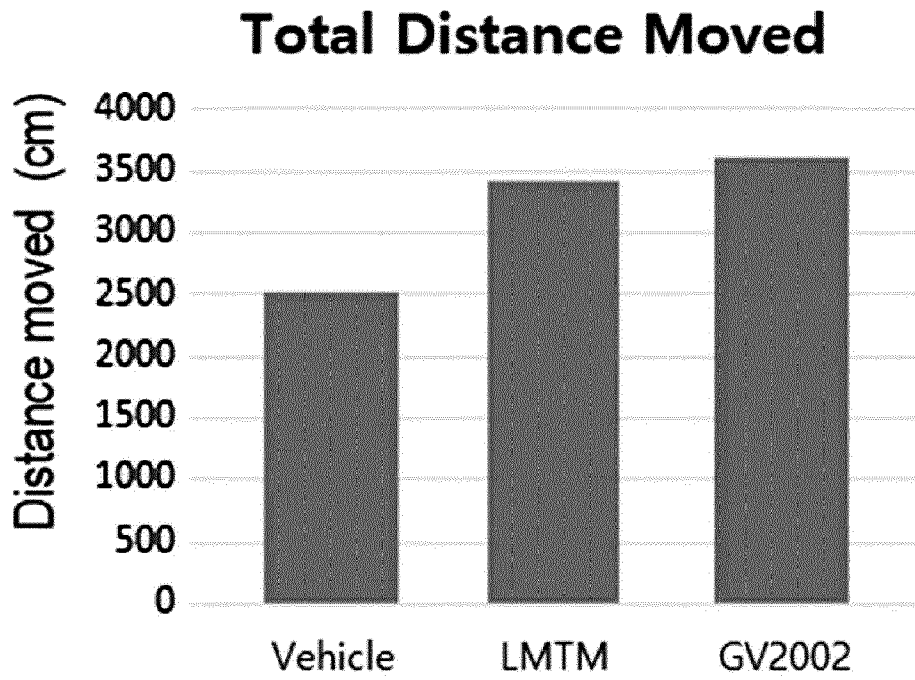
[도6]



[도7a]

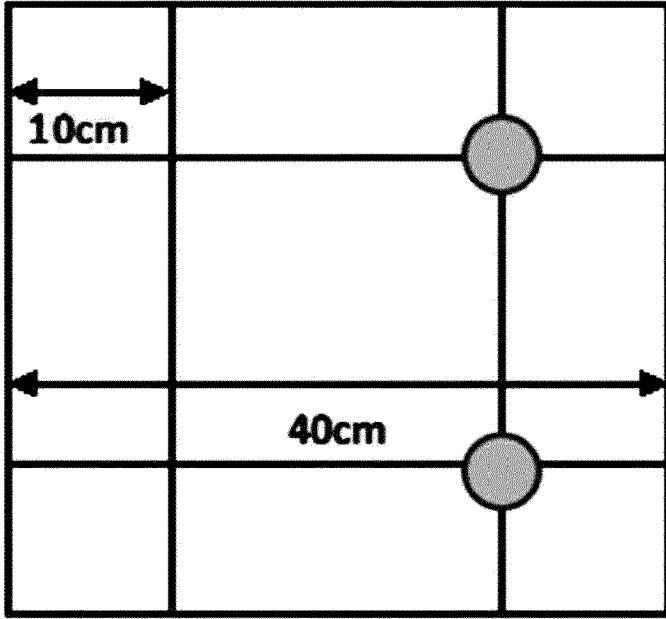


[도7b]



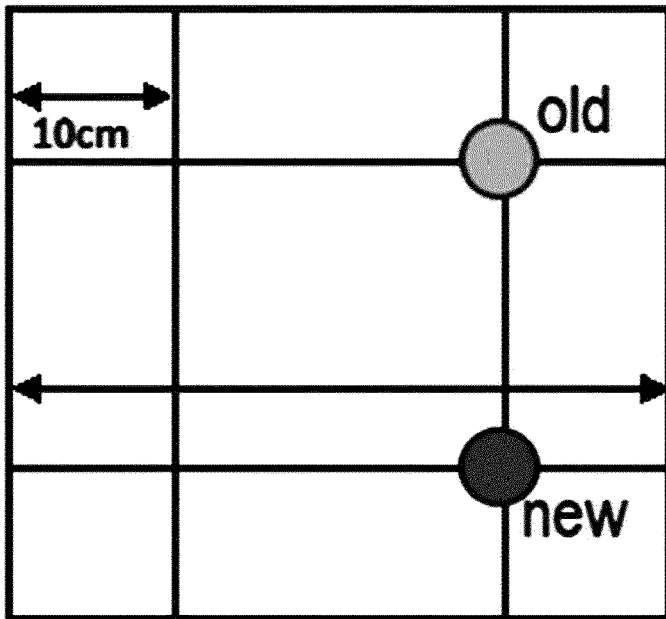
[도8a]

Familiarization

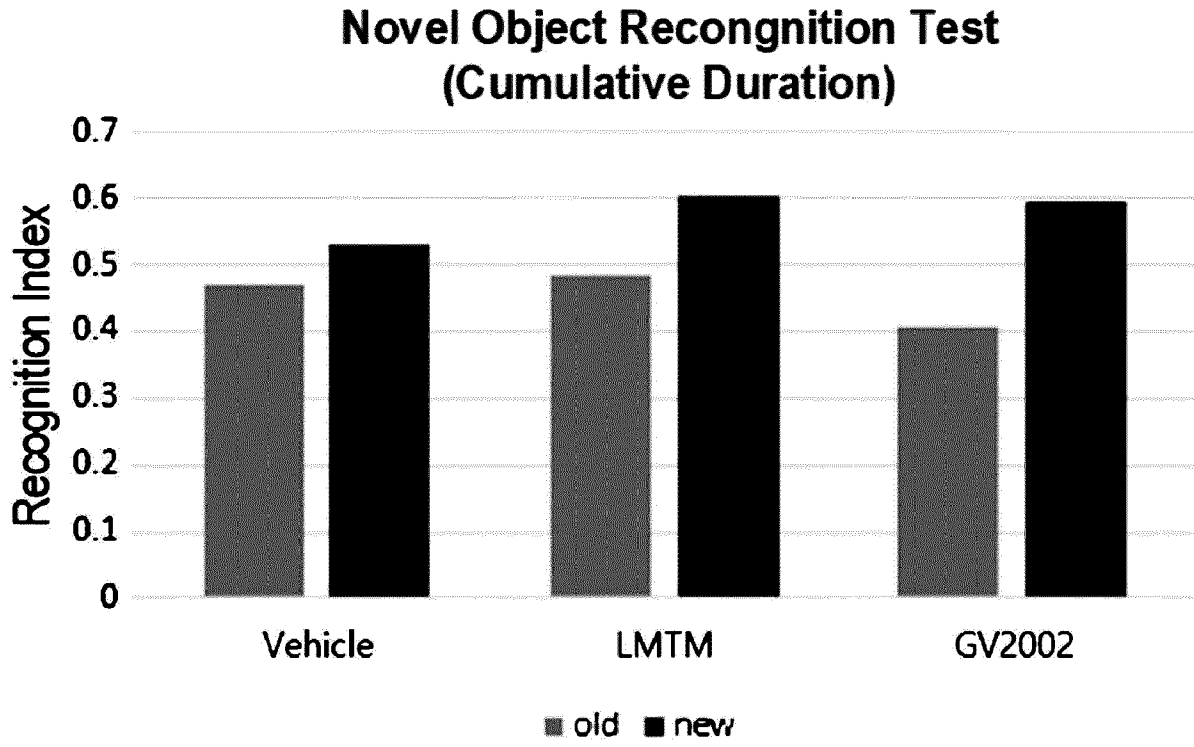


↓ 1 Day

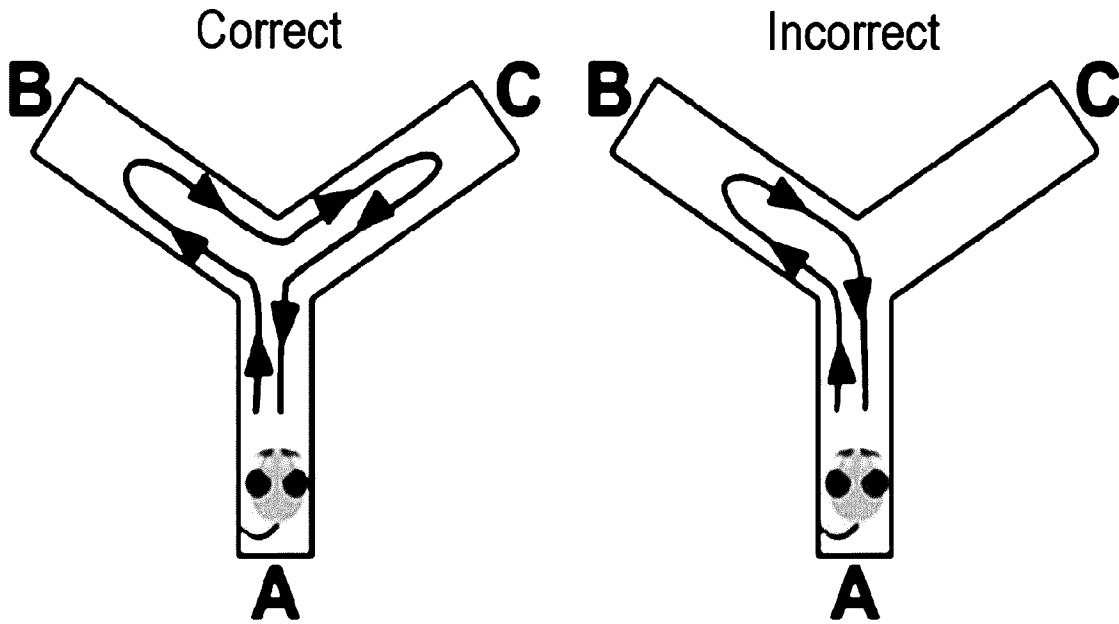
Recognition



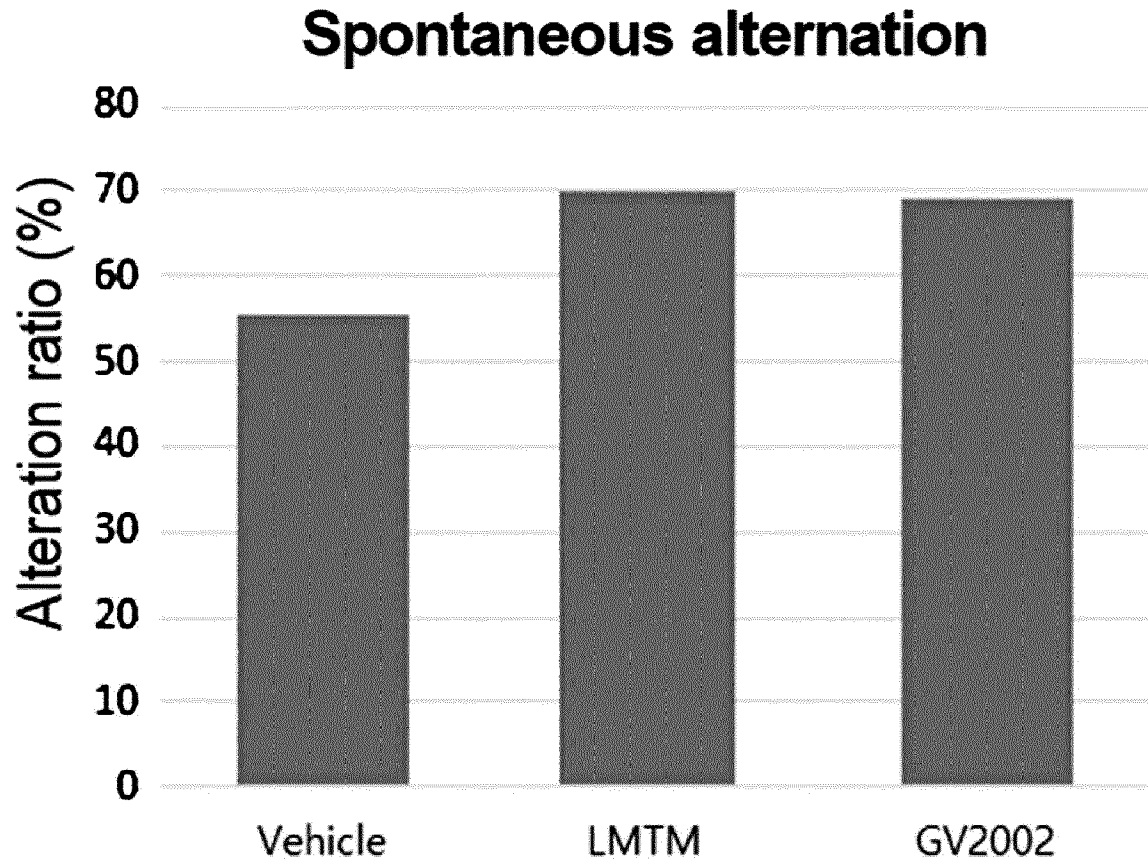
[도8b]



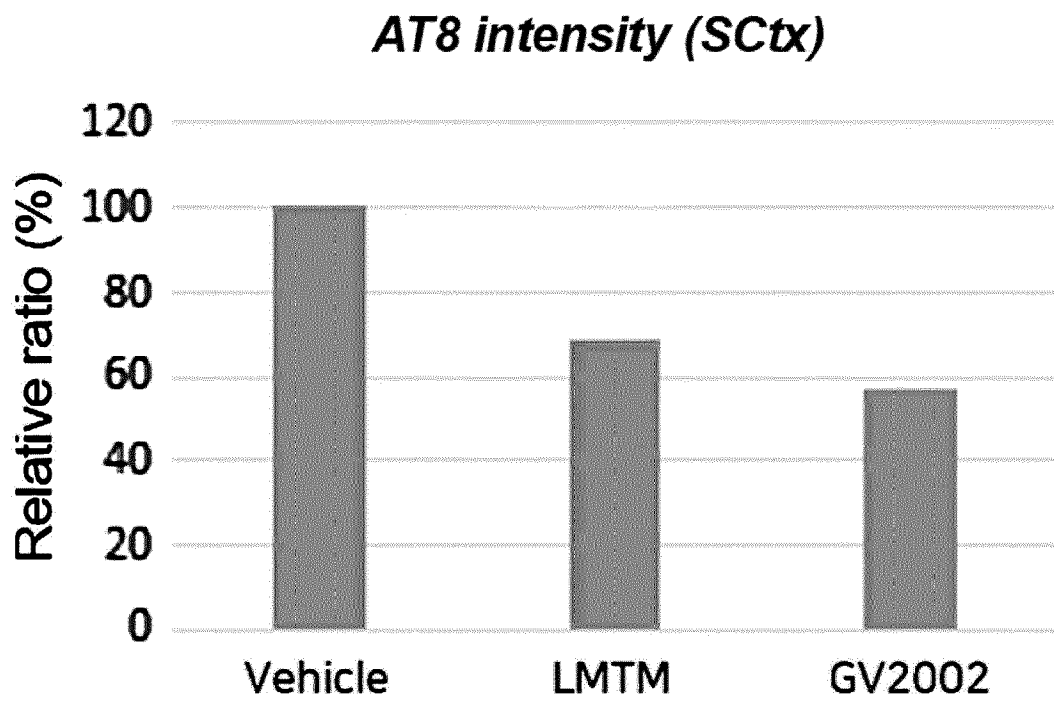
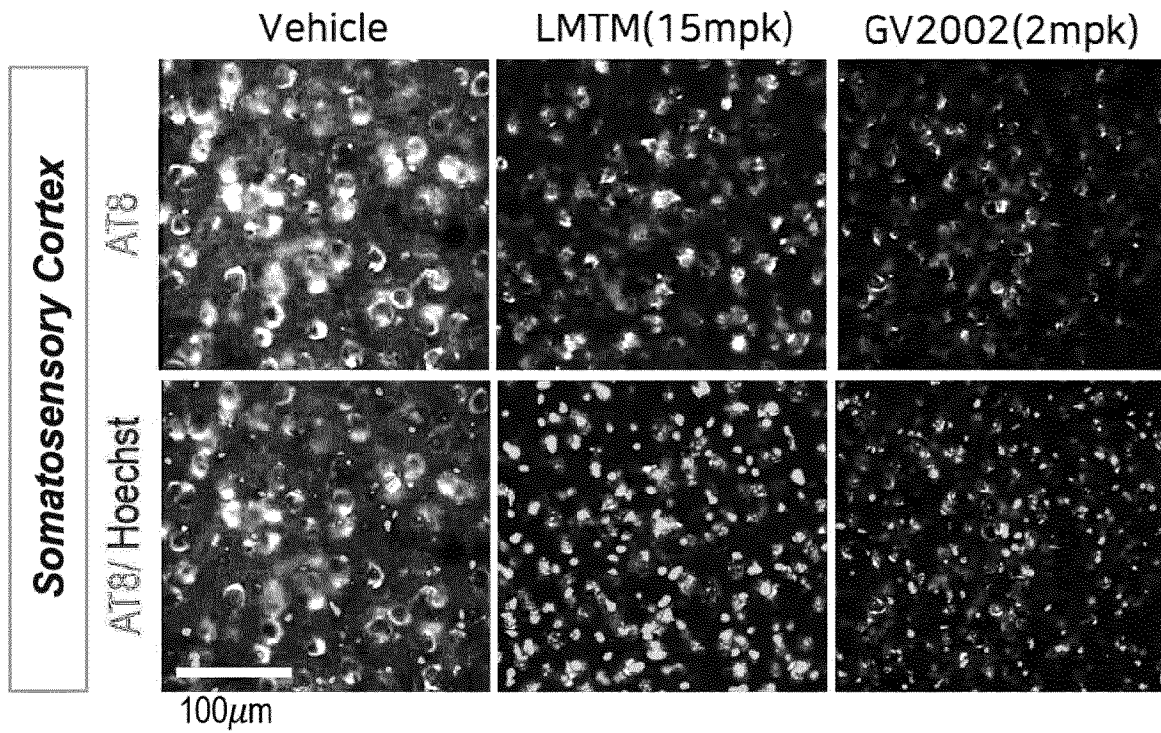
[도9a]



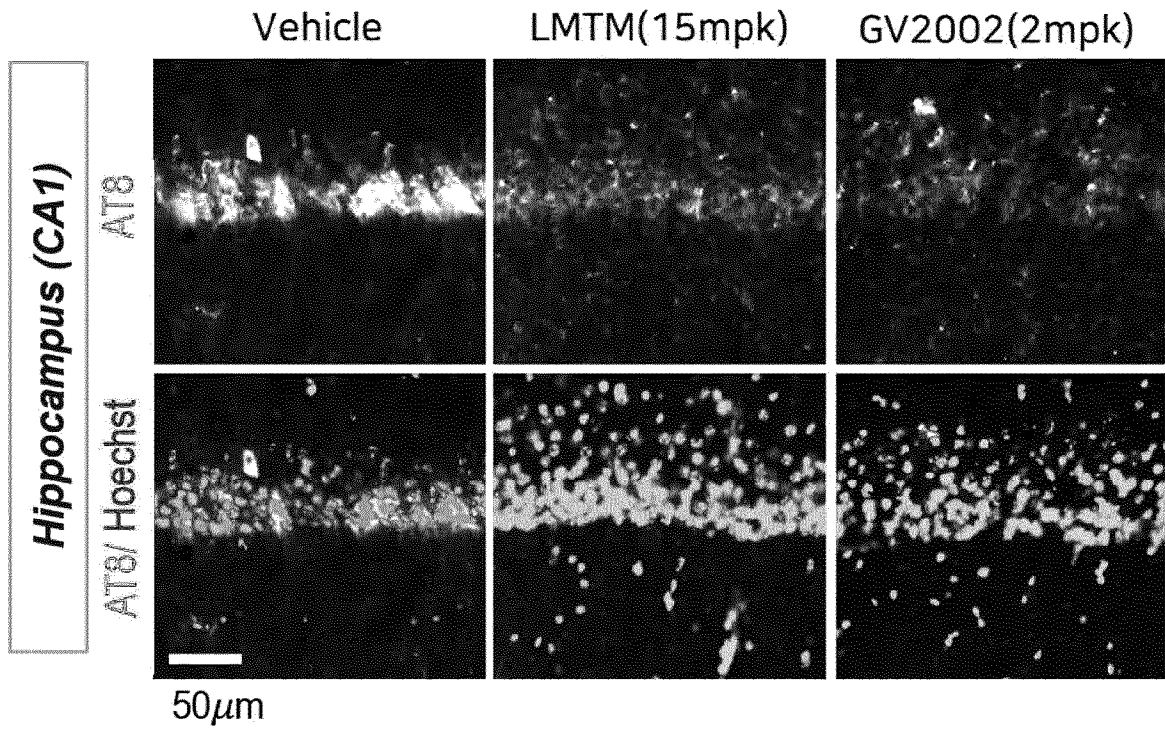
[도9b]



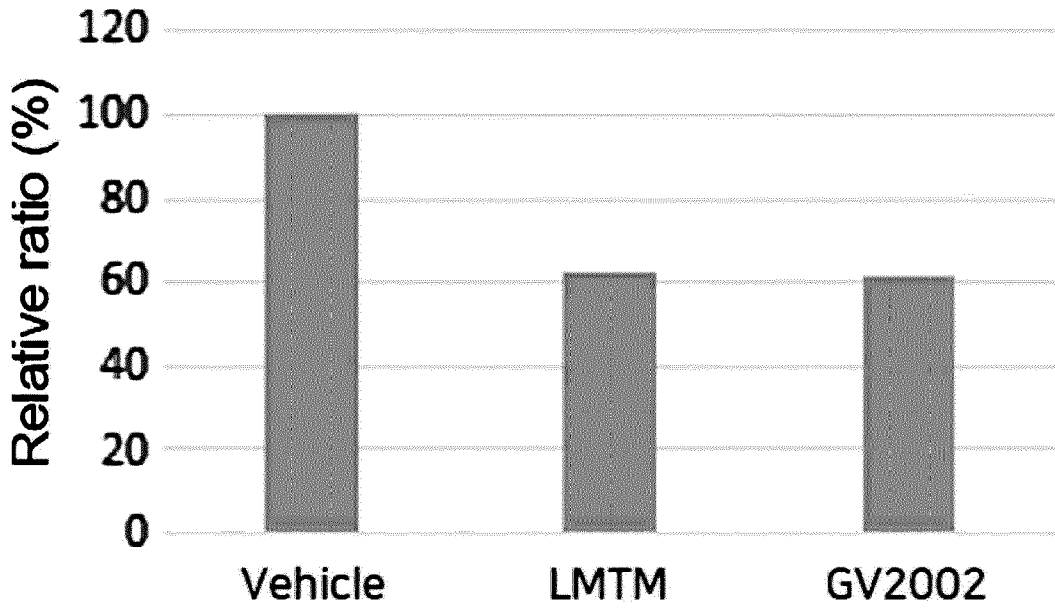
[도 10a]



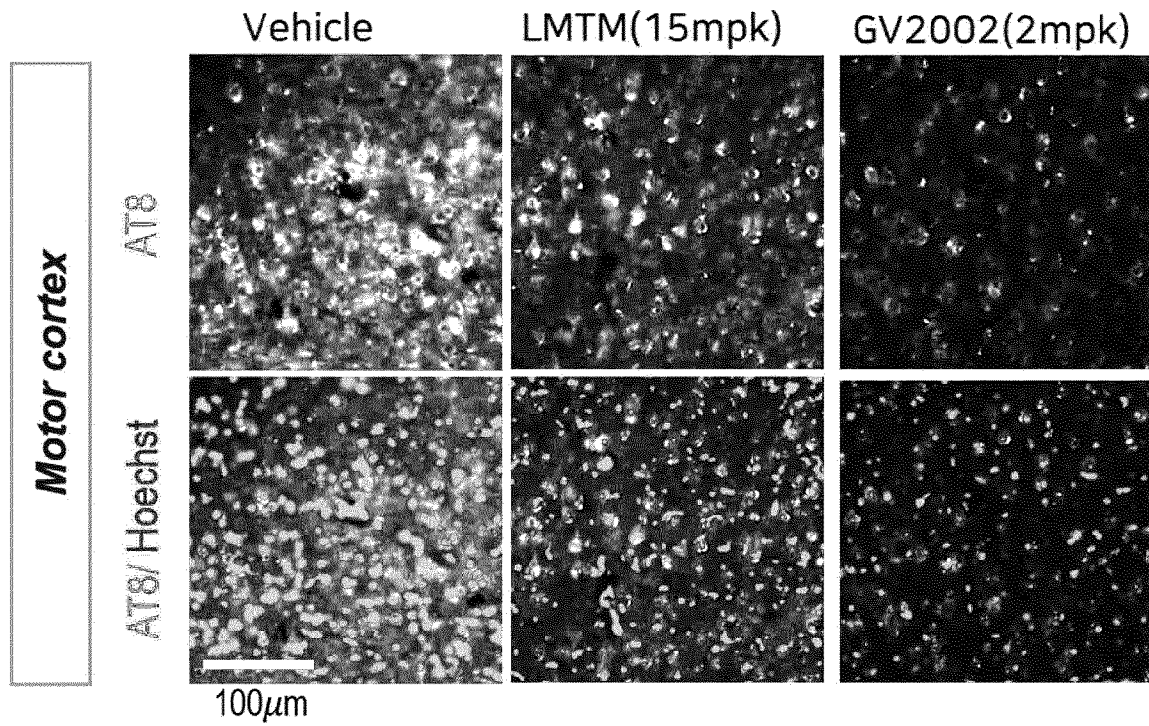
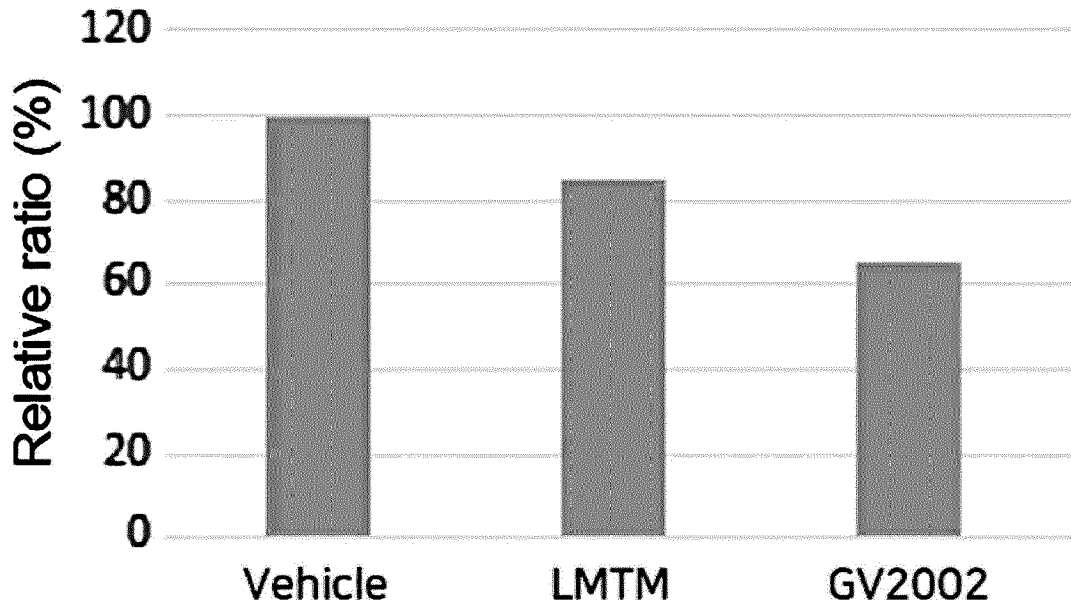
[도 10b]



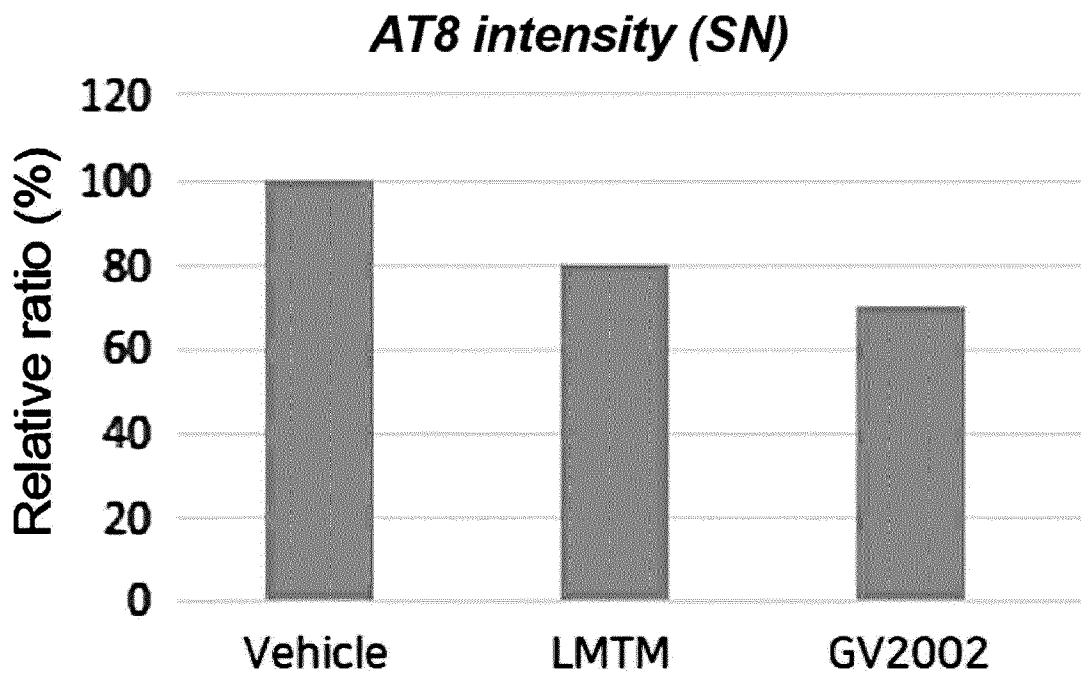
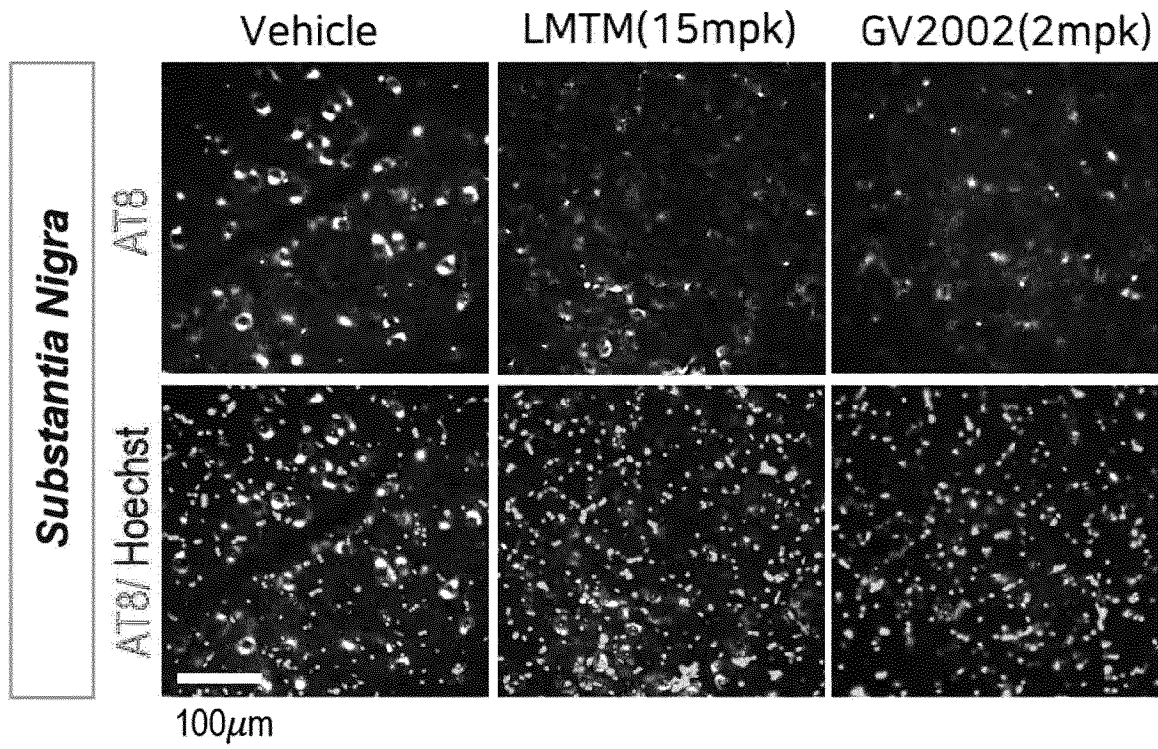
AT8 intensity (CA1)



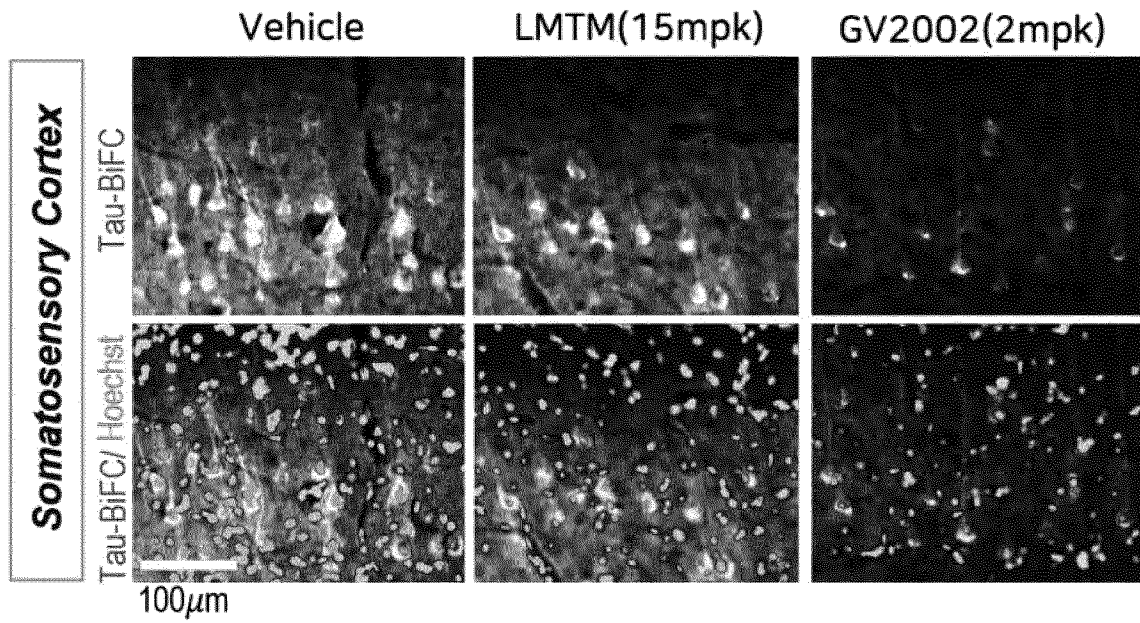
[도 10c]

***AT8 intensity (MCtx)***

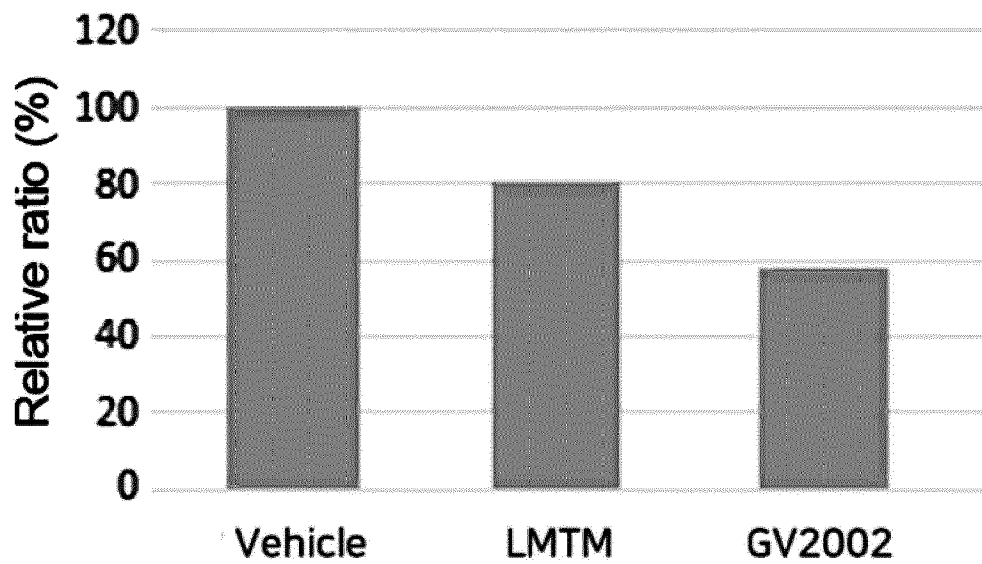
[도10d]



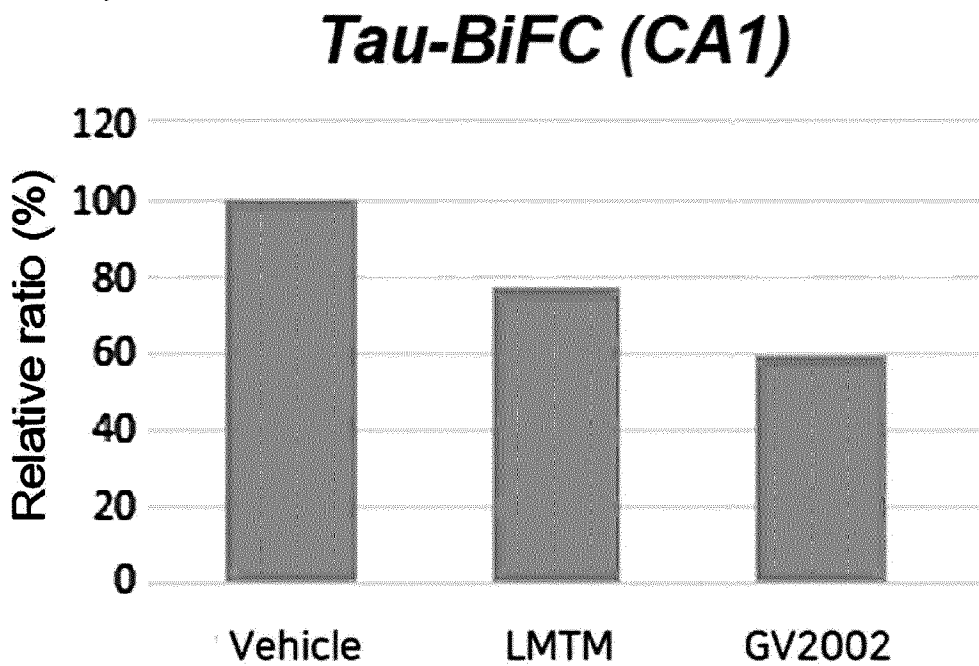
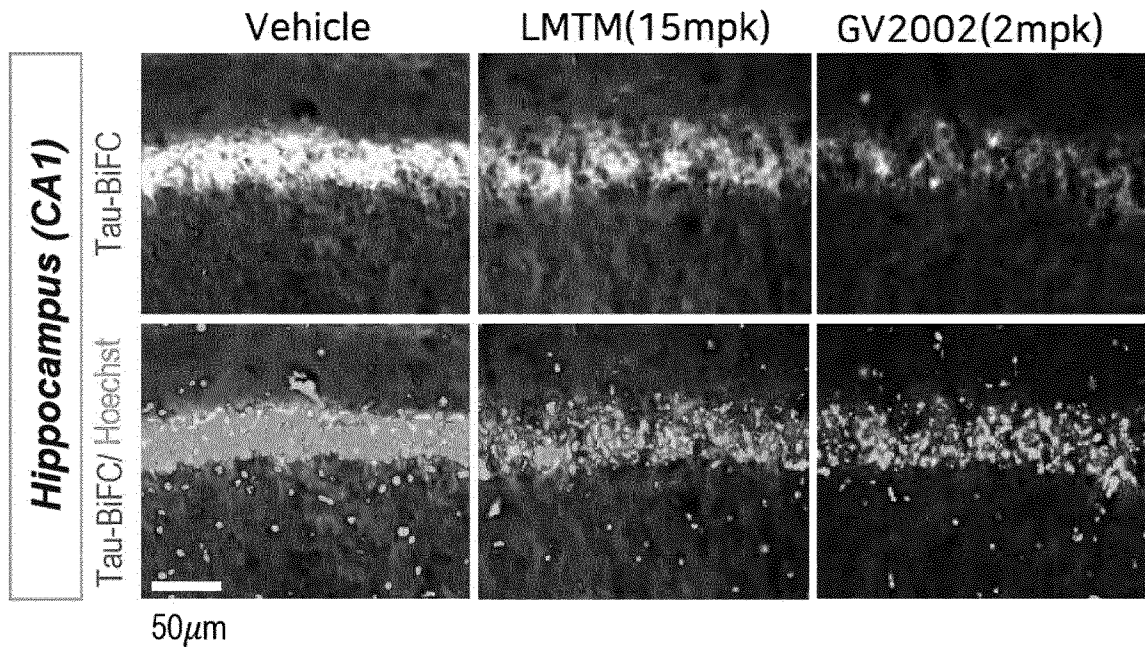
[도 11a]



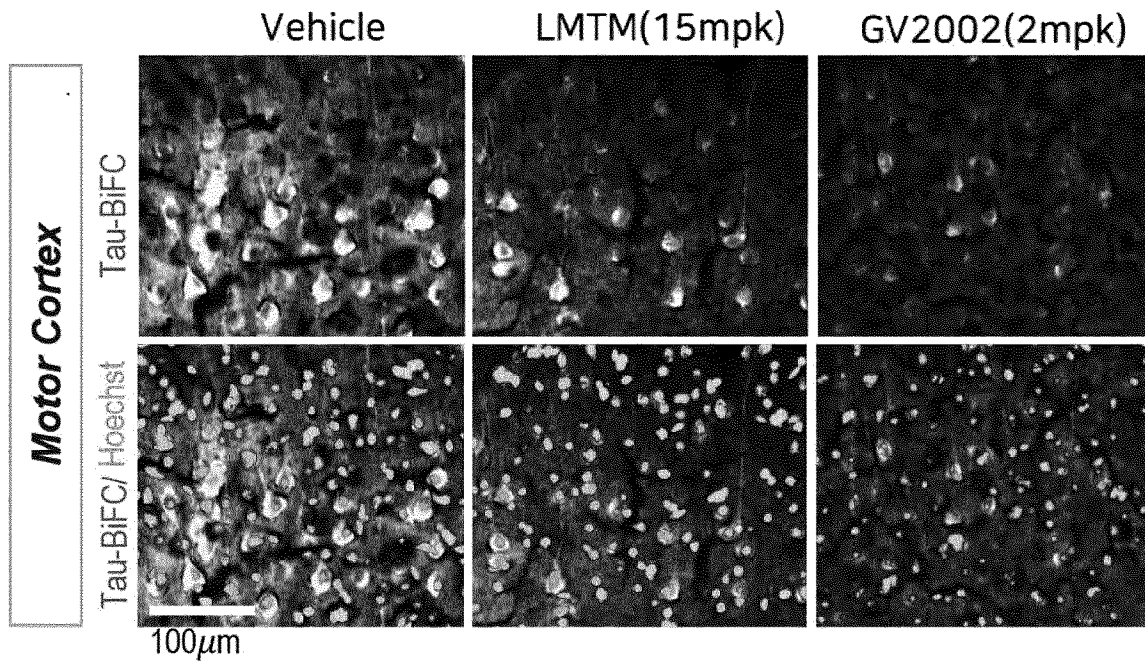
Tau-BiFC (Sctx)



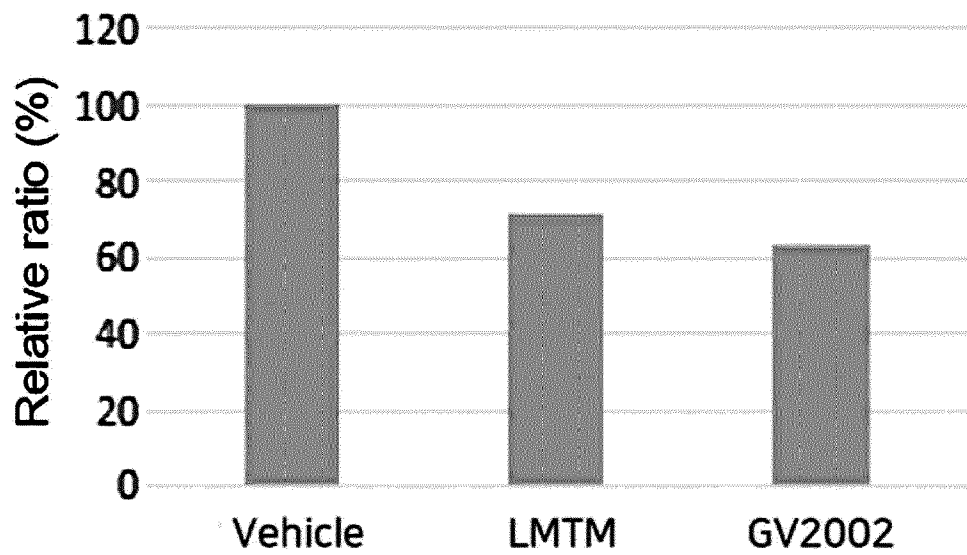
[도 11b]



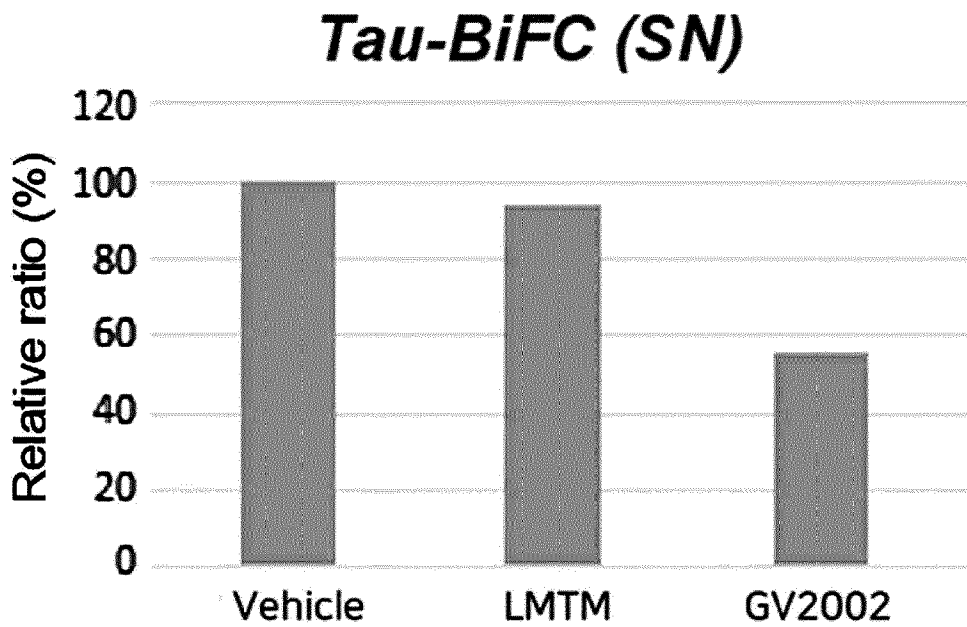
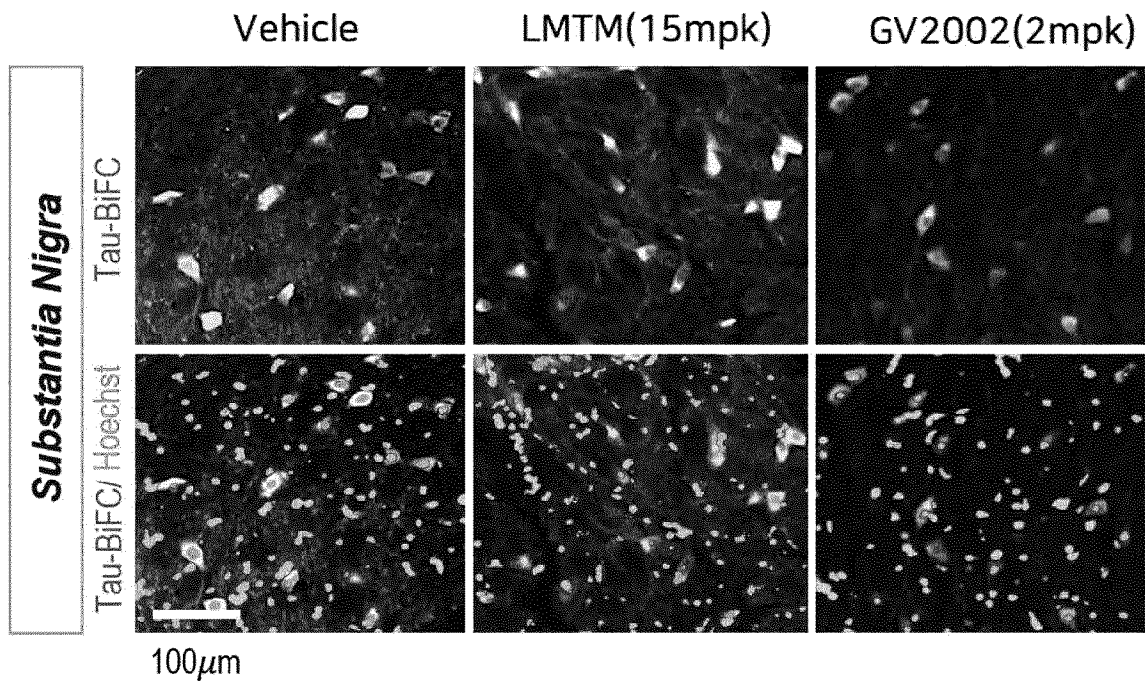
[도11c]



Tau-BiFC (MCtx)



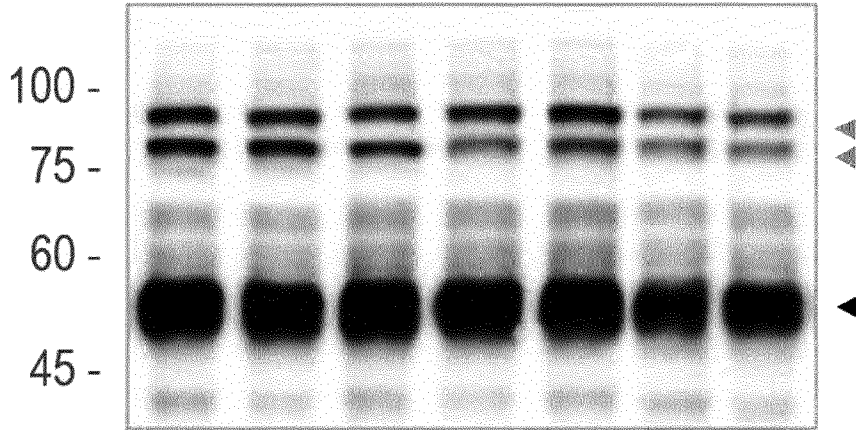
[도11d]



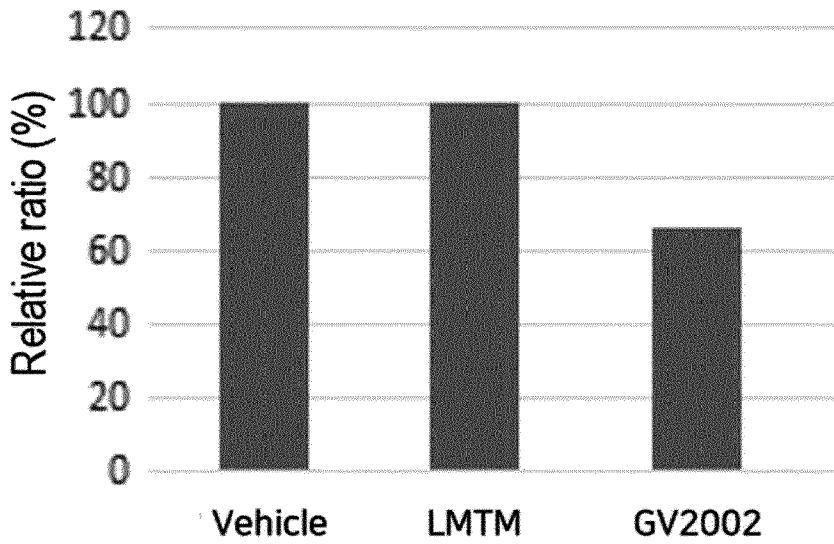
[도 12a]

Phospho-Tau (pS199)

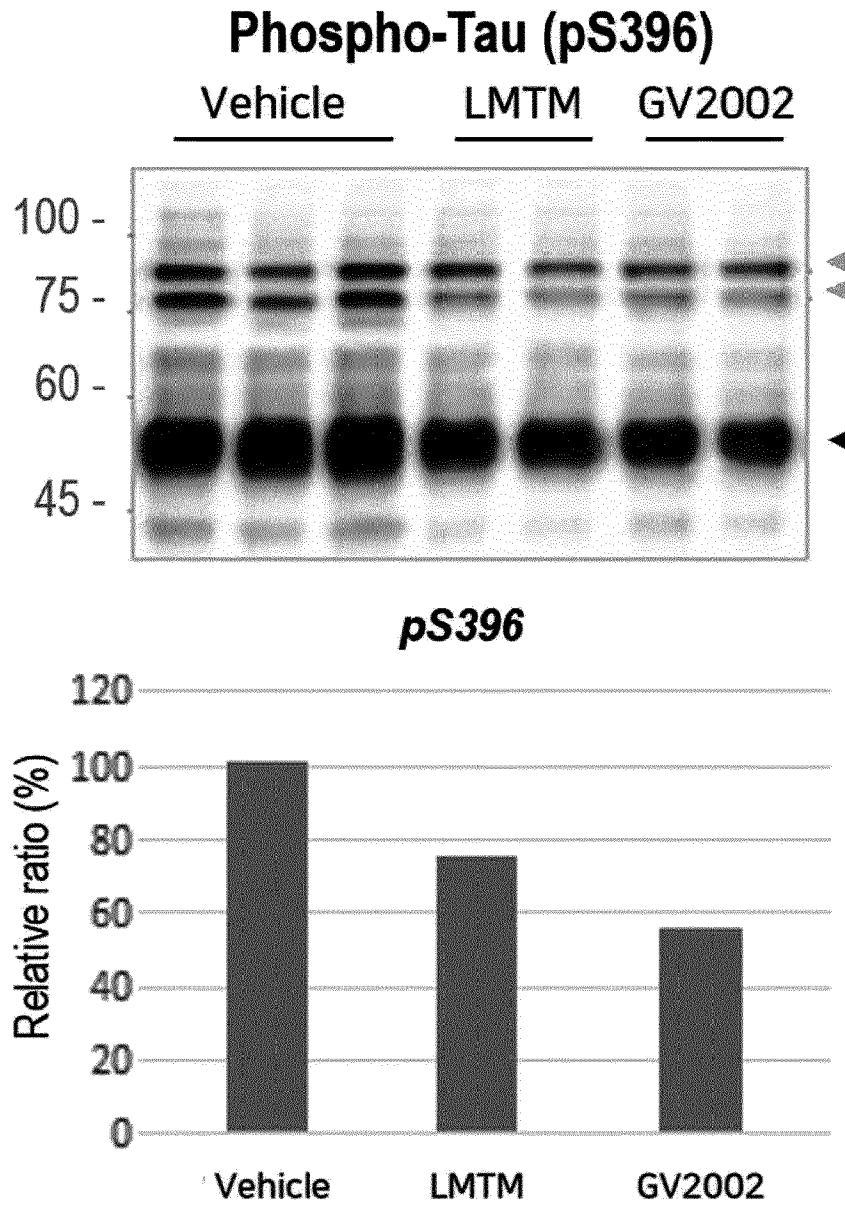
Vehicle LMTM GV2002



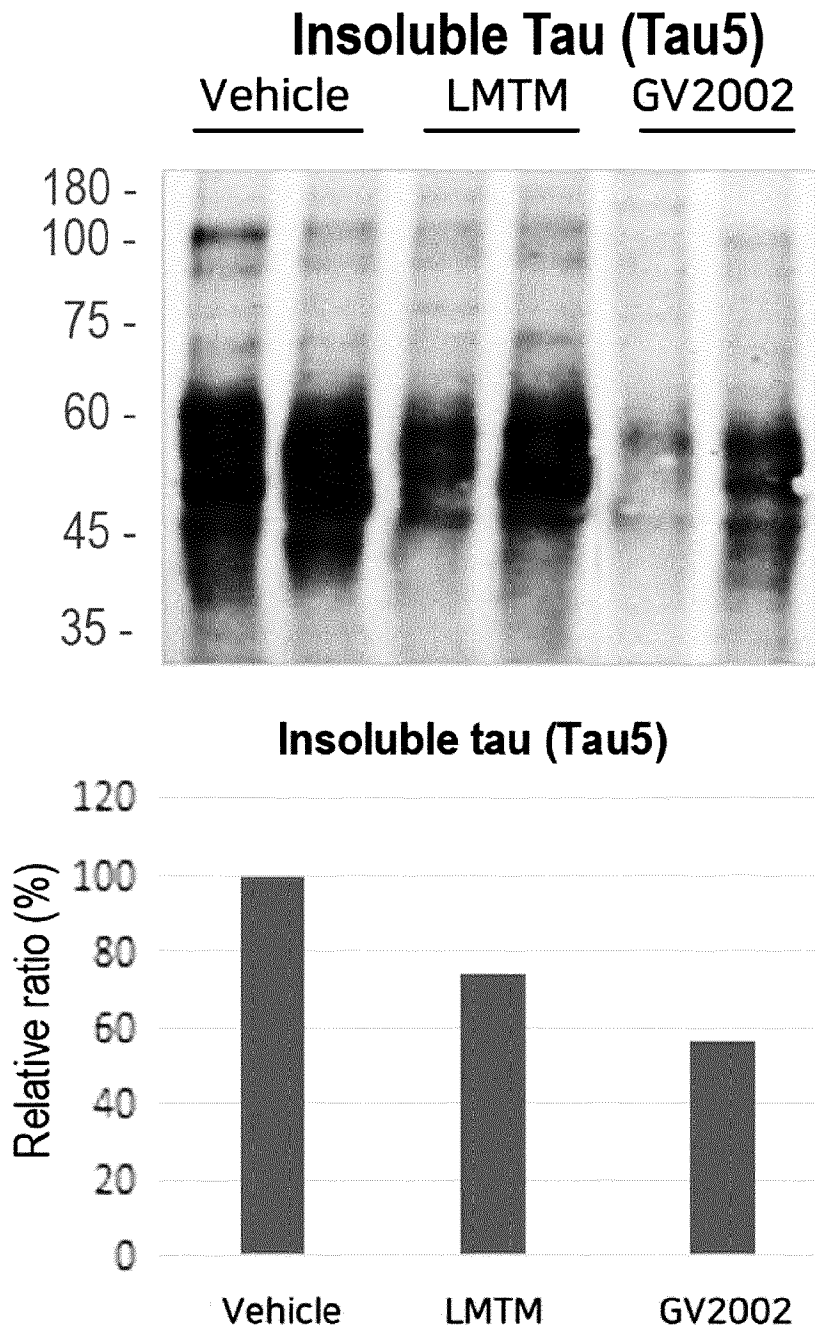
pS199



[도 12b]



[도 12c]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2024/008142

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07K 7/08(2006.01)i; A61P 25/28(2006.01)i; A23L 33/18(2016.01)i; A61K 38/00(2006.01)i; A61P 25/00(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 7/08(2006.01); A61K 38/16(2006.01); A61K 38/17(2006.01); A61K 39/00(2006.01); A61K 39/395(2006.01); C07K 14/47(2006.01)		
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), STN (Registry, Caplus), Google & keywords: 펩티드(peptide), 타우병증(tauopathy), 과인산화(hyperphosphorylation), 미세소관(microtubule), 신경원섬유 농축체(neurofibrillary tangle, NFT)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GORANTLA, N. V. et al. Amyloid- β -Derived Peptidomimetics Inhibits Tau Aggregation. ACS Omega. 2021, vol. 6, no. 17, pp. 11131-11138. See abstract; and figure 1.	1-7
A	ZHU, L. et al. Recent studies of atomic-resolution structures of tau protein and structure-based inhibitors. Quantitative Biology. 2022, vol. 10, no. 1, pp. 17-34. See page 24, Short peptides-page 26; and table 2.	1-7
A	US 2016-0030510 A1 (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY) 04 February 2016 (2016-02-04) See claims 1 and 2; and paragraph [0259].	1-7
A	US 2022-0265819 A1 (GEN2 NEUROSCIENCE LIMITED) 25 August 2022 (2022-08-25) See claim 1; and paragraph [0501].	1-7
A	EP 3329932 A1 (NEW YORK UNIVERSITY) 06 June 2018 (2018-06-06) See claim 1.	1-7
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 "D" document cited by the applicant in the international application "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 "T" 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 23 September 2024		Date of mailing of the international search report 23 September 2024
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2024/008142

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2016-0030510	A1	04 February 2016	US	2013-0331330	A1	12 December 2013
US	2022-0265819	A1	25 August 2022	EP	3994147	A1	11 May 2022
				GB	2585252	A	06 January 2021
				WO	2021-005019	A1	14 January 2021
EP	3329932	A1	06 June 2018	CA	2765099	A1	16 December 2010
				CA	3120504	A1	16 December 2010
				CA	3239368	A1	16 December 2010
				CN	102596221	A	18 July 2012
				CN	102596221	B	04 June 2019
				CN	106390107	A	15 February 2017
				CN	106390107	B	31 December 2019
				EA	032675	B1	31 July 2019
				EA	201171397	A1	30 May 2012
				EP	2440234	A2	18 April 2012
				EP	2440234	A4	06 November 2013
				EP	4218794	A2	02 August 2023
				EP	4218794	A3	13 September 2023
				JP	2012-530055	A	29 November 2012
				JP	2016-094426	A	26 May 2016
				JP	2017-193571	A	26 October 2017
				JP	2019-163268	A	26 September 2019
				JP	2021-042219	A	18 March 2021
				JP	2022-180615	A	06 December 2022
				JP	5917394	B2	11 May 2016
				JP	6174667	B2	02 August 2017
				JP	6518727	B2	22 May 2019
				JP	6795649	B2	02 December 2020
				JP	7229980	B2	28 February 2023
				JP	7539446	B2	23 August 2024
				US	11787854	B2	17 October 2023
				US	2010-0316564	A1	16 December 2010
				US	2014-0302046	A1	09 October 2014
				US	2017-0183400	A1	29 June 2017
				US	2021-0061894	A1	04 March 2021
				US	8748386	B2	10 June 2014
				WO	2010-144711	A2	16 December 2010
				WO	2010-144711	A3	26 May 2011

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) C07K 7/08(2006.01)i; A61P 25/28(2006.01)i; A23L 33/18(2016.01)i; A61K 38/00(2006.01)i; A61P 25/00(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) C07K 7/08(2006.01); A61K 38/16(2006.01); A61K 38/17(2006.01); A61K 39/00(2006.01); A61K 39/395(2006.01); C07K 14/47(2006.01) 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), STN (Registry, Caplus), Google & 키워드: 펩티드(peptide), 타우병증(tauopathy), 과인산화(hyperphosphorylation), 미세소관(microtubule), 신경원섬유 농축체(neurofibrillary tangle, NFT)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	GORANTLA, N. V. 등, "Amyloid-β-Derived Peptidomimetics Inhibits Tau Aggregation", ACS Omega, 2021, 제6권, 제17호, 페이지 11131-11138 초록; 도면 1	1-7
A	ZHU, L. 등, "Recent studies of atomic-resolution structures of tau protein and structure-based inhibitors", Quantitative Biology, 2022, 제10권, 제1호, 페이지 17-34 페이지 24, Short peptides-페이지 26; 표 2	1-7
A	US 2016-0030510 A1 (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY) 2016.02.04 청구항 1, 2; 단락 [0259]	1-7
A	US 2022-0265819 A1 (GEN2 NEUROSCIENCE LIMITED) 2022.08.25 청구항 1; 단락 [0501]	1-7
A	EP 3329932 A1 (NEW YORK UNIVERSITY) 2018.06.06 청구항 1	1-7
<input type="checkbox"/> 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. <input checked="" type="checkbox"/> 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일	
2024년09월23일 (23.09.2024)	2024년09월23일 (23.09.2024)	
ISA/KR의 명칭 및 우편주소	심사관	
대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578	허주형 전화번호 +82-42-481-5373	

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2016-0030510 A1	2016/02/04	US 2013-0331330 A1	2013/12/12
US 2022-0265819 A1	2022/08/25	EP 3994147 A1	2022/05/11
		GB 2585252 A	2021/01/06
		WO 2021-005019 A1	2021/01/14
EP 3329932 A1	2018/06/06	CA 2765099 A1	2010/12/16
		CA 3120504 A1	2010/12/16
		CA 3239368 A1	2010/12/16
		CN 102596221 A	2012/07/18
		CN 102596221 B	2019/06/04
		CN 106390107 A	2017/02/15
		CN 106390107 B	2019/12/31
		EA 032675 B1	2019/07/31
		EA 201171397 A1	2012/05/30
		EP 2440234 A2	2012/04/18
		EP 2440234 A4	2013/11/06
		EP 4218794 A2	2023/08/02
		EP 4218794 A3	2023/09/13
		JP 2012-530055 A	2012/11/29
		JP 2016-094426 A	2016/05/26
		JP 2017-193571 A	2017/10/26
		JP 2019-163268 A	2019/09/26
		JP 2021-042219 A	2021/03/18
		JP 2022-180615 A	2022/12/06
		JP 5917394 B2	2016/05/11
		JP 6174667 B2	2017/08/02
		JP 6518727 B2	2019/05/22
		JP 6795649 B2	2020/12/02
		JP 7229980 B2	2023/02/28
		JP 7539446 B2	2024/08/23
		US 11787854 B2	2023/10/17
		US 2010-0316564 A1	2010/12/16
		US 2014-0302046 A1	2014/10/09
		US 2017-0183400 A1	2017/06/29
		US 2021-0061894 A1	2021/03/04
		US 8748386 B2	2014/06/10
		WO 2010-144711 A2	2010/12/16
		WO 2010-144711 A3	2011/05/26