



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0053752
 (43) 공개일자 2009년05월27일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) Int. Cl.
 <i>A61K 31/74</i> (2006.01) <i>A61K 38/16</i> (2006.01)
 <i>A61P 17/00</i> (2006.01) <i>A61K 9/127</i> (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2008-7032154
 (22) 출원일자 2008년12월31일
 심사청구일자 없음
 번역문제출일자 2008년12월31일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2007/012799
 국제출원일자 2007년05월31일
 (87) 국제공개번호 WO 2007/143006
 국제공개일자 2007년12월13일</p> <p>(30) 우선권주장
 60/809,825 2006년06월01일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
 테라퓨틱 펩타이즈, 인코포레이션
 미국 엘에이 70123 하라한 수트 비 크로포드 스트리트 5701</p> <p>(72) 발명자
 오웬, 도널드
 미국 엘에이 70447 매디슨빌 마벨 드라이브 25</p> <p>판, 릴리
 미국 엘에이 70065 커너 레이크 트레일 드라이브 3809</p> <p>(74) 대리인
 최광호</p> |
|--|--|

전체 청구항 수 : 총 47 항

(54) 중합성 생계면활성제

(57) 요약

본 발명은 중합성 미셀(micellar) 구조로 자가 조립(self-assemble) 또는 자가-응집될 수 있는 생계면활성제(biosurfactants) 및 국소 적용되는 피부과 제품에서 이들의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 특히 화학식 아실-AA-Term에 상응하는 중합성 아실화된 생계면활성제(PAB)를 투여하는 것을 포함하며, 이때 아실은 분기된 또는 비분기된, 포화 또는 불포화된 8-원 내지 22원 탄소사슬이고; AA는 아미노산 잔기의 적어도 1개가 하전된 4 내지 9개 아미노산 잔기의 연속 서열이며; 또 Term은 산 C-말단 또는 아마이드 C-말단이다. 본 발명의 PAB는 수성 MEM 환경에서 낮은 임계적 미셀 농도(주로 약 100 ppm 미만)를 가지며 또 수성 MEM 환경에서 표면 장력을 약 50 다인/cm² 미만으로 저하시킬 수 있다. 이들은 또한 대사성 용해성 단백질을 증가시키는 능력을 갖는다.

특허청구의 범위

청구항 1

화학적 아실-AA-Term에 상응하는 중합성 아실화된 생계면활성제를 투여하는 것을 포함하며, 이때

- (a) 아실은 분기된 또는 비분기된, 포화 또는 불포화된 8-원 내지 22원 탄소사슬이고;
- (b) AA는 아미노산 잔기의 적어도 1개가 하전된 4 내지 9개 아미노산 잔기의 연속 서열이며; 또
- (c) Term은 산 C-말단 또는 아미드 C-말단이며,

상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 수성 MEM 환경에서 약 200 ppm 미만의 임계적 미셀 농도를 가지며 또 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33으로 구성된 군으로부터 선택되는,

수성 MEM 환경에서 표면 장력을 약 50 다인/cm² 미만으로 감소시키는 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 아미노산 잔기의 적어도 2개는 하전되고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 아미노산 잔기의 적어도 3개는 하전되고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 30 및 서열번호: 31로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 아미노산 잔기의 적어도 3개는 하전되고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 11, 서열번호: 22 및 서열번호: 27로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 5

제 2항에 있어서, 중합성 아실화된 생계면활성제가 수성 MEM 환경에서 약 100 ppm 미만의 CMC를 갖고 또 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 수성 MEM 환경에서 약 50 ppm 미만의 CMC를 갖고 또 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호:

27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 7

제 1항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 수성 MEM 환경에서 약 25 ppm 미만의 CMC를 갖고 또 서열번호: 1, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 21, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 8

제 1항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제 상의 하전된 아미노산 잔기의 %가 아미노산 잔기의 전체 수의 적어도 약 33%이고 또 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 9

제 1항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제 상의 하전된 아미노산 잔기의 %가 아미노산 잔기의 전체 수의 적어도 약 50%이고 또 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 22, 서열번호: 25, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 32 및 서열번호: 33으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 10

제 1항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제 상의 하전된 아미노산 잔기의 %가 아미노산 잔기의 전체 수의 적어도 약 60%이고 또 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 17, 서열번호: 25, 서열번호: 27, 서열번호: 27 및 서열번호: 30으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 11

제 1항에 있어서, 상기 Term은 아마이드 C-말단이고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 15, 서열번호: 17, 서열번호: 19, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 32 및 서열번호: 33으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 12

제 1항에 있어서, Acyl은 C₁₄ 사슬이고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 12, 서열번호: 15, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 13

제 12항에 있어서, 상기 Term은 아마이드 C-말단이고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 1, 서열번호:

2, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 12, 서열번호: 15, 서열번호: 17, 서열번호: 19, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 32 및 서열번호: 33으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 14

제 12항에 있어서, 상기 Term은 산 C-말단이고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 20, 서열번호: 24, 서열번호: 25 및 서열번호: 31로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 15

제 1항에 있어서, Acyl은 C₁₆ 사슬이고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 3, 서열번호: 6, 서열번호: 8, 서열번호: 11, 서열번호: 13, 서열번호: 14 및 서열번호: 16으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 16

제 15항에 있어서, 상기 Term은 아마이드 C-말단이고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 3, 서열번호: 6 및 서열번호: 13으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 17

제 15항에 있어서, 상기 Term은 산 C-말단이고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 8, 서열번호: 11, 서열번호: 14 및 서열번호: 16으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 18

제 1항에 있어서, 중합성 아실화된 생계면활성제는 10 이상의 TTR을 갖고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 10, 서열번호: 12, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29 및 서열번호: 30으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 19

제 17항에 있어서, 중합성 아실화된 생계면활성제는 적어도 약 20의 TTR을 갖고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 12, 서열번호: 15, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 22, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 28, 서열번호: 29 및 서열번호: 30으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 20

제 1항에 있어서, 중합성 아실화된 생계면활성제는 10 ppm의 농도에서 ELN, FN1 또는 COL1의 적어도 2개의 발현에서 적어도 20% 증가를 초래하고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 12, 서열번호: 18, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 24, 서열번호: 26 및 서열번호: 27로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 21

제 20항에 있어서, 중합성 아실화된 생계면활성제는 10 ppm의 농도에서 ELN, FN1 또는 COL1의 적어도 2개의 발현에서 적어도 20% 증가를 초래하고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 18, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 24 및 서열번호: 27로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 22

제 1항에 있어서, 중합성 아실화된 생계면활성제는 10 ppm의 농도에서 MMP1의 발현 증가를 유발하지 않고 또 중

합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 18, 서열번호: 21, 서열번호: 24 및 서열번호: 27로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 23

제 22항에 있어서, 중합성 아실화된 생계면활성제는 MMP1의 발현에서 적어도 20% 감소를 유발하고 또 서열번호: 7, 서열번호: 9 및 서열번호: 10으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 24

제 1항에 있어서, 중합성 아실화된 생계면활성제는 10 ppm의 농도에서 IL6 또는 IL8의 발현에서 증가를 유발하지 않고 또 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 12, 서열번호: 18, 서열번호: 21, 서열번호: 24 및 서열번호: 26으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 25

제 1항에 있어서, 중합성 아실화된 생계면활성제는 IL6 또는 IL8의 발현에서 적어도 20% 감소를 유발하고 또 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 12, 서열번호: 18, 서열번호: 21, 서열번호: 24 및 서열번호: 26으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 26

제 1항에 있어서, 1 ppm의 농도에서 24시간 후 중합성 아실화된 생계면활성제는 적어도 약 20%의 섬유아세포 증식에서 증가를 유발하고 또 서열번호: 4, 서열번호: 8, 서열번호: 9 및 서열번호: 17로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 27

제 1항에 있어서, 10 ppm의 농도에서 24시간 후 중합성 아실화된 생계면활성제는 적어도 약 20%의 섬유아세포 증식에서 증가를 유발하고 또 서열번호: 3, 서열번호: 7, 서열번호: 11, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 20 및 서열번호: 32로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 28

제 1항에 있어서, 10 ppm의 농도에서 48시간 후 중합성 아실화된 생계면활성제는 적어도 약 20%의 섬유아세포 증식에서 증가를 유발하고 또 서열번호: 19, 서열번호: 24 및 서열번호: 25로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 29

제 1항에 있어서, 25 ppm의 농도에서 48시간 후 중합성 아실화된 생계면활성제는 적어도 약 20%의 섬유아세포 증식에서 증가를 유발하고 또 서열번호: 12 및 서열번호: 23으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 30

제 1항에 있어서, 중합성 아실화된 생계면활성제는 CBQCA 에세이에 의해 측정된 바와 같이 LD₅₀ 미만의 농도에서 적어도 약 20%의 대사성 용해성 단백질 증가를 초래하고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 4, 서열번호: 7, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 31

제 30항에 있어서, 중합성 아실화된 생계면활성제는 CBQCA 에세이에 의해 측정된 바와 같이 LD₅₀ 미만의 농도에서 적어도 약 30%의 대사성 용해성 단백질 증가를 초래하고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 7, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 20, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30 및 서열

번호: 31로 구성된 균으로부터 선택되는 방법.

청구항 32

제 30항에 있어서, 중합성 아실화된 생계면활성제는 CBQCA 에세이에 의해 측정된 바와 같이 LD₅₀ 미만의 농도에 서 적어도 약 50%의 대사성 용해성 단백질 증가를 초래하고 또 중합성 아실화된 생계면활성제는 서열번호: 15, 서열번호: 18, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 26, 서열번호: 28, 서열번호: 29 및 서열번호: 30으로 구성된 균으로부터 선택되는 방법.

청구항 33

제 30항에 있어서, 중합성 아실화된 생계면활성제는 배양된 37세 여성 섬유아세포(ATCC CRL-2122)에서 약 200 ppm 보다 큰 LD₅₀ 을 갖고 또 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 15, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 및 서열번호: 30으로 구성된 균으로부터 선택되는 방법.

청구항 34

제 1항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 100 ppm 이하의 농도에서 대장균의 성장을 억제하며 또 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33으로 구성된 균으로부터 선택되는 방법.

청구항 35

제 34항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 피. 아에루기노사(*P. aeruginosa*) 또는 에스. 아우레우스(*S. aureus*)의 성장을 억제하며 또 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33으로 구성된 균으로부터 선택되는 방법.

청구항 36

제 35항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 씨. 알비칸스(*C. albicans*)의 성장을 억제하며 또 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 5, 서열번호: 7, 서열번호: 12, 서열번호: 15, 서열번호: 18, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 31 및 서열번호: 32로 구성된 균으로부터 선택되는 방법.

청구항 37

제 1항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 약 100 ppm 이하의 농도에서 대장균, 피. 아에루기노사(*P. aeruginosa*), 에스. 아우레우스(*S. aureus*) 및 씨. 알비칸스(*C. albicans*)의 성장을 억제하며 또 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 7, 서열번호: 12, 서열번호: 15, 서열번호: 18, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 31 및 서열번호: 33으로 구성된 균으로부터 선택되는 방법.

청구항 38

제 35항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 25 ppm의 농도에서 대장균, 피. 아에루기노사(*P. aeruginosa*), 에스. 아우레우스(*S. aureus*) 및 메티실린-내성 에스. 아우레우스(*S. aureus*)의 성장을 억제하며 또 서열번호: 12, 서열번호: 15, 서열번호: 30 및 서열번호: 31로 구성된 균으로부터 선택되는 방법.

청구항 39

제 20항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 MMP1의 발현 증가를 유발하지 않고 또 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 12, 서열번호: 18, 서열번호: 21, 서열번호: 24 및 서열번호: 27로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 40

제 39항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 MMP1의 발현에서 적어도 약 20% 정도로 감소를 유발하고 또 서열번호: 7, 서열번호: 9 및 서열번호: 10으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 41

제 20항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 IL6 또는 IL8의 발현에서 증가를 유발하지 않고 또 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 12, 서열번호: 18, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 24 및 서열번호: 26으로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 42

제 20항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 MMP1, IL6 또는 IL8의 발현에서 증가를 유발하지 않고 또 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 12, 서열번호: 18, 서열번호: 21 및 서열번호: 24로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 43

제 42항에 있어서, 상기 중합성 아실화된 생계면활성제는 대장균, 피. 아에루기노사(*P. aeruginosa*) 및 에스. 아우레우스(*S. aureus*)의 성장을 억제하고 또 서열번호: 7, 서열번호: 12, 서열번호: 15, 서열번호: 18 및 서열번호: 22로 구성된 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 44

(i) 적어도 약 1 ppm의 농도에서 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33으로 구성된 군으로부터 선택되는 중합성 아실화된 생계면활성제를 포함하는 국소 적용되는 화장품 또는 피부학적 조성물.

청구항 45

제 44항에 있어서, 크림, 로션, 젤 또는 세럼 형태이며, 조성물이 w/o 에멀전, o/w 에멀전, w/실리콘 에멀전, 실리콘/물 에멀전, 물/오일/물 에멀전 또는 오일/물/오일 에멀전인 국소 적용되는 화장품 또는 피부학적 조성물.

청구항 46

제 44항에 있어서, 무수 젤 또는 세럼 또는 짙은 수성 분산액 형태인 국소 적용되는 화장품 또는 피부학적 조성물.

청구항 47

제 44항에 있어서, 마모제, 박리제, 흡수제, 수렴제, 향균제, 보존제, 산화방지제, 항염증제, 비타민, 미량 무기질, 필름 형성제 및 피부에 국소적 조성물의 실제성을 증가시키는 기타 중합성 물질, 습윤제, 보습제, pH 조절제, 피부 컨디셔닝제, 피부 진정 및/또는 치료제, 향여드름제, 피부 표백 및 미백제, 외부 진통제, 선스크린 활성제로 구성된 군으로부터 선택되는 1 이상의 화장품 또는 약학 성분을 더 포함하는 국소 적용되는 화장품 또는 피부학적 조성물.

명세서

기술분야

<1> 본 발명은 중합성 미셀(micellar) 구조로 자가 조립(self-assemble) 또는 자가-응집될 수 있는 생계면활성제(biosurfactants) 및 국소 적용되는 피부과 제품에서 이들의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 특히 대사성 용해성 단백질을 증가시킬 수 있는 MEM(minimal essential media)에서 낮은 임계 미셀 농도(약 1.0 내지 약 200 ppm)를 갖는 중합성 아실화된 생계면활성제에 관한 것이다. 또한, 이들은 비교적 낮은 독성 - 바람직하게는 37 세의 여성 섬유아세포에서 200 ppm 보다 큰 LD₅₀ -을 가질 뿐만 아니라 세포외 피부 매트릭스 단백질의 합성을 증가시키고 및/또는 세포 턴오버율(rate of cell turnover)을 증가시킬 수 있다.

배경기술

<2> 분자 종류로서 계면활성제는 국소 적용되는 제품의 제조자에게 잘 알려져 있다. 생계면활성제는 프로테아제(protease)에 의해 용이하게 분해될 수 있는 천연 산출 원료로부터 유도된 특정 계면활성제군이다. 표준 계면활성제와 마찬가지로 이들은 일반적으로 "헤드 및 테일"로 정의되는 수용성 및 수불용성 기를 동일 분자 상에 갖는다. 이들은 친수성 및 친유성 물질(예컨대, 오일, 및 더욱 본 발명의 목적에 더욱 맞게는, 세포 막)에 대하여 친화성을 갖는다; 따라서, 이들은 양쪽성 분자로 기재된다. 본 발명의 생계면활성제는 유사한 농도에서 표준 계면활성제와 관련된 명백한 과쇄없이 세포막에 대하여 고도의 친화성을 보유한다. 이들은 불양립성인 "헤드 및 테일" 사이의 계면 장력을 낮추도록 자신이 배향한다. 생계면활성제의 농도가 증가함에 따라서, 계면의 표면은 최소 표면 장력, 소위 임계적 미셀 농도(Critical micelle concentration: "CMC")에 도달할 때까지 포화된다. 생계면활성제를 CMC를 초과하도록 부가하면, 미셀 또는 응집물이 형성된다. CMC는 일반적으로 밀리몰(mM)로 표시되며 또 매질의 온도 및 이온 세기에 따라 달라진다. 이들 응집물은 입자 크기 및 형태가 상이하다. 본 발명의 범위 내의 중합성 생계면활성제 응집물은 전형적으로 나노 범위, 약 5 내지 100 나노미터 범위의 입자 크기를 갖는다.

<3> 피부 케어 제품에서, 나트륨 도데실 설페이트는 습윤제, 유화제 또는 세정제로서 작용하는 흔히 사용되는 음이온성 계면활성제이다. 이것은 증류수에서 약 8.13 mM (또는 ~2400 ppm)의 CMC를 갖는다. 4급 화합물은 널리 사용되는 양이온성 계면활성제이다. 도데실 트리메틸 암모늄 브로마이드는 이러한 종류의 화합물의 대표류이며 또 증류수에서 약 14.6 mM (또는 ~4300 ppm)의 CMC를 갖는다. 대조를 위하여, 세포막의 주요 성분인 인지질(예컨대 디아실 포스파티딜 콜린)의 CMC는 약 5×10^{-3} mM 내지 약 4.7×10^{-7} mM (~3 ppm ~ 0.003 ppm) 범위이다. 예컨대, D. Datta, Membrane Biochemistry (1987) 참조. 본 발명의 중합성 생계면활성제는 대표적인 음이온성 및 양이온성 화합물 뿐만 아니라 상술한 세포막 인지질 사이에 CMC를 갖는다.

<4> 그러나 통상적인 계면활성제는 자극, 염증 및 기타 부정적인 후유증을 유발하는 것으로 알려져 있다. 이것은 피부 탈지, 필요한 오일의 제거 뿐만 아니라 상피층으로의 신속한 침투에 일부 기인한다. 놀랍고 예상치 못하게, 본 발명의 중합성 생계면활성제는 유사한 농도에서 이들 결점을 갖지 않는다.

<5> 이하에 논의한 바와 같이, 피부 케어 제품에서 아미노산 서열의 사용은 당해 분야에 공지되어 있다. 이러한 서열 일부는 아실화된 잔기(예컨대 아세틸, 미리스토일, 팔미토일)로서 시판되고 있다. 일반적으로, 아실화는 물을 좋아하는 또는 친수성 성분의 피부 침투를 향상시키는 것으로 당해 분야에 잘 공지되어 있다. 정상 피부의 표면은 아주 소수성이어서 친수성 물질에 의한 침투를 현저히 방지한다. 그러나, 아실화된 아미노산 서열의 특성은 독성 면에서 크게 다양할 수 있어, 다시 말해 그의 궁극적 유용성에 영향을 줄 수 있다. 놀랍게도 그리고 예상치 못하게, 본 발명의 중합성 아실화된 생계면활성제 다수는 포유동물 세포에 대하여 비교적 낮은 독성(LD₅₀ ≥ 200 정도)을 갖고 그와 동시에 진핵생물 형태에 대하여 비교적 높은 독성을 유지한다.

<6> 또한, 종래 기술의 아실화된 아미노산 서열과 달리, 본 발명의 중합성 생계면활성제는 피부 매트릭스 단백질(예컨대 엘라스틴, 피브로넥틴, 콜라겐)의 합성을 증가시키고 및/또는 세포 턴오버율을 증가시키면서 이들 단백질(예컨대 매트릭스 메탈로프로테이나아제)를 분해하는 효소의 합성에서 부수적인 향상을 유발하지 않는다. 또한, 놀랍고 중요하게는, 본 발명의 생계면활성제는 염증 단백질, 즉 인터루킨 6 및 인터루킨 8의 증가를 유발하지 않는다. 이들 특성의 조합은 상기 화합물을 피부 케어 적용에 특히 적합하게 만든다.

<7> 본 발명의 중합성 생계면활성제가 낮은 CMC에서 표면을 효과적으로 습윤시키는 능력은 또 다른 놀랍고 예상치 못한 특성 - 넓은 스펙트럼의 항균 활성을 부여한다. 본 발명의 중합성 생계면활성제는 대장균(*E. coli*), 슈도모

나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*)(*P. aeruginosa*), 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) (*S. aureus*) 및 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) (*C. albicans*)를 비롯한 다양한 미생물의 성장을 억제하거나 치사시키는 능력을 갖는다.

- <8> 개인 위생 및 피부학 분야에서, 아주 효과적인 다작용성 성분이 계속 요청되고 있다. 이러한 유형의 성분의 사용은 국소 피부 케어 제형에 대한 일반적인 문제 - 예컨대 불안정성(성분의 비양립성에 기인함)뿐만 아니라 시간 경과에 따른 활성 성분의 효능 감소(성분 간의 상호작용에 기인함)를 완화시키는 작용을 한다. 다작용성 성분 - 특히 자극, 염증 또는 기타 부정적인 후유증을 유발하는 경향이 낮은 성분-은 제형제조사 뿐만 아니라 예민한 소비자 사이에서 필요성이 증대되고 있다. 이를 조합할 때, 본 발명의 중합성 생계면활성제의 바람직한 특성은, 놀랍고 예상치 못하게, 질병, 노화 및/또는 환경적 스트레스와 관련된 피부 상태를 회복, 유지 및 개선시키는 한편, 많은 경우에는, 동시에 미생물 성장을 억제하는데 도움을 주는 비교적 저 독성 제품에 대하여 지금까지 충족되지 않았던 요건을 만족하는 다작용성 성분으로 만든다.
- <9> 피부 케어 제품에 사용된 중래 기술의 아미노산 서열
- <10> 각각 2개 아미노산으로 구성된 이하의 화장품 성분은 시판되고 있다: 디펩티드-1 (티로신 및 아르기닌 잔기); 디펩티드-2 (발린 및 트립토판 잔기); 디펩티드-4 (페닐알라닌 및 트립토판 잔기). 다르게 나타내지 않는 한, 화장품 성분은 "CTFA"(Cosmetic Toiletry and Fragrance Association)에 의해 발간된 International Cosmetic Ingredient (INCI) Dictionary and Handbook (제10판)에서 주어진 명칭으로 기재한다. INCI 사전은 아미노산 서열 또는 각 아미노산 잔기의 양에 대해서는 규정하지 않고 있다. 이하에 논의한 바와 같이, 트리펩티드는 INCI 사전에 2개의 수록된 아미노산 중의 하나가 2번 존재하는지 또는 펩티드 서열 중의 제3의 아미노산이 18개의 다른 천연 산출 아미노산 군으로부터 선택되는지 어떠한 표시가 되어 있지 않은 2개의 아미노산 잔기를 함유하는 것으로 기재될 수 있다.
- <11> 미국 특허 출원 공보 2003/0166510호는 피부를 리모델링하고 피부 결점을 감소 또는 제거하기에 충분한 양으로 이온성 금속-펩티드 착물의 사용을 시사한다. (여기서 언급된 허여된 미국특허 및 공개된 미국특허 출원은 본 명세서에 참고문헌으로 포함된다). 상기 참고문헌에 시사된 피부 결점은 흉터(예컨대 상처, 여드름에 기인함), 피부 태그, 캘러스, 양성 피부 기태, 임신선(stretch mark), 얼굴의 케라토오스, 태양 흑색사마귀 또는 백반증을 포함한다. 상기 문헌에 따르면, 이온성 금속 - 구리(II), 주석(II), 주석(IV) 및 아연(II) 및 그의 염 -은 화학적으로 합성된 디-, 트리- 및 테트라펩티드와 착화된다. Phe-Phe 및 Gly-Gly는 상술한 이온성 금속과 착화될 수 있는 디펩티드 단편으로 특히 시사되어 있다.
- <12> 스페인 특허 출원 공보 ES2020148호는 9-17개 탄소원자의 지방산 사슬로 구성되며, 포화 또는 불포화되며, L-, D- 또는 DL-형태에서 아르기닌의 N-말단에 부착된 다음 20개의 천연 산출 아미노산으로부터 선택된 제2 아미노산이 부착된 생계면활성제를 개시한다. 이러한 특정 아미노산 서열 Arg-Gly, Arg-Ser 및 Arg-Phe가 개시되어 있다.
- <13> 3개 아미노산 잔기 - 글리신, 히스티딘 및 리신을 함유하는 합성 펩티드인 트리펩티드-1은 Vincience로부터 상품명 Kollaren C.P.P 및 I.E.B에 의해 상품명 Kollaren으로서 시판되고 있다. 트리펩티드-1과 물, 우레아, 글루코오스 및 구아니딘 HCl의 혼합물은 아트림 바이오테크놀로지스에 의해 Kollaren으로서 시판된다. Gly-His-Lys 서열은 문헌에 지질 과산화 및 무효소당화를 비롯한 세포성 대사 과정의 부생성물인 반응성 카르보닐 종("RCS")의 파괴제로서 기재되어 있다. RCS는 콜라겐의 가교 및 부수하는 피부 탄성 손상과 관련된다. 참조: Puig et al, "Peptides as Active Ingredients in Cosmetics," Cosmetics and Toiletries Manufacture Worldwide, pp. 121-125. 이러한 아미노산 서열은 CMC를 갖지 않는다. 또한, 이것은 중합성 응집물을 형성하지 않는다. 따라서, 본 발명의 범위에 드는 생계면활성제가 아니다.
- <14> 아세틸 트리펩티드-1은 아세트산의 반응 생성물로서 본 발명의 범위에 드는 생계면활성제가 아니다. 일반적으로, 아세틸화는 생계면활성제로서 작용하는데 필요한 충분한 양친매성 특성을 부여하지 않는다.
- <15> 비오틴일 트리펩티드는 트리펩티드 Gly-His-Lys 상에 비오틴 H(비오틴)을 그래프팅함으로써 형성된다. 미국 특허 출원 공보 2006/0067905호는 올레아놀산, 아피게닌 및 비오틴일-Gly-His-Lys를 투여함으로써 탈모를 치료하는 방법을 기재한다. 비오틴일 잔기는 생계면활성제 특성을 생성하기 위한 충분한 소수성을 부여하지 않는다.
- <16> 팔미토일 트리펩티드-1은 Pal-GKH로도 기재되며, 트리펩티드-1과 팔미트산의 반응 생성물이다. 이것은 Sederma로부터 상품명 Lipo-GKH로 입수할 수 있다. 산-말단화되면, 이러한 리포-올리고펩티드 서열은 측정가능한 항균 활성을 갖지 않는다; 또한 이것은 비교적 저 농도에서 포유동물 세포에 독성이다(예컨대 LD₅₀ 약 50 ppm). 이러

한 이유로, 리포-올리고펩티드는 본 발명의 범위에 속하지 않는다.

- <17> 미국특허 출원 공보 번호 2004/0120918호는 과라그래프 #0008에서 Sederma로부터 상품명 Biopeptide CL로 입수 가능한 Pal-Gly-His-Lys를 기재한다. 이 트리펩티드에 대한 INCI 명칭은 팔미토일 올리고펩티드이며, INCI 사전에 따르면, 하기 아미노산 잔기의 2 또는 그 이상의 합성 펩티드의 팔미트산 에스테르이다: 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산, 글리신, 히스티딘, 리신, 프롤린, 세린 또는 발린.
- <18> C-말단에 자유 산 또는 아마이드를 갖는 Pal-Gly-His-Lys는 포유동물 세포주에서 현저한 독성(즉, 37세 여성 섬유아세포에서 LD₅₀ < 100)을 나타내고 또 이러한 이유로 본 발명의 범위에 속하지 않는다.
- <19> 미국특허 출원 공보 번호 2004/0132667호는 3개 아미노산 - 글리신, 히스티딘 및 리신 잔기의 서열을 나타낸다. 바람직한 트리펩티드는 특정 아미노산 서열 Gly-His-Lys를 갖는다. 이 서열의 유사체는 3개 아미노산의 1 또는 그 이상이 상기 서열 내에서 재구성되거나 또는 재편제된(예컨대 Gly-Lys-His) 서열을 포함하는 것으로 시사된다. 이 공보는 3개 아미노산의 2개까지의 치환을 개시한다. Gly 대신 치환될 수 있는 아미노산은 비제한적으로 베타-Ala, Ala, Val, Leu, Pro 및 Ile와 같은 지방족 측쇄를 가질 수 있는 것으로 개시된다. Lys 또는 His 대신 치환될 수 있는 것으로 시사된 아미노산은 약 pH 6에서 주로 하전된 질소를 포함하는 측쇄를 갖는 것을 포함한다(예컨대 Pro, Lys, Arg, His, 테스모신 및 이소테스모신). 가장 바람직하게는, Lys는 오르니틴, 아르기닌 또는 시트룰린으로 치환된다.
- <20> '667호 출원은 또한 아세트산, 카프르산, 라우르산, 미리스트산, 옥탄산, 팔미트산, 스테아르산, 베헨산, 리놀레산, 리놀레닌산, 리포익산, 올레산, 이소스테아르산, 엘라이돈산, 2-에틸헥산산, 코코넛 오일 지방산, 텔로우 지방산, 경화된 텔로우 지방산, 팜 알코올 오일 지방산, 라놀린 지방산으로부터 유도된 상술한 치환된 또는 재배열된 아미노산 서열에 아실 잔기를 부착하는 것을 개시한다. 이들 유도체는 또한 직쇄 또는 분기쇄, 장쇄 또는 단쇄, 포화 또는 불포화, 히드록시, 아미노, 아실 아미노, 설페이트 또는 설페이드 기에 의해 치환된, 또는 비치환된 것일 수 있다고 시사되어 있다. 바람직한 아실 기는 팔미토일 및 미리스토일을 포함하는 것으로 개시된다. 리신을 알라닌 또는 아르기닌으로 치환하는 것과 생성한 3개 아미노산 서열을 팔미토일 또는 미리스토일 기로 아실화하는 것을 개시함으로써, '667호 공보는 다음의 아실화된 펩티드를 개시한다: Pal-Gly-His-Arg; Pal-Arg-His-Ala; Pal-Arg-His-Gly; Pal-Ala-His-Arg; Myr-Gly-His-Arg; Myr-Arg-His-Ala; Myr-Arg-His-Gly; Myr-Ala-His-Arg. 그러나 이 특허 공보는 이들 아실화된 트리펩티드에 대한 C-말단 아마이드화 또는 본 발명의 중합성 생계면활성제의 평균, 자극 및/또는 증식 특성을 개시하지 않는다. 또한, 상기 공보에 개시된 트리펩티드는 중성 pH에서 오직 양으로 하전된 아미노산 잔기를 갖는다. 이하에 논의된 바와 같이, 본 발명의 중합성 생계면활성제는 보통 2개, 및 흔히 3개의 양으로 하전된 아미노산 잔기를 함유한다.
- <21> 트리펩티드-2는 Vincience로부터 상품명 I.E.L로 시판되는 합성 펩티드이다. INCI 사전에 따르면, 이것은 2개의 아미노산 잔기 - 티로신 및 발린을 함유한다. 이 아미노산 서열은 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 드는 생계면활성제가 아니다.
- <22> 아미노산 서열 Gly-His-Arg을 갖는 트리펩티드-3은 Therapeutic Peptides Inc.에 의해 시판 물질로 개시되었다. 이 아미노산 서열은 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 드는 생계면활성제가 아니다.
- <23> 과학 문헌은 Gly-His-Lys-Cu, 구리 트리펩티드,는 섬유아세포에 의한 콜라겐 합성에 대하여 자극 효과를 갖는다고 보고한다. 참고: Maquart FX et al., FEBS Lett. 238(2):343-6 (1988). 또한 참고: Oddos T et al. "Requirement of Copper and Tripeptide Glycyl-L-Histidyl-L-Lysine-Cu (GHK) Complex Formation for Collagen Synthesis Activity in Normal Human Dermal Fibroblasts" presented at the 60th Annual Meeting American Academy of Dermatology (New Orleans, LA, February 2002). 또한 상기 구리 트리펩티드는 상처 치유를 증진시키는 것으로 보고되었다. 참고: Fish, et al., Wounds 3:171 (1991); Mulder et al., Wound Rep. and Regen. 2: 259 (1994).
- <24> Gly-His-Lys-Cu의 화장품 용도는 ProCyte 코포레이션에게 양도된 미국특허 번호 5,135,913호 및 5,348,943호에 기재되어 있다. 상업적으로, 상기 구리 트리펩티드는 뉴트로지나 비지블리 펴م 나이트 크림(Neutrogena Visibly Firm Night Cream)에서 뿐만 아니라 ProCyte Corp에 의해 상품명 Simple Solutions[®] 노화방지 스킨 케어(스파 및 미용인을 통하여 시판) 및 Neova[®] (피부과의를 통하여 시판)로 시판되는 제품에서 성분으로 사용된다.
- <25> 1993년 2월 25일 공고된 독일 특허 출원 DE 41 27 790 A1호는 피부의 상태를 개선시키기 위하여 Gly-His-Lys의 Mg, Mn, Zn 및 Ge 착물의 사용을 개시한다. 유럽 특허청 웹사이트인 espacenet.net 상에 공개된 상기 특허 출원

에 대한 서지적 데이터는 펩티드의 3개 성분 아미노산의 각각이 리신, 히드록시리신, 프롤린, 히드록시프롤린, 아르기닌, 글리신 또는 히스티딘 중의 하나인 트리펩티드를 개시한다. 더욱 특히, 화학식 B1-B2-B3에 상응하는 트리펩티드가 개시되며, B1, B2 및 B3 각각은 7개의 상술한 아미노산 중의 하나이다.

- <26> 독일 특허 출원 DE 42 44 418 A1호는 트리펩티드일 뿐만 아니라 더 긴 펩티드 잔기의 일부인 Gly-His-Lys 및 Gly-Asp-Ser를 1 picoM 내지 0.01M의 농도로 함유하는 화장품 및 약학적 조성물을 개시한다. 이들 조성물은 염산을 사용한 콜라겐, 엘라스틴, 케라틴 또는 결합 조직의 온화한 가수분해 또는 씨. 히스토리티쿰 (*C. histolyticum*) 콜라게나아제를 사용한 부분적 가수분해에 의해 제조될 수 있는 것으로 개시되어 있다. 개시된 내용 중에서 노화방지 스킨 케어 적용은 콜라겐 합성의 자극 및 자유 라디칼의 파괴이다.
- <27> 프랑스 특허 출원 FR 2 826 577 A1호는 서열 Lys-Pro-Val을 함유하는 펩티드를 개시한다. 상기 출원에 따르면, 상기 서열을 함유하는 조성물의 국소 적용은 상피 지질(즉, 콜레스테롤, 지방산, 및 스핀고지질)의 합성에 관여된 효소를 코딩하는 유전자의 발현을 증가시키므로, 피부 장벽 기능을 개선시킨다. 개시된 펩티드 서열은 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 드는 생계면활성제가 아니다.
- <28> 미국특허 5,493,894호는 적어도 3개 아르기닌 또는 리신 잔기로 구성된 트리-, 테트라- 및 펜타펩티드 잔기를 함유하는 피부 주름을 치료하기 위한 조성물을 개시한다. 그 중에서 특이적으로 개시된 트리펩티드는 다음과 같다: (i) H-Arg-Lys-Arg-OH; (ii) H₃C-C(O)-Arg-Lys-Arg-NH₂. 이들 2개의 특이적으로 개시된 서열은 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 드는 생계면활성제가 아니다.
- <29> 미국특허 출원 공보 2003/0166510호는 구리(II), 주석(II), 주석(IV) 또는 아연(II)의 하나가 다음 아미노산 서열: Gly-His-Lys; Gly-Gly-His; His-Gly-Gly; Gly-Gly-Gly; Ala-Gly-His; Gly-Cys-Gly; His-Gly-His와 착화된 이온성 금속-트리펩티드 착물의 사용을 개시한다. 상술한 금속-트리펩티드 착물은 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 드는 생계면활성제가 아니다.
- <30> 미국특허 출원 공보 2006/0013794호는 아미노산 서열 Arg-Gly-Ser를 함유하는 트리-, 테트라-, 펜타-, 헥사-, 헵타- 및 노네펩티드를 포함하는 화장품, 피부학적 및/또는 약학적 조성물을 개시한다.
- <31> 테트라펩티드-1은 4개의 아미노산 잔기 - 로이신, 프롤린, 트레오닌 및 발린을 함유하는 합성 펩티드에 할당된 INCI 명칭이다. 이것은 Vincience에 의해 상품명 I.E.L. Leucocytar Elastase Inhibitor로서 시판되고 있다. 상기 논의한 바와 같이, 아미노산 서열 단독은 자가 응집되기에 충분한 소수성을 갖지 않으므로 CMC를 갖지 않고 또 따라서 본 특허의 범위에 드는 생계면활성제가 아니다. 또한, 상기 화합물 중의 4개 아미노산의 어떤 것도 전하를 갖지 않는다. 이러한 부가적 이유로 인하여, 상기 화합물은 본 발명의 범위에 들지 않는다.
- <32> 테트라펩티드-4는 Therapeutic Peptides Inc.에 의해 상품명 Collasyn 4 GG로 시판되는 합성 테트라펩티드로 지정된 INCI 명칭이다. 이것은 3개의 아미노산 잔기 - 글리신, 글루탐산 및 프롤린을 함유한다. 보다 특히, 이 펩티드는 서열 Gly-Glu-Pro-Gly를 갖는다. 상술한 이유로 인하여, 이 아미노산 서열은 본 발명의 범위에 드는 생계면활성제(즉, CMC를 갖지 않고, 자가-응집되지 않음)가 아니다.
- <33> Therapeutic Peptides Inc.는 또한 상품명 Collasyn 414 GG로 시판되는 아실화된 아미노산 서열 Myr-Gly-Glu-Pro-Gly를 개시하였다. 500 ppm 이하의 농도에서, 상기 서열은 대장균, 피. 아크네스(*P. acnes*), 피.아에루기노사(*P. aeruginosa*), 에스. 아우레우스(*S. aureus*) 및/또는 씨. 알비칸스(*C. albicans*)의 생장을 억제하지 않으므로 본 발명의 범위에 속하지 않는다.
- <34> 아세틸 테트라펩티드-1은 아세트산과 3개의 아미노산 사열 잔기 - 글리신, 히스티딘 및 리신을 함유하는 합성 펩티드의 반응 생성물이다. 이것은 I.E.B에 의해 상품명 Kollaren 6으로 시판된다. 상술한 이유로 인하여, 상기 아미노산 서열은 본 발명의 범위에 속하는 생계면활성제(즉, CMC를 갖지 않고, 자가-응집되지 않음)가 아니다.
- <35> 아세틸 테트라펩티드-2는 아세트산과 4개의 아미노산 사열 잔기 - 아스파르트산, 리신, 티로신 및 발린을 함유하는 합성 펩티드의 반응 생성물이다. I.E.B에 의해 제조되며, 이 생성물은 Atrium Biotechnologies에 의해 상품명 Thymulen 4로 시판된다. 생성물 문헌은 피부 재생 특성을 갖는 티모포이에틴으로부터 유도된 생체모방 펩티드로서 Thymulen 4를 기재한다. 상술한 이유로 인하여, 상기 아미노산 서열은 본 발명의 범위에 속하는 생계면활성제(즉, CMC를 갖지 않고, 자가-응집되지 않음)가 아니다.
- <36> 서열 Gly-Gln-Pro-Arg을 갖는 테트라펩티드인 리진(Rigin)은 Veretennikova, et al.에 의해 Int. J. Peptide Protein Res., 17: 430 (1981)의 과학 문헌에 보고되어 있다. 팔미토일 테트라펩티드는 INCI 사전에서 팔미트산 및 글리신, 글루타민, 프롤린 및 아르기닌을 함유하는 합성 펩티드의 반응 생성물로서 기재되어 있다. 이것은

Sederma로부터 상업적으로 입수할 수 있다.

- <37> 500 ppm 이하의 농도에서, 아실화된 아미노산 서열 Pal-Gly-Gln-Pro-Arg-산은 대장균(*E.coli*) 및 피.아에루기노사(*P. aeruginosa*)를 비롯한 미생물의 성장을 억제하지 않으므로, 본 발명의 범위에 속하지 않는다. 또한 상기 화합물 및 그의 아미드-말단 유사체는 포유동물 세포주에서 유의한 독성을 나타낸다(즉, 37세 여성 섬유아세포에서 LD₅₀ < 100을 가짐).
- <38> Eyeliss는 2개의 펩티드를 조합한 원료 추출물의 상품명이며 또 눈 아래의 붓기 및 다크 서클의 생성을 감소시키기 위해 Sederma에 의해 시판되고 있다. 국제 특허 출원 PCT FR-03/00441호에 기재된 바와 같이, 이것은 헤스페리딘 메틸 칼콘 및 2개의 아실화된 펩티드 단편 - 발릴-트립토판 및 N-팔미토일-Gly-Gln-Pro-Arg의 조합이다. 보다 일반적으로, 이 PCT출원은 C₂-C₂₂ 탄소 사슬에서 시작해서 서열 Pro-Arg-OH에서 끝나는 트리-, 테트라- 및 펜타펩티드를 개시한다. 미국특허 6,974,799호에 따르면, Val-Trp 디펩티드는 유의한 콜라겐 자극 활성을 가지지 않으며 또 그의 Gly-Gln-Pro-Arg 테트라펩티드와 조합은 테트라펩티드 단독을 사용하여 실현된 레벨에 비하여 그 특성 면에서 어떠한 향상도 나타내지 않는다.
- <39> Matrixyl 3000은 2개의 아실화된 펩티드, N-팔미토일-Gly-Gln-Pro-Arg 및 N-팔미토일-Gly-His-Lys의 조합물에 대한 상품명이다. 미국특허 6,974,799호는 (i) 약 0.00001% 내지 약 0.5% (조성물의 전체 중량을 기준하여)의 적어도 1개의 "리진-게 테트라펩티드"(Gly-Gln-Pro-Arg로서 정의됨) 및 약 0.00001% 내지 약 1.0%의 적어도 1개의 트리펩티드 Gly-His-Lys, 이때 트리펩티드는 테트라펩티드보다 많은 양으로 존재하며; 및 (ii) 적어도 1개의 부가적인 피부 케어 성분을 포함하는 국소 조성물을 개시한다. 개시된 조성물은 노화 및 임신선의 가시적 증상 뿐만 아니라 눈 아래의 가시적 다크 서클도 감소시키는데 유용한 것으로 시사되어 있다.
- <40> DE 41 27 790호는 Mg, Mn, Cu, Zn, Ge, Ni, Fe, Mo 및 Co와의 올리고펩티드 금속 착물의 일부로서 이하의 테트라펩티드를 개시한다:
- <41> (i) Gly-His-Lys-Lys; (ii) Gly-His-Lys-Gly; (iii) Gly-His-His-Gly; (iv) Gly-His-His-Lys; (v) Gly-His-Arg-Lys; (vi) Gly-His-Arg-Gly; (vii) Gly-His-Pro-Lys; (viii) Gly-His-Pro-Lys; (ix) Hyp-Gly-Lys-Lys; (x) Hyp-Gly-His-Lys; (xi) Hyp-Gly-Arg-Lys; (xii) Hyp-Gly-Pro-Lys; (xiii) Arg-Gly-Lys-Lys; (xiv) Arg-Gly-Lys-Lys; (xv) Arg-Gly-His-Lys; (xvi) Arg-Gly-His-Lys; (xvii) Arg-Gly-Arg-Lys; (xviii) Arg-Gly-Arg-Lys; (xix) Arg-Gly-Pro-Lys; 및 (xx) Arg-Gly-Arg-Lys, 이때 Hyp는 히드록시프롤린임.
- <42> ep.espacenet.com에서 공개된 독일 특허 출원 DE 41 27 790호에 대한 서지적 데이터는 또한 펩티드의 첫번째 3개 아미노산 각각이 리신, 히드록시리신, 프롤린, 히드록시프로필린, 아르기닌, 글리신 또는 히스티딘 중의 하나이고 또 네번째 아미노산이 상술한 3개 아미노산 중의 하나와 동일한 테트라펩티드를 개시한다. 더욱 특히, 테트라펩티드는 화학식 B1-B2-B3-B1, B1-B2-B3-B2 및 B1-B2-B3-B3에 상응한다. 본 출원에 개시된 올리고펩티드 금속 착물은 CMC를 갖지 않으므로 자가-응집되지 않는다. 이러한 이유로 이들은 본 발명의 범위에 드는 생계면활성제가 아니다.
- <43> 미국특허 5,493,894호는 특히 다음 테트라펩티드를 함유하는 피부 주름을 처리하기 위한 조성물을 개시한다: (i) H-Arg-Gly-Arg-Lys-OH 및 (ii) H-Lys-Arg-Ser-Arg-NH₂. 이들은 생계면활성제가 아니므로 본 발명의 범위에 속하지 않는다.
- <44> 미국 특허 출원 공보 2003/0166510호는 테트라펩티드 Gly-His-Lys-His와 착화된 이온 금속을 개시한다. 상기 금속 이온/테트라펩티드 착물을 포함하는 국소용 조성물은 피부 결점을 감소 또는 제거하는데 유용한 것으로 시사되어 있다.
- <45> Therapeutic Peptides Inc.는 무역 문헌에서 아미드-말단 VPAA 테트라펩티드 서열 뿐만 아니라 미리스토일 테트라펩티드-5, VPAA 서열을 갖는 아실화된 합성 펩티드를 개시하였다. 후자는 상품명 Collasyn 414 VA로 시판되고 있다. 500 ppm 이하의 농도에서, 상기 아실화된 아미노산 서열은 대장균을 비롯한 미생물의 성장을 억제하지 않는다. 또한 상기 서열은 하전된 아미노산 잔기를 함유하지 않는다. 따라서, 이러한 이유로, Myr-Val-Pro-Ala-Ala는 본 발명의 범위에 속하지 않는다.
- <46> 미국특허 4,665,053호는 엘라스틴 용해활성도의 억제제 및 탄성 섬유 보호제로서 작용하는 것으로 정의된 "이 작용성" 합성 리포펩티드를 개시한다. 부가적으로, 이들 리포펩티드 잔기는 탄성 섬유를 인식하여 그 위에 고정될 수 있을 뿐만 아니라 엘라스타아제의 활성 부위를 인식하여 중화시킬 수 있는 것으로 기재된다. 보다 특히, 상기 참고문헌은 하기 화학식에 상응하는 2개의 순차적인 L-알라닌 잔기를 갖는 리포펩티드를 개시한다:

- <47> $R-X-(P_1)_x-(L-Ala-L-Ala-P_2)-A$
- <48> 식 중에서,
- <49> P_1 는 길이가 2 내지 8개 잔기의 아미노산 서열이고;
- <50> x 는 0 또는 1이며;
- <51> R 은 아실화된 소수성 카르복시산임. P_2 는 L-Ala, L-Val, L-Pro-L-Ala 또는 L-Pro-L-Val 중의 하나로 시사된다. A 는 알데히드, 알코올, 아마이드 또는 클로로메틸 케톤 형태에서 C-말단이다.
- <52> 팔미토일 펜타펩티드-2는 팔미트산 및 4개의 아미노산 잔기 -티로신, 글리신, 페닐알라닌 및 로이신으로 구성된 합성 펩티드의 반응물이다. 이것은 Sederma로부터 입수할 수 있다. 이 아실화된 아미노산 서열은 하전된 잔기를 함유하지 않으므로 본 발명의 범위에 속하지 않는다.
- <53> 펜타펩티드-3은 Sederma에 의해 상품명 Matrixyl로 시판된다. 이것은 INCI 사전에서 팔미트산 및 리신, 트레오닌 및 세린 잔기로 구성된 합성 펩티드의 반응 생성물로서 기재되어 있다. INCI 사전은 상기 물질의 아미노산 서열을 수록하고 있지 않다. 추가의 정보없이, "구성되는"는 오직 3개의 수록된 아미노산 잔기가 생성물에 존재하는 것을 의미하며, 상기 참고문헌은 어떤 것이 특별한 특성을 갖는다는 제시없이 60개의 조합을 제시할 것이다.
- <54> 완성품 회사의 무역 문헌 및 마케팅 자료에 기재된 바와 같이, Matrixyl 펜타펩티드의 아미노산 서열은 Lys-Thr-Thr-Lys-Ser이다. 이 화합물은 또한 USPN 6,620,419호에 기재되어 있으며, 이것은 화학식 $R_1-X-Thr-Thr-Lys-(AA)_n-Y$ 에 따른 펩티드를 청구하고 있다. X 는 D 또는 L 배향을 갖는 7개 아미노산 중의 하나로 정의된다. 7개 아미노산 중에서 X 위치에 있는 아미노산은 리신이다. R_1 은 수소 또는 팔미토일을 포함하는, 2 내지 22개 탄소원자의 지방산 사슬인 것으로 시사된다. $(AA)_n$ 는 n 개 아미노산의 사슬을 나타내는 것으로 시사되며, 이때 n 은 0 내지 5로 다양하다. Y 는 OR_2 또는 NR_2R_3 으로 정의되며, 이때 R_2R_3 은 수소일 수 있어 산 및 아마이드 C-말단을 초래한다.
- <55> Pal-KTTKS-산은 500 ppm 미만의 농도에서 항균 활성을 나타내지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 중합성 생계면활성제가 아니다.
- <56> Collasyn 514KS는 미리스토일 펜타펩티드-3의 상품명이다. 이 합성 펩티드는 서열 Myr-KTTKS-아미드 에 트레오닌, 세린 및 리신 잔기를 함유하며 Therapeutic Peptides Inc로부터 입수할 수 있다. 이 잔기는 용해성 대사 단백질에서 증가를 초래하며, 세포 턴오버를 증가시키지 않으며, 또 소망하는 항균 특성을 보유하지 않는다. 이러한 이유로 인하여, Collasyn 514KS는 본 발명의 범위에 속하지 않는다.
- <57> DE 41 27 790 A1호는 Mg, Mn, Cu, Zn, Ge, Ni, Fe, Mo 및 Co와 착화된 다음 서열의 펜타펩티드를 개시한다: (i) Hyp-Gly-Lys-Hyp-Gly; (ii) Hyp-Gly-His-Lys-Gly; (iii) Gly-Pro-Lys-Gly-Pro. 이들 펩티드는 아실화되지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 생계면활성제가 아니다.
- <58> ep.espacenet.com에서 공개된 독일 특허 출원 DE 41 27 790호에 대한 서지적 데이터는 펜타펩티드를 개시하며, 이때 (i) 첫 3개의 아미노산 각각은 리신, 히드록시리신, 프롤린, 히드록시프롤린, 아르기닌, 글리신 또는 히스티딘 중의 하나이고 또 (ii) 4번째 및 다섯번째 아미노산은 앞의 3개 아미노산 중의 하나와 동일하다. 더욱 특히, 상기 서지적 데이터는 다음 6개 화학식에 상응하는 펜타펩티드를 개시한다: (i) B1-B2-B3-B1-B2; (ii) B1-B2-B3-B2-B3; (iii) B1-B2-B3-B2-B3; (iii) B1-B2-B3-B2-B1-B3; (iv) B1-B2-B3-B2-B1 ; (v) B1-B2-B3-B3-B2; 및 (vi) B1-B2-B3-B3-B1, 이때 B1, B2 및 B3 각각은 리신, 히드록시리신, 프롤린, 히드록시프롤린, 아르기닌, 글리신 또는 히스티딘임. 이들 펩티드는 아실화되지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 생계면활성제가 아니다.
- <59> 아세틸 펜타펩티드-1은 Atrium Biotechnologies에 의해 상품명 Thymulen으로 시판되고 있다. 이것은 아세트산 및 펜타펩티드-1의 반응 생성물이다. 제품 문헌에는, Thymulen은 과립구-대식세포 콜로니 자극 인자의 분비를 유도하여 각질세포의 증가 및 분화를 초래하는 것으로 기재되어 있다. 이 펩티드 잔기는 측정가능한 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 생계면활성제가 아니다.
- <60> Therapeutic Peptides Inc.는 다음 아마이드-말단 아미노산 서열을 판매용으로 제공한다: EVEDQ; DSDPR; GRKGD; GEESN; KKALK; KRGDR; LPPSR. 이들 펩티드는 아실화되지 않으므로 CMC를 갖지 않으며 본 발명의 범위에 속하는

생계면활성제가 아니다.

- <61> 미국특허 6,492,326호는 피부학적으로 허용되는 담체에서 "부가적 피부 케어 활성제"와 조합된 펜타펩티드 및/또는 펜타펩티드 유도체 및 그의 혼합물을 청구한다. 이들 부가적 피부 케어 활성제는 디-, 트리- 및 테트라펩티드(및 이들의 유도체) 뿐만 아니라 레티노이드, 히드록시산, 항염증제, 항진균제 및 항균제를 포함하는 것으로 개시된다.
- <62> "Peptide Conjugates, Use Thereof as a Drug and Compositions Containing Same" 명칭의 WO 97/18235호는 1997년 5월에 공개되었다. 펜타펩티드 및 펜타펩티드 유도체는 페이지 6 #s 2, 5, 7, 9, 11 및 페이지 7 #14에 기재되어 있다. 부가적 피부 케어 활성제, 특히 항진균제 및 항균제는 페이지 8, 19-24행에서 개시된 펩티드와 조합되어 시사되어 있다. WO 97/18235호는 개시된 펩티드 및 이들의 유도체가 화장품 공업에서 잘 공지된 부형제와 함께 크림, 젤, 밀크, 로션 및 스프레이에 사용될 수 있다고 개시되어 있다. 상기 출원의 페이지 3은 또한 상기 펩티드 서열이 직쇄 또는 분기된, 포화 또는 불포화, C₁-C₂₀ 모노카르복시산에 의해 아실화될 수 있다고 개시한다. 더욱 특히, 상기 출원은 올리고펩티드 내에 특정 아미노산 서열 Gly-His-Lys를 갖는 리포-올리고펩티드를 개시한다. 본 발명의 생계면활성제는 상기 특정 서열을 함유하지 않는다.
- <63> 이하의 아미노산 서열의 헥사펩티드는 DE 41 27 790 A1호에 의해 Mg, Mn, Cu, Zn, Ge, Ni, Fe, Mo 및 Co 중의 하나와 착화되는 것으로 시사되어 있다: (i) Gly-Pro-Arg-Gly-Pro-Hyp; (ii) Gly-His-Hyp-Gly-Lys-Pro; (iii) Gly-Lys-Pro-Gly-Arg-Hyp; (iv) Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Pro; (v) Gly-His-Arg-Gly-His-Lys. 이들 펩티드 잔기는 아실화되지 않기 때문에 이들은 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 생계면활성제가 아니다.
- <64> 헥사펩티드-1은 6개 아미노산 잔기 - 알라닌, 아르기닌, 히스티딘, 로이신, 페닐알라닌 및 트립토판으로 구성된 합성 펩티드이다. 이들 펩티드 잔기는 아실화되지 않기 때문에 이들은 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 생계면활성제가 아니다.
- <65> 아세트산 및 헥사펩티드-1의 반응 생성물인 아세틸 헥사펩티드-1은 Vincience에 의해 상품명 Melitane으로 시판된다. 이 펩티드 잔기는 측정가능한 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 생계면활성제가 아니다.
- <66> Melitane 5 PP는 텍스트란 및 아세틸 헥사펩티드-1에 대한 상품명이다. Melitane 5 PS는 물 텍스트란 및 아세틸 헥사펩티드-1에 대한 상품명이다. PP 및 PS는 각각 펩티드 분말 및 펩티드 용액을 나타낸다. PS 제품은 무역 문헌에 알파 멜라노사이트 자극 호르몬의 활성을 흉내내고 멜라닌형성(melanogenesis)를 자극하는 펩티드로서 기재되어 있다. 이들은 모두 I.E.B로부터 상업적으로 입수할 수 있다. 이 펩티드 잔기는 측정가능한 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 생계면활성제가 아니다.
- <67> 아세틸 헥사펩티드-3은 3개의 아미노산 - 아르기닌, 메티오닌 및 아세틸화된 글루탐산으로 구성된 합성 펩티드이다. 이것은 Lipotec에 의해 상품명 Argireline으로 시판되고 있다. 이 펩티드 잔기는 측정가능한 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 생계면활성제가 아니다.
- <68> 헥사펩티드-4는 리신, 트레오닌 및 세린 잔기를 함유하는 합성 펩티드로서 Therapeutic Peptides Inc.으로부터 상품명 Collasyn 6KS로 시판되고 있다. 이 펩티드 잔기는 아실화되지 않아 CMC를 갖지 않는다; 따라서, 이것은 본 발명의 범위에 속하는 생계면활성제가 아니다.
- <69> 헥사펩티드-5는 발린, 티로신, 글루탐산, 프롤린 및 이소로이신 잔기를 함유하는 합성 펩티드이다. 이것은 Therapeutic Peptides Inc.으로부터 상품명 Collasyn 6VY로 시판되고 있다. 이 펩티드 잔기는 아실화되지 않아 CMC를 갖지 않는다; 따라서, 이것은 본 발명의 범위에 속하는 생계면활성제가 아니다.
- <70> 헥사펩티드-6은 서열 VEPICY를 갖는 합성 펩티드이다. 이것은 Therapeutic Peptides Inc.으로부터 시판되고 있다. 이 펩티드 잔기는 아실화되지 않아 CMC를 갖지 않는다; 따라서, 이것은 본 발명의 범위에 속하는 생계면활성제가 아니다.
- <71> 과학 문헌은 콜라겐, 피브로넥틴, 엘라스틴 및 엘라스틴의 용해성 전구체인트로포엘라스틴을 포함하는 세포외 매트릭스의 몇 개 성분의 주화성(chemotactic) 활성을 기재한다. 섬유아세포에 대한 엘라스틴의 주화성 활성은 헥사펩티드 서열 Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly를 반복하는 것과 관련되는 것으로 보고되어 있다. Senior RM et al., J. Cell Biol. 99(3): 870-874 (1984). 서열로서 Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly는 인간 피부 섬유아세포의 생장을 자극하는 것으로 보고되었다. Kamoun A. et al., Cell Adhes. Commun., 3(4): pp. 273-81 (1995). 이 펩티드 서열은 아실화되지 않기 때문에 CMC를 갖지 않는다; 따라서, 이것은 본 발명의 범위에 속하는 생계면활성제가 아니다.

- <72> 팔미토일-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly는 Sederma로부터 상품명 Biopeptide EL로 시판되는 아실화된 헥사펩티드이다. Biopeptide EL에 대한 INCI 명칭은 팔미토일 올리고펩티드이다. 이 펩티드 서열은 적어도 1개의 하전된 아미노산 잔기를 함유하지 않기 때문에, 본 발명의 범위에 속하지 않는다.
- <73> 미국특허 출원 공개 2004/0120918호는 3 내지 12개 아미노산 길이의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드(또는 아실화된 폴리펩티드)의 항노화 활성을 향상시키는 세라미드의 사용을 개시한다. '918호 공보는 Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly 헥사펩티드의 N-아실 유도체를 개시하며, 이때 아실 사슬은 2-22개 탄소원자의 직쇄 또는 분기, 포화 또는 불포화된, 히드록시화되거나 비-히드록시화된 알코일이다. 이 공고는 특히 3개의 세라미드, n-스테아로일-디히드로스핀고신, 트리히드록시팔미트아미도히드록시-프로필미리스틸 에테르 또는 팔미트아미도미리스틸세리네이트와 조합된 Biopeptide EL을 개시한다. 이 특정 헥사펩티드 아미노산 서열은 본 발명의 중합성 생계면활성제에 함유되지 않는다.
- <74> Sederma로부터 시판되는 제품 Bio-Bustyl은 Pal-VGVAPG 및 Pal-GHK의 조합이다. 이 화합물에 대한 INCI 명칭은 글리세릴 폴리메타크릴레이트 - 라벨라/소이 단백질 발효물 - 물(아쿠아)- 프로필렌 글리콜- 글리세린- PEG-8 - 팔미토일 올리고펩티드이다. Pal-VGVAPG는 하전된 아미노산 잔기를 함유하지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 중합성 생계면활성제가 아니다.
- <75> 미리스토일 헥사펩티드-6은 Therapeutic Peptides Inc.로부터 상품명 Coilasyn 614VG로 시판된다. INCI 사전에 따르면, 이것은 미리스트산과 발린, 글리세린, 알라닌 및 프롤린 잔기를 함유하는 합성 펩티드의 반응 생성물이다. Coilasyn 614VG는 하전된 아미노산 잔기를 함유하지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 중합성 생계면활성제가 아니다.
- <76> 아세틸 헥사펩티드-7은 아세트산 및 헥사펩티드-7의 반응 생성물로 INCI 사전에 기재되어 있다. 이것은 Atrium Biotechnologies에 의해 상품명 Melitane 5로 시판되고 있다. Melitane 5 PP 및 5 PS는 텍스트란 및 아세틸-헥사펩티드-7의 혼합물이고, 5 PS는 또한 물을 함유한다. 이들은 I.E.B로부터 입수할 수 있다. 이 펩티드 잔기는 측정가능한 CMC를 가지지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 중합성 생계면활성제가 아니다.
- <77> 팔미토일 올리고펩티드는 Sederma로부터 시판되는 상품명 Biopeptide FN에 대한 INCI 표시이다. 미국특허 출원 공개 2002/0025303호에 기재된 바와 같이, Biopeptide FN은 아르기닌, 아스파르트산, 글리신 및 세린으로 구성된다. 본 발명의 조성물의 어떤 것도 이들 아미노산의 4개 전부로 구성되지 않는다.
- <78> 헥사펩티드-8은 Therapeutic Peptides Inc.에 의해 아미드-말단 서열 Ser-Thr-Lys-Thr-Thr-Lys 로서 시판된다. 이 펩티드 잔기는 아실화되지 않기 때문에, CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 중합성 생계면활성제가 아니다.
- <79> WO 9962482호는 알킬-헵타펩티드를 개시하며, 9- 내지 13-원 탄소사슬이 헵타펩티드 서열 GIu - Leu - Leu - Val - Asp - Leu - X1의 N-말단에 결합되어 있다. 이때 X1은 20개의 천연 산출 아미노산, 히드록시프롤린 및 호모세린으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산이다. 본 발명의 조성물의 어떤 것도 6개 아미노산 서열 Glu-Leu-Leu-Val-Asp-Leu를 함유하지 않는다.
- <80> 물 및 텍스트란과의 혼합물 중의 노나펩티드-1은 Atrium Biotechnologies에 의해 상품명 Melanostatine 5으로 시판된다. 제품 문헌에 따르면, 이것은 피부 미백용 생체모방 펩티드이다. 이 펩티드 잔기는 아실화되지 않기 때문에 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 중합성 생계면활성제가 아니다.
- <81> Therapeutic Peptides Inc.는 서열 VQGEESNDK를 갖는 아미드-말단 노나펩티드를 시판하고 있다. 이 펩티드 잔기는 아실화되지 않기 때문에 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 중합성 생계면활성제가 아니다.
- <82> 미국특허 출원 공보 2005/0124545호는 15개 아미노산 서열 X₁-Y-Phe-Thr-X₂-Ala-Thr-Z-Ile-X₃-Leu-X₄-Phe-Leu-X₅를 함유하는 화장품, 피부학적 및/또는 약학적 조성물을 개시한다. X₁, X₂, X₃, X₄ 및 X₅ 각각은 Arg, Lys 또는 His 중의 하나로 정의된다. Y는 Asp 또는 Glu로 정의된다. Z는 Asn 또는 Gln으로 정의된다. 이들 특정 아미노산 서열은 본 발명의 중합성 생계면활성제 내에 함유되지 않는다. 또한, 상기 식에 따른 펩티드 잔기는 아실화되지 않기 때문에 이들은 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 중합성 생계면활성제가 아니다.
- <83> 바스콤 등에게 허여된 미국특허 5,492,894호는 3 내지 6개 아미노산 잔기를 가지며, 이들의 2개는 Arg이고 이들의 하나는 리신이며, 포유류 피부 주름의 화장품 처리에 유용한 펩티드를 개시한다. 이하의 38개 아미노산 서열이 개시된다: (1) RGRK; (2) KRSR; (3) RSRK; (4) YRSRKY; (5) YRSRK; (6) RSRKY; (7) TYRSRKYS; (8)

SYRSRKYT; (9) SYRSRKYS; (10) TYRSRKYT; (11) RSRKYT; (12) TYRSRK; (13) RSR KYS; (14) SYRSRK; (15) YRSRKYT; (16) TYRSRKY; (17) YRSRKYS; (18) SYRSRKY; (19) NTYRSRKYSS; (20) NSYRSRKYTS; (21) NSYRSRKYSS; (22) NTYRSRKYTS; (23) RSRKYTS; (24) NTYRSRK; (25) RSRKYSS; (26) NSYRSRK; (27) YRSRKYTS; (28) NTYRSRKY; (29) YRSRKYSS; (30) NSYRSRKY; (31) TYRSRKYSS; (32) NTYRSRKYS; (33) SYRSRKYTS; (34) NSYRSRKYT; (35) SYRSRKYSS; (36) NSYRSRKYS; (37) TYRSRKYTS; 및 (38) NTYRSRKYT. 알킬로일은 서열 중의 첫번째 아미노산에 부착될 수 있는 기이다.

<84> 미국 특허 6,875,744호는 적어도 80% 페닐알라닌, 로이신, 알라닌 및 리신 잔기를 포함하는 5 내지 22개 아미노산 길이의 비-아실화된 펩티드 서열을 개시한다. '744호 특허에 개시된 펩티드는 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 중합성 생계면활성제가 아니다.

발명의 상세한 설명

<85> 발명의 요약

<86> 본 발명은 수성 환경에서 표면 장력을 약 50 다인/cm² 미만으로 감소시키는 최소 필수 배지("MEM") 용액(이하에 정의된 바와 같음)의 수성 환경에서 약 200 ppm 미만의 임계적 미셀 농도를 갖는 이하에 기재된 표에 있는 서열 목록에 기재된 중합성 아실화된 생계면활성제("PAB")에 관한 것이다. 더욱 특히, PAB는 필수적으로 (i) 분기된 또는 비분기된, 포화 또는 불포화된 8-원 내지 22원 탄소사슬; (ii) 적어도 1개, 바람직하게는 적어도 2개가 하전된 4 내지 9개 아미노산 잔기; 및 (iii) 산 C-말단 또는 아미드 C-말단으로 구성된다. 본 출원에 사용된 바와 같이, 하전된 아미노산은 리신, 아르기닌, 아스파르트산 및 글루탐산을 의미한다. 놀랍게도, 본 발명의 PAB는 대사성 용해성 단백질을 적어도 약 20%까지 증가시키는 능력을 갖는 것으로 밝혀졌다. 또한, 이들은 포유류 세포에 대하여 비교적 낮은 독성을 가지며 - 바람직하게는 37세 여성 섬유아세포에서 200 ppm 이상의 LD₅₀ - 뿐만 아니라 세포외 피부 매트릭스 단백질의 합성을 증가시키거나 및/또는 분해를 감소시키는 능력을 갖는다.

<87> 이하의 서열 목록은 본 명세서의 일부이며 본 발명의 특정 요지를 자세히 하기 위해 포함된다. 본 발명은 이하에 제시된 본 발명의 상세한 설명과 함께 이들 서열 1 이상을 참조하면 더 잘 이해될 것이다:

<88>	서열 번호	서열
<89>	1	Myr-KAKA 아미드
<90>	2	Myr-AKAK 아미드
<91>	3	Pal-GRKG 아미드
<92>	4	Myr-GRKG 아미드
<93>	5	Myr-LAKK 아미드
<94>	6	Pal-GQPR 아미드
<95>	7	Myr-KLAKK 아미드
<96>	8	Pal-KLAKK 산
<97>	9	Myr-KKGEM 아미드
<98>	10	Myr-KRGKP 아미드
<99>	11	Pal-KRGDR 산
<100>	12	Myr-KKALK 아미드
<101>	13	Pal-KKALK 아미드
<102>	14	Pal-KKALK 산
<103>	15	Myr-KKLAK 아미드
<104>	16	Pal-GRKGD 산
<105>	17	Myr-GRKGD 아미드

<106>	18	Myr-KLAKKL 산
<107>	19	Myr-AKKLAK 아미드
<108>	20	Myr-AKKALK 산
<109>	21	Myr-STKTTK 아미드
<110>	22	Myr-SRVSRRSR 아미드
<111>	23	Myr-LAKLAKKAF 아미드
<112>	24	Myr-LAKKALKAF 산
<113>	25	Myr-d-[KLAKKL] 산
<114>	26	Myr-TKTSKS 아미드
<115>	27	Myr-KRGDR 아미드
<116>	28	Myr-KSSKS 아미드
<117>	29	Myr-KTTK 아미드
<118>	30	Myr-KKAL-d-[K]-아미드
<119>	31	Myr-LKKALK 산
<120>	32	Myr-KAKL 아미드
<121>	33	Myr-LAKK 아미드

<122> 상기 표에 있는 서열 목록은 본 명세서의 말미에 서열목록으로 제시되며 연구 목적을 위해 제공된 콤팩트 디스크 서열 목록 상에 컴퓨터 판독가능한 형태로 기록되어 있다. 기재된 서열 목록에 있는 정보는 콤팩트 디스크 서열 목록과 동일하다. 다르게 나타내지 않는 한(즉, 서열번호: 25 및 서열번호:30), PAB 중의 아미노산은 L형태이다.

<123> **발명의 상세한 설명**

<124> 본 발명은 수성 환경에서 표면 장력을 약 50 다인/cm² 미만으로 감소시키는 MEM 용액의 수성 환경에서 약 200 ppm 미만의 임계적 미셀 농도를 갖는 중합성 아실화된 생계면활성제("PAB")에 관한 것으로, 이때 PAB는 필수적으로 (i) 분기된 또는 비분기된, 포화 또는 불포화된 8-원 내지 22원 탄소사슬; (ii) 적어도 1개, 바람직하게는 적어도 2개가 하전된 4 내지 9개 아미노산 잔기; 및 (iii) 산 C-말단 또는 아미드 C-말단으로 구성된다.

<125> 본 출원에 사용된 바와 같이, "MEM 용액"은 10 g의 MEM 분말(이하에 정의됨)을 실온에서 950 ml의 탈이온화된, 증류수에 부가하고 부드럽게 교반하면서 혼합하는 것에 의해 제조된 1000 ml 용액이다. 이 혼합물에 2.2 g의 NaHCO₃ 및 10 ml의 페니실린-스트렙토마이신 용액(이하에 정의됨)을 부가한다. 이어 최종 부피 1000 ml에 도달 하기에 충분한 양으로 탈이온화된, 증류수를 부가한다. MEM 용액의 최종 pH는 1N NaOH 또는 1N HCl을 교반하면서 천천히 부가함으로써 7.4 내지 7.6으로 조정하였다. 이 MEM 용액을 양성 압력 계를 이용하여 0.2 μm의 필터를 통하여 막 여과 처리한다. Invitrogen, Inc.(캘리포니아 칼스바드 소재)로부터 상품명 GIBCO 41500으로 입수 할 수 있는 "MEM 분말"은 수록된 농도로 이하의 성분을 함유한다:

<126>	<u>성분</u>	<u>농도 (mg/L)</u>
<127>	염화 칼슘 (무수)	200.00
<128>	염화 칼륨	40.00
<129>	황산 마그네슘 (무수)	97.67
<130>	염화 나트륨	6800.00
<131>	인산 나트륨 - H ₂ O	140.00

<132>	D-글루코오스	1000.00
<133>	페놀 레드	10.00
<134>	L-알라닌	8.90
<135>	L-아르기닌 - HCl	126.00
<136>	L-아스파라긴 - H ₂ O	15.00
<137>	L-아스파르트산	13.30
<138>	L-시스틴 - 2HCl	31.28
<139>	L-글루탐산	14.70
<140>	글리신	292.00
<141>	L-히스티딘 - HCl - H ₂ O	7.50
<142>	L-히스티딘	42.00
<143>	L-이소로이신	52.00
<144>	L-로이신	52.00
<145>	L-리신	72.50
<146>	L-메티오닌	15.00
<147>	L-페닐알라닌	32.00
<148>	L-프롤린	11.50
<149>	L-세린	10.50
<150>	L-트레오닌	48.00
<151>	L-트립토판	10.00
<152>	L-티로신	51.90
<153>	L-발린	46.00
<154>	D-Ca 판토테네이트	1.00
<155>	콜린 클로라이드	1.00
<156>	엽산	1.00
<157>	i-이노시톨	2.00
<158>	니아신아미드	1.00
<159>	피록시달 HCl	1.00
<160>	리보플라빈	0.10
<161>	티아민 HCl	1.00
<162>	"페니실린-스트렙토마이신 용액"은 0.85% 염수 중에 5,000 µg/ml의 페니실린 G 용액 및 5,000 µg/ml의 스트렙토마이신 설페이트로 구성된 제제이며 Invitrogen으로부터 입수할 수 있다.	
<163>	본 발명의 PAB는 독성, 항균 활성, 세포 증식 활성 및/또는 자극 활성(즉, 유전자 발현 측면)의 상대적 레벨 측면에서 상이한 특성을 갖는다. 이하에 기재한 바와 같이, 일부는 포유 동물 세포에 대해 낮은 독성을 갖고 또 원핵생물 형태에 대해서는 높은 독성을 갖는 반면에, 다른 것들은 대사성 용해성 단백질을 증가시키는 능력을 갖는다. 또한 다른 것들은 세포외 피부 매트릭스 단백질의 합성을 향상시키거나 및/또는 분해를 서서히하는 능력을 가질 뿐만 아니라 섬유아세포의 증식을 증가시키는 능력을 갖는다.	

- <164> 본 출원에 사용된 바와 같이, 용어 "생계면활성제"는 하전된 친수성 헤드 및 장쇄 탄소 소수성 테일을 갖고, 바람직하게는 약 8 내지 22개 탄소원자 길이를 갖는 분자를 의미한다. 이들 분자는 생계면활성제로 기재하는데, 이는 이들이 이들의 임계적 미셀 농도 이상에서 중합 구조로 자가-응집하기 때문이다. 이와 관련하여, 본 발명의 조성물은 미국특허 6,875,744호에 기재된 바와 같이 용액에서 자가-응집되지 않는 "FLAK" 펩티드 (즉, 페닐알라닌, 로이신, 알라닌, 및 리신 잔기를 함유하는 것)와 구별될 수 있다.
- <165> 본 출원에 사용된 바와 같이, 용어 "산 C-말단"은 작용기 -COOH를 의미한다.
- <166> 본 출원에 사용된 바와 같이, 용어 "아미드 C-말단"은 $-CONH_2$, $-CONHR$, $-CONR_2$ 로부터 선택된 작용기를 의미하며, 이때 R은 알킬, 아릴 또는 알킬-아릴 잔기이다.
- <167> 아실화는 아미노산 서열의 N-말단을 보호하여 그 기와 더 반응되지 않게 하는 종래 기술에 공지된 방법이다. 아실 작용기는 화학식 $R(C=O)$ 를 가지며, 이때 R은 유기 기이다. 이들은 유기 산으로부터 카르복시 히드록실기를 제거하는 것에 의해 형성된다.
- <168> 아미노산 또는 아미노산 서열의 N-말단에 아실 잔기를 부착하는 방법은 당해 분야에 잘 공지되어 있다. 당해 업자에게 잘 공지된 것 중에서, 프리델-크라프트 및 쇼텐-바우만 반응이 있고, 이들 모두 아실 클로라이드를 사용한다. 예컨대 미국 특허 4,126,628호, 일본 특허 JP 11140032호, 독일 특허 DE 19749556호 참조. 또한 Iyer, V. N., et al, J. Indian Chem. Soc. 59: 856-859 (1982); Paquet A. et al., Can. J. Chem. 60: 1806-1808 (1982) 참조.
- <169> 본 발명에 유용한 바람직한 아실 기는 분기된 또는 비분기된, 포화 또는 불포화된 8 내지 22개 탄소원자를 갖는다. 더욱 바람직하게는 아실 잔기는 미리스토일 및 팔미토일로 구성된 군으로부터 선택된다.
- <170> 본 발명의 제1 요지는 하기 미리스토일화된 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 12, 서열번호: 15, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33에 관한 것이다.
- <171> 본 발명의 다른 요지는 하기 팔미토일화된 PAB: 서열번호: 3, 서열번호: 6, 서열번호: 8, 서열번호: 11, 서열번호: 13, 서열번호: 14 및 서열번호: 16에 관한 것이다.
- <172> 아미노산 서열의 마지막 아미노산의 카르복시-말단을 보호하기 위하여, 다음 보호 기 중의 하나가 부착될 수 있다: -OR 또는 -NHR, 이때 R은 H 또는 22개 이하의 탄소원자를 갖고, 분기된 또는 비분기된, 포화 또는 불포화된, 직선 또는 고리상의 알킬 기로 구성된 군으로부터 선택된다. 이들 방법, 에스테르화(-OR) 및 아미드화(-NHR)은 당해 분야의 당업자에게 잘 공지되어 있다.
- <173> 본 발명의 일 요지는 아미드 C-말단을 갖는 하기 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 15, 서열번호: 17, 서열번호: 19, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 32 및 서열번호: 33에 관한 것이다.
- <174> 어떠한 이론에 치우기는 것은 아니지만, 출원인은 아미노산 서열의 말단에 카르복시아미드기를 갖는 특정 PAB는 생리적 pH 미만의 pH 값에서 N-말단 알킬기의 산 가수분해가 덜되기 때문에 바람직하다. 또한 특정 아미드-말단 PAB는 포유동물 세포에 대해 더 높은 LD₅₀ 뿐만 아니라 더 높은 효능(더 낮은 최소 억제 농도로 표시됨) 및 /또는 더 넓은 범위의 항균 활성을 갖는 것으로 밝혀졌다.
- <175> 본 발명의 다른 요지는 산 C-말단을 갖는 하기 PAB: 서열번호: 20, 서열번호: 24, 서열번호: 25 및 서열번호: 31에 관한 것이다.
- <176> 본 발명의 PAB에 있는 하전된 아미노산의 수는 적어도 1개, 더욱 바람직하게는 적어도 2개이다. 복수의 하전된 아미노산 잔기의 존재는 항균 활성 측면을 비롯하여 바람직한 특성을 부여한다. 그러나 하전된 아미노산 잔지의 개수를 기준하여 항균 활성(뿐만 아니라 다른 특성)을 예측하는 것은 어려운 것으로 드러났다.
- <177> 본 발명의 다른 요지는 하전된 아미노산 잔기의 %가 아미노산 잔기의 전체 개수의 적어도 약 33%인 다음 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 17, 서열번호:

호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33에 관한 것이다.

- <178> 본 발명의 다른 요지는 하진된 아미노산의 %가 아미노산 잔기의 전체 개수의 적어도 약 50%인 다음 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 22, 서열번호: 25, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 32 및 서열번호: 33에 관한 것이다.
- <179> 본 발명의 다른 요지는 하진된 아미노산의 %가 아미노산 잔기의 전체 개수의 적어도 약 60%인 다음 PAB: 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 17, 서열번호: 25, 서열번호: 27, 서열번호: 27 및 서열번호: 30에 관한 것이다.
- <180> 본 발명의 부가적인 요지는 아미노산 잔기의 적어도 2개가 하진된 다음 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33에 관한 것이다.
- <181> 본 발명의 다른 요지는 아미노산 잔기의 적어도 3개가 하진된 다음 PAB: 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 30 및 서열번호: 31에 관한 것이다.
- <182> 본 발명의 다른 요지는 아미노산 잔기의 적어도 4개가 하진된 다음 PAB: 서열번호: 11, 서열번호: 22 및 서열번호: 27에 관한 것이다.
- <183> 본 발명의 PAB는 놀랍고 예상치 못하게 수성 MEM 환경에서 낮은 CMC를 갖는다 - 일부는 적어도 약 100 ppm 미만, 다른 것은 적어도 약 50 ppm 미만이고, 또 다른 것은 적어도 25 ppm 미만이다.
- <184> 본 발명의 다른 요지는 수성 MEM 환경에서 약 100 ppm 미만의 CMC를 갖는 다음 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33에 관한 것이다.
- <185> 본 발명의 다른 요지는 수성 MEM 환경에서 약 50 ppm 미만의 CMC를 갖는 다음 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33에 관한 것이다.
- <186> 본 발명의 다른 요지는 수성 MEM 환경에서 약 25 ppm 미만의 CMC를 갖는 다음 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 21, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33에 관한 것이다.
- <187> 본 발명의 다른 요지는 배양된 37세 여성 섬유아세포(ATCC 참조번호 - CRL-2122)에서 약 200 ppm 보다 큰 LD₅₀을 갖는 하기 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 15, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30에 관한 것이다.
- <188> 본 발명의 목적을 위하여, 포유동물 세포에 대한 세포독성은 37세 여성 섬유아세포 (ATCC 참조번호 - CRL-

2122)에서 CellTiter Blue Assay (Promega Corp. 제조, 위스콘신 매디슨 소재)를 이용하여 측정한다. 이 기술 분야의 당업자들이 주지하고 있는 바와 같이, 다른 유사한 세포독성 에세이, 예컨대 Alamar Blue Assay(Biosource International 및 Trek Diagnostic Systems 제조)도 사용될 수 있다. Promega assay는 염료 알라마르 블루(alamar blue) 지시제(resazurin으로 공지됨), 세포의 세포성 대사 활성에 반응하여 형광 발색 신호를 내는 레독스(redox) 지시제를 기초로 한다. 더욱 특히, 염료는 세포의 세포막 및 핵막 모두를 침투하며 미토콘드리아 및 세포질 마이크로솜에 의해 대사된다. 대사되면, 염료는 약 590 nm에서 방출되는 형광종을 형성한다. 이 형광의 세기를 측정함으로써, 세포 생존을 정량한다.

- <189> 노화의 가시적 증상(예컨대 미세한 선 및 주름)은 섬유아세포 증식 감소 뿐만 아니라 피부의 콜라겐 및 엘라스틴 레벨의 감소와 관련이 있다. 후자는 1 또는 2개의 세포 과정 - 콜라겐 및/또는 엘라스틴의 합성 감소 및/또는 엘라스타아제 및/또는 특히 콜라게나아제 I(Matrix Metalloprotease 1(MMP1)으로 공지된 콜라게나아제에 의한 이들 단백질의 효소 분해 증가에 기인한다. 놀랍고 예상치 못한 것으로, LD₅₀ 미만의 농도에서 본 발명의 PAB는 적어도 약 20%의 대사성 용해성 단백질(예컨대 세포의 피부 매트릭스 단백질, 예컨대 콜라겐, 엘라스틴, 피브로넥틴 뿐만 아니라 테코린과 같은 세포간 접착 및 자유 라디칼의 파괴에 관여하는 단백질)에서 증가를 초래한다.
- <190> 본 발명의 목적을 위하여, 대사성 용해성 단백질은 Molecular Probes, Inc.(오레건 유젠 소재)로부터 입수한 CBQCA 단백질 정량 에세이를 이용하여 측정한다. 이 에세이는 일급 아민과 특이적으로 반응하여 전기영동 또는 크로마토그래피 분석할 수 있는 쿨루게이트를 형성하는 퀴놀린-2-카르복스알데히드 유도체를 기본으로 한다. 더욱 특히, 시아나이드 음이온 존재하에서, 퀴놀린-2-카르복스알데히드 유도체는 단백질 상의 아민을 비롯한 일급 아민과 반응하여 550 nm에서 높은 형광방출을 생성한다.
- <191> 본 발명의 상술한 목적의 일 구체예는 CBQCA 에세이에 의해 측정된 바와 같이 LD₅₀ 미만의 농도에서 적어도 약 20%의 대사성 용해성 단백질 증가를 초래하는 이하의 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 4, 서열번호: 7, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33에 관한 것이다.
- <192> 본 발명의 일 양태의 바람직한 구체예는 CBQCA 에세이에 의해 측정된 바와 같이 LD₅₀ 미만의 농도에서 적어도 약 30%의 대사성 용해성 단백질 증가를 초래하는 이하의 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 7, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 20, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30 및 서열번호: 31에 관한 것이다.
- <193> 본 발명의 일 양태의 바람직한 구체예는 CBQCA 에세이에 의해 측정된 바와 같이 LD₅₀ 미만의 농도에서 적어도 약 50%의 대사성 용해성 단백질 증가를 초래하는 이하의 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 7, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 20, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30 및 서열번호: 31에 관한 것이다.
- <194> 본 발명의 PAB는 놀랍고 예상치 못하게도 3개의 세포의 피부 매트릭스 단백질 - COL1 (콜라겐), 피브로넥틴(FN1) 및 엘라스틴 (ELN)을 코딩하는 유전자의 발현 증가를 초래하는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 본 발명의 다른 요지는 콜라겐, 엘라스틴 또는 피브로넥틴을 코딩하는 1 이상의 유전자의 발현을 증가시키는 PAB에 관한 것이다. 유전자 발현 수준은 이 기술분야의 당업자에게 잘 공지된 DNA 마이크로에세이 및 기타 다양한 수법을 이용하여 측정할 수 있다. 예컨대 Perou et al., Nature (London), 406: 747-752 (2000) 참조.
- <195> 본 발명의 양태의 일 구체예는 10 ppm의 농도에서 ELN, FN1, 또는 COL1 중의 적어도 2개의 발현에서 적어도 20% 증가를 초래하는 하기 PAB: 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 12, 서열번호: 18, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 24, 서열번호: 26 및 서열번호: 27에 관한 것이다.
- <196> 본 발명의 양태의 더욱 바람직한 구체예는 10 ppm의 농도에서 ELN, FN1, 또는 COL1 중의 적어도 2개의 발현에서 적어도 20% 증가를 초래하는 하기 PAB: 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 18, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 24 및 서열번호: 27에 관한 것이다.
- <197> 본 발명의 양태의 더욱 더 바람직한 구체예는 10 ppm의 농도에서 ELN, FN1, 또는 COL1 중의 적어도 2개의 발현에서 적어도 20% 증가를 초래할 뿐만 아니라 동시에 MMP1의 발현을 증가시키지 않는 하기 PAB: 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 12, 서열번호: 18, 서열번호: 21, 서열번호: 24 및 서열번호: 27에 관한

것이다.

- <198> 본 발명의 양태의 더욱 더 바람직한 구체예는 ELN, FN1, 또는 COL1 중의 적어도 2개의 발현에서 적어도 20% 증가를 초래할 뿐만 아니라 MMP1의 발현을 적어도 20% 하향 조절하는 하기 PAB: 서열번호: 7, 서열번호: 9 및 서열번호: 10에 관한 것이다.
- <199> 다른 부정적인 결과는 계면활성제와 혼히 관련된다. 이들은 바람직하지 않은 염증 반응을 포함할 수 있으며, IL6 및 IL8의 발현 증가로 분명해질 수 있다. 본 발명의 PAB는 IL6 및 IL8의 발현을 증가시키지 않고 또 일부 경우에는 감소시키는 것으로 놀랍게도 예상치 않게 밝혀졌다.
- <200> 본 발명의 상기 요지의 일 구체예는 COL1, ELN 또는 FN1 중의 적어도 2개의 발현에서 20% 증가를 유발하는 한편 동시에 IL6 및 IL8의 발현을 증가시키지 않는 하기 PAB: 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 12, 서열번호: 18, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 24 및 서열번호: 26에 관한 것이다.
- <201> 본 발명의 상기 요지의 더욱 바람직한 구체예는 (i) COL1, ELN 또는 FN1 중의 적어도 2개의 발현에서 20% 증가를 유발하고 또 (ii) IL6 및 IL8 중의 적어도 하나의 발현이 적어도 20% 감소되는 동시에 (iii) IL6 및 IL8의 증가를 유발하지 않는 하기 PAB: 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 12, 서열번호: 18, 서열번호: 21, 서열번호: 24 및 서열번호: 26에 관한 것이다.
- <202> 본 발명의 더욱 더 바람직한 요지는 (i) COL1, ELN 또는 FN1 중의 적어도 2개의 발현에서 20% 증가를 유발하고 또 (ii) IL6 및 IL8 중의 적어도 하나의 발현이 적어도 20% 감소되는 하기 PAB: 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 12, 서열번호: 18, 및 서열번호: 21에 관한 것이다.
- <203> 본 발명의 요지의 특히 바람직한 구체예는 10 ppm의 농도에서 COL1, ELN 또는 FN1 중의 적어도 2개의 발현에서 20% 증가를 유발하고 또 MMP1, IL6 또는 IL8의 발현에서 증가를 유발하지 않는 하기 PAB: 서열번호: 7, 서열번호: 9, 서열번호: 12, 서열번호: 18, 서열번호: 21 및 서열번호: 24에 관한 것이다.
- <204> 염증 유전자(예컨대 IL6 및 IL8)의 만성적 상향조절은 CASP1과 같은 세포자살 유전자의 상향조절과 상관관계가 있는 것으로 관찰되었다. 프로-염증 유전자 IL-6 및 IL-8 및/또는 caspase 1(CASP1)과 같은 세포자살 관련 유전자의 유의한 상향 조절은 바람직하지 않다. Lye, V. R. et al., Science 283: 83-87(1999); Mathy-Hartert IVI et al., Inflamm Res. 52(3):111-8 (2003); Raqib et al., Infection and Immunity June 2002, pp 3199-3207 참조. 따라서, 본 발명의 다른 요지는 CASP1의 발현에서 증가를 유발하지 않는 PAB에 관한 것이다.
- <205> 본 발명의 바람직한 구체예는 10 ppm의 농도에서 CASP1의 발현에서 감소를 유발하지 않는 하기 PAB: 서열번호: 7 및 서열번호: 10에 관한 것이다.
- <206> 본 발명의 다른 요지는 섬유아세포 증식을 증가시키는 PAB에 관한 것이다. 본 발명의 목적을 위하여, 증식은 Molecular Probes 사로부터 구입한 Cyquant[®] Cell Proliferation Assay를 사용하여 평가한다. 이 에세이는 세포 핵산의 생산 증가를 측정하며, 이는 형광 염료의 결합 증가를 초래한다.
- <207> 본 발명의 상기 요지의 일 구체예는 1 ppm의 농도에서 24시간 후 적어도 약 20%의 섬유아세포 증식 증가를 유발하는 하기 PAB: 서열번호: 4, 서열번호: 8, 서열번호: 9 및 서열번호: 17에 관한 것이다.
- <208> 본 발명의 상기 요지의 다른 구체예는 10 ppm의 농도에서 24시간 후 적어도 약 20%의 섬유아세포 증식 증가를 유발하는 하기 PAB: 서열번호: 3, 서열번호: 7, 서열번호: 11, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 16, 서열번호: 20, 및 서열번호: 32에 관한 것이다.
- <209> 본 발명의 상기 요지의 다른 구체예는 10 ppm의 농도에서 48시간 후 적어도 약 20%의 섬유아세포 증식 증가를 유발하는 하기 PAB: 서열번호: 19, 서열번호: 24 및 서열번호: 25에 관한 것이다.
- <210> 본 발명의 상기 요지의 다른 구체예는 25 ppm의 농도에서 48시간 후 적어도 약 20%의 섬유아세포 증식 증가를 유발하는 하기 PAB: 서열번호: 12 및 서열번호: 23에 관한 것이다.
- <211> 낮은 CMC에서 표면을 효과적으로 습윤시키는 본 발명의 PAB의 능력은 놀랍고 예상치 못한 특성 - 항균 활성에 대한 넓은 스펙트럼을 부여한다. "항균"활성은 광학 밀도 측정("OD")에 의해 확인되는 바와 같이 대장균, 피. 아에루기노사(*P. aeruginosa*), 에스. 아우레우스(*S. aureus*) 및 씨. 알비칸스(*C. albicans*)으로 구성된 균으로부터 선택된 적어도 1개의 미생물의 성장을 억제하는 능력을 의미한다.
- <212> "성장 억제"라는 것은 샘플에 존재하는 미생물 세포의 양에 비례하는 혼탁도의 측도(무치수)인 OD에서 5% 이상

증가의 감소 또는 부재를 의미한다. 예시적 목적으로, 본 발명에 따른 PAB는 대장균이 최종 농도 약 5×10^3 cfu/ml로 존재하는 배양 플레이트에 추가된다. 이 플레이트를 37°C에서 약 24시간 동안 배양하고, 이 시간에서 대장균은 진탕에 의해 재현탁되며, 또 OD는 약 600 nm에서 측정된다. 따라서, OD에서 5% 이상의 증가의 감소 또는 부재는 대장균과 관련하여 PAB의 항균 성질에 부합된다.

- <213> 본 발명의 상기 요지의 일 구체예는 OD 측정에 의해 확인되는 바와 같이 100 ppm 이하의 농도에서 대장균의 성장을 억제하는 하기 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33에 관한 것이다.
- <214> 본 발명의 상기 요지의 바람직한 구체예는 100 ppm 이하의 농도에서 대장균 및 피. 아에루기노사(*P. aeruginosa*) 또는 에스. 아우레우스(*S. aureus*)의 성장을 억제하는 하기 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 3, 서열번호: 4, 서열번호: 5, 서열번호: 6, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 9, 서열번호: 10, 서열번호: 11, 서열번호: 12, 서열번호: 13, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 17, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 20, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 27, 서열번호: 29, 서열번호: 30, 서열번호: 31, 서열번호: 32 및 서열번호: 33에 관한 것이다.
- <215> 본 발명의 상기 요지의 바람직한 구체예는 100 ppm 이하의 농도에서 대장균, 씨. 알비칸스(*C. albicans*) 및 피. 아에루기노사(*P. aeruginosa*) 또는 에스. 아우레우스(*S. aureus*)의 성장을 억제하는 하기 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 5, 서열번호: 7, 서열번호: 12, 서열번호: 15, 서열번호: 18, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 31, 및 서열번호: 33에 관한 것이다.
- <216> 본 발명의 상기 요지의 바람직한 구체예는 100 ppm 이하의 농도에서 대장균, 피. 아에루기노사(*P. aeruginosa*), 에스. 아우레우스(*S. aureus*) 및 씨. 알비칸스(*C. albicans*)의 성장을 억제하는 하기 PAB: 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 7, 서열번호: 12, 서열번호: 15, 서열번호: 18, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 31 및 서열번호: 33에 관한 것이다.
- <217> 본 발명의 상기 요지의 바람직한 구체예는 25 ppm 이하의 농도에서 대장균, 피. 아에루기노사(*P. aeruginosa*), 에스. 아우레우스(*S. aureus*) 및 메티실린-내성 스태필로코커스 아우레우스 (*Staphylococcus aureus*)("MRSA")의 성장을 억제하는 하기 PAB: 서열번호: 12, 서열번호: 15, 서열번호: 30 및 서열번호: 31에 관한 것이다. MRSA는 항생물질 메티실린 내성을 암호화하는 습득 유전자를 갖는 박테륨 에스. 아우레우스(*S. aureus*)의 분리를 의미한다.
- <218> 상술한 예상치 못하고 놀라운 특성을 기초로 하여, 본 발명의 PAB는 노화의 증후가 나타남을 감소시키는데 도움을 주는 것을 비롯하여 국소 치료적 적용에 사용될 수 있다. 이하에 자세히 논의한다. 이 기술분야의 당업자들이 잘 알고 있는 바와 같이, 치료제와 관련하여, 독성에 대한 잠재적 효능을 균형 맞추는 것이 중요하다. 따라서 본 발명의 다른 요지는 바람직한 독성 대 치료 비율(TTR)을 갖는 PAB에 관한 것이다. 본 발명의 적용을 위하여, PAB에 대한 TTR은 LD₅₀/MIC (대장균)으로 표시된, 대장균에 대한 PAB의 최소 억제 농도(MIC)에 대한 LD₅₀의 비율로 표현된다.
- <219> 상술한 바와 같이, MIC를 이용하여 화합물의 항균 활성을 평가하는 것은 이 기술분야의 당업자에게 잘 공지된 방법이다. 시험할 화합물은 성장 배지로 연속적으로 희석시키고, 배양물과 접촉시킨 다음 배양한다. MIC는 표적 미생물의 성장을 억제하거나 방지하는 화합물의 최저 희석값이다.
- <220> PAB의 상대적 독성은 예측할 수 없고 또 N-말단에서 아실 기의 선택, 하전된 아미노산 잔기의 서열 및 스페이싱에 의해 영향을 받거나 또는 보호 아미드기가 C-말단에 부착되어 있는지 여부에 의해 영향을 받을 수 있다. 이것은 이하에 자세히 기재한다.
- <221> Pal-GHK 아미드 및 Pal-GHR 아미드 [P250]은 동일한 아실 및 아미드 보호 기를 갖는 일양이온성 트리펩티드이다. 마지막 아미노산 위치에 있는 양으로 하전된 아미노산 잔기를 리신에서 아르기닌으로 변화시키는 것은 LD₅₀을 35에서 140으로 4배 증가시킨다. 이들 2개 화합물에 대한 MIC(대장균)에서 불균일은 Pal-GHR 아

미드에 대한 10 ppm에 대하여 Pal-GHK 아미드에 대한 250 ppm에서 25배 차이가 난다. Pal-GHR 아미드용 TTR은 Pal-GHK 아미드에 비하여 140배 더 바람직하다(14 대 0.1).

- <222> Myr-KKALK 아미드(서열번호: 12) 및 Myr-KLAKK 아미드(서열번호:7)의 대조는 동일 아미노산 잔기의 서열을 달리 하는 것으로부터 기인할 수 있는 예상치 못한 현저히 다른 특성을 나타낸다. 이들 모두는 아실화되고, 1개의 모노리시닐 기 및 1개의 디리시닐 기를 갖는 아미드-말단 삼양이온성 올리고펩티드이다. 이들 모두는 10 ppm의 MIC(대장균) 을 갖는다. 그러나, 서열번호 7은 LD₅₀ 이 500인 반면에, 서열번호: 12는 LD₅₀ 가 135이다.
- <223> 동일한 하전된 아미노산 서열의 말단에 하전되지 않은 아미노산을 삽입하는 것과 마지막 하전되지 않은 아미노산을 보호하지 않는 것(즉, 아미드화에 의해)은 마찬가지로 MIC에 중대한 효과를 가질 수 있다. 예컨대, 놀랍고 예상치 못하게, Myr-KLAKK 아미드(서열번호:7)은 10 ppm의 MIC(대장균) 를 갖는다. Myr-KLAKKL 산 (서열번호: 18)은 5배 더 높은 MIC(대장균) 50 ppm을 갖는다.
- <224> 동일 아미노산 서열의 산 및 아미드 말단 사이의 현저한 차이는 Pal-KTTKS 서열에 의해 자세히 설명된다. 아미드-말단 서열은 10 ppm의 MIC(대장균) 를 갖는 반면에, 보호되지 않은 (즉, 산-말단된) 서열은 500 ppm 이상의 MIC(대장균)를 갖는다.
- <225> 이러한 대조는 아실화된 아미노산 서열의 자극 효과 및 증식 효과에서 차이를 설명한다. 예컨대, 10 ppm 농도에서, Pal-KTTKS 산은 대사성 용해성 단백질을 현저히 증가시키지 않거나 또는 그의 CMC에서 또는 그 근처에서 세포 증식을 현저히 자극한다.
- <226> 펩티드 잔기의 아실화는 MIC를 20배 정도 변화시킬 수 있다. 예컨대, STKTK 아미드에 대한 MIC(대장균) 는 > 500 ppm이다. 또한, 상술한 바와 같이, 아실화되지 않은 서열은 CMC를 갖지 않으므로 본 발명의 범위에 속하는 PAB가 아니다. 미리스토일 기를 상기 아미노산 서열의 N-말단에 부착하는 것 - 및 본 발명의 범위에 드는 PAB를 방해하는 것 - 은 MIC(대장균) 를 25 ppm 까지 저하시킨다. 이것은 TTR에서 20배 이상의 차이를 나타내는데 - Myr-STKTK 아미드 (서열번호: 21)은 STKTK 아미드에 비하여 20배 더 바람직하다(> 40 대 2).
- <227> 본 발명의 요지의 일 구체에는 10 이상의 TTR을 갖고 또 서열번호: 1, 서열번호: 2, 서열번호: 7, 서열번호: 8, 서열번호: 10, 서열번호: 12, 서열번호: 14, 서열번호: 15, 서열번호: 18, 서열번호: 19, 서열번호: 21, 서열번호: 22, 서열번호: 23, 서열번호: 24, 서열번호: 25, 서열번호: 26, 서열번호: 27, 서열번호: 28, 서열번호: 29 및 서열번호: 30으로 구성된 군으로부터 선택된 PAB에 관한 것이다.
- <228> 본 발명의 더욱 바람직한 구체에는 10 이상의 TTR을 가지며 10 ppm의 농도에서 ELN, FN1 및 COL1 중의 적어도 2개의 발현에서 증가를 초래하는 서열번호: 7, 서열번호:10, 서열번호:12, 서열번호: 18, 서열번호:21, 서열번호: 22, 서열번호: 24, 서열번호: 26 및 서열번호: 27로 구성된 군으로부터 선택된 PAB에 관한 것이다.
- <229> 본 발명의 요지의 더욱 바람직한 구체에는 10 이상의 TTR을 가지며 10 ppm의 농도에서 ELN, FN1 및 COL1 중의 적어도 2개의 발현에서 20% 증가를 초래하지만 MMP1, IL6 및 IL8의 발현 증가를 유발하지 않는 서열번호: 7, 서열번호:12, 서열번호:18, 서열번호: 21 및 서열번호: 24로 구성된 군으로부터 선택된 PAB에 관한 것이다.
- <230> 본 발명의 요지의 더욱 바람직한 구체에는 20 이상의 TTR을 갖고 ELN, FN1 및 COL1의 적어도 2개의 발현에서 증가를 초래하는 서열번호:7, 서열번호: 12, 서열번호: 18, 서열번호: 22 및 서열번호: 24로 구성된 군으로부터 선택된 PAB에 관한 것이다.
- <231> 본 발명의 다른 요지는 노화의 징후가 나타나는 것을 감소시키는 도움을 주는 피부학적 상태를 치료하기 위한 PAB의 국소 치료 적용에 관한 것이다. 부가적으로, 본 발명의 범위에 속하는 PAB를 사용한 치료는 국소 피부 치료와 관련된 바람직하지 않은 염증 반응을 감소 또는 예방할 수 있다. 본 발명의 조성물은 피부학에 사용될 수 있다. 본 발명의 범위에 속하는 1 이상의 PAB를 사용하여 개선되거나 유지될 수 있는 상태의 비제한적인 예는 다음과 같다: 피부 탄성; 피부 견고함; 피부 수분; 피부 건조; 가려움증; 부스럼; 가는 선 및 주름; 흑자; 나이 점; 여드름; 과색소침착된 피부; 각화증; 장미증; 염증 피부병; 아트로피 피부; 상처 치유. 또한, 상술한 바와 같이, 본 발명의 조성물은 미생물 감염 뿐만 아니라 Kerdel, et al., Dermatologic Therapeutics (2005), 및 Hardman et al., Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics (10th Edition, 2001)에 기재된 상태의 치료에 사용될 수 있다.
- <232> CTFA 사전은 다양한 범위의 비제한적인 화장품 및 약학적 성분을 기재하며, 경우에 따라 이들은 본 발명에 따른

PAB를 함유하는 제형에 사용하기에 적합하다. 이들 성분류의 예는 다음을 포함한다: 마모제, 박리제, 흡수제, 수렴제, 향균제, 보존제, 산화방지제, 항염증제, 비타민, 미량 무기질, 필름 형성제 및 피부에 국소적 조성물의 실재성을 증가시키는 기타 중합성 물질, 습윤제, 보습제, pH 조절제, 피부 콘디쇼닝제, 피부 진정 및/또는 치료제, 향여드름제, 피부 표백 및 미백제, 외부 진통제, 선스크린 활성제(즉, 290 nm 내지 400 nm 범위의 자외선을 흡수하는 유기 화합물, 자외선을 산란 또는 차단하는 무기 화합물). 본 발명의 전달 계에 사용하기에 적합한 화장품 및/또는 약학적 성분의 다른 예는 미국특허 6,492,326호 및 6,974,799호 및 미국특허 출원 공개 2005/0142095호에 기재되어 있으며, 이들은 본 명세서에 참고문헌으로 포함된다.

<233> 본 발명의 아미노산 서열은 미국특허 6,620,419호에 기재된 바와 같은 고상 펩티드 합성을 비롯하여, 이 기술분야에 공지된 수법에 의해 합성적으로 제조될 수 있다.

실시예

<234> 하기 실시예는 본 발명을 자세하게 설명한다. 성분 및 특정 성분은 전형적으로 제시되는 것이고, 본 발명의 범위 내에서 상술한 기재의 측면에서 다양한 변형이 가능하다. 특별히 다르게 나타내지 않는한, %는 전체 조성물의 중량 기준이다.

<235> 실시예 1 - 젤

<236>	1. 탈이온수	95-98%
<237>	2. 크산탄 겔	0.1-0.3%
<238>	3. 마그네슘 아스코르빌 포스페이트	1- 3%
<239>	4. 중합성 아실화된 생계면활성제 서열번호 12*	10-1000 ppm
<240>	5. 나트륨 히드록시메틸글리시네이트**	0.3 - 1%

<241> * Therapeutic Peptides Inc. 제조 (Harahan, LA 소재)

<242> ** Sutton Labs (Chatham, NJ)이 제조한 Suttocide A

<243> 성분 2 - 5를 탈이온수(#1)에 부가하면서 Silverson 혼합기 중, 1,000 rpm에서 균일해질 때까지 혼합하였다.

<244> 실시예 2 - 크림/로션

<245> 상 A

<246>	시클로펜타실옥산*	20-30%
<247>	시클로펜타실옥산 (및) PEG-12 디메티콘 교차중합체**	7-15%
<248>	시클로펜타실옥산 (및)디메티콘 교차중합체 (및)	7-15%
<249>	디메티콘/비닐 디메티콘 교차중합체***	7-15%

<250> 상 B

<251>	탈이온수	필요량
<252>	폴리소르베이트 20	0.1-1%
<253>	디프로필렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 글리세롤, 부틸렌 글리콜	20 - 30%
<254>	마그네슘 아스코르빌 포스페이트	1-3%
<255>	최소 필수 배지	1-5%
<256>	중합성 아실화된 생계면활성제 서열번호: 21****	10-1000 ppm
<257>	메틸 파라벤, 부틸파라벤	0.2-1%

<258> * Dow Corning 245 Fluid

<259> ** Dow Corning 9011 Silicone Elastomer Blend

- <260> *** Dow Corning 9546 Silicone Elastomer Blend
- <261> **** Therapeutic Peptides Inc.(Harahan, LA) 제조
- <262> 상 A를 상 B에 부가하면서 Silverson 혼합기 중 1,000 rpm에서 균질해질 때까지 혼합하였다.
- <263> 실시예 3 - 나노미립자 농축물
- <264> 상 A
- <265> 탈이온수 70-90%
- <266> 상 B
- <267> 중간 사슬 트리글리세리드 (C₆-C₁₂) 2-8%
- <268> 레시틴 2-8%
- <269> 중간 사슬 지방산 (C₆ - C₁₂) 2-8%
- <270> 리신 또는 아르기닌 1-2%
- <271> 중합성 아실화된 생계면활성제 서열번호 21* 10-1000 ppm
- <272> * Therapeutic Peptides Inc. (Harahan, LA)제조.
- <273> 고속 균질기를 이용하여 30-40℃에서 10,000-12,000 rpm에서 약 10분간 상 B를 상 A에 혼합하였다. 생성한 혼합물을 콜로이드 분쇄기에서 약 10,000 이상의 psi에서 가공하여 약 200 nm 미만의 입자 크기를 생성하였다. 생성한 농축물을 통상의 마크로에멀전 크림에 약 1 내지 약 20% 농도로 부가하였다.
- <274> 실시예 4 - 노화 징후에서 개선
- <275> 본 발명의 중합성 아실화된 생계면활성제 치료 유효량을 포함하는 국소 조성물의 노화 증상의 감소에서 효능은 피부 조직 및 밝기의 임상적 평가에 의해 및 자가-평가에 의해 눈가쪽 주름("Crow's Feet") 영역에서 표면의 선의 심각성 감소에 의해 측정할 수 있다. 이들 외양에서 개선 이외에, 예컨대 피부 긴축성 및 탄력성을 비롯한 생체 변수에서 개선도 트위스토미터(Twisterometer)에 의해 측정할 수 있다.
- <276> 30대 중반 내지 60대 후반 연령 범위의 20명의 성인 백인 여성 환자를 연구에 등록하였다. 이들은 실험법에 규정된 바와 같이 온화한 내지 중간정도의 광손상에 노출되도록 선택되었다. 이들 환자는 프린시펄 인베스티게이터(Principal Investigator)에 의해 또는 리서치 어소시에이트(Research Associate)에 의해 매 연구 방문시에 임상적으로 평가하였다. 눈가 영역(안와골)에서 표면의 얼굴 주름(SFL)은 Packman and Gans. Packman, E.W., and Gans, E. H, "Topical moisturizers: quantification of their effect on superficial facial lines" J. Soc. Cosmet. Chem., 29: 1-11 (1978)의 방법에 의해 평가하였다. 간단히 말해, SFL 점수는 3개 종류의 선/주름의 갯수의 합으로서 그 수가 클수록 심각하다; 얇은 주름(nx1), 미세한 주름(nx2) 및 깊은 주름(nx3). 피부 표면 조직 및 밝기에서 그루핑된 흠의 심각도(표 3)는 0-10 유사 스케일로 점수로 매겼다.
- <277> 재생 비율(배율)이 매 시간 동일하도록 초점 단계에 카메라를 장착하여서 표준화된 조건하에서 니콘 D70 디지털 카메라를 이용하여 칼러 사진을 찍었다. 니콘 F-100 필름 카메라, T-max 100 프린트 필름 및 카메라 렌즈 상의 UVA 필터를 이용하여 흑백 사진과 칼러 사진을 유사하게 찍었다.
- <278> 8주의 연구 끝에, 숙련자는 칼러 사진을 이용하여 기저선으로부터 외양에서 전체적 개선을 평가하였다. 개별 피부 특징에서 변화의 평가는 본 발명의 생계면활성제를 포함하는 조성물을 사용한 처리에 의해, 피부는 더 부드러워지고 주름이 적어지며, 포어가 눈에 덜 띄며 또 피부 색도 더 균일해 짐을 보여준다. 이들 변화는 자가 평가에서 환자에게 의해서도 인정되었다.
- <279> 피부 긴축성 및 탄력은 Finlay에 의해 기재된 유형의 트위스토미터(Twistometer)를 이용하여 측정하였다. Finlay, J.B. "The torsional characteristics of human skin in vivo." Biomed. Eng. 6: 567-573 (1971) 참조. 긴장 신장 및 반발은 접착 테이프를 붙인 피부에 부착된 디스크를 이용하여 고정 시간 동안 일정하게 유지되는 작은 전류에 의해 회전되는 것에 의해 측정하였다. 부착된 디스크가 회전할 수 있는 각도는 피부 긴축성에 역으로 관련되며, 또 트위스트된 피부의 탄력은 전류가 꺼질 때 반발되는 정도와 직접 관련된다. 따라서, 긴장 신장에서 감소는 피부가 더욱 긴축성으로 되었다(견고함)는 것을 의미하고 반발에서 증가는 피부가 더욱 탄력적

으로 되었음을 의미한다.

- <280> 트위스토미터 측정을 제외하고, 비-변수 시험(윌콕슨의 Signed Ranks Test, 또는 50% 확률 시험)을 이용하여 피부 상태의 변화의 통계적 유의성을 평가하였다. 이들 시험은 정상 분포의 가정을 필요로 하지 않고 보통의 또는 명목상 스케일을 이용하여 얻은 점수의 분석 또는 "예 또는 아니오" 질문에 적절하다. 기구 측정의 경우, 동일 환자에 대한 "전" 및 "후"의 점수를 비교하는 짝의 차 "t-시험" 분석을 이용하였다.
- <281> 본 발명을 상세히 설명하는 구체에는 특별히 제시된 것이므로, 본 발명의 정신과 범위를 벗어나지 않는 한 당업자에 의해 다양한 변형이 실시될 수 있음을 이해하고 있을 것이다. 따라서, 첨부된 특허청구범위는 본 명세서에 기재된 실시예 및 상세한 설명에 한정되지 않으며, 특허청구 범위는 본 발명에 포함되는 특허가능한 신규성의 특징뿐만 아니라 본 발명이 관련되는 기술분야의 당업자에 의해 균등한 것으로 인정되는 모든 특징을 포괄하는 것으로 이해되어야 한다.