



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0087736
(43) 공개일자 2025년06월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 7/08 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61K 8/64 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 7/08 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0175236

(22) 출원일자 2023년12월06일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

주식회사 큐어바이오테라퓨틱스

경기도 수원시 영통구 창룡대로256번길 91, 12층
1201호(이의동, 에이스광교타워2차)

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경
희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

권효성

경기도 수원시 팔달구 인계로 21, 130동 1511호
(인계동, 수원센트럴아이파크자이)

이해성

경기도 안양시 동안구 학의로 98, 202동 1605호
(비산동, 샹젤아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인(유한)선정

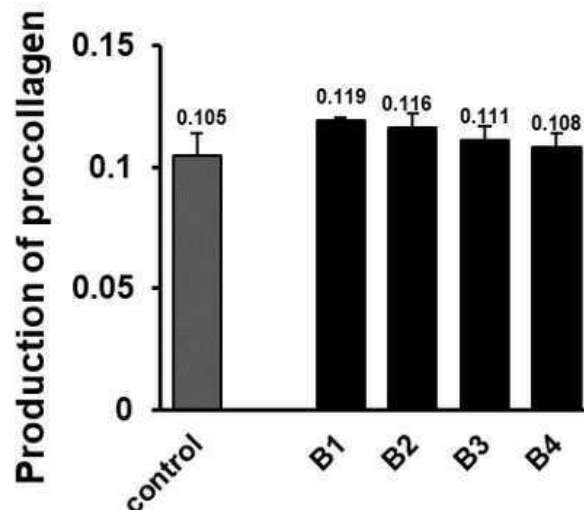
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 신규한 폴리펩타이드 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 신규한 폴리펩타이드 및 이의 용도에 관한 것이다. 본 발명에 따른 폴리펩타이드(B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7 또는 B8)는 섬유아세포의 세포증식 및 콜라겐 합성을 촉진하였다. 또한, 상기 각각의 펩타이드는 각질세포에서 상처 치유를 촉진하였다. 따라서, B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7 및 B8는 각각 피부 회복력 증진을 위한 조성물에 사용될 수 있다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61K 8/64 (2013.01)

A61P 17/00 (2018.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

(72) 발명자

김현정

경기도 성남시 분당구 느티로51번길 8-7(정자동)

백세환

경기도 화성시 동탄신리천로2길 65, 2322동 1202호(디루체 아파트)

오유곤

경기도 수원시 팔달구 중부대로223번길 69-17, 현대원룸 A-201호

강세찬

경기도 수원시 영통구 청명로 16, 405호

명세서

청구범위

청구항 1

하기의 서열번호 1 내지 서열번호 8로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드.

청구항 2

제1항의 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 3

제1항의 폴리펩타이드를 유효성분으로 포함하는 피부 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 피부 질환은 상처 또는 창상, 피부 주름, 피부 노화, 피부 탄력/유연성 약화 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 피부 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 5

제1항의 폴리펩타이드를 유효성분으로 포함하는 피부 상태 개선용 화장용 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 피부 상태 개선은 상처 또는 창상 회복(wound healing), 주름의 발생 억제, 피부 노화 억제, 피부 탄력/유연성 개선, 피부 재생 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 피부 상태 개선용 화장용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 폴리펩타이드 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 창상 치유(wound healing)는 피부, 근육, 신경조직, 뼈, 연조직(soft tissue), 내부기관 또는 혈관조직을 포함한 손상된 조직의 복원(repair) 또는 복위(replacement)를 말한다. 이러한 창상 치유는 급성 및 만성 염증반응, 세포 이동, 신혈관 형성 및 세포간질(extracellular matrix: ECM) 축적 등의 조직반응이 순차적으로 일어남으로써 이루어진다. 특히, 창상으로 인해 손상된 조직 주변으로 이동된 면역세포 및 섬유아세포 등은 사이토카인 및 콜라겐 등과 같은 ECM 성분들을 분비하여 상처주위 조직에 축적시킨다. 이로 인해 처음에 존재했던 피브린 매트릭스가 육아조직(granulation tissue)으로 대체되고 시간의 경과에 따라 손상 부위에 반흔이 형성된다. 또한, ECM의 축적과 동시에 각질세포(keratinocyte)가 창상 부위로 이동하여 상피막을 형성함으로써 수분의 손실과 세균의 침입을 방지한다.

[0003] 최근에는 창상 치유를 촉진하기 위한 약제로서 창상 치유와 관련된 펩타이드를 포함하는 조성물들이 개발되고 있다. 일 예로, FGF는 섬유아세포의 증식을 촉진함으로써 창상 치유를 촉진하는 것으로 알려져 있어 이를 이용한 창상 치료제를 개발하고 있다(미국특허 제6800286호).

[0004] 한편, 일반적으로 수많은 아미노산으로 이루어진 펩타이드는 생체 내에 투여하면 대사되어 펩티드 결합이 절단되고 의약으로 제제화 하는 단계에서 분해되기 쉬운 단점이 있다. 따라서, 약제로 사용하기 위해서는 펩타이드

의 길이가 될 수 있는 한 짧게 하는 것이 바람직하다. 하지만 약리 활성은 유지되어야 하기 때문에 장쇄 펩타이드의 최소 활성 발현 단위를 규명하는 것은 의약품 개발에 있어서 중요한 과제이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) US 6800286 B1

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명자는 피부회복을 촉진할 수 있는 방법을 연구한 결과, AIMP1 단백질 N 말단의 일부 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드가 섬유아세포의 세포증식을 촉진시키는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 일 측면은 하기의 서열번호 1 내지 8로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드를 제공한다: N 말단-AEADQLIEYLKQVSL-C 말단(서열번호 1), N 말단-AEADQIIEDLKQQLSL-C 말단(서열번호 2), N 말단-AEADQIIEDLKQQVSL-C 말단(서열번호 3), N 말단-AEEDQIIEYLKQQLSL-C 말단(서열번호 4), N 말단-AEADQIIIEYFKQQASL-C 말단(서열번호 5), N 말단-AEEDQIIIEYLKQQVSL-C 말단(서열번호 6), N 말단-AEEDQIEYLKQQVSL-C 말단(서열번호 7), N 말단-AEADQIIIEYNKQQVSL-C 말단(서열번호 8).

[0008] 본 발명의 다른 측면은 상기 펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다.

[0009] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 폴리펩타이드를 유효성분으로 포함하는 피부 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물 또는 피부 상태 개선용 화장품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0010] 본 발명에 따른 신규한 폴리펩타이드(B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7 또는 B8)는 섬유아세포의 세포증식 및 콜라겐 합성을 촉진하였다. 또한, 상기 각각의 펩타이드는 각질세포에서 상처 치유를 촉진하였다. 따라서, B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7 및 B8는 각각 상처 치유를 포함한 피부 질환 및 피부 상태 개선을 위한 조성물에 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1a 및 도 1b는 포피 섬유아세포(hs68, ATCC)에 폴리펩타이드(B1, B2, B3 또는 B4)를 처리한 뒤(2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 콜라겐 합성 정도를 확인한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 2a 내지 도 2c는 인체 피부의 표피를 구성하는 각질 세포(Hacat, ATCC)에 대한 B1, B2, B3 또는 B4의 상처 재생 효과를 확인하기 위해 상처 재생 분석(wound healing assay)을 나타낸 것이다.

도 3a 및 도 3b는 인체 피부의 표피를 구성하는 각질 세포 (HaCat)에 대한 B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8의 상처 재생 효과를 확인하기 위해 상처 재생 분석(wound healing assay)을 나타낸 것이다.

도 4a 및 도 4b는 폴리펩타이드의 in vivo 상처 치료 효과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] 신규 폴리펩타이드

[0013] 본 발명의 일 측면은 하기의 서열번호 1 내지 서열번호 8로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 아미노산 서열로 폴리펩타이드를 제공한다: N 말단-AEADQLIEYLKQVSL-C 말단(서열번호 1), N 말단-AEADQIIEDLKQQLSL-C 말단(서열번호 2), N 말단-AEADQIIEDLKQQVSL-C 말단(서열번호 3), N 말단-AEEDQIIIEYLKQQLSL-C 말단(서열번호 4), N 말단-AEADQIIIEYFKQQASL-C 말단(서열번호 5), N 말단-AEEDQIIIEYLKQQVSL-C 말단(서열번호 6), N 말단-

AEEDQEIEYLKQVSL-C 말단(서열번호 7), N 말단-AEADQIIIEYNKQVSL-C 말단(서열번호 8).

- [0014] 이때, 상기 펩타이드는 L-form 및/또는 D-form의 아미노산을 포함할 수 있다.
- [0015] 구체적으로 동일한 활성을 갖는 한 서열번호 1 내지 서열번호 8의 아미노산 서열과 각각 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지는 것일 수 있다.
- [0016] 여기서, "동일한 활성"은 특정 성질의 전체 또는 거의 동일한 정도의 성질을 나타내는 상태를 의미한다. 구체적으로, 상기 "동일한 활성"은 상처 재생, 주름 개선, 피부 유연 및 탄력 증진, 노화 억제 활성 등의 피부의 회복을 촉진시키는 효과를 의미한다.
- [0017] 또한, 본 발명에 있어서, 폴리펩타이드는 본 발명에 의한 폴리펩타이드의 기본 골격 및 이의 활성을 유지하면서 폴리펩타이드의 일부 화학 구조가 변형된 폴리펩타이드 유도체도 포함된다. 예를 들어, 본 발명의 폴리펩타이드의 안정성, 저장성, 휘발성 또는 용해도 등을 변경시키기 위한 구조변경이 이에 포함된다. 특히, 화학적으로 합성한 펩타이드의 경우, N 및 C 말단이 전하를 띠고 있기 때문에, 이러한 전하를 제거하기 위하여 N 말단을 아세틸화(acetylation) 또는/및 C 말단을 아미드화(amidation)할 수 있으나, 특별히 이에 제한되지는 않는다.
- [0018] **폴리뉴클레오티드**
- [0019] 본 발명의 다른 측면은 상기 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 이때, 상기 폴리펩타이드는 상술한 바와 동일하다. 구체적으로 상기 폴리뉴클레오티드는 서열번호 1 내지 서열번호 8의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드를 각각 암호화하는 것일 수 있다.
- [0020] 또한, 상기 폴리뉴클레오티드는 동일한 폴리펩타이드를 암호화한다면, 하나 이상의 염기가 치환, 결실, 삽입 또는 이들의 조합에 의해 변이될 수 있다. 폴리뉴클레오티드 서열을 화학적으로 합성하여 제조하는 경우, 당업계에 널리 공지된 합성법, 예를 들어 문헌(Engels and Uhlmann, Angew Chem IntEd Engl., 37:73-127, 1988)에 기술된 방법을 이용할 수 있으며, 트리에스테르, 포스페이트, 포스포아미다이트 및 H-포스페이트 방법, PCR 및 기타 오토프라이머 방법, 고체 지지체상의 올리고뉴클레오티드 합성법 등을 들 수 있다.
- [0021] **폴리펩타이드의 생산 방법**
- [0022] 본 발명에 있어서, 상기 폴리펩타이드는 화학적 합성 방법을 이용하여 생산될 수 있다. 화학적 합성의 대표적인 방법으로서, 이들로 액체 또는 고체상 합성, 단편 응축, F-MOC 또는 T-BOC 화학법을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 예를 들어, 상기 폴리펩타이드는 고체상 기법(solid phase synthesis)을 이용하는 것일 수 있다. 고체상 펩타이드 합성 방법은 작은 다공성의 비드(beads)에 링커(linker)라 불리는 기능성 유닛(functional units)을 부착하여 펩타이드 사슬을 이어 나갈 수 있도록 유도함으로써 합성을 개시할 수 있다. 또한, 상기 폴리펩타이드는 액체상 펩타이드 합성법에 의해 생산할 수 있으며, 이의 구체적 방법은 미국등록특허 제5,516,891호를 참조한다. 본 발명에서 상기 폴리펩타이드는 상기 또한 본 발명의 폴리펩타이드는 상기 고체상 합성법과 액체상 합성법을 혼합하는 방법 등의 다양한 방법으로 합성 가능하며, 본 명세서에 기술된 수단에 그 생산 방법이 제한되지 않는다.
- [0023] 상기 고체상 펩타이드 합성 방법에 사용되는 담체는 이 분야에서 통상 사용되는 담체로서 예를 들어, 치환된 벤질 형태의 폴리스티렌 레진(polystyrene resins of substituted benzyl type), 히드록시메틸페닐아세틱 아미드 형태의 폴리스티렌 레진, 치환된 벤즈히드릴폴리스티렌 레진, 펩타이드에 결합할 수 있는 기능기를 가진 폴리아크릴아미드 레진 등을 사용할 수 있다. 아미노산 응축 또한 통상의 방법일 수 있으며, 예를 들어 디시클로헥실 카보디이미드(DDC), 산 무수물(acid anhydride) 및 활성화 에스테르(activated ester) 방법이 사용될 수 있다.
- [0024] 또한, 본 발명에 있어서, 펩타이드 합성에 사용된 보호기들은 통상의 펩타이드 합성에 사용되는 보호기들로서 산 분해, 환원 또는 아미놀리시스와 같은 통상의 방법에 의해 쉽게 제거되는 것들이다. 아미노 보호기들의 구체적인 예로는 포밀; 트리플루오로아세틸; 벤질옥시카보닐; (오르쏘- 또는 파라-)클로로벤질옥시카보닐 및 (오르쏘-또는 파라-)브로모벤질옥시카보닐과 같은 치환된 벤질옥시카보닐; t-부톡시카보닐 및 t-아밀록시카보닐과 같은 지방족 옥시카보닐 등이 있다. 아미노산의 카복실기들은 에스테르기로 전환시킴으로써 보호할 수 있다. 에스테르기로는 벤질 에스테르, 메톡시벤질 에스테르와 같은 치환된 벤질 에스테르; 시클로헥실 에스테르, 시클로헥틸 에스테르 또는 t-부틸 에스테르와 같은 알킬 에스테르 등이 있다. 구아니디노기는 보호기가 필요하지 않지만, 니트로; 또는 토실, 메톡시벤젠술포닐 또는 메틸렌술포닐과 같은 아릴술포닐에 의해 보호될 수 있다. 이미다졸의 보호기로는 토실, 벤질 및 디니트로페닐 등이 있다. 트립토판의 인돌기는 보호기가 없어도 되며

포밀 등으로 보호기를 추가할 수 있다.

- [0025] 탈보호 및 담체로부터 펩타이드를 분리하는 것은 여러 스캐빈저(scavenger)하에 무수 하이드로 플루오라이드에 의해 수행될 수 있다. 스캐빈저의 예로는 아니솔, (오르쏘-, 메타-, 파라-)크레솔, 디메틸술폰, 디메틸설파이드, 씨오크레솔, 에탄엔디올 및 머캅토포리딘 등을 들 수 있는데 이들은 펩타이드 합성에서 통상 사용되는 것들이다.
- [0026] 폴리펩타이드의 합성은 수동 기법을 이용해서 또는 자동화에 의해 수행될 수 있다. 자동화된 합성은, 예를 들어 Applied Biosystems 431A 펩타이드 합성기(Perkin Elmer) 등을 이용해서 달성될 수 있다. 대안적으로, 다양한 단편이 별도로 화학적으로 합성되고 화학적 방법을 이용하여 조합되어 목적 분자를 제조할 수 있다.
- [0027] 또한, 필요에 따라 본 발명의 상기 폴리펩타이드는 인산화(phosphorylation), 황화(sulfation), 아크릴화(acrylation), 당화(glycosylation), 메틸화(methylation), 파네실화(farnesylation), 아세틸화(acetylation), 아미드화(amidation) 등의 적절한 작용기가 부가되어 수식(modification)될 수도 있다.
- [0028] **폴리펩타이드를 포함하는 약학 조성물**
- [0029] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 폴리펩타이드를 유효성분으로 포함하는 피부 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다. 이때, 상기 폴리펩타이드는 상술한 바와 동일하다.
- [0030] 본 발명에 있어서, 상기 "피부 질환"은 상처 또는 창상, 피부 재생 저하, 피부 주름, 피부 노화, 피부 탄력 약화, 피부 탄력/유연성 약화 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0031] 본 명세서에서 사용된 용어, "창상(wound)"은 생체의 손상된 상태로서, 생체 내부 또는 외부 표면을 이루는 조직, 예를 들면 피부, 근육, 신경조직, 뼈, 연조직, 내부기관 또는 혈관조직이 분단 또는 파괴된 병리학적 상태를 포괄할 수 있다. 창상의 예로는 이들로 한정되는 것은 아니지만, 좌상(contusion 또는 bruise), 비-치유 외상성 창상, 방사선 조사에 의한 조직의 파괴, 찰과상(abrasion), 골괴저, 열상(laceration), 결출상(avulsion), 관통상(penetrated wound), 총상(gunshot wound), 절상, 화상, 동상, 피부 궤양, 피부 건조, 피부 각화증, 갈라짐, 터짐, 피부염, 피부 사상균증에 의한 통증, 수술상, 혈관질환 창상, 각막 창상 등의 창상, 욕창, 와창, 당뇨병 피부 미란과 같은 당뇨병 및 순환불량 관련 질환 또는 상태, 만성궤양, 성형 수술 후 봉합부위, 척추 상해성 창상, 부인과적 창상, 화학적 창상 및 여드름 등을 포함할 수 있으며, 개체의 어떠한 부분에 대한 손상이 모두 포함할 수 있다.
- [0032] 본 명세서에서 사용된 용어, "피부 노화"는 피부의 구조와 생리적인 기능이 나이를 먹으면서 계속적인 감퇴를 일으키는 자연적인 노화현상인 내재적 노화(intrinsic aging)와, 태양광 자외선, 약물 부작용, 스트레스, 환경인자, 상처 등과 같은 다양한 종류의 외적 요소에 기인한 외재적 노화(extrinsic aging) 모두를 포함하는 광범위한 의미를 가진다. 피부 노화가 진행되면서, 피부는 표피의 두께가 전체적으로 얇아지고 세포와 조직에 탈수 현상이 일어나 건조해지며 잔주름이 늘어나고 점차적으로 주름이 깊어진다. 또한, 진피의 대부분을 차지하는 콜라겐의 양이 감소하고 콜라겐을 합성하는 섬유아세포의 활성 또한 감소하여 새로운 콜라겐의 합성도 줄어든다. 진피 내 콜라겐의 양이 감소함에 따라 진피의 두께도 감소하고, 결국 피부에 주름이 생기고 유연성과 탄력성이 떨어진다. 따라서, 본 발명에서 상기 약학 조성물은 내재적 노화 및 외재적 노화를 포함한 다양한 원인에 기인한 피부 노화 상태를 억제, 저하, 방지, 개선, 예방 또는 치료할 수 있다.
- [0033] 본 명세서에서 사용된 용어, "예방"은 상기 약학 조성물을 약학적 유효량으로 투여하여 질환을 사전에 방지하거나 발생 가능성 또는 발생 빈도를 낮추는 것을 포괄적으로 의미할 수 있다. 예를 들어, 피부 질환이 발생할 가능성이 있는 환자 또는 발병한 적이 있는 환자에게서 발병 확률을 낮추거나, 재발 확률을 낮추는 것일 수 있다. 상기 "약학적 유효량"은 "치료학적 유효량"과 동일한 의미로서, 질환의 종류, 환자의 연령, 체중, 건강, 성별, 환자의 약물에 대한 민감도, 투여 경로, 투여 방법, 투여 횟수, 치료 기간, 배합, 또는 동시 사용되는 약물 등 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0034] 본 명세서에서 사용된 용어, "치료"는 상기 약학 조성물을 약학적 유효량으로 투여하여 질환을 개선시키는 것을 포괄적으로 의미할 수 있고, 자연 치유에 비하여 단축된 시간에 질환의 증상이 완화 또는 치유되는 것을 제공하는 것일 수 있으며, 질환으로 인한 한가지 증상 또는 대부분의 증상을 개선시키는 것일 수 있다. 상기 약학적 유효량에 대해서는 상술한 바와 동일하다. 본 발명의 약학 조성물은 그 자체로 피부 질환 치료의 조성물이 될 수도 있고, 혹은 다른 약리성분과 함께 투여되어 상기 질환에 대한 치료 보조제로 적용될 수도 있다. 이에, 상

기 "치료"는 "치료 보조"의 의미를 포함한다.

[0035] 한편, 본 발명에 있어서, 약학 조성물은 치료학적으로 유효한 양으로 투여한다.

[0036] 상기 "치료학적 유효량"은 상술한 바와 동일하다.

[0037] 본 명세서에서 사용된 용어, "투여"란, 적절한 방법으로 개체에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며, 상기 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 구체적으로는 비경구 방식으로 투여되고, 보다 구체적으로는 피하 또는 경피 투여될 수 있다. 또한, 상기 약학 조성물은 피부에 직접 도포될 수 있다. 상기 약학 조성물을 피부에 도포하는 경우, 본 발명에 따른 약학 조성물을 그 형태에 따라 피부에 직접 도포하거나, 분무하는 것을 포함할 수 있다.

[0038] 여기서 약학 조성물이 투여될 수 있는 대상은 포유동물일 수 있으며, 구체적으로는 인간일 수 있다.

[0039] 본 발명에 있어서, 약학 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여방식, 환자의 연령, 체중, 성별, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여량은 성인 기준으로 0.001 mg/kg 내지 100 mg/kg의 용량으로 1 내지 수회에 나누어 투여할 수 있다. 이러한 투여량은 어떠한 측면으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 아니 된다.

[0040] 상기 약학 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다. 여기서 "약학적으로 허용가능한"은 유효성분의 활성을 억제하지 않으면서 적용(처방) 대상이 적용 가능한 이상의 독성을 지니지 않는다는 의미이다. 상기 담체는 본 발명의 약학 조성물 총 중량을 기준으로 약 1 중량% 내지 약 99.99 중량%, 바람직하게는 약 90 중량% 내지 약 99.99 중량%로 포함될 수 있다.

[0041] 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 환자에게 전달하기에 적절한 비-독성 물질이면 어떠한 담체라도 가능하다. 증류수, 알코올, 지방, 왁스 및 비활성 고체가 담체로 포함될 수 있다. 약학적으로 허용되는 애쥬번트(완충제, 분산제) 또한 약학 조성물에 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 적합한 약학적으로 허용되는 담체 및 제제는 "Remington's Pharmaceutical Sciences(19th ed, 1995)"에 상세히 기재되어 있다.

[0042] 또한, 본 발명의 상기 약학 조성물은 피부외용제로 제조될 수 있다. 예를 들어, 상기 약학 조성물은 연고제, 액제, 크림제, 스프레이제, 패취제 등의 형태로 제제화될 수 있다. 이때, 본 발명의 효과를 손상하지 않는 범위 내에서 통상 화장품이나 피부외용제에 이용되는 성분, 예를 들면 보습제, 산화방지제, 유성성분, 자외선 흡수제, 유화제, 계면활성제, 증점제, 알콜류, 분말성분, 색재, 수성성분, 물, 각종 피부영양제 등을 필요에 따라 적절히 배합할 수 있다.

[0043] 또한, 본 발명에 있어서, 약학 조성물은 본 발명의 효과를 더욱 강화시키기 위해 상처 재생 촉진, 콜라겐 합성 촉진, 섬유아세포 증식 촉진, 피부 노화 억제/개선, 피부 보습, 피부의 탄력/유연 증진, 주름 개선, 피부 기능 강화 등의 효과를 갖는 공지의 물질을 추가로 포함할 수 있다. 상기 물질로는, 이에 제한되지는 않으나, 레티노산(retinoic acid), TGF(trans-forming growth factor), 베틀린산(betulinic acid), 신남산(cinnamic acids), 하이드로스티벤(hydrostilbene), 비타민 A, 비타민 E, 비타민 C, 적포도 추출 분말 등을 사용할 수 있다. 이외 피부로의 단백질의 흡수를 촉진하는 물질, 방부제, 수화제, 유화 촉진제, 완충제 등 기타 약학적, 피부학적 및/또는 화장품학적으로 허용가능한 매질 또는 기재를 더욱 함유할 수 있다.

[0044] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 펩타이드 또는 이를 유효성분으로 포함하는 약학 조성물의 피부 질환 예방 또는 치료용 용도를 제공한다.

[0045] 본 발명의 또 다른 측면은 피부 질환의 예방 또는 치료를 위한 약제의 제조에 사용하기 위한 상기 펩타이드 또는 이를 유효성분으로 포함하는 약학 조성물의 용도를 제공한다.

[0046] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 펩타이드 또는 이를 유효성분으로 포함하는 약학 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 피부 질환을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다. 여기서, 상기 펩타이드, 약학 조성물, 피부 질환, 개체, 투여, 예방 및 치료는 상술한 바와 동일하다.

[0047] **폴리펩타이드를 포함하는 화장용 조성물**

[0048] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 폴리펩타이드를 유효성분으로 포함하는 피부 상태 개선용 화장용 조성물을 제공한다. 상기 폴리펩타이드는 상술한 바와 동일하다.

- [0049] 본 명세서에서 사용된 용어, "피부 상태 개선"은 상처 또는 창상 회복(wound healing), 주름의 발생 억제, 피부 노화 억제, 피부 탄력/유연성 개선, 피부 재생 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 것일 수 있다. 또한, 피부 세포의 기능 저하 또는 손실로부터 피부를 보호 또는 피부 상태를 개선하거나, 또는 피부 질환을 예방 또는 개선하는 것을 특징으로 할 수 있다. 상기 창상 및 피부 노화는 상술한 바와 동일하다.
- [0050] 상기 화장용 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 화장료 제형으로 제제화될 수 있다. 상기 화장용 조성물은 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제제화될 수 있다.
- [0051] 본 발명에 있어서, 화장용 조성물의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라가칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화아연 및 이의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 담체 성분을 포함할 수 있다.
- [0052] 본 발명에 있어서, 화장용 조성물의 제형이 용액 또는 유탁액인 용매, 용매화제, 유탁화제 및 이의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 담체 성분을 포함할 수 있다. 이의 예로는, 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜, 소르비탄 지방산 에스테르, 및 이의 혼합물 등이 있다.
- [0053] 본 발명에 있어서, 화장용 조성물의 제형이 현탁액인 경우에는 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미세결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가, 트라가칸트 및 이의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 담체 성분을 포함할 수 있다.
- [0054] 상기 화장용 조성물은 상기 제형에 따라 담체 이외에 각종 공지의 첨가제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0055] 상기 첨가제에는 유화제, 보습제, 계면활성제, 킬레이팅제, 산화방지제, 살균제, 안정화제 등이 있다.
- [0056] 상기 유화제로는 유동 파라핀, 세틸올타노에이트, 스테아린산 등을 포함할 수 있다. 상기 보습제로는 글리세린, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 디프로필렌글리콜, 펜틸렌글리콜, 헥실렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 솔비톨, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 폴리올을 포함할 수 있다.
- [0057] 상기 킬레이팅제로는 에틸렌디아민테트라아세트산나트륨(EDTA), α -하이드록시 지방산, 락토페린, α -하이드록시산, 시트르산, 락트산, 말산, 빌리루빈, 빌리버딘(biliverdin) 등을 포함할 수 있다.
- [0058] 상기 산화 방지제로는 부틸히드록시아니솔, 디부틸히드록시톨루엔 또는 프로필 갈레이트 등을 포함할 수 있다. 이외에도, 상기 화장용 조성물 또는 피부 외용제에 배합 가능한 성분으로서 유지 성분, 에몰리언트제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, pH 조절제, 알코올, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한제, 비타민 등이 있다.
- [0059] 본 발명의 또 다른 측면은, 본 발명에 따른 화장용 조성물을 이용하여, 피부 상태 개선을 통한 미용 방법을 제공한다. 상기 미용 방법은 상기 화장용 조성물을 대상의 피부에 도포하는 단계를 포함할 수 있다. 여기서, 화장용 조성물은 상술한 바와 동일하다.
- [0060] 상기 대상은 포유동물일 수 있으며, 구체적으로는 인간일 수 있다. 피부에 도포하는 단계는 본 발명에 따른 화장용 조성물을 그 형태에 따라 피부에 직접 도포하거나, 분무하는 것을 포함할 수 있다. 이때, 상기 화장용 조성물의 도포량 및 하루 사용 횟수는, 사용자의 연령, 성별, 용도, 증상의 정도 등에 따라 적절하게 설정될 수 있고, 예를 들면, 상기 화장용 조성물의 적당량을 하루 1 내지 6회의 빈도로 피부에 도포할 수 있다.
- [0062] 이하, 본원 발명을 하기 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 단, 하기 실시예는 본원 발명을 예시하기 위한 것일뿐, 본원 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.
- [0063] **제조예 1. 폴리펩타이드 제조**
- [0064] 본 발명에서 폴리펩타이드는 GL Biochem Shanghai Ltd(중국)에 의뢰하여 상업적으로 합성하고 정제되었다.

표 1

펩타이드명	아미노산 서열	서열번호
B1	AEADQLIEYLKNQVSL	1
B2	AEADQI IEDLKQQLSL	2
B3	AEADQI IEDLKQQVSL	3
B4	AEEDQI I EYLNKQVSL	4
B5	AEADQI I EYFKQQASL	5
B6	AEEDQI I EYLNKQQVSL	6
B7	AEEDQE I EYLNKQQVSL	7
B8	AEADQI I EYNKQQVSL	8

실시예 1. 섬유아세포에서 B1, B2, B3 및 B4에 의한 콜라겐 합성 증진 효과 확인

B1, B2, B3 또는 B4의 피부 회복력을 확인하기 위하여, 섬유아세포에서 상기 펩타이드의 콜라겐 합성 촉진능을 확인하였다.

구체적으로, 포피 섬유아세포(hs68)는 10% FBS(Gibco, 10099141) 및 1% 항생제 (Hyclone, SV30010)가 함유된 DMEM(Hyclone, SH30243.01-G03)에서 배양하였다. 배양된 각 세포(2.5×10^4 cells)를 12-웰 플레이트에서 15시간 동안 배양한 후 다시 무혈청 배양액으로 교체한 뒤 2시간 배양한 후 DMSO(Sigma-aldrich, 34869)에 녹인 각 폴리펩티드를 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 로 희석하여 첨가하고 48시간 동안 배양하였으며 대조군의 경우 DMSO를 첨가 하였다.

이후, 배양액만을 회수하여 1,000 rpm에서 원심분리 한 후 상등액을 1/50으로 희석하여 Procollagen Type I ELISA kit(Takara, MK101)를 이용하여 제조사의 프로토콜에 따라 항-POD conjugate를 3시간 처리 한 후 마이크로플레이트 리더(BioTek, Synergy 2)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 분석하여 콜라겐 분비를 검출하였다.

실험 결과, 도 1a 및 도 1b에 나타난 바와 같이, 대조군과 비교하여 본 발명의 폴리펩타이드(B1, B2, B3 또는 B4)는 포피 섬유아 세포(hs68)에서 콜라겐 합성이 크게 증가 하는 것을 알 수 있었고, 상기 폴리펩타이드 중 B1이 다른 펩타이드보다 근소하게 더 높은 효과를 가지는 것을 확인하였다(도 1a 및 도 1b).

실시예 2. 각질 세포에서 B1, B2, B3 및 B4에 의한 상처 재생 효과 확인

B1, B2, B3, 또는 B4의 피부 회복력을 확인하기 위하여, 각질세포에서 상기 펩타이드의 상처 재생 분석(wound healing assay)을 수행하였다.

구체적으로, 각질 세포(HaCat)는 10% FBS 및 1% 항생제가 함유된 DMEM에서 배양하였다. 배양된 각 세포(2.1×10^5 cells)를 24-웰 플레이트에서 18시간 동안 배양한 후 다시 무혈청 배양액으로 교체한 뒤 2시간 배양한 후 200 μL 피펫 팁을 이용하여 스크래치를 형성시켰다. 스크래치 형성 후 무혈청 배양액으로 세척하고 DMSO에 녹인 각 폴리펩타이드 를 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 로 희석 후 첨가하여 22시간 동안 배양하였으며 대조군의 경우 DMSO를 첨가 하였다. 이후, 세포영상분석기(NanoEntek, JuLI™ FL)를 이용하여 세포 이동에 의한 스크래치의 복원 효과를 관찰하였다.

실험 결과, 본 발명의 폴리펩타이드(B1, B2, B3 및 B4)는 대조군과 비교하였을 때 각질세포(HaCat)의 상처 재생 효과가 크게 증가하는 것을 알 수 있었고 본 발명의 폴리펩타이드(B1, B2, B3 및 B4) 중 B1이 다른 펩타이드보다 근소하게 더 높은 효과를 가지는 것을 확인하였다(도2a 내지 도 2c).

실시예 3. 각질 세포에서 B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7 및 B8에 의한 피부 재생 촉진 효과 확인

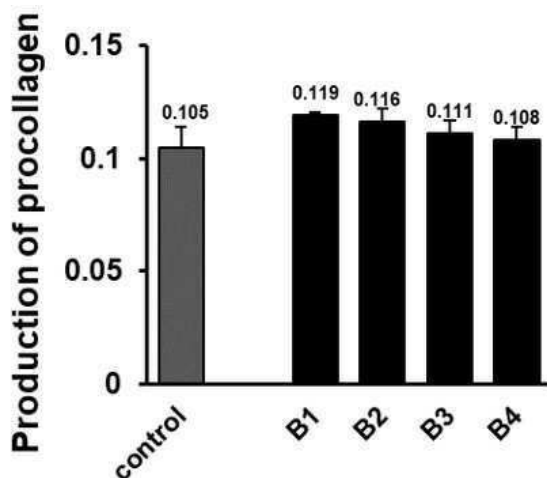
B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7 또는 B8의 피부 회복력을 확인하기 위하여, 각질세포에서 상기 펩타이드의 상처 재생 분석(wound healing assay)을 수행하였다.

구체적으로, 각질 세포(HaCat)는 10% FBS 및 1% 항생제가 함유된 DMEM에서 배양하였다. 배양된 각 세포(2.1×10^5 cells)를 24-웰 플레이트에서 18시간 동안 배양한 후 다시 무혈청 배양액으로 교체한 뒤 2시간 배양한 후 200 μL 피펫 팁을 이용하여 스크래치를 형성시켰다. 스크래치 형성 후 무혈청 배양액으로 세척하고 DMSO에 녹인 각 폴리펩타이드 를 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 로 희석 후 첨가하여 22시간 동안 배양하였으며 대조군의 경우 DMSO를 첨가 하였다. 이후, 세포영상분석기를 이용하여 세포 이동에 의한 스크래치의 복원 효과를 관찰하였다.

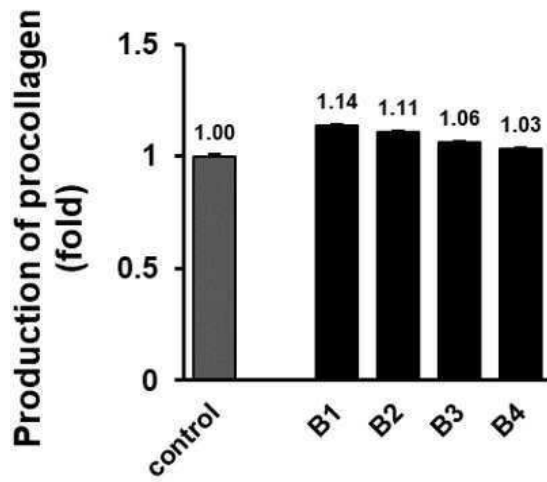
- [0078] 실험 결과, 본 발명의 폴리펩타이드(B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7 및 B8)는 대조군과 비교하였을 때 각질세포 (HaCat)의 상처 재생 효과가 크게 증가하는 것을 알 수 있었고 본 발명의 폴리펩타이드(B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7 및 B8) 중 B1과 B8이 다른 펩티드보다 근소하게 더 높은 효과를 가지는 것을 확인하였다(도3).
- [0079] 실시예 4. 본 발명의 폴리펩타이드의 in vivo 상처 치료 효과 확인
- [0080] B1 또는 B8의 in vivo 상처 치료 효과를 확인하였다.
- [0081] 구체적으로, 6주령의 C57BL/6N 마우스는 코아텍에서 반입하여 일주일동안 순화 과정을 거친 후 7주령 차에 실험을 시작하였다. 실험 동물은 환경 조건(빛/암실 주기, 온도와 습도)이 제어된 상태에서 사육되었고, 실험 도중에는 마우스가 음식과 물에 자유롭게 접근할 수 있게 하였다. 모든 동물 실험과정은 우정바이오의 동물윤리위원회 (IACUC)의 가이드에 따라 수행하였다.
- [0082] 마우스는 Isoflurane을 이용하여 호흡마취로 마취시켰다. 마우스의 털은 0일차에 이발기를 이용하여 1차 제모하였고 제모크림(니크린, 일동제약)을 이용하여 2차적으로 제모하였다. 상처의 경우 1일차에 6 mm 지름의 생체검사 펀치(33-36-EA, Integra Miltex)를 사용하여 마우스의 등 표면에 자국을 만들고 수술용 포셉과 가위로 절개하여 전층 상처를 만들었다. 마우스는 처리된 펩타이드에 따라 Control, B1, B8 3개의 그룹으로 나누었다(n=5)
- [0083] 상처 부위에 시험 물질(control, B1, B8(1.6 μ g/mL))씩 국소 도포 한다. 각 시험 물질들은 D.W에 1.5% hydroxyethyl cellulose(09368, sigma)를 이용하여 gel 제형 형태로 제작하여 도포하였으며 control의 경우 1.5 % hydroxyethyl cellulose를 도포하여 시험물질의 성능을 비교하였다. 약물의 도포는 상처 모델 제작 당일 부터 진행하였으며 1, 3, 5, 7 일에 약물의 도포를 진행하였으며 사진의 경우 1, 3, 5, 7, 9일에 촬영하였다.
- [0084] 상처 치유 효능의 확인은 상처 면적을 image j software를 이용하여 측정하였으며 하기 [수학식 1]에 따라 상처 회복률을 계산하였다.
- [0085] [수학식 1]
- [0086] 상처 회복률 = [(지정된 날의 상처 부위 면적)/1일의 상처 부위 면적]*100
- [0087] 실험 결과 후보 물질 두 종 B1과 B8에서 3일차부터 상처의 크기가 감소하는 치유 효과를 보이는 것을 확인하였고 후보 물질 B1이 B8보다 더 뛰어난 초기 치유 효능을 보였으나 상처 발생 7일차부터 B8이 B1을 역전하며 상처 발생 12일차에는 후보 물질 B1의 경우 control과 유사한 정도의 상처 크기 감소를 보이는 등 효능이 떨어지는 경향을 보여 후보 물질 B8이 가장 우수한 효능을 보이는 것으로 확인되었다.

도면

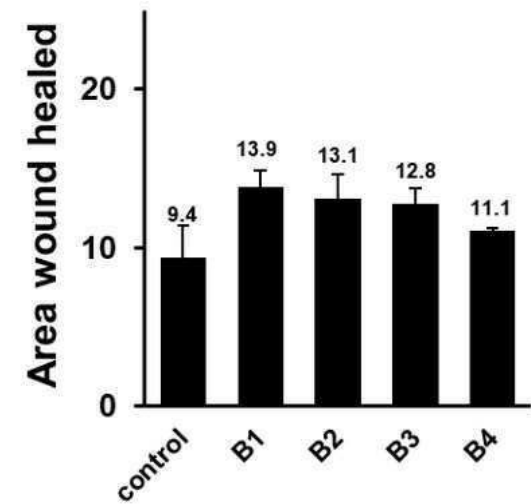
도면1a



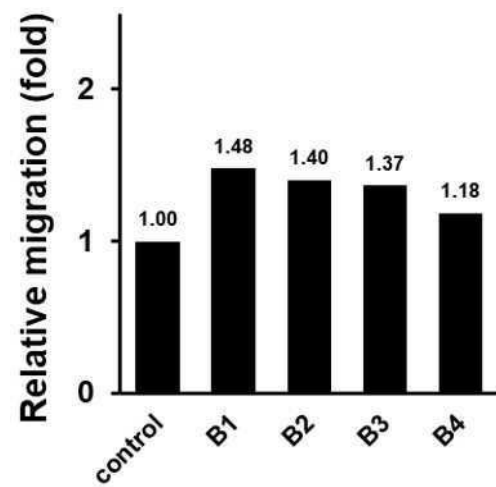
도면1b



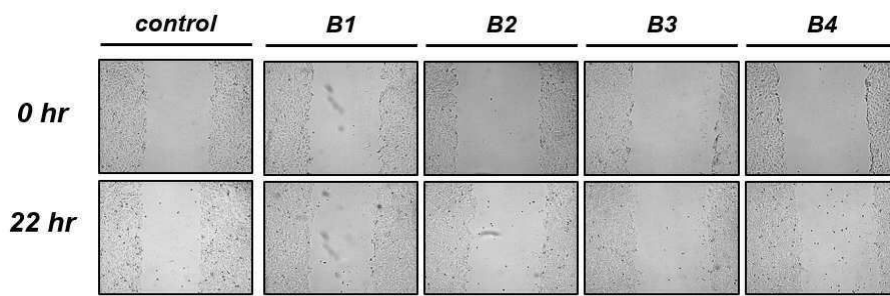
도면2a



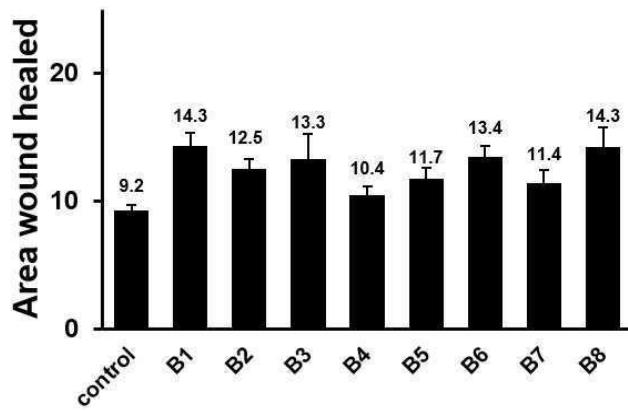
도면2b



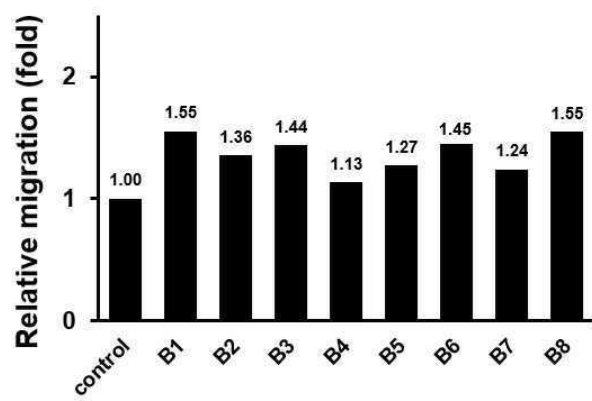
도면2c



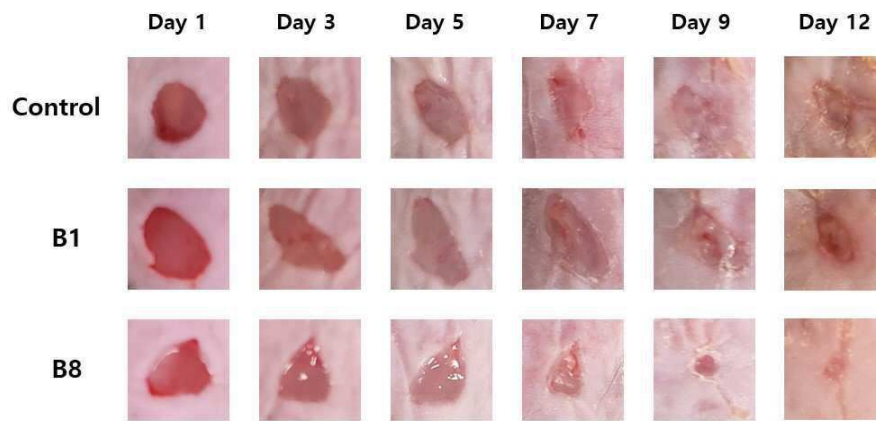
도면3a



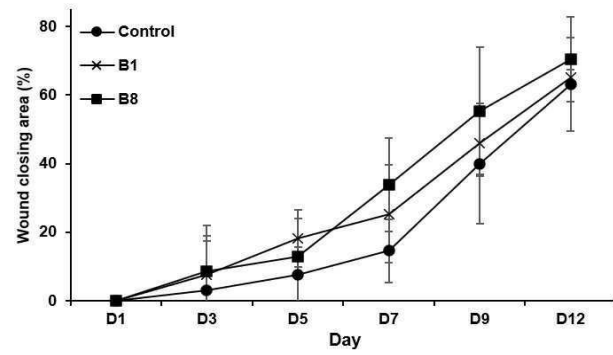
도면3b



도면4a



도면4b



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.