

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2018년 5월 3일 (03.05.2018)



(10) 국제공개번호
WO 2018/079966 A1

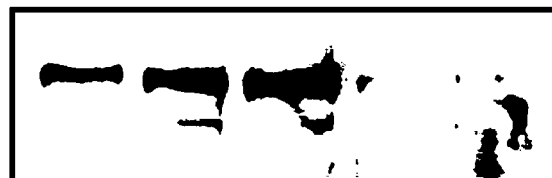
- (51) 국제특허분류: *A61K 31/519* (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2017/005739
- (22) 국제출원일: 2017년 6월 1일 (01.06.2017)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2016-0139065 2016년 10월 25일 (25.10.2016) KR
- (71) 출원인: 경상대학교 산학협력단 (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY) [KR/KR]; 52828 경상남도 진주시 진주대로 501, Gyeongsangnam-do (KR).
- (72) 발명자: 윤태진 (YOON, Tae-Jin); 06004 서울시 강남구 압구정로 201 83-1204, Seoul (KR). 김경일 (KIM, Kyung-Il); 34910 대전시 중구 오류로 10-3, Daejeon (KR).
- (74) 대리인: 이치영 등 (LEE, Cheo Young et al.); 06133 서울시 강남구 테헤란로 123 11층, 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, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, 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,

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING ICG-001 FOR PREVENTING OR TREATING FIBROSIS

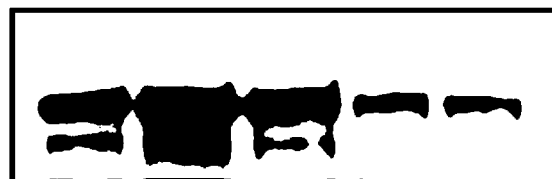
(54) 발명의 명칭: ICG-001을 함유하는 섬유증의 예방 또는 치료용 약학 조성물

ICG-001 (μ M)

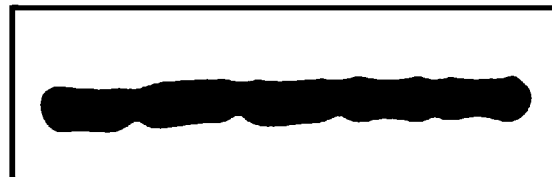
N D 1 5 10



Col 1 α 1



Col 1 α 2



β -actin

(57) Abstract: The present invention relates to a pharmaceutical composition containing ICG-001 for preventing or treating fibrosis, more specifically to a pharmaceutical composition, containing ICG-001 which powerfully inhibits collagen generation, for preventing or treating dermatofibroma (hypertrophic scarring, keloid, scleroderma, and the like) and systemic fibrotic diseases (pulmonary fibrosis, liver cirrhosis, atrial fibrosis, glial scarring, Crohn's disease, myelofibrosis, systemic fibrosis, and the like). The pharmaceutical composition containing ICG-001 for preventing or treating fibrosis according to the present invention has been confirmed to be a strong inhibitor of collagen synthesis in fibroblasts, and accordingly can be effectively utilized as a therapeutic agent for fibrosis which occur from accumulation of connective tissue, such as collagen and glycosaminoglycans, due to proliferation of fibroblasts.

[다음 쪽 계속]



WO 2018/079966 A1



SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT,
TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역
내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE,
LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유
럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,
MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(57) 요약서: 본 발명은 ICG-001 을 함유하는 섬유증의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 콜라겐의 생성을 강력하게 억제하는 ICG-001 을 함유하는 피부 섬유증(비후성 반흔, 켈로이드, 피부 경화증 등) 및 전신 섬유화 질환(폐섬유증, 간경화증, 심방 섬유증, 뇌신경교 반흔, 크론병, 골수 섬유증, 전신 섬유증 등)의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 ICG-001 을 함유하는 섬유증의 예방 또는 치료용 약학 조성물은, 섬유아세포에서 콜라겐의 합성을 강력하게 억제하는 것을 확인하였으며, 따라서 섬유아세포의 증식에 의해서 콜라겐과 글리코사미노글리칸과 같은 결합조직이 축적되어 발병하는 섬유화 또는 섬유증 치료제로 유용하게 사용될 수 있다.

명세서

발명의 명칭: ICG-001을 함유하는 섬유증의 예방 또는 치료용 약학 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 ICG-001을 함유하는 섬유증의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 콜라겐의 생성을 강력하게 억제하는 ICG-001을 함유하는 피부 섬유증(비후성 반흔, 켈로이드, 피부 경화증 등) 및 전신 섬유화 질환(폐섬유증, 간경화증, 심방 섬유증, 뇌신경교 반흔, 크론병, 골수 섬유증, 전신 섬유증 등)의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 섬유아세포는 피부의 진피에 위치하고 있으며, 콜라겐, 엘라스틴, 당 단백질, 프로테오글리칸을 포함하는 다양한 세포 외 기질(ECM) 성분의 생산 및 분비를 통해 인장 강도 및 탄력을 제공하는 역할을 한다. 비후성 반흔 및 켈로이드와 같은 섬유성 피부 질환에서 섬유아세포의 증식은 증가되고 ECM의 과도한 축적이 발생하게 된다. 향상된 형질전환증식인자 β (TGF- β) 신호는 섬유성 피부 질환의 병인에서 중요하다. 또한, Wnt/ β -catenin 신호 역시 섬유증 질환의 병인에서 중요하게 연관되어 있음을 많은 연구에서 나타나고 있다. 예를 들어, β -catenin의 발현이 켈로이드 조직에서 상당히 증가하고, TGF- β 와 섬유아세포의 자극은 Wnt/ β -catenin 신호의 상향조절을 야기한다. 켈로이드 섬유아세포는 높은 세포 성장 및 피브로넥틴 발현의 관점에서 Wnt3a 치료에 더 민감하다. 이러한 결과는 Wnt/ β -catenin 신호가 섬유증 피부 질환의 약물 개발을 위해 잠재적인 치료 대상이 될 수 있음을 나타낸다.
- [4] ICG-001은 원래 대장암 치료제로서 개발되었으며, Wnt/ β -catenin 신호를 위한 소분자 억제제이다. 이는 CREB-결합 단백질(CBP)에 결합되고 β -catenin 및 CBP 사이의 상호작용을 차단함으로써 Wnt/ β -catenin 신호를 억제한다.
- [5] 본 발명자들은 피부 섬유증 및 전신 섬유화 질환 치료제로 ICG-001을 함유하는 조성물의 효과를 검증하고자 예의노력한 결과, Wnt/ β -catenin 억제제인 ICG-001이 섬유아세포에서 콜라겐의 생성을 강력하게 억제하는 것을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.
- [6]
- [7] **발명의 요약**
- [8] 본 발명의 목적은 섬유증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는데 있다.
- [9] 본 발명의 다른 목적은 섬유증의 개선용 식품을 제공하는데 있다.
- [10] 본 발명의 다른 목적은 섬유증을 예방 또는 치료하는 방법을 제공하는데 있다.
- [11] 본 발명의 다른 목적은 ICG-001의 신규한 용도를 제공하는데 있다.

- [12] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 ICG-001을 유효성분으로 함유하는 섬유증의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [13] 본 발명은 또한, ICG-001을 유효성분으로 함유하는 섬유증의 개선용 식품을 제공한다.
- [14] 본 발명은 또한 섬유증 발병이 예상되는 환자 또는 섬유증 환자에게 ICG-001을 유효성분으로 함유하는 상기 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 섬유증을 예방 또는 치료방법을 제공한다.
- [15] 본 발명은 또한 ICG-001의 섬유증을 예방 또는 치료하기 위한 용도를 제공한다.

[16]

도면의 간단한 설명

- [17] 도 1은 일 실시예에 따른 정상 섬유아세포에서 콜라겐 합성에 ICG-001의 농도에 따른 효과를 나타낸 것이다.
- [18] 도 2는 일 실시예에 따른 정상 섬유아세포에서 콜라겐 합성에 ICG-001의 처리 시간에 따른 효과를 나타낸 것이다.
- [19] 도 3은 일 실시예에 따른 정상 섬유아세포에서 콜라겐에 ICG-001의 억제 효과를 나타낸 것이다.
- [20] 도 4는 일 실시예에 따른 정상 섬유아세포에서 프로콜라겐-1에 ICG-001의 농도에 따른 효과를 나타낸 것이다.
- [21] 도 5는 일 실시예에 따른 콜라겐 젤의 수축 분석 결과를 나타낸 것이다.
- [22] 도 6은 일 실시예에 따른 TGF- β 신호에 대한 ICG-001의 효과를 나타낸 것이다.
- [23] 도 7은 일 실시예에 따른 ICG-001이 TOPflash 활성화에 미치는 영향을 나타낸 것이다.
- [24] 도 8은 일 실시예에 따른 ICG-001의 억제 가능성에 대한 β -catenin 과발현의 효과를 나타낸 것이다.

[25]

발명의 상세한 설명 및 바람직한 구현예

- [26] 본 발명은 하기의 설명에 의하여 모두 달성될 수 있다. 하기의 설명은 본 발명의 바람직한 구체적인 예를 기술하는 것으로 이해되어야 하며, 본 발명이 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 첨부된 도면은 이해를 돕기 위한 것으로, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니며, 개별 구성에 관한 세부 사항은 후술하는 관련 기재의 구체적 취지에 의하여 적절히 이해될 수 있다.
- [27] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 숙련된 전문가에 의해서 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용된 명명법은 본 기술 분야에서 잘 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.
- [28]
- [29]

- [30] 본 발명에서는 ICG-001이 콜라겐의 생성을 강력하게 억제하는 것을 확인하였으며, 따라서 피부 섬유증(비후성 반흔, 켈로이드, 피부 경화증 등) 및 전신 섬유화 질환(폐섬유증, 간경화증, 심방 섬유증, 뇌신경교 반흔, 크론병, 골수 섬유증, 전신 섬유증 등)의 약학 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.
- [31]
- [32] 본 발명은 일 관점에서 ICG-001을 유효성분으로 함유하는 섬유증의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 또한 ICG-001의 섬유증을 예방 또는 치료하기 위한 용도에 관한 것이다.
- [33]
- [34] 본 발명에 따른 약학 조성물은 섬유증 질환의 예방 또는 치료에 유용하며, 본 발명에 있어서, 상기 섬유증 질환은 피부 섬유증 또는 전신 섬유화 질환이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [35] 본 발명에 있어서, 피부 섬유증은 비후성 반흔(hypertrophic scar), 켈로이드(keloid), 피부 경화증(scleroderma)으로 구성되는 군에서 선택되는 것이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [36] 본 발명에 있어서, 전신 섬유화 질환은 폐섬유증(pulmonary fibrosis), 간경화증(liver cirrhosis), 심방 섬유증(atrial fibrosis), 뇌신경교 반흔(glia scar), 크론병(Crohn's Disease), 골수 섬유증(Myelofibrosis) 및 전신 섬유증(systemic fibrosis)으로 구성되는 군에서 선택되는 것이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [37] 또한, 본 발명에 있어서 콜라겐의 생성을 억제하는 ICG-001은 0.1 내지 20 μM 농도인 것이 바람직하고, 5 내지 10 μM 농도의 ICG-001을 함유하는 것이 더욱 바람직하다.
- [38]
- [39] 본 발명의 ICG-001을 함유하는 약학 조성물은 통상의 방법에 따라 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가적으로 포함할 수 있다. ICG-001을 함유하는 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [40] 본 발명의 ICG-001을 함유하는 약학 조성물은 통상의 방법에 따라 산제, 환제, 과립제, 캡슐제, 현탁액, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수용액제, 현탁액, 동결 건조제 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형으로 제제화될 수 있다.
- [41] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조될 수 있다. 경구투여를

위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 제조될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 60, 카카오지, 라우린지, 글리세로 제라틴 등이 사용될 수 있다.

[42] 본 발명은 또한 섬유증 발병이 예상되는 환자 또는 섬유증 환자에게 ICG-001을 유효성분으로 함유하는 상기 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 섬유증을 예방 또는 치료방법에 관한 것이다.

[43] 본 발명의 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 건강상태, 체중, 연령, 성별, 식이, 배설율, 질병의 정도, 약물형태, 투여시간, 투여경로 및 투여기간에 따라 그 범위가 다양하지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 하지만, 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 ICG-001은 1일 1~10 mg/kg으로, 바람직하게는 5 mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[44] 또한, 본 발명의 약학 조성물은 섬유증의 예방 또는 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[45]

[46] 본 발명은 다른 관점에서 ICG-001을 유효성분으로 함유하는 섬유증의 개선용 식품을 제공하는데 있다.

[47] 본 발명에 따른 식품에 의해 증상이 개선될 수 있는 섬유증 질환은 전술한 바와 같다.

[48] 또한, 본 발명에 있어서 콜라겐의 생성을 억제하는 ICG-001은 0.1 내지 20 μ M 농도인 것이 바람직하고, 5 내지 10 μ M 농도의 ICG-001을 함유하는 것이 더욱 바람직하다.

[49] 본 발명에 있어서, 상기 식품은 기능성 식품(functional food), 영양 보조제(nutritional supplement), 건강식품(health food) 및 식품 첨가제(food additives) 등의 모든 형태를 포함한다. 상기 유형의 건강기능 식품은 당업계에

공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다. 예를 들면, 건강식품으로는 본 발명의 ICG-001을 차, 주스 및 드링크의 형태로 제조하여 음용하도록 하거나, 과립화, 캡슐화 및 분말화하여 섭취할 수 있다. 또한, 기능성 식품으로는 음료(알콜성 음료 포함), 과일 및 그의 가공식품(예: 과일통조림, 병조림, 잼, 마말레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(예: 햄, 소시지 콘비프 등), 빵류 및 면류(예: 우동, 메밀국수, 라면, 스파게티, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 젓, 유제품(예: 버터, 치즈 등), 식용식물유지, 마가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료(예: 된장, 간장, 소스 등) 등에 본 발명의 ICG-001을 첨가하여 제조할 수 있다.

[50] 상기 건강 기능식품 또한, 식품조성물로서 기능성 식품, 영양보조제, 건강 식품, 식품 첨가제 등의 다양한 형태를 포함하는 것이며, 당업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태, 예컨대, 앞서 언급한 ICG-001을 차, 주스, 드링크의 형태로 제조하거나, 과립화, 캡슐화, 분말화하거나, 이러한 화합물 또는 추출물을 음료, 과일 및 가공식품, 어류, 육류 및 그 가공식품, 빵류, 면류, 조미료 등 각종 식품에 첨가하여 제조함으로써 제공될 수 있다.

[51]

[52] 실시예

[53] 이하 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 이에 의해 본 발명의 기술적 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명 할 것이다.

[54]

[55] 본 발명에 사용된 정상 피부 및 켈로이드 조직은 서면 동의서에 따라 여러 기증자로부터 획득하고, 본 연구는 의학의 충남 대학의 임상 시험 심사위원회의 윤리위원회에서 승인되었다.

[56]

[57] 실시예 1: 콜라겐 합성에 대한 ICG-001의 효과

[58] 본 실시예에서는 정상 피부(인체)의 섬유아세포 및 켈로이드 유래 피부의 섬유아세포를 10% 소태아혈청(FBS, Fetal Bovine Serum)이 보충된 둘베코수정이글배지(DMEM, Dulbecco's Modified Eagle's Medium)에서 배양하였다. ICG-001은 Selleckchem(Houston, TX)에서 구입하였으며, 디메틸설폭사이드(DMSO, dimethyl sulfoxide)에 용해시킨 다음 배지로 희석하였다(DMSO의 최종 농도는 0.1%).

[59]

[60] 타입 I 콜라겐 합성에 ICG-001이 미치는 영향을 확인하기 위하여 웨스턴 블롯을 수행하였다. 정상 섬유아세포에 각각 1 μ M, 5 μ M, 10 μ M 농도의 ICG-001를 72시간 동안 투여한 다음, 웨스턴 블롯으로 타입 I 콜라겐(Col 1 α 1, Col 1 α 2)의 발현을 측정하였으며 β -actin을 loading 대조군으로 사용하였다.

- [61] 도 1은 정상 섬유아세포에서 콜라겐 합성에 ICG-001의 농도에 따른 효과를 나타낸 것으로, 정상 섬유아세포에 ICG-001를 처리한 결과 농도에 의존적으로 타입 I 콜라겐이 극적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 또한, N: non-treated, D: DMSO-treated, Col α 1: collagen- α 1, Col α 2: collagen- α 2를 의미한다.
- [62]
- [63] 타입 I 콜라겐 합성에 ICG-001의 처리 시간이 미치는 영향을 확인하기 위하여 웨스턴 블롯을 수행하였다. 정상 섬유아세포에 5 μ M 농도의 ICG-001를 각각 24시간, 48시간, 72시간 동안 투여한 다음, 웨스턴 블롯으로 타입 I 콜라겐(Col α 1, Col α 2)의 발현을 측정하였으며 β -actin을 loading 대조군으로 사용하였다.
- [64] 도 2는 정상 섬유아세포에서 콜라겐 합성에 ICG-001의 처리 시간에 따른 효과를 나타낸 것으로, 정상 섬유아세포에 ICG-001를 처리한 결과 시간에 의존적으로 타입 I 콜라겐이 극적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다.
- [65]
- [66] 타입 I 콜라겐에 ICG-001의 억제 효과를 확인하기 위하여, 정상 섬유아세포에 각각 1 μ M, 5 μ M, 10 μ M 농도의 ICG-001를 24시간 동안 처리하였다. 타입 I 콜라겐의 mRNA 발현을 RT-PCR로 확인하였으며, GAPDH를 internal 대조군으로 사용하였다.
- [67] 도 3은 정상 섬유아세포에서 콜라겐에 ICG-001의 억제 효과를 나타낸 것으로, 타입 I 콜라겐에서 ICG-001의 억제 효과는 mRNA 수준에서 검출되었으며, ICG-001이 타입 I 콜라겐 유전자의 전사(transcription)를 억제하는 것을 알 수 있었다.
- [68]
- [69] 프로콜라겐-1(procollagen-1)의 분비에 ICG-001이 미치는 영향을 확인하기 위하여, 상용적으로 이용가능한 ELISA kit(TaKaRa, Shiga, Japan)를 사용하여 조사하였다. 정상 섬유아세포에 각각 1 μ M, 5 μ M 농도의 ICG-001를 24시간 동안 처리하였다. 평균값 $\pm$ 표준편차는 3번의 독립적인 실험의 평균값이며, * $P < 0.01$ 이다.
- [70] 도 4는 정상 섬유아세포에서 프로콜라겐-1에 ICG-001의 농도에 따른 효과를 나타낸 것으로, 프로콜라겐의 분비는 ICG-001에 의해 현저하게 감소하였으며 이는 콜라겐 합성에 대한 결과와 일치하는 것으로 확인되었다.
- [71]
- [72] 콜라겐 젤의 수축 분석을 위해 상처 수축(wound contraction)에 대하여 잘 알려진 모델을 이용하여 분석을 수행하였다(Ngo P et al., Methods Mol Biol, 2006; 341:103-9). 섬유아세포를 포함하는 콜라겐 젤을 준비한 다음, 5 μ M 농도의 ICG-001를 7일 동안 처리하였다.
- [73] 도 5는 콜라겐 젤 수축 분석 결과를 나타낸 것으로, 대조군(non-treated 및 DMSO-treated)에서는 시간에 의존적으로 젤 수축이 발생하였으며, ICG-001를 처리한 실험군의 경우 젤 수축을 현저하게 억제하는 것을 알 수 있었다. 도 5의

우측 그래프는 3번의 독립적인 실험의 평균값이며, * $P < 0.01$ 이다.

[74]

[75] 실시예 2: TGF- β 신호에 대한 ICG-001의 효과

[76] 형질전환증식인자 β (TGF- β)는 Smad 신호 경로를 통해 섬유아세포의 증식 및 콜라겐의 발현을 유발시키는데 매우 중요한 역할을 하며, TGF- β 및 Wnt/ β -catenin 신호 사이에 크로스토크는 섬유증 질병에 연관되어 있다.

[77] 따라서 본 실시예에서는 TGF- β 신호에 대한 ICG-001의 영향을 확인하기 위하여, 섬유아세포를 80 confluency까지 성장시킨 다음, 하룻밤 동안 무혈청 배지에서 배양하였다. 세포는 30분 동안 5 μ M 농도의 ICG-001로 전처리한 다음, 5 μ g/ml의 TGF- β 로 30분 동안 처리하였다. Smad2 및 Smad3의 인산화반응은 웨스턴 블롯에 의해 측정되었다.

[78] 도 6은 TGF- β 신호에 대한 ICG-001의 효과를 나타낸 것으로, TGF- β 처리한 섬유아세포는 Smad2 및 Smad3의 인산화반응이 현저하게 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 ICG-001로 전처리한 경우, Smad2 및 Smad3의 TGF- β 유도된 인산화반응을 억제하는데 실패하였다.

[79] 이러한 결과로부터 콜라겐 합성에 ICG-001의 효과는 β -catenin이 관련된 다른 신호 전달 경로의 억제보다, β -catenin 신호 전달에 미치는 억제 활성화에 주로 의존하는 것을 알 수 있었다.

[80]

[81] 실시예 3: TOPflash 활성화에 대한 ICG-001의 효과

[82] 본 실시예에서는 내생(endogenous) Wnt/ β -catenin 신호에 대한 ICG-001의 영향을 확인하기 위하여, 세포를 TOPflash 리포터 아데노바이러스로 형질 도입한 다음, 각각 1 μ M, 5 μ M, 10 μ M 농도의 ICG-001를 24시간 동안 처리하였다. 세포를 용해시키고 루시퍼라제 활성을 측정하였다. 결과는 3번의 독립적인 실험의 fold induction $\pm$ 표준편차를 나타내었으며, * $P < 0.01$ 이고 N: non-treated, D: DMSO-treated group을 의미한다.

[83] 도 7은 ICG-001이 TOPflash 활성화에 미치는 영향을 나타낸 것으로, ICG-001이 실제 피부 섬유아세포에서 Wnt/ β -catenin 신호를 억제하는지 확인하였다. 그 결과, ICG-001은 5 μ M 이상의 농도로 처리했을 때 피부 섬유아세포에서 내생 Wnt/ β -catenin 신호를 억제하는 것을 확인할 수 있었다.

[84]

[85] 실시예 4: ICG-001의 억제 가능성에 대한 β -catenin 과발현의 효과

[86] 본 실시예에서는 ICG-001의 억제 가능성에 대한 β -catenin 과발현의 효과를 확인하기 위하여, 세포는 Flag-tagged β -catenin 발현 재조합 아데노바이러스 및/또는 아데노바이러스 발현 LacZ(대조군)로 형질 도입하였다. 또한, 세포를 5 μ M 농도의 ICG-001로 처리한 다음, 웨스턴 블롯에 의해 콜라겐 합성을 확인하였다.

[87] 도 8은 ICG-001의 억제 가능성에 대한 β -catenin 과발현의 효과를 나타낸

것으로, β -catenin 과발현이 콜라겐의 합성에서 ICG-001의 효과를 감소시킬 수 있는지 조사한 결과를 나타낸 것이다. 그 결과, 도 8에 나타낸 바와 같이, β -catenin 과발현이 콜라겐의 합성에서 ICG-001의 억제 가능성을 감소시키는 것을 알 수 있으며, 타입 I 콜라겐 생성(lane 2 vs. 4)에 대한 ICG-001 억제 가능성도 현저하게 감소시키는 것을 확인하였다. 이러한 결과로부터 타입 I 콜라겐 발현에 β -catenin이 직접적인 역할을 하는 것을 알 수 있었다.

[88]

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

[90]

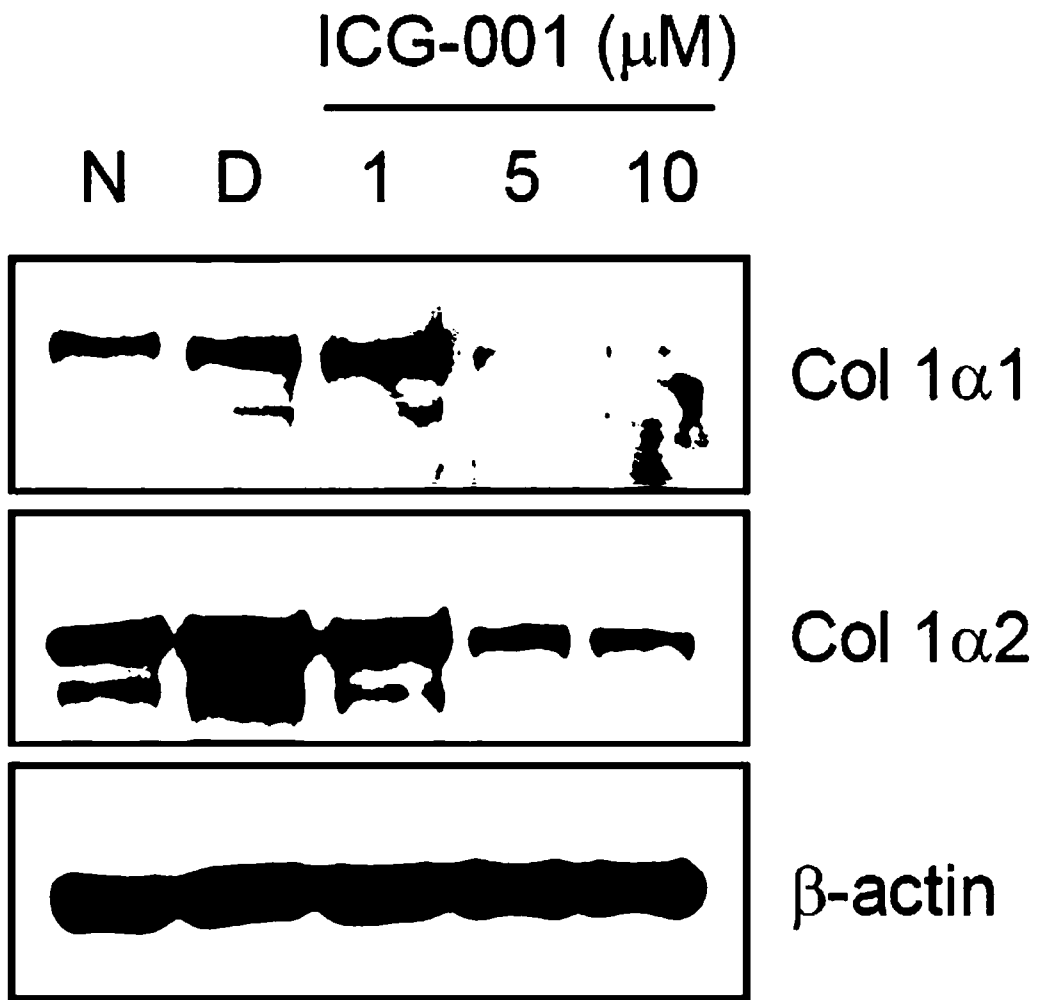
산업상 이용가능성

[91] 본 발명에 따른 ICG-001을 함유하는 섬유증의 예방 또는 치료용 약학 조성물은, 섬유아세포에서 콜라겐의 합성을 강력하게 억제하는 것을 확인하였으며, 따라서 섬유아세포의 증식에 의해서 콜라겐과 글리코사미노글리칸과 같은 결합조직이 축적되어 발병하는 섬유화 또는 섬유증 치료제로 유용하게 사용될 수 있다.

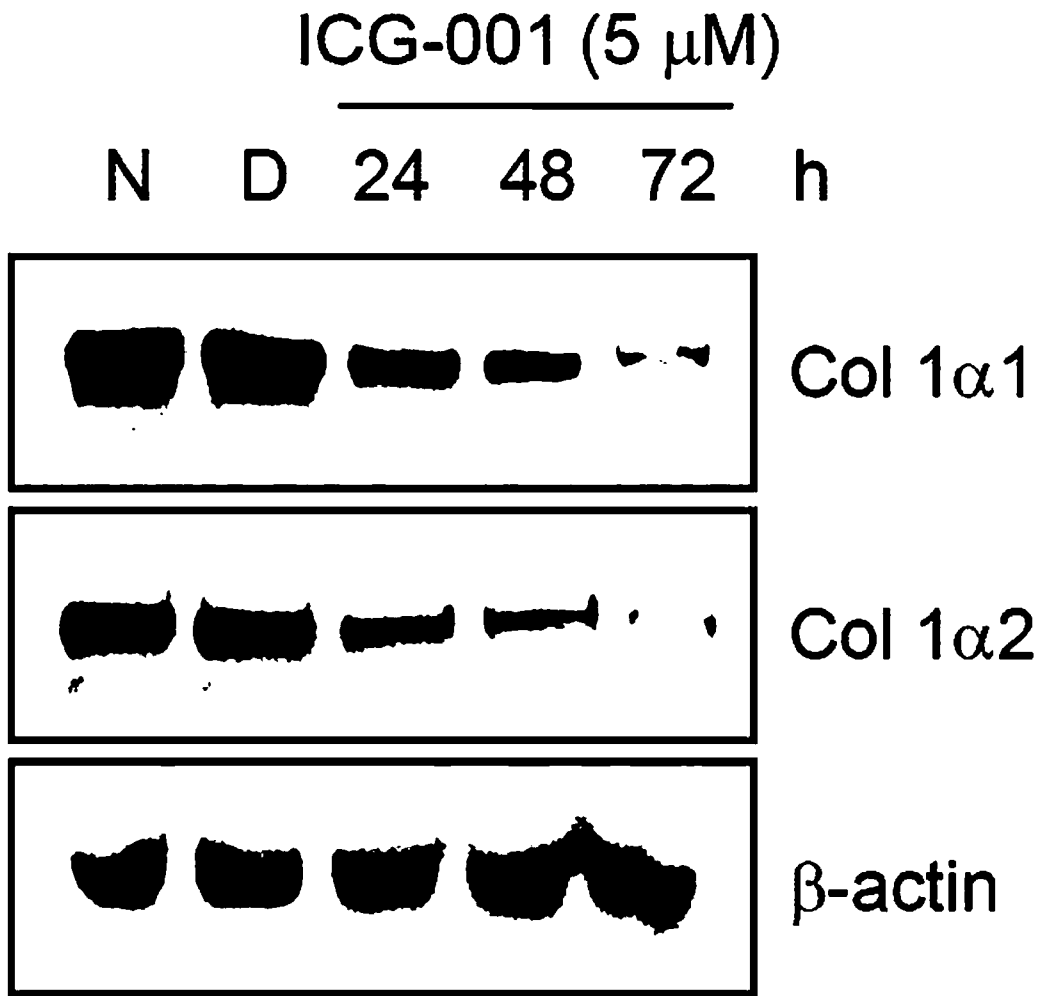
청구범위

- [청구항 1] ICG-001을 유효성분으로 함유하는 섬유증의 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 ICG-001은 0.1 내지 20 μ M 농도인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 섬유증은 피부 섬유증 또는 전신 섬유화 질환인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 피부 섬유증은 비후성 반흔, 켈로이드 및 피부 경화증으로 구성된 군에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.
- [청구항 5] 제3항에 있어서, 상기 전신 섬유화 질환은 폐섬유증, 간경화증, 심방 섬유증, 뇌신경교 반흔, 크론병, 골수 섬유증 및 전신 섬유증으로 구성된 군에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.
- [청구항 6] ICG-001을 유효성분으로 함유하는 섬유증의 개선용 식품.

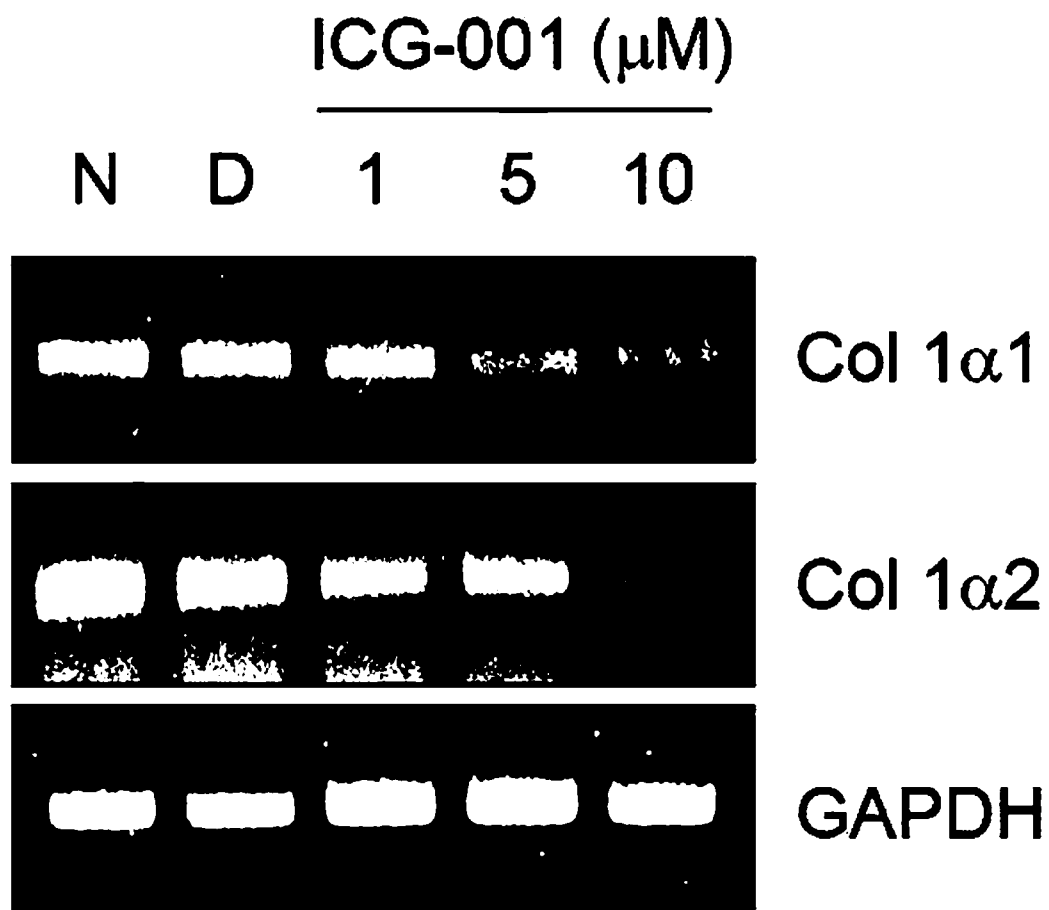
[도1]



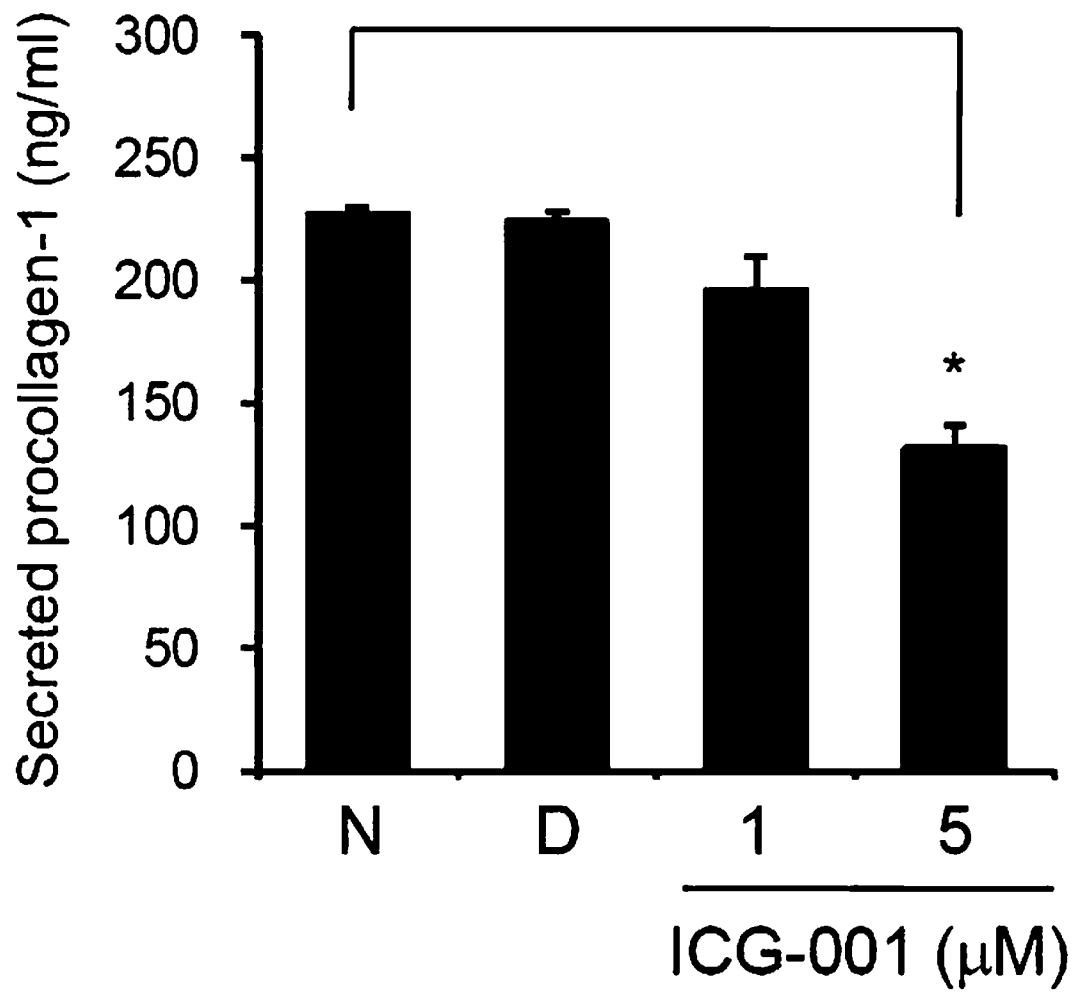
[도2]



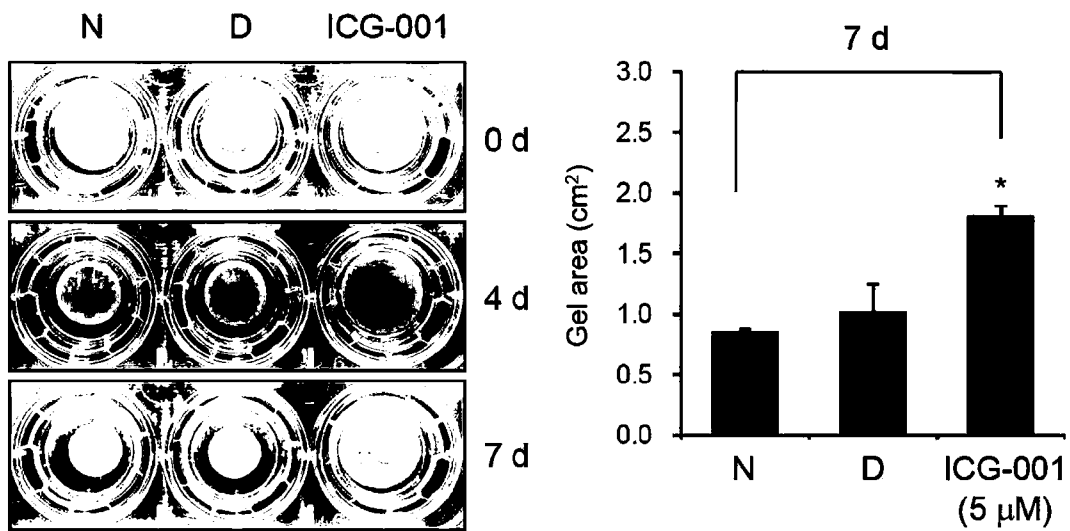
[도3]



[도4]

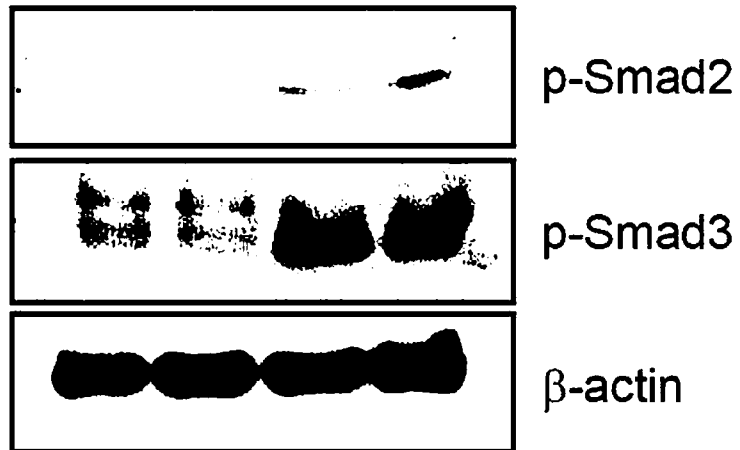


[도5]

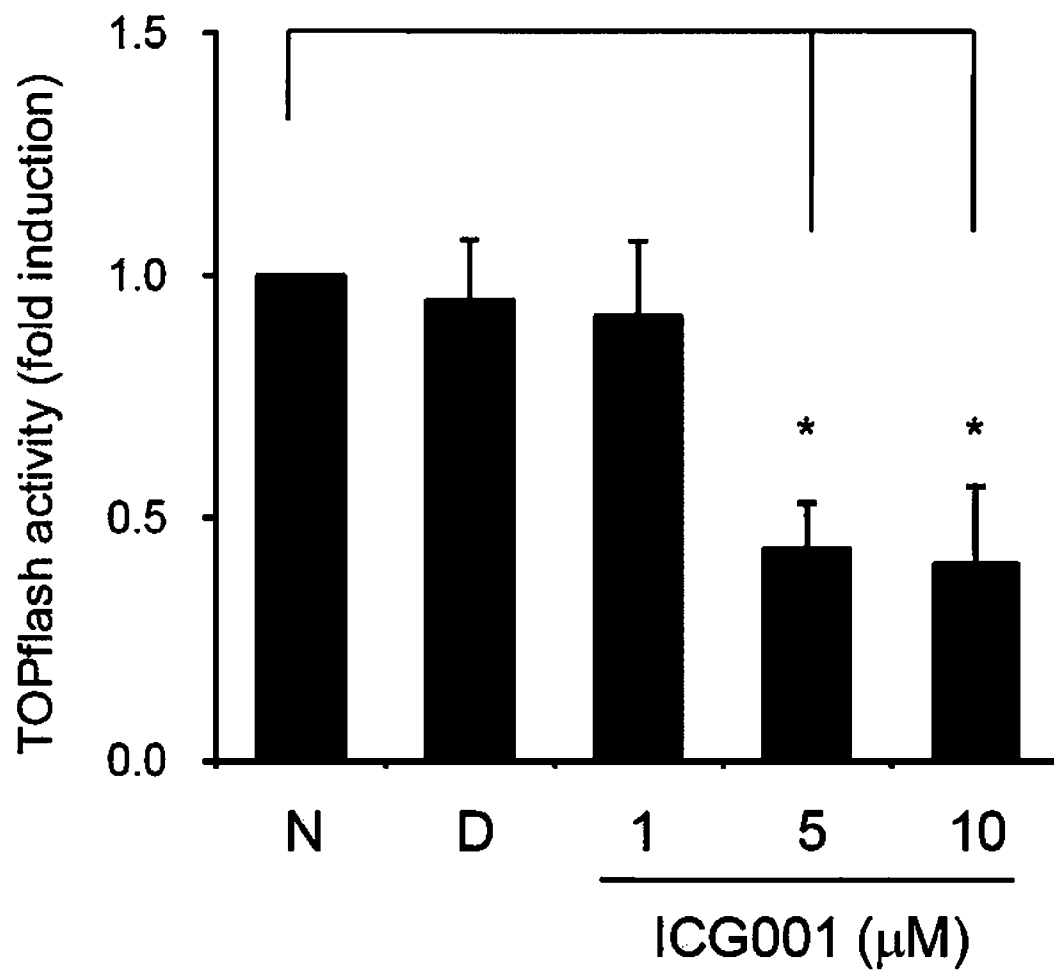


[도6]

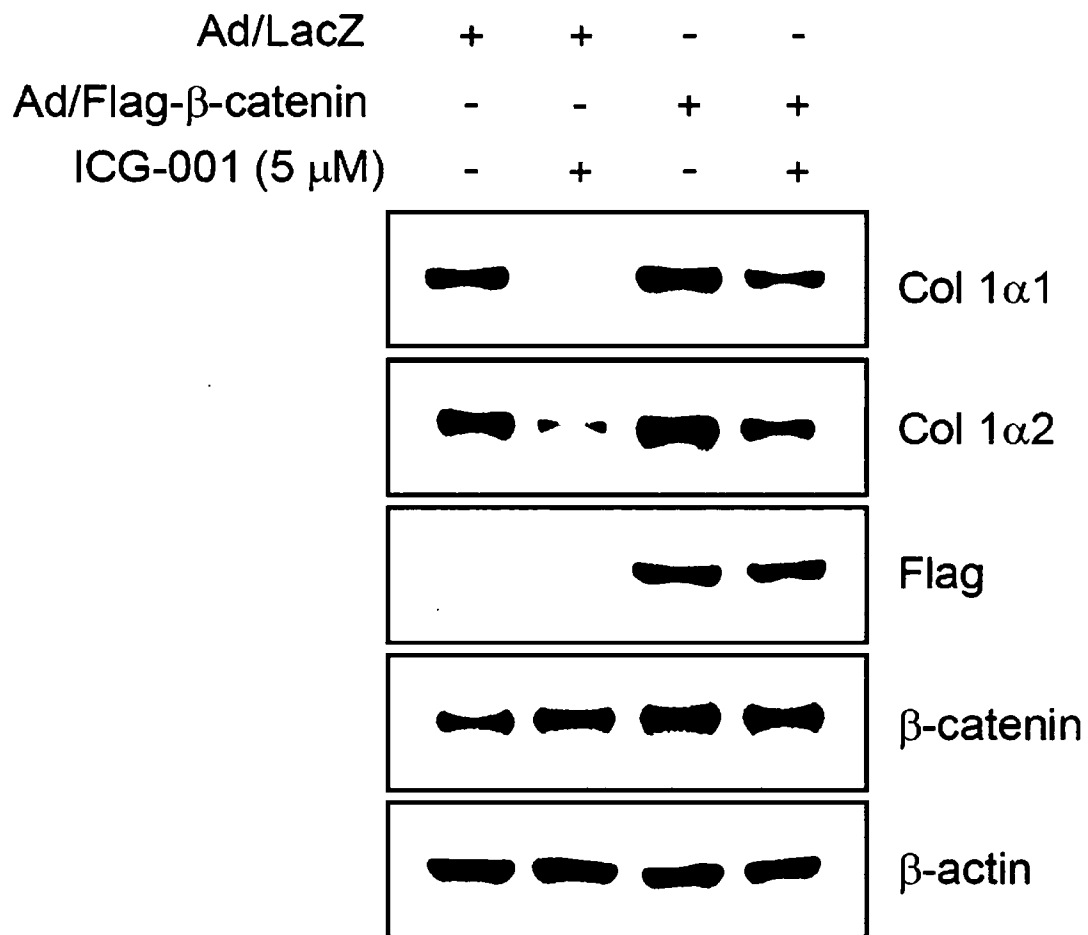
TGF- β (5 ng/ml)	-	-	+	+
ICG-001 (5 μ M)	-	+	-	+



[도7]



[도8]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/005739**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER***A61K 31/519(2006.01)i, A23L 33/10(2016.01)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)

A61K 31/519; C07D 487/04; A61K 31/675; A61K 31/4985; A23L 33/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

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

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: ICG-001, dermatofibrosis, systemic fibrosis disease

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-2008-0003350 A (INSTITUTE FOR CHEMICAL GENOMICS) 07 January 2008 See paragraphs [0031], [0123]-[0131]; claims 1, 8, 10, 13, 15-17, 22.	1-6
X	US 2016-0263131 A1 (KOUJI, H. et al.) 15 September 2016 See abstract; paragraph [0079]; claims 1-3, 6-11.	1-6
X	HENDERSON, W. R., JR. et al., "Inhibition of Wnt/beta-catenin/CREB Binding Protein (CBP) Signaling Reverses Pulmonary Fibrosis", PNAS, 2010, vol. 107, no. 32, pages 14309-14314 See abstract; figure 2.	1-6
X	ENZO, M. V. et al., "The Wnt/beta-catenin Pathway in Human Fibrotic-like Diseases and Its Eligibility as a Therapeutic Target", Molecular and Cellular Therapies, 2015, vol. 3, thesis no. 1, pages 1-13 See abstract; pages 7-8; figure 1.	1-6
X	HAO, S. et al., "Targeted Inhibition of Beta-catenin/CBP Signaling Ameliorates Renal Interstitial Fibrosis", Journal of the American Society of Nephrology, 2011, vol. 22, pages 1642-1653 See abstract; pages 1647-1648; figure 6.	1-6



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

"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

08 SEPTEMBER 2017 (08.09.2017)

Date of mailing of the international search report

08 SEPTEMBER 2017 (08.09.2017)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/005739

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	KIM, K. I. et al., "Inhibition of Collagen Production by ICG-001, a Small Molecule Inhibitor for Wnt/beta-catenin Signaling, in Skin Fibroblasts", Journal of Dermatological Science, 06 January 2017, vol. 86, pages 71-78 See pages 76-78; figures 1-2.	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2017/005739

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2008-0003350 A	07/01/2008	AU 2006-227776 A1	28/09/2006
		EP 1901751 A1	26/03/2008
		JP 2008-533155 A	21/08/2008
		US 2008-0153743 A1	26/06/2008
		US 2008-0171745 A1	17/07/2008
		US 2009-0215781 A1	27/08/2009
		US 2012-0059010 A1	08/03/2012
		US 7915251 B2	29/03/2011
		US 8604018 B2	10/12/2013
		WO 2006-101858 A1	28/09/2006
US 2016-0263131 A1	15/09/2016	CN 105899211 A	24/08/2016
		EP 3057590 A2	24/08/2016
		JP 2016-535082 A	10/11/2016
		WO 2015-056104 A2	23/04/2015
		WO 2015-056104 A3	18/06/2015

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 31/519(2006.01)i, A23L 33/10(2016.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/519; C07D 487/04; A61K 31/675; A61K 31/4985; A23L 33/10

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: ICG-001, 피부 섬유증, 전신 섬유화 질환

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-2008-0003350 A (인스티튜트 포 케미컬 제노믹스) 2008.01.07 단락 [0031], [0123]-[0131]; 청구항 1, 8, 10, 13, 15-17, 22 참조.	1-6
X	US 2016-0263131 A1 (KOUJI, H. 등) 2016.09.15 요약; 단락 [0079]; 청구항 1-3, 6-11 참조.	1-6
X	HENDERSON, JR., W. R. 등, 'Inhibition of Wnt/beta-catenin/CREB binding protein (CBP) signaling reverses pulmonary fibrosis' PNAS, 2010, 107권, 32호, 페이지 14309-14314 요약; 도 2 참조.	1-6
X	ENZO, M. V. 등, 'The Wnt/beta-catenin pathway in human fibrotic-like diseases and its eligibility as a therapeutic target' Molecular and Cellular Therapies, 2015, 3권, 논문번호 1, 페이지 1-13 요약; 페이지 7-8; 도 1 참조.	1-6
X	HAO, S. 등, 'Targeted inhibition of beta-catenin/CBP signaling ameliorates renal interstitial fibrosis' Journal of the American Society of Nephrology, 2011, 22권, 페이지 1642-1653 요약; 페이지 1647-1648; 도 6 참조.	1-6

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

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2017년 09월 08일 (08.09.2017)

국제조사보고서 발송일

2017년 09월 08일 (08.09.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



대한민국 특허청

(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,

4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

이정철

전화번호 +82-42-481-8611



C(계속). 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
PX	KIM, K. I. 등, 'Inhibition of collagen production by ICG-001, a small molecule inhibitor for Wnt/beta-catenin signaling, in skin fibroblasts' Journal of Dermatological Science, 2017.01.06, 86권, 페이지 71-78 페이지 76-78; 도 1-2 참조.	1-6

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

KR 10-2008-0003350 A	2008/01/07	AU 2006-227776 A1	2006/09/28
		EP 1901751 A1	2008/03/26
		JP 2008-533155 A	2008/08/21
		US 2008-0153743 A1	2008/06/26
		US 2008-0171745 A1	2008/07/17
		US 2009-0215781 A1	2009/08/27
		US 2012-0059010 A1	2012/03/08
		US 7915251 B2	2011/03/29
		US 8604018 B2	2013/12/10
		WO 2006-101858 A1	2006/09/28
US 2016-0263131 A1	2016/09/15	CN 105899211 A	2016/08/24
		EP 3057590 A2	2016/08/24
		JP 2016-535082 A	2016/11/10
		WO 2015-056104 A2	2015/04/23
		WO 2015-056104 A3	2015/06/18