

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호

(43) 국제공개일
2022년 6월 30일 (30.06.2022) WIPO | PCT

WO 2022/139232 A1

(51) 국제특허분류:

A61K 31/403 (2006.01) A23L 33/10 (2016.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2021/017986

(22) 국제출원일:

2021년 12월 1일 (01.12.2021)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2020-0182462 2020년 12월 23일 (23.12.2020) KR

(71) 출원인: 전남대학교산학협력단 (INDUSTRY FOUNDATION OF CHONNAM NATIONAL UNIVERSITY)
[KR/KR]: 61186 광주광역시 북구 용봉로 77, Gwangju (KR).

(72) 발명자: 이준호 (LEE, Jun Ho); 61140 광주광역시 북구 분토길 14번길 37, Gwangju (KR).

(74) 대리인: 윤대웅 (YOON, Dae Woong); 08793 서울시 관악구 남부순환로 1922 603호, 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, IT, JO, 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, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 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), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, 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).

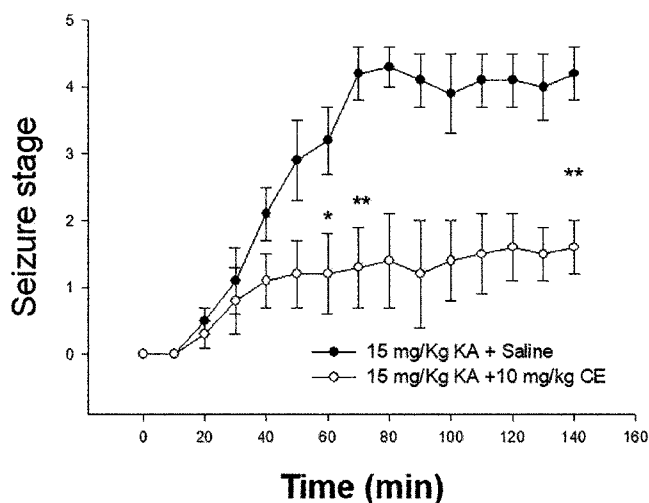
공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

(54) Title: COMPOSITION FOR PREVENTING, TREATING OR AMELIORATING NERVOUS SYSTEM DISEASES COMPRISING CHANOCALVINE

(54) 발명의 명칭: 케노클라빈을 포함하는 신경계 질환 예방, 치료 또는 개선용 조성물



(57) Abstract: The present invention relates to a composition for preventing, treating or ameliorating nervous system diseases, comprising chanoclavine. The composition not only inhibits the activation of T-type calcium ion channels, but also exhibits the effects of prolonging seizure latency and reducing the frequency of seizure onset, which can be confirmed based on behavioral seizure stages, and thus can be effectively used in the prevention, treatment or amelioration of nervous system diseases.

(57) 요약서: 본 발명은 케노클라빈(Chanoclavine)을 포함하는 신경계 질환 예방, 치료 또는 개선용 조성물에 관한 것으로서, 상기 조성물은 T-형 칼슘 이온 채널(T-type calcium ion channel)의 활성화를 억제할 뿐만 아니라 행동학적 발작 단계에 근거하여 확인 가능한 발작 잠재기 지연 및 발작 발생 빈도 감소 효과를 나타내므로, 이를 효과적으로 신경계 질환의 예방, 치료 또는 개선에 이용할 수 있다.



WO 2022/139232 A1

명세서

발명의 명칭: 캐노클라빈을 포함하는 신경계 질환 예방, 치료 또는 개선용 조성물

기술분야

- [1] 본 특허출원은 2020년 12월 23일에 대한민국 특허청에 제출된 대한민국 특허출원 제10-2020-0182462호에 대하여 우선권을 주장하며, 상기 특허출원의 개시 사항은 본 명세서에 참조로서 삽입된다.
- [2] 본 발명은 캐노클라빈을 포함하는 신경계 질환 예방, 치료 또는 개선용 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 캐노클라빈을 포함하는 뇌전증, 신경성 통증 또는 간질의 예방, 치료 또는 개선용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [3] 칼슘 이온 채널은 신경세포의 자극에 의해 칼슘의 농도를 높여줌으로써 세포내 다양한 신호전달에 중요한 역할을 하게 된다. 이러한 칼슘 이온 채널은 고전압 활성화 칼슘 이온 채널과 저전압 활성화 칼슘 이온 채널로 나뉘게 되는데, 이 중 대표적인 저전압 활성화 칼슘 이온 채널이 T-형 칼슘 이온 채널이다.
- [4] T-형 칼슘 이온 채널은 중추 근육, 부신의 내분비선, 동방결절, 심장 등에 존재하며, T-형 칼슘 이온 채널의 억제제는 간질, 고혈압 등의 뇌질환과 협심증 등의 심장질환 치료에 효과가 있다고 알려져 있다.
- [5] 최근에는 T-형 칼슘 이온 채널의 억제제가 만성 통증치료에 효과가 있다고 발표되었다. 예를 들면, T-형 칼슘 이온 채널의 억제제로서 미베프라딜(Mibefradil)과 에소숙시마이드(Ethosuximide)가 척수신경결찰 동물모델에서 기계적 열적 유발 반응의 저해 정도가 약물 투여량에 따른다고 보고됨으로써 T-형 칼슘 이온 채널의 억제제가 신경성 통증치료에 효과가 있다는 것을 보였다.
- [6] T-형 칼슘 이온 채널은 전류 측정 시 휴지전위 근처에서 활성화되며, 전류가 빠른 속도로 활성화되었다가 곧바로 비활성화(fast inactivation)되어 과도(transient) 모양을 나타낸다. 또한 단일 채널 전도(single channel conductance)가 다른 칼슘 이온 채널에 비하여 작은(tiny) 특징을 가지고 있어, 이 특징들을 나타내는 단어의 첫째 알파벳을 따서 T-형 칼슘 이온 채널이라 명명되었다고 한다.
- [7] 상기 T-형 칼슘 이온 채널은 다른 칼슘 이온 채널에 비하여 활성화되는 역치가 매우 낮아 심장의 동결절과 신경세포들에서 자발적 활동전위를 일으키는 박동 조율기(pacemaker) 역할을 하며 따라서 심방의 수축에 관여하며, 평활근 수축 부신피질에서 코르티솔(cortisol), 알도스테론(aldosterone)의 분비, 신경의 흥분성, 조직의 발달 등에 관여하는 것으로 알려져 있다.
- [8] 그리고 T-형에는 3종류의 서브형(subtype) cDNA가 클로닝되어 발현되었고,

이들은 각각 a1G(Cav3.1), a1H(Cav3.2), a1I(Cav3.3)로서 발현되고 이후 측정된 전류들은 알려진 바와 같이 T-형의 활성화 및 비활성화 반응속도, 느린 활성화 감소, 작은 단일 채널 전도 등의 특징들을 나타낸다. 하지만 이와 달리 a1I는 a1G와 a1H에 비하여 매우 느린 활성화 및 비활성화 반응속도를 보인다.

- [9] T-형에 대한 연구는 특이차단제의 부족으로 아직 알려진 바가 많지 않아서 앞으로 더 연구가 수행되어야 할 것이다. 최근 들어 근육 수축, 시냅스 전달, 호르몬 분비, 효소활성도 조절, 유전자 발현 조절 등의 기능 이외에 칼슘 이온 채널을 구성하는 유전자의 차단(knockout) 및 신경, 근육, 시각에 관련된 다양한 유전병이 칼슘 이온 채널의 돌연변이에 의해 발생한다는 사실이 밝혀지고 있어 칼슘 이온 채널에 관한 연구의 중요성이 더욱 부각되고 있는 추세이다.
- [10] 칼슘 이온 채널 억제제의 연구 분야에 있어 이전부터 약물로 사용되던 대부분의 칼슘이온 억제제들은 주로 L-형 칼슘이온 채널에 우세하게 생리활성을 나타내었다. 그러나 이러한 약물들에서 근육의 과잉 수축, 신경호르몬 과다 분비, 심방폐색 등의 부작용이 나타났고, 따라서 이러한 부작용의 감소와 약효의 증대를 위해 T-형에 선택적으로 활성을 나타내는 차단제를 찾기 위한 연구가 진행되었다.
- [11] 종래 알려져 있는 칼슘 이온 채널 차단제들 중 플루나리진(flunarizine), U-92032, 니카르디핀(nicardipine), 미베프라딜 등은 T-형에 선택적인 저해 활성을 보이는 대표적인 물질들이다. 이들은 대체로 디페닐 메틸피페라진 또는 디히드로피리딘 구조를 기본 골격으로 가지고 있다.
- [12] 이중 미베프라딜은 T-형 칼슘이온 채널 억제제로써는 처음으로 시판되었던 약물이다. 상기 미베프라딜은 L-형 보다 T-형에 무려 10~30배의 저해 활성을 나타내었지만, 사이토크롬(cytochrome) P-450 3A4, 2D6에 대사되는 약물들 특히, 아스테미졸(astemizole)과 같은 항히스타민제들과 약물 상호작용을 나타냄으로써 판매가 금지되었다. 이로써 T-형 칼슘 이온 채널의 억제제의 시급한 개발이 요구되고 있다.
- [13] 현재까지 T-형 칼슘 이온 채널의 억제제를 개발하려는 많은 노력은 있었으나, 선택적인 T-형 칼슘 이온 채널의 억제제는 극히 드물다. T-형 칼슘 이온 채널에 작용하는 물질로서 퀴나졸린, 아이속사졸, 또는 1,3-다이옥소아이소인돌을 기본 골격구조로 갖는 화합물이 개시되어 있다.
- [14] 그러나 여전히 T-형 칼슘 이온 채널에 선택적이고 약물동력학 프로파일이 좋고, ADME(흡수, 분배, 대사, 및 배출)가 좋으면서 고혈압, 암, 간질, 신경성 통증 등과 관련 질병치료에 유효한 T-형 칼슘 이온 채널의 억제제가 요구되고 있다. 따라서 기존의 T-형 칼슘이온 채널 억제제들과는 다른 구조를 가지면서 보다 높은 선택성을 가지는 물질의 개발이 필요하게 되었다.
- [15] 한편, 뇌전증은 기질적 병변 또는 기능적 장애로 인하여 뇌신경 세포의 발작적인 방전으로 간헐적인 신경계의 장애를 일으키고, 신경증상, 의식상실, 경련, 감각장애 등의 증상을 나타내는 질환이다. 알츠하이머병(Alzheimer) 및

뇌졸중(Stroke)에 이어 세 번째로 흔한 신경계 질환으로, 전 세계 인구의 약 0.5~2%가 뇌전증을 앓고 있다. 또한, 전 세계적으로는 매년 10만 명당 45명 정도로 새로운 환자가 발생하고 있고, 우리나라는 약 30~40만 명의 뇌전증 환자가 있는 것으로 추정되고 있다.

- [16] 뇌전증 환자의 연령 분포를 살펴보면, 전체 뇌전증의 70%가 소아, 청소년 연령에서 시작되고, 특히, 유아기에 발병률이 높은 것으로 알려졌다. 또한, 발병률과 유병률은 생후 1년 이내에 가장 높았다가 급격히 낮아지고, 60세 이상의 노년층에서 다시 급격히 증가하는 U자 형태를 보이며, 일생동안 발작을 경험하는 유병률은 10~15%에 이른다.
- [17] 뇌전증은 뇌전증 발작(epileptic seizure)이 반복적으로 발생하는 만성화된 질환으로서, 그 원인이 매우 다양하며, 정확한 원인은 밝혀져 있지 않은 실정이다. 다만, 최근 신경영상검사 기술의 발달에 따라 과거에는 관찰할 수 없었던 뇌의 미세한 병리적 변화들을 관찰할 수 있게 되면서 뇌전증의 원인에 대한 규명이 점차 확대되고 있다. 일부 역학 연구에서는 환자의 1/3 이상이 뇌에 생긴 병리적 변화나 뇌손상의 과거 병력이 있는 것으로 보고된 바 있고, 주요한 원인으로는 뇌졸중, 선천기형, 두부외상, 뇌염, 뇌종양, 퇴행성 뇌병증, 유전, 미숙아, 분만 전후의 손상 등으로 알려져 있다.
- [18] 한편, 뇌전증의 치료는 크게 약물치료와 약물 외 치료, 즉 수술, 케톤식이요법, 미주신경자극술 등으로 분류할 수 있다. 다만, 약물 외 치료는 약물에 저항성을 보이는 환자에 대해서만 시행되고 있는바, 뇌전증 치료를 위한 주요한 방법으로 약물치료가 이용되어왔다. 종래의 약물들로 페니토인(Phenytoin: Dilantin), 발프로에이트(Valproate: Orfil, Depakine, Depakote), 카바마제핀(Carbamazepine: Tegretol), 페노바비탈(Phenobarbital: Luminal), 에토숙시마이드(Ethosuximide: Zarontin) 등이 있으며, 최근에는 토피라메이트(Topiramate: topamax), 라모트리진(Lamotrigine: Lamictal), 비가바트린(Vigabatrin: Sabril), 옥스카바제핀(Oxcarbazepine: Trileptal) 등이 개발되어 상용화되어 있다.
- [19] 그러나 이러한 약물들은 발진, 혈액질환, 골다공증, 저나트륨증, 두통, 행동변화 및 면역반응 등의 부작용이 있는 것으로 알려져 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [20] 이에 본 발명자들은 캐노클라빈(Chanoclavine)이 T-형 칼슘 이온 채널(T-type calcium ion channel)의 활성화를 억제하고, 카이닉산(Kainic acid; KA) 처리에 의하여 뇌전증을 유발한 마우스에서 캐노클라빈이 행동학적 발작 단계(seizure stages)를 낮은 상태인 1 및 2 단계에 해당하는 발작 발생 잠재기(latency of seizure)의 범위 내로 유지하는 효과가 월등히 우수한 것을 확인하였다.
- [21] 이에, 본 발명의 목적은 캐노클라빈을 포함하는 신경계 질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공하는 것이다.

- [22] 본 발명의 다른 목적은 캐노클라빈을 포함하는 신경계 질환 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [23] 본 발명의 또 다른 목적은 캐노클라빈의 신경계 질환 예방, 치료 또는 개선 용도에 관한 것이다.

기술적 해결방법

- [24] 본 발명은 캐노클라빈(Chanoclavine)을 포함하는 신경계 질환 예방, 치료 또는 개선용 조성물에 관한 것이다.
- [25] 본 발명자들은 캐노클라빈이 T-형 칼슘 이온 채널(T-type calcium ion channel)의 활성화를 억제하고, 카이닉산(Kainic acid; KA) 처리에 의하여 뇌전증을 유발한 마우스에서 캐노클라빈이 행동학적 발작 단계(seizure stages)를 낮은 상태인 1 및 2 단계에 해당하는 발작 발생 잠재기(latency of seizure)의 범위 내로 유지하는 것을 확인하였다.
- [26] 이하 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.
- [27] 본 발명의 일 양태는 캐노클라빈을 포함하는 신경계 질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물이다.
- [28] 본 발명에 있어서 신경계 질환은 뇌전증, 신경성 통증, 간질 및 파킨슨병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [29] 본 발명의 약제학적 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 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다.
- [30] 본 발명에 있어서 캐노클라빈은 대상체에 대하여 1 내지 100 mg/kg, 1 내지 80 mg/kg, 1 내지 50 mg/kg, 1 내지 20 mg/kg, 5 내지 100 mg/kg, 5 내지 80 mg/kg, 또는 5 내지 50 mg/kg의 농도로 투여되는 것일 수 있고, 예를 들어, 5 내지 20 mg/kg의 농도로 투여되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [31] 상기 대상체는 포유동물인 것일 수 있다.
- [32] 본 발명의 일 구현예에서, 캐노클라빈은 T-형 칼슘 이온 채널의 활성화를 억제시키는 효과를 발휘하는 것으로 확인되었다. 상기 T-형은 $\alpha 1G$ (Cav3.1), $\alpha 1H$ (Cav3.2) 또는 $\alpha 1I$ (Cav3.3)의 서브형(subtype)인 것일 수 있고, 예를 들어, $\alpha 1H$ 인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [33] 본 발명의 약제학적 조성물은 캐노클라빈의 약제학적 유효량 및/또는 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물로 이용될 수 있다.
- [34] 본 명세서에서 용어 "약제학적 유효량"은 상술한 캐노클라빈의 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분한 양을 의미한다.
- [35] 본 발명의 약제학적 조성물에 포함되는 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스,

솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤향제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[36] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 인간을 포함하는 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여 방식은 통상적으로 사용되는 모든 방식일 수 있으며, 예컨대, 피하 주사, 비강내 투여, 정맥내 투여, 흡입 투여, 경구 투여 및 뇌척수강내 주사로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 방법으로 사용될 수 있는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[37] 본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제, 캡슐제 또는 젤(예컨대, 하이드로젤) 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

[38] 본 발명의 다른 양태는 케노클라빈을 포함하는 신경계 질환 개선용 건강기능식품 조성물이다.

[39] 본 발명에 있어서 신경계 질환은 뇌전증, 신경성 통증, 간질 및 파킨슨병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[40] 본 발명의 건강기능식품 조성물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 건강기능식품 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 원료에 대하여 15 중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가될 수 있다.

[41] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.

[42] 상기 음료는 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스 및 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로덱스트린과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 당업자의 선택에 의해 적절하게 결정될 수 있다.

- [43] 상기 외에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율 또한 당업자에 의해 적절히 선택될 수 있다.

발명의 효과

- [44] 본 발명은 케노클라빈(Chanoclavine)을 포함하는 신경계 질환 예방, 치료 또는 개선용 조성물에 관한 것으로서, 상기 조성물은 T-형 칼슘 이온 채널(T-type calcium ion channel)의 활성화를 억제할 뿐만 아니라 행동학적 발작 단계에 근거하여 확인 가능한 발작 잠재기 지연 및 발작 발생 빈도 감소 효과를 나타내므로, 이를 효과적으로 신경계 질환의 예방, 치료 또는 개선에 이용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [45] 도 1a는 본 발명의 실시예에 따른 케노클라빈(Chanoclavine; CE)의 농도별 처리에 의한 인체 신경계 Cav3.2 T-형 칼슘 이온 채널(T-type calcium ion channel)의 활성 조절 결과를 보여주는 그래프이다.
- [46] 도 1b는 본 발명의 실시예에 따른 케노클라빈의 순차적 처리 농도 변화에 의한 인체 신경계 Cav3.2 T-형 칼슘 이온 채널의 농도 의존적 활성 조절 결과를 보여주는 그래프이다.
- [47] 도 1c는 본 발명의 실시예에 따른 케노클라빈의 처리에 의한 인체 신경계 Cav3.2 T-형 칼슘 이온 채널의 전압 의존적 활성 조절 결과를 보여주는 그래프이다.
- [48] 도 2a는 본 발명의 실시예에 따른 Cav3.2 T-형 칼슘 이온 채널을 발현시킨 난모세포에서 활성화 막전위 대비 케노클라빈의 처리에 의한 막전위 변화 정도를 나타낸 그래프이다.
- [49] 도 2b는 본 발명의 실시예에 따른 Cav3.2 T-형 칼슘 이온 채널을 발현시킨 난모세포에서 비활성화 막전위 대비 케노클라빈의 처리에 의한 막전위 변화 정도를 나타낸 그래프이다.
- [50] 도 3a는 본 발명의 실시예에 따른 뇌전증 유발 마우스로부터 유도되는 행동학적 발작 단계를 나타낸 모식도이다.
- [51] 도 3b는 본 발명의 실시예에 따른 뇌전증 유발 마우스로부터 케노클라빈의 처리에 의한 뇌전증 발작 잠재기 지연 정도를 비교한 그래프이다.
- [52] 도 3c는 본 발명의 실시예에 따른 뇌전증 유발 마우스로부터 케노클라빈의 처리에 의한 뇌전증 발작 단계를 비교한 그래프이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [53] 본 발명은 케노클라빈(Chanoclavine)을 포함하는 신경계 질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물에 관한 것이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [54] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.
- [55] 본 명세서 전체에 걸쳐, 특정 물질의 농도를 나타내기 위하여 사용되는 "%"는 별도의 언급이 없는 경우, 고체/고체는 (중량/중량)%, 고체/액체는 (중량/부피)%, 그리고 액체/액체는 (부피/부피)%이다.

[56]

[57] 실시예 1: T-형 칼슘 이온 채널 유전자 cDNA 및 cRNA의 합성

- [58] 인체 신경계 a1H(Cav3.2) T-형 칼슘 이온 채널(T-type calcium ion channel)의 cDNA를 합성한 후에 난모세포(Oocyte) 발현 벡터(vector)인 pGEM-HE 내에 서브-클로닝(sub-cloning)하여, E. coli(XLI-blue competent cell) 내로 형질전환(transformation) 시키고 LB/앰피실린(Ampicillin) 한천 플레이트(agar plate)에 도포하여 37°C에서 밤새 배양하였다.

- [59] 배양된 미생물 콜로니를 채취하여 앰피실린이 첨가된 약 50 cc의 LB 배양액에서 다시 배양하고 키트(mini-prep kit, Qiagen, USA)를 사용하여 플라스미드(plasmid) DNA를 분리하였다. 플라스미드 벡터와 T-형 칼슘 이온 채널 유전자의 공지된 핵산 절단효소지도를 이용하여 적절한 핵산 절단효소들을 선택 처리하고 아가로즈 겔(agarose gel) 전기영동을 시행 후 제한효소 지도(restriction map)와 핵산 염기 배열을 통해 올바른 DNA를 확인한 후 선택하였다.

- [60] 선택된 플라스미드 DNA로부터 키트(maxiprep kit, Qiagen, USA)를 이용하여 많은 양의 cDNA(서열번호 1)를 얻었고, cDNA로부터 cRNA(서열번호 2)의 합성을 진행하였다. 구체적으로, 플라스미드 DNA를 절단효소로 잘라 선형으로 만든 후 단백질분해효소(proteinase) K와 SDS를 처리하여 RNase가 없는 주형(template)을 준비하고 키트(T7 message machine kit, Ambion, USA)를 이용하여 제조회사의 설명서에 따라 cRNA를 합성하였다. EtOH 석출(precipitation)을 통해 얻은 정제된 T-형 칼슘 이온 채널 cRNA는 OD 값 측정 후 1 ug/ul의 농도로 분취(aliquot) 후 -70°C에 보관하여 필요 시 사용하였다.

[61]

[62] 실시예 2: 난모세포를 이용한 T-형 칼슘 이온 채널 모델의 제조

- [63] 전남대학교 동물 실험 윤리기준에 따라 난모세포를 갖고 있는 암컷의 제노푸스(Xenopus laevis)를 동면 마취시킨 후 외과적 방법으로 난모세포를 꺼내고 베스 솔루션(Ca free bath solution, 구성 mM: NaCl 96.0, KCl 2.0, MgCl 1.0, HEPES 5.0, pyruvate 2.5)에 두고 콜라겐 분해효소(collagenase, Sigma)로 약 1시간

동안 가열교반(shaking incubation) 후 난포층(follicular layer)을 제거하였다. 그 후 배양액(Bath ND96 solution, 구성 mM, NaCl 98.0, KCl 1.0, CaCl₂ MgCl 4.0, HEPES 5.0, pH 7.4, Ampicillin 0.5, Penicillin 1.0, Streptomycin 10.0 ul/ml)으로 충분히 씻은 후 현미경하에서 stage V - VI의 성숙한 난모세포를 골랐다.

- [64] 당일 또는 다음날 풀러(Narishige puller pp-83)를 사용하여 유리 마이크로전극(glass microelectrode)의 끝을 6 내지 8 nm 크기로 만들어 현미경하에서 마이크로인젝터(microinjector)를 이용하여 난모세포 개당 50 nl의 T-형 칼슘 이온 채널 cRNA를 주입하였고 이 때 난모세포가 약간 부풀어 오르는 것을 확인하였다. 이온 채널의 발현을 위해 ND96 용액에서 48 내지 96시간 동안 18°C에서 배양시켜 이온 채널을 발현시킨 후 전기생리 실험을 하였다, 난모세포의 배양 용액은 매일 교환하였다.

[65]

[66] **실시예 3: 전기생리 실험**

- [67] 두 전극 전압 클램프(Two electrode voltage clamp, OC-725C, Warner Instrument, USA)와 소프트웨어(pClamp software, Axon Instrument, USA)를 사용하여 이온 채널을 통한 이온의 이동에 따른 전류 변화를 관찰 및 결과 분석하였다. 유리 마이크로전극을 풀러로 적당한 크기의 끝으로 만든 후 3 M KCl로 채우고 마이크로포르주(microforge)를 이용하여 말단부를 3 내지 5 nm의 크기로 자른 후 저항을 13 microΩ으로 설정하여 유지 전류(holding current)가 0.2 uA 이내인 난모세포를 골라 실험하였다. 난모세포를 5 mm 크기의 기록 챔버(recording chamber)에 놓고 분당 1 ml/min의 속도로 Ba Ringer's 용액으로 관류시켰다.

- [68] 실험 전 과정에서 홀딩 전압(holding voltage)은 -80 mV로 하였다. 약물의 관류는 프로그램(pClamp)에 의해 컴퓨터로 작동되는 2개의 솔레노이드 값(solenoid value)을 통하여 이루어졌으며, 칼슘 이온 채널의 발현의 확인을 위하여 점진적인 전압 증가 반응으로 이온 채널의 발현을 확인하였다.

- [69] 관류는 각종 약물에 대한 최대 효능이 날 때까지 충분히 수행하였다. 배양액으로 희석하여 처리된 단일 성분 케노클라빈(Chanoclavine; CE)은 10 및 30 uM 농도로 처리하여 활성을 측정하였다.

- [70] 도 1a에서 확인할 수 있듯이, T-형 칼슘 이온 채널은 크게 활성화되었다가 케노클라빈 10 및 30 uM에 의하여 억제되었다.

- [71] 도 1b에서 확인할 수 있듯이, 연속적인 처리를 수행한 경우 T-형 칼슘 이온 채널은 케노클라빈 10 및 30 uM에 의하여 농도 의존적으로 억제되었다.

- [72] 도 1c에서 확인할 수 있듯이, 케노클라빈 10 uM을 처리한 경우의 T-형 칼슘 이온 채널은 케노클라빈을 처리하지 않은 것에 비하여 전압 의존적으로도 억제되었다.

[73]

[74] **실시예 4: 전압 의존적 활성화 및 정상 상태 비활성화 평가**

- [75] 전압 의존적 활성화(voltage-dependent activation)와 정상 상태

비활성화(state-steady inactivation) 효능 평가를 위해서 실시예 3의 난모세포를 이용하여 캐노클라빈 3 및 10 μM 를 주입하여 분석하였다.

- [76] 전압 의존적 활성화는 -100 mV의 고정 전압(Holding Potential)에서 10 mV 증가분으로 표시된 전압(-80 내지 +40 mV 또는 150 ms 동안 4초 간격으로 +60 mV)에 일련의 스텝 탈극화를 적용하여 측정했다. 각 전압의 피크 전류를 측정하여 해당 전도율을 계산했고 10 내지 60 mV 범위내에서 탈극화 전위를 가진 피크 전류를 측정하여 계산하였다.
- [77] 활성화 곡선은 Boltzmann fitting, $G/G_{\text{max}} = 1/(1 + \exp(((V_{1/2} - V)/k)))$ 에 의해 얻어졌다(여기서 G_{max} 는 최대 전도성, $V_{1/2}$ 는 절반 최대 활성화의 잠재력, k 는 기울기 계수). 비활성(Inact) 및 활성화(Actact) 운동학의 시간 상수는 150 ms 펄스가 도출한 트레이스의 지수적 결합에서 표시된 전압에 대해 추정하였다.
- [78] 도 2a에서 확인할 수 있듯이, 대조군에서 활성화 막전위는 -37.6 mV를 나타냈으며, 캐노클라빈을 3, 10 μM 을 처하였을 경우 -31.9 mV와 -28.1 mV로 변화하였다. 이는 10 μM 캐노클라빈에 의해서 활성화 지수인 막전위를 9 mV 변화시킴으로써 전압불안정으로 인한 선천적 뇌전증에 적용이 가능할 것으로 판단되었다.
- [79] 정상 상태 비활성화는 -100 mV의 HP에서 -120 내지 +45 mV의 스텝 증분으로 -120 내지 +45 mV의 300 ms 조건화 펄스 후 -30 mV까지 150 ms 스텝 탈극화로 활성화가 가능한 전류의 비율을 측정하여 테스트했다.
- [80] 도 2b에서 확인할 수 있듯이, 대조군에서는 비활성화 막전위는 -29.3 mV를 나타냈으며, 캐노클라빈을 3, 10 μM 을 처하였을 경우 -32.6 mV와 -37.2 mV로 변화하였다. 이는 10 μM 캐노클라빈에 의해서 활성화 지수인 막전위를 약 8 mV 변화시킴으로써 이 또한 전압불안정으로 인한 선천적 뇌전증에 적용이 가능할 것으로 판단되었다.
- [81]
- [82] **실시예 5: 뇌전증 유발 마우스 모델에서의 개선 효과 확인**
- [83] 실험동물로는 수컷 ICR 마우스(10 주령, 34 내지 36 g)를 온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 습도 $60 \pm 10\%$ 및 밤낮을 12시간씩 조절하고 물과 일반 식이를 충분히 공급하면서 7일간 동물실에서 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 캐노클라빈 10 mg/kg를 ip(인퓨전 펌프; Infusion Pump) 주입하고, 30분 후 카이닉산(Kainic acid; KA) 15 mg/kg를 ip 주입하여 뇌전증을 유발하였다. 카이닉산에 의해 뇌전증이 유도된 동물모델을 이용하여 발작 잠재기 지연 및 발작 발생 빈도 감소 효과를 확인하였다.
- [84] 발작 잠재기 지연 효과 분석은 도 3a에 표시된 5가지 단계로 식별되는 행동학적 발작 단계(seizure stages)에 근거하였으며, 각 단계로는 1 단계: 부동 및 안면 떨림(immobility and facial twitch), 2 단계: 머리 끄덕임(head nodding), 3 단계: 앞다리 경련(forelimb clonus), 4 단계: 배후 자세(rearing), 5 단계: 자세 제어 불가(rearing and falling)의 행동학적 유형이 있다.

- [85] 발작 발생 시작은 카이닉산 처리에 유도된 발작 행동 유형 중 3 단계인 앞다리 경련을 보이는 시점으로 설정하였고, 카이닉산 처리 후부터 발작 행동 3 단계가 발생하기까지의 시간을 발작 발생 잠재기(latency of seizure)로서 기록하였다.
- [86] 도 3b에서 확인할 수 있듯이, 103.5 ± 12.5 초를 기록한 대조군(KA)과 비교하여 241.2 ± 25.3 초를 기록한 시험군(KA+CE)에서 캐노클라빈의 처리에 의한 뇌전증 발작의 발생이 유의적으로 지연되었다.
- [87] 발작 발생 단계 감소 효과는 카이닉산의 주입 후 마우스에 대한 비디오 측정 후 관찰하여 뇌전증 발작 단계에 근거한 결과를 분석하였다. 촬영기간 동안 1 단계에서 5 단계의 발작 행동을 나타내는 경우 단계별 기록을 10분 단위로 측정하였다.
- [88] [표1]

시간 (min)	KA	KA+CE
0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
10	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
20	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.2
30	1.1 ± 0.5	0.8 ± 0.5
40	2.1 ± 0.4	1.1 ± 0.4
50	2.9 ± 0.6	1.2 ± 0.5
60	3.2 ± 0.5	1.2 ± 0.6
70	4.2 ± 0.4	1.3 ± 0.6
80	4.3 ± 0.3	1.4 ± 0.7
90	4.1 ± 0.4	1.2 ± 0.8
100	3.9 ± 0.6	1.4 ± 0.6
110	4.1 ± 0.4	1.5 ± 0.5
120	4.1 ± 0.4	1.6 ± 0.5
130	4.0 ± 0.5	1.5 ± 0.4
140	4.2 ± 0.4	1.6 ± 0.4

- [89] 표 1 및 도 3c에서 확인할 수 있듯이, 대조군(KA)과 비교하여 시험군(KA+CE)에서 캐노클라빈의 처리에 의하여 뇌전증 발작 단계가 유의하게 감소하였음을 확인할 수 있었다. 140분까지의 측정 결과에 따르면, 대조군에서 60분 경과 시 발작 행동 3 단계를 넘어선 결과를 보인 반면 시험군에서는 발작 행동 2 단계까지도 진행되지 않았으므로 발작 발생 잠재기에 해당하는 범위에만 머무른 것으로 판단되었다.

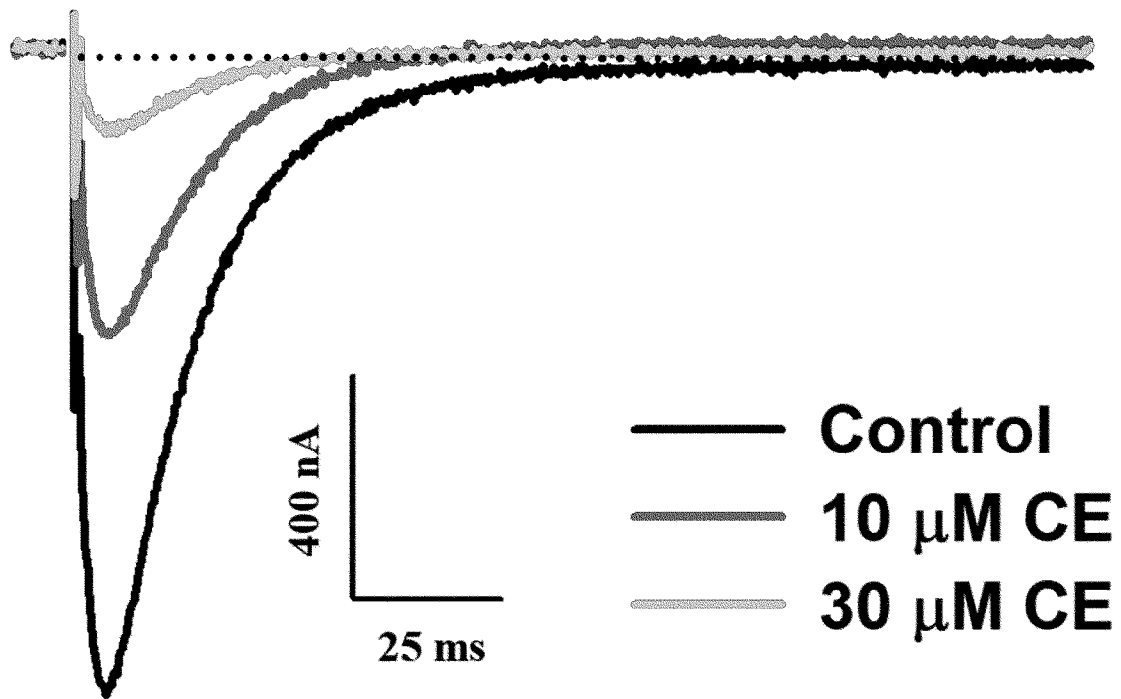
산업상 이용가능성

- [90] 본 발명은 케노클라빈을 포함하는 신경계 질환 예방, 치료 또는 개선용 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 케노클라빈을 포함하는 뇌전증, 신경성 통증 또는 간질의 예방, 치료 또는 개선용 조성물에 관한 것이다.

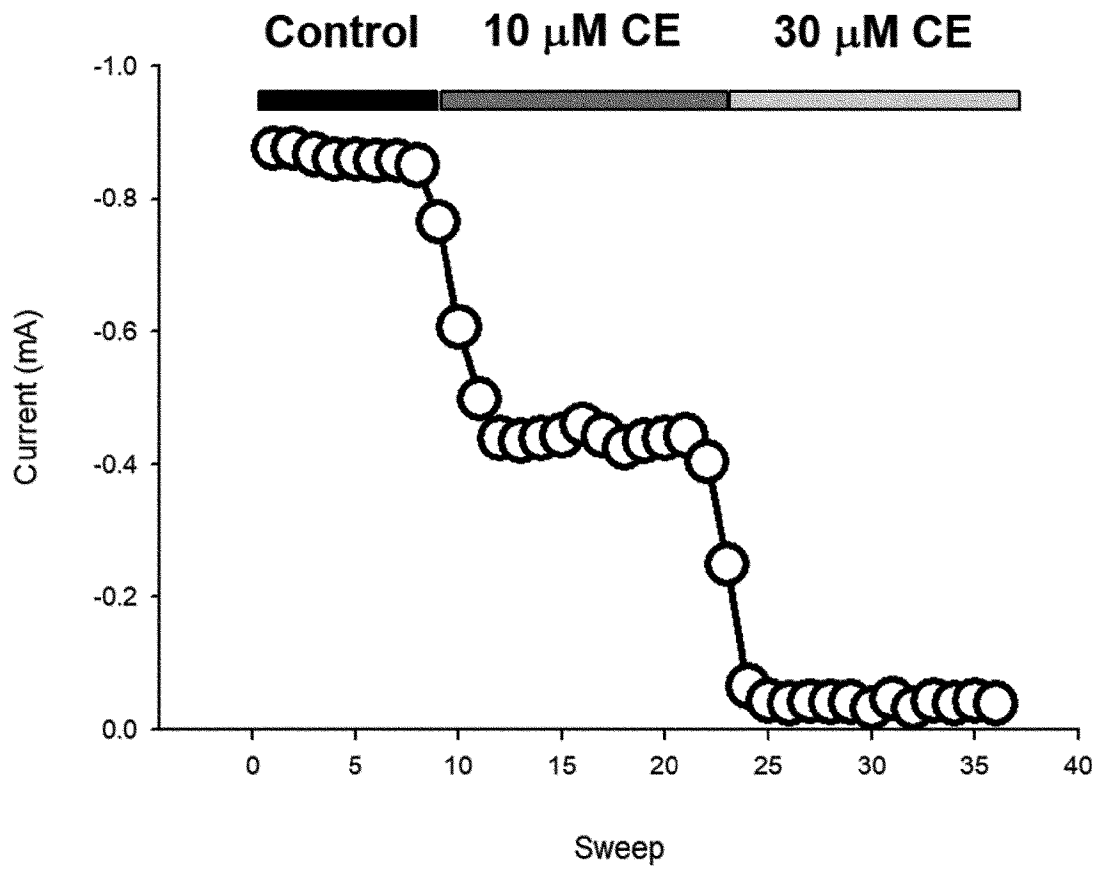
청구범위

- [청구항 1] 캐노클라빈(Chanoclavine)을 포함하는 신경계 질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 신경계 질환은 뇌전증, 신경성 통증, 간질 및 파킨슨병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것인, 약제학적 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 캐노클라빈은 1 내지 100 mg/kg의 농도로 투여되는 것인, 약제학적 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 조성물은 피하 주사, 비강내 투여, 정맥내 투여, 흡입 투여, 경구 투여 및 뇌척수강내 주사로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 방법으로 사용될 수 있는 것인, 약제학적 조성물.
- [청구항 5] 캐노클라빈(Chanoclavine)을 포함하는 신경계 질환 개선용 건강기능식품 조성물.
- [청구항 6] 제5항에 있어서, 신경계 질환은 뇌전증, 신경성 통증, 간질 및 파킨슨병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것인, 건강기능식품 조성물.

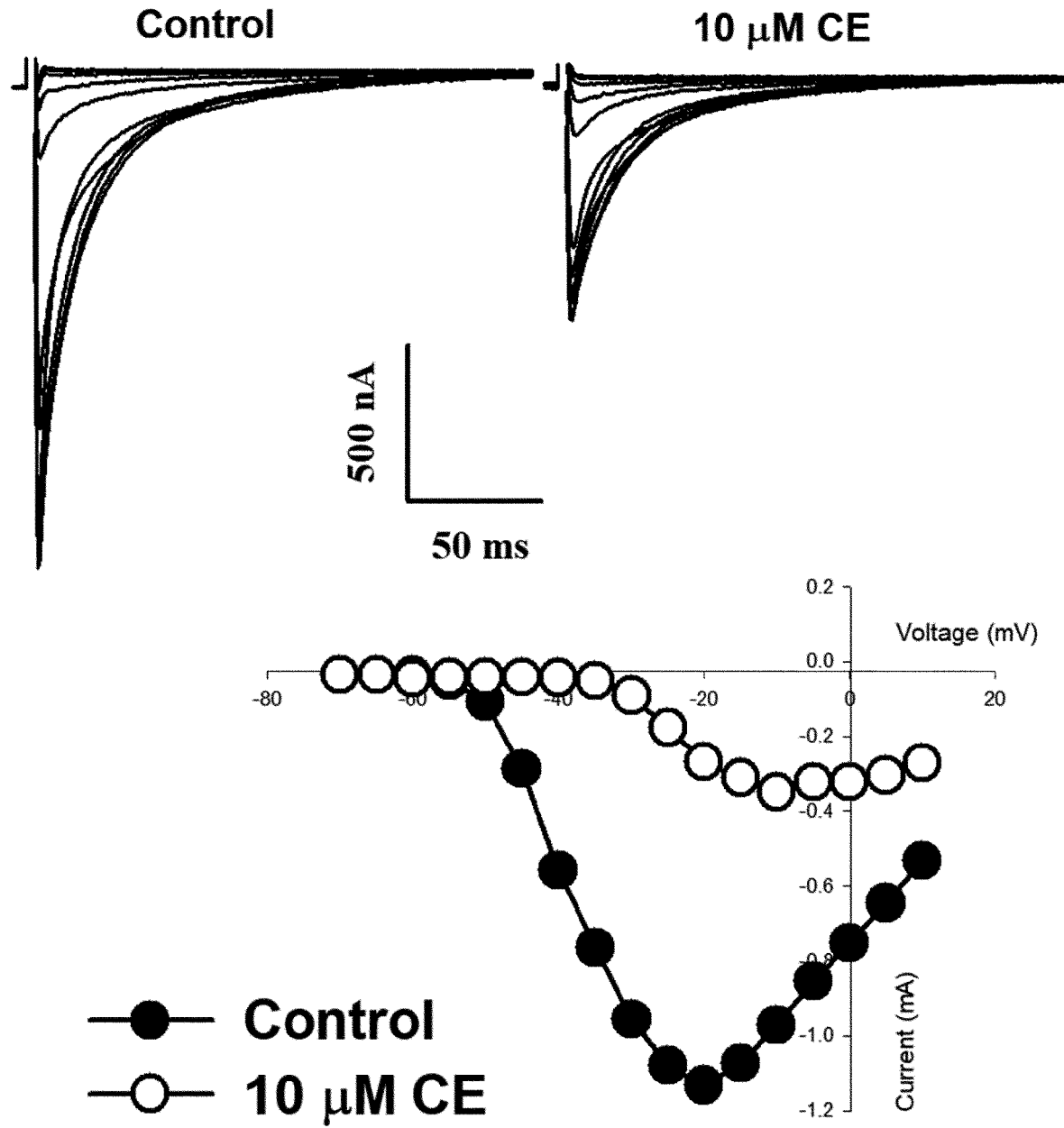
[도 1a]



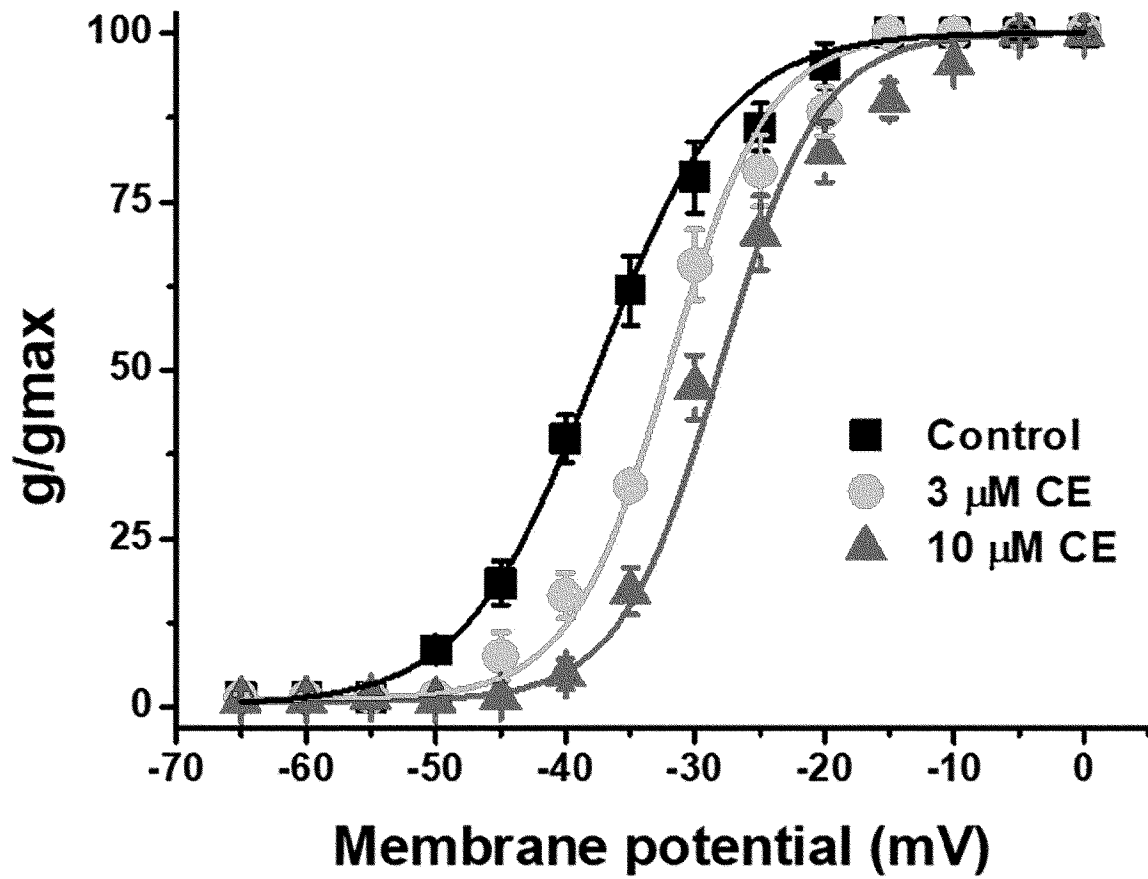
[도 1b]



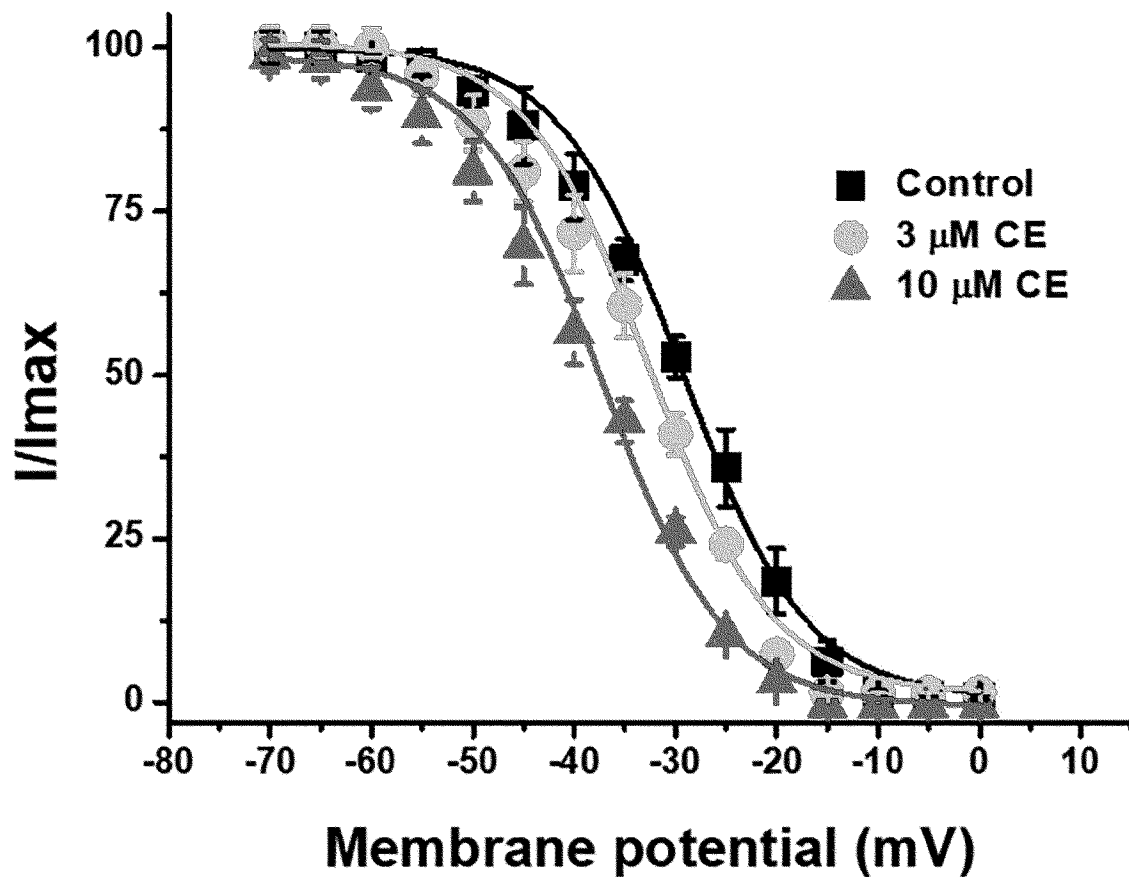
[도1c]



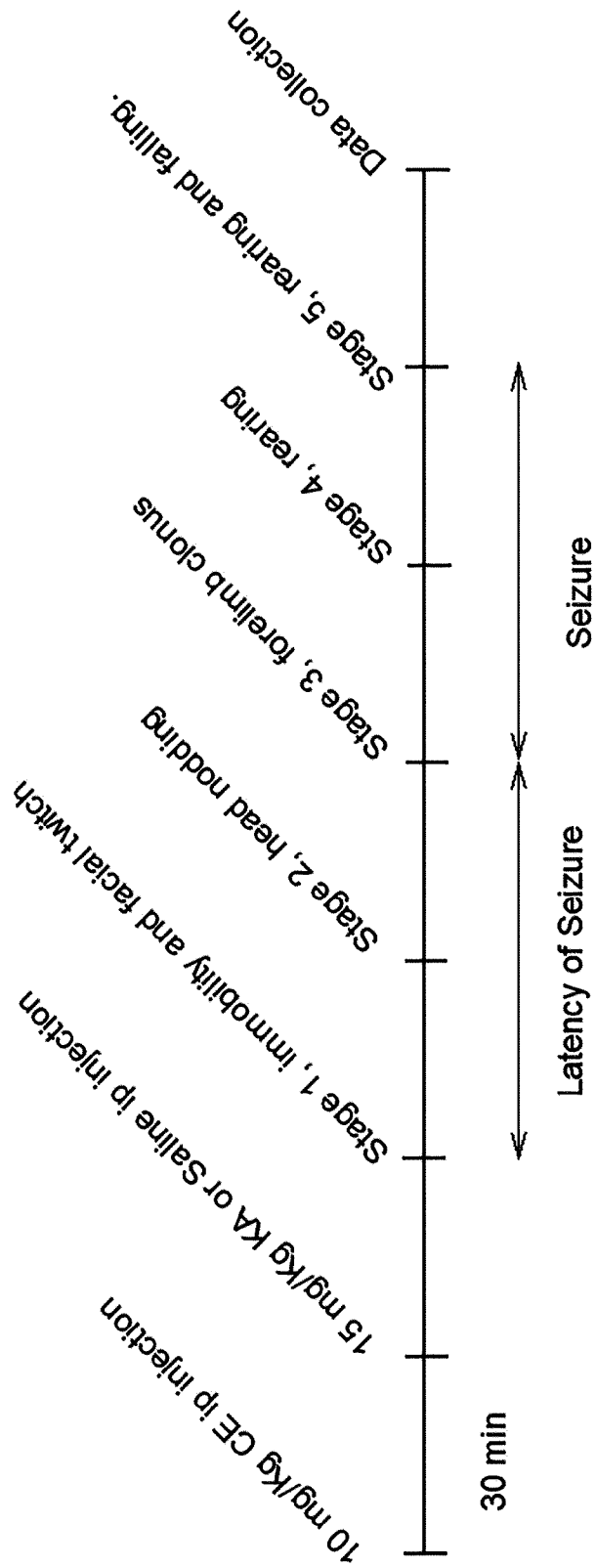
[도2a]



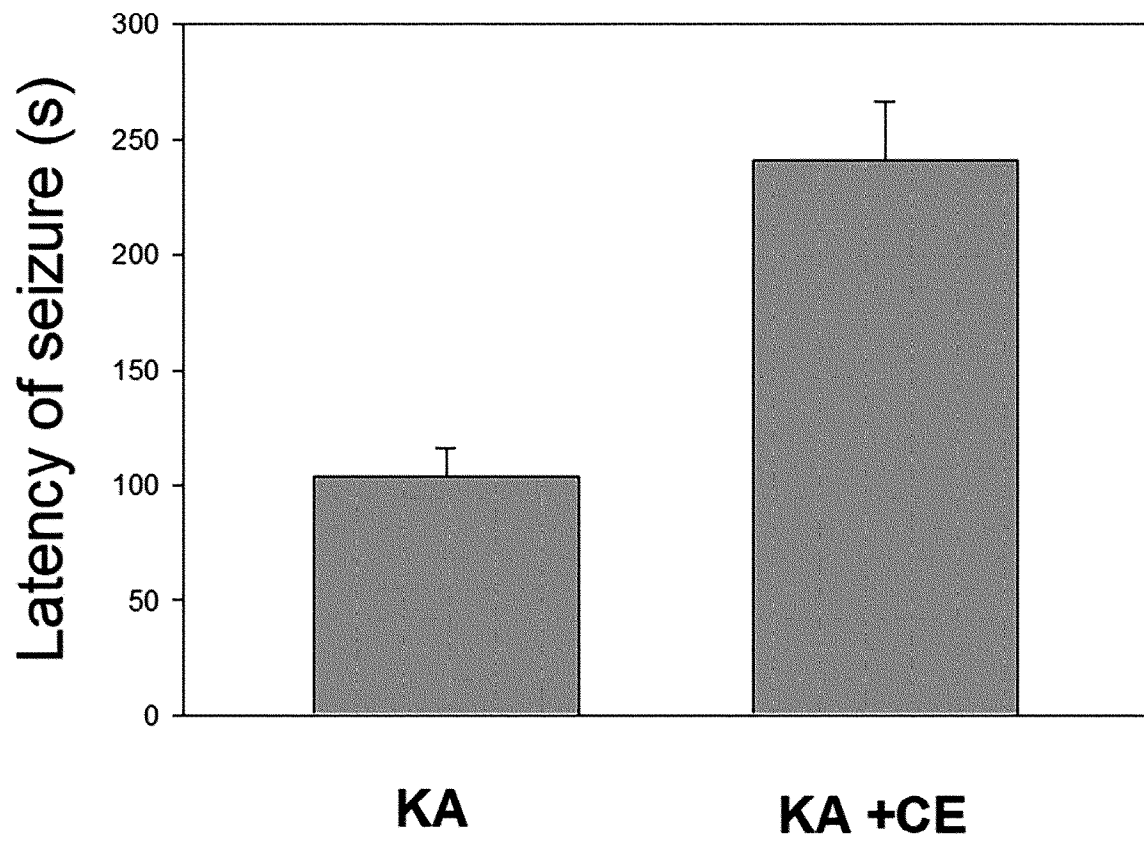
[도2b]



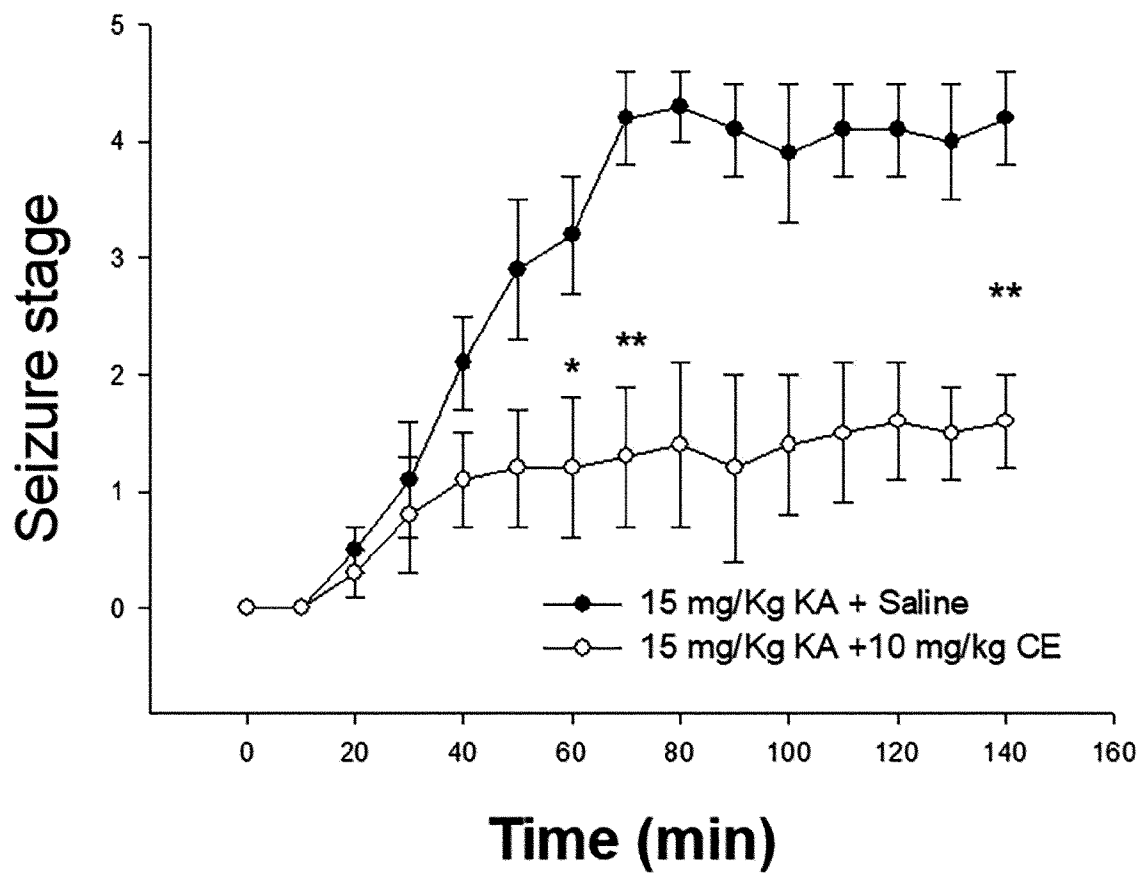
[도3a]



[도3b]



[도3c]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2021/017986

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 31/403(2006.01)i; A61P 25/00(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 31/403(2006.01); A61K 31/48(2006.01); C07D 457/02(2006.01) Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models: IPC as above Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 캐노클라빈 (chanoclavine), 신경계 질환 (Neurological Disease), 파킨슨 (parkinson), 뇌전증 (간질, Epilepsy), 약학적 조성물 (pharmaceutical composition)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SINGH, H. et al. Ameliorative potential of Argyreia speciosa against CCI-induced neuropathic pain in rats: Biochemical and histopathological studies. Journal of ethnopharmacology. 2020 [electronic publication 13 November 2019], vol. 249, thesis no. 112399, pp. 1-7. See abstract; and page 6.	1-6
A	JP 08-208479 A (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD) 13 August 1996 (1996-08-13) See entire document.	1-6
A	CHEN, J.-J. et al. Recent progress in ergot alkaloid research. RSC advances. 2017, vol. 7, pp. 27384-27396. See entire document.	1-6
A	FINCH, S. C. et al. Toxicity studies of chanoclavine in mice. Toxins. 2019, vol. 11, thesis no. 249, pp. 1-11. See entire document.	1-6
A	MCCABE, S. R. et al. Total synthesis, biosynthesis and biological profiles of clavine alkaloids. Organic & biomolecular chemistry. 2016, vol. 14, pp. 5894-5913. See entire document.	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 "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 March 2022		Date of mailing of the international search report 23 March 2022
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2021/017986

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed:
 - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2021/017986

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
JP	08-208479	A	13 August 1996	AU	2267995	A	29 November 1995
				WO	95-29912	A1	09 November 1995

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 31/403(2006.01)i; A61P 25/00(2006.01)i; A23L 33/10(2016.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 31/403(2006.01); A61K 31/48(2006.01); C07D 457/02(2006.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 캐노클라빈 (chanoclavine), 신경계 질환 (Neurological Disease), 파킨슨 (parkinson), 뇌전증 (간질, Epilepsy), 약학적 조성물 (pharmaceutical composition)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	SINGH, H. 등, 'Ameliorative potential of Argyreia speciosa against CCL-induced neuropathic pain in rats: Biochemical and histopathological studies', Journal of ethnopharmacology, 2020[전자공개 2019.11.13.], 249권, 논문번호 112399, 페이지 1-7 초록; 페이지 6	1-6
A	JP 08-208479 A (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD) 1996.08.13 전체 문헌	1-6
A	CHEN, J.-J. 등, 'Recent progress in ergot alkaloid research', RSC advances, 2017, 7권, 페이지 27384-27396 전체 문헌	1-6
A	FINCH, S. C. 등, 'Toxicity studies of chanoclavine in mice', Toxins, 2019, 11권, 논문번호 249, 페이지 1-11 전체 문헌	1-6
A	MCCABE, S. R. 등, 'Total synthesis, biosynthesis and biological profiles of clavine alkaloids', Organic & biomolecular chemistry, 2016, 14권, 페이지 5894-5913 전체 문헌	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 "D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2022년03월23일 (23.03.2022)		국제조사보고서 발송일 2022년03월23일 (23.03.2022)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 허주형 전화번호 +82-42-481-5373

제1기재란 핵산염기 및/또는 아미노산 서열(첫 번째 용지의 1.c의 계속)

1. 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열과 관련하여, 국제조사는 다음에 기초하여 수행되었습니다.

- a. ☒ 아래의 형태로 출원시 국제출원의 일부를 구성하는 서열목록
 - ☒ 부록 C/ST.25 텍스트 파일
 - ☐ 서면 혹은 이미지 파일
- b. ☐ PCT 규칙 13의3.1(a)에 따라 국제출원과 함께 국제조사만을 목적으로 부록 C/ST.25 텍스트 파일의 형태로 제출된 서열목록
- c. ☐ 국제조사만을 목적으로 국제출원일 이후에 아래 형태로 제출된 서열목록
 - ☐ 부록 C/ST.25 텍스트 파일 (규칙 13의3.1(a))
 - ☐ 서면 혹은 이미지 파일 (규칙 제13의3.1(b) 및 시행세칙 713).

2. ☐ 추가로 서열목록에 대하여 하나 이상의 버전이나 사본이 제출된 경우, 후속 버전 또는 추가된 사본에 기재되어 있는 정보가 출원시 출원의 일부를 구성하는 정보와 동일하거나 또는 출원시의 개시범위를 벗어나지 않는다는 진술서가 제출되었습니다.

3. 추가 의견:

국제출원번호

PCT/KR2021/017986

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 08-208479 A	1996/08/13	AU 2267995 A WO 95-29912 A1	1995/11/29 1995/11/09