

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2016년 6월 30일 (30.06.2016)



(10) 국제공개번호
WO 2016/105086 A1

- (51) 국제특허분류:
A61K 38/17 (2006.01) *A61K 38/10* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2015/014099
- (22) 국제출원일: 2015년 12월 22일 (22.12.2015)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2014-0187531 2014년 12월 23일 (23.12.2014) KR
- (71) 출원인: 주식회사 겐백스엔카엘 (GEMVAX & KAEL CO., LTD.) [KR/KR]; 305-510 대전시 유성구 테크노 11로 58, Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 겸
- (71) 출원인: 김상재 (KIM, Sang Jae) [KR/KR]; 135-947 서울시 강남구 광평로 10길 15 상록수아파트 101동 405호, Seoul (KR).
- (74) 대리인: 김순영 (KIM, Sun-young); 110-727 서울시 종로구 종로 5길 58 석탄회관빌딩 10층, 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, 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, KN, KP, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

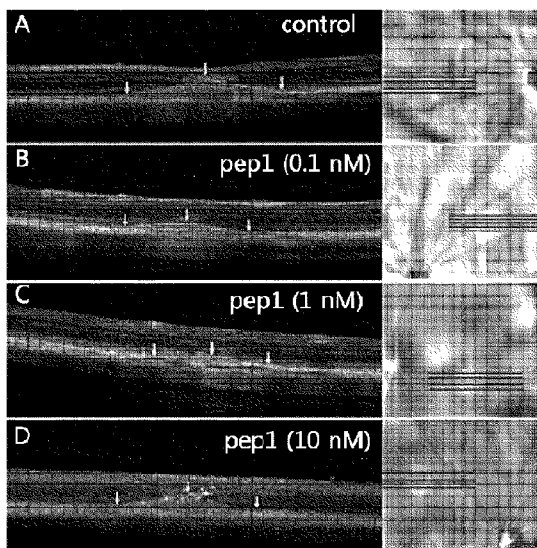
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, 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 제 21 조(3))
- 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

(54) Title: PEPTIDE FOR TREATING OCULAR DISEASES AND COMPOSITION FOR TREATING OCULAR DISEASES COMPRISING SAME

(54) 발명의 명칭: 안질환 치료 펩티드 및 이를 포함하는 안질환 치료용 조성물



(57) Abstract: The present specification discloses a pharmaceutical composition for preventing or treating ocular diseases. More particularly, disclosed is a composition comprising a peptide derived from telomerase and being effective in treating and preventing ocular diseases. The disclosed peptide, a peptide having a sequence 80% identical to the sequence thereof, or a peptide as a fragment thereof is superiorly effective in treating ocular diseases.

(57) 요약서: 본 명세서에는 안질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물이 개시된다. 보다 구체적으로는 텔로머라제로부터 유래된 펩타이드를 포함하는 조성물로서 안질환의 치료 및 예방에 효과적인 조성물이 개시된다. 개시된 펩티드 또는 상기 서열과 80%의 상동성을 갖는 서열을 갖는 펩티드 또는 단편인 펩티드는 안질환 치료에 우수한 효과를 가진다.

WO 2016/105086 A1

명세서

발명의 명칭: 안질환 치료 펩티드 및 이를 포함하는 안질환 치료용 조성물

기술분야

- [1] 본 명세서는 안질환 치료 효능을 가지는 펩티드 및 이를 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로는 텔로머라제로부터 유래된 펩티드로서, 안질환 치료 효능을 가지는 펩티드 및 이를 포함하는 안구 질환 치료용 약제학적 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 연령관련황반변성 (Age-related macular degeneration) 은 서구에서 65세 이상 노인에서 실명을 일으키는 가장 중요한 원인 질환으로, 아시아 국가에서도 노령화에 따라 황반변성이 시력저하와 실명의 중요한 원인으로 보고되고 있다. 최근 우리나라에서도 인구의 노령화와 함께 연령관련황반변성 발생이 점차 증가하고 있고, 사회적 치료 비용 부담이 가장 커지고 있는 질환 중 하나이다.
- [3] 맥락막혈관신생 (CNV, choroidal neovascularization) 은 브루크막(Bruchs membrane)의 파열로 인해 망막 밑이나 망막세포상피 아래의 공간에 발생하는 맥락막 기원 혈관신생으로 습성 연령관련황반변성의 특징적인 소견이다.
- [4] 아직까지 연령관련황반변성의 병태생리가 완전히 밝혀진 것은 아니지만, 다양한 임상 시험 및 연구를 통해 혈관내피세포성장인자 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 가 맥락막혈관신생 발생에 중요한 역할을 함이 알려져 있다. 이로 인해 과거의 레이저 치료, 광역학 치료 등이 주가 되던 연령관련황반변성의 치료에 있어서, 현재는 항-혈관내피세포성장인자 항체 (anti-VEGF antibody) 주사가 일차적인 치료로 자리잡고 있고, 라니비주맵(Ranibizumab), 베바시주맵(Bevacizumab), 아플리버셉(Aflibercept) 등의 항-혈관내피세포성장인자 항체 약물이 습성 연령관련황반변성의 치료제로 전세계적으로 많이 사용되고 있다.
- [5] 비록 현재의 습성 연령관련황반변성의 일차 치료제가 대부분의 환자에게 효과적임이 밝혀져 있으나, 이들은 유리체강내에 직접 투여하는 주사 치료로 여러 한계점이 있음을 부인할 수 없다. 눈 속에서 약효가 지속되는 시간에 한계가 있어 짧게는 1달 간격으로 반복적인 주사 치료를 할 수 밖에 없고, 임상적인 호전을 보이더라도 지속적으로 재발하는 맥락막혈관신생의 특성 때문에 기약 없는 주사 치료를 계속해야 한다는 부담감이 의사와 환자 모두에게 크게 다가온다.
- [6] 반복적으로 항-혈관내피세포성장인자 항체 주사를 투여한 경우 지도모양망막 위축 (geographic atrophy)의 발생이 증가한다는 것도 또 하나의 문제가 되겠다. 또한 반복된 유리체강내 주사 치료는 결막하 출혈 등 경미한 부작용부터

안내염이나 망막박리, 안압 상승 등의 심각한 합병증까지 다양한 안과적 이상사례 (ocular adverse events)의 위험성이 있다는 데에 또한 그 한계가 있다고 하겠다.

- [7] 비싼 항체 주사와 주사 치료와 관련된 사회적 비용, 잦은 방문으로 인한 환자의 삶의 질 저하, 의사의 과도하게 늘어난 업무량 또한 문제가 된다.
- [8] 하지만 무엇보다도 항-혈관내피세포성장인자 항체 주사에 반응을 보이지 않는 환자군이 있다는 것이 또 다른 큰 문제가 된다. 일부 환자들은 반복적인 항-혈관내피세포성장인자 항체 주사에도 불구하고 처음부터 맥락막혈관신생의 활성도가 전혀 줄어들지 않고 시력 개선도 없는 환자군이 있고, 또 다른 일부 환자들은 초기에는 항-혈관내피세포성장인자 항체 주사에 반응을 보이다가 차츰 그 효력이 떨어지는 과대성 (tachyphylaxis)을 보이기도 한다. 이는 맥락막혈관신생의 병태생리에 혈관내피세포성장인자 외에 다른 요소들이 관여함을 간접적으로 시사하는데, 실제로 활성 산소 (reactive oxygen species, ROS)에 의해 유발되는 산화 스트레스 (oxidative stress)나 조직의 염증 반응 (inflammatory reaction) 등이 맥락막혈관신생의 발생과 성장에 관여함이 보고되고 있다. 이에 항산화제 (antioxidant)나 유리기 제거제 (free radical scavenger), 스테로이드 (steroid) 등이 습성 연령관련황반변성의 치료제로 개발되고 있으나, 아직까지 항-혈관내피세포성장인자 항체 주사에 보조적인 역할만을 하고 있다.

[9]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [10] 이에 본 연구에서는 조직의 염증 반응이 중요한 병태 생리의 일부분임이 밝혀져 있는 맥락막혈관신생 동물 모델에서 텔로머레이즈 유래 펩타이드의 유효성과 안전성을 평가하였다. 실험을 통하여 텔로머레이즈 유래 펩타이드의 맥락막혈관신생 억제 효과를 입증하였으며, 이는 기존의 항-혈관내피세포성장인자 항체 주사와는 다른 기전을 통한 약제이므로 추후 습성 연령관련황반변성의 또 다른 치료 무기가 될 수 있고, 안과적 질환 이외의 다양한 염증성 질환에도 적용이 되어 부작용 없는 효과적인 염증 치료에 큰 도움이 될 것으로 기대할 수 있다.

과제 해결 수단

- [11] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명의 일측면에서는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드, 상기 아미노산 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드 또는 그 단편인 펩티드를 포함하는 안질환 치료 및 예방용 조성물을 제공할 수 있다.
- [12] 본 발명의 일측면에 따른 조성물에 있어서, 상기 단편은 3개 이상의 아미노산으로 구성된 단편일 수 있다.

- [13] 본 발명의 일측면에 따른 조성물에 있어서, 상기 안질환은 당뇨병성 망막증, 미숙아 망막증, 각막 이식 거부, 혈관신생 녹내장, 홍색증, 증식성 망막증, 건선 또는 황반 변성(macular degeneration)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상일 수 있다.
- [14] 본 발명의 일측면에 따른 조성물에 있어서, 상기 안질환은 연령 관련(age-related) 안질환일 수 있다.
- [15] 본 발명의 일측면에 따른 조성물에 있어서, 상기 펩타이드는 혈관내피세포성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF)의 활성을 감소시키는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [16] 본 발명의 일측면에 따른 조성물에 있어서, 상기 펩타이드는 맥락막혈관신생을 억제시키는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [17] 본 발명의 다른 일측면에 따르면, 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드, 상기 아미노산 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드 또는 그 단편인 펩티드를 포함하는 맥락막혈관신생 억제용 조성물이 제공될 수 있다.
- [18] 본 발명의 다른 일측면에 따른 조성물에 있어서, 상기 조성물은 약학 조성물로서, 제약학적으로 수용 가능한 부형제 및 첨가제를 더 포함할 수 있다.
- [19] 본 발명의 또 다른 일측면에 따르면, 상기 조성물은 식품 조성물을 제공될 수 있다.
- [20] 본 발명의 또 다른 일측면에 따르면, 상기 안질환 치료 및 예방용 조성물을 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 안질환의 치료 및 예방방법이 제공될 수 있다.
- [21] 본 발명의 또 다른 일측면에 따르면, 안질환 치료 및 예방용 조성물; 및 설명서를 포함하는 안질환의 치료 및 예방용 키트가 제공될 수 있다.
- [22] 본 발명의 또 다른 일측면에 따른 키트에 있어서, 상기 설명서는 상기 안질환 치료 및 예방용 조성물을 투여하는 내용을 포함할 수 있다.
- [23] 본 발명의 또 다른 일측면에 따르면, 안질환에 있어, 상기 안질환 치료 및 예방용 조성물을 제조하기 위한, 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드, 상기 아미노산 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드 또는 그 단편인 펩티드의 용도가 제공될 수 있다.

발명의 효과

- [24] 본 발명의 일 측면에 따르면 효과적으로 안질환 치료가 가능한 조성물이 제공될 수 있다. 따라서 본 발명의 일 측면에 따른 조성물은 안질환 치료 및 예방에 적용될 수 있고, 특히 맥락막 혈관 신생으로 인한 안과 질환의 치료를 위하여 사용될 수 있다.
- [25] 또한 본 발명의 일 측면에 따른 서열번호의 서열을 갖는 펩티드 또는 상기 서열과 80%의 상동성을 갖는 서열을 갖는 펩티드 또는 단편인 펩티드는 안질환 치료 및 예방 효능을 가진다.

도면의 간단한 설명

- [26] 도 1 은 레이저-유도 CNV(맥락막혈관신생, choroidal neovascularization) 동물 모델에 pep1을 농도별로 실험군을 나누어 투여하고 CNV의 두께를 실험군 별로 비교하여 나타낸 사진이다.
- [27] 도 2 는 레이저-유도 CNV 동물 모델에 pep1을 농도별로 실험군을 나누어 투여하고 CNV의 두께를 측정하여 실험군 별로 나타낸 그래프이다.
- [28] 도 3 은 레이저-유도 CNV 동물 모델에 pep1을 농도별로 실험군을 나누어 투여하고 CNV의 면적을 실험군 별로 비교하여 나타낸 사진이다.
- [29] 도 4 는 레이저-유도 CNV 동물 모델에 pep1을 농도별로 실험군을 나누어 투여하고 CNV의 면적을 측정하여 실험군 별로 나타낸 그래프이다.
- [30] 도 5 는 레이저-유도 CNV 동물 모델에 pep1을 농도별로 실험군을 나누어 투여하고 혈관신생누출 정도를 형광안저혈관조영술을 이용하여 촬영한 것을 실험군 별로 비교하여 나타낸 사진이다.
- [31] 도 6 은 레이저-유도 CNV 동물 모델에 pep1을 농도별로 실험군을 나누어 투여하고 혈관신생누출 정도를 나타내는 등급으로 평가된 병변(lesion)의 비율을 실험군 별로 나타낸 그래프이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [32] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 이하, 본 발명을 보다 구체적으로 설명한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.
- [33] 텔로미어(telomere)는 염색체의 말단에 반복적으로 존재하는 유전 물질로서, 해당 염색체의 손상이나 다른 염색체와의 결합을 방지한다고 알려져 있다. 세포가 분열할 때마다 텔로미어의 길이는 조금씩 짧아지는데, 일정한 횟수 이상의 세포 분열이 있게 되면 텔로미어는 매우 짧아지고, 그 세포는 분열을 멈추고 죽게 된다. 반면 텔로미어를 길게 하면 세포의 수명이 연장된다고 알려져 있으며, 그 예로 암세포에서는 텔로머라제(telomerase)라는 효소가 분비되어 텔로미어가 짧아지는 것을 막기 때문에, 암세포가 죽지 않고 계속 증식할 수 있다고 알려져 있다. 본 발명자들은 텔로머라제로부터 유래되는 펩티드가 혈관신생 억제에 효과적임을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.
- [34] 본 명세서에 개시된 펩티드는 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드를 포함할 수 있다. 또한, 본 명세서에 개시된 펩티드는, 서열번호 1을 포함하는 펩티드 또는 그 단편들과 1개 이상의 아미노산, 2개 이상의 아미노산, 3개 이상의 아미노산, 4개 이상의 아미노산, 5개 이상의 아미노산, 6개 이상의 아미노산 또는 7개

이상의 아미노산이 변화된 펩티드를 포함할 수 있다.

- [35] 본 발명의 일측면에서, 아미노산 변화는 펩티드의 물리화학적 특성이 변경되도록 하는 성질에 속한다. 예를 들어, 펩티드의 열안정성을 향상시키고, 기질 특이성을 변경시키고, 최적의 pH를 변화시키는 등의 아미노산 변화가 수행될 수 있다.
- [36] 본 명세서에서 "아미노산"이라 함은 자연적으로 펩티드로 통합되는 22개의 표준 아미노산들 뿐만 아니라 D-아이소머 및 변형된 아미노산들을 포함한다. 이에 따라, 본 발명의 일측면에서 펩티드는 D-아미노산을 포함하는 펩티드일 수 있다. 한편, 본 발명의 다른 측면에서 펩티드는 번역 후 변형(post-translational modification)된 비표준 아미노산 등을 포함할 수 있다. 번역 후 변형의 예는 인산화(phosphorylation), 당화(glycosylation), 아실화(acylation) (예컨대, 아세틸화(acetylation), 미리스토일화(myristoylation) 및 팔미토일화(palmitoylation)를 포함), 알킬화(alkylation), 카르복실화(carboxylation), 히드록실화(hydroxylation), 당화반응(glycation), 비오틴닐화(biotinylation), 유비퀴티닐화(ubiquitinylation), 화학적 성질의 변화(예컨대, 베타-제거 탈아미드화, 탈아미드화) 및 구조적 변화(예컨대, 이황화물 브릿지의 형성)를 포함한다. 또한, 펩티드 컨쥬게이트를 형성하기 위한 가교제(crosslinker)들과의 결합과정에서 일어나는 화학 반응들에 의해 생기는 아미노산의 변화, 예컨대 아미노기, 카르복시기 또는 사이드 체인에서의 변화와 같은 아미노산의 변화를 포함한다.
- [37] 본 명세서에 개시된 펩티드는 자연 그대로의 공급원으로부터 동정 및 분리된 야생형 펩티드일 수 있다. 한편, 본 명세서에 개시된 펩티드는 서열번호 1의 단편들인 펩티드와 비교하여 하나 이상의 아미노산이 치환, 결실 및/또는 삽입된 아미노산 서열을 포함하는, 인공 변이체일 수 있다. 인공 변이체에서뿐만 아니라 야생형 폴리펩티드에서의 아미노산 변화는 단백질의 폴딩(folding) 및/또는 활성에 유의한 영향을 미치지 않는 보존성 아미노산 치환을 포함한다. 보존성 치환의 예들은 염기성 아미노산(아르기닌, 리신 및 히스티딘), 산성 아미노산(글루탐산 및 아스파르트산), 극성 아미노산(글루타민 및 아스파라긴), 소수성 아미노산(루신, 이소로이신, 발린 및 메티오닌), 방향족 아미노산(페닐알라닌, 트립토판 및 티로신), 및 작은 아미노산(글리신, 알라닌, 세린 및 트레오닌)의 군의 범위 내에 있다. 일반적으로 특이적 활성을 변경시키지 않는 아미노산 치환이 본 분야에 공지되어 있다. 가장 흔하게 발생하는 교환은 Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, 및 Asp/Gly, 그리고 이들과 반대인 것들이다. 보존적 치환의 다른 예는 다음 표와 같다.

[38] [표1]

원래 아미노산	예시적인 잔기 치환	바람직한 잔기 치환
Ala (A)	val; leu; ile	Val
Arg (R)	lys; gln; asn	Lys
Asn (N)	gln; his; asp, lys; arg	Gln
Asp (D)	glu; asn	Glu
Cys (C)	ser; ala	Ser
Gln (Q)	asn; glu	Asn
Glu (E)	asp; gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	Arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; norleucine	Leu
Leu (L)	norleucine; ile ; val; met; ala; phe	Ile
Lys (K)	arg; gln; asn	Arg
Met (M)	leu; phe; ile	Leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	tyr; phe	Tyr
Tyr (Y)	trp; phe ; thr; ser	Phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; norleucine	Leu

[39] 펩티드의 생물학적 특성에 있어서의 실제적인 변형은 (a) 치환 영역 내의 폴리펩티드 골격의 구조, 예를 들면 시트 또는 나선 입체 구조를 유지하는데 있어서의 이들의 효과, (b) 표적 부위에서의 상기 분자의 전하 또는 소수성을 유지하는데 있어서의 이들의 효과, 또는 (c) 측쇄의 벌크를 유지하는데 있어서의 이들의 효과가 상당히 상이한 치환부를 선택함으로써 수행된다. 천연 잔기는 통상의 측쇄 특성에 기준하여 다음 그룹으로 구분된다:

[40] (1) 소수성: 노르루이신, met, ala, val, leu, ile;

[41] (2) 중성 친수성: cys, ser, thr;

[42] (3) 산성: asp, glu;

- [43] (4) 염기성: asn, gln, his, lys, arg;
- [44] (5) 쇠 배향에 영향을 미치는 잔기: gly, pro; 및
- [45] (6) 방향족: trp, tyr, phe.
- [46] 비-보존적 치환은 이들 부류 중의 하나의 구성원을 또다른 부류로 교환함으로써 이루어질 것이다. 펩티드의 적당한 입체 구조를 유지하는 것과 관련이 없는 어떠한 시스테인 잔기도 일반적으로 세린으로 치환되어 상기 분자의 산화적 안정성을 향상시키고 이상한 가교결합을 방지할 수 있다. 역으로 말하면, 시스테인 결합(들)을 상기 펩티드에 가하여 그의 안정성을 향상시킬 수 있다
- [47] 펩티드의 다른 유형의 아미노산 변이체는 항체의 글리코실화 패턴이 변화된 것이다. 변화란 의미는 펩티드에서 발견된 하나 이상의 탄수화물 잔기의 결실 및(또는) 펩티드 내에 존재하지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위의 부가를 나타낸다.
- [48] 펩티드의 글리코실화는 전형적으로 N-연결되거나 O-연결된 것이다. N-연결된이란 탄수화물 잔기가 아스파라긴 잔기의 측쇄에 부착된 것을 말한다. 트리펩티드 서열 아스파라긴-X-세린 및 아스파라긴-X-트레오닌 (여기서, X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산임)은 탄수화물 잔기를 아스파라긴 측쇄에 효소적 부착시키기 위한 인식 서열이다. 따라서, 이들 트리펩티드 서열 중의 하나가 폴리펩티드에 존재함으로써, 잠재적인 글리코실화 부위가 생성된다. O-연결된 글리코실화는 당 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스 또는 크실로스 중의 하나를 히드록시아미노산, 가장 통상적으로는 세린 또는 트레오닌에 부착시키는 것을 의미하지만, 5-히드록시프롤린 또는 5-히드록시리신을 사용할 수도 있다.
- [49] 펩티드로의 글리코실화 부위의 부가는 하나 이상의 상기 언급된 트리펩티드 서열을 함유하도록 아미노산 서열을 변화시킴으로써 편리하게 수행된다 (N-연결된 글리코실화 부위의 경우). 이러한 변화는 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기를 최초 항체의 서열에 부가하거나 이들 잔기로 치환함으로써 이루어질 수도 있다 (O-연결된 글리코실화 부위의 경우).
- [50] 또한 본 발명의 일측면에 따른 서열 번호 1의 서열을 갖는 펩티드, 서열 번호 1의 서열의 단편인 펩티드 또는 상기 펩티드 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드는 세포 내 독성이 낮고, 생체 내 안정성이 높다는 장점을 가진다. 본 발명에서의 서열번호 1은 텔로머라제 유래 펩티드로서 하기와 같이 16개의 아미노산으로 이루어진 펩티드이다.
- [51] 서열 번호 1에 기재된 펩티드는 아래 표 1과 같다. 아래 표 2의 "이름"은 펩티드를 구별하기 위해 명명한 것이다. 본 발명의 일측면에서, 서열 번호 1에 기재된 펩티드는 인간 텔로머라제의 전체 펩티드를 나타낸다. 본 발명의 다른 일측면에서, 서열 번호 1의 서열을 갖는 펩티드, 서열 번호 1의 서열의 단편인 펩티드 또는 상기 펩티드 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드는

텔로머라제에 포함된 펩티드 중 해당 위치의 펩티드를 선별해 합성한 "합성 펩티드"를 포함한다. 서열번호 2는 전체 텔로머레이즈의 아미노산 서열을 나타낸 것이다.

[52] [표2]

서열 번호	이름	텔로머라 제 상 위 치	서열	길이
1	pep1	[611-626]	EARPALLTSRLRFIPK	16 aa
2		[1-1132]	MPRAPRCRAVRSLRSHYREVLPLATFVRRLGPQGW RLVQRGDPAAFRALVAQCLVCVPWDARPPPAAPSFR QVSKLKLVARVLQRLCERGAKNVLAFGFALLDGAR GGPPEAFTTSVRSYLPNTVTDALRGSGAWGLLLRRV GDDVLVHLLARCALFVLVAPSCAYQVCGPPLYQLGA ATQARPPPHASGPRRRLGCERAWNHSVREAGVPLGL PAPGARRRGGASRSLLPKRPRR GAAPEPERTPVGQGSWAHPGRTRGPSDRGFCVVSPA RPAEEATSLEGALSGTRHSHPSVGRQHHAGPPSTSR PPRPWDTPCPPVYAETKHFLYSSGDKEQLRPSFLLS SLRPSLTGARRLVETIFLGSRPWMPGTPRRLPRLPQ RYWQMRPLFLELLGNHAQCPYGVLLKTHCPLRAAVT PAAGVCAREKPQGSVAPEEEDTDPRRLVQLLRQHS SPWQVYGFVRACLRLVPPGLWGSRHNERFLRNTK KFISLGKHAKLSLQELTWKMSVRDCAWLRSPGVGC VPAAEHRLREEILAKFLHWLMSVYVVELLSFFYVT ETTFQKNRLFFYRKSVWSKLQSIGIRQHLKRVQLRE LSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPVNM DYVVGARTFRREKRAERLTSRVKALFSVLNYERARR PGLLGASVLGLDDIHRAWRTFVLRVRAQDPPPELYF VKVDVTGAYDTIPQDRLTEVIASIIKPQNTYCVRRY AVVQKAAHGHVRKAFKSHVSTLTDLQPYMRQFVAHL QETSPLRDAVVIEQSSSLNEASSGLFDVFLRFMCHH AVRIRGKSYVQCQGIQGSILSTLLCSLCYGD MENK LFAGIRRDGLLLRLVDDFLLVTPHLTHAKTFLRTL RGVPEYGCVVNLKRTVVNFPVEDEALGGTAFVQMPA HGLFPWCGLLLDTRTLEVQSDYSSYARTSIRASLTF NRGFKAGRNMRRKLFGLRLKCHSLFLLQVNSLQT VCTNIYKILLQAYRFHACVLQLPFHQVWKNPTFF LRVISDTASLCYSILKAKNAGMSLGAKGAAGPLPSE AVQWLCHQAFLLKLTRHRVTYVPLLGSLRTAQTQLS RKLPGT TLTALEAAANPALPSDFKTILD	1132 aa

- [53] 본 명세서의 실험에서 사용된 레이저-유도 실험 맥락막혈관신생 모델(Laser-induced experimental CNV model)은 쥐에서 인간의 습성 연령관련황반변성을 구현하기 위해 가장 많이 쓰이고 있는 동물 모델이다. 레이저로 브루크막의 파열을 유발하고 맥락막으로부터 혈관신생이 나타나오게 하여 인간의 맥락막혈관신생과 흡사한 환경을 조성해줄 수 있다. 비록 만성적이고 유전적 및 환경적인 복합적 요인에 의해 발생하는 인간의 습성 연령관련황반변성과, 레이저라는 급성 손상을 주어 발생시킨 동물 모델에서의 맥락막혈관신생을 동일하게 평가할 수는 없겠으나, 이러한 동물 모델은 모든 연령관련황반변성 치료제의 일차적인 평가 방법으로 중추적인 역할을 하고 있다.
- [54] 본 명세서에서는 레이저-유도 실험 맥락막혈관신생 모델에 텔로머라제 유래 펩티드인 *pep1*을 투약하여 맥락막혈관신생의 두께, 면적, 누출 정도 등으로 평가되는 활성도가 비히클(vehicle)만 투약한 대조군에 비해 감소하는지 확인하는 실험을 진행하였다.
- [55] 본 발명의 일측면에서는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는(comprising) 펩티드, 상기 아미노산 서열과 80%이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드 또는 그 단편인 맥락막혈관신생 활성도를 낮추어 안질환 치료 효능을 가지는 펩티드를 유효 성분으로 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [56] 본 발명의 일측면에 따른 안질환 치료 효능 조성물은 일측면에서는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는(comprising) 펩티드, 상기 아미노산 서열과 80%이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드 또는 그 단편인 펩티드를 0.01g/L 내지 1kg/L, 구체적으로 0.1g/L 내지 100g/L, 더 구체적으로 1g/L 내지 10g/L의 함량으로 포함할 수 있으나 용량에 따른 효과의 차이를 보이는 경우 이를 적절히 조절할 수 있다. 상기 범위 또는 그 이하의 범위로 포함하는 경우 본 발명의 의도한 효과를 나타내기에 적절할 뿐만 아니라, 조성물의 안정성 및 안전성을 모두 만족할 수 있으며, 비용 대비 효과의 측면에서도 상기 범위로 포함하는 것이 적절할 수 있다.
- [57] 본 발명의 일측면에 따른 조성물은 인간, 개, 닭, 돼지, 소, 양, 기니아피그 또는 원숭이를 포함하는 모든 동물에 적용될 수 있다.
- [58] 본 발명의 일측면에서 조성물은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는(comprising) 펩티드, 상기 아미노산 서열과 80%이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드 또는 그 단편인 혈관신생 억제효능을 가지는 펩티드를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 본 발명의 일측면에 따른 약학 조성물은 경구, 직장, 경피, 정맥 내, 근육 내, 복강 내, 골수 내, 경막 내 또는 피하 등으로 투여될 수 있다.
- [59] 경구 투여를 위한 제형은 정제, 환제, 연질 또는 경질 캡셀제, 과립제, 산제, 액제 또는 유탁제일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 비경구 투여를 위한 제형은 주사제, 점적제, 로션, 연고, 겔, 크림, 현탁제, 유제, 좌제, 패취 또는

분무제일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [60] 본 발명의 일측면에 따른 약학 조성물은 필요에 따라 희석제, 부형제, 활택제, 결합제, 붕해제, 완충제, 분산제, 계면 활성제, 착색제, 향료 또는 감미제 등의 첨가제를 포함할 수 있다. 본 발명의 일측면에 따른 약학 조성물은 당업계의 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [61] 본 발명의 일측면에 따른 약학 조성물의 유효 성분은 투여 받을 대상의 연령, 성별, 체중, 병리 상태 및 그 심각도, 투여 경로 또는 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 적용량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 이의 1일 투여 용량은 예를 들어 10ng/kg/일 내지 10mg/kg/일, 구체적으로는 0.1 μ g/kg/일 내지 1mg/kg/일, 더 구체적으로는 1 μ g/kg/일 내지 100 μ g/kg/일, 보다 더 구체적으로는 2 μ g/kg/일 내지 50 μ g/kg/일이 될 수 있으나, 용량에 따른 효과의 차이를 보이는 경우 이를 적절히 조절할 수 있다. 본 발명의 일측면에 따른 약학 조성물은 1일 1회 내지 3회 투여될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [62] 본 발명의 일측면에서 조성물은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는(comprising) 펩티드, 상기 아미노산 서열과 80%이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드 또는 그 단편인 펩티드를 유효 성분으로 포함하는 혈관 신생 억제용 식품 조성물을 제공한다.
- [63] 본 발명의 일측면에 따른 식품 조성물의 제형은 특별히 한정되지 않으나, 예를 들어, 정제, 과립제, 분말제, 액제, 고형 제제 등으로 제형화될 수 있다. 각 제형은 유효 성분 이외에 해당 분야에서 통상적으로 사용되는 성분들을 제형 또는 사용 목적에 따라 당업자가 어려움 없이 적의 선정하여 배합할 수 있으며, 다른 원료와 동시에 적용할 경우 상승 효과가 일어날 수 있다.
- [64] 본 명세서에서 사용된 용어들은 특정 구체예들을 설명하기 위한 목적으로만 의도된 것이지 본 발명을 한정하고자 하는 의도가 아니다. 명사 앞에 개수가 생략된 용어는 수량을 제한하고자 하는 것이 아니라 언급된 명사 물품이 하나 이상 존재하는 것을 나타내는 것이다. 용어 "포함하는", "갖는", 및 "함유하는"은 열린 용어로 해석된다(즉, "포함하지만 이에 한정되지는 않는"의 의미).
- [65] 수치의 범위를 언급하는 것은 단지 그 범위 내에 속하는 각각의 별개의 수치들을 개별적으로 언급하는 것을 대신하는 쉬운 방법이기 때문이며, 그것이 아님이 명시되어 있지 않는, 각 별개의 수치는 마치 개별적으로 명세서에 언급되어 있는 것처럼 본 명세서에 통합된다. 모든 범위의 끝 값들은 그 범위 내에 포함되며 독립적으로 조합 가능하다.
- [66] 본 명세서에 언급된 모든 방법들은 달리 명시되어 있거나 문맥에 의해 명백히 모순되지 않는 한 적절한 순서로 수행될 수 있다. 어느 한 실시예 및 모든 실시예 또는 예시적 언어(예컨대, "~과 같은")를 사용하는 것은, 청구범위에 포함되어 있지 않는 한, 단지 본 발명을 더 잘 기술하기 위함이지 본 발명의 범위를 제한하고자 함이 아니다. 명세서의 어떤 언어도 어떤 비청구된 구성요소를 본

발명의 실시예에 필수적인 것으로 해석되어서는 아니된다. 다른 정의가 없는 한, 본 명세서에 사용되는 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 갖는 사람에 의해 통상 이해되는 것과 같은 의미를 갖는다.

- [67] 본 발명의 바람직한 구체예들은 본 발명을 수행하기 위해 발명자에게 알려진 가장 최적의 모드를 포함한다. 바람직한 구체예들의 변이들이 앞선 기재를 읽으면 당업자에게 명백하게 될 수 있다. 본 발명자들은 당업자들이 그러한 변이를 적절히 이용하길 기대하고, 발명자들은 본 명세서에 기재된 것과 다른 방식으로 본 발명이 실시되기를 기대한다. 따라서, 본 발명은, 특허법에 의해 허용되는 것과 같이, 첨부된 특허청구범위에서 언급된 발명의 요지의 균등물 및 모든 변형들을 포함한다. 더욱이, 모든 가능한 변이들 내에서 상기 언급된 구성요소들의 어떤 조합이라도 여기서 반대로 명시하거나 문맥상 명백히 모순되지 않는 한 본 발명에 포함된다. 본 발명은 예시적인 구체예들을 참조하여 구체적으로 나타내어지고 기술되었지만, 당업자들은 하기 청구범위에 의해 정의되는 발명의 정신 및 범위를 벗어나지 않고서도 형태 및 디테일에서 다양한 변화가 행해질 수 있음을 잘 이해할 것이다.

[68]

발명의 실시를 위한 형태

- [69] 이하, 실시예 및 실험예를 들어 본 발명의 구성 및 효과를 보다 구체적으로 설명한다. 그러나 아래 실시예 및 실험예는 본 발명에 대한 이해를 돕기 위해 예시의 목적으로만 제공된 것일 뿐 본 발명의 범주 및 범위가 그에 의해 제한되는 것은 아니다.
- [70] **실시예 1: 펩티드의 합성**
- [71] 서열번호 1의 펩티드(이하 "PEP 1"이라 함)를 종래에 알려진 고상 펩티드 합성법에 따라 제조하였다. 구체적으로, 펩티드들은 ASP48S(Pepton, Inc., 대한민국 대전)를 이용하여 Fmoc 고상 합성법(solid phase peptide synthesis, SPPS)을 통해 C-말단부터 아미노산 하나씩 커플링함으로써 합성하였다. 다음과 같이, 펩티드들의 C-말단의 첫번째 아미노산이 수지에 부착된 것을 사용하였다. 예컨대 다음과 같다:
- [72] NH₂-Lys(Boc)-2-chloro-Trityl Resin
- [73] NH₂-Ala-2-chloro-Trityl Resin
- [74] NH₂-Arg(Pbf)-2-chloro-Trityl Resin
- [75]
- [76] 펩티드 합성에 사용한 모든 아미노산 원료는 N-term이 Fmoc으로 보호(Protection)되고, 잔기는 모두 산에서 제거되는 Trt, Boc, t-Bu (t-butylester), Pbf (2,2,4,6,7-pentamethyl dihydro-benzofuran-5-sulfonyl) 등으로 보호된 것을 사용하였다. 예컨대 다음과 같다:

- [77] Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Ahx-OH, Trt-Mercaptoacetic acid.
- [78] 커플링 시약(Coupling reagent)으로는 HBTU[2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetamethylaminium hexafluorophosphate] / HOBt [N-Hydroxybenzotriazole] / NMM [4-Methylmorpholine] 를 사용하였다. Fmoc 제거는 20%의 DMF 중 피페리딘(piperidine in DMF)을 이용하였다. 합성된 펩티드를 Resin에서 분리 및 잔기의 보호기 제거에는 절단 콕테일(Cleavage Cocktail) [TFA (trifluoroacetic acid) / TIS (triisopropylsilane) / EDT (ethanedithiol) / H₂O=92.5/2.5/2.5/2.5] 를 사용하였다.
- [79] 아미노산 보호기가 결합된 출발 아미노산이 고상 지지체에 결합되어 있는 상태를 이용하여 여기에 해당 아미노산들을 각각 반응시키고 용매로 세척한 후 탈보호하는 과정을 반복함으로써 각 펩티드를 합성하였다. 합성된 펩티드를 수지로부터 끊어낸 후 HPLC로 정제하고, 합성 여부를 MS로 확인하고 동결 건조하였다.
- [80] 본 실시예에 사용된 펩티드에 대해 고성능 액체 크로마토그래피 결과, 모든 펩티드의 순도는 95% 이상이였다.
- [81]
- [82] 펩티드 PEP 1 제조에 관한 구체적인 과정을 설명하면 다음과 같다.
- [83]
- [84] 1) 커플링
- [85] NH₂-Lys(Boc)-2-chloro-Trityl Resin 에 보호된 아미노산(8당량)와 커플링 시약 HBTU(8당량)/HOBt(8당량)/NMM(16당량) 을 DMF에 녹여서 첨가한 후, 상온에서 2시간 동안 반응하고 DMF, MeOH, DMF순으로 세척하였다.
- [86] 2) Fmoc 탈보호
- [87] 20%의 DMF 중의 피페리딘(piperidine in DMF) 을 가하고 상온에서 5분 간 2회 반응하고 DMF, MeOH, DMF순으로 세척하였다.
- [88] 3) 1과 2의 반응을 반복적으로 하여 펩티드 기본 골격 NH₂-E(OtBu)-A-R(Pbf)-P-A-L-L-T(tBu)-S(tBu)-R(Pbf)L-R(Pbf)-F-I-P-K(Boc)-2-chloro-Trityl Resin)을 만들었다.
- [89] 4) 절단(Cleavage): 합성이 완료된 펩티드 Resin에 절단 콕테일(Cleavage Cocktail) 을 가하여 펩티드를 Resin에서 분리하였다.
- [90] 5) 얻어진 mixture에 Cooling diethyl ether를 가한 후, 원심 분리하여 얻어진 펩티드를 침전시킨다.
- [91] 6) Prep-HPLC로 정제 후, LC/MS로 분자량을 확인하고 동결하여 powder로 제조하였다.

[92]

[93] 실시예 2: CNV 동물모델 정립 및 통계처리 방법

[94]

[95] 레이저-유도 CNV(choroidal neovascularization, 맥락막혈관신생) 쥐 모델 정립

[96] 갈색 노르웨이 쥐(Brown Norway rat)에 마취를 하고 0.5% 페닐에프린(phenylephrine)을 이용하여 산동(동공을 확대시킴)하여 준비하였다. 산동된 대상 쥐에 577nm 레이저(577nm, diode, 10 μ m, 0.05s)로 한 눈당 6-8회 조사하여 맥락막에 혈관신생을 발생시켰다. 레이저 조사시 눈에 커버글라스를 붙이고, 슬릿 램프 전달 시스템(slit lamp delivery system)을 이용하여 레이저 조사 도중 버블(bubble)이 발생하는 것으로 브루크막(Bruchs membrane)의 파열을 확인하였다.

[97]

[98] **pep1의 투여농도에 따른 실험군 분류**

[99] 레이저-유도 맥락막혈관신생 쥐 모델에 실시예 1에서 언급한 방법으로 제조된 펩타이드 pep1을 세 가지 용량 (0.1, 1, 10 nM)으로 투여한 실험군과 pep1을 투여하지 않은 대조군 (vehicle)으로 쥐를 무작위화(randomization)시킨 후 레이저 조사 3일 전부터, 레이저 조사 후 2주까지 1일 1회 약물을 피하주사(subcutaneous)로 투여하였다.

[100]

[101] 통계 처리

[102] 여러 그룹 간 CNV활성 비교를 위해서는 크루스칼-월리스 테스트(Kruskal-Wallis test)를 사용하였고, 두 그룹간의 비교는 만-휘트니 U 테스트(Mann-Whitney U test)를 사용하였다. $P < 0.05$ 일 때 통계적으로 유의하다고 평가하였다.

[103]

[104] 실시예 3: pep1투여에 따른 CNV 두께 측정

[105]

[106] CNV의 감소 효과를 확인하기 위하여 CNV 두께 측정 실험을 실시하였다.

[107] 레이저로 CNV를 유도한 후 2주가 지난 시점에 pep1을 투여한 군과 대조군 쥐에 마취를 하고, OCT (optical coherence tomography, 광간섭 단층촬영)를 시행하여 in vivo로 CNV 두께를 측정하였다.

[108] Pep1을 투여한 군 및 대조군은 실시예 2에서 언급한 실험군에 따랐으며, 각 군의 모든 병변(lesion)의 두께를 측정하여 CNV 두께에 차이가 있는지 확인하였다.

[109] 실험 결과, CNV가 유도된 뒤 pep1을 투여하지 않은 대조군의 두께와 비교하였을 때, pep1을 투여한 모든 군에서 두께가 감소하였음을 확인할 수 있었다(도 1 참조).

[110] 실험 결과를 실시예 2에서 언급한 통계처리를 통하여 그래프로 나타내었을 때,

pep1의 모든 농도 (0.1, 1, 10 nM) 투여군에서 통계적으로 유의하게 CNV 두께가 대조군보다 감소하였고, 특히 pep1을 1 nM 농도로 투여한 군에서 CNV 두께가 가장 많이 감소하였음을 확인할 수 있었다(도 2 참조).

[111]

[112] **실시예 4: pep1 투여에 따른 CNV 면적 측정**

[113]

[114] CNV의 감소 효과를 확인하기 위하여 CNV 면적 측정 실험을 실시하였다.

[115] 레이저로 CNV를 유도한 후 2주가 지난 시점에 pep1을 투여한 군과 대조군 쥐의 안구를 적출하여 수정체와 유리체를 제거하고 망막색소상피-맥락막-공막(retinal pigment epithelium-choroid-sclera) 조직을 획득하였다. 혈관 내피세포에 특이적인 이소렉틴(isolectin)에 염색된 면적을 측정하여 대조군과 pep1 투여군에서 CNV 면적을 측정하였다.

[116] Pep1을 투여한 군 및 대조군은 실시예 2에서 언급한 실험군에 따랐으며, 각 군의 모든 병변의 면적을 측정하여 그룹별로 CNV 면적에 차이가 있는지 확인하였다.

[117] 실험 결과, CNV가 유도된 뒤 pep1을 투여하지 않은 대조군의 면적과 비교하였을 때, pep1을 투여한 모든 군에서 면적이 감소하였음을 확인할 수 있었다(도3 참조).

[118] 실험 결과를 실시예 2에서 언급한 통계처리를 통하여 그래프로 나타내었을 때, pep1의 모든 농도 (0.1, 1, 10 nM) 투여군에서 통계적으로 유의하게 CNV 면적이 대조군보다 감소하였고, 특히 pep1을 1 nM 농도로 투여한 군에서 CNV 면적이 가장 많이 감소하였음을 확인할 수 있었다(도 4 참조).

[119]

[120] **실시예 5: pep1투여에 따른 혈관신생 누출 측정**

[121] CNV의 감소 효과를 확인하기 위하여 맥락막에서 혈관신생 누출 (angiographic leakage) 측정 실험을 실시하였다.

[122] 레이저로 CNV를 유도한 후 2주가 지난 시점에 pep1을 투여한 군과 대조군 쥐에 마취를 하고, 조영제를 복강 내 0.1ml 주사하였다(10% 나트륨플루오르세인, fluorescein disodium salt). FAG(fluorescein angiography, 형광안저혈관조영술)를 이용하여 대조군과 pep1 투여군에서 맥락막 혈관신생 누출 정도를 비교하였다.

[123]

[124] Pep1을 투여한 군 및 대조군은 실시예 2에서 언급한 실험군에 따랐으며, 각 군의 모든 병변의 누출 정도를 측정하여 그룹별로 맥락막에 차이가 있는지 확인하였다.

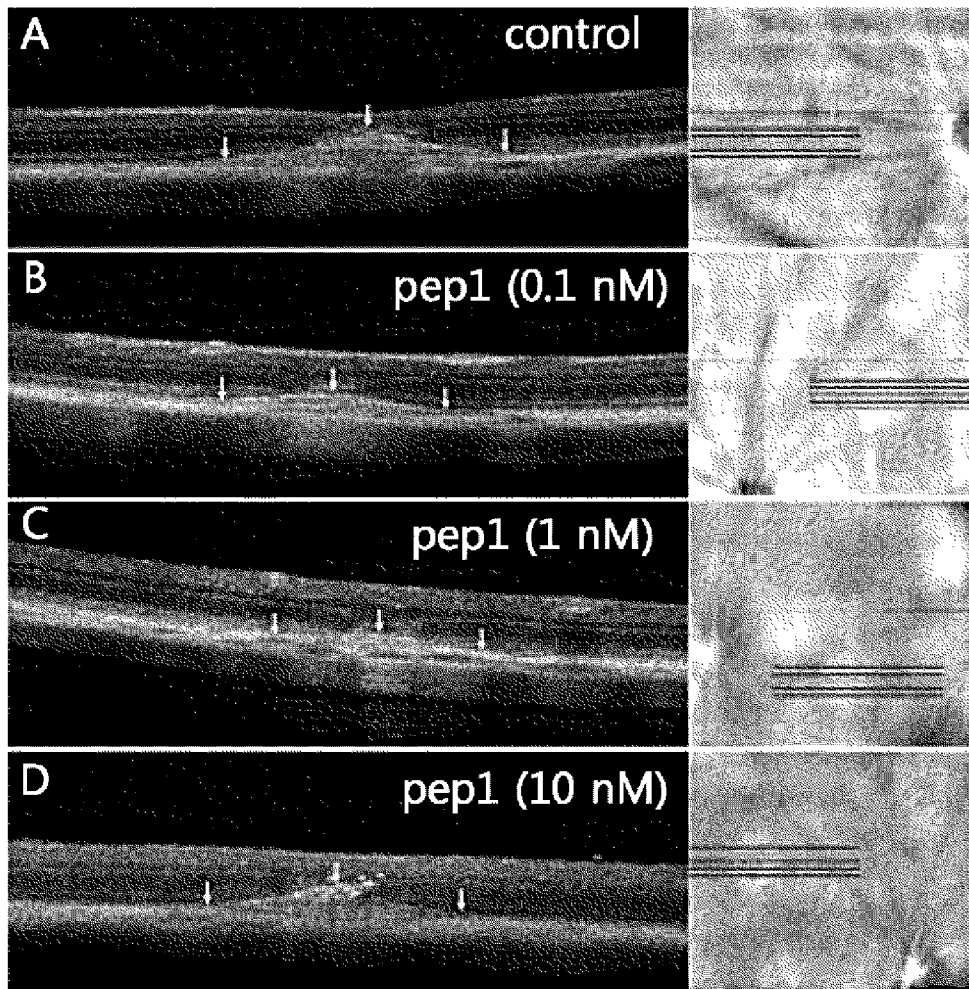
[125] 실험 결과, CNV가 유도된 뒤 pep1을 투여하지 않은 대조군의 면적과 비교하였을 때, pep1의 모든 농도 (0.1, 1, 10 nM) 투여군에서 누출 정도가 감소함을 확인할 수 있었다(도 5 참조).

- [126] 각 군의 모든 병변을 누출 정도에 따라 등급화(grade)하고 각 군별로 등급에 따른 병변의 비율을 그래프로 나타내었다(도 6 참조). 등급은 1등급(임상적으로 심하지 않은 누출 정도), 2A등급(임상적으로 보통의 누출 정도), 2B등급(임상적으로 심각한 누출 정도)으로 표시하였다. 대조군의 비율과 비교하였을 때, pep1의 모든 농도 투여군에서 누출 정도가 심각한 2B등급 병변의 비율이 감소함을 확인하였다. 특히, pep1을 1, 10 nM의 농도로 투여하였을 때 2B등급 병변 비율이 뚜렷하게 감소함을 알 수 있었다.
- [127]
- [128] 실시예들의 결과를 종합하면, CNV 활성도를 CNV 두께, CNV 면적, 혈관신생 누출정도에 따른 병변 비율을 포함한 3가지로 측정한 결과, pep1의 투여시 CNV 활성도가 감소하는 결과가 나타났다. 즉, pep1이 CNV의 활성도를 감소시켜 CNV관련 안구 질환의 치료 및 예방에 효과가 있음이 입증되었다. 따라서, pep1을 포함한 조성물은 안구 질환 치료 및 예방용 약학적 조성물로서 안구 질환의 치료 및 예방에 사용될 수 있는 가능성이 있음을 알 수 있다.

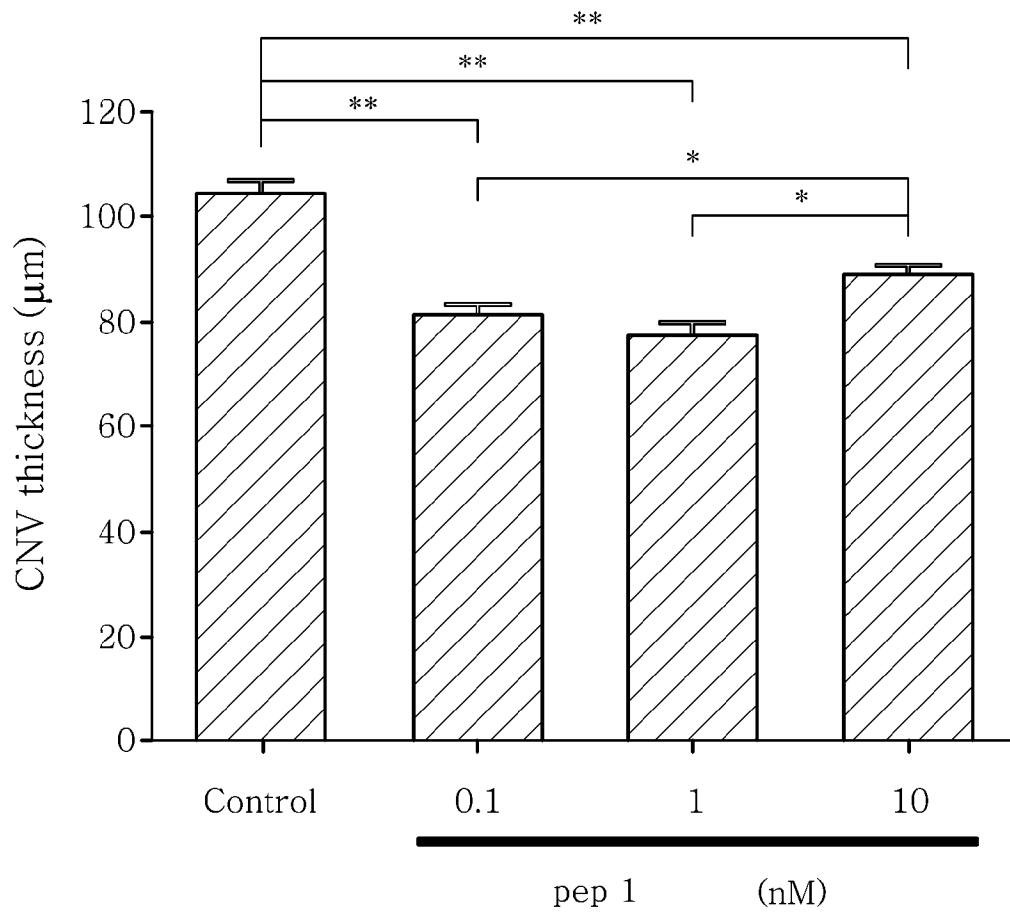
청구범위

- [청구항 1] 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드, 상기 아미노산 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드 또는 그 단편인 펩티드를 포함하는 안질환 치료 및 예방용 조성물.
- [청구항 2] 제 1 항에 있어서, 상기 단편은 3개 이상의 아미노산으로 구성된 단편인 안질환 치료 및 예방용 조성물.
- [청구항 3] 제 1 항에 있어서, 상기 안질환은 당뇨병성 망막증, 미숙아 망막증, 각막 이식 거부, 혈관신생 녹내장, 홍색증, 증식성 망막증, 건선 또는 황반 변성(macular degeneration)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 안질환 치료 및 예방용 조성물.
- [청구항 4] 제 1 항에 있어서, 상기 안질환은 연령 관련(age-related) 안질환인 안질환 치료 및 예방용 조성물.
- [청구항 5] 제 1 항에 있어서, 상기 펩타이드는 혈관내피세포성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF)의 활성을 감소시키는 것을 특징으로 하는 안질환 치료 및 예방용 조성물.
- [청구항 6] 제 1 항에 있어서, 상기 펩타이드는 맥락막혈관신생을 억제시키는 것을 특징으로 하는 안질환 치료 및 예방용 조성물.
- [청구항 7] 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드, 상기 아미노산 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드 또는 그 단편인 펩티드를 포함하는 맥락막혈관신생 억제용 조성물.
- [청구항 8] 제 1항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 약학 조성물로서, 제약학적으로 수용 가능한 부형제 및 첨가제를 더 포함하는 조성물.
- [청구항 9] 제 1 내지 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 식품 조성물인 조성물.
- [청구항 10] 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드, 상기 아미노산 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드 또는 그 단편의 유효한 양을 안질환 치료 또는 예방의 필요가 있는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 안질환의 치료 또는 예방방법.
- [청구항 11] 제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 따른 조성물; 및 설명서를 포함하는 안질환의 치료 및 예방용 키트.
- [청구항 12] 제 11 항에 있어서, 상기 설명서는 상기 조성물을 투여하는 내용을 포함하는 안질환의 치료 및 예방용 키트.
- [청구항 13] 안질환에 있어, 제 1항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 따른 조성물을 제조하기 위한, 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드, 상기 아미노산 서열과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 펩티드 또는 그 단편인 펩티드의 용도.

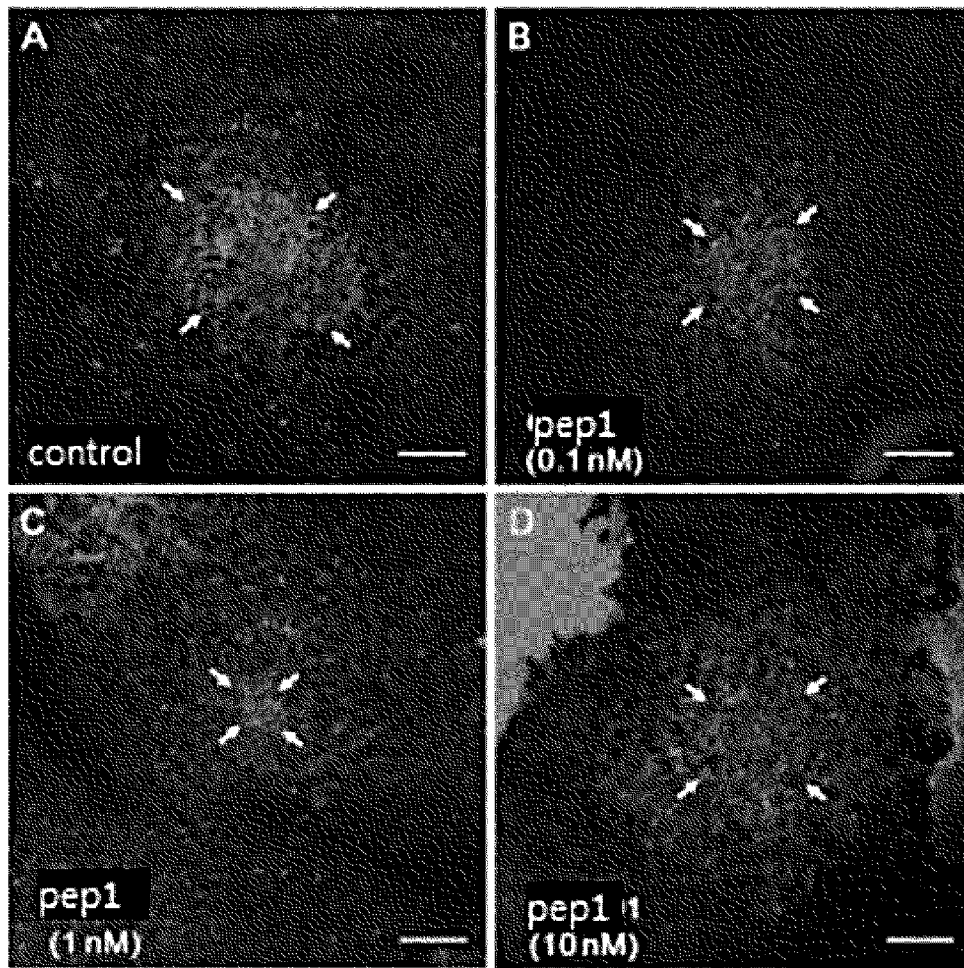
[도1]



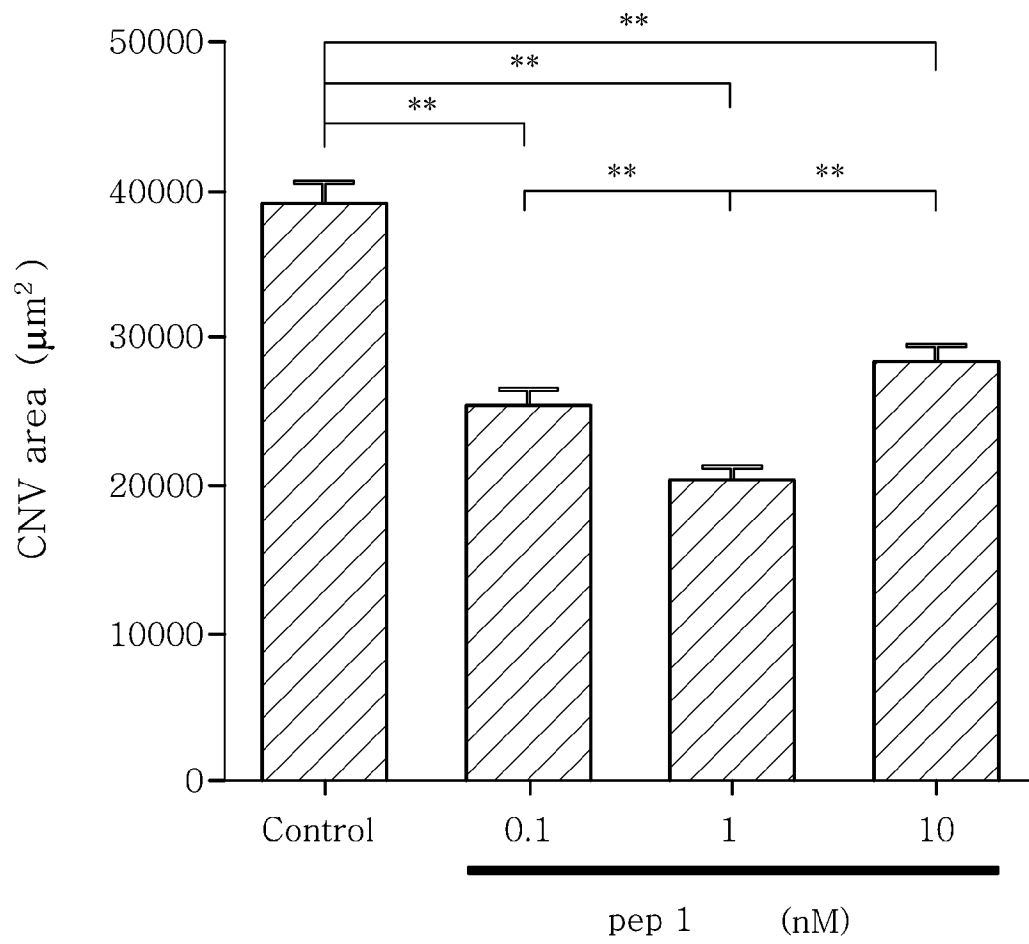
[도2]



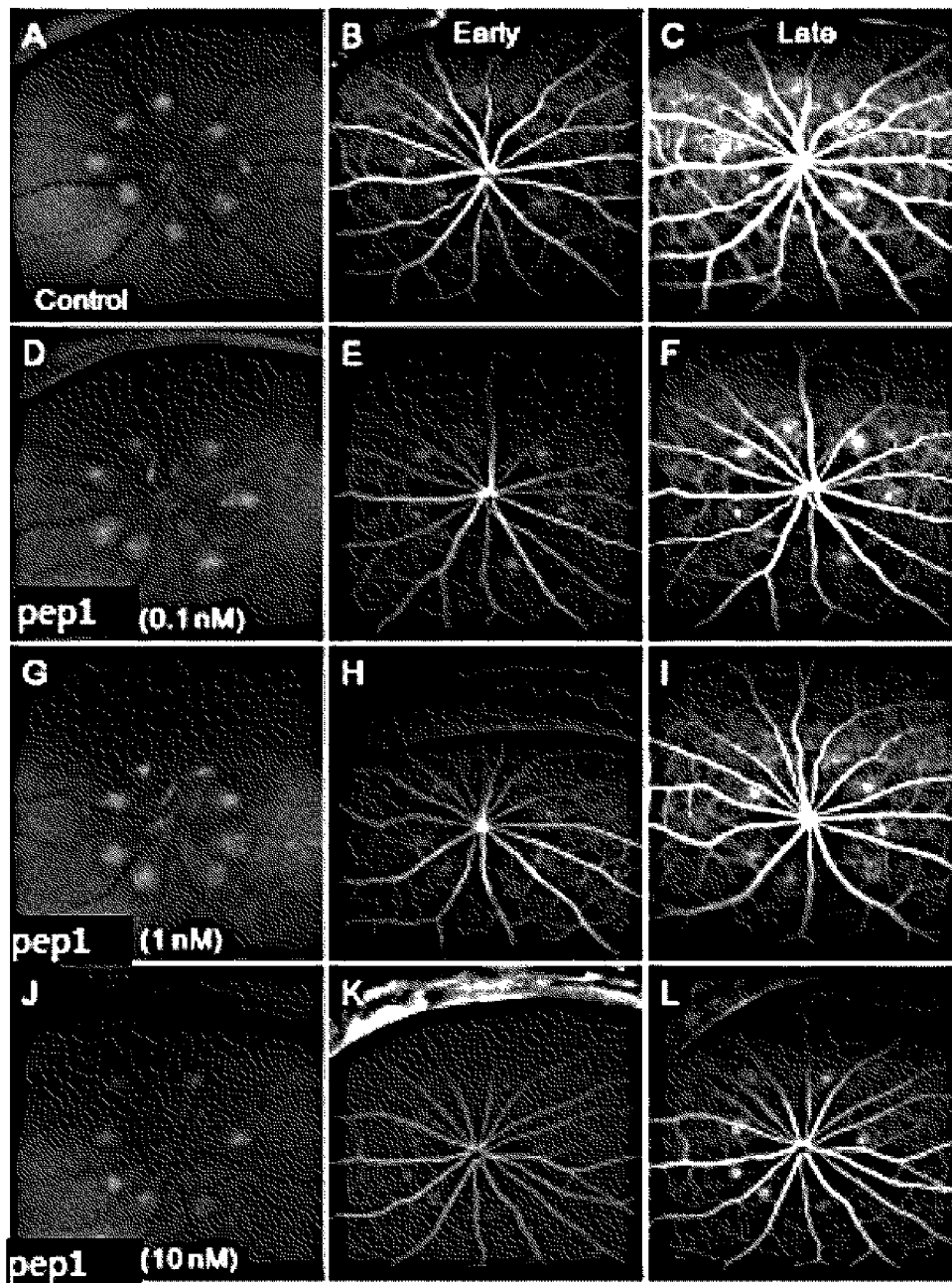
[도3]



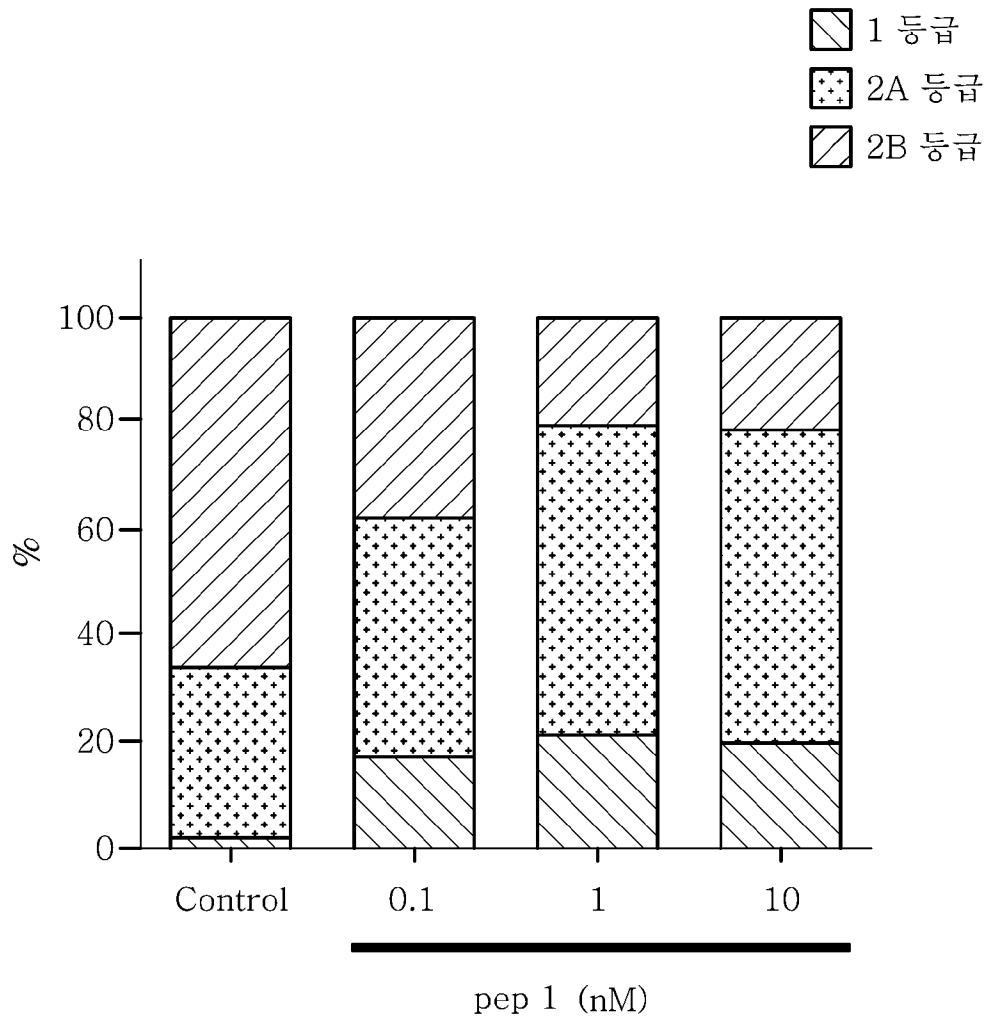
[도4]



[도5]



[도6]



A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 38/17(2006.01)i, A61K 38/10(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 38/17; C12N 5/10; G01N 33/563; A61K 9/107; A61F 9/007; A61K 48/00; C07K 14/605; A61K 38/39; G01N 33/574; A61K 38/10

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: eye disease, choroidal neovascularization, telomerase, GV1001

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2002-522373 A (INSITE VISION, INC.) 23 July 2002 See claims 36-41; and paragraphs [0054]-[0065].	1-4,8-9,11-13
A		5-7
A	WO 2014-196841 A1 (KAEL-GEMVAX CO., LTD.) 11 December 2014 See abstract; claims 1-19; and paragraph [53].	1-9,11-13
A	ROWE-RENDLEMAN et al., "Possible Therapy for Age-related Macular Degeneration using Human Telomerase", Brain Research Bulletin, Vol. 62, pp. 549-553 (2004) See the entire document.	1-9,11-13
A	KR 10-2012-0035150 A (BIOCOMPATIBLES UK LIMITED) 13 April 2012 See the entire document.	1-9,11-13
A	JP 2012-526524 A (BIOCOMPATIBLES UK LTD.) 01 November 2012 See the entire document.	1-9,11-13
PX	LEE et al., "(Meeting Abstract) Inhibition of Experimental Choroidal Neovascularization by Telomerase-derived Peptide GV1001", Investigative Ophthalmology & Visual Science, Vol. 56, 2291 (June 2015) See the entire document.	1-9,11-13



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

29 APRIL 2016 (29.04.2016)

Date of mailing of the international search report

04 MAY 2016 (04.05.2016)

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. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2015/014099

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **10**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 10 pertains to a method for treatment of the human body, and thus pertains to subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17 (2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2015/014099

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
JP 2002-522373 A	23/07/2002	AU 1999-53327 A1	28/02/2000
		AU 761830 B2	12/06/2003
		CA 2339244 A1	17/02/2000
		CA 2339244 C	14/10/2008
		EP 1100462 A2	23/05/2001
		NO 20010556 A	03/04/2001
		NO 20010556 D0	01/02/2001
		US 6378526 B1	30/04/2002
		US 6397849 B1	04/06/2002
		WO 00-07565 A2	17/02/2000
		WO 00-07565 A3	11/05/2000
WO 2014-196841 A1	11/12/2014	CN 104508485 A	08/04/2015
		KR 10-1552260 B1	10/09/2015
		KR 10-2015-0004320 A	12/01/2015
		KR 10-2015-0058135 A	28/05/2015
KR 10-2012-0035150 A	13/04/2012	AU 2010-246603 A1	18/11/2010
		CA 2758293 A1	18/11/2010
		CN 102438647 A	02/05/2012
		EP 2251028 A1	17/11/2010
		EP 2429569 A2	21/03/2012
		JP 2012-526524 A	01/11/2012
		US 2012-0263794 A1	18/10/2012
		WO 2010-130418 A2	18/11/2010
		WO 2010-130418 A3	10/03/2011
JP 2012-526524 A	01/11/2012	AU 2010-246603 A1	18/11/2010
		CA 2758293 A1	18/11/2010
		CN 102438647 A	02/05/2012
		EP 2251028 A1	17/11/2010
		EP 2429569 A2	21/03/2012
		KR 10-2012-0035150 A	13/04/2012
		US 2012-0263794 A1	18/10/2012
		WO 2010-130418 A2	18/11/2010
		WO 2010-130418 A3	10/03/2011

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 38/17(2006.01)i, A61K 38/10(2006.01)i																										
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 38/17; C12N 5/10; G01N 33/563; A61K 9/107; A61F 9/007; A61K 48/00; C07K 14/605; A61K 38/39; G01N 33/574; A61K 38/10 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: 안질환, 맥락막혈관신생, 텔로머레이즈, GV1001																										
C. 관련 문헌 <table border="1"> <thead> <tr> <th>카테고리*</th> <th>인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재</th> <th>관련 청구항</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>JP 2002-522373 A (INSITE VISION, INC.) 2002.07.23 청구항 36-41; 및 문단 [0054]-[0065] 참조.</td> <td>1-4, 8-9, 11-13</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td></td> <td>5-7</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2014-196841 A1 (KAEL-GEMVAX CO., LTD.) 2014.12.11 요약; 청구항 1-19; 및 문단 [53] 참조.</td> <td>1-9, 11-13</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>ROWE-RENDLEMAN 등, 'Possible therapy for age-related macular degeneration using human telomerase' Brain Research Bulletin, Vol.62, pp.549-553 (2004) 전체 문헌 참조.</td> <td>1-9, 11-13</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>KR 10-2012-0035150 A (바이오컴페터블즈 유케이 리미티드) 2012.04.13 전체 문헌 참조.</td> <td>1-9, 11-13</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>JP 2012-526524 A (BIOCOMPATIBLES UK LTD.) 2012.11.01 전체 문헌 참조.</td> <td>1-9, 11-13</td> </tr> <tr> <td>PX</td> <td>LEE 등, '(Meeting Abstract) Inhibition of experimental choroidal neovascularization by telomerase-derived peptide GV1001' Investigative Ophthalmology & Visual Science, Vol.56, 2291 (2015.06) 전체 문헌 참조.</td> <td>1-9, 11-13</td> </tr> </tbody> </table>			카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항	X	JP 2002-522373 A (INSITE VISION, INC.) 2002.07.23 청구항 36-41; 및 문단 [0054]-[0065] 참조.	1-4, 8-9, 11-13	A		5-7	A	WO 2014-196841 A1 (KAEL-GEMVAX CO., LTD.) 2014.12.11 요약; 청구항 1-19; 및 문단 [53] 참조.	1-9, 11-13	A	ROWE-RENDLEMAN 등, 'Possible therapy for age-related macular degeneration using human telomerase' Brain Research Bulletin, Vol.62, pp.549-553 (2004) 전체 문헌 참조.	1-9, 11-13	A	KR 10-2012-0035150 A (바이오컴페터블즈 유케이 리미티드) 2012.04.13 전체 문헌 참조.	1-9, 11-13	A	JP 2012-526524 A (BIOCOMPATIBLES UK LTD.) 2012.11.01 전체 문헌 참조.	1-9, 11-13	PX	LEE 등, '(Meeting Abstract) Inhibition of experimental choroidal neovascularization by telomerase-derived peptide GV1001' Investigative Ophthalmology & Visual Science, Vol.56, 2291 (2015.06) 전체 문헌 참조.	1-9, 11-13
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항																								
X	JP 2002-522373 A (INSITE VISION, INC.) 2002.07.23 청구항 36-41; 및 문단 [0054]-[0065] 참조.	1-4, 8-9, 11-13																								
A		5-7																								
A	WO 2014-196841 A1 (KAEL-GEMVAX CO., LTD.) 2014.12.11 요약; 청구항 1-19; 및 문단 [53] 참조.	1-9, 11-13																								
A	ROWE-RENDLEMAN 등, 'Possible therapy for age-related macular degeneration using human telomerase' Brain Research Bulletin, Vol.62, pp.549-553 (2004) 전체 문헌 참조.	1-9, 11-13																								
A	KR 10-2012-0035150 A (바이오컴페터블즈 유케이 리미티드) 2012.04.13 전체 문헌 참조.	1-9, 11-13																								
A	JP 2012-526524 A (BIOCOMPATIBLES UK LTD.) 2012.11.01 전체 문헌 참조.	1-9, 11-13																								
PX	LEE 등, '(Meeting Abstract) Inhibition of experimental choroidal neovascularization by telomerase-derived peptide GV1001' Investigative Ophthalmology & Visual Science, Vol.56, 2291 (2015.06) 전체 문헌 참조.	1-9, 11-13																								
☐ 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 “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 신구성 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 2016년 04월 29일 (29.04.2016)		국제조사보고서 발송일 2016년 05월 04일 (04.05.2016)																								
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 조기훈 전화번호 +82-42-481-5655 																								

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: 10
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 10은 인체의 치료방법에 관한 것이므로 PCT 제17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여
국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다.
구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된
기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 2002-522373 A	2002/07/23	AU 1999-53327 A1 AU 761830 B2 CA 2339244 A1 CA 2339244 C EP 1100462 A2 NO 20010556 A NO 20010556 D0 US 6378526 B1 US 6397849 B1 WO 00-07565 A2 WO 00-07565 A3	2000/02/28 2003/06/12 2000/02/17 2008/10/14 2001/05/23 2001/04/03 2001/02/01 2002/04/30 2002/06/04 2000/02/17 2000/05/11
WO 2014-196841 A1	2014/12/11	CN 104508485 A KR 10-1552260 B1 KR 10-2015-0004320 A KR 10-2015-0058135 A	2015/04/08 2015/09/10 2015/01/12 2015/05/28
KR 10-2012-0035150 A	2012/04/13	AU 2010-246603 A1 CA 2758293 A1 CN 102438647 A EP 2251028 A1 EP 2429569 A2 JP 2012-526524 A US 2012-0263794 A1 WO 2010-130418 A2 WO 2010-130418 A3	2010/11/18 2010/11/18 2012/05/02 2010/11/17 2012/03/21 2012/11/01 2012/10/18 2010/11/18 2011/03/10
JP 2012-526524 A	2012/11/01	AU 2010-246603 A1 CA 2758293 A1 CN 102438647 A EP 2251028 A1 EP 2429569 A2 KR 10-2012-0035150 A US 2012-0263794 A1 WO 2010-130418 A2 WO 2010-130418 A3	2010/11/18 2010/11/18 2012/05/02 2010/11/17 2012/03/21 2012/04/13 2012/10/18 2010/11/18 2011/03/10