



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년05월24일
(11) 등록번호 10-2400401
(24) 등록일자 2022년05월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 7/06 (2006.01) A23L 33/18 (2016.01)
A61K 38/00 (2006.01) A61K 8/64 (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01) A61P 17/10 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 7/06 (2013.01)
A23L 33/18 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0060011
(22) 출원일자 2019년05월22일
심사청구일자 2019년12월03일
(65) 공개번호 10-2020-0135601
(43) 공개일자 2020년12월03일
(56) 선행기술조사문헌
KR101625112 B1*
JP2010533135 A*
US20110027290 A1
KR100976915 B1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
(주)셀인바이오
경기도 수원시 영통구 신원로 88, 103동 1307호
(신동, 디지털엠피어2)
(72) 발명자
이동희
경기도 용인시 기흥구 탑실로 152, 202동 1005호
(공세동, 탑실마을 대주피오레2단지)
조장희
인천광역시 남동구 백범로101번길 11, 301호(만수동, 럭스빌)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
네이트특허법인

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 문영준

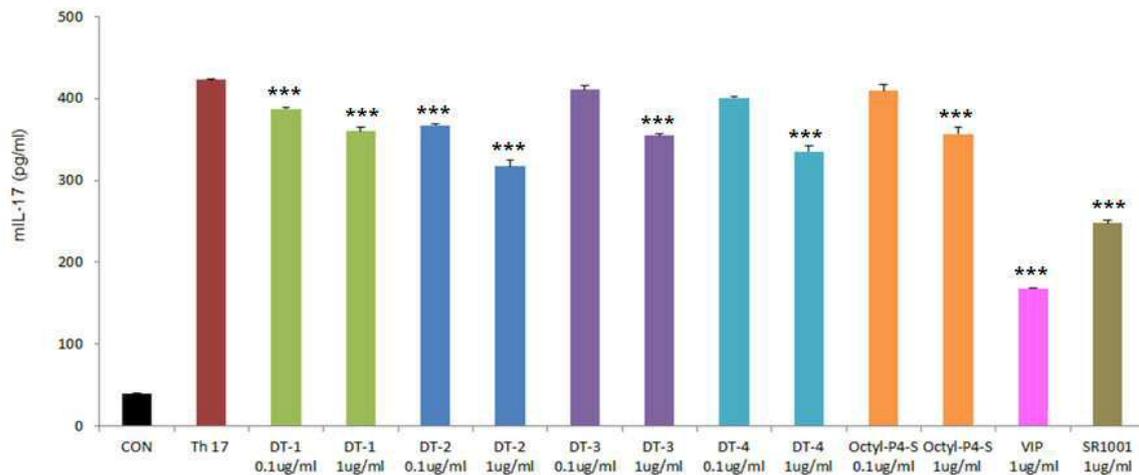
(54) 발명의 명칭 항염증 펩타이드 및 항염증 조성물

(57) 요약

본 발명은 하기 일반식 1 또는 일반식 2의 짧은 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 또는 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물과, 상기 펩타이드, 상기 축합 화합물 또는 이들의 약학적, 화장품공학적이거나 식품공학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 함유하는 항염증 조성물 또는 항염증 피부외용제에 관한 것이

(뒷면에 계속)

대표도 - 도4



다.

일반식 1

(N-말단)-YPATMX¹DX²A-(C-말단)

일반식 2

(N-말단)-ATMX¹DX²A-(C-말단)

(52) CPC특허분류

A61K 38/00 (2013.01)

A61K 8/64 (2013.01)

A61P 17/06 (2018.01)

A61P 17/10 (2018.01)

A61P 19/02 (2018.01)

A61P 29/00 (2018.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/306 (2013.01)

(72) 발명자

유지원

서울특별시 서초구 서운로 201, 105동 405호(서초동, 서초 푸르지오써밋)

남희진

경기도 수원시 권선구 구운로74번길 20(구운동)

황종태

경기도 수원시 영통구 신원로 112-10, 205호(망포동, 더하우스)

박지예

경기도 수원시 권선구 동탄원천로813번길 16, 321동 801호(권선동, 권선대우아파트)

성우용

경기도 수원시 영통구 봉영로1517번길 27, 907동 802호(영통동, 벽적골9단지 주공아파트)

김용애

경기도 성남시 분당구 중앙공원로 53, 126동 1303호(서현동, 시범단지삼성.한신아파트)

정지호

경기도 광주시 오포읍 능평로75번길 11, 101호(노블하임)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	10052915
부처명	산업자원통상부
과제관리(전문)기관명	한국산업기술평가관리원
연구사업명	바이오의료기기 산업핵심기술개발사업
연구과제명	트러블스킨케어용 향균, 항염 펩타이드 소재 및 제품개발
기여율	1/1
과제수행기관명	(주)셀인바이오
연구기간	2015.06.01 ~ 2018.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

서열식별번호: 5 내지 서열식별번호: 9의 아미노산 서열 중에서 어느 하나의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하고, 서열식별번호: 5 내지 서열식별번호: 7의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드는 각각 0.1 내지 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 함유되고, 서열식별번호: 8 및 서열식별번호: 9의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드는 각각 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 함유되는 항염증 조성물.

청구항 2

서열식별번호: 5 내지 서열식별번호: 9의 아미노산 서열 중에서 어느 하나의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드 또는 이의 화장품공학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하고, 서열식별번호: 5 내지 서열식별번호: 7의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드는 각각 0.1 내지 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 함유되고, 서열식별번호: 8 및 서열식별번호: 9의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드는 각각 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 함유되는 염증 개선용 화장품 조성물.

청구항 3

서열식별번호: 5의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드의 N 말단에 아미드 결합을 통하여 옥틸기가 축합된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하고, 상기 유효성분을 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 포함하는 항염증 조성물.

청구항 4

서열식별번호: 5의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드의 N 말단에 아미드 결합을 통하여 옥틸기가 축합된 화합물 또는 이의 화장품공학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하고, 상기 유효성분을 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 포함하는 염증 개선용 화장품 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

서열식별번호: 5 내지 서열식별번호: 9의 아미노산 서열 중에서 어느 하나의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하고, 서열식별번호: 5 내지 서열식별번호: 7의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드는 각각 0.1 내지 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 함유되고, 서열식별번호: 8 및 서열식별번호: 9의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드는 각각 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 함유되는 항염증 피부외용제.

청구항 8

서열식별번호: 5의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드의 N 말단에 아미드 결합을 통하여 옥틸기가 축합된 화

합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하고, 상기 유효성분을 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 포함하는 항염증 피부외용제.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 특허출원은 대한민국 정부 산업통상자원부의 "바이오의료기기 산업핵심기술개발사업"의 일환으로서 "트러블 스킨케어용 항균, 항염 펩타이드 소재 및 제품개발"(주관기관: ㈜셀인바이오; 과제번호: 10052915) 과제의 수행 결과물에 관한 것이다.

[0002] 본 발명은 펩타이드에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 항염증 활성을 가지는 펩타이드 및 이들 펩타이드를 포함하는 항염증 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 생체 내에서 일어나는 염증 및 항염증 반응에서 다양한 사이토카인이 관여한다. 그 중에서도 인터루킨-17(interleukin-17, IL-17)은 만성 염증(chronic inflammation)과 밀접한 관련을 맺고 있는 것으로 알려져 있다. IL-17은 세포외 박테리아 및 곰팡이 감염에 대한 숙주의 방어 메커니즘에서 중요한 역할을 수행하는 염증성 사이토카인으로서, 특히 T-헬퍼 17(Th17) 세포가 IL-17의 생산 및 분화에 중요한 역할을 수행한다.

[0004] 생체 내에서 IL-17의 생산 및 분비의 증가는, 건선(Psoriasis), 건선성 관절염(Psoriatic arthritis; PsA), 류마티스 관절염(Rheumatoid arthritis; RA), 아토피 피부염(Atopic dermatitis; AD), 여드름 병변(Acne lesions) 및 강직성 척추염(Ankylosing spondylitis; AS)을 비롯한 여러 염증성 질환과 깊은 관련이 있다. IL-17에 대한 첫 항체는 건선치료를 위해 FDA와 EMA에 의해 2015년에 처음 승인되었으며, 다른 IL-17 억제제(IL-17A and IL-17F inhibitors, IL-17A and TNF α inhibitors, IL-17RA inhibitors)는 점점 더 많은 임상적 이용을 위해 개발 중이다.

[0005] 예를 들어, 아토피 피부염의 발병과 관련해서, 생체의 면역 체계에서 Th1이나 Th2 면역 체계의 불균형 이외에도, Th17 세포의 활성 및 이로 인한 IL-17의 생산 및 분화도 중요한 역할을 한다.

[0006] 국내의 한 연구에 따르면, 옥사졸론(oxazolone)을 투여하여 아토피 피부염을 유발시켰을 때 야생형(wild type)에 비하여 IL-17을 암호화하는 유전자가 제거된 돌연변이 마우스에서 귀의 부종 정도, 염증세포의 동원 및 Th2 유형의 사이토카인의 분비가 크게 감소한 것을 확인하였다. 아울러, 경표피 수분손실량, 각질층의 지질 분포 및 층판소체(lamellar body) 형태 변화 등을 측정하여 피부장벽의 기능 손상을 확인하였을 때, 야생형에서는 현저한 피부장벽의 기능 손상을 확인할 수 있었으나, IL-17을 암호화하는 유전자가 제거된 돌연변이 마우스에서 장벽 손상이 감소하는 것을 확인하였다. 아울러, 아토피 피부염을 가진 환자의 혈청 내 IL-17 값이 유의미하게 증가하였고, 피부 장벽 손상이 심한 중증 환자는 경증 환자에 비하여 혈청 IL-17 값이 증가하였다.

[0007] 한편, 여드름은 *Propionibacterium acnes*로 인한 염증이 야기되는 질병인데, *P. acnes*는 Toll-like receptors(TLRs)를 통하여 염증성 여드름의 유발에 관여한다. 여드름의 염증 메커니즘에서도 Th17 경로가 여드름의 염증 반응에 크게 관여하는 것으로 보고되고 있다. 연구에 따르면, 인체 적용 시험에서 여드름 병변을 가지는 피부에서 Th17 계통의 특징적인 사이토카인(IL-1 β , IL-6, TGF- β , IL23p19)이 비-병변 피부에 비해 유의하게 증가하였다. 특히, 면역 조직에 대한 분석에서 여드름 병변을 가지는 피부에서 IL-17A 양성 T 세포 및 CD83 수지상 세포의 수가 현저히 증가하였다.

[0008] 한편, UVB 범위(파장 290-320 nm)의 자외선(UVR)은 면역억제를 유도하고 UVR 노출에 의해 유도된 면역억제는 피

부암의 주요 위험 요소이다. UVR에 의해 유도된 면역억제는 접촉과민성 (contact hypersensitivity; CHS)을 포함한 여러 동물모델에서 확인되었다. 한 연구에 따르면, UVR을 조사한 피부 및 피부 중앙에서 혈청 및 Th17 세포관련 신호분자인 ROR γ t, Stat3 및 IL-6에서 IL-17이 높은 수치로 검출되었는데, 이는 IL-17이 UVR 유발 피부암과 관련이 있음을 시사한다.

[0009] 아울러, 대표적인 염증성 질환인 관절염의 병소인 활막 내에는 IL-17의 합성을 유도하는 T세포 및 기능적으로 활성화된 IL-17이 존재한다. IL-17은 염증성 질환 환자의 혈청에서 높게 검출되는데, 그 중에서 IL-17A는 염증성 환자의 활막세포 내 IL-1 β 와 IL-6의 발현을 유도시킨다. 구체적으로, IL-17은 연골세포와 조골세포 (osteoblasts) 내 기질 생산을 억제시켜 관절손상을 일으키고 조직 재생을 결핍시킨다. IL-17은 matrix metalloproteinases(MMPs)의 발현과 기능을 활성화시키고, TNF와 함께 마우스 모델 내 비가역적인 연골손상을 일으킨다. 염증 반응이 일어나는 동안 IL-17은 Th17 세포와 활막 세포와 국소적으로 상호작용하면서, 활막 세포 내 MMP의 분비 및 IL-1 β 와 IL-6의 발현이 촉진된다. 골 파괴에 관련하여 IL-17은 조골세포상에 receptor activator of NF- κ B ligand(RANKL)의 발현을 증가시켜, 파골세포(osteoclasts)내 RANK 신호를 증폭시킨다. 특히 RANKL을 발현하는 Th17 세포는 파골세포 분화 과정에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 세포 투과력이 우수하며 안전성이 확보되는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물과, 이들 펩타이드 또는 화합물을 포함하는 항염증 조성물을 제공하고자 하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명의 일 측면에 따르면, 본 발명은 하기 일반식 1 또는 하기 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드를 제공한다.

[0012] 일반식 1

[0013] (N-말단)-YPATMX¹DX²A-(C-말단)

[0014] 일반식 2

[0015] (N-말단)-ATMX¹DX²A-(C-말단)

[0016] 일반식 1 및 2에서, X¹은 D(아스파르트산), F(페닐알라닌), I(이소류신), L(류신), W(트립토판), E(글루탐산), H(히스티딘), P(프롤린) 또는 Y(티로신)이고, X²는 M(메티오닌), I(이소류신), F(페닐알라닌), W(트립토판) 또는 Y(티로신)임.

[0017] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물을 제공한다.

[0018] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 진술한 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 약학적, 화장품공학적 또는 식품공학적으로 허용되는 염을 포함하는 항염증 조성물을 제공한다.

[0019] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, 진술한 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 약학적 또는 화장품공학적으로 허용되는 염을 포함하는 항염증용 피부외용제를 제공한다.

발명의 효과

[0020] 본 발명은 짧은 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드 또는 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 및 이들을 함유하는 항염증 조성물을 제안한다.

[0021] 짧은 아미노산 서열로 이루어지며, 필요에 따라 지방족 탄화수소가 축합된 펩타이드는 세포 투과도가 우수하여, 생체에 투여할 경우 신속하게 생체 내로 주입된다. 생체에 대한 독성도 없을 것으로 예상되기 때문에, 생체에

대한 부작용이나 독성의 문제가 없다.

[0022] 따라서, 본 발명에서 합성된 펩타이드 및/또는 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물은, 염증으로 야기되는 다양한 질병의 치료나 예방을 위한 약학 조성물이나, 염증을 완화시키기 위한 화장품 조성물이나 식품 조성물의 유효성분으로 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도 1은 본 발명의 예시적인 실시예에 따라 분석된 tIK 인자의 3차원 구조를 나타낸다. 비교를 위하여 IL-10의 3차원 구조를 또한 나타낸다.

도 2는 본 발명의 예시적인 실시예에 따라 합성된 펩타이드의 항염증 활성을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 3은 본 발명의 다른 예시적인 실시예에 따라 합성된 펩타이드의 농도 변화에 따른 항염증 활성을 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 4는 본 발명의 또 다른 예시적인 실시예에 따라 합성된 펩타이드 및 펩타이드의 말단에 지방산이 결합된 화합물의 농도 변화에 따른 항염증 활성을 나타낸 그래프이다.

도 5는 본 발명의 또 다른 예시적인 실시예에 따라 합성된 펩타이드의 적혈구 세포에 대한 용혈성을 평가한 결과를 보여주는 사진이다.

도 6은 본 발명의 또 다른 예시적인 실시예에 따라 제조된 항염증 조성물을 피부에 투여한 뒤, 경피수분손실량 변화 및 개선율을 평가한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 7은 본 발명의 또 다른 예시적인 실시예에 따라 제조된 항염증 조성물을 피부에 투여한 뒤, 피부 색도인 a^* 값 변화 및 개선율을 평가한 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 이하, 필요한 경우에 첨부하는 도면을 참조하면서, 본 발명을 설명한다.

[0025] 용어의 정의

[0026] 본 명세서에서 용어 “아미노산”은 가장 넓은 의미로 사용되고, 자연-발생 L-아미노산 또는 잔기를 포함하는 것으로 의도된다. 자연-발생 아미노산에 대해 통상적으로 사용되는 1-문자 약어 및/또는 3-문자 약어가 본 명세서에 사용될 수 있다. 아미노산은 D-아미노산 뿐만 아니라, 화학적으로-변형된 아미노산, 예컨대 아미노산 유사체, 단백질에 통상적으로 혼입되지 않는 자연-발생 아미노산, 예컨대 노르류신, 및 아미노산의 특징인 것으로 본 발명이 속하는 기술분야에서 공지된 특성을 갖는 화학적으로-합성된 화합물을 포함한다. 예를 들어, 천연 Phe 또는 Pro와 동일한 펩타이드 화합물의 입체형태 제한을 허용하는 페닐알라닌 또는 프롤린의 유사체 또는 모방체가 아미노산의 정의 내에 포함된다. 이러한 유사체 및 모방체는 본 명세서에서 아미노산의 "기능적 균등물"로서 지칭된다. 아미노산의 다른 예는 문헌 [Roberts and Vellaccio, The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology, Eds. Gross and Meiehofer, Vol. 5, p. 341(Academic Press, Inc.: N.Y. 1983)]에 열거되어 있다.

[0027] 예를 들어, 표준 고체-상 합성 기술에 의해 합성된 합성 펩타이드는 유전자에 의해 암호화되는(encoded) 아미노산으로 제한되지 않으며, 이에 따라 주어진 아미노산에 대해 보다 광범위하게 다양한 치환을 허용한다. 유전자 코드에 의해 암호화되지 않은 아미노산은 본 명세서에서 "아미노산 유사체"로서 지칭되며, 예를 들어 WO 90/01940에 기재되어 있다. 예를 들어, 아미노산 유사체는 Glu 및 Asp에 대한 2-아미노 아디프산 (Aad); Glu 및 Asp에 대한 2-아미노피멜산 (Apm); Met, Leu 및 다른 지방족 아미노산에 대한 2-아미노부티르산 (Abu); Met, Leu 및 다른 지방족 아미노산에 대한 2-아미노헵탄산 (Ahe); Gly에 대한 2-아미노부티르산 (Aib); Val, Leu 및 Ile에 대한 시클로헥실알라닌 (Cha); Arg 및 Lys에 대한 호모아르기닌 (Har); Lys, Arg 및 His에 대한 2,3-디아미노프로피온산(Dap); Gly, Pro 및 Ala에 대한 N-에틸글리신 (EtGly); Gly, Pro 및 Ala에 대한 N-에틸글리신 (EtGly); Asn 및 Gln에 대한 N-에틸아스파라긴 (EtAsn); Lys에 대한 히드록시리신 (Hy1); Lys에 대한 알로히드록시리신 (AHyl); Pro, Ser 및 Thr에 대한 3-(및 4-)히드록시프롤린 (3Hyp, 4Hyp); Ile, Leu 및 Val에 대한 알로-이소류신(AIle); Arg에 대한 4-아미디노페닐알라닌; Gly, Pro 및 Ala에 대한 N-메틸글리신 (MeGly, 사르코신); Ile에 대한 N-메틸이소류신 (MeIle); Met 및 다른 지방족 아미노산에 대한 노르발린 (Nva); Met 및 다른 지방족 아미노산을 위한 노르류신 (Nle); Lys, Arg 및 His에 대한 오르니틴 (Orn); Thr, Asn 및 Gln에 대한 시트룰린 (Cit) 및 메티오닌 술폭시드 (MSO); 및 Phe에 대한 N-메틸페닐알라닌 (MePhe),

트리메틸페닐알라닌, 할로-(F-, Cl-, Br- 또는 I-)페닐알라닌 또는 트리플루오릴페닐알라닌을 포함한다.

- [0028] 본 명세서에서 용어 “펩타이드”는 자연적으로 존재하는 것으로부터 분리하였거나, 재조합 기술(recombinant technique)에 의하여 또는 화학적으로 합성된 단백질, 단백질 단편 및 펩타이드를 모두 포함한다.
- [0029] 특정 실시양태에서, 화합물의 변이체, 예컨대 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 펩타이드 변이체가 제공된다. 본 명세서에서 “펩타이드 변이체(peptide variants)”란 하나 또는 그 이상의 아미노산이 펩타이드의 아미노산 서열에 치환(substitutions), 결실(deletions), 첨가(additions) 및/또는 삽입(insertions)되어 있으면서, 원래의 아미노산으로 구성된 펩타이드와 거의 동일한 생물학적 기능을 발휘하는 것을 말한다. 펩타이드 변이체는 원래의 펩타이드와 70% 이상, 바람직하게는 90% 이상, 더욱 바람직하게는 95% 이상의 동일성(identity)을 가지고 있어야 한다. 이러한 치환체로서 “보존성”이라고 알려진 아미노산 치환체가 포함될 수 있다. 변이체는 또한 비보존성(non-conservative)의 변화를 포함할 수도 있다. 하나의 예시적인 구체예에서, 변이체 폴리펩타이드의 서열은 5개 또는 그 이하의 아미노산이 치환, 결실, 부가 또는 삽입됨으로써, 원래의 서열과 달라질 수 있다. 변이체들은 또한 펩타이드의 면역원성(immunogenicity), 2차 구조(secondary structure) 및 수치료성(hydrophobic nature)에 최소한의 영향을 주는 아미노산들의 결실 또는 부가에 의해 변화될 수 있다.
- [0030] “보존성” 치환이란 하나의 아미노산이 다른 아미노산으로 치환되었을 때에도 폴리펩타이드의 2차 구조 및 수치료성(hydrophobic nature) 등의 특성에 큰 변화가 없는 것을 의미한다. 아미노산 변이는 아미노산 결사슬 치환체의 상대적 유사성, 예컨대 극성(polarity), 전하(charge), 수용성(solubility), 소수성(hydrophobicity), 친수성(hydrophilicity) 및/또는 양친화성(amphipathic nature) 등의 유사성을 기초로 하여 얻어질 수 있다.
- [0031] 예를 들어 아미노산은 공통적인 결사슬 특성에 따라 i) 소수성(노르류신, 메티오닌, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신) ii) 중성 친수성(시스테인, 세린, 트레오닌, 아스파라긴, 글루타민), iii) 산성(아스파르트산, 글루탐산), iv) 염기성(히스티딘, 리신, 아르기닌), v) 쇄 방향에 영향을 미치는 잔기(글리신, 프롤린), vi) 방향족(트립토판, 티로신, 페닐알라닌)으로 분류될 수 있다. 보존적 치환은 이들 각각의 클래스 중 하나의 구성원을 동일한 클래스의 다른 구성원으로 교환하는 것을 수반할 것이다.
- [0032] 아미노산 결사슬 치환체의 크기, 모양 및 종류에 대한 분석에 의하여, 아르기닌, 리신과 히스티딘은 모두 양전하를 띤 잔기이고; 알라닌, 글리신과 세린은 유사한 크기를 갖으며; 페닐알라닌, 트립토판과 티로신은 유사한 모양을 갖는다는 것을 알 수 있다. 따라서 이러한 고려 사항에 기초하여, 아르기닌, 라이신과 히스티딘; 알라닌, 글리신과 세린; 그리고 페닐알라닌, 트립토판과 티로신은 생물학적으로 기능 균등물이라 할 수 있다.
- [0033] 변이를 도입하는 데 있어서, 아미노산의 소수성 인덱스(hydrophobic index)가 고려될 수 있다. 각각의 아미노산은 소수성과 전하에 따라 소수성 인덱스가 부여되어 있다: 이소류신(+4.5); 발린(+4.2); 류신(+3.8); 페닐알라닌(+2.8); 시스테인/시스테인(+2.5); 메티오닌(+1.9); 알라닌(+1.8); 글리신(-0.4); 트레오닌(-0.7); 세린(-0.8); 트립토판(-0.9); 티로신(-1.3); 프롤린(-1.6); 히스티딘(-3.2); 글루탐산(-3.5); 글루타민(-3.5); 아스파르트산(-3.5); 아스파라긴(-3.5); 라이신(-3.9); 및 아르기닌(-4.5).
- [0034] 단백질의 상호적인 생물학적 기능(interactive biological function)을 부여하는 데 있어서 소수성 아미노산 인덱스는 매우 중요하다. 유사한 소수성 인덱스를 가지는 아미노산으로 치환하여야 유사한 생물학적 활성을 보유했을 수 있다는 것은 공지된 사실이다. 소수성 인덱스를 참조하여 변이를 도입시키는 경우, 바람직하게는 ± 2 이내, 보다 바람직하게는 ± 1 이내, 보다 더 바람직하게는 ± 0.5 이내의 소수성 인덱스 차이를 나타내는 아미노산 사이에 치환을 한다.
- [0035] 한편, 유사한 친수성 값(hydrophilicity value)을 가지는 아미노산 사이의 치환이 균등한 생물학적 활성을 갖는 단백질을 초래한다는 것도 잘 알려져 있다. 미국 특허 제4,554,101호에 개시된 바와 같이, 다음의 친수성 값이 각각의 아미노산 잔기에 부여되어 있다: 아르기닌(+3.0); 리신(+3.0); 아스파르트산(+3.0 ± 1); 글루탐산(+3.0 ± 1); 세린(+0.3); 아스파라긴(+0.2); 글루타민(+0.2); 글리신(0); 트레오닌(-0.4); 프롤린(-0.5 ± 1); 알라닌(-0.5); 히스티딘(-0.5); 시스테인(-1.0); 메티오닌(-1.3); 발린(-1.5); 리신(-1.8); 이소류신(-1.8); 티로신(-2.3); 페닐알라닌(-2.5); 트립토판(-3.4). 친수성 값을 참조하여 변이를 도입시키는 경우, 바람직하게는 ± 2 이내, 보다 바람직하게는 ± 1 이내, 보다 더 바람직하게는 ± 0.5 이내의 친수성 값 차이를 나타내는 아미노산 사이에 치환을 한다.
- [0036] 분자의 활성을 전체적으로 변경시키지 않는 단백질에서의 아미노산 교환은 당해 분야에 공지되어 있다(H.Neurath, R.L.Hill, The Proteins, Academic Press, New York, 1979). 가장 통상적으로 일어나는 교환은 아미노산 잔기 Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Thr/Phe,

Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, Asp/Gly 간의 교환이다.

- [0037] 일반적으로, 본 명세서상에 언급되어 있는 펩타이드들(융합 단백질 포함)은 분리된(isolated) 것이다. “분리된(isolated)” 펩타이드란 원래의 환경으로부터 제거된 것이다. 예를 들어, 자연 상태로 존재하는 단백질은 그 상태에서 함께 존재하는 물질들 전부 혹은 일부를 제거함으로써 분리되는 것이다. 이러한 폴리펩타이드는 적어도 90% 이상의 순도를 지녀야 하며, 바람직하게는 95%, 더욱 바람직하게는 99% 이상의 순도를 가져야 한다.
- [0038] 펩타이드는 재조합 방법(recombinant means) 또는 화학적 합성을 통해 재조합으로써 분리될 수 있다. 재조합 펩타이드는 알려져 있는 많은 발현 벡터들 중 어느 것을 이용하든지 간에 공지된 방법으로 손쉽게 제조될 수 있다. 발현은 재조합 단백질을 암호화하는 DNA 서열을 포함하는 발현벡터로 형질전환 된 적절한 숙주 세포(host cell) 내에서 시킬 수 있다. 일례로, 적절한 숙주 세포에는 원핵세포(prokaryotes), 효모(yeast) 및 진핵세포(eukaryotes)가 포함된다. 재조합 단백질의 정제를 위해서는 먼저 수용성의 숙주/벡터 시스템에서 얻은, 배양액으로 분리된 재조합 단백질을 포함하는 상층액을 시판되는 필터를 이용하여 농축시킨다. 다음 단계로 상기에서 얻은 농축액을 친화 매트릭스(affinity matrix) 또는 이온교환수지(ion exchange resin) 등의 적절한 정제 매트릭스(purification matrix)를 이용하여 정제한다. 마지막으로 한 단계 또는 여러 단계의 역상(reverse phase) HPLC 를 수행함으로써 순수한 재조합 단백질을 얻을 수 있다.
- [0039] 선택적으로, 100개 이하의 아미노산을 포함하는 펩타이드 또는 단백질은 화학 합성에 의해 제조될 수 있다. 예를 들면, 이러한 폴리펩타이드는 상업적으로 입수할 수 있는 고상 기법, 예컨대, 성장하는 아미노산 체인에 연속적으로 아미노산을 부가하는 메리필드 고상합성법(Merrifield, 1963, J. Am. Chem. Soc.85:2146-2149)에 의해 합성될 수 있다. 폴리펩타이드를 자동 합성하기 위한 장치들은 공급 회사로부터 입수할 수 있고, 공급자 매뉴얼에 따라 작동될 수 있다.
- [0040] 아울러, 본 명세서에 기재된 펩타이드 또는 단백질은 숙주 세포의 주변 세포질로 분리되고 그로부터 회수될 수 있다. 전형적으로, 펩타이드 및/또는 단백질의 회수는 일반적으로 삼투압 충격, 초음파처리 또는 용해와 같은 수단에 의해 미생물을 분쇄하는 것을 포함한다. 세포가 파괴되면, 세포 잔해 또는 전-세포를 원심분리 또는 여과에 의해 제거할 수 있다. 펩타이드 및/또는 단백질은 예를 들어 친화성 수지 크로마토그래피에 의해 추가로 정제할 수 있다. 대안적으로, 펩타이드 및/또는 단백질을 배양 배지로 옮기고, 그로부터 분리할 수 있다. 세포를 배양물로부터 제거하고, 배양 상층액을 여과하고 농축하여 생산된 펩타이드 및/또는 단백질을 추가로 정제할 수 있다. 발현된 폴리펩타이드는 통상적으로 공지된 방법, 예컨대 면역친화성 또는 이온-교환 칼럼 상의 분별 증류; 에탄올 침전; 역상 HPLC; 실리카 또는 양이온 교환수지, 예컨대 DEAE 상의 크로마토그래피; 크로마토포커싱; SDS-PAGE; 황산암모늄 침전; 예를 들어 세파텍스 G-75를 사용하는 겔 여과; 소수성 친화도 수지, 매트릭스 상에 고정화된 적합한 항원을 사용하는 리간드 친화도 및 웨스턴 블롯 검정을 이용하여 추가로 분리 및 확인될 수 있다.
- [0041] 본 명세서에서 사용된 용어, "유효량"은 활성 성분 또는 유효 성분인 펩타이드 또는 펩타이드에 지방족 탄화수소가 축합된 유도체의 효율 또는 활성을 충분히 달성할 수 있는 양을 의미한다.
- [0042] 펩타이드 및 유도체
- [0043] 본 발명자들은 Th17 세포로 분화된 CD4+ 세포에서 생성되는 사이토카인인 IL-17이 염증을 유발하는데 핵심적인 역할을 담당하고 있다는 점에 착안하여, 수백 개의 아미노산 서열로 이루어지는 단백질에 비하여 제조를 위한 조작성이 용이하고 비용이 절감되는 펩타이드 제제를 개발하였다.
- [0044] 항염증 활성을 가지는 펩타이드는 하기 일반식 1의 아미노산 서열 또는 하기 일반식 2의 아미노산 서열을 갖는다.
- [0045] 일반식 1
- [0046] (N-말단)-YPATMX¹DX²A-(C-말단)
- [0047] 일반식 2
- [0048] (N-말단)-ATMX¹DX²A-(C-말단)
- [0049] 일반식 1 및 2에서, X¹은 D(아스파르트산), F(페닐알라닌), I(이소류신), L(류신), W(트립토판), E(글루탐산), H(히스티딘), P(프롤린) 또는 Y(티로신)이고, X²는 M(메티오닌), I(이소류신), F(페닐알라닌), W(트립토판) 또

는 Y(티로신)임.

- [0050] 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드는 9개의 아미노산(9-mer) 또는 7개의 아미노산(7-mer)으로 이루어지는, 짧은 올리고머 펩타이드이다. 따라서, 화학적 합성 기법을 이용해서 신속하고 용이하게 합성할 수 있으며, 제조 비용을 절감할 수 있는 이점이 있다.
- [0051] 또한, 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드는 항염증 반응을 억제한다. 일례로, 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드는 다양한 염증성 질환(예를 들어, 아토피 피부염, 여드름, 관절염)과 밀접한 관련이 있으며, 자외선(Ultra violet ray; UVR) 조사에 의한 피부암과 관련이 있는 염증성 사이토카인인 IL-17을 생산하는 Th17 세포의 분화를 억제한다(실시예 및 도 4 참조).
- [0052] 하나의 예시적인 실시형태에서, 일반식 1 및 일반식 2에서 의 X^1 은 D(아스파르트산) 또는 F(페닐알라닌)이고, X^2 는 M(메티오닌), F(페닐알라닌) 또는 I(이소류신)일 수 있다. 일례로, 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드는 서열식별번호: 5 내지 서열식별번호: 9 중에서 어느 하나의 아미노산 서열을 가질 수 있지만, 본 발명이 이에 한정되지 않는다.
- [0053] 본 발명의 다른 측면에서, 본 발명은 전술한 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물에 관한 것이다. 지방족 탄화수소를 펩타이드의 말단에 축합하여 화합물의 지용성, 즉, 소수성을 향상시킬 수 있고, 피부장벽을 통과함으로써, 피부 투과도를 향상시킬 수 있다.
- [0054] 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드의 말단에 축합될 수 있는 지방족 탄화수소의 일례는 카르복시기를 가지는 지방산이다. 이 경우, 지방산의 카르복시기와, 일반식 1 또는 일반식 2로 표시되는 아미노산 서열을 가지는 펩타이드 N-말단의 아미노기가 축합되어, 아마이드 결합을 형성하고, 지방산의 사슬이 펩타이드의 N-말단에 연결된다(conjugated).
- [0055] 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드의 N-말단으로 카르복시기를 통하여 아마이드 결합할 수 있는 지방산은 C_3 ~ C_{30} 지방산, 지방족 카르복시산, 예를 들어, C_4 ~ C_{20} 지방족 카르복시산을 포함한다. 일례로, 지방족 카르복시산은 포화 지방족 카르복시산 및 불포화 지방족 카르복시산을 포함하고, 직쇄 또는 측쇄 형태의 지방족 카르복시산이다. 일례로, 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드는 충분한 소수성을 띠면서 피부 장벽을 투과할 수 있다.
- [0056] 하나의 예시적인 실시형태에 따라, 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드의 N-말단과 축합될 수 있는 포화 지방족 카르복시산은 부탄산/부티르산(butanoic acid/butyric acid), 펜탄산/발레르산(pentanoic acid/valeric acid), 헥산산/카프로산(hexanoic acid/caproic acid), 헵탄산/에난틱산(heptanoic acid/Enanthic acid), 옥탄산/카프릴산(octanoic acid/caprylic acid), 노난산/펠라르곤산(nonanoic acid/pelargonic acid), 데카논산/카프리카산(decanoic acid/capric acid), 운데실산/운데칸산(undecylic acid/undecanoic acid), 라우르산/도데칸산(lauric acid/dodecanoic acid), 트라이데실산/트라이데칸산(tridecylic acid/tridecanoic acid), 미리스틴산/테트라데칸산(myristic acid/tetradecanoic acid), 펜타데실산/펜타데칸산(pentadecylic acid/pentadecanoic acid), 팔미트산/헥사데칸산(palmitic acid/hexadecanoic acid), 마르가르산/헵타데칸산(margaric acid/heptadecanoic acid), 스테아르산/옥타데칸산(stearic acid/octadecanoic acid), 노나데실산/노나데칸산(nonadecylic acid/nonodecanoic acid), 아라키드산/에이코산산(arachidic acid/eicosanoic acid), 헤케이코실산/헤네이코산산(henicosylic acid/heneicosanoic acid), 베헨산/도코산산(behenic acid/docosanoic acid), 트라이코실산/트라이코산산(tricosylic acid/tricosanoic acid), 리그노세르산/테트라코산산(lignoceric acid/tetracosanoic acid), 펜타코실산/펜타코산산(pentacosylic acid/pentacosanoic acid), 세토르산/헥사코산산(cerotic acid/hexacosanoic acid), 헵타코실산/헵타코산산(heptacosylic acid/heptacosanoic acid), 몬탄산/옥타코산산(montanic acid/octacosanoic acid), 노나코실산/노나코산산(nonocosylic acid/nonocosanoic acid) 및 멜리스산/트라이아코탄산(melissic acid/triacontanoic acid)과 같은 포화 지방족 모노카르보시산을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.
- [0057] 그 외에도, 숙신산(succinic acid), 글루타르산(glutaric acid), 아디프산(adipic acid), 피멜린산(pimelic acid), 수베릭산(suberic acid), 아젤라익산(azelaic acid), 세바식산(sebacic acid)과 같은 지방족 디카르복시산; 시트르산(citric acid), 이소시트르산(isocitric acid), 프로판-1,2,3-트리카르복시산(propane-1,2,3-tricarboxylic acid)과 같은 지방족 트리카르복시산을 포함한다.
- [0058] 또한, 본 발명에 따라 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드의 N-말단으로 카르복시기를

통하여 아마이드 결합될 수 있는 불포화 지방족 카르복시산은 크로톤산(crotonic acid)과 같은 부텐산(butenic acid), 펜텐산(pentenoic acid), 헥센산(hexenoic acid), 헵텐산(heptenoic acid), 옥텐산(octenoic acid), 노넨산(nonenoic acid), 시스-4-데케논산/오브투실산(cis-4-decenoic acid, obtusilic acid; 10:1(n-6)), 시스-9-데케논산/카프롤레산(cis-9-decenoic acid/caproleic acid; 10:(n-1))과 같은 데케논산(decenoic acid), 아코니트산(aconic acid), 미리스트올레산(myristoleic acid; 14:1),

[0059] 알파-리놀렌산(α -linolenic acid; 18:3), 스테아리돈산(stearidonic acid; 18:4), 에코사펜타디엔산(eicosapentaenoic acid; EPA; 20:5), 도코사헥사인산(docosahexaenoic acid; DHA; 22:6), 리놀레산(linoleic acid; 18:2), 감마-리놀렌산(γ -linolenic acid; 18:3), 디호모-감마-리놀렌산(dihomo- γ -linolenic acid; 20:3), 아라키돈산(arachidonic acid; 20:4), 아드레닌산(adrenic acid; 22:4), 팔미톨레산(palmitoleic acid; 16:1), 박센산(vaccenic acid; 18:1), 파울린산(paullinic acid; 20:1), 올레산(oleic acid; 18:1), 엘라이드산(elaidic acid; 트랜스-18:1), 곤도산/11-에이코세논산(gondoic acid/11-eicosenoic acid; 20:1), 에루크산(erucic acid; 22:1), 네르본산(nervonic acid; 24:1), 미드산(mead acid; 20:3) 및 크시멘산(ximenic acid; 26:1)을 포함하지만, 본 발명이 이에 한정되지 않는다.

[0060] 일례로, 일반식 1 또는 일반식 2의 아마노산 서열을 가지는 펩타이드의 N-말단으로 아마이드 결합으로 통하여 축합될 수 있는 지방족 카르복시산은 C₄~C₂₀ 포화 지방족 모노카르복시산이다. 예시적으로 본 발명에 따라 일반식 1 또는 일반식 2의 아마노산 서열을 가지는 펩타이드의 N-말단으로 아마이드 결합을 통하여 축합될 수 있는 지방족 카르복시산은 부탄산, 펜탄산, 헥산산, 헵탄산, 옥탄산, 노나논산, 데칸산, 운데칸산, 라우르산, 트라이데칸산, 미리스탄, 펜타데칸산, 팔미트산, 마르가르산, 스테아르산, 노나데칸산 및 에이코산산으로 구성되는 군에서 선택되는 지방족 모노카르복시산이다.

[0061] 다른 예시적인 실시형태에 따르면, 일반식 1 또는 일반식 2의 아마노산 서열을 가지는 펩타이드의 C-말단에 축합될 수 있는 지방족 탄화수소의 일례는 하이드록시기를 가지는 지방족 알코올이다. 이 경우, 지방족 알코올의 하이드록시기와, 일반식 1 또는 일반식 2의 아마노산 서열을 가지는 펩타이드 C-말단의 카르복시기가 축합되어, 에스테르 결합을 형성하고, 지방족 알코올의 사슬이 펩타이드의 C-말단에 연결된다.

[0062] 일반식 1 또는 일반식 2의 아마노산 서열을 가지는 펩타이드의 C-말단으로 하이드록시기를 통하여 에스테르 결합할 수 있는 지방족 알코올은 C₃~C₃₀ 지방족 알코올, 예를 들어 C₄~C₂₀ 지방족 알코올을 포함한다. 예를 들어, 지방족 알코올은 프로판-1-올, 부탄-1-올, 펜탄-1-올, 헥산-1-올, 헵탄-1-올, 옥탄-1-올, 노난-1-올, 데칸-1-올, 운데칸-1-올, 도데칸-1-올, 트라이데칸-1-올, 테트라데칸-1-올, 펜타데칸-1-올, 헥사데칸-1-올, 헵타데칸-1-올, 옥타데칸-1-올, 노나데칸-1-올, 아이코산-1-올, 헨아이코산-1-올, 도코산-1-올, 트라이코산-1-올, 테트라코산-1-올, 펜타코산-1-올, 헥사코산-1-올, 헵타코산-1-올, 옥타코산-1-올, 노나코산-1-올, 트리아이코산-1-올 등을 포함하지만, 본 발명이 이에 한정되지 않는다.

[0063] 항염증 조성물 및 피부외용제

[0064] 진술한 바와 같이, 일반식 1 또는 일반식 2의 아마노산 서열을 가지는 펩타이드 또는 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물은 항염증 활성을 갖는다. 따라서, 일반식 1 또는 일반식 2의 아마노산 서열을 가지는 펩타이드 또는 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물은 항염증 조성물 또는 항염증 활성을 가지는 피부외용제로 활용될 수 있다. 하나의 예시적인 실시형태에서, 본 발명은 일반식 1 또는 일반식 2의 아마노산 서열을 가지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 약학적, 화장품공학적 또는 식품공학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 항염증 조성물에 관한 것이다. 이때, 상기 유효성분은 상기 항염증 조성물 중에 0.01 내지 1000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 함유될 수 있다.

[0065] 일례로, 일반식 1 또는 일반식 2의 아마노산 서열을 가지는 펩타이드 또는 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물의 약학적, 화장품공학적 또는 식품공학적으로 허용되는 염은 이들 화합물의 약학적, 화장품공학적 또는 식품공학적으로 허용되는 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염 또는 염기성 염이 유용할 수 있다.

[0066] 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들어 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 수산화성 유기 용매, 예를 들어 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다. 동 몰량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알콜(예, 글리콜 모노메틸 에테르)을 가열하고, 이어서 상기 혼합물을 증발시켜 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과시킬 수 있다. 이때, 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 인산, 황산, 질산, 주석산 등을 사용할 수 있고 유기산으로는 메탄술폰산, p-톨루엔술폰산,

아세트산, 트리플루오로아세트산, 말레인산(maleic acid), 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산(fumaric acid), 만데르산, 프로피온산(propionic acid), 구연산(citric acid), 젖산(lactic acid), 글리콜산(glycollic acid), 글루콘산(gluconic acid), 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산(glutaric acid), 글루쿠론산(glucuronic acid), 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 히드로아이오딕산 등을 사용할 수 있으며, 이들에 제한되지 않는다.

[0067] 예를 들어, 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설포산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적, 화장품공학적이 또는 식품공학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 숙시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만틸레이트를 포함한다.

[0068] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드 또는 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수산화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다.

[0069] 동량의 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드 또는 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 및 물 중의 산 또는 알코올을 가열하고, 이어서 이 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나 또는 석출된 염을 흡입 여과시켜 제조할 수도 있다. 또한, 염기를 사용하여 약학적, 화장품공학적이 또는 식품공학적으로 허용되는 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 적합하다. 또한, 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

[0070] 하나의 예시적인 실시형태에서, 항염증 조성물은 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하여 염증성 질환을 치료 또는 예방하는 약학 조성물이다.

[0071] 하나의 예시적인 실시형태에서, 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 약학적으로 허용되는 염은 Th17 세포의 분화를 억제하여, Th17 세포의 분화에 의해 생산 및 분비되는 IL-17에 의해 야기되는 염증 메커니즘을 억제할 수 있다. 일례로, 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 약학적으로 허용되는 염에 의해 예방 또는 치료될 수 있는 염증성 질환 또는 염증성 질병은 건선(Psoriasis), 건선성 관절염(Psoriatic arthritis; PsA), 류마티스 관절염(Rheumatoid arthritis; RA), 아토피 피부염(Atopic dermatitis; AD), 여드름 병변(Acne lesions) 및 강직성 척추염(Ankylosing spondylitis; AS)은 물론이고, UVR의 조사에 의해 야기되는 피부암 등을 포함할 수 있지만, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다. 약학 조성물은 약학적으로 허용되거나 영양학적으로 허용되는 담체, 부형제, 희석제 또는 부성분을 추가로 포함할 수 있다.

[0072] 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 약학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 함유하는 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 파립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학 조성물은 임상 투여 시에 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화

할 경우에는 보통 사용하는 증진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 계면활성제, 항응집제, 운환제, 습윤제, 향료, 유화제 또는 방부제와 같은 희석제 또는 부형제 등을 더욱 포함할 수 있으며, 경구 또는 비경구 모두 사용할 수 있다.

[0073] 예를 들어, 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유, 텍스트린, 칼슘카보네이트, 프로필렌글리콜, 리퀴드 파라핀, 생리식염수로 이루어진 군에서 선택된 1이상 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며 통상의 담체, 부형제 또는 희석제 모두 사용 가능하다.

[0074] 예를 들어, 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 약학적으로 허용되는 염에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 운환제들도 사용된다.

[0075] 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수용용제와 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸에이테르와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 및 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 비경구 투여시 피하주사, 정맥 주사 또는 근육내 주사를 통할 수 있다.

[0076] 비경구 투여를 위한 형태로는 치약, 구강세정제, 국소 투여제(크림, 연고, 드레싱 용액, 분무제, 기타 도포제 등) 등을 들 수 있다.

[0077] 상기 크림 또는 연고의 경우, 염증성 질환의 환부나 그 주위에 직접 도포하는데 적합할 수 있다. 상기 분무제의 경우, 유효성분으로 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 것을 제외하고는 통상적인 분무제 제조방법으로 제조될 수 있고, 압축용기나 기타 분무용기에 충전 포장하여 구강질환 부위에 수시로 분무 도포하여 구강질환을 예방 또는 치료할 수 있다. 상기 드레싱 용액의 경우, 유효성분으로 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 것을 제외하고는 통상적인 드레싱 용액의 제조방법으로 제조될 수 있고, 염증성 질환 부위에 드레싱이나 기타 세균 감염 부위의 드레싱에 사용하여 염증성 질환을 예방 또는 치료할 수 있다.

[0078] 또한, 본 발명의 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물의 제형은 사용 방법에 따라 바람직한 형태일 수 있으며, 특히 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 공지된 방법을 채택하여 제형화할 수 있다. 구체적인 제형의 예로는 경고제, 과립제, 로션제, 리니멘트제, 리모나데제, 산제, 시럽제, 안연고제, 액제, 에어로솔제, 엑스제(EXTRACTS), 엘릭실제, 연고제, 유동엑스제, 유제, 현탁제, 전제, 침제, 점안제, 정제, 좌제, 주사제, 주정제, 캡슐제, 크림제, 환제, 연질 또는 경질 젤라틴 캡슐 등이 있다.

[0079] 아울러, 상기 염증성 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물은 상기 유효성분 외에 추가로 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 증진제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산염류에 사용되는 탄산화제 등을 추가로 함유할 수 있다.

[0080] 예를 들어, 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들 화합물의 약학적으로 허용되는 염은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.

- [0081] 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들 화합물의 약학적으로 허용되는 염을 함유하는 염증 질환의 예방 또는 치료용 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들 화합물의 약학적으로 허용되는 염은 1일 0.0001 내지 100 mg/kg으로, 바람직하게는 0.001 내지 100 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.
- [0082] 다른 예시적인 실시형태에서, 항염증 조성물은 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들 화합물의 화장품공학적으로 허용되는 염을 포함하는 염증을 완화하는 화장품 조성물일 수 있다.
- [0083] 본 발명에 따른 염증 완화용 화장품 조성물은 화장 및/또는 피부과학적으로 허용 가능한 매질, 즉 피부, 점막, 두발 및 두피에 적합한 매질을 함유한다. 이는 국소적으로 적합한 모든 투여 형태로, 특히 수성, 수성/알코올성 또는 유성 용액, 또는 수성, 수성/알코올성 또는 유성 겔, 또는 고체 또는 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀션(O/W) 또는 그 반대(W/O), 서스펜션, 마이크로에멀션, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는 이온형(리포솜) 및/또는 비이온형의 소낭 분산제의 형태로 제공될 수 있다. 이들 화장품 조성물은 당해 분야의 통상적 방법에 따라 제조될 수 있다. 본 발명에 따른 화장품 조성물은 또한 포말(foam)의 형태로 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 화장품 조성물에 함유되는 여러 성분의 양은 당해 분야에서 통상적으로 사용되는 양이다.
- [0084] 본 발명에 따른 화장품 조성물을 제조하기 위한 용매로서 에탄올, 글리세린, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 글리세레스-26, 메틸글루세스-20, 이소세틸미리스테이트, 이소세틸옥타노에이트, 옥틸도데실미리스테이트, 옥틸도데칸올, 이소스테아릴이소스테아레이트, 세틸옥타노에이트 및 네오펜틸글리콜디카프레이트 중에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다. 이러한 용매를 사용하여 본 발명의 화장품 조성물을 제조하는 경우 화합물의 종류에 따라, 용매의 혼합비에 따라 용매에 대한 화합물의 용해도가 조금씩 상이하나, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 기술자라면 제품의 특성에 따라 용매의 종류 및 사용량을 적절하게 선택할 수 있다.
- [0085] 본 발명의 화장품 조성물은 화장품에 배합 가능한 i) 비타민B1, 비타민B2, 비타민B6, 피리독신, 니코틴산, 엽산, 비타민C 및 이들의 염이나 유도체와 같은 수용성 비타민; ii) 비타민A, 카로틴, 비타민D2, 비타민D3, 비타민E(토코페롤), 이들의 유도체(지방산 아스코르빈이나 아세트산알파토코페롤)와 같은 지용성 비타민; iii) 콜라겐, 젤라틴, 엘라스틴, 케라틴 등의 고분자 펩타이드; iv) 히드록시에틸셀룰로오스, 히알루론산나트륨, 콘드로이틴황산 또는 그 염과 같은 고분자 다당; v) 세라미드, 피토스핑고신 등의 스펅고 지질; 및/또는 vi) 갈조/홍조/농조 엑기스 또는 이들로부터 정제된 칼라기탄, 아르긴산, 아르긴산나트륨/칼륨 등의 해초 엑기스로 구성되는 군에서 선택되는 물질을 포함할 수 있다.
- [0086] 본 발명의 화장품 조성물에는 상기 성분과 더불어 필요에 따라 통상적으로 화장품에 배합되는 다른 성분을 배합할 수 있다. 첨가될 수 있는 배합 성분으로는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면활성제, 유기 및 무기 안료, 유기분체, 자외선흡수제, 방부제, 살균제, 산화방지제, 향산화제, 식물추출물, pH 조정제, 알코올, 발포제, 충전제, 자외선 흡수제, 안료, 착색제, 겔화제 또는 농축제, 향료, 혈행촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있다.
- [0087] 유지 성분으로는 i) 트리2-에틸헥산산글리세릴, 2-에틸헥산산세틸, 지방산알코올과 같은 에스테르계 유지; ii) 스쿠알렌, 유동과라핀, 이소과라핀, 알파-올레핀올리고머, 바세린 등의 탄화수소계 유지; iii) 폴리메틸실리콘, 메틸페닐실리콘, 메틸시클로폴리실록산, 옥타메틸폴리실록산, 디메틸실록산-메틸세틸옥시실록산 공중합체, 알킬변성 실리кон유 등과 같은 실리콘계 유지; iv) 퍼플루오로폴리에테르와 같은 불소계 유지; 및/또는 v) 아보카도유, 올리브유, 유채유, 피마자유, 해바라기유, 야자유, 호호바유, 난황유, 우지(牛脂), 캔데리러왁스, 액상 라놀린 등과 같은 동물 또는 식물 유지를 들 수 있다.
- [0088] 보습제로서는 i) 세린, 글루타민, 솔비톨, 만니톨, 피롤리돈-카르복시산나트륨, 글리세린, 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 폴리글리세린, 락트산과 같은 수용성 저분자 보습제; ii) 콜레스테롤, 콜레스테롤에스테르와 같은 지용성 저분자 보습제; iii) 카르복시비닐폴리머, 폴리아스파라긴산염, 메틸셀룰로오스, 히드록시메틸셀룰로오스, 수용성 키틴, 키토산, 텍스트라관과 같은 수용성 고분자; 및/또는 iv) 폴리비닐피롤리돈-에이코센 공중합

체, 니트로셀룰로오스, 텍스트란지방산 에스테르, 고분자 실리콘과 같은 지용성 고분자를 들 수 있다.

[0089] 에폴리엔트제(연화제)로서는 장쇄아실글루타민산콜레스테릴에스테르, 히드록시스테아르산콜레스테릴, 12-히드록시스테아르산, 스테아르산, 로진산, 라놀린지방산콜레스테릴에스테르 등을 들 수 있다.

[0090] 계면활성제로는 i) 자기유화형 모노스테아르산 글리세린, 프로필렌글리콜지방산에스테르, 글리세린지방산에스테르, 솔비탄지방산 에스테르, 폴리옥시에틸렌 솔비탄지방산 에스테르, 폴리옥시에틸렌 글리세린지방산 에스테르, 폴리옥시에틸렌 알킬에테르, 라우린산알카놀아마이드 등과 같은 비이온성 계면활성제; ii) 지방산 비누, 알파-아실술폰산염, 알킬술폰산염, 알킬나프탈렌술폰산염, 알킬황산염, 폴리옥시에틸렌 알킬에테르황산염, 알킬인산염, N-아실아미노산염, 알킬술폰숙신산염, 퍼플루오로알킬인산에스테르와 같은 음이온성 계면활성제; iii) 염화알킬트리메틸암모늄, 브롬화스테아릴트리메틸암모늄, 염화디스테아릴디메틸암모늄, 스테아르산에틸아미노에틸아미드, 리놀린유도체 제4급 암모늄염과 같은 양이온성 계면활성제; 및/또는 iv) 카르복시베타인계, 아마이드베타인계, 술포베타인계, 아미노카르복시산염계, 이미다졸린계 유도체와 같은 양성 계면활성제를 들 수 있다. 이들 계면활성제는 유화제 또는 보습제로도 사용될 수 있다.

[0091] 유기 및 무기 안료로서는 규산, 무수규산, 톨크, 세리사이트, 카올린, 클레이, 벤토나이트, 산화지르코늄, 산화마그네슘, 산화티탄, 산화알루미늄, 황산칼슘, 황산바륨, 황산마그네슘, 탄산칼슘, 탄산마그네슘, 산화크롬, 수산화크롬, 칼라민 및 이들의 복합체 등의 무기안료; 폴리아미드, 폴리에스테르, 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리우레탄, 비닐수지, 요소수지, 페놀수지, 불소수지, 규소수지, 아크릴수지, 멜라민수지, 에폭시수지, 폴리카보네이트수지, 셀룰로오스, 실크파우더, CI 피그먼트 옐로우 등의 유기안료 및 전술한 무기안료와 유기안료의 복합안료 등을 들 수 있다.

[0092] 유기 분체로서 스테아르산칼슘 등의 금속비누; 세틸린산아연나트륨, 라우릴린산아연, 라우릴린산칼슘 등의 알킬인산 금속염; N-라우로일-베타-알라닌칼슘, N-라우로일-베타-알라닌아연, N-라우로일글리신칼슘등의아실아미노산다가금속염; N-라우로일-타우린칼슘, N-팔미토일-타우린칼슘 등의 아마이드술폰산 다가금속염; N-엡실론-라우로일-L-리진, N-엡실론-팔미토일리진, N-알파-과리토일올니틴, N-알파-라우로일아르기닌, N-알파-경화우지 지방산아실아르기닌 등의N-아실염기성아미노산; N-라우로일글리실글리신 등의 N-아실폴리펩티드; 알파-아미노카프릴산, 알파-아미노라우린산 등의알파-아미노지방산; 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 나일론, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리스티렌, 디비닐벤젠·스티렌공중합체, 사불화에틸렌 등을 들 수 있다.

[0093] 살균제로서는 히노키틀, 트리클로산, 트리클로로히드록시디페닐에테르, 크로르헥시딘글루콘산염, 페녹시에탄올, 레조르신, 이소프로필메틸페놀, 아줄렌, 살리칠산, 진크필리티온, 염화벤잘코늄, 감광소301 호, 모노니트로과이어콜나트륨, 운데시렌산 등을 들 수 있다.

[0094] 산화방지제로서는 부틸히드록시아니솔, 갈릭산프로필, 엘리스르빈산등을 들 수 있다. 항산화제의 예로는 비타민, 예컨대, 비타민C 및 그 유도체, 예를 들면, 아스코르빈산초산염, 인산염및팔미트산염; 비타민A 및 그 유도체; 엽산 및 그 유도체; 비타민E 및 그 유도체, 예컨대, 토코페릴아세테이트; 플라본 또는 플라보노이드; 아미노산, 예컨대, 히스티딘, 글리신, 티로신, 트립토판 및 이들 유도체; 이미다졸, 예컨대, 시스-또는 트랜스-유로카닌산 및 이들 유도체; 펩티드, 예컨대, D,L-카르노신, D-카르노신, L-카르노신 및 이들유도체; 카로티노이드 및 카로틴, 예컨대, α-카로틴, β-카로틴; 리코핀; 요산 및 그 유도체; α-히드록시산, 예컨대, 시트르산, 젖산, 말산; α-히드록시지방산, 예컨대, 팔미트산, 피틴산, 락토페린; 스틸벤및그유도체; 만노스 및 그 유도체; 리포닌산 및 그 유도체, 예컨대, 디히드로리포닌산; 페룰라산및 그 유도체; 티올, 예컨대, 글루타치온, 시스테인 및 시스틴이 있다. 비타민A 또는 비타민A-팔미테이트(레티놀) 및 비타민E를 첨가하는 것이 특히 바람직하다.

[0095] pH 조정제로서는 시트르산, 시트르산나트륨, 말산, 말산나트륨, 프말산, 프말산나트륨, 숙신산, 숙신산나트륨, 수산화나트륨, 인산일수소나트륨 등을 들 수 있다. 알코올로서는 세틸알코올 등의 고급알코올을 들 수 있다. 발포제로는, 예로 디소듐 N-카르복시에톡시에틸-N-(코코일아미도에틸)아미노아세테이트, 소듐 라우릴 에테르 술페이트, 소듐 라우로일 사르코시네이트(sarcosinate), 트리에탄올아민 라우릴 술페이트 및 소듐코코일 이세티오네이트(isethionate) 및 코코넛 지방산의 혼합물을 언급할 수 있다.

[0096] 충전제로는, 특히 다우 코닝(Dow Corning)사에서 폴리트랩(Polytrap)의 이름으로 시판중인 에틸렌 글리콜 디메타크릴레이트/라우릴 메타크릴레이트 공중합체와 같은 아크릴 공중합체를 언급할 수 있다. 자외선 흡수제로서는 파라아미노벤조산, 파라아미노벤조산에틸, 파라아미노벤조산아밀, 파라아미노벤조산옥틸, 살리실산에틸렌글리콜, 살리신산페닐, 살리신산옥틸, 살리신산벤질, 파라메톡시계피산-2-에톡시에틸, 파라메톡

시계피산옥틸, 디이소프로필-디이소프로필계피산 에스테르 혼합물, 우로카닌산, 우로카닌산에틸, 히드록시메톡시벤조페논, 히드록시메톡시벤조페논술폰산염, 디히드록시메톡시벤조페논, 디히드록시벤조페논, 테트라히드록시벤조페논, 등을 들 수 있다.

- [0097] 안료 및 안료 유사 효과가 있는 분말로는 철산화물, 알루미늄실리케이트, 예컨대, 황토(ochre), 티탄산화물, 운모, 카올린, 망간 함유 점토, 칼슘카보네이트, 프렌치초크, 운모-티탄산화물, 운모-티탄산화물-철산화물, 비스무스옥시클로라이드, 나일론비드, 세라믹비드, 분말성 천연 유기 화합물, 예컨대, 분쇄된고형조류(algae), 분쇄된 식물 부분 등을 들 수 있다.
- [0098] 통상의 착색제로는 처리되거나 미처리된 염료를 사용할 수 있다. 겔화제 또는 농축제로서 천연 고무(크산탄 고무), 폴리사카라이드(히드록시프로필메틸셀룰로오스 또는 카르복시메틸셀룰로오스), 카르복시비닐 중합체(카르보머), 아크릴 공중합체를 언급할 수 있다.
- [0099] 특히 이외에 첨가해도 되는 배합 성분은 이에 한정되는 것은 아니며, 또, 상기 어느 성분도 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 배합 가능하지만, 총중량에 대하여 바람직하게는 0.01 - 5 %, 보다 바람직하게는 0.01 - 3 %의 비율로 배합될 수 있다.
- [0100] 본 발명의 화장품은 용액, 유화물, 점성형 혼합물 등의 형상을 취할 수 있다. 본 발명의 화장품 조성물에 포함되는 성분은 유효성분으로서 상기 화합물 이외에 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예를 들면, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제 및 담체를 포함한다.
- [0101] 본 발명의 화장품 조성물은 염증 완화 효과를 갖는 화장품, 세안제 및 샴푸 등에 다양하게 적용될 수 있다. 본 발명의 화장품 조성물은 화장품 업계에서 통상적으로 제조되는 임의의 제형으로 조제될 수 있으며, 예를 들어 유액, 크림, 화장수, 팩, 파운데이션, 로션, 미용액, 모발화장료 등을 들 수 있다.
- [0102] 본 발명의 화장품 조성물을 첨가할 수 있는 제품으로는, 예를 들어, 각종 크림, 로션, 스킨 등과 같은 화장품류와 샴푸, 린스, 클렌징, 세안제, 비누, 트리트먼트, 미용액 등이 있다. 구체적으로, 본 발명의 화장품 조성물은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 및 바디클렌저와 같은 다양한 제형으로 조제될 수 있다.
- [0103] 본 발명에 따른 화장품 조성물의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.
- [0104] 본 발명에 따른 화장품 조성물의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 수산화물, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로하이드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0105] 본 발명에 따른 화장품 조성물의 제형이 용액 또는 유탁액의 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌글리콜 또는 소르비탄의 지방산에스테르가 있다.
- [0106] 본 발명에 따른 화장품 조성물의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌글리콜과 같은 액상희석제, 에톡시화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 솔비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [0107] 본 발명에 따른 화장품 조성물의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아마이드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 리놀린 유도체 또는 에톡시화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0108] 또 다른 예시적인 실시형태에서, 본 발명은 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 식품공학적으로 허용되는 염을 유효성분

으로 함유하는 염증 완화용 식품 조성물에 관한 것이다.

- [0109] 본 발명의 식품 조성물의 예로는 식품, 식품첨가제, 음료 또는 음료첨가제를 들 수 있다. 본 명세서에서 식품이란 함은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 식품, 식품 첨가제, 건강 기능성 식품 및 음료를 모두 포함하는 의도이며, 바람직하게는 껌 또는 캔디일 수 있다. 예를 들어, 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함하는 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [0110] 추가로, 본 명세서에서 식품에는 특수영양식품(예, 조제유류, 영, 유아식 등), 식육 가공품, 어육제품, 두부류, 목류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스넥류), 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과일, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류, 아이스크림류 등), 천연조미료(예, 라면 스프 등), 비타민 복합제, 알코올 음료, 주류 및 그 밖의 건강보조식품류를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 식품, 음료 또는 식품첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.
- [0111] 본 명세서에서 기능성 식품이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미하며, 바람직하게는 본 발명의 기능성 식품은 염증을 완화 또는 개선과 관련한 체-조절 기능을 생체에 대하여 충분히 발현할 수 있는 식품을 의미한다. 상기 기능성 식품에는 식품학적으로 허용되는 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.
- [0112] 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 식품공학적으로 허용되는 염을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 식품공학적으로 허용되는 염을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 상기 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 식품공학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물은 그 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다. 유효 성분의 혼합양은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0113] 예를 들어, 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 식품공학적으로 허용되는 염은 염증 완화 또는 개선을 목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 식품공학적으로 허용되는 염의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02 내지 5g, 바람직하게는 0.3 내지 1g의 비율로 가할 수 있다.
- [0114] 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0115] 본 발명의 식품 조성물은 정제, 캡슐제, 환제, 액제 등의 형태를 포함한다. 본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 식품공학적으로 허용되는 염을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물과 같은 식품 보조 첨가제 성분을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.
- [0116] 상술한 천연 탄수화물의 예는 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토오스, 수크로오스 등과 같은 디사카라이드; 텍스트린, 시클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드 등과 같은 통상적인 당은 물론이고, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올이다. 상술한 것 이외의 향미제 또는 감미제로서 타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진)과 같은 천연 향미제/감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 향미제/감

미제 등을 사용할 수 있다.

- [0117] 그 외에도 식품 조성물은 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 식품공학적으로 허용되는 염 이외에도 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명에 따른 식품 조성물 중에는 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열로 이루어지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 식품공학적으로 허용되는 염 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부, 바람직하게는 0.01 ~ 1.0 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [0118] 다른 예시적인 실시형태에서, 본 발명은 일반식 1 또는 일반식 2의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드, 상기 펩타이드의 말단에 지방족 탄화수소가 축합된 화합물 또는 이들의 약학적 또는 화장품공학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 항염증 피부외용제에 관한 것이다. 상기 유효성분은 상기 항염증 피부외용제 중에 0.01 내지 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 함유될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 피부외용제는 피부에 적용할 수 있는 진술한 화장품 조성물 또는 약학 조성물로 이루어질 수 있다.
- [0119] 본 발명의 피부외용제의 제형은 사용방법에 따라 바람직한 형태일 수 있으며, 특히 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 공지된 방법을 채택하여 제형화하는 것이 좋다. 구체적인 제형의 예로는 경고제(PLASTERS), 로션제(LOTIONS), 리니먼트제(LINIMENTS), 방향수제(AROMATIC WATERS), 에어로솔제(AEROSOLS), 연고제(OINTMENTS), 유제(EMULSIONS), 카타플라스마제(CATAPLASMA), 크림제(CREAMS) 및 파스타제(PASTES) 중 선택되는 어느 하나일 수 있다.
- [0120] 예를 들어, 본 발명의 피부외용제는 약리학적으로 허용되는 기제; 운반제; 부형제; 전분, 트래거캔스 고무, 젤라틴, 당밀, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 에테르, 폴리비닐 피롤리돈, 히드록시프로필 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스 및 카르복시메틸 셀룰로오스를 포함하는 결합제; 한천, 전분, 젤라틴 가루, 카르복시메틸 셀룰로오스 나트륨, 카르복시메틸 셀룰로오스 칼슘, 결정 셀룰로오스, 탄산칼슘, 탄산수소나트륨 및 알긴산 나트륨을 포함하는 분쇄제; 스테아린산 마그네슘, 활석 및 수침 식물유를 포함하는 윤활제; 및 착색제 등을 포함할 수 있고, 상기 운반제 및 부형제로는 젓당, 글루코오스, 수크로오스, 만니톨, 감자녹말, 옥수수녹말, 탄산칼슘, 인산칼슘 및 셀룰로오스 등이 있다. 상기 외에도 안정화제, 용해보조제, 경피흡수 촉진제 등의 보조제 방향제, 방부제 등의 첨가제가 더 첨가될 수 있다.
- [0121] 이하, 예시적인 실시형태를 통하여 본 발명을 설명하지만, 본 발명이 하기 실시예에 기재된 기술사상으로 한정되지 않는다.
- [0122] 실시예 1: tIK의 3차원 구조 분석
- [0123] 항-염증성 사이토카인으로 알려진 IL-10(dimer)을 기초로 tIK(서열식별번호: 11)의 3차 구조를 분석하였다. Inhibitor K562(IK)는 백혈병 세포주 K562 배지에서 최초로 분리되었으며, 면역 반응의 중요한 인자로 작용하는 인터페론-감마(interferon-gamma; IFN- γ)에 의해 유도되는 주조직적합성복합체 클래스 II(major histocompatibility complex class II; MHC class II)의 하향 조절제로 알려져 있다. 연구에 따르면, 신장의 염증성 질환에서 전장(full-length) IK와 N-말단으로부터 315개의 아미노산을 결손시킨 truncated IK(t-IK)가 IFN- γ 에 의해 유도된 MHC class II의 발현을 감소시킨다.
- [0124] Computational modeling의 첫 단계로 PSI-BLAST 검색을 사용하여 tIK 단백질과 homology modeling를 갖는 단백질들을 찾아내고 이들을 주형 단백질로 사용하여, homology modeling에 적용하였다. PSI-BLAST 검색 결과, tIK 단백질의 전체 영역에 걸쳐 높은 homology 단백질이 없었기 때문에 복수의 tIK homologous 단백질을 선별한 후, Multiple Sequence Alignment(MSA)을 사용해 tIK 단백질에 모델링 구조에 대한 복수의 주형단백질들로 사용하였다. MSA를 통해 만들어진 서열 정렬 결과와 주형 단백질들의 3차원 구조를 homology modeling에 적용한 후, refinement 과정을 거쳐 tIK 단백질의 3차원 구조를 모델링 하였다. 도 1의 상단은 본 실시예에 따라 컴퓨터 모델링에 따른 tIK 단백질의 3차원 구조를 모델링 한 결과를 나타낸다. 비교를 위하여, IL-10의 3차원 구조가 도 1의 하단에 도시되어 있다. IL-10은 Th1 세포, 대식세포 및 NK 세포를 비롯한 다양한 면역세포의 활성을 억제함으로써 작용하며, 염증 유전자의 발현을 억제하는 전형적인 항-염증성 사이토카인이다. 또한 IL-10은 단핵세포

에서 MHC class II의 발현을 하향 조절하고 항원 특이적 T 세포 증식을 감소시킨다. 3차원 모델링 분석 결과에 근거하여, IK는 IL-10과 밀접한 관련이 있으며 구조적 관점에서 IL-10 서브 패밀리의 일부일 수 있다고 예측되었다.

[0125] 실시예 2: 1차 후보 펩타이드 도출

[0126] 실시예 1의 분석 결과를 토대로, IL-10과 표적 수용체인 IL-10R- α 와의 결합에 관여하는 IL-10의 잔기(residue) 아미노산 서열을 분석하여, tIK 아미노산 서열에 적용(48% homology)하고, 다음 4가지의 후보 펩타이드를 도출하였다: pep 1 (서열식별번호: 1); pep 2 (서열식별번호: 2); pep 3 (서열식별번호: 3); pep 4 또는 P4 (서열식별번호: 4).

[0127] 실시예 3: 항염증 활성 분석

[0128] 실시예 2에서 도출된 4개의 펩타이드에 대한 항염증 활성을 분석하였다. 미분화 상태의 Th0 세포에서는 분비가 안되지만, 분화된 Th17 세포에서 분비되는 사이토카인인 mIL-17의 농도를 다음과 같이 분석하였다.

[0129] CD4+ T 세포를 분리하기 위하여, 정상 마우스로부터 비장을 분리한 후 균질화한 비장세포를 획득하였다. 분리한 비장세포에 anti-mouse CD4+ T 세포 항체를 첨가하고 4°C에서 15분간 반응시킨 후, MACS(Magnetic-activated cell sorting) buffer로 세척하였다. MACS column (Milteny biotec.)을 통한 음성분획(negative selection)으로 CD4+ T 세포를 분리하였다. 분리된 CD4+ T세포를 PBS로 세척하고 37°C에서, 10% FBS, Penicillin(100 U/mL), Streptomycin(100 g/mL)이 포함된 세포 배양액(RPMI 1640, Gibco BRL, USA)에서 배양하였다.

[0130] Th17 세포로의 분화 유도는 다음과 같이 진행하였다. Anti-CD3 (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$; BD사; Cat. No: 53058)을 넣고 37°C에서 4시간 반응시켜 Pre-coating한 웰-플레이트에 분리된 CD4+ T 세포(Th0: 5×10^5 cells/well)를 분화 배지와 함께 투입하였다. 분화 배지는 Penicillin(100 U/mL), Streptomycin(100 g/mL)이 포함된 세포 배양액(RPMI 1640, GibcoBRL, USA)에 특정 사이토카인과 항체를 혼합한 혼합배지를 투입하도록 하였다. 분화배지의 조건은 Anti-CD28(1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$; BD사; Cat. No: 553295), IL-6(20 ng/ml; R&D사; Cat. No: 240-B), TGF- β (5 ng/ml; Biolegend사; Cat. No: 575702)이었다. 실험군은 실시예 2에서 선별된 각각의 펩타이드를 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 더욱 투여하였고, 양성 대조군은 VIP(vasoactive intestinal peptide; VIP; 서열식별번호: 10)을 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 더욱 투여하였다. 분화 배지를 투입하여 37°C에서 2일간 배양한 후 상층액 100 μl 를 따르고, mIL-17 ELISA Kit(R&D systems)을 사용하여 mIL-17 농도를 분석하였다. 분석 결과를 도 2에 나타낸다. 분화 배지만 투입한 TH17[WT1] 및 양성 대조군과 비교해서, 항염증 후보 펩타이드 중에서도 pep 4가 VIP와 유사한 mIL-17 억제 효과를 보여주어, pep 4 펩타이드를 1차 후보 펩타이드로 선정하였다.

[0131] 실시예 4: 펩타이드 2차 선정 및 설계

[0132] 실시예 2에서 1차로 선정된 pep 4 펩타이드는 18개의 아미노산으로 구성되어 있다. 펩타이드 제조의 용이성과 경비를 절감할 수 있도록, 보다 단편화된 펩타이드를 선정하였다. 18개의 아미노산으로 이루어진 pep 4 펩타이드에 대한 2차 분석 결과, helix-loop-helix 구조를 가지며, N-말단에서 시작하는 9개의 아미노산은 IL-10과 IL-10R- α 사이의 결합에 관여하는 주요 잔기(key residue)를 대부분 포함하는 것으로 확인되었다(결과 미도시). 서열식별번호: 5의 9개의 아미노산으로 이루어지는 펩타이드(P4-S라 함)를 선별하고, 합성하였다.

[0133] 실시예 5: 항염증 활성 분석

[0134] 실시예 4에서 설계된 P4-S 펩타이드를 마우스에 투여하고, 실시예 2와 동일한 절차에 따라 mIL-17 억제 활성을 분석하였다. P4 펩타이드와 P4-S 펩타이드의 농도를 0.1~1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 각각 투여하였고, 양성 대조군으로 VIP 역시 0.1~1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 투여하였다. 분석 결과를 도 3에 나타낸다. 18개의 아미노산으로 이루어진 P4 펩타이드는 물론이고, 이보다 짧은 9개의 아미노산으로 이루어진 P4-S 펩타이드는, 대조군인 VIP와 유사하게 mIL-17 생성을 억제하였다.

[0135] 실시예 6: 피부투과도 효과를 위한 유도체 설계

[0136] 실시예 5에서 mIL-17의 생성을 억제하는 효과를 가지는 P4-S 펩타이드를 피부에 투여하였을 때 피부투과도를 최적화하기 위한 유도체를 설계하였다. P4-S 펩타이드에 대한 logP 값을 계산한 결과, P4-S 펩타이드는 소수성이 아닌 친수성에 해당하는 logP 값(-0.19 \pm 1.00)을 가지고 있었다. 피부투과도를 향상시키기 위해서는 소수성이 증가될 필요가 있으므로, 옥탄을 반응시켜, PS-4 펩타이드의 N-말단을 구성하는 티로신에 옥틸기가 축합된 octyl-P4-S 유도체를 설계하였다. 해당 유도체의 logP값은 +3.04로서 소수성이 크게 향상된 것을 확인하였다.

[0137] 실시예 7: 피부투과도 실험

[0138] 실시예 6에서 설계된 유도체인 octyl-P4-S에 대한 피부투과도 실험을 진행하였다. 피부투과도 실험으로서 Franz cell diffusion test를 수행하기 위하여, 프란츠형 경피 확산 장치를 이용하였다. 방출 시험의 경우, ㈜메디칼네텍스사의 Micropig® Franz cell membrane(FCM)을 공급받아 이용하였다. Micropig® FCM은 인간의 피부를 대신하여 모든 생체 외 시험에 사용 가능한 연구용으로 제작된 Micropig의 피부로서 본 연구의 피부흡수 시험에 적합하다고 판단하였다. 피부투과 장치는 공여칸(donor chamber)과 수용칸(receptor chamber)으로 구성되어 있고 이 사이에 Micropig® FCM을 고정하였다. 동일한 시험에 사용하는 각 셀은 동일한 표면적을 가지도록 설정하였다. 준비된 피부는 각질층(stratum corneum)이 위쪽으로 향하게 하여, 피부투과 장치에 고정하였다. 피부투과 장치는 시험물질과 반응을 최소화하기 위해 유리 같은 비활성 물질로 만들어진 장치를 이용하였다.

[0139] 구체적으로 피부투과 시험을 위해, Micropig® FCM을 공여칸 및 수용칸 사이에 위치시키고 암실 처리된 37℃ 인큐베이터 안에서 24시간 동안 반응시켰다. 24시간 이후 수용칸의 용액을 채취하여 HPLC 분석법을 이용하여 용출된 양성 대조군으로서 Hydrocortisone(글락소스미스 클라인 락티케어®)과 펩타이드 후보 samples의 투과 정도(penetrated rate(%))를 HPLC로 측정 분석하였다.

[0140] 샘플을 분석하기 전에 표준 샘플을 준비하여 농도의존적으로 표준 커브(면적 값 대비 농도)를 얻었고, 샘플에 대하여 피부투과 된 양을 HPLC 면적 값을 근거로 표준 커브를 활용하여 실제 투과 농도를 정량화하였다. 분석 결과를 하기 표 1에 나타낸다.

[0141] 대조군으로 hydrocortisone(0.35%)을 사용하였으며, P4-S는 0.038%, Octyl group이 첨가된 Octyl-P4-S 펩타이드는 0.7%의 피부조직 투과도를 나타내는 것으로 분석되었다. 결과적으로 Octyl-P4-S에서의 피부조직에 대한 투과도가 P4-S에 비해 약 18배 정도 높은 것으로 나타났다.

표 1

피부 투과도 분석

[0142]

	Hydrocortisone	P4-S	Octyl-P4-S
입력($\mu\text{g}/\text{ml}$)	1,000	5,000	5,000
투과량($\mu\text{g}/\text{ml}$)	3.5	1.9	35
투과도(%)	0.35	0.038	0.7

[0143] 실시예 8: 변형된 펩타이드의 항염증 활성 분석

[0144] 실시예 5에서 항염증 활성이 확인된 P4-S 펩타이드의 일부 아미노산을 소수성 아미노산 잔기로 변경하고 결실한 4개의 펩타이드를 다음과 같이 설계하였다: 9개의 아미노산 서열로 이루어진 DT-1(서열식별번호: 6) 및 DT-2(서열식별번호: 7); N-말단의 2개의 아미노산을 결실시키고 일부 아미노산을 변형하여 7개의 아미노산 서열로 이루어진 DT-3(서열식별번호: 8) 및 DT-4(서열식별번호: 9).

[0145] 이들 변형된 펩타이드와, 실시예 6에서 피부 투과도가 확인된 octyl-P4-S 유도체를 각각 마우스에 투여하고, 실시예 2와 동일한 절차에 따라 mL-17 억제 활성을 분석하였다. 이들 각각의 펩타이드의 농도를 0.1~1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 각각 투여하였고, 양성 대조군인 VIP는 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 투여하였다. 다른 양성 대조군으로, 염증 과정과 관련하여 Th17 세포 분화에 중요한 역할을 수행하는 ROR (Retinoic acid receptor-related orphan receptor) 알파 및 감마에 특이적으로 반응하여, 해당 수용체의 antagonist로 기능하는 SR1001을 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 또한 투여하였다. 분석 결과를 도 4에 나타낸다. 본 발명에 따라 일부 아미노산을 변형시킨 펩타이드(DT-1, DT-2, DT-3, DT-4)는 물론이고, 펩타이드의 말단에 지방산을 결합시킨 화합물(Octyl-P4-S)은 mL-17 생성을 억제하였다.

[0146] 실시예 9: 적혈구 세포에 대한 용혈성 시험

[0147] 실시예 3에서 항염증 활성이 확인된 P4 펩타이드와, 실시예 5에서 항염증 활성이 확인된 P4-S 펩타이드를 마우스 유래 적혈구에 넣고 용혈성을 시험하였다. 실험 결과를 도 5에 나타낸다. P4 펩타이드와 P4-S 펩타이드는 0.1 내지 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 용혈성을 나타내지 않았다. 펩타이드를 용해시키는데 사용된 0.1% (w/v) in DMSO (dimethyl sulfoxide)에서도 용혈성을 나타내지 않았다. 합성된 펩타이드가 항염증 활성을 가지면서, 생물학적 안전성 및 생체 적합성이 있음을 확인하였다.

[0148] 제조예 1: 피부외용제 제조

[0149] 실시예 6에서 설계된 펩타이드-지방산 유도체인 octyl-P4-S를 포함한 피부외용제를 제조하였다. 피부외용제의 조성을 하기 표 2에 나타낸다.

표 2

[0150] 피부외용제 조성

100 g에 함유된 물질		
No	INGREDIENTS	표준화 명칭
1	Water	정제수
2	Glycerin	글리세린
3	Butylene Glycerol	부틸렌 글라이콜
4	Octyl-P4-S (10 μ l, 0.01%)	Octyl-P4-S
5	Aloe Barbadosensis Leaf Extract	알로에 베라 추출물
6	Arginine	알지닌
7	PEG-60 Hydrogenated Castor Oil	피이지-60 하이드로제네이트드 캐스터 오일
8	Carbomer	카보머
9	Ethylhexylglycerin	에틸헥실글리세린
10	Disodium EDTA	다이소듐 이디티에이
11	Raspberry Ketone	라즈베리 케톤
12	Benzyl Glycol	벤질 글라이콜
13	Fragrance	향료

[0151] 실시예 10: 인체 적용 시험

[0152] 제조예 1에서 제조된 피부외용제를 인체에 투여한 뒤, 민감성 피부에 사용하기에 적합한지의 여부를 평가하였다. 자발적으로 모집된 20세 이상의 성인 여성 중에서 민감성 피부 기준에 적합하며, 임신 또는 수유 중이거나, 스테로이드 외용제를 1개월 이상 복용한 사람 등 적합하지 않은 성인을 피시험자로 채택하였다. 피시험자의 안면 부위를 시험 부위로 선정하였고, 피시험자는 시험기간인 2주 동안 1일 2회 아침, 저녁 세안 후에 피부외용제의 동일한 양을 안면 부위에 고르게 도포시켜 흡수시켰다. 평가를 위해서 한국피부과학연구원에서 피부외용제로 세안 후 30분간 항온항습실(온도 22±2℃, 습도 50±5%)에서 안정을 취한 뒤 측정하였다. 경피수분손실량 개선 여부를 평가하기 위하여 Vapometer (Delfin Technologies Ltd. Finland)를 사용하였다. 동일한 시험담당자가 모든 피시험자의 왼쪽 볼 부위에 동일한 압력으로 probe를 접촉하여 경피수분손실량을 측정하였다. 분석 결과를 도 6에 나타낸다. 피부외용제를 2주간 복용한 후, 경피수분손실량이 9.49% 감소하였고(p<0.001), 제조예 1에서 제조된 피부외용제가 경피수분손실량 개선에 효능이 있는 것으로 평가되었다.

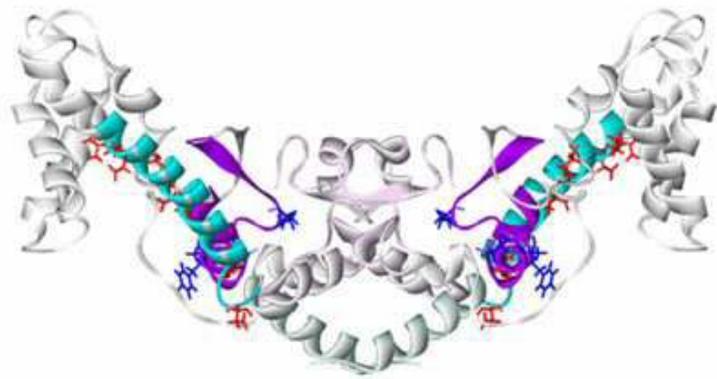
[0153] 한편, 피부외용제의 피부 붉은기 개선 평가를 위하여 분광광도계(Spectrophotometer, CM-2600D, Konica Minolta, Japan)와 전안촬영시스템 Facial Stage (Cosmetic Full-Face Photography System Facial Stage DM-3, MORITEX Corp., Japan)를 적용하였다. 분광광도계는 동일 시험담당자가 모든 피시험자의 볼 부위를 3회 연속 측정하고, 그에 대한 평균값을 산정하여 분석에 사용하였다. 분광광도계의 측정값은 L^* (명암), a^* (붉은 색), b^* (노란 색)을 나타내는데, 피부의 붉은 기를 나타내는 a^* 값을 분석에 사용하였다. 전안촬영시스템 Facial Stage는 일관된 촬영을 위하여 균일한 조명과 동일한 포지션에서 동일한 시험담당자가 모든 피시험자의 안면 부위를 측정하였다. 시험담당자는 시험 부위에서 피부 이상 여부를 관찰하고, 피부 이상 반응이 나타날 시 등급을 표시하였다. 분석 결과를 도 7에 나타낸다. 제조예 1에서 제조한 피부외용제를 2주간 투여한 뒤, 피부의 붉은기를 나타내는 a^* 값이 2.71% 감소하여(p<0.05), 피부 붉은기 개선에 효능이 있다고 평가되었다.

[0154] 아울러, 피시험자에게 피부외용제를 투여한 뒤, 알레르기 접촉 피부염이나 자극성 접촉 피부염에 대한 이상 반응은 관찰되지 않았다.

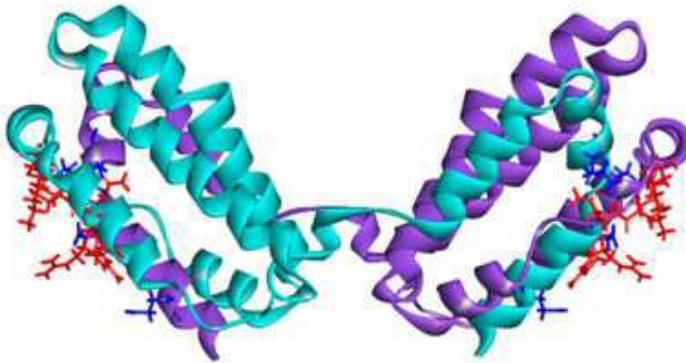
[0155] 상기에서는 본 발명의 예시적인 실시형태 및 실시예에 기초하여 본 발명을 설명하였으나, 본 발명이 상기 실시형태 및 실시예에 기재된 기술사상으로 한정되는 것은 아니다. 오히려 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 전술한 실시형태 및 실시예를 토대로 다양한 변형과 변경을 용이하게 추고할 수 있다. 하지만, 이러한 변형과 변경은 모두 본 발명의 권리범위에 속한다는 점은, 첨부하는 청구범위에서 분명하다.

도면

도면1

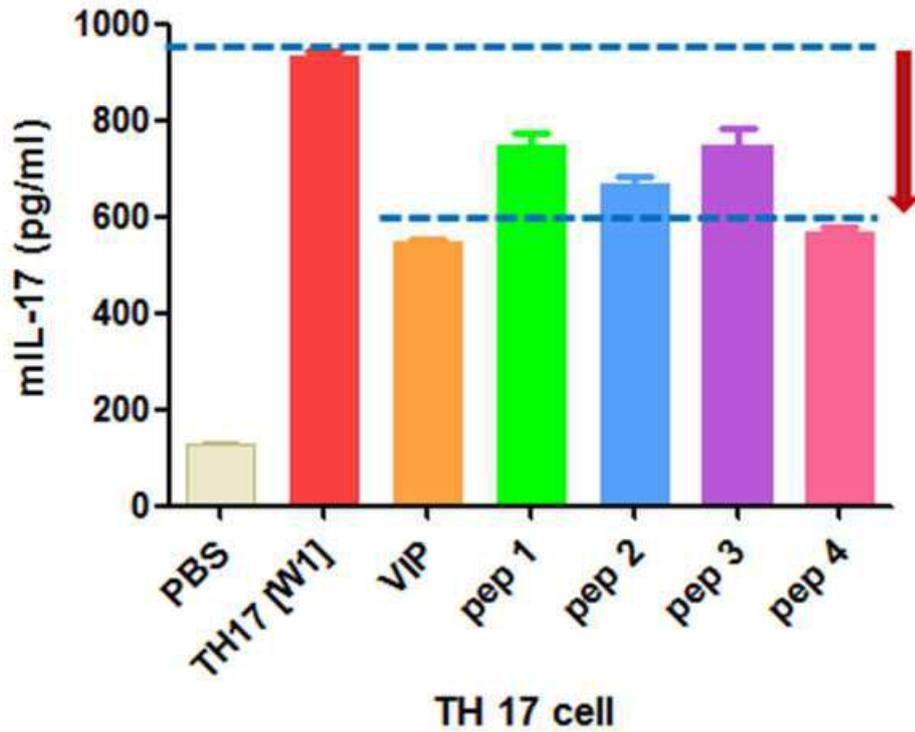


tIK protein model



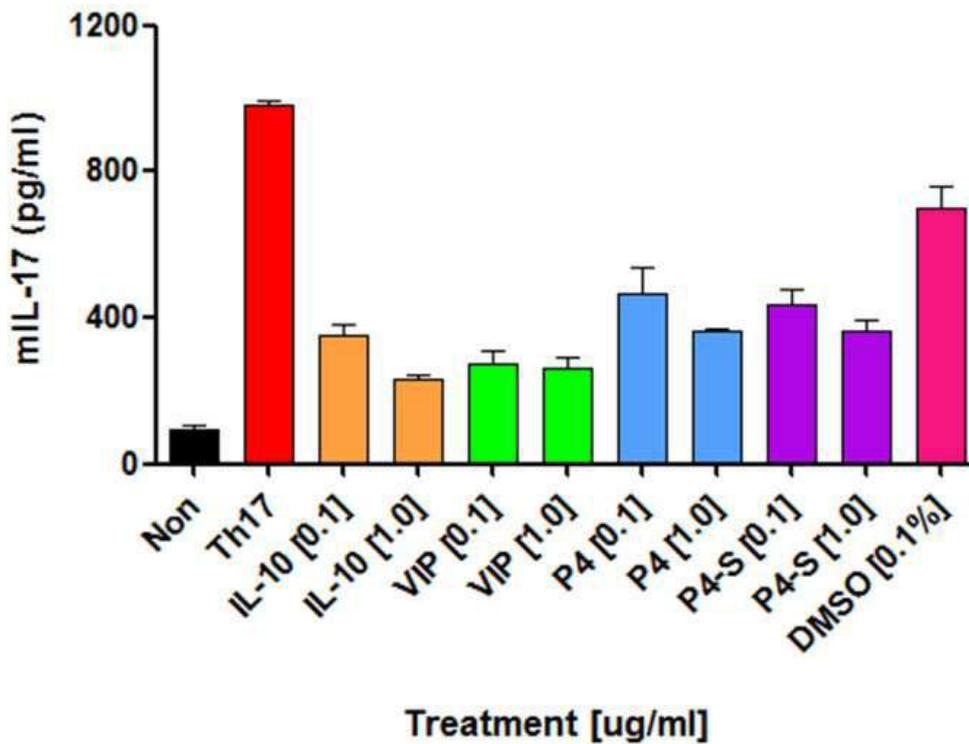
IL-10 structure(1Y6K)

도면2

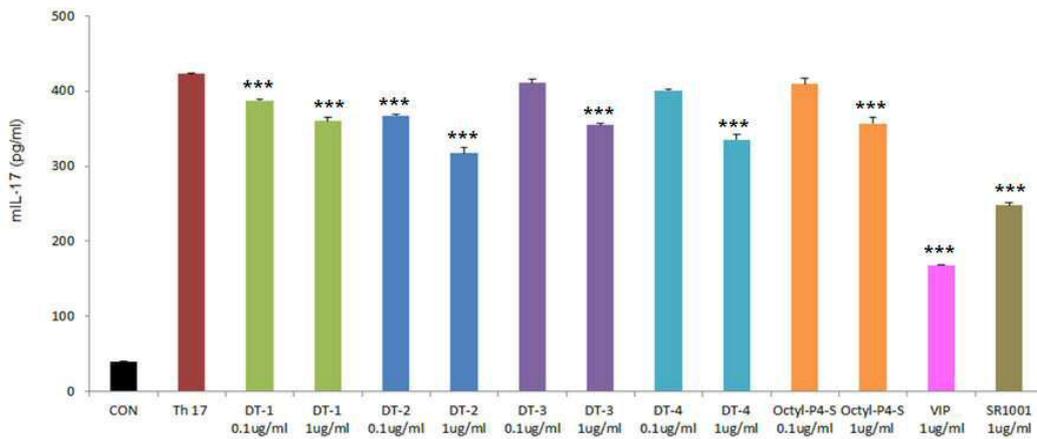


도면3

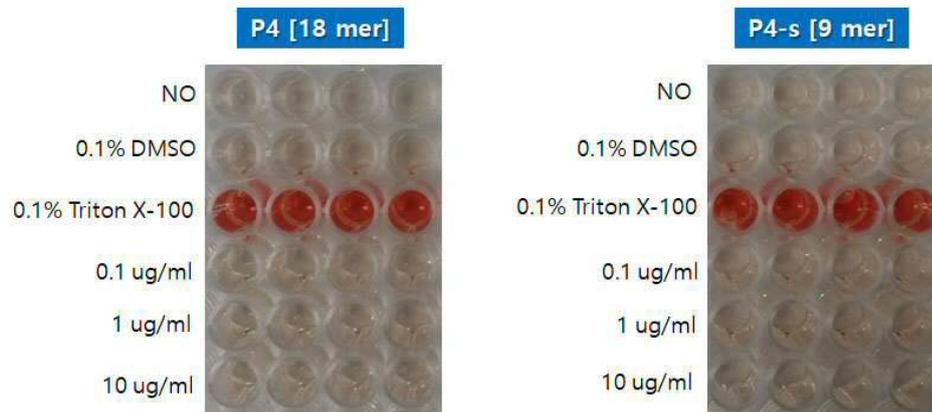
post treatment [with millipore mIL-4 antibody]



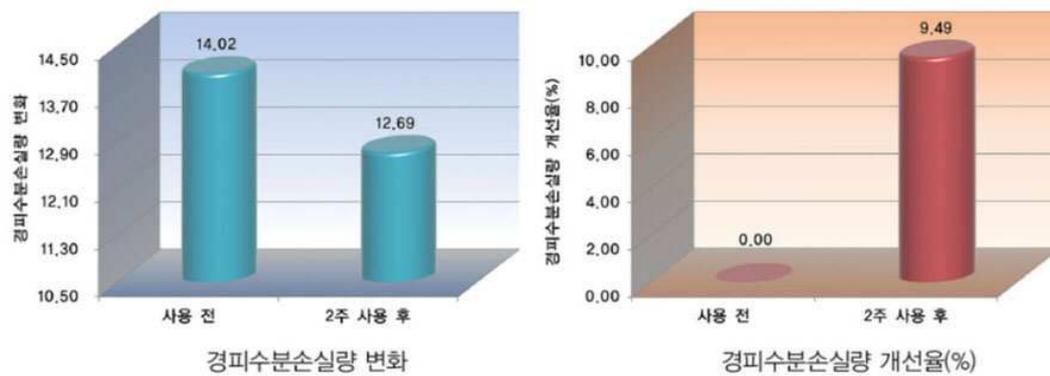
도면4



도면5



도면6



<211> 27
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 3
 Thr Pro Arg Asp Lys Glu Arg Glu Arg Tyr Arg Glu Arg Glu Arg Asp
 1 5 10 15
 Arg Glu Arg Asp Arg Asp Arg Asp Arg Glu Arg

20 25
 <210> 4
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 4
 Tyr Pro Ala Thr Met Asp Asp Met Ala Val Asp Ser Asp Glu Glu Val
 1 5 10 15
 Asp Tyr

<210> 5
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 5
 Tyr Pro Ala Thr Met Asp Asp Met Ala

1 5
 <210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> DT-1

<400> 6
 Tyr Pro Ala Thr Met Phe Asp Met Ala
 1 5
 <210> 7

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> DT-2
 <400> 7
 Tyr Pro Ala Thr Met Phe Asp Ile Ala

1 5
 <210> 8
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> DT-3
 <400> 8

Ala Thr Met Phe Asp Ile Ala
 1 5
 <210> 9
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>

><223> DT-4
 <400> 9
 Ala Thr Met Phe Asp Phe Ala
 1 5
 <210> 10
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 10

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
 1 5 10 15
 Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Asn
 20 25
 <210> 11
 <211> 242

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Met Asn Ile Phe Glu Asp Ile Gly Asp Tyr Val Pro Ser Thr Thr Lys

1 5 10 15
Thr Pro Arg Asp Lys Glu Arg Glu Arg Tyr Arg Glu Arg Glu Arg Asp

20 25 30
Arg Glu Arg Asp Arg Asp Arg Asp Arg Glu Arg Glu Arg Glu Arg Asp

35 40 45
Arg Glu Arg Glu Arg Glu Arg Asp Arg Glu Arg Glu Glu Glu Lys Lys

50 55 60
Arg His Ser Tyr Phe Glu Lys Pro Lys Val Asp Asp Glu Pro Met Asp

65 70 75 80

Val Asp Lys Gly Pro Gly Ser Thr Lys Glu Leu Ile Lys Ser Ile Asn
85 90 95

Glu Lys Phe Ala Gly Ser Ala Gly Trp Glu Gly Thr Glu Ser Leu Lys
100 105 110

Lys Pro Glu Asp Lys Lys Gln Leu Gly Asp Phe Phe Gly Met Ser Asn
115 120 125

Ser Tyr Ala Glu Cys Tyr Pro Ala Thr Met Asp Asp Met Ala Val Asp
130 135 140

Ser Asp Glu Glu Val Asp Tyr Ser Lys Met Asp Gln Gly Asn Lys Lys

145 150 155 160
Gly Pro Leu Gly Arg Trp Asp Phe Asp Thr Gln Glu Glu Tyr Ser Glu

165 170 175
Tyr Met Asn Asn Lys Glu Ala Leu Pro Lys Ala Ala Phe Gln Tyr Gly

180 185 190
Ile Lys Met Ser Glu Gly Arg Lys Thr Arg Arg Phe Lys Glu Thr Asn

195 200 205
Asp Lys Ala Glu Leu Asp Arg Gln Trp Lys Lys Ile Ser Ala Ile Ile

210 215 220

Glu Lys Arg Lys Lys Met Glu Ala Asp Gly Val Glu Val Lys Arg Pro
225 230 235 240
Lys Tyr