



등록특허 10-2683861



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년07월11일
(11) 등록번호 10-2683861
(24) 등록일자 2024년07월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 8/64 (2006.01) A61K 38/16 (2006.01)
A61P 19/10 (2006.01) A61P 25/16 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01) A61P 27/12 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01) A61P 9/12 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01) C07K 14/00 (2006.01)
C12N 15/87 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 8/64 (2013.01)
A61K 38/16 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0044752

(22) 출원일자 2023년04월05일

심사청구일자 2023년04월05일

(56) 선행기술조사문헌

KR102421608 B1
KR1020160055275 A
KR1020160101083 A

(73) 특허권자

주식회사 씨지헬스테크

강원도 원주시 혁신로 19 ,515호(반곡동)

(72) 발명자

윤송희

경기도 광주시 오포읍 매자리길 4-2, 102동 301호

이삼연

서울특별시 강남구 자곡로 21, 213동 803호

(74) 대리인

서평강

전체 청구항 수 : 총 3 항

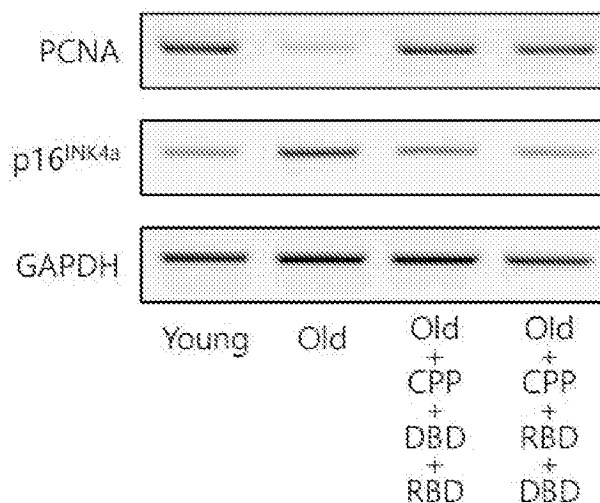
심사관 : 조한솔

(54) 발명의 명칭 역노화 효과를 나타내는 야마나카 인자의 유전자 전달 효율을 높이는 신규 융합펩타이드 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 유전자 전달 효율이 향상된 신규한 융합 펩타이드 및 이의 용도에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 본 발명의 신규한 융합 펩타이드는 특정 세포-투과 펩타이드(cell-penetrating peptide, CPP)와 특정 DNA 전달 도메인(DNA-binding domain, DBD) 및 특정 RNA 전달 도메인(RNA-binding domain, RBD)가 융합된 새로운 융합 펩타이드이다. 이는 세포 및 소포체(vesicle) 내로 플라스미드 DNA 및 RNA 등의 핵산을 높은 전달 효율로 전달할 수 있으며, 이때 기존에 수반되어 문제가 되었던 세포 독성이나 안정성, 가격 등에 대한 문제도 개선시킬 수 있으며, 소포체를 활용하여 특정 세포 및 조직으로 전달하여 탑재한 유전자의 발현을 타겟 세포 및 조직에서 이뤄지게 함으로서 새로운 치료제 플랫폼으로도 활용할 수 있다.

도 5a



(52) CPC특허분류

A61P 19/10 (2018.01)
A61P 25/16 (2018.01)
A61P 25/28 (2018.01)
A61P 27/12 (2018.01)
A61P 3/10 (2018.01)
A61P 9/12 (2018.01)
A61Q 19/08 (2013.01)
C07K 14/001 (2013.01)
C12N 15/87 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

Oct4, Sox2, Klf4 또는 C-Myc인 야마나카 인자의 유전자 전달 효율을 높일 수 있는 신규한 융합 펩타이드로, 상기 신규한 융합 펩타이드는 서열번호 1의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드의 C-말단에 서열번호 2의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 융합되며, 이의 C-말단에 서열번호 3의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 순차적으로 융합되는 것; 또는 서열번호 1의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드의 C-말단에 서열번호 3의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 융합되며, 이의 C-말단에 서열번호 2의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 순차적으로 융합되는 것인, 신규한 융합 펩타이드.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 신규한 융합 펩타이드는 세포 노화에 따라 발현이 감소된 세포 증식 관련 유전자인 PCNA의 발현을 증가시키고,

노화된 세포에서 발현이 증가된 노화 관련 유전자인 p16^{INK4a}의 발현을 감소시키는 것인, 신규한 융합 펩타이드.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 신규한 융합 펩타이드는 세포 및 소포체 내로 플라스미드 DNA 및 RNA의 핵산을 높은 전달 효율로 전달하는 것인, 신규한 융합 펩타이드.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 융합 펩타이드 및 야마나카 인자를 유효성분으로 포함하는 역노화용 조성물에 관한 것으로 더욱 구체적으로는 특정 세포-투과 펩타이드(cell-penetrating peptide, CPP)와 특정 DNA 전달 도메인(DNA-binding domain, DBD) 및 특정 RNA 전달 도메인(RNA-binding domain, RBD)를 서로 융합하여 유전자 전달 효율이 향상된 신규한 융합 펩타이드 및 야마나카 인자를 유효성분으로 포함하는 역노화용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 노화는 생명체가 시간이 흐르며 생존과 생식력에 필요한 생리적 기능이 떨어지는 자연스러운 생명 현상이다. DNA 손상이 누적되거나 암 유발 유전자가 활성화되는 등 이유로 세포가 증식을 멈춰가는 ‘세포노화’가 누적되 나타난다. 이 과정에서 암과 같은 노인성 질환에 걸리고 신체 기능이 떨어지며 사망률도 올라간다. 최근 들어 과학자들은 노화를 거스르고 신체를 젊게 되돌리도록 세포가 증식 가능한 상태가 되도록 ‘세포 역노화’ 기술을 연구하고 있다. 세포 노화를 되돌리는 전략으로 ‘역분화’ 기술이 가장 널리 연구되고 있다. 역분화는 피부 세포처럼 특정신체 조직으로 자란 세포에 ‘야마나카 전사인자’라는 단백질 4종을 추가해 특정세포로 분화하기 이전의 젊은 상태로 되돌리는 기술이다.

[0003] 한편, 형질감염(transfection)은 DNA 혹은 RNA 와 같은 핵산(nucleic acid)을 동물세포로 전달하는 것을 말하며, 통상 '유전자 전달' 로도 칭해진다. 유전자 전달은 플라스미드 DNA 전달을 통한 유전자의 과발현(gene overexpression) 또는 siRNA 전달을 통한 발현억제(gene silencing) 실험을 통해 유전자의 기능 연구, 단백질 발현 억제 연구, 유전자 조작을 통한 동물모델, 유전자 치료 기법 등에 필수적으로 사용되는 연구방법으로서, 생명공학 및 의학학 분야 대부분의 연구자들이 활용하고 있다. 이러한 유전자 전달 방법은 위에서 언급한 바와 같이 크게 두가지로, (1) 특정 유전자를 플라스미드 DNA 혹은 바이러스성 벡터에 담아 세포내 전달하여 유전자의 과발현이나 돌연변이체의 발현을 유도하는 방법과 (2) siRNA, miRNA 등을 세포내로 전달하여 세포내 특정 유전자의 발현(단백질 발현)을 억제하는 방법에 널리 활용되고 있다. 이러한 유전자 발현의 증가 또는 억제 실험 방법으로서, 비바이러스성 벡터에 유전자를 담아 리포좀 등의 유전자 전달체를 활용하여 유전자를 전달하거나 혹은 바이러스성 벡터에 유전자를 담아 직접 세포에 감염(infection)시키는 방법이 대표적으로 사용되고 있다.

[0004] 한편, 플라스미드 DNA 벡터로 대표되는 비바이러스성 벡터를 이용한 세포내 유전자 전달 방법은 원하는 유전자를 플라스미드 DNA 벡터에 직접 재조합 방법으로 삽입하여 제조하기가 수월하고, 여기에 리포좀 등의 유전자 전달체만 시약으로 구입해 사용하면 되므로 오래전부터 유용하게 사용되어 왔다. 여기서 필요한 유전자 전달체 연구 시약으로는, DNA를 포함한 핵산이 음이온(negative charge)을 갖기 때문에 이온결합을 통한 복합체를 형성할 수 있는 양이온성 고분자 물질들이 이용되어 왔다. 이러한 양이온성 고분자 물질들에는 폴리에틸이미민(polyethylenimine, PEI), 폴리[α -(4-아미노부틸)-L-글리콜산], 폴리아미도아민 덴드리머, 폴리[N,N'-(다이메틸아미노)에틸]메타크릴레이트-(PDMAE-MA) 등이 포함되며, 이들은 유전자들과의 결합 효율이 좋은 것뿐만 아니라 세포내 엔도솜(endosome)에서 탈출하는 기작인 '양성자 스폰지(proton-sponge)' 효과가 뛰어나서 플라스미드 DNA, 올리고뉴클레오타이드, siRNA 전달에 널리 사용되고 있다. 최근에는 동물세포의 세포막 구조와 유사한 구조체 형식으로 양이온성 지질(cationic liposome) 또는 음이온성 지질(anionic liposome) 등의 고분자를 이용하여 플라스미드 DNA 뿐만 아니라 siRNA를 세포내 전달하는 시약이 다수 개발되고 있다. 이러한 제품으로는 리포펙타민(Lipofectamine) (Thermo Fisher Scientific 등), I-FECT(Neuromics), LipoTrust(CosmoBio) 등의 지질 전달체들이 알려져 있다. 이러한 유전자 전달체를 구입하여 비바이러스성 DNA 벡터를 전달하는 방법의 장점은 벡터에 원하는 유전자를 자유롭게 재조합 가능하며, 유전자 크기에도 비교적 제한이 없는 장점과 함께 동물 모델에서 바이러스성 벡터 사용으로 나타나는 면역반응이나 안전성의 문제, 유전적 변형 등의 부작용의 우려를 줄일 수 있다는 점이다. 그러나 단점으로는 세포내 전달 효율이 낮고, 특히 1차 배양세포(primary culture cells)나 동물모델에선 유전자 전달이 거의 되지 않으며, 또한 리포좀과 같은 유전자 전달체 시약의 값이 고가인 문제가 있다. 따라서 최근에는 마이크로인젝션(microinjection), 일렉트로포레이션(electroporation) 등의 방법이 시도되고 있으나 세포수준에서만 제한적으로 사용할 수 있는 한계가 있다.

[0005] 이러한 한계점을 개선하기 위해 낮은 세포 독성을 가지며 전달 효율을 높일 수 있는 신규한 융합 펩타이드를 고안하였으며, 고안된 신규한 융합 펩타이드를 전달체(vesicle)에 실어 다양한 세포 및 조직으로 운반할 수 있다면 하나의 플랫폼으로서 새로운 치료제 개발의 한 방식으로 활용될 것이다.

[0006] 또한, 본 발명에서 개발한 신규한 융합 펩타이드(전달체)에 4가지 야마나카 인자(Oct4, Sox2, Klf4 및 C-Myc)를 혼합시키면 binding domain에 야마나카 인자 유전체가 결합하게 되고, 이 결합체를 통해 EV(세포외소포, extracellular vesicle) 또는 세포 내부로 독성이나 위험성 없이 안전/안정적으로 전달되고 전달받은 EV나 세포를 목적하는 세포나 조직으로 이동시켜 야마나카 인자의 발현을 유도할 수 있음을 확인하였다. 이때, 야마나카 인자는 세포 리프로그래밍을 통한 역노화를 유도하는 것으로서, 노화된 세포에 4가지 야마나카 인자(Oct4, Sox2, Klf4 및 C-Myc)의 유전체를 형질감염(transfection) 하여 노화 역행이나 손상회복능력 향상을 유도하는 것으로 알려져 있으므로, 본 개발품을 활용한다면 새로운 안전하고 안정적인 노화 치료제로 개발할 수 있음을 확인하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 10-2011-0033419

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명의 목적은 전술한 종래 기술의 문제점을 해결하기 위해 기존에 알려진(개발된) 유전자 전달체 보다 높은 전달력을 지닌 유전체 전달 융합체를 개발하고, 이 물질을 전달체에 실어 세포 및 조직으로 이동시킴으로써 다양한 치료제 개발 플랫폼으로 이용하는데 그 목적이 있다.
- [0009] 또한 본 발명의 목적은 개발된 신규한 융합 펩타이드 및 야마나카 인자를 유효성분으로 포함하는 역노화용 조성물을 제공하는 데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

- [0010] 상기와 같은 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드의 C-말단에 서열번호 2의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 융합되며, 이의 C-말단에 서열번호 3의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 순차적으로 융합되는 것; 또는 서열번호 1의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드의 C-말단에 서열번호 3의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 융합되며, 이의 C-말단에 서열번호 2의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 순차적으로 융합되는 것인, 신규한 융합 펩타이드에 야마나카 인자 Oct4, Sox2, Klf4 및 C-Myc 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 것인 노화방지용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0011] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "신규한 융합 펩타이드"는 유전자 전달 효율이 향상된 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0012] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "신규한 융합 펩타이드"는 세포 및 소포체 내로 플라스미드 DNA 및 RNA 등의 핵산을 높은 전달 효율로 전달하는 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0013] 또한, 상기와 같은 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드의 C-말단에 서열번호 2의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 융합되며, 이의 C-말단에 서열번호 3의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 순차적으로 융합되는 것; 또는 서열번호 1의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드의 C-말단에 서열번호 3의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 융합되며, 이의 C-말단에 서열번호 2의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 순차적으로 융합되는 것인, 신규한 융합 펩타이드에 야마나카 인자 Oct4, Sox2, Klf4 및 C-Myc 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 것인 노인성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0014] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 "노인성 질환"은 치매, 고혈압, 파킨슨병, 당뇨, 백내장, 골다공증, 뇌졸중, 치주질환 및 퇴행성관절염으로 구성된 군에서 선택된 어느 하나인 것일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0015] 마지막으로, 상기와 같은 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드의 C-말단에 서열번호 2의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 융합되며, 이의 C-말단에 서열번호 3의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 순차적으로 융합되는 것; 또는 서열번호 1의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드의 C-말단에 서열번호 3의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 융합되며, 이의 C-말단에 서열번호 2의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드가 순차적으로 융합되는 것인, 신규한 융합 펩타이드에 야마나카 인자 Oct4, Sox2, Klf4 및 C-Myc 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 것인 역노화용 시약 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0016] 본 발명의 신규한 융합 펩타이드는 특정 세포-투과 펩타이드(cell-penetrating peptide, CPP)와 특정 DNA 전달 도메인(DNA-binding domain, DBD) 및 특정 RNA 전달 도메인(RNA-binding domain, RBD)가 융합된 새로운 융합 펩타이드로서, 세포 및 소포체(vesicle) 내로 플라스미드 DNA 및 RNA 등의 핵산을 높은 전달 효율로 전달할 수 있으며, 이때 기존에 수반되어 문제가 되었던 세포 독성이나 안정성, 가격 등에 대한 문제도 개선시킬 수 있다. 또한, 소포체를 활용하여 특정 세포 및 조직으로 전달하여 탑재한 유전자의 발현을 타겟 세포 및 조직에서 이뤄지게 함으로서 새로운 치료제 플랫폼으로도 활용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0017] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 있어서, 본 발명의 신규한 융합 펩타이드의 개요를 나타낸 도이다(도 1a: CPP+DBD+RBD; 도 1b: CPP+RBD+DBD).

도 2는 본 발명의 일 실시예에 있어서, 본 발명의 신규한 융합 펩타이드를 유전자 전달체로 이용하여 전달력을 비교하여 나타낸 도이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 있어서, 본 발명의 신규한 융합 펩타이드를 유전자 전달체로 이용하여 세포 핵 내로 전달된 4 factor(Oct4, Sox2, Klf4 또는 C-Myc)의 발현양을 나타낸 도이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 있어서, 본 발명의 신규한 융합 펩타이드 및 이를 유전자 전달체로 이용하는 경우의 세포독성을 나타낸 도이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 있어서, 본 발명의 신규한 융합 펩타이드를 유전자 전달체로 이용하여 역노화를 확인한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0018] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 구현예로 본 발명을 상세히 설명하기로 한다. 다만, 하기 구현 예는 본 발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 당업자에게 주지 저명한 기술 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있고, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않는다. 본 발명은 후술하는 특허 청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.
- [0019] 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어(Terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시 예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0020] 본 명세서 전체에 걸쳐, 특정 물질의 농도를 나타내기 위하여 사용되는 '%'는 별도의 언급이 없는 경우, 고체/고체는 (w/w) %, 고체/액체는 (w/v) %, 그리고 액체/액체는 (v/v) %이다.
- [0022] 본 발명에 따른 신규한 융합 펩타이드는 통상적인 펩타이드 합성기를 사용한 고체상 방법에 의하여 합성될 수 있다.
- [0023] 통상적으로, 사용되는 아미노산은 N-말단이 보호된 형태 그리고 반응성 측쇄가 보호된 형태로 사용된다. N-말단을 보호하는 보호기로는 9-플루오레닐메틸옥시카르보닐기(Fmoc)가 일반적으로 사용된다. 반응성 측쇄를 보호하기 위한 보호기로는 트리페닐메틸, 부틸옥시카르보닐, t-부틸에스테르, 펜타메틸크로만-6-술포닐 등이 사용된다. 고체상 반응을 위하여 사용되는 수지는 폴리펩타이드의 C-말단의 형태가 카복실산인지 아마이드 형태인지에 따라 다르게 적용한다. C-말단의 형태가 카복실산인 경우는 2-클로로트리틸 클로라이드(2-Chlorotrityl chloride, CTC), 4-벤질옥시벤질알콜(Wang), 하이드록시메틸페녹시아세틸(HMPA) 수지가 사용될 수 있으며, C-말단의 형태가 아마이드인 경우는 수지의 말단이 아민기로 만들어진 것으로서, 예를 들어 트리알콕시벤즈하이드릴아민(Trialkoxybenzhydrylamine, Rink amide), 메틸벤즈하이드릴아민(MBHA) 수지가 사용될 수 있다.
- [0024] 위의 모든 수지를 사용함에 있어서 펩타이드는 C-말단에서부터 N-말단 방향으로 합성된다. 커플링시 아미노산의 카르복실기를 활성화제로 활성화시키고, 커플링 후 N-말단의 보호기는 피페리딘으로 제거되고, 다음 커플링이 수행된다. 카르복실기 활성화제로는 HATU(N-[(dimethylamino)-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridin-1-ylmethylene]-N-methylmethanaminium hexafluorophosphate N-oxide)와 1-히드록시-7-아자벤조트리아졸(1-hydroxy-7-azabenzotriazole, HOAt) 혹은 HBTU(N-[(1H-benzotriazol-1-yl)(dimethylamino)methylene]-N-methylmethanaminium hexafluorophosphate N-oxide)와 1-히드록시벤조트리아졸(1-hydroxybenzotriazole, HOBt)에 DIEA(N,N-diisopropylethylamine)가 함께 이용될 수 있고, N,N'-디이소프로필카르보디이미드(DIC)와 첨가 보조제로 1-히드록시-7-아자벤조트리아졸(HOAt) 혹은 1-히드록시벤조트리아졸(HOBt)이 함께 사용될 수 있다.
- [0025] 일 측면에서 본 발명은 신규한 융합 펩타이드와 야마나카 인자 Oct4, Sox2, Klf4 및 C-Myc 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 것인 노화방지용 화장품 조성물에 관한 것이다.
- [0026] 본 발명의 신규한 융합 펩타이드를 포함하는 조성물은 노화방지 등에 다양하게 이용될 수 있다. 본 조성물을 첨가할 수 있는 제품으로는, 예를 들어, 각종 크림, 로션, 스킨, 에센스 등과 같은 화장품류와 샴푸, 린스, 클렌징, 세안제, 비누, 트리트먼트, 팩, 미용액 등이 있다.

- [0027] 본 발명의 화장료는 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩타이드, 고분자 다당, 스펅고 지질 및 해초 추출물로 이루어진 군에서 선택된 조성물을 포함한다.
- [0028] 수용성 비타민으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B6, 피리독신, 엽산피리독신, 비타민 B12, 판토텐산, 니코틴산, 니코틴산아미드, 엽산, 비타민 C, 비타민 H 등을 들 수 있으며, 그들의 염 (티아민염산염, 아스코르빈산나트륨염 등)이나 유도체 (아스코르빈산-2-인산나트륨염, 아스코르빈산-2-인산마그네슘염 등)도 본 발명에서 사용할 수 있는 수용성 비타민에 포함된다. 수용성 비타민은 미생물 변환법, 미생물의 배양물로부터의 정제법, 효소법 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 수득할 수 있다.
- [0029] 유용성 비타민으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 비타민 A, 카로틴, 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E (d1-알파 토크페롤, d-알파 토크페롤, d-알파 토크페롤) 등을 들 수 있으며, 그들의 유도체(팔미틴산아스코르빈, 스테아르산아스코르빈, 디팔미틴산아스코르빈, 아세트산d1-알파 토크페롤, 니코틴산d1-알파 토크페롤비타민 E, DL-판토텐닐알코올, D-판토텐닐알코올, 판토텐닐에틸에테르 등) 등도 본 발명에서 사용되는 유용성 비타민에 포함된다. 유용성 비타민은 미생물 변환법, 미생물의 배양물로부터의 정제법, 효소 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 취득할 수 있다.
- [0030] 고분자 펩타이드로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 콜라겐, 가수 분해 콜라겐, 젤라틴, 엘라스틴, 가수 분해 엘라스틴, 케라틴 등을 들 수 있다. 고분자 펩타이드는 미생물의 배양액으로부터의 정제법, 효소법 또는 화학 합성법 등의 통상의 방법에 의해 정제 취득할 수 있으며, 또는 통상 돼지나 소 등의 진피, 누에의 견섬유 등의 천연물로부터 정제하여 사용할 수 있다.
- [0031] 고분자 다당으로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 히드록시에틸셀룰로오스, 크산탄검, 히알루론산나트륨, 콘드로이틴 황산 또는 그 염 (나트륨염 등) 등을 들 수 있다. 예를 들어, 콘드로이틴 황산 또는 그 염 등은 통상 포유 동물이나 어류로부터 정제하여 사용할 수 있다.
- [0032] 스펅고 지질로서는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 세라미드, 피토스핑고신, 스펅고당지질 등을 들 수 있다. 스펅고 지질은 통상 포유류, 어류, 패류, 효모 또는 식물 등으로부터 통상의 방법에 의해 정제하거나 화학 합성법에 의해 취득할 수 있다.
- [0033] 해초 추출물로는 화장품에 배합 가능한 것이라면 어떠한 것이라도 되지만, 바람직하게는 갈조 엑기스, 홍조 엑기스, 녹조 엑기스 등을 들 수 있으며, 또, 이들의 해초 엑기스로부터 정제된 칼라기난, 아르긴산, 아르긴산나트륨, 아르긴산칼륨 등도 본 발명에서 사용되는 해초 엑기스에 포함된다. 해초 엑기스는 해초로부터 통상의 방법에 의해 정제하여 취득할 수 있다.
- [0034] 본 발명의 화장료에는 상기 필수 성분과 더불어 필요에 따라 통상 화장료에 배합되는 다른 성분을 배합해도 된다. 이외에 첨가해도 되는 배합 성분으로서는 유지성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면 활성제, 유기 및무기안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 경제수 등을 들 수 있다. 유지 성분으로서는 에스테르계 유지, 탄화수소계 유지, 실리콘계 유지, 불소계 유지, 동물 유지, 식물 유지 등을 들 수 있다.
- [0035] 에스테르계 유지로서는 트리2-에틸헥산산글리세릴, 2-에틸헥산산세틸, 미리스틴산이소프로필, 미리스틴산 부틸, 팔미틴산이소프로필, 스테아르산에틸, 팔미틴산옥틸, 이소스테아르산이소세틸, 스테아르산부틸, 리놀레산 에틸, 리놀레산이소프로필, 올레인산에틸, 미리스틴산이소세틸, 미리스틴산이소스테아릴, 팔미틴산이소스테아릴, 미리스틴산옥틸도데실, 이소스테아르산이소세틸, 세바신산디에틸, 아디핀산디이소프로필, 네오펜탄산이소알킬, 트리(카프릴, 카프린산)글리세릴, 트리2-에틸헥산산트리메틸올프로판, 트라이소스테아르산 트리메틸올프로판, 테트라2-에틸헥산산펜타엘리슬리톨, 카프릴산세틸, 라우린산데실, 라우린산헥실, 미리스틴산데실, 미리스틴산미리스틸, 미리스틴산세틸, 스테아르산스테아릴, 올레인산데실, 리시놀올레인산세틸, 라우린산이소스테아릴, 미리스틴산이소트리데실, 팔미틴산이소세틸, 스테아르산옥틸, 스테아르산 이소세틸, 올레인산이소데실, 올레인산옥틸도데실, 리놀레산옥틸도데실, 이소스테아르산이소프로필, 2-에틸헥산산세토스테아릴, 2-에틸헥산산스테아릴, 이소스테아르산헥실, 디옥탄산에틸렌글리콜, 디올레인산에틸렌글리콜, 디카프린산프로필렌글리콜, 디(카프릴, 카프린산)프로필렌글리콜, 디카프릴산프로필렌글리콜, 디카프린산네오펜틸글리콜, 디옥탄산네오펜틸글리콜, 트리카프릴산글리세릴, 트리운데실산글리세릴, 트라이소팔미틴산글리세릴, 트라이소스테아르산글리세릴, 네오펜탄산옥틸도데실, 옥탄산이소스테아릴, 이소노난산옥틸, 네오펜탄산헥실데실, 네오펜탄산옥틸도데실, 이소스테아르산이소세틸, 이소스테아르산이소스테아릴, 이소스테아르산옥틸데실, 폴리글리세린올레인산에스테르, 폴리글리세

린이소스테아르산에스테르, 시트르산트리이소세틸, 시트르산트리이소알킬, 시트르산트리이소옥틸, 락트산라우릴, 락트산미리스틸, 락트산세틸, 락트산옥틸데실, 시트르산트리에틸, 시트르산아세틸트리에틸, 시트르산아세틸트리부틸, 시트르산트리옥틸, 말산다이소스테아릴, 히드록시스테아르산 2-에틸헥실, 숙신산디2-에틸헥실, 아디핀산다이소부틸, 세바신산다이소프로필, 세바신산디옥틸, 스테아르산콜레스테릴, 이소스테아르산콜레스테릴, 히드록시스테아르산콜레스테릴, 올레인산콜레스테릴, 올레인 산디히드로콜레스테릴, 이소스테아르산피트스테릴, 올레인산피트스테릴, 12-스테알로일히드록시스테아르산이소세틸, 12-스테알로일히드록시스테아르산스테아릴, 12-스테알로일히드록시스테아르산이소스테아릴 등의 에스테르 계 등을 들 수 있다.

[0036] 탄화 수소계 유지로서는 스쿠알렌, 유동 파라핀, 알파-올레핀올리고머, 이소파라핀, 세레신, 파라핀, 유동 이소파라핀, 폴리부덴, 마이크로크리스탈린왁스, 와셀린 등의 탄화수소계 유지 등을 들 수 있다.

[0037] 실리콘계 유지로서는 폴리메틸실리콘, 메틸페닐실리콘, 메틸시클로폴리실록산, 옥타메틸폴리실록산, 데카메틸폴리실록산, 도데카메틸시클로실록산, 디메틸실록산 및 메틸세틸옥시실록산 공중합체, 디메틸실록산 및 메틸스테알록시실록산 공중합체, 알킬 변성 실리콘유, 아미노 변성 실리콘유 등을 들 수 있다.

[0038] 불소계 유지로서는 퍼플루오로폴리에테르 등을 들 수 있다.

[0039] 동물 또는 식물 유지로서는 아보카도유, 아르몬드유, 올리브유, 참깨유, 쌀겨유, 새플라워유, 대두유, 옥수수유, 유채유, 행인(杏仁)유, 팜핵유, 팜유, 피마자유, 해바라기유, 포도종자유, 면실유, 야자유, 쿠쿠이너트유, 소맥배아유, 쌀 배아유, 시아버터, 월견초유, 마커데미아너트유, 메도홍유, 난황유, 우지(牛脂), 마유, 밍크유, 오렌지라피유, 호호바유, 캔테리러왁스, 카르나바왁스, 액상 라놀린, 경화피마자유 등의 동물 또는 식물 유지를 들 수 있다.

[0040] 보습제로서는 수용성 저분자 보습제, 지용성 분자 보습제, 수용성 고분자, 지용성 고분자 등을 들 수 있다.

[0041] 수용성 저분자 보습제로서는 세린, 글루타민, 솔비톨, 만니톨, 피롤리돈-카르복실산나트륨, 글리세린, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 에틸렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜B(중합도 $n = 2$ 이상), 폴리프로필렌글리콜(중합도 $n = 2$ 이상), 폴리글리세린B(중합도 $n = 2$ 이상), 락트산, 락트산염 등을 들 수 있다.

[0042] 지용성 저분자 보습제로서는 콜레스테롤, 콜레스테롤에스테르 등을 들 수 있다.

[0043] 수용성 고분자로서는 카르복시비닐폴리머, 폴리아스파라긴산염, 트라가칸트, 크산탄검, 메틸셀룰로오스, 히드록시메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 수용성키틴, 키토산, 텍스트린 등을 들 수 있다.

[0044] 지용성 고분자로서는 폴리비닐피롤리돈 및 에이코센 공중합체, 폴리비닐피롤리돈 및 헥사데센 공중합체, 니트로셀룰로오스, 텍스트린지방산에스테르, 고분자 실리콘 등을 들 수 있다. 에몰리엔트제로서는 장쇄아실글루타민산콜레스테릴에스테르, 히드록시스테아르산콜레스테릴, 12-히드록시스테아르산, 스테아르산, 로진산, 라놀린지방산콜레스테릴에스테르 등을 들 수 있다.

[0045] 계면 활성제로서는 비이온성 계면 활성제, 음이온성 계면 활성제, 양이온성 계면 활성제, 양성 계면 활성제 등을 들 수 있다.

[0046] 비이온성 계면 활성제로서는 자기 유화형 모노스테아르산글리세린, 프로필렌글리콜지방산에스테르, 글리세린 지방산에스테르, 폴리글리세린지방산에스테르, 솔비탄지방산에스테르, POE(폴리옥시에틸렌)솔비탄지방산에스테르, POE 솔비탄지방산에스테르, POE 글리세린지방산에스테르, POE 알킬에테르, POE 지방산에스테르, POE 경화피마자유, POE 피마자유, POE 및 POP(폴리옥시에틸렌 및 폴리옥시프로필렌) 공중합체, POE 및 POP 알킬에테르, 폴리에테르변성실리콘, 라우린산알카놀아미드, 알킬아민옥시드, 수소첨가대두인지질 등을 들 수 있다.

[0047] 음이온성 계면 활성제로서는 지방산비누, 알파-아실술폰산염, 알킬술폰산염, 알킬알릴술폰산염, 알킬나프탈렌술폰산염, 알킬황산염, POE 알킬에테르황산염, 알킬아미드황산염, 알킬인산염, POE 알킬인산염, 알킬아미드 인산염, 알킬로일알킬타우린염, N-아실아미노산염, POE 알킬에테르카르복실산염, 알킬술폰숙신산염, 알킬술포아세트산나트륨, 아실화 가수분해 콜라겐펩타이드염, 퍼플루오로알킬인산에스테르 등을 들 수 있다.

[0048] 양이온성 계면 활성제로서는 염화알킬트리메틸암모늄, 염화스테아릴트리메틸암모늄, 브롬화스테아릴트리메틸암모늄, 염화세토스테아릴트리메틸암모늄, 염화디스테아릴디메틸암모늄, 염화스테아릴디메틸벤질암모늄, 브롬화베헤닐트리메틸암모늄, 염화벤잘코늄, 스테아르산 디에틸아미노에틸아미드, 스테아르산디메틸아미노프로필아미드, 라놀린 유도체 제 4급 암모늄염 등을 들 수 있다. 양성 계면 활성제로서는 카르복시베타인형, 아미드베타인형,

술포베타인형, 히드록시술포베타인형, 아미드 술포 베타인형, 포스포베타인형, 아미노카르복실산염형, 이미다졸린 유도체형, 아미드아민형 등의 양성 계면 활성제 등을 들 수 있다.

[0049] 유기 및 무기 안료로서는 규산, 무수규산, 규산마그네슘, 텔크, 세리사이트, 마이카, 카올린, 벵갈라, 클레이, 벤토나이트, 티탄피막운모, 옥시염화비스무트, 산화지르코늄, 산화마그네슘, 산화아연, 산화티탄, 산화알루미늄, 황산칼슘, 황산바륨, 황산마그네슘, 탄산칼슘, 탄산마그네슘, 산화철, 군청, 산화크롬, 수산화크롬, 칼라민 및 이들의 복합체등의 무기 안료; 폴리아미드, 폴리에스테르, 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리우레탄, 비닐수지, 요소수지, 페놀수지, 불소수지, 규소수지, 아크릴수지, 멜라민수지, 에폭시수지, 폴리카보네이트수지, 디비닐벤젠 및 스티렌 공중합체, 실리카우더, 셀룰로오스, CI 피그먼트옐로우, CI 피그먼트오렌지 등의 유기 안료 및 이들의 무기 안료와 유기 안료의 복합 안료 등을 들 수 있다.

[0050] 유기 분체로서는 스테아르산칼슘 등의 금속비누; 세틸린산아연나트륨, 라우릴린산아연, 라우릴린산칼슘 등의 알킬인산금속염 ; N-라우로일-베타-알라닌칼슘, N-라우로일-베타-알라닌아연, N-라우로일글리신칼슘 등의 아실아미노산 다가금속염 ; N-라우로일-타우린칼슘, N-팔미토일-타우린칼슘 등의 아미드술포산 다가금속염 ; N-엡실론-라우로일-L-리진, N-엡실론-팔미토일리진, N-알파-파리토일올니틴, N-알파-라우로일아르기닌, N-알파-경화우지 지방산아실아르기닌 등의 N-아실염기성아미노산 ; N-라우로일글리실글리신 등의 N-아실폴리펩타이드 ; 알파-아미노카프릴산, 알파-아미노라우린산 등의 알파-아미노지방산 ; 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 나일론, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리스티렌, 디비닐벤젠 및 스티렌 공중합체, 사불화에틸렌 등을 들 수 있다.

[0051] 자외선 흡수제로서는 파라아미노벤조산, 파라아미노벤조산에틸, 파라아미노벤조산아밀, 파라아미노벤조산옥틸, 살리실산에틸렌글리콜, 살리신산페닐, 살리신산옥틸, 살리신산벤질, 살리신산부틸페닐, 살리신산호모멘틸, 계피산벤질, 파라메톡시계피산-2-에톡시에틸, 파라메톡시계피산옥틸, 디파라메톡시계피산모 노-2-에틸헥산글리세릴, 파라메톡시 계피산 이소프로필, 디이소프로필 및 디이소프로필계피산에스테르 혼합물, 우로카닌산, 우로카닌산에틸, 히드록시메톡시벤조페논, 히드록시메톡시벤조페논술포산 및 그 염, 디히드록시메톡시벤조페논, 디히드록시메톡시벤조페논디술포산나트륨, 디히드록시벤조페논, 테트라히드록시벤조페논, 4-tert-부틸-4'-메톡시디벤조일메탄, 2,4,6-트리아닐리노-p-(카르보-2'-에틸헥실-1'-옥시)-1,3,5-트리아진, 2-(2-히드록시-5-메틸페닐)벤조트리아졸 등을 들 수 있다.

[0052] 살균제로서는 히노키티올, 트리클로산, 트리클로로히드록시디페닐에테르, 크로르헥시딘글루콘산염, 페녹시에탄올, 레조르신, 이소프로필메틸페놀, 아줄렌, 살리칠산, 진크필리티온, 염화벤잘코늄, 감광소 301 호, 모노니트로파이어콜나트륨, 운데시렌산 등을 들 수 있다.

[0053] 산화 방지제로서는 부틸히드록시아니솔, 갈릭산프로필, 엘리소르빈산 등을 들 수 있다.

[0054] pH 조정제로서는 시트르산, 시트르산나트륨, 말산, 말산나트륨, 프말산, 프말산나트륨, 숙신산, 숙신산나트륨, 수산화나트륨, 인산일수소나트륨 등을 들 수 있다.

[0055] 알코올로서는 세틸알코올 등의 고급 알코올을 들 수 있다.

[0056] 또한, 이외에 첨가해도 되는 배합 성분은 이에 한정되는 것은 아니며, 또, 상기 어느 성분도 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 배합 가능하다.

[0057] 본 발명의 화장료는 용액, 유화물, 점성형 혼합물 등의 형상을 취할 수 있다.

[0058] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효성분으로서 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예를 들면, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제 및 담체를 포함한다.

[0059] 본 발명의 노화방지용 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어 유액, 크림, 화장수, 팩, 파운데이션, 로션, 미용액, 모발화장료 등을 들 수 있다.

[0060] 구체적으로, 본 발명의 화장료 조성물은 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 밀크 로션, 아스트린젠트, 로션, 모이스처 로션, 영양로션, 맛사지크림, 영양크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 헤어로션, 헤어토닉, 헤어에센스, 헤어샴푸, 헤어린스, 헤어트리트먼트, 바디로션 및 바디클렌저의 제형을 포함한다.

[0061] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물섬유, 식물섬유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화 아연 등이

이용될 수 있다.

- [0062] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.
- [0063] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액의 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용매화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.
- [0064] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.
- [0065] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클린징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산디에탄올아미드, 식물성 유, 리놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0066] 일 측면에서 본 발명은 신규한 융합 펩타이드와 야마나카 인자 Oct4, Sox2, Klf4 및 C-Myc 중 어느 하나 이상을 유효성분으로 포함하는 것인 노인성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0067] 본 발명의 약학적 조성물에는 유효성분 이외에 보조제(adjutant)를 추가로 포함할 수 있다. 상기 보조제는 당해 기술분야에 알려진 것이라면 어느 것이나 제한 없이 사용할 수 있으나, 예를 들어 프로인트(Freund)의 완전 보조제 또는 불완전 보조제를 더 포함하여 그 면역성을 증가시킬 수 있다.
- [0068] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 유효성분을 약학적으로 허용된 담체에 혼입시킨 형태로 제조될 수 있다. 여기서, 약학적으로 허용된 담체는 제약 분야에서 통상 사용되는 담체, 부형제 및 희석제를 포함한다. 본 발명의 약학적 조성물에 이용할 수 있는 약학적으로 허용된 담체는 이들로 제한되는 것은 아니지만, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.
- [0069] 본 발명의 약학적 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- [0070] 제제화할 경우에는 통상 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 그러한 고형 제제는 유효성분에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면 전분, 칼슘 카르보네이트, 수크로스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 일반적으로 사용되는 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 좌제가 포함된다. 비수용성용제, 현탁제로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브유와 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0071] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 개체에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식이 예상될 수 있는데, 예를 들면 경구, 정맥, 근육, 피하, 복강내 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0072] 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여량은 개체의 연령, 체중, 성별, 신체 상태 등을 고려하여 선택된다. 상기 약학적 조성물 중 포함되는 유효성분의 농도는 대상에 따라 다양하게 선택할 수 있음은 자명하며, 바람직하게는 약학적 조성물에 0.01 ~ 5,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 포함되는 것이다. 그 농도가 0.01 $\mu\text{g/ml}$ 미만일 경우에는 약학활성이 나타나지 않을 수 있고, 5,000 $\mu\text{g/ml}$ 를 초과할 경우에는 인체에 독성을 나타낼 수 있다.

- [0073] 상기 약학적 조성물은 다양한 경구 또는 비경구 투여 형태로 제형화될 수 있다.
- [0074] 경구 투여용 제형으로는 예를 들면 정제, 환제, 경질, 연질 캡셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및/또는 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리에틸렌 글리콜)를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 상기 정제는 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및/또는 폴리비닐피롤리돈과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제 또는 비등 혼합물 및/또는 흡수제, 착색제, 향미제 및 감미제를 함유할 수 있다. 상기 제형은 통상적인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0075] 또한, 비경구 투여용 제형의 대표적인 것은 주사용 제제이며, 주사용 제제의 용매로서 물, 링거액, 등장성 생리 식염수 또는 현탁액을 들 수 있다. 상기 주사용 제제의 멸균 고정 오일은 용매 또는 현탁 매질로서 사용할 수 있으며 모노-, 디-글리세라이드를 포함하여 어떠한 무자극성 고정오일도 이러한 목적으로 사용될 수 있다.
- [0076] 또한, 상기 주사용 제제는 올레산과 같은 지방산을 사용할 수 있다.
- [0078] 이하, 본 발명의 실시예를 첨부된 도면을 참고하여 보다 상세하게 설명하도록 한다. 그러나, 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 구체화하기 위한 것일 뿐, 이에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아닐 것이다.
- [0080] <실시예 1> 융합 펩타이드의 합성
- [0081] 하기 표 1의 서열번호 1 내지 3의 아미노산 서열로 표시되는 펩타이드를 이용하여 융합 펩타이드를 합성하였다(도 1a 및 도 1b 참조).

표 1

서열번호	명칭	아미노산 서열	
		한자 약어	세자 약어
1	CPP	YGRKKRRQRRR	Tyr-Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg
2	DBD	KSPKKAKKKSPKKAKK	Lys-Ser-Pro-Lys-Lys-Ala-Lys-Lys-Lys-Ser-Pro-Lys-Lys-Ala-Lys-Lys
3	RBD	SPPKSPHKSPKSPHK	Ser-Pro-Pro-Lys-Ser-Pro-His-Lys-Ser-Pro-Pro-Lys-Ser-Pro-His-Lys

- [0085] 먼저 도 1a에서 나타난 것과 같이 상기 서열번호 1로 표시되는 펩타이드 CPP(cell-penetrating peptide)에 서열번호 2로 표시되는 펩타이드 DBD(DNA-binding domain)와 서열번호 3으로 표시되는 펩타이드 RBD(RNA-binding domain)이 모두 결합된 전달체를 제작하였고(도 1a: CPP+DBD+RBD), 다음으로 도 1b에서 나타난 것과 같이 상기 서열번호 1로 표시되는 펩타이드 CPP(cell-penetrating peptide)에 서열번호 3으로 표시되는 펩타이드 RBD(RNA-binding domain)와 서열번호 2로 표시되는 펩타이드 DBD(DNA-binding domain)이 모두 결합된 전달체를 제작하였다(도 1b: CPP+RBD+DBD).
- [0086] 이후 상기 제작된 2개의 전달체를 세포외소포체나 엑토솜, 세포 등의 다양한 소포체(vesicle)에 실어 목적하는 세포 및 조직으로 전달하여 삽입한 유전자의 발현을 유도함에 대하여 실험을 진행하였다.

[0088] <실시예 2> 유전자 전달체 전달력 비교

- [0089] 혈관 내피세포인 Human Umbilical Vein Endothelial Cells(HUVECs)를 사용하여 본 발명의 융합 펩타이드의 핵산 전달 효율을 비교하기 위하여, 현재 대중적으로 많이 사용되고 있는 핵산 전달 시약인 리포펙타민(lipofectamine)을 사용하여 핵산 전달 효율을 비교 평가하였다. 핵산 전달 효율을 실험하기 위해 사용한 플라스미드 DNA는 리포터 유전자로 luciferase 유전자가 삽입되어 있는 pGL3 Luciferase Reporter Vector(Promega)를 사용하였다. 6 well plate에 1×10^6 의 세포를 도포한 후 24시간 동안 배양하여 안정화 시킨 뒤 아무것도 처리하지 않은 군(Control), pGL3 vector만 3 μ g 처리한 군(Mock), pGL3 vector 3 μ g과 리포펙타민 2000 10 μ L를 섞어 제조사 지침에 따라 처리한 군(비교군, pGL3+Lipofectamine), pGL3 vector와 융합 펩타이드 1종류를 섞어 처리한 군(실험군, pGL3+CPP+DBD, pGL3+CPP+RBD), pGL3 vector와 융합 펩타이드 두 종류를 함께 섞어 처리한 군(실험군, pGL3+CPP+DBD+RBD, pGL3+CPP+RBD+DBD)을 모두 비교하였다. 상기 그룹에서 융합 펩타이드 처리 군은 pGL3 vector 3 μ g과 각각의 융합 펩타이드 2 μ g을 섞어 30분간 상온에서 반응시킨 후 세포에 처리하

였다. 모든 처리 이후 24시간 배양 후, luciferase 활성 분석을 수행하여 도 2의 결과에서 CPP+DBD+RBD 및 CPP+RBD+DBD를 처리한 시험군의 luciferase 활성이 기존 상용화되고 있는 luciferase보다는 약 3.5배 정도 높았고 기존에 개발된 CPP+DBD 처리한 비교군 보다는 약 2배 높음을 확인하였다(도 2).

[0091] <실시예 3> 야마나카 인자의 Transfection 유도 확인

[0092] 혈관 내피세포인 Human Umbilical Vein Endothelial Cells(HUVECs)를 사용하여 본 발명의 융합 펩타이드를 사용하여 야마나카 4개 인자(Oct4, Sox2, Klf4 및 C-Myc; 표 2 참조)의 세포 내 침투에 따른 유전자 발현 증가를 확인하기 위해, 6 well plate에 1×10^6 의 세포를 도포한 후 24시간 동안 배양하여 안정화 시킨 뒤 아무것도 처리하지 않은 군(Control), 두가지 융합 펩타이드 2 μ g과 야마나카 4개 인자(각각 1 μ g씩 총 4 μ g의 플라스미드 DNA 처리)를 섞어 처리한 군 (실험군, CPP+DBD+RBD, CPP+RBD+DBD)을 비교하였다.

[0093] 상기 융합 펩타이드 처리 군은 각각의 융합 펩타이드와 야마나카 4개 인자를 섞어 30분간 상온에서 반응시킨 후 세포에 처리하고, 처리 후 48시간 배양 후 세포 배양액을 제거하고 세포를 회수하여 단백질 발현 분석 실험(western blot)을 수행하였다. 그 결과 합성한 융합 펩타이드 두가지 모두에서 대조군과 비교해 상당량의 유전자 발현이 증가한 결과를 통해, 융합 펩타이드 두가지는 효과적으로 목적하는 플라스미드를 세포 내로 투과시켜 발현을 유도함을 확인할 수 있었다(도 3).

표 2

서열번호	명칭	mRNA 서열
4	Oct4	ATGGCGGGACACCTGGCTTCGGATTTTCGCCTTCTCGCCCCCTCCAGGCGGTGGGGGTGATG GGCCATGGGGGGCGGAGCGGGCTGGGTGATCCTCTGACCTGGCTAAGCTTCCAAAGGCC TCCTGGAGGGCCAGGAATCGGGCCGGGGGTGGGGCCAGGCTCTGAGGTGTGGGGGATTCCC CCTTGCCCCCGCCGTATGAGTTATGTGGGGGATGGCGTACTGTGGGCCTCAGGTTGGAG TGGGGCTAGTGGCCCAAGGCGGCTTGAGACCTCTCAGCCTGAGAGCGAAGCAGGAGTCGG GGTGGAGAGCAACTCCAATGGGGCTCCCGGAACCTGCACCGTCCCCCTGGTGCCGTG AAGCTGGAGAAGGAGAAGCTAGAGCAAAACCCGAGAAGTCCAGGACATCAAGCTCTGC AGAAAGAACTCGAGCAATTTGCCAAGCTCCTGAAGCAGAAGAGGATCACCTGGGATATAC ACAGGCCGATGTGGGGCTCATCCTGGGGTTCTATTTGGGAAGGTGTTTCAGCCAAAAGACC ATCTGCCGCTTTGAGGCTCTGCAGCTTAGCTTCAAGAACATGTGTAAGCTCGCGCCCTTGC TGCAGAAGTGGGTGGAGGAAGCTGACAACAATGAAATCTTCAGGAGATATGCAAAGCAGA AACCTCATGCAGGCCCGAAAGAGAAAGCGAACCAGTATCGAGAACCAGGTGAGAGGCAAC CTGGAGAATTTGTTCTTCAGTGCCCGAAACCCACACTGCAGATCAGCCACATCGCCACAG AGCTTGGGCTCGAGAAGGATGTGGTCCGAGTGTGGTTCTGTAACCGCGCCAGAAGGGCAA GCGATCAAGCAGCGACTATGCACAACGAGAGGATTTTGAGGCTGCTGGGTCTCCTTTCTCA GGGGGACCAGTGTCTTCTCCTCGGCCCCAGGGCCCCATTTTGTTACCCAGGCTATGGGA GCCCTCACTTCACTGCAGTGTACTCCTCAGTCCCTTTCCCTGAGGGGGAAGTCTTTCCCC AGTCTCCGTCATCACTCTGGGCTCTCCCATGCATTCAAAGTGA
5	Sox2	ATGTACAACATGATGGAGACGGAGCTGAAGCCGCCGGGCCCGCAGCAAACTTCGGGGGGCG GCGGCGCAACTCCACCGCGGCGGCGGCCGCGCAACCAGAAAAACGCCGACCGCGT CAAGCGGCCATGAATGCCTTCATGGTGTGGTCCCGCGGGCAGCGGGCGCAAGATGGCCAG GAGAACCCCAAGATGCACAACCTCGGAGATCAGCAAGCGCTGGGCGCGGAGTGAAACTTT TGTCGGAGACGGAGAAGCGGCCGTTTCATCGACGAGGCTAAGCGGCTGCGAGCGCTGCACAT GAAGGAGCACCCGATTATAAATACCGGCCCGGCGGAAACCAAGACGCTCATGAAGAAG GATAAGTACACGCTGCCCGGCGGGCTGCTGGCCCCCGGCGGAATAGCATGGCAGCGGGG TCGGGTGGGCGCGGCTGGGCGCGGGCGTGAACCAGCGCATGGACAGTTACGCGCACAT GAACGGCTGGAGCAACGGCAGCTACAGCATGATGCAGGACCAGCTGGGCTACCCGAGCAC CCGGGCTCAATGCGCAGGCGCAGCGCAGATGCAGCCATGCACCGCTACGACGTGAGCG CCCTGCAGTACAACCTCATGACCAGCTCGCAGACCTACATGAACGGCTCGCCACCTACAG CATGTCCTACTCGCAGAGGGCACCCCTGGCATGGCTCTTGGTCCATGGGTTCGGTGGTC AAGTCCGAGGCCAGCTCCAGCCCCCTGTGGTTACCTCTTCTCCACTCCAGGGCGCCCT GCCAGCGCGGGACCTCCGGGACATGATCAGCATGTATCTCCCGGCGCGGAGGTGCCGGA ACCCGCCGCCCCAGCAGACTTCACATGTCCAGCACTACCAGAGCGGCGCGGTGCCCGGC ACGGCCATTAAACGGCACACTGCCCCCTCACACATGTGA

6	Klf4	ATGAGGCAGCCACCTGGCGAGTCTGACATGGCTGTCAGCGACGCGTGTCTCCATCTTTCT CCACGTTTCGCGTCTGGCCCGGGGGAAGGAGAAGACACTGCGTCAAGCAGGTGCCCGAA TAACCGCTGGCGGGAGGAGCTCTCCACATGAAGCGACTTCCCGCAGTGTCTCCCGCCGC CCCTATGACCTGGCGGGGCGACCGCTGGCCACAGACCTGGAGAGCGCGGAGCCGGTGGCG CTTGGCGGGTAGCAACCTGGCGCCCTACCTCGGAGAGAGACCGAGGAGTTCAACGATCT CCTGGACCTGGACTTTATTCTCTCCAATTTCGCTGACCCATCCTCCGGAGTCAGTGGCCGCC ACCGTGTCTCTGTCAGCGTCAAGCCTCTCTTCGTCGTCGCGCTCGAGCAGCGGCCCTGCCA GCGCGCCCTCCACCTGCAGCTTACCTATCCGATCCGGCGGGGAACGACCGGGCGTGGC GCCGGGGCGCACGGGGCGAGGCTCTCTATGGCAGGGAGTCCGCTCCCCCTCCGACGGCT CCCTTCAACCTGGCGGACATCAACGACGTGAGCCCTCGGGCGGCTTCGTGGCCGAGCTCC TGCGGCCAGAAATTGGACCCGGTGTACATTCCGCCGAGCAGCCGACCGCCAGGTGGCGG GCTGATGGGCAAGTTCTGTGTAAGGCGTCTGTGAGCGCCCTGGCAGCGAGTACGGCAGC CCGTCGGTCATCAGCGTCAGCAAAGGCAGCCCTGACGGCAGCCACCCGGTGGTGGTGGCGC CCTACAACGCGGGCGCGCGCACGTGCCCCAAGATCAAGCAGAG GCGGTCTCTTCGTGCACCCACTTGGGCGCTGGACCCCTCTCAGCAATGGCCACCGGCCGG CTGCACACGACTTCCCCCTGGGGCGGCAGCTCCCCAGCAGGACTACCCGACCCCTGGGTCT TGAGGAAGTGTGAGCAGCAGGAGTGTACCCCTGCCCTGCCGCTTCTCCCGCTTCCAT CCCCACCGGGGCCAATTACCCATCTTCTGCGCGATCAGATGCAGCCGAAGTCCCGC CGCTCCATTACCAAGGTCACTCCCGGGATTGTAGCTCGGGCTGGGGAGCCCTGTGTGTG CTGGCCCCACTTCGGGACACACGGGATGATGCTCACCCACCTTCTTACCCCTAGAGTCT ATGCCACCGGTTCTGTCATGCCAGAGGAGCCCAAGCCAAAGAGGGGAAGACGATCGTGGC CCCGAAAAGGACCGCCACCCACACTTGTGATTACGCGGGCTGCGGCAAAACCTACACAAA GAGTTCCCATCTCAAGGCACACCTGCGAACCCACACAGGTGAGAAACCTTACCACTGTGAC TGGGACGGCTGTGATGGAATTCGCCCGCTCAGATGAAGTACCAGGCACTACCGTAAAC ACACGGGGACCGCCCGTTCCAGTGCCAAAAATGCGACCGAGCATTTTCCAGGTGGACCA CCTCGCCTTACACATGAAGAGGCATTTTAA
7	C-Myc	CTGGATTTTTTCGGGTAGTGGAAAACAGCAGCCTCCCGCAGCATGCCCTCAACGTTA GCTTACCAACAGGAATATGACCTCGACTACGACTCGGTGCAGCCGTATTCTACTGCGA CGAGGAGGAGAACTTCTACAGCAGCAGCAGCAGCGAGCTGCAGCCCCGGCGCCAGC GAGGATATCTGGAAGAAATTCGAGCTGCTGCCCACCCCGCCCTGTCCCTAGCCGCCGT CCGGCTCTGCTCGCCCTCTCTACGTTGCGGTACACCCCTTCTCCCTTCGGGGAGACACGA CGGCGGTGGCGGGAGCTTCTCCACGGCCGACAGCTGGAGATGGTACCGAGCTGTGGGA GGAGACATGGTGAACAGAGTTTCTATCTGCGACCCGACGACGAGACCTTCATCAAAAACA TCATCATCCAGGACTGTATGTGGAGCGGCTTCTCGGCCGCCCAAGCTCGTCTCAGAGAA GCTGGCCTCTACAGGCTGCGCGCAAAGACAGCGGCAGCCGAAACCCCGCCCGCGGCCAC AGCGTCTGCTCCACCTCCAGCTTGTACCTGCAGGATCTGAGCGCCCGCCCTCAGAGTGCA TCGACCCCTCGGTGGTCTTCCCTACCTCTCAACGACAGCAGCTCGCCCAAGTCTGCGC CTCGAAGACTCCAGCGCTTCTCTCCGTCTCGGATTCTCTGCTCTGCTCGCAGGAGTCC TCCCCGAGGGCAGCCCCGAGCCCTGGTGTCCATGAGGAGACACCGCCACCACCAGCA GCGACTCTGAGGAGGAACAAGAAGATGAGGAAGAAATCGATGTTGTTTCTGTGAAAAAGAG GCAGGCTCCTGGCAAAAGGTCAAGTCTGGATCACCTTCTGTGGAGGCCACAGCAAACT CCTCACAGCCCACTGGTCTCAAGAGGTGCCACGTCTCCACACATCAGCACAACTACGAG CGCTCCCTCCACTCGGAAGGACTATCCTGCTGCCAAGAGGGTCAAGTTGGACAGTGTGAG AGTCTGAGACAGATCAGCAACAACGAAAATGCACGACCCAGGTCCTCGGACACCGAG GAGAAATGTCAAGAGGCGAACACACAACGCTTGGAGCGCCAGAGGAGGAACGAGCTAAAC GGAGCTTTTTTGCCCTGCGTGACAGATCCCGAGTTGGAACAATGAAAAGGCCCCCAA GGTAGTTATCTTAAAAAGCCACAGCATACATCTGTCCGTCAAGCAGAGGAGCAAAAG CTCATTTCTGAAGAGGACTTGTGCGGAAACGACGAGAACAGTTGAAACACAACTTGAAC AGCTACGGAACCTTGTGCGTAA

[0097]

<실시예 4> 유전자 전달체 세포독성 확인

[0098]

혈관 내피세포인 Human Umbilical Vein Endothelial Cells(HUVECs)를 사용하여 본 발명의 융합 펩타이드를 사
용하여 야마나카 4개 인자의 세포 내 침투에 따른 유전자 발현 증가를 확인하기 위해, 48 well plate에 1×10^4
의 세포를 도포한 후 24시간 동안 배양하여 안정화 시킨 뒤 아무것도 처리하지 않은 군(Control), 두가지 융합
펩타이드 2 μ g과 야마나카 4개 인자(각각 1 μ g씩 총 4 μ g의 플라스미드 DNA 처리)를 섞어 처리한 군(실험군,
CPP+DBD+RBD+4 factor, CPP+RBD+DBD+4 factor)을 비교하였다.

[0099]

상기 융합 펩타이드 처리 군은 각각의 융합 펩타이드를 야마나카 4개 인자와 함께 섞어 30분간 상온에서 반응시
킨 후 세포에 처리하고, 처리 후 72시간 배양 후 CCK-8 시약을 제조사의 지침에 따라 사용하여 세포 생존율을
측정하여 독성을 평가하였다. 그 결과 처리 농도 100 μ g/mL 까지 본 발명의 융합 펩타이드 두가지 모두는 유
성있는 세포 사멸을 초래하지 않음을 확인하였다(도 4).

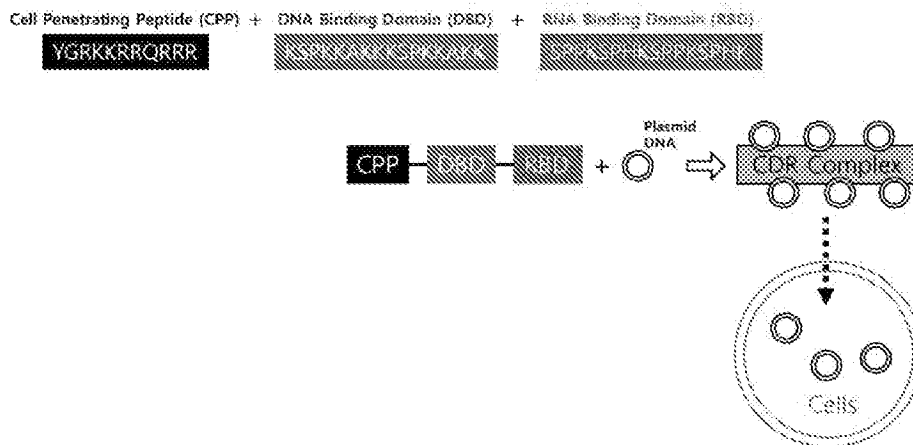
[0101]

<실시예 5> 유도체에 의한 역노화 확인

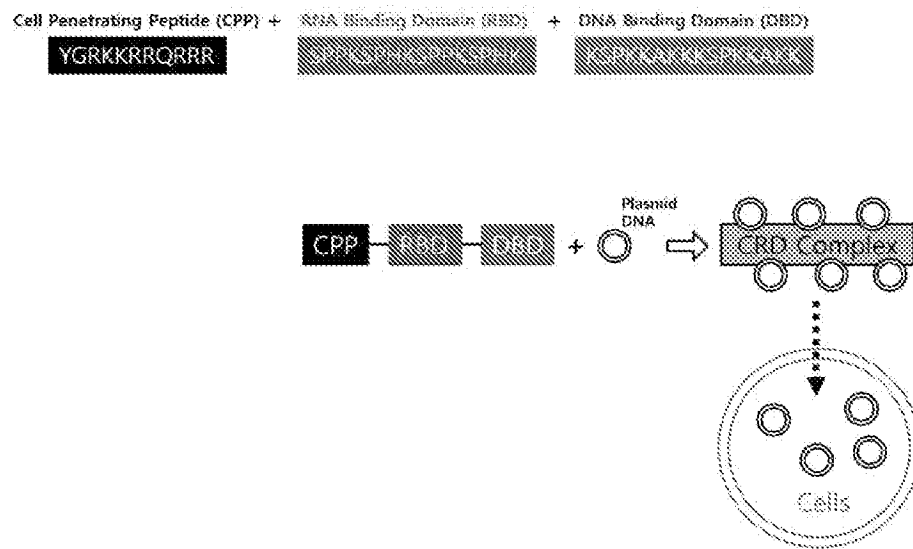
- [0102] 혈관 내피세포인 Human Umbilical Vein Endothelial Cells(HUVECs)를 사용하여 본 발명의 융합 펩타이드를 사용하여 야마나카 4개 인자의 세포 내 침투에 따른 항노화/역노화 가능성을 확인하기 위해 계대 3(passage 3)의 젊은(Young) HUVECs와 계대 10(passage 10)의 노화(Old) HUVECs를 각각 준비하였다. 6 well plate에 1×10^6 의 세포를 도포한 후 24시간 동안 배양하여 안정화 시킨 뒤 아무것도 처리하지 않은 군(Young Control, Old Control), 노화 세포에 두가지 융합 펩타이드 2 μ g와 야마나카 4개 인자(각각 1 μ g씩 총 4 μ g의 플라스미드 DNA 처리)를 섞어 처리한 군 (실험군, Old+CPP+DBD+RBD, Old+CPP+RBD+DBD)을 비교하였다.
- [0103] 상기 융합 펩타이드 처리 군은 각각의 융합 펩타이드와 야마나카 4개 인자를 섞어 30분간 상온에서 반응시킨 후 세포에 처리하고, 처리 후 24시간 배양 후 세포 배양액을 제거하고 세포를 회수하여 유전자 발현 분석 실험(RT-PCR)을 수행하였다.
- [0104] 그 결과 도 5에서 확인할 수 있듯이 4개 그룹 모두 동일한 유전자 발현이 확인되었으며(GAPDH), 세포 증식과 관련된 유전자인 PCNA가 세포 노화에 따라 발현이 감소되었다가 본 발명의 융합 펩타이드와 야마나카 4개 인자를 처리하여 다시 젊은 세포와 유사한 세포 증식 인자 발현으로 회복되었고, 노화 관련 유전자로 잘 알려진 $p16^{INK4a}$ 의 발현은 노화된 세포에서 증가하였다가 본 발명의 융합 펩타이드와 야마나카 4개 인자 처리에 의해 젊은 세포에서 보이는 노화 인자 발현양으로 감소됨을 확인하였다. 이를 통해 본 발명의 융합 펩타이드가 세포내로 침투하여 유전자를 발현시키고 들어간 유전자의 발현으로 인해 세포의 항노화/역노화를 유도함을 확인할 수 있다(도 5).
- [0106] 이상에서 살펴본 바와 같이, 본 발명의 구체적인 실시예를 상세하게 설명되었으나, 본 발명의 사상을 이해하는 당업자는 동일한 사상의 범위 내에서 다른 구성요소를 추가, 변경, 삭제 등을 통하여, 퇴보적인 다른 발명이나 본 발명 사상의 범위 내에 포함되는 다른 실시예를 용이하게 제안할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구의 범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구의 범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

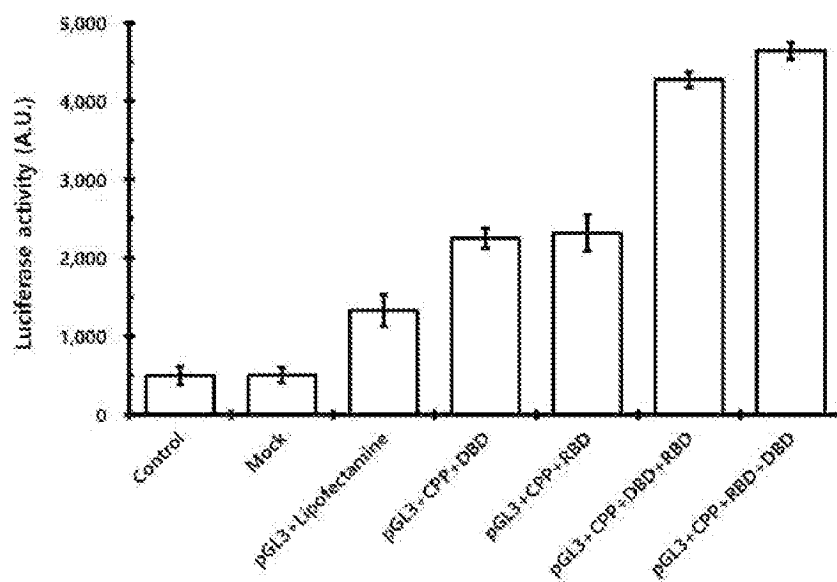
도면 1a



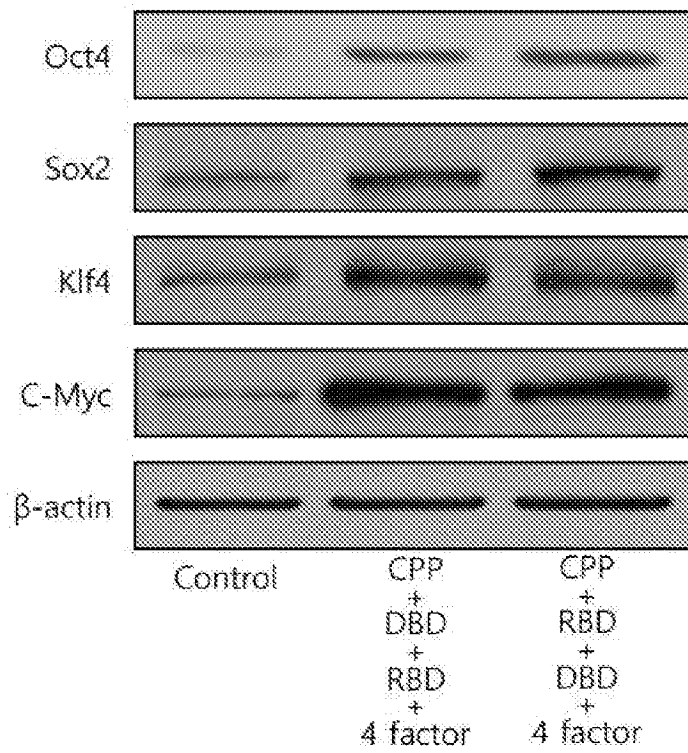
555



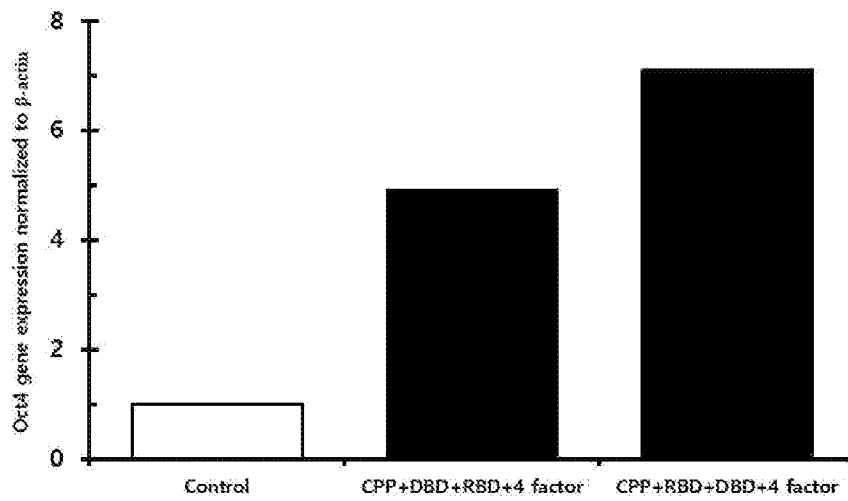
592



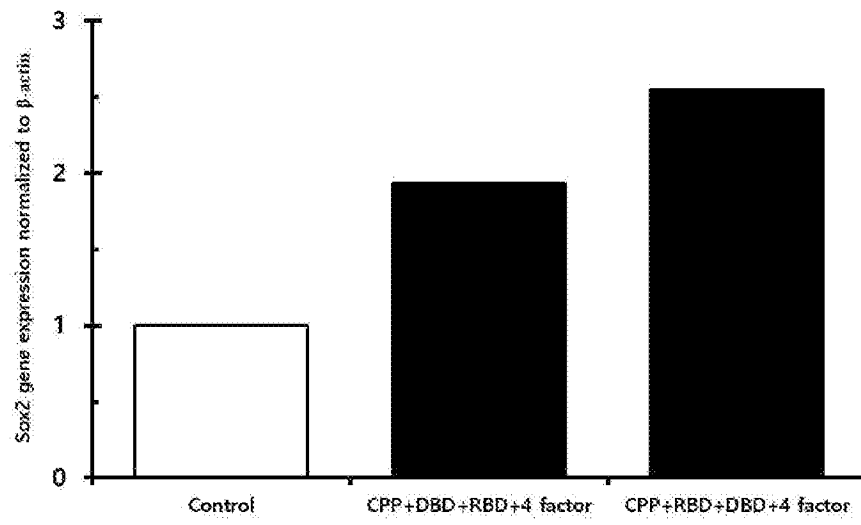
도면 3a



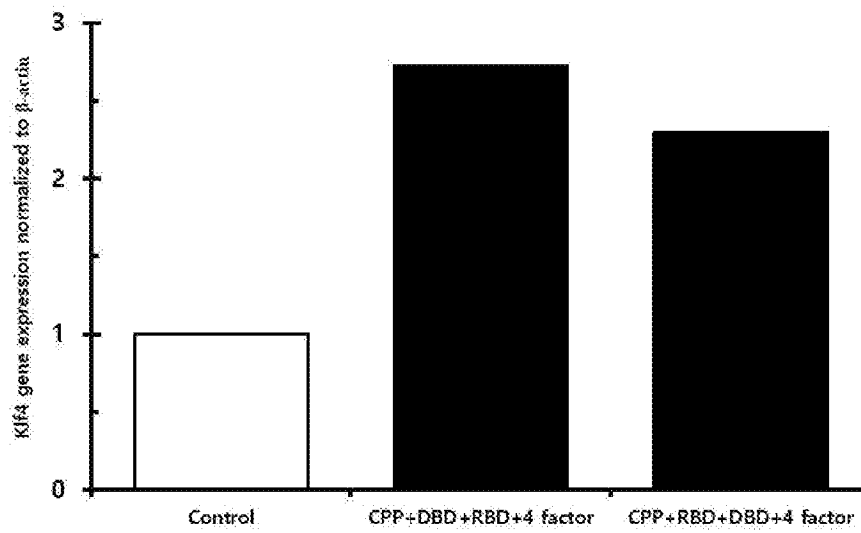
도면 3b



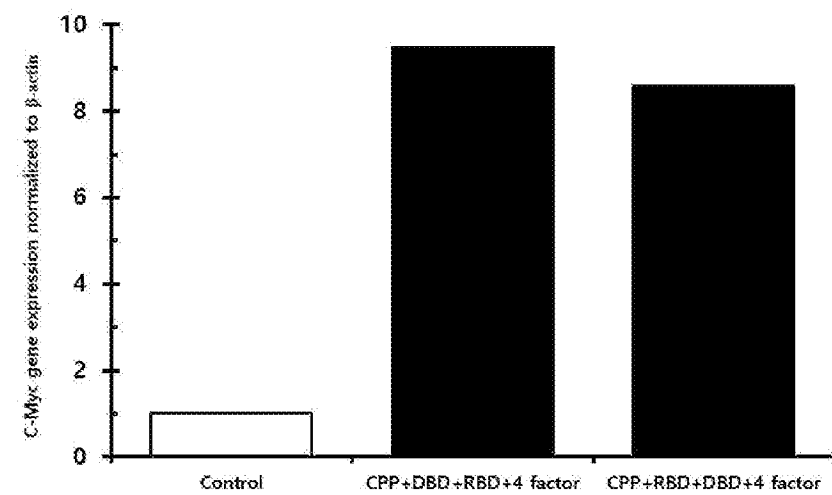
도면 3c



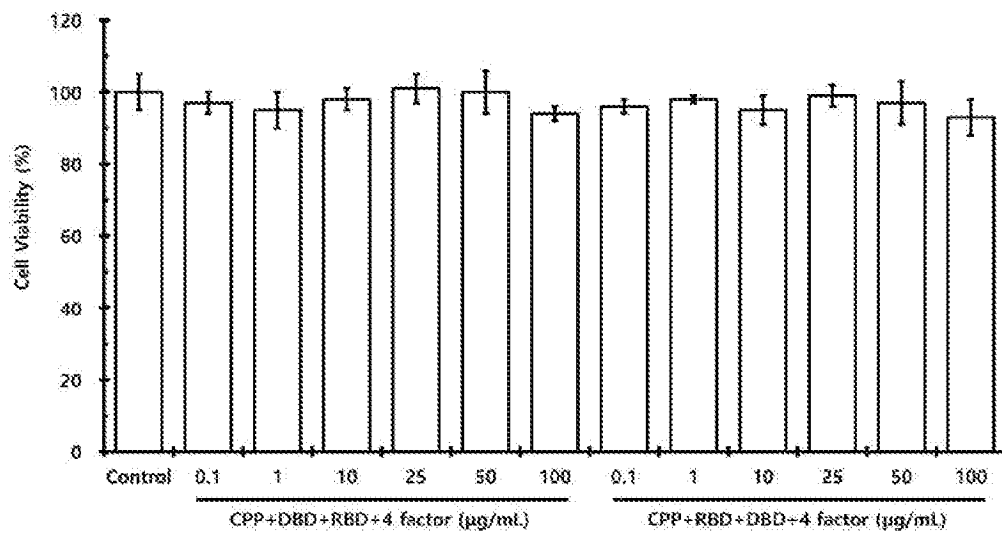
도면 3d



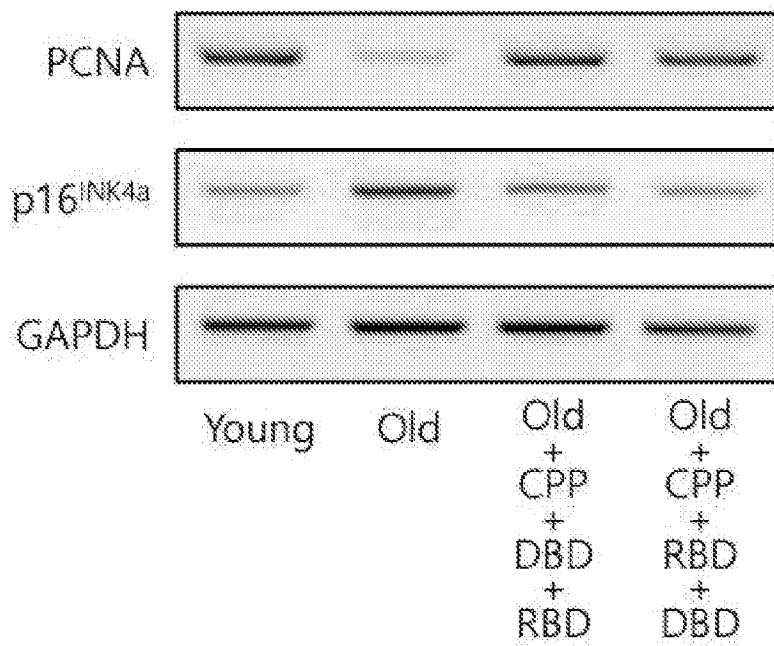
도면 3e



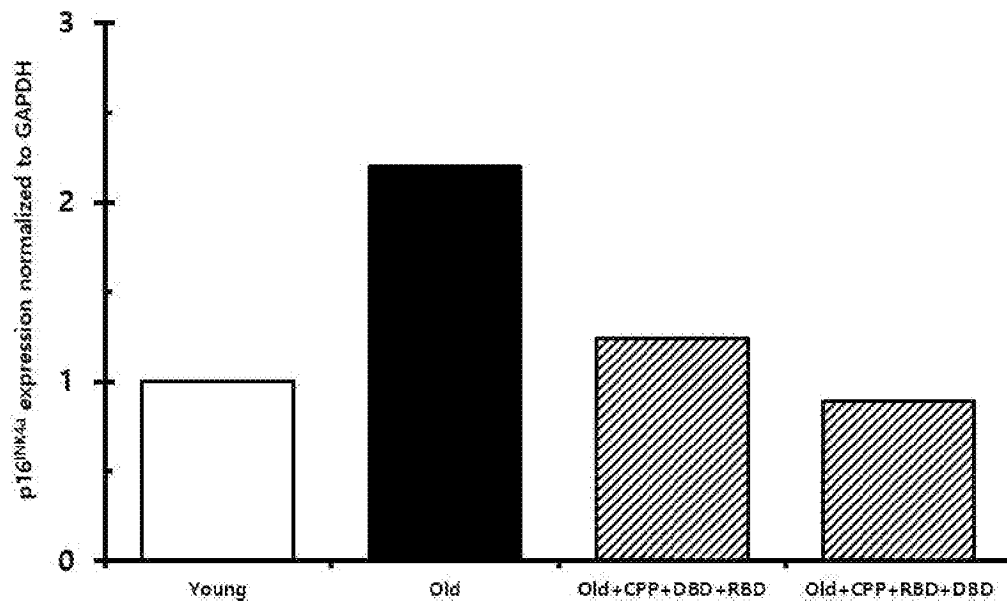
도 4



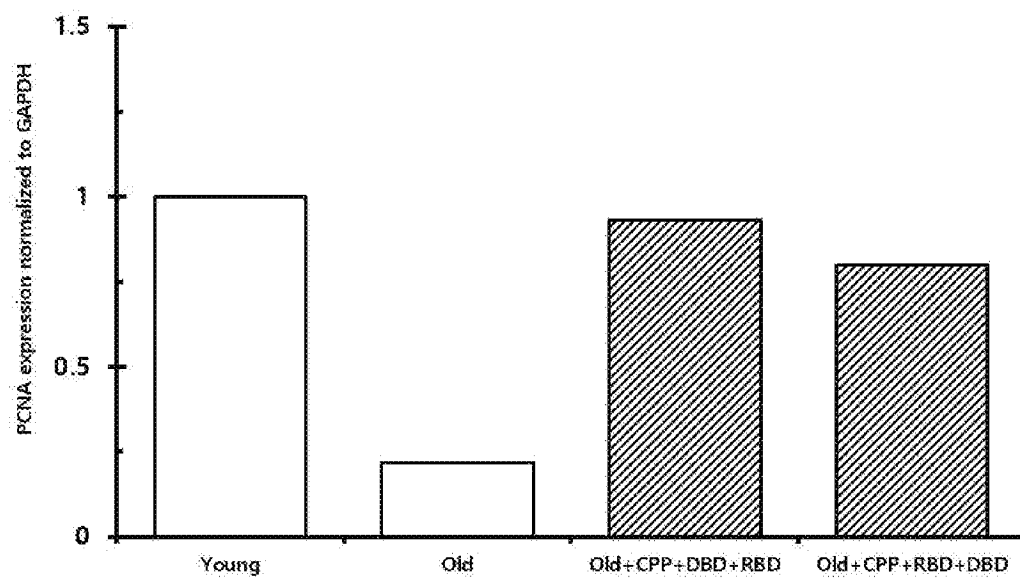
도 5a



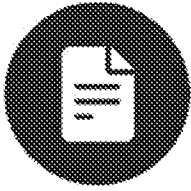
도면5b



도면5c



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

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