

**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0026768

(43) 공개일자 2025년02월25일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 8/60</i> (2006.01) <i>A61K 31/7004</i> (2006.01)
 <i>A61P 17/00</i> (2006.01) <i>A61Q 19/00</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61K 8/60</i> (2013.01)
 <i>A61K 31/7004</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2024-7040884</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2023년05월11일
 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2024년12월10일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/EP2023/062550</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2023/217936
 국제공개일자 2023년11월16일</p> <p>(30) 우선권주장
 22172777.9 2022년05월11일
 유럽특허청(EPO)(EP)</p> | <p>(71) 출원인
 디에스엠 아이피 어셋츠 비.브이.
 네덜란드 6221 비이 마스트리쉬트 월헬미나신겔 39</p> <p>(72) 발명자
 임펠트 도미니크
 스위스 4303 카이저라우그스트 부르미스베크 576
 디에스엠 뉴트리셔널 프로덕츠 리미티드 패턴트 디파트먼트
 로젠버거 블커
 스위스 4303 카이저라우그스트 부르미스베크 576
 디에스엠 뉴트리셔널 프로덕츠 리미티드 패턴트 디파트먼트</p> <p>(74) 대리인
 제일특허법인(유)</p> |
|--|--|

전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당의 블렌드의 신규한 용도

(57) 요약

본 발명은, 피부에서 사이토케라틴-1의 발현을 증가시켜 피부의 자가-방어 메커니즘을 강화하고 피부 통합성을 유지하기 위한, 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당의 블렌드의 용도에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61P 17/00 (2018.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

A61Q 19/007 (2013.01)

A61K 2300/00 (2023.05)

A61K 2800/5922 (2013.01)

A61K 2800/74 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

사이코오스(psicose), 만노오스, 프럭토오스(fructose) 및 글루코오스를 포함하는 당(sugar)의 블렌드의 유효량을 포함하는 조성물의, 피부 조직에서 사이토케라틴-1의 발현을 증가시키기 위한 제제로서의 피부학적 처리(dermatological treatment)에서의 화장품용 용도로서,

상기 피부의 미생물 군집(microbiome)은 씨. 아크네스(C. acnes), 에스. 에피더미디스(S. Epidermidis), 씨. 스트리아툼(C. striatum) 및 에스. 아우레우스(S. aureus) 중 하나 이상을 포함하거나,

상기 피부의 미생물 군집은 씨. 아크네스, 에스. 에피더미디스, 및 씨. 스트리아툼 중 하나 이상을 포함하며 에스. 아우레우스에 노출되거나 노출될 위험이 있는, 화장품용 용도.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 당의 블렌드가, 피부의 자기-방어 메커니즘을 강화하고 상기 피부의 피부 통합성(integrity)을 유지하기 위해 사용되는, 화장품용 용도.

청구항 3

청구항 1 또는 2에 있어서,

상기 조성물이 에스. 아우레우스 노출 전의 피부에 적용되고, 이어서 피부가 에스. 아우레우스와 접촉하는, 화장품용 용도.

청구항 4

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서,

사이코오스의 유효량이, 조성물의 총 중량을 기준으로 0.0001 내지 0.5 중량%, 바람직하게는 0.005 내지 0.25 중량%, 가장 바람직하게는 0.0075 내지 0.2 중량%의 범위에서 선택되는, 화장품용 용도.

청구항 5

청구항 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서,

만노오스의 유효량이, 조성물의 총 중량을 기준으로 0.001 내지 0.5 중량%, 바람직하게는 0.005 내지 0.25 중량%, 가장 바람직하게는 0.0075 내지 0.2 중량%의 범위에서 선택되는, 화장품용 용도.

청구항 6

청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 있어서,

프럭토오스의 유효량이, 조성물의 총 중량을 기준으로 0.01 내지 2 중량%, 바람직하게는 0.05 내지 1 중량%, 가장 바람직하게는 0.05 내지 0.75 중량%의 범위에서 선택되는, 화장품용 용도.

청구항 7

청구항 1 내지 6 중 어느 한 항에 있어서,

글루코오스의 유효량이, 조성물의 총 중량을 기준으로 0.01 내지 3 중량%, 바람직하게는 0.05 내지 2.5 중량%, 가장 바람직하게는 0.075 내지 2 중량%의 범위에서 선택되는, 화장품용 용도.

청구항 8

청구항 1 내지 7 중 어느 하나에 있어서,

상기 당이 수성 프리믹스(premix)의 형태로 상기 조성물에 혼입되며, 상기 수성 프리믹스는, 프리믹스의 총 중

량을 기준으로

- a) 1 내지 5 중량%, 바람직하게는 2 내지 3 중량%의 사이코오스,
- b) 1 내지 5 중량%, 바람직하게는 1.5 내지 3 중량%의 만노오스,
- c) 10 내지 30 중량%, 바람직하게는 10 내지 20 중량%의 프럭토오스, 및
- d) 15 내지 30 중량%, 바람직하게는 20 내지 30 중량%의 글루코오스

를 포함하는, 화장품용 용도.

청구항 9

청구항 8에 있어서,

상기 프리믹스가 식물-유래(plant derived) 글루코오스의 이성질체화(isomerization)에 의해 수득되는, 화장품용 용도.

청구항 10

피부에서의 사이토카인-1의 발현 감소로 인한 피부 상태(skin condition)를 예방 또는 처리하는 방법으로서,

상기 피부의 미생물 군집은 씨. 아크네스, 에스. 에피데미디스 및 씨. 스트리아툼 중 하나 이상을 포함하고, 상기 피부는 에스. 아우레우스에 노출되고,

상기 방법은

- a) 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당의 블렌드를 포함하는 국소 조성물을 제공하는 단계,
- b) 사이토케라틴-1 발현을 증가시키기에 충분한 양의 상기 국소 조성물을 인간 피부 또는 두피에 적용하는 단계, 이어서
- c) 상기 피부를 에스. 아우레우스에 노출시키는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 11

감소된 사이토케라틴-1 발현이 피부 상태의 병리상태 및/또는 증상(symptom) 및/또는 진행에 기여하는 피부 상태를 처리하는 방법으로서,

상기 피부의 미생물 군집이 씨. 아크네스, 에스. 에피데미디스, 씨. 스트리아툼 및 에스. 아우레우스 중 하나 이상을 포함하거나,

상기 피부의 미생물 군집이 씨. 아크네스, 에스. 에피데미디스 및 씨. 스트리아툼 중 하나 이상을 포함하며 에스. 아우레우스에 노출되거나 노출될 위험이 있고,

상기 방법은, 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당의 블렌드의 유효량을 이를 필요로 하는 대상(subject)에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 12

피부의 자기-방어 메커니즘을 강화하고 피부의 통합성을 유지하는 방법으로서,

상기 피부의 미생물 군집이 씨. 아크네스, 에스. 에피데미디스, 씨. 스트리아툼 및 에스. 아우레우스 중 하나 이상을 포함하거나,

상기 피부의 미생물 군집이 씨. 아크네스, 에스. 에피데미디스 및 씨. 스트리아툼 중 하나 이상을 포함하며 에스. 아우레우스에 노출되거나 노출될 위험이 있고,

상기 방법은, 상기 강화가 필요한 피부 영역에 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당의 블렌드의 유효량을 적용하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 13

사이코오스, 만노스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당의 블렌드의, 피부에서의 사이토케라틴-1 프로모터(promotor)로서의 화장품용 용도로서,

상기 피부의 미생물 군집은 씨. 아크네스, 에스. 에피더미디스, 씨. 스트리아툼 및 에스. 아우레우스 중 하나 이상을 포함하거나,

상기 피부의 미생물 군집은 씨. 아크네스, 에스. 에피더미디스 및 씨. 스트리아툼 중 하나 이상을 포함하며 에스. 아우레우스에 노출되거나 노출될 위험이 있는, 화장품용 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은, 피부에서 사이토케라틴-1의 발현을 증가시켜 피부의 자가-방어 메커니즘을 강화하고 피부 통합성을 유지하기 위한, 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당의 블렌드의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 케라틴은 상피 조직의 세포질 내 세포골격에서 발견되는 케라틴 단백질이다. 이는 세포가 기계적 스트레스에 저항하는 데 도움이 되는 중간 필라멘트의 중요한 성분이다.

[0003] 사이토케라틴-1은 상피 기저부 표피(suprabasal epidermis)의 중간 필라멘트 세포골격의 주요 성분이다. 감소된 수준의 사이토케라틴-1은 인간의 표피분해성 어린선증(epidermolytic ichthyosis)을 유발할 수 있다. 크게 알려지지 않은 병인 메커니즘 및 장벽 형성 및 염증 제어에서 케라틴의 역할을 찾는 과정에서 사이토케라틴-1이 피부 통합성 유지에 필수적이며 쥐(murine) 각질세포의 염증 네트워크에 참여하는 것으로 밝혀졌다.

[0004] 따라서, 특히 씨. 아크네스(C. acnes), 에스. 에피더미디스(S. Epidermidis), 씨. 스트리아툼(C. striatum) 및 에스. 아우레우스(S. aureus) 중 하나 이상이, 특히 미생물이 존재하는 경우, 특히 콜로니화된 피부와 같이 피부 조직에서 사이토케라틴-1의 발현을 자극할 수 있는 성분에 대한 지속적인 요구가 있다.

[0005] 특정 이론이나 작용 메커니즘에 얽매고 싶지 않지만, 피부 통합성의 증진은, 단순 상피 조직과 층상(stratified) 상피 조직의 적절한 분화에 필수적인 것으로 알려진 사이토케라틴-1의 존재 때문일 수 있다. 따라서, 본 발명의 당의 블렌드는 피부의 자가-방어 메커니즘을 강화하고 피부 통합성을 유지하는 데 사용할 수 있다.

발명의 내용

[0006] 따라서, 제1 실시양태에서, 본 발명은, 특히 피부가 에스. 아우레우스와 같은 병원성 박테리아에 의해 콜로니화되거나 콜로니화될 위험이 있는 경우, 피부 조직에서 사이토케라틴-1의 발현을 증가시키기 위한 제제로서의 피부학적 처리(dermatological treatment)에서의 용도를 위한, 사이코오스(psicose), 만노오스, 프럭토오스(fructose) 및 글루코오스를 포함하는 당(sugar)의 블렌드의 유효량을 포함하는 조성물에 관한 것이다. 상기 용도는, 특히 에스. 아우레우스와 같은 병원성 박테리아가 존재하는 경우 피부의 자가-방어 메커니즘을 강화하고 피부 통합성을 유지하는 데 특히 적합하다. 따라서, 상기 용도는 특히 에스. 아우레우스와 같은 병원성 박테리아에 의한 피부의 콜로니화와 관련된 부정적인 질병을 완화 및/또는 대응할 수 있다.

[0007] 추가 실시양태에서, 본 발명은, 피부 조직에서, 특히 병원성 박테리아, 바람직하게는 에스. 아우레우스로 콜로니화된 피부에서 사이토케라틴-1의 감소된 발현으로 인해 발생하는 피부 상태(skin condition)를 예방 또는 처리하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은

[0008] a) 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당의 블렌드를 포함하는 화장품 또는 피부학적 조성물을 제공하는 단계, 및

[0009] b) 사이토케라틴-1의 발현을 증가시키기에 충분한 양의 상기 조성물을 인간 피부, 바람직하게는 에스. 아우레우스로 콜로니화된 또는 에스. 아우레우스에 노출될 위험이 있는 피부에 적용하는 단계

- [0010] 를 포함한다.
- [0011] 본 발명에 따른 사이토케라틴-1의 발현은, 피부의 자기-방어 메커니즘을 강화하고 피부를 건강한 상태로 유지하는 것으로 이해된다.
- [0012] 추가 측면에서, 본 발명은, 감소된 사이토케라틴-1 발현과 관련된 피부 상태의 예방 및/또는 치료에서 사용하기 위한; 감소된 사이토케라틴-1 발현이 상기 피부 상태의 병리상태 및/또는 증상 및/또는 진행에 기여하는 피부 상태의 치료에서 사용하기 위한; 피부 조직, 특히 에스. 아우레우스로 콜로니화되거나, 에스. 아우레우스에 노출되거나 노출될 위험이 있는 피부에서 사이토케라틴-1의 발현을 (이를 필요로 하는 대상에서가 포함됨) 증가시키기 위한, 및/또는 사이토케라틴-1 발현 프로모터로서의, 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당의 블렌드(및/또는 상기 당의 블렌드를 포함하는 화장품 또는 피부학적 조성물)에 관한 것이다.
- [0013] 다른 측면에서, 감소된 사이토케라틴-1 발현과 관련된 질환 또는 장애의 치료에서; 감소된 사이토케라틴-1 발현이 상기 질환/장애의 병리상태 및/또는 증상 및/또는 진행에 기여하는 질환 또는 장애의 치료에서; 피부 조직, 특히 에스. 아우레우스로 콜로니화되거나, 에스. 아우레우스에 노출되거나 노출될 위험이 있는 피부에서 사이토케라틴-1의 발현에서, 및/또는 사이토케라틴-1 발현 프로모터로서의(이를 필요로 하는 대상에서가 포함됨), 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당의 블렌드(및/또는 상기 당의 블렌드를 포함하는 화장품 또는 피부학적 조성물)의 용도가 제공된다.
- [0014] 다른 측면에서, 감소된 사이토케라틴-1 발현과 관련된 질환 또는 장애의 치료; 감소된 사이토케라틴-1 발현이 상기 질환/장애의 병리상태 및/또는 증상 및/또는 진행에 기여하는 질환 또는 장애의 치료; 및/또는 특히 에스. 아우레우스로 콜로니화되거나, 에스. 아우레우스에 노출되거나 노출될 위험이 있는 피부에서 사이토케라틴-1의 발현(이를 필요로 하는 대상에서가 포함됨)을 위한 약제의 제조에서의, 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당의 블렌드(및/또는 상기 당의 블렌드를 포함하는 화장품 또는 피부학적 조성물)의 용도가 제공된다.
- [0015] 다른 측면에서, 감소된 사이토케라틴-1 발현이 상기 질환/장애의 병리상태 및/또는 증상 및/또는 진행에 기여하는 질환 또는 장애를 처리하는 방법이 제공되며, 상기 방법은, 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당의 블렌드의 유효량을 예컨대 (이를 필요로 하는) 대상에게, 바람직하게는 피부가 에스. 아우레우스로 콜로니화되거나, 에스. 아우레우스에 노출되거나 노출될 위험이 있는 대상에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0016] 본 발명은 또한, 특히 피부 조직에서의, 사이토케라틴-1 발현 프로모터로서의, 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당의 블렌드에 관한 것이다.
- [0017] 본 문서에서 사용되는 용어 '피부'는, 포유류, 특히 인간의 외부 표면을 포함하는 것을 의미하며, 이는 피부와 두피를 포함한다. 본 발명의 모든 실시양태에서 바람직한 피부는 얼굴 및 신체 피부, 가장 바람직하게는 얼굴 피부이다.
- [0018] 본 명세서에서 사용되는 용어 '예방'은, 감소된 세포케라틴-1 발현과 관련된 피부 상태가 발생할 위험을 줄이는 것을 의미한다.
- [0019] 본 명세서에서 사용되는 용어 '치료'는, 증상의 개선, 감소된 사이토케라틴-1 발현과 관련된 임의의 질환의 발생 지연 및/또는 지속 기간의 단축을 의미한다. 치료는 예방적(미용적(cosmetic))이거나 치료적일 수 있다. 바람직하게는, 치료치리는 예방적이다.
- [0020] 본 명세서에서 사용되는 용어 '사이토케라틴-1 발현 프로모터'는, 피부 조직에서 사이토케라틴-1의 발현을 자극할 수 있는 화합물을 지칭한다. 피부 조직에서 사이토케라틴-1 발현은, 피부에 존재하는 병원성 박테리아(예: 에스. 아우레우스의 존재)의 존재에 의해 감소될 수 있다.
- [0021] 본 발명에 따른 특히 유리한 실시양태에 있어서, 본 발명에 따른 용도 및 방법은 인간 피부에서 수행되고, 상기 피부의 미생물 군집은 큐티박테리움 아크네스(*Cutibacterium acnes*; 씨. 아크네스), 에스. 에피더미디스, 코리네박테리움 스트리아툼(*Corynebacterium striatum*; 씨. 스트리아툼) 및 스태필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*; 에스. 아우레우스) 중 하나 이상, 바람직하게는 모두를 포함한다. 상기 용도 및 방법은 또한 인간 피부에서 수행될 수 있으며, 상기 피부의 미생물 군집은 씨. 아크네스, 에스. 에피더미디스 및 씨. 스트리아툼 중 하나 이상, 바람직하게는 모두를 포함하고, 인간 피부는 에스. 아우레우스에 노출되거나 노출될 위험이 있다.

- [0022] 본 명세서에서 사용되는 용어 '유효량'은 생리적 효과를 획득하는 데 필요한 양을 지칭한다. 생리적 효과는 1회 적용 용량 또는 반복 적용으로 달성할 수 있다. 물론, 투여되는 용량은 공지된 요인, 예를 들어, 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당의 블렌드를 포함하는 특정 화장품 또는 피부학적 조성물의 생리적 특성 및 이의 투여 방식과 경로, 연령, 증상의 특성 및 정도, 동시 처리의 종류, 처리 빈도, 및 원하는 효과에 따라 달라질 수 있으며, 이는 당업자에 의해 조정될 수 있다.
- [0023] 바람직하게는, 사이코오스의 사용 수준은, 본 발명의 모든 실시양태에서, 조성물의 총 중량을 기준으로 0.0001 내지 0.5 중량% 범위, 더욱 바람직하게는 0.0005 내지 0.25 중량% 범위, 가장 바람직하게는 0.00075 내지 0.2 중량% 범위, 예를 들어 0.001 내지 0.15 중량% 범위 내에서 선택된다. 다른 적합한 범위는 0.0001 내지 0.1 중량%, 0.0005 내지 0.1 중량%, 0.00075 내지 0.1 중량%, 0.00075 내지 0.1 중량%, 0.001 내지 0.1 중량%, 0.005 내지 0.1 중량%, 0.01 내지 0.1 중량%, 0.01 내지 0.1 중량%, 0.001 내지 0.05 중량%, 또는 0.01 내지 0.05 중량%를 포함한다.
- [0024] 바람직하게는, 만노오스의 사용 수준은, 본 발명의 모든 실시양태에서, 조성물의 총 중량을 기준으로 0.0001 내지 0.5 중량% 범위, 더욱 바람직하게는 0.0005 내지 0.25 중량% 범위, 가장 바람직하게는 0.00075 내지 0.2 중량% 범위, 예를 들어 0.001 내지 0.15 중량% 범위 내에서 선택된다. 다른 적합한 범위는 0.0001 내지 0.1 중량%, 0.0005 내지 0.1 중량%, 0.00075 내지 0.1 중량%, 0.00075 내지 0.1 중량%, 0.001 내지 0.1 중량%, 0.005 내지 0.1 중량%, 0.01 내지 0.1 중량%, 0.01 내지 0.1 중량%, 0.001 내지 0.05 중량%, 또는 0.01 내지 0.05 중량%를 포함한다.
- [0025] 바람직하게는, 프럭토오스의 사용 수준은, 본 발명의 모든 실시양태에서, 조성물의 총 중량을 기준으로 0.01 내지 2 중량% 범위, 더욱 바람직하게는 0.05 내지 1 중량% 범위, 가장 바람직하게는 0.05 내지 0.75 중량% 범위, 예를 들어 0.05 내지 0.5 중량% 범위 내에서 선택된다. 다른 적합한 범위는 0.01 내지 1 중량%; 0.05 내지 1 중량%, 0.01 내지 0.5 중량%; 0.05 내지 0.5 중량%, 0.1 내지 1 중량%, 또는 0.1 내지 0.5 중량%를 포함한다.
- [0026] 바람직하게는, 글루코오스의 사용 수준은, 본 발명의 모든 실시양태에서, 조성물의 총 중량을 기준으로 0.01 내지 3 중량% 범위, 더욱 바람직하게는 0.05 내지 2.5 중량% 범위, 가장 바람직하게는 0.075 내지 2 중량% 범위, 예를 들어 0.1 내지 1 중량% 범위 내에서 선택된다. 다른 적합한 범위는 0.01 내지 1 중량%; 0.05 내지 1 중량%, 0.01 내지 0.5 중량%; 0.05 내지 0.5 중량%, 0.1 내지 1 중량%, 또는 0.1 내지 0.5 중량%를 포함한다.
- [0027] 본 발명의 모든 실시양태에서, 당의 모든 이성질체, 즉, 각각의 D- 및 L-이성질체 뿐만 아니라 이들의 혼합물이 사용될 수 있다. 그러나, 천연 이성질체, 즉 D-이성질체가 모든 실시양태에서 특히 바람직하다.
- [0028] 바람직하게는, 본 발명의 모든 실시양태에서, 상기 당은, 다음을 포함하는, 바람직하게는 수성 당 프리믹스 (premix) A 형태로 본 발명에 따른 조성물에 혼입된다:
- [0029] a) 당 프리믹스를 기준으로 1 내지 5 중량%의 사이코오스,
- [0030] b) 당 프리믹스를 기준으로 1 내지 5 중량%의 만노오스,
- [0031] c) 당 프리믹스를 기준으로 10 내지 30 중량%의 프럭토오스, 및
- [0032] d) 당 프리믹스를 기준으로 15 내지 60 중량%의 글루코오스.
- [0033] 더욱 바람직하게는, 본 발명의 모든 실시양태에서, 상기 당 프리믹스는, 다음을 포함하는 수성 당 프리믹스 B이다:
- [0034] a) 당 프리믹스를 기준으로 1 내지 5 중량%의 사이코오스,
- [0035] b) 당 프리믹스를 기준으로 1 내지 5 중량%의 만노오스,
- [0036] c) 당 프리믹스를 기준으로 10 내지 30 중량%의 프럭토오스, 및
- [0037] d) 당 프리믹스를 기준으로 15 내지 35 중량%의 글루코오스.
- [0038] 가장 바람직하게는, 본 발명의 모든 실시양태에서, 상기 수성 당 프리믹스는, 다음을 포함하는 수성 당 프리믹스 C이다:
- [0039] a) 당 프리믹스를 기준으로 2 내지 3 중량%의 사이코오스,
- [0040] b) 당 프리믹스를 기준으로 1.5 내지 3 중량%의 만노오스,

- [0041] c) 당 프리믹스를 기준으로 10 내지 20 중량%의 프럭토오스, 및
- [0042] d) 당 프리믹스를 기준으로 20 내지 30 중량%의 글루코오스.
- [0043] 본원에서 용어 '당 프리믹스'는, 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 본원에 제시된 양으로 포함하는 사전-블렌딩된 혼합물을 지칭한다. 상기 당 프리믹스는 개별 당을 혼합함으로써, 또는 본 발명에 따른 수성 조성물 내로의 혼입 전에 글루코오스, 바람직하게는 식물-유래 글루코오스를 이성질체화함으로써 제조될 수 있다. 수성 설탕 프리믹스는 바람직하게는 물의 전체 수성 프리믹스를 기준으로 25 내지 50 중량%의 물을 포함한다.
- [0044] 글루코오스의 이성질체화는 당업자에게 널리 공지되어 있다. 바람직하게는, 상기 이성질체화 공정은, (a) 글루코오스를 물에 용해시키는 단계, 이어서 (b) 상기 글루코오스를, 염기의 존재 하에, 바람직하게는 수산화나트륨의 존재 하에, 더욱 바람직하게는 25 내지 100°C 범위 내에서 선택된 온도에서 이성질체화하는 단계, 및 (c) 생성된 반응 혼합물을 크로마토그래피 및 임의적으로 여과에 의해 정제하는 단계를 포함한다.
- [0045] 특히, 당 프리믹스가 글루코오스의 이성질체화에 의해 제조되는 경우, 당 프리믹스는, 펜토오스, 헥소오스, 이당류 및 올리고당류, 예를 들어, 특히 갈락토오스, 소르보스, 이당류 및 올리고당류의 군으로부터 선택된 추가 당을 최대 7.5 중량%, 바람직하게는 최대 5 중량%까지 추가로 포함할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 당 프리믹스 중의 갈락토오스 및/또는 소르보스의 양은 0 내지 4 중량%, 예를 들어 1 내지 3 중량% 범위 내에서 선택된다. 상기 프리믹스에 포함된 당의 잔량은 이당류 및 올리고당류이다.
- [0046] 특정 실시양태에서, 본 발명에 따른 당 프리믹스는, 당 프리믹스를 기준으로 1 내지 5 중량%, 바람직하게는 1 내지 3 중량% 범위 내에서 선택된 양의 (e) 소르보스를 추가로 포함한다.
- [0047] 바람직하게는, 소르보스의 사용 수준은, 본 발명의 모든 실시양태에서, 조성물의 총 중량을 기준으로 0.0001 내지 0.5 중량% 범위, 더욱 바람직하게는 0.0005 내지 0.25 중량% 범위, 가장 바람직하게는 0.00075 내지 0.2 중량% 범위, 예를 들어 0.001 내지 0.15 중량% 범위 내에서 선택된다. 다른 적합한 범위는 0.0001 내지 0.1 중량%, 0.0005 내지 0.1 중량%, 0.00075 내지 0.1 중량%, 0.00075 내지 0.1 중량%, 0.001 내지 0.1 중량%, 0.005 내지 0.1 중량%, 0.01 내지 0.1 중량%, 0.01 내지 0.1 중량%, 0.001 내지 0.05 중량%, 및 0.01 내지 0.05 중량%를 포함한다.
- [0048] 특히 유리한 실시양태에서, 본 발명에 따른 당 프리믹스는 수성 당 프리믹스(즉, 당이 물에 용해된 것)이다.
- [0049] 본 발명에 따른 특히 적합한 수성 당 프리믹스(당 프리믹스 D)는 본질적으로 다음으로 이루어진다:
- [0050] a) 수성 당 프리믹스를 기준으로 1 내지 5 중량%, 바람직하게는 2 내지 3 중량%의 사이코오스,
- [0051] b) 수성 당 프리믹스를 기준으로 1 내지 5 중량%, 바람직하게는 1.5 내지 3 중량%의 만노오스,
- [0052] c) 수성 당 프리믹스를 기준으로 10 내지 30 중량%, 바람직하게는 10 내지 20 중량%의 프럭토오스,
- [0053] d) 수성 당 프리믹스를 기준으로 15 내지 30 중량%, 바람직하게는 20 내지 30 중량%의 글루코오스, 및 임의적으로,
- [0054] e) 수성 당 프리믹스를 기준으로 최대 7.5 중량%, 바람직하게는 최대 5 중량%의 추가 당,
- [0055] f) 수성 당 프리믹스를 기준으로 0.1 내지 2 중량%의 첨가제, 바람직하게는 시트르산 및/또는 이의 염, 예를 들어 바람직하게는 나트륨 염, 및
- [0056] g) 수성 당 프리믹스를 기준으로 최대 100%의 물.
- [0057] 본원에서 용어 "~로 본질적으로 이루어진"은, 상기 성분 (a) 내지 (g)의 총량이 이상적으로 100 중량% 이하임을 의미한다. 그러나, 소량의 미지의 (당) 불순물, 예를 들어 글루코오스의 이성질체화 과정으로부터 유래된 불순물이 존재할 수 있다는 점이 배제되지는 않는다.
- [0058] 본 발명에 따른 수성 당 프리믹스는, 예를 들어 디에스엠 뉴트리셔널 프라덕츠 리미티드(DSM Nutritional Products Ltd.)로부터 펜타비틴(Pentavitin)®으로서 시판된다.
- [0059] 본 발명에 따른 조성물에 혼입되는 당 프리믹스의 총량은 바람직하게는, 수성 조성물의 총 중량을 기준으로 0.01 내지 10 중량%, 더욱 바람직하게는 0.1 내지 7.5 중량%, 가장 바람직하게는 0.2 내지 5 중량% 범위 내에서 선택된다. 추가적으로 적합한 범위는 0.25 내지 2.5 중량% 및 0.5 내지 2 중량%이다. 본 발명에 따른 특히 바람

직한 범위는 0.2 내지 1 중량%, 더욱 바람직하게는 0.25 내지 0.75 중량%, 예를 들어 0.3 내지 0.6 중량%이다.

- [0060] 본 명세서에서 사용되는 용어 '피부학적'은, 미용적(비치료적(non-therapeutic)) 및 약학적(치료적) 처리를 의미할 수 있다. 본 발명의 모든 실시양태에서, 미용적 처리, 즉 피부를 아름답게 하기 위한 처리가 바람직하다.
- [0061] 본 명세서에서 사용되는 용어 '화장품(cosmetic) 또는 피부학적 조성물'은 피부 및/또는 두피의 외관을 처리, 케어 또는 개선하는 데 사용되는 조성물을 의미한다. 특히 유리한 화장품 또는 피부학적 조성물은 피부 케어 제제이다.
- [0062] 본 발명의 모든 실시양태에서, 세포는 바람직하게는 피부 세포, 예컨대 특히 상피 세포, 특히 각질 세포, 멜라닌 세포, 섬유아세포 또는 수지상 세포이다.
- [0063] 본 발명의 모든 실시양태에서, 처리는 바람직하게는 비치료적, 즉 미용적이다.
- [0064] 바람직하게는, 피부에 적용되는 본 발명에 따른 화장품 또는 피부학적 조성물의 양은 $0.1 \text{ 내지 } 3 \text{ mg/cm}^2$ 피부 범위, 예컨대 바람직하게는 $0.1 \text{ 내지 } 2 \text{ mg/cm}^2$ 피부 범위, 가장 바람직하게는 $0.5 \text{ 내지 } 2 \text{ mg/cm}^2$ 피부 범위 내에서 선택된다.
- [0065] 본 발명의 모든 실시양태에서, 바람직하게는, 상기 조성물은 특히 에스. 아우레우스와 같은 병원성 박테리아에 노출되거나 접촉되기 전 또는 후에 피부에 적용되며, 바람직하게는 그 전에 적용된다.
- [0066] 본 발명에 따른 화장품 또는 피부학적 조성물은 국소 적용을 목적으로 하며, 이는 특히 피부와 같은 각질 물질에 대한 외부 적용을 의미한다.
- [0067] 본 발명에 따른 화장품 또는 피부학적 조성물은 국소 적용을 의도하기 때문에, 이는 생리학적으로 허용되는 매질, 즉 특히 피부와 같은 각질 물질과 상용가능한 매질을 포함한다. 특히 생리학적으로 허용되는 매질은 화장품적으로, 또는 피부학적으로 허용되는 담체이다.
- [0068] 본 명세서에서 사용되는 용어 '화장품적으로 허용되는 담체' 또는 '피부학적으로 허용되는 담체'는 각질 물질과 상용가능한 생리학적으로 허용되는 매질을 지칭한다. 적합한 담체는 당업계에서 잘 알려져 있으며, 최종-사용 응용 분야에 기초하여 선택된다. 바람직하게는, 본 발명의 담체는 피부에 적용하기에 적합하다(예: 선스크린, 크림, 밀크, 로션, 마스크, 세럼, 수분산액, 파운데이션, 크림, 크림겔 또는 겔 등). 이러한 담체는 당업자에게 널리 공지되어 있으며, 피부에 적용하기에 적합한 하나 이상의 상용성 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 첨가제 또는 비히클을 포함할 수 있다. 담체의 정확한 양은 활성제(들) 또는 활성 블렌드의 수준, 및 당업자가 담체와 구별하여 분류할 수 있는 기타 임의적 성분(예컨대, 기타 활성 성분)의 수준에 따라 달라진다. 본 발명의 조성물은, 바람직하게는, 화장품 조성물의 약 70 중량% 내지 약 99.999 중량%, 더욱 바람직하게는 약 85 중량% 내지 약 99.99 중량%, 더더욱 바람직하게는 90 중량% 내지 약 99 중량%, 가장 바람직하게는 약 93 중량% 내지 약 98 중량%의 담체를 포함한다.
- [0069] 이러한 담체는 해당 기술 분야의 통상의 기술자에게 잘 알려져 있으며 피부에 적용하기에 적합한 하나 이상의 호환 가능한 액체 또는 고체 충전제 희석제, 부형제, 첨가제 또는 운반체를 포함할 수 있다. 담체의 정확한 양은 활성제(들), 활성 블렌드 및 해당 기술 분야의 통상의 기술자가 담체와 구별되는 것으로 분류할 수 있는 기타 선택적 성분(예: 다른 활성 성분)의 수준에 따라 달라진다. 본 발명의 화장품 조성물은 바람직하게는 화장품 조성물의 중량 기준으로 약 70% 내지 약 99.999%, 더욱 바람직하게는 약 85% 내지 약 99.99%, 훨씬 더 바람직하게는 90% 내지 약 99%, 가장 바람직하게는 약 93% 내지 약 98%의 담체를 포함한다.
- [0070] 본 발명의 화장품 조성물은, 크림, 왁스, 페이스트, 로션, 밀크, 무스, 겔, 오일, 토닉 및 스프레이를 포함한 광범위한 제품 유형으로 제형화될 수 있다. 바람직하게는 활성제(들), 또는 활성 블렌드는 로션, 크림, 겔 및 토닉으로 제형화된다. 이러한 제품 형태는 몇몇 응용 분야, 예컨대, 비제한적으로, 핸드 로션, 바디 로션, 얼굴 보습제, 노화 방지 제제, 메이크업, 예컨대 파운데이션에 사용될 수 있다. 이러한 제품을 제형화하는데 필요한 임의의 추가 성분은 제품 유형에 따라 다르며, 당업자가 관행적으로 선택할 수 있다.
- [0071] 본 발명에 따른 적합한 조성물은 리브-온(leave-on) 또는 린스-오프(rinse-off) 제품이며, 인체에 적용되는 임의의 제품을 포함한다. 본 발명의 모든 실시양태에서 리브-온 제품이 바람직하다.
- [0072] 본 명세서에서 사용되는 린스-오프 및 리브-온은 2009년 11월 30일 화장품 제품(리캐스트(recast))에 관한 유럽 의회 및 이사회 규정(EC) 번호 1223/2009에 따라 정의되고, 즉 화장품 제품 또는 조성물은 인간 대상의 피부, 머리카락 또는 점막에 적용 후 제거되도록 의도된 경우 린스-오프 제품 또는 조성물이고, 피부, 머리카락 또는

점막과 장시간 접촉하도록 의도된 경우 리브-온 제품이다.

- [0073] 본 발명의 화장품 또는 피부학적 조성물을 에어로졸 형태로 제형화하여 스프레이-온 제품으로 피부에 적용되는 경우, 화장품 조성물에 추진제가 첨가된다.
- [0074] 본 발명에 따른 화장품 또는 피부학적 조성물은, 예를 들어, 본 발명에 따른 활성제 또는 활성 블렌드를 화장품 적으로 허용되는 담체와 혼합하는 것과 같은 당해 분야의 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0075] 본 발명의 화장품 또는 피부학적 조성물(담체 포함)은, 추가적인 통상적인 보조제 및 첨가제, 예컨대 방부제/산화방지제, 지방 물질/오일, 물, 유기 용매, 실리콘, 증점제, 연화제, 에멀전화제, 소포제, 미용 성분, 예컨대 향료, 계면활성제, 필러, 음이온성, 양이온성, 비이온성 또는 양쪽성(amphoteric) 중합체 또는 이들의 혼합물, 추진제, 산성화 또는 염기성화제, 염료, 색소(coloring)/착색제, 연마제, 흡수제, 킬레이트화제 및/또는 봉쇄제(sequestering agent), 에센셜 오일, 피부 감각제(sensate), 수렴제(astringent), 안료 또는 이러한 화장품 또는 피부학적 조성물 내로 일반적으로 제형화되는 임의의 기타 성분을 포함할 수 있다.
- [0076] 본 발명에 따르면, 본 발명에 따른 화장품 또는 피부학적 조성물은 또한 화장품 및/또는 피부학적 조성물에서 통상적으로 사용되는 추가의 화장품 활성 성분을 포함할 수 있다. 예시적인 활성 성분에는 피부 미백제; UV 필터, 과색소 침착 처리제; 염증 예방 또는 감소제; 탄력(firming), 보습, 진정 및/또는 활력 제제, 및 탄성(elasticity) 및 피부 장벽을 개선하는 제제가 포함된다.
- [0077] 본 발명의 화장품 또는 피부학적 조성물에 사용하기에 적합하고 스킨 케어 산업에서 통상적으로 사용되는 화장품용 또는 피부학적 부형제, 희석제, 보조제, 첨가제 및 활성 성분의 예는, 예를 들어 문헌[the International Cosmetic Ingredient Dictionary & Handbook by Personal Care Product Council (<http://www.personalcarecouncil.org/>), accessible by the online INFO BASE (<http://online.personalcarecouncil.org/jsp/Home.jsp>)]에 기술되어 있지만, 이에 국한되지는 않는다.
- [0078] 추가 활성 성분 및 부형제, 희석제, 보조제, 첨가제 등의 필요한 양은 원하는 제품 형태와 응용 분야에 기초하여 당업자가 쉽게 결정할 수 있다. 추가 성분은 유성 상, 수성 상에 첨가되거나 또는 적절하다고 생각되는 경우 별도로 첨가될 수 있다.
- [0079] 본원에서 유용한 추가의 화장품용 활성 성분은, 몇몇 경우, 하나 초과를 제공할지, 또는 하나 초과를 작용 모드를 통해 작용할 수 있다.
- [0080] 물론, 당업자는, 본 발명에 따른 조합물과 본질적으로 연관된 유리한 특성이, 구상된 첨가물 또는 첨가물들에 의해 부정적인 영향을 받지 않거나 또는 실질적으로 해로운 영향을 받지 않도록, 상기 언급된 임의적인 추가 성분, 보조제, 희석제 및 첨가제 및/또는 이들의 양을 신중하게 선택할 것이다.
- [0081] 본 발명에 따른 화장품 또는 피부학적 조성물은 용매 또는 지방 물질 중의 현탁액 또는 분산액 형태일 수 있으며, 또는 대안적으로, 에멀전 또는 마이크로 에멀전(특히 수중유(O/W) 또는 유중수(W/O) 유형, 수중실리콘(Si/W) 또는 실리콘중수(W/Si) 유형), PIT 에멀전, 다중 에멀전(예: 유중수중유(O/W/O) 또는 수중유중수(W/O/W) 유형), 피커링 에멀전, 하이드로 겔, 알코올 겔, 리포겔, 단일 또는 다중상 용액 또는 소포(vesicular) 분산액 또는 기타 통상적인 형태일 수 있으며, 이들은 펜에 의해, 또는 마스크 또는 스프레이로서 적용될 수 있다.
- [0082] 화장품 또는 피부학적 조성물이 에멀전, 특히 O/W, W/O, Si/W, W/Si, O/W/O, W/O/W 다중 또는 피커링 에멀전인 경우, 이러한 화장품 또는 피부학적 에멀전 중에 존재하는 유성 상의 양은, 화장품 또는 피부학적 조성물의 총 중량을 기준으로 바람직하게는 적어도 10 중량%, 예를 들어 10 내지 60 중량%의 범위, 바람직하게는 15 내지 50 중량%의 범위, 가장 바람직하게는 15 내지 40 중량%의 범위이다.
- [0083] 일 실시양태에서, 본 발명에 따른 화장품 또는 피부학적 조성물은 유리하게는 O/W 에멀전화제의 존재 하에 수성 상에 분산된 유성 상을 포함하는 수중유(O/W) 에멀전의 형태이다. 이러한 O/W 에멀전의 제조는 당업자에게 잘 알려져 있다.
- [0084] 본 발명에 따른 화장품 또는 피부학적 조성물이 O/W 에멀전인 경우, 이는 유리하게는, 글리세릴 스테아레이트 시트레이트, 글리세릴 스테아레이트 SE(자가-에멀전화), 스테아르산, 스테아르산의 염 및 폴리글리세릴-3-메틸 글리코사이드스테아레이트의 목록으로부터 선택된 적어도 하나의 O/W 또는 Si/W 에멀전화제를 함유한다. 다른 적합한 에멀전화제는 포스페이트 에스터 및 이의 염, 예를 들어 세틸 포스페이트(예컨대, 디에스엠 뉴트리셔널 프라덕츠 리미티드(DSM Nutritional Products Ltd.)로부터의 앰피솔(Amphisol)® A), 다이에탄올아민 세틸 포스페이트(예컨대, 디에스엠 뉴트리셔널 프라덕츠 리미티드로부터의 앰피솔® DEA), 칼륨 세틸 포스페이트(예컨대,

대, 디에스엠 뉴트리셔널 프라덕츠 리미티드로부터의 앰피솔® K), 나트륨 세테아릴 설페이트, 나트륨 글리세릴 올레에이트 포스페이트, 수소화된 식물성 글리세라이드 포스페이트 및 이들의 혼합물이다. 다른 적합한 에멀전 화제는 소르비탄 올레에이트, 소르비탄 세스퀴올레에이트, 소르비탄 이소스테아레이트, 소르비탄 트라이올레에이트, 세테아릴 글루코사이드, 라우릴 글루코사이드, 데실 글루코사이드, 나트륨 스테아로일 글루타메이트, 수크로스 폴리스테아레이트 및 수화된 폴리이소부텐이다. 또한, 하나 이상의 합성 중합체가 에멀전화제로서 사용될 수 있다. 예를 들어, PVP 아이코센 공중합체, 아크릴레이트/C10-30 알킬 아크릴레이트 교차-중합체 및 이들의 혼합물이다.

[0085] 적어도 하나의 O/W, 또는 Si/W 에멀전화제는 화장품 또는 피부학적 조성물의 총 중량을 기준으로 바람직하게는 0.5 내지 10 중량%, 특히 0.5 내지 6 중량% 범위, 더욱 특히 0.5 내지 5 중량% 범위, 가장 특히 1 내지 4 중량% 범위로 사용된다.

[0086] 본 발명에 따른 화장품 또는 피부학적 조성물에 사용하기에 특히 적합한 O/W 에멀전화제는 포스페이트 에스터 에멀전화제, 예를 들어, 유리하게는, C₈₋₁₀ 알킬 에틸 포스페이트, C₉₋₁₅ 알킬 포스페이트, 세테아레스-2 포스페이트, 세테아레스-5 포스페이트, 세테스-8 포스페이트, 세테스-10 포스페이트, 세틸 포스페이트, C₆₋₁₀ 파레스-4 포스페이트, C₁₂₋₁₅ 파레스-2 포스페이트, C₁₂₋₁₅ 파레스-3 포스페이트, DEA-세테아레스-2 포스페이트, DEA-세틸 포스페이트, DEA-올레스-3 포스페이트, 칼륨 세틸 포스페이트, 데세스-4 포스페이트, 데세스-6 포스페이트 및 트라이라우레스-4 포스페이트를 포함한다.

[0087] 본 발명에 따른 화장품 또는 피부학적 조성물에 사용하기에 특히 적합한 O/W 에멀전화제는 칼륨 세틸 포스페이트(예를 들어, 디에스엠 뉴트리셔널 프라덕츠 리미티드(스위스 카이저아우그스트 소재)로부터 앰피솔® K로서 시판됨)이다.

[0088] O/W 에멀전화제의 또 다른 특히 적합한 부류는, 예를 들어, (INCI 명칭) 세테아릴 올리베이트와 소르비탄 올리베이트(화학적 조성: 올리브 오일 지방산의 소르비탄 에스터와 세테아릴 에스터)로 공지되고 상품명 OLIVEM 1000 하에 판매되는, 올리브 오일로부터 유도된 비이온성 자가-에멀전화 시스템이다.

[0089] 하나의 특정 실시양태에서, 본 발명은, O/W 에멀전화제의 존재 하에 수성 상에 분산된 유성 상을 포함하는 O/W 에멀전 형태이고, 본원에 제시된 모든 정의 및 바람직한 사항을 갖는 화장품 또는 피부학적 조성물에 관한 것이며, 여기서 상기 O/W 에멀전화제는 칼륨 세틸 포스페이트이다. 상기 O/W 에멀전 중의 유성 상의 양은 바람직하게는 적어도 10 중량%, 더욱 바람직하게는 10 내지 60 중량%, 가장 바람직하게는 15 내지 50 중량%, 예를 들어 15 내지 40 중량%이다.

[0090] 본 발명에 따른 화장품 또는 피부학적 조성물은 일반적으로 3 내지 10 범위의 pH, 바람직하게는 4 내지 8 범위의 pH, 가장 바람직하게는 4 내지 7.5 범위의 pH를 갖는다. pH는, 필요한 경우, 적합한 산, 예를 들어 시트르산, 또는 염기, 예를 들어 수산화나트륨(예컨대, 수용액), 트라이에탄올아민(TEA Care), 트로메타민(Trizma Base) 및 아미노메틸 프로판올(AMP-울트라 PC 2000)을 사용하여 당분야의 표준 방법에 따라 쉽게 조정될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0091] 하기 실시예는 본 발명의 효과를 추가로 예시하기 위해 제공된다. 이러한 실시예는 단지 예시를 위한 것이며, 어떤 식으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 의도되지 않는다.

[0092] 실시예

[0093] 이 실험은 에스. 아우레우스 병원성 콜로니화(colonization) 후 사이토케라틴-1의 면역 염색(immunostaining)을 통해 피부 통합성을 평가하여 사이코오스, 만노오스, 프럭토오스 및 글루코오스를 포함하는 당 블렌드의 피부 및 미생물 군집 보호 이점을 조사하도록 설계되었다.

[0094] 시험 물질

[0095] 다음 물질은 3D 피부 조직에 국소적으로 적용되었다:

[0096] · 비히클 대조군(초순수)

[0097] · 당 프리믹스(초순수 중 1%(식물-유래 글루코오스의 이성질체화에 의해 제조됨; 대략적으로 25% 글루코오스,

15% 프럭토오스, 2% 만노오스, 2.5% 사이코오스, 및 50% 물)

방법

1. 3D 피부의 제조

일차(primary) 성인 인간 피부 섬유아세포를 피브린 매트릭스에 매립하여 피부 등가물(dermal equivalent; DE)을 생성했다. DE를 배양하여 섬유아세포가 매트릭스를 재모델링할 수 있도록 했다. 일차 신생아 인간 각질 세포를 DE 표면에 적용하여 48시간 동안 액체에서 배양했다. 3D 피부는 층상 표피(stratified epidermis)가 형성될 때까지 공기-액체 계면에서 배양했다. 모든 배양의 배양 조건은 37°C, 5%(v/v) CO₂, >95% RH였다.

2. 테스트 절차

3D 피부는 전체 연구 동안 깊은 웰 플레이트에 보관했다. 유지 배지(maintenance medium)는 공생 컨소시엄으로 콜로니화 당일에 교체했다.

2.1. 쿠틀박테리움 아크네스 NCTC 737은 Reinforced Clostridial Agar Medium을 사용하여 37°C에서 5일 동안 혐기성으로 배양되었다.

2.2. Staphylococcus epidermidis NCTC 11047 및 코리네박테리움 스트리아툼 NCTC 764는 각각 Mueller-Hinton Agar 및 Aerobic Corynebacteria Agar를 사용하여 18-24시간 동안 호기성으로 배양되었다.

2.3. 접종 완충액 GS25를 사용하여, 상기에서 언급한 배양물(culture)의 박테리아를 사용하여 각 박테리아 약 1.1 x 10⁶ cfu mL⁻¹을 포함하는 초기 접종 혼합물(3xMix Consortium)을 제조했다.

2.4. 10 µL의 초기 접종물을 사용하여 각 3D 피부 단위를 10⁴ cfu cm⁻²의 박테리아로 콜로니화했다.

2.5. 3D 피부는 37°C, 5% (v/v) CO₂에서 >95% RH에서 약 2시간 동안 인큐베이션되었다(3D 피부 표면이 건조될 때까지).

2.6. 콜로니화된 3D 피부 단위는 각 테스트 항목 10 µL 또는 비히클 대조군으로 처리되었다.

2.7. 3D 피부는 37°C, 5% (v/v) CO₂에서 >95% RH에서 약 24시간 동안 인큐베이션되었다.

2.8. 3D 피부가 3xMix로 콜로니화된 같은 날, 스태필로코쿠스 아우레우스 균주 NCTC 13435는 Mueller-Hinton Agar에서 37°C에서 18-24시간 동안 호기성으로 배양되었다.

2.9. 상기에서 언급한 스태필로코쿠스 아우레우스 유형 균주 NCTC 13435의 하룻밤 배양물에서 수득된 박테리아를 사용하여 완충액 GS25에서 박테리아 현탁액 스톱을 제조했다.

2.10. 이전에 3xMix의 1x10⁴ cfu/cm²로 콜로니화된 3D 피부는 10² cfu/cm²의 에스. 아우레우스로 감염되었다.

2.11. 콜로니화된 3D 피부는 약 48시간 동안 >95% RH에서 5% (v/v) CO₂에서 37°C에서 인큐베이션되었다.

테스트 항목을 사용한 72시간 후-처리 후, 조직을 10% 중성 완충 포르말린에 고정하고, 처리하고, 파라핀 매립하고, 절편화(section)했다. 조직에서 사이토케라틴-1 발현을 확인하기 위해 면역조직화학염색 및 염색 정량화를 수행했다(3개 테스트 샘플: 미처리, 비히클 대조군 및 당 프리믹스).

결과(조직학): 사이토케라틴 발현 대 미처리

	비히클 대조군	당 프리믹스
사이토케라틴-1 발현 대 미처리	3%	71%
비히클 대조군에 대한 델타	-	+68%

결과에 따르면, 1%의 당의 블렌드가, 썬. 아크네스, 에스. 에피더미디스, 썬. 스트리아툼 및 에스. 아우레우스가 콜로니화된 진피 섬유아세포에서, 비히클 대조군으로만 처리된 샘플에서 수득된 발현과 비교하여 사이토케라틴-1의 조직 발현을 68% 증가시켰다.