



- (51) 국제특허분류:
A61K 8/46 (2006.01) A61Q 19/02 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2016/000865
- (22) 국제출원일: 2016년 1월 27일 (27.01.2016)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2015-0025144 2015년 2월 23일 (23.02.2015) KR
- (71) 출원인: 주식회사 아모레퍼시픽 (AMOREPACIFIC CORPORATION) [KR/KR]; 04542 서울시 중구 청계천로 100, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 한지원 (HAN, Ji Won); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920, Gyeonggi-do (KR). 권민정 (KWON, Min Jung); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920, Gyeonggi-do (KR). 박원석 (PARK, Won Seok); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920, Gyeonggi-do (KR). 고현주 (KO, Hyun Ju); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920, Gyeonggi-do (KR). 아영창 (AH, Young Chang); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920, Gyeonggi-do (KR). 김혁 (KIM, Hyuk); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920, Gyeonggi-do (KR).

Hyuk); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920, Gyeonggi-do (KR). 조성연 (CHO, Sung Yeon); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920, Gyeonggi-do (KR). 홍성우 (HONG, Soung Woo); 17074 경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920, Gyeonggi-do (KR).

(74) 대리인: 윤동열 (YOON, Dong Yol); 08502 서울시 금천구 가산디지털1로 226 에이스 하이엔드타워 5차 3층 윤앤리 특허 법률 사무소, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

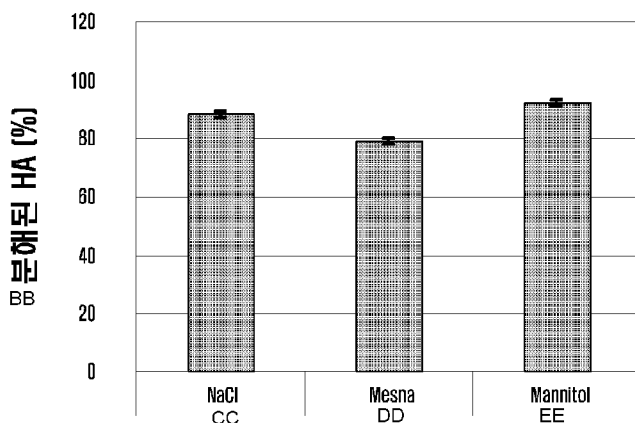
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: HYALURONIC ACID DECOMPOSITION INHIBITOR CONTAINING SODIUM 2-MERCAPTOETHANESURFONATE, AND COMPOSITION COMPRISING SAME

(54) 발명의 명칭 : 소듐 2-메르캅토에탄 설포네이트를 함유하는 히알루론산의 분해억제제 및 이를 포함하는 조성물

효소분해저항성 시험 AA



AA ... Test for resistance to enzyme decomposition
BB ... Decomposed HA (%)
CC ... NaCl
DD ... Mesna
EE ... Mannitol

(57) Abstract: The present invention relates to a composition for inhibiting the decomposition of hyaluronic acid or a derivative thereof and, more specifically, to a composition for inhibiting the decomposition of hyaluronic acid or a derivative thereof, the composition having improved resistance to hyaluronidase activity by containing sodium 2-mercaptoethanesulfonate, and a composition for injection into the body or cosmetic surgery, containing the composition for decomposition inhibition and hyaluronic acid or a derivative thereof, particularly a composition for biological tissue repair.

(57) 요약서: 본 발명은 히알루론산 또는 이의 유도체의 분해를 저해시키는 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 소듐 2-메르캅토에탄 설포네이트를 함유함으로써 히알루로니다제 활성에 대한 저항성이 증가된, 히알루론산 또는 이의 유도체의 분해억제용 조성물, 및 상기 분해억제용 조성물과 히알루론산 또는 이의 유도체를 함유하는 생체투여 또는 미용성형용 조성물, 특히 생체 조직 수복용 조성물에 관한 것이다.



ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, **공개:**

MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,

GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

명세서

발명의 명칭: 소듐 2-메르캅토에탄 설포네이트를 함유하는 히알루론산의 분해억제제 및 이를 포함하는 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 히알루론산 또는 이의 유도체의 분해를 저해시키는 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 소듐 2-메르캅토에탄 설포네이트를 함유함으로써 히알루로니다제 활성에 대한 저항성이 증가된 히알루론산 또는 이의 유도체의 분해억제제, 및 상기 분해억제제와 히알루론산 또는 이의 유도체를 함유하는 생체투여 또는 미용성형용 조성물, 특히 생체 조직 수복용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 히알루론산은 아미노산과 우론산으로 이루어지는 복잡한 다당류의 하나로, N-아세틸글루코사민과 글루쿠론산이 교대로 사슬 모양으로 결합한 분자량이 20만~40만 되는 고분자 화합물이다. 세포외기질의 주 구성성분으로서 수분 보유, 세포간 간격 유지, 세포성장인자 및 영양성분의 저장 및 확산에 관여할 뿐만 아니라, 세포의 분열과 분화, 이동 등에 관여한다. 히알루론산은 동물의 유리체, 관절액, 연골, 피부 등에 많이 존재하는 성분으로 많은 양의 물과 결합하여 겔 상태가 되어 관절의 윤활작용이나 피부의 유연성 등에 관여하며 점성이 크므로 세균의 침입이나 독물의 피부 침투를 막는 데에도 중요한 역할을 한다.
- [3] 상기 히알루론산은 모든 살아있는 유기체에 자연상태로 존재하는 성분으로 포유류의 체내에 존재하는 히알루론산의 50% 이상이 피부, 특히 표피의 세포간 간격과 진피의 결체 조직에 분포한다고 보고되었고, 이러한 히알루론산은 주로 각질형성세포와 섬유아세포에 의해 합성되는 것으로 알려졌다. 히알루론산은 피부를 탄력 있게 하고 피부 손상 시에 피부 하층부의 손상을 줄여주는 역할을 한다. 그리고 중요한 콜라겐이 세포 사이로의 움직임을 원활하게 하여 주며, 뼈나 관절의 움직임을 원활하게 하도록 윤활유와 같은 역할을 한다. 히알루론산은 또한 외부에서의 박테리아와 같은 물질의 침투를 예방하여 주어 피부 감염과 같은 질병을 예방하여 주는 역할을 한다.
- [4] 나이가 들면서 피부에 있는 히알루론산의 양이 감소하게 되고 생산 능력도 줄어들게 되는데 보통 18세 전후에 가장 높아 아름답고 볼륨 있는 모습이 되며 그 이후부터는 감소한다고 알려져 있다. 이처럼, 인간의 피부에서 히알루론산의 양은 노화와 함께 감소되는데, 이것이 노화에 따른 피부 탄력 저하 및 수분 함유량 감소의 직접적인 원인 중 하나이다.
- [5] 한편, 소듐 2-메르캅토에탄 설포네이트는 사이클로포스파미드 및 이포스파미드를 수반하는 항암 요법에서 애주번트로서 사용되는 유기 황

화합물로서, 사이클로포스파미드 및 이포스파미드의 사용에 따른 출혈성
방광염 및 혈뇨의 발생율을 낮추기 위한 약물로서 주로 사용되어 왔다. 또한,
미국 특허공개 2014-142063호는 소듐 2-메르캅토에탄 설포네이트와 같은 티올
첨가제가 하이드로겔의 형성 과정을 촉진하고, 형성된 하이드로겔 분해를
촉진함을 기술하고 있으나, 소듐 2-메르캅토에탄 설포네이트가 피부 또는 피부
조직 내에서 어떻게 작용하는지에 대하여는 구체적으로 밝혀져 있지 않다.

[6] 기존에 히알루론산 분해를 방지하기 위하여, 히알루론산 필러를 구성하는 겔과
졸의 비율을 조정함으로써 히알루론산 분해를 늦추는 방법이 있었으나, 이러한
방법으로는 히알루론산 분해를 효과적으로 막는데 한계가 있었다.

[7] 또한, 프랑스 Vivacy사에서 개발한 스타일에이지 필러는 항산화제인 만니톨을
첨가하여 활성 산소를 억제함으로써 히알루론산의 분해를 늦출 수 있다고
알려져 있으나, 이에 대한 구체적인 작용 기작은 규명되어 있지 아니하며,
게다가 만니톨과 같은 항산화제를 이용한 활성 산소 억제는 히알루론산의
분해를 직접적으로 억제할 수 있는 방법이라고 볼 수 없다.

[8] [선행기술문헌]

[9] [특허문헌]

[10] 1. 한국 특허공개 10-2011-0057895호(2011년 6월 1일 공개)

[11] 2. 미국 특허공개 2014-142063호(2014년 5월 22일 공개)

[12] 3. 한국 특허공개 제10-2013-0132503(2013.12.04 공개)

[13] 4. 한국 특허공개 제10-2004-0020789(2004.03.09 공개)

[14] [비특허문헌]

[15] 1. 김미숙 외, 히알루론산 유도체의 생체재료 응용, Biomaterials Research (2008)
12(3):83-95

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[16] 본 발명자들은 히알루론산 또는 이의 유도체의 양(조성물 중의 잔존량) 및/또는
수명을 증가시킬 수 있는 접근법으로서, 히알루로니다제에 의한 히알루론산
또는 이의 유도체의 분해를 방지할 수 있는 물질을 찾고자 하였으며, 놀랍게도
소듐 2-메르캅토에탄 설포네이트가 히알루로니다제에 대한 저항성을 부여할 수
있음을 발견하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

[17] 따라서, 본 발명은 소듐 2-메르캅토에탄 설포네이트를 사용함으로써
히알루로니다제에 대한 저항성을 가지는 조성물을 제공하는 것을 목적으로
한다.

과제 해결 수단

[18] 상기한 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 소듐 2-메르캅토에탄
설포네이트(sodium 2-mercaptoethane sulfonate)를 유효성분으로 함유하는,
히알루론산 또는 이의 유도체의 분해억제제를 제공한다.

[19] 또한, 본 발명은 소듐 2-메르캅토에탄 설프네이트(sodium 2-mercaptoethane sulfonate)를 유효성분으로 함유하는, 히알루론산 또는 이의 유도체의 분해억제용 조성물을 제공한다.

[20] 또한, 본 발명은 상기 분해억제제와 히알루론산 또는 이의 유도체를 함유하는 생체투여 또는 미용성형용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[21] 본 발명의 히알루론산 또는 이의 유도체의 분해억제제는 소듐 2-메르캅토에탄 설프네이트를 함유함으로써 히알루로니다제에 의한 히알루론산 분해에 대하여 증가된 저항성을 가지게 되며, 따라서 피부 또는 피부 조직 내 히알루론산 또는 이의 유도체의 감소를 방지하고, 또한 노화에 따른 피부 탄력 저하 및 수분 함유량 감소를 효과적으로 억제할 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 소듐 2-메르캅토에탄 설프네이트와 히알루론산을 함유함으로써 효과적으로 피부 볼륨을 증가시키고 이를 장기간 유지시킬 수 있어 우수한 생체 조직 수복 효과를 제공한다.

도면의 간단한 설명

[22] 도 1은 히알루로니다제에 의한 히알루론산의 분해에 대한 저항성을 측정한 결과를 나타낸다.

[23] 도 2는 MESNA의 농도별 세포 독성을 측정한 결과를 나타낸다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[24] 본 발명은 히알루로니다제에 의한 히알루론산의 분해를 억제할 수 있는 조성물에 관한 것으로서, 구체적으로는 소듐 2-메르캅토에탄 설프네이트(sodium 2-mercaptoethane sulfonate)를 유효성분으로 함유하는 히알루론산 또는 이의 유도체의 분해억제제에 관한 것이다.

[25] 또한, 본 발명은 소듐 2-메르캅토에탄 설프네이트(sodium 2-mercaptoethane sulfonate)를 유효성분으로 함유하는, 히알루론산 또는 이의 유도체의 분해억제용 조성물을 제공한다.

[26] 또한, 본 발명은 상기 분해억제제 또는 분해억제용 조성물과 생분해성 고분자, 바람직하게는 히알루론산 또는 이의 유도체를 함유하는 조성물, 특히 생체투여 또는 미용성형용 조성물, 바람직하게는 생체 조직 수복용 조성물에 관한 것이다.

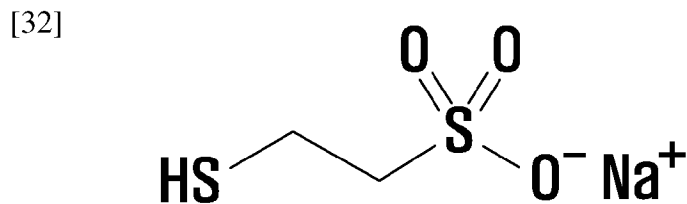
[27] 본원에 있어서, “생분해성 고분자”는 생체에 삽입시 체내에서 분해가 가능한 물질을 말하며, 그 예로는 히알루론산, 콜라겐, 알부민, 키토산 등과 같은 천연 고분자, 폴리글리콜리드, 폴리락티드, 폴리하이드록시말레이트 등과 같은 폴리에스테르 계열의 합성 고분자가 있다.

[28] 본원에 있어서, 히알루론산의 유도체로는 그 종류가 특별히 한정되는 것은 아니지만, 히알루론산-콜라겐 복합체, 히알루론산-폴리카르복실산 함유 천연고분자 복합체, 히알루론산-키토산 복합체, 히알루론산 기반의 블렌드(예를 들어, 폴리비닐알코올 또는 폴리아크릴산과 히알루론산의 블렌드), 그래프트

히알루론산 공중합체(김미숙 외, 히알루론산 유도체의 생체재료 응용, Biomaterials Research (2008) 12(3):83-95 참조) 등을 포함한다.

- [29] 본 발명의 조성물에는 2-메르캅토에탄 설포네이트 및 이의 염이 포함되며, 바람직하게는 2-메르캅토에탄 설포네이트의 금속염이 사용될 수 있다. 또한, 상기 금속염을 형성하는 금속 이온으로는 그 종류가 특별히 한정되는 것은 아니지만, 소듐, 칼륨, 리튬, 칼슘, 마그네슘 등을 포함하며, 특히 바람직하게 소듐 양이온이 사용된다.
- [30] 본 발명에서 사용되는 소듐 2-메르캅토에탄 설포네이트는 하기 화학식 1로 표현되는 화합물로서, 2-메르캅토에탄 설포네이트 Na(2-mercaptoethane sulfonate Na) 또는 간략히 MESNA라고 지칭된다(이하, “MESNA”로 지칭함).

[31] [화학식 1]



- [33] 본 발명의 조성물은 2-메르캅토에탄 설포네이트 및 이의 염, 바람직하게는 MESNA를 조성물 총 중량에 대하여 0.0001~20중량%, 바람직하게는 0.0005~15중량%, 더 바람직하게는 0.001~10중량%, 보다 더 바람직하게는 0.005~2중량%, 훨씬 더 바람직하게는 0.01~1.5중량%의 양으로 함유한다. 0.0001중량% 미만이면 원하는 효능을 얻을 수 없으며, 피부에 대한 자극 및 다른 성분과의 배합을 고려할 때 20중량%를 초과하는 것은 적절하지 않다.
- [34] 또한, 본 발명의 생체투여용 조성물이 주사제 또는 필러 등과 같은 액체 형태의 비경구 투여제로 제형화될 경우에는, 최종 생성물의 삼투압이 생체투여에 적합한 삼투압 범위, 즉 인체 내부의 삼투압과 동일한 250~350mOsm, 바람직하게는 300~350mOsm의 범위가 되도록 2-메르캅토에탄 설포네이트 및 이의 염, 바람직하게는 MESNA를 포함시키는 것이 좋다. 이러한 삼투압 범위를 고려하면, 액체 형태의 비경구 투여제에 있어서 2-메르캅토에탄 설포네이트 및 이의 염, 바람직하게는 MESNA는 조성물 부피 1ml 당 0.0001~100mg, 바람직하게는 0.001~20mg, 더 바람직하게는 조성물 부피 1ml 당 0.001~15mg의 양으로 포함될 수 있다.
- [35] 본 발명에 따르면, 2-메르캅토에탄 설포네이트 및 이의 염, 바람직하게는 MESNA는 효소, 특히 히알루로니다제의 활성화에 의한 히알루론산 또는 이의 유도체의 분해를 억제함으로써 피부의 보습력과 피부 탄력 및 볼륨이 저하되는 것을 효과적으로 방지할 수 있으며, 나아가 피부 노화를 방지하는 효과를 나타낸다.
- [36] 또한, 본 발명에 따라서 2-메르캅토에탄 설포네이트 및 이의 염, 바람직하게는 MESNA를 유효성분으로 포함하는 조성물은 상기 효과와 더불어 피부 미백

효과도 나타낼 수 있다.

- [37] 본 발명의 생체투여용 조성물은 생분해성 고분자, 바람직하게는 히알루론산 또는 이의 유도체를 조성물 총 중량에 대하여 0.001~90중량%, 바람직하게는 0.005~70중량%, 더 바람직하게는 0.01~50중량%의 양으로 함유한다.
- [38] 이와 같이, 히알루론산과 MESNA를 함께 사용하게 되면, 히알루론산의 분해를 억제함과 동시에 세포 내에 히알루론산을 보유하는 시간을 현저하게 증가시키게 되어 피부의 보습력과 탄력을 증진시키는 것은 물론, 피부의 볼륨을 증가시키는 데에도 도움이 되며, 나아가 피부 노화 개선에도 탁월한 효과를 얻을 수 있다.
- [39] 또한, 본 발명에 따른 조성물, 특히 바람직하게는 MESNA를 함유하는 조성물, 보다 바람직하게는 히알루론산과 MESNA를 모두 함유하는 조성물을 주사제 또는 필러 등과 같은 액체 형태의 비경구 투여제로서 눈 밑, 볼, 이마, 코 등과 같이 피부 조직의 볼륨을 증가시키기를 원하는 부위에 적용하게 되면, 우수한 피부 수복 효과를 얻을 수 있을 뿐만 아니라, 상기 효과를 보다 장기간 동안 유지시킬 수 있다.
- [40] 또한, 본 발명은 2-메르캅토에탄 설포네이트 및 이의 염, 바람직하게는 MESNA를 이용함으로써 히알루론산의 분해를 억제하는 방법을 제공한다.
- [41] 본 발명의 조성물은 또한 피부 외용제 조성물, 특히 화장품 조성물로서 제형화될 수 있으며, 화장품학 또는 피부과학적으로 허용 가능한 매질 또는 기제를 함유하여 제형화될 수 있다. 이는 국소적용에 적합한 모든 제형으로서, 예를 들면, 용액, 젤, 고체, 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 마이크로에멀전, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는 이온형(리포솜) 및 비이온형의 소낭 분산제의 형태로, 또는 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실 스틱의 형태로 제공될 수 있다. 또한 폼(foam)의 형태로 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로도 사용될 수 있다.
- [42] 본 발명의 조성물은 얼굴, 특히 눈 주위, 입 주위, 뺨, 또는 이마 부위, 목, 손, 발 등에 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 구체적으로 유연화장수(스킨로션 및 밀크로션), 영양화장수, 에센스, 영양크림, 마사지크림, 팩, 젤, 에센스, 아이크림, 아이에센스, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 파우더, 보디 로션, 보디 크림, 보디오일 및 보디 에센스로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 제형으로 제조될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들 조성물은 당해 분야의 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있다.
- [43] 또한 본 발명에 의한 조성물은 지방 물질, 유기용매, 용해제, 농축제, 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질 소낭 또는 화장품에 통상적으로 사용되는 임의의 다른

성분과 같은 화장품학 또는 피부과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 상기 보조제는 화장품학 또는 피부과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입된다.

[44] 또한, 본 발명의 화장료 조성물은 효과를 증가시키기 위하여 피부 흡수 촉진 물질을 함유할 수 있다.

[45] 또한, 본 발명의 조성물은 약학 조성물로서 제형화될 수 있다. 본 발명에 따른 조성물을 의약품에 적용할 경우에는, 본 발명에서 사용되는 유효성분에 상용되는 무기 또는 유기 담체를 가하여 반고체 또는 액상의 형태로 비경구 투여제로 제형화할 수 있으며, 본 발명에 따른 상기 약학 조성물은 비경구, 직장, 국소, 경피, 정맥 내, 근육 내, 복강 내, 피하 등으로 투여될 수 있다.

[46] 상기 비경구 투여를 위한 제형으로는 주사제, 필러, 점적제, 연고, 로션, 스프레이, 현탁제, 유제, 좌제 등을 들 수 있다. 본 발명에 따른 조성물은 당업계에 널리 알려진 통상적인 방법에 따라 실시함으로써, 유효성분을 용이하게 제형화할 수 있으며, 이 때 계면활성제, 부형제, 착색료, 향신료, 보존료, 안정제, 완충제, 현탁제, 기타 상용하는 보조제를 적당히 사용할 수 있다.

[47] 특히, 본 발명의 조성물이 주사제, 필러 등의 형태로 제형화될 경우, 프리필드 시린지(prefilled syringe), 바이알(vial) 등으로 제형화될 수 있다.

[48] 본 발명의 약학 조성물의 유효 성분의 투여 용량은 투여받을 대상의 연령, 성별, 체중, 병리 상태 및 그 심각도, 투여 경로 또는 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 적당한 용량의 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 이의 1일 투여 용량은 예를 들어 0.1mg/kg/일 내지 100mg/kg/일, 보다 구체적으로는 5mg/kg/일 내지 50mg/kg/일이 될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

발명의 실시를 위한 형태

[49] 이하, 시험예 및 제형예를 들어 본 발명의 구성 및 효과를 보다 구체적으로 설명한다. 그러나 이들 시험예 및 제형예는 본 발명에 대한 이해를 돕기 위해 예시의 목적으로만 제공된 것일 뿐 본 발명의 범주 및 범위가 하기 예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[50]

[51] [시험예 1] 히알루론산 분해에 대한 저항성 평가

[52] 1. 시료

[53] 효소 분해 저항성 시험을 위하여 실시예 1 및 비교예 1 내지 2의 시험 시료를 준비하였다. 이 때, 실시예 1, 비교예 1 및 2는 히알루로니다제의 분해 저항성 물질 후보군으로서 각각 MESNA, NaCl 및 만니톨 중 1종을 시험 물질로 사용하였고, 시험 물질을 포함하는 졸(sol) 상태의 액체와 히알루론산(HA)을 포함하는 겔(gel) 상태의 액체로 구성하였으며, 졸과 겔을 6:4의 부피 비율로 혼합한 것을 시료로 사용하였다. 구체적인 조성은 하기 표 1과 같으며, Gel로

사용한 히알루론산 물질에 대해서는 하기에 구체적으로 기재하였다.

[54] 표 1

[Table 1]

(총 부피가 3mL인 경우)

구분	성분	실시예 1	비교예 1	비교예 2
줄(1.8mL)	¹⁾ 인산염 버퍼 10mM	1.8mL	1.8mL	1.8mL
	²⁾ 리도카인	9mg	9mg	9mg
	³⁾ MESNA	45mg	-	-
	³⁾ NaCl	-	23.7mg	-
	³⁾ 만니톨	-	-	144mg
HA 겔	⁴⁾ 히알루론산	1.2mL	1.2mL	1.2mL

[55] 1) 인산염 버퍼 10mM

[56] = 인산수소나트륨 탈수물(Sodium phosphate monobasic dehydrate) 0.49g

[57] + 인산수소이나트륨 탈수물(Sodium phosphate dibasic dehydrate) 2.45g

[58] + 증류수 1L

[59] 2) 리도카인: 0.3%의 농도가 되도록 첨가함

[60] 3) 인체 내부의 삼투압이 250~350mOsm이므로, MESNA, NaCl 및 만니톨을 최종 삼투압이 300mOsm이 되도록 사용함.

[61] - MESNA: Jiangsu Hengrui Medicin.Co., 배치 번호 642130904

[62] - NaCl: Samchun chemical, 로트 080207

[63] - 만니톨: Sigma, 로트 31K0003

[64] 4) 히알루론산:

[65] 소듐 히알루로네이트 섬유(NaHA, Mw = 0.5 내지 3MDa) 1g을 10g의 1% 수산화나트륨 용액과 혼합하고, 혼합물을 5시간 동안 수화되도록 두었다.

여기에 150mg의 1,4-부탄다이올 다이글리시딜 에테르를 NaHA 겔에 첨가하여 혼합물을 균일하게 혼합하고, 생성된 가교결합된 하이드로겔을 동물량의 염산(HCl)으로 중화하였으며, 이를 PBS(pH 약 7) 중에서 팽창시켰다. 이렇게 하여 얻어진 하이드로겔을 기계적으로 균질화하고, 이를 실시예 및 비교예의 제조에 사용하였다.

[66]

[67] 2. 시험 프로토콜

[68] 1) 전처리

[69] 실시예 1, 비교예 1 내지 2의 시료를 15ml 튜브에 각각 0.1ml씩 정밀하게 정량하여 넣었다. 인산염 버퍼(pH 7.0, 10mM PBS, NaCl 0.8%, 이하 'PBS'라 함)에 히알루로니다제를 녹여서 100 IU/ml이 되도록 만들고(1500 IU/15 ml), 상기 100

IU/ml인 히알루로니다제 용액을 각 시료별로 하기 표 2와 같이 투여하고, PBS를 더하여 총 1 ml이 되도록 하였다.

[70] 표 2

[Table 2]

	대상시료	시료 함량(ml)	요구되는 효소 양(IU, 50IU/HA mg)	효소 용액량 (ml)
실시예1	HA 겔 + MESNA/PB 버퍼 (HA 13.2mg/mL)	0.1	26.4 IU	264 μ L, PBS 636 μ L
비교예1	HA 겔+ NaCl/PB 버퍼 (HA 13.2mg/mL)	0.1	26.4 IU	264 μ L, PBS 636 μ L
비교예2	HA 겔 + 만니톨/PB 버퍼 (HA13.2mg/mL)	0.1	26.4 IU	264 μ L, PBS 636 μ L

[71] 2) 처리

[72] 실시예 1, 비교예 1 내지 2 각각의 시료에 효소 용액을 투입한 후, 37°C, 80rpm에서 30분간 반응시켰다. 각 시료에 HCl 0.1N 용액 1ml씩을 투입하고, 10초간 강력하게 교반을 실시하여 반응을 정지시켰다. 교반 완료 후, 0.1N NaOH 1ml와 PBS를 모든 시료에 각각 더하여 총 4ml가 되도록 중화하였다. 4ml로 만들어진 용액은 기공 직경이 0.2 μ m인 막으로 거른 다음, 냉장보관하였다.

[73]

[74] 3. 정량 - 카르바졸 분석

[75] 카르바졸과 반응시켜 글루쿠론산 함량을 측정하였다. 구체적으로, 실시예 1, 비교예 1 또는 비교예 2를 0.170g씩 정밀하게 측정하고 이를 각각 물에 용해시켜 100g의 수용액을 만들었으며, 상기 수용액 10g을 정밀하게 측정하고 여기에 물을 넣어 정확하게 200g으로 한 다음, 이를 검액으로 하여, 실시예 1, 비교예 1 내지 2를 각각 포함하는 3종의 검액을 제조하였다. 감압에서 향량으로 건조한 D-글루쿠론산 약 0.1g을 정밀하게 측정하고 여기에 물을 넣어 정확하게 100g의 수용액을 만들고, 상기 수용액 일정량에 물을 넣어 수용액 1g 중 글루쿠론산을 각각 6.5 μ g, 16.3 μ g, 32.5 μ g, 48.8 μ g 및 65 μ g을 함유하는 용액 5종을 만들어 표준액으로 하였다. 시험관 25개를 준비하여 1~25로 표시하고 얼음물에 넣었다. 상기 5종의 표준액 1.0mL씩을 각 농도에 대하여 3회 취하여 시험관에 넣어 표준액시험관(1~15)으로 한 다음 3종의 검액을 각 1.0mL씩 3회 취하여 9개의 시험관에 넣어 검액시험관(16~24)으로 하였다. 마지막 시험관에는 물만 넣어 공시험액시험관(25)으로 하였다. 각 시험관에 새로 만든 0.95w/v% 붕사의 황산 용액을 5mL씩 넣어 플라스틱 마개로 기밀하게 막고 흔들어 섞은 다음, 수욕에서 15분간 방치한 후 얼음물에서 식혔다. 각 시험관에 0.125w/v% 카르바졸의

에탄올 용액 0.2mL씩을 넣고 마개를 기밀하게 닫고 흔들어 섞은 다음, 15분간 수욕에 방치하고 실온으로 식혔다. 이들 액을 가지고 자외가시부흡광도측정법에 따라 공시험액을 대조로 하여 파장 530nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준액의 평균 흡광도로부터 작성한 검량선(하기 수학적식 1이 이에 해당함)을 써서 검액 중 D-글루쿠론산의 평균농도를 구하였다. 수학적식 1은, 글루쿠론산이 히알루론산나트륨내에 포함된 구조이므로 글루쿠론산을 컨트롤 표준액으로 하여 히알루론산나트륨의 총량을 계산하는 식이며, 건조된 감량을 통해서 분해된 히알루론산의 백분율을 산정할 수 있다.

[76] 수학적식 1

$$\text{히알루론산나트륨 } [(C_{14}H_{20}NNaO_{11})_n] \text{의 양(\%)} = - \frac{C_g}{C_s} \times Z \times \frac{100}{100 - h} \times \frac{401.3}{194.1}$$

[77] Cs: 검액들 중 실시예 1, 비교예 1 또는 비교예 2의 평균 농도(mg/g)

[78] Z: D-글루쿠론산의 함량(%)

[79] h: 건조감량(%)

[80] 401.3: 이당류(히알루론산)의 상대분자량

[81] 194.1: 글루쿠론산의 상대분자량

[82]

[83] 상기 수학적식 1에 따라서 구한 잔존 히알루론산나트륨의 양을 기초로 분해된 히알루론산의 백분율을 산정하였으며, 이에 대한 결과는 도 1에 나타내었다.

[84] 도 1을 보면, 30분간 효소 처리한 결과 시험 물질, 즉 MESNA, NaCl 또는 만니톨을 포함하는 실시예 1, 비교예 1 및 2의 시료의 경우, 모두 어느 정도 히알루로니다제에 의한 히알루론산 분해에 저항성을 나타내기는 하지만, 히알루론산 분해율이 비교예 1의 경우에는 88%이고, 비교예 2의 경우에는 92%인 것으로 나타나 히알루로니다제에 의한 히알루론산 분해에 대한 저항성 정도가 미약한 수준인 반면, 실시예 1의 경우는 히알루론산 분해율이 79% 정도로서 히알루론산의 분해가 상당히 저해되었다는 것을 확인할 수 있다.

[85] 이는 MESNA가 히알루로니다제의 분해 활성화에 대하여 높은 저항성을 나타내어, MESNA를 혼합한 경우에는 히알루론산이 히알루로니다제에 의해 분해되는 것을 효과적으로 억제할 수 있다는 것을 시사한다.

[86]

[87] [시험예 2] MESNA에 대한 안전성 평가 - Melan a 세포에서의 세포독성 평가

[88] MESNA의 안전성을 검증하기 위하여, Melan a 세포에서 시험 물질의 투여량에 따른 세포독성을 평가하였다.

[89] 하기 표 3에서 나타낸 바와 같이 MESNA를 농도별로 세포배양 배지(RPMI media(Gibco), 10% 소태아혈청(Fetal Bovine Serum; Gibco), 1% 페니실린 스트렙토마이신(Gibco) 포함)에 희석하여 세포독성 테스트를 진행하였다.

세포독성 테스트는 Cell Counting Kit-8(CCK8 kit; Dojindo)를 사용해서
 진행되었다. 구체적인 평가방법은 다음과 같다.

[90] CCK8 시약과 세포배양 배지를 1:10의 부피 비율로 섞어서, 세포가 자라고 있는
 48웰에 500 μ l씩 넣고 37°C 5% CO₂ 인큐베이터에서 세포를 1시간 반 동안
 배양하였다. 배양 후 배지만 걷어서 O.D값(synergy2, Biotek Instruments, Inc.)을
 450nm에서 측정하였다.

[91] 아무것도 처리하지 않은 그룹 1의 O.D값을 100%로 하고, 이에 대비한 나머지
 그룹의 O.D값을 변환 계산하였다. 대비값이 80% 이상인 경우 독성이 없다고
 판단하였다. 결과는 표 4 및 도 2에 나타내었다.

[92] 표 3

[Table 3]

번호	시험군
그룹 1	배지
그룹 2	MESNA 30 μ M + 배지
그룹 3	MESNA 100 μ M + 배지
그룹 4	MESNA 300 μ M + 배지
그룹 5	MESNA 900 μ M + 배지

[93] 표 4

[Table 4]

MESNA 농도	세포 독성(%)
0 μ M	100
30 μ M	97.58
100 μ M	96.34
300 μ M	99.65
900 μ M	97.55

[94] 상기 표 4 및 도 2에 나타낸 바와 같이, 평가한 모든 그룹에서 세포독성은
 나타나지 않았다. 따라서 이로부터 MESNA는 부작용이 없는 안전한 물질임을
 확인할 수 있다.

[95]

[96] [참고예 1] 제형예 1 및 비교제형예 1~2의 제조

[97] 하기 표 5의 구성에 따라서 제형예 1 및 비교제형예 1~2를 제조하였다(단위:
 중량%).

[98] 표 5

[Table 5]

	원료명	제형 예 1	비교 제형 예 1	비교 제형 예 2
수 상 성 분	1	MESNA	1.5	-
		만니톨	-	1.5
		NaCl	-	1.5
	2	정제수	To 100	To 100
	3	디소듐이디티에이	0.02	0.02
	4	글리세린	5.0	5.0
	5	잔탄검	0.15	0.15
	6	메틸글루세스-20	2.0	2.0
에 탄 올 상 성 분	7	히알루론산	2.0	2.0
	8	암모늄아크릴로일디메틸타우 레이트/브이피코폴리머	0.3	0.3
	9	에탄올	3.0	3.0
	10	하이드로제네이티드캐스터오 일	0.3	0.3
	11	향	0.1	0.1
	12	방부제	0.3	0.3

[99] <제조방법>

[100] (1) 수상성분들(1~8)을 실온에서 균일하게 혼합한다.

[101] (2) 에탄올상 성분들(9~12)을 50~55°C로 가열하여 균일하게 용해 및 혼합한다.

[102] (3) 교반하에 상기 (2)에 상기 (1)을 투입하여 균일하게 가용화한다.

[103]

[104] [시험예 3] 피부 탄력 개선 효과 평가

[105] 본 발명에 따른 조성물의 피부 탄력 개선 효과를 확인하기 위하여, 상기 제형예 1 및 비교제형예 1~2를 이용하여 다음과 같이 시험하였다.

[106] 30~40대 여성 35명을 각각 5명씩 7조로 나누고 각 조에 대하여 각각 상기 제형예 1, 비교제형예 1 또는 비교제형예 2를 매일 2회(아침, 저녁)씩 4주간 안면에 도포하여 하였다. 도포 개시 전과, 도포 후 4주가 경과한 시점에 피부탄력측정기(Cutometer SEM 575, C+K Electronic Co., 독일)를 이용하여 피부

탄력 정도를 측정하여 피부 탄력 개선 효과를 산정하였으며, 그 결과를 하기 표 7에 나타내었다. 표 6의 결과값은 피부 점탄성(viscoelasticity) 성질의 개선 정도를 의미한다.

[107] 표 6

[Table 6]

시험 물질	피부 탄력 개선 효과
제형예 1	0.76±0.10
비교제형예 1	0.50±0.09
비교제형예 2	0.45±0.10

[108] 상기 표 6에 나타난 결과로부터, MESNA를 포함하는 제형예 1의 경우 MESNA를 함유하지 않는 비교제형예 1 및 2에 비하여 152%~168% 정도로 현저하게 우수한 피부 탄력 증진 효과를 나타낸다는 것을 확인할 수 있다.

[109]

[110] [시험예 4] 리프팅 효과의 관능 평가

[111] 본 발명에 따른 조성물의 리프팅 효과를 확인하기 위하여, 상기 제형예 1 및 비교제형예 1~2를 이용하여 다음과 같이 시험하였다.

[112] 피부 처짐으로 고민하는 25~35세의 여성 35명을 각각 5명씩 7조로 나누고 각 조에 대하여 각각 상기 제형예 1, 비교제형예 1 또는 비교제형예 2를 매일 2회(아침, 저녁)씩 4주간 일반적인 화장수와 같은 방법으로 사용하도록 한 후, 사용 개시 후 1주 간격으로 사용자의 피부 리프팅 효능감 정도를 하기의 평가 기준에 따라 설문지를 통해 평가하도록 하였다. 그 결과는 하기 표 7에 나타내었다.

[113] <평가기준>

[114] +++:매우 양호한 개선 효과가 있음

[115] ++:상당한 개선 효과가 있음

[116] +:약간의 개선 효과가 있음

[117] ±:개선 효과는 없으나, 악화되지도 않음

[118] -:개선 효과가 없고, 오히려 악화됨

[119] 표 7

[Table 7]

시험 물질	기간			
	1주	2주	3주	4주
제형예 1	++	++	+++	+++
비교제형예 1	+	+	++	++
비교제형예 2	+	+	+	++

- [120] 상기 표 7에 나타난 결과로부터, MESNA를 포함하는 제형에 1의 경우 MESNA를 함유하지 않는 비교제형에 1 및 2에 비하여 신속하면서 더 우수한 리프팅 효능을 나타낸다는 것을 확인할 수 있다.
- [121]
- [122] [시험예 5] 피부 장벽기능 회복 효과 측정
- [123] 본 발명에 따른 조성물이 피부 손상으로 인해 손상된 피부 장벽기능의 회복에 미치는 효과를 확인하기 위하여, 상기 제형에 1 및 비교제형에 1~2를 이용하여 다음과 같이 시험하였다.
- [124] 성인 남녀 10명의 상박을 테이프 스트리핑(Tape Stripping) 방법을 이용하여 피부 장벽에 손상을 주고 각각 상기 제형에 1, 비교제형에 1 또는 비교제형에 2의 3가지 조성물을 매일 도포하면서 7일 동안 하루에 한번씩 경피 수분손실량(TWEL)의 회복 정도를 Vapometer(Delfin, 핀란드)로 측정 비교하였다. 실험 결과는 하기 표 8에 나타내었다. 표 9의 결과는 장벽 손상 전과 장벽 손상 후의 처리 전 차이를 100% 기준으로 하여 비교한 것이다.
- [125] 표 8
[Table 8]

시험군	TWEL 변화(%)						
	처리전	1일	2일	3일	4일	5일	6일
제형에 1	100	79.9	60.1	31.1	26.4	18.8	15.9
비교제형에 1	100	97.7	87.3	71.6	65.4	51.7	46.6
비교제형에 2	100	96.4	90.5	79.7	70.3	62.4	57.7

- [126] 상기 표 8에 나타난 결과로부터, MESNA를 포함하는 제형에 1의 경우 MESNA를 함유하지 않는 비교제형에 1 및 2에 비하여 빠른 속도로 경피 수분 손실량이 정상으로 돌아오며 장벽 손상이 회복된다는 것을 확인할 수 있다.
- [127]
- [128] [시험예 6] 피부 보습력 증가 효과 측정
- [129] 본 발명에 따른 조성물의 피부 보습 개선 효과를 확인하기 위하여, 상기 제형에 1 및 비교제형에 1~2를 이용하여 다음과 같이 시험하였다.
- [130] 건조 피부로 분류된 40~50 대 성인 남녀 60명을 각각 20명씩 3조로 나누고 각 조에 대하여 각각 상기 제형에 1, 비교제형에 1 또는 비교제형에 2를 매일 2회(아침, 저녁)씩 4주간 안면에 도포하게 하였다. 도포 개시 전과, 도포 후 1주, 2주, 4주 경과한 시점, 그리고 도포를 중지한 2주 경과(총 6주 경과) 후에 항온, 항습 조건(24°C, 상대습도 40%)에서 피부 수분량 측정기(Corneometer CM825, C+K Electronic Co., 독일)로 피부수분량을 측정하였다. 그 결과는 하기 표 9에 나타내었다. 표 9의 결과는 시험 개시 직전에 측정한 피부 수분량 측정기 값을 기준으로 하여 일정 기간 처치한 후의 측정값의 증가분을 백분율로 표시한

것이다.

[131] 표 9

[Table 9]

시험 물질	수분 증가율(%)			
	1주 경과	2주 경과	4주 경과	6주 경과
제형예 1	42	41	43	34
비교제형예 1	31	30	32	16
비교제형예 2	30	32	30	15

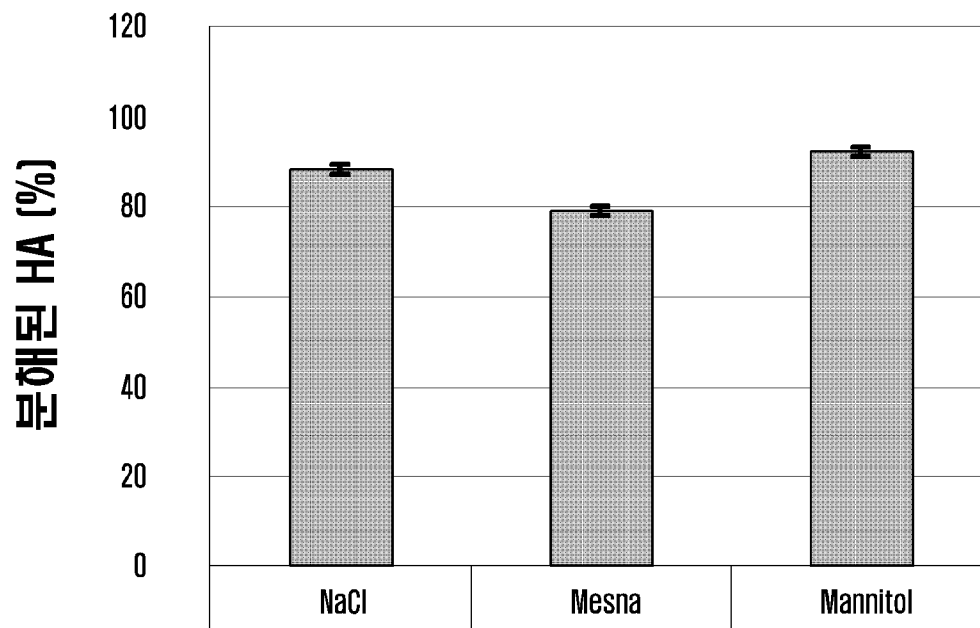
[132] 상기 표 9의 결과를 보면, 비교제형예 1 및 2를 도포한 경우에는 도포가 이루어진 4주까지는 약 30% 정도의 수분 증가율을 보이지만, 도포를 중지한 후에는 피부 수분량이 감소하는 반면, MESNA를 함유한 제형예 1을 도포한 경우에는 도포를 중지한 후에도 30% 이상의 피부 수분 증가율을 보임을 확인할 수 있다. 이를 통해 MESNA를 함유한 조성물은 피부 보습력 개선 효과가 우수함을 알 수 있다.

청구범위

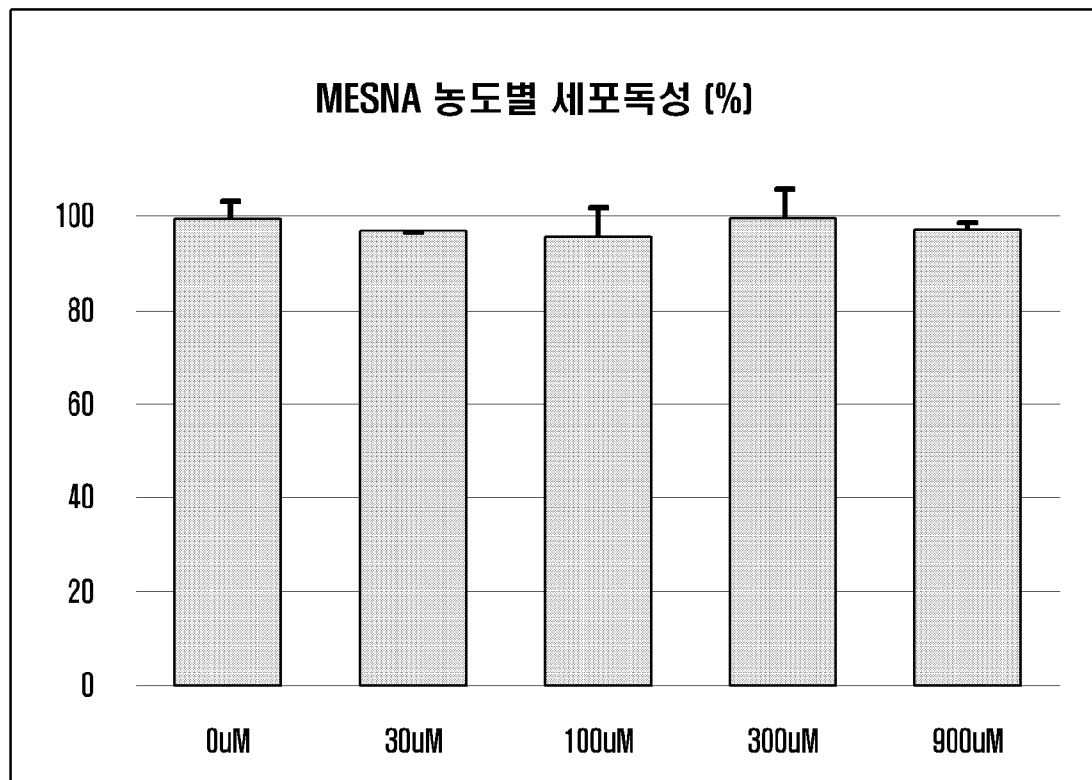
- [청구항 1] 소듐 2-메르캅토에탄 설프네이트(sodium 2-mercaptoethane sulfonate)를 유효성분으로 함유하는, 히알루론산 또는 이의 유도체의 분해억제제.
- [청구항 2] 소듐 2-메르캅토에탄 설프네이트(sodium 2-mercaptoethane sulfonate)를 유효성분으로 함유하는, 히알루론산 또는 이의 유도체의 분해억제용 조성물.
- [청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 소듐 2-메르캅토에탄 설프네이트는 조성물 총 중량에 대하여 0.0001~20중량%의 양으로 함유됨을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 4] 제1항의 분해억제제 또는 제2항의 분해억제용 조성물; 및 히알루론산 또는 이의 유도체를 함유하는 생체투여 또는 미용성형용 조성물.
- [청구항 5] 제4항에 있어서, 상기 조성물은 생체 조직 수복용임을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 6] 제4항에 있어서, 상기 조성물은 피부 보습용임을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 7] 제4항에 있어서, 상기 조성물은 피부 탄력 증진용임을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 8] 제4항에 있어서, 상기 조성물은 피부 주름 개선용임을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 9] 제4항에 있어서, 상기 조성물은 피부 볼륨 증가용임을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 10] 제4항에 있어서, 상기 조성물은 피부 노화 방지용임을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 11] 제4항에 있어서, 상기 조성물은 피부 미백용임을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 12] 제4항에 있어서, 상기 조성물은 피부 외용제의 형태로 제형화됨을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 13] 제1항의 분해억제제 또는 제2항의 분해억제용 조성물; 및 생분해성 고분자를 유효성분으로 함유하는 생체 조직 수복용 프리필드 시린지(prefilled syringe).
- [청구항 14] 제13항에 있어서, 상기 생분해성 고분자는 히알루론산 또는 이의 유도체임을 특징으로 하는, 프리필드 시린지.
- [청구항 15] 제1항의 분해억제제 또는 제2항의 분해억제용 조성물; 및 생분해성 고분자를 유효성분으로 함유하는 생체 조직 수복용 주사제.

- [청구항 16] 제15항에 있어서, 상기 생분해성 고분자는 히알루론산 또는 이의 유도체임을 특징으로 하는, 주사제.
- [청구항 17] 제16항에 있어서, 상기 주사제는 바이알(vial)의 형태로 제형화됨을 특징으로 하는, 주사제.

[Fig. 1]

효소분해저항성 시험

[Fig. 2]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/000865

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 8/46(2006.01)i, A61K 9/00(2006.01)i, A61Q 19/02(2006.01)i, A61Q 19/08(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 8/46; A61K 47/20; A61K 47/34; A61K 31/715; C08G 81/00; A61P 17/00; A61K 9/127; C08B 37/08; A61K 9/00; A61Q 19/02; A61Q 19/08

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Key words: sodium 2-mercaptoethanesulfonate(sodium 2-mercaptoethanesulfonate, MESNA), hyaluronic acid decomposition inhibition, hyaluronidase resistance, biodegradable polymer

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SAGLAM, Beyhan et al., "Protective Effects of 2-Mercaptoethane Sulfonate (mesna) on Protamine Sulfate induced Bladder Damage", Marmara Medical Journal, 2005, vol. 18, no. 1, pages 6-12 See abstract; page 10, right column, line 32-page 11, left column, line 10; page 11, left column, line 40-right column, line 8.	1-17
A	US 2014-0142063 A1 (ACTAMAX SURGICAL MATERIALS, LLC.) 22 May 2014 See abstract; claims 1-2; paragraphs [0082], [0084].	1-17
A	CN 103910886 A (HAINAN UNIVERSITY) 09 July 2014 See abstract; claims 6-9; paragraph [0004].	1-17
A	WO 2009-022430 A1 (KI PHARMACEUTICALS, INC.) 19 February 2009 See abstract; claims 1-3; page 2, lines 5-27; page 17, lines 10-26.	1-17
A	KR 10-2014-0097122 A (ORIGINAL BIOMEDICAL CO., LTD.) 06 August 2014 See abstract; claims 1, 5.	1-17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 MAY 2016 (16.05.2016)

Date of mailing of the international search report

16 MAY 2016 (16.05.2016)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2016/000865

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 2014-0142063 A1	22/05/2014	US 8859705 B2	14/10/2014
CN 103910886 A	09/07/2014	NONE	
WO 2009-022430 A1	19/02/2009	NONE	
KR 10-2014-0097122 A	06/08/2014	AU 2012-394378 A1	12/06/2014
		CA 2851130 A1	22/05/2014
		CN 104114188 A	22/10/2014
		EP 2922573 A1	30/09/2015
		IL 232938 D0	31/07/2014
		IN 937 MUN2014A	04/09/2015
		JP 2015-510503 A	09/04/2015
		US 2015-0290321 A1	15/10/2015
		WO 2014-079020 A1	30/05/2014

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 8/46(2006.01)i, A61K 9/00(2006.01)i, A61Q 19/02(2006.01)i, A61Q 19/08(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 8/46; A61K 47/20; A61K 47/34; A61K 31/715; C08G 81/00; A61P 17/00; A61K 9/127; C08B 37/08; A61K 9/00; A61Q 19/02; A61Q 19/08

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 소듐 2-메르캅토에탄 설퍼네이트(sodium 2-mercaptoethanesulfonate, MESNA), 히알루론산 분해억제, 히알루로니다제 저항성, 생분해성 고분자

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	SAGLAM, BEYHAN 등, 'Protective effects of 2-mercaptoethane sulfonate (mesna) on protamine sulfate induced bladder damage', Marmara Medical Journal, 2005, 18권, 1호, 페이지 6-12 요약; 페이지 10, 우측컬럼, 라인 32 - 페이지 11, 좌측컬럼, 라인 10; 페이지 11, 좌측컬럼, 라인 40 - 우측컬럼, 라인 8 참조.	1-17
A	US 2014-0142063 A1 (ACTAMAX SURGICAL MATERIALS, LLC) 2014.05.22 요약; 청구항 1-2; 단락 [0082], [0084] 참조.	1-17
A	CN 103910886 A (HAINAN UNIVERSITY) 2014.07.09 요약; 청구항 6-9; 단락 [0004] 참조.	1-17
A	WO 2009-022430 A1 (KI PHARMACEUTICALS, INC.) 2009.02.19 요약; 청구항 1-3; 페이지 2, 라인 5-27; 페이지 17, 라인 10-26 참조.	1-17
A	KR 10-2014-0097122 A ((주)오리지널 바이오메디칼스) 2014.08.06 요약; 청구항 1, 5 참조.	1-17

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2016년 05월 16일 (16.05.2016)

국제조사보고서 발송일

2016년 05월 16일 (16.05.2016)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

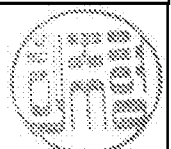
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2014-0142063 A1	2014/05/22	US 8859705 B2	2014/10/14
CN 103910886 A	2014/07/09	없음	
WO 2009-022430 A1	2009/02/19	없음	
KR 10-2014-0097122 A	2014/08/06	AU 2012-394378 A1	2014/06/12
		CA 2851130 A1	2014/05/22
		CN 104114188 A	2014/10/22
		EP 2922573 A1	2015/09/30
		IL 232938 D0	2014/07/31
		IN 937 MUN2014A	2015/09/04
		JP 2015-510503 A	2015/04/09
		US 2015-0290321 A1	2015/10/15
		WO 2014-079020 A1	2014/05/30