(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2024 년 12 월 12 일 (12.12.2024)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2024/253345 A1

(51) 국제특허분류:
A61K 31/7016 (2006.01) *A61P 17/00* (2006.01)
A61K 8/73 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
A61K 8/04 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2024/006400

(22) 국제출원일: 2024 년 5 월 10 일 (10.05.2024)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2023-0074515 2023 년 6 월 9 일 (09.06.2023) KR

(71) 출원인: 성균관대학교산학협력단 (**RESEARCH & BUSINESS FOUNDATION SUNGKYUNKWAN UNIVERSITY**) [KR/KR]; 16419 경기도 수원시 장안구 서부로 2066, Gyeonggi-do (KR).

(72) 발명자: 프레이라 드 브리토아나 소피아 (**PEREIRA DE BRITO, Ana Sofia**); 16419 경기도 수원시 장안구 서부로 2066 성균관대학교 제2공학관 25202B호, Gyeonggi-do (KR). 곤칼베스마르타 알베스 모레이라 (**GONCALVES, Marta Alves Moreira**); 16419 경기도 수원시 장안구 서부로 2066 성균관대학교 제2공학관 25202B호, Gyeonggi-do (KR). 원병묵 (**WEON, Byung-mook**); 16419 경기도 수원시 장안구 서부로 2066 성균관대학교 제2공학관 25229호, Gyeonggi-do (KR).

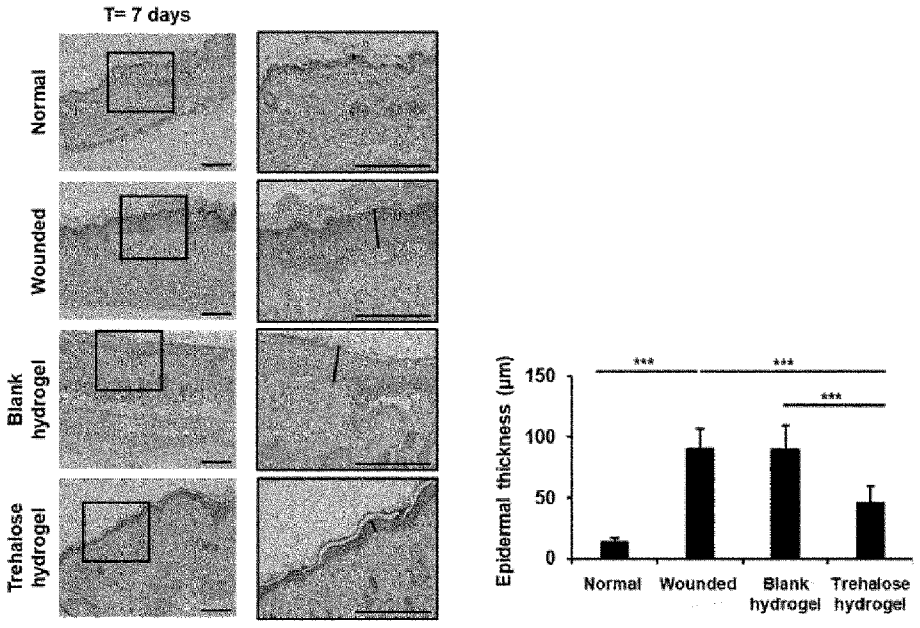
(74) 대리인: 공병욱 (**KONG, Byung Wook**); 08793 서울특별시 관악구 남부순환로 1922, 301호, Seoul (KR).

(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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

WO 2024/253345 A1

(54) **Title:** HYDROGEL COMPOSITION FOR TREATING ATOPIC DERMATITIS COMPRISING NATURAL SUGAR

(54) **발명의 명칭:** 천연당을 포함하는 아토피성 피부염 치료용 하이드로젤 조성물



(57) **Abstract:** The present invention relates to a composition for treating atopic dermatitis, the composition comprising a natural sugar such as trehalose. When a hydrogel which is for treating atopic dermatitis and comprises a natural sugar such as trehalose according to the present invention is used, atopic dermatitis can be alleviated and skin regeneration can be promoted. In addition, the present invention is a therapeutic agent developed on the basis of a natural substance and containing a natural sugar such as trehalose as an active ingredient, and is expected to reduce patients' aversion to the therapeutic agent.

(57) **요약서:** 본 발명은 트레할로스 등 천연당을 포함하는 아토피성 피부염 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 트레할로스 등 천연당을 포함하는 아토피성 피부염 치료용 하이드로젤을 이용하는 경우, 아토피성 피부염을 개선하고, 피부 재생을 촉진할 수 있다. 또한, 본 발명은 트레할로스 등 천연당을 유효성분으로 포함하는 천연물 기반으로 개발된 치료제로, 환자들의 치료제에 대한 거부감을 줄일 수 있을 것으로 기대된다.

[다음 쪽 계속]

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 천연당을 포함하는 아토피성 피부염 치료용 하이드로젤 조성물

기술분야

[1] 본 발명은 대한민국 교육부의 지원 하에서 과제고유번호 1345346852, 과제번호 2019R1A6A1A03033215에 의해 이루어진 것으로서, 상기 과제의 연구관리 전문기관은 한국연구재단, 연구사업명은 “이공학학술연구기반구축”, 연구과제명은 “첨단소재기술연구소”, 주관기관은 성균관대학교, 연구기간은 2022.03.01 ~ 2023.02.28 이다.

[2] 또한, 본 발명은 대한민국 교육부의 지원 하에서 과제고유번호 1345348473, 과제번호 2021R1I1A1A01053991에 의해 이루어진 것으로서, 상기 과제의 연구관리 전문기관은 한국연구재단, 연구사업명은 “이공학학술연구기반구축”, 연구과제명은 “Exosome의 고효율 세포 투과를 위한 NO 플라즈마 코팅 기술 개발”, 주관기관은 아주대학교, 연구기간은 2022.03.01 ~ 2023.02.28 이다.

[3] 본 특허출원은 2023년 6월 09일에 대한민국 특허청에 제출된 대한민국 특허출원 제10-2023-0074515호에 대하여 우선권을 주장하며, 상기 특허출원의 개시사항은 본 명세서에 참조로서 삽입된다.

[4] 본 발명은 천연당을 포함하는 아토피성 피부염 치료용 조성물에 관한 것이다.

[5]

배경기술

[6] 아토피 피부염 (atopic dermatitis)은 흔한 만성 염증성 피부질환으로, 건조하고 민감한 피부가 특징이며, 가려움증, 습진성 병변과 함께 피부가 두꺼워지는 태선화 (lichenification) 현상이 나타난다. 아토피 피부염은 병변 발생의 예측이 어렵고, 빈번하게 재발하는 특징이 있다. 또한, 아토피성 피부염의 유병률은 17세 미만 소아에서 12.3%, 성인에서는 5.1%, 75세 이상 성인에서는 8.7%로 조사되었다.

[7] 아토피 피부염의 주요 치료제로는 국소 스테로이드제, 항염증제 또는 면역억제제가 이용되고 있다. 하지만 주로 사용되는 국소 코르티코스테로이드 (corticosteroid)의 경우, 화끈거림, 가려움증 또는 감염 악화와 같은 부작용이 보고되었다. 또한, 면역억제제를 사용할 경우, 감염의 위험을 증가시키거나, 메스꺼움 또는 구토를 유발할 수 있다.

[8] 상기 치료제의 부작용으로 인해 아토피 피부염 환자들은 치료제에 대한 거부감이 있고, 현재까지 개발된 약물에 대한 반응이 충분하지 않아 아토피 피부염은 치료가 어려운 실정이다. 또한, 최근 들어, 화학 물질의 위험성에 대한 대중의 인식이 높아지고, 인간 친화적인 제품에 대한 시장 수요가 증가하고 있어, 아토피 피부염 치료를 위한 보다 자연스러운 방법이 필요하다.

[9] 자가포식 (autophagy)은 신체 내에 원하지 않는 구성 요소를 리소좀(lysosome)으로 전달하여 분해하거나 재활용하는 생물학적 이화 과정이다. 이러한 자가포식 현상은 세포 내 노화된 물질 및 기관을 분해하고 그 분해산물을 재활용함으로써, 세포가 건강한 상태로 생존할 수 있는 환경을 제공한다. 하지만 아토피 피부염 상태에서 자가포식 기능은 현저하게 저해된다. 따라서, 자가포식을 유도시키는 물질을 개발한다면, 아토피 피부염의 치료 및 개선에 잠재적인 전략이 될 수 있다.

[10] 본 발명자들은 트레할로스를 비롯한 천연당을 이용한 아토피성 피부염 치료제에 대해 연구한 결과, 천연당이 피부 내 자가포식을 자극하여 피부 재생을 개선한다는 것을 확인하였다. 또한, 천연당을 유효성분으로 포함하는 조성물이 아토피성 피부염을 개선하는 것을 확인하여, 아토피성 피부염 치료용 약제학적 조성물로 사용될 수 있음을 규명함으로써, 본 발명을 완성하였다.

[11]

[12] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

[13]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[14] 본 발명자들은 트레할로스 등 천연당을 포함하는 아토피성 피부염 치료용 조성물을 개발하고자 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 트레할로스 등 천연당을 유효성분으로 포함하는 조성물이 아토피성 피부염을 개선하는 것을 확인하여, 아토피성 피부염 치료용 약제학적 조성물로 사용될 수 있음을 규명함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

[15] 따라서, 본 발명의 목적은 천연당을 유효성분으로 포함하는 아토피성 피부염 치료용 약제학적 조성물을 제공하는 것이다.

[16] 본 발명의 다른 목적은 천연당을 유효성분으로 포함하는 아토피성 피부염 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[17] 본 발명의 또 다른 목적은 천연당을 유효성분으로 포함하는 피부 재생용 하이드로젤 조성물을 제공하는 것이다.

[18] 본 발명의 또 다른 목적은 천연당을 유효성분으로 포함하는 하이드로젤의 제조방법을 제공하는 것이다.

[19]

[20] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

[21]

과제 해결 수단

[22] 본 발명자들은 트레할로스 등 천연당을 포함하는 아토피성 피부염 치료용 조성물을 개발하고자 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 트레할로스 등 천연당을 유효성분으로 포함하는 조성물이 아토피성 피부염을 개선하는 것을 확인하여, 아토피성 피부염의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물로 사용될 수 있음을 규명함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

[23] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 천연당을 유효성분으로 포함하는 아토피성 피부염의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.

[24] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 천연당은 트레할로스, 글루코스, 말토스, 수크로스, 이소말토트리오스, 라피노스, 케스토스, 및 말토트리오스로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[25] 본 발명에 있어서, "트레할로스 (trehalose)"는 두 분자의 D-글루코스 (glucose)가 1,1-글리코시드 결합 (1,1-glycosidic bond)를 통해 결합된 비환원성 이당류를 의미한다.

[26] 상기 트레할로스는 두 개의 물 분자를 포함하는 형태로 존재하기 때문에, 물 함유 능력이 좋아 세균, 곰팡이, 곤충 등의 체내에서 합성되고, 건조 및 결빙 등 스트레스 저항에 필수적인 물질로 작용한다. 트레할로스는 수분 보유력이 높아 보습 효과가 있다고 보고되었으며, 화장품 및 의약품의 용도로 이용되고 있다.

[27] 본 발명에서 트레할로스 등 천연당은 화장품 및 의약품에서 사용되는 단순한 부형제가 아닌 아토피 치료 효과에 직접적인 영향을 미치는 유효성분으로 포함된다.

[28] 본 발명에서 사용되는 용어, "유효성분으로 포함하는"은, 상기 트레할로스 등 천연당의 약리학적 효능 또는 활성을 달성하는데 충분한 양을 포함하는 것을 의미하며, 약물의 전달, 안정화 및 제제화를 위하여 다양한 성분이 부가적으로 첨가될 수 있는 것을 포함한다.

[29] 본 발명에 있어서, "아토피성 피부염 (atopic dermatitis)"은 가려움증, 습진과 같은 피부염 및 피부건조증을 주된 증상으로 하는 만성 염증성 피부질환을 의미한다. 피부 건조는 가려움증을 유발하고, 가려움증으로 피부를 긁게 되면 홍반을 동반한 습진성 피부 병변 및 피부가 두꺼워지는 태선화 (lichenification) 현상이 나타난다.

[30] 본 발명에서 사용되는 용어, "치료"는 본 발명에 따른 트레할로스 등 천연당을 유효성분으로 포함하는 조성물의 투여로 아토피성 피부염의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[31] 본 발명의 조성물이 약제학적 조성물로 제공되는 경우, 본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화 함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기내에 내입

시켜 제조될 수 있다. 구체적으로 예를 들어, 상기 부형제로서 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[32] 본 발명의 바람직한 구현예에 의하면, 본 발명의 약제학적 조성물은 피부외용 제형 형태를 갖는다. 상기 피부 외용 제형은 특별히 한정되지 않으나, 젤, 패치, 마이크로니들 패치, 파우더, 연고, 크림, 액체 또는 에어로졸 제형이 바람직하고, 젤 제형, 패치형, 또는 마이크로니들 패치형이 가장 바람직하다.

[33] 본 발명에서 피부외용제형의 젤, 패치, 또는 마이크로니들 패치의 기재로는 알긴산 (alginate), 히알루론산 (hyaluronic acid), 카라기난 (carrageenan), 헤파린 (heparin), 덱스트란 (dextran), 콜라겐 (collagen), 알부민 (albumin), 젤라틴 (gelatin), 키토산 (chitosan), 카보폴 (Carbopol), 카보머 (carbomer), 폴리에틸렌 글라이콜 (polyethylene glycol), 폴리아크릴산 (polyacrylic acid), 카르복시메틸 셀룰로오스 (carboxymethyl cellulose), 하이드록시메틸 셀룰로오스 (hydroxymethyl cellulose), 및 폴리비닐피롤리돈 (polyvinyl pyrrolidone) 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상을 사용할 수 있으며, 바람직하게 알긴산 (alginate), 히알루론산 (hyaluronic acid), 카라기난 (carrageenan), 헤파린 (heparin), 덱스트란 (dextran), 콜라겐 (collagen), 알부민 (albumin), 젤라틴 (gelatin), 및 키토산 (chitosan) 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상을 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[34] 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 유효 성분의 함량, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 한편, 본 발명의 약제학적 조성물의 투여량은 바람직하게는 1일 당 0.001-100 mg/kg(체중)이고, 상술한 투여량의 약제학적 조성물을 적용을 원하는 부위에 대해, 적용 목적에 따라 국소적으로 또는 광범위하게 피부외용 제형의 형태로 적용할 수 있다.

[35] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 조성물은 자가포식 (autophagy)을 유도시킨다.

[36] 본 발명에 있어서, "자가포식 (autophagy)"은, 조절 과정에서 불필요하거나 기능하지 않는 세포 구성 성분을 자연적으로 분해하는 기제를 의미한다. 구체적으로, 세포질의 노폐물, 변성된 단백질 및 기능이 저하된 세포 소기관들이 세포 스스로에 의해 제거되고, 분해된 물질은 세포의 생존에 필요한 에너지를 만들거나 새로운 세포소기관을 생성하는 데 이용된다.

[37] 상기 자가포식은 크게 3단계로 진행된다. 1단계는 자가포식이 유도되는 단계로, 영양 또는 성장인자의 결핍, 또는 저산소 조건에서 mTOR (mechanistic target of rapamycin)가 불활성화되고, ATG1 (autophagy related 1)이 활성화되어 자가포식이 유도된다. 2단계는 자가포식 소포체 (autophagosome)가 형성되는 단계로, LC3 (microtubule associated protein 1 light chain 3 alpha)-I이 절단 및 지질화되어 LC3-II로 전환되고, 자가포식소포체막에 존재하게 된다. 상기 LC3-II는 자가포식 마커로 알려져 있다. 3단계는 상기 자가포식 소포체와 리소좀의 융합(fusion) 단계로, 상기 리소좀에 의해 세포내 소기관이 분해된다.

[38] 본 발명에 있어서, "자가포식 (autophagy) 유도"는 세포내 소기관의 분해를 유도하는 활성으로, (i) ATG를 활성화시키거나, (ii) 자가포식 소포체 형성을 촉진하거나, (iii) 자가포식 소포체 및 리소좀의 융합을 촉진하는 활성을 나타낸다.

[39] 구체적으로, 상기 트레할로스 등 천연당은 자가포식 소포체 형성을 촉진시키는 것을 특징으로 하며, 본 발명에서는 일 실시예에 나타낸 바와 같이, 트레할로스 등 다양한 천연당에 의해 LC3-II의 발현이 증가됨을 확인하였다.

[40] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 본 발명의 조성물은 아토피 피부염으로 인해 두꺼워진 피부의 두께를 감소시킨다.

[41] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 본 발명의 조성물은 H_2O_2 감작에 의해 손상된 피부를 재생시키는 효과가 있으며, 아토피성 피부염 증상이 호전됨을 확인하였다.

[42] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 천연당을 유효성분으로 포함하는 아토피성 피부염의 예방 또는 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[43] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 조성물은 자가포식 (autophagy)을 유도시킨다.

[44] 본 발명에서 사용되는 용어, "개선"은 본 발명에 따른 천연당을 유효성분으로 포함하는 조성물의 투여로 아토피성 피부염 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[45] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 패치, 마이크로니들 패치, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 로션, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

[46] 본 발명의 화장료 조성물은 유효성분 이외에 화장료 제제에 있어서 수용가능한 담체를 포함할 수 있다. 상기 "화장료 제제에 있어서 수용가능한 담체"란 화장료 제제에 포함될 수 있는 것으로 공지되어 사용되며, 유효 성분의 주된 효능을 유의하게 감쇄시키거나, 인체에 대한 부작용을 나타내지 않으면서, 유효 성분의 피부에 대한 적용, 사용자의 사용 편의성 및 선호도를 개선시킬 수 있는 부가 성분을 의미한다.

[47] 상기 담체는 본 발명의 조성물의 전체 중량에 대하여 약 1 중량% 내지 약 99.99 중량%, 바람직하게는 조성물 전체 중량의 약 50 중량% 내지 약 99 중량%로 포함될 수 있다. 그러나 상기 담체의 함량은 화장료의 제형, 구체적인 적용 부위 및 바람직한 적용량 등에 따라 적절하게 조절될 수 있으며, 특별히 제한되지 않는다.

[48] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림, 로션, 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라가칸트 검, 셀룰로오스 유도체, 폴

리에틸렌 글라이콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[49] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토오스, 탈크, 실리카, 알루미늄 하이드록사이드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아마이드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로하이드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[50] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 아이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글라이콜, 1,3-부틸글라이콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글라이콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.

[51] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글라이콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 아이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타하이드록사이드, 벤토나이트, 아가 또는 트라가칸트 검 등이 이용될 수 있다.

[52] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 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 글리세라이드, 지방산 디에탄올아마이드, 식물성유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[53] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분과 담체 성분 이외에, 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 항산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제를 포함할 수 있다.

[54] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 천연당을 유효성분으로 포함하는 피부 재생용 하이드로젤 조성물을 제공한다.

[55] 본 발명에 있어서, "피부 재생"은 피부의 일부분이 소실되었을 경우 그 부분을 보충하거나 피부 세포의 증식을 증진시키는 모든 작용을 의미한다. 따라서, 피부 창상에 대한 치료와 아토피성 피부염 등으로 인한 증상의 개선과 치료를 포함한다.

[56] 본 발명에 있어서, "하이드로젤 (hydrogel)"은 충분한 양의 수분을 보유하고 있는 친수성 고분자의 3차원적 구조를 의미한다. 구체적으로, 물을 분산매로 하는 젤을 의미하며, 하이드로졸이 냉각으로 인해 유동성을 상실하거나 3차원 망목 구조와 미결정 구조를 갖는 친수성 고분자가 물을 함유하여 팽창함으로써 형성될 수 있다. 많은 양의 물이 고분자 물질의 격자 내에 채워져 팽윤되어 삼차원적인 구조를 유지하며, 액체지만 고체와 같은 형태를 띠는 재료를 의미한다.

[57] 하이드로젤은 전체 중량의 적어도 20% 이상의 수분을 흡수할 수 있으며, 하이드로젤이 용액 상에서 팽윤된 후에는 열역학적으로 안정하게 존재하여, 액체와 고체의 중간 형태에 해당하는 기계적 및 물리화학적 특성을 지니게 된다. 하이드로젤은 실제 조직과 비슷한 기계적 유연함을 가지고 있고, 물을 많이 함유하되, 물에 의해 젤의 결합이 끊어지지 않기 때문에, 수분을 포함하는 젖은 생체 표면과의 접착을 필요로 하고 외부 수분에도 저항성을 가지고 있어야 하는 의료용 접착제 등으로의 응용이 활발하게 이루어지고 있다.

[58] 따라서, 본 발명에 따른 하이드로젤은 상처치료제, 약물 전달 담체, 지혈제, 유착방지제 등의 다양한 생의학적 응용이 가능하다. 본 발명의 일 구현예에서는, 아토피성 피부염 치료 및 개선의 목적으로 사용할 수 있는 하이드로젤을 제공한다.

[59] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 조성물은 알긴산, 히알루론산, 카라기난, 헤파린, 덱스트란, 콜라겐, 알부민, 젤라틴 및 키토산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 천연 고분자 물질을 추가적으로 포함한다.

[60] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 천연당의 농도는 1 내지 50 g/L, 1 내지 40 g/L, 1 내지 30 g/L, 5 내지 50 g/L, 5 내지 40 g/L, 5 내지 30 g/L, 10 내지 50 g/L, 10 내지 40 g/L, 10 내지 30 g/L, 15 내지 50 g/L, 15 내지 40 g/L, 15 내지 30 g/L, 20 내지 50 g/L, 20 내지 40 g/L, 20 내지 30 g/L, 25 내지 50 g/L, 25 내지 40 g/L, 25 내지 30 g/L, 1 내지 25 g/L, 5 내지 25 g/L, 10 내지 25 g/L, 15 내지 25 g/L, 20 내지 25 g/L인 것일 수 있으며, 상기 농도 범위는 천연당이 자가포식 활성을 유도할 수 있는 농도 범위를 의미한다.

[61] 본 발명에 따르면, 천연당을 유효성분으로 포함하는 하이드로젤은 자가포식 마커인 LC3을 상향조절시키고, 아토피성 피부염으로 인해 태선화된 피부 두께를 감소시킬 수 있다.

[62] 본 발명에 따른 천연당을 유효성분으로 포함하는 하이드로젤은 아토피 치료 및 개선에 유용하게 사용될 수 있다.

[63] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 하이드로젤 조성물은 온도에 따라 고체, 반고체, 또는 액체 상태로 가역적인 상전이가 일어난다.

[64]

[65] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기 단계를 포함하는 천연당을 유효성분으로 포함하는 하이드로젤의 제조 방법을 제공한다.

[66] (a) 수용성 용매에 천연당과 천연 고분자 물질을 용해 및 균질화시키는 단계;

[67] (b) 균질화된 혼합물을 경화시키는 단계; 및

[68] (c) 하이드로젤을 수득하는 단계.

[69]

[70] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 (a) 단계에서 사용되는 수용성 용매는 천연당 또는 천연 고분자 물질을 녹일 수 있는 모든 수용성 용매가 사용가능하며, 바

람직하게 증류수, PBS, 생리식염수, 기타 정제수를 사용할 수 있고, 가장 바람직하게 증류수를 사용할 수 있다.

[71] 본 발명의 구체적인 구현예에 있어서, 상기 (a) 단계의 천연당 및 천연 고분자 물질은 수용성 용매에 충분히 용해 및 균질화시킨다.

[72] (b) 단계는 천연 고분자 물질과 천연당을 포함하는 균질화된 혼합물에 젤화(gelation)을 위하여 경화시키는 단계이다.

[73] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 경화는 첨가된 천연 고분자 물질의 물성에 따라 자연적으로 건조 및/또는 냉각에 의해 경화되거나, 경화를 위한 경화제를 첨가함으로써 이루어질 수 있다.

[74] 본 발명의 구체적인 일 구현예에 있어서, 상기 (b) 단계에서의 경화제는 Glucono-Delta-Lactone이 사용될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[75] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 (b) 단계에서 경화되는 균질화된 혼합물은 경화 전 가스 제거 과정을 거칠 수 있다.

[76] 상기 균질화된 혼합물로부터 가스를 제거하는 방법으로는 당업계에 알려진 통상적인 방법을 이용해 제거할 수 있으며, 바람직하게 진공챔버를 이용한 가스 제거 방법이 사용될 수 있다.

[77] 본 발명의 구체적인 구현예에 있어서, 상기 가스 제거 과정은 진공챔버 내에서 1분 내지 30분, 5분 내지 30분, 10분 내지 30분, 15분 내지 30분, 20분 내지 30분, 1분 내지 25분, 5분 내지 25분, 10분 내지 25분, 15분 내지 25분, 20분 내지 25분 동안 수행될 수 있다.

[78]

[79] 본 발명에서 사용되는 용어 "경화제"는 단순 첨가, 열 처리 또는 광 조사 등에 의해 고분자를 가교 결합시켜 고상으로 전환시키는 물질 또는 물질들의 조합을 의미한다.

[80] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 천연 고분자 물질은 알긴산, 히알루론산, 카라기난, 헤파린, 덱스트란, 콜라겐, 알부민, 젤라틴 및 키토산으로 이루어진 군에서 선택된다.

[81] 본 발명의 일 양태에 따른 하이드로젤의 제조방법은 상술한 본 발명의 다른 일 양태에 따른 하이드로젤 조성물을 제조하는 방법에 관한 것이므로, 본 발명의 조성물, 또는 방법 등에서 언급된 사항은 서로 모순되지 않는 한, 서로 동일성 범위에서 적용된다. 마찬가지로, 본 발명의 서로 다른 양태의 발명들도 발명의 핵심적인 구성을 서로 공통적으로 포함하므로, 서로 중복되는 내용은 서로 모순되지 않는 한 동일성 범위에서 적용되고, 본 명세서의 복잡성을 피하기 위하여 그 설명을 생략한다.

[82]

발명의 효과

[83] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

[84] (a) 본 발명은 천연당을 유효성분으로 포함하는 아토피성 피부염 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.

[85] (b) 본 발명은 천연당을 유효성분으로 포함하는 아토피성 피부염 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[86] (c) 본 발명은 천연당을 유효성분으로 포함하는 피부 재생용 하이드로젤 조성물을 제공한다.

[87] (d) 본 발명은 천연당을 유효성분으로 포함하는 하이드로젤의 제조 방법을 제공한다.

[88] (e) 본 발명의 천연당을 포함하는 아토피성 피부염 치료용 하이드로젤을 이용하는 경우, 아토피성 피부염을 개선하고, 피부 재생을 촉진할 수 있다. 또한, 본 발명은 천연당을 유효성분으로 포함하는 천연물 기반으로 개발된 치료제로, 환자들의 치료제에 대한 거부감을 줄일 수 있을 것으로 기대된다.

[89]

도면의 간단한 설명

[90] 도 1은 트레할로스 하이드로젤을 제조하는 방법을 도식적으로 나타낸 것이다.

[91] 도 2는 블랭크 하이드로젤과 트레할로스 하이드로젤의 시각적 형태 및 SEM 기반 표면 형상을 보여준다.

[92] 도 3은 아토피성 피부염 마우스 모델에서 트레할로스 하이드로젤의 피부 재생 효과를 나타낸다.

[93] 도 4는 헤마톡실린과 에오신으로 염색된 마우스 피부에서 트레할로스 하이드로젤 및 블랭크 하이드로젤 처리 시, 피부의 병리학적 상태를 나타낸다.

[94] 도 5는 마우스 피부에서 트레할로스 하이드로젤의 자가포식 마커 (LC3)에 미치는 영향을 나타낸다.

[95] 도 6은 트레할로스 농도에 따른 인간섬유아세포에서 자가포식 마커(LC3)의 발현정도를 나타낸 도이다.

[96] 도 7a 내지 도 7c는 트레할로스 뿐만 아니라 다른 다양한 종류의 천연당을 포함하는 하이드로젤의 자가포식 마커 발현에 미치는 영향을 나타낸 도이다.

[97] 도 8a 내지 도 8c는 천연당을 포함하는 하이드로젤 처리에 의한 자가포식의 증가와 그 기전을 확인하는 실험방법의 개요와 결과를 나타낸 도이다.

[98] 도 9a 및 도 9b는 천연당을 포함하는 하이드로젤 처리에 의한 자가포식의 증가와 그 기전을 보다 구체적으로 나타내기 위한 웨스턴 블랏 수행 결과를 나타낸 도이다.

[99]

발명의 실시를 위한 형태

[100] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따

라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[101]

[102] 본 명세서 전체에 걸쳐, 특정 물질의 농도를 나타내기 위하여 사용되는 "%"는 별도의 언급이 없는 경우, 고체/고체는 (중량/중량) %, 고체/액체는 (중량/부피) %, 그리고 액체/액체는 (부피/부피) %이다.

[103]

[104] **실시예**

[105]

[106] **실시예 1: 트레할로스 하이드로젤 제조**

[107] 본 발명자들은 아토피성 피부염 치료용 하이드로젤을 개발하기 위해, 트레할로스를 유효성분으로 포함하는 하이드로젤을 제조하였다.

[108] 구체적으로, 초순수 (Ultra-Pure Water, UPW)가 포함된 비커에 20 g/L의 트레할로스 (#T9531, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 용해하고, 1.5% 알긴산 (중간 점도, #A2033, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 추가하여 용해될 때까지 교반 플레이트에서 혼합하였다. 그 후, 물에 녹인 $CaCO_3$ 용액을 추가하여 혼합물에 용해될 때까지 교반하고, 혼합물이 균질화되면 비이커를 진공 챔버에 20분 동안 넣어 가스를 제거하였다. 가스 제거 후, 물에 녹인 GDL (glucono-δ-lactone, #G4750, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 용액을 추가하고, 스파츌라를 이용하여 트레할로스 하이드로젤 혼합물을 제조하였다. 마지막으로, 액체 상태의 혼합물이 젤 (gel)화되기 전에 PVC 금형으로 빠르게 옮겨준 후, 금형에 부어 젤을 굳혀주었다.

[109] 트레할로스 하이드로젤을 제조하는 방법은 도 1에 도식적으로 나타내었으며, 블랭크 (blank) 하이드로젤과 트레할로스 하이드로젤의 시각적 형태 및 SEM 기반 표면 형상은 도 2에 나타내었다.

[110]

[111] **실시예 2: 아토피성 피부염 마우스 모델에서 트레할로스 하이드로젤의 피부 재생 효과**

[112] 본 발명자들은 아토피성 피부염 마우스 모델에서 트레할로스 하이드로젤이 피부 재생에 미치는 영향을 확인하고자 하였다.

[113] 먼저, 무작위적으로 10주령의 수컷 C57BL/6 마우스를 4개 그룹으로 나누었으며 (n=3/그룹), 나뉘어진 그룹은 다음과 같다: (1) 대조군 (Normal), (2) H_2O_2 감작군 (Wounded), (3) H_2O_2 감작 후, 블랭크 하이드로젤 처리군 (Blank hydrogel), (4) H_2O_2 감작 후, 트레할로스 하이드로젤 처리군 (Trehalose hydrogel). 이 때, H_2O_2 (Junsei Chemical Co., Tokyo, Japan)은 10% 농도로 증류수에 희석하여 사용하였다. 피험동물의 등쪽 피부를 면도한 다음, 3M™ Tegaderm™ 멤브레인 (3M, Saint Paul, MN, USA)과 함께 등쪽 피부에 H_2O_2를 적신 거즈를 24시간 동안 부착하여 H_2O_2를

감작시켰다. 24시간 후, 거즈를 제거하고, 각 그룹에 발생한 상처에 각 하이드로젤 (블랭크 하이드로젤 및 트레할로스 하이드로젤)을 부착하여 총 6일간 치료하였다. H_2O_2 감작군 (Wounded)은 H_2O_2 감작 후 하이드로젤 부착과 같은 후속 치료를 진행하지 않았으며, 하이드로젤의 피부재생 결과는 도 3에 나타내었다.

[114] 도 3에 나타낸 바와 같이, 10% H_2O_2 처리 후, 젤을 부착하지 않은 H_2O_2 감작군 (Wounded)에서는 아토피 피부염과 유사한 상처가 나타났으며, 본 발명의 트레할로스 하이드로젤 처리군에서는 피부염 증상이 현저하게 감소되어 정상적인 피부상태로 호전되어 감을 확인할 수 있었다.

[115] 이러한 결과는, 본 발명의 트레할로스 하이드로젤은 피부 재생을 촉진하여 항아토피 효능을 나타낸다는 것을 보여준다.

[116]

[117] **실시예 3: 아토피성 피부염 마우스 모델에서 트레할로스 하이드로젤의 태선화 저해 효과**

[118] 본 발명자들은 아토피성 피부염 마우스 모델에서 트레할로스 하이드로젤이 태선화에 미치는 영향을 확인하고자 하였다.

[119] 실시예 2에서 얻은 등쪽 피부 조직을 한국비임상기술지원센터 (Seongnam, Gyeonggi-do, Korea)에서 파라핀 매립, 절편화 (4μm 절편) 후 헤마톡실린 & 에오신 (hematoxylin & eosin, H&E) 염색을 진행하였다. 피부 조직 샘플은 올림푸스 BX53 형광 현미경 (Melville, NY, USA)으로 분석하였으며, 각 그룹 간 표피 두께의 유의성은 two-tailed Student's t-tests를 통해 통계 처리하였다. 통계적 유의성은 $*P \leq 0.05$, $**P \leq 0.01$, $***P \leq 0.005$로 설정하였다.

[120] 헤마톡실린 및 에오신으로 염색된 피부의 병리학적 결과는 도 4에 나타내었다.

[121] 도 4에 나타낸 바와 같이, 10% H_2O_2 처리 후, 젤을 부착하지 않은 H_2O_2 감작군 (Wounded)에서는 표피의 두께가 대조군 대비 두꺼워진 것을 확인하였다. 블랭크 하이드로젤 부착 시, 유의미한 표피의 두께 변화는 관찰되지 않았다. 본 발명의 트레할로스 하이드로젤 처리군에서는 H_2O_2로 인해 두꺼워진 표피 두께가 현저하게 감소된 것을 확인할 수 있었다 ($***P \leq 0.005$).

[122] 이러한 결과는, 본 발명의 트레할로스 하이드로젤은 피부가 두꺼워지는 태선화를 억제하여 항아토피 효능을 나타낸다는 것을 보여준다.

[123]

[124] **실시예 4: 아토피성 피부염 마우스 모델에서 트레할로스 하이드로젤의 자가포식마커 상향조절**

[125] 본 발명자들은 아토피성 피부염 마우스 모델에서 트레할로스 하이드로젤이 자가포식에 미치는 영향을 확인하고자 western blot을 진행하였다.

[126] 먼저, 단백질 샘플을 얻기 위해, 실시예 2에서 얻은 블랭크 하이드로젤 처리 그룹 및 트레할로스 하이드로젤 처리 그룹의 등쪽 피부 조직을 1:10000으로 희석한 protease inhibitor cocktail (#539134; Calbiochem, San Diego, CA, USA)이 포함

된 RIPA buffer (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)에 수집하였다. 그 후, 균질기를 이용하여 용해물을 얻고, 13,000 *x g*, 10 min 조건으로 원심분리하여 상층액을 얻었다. 상층액의 총 단백질 농도는 BCA 분석법을 사용하여 측정하였으며, 동일한 양의 상층액을 SDS-PAGE sample buffer (Wako, Tokyo, Japan)과 함께 5분간 가열하여 단백질 로딩 샘플을 제조하였다. 그 후, 5 내지 20% 그래디언트 젤에 단백질 샘플을 로딩하고, 전기영동을 통해 단백질을 크기별로 분리한 후, PVDF membrane에 단백질을 옮겨주었다. Blocking buffer를 이용해 표적하고자 하는 단백질을 제외한 부분을 blocking하고, 표적 단백질에 특이적으로 결합하는 1차 항체인 LC3 (#2775; Cell Signaling Technologies, Danvers, MA, USA) 및 GAPDH (#2118; Cell Signaling Technologies, Danvers, MA, USA)를 희석하여 반응시켰다. Western blot 결과는 도 5에 나타내었다.

[127] 도 5에 나타낸 바와 같이, 블랭크 하이드로젤 그룹 대비 트레할로스 하이드로젤 그룹을 사용한 마우스 피부에서 자가포식 마커인 LC3이 증가된 것을 확인하였다.

[128] 따라서, 이러한 결과는 본 발명의 트레할로스 하이드로젤은 자가포식 LC3를 상향조절하여 항아토피 효능을 나타낸다는 것을 보여준다.

[129]

[130] **실시예 5: 트레할로스의 농도에 따른 인간섬유아세포에서 자가포식마커 상향 조절**

[131] 본 발명자들은 트레할로스 하이드로젤이 트레할로스의 농도에 따라 자가포식에 미치는 영향을 확인하고자 인간섬유아세포에 트레할로스의 농도를 다르게(0, 5, 10, 20 g/L) 한 하이드로젤을 처리하고 실시예 4와 같이 LC3에 대한 western blot을 진행하였다.

[132] 결과는 도 6에 나타내었다.

[133] 도 6에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 트레할로스 하이드로젤의 트레할로스의 함량이 10g/L 이상일 때부터 인간섬유아세포에서 자가포식과 관련된 마커인 LC3의 발현량이 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

[134]

[135] **실시예 6: 천연당을 포함하는 하이드로젤의 자가포식 마커 상향 조절**

[136] 본 발명자들은 트레할로스 뿐만 아니라 다양한 종류(글루코스, 말토스, 수크로스, 이소말토트리오스, 라피노스, 케스토스, 및 말토트리오스)의 천연당을 포함하는 하이드로젤의 자가포식 마커 상향 조절 여부를 확인하기 위하여, 각각의 천연당을 20 (g/L)의 농도를 인간섬유아세포에 처리한 다음, LC3에 대한 western blot을 진행하였다. 결과는 도 7a 및 도 7b에 나타내었다. 도 7a 및 도 7b에 나타낸 바와 같이, 다양한 천연당들은 모두 LC3 II의 발현을 증가시켜 오토파지 활성화를 유도시킨다는 것을 확인하였다.

[137] 또한, LC3에 대한 형광염색 후, 공초점 현미경을 통해 섬유아세포에서 LC3 양성 구조체, 즉 오토파고좀(autophagosome)을 확인하였다. 결과는 도 7c에 나타내

었다. 도 7c에 나타낸 바와 같이, 케스토스를 처리한 세포에서 오토파고좀의 증가가 확인되어 자가포식(autophagy)이 활성화 되었음을 나타낸다.

[138]

[139] **실시예 7: 천연당(트레할로스/라피노스)을 포함하는 하이드로젤 처리에 의한 자가포식 증가의 기전 확인**

[140] 본 발명자들은 천연당(트레할로스/라피노스)을 포함하는 하이드로젤 처리시 자가포식이 증가하는 기전을 밝히기 위하여, 홀로토모그래피 기술을 활용하여 트레할로스/라피노스 하이드로젤, 칼슘 지시약(Fluo-8) 및 칼슘 제거제(EGTA)의 처리 유무에 따른 인간섬유아세포에서의 세포 볼륨의 변화를 확인하였다.

[141] 실험방법 개요와 결과는 도 8a 내지 8c에 나타내었다.

[142] 도 8a에 나타낸 바와 같이, 20 g/L의 트레할로스를 포함하는 트레할로스 하이드로젤의 처리시 삼투압에 의한 세포 볼륨 감소가 확인되었다.

[143] 또한, 도 8b에 나타낸 바와 같이, 20 g/L의 트레할로스를 포함하는 트레할로스 하이드로젤과 20 g/L의 라피노스를 포함하는 라피노스 하이드로젤을 각각 처리한 세포에서 칼슘 지시약 (Fluo-8) 양성 구조물이 증가되었다. 그러나, 이와 같은 칼슘 지시약 (Fluo-8) 양성 구조물은 칼슘 제거제 (EGTA)처리시 감소되었다. 이는 고삼투압이 칼슘 의존적 구조물을 만든다는 것을 의미하는 것이다.

[144]

[145] **실시예 8: 천연당(트레할로스/수크로스)을 포함하는 하이드로젤 처리에 의한 자가포식 증가의 기전 확인**

[146] 본 발명자들은 천연당(트레할로스/수크로스)을 포함하는 하이드로젤 처리시 자가포식이 증가하는 기전을 밝히기 위하여 AMPK, 인산화 AMPK, LC3I, LC3II, ULK1, 및 인산화 ULK1에 대한 웨스턴 블랏을 수행하였다. 특히 칼슘제거제인 EGTA를 처리할 경우와, 칼슘의존적 인산화 효소인 CaMKKβ를 siRNA 처리로 제거할 경우의 결과를 확인하였다.

[147] 결과는 도 9a 및 도 9b에 나타내었다.

[148] 도 9a에 나타낸 바와 같이, 20 g/L의 트레할로스를 포함하는 트레할로스 하이드로젤과 20 g/L의 수크로스를 포함하는 수크로스 하이드로젤을 처리할 경우, LC3II 증가가 확인 되었으나, 칼슘 제거제 (EGTA)를 처리하면 이 현상이 사라지는 것을 확인 하였다. 이는 고삼투압에 의한 오토파지 활성화가 칼슘 의존적임을 보여준다.

[149] 또한, 도 9b에 나타낸 바와 같이, 20 g/L의 트레할로스를 포함하는 트레할로스 하이드로젤 및 20 g/L의 수크로스를 포함하는 수크로스 하이드로젤 처리에 의해 활성화 되는 AMPK-ULK1에 의한 오토파지 증가는, 칼슘의존적인 산화 효소의 siRNA인 siCaMKKβ를 처리하면 사라진다는 것을 확인하였다. 즉, 상기 천연당(트레할로스/수크로스) 하이드로젤의 고삼투압에 의한 오토파지 유도는 CaMKKβ-AMPK-ULK1 경로를 통한다는 것을 알 수 있었다.

[150] 종합하면, 본 발명의 천연당을 포함하는 하이드로젤은 피부에서 고삼투압을 유발하여 체내 세포내 칼슘 시그널을 자극시켜, CaMKKβ-AMPK-ULK1 경로를 통해 오토파지를 유도하고, 이는 오토파지가 감소되어 있는 피부 질환인 "아토피성 피부염 " 를 개선하는데 탁월한 효과가 있음을 알 수 있다.

[151]

[152] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다.

청구범위

[청구항 1] 트레할로스, 글루코스, 말토스, 수크로스, 이소말토트리오스, 라피노스, 케스토스, 및 말토트리오스로 이루어진 군으로부터 선택된 천연당을 유효성분으로 포함하는 아토피성 피부염의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.

[청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 조성물은 자가포식 (autophagy)을 유도시키는 것을 특징으로 하는, 약제학적 조성물.

[청구항 3] 트레할로스, 글루코스, 말토스, 수크로스, 이소말토트리오스, 라피노스, 케스토스, 및 말토트리오스로 이루어진 군으로부터 선택된 천연당을 유효성분으로 포함하는 아토피성 피부염의 예방 또는 개선용 화장료 조성물.

[청구항 4] 트레할로스, 글루코스, 말토스, 수크로스, 이소말토트리오스, 라피노스, 케스토스, 및 말토트리오스로 이루어진 군으로부터 선택된 천연당을 유효성분으로 포함하는 피부 재생용 하이드로젤 조성물.

[청구항 5] 제4항에 있어서, 알긴산, 히알루론산, 카라기난, 헤파린, 덱스트란, 콜라겐, 알부민, 젤라틴 및 키토산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 천연 고분자 물질을 추가로 포함하는 것인, 하이드로젤 조성물.

[청구항 6] 제4항에 있어서, 상기 천연당은 10 내지 50 g/L의 농도인 것을 특징으로 하는, 하이드로젤 조성물.

[청구항 7] 제4항에 있어서, 상기 하이드로젤 조성물은 온도에 따라 고체, 반고체, 또는 액체 상태로 가역적인 상전이가 일어나는 것인, 하이드로젤 조성물.

[청구항 8] 제4항에 있어서, 상기 하이드로젤 조성물은 젤 제형, 패치 제형, 또는 마이크로니들 패치 제형으로 제작되는 것인, 하이드로젤 조성물.

[청구항 9] 다음 단계를 포함하는 트레할로스, 글루코스, 말토스, 수크로스, 이소말토트리오스, 라피노스, 케스토스, 및 말토트리오스로 이루어진 군으로부터 선택된 천연당을 유효성분으로 포함하는 하이드로젤의 제조 방법:

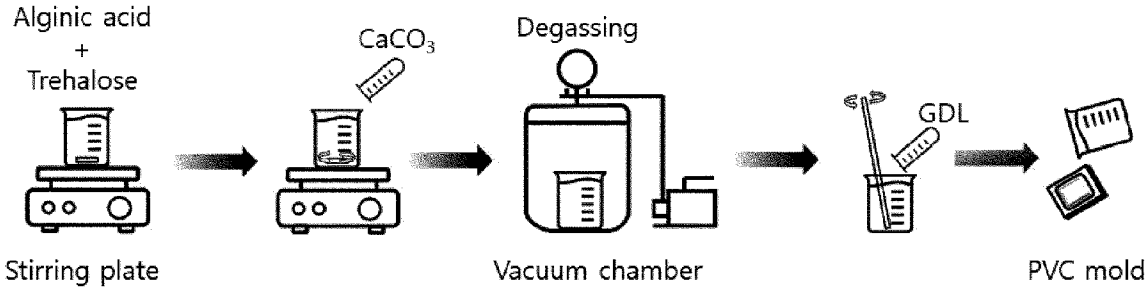
(a) 수용성 용매에 트레할로스, 글루코스, 말토스, 수크로스, 이소말토트리오스, 라피노스, 케스토스, 및 말토트리오스로 이루어진 군으로부터 선택된 천연당과 천연 고분자 물질을 용해 및 균질화시키는 단계;

(b) 균질화된 혼합물을 경화시키는 단계; 및

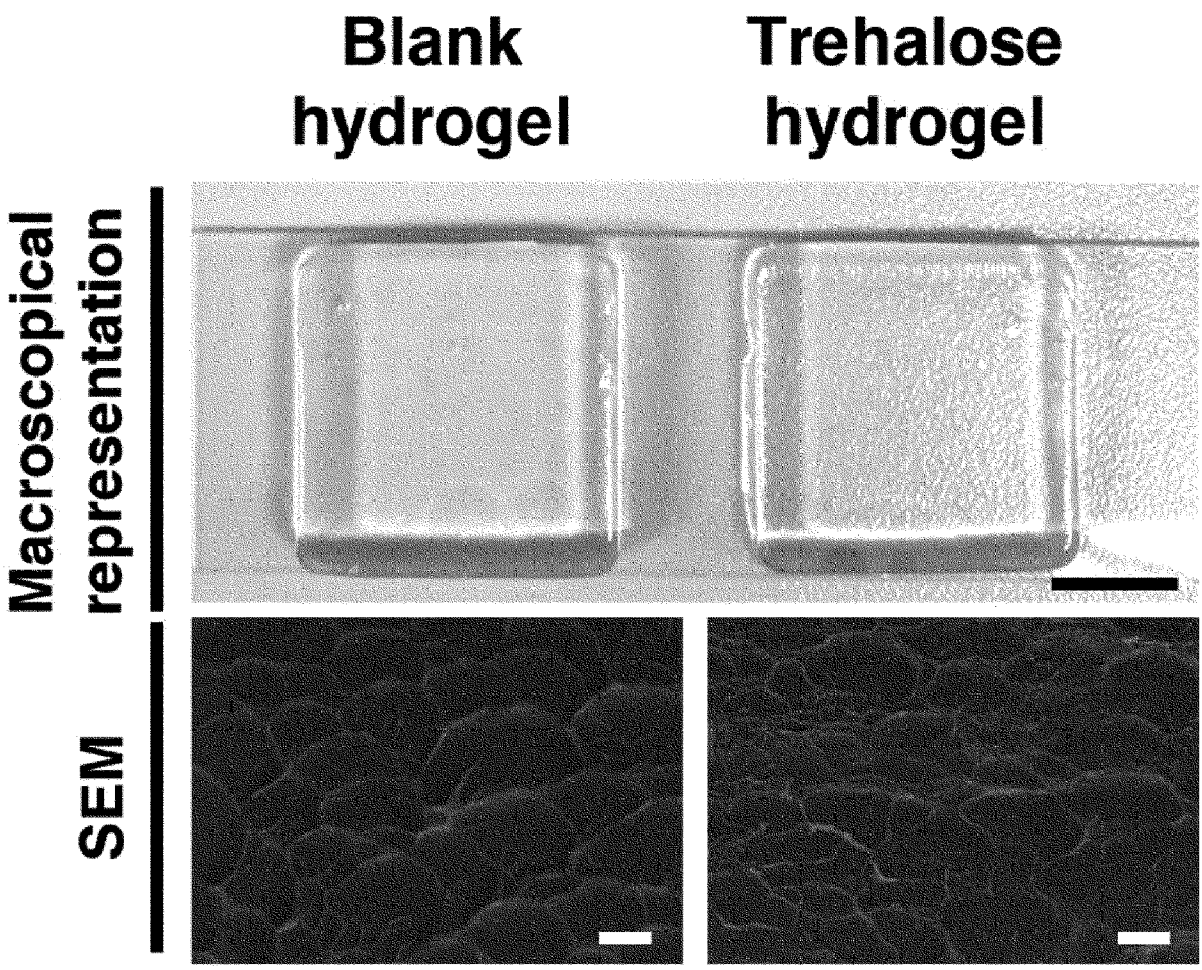
(c) 하이드로젤을 수득하는 단계.

[청구항 10] 제9항에 있어서, 상기 천연 고분자 물질은 알긴산, 히알루론산, 카라기난, 헤파린, 덱스트란, 콜라겐, 알부민, 젤라틴 및 키토산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인, 하이드로젤의 제조 방법.

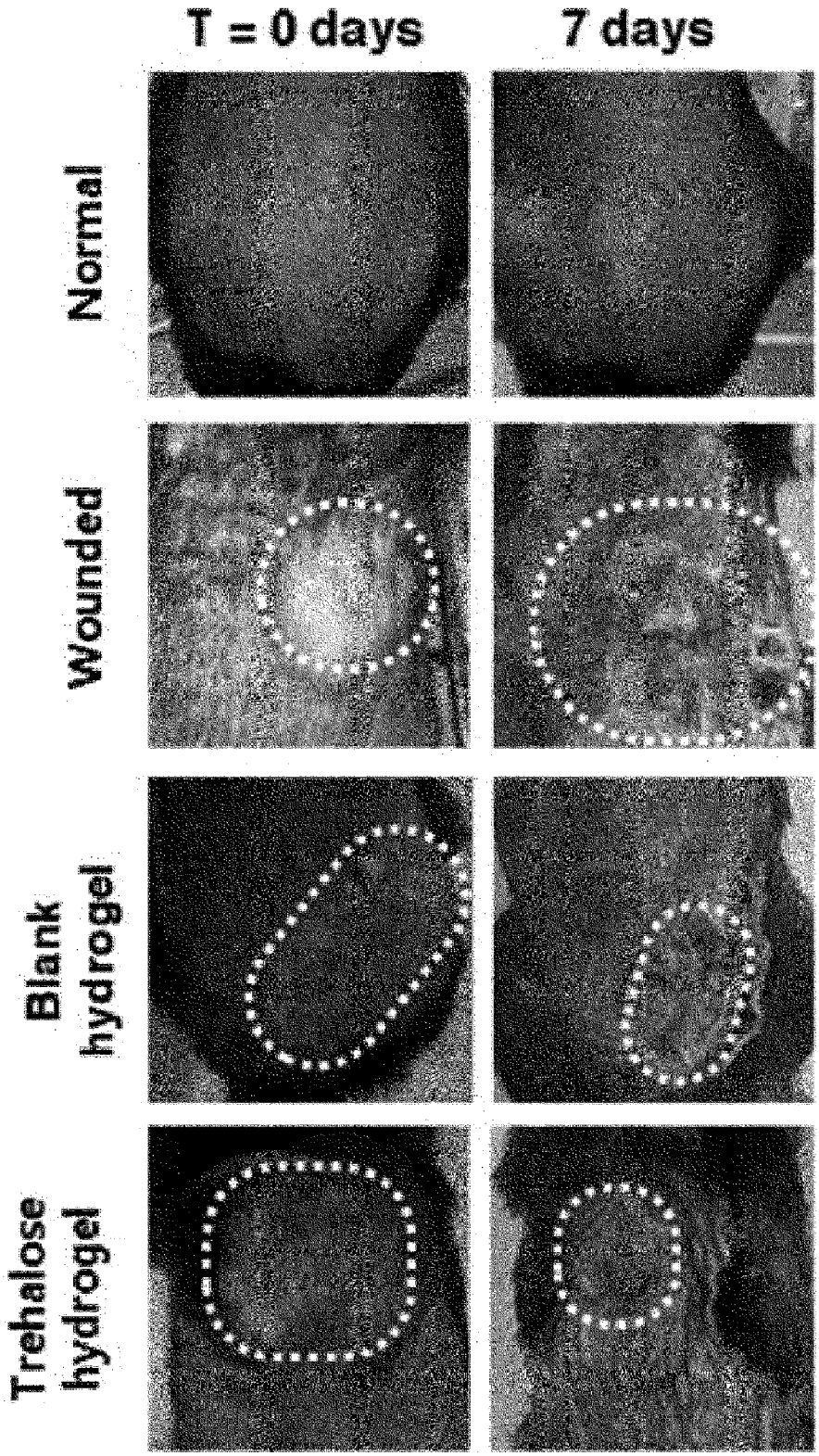
[도1]


Alginic acid
+
Trehalose
$CaCO_3$
Degassing
GDL
Stirring plate
Vacuum chamber
PVC mold

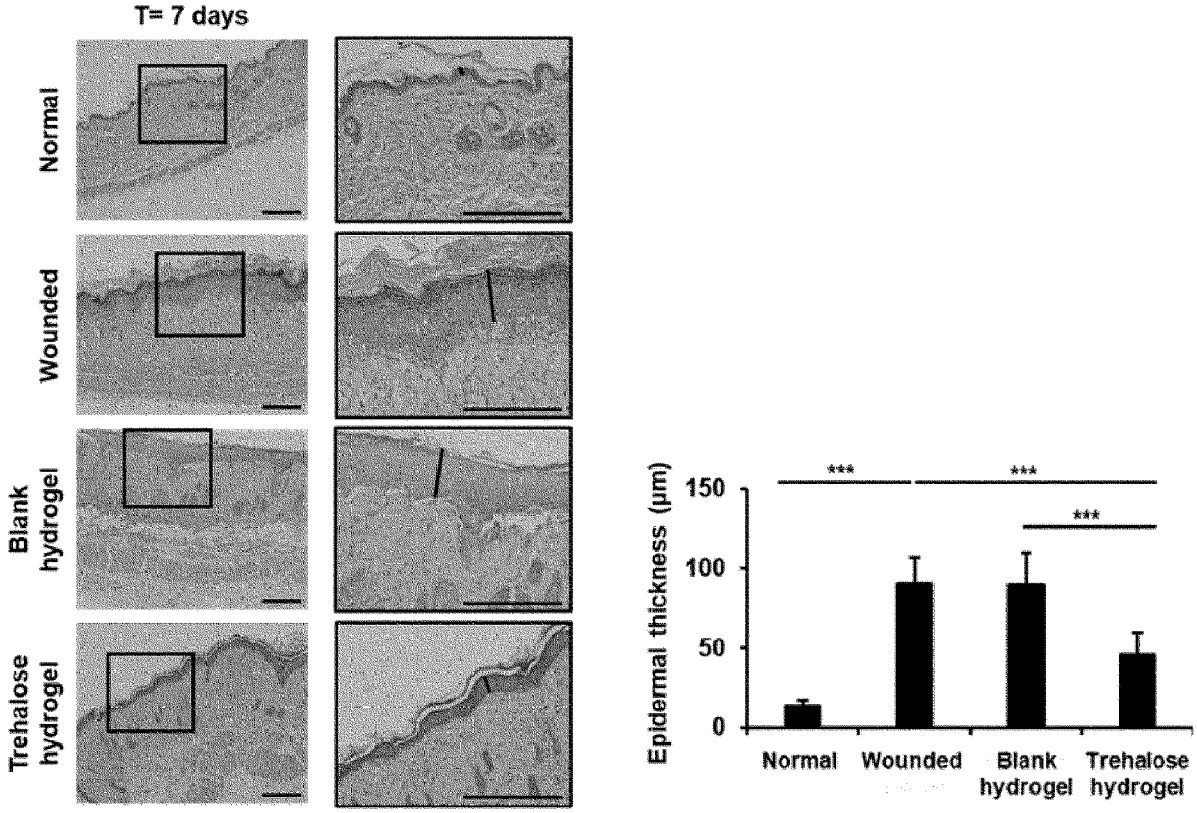
[도2]


Blank hydrogel
Trehalose hydrogel
Macroscopical representation
SEM

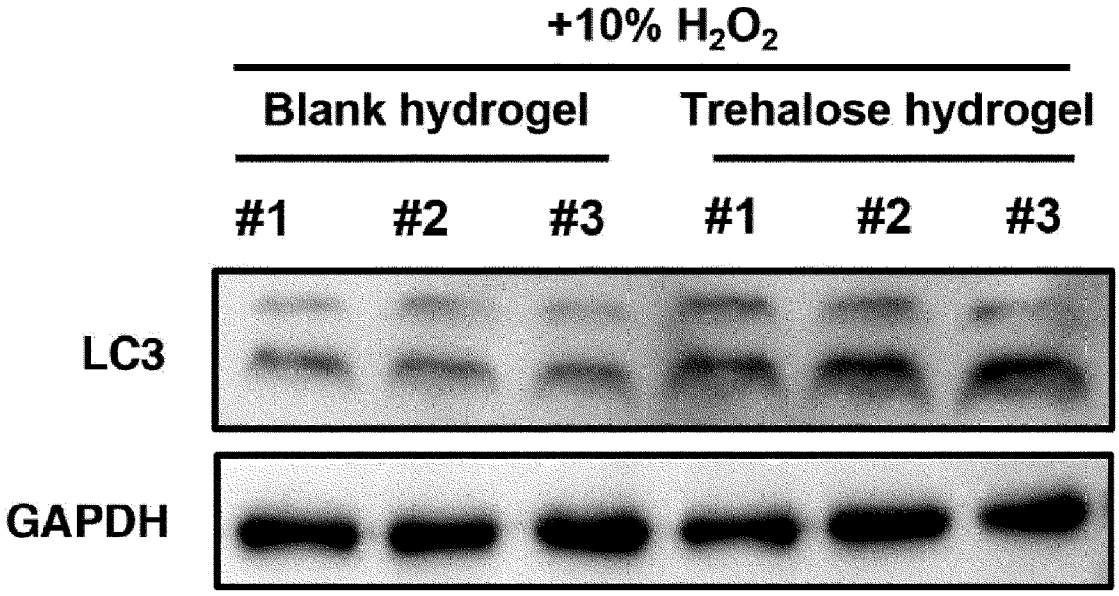
[도3]


T = 0 days
7 days
Normal
Wounded
Blank hydrogel
Trehalose hydrogel

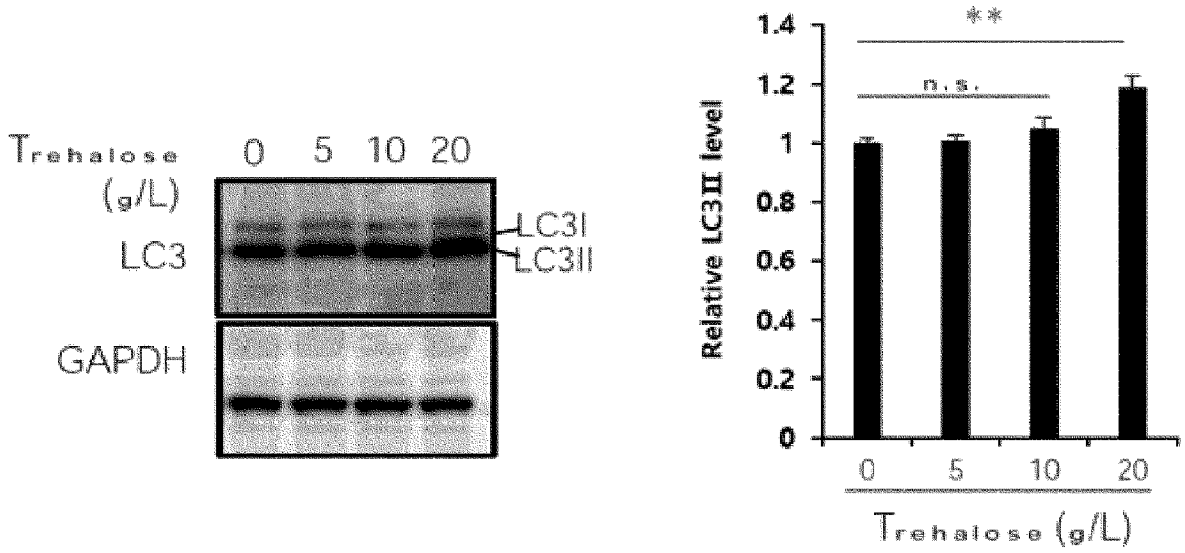
[도4]


T= 7 days
Normal
Wounded
Blank hydrogel
Trehalose hydrogel
Epidermal thickness (μm)
150
100
50
0
***
***
***
Normal
Wounded
Blank hydrogel
Trehalose hydrogel

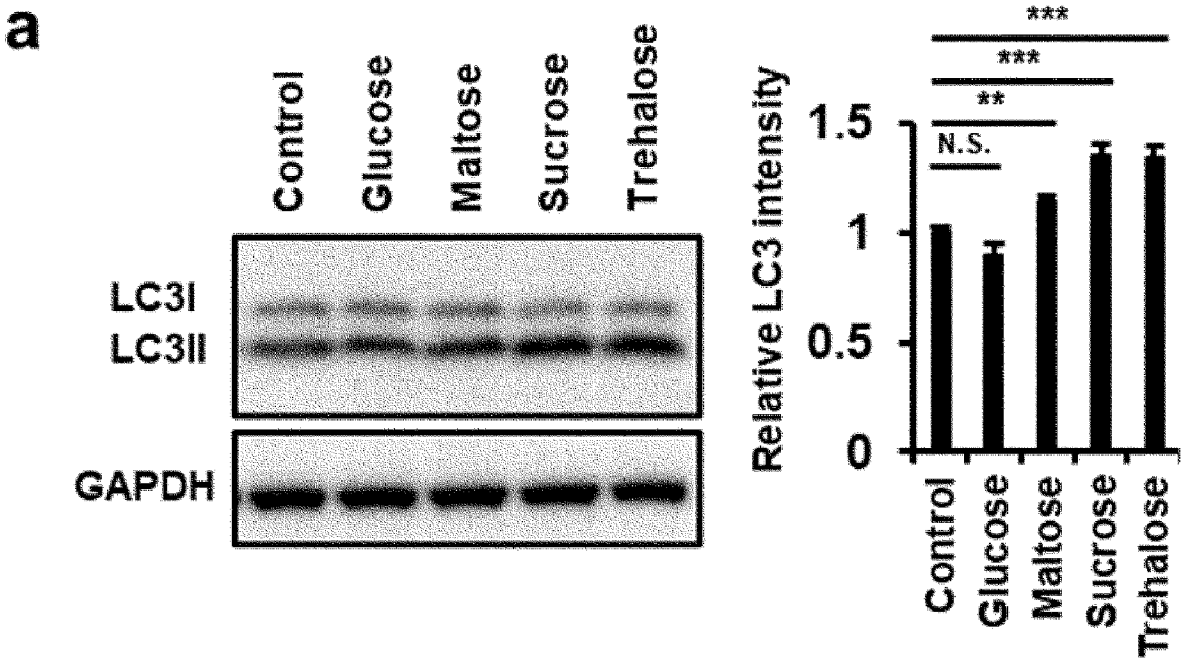
[도5]


+10% H2O2
Blank hydrogel
Trehalose hydrogel
#1
#2
#3
#1
#2
#3
LC3
GAPDH

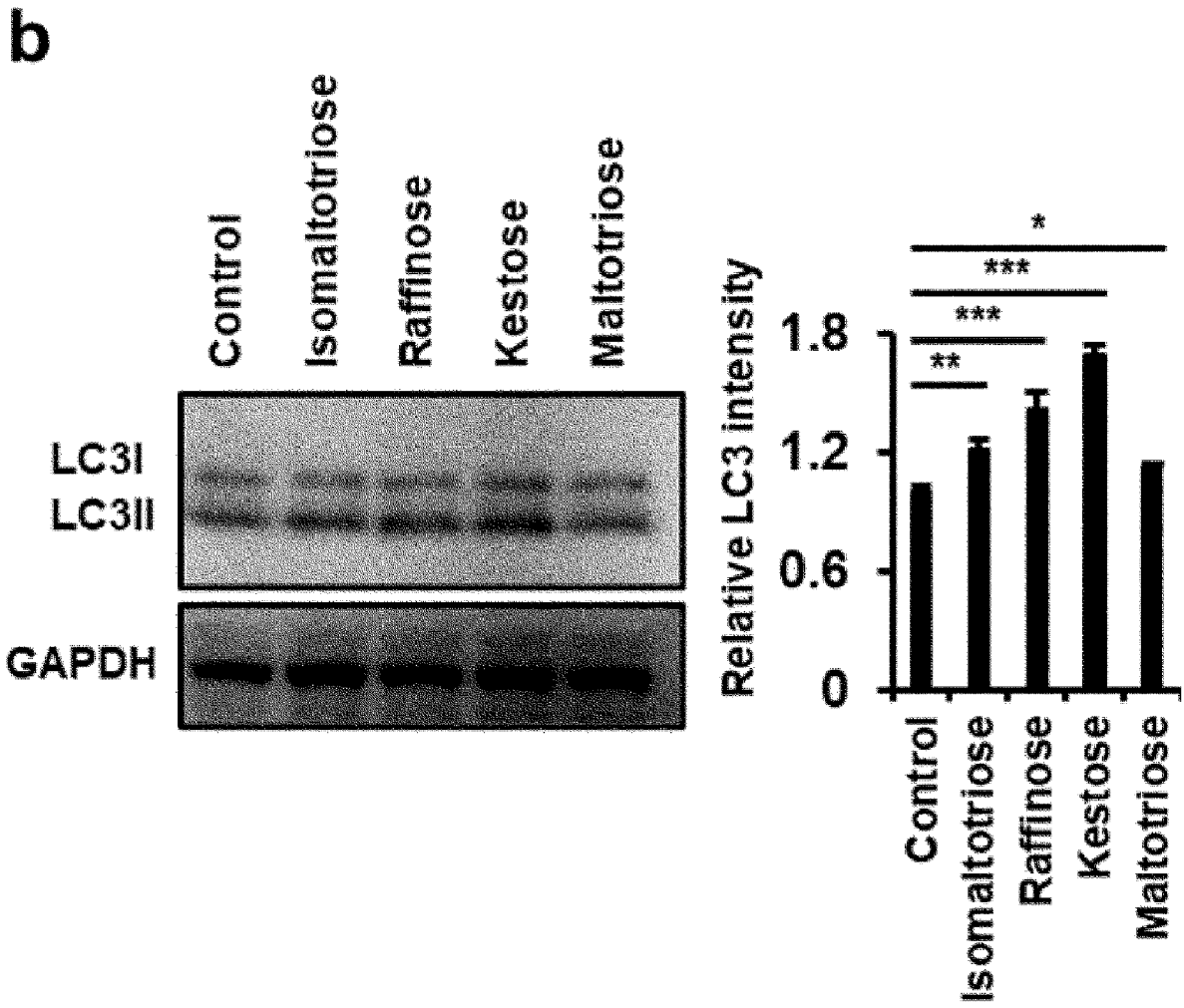
[도6]


Trehalose (g/L)
0 5 10 20
LC3
LC3I
LC3II
GAPDH
Relative LC3II level
**
n.s.
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0 5 10 20
Trehalose (g/L)

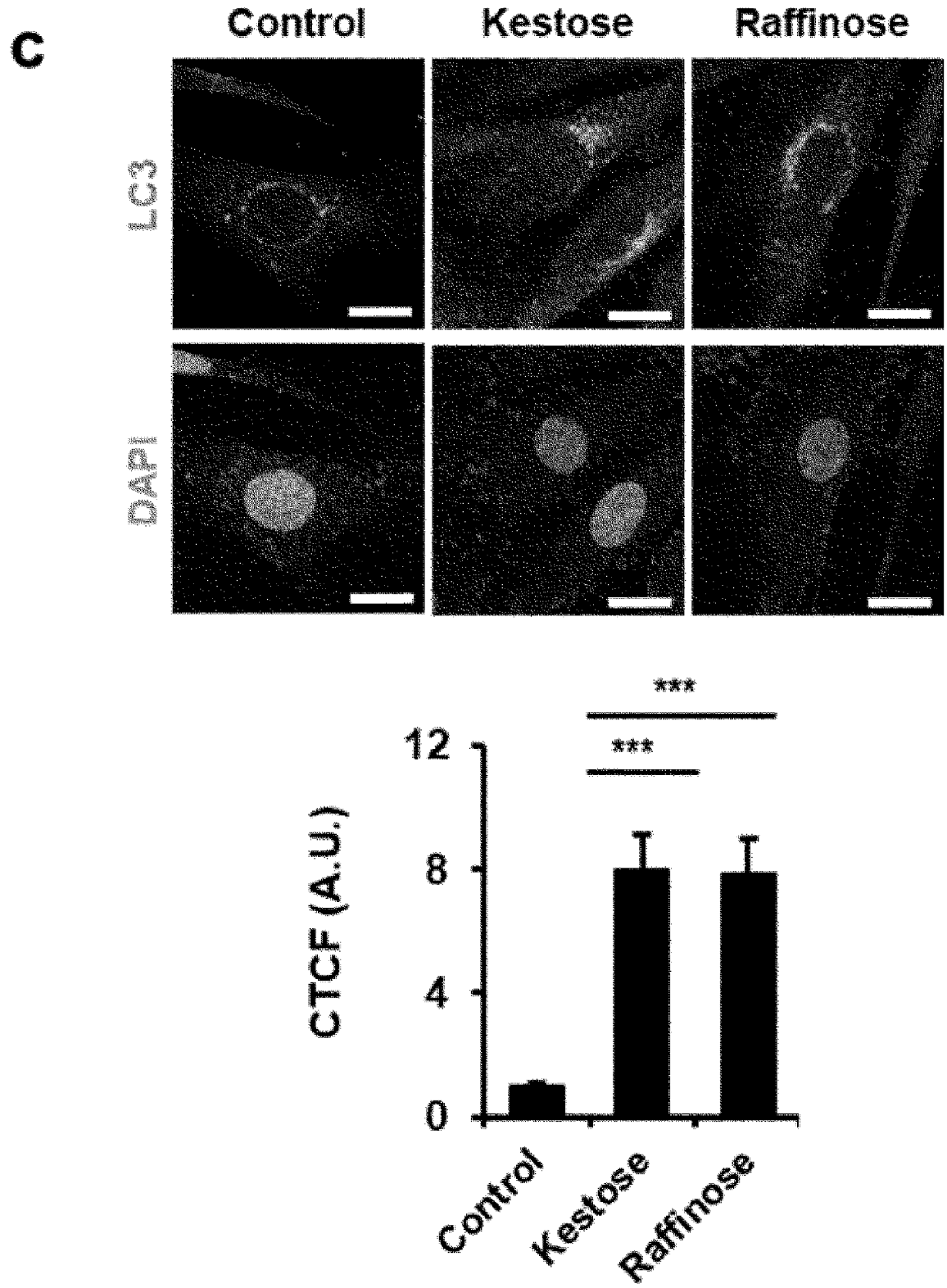
[도7a]


a
Control
Glucose
Maltose
Sucrose
Trehalose
LC3I
LC3II
GAPDH
Relative LC3 intensity
***
***
**
N.S.
1.5
1
0.5
0
Control
Glucose
Maltose
Sucrose
Trehalose

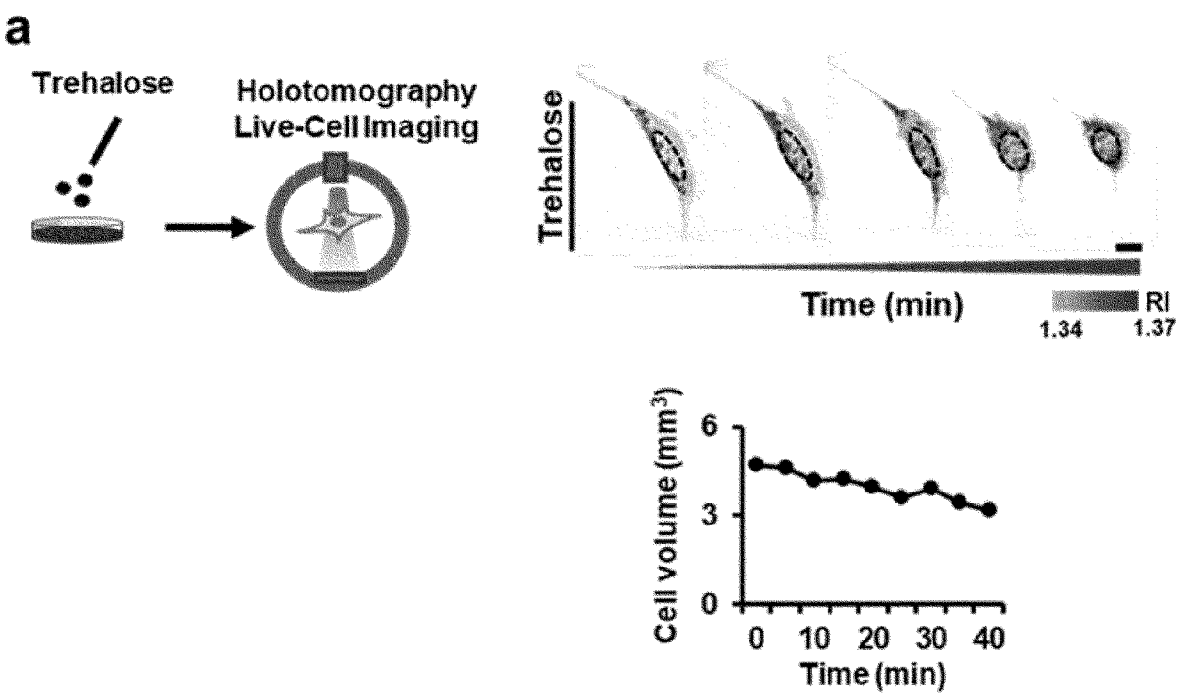
[도7b]


b
Control
Isomaltotriose
Raffinose
Kestose
Maltotriose
LC3I
LC3II
GAPDH
Relative LC3 intensity
1.8
1.2
0.6
0
*
***
***
**
Control
Isomaltotriose
Raffinose
Kestose
Maltotriose

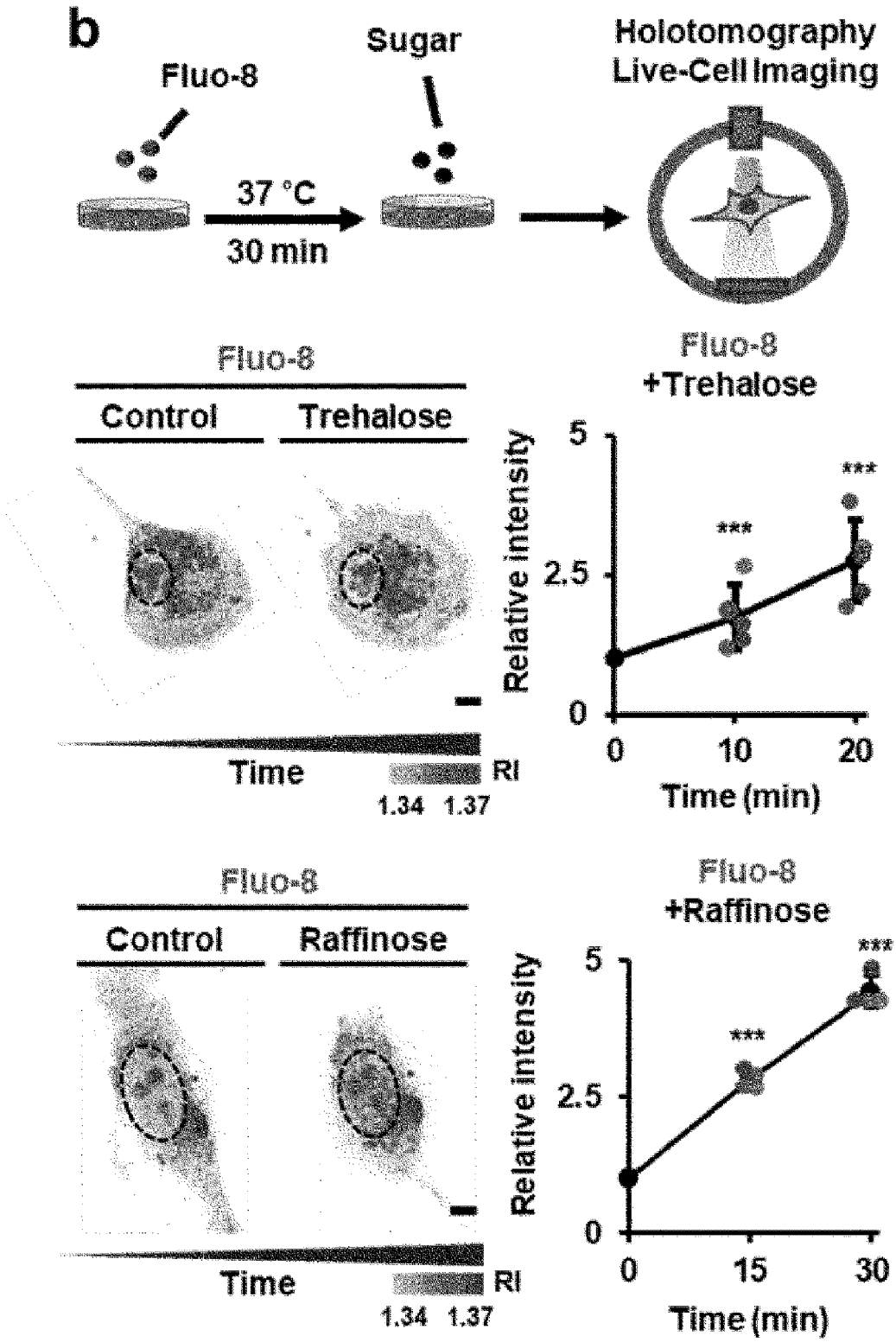
[도7c]


C
Control
Kestose
Raffinose
LC3
DAPI
***
***
12
8
4
0
CTCF (A.U.)
Control
Kestose
Raffinose

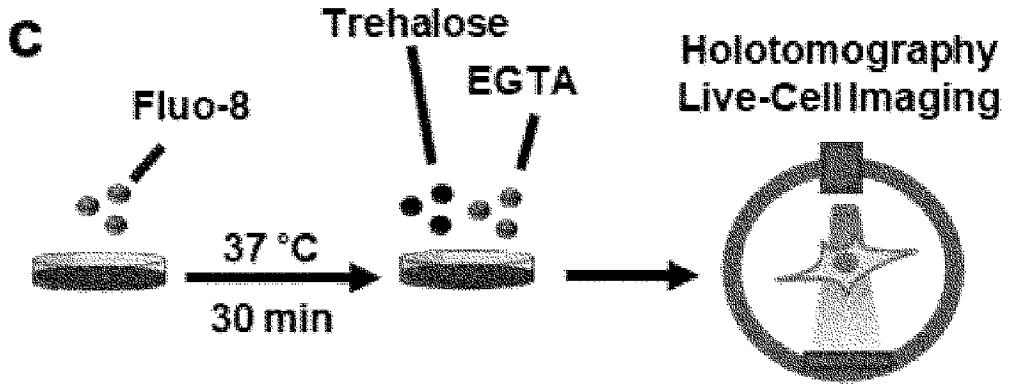
[도8a]

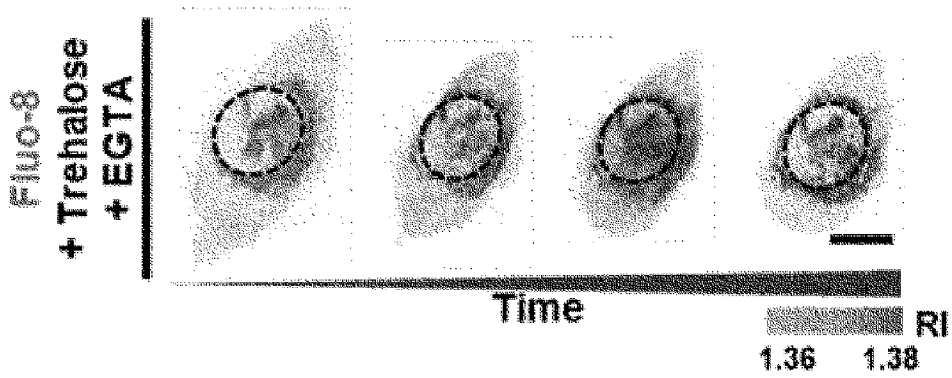

a
Trehalose
Holotomography
Live-Cell Imaging
Trehalose
Time (min)
RI
1.34
1.37
Cell volume (mm3)
6
3
0
0
10
20
30
40
Time (min)

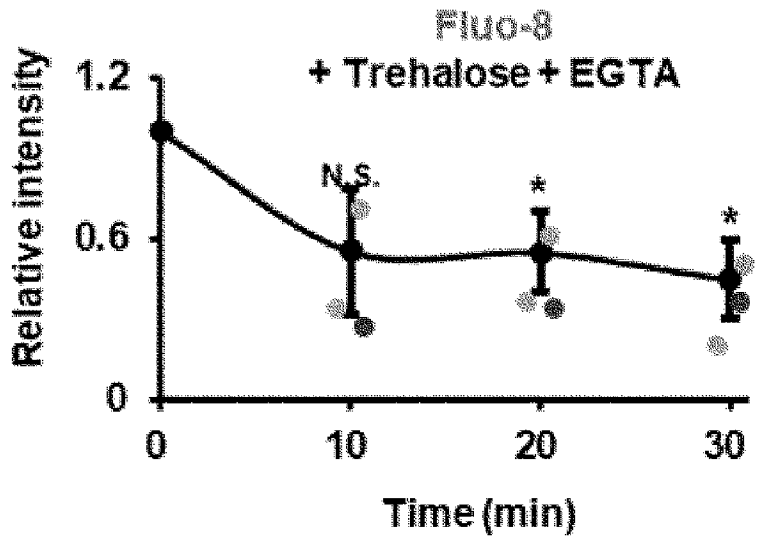
[도8b]


b
Fluo-8
Sugar
37 °C
30 min
Holotomography
Live-Cell Imaging
Fluo-8
Control
Trehalose
Time
RI
1.34 1.37
Fluo-8
+Trehalose
Relative intensity
5
2.5
0
***
***
0
10
20
Time (min)
Fluo-8
Control
Raffinose
Time
RI
1.34 1.37
Fluo-8
+Raffinose
Relative intensity
5
2.5
0
***
***
0
15
30
Time (min)

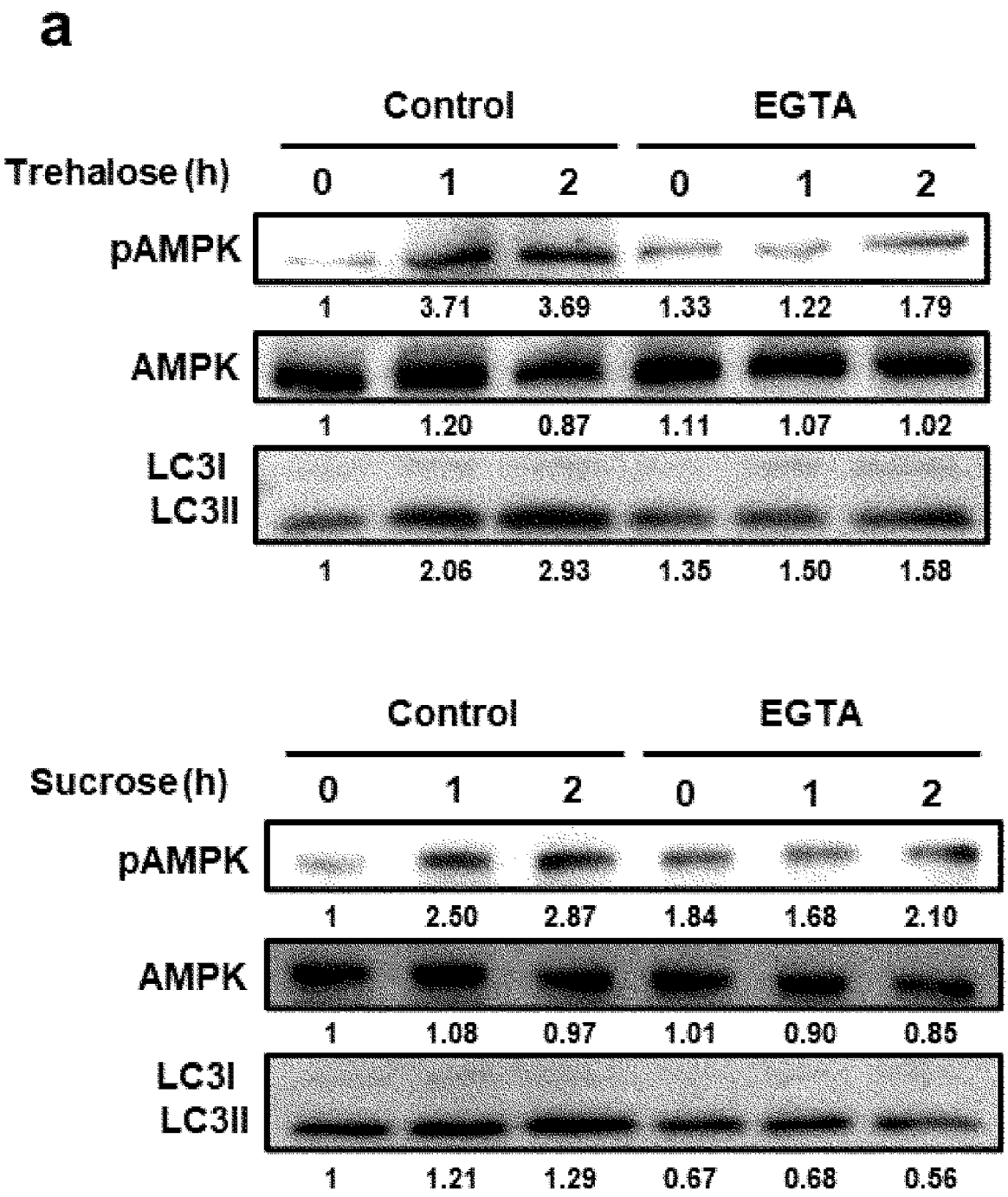
[도8c]


C
Trehalose
EGTA
Fluo-8
Holotomography
Live-Cell Imaging
37 °C
30 min

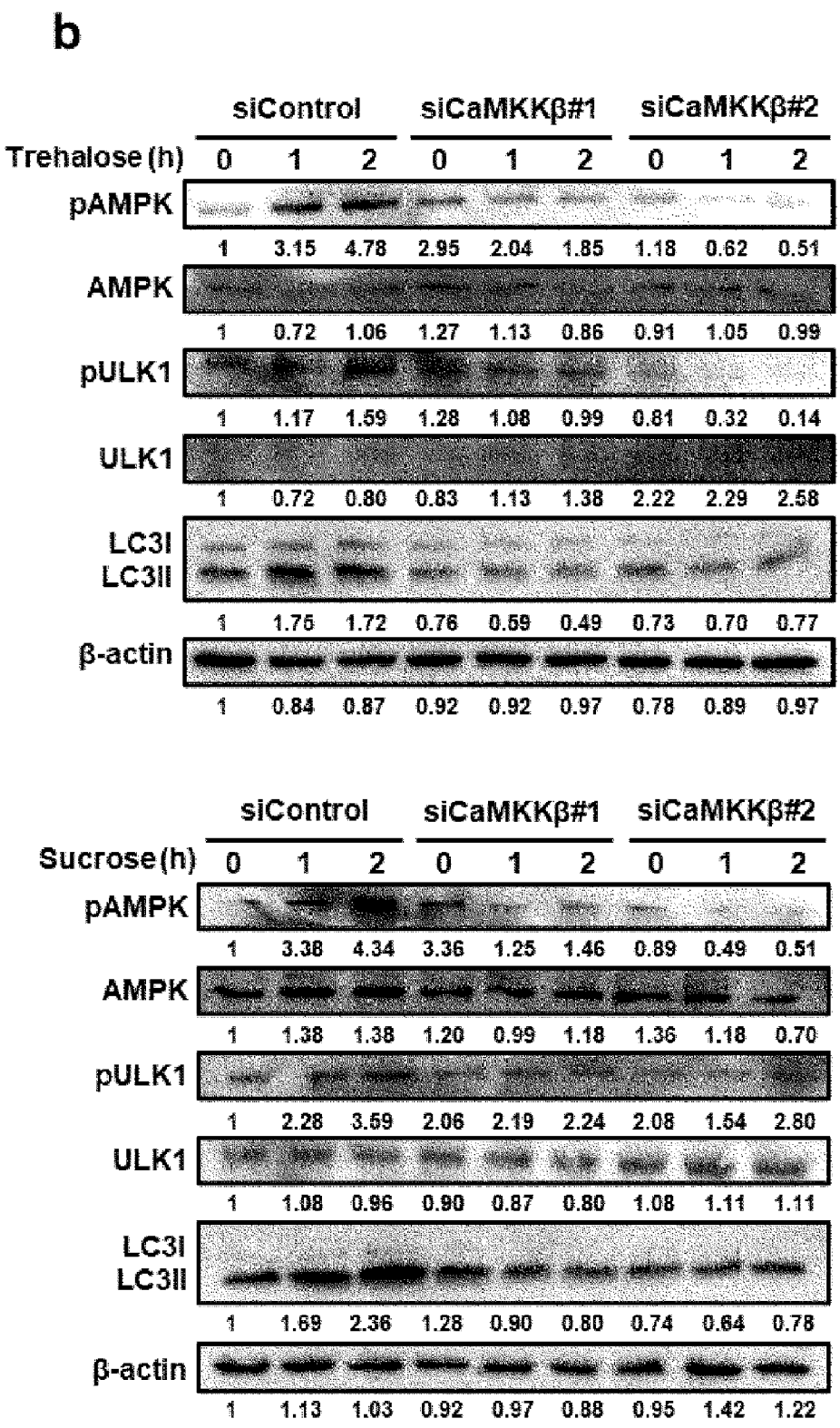

Fluo-8
+ Trehalose
+ EGTA
Time
RI
1.36
1.38


Fluo-8
+ Trehalose + EGTA
Relative intensity
1.2
0.6
0
N.S.
*
*
0
10
20
30
Time (min)

[도9a]


a
Control
EGTA
Trehalose (h)
0
1
2
0
1
2
pAMPK
1
3.71
3.69
1.33
1.22
1.79
AMPK
1
1.20
0.87
1.11
1.07
1.02
LC3I
LC3II
1
2.06
2.93
1.35
1.50
1.58
Control
EGTA
Sucrose (h)
0
1
2
0
1
2
pAMPK
1
2.50
2.87
1.84
1.68
2.10
AMPK
1
1.08
0.97
1.01
0.90
0.85
LC3I
LC3II
1
1.21
1.29
0.67
0.68
0.56

[도9b]


b
siControl
siCaMKKβ#1
siCaMKKβ#2
Trehalose (h)
0 1 2 0 1 2 0 1 2
pAMPK
1 3.15 4.78 2.95 2.04 1.85 1.18 0.62 0.51
AMPK
1 0.72 1.06 1.27 1.13 0.86 0.91 1.05 0.99
pULK1
1 1.17 1.59 1.28 1.08 0.99 0.81 0.32 0.14
ULK1
1 0.72 0.80 0.83 1.13 1.38 2.22 2.29 2.58
LC3I
LC3II
1 1.75 1.72 0.76 0.59 0.49 0.73 0.70 0.77
β-actin
1 0.84 0.87 0.92 0.92 0.97 0.78 0.89 0.97
siControl
siCaMKKβ#1
siCaMKKβ#2
Sucrose (h)
0 1 2 0 1 2 0 1 2
pAMPK
1 3.38 4.34 3.36 1.25 1.46 0.89 0.49 0.51
AMPK
1 1.38 1.38 1.20 0.99 1.18 1.36 1.18 0.70
pULK1
1 2.28 3.59 2.06 2.19 2.24 2.08 1.54 2.80
ULK1
1 1.08 0.96 0.90 0.87 0.80 1.08 1.11 1.11
LC3I
LC3II
1 1.69 2.36 1.28 0.90 0.80 0.74 0.64 0.78
β-actin
1 1.13 1.03 0.92 0.97 0.88 0.95 1.42 1.22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2024/006400

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/7016(2006.01)i; **A61K 8/73**(2006.01)i; **A61K 8/04**(2006.01)i; **A61P 17/00**(2006.01)i; **A61P 29/00**(2006.01)i; **A61Q 19/00**(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 31/7016(2006.01); A61K 31/56(2006.01); A61K 47/06(2006.01); A61K 47/36(2006.01); A61K 47/40(2006.01); A61K 8/02(2006.01); A61K 8/72(2006.01); A61K 8/97(2006.01)

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

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above
Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

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

eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 트레할로스(trehalose), 아토피(atopy), 피부염(dermatitis), 하이드로젤(hydrogel), 자가포식(autophagy)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	GRECO, Letteria et al. Evaluation of the Filming and Protective Properties of a New Trehalose and Ceramides Based Ingredient. Cosmetics. 2019, vol. 6, no. 4, article no. 62, inner pp. 1-10 (publication date: 25 October 2019). See abstract; and inner pages 2, 4 and 9.	1-4,6,8 5,7,9,10
Y	KR 10-1462390 B1 (COSMAX, INC.) 17 November 2014 (2014-11-17) See claim 1; and paragraphs [0001], [0017], [0018] and [0038].	5,7,9,10
X	BRITO, S. et al. 1490 Autophagy-inducing "osmo-patch" for skin regeneration by activation of the calcium condensate-dependent CaMKKβ-AMPK-ULK axis. Journal of Investigative Dermatology. May 2023, vol. 143, no. 5, Supplement, p. S255 (published online: 17 April 2023). See entire document. *This document is a document `declaring exceptions to lack of novelty` in an earlier application that serves as a basis for claiming priority of the present international application.	1-10

☑ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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	Date of mailing of the international search report
02 September 2024	**04 September 2024**

Name and mailing address of the ISA/KR	Authorized officer
Korean Intellectual Property Office **Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon 35208**	
Facsimile No. **+82-42-481-8578**	Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2005-298419 A (NAKAMURA, Kenji et al.) 27 October 2005 (2005-10-27) See abstract; claim 1; and paragraphs [0010] and [0016].	1-10
A	KR 10-2005-0016479 A (CAC CORPORATION) 21 February 2005 (2005-02-21) See abstract; claims 1 and 2; and paragraph [0018].	1-10
A	KR 10-2012-0015783 A (CELLAB CO., LTD. et al.) 22 February 2012 (2012-02-22) See abstract; claims 1, 6, 7 and 14-16; and paragraph [0025].	1-10
A	KR 10-2018-0045539 A (HANSEO UNIVERSITY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION et al.) 04 May 2018 (2018-05-04) See abstract; and claims 1, 4 and 5.	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2024/006400

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
KR 10-1462390 B1	17 November 2014	KR 10-2014-0006172 A	16 January 2014
		WO 2014-003241 A1	03 January 2014
JP 2005-298419 A	27 October 2005	JP 4468053 B2	26 May 2010
KR 10-2005-0016479 A	21 February 2005	AU 2002-355005 A1	19 December 2003
		AU 2002-355005 B2	13 April 2006
		CA 2488011 A1	11 December 2003
		CA 2488011 C	12 February 2008
		CN 1219520 C	21 September 2005
		CN 1466952 A	14 January 2004
		EP 1512404 A1	09 March 2005
		EP 1512404 B1	21 October 2009
		JP 3820577 B2	13 September 2006
		KR 10-0647857 B1	23 November 2006
		TW 200307552 A	16 December 2003
		TW 278318 B	11 April 2007
		TW I278318 B	11 April 2007
		US 2005-0175640 A1	11 August 2005
		US 7897161 B2	01 March 2011
		WO 03-101460 A1	11 December 2003
KR 10-2012-0015783 A	22 February 2012	KR 10-1296754 B1	20 August 2013
KR 10-2018-0045539 A	04 May 2018	KR 10-1987903 B1	13 June 2019

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2024/006400

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 31/7016(2006.01)i; **A61K 8/73**(2006.01)i; **A61K 8/04**(2006.01)i; **A61P 17/00**(2006.01)i; **A61P 29/00**(2006.01)i; **A61Q 19/00**(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/7016(2006.01); A61K 31/56(2006.01); A61K 47/06(2006.01); A61K 47/36(2006.01); A61K 47/40(2006.01); A61K 8/02(2006.01); A61K 8/72(2006.01); A61K 8/97(2006.01)

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: 트레할로스(trehalose), 아토피(atopy), 피부염(dermatitis), 하이드로젤(hydrogel), 자가포식(autophagy)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X Y	GRECO, LETTERIA 등, Evaluation of the Filming and Protective Properties of a New Trehalose and Ceramides Based Ingredient, Cosmetics, 2019년, 6권, 4호, 기사번호 62, 내부페이지 1-10 (공개: 2019.10.25.) abstract; 내부페이지 2, 4, 9	1-4,6,8 5,7,9,10
Y	KR 10-1462390 B1 (코스맥스 주식회사) 2014.11.17 청구항 1; 단락 [0001], [0017], [0018], [0038]	5,7,9,10
X	BRITO, S. 등, 1490 Autophagy-inducing “osmo-patch” for skin regeneration by activation of the calcium condensate-dependent CaMKKβ-AMPK-ULK axis, Journal of Investigative Dermatology, 2023년 5월, 143권, 5호, Supplement, 페이지 S255 (온라인공개: 2023.04.17.) 전체 문헌 *위 문헌은 본 국제출원의 우선권주장의 기초가 되는 선출원에서 `공지예외주장'된 문헌임	1-10
A	JP 2005-298419 A (NAKAMURA KENJI 등) 2005.10.27 요약; 청구항 1; 단락 [0010], [0016]	1-10

☑ 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
“D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌
“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌
“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌
“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌
“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌
“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2024년09월02일(02.09.2024)	**2024년09월04일(04.09.2024)**

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

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

팩스 번호 **+82-42-481-8578**

심사관

허주형

전화번호 **+82-42-481-5373**

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2024/006400

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2005-0016479 A (가부시키가이샤 시에시) 2005.02.21 요약; 청구항 1, 2; 단락 [0018]	1-10
A	KR 10-2012-0015783 A (주식회사 셀랩 등) 2012.02.22 요약; 청구항 1, 6, 7, 14-16; 단락 [0025]	1-10
A	KR 10-2018-0045539 A (한서대학교 산학협력단 등) 2018.05.04 요약; 청구항 1, 4, 5	1-10

국 제 조 사 보 고 서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2024/006400

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-1462390 B1	2014/11/17	KR 10-2014-0006172 A	2014/01/16
		WO 2014-003241 A1	2014/01/03
JP 2005-298419 A	2005/10/27	JP 4468053 B2	2010/05/26
KR 10-2005-0016479 A	2005/02/21	AU 2002-355005 A1	2003/12/19
		AU 2002-355005 B2	2006/04/13
		CA 2488011 A1	2003/12/11
		CA 2488011 C	2008/02/12
		CN 1219520 C	2005/09/21
		CN 1466952 A	2004/01/14
		EP 1512404 A1	2005/03/09
		EP 1512404 B1	2009/10/21
		JP 3820577 B2	2006/09/13
		KR 10-0647857 B1	2006/11/23
		TW 200307552 A	2003/12/16
		TW 278318 B	2007/04/11
		TW I278318 B	2007/04/11
		US 2005-0175640 A1	2005/08/11
		US 7897161 B2	2011/03/01
		WO 03-101460 A1	2003/12/11
KR 10-2012-0015783 A	2012/02/22	KR 10-1296754 B1	2013/08/20
KR 10-2018-0045539 A	2018/05/04	KR 10-1987903 B1	2019/06/13