



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년11월13일
(11) 등록번호 10-1200392
(24) 등록일자 2012년11월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/70 (2006.01) A61K 31/545 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0066981
(22) 출원일자 2010년07월12일
심사청구일자 2010년07월12일
(65) 공개번호 10-2012-0006315
(43) 공개일자 2012년01월18일
(56) 선행기술조사문헌
EP00210756 B1*
W02009064963 A2
EP0395476 A2
US5155144 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
주식회사 바이오피드
강원도 춘천시 신북읍 신북로 260
(72) 발명자
최성현
강원도 춘천시 지석로 29, 퇴계 5 주공아파트
519-1501 (석사동)
(74) 대리인
구현서

전체 청구항 수 : 총 5 항

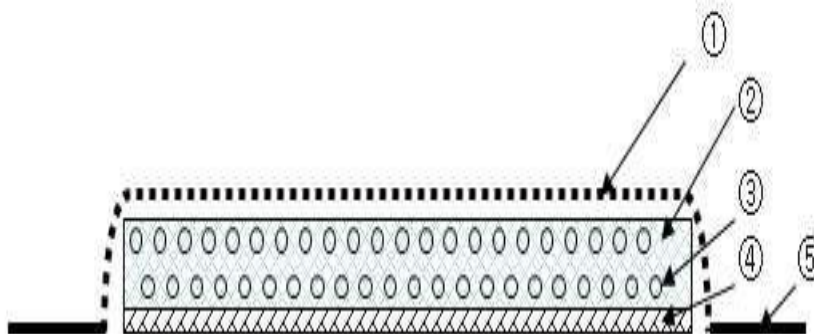
심사관 : 이에리

(54) 발명의 명칭 **혈액 단백질 삼출을 동반하는 피부질환들의 치료 및 증상완화용 패치**

(57) 요약

본 발명은 혈액 단백질 삼출을 동반하는 피부질환들의 치료 및 증상완화용 또는 피부로 삼출된 혈액 단백질을 흡착하는 패치에 관한 것이다.

대표도 - 도1a



특허청구의 범위

청구항 1

a)한천-겔: 및

b-1) 디에틸아미노에틸(Diethylaminoethyl)기를 가지는 셀룰로오스, 디에틸아미노에틸기를 가지는 아가로스, 디에틸아미노에틸기를 가지는 세파텍스, 및 디에틸아미노에틸기를 가지는 세파로스로 구성된 군으로부터 선택된 디에틸아미노에틸기를 가지는 수지 및

b-2)카복시메틸(Carboxymethyl)기를 가지는 셀룰로오스, 카복시메틸기를 가지는 아가로스, 카복시메틸기를 가지는 세파텍스, 및 카복시메틸기를 가지는 세파로스로 구성된 군으로부터 선택된 카복시메틸기를 가지는 수지 중에서

하나 이상의 수지를 포함하는

아토피, 건선 및 습진으로 구성된 군으로부터 선택된 피부질환 치료 또는 증상완화용 패치.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 패치는 디에틸아미노에틸기를 가지는 수지 및 카복시메틸기를 가지는 수지를 다중으로 배열하는 것을 특징으로 하는 피부질환 치료 또는 증상완화용 패치.

청구항 6

삭제

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 패치는 이중포화 인지질, 유기산 및 이가 양이온을 더욱 포함하는 피부질환 치료 또는 증상완화용 패치.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 패치는 트리아실글리세롤, 세라마이드, 세라마이드 유도체, 동물에서 추출한 복합 지질, 또는 합성지질을 더욱 포함하는 피부질환 치료 또는 증상완화용 패치.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

a)한천-겔: 및

b-1) 다이에틸아미노에틸(Diethylaminoethyl)기를 가지는 셀룰로오스, 다이에틸아미노에틸기를 가지는 아가로스, 다이에틸아미노에틸기를 가지는 세파텍스, 및 다이에틸아미노에틸기를 가지는 세파로스로 구성된 군으로부터 선택된 다이에틸아미노에틸기를 가지는 수지 및

b-2)카복시메틸(Carboxymethyl)기를 가지는 셀룰로오스, 카복시메틸기를 가지는 아가로스, 카복시메틸기를 가지는 세파텍스, 및 카복시메틸기를 가지는 세파로스로 구성된 군으로부터 선택된 카복시메틸기를 가지는 수지 중에서

하나 이상의 수지를 포함하는

아토피 및 건선으로 구성된 군으로부터 선택된 피부질환 진단용 패치.

청구항 15

삭제

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 혈액 단백질 삼출을 동반하는 피부질환들의 치료 및 증상완화용 또는 피부로 삼출된 혈액 단백질을 흡착하는 패치에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 아토피성 질환들의 발생 원인에 대한 새로운 이해

[0003] 아토피성 피부염을 일으키는 원인들로 유전적인 요인, 꽃가루, 집먼지 진드기, 포름알데히드 등의 화학물질들 및 서구화된 음식 등 다양한 인자들이 주목 받고 있으나 아직 정확한 발병 원인은 분명하지 않다. 아토피성 질환들에서 나타나는 면역학적 결과물로는 표피에 감염이 있을 때 나타는 Th1 세포들의 활성을 보이고 더불어 면역을 조절을 위한 일종의 기작으로 또는 기생충 감염과 같이 거대 항원이나 노출이나 지속적인 항원 노출이 있을 때 나타나는 현상중의 하나인 Th2 세포들의 활성이 활발하게 나타나는 독특한 특징이 있다. 본 특허에서는 아토피성 질환들에서 나타나는 독특한 면역학적인 현상들에 초점을 두기보다는, 신체의 대사 이상 또는 대사의 불균형으로 인하여 혈관으로부터 삼출된 혈액 단백질들이 피부 조직에 스미게 되는 현상이 아토피성 질환의 시발점이자 근본적인 원인이라 보고- 아토피성 피부염 등에서 보이는 면역반응들은 혈액 단백질들의 삼출에 의해 발생하는 결과물이라 생각됨- 문제를 해결하고자 한다. 건선 증상도 마찬가지로 혈액단백질들의 삼출이 건선 증상을 촉발하는 원인이라 보고 새로운 치료 방법을 제시하고자 한다.

[0004] 아토피성 피부염은 1980년대 이전 (미국이나 영국에서는 1970년대 이전)에는 환자의 발생 빈도가 그리 높지 않았고 사회적인 문제도 되지 않았다. 1980년 후반부터 급격한 환자의 발생 빈도를 보였으며 현재는 초등학교 5명 중 1명이 아토피성 증상을 보이는 심각한 사회 문제가 되었다. 1970년대와 2000년대를 비교해 보면, 유연 휘발유의 사용 금지, 자동차 매연 배출에 대한 강력한 정부 규제, 천연 가스를 이용하는 대중 교통수단의 도입, 공장의 분진 규제 및 오염 배출 공장들의 집산화(공단화) 정책 등으로 대기오염은 20~30년 전보다 보다 월등히 좋아졌다고 볼 수 있다. 대기 오염으로 인하여 아토피 발생이 증가하고 있다고 보기 힘든 환경과 조건이 되고 있다.

- [0005] 현재의 주거공간은 1970년대의 주택보다 훨씬 더 큰 유리창으로 갖게 되었고 보다 많은 태양광이 실내로 들어올 수 있는 구조로 변했다. 미세필터를 장착한 진공청소기도 일상화되었고 살균기능을 갖춘 세탁기도 사용하며, 세제들도 강력해지고 다양해 졌다. 이전에 비하여 집먼지 진드기가 서식하기 힘든 조건이 되었다. 즉, 집먼지 진드기와 아토피성 질환의 발생빈도를 설명하기 힘든 점이 있다. 도시에 비하여 시골에는 다양한 목초들이 무성하다. 도시에 비하여 꽃가루의 농도는 훨씬 높다. 하지만 아토피 발생의 빈도는 시골보다 도시에 더 많다. 꽃가루의 농도와 아토피성 질환의 발생 빈도가 일치하지 않는다. 꽃가루도 아토피성 질환의 원인이라 보기 어렵다.
- [0006] 1970년대와 비교하여 도시 문화에서 눈에 띄게 변화한 것들은, 배달 음식점들과 다양한 패스트푸드 음식점들, 편리한 대중교통 시스템과 자가용들이다. 게다가 1980년대 중반부터 가장 주목할 만한 변화는 음식의 변화인데, 보편적인 식용유 (콩기름, 옥수수유, 올리브유, 포도씨유, 면실유 등) 등이 저렴한 가격에 대량으로 공급되었고, 이들을 이용한 유당 (후라이드치킨, 돈까스, 탕수육 등) 음식들이 갑자기 대중화되었다. 더불어 트랜스 오일과 리놀레산(linoleic acid)을 다량 함유한 마아가린도 대중화되었다. 마아가린은 콜레스테롤을 낮추고 건강에 좋다는 광고와 함께 한때 소비량이 급격히 늘었다. 실제로 상업화된 식물성 오일 제품들은 대부분 용제(예, n-hexane)를 이용한 추출법을 이용하여 제조된다. 결과적으로 극성지방이 거의 함유되지 않은 매우 맑고 투명한 상태의 순수한 중성지방 성분으로 불포화지방산을 다량 함유하고 있다. 인류의 진화 과정을 보았을 때, 지금처럼 불포화지방산을 다량 함유하는 식물성 중성지방을 많이 섭취해본 적이 없다는 것을 쉽게 추론할 수 있다. 즉, 인간의 지질 대사에 큰 영향을 줄 수 있는 생리학적인 대변화가 일어났다고 볼 수 있다. 오랜 진화를 통하여 인간은 자연 상태의 cis-형태의 지방산을 함유하는 지방을 섭취해 왔고, 지금처럼 trans-형태의 지방산을 다량 섭취해본 적도 없다. 진화의 결과물로서 우리 몸에는 지방산의 tran- 형태를 cis- 형태로 변환시켜 주는 효소가 없다. 트랜스 형태의 지방산이 섭취되면 전체 지질 대사가 늦춰지는 결과를 초래하게 된다. 대중교통과 편리성의 발달로 인하여 활동량이 급격히 줄어들게 되어 섭취한 지방이 체내에서 에너지로 변환되지 못하는 조건이 형성되었다. 또한 난방시스템의 발달과 의류 재질의 발달로 인하여 신체가 받아들이는 생활 온도는 급격히 많이 상승했다고 볼 수 있다.
- [0007] 결론적으로, 불포화지방산을 함유하는 중성지방의 과량 섭취, 트랜스 오일의 섭취, 활동량 감소로 인한 지질의 에너지로의 변환의 감소 등으로 지질대사의 불균형이 초래되고, 생활온도의 상승으로 모세혈관이 확장되거나 모세혈관의 기능이 불완전해질 수 있는 환경이 형성되므로 아토피성 질환 및 건선과 같은 피부질환이 발생하기 좋은 조건들이 갖춰졌다고 볼 수 있다.
- [0008] 건선 및 아토피성 질환들의 차이점과 공통점
- [0009] 식물성 불포화 지방산의 과량 섭취로 인한 폐(허파)의 기능 상실은 Wolfe et al.(. Wolfe R. R., Martini W. Z., Irtun O., Hawkins H. K., Barrow R. E. (2002) *Dietary fat composition alters pulmonary function in pigs*. Nutrition. 18:647-653)의 연구 결과로 극명하게 알 수 있다. 식물성 오일의 섭취로 인하여 폐(허파) 조직의 탄력(compliance)도 상실되며 혈장 단백질들이 조직 내로 삼출되고, 그로 인하여 기능에 영향을 받는다는 것이다. 피부도 마찬가지로 불포화 지방산의 과다 섭취로 영향을 받을 수 있다. 아토피성 질환을 겪고 있는 환자들은 HDL-cholesterol이 높다(Schafer T., 등 (2003) *Intake of unsaturated fatty acids and HDL cholesterol levels are associated with manifestations of atopy in adults*. Clin. Exp. Allergy. 33:1360-1367). 이는 지질 섭취 후 각 장기로 활발한 지질들이 전달되고 있다고 해석할 수 있다. 불포화지방산을 함유하는 지질들의 피부 전달은 혈관세포 및 표피세포의 막 구성 성분(membrane component)에 영향을 줄 수 있고, 유동성(fluidity)이 심한 불포화 지방산들은 혈관의 기능을 저하시켜 혈장 단백질들, 특히 알부민 및 면역글로불린G (immunoglobulin G, IgG)의 삼출을 초래할 수 있다. 이런 삼출은 혈관 세포들 사이의 틈(gap)을 통하여 이루어지며, 그 증거로 삼출되는 단백질들의 크기가 한정된다. 150KDa 크기의 IgG 는 쉽게 삼출되지만 그보다 큰 단백질들은 쉽게 삼출되지 못한다. 이런 삼출 기작은 아토피성 질환뿐만 아니라 건선에서도 볼 수 있다. 감염이나 강한 물리적인 자극에 의한 경우를 제외하고, 건선 및 아토피성 피부염에서 홍피증(erythroderma) 또는 부종(edema)을 보이는 경우는 혈관의 기능이나 구조에 변화가 생겨서 증상이 발생한다고 추론할 수 있다. 관심 있게 볼 점은 아토피성 피부질환들과 건선질환은 대사적으로는 크게 다르다는 것이다. 아토피성 질환을 갖는 환자들은 HDL-cholesterol의 수준이 높은 반면, 건선 환자들은 혈중 콜레스테롤과 트리아실글리세롤(Triacylglycerol)이 매우 높다. 흥미로운 것은 건선 환자에서 중성지방 성분의 피지를 분비하는 땀샘(sebaceous gland)의 크기가 매우 작아져 있다는 것이다. 단순하게 해석하면, 피지를 합성하는데 필요로 되는 지질들을 혈관으로부터 공급받는데 문제가 있을 수 있다는 것이다. 아토피성 피부염에서 유사한 사례는 피부의 보호를 위하여 필요로 되는 세라마이드(ceramide) 지질이 표피에 낮다는 것이다. 건선 및 아토피성

질환들에서 혈액 내에 함유된 지질의 구성(profile)은 다르지만, 체내에서 지질 대사는 활발하게 일어나고 있다는 공통점이 있다. 아토피성 피부염과 건선에서 특히 주목해야 할 공통점은 두 질환 모두 혈액 단백질의 삼출이 일어나고 있다는 것이고, 체내에 지질 대사가 활발함에도 불구하고 표피로의 지질의 전달과정에 문제가 있던가, 필수적으로 필요한 특정 지질이 표피로 전달되지 못하고 있다고 추론할 수 있다.

[0010] 혈액단백질의 삼출과 염증반응에 대한 새로운 이해

[0011] 건선과 아토피성 질환의 공통점은 혈액 단백질이 혈관으로부터 빠져 나와 (microvascular leakage) 피부조직으로 삼출되는 것이다. 삼출되는 단백질들은 분자량에 제한을 받으며, 면역글로불린G (IgG, 150KDa)와 혈장 알부민 (serum albumin, 66KDa)이 가장 많이 차지하게 된다. 피부로 삼출된 단백질들은 혈관 안쪽에 있을 때와 달리, 서서히 건조 되고 주변의 염농도 (salt concentration)가 증가하게 되면서 무작위(low-affinity, random binding)로 결합하거나 선택적 결합이 아닌 비특이적 결합(non-specific binding)을 하거나, 삼출된 단백질들끼리 뭉치게(aggregation)될 것으로 예상된다. 단백질들이 건조되면서 피부의 소양감이 생기고 굵으면 물리적인 자극에 의해 히스타민 분비가 촉발되므로 삼출은 더욱 많아지는 악순환이 계속될 것으로 추론된다. 외부에서 침입하는 알러젠(allergens)이나 감염(infection)이 없더라도, 삼출된 항체들의 비특이적 또는 무작위로 뭉치는 현상은 감염이 있을 때와 유사한 신호로 인식될 수 있으므로 1차적으로 호중구(Neutrophils)가 조직으로 이동하게 되면서 여러 면역세포들을 모집(recruiting)하게 될 것으로 추론된다. 특히 만성화된 아토피성 질환들에서 매크로파지(macrophage)가 조직으로 모집되는 현상을 연속적인 항원 노출로 인한 Th2 세포의 면역학적인 기작으로 설명하고 있다. 하지만, 단순히 삼출된 혈액 단백질이 뭉친 것들을 청소하기 위하여 모집되는 기작으로도 설명할 수 있겠다. 이러한 청소기작은 자가진폐증(idiopathic alveolar proteinosis)에서 매크로파지가 지질과 폐단백질(surfactant proteins)의 뭉친 덩어리들을 청소(clear-up)를 하는 것을 예로 들 수 있다. 아토피에서 관찰되는 호산구(eosinophil)의 이동과 활성화 현상도 단백질 삼출 증상과 연관시켜 설명이 가능하다. 호산구는 염기성 단백질(cationic proteins)을 분비하는 것으로 잘 알려져 있는데 이는 삼출된 단백질을 뭉치게 한 후 제거하려는 하나의 세포학적인 단순 기작으로 간단하게 볼 수도 있다. 게다가 늑막강(pleural cavity)에서 감염이나 알러젠 감작으로 호중구가 모집된 후, 혈액 단백질들이 삼출되는 것을 조절 또는 감소시키기 위해 호산구가 모집되는 것처럼 아토피성 피부염에서 계속 일어나는 혈액 단백질 삼출을 줄여주기 위하여 호산구가 삼출 부위로 모집되는 것으로 단순하게 해석해 볼 수도 있다.

[0012] 건선 및 아토피성 피부질환들에 대한 새로운 해결 방법

[0013] 위에서 제시한 근거들을 바탕으로, 건선 및 아토피성 질환들의 공통적인 발병의 원인이 지질 대사(lipid metabolism)의 불균형 또는 지질대사의 이상으로 인하여 촉발되고, 그 결과물로 혈관으로부터 새어 나온 혈액 단백질들이 조직에 스민 후 뭉치거나 변성되면서 다양한 염증반응들을 유발한다면, 새로운 접근 방식의 치료 방법들이 제시될 수 있다.

[0014] 가장 중요하고 선행되어야 할 치료 방법은 식이조절 방법으로 식물성 오일, 특히 식물성 중성지방의 섭취를 자제하고, 트랜스 오일을 함유하는 음식이나 조리과정에서 트랜스 지방이 생성되는 방법을 피하여 조리된 음식을 섭취해야 한다. 이런 식이 조절 방법은 체내의 지질성분이 일정 수준으로 바뀔 때까지 수행해야 하므로 상당한 노력과 시간이 걸리는 방법이라 하겠다. 아토피성 질환을 겪고 있는 환자들은 극심한 소양감으로 고통을 받으므로 치료기간이 오래 걸린다는 단점이 있지만 식이 조절 방법은 필수로 해야 할 방법이라 하겠다.

[0015] 두 번째 방법은, 환부에 국소적으로 혈액 단백질 삼출을 억제하여 염증을 완화시키고 표피를 정상적으로 회복시켜 주는 방법이 있다. 이 방법은 이전에 본 저자에 의해 제시된 방법으로 현재 국내를 비롯하여 호주, 싱가포르 및 러시아에서 특허 등록(대한민국 특허0891595, 호주 특허 2006217261, PCT출원; PCT/KR2006/000638)된 방법이다. 동물의 폐에 다량 존재하는 이중포화인지질(disaturated phospholipids)을 함유하는 조성물을 환부에 적용함으로써 환부와 환부 주변의 관련 세포 및 혈관세포들의 지질 대사를 변화시켜 혈액 단백질의 삼출을 억제하는 것이다. 이 방법은 평균적으로 8~12주 정도의 치료기간을 필요로 하고 증상이 심한 환자의 경우 더 오랜 치료기간을 필요로 한다.

[0016] 세 번째 방법은 본 특허에서 제시하는 방법으로, 환부에서 스며있는 삼출된 단백질들을 단백질 흡착 패치를 이용하여 제거하는 방식이다. 평균 10일 정도의 가장 빠른 치료 기간을 기대할 수 있고, 피부로 어떠한 물질이나 유효성분을 전달하는 방식이 아니기 때문에 매우 안전하며, 소양증으로 인한 고통을 빠르게 줄여줄 수 있는 방법이다. 하지만, 혈액 단백질의 삼출을 줄이거나 억제하지 않고 이 방법을 사용한다면, 단백질 삼출이 다시 생길 수 있으므로 증상이 재발할 가능성이 있다. 다양한 방법으로 단백질 삼출을 억제하는 치료와 함께, 본 특허가 제시하는 혈액 단백질 삼출물을 제거하는 패치를 동시에 적용함으로써 단기간에 재발 없는

완벽한 치료를 기대할 수 있겠다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0017] 본 발명은 상기의 문제점을 해결하고 상기의 필요성에 의하여 안출된 것으로서 본 발명의 목적은 혈액단백질 삼출을 동반하는 피부질환 치료 및 증상 완화를 목적으로 하는 패치를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0018] 상기의 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 a)그물 구조의 중합체 매트릭스: 및 b) 상기 매트릭스에 포함된 단백질과 결합하는 극성수지 및/또는 단백질과 소수성 결합을 하는 수지를 포함하는 혈액 단백질 삼출을 동반하는 피부질환 치료 또는 증상완화용 패치를 제공한다.

[0019] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 그물 구조의 중합체 매트릭스는 아가 및 아가로스로 구성된 균으로부터 선택된 복합탄수화물의 미세 그물 구조체, 폴리아크릴아마이드 (polyacrylamide), 라텍스(latex), 폴리스틸렌 (polystyrene), 폴리비닐(polyvinyl chloride), 실리콘(silicone) 폴리우레탄(polyurethane), 또는 셀룰로오스 섬유를 이용한 미세 그물 구조체인 것이 바람직하나 이에 한정되지 아니한다.

[0020] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 극성 수지는 이온성이거나 적합한 pH 조건하에 이온화될 수 있는 작용기를 함유하는 유기 또는 무기 매트릭스를 포함한다. 유기 매트릭스는 합성(예를 들어, 아크릴산, 메타크릴산, 술포네이트 스티렌, 술포네이트 디비닐벤젠), 또는 부분 합성(예를 들어, 변성 셀룰로오스 및 텍스트란) 물질일 수 있다. 바람직하게, 무기 매트릭스는 이온성 기의 첨가에 의해 변성된 실리카겔을 포함한다. 공유 결합된 이온성 기는 강산성(예를 들어, 술포산, 인산), 약산성(예를 들어, 카르복실산), 강염기성(예를 들어, 1차 아민), 약염기성(예를 들어, 4차 암모늄), 또는 산성 기와 염기성 기의 조합일 수 있다. 일반적으로, 이온교환 크로마토그래피에 사용하는데 적합하며 물의 탈이온화 같은 용도에 적합한 타입의 이온교환제가 약물 제제의 제어 방출에 사용하기에 적합하다. 이러한 이온교환제들은 H. F. Walton에 의해서 "Principles of Ion Exchange" (pp: 312-343) 및 "Techniques and Applications of Ion-Exchange Chromatography"(pp: 344-361), Chromatography(E. Heftmann, 편저), van Nostrand Reinhold Company, New York (1975)에서 설명된다.

[0021] 이러한 본 발명의 극성 수지의 예로는 DEAE (Diethylaminoethyl)-기를 가지는 아가로스, 세파텍스, 또는 세파로스; CM(Carboxymethyl)-기를 가지는 아가로스, 세파텍스 또는 세파로스;트리메틸암모늄 (trimethylammonium)-기를 갖는 아가로스, 세파텍스 또는 세파로스;S-양이온(cation) 교환수지로서 설포닐 (sulfonyl)- 또는 설펜산(sulfonic acid) 유도체(derivatives)를 작용기를 갖는 수지; 하이드록시아파테이트 입자(granules), 또는 폴리스틸렌(polystyrene)구조의 극성 수지(charged resin)인 것이 바람직하나 이에 한정되지 아니한다.

[0022] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 소수성 결합(hydrophobic interaction)은 단백질과 결합하는 수지로 탄소 4개부터 10개의 탄화수소 (hydrocarbon chain)를 함유하는 수지인 것이 바람직하나 이에 한정되지 아니한다.

[0023] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 패치는 극성이 다른 수지를 다중으로 배열하는 것이 바람직하며, 상기 다중 배열 패치는 양전하를 띠는 극성 수지를 환부에 우선 접촉하게 하고, 음전하를 띠는 극성 수지는 후면에 배열하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 아니한다.

[0024] 본 발명의 일 적용예에 있어서, 상기 피부질환은 아토피성 피부염(atopic dermatitis), 습진(eczema), 건선(psoriasis), 접촉성피부염 (contact dermatitis), 홍반 (erythema), 태선 (Lichen), 만성 또는 접촉성 두드러기(urticaria), 양진 (결정성 양진 prurigo nodularis), 각질층에 손상이 가지 않은 가벼운 화상 (burn) 또는 열상(scald)인 것이 바람직하나 이에 한정되지 아니한다.

[0025] 본 발명의 바람직한 구현예에 있어서, 상기 본 발명의 패치는 이중포화 인지질, 유기산 및 이가 양이온을 더욱 포함하는 것이 바람직하며, 이중포화인지질은 동물 폐로부터 유래한 이중포화인지질로 DPPC, DPPI 등이 대표적인 예이며, 유기산은 구연산을 비롯한 T.C.A 회로를 구성하는 유기산이 대표적인 예이며, 이가 양이온은 칼슘과 마그네슘 이온이 대표적인 예이다.

[0026] 또한 본 발명은 a)그물 구조의 중합체 매트릭스: 및 b) 상기 매트릭스에 포함된 극성 수지를 포함하는 피부로

삼출된 혈액 단백질을 흡착하는 외용 패치를 제공한다.

- [0027] 또한 본 발명은 단백질과 결합하는 작용기를 직접 천, 패드 또는 거즈에 고정하여 제조된 혈액 단백질 삼출을 동반하는 피부질환 치료 또는 증상완화용 패치를 제공한다.
- [0028] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 직접 천, 패드 또는 거즈에 고정할 수 있는 극성 작용기는 DEAE-, CM-, 트리메틸암모늄(trimethylammonium)-, 또는 설펜산(sulfonic acid)이거나 포화 탄화수소 사슬의 길이가 탄소 4개에서 탄소 10개인 작용기인 것이 바람직하나 이에 한정되지 아니한다.
- [0029] 또한 본 발명은 단백질과 결합하는 작용기를 직접 천, 패드 또는 거즈에 고정하여 제조된 피부로 삼출된 혈액 단백질을 흡착하는 외용 패치를 제공한다.
- [0030] 또는 본 발명은 a)그물 구조의 중합체 매트릭스: 및
- [0031] b) 상기 매트릭스에 포함된 단백질과 결합하는 극성수지 및/또는 단백질과 소수성 결합을 하는 수지를 포함하는 피부로 분비된 단백질 노폐물 제거용 패치를 제공한다.
- [0032] 또는 본 발명은 a)그물 구조의 중합체 매트릭스: 및
- [0033] b) 상기 매트릭스에 포함된 단백질과 결합하는 극성수지 및/또는 단백질과 소수성 결합을 하는 수지를 포함하는 혈액단백질 삼출을 동반하는 피부질환 진단용 패치를 제공한다.
- [0034] 본 발명의 실험예 5와 도 6e에서 알 수 있는 바와 같이, 건선 환자에서 보이는 단백질 프로파일과 아토피 환자에서 보이는 단백질들의 프로파일은 현저한 차이가 있다. Ig 또는 알부민 단백질은 하나의 예이다. 이러한 단백질들의 프로파일 만으로도 두 질환의 차이점을 확연히 구별할 수 있으며, 이런 흡착 방법을 이용하여 여러가지 피부질환들의 표지 단백질을 찾아내거나 단백질 삼출 패턴을 표준화 하면 다양한 피부질환의 진단이 가능하다.
- [0035] 이하 본 발명을 설명한다.
- [0036] 본 발명은 혈액 단백질 삼출 증상을 동반하는 피부질환들(예를 들어, 아토피성 피부염(atopic dermatitis), 습진(eczema), 건선(psoriasis), 접촉성피부염(contact dermatitis) 등)의 환부 표면에 직접 적용하여 피부 조직에 스며있는 삼출된 혈액 단백질들을 흡수하여 제거하는 패치에 관한 것이다. 패치는 표피 조직으로부터 삼출된 단백질들을 제거하여 염증을 감소시키며, 동시에 수분을 피부에 보존시킴으로써 빠르고 안전하게 피부 질환을 치료하거나 완화시킨다. 혈관으로부터 삼출(extra-vesicular exudated)된 단백질(proteins) 및 펩타이드(peptides)이 충분히 통과될 수 있는 그물구조(micro-mesh structure)의 중합체(polymer), 예를 들어 한천(agar 또는 agarose), 폴리아크릴아마이드(polyacrylamide), 라텍스(latex) 또는 폴리우레탄의 발포 스폰지 등을 이용하여 수분을 함유할 있도록 매트릭스(matrix)를 형성시키고, 그 매트릭스 구조 안에 작은 입자로 넓은 표면적을 갖고 있는 다양한 극성(charge)의 수지(resin)들- 일반적으로 단백질 크로마토그래피에 이용되는 DEAE (Diethylaminoethyl)-cellulose, CM(Carboxymethyl)-cellulose, 기타 극성기를 갖는 탄수화물 복합체(derivatized-complex carbohydrate compounds), hydroxylapatite 입자(granules), 폴리스틸렌(polystyrene) 구조의 극성 수지(charged resin) 등-을 고정시켜 피부에 스며있는 단백질 및 펩타이드들과 결합하게 하여 제거하는 패치이다. 본 발명은 아토피 피부염이나 건선과 같은 피부 질환들이 지질대사(lipid metabolism)의 이상(disorder) 또는 지질 섭취의 불균형으로 인하여 혈관으로부터 혈액 단백질들이 삼출되고, 삼출물로 인하여 다양한 염증반응, 피부 진무름(skin lesion) 및 표피세포 이상증식이 나타난다는 가설을 바탕으로 하고 있다. 본 특허에서는 피부 조직에 스며있는 혈액 삼출 단백질 및 펩타이드를 고정된 수지에 흡착시켜 제거하는 패치를 이용하여 매우 심한 아토피성 질환들을 10일 이내에 치료가 가능하다는 것을 제시함으로써, 아토피성 피부염, 습진, 건선 및 유사 증상의 질환들을 가장 안전하고 빠른 치료 방법을 제시한다. 더불어 이들 질환들에 대하여 새롭게 이해할 수 있는 계기를 부여하며, 개발된 패치를 이용한 다양한 응용을 제시한다.
- [0037] 아토피성 피부염, 습진 및 건선 등의 유사질환의 발병 원인은 지질대사의 불균형 또는 지질대사 이상이 원인이라 생각되며, 그 결과 혈액 단백질들의 삼출이 발생하고 조직에 스며있는 혈액 단백질들로 인하여 여러 가지 염증반응이나 표피세포의 이상증식 등이 발생하는 것으로 판단된다. 본 특허는 단백질 분리 및 정제에 사용되는 여러 가지 수지(resin)들, 예를 들어 DEAE-cellulose(또는 agarose), CM-기를 갖는 수지류 및 hydroxylapatite, Dowex[®] 수지 등을 한천 겔 안에 고정시켜 환부에 붙이는 패치(patch)로 적용하거나, 단백질과 결합이 가능한 극성기를 순면 천에 결합시켜 습윤-드레싱(wet-dressing)으로 적용하는 것으로 삼출된 단백질을 제거하여, 피부질환을 매우 빠르고 효과적으로 치료하는 것을 보여주었다.

발명의 효과

[0038]

본 발명을 통하여 알 수 있는 바와 같이 본 발명의 패치 및 습윤-드레싱(wet-dressing)을 위한 단백질 흡착천은 증류수 이외에 어떠한 약제나 특정 성분을 표피로 넣어주는 것 없이 아토피 질환을 치료함으로써 가장 안전한 치료 방법이라 판단된다. 심한 아토피성 질환들을 10일 이내로 치료할 수 있는 본 특허의 치료방법은 아토피성 질환의 발병 원인에 대한 새로운 이해와 다양한 새로운 치료법들을 이끌어낼 수 있을 것으로도 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0039]

도 1a는 본 발명의 패치의 구성을 나타낸 그림. 외용 패치는 환부에 밀착되어 혈관으로부터 삼출된 혈액 단백질을 흡착하도록 디자인되었다. ① 피부에 산소 공급을 위한 다공 구조의 비닐(polyvinylchloride) 또는 3M사의 Tegaderm™ 과 같은 부착필름으로 수분을 적절히 유지하며 산소는 통과시키는 재질의 드레싱(dressing) ② 한천과 같이 수분을 함유할 수 있는 미세 그물구조 (micro-mesh)의 매트릭스 ③ 극성을 강하게 띠는 수지(resin), DEAE-cellulose 와 같은 극성기를 갖는 탄수화물 복합체 (derivatised complex carbohydrate) 또는 hydroxylapatite와 같은 양극성 수지④ 한천 성분의 겔이 신체의 굴곡면이나 접히는 부위에서 쉽게 부서지는 것을 방지하기 위하여 겔에 부착된 먼 거즈 또는 폴리에스터 섬유. ⑤ 접착 테이프를 나타낸다.

도 1b는 본 발명의 패치의 배열 예를 나타낸 그림. 작용기가 다른 수지 또는 다른 극성을 띠는 수지들, 예를 들어 DEAE-agarose 와 CM-agarose를 함께 사용할 경우, 수지들을 같은 겔에 혼합시키면 수지들끼리 결합하여 단백질 흡착 효율이 떨어질 가능성이 매우 높다. 이렇게 극성이 다를 경우, 두 개의 겔을 2중으로 하여 표피에 적용을 하는 것이 바람직하다. 특히 대부분의 단백질이 음전하를 띠므로 양전하를 띠는 DEAE-와 같은 극성의 수지를 환부와 우선 접촉하게 하고, 양전하를 띠는 단백질들은 일반적으로 분자량이 작으므로 (예, eosinophil cationic protein, 18-22KDa) 상대적으로 분자운동이 활발하고 확산이 빠르기 때문에 CM- 같은 수지는 후면에 배열하여 효율적으로 양전하를 띠는 작은 단백질들을 흡착할 수 있다. ⑥ 다른 극성을 갖는 수지를 나타냄.

도 1c는 본 발명의 패치의 작용 기작을 나타낸 그림. 패치를 적용한 후, 혈관으로부터 삼출되어 표피조직에 스며있는 혈액 단백질들이 패치로 확산되어 결합되는 기작을 모식화하여 보여주는 그림이다. 단백질 흡착 패치를 표피에 밀착시켜 삼출된 혈액 단백질을 패치로 흡착시켜 제거함으로써 염증반응을 완화시키고, 표피의 수분을 보전할 뿐만 아니라 수분을 보충시켜 줌으로써 아토피나 건선 질환으로 손상된 환부의 복원을 빠르게 해 줄 수 있다.

도 2는 본 발명의 패치를 아토피성 습진에 적용 예를 나타낸 그림으로, 도 2a는 아토피성 습진에 적용한 사진으로, 심한 아토피성 습진을 갖고 있는 36세 남성의 발등에 패치를 적용한 예이다. 10% (w/v)의 DEAE-cellulose를 함유하는 2.5%(w/v)의 agar 겔 (두께 2mm)를 적용하였다. 패치적용 시간은 매일 오후 8-9시부터 오전 8시경까지 였다. 패치 적용 1일부터 증상이 눈에 띄게 개선되는 것이 관찰되었고, 3일째부터 환부의 경계(boundary)를 알아보기 어려울 정도로 증상이 호전되었다. 도 2b는 본 발명의 패치에 흡착된 단백질들의 SDS-PAGE 분석한 사진:아토피성 습진 환자에 붙였던 패치를 일정한 크기로 잘라내어 SDS-PAGE sample buffer 에 녹여 전기이동 장치로 전개시켰다. 10% (w/v) polyacrylamide gel을 사용하였고, 단백질은 CBB-R₂₅₀으로 발색시켰다. 흡착된 단백질들 중, 주된 단백질은 혈장 알부민 (serum albumin, 66KDa)과 면역글로불린 (immunoglobulin; heavy chain 52KDa 과 light chain 27KDa)이라는 것을 알 수 있다. 7번에 전개된 단백질들은 전체 혈청 단백질(total serum proteins)들의 단백질 프로파일(profile)이다. 환부에서 얻어진 삼출 단백질들과의 큰 차이점은 200KDa 이상의 단백질들이 관찰된다는 것이다. 피부 조직에 스며있는 삼출 단백질의 양 (또는 패치에 결합되는 삼출 단백질의 양으로도 해석할 수 있는 양)이 급격히 감소하면서 환부의 상태가 빠르게 호전되었다. 단백질 삼출 현상이 아토피성 질환의 중경(severity)과 밀접하게 연관되어 있음을 알 수 있게 한다.

도 3은 본 발명의 패치를 전형적인 소아의 심한 아토피성 피부염에 적용 예;

도 3a는 심한 소아 아토피 적용 예 (무릎 부위) ; 심한 아토피성 피부염 증상을 보이는 7세 남아의 무릎 부위에 10%(w/v) DEAE-cellulose를 입자를 함유하는 2.5% 한천 겔 (두께~2mm)로 구성된 패치를 적용하였다. 환자가 밤에 수면을 취하는 시간 동안 적용을 하였다. 심한 피부상태는 하루하루 눈에 띄게 상태가 호전되었다.

소양증은 패치를 적용한 4일까지 지속되었으나, 8일째에는 소양감이 거의 없고 표피도 많이 정상화된 것을 확인할 수 있었다.

도 3b는 심한 소아 아토피성 피부염의 무릎에 적용한 패치로 결합된 삼출 단백질의 분석 사진; 매일 일정한 시간에 환부에서 떼어낸 패치들에서 일정한 크기로 겔을 채취한 후, SDS-PAGE를 수행하여 표피로부터 확산되어 극성 수지에 결합한 단백질들을 시각화 시켰다. 혈장 알부민과 면역글로불린 (immunoglobulin)이 주 단백질인 것을 확인 하였다. 삼출 단백질의 양과 환부의 회복(도3-1)이 밀접하게 관련되어 있음을 알 수 있다.

도 3c는 심한 소아 아토피성 피부염에 적용 예 (종아리 부위); 심한 7세 남아의 종아리에 발생한 아토피 피부염에 응용된 패치를 적용하여 결과를 관찰 하였다. 패치는 10% (w/v) DEAE-cellulose를 함유하는 2.5% 한천 겔로 겔의 수분에 10mg/ml 돼지 폐 추출 인지질, 1.5mM CaCl₂ 및 5mM citrate/ citric acid (pH 5.8)가 되도록 조성하였다. 이 성분은 특허 (대한민국 특허0891595, 호주 특허 2006217261, PCT출원: PCT/KR2006/000638)에 이용된 '혈액 단백질 삼출을 억제하는 조성물'이다. 수지만 함유된 패치보다, 위에 언급된 인지질을 함유하는 패치가 보다 안정적인 치료효과를 나타냄을 (도 3a)과 비교하여 쉽게 알 수 있다.

도 3d는 심한 소아 아토피성 피부염의 종아리에 적용한 패치에 흡착된 삼출 단백질의 분석;도 3b와 비교하여 인지질을 함유하는 패치는 오랜 기간 동안 일정하게 삼출 단백질들을 흡착하였다. 인지질들이 약한 세제 (mild detergent)처럼 작동하여 뭉쳐진 삼출 단백질들을 원활하게 확산되도록 했을 가능성이 높다고 판단된다. 더불어 구연산이 뭉쳐있는 단백질들의 결합을 교란시켜 삼출단백질들의 제거를 촉진했을 가능성도 있다. SDS-PAGE 결과는 지질(lipids)이 패치에 다량 존재해도, 피부에 스며있는 삼출 단백질들이 패치로 흡수 되는데 방해받지 않는다는 것을 보여준다. 그러므로 장기간에 걸친 wet-wrapping 방법은 피부장벽에 영향을 줄 수 있으므로, 피부 장벽을 보호해 줄 지질 성분을 패치에 함유시켜 적용해도 패치의 안정적인 치료효과를 얻을 수 있을 것으로 판단된다. 특허 보다 안정적인 치료를 위하여 패치에 돼지 폐에서 추출한 인지질을 주성분으로 하는 '혈액 단백질 삼출을 억제하는 조성물'을 패치의 겔에 혼합하여 사용하는 방법도 바람직하다고 판단된다.

도 4는 본 발명의 패치를 심한 얼굴의 아토피성 피부염의 적용 예; 도 4a는 심한 아토피성 피부염을 양쪽 얼굴에 갖고 있는 여학생에 패치를 적용하여 패치의 효과를 관찰하였다. 패치를 적용한 다음부터 하루하루 빠른 회복을 보이는 것을 쉽게 관찰할 수 있었다. 패치 적용 4일 후, 환부의 경계(boundary)를 구분하기 힘들 정도로 호전되었으며, 8일 후에 정상 피부 상태를 갖게되었다.

도 4b는 얼굴에 적용한 패치의 겔로부터 흡착된 단백질들을 SDS-PAGE로 전개하였다. 단백질의 흡착된 양이 줄어들어 드는 정도와 표피의 회복 정도가 일치한다는 것을 알 수 있었다.

도 5는 극성이 다른 수지를 갖는 2중 패치의 적용 예로, 10% (w/v) DEAE-cellulose를 함유하는 2.5%(w/v)의 한천 겔 (두께 ~2mm)위에 10% (w/v)의 CM-cellulose를 함유하는 2.5%(w/v) 한천 겔 (~2mm)을 배열되도록 패치를 제작하였다 (도 1b 참조). 패치를 45세 남성의 아토피성 습진 환부에 적용하여 패치의 효과와 단백질 흡착 정도를 SDS-PAGE를 이용하여 관찰하였다.

도 5a; 2겹의 다른 극성을 갖는 패치 적용 후의 피부 상태

도 5b; 환부 적용 후, 패치의 겔에서 추출하여 SDS-PAGE로 전개된 단백질들

도 6은 다양한 수지를 함유하는 패치를 각각 건선환자 환부에 적용한 예;

각기 다른 극성을 띠는 수지를 함유하는 패치를 제작하여, 28세 여성의 건선 부위에 각각 적용하였다. 6시간 적용을 하였으며, 표피의 색 및 표피 두께가 얇아진 정도를 기준으로 각 패치의 효과를 관찰하였다. (도 6a). 2.5% (w/v) 한천만으로 형성된 겔 (~2mm 두께), (도 6b) 10% (w/v) DEAE-cellulose 함유하는 2.5% 한천 겔 (~2mm 두께), (도 6c) 10% (w/v) CM-cellulose 함유하는 2.5% (w/v) 한천 겔 (~2mm 두께), (도 6d) 10% (w/v) hydroxylapatite (양극성 수지) 함유하는 2.5% (w/v) 한천 겔 (~2mm 두께)을 이용하여 건선 환부에 각각 적용하였다. DEAE-cellulose를 함유하는 패치가 가장 좋은 효과를 나타내었으며, CM-cellulose를 함유하는 패치는 뚜렷한 효과를 나타내지 못하였다.

도 6e)는 건선환자의 환부에서 얻는 단백질 패턴과 아토피성 피부염 환자의 환부에서 얻은 단백질 패턴을 보여주고 있다. 두 질환은 단백질 삼출이 일어나는 것은 같으나 삼출되는 단백질의 종류가 다른 것으로 판단되는 근거가 될 수 있다.

도 7은 상처에 적용한 예 (부정적인 효과)로, 외부의 물리적인 충격에 의해 발생한 상처에 10% (w/v) DEAE-

cellulose 함유하는 2.5% 한천 겔 (~2mm 두께)로 구성된 패치를 적용하여 관찰하였다. 상처치료를 필요로 하는 단백질들까지 패치로 흡착되는 것으로 판단되며, 상처의 치유의 속도를 늦추는 것으로 생각된다. 6시간 적용 후 떼어낸 패치에, 액화되어 흡착된 혈흔과 노란색의 단백질들을 관찰할 수 있었다. 패치를 떼어낸 후, 표피가 약간의 장력을 받아도 환부에서 미세한 출혈을 일으키는 것이 관찰되었다. 더불어 상처가 아물어도 상처의 흔적을 크게 남기는 것으로 관찰되었다. 본 특허의 패치는 외상이 없는 상태의 아토피성 피부염이나 건선 등의 혈액 단백질 삼출을 보이는 피부질환들에 적용하도록 제한을 둘 필요가 있다.

도 8은 DEAE-순면 천 (DEAE-cotton fabrics) 제조 공정 모식도를 나타낸 그림, DEAE(Diethylaminoethyl)기를 순면 천에 결합(coupling)시켜 아토피성 피부질환이나 건선질환의 치료용으로 사용할 수 있도록, DEAE-기 (group)를 cellulose에 결합시키는 방법을 최적화하고 대량생산이 가능하도록 제조방법을 단순화시켰다. 실험실에서 제작한 방법을 이용하여 공정 과정을 모식화한 그림이다. 다양한 두께와 촘촘함 (mesh size)을 갖는 천을 연속으로 이동시키면서 DEAE-기를 결합시켜, 피부증상에 따라 다양한 적용을 할 수 있도록 제작이 가능한 방법이라 판단된다.

도 9는 DEAE-순면 천을 이용한 삼출 단백질 흡착을 나타낸 사진으로, 일반 순면 천(cotton fabrics)에 DEAE-기(group)를 결합(coupling)시켜 DEAE-순면 천을 제작하였다. 도 9a의 왼쪽은 건조된 형태이고, 오른쪽은 환부에 적용 전, 증류수로 적셔놓은 상태이다. 아토피성 습진 환부에 5시간 적용하여 삼출 단백질 흡착을 확인하였다. 일반 순면 천에서는 소량의 단백질이 검출되었지만, DEAE-순면 천에서는 다양한 혈액 삼출 단백질이 다량 흡착된 것을 쉽게 알아볼 수 있다[도 9b] 이와 같은 극성기나 단백질 결합이 가능한 천은 굴곡이 심한 환부에 적용이 가능하고, 전신 피부염을 갖는 경우, 옷 형태로 제작하여 보다 효율적으로 치료가 가능하리라 예상된다. 더불어, 다양한 약제를 혼합하여 사용할 수 있으므로, 전문의들이 환자의 상태에 따라 액상의 약제를 첨가하는 방식으로 맞춤 치료가 가능할 것으로 판단된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0040] 이하 비한정적인 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다. 단 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 의도로 기재된 것으로서 본 발명의 범위는 하기 실시예에 의하여 제한되는 것으로 해석되지 아니한다.

[0041] 실시예 1: 혈액 단백질 삼출물 제거용 패치의 제조 및 구성

[0042] 한천(agar, agarose)은 분자생물학에서 흔히 이용되는 실험 재료로 생체의 효소에 의해 생분해되지 않으며 식용 가능하고 피부에 자극이 없는 아주 좋은 겔(gel)형태를 형성할 수 있다. 이런 겔의 형태는 탄력이 우수하며, 수분을 다량 함유할 수 있을 뿐만 아니라 많은 장점들이 있다. 게다가 큰 분자량의 입자들이 쉽게 겔 안에 형성된 미세메쉬(micro-mesh)사이로 확산되어 쉽게 이동할 수 있다. 일반적으로 전기이동(electrophoresis)에 한천을 이용할 때, 200KDa 이하의 단백질들은 겔 안에서 너무 빨리 확산되어 단백질의 밴드(band)를 확인하기 힘들다. 이는 한천의 미세구조가 매우 크다는 것을 의미한다. 표피로 삼출된 혈액단백질들은 200KDa 이하의 면역글로불린G(IgG, 150KDa)와 혈장 알부민(serum albumin, 66kDa)이 가장 많으므로 이들 단백질들이 겔 안에서 자유롭게 확산되기에 아무런 문제가 없다.

[0043] 겔 안에서 단백질과 결합하여 분자들을 고정시킬 극성 수지(resin)들- 예를 들어 DEAE-cellulose 또는 DEAE-agarose, CM-cellulose(또는 agrose) hydroxylapatite등의 수지들- 은 가루 상태에서는 패와 점막에 자극이 있을 수 있지만, 완전히 수화(hydrated 또는 swelled) 되었을 경우에는 자극이 거의 없다. 본 특허에서는 이들 입자들을 한천과 같은 겔 안에 혼탁하여 고정시켜 환부와 직접 접촉하지 않도록 함으로써 불필요한 자극도 최소화할 수 있다.

[0044] 한천과 같은 겔 안에 고정시킬 수지들은 증류수에 오래(overnight) 담아두어 충분히 부풀렸고(swelling procedure), 극성기에 붙어 있을 오염물질을 제거하기 위하여, 0.1M NaOH-0.1M HCl- 0.1M NaOH의 순서, 또는 0.1M HCl- 0.1M NaOH- 0.1M HCl의 순서로 각 수지를 세척하였다. 오염물질들을 제거한 수지들은 증류수로 수차례 반복하여 세척하였고, 준비된 각각의 수지들은 고온고압으로 멸균(autoclave, 15min, 151b/cm²)하여 준비하였다.

[0045] 한천 겔(agarose gel)과 수지를 혼합하여 고정시키는 과정은 다음과 같다. 한천 겔(2.5% 질량/부피)을 가열하여 액상으로 만든 후, 섭씨 60도를 유지하도록 하였다. 준비된 수지는 필터 케이크(filter cake) 형태로 만들어 수분을 제거한 후 질량을 측정하여 (wet-weight), 패치의 10% (질량/부피 비)가 되게 하였다. 한천 겔과

수지를 섞어 60도에서 균질하게 혼합시킨 후, 형성 틀에 부은 후 냉각시켜 겔의 두께가 1.5mm~2mm 되도록 하였다. 한천과 같은 겔은 신체의 굴곡부위에서 과도하게 접히거나 휘어질 경우, 부서질 가능성이 있으므로 순면 거즈 (80~120수, 80~120mesh) 1겹을 겔이 액상인 상태일 때, 겔 표면에 부착시켜 겔의 강도를 보강하였다. 겔의 구조와 작동 원리는 도안으로 설명하였다 (도 1).

[0046] 실험예 1: 심한 아토피성 습진 (atopic eczema) 환부에 적용 예

[0047] 매우 심한 아토피성 습진을 갖고 있는 환자(36세, 남)에게 10%(w/v) DEAE-cellulose를 2.5%(w/v) 한천 겔에 고정시킨 패치를 환부에 적용하였다. 이 환자는 발등의 환부로 인하여 10년 이상의 오랜 기간 동안 아토피성 습진으로 고통 받은 환자이다. 패치 적용은 활동이 많은 낮 시간을 피해, 저녁 8~9시경에 적용(overnight application)하고 오전8시 경에 떼어내도록 하였다. 환부는 매일 관찰 하였고, 환부로부터 떼어 낸 패치에서 지름 2mm의 원통을 이용해 겔 시료를 일정량 채취하여, 10%(w/v) SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)를 이용하여 흡착된 단백질을 전개하였다. 전기이동 후, 단백질 밴드들은 Coomassie brilliant blue-R₂₅₀ 염색법으로 발색하였다.

[0048] 환부에서 떼어낸 패치에 결합된 단백질을 분석한 결과, 제일 많은 단백질은 혈장 알부민이고 그 다음으로 면역항체 단백질 (heavy chain ~52KDa, light chain 27KDa)이라는 것을 알 수 있었다. 이는 아토피성 질환에서 혈관으로부터 삼출되는 혈액 단백질들의 분자량에 따라 삼출이 일어난다는 사실과 일치한다. 패치로 흡착된 단백질량(즉, 삼출되는 혈액 단백질량)이 감소함에 따라, 환부의 상태도 급격히 좋아진다는 사실을 알 수 있었다. 이 결과는 혈액 단백질들의 조직 삼출물이 아토피성 피부염을 촉발시킨다는 것을 증명하는 간접적인 결과이기도 하다. 어떠한 스테로이드 및 스테로이드 유도체들, 면역 조절기작의 약제들 (예, 엘리텔 또는 타클로리무스), 보습연고 등 어떠한 약제나 효능을 보이는 치료 성분의 적용 없이도 아토피성 피부질환의 치료가 가능하다는 놀라운 사실을 보여주고 있다. 치료기간도 매우 짧고, 증류수 외에 피부로 흡수되는 성분이 없으므로 매우 안전한 방법이라 할 수 있다 [도 2].

[0049] 실험예 2: 전형적인 소아의 심한 아토피성 피부염에 적용 예(패치에 특정 인지질(phospholipids)을 함유시켜 실행한 예)

[0050] 전신에 대칭으로 발생한 심한 아토피성 피부염을 갖고 있는 7세 남아의 일부 환부에 패치를 적용하여 보았다. 패치는 두 종류를 적용하였다.

[0051] 10% (w/v)의 DEAE-cellulose를 함유하는 2.5% (w/v) agar 겔 (두께 ~2mm)과 10% (w/v)의 DEAE-cellulose 및 10%(w/v) 돼지의 폐에서 추출한 인지질, 1.5mM CaCl₂ 및 5mM citrate/citric acid (pH 5.8)을 함유하는 2.5% (w/v) agar 겔 (두께 ~2mm)을 각각 다른 환부에 적용하여 그 효과를 비교하여 보았다. 돼지의 허파에서 추출한 인지질, 1.5mM CaCl₂ 및 5mM citrate/citric acid (pH 5.8) 성분은 '아토피피부염 치료를 위한 혈액 단백질 삼출 억제제를 위한 조성물[대한민국 특허0891595, 호주 특허 2006217261, PCT출원 PCT/KR2006/000638]로 현재 신약 허가를 위한 임상 3상을 종료한 조성물이다. 두 종류의 패치를 환부에 적용하여, 치료 속도를 관찰하였고, 삼출되는 단백질의 프로파일을 관찰하였다. 그리고 첨가된 인지질이 단백질이 패치로 확산되는 것을 방해하는지 조사하였다.

[0052] 두 종류의 패치 적용 결과, 전형적인 심한 소아의 아토피성 피부염의 치료에 두 종류의 패치 모두 매우 놀라운 치료 속도와 치료 효과를 보여주었다. 인지질과 칼슘이온 및 구연산/구연산 염이 함유된 패치가 보다 효율적으로 삼출 단백질을 흡착하는 것을 알 수 있었다. 치료 효과도 돼지 허파에서 추출된 인지질을 함유하는 패치가 훨씬 더 피부를 안정적으로 정상화시키는 것이 관찰 되었다. 돼지 허파에서 추출한 인지질이 순한 세제 (mild detergent)처럼 작동하여, 피부에 누적되어 멎쳐있는 삼출 단백질을 해리(dissociating)시켜 삼출물 제거에 보다 좋은 효과를 보였을 것으로 판단된다. 또한, 조성물에 함유된 구연산이 단백질들 간의 생길 수 있는 이온결합을 간섭하여 삼출물을 더 효과적으로 제거할 수 있게 했을 가능성도 있다. 패치에 함유된 포화 인지질들이 혈액 단백질 삼출 억제 효과를 갖고 있음으로써 환부의 회복을 더 빠르게 했을 것이라 판단된다. 두 종류의 패치 (DEAE-cellulose 만 함유된 패치와 DEAE-cellulose 및 돼지 폐 추출 인지질 + 1.5mM CaCl₂ + 5mM citrate /citric acid (pH5.8)를 함유하는 패치)의 효과를 비교하여 알 수 있는 중요한 사실은, 인지질들이 패치의 안에 고정된 극성 수지 입자들에 삼출 단백질들이 결합하는 것을 방해하지 않는다는 결론

을 내릴 수 있었다.

[0053] 보다 빠르고 안정적인 치료 효과를 기대하기 위해서는 혈액 단백질 삼출 억제 기능을 갖는 약제나 성분들과 함께 사용하는 것도 바람직하다고 판단된다.

[0054] 아토피성 피부염 치료를 위하여 wet-wrapping 방법이 사용되어진다. 본 특허가 제시하는 수분이 다량 함유된 패치를 연속적으로 적용하기 위해서는 패치에 다양한 지질 및 피부장벽을 보완해 줄 수 있는 성분들을 함유시켜 적용하는 방법도 아토피 환자들의 고통을 덜어 줄 수 있는 좋은 방법이라 판단된다. 또한 환부에 스테로이드나 타크로리무스 등의 연고들이 본래의 항스트레스 기능 및 면역 감소 기능 외에 혈액 단백질 삼출을 억제하는 효과가 있다고 알려져 있으므로, 패치의 매트릭스에 혈액 단백질 억제가 가능한 약물을 적당량을 혼합시켜 사용을 하거나, 패치 적용 전, 후에 환부에 적용하여 혈액 단백질 삼출을 억제시키면서 패치를 적용하면 치료 효과의 상승을 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

[0055] 실험예 3:얼굴에 심한 아토피성 피부염을 갖는 청소년에 적용 예

[0056] 얼굴의 양쪽 볼에 심한 아토피성 피부염으로 고통 받고 있는 청소년(16세, 여)에게 패치를 적용하여 그 결과를 관찰하였다. 극심한 소양감과 작열감으로 인하여 정상적인 생활이 불가능할 정도로 심한 아토피성 피부염으로 고통을 받고 있던 경우이다. 얼굴은 피지를 통하여 중성지방의 분비가 많은 부위라 패치의 단백질 흡착 효능에 저해를 받을 수 있기 때문에 패치의 효과를 꼭 시험해야 할 부위였다. 패치는 10% (w/v)의 DEAE-cellulose를 함유하는 2.5% (w/v) agar 겔(두께 ~2mm)을 적용하였다. 패치는 저녁 이후 수면시간에 붙이게 하고, 오전에 등교 전에 떼도록 하였다. 패치 적용 후 하루가 다르게 증상이 호전되었고, 8일째 패치를 적용하고 난 후 얼굴 피부는 정상으로 회복되었다. 이 환자의 피부 상태는 20일 정도 정상인 상태를 유지하였고, 그 이후에 다시 양 볼이 붉어 지면서 경미한 아토피 증상이 다시 나타나는 것을 관찰 하였다.

[0057] SDS-PAGE의 결과로부터, 패치를 이용한 삼출 단백질의 제거는 평균 약 5일 정도 소요되며, 치료기간은 심한 환자의 경우 8일~10일이 소요된다는 것을 알 수 있었다. 특히 항체단백질의 양이 먼저 줄어 들면서 증상의 호전을 동반하는 것으로 생각된다. 결론적으로, 혈액 단백질의 삼출된 양이 증상의 중경과 직접 연관되어 있는 것으로 판단되며, 혈액 단백질의 삼출을 억제할 수 있는 다양한 적극적인 치료가 동반된다면 아토피 질환의 치료는 매우 쉬울 것으로 판단된다.

[0058] 실험예 4:극성이 다른 수지를 함유하는 2중 겔 형태의 패치 적용 예

[0059] 10% (w/v) DEAE-cellulose를 함유하는 2.5%(w/v)의 한천 겔 (두께 ~2mm)위에 10% (w/v)의 CM-cellulose를 함유하는 2.5%(w/v) 한천 겔 (~2mm)을 갖도록 다른 극성을 갖는 2중 패치를 제작하였다(도 1b 참조). 패치는 45세 남성의 다리에 있는 아토피성 습진 환부에 적용하였고 패치의 효과 및 단백질 흡착을 관찰하였다. 첫째 날에는 패치를 3시간 30분 환부에 적용하였고, 그 다음엔 매일 수면시간에 패치를 적용하도록 하였다. 패치 적용 3시간30분 후에 놀라울 정도로 회복하였고, 하루하루 급격히 증상이 호전되었다.

[0060] 겔에 흡착된 삼출 단백질들의 양과 종류가 DEAE-cellulose 만을 사용했을 때보다 더 다양하고 선명한 것으로 판단되었다. 치료효과도 더 빠른 것으로 관찰된다.

[0061] 실험예 5:건선 환자에 적용 예

[0062] 진선에 (특히 사지 말단 부위로 증상이 더 심한) 건선을 갖고 있는 28세 여성의 피부에 다양한 조합의 패치를 적용하여 패치의 효능을 관찰하였다.

[0063] a. 2.5% (w/v) 한천 만으로 형성된 겔 (~2mm 두께),

[0064] b. 10% (w/v) DEAE-cellulose 함유하는 2.5% 한천 겔

[0065] c. 10% (w/v) CM-cellulose 함유하는 2.5 (w/v) 한천 겔,

[0066] d. 10% (w/v) hydroxylapatite (양극성 수지) 함유하는 2.5% (w/v) 한천 겔을 각각 건선환자 환부들에 약 5시간 정도 부착했다가 떼어낸 후, 환부의 변화를 관찰하였다. 건선환자에게 가장 좋은 효과를 나타낸 것은 10% (w/v) DEAE-cellulose 함유하는 2.5% 한천 겔 패치로 판단되었으며, 가장 효과가 적은 패치는 10% (w/v) CM-

cellulose를 함유하는 2.5% (w/v) 한천 겔 패치로 판단되었다 [도6, 도 6a부터 도6d까지].

[0067] 흥미로운 발견은 건선 환자와 아토피성 질환 환자들의 환부에서 삼출되는 단백질의 종류가 다르다는 것이다. 건선환자에서 알부민은 발견되나, 면역글로불린은 아주 소량만 발견되었다. 이는 혈관으로부터 단백질들이 삼출될 때, 분자량에 따른 선택적 삼출이 일어나기 때문이라고 판단할 수 있다. 알부민 보다 분자량이 더 큰 항체 단백질들은 쉽게 삼출되지 못하는 상태일 것이라고 예상할 수 있다. 이 결과는 아토피성 피부염에서 염증 반응이 더 활발한 이유를 설명 가능하게 하며, 건선 질환에서 염증반응이나 피부 진무름(skin lesion) 보다 표피 세포의 이상분열을 일으키는 이유를 설명 가능하게 할 것으로 판단된다. 이와 같은 발견을 통하여, 본 특허의 패치를 이용하여 건선과 아토피의 진단이 쉽게 눈으로 확인 가능하다는 것이다. 즉, 본 특허의 패치를 이용하여 아토피성 피부염과 건선이 혼돈될 경우, 진단 기준으로 삼을 수 있다는 것이다. 게다가, 면역학적 연구방법을 이용하여, 삼출되는 다양한 단백질들에 대하여 연구를 가능하게 한다는 것이다. 앞으로 본 특허의 패치는 치료 목적 이외에도 연구 목적 등 다양한 응용이 가능하다는 것을 보여준다.

[0068] 실험예 6: 패치의 외상 또는 상처에 적용 예 (패치의 부정적인 효과의 예)

[0069] 창상 또는 베인 곳에 패치를 적용하여 그 영향을 관찰하여 보았다. 결과적으로 단백질 흡착 패치를 상처에 적용하는 것은 적합하지 않은 것으로 판단되었다. 혈액응고 및 조직의 복원에 필요로 되는 단백질들까지 패치로 흡착되는 것으로 판단되며, 8시간 적용 후 상처에서 미세한 출혈이 다시 발생하는 것이 관찰되었다. 게다가 상처가 아무는 속도도 상당히 늦춰지는 것으로 판단되며, 상처를 열어 놓아 감염에 취약한 상태로 만들어 놓는 결과를 보여줬다. 더불어 나중에 상처가 아물더라도 흉터를 남길 수 있다는 것을 발견하였다 [도7].

[0070] 실험예 7: 패치의 성질을 이용한 응용 (순면 천의 탄수화물에 극성기를 결합시켜 사용하는 방법)

[0071] DEAE-cellulose 등의 극성기가 결합된 agarose 등의 수지는 패치 형태로 제작되어 사용하면, 재사용이 어렵다. 치환기가 붙은 복합 탄수화물 (Derivatised complex carbohydrate) 수지는 넓은 표면적과 높은 단백질 결합 능력을 갖고 있으므로 겔 형태의 패치 안에 고정시켜 사용할 경우 원하는 효과를 얻을 수 있지만, 가격이 다소 비싸다는 단점이 있다. 이런 문제점을 보완하기 위하여, 순면 천(100% cotton fabric)에 DEAE-기(group) 및 다양한 극성기 등을 결합시켜 사용할 수 있다. 단백질 결합 능력이 있는 화학적으로 변형된 천은 신축성이 좋아 신체의 굴곡 부위에 밀착시켜 사용할 수 있는 장점이 있고, 흡착된 단백질을 효율적으로 제거시킨다면 여러 번 재사용이 가능하다. 단백질 정제용 수지를 사용하는 것보다 단백질 결합 능력은 다소 떨어지지만, 다양한 적용이 가능한 장점도 있다. 특히 다양한 약제들 (예를 들어, 소독제, 항생제, 항히스타민제, 스테로이드 등) 과 다양한 지질들 (예를 들어, 세라마이드, 인지질 및 리포솜 형태의 지질 혼합물 등)을 의사의 판단에 따라 더 첨가하여 맞춤 치료를 할 수 있고, 옷 형태로 제작을 할 경우 전신 아토피로 고통 받는 환자의 치료에도 쉽게 이용할 수 있을 것으로 예상된다.

[0072] 본 특허에서는 DEAE-기를 순면 천에 결합시켜 단백질 흡착이 가능한 천을 용이하게 제작하는 방법을 제시하고자 한다.

[0073] 본 발명의 DEAE-순면 천을 제조하는 공정은 다음과 같다.

- [0074] 1)순면 천을 증류수로 세척 후 건조한다;
- [0075] 2)3M NaOH에 30초 동안 담근다;
- [0076] 3)3M NaOH와 3M DEAE-Cl(diethylaminoethyl chloride)가 섞인 용액에 40분간 담근다;
- [0077] 4)3M DEAE-Cl에 30초간 담근다;
- [0078] 5)증류수로 세척한다;
- [0079] 6)건조시킨다.

[0080] 위에 나열된 DEAE-순면 천을 제조하는 방법으로 대량생산을 할 경우, 그 방법은 도 8에 모식화된 방법으로 수행하면 가능하다. 되도록 저렴한 가격의 효율 좋은 패치가 제작되어, 많은 환자들에게 도움이 되길 바라는 개발자들의 바람으로 제조 공정을 단순화시켰다.

[0081] 위에 기술된 방법으로 만들어진 DEAE-순면 천을 아토피성 피부염 환부에 약 4시간 밀착시킨 후, 삼출단백질의

흡착을 확인하였다.

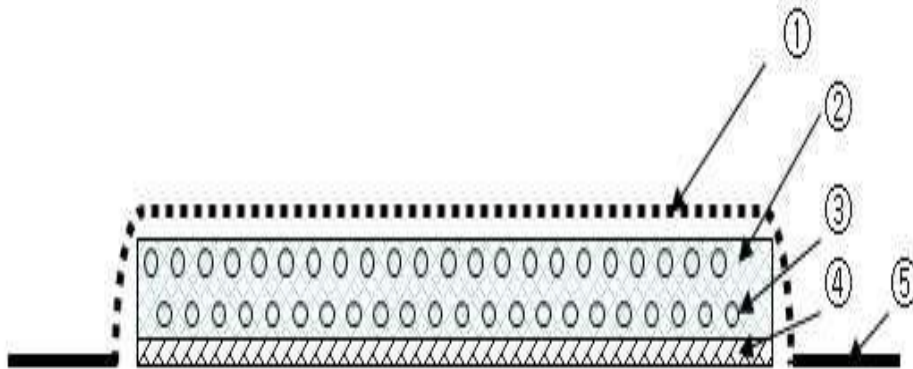
[0082] 도 9a는 DEAE-순면 천 조각으로 왼쪽은 건조 상태의 제작된 천의 상태이고 오른쪽은 환부에 적용하기 전에 증류수를 이용하여 적셔놓은 상태이다.

[0083] 도 9b는 일반 순면 천과 DEAE-순면 천을 각각 환부에 5시간 밀착시켰다 떼 후, 동량의 천을 절취하여 SDS-PAGE를 이용하여 단백질의 흡착을 확인한 사진이다. DEAE-기를 갖고 있는 순면 천은 DEAE-cellulose를 함유하는 한천 겔 패치와 크게 다르지 않게 환부에서 혈액단백질 삼출물을 흡착하여 제거하는 것으로 확인할 수 있었다.

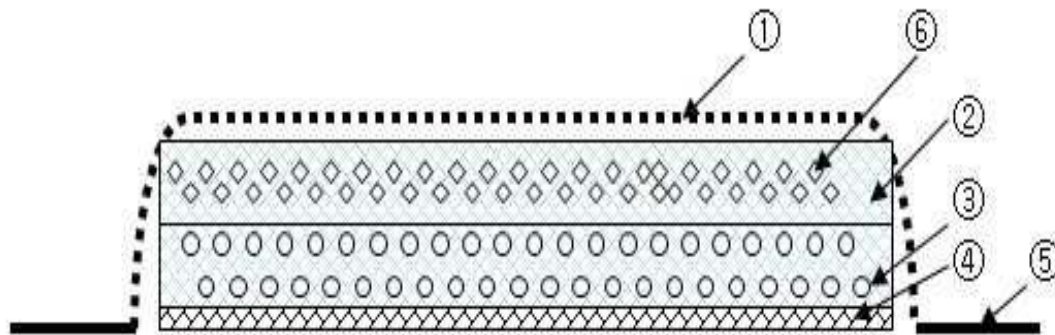
[0084] DEAE-기(group)나 기타 극성을 갖는 기(group)을 갖는 순면 천은 아토피성 질환, 건선 및 유사질환에 치료의 목적으로 사용될 수 있지만, 구조적으로 피부에 있는 노폐물을 제거하는데도 응용될 수 있을 것으로 예상된다. 경우에 따라서는 옥틸 기(octyl group)나 뷰틸 기(butyl- group)등을 결합시켜서 특정 지질이나 난용성 단백질들을 표피에서 제거할 수도 있겠다. 따라서 치료 목적 외에도, 미용 목적 (예를 들어 마스크 팩)으로도 사용이 가능하며 특히 장점은 여러 번 사용이 가능함으로써 경제적이며 친환경적이라는 것이다.

도면

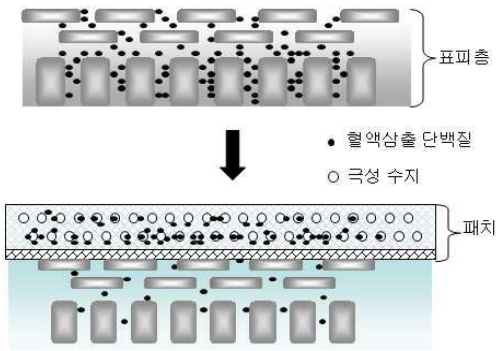
도면1a



도면1b



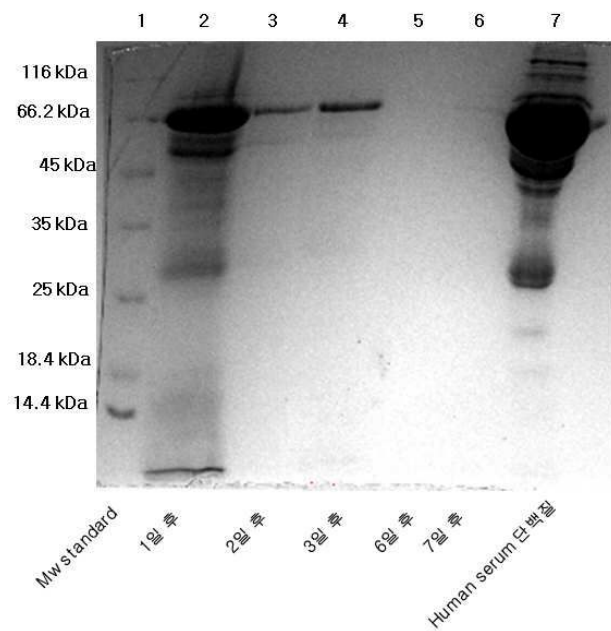
도면1c



도면2a

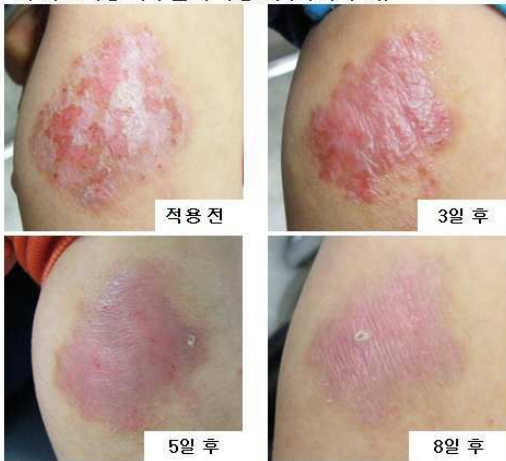


도면2b



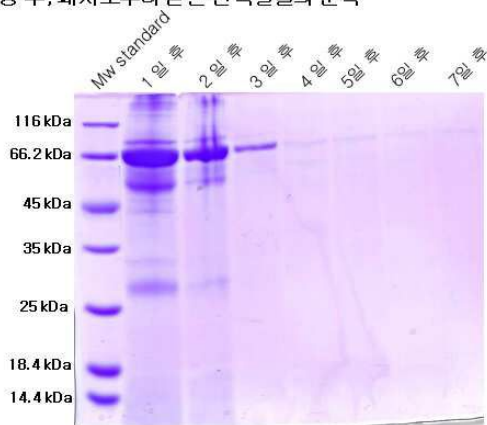
도면3a

심한 소아 아토피성 피부염에 적용 예 (다리 부위)



도면3b

환부 적용 후, 패치로부터 얻은 단백질들의 분석



도면3c

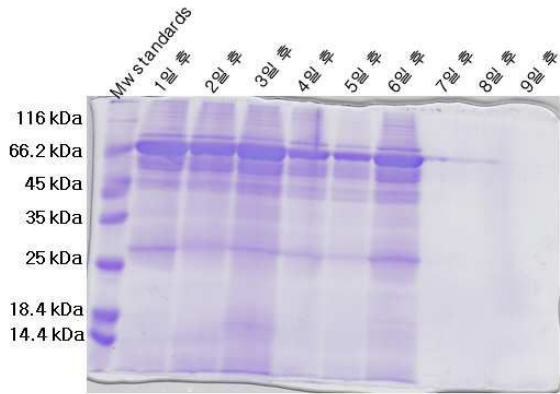
심한 소아 아토피성 피부염에 적용 예 (종아리 부위)

[돼지 폐 추출 인지질 조성물을 함유시킨 패치를 적용]



도면3d

환부 적용 후, 패치로부터 얻은 단백질들의 분석



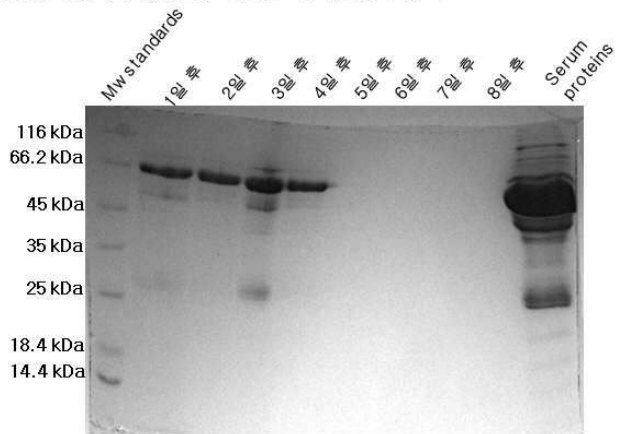
도면4a

얼굴에 발생한 아토피성 피부염 적용 예



도면4b

얼굴에 적용 후, 패치로부터 얻은 단백질들의 분석



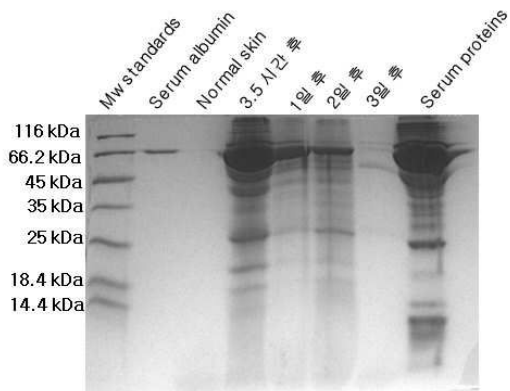
도면5a

극성이 다른 2겹의 패치 적용 예



도면5b

한부 적용 후, 극성이 다른 2겹의 패치로부터 얻은 단백질 분석



도면6a



도면6b



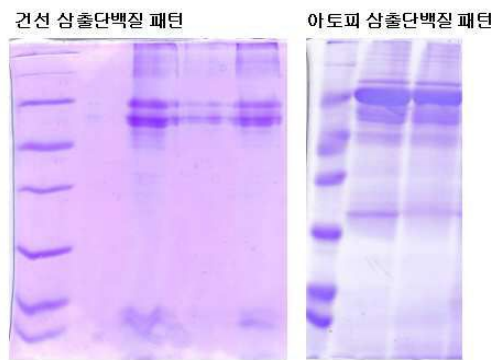
도면6c



도면6d



도면6e

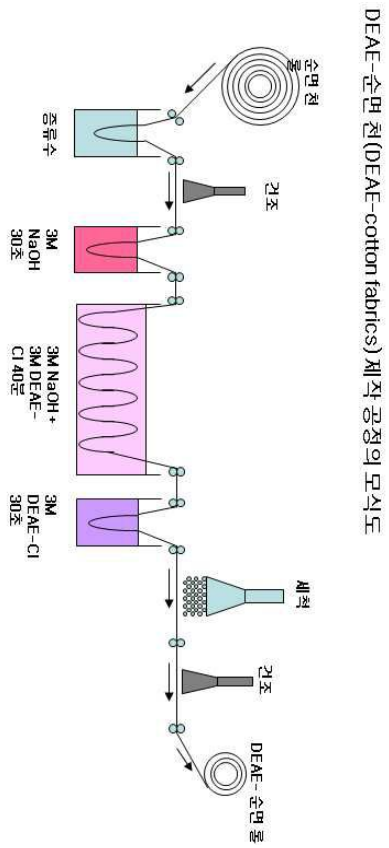


도면7

상처에 적용한 예 (부정적인 효과)



도면8



도면9a



도면9b

