



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0133422
(43) 공개일자 2021년11월08일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/70 (2006.01) A61K 33/00 (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) A61P 37/08 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 9/70 (2021.05)
A61K 33/00 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-0051993
(22) 출원일자 2020년04월29일
심사청구일자 2020년04월29일
- (71) 출원인
연세대학교 원주산학협력단
강원도 원주시 흥업면 연세대길 1
- (72) 발명자
이규재
충청북도 괴산군 감물면 도전로 52-1
- (74) 대리인
김보정

전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 피부염증 및 상처 치료용 미네랄 패치

(57) 요약

본 발명은 피부염증 및 상처 치료용 미네랄 조성물 및 이를 포함하는 패치로서, 아토피성 피부염(Atopic dermatitis)와 같은 만성 및 재발성 염증성 피부질환을 치료하기 위한, 토르말린(tourmaline) 기반의 미네랄 복합 조성물 및 이를 포함하는 패치에 관한 발명이다. 본 발명에 따른 미네랄 조성물 및 이를 포함하는 패치를 피부에 적용하는 경우 피부장벽의 기능성 조절, 산화환원반응 조절 및 사이토카인 억제에 효과가 있어 피부염증 및 상처 치료에 유용하게 활용될 수 있다.

대 표 도 - 도1

MCM 패치의 천연 광석 분말 조성

Component Name	Component Name	Chemical Formula	CAS Number	Content [wt%]
천연광석 성분(분말)	Silicon dioxide	SiO ₂	7631-86-9	<1~30%
	Aluminum oxide	Al ₂ O ₃	1344-28-1	<1~30%
	Magnesium oxide	MgO	1309-48-4	<1~20%
	Titanium dioxide	TiO ₂	13463-67-7	<1~20%
	Potassium oxide	K ₂ O	12136-45-7	<1~10%
	Calcium oxide	CaO	1305-78-8	<1~5%
	Iron oxide	Fe ₂ O ₃	1309-37-1	<1~5%
	Ferrous oxide	FeO	1345-25-1	<1~5%
	Sodium oxide	Na ₂ O	1313-59-3	<1~5%
염 용액	Magnesium chloride	MgCl ₂	7786-30-3	<1~50%
	Water	H ₂ O		<1~50%

(52) CPC특허분류

A61P 11/06 (2018.01)

A61P 17/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

A61P 37/08 (2018.01)

명세서

청구범위

청구항 1

- a) 엘반, 게르마늄 및 화산암으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상을 포함하는 천연 광석 및 토르말린을 분쇄하여 분말을 제조하는 단계;
- b) 상기 분말과 염용액(salt solution)을 혼합하여 혼합 용액을 만들고, 염용액으로부터 응집 반응을 유도하여 미네랄 복합재료(Mineral Composite Materials, MCM)를 수득하는 단계; 및
- c) 상기 미네랄 복합재료를 천연 식물에 부착 및 건조하여 패치를 제조하는 단계; 를 포함하는 미네랄 복합재료(MCM) 패치 제조방법.

청구항 2

- 제 1항에 있어서,
상기 단계 a)에서 분말은 SiO_2 , MgO , CaO , Fe_2O_3 , 및 FeO 로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상을 포함하는 것인 미네랄 복합재료 패치 제조방법.

청구항 3

- 제 1항에 있어서,
상기 단계 a)에서 분말은 SiO_2 , Al_2O_3 , MgO , TiO_2 , K_2O , CaO , Fe_2O_3 , FeO 및 Na_2O 를 포함하는 것인 미네랄 복합재료 패치 제조방법.

청구항 4

- 제 3항에 있어서,
상기 분말은 상기 b)의 혼합 용액 100 중량부에 대해,
 SiO_2 1 내지 30 중량부,
 Al_2O_3 1 내지 30 중량부,
 MgO 1 내지 20 중량부,
 TiO_2 1 내지 20 중량부,
 K_2O 1 내지 10 중량부,
 CaO 1 내지 5 중량부,
 Fe_2O_3 1 내지 5 중량부,
 FeO 1 내지 5 중량부, 및
 Na_2O 1 내지 5 중량부의 함량으로 혼합 용액 내에 혼합되는 것인 미네랄 복합재료 패치 제조방법.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 단계 a)에서 분말은 200 내지 1500 메쉬 크기로 분쇄된 것인 미네랄 복합재료 패치 제조방법.

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 단계 b)에서 염용액은 염화마그네슘 수용액, 염화칼슘 수용액, 염화지크로닐 수용액, 황산지크로닐 수용액, 염화세륨 수용액, 염화티탄 수용액 및 염화알루미늄 수용액으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상인 미네랄 복합재료 패치 제조방법.

청구항 7

제 1항에 있어서,

상기 단계 b)에서 염용액은 염화마그네슘 수용액인 미네랄 복합재료 패치 제조방법.

청구항 8

제 7항에 있어서,

상기 염화마그네슘 수용액은 염화마그네슘의 함량이 1 내지 50 % w/w인 미네랄 복합재료 패치 제조방법.

청구항 9

제 1항에 있어서,

상기 단계 c)에서 천연직물은 마섬유, 견섬유 및 모섬유로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상인 것인 미네랄 복합재료 패치 제조방법.

청구항 10

제 1항에 있어서,

상기 단계 c)에서 건조는 20 내지 40 °C에서 수행되는 것인 미네랄 복합재료 패치 제조방법.

청구항 11

제 1항 내지 제 10항 중 어느 한 항의 방법에 따라 제조된 미네랄 복합재료 패치.

청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 미네랄 복합재료는 항염증, 항산화, 혈액 순환 개선, 경피 수분조절 및 피부 장벽 보호로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상의 효과를 나타내는 것인 미네랄 복합재료 패치.

청구항 13

제 11항에 있어서,

상기 미네랄 복합재료는 B세포 IgE 분비억제, T 세포 사이토카인 분비 억제, GPx(glutathione peroxidase) 활성 증가 또는 ROS(Reactive oxygen species) 활성 감소 효과를 나타내는 것인 미네랄 복합재료 패치.

청구항 14

제 13항에 있어서,

상기 T 세포 사이토카인은 IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-12, IL-6, IL-4 및 IL-10으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상인 것인 미네랄 복합재료 패치.

청구항 15

제 11항에 있어서,

상기 미네랄 복합재료 패치는 아나필락시스성 쇼크, 알레르기성 비염, 기관지 천식, 약제 알레르기, 식물성 알레르기, 두드러기, 습진 및 아토피성 피부염으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 질환의 예방 또는 치료 효과를 나타내는 것인 미네랄 복합재료 패치.

청구항 16

제 11항에 있어서,

상기 미네랄 복합재료 패치는 아토피성 피부염의 예방 또는 치료 효과를 나타내는 것인 미네랄 복합재료 패치.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 피부염증 및 상처 치료용 미네랄 조성물 및 이를 포함하는 패치로서, 토르말린(torumaline) 기반의 미네랄 복합재료를 포함하는 조성물 및 이를 포함하는 패치에 관한 발명이다.

배경 기술

[0003] 알레르기 반응은 무해한 항원, 즉 알러젠(Allergen)에 반응하여 생성된 IgE 항체를 지닌 개인이 계속하여 동일 알러젠(Allergen)에 노출되었을 때 일어난다. 이러한 알러젠(Allergen)은 이미 노출된 조직에 있는 IgE 결합 비만세포를 활성화시켜 알레르기의 특징적인 반응들을 연속적으로 일어나게 한다. 이러한 알레르기 질환은 봄철에 주로 발생하는 계절형과 1년 내내 증상이 나타나는 만성형 알레르기 질환으로 나뉘며 계절형이 해마다 지속되면 만성형으로 전환될 수 있다. 대표적인 만성형 알레르기 질환에는 아토피 피부염이 있다.

[0004] 아토피 피부염은 주로 유아기 혹은 소아기에 시작되는 만성 재발성의 염증성 피부 질환으로 소양증(가려움증)과 피부건조증, 특징적인 습진을 동반한다. 아토피 피부염이 발명하는 경우, IL-4, IL-5, IL-10 및 IL-13과 같은 다양한 면역조절 매개체가 비만세포를 통해 과도하게 분비된다. 아토피 피부염에 대한 매커니즘이 명확히 규명된 것은 아니나, 피부 장벽 기능의 손상, 면역 시스템 기능장애, 면역 글로불린 IgE-매개 과민증, 심리적, 유전적 및 환경적 요인 등 다수 요인에 의한 것으로 알려져 있다. 이와 관련하여, T세포, 랑게르한스 세포, 각질 세포, 호산구 및 비만세포가 아토피 피부염에 주요 요인에 해당한다는 연구결과, TH1 및 TH2 사이토카인의 불균형이 IgE 매개 과민증을 촉진하여 아토피 피부염을 유발시킨다는 연구결과가 있다.

[0005] 아토피 피부염의 치료를 위해 스테로이드나 칼시뉴린 억제제, T세포 억제제와 같은 국소적인 약물이 사용되고 있지만, 장기적인 치료시 약물을 바른 부위에 저리거나 타는 느낌, 홍조, 발열, 부종과 뇌하수체 및 부신피질

기능의 억제와 녹내장등과 같은 부작용이 생길 수 있는 문제점이 있다. 이러한 이유로 천연물의 항산화 작용이나 면역 조절 기능을 통해 부작용 없이 아토피 피부염을 치료하기 위한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

[0006] 생체 성분의 무기질 또는 비 생물의 광물질을 “미네랄”이라고 부른다. 천연 미네랄의 높은 흡수용량, 화학적 불활성, 낮은 독성으로 인해 치료목적으로 연구되고 있으며, 이와 관련하여 위장보호제, 삼투성 구강 완화제, 유화제 및 피부 국소 보호제 등으로 이용되고 있다. 이 중 토르말린은 $(\text{Na}, \text{Ca})(\text{Li}, \text{Mg}, \text{Al})_3(\text{Al}, \text{Fe}, \text{Mn})_6(\text{BO}_3)_3(\text{Si}_6\text{O}_{18})(\text{OH})_4$ 의 분자식을 가지며, V, Cr, Zr, Mn, Ti, Sr 및 Ga의 미량원소를 포함하는 삼각 및 삼방 면체 결정을 갖는 고리형 불규산 광물이다. 토르말린에서 방출되는 적외선 음이온 방출은 여러 피부 질환에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 이와 관련한 특허로서 한국등록특허 제10-1602798호는 토르말린을 유효성분으로 함유하는 항알레르기 효과를 갖는 조성물로서, RBL-2H3 억제효과가 있다는 점을 개시되어 있고 한국공개특허 제10-2003-0064193호는 전기석(토르말린)을 화학적으로 처리한 전기석 유도액을 포함하는 아토피 피부염 치료제에 대해 개시하고 있다.

[0007] 다만, 상기 발명 및 일반적으로 사용되는 코르티코 스테로이드(cortico steroid), 칼시뉴린 억제제(calcineurin inhibitor), 및 T 세포 억제제(T-cell inhibitor)는 아토피 피부염의 일시적인 증상 완화에 관한 것으로, 부작용이 있는 것으로 알려져 있다. 이에 본 연구자들은 본 발명에 따른 토르말린 기반의 미네랄 복합재료 패치에 의해서 ROS 감소, 글루타치온 퍼옥시다아제(glutathione peroxidase)의 증가, 카탈리아제의 감소, 사이토카인의 감소 및 IgE 수준 감소와 같은 효능이 나타남을 구체적으로 확인하였고 독성과 부작용이 적어 안정성이 높은 아토피 치료제로서 사용할 수 있음을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 한국등록특허 KR 10-1602798
(특허문헌 0002) 한국공개특허 KR 10-2003-0064193

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 피부염증 및 상처 치료용 미네랄 조성물 및 이를 포함하는 패치로서, 종래 피부염 치료제의 독성 및 부작용을 해결하기 위하여 토르말린(tourmaline) 기반의 미네랄 복합재료를 포함하는 패치를 제공하며, 이를 통해 알레르기 질환을 예방, 개선 또는 치료 효과를 제공한다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 엘반, 게르마늄 및 화산암으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상을 포함하는 천연 광석 및 토르말린을 분쇄하여 분말을 제조하는 단계; 상기 분말과 염용액(salt solution)을 혼합하여 혼합 용액을 만들고, 염용액으로부터 응집 반응을 유도하여 미네랄 복합재료(Mineral Composite Materials, MCM)를 수득하는 단계; 및 상기 미네랄 복합재료를 천연 식물에 부착 및 건조하여 패치를 제조하는 단계;를 포함하는 미네랄 복합재료(MCM) 패치 제조방법을 제공한다.

[0013] 본 발명의 일 양태에서, 분말은 SiO_2 , MgO , CaO , Fe_2O_3 및 FeO 를 구성성분으로 포함할 수 있다.

[0014] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 분말은 SiO_2 , Al_2O_3 , MgO , TiO_2 , K_2O , CaO , Fe_2O_3 , FeO 및 Na_2O 를 포함할 수 있다.

[0015] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 분말은 상기 혼합 용액 100 중량부에 대해, SiO_2 1 내지 30 중량부, Al_2O_3 1 내지 30 중량부, Al_2O_3 1 내지 30 중량부, MgO 1 내지 20 중량부, K_2O 1 내지 10 중량부, CaO 1 내지 5 중량부, Fe_2O_3 1 내지 5 중량부, FeO 1 내지 5 중량부, 및 Na_2O 1 내지 5 중량부의 함량으로 혼합 용액 내에 혼합될 수

있다.

- [0016] 본 발명의 일 양태에서, 분말은 200 내지 1500 메쉬 크기로 분쇄될 수 있다.
- [0017] 본 발명의 일 양태에서, 염용액은 염화마그네슘 수용액, 염화칼슘 용액, 염화지크로닐 수용액, 황산지크로닐 수용액, 염화세륨 수용액, 염화티탄 수용액 및 염화알루미늄 수용액으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상일 수 있다.
- [0018] 본 발명의 일 양태에서, 염용액은 염화마그네슘 수용액일 수 있다.
- [0019] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 염화마그네슘 수용액은 염화마그네슘의 함량이 1 내지 50 % w/w 일 수 있다.
- [0020] 본 발명의 일 양태에서, 천연직물은 면섬유, 마섬유, 견섬유 및 모섬유로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.
- [0021] 본 발명의 일 양태에서, 건조는 20 내지 40 °C에서 수행될 수 있다.
- [0023] 또한, 본 발명은 상기 제조방법에 따라 제조된 미네랄 복합재료 패치를 제공한다.
- [0024] 본 발명의 일 양태에서, 미네랄 복합재료는 항염증, 항산화, 혈액 순환 개선, 경피 수분조절 및 피부 장벽 보호로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 효과를 나타낼 수 있다.
- [0025] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 미네랄 복합재료 패치는 B세포의 IgE 분비 억제, T세포 사이토카인 분비 억제, GPx(glutathione peroxidase) 활성 증가 또는 ROS(Reactive oxygen species) 활성 감소 효과를 나타낼 수 있다.
- [0026] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 T 세포 사이토카인은 IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-12, IL-6, IL-4 및 IL-10으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0027] 본 발명의 일 양태에서, 미네랄 복합재료는 아나필락시스성 쇼크, 알레르기성 비염, 기관지 천식, 약제 알레르기, 식물성 알레르기, 두드러기, 습진 및 아토피성 피부염으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 질환의 예방 또는 치료 효과를 나타낼 수 있다.
- [0028] 본 발명의 일 양태에서, 미네랄 복합재료 패치는 아토피성 피부염의 예방 또는 치료 효과를 나타낼 수 있다.

발명의 효과

- [0030] 본 발명은 피부염증, 상처 치료용 미네랄 조성물 및 이를 포함하는 패치로서, 본 발명에 따른 미네랄 조성물 및 이를 포함하는 패치는 피부 장벽의 기능성 조절, 면역체계의 산화 환원반응 조절 및 사이토카인 억제 효과를 가지고 있어 아토피성 피부염(Atopic dermatitis)와 같은 만성 및 재발성 염증성 피부질환치료에 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0032] 도 1은 MCM 패치의 재료로서 천연 광석 분말 및 염 용액의 조성을 나타낸 도이다.
- 도 2는 본 발명에 따른 실험과정을 나타낸 도이다.
- 도 3 내지 도 5는 4그룹군의 마우스 피부 상태 변화를 시간에 따라 나타낸 도이다.
- 도 6은 MCM 처리시 마우스의 긁는 행위 수준의 변화를 나타낸 도이다.
- 도 7은 4그룹군의 혈청 및 피부 용해물의 총 IgE 농도를 나타낸 도이다.
- 도 8은 4그룹군의 혈청 및 피부 용해물의 ROS 효소 활성 수준을 나타낸 도이다.
- 도 9는 4그룹군의 혈청 및 피부 용해물의 NO 농도를 나타낸 도이다.
- 도 10은 4그룹군의 혈청 및 피부 용해물의 GPx활성 수준과 카탈리아제 효소 활성 수준을 나타낸 것이다.

도 11은 4그룹군의 혈청에서 염증성 사이토카인 농도를 나타낸 도이다.

도 12는 마우스 피부의 조직학적 상태를 광학현미경으로 관찰한 결과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

- [0035] 본 발명은 a) 엘반, 게르마늄 및 화산암으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상을 포함하는 천연 광석 및 토르말린을 분쇄하여 분말을 제조하는 단계; 상기 분말과 염용액(salt solution)을 혼합하여 혼합 용액을 만들고, 염용액으로부터 응집 반응을 유도하여 미네랄 복합재료(Mineral Composite Materials, MCM)를 수득하는 단계; 및 상기 미네랄 복합재료를 천연 식물에 부착 및 건조하여 패치를 제조하는 단계를 포함하는 미네랄 복합재료(MCM) 제조방법을 개시한다.
- [0036] 본 발명에서 천연광석은 토르말린, 엘반, 게르마늄과 같은 자연에서 얻을 수 있는 무기물로서, 천연광석이 포함되어 있는 지역에 따라 조성을 달리할 수 있다. 다만, 토르말린, 엘반, 게르마늄 또는 화산암과 같이 특정 원소 및 그 비율을 가져 구체적인 조성이 특정될 수 있다. 토르말린은 $(\text{Na}, \text{Ca})(\text{Li}, \text{Mg}, \text{Al})_3(\text{Al}, \text{Fe}, \text{Mn})_6(\text{BO}_3)_3(\text{Si}_6\text{O}_{18})(\text{OH})_4$ 의 분자식을 가지며, 육방정계의 결정형으로 구성되어 있는 결정질 붕소 규산염을 의미한다.
- [0037] 엘반은 일반적으로 맥반암을 뜻하는 것으로 무수 규산과 산화알루미늄으로 산화제2철이 소량 함유된다. 엘반은 일반적으로 가공되지 않은 것을 의미하나 맥반암 일부가 가공된 것을 의미할 수 있다. 게르마늄, 화산암은 해당기술 분야의 일반적인 의미에 따른 천연광석을 의미한다.
- [0038] 본 발명에서 엘반, 게르마늄 또는 화산암 중 1종 이상이 각각 선택되어 분쇄될 수 있으나, 토르말린은 본 발명에서 반드시 포함되어 토르말린-엘반, 토르말린-게르마늄, 토르말린-화산암, 토르말린-엘반-게르마늄 등과 같은 구성을 가질 수 있다.
- [0039] 본 발명에서 천연 광석은 분쇄되어 분말로 제조될 수 있다. 이때 분쇄과정은 건식 분쇄, 습식 분쇄, 볼밀 분쇄 등의 방법으로 분쇄할 수 있으며, 이에 제한되지 않고 천연 광석을 분쇄하기 위한 어떠한 방식이든 사용할 수 있다.
- [0040] 본 발명의 일 양태에서, 분말은 SiO_2 , MgO , CaO , Fe_2O_3 및 FeO 를 구성성분으로 포함할 수 있다.
- [0041] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 분말은 SiO_2 , Al_2O_3 , MgO , TiO_2 , K_2O , CaO , Fe_2O_3 , FeO 및 Na_2O 를 포함하는 것일 수 있다.
- [0042] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 분말은 혼합용액 100 중량부에 대해 SiO_2 1 내지 30 중량부, Al_2O_3 1 내지 30 중량부, MgO 1 내지 20 중량부, TiO_2 1 내지 20 중량부, K_2O 1 내지 10 중량부, CaO 1 내지 5 중량부, Fe_2O_3 1 내지 5 중량부, FeO 1 내지 5 중량부 및 Na_2O 1 내지 5 중량부의 함량으로 혼합 용액 내에 혼합되는 것인 미네랄 복합재료 패치 제조방법을 개시한다. 본 발명에서 SiO_2 , Al_2O_3 , MgO , TiO_2 , K_2O , CaO , Al_2O_3 , FeO 및 Na_2O 는 물, 메탄올, 에탄올, 에틸아세테이트 등을 용매로 사용하여 응집 반응을 진행할 수 있다.
- [0043] 또한, 분말은 100 내지 2000 메쉬 크기로 분쇄, 구체적으로 150 내지 1800 메쉬 크기로 분쇄될 수 있으며, 보다 구체적으로 200 내지 1500 메쉬 크기로 분쇄될 수 있다. 상기 범위를 벗어나는 경우 미네랄 복합재료에서 응집 반응이 원활히 유도되지 않아 패치 조성물로 적합하지 않다.
- [0044] 본 발명의 일 양태에서, 염 용액은 염화마그네슘 수용액, 염화칼슘 수용액, 염화지크로닐 수용액, 황산지크로닐 수용액, 염화세륨 수용액, 염화티탄 수용액 및 염화알루미늄 수용액으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상일 수 있다.
- [0045] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 응집 반응은 염화마그네슘 수용액으로 유도될 수 있다.
- [0046] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 염화마그네슘 수용액은 염화마그네슘 함량이 1 내지 50 % w/w일 수 있다. 본 발명에서 염화마그네슘 함량이 1 % w/w 이하이면 점도가 낮아져 응집이 원활히 이루어지지 않고, 50 % w/w 이상

이면 점도가 높아져 부착 및 건조단계에서 미네랄 복합재료가 고르게 퍼지지 않는다는 문제점이 있다.

- [0047] 본 발명에서 상기 수용액을 대체하여 메탄올, 에탄올, 아에틸세테이트를 용매로 하는 용액이 제조될 수 있다. 다만, 본 발명에 보다 적합한 재료로서 아토피 피부염에 자극을 주지 않는 무균상태의 물을 사용하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0048] 본 발명의 일 양태에서, 천연 직물은 면섬유, 마섬유, 견섬유 및 모섬유로 구성된 그룹으로부터 1종 이상을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 “천연 직물”이란 인위적으로 합성되지 않고 식물, 동물, 또는 광물로부터 얻어지는 직물을 의미한다. 따라서 아마, 대마, 양마, 황마, 모시, 대나무 섬유, 오가닉 코튼, 밤부, 린넨, 삼베, 인견 등이 모두 사용될 수 있으나, 미네랄 복합재료의 부착성 및 상처 드레싱의 적합성을 고려하여 면섬유, 마섬유, 견섬유, 모섬유가 선택될 수 있고, 아토피 등과 같은 피부 알러지성 질환이 있는 사람에게 적합하도록 친환경적인 특성을 가질 수 있다.
- [0049] 본 발명의 일 양태에서, 미네랄 복합재료를 천연 직물에 건조하는 단계에서 건조는 20 내지 40 °C에서 수행될 수 있다. 보다 구체적으로 상기 건조는 상온에서 수행될 수 있다.
- [0051] 본 발명은 상기 제조방법으로 미네랄 복합재료 패치를 제공한다.
- [0052] 본 발명의 일 양태에서, 미네랄 복합재료는 항염증, 항산화, 혈액 순환 개선, 경피 수분 조절 및 피부 장벽 보호로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 효과를 나타낼 수 있다.
- [0054] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 미네랄 복합재료는 B세포의 IgE 분비 억제, T 세포 사이토카인 분비 억제, GPx(glutathione peroxidase) 활성 증가 또는 ROS(Reactive oxygen species) 활성 감소를 나타낼 수 있다.
- [0055] 본 발명의 IgE는 형질세포에서 분비되어 비만세포(mast cell)와 결합한 상태로 알레젠과 결합하면 히스타민이 분비되어 알레르기 반응이 나타날 수 있으므로, IgE의 분비를 억제하는 경우 알레르기 반응을 감소시킬 수 있다. 또한, 사이토카인이 과발현 되는 경우 아토피피부염의 급성 피부 병변, 알레르기 반응 및 선천성 면역반응이 저하될 수 있으므로, 사이토카인 분비 억제하는 경우 피부염을 예방 및 치료할 수 있다. 또한, GPx의 활성 증가, 일산화질소 농도 감소, ROS 활성 감소로 인해 피부의 염증, 피부면역기능을 개선할 수 있다.
- [0056] 본 발명의 일 양태에서, 사이토카인은 IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-12, IL-6, IL-4 및 IL-10으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0058] 본 발명의 일 양태에서, 미네랄 복합재료 패치는 아나필락시스성 쇼크, 알레르기성 비염, 기관지 천식, 약제 알레르기, 식물성 알레르기, 두드러기, 습진 및 아토피성 피부염으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 질환의 예방 또는 치료 효과를 나타낼 수 있다.
- [0059] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 미네랄 복합재료 패치는 아토피성 피부염의 예방 또는 치료 효과를 나타낼 수 있다.
- [0061] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.
- [0062] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.
- [0064] <실시예 1> 토르말린 기반의 미네랄 복합재료 패치 제조
- [0065] 토르말린과 엘반을 주성분으로 하는 천연 광석(MCM GLOBAL Co.(인천)에서 생산한 천연 광석)을 분쇄하여 분말을 제조하였다. 제조된 분말을 염화마그네슘 수용액(10 wt%)과 혼합하여 응집 반응을 유도하였다. 혼합된 용액을 천연 직물에 부착하고, 상온에서 건조하여 미네랄 복합재료 패치를 제조하였다.
- [0066] 천연 광석의 성분은 표 1을 통해 나타난 바와 같다.

표 1

[0067]

조성 이름	조성 이름	화학식	CAS number	함량 [wt%]
천연 광석 성분(분말)	이산화 규소	SiO ₂	7631-86-9	<1~30%
	산화알루미늄	Al ₂ O ₃	1344-28-1	<1~30%
	산화마그네슘	MgO	1309-48-4	<1~20%
	이산화 티타늄	TiO ₂	13463-67-7	<1~20%
	산화칼륨	K ₂ O	12136-45-7	<1~10%
	산화칼슘	CaO	1305-78-8	<1~5%
	산화철(III)	Fe ₂ O ₃	1309-37-1	<1~5%
	산화철(II)	FeO	1345-25-1	<1~5%
	산화나트륨	Na ₂ O	1313-59-3	<1~5%
염 용액	마그네슘	MgCl ₂	7786-30-3	<1~50%
	염소			
	물	H ₂ O	-	<1~50%

[0069]

<실험예 1> 실험용 마우스의 실험조건 및 샘플 준비

[0070]

<1-1> 실험용 마우스

[0071]

평균 체중이 25 ± 4.2g인 5주령 암컷 SKH-1 마우스를 Orient Bio Inc.(한국 성남)에서 구매하여, 목재 베딩이 들어 있는 플라스틱 케이지((390x275x175mm)에 보관하였다. 실험 전에 22±2℃의 온도 및 50±10 %의 습도의 병원체가 없는 12시간 명암주기의 제어된 환경에서 마우스를 7일동안 적응시켰다. 그 후, 마우스는 표준 설치류 차우 식품(5L79, PMI Nutrition®, LAND O'LAKES Inc., 미국 미네소타) 및 1차 여과수를 이용하여 먹이를 주었으며, 40마리의 마우스를 4개의 서로 다른 그룹으로 나누어 각 케이지에 5마리의 마우스를 무작위로 배정하였다.

[0072]

모든 실험은 환경 변화를 최소화하기 위해 오전 9시에서 오후 6시 사이에 실시되었으며, 연세대학교 동물 관리 위원회(IACUC) 원주 의과대학(YWC-180615-2)의 프로토콜에 따라 수행되었다.

[0074]

<1-2> 마우스에서 알레르기성 피부염의 유도

[0075]

마우스에 DNCB(2,4-디니트로클로로벤젠)을 아세트산과 올리브오일 3 : 1의 비율의 용액에 용해시켜 1% 농도로 200 μL 일주일, 0.5% 농도로 150 μL 3주 동안 마우스의 등 뒤 피부(4 cm²)에 적용하여 6주령 암컷 SKH-1 마우스의 알레르기성 피부염 유사 병변을 유도하였다.

[0076]

그 후, 하기 4개 군으로 분류하였다.

[0077]

정상대조군(NC) : 아무것도 처리하지 않은 그룹; 다른 그룹의 마우스들과 유사한 스트레스를 주기 위해 테이핑만 하였다.

[0078]

음성대조군(DNCB only) : DNCB (2,4-디니트로클로로벤젠)만 처리하여 알레르기성 피부염 유사 병변을 유발한 그룹;

[0079]

양성대조군(PC) : DNCB 및 0.1% 타크롤리무스 연고로 처리된 그룹; 타크롤리무스 연고는 알레르기성 피부염 유사 병변 부위에 일주일 동안 하루에 1회씩 도포하였다. 타크롤리무스 연고는 일본 오사카 Protopic Co. Ltd.로부터 구매한 연고를 사용하였다.

[0080]

실험군(MCM) : DNCB 및 MCM 패치로 처리된 그룹; MCM 패치는 의료용 테이프(3M사 탄성 테이프)로 고정하고 일주일 동안 매일 교환하였다.

- [0081] 또한, MCM 패치는 의료용 테이프(3M사 탄성 테이프)로 고정하고 일주일 동안 매일 부착하였다.
- [0083] <1-3> 샘플 분리
- [0084] 4개의 마우스 그룹을 모두 이소플로란(isoflurane)으로 마취시켰다. 그 후, 마우스의 혈액 샘플을 레트로케도 정맥에서 수집하여 EDTA 튜브를 담은 후, 이를 4℃, 5분, 14,000rpm의 조건에서 원심분리하여 혈청을 분리하였다.
- [0085] 그 후, 마우스의 등 뒤 피부조직을 절단하고, Sigma Chemical사 프로테아제 억제제 콕테일(protease inhibitor cocktail)과 Pierce Biotechnology사 아이스-콜드 RIPA 버퍼(ice-cold RIPA buffer)를 사용하여 균질화하여 피부용해물 샘플을 수득하였다.
- [0086] 샘플을 4℃, 10분, 14,000rpm의 조건에서 원심분리하여 수득된 상층액을 TM BCA 단백질 분석키트를 사용하여 단백질 농도를 확인하였다.
- [0088] <1-4> 샘플 준비
- [0089] 4개의 마우스 그룹을 모두 이소플로란으로 마취시켰다. 그 후, 마우스의 혈액 샘플을 레트로케도 정맥에서 수집하였고 EDTA 진공 튜브에 보관하였다. 혈청 샘플은 4℃, 5분, 14,000rpm의 조건에서 원심분리하여 혈청을 분리하였다.
- [0090] 그 후, 마우스의 등 뒤 피부조직(1×1cm)을 절단하고, Sigma Chemical사 프로테아제 억제제 콕테일(protease inhibitor cocktail)과 Pierce Biotechnology사 아이스-콜드 RIPA 버퍼(ice-cold RIPA buffer)를 사용하여 25rpm에서 15분 동안 균질화하여 피부용해물 샘플을 수득하였다. 그 후, 피부용해물을 4℃, 10분, 14,000rpm의 조건에서 원심분리하여 수득된 상층액을 TM BCA 단백질 분석 키트(Thermo Scientific 사)를 사용하여 단백질 농도를 확인하였다. 수득된 혈청 및 피부 용해물 샘플은 사용할 때 까지 -80 ℃에서 보관하였다.
- [0091] 모든 실험 과정은 연세대학교 동물 관리 위원회(IACUC) 원주 의과 대학(YWC-180615-2)의 프로토콜에 따라 수행되었으며, 실험 과정은 도 2에 나타난 바와 같다.
- [0093] <실험예 2> 피부염 유사 병변 측정방식
- [0094] <2-1> 피부염 심각도 평가
- [0095] 마우스의 스케일링, 홍반, 침식 및 부종을 포함한 아토피 유사 피부염의 상태를 육안으로 관찰하고, 사진을 일주일 간격으로 5주 동안 찍었다. 상대 피부염 심각도는 Bontech사 A-ONE TAB 및 Gpower사 MSIP-CRM-G10 배리어 센서를 사용하여 피부의 수분 수준, 장벽 강도, 경피 수분손실(TEWL), 형태 테스트를 매주 관찰하였다.
- [0096] <2-2> 긁는 행동의 평가
- [0097] 마우스를 폴리카보네이트 케이지에 개별적으로 배치한 후, 최초 DNCB 발생 후 14일 및 34일째, 15분 동안 3회 관찰하였다. 등 뒤에 긁힘과 꼬리 뒤의 물림이 관찰되었다. 뒷발에 의한 긁힘은 마우스가 뒷발을 핥았거나 뒷발을 바닥에 놓았을 때 종료된 것이고, 물림은 마우스가 원래의 자세로 돌아왔을 때 종료되는 것으로 정의하였다.
- [0098] <2-3> 총 IgE 농도 측정
- [0099] 혈청 및 피부 용해물의 IgE 농도를 분석하기 위해서 BD Biosciences사 ELISA(sandwich enzyme-linked immunosorbent assay) 키트를 사용하여 분석하였다. 반응 생성물을 마이크로 플레이트 리더로 450 nm에서 열광을 측정하였다.
- [0100] <2-4> 세포내 ROS(Reactive oxygen species) 수준 측정
- [0101] 혈청 및 피부 용해물의 산화 스트레스 및 과산화물에 대한 MCM의 효과를 측정하기 위해 Enzo Life Sciences 사 ROS의 검출 키트를 사용하였다. 25 μL의 혈청 및 검출 용액을 마이크로 플레이트 웰에서 혼합한 후, 마이크로 플레이트 리더를 사용하여 흡광도를 측정하였다.
- [0102] 플레이트는 Beckman Counter Inc 사의 DTX-800 멀티모드 마이크로 플레이트 리더로 485/20 여기(excitation)

및 528/20 방출(emission) 필터 세트에 의해 측정되었다.

[0103] <2-5> 산화질소(NO) 수준 측정

[0104] 마우스의 혈청 및 피부 용해물에 존재하는 아질산염(NO^{2-})을 측정하기 위해 미국 Madison사 Griess 시약을 사용하였다. 혈청 50 μL 를 96웰 마이크로타이터 플레이트에 첨가후 15분 동안 실온배양 하였다. 그 후, DTX-880 멀티모드 마이크로 플레이트 리더를 사용하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0105] <2-6> 내인성 항산화 효소 활성 측정

[0106] 혈청 및 피부 용해물의 항산화 활성을 측정하기 위해, 글루타티온 퍼옥시다아제(glutathione peroxidase, GPx) 및 카탈라아제(CAT)의 활성을 Malpitas사 Biovision 키트를 사용하여 측정하였다. 항산화 효소(GPx 및 CAT)의 상이한 활성 측정을 위해 피부 용해물 농도는 표준화된 농도를 사용하였다.

[0107] <2-7> Th_1 및 Th_2 사이토카인 분석

[0108] $\text{IL-1}\beta$ 및 $\text{TNF-}\alpha$ 와 같은 염증성 사이토카인의 혈청 농도를 측정하였다. 또한, IL-2 , IL-12 및 $\text{IFN-}\gamma$ 와 같은 Th_1 사이토카인 및 IL-4 , IL-6 및 IL-10 과 같은 Th_2 사이토카인을 Bio-Rad 사 멀티플렉스 어레이 키트 및 Bio-Rad Hercules 사 Luminex technology를 이용하여 조사하였다. 제조업체의 방침에 따라 색 형광 데이터를 5-파라미터 로지스틱 방법을 사용하여 소프트웨어로 분석하였다.

[0109] <2-8> 조직학적 분석

[0110] 조직학적 분석을 위해 1cm^2 에 해당되는 피부를 분리하여 10% 중성 완충 포르말린 (0.1M 포스페이트 완충액, pH 7.4) 용액으로 고정하였다. 그 후, 에탄올을 첨가하고 파라핀 왁스에 고정시킨 후 파라핀 부분을 4 μm 두께로 절단하고 헤마톡실린(hematoxylin) 및 에오신(eosin) 용액으로 염색된 조직을 Motic 사 광학현미경을 통해 관찰하였다.

[0111] <2-9> 통계학적 분석

[0112] 분산분석(ANOVA)를 이용하여 통계 분석을 수행한 후, GraphPad Prism version 5.0 소프트웨어 패키지를 이용하여 다중비교테스트를 수행하였다. 차이는 $p<0.05$ 로서 유의미한 것으로 나타났다.

[0113] 분석실험에서 데이터는 10마리 마우스에 대한 평균 \pm SD로 표현되었으며, ANOVA Tukey의 검정으로 DNCB만 처리한 그룹과의 유의성을 확인하였다. (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$)

[0115] <실험예 3> 토르말린 기반의 미네랄 복합재료 패치의 효과

[0116] <3-1> SKH-1 마우스의 알레르기성 피부염 증상 개선

[0117] MCM 패치의 효과를 실험예 2-1에 따라 분석하였다. DNCB 처리된 마우스의 형태학적 피부 형태는 홍반, 침식, 스케일링 및 부종을 포함한 알레르기성 피부염 유사 병변이 유발되었다. 그 결과는 도 3에 나타난바와 같으며, MCM 그룹 및 PC 그룹의 마우스는 DNCB만 처리한 그룹의 마우스에 비해 개선된 피부 상태를 나타내는 것을 확인하였다.

[0118] <3-2> 피부 매개 변수에 따른 MCM 패치 효과

[0119] 실험예 2-1에 따라 장벽점수, 장벽강도, 수분수치 및 경피수분손실(Trans Epidermal Water Loss, TEWL)와 같은 피부 파라미터를 측정하여 MCM 패치의 효과를 확인하였다. 분석 결과는 표 2 및 도 4에 나타난 바와 같다.

[0120] 또한, 피지, 모공 크기, 주름 및 색소 침착을 1, 3 및 5주 동안 측정하고 1주일 동안 치료한 결과를 측정하였다. 측정결과는 도 5에 나타난 바와 같으며, DNCB만 처리한 그룹의 마우스에서 피지, 모공 크기, 주름 및 색소 침착이 증가한 반면, MCM 그룹 및 PC 그룹의 마우스는 DNCB만 처리한 그룹의 마우스에 비하여 피부 상태가 개선되었음을 확인하였다.

[0121] [표 2]

파라미터	그룹군	처리일		
		1	3	7
장벽점수	NC	80.1±7.3 ***	69.4±6.9 ***	74.6±6.9 ***
	DNCB Only	63.7±5.9	55.9±5	53.8±12.2
	PC	60.1±4.5	57.3±8.2	57.2±7.8
	MCM	65.8±2.3	64.7±4.2 *	63.5±7 *
장벽강도	NC	83.8±2.9 ***	76±4.1***	85.8±3.4 ***
	DNCB Only	65.1±9.5	53.6±6.7	51.5±22.9
	PC	63±5.4	64.5±6.7*	63.2±7.8*
	MCM	76.9±4.5 *	75±6.4***	72.8±7.3 ***
수분수치	NC	77.1±12.8 ***	61.6±11.4**	59.6±11.6
	DNCB Only	54.4±5	50.2±0.4	52.8±5.7
	PC	50.2±0.4	54.9±10.3	50.3±0.5
	MCM	50.3±0.5	51.3±3.2	55.7±9
경피수분손실	NC	7.3±1.6***	10.5±2.07***	6.4±1.9***
	DNCB Only	15.9±5.2	22.4±3.3	22.2±11.5
	PC	17.2±3.2	19.6±8.3	18.5±3.4
	MCM	10.7±2.1	11.1±2.9***	12.8±3.7***

[0122]

[0123] 분석 결과, MCM 패치를 처리한 마우스 그룹이 DNCB만 처리한 마우스 그룹과 비교하여 경피 수분손실 (Transepidermal water loss, TEWL)이 감소하고, 수분 유지, 장벽 점수 및 장벽 강도가 개선되었음을 확인하였다.

[0124] <3-3> 마우스의 긁는 행동에 대한 MCM 패치 효과

[0125] 실험예 2-2에 따라 14일과 34일 동안 생쥐의 긁는 행동의 빈도를 평가하였다. 분석 결과는 도 6에 나타난 바와 같으며, DNCB만 처리한 그룹의 마우스에서 긁는 행동이 증가함을 나타내었으나, MCM 그룹에서는 DNCB만 처리한 그룹에 비해 긁는 행위가 현저하게 감소한 것을 확인하였다.

[0126] <3-4> IgE 농도 측정결과

[0127] 실험예 2-3에 따라 그룹별 IgE 수준을 측정하였으며, 측정결과는 도 7에 나타난 바와 같다. 분석 결과, MCM 그룹의 혈청에서 IgE 농도가 가장 낮게 나타났으며, DNCB만 처리한 그룹의 혈청에서 가장 높은 IgE 농도를 나타내었다.

[0128] <3-5> 세포 내 ROS(Reactive oxygen species) 수준 측정결과

[0129] 실험예 2-4에 따라 그룹별 ROS 수준을 측정하였으며, 측정결과는 도 8에 나타난 바와 같다. MCM 그룹 및 PC 그룹이 DNCB만 처리한 그룹에 비해 ROS(Reactive oxygen species) 농도가 낮게 나타난 것을 확인하였다.

[0130] <3-6> NO 농도 측정결과

[0131] 실험예 2-5 따라 그룹별 산화질소(NO) 수준을 측정하였으며, 측정결과는 도 9에 나타난 바와 같다. 분석 결과, 피부 용해물의 NO 농도는 MCM 그룹에서 현저한 감소가 나타난 것을 확인하였다.

[0132] <3-7> 내인성 항산화 효소 활성 측정결과

[0133] 실험예 2-6에 따라 그룹별 내인성 항산화 효소 활성을 측정하였으며, 측정결과는 도 10에 나타난 바와 같다. 분석 결과, 혈청과 피부 용해물의 글루타티온 퍼옥시다아제 (Glutathione peroxidase, GPx)의 활성은 MCM 그룹에서 증가하였으며, 카탈리아제 효소 활성 역시 MCM 그룹에서 증가한 것을 확인하였다.

[0134] <3-8> Th₁ 및 Th₂ 사이토카인 분석 결과

[0135] 실험예 2-7에 따라 그룹별 사이토카인 농도를 측정하였으며, 측정결과는 도 11에 나타난 바와 같다.

[0136] 사이토카인의 균형 및 불균형은 알레르기를 조절할 수 있는 것으로 알려져 있다. 분석 결과, MCM 그룹에서 혈청의 염증성 사이토카인 농도 수준이 감소하였다. 구체적으로 MCM 그룹에서 IL-1β와 TNF-α와 같은 염증성 사이토카인 농도의 감소(도 11A와 11D), IFN-γ 농도의 감소(도 11B, 11E 및 11F), IL-6, IL-4와 같은 Th₂ 사이토카인 농도의 감소 및 IL-10 농도의 감소가 나타난 것을 확인하였다.

[0137] (도 11, (A) IL-1β 사이토 카인 (B) IL-2 사이토 카인 (C) IL-6 사이토 카인 (D) TNF-α 사이토 카인 (E) IL-12 (p70) 사이토 카인 (F) IFN-γ 사이토 카인 (G) IL-4 사이토 카인 (H) IL-10 사이토카인)

[0138] <3-9> 피부의 조직학적 변화 측정결과

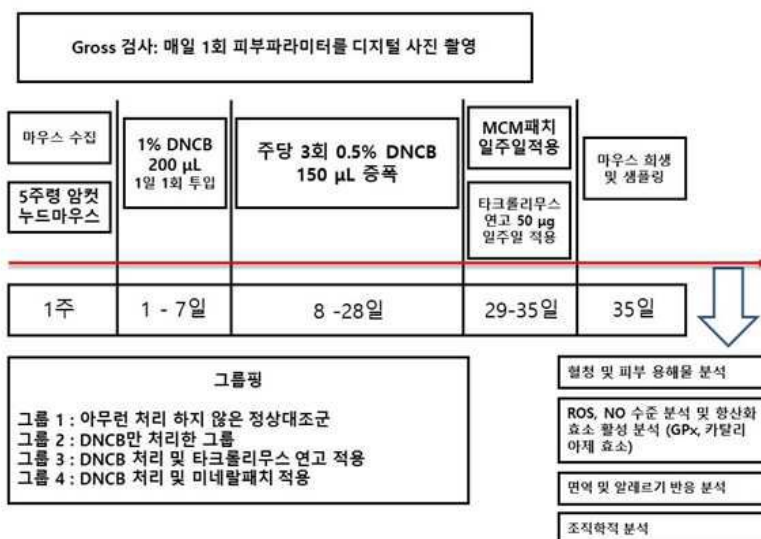
[0139] 실험예 2-8에 따라 피부의 조직학적 변화를 헤마톡실린 및 에오신 염색법으로 염색하고 광학현미경을 통해 피부 섹션을 관찰하였다. 광학현미경을 통해 관찰한 결과는 도 12에 나타난 바와 같다. 분석 결과, DNCB만 처리한 그룹에서 표피의 두께가 증가하였으며, 정상 대조군과 비교하여 진피층에서의 침윤된 염증세포 비율이 증가하였다. 도 12에서 헤마톡실린 및 에오신 염색법으로 염색한 바의 크기는 50 μ m를 나타낸다. (도 12, A: 정상대조군, B: DNCB만 처리한 음성 대조군, C: 0.1% 타크롤리무스 연고로 처리된 양성 대조군, D: MCM 패치를 처리한 실험군)

도면

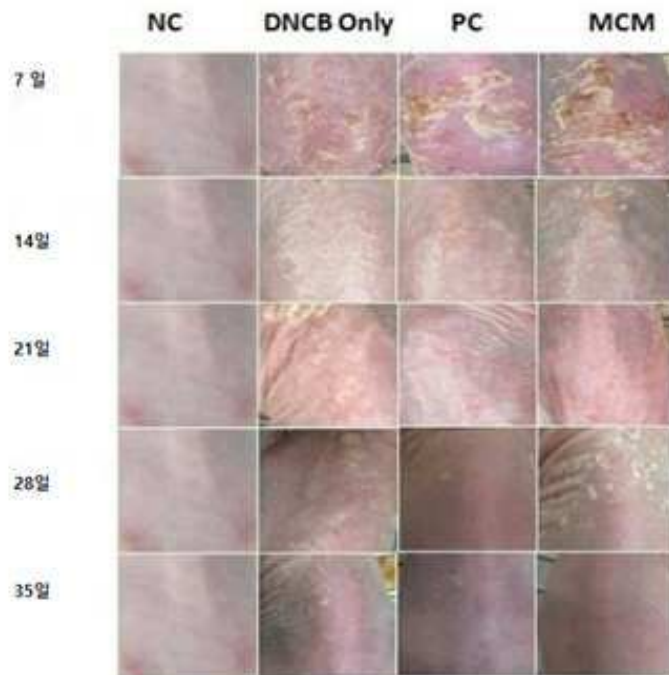
도면1

MCM 패치의 천연 광석 분말 조성				
Component Name	Component Name	Chemical Formula	CAS Number	Content [wt%]
천연광석 성분(분말)	Silicon dioxide	SiO ₂	7631-86-9	<1~30%
	Aluminum oxide	Al ₂ O ₃	1344-28-1	<1~30%
	Magnesium oxide	MgO	1309-48-4	<1~20%
	Titanium dioxide	TiO ₂	13463-67-7	<1~20%
	Potassium oxide	K ₂ O	12136-45-7	<1~10%
	Calcium oxide	CaO	1305-78-8	<1~5%
	Iron oxide	Fe ₂ O ₃	1309-37-1	<1~5%
	Ferrous oxide	FeO	1345-25-1	<1~5%
	Sodium oxide	Na ₂ O	1313-59-3	<1~5%
염 용액	Magnesium chloride	MgCl ₂	7786-30-3	<1~50%
	Water	H ₂ O		<1~50%

도면2



도면3

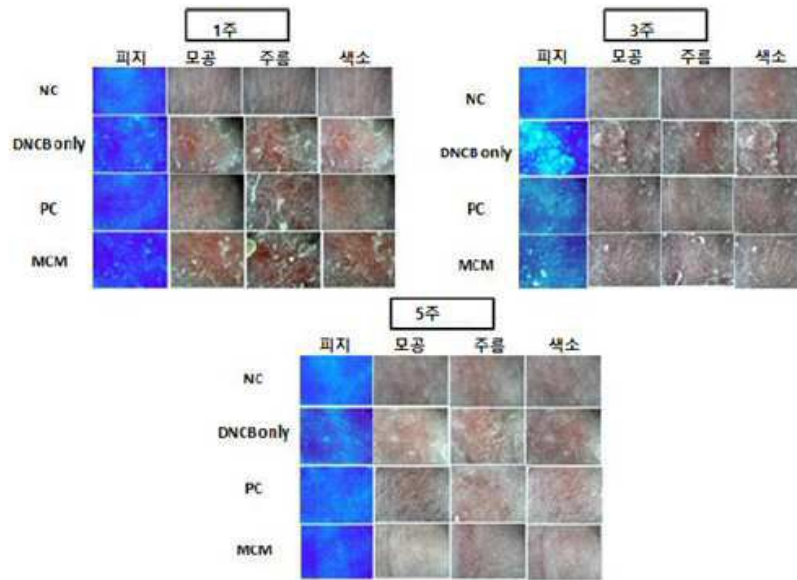


도면4

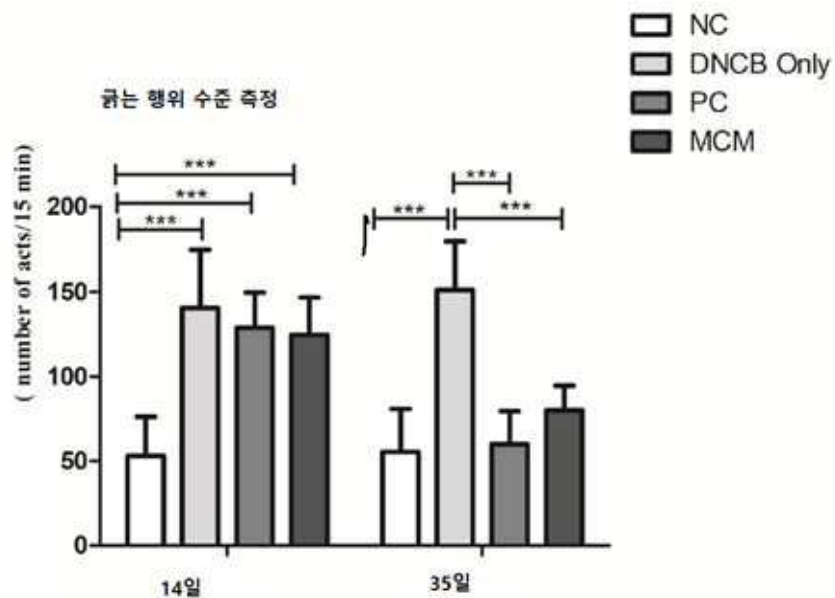
표 2. DNCB로 아토피 피부염이 유도된 누드마우스의 피부 파라미터에서 MCM 패지의 효과

파라미터	그룹	처리일		
		1	3	7
장벽 점수	NC	80.1±7.3 ***	69.4±6.9 ***	74.6±6.9 ***
	DNCB Only	63.7±5.9	55.9±5	53.8±12.2
	PC	60.1±4.5	57.3±8.2	57.2±7.8
	MCM	65.8±2.3	64.7±4.2 *	63.5±7 *
장벽 강도	NC	83.8±2.9 ***	76±4.1***	85.8±3.4 ***
	DNCB Only	65.1±9.5	53.6±6.7	51.5±22.9
	PC	63±5.4	64.5±6.7*	63.2±7.8*
	MCM	76.9±4.5 *	75±6.4***	72.8±7.3 ***
수분 수치	NC	77.1±12.8 ***	61.6±11.4**	59.6±11.6
	DNCB Only	54.4±5	50.2±0.4	52.8±5.7
	PC	50.2±0.4	54.9±10.3	50.3±0.5
	MCM	50.3±0.5	51.3±3.2	55.7±9
경피 수분 손실	NC	7.3±1.6***	10.5±2.07***	6.4±1.9***
	DNCB Only	15.9±5.2	22.4±3.3	22.2±11.5
	PC	17.2±3.2	19.6±8.3	18.5±3.4
	MCM	10.7±2.1	11.1±2.9***	12.8±3.7***

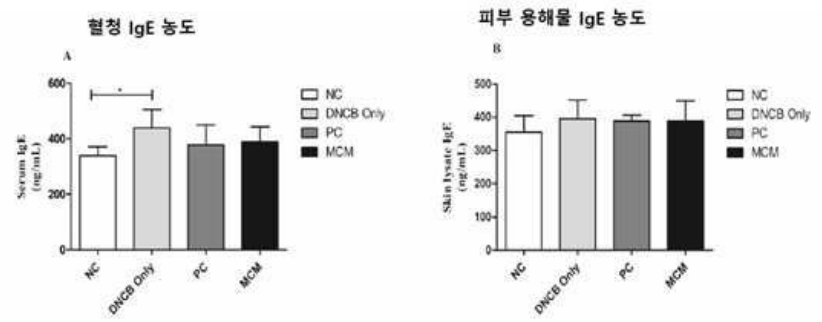
도면5



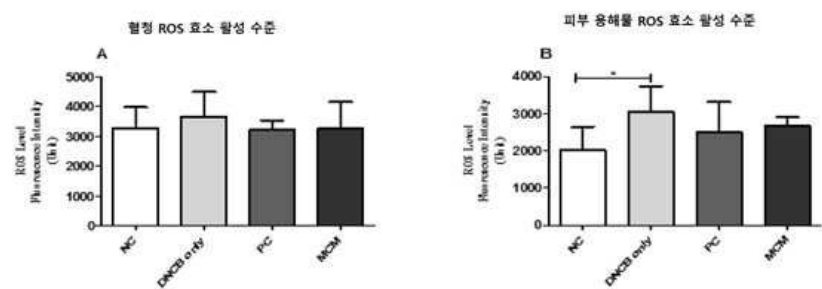
도면6



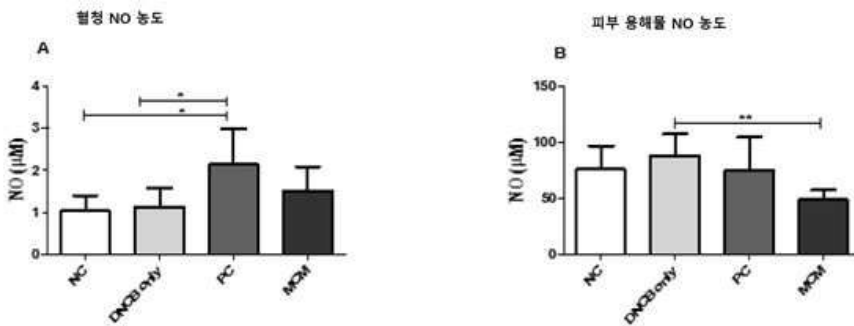
도면7



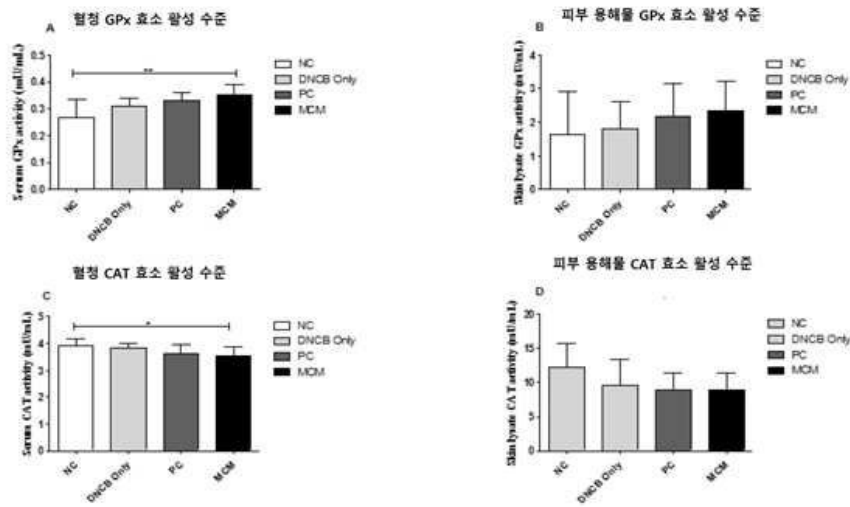
도면8



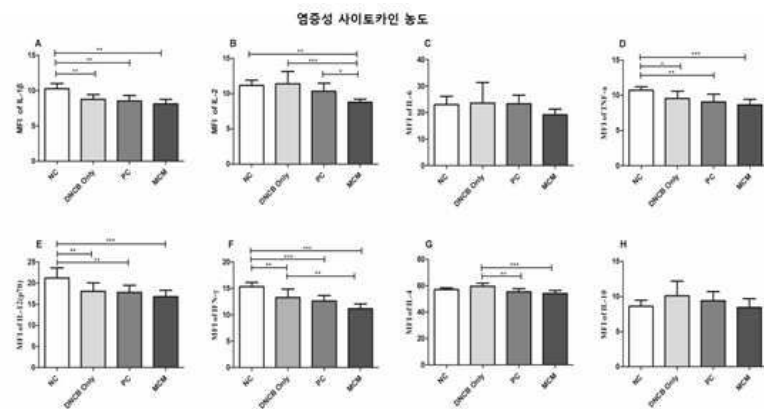
도면9



도면10



도면11



도면12

