(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년08월07일
(11) 등록번호 10-1427384
(24) 등록일자 2014년07월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 1/30 (2006.01) *A61K 31/185* (2006.01)
A61P 7/02 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0026278
(22) 출원일자 2013년03월12일
심사청구일자 2013년03월12일
(56) 선행기술조사문헌
JP2003339851 A

(73) 특허권자
조선대학교산학협력단
광주광역시 동구 필문대로 309 (서석동)
(72) 발명자
정현숙
광주광역시 북구 설죽로 595 롯데아파트 107동 404호
김성심
광주광역시 광산구 풍영로 63 영천마을주공9단지 아파트 914동 1403호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최규환

전체 청구항 수 : 총 9 항 심사관 : 윤재욱

(54) 발명의 명칭 **항혈전 활성을 갖는 폴리아크릴산 고분자 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 항혈전 활성을 갖는 폴리아크릴산 고분자 및 이의 용도에 관한 것으로, 폴리아크릴산 고분자를 항혈전제로 이용하면, 혈액 내 혈전의 분해 및 제거를 통해 혈전 재형성을 일으키는 요인을 근본적으로 제거할 수 있다. 또한, 혈액 보관시에 폴리아크릴산을 처리하면 혈액 응고를 일으키는 물질을 원천적으로 제거함으로써 혈액 응고 방지가 가능하며 인공 혈액 분말 개발에도 이용될 수 있다.

대 표 도 - 도7



(72) 발명자

박재영

광주광역시 남구 수박등로18번길 10-6, 201호(월산동, 광남빌라)

이범기

전라남도 광양시 공영로 39 호반리젠시빌아파트 102동 1105호

최학준

광주광역시 동구 동계로15번길 1-23 (동명동)

김웅

광주광역시 동구 지산로57번길 6, 207호(지산동)

특허청구의 범위

청구항 1

폴리아크릴산 고분자 (Poly(acrylic acid) macromolecule)를 유효성분으로 함유하는 항혈전 식품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 프로토카테큐산 (protocatechuic acid), 멜리트산 (mellitic acid) 및 플라스민 (plasmin)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 항혈전 식품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 폴리아크릴산 고분자는 중량 평균 분자량이 1.8 kDa 내지 4,000 kDa인 것을 특징으로 하는 항혈전 식품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 식품 조성물은 혈전 및 혈소판 응집으로 인한 고혈압, 심장병, 뇌졸중 또는 심근경색의 개선용으로 사용되는 것을 특징으로 하는 항혈전 식품 조성물.

청구항 5

폴리아크릴산 고분자 (Poly(acrylic acid) macromolecule)를 유효성분으로 함유하는 항혈전 약학 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 프로토카테큐산 (protocatechuic acid), 멜리트산 (mellitic acid) 및 플라스민 (plasmin)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 항혈전 약학 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 폴리아크릴산 고분자는 중량 평균 분자량이 1.8 kDa 내지 4,000 kDa인 것을 특징으로 하는 항혈전 약학 조성물.

청구항 8

제5항에 있어서, 상기 약학 조성물은 혈전 및 혈소판 응집으로 인한 고혈압, 심장병, 뇌졸중 및 심근경색이 포함된 군에서 어느 하나 이상의 혈전증으로 인한 질병의 예방 및 치료용으로 사용되는 것을 특징으로 하는 항혈전 약학 조성물.

청구항 9

제5항 내지 제8항 중 어느 한 항의 조성물로 제조된 경질 및 연질 캅셀제, 정제, 당의정, 필름코팅정, 나정, 장용정, 산제, 현탁제, 시럽제 및 주사제로 구성된 군으로부터 선택된 항혈전 약학 제제.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 항혈전 활성을 갖는 폴리아크릴산 고분자 및 이의 용도에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 폴리아크릴산 고분자 (Poly(acrylic acid) macromolecule)를 유효성분으로 함유하는 항혈전 식품 조성물, 폴리아크릴산 고분자를 유효성분으로 함유하는 항혈전 약학 조성물 및 상기 조성물로 제조된 항혈전 약학 제제에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 최근 선진국뿐만 아니라 우리 나라에서도 동맥경화증, 뇌출혈, 고혈압, 심장병, 뇌졸중, 뇌경색 등의 순환기 질환이 사망원인 1, 2위를 차지하게 되었다. 이러한 성인병은 현대사회로 발전하면서 식생활 양식의 변화 및 환경 스트레스로 인해 중·장년층에서 빈번하게 발생하고 있다. 다양한 원인에 의해 혈관이 막혀 상기 질병들이 발생

할 수 있는데, 심장 혈관이 막힐 경우 심근 경색증이 일어날 수 있고, 뇌의 혈관이 막혔을 때 뇌경색이 발병된다. 뇌경색의 경우 질병이 계속 진행되어 뇌졸중 증세가 나타나 목숨을 잃게 될 수 있다. 미국의 경우 뇌졸중이 성인의 사망 원인 중 3번째로 높은 순위를 차지하고 있으며 운동성이 무력하게 되는 가장 큰 요인으로 알려져 있다. 이들 질환의 주요 발병 원인으로는 혈전 (thrombus)으로 알려져 있는데, 혈전이란 과잉 혈소판 응집에 의해 매개 되는 병리현상으로 인식되고 있다.

[0003] 혈전은 혈액 인자의 응집물로서, 주로 혈소판 및 피브린의 응집물로 이루어지며, 통상적으로 혈관의 과도한 출혈을 막기 위하여 형성된다. 혈소판이 내피하층의 표면과 접촉시 혈전을 생성시켜 혈관계를 차단하는 반응이 개시되는데 이러한 과정을 지혈이라고 하고, 상기 과정은 상처 부위에서 과도한 출혈을 막는데 매우 중요하다. 동맥 혈전은 국소 폐색에 의한 심각한 질환을 야기하는 반면, 정맥 혈전은 주로 원거리 폐색 (Pulmonary embolism), 또는 색전 (embolism)을 야기한다.

[0004] 혈관을 막는 기전은 혈액응고 기전과 혈전형성 기전이 존재한다. 혈액응고 기전은 용해성 피브리노겐이 난용성 피브린으로 변화되어 혈액이 응고되는 것으로, 주 개시자로는 외인성 인자인 조직 인자 (TF; tissue factor)와 외인성 인자인 VIIa 인자 (factor VIIa)가 있다. 각 단계에서 여러 가지 응고 인자를 활성화시켜 섬유소 응고 (fibrin clot; cross-linked fibrin molecule)가 형성되고, 이때 트롬빈이 생성되는데 이 물질이 강한 혈소판 활성물질로 활성화 인자 방출을 자극하게 된다. 혈전형성 기전은 손상된 혈관 내피 노출시 혈소판이 콜라겐에 부착되고, 서로 활성화에 의해 점성의 젤라틴 덩어리를 형성하는 것이므로, 정상적인 혈관 내피 세포에 생기는 것이 아니라 손상된 혈관으로부터의 출혈을 막기 위한 자발적인 과정이다.

[0005] 현재까지 혈전증의 치료에 전형적으로 사용되어온 의약품은 유로키나아제 (urokinase), 스트렙토키나아제 (streptokinase) 및 tPA (tissue-type plasminogen activator) 등이 있다. 그러나, 이들은 고가이며, 반감기가 짧고 전신출혈의 부작용이 있으며, 유로키나아제를 제외하고는 경구투여가 불가능하다는 단점 등의 문제점을 지니고 있다. 따라서, 이러한 혈전증 치료제의 제한성 때문에 현재 혈전증을 치료하기 위한 새로운 방법들이 모색되고 있다.

[0006] 한편, 한국등록특허 제0233338호에는 '혈전용해 활성을 갖는 황산 더마탄 및 이를 함유하는 약제학적 제형'이 개시되어 있고, 한국공개특허 제2009-0129981호에는 '항혈전 활성을 갖는 이미노이미다조피리딘 유도체'가 개시되어 있다. 그러나 본 발명에서와 같이, 항혈전 활성을 갖는 폴리아크릴산 고분자 및 이의 용도에 대해서는 개시된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자들은 폴리아크릴산 (Poly(acrylic acid))이 혈액 내 혈전 (thrombus)을 용해시킬 뿐만 아니라 혈전 용해 산물을 침전시킴으로써 혈전을 완전하게 제거하는 효과가 있으며, 폴리아크릴산의 카르복시산 수가 증가할수록 혈전 용해 산물의 크기가 작게 형성되는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 폴리아크릴산 고분자 (Poly(acrylic acid) macromolecule)를 유효성분으로 함유하는 항혈전 식품 조성물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 폴리아크릴산 고분자 (Poly(acrylic acid) macromolecule)를 유효성분으로 함유하는 항혈전 약학 조성물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 상기 조성물로 제조된 항혈전 약학 제제를 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명의 폴리아크릴산 고분자를 항혈전제로 이용하면, 혈액 내 혈전의 분해 및 제거를 통해 혈전 재형성을 일으키는 요인을 근본적으로 제거할 수 있다. 또한, 혈액 보관시에 폴리아크릴산을 처리하면 혈액 응고를 일으키는 물질을 원천적으로 제거함으로써 혈액 응고 방지가 가능하며 인공 혈액 분말 개발에도 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 체내에서 일어나는 혈액 응고의 전반적인 과정을 나타낸다. 혈액 응고 과정은 신호를 받은 인자 X가 인자 Xa로 변하면서부터 주요한 단계가 시작되며, 활성화된 인자 Xa는 프로트롬빈을 트롬빈으로 전환하여 활성화시킨다. 활성화된 트롬빈은 피브리노겐을 피브린으로 전환시키고, 형성된 피브린은 인자 XIIIa에 의해 교차결합된 섬유소 응고물질 (fibrin clot)로 변형된다. 여기에 적혈구 및 혈소판 등의 여러 가지 요소들이 응집해서 혈전을 형성하게 된다. 이는 혈관벽에 달라붙어 혈액의 순환을 방해하고 혈압을 상승시키는 등 다양한 질병의 원인이 된다 (그림 출처:W. Ageno *et al.*, *Canadian Medical Association or its licensors*. 2002).

도 2는 폴리아크릴산 (poly(acrylic acid))의 화학 구조를 나타낸다. 폴리아크릴산은 선형의 고분자 물질로 카르복시산을 작용기로 가지며, 중합되는 크기에 따라 약 1.8 내지 4,000 kDa까지 다양한 크기로 구성된다. 본 발명에서는 1.8, 100 및 250 kDa의 폴리아크릴산이 사용되었다.

도 3은 혈전 분해 및 혈전을 침전시키는 효과를 갖는 멜리트산 (mellitic acid)의 화학 구조를 나타낸다.

도 4는 멜리트산의 혈전 분해 및 침전 양상을 나타낸다. 고체 상태의 피브린 (일정한 형태가 없는 젤리와 같은 상태이며, 탄성력이 있고 잘 달라붙음; 왼쪽)에 멜리트산을 처리하면, 피브린이 빠르게 분해되어 침전된다 (오른쪽).

도 5는 중량 평균 분자량이 약 1.8 kDa인 폴리아크릴산 (PAA)의 혈전 분해 및 침전 양상을 나타낸다. 고체 상태의 피브린 (왼쪽)에 PAA를 처리하면, 피브린이 분해되면서 생성된 피브린 분해물에 의해 탁도가 증가하며 작은 침전물들이 벽에 달라붙거나 가라앉는 것을 확인할 수 있다 (오른쪽).

도 6은 중량 평균 분자량이 약 100 kDa인 폴리아크릴산 (PAA)의 혈전 분해 및 침전 양상을 나타낸다. 고체 상태의 피브린 (왼쪽)에 항혈전 물질인 프로토카테큐산 (protocatechuic acid)을 처리하면 피브린이 분해되어 무색 투명한 용액으로 변환된다 (중앙). 피브린에 PAA를 처리한 경우에는, 피브린이 분해되어 탁도가 증가하고 미세한 침전물이 형성된다 (오른쪽).

도 7은 중량 평균 분자량이 약 250 kDa인 폴리아크릴산 (PAA)의 혈전 분해 및 침전 양상을 나타낸다. 고체 상태의 피브린 (왼쪽)에 항혈전 물질인 프로토카테큐산 (protocatechuic acid)을 처리하면 피브린이 분해되어 무색 투명한 용액으로 변환된다 (중앙). 피브린에 PAA를 처리한 경우에는, 피브린이 분해되어 탁도가 증가하고 매우 미세한 침전물이 형성된다 (오른쪽).

도 8은 피브린에 혈전 분해 능력이 있는 PCA를 처리한 후, 약 1.8 kDa의 PAA 첨가에 따른 피브린 침전 양상을 나타낸다. 고체 상태의 피브린 (왼쪽)에 PCA를 처리 (중앙)하여 피브린이 모두 용해된 후 PAA를 첨가하면, 피브린 용해물이 침전되는 것을 확인할 수 있다 (오른쪽).

도 9는 피브린에 혈전 분해 능력이 있는 플라스민 (plasmin)을 처리한 후, 약 1.8 kDa의 PAA 첨가에 따른 피브린 침전 양상을 나타낸다. 고체 상태의 피브린 (왼쪽)에 단백질성 혈전 용해제인 플라스민을 처리한 후 37℃에서 반응시키면, 피브린이 용해되어 무색 투명해지는 것을 확인할 수 있다 (중앙). 이어서 플라스민을 처리한 피브린에 PAA를 첨가하면, 피브린 용해물의 침전물이 형성되는 것을 확인할 수 있다 (오른쪽).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 폴리아크릴산 고분자 (Poly(acrylic acid) macromolecule)를 유효성분으로 함유하는 항혈전 식품 조성물을 제공한다.

[0014] 본 발명에서 용어 "혈전"은 주로 혈소판과 세포성분을 둘러싼 섬유소로 구성된 혈액성분의 응집을 말하며, 혈액의 기타 요소와 뒤섞인 것으로 주로 혈소판 및 피브린의 응집물로 이루어진다. 건강한 사람의 혈액은 혈관 속에서 응고하는 일이 없지만, 혈관 내피의 손상이나 염증 또는 동맥경화 등에 의한 이상, 혈액이 정체되고 응고성이 높아진 경우에는 국소에서 혈전이 생긴다. 혈전이 생기면 그 부분의 혈관을 좁히거나 막아 혈액의 흐름을 방해한다.

[0015] 본 발명의 일 구현예에 따른 항혈전 식품 조성물에서, 상기 식품 조성물은 프로토카테큐산 (protocatechuic acid), 멜리트산 (mellitic acid) 및 플라스민 (plasmin)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 추가로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 프로토카테큐산은 자연에서 발생한 페놀계 화합물로 3,4-디히드록시벤조산 (3,4-dihydroxybenzoic acid)으로도 불리며 익모초, 두릅나무, 이질풀 등 다양한 식물에 존재한다.

또한, 프로토카테큐산은 미생물억제효과, 위 보호 효과, 항산화 효과, 항염 효과, 항암 효과 및 항혈전 효과 등이 있는 것으로 알려져 있다.

[0016] 본 발명의 일 구현예에 따른 항혈전 식품 조성물에서, 본 발명의 폴리아크릴산은 폴리아크릴산의 카르복시산 수가 증가할수록, 즉 폴리아크릴산의 분자량이 커질수록 분해되어 침전되는 혈전 덩어리의 크기를 감소시키고, 혈전 분해 및 침전 능력이 향상된다. 상기 폴리아크릴산 고분자는 중량 평균 분자량이 1.8 kDa 내지 4,000 kDa일 수 있으며, 바람직하게는 100 kDa 내지 4,000 kDa일 수 있으며, 더 바람직하게는 250 kDa 내지 4,000 kDa일 수 있으나, 혈전을 분해하고 침전을 일으킬 수 있는 분자량의 폴리아크릴산이라면 이에 제한되지 않는다.

[0017] 본 발명의 일 구현예에 따른 항혈전 식품 조성물에서, 상기 식품 조성물은 혈전 및 혈소판 응집으로 인한 고혈압, 심장병, 뇌졸중 또는 심근경색의 개선 또는 예방을 위해 식품에 첨가될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 식품이란 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 나타내는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있다.

[0018] 본 발명의 폴리아크릴산을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 폴리아크릴산을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 예를 들어, 첨가되는 다른 성분은 프로토카테큐산 (protocatechuic acid), 멜리트산 (mellitic acid) 및 플라스민 (plasmin)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 유효 성분의 혼합양은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에는 본 발명의 폴리아크릴산은 원료에 대하여 15 중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0019] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강 식품을 모두 포함한다.

[0020] 본 발명의 건강 음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스, 수크로오스와 같은 디사카라이드, 및 덱스트린, 시클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당 알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ㎖당 일반적으로 약 0.01~0.04 g, 바람직하게는 약 0.02~0.03 g 이다.

[0021] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일 주스, 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.

[0022] 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01~0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0023] 본 발명의 조성물은 혈전 형성을 수반하는 질환의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0024] 또한, 본 발명은 폴리아크릴산 고분자 (Poly(acrylic acid) macromolecule)를 유효성분으로 함유하는 항혈전 약학 조성물을 제공한다.

[0025] 본 발명의 일 구현예에 따른 항혈전 약학 조성물에서, 상기 약학 조성물은 프로토카테큐산 (protocatechuic acid), 멜리트산 (mellitic acid) 및 플라스민 (plasmin)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 추가로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0026] 본 발명의 일 구현예에 따른 항혈전 약학 조성물에서, 상기 폴리아크릴산 고분자는 중량 평균 분자량이 1.8 kDa 내지 4,000 kDa일 수 있으며, 바람직하게는 100 kDa 내지 4,000 kDa일 수 있으며, 더 바람직하게는 250 kDa 내지 4,000 kDa일 수 있으나, 혈전을 분해하고 침전을 일으킬 수 있는 분자량의 폴리아크릴산이라면 이에 제한되

지 않는다.

[0027] 본 발명의 일 구현 예에 따른 항혈전 약학 조성물에서, 상기 약학 조성물은 혈전 및 혈소판 응집으로 인한 고혈압, 심장병, 뇌졸중 또는 심근경색이 포함된 군에서 어느 하나 이상의 혈전증으로 인한 질병의 예방 및 치료용으로 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0028] 본 발명의 폴리아크릴산을 유효성분으로 포함하는 항혈전 조성물이 예방 또는 치료 효과를 가지는 질병은 다양하고, 예를 들어 고혈압, 심장병, 뇌졸증, 심근경색 등이 있으나 이에 제한되지 않으며, 혈전 및 혈소판의 응집으로 생기는 질병은 모두 이에 포함될 수 있다.

[0029] 또한, 본 발명은 상기 조성물로 제조된 경질 및 연질 캅셀제, 정제, 당의정, 필름코팅정, 나정, 장용정, 산제, 현탁제, 시럽제 및 주사제로 구성된 군으로부터 선택된 항혈전 약학 제제를 제공한다.

[0030] 본 발명의 조성물은 본 발명의 폴리아크릴산과 함께 항혈전의 예방 또는 치료 효과를 갖는 공지의 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다. 상기 유효성분은 예를 들면, 프로토카테큐산 (protocatechuic acid), 멜리트산 (mellitic acid) 및 플라스민 (plasmin)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 조성물은, 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약학적으로 허용가능한 담체를 1종 이상 포함하여 제조할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 덱스트로스 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 당분야의 적정한 방법으로 또는 Remington's Pharmaceutical Science (최신판), Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0031] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여 (예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있다.

[0032] 본 발명의 약학 조성물은 경구 투여용 제형, 예를 들면 정제, 트로키제 (troches), 로젠지 (lozenge), 수용성 또는 유성현탁액, 조제분말 또는 과립, 에멀젼, 하드 또는 소프트 캡슐, 시럽 또는 엘릭실제 (elixirs)로 제제화된다. 정제 및 캡슐 등의 제형으로 제제하기 위해 락토오스, 사카로오스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아밀로펙틴, 셀룰로오스 또는 젤라틴과 같은 결합제; 디칼슘 포스페이트와 같은 부형제; 옥수수 전분 또는 고구마 전분과 같은 붕괴제; 스테아린산 마그네슘, 스테아린산 칼슘, 스테아릴푸마르산 나트륨 또는 폴리에틸렌글리콜 왁스와 같은 윤활제가 함유된다. 캡슐 제형의 경우는 상기에서 언급한 물질 이외에도 지방유와 같은 액체 담체를 함유한다.

[0033] 또한, 본 발명의 약학 조성물은 비경구로 투여할 수 있으며, 비경구 투여는 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사 또는 흉부 내주사 주입방식에 의한다. 비 경구 투여용 제형으로 제제화하기 위해서는 상기 폴리아크릴산을 안정제 또는 완충제와 함께 물에서 혼합하여 용액 또는 현탁액으로 제조하고 이를 앰플 또는 바이알의 단위 투여형으로 제제한다.

[0034] 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다.

[0035] 본 발명의 조성물은 항혈전의 예방 또는 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0036] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0037] **실험 방법**

[0038] **1. PAA 수용액의 제조**

[0039] 중량평균분자량이 1.8, 100 및 250 kDa인 PAA 수용액 원액 (물에 35% 정도 녹아있는 용액)은 점성이 매우 강한

투명한 액체 상태이다. 피브린에 이 원액을 처리하면 밀도와 점성 때문에 아래로 가라앉아 층이 분리되는 성질을 보이는데, 이는 피브린의 분해 및 침전 반응성을 떨어뜨린다. 따라서 본 발명에서는 PAA 수용액 원액과 물을 1:1로 섞어 17.5%의 PAA를 사용하였다.

[0040] **2. 항혈전 효과 분석 방법**

[0041] 본 연구에서 항혈전 효과 분석 방법은 화합물이 피브린을 직접 분해하는 것을 관찰하는 방법을 사용하였다. 멸균된 증류수에 피브리노겐 (Sigma-Aldrich)을 첨가하여 최종 농도를 1 mg/ml로 만든 후 37℃에서 피브리노겐이 완전히 녹을 때까지 반응시킨다. 완전히 녹은 피브리노겐 용액에 트롬빈 (Sigma-Aldrich)을 1 U/ml 첨가한 후 원심분리 튜브 (EP-tube, Watson)에 360 ㎕씩 분주하여 굳힌다. 각 화합물 (프로토카테큐산 (PCA), 멜리트산)은 멸균 증류수에 녹여 50 mM로 제조하였다. 각 화합물 용액의 항혈전 양상을 확인하기 위해 고체 상태의 피브린이 포함된 튜브에 화합물을 40 ㎕씩 각각 첨가했고, 상온에서 피브린 분해 양상을 비교 관찰했다. 피브린 분해에 사용한 PCA 및 멜리트산의 최종 농도는 각각 5 mM이며, 수용액 상태로 존재하는 중량 평균 분자량 1.8, 100 및 250 kDa의 PAA의 최종 농도는 각각 1.75%이다. 대조구인 플라스민의 경우에는 고체 상태의 피브린에 플라스민 3 U/㎕를 첨가하여 37℃ 수조에서 완전히 녹을 때까지 반응시켰다.

[0042] **실시예 1. 폴리아크릴산의 특성**

[0043] 혈액응고는 여러 단계의 단백질과 보조인자들의 작용으로 일어나며, 체내에서 혈액이 응고되면 심혈관계질환, 뇌졸중 및 심근경색 등 다양한 질병을 일으킨다 (도 1). 본 발명에서는 혈액 응고에 관여하는 피브린을 분해하고 침전시키는 폴리아크릴산 (Poly(acrylic acid); PAA)의 역할 및 폴리아크릴산의 카르복시산 (carboxylic acid) 수를 늘림으로써 항혈전 효과를 증진시킬 수 있다는 것을 규명하여 항혈전 치료제로 적용하고자 하였다.

[0044] 폴리아크릴산은 선형의 고분자로서 카르복시산 (-C(=O)OH)이 작용기로 폴리에틸렌 주쇄에 달린 구조이며, 그 분자량은 합성하는 방법 및 정도에 따라 다르게 나타난다. 또한 고분자의 특성상 평균분자량 (average molecular weight)으로 밖에 표시되지 않아 정확한 분자량을 알 수 없다. 중량평균분자량 (weight average molecular weight)이 약 1.8, 130, 450, 1,250, 3,000 및 4,000 kDa인 PAA가 Sigma-Aldrich, Inc.에서 판매 중이며, PAA의 화학 구조는 도 2와 같다.

[0045] **실시예 2. 폴리아크릴산의 항혈전 작용**

[0046] 멜리트산은 방향족 벤젠 고리에 작용기로 6개의 카르복시산을 가지고 있는 헥사-카르복시-벤조산 (hexa-carboxy-benzoic acid) 형태이다 (도 3). 본 발명에서는 멜리트산 및 폴리아크릴산을 이용하여 카르복시산의 수가 증가함에 따라 혈전 분해 및 침전에 미치는 영향을 분석하고자 하였다.

[0047] 고체 상태의 피브린에 멜리트산을 처리한 결과, 피브린과 멜리트산의 상호작용에 의해 섬유소 응고물질 (fibrin clot)이 침전되는 것을 확인할 수 있었다 (도 4). 이는 카르복시산에 의해 분자 간 수소결합이 강화되어 피브린을 분해하는 능력이 증가하는 동시에 멜리트산에 연결된 카르복시산과 피브린 간의 가교 효과에 의해 침전이 유도되기 때문이다.

[0048] 중량평균분자량이 1.8 kDa인 PAA 수용액을 피브린에 처리했을 때, 피브린이 분해되며 침전이 일어나 EP 튜브 내의 반응액이 뿌옇게 변하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 흥미롭게도 PAA보다 카르복시산 수가 적은 멜리트산과 비교했을 때, 멜리트산은 비교적 큰 피브린 분해물 덩어리가 침전되는 동시에 탁도는 낮게 나타났으나, PAA는 침전물 덩어리의 크기가 더 작고 탁도가 높게 나타났다 (도 5). 중량평균분자량이 100 kDa인 PAA 수용을 피브린에 처리했을 때는 1.8 kDa의 PAA 수용액을 처리했을 때에 비해 침전물의 크기가 더 작고 탁도가 더 높아지는 것을 확인할 수 있었다 (도 6). 또한, 중량평균분자량 250 kDa의 PAA 수용액을 처리한 경우에는 100 kDa 수용액을 처리한 경우에 비해 침전물의 크기가 더 작아져서 침전물 입자를 육안으로 관찰하는 것이 어려웠으며, 탁도 또한 더 높게 나타났다 (도 7).

[0049] 멜리트산 및 다양한 분자량의 PAA는 피브린을 분해함과 동시에 시간이 지남에 따라 분해된 피브린을 침전시켰다. 하나의 벤젠 고리에 연결된 카르복시산 수가 6개인 멜리트산과 달리 카르복시산 수가 더 많은 PAA는 피브린을 더 작은 입자로 분해하고 침전시켜 반응액의 탁도가 더 높게 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 이

는 PAA의 분자량, 즉 카르복시산 수가 증가함에 따라 피브린 분해 능력이 증가하는데, 멜리트산은 카르복시산의 수가 적기 때문에 피브린을 완전히 분해하지 못해서 침전물 덩어리의 크기가 크게 나타나는 것으로 보인다. 따라서 많은 수의 카르복시산이 한 사슬에 연결되어 있는 선상 고분자 물질인 PAA는 피브린을 분해하고, 분해 산물을 침전시킬 수 있는 혈전침전제로 작용하는 항혈전제라고 볼 수 있다.

[0050] **실시예 3. 다른 항혈전제와 폴리아크릴산의 공동 처리에 의한 항혈전 효과**

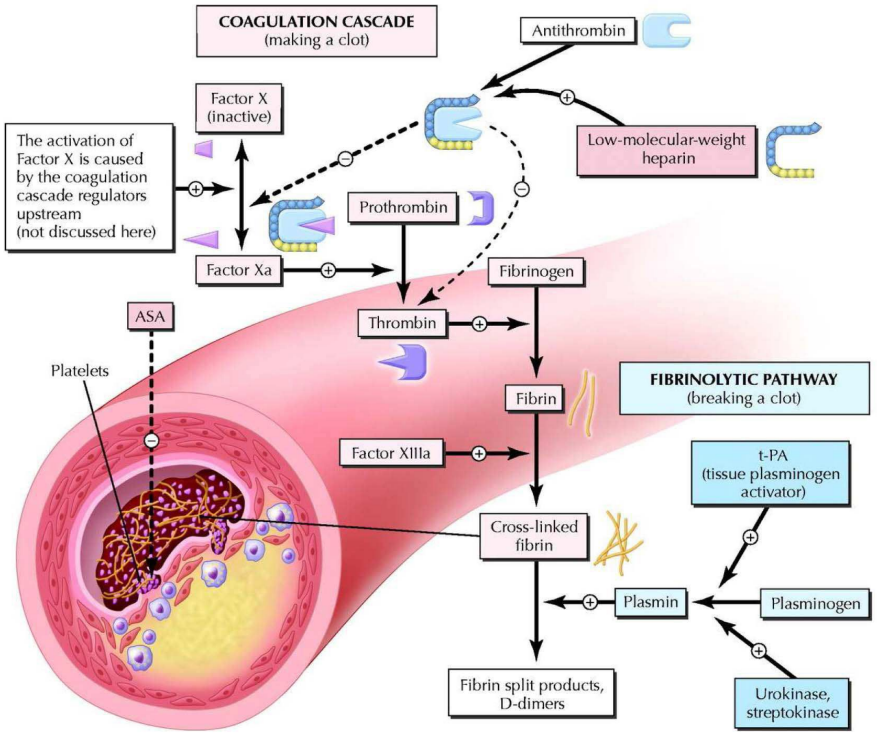
[0051] 하나의 카르복시산을 가지며, 항혈전 물질로 알려진 프로토카테큐산 (Protocatechuic aicd; 3,4-dihydroxybenzoic aicd; PCA)을 이용하여 PAA가 혈전 침전에 미치는 영향에 대해 추가로 분석하였다. 고체 상태의 피브린에 PCA를 처리하여 피브린을 분해한 후 PAA를 첨가하면, 침전물이 매우 빠르게 증가하고 탁도가 높아진다 (도 8). 이는 PCA에 의해 분해된 작은 덩어리의 가용성 피브린이 PAA와 결합하여 불용성 상태로 변해서 침전되는 것으로 생각된다.

[0052] 플라스민 (plasmin)은 체내에 존재하는 단백질로서 대표적인 항혈전 물질이며, 37℃에서 그 활성이 가장 우수하다. 피브린에 플라스민을 처리하고 37℃에서 반응시키면 수 시간 내에 모든 피브린이 분해되는 것을 확인할 수 있다. 상기 피브린 분해 산물에 PAA를 처리하면, PCA 처리 후 PAA를 처리했을 때와 유사한 피브린 침전 현상이 나타난다 (도 9).

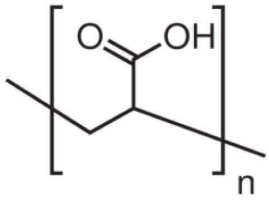
[0053] 상기 결과들을 종합하면, 피브린을 분해하는 PAA는 혈액 내 혈전을 용해시킬 뿐만 아니라 혈전 용해 산물들을 다시 침전시킴으로써 완전한 혈전 제거 효과를 지니고 있다. 기존의 항혈전 기능을 가진 물질들은 단순히 혈전을 용해하여 치료 효과를 얻지만, PAA는 혈전을 분해하고 침전시킴으로써 혈액 내 혈전 재형성을 일으킬 수 있는 요인을 근본적으로 제거하는 효과를 제공한다.

도면

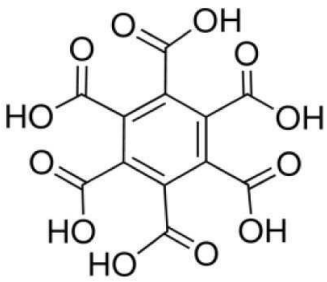
도면1



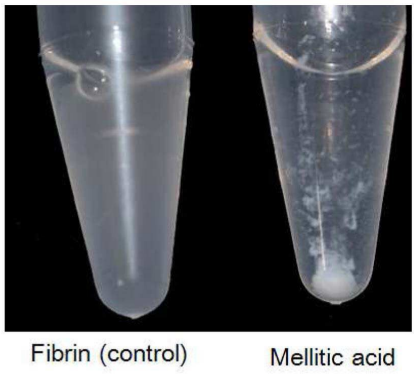
도면2



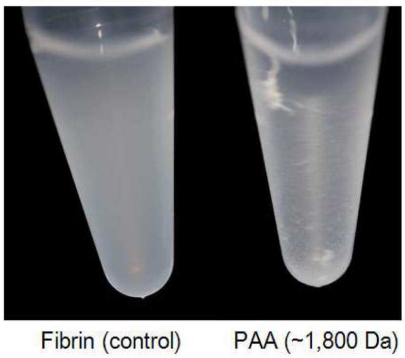
도면3



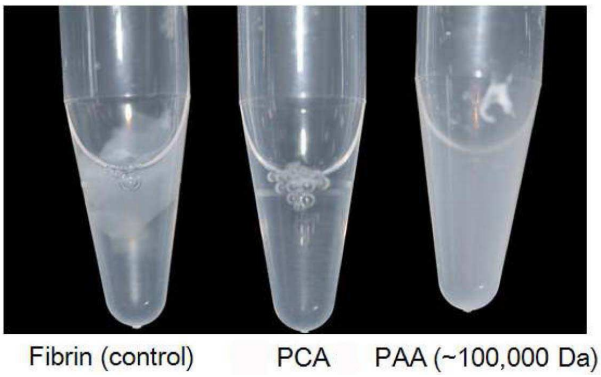
도면4



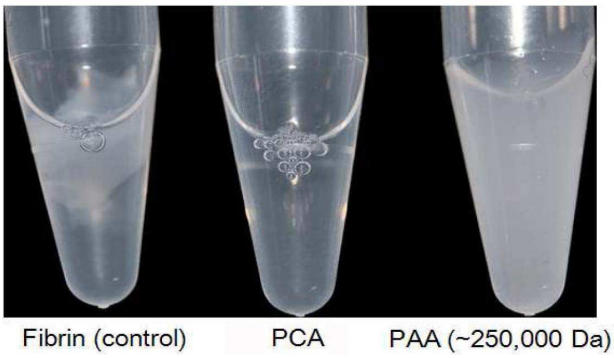
도면5



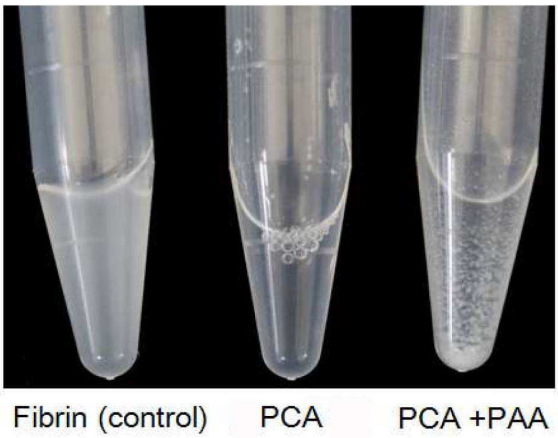
도면6


Fibrin (control)
PCA
PAA (~100,000 Da)

도면7


Fibrin (control)
PCA
PAA (~250,000 Da)

도면8


Fibrin (control)
PCA
PCA +PAA

도면9

