(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0044359
(43) 공개일자 2008년05월20일

(51) Int. Cl.
*B01J 20/32* (2006.01) *A61M 1/34* (2006.01)
*A23L 2/38* (2006.01) *C02F 1/38* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-7010746(분할)
(22) 출원일자 2008년05월02일
심사청구일자 2008년05월02일
(62) 원출원 특허 10-2004-7017107
원출원일자 2004년10월22일
심사청구일자 2008년03월17일
번역문제출일자 2008년05월02일
(86) 국제출원번호 PCT/SE2003/000553
국제출원일자 2003년04월04일
(87) 국제공개번호 WO 2003/090924
국제공개일자 2003년11월06일
(30) 우선권주장
0201257-3 2002년04월25일 스웨덴(SE)

(71) 출원인
**알테코 메디칼 아베**
스웨덴 에스-222 22 룬트 릴라 그레이브뢰데르스가탄 3체
(72) 발명자
**욘슨 보**
독일 88709 미어스부르크 회헨벡 17
**욥그렌 레나르트**
스웨덴 에스-226 53 룬트 뇌베뢰브스 키르코뵈크 31
(74) 대리인
**이범래, 장훈**

전체 청구항 수 : 총 17 항

# (54) 수용액으로부터 성분을 선택적으로 제거하기 위한 방법 및장치

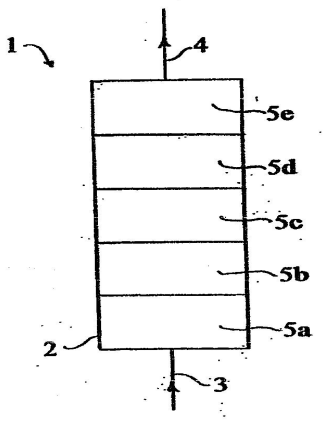
## (57) 요 약

본 발명은 수용액을 다공성 구조를 갖는 경질 일체형 분리 매트릭스로부터 배제되지 않으면서 당해 매트릭스를 통과시키는 단계 및

하나 이상의 수용액 성분을 매트릭스 상에 고정된 담즙산 잔기에 의해 결합하는 단계를 포함하고,

여기서 매트릭스는 소결법, 성형법 및 발포법을 포함하는 그룹으로부터 선택되는 방법에 의해 수득되는, 수용액으로부터 하나 이상의 성분을 선택적으로 제거하는 방법 및 장치에 관한 것이다.

*대표도* - 도1



## *특허청구의 범위*

**청구항 1**

수용액을 다공성 구조를 갖는 경질 일체형 분리 매트릭스로부터 배제되지 않으면서 당해 매트릭스를 통과시키는 단계 및

하나 이상의 수용액 성분을 매트릭스 상에 고정된 담즙산 잔기에 의해 결합하는 단계를 포함하고,

여기서 매트릭스는 소결법, 성형법 및 발포법을 포함하는 그룹으로부터 선택되는 방법에 의해 수득되는, 수용액으로부터 하나 이상의 성분을 선택적으로 제거하는 방법.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 담즙산 잔기가 데옥시콜산 잔기인 방법.

**청구항 3**

제1항 또는 제2항에 있어서, 다공성 구조에 담즙산 잔기를 배열하기 위해서 매트릭스의 다공성 구조를 코팅하거나 표면 변형하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

**청구항 4**

제1항에 있어서, 매트릭스가 금속, 무기 옥사이드, 탄소, 유리, 세라믹, 합성 중합체, 천연 중합체 및 이의 배합물을 포함하는 그룹으로부터 선택된 재료로 이루어지는 방법.

**청구항 5**

제1항에 있어서, 매트릭스가 강자성 금속으로 이루어지는 방법.

**청구항 6**

제4항에 있어서, 합성 또는 천연 중합체가 재료 상에 코팅되는 방법.

**청구항 7**

제4항 또는 제6항에 있어서, 합성 중합체가 폴리올레핀, 비닐 중합체, 불소 함유 중합체, 폴리아크릴레이트, 폴리아미드, 폴리이미드, 폴리이민, 폴리스티렌 및 이의 공중합체, 실리콘 고무, 폴리에스테르, 폴리카보네이트, 폴리우레탄, 폴리 설포네이트, 폴리글리콜, 폴리에테르, 폴리알키드옥사이드, 및 이의 공중합체 및 하이브리드를 포함하는 그룹으로부터 선택되는 방법.

**청구항 8**

제4항 또는 제6항에 있어서, 천연 중합체가 다당류, 폴리탄수화물, 폴리아미노산, 폴리락트산, 폴리글리콜산, 및 이의 공중합체 및 하이브리드를 포함하는 그룹으로부터 선택되는 방법.

**청구항 9**

제3항에 있어서, 표면 변형이 전착(electro-deposition), 전기증착(electroevaporation), 플라즈마 화학 침착(plasma chemical deposition), 이온 플라즈마 유동으로부터의 침착, 플라즈마 중합, 플라즈마 강화된 표면 중합체 침착 및 화학 증착을 포함하는 그룹으로부터 선택되는 방법.

**청구항 10**

제1항 또는 제2항에 있어서, 매트릭스 상에 추가의 리간드가 고정되고, 당해 리간드가 단백질, 펩티드, 항체 또는 이의 단편, 탄수화물, 다당류, 호르몬, 항산화제, 당단백질, 리포단백질, 지질, 지용성 비타민, 반응성 염료, 알란토인, 요산, 폴리믹신 및 이의 배합물을 포함하는 그룹으로부터 선택되는 방법.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 하나 이상의 가교결합제가 매트릭스와 리간드 사이에 공유 결합되는 방법.

**청구항 12**

제11항에 있어서, 가교결합제가 단일이작용성, 이종이작용성 및 삼작용성 가교결합제를 포함하는 그룹으로부터 선택되는 방법.

**청구항 13**

제11항에 있어서, 가교결합제가 매트릭스와 리간드 사이에 스페이서(spacer)로서 공유 결합되는 방법.

**청구항 14**

제13항에 있어서, 스페이서가 실란, 디이소시아네이트, 글리콜레이트, 폴리에틸렌글리콜, 석신이미딜 시약, 디하이드라진, 아디피드산, 디아민, 아미노산, 올리고아미노산, 폴리아미노산, 펩티드 및 단백질을 포함하는 그룹으로부터 선택되는 방법.

**청구항 15**

하우징(2), 입구(3), 출구(4) 및 하나 이상의 분리 매트릭스(5a, 5b, ...)를 포함하고, 이때 매트릭스는 수용액을 통과시키기 위한 경질의 일체형이고 다공성 구조 및 매트릭스 상에 고정된 하나 이상의 성분을 결합시킬 수 있는 담즙산 잔기를 갖고 소결법, 성형법 및 발포법을 포함하는 그룹으로부터 선택된 방법에 의해 수득된 다공성 구조를 갖는, 제1항 또는 제2항의 방법에 따라 수용액으로부터 하나 이상의 성분을 선택적으로 결합 및 분리하기 위한 장치.

**청구항 16**

제15항에 있어서, 담즙산 잔기가 데옥시콜산 잔기인 장치.

**청구항 17**

제15항에 있어서, 분리 매트릭스가 유동 방향으로 연속적으로 배열된 몇몇의 디스크를 포함하여 수용액이 하나의 디스크를 통과한 후, 다음 디스크의 전체 표면을 지나 유동하도록 배열되도록 하는 장치.

# *명 세 서*

## *발명의 상세한 설명*

### *기 술 분 야*

<1> 본 발명은 물, 전혈 또는 체액과 같은 수용액으로부터 성분을 선택적으로 제거하기 위한 방법 및 장치에 대한 것이다. 더욱 특별히, 본 발명은 수용액이 경질 일체형 분리 매트릭스로부터 배제되지 않으면서 이를 통과하도록 하는 방법에 대한 것이다.

### *배 경 기 술*

<2> 패혈증과 같은 염증 과정은 사람에서 질병률 및 사망률의 주요 원인이다. 매년 400000 내지 500000건의 패혈증으로 미국에서만 100000 내지 175000명의 사람이 죽게 된다고 추정된다. 독일에서, 집중 치료 병동에 배치된 환자의 19% 이하의 패혈증 비율이 주목된다. 패혈증은 또한 집중 치료 병동의 비-외상성 질병을 앓는 환자중에서 가장 큰 사망 원인이 되고 있다. 심각한 감염의 치료에서 지난 십년동안 상당한 발전에도 불구하고, 패혈증에 기인한 발병 및 사망률은 계속 증가한다.

<3> 감염성 유기체의 형태로 특징지워지는 3가지 주요 패혈증이 있다. 그람 음성 패혈증이 가장 일반적이다. 상기 감염의 대부분은 에세리키아 콜리(*Esherichia coli*), 클렙지엘라 뉴모니애(*Klebsiella pneumoniae*) 및 슈도모나스 애루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*)로 유발된다. 그람 양성 병원체, 예를 들어, 스타필로코시(*Staphylococci*) 및 스트렙토코시(*Streptococci*)는 패혈증의 제2 주요 원인이다. 제3 주요 그룹은 진균류를 포함한다. 진균성 감염은 비교적 소비율의 패혈증 원인을 구성하나, 높은 사망률을 나타낸다.

<4> 패혈증의 확립된 메카니즘은 그람 음성 세균의 독성 성분, 즉 리포다당류 세포벽 구조(LPS, 내독소)와 관련되는데, 이는 지방산 그룹, 포스페이트 그룹 및 탄수화물 쇄로 이루어져 있다.

<5> 내독소에 대한 몇몇의 숙주 반응은 국소적으로 생성되는 사이토킨의 방출로서 확인되고 있다. 그러나, 광범위한 자극의 경우, 말초혈에 대한 유출이 있고 유도된 기관의 기능이상과 같은 잠재적 유해 효과가 수득된다.

<6> 패혈증성 쇼크의 주요 매개체는 종양 괴사 인자(TNF-α), 인터류킨 1(Il-1) 및 인터류킨 17(Il-17)이고, 이들은 단핵세포 및 대식세포에 의해 방출된다. 이들은 상승 작용적으로 작용하여 순환 붕괴 및 다중 기관 부전을 유도하는 생리학적 변화의 캐스케이드를 야기한다. 물론, 고농도 TNF-α는 패혈증의 증후 및 결과를 모방할 수 있다.

<7> 통상적으로, 내독소는 장의 루멘내에 보유된다. 예를 들면, 심폐 우회술 동안 내장 허혈 또는 다이속시아(dysoxia)의 존재는 점막 장벽 및 장 루멘으로부터 문맥 순환으로의 내독소의 전좌(즉, 장으로부터 순환계로의 내독소 수송)의 파양을 유발한다.

<8> 다양한 유형의 항생제는 감염을 예방하거나 치료하는데 광범위하게 사용된다. 그러나, 다수의 통상적으로 사용되는 항생제의 경우, 항생제 내성이 각종 세균중에 발생된다. 이는 유기체가 내성을 발생시키는 일정한 선택압하에 존재하는 병원에 상주하는 미생물총에 대하여 특히 사실이다. 더우기, 병원에서 고밀도의 잠재적으로 감염된 환자 및 스태프 대 스태프 및 스태프 대 환자의 접촉 정도는 항생제 내성 유기체의 확산을 촉진시킨다. 사용되는 항생제는 가장 경제적이고, 가장 안전하며 가장 손쉽게 투여되고 특정 감염을 억제하는데 충분히 광범위한 영역을 가질 수 없다. 항생제는 알러지, 다른 약제와 상호작용을 유발하고, 주요 기관(예: 간, 신장)에 직접적인 손상을 유발시킴으로써 다양한 정도로 독성이 있을 수 있다. 많은 항생제는 또한 전형적인 장 균총을 변화시키고, 이는 설사 및 영양 흡수장애를 유발할 수 있다.

<9> 특정 항생제, 예를 들어, 폴리믹신 B(polymyxin B)는 내독소 작용을 중화시키는 것으로 공지되어 있다. 상기 항생제는 내독소 지질 A 부분에 결합하여 그 활성을 중화시킨다. 폴리믹신은 자체 독성 때문에 일상적으로 사용되지 않는다. 이는 단지 신장 기능의 일정한 감독 및 모니터링하의 환자에게만 투여된다.

<10> 더우기, 세균 성분에 대한 활성 면역화에 대한 고유 한계의 일부를 극복하기 위해서, 다양한 기술이 사용되어서 내독소-결합 항체를 생산하고 있다. 다수의 항생제는 세균에 의한 사람의 면역화에 의해 제조되고 있다. 치료학적 항체의 더욱 일관된 제제를 개발하기 위해, 다수의 LPS-반응성 모노클로날 항체를 개발하여 왔다. 불행히도, 임상 연구에서 유익한 것으로 나타나지 않았다. 그러나, 이러한 시도는 패혈증 징후의 개시 후 사람에게 수행되어졌다는 것을 주시해야 한다. 패혈증 후에 투여되는 항-내독소 항체 치료는 이러한 항체가 내독소에 의해 개시되는 염증성 케스케이드를 역전시킬 수 없기 때문에 거의 혜택이 없을 것으로 널리 여겨진다.

<11> 일본 특허 제06022633호에서, 항-지질 항체에 대한 흡수제가 제시되고, 이는 수-불용성 다공성 물질상에 고정된 음이온성 작용기를 가진 화합물을 포함한다. 다공성 물질은 아가로스, 셀룰로즈, 덱스트란, 폴리아크릴아미드, 유리, 실리카 겔 또는 스틸렌-다이비닐벤젠 공중합체로 이루어진 경질 중합체일 수 있고, 다공성 물질은 분리 장치 중의 개별 입자의 층으로서 팩킹된다.

<12> 혈액으로부터 성분을 제거하기 위한 시도에서, 상이한 흡수 물질이 제조되고 있다. 고체 상 지지체 매질상에 고정된 리간드를 포함하는 내독소 제거 흡수제는 국제공개공보 제WO 01/23413호에 제시되어 있다. 바람직한 지지체 매질은 비드 형태이다. 분리 장치 중에 팩킹된 경우, 고체 상 지지체 매질은 비드 사이에 혈구가 통과하기에 충분한 다공성이다.

<13> 국제공개공보 제WO 00/62836호에서, 흡수 물질은 혈액으로부터 β-2 마이크로글로불린을 제거하기에 적합한 크기 및 구조를 가진다. 상기 문헌의 흡수 물질은 단백질 및 혈소판의 흡수를 방지하도록 변형된 비드 및 기공의 표면을 가진 매크로다공성 합성 중합체일 수 있다. 그러나, 중합체의 개별적인 구형 비드는 약 500g의 부하로 기계적으로 파괴되었고, 이는, 예를 들면, 비드로 팩킹된 칼럼에서 수득된다. 상기 부하는 칼럼에 대해 상당한 압력을 떨어뜨리게 된다.

<14> 압력 저하를 감소시키기 위해, 흡수제가 EP 제464872호에서 제조되고 있고, 이는 $10^6$ 내지 $10^9$ 달톤의 배제 한계를 가진 수-불용성 다공성 경질 겔 입자를 포함한다. 겔 상은 체외순환 치료에서 혈액 또는 혈장으로부터 지단백질의 선택적 제거에 사용된다.

<15> 마찬가지로, 국제공개공보 제WO 01/23413호에서 내독소 제거용 다공성 지지체 물질은 용기내로 채워질 수 있는 비드이고, 비드의 크기는 칼럼 또는 필터 상내에 팩킹되는 경우 비드 사이에 필수 공간을 제공하기에 충분하다. 다공성 지지체 물질은 또한 압력 저하를 최소화하기 위해서 정밀여과 중공사 또는 편평한 시트 막일 수 있다.

<16> EP 제424698호에서 생체고분자를 제거하기 위한 흡수제가 제시되고, 이는 50 내지 150㎛의 입자 크기 및 $10^5$ 달톤 이상의 배제 제한을 갖는 다공성 구형 입자의 담체로 이루어진다. 폴리믹신 B는 상기 입자와 결합되고, 이는 이어서 전혈로부터 체외 내독소 제거를 위한 시스템에서 사용되는 카트리지를 채운다.

<17> 혈액으로부터 독소 성분의 체외 제거를 위한 이러한 전통적인 시스템에서, 용기 또는 카트리지는 먼저 액체로 채워지고, 흡수성 다공성 비드는 이후에 도입된다. 미국 특허 제6,408,894호에서 비드가 더욱 균일하게 분포되고 더욱 치밀하게 팩킹되는 방법이 제시된다. 상기 방법은 액체가 액체 및 비드의 혼합물로부터 및 용기로부터 압착되는 방식으로 액체 및 비드의 혼합물을 용기내에 강제적으로 공급함을 포함한다.

<18> 따라서, 혈구의 제거는, 예를 들어, 국제공개공보 제WO 00/62836호 또는 제WO 01/23413호에서 상기 기술된 바와 같이 혈장내에 존재하는 화합물의 제거를 촉진한다. 그러나, 상기 기술은 생체부적합성에 기인하는 유해한 세포 활성화의 증가된 위험에 기여할 수 있는 2가지 분리 단계를 포함한다.

## *발명의 내용*

### *해결 하고자하는 과제*

<19> 본 발명의 목적은 상기한 결점 중의 하나 또는 다수를 적어도 부분적으로 제거하거나 완화시키는 것이다.

### *과제 해결수단*

<20> 제1 국면에 따라서, 수용액을 다공성 구조를 갖는 경질 일체형 분리 매트릭스로부터 배제되지 않으면서 당해 매트릭스를 통과시키는 단계 및

<21> 하나 이상의 수용액 성분을 매트릭스 상에 고정된 담즙산 잔기에 의해 결합하는 단계를 포함하고,

<22> 여기서 매트릭스는 소결법, 성형법 및 발포법을 포함하는 그룹으로부터 선택되는 방법에 의해 수득되는, 수용액으로부터 하나 이상의 성분을 선택적으로 제거하는 방법이 제공된다. 담즙산 잔기는 데옥시콜산 잔기일 수 있다.

<23> 한 양태에 따라, 당해 방법은 다공성 구조에 상기한 담즙산 잔기를 배열하기 위해서 매트릭스의 다공성 구조를 코팅하거나 표면 변형하는 단계를 추가로 포함한다.

<24> 매트릭스는 금속, 무기 옥사이드, 탄소, 유리, 세라믹, 합성 중합체, 천연 중합체 및 이의 배합물을 포함하는 그룹으로부터 선택된 재료로 이루어질 수 있다. 매트릭스는 강자성 금속으로 이루어질 수 있다. 합성 또는 천연 중합체가 재료 상에 코팅될 수 있다. 합성 중합체는 폴리올레핀, 비닐 중합체, 불소 함유 중합체, 폴리아크릴레이트, 폴리아미드, 폴리이미드, 폴리이민, 폴리스티렌 및 이의 공중합체, 실리콘 고무, 폴리에스테르, 폴리카보네이트, 폴리우레탄, 폴리 설포네이트, 폴리글리콜, 폴리에테르, 폴리알키드옥사이드, 및 이의 공중합체 및 하이브리드를 포함하는 그룹으로부터 선택될 수 있다. 천연 중합체는 다당류, 폴리탄수화물, 폴리아미노산, 폴리락트산, 폴리글리콜산, 및 이의 공중합체 및 하이브리드를 포함하는 그룹으로부터 선택될 수 있다.

<25> 표면 변형은 전착(electro-deposition), 전기증착(electroevaporation), 플라즈마 화학 침착(plasma chemical deposition), 이온 플라즈마 유동으로부터의 침착, 플라즈마 중합, 플라즈마 강화된 표면 중합체 침착 및 화학 증착을 포함하는 그룹으로부터 선택될 수 있다.

<26> 추가의 리간드를 매트릭스 상에 고정시킬 수 있고, 당해 리간드는 단백질, 펩티드, 항체 또는 이의 단편, 탄수화물, 다당류, 호르몬, 항산화제, 당단백질, 리포단백질, 지질, 지용성 비타민, 반응성 염료, 알란토인, 요산, 폴리믹신 및 이의 배합물을 포함하는 그룹으로부터 선택될 수 있다.

<27> 하나 이상의 가교결합제가 매트릭스와 리간드 사이에 공유 결합될 수 있다. 가교결합제는 동종이작용성, 이종이작용성 및 삼작용성 가교결합제를 포함하는 그룹으로부터 선택될 수 있다. 가교결합제가 매트릭스와 리간드 사이에 스페이서(spacer)로서 공유 결합될 수 있다. 스페이서는 실란, 디이소시아네이트, 글리콜레이트, 폴리에틸렌글리콜, 석신이미딜 시약, 디하이드라진, 아디피드산, 디아민, 아미노산, 올리고아미노산, 폴리아미노산, 펩티드 및 단백질을 포함하는 그룹으로부터 선택될 수 있다.

<28> 또다른 국면에서, 하우징, 입구, 출구 및 하나 이상의 분리 매트릭스를 포함하고, 이때 매트릭스는 수용액을 통과시키기 위한 경질의 일체형이고 다공성 구조 및 매트릭스 상에 고정된 하나 이상의 성분을 결합시킬 수 있는 담즙산 잔기를 갖고 소결법, 성형법 및 발포법을 포함하는 그룹으로부터 선택된 방법에 의해 수득된 다공성 구

조를 갖는, 수용액으로부터 하나 이상의 성분을 선택적으로 결합 및 분리하기 위한 장치를 제공한다. 답즙산 잔기는 데옥시콜산 잔기일 수 있다.

<29> 하나의 양태에서, 분리 매트릭스는 수용액이 하나의 디스크를 통과한 후, 다음 디스크의 전체 표면을 지나 유동하도록 배열되는 유동 방향으로 연속적으로 배열된 몇몇의 디스크를 포함한다.

<30> 양태의 상세한 설명

<31> 본 발명의 이하 몇몇 양태는 숙련가가 본 발명의 실시할 수 있도록 기술된다. 이하 제시된 구체적 정보는 본 발명을 제한하고자 함이 아니고, 다른 특징 및 배합은 첨부된 특허청구범위에 의해 규정된 본 발명의 범위내에서 가능하다.

<32> 경질 일체형 매트릭스는 0.5㎠ 내지 10㎡의 이용가능한 표면을 가져야 하고, 매트릭스 구조의 밀도는 제한되지 않는다.

<33> 이와 관련하여 용어 "경질"은 매트릭스가 유연하지 않고, 굽혀지거나 구부러지지 않으나, 0.5bar 이상의 압력을 견딜 수 있음을 의미한다. 용어 "일체형"은 고도의 표면적을 갖는 매트릭스가 완전한 통일체로 존재함을 의미한다.

<34> 매트릭스의 다공성 구조는 금속, 무기 옥사이드, 탄소, 유리, 세라믹, 합성 중합체 및/또는 천연 중합체 또는 이의 혼합물로 구성된다. 충분히 정의된 기공 크기 및 고도의 표면적을 가진 다공성 고체 금속 구조는 균일한 크기의 기공을 생성하는 엄격하게 제어된 소결법(sintering process)을 사용함으로써 제조될 수 있다.

<35> 상이한 중합체는 매트릭스에 대해 목적하는 기공 크기뿐 아니라 고도의 표면적을 갖는, 다공성 구조를 지닌 성형되거나 압출되는 다공성 물질로서 생산되고 있다. 이들은 또한 발포체로서 생산되고 있다. 예를 들면, 이소시아네이트 및 각종 기타 유기 화합물로부터 제조된 폴리우레탄은 활성 수소 원자를 갖는데, 이는 중부가 생성물을 생산하는데 사용되고 있다. 상기 활성 수소는 이작용성 또는 다작용성 화합물, 예를 들면, 폴리알코올, 폴리아민으로부터 발생할 수 있다. 물과의 반응으로 특이적 리간드의 공유적 고정화에 사용되는 1급 아민이 생성된다.

<36> 광범위한 금속 및 합금, 예를 들어, 스테인레스 강, 니켈, 티탄, 모넬, 인코넬, 하스텔로이 및 기타 특수한 금속 재료가 사용되고 있다. 고도의 표면적의 무기 옥사이드, 특히 알루미나 및 지르코니아는 또한 동일한 기술로 사용되어서 명시된 기공 구조를 지닌 세라믹 재료를 생성한다. 마찬가지로, 적합한 기공 크기를 갖는 상기 세라믹뿐 아니라 소결된 유리를 구입할 수 있다.

<37> 무정형 실리카와 같은 기타 천연 경질 재료, 예를 들면, 제올라이트 및 용암석(lave rock)이 또한 사용되고 있다.

<38> 매트릭스 재료로서 사용될 수 있는 천연 재료 및 이의 하이브리드는 셀룰로즈와 같은 다당류 및 기타 중합성 탄수화물 물질이다. 기타 적합한 천연 중합성 물질은 폴리아미노산이고, 또한 이는 합성 아미노산, 폴리락트산, 폴리글리콜산 및 락트산과의 공중합체를 포함한다.

<39> 이와 관련하여, 용어 하이브리드는 상기 천연 물질의 유도체, 예를 들면, 다당류 유도체인 셀룰로즈 디아세테이트를 포괄한다.

<40> 매트릭스에 적합한 합성 중합체는 폴리올레핀, 예를 들어, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리부틸렌, 폴리메틸펜텐 및 에틸렌 비닐 아세테이트 공중합체; 비닐 중합체, 예를 들어, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 아세탈 및 폴리비닐피롤리돈; 불소 함유 중합체, 예를 들어, 폴리테트라플루오로에틸렌, 불화된 에틸렌-프로필렌 공중합체, 폴리클로로플루오로에틸렌, 폴리비닐플루오라이드 및 폴리비닐리덴 플루오라이드; 폴리아크릴레이트, 예를 들어, 폴리메틸메타크릴레이트, 시아노아크릴레이트, 폴리아크릴로니트릴 및 폴리메타크릴레이트; 폴리아미드, 예를 들어, 폴리아크릴아미드; 폴리이미드, 예를 들어, 폴리에틸렌이민; 폴리스티렌 및 이의 공중합체, 예를 들어, 폴리스티렌 및 아크릴로니트릴-부타디엔-스티렌-중합체; 실리콘 고무; 폴리-에스테르/에테르; 폴리카보네이트; 폴리우레탄; 폴리설포네이트; 폴리글리콜; 폴리알키드옥사이드, 예를 들어, 폴리에틸렌옥사이드, 폴리프로필렌옥사이드; 및 이의 공중합체 또는 하이브리드이다.

<41> 하나의 양태에서, 하나 이상의 작용기는 경질 일체형 분리 매트릭스의 다공성 구조상에 도입된다. 작용기는 상이한 종류, 즉 음이온성, 양이온성 또는 비이온성 형태일 수 있다. 다공성 구조의 작용기는 펩티드/단백질 및 담즙산(예: 데옥시콜산), 항체 및 이의 단편뿐 아니라 기타 생체 분자 및 내독소 및/또는 염증전 중개자에 선택

적으로 결합하는 능력을 가진 물질과 같은 물질을 공유 결합하는데 사용되고 있다.

<42> 표면 변형, 즉 간접 방식으로 표면 기능화는 전착(electro-deposition), 전기증착(electro-evaporation), 플라즈마 화학 침착(plasma chemical deposition), 이온 플라즈마 유동으로부터의 침착, 또는 화학 증착(예: 플라즈마 중합, 플라즈마 강화된 표면 중합체 침착)에 의해 이루어졌다. 표면 변형 방법은 그 자체로 공지되어 있고 문헌[참고: "Plasma surface modification and plasma polymerization", N. Inagaki, 1996, Technomic Publishing, Lancaster, USA]에서 찾을 수 있다. 상이한 삼차원 매트릭스 구조는 상기 방법의 수단으로 처리되어서, 활성 표면이 매우 균일하게 개질된다.

<43> 아크릴 또는 알릴 이중 결합의 이작용성 단량체와 OH, $NH_2$, CN 및 COOH와 같은 극성 그룹의 중합은 고밀도의 작용기를 갖는 플라즈마 중합체를 생성하는데 사용되고 있다. 예를 들면, 무기 표면 및 유기 표면의 표면 기능화는 알릴 화합물, 예를 들어, 알릴아민의 플라즈마 환경에서 수행되었다.

<44> 이는 또한, $NH_3$, $O_2$, 또는 $CO_2$ 플라즈마 환경 중의 유기 중합체 표면을 제조할 수 있고, 이는 작용기 =NH, $-NH_2$, =CN, -OH 또는 -COOH 중 하나를 생성한다. 사용되는 기타 기체의 예는 당업계에 익히 공지되어 있다.

<45> 플라즈마화학 가공은 또한 전형적 화학 합성과 배합되어서, 중합체에 대한 표면 변형의 선택성이 현저하게 증가된다. 한 접근법으로 특이적 플라즈마 기체 표면 기능화 후 즉시 공존하는 플라즈마 작용기의 화학적 단일화가 적용되고 있다.

<46> 작용기를 도입하는 또다른 방법은 직접적 기능화, 즉 표면을 중합체성 물질로 코팅하는 방법이다. 이와 관련하여, 합성 또는 천연 중합체가 고도 표면의 금속, 무기 옥사이드, 탄소, 유리, 세라믹뿐 아니라 또다른 적합한 합성 중합체 및/또는 천연 중합체 또는 이의 혼합물로 코팅되고 있다.

<47> 상기 언급된 많은 중합체, 특히 작용기가 없는 중합체, 예를 들어, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리테트라플루오로에틸렌 등은 이들의 표면 특성을 바꾸기 위해 추가 처리가 필요하다. 따라서, 상기 언급된 바와 같이 중합체 표면의 플라즈마 또는 코로나 처리로 표면에 공유적으로 부착되는 매우 독특한 작용기, 예를 들어, 하이드록실기, 카보닐기, 카복실기, 아미노기 및 이미노기 등을 생성할 것이다.

<48> 작용기를 가진 중합체 물질의 점착 또는 흡착에 의해 코팅이 또한 이루어지고 있다. 상기 물질의 예는 폴리리신, 폴리아르기닌 및 폴리에틸렌이민이다.

<49> 예를 들어, 플라즈마 기술을 사용함으써, 폴리에틸렌이민형 물질이 다공성 표면상에 수득되었다. 분리 매트릭스가 전혈 또는 체액으로부터 하나 이상의 성분을 선택적으로 결합하고 분리하는데 사용되는 경우, 단백질성 혈액 성분의 친수성뿐 아니라 소수성 영역은 목적하는 성분을 제거하기 위해서 처리된 표면과 상호작용할 수 있다. 기능화 후, 선택적 결합 및 분리를 위한 매트릭스 표면이 폴리올레핀, 예를 들면, 폴리에틸렌 또는 폴리프로필렌을 포함하는 경우, 아미노기의 양전하는 마찬가지로 정전기적 상호작용용으로 사용되고 소수성 영역은 소수성 상호작용용으로 사용된다. 상기 접근법은, 예를 들어, 리포다당류의 상이한 영역의 선택적 결합을 위해 사용된다.

<50> 예를 들면, 반응성 하이드록실을 가진 중합체 및 금속은 또한 실란화(silanization)에 의해 기능화될 수 있다.

<51> 따라서, 각종 상이한 작용기는 고도의 표면 다공성 매트릭스 구조에 공유적으로 결합되어 있다. 직접적 및/또는 간접적 기능화 후, 다공성 구조는 친수성 영역뿐 아니라 소수성 영역을 가질 수 있고, 이는 상이한 혈액 성분과 상호작용할 수 있다. 따라서, 관심 물질의 특유의 특성은 사용되는 표면을 제조하는 경우 사용된다.

<52> 바람직하게, 활성 표면의 작용기는 설프하이드릴, 카복실레이트, 아민, 알데히드, 케톤, 하이드록실, 할로겐, 하이드라지드 및 활성 수소이다.

<53> 또다른 양태에서, 리간드는 공유 방식으로 고도의 표면 다공성 구조의 하나 이상의 작용기에 결합된다. 이와 관련하여, 리간드는 전혈 또는 체액으로부터 제거되는 성분에 고도의 친화성을 갖는 물질이다. 따라서, 리간드는 흡착 특성 및 결합 효능을 증가시키는데 사용된다.

<54> 리간드는 단백질, 바람직하게는 재조합 단백질, 펩티드, 항체 또는 이의 단편, 탄수화물, 예를 들어, 다당류, 호르몬, 항산화제, 당단백질, 지단백질, 지질, 지용성 비타민, 예를 들어, 비타민 E, 담즙산, 반응성 염료, 알란토인, 요산 또는 폴리믹신 또는 이의 배합물일 수 있다.

<55> 적합한 담즙산은 데옥시콜산으로, 내인성의 소수성 물질이다. 상기 담즙산은 스페이서를 통해 직접 작용기에

결합하거나 대분자를 통해 결합할 수 있고, 이 후 혈액, 체액 및 수용액으로부터 내독소를 제거하는데 사용된다.

<56> 이와 관련하여, 스페이서는 대분자 또는 소분자이며, 다공성 구조의 표면에 리간드를 연결한다.

<57> 예를 들면, 분리 매트릭스의 다공성 구조가 첨가된 아민 그룹을 갖는 폴리올레핀을 포함하는 경우, 이 그룹은 여기에 결합된 알부민 및 또한 상기 대분자에 결합된 하나 이상의 담즙산 잔기를 가질 수 있다.

<58> 따라서, 성분을 포함하는 수용액으로부터 성분을 제거하기 위한, 지지체상에 고정된 담즙산 잔기의 신규 용도가 제공된다. 바람직하게, 담즙산 잔기는 데옥시콜산 잔기이다.

<59> 따라서, 담즙산 잔기의 고정화를 위한 적합한 고체 지지체는 5㎛ 내지 500㎛ 범위, 바람직하게는 70㎛ 내지 170㎛의 기공 크기 및 0.5㎠ 내지 10㎡ 범위의 활성 표면을 갖는 다공성 구조의 경질 일체형 분리 매트릭스이다.

<60> 매트릭스의 리간드는 알부민 또는 재조합 기술에 의해 생성된 알부민일 수 있고, 이는 혈청 알부민, 폴리믹신 B(즉, 소수성 구조상의 하전된 그룹) 또는 데옥시콜산 대신에 사용될 수 있다.

<61> 따라서, 리간드는 또한 스페이서로서 작용할 수 있다. 예를 들면, 사람 재조합 단백질 또는 또다른 대분자(예: 히알루론산)를 제거될 성분에 특이적인 리간드를 후속적으로 결합하게 하는 다공성 구조에 우선 공유적으로 부착시킬 수도 있다.

<62> 필요한 경우, 가교결합제는 공유 방식으로 하나 이상의 작용기와 리간드 사이에 결합된다. 이와 관련하여, 가교결합제는 리간드를 지지성 다공성 구조에 공유적으로 결합시키는 성분으로, 이는 다공성 구조 자체로부터 멀리 리간드를 연결시키는 경우 스페이서가 된다. 상기 분자 스페이서는 당업계에 공지되어 있다. 이는 리간드에 더 향상된 유효성을 제공함으로써 전혈 또는 체액으로부터 결합되고 분리되는 성분에 대한 친화성을 증가시키기 위해서 도입되고 있다. 다공성 매트릭스 구조의 표면의 생체적합성은 또한 상기 분자 스페이서의 도입으로 증가된다.

<63> 가교결합제/스페이서는 0-길이 가교결합제를 단독으로 또는 중재성 가교결합제와 배합하여 포함할 수 있고, 수득된 최종 복합체는 구조를 가교결합된 물질에 첨가하는 화학 물질에 의해 함께 결합된다. 상기 중재성 가교결합제는 동종이작용성(예: 디알데히드), 이종이작용성(예: 아미노산) 또는 삼작용성 가교결합 형태일 수 있다.

<64> 스페이서의 목적은 사용된 특이적 리간드의 생체이용성을 증가시키는 것이다.

<65> 스페이서는, 예를 들면, 실란, 디이소시아네이트, 글리콜레이트, 폴리에틸렌글리콜, 석신이미딜 시약, 디하이드라진, 아디피드산, 디아민, 아미노산, 폴리 또는 올리고 아미노산, 폴리아미노산, 펩티드 또는 단백질일 수 있다. 바람직하게는, 단백질은 사람 재조합 단백질이다.

<66> 가교결합제의 작용기는, 몇몇 예를 언급하면, 아미노기(Lys, Arg), 설프하이드릴(Cys) 또는 카복실(Asp, Glu)과 반응하도록 고안된다.

<67> 반응기의 화학과 관련하여, 다음 문헌[참고: Bioconjugate Techniques, Greg T Hermanson, Academic Press, USA 1996]이 참고된다.

<68> 따라서, 활성 다공성 매트릭스 표면은, 예를 들면, 내독소를 단독으로 또는 다공성 구조의 이용가능한 표면의 비기능화된 영역과 함께 제거할 수 있다. 활성 표면은 또한 화학물질, 예를 들어, 아미노산, 폴리펩티드 및 항체와 같은 생체 분자를 이러한 특이적 성분의 제거를 선택적으로 촉진시키기 위해서 공유적으로 고정화시키는 수단으로서 사용할 수 있다.

<69> 분리 매트릭스는 의도된 적용에 좌우되는 특정 기공 크기 및/또는 특정 기공 크기 범위의 다공성 구조로 생성될 수 있다. 바람직하게는, 다공성 구조는 혈구를 통과시켜야 한다. 따라서, 특정 형태의 혈구는 또한 본 발명의 방법에 의해서 전혈로부터 제거될 수 있다. 상기 세포는 병든 세포 또는 특이적 표면 수용체를 갖는 세포, 예를 들면, 활성화된 식세포이다.

<70> 금속 구조는 특별한 적용을 위해 자성체일 수 있다. 자성체 매트릭스는, 예를 들면, 소결된 자철광을 중합체, 예를 들어, 폴리에틸렌으로 코팅시킴으로써 수득될 수 있다. 이후, 세포의 유효한 제거는, 자성체 덱스트란 철 표지를 갖는 항체가 혈액 중의 특이적 세포에 부착하도록 수행될 수 있다.

<71> 기공 크기는 5㎛ 내지 500㎛, 바람직하게는 70㎛ 내지 170㎛, 가장 바람직하게는 80㎛ 내지 100㎛의 범위내에 있어서, 높은 유속이 세포 손상 또는 세포 배제 없이 유지될 수 있어야 한다. 따라서, 달성된 분리는 성분의

임의의 크기 분포에 기초한 것이 아니다. 사실상 전혈 또는 체액의 모든 성분은 제거될 수 있을 것이다.

<72> 하나 이상의 일차 독성 작동제, 즉 내독소의 제거 후, 추가적 이차 독성 작동제가 제거될 수 있다. 이차 작동제는 사이토킨(예: TNF-α), 인터류킨(예: I1-1), 반응성 산소 및 질소 라디칼 등이 될 수 있다.

<73> 본 방법을 수행하는 경우, 하나 또는 몇몇 분리 매트릭스는 하우징내에 보호되고, 이는 적용에 좌우되는 각종 모양 및 다양하고/하거나 상이한 입구 및 출구를 가질 수 있다. 이어서 상기 장치는 내독소 제거 및/또는 사이토킨 제거 및/또는 사이토킨 중화에 사용될 수 있다. 이는 경질 일체형 분리 매트릭스로부터 액체를 배제하지 않으면서, 체내, 체주위(paracorporally) 또는 체외로 적용된 장치를 통해서 혈액 또는 기타 체액을 통과시킴으로써 이루어진다. 이어서, 다공성 구조의 활성 표면, 작용기 및/또는 이의 특이적 리간드는 액체로부터 하나 이상의 성분을 선택적으로 결합하여 분리한다. 장치는 또한 수용액으로부터 내독소의 제거에 사용될 수 있다.

<74> 본 방법의 중요한 특성은 패혈성 쇼크의 모든 측면이 제공될 수 있는 것, 즉 일차뿐 아니라 이차 독성 작용제가 제거될 수 있다는 것이다.

<75> 본 방법을 수행하는 것과 관련하여 도 1을 참고한다. 장치(1)는 전혈 또는 체액이 펌프에 의해 순환되는 폐쇄 순환으로 통합된 장치의 하우징(또는 카트리지)(2)을 포함한다. 하우징(2)내에 하나 이상의 분리 매트릭스(5a, 5b,...)가 배열되고, 각각은 전혈 또는 체액으로부터 하나의 성분을 선택적으로 제거하도록 의도된다. 하우징(2)에는 입구(3) 및 출구(4)가 있는데, 이들의 위치는 분리 매트릭스(들) 및 하우징내에서 적합한 유동이 수득되는 한 중요하지 않다. 바람직하게는, 펌프는 입구(3) 상류에 배열된다.

<76> 상기 방식으로, 현저한 압력 저하 없이 5ml/시간 내지 6000ml/분의 유속을 유지할 수 있는 장치가 수득된다. 체외적으로 적용되는 경우, 매우 높은 유속에서도 펌프에서 캐뉼라(cannula)로의 300mmHg 이하의 라인압이 수득된다.

<77> 경질 일체형 분리 매트릭스는 상이한 형태로 제조될 수 있다. 예를 들면, 디스크, 막대, 실린더, 환, 구, 튜브, 중공 튜브, 평면 시트 또는 기타 성형된 형태로 고안될 수 있다.

<78> 각각의 분리 매트릭스 내에서 유동이 이의 다공성에 좌우되기 때문에, 혈액 또는 체액의 성분과 활성 표면과의 접촉 시간이 제어될 수 있다. 더우기, 목적하는 유동 경사는 개별적 분리 매트릭스의 다공성 및 배치를 변화시킴으로써 분리 장치내에서 야기될 수 있다.

<79> 도 2 및 도 3에서 장치의 상이한 도식 양태가 제시되고, 이는 본 방법을 수행하는 경우 사용될 수 있다. 화살표는 개별적 분리 매트릭스 및 이의 하우징 내에서 혈액 또는 체액의 유동을 나타내며, 큰 화살표는 작은 화살표와 비교하여 더 빠른 유속을 나타낸다. 상이한 배치의 이러한 예에서, 분리 매트릭스는 혈액 또는 체액으로부터 하나 또는 몇몇의 성분을 제거하기 위해서 동일 형태 또는 각종 형태의 작용기 또는 리간드의 존재 또는 부재하에 동일하거나 상이한 다공성을 가질 수 있다.

<80> 분리 매트릭스는 어떤 액체 또는 성분이 매트릭스 또는 매트릭스들로 삽입되는 것이 방지되지 않도록, 즉 매트릭스로부터 배제되지 않는 것을 확실히 하기 위해서 바람직하게는 하우징(각각 입구(3) 및 출구(4)를 가짐)과 통합된다. 도 2(a) 및 (b)에서, 하우징(2)내의 분리 매트릭스(5)의 예가 제시되고, 그 매트릭스는 상이하게 배치된다. 하우징(2)내의 2개의 분리 매트릭스(5a, 5b)의 예는 도 2(c) 및 (d)에 제시된다. 도 2(c)의 장치에서, 분리 매트릭스(5a)의 외부 표면상에 공급된 피부와 같은 불투과성 코팅(6)은 장치에 공급되는 모든 물질이 상기 전체 매트릭스를 통과할 것을 보증한다. 한편, 도 2(d)의 장치에서, 공급되는 물질의 일부는 분리 매트릭스(5b)에서보다 분리 매트릭스(5a)에서 더 짧은 체류 시간을 가지거나, 반대가 될 것이다.

<81> 도 3에서 각각의 장치는 분리 매트릭스(5a 내지 5g)를 포함한다. 도 3(a)에서 경계벽(7)은 모든 매트릭스를 통한 유동을 보증한다. 분리 매트릭스는 도 3(b) 및 (c)에서와 같이 이들의 세로 방향에 대하여 측면 또는 횡단으로 위치될 수 있다. 도 3(d)에서 장치는 상이한 크기의 분리 매트릭스를 포함한다.

<82> 결론적으로, 본 방법은 체내, 체주위, 체외로 적용되거나 고립된 장치에 사용될 수 있고, 이는 바람직하게는 혈액중에 순환하는 내독소 및 잠재적으로 유해한 염증 전 매개체, 특히 TNF-α, IL-1 및 IL-17을 감소시킬 수 있다. 이는 또한 기타 수용액으로부터 내독소를 선택적으로 제거할 수도 있다. 상기 성분은 점착에 의해 경질 일체형 분리 매트릭스의 활성 표면에 결합하는 것으로 간주된다.

## 효 과

<83> 본 발명에 의해 수용액으로부터 성분을 선택적으로 제거할 수 있다.

## *발명의 실시를 위한 구체적인 내용*

<84> 본 방법은 본 방법을 포괄하기 위해서 주의깊게 선택되는 다음 실시예를 참고로 추가적으로 기술되고 예시될 것이다.

<85> 표면 변형

<86> 실시예 1.

<87> 350㎛의 다공성 및 10㎠의 활성 표면을 갖는 다공성 폴리에틸렌의 매트릭스(Porex Technologies사, 독일)의 표면을 $O_2$를 사용하는 플라즈마 강화된 화학 증착(Plasma Science사, USA, PS 0350형 플라즈마 표면 처리 시스템)에 의해 개질시켰다.

<88> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 하이드록실기의 형성을 염료 시험으로 평가하여 이의 친수성을 확인하였다.

<89> 실시예 2.

<90> 100㎛의 다공성 및 20㎠의 활성 표면을 갖는 다공성 폴리에틸렌의 매트릭스(Porex Technologies사, 독일)의 표면을 $CO_2$를 사용하는 플라즈마 강화된 화학 증착(Plasma Science사, USA, PS 0350형 플라즈마 표면 처리 시스템)에 의해 개질시켰다.

<91> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 카복실기의 형성 및 양을 하이드록삼산으로 전환시켜 측정하였다. 이와 관련하여, 모든 하이드록삼산은 문헌[참고: Feigel et al., Microchemie 15:18, 1934]에 기술된 바와 같이 산용액 중의 염화제2철에 의해 적색 또는 자색을 나타낸다.

<92> 실시예 3.

<93> 170㎛의 다공성 및 0.04㎡의 활성 표면을 갖는 다공성 폴리에틸렌의 매트릭스(Porex Technologies사, 독일)의 표면을 알릴아민을 사용하는 플라즈마 중합(Plasma Science사, USA, PS 0350형 플라즈마 표면 처리 시스템)에 의해 개질시켰다.

<94> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 1급 아민의 양을 트리니트로벤젠 설폰산(TNBS) 검정에 의해 측정하였다.

<95> 실시예 4.

<96> 70㎛의 다공성 및 0.26㎡의 활성 표면을 갖는 다공성 폴리에틸렌의 매트릭스(Porex Technologies사, 독일)의 표면을 아크릴산을 사용하는 플라즈마 중합(Plasma Science사, USA, PS 0350형 플라즈마 표면 처리 시스템)에 의해 개질시켰다.

<97> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 카복실기의 양은 실시예 2에 기술된 바와 같이 평가하였다.

<98> 실시예 5.

<99> 5㎛의 다공성 및 0.9㎡의 활성 표면을 갖는 다공성 폴리에틸렌의 매트릭스(Porex Technologies사, 독일)의 표면을 $NH_3$을 사용하는 플라즈마 중합(Plasma Science사, USA, PS 0350형 플라즈마 표면 처리 시스템)에 의해 개질시켰다.

<100> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 1급 아민의 양은 실시예 3에 기술된 바와 같이 평가하였다.

<101> 실시예 6.

<102> 10㎛의 다공성 및 100㎠의 활성 표면을 갖는 다공성 폴리테트라플루오르에틸렌, PTFE의 매트릭스(W.L. Gore & Associates Inc., USA)의 표면을 $NH_3$을 사용하는 플라즈마 강화된 화학 증착(Plasma Science사, USA, PS 0350형 플라즈마 표면 처리 시스템)에 의해 개질시켰다.

<103> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 1급 아민의 양은 실시예 3에 기술된 바와 같이 평가하였다.

<104> 실시예 7.

<105> 10㎛의 다공성 및 300㎠의 활성 표면을 갖는 다공성 폴리스틸렌의 매트릭스(Dow Chemical사, USA)의 표면을 $CO_2$

를 사용하는 플라즈마 강화된 화학 증착(Plasma Science사, USA, PS 0350형 플라즈마 표면 처리 시스템)에 의해 개질시켰다.

<106> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 카복실기의 양은 실시예 2에 기술된 바와 같이 평가하였다.

<107> 실시예 8.

<108> 80㎛의 다공성 및 100㎠의 활성 표면을 갖는 다공성 폴리우레탄의 매트릭스(Polymers Unlimited사, 스웨덴)의 표면을 95% 에탄올 중의 알데하이딕 알콕시 실란(PSX 1050호, Untited Chemical Technologies Inc., USA)의 2% 용액에 의해 개질시켰다. 상기 용액의 pH를 아세트산으로 pH 5.5로 조정하고, 용액을 매트릭스를 통해 살포하여 실온에서 밤새 항온처리한 후, 0.9% 생리 식염수로 세척하였다.

<109> 수득된 매트릭스의 알데히드 기능화를 과산화수소에 의한 p-페닐렌디아민의 산화를 촉매적으로 촉진시켜서 평가하는데, p-페닐렌디아민은 밴드로브스키의 염기(Bandrowski's base)로 공지된 산 용액중의 과산화수소에 의해 산화된다.

<110> 실시예 9.

<111> 200㎛의 다공성 및 0.5㎡의 활성 표면을 갖는 다공성 실리콘의 매트릭스(Nusil사, 프랑스)의 표면을 95% 에탄올 중의 2% 아민-실란 용액(0750호, Untited Chemical Technologies Inc., USA)으로 개질시켰다. 상기 용액을 매트릭스를 통해 살포하고, 이를 실온에서 밤새 항온처리하여, 최종적으로 0.9% 생리 식염수로 세척하였다.

<112> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 1급 아민의 양을 실시예 3에 기술된 바와 같이 평가하였다.

<113> 공유 결합에 의한 코팅

<114> 실시예 10.

<115> 폴리-리신(200㎎)을 10㎖의 50mM 탄산나트륨 용액중에 용해킨 후, 100㎛의 다공성을 갖는 다공성 폴리카보네이트의 매트릭스(MicroPore Plastics, USA)를 상기 용액에 침지시키고, 폴리-리신과 폴리카보네이트 매트릭스 사이에 공유 결합을 수득하기 위해서 4℃에서 24시간 동안 유지시켰다. 다공성 매트릭스를 최종적으로 과량의 증류수로 세척하였다.

<116> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 1급 아민의 양을 실시예 3에 기술된 바와 같이 평가하였다.

<117> 실시예 11.

<118> 실시예 4에 따라 수득된 다공성 폴리에틸렌 매트릭스를 6시간 동안 실온의 폐쇄 회로에서 5㎖/분의 유속으로 1-사이클로헥실-3-(2-모르폴리노에틸)카보디이미드 메토-p-톨루엔설포네이트(WCCM)(Aldrich사)의 수용액으로 살포하였다. 이어서 이를 물로 헹구고, 폴리에틸렌이민(Sigma사)의 용액 (10㎎/㎖, pH 7.0)을 최종적으로 첨가하여 매트릭스를 밤새 항온처리하였다.

<119> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 1급 아민의 양을 실시예 3에 기술된 바와 같이 평가하였다.

<120> 실시예 12.

<121> 실시예 3에 따라 수득된 다공성 폴리에틸렌 매트릭스를 pH 7.5의 0.2M 포스페이트 완충액 중의 1.0% 글루타르디알데히드를 사용하여 결합시키고, 실온에서 6시간 동안 1㎖/분의 유속으로 살포하였다. 이어서, 상기 매트릭스를 완충액으로 세척한 후, 실온에서 16시간 동안 히알루론산 용액 (2㎎/㎖)으로 항온처리하였다. 과량의 히알루론산으로 최종적으로 헹구었다.

<122> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 히알루론산 함유량을 확인하고 알시안 블루(Alcian Blue; Sigma사)로 측정하였다.

<123> 흡착에 의한 코팅

<124> 실시예 13.

<125> 70㎛의 다공성 및 0.18㎡의 활성 표면을 갖는 다공성 폴리에틸렌 매트릭스(Porex Technologies사, 독일)를 0.1M HCl로 조정된 pH 3.3의 2㎎/㎖ 히알루론산 용액(BioHyos사, 스웨덴, $12 \cdot 10^6$ Da)으로 실온에서 16시간 동안 폐쇄 회로에서 1㎖/분의 유속으로 살포하였다.

<126> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 히알루론산 함유량을 실시예 12에서와 같이 확인하였다.

<127> 실시예 14.

<128> 70㎛의 다공성 및 7.0㎡의 활성 표면을 갖는 다공성 폴리에틸렌 매트릭스(Porex Technologies사, 독일)를 유리 튜브중에 위치시켰다. 다공성 매트릭스가 있는 튜브에 350㎖ 물중의 0.13% 폴리-리신(Sigma사) 용액으로 채운 후, pH를 0.1 M HCl을 사용하여 pH 3.3으로 조정하였다. 이어서, 폴리-리신 용액을 5㎖/분 미만의 유속으로 실온에서 16시간 동안 필터 매트릭스로 튜브를 통해 재순환시켰다. 최종적으로 다공성 매트릭스를 역삼투수로 헹구었다.

<129> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 1급 아민의 양을 실시예 3에 기술된 바와 같이 평가하였다.

<130> 실시예 15.

<131> 70㎛의 다공성 및 3.4㎡의 활성 표면을 갖는 다공성 폴리에틸렌 매트릭스(Porex Technologies사, 독일)를 유리 튜브중에 위치시켰다. 다공성 매트릭스가 있는 튜브에 350㎖ 역삼투수 중의 0.2% 레콤부민™ (Recombumin™; 재조합 사람 혈청 알부민, Hoechst-Pharma사, USA) 용액으로 채운 후, 0.1M HCl을 사용하여 pH 3.3으로 조정하였다.

<132> 이어서 레콤부민™ 용액을 5㎖/분 미만의 유속으로 펌프를 사용하여 실온에서 16시간 동안 필터 매트릭스로 튜브를 통해 재순환시켰다. 최종적으로 다공성 매트릭스를 역삼투수로 헹구었다.

<133> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 표면 단백질 함유량을 쿠마지 브릴리언트 블루(Coomassie Brilliant Blue; BioRad사, USA)를 사용하여 측정하였다.

<134> 실시예 16.

<135> 실시예 4에 따라 수득된 다공성 폴리에틸렌 매트릭스에 폐쇄된 회로에서 5㎖/분의 유속으로 밤새 10㎎/㎖ 폴리에틸렌이민(Sigma사) 용액으로 살포하였다. 이어서, 다공성 매트릭스를 물로 헹구었다.

<136> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 1급 아민의 양을 실시예 3에 기술된 바와 같이 평가하였다.

<137> 리간드의 직접 결합

<138> 실시예 17.

<139> 실시예 5에 따라 수득된 다공성 폴리에틸렌 매트릭스를 WCCM 수용액을 사용하여 데옥시콜레이트 (DOC)와 결합시켰다. pH를 0.3M HCl을 사용하여 pH 4.8로 조정하는 동안 1mmol의 나트륨 데옥시콜레이트가 함유된 수중의 300㎖의 40% 디메틸포름아미드 (DMF) (Sigma사) 용액을 교반하면서 다공성 폴리카보네이트에 첨가하였다. 이어서 DMF: 물(1:1.8)중의 6mM WCCM 용액을 10분에 걸쳐 첨가하였다. 현탁액을 0.3M HCl의 첨가로 3시간 동안 pH 4.8에서 유지하였다.

<140> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 DOC 함유량을 담즙산 키트(Sigma사)를 사용하여 측정하였다.

<141> 실시예 18.

<142> 실시예 3에 따라 수득된 다공성 폴리에틸렌 매트릭스를 실온에서 24시간 동안 pH 7.0의 0.15M 포스페이트 완충액중의 12% 글루타르디알데히드를 사용하여 결합시켰다. 상기 매트릭스를 0.15M 포스페이트 완충액으로 세척한 후, 항 CD14 항체 (DAKO사, 덴마크)를 1㎎/㎖ 농도로 첨가하고 24시간 동안 8℃에서 항온처리 하였다. 안정한 2급 아민 결합을 생성하기 위해서 수소화시아노붕소나트륨을 사용하여 후속 환원 반응을 수행했다.

<143> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 항체 함유량을 다공성 매트릭스와의 항온처리 전 및 후에 항체 완충액 용액의 UV 분광법에 의해 간접적으로 측정하였다.

<144> 실시예 19.

<145> 실시예 8에 따라 수득된 다공성 폴리에틸렌 매트릭스를 0.15M 포스페이트 완충액으로 세척한 후, 재조합 IL-1 수용체 (Kineret, Amgen, USA)를 1㎎/㎖ 농도로 첨가하고 24시간 동안 8℃에서 항온처리 하였다. 안정한 2급 아민 결합을 생성하기 위해서 수소화시아노붕소나트륨을 사용하여 후속 환원 반응을 수행했다.

<146> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 IL-1 수용체 함유량을 다공성 매트릭스와의 항온처리 전 및 후에 IL-1

수용체 완충액 용액의 UV 분광법에 의해 간접적으로 측정하였다.

<147> 실시예 20.

<148> 실시예 5에 따라 수득된 다공성 폴리에틸렌 매트릭스를 1.0% 글루타르디알데히드 및 pH 7.5의 0.2M 포스페이트 완충액을 사용하여 결합시켰다. 매트릭스를 3시간 동안 상기 용액과 함께 항온처리하였다. 포스페이트 완충액으로 세척한 후, 상기 매트릭스를 재순환하에 밤새 1㎎/㎖의 폴리믹신 B 설페이트(Sigma사)의 용액중에 항온처리 하였다. 상기 매트릭스를 최종적으로 pH 7.4의 0.1M 포스페이트 완충액으로 세척하였다.

<149> 실시예 21.

<150> 실시예 2에 따라 수득된 다공성 폴리에틸렌 매트릭스를 pH 4.8의 0.1M 2-(N-모르폴리노)에탄설폰산 (MES) 완충액 (Sigma사)중에 5㎎/㎖의 농도에서 재조합 TNF-α수용체 (Enbrel, Weyth, UK)와 결합시켰다. 30㎎/㎖의 WCCM 수용액을 첨가하고 상기 매트릭스를 8℃에서 밤새 항온처리 하였다. 상기 매트릭스를 최종적으로 pH 7.4의 0.1M 포스페이트 완충액으로 세척하였다.

<151> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 TNF-α수용체 함유량을 다공성 매트릭스와의 항온처리 전 및 후에 TNF-α수용체 완충액 용액의 UV 분광법에 의해 간접적으로 측정하였다.

<152> 실시예 22.

<153> 실시예 3에 따라 수득된 다공성 폴리에틸렌 매트릭스를 pH 7.5의 0.2M 포스페이트 완충액 중의 1.0% 글루타르디알데히드를 사용하여 항-사람 TNF-α항체 (Sigma사)와 결합시켰다. 상기 매트릭스를 3시간 동안 TNF-α항체 완충액 용액과 함께 항온처리 하였다. 포스페이트 완충액으로 다공성 매트릭스를 세척한 후, 포스페이트 완충액중의 항-사람 TNF-α항체 (1㎎/㎖)를 첨가하고, 1㎖/분의 유속으로 재순환하에 6시간 동안 실온에서 항온처리하였다. 상기 매트릭스를 최종적으로 pH 7.4의 0.1M 포스페이트 완충액으로 세척하였다.

<154> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 TNF-α항체 함유량을 다공성 매트릭스와의 항온처리 전 및 후에 TNF-α항체 완충액 용액의 UV 분광법에 의해 간접적으로 측정하였다.

<155> 실시예 23.

<156> 실시예 5에 따라 수득된 다공성 폴리에틸렌 매트릭스를 pH 4.8의 0.1M MES 완충액 중에 2㎎/㎖의 농도에서 사람 살균 투과성 증진 단백질 (BPI) (Wieslab사, 스웨덴)과 결합시켰다. WCCM 수용액을 상기 매트릭스에 15㎎/㎖의 농도로 첨가하고, 이 매트릭스를 8℃에서 밤새 항온처리 하였다. 상기 매트릭스를 최종적으로 pH 7.4의 0.1M 포스페이트 완충액으로 세척하였다.

<157> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 BPI 함유량을 다공성 매트릭스와의 항온처리 전 및 후에 BPI 완충액 용액의 UV 분광법에 의해 간접적으로 측정하였다.

<158> 실시예 24.

<159> 실시예 15에 따라 수득된 다공성 폴리에틸렌 매트릭스를 pH 4.8의 0.1M MES 완충액 중의 1㎎/㎖의 농도의 DOC 용액 중에 항온처리 하였다. 이어서, WCCM 수용액을 첨가하고, 상기 매트릭스를 8℃에서 밤새 항온처리 하였다. 상기 매트릭스를 최종적으로 pH 7.4의 0.1M 포스페이트 완충액으로 세척하였다.

<160> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 DOC 함유량을 실시예 17에서와 같이 측정하였다.

<161> 리간드와 스페이서의 결합

<162> 실시예 25.

<163> 실시예 3에 따라 수득된 다공성 폴리에틸렌 매트릭스를 실온에서 24시간 동안 pH 7.0의 0.2M 포스페이트 완충액 중의 1.2% 글루타르디알데히드를 사용하여 활성화시켰다. 상기 매트릭스를 완충액으로 세척한 후, pH 7.0의 0.2M 포스페이트 완충액 중의 1,6-디아미노헥산(DAH) (Sigma사) 50㎎/㎖에서 24시간 동안 항온처리 하였다. 이후에, 10㎎/㎖ 수소화시아노붕소나트륨 (Sigma사)을 상기 용액에 첨가하였다. 다공성 매트릭스를 0.1M 포스페이트 완충액으로 세척한 후, pH 4.8의 0.1M MES 완충액 중의 DOC (1㎎/㎖) 용액 중에 항온처리 하였다. 이어서, WCCM 수용액을 첨가하고 상기 매트릭스를 8℃에서 밤새 항온처리 하였다. 매트릭스를 최종적으로 pH 7.4의 0.1M 포스페이트 완충액으로 세척하였다.

<164> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 DOC 함유량을 실시예 17에서와 같이 측정하였다.

<165> 실시예 26.

<166> 실시예 5에 따라 수득된 다공성 폴리에틸렌 매트릭스를 실온에서 24시간 동안 pH 7.0의 0.2M 포스페이트 완충액 중의 1.2% 글루타르디알데히드를 사용하여 활성화시켰다. 상기 매트릭스를 완충액으로 세척한 후, pH 7.4의 0.2M 포스페이트 완충액 중의 10mg/mℓ 농도의 아디픽 디하이드라지드 (Aldrich사)와 함께 24시간 동안 항온처리 하였다. 이후에, 10mg/mℓ의 수소화시아노붕소나트륨(Sigma사)을 상기 용액에 첨가하였다.

<167> 다공성 매트릭스를 0.1M 포스페이트 완충액으로 세척한 후, pH 4.8의 0.1M MES 완충액 중의 1mg/mℓ 농도의 DOC 용액과 함께 항온처리 하였다. 이어서, WCCM 수용액을 첨가하고, 상기 매트릭스를 8℃에서 밤새 항온처리 하였다. 매트릭스를 최종적으로 pH 7.4의 0.1M 포스페이트 완충액으로 세척하였다.

<168> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 DOC 함유량을 실시예 17에서와 같이 측정하였다.

<169> 실시예 27.

<170> 실시예 10에 따라 수득된 매트릭스를 WCCM 수용액을 사용하여 DOC와 결합시켰다. 1mmol의 나트륨 데옥시콜레이트를 함유한 300mℓ 40% DMF (Sigma사)의 수용액을 교반하면서 다공성 폴리카보네이트 매트릭스에 첨가하였다. 상기 현탁액의 pH를 0.3M HCl을 사용하여 4.8로 조정하였다. DMF:물(1:1.8) 중의 6mM의 WCCM 용액을 10분에 걸쳐서 첨가하고, 상기 현탁액을 0.3M HCl의 주기적 첨가로 3시간 동안 pH 4.8에서 유지시켰다. 이어서, 이를 실온에서 24시간 동안 정치시켰다.

<171> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 DOC 함유량을 실시예 17에서와 같이 측정하였다.

<172> 실시예 28.

<173> 실시예 14에 따라 수득된 매트릭스를 실온에서 10시간 동안 pH 7.0의 0.2M 포스페이트 완충액 중의 1.2% 글루타르디알데히드를 사용하여 활성화시킨 후, 과량의 완충액으로 헹구었다. pH 8.0의 0.1M 바이카보네이트 완충액 중의 10mg/mℓ 농도의 폴리에틸렌이민 (Sigma사)을 다공성 매트릭스에 도입하고, 이 매트릭스를 16시간 동안 상기 용액과 함께 항온처리 하였다.

<174> 이어서 매트릭스를 완충액으로 세척한 후, WCCM 수용액을 사용하여 DOC와 결합시켰다. 1mmol의 나트륨 데옥시콜레이트를 함유한 수 중의 300mℓ의 40% DMF 용액을 교반하면서 다공성 매트릭스에 첨가하였다. pH를 0.3M HCl을 사용하여 4.8로 조정하였다. 이어서 DMF: 물 (1:1.8)중의 6mM의 WCCM 용액을 10분에 걸쳐서 첨가하였다. 상기 현탁액을 0.3M HCl의 주기적 첨가로 3시간 동안 pH 4.8에서 유지시켰다. 이어서 24시간 동안 실온에서 방치하였다.

<175> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 DOC 함유량을 실시예 17에서와 같이 측정하였다.

<176> 실시예 29.

<177> 실시예 3에 따라 수득된 다공성 폴리에틸렌 매트릭스를 실온에서 24시간 동안 pH 7.0의 0.2M 포스페이트 완충액 중의 1.2% 글루타르디알데히드를 사용하여 활성화시켰다. 이어서 상기 매트릭스를 완충액으로 세척한 후, pH 7.0의 0.2M 포스페이트 완충액 중의 50mg/mℓ의 농도에서 1,6-디아미노헥산(DAH) (Sigma사)과 함께 24시간 동안 항온처리 하였다. 이후에, 다공성 매트릭스를 0.1M 포스페이트 완충액으로 세척한 후, pH 7.4의 0.1M 포스페이트 완충액 중의 10mg/mℓ 농도에서 TNF-α수용체 (Enbrel, Weyth, UK) 용액 중의 현탁액으로서 8℃에서 12시간 동안 항온처리 하였다. 이어서, 10mg/mℓ의 농도에서 수소화시아노붕소나트륨(Sigma사)의 용액을 현탁액에 첨가하였다. 매트릭스를 최종적으로 pH 7.4의 0.1M 포스페이트 완충액으로 세척하였다.

<178> 수득된 매트릭스의 다공성 구조 표면상의 TNF-α수용체 함유량을 다공성 매트릭스와의 항온처리 전 및 후에 TNF-α수용체 완충액 용액의 UV 분광법에 의해 간접적으로 측정하였다.

<179> 혈액 성분의 선택적 결합 및 분리

<180> 전혈을 디스크로서 형상화되고 0.02㎡의 활성 표면을 가진 매트릭스의 필터를 통과하도록 함으로써 세포 분리를 수행하였다.

<181> 내독소 및 사이토킨을 도 4에 제시된 시험 시스템으로 제거하였다. 전혈 또는 혈장을 2ℓ 이하로 채운 용기(8)를 펌프(9), 압력 모니터(10) 및 70 내지 130㎛의 다공성을 갖고 7㎡ 이하의 활성 표면이 제공된 40개 이하의 매트릭스 플레이트를 가진 필터 장치(1)에 연결하였다.

<182> 세포 분리

<183> 실시예 30.

<184> 100㎛의 다공성을 갖는 폴리에틸렌 및 자성체 페라이트(80% FeO, 20% $BaO_2$, Porex Technologies사, 독일)의 혼합물을 포함하는 자성체 다공성 매트릭스를 특이하게 표지된 항 CD45+ 항체 (MACS 항체 마이크로비드; Miltenyl Biotec사, 독일)를 사용함으로써 전혈로부터 백혈구를 분리하는데 사용하였다. 상기 항체로 백혈구의 자성체 표지화 후, 혈액을 다공성 매트릭스에 통과시켰다.

<185> 백혈구의 세포 계수를 자동 세포 카운터를 사용하여 수행하는데, 분리 후 혈액 중의 90%의 백혈구 함량 감소를 나타냈다.

<186> 실시예 31.

<187> 200㎛의 다공성 및 0.2㎡의 활성 표면을 갖는 다공성 셀룰로즈 디아세테이트의 매트릭스(Tenite, Eastman Chemicals, USA)의 표면을 호중구 및 단핵세포로서 사람 식세포작용하는 혈구의 분리에 사용하였다. 사람 전혈을 EDTA 진공 채혈관(B&D사, 영국) 중에 수집하여 혈액을 다공성 매트릭스에 통과시켰다.

<188> 수집된 혈액 중의 호중구 및 단핵세포의 수는 터크스 시약(Turks Reagent)을 사용함으로써 버크너 챔버(Burkner chamber)에서 현미경하에서 시차적 세포 계수에 의해 측정되는 바와 같이, 각각 50% 및 35% 감소하였다.

<189> 사이토킨 제거

<190> 실시예 32.

<191> 내독소 제거 그룹으로 코팅되어 있는 실시예 22에 따라 수득된 매트릭스를 도 4에 나타난 시험 시스템에서 다공성 디스크로서 사용하였다.

<192> 전혈로부터 TNF-α의 제거를, 글루타르디알데히드로 TNF-α에 대한 폴리클로날 항체를 다공성 중합체 구조상의 아미노기에 고정화한 후, 조사하였다. TNF-α의 생성은 혈액에 LPS를 첨가함으로써 유도하고, 활성화된 전혈을 장치내의 고정화된 필터에 대해 살포하였다.

<193> 전혈중의 TNF-α양(도 5)을, 필터 디스크에 의한 TNF-α의 취득을 연구하기 위해 효소 면역검정법(Enzymimmuno-assay, Milenia Biotec GmbH사, 독일)에 의해 장치의 전(◆) 및 후(■)에서 측정하였다. 제시된 바와 같이, 전혈에서 TNF-α의 병원성 농도의 상당한 감소를 수득할 수 있다.

<194> 내독소 제거

<195> 실시예 33.

<196> 실시예 25에 따라 수득된 매트릭스, 즉 DOC를 갖는 플라즈마 개질된 폴리에틸렌 매트릭스를, 우선 글루타르디알데히드에 의해 매트릭스에 결합한 후 카보디이미드를 사용함으로써 데옥시콜레이트에 결합하는 디아미노헥산의 스페이서를 통해 고정화시켰다. 수득된 매트릭스를 도 4에서 제시된 시스템의 필터 장치에서 다공성 디스크로서 사용하였다.

<197> 혈장으로부터 LPS를 실시예 32와 유사한 방식으로 제거하였다.

<198> 혈장 중의 LPS의 양을 필터 장치를 통해 재순환하는 동안 상이한 시간 간격에서 리물러스 아메보사이트 용해 검정법(Limulus Amebocyte Lysate assay; Endochrome-K, Charles River Laboratories Inc.사, 미국)에 의해 벌크로 측정하였다.

<199> 도 6에서 시간에 따른 내독소의 양(pg/㎖)의 감소가 나타난다. 2시간의 재순환 후, 내독소 부하량은 개시시의 75pg/㎖로부터 검출 한계인 15pg/㎖로 감소하였다.

<200> 실시예 34.

<201> 실시예 3(비고정화된 아미노기) 및 실시예 17(고정화된 DOC)에 따라 수득된 매트릭스 각각을 다공성 디스크로서 사용하고 LPS를 제거시키는 능력에 대해 비교하였다. LPS가 증류수에 용해된 점을 제외하고 실시예 33에서와 같은 유사한 재순환 연구를 수행하였다.

<202> 수용액으로부터 LPS의 제거를 10㎖의 장치에서 각각의 필터를 통해 0.22㎖/분의 유속으로 재순환시키면서 도 4에 제시된 바와 같이 측정하였다.

<203> 하기 표 1에서 실시예 3 및 실시예 17로부터의 2개 매트릭스 각각에 의한 LPS의 제거치가 120분의 재순환 후 초기 LPS 농도의 %로 나타난다.

표 1

<204>

| | 실시예 3 | 실시예 17 |
|---|---|---|
| LPS 제거 (%) | 81 | 96 |

<205> 혈장(실시예 34) 및 물(실시예 35) 사이의 제거 정도의 차이는 단백질, LPS 및 리간드의 경쟁적 상호작용에 의해 설명할 수 있다.

<206> 배합 제거

<207> 실시예 35.

<208> 실시예 19 및 실시예 29에 따라 수득된 매트릭스를 TNF-α 및 IL-1 각각의 배합 제거용으로 사용하였다.

<209> 상이한 특이성을 갖는 2개의 매트릭스를 도 4에 제시된 바와 같은 2개의 필터 장치의 폐쇄 루프 시험 시스템 중에 연속하여 연결하였다. 용기내의 전혈을 37℃에서 유지시키고, LPS의 첨가로 활성화시켜, 시스템내로 도입하였다. 사이토킨 분석을 위해 용기 및 필터 출구로부터 동시적으로 상이한 시간 간격에서 샘플을 추출하였다.

<210> 결과는 양 매트릭스에 대해 TNF-α 및 IL-1β 각각에 대한 70% 및 55%의 사이토킨 농도의 감소를 나타내었다.

<211> 하기 표 2는 전혈 또는 체액으로부터 상이한 성분의 선택적 결합 및 분리를 위한 본 발명의 방법의 광범위한 적용성 및 상당한 효능을 요약하고 있다. 상기 목적을 위해, 상이한 다공성 매트릭스는 스페이서의 존재 또는 부재하에, 리간드 부착용 지지체로서 사용되고 있다. 따라서, 고정화 방법은 2개의 말단 $-NH_2$을 사용함으로써 글루타르디알데히드 및 1개의 말단 $-NH_2$ 및 1개의 말단 -OH 또는 -COOH를 각각 갖는 1-에틸-3(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드를 사용하여 수행되고 있다. 아미노기, 항체, 효소, 펩티드, 단백질의 특이적 결합을 위한 알데히드 또는 아미노 작용성 실란 결합 시약을 통한 실란화가 또한 사용되는데, 알데히드기는 아민, 펩티드 및 단백질과 자발적으로 반응한다.

표 2a

| 다공성 매트릭스 | 방법 | 스페이서 | 리간드 | 성분 | 효능 % |
|---|---|---|---|---|---|
| 폴리에틸렌 | - | HA | DOC | LPS | 80.1 |
| 폴리에틸렌 | - | 폴리-Lys | DOC | LPS | 12.8 |
| 폴리에틸렌 | $-NH_2$ | DAH | DOC | LPS | 29.6 |
| 폴리에틸렌 | $-NH_2$ | - | DOC | LPS | 12.5 |
| 폴리에틸렌 | $-NH_2$ | DAH | 폴리믹신 B | LPS | 16.3 |
| 폴리에틸렌 | $-NH_2$ | DAH | 아르기닌 | LPS | 14.3 |
| 폴리에틸렌 | $-NH_2$ | DAH | 레콤부민 | LPS | 18.3 |
| 폴리에틸렌 | $-NH_2$ | - | 항-TNFα Ab | TNF-α | 63.2 |
| 폴리에틸렌 | 알릴-아민 | PEI | DOC | LPS | 33.4 |
| 폴리에틸렌 | 알릴-아민 | 폴리-Lys | DOC | LPS | 85.5 |
| 폴리에틸렌 | -COOH | - | TNFα 수용체 | TNF-α | 59.2 |
| 폴리에틸렌 | -COOH | - | 인터류킨-1 수용체 | IL-1 | 64.0 |
| 폴리에틸렌 | -COOH | - | 트롬보모둘린 | 트롬빈 | 70.8 |
| 폴리에틸렌 | -COOH | - | BPI | LPS | 91.2 |
| 폴리에틸렌 | -OH | Sil.ald. | TNFα 수용체 | TNF-α | 61.8 |
| 폴리에틸렌 | -OH | Sil.ald. | 인터류킨-1 수용체 | IL-1 | 62.0 |
| 폴리에틸렌 | -OH | Sil.ald. | 트롬보모둘린 | 트롬빈 | 73.7 |
| 폴리에틸렌 | -OH | Sil.ald. | BPI | LPS | 89.3 |
| 폴리에틸렌 | HA | DAH | DOC | LPS | 29.6 |
| 폴리에틸렌 | 폴리-Lys | DAH | DOC | LPS | 73.3 |

<212>

*표 2b*

| 다공성 매트릭스 | 방법 | 스페이서 | 리간드 | 성분 | 효능 % |
|---|---|---|---|---|---|
| 폴리에틸렌 | 레콤부민 | - | DOC | LPS | 20.8 |
| 폴리에틸렌 | $-NH_2$ | GDA | 항 CD 11b Ab | 과립구 및 단핵세포 | 50.2 |
| 폴리에틸렌 | -OH | Sil.ald. | 항 CD 11b Ab | 과립구 및 단핵세포 | 56.1 |
| 폴리카보네이트 | - | 폴리-Lys | DOC | LPS | 44.4 |
| 폴리카보네이트 | -OH | Sil.Ald | TNF-α 수용체 | TNF-α | 75.9 |
| 폴리카보네이트 | -COOH | - | 트롬보모듈린 | 트롬빈 | 72.0 |
| 폴리우레탄 | - | DAH | DOC | LPS | 30.2 |
| 폴리우레탄 | - | DAH | 레콤부민 | LPS | 18.5 |
| 폴리우레탄 | - | 폴리-Lys | DOC | LPS | 14.8 |
| 폴리우레탄 | - | Sil.Ald | TNF-α 수용체 | TNF-α | 56.7 |
| 폴리우레탄 | - | Sil.Ald | BPI | LPS | 88.0 |
| 실리콘 | - | Sil.Ald | TNF-α 수용체 | TNF-α | 55.3 |
| 실리콘 | - | Sil.Ald | 트롬보모듈린 | 트롬빈 | 68.2 |
| 제올라이트 | - | Sil.Ald | TNF-α 수용체 | TNF-α | 63.9 |
| 제올라이트 | - | Sil.-$NH_2$ | DOC | LPS | 48.3 |
| 제올라이트 | | Sil.Ald | 인터류킨-1 수용체 | IL-1 | 60.1 |
| 셀룰로즈 | CNBr | DAH | DOC | LPS | 28.5 |
| 셀룰로즈 | CNBr | 폴리-Lys | DOC | LPS | 39.2 |
| PTFE | 알릴-아민 | DAH | TNF-α 수용체 | TNF-α | 73.0 |
| PTFE | -COOH | - | 인터류킨-1 수용체 | IL-1 | 77.7 |

<213>

<214> 약어: BPI= 살균 투과성 증가 단백질; DAH= 1,6-디아미노-헥산; DOC= 데옥시콜레이트; EDC= 1-에틸-3(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드; GDA= 글루타르디알데히드 ; HA= 히알루론산 ; IL-1= 인터류킨-1 ; PEI= 폴리에틸렌이민; 레콤부민= 재조합 사람 알부민; Sil.ald.= 알데히드 작용성 실란 결합 시약; Sil.-$NH_2$= 아미노 작용성 실란 결합 시약; TNF-α= 종양 괴사 인자-α.

## *도면의 간단한 설명*

<215> 추가의 목적, 특징 및 이점은 다음 도면을 참조로 본 발명의 양태의 하기 설명으로부터 나타난다.

<216> 도 1은 분리 매트릭스를 포함하는 카트리지의 개략적 단면도이다.

<217> 도 2a, 2b, 2c 및 2d는 상이한 배치로 분리 매트릭스를 포함하는 카트리지의 개략적 단면도이다.

<218> 도 3a, 3b, 3c 및 3d는 추가의 상이한 배치로 분리 매트릭스를 포함하는 카트리지의 개략적 단면도이다.

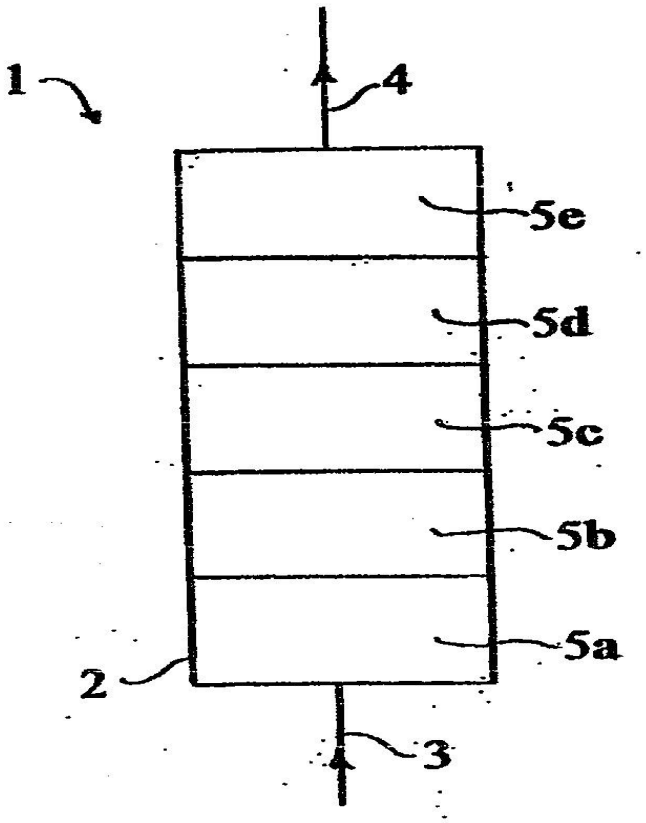
<219> 도 4는 다수의 매트릭스 플레이트를 갖는 카트리지를 포함하는 시험 시스템의 개략적 유동도이다.

<220> 도 5는 카트리지 전후의 전혈 중의 TNF-α의 양을 나타내는 다이아그램이다.

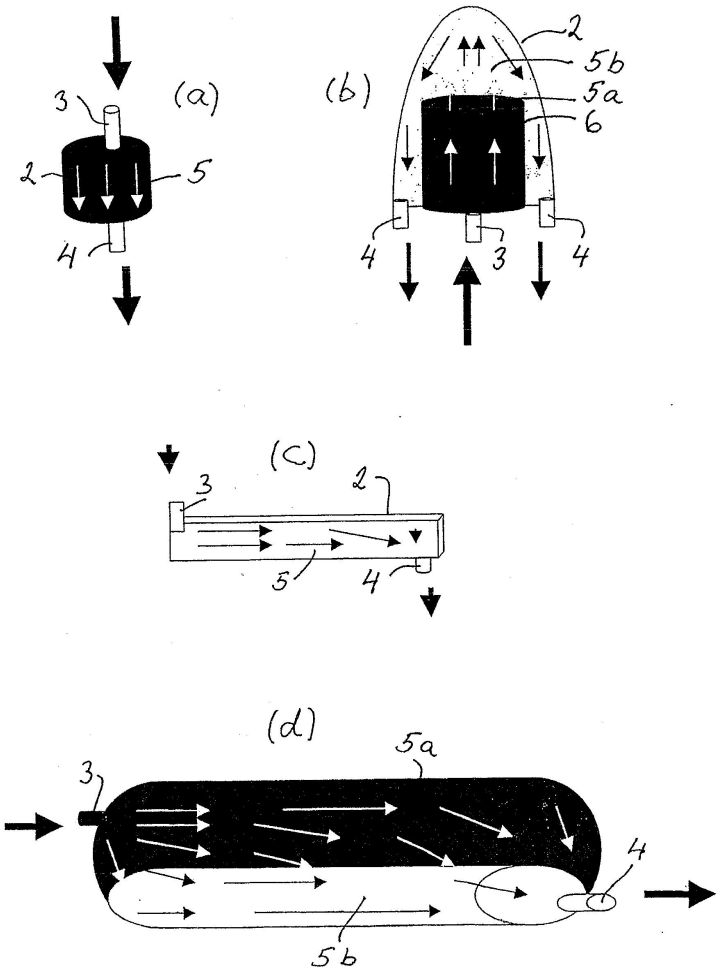
<221> 도 6은 시간에 따른 내독소량의 감소를 나타내는 다이아그램이다.

## 도면

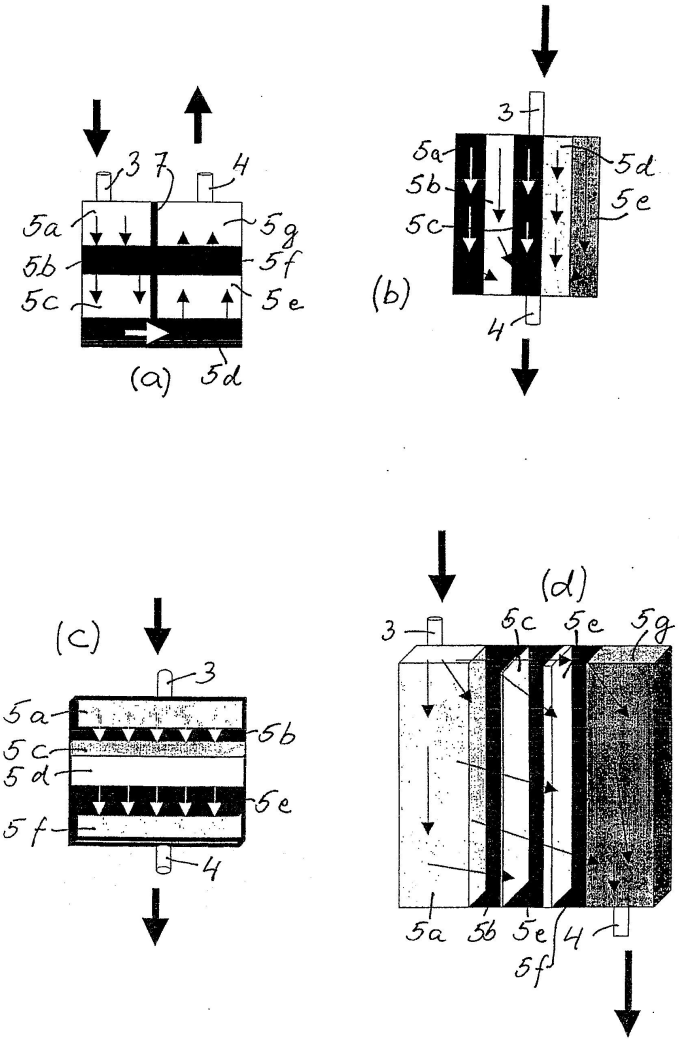
### 도면1



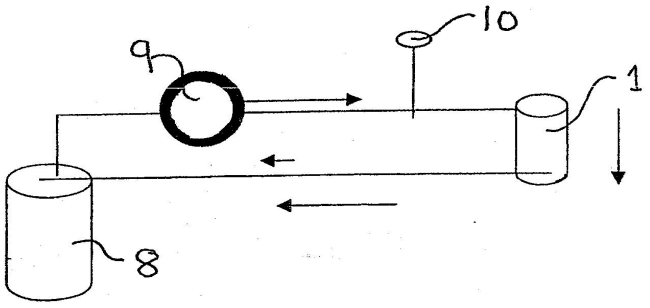
도면2



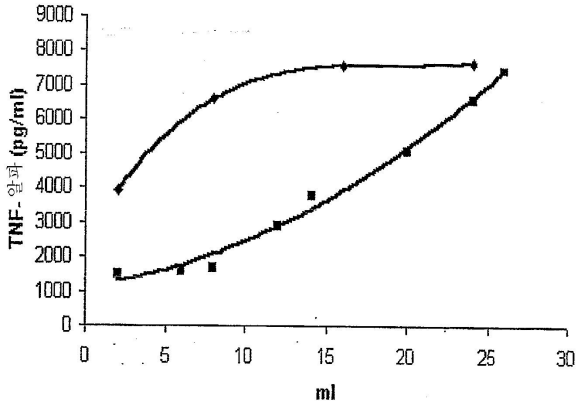
도면3


3
7
4
5a
5b
5c
5g
5f
5e
5d
(a)
3
5a
5b
5c
5d
5e
(b)
4
(c)
3
5a
5b
5c
5d
5e
5f
4
(d)
3
5c
5e
5g
5a
5b
5e
4
5f

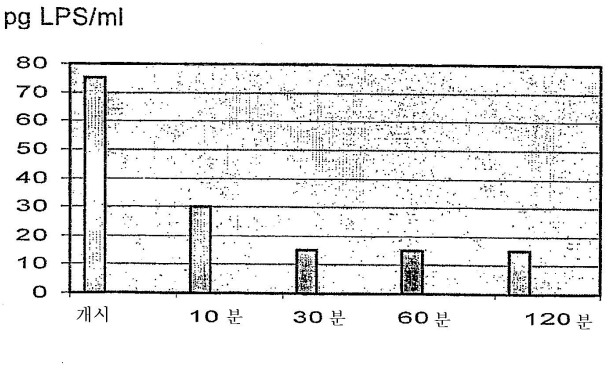
도면4


9
10
1
8

도면5


TNF-알파 (pg/ml)
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
0
5
10
15
20
25
30
ml

도면6


pg LPS/ml
80
70
60
50
40
30
20
10
0
게시
10 분
30 분
60 분
120 분