



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년08월13일
(11) 등록번호 10-1173716
(24) 등록일자 2012년08월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61N 7/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-7008667

(22) 출원일자(국제) 2005년10월11일

심사청구일자 2009년11월12일

(85) 번역문제출일자 2007년04월17일

(65) 공개번호 10-2007-0090880

(43) 공개일자 2007년09월06일

(86) 국제출원번호 PCT/GB2005/050181

(87) 국제공개번호 WO 2006/040597

국제공개일자 2006년04월20일

(30) 우선권주장

0422525.6 2004년10월11일 영국(GB)

(56) 선행기술조사문헌

EP00679371 A1

JP2001506880 A

전체 청구항 수 : 총 10 항

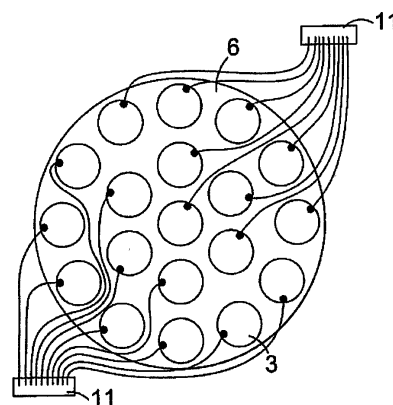
심사관 : 김의태

(54) 발명의 명칭 피부 질환을 치료하기 위한 장치

(57) 요약

본 발명은 초음파 변환기(ultrasound transducer)의 유연성 어레이를 포함하는 진단 장치 및 피부, 특히, 미용적 피부 질환을 치료하고 일광 손상되거나 노화된 피부의 외형을 개선하는 방법과 국소 조성물에 관계한다; 더 나아가, 본 발명은 피부를 치료하는 방법에서 이들 장치와 조성물의 용도에 관계하는데, 상기 방법은 초음파의 적용을 수반한다. 상기 조성물은 한가지이상의 당화결합제해제(anti-glycation agent), 한가지이상의 항산화제(anti-oxidant), 피부학적으로 허용되는 부형제 및 선택적으로, 분자 샤페론(molecular chaperone)의 발현을 유도할 수 있는 한가지이상의 물질을 함유한다.

대표도 - 도1a



특허청구의 범위

청구항 1

피부에 초음파를 적용하는 장치에 있어서,

이격된 배열(spaced configuration)로 유연성 물질 내에서 어레이로서 정렬된 복수의 초음파 변환기 소자(ultrasound transducer element)를 포함하되,

각각의 초음파 변환기 소자는 20 내지 500 kHz 범위의 저주파수에서, 그리고, 0.5 내지 3.5 MHz 범위의 고주파수에서 초음파를 전달할 수 있는 이중 주파수 변환기 소자이고, 상기 초음파 변환기 소자의 어레이는 치료 중 피부에 저주파수 및 고주파수 초음파를 임의의 순서로 전달하도록 프로그래밍가능한 것을 특징으로 하는

피부에 초음파를 적용하는 장치.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 각각의 이중 주파수 변환기 소자는 저주파수 및 고주파수 초음파를 동시에 또는 순차적으로 전달할 수 있는 것을 특징으로 하는 피부에 초음파를 적용하는 장치.

청구항 3

삭제

청구항 4

제 1 항에 있어서, 각각의 이중 주파수 변환기 소자는 공통 축을 따라 저주파수 및 고주파수 초음파를 전달할 수 있는 것을 특징으로 하는 피부에 초음파를 적용하는 장치.

청구항 5

제 1 항, 제 2 항, 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 이중 주파수 변환기 소자는 펄스 모드 또는 연속 모드로 초음파를 전달할 수 있는 것을 특징으로 하는 피부에 초음파를 적용하는 장치.

청구항 6

제 5 항에 있어서, 초음파 음장(ultrasound field)이 미리 설정된 패턴과 속도로 어레이를 가로질러 이동하도록 저주파수 및 고주파수가 구동될 수 있도록 상기 장치가 제어될 수 있는 것을 특징으로 하는 피부에 초음파를 적용하는 장치.

청구항 7

제 6 항에 있어서, 미리 설정된 패턴은 어레이의 전체 너비를 가로질러 좌에서 우로 또는 그 반대로의 이동; 위 아래로의 이동; 그리고, 어레이의 중심내외로의 이동 중에서 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 피부에 초음파를 적용하는 장치.

청구항 8

제 1 항에 있어서, 초음파 변환기 소자는 초음파 발생기(ultrasound generator)에 개별적으로 연결되는 것을 특징으로 하는 피부에 초음파를 적용하는 장치.

청구항 9

제 1항에 따른 장치; 그리고

조성물을 포함하고, 유연성 어레이와 치료 중인 피부 부위 사이에 배치되도록 형성되는 겔 패드(gel pad)를 포함하는 키트.

청구항 10

제 1 항에 있어서,

각각의 이중 주파수 변환기 소자는 50kHz 주파수의 저주파수 초음파를 전달할 수 있는
피부에 초음파를 적용하는 장치.

청구항 11

제 1 항에 있어서,
각각의 이중 주파수 변환기는 1MHz 내지 3MHz 주파수 범위의 고주파수 초음파를 전달할 수 있는
피부에 초음파를 적용하는 장치.

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 피부, 특히, 미용적 피부 질환을 치료하고 일광 손상되거나 노화된 피부의 외형을 개선하기 위한 초음파 전달 장치, 방법과 국소 조성물에 관계한다; 더 나아가, 본 발명은 피부를 치료하는 방법에서 이들 장치와 조성물의 용도에 관계하는데, 상기 방법은 초음파의 적용을 수반한다.

배경기술

[0002] 피부는 제약학적 또는 미용학적 활성 성분을 체내로 전달하기 위한 잠재적 경로이다. 하지만, 피부는 일반적으로, 각질층(stratum corneum)과 표피(epidermis)의 전반적으로 낮은 투과성(permeability)으로 인하여 효율적인 전달 경로로서 생각되지 않는다. 전통적으로, 제약학적 치료제의 국소 적용(topical application)은 국지적인 피부 부위를 표적으로 하였다. 더욱 최근에는 전신 표적화(systemic targeting)를 위한 경피 기술이 이용되고 있는데, 그 이유는 이러한 경로가 활성 성분의 분해가 발생하는 간 순환(hepatic circulation)을 우회하기 때문이다.

[0003] 초음파는 분자를 피부 내로 전달하는데 이용될 수 있다. 초음파가 이런 배경에서 이용되는 경우에, “소노포레시스(sonophoresis)” 라고 한다. 피부에 적용된 초음파는 2가지 주요한 효과를 나타낸다. 먼저, 급속하게 진동하는 압력장(pressure field)으로부터 공동 현상(cavitation)이 발생하고 기포 형성과 붕괴가 유발되는데, 이는 각질층을 관통하는 채널을 기계적으로 생성시킨다. 두 번째 효과는 반사(reflection), 흡수(absorption), 분산(dispersion)을 통한 음향 에너지(acoustic energy)의 감소로 인한, 음파가 이동하는 물질의 직접적인 가열이다. 피부에서, 이는 이질성(heterogeneity)으로 인하여 다른 조직에서보다 최대 4배까지 발생한다. 가열 역시, 각질층 내에서 지질 이중층 시스템을 교란하여 표피의 강화된 투과성에 기여하는 것으로 알려져 있다. 여러 인자가 초음파의 가열 능력(heating capacity)에 영향을 줄 수 있다:

- [0004] (i) 펄스 모드가 아닌 연속 모드로 초음파의 적용,
- [0005] (ii) 연장된 노출 시간(exposure time),
- [0006] (iii) 집중화되지 않은 적용이 아닌 초음파의 집중화된 적용,
- [0007] (iv) 반사 정도를 감소시키는데 이용되는 수용성 겔의 이용 회피,
- [0008] (v) 더욱 높은 동력 밀도(power density)에서 초음파 적용,
- [0009] (vi) 빠르게 바로 인접한 조직에 초음파 적용.

[0010] 초음파에 의해, 분리된 표피를 통한 저분자량 분자의 확산은 시험관내에서 2-5000배 증가하고, 이론적 연구에서 최대 1700배까지 증가하는 것으로 밝혀졌다. 15분간 20 KHz US를 이용하는 경우에, 인슐린과 헤파린과 같은 대형 분자 약제도 효과적으로 전달되었다. 한가지 시험관내 연구에서 20 kHz와 2 내지 50 W/cm² 범위의 강도의 초음파로 최대 51kDa의 폴리-L-리신 분자가 전달될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 침투(permeation)에서 이러한 증가를 설명하기 위하여, 일부 연구에서는 개별 구멍 직경(28±12Å)에서 증가보다는 구멍의 총수에서 증가를 보고하였다. 하지만, 더욱 큰 구멍 형성을 실제로 유도하는 특정 초음파에는 ‘소노마크로포레이션(sonomacroporation)’ 용어가 적용되고 있다.

[0011] 피부의 투과성은 가열 및/또는 기계적 스트레스를 통하여, 그리고 다공도(porosity)에서 증가를 통하여 세포간 지질(intercellular lipid)의 파괴에 의해 증가한다. 6℃(1 MHz, 0.25 W/cm²)에서 50℃(20 kHz, 10-30 W/cm²)로의 온도 증가가 보고되었지만, 11℃(1 MHz, 2 W/cm²) 정도의 상승은 피부 손상을 유발하는 것으로 밝혀졌다. 1 W/cm²의 강도에서 연속 모드 초음파는 3 cm 깊이에서 조직 온도를 10분 이내에 40℃로 증가시킨다.

[0012] 만니톨과 같은 더욱 작은 분자의 경우에, 초음파가 전-처리로서 또는 상기 분자의 적용과 동시에 적용되는 경우에 피부를 통한 투과도의 강화가 나타난다; 하지만, 인슐린과 같은 대형 분자의 경우에는 초음파의 적용 동안에만

투과의 강화가 기록되었다.

- [0013] 초음파는 경피 약물 전달(transdermal drug delivery)을 개선하는데 이용될 수 있다. WO 99/34857에서는 20 W/cm² 이하, 바람직하게는 10 W/cm² 이하의 동력 밀도; 2.5MHz 이하, 바람직하게는 2 MHz 이하, 더욱 바람직하게는 1 MHz 이하, 가장 바람직하게는 20-100 kHz의 주파수를 갖는 다양한 활성 성분의 경피 약제 전달을 기술한다; 쥐에서 생체내 실험 데이터는 20 kHz의 주파수 및 1 또는 1.5 또는 7 w/cm²의 동력 밀도를 이용하여 산출하였다.
- [0014] US 4,767,402에서는 0-3 W/cm², 바람직하게는 0.5-1.5 MHz의 동력 밀도에서 초음파를 이용한 경피 약물 전달을 기술하고, 동력 밀도가 감소함에 따라 주파수 역시 감소되어야 한다고 제안한다. 주파수 870 kHz에서 1-2 W/cm²의 동력 밀도가 예시된다.
- [0015] 피부 특성을 개선하는 목적의 미용 치료제 역시 표피, 특히, 외부 각질층의 장벽 기능에 의해 방해받는다. 표피는 각질세포(cornified cell)/지질 이중층으로 인하여 용질 전달에 상당한 기계적, 화학적 장벽을 제공한다. 또한, 표피와 진피 내에는 효소 활성이 상당한데, 이는 외래물질(xenobiotic)을 중화시키는 생화학적 방어를 제공하고 부피당 활성의 관점에서 간의 활성에 필적한다. 부가적으로, 활성 물질의 분자량은 피부를 통하여 확산하는 이들 활성 물질의 성향(propensity)을 결정하는데 중요한 것으로 알려져 있다. 대략 500 Da 이상 분자량의 물질의 확산은 비효율적인 것으로 알려져 있다. 피부의 미용 및 의학적인 치료에서, 초음파를 수반하는 방법과 장치의 이용이 기술되었다.
- [0016] US 6,113,559에서는 피부의 한 부위에 집중화된 초음파 빔(초음파 동력 밀도 100-500 W/cm², 주파수 1-500 MHz)의 적용으로 주름살을 감소시키는 방법과 장치를 기술하는데, 여기서 진피층(dermis layer)에 전달된 에너지는 진피층을 촉진하거나 자극하여 표피층의 부드러움(smoothness)에서 변화를 공여하는 진피층내 변화를 유도하기 위하여 조직을 가열할 만큼 충분하다.
- [0017] 셀룰라이트의 치료를 위한 초음파 요법(ultrasound therapy)은 널리 공지되어 있는데, 초음파 에너지의 적용은 일반적으로, 피하 지방 조직을 파괴하는데 유효한 것으로 입증되었다. 예로써, EP 0 695 559는 셀룰라이트의 치료를 위한 다중기능성 장치에 관계하는데, 상기 장치는 예로써, 환자 신체의 넓적다리에 적용을 위한 초음파 진동의 방사체(emitter)를 포함할 수 있다. 하지만, 적절한 동력 밀도와 주파수가 언급되지 않았다. GB 2303552에서는 셀룰라이트의 비-침입성 감소에 유용한 초음파 장치를 기술한다. 초음파 장치는 대략 3.3 MHz의 미리 결정된 주파수와 2.8 W/cm²의 전형적인 동력 밀도에서 셀룰라이트의 비-침입성 감소에 유용한 초음파 장치를 기술하는데, 피부 표면 아래 1.27 cm 내지 2.54 cm의 깊이에서 50%의 에너지가 흡수된다.
- [0018] US 6,030,374에서는 피부를 초음파에 노출시키고 상기 피부에 활성 성분을 주입함으로써 피부를 통한 활성 성분의 수송을 강화시키는 방법을 기술한다. 상기 활성 성분은 셀룰라이트의 외형을 감소시키는데 이용된다. 더욱 낮은 주파수 초음파의 경우에, 0.5-2.0W/cm²의 동력 밀도에서 25 kHz와 3 MHz 사이의 초음파 주파수가 이용된다; 더욱 높은 주파수 초음파의 경우에, 0.2-1.0W/cm²의 동력 밀도에서 3 MHz와 16 MHz 사이의 초음파 주파수가 이용된다.
- [0019] US 5,665,053은 작업자(operator)에 의해 선택적으로 제어되는 초음파 발생기를 보유하는 엔더몰로지 신체 안마기(endermology body massager)에 관계한다. 기술된 매우 낮은 저주파수 길이 파장 초음파, 10 내지 40 kHz는 일반적으로, 파괴 초음파(disruptive ultrasound)로서 간주되는데, 이는 세포를 손상시키고, 따라서 안전성 문제로 인하여 매우 낮은 동력 수준을 제외하고 보편적인 이용에 적합하지 않다.
- [0020] US 5,507,790에서는 환자의 피하 지방 조직층 내에서 한 부위의 온도를 40.0 내지 41.5℃로 상승시켜 국소 지방 조직 지방분해(lipolysis) 반응 속도를 가속화시키는 초음파 에너지 집중화 장치를 기술한다. 상기 장치는 공개되지 않은 주파수와 공개되지 않은 동력 밀도의 초음파 에너지를 집중화 소자(focusing element)에 공급하는 초음파 변환기(ultrasonic transducer)를 포함한다.
- [0021] WO 99/56829에서는 초음파 붕대(ultrasound bandage)와 초음파 변환기 어레이 붕대(ultrasound transducer array bandage)를 기술하는데, 이들 초음파 붕대와 초음파 변환기 어레이 붕대는 상처 부위에 인접하여 배치되고 초음파 펄스(ultrasonic pulse)를 발생시킨다.
- [0022] WO 99/48621에서는 대형-면적 유연성 압전성 복합 변환기 소자와 이들 변환기 소자의 대형-면적 어레이가 인체, 예를 들면, 엉덩이, 등뼈의 윤곽에 합치될 만큼 충분한 유연성을 갖는다고 기술한다.
- [0023] 미용적 피부 질환, 예를 들면, 피부 노화와 일광 손상에 대한 효과적인 치료는 활성 물질을 적어도 상부(유두) 진피 깊이까지 활성물질을 전달해야 하고, 따라서 노화에 의해 약화된 경우에도 이러한 효과적인 물리적, 생화

학적 장벽을 극복하는 기전을 이용해야 한다.

- [0024] 자연이나 “내재성” 노화에 기인한 인간 피부의 악화는 다수의 증상으로 특성화된다. 이들 증상에는 표피와 진피 모두의 얇아짐(thinning); 이들 사이에 접합부위의 평탄화(flattening); 연관된 기계적 특성, 예를 들면, 인열 저항(tear resistance), 탄력(elasticity), 장벽 기능의 악화와 함께 불량한 상처 치유, 체온 조절(thermoregulation), 면역 기능 등이 포함된다. 가시적인 외형 역시 악화되어 불균일한 색소 형성과 함께 더욱 거칠고 주름지고 건조한 외형이 나타난다. 대부분의 경우에, 피부 노화는 감염과 기능장애가 발생하는 손상된 상처 치유와 같은 경우를 제외하고 의학적으로 거의 중요하지 않다.
- [0025] 노화에 따른 피부의 가시적인 악화는 다소간 동시에 발생하는 여러 변화의 조합에 기인한다. 이러한 악화는 흡연과 일광욕과 같은 생활방식의 선택에 의해 가속화될 수 있다. 가시적으로 분명한 변화는 처진 피부, 거친 피부 조직(skin texture), 색소이상(dyspigmentation), 어두운 안색(dull complexion), 밝은 빛(radiance)의 전반적인 상실 등이다. 주름 형성은 아마도, 피부 노화와 가장 일반적으로 연관된 증상이며, 기질 단백질(matrix protein)과 프로테오글리칸의 유형과 분포에서 변화에 의해 유발되는 것으로 알려져 있다. 이와 유사하게, 노화가 진행되면서 감소하는 피부 기능은 세포 대체(cell replacement), 면역 인식(immune recognition), 감각 인지(sensory perception), 손상 반응(injury response), 혈관 반응성(vascular responsiveness), 비타민 D 생산, 장벽 기능, 체온 조절, 피지(sebum) 생산, 화학적 제거율(chemical clearance), 땀 생산, 기계적 보호 등이다. pH 변화(4.5에서 5로) 역시 나타날 수 있다.
- [0026] 노화 피부는 융선망 패턴(reticulate pattern)의 평탄화와 함께, 감소된 표피 두께와 증식으로 특성화된다. 명백한 얇아짐은 기저층(basal layer)의 손상된 세포 증식과 함께, 기저층과 유극층(spinous layer)에서 증가된 아포토시스와 연관될 수 있다. 노화된 피부는 얇아지고, 탄력이 약화되고, 장벽 기능이 감소한다. 이는 진피가 딱딱하고 경직된 기질 단백질과 모세혈관 고리(capillary loop)의 수적 감소와 함께, 세포 함량(cellular content)이 감소하기 때문이다. 결과적으로, 위에 놓인 표피가 약화되는데, 그 이유는 진피-표피 접합부위(dermal-epidermal junction, DEJ)가 평탄화되어 접촉 표면적(contact surface area)이 감소하고 DEJ에 인접하는 모세혈관 고리가 더욱 적기 때문이다. 이들 두 층 사이에 영양분과 대사물질의 교환이 감소하고, 외부 환경 조건에서 변화에 반응하여 층 통일성(layer integrity)을 유지하기 위하여 필요한 신호전달(communication)이 손상되기 때문이다.
- [0027] 피부는 내인성 또는 연대적 노화 과정뿐만 아니라 외인성 또는 환경적 노화 과정에도 종속된다. 가령, 음식물, 오염, 흡연과 같은 인자는 피부 노화 속도에 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 하지만, 가장 강력한 노화인자(gerontogen)는 일광이다. 안면 노화의 대략 80%가 일광 노출에 기인하는 것으로 생각된다.
- [0028] 피부의 콜라겐(collagen), 엘라스틴(elastin) 및 다른 세포내외 단백질이 영향을 받는데, 전체 진피에서 섬유성 번들(fibrous bundle) 내에 국지적으로 탄력 조직이 구축(build-up)되는 일광 탄력섬유증(solar elastosis)이 발생한다.
- [0029] 일광의 UV 성분은 표피(각화세포)와 진피(섬유아세포)의 세포 개체군의 감소와도 연관된다. 이는 예정된 세포 사멸(programmed cell death) 또는 아포토시스(apoptosis)의 증가에 기인하는 것으로 생각된다. 이들 표피와 진피는 노화가 진행됨에 따라 더욱 비세포화되는데, 이는 상기 가설을 뒷받침한다. 표피가 피부의 건조하고 거친 외형에 영향을 주긴 하지만, 표면 부드러움의 정도를 지배하는 것은 진피이다. 기질 단백질과 높은 수분-결합 프로테오글리칸의 감소 및/또는 재분배가 주름과 전반적인 표면 부드러움의 외형을 거의 지배한다. 이와 유사하게, 피부의 흉터는 외상 이후 육아 조직(granulation tissue)의 형성에 의한 비정상적 단백질 함량, 형태, 분포에 기인하는데, 이 역시 표피보다는 진피상의 문제이다.
- [0030] 일광노화(photoageing)의 전형적인 증상은 거칠어짐(coarseness), 주름(wrinkling), 불규칙한 색소 형성(irregular pigmentation), 모세관 확장증(telangiectasia), 비늘 모양 피부(scaliness) 및 다양한 양성, 전악성, 악성 신생물이다. 일광노화는 일광-노출의 전력이 있는 흰 피부의 백인에서 우세하고, 얼굴, 목, 상지(upper extremity)의 신전부(extensor surface)에서 가장 심각하게 발생한다. 목과 흉곽의 상부(upper chest)에서 관찰되는 자갈모양 소름(pebbly goose flesh)으로서 인식되는 탄력섬유증(elastosis)은 진피 내에서 변형된 엘라스틴 섬유의 결절모양 집합(nodular aggregation)에 기인한다. 더욱 두껍고 얽힌 엘라스틴 섬유의 증식이 일광-노출된 피부의 유두 진피(papillary dermis)와 망상 진피(reticular dermis)에서 관찰되었다. 가볍게 일광-노출된 피부에서도, 엘라스틴 섬유 직경에서 5-20배 증가가 관찰되었는데, 미소섬유(fibrillar) 구조에서 약간의 변화와 정상 구성의 변형은 파괴되고 “벌레 먹은(moth-eaten)” 외형을 유발한다.

- [0031] 전체적으로, 일광손상(photodamage)은 지지 세포의 기질(supporting extracellular matrix)에 정량적, 정성적 변형으로 인한 피부 섬유아세포에 점진적인 손상으로 확인된다. 태양 에너지가 피부를 통과하고 흡수되면 가변적 손상이 발생하는데, 가장 큰 손상은 외부 유두 진피에서 관찰되고 더욱 깊이 위치하는 망상 진피에는 손상이 덜하다.
- [0032] 내인성(연대적) 노화는 탄력성의 상실과 감소된 물질대사 활성으로 인한 피부의 위축(atrophy)으로 특성화된다. 구체적으로, 각질층은 변화가 없지만, 표피가 전반적으로 얇아지고 진피-표피 접합부위의 평탄화로 피부의 허약성(fragility)이 증가한다. 진피 두께와 진피 혈관 분포(vascularity)가 감소한다; 이는 진피 섬유아세포의 충수와 생합성 활성의 감소를 동반한다. 이러한 후자 변화는 지연된 상처치유로 확인된다. 연령 증가 역시 성장 인자에 대한 각화세포와 섬유아세포의 반응을 감소시키는 효과를 나타낸다.
- [0033] 분자 수준과 초미세구조 수준에서, 기질 단백질 내에서 탄력성 변화와 다른 변화가 존재한다. 탄력성과 관련하여, 진피-표피 접합부위를 유두 진피에 연결하는 미소섬유 번들(microfibril bundle)의 주요 성분인 세포의 단백질 피브릴린(fibrillin)이 감소한다. 옥시탈란 섬유(oxytalan fibre)로 불리는 이들 번들은 필수적으로, 표피와 진피 사이에 탄력성 연결을 제공한다. 이전에, 섬유아세포에 의해서만 합성되는 것으로 간주되었던, 진피-표피 접합부위에 존재하는 이들 섬유는 각화세포에 의해 합성되는 것으로 밝혀졌다. 피브릴린은 일광노화된 피부에서 농도가 감소하는 것으로 밝혀졌는데, 이는 피브릴린이 주름 형성과 관련하여 알려진 바와 같이 일광노화에 대한 유용한 생물마커(biomarker)임을 입증한다. 피브릴린 농도는 인장 응력(tensile stress)을 받고 살튼 흔적(stretch mark)(선조 팽창(striae distensae))을 보이는 피부에서도 감소한다.
- [0034] 생체내 단백질은 단백질(세포내외)과 당 사이에 메일라드 반응(Maillard reaction)에 의해 번역후 변형된다. 상기 반응은 당화결합(glycation), 또는 당화(glycosylation)로 알려져 있고, 단백질 전환(protein turnover), 조직 재편성(tissue remodelling), 당뇨병, 노화에서 중요한 역할을 하는 것으로 널리 인정되고 있다. 피부에서, 상기 과정은 UV에 의해 악화되는데, 진피 당화결합은 35세이후 급격하게 증가한다. 단백질의 당화결합은 포도당과 과당과 같은 환원 당(reducing sugar), 또는 이들의 반응성 중간물질, 예를 들면, 글리옥살(glyoxal)은 진피 내에서 콜라겐(인간 피부에서 $t_{1/2} = 15$ 년)과 엘라스틴과 같은 긴 반감기 단백질의 아미노기와 반응한다. 이러한 과정의 결과로써, 세포독성의 최종 당화결합 산물(advanced glycation end-product, AGE)이 축적된다.
- [0035] 당화결합에서 증가는 UV로 미리 조사된 피부에서 관찰되었다. 단백질 당화결합의 널리 공지된 생물마커인 카르복시메틸리신(carboxymethyllysine, CML)은 진피 내에 일광 탄력섬유증 부위에서 주로 존재하고, 일반적으로, 일광노화된 피부에서 더욱 높은 농도로 존재하는 것으로 밝혀졌는데, 이는 UV-유도된 산화(oxidation)가 일광노화된 피부 내에서 AGE 형성을 가속화시킨다는 것을 암시한다.
- [0036] AGE의 구축은 여러 효과를 나타낸다. 최종 당화결합 산물-변형된 단백질은 일광노화와 일광발암현상(photocarcinogenesis)에 기여하는 반응성 산소종(reactive oxygen species, ROS)의 UVA-유도된 발생에 의한 인간 피부에서 광-산성 세포 손상의 내생적 감작물질(sensitizer)이다. ROS 발생은 ROS 발생 비율과 직접적으로 연관된 AGE 형성의 초기와 후기 단계에도 연관되는데, 이는 기질 메탈로프로테이나아제(matrix metalloproteinase) 발현을 증가시키고, 결과적으로 유익한 소화가능 기질(digestible matrix)을 감소시킨다. 또한, 상기 단백질의 구조적 기계적 특성의 악화를 유발하고, 규칙적이고 유익한 단백질 전환을 정상적으로 담보하는 체내 자연 효소, 예를 들면, 기질 메탈로프로테이나아제(MMP)에 대한 감수성을 감소시키는 세포외 단백질의 교차-결합(cross-linking) 역시 존재한다. 교차-결합 AGE에는 펜토시딘(pentosidine)과 같은 종류가 포함된다. 비-교차-결합 AGE에는 CML과 같은 종류가 포함된다. 당화결합은 또한, 단백질의 수분 접근성(water accessibility)을 감소시켜 이들 단백질이 열에 더욱 안정하고 열에 의한 변성 가능성을 더욱 낮춘다.
- [0037] 신체는 단백질-소화 효소를 비롯하여, 유해한 단백질 변형을 방어하는 생리 기전의 호스트이다. 시의 적절한 단백질 분해(proteolysis)는 손상된 단백질에서 산화 손상(oxidative damage)과 교차-결합이 발생하기 이전에 이들 단백질을 제거한다. 이런 이유로, 신속하고 효과적인 단백질 분해는 항노화 기전에 필수적이다. UV-유도된 당화결합을 통하여 번역후 변형된 콜라겐과 엘라스틴과 같은 단백질은 내생적 효소(가령, 메탈로프로테이나아제)에 의한 절단에 더욱 저항하는 것으로 이미 보고되었다. 이들 효소의 발현 증가와 함께, 이는 변형된 유해한 단백질에 대한 유익한 소화가능 기질 단백질의 비율을 더욱 감소시킨다.
- [0038] 고유 단백질은 콜라게나아제(collagenase)와 엘라스타제(elastase)와 같은 내생적 효소에 의해 전환될 뿐만 아니라 노화 및/또는 변성된/스트레스 받은 단백질을 세포 내외에서 처리하는 다른 시스템이 존재한다. 이와 같은

한가지 기전은 분자 샤페론(molecular chaperon)을 이용한다. 연령 증가는 모든 생리 시스템 내에서 항상성을 유지하는 능력 감소와 연관하는데, 이는 적어도 부분적으로, 열 쇼크 단백질을 생산하는 능력의 병렬적이고 점진적인 감소에 기인한다. 감소된 열 쇼크 단백질 반응은 노인 개체에서 환경적 공격에 대한 취약성 증가에 기여한다.

[0039] 스트레스 단백질(stress protein)로서 알려져 있는 열 쇼크 단백질(HSP)은 단백질 합성, 수송, 접힘, 분해를 조력함으로써 분자 샤페론으로서 작용하는 것으로 생각된다. 이들은 모든 생명체에서 모든 세포 내에 존재하는 일군의 단백질이다. 이들은 세포가 환경적 스트레스, 열, 냉기 또는 산소 고갈을 직면하는 경우에 유도된다. HSP는 완전하게 정상적인 조건하에 세포에서도 존재하고, 혈관 평활근(vascular smooth muscle) 내에서 수축과 이완 반응의 조절과 연관된다; 이들은 스트레스의 부재에서도, 단백질 접힘과 기능에서 중요한 역할을 수행한다.

[0040] 최종 당화결합 산물의 형성은 단백질 폴림(protein unfolding), 비가역적 교차-결합 및 다른 화학적 변형을 유발한다. HSP는 재접힘(refolding)/형태 유지 및 비가역적으로 손상된 단백질의 신속한 분해를 촉진하는 것으로 알려져 있다. 소형 열 쇼크 단백질, 예를 들면, α -크리스탈린(crystallin)은 당화결합 유도된 변화로부터 수정체(eye lens) 단백질을 방어하는 것으로 알려져 있다. 소형 열 쇼크 단백질(sHSP)은 이들 샤페론의 촉매 활성을 주도하는 것으로 보이는 공통 ‘크리스탈린’ 코어를 보유하는 것으로 알려져 있다. α -크리스탈린/sHsp 샤페론 작용에 관한 더욱 많은 이해는 백내장(cataract)을 치료하고 예방하는 치료제의 개발과 밀접한 관계를 갖는 것으로 제안되었다.

[0041] 열 쇼크 단백질 집단에는 8-kD 유비퀴틴(유비퀴틴-프로테아좀 단백질 분해 경로와 관련됨), 32-kD 헴(heme) 옥시게나아제-1(UVA 유도된 산화 스트레스와 관련됨) 및 공지된 콜라겐 샤페론인 HSP-47이 포함된다. HSP-27은 인간 피부에서 발견되고, 인터루킨-1과 중앙 피사 인자- α 와의 연관으로 인하여 염증 질환에서 중요한 역할을 하는 것으로 제안되었다. HSP-27 발현이 표피 각화세포 분화와 밀접하게 연관된다는 견해와 함께, 이는 HSP-27과 같은 열 쇼크 단백질이 피부 노화 및 아마도, UV-일광화상 염증 주기(sunburn inflammation cycle)에서 일정한 역할을 수행한다는 것을 암시한다. 다른 세포와 장기 시스템에 대조적으로, 표피 각화세포는 HSP-72를 구성적으로, 다시 말하면, 스트레스에 사전 노출 없이 발현하는 것으로 알려져 있다. 열 쇼크 단백질 HSP47은 인간 섬유아세포에서 프로콜라겐(procollagen) 합성을 위한 분자 샤페론으로서 중요한 것으로 밝혀졌다. HSP47 합성은 노화된 피부와 광-노화된 피부에서 감소한다.

[0042] UV에 노출이후 HSP 발현은 UV-유도된 세포 사멸에 대한 증가된 저항성과 연관하였다. HSP의 비-독성 유도물질은 UV 노출의 즉시 효과와 장기 효과를 방어할 수 있다. 기존 연구에서, 적외선(IR)에 세포의 사전 노출은 이들을 UV 광에 대한 후속 노출로부터 방어하는 것으로 밝혀졌다. 이와 유사하게, 세포의 IR 전처리는 후속으로 가해진 치명적인(51°C) 열 스트레스(heat stress)로부터 이들 세포를 방어한다.

[0043] 환경 스트레스로부터 HSP의 널리-공지된 방어 효과는 노화됨에 따라 일정하지 않다. 스트레스에 대한 HSP 반응은 아마도, 전사 수준에서 노화됨에 따라 약화된다. 인간 피부 섬유아세포의 반복적인 가벼운 열 쇼크(repetitive mild heat shock, RMHS는 노화-관련된 변화 속도를 감소시키는 것으로 밝혀졌다. 한 연구에서는 당화결합된 단백질의 축적을 감소시키는 인간 섬유아세포의 능력에서 노화-관련된 감소를 HSP70을 발현하는 능력에서 병렬적 감소와 연계시켰는데, 그 이유는 RMHS에 노출된 섬유아세포가 HSP70 발현을 증가시키고 당화결합된 단백질 축적을 감소시키기 때문이다. RMHS의 유익한 효과는 증가된 프로테아좀 활성, H_2O_2 를 분해하는 증가된 능력, 리포푸신(lipofuscin)의 감소된 축적, UVA 방사에 강화된 저항성에 기인한다.

[0044] 근육내에서 기준에 비하여 3-5°C의 온도 상승은 HSP를 유도하는 것으로 밝혀졌다. 정상 체온에서 가해진 30 min의 펄스 초음파에 의한 HSP의 유도가 쥐 배아에서 확인되었는데, 이는 열 쇼크 반응이 열에 특이적이지 않고 기계적 스트레스(mechanical stress)에 반응하여 발생할 수 있음을 입증한다. 이와 유사하게, 임의의 현저한 열적 기여 없이, 초음파에 노출된 병아리 배아는 HSP72의 상승된 합성을 나타내는데, 이는 기계적 자극이 스트레스 반응을 유도할 수 있음을 암시한다. 또한, ‘완전한 생물 효과를 달성하기 위하여, 스트레스는 노출 동안 임의의 시간 간격에서 대략 10초 또는 그 이상 일정해야 한다’는 것으로 결론되었다. 누적 효과가 HSP 생산을 자극할 수 있는데, 그 이유는 3일 동안 반복된 가벼운 열 쇼크가 현저하게 상승된 근육 HSP 수준을 유도하는 것으로 밝혀졌기 때문이다.

[0045] 특정 물질이 HSP 발현에 대한 효과를 나타낸다. 가령, 살리신(salicin)은 HSP 발현을 유도하고, 배양된 인간 섬유아세포와 각화세포 내에서 후속의 UV-유도된 손상 정도를 감소시키기 위하여 필요한 온도 상승의 정도를 42°C에서 39°C로 낮추는 것으로 밝혀졌다. 나트륨 라우릴 설페이트(sodium lauryl sulphate, SLS)와 같은 공지된 자극물질(irritant) 역시 HSP 발현을 유도한다. 절제된 인간 피부에 SLS 적용에 기인한 HSP27 상향조절

(upregulation)은 화학적 자극(chemical irritancy)에 기인한 세포 스트레스를 결정하는 방법으로서 이용되고 있다. 하지만, 유사한 연구에서, 인간 표피에서 HSP27의 SLS 유도된 발현은 비타민 C의 국소 적용에 의해 억제되었다.

[0046] 상업적으로 Polaprezinc로 알려져 있는 아연-L-카르노신 물질은 위 점막 내에서 HSP72(스트레스-유도된 HSP703) 발현을 유도하고 세포를 화학적 자극을 통하여 가해진 스트레스로부터 방어하는 것으로 밝혀졌다. 대조로서, $ZnSO_4$ 와 카르노신 역시 검사되었는데, 이들은 동일한 반응을 유도하지 않는 것으로 밝혀졌다. 항-궤양 약제로서 알려져 있는 아연-L-카르노신의 상처-치유 작용은 섬유아세포와 같은 비-내피 세포에서 이의 증식 반응과 연관하였다.

[0047] 열 스트레스 받은 본래 쥐에서 HSP70 발현에 대한 아스피린의 영향을 조사하였다. 이들 쥐는 37°C 또는 실온에서 30분간 배치하기 60분전에 아스피린(100 mg/kg), 또는 운반제 단독을 복강내 주입하였다. 아스피린과 열 처리의 조합은 열 처리 단독에서 관찰되는 수준에 비하여 3 내지 4배 높은 수준의 HSP70 mRNA를 유도하였다.

[0048] 쥐 위 점막의 아스피린 공격에 대한 내성을 공여하는데 있어 HSP-72와 -70의 역할을 조사하였다: 이들 HSP의 발현은 아스피린에 만성적 노출이후 상승하였다.

[0049] 아스피린, 이부프로펜(ibuprofen), 파라세타몰(paracetamol)과 같은 진통제(analgesic)는 백내장으로부터 방어한다. 이러한 작용은 α -크리스탈린과 같은 소형 HSP에서 당-유도된 교차-결합의 저해에 기인하였다. 백내장으로부터 방어하는 효소는 당화결합-유도된 불활성의 경향이 있지만, 아스피린은 이로부터 방어하는 것으로 밝혀졌다.

[0050] 이와 유사하게, 아세틸-L-카르니틴은 소형 HSP의 잠재적 당화결합 부위를 아세틸화시키고, 이에 상응하여 이들을 당화결합-매개된 단백질 손상으로부터 방어하는 능력으로 인하여 잠재적 사페론-보호제로서 인정되고 있다.

[0051] 소형 열 쇼크 단백질(sHSP)과 클루스테린(clusterin)은 현저한 서열 유사성의 부재에도 불구하고 많은 기능적 유사성을 공유하는 분자 사페론이다. 소형 열 쇼크 단백질은 도처에 산재하는 세포내 단백질인 반면, 클루스테린은 일반적으로, 세포외에서 발견된다. 양쪽 사페론은 스트레스 조건, 예를 들면, 상승된 온도, 환원, 산화 하에 표적 단백질의 무정형 응집과 침전을 예방한다. HSP와 클루스테린의 전사는 전사 인자 HSF-1에 의해 매개된다. 하지만, 클루스테린은 스트레스 받은 표적 단백질의 용해 상태로부터 침전을 예방하는데 있어 α -크리스탈린과 같은 특정 sHSP보다 훨씬 효과적인 것으로 밝혀졌다.

[0052] 클루스테린은 질량의 30%가 당으로 구성된 만큼 강하게 당화결합되는 75-80 kDa 이형이량체 단백질로서 발견된다. α -크리스탈린과 같은 소형 열 쇼크 단백질의 사페론 활성은 낮은 pH에서 현저하게 감소하는 반면, 클루스테린의 활성은 낮은 pH에서 강화되었다. 이는 국소 산성증(pH<6)이 발생하는 조직 손상이나 염증의 부위와 중요한 관계를 갖는다. 클루스테린이 sHSP와 공유하는 다른 유사성은 아포토시스를 조절하는 능력이다. 클루스테린의 과다-발현은 아포토시스를 유도하는 다양한 작인(가령, TNF- α 와 UV 방사)으로부터 세포를 방어할 수 있다. 클루스테린은 스트레스 받은 세포 표면 단백질과 상호작용하여 친-아포토시스 신호 전달을 저해하거나, 또는 스트레스 동안 세포내 단백질의 부적절한 상호작용을 예방하는 것으로 제안되었다.

[0053] 많은 국소 피부 제제물이 의학적 피부 질환과 미용적 피부 질환, 특히, 피부 노화와 일광 손상의 치료에 이용 가능하다. 많은 경우에, 이들 제제물은 무효하거나, 효능이 미미하거나, 또는 효능이 단기적이다. 따라서, 피부 질환의 치료에 유효한 새로운 제제물이 요구된다. 더 나아가, 본 발명은 이들 새로운 제제물을 피부에 효율적으로 전달하는 문제점을 해결한다.

발명의 상세한 설명

[0054] 본 발명은 피부에 초음파를 적용하는 장치를 제시하는데, 상기 장치는 이격된 배열(spaced configuration)로 유연성 물질 내에서 어레이로서 정렬된 복수의 초음파 변환기 소자(ultrasound transducer element)를 포함하고, 이들 초음파 변환기 소자는 피부 부위에 저주파수 및/또는 고주파수로 초음파를 전달할 수 있다.

[0055] 본 발명의 이러한 측면에 따라, 초음파 어레이(ultrasound array)는 초음파를 제공하기 위하여 피부에 적용될 수 있는 마스크 또는 패치 내로 통합될 수 있다.

[0056] 적절하게는, 상기 마스크 또는 패치는 얼굴 표면의 적어도 일부분에 합치되는 형태가 된다. 따라서, 초음파 변환기 소자의 유연성 어레이는 원형 또는 임의의 다른 단순하거나 복잡한 형상, 구체적으로, 체형과 얼굴의 생김새, 특히, 얼굴과 목 부분에 일치하도록 최적화된 형상으로 형성될 수 있다. 상기 어레이는 3-4 cm 반경의 곡률

(curvature)로 굽어질 수 있을 만큼, 바람직하게는, 이중으로 구부러진 표면 및 단일하게 구부러진 표면을 둘러싸는 형태가 되도록 굽어질 수 있을 만큼 충분히 유연해야 한다.

- [0057] 본 발명에 따른 장치를 이용한 초음파의 적용이 본 발명의 조성물의 적용 이전에 전처리로서 이용되거나, 또는 본 발명의 조성물이 직접적으로 또는 상기 조성물이 포함된 물질, 예를 들면, 겔 패드(gel pad)와 같은 패드를 통하여 피부에 적용되고, 이후 초음파가 유연성 어레이를 통하여 전달될 수 있다. 유연성 초음파 어레이는 상기 조성물을 포함하고 초음파 에너지를 연결하는 얇은(2-3 mm) 1회용 겔 패드에 결합될 수 있다. 적절하게는, 유연성 어레이는 처리 기간 동안 피부에 직접적으로 또는 간접적으로(가령, 패드를 통하여) 고정될 수 있다.
- [0058] 적절하게는, 상기 어레이의 변환기 소자는 밀봉된다, 예를 들면, 수용성 제제에 부착되거나/결합되는 경우에도 전기적 성능을 수행할 수 있는 방수성 유연성 물질 내에 포함된다.
- [0059] 상기 장치에서, 유연성 물질은 초음파 파동을 전환시키거나 방산하는 물질 내에서 반사 발생을 저해하기 위하여 변환기 소자 중에서 하나 또는 둘 모두에 적어도 대략적으로 음향적으로 조화된다. 유연성 물질은 열가소성제, 열경화성제, 고무 또는 이들의 혼합물에서 선택되는 중합성 물질을 포함한다. 유연성의 음향적으로 조화된 물질은 통상적으로, 중합성 물질 및 선택적으로, 충전제(filler)로부터 형성된다. 중합성 물질은 변환기 소자의 컴포넌트와 우수한 양립성(compatibility), 생체적합성(biocompatibility), 유연성을 보유해야 한다. 적절한 중합성 물질에는 열가소성제, 예를 들면, 높은 밀도 폴리에틸렌, 폴리메틸 메타크릴레이트, 폴리프로필렌, 폴리부틸렌 테레프탈레이트, 폴리카보네이트, 폴리우레탄(가령, CA 118과 CA128(Morton Chemical)), 에스탄 폴리에스테르(estane polyester) 등; 열경화성제, 예를 들면, 에폭시(가령, Spurr 에폭시), Stycast 80, Stycast 1365-65 등; 고무, 예를 들면, 실리콘 고무(가령, dispersion 236(Dow Corning), RTV-141(Rhone-Poulenc, Inc) 등이 포함된다. 원하는 경우에, 중합성 물질의 음향 임피던스(acoustic impedance)는 한가지이상의 충전제의 통합으로 증가될 수 있다. 적절한 충전제에는 PZT, 텅스텐(tungsten), 알루미늄(alumina), 석영 유리(silica glass), 텅스텐 카바이드(tungsten carbide), 티타늄(titanium), 유리 분말(glass powder) 등이 포함되는데, 유리 분말이 선호된다. 충전제 입자의 크기는 대략 0.1 내지 50 마이크로미터, 바람직하게는 대략 0.5 내지 5 마이크로미터이다. 이용되는 충전제의 양은 원하는 음향 임피던스를 부여하는데 필요한 양이다. 통상적으로, 부피당 대략 2 내지 50%, 바람직하게는 부피당 대략 5 내지 30% 충전제가 이용된다. 선호되는 중합성 물질은 실리콘 고무이다.
- [0060] 전형적으로, 변환기 소자는 초음파 발생기(ultrasound generator)에 개별적으로 연결되고, 따라서 이들 초음파 변환기 소자는 저주파수와 고주파수 초음파를 동시에 또는 순차적으로 전달할 수 있다.
- [0061] 본 발명에 따른 장치는 고주파수와 저주파수 초음파를 각각 전달할 수 있는 일단의 고주파수 변환기 소자와 일단의 저주파수 변환기 소자를 보유하는 유연성 어레이를 포함한다. 고주파수와 저주파수 변환기는 교대로, 또는 일정한 패턴, 예를 들면, 2가지 유형의 변환기의 실질적으로 규칙적인 정렬로 배열된다. 다른 구체예에서, 고주파수와 저주파수 소자는 함께, 예를 들면, 특히 공동-축에서 서로의 정점 위에 설치된다. 이러한 측면에서, 변환기 소자는 단일 축을 따라서, 저주파수와 고주파수 초음파를 순차적으로 또는 동시에 전달할 수 있는 이중 주파수(dual frequency) 변환기 소자이다. 이중 주파수 변환기는 일정한 패턴, 예를 들면, 이중 주파수 변환기의 실질적으로 규칙적인 정렬로 배열된다. 이들 변환기는 원형, 또는 다른 규칙적이거나 불규칙한 형상이다. 적절하게는, 변환기 소자는 당분야에 공지된 변환기 물질, 예를 들면, 압전소자(piezoceramic), PVDF 및/또는 압전성 물질(piezoelectric material), 예를 들면, PZT 분말(Morgan Matroc Inc.), 세라믹(ceramic), 단일 결정성 강유전체(single crystal relaxer ferroelectric), 납 지르코네이트 티타네이트(lead zirconate titanate) $\text{Pb}(\text{Zr}, \text{Ti})\text{O}_3$, 납 메타니오베이트(lead metaniobate) $\text{Pb}(\text{Nb}, \text{Ti})\text{O}_3$, 변형된 납 티탄산염(lead titanate) PbTi_3 (가령, $(\text{Pb}, \text{Ca})\text{TiO}_3$ 과 $(\text{Pb}, \text{Sm})\text{TiO}_3$), 바륨 티탄산염(barium titanate) BaTiO_3 , PMN-PT(1-x) $\text{Pb}(\text{Mg}^{1/3}\text{Nb}^{2/3})\text{O}_3$ -x PbTiO_3 , PZN-PT/BTNb2/3) $0.3-x(\text{yPbTiO}_3-(1-y)\text{PbZrO}_3)\text{Pb}(\text{Zn}^{1/3}\text{Nb}^{2/3})\text{O}_3$ -x PbTiO_3 - BaTiO_3 , (1-x) $\text{Pb}(\text{Zn}^{1/3})$ 등을 포함한다.
- [0062] 본 발명에 따른 장치에서, 변환기 소자는 저주파수 컴포넌트를 펄스 모드(pulsed mode)로 전달하고 고주파수 컴포넌트를 연속 모드(continuous mode)로 전달하다, 또는 바람직하게는, 저주파수 초음파 컴포넌트를 연속 모드(continuous mode)로 전달하고 고주파수 초음파 컴포넌트를 펄스 모드(pulsed mode)로 전달할 수 있다. 펄스 방식은 가변적인 펄스 체제(pulsing regime), 예를 들면, 2ms 온(on), 8 ms 오프(off)(20% 펄스 폭(duty cycle))를 제공하기 위하여, 가변하도록 제어될 수 있다.
- [0063] 본 발명에 따른 장치에서, 이들 변환기 소자는 20 내지 500 kHz, 바람직하게는 ~50 kHz의 저주파수 초음파 및/또는 0.5 내지 3.5 MHz, 바람직하게는 ~1 MHz 내지 3 MHz의 고주파수 초음파를 전달할 수 있다. 저주파수 초음파 에너지의 공간 평균 동력 밀도(spatial average power density)는 20 내지 500 mW/cm²이다. 고주파수 초음파

에너지의 공간 평균 동력 밀도(spatial average power density)는 0.5 내지 3 W/cm²이다.

- [0064] 두 번째 측면에서, 본 발명은 고주파수 변환기 소자와 저주파수 변환기 소자를 포함하는 이중 주파수 변환기 소자를 제시하는데, 바람직하게는 이들 고주파수와 저주파수 변환기 소자는 공동-축의 방향으로 설치되고 기계적으로 및 전기적으로 연결된다. 바람직한 구체예에서, 고주파수 변환기 소자는 압전 세라믹(piezo ceramic) 물질을 포함하고, 저주파수 변환기 소자는 PVDF를 포함한다. 고주파수와 저주파수 변환기 소자는 선택적으로, 그들 사이에 위치하는 스페이서 소자(spacer element), 특히, 금속 스페이서 소자에 의해 서로 결합된다.
- [0065] 본 발명에 따른 장치는 본 명세서에 기술된 바와 같이 이중 주파수 변환기 소자의 어레이를 포함한다.
- [0066] 상기 초음파 어레이는 일정한 패턴에서 펄스 모드 또는 연속 모드로 고주파수 및/또는 저주파수 초음파를 원하는 순서로 전달하도록 계획하여, 피부의 과열(over-heating)을 유발할 수 있는 초음파에 피부의 과다 또는 과소 노출의 문제점을 피할 수 있다. 본 발명의 장치는 초음파 음장(ultrasound field)이 미리 설정된 패턴과 속도, 예를 들면, 2-3초간 어레이의 전체 너비(가령, 5-10 cm)를 가로질러 좌에서 우로, 이후 2-3초간 다시 뒤로, 다시 말하면, 4-6초간 사이클 시간(cycle time)으로 어레이를 가로질러 이동하거나, 또는 특히, 어레이가 원형 형상의 기하학적 체계를 보유하는 경우에, 어레이의 중심내외로 이동하도록 저주파수와 고주파수가 구동될 수 있도록 제어할 수 있다. 이러한 패턴은 동일한 처리 기간 내에서, 예로써 좌에서 우로, 이후 위아래로 변화될 수 있다. 이상적으로, 고주파수와 저주파수는 각 주파수가 가능한 균등하게 처리되는 영역을 커버하도록 적용된다. 적절하게는, 유연성 어레이는 초음파가 눈에 적용되지 않고, 또한 뼈(가령, 광대뼈 또는 눈의 안와)에 근접하여 위치하는 피부의 초음파에 대한 과다 노출 가능성이 최소화되도록 하기 위하여 변환기가 위치되고 제어되도록 배열된다. 이는 펄스 모드로 초음파의 적용 및 예로써, 미리-결정된 위상 어레이(phased array) 순서로 초음파를 전달함으로써 달성될 수 있다. 초음파를 적용하기 위한 마스크 또는 패치의 이용은 가정용으로 이용에 특히 적합하다.
- [0067] 상기 장치는 동력과 컨트롤 유닛(unit)을 포함할 수 있는데, 이는 손에 휴대될 수 있는 적절한 크기를 갖는다. 적절하게는, 상기 유닛은 방수/깨끗한 포장에 담겨 제공된다. 동력은 주공급장치(main supply) 없이 이용이 가능하도록 배터리, 예를 들면, 충전가능 배터리로부터 공급된다. 적절하게는, 상기 유닛은 원하는 처리를 위한 세팅(setting)을 사용자가 선택할 있도록 하는 컨트롤(control)이 제공되는데, 이들은 상이한 용도, 예를 들면, 노화 치료, 셀룰라이트 치료 또는 흉터 감소를 위한 세팅을 사용자가 선택할 수 있도록 하는 프리-셋 레벨(preset level)을 포함하고, 이들 다양한 세팅은 상이한 주파수 및 진폭/동력 세팅에 기초한다. 적절하게는, 상기 컨트롤 유닛은 과다-노출을 예방하기 위한 최대 시간 컷-아웃(cut-out), 예를 들면, 10분을 갖는다. 예로써, 치료의 일자 및/또는 기간을 기록하기 위하여 메모리 기능(memory function)이 제공될 수 있다.
- [0068] 특히 바람직한 구체예에서, 본 발명은 어레이(2)로서 정렬되고 유연성 물질(compliant material)(4), 바람직하게는, 실리콘 고무에 의해 서로 근접되게 유지되는 복수의 변환기 소자(15)를 포함하는 초음파 처리 시스템에 관계한다(도 1a, b, c).
- [0069] 각 소자(15)는 각 소자의 양극 전극이 인터페이스(9)에 기계적으로, 전기적으로 연결되도록 배치되는 2개의 컴포넌트, 고주파수 변환기 소자, 예를 들면, 압전 세라믹 디스크 소자(5) 및 저주파수 변환기 소자, 예를 들면, pvdf 소자(7)를 포함한다. PZT 소자(5)의 위쪽 표면(30)과 pvdf 소자(7)의 아래쪽 표면(31)은 서로 전기적으로 연결된다(도 1(d)). 각 소자(1)는 유연하게 설치된 플레이트(6) 상에서 근접 배치된 접촉(3)에 부착된 스프링 커넥터(spring connector)(8)를 통하여 도 3에 기술된 동력원에 개별적으로 연결된다. 이후, 변환기 어레이가 커넥터(11)를 통하여 초음파 발생기에 연결된다.
- [0070] 도 2a와 2b에서는 변환기 소자의 특정 형태를 도시하는데, 여기서 PZT 디스크(12)는 금속 소자(13)에 전도가 가능하게 부착되고, 상기 금속 소자는 금속 고리(metal ring)(23)와 절연 스페이서 고리(insulating spacer ring)(22)를 통하여 pvdf 물질(24)에 전도가 가능하게 부착된다. 공통 HT 커넥션(9)은 전도성 고리(conductive ring)(21)를 통하여 달성된다. 50 kHz와 1 MHz의 교대 구동 주파수(alternate drive frequency)는 시스템 도면 3A에서 개별 회로(circuit)에 의해, 또는 도 3B에서 DDS 칩을 통하여 발생된다. 따라서, 통합된 변환기는 50 kHz와 1 MHz 사인파 펄스(sine wave pulse)의 연속으로, 에너지가 택일적으로 공급된다. 활성화 신호의 길이와 비율은 프로세서 제어되거나, 또는 표적 조직의 확인된 특징과 관련된 센서 컨트롤(sensor control)로부터 유래된다.
- [0071] 도 2a에서, 소자(13)는 형태 맞춤된 초점 프로파일(shaped focussing profile), 예를 들면, 오목 프로파일(concave profile)로 아래쪽 표면을 만들고, 따라서 기하학적으로 유연한 pvdf 필름과 유사한 특성을 제공함으로써 초점

조정 장치(focussing device)로서 형성된다.

- [0072] 세 번째 측면에서, 본 발명은 한가지이상의 당화결합저해제(anti-glycation agent), 한가지이상의 항산화제, 피부학적으로 허용되는 부형제 및 선택적으로, 분자 샤페론(molecular chaperone)의 발현을 유도할 수 있는 한가지이상의 물질을 함유하는 조성물을 제시한다.
- [0073] 본 발명의 조성물은 특히, 일광 손상의 효과를 완화시킴으로써 미용적 피부 질환, 특히, 노화를 치료하여 노화 피부의 외형을 개선하는데 유효하다. 일반적으로, 각 당화결합저해제는 조성물의 대략 0.5 내지 5%, 바람직하게는 대략 1 내지 3% w/w로 존재한다.
- [0074] 적절하게는, 본 발명의 조성물의 일부 구체예에서, 당화결합저해제는 항산화 활성을 갖는다.
- [0075] 조성물 내로의 통합을 위한 적절한 당화결합저해제에는 히스티딘 보유 디펩티드, 알라닐-L-히스티딘(L-카르노신) 또는 이의 펩티도모방체, N-아세틸시스테인, 아미노구아니딘, d-페니실라민, 아세틸살리실산(아스피린), 파라세타몰, 인도메타신, 이부프로펜 및/또는 이들의 기능적 동족체(homolog), 유도제 또는 프로드러그 중에서 한가지이상이 포함된다.
- [0076] 히스티딘-포함 중성 디펩티드(dipeptide), 예를 들면, L-카르노신(β -알라닐-L-히스티딘, 또는 “카르노신”)은 상이한 산소-유래된 유리 라디칼 및 지질과산화(lipoperoxyl) 라디칼에 유효한 것으로 알려져 있다. 골격근 조직 내에서 높은 농도로 존재하는 카르노신은 배양된 인간 섬유아세포에서 노쇠(senescence)를 지연시키고 세포 회복(cellular rejuvenation)을 유인할 수 있다. 이런 단순한 분자가 이들 효과를 유도하는 기전은 널리 보고된 카르노신의 항-산화 활성과 산소 유리-라디칼 소거 활성에도 불구하고, 아직 밝혀지지 않고 있다. 카르노신은 예방 작용 이외에, 단백질 상에서 카르보닐 기와의 직접적인 상호작용으로 노쇠한 단백질의 불활성화/제거에 직접적으로 참여할 수도 있다. 이들 카르노시닐화된 단백질의 가능 운명은 불활성 리포푸신의 형성, 프로테아좀 시스템을 통한 단백질 분해, 수용체와의 상호작용이후 엑소사이토시스(exocytosis)이다.
- [0077] 카르노신은 제거를 위하여 당화결합된 단백질에 표지를 붙이는 것으로 생각된다. 단백질 전환은 열 변성(thermal denaturation)을 위하여 수화(hydration)에 의존하는데, 당화결합된 단백질은 그들이 명백하게 덜 분해되도록 하는 변성의 더욱 높은 엔탈피를 보유하는 것으로 알려져 있다. 당화결합된 단백질의 ‘카르노시닐화(carnosinylation)’는 이들 단백질의 수분 접근가능 표면을 증가시켜 열 변성 동안 수화와 풀림을 촉진하는 것으로 생각된다. 이러한 이론은 카르노시닐화되고 당화결합된 단백질에 대한 더욱 낮은 ΔH 와 ΔG 변성을 관찰함으로써 뒷받침되었다.
- [0078] 카르노신은 당화결합저해제로서 기능하고, 메틸글리옥살(methylglyoxal)(MG)과 AGE 카르복시메틸 리신(CML)에 의한 카르보닐 공격을 저해한다. 카르노신 자체는 다양한 당에 의해 용이하게 당화결합되어 비-돌연변이성 부가물을 형성하는 것으로 밝혀졌는데, 이의 보호 역할은 크리스탈린(crystallin), 슈퍼옥시드 디스무타아제(superoxide dismutase, SOD), 카탈라아제(catalase)의 당화결합을 예방하는 효과에 기인하였다. 카르노신은 당화결합저해제 아미노구아니딘(aminoguanidine)에 비하여 우수한 효능과 독성 프로필을 제공하는 것으로 밝혀졌기 때문에, 당화결합저해제로서 선호된다.
- [0079] 카르노신이 Mn^{+} 킬레이션(chelation)과 ROS 소거 특성을 나타내긴 하지만, 이들 단독으로는 카르노신이 노쇠한 섬유아세포를 회복시키는 효과를 충분히 설명할 수 없다. 한 연구에서는 이의 특성을 당화결합된/산화된 단백질과 다른 분자 상에서 카르보닐 기와 카르노신의 작용에 기인하는 것으로 추정하였다; ‘카르노시닐화’라고 하는 이런 반응은 정상적인 거대분자에 당산화(glycooxidation)된 단백질의 교차-결합을 저해한다; 또한, 카르노시닐화는 당산화된 폴리펩티드의 운명에도 영향을 줄 수 있다. 쥐 배아 섬유아세포에 관한 연구에서 L-카르노신은 5주 동안 영양적 손상(nutritional insult) 동안에도 세포 형태의 유지를 지속시키는 것으로 밝혀졌다. 또한, L-카르노신은 4주간의 연속 배양이후에 세포 내에서 8-하이드록시-디옥시구아노신(8-OH dG)의 형성을 현저하게 감소시킨다. 따라서, L-카르노신의 항-노쇠 효과는 아마도, 산화 스트레스(oxidative stress) 동안 세포내 8-OH dG의 형성 저해와 연관되는 것으로 추론될 수 있다. 카르노신은 또한, 배양된 인간 섬유아세포 수명을 연장시키고, 형질전환된 세포를 사멸시키고, 알데히드와 아밀로이드 펩티드 단편으로부터 세포를 보호하고, 시험관내에서 단백질 당화결합과 DNA/단백질 교차-결합을 저해한다. 섬유아세포는 카르노신의 존재에서 발육기 외형을 유지하고, 카르노신이 제거되면 노쇠한 표현형으로 되돌아간다.
- [0080] 항-당화결합과 항-산화 활성 이외에, 카르노신은 또한, 소염 작용을 갖는다. 염증 부위에서 변성된 단백질은 당화결합에 더욱 취약하기 때문에, 소염 효과는 당화결합의 저해를 강화시킨다.

- [0081] 카르노신은 수용성인데, 이는 카르노신이 세포막을 보호하는 기능을 하는 지용성 항산화제, 예를 들면, α -토코페롤에 수상 대응물임을 암시한다. 카르노신과 카르노신-관련된 화합물(CRC)(이미다졸, 히스티딘, 안세린(anserine)) 및 에르고티오네인(ergothioneine)은 단일항 산소 소거(singlet oxygen quenching)에서 동등하게 유효한 것으로 밝혀졌다. Fenton 반응에서 수소 과산화물(hydrogen peroxide)로부터 하이드록실 라디칼의 생성 동안, 카르노신은 검사된 CRC보다 더욱 효과적인 것으로 밝혀졌다. 하지만, 카르노신-관련된 화합물의 효능 순서는 인간 혈청 지단백의 산화를 측정하는 경우에 아세틸카르노신 < 아세틸안세린 < 호모카르노신 = 오피딘(ophidine) < 카르노신 < 안세린인 반면, 카르노신의 구성 아미노산, 히스티딘과 알라닌은 지질 또는 단백질 산화에 대한 저해 작용을 거의 또는 전혀 나타내지 않는다. 카르노신의 자연 수준은 노화됨에 따라, 슈퍼옥시드 디스무타아제(SOD) 시스템과 같은 다른 항산화 시스템의 활성화와 동시에 감소한다. 부가적으로, 카르노신 자체는 상기 효소를 불활성화시키는, Cu,Zn-SOD에서 단백질의 과산화 라디칼 단편화(peroxyl radical fragmentation)로부터 방어할 수 있다. 카르노신은 단일항 산소 소멸 활성화로 널리 알려져 있다.
- [0082] 카르노신은 Cu^{2+} 를 이량체로 복합시키는 것으로 밝혀졌는데, 이는 카르노신이 유리 라디칼 생성을 감소시키는 이유를 설명하는데, 그 이유는 단백질 내에서 AGE에 의해 공조 결합되어(카르노신의 이미다졸 고리는 AGE X-링크를 보유하는 다수의 상이한 이미다졸의 고리에 비교될 수 있다) *in situ*에서 하이드록실과 다른 반응성 산소 종 생성을 유발하는 Cu^{2+} 와 Fe^{2+} 의 가용 수준을 금속 복합화(metal complexing)가 감소시키기 때문이다. 카르노신은 또한, 철/아스코르브산염 유도된 인지질 산화(phospholipid oxidation)를 간접한다.
- [0083] 카르노신은 내피와 무관한 용량-의존성 혈관 이완(vasodilation)을 유도한다. 흥미롭게도, 동일한 연구에서, 카르노신의 구성 아미노산에서 L-히스티딘은 어떤 효과도 나타내지 않고 알라닌은 용량 의존성 혈관 수축(vasoconstriction)을 유도하는 것으로 밝혀졌다.
- [0084] 카르노신은 생리학적으로, 구성 아미노산: 히스티딘과 β -알라닌으로 가수분해된다. β -알라닌은 콜라겐 합성의 촉진에 관여하는 것으로 생각된다. 히스티딘은 소염 특성, 단일항 산소를 소거하고 능력, 철과 다른 금속 이온을 수반하는 산화 환원 반응을 간접하는 능력으로 알려져 있다.
- [0085] 카르노신은 완전한 소화관 영양처방(enteral formula)의 일부로서 제공되는 경우에 상처 치유 속도를 개선하는 것으로 밝혀지긴 했지만, 현재까지, 상처 치유 제조물에서 국소적인 이용이 보고되지 않았다.
- [0086] 카르노신 프로드러그 N-아세틸-L-카르노신(NAC)과 같은 CRC는 가수분해가 진행되어 *in situ*에서 카르노신을 산출한다. NAC는 백내장과 녹내장(glaucoma)과 같은 안구 질환에서 산성 스트레스를 치료하는 것으로 밝혀졌다.
- [0087] 다른 카르노신 동족체(homolog)에는 호모카르노신과 안세린이 포함되는데, 이들은 Cu,Zn-SOD를 불활성화로부터 보호하고 Cu^{2+} 의 방출을 예방한다. 많은 카르노신 동족체는 효소 카르노신 합성효소에 의해 생산된다.
- [0088] 본 발명에 따른 조성물에 통합될 수 있는 카르노신의 기능적 동족체, 유도체, 프로드러그에는 β -알라닐히스타민(카르시닌), N-아세틸- β -알라닐히스타민(N-아세틸 카르시닌), L-프롤릴 히스타민 및/또는 n-아세틸-L-카르노신 중에서 한가지이상이 포함된다.
- [0089] L-카르노신의 탈카르복실화(decarboxylation)는 가수분해 효소에 증가된 내성을 갖는 유도체를 제공한다. 카르노신 펩티도방체(기능적 동족체)는 공지되어 있는데, 이들은 자연 카르노신 펩티드와 유사하거나 이보다 더욱 우수한 유리 라디칼 소거 특성과 지질 과산화물(lipid hydroperoxide) 불활성화 특성을 갖는다.
- [0090] 2가지 카르노신 펩티도방체(기능적 동족체), N-아세틸- β -알라닐히스타민과 L-프롤릴히스타민은 단백질의 지질 과산화물-매개된 교차-결합의 매우 효과적인 저해물질이다. 생체내에서, N-아세틸- β -알라닐히스타민은 UV-유도된 분해로부터 피부 효소를 보호하는 것으로 알려져 있다.
- [0091] 적절하게는, 본 발명에 따른 조성물은 아르기닌, 아스코르브산, 아스코르브산의 프로드러그 또는 유도체, 아스코르빌 팔미테이트, 마그네슘 아스코르빌 포스페이트, 3나트륨 아스코르빌 포스페이트, 안세린, 카르노신, 오피딘, 호모카르노신 및/또는 아세틸안세린에서 선택되는 한가지이상의 항산화제를 함유한다. 일반적으로, 각 항산화제는 조성물의 대략 0.5 내지 5%, 바람직하게는, 대략 1 내지 3% w/w로 존재한다.
- [0092] 아르기닌은 강력한 항산화제 및 메일라드(Maillard) 유형 단백질 교차-결합 반응에 대한 매우 효과적인 희생적 표적이다. 아르기닌과 리신 모두 당화결합의 효과적인 저해물질인 것으로 알려져 있긴 하지만, 아르기닌이 특히 자체적으로 AGE를 형성한다. 진피-표피 접합부위(DEJ)에 인접한 모세혈관 고리(capillary loop)의 충수와 직경은 노화됨에 따라 감소하는 것으로 밝혀졌다. 결과적으로, 영양분의 공급 및 물질대사와 다른 세포 과정으로부터

터 부산물의 제거가 손상된다. L-아르기닌은 *in situ*에서 산화질소(NO)의 효소-촉매된 형성으로 인하여 혈관확장제(vasodilator)로서 기능한다. L-아르기닌으로부터 산화질소(NO)의 형성은 현재, 심혈관계, 중추 신경계, 말초 신경계의 조절 및 다른 항상성 기전(homeostatic mechanism)과 관련된 산재성 생화학 경로로서 인정되고 있다.

[0093] 아스코르브산(비타민 C, AA)은 여러 생리 기능에 관여하는 필수 영양분이다. 이는 용이하계(그림에도, 가역적으로) 2가지 연속 1-원자 산화 과정이 진행되어 상대적으로 비반응성의 유리 라디칼인 아스코르브산염 라디칼을 형성하기 때문에, 우수한 환원제로 간주된다. 살아있는 생물체에서, 아스코르브산은 유리 라디칼과 반응성 산소-유래된 종에 의한 산화 손상(oxidative damage)으로부터 조직과 세포를 보호할 수 있다. AA는 X-레이 방사선을 비롯한 수정체 단백질에 대한 연구에서 강한 UVA 보호 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다.

[0094] 불행하게도, 일부 상황에서, 용해 상태의 아스코르브산은 산화가 진행되어 디하이드로-L-아스코르브산 및 다수의 분해 산물을 생산할 수 있는데, 이는 아스코르브산을 함유하는 조성물의 갈색화(browning)를 유발한다. 아스코르브산 분해는 여러 인자, 예를 들면, 높은 보관 온도, 광, 높은 pH 수치 및 아스코르브산과 산소 분자의 반응 기전이 아직 완전히 밝혀지지 않은 않지만 용존 산소의 존재에 의해 가속화될 수 있다. 게다가, 아스코르브산과 산소의 반응은 금속 이온, 특히, 구리와 철 이온에 의해 강하게 촉매된다. 분해를 피하기 위하여, 조성물의 아스코르브산 성분은 독립적으로 제공되고 사용 직전에 조성물의 다른 성분에 혼합될 수 있다. 아스코르브산의 안정적인 프로드러그 또는 유도체는 아스코르브산에 대한 대체물로서, 또는 부가물로서 조성물 내에 포함될 수 있다.

[0095] 아스코르빌 팔미테이트(ascorbyl palmitate)는 피부 관리 제품에 폭넓게 이용되는 비타민 C의 지용성 유도체이다. 이는 무-자극성이고 아스코르브산보다 안정하다. 더 나아가, 아스코르빌 팔미테이트는 지용성 항산화제이고, 지질 과산화(피부에서 유리 라디칼 손상의 핵심 유형)로부터 피부를 보호하는데 있어 적어도 비타민 E 만큼 유효하다.

[0096] 마그네슘 아스코르빌 포스페이트는 비타민 C의 수용성 유도체이다. 이는 무-자극성이고 비타민 C 보다 안정하다. 가장 중요하게는, 마그네슘 아스코르빌 포스페이트는 피부 콜라겐 합성을 증가시키는데 있어 비타민 C와 동등한 잠재력을 갖지만 현저하게 낮은 농도에서 유효하다. 대부분의 비타민 C 제조물이 고도로 산성이며 박리(exfoliation)를 유도하기 때문에, 마그네슘 아스코르빌 포스페이트는 조성물, 특히, 민감한 피부를 갖는 개체와 박리 효과를 피하기 원하는 개체를 위한 조성물에 사용하기 적합한 아스코르브산 유도체이다.

[0097] 3나트륨 아스코르빌 포스페이트(Stay-C 50)는 아스코르브산의 모노포스페이트 에스테르(monophosphate ester)의 나트륨 염이다. 이는 수용액 내에서 아스코르브산보다 안정한 프로-비타민(pro-vitamin)이다. 피부 내에서 포스파타제(phosphatase)는 3나트륨 아스코르빌 포스페이트에 작용하여 아스코르브산을 방출시킨다.

[0098] 본 발명에 따른 조성물은 분자 샤페론의 발현을 유도할 수 있는 한가지이상의 물질을 함유하는데, 열 쇼크 단백질(heat shock protein), 클루스테린(clusterin) 및/또는 알파 크리스탈린(alpha crystallin)의 발현을 유도할 수 있는 물질이 특히 유용하다. 분자 샤페론의 발현을 유도할 수 있는 한가지이상의 물질은 아세틸 살리실산, 살리실산, 아연 이온, 아연 염, 아연 황산염 및/또는 아연-L-카르노신일 수 있다. 일반적으로, 아연 포함 약품은 조성물의 대략 0.1 내지 1%, 바람직하게는 대략 0.25 내지 0.75%, 가장 바람직하게는 대략 0.5% w/w로 존재한다. 아세틸 살리실산 또는 살리실산이 조성물 내에 존재하는 경우에 적합한 농도는 조성물의 대략 0.5 내지 2.5%, 바람직하게는 대략 1 내지 1.5% w/w이다.

[0099] 적절하게는, 본 발명에 따른 조성물은 니코티노아마이드, L-카르니틴, 아세틸-L-카르니틴, N-아세틸-시스테인 및/또는 L-카르노신에서 선택되는 한가지이상의 항-아포토시스 물질을 추가로 함유한다. 일반적으로, 항-아포토시스 물질은 조성물의 대략 0.5 내지 5%, 바람직하게는 대략 1 내지 3%의 농도로 존재한다.

[0100] 네 번째 측면에서, 본 발명은 분자 샤페론의 발현을 유도할 수 있는 한가지이상의 물질 및 피부학적으로 허용되는 부형제를 함유하는 조성물을 제시한다.

[0101] 본 발명에 따른 조성물은 한가지이상의 비타민, 한가지이상의 소형 펩티드 및/또는 이들의 한가지이상의 아미노산, 또는 유도체 또는 프로드러그에서 선택되는 한가지이상의 성분을 추가로 함유한다.

[0102] 본 발명의 조성물에 통합되는 비타민에는 비타민 B 화합물, 예를 들면, 티아민 피로포스페이트(가령, 벤포티아민(benfotiamine))와 같은 티아민(비타민 B1); 피리독사민(pyridoxamine)(비타민 B6), 비타민 A 및/또는 E, 또는 이들의 유도체 또는 프로드러그가 포함된다.

- [0103] 피리독사민(B6)은 AGE와 지질과산화(lipoxidation) 산물 형성을 효과적으로 저해하고, 특히 자체적으로 메틸글리옥살-피리독사민(methylglyoxal-pyridoxamine) 이량체를 형성함으로써 메틸글리옥살-리신(methylglyoxal-lysine) 이량체의 형성을 차단한다. 피리독사민(B6)과 티아민 피로포스페이트(B1)는 둘 모두 AGE 형성의 효과적인 포스트-아마도리(post-Amadori) 저해물질인 것으로 밝혀졌는데, B6은 AGE 형성 속도와 최종 AGE 수준에서 상당한 감소를 결과하고, B1은 최종 AGE 수준에서만 상당한 감소를 결과한다. 양쪽 화합물은 AGE 형성의 포스트-아마도리(post-Amadori) 저해에서 아미노구아니딘보다 훨씬 높은 효능을 나타낸다. 벤포티아민(티아민의 지용성 프로드러그)과 같은 티아민 유도체는 혈관 당뇨 합병증의 치료에서 세포내 당화결합의 저해에서 강력한 치료제로서 확인되었고, 이미다졸론(imidazolone)-유형 AGE 축적을 저해하는 것으로 밝혀졌다.
- [0104] 본 발명의 조성물은 가급적, 디펩티드(dipeptide), 트리펩티드(tripeptide) 및/또는 테트라펩티드(tetrapeptide)로서 한가지이상의 소형 펩티드, 및/또는 한가지이상의 아미노산, 예를 들면, 프롤린(proline), 리신(lysine), 히스티딘(histidine), 알라닌(alanine), 또는 이들의 유도체 또는 프로드러그를 함유한다.
- [0105] 본 발명에 따른 조성물은 한가지이상의 다당류를 추가로 함유하는데, 상기 다당류는 한가지이상의 프로테오글리칸(proteoglycan), 예를 들면, 글리코사미노글리칸(glycosaminoglycan)이다.
- [0106] 이용되는 한가지이상의 글리코사미노글리칸은 저분자량 및/또는 고분자량 히알루로난(hyaluronan), 콘드로이친 황산염(chondroitin sulfate), 데르마탄 황산염(dermatan sulphate), 및/또는 이들의 한가지이상의 유도체일 수 있다.
- [0107] 기질 단백질을 탈당화결합(deglycation)시키고 진피의 혈관 기능을 증가시키는 필요 이외에, 본 발명에 따른 조성물의 중요한 효과는 프로테오글리칸 함량과 분포의 재확립이다. 프로테오글리칸(PG)은 수화에 기인한 피부의 '부드러운' 팽창(turgidity)을 제공하는데 중요하고, 또한 성장 인자와 다른 사이토킨에 대한 세포내 저장소(depot)로서 중요하다. PG는 진피 섬유아세포에 의해 합성되고 염기성 섬유아세포 성장 인자(basic fibroblast growth factor, b-FGF)와 같은 성장 인자와 밀접한 상관관계를 갖는다. 콜라겐의 N-말단 결합 도메인은 당화결합에 의해 영향을 받고, 결과적으로, 진피 내에서 PG의 양과 위치가 AGE 축적에 의해 영향을 받는다. 가령, 헤파란 설페이트 프로테오글리칸(heparan sulfate proteoglycan, HSPG)은 FGF-2와의 상호작용을 통하여 세포 증식을 촉진한다.
- [0108] 일부 GAG, 특히, 히알루론산(hyaluronic acid)은 노화 피부에서 점진적으로 감소하는 것으로 밝혀졌다. 뮤코다당류(mucopolysaccharide)가 피부의 건조 중량(dry weight)의 0.1-0.3%를 구성하지만, 이의 감소는 피부 긴장도(skin turgor)에 영향을 주는 것으로 이해될 수 있는데, 그 이유는 상기 분자가 분자 자체 부피의 최대 1000 배까지 진피 내에서 수분에 결합하기 때문이다. 부가적으로, 이들 물질은 일부 경우에 연결 조직 세포의 이동, 성장, 분화에 영향을 주는 것으로 알려져 있다.
- [0109] 히알루론산 또는 히알루로난("HA")은 대부분의 동물 조직 내에서 세포를 둘러싸는 주요 구성원인 장쇄 다당류이다. HA는 세포 막 상에서 특정 수용체에 유인되고 부착되는데, 이들 수용체는 손상과 질병 부위에서 숫자가 증가하고 체내에서 피부 상에 상당한 양으로 존재한다. 이는 약제가 이를 필요로 하는 부위로 표적되고 상기 부위에 유지될 수 있음을 의미한다. 안정성 프로필, 약제를 운반하는 능력, 잠재적 표적 특성으로 인하여, HA는 국소 약제 전달을 위한 우수한 운반체(vehicle)이다. 약제는 HA에 공유 부착되거나, 또는 HA 유도체의 X-연결된 네트워크 내에 포함될 수 있다.
- [0110] 히알루로난은 면역학적 반응 또는 임의의 다른 부작용 없이, 수십년동안 미용, 점탄성수술(viscosurgery), 점탄성보충(viscosupplementation)에 이용되고 있다. 이는 피부와 연골과 같은 연결 조직(connective tissue), 눈의 유리체(vitreous body), 활막액(synovial fluid)에서 높은 농도로 존재한다. 대부분의 경우에, 이는 세포와 단백질에 결합되지만, 일부 HA는 간질액(interstitial fluid) 내에 존재한다. HA는 글루쿠론산(glucuronic acid)과 N-아세틸글루코사민(N-acetylglucosamine)의 교대 단위(alternating unit)로 구성되는 다당류이다. 존재하는 카르복실기는 피부의 pH(일반적으로, 대략 pH 4.5 내지 5.5)에서 거의 이온화되고, 따라서 고도 친수성이다. 수분 결합 특성과 중합성 분자 크기로 인하여, HA는 표면 유지(surface retention)를 위한 잠재력을 보유하고 치료제의 저장소로서 기능하는 점탄성 겔(viscoelastic gel)을 형성한다. 친수성 특성에도 불구하고, HA는 정상 진피에 침투하여 공지된 물질대사 경로에 의한 제거 이전에 진피 내에서 세포의 축적될 수 있다.
- [0111] 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 조성물은 저분자량과 고분자량 히알루로난 및/또는 이의 한가지이상의 유도체를 함유한다. 저분자량 히알루로난은 특징적으로, 1×10^6 Da 이하의 분자량을 갖고, 고분자량 히알루로난

은 일반적으로, 1×10^6 Da 이상의 분자량을 갖는다.

- [0112] HA는 피부의 표면에 적용되는 경우에 점탄성의 부드럽고 매끄러운 필름을 형성하고, 따라서 외부 적용된 HA는 피부에 유익한 효과를 나타낼 뿐만 아니라 조성물의 점성(viscosity)을 강화시켜 피부에 적용 시에 조성물이 겔-유사 층 내에서 피부와 접촉 상태로 존속하도록 하는데 이용될 수 있다. 이는 초음파가 본 발명에 따른 조성물로 치료된 피부에 적용되는 경우에 특히 유익하다.
- [0113] HA 분자는 아세트아미도(acetamido), 환원 말단기(reducing end group), 가장 일반적으로 하이드록시 기와 카르복실산염 기의 변형에 의해 유도될 수 있다. 글리코시드 결합(glycosidic bond) 역시 용이하게 가수분해되어 더욱 짧은 사슬이나 올리고당(oligosaccharide)이 생성될 수 있다. HA-약제 부가물은 통제된 전달 목적으로 합성되고, HA-단백질 부가물은 생체적합물질(biomaterial)과 세포 기질(cell substrate)로서 합성된다.
- [0114] HA는 생리 pH에서 Na-HA로서 존재한다. 이는 면역원성이 완전히 부재하기 때문에, 생체적합물질과 약제 전달 시스템을 위한 이상적인 빌딩 블록(building block)이 된다. HA는 기저막(basement membrane) 주변에 약제 저장소의 형성으로 피부를 통한 약제의 통제되고 지속적인 방출을 달성한다. NaCMC(중량이나 유동학적 등가 농도에 서) 또는 콘드로이친 황산염(중량 등가 농도(weight equivalent concentration)) 둘 모두 전층 피부(full thickness skin) 내에서 히알루로난 형성에서 관찰되는 서방(controlled release) 효과를 나타내지 않기 때문에, HA는 본 발명의 목적에서 특히 선호되는 글리코사미노글리칸(glycosaminoglycan)이다. HA에 의한 경피 흡수의 강화는 피부를 수화시켜 촉촉한 세포/지질 층을 교란시키는 HA의 능력에 부분적으로 기인하는 것으로 생각된다. HA는 높은 수분 결합 능력으로 인하여, 이런 측면에서 다른 GAG 보다 우수하다.
- [0115] HA의 4당류(tetrasaccharide)는 스트레스 상태에서 HSP72 발현을 상향조절하고 세포 사멸(cell death)을 억제 함으로써 항-아포토시스 효과(anti-apoptotic effect)를 나타내는 것으로 밝혀졌다. 고분자량 HA 다당류는 일반적으로, 항-혈관생성 활성, 소염 활성, 면역억제 활성을 갖는 공간 채움 분자(space filling molecule)이다. 더욱 낮은 분자량 단편(6-20 kDa)은 혈관생성, 염증, 면역촉진 활성을 나타낸다.
- [0116] HA는 유리-라디칼 기전을 통하여 메일라드(Maillard) 반응 산물(글루코오스-리신)에 의해 탈중합화(depolymerization)되는 것으로 밝혀졌다. 하이드록시 라디칼은 HA를 탈중합화시키고 관절염에서 염증 및 활막 액의 파괴와 연관하였다. 고분자량 HA(저분자량 HA 제외)와 HA 유도체, 예를 들면, BEHA는 진피 섬유아세포의 이동과 증식 특성을 손상시켜 염증을 연장시키고 상처 치유를 지연시키는 반응성 산소 종(ROS), 예를 들면, $O_2^{\cdot-}$ 와 OH를 소거하는 항산화제로서 기능한다.
- [0117] 히알루로난은 프로테오글리칸 합성을 증가시키고, 메탈로프로테이나아제-1의 조직 저해물질을 촉진하고, 콜라겐 재편성(collagen remodelling)을 촉진하고, 세포 이동을 강화시키고, 형질전환 성장 인자- β 의 발현을 상향 조절함으로써 상처 치유를 촉진하는 능력을 보유한다.
- [0118] 저분자량 HA(~ 300 kDa)는 Sigma, Poole, Dorset으로부터 구입가능하다(소 유리질(vitreous humor)로부터 분리됨). 고분자량 HA는 ConvaTec, Flintshire, UK로부터 구입가능하다(인간 제대(umbilical cord)로부터 분리됨). 상업적으로 구입가능한 HA 제조물은 표 1a, 1b, 1c에 제공된다.

표 1a

- [0119] 골관절염(osteoarthritis)의 임상적 치료에 이용되는 NaHA의 실례

상표명	NaHA*의 분자량	제조업체
Artz	600,000-1,200,000	Seikagaku(Japan)
Hyalgan	500,000-730,000	Fidia(Italy)
Synvisc	가볍게 교차-결합된 HA	Biomatrix(USA)

표 1b

[0120] 안과 수술(ophthalmologic surgery)에 이용되는 NaHA의 실례

상표명	NaHA*의 분자량	제조업체
Opegan	600,000-1,200,000	Seikagaku(Japan)
OpeganHi	1,900,000-3,900,000	Seikagaku(Japan)
Healon	1,900,000-3,900,000	Pharmacia-Upjohn(Sweden)
Opelead	1,530,000-2,130,000	Shiseido(Japan)

[0121] * 활성 성분의 분자량

[0122] 다른 HA에는 의료용으로 Healon 및 수의용으로 Hylartil의 상표명으로 시판되는 NIF-NaHA이 포함된다; Biomatrix Inc.에 의해 개발된 Hylan A(점탄성 액체(elastoviscous fluid))와 Hylan B(점탄성 겔(viscoelastic gel)).

표 1c

상표명 (제조업체)	일반명	분자량 ($\times 10^6$ Da)	탄성 (%)@3Hz	복합 점도 (Pa s @ 0.02Hz)	다당류 농도 (mg/ml)
Hyalgan (Fidia)	히알루로난	0.5-0.65	26	<0.1	10
Artz (Seikagaku)	히알루로난	0.75	33	0.3	10
Orthovisc (Anika)	히알루로난	1.5	66	42	15
Synvisc (Biomatrix)	힐란	6	88	213	8
SkyePharma (Solareze diclofenac gel)		0.6			

[0124] 본 발명에 따른 조성물에 이용하기 적합한 피부학적으로 허용되는 부형제는 물, 물/에탄올 혼합물(가령, 조성물 내에서 최대 25%, 바람직하게는 최대 20%; %w/w), 점착성 겔이나 에멀전, 수용성 겔, 하이드로겔, 크림이나 바르는 약 형태의 물-기초된 에멀전, 크림이나 바르는 약 형태의 수중유 에멀전, 또는 젤리이다.

[0125] 일반적으로, 초음파 처리와 공동으로 적용되는 조성물(상기 조성물은 초음파 처리 이전에, 초음파 처리 동안, 또는 초음파 전처리 이후에 적용된다)은 점착성을 보유하고, 따라서 상기 조성물의 한 층은 피부 상에 펼쳐질 수 있고, 예로써 티슈 또는 탈지면(cotton wool)으로 닦아내거나, 또는 씻어냄으로써 상기 조성물이 제거될 때까지 피부 상에 존속한다.

[0126] 본 발명에 따른 조성물은 필름-형성(film-forming) 성분을 추가로 함유한다. 일광차단제(sun block), 습윤제(humectant), 색소, 파운데이션(foundation)이나 컨실러(concealer) 색소, 페이크 탠(fake tan) 색소 또는 조성물에서 선택되는 한가지이상의 성분이 본 발명에 따른 조성물에 추가로 포함될 수 있다.

[0127] 본 발명에 따른 조성물은 가급적, 피부의 pH에 근접하는 pH, 예를 들면, pH 4 내지 pH 6, 또는 pH 4.5 내지 pH 5.5를 갖는다.

[0128] 본 발명의 다섯 번째 측면에서, 본 발명에 따른 조성물을 피부에 적용하는 단계를 포함하는 것을 피부 치료 방법을 제시한다.

[0129] 적절하게는, 상기 방법은 미용적 피부 질환의 미용적 치료 방법이다. 하지만, 본 발명에는 의학적 피부 질환의 치료가 포함되는데, 이런 경우에 상기 방법은 의학적 치료 방법이다.

- [0130] 피부 치료 방법에는 조성물이 적용된 피부 부위에, 또는 조성물이 적용되는 피부 부위에 전-처리로서, 초음파를 직접적으로 또는 간접적으로 적용하는 단계가 추가로 포함된다.
- [0131] 본 발명의 바람직한 방법에서, 초음파의 적용은 조성물이 적용된 또는 적용되는 피부 부위에 직접적으로 또는 간접적으로, 저주파수 및/또는 고주파수에서 수행된다.
- [0132] 저주파수와 고주파수 초음파는 동시에, 순차적으로 또는 개별적으로, 예를 들면, 저주파수와 고주파수의 여러 번 교대되는 단일 적용으로서 순차적으로, 또는 일련의 저주파수 적용이 일련의 고주파수 적용과 교대되는 방식으로 개별적으로 적용될 수 있다. 저주파수 초음파는 피부에 분자의 전달(소노포레시스, sonophoresis)을 조정하는데 유용한 것으로 생각된다. 고주파수 초음파는 저주파수 초음파보다 소노포레시스 효과가 덜하지만, 이는 열적, 기계적 자극을 통하여 섬유아세포 증식을 촉진하고, 콜라겐과 다른 세포외 기질(ECM) 성분 형성(가령, 피브릴린)을 촉진하고, 혈액 공급을 촉진하고, 노화됨에 따라 굳어지는 ECM의 탄력성을 회복하고, 섬유아세포(진피)와 각질세포(표피)에서 열 쇼크 단백질(HSP - 세포내 분자 샤페론)의 발현을 촉진한다는 점에서 피부에 유익한 여러 다른 효과를 나타낸다.
- [0133] 바람직한 방법에서, 저주파수와 고주파수 초음파는 동시에 적용된다.
- [0134] 적절하게는, 저주파수와 고주파수 초음파의 적용을 수반하는 본 발명의 방법에서, 초음파의 저주파수 컴포넌트는 연속 모드로 적용되고, 고주파수 컴포넌트는 펄스 모드로 적용된다.
- [0135] “초음파”는 20 KHz 이상의 음향 주파수(sound frequency)를 의미하는데, 저주파수 초음파는 20 내지 500 KHz이고, 저주파수 초음파 에너지의 공간 평균 동력 밀도(spatial average power density)는 20 내지 500 mW/cm²이다; 고주파수 초음파는 500 KHz(0.5 MHz) 내지 3.5 MHz이고, 고주파수 초음파 에너지의 공간 평균 동력 밀도는 0.5 내지 3 W/cm²이다.
- [0136] 본 발명의 방법에서, 일반적으로, 빔(beam)은 집중되지 않고 발산한다. 피부 온도에서 표적 상승은 최대 42 또는 43°C이지만, 바람직하게는 이보다 높지 않다. 피부의 단일 부위는 최소 5분, 바람직하게는 10분, 또는 5 내지 12분 사이의 시간 동안 쪼인다.
- [0137] 본 발명의 방법에서, 초음파는 본 발명에 따른 조성물의 피부에 적용을 위하여 선택적으로 개조된 휴대용 애플리케이터(hand-held applicator)를 이용하여 적용될 수 있다. 가령, 카트리지/분배기가 초음파 헤드(ultrasound head)에 부착될 수 있는데, 제제는 상기 헤드가 피부 표면 주변으로 이동함에 따라 점진적으로 방출되고, 상기 카트리는 미리 정해진 양의 제제를 포함한다. 상이한 제제를 포함하는 서로 다른 카트리가 치료되는 피부 질환에 따라 부착될 수 있다, 예를 들면, 서로 다른 카트리는 항-노화 치료 및 흉터, 살튼 피부 또는 셀룰라이트의 치료를 위한 상이한 조성물을 포함한다. 초음파는 원형이나 선형으로 쓰다듬는 움직임으로 피부에 초음파 애플리케이터를 부드럽게 마사지함으로써 적용된다.
- [0138] 초음파는 본 발명의 조성물의 적용에 앞서, 전처리로서 적용될 수 있다. 대안으로 또는 부가적으로, 본 발명의 조성물의 층, 또는 상기 조성물이 주입된 물질이 초음파의 적용 동안 또는 적용에 앞서 피부에 적용될 수 있다. 애플리케이터를 이용하는 경우에, 애플리케이터는 과열을 유발할 수 있는 초음파에 대한 과다-노출이 피부 부위에서 발생하지 않도록 피부를 교차하여 이동된다. 마사지 작업에 의해 제공되는 초음파와 기계적 자극의 조합은 피부를 자극하는데 도움을 주어 재생과 회복을 조장한다.
- [0139] 초음파는 치료되는 부위의 초음파 전해조(ultrasound bath) 내에 담금(immersion)으로써, 예를 들면, 본 발명의 조성물에 피부를 그대로 담금으로써, 또는 피부를 상기 조성물로 덮고, 치료되는 부분을 감싸고, 초음파 에너지를 전달할 수 있는 액체 내에 담금으로써 적용될 수 있다.
- [0140] 상기한 바와 같이, 피부에 초음파의 적용 장치는 이격된 배열(spaced configuration)로 유연성 물질 내에서 어레이로서 정렬된 복수의 초음파 변환기 소자(ultrasound transducer element)를 포함하고, 이들 초음파 변환기 소자는 피부 부위에 저주파수 및/또는 고주파수로 초음파를 전달할 수 있다.
- [0141] 이들 방법을 이용한 피부 치료는 미용 클리닉, 또는 병원 클리닉 또는 외과 수술과 같은 의료 클리닉에서 수행될 수 있다.
- [0142] 직경 2 내지 3 cm 피부의 원형 부위는 최소 5분, 바람직하게는 10분, 또는 5 내지 12분 사이의 시간 동안 초음파에 쪼인다.
- [0143] 미용 클리닉, 또는 병원 클리닉 또는 외과 수술과 같은 의료 클리닉에서 피부 치료가 수행되는 경우에, 본 발명

의 방법에 이용하기 적합한 초음파 장치는 본 명세서에 기술된 마스크 또는 패치 내로 통합된 초음파 어레이; 또는 저주파수와 고주파수 출력(output)을 발생시킬 수 있고 출력 주파수와 에너지의 조합을 제공하도록 설계된 핸드셋(handset)을 보유하는 장치, 예를 들면, Duo SonTM 유닛(Orthosonics, Devon UK)이다. Duo SonTM 유닛은 현재의 명세(표 2에 기술됨)에서, 또는 활성물질 전달 및 세포/단백질 자극을 강화시키기 위한 주파수, 와트량(wattage), 펄스 폭(duty cycle) 파라미터의 최적화에 의해 약간 변경된 명세에서 이용될 수 있다. 이들 조정은 상기 유닛의 유럽 공동체 마크(CE marking)에 대한 가이드라인 내에서 이루어진다.

[0144] 초음파의 효능(US), 또는 피부에 분자 전달을 위한 소노포레시스는 피부에 대한 초음파 작용의 2가지 측면에 기인한다. 먼저, 각질층을 통과하는 채널을 기계적으로 발생시키는 기포 형성과 붕괴를 유발하는 빠르게 진동하는 압력장(pressure field)으로부터 공동(cavitation)이 형성된다. 두 번째 효과는 반사, 흡수, 분산을 통한 음향 에너지의 감소에 기인한, 음파가 이동하는 물질의 실제의 직접적인 가열이다. 이는 이질성(heterogeneity)으로 인하여 다른 조직에서보다 피부에서 최대 4배까지 발생한다. 가열은 각질층 내에서 지질 이중층 시스템을 교란시키고, 또한 표피의 강화된 투과성에 기여하는 것으로 알려져 있다.

표 2

[0145]

동력 공급		
입력	90V 260V ac(50/60Hz)	
출력	24V, 1.25A dc	
배터리 수명	모드 선택에 따라 15분 내지 2시간	
기타		
모드	LF 단독, LF+HF(펄스)	
중량	2kg	
치수	200 x250 x70 mm (w x d x h)	
종류	BF	
디스플레이	액정 디스플레이	
표준	IEC 61689(96)	
	저주파수 45kHz	고주파수 1MHz
효과적인 빔 발산 부위	16.3cm ²	0.38cm ²
빔 비-균일성 비율	<6	<6
빔 유형	발산	발산
동력 설정	0.15W, 0.4W, 0.75W	0.07W, 0.14W
최대 강도	100 mW/cm ²	1 W/cm ² (평균적으로 420 mW/cm ² 펄스)
작동 방식	연속	20% 펄스 폭

[0146] 근본적으로, 피부의 투과성(permeability)은 가열 및/또는 기계적 스트레스의 조합 및 다공도(porosity)에서 증가를 통한 세포내 지질의 파괴에 의해 증가한다. 50℃(20 kHz, 10-30 W/cm²)까지 온도 상승이 보고되긴 했지만, 11℃(1 MHz, 2 W/cm²) 정도의 상승으로도 피부 손상이 발생하는 것으로 밝혀졌다. 1 W/cm²의 강도에서 연속 모드 초음파는 10분 이내에 3cm 깊이에서 조직의 온도를 40℃로 상승시킨다. 치료적으로 유익하려면 조직은 적어도 5 분간 40-45℃에 도달하여야 하는 것으로 제안되었다. 조직 온도는 1 W/cm² - 1 MHz 초음파에 노출되는 경우에 0.86℃/min의 비율로 증가하는 것으로 밝혀졌다.

[0147] 초음파는 중합체를 분해하는 작용을 하는 것으로 알려져 있고, 이들 중합체로부터 통합된 약제의 방출을 증가시키는데 이용되고 있다. 초음파가 다당류, 바람직하게는 프로테오글리칸, 특히 글리코사미노글리칸(가령, HA)과 같은 중합체를 함유하는 본 발명의 조성물에 적용되는 경우에, 초음파는 상기 중합체를 분해(탈중합화)시킨다. 이는 다양한 효과를 나타내는데, HA가 조성물 내에 존재하는 경우에 초음파는 피부에 더욱 용이하게 침투할 수 있는 더욱 짧은 사슬 HA 중합체를 산출한다. 활성 물질의 침투를 용이하게 하기 위한 초음파의 이용에 더하여, 작용 부위에서 이들 활성물질의 효과적인 체류 시간(residence time)을 극대화하는 것이 중요하다. 미세혈관계(microvasculature)는 침투 부위로부터 이동되는 물질이 간에서 파괴될 수 있도록 한다. 체류 시간의 최적화는 활성 물질이 원하는 효과를 나타내도록 하기 위하여 필요하다. 본 발명의 조성물이 다당류 또는 프로테오글리칸, 특히 글리코사미노글리칸(가령, HA)을 함유하는 경우에, 초음파 처리는 피부 내에서 상기 중합체(가령, HA)의 저장소 형성을 보조하는데, 상기 저장소는 활성물질의 완만한 방출을 위한 보관소로서 기능하고

연장된 기간 동안 효과를 제공할 수 있다.

- [0148] 초음파는 또한, 조성물의 활성 성분의 방출을 자극한다. 초음파는 또한, 피부에 침투한 다당류 또는 프로테오글리칸, 특히 글리코사미노글리칸(가령, HA)과 같은 중합체를 탈중합화시키는 기능을 한다. HA와 아스코르브산이 조성물 내에 존재하는 경우에, HA의 탈중합화는 대기 산소(atmospheric oxygen)와 반응하고 탈중합화를 촉진하는 아스코르브산에 의해 조장된다.
- [0149] 본 발명의 조성물은 초음파와 공동으로 적용될 수 있긴 하지만, 반드시 그러한 것은 아니고, 초음파의 적용 없이 피부에 적용될 수도 있다. 바람직한 피부 치료 방법에서, 본 발명의 첫 번째 조성물은 매주, 격주 또는 매월 간격으로 초음파(상기 조성물이 적용되는 피부의 초음파 전-처리, 또는 상기 조성물의 피부에 적용 동안 또는 적용 이후에 피부의 초음파 처리)와 공동으로 적용된다. 피부의 초음파 처리이후, 본 발명의 두 번째 조성물은 초음파의 필요 없이, 예로써 하루 또는 12시간 간격으로 적용된다. 첫 번째와 두 번째 조성물은 조성에서 동일하거나 상이할 수 있지만, 이들 둘 모두 본 발명에 따른 조성물이다.
- [0150] 더 나아가, 본 발명은 본 발명에 따른 조성물을 포함하는 드레싱(dressing).을 제시하는데, 상기 드레싱은 석고(plaster), 패치(patch), 겔 패치 붕대(gel patch bandage) 또는 폼말(foam) 형태이다.
- [0151] 또한, 본 발명에 따른 조성물; 선택적으로, 초음파 공급원(ultrasound source)을 포함하는 장치 및/또는 선택적으로, 초음파를 피부에 적용하고 및/또는 상기 조성물을 피부에 적용하기 위한 애플리케이션을 포함하는 키트가 제시된다. 본 발명에 따른 키트는 본 명세서에 기술된 본 발명의 방법을 수행하는데 적합하다. 키트는 사용설명서를 추가로 포함할 수 있다.
- [0152] 본 발명은 미용적 피부 질환의 치료에서 본 발명에 따른 조성물의 용도를 제시한다. 또한, 예로써, 흉터(scarring), 일광 손상된 피부(sun damaged skin), 노화 피부(ageing skin), 주름(wrinkle), 거친 피부(coarseness), 불규칙한 색소 형성(irregular pigmentation), 모세관 확장증(telangiectasis), 탄력섬유증(elastosis), 셀룰라이트(cellulite), 귤껍질 모양(orange peel appearance) 피부, 건성 피부 상태, 비늘 모양 피부(scaliness), 여드름(acne), 살튼 흔적(stretch mark), 두드러기(rash), 거칠어짐(chapping), 자극된 피부(inflamed skin), 허물(blemish), 주사(rosacea), 여드름 흉터(acne ice-pick scar), 비대성 반흔(hypertrophic scar)과 켈로이드성 반흔(keloid scar), 대머리(hairless)에서 선택되는 미용적 피부 질환의 치료를 위한 미용 조성물의 제조에서 본 발명에 따른 조성물의 용도가 제시된다.
- [0153] 본 명세서에서, “미용적 피부 질환”은 피부 노화에 기인한 외부에 시각적으로, 촉감적으로 인지되는 모든 표시 및 임의의 다른 거대 또는 미세 효과가 포함되지만 이들에 국한되지 않는 피부 노화의 징후를 포괄한다. 이들 징후는 내부 또는 외부 요인, 예를 들면, 연령에 따른 노화 및/또는 환경적 손상(가령, 일광, UV, 흡연, 오존, 오염물질, 스트레스 등)에 의해 유도되거나 유발된다. 이들 징후는 조직 불연속(textural discontinuity)의 발생, 예를 들면, 가늘고 얇은 주름(fine superficial wrinkle)과 거칠고 깊은 주름(coarse deep wrinkle)을 비롯한 주름, 피부선(skin line), 얼굴 찡그림 선(facial frown line), 표정선(expression line), 주름살(rhytides), 일사성 피부염(dermatoheliosis), 일광손상, 조기 피부 노화, 갈라진 틈, 융기, 구멍(pit), 큰 털 구멍(pore)(가령, 땀샘 도관(sweat gland duct), 피지선(sebaceous gland), 모낭(hair follicle)과 같은 부속 구조(adnexal structure)와 연관된), 귤껍질 모양(orange peel appearance) 피부, 건조한 피부, 비늘 모양 피부(scaliness), 얇은 조각 모양 피부(flakiness) 및/또는 다른 형태의 피부 불균형이나 거칠함(roughness); 과도한 피지(skin oil) 문제, 예를 들면, 피지의 과다 생산, 간살부림(oiliness), 얼굴 광택(facial shine), 파운데이션 브레이크쓰로우(foundation breakthrough); 비정상적인 박리 또는 비정상적인 표피 분화(가령, 비정상적 피부 교대(skin turnover)), 예를 들면, 비늘 모양 피부(scaliness), 얇은 조각 모양 피부(flakiness), 각화증(keratosis), 과각화(hyperkeratinization); 예로써, 피부 장벽(skin barrier) 손상, 건조한 환경에 의해 유발된 부적절한 피부 보습(또는 수화); 피부 탄력의 상실(기능적 피부 엘라스틴의 상실 및/또는 불활성화), 예를 들면, 탄력섬유증, 처짐(sagging)(눈 부위와 뺨에서 부음 포함), 피부 단단함(skin firmness)의 상실, 피부 탄탄함(skin tightness)의 상실, 변형(deformation)으로부터 피부 반동(skin recoil)의 상실; 비-멜라닌 피부 변색(discoloration), 예를 들면, 눈 아래 서클(under-eye circle), 보칭(botching)(가령, 예로써, 주사(rosacea)에 기인한 불균일한 적색 착색), 창백함(sallowness), 모세관 확장증에 의해 유발된 변색; 멜라닌-관련된 색소과다침착된(또는 불균일하게 색소침착된) 피부 영역; 예로써, 염증 현상(가령, 여드름 병소, 살 속으로 파고드는 털(in-grown hair), 벌레/거미 물림이나 쏘임, 긁힘, 자상, 상처, 벗겨짐 등) 이후에 발생하는 염증후 색소과다침착(hyperpigmentation); 예로써, 노화 또는 스테로이드 이용과 연관된 위축(atrophy); 무정형 기질(ground substance)(가령, 히알루론산, 글리코사미노글리칸 등)과 같은 피부 구성요소에서 다른 조직학적

또는 현미경적 변형, 콜라겐 파괴 및 구조적 변형이나 비정상(가령, 각질층, 진피, 표피, 피부 혈관계에서 변화, 예를 들면, 모세관 확장증); 옴(itch) 또는 가려움증(pruritus)과 같은 상해에 대한 조직 반응; 기초 조직(가령, 피하 지방, 쉼라이트, 근육, 골소주(trabeculae), 중격(septae) 등), 특히 피부에 인접하는 기초 조직에 변형이 포함되지만 이들에 국한되지 않는 과정으로부터 기인한다.

[0154] 본 발명은 또한, 의학적 치료에서 또는 약제로서 본 발명에 따른 조성물의 용도를 제시한다. 따라서, 본 발명의 조성물은 약제로서 용도가 제시된다. 더 나아가, 예로써, 흉터(scarring), 일광 화상(sunburn), 상처(wound), 자상(cut), 타박상(bruise), 화상(burn), 화상 흉터(burn scarring), 습진(eczema), 피부염(dermatitis), 건성 피부 상태, 두드러기(urticaria), 가려움증(pruritus), 건선(psoriasis)에서 선택되는 의학적 피부 질환의 치료를 위한 약제의 제조에서 본 발명에 따른 조성물의 용도가 제시된다.

실시예

[0166] 실시예 1: 국소 제제 “Topical 1”

[0167] Topical 1은 아래의 성분을 함유하는 본 발명에 따른 조성물이다:

표 3

성분	양 %w/w
히알루론산(0.8-3 MDa mol wt 범위)	1%
히알루론산(1.5-1.8 MDa mol wt 범위)	3%
에탄올	20%
아스코르브산	3%
3나트륨 아스코르빌 포스페이트(STAY C-50)	1%
카르노신	3%
N-아세틸 카르노신	1%
아르기닌	3%
평균 증류수	100%까지

[0170] 실시예 2: 패치 검사

[0171] 표준 4일 패치 검사법을 7일 기간으로 확대하여, 일광노화의 임상적 징후가 개선되는 기전으로서 피브릴린 발현의 유도에 대한 차단(occlusion)하에 또는 초음파에 의해 전달된 Topical 1 제제의 효과를 조사하였다.

[0172] 전박(forearm) 피부의 일광노화의 임상적 증거를 보이는 피험자는 차단 하에 전박의 배부에 아래의 산물을 적용하였다:

[0173] (1) 67.2% 에탄올, 30% 프로필렌 글리콜, 0.05% 부틸 하이드록시톨루엔(보존제), 나머지 탈이온수(100%까지)를 함유하는 운반제 내에서 만들어진 0.025% t-RA(양성 대조),

[0174] (2) 상기한 운반제 단독,

[0175] (3) Topical 1 제제.

[0176] Topical 1은 초음파 장치의 이용과 함께 또는 이용 없이 전달되었다.

[0177] 차단 하에 양성 대조, 0.025% 전체-trans RA의 국소 적용은 잠재적으로 유해한 부작용을 최소화시키기 위하여 표준 4일 프레임 내에서 적용되었다.

[0178] 피브릴린은 유두 진피에서 엘라스틴 네트워크의 주요 구성요소이고, 기초 진피에 표피를 고착시키는데 중요한 역할을 수행한다. 양성 대조로서 전체-trans 레티노산(retinoic acid, t-RA)의 국소 적용은 일광노화의 임상적 징후를 완화시킨다. 기존 연구에서, 차단 하에 t-RA의 4일간 국소 적용(4일 패치 검사)은 피브릴린 mRNA와 단백질의 현저한 증가를 유도하였는데, 이는 피부에 대한 새로운 치료적 개입(therapeutic intervention)의 작용을 평가할 수 있는 신속하고 간편한 수단을 제공하는 수주간의 비-차단된 국소 적용이후에 관찰되는 것들을 예언한다.

[0179] 노화는 또한, 피부 내에서 다른 분자의 검사로 모니터될 수 있다. 기존 연구에서, 효소 기질 메탈로프로테이나

아제 1(MMP-1; 세포외 기질 재편성에 필수)³의 발현 및 핵 레티노이드 수용체(nuclear retinoid receptor) 레티노산 수용체 α (RAR α ; 비타민 A와 이의 유도체의 효과를 조절하는데 필요)⁴에서 변형이 확인되었다. 비정상적 단백질을 제거하기 위한 경로를 확인하기 위하여 2가지 분자 샤페론을 평가하였다; 이들은 열 쇼크 단백질-72(HSP72)⁵와 세포의 샤페론, 클루스테린⁶이었다.

[0180] 본 연구는 개방 임상 연구(open clinical study)이었다; 생검의 평가는 무작위로 수행되고 맹검이었다. 본 연구는 40-80세 연령의 10명의 피험자에서 수행되었는데, 이들은 중등도 또는 중증도의 일광노화된 전박 피부를 가진 것으로 판단되었다.

[0181] 적용된 포함 기준(inclusion criteria)은 아래와 같았다:

[0182] 40세 내지 80세 연령; 일광노화된 전박 피부의 검사를 감수하려는 의향; 최대 4일간 전박 위에 검사 패치를 부착하려는 의향; 4곳의 검사 부위로부터 3 mm 펀치 생검(총 4개의 생검)을 감수하려는 의향; 검사 부위의 평가를 악화시키는 질병 상태 없음; 전신 약제의 복용 없음; 본 연구에 참가하기에 앞서 각각, 과거 6개월과 12개월 내에 국소 또는 전신 레티노이드의 복용 없음; 2주간 국소 스테로이드 또는 다른 국소 약제의 복용 없음; 서면동의서에 서명

[0183] 적용된 배제 기준(exclusion criteria)은 아래와 같았다;

[0184] 본 연구에 참가하기에 앞서 30일 이내에 실험 약제 또는 실험 장치의 이용 전력; 켈로이드성 반흔(keloid scar)의 전력; 임신이나 수유.

[0185] 본 연구 절차는 병력 확인과 신체 검사; 0 내지 9 등급(0 = 손상 없음; 9 = 최대 일광손상)에서 전박 신근(forearm extensor) 일광노화의 심각도의 임상적 채점을 수반한다; 서면동의서에 서명을 받는다. 본 연구에 참가가 허용된 이들 피험자들은 6 이상의 일광손상 등급을 갖는다.

[0186] 재료와 방법

[0187] 패치-검사 프로토콜

[0188] 6명의 건강하지만 일광노화된 여성 지원자(연령 범위 52 - 79세)를 모집하였다. 검사 물질은 표준 6 mm 직경 Finn 챔버하에 전박 신근 부근에 개별적으로 적용하였다; 이들은 Topical 1 제제(20 μ l/챔버), 운반제 기부(20 μ l/챔버), 0.025% 전체-*trans* RA(Retin-A크림, Janssen-Cilag Ltd., 20 μ l/챔버)이었다. 이에 더하여, 처리되지 않은 기준 생검을 참조 포인트(reference point)로서 채취하였다. 제제는 검사 1일과 4일에 깨끗한 피부에 적용하였다. 전체-*trans* RA는 4일에, 처리되지 않은 부위에 적용하였다. 8일에, Finn 챔버를 떼어내고, 1% 리그노카인(lignocaine) 마취하에 각 검사 부위로부터 3 mm 펀치 생검을 채취하였다. 생검은 OCT 화합물(Tissue-TekMiles, IN, USA)에 담그고 액체 질소에 급속 냉동시켰다. 생검 부위는 1x4/o 에틸론(ethilon)으로 봉합하고, 피험자들에게 봉합사 제거이후 7-10일 이내에 방문하도록 지시하였다.

[0189] 초음파 프로토콜

[0190] 10명의 건강하지만 일광노화된 지원자(남성: 2명; 여성: 8명; 연령 범위 40 - 79세)를 모집하였다. Topical 1 제제는 단독으로 및 초음파 장치(Duo SonTM 유닛, Orthosonics, Devon UK)의 보조와 함께, 전박 신근에 적용하였다. 저주파수(45kHz, 100mW/cm², 연속)와 고주파수(1MHz, 1W/cm² 펄스 평균(pulsed average), 20% 펄스 폭)를 10분 동안 동시에 적용하였는데, 상기 시간 동안 초음파 전달 헤드(delivery head)는 피부 위에서 이동되었다. 처리는 검사 1일, 4일, 7일에 수행되었다. 8일에, 앞서 기술된 바와 같이 각 처리 부위로부터 3 mm 펀치 생검을 채취하였다.

[0191] 슬라이드 준비

[0192] 냉동된 절편은 10 μ m의 두께로 준비하고(OTF cryostat, Bright Instruments Ltd.) 조직학적 분석에 앞서 젤라틴-코팅된 슬라이드 상에 올려놓았다.

[0193] 면역조직화학

[0194] 일광노화된 피부에서 감소되는 것으로 알려져 있는 다수의 세포외 기질(ECM) 분자는 Topical 1 제제와 이의 전달 방법의 잠재적 효과를 상술하기 위하여 면역조직화학으로 평가하였다. 결과의 일차 마커는 진피-표피 접합부위(DEJ)에 인접하는, 피브릴린-풍부 미세원섬유(microfibril)의 분포이었다. 또한, MMP-1과 RAR α 를 발현하는

표피 각화세포의 총수를 평가하였다. 잠재적 손상 기전을 평가하기 위하여 분자 샤페론, HSP72, 클루스테린을 평가하였다.

[0195] 각 분석에서, 상기 마커는 3개의 각 절편(즉, 3개의 절편/처리/환자)에서 확인하였다.

[0196] 절편은 적절히 고정시켰다. tris-완충액(TBS; 100mM Tris, 150mM NaCl)에서 수화이후, 절편은 0.5% Triton100(10분)의 첨가로 용해시켰다. 세척이후, 내인성 과산화효소 활성은 메탄올에 녹인 과량의 과산화수소(hydrogen peroxide)와 함께 배양(30분)으로 제거하였다. 절편은 일차 항체(4℃에서 하룻밤 배양)의 적용에 앞서 차단하였다. 음성 대조(negative control)는 블록 단독 또는 대조 생쥐 혈청과 함께 동시에 배양하였다. 배양이후, 절편은 적절한 비오틴처리된 이차 항체의 적용에 앞서 TBS로 엄격하게 세척하였다. 이는 제조업체(ABC Elite System, Vector Laboratory, Peterborough UK)의 사용설명서에 따라, 상업적으로 구입가능한 키트를 이용하여 효소 양고추냉이 과산화효소(horseradish peroxidase)에 더욱 공액하였다. 항체는 Vector SA를 크로모젠(chromogen)(10분 배양)으로 이용하여 특정 지역에 집중시키고, TBS에서 세척으로 상기 반응을 소멸시켰다. 절편은 Nuclear Fast Red를 이용하여 대비염색(counterstain)하고 연속 알코올(serial alcohol)을 통하여 탈수시키며, 정화시키고, 영구 표본으로 만들었다.

표 4

[0197]

마커	호스트	클론	고정	희석도
피브릴린-풍부한 미세원섬유	생쥐 IgG	NeoMarkers; 11C1.3	4% PFA	1:100
MMP-1	생쥐 IgG	Oncogene; 41-1E5	4% PFA	1:100
RAR α	토끼 IgG	Santa Cruz Biotechnologies	아세톤	1:100
HSP72	생쥐 IgG	Stressgen Biotechnologies	4% PFA	1:100
클루스테린	토끼 IgG	Santa Cruz Biotechnologies	4% PFA	1:100

[0198]

[0199] **정량**

[0200] 절편은 무작위로 취하고, 맹검이며, Nikon OPTIPHOT 현미경(Tokyo, Japan)에서 검사하였다. ECM 성분의 평가를 위하여, 5 포인트 반-정량 등급(0 = 염색 없음; 4 = 최대 염색)에서 면역염색(immunostaining)의 정도를 평가하였다. 각 피험자의 부위마다 4개의 절편(대조 포함)을 검사하였다. 절편당 3가지 고배율 시야(high power field)에서 면역염색의 정도를 채점하고, 각 부위/검사 영역에서 평균 스코어를 산정하였다.

[0201] 세포-연관된 염색의 경우에, 각 고배율 시야에서 양성 표피 각화세포의 총수를 평가하고, 각 부위/검사 영역에서 평균 스코어를 산정하였다.

[0202] 검사 부위 사이에서 및 다양한 기간 동안 검사 물질의 적용이후 분포 차이는 반복 측정 분산 분석(repeated measures analysis of variance) 검증(ANOVA)을 이용하여 유의성을 평가하였다. 전달 방법이 결과 치수에 영향을 주는 지를 평가하기 위하여, 쌍체 스튜던트 t-검증(paired Students t-test)을 이용하여 데이터를 검사하였다. 양쪽 모형은 SPSS 소프트웨어(v11.5, SPSS Inc., IL USA)를 이용하여 95%의 신뢰 수준에서 유의성을 판단하였다.

[0203] **결과**

[0204] 홍반(erythema)

[0205] 모든 지원자들은 패치 검사 프로토콜을 잘 견뎌냈다. 더 나아가, 전체-trans RA는 적용 부위에서 현저한 홍반을 유발하였다. Topical 1 제제를 이용하는 경우에 홍반은 관찰되지 않았다.

[0206] 패치-검사 프로토콜

[0207] 피브릴린-1 IHC

[0208] 전체-trans RA의 적용(“황금” 기준)은 6명중 3명의 지원자에서 DEJ에 인접하여 피브릴린-1의 침착을 유도하였

다. Topical 1 제제는 검사된 6명중 4명의 지원자에서 증가된 피브릴린-1 침착을 유도하긴 하지만 이의 수준이 전체-*trans* RA를 이용하는 경우에 일반적으로 관찰되는 수준보다 낮았다(도 4).

표 5

[0209]

피브릴린-1 염색 처리	평균	Std 편차
기준	1.1111	0.4608
운반제	1.3241	0.6050
Topical 1 제제	1.3704	0.9930
전체- <i>trans</i> RA	1.8241	0.7985

[0210]

$p > 0.05$, 유의성 없음

[0211]

MMP-1 IHC

[0212]

표피와 진피 모두에서 MMP-1 염색을 관찰하였다. 전반적으로, 차단 하에 4일동안 전체-*trans* RA의 국소 적용은 표피 각화세포에서 MMP-1 발현을 감소시키긴 하지만 유의성에 도달하지 못하였다. Topical 1 제제의 적용은 유사한 수준의 감소를 유도하였다(도 5).

표 6

[0213]

MMP-1 염색 처리	평균	Std 편차
기준	12.1650	6.4340
운반제	7.9890	3.2898
Topical 1 제제	5.0093	4.2616
전체- <i>trans</i> RA	5.3333	4.3165

[0214]

$p > 0.05$, 유의성 없음

[0215]

RAR α IHC

[0216]

주로 표피에서 RAR α 염색을 관찰하였다. 전반적으로, 차단 하에 4일동안 전체-*trans* RA의 국소 적용은 표피 각화세포에서 RAR α 발현을 유의하게 감소시켰다. Topical 1 제제의 적용은 유사한 수준의 감소를 유도하긴 하지만 이 데이터 세트에서 유의성에 도달하지 못하였다(도 6).

표 7

[0217]

RAR α 염색 처리	평균	Std 편차
기준	16.8370	6.7277
운반제	10.1111	4.1407
Topical 1 제제	8.3611	5.1287
전체- <i>trans</i> RA	6.0463	5.1090

[0218]

$p > 0.05$, 유의성 없음

[0219]

HSP72

[0220]

HSP72는 주로 진피에서 발견되는데, 여기에서 강한 염색이 관찰되었다. 전체-*trans* RA로 처리는 표피 HSP72의 발현을 유의하게 증가시키고, Topical 1 제제 역시 그러하였다(각각, $p = 0.005$ 와 0.012 ; 도 7)

표 8

[0221]

HSP72 염색 처리	평균	Std 편차
기준	56.18	8.55
운반제	63.61	4.83
Topical 1 제제	74.08 [*]	17.49
전체- <i>trans</i> RA	77.03 ^{**}	15.44

[0222]

^{*} p = 0.012

[0223]

^{**} p = 0.005

[0224]

초음파 프로토콜

[0225]

피브릴린-1

[0226]

Topical 1 제제는 차단 없이 또는 초음파 장치를 통하여, 기본 국소 적용에 의해 일광노화된 전박 신근에 더욱 적용되었다. 조사된 모든 피험자(n=10)에서, 초음파에 의한 전달은 진피-표피 접합부위에 인접하여 유의하게 증가된 피브릴린 침착을 유도하였다(도 8).

표 9

[0227]

피브릴린-1 염색 처리	평균	Std 편차
Topical	1.8272	0.8698
초음파	2.6065 [*]	1.0052

[0228]

^{*} p = 0.033

[0229]

MMP-1

[0230]

표피와 진피 모두에서 MMP-1 염색을 관찰하였다. 초음파 처리이후 표피 각화세포 내에서 MMP-1 발현에서 감소하지만 유의하지 않은 감소가 관찰되었다(도 9).

표 10

[0231]

MMP-1 염색 처리	평균	Std 편차
Topical	114.71	22.03
초음파	107.46	31.96

[0232]

p > 0.05, 유의하지 않음

[0233]

HSP72

[0234]

HSP72는 초음파 처리이후 표피 발현에서 감소하지만 유의하지 않은 증가를 나타냈다(도 10).

표 11

[0235]

HSP72 염색 처리	평균	Std 편차
Topical	56.31	16.58
초음파	67.57	16.41

[0236] $p > 0.05$, 유의하지 않음

[0237]

[0238] 클루스테린

[0239] 클루스테린 역시 초음파 처리이후 진피 발현에서 근소하지만 유의하지 않은 증가를 나타냈다(도 11).

표 12

[0240]

클루스테린 염색 처리	평균	Std 편차
Topical	1.80	0.98
초음파	1.95	1.00

[0241] $p > 0.05$, 유의하지 않음

요약

[0243] 초음파 장치를 이용한 Topical 1 제제의 적용은 일광노화된 피부의 진피-표피 접합부위에 인접하여 현저하게 증가된 피브릴린 침착을 유도하였다.

[0244] HSP72 발현은 Topical 1 제제와 전제-*trans* RA 둘 모두에 의해 조절되었다. 더 나아가, Topical 1 제제의 초음파 전달 역시 증가된 HSP72 발현을 유도하였다. 증가된 열 쇼크 단백질 발현은 세포가 환경적 스트레스 요인에 대처하도록 자극함으로써 피부에 유익할 수 있다(호메시스, hormesis). 이런 이유로, 표피 각화세포에 의한 증가된 HSP72 발현은 손상이후 세포 복구 과정에 관여할 수 있다.

[0245] 상기 데이터는 이러한 제제의 적용이후 일광노화된 피부의 표피 내에서 MMP-1과 RAR α 발현이 감소한다는 것을 암시하는데, 이는 노화된 피부의 치료에서 이의 이용적합성을 뒷받침한다.

[0246] 부가적으로, 초음파-기초된 피부 치료의 유효성과 관련하여 임상 시험 동안 아래의 비-정량적 관찰을 수행하였다. 상기 임상 시험의 프로토콜 구조 로인하여 직접적인 비교는 불가능하지만, 초음파와 함께 적용된 Topical 1 제제는 상기 레티노이드 제제에서와 유사한 수준의 피브릴린을 유도하는 것으로 생각된다. Topical 1 제제 단독 및 초음파와 함께 적용된 Topical 1 제제는 상기 레티노이드 제제와 달리, 홍반(erythema) 또는 표피 과형성(epidermal hyperplasia)을 유발하지 않았다. 초음파로 미리 처리된 생검 부위에서 흉터의 정도는 모든 다른 부위에서 흉터보다 눈에 띄게 작았다.

참고문헌

[0248] 1. Watson REB, Griffiths CEM, Craven NM, Shuttleworth CA, Kielty CM. Fibrillin-rich microfibrils are reduced in photoaged skin: Distribution at the dermo-epidermal junction. *J Invest Dermatol*, 112: 782-787, 1999

[0249] 2. Watson REB, Craven NM, Kang S, Jones CJP, Kielty CM, Griffiths CEM. A short term screening protocol, using fibrillin-1 as a receptor molecule for photoageing repair agents. *J Invest Dermatol*, 116:672-678, 2001

[0250] 3. Brennan M, Bhatti H, Nerusu KC, Bhagavathula N, Kang S, Fisher GJ, Varani J, Voorhees JJ. Matrix metalloproteinase-1 is the major collagenolytic enzyme responsible for collagen damage in UV-irradiated human skin. *Photochem Photobiol* 78:43-48, 2003

[0251] 4. Watson REB, Ratnayaka JA, Brooke RC, Yee-Sit-Yu S, Ancian P, Griffiths CEM. Retinoic acid receptor alpha expression and cutaneous ageing. *Mech Ageing Dev*, 125:465-473, 2004

[0252] 5. Jantschitsch C, Trautinger F. Heat shock and UV-B-induced DNA damage and mutagenesis in skin. *Photochem Photobiol Sci*. 2:899-903, 2003

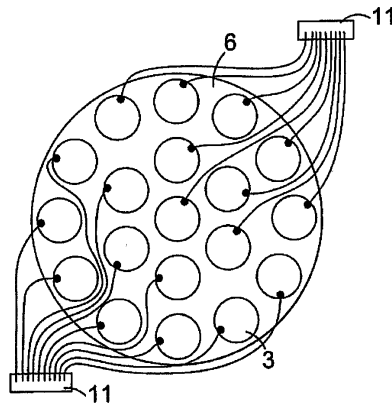
[0253] 6. Debure L, Vayssiere JL, Rincheval V, Loison F, Le Drean Y, Michel D. Intracellular clusterin causes juxtanuclear aggregate formation and mitochondrial alteration. *J Cell Sci*. 116:3109-3121, 2003

도면의 간단한 설명

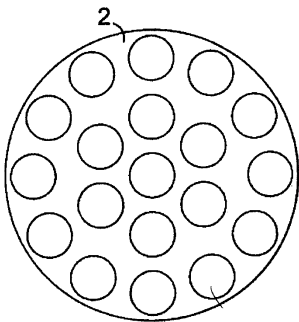
- [0155] 도 1(a) - (c)에서는 변환기 소자의 어레이를 도시한다; 도 1(d)는 이중 주파수 능력을 갖는 개별 변환기 소자를 도시한다.
- [0156] 도 2(a) - (b)에서는 변환기 소자를 도시한다.
- [0157] 도 3A에서는 교대적 고주파수와 저주파수의 발생을 위한 단일 DDS 칩을 도시하고, 도 3B에서는 고주파수와 저주파수가 개별 회로에서 발생된다.
- [0158] 도 4에서는 진피-표피 접합부위에 인접한 피브릴린 발현에 대한 Topical 1 제제의 효과를 도시한다.
- [0159] 도 5에서는 표피에서 MMP-1 발현에 대한 Topical 1 제제의 효과를 도시한다.
- [0160] 도 6에서는 표피에서 RAR α 발현에 대한 Topical 1 제제의 효과를 도시한다.
- [0161] 도 7에서는 표피에서 HSP72 발현에 대한 Topical 1 제제의 효과를 도시한다.
- [0162] 도 8에서는 초음파 처리이후 진피-표피 접합부위에 인접한 피브릴린 발현에 대한 Topical 1 제제의 효과를 도시한다.
- [0163] 도 9에서는 초음파 처리이후 표피 MMP-1 발현에 대한 Topical 1 제제의 효과를 도시한다.
- [0164] 도 10에서는 초음파 처리이후 표피 HSP72 발현에 대한 Topical 1 제제의 효과를 도시한다.
- [0165] 도 11에서는 초음파 처리이후 진피 클루스테린 발현에 대한 Topical 1 제제의 효과를 도시한다.

도면

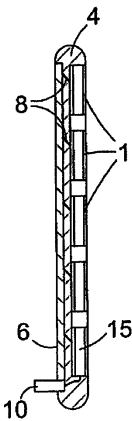
도면1a



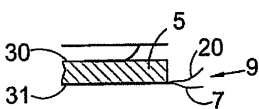
도면1b



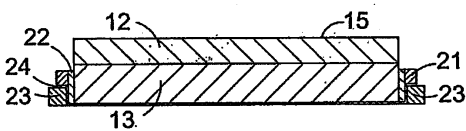
도면1c



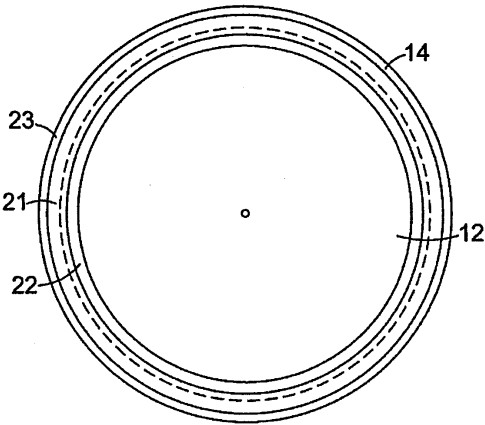
도면1d



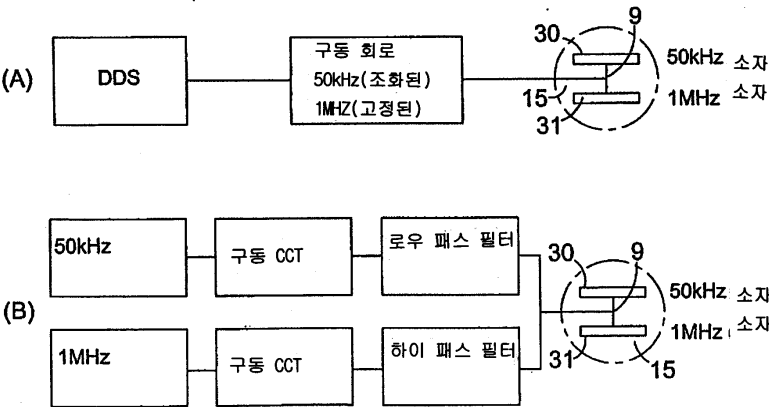
도면2a



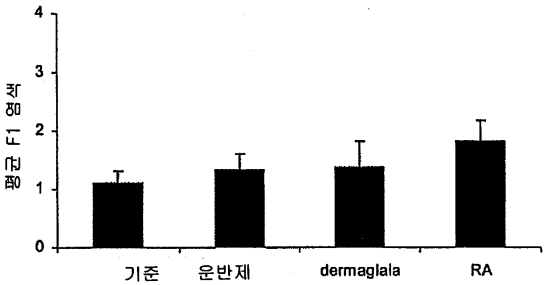
도면2b



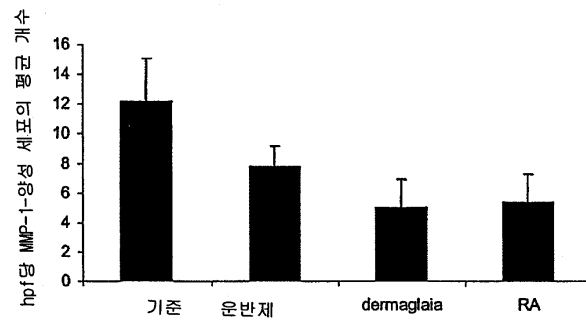
도면3



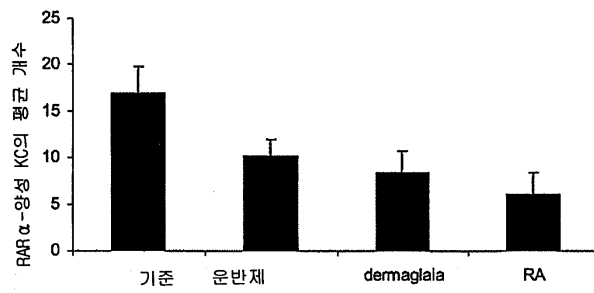
도면4



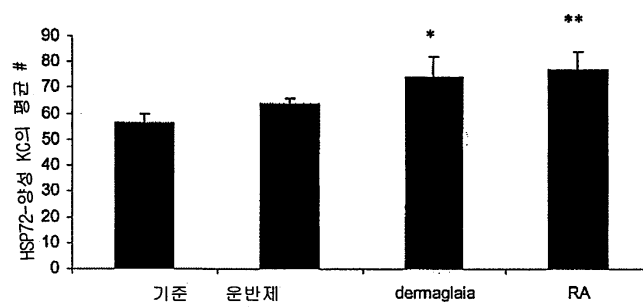
도면5



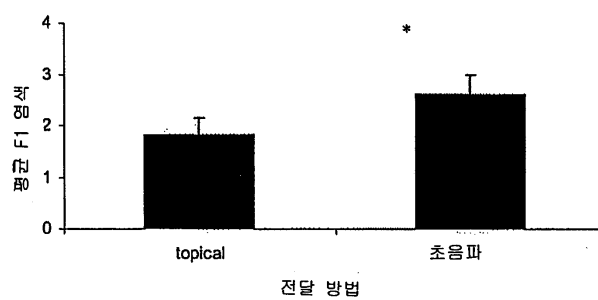
도면6



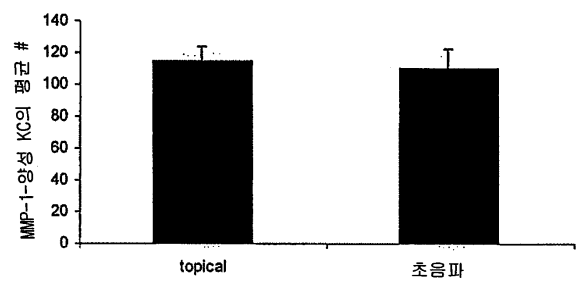
도면7



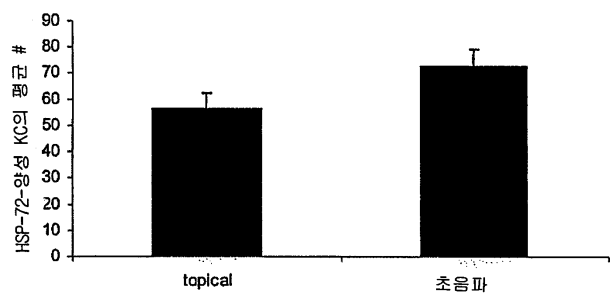
도면8



도면9



도면10



도면11

