

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2020-0085904
(43) 공개일자 2020년07월15일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 26/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61L 26/0061 (2013.01)
A61L 26/0023 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7018980(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2013년05월22일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2014-7036146
원출원일자(국제) 2013년05월22일
심사청구일자 2018년03월27일
- (85) 번역문제출일자 2020년07월01일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2013/042149
- (87) 국제공개번호 WO 2013/177242
국제공개일자 2013년11월28일
- (30) 우선권주장
13/480,842 2012년05월25일 미국(US)
- (71) 출원인
에디컨인코포레이티드
미합중국, 뉴저지08876, 섬머빌, 유.에스.루트22
- (72) 발명자
왕 이-란
미국 뉴저지주 08502 벨 미드 프림로즈 코트 126
장 광후이
미국 뉴저지주 08502 벨 미드 밀러스 그로브 로드 4
- (74) 대리인
장훈

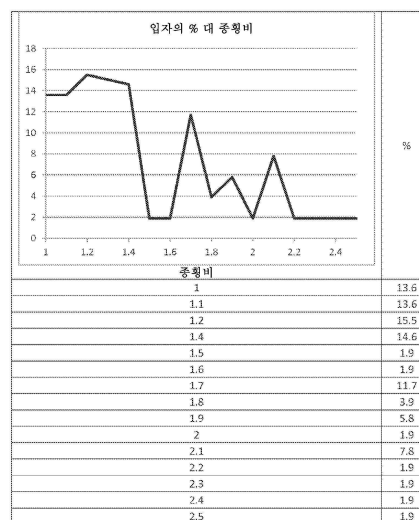
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 산화된 재생 셀룰로오스 지혈 분말 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 약 1 내지 약 18의 평균 중형비를 갖는 입자들을 포함하는 압밀된 ORC 분말을 포함하는 지혈 물질에 관한 것으로, 상기 압출된 ORC 분말은 바람직하게는 압밀 장치에서 처리된, 예를 들어 볼 밀링된 ORC 분말이다. 본 발명은 또한 지혈 물질을 제조하는 방법 및 지혈 분말을 환자의 환부 상에 그리고/또는 내에 적용하여 환부를 치료하는 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61L 26/0066 (2013.01)

A61L 26/009 (2013.01)

A61L 2300/404 (2013.01)

A61L 2300/418 (2013.01)

A61L 2400/04 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

평균 중형비가 약 1 내지 약 18인 입자들을 포함하는 압밀된 ORC(oxidized regenerated cellulose) 분말을 포함하는, 지혈 물질.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 압밀된 ORC 분말은 볼 밀링된(ball milled) ORC 분말인, 지혈 물질.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 압밀된 ORC 분말은 롤러 압밀(roller compaction) 처리된 ORC 분말, 또는 해머 밀(hammer mill) 처리된 ORC 분말인, 지혈 물질.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 물질은 첨가제를 추가로 포함하고, 상기 첨가제는 CMC(carboxymethyl cellulose) 또는 다른 다당류, 칼슘 염, 항감염제, 지혈 촉진제, 젤라틴, 콜라겐, 또는 이들의 조합인, 지혈 물질.

청구항 5

제1항에 따른 상기 지혈 물질 및 식염수 용액을 포함하는, 지혈 페이스트(paste).

청구항 6

제3항에 있어서, 상기 페이스트는 10000 Pa-s 초과인 점도를 갖는, 지혈 페이스트.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 분말은 0.45 g/cm³ 이상의 탭 밀도(tapped density)를 갖는, 지혈 물질.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 분말은 7.5 cm/s 이상의 유동성(flowability)을 갖는, 지혈 물질.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 분말은, 1.75 마이크로미터 내지 116 마이크로미터의 평균 입자 크기를 갖고, 중간 입자 크기(median size)가 36 마이크로미터인, 지혈 물질.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 분말은, 약 1 내지 약 5의 평균 중형비, 0.67 g/cm³ 이상의 탭 밀도 및 70 이상의 유동성을 갖는 입자들을 포함하는, 지혈 물질.

청구항 11

제1항의 지혈 물질을 제조하는 방법으로서,

ORC계 물질을 압밀 장치에 도입시키는 단계; 및

상기 ORC계 물질을 분말로 되도록 압밀하고, 이때 상기 분말이 약 1 내지 약 18의 중형비에 도달할 때까지 압밀하는 단계를 포함하는, 제1항의 지혈 물질을 제조하는 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 ORC 물질은 ORC 천(fabric), ORC 부직물, 또는 세절된(shredded) ORC 물질인, 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 압밀하는 단계는 볼 밀링에 의해 수행되는, 방법.

청구항 14

제12항에 있어서, 상기 압밀하는 단계는 롤러 압밀 또는 해머 밀링에 의해 수행되는, 방법.

청구항 15

제11항에 있어서, 상기 ORC 물질을 첨가제와 혼합하는 단계를 추가로 포함하고, 상기 첨가제는 CMC, 칼슘 염, 항감염제, 지혈 촉진제, 젤라틴, 콜라겐, 식염수 또는 이들의 조합인, 방법.

청구항 16

환부를 치료하는 방법으로서, 제1항의 지혈 분말을 환자의 상기 환부 상에 그리고/또는 상기 환자의 환부 내에 적용하는 단계를 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 효능이 개선된 재흡수가능 지혈 분말, 특히 산화된 재생 셀룰로오스로 제조된 압밀된(compact) 분말, 및 이러한 분말을 제조하기 위한 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 다양한 상황에서, 인간을 포함하는 동물들은 외상으로 인한 출혈 또는 외과적 시술 동안의 출혈로 고통 받을 수 있다. 어떤 상황에서는, 출혈이 비교적 가볍고, 간단한 응급처치의 적용 외에 정상적인 혈액 응고 작용이 요구되는 전부이다. 다른 상황에서는, 상당한 출혈이 생길 수 있다. 이러한 경우에는 통상 적절하게 처치하도록 훈련된 요원뿐 아니라 특수한 장비와 물질들이 필요하다.

[0003] 전술된 문제들을 처리하려는 노력으로, 과다한 출혈을 제어하기 위한 물질들이 개발되었다. 국소 흡수가능 지혈기(Topical Absorbable Hemostat, TAH)가 외과적 용도로 광범위하게 사용된다. TAH는 산화된 셀룰로오스(oxidized cellulose, OC), 산화된 재생 셀룰로오스(oxidized regenerated cellulose, ORC), 젤라틴, 콜라겐, 키틴, 키토산 등을 기반으로 하는 제품들을 포함한다. 지혈능을 향상시키기 위해, 상기 물질들을 기반으로 하는 골격들이 트롬빈(thrombin) 및 피브리노겐(fibrinogen)과 같이 생물학적으로 유도된 응고 인자들과 결합될 수 있다.

[0004] 출혈의 제어는, 외과적 시술에서 혈액 손실을 최소화하고, 수술후 합병증을 감소시키고, 수술실에서 수술 지속 시간을 단축시키기 위해, 본질적이며 중요하다. 생분해성 및 살균 및 지혈 특성으로 인해, 산화된 셀룰로오스 뿐만 아니라 산화된 재생 셀룰로오스가 신경 수술, 복부 수술, 심혈관 수술, 흉부 수술, 두경부 수술, 골반 수술, 및 피부 및 피하 조직 시술을 포함한 다양한 외과적 시술에서 국소 지혈 환부 드레싱(dressing)으로서 오랫동안 사용되어 왔다. 분말, 직물, 부직물, 편직물, 및 다른 형태 어느 것으로 제조되든, 산화된 셀룰로오스 물질을 기반으로 하는 다양한 유형의 지혈기를 형성하기 위한 다수의 방법들이 공지되어 있다. 현재 이용되는 지혈 환부 드레싱은, 셀룰로오스 섬유층의 증가된 균질성을 갖는 산화된 셀룰로오스인, 산화된 재생 셀룰로오스(ORC)를 포함하는 편직 또는 부직 천(fabric)들을 포함한다. 구매가능한 그러한 지혈 환부 드레싱의 예는 서지셀(SURGICEL)[®] 재흡수가능 지혈기; 서지셀[®] 누-니트(NU-KNIT)[®] 재흡수가능 지혈기; 서지셀[®] 피브릴라(FIBRILLAR) 재흡수가능 지혈기, 및 서지셀[®] 스노우(SNOW)TM 재흡수가능 지혈기(이들 모두는 존슨 앤드 존슨 컴퍼니(Johnson & Johnson Company)의 미국 뉴저지주 소머빌 소재의 에티콘, 인크.(Ethicon, Inc.)의 사업부인 존슨 앤드 존슨 웜드 매니지먼트 월드와이드(Johnson & Johnson Wound Management Worldwide)로부터 입수가능함)를 포함한다. 산화된 셀룰로오스를 포함하는 상업적인 재흡수가능 지혈기의 다른 예는 네덜란드 암스테르담 소재의 겔리타 메디칼(Gelita Medical) BV로부터의 겔리타셀(GelitaCel)[®] 재흡수가능 셀룰로오스 외과적 드레싱을 포함한다. 상기에서 언급된 구매가능한 산화된 셀룰로오스 지혈기들은 지혈을 제공하기 위한 다공성 구조

를 갖는 편직 또는 부직 천이다.

- [0005] 애쉬톤(Ashton) 및 모저(Moser)의 미국 특허 제3,364,200호는 집적되어진 산화된 셀룰로오스 스테이플 섬유들의 거즈(pledget) 형태인 재흡수가능 수술용 지혈기를 기술하고 있다.
- [0006] 휴이(Huey)의 미국 특허 출원 공개 제2008/0027365호는 출혈 부위 상에 배치되도록 시트로 형성된 압축 가능하고 형상화 가능한 덩어리 형태의 산화된 셀룰로오스를 이용하며, 사지를 수용하도록 치수 설정된 관형 셀 형태의 슬리브를 추가로 갖는, 지혈을 증진시키기 위한 장치를 기술하고 있다.
- [0007] 루니(Looney) 등의 미국 특허 출원 공개 제2004/0005350호는 천을 통해 균질하게 분포되고 생체적합성의 수용성 또는 수팽윤성 셀룰로오스 중합체로 제조된 다공성 중합체 매트릭스를 포함하고 카르복실릭-산화된 셀룰로오스로부터 제조되는 섬유질 천 기재를 이용하는 지혈 환부 드레싱을 개시하고 있는데, 여기서 천은 약 3 중량% 이상의 수용성 올리고당류를 함유한다.
- [0008] 발명의 명칭이 "수술 후 장폐색 및 위 울혈을 예방 또는 감소시키는 조성물 및 방법(COMPOSITIONS AND METHODS FOR PREVENTING OR REDUCING POSTOPERATIVE ILEUS AND GASTRIC STASIS)"인 허츠버그(Herzberg) 등의 국제 특허 출원 공개 WO2007/076415호는 모터 구동 밀(mill)의 절단 블레이드를 사용한 ORC의 밀링, 특히 극저온 밀링(cryogenic milling)을 개시하고 있다.
- [0009] 문헌["The Ball-Milling of Cellulose Fibers and Recrystallization Effects", Journal of Applied Polymer Science, Volume 1 Issue 3, Pages 313 - 322, (1959) by Howsmon and Marchessault]에서는 셀룰로오스의 볼-밀링에 기인한 탈결정화(decrystallization) 프로세스에서 미세 구조의 효과에 관한 연구 결과를 보고하고 있다. 탈결정화의 속도는 미세 구조의 유형에 민감하고 수분의 존재에 의해 가속된다. 사슬 분해의 정도는 이 산화탄소에서보다 대기 중에서 높고, 이는 기계적으로 유도된 자유 라디칼 분해가 다른 사슬 절단 프로세스와 함께 일어나는 것을 시사한다. 다양한 시간의 밀링 후 샘플의 밀도 및 수분 회복에 관한 연구는 연구된 전체 범위에 걸쳐 회복과 밀도 사이에 선형 관계를 유지함을 나타내었다. 이 관계는 본래의 셀룰로오스와 재생된 셀룰로오스에 대해서도 동일하였다. 볼-밀링된 샘플의 재결정화 프로세스가 다양한 조건 하에서 연구되었으며, 가수분해로 유도된 레이온(rayon)의 재결정화와 비교되었다. 이 참고문헌은 셀룰로오스 섬유의 볼-밀링에 기인한 탈결정화 프로세스에 미치는 미세 구조의 효과를 개시하고 있다.
- [0010] 미국 특허 제6,627,749호는 막자와 막자사발을 사용하거나 볼 밀 또는 다른 통상의 실험실 그라인더(grinder)에서 산화된 셀룰로오스를 그라인딩(grinding)하는 프로세스를 개시하고 있다. 이는 추가로, 무명 린터 시트(cotton linter sheet)가 출발 셀룰로오스 원료로서 사용될 때, 제품의 섬유 길이가 반응시간의 증가에 따라 감소하는 것을 개시하고 있다. 볼-밀링되는 경우, 제품의 긴 섬유질 구조가 더 작은 섬유들로, 느슨하게 충전된 구형 집합체들로 변한다. 볼 밀링의 결과로서, 이러한 샘플들의 결정성에는 유의한 변화가 생기지 않는다. 이 참고문헌은 더 작은 섬유들 또는 느슨하게 충전된 구형 집합체들을 형성하기 위해 볼 밀링되는 긴 섬유질의 산화된 셀룰로오스를 개시하고 있다.
- [0011] 다른 관련된 참고문헌들은: 동결 건조된 복합 물질 및 이의 제조 방법에 관한 미국 특허 제6,309,454호; 미국 특허 제5,696,191호; 미국 특허 제6,627,749호; 쿄코(Kyoko) 등의 미국 특허 제6,225,461호; 환부 경축의 치료를 위한 조성물에 관한 국제 특허 출원 공개 WO2001/024841 A1호; 및 대 식(Dae Sik) 등의 유럽 특허 공개 EP1,323,436을 포함한다.
- [0012] 다른 관련된 참고문헌들은: 문헌["The role of oxidized regenerated cellulose/collagen in chronic wound repair and its potential mechanism of action", The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 34 (2002) 1544-1556, Breda Cullen et al.]; 문헌[Rangam et al. teaching methods of making silk powders through milling processes [Powder Technology 185(2008), p87-95]]; 문헌[Yasnitskii et al., Oxycelodex, a new hemostatic preparation, Pharmaceutical Chemistry Journal, 18, 506-5]을 포함하고; 2개의 구성성분들, 산화된 셀룰로오스 분말 및 20% 텍스트란 수용액으로 구성된 옥시셀로덱스(Oxycelodex) 페이스트(paste)를 개시한다.
- [0013] 루니(Looney) 등의 미국 특허 출원 공개 제2006/0233869호는 ORC 섬유로부터 ORC 마이크로 섬유를 제조하기 위해 초핑(chopping)/세절(shredding) 프로세스를 사용하는 것을 개시하고 있다. 막대(rod)-유사 형상의 섬유는 약 35 내지 4350 마이크로미터 범위의 크기를 갖는다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0014] 본 발명은 평균 중형비가 약 1 내지 약 18인 입자를 갖는 압밀된 ORC 분말을 포함하는 지혈 물질에 관한 것이다. 압밀된 ORC 분말은 바람직하게는 볼 밀링에 의해 제조된다. 더욱 바람직하게는, 압밀된 ORC 분말은 롤러(roller) 압밀 처리된 ORC 분말 또는 해머 밀(hammer mill) 처리된 ORC 분말일 수 있다. 바람직하게는, 지혈 물질은 0.45 g/cm³ 이상의 탭 밀도(tapped density), 및/또는 7.5 cm/s 이상의 유동성(flowability); 및/또는 1.75 마이크로미터 내지 116 마이크로미터의 평균 입자 크기를 갖고, 중간 입자 크기(median size)가 36 마이크로미터이다. 일 실시 형태에서, 지혈 물질은 약 1 내지 약 5의 평균 중형비; 0.67 g/cm³ 이상의 탭 밀도 및 70 이상의 유동성을 갖는 입자들을 포함하는 분말이다.

과제의 해결 수단

- [0015] 일 실시 형태에서, 지혈 물질은 카르복시메틸 셀룰로오스(CMC) 또는 다른 다당류, 칼슘 염, 항감염제, 지혈 촉진제, 젤라틴, 콜라겐, 또는 이들의 조합과 같은 첨가제를 추가로 포함한다.
- [0016] 다른 실시 형태에서, 지혈 물질은 상기된 지혈 물질들 및 식염수 용액을 포함하는 페이스트의 형태이다. 바람직하게는, 페이스트는 실온에서 10000 Pa-s 초과의 점도를 갖는다.
- [0017] 다른 실시 형태에서, 본 발명은, ORC계 물질을 분말로 되도록 압밀하고, 이때 상기 분말이 약 1 내지 약 18의 중형비에 도달할 때까지 압밀함으로써 상기된 지혈 물질을 제조하는 방법에 관한 것이다. ORC계 물질은 섬유 형태의 ORC, 부직물 형태의 ORC, 또는 세절된 ORC 물질일 수 있다. 일 실시 형태에서, 압밀은 볼 밀링에 의해 수행된다. 다른 실시 형태에서, 압밀은 롤러 압밀 또는 해머 밀링에 의해 수행된다. 또 다른 실시 형태에서, ORC계 물질은 CMC, 칼슘 염, 항감염제, 지혈 촉진제, 젤라틴, 콜라겐, 식염수, 또는 이들의 조합과 같은 첨가제와 조합될 수 있다.
- [0018] 다른 실시 형태에서, 본 발명은 상기된 지혈 분말을 환자의 환부 상에 그리고/또는 내에 적용하여 환부를 치료하는 방법에 관한 것이다.

발명의 효과

- [0019] 본 발명은 우수한 혈액 응고 특성, 높은 탭 밀도 및 우수한 유동성을 나타냄으로써 우수한 지혈 효과를 갖는 지혈물질을 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0020] <도 1>
- 도 1은 동적 광 산란에 의해 측정된, 볼 밀링된 물질의 입자 크기 분포의 그래프이다.
- <도 2>
- 도 2는 SEM에 의해 측정된, 볼 밀링된 물질의 입자 크기 분포의 그래프이다.
- <도 3>
- 도 3은 세절된 ORC 분말 및 볼 밀링된 ORC 분말에 대해 중형비 대비 응고 시간으로 나타난 시험관내(in-vitro) 혈액 응고 시험의 결과의 그래프이다.
- <도 4>
- 도 4는 세절된 ORC 분말 및 볼 밀링된 ORC 분말에 대해 중형비 대비 응고 시간으로 나타난 시험관내 혈액 응고 시험의 그래프이다.
- <도 5>
- 도 5는 몇몇 상이한 분말들에 대한 지혈까지의 시간의 그래프이다.
- <도 6>
- 도 6은 유동가능 물질의 평균 점도를 나타내는 그래프이다.
- <도 7>

도 7은 지혈 효능 연구: 비장 생검 펀치 모델(spleen biopsy punch model)(n=10)에서, 첨가제가 포함된 유동가능 페이스트 및 서지셀 분말의 지혈까지의 시간(time to hemostasis, TTH)의 그래프이다.

<도 8>

도 8은 지혈 효능 연구: 비장 생검 펀치 모델에서, 다양한 물질들의 지혈까지의 시간(TTH)의 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0021] 본 발명자들은 ORC계 물질들 또는 미리 세절된 ORC계 물질들로부터 특정한 특성들을 갖는 압밀된 ORC 분말을 제조하는 프로세스를 발견하였으며, 그에 의해 생성된 분말은 다양한 외과용 및 환부 치료용 국소 외용제, 예를 들어, 유착 방지 배리어(anti-adhesion barrier), 지혈기, 조직 밀봉재 등에 사용될 수 있다. 본 발명의 압밀된 ORC 분말을 제조하기 위한 출발물질로서 사용되는 산화된 재생 셀룰로오스 물질들은 공지되어 있으며, 구매 가능하다. 물질들은 산화된 다당류, 특히 산화된 셀룰로오스 및 이의 중화된 유도체를 포함하는 흡수가능 직물 또는 편직 천 또는 부직 물질들을 포함한다. 예를 들어, 셀룰로오스는 카르복실릭-산화된 또는 알데히드-산화된 셀룰로오스일 수 있다. 더욱 바람직하게는, 산화된 재생 셀룰로오스를 포함하는, 그러나 그에 제한되지 않는, 산화된 재생 다당류가 사용될 수 있다. 산화된 재생 셀룰로오스는 재생되지 않은 셀룰로오스에 비해 그의 높은 정도의 균일성으로 인해 바람직하다. 재생된 셀룰로오스 및 산화된 재생 셀룰로오스의 제조 방법의 상세한 설명은 미국 특허 제3,364,200호, 제5,180,398호 및 제4,626,253호에서 기술되어 있고, 각각의 내용은 전체가 설명된 것처럼 본 명세서에 참고로 포함된다. 사용될 수 있는 물질의 예는 인터씨드(INTERCEED)[®] 흡수가능 유착 배리어, 서지셀[®] 흡수가능 지혈기, 서지셀[®] 누-니트[®] 흡수가능 지혈기, 서지셀[®] 피브릴라 흡수가능 지혈기, 또는 서지셀[®] 스노우[™] 흡수가능 지혈기(각각은 미국 뉴저지주 소머빌 소재의 에터콘, 인크.의 사업부인 존슨 앤드 존슨 운드 매니지먼트 월드와이드로부터 입수가능함)를 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다.
- [0022] 본 발명의 분말의 높은 탭 밀도 및 낮은 종횡비로 인해, 생성된 ORC 분말은 우수한 지혈 특성 및 양호한 조직 적합성 및 유동성을 갖는 페이스트 또는 분말 형태의 지혈기로서 작용할 수 있다. 게다가, 조직에 대한 부착성, 밀봉 특성 및/또는 유착 방지 특성을 향상시키기 위해, ORC 물질에는 다른 제제 및 생체 중합체가 물리적으로 혼입될 수 있다.
- [0023] 본 발명의 일 태양에서, 탭 밀도가 약 0.35 내지 약 1 g/cm³, 더욱 바람직하게는 0.4 내지 0.9 g/cm³, 예를 들어, 0.42 내지 0.78 g/cm³의 범위에 있는 높은 탭 밀도의 분말로 압밀되는 낮은 종횡비(1 내지 20, 예를 들어, 1.5 내지 19)의 미립자를 제조하는 방법이 제공된다. 본 발명의 방법은, 볼 밀링 프로세스를 이용하여 앞서 특성 평가된 바와 같이, 직접 ORC 물질들, 예를 들어 ORC 천 또는 부직물로부터 이러한 특정 종횡비를 갖는 ORC 입자를 제조하는데 사용된다. 본 발명의 미립자는 500 마이크로미터 미만, 예를 들어, 300, 200 및 100 마이크로미터 미만의 전체 크기(최대 치수)를 갖는다.
- [0024] 낮은 종횡비(1 내지 20)의 입자들은 분말화된 물질을 구성하는 다수의 입자들, 즉, 50% 초과, 예를 들어 80% 초과 또는 90% 초과 입자들을 포함해야 한다. 500 마이크로미터 미만, 예를 들어, 300, 200 및 100 마이크로미터 미만의 전체 크기(최대 치수)를 갖는 미립자들은 분말화된 물질을 구성하는 다수의 입자들, 즉, 50% 초과, 예를 들어 80% 초과 또는 90% 초과 입자들을 포함해야 한다.
- [0025] 본 발명의 다른 태양에서, 낮은 종횡비 및 높은 탭 밀도의 ORC 입자들을 포함하는 볼-밀링 프로세스로부터 생성된 제품은 우수한 지혈 또는 혈액 응고 특성을 갖는 것으로 보인다.
- [0026] ORC는 당업자에게 공지된 흡수가능 지혈 물질이다. 산화된 셀룰로오스 물질들을 기반으로 하는 다양한 유형의 지혈기를 분말, 직물, 부직물, 편직물, 다른 형태 및 이들의 조합으로 형성하기 위한 많은 방법들이 공지되어 있다. 현재 이용되는 지혈 환부 드레싱은, 셀룰로오스 섬유의 증가된 균질성을 갖는 산화된 셀룰로오스인, 산화된 재생 셀룰로오스(ORC)를 포함하는 편직 또는 부직 천들을 포함한다. 그러한 구매가능한 지혈 환부 드레싱의 예는 서지셀[®] 흡수가능 지혈기, 서지셀[®] 누-니트[®] 흡수가능 지혈기, 서지셀[®] 피브릴라 흡수가능 지혈기, 또는 서지셀[®] 스노우[™] 흡수가능 지혈기(이들 모두는 존슨 앤드 존슨 컴퍼니의 미국 뉴저지주 소머빌 소재의 에터콘, 인크.의 사업부인 존슨 앤드 존슨 운드 매니지먼트 월드와이드로부터 입수가능함)를 포함한다.
- [0027] 본 발명의 추가 실시 형태에서, 볼 밀링된 ORC 입자들은 지혈 특성, 환부 치료 특성, 및 취급 특성을 추가로 향상시키기 위해서 다양한 첨가제들과 조합될 수 있으며, 당업자에게 공지된 유용한 첨가제들은: 젤라틴, 콜라겐,

셀룰로오스, 키토산, 다당류, 전분, CMC, 칼슘 염과 같은 지혈 첨가제; 트롬빈, 피브리노겐, 및 피브린으로 예시되는 바와 같은 생물 기반 지혈제, 응혈 촉진성 효소, 단백질 및 펩타이드를 제한 없이 포함하는 추가적인 생물학적 지혈제를 포함하며, 그러한 각각의 제제는 자연 발생, 재조합, 또는 합성일 수 있고, 피브로넥틴, 헤파리나제, X/Xa 인자, VII/VIIa 인자, IX/IXa 인자, XI/XIa 인자, XII/XIIa 인자, 조직 인자, 바트록소빈, 안드로드, 에카린, 폰 빌레브란트(von Willebrand) 인자, 알부민, 혈소판 표면 당단백질, 바소프레신 및 바소프레신 유사체, 에피네프린, 셀렉틴, 응혈 촉진성 백독, 플라스미노겐 활성화인자 억제제, 혈소판 활성화제, 지혈활성을 갖는 합성 펩타이드, 상기한 것의 유도체 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 추가로 선택될 수 있다. 불-밀링된 ORC 입자들과의 조합으로 사용될 수 있는 바람직한 생물학적 지혈제는 트롬빈, 피브리노겐 및 피브린; 클로르헥시딘 글루코네이트(chlorhexidine gluconate, CHG), 트라이클로산(triclosan), 은과 같은 항감염제, 및 본 기술 분야에 공지된 유사한 항세균/미생물제; 및 지혈기의 점착성을 증가시키는 첨가제; 희석제, 식염수 용액, 및 본 기술 분야에 공지된 유사 첨가제이다.

[0028] 본 발명의 목적을 위해, 분말의 중형비는 분말을 포함하는 입자들의 평균 중형비로 정의되는데, 입자의 중형비는, SEM 또는 광학 현미경 하에서 적절한 배율로 볼 수 있을 때, 입자의 최단 치수(폭)로 나눈 입자의 최장 치수(길이)의 측정에 의해 결정된다. 최저 중형비(AR) 1은 최장 치수가 최단 치수와 동일한 둥근 입자에 해당한다. 약 20의 중형비는 길이가 직경의 20배인 섬유질 입자에 해당한다. 실험 샘플의 중형비는 SEM 이미지 형성에 의해 결정하였다. 본 발명에 따른 바람직한 중형비는 1 내지 20, 더 구체적으로는 약 1.5 내지 약 17.5이다.

[0029] 지혈 입자의 유동성은 외과적 시술 동안 분말의 배치에 영향을 주는 파라미터이다. 높은 유동성은 배치가 용이하도록 하는 외과적 설정에서 바람직하다. 벌크 밀도는 미탭핑된(untapped) 분말 샘플의 질량과 입자간 공간 부피의 기여를 포함하는 부피의 비이다. 탭 밀도는 분말의 용기를 기계적으로 탭핑함으로써 얻어진 분말의 증가된 벌크 밀도의 측정값이다. 탭 밀도는 유동성과 관련이 있는 것으로 나타난다. 높은 탭 밀도는 배치와 혼합이 용이하도록 하는데 바람직하다. 바람직한 탭 밀도는 약 0.35 내지 약 1 g/cm³, 더욱 바람직하게는 0.4 내지 0.9 g/cm³, 예를 들어 0.42 내지 0.78 g/cm³이다. 달리 언급이 없다면, 본 출원의 목적을 위해, 탭 밀도는, 분말 1그램을 10 mL의 건조된 눈금 실린더에 넣고 대략 2분 동안 손으로 100회 탭핑한 변형된 USP 616 방법을 사용하여 측정된다.

[0030] 지혈 분말의 압출력(expression force)은 또한 외과적 시술 동안 분말 또는 페이스트의 배치에 관련된 중요한 파라미터이다. 시린지로부터 액체를 배출하고 시린지 내로 액체를 끌어당기는 데 필요한 작용력은 각각 압출력 및 흡인력(aspiration force)으로 알려져 있다. 그러나, 압출력 측정은 이중-시린지 혼합 장치의 경우 더 중요하다.

[0031] 이중-시린지 혼합 장치는 초기에 개별적인 액체 및 고체 캐리어들을 조합한 후 블렌딩된 내용물을 두 개의 연결된 시린지들 사이를 상호연결된 출구를 통해 전후로 통과시켜 상당히 균일한 페이스트 혼합물을 생성한다. 그러므로, 시린지로부터 페이스트를 분배하기 위한 낮은 압출력은 혼합을 용이하게 하고 궁극적으로 생성된 페이스트의 배치를 위해 바람직하다. 멸균된 벡톤 딕킨슨(Beckton Dickinson) 수형 루어 락(male luer lock) 1 mL 시린지를 사용하여 첫 번째 또는 두 번째 페이스트 0.1 mL가 압출될 때, 바람직한 압출력은 표 3에 나타난 바와 같이 유사한 중형비에서 1.51 lbf 미만이다.

[0032] 특성들의 최적의 조합은 ORC를 불 밀링함으로써 달성될 수 있지만 세절만을 행함으로써는 달성될 수 없음이 놀랍게도 밝혀졌다. 바람직한 불 밀링 방법들 중 하나는 다음에서 설명되는 바와 같다. 미리 트리밍(trimmed) 서지셀 천(4" x 4") 50g을 12 고밀도 지르코니아(지르코늄 다이옥사이드 ZrO₂, 직경 20 mm; 미국 뉴저지주, 클리프톤 소재의 글렌 밀즈 인크.(Glen Mills Inc.))를 사용하여 볼과 샘플을 500 mL 그라인딩 병에 넣음으로써 불 밀링하였다. 병은 잠금 브래킷(latching bracket)으로 고정된 다음, 유성형 볼 밀(planetary ball mill)(PM100; 미국 펜실베이니아주 뉴턴 소재의 레치, 인크.(Retsch, Inc.)) 상에서 균형이 잡힐 수 있다. 이어서, 밀링을 300 rpm에서 30분 동안 양방향으로 수행한 다음, 냉각을 위해 실온에서 1시간 동안 정지시켜 두었다. 필요에 따라 이 프로세스를 반복하였다.

[0033] ORC 샘플들은 5 내지 30개 이상의 고밀도 ZrO₂ 볼, 예를 들어 12개의 ZrO₂ 볼(직경: 20 mm; 미국 뉴저지주, 클리프톤 소재의 글렌 밀즈 인크.)을 사용하여 볼과 샘플을 그라인딩 병(250 mL; 500 mL 이상)에 넣음으로써 불 밀링될 수 있다. 병은 잠금 브래킷으로 고정된 다음, 밀(예를 들어, 유성형 볼 밀 PM100; 미국 펜실베이니아주 뉴턴 소재의 레치, 인크.)에서 균형이 잡힐 수 있다. 이어서, 밀링은 150 내지 500 rpm, 예를 들어 300 rpm에

서 5 내지 60분, 예를 들어 10 내지 30분 동안 수행될 수 있다.

- [0034] 볼 밀링 외에 고밀도 및 낮은 중형비의 압밀된 ORC 분말을 생성하는 다른 방법들이 사용될 수 있다. 롤링 압밀은 롤 밀에 의한 분말의 연속적인 압밀을 말한다. 분말은 통상 공급 스크류에 의해 롤로 전달되고 압력과 전달력에 의해 치밀화된다. 롤 압밀은 약학, 광물 및 화학산업을 포함하는 다양한 산업에서 사용되는 분말 응집 프로세스이다. 유동성이 불충분한 분말 혼합물의 롤 압밀은 2개의 반대로 회전하는 롤들 사이에서 분말의 스크류 공급을 필요로 한다. 이어서, 이들은 분말을 압밀 구역으로 끌어당기고 압밀된 분말의 스트립(strip)을 형성하는 고압을 인가한다. 반대로 회전하는 2개의 롤들 사이의 압력에 의해 그러한 스트립 또는 리본으로 압밀된 이러한 분말은 낮은 중형비를 갖는 과립들로 추가로 밀링된다. 본 발명에서, 직물 또는 부직물 형태의 ORC 물질, 또는 세절된 또는 볼 밀링된 ORC 물질은 원하는 낮은 중형비 및 높은 밀도의 ORC입자들을 얻기 위해 추가로 롤러 압밀될 수 있다.
- [0035] 해머 밀은 충분한 낮은 중형비 및 높은 탭 밀도를 갖는 ORC 입자를 제조하는 데 사용될 수 있는 다른 방법이다. 해머 밀은 충격 작용에 의해 작동되고 대부분 건조되고 자유 유동하는 물질들을 분쇄할 것이다. 물질이 상부로부터 해머 밀 내로 공급된 후, 그라인딩 챔버로 떨어진다. 물질은 고속으로 회전하는 일련의 단단한 스틸 해머에 접촉된다. 물질은 반복적인 이러한 해머와의 접촉, 그라인딩 챔버의 벽과의 접촉, 및 입자간 접촉에 의해 그라인딩된다. 물질은 입자들이 그라인딩 챔버 바닥의 반부를 덮고 있는 천공된 스크린(screen)을 통과함으로써 빠져나가기에 충분한 정도로 작아질 때까지 해머 밀 그라인딩 챔버 내에 남아있다.
- [0036] 해머 밀은 본질적으로 해머가 장착된 수직 또는 수평 회전 축 또는 드럼을 포함하는 스틸 드럼이다. 해머는 크로스(cross)의 말단들에서 스윙이 자유롭거나 중심 로터(rotor)에 고정된다. 로터는 물질이 공급 호퍼(feed hopper)로 공급되는 동안 드럼 내에서 고속으로 회전된다. 물질은 해머 바(bar)에 의해 충격을 받고, 이에 따라 세절되고 선택된 크기의 드럼 내에 있는 스크린을 통해 방출된다. 해머 밀은 일차, 이차 또는 삼차 분쇄기로 사용될 수 있는데, 즉 ORC는 직물 또는 부직물의 ORC 원료로부터 해머 밀링되거나, 세절되거나 볼 밀링된 ORC 물질로부터 해머 밀링 될 수 있다. 절단(세절) 및 볼 밀링과 다른 압밀/밀링 프로세스들 사이의 주요한 차이점은 볼 밀링과 다른 압밀 프로세스에서 사용되는 날카로운 블레이드가 없는 분쇄하는 기계적인 밀착이다. 날카로운 블레이드가 없기 때문에, 입자의 형상, 표면, 탭 밀도 등의 관점에서, 세절된 (예를 들어 블레이드로 밀링된) 입자들과 구분되게, 입자들은 상이한 특성들을 획득한다.
- [0037] 본 발명은 대체로 상기에서 설명되었다. 다음의 제한 없는 실시예들이 추가적인 세부사항을 제공한다.
- [0038] 실시예 1. ORC를 포함하는 압밀된 분말인 볼-밀링된 분말(BMP)의 제조.
- [0039] 4" x 4"의 미리 트리밍된 비멸균 서지셀® 천(에티콘, 인크., Lot #7A86S4)의 몇몇 조각을 밀링 전 24시간 동안 진공 건조시켰다. 샘플들의 총 무게는 6그램이었다. 이어서, 샘플들을 12개의 고밀도 ZrO₂ 볼(직경:20 mm; 미국 뉴저지주 클리프톤 소재의 글렌 밀즈 인크.)과 혼합하고 250 mL 그라인딩 병에 밀봉하였다. 병을 잠금 브래킷으로 고정한 다음, 밀(유성형 볼 밀 PM100; 미국 펜실베이니아주 뉴턴 소재의 레치, 인크.) 상에서 균형 잡았다. 밀링은 300 rpm에서 10분 동안 수행하였다. 이어서, 밀링된 분말을 진공 펌프(랩케어 아메리카 펌프(LabCare America Pump) PV-35)를 구비한 진공 오븐(피셔 사이언티픽 모델(Fisher Scientific Model) 280A 아이소템프(Isotemp) 진공 오븐)에서 65°C로 2.5시간 동안 건조하였다. 밀링된 분말은 최종적으로 질소 상자에서 보관하였다.
- [0040] 질소 상자에 보관된 비멸균 서지셀® 천(에티콘, 인크., Lot#7A86S4) 50그램을 4"x4" 크기로 미리 절단하고 밀링 프로세스 전 24시간 동안 진공 건조하였다. 샘플들은 12개의 고밀도 ZrO₂ 볼(직경:20 mm; 미국 뉴저지주 클리프톤 소재의 글렌 밀즈 인크.)과 혼합하고 그라인딩 병(용량: 500 mL)에 밀봉하였다. 병(총 중량 = ~7.4 kg)을 잠금 브래킷으로 고정한 다음, 밀(유성형 볼 밀 PM100; 미국 펜실베이니아주 뉴턴 소재의 레치, 인크., SN: 128081207H) 상에서 균형 잡았다. 밀링은 300 rpm에서 30분 동안 동일한 회전으로 수행하였다. 밀링된 ORC 분말을 그라인딩 병에서 제거하고 진공 오븐(피셔 사이언티픽 모델 280A 아이소템프 진공 오븐) 및 진공 펌프(랩케어 아메리카 펌프 PV-35)에서 65°C로 2.5시간 동안 건조하였다.
- [0041] 이에 더하여, ORC계 서지셀® 누-니트® 흡수가능 지혈기를 전술된 것과 동일한 방법을 사용하여 본 발명의 분말을 제조하는데 사용하였다.
- [0042] 광학 현미경 및 SEM 사진의 분석은 볼 밀링 시간이 길수록 생성된 BMP 입자들이 높은 중형비(>10)의 긴 구조로

부터 1에 가까운 종횡비를 갖는 점점 더 둥근 응집체로 전이됨을 보여준다.

[0043] 이제, 표 1을 참고하면, 불 밀링 프로세스 동안 수집된 온도 데이터가 불 밀링 프로세스를 통해 취해진 측정치들과 함께 보여진다. 데이터는, 낮은 종횡비의 BMP를 얻기에 충분히 좋은, 불 밀링 30분 후에 기록된 38℃의 최대 온도로, 단지 제한된 온도 증가만이 있음을 나타낸다.

[0044] [표 1]

온도대시간

불 밀링 시간	0 분	3 분	6 분	10 분	20 분	30 분
온도*	22.2 °C	22.3 °C	22.3 °C	23.0 °C	30.5 °C	38.0 °C

[0045] * 온도는 IR 온도 검출기를 샘플과 ZrO₂ 불을 포함하는 개방된 그라인딩 병의 상부에 놓고 얻었다.

[0046] 롤러-압밀된 ORC 분말

[0047] 스크린 메시 1726-150이 설치된 피츠 밀(Fitz Mill)을 통해 ORC 찌를 세질함으로써 세질된 ORC 분말을 얻었다. 표준 USP 616으로 측정된 미가공 벌크 밀도 및 탭 밀도는 각각 0.2g/mL 및 0.26g/mL였다. 세질된 ORC 분말을 롤러 압밀기(WP 120x 40V, #900-0071, 미국 펜실베이니아주 소재의 알렉산더베르크, 인크.(Alexanderwerk, Inc.))로 공급하였다. 헬리컬 밴드 스크류(helical band screw)를 갖는 5 리터의 고 유동 호퍼를 공급 스크류 주입구 위에 수평으로 장착하였다. 마찰 핀을 위한 릴리프(relief)를 가지는 고 출력 공급 스크류. 호퍼 입구의 단일 나선 및 진공 영역의 이중 나선은 공급 스크류의 전방을 향하였다. 진공 탈기 필터 파이프(<1um)를 롤러 앞에 혼입된 공기를 제거하기 위해 공급 스크류 주위에 설치하였다. 샘플은 2.2 내지 2.7mm의 플레이크(flake)를 획득하기에 충분히 잘 유동하였다. 섬유들이 강제로 파쇄되도록 하기 위해서는 16.2 Kn cm의 롤러 폭에서 약 180 바(bar)의 더 높은 압력이 필요했다. 샘플을 부드럽게 이동시키기 위해 공급 스크류 이송의 과정의 경우 압력은 약 6Kg/시간이었다. 표준 로터 각은 거친 파쇄를 위해 1.25mm 스크린 그리고 미세한 파쇄화를 위해 0.63mm 스크린으로 시작하였다. 둥근 스크린(1.25mm 원)을 사용하여 시작한 다음, 더 적극적인 전단을 위해 0.80mm 정사각형 스크린을 사용하였다. 압밀 후, 샘플들은 80, 100, 120, 140, 170, 230, 및 270 메시의 스크린 체 세트를 통해 진폭-조정된 ATM 초음파 선별기(sonic sifter)로 5분 동안 체질하였다. 입자 분포는 31.1%(>180 메시), 0.7%(>150 메시), 0%(>125 메시), 0.1%(106 메시), 3.6%(90 메시), 20.2%(63 메시), 5%(53 메시), 및 바닥 팬에서 37.6%였다. 샘플(>180 메시)을 제외하고는, 나머지 체질된 샘플들은 섬유 형태였다. 샘플(>180 메시)의 종횡비 및 탭 밀도는 각각 대략 1.5 및 0.44g/mL였다.

[0048] 비교 목적을 위해, 세질된/쇼핑된 ORC 분말을 동일한 출발 ORC 찌로부터 다음과 같이 제조하였다. 다량의 ORC 찌를 세질기(shredder)(미국 일리노이주 소재의 피츠밀, 피츠 패트릭 컴퍼니(FitzMill, Fitz Patrick Company)) 내에 놓은 다음, 6000 rpm의 속도로 처리하였다. 세질된 ORC 분말은 피츠밀 메시 1726-080 스크린으로 얻었다. 추가의 체질 및/또는 세질 시간의 변경은 비교 목적을 위한 다양한 종횡비의 세질된/쇼핑된 ORC 분말을 제조하게 되었다.

[0049] 실시예 2. 압밀된 ORC 분말 또는 불-밀링된 분말(BMP)의 물리적 특성 평가.

[0050] 추가적인 특성 평가를 위해, BMP를 99% 아이소프로판올에서 3분 동안 초음파 혼합기로 교반 및 혼합하였다. 건조 후, BMP 및 세질된 ORC 분말(비교예) 둘 모두는 주사 전자 현미경(SEM) 및 동적 광 산란(DLS)으로 특성 평가하였다. DLS 분석은 BMP에 대한 입자 크기 범위가 약 1.75 마이크로미터 내지 116 마이크로미터이고 중간 입자 길이가 36 마이크로미터임을 나타내었다. 동적 SEM 사진을 (호리바 인스트루먼트 인크.(Horiba Instruments Inc.))에 의한) 드래프팅 프로그램(drafting program)으로 불러와서 103개 입자들의 길이 및 폭을 측정하였다. 대부분의 입자들은 1.0 내지 2.5의 종횡비(L/W)를 나타내었다. 도 1 및 도 2를 비교하면, 상이한 기술들에 의한 측정이 대체로 동일한 경향을 나타내고 SEM에 의한 측정은 DLS 데이터와 일치함을 보인다.

[0051] 세질된/쇼핑된 ORC 분말의 SEM 분석이 비교 목적을 위해 나타나 있다. 이러한 분말은 모든 목적을 위해 본 명세서에 전체로 참고로 포함된 루니 등의 미국 특허 출원 공개 제2006/0233869에 설명된 분말과, 폭(W)에 대한 길이(L)의 평균 종횡비가 약 30(W: 15 um; L: 35 내지 860 μm)으로, 유사하다. 불 밀링된 서지셀 분말의 평균 종횡비는 쇼핑된 서지셀 섬유(피츠 밀 1726-080 메시 스크린으로 얻어짐)보다 약 20배 더 작다. BMP의 탭 밀도(0.78 g/mL)는 쇼핑된 서지셀의 탭 밀도(0.26 g/mL)보다 약 3배 더 크다.

[0052] 비교예

[0053] 세절된 ORC 분말을 본 발명의 볼 밀링된 분말과 실질적으로 동일한 중형비를 갖도록 제조하였다. 스크린 메시가 장착된 피츠 밀을 통해 6000 rpm에서 ORC 천을 세절한 다음, 45, 80, 120, 400의 스크린 체 세트 및 체 셰이커(shaker)(미국 오하이오주 소재의 W.S. 타일러(Tyler), 모델: RX-29, SN: 10-1046)를 통해 체질함으로써 세절된 ORC 분말을 얻었다. 중형비 특성 평가는 상기된 바와 같이 광학 측정 기술을 사용하여 수행하였다.

[0054] 실시예 3. 탭 밀도 및 유동성에 대한 입자 중형비의 효과: BMP 대 세절된/초핑된 분말

[0055] 변형된 USP 1174 방법-분말 유동을 사용하여 입자 유동성을 측정하였다. 4자리 저울(메틀러 톨레도 엑셀런트(Mettler Toledo Excellent) XS204, 에티콘 BA-046)을 사용하여 분말이 유리 관(OD: 0.8cm, ID: 0.6cm, 길이: 31cm)을 통해 이동함에 따라 분말의 무게를 측정하였다. 분말의 유량은 이동 시간 및 총 이동 거리(40cm)에 의해 결정하였다.

[0056] 이제, 표 2를 참고하면, 세절된 ORC 분말 및 BMP의 탭 밀도 및 유동성의 비교가 나타나 있다. 데이터의 분석은 실질적으로 동일하거나 유사한 중형비에서 BMP는 세절된 분말보다 상대적으로 높은 탭 밀도 및 훨씬 우수한 유동성을 보임을 나타낸다. 최저 중형비에서의 BMP의 높은 유동성 및 탭 밀도는 어떠한 중형비의 세절된 분말에서도 얻어질 수 없다.

[0057] [표 2]

ORC 분말의 탭 밀도 및 유동성의 비교

볼 밀링된 ORC 분말			세절된 ORC 분말		
중형비	탭 밀도 (g/cm ³)	유동성 (cm/sec)	중형비	탭 밀도 (g/cm ³)	유동성
1.5	0.78	200	1.9	0.65	59.2
4.8	0.67	70.6	3.2	0.58	44.2
8.7	0.53	17.4	9.9	0.41	7.55
17.5	0.46	7.6	17.7	0.3	3.24
20.9	0.42	5.9	23.7	0.24	3.12
36	0.18	1.6	37.4	0.12	1.37

[0058]

[0059] 실시예 4. 혈액 응고에 대한 입자 중형비의 효과: BMP 대 세절된/초핑된 분말

[0060] 각각 다양한 중형비를 갖는 본 발명의 BMP 및 비교예로서 제조된 세절된 ORC 분말을 더 낮은 중형비를 가져오는 더 긴 밀링 또는 세절 시간으로 전술된 바와 같이 제조하였다. 각 샘플의 평균 중형비는 SEM에 의해 결정하였다.

[0061] 이어서, 이러한 분말들의 혈액 응고 효과는 시험관 내에서 실험적으로 다음과 같이 시험하였다. 4개월 된 암돼지(45 Kg)의 신선한 돼지 혈액을 3.2% 완충된 시트르산나트륨 용액과 함께 몇몇 4.5 mL BD 진공채혈관에 수집하였다. 이어서, 혈액을 식염수 용액(0.9% NaCl USP, Lot#082420, 백스터 헬스케어(Baxter Healthcare))으로 1/1(v/v)의 비로 희석하였다. ST4 응고 분석기를 사용하여 시험관내 혈액 응고 시간을 결정하였다. 각 큐벳(cuvette)은 200 μ L의 희석된 혈액을 포함하고 이어서 각각의 시험 대상품(test article) 2mg을 적용하였다. 각 샘플은 3회 시험하였다.

[0062] 이제, 도 3 및 4를 참고하면, 시험 결과는 응고 시간 대 세절된 ORC 분말과 BMP의 중형비로 나타내었다. 도 4는 도 3과 동일한 데이터를 보여주지만 좁은 범위의 중형비에 대한 것이다. 제시된 데이터의 분석은, 낮은 중형비, 특히 약 1 내지 약 18의 중형비에서, BMP가 세절된 ORC 분말에 비해 상대적으로 훨씬 우수한 혈액 응고를 보이고, 일부 중형비에서는 응고까지 최대 3배 더 빠른 시간을 갖는 것을 나타낸다.

[0063] 실시예 5. ORC 페이스트의 압출력에 대한 입자 중형비의 효과: BMP 대 세절된/초핑된 분말

[0064] 사용된 물질 및 방법들은 다음과 같다. 상이한 중형비(AR)를 갖는 ORC 분말 0.095그램을 벡톤 디킨슨 수형 루어 락 1 mL 시린지에 미리 충전하였다. 샘플을 어댑터에 연결하고 0.2 mL 식염수[0.9 NaCl (aq)]가 미리 충전된 다른 벡톤 디킨슨 수형 루어 락 시린지를 전후 20회 통과로 미리 혼합한 다음, 충분한 수화를 허용하도록 30 초 동안 정치시켰다. 페이스트의 압출력은 인스트론(Instron)(모델: 5544) 및 로드 셀(load cell)(LC-105)에 의해 결정하였다. 압출된 용액의 첫 번째 0.1 mL 및 이어서 압출된 두 번째 0.1 mL에 대해 압출력을 기록하였으며, 그 결과가 표 3에 나타나 있다. 약 1 내지 약 5의 더 낮은 중형비에서, 세절된 ORC 분말은 식염수와 혼

합가능하지 않았으며 장치의 로드 한계 내에서 시린지로부터 압출될 수 없었다. 반대로, BMP 분말은 혼합가능하였고 유사한 중형비에서 1.51 lbf 미만의 힘으로 시린지로부터 분배되었다.

[표 3]

분말의 다양한 중형비에 대한 압출력

분말 제조 방법	중형비	압출력* (lbf)	압출력* (lbf)	중형비	압출력* (lbf)	압출력* (lbf)
		첫 번째 0.1 mL	두 번째 0.1 mL		첫 번째 0.1 mL	두 번째 0.1 mL
BMP	4.8	0.37	1.51	1.5	0.43	0.30
세절된 ORC	3.2	1.47	9.73**	1.9	3.66	9.18**

*최대 로드 (lbf); ** 로드 셀의 최대 한계에 가깝게 근접하는 힘으로 인해 측정을 중단하였다. 첫 번째 0.1 mL 식염수의 평균 압출력: 0.23 lbf.

실시예 6. 생체내 지혈 연구: BMP 대 대조군

서지셀 오리지널(Original), 피브릴라, 식염수와 혼합된 서지플로[®] 지혈 매트릭스(서지플로/식염수), 및 트롬빈과 혼합된 서지플로[®] 지혈 매트릭스(서지플로/트롬빈)를 포함하는 대조군, 및 BMP 플러스(Plus)뿐 아니라 BMP(BMP는 전술된 바와 같이 볼 밀링에 의해 서지셀[®] 천으로부터 제조된 분말임)를 포함하는 본 발명의 물질에 대해서 하기의 돼지 생검 편치 비장 모델에서 지혈까지의 시간(TTH)을 평가하였다. BMP 플러스는 전술된 바와 같이 볼 밀링에 의해 카르복시메틸 셀룰로오스(CMC) 및 구연산칼슘과 혼합된 서지셀[®] 천으로 제조된 분말이다. 서지플로[®] 지혈 매트릭스는 존슨 앤드 존슨 컴퍼니의 미국 뉴저지주 소머빌 소재의 에티콘, 인크.의 사업부인 존슨 앤드 존슨 운드 매니지먼트 월드와이드로부터 구매가능하다.

생검 편치 절개부(6 mm 길이 및 3 mm 깊이)를 돼지 비장에 형성하였다. 이제, 표 4를 참고하면, 음성 대조군으로서 거즈를 포함하는 7개의 시험 대상품을 개별적으로 환부에 적용하였으며, 각 시험 회수는 10회 반복하였다(N=10). 탐포네이드(tamponade)를 30초 동안 적용한 후, 30-초간 관찰하였다. 지혈이 달성되지 않는 경우, 출혈을 멈추기 위해 추가의 탐포네이드를 적용하였다. 외과용 거즈 조각들을 음성 대조군으로 사용하였다.

[표 4]

지혈 효능 연구를 위한 시험 대상품

시험 대상품	크기/치수/설명	N
BMP	0.15g 볼 밀링된 서지셀 천 분말	10
BMP 플러스	0.15g; 중량비 100/10/1 의 볼-밀링된 서지셀/CMC/구연산칼슘	10
피브릴라 - 양성 대조군	0.15g	10
서지셀 오리지널 - 양성 대조군	0.15g; 적중되고 동시에 적용된 4 개의 2.5 x 2.5cm 조각	10
서지플로/2 mL 식염수 - 양성 대조군	1 mL 혼합물	10
서지플로/2 mL 트롬빈 - 양성 대조군	1 mL 혼합물; 인간 트롬빈 2 mL 와 혼합된 서지플로	10
거즈 - 음성 대조군	환부에 적용되기 전에 3 회 포개 접은 8 겹의 비멸균 4"x4"	10

지혈 연구의 결과는 도 5에 제시되어 있다. BMP 및 BMP 플러스의 TTH는 서지셀 오리지널 및 피브릴라(양성 대조군)보다 빨랐다. 또한, BMP 플러스는 생검 편치 모델에서 BMP보다 더 빠른 TTS를 나타내었다. BMP 플러스의 TTH는 서지플로/트롬빈만큼 양호하였다(평균 TTH: 2 분 이내). 제시된 데이터의 분석은 본 발명의 BMP 및 BMP 플러스의 양호한 지혈 특성을 나타낸다.

실시예 7. 점도 특성 평가

BMP를 전술된 바(실시예 5)와 같이 제조하였고 페이스트를 제조하는 데 사용하였다. 각각의 6 mL 시린지에,

BMP 1그램을 첨가하였다. 플런저(plunger)를 2.2 mL에 미리 배치하였다. 이어서, 시린지를 다른 시린지에 연결하고 사용할 준비가 된 주도(consistency)에 도달하도록 BMP/식염수 혼합물을 시린지들 사이에서 전후로 10회 이송으로 옮겨서 멸균 식염수 2 mL와 혼합하였다. 필요에 따라 추가 이송을 적용하였다. 1그램/1.6 mL, 1그램/1.8 mL, 1그램/2 mL, 및 1그램/2.2 mL의 농도를 평가하였으나; 샘플의 처음 두개의 농도들은 혼합하기가 매우 어려웠으며 겔 블록이 시린지 내에서 발견되었다. 2.2 mL당 1그램의 농도는 1그램/2 mL와 비교할 때 너무 희석되었다. 제시된 데이터는 1그램/2 mL에 상응한다. 구매가능한 서지플로[®] 지혈 매트릭스(대조군)를 멸균 식염수 2 mL와 혼합하였다.

[0075] 시린지 전체를 통해 점도를 측정하였다: 초기 (0 내지 1 mL). 펠티에(Peltier) 온도 제어기가 장착된 제어된 스트레인 회전식 유량계(controlled-strain rotational rheometer)(아레스(ARES), 티에이 인스트루먼트 인크.(TA Instrument Inc.))로 점도를 측정하였다. 각각의 혼합된 샘플을 25 mm 평행 플레이트와 펠티에 플레이트 표면 사이에 개재하였다. 두 플레이트들 사이의 간격은 모든 측정에서 1.25 mm로 설정하였다. 스트레인 =1%, 주파수=1 rad/s 및 온도 = 25℃의 동적 시간 스위프 시험(Dynamic time sweep test)을 모든 측정에 사용하였다. 첫 번째 측정된 데이터 포인트를 샘플의 점도로서 기록하였다. 3회 측정을 수행하였고 그 결과는 도 6에 기록되어 있다. 유동가능 BMP 기반 페이스트의 점도는 서지플로의 점도보다 6배 초과로 더 높다. 더 높은 점도가 일정한 유형의 출혈을 치료하는데 유용할 수 있다.

[0076] 실시예 8. 생체내 지혈 연구: ORC 페이스트 대 대조군들

[0077] 다음의 돼지 생검 펀치 비장 모델에서 지혈까지의 시간(TTH)을 평가하였다. 생검 펀치 절개부(6 mm 길이 및 3 mm 깊이)를 돼지 비장에 형성하였다. 탐포네이드를 30초 동안 적용한 후, 30초간 관찰하였다. 이제, 하기와 같이 제조된 시험 대상품의 농도들을 참고한다. 9개의 시험 대상품을 개별적으로 환부에 적용하였으며, 각 시험 회수는 10회 반복하였다(N=10). 지혈이 달성되지 않는 경우, 출혈을 멈추기 위해 추가의 탐포네이드를 적용하였다. 외과용 거즈 조각들을 음성 대조군으로 사용하였다. 그 결과가 도 7에 기록되어 있다. 분말 형태 및 페이스트 형태의 각 시험 대상품의 적용된 양은 각각 0.2 g 및 1 mL이다. 모든 시험 대상품이 표 5에 나열되어 있다.

[0078] [표 5]

지혈 효능 연구를 위한 시험 대상품

시험 대상품	샘플 설명	N
BMP/식염수	식염수 2 mL 와 혼합된 BMP 1 g	10
BMP/CMC/Ca2+/식염수	식염수 2 mL 와 혼합된 BMP/CMC/구연산칼슘(87:8.7:4.3%, w/w) 1 g	10
BMP/CMC/식염수	식염수 2 mL 와 혼합된 BMP/CMC(87:8.7%, w/w) 1 g	10
Ca2+/식염수	식염수 2 mL 중 구연산칼슘(4.3%, w/w)	10
BMP/Ca2+/식염수	식염수 2 mL 와 혼합된 BMP/구연산칼슘(87:4.3%, w/w) 1 g	10
BMP	BMP 단독	10
BMP/CMC	BMP 가 CMC 와 혼합(87:8.7%, w/w)	10
BMP/Ca2+	BMP 가 구연산칼슘과 혼합(87:4.3%, w/w)	10
BMP/CMC/Ca2+	BMP 가 CMC 및 구연산칼슘과 혼합(87:8.7:4.3%, w/w)	10
거즈 - 음성 대조군	환부에 적용되기 전에 3 회 포개 접은 8 접의 비멸균 4"x4"	10

[0079]

[0080] BMP를 실시예 5에서 설명된 바와 같이 제조하였다.

[0081] 지혈 효능에 대한 데이터는 도 7에 나타나 있으며, 이는 BMP 기반의 분말 및 페이스트(BMP와 정상 식염수와의 혼합물)가 양호한 지혈 특성을 갖는다는 것을 나타낸다. BMP/Ca²⁺/식염수 및 BMP/CMC/Ca²⁺는 우수한 지혈 효능을 가졌다. Ca²⁺에 대한 10분의 TTH는 지혈을 달성하지 못하고 TTH =10이 부여된 실험에 해당한다.

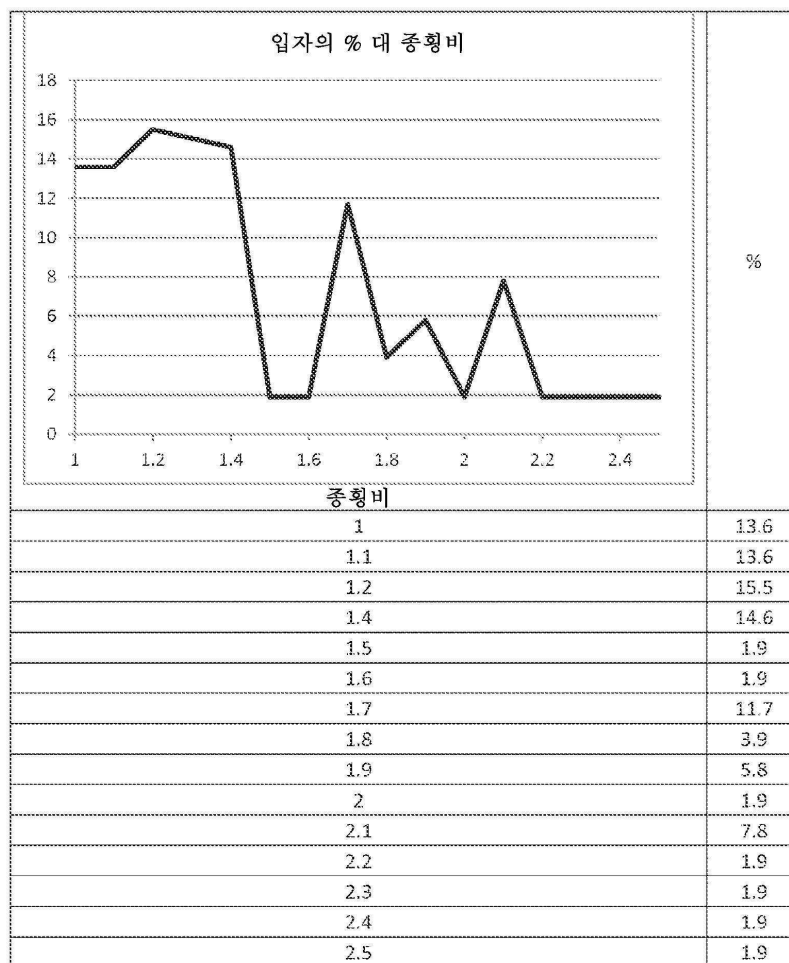
[0082] 실시예 9. 생체내 지혈 연구: BMP 분말 대 다른 분말

[0083] 종횡비가 상이한 BMP 대 산화된 셀룰로오스 분말(불-밀링된 젤리타셀 분말) 및 전분 기반 분말(아리스타(Arista))의 지혈 효능이 도 8에서 비교된다. 그러한 분말들을 제조하는 방법은 아래에 설명되어 있다. 서지셀[®] 천(에티콘, 인크.) 6그램을 4"x4" 크기로 미리 절단하고 밀링 프로세스 전 24시간 동안 진공 건조하였다.

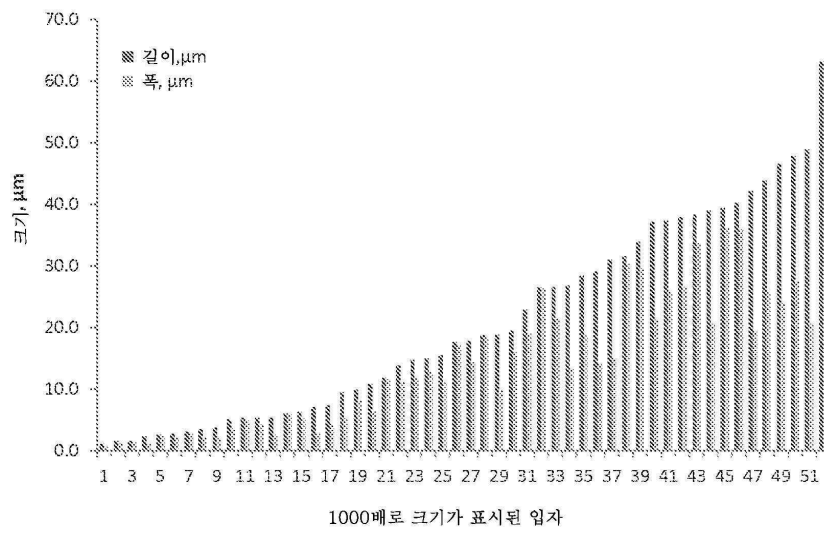
샘플들은 12개의 고밀도 ZrO_2 볼(직경:20 mm; 미국 뉴저지주 클리프톤 소재의 글렌 밀즈 인크.)과 혼합하고 그라인딩 병(용량: 250 mL)에 밀봉하였다. 병(총 중량 = ~4.6 kg)을 잠금 브래킷으로 고정한 다음, 밀(유성형 볼 밀 PM100; 미국 펜실베이니아주 뉴턴 소재의 레치, 인크., SN: 128081207H) 상에서 균형 잡았다. 밀링은 300 rpm에서 3.5 내지 10분 동안 동일한 회전으로 수행하였다. 밀링된 ORC 분말을 그라인딩 병에서 제거하고 진공 오븐(피셔 사이언티픽 모델 280A 아이소템프 진공 오븐, SN: 1507060671168) 및 진공 펌프(랩케어 아메리카 펌프 PV-35, SN: 301090011)에서 65°C로 2.5시간 동안 건조하였다. 생성된 BMP를 질소 상자에 보관하였다. 샘플의 중형비는 SEM에 의해 결정하였다. 동일한 그라인딩 파라미터들을 사용함으로써, 중형비가 1.92인 밀링된 겔리타셀 분말은 2시간의 그라인딩 프로세스를 필요로 하였다. 도 8에 제시된 데이터의 분석은 BMP가 분말의 동일한 중형비에서 비교 분말보다 상대적으로 우수한 지혈 효능을 나타내었음을 보여준다. 도 8의 도표에서 서지 셀[®] 분말 AR 20의 데이터 포인트는 세절된 ORC 분말(비교예)에 해당한다.

도면

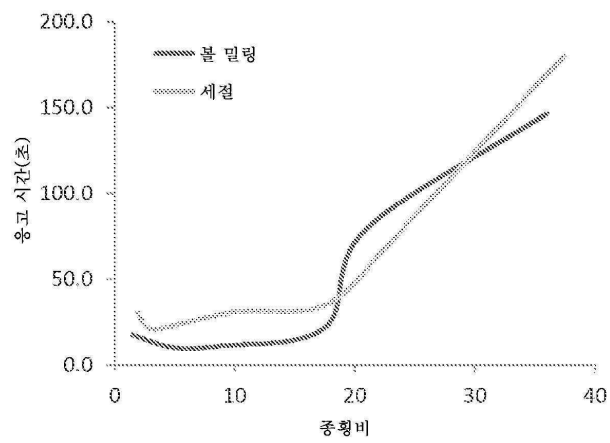
도면1



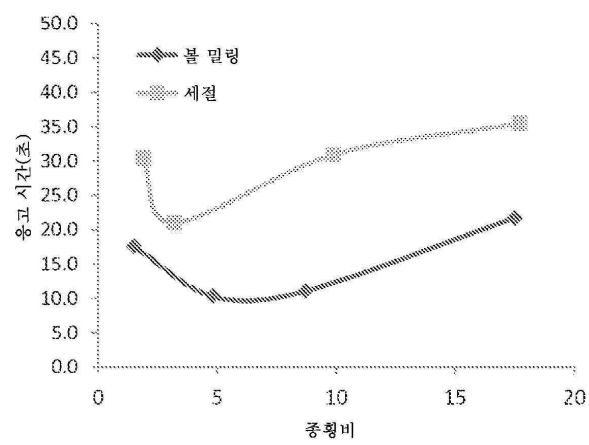
도면2



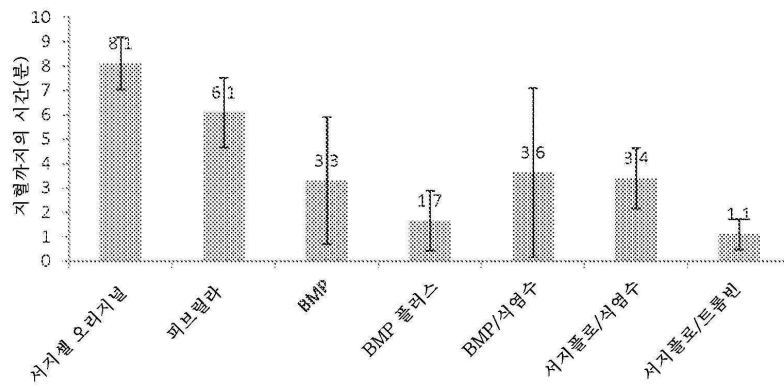
도면3



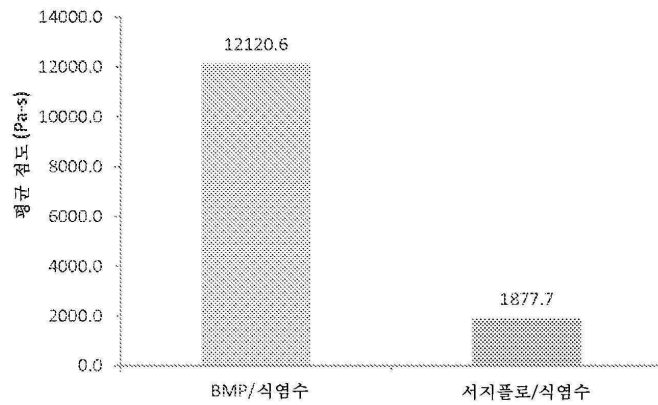
도면4



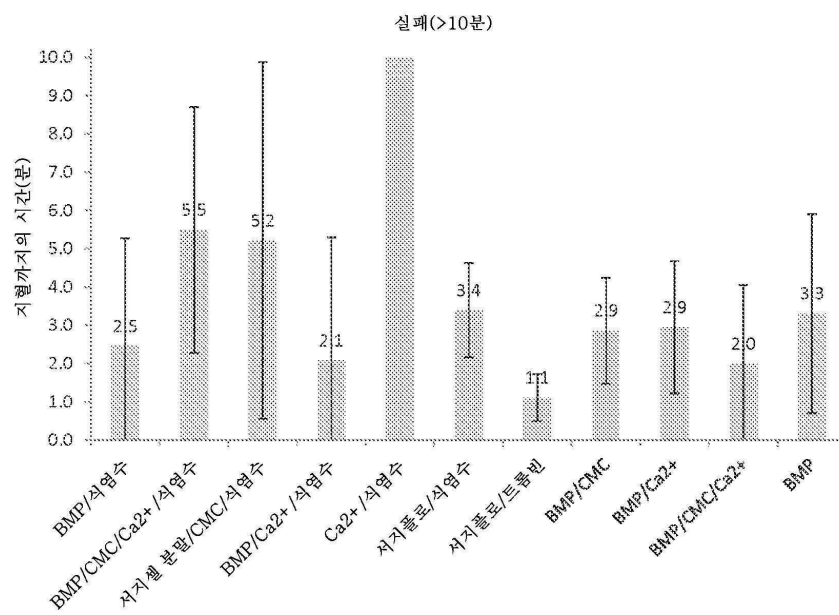
도면5



도면6



도면7



도면8

