



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년04월22일
(11) 등록번호 10-2799194
(24) 등록일자 2025년04월17일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61F 13/00 (2024.01) A61F 13/02 (2024.01)
A61F 13/06 (2006.01) A61K 38/16 (2006.01)
A61K 38/18 (2006.01) A61K 38/28 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61L 15/26 (2006.01)
A61L 15/28 (2006.01) A61L 15/32 (2006.01)
A61L 15/64 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61F 13/00063 (2013.01)
A61F 13/023 (2024.01)
- (21) 출원번호 10-2021-7013182
- (22) 출원일자(국제) 2019년10월24일
심사청구일자 2022년10월21일
- (85) 번역문제출일자 2021년04월30일
- (65) 공개번호 10-2021-0081352
- (43) 공개일자 2021년07월01일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2019/057810
- (87) 국제공개번호 WO 2020/086812
국제공개일자 2020년04월30일
- (30) 우선권주장
62/749,974 2018년10월24일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
CN103990175 A*
KR1020090122206 A*
US20060188486 A1*
WO2013144727 A2*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
숨니오 글로벌 홀딩스, 엘엘씨
미국 48377 미시간주 노비 웨스트 12 마일 로드 45145
- (72) 발명자
모한티 프라반수
미국 미시간주 48188 캔턴 모닝 도브 코트 838
왕 주오란
미국 미시간주 48374 노바이 이사벨라 웨이 48183
다스 서브헨두
미국 미시간주 48335 파밍턴 힐스 웨스트 하이랜드 코트 24678
- (74) 대리인
유미특허법인

전체 청구항 수 : 총 42 항

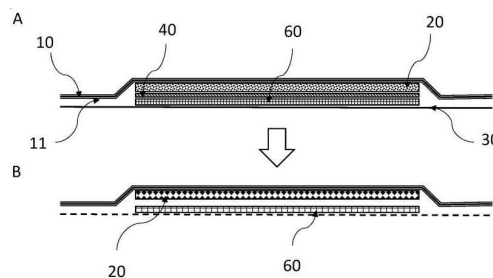
심사관 : 김민정

(54) 발명의 명칭 기능적 상처 치유 드레싱 장치

(57) 요약

본 개시내용의 일 양태는 상처 드레싱의 구성요소로서 상처 치유를 위한, 유리질화된(vitrified) 활성제, 예컨대 성장 인자 및/또는 하나 이상의 항미생물 펩타이드(AMP), 또는 다른 요망되는 활성제의 용도에 관한 것이며, 상기 활성제는 하나이상의 중합체성 물질 상으로 유리질화되고, 이들의 방출 속도는 하나 이상의 생분해성 중합체 (뒷면에 계속)

대표도



성 물질의 존재에 의해 조절된다.

(52) CPC특허분류

A61F 13/069 (2013.01)

A61K 38/164 (2013.01)

A61K 38/1866 (2013.01)

A61K 38/28 (2013.01)

A61L 15/26 (2013.01)

A61L 15/28 (2013.01)

A61L 15/32 (2013.01)

A61L 15/44 (2013.01)

A61L 15/64 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

상처 드레싱 장치로서,

지속 방출형(time release) 활성제 전달층으로서, 상기 지속 방출형 활성제 전달층은 수-안정성(water stable) 중합체 및 생분해성 중합체를 포함하며, 상기 수-안정성 중합체는 수-안정성 중합체에 유리질화된(vitrified) 하나 이상의 활성제를 포함하고, 상기 지속 방출형 활성제 전달층은 생분해성 중합체가 치료 시간의 경과(course)에 걸쳐 하나 이상의 활성제를 상처 부위에 방출시킬 수 있도록 배치되는, 지속 방출형 활성제 전달층을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 수-안정성 중합체 및 상기 생분해성 중합체는 혼재된 교대 층(interwoven alternating layer)에 존재하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 수-안정성 중합체 및 상기 생분해성 중합체는 지속 방출형 활성제 전달층 전체에 걸쳐 혼재되는, 상처 드레싱 장치.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 수-안정성 중합체는 콜라겐, 폴리카프로락톤, 폴리락트산, 폴리(락틱-코-글리콜산), 또는 이들의 조합을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 생분해성 중합체는 물에서 적어도 30분에 걸쳐 50 중량% 이상만큼 용해되는, 상처 드레싱 장치.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 생분해성 중합체는 에틸렌 옥사이드, 다당류, 또는 이들의 조합을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 생분해성 중합체는 폴리에틸렌 옥사이드, 폴롤란, 또는 이들의 조합을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 지속 방출형 활성제 전달층은 제2 활성제를 포함하고,
상기 제2 활성제는 제1 활성제와 상이한 것인, 상처 드레싱 장치.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 활성제는 항미생물 펩타이드, 항체, 성장 인자, 인슐린, 또는 이들의 조합을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 활성제는 상기 수-안정성 중합체에 공유 결합되는, 상처 드레싱 장치.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 활성제는 상기 수-안정성 중합체 또는 생분해성 중합체에 공유 결합되지 않는, 상처 드레싱 장치.

청구항 12

제1항에 있어서,

상기 지속 방출형 활성제 전달층은 2개 이상의 활성제를 포함하며,

제1 활성제는 상기 수-안정성 중합체에 공유 결합되고,

제2 활성제는 상기 수-안정성 중합체 또는 생분해성 중합체에 공유 결합되지 않는, 상처 드레싱 장치.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 제1 활성제 및 제2 활성제는 독립적으로, 항미생물 펩타이드, 항체, 성장 인자, 인슐린, 또는 이들의 조합을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 14

제12항에 있어서,

상기 제1 활성제는 항체, 항미생물 펩타이드, 또는 이들의 조합인, 상처 드레싱 장치.

청구항 15

제12항에 있어서,

상기 제2 활성제는 성장 인자, 인슐린, 항체, 항염증제, 또는 이들의 조합인, 상처 드레싱 장치.

청구항 16

제1항에 있어서,

접착제 층, 즉시 방출(immediate release)층, 또는 접착제 층과 즉시 방출층 둘 다를 추가로 포함하고,

상기 즉시 방출층 및 상기 접착제 층이 존재하는 경우, 상기 즉시 방출층은 상기 접착제 층의 반대편에서 상기 지속 방출형 활성제 전달층과 회합되는(associated), 상처 드레싱 장치.

청구항 17

제16항에 있어서,

상기 즉시 방출층은 생분해성 중합체를 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 생분해성 중합체는 폴리에틸렌 글리콜을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 19

제16항에 있어서,

스캐폴드 층을 추가로 포함하고,

상기 스캐폴드 층은 상기 지속 방출형 활성제 전달층의 반대편에서 상기 즉시 방출층과 회합되는, 상처 드레싱 장치.

청구항 20

제19항에 있어서,

상기 스캐폴드 층은 콜라겐을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 21

제19항에 있어서,

상기 스캐폴드 층은 하나 이상의 활성제를 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 22

제21항에 있어서,

상기 하나 이상의 활성제는 상기 스캐폴드 층 내로 유리질화되는, 상처 드레싱 장치.

청구항 23

제19항에 있어서,

상기 활성제는 항미생물 펩타이드, 항체, 성장 인자, 인슐린, 또는 이들의 조합을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 24

제23항에 있어서,

상기 스캐폴드 층은 성장 인자를 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 25

제19항에 있어서,

상기 스캐폴드 층은 하나 이상의 오메가-3-지방산을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 26

제19항에 있어서,

상기 스캐폴드 층은 즉시 방출층이 체액 또는 물과 접촉 시, 상기 즉시 방출층으로부터 방출 가능한 것인, 상처 드레싱 장치.

청구항 27

제19항에 있어서,

상기 스캐폴드 층은 스캐폴드 층 내에서 하나 이상의 내피 세포의 이동을 가능하게 하는 다공성을 갖는, 상처 드레싱 장치.

청구항 28

제19항에 있어서,

상기 스캐폴드 층은 어류로부터의 무세포성(acellular) 콜라겐인, 상처 드레싱 장치.

청구항 29

제19항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 지속 방출형 활성제 전달층과 상기 스캐폴드 층 둘 다 성장 인자를 포함하고,

상기 성장 인자는 상기 지속 방출형 활성제 전달층 또는 상기 스캐폴드 층에 공유 결합되지 않는, 상처 드레싱 장치.

청구항 30

제29항에 있어서,

상기 지속 방출형 활성제 전달층은 항미생물 펩타이드 또는 항체를 포함하며,

상기 항미생물 펩타이드, 상기 항체 또는 둘 다는 상기 지속 방출형 활성제 전달층에 공유 결합되거나 공유 결합되지 않는, 상처 드레싱 장치.

청구항 31

제29항에 있어서,

상기 지속 방출형 활성제 전달층은 항체, 인슐린 또는 둘 다를 추가로 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 32

제29항에 있어서,

상기 스캐폴드 층은 항체, 인슐린 또는 둘 다를 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 33

상처 드레싱 장치로서,

상기 상처 드레싱 장치는,

지속 방출형 활성제 전달층으로서, 상기 지속 방출형 활성제 전달층은 수-안정성 중합체 및 생분해성 중합체를 포함하며, 상기 수-안정성 중합체는 수-안정성 중합체에 유리질화된 하나 이상의 활성제를 포함하고, 상기 지속 방출형 활성제 전달층은 생분해성 중합체가 치료 시간의 경과에 걸쳐 하나 이상의 활성제를 상처 부위에 방출시킬 수 있도록 배치되는, 지속 방출형 활성제 전달층;

지속 방출형 활성제 전달층에 결합된 즉시 방출층; 및

스캐폴드 층으로서, 상기 스캐폴드 층은 체액과 접촉 시 상처 드레싱으로부터 방출 가능하도록 즉시 방출층에 결합되는, 스캐폴드 층

을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 34

제33항에 있어서,

상기 수-안정성 중합체는 콜라겐, 폴리카프로락톤, 폴리락트산, 폴리(락틱-코-글리콜산), 또는 이들의 조합을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 35

제33항에 있어서,

상기 생분해성 중합체는 물에서 적어도 30분에 걸쳐 50 중량% 이상만큼 용해되는, 상처 드레싱 장치.

청구항 36

제33항에 있어서,

상기 생분해성 중합체는 에틸렌 옥사이드, 폴롤란, 또는 이들의 조합을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 37

제33항에 있어서,

상기 스캐폴드 층은 스캐폴드 층에 유리질화된 제2 활성제를 추가로 포함하고,

상기 제2 활성제는 제1 활성제와 상이하거나 제1 활성제와 동일한 것인, 상처 드레싱 장치.

청구항 38

제33항에 있어서,

상기 지속 방출형 활성제 전달층은 2개 이상의 활성제를 포함하며,

제1 활성제는 상기 수-안정성 중합체에 공유 결합되고,

제2 활성제는 상기 수-안정성 중합체 또는 생분해성 중합체에 공유 결합되지 않는, 상처 드레싱 장치.

청구항 39

제33항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 활성제는 항미생물 펩타이드, 항체, 성장 인자, 인슐린, 또는 이들의 조합을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 40

제33항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 스캐폴드 층은 콜라겐을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 41

제33항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 스캐폴드 층은 하나 이상의 오메가-3-지방산을 포함하는, 상처 드레싱 장치.

청구항 42

제33항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 스캐폴드 층은 스캐폴드 층 내에서 하나 이상의 내피 세포의 이동을 가능하게 하는 다공성을 갖는, 상처 드레싱 장치.

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 2018년 10월 24일에 출원된 미국 임시 출원 62/749,974호에 의존하고 이에 대해 우선권을 주장하며, 이의 전체 내용은 참조로서 본원에 포함된다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 개시내용은 상처를 피복하는 데 사용하기 위한 드레싱 또는 다른 멸균 물품에 관한 것이다. 본원에 제공된 바와 같이 드레싱은 상처 치유를 촉진한다.

배경 기술

[0005] 혈관신생의 저해를 위한 몇몇 치료적 접근법은 암을 포함한 상이한 병리학적 병태의 치료에 성공적으로 사용되어 왔다. 그러나, 당뇨병성 궤양(diabetic ulcer)에서 약화된(impaired) 상처 치유의 치료와 같이 혈관신생을 자극시키며 및/또는 비-기능적 혈관을 향상시키기 위한 치료적 전략은 단지 제한된 성공으로 사용되어 왔다. 혈관 내피 성장 인자(VEGF: vascular endothelial growth factor)는 혈관신생의 조절에서 주요한 역할을 하는 것으로 알려져 있기 때문에, 많은 접근법들은 약화된 혈관신생 및 혈관 기능과 관련된 상이한 병리학적 병태의 치료를 위해 VEGF를 사용하도록 수행되어 왔다.

[0006] 안타깝게도, 당뇨병성 족부 궤양(diabetic foot ulcer) 치유를 향상시키기 위한 VEGF의 국소 사용에 대한 최근의 임상 시험을 포함하여 몇몇 연구는 이의 II상 시험에서 실패하였으며, 이들 결과는 VEGF의 단기 수명에 기인하였다. 제어-방출(controlled-release) 젤 및 불균질한 스캐폴드 시스템의 사용이 국소적으로 적용된 VEGF에 의 상처 조직의 노출이 연장됨을 실증하긴 하였지만, 이들 전략은 주로 체온에서 VEGF의 불량한 안정성으로 인해 고도로 효과적이지 않다.

[0007] 더욱이, 상처 치유는 다수의 세포 유형의 조화된 노력을 수반하는 복잡한 과정이며, 최근 수년 이내의 연구는 VEGF가 혈관신생에서 이의 역할과 독립적으로 상처 치유에서 다면발현성(pleiotropic) 역할을 할 수 있음을 시사하였다. 내피 세포에서만 존재하는 것으로 오랫동안 생각되어 온 VEGF 수용체는 현재, 각질세포(keratinocyte) 및 대식세포를 포함한 여러 가지 비-내피 세포 유형에서도 식별되었으며, 상기 각질세포와 대식세포 둘 다 피부 상처 치유에서 필수적인 역할을 한다. 시험관내 연구는 각질세포 증식 및 이동에 미치는 VEGF의 직접적인 효과를 문서화하였다. 그러나, 상처 치유에서 VEGF의 이들 비-혈관신생 기능은 의견상 상충되는 보고서들로 인해 명확하지 않다. 예를 들어, 최근의 연구는, VEGF 신호화의 저해가 상처 혈관신생의 완전한 차단에도 불구하고 상처 봉합(wound closure)에 아무런 영향이 없었음을 나타내었다.

[0008] 이와 같이, 요망되는 작용 부위, 예컨대 피부 상처, 당뇨병성 궤양, 또는 다른 치료 부위로의 하나 이상의 활성제의 전달을 향상시킴으로써 상처 치유를 촉진하기 위해 새로운 기전 및 장치가 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

(특허문헌 0001) 미국 특허 출원 공개 2018/0125990호

(특허문헌 0002) 미국 특허 제10,433,540호

비특허문헌

(비특허문헌 0001) 문헌[Nosbaum, 등, J Immunol, 2016; 196:2010-2014]

(비특허문헌 0002) 문헌[Bodnar, 등, Adv. Wound Care (New Rochelle), 2013; 2:24-29]

(비특허문헌 0003) 문헌[Illum, L., Davids, S. S. (eds.) "Polymers in Controlled Drug Delivery" Wright, Bristol, 1987]

(비특허문헌 0004) 문헌[Arshady, J. Controlled Release 17:1-22, 1991]

(비특허문헌 0005) 문헌[Pitt, Int. J. Phar. 59:173-196, 1990]

(비특허문헌 0006) 문헌[Holland 등, J. Controlled Release 4:155-0180, 1986]

(비특허문헌 0007) 문헌[Magnusson S, 등, Laeknabladid, 2015; 101(12):567-73]

(비특허문헌 0008) 문헌[Magnusson, 등, Military Medicine, 2017; 182, 3/4:383]

(비특허문헌 0009) 문헌[Waghu, 등, Front Microbiol. 2018; 9: 325]

(비특허문헌 0010) 문헌[Nolan and O'Kennedy, Biochim Biophys Acta., 1990; 1040(1):1-11]

(비특허문헌 0011) 문헌[Bao P, Kodra A, Tomic-Canic M, Golinko MS, Ehrlich HP, Brem H. 2009. The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. J Surg Res. 2009 May 15;153 (2):347-58. 2008.04.023. Epub 2008 May 12. Review]

(비특허문헌 0012) 문헌[Wietecha MS, DiPietro LA. 2013. Therapeutic approaches to the regulation of wound angiogenesis. Adv Wound Care (New Rochelle). 2(3):81-86. Review]

(비특허문헌 0013) 문헌[Frank S, Huebner G, Breier G, Longaker MT, Greenhalgh DG, Werner S.1995. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. Implication for normal and impaired wound healing. Journal of Biological Chemistry 270(21):12607-13]

(비특허문헌 0014) 문헌[Jacobi J, Tam BY, Sundram U, von Degenfeld G, Blau HM, Kuo CJ, Cooke JP. 2004. Discordant effects of a soluble VEGF receptor on wound healing and angiogenesis. Gene Ther. 11(3):302-9]

(비특허문헌 0015) 문헌[Hideyuki MIizumachi, Hiroyuki Ijima. 2013. Measuring Stability of Vascular Endothelial Growth Factor using an Immobilization Technique. Advanced Biomedical Engineering 2: 130-136]

발명의 내용

- [0009] 하기 개요는 본 개시내용에 독특한 혁신적인 특질 중 일부의 이해를 용이하게 하기 위해 제공되고 전체 설명인 것으로 의도되지 않는다. 본 개시내용의 다양한 양태의 완벽한 이해는 전체 명세서, 청구항, 도면 및 요약서를 전체적으로 파악함으로써 얻어질 수 있다.
- [0010] 채액과 접촉 시 상처 부위로 기능적 활성제를 선택적으로 방출시킬 수 있는 상처 드레싱이 제공된다. 상처 드레싱은, 활성제가 상처에 전달되었을 때 기능적으로 될 수 있게 활성제가 시간 및 온도 보관 안정하도록 상처 드레싱의 하나 이상의 층으로 유리질화되는(vitrified) 활성제(들)를 포함한다.
- [0011] 본원에 제공된 바와 같은 상처 드레싱은 지속 방출형(time release) 활성제 전달층을 포함하며, 상기 지속 방출형 활성제 전달층은 수-안정성(water stable) 중합체 및 생분해성 중합체를 포함하고, 상기 수-안정성 중합체는 수-안정성 중합체에 유리질화된 하나 이상의 활성제를 추가로 포함하며, 상기 지속 방출형 활성제 전달층은 생분해성 중합체가 치료 시간의 경과(course)에 걸쳐 하나 이상의 활성제를 상처 부위에 방출시킬 수 있도록 배치된다. 채액과 접촉 시 생분해성 중합체의 분해에 의해, 그 후에 활성제는 선택적으로 지속 방출형 활성제 전달

층 내의 하나 이상의 층의 분해 시간에 의해 시간차를 둔(timed) 지연된 전달에 의해 지속 방출형 활성제 전달 층으로부터 기저(underlying) 상처까지 통과할 수 있다.

[0012] 상처 드레싱은, 하나 이상의 추가 층, 선택적으로 상처 드레싱의 하나 이상의 다른 층으로부터 선택적으로 방출 가능하여 세포 이동 및 상처 치유를 위한 스캐폴드로서 역할을 하는 스캐폴드 층을 선택적으로 포함한다. 상기 스캐폴드 층은 그 안에 유리질화되어, 체액과 접촉 시 상처에 즉각 전달 가능하도록 하나 이상의 활성제를 포함할 수 있다.

[0013] 상처 드레싱은, 하나 이상의 층을 상처에 방출시킬 수 있거나 하나 이상의 활성제를 상처 부위로 지속 방출형 또는 지연 방출(delayed release)시키는 데 적합할 수 있는 다른 층을 포함할 수 있다.

[0014] 또한, 대상체, 선택적으로 인간 대상체에서 상처 치유를 촉진하는 방법이 제공되며, 본원에 제공된 바와 같은 하나 이상의 상처 드레싱은 치료 시간 동안 상처에 접촉된다. 과정은 제1 상처 드레싱을 제거하는 단계, 및 제2 상처 드레싱을 제2 치료 시간 동안 적용하는 단계를 추가로 포함할 수 있으며, 상기 제2 상처 드레싱은 상기 제1 상처 드레싱과 상이하거나 상이하지 않으며, 선택적으로 활성제의 유형 또는 수, 또는 존재하는 층의 유형 또는 수에서 상이하다. 선택적으로, 제2 상처 드레싱은 스캐폴드 층을 배제한다. 선택적으로, 제2 상처 드레싱은 선택적으로 제2 상처 드레싱의 하나 이상의 층에 공유 부착된 하나 이상의 항미생물 펩타이드를 포함한다. 선택적으로, 제2 상처 드레싱은 활성제로서 VEGF를 배제한다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도면에 제시된 양태는 자연상에서 예시적이고 예를 들며, 청구항에 의해 정의된 주제를 제한하려는 것이 아니다. 예시적인 양태의 하기 상세한 설명은 하기 도면과 함께 읽을 때 이해될 수 있으며, 유사한 구조는 유사한 참조 숫자로 표시되고, 여기서,

- 도 1은 정상적인 인간 피부에서 발생하므로 일반화된 상처 치유 과정을 예시하며;
- 도 2는 본원에 제공된 바와 같은 상처 드레싱 (a) 및 피부에 적용되고 체액과 접촉된 후 지속 방출형 활성제 전달층의 용해 (b)의 예시적인 양태를 예시하며;
- 도 3은 본원에 제공된 바와 같은 상처 드레싱 (a) 및 피부에 적용되고 체액과 접촉된 후 중간층의 분해에 의한 지속 방출형 활성제 전달층의 방출 (b)의 예시적인 양태를 예시하며;
- 도 4는 본원에 제공된 바와 같은 상처 드레싱 (a) 및 피부에 적용되고 체액과 접촉된 후 중간층의 분해에 의한 지속 방출형 활성제 전달층으로부터의 스캐폴드 층의 방출 (b)의 예시적인 양태를 예시하며;
- 도 5는 본원에 제공된 바와 같은 상처 드레싱 (a) 및 피부에 적용되고 체액과 접촉된 후 생분해성 구성요소 층의 분해에 의한 지속 방출형 활성제 전달층의 용해 (b)의 예시적인 양태를 예시하며;
- 도 6은 피부에 적용되고 체액과 접촉된 후 중간층의 분해에 의한 비-방출성 섹션으로부터의 방출성 스캐폴드 층을 포함하여 본원에 제공된 바와 같은 상처 드레싱의 예시적인 양태를 예시하며, 비-방출성 층은 상처와 접촉된 후 스캐폴드 층을 뒤에 남기는 드레싱으로 제거 가능한 지속 방출형 활성제 전달층을 포함하며;
- 도 7은 수용성 중합체 (a) 및 생분해성 중합체 (b)의 섬유층의 구조를 예시하며;
- 도 8은 풀룰란(pullulan) 내의 유리질화된 인슐린의 섬유층의 구조를 예시하며;
- 도 9는 본원에 기재된 바와 같이 형성된 PLC 막에 공유 부착된 스트렙타비딘을 예시하며, (a)는 공유 부착된 스트렙타비딘을 갖는 PLC 섬유 막을 예시하고, (b) 형광 표지된 비오틴화된 소 혈청 알부민(BSA: bovine serum albumin)의 결합 후 공유 부착된 스트렙타비딘의 존재를 예시하는 형광 현미경 이미지이며;
- 도 10은 PEO 섬유가 완충수(buffered water)에 침지 후 30분의 경과에 걸쳐 분해됨에 따라 PCL 섬유 및 PEO 섬유의 교대 층으로 만들어진 다층 섬유성 물질의 용해를 예시하며;
- 도 11은 본원에 제공된 바와 같은 일부 양태에 따른 다층 섬유성 물질로부터의 BSA의 용해를 예시하며;
- 도 12는 VEGF의 유리질화가 내피 세포 증식 검정법에 의해 실증된 바와 같이 우수한 고온 및 시간 안정성을 초래함을 예시하며;
- 도 13은 비-유리질화된 VEGF와 비교할 때, 55°C에서 보관된 유리질화된 VEGF가 배양물에서 내피 세포의 관 (tube) 형성을 효율적으로 촉진함을 예시하며;

도 14는 루프의 수(a), 분지점(b) 및 루프의 길이(c)에 의해 관 형성에 대해 정량화되는 바와 같이, 비-유리질화된 VEGF와 비교할 때, 55°C에서 보관된 유리질화된 VEGF가 배양물에서 내피 세포의 관 형성을 효율적으로 촉진함을 예시하며;

도 15는 VEGF가 병변 크기 또는 CD31 수준에 의해 정량화되는 피부 상처 치유 동안 혈관신생 및 재상피화(re-epithelization)에 중대한 역할을 함을 예시하며;

도 16은 VEGF가 트랜스웰 이동 (a) 및 스크래치 상처 치유 검정법 (b) 둘 다에서 각질세포의 이동을 자극시키고 (c)에서 정량화됨을 예시하며;

도 17은 유리질화된 VEGF가 흉터 형성 유전자에 대해 강한 억제 효과를 유도함을 예시하며;

도 18은 유리질화된 항미생물 펩타이드가 55°C에서 2주의 보관 후 미생물 성장을 무효화시키는 데 기능적임을 예시하고;

도 19는 유리질화된 항미생물 펩타이드가 55°C에서 7주의 보관 후 미생물 성장을 무효화시키는 데 기능적임을 예시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 향상된 상처 치유를 촉진하거나 대상체의 상처에 다른 치료적 속성(attribute)을 제공하는 데 작용성인 상처 드레싱이 본원에 제공된다. 본원에서 상세히 기재된 바와 같이 출원인은, 하나 이상의 활성제(예를 들어, 성장 인자, 예시적으로 혈관 내피 성장 인자(VEGF))의 유리질화가, 대상체의 피부 상에서 또는 피부 내에서 상해, 질환 또는 병태 부위에서 이의 치료적 용도를 촉진함으로써 이전에 달성 가능했던 더 높은 주위 온도에서 활성제를 안정화시키는 효과적인 방법을 제공함을 발견하였다. 본원에 제공된 바와 같은 상처 드레싱에서 하나 이상의 활성제의 용도는, 상기 활성제가 예컨대 상처 회복 동안 혈관신생, 재상피화 및 흉터 형성 유전자의 억제에서 긍정적인 생리학적 반응을 제공할 수 있게 한다.

[0017] 본원에 제공된 바와 같은 드레싱은 하나 이상의 성장 인자, 또는 다른 활성제를 상처 부위에 전달하여, 상처 치유, 질환 또는 병태의 치료적 치료를 촉진하거나, 다르게는 대상체의 피부 내에서 또는 피부 상에서 결함을 해소(resolve)시킬 수 있다. 포유류 대상체가 예컨대 찰과상(abrasion), 절상(cutting), 피부에서의 결함, 또는 다른 수단을 통해 피부 병변을 발증시킬 때, 신체는 상처를 봉합하고 손상된 영역을 치유하는 것을 돕는 생리학적 반응을 발휘한다. 도 1에서 개략적으로 예시된 바와 같이, 상처의 발증은, 상처 부위에서 조직 인자의 노출 및 혈소판의 활성화에 의해 촉진되는 응고 경로의 활성화로 시작될 수 있는 상처 치유 반응을 개시한다. 응고 시스템은 순환중인 피브리노겐을 절단하여, 출혈의 중단을 유발하는 피브린 네트워크를 형성한다. 상처 치유는 상피 세포, 성장 인자, 케모카인, 및 염증 세포 사이의 협력을 통해 계속되어 상해 회복을 유발한다. 관여되는 세포 중에서, 다형핵 세포(PMC: polymorphonuclear cell), 섬유모세포, 대식세포 및 심지어 표피 체류 T-세포는 모두 상처 회복에서 역할을 한다. 예를 들어, 표피 체류 T-세포는 최근에, 표피 성장 인자(EGFR) 수용체를 또한 발현하는 것으로 밝혀졌으며, 이는 또한 상처 치유 및 진피와 표피 재생을 촉진하는 데 있어서 이들의 역할을 시사한다. 문헌[Nosbaum, 등, *J Immunol*, 2016; 196:2010-2014]. EGFR-매개 신호화 경로는 상처 부위에서 상처 치유 활성을 촉진하는 데 있어서 주요 역할을 한다. 문헌[Bodnar, 등, *Adv. Wound Care (New Rochelle)*, 2013; 2:24-29].

[0018] 본 개시내용의 일 양태는 상처 치유 및 선택적으로 흉터 예방을 위해 선택적으로 하나 이상의 다른 특이적으로 기능적인 활성제, 선택적으로 항체, 항미생물 펩타이드(AMP), 인슐린, 또는 다른 기능적 활성제와 함께, 유리질화된 혈관 내피 성장 인자(VEGF)의 용도에 관한 것이다. 성장 인자, 예컨대 VEGF를 지속 방출형 방식으로 도입함으로써 향상된 상처 치유를 촉진한 것으로 밝혀졌다. 이와 같이, 상처 부위로의 하나 이상의 생물활성제의 방출을 방지하는 섬유성 네트워크 내에서 상기 생물활성제 상에 포집된(entrap) 선택적 용해성 물질 또는 세트(set) 또는 층을 포함하는 상처 드레싱이 본원에 제공된다. 예컨대 상처 부위에서 체액과 접촉된 후 생분해성 섬유성 네트워크를 용해시킬 때, 하나 이상의 활성제는 요망되는 작용 부위로 선택적으로 그리고 직접적으로 전달되어, 상처 치유를 촉진할 수 있다.

[0019] 본원에 제공된 바와 같이 "상처"는 대상체의 피부 내의 임의의 결함이다. 상처는 대상체의 피부 또는 피부층에 의 찰과상, 견열(avulsion), 열상(laceration), 자상(puncture), 압, 당뇨병성 궤양 또는 병변(예를 들어, 당뇨병성 수포증(bullosis diabeticorum)), 화상, 수술, 또는 다른 상해 또는 손상의 결과일 수 있다.

[0020] 본원에 사용된 바와 같이, "대상체"는 동물, 선택적으로 인간, 비-인간 영장류, 말, 소, 쥐, 양, 돼지, 토끼,

또는 다른 포유류이다.

- [0021] 이와 같이 일부 양태에 따르면, 하나 이상의 중합체를 포함하는 지속 방출형 활성제 전달층을 포함하는 상처 드레싱이 본원에 제공되며, 상기 중합체는 체액과의 접촉에 의한 하나 이상의 생분해성 중합체의 용해 시 상처 부위로 선택적으로 방출되도록 중합체 내에 또는 중합체 상에서 유리질화된 하나 이상의 활성제를 포함한다. 상기 중합체는, 유체가 다공성 구조물을 침투하고 활성제의 방출을 유발할 수 있도록 메쉬, 섬유성 네트워크(선택적으로 부직포(non-woven)), 또는 다른 다공성 구조물의 형태일 수 있다.
- [0022] 선택적으로, 중합체는 유체 또는 활성제에 대한 채널 또는 다른 연속적 또는 불연속적 접근 경로를 한정하는(define) 섬유성 무작위(random) 또는 정돈된(ordered) 메쉬 형태로 존재한다. 선택적으로, 중합체는 다공성이 높은(예를 들어, 50 부피% 초과) 부직포 섬유성 메쉬 형태이다.
- [0023] 본원에 사용될 수 있는 중합체는 선택적으로, 다공성 메쉬, 예컨대 필터, 대칭성 메쉬, 또는 다른 이러한 다공성 시트-유사 물질 형태로 형성될 수 있다. 예시적으로, 중합체는 전기방사(electrospinning)를 포함하는 방법에 의해 섬유성 네트워크 내로 형성된다. 전기방사에서, 요망되는 중합체는 요망되는 용매(예를 들어, 2,2,2-트리플루오로에탄올(TFE) 또는 헥사플루오로이소프로판올(HFIP))에 배치되고, 전기방사 공정을 받아 요망되는 단면 치수 및 길이의 섬유를 형성하고, 요망되는 배향(선택적으로 무작위)으로 배열되어, 활성제가 중합체 네트워크를 통과하거나 중합체 네트워크 내에서 또는 중합체 네트워크에 의해 보유될 수 있게 하는 생성된 공극(공극) 크기(가닥(strand) 사이의 평균 거리)를 갖는다.
- [0024] 지속 방출형 활성제 전달층은 선택적으로, 층의 형성 시 중합체를 혼재화(interweave)함으로써, 지속 방출형 활성제 전달층이 복수의 얇은 개별 층들로 형성되도록 개별 중합체를 교대 방식으로 교대로 전기방사함으로써, 또는 상이한 층들을 함께 접착시켜 전체적인 지속 방출형 활성제 전달층을 형성함으로써, 층을 형성하는 2개 이상의 중합체를 포함한다. 선택적으로, 지속 방출형 활성제 전달층은 생분해성 중합체 및 수-안정성 중합체를 포함하며, 상기 생분해성 중합체 및 수-안정성 중합체는 전기방사 공정 동안 공동-형성(co-formation)에 의해 또는 생분해성 중합체의 하나 이상의 층과 교대되는 수-안정성 중합체의 하나 이상의 층의 형성에 의해 회합(associate)되어, 상이한 용해 특징을 갖는 2개 이상의 중합체의 전체적인 하이브리드 구조를 형성한다.
- [0025] 수-안정성 중합체와 생분해성 중합체 둘 다 지속 방출형 활성제 전달층에 상이한 상대량으로 포함시킴으로써, 활성제의 제어 방출(controlled release)이 효과적으로 제어될 수 있다. 예를 들어, 더 큰 양, 두께, 또는 경향(propensity)의 수 안정화된 중합체를 포함시킴으로써, 전체적인 지속 방출형 활성제 전달층의 용해는 감소되어, 더 느린 활성제 방출 속도를 유발할 것이다. 대조적으로, 더 많은 양, 두께, 또는 경향의 생분해성 중합체를 포함시킴으로써, 지속 방출형 활성제 전달층의 용해 속도는 증가될 것이고, 활성제의 방출 속도는 증가될 것이다.
- [0026] 예를 들어, 수-안정성 중합체는 선택적으로, 전기방사에 의해 단일층 또는 다층의 섬유성 구조로 형성된다. 생분해성 층은, 체액이 생분해성 층을 통과하여 수-안정성 중합체 층에 도달해야 하도록, 수-안정성 중합체 상에 배치되고 상처로 향하게 위치될 수 있다. 수-안정성 중합체 층으로부터 방출되는 임의의 활성제는, 생분해성 중합체 층이 충분히 용해되어 활성제를 상처 내로 방출시킬 수 있을 때까지 시스템 내에 포집될 것이다. 상이한 양의 생분해성 중합체 또는 생분해성 중합체 층으로 이루어진 하이브리드 지속 방출형 활성제 전달층을 생성시킴으로써, 활성제 방출 속도는 생분해성 중합체의 용해에 의해 제어된다.
- [0027] 이와 같이, 지속 방출형 활성제 전달층은 선택적으로, 그 안에 유리질화된 하나 이상의 활성제와 함께 수-안정성 중합체, 및 활성제의 방출 속도를 제어하기 위해 하나 이상의 생분해성 중합체 층을 포함하는 하이브리드 층이다. 선택적으로, 지속 방출형 활성제 전달층은 수-안정성 중합체의 하나의 층을 포함한다. 선택적으로, 지속 방출형 활성제 전달층은 수-안정성 중합체의 2개 이상의 층, 선택적으로 3개 이상의 층, 선택적으로 4개 이상의 층을 포함한다. 선택적으로, 지속 방출형 활성제 전달층은 생분해성 중합체의 하나의 층, 선택적으로 생분해성 중합체의 2개 이상의 층, 선택적으로 3, 4, 5, 6개 이상의 층을 포함한다.
- [0028] 선택적으로, 수-안정성 중합체는 섬유성 메쉬의 층, 선택적으로 부직포로 형성된다. 섬유성 메쉬의 생성은 0.1 마이크로미터(μm) 내지 200 μm 의 섬유 직경을 갖는 섬유의 생성에 의해 달성될 수 있다. 선택적으로, 수-안정성 중합체는 0.5 μm 초과, 선택적으로 0.5 μm 초과 내지 4 μm , 선택적으로 0.5 μm 초과 내지 3 μm , 선택적으로 0.5 μm 내지 2 μm 의 섬유 직경을 갖는 섬유에 존재한다.
- [0029] 수-안정성 중합체 층의 생성된 공극 크기는 선택적으로 10 μm 내지 200 μm , 선택적으로 10 μm 초과 내지 40 μm , 선택적으로 10 μm 내지 35 μm , 선택적으로 10 μm 초과 내지 30 μm , 선택적으로 10 μm 초과 내지 30

μm, 선택적으로 10 μm 초과 내지 25 μm이다.

- [0030] 수-안정성 중합체 층은 선택적으로 0.1 μm 이상, 선택적으로 0.5 μm, 선택적으로 1 μm, 선택적으로 2 μm, 선택적으로 5 μm, 선택적으로 10 μm, 선택적으로 20 μm, 선택적으로 50 μm, 선택적으로 100 μm, 선택적으로 200 μm, 선택적으로 500 μm 이상의 두께를 갖는다.
- [0031] 수-안정성 중합체는 물에서 30분 이하 이내에 용해되지 않을, 선택적으로 24시간 이상 이내에, 선택적으로 48시간 이상 이내에 용해되지 않을 임의의 중합체성 물질이다. 수-안정성 중합체는 본질적으로 물에서의 용해에 전적으로 저항적이지 않을 수 있으나, 본원에 제공된 바와 같이 생분해성 중합체보다 용해에 더욱 저항적일 수 있음을 주목한다. 이러한 시스템은 수-안정성 중합체가 더 오랜 기간에 걸쳐(적어도 있다면) 분해될 수 있게 하여, 상처 부위로의 하나 이상의 활성제의 더 오랜 기간의 전달을 가능하게 할 수 있다.
- [0032] 수-안정성 중합체의 예시적인 예는 콜라겐, 엘라스틴, 히알루론산 및 유도체, 소듐 알기네이트 및 유도체, 키토산 및 유도체, 젤라틴, 전분, 셀룰로스 중합체(예를 들어 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필셀룰로스, 하이드록시프로필메틸셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 셀룰로스 아세테이트 숙시네이트, 하이드록시프로필메틸셀룰로스 프탈레이트), 폴리(디옥시시트레이트)(예를 들어, 폴리(옥타디올 시트레이트) 등), 카제인, 텍스트란 및 유도체, 폴리(카프로락톤), 폴리(하이드록실산), 폴리(L-락타이드) 폴리(D,L-락타이드), 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드), 폴리(L-락타이드-코-글리콜라이드), 락트산과 글리콜산의 공중합체, ε-카프로락톤과 락타이드의 공중합체, 글리콜라이드와 ε-카프로락톤의 공중합체, 락타이드와 1,4-디옥산-2-온의 공중합체, 단량체 D-락타이드, L-락타이드, D,L-락타이드, 글리콜라이드, ε-카프로락톤, 트리메틸렌 카르보네이트, 1,4-디옥산-2-온 또는 1,5-디옥세판-2-온의 잔기 단위 중 하나 이상을 포함하는 중합체 및 공중합체, 폴리(글리콜라이드), 폴리(하이드록시부티레이트), 폴리(알킬카르보네이트) 및 폴리(오르토크에스테르), 폴리에스테르, 폴리(하이드록시발레르산), 폴리디옥사논, 폴리(에틸렌 테레프탈레이트), 폴리(말산), 폴리(타르트론산), 폴리무수물, 폴리포스파젠, 폴리(아미노산), 및 상기 중합체들의 공중합체, 뿐만 아니라 상기 중합체들의 배합물 및 조합을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 예시적으로 이러한 중합체는 미국 특허 출원 공개: 2018/0125990호 및 그 안에서 인용된 참조문헌, 예컨대 문헌[Illum, L., Davids, S. S. (eds.) "Polymers in Controlled Drug Delivery" Wright, Bristol, 1987]; 문헌[Arshady, J. Controlled Release 17:1-22, 1991]; 문헌[Pitt, Int. J. Phar. 59:173-196, 1990]; 문헌[Holland 등, J. Controlled Release 4:155-0180, 1986]에 기재된 바와 같다.
- [0033] 일부 양태에서, 수-안정성 중합체는 폴리카프로락톤(PCL), 콜라겐, 또는 이들의 조합이거나 이를 포함한다. 이러한 수-안정성 중합체의 1차적인 특징은, 수-안정성 중합체가, 하나 이상의 활성제가 그 위에서 또는 그 안에서 유리질화될 수 있도록 네트워크 또는 섬유를 형성할 수 있다는 점이다. 그러므로, 수-안정성 중합체는 하나 이상의 활성제를 함유하는 수성 유리질화 배지의 유리질화에 적합한 표면으로서 역할을 하도록 수성 환경에서 충분한 안정성을 가져야 한다. 예시적으로, 수-안정성 중합체는 약 Mn 80,000 Da의 PCL이거나 이를 포함한다.
- [0034] 선택적으로, 수-안정성 중합체는 콜라겐이거나 이를 포함한다. 콜라겐은 천연 공급원으로부터 유래되거나 화학적으로 합성될 수 있다. 임의의 콜라겐 유형이 사용될 수 있긴 하지만, 유형-1 콜라겐은 바람직한 섬유 네트워크를 형성하고 하나 이상의 활성제의 전달을 위한 안정한 중합체로서 역할을 하기에 적합한 안정성을 갖는 능력으로 인해 언급된다. 콜라겐은 선택적으로, 상업적으로 입수 가능하며, 예컨대 동물(예를 들어, 소, 돼지, 말, 인간) 또는 다른 공급원의 피부로부터의 것이다. 예시적으로, 콜라겐의 섬유층을 형성하는 데 사용되는 콜라겐은 139 kDa(단량체)의 분자량을 갖는 송아지 피부로부터의 유형-1이다.
- [0035] 일부 양태에서, 수-안정성 중합체는 본원에 제공된 바와 같이 섬유층 내로 형성될 수 있거나, 어류 또는 동물의 피부를 탈세포화(decellularize)시킴으로써 발견되는 것과 같이 자연적으로 형성된 네트워크일 수 있다. 이들 무세포성 콜라겐 네트워크는 화상 또는 다른 대규모 상해의 치료를 위한 피부 대체물로서 조사되어 왔다. 선택적으로, 콜라겐은, 선택적으로 문헌[Magnusson S, 등, *Laeknabladid*, 2015; 101(12):567-73] 및 문헌[Magnusson, 등, *Military Medicine*, 2017; 182, 3/4:383]에 기재된 바와 같이 대구(cod) 또는 다른 요망되는 어류로부터 유래된 것과 같은 무세포성 어류 피부이다.
- [0036] 수-안정성 중합체 섬유 층과는 대조적으로, 생분해성 중합체는 선택적으로, 더 작은 섬유 직경 및 공극 크기의 것일 뿐만 아니라, 체액과 접촉 시 분해되어 하나 이상의 활성제를 요망되는 작용 부위, 예컨대 상처로 이전(transfer)시킬 수 있을 중합체성 물질로 형성된다. 크기 및 물질 선택은 생분해성 중합체 물질의 더욱 신속한 분해를 가능하게 할 뿐만 아니라, 활성제가 상처 상으로 방출될 수 있도록 생분해성 중합체가 충분히 용해되는 시간까지 수-안정성 중합체 내에서 활성제를 보유할 수 있게 한다.

- [0037] 이와 같이, 중합체와 관련하여 본원에 사용된 바와 같이 용어 "생분해성"은, 중합체가 체액에의 노출 하에 분해될 수 있거나, 용해될 수 있거나 다르게는 "절단"될 수 있음을 의미한다. 예시적으로, 체액은 물, 혈액, 혈장, 혈청, 장액혈액성 유체(serosanguineous fluid) 및/또는 고름 삼출물(purulent exudate) 또는 이들의 임의의 조합이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 생분해성 중합체는 수성 환경, 세포성 머시너리, 효소적 분해, 화학적 과정, 또는 다른 것들에서 용해됨으로써 절단된다. 특정 양태에서, 생분해성 중합체는 단독으로 존재할 때 수성 환경에서 30분 이하 이내에 완전히 용해될 것이다. 본원에 사용된 바와 같이 생분해성 중합체는, 분당 3 마이크론 초과의 중합체 두께의 속도로 물에 용해될 중합체이다.
- [0038] 생분해성 중합체의 구체적인 예시적 예는 폴리에테르를 포함한다. 폴리에테르의 예시적 예는 폴리에틸렌 글리콜(본원에서 다르게는 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 중합체에 대해 에틸렌 옥사이드로서 지칭됨) 및 폴롤란을 포함한다. 예시적으로, 생분해성 중합체 층을 형성하는 데 사용되는 폴리에틸렌 글리콜은 약 600,000의 점도 평균 분자량을 갖지만, 더 길거나 더 짧은 이러한 중합체성 물질이 유사하게 사용될 수 있다. 선택적으로, 점도 평균 분자량은 400,000 내지 700,000, 선택적으로 500,000 내지 700,000이다. 이러한 물질은 전기방사와 같은 기법에 의해 생분해성 중합체의 층 내로 성공적으로 형성될 수 있다.
- [0039] 선택적으로, 생분해성 중합체는 0.5 μm 미만, 선택적으로 0.1 μm 내지 0.5 μm , 선택적으로 0.1 μm 내지 0.4 μm , 선택적으로 0.1 μm 내지 0.3 μm 의 섬유 크기를 갖는 섬유성 메쉬(선택적으로 부직포)로 형성된다.
- [0040] 생분해성 중합체 섬유 메쉬는 수-안정성 중합체 섬유 층의 공극 크기보다 작은 공극 크기를 갖는다. 선택적으로, 생분해성 중합체 층은 1 μm 미만 내지 10 μm , 선택적으로 1 μm 내지 10, 선택적으로 2 μm 내지 10 μm , 선택적으로 2 μm 내지 9 μm , 선택적으로 3 μm 내지 8 μm , 선택적으로 4 μm 내지 7 μm 의 공극 크기를 갖는다.
- [0041] 생분해성 중합체 층은 선택적으로 0.1 μm 이상, 선택적으로 0.5 μm , 선택적으로 1 μm , 선택적으로 2 μm , 선택적으로 5 μm , 선택적으로 10 μm , 선택적으로 20 μm , 선택적으로 50 μm , 선택적으로 100 μm , 선택적으로 200 μm , 선택적으로 500 μm , 이상의 두께를 갖는다.
- [0042] 지속 방출형 활성제 전달층은 선택적으로, 즉시 방출 유리질화된 활성제의 하나 이상의 층을 추가로 포함한다. 활성제는 전기방사 공정 동안 직접적으로 유리질화되어, 지속 방출형 활성제 전달층과 또는 그 내에서 회합될 수 있는 유리질화된 물질 층을 형성할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 폴롤란, 트레할로스, 및 활성제를 전기방사 기기에서 조합함으로써, 폴롤란은 섬유 형성 스케폴드로서 역할을 할 것이다. 이러한 방식으로, 활성제는 전기방사 공정 동안 결정화하지 않지만, 대신에 유리질화된 유리질 상태로 이전되어, 활성제는 지속 방출형 활성제 전달층에 포함되어, 열 및 보관 시간 안정하게 될 수 있다. 이와 같이, 즉시 방출 유리질화된 활성제 층은 선택적으로, 지속 방출형 활성제 전달층과 함께 또는 지속 방출형 활성제 전달층 내에 포함된다. 선택적으로, 즉시 방출 유리질화된 활성제 층의 1, 2, 3, 4, 5개 이상의 층은 수-안정성 중합체 층, 생분해성 중합체 층 또는 둘 다 중 하나 이상 내에 또는 그 사이에 요망되는 바와 같이 분산되어 포함된다.
- [0043] 본원에 제공된 바와 같은 상처 드레싱은, 수-안정성 중합체 내에 포함되는 하나 이상의 활성제를 포함하는 수-안정성 중합체를 생성함으로써 작용한다. 하나 이상의 활성제는 수-안정성 중합체 내로 선택적으로 유리질화되어, 시간 조건과 온도 조건 둘 다에 안정한 활성제 층을 형성하고, 체액과 접촉 시 신선한(보관되지 않은) 활성제와 유사한 활성으로 방출되도록 재구성될 수 있다. 활성제는 미국 특허 제10,433,540호에 실질적으로 기재된 바와 같이 트레할로스의 존재 하에 수-안정성 중합체 내로 선택적으로 유리질화된다. 수-안정성 중합체의 공극은, 상기 공극 내로의 활성제의 신속한 유리질화를 가능하게 하여, 물 안정화된 중합체 층 내에서 안정한 활성제를 생성한다. 예시적으로, 콜라겐 또는 PCL 막은 HEPES 완충 식염수에서 활성제, 트레할로스 및 글리세롤의 용액에 의해 유리질화되는 데 사용된다. 유리질화 용액은 수-안정성 중합체의 하나 이상의 층, 및 진공 펌프 및 건조 시스템에 연결된 진공 챔버에 매입된(encase) 시스템과 접촉되어, 활성제 용액을 연속적으로 건조하고 수-안정성 중합체 층(들) 내에서 안정한 유리질의 유리질화된 물질을 형성한다. 본원에 제공된 바와 같이 상처 드레싱에 이용될 때, 유리질화된 활성제는 체액과 접촉 시 재구성되고 수-안정성 중합체 층으로부터 상처 부위 내로 또는 상처 부위 상으로 이동할 수 있어서, 방출되는 활성제의 유형에 따라 하나 이상의 요망되는 생물학적으로 관련된 활성을 이끌어낸다.
- [0044] 대안적으로, 하나 이상의 활성제는 수-안정성 중합체에 공유 부착된다. 예를 들어, 하나 이상의 항미생물 펩타이드가 상처 부위에서 작용하는 것이 요망될 수 있지만, 순환 내로의 방출을 방지하기 위해 자유 형태(free form)로 상처 영역에 진입하는 것이 방지될 수 있다. 대안적으로, 항체는 드레싱 내에서 유지되고 상처 내로 방출되지 않는 것이 요망될 수 있다. 일례로서, PCL 수-안정성 중합체에의 공유 결합은, 활성제(예를 들어, 항

체, AMP)를 ACRL-PEG-SVA 5000을 포함하는 포스페이트 완충 식염수 중 폴리(에틸렌 글리콜) 디아크릴레이트, 및 광개시제 2-하이드록시-4'-(2-하이드록시에톡시)-2-메틸프로피오페논과 반응시킴으로써 상기 활성제를 아크릴화 시킴으로써 달성될 수 있다. 그 후에, 이는, 하나 또는 양 면 상에 코팅시키고 코팅된 층을 UV 광에 노출시켜, 활성제를 수-안정성 중합체에 공유 결합시킴으로써 PCL 층과 반응할 수 있다. 이는, 수-안정성 중합체에 공유 결합된 활성제를 초래한다. 생성된 물질은 후속적으로, 하나 이상의 추가 활성제를 수-안정성 중합체로 유리질 화시키는 데 사용될 수 있거나, 다층 시스템에서, 본원에 기재된 바와 같이 수-안정성 중합체로 유리질화된 하나 이상의 활성제를 포함하는 별개의 층과 함께 사용될 수 있다.

[0045] 지속 방출형 활성제 전달층, 스캐폴드 층, 또는 이의 일부는 하나 이상의 활성제를 포함한다. 활성제는 요망되는 생물활성을 나타내는 것이다. 상처 부위에서 관련된 생물활성을 갖는 활성제의 예시적 예는 면역자극제, 항바이러스제, 화학치료제, PD-1 또는 PD-L1 저해제, 인슐린 또는 이의 유도체, 성장 인자, 항각질용해제 (antikeratolytic agent), 항염증제, 항진균제, 트레티노인(tretinoin), 국소 항히스타민제, 항균제(예시적으로 그러나 비제한적으로, 항미생물 펩타이드), 생물접착제, 응혈원(procoagulant)(예를 들어, 활성화된 인자 VII, 활성화된 인자 V, 활성화된 인자 X, 3 또는 4-인자 프로트롬빈 복합체 농축물 조합), 프로스타글란딘 합성 저해제(예를 들어, 이부프로펜(ibuprofen), 아스피린(aspirin), 인도메타신(indomethacin), 메클로페놈산(meclofenomic acid), 레티노산, 파디메이트 0(padimate 0), 메클로멘(meclomen), 옥시벤존(oxybenzone)), 스테로이드성 항염증제(예를 들어, 합성 유사체를 포함하는 코르티코스테로이드), 항미생물제(예를 들어, 실바딘(silvadine)), 소독제, 마취제(예를 들어, 프라모신 하이드로클로라이드(pramoxine hydrochloride), 리도카인(lidocaine), 벤조카인(benzocaine)), 화상 완화 약제, 일광 화상 약제, 여드름 조제물, 지방산(예를 들어, 오메가-3-지방산), 곤충 물림 및 쏘임 약제(insect bite and sting medication), 흉터 감소제(예를 들어, 비타민 E) 등 및 이들의 혼합물을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 선택적으로, 2개 이상, 선택적으로 3개 이상, 선택적으로 4개 이상의 활성제가 포함된다.

[0046] 선택적으로, 상처 드레싱 또는 이의 일부는 하나 이상의 성장 인자 및 하나 이상의 항미생물제를 포함한다. 선택적으로, 상처 드레싱 또는 이의 일부는 하나 이상의 성장 인자, 하나 이상의 항미생물제, 및 하나 이상의 항염증제를 포함한다. 선택적으로, 상처 드레싱 또는 이의 일부는 하나 이상의 성장 인자, 하나 이상의 항미생물제, 및 하나 이상의 항염증제, 및 하나 이상의 지방산을 포함한다.

[0047] 일부 양태에서, 활성제는 항미생물제, 선택적으로 항미생물 펩타이드(AMP)이거나 이를 포함한다. 임의의 항미생물 펩타이드가 사용될 수 있다. 예시적으로, 항미생물 펩타이드는 막시민 H5(Maximin H5), 덤시딘(Dermcidin), 세크로핀(Cecropin), 안드로핀(andropin), 모리신(moricin), 세라토톡신(ceratotoxin), 멜리틴(melittin), 마가이닌(Magainin), 데르마셉틴(dermasseptin), 봄비닌(bombinin), 브레비닌-1(brevinin-1), 에스쿨렌틴(esculentin), 부포르린 II(buforin II), CAP18, LL37, 문헌[Waghu, 등, *Front Microbiol.* 2018; 9: 325]에 기재된 임의의 펩타이드, 또는 이들 중 2개 이상의 임의의 조합 중 하나 이상이다. AMP는 생분해성 중합체 층, 수-안정성 중합체 층, 또는 둘 다로 선택적으로 유리질화된다. 선택적으로, 1, 2, 3, 4, 5, 6개 이상의 AMP가 본원에 제공된 바와 같이 수-안정성 중합체 층에 존재한다.

[0048] 선택적으로, 활성제는 성장 인자이다. 본원에 사용된 바와 같이, "성장 인자"는 하나 이상의 세포 유형에서 세포 성장 또는 분열을 자극시키는 폴리펩티드이다. 성장 인자의 비제한적인 예는 혈관 내피 성장 인자(VEGF), 인슐린-유사 성장 인자(IGF), 섬유모세포 성장 인자(FGF), 표피 성장 인자(EGF), 간세포 성장 인자(HGF), 혈소판 유래 성장 인자(PDGF), 이들 중 2개 이상의 조합이다. 성장 인자는 생분해성 중합체 층, 수-안정성 중합체 층, 또는 둘 다 내에서 선택적으로 유리질화된다. 선택적으로, 1, 2, 3, 4, 5, 6개 이상의 성장 인자가 본원에 제공된 바와 같이 수-안정성 중합체 층에 존재한다.

[0049] 일부 양태에서, 활성제는 항암제이거나 이를 포함한다. 예시적인 항암제는 프로그래밍된 세포 사멸 단백질 1(PD-1) 또는 프로그래밍된 세포 사멸-리간드 1(PD-L1) 기능, 결합 또는 합성의 저해제를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 선택적으로, 활성제는 PD-L1에 대한 인간화 IgG 분자인 아테졸리주맙(atezolizumab)이다. 선택적으로, 활성제는 PD-1에 대한 인간화 IgG 분자인 펌브롤리주맙(pembrolizumab)이다. 선택적으로, 항암제는 특히 이미퀴모드(imiquimod), 플루오로우라실, 비스모데깁(vismodegib), 니볼루맙(nivolumab), 이필리무맙(ipilimumab), 아벨루맙(avelumab)이다. 하나 이상의 종양에 대한 다른 활성제 또한 포함될 수 있다. 항암제는 생분해성 중합체 층, 수-안정성 중합체 층, 또는 둘 다 내에서 선택적으로 유리질화된다. 선택적으로, 1, 2, 3, 4, 5, 6개 이상의 항암제가 본원에 제공된 바와 같이 수-안정성 중합체 층에 존재한다.

[0050] 선택적으로, 활성제는 항체이다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항체" 및 "항체들"은 모노클로날 항체, 폴리

클로날, 키메라, 단일 사슬, 이중특이적(bispecific), 시미안화(simianized), 및 인간화 항체, 뿐만 아니라 Fab 면역글로불린 발현 라이브러리의 생성물을 포함하여 Fab 단편을 포함한다. 무손상(intact) 항체, 이의 단편(예를 들어, Fab 또는 F(ab')₂), 또는 이의 조작된 변이체(예를 들어, sFv)가 또한 사용될 수 있다. 선택적으로, 항체는 당업계에 인식된 바와 같이 인간화이다. 선택적으로, 항체는 인간화가 아니다. 항체는 IgG, IgM, IgE, IgA, IgD 및 이의 임의의 서브클래스를 포함하여 임의의 면역글로불린 클래스(class)일 수 있다. 항체의 예시적 예는 이중기능적인 항체를 포함한다. 항체의 예시적인 비제한적 예는 anti-CD3 mAb(예를 들어, 오텔릭시주맵(otelixizumab), 테플리주맵(teplizumab), 비실리주맵(visilizumab)), 항-스타필로코커스(anti-staphylococcus) 치료적 항체(예를 들어, 테피바주맵(tefimizumab), 토사톡수맵(tosatoxumab), 파기박시맵(pagibaximab), 수브라톡수맵(suvratoxumab), 및 다른 mAb), 특이적인 세포 집단에 대한 항체(F4/80 - 대식세포 또는 c-kit - 줄기세포), 상해-관련 항원에 대한 항체(VCAM 또는 피브리노겐타이드 A), 또는 TGF-β, TNF-α, IL-6 및 IL-1β를 표적화하는 항체, 또는 이들 중 임의의 2개 이상의 조합을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 이러한 항체는 예를 들어, R&D Systems(Santa Cruz, CA) 또는 Abcam(Cambridge, MA)로부터 상업적으로 입수 가능하다. 이중기능적 항체는 예시적인 예로서, 항-스타필로코커스 치료적 항체(예를 들어, 테피바주맵, 토사톡수맵, 파기박시맵, 수브라톡수맵 및 다른 mAb) 중 하나에 연결된 항-CD3 항체, 상해-관련 항원에 관한 모노클로날(VCAM 또는 피브리노겐타이드 A)에 연결된 특이적 세포 집단(F4/80 - 대식세포 또는 c-kit - 줄기세포)에 대한 모노클로날 항체의 항체 융합(하이브리도마 융합 또는 화학적으로 생성됨)을 포함할 수 있다. 이중기능적 항체를 제조하는 방법은 당업계에 인식되어 있고, 예시적으로 문헌[Nolan and O'Kennedy, *Biochim Biophys Acta.*, 1990; 1040(1):1-11]에 예시된 바와 같다. 항체는 생분해성 중합체 층, 수-안정성 중합체 층 또는 둘 다 내에 선택적으로 유리질화된다. 선택적으로, 1, 2, 3, 4, 5, 6개 이상의 항체가 본원에 제공된 바와 같이 수-안정성 중합체 층에 존재한다.

[0051] 일부 양태에서, 상처 드레싱은 VEGF, 하나 이상의 AMP, 및 하나 이상의 항염증제를 포함한다. 선택적으로, 상처 드레싱은 VEGF 및 하나 이상의 AMP를 포함한다. 선택적으로, 상처 드레싱은 VEGF, 하나 이상의 AMP, 및 하나 이상의 지방산을 포함한다. 선택적으로, 상처 드레싱은 VEGF 및 인슐린 또는 인슐린 유도체를 포함한다. 선택적으로, 상처 드레싱은 VEGF, 하나 이상의 항미생물 펩타이드 및 인슐린 또는 인슐린 유도체를 포함한다. 선택적으로, 상처 드레싱은 VEGF, 하나 이상의 항미생물 펩타이드, 인슐린 또는 인슐린 유도체, 및 하나 이상의 항염증제를 포함한다.

[0052] 하나 이상의 층(예를 들어, 스캐폴드 층, 지속 방출형 활성제 전달층, 생분해성 층, 수-안정성 중합체 층 등)은 하나 이상의 접착제의 사용에 의해 회합될 수 있다. 접착제의 선택은 요망되는 성과 및 접착제의 위치에 의존한다. 예시적으로, 접착제는 층의 주변부, 또는 이의 일부 상에 위치할 수 있어서, 상기 접착제는 상처 드레싱으로부터 상처(접착제가 불용성이라면)로의 하나 이상의 활성제의 이전을 인지할 정도로 방해하지 않을 것이다. 선택적으로, 접착제는 전체 층 표면 또는 이의 일부를 인접(adjoining) 층에 접착시킬 수 있다. 접착제의 예시적 예는, 건조될 때 그 자체가 기능적이어서 층에 함께 접착되지만 체액과 접촉될 때 분해되어 층 또는 층의 일부의 요망되는 분리를 가능하게 할 폴리에틸렌 글리콜, 2-옥틸 시아노아크릴레이트(DERMABOND), 또는 다른 피부 글루(glue) 물질을 포함하지만 이로 제한되지 않으며, 이들은 당업계에 알려져 있다.

[0053] 상처 드레싱은, 선택적으로 기체 투과성이며 및/또는 선택적으로 중합체 층보다 더 크도록 치수화(dimension)되거나, 중합체 층의 하나 이상의 가장자리(edge)로부터 연장되어 상처 드레싱을 요망되는 작용 부위에 접착시키는 데 이용 가능한 접착제 층을 선택적으로 추가로 포함한다. 접착제 층은 선택적이고, 테이프, 랩(wrap), 또는 상처 드레싱을 피부 또는 작용 부위에 부착시키는 다른 인식된 방법에 의해 대체될 수 있다. 선택적으로, 접착제 층은 존재하지 않는다. 접착제 층은 존재한다면, 비제한적으로, 접착제 층이 피부에 제거 가능하게 고정될 수 있도록 고정된 접착제를 포함할 수 있는 직물(woven fabric), 라텍스, 폴리비닐 클로라이드, 폴리에틸렌 또는 폴리우레탄을 포함하는 임의의 적합한 물질로 만들어질 수 있다.

[0054] 예시적인 양태에 따르면, 예시적인 상처 드레싱은 도 2에 예시되어 있다. 상처 드레싱은, 봉대 시스템에 대해 외부층으로서 작용하고 상처 드레싱을 요망되는 대상체의 작용 부위, 예컨대 피부 또는 표피 또는 둘 다 내의 또는 이를 통한 상처, 병변, 치료 영역, 또는 피부 상의 또는 피부 내의 다른 요망되는 위치에 부착시키는 역할을 할 수 있는 선택적인 접착제 층(10)을 포함할 수 있다. 접착제 층은 필요하다면, 상처 드레싱을 피부에 고정시키기 위해 접착제(11)를 포함한다. 접착제 층(10) 아래에, 지속 방출형 활성제 전달층이 접착제 층과 비교하여 피부에 근접하게 회합될 수 있도록 배치된 선택적으로 하나 이상의 지속 방출형 활성제 전달층(20)이 존재한다. 지속 방출형 활성제 전달층은 전체 표면을 피복(cover)할 수 있거나 요망된다면 구획(secion) 또는 파트(part)로 제시될 수 있다. 따라서, 지속 방출형 활성제 전달층은 체액과 접촉되어, 상기 지속 방출형 활성제

전달층 내에서 유리질화된 활성제의 용해를 가능하게 하여, 본원에 기재된 바와 같이 지속 방출형 활성제 전달층의 구조에 의해 제어되는 방출 속도로 이로부터 이동하고 상처 또는 다른 작용 부위와 접촉하게 할 수 있다.

[0055] 도 2 또는 임의의 다른 양태 또는 설계에 예시된 바와 같이 상처 드레싱은 선택적으로, 보관 동안 또는 다르게는 적용 전과 같이 상처 드레싱의 깨끗한 또는 멸균 환경을 유지시키는 데 사용될 수 있는 보호층(30)을 추가로 포함한다. 보호층에 유용한 물질은 당업계에 인식되어 있다.

[0056] 다른 양태에서, 상처 드레싱은 선택적으로, 수-안정성 중합체를 포함하지만 하나 이상의 생분해성 중합체를 포함하거나 배제할 수 있는 방출성 지속 방출형 활성제 전달층을 포함한다. 일례로, 지속 방출형 활성제 전달층은, 상피화 및 신속한 상처 치유의 촉진을 위해 세포성 이동을 가능하게 하고 스캐폴드로서 역할을 하기 위해 충분한 다공성을 갖는 수-안정성 중합체를 포함할 수 있다. 이와 같이, 지속 방출형 활성제 전달층 내에서 하나 이상의 활성제의 방출 및 임의의 생분해성 중합체의 분해 후, 잔류 수-안정성 물질은 세포 이동 및 침윤을 촉진하고 가능하게 하기에 충분한 다공성을 갖는다. 세포 이동을 촉진하는 능력은 본원에 제공된 상처 드레싱에 의해 촉진되는 상처 치유의 속도 및 품질을 향상시키는 역할을 한다.

[0057] 방출성 층을 갖는 예시적인 상처 드레싱은 도 3a에 예시되어 있다. 지속 방출형 활성제 전달층(20)은 선택적으로, 하나 이상의 생분해성 중합체를 포함하는 중간층(40)을 통해 접착제 층(10)에 부착된다. 체액과 접촉 시, 중간층의 생분해성 중합체는 용해되어, 지속 방출형 활성제 층의 지속 방출형을 초래한다. 지속 방출형 활성제 층의 수-안정성 중합체 구성요소는 수-안정성 중합체 내에서 세포성 이동을 가능하게 하고 도 3b에 예시된 바와 같이 상처 봉합 및 치유를 실질적으로 촉진하기 위해 스캐폴드로서 역할을 할 수 있다.

[0058] 일부 양태에서, 지속 방출형 활성제 전달층은 층 내에서 하나 이상의 생분해성 중합체를 배제한다. 이러한 상황에서, 지속 방출형 활성제 전달층은 하나 이상의 생물활성제를 함유하는 임의의 유리질화된 물질을 재구성하는 데 필요한 임의의 시간보다의 시간 지연 없이 작용 부위에 하나 이상의 생물활성제를 직접적으로 신속하게 전달한다. 이러한 상황에서, 지속 방출형 활성제 전달층은 신속한 방출층인 것으로 여겨질 수 있다. 선택적으로, 지속 방출형 활성제 전달층은, 하나 이상의 생물활성제가 작용 부위에 방출되며 및/또는 이를 통한 세포 이동을 촉진하기에 적합한 스캐폴드를 형성하기 위한 시간이 체액과 접촉 시 생분해성 중합체 층(들)을 분해하는 데 필요한 시간만큼 지연되도록 생분해성 중합체의 하나 이상의 층을 포함한다. 생분해성 중합체의 용해 또는 부분 용해 시, 수-안정성 중합체는 세포 이동을 위한 스캐폴드로서 역할을 함으로써 상처 치유를 추가로 촉진시킬 수 있다.

[0059] 본원에 제공되고 도 4a에 예시된 바와 같은 상처 드레싱의 또 다른 예시적인 양태에서, 드레싱은, 스캐폴드 층 내에서 또는 스캐폴드 층 상에서 유리질화된 하나 이상의 활성제를 선택적으로 추가로 포함하는 수-안정성 중합체를 포함할 수 있는 스캐폴드 층(60)을 포함한다. 스캐폴드 층(60)은 직접적으로, 또는 하나 이상의 생분해성 중합체를 포함하고 즉시 방출층으로서 역할을 하는 중간층(40)에 의해 지속 방출형 활성제 전달층(20)과 회합될 수 있다. 체액과 접촉 시, 중간층(40)은 분해되어 스캐폴드 층(60)을 방출시켜, 상기 스캐폴드 층은 세포 이동 및 상처 치유의 촉진을 위한 스캐폴드로서 역할을 할 수 있다. 스캐폴드 층은 선택적으로, 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 수-안정성 중합체를 포함한다. 스캐폴드 층은 선택적으로, 그 안에 또는 그 위에 유리질화된 하나 이상의 생물활성제를 포함한다. 도 4b에 예시된 바와 같이, 체액과 접촉 시, 유리질화된 활성제는 체액 내로 방출되어, 활성제의 유형에 따라 생물활성을 이끌어낸다. 그 후에, 스캐폴드 층(60)의 수-안정성 중합체는 상처 부위에 남아서, 스캐폴드로서 역할을 하고 세포 이동을 촉진하며, 선택적으로 상처 치유 과정 동안 상처 수축을 방지한다. 지속 방출형 활성제 층(20)은 선택적으로 접착제 층에 부착된 채로 남아 있지만 반드시 그럴 필요는 없으나, 본원에 기재된 바와 같이 지속 방출형 활성제 층의 특징에 따라 하나 이상의 생물활성제를 지속 방출형 방식으로 전달하는 데 자유롭다.

[0060] 도 5a에 예시된 예에서 예시된 바와 같이 다른 양태에서, 상처 드레싱은 선택적으로, 지속 방출형 활성제 층 형태의 단일 층을 포함한다. 이러한 양태는 선택적으로, 본원에 제공된 바와 같은 하나 이상의 다른 양태의 선행 사용 후 사용되어, 이후에 요망되는 활성제 또는 상처 드레싱의 또 다른 양태에서 이전에 전달된 바와 같은 추가 활성제를 표적화할 수 있다. 이와 같이, 상처 드레싱은 선택적으로, 스캐폴드 층, 중간층 또는 둘 다 배제한다. 지속 방출형 활성제 층(20)은 선택적인 접착제 층(10)과 회합되어, 지속 방출형 활성제 층은 상처 또는 상처로부터의 체액과 즉시 그리고 직접적으로 회합될 수 있다. 도 5b에 예시된 바와 같이, 체액과 접촉 후, 지속 방출형 활성제 층 내의 임의의 생분해성 중합체는 분해되어, 생물활성제가 전달되게 할 수 있다. 선택적으로, 지속 방출형 활성제 층 내의 잔류 수-안정성 중합체는 추가로, 상처로부터의 체액의 이동을 촉진하거나 세포 이동을 촉진하는 역할을 하여, 상처 치유를 추가로 촉진할 수 있다.

- [0061] 다른 양태에서, 도 6에 예시된 바와 같이 방출성 부분(100) 및 비-방출성 부분(110)을 포함하는 상처 드레싱이 제공된다. 방출성 부분은, 분해(예를 들어, 용해)될 때 방출성 부분의 분리를 촉진하여 상처 드레싱이 제거될 때 상처 부위에 남아 있는 생분해성 중합체의 즉시 방출층(120)의 분해에 의해 비-방출성 부분으로부터 분리 가능하다. 예시적인 양태에서, 방출성 부분은, 드레싱과 비교하여 상처에 가장 근접하게 배치되는 스캐폴드 층(60)을 포함한다. 보호층(도시되지 않음)은 선택적으로, 스캐폴드 층의 표면 상에 포함되어, 대상체의 피부에 적용되기 전에 상처 드레싱을 보호한다. 스캐폴드 층(60)은 접착제를 통해 생분해성 중합체의 층에 고정된다. 이러한 생분해성 중합체는 선택적으로, 접착제에 의해, 상처 드레싱의 비-방출성 부분을 보유하는 역할을 하는 수-안정성 중합체(130)의 층에 고정되어 존재한다. 상처 부위로부터 원거리에 그리고 수-안정성 중합체에 고정되어 있는 것은, 이 예에서 회합된 3개 층으로서 도시되어 있는 지속 방출형 활성제 전달층이며, 제1 층은 생분해성 층(70)이며, 상기 생분해성 층(70)은, 하나 이상의 유리질화된 활성제를 포함하는 수-안정성 중합체 층(90)에 고정된 즉시 방출 유리질화된 활성제 층(80)에 고정되어 있다. 예시적인 상처 드레싱의 이 부분을 형성하기 위해 많은 추가 층 또는 다수의 개별 층이 존재할 수 있으므로 지속 방출형 활성제 전달층을 형성하는 3개 층은 예시적인 목적을 위해서만 도시되어 있음을 주목한다. 다층 지속 방출형 활성제 전달층은 수-안정성 중합체 및 즉시 방출 유리질화된 활성제 층 내의 하나 이상의 유리질화된 약물의 용해 속도에 기초하고 생분해성 중합체 층의 분해에 의해 제어되는 시간 경과에 걸쳐 하나 이상의 활성제를 전달하는 역할을 한다. 이와 같이, 수-안정성 중합체는 하나 이상의 활성제를 포함할 수 있으며, 즉시 방출 유리질화된 활성제 층은 하나 이상의 활성제를 포함할 수 있고, 스캐폴드 층은 하나 이상의 활성제를 포함할 수 있으며, 교시(teach) 부위에서 선택되는 활성제의 유형 및 양은 상처 부위에 전달되는 각각의 활성제의 존재에 대해 최적인 시간과 관계가 있다. 예를 들어, 스캐폴드 층은 상처 부위의 즉시 방출을 위해 VEGF, 하나 이상의 AMP 및/또는 하나 이상의 항염증제를 모두 포함할 수 있다. 지속 방출형 활성제 전달층은 상처 부위의 지연된 방출 또는 상처와의 작용을 위해 VEGF, 하나 이상의 AMP 및/또는 선택적으로 하나 이상의 항염증제를 모두 포함할 수 있다. 스캐폴드 층은 상처 부위의 즉시 방출 또는 상처와의 작용을 위해 VEGF, 하나 이상의 AMP 및/또는 선택적으로 하나 이상의 항염증제를 모두 포함할 수 있다.
- [0062] 대안적으로, 지속 방출형 활성제 전달층은, 상처 부위의 지연된 방출을 위한 하나 이상의 항염증제 및/또는 순환 내로의 AMP의 통과를 예방하기 위해 수-안정성 중합체에 선택적으로 공유 부착된 하나 이상의 AMP를 포함할 수 있다. 선택적으로, 지속 방출형 활성제 전달층은 VEGF를 배제한다.
- [0063] 본원에 제공된 바와 같은 상처 드레싱의 양태는 이의 구조 내에 유리질화된 VEGF를 이용하고, 상처 드레싱으로부터 VEGF의 지속 방출형 양태에 의해 촉진된 바와 같이 상처에서 충분한 세포 이동을 가능하게 할 수 있으며, 이는 자연적인 치유 과정을 지지하여 자연적인 상처 치유의 속도 및/또는 효과성을 증가시킨다.
- [0064] 본원에 제공된 바와 같은 상처 드레싱은 선택적으로, 유리질화된 VEGF를 포함한다. VEGF가 존재하는 막은, 상처와 접촉하여 배치될 때 VEGF를 작용 부위로 직접적으로 투여되게 하는 분해 속도를 갖지만, 선택적으로 효과성을 향상시키기 위해 연속(continual) 또는 지속 방출형 속도로 수행된다. 본원에 제공된 바와 같이 층 내에서 생분해성 중합체의 사용은, 상처 부위에서 향상된 세포 이동을 가능하게 하여 상처 치유를 추가로 촉진하는 더 낮은 중합체 밀도의 영역을 생성시키는 것으로 밝혀졌다. VEGF 또는 이의 임의의 기능적 유사체가 사용될 수 있다. 선택적으로, VEGF는 미국 미주리주 세인트루이스 소재의 SIGMA-ALDRICH로부터 입수될 수 있다. VEGF는 선택적으로 인간 VEGF 또는 이의 기능적 유사체이다. VEGF는 선택적으로 마우스 VEGF 또는 이의 기능적 유사체이다.
- [0065] 본원에 제공된 바와 같은 상처 드레싱은 선택적으로, 유리질화된 인슐린을 포함한다. 인슐린은 지속 방출형 활성제 전달층 및/또는 스캐폴드 층의 일부에서와 같이 하나 이상의 수-안정성 중합체 층 내에서 유리질화될 수 있다. 선택적으로, 인슐린은, 단독으로 또는 지속 방출형 활성제 전달층의 일부로서 사용될 수 있는 즉시 방출 유리질화된 활성제 층 내에서 유리질화된다. 인슐린의 안정성은 본원에 기재된 바와 같은 과정에 의해 유리질화에 의해 급격하게 향상될 수 있어서, 인슐린 또는 상처 드레싱 전체로서의 저온 보관은 필요하지 않는 것으로 밝혀졌다. 물 또는 체액과의 접촉에 의해 재구성 시, 이전에 유리질화된 인슐린의 활성은 신선한 인슐린과 구분 불가능하여, 본원에 제공된 바와 같은 상처 드레싱 내에서의 이의 포함은, 당뇨병을 앓고 있는 대상체에서 보편적인 바와 같이 당뇨병성 궤양 또는 다른 병변과 같은 요망되는 위치로의 최적의 기능 및 인슐린 전달을 가능하게 한다.
- [0066] 또한, 대상체에서 상처를 치료하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 본원에 제공된 바와 같은 상처 드레싱을 상처 표면 또는 이의 일부에 적용하는 단계를 포함한다. 상처 드레싱은 치료 기간 동안 적용된 다음, 제거되고 선택적으로 대체될 수 있다. 선택적으로, 상처 드레싱은 10분 이상, 선택적으로 30분 이상의 치료 시간 동안 적용

된다. 선택적으로, 상처 드레싱은 10분 이상, 20분, 30분, 40분, 50분, 60분, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 10시간, 24시간, 2일 이상의 치료 시간 동안 적용된다.

[0067] 일부 양태에서, 제1 상처 드레싱 유형은 제1 치료 시간 동안 적용되고, 뒤이어 상처 드레싱(또는 이의 적용 가능한 부분)이 제거되고 제2 상처 드레싱이 제2 치료 시간 동안 적용된다. 제1 상처 드레싱 및 제2 상처 드레싱은 구조 또는 구성이 동일할 수 있거나 상이할 수 있다. 일례로, 제1 상처 드레싱은 제1 치료 시간 동안 적용될 수 있어서, 상기 제1 상처 드레싱은 상처 드레싱의 하나 이상의 다른 구획으로부터 탈리 가능한 스캐폴드 층을 포함한다. 제1 치료 시간 후, 제1 상처 드레싱은 제거되어 스캐폴드 층을 남겨 두어, 피부에 잔류하여 세포 이동을 위한 스캐폴드 층으로서 역할을 할 수 있다.

[0068] 제2 스캐폴드 층을 포함하거나 스캐폴드 층이 부재하는 제2 상처 드레싱이 적용될 수 있다. 제2 상처 드레싱은 제1 상처 드레싱과 비교하여 유사하거나 상이한 치료 시간에 걸쳐 하나 이상의 동일하거나 상이한 활성제를 전달하도록 조정될 수 있다. 비제한적인 예로서, 제2 상처 드레싱은 스캐폴드 층을 배제할 수 있으나, 제1 치료 시간 동안 필요한 것보다 이후의 상처 치유 시간에서 더욱 요망되는 하나 이상의 활성제를 포함하는 지속 방출형 활성제 전달층을 포함한다.

[0069] 제2 상처 드레싱은 제1 상처 드레싱과 비교하여 하나 이상의 층 내에 상이하거나 동일한 층을 포함할 수 있다. 일례로, 제1 상처 드레싱은 스캐폴드 층에 VEGF, 하나 이상의 AMP, 및 하나 이상의 항염증제, 뿐만 아니라 하나 이상의 VEGF, 하나 이상의 AMP, 및 하나 이상의 항염증제를 포함하는 지속 방출형 활성제 층을 포함할 수 있다. 제2 치료 시간 동안 적용되는 제2 상처 드레싱은 하나 이상의 AMP를 지속 방출형 활성제 전달층에 포함할 수 있으나, VEGF를 배제하여, 이후의 치료 시간 동안 항미생물 활성은 상처 치유를 촉진하는 데 더욱 바람직할 수 있고, VEGF의 존재는 제2 치료 시간 동안 요망되는 상처 치유 단계에 유해할 수 있다. 이러한 방식으로, 상처 드레싱 및 상기 상처 드레싱에 의해 제시되는 활성제(들)의 유형은, 드레싱이 상처에 적용되는 치료 시간 동안 필요한 상처 치유 단계에 맞게 조정될 수 있다.

[0070] 또 다른 예에서, 상처는 대상체에서 만성인 유전적 결함 또는 질환이나 병태의 결과일 수 있다. 제1 치료 시간 동안 적용되는 상처 드레싱은, 대상체의 유전적 결함 또는 질환이나 병태를 치료하는 데 특이적인 하나 이상의 치료제를 전달하는 데 적용되는 상처 치유의 제1 단계 및 제2 또는 이후의 상처 드레싱을 촉진하기 위해 요망될 수 있다.

[0071] 대안적으로, 제1 상처 드레싱 및 제2 상처 드레싱은 장기간의 상처 치료를 필요로 하는 대상체의 유전적 결함 또는 다른 질환이나 병태로 인해 동일할 수 있다. 예시적으로, 상처 드레싱은, 기저 세포 또는 편평 세포 암종으로부터의 병변과 같이 대상체에서, 암성 병변의 제거 후 적용될 수 있거나, 선행 절개가 부재하는 이러한 병변에 단순히 직접적으로 적용될 수 있다. 병변의 제거는 피부 내에 잔류하는 하나 이상의 암성 세포를 초래할 수 있다. 이들 잔류 세포를 치료하도록 설계된 활성제(예를 들어, PD-1 또는 PD-L1 저해제)에 의한 치료는 매일 또는 다른 치료 시간에 새로운 상처 드레싱에 적용되어, 병변 부위에서의 임의의 잔류 암세포가 치료되고 재발의 가능성을 감소시키는 것을 보장할 수 있다.

[0072] 제1 치료 시간은 제2 치료 시간에 연속적일 수 있으며, 이는 제2 상처 드레싱이 제1 상처 드레싱의 제거 후 실질적으로 즉시 적용될 것임을 의미한다. 선택적으로, 예컨대 건조 기간이 필요하거나 상처에 대해 다른 개입이 요망될 수 있을 때 치료는 불연속적일 수 있다.

[0073] 본 개시내용의 다양한 양태는 하기 비제한적인 예에 의해 예시된다. 실시예는 예시적인 목적을 위한 것이고, 본 개시내용의 임의의 실시예에 대한 제한이 아니다. 본 개시내용의 사상 및 범위로부터 벗어나지 않으면서 변화 및 변형이 이루어질 수 있음을 이해할 것이다. 모든 시약은 다르게 지시되지 않는 한 상업적으로 입수 가능하고, 당업자는 이러한 시약이 입수될 수 있는 곳을 쉽게 이해한다.

[0074] **실시예**

[0075] **실시예 1: 중합체 섬유층의 형성**

[0076] 폴리카프로락톤(Sigma Aldrich 440744, Mn 80,000)을 유기 용매 2,2,2-트리플루오로에탄올(TFE, Sigma Aldrich T63002)에 15 %w/v의 농도로 용해시켰다. 실온 하에 교반하면서 완전한 용해는 통상 2시간 내지 3시간이 소요된다. 생성된 중합체 용액을 표준 10 밀리리터(mL) 주사기 내로 로딩(load)하고, 22-게이지 블런트 니들(blunt needle)을 방사구(spinneret)로서 사용한다. 전기방사를 15 kV 고전압 DC, 1.5 mL 용액 공급 속도, 및 컬렉터 스탠드오프(collector standoff)까지 15 센티미터(cm) 니들 팁(tip)의 조건 하에 수행한다. 약 100 내지 200 마이크로미터의 막 두께를 수득하기 위한 전형적인 방사 시간은 15분 내지 30분(min)이다. 그 후에, 방사 섬유

막을 화학적 후드 하에 12시간 동안 공기 건조한 다음, 진공 하에 2시간 동안 건조하여, 임의의 잔류 유기 용매를 제거한다.

[0077] 유사한 조건 하에, 고분자량 폴리에틸렌 글리콜, Sigma Aldrich 182028을 사용하여 폴리에틸렌 옥사이드 섬유층을 만든다. 수(water) 중 5% PEO의 중합체 용액을 형성하였고, 22-게이지 니들 방사구를 사용하여 15 kV 전압, 컬렉터 스탠드오프까지 15 cm 니들에서 섬유층 내로 전기방사하였다. 생성된 섬유층을 상기와 같이 건조한다.

[0078] 콜라겐 섬유층을 상기와 유사한 조건을 사용하여 만들었다. 콜라겐(유형 I, Sigma Aldrich C9791)을 사용하여, 1,1,1,3,3,3-헥사플루오로-2-프로판올(HFIP) 중 10% 콜라겐의 중합체 용액을 형성하였다. 15 kV 전압, 컬렉터 스탠드오프까지 15 cm 니들, 및 22-게이지 니들 방사구를 사용하여 전기방사에 의해 섬유층을 형성하였다. 생성된 섬유층을 상기와 같이 건조한다.

[0079] 개별적으로 건조된 층을 섬유 구조 및 치수에 대해 현미경으로 검사한다. 그 결과를 도 7에 예시한다. PLC 섬유 물질은 도 7a에 예시되어 있으며, 전기방사 공정에 의해 생성된 중첩(overlapping) 섬유 네트워크를 실증한다. PEO 섬유 네트워크는 도 7a보다 더 높은 배율로 도 7b에 예시되어 있으며, 상대적으로 작은 섬유 구조 및 더 작은 공극 크기를 도시한다.

[0080] 락타이드:글리콜라이드의 비가 75:25(molar)이고 분자량이 76 내지 115 kDa인 PLGA를 사용하여 폴리락트산(PLA) 및 폴리(락틱-코-글리콜산)(PLGA)으로 만들어진 섬유성 물질을 콜라겐 섬유층에 대해 사용된 것과 동일한 절차에 의해 만들었다. 공급 속도는 30 kV 전압 및 15 cm 스탠드오프로 시간당 1 mL였다. 섬유성 물질은 현미경에 의해 관찰 시 유사한 구조를 가졌다.

[0081] **실시예 2: 직접적으로 유리질화된 활성제의 형성**

[0082] 수중 20% 폴롤란(Sigma Aldrich P4516) 및 20% 트레할로스와 함께 인슐린의 용액을 형성함으로써, 즉시 방출 유리질화된 활성제 층으로서 사용될 수 있는 인슐린-함유 활성제 섬유성 물질을 만들었다. 상기 용액을 15 kV 전압, 컬렉터 스탠드오프까지 15 cm 니들, 및 22-게이지 니들 방사구에서 용액을 전기방사함으로써 유리질화된 물질의 섬유층 내로 전기방사하였다. 생성된 층을 건조하고, 상기와 같이 현미경에 의해 검사하였다. 도 8에 예시된 바와 같이, 인슐린을 섬유로 형성하며, 상기 인슐린은 유리질화되고 섬유층의 용해 시 즉시 방출에 이용 가능하다.

[0083] **실시예 3: 수-안정성 중합체에의 단백질의 공유 부착의 형성**

[0084] 스트렙타비딘을 실시예 1에서와 같이 생성된 PCL 섬유 층에 공유 부착시킨다. 간략하게는, 폴리(에틸렌 글리콜) 디아크릴레이트(PEG-DA, Sigma Aldrich 701963) 10 %w/v, ACRL-PEG-SVA 5000(Laysan Bio INC) 10% w/v, 2-하이드록시-4'-(2-하이드록시에톡시)-2-메틸프로피오페논(광개시제, Sigma Aldrich 410896) 2 %w/v 및 스트렙타비딘을 PBS에 용해시킨다. 용액을 실온 하에 진탕기 상에서 150 rpm의 속도에서 3시간 동안 혼합한다. 이 기간 동안, 모든 중합체는 용액에 용해되고, ACRL-PEG-SVA 5000은 스트렙타비딘과 결합하고, 스트렙타비딘을 아크릴화시킨다. 용액을 제조한 후, 이를 PCL 막의 양면에 0.05 내지 0.1 $\mu\text{L}/\text{mm}^2$ 의 표면 밀도로 적용하였다. 그 후에, 코팅된 막을 UV 경화를 위해 UV 광(365 nm 파장, 400 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$)을 받게 하였다. 막의 각각의 면을 UV에 1분 동안 노출시켜, 적당한 경화를 보장하였다. 그 후에, UV 경화 코팅된 막을 PBS 완충액으로 세척하여, 임의의 비경화된 또는 잔류 구성요소를 제거한다. 생성된 막을 형광 표지된 비오틴화된 소 혈청 알부민의 결합 후 현미경 및 형광 현미경에 의해 분석하였으며 그 결과를 도 9a 및 도 9b에 예시하였다.

[0085] **실시예 4: 다층 섬유성 구조의 용해**

[0086] PCL 및 PEO의 교대 층으로 다층 물질을 형성하였다. 각각의 층을 실시예 1에서와 같이 전기방사에 의해 형성하였다. 10개 층의 다층 물질이 생성될 때까지, PCL 용액으로부터의 전기방사 공급원 용액을 PEO 용액으로 전환함으로써 다층 물질을 형성하였다.

[0087] 생성된 다층 섬유성 물질을 포스페이트 완충 식염수 용액에의 침지에 의해 용해 시험을 받게 한다. 시료를 제거하고, 0분, 15분 및 30분째에 현미경에 의해 섬유 밀도에 대해 검사한다. 그 결과를 도 10에 예시하며, 0분(a), 5분(b), 15분(c), 30분(d), 및 60분(e)에서의 섬유성 구조를 예시하고, 용해 시간이 증가함에 따라 달성된 높은 섬유 품질뿐만 아니라 섬유 밀도의 감소를 실증한다. PCL 섬유(두꺼움)는 무손상으로 남아 있고, 침지 60분까지 분해가 시작되지 않는다. 대조적으로, PEO 섬유(얇음)층은 5분 후 거의 완전히 용해된다.

[0088] 별개의 실험 세트에서, PEO 섬유층을 상기와 동일한 과정이지만 BSA의 존재 하에 PEO 층을 전기방사시켜 제조하

여, BSA는 PEO 층 내에서 포집된다. PCL의 제1 층, PEO/BSA의 제2 층, 및 PCL의 제3 층으로 다층 물질을 만든다. 이들 층을 1분(얇은 층), 15분(중간 두께) 또는 30분(두꺼운 층) 동안 전기방사함으로써 다양한 두께의 PCL 층을 형성한다. 그 후에, 생성된 다층 물질을 상기와 같이 PBS에서 용해를 받게 한다. 다양한 시점에서, 상층액을 제거하고, 완충액 중 자유(free) BSA의 존재에 대해 분석한다. 도 11에 예시된 바와 같이, 더 두꺼운 PCL 층의 존재는 용해성 PEO 층으로부터 BSA의 용해 속도를 감소시켰고, 다양한 두께의 어느 층이 활성제의 용해 속도를 변경시킬 수 있는 방법을 예시한다.

[0089]

실시예 5: 활성제의 유리질화

[0090]

신규 유리질화 과정을 이용하여, VEGF, 항체, 예컨대 펙트롤리주맙, 아테졸리주맙, 및 항미생물 펩타이드를 주위의 스트레스 인자 - 가장 중요하게는 온도에 대해 안정화시켰다. 활성제(예를 들어, VEGF 또는 펙트롤리주맙)를 친화도 지지체 상의 유리질화 부형제에 현탁시켰으며, 이는 감소된 압력 환경에 노출 시 유리질 상태로 진입하였다. 간략하게는, 증류수 중 활성제(Sigma, St. Louis MO) 25 µg/mL를 Pfanstiehl(Cleveland, OH)로부터 취득된 고순도, 낮은 내독소 트레할로스 디하이드레이트 및 Sigma로부터 입수된 글리세롤과 조합하였다. 실험 용액을 4°C에 보관하였다. 모든 시료를, Edwards RV3 Two Stage Rotary Vane 펌프(Crawley, United Kingdom) 및 Drierite 건조 컬럼에 연결된 진공 챔버 내에 배치시켰다. 그 후에, 시료를 진공 하에 -27 내지 -30 Hg의 압력에서 25분의 기간 동안 연속적으로 건조하였다.

[0091]

실시예 1에서 생성된 PCL 막을 유사한 결과를 갖는 친화도 지지체로서 사용하여 동일한 유리질화 과정을 수행하였다.

[0092]

유리질화된 VEGF 및 펙트롤리주맙을 하기 3개 조건 하에 안정성에 대해 시험하였다: (1) 55°C에 1일 동안 노출; (2) 55°C에 7일 동안 노출; 및 (3) 55°C에 15일 동안 노출.

[0093]

온도 노출 후, 친화도 지지체 상에 포착된 VEGF를 마지막으로 PBS에서 재구성하였다. 수령한 대로의 동결건조된 VEGF를 55°C에서 15일 동안 보관하였으며, 이는 55°C에서 사유(proprietary) 유리질화 없이 VEGF 활성을 평가하기 위한 음성 대조군으로서 역할을 하였다. 비-유리질화된 VEGF의 분취물을 -20°C에서 동일한 기간 동안 보관하였으며, 이는 하기 실시예에서와 같이 표준 권고된 보관 조건 하에서 총 VEGF 활성을 측정하기 위한 양성 대조군으로서 역할을 하였다.

[0094]

실시예 6: 내피 세포 증식 검정법

[0095]

인간 제대 정맥 내피 세포(HUVEC: human umbilical vein endothelial cell)를 18시간 동안 혈청 고갈(serum starve)시킨 다음, 표준 조건(-20°C) 하에 보관된 비히클(PBS) 또는 VEGF(10 ng/ml) 또는 55°C에서 1일 내지 5일 동안 보관된 실시예 3에서와 같이 생성된 유리질화된 VEGF의 존재 하에 2 중량% 넥아웃 혈청(Lifeline Cell Technology, CA)을 함유하는 배지로 대체하였다.

[0096]

55°C에서의 보관을 수행하여, VEGF의 고온 탈안정화에 대해 보호하는 유리질화 과정의 능력을 시험하였다. HUVEC 세포 증식을 지수(index)로서 측정하여, VEGF 활성을 평가하였다. 증식을 측정하기 위해, 로그기(log phase) 세포를 24-웰 플레이트에 4000개 세포/ml로 평판배양하고, 24시간 동안 부착되게 하였다. 37°C에서 신선한 무혈청 배양 배지에 희석된 0.5 mg/ml 디메틸-2-티아졸릴 블루 테트라졸륨 브로마이드(MTT)(Sigma-Aldrich)와 함께 인큐베이션함으로써, 다양한 배지에서 24시간(h) 처리 후 부착된 세포의 양을 평가하였다.

[0097]

4시간 후, MTT 시약을 각각의 웰로부터 흡인하고, 포르마잔 생성물을 200 µl의 DMSO에 용해시켰다. SpectraMax M5 마이크로플레이트 판독기(Molecular Devices)를 사용하여 각각의 시료의 흡광도를 500 nm 및 650 nm에서 측정하고, 흡광도(500 nm 내지 650 nm)로부터 세포 증식 백분율을 계산하고, PBS 대조군을 100% 증식으로 간주함으로써 비히클(PBS)-처리 세포와 비교하여 표현하였다.

[0098]

도 12에 예시된 바와 같이, 건강한 세포는, 55°C에서 보관되었을 때 비-유리질화된 VEGF에서의 세포-세포 접촉이 없는 희박한 수의 단일 세포와 비교하여, 유리질화된 VEGF 처리군에서 세포-세포 접촉을 확립하였다. 스케일 바(scale bar) = 200 µm.

[0099]

그 결과는 또한, 55°C에 보관된 유리질화된 VEGF의 효과가 적절한 보관 온도(-20°C) 하에 보관된 VEGF와 동등함을 실증한다. 주목할 만하게는, 55°C에의 비-유리질화된 VEGF의 노출은, 세포 증식을 촉진하는 데 있어서 VEGF-무함유 대조군과 동등한 수준까지 VEGF 활성의 완전한 소실을 유발하였다.

[0100]

MTT 검정법(도 12의 우측)으로부터의 결과는, 55°C에서 15일 동안 보관된 비-유리질화된 VEGF와 비교하여 55°C에서 1일, 7일 및 15일 동안 보관된 유리질화된 VEGF의 효과가 유의하게 더 높은 한편, 55°C에서 보관된 VEGF-

무함유 및 비-유리질화된 VEGF 사이의 차이는 유의하게 상이하지 않음을 실증한다. 적절한 온도(-20℃) 하에 보관된 VEGF에 의해 발휘되는 효과는 55℃에서 보관된 유리질화된 VEGF에 의해 발휘되는 효과로부터 통계학적으로 유의하지 않다. 모든 값은 평균 ± SEM을 나타내며, n = 3. *, p < .05이다.

[0101] **실시예 7: 내피 세포 관 형성 검정법**

[0102] 매트릭젤(Matrigel) 상에서의 내피 세포 관 형성을 평가하여, 유리질화된 VEGF의 혈관신생 잠재력을 측정하였다. 성장 인자-감소 매트릭젤(Corning Life Sciences; 289 ml/웰)을 24-웰 플레이트 내의 유리 커버 슬립 상으로 코팅시켰으며, 이를 37℃에서 30분 동안 배치시켜 겔화를 가능하게 하였다.

[0103] Vasculife 완전 배지에서 성장된 HUVEC을 관 형성 검정법을 위해 2회 계대배양 이내에 사용하였다. 트립신 처리 후, 계대배양 2회째의 HUVEC을 2% 뇌아웃 혈청(Lifeline Cell Technology, CA)을 함유하는 Vasculife 기본(basal) 배지에 재현탁시키고, 표준 조건(-20℃) 하에 보관된 비히클(PBS) 또는 VEGF(10 ng/ml) 또는 55℃에서 1일 내지 15일 동안 보관된 유리질화된 VEGF(10 ng/ml)를 함유하는 300 ml 배지에서 60,000개 세포/웰의 세포 밀도로 겔 매트릭스에 걸쳐 부드럽게 평판배양하였다.

[0104] 플레이트를 37℃에서 8시간 동안 인큐베이션하였다. 각각의 웰에서의 관 형성을 도립 위상차 현미경(inverted phase contrast microscope)(Nikon Instruments)을 사용하여 이미지화하고, 루프의 수/mm², 분지점의 수/mm² 및 루프의 평균 길이(mm)를 ImageJ 소프트웨어를 사용하여 정량화하였다.

[0105] 도 13에 예시된 바와 같이, 55℃에 보관된 유리질화된 VEGF는 비-유리질화된 VEGF와 비교할 때 배양물에서 내피 세포의 관 형성을 효율적으로 촉진한다. 55℃에서 보관된 유리질화된 VEGF의 효과는 또한, 적절한 보관 온도(-20℃) 하에 보관된 표준 VEGF와 동등한 것으로 나타났다. 주목할 만하계는, 55℃에의 비-유리질화된 VEGF의 노출은 VEGF 무함유 대조군으로 관찰된 것과 유사한 관 형성의 총 소실을 유발하였다.

[0106] 도 14는 또한, 관 형성의 촉진을 실증한다. 예를 들어, 이 도면은 루프(a)의 수; 분지점(b); 및 루프의 길이(c)를 유도하는 데 있어서 55℃에서 1일, 7일 및 15일 동안 보관된 유리질화된 VEGF의 효과를 보여주는 정량화를 제공한다. 주목할 만하계는, 55℃에서 보관된 비-유리질화된 VEGF와 비교할 때, 이들은 각각 유의하게 더 높은 한편, 55℃에서 VEGF 무함유와 비-유리질화된 VEGF 사이의 차이는 유의하게 상이하지 않다.

[0107] 적절한 온도(-20℃) 하에 보관된 VEGF에 의해 생성되는 효과는 55℃에서 보관된 유리질화된 VEGF에 의해 생성되는 효과로부터 통계적으로 유의하지 않다. 모든 값은 평균 ± SEM을 나타내며, n = 3. *, p < .05 대 음성 대조군(VEGF 55℃에서 15일)이다.

[0108] **실시예 8: 마우스 피부 상처 치유 모델**

[0109] C57/BL6J 암컷 마우스(n=5)를, 가용성 형태의 Flk1(sFlk1)을 인코딩하는 아데노바이러스로 치료하여, VEGF 작용을 저해하였고, 연령-매칭된 대조군(n=5)을 Fc 단백을 발현하는 대조군 바이러스로 치료하였다.

[0110] 바이러스 주사 후 24시간제에, 1회용 피부 펀치 생검 틀을 사용하여 2개의 전층(full-thickness) 절개 상처(0.8 cm 직경)를 각각의 마우스의 등에 생성시켰다. 제0일 및 제9일에 디지털 카메라로 상처 크기를 측정함으로써 상처 봉합 분석을 평가하였다. 제9일의 종료 시, 헤마톡실린 & 에오신(H&E) 염색 방법에 의한 치유 과정의 표준 조직학적 분석을 위해 피부 시료를 수집하였다.

[0111] 제9일의 종료 시 AdFc 대조군 및 AdFlk-치료군의 절편(section) 상에서 상처 가장자리 사이의 거리를 측정함으로써 상처 치유 백분율을 측정하였다. 별개의 조직 조각을 수집하고, 4% 파라포름알데하이드에 예비고정한 다음, 종래의 저온유지장치(cryostat)에서의 동결절편화(cryosectioning)에 사용하였다. 10 mm 절편을 내피 세포 마커인 CD31을 이용하여 염색하는 데 사용하였고, CD31 염색된 절편을 마운트(mount)하고, 형광 이미지화를 위해 Zeiss AxioCam 카메라가 장착된 Zeiss Axioskop 2 현미경 상에서 검사하였다.

[0112] 필드(field)당 CD31 염색된 세포의 수를 카운팅함으로써 모세관 밀도를 평가하고, 각각의 필드에서 핵 염색 DAPI에 의해 측정된 핵형성된 세포의 총 수와 비교하여 CD31의 %로서 표현하였다.

[0113] 도 15에 예시된 바와 같이, VEGF는 피부 상처 치유 동안 혈관신생 및 재상피화에서 중요한 역할을 한다. 피부 상처 봉합에서의 급격한 지연은 AdFlk1 치료에 의한 VEGF 작용의 차단 후 관찰되었다. 게다가, AdFlk1-치료 마우스에서 상처의 재상피화의 완전한 차단 및 AdFlk1-치료 마우스에서 혈관 밀도(혈관신생)의 급격한 역제는 CD31-양성 면역염색된 혈관에서 유의한 저하에 의해 입증된 바와 같이 관찰되었다. *P<0.05; 스튜던츠 t 검정

(student's *t* test); n=5마리 마우스/군.

[0114] **실시에 9: 트랜스웰 이동 및 스크래치 상처 치유 검정법**

[0115] 트랜스웰 이동의 2개의 확립된 세포 배양 모델 및 신선하게 단리된 C57/BL6J 마우스 각질세포를 이용하는 스크래치 상처 치유 모델을 사용하였다. 우선, 부드러운 교반 하에 디스파제(dispass)(이후에 피부의 표피를 단리하기 위함) 및 트립신(표피로부터 각질세포를 단리하기 위함)을 사용하여 마우스 피부의 표피 층으로부터 각질세포의 효소적 분리에 의해 각질세포 배양물을 확립하였다. 수집된 세포를 SFM-각질세포 배지(Life Technologies)에서 성장시켰다.

[0116] VEGF의 영향 하에 각질세포가 이동하는 능력을 평가하기 위해, 세포를 트립신 처리하며, 원심분리에 의해 수집하고, 트랜스웰 인서트(insert)의 상부(upper) 챔버에 첨가하였으며, 한편 VEGF 무함유 대조군 또는 VEGF 또는 VEGF + VEGF 저해제를 하부(lower) 챔버에 배치된 무혈청 배지에 첨가하였다. 세포를 정상적인 성장 조건 하에 이동시키도록 하였다. 24시간의 종료 시, 하부 챔버에서 비히클 대조군 또는 VEGF의 영향 하에 이동한 세포를 시각적으로 카운팅하고, 세포 이동 백분율로서 표현하였다.

[0117] 각질세포가 이동하고 상처 틈(gap)을 치유하는 능력을 평가하기 위해, 균일한 치수의 스크래치 상처를 각질세포 단층을 가로질러 생성시켰고, VEGF 또는 VEGF 저해제의 존재 또는 부재 하에서의 치유를 위해 배양물을 놔두었다.

[0118] 도 16에 예시된 바와 같이, VEGF는 트랜스웰과 스크래치 상처 치유 검정법 둘 다에서 각질세포의 이동을 자극시킨다. 도 16a는 트랜스웰 이동 검정법으로부터의 결과를 제공하며, 이러한 결과는 혈관신생 유도인자 VEGF에 대한 각질세포의 이동 반응을 나타낸다. 반응을 VEGF 저해제로 차단함으로써 각질세포 배양물에서 VEGF 작용의 특이성을 확인하였다. 도 16b는 배양된 각질세포로부터 유래된 컨플루언트(confluent) 단층 상에서 균일하게 생성된 스크래치 상처를 이용한 상처 치유 검정법으로부터의 결과를 찍으며, 이러한 결과는 각질세포 이동 능력을 갖는 VEGF가 상처 틈 내로의 각질세포의 모집(recruitment)을 가능하게 하고 스크래치 상처 영역에서 급격한 치유를 촉진한다. 반응을 VEGF 저해제로 차단함으로써, 각질세포 스크래치 상처 치유에 대한 VEGF 작용의 특이성을 확인하였다. 도 16c는 트랜스웰 이동 검정법에서 세포 수의 정량화를 제공하고, 스크래치 내로 이동한 세포의 수는 특이적인 VEGF 저해제에 의해 유의하게 저하된 VEGF에 의한 각질세포의 급격한 유도를 드러내었다. *P<0.05; 스튜던츠 t 검정; n=3.

[0119] **실시에 10: 진피 섬유모세포의 LPS-유도 흉터-형성 유전자 발현 검정법**

[0120] 55°C에서 1일 내지 15일 동안의 노출에 대한 안정성에 대해 시험된 유리질화된 VEGF(10 ng/ml)의 존재 하에 진피 섬유모세포를 리포다당류 LPS(500 ng/ml) 또는 비히클 PBS(LPS 무함유 대조군)로 3일 동안 처리하였다.

[0121] 유리질화의 부재 하에 열-탈안정화를 겪은 VEGF(10 ng/ml)에 노출된 LPS-처리 세포는 음성 대조군으로서 역할을 하였고, 유리질화 또는 탈안정화 중 어느 것도 받지 않은 VEGF로 처리된 세포는 양성 대조군으로서 역할을 하였다.

[0122] 진피 섬유모세포의 LPS-유도 흉터-형성 유전자 발현 프로파일, 즉, TNF α, COL1A1, DSTN, TGF β, IL-6 및 COL3A1을 정량적 실시간 PC(qPCR)에 의해 측정하며, β-액틴의 발현으로 정규화하고, LPS 무함유 대조군에서 측정된 수준과 비교하여 표현하였다.

[0123] 도 17에 예시된 바와 같이, 이상적인 보관 조건 하에서의 VEGF(+ 대조군)는 흉터 형성 유전자에 강한 억제 효과를 유도하였다. 이러한 효과는 55°C에서 15일 동안 노출되었을 때 유리질화가 없는 VEGF에 의해서가 아니라 유리질화된 VEGF에 의해 완전히 재생되었으며, 이는 VEGF의 유리질화 안정화가 이의 흉터방지 활성을 보존하여, 이상적인 보관 조건의 부재 하에 상처 치유를 가능하게 한다.

[0124] 모든 값은 3개의 독립적인 복제물의 평균±SEM을 나타낸다. LPS 단독 또는 음성 대조군과 비교하여 *p < 0.05.

[0125] **실시에 11: 항미생물 펩타이드**

[0126] 항미생물 펩타이드(AMP)는 광범위한 스펙트럼의 항미생물 활성을 나타낸다. AMP는 다수의 세포성 표적을 갖고, 이는 미생물이, 대체로 단일 표적을 갖는 항생제와 비교하여 이들에 대한 내성을 발달시키는 것을 어렵게 만든다. 더욱이, AMP는 또한, 몇몇 면역조절 특성, 예컨대 사이토카인 및 케모카인 발현의 조절, 백혈구 활성화 등을 발휘한다. AMP는 또한, 다른 생물학적 과정, 예컨대 혈관신생 및 상처 치유에서 역할을 한다. 이들의 실패에 대한 원인 중 몇몇은 시험관내 및 생체내 안정성, 효율 및 독성이다.

[0127] 주위 온도 안정성을 제공하기 위해, 펩타이드를, 폴리카프로락톤(PCL-a 생분해성 폴리에스테르) 막(실시예 1에 서와 같이 형성됨) 상에서 트레할로스 및 글리세롤을 함유하는 이당류 부형제에서 유리질화시켰다. 광범위한 스펙트럼의 항균, 항진균류, 및 항바이러스 활성을 제공하기 위해, N-말단 아미노-라우르산 및 C-말단 아미드 접합을 갖는 펩타이드 P1m[Mol. Wt.- 2024.60 Da]을 고체상 F-moc 화학을 사용하여 상업적으로(펩타이드2, USA) 합성하고, 역상 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 95% 초과 순도까지 정제하였다.

[0128] N-말단 및 C-말단 변형을 수행하여, 펩타이드의 활성 및 안정성을 향상시켰다. 유리질화된 시료를 실온뿐만 아니라 55°C에서 상이한 시간 동안 보관하였다. -20°C 및 4°C에서 보관된 비-유리질화된 펩타이드를 하기 실시예 에서 대조군으로서 사용하였다.

[0129] **실시예 12: 방사상 확산 감염(Radial Diffusion Infection) 검정법**

[0130] 2개의 층 루리아-베르타니(LB: Luria-Bertani)-아가로스 플레이트를 이용하여, 방사상 확산 검정법을 수행하고, 유리질화된 항미생물 펩타이드뿐만 아니라 대조군 펩타이드의 항미생물 효능을 평가하였다.

[0131] 0.5인치 직경의 웰을 제1층을 통해 절단하였다. 2500 CFU의 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*)(그람 양성 박테리아) 박테리아를 웰에 첨가하였다. 임의의 펩타이드가 없는 PCL 막으로 제1 웰을 피복시키고, 150 ml 의 PBS를 수화(hydration)를 위해 첨가하였다. 웰 번호 2, 3 및 4는 상이한 농도의 펩타이드 및 150 ml의 PBS 를 함유하였다.

[0132] 대조군 펩타이드를 배치 전에 막 상으로 첨가한 반면, 유리질화된 펩타이드를 유리질화 과정 동안 막 상에서 보 관하였음을 주목한다. 시료를 37°C에서 보습 인큐베이터에서 18시간 동안 유지시켰다.

[0133] 도 18에 예시된 바와 같이, 55°C에서 2주간 보관 후의 유리질화된 펩타이드는 -20°C에서 보관된 대조군 펩타이드와 동등한 항미생물 활성을 제공하였다. 주목할 만하게는, 냉장고에서 4°C에서 보관된 대조군 펩타이드는 2 주 후에 완전히 변성되었고, 임의의 항미생물 활성을 나타내지 않았다.

[0134] 도 19는, 유리질화된 펩타이드가 55°C에서 7주간의 보관 후에도 안정하였고 -20°C에서 보관된 대조군 펩타이드 와 동등한 항미생물 활성을 제공하였음을 실증한다. 그러므로, 상차 드레싱에 포매된 유리질화된 펩타이드는 주위 온도에서 안정한 채로 남아 있고 항미생물 보호를 제공할 수 있다.

[0135] **참조문헌**

1. Bao P, Kodra A, Tomic-Canic M, Golinko MS, Ehrlich HP, Brem H. 2009. The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *J Surg Res.* 2009 May 15;153 (2):347-58. 2008.04.023. Epub 2008 May 12. Review
2. Wietecha MS, DiPietro LA. 2013. Therapeutic approaches to the regulation of wound angiogenesis. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2(3):81-86. Review.
3. Frank S, Hübner G, Breier G, Longaker MT, Greenhalgh DG, Werner S. 1995. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. Implication for normal and impaired wound healing. *Journal of Biological Chemistry* 270(21):12607-13
4. Jacobi J, Tam BY, Sundram U, von Degenfeld G, Blau HM, Kuo CJ, Cooke JP. 2004. Discordant effects of a soluble VEGF receptor on wound healing and angiogenesis. *Gene Ther.* 11(3):302-9.
5. Hideyuki Mizumachi, Hiroyuki Ijima. 2013. Measuring Stability of Vascular Endothelial Growth Factor using an Immobilization Technique. *Advanced Biomedical Engineering* 2: 130-136.

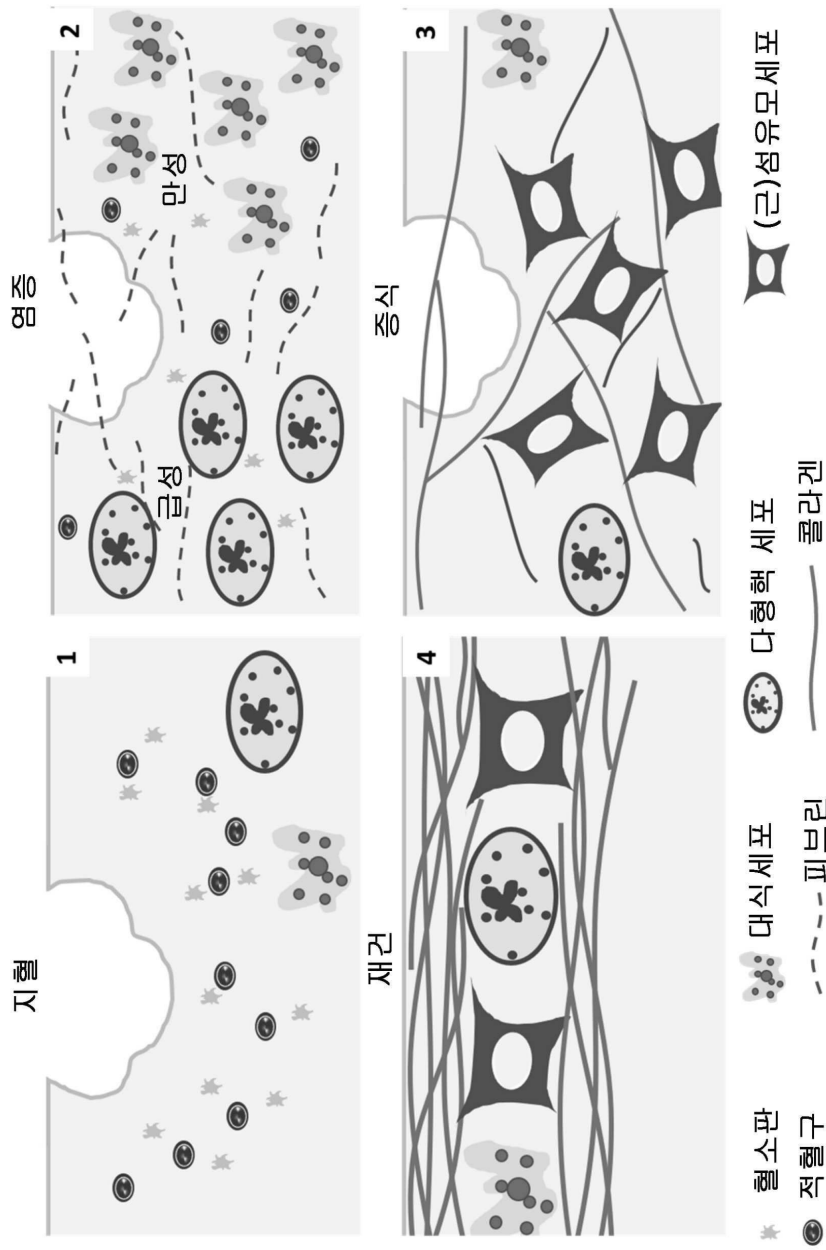
[0136] .

[0137] 본원에 기재된 조성물 및 방법은 현재 예시적인 양태를 나타내고, 본 발명의 범위에 제한을 두려는 것이 아니다. 이에 대한 변화 및 다른 용도는 당업자에게 발생할 것이다. 이러한 변화 및 다른 용도는 본 발명의 범주로부터 벗어나지 않으면서 이루어질 수 있다.

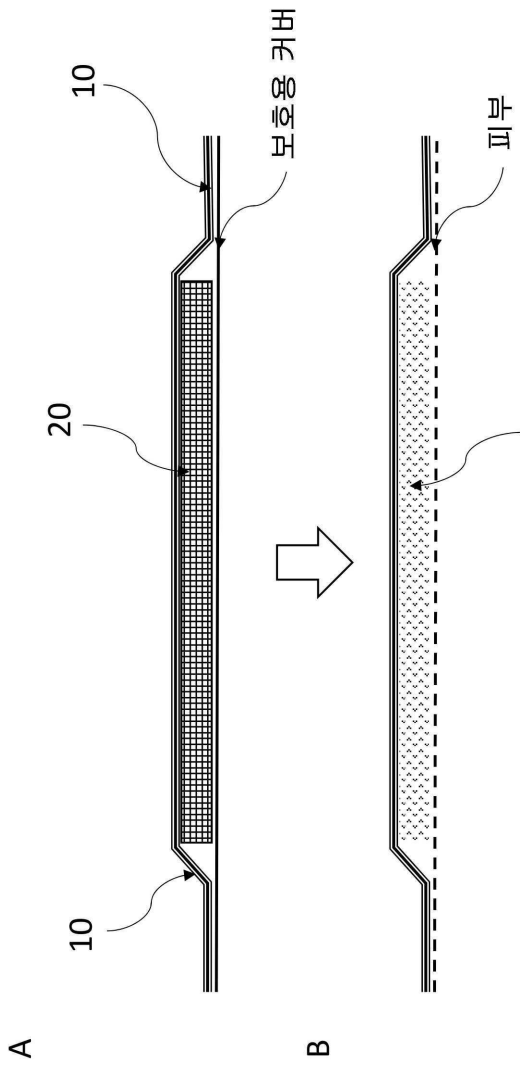
- [0138] 본원에서 사용된 용어는 단지 특정 구현예를 설명하기 위한 것이고 제한하려는 것이 아니다. 본원에 사용된 바와 같이, 단수형("a," "an," 및 "the")은 문맥상 명확히 다르게 나타내지 않는 한 "적어도 하나"를 포함하여 복수형을 포함하고자 한다. "또는"은 "및/또는"을 의미한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "및/또는"은 관련된 나열된 항목 중 하나 이상의 임의의 그리고 모든 조합을 포함한다. 용어 "포함한다(comprise)" 및/또는 "포함하는(comprising)" 또는 "포함한다(include)" 및/또는 "포함하는(including)"은 본 명세서에서 사용될 때, 언급된 특질, 영역, 정수, 단계, 작동, 요소 및/또는 구성요소의 존재를 명시하지만, 하나 이상의 다른 특질, 영역, 정수, 단계, 작동, 요소, 구성요소 및/또는 이의 균의 존재 또는 첨가를 배제하지 않음을 추가로 이해할 것이다. 용어 "또는 이들의 조합"은 상기 요소 중 적어도 하나를 포함하는 조합을 의미한다.
- [0139] 다르게 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 용어(기술적 및 과학적 용어 포함)는 본 개시내용이 속하는 당업계의 당업자에 의해 보편적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 보편적으로 사용되는 사전에서 정의된 것과 같은 용어는 관련 분야 및 본 개시내용의 맥락에서 이들의 의미와 일관되는 의미를 갖는 것으로 해석되어야 하고, 본원에서 명백하게 정의되지 않는 한 이상화된 또는 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않을 것을 추가로 이해할 것이다.
- [0140] 본원에 제시되고 기재된 것 이외의 본 발명의 다양한 변형은 상기 설명의 분야에서의 당업자에게 분명할 것이다. 이러한 변형은 또한, 첨부된 청구항의 범위에 속하고자 한다.
- [0141] 명세서에서 언급된 특허, 공개 및 출원은 본 발명이 속한 당업계의 당업자의 수준을 나타낸다. 이들 특허, 공개 및 출원은 각각의 개별 특허, 공개 또는 출원이 본원에 참조로서 구체적으로 그리고 개별적으로 포함된 것과 동일한 정도까지 참조로서 본원에 포함된다.
- [0142] 상기 설명은 본 발명의 특정 구현예를 예시하지만, 이의 실시예 제한을 두는 것이 아니다. 하기 청구항은 이의 모든 등가물을 포함하여 본 발명의 범위를 정의하는 것으로 의도된다.

도면

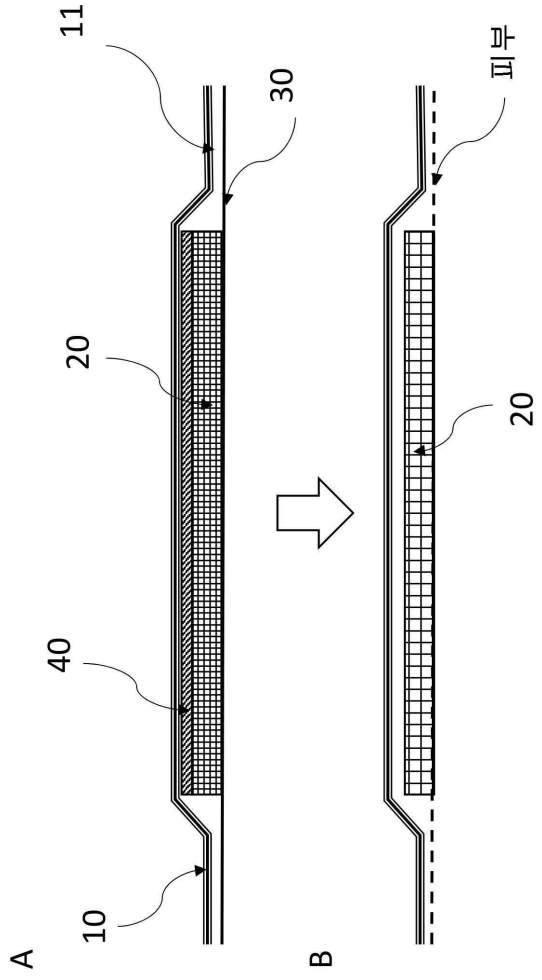
도면1



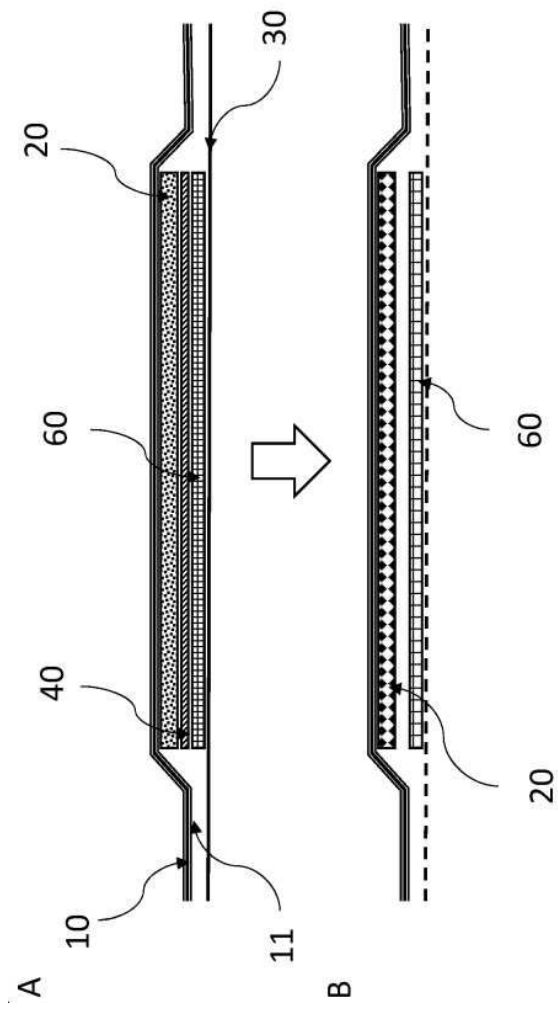
도면2



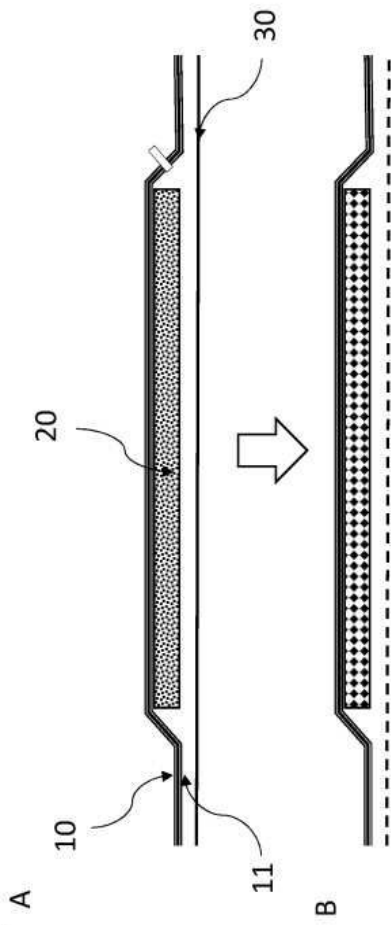
도면3



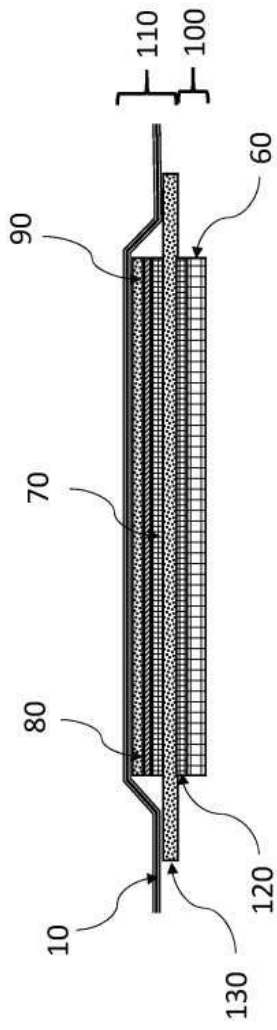
도면4



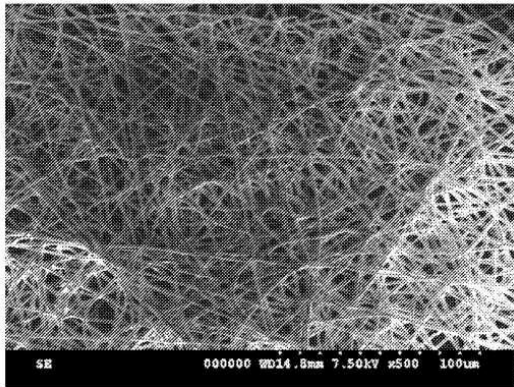
도면5



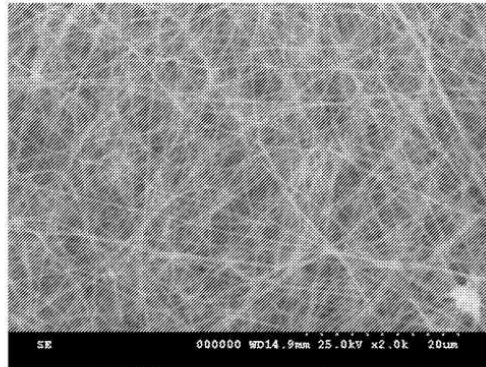
도면6



도면7

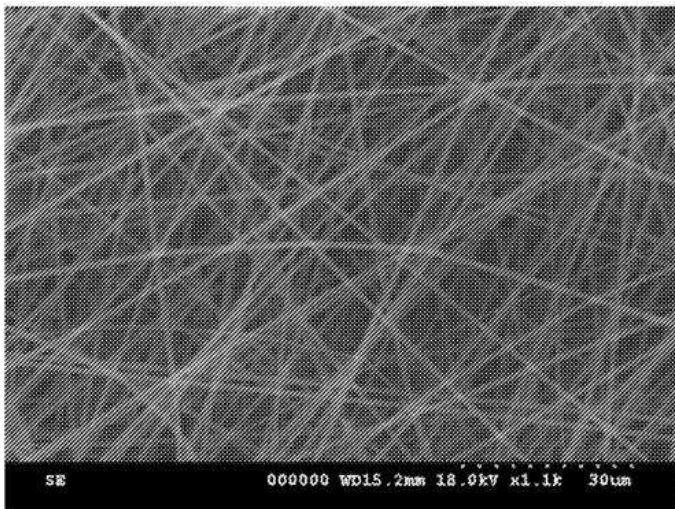


A

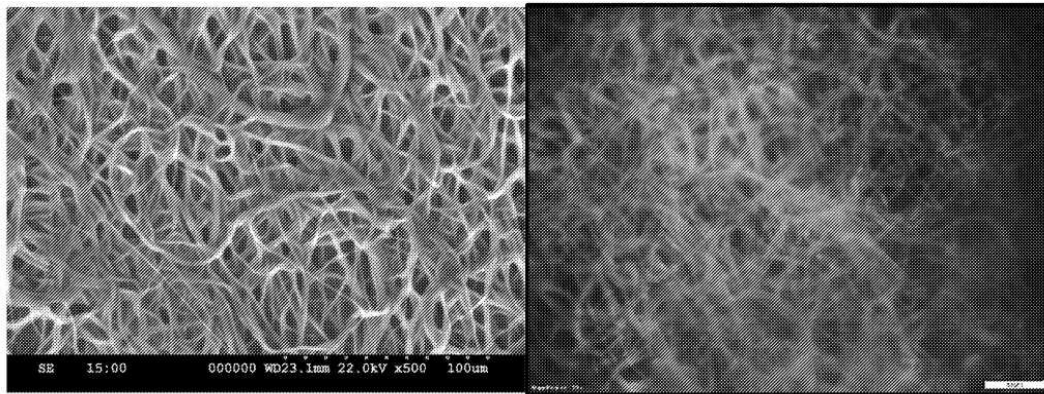


B

도면8



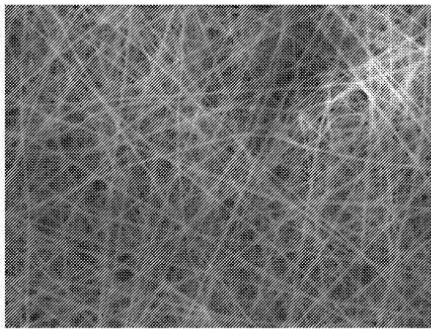
도면9



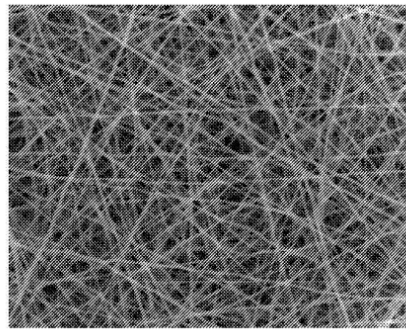
A

B

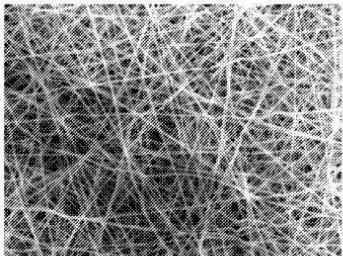
도면10



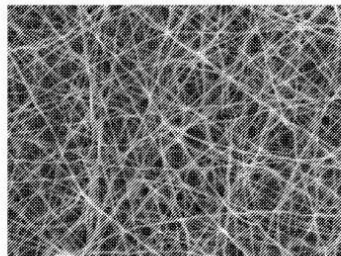
A



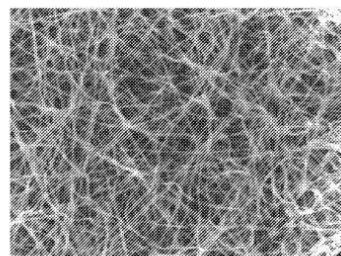
B



C

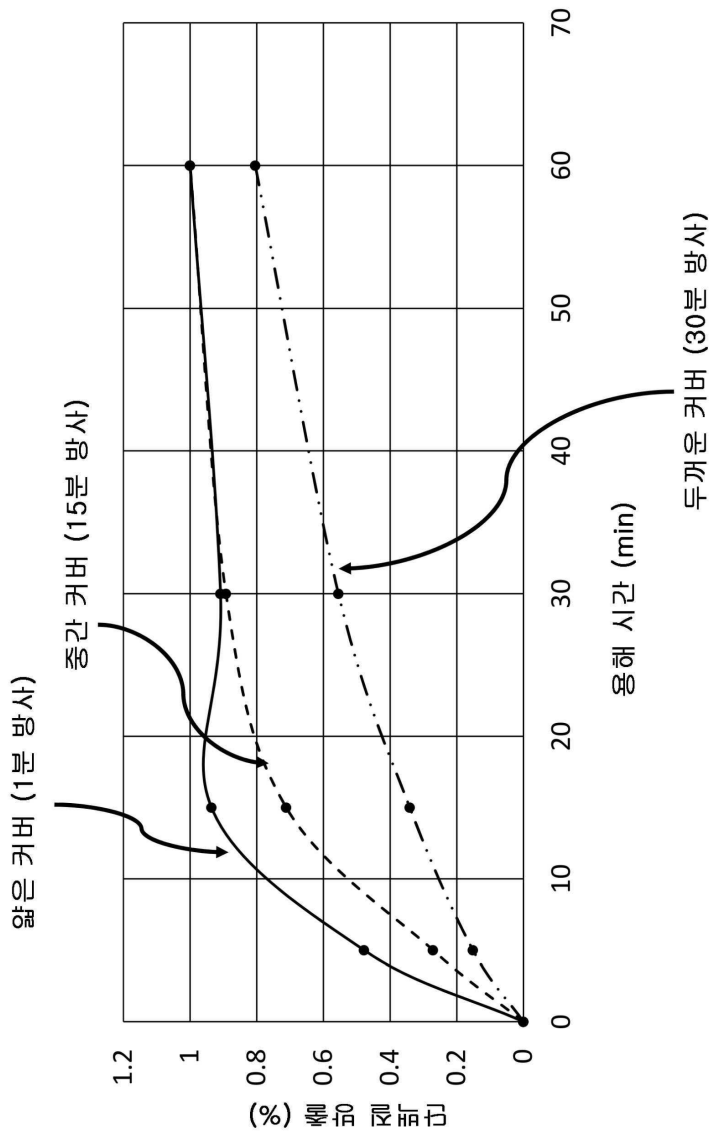


D

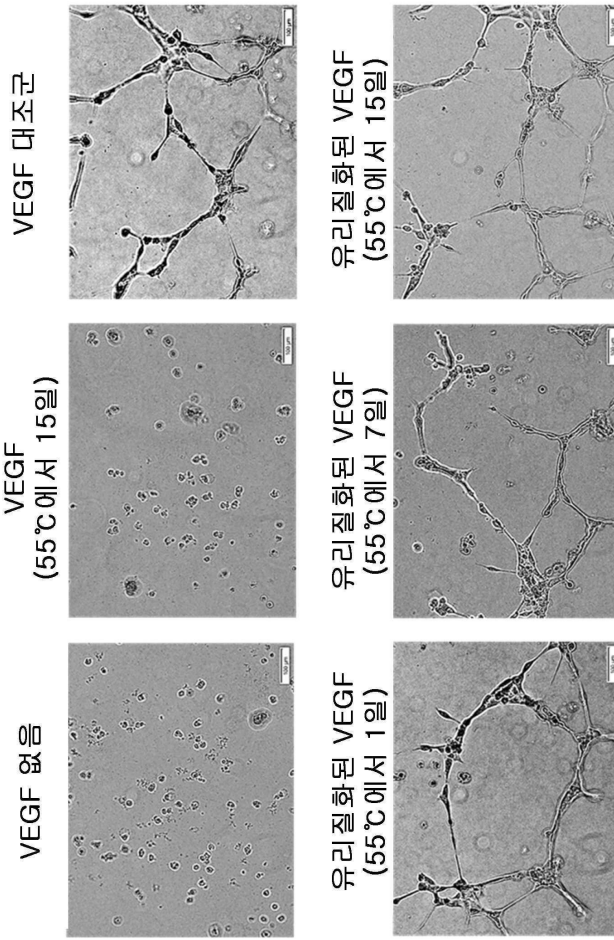


E

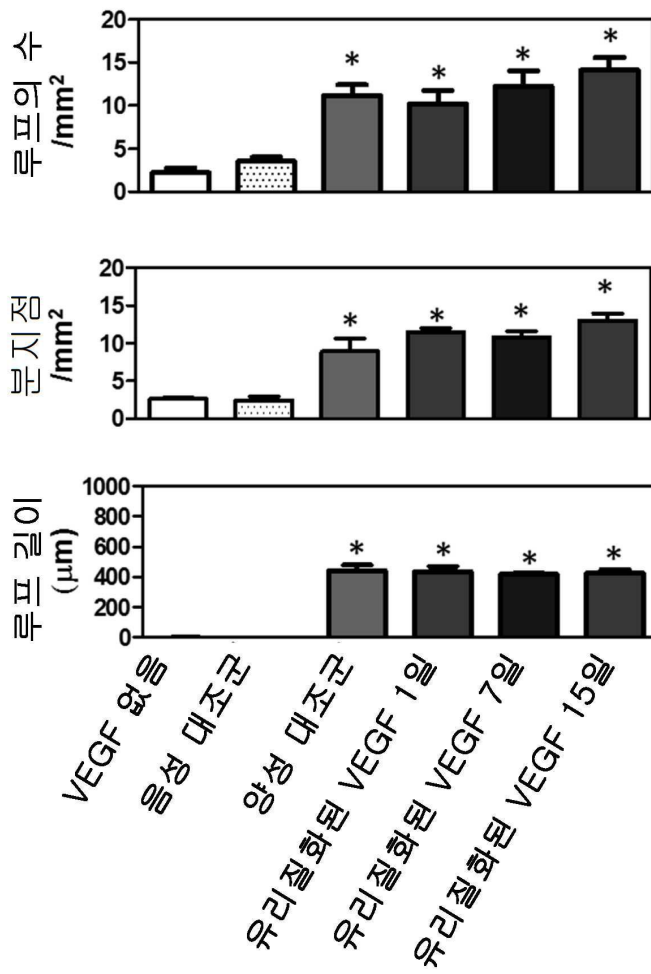
도면11



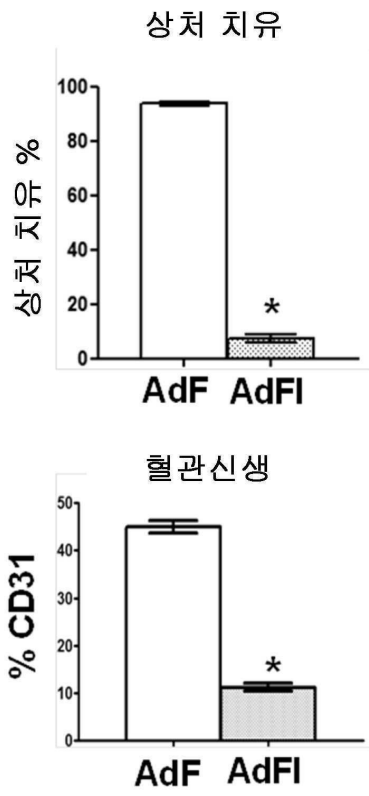
도면13



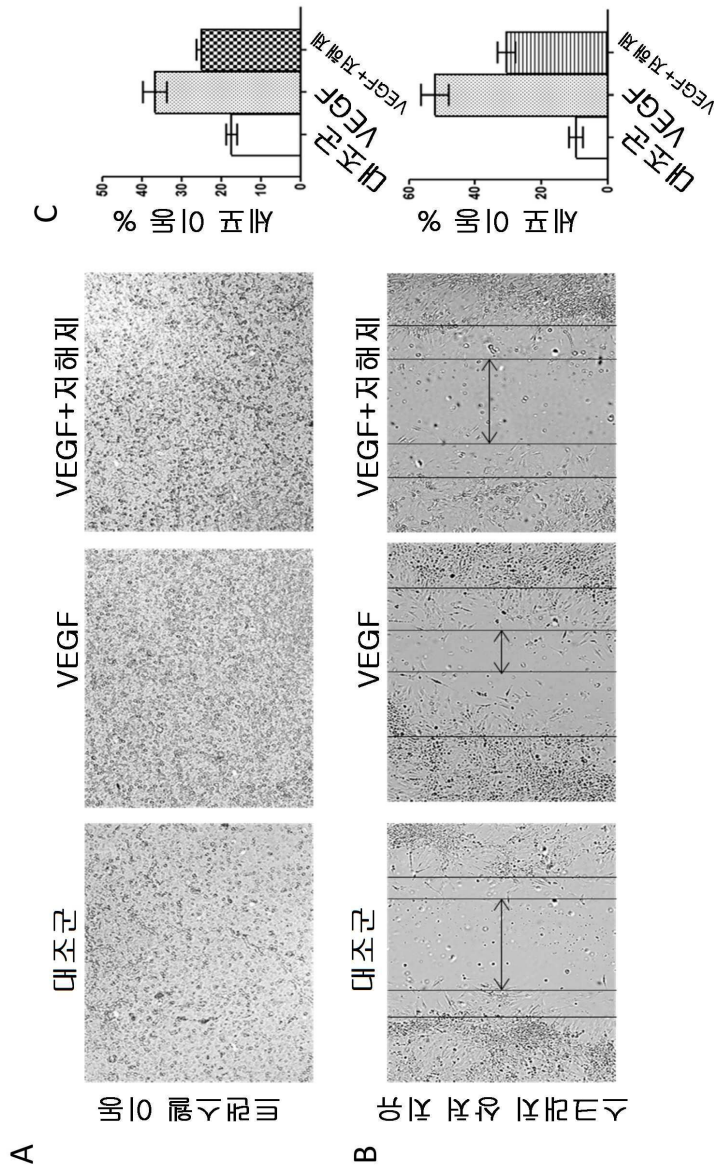
도면14



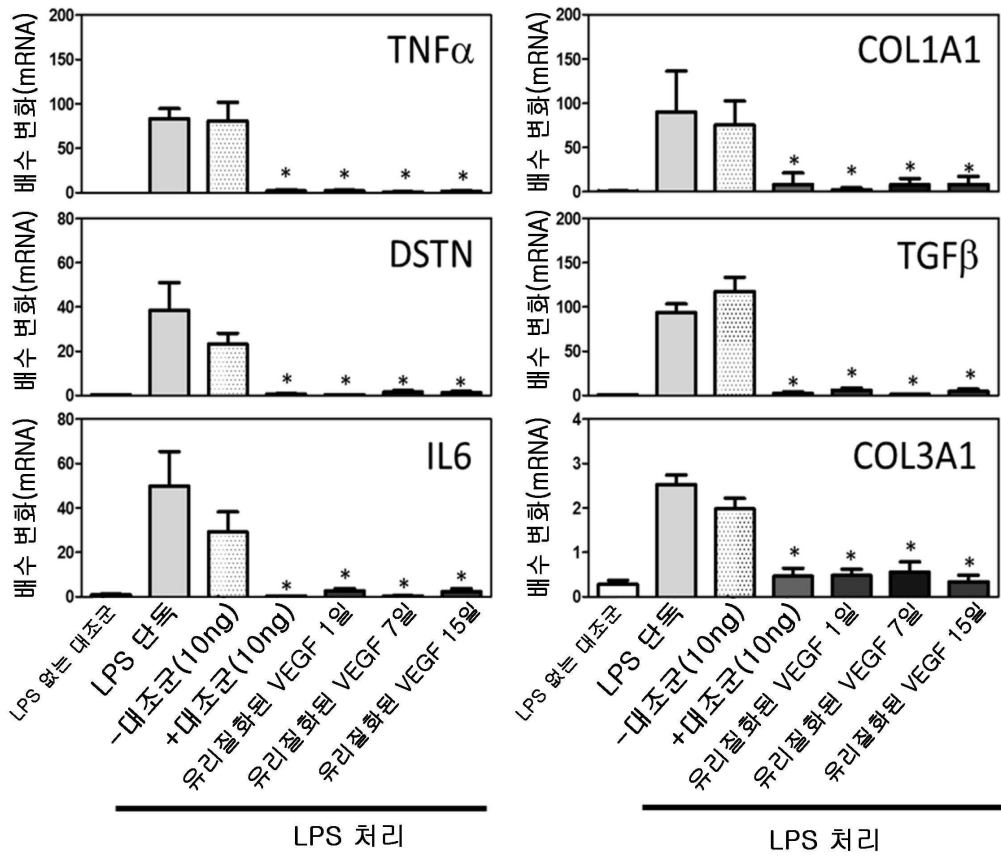
도면15



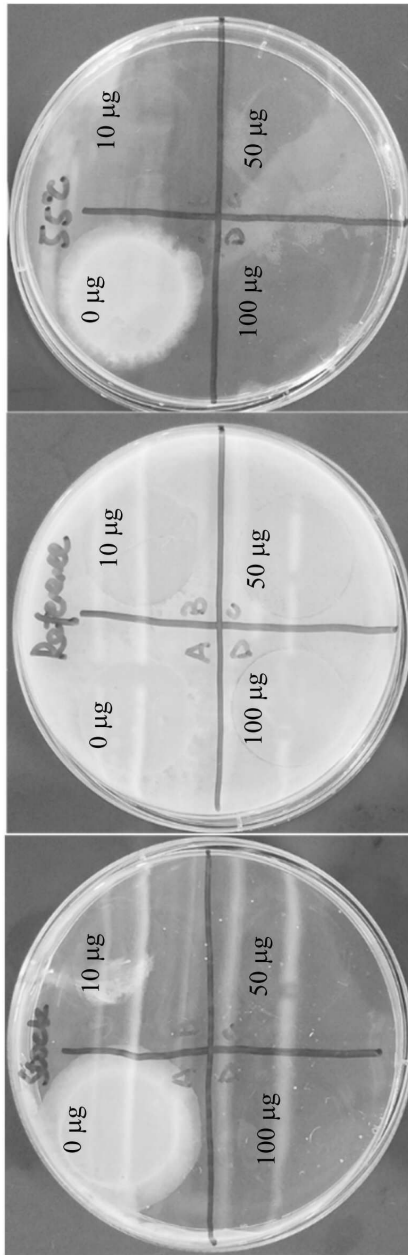
도면16



도면17



도면18



+ve 대조군
-20°C에서 보관

대조군, +4°C에서 보관, 유리질화됨, +55°C에서 보관, 2주

2주

도면19

