



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0091636
(43) 공개일자 2013년08월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 15/22 (2006.01) A61L 15/42 (2006.01)
A61L 15/58 (2006.01) A61L 24/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-7029061
(22) 출원일자(국제) 2011년04월07일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2012년11월06일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2011/055418
(87) 국제공개번호 WO 2011/124640
국제공개일자 2011년10월13일
(30) 우선권주장
61/321,661 2010년04월07일 미국(US)
61/424,031 2010년12월16일 미국(US)

(71) 출원인
백스터 인터내셔널 인코포레이티드
미국 일리노이주 60015 디어필드 원 백스터 파크
웨이
백스터 헬스케어 에스에이
스위스 8152 글라트파르크 (오프피콘) 투르가우
에르슈트라쎄 130
(72) 발명자
헤드리히 한스 크리스티안
오스트리아 아-1020 비엔나 엔게르트슈트라쎄
171/18
희평호프 요리스
오스트리아 아-1110 비엔나 구글가쎄 8/2/38
(74) 대리인
김영, 장수길

전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 지혈용 스펀지

(57) 요약

본 발명은 i) 생체재료(biomaterial)의 매트릭스, 및 ii) 반응성 기를 포함하는 1종의 친수성 중합체 성분을 포함하고, 중합체 성분의 반응성이 유지되도록 i) 및 ii)는 서로 조합되며, 이때 조합은, 상기 중합체 성분이 상기 생체재료의 매트릭스의 표면 상에 코팅되는 것, 또는 상기 매트릭스가 상기 중합체 재료로 함침되는 것, 또는 상기 둘 다인 것을 의미하는, 지혈용 다공성 복합체 스펀지를 제공한다.

특허청구의 범위

청구항 1

i) 생체재료(biomaterial)의 매트릭스, 및
 ii) 반응성 기를 포함하는 1종의 친수성 중합체 성분을 포함하고,
 중합체 성분의 반응성이 유지되도록 i) 및 ii)는 서로 조합되며, 이때 조합은,
 - 상기 중합체 성분이 상기 생체재료의 매트릭스의 표면 상에 코팅되는 것, 또는
 - 상기 매트릭스가 상기 중합체 재료로 함침되는 것,
 - 상기 둘 다인 것
 을 의미하는, 지혈용 다공성 복합체 스펀지.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 생체재료가 콜라겐, 젤라틴, 피브린, 다당류, 예를 들어, 키토산, 합성 생분해성 생체재료, 예를 들어, 폴리락트산 또는 폴리글리콜산, 및 이들의 유도체로 이루어진 군으로부터 선택되는 스펀지.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 친수성 중합체가 폴리알킬렌 옥사이드 중합체, 특히 바람직하게는 PEG를 포함하는 중합체, 예를 들어, 다중-친전자성(multi-eletrophilic) 폴리알킬렌 옥사이드 중합체, 예를 들어, 다중-친전자성 PEG, 예를 들어, 펜타에리트리톨폴리(에틸렌글리콜)에테르 테트라숙신이미딜 글루타레이트인 스펀지.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 생체재료가 콜라겐이고, 중합체 성분이 펜타에리트리톨폴리(에틸렌글리콜)에테르 테트라숙신이미딜 글루타레이트이고, 중합체 형태가 콜라겐 상에 코팅되는 스펀지.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 생체재료가 콜라겐이고, 중합체 성분이 펜타에리트리톨폴리(에틸렌글리콜)에테르 테트라숙신이미딜 글루타레이트이고, 중합체 형태가 콜라겐 내로 함침되는 스펀지.

청구항 6

상처, 출혈, 손상 조직 및/또는 출혈 조직으로 이루어진 군으로부터 선택된 손상의 치료를 위한 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 스펀지의 용도.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 지혈용 스펀지를 손상 부위에 투여하는 것을 포함하는, 상처, 출혈, 손상 조직 및/또는 출혈 조직으로 이루어진 군으로부터 선택되는 손상의 치료 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 스펀지를, 예를 들어 거즈 상에서 완충 용액, 예를 들어, 중탄산염 용액과 함께 상기 손상에 적용하는 방법.

청구항 9

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 스펀지 및 완충 용액, 예를 들어 중탄산염과 같은 알칼리성 완충 용액을, 그 의 사용설명서와 함께 포함하는 키트.

청구항 10

a) 생체재료의 매트릭스를 포함하는 스펀지를 건조된 형태로 제공하고,

- b) 1종의 반응성 중합체 재료를 건조 분말 형태로 제공하고,
- c) b)의 재료가 상기 스펀지의 적어도 한 표면 상에 존재하도록 a) 및 b)를 접촉시키고,
- d) b)의 재료를 a)의 스펀지 상에 고착시키는 것을 포함하는, 지혈용 스펀지의 제조 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 고착이, 30℃ 내지 80℃, 바람직하게는 60℃ 내지 65℃의 온도에서 고착에 충분한 시간 동안, 바람직하게는 1분 내지 10분, 특히 약 4분 동안 용융시킴으로써 달성되는 방법.

청구항 12

- a) 생체재료의 매트릭스를 포함하는 스펀지를 건조된 형태로 제공하고,
- b) 1종의 반응성 중합체 재료를 용액 형태로 제공하고,
- c) a)의 재료가 b)로 함침되도록 a) 및 b)를 접촉시키고,
- d) 단계 c)에서 얻어진 재료를 건조시키는 것을 포함하는, 지혈용 스펀지의 제조 방법.

청구항 13

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따라서 수득 가능한 스펀지.

청구항 14

지혈 재료, 및 반응성 기를 갖는 친수성 중합체 가교제를 포함하는 지혈용 복합체로서, 외부 유체, 특히 인간 혈액이 상기 복합체 내로 접근하는 것을 허용하는 공극(pore)을 포함하는 지혈용 복합체.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 지혈 재료가 지혈 섬유의 부직포 또는 제직물, 또는 다공성 지혈용 스펀지인 지혈용 복합체.

청구항 16

제14항 또는 제15항에 있어서, 상기 지혈 재료가 콜라겐 스펀지, 산화된 셀룰로오스의 직물, 피브린 스펀지 또는 젤라틴 스펀지인 지혈용 복합체.

청구항 17

제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 반응성 기를 갖는 친수성 중합체 가교제가 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 바람직하게는 숙신이미딜에스테르($-\text{CON}(\text{COCH}_2)_2$), 알데히드($-\text{CHO}$) 및 이소시아네이트($-\text{N}=\text{C}=\text{O}$)로부터 선택된 2개 이상의 반응성 기, 특히 바람직하게는 숙신이미딜에스테르를 포함하는 PEG인 지혈용 복합체.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 지혈용 스펀지, 상기 스펀지의 제조 방법 및 그의 다양한 용도 분야에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 인간 또는 동물에 기원하는 응고 인자에 기초한 생물학적 접착제는 오래 전에 공지되었다. 피브리노겐 및 인자 XIII에 기초한 조직 접착제의 제조 방법은 US 4,362,567, US 4,298,598 및 US 4,377,572에 기재되어 있다. 조직 접착제는 통상 트롬빈을 함유하는 별도의 성분과 함께 적용되며, 트롬빈은 피브리노겐에 효소적으로 작용하여 피브린을 형성하고, 인자 XIII에 작용하여 활성 인자 XIIIa를 형성하는데, 인자 XIIIa가 피브린을 가교시켜 안정한 피브린 응괴를 생성한다.

[0003] 콜라겐 패드는 상처 치유의 개선 또는 출혈 정지용으로 오래 전부터 사용되고 있다. 지혈에 있어서 그의 작용 메커니즘은 혈소판 응집 및 활성화, 활성화된 혈소판 표면 상의 트롬빈 형성, 및 피브리노겐에 대한 트롬빈의

촉매적 작용에 의한 지혈성 피브린 응괴의 형성에 기초한다. 콜라겐 패드 또는 시트의 지혈 작용을 개선하기 위해, 그러한 패드 내에 지혈 인자를 포함시키는 것이 제안되어 있다.

[0004] US 4,600,574에는, 피브리노겐 및 인자 XIII와 조합된 콜라겐에 기초한 조직 접착제가 기재되어 있다. 이 물질은 즉시 사용 가능한 동결건조 형태로 제공된다. 피브리노겐 및 인자 XIII는, 콜라겐성 관형 재료를 피브리노겐 및 인자 XIII를 포함하는 용액으로 함침시키고 상기 재료를 동결건조함으로써 콜라겐과 배합된다.

[0005] WO 97/37694는 콜라겐, 및 그에 균일하게 분포된 혈액 응고의 활성화제 또는 전환성체(proactivator)에 기초한 지혈용 스펀지를 개시한다. 이 스펀지는 건조 형태로 제공되며, 공기 건조되거나 동결건조되었을 수 있다. 그러나 이것은 여전히 적어도 2%의 수분을 함유한다.

[0006] US 5,614,587은 다관능성으로 활성화된 합성 친수성 중합체를 사용하여 가교된 콜라겐을 포함하는 생체접착성 조성물 뿐 아니라, 그러한 조성물을 사용하여 제1 표면과 제2 표면 사이의 접착을 실현하는 방법을 논의하며, 상기 제1 및 제2 표면 중 적어도 하나는 천연 조직 표면일 수 있다.

[0007] WO 2004028404는 건조 상태로 제공되는 합성 콜라겐 또는 젤라틴 및 친전자성 가교제로 구성된 조직 밀봉제를 기재한다. 적당한 pH에서 이 조성물을 습윤시키면, 상기 두 성분 사이의 반응이 일어나고, 밀봉 특성을 갖는 겔이 형성된다. 그러한 밀봉제는, 당업계에 공지되어 있거나 시중에서 입수 가능한(예를 들어, Coseal™) 기타 공지된 2성분 밀봉제(다수의 친전자성 기를 갖는 시약 및 다수의 친핵성 기를 갖는 시약으로 구성됨)와 본질적으로 유사하게 작용한다. 본 발명의 특수한 실시양태에서, 밀봉제의 두 성분(친전자성 가교제 및 합성 콜라겐/젤라틴)은 생체재료(biomaterial) 상에 코팅된다.

[0008] 기계적으로 붕괴되어 그의 물리적 특성이 변경된 콜라겐-함유 조성물은 US 5,428,024, US 5,352,715 및 US 5,204,382에 기재되어 있다. 이들 특허는 일반적으로 피브릴성 및 불용성 콜라겐에 관한 것이다. 주사 가능한 콜라겐 조성물은 US 4,803,075에 기재되어 있다. 주사 가능한 뼈/연골 조성물은 US 5,516,532에 기재되어 있다. 물에 현탁될 수 있고 특정 표면 전자 밀도를 갖는 5 μm 내지 850 μm 크기 범위의 건조 입자를 포함하는 콜라겐계 전달 매트릭스는 WO 96/39159에 기재되어 있다. 상처 드레싱을 형성하기 위한 에어로졸 스프레이로서 유용한 입자 크기 1 μm 내지 50 μm 의 콜라겐 제제는 US 5,196,185에 기재되어 있다. 콜라겐 조성물을 기재한 다른 특허로는 US 5,672,336 및 US 5,356,614가 있다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명의 주제는

[0010] i) 생체재료의 매트릭스, 및

[0011] ii) 반응성 기를 포함하는 1종의 친수성 중합체 성분을 포함하고,

[0012] 중합체 성분의 반응성이 유지되도록 i) 및 ii)는 서로 조합되며, 이때 조합은,

[0013] - 상기 중합체 성분이 상기 생체재료의 매트릭스의 표면 상에 코팅되는 것, 또는

[0014] - 상기 매트릭스가 상기 중합체 재료로 함침되는 것, 또는

[0015] - 상기 둘 다인 것

[0016] 을 의미하는, 지혈용 다공성 복합체 스펀지이다.

[0017] 상처 치유를 위한 종래의 섬유질 생체재료 패드, 특히 콜라겐 패드는 지혈이 방해받는 조건(예를 들어, 해파린 화 후)에서 지혈을 유도하지 못하는 것으로 밝혀졌다. 본 발명에 따른 스펀지는 지혈을 개선한다. 또한, 본 발명에 따른 스펀지는 상처에 적용 시에 조직에 강력한 부착성을 나타낸다. 본 발명의 스펀지는 또한 개선된 팽윤 거동, 즉, 상처에 적용 후 낮은 팽윤을 나타낸다.

[0018] 추가의 측면은 지혈성 다공성 복합체 스펀지를 손상 부위에 투여하는 것을 포함하는 손상의 치료 방법에 관한 것이다.

[0019] 또한, 본원에 개시된 바와 같은 스펀지 및 완충 용액을 포함하는 상처 덮개를 제조하기 위한 키트가 제공된다. 이 키트 및 그의 성분은 특히 손상의 치료를 위한 의료용 스펀지의 제조에 적합하다.

[0020] 통상의 기술자는 이하 개시되는 모든 바람직한 실시양태는 특정 실시양태의 예시이며, 반드시 전반적인 발명 사상을 제한하지는 않음을 금방 이해할 것이다. 나아가, 모든 특수한 실시양태들은, 상호 배타적이지 않은 이상, 발명의 모든 측면 및 실시양태에서 임의의 조합으로 나타날 수 있다. 통상의 기술자가 인식하는 모든 균등물 또는 명백한 변경 또는 변형은 본 발명에 포함된다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1: NHS-PEG로 코팅된 콜라겐 패드의 지혈 효능. 지혈 패드는 실시예 2에 따라 제조되고 14 mg/cm² COH102 (이하 정의되는 바와 같음)로 코팅되었다. 지혈 효능은 이하 설명되는 바와 같이 동물에 따라 평가하였다. 출혈은 패드 적용 2분 후에 정지되었다. 재출혈은 관찰되지 않았다.

도 2: NHS-PEG로 함침된 콜라겐 패드의 지혈 효능. 지혈 패드는 실시예 3에 따라 제조되고 8 mg/cm² COH102로 함침되었다. 지혈 효능은 이하 설명되는 바와 같이 동물에 따라 평가하였다. 출혈은 패드 적용 2분 후에 정지되었다. 재출혈은 관찰되지 않았다.

도 3: NHS-PEG로 코팅된 산화 셀룰로오스 직물을 함유하는 콜라겐 패드의 지혈 효능. 지혈 패드는 실시예 5에 따라 제조되고 14 mg/cm² COH102로 코팅되었다. 지혈 효능은 이하 설명되는 바와 같이 동물에 따라 평가하였다. 출혈은 패드 적용 2분 후에 정지되었다. 재출혈은 관찰되지 않았다.

도 4: NHS-PEG로 코팅된 산화 셀룰로오스 직물의 지혈 효능. 지혈 패드는 실시예 6에 따라 제조되고 14 mg/cm² COH102로 코팅되었다. 지혈 효능은 이하 설명되는 바와 같이 동물에 따라 평가하였다. 출혈은 패드 적용 2분 후에 정지되었다. 재출혈은 관찰되지 않았다.

도 5: NHS-PEG로 코팅된 지혈 강화 물질로서 후코이단(fucoidan)을 함유하는 콜라겐 패드의 지혈 효능. 지혈 패드는 실시예 7에 따라 제조되고 14 mg/cm² COH102로 코팅되었다. 지혈 효능은 이하 설명되는 바와 같이 동물에 따라 평가하였다. 출혈은 패드 적용 2분 후에 정지되었다. 재출혈은 관찰되지 않았다.

도 6: 불연속적으로 코팅된 콜라겐 스펀지 표면의 주사 전자 현미경 사진(배율: ×500)

도 7: 연속적으로 코팅된 콜라겐 스펀지 표면의 주사 전자 현미경 사진(배율: ×500)

도 8: 간엽 착과상 모델에서 14 mg/cm² COH102로 코팅된 Gelfoam

도 9: 간엽 착과상 모델에서 14 mg/cm² COH102로 코팅된 Chitoskin

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 본 발명의 목적은

[0023] i) 생체재료의 매트릭스, 및

[0024] ii) 반응성 기를 포함하는 1종의 친수성 중합체 성분을 포함하고,

[0025] 중합체 성분의 반응성이 유지되도록 i) 및 ii)는 서로 조합되며, 이때 조합은,

[0026] - 상기 중합체 성분이 상기 생체재료의 매트릭스의 표면 상에, 예를 들어, 상기 스펀지의 적어도 한 표면 상의 연속 또는 불연속 층으로서 코팅되는 것, 또는

[0027] - 상기 매트릭스가 상기 중합체 재료로 함침되는 것, 또는

[0028] - 상기 둘 다인 것

[0029] 을 의미하는, 지혈용 다공성 복합체 스펀지이다.

[0030] 함침이라는 용어는 본원의 목적상 생체재료 매트릭스 중의 중합체 재료의 흡수라는 용어를 포함한다.

[0031] 스펀지, 패드 및 플리스(fleece)라는 용어들은 본 발명의 설명에서 상호 교환 가능하게 사용된다.

[0032] 바람직하게는, 생체재료는 콜라겐, 단백질, 생체중합체 또는 다당류이다. 특히 바람직한 것은 콜라겐, 젤라틴 (특히 가교된 젤라틴), 피브린, 다당류(특히, 키토산, 산화 셀룰로오스, 알데히드 활성화 텍스트란, 전분계 폴리알데히드(피요오메이트 산화에 의해 수득 가능함)), 합성 생분해성 물질(특히, 폴리락트산 또는 폴리글리콜산, 및 이들의 유도체)로 이루어진 군으로부터 선택되는 생체재료이고, 보다 바람직하게는 콜라겐이

다.

- [0033] 본 발명에 따르면, 지혈 특성을 갖는 생체재료의 수불용성 매트릭스 및 그와 조합된 친수성 중합체 가교제를 포함하는 다공성 복합체 재료가 제공된다.
- [0034] 출혈 조직과 접촉 시에, 친수성 중합체 가교제와 혈액 단백질의 가교 반응은 밀봉 및 지혈 특성을 갖는 겔의 형성을 유발한다. 가교는 또한 조직 표면 단백질에 대해서도 발생하며, 수불용성 매트릭스 생체재료의 속성에 따라서는, 매트릭스 생체재료에 대해서도 일어날 수 있다. 후자의 반응은 상처난 조직 표면에 대한 복합체 재료의 접착 개선에 기여한다. 또한, 본 발명에 따른 복합체의 지혈 효능을 위해서는, 생체재료의 매트릭스가 적셔지는(soaking) 능력을 갖는 것, 즉, 혈액, 혈청, 혈장과 같은 액체로 적셔지거나 그를 흡수할 수 있는 것이 중요하다.
- [0035] 그러한 젖는 능력은 특히 매트릭스를 구성하는 중합체의 친수성 속성, 및 개방된 상호 연결된 공극(pore) 또는 친수성 섬유의 3차원 그물세공의 3차원 구조에 따라 좌우된다. 매트릭스의 공극 크기 및 탄성 또한 젖는 능력에 중요하다. 탄성은 매트릭스가 수용액 중에서 압축될 수 있고, 압축을 초래한 힘이 이완된 후에 그의 초기 부피로 되돌아가는 것을 의미한다.
- [0036] 스펀지는 손상 부위에 적용 시에 체액을 흡수할 수 있는 생체재료의 다공성 망이다. 이것은 상처의 혈액(모든 혈액 성분, 예를 들어, 혈액 세포 또는 응고 단백질을 포함함)이 스펀지 내로 유입되는 것을 허용한다. 따라서, 본 발명에 따른 다공성 스펀지는 환자에 적용 시에 외부 유체, 예를 들어, 혈액이 접근할 수 있는 내부 부피를 갖는다. 예를 들어, 다공성 콜라겐 스펀지는 콜라겐 겔, 현탁액 또는 용액의 냉동 건조에 의한 동결 건조에 의해 제조될 수 있다(반면, 보통의 공기 건조는 콜라겐 필름을 생성한다). 이에 따라, 콜라겐의 경우, 본 발명에 따라 생성된 다공성 스펀지는 전형적으로 5 내지 100 mg/cm³의 콜라겐을 갖는 반면, 콜라겐 필름은 650 내지 800 mg/cm³의 콜라겐을 갖는다. 외부 유체, 예를 들어, 혈액이 본 발명에 따른 스펀지와 접촉하면, 반응성 기를 포함하는 친수성 중합체 성분은 혈액 성분 및/또는 생체재료 매트릭스 표면과 반응하여 상기(적어도) 반응성 기에 결합하는 그 성분들을 가교시킨다. 나아가, 스펀지는 통상 가요성이며, 다양한 형상을 갖는 다양한 조직 및 부위에 적용하기에 적합하다.
- [0037] 본 발명에 사용되는 콜라겐은 다공성, 특히 다공성 및 섬유성 매트릭스로 가공될 수 있는 액체, 페이스트, 섬유 또는 분말 물질을 비롯하여 임의의 콜라겐 물질로부터 얻어진 것일 수 있다. 스펀지의 제조를 위한 콜라겐 겔의 제조는, 예를 들어 EP 0891193(본원에 참고로 포함됨)에 기재되어 있고, 겔 형성이 일어날 때까지의 산성화 및 그 후의 pH 중화를 포함할 수 있다. 겔 형성 능력 또는 용해도를 개선하기 위해, 콜라겐은 건조 시에 안정한 스펀지를 형성하는 특성이 감소하지 않는 한 (부분적으로) 가수분해되거나 개질될 수 있다.
- [0038] 스펀지 매트릭스의 콜라겐 또는 젤라틴은 바람직하게는 동물, 바람직하게는 소 또는 말에서 기원한 것이다. 그러나 또한 인간 콜라겐이 이중 단백질에 과민성인 환자의 경우에 사용될 수 있다. 또한 합성 또는 재조합 콜라겐이 사용될 수 있다. 스펀지의 추가 성분은 바람직하게는 인간에게서 기원한 것이며, 이것은 스펀지를 인간에 적용하기에 특히 적합하게 한다.
- [0039] 바람직한 실시양태에서, 다공성 콜라겐 스펀지는 건조 스펀지의 cm³ 당 약 5 내지 약 50, 예를 들어, 약 10 내지 약 30, 바람직하게는 약 25 mg의 콜라겐을 함유한다.
- [0040] 생체재료는 가교되지 않거나 또는 가교될 수 있으며, 바람직하게는 생체재료는 가교된 것이다.
- [0041] 본 발명에 따른 스펀지의 친수성 중합체 성분은, 스펀지가 환자에게(예를 들어, 환자의 상처 또는 환자가 지혈 활동을 필요로 하는 다른 곳에) 적용된 후, 그의 반응성 기로 반응할 수 있는 친수성 가교제이다. 따라서, 본 발명에서는, 중합체 성분의 반응성 기가 환자에게 적용될 때에 반응성인 것이 중요하다. 따라서, 상처에 적용된 후에 반응해야 하는 중합체 성분의 반응성 기가 제조 공정 동안에 유지되도록 본 발명에 따른 스펀지를 제조하는 것이 필요하다.
- [0042] 이것은 다양한 방법으로 이루어질 수 있다. 예를 들어, 통상의 친수성 중합체 성분은 물과 접촉 후에 가수분해되기 쉬운 반응성 기를 갖는다. 따라서, 환자에 스펀지를 투여하기 전, 특히 제조 동안에는 물 또는 수성 액체와의 초기 접촉이 방지되어야 한다. 그러나 제조 동안 친수성 중합체 성분의 가공은 또한 수성 매질에서도, 반응성 기의 반응이 억제되는 조건에서(예를 들어, 낮은 pH에서) 가능할 수 있다. 친수성 중합체 성분이 용융될 수 있는 경우, 용융된 친수성 중합체 성분을 생체중합체의 매트릭스 상에 분무하거나 인쇄할 수 있다. 친수성 중합체 성분의 건조된 형태(예를 들어, 분말)를 매트릭스 상에 살포하는 것도 가능하다. 필요할 경우, 그 후에 온도를 증가시켜 매트릭스에 살포된 친수성 중합체 성분을 용융시켜 스펀지의 영구적 코팅을 획득할 수 있다.

별법으로, 이들 친수성 중합체 성분을 불활성 유기 용매(친수성 중합체 성분의 반응성 기에 대해 불활성)에 녹여, 생체재료의 매트릭스 상으로 가져갈 수 있다. 그러한 유기 용매의 예는 건조 에탄올, 건조 아세톤 또는 건조 디클로로메탄(이것들은 예를 들어 NHS-에스테르 치환된 PEG와 같은 친수성 중합체 성분에 대해 불활성임)이다.

[0043] 바람직한 실시양태에서, 친수성 중합체 성분은 단일 친수성 중합체 성분이고, 폴리알킬렌 옥사이드 중합체, 특히 바람직하게는 PEG를 포함하는 중합체이며, 이하 "재료"라 지칭한다. 상기 재료의 반응성 기는 바람직하게는 친전자성 기이다.

[0044] 재료는 다중-친전자성(multi-electrophilic) 폴리알킬렌 옥사이드 중합체, 예를 들어, 다중-친전자성 PEG일 수 있다. 재료는 $-\text{CON}(\text{COCH}_2)_2$, $-\text{CHO}$, $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$ 및/또는 $-\text{N}(\text{COCH}_2)_2$ 와 같은 2개 이상의 친전자성 기를 포함할 수 있으며, 예를 들어, WO 2008/016983(본원에 참고로 포함됨)에 개시된 성분 및 상표명 CoSeal[®]로 시중에서 입수 가능한 성분들 중 하나이다.

[0045] 본 발명에 따른 친수성 중합체 가교제의 바람직한 친전자성 기는 단백질의 아미노기, 카르복시기, 티올기 및 히드록시기, 또는 이들의 혼합물이다.

[0046] 바람직한 아미노기-특이적 반응성 기는 NHS-에스테르기, 이미도에스테르기, 알데히드기, 카르보디이미드 존재 하의 카르복시기, 이소시아네이트, 또는 THPP(베타-[트리스(히드록시메틸)포스포노] 프로피온산)이며, 특히 바람직한 것은 펜타에리트리톨폴리(에틸렌글리콜)에테르 테트라숙신이미딜 글루타레이트(=펜타에리트리톨 테트라키스[1-1'-옥소-5'-숙신이미딜펜타노에이트-2-폴리-옥소에틸렌글리콜]에테르(=MW 10,000의 NHS-PEG)이다.

[0047] 바람직한 카르복시기-특이적 반응성 기는 카르보디이미드 존재 하의 아미노기이다.

[0048] 바람직한 티올기-특이적 반응성 기는 말레이미드 또는 할로아세틸이다.

[0049] 바람직한 히드록시기-특이적 반응성 기는 이소시아네이트기이다.

[0050] 친수성 가교제 상의 반응성 기들은 동일(동종-관능성) 또는 상이(이종-관능성)할 수 있다. 친수성 중합체 성분은 2개의 반응성 기(동종-이관능성 또는 이종-이관능성) 또는 그 이상(동종/이종-삼관능성 이상)일 수 있다.

[0051] 특수한 실시양태에서, 재료는 합성 중합체, 바람직하게는 PEG를 포함하는 것일 수 있다. 중합체는 가교 및 조직에의 접합에 적합한 활성 측부 기를 포함하는 PEG의 유도체일 수 있다.

[0052] 반응성 기에 의해 친수성 중합체는 혈액 단백질 및 또한 조직 표면 단백질을 가교시키는 능력을 갖는다. 생체 재료에 대한 가교 또한 가능하다.

[0053] 다중 친전자성 폴리알킬렌 옥사이드는 2개 이상의 숙신이미딜 기를 포함할 수 있다. 다중-친전자성 폴리알킬렌 옥사이드는 2개 이상의 말레이미딜 기를 포함할 수 있다.

[0054] 바람직하게는, 다중-친전자성 폴리알킬렌 옥사이드는 폴리에틸렌 글리콜 또는 그의 유도체이다.

[0055] 가장 바람직한 실시양태에서, 중합체 성분은 펜타에리트리톨폴리(에틸렌글리콜)에테르 테트라숙신이미딜 글루타레이트(=COH102, 또한 펜타에리트리톨 테트라키스[1-1'-옥소-5'-숙신이미딜펜타노에이트-2-폴리-옥소에틸렌글리콜]에테르)이다.

[0056] 한 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 스펀지는 생체재료로서 콜라겐을 포함하고, 중합체 성분, 예를 들어, COH102는 콜라겐의 표면 상에 코팅된다(=코팅된 형태).

[0057] 특히 바람직한 코팅은 예를 들어, 도 6에 보이는 것과 같은 불연속 코팅이다.

[0058] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 코팅은, 예를 들어 중합체 성분을 용융물로부터 생체재료 매트릭스 상에 분무함으로써 얻어지는 것과 같은 얇은 연속 코팅이다. 그러한 코팅은, 예를 들어 도 7에 보이는 것과 같은 필름형 또는 유리형 구조와 유사하다.

[0059] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 스펀지는 생체재료로서 콜라겐을 포함하고, 중합체 성분, 예를 들어, COH102는 콜라겐 내에 함침된다(=함침된 형태).

[0060] 중합체 성분의 분자량은 바람직하게는 500 내지 50000의 범위, 가장 바람직하게는 약 10000이다.

[0061] 상기 생체재료의 스펀지 상의 중합체 성분의 코팅의 양은 코팅된 스펀지의 경우 바람직하게는 약 1 mg/cm² 내지

약 20 mg/cm², 보다 바람직하게는 약 2 mg/cm² 내지 약 14 mg/cm²이다. 중합체 성분의 농도는 함침된 스펀지의 경우 바람직하게는 약 5 mg/cm² 내지 약 100 mg/cm², 보다 바람직하게는 약 10 mg/cm² 내지 약 70 mg/cm²이다.

[0062] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 스펀지는 함침된 형태와 코팅된 형태의 조합을 포함한다. 또한, 본 발명에 따른 스펀지는, 중합체 성분이 가수분해성 반응성 기를 갖는 경우, 예를 들어, NHS-PEG의 경우 건조됨으로써, 즉, 전체 수분 함량이 10% 미만, 특히 2% 미만, 및 특히 1% 미만으로 함으로써, 반응성 기를 포함하는 친수성 중합체 성분의 반응성 기의 반응성을 보존한다. 보다 높은 수분 함량(예를 들어, 10% 초과)도 관능성 스펀지를 생성할 것이지만, 저장 안정성이 악화될 것이다. 따라서, 2% (w/w) 미만의 수분 함량이 바람직하고, 1% 미만이 더욱더 바람직하며, 0.5% 미만이 특히 바람직하다.

[0063] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 추가의 생체재료로 된 추가의 층이 존재한다. 추가의 층은 매트릭스와 동일한 생체재료로부터 얻어진 것일 수도 있고, 또는 상이한 생체재료일 수도 있다(예를 들어, 생체재료의 매트릭스는 콜라겐이고, 추가의 층은 산화된 셀룰로오스임). 상기 언급한 것과 같은 생체재료의 모든 조합이 포함될 수 있다.

[0064] 스펀지는 전체적으로 생분해성일 수 있으며, 생체내 생물학적 분해에 적합하거나, 또는 생체재흡수성, 즉, 예를 들어 생체내에 존재하는 프로테아제에 의한 분해 및 생체내에서 가수분해 가능한 기를 통해 생체내 재흡수 가능하다. 완전 재흡수는 유의한 세포의 단편이 잔류하지 않는 것을 의미한다. 생분해성 재료는, 생물학적 시스템으로부터 제거되고/거나 생물학적 시스템 내로 화학적으로 혼입될 수 있는 단위로 생물학적으로 분해될 수 있다는 점에서 비생분해성 재료와는 상이하다. 바람직한 실시양태에서, 특정 물질, 매트릭스 재료 또는 스펀지는 전체적으로 환자에 의해, 특히 인간 환자에 의해 6개월 미만, 3개월 미만, 1개월 미만, 2주 미만 내에 분해될 수 있다.

[0065] 스펀지는 추가로, 예를 들어 US 5,714,370(본원에 참고로 포함됨)에 개시된 바와 같이 피브리노겐, 트롬빈 또는 트롬빈 전구체를 비롯한 혈액 응고의 활성제 및 전활성제를 포함할 수 있다. 트롬빈 또는 트롬빈 전구체는 각각, 트롬빈 활성을 갖는 단백질, 및 혈액과 접촉 시 또는 환자에 적용 후 트롬빈 활성을 유도하는 단백질로서 이해된다. 그의 활성은 트롬빈 활성(NIH-Unit) 또는 상응하는 NIH-Unit를 발생시키는 트롬빈 등가 활성으로서 표현된다. 스펀지에서의 활성은 100 내지 10,000, 바람직하게는 500 내지 5,000일 수 있다. 이하, 트롬빈 활성은 트롬빈의 활성 또는 임의의 등가 활성을 모두 포함하는 것으로 이해된다. 트롬빈 활성을 갖는 단백질은 알파-트롬빈, 메이즈트롬빈(meizothrombin), 트롬빈 유도체 또는 재조합 트롬빈으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 적합한 전구체는 가능하게는 프로트롬빈, 임의로는 인지질과 함께 인자 Xa, 인자 IXa, 활성화된 프로트롬빈 착물, FEIBA, 임의의 내인성 또는 외인성 응고의 활성제 또는 전활성제, 또는 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0066] 본 발명에 따른 지혈용 스펀지는 추가의 생리학적 물질과 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 스펀지는 바람직하게는 추가로 약리학적 활성 물질, 그 중에서도, 항피브린용해제, 예를 들어, 플라스미노겐활성제-억제제 또는 플라스민 억제제 또는 피브린용해제의 불활성화제를 포함한다. 바람직한 항피브린용해제는 아프로티닌 또는 아프로티닌 유도체, 알파2-마크로글로불린, 단백질 C 또는 활성화된 단백질 C의 억제제 또는 불활성화제, 천연 기질과 경쟁적으로 작용하는 플라스민에 결합하는 기질 모방체, 및 피브린용해 활성을 억제하는 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0067] 추가의 약리학적 활성 물질로서, 항생제, 예를 들어, 항세균제 또는 항진균제가 본 발명에 따른 스펀지와 함께, 바람직하게는 스펀지에 균일하게 분포된 성분으로서 사용될 수 있다. 성장 인자 및/또는 진통제와 같은 추가의 생체활성 물질이 또한 본 발명의 스펀지에 존재할 수 있다. 그러한 스펀지는 예를 들어 상처 치유에 유용할 수 있다.

[0068] 스펀지의 재흡수를 조절하는, 즉, 촉진하거나 억제할 수 있는 특정 효소 또는 효소 억제제와의 추가 조합이 바람직하다. 그러한 것들로는 콜라겐분해효소, 그의 증강제 또는 억제제가 있다. 또한, 적합한 방부제가 스펀지와 함께 사용될 수 있거나 또는 스펀지에 함유될 수 있다.

[0069] 바람직한 실시양태는 혈액 응고의 활성제 또는 전활성제를 유일한 활성 성분으로 함유하는 지혈용 스펀지를 사용하는 것에 관한 것이지만, 혈액 응고 속도, 지혈 및 밀봉 품질, 예를 들어, 인장 강도, 내부 (접착) 강도 및 내구성에 영향을 주는 추가의 물질이 포함될 수도 있다.

[0070] 내인성 또는 외인성 응고를 강화 또는 개선하는 응혈원(procoagulant), 예를 들어, 혈액 응고의 인자 또는 보조 인자, 인자 XIII, 조직 인자, 프로트롬빈 착물, 활성화된 프로트롬빈 착물, 또는 착물의 부분, 프로트롬빈분해

효소 착물, 인지질 및 칼슘 이온, 프로타민이 사용될 수 있다. 정밀한 밀봉이 요구되는 외과적 절차의 경우, 지혈용 스펀지가 환자에게 적용된 후 응고가 발생하기 전에 작업 시간을 연장하는 것이 바람직할 수 있다. 본 발명에 따른 스펀지가 적당량의 혈액 응고 억제제를 추가로 포함하는 경우, 응고 시간의 연장이 보장될 것이다. 억제제, 예를 들어, 임의로는 헤파린과 함께 항트롬빈 III, 또는 임의의 다른 세린 프로테아제 억제제가 바람직하다.

[0071] 그러한 첨가제, 특히 재료의 국부적 불안정성 또는 응고항진성을 방지하기 위해 트롬빈 또는 트롬빈 전구체가 재료 내에 균일하게 분포되는 것이 또한 바람직하다. 일정 수분 함량을 갖더라도, 트롬빈 활성은 놀랍게 안정하며, 이는 아마도 균질 혼합물 내의 트롬빈과 콜라겐의 친밀한 접촉 때문일 것이다. 그럼에도, 바람직하게는 폴리올, 다당류, 폴리알킬렌 글리콜, 아미노산 또는 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 트롬빈 안정화제가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 소르비톨, 글리세롤, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 단당류 또는 이당류, 예를 들어, 글루코스 또는 사카로스, 또는 트롬빈 활성을 안정화할 수 있는 당 또는 술폰화 아미노산의 예시적인 사용이 바람직하다.

[0072] 본 발명에 따라 사용될 수 있는 첨가제의 다른 예로는 혈관수축제, 항생제 또는 후코이단과 같은 물질이 있다.

[0073] 본 발명의 스펀지는 추가로 염료, 예를 들어, 리보플라빈, 또는 생체적합성인 것으로 종래기술로부터 공지된 다른 염료를 포함할 수 있다. 염료는, 예를 들어 추가의 층(코팅)으로서 포함될 수 있으며, 특히 외과가가 본 발명의 코팅된 스펀지의 표면들 중 어느 것이 각각 활성 또는 비활성 표면인지 식별하는 것을 도울 수 있다.

[0074] 본 발명의 스펀지는 바람직하게는 3 cm 미만, 바람직하게는 약 1 mm 내지 약 3 cm, 보다 바람직하게는 약 1 mm 내지 약 2 cm, 가장 바람직하게는 약 1 mm 내지 약 2 mm의 전체 두께를 갖는다.

[0075] 본 발명의 스펀지에서, 코팅의 두께는 바람직하게는 약 0.01 mm 내지 약 1 mm이다.

[0076] 본 발명의 스펀지는 바람직하게는 최소 침습 수술, 예를 들어, 복강경 적용에 사용된다.

[0077] 스펀지는 건조될 수 있고, 건조 후 스펀지는 0.5 (여기에서는 w/w 단위로 주어진 퍼센트) 이상의 수분 함량을 가질 수 있다. 특정 실시양태에서, 스펀지는 냉동 건조되거나 또는 공기 건조될 수 있다.

[0078] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 스펀지를 포함하는 상처 덮개를 제공한다. 스펀지 및 모든 추가의 층이 적합한 치수의 즉시 사용 가능한 상처 덮개에 제공될 수 있다. 스펀지 및/또는 덮개는 패드 또는 시트일 수 있으며, 적응중에 따라 바람직하게는 1 mm 이상 또는 2 mm 이상 또는 5 mm 이상 및/또는 20 mm 이하의 두께를 갖는다. 상대적으로 두꺼운 가요성 스펀지를 상처에 적용할 경우, 추가의 상처 분비물의 흡수에 대한 장벽으로서 사용할 수 있는 피브린이 형성되기 전에 혈액 및 피브리노겐이 스펀지 전체에 흡수될 수 있는 것이 중요하다.

[0079] 본 발명의 추가의 측면은

[0080] a) 생체재료의 매트릭스를 포함하는 스펀지를 건조된 형태로 제공하고,

[0081] b) 1종의 반응성 중합체 재료를 건조 분말 형태로 제공하고,

[0082] c) b)의 재료가 상기 스펀지의 적어도 한 표면 상에 존재하도록 a) 및 b)를 접촉시키고,

[0083] d) b)의 재료를 a)의 스펀지 상에 고착시키는 것을 포함하는, 지혈용 스펀지의 제조 방법(=방법 I)에 관한 것이다.

[0084] 고착은 중합체 성분을 예열된 오븐 내에서, 예를 들어, 30°C 내지 80°C, 바람직하게는 60°C 내지 65°C의 온도에서, 고착에 충분한 시간 동안, 예를 들어, 1분 내지 10분, 바람직하게는 약 4분 동안 스펀지 상에 용융시킴으로써 달성될 수 있다. 별법으로, 고착은 적외선 가열기 또는 임의의 다른 열원에 의해 달성될 수 있다. 패드와 가열기 사이의 거리, 가열기의 세기, 및 적외선 조사에의 노출 시간은 최소의 열 노출에서 코팅의 용융이 달성되도록 조절된다.

[0085] 본 발명의 추가의 측면은

[0086] a) 생체재료의 매트릭스를 포함하는 스펀지를 건조된 형태로 제공하고,

[0087] b) 1종의 반응성 중합체 재료를 용액, 예를 들어, 5 미만, 바람직하게는 약 3 미만의 pH를 갖는 수정 용액, 또는 예를 들어 에탄올, 아세톤, 메틸렌클로라이드에 기초한 물이 없는 유기 용매계 용액의 형태로 제공하고,

[0088] c) a)의 재료가 b)로 함침되도록 a) 및 b)를 접촉시키고,

- [0089] d) 단계 c)에서 얻어진 재료를 건조시키는 것을 포함하는, 지혈용 스펀지의 제조 방법(=방법 II)에 관한 것이다.
- [0090] 함침을 달성하기 위한 접촉은 중합체 용액을 스펀지 위에 놓고 용액이 상기 스펀지 내로, 상기 흡수에 충분한 시간 동안, 예를 들어, 약 2분 내지 약 2시간, 바람직하게는 30분 동안 적셔지도록 함으로써 이루어질 수 있다.
- [0091] 건조는 냉동 건조 또는 공기 건조를 포함할 수 있고, 유체의 휘발성 성분을 제거하는 것을 포함한다.
- [0092] 추가의 측면에서, 본 발명은 방법 (I) 또는 (II)에 따른 제조 방법에 의해 수득 가능한 지혈용 스펀지를 제공한다.
- [0093] 본 발명의 추가의 측면은 상처, 지혈, 손상 조직 및/또는 출혈 조직으로 이루어진 군으로부터 선택된 손상의 치료를 위한 본 발명의 스펀지의 용도에 관한 것이다. 바람직하게는, 본 발명의 스펀지는 조직, 예를 들어, 폐, 비장, 간의 밀봉 및 지혈을 위해 사용된다.
- [0094] 본 발명의 복합체는 또한, 단백질 중의 체액 농도가 상기한 바와 같은 밀봉 젤의 형성을 허용하기에 충분히 높은 곳에는 어디든 즉시 사용 가능한 조직 밀봉제로서 사용될 수 있다.
- [0095] 본 발명의 스펀지는 특히 개방 및 내시경/복강경/흉강경/MIS(최소 침습 수술) 수술 절차에서 결찰이나 통상적 절차에 의한 출혈 억제가 비효과적이거나 비실용적인 경우, 스며나오는 것부터 터져나오는 것까지 수술 출혈에 대응하기 위한 지혈 보조물로서 권고된다.
- [0096] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 스펀지는 거즈 상에서 완충 용액, 예를 들어, 알칼리성 완충 용액, 예를 들어, 중탄산염 용액, 예를 들어, 8.4% NaHCO_3 , pH 8.3과 함께 적용된다.
- [0097] 반응 속도는 염수로 적셔진 거즈에 비해 8.4% NaHCO_3 -용액으로 적셔진 거즈를 적용한 후에 증가된 것으로 밝혀졌다. 이것은 NaHCO_3 -적용의 경우에 2분 후 조직에 대한 스펀지의 보다 강한 접착성으로 관찰된다.
- [0098] 본 발명은 추가로 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 스펀지 및 완충 용액, 예를 들어, 알칼리성 완충 용액, 예를 들어, 중탄산염 또는 탄산염을 그의 사용설명서와 함께 포함하는 키트를 제공한다. 알칼리성 완충 용액은 바람직하게는 약 8, 예를 들어 8.3의 pH를 갖는다.
- [0099] 본 발명의 또 다른 측면은 수불용성 지혈 재료(매트릭스), 및 반응성 기를 갖는 친수성 중합체 가교제를 포함하는 지혈용 복합체로서, 외부 유체, 특히 인간 혈액이 상기 복합체 내로 접근하는 것을 허용하는 공극을 포함하는 지혈용 복합체에 관한 것이다. 지혈 재료는, 그 자체로 이미 일정한 지혈 특성을 갖는 "생체재료의 매트릭스"로서 상기 언급된 임의의 재료일 수 있다. 그러한 재료 및 그의 지혈 특성은 원칙적으로 당 업계에 공지되어 있다. 본 발명에 따른 복합체 재료는, 예를 들어 상처에 적용 시에 그 상처의 혈액이 복합체 내로 유입될 수 있도록 외부 유체가 복합체의 내부 부분에 접근하는 것을 허용하는 공극을 갖는다. 복합체는 이들 공극에 의해 적셔질 수 있다. 실제로 중요한 예로는 지혈 섬유의 부직포 또는 제직물 또는 다공성 지혈용 스펀지가 있다. 바람직하게는, 이 지혈 재료는 콜라겐 스펀지, 산화 재생 셀룰로오스의 직물, 피브린 스펀지 또는 젤라틴 스펀지이다. 콜라겐 스펀지는 본질적으로 천연 콜라겐(즉, 천연 콜라겐 섬유 구조는 가공 동안 상당 정도로 보존되거나 피브릴형성(fibrillogenesis)에 의해 재생됨)인 것이 특히 바람직하다.
- [0100] 본 발명에 따른 복합체 내의 친수성 중합체 가교제의 반응성은 유지된다. 이는 가교제의 반응성 기가 아직 지혈 재료(의 표면)와 반응하지 않고 물에 의해 가수분해되지 않았음을 의미한다. 이것은, 예를 들어 본원에 개시된 바와 같이 용융, 분무, 불활성 조건 하에서의 젖음 등에 의해, 가교제의 반응성 기와 지혈 재료 또는 물의 반응이 유발하지 않는 방식으로 지혈 재료와 가교제를 조합함으로써 달성될 수 있다. 통상, 이것은 수성 조건(또는 습윤)의 생략, 특히 산성 조건 부재 하에서의 습윤(가교제가 산성 조건 하에서 반응성이 아닌 경우)을 포함한다. 이것은 반응성 지혈 재료의 제공을 허용한다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 지혈성 복합체는 반응성 기를 갖는 친수성 중합체 가교제로서 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 특히 숙신이미딜에스테르($-\text{CON}(\text{COCH}_2)_2$), 알데히드($-\text{CHO}$) 및 이소시아네이트($-\text{N}=\text{C}=\text{O}$)로부터 선택된 반응성 기, 특히 바람직하게는 숙신이미딜에스테르를 2개 이상, 바람직하게는 4개 포함하는 PEG, 예를 들어 하기 정의된 바와 같은 Coseal의 성분 COH102를 포함한다.
- [0101] 바람직한 실시양태에서, 스펀지의 다공성 망을 형성하는 매트릭스 재료는 건조된 다공성 스펀지의 1 내지 50%, 1 내지 10%, 또는 약 3%(w/w-%)를 구성한다.
- [0102] 본 발명에 따른 생체재료의 매트릭스, 특히 콜라겐은 일반적으로 가용성, 특히 수용성이 아니다. 그러나 스펀

지는 다공성 및/또는 흡습성이므로, 수성 유체, 특히 혈액, 혈청, 혈장 등 또는 상처에 존재하는 다른 유체와 접촉 시 팽윤되고 이들 유체를 흡수한다.

본 발명에 따른 지혈용 스펀지는 유체 흡수성이다. "유체 흡수성"은 스펀지의 팽윤을 유발하거나 유발하지 않을 수 있는 유체와 접촉 시에 유체를 보유하는 물리적 과정으로 간주된다. 바람직하게는, 스펀지는 유체, 특히 혈액을 스펀지의 건조 중량이 1배 이상, 2배 이상, 4배 이상 또는 10배 이상 및/또는 100배 이하, 20배 이하 또는 10배 이하의 양으로 보유할 수 있다. 본 발명에 따른 스펀지 재료는 압력 하에서도 유체를 흡수할 수 있다.

본 발명에 따른 다공성 스펀지 물질은 바람직하게는 5 내지 500 μm , 바람직하게는 10 내지 200 μm 의 공극 크기를 갖는다. 이 공극 크기는 스펀지 생체재료의 제조 과정에서, 특히 그러한 제조 과정의 건조 공정을 제어함으로써 적당히 조절될 수 있다.

본 발명에 따른 스펀지는 바람직하게는 스펀지를 필요로 하는 환자에게, 예를 들어, 이 환자의 상처에 직접 적용 가능하도록(그 후에 가교가 개시됨) "즉시 사용 가능한" 형태로 제공된다. 따라서, 본 발명에 따른 스펀지는 저장 동안 오염(예를 들어, 습기 또는 미생물에 의한 오염)으로부터 스펀지를 보호하는 멸균 포장으로 포장된다. 사용 전, 포장을 개방할 수 있고(바람직하게는 역시 멸균 조건 하에서), 스펀지는 환자에게 직접 적용될 수 있다("즉시 사용 가능").

상기 언급한 바와 같이, 친수성 중합체 성분은 친수성 가교제이다. 바람직한 실시양태에 따르면, 이 가교제는 가교를 위한 2개 초과 반응성 기("암(arm)"), 예를 들어, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 또는 그 이상의, 가교를 위한 반응성 기를 갖는 암을 갖는다. 예를 들어, NHS-PEG-NHS가 본 발명에 따른 효과적인 친수성 가교제이다. 그러나 일부 실시양태에서는 4-암 중합체(예를 들면, 4-암-p-NP-PEG)가 더 바람직할 수 있으며; 동일한 이유로 다중 반응성 가교가 유익한 실시양태에서는 8-암 중합체(예를 들어, 8-암-NHS-PEG)가 더욱더 바람직할 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 친수성 가교제는 중합체, 즉, 전형적으로 공유 화학 결합에 의해 연결된 반복 구조 단위로 구성된 대형 분자(거대분자)이다. 본 발명에 따른 중합체는 1000 Da 이상이며(본 발명에 따른 스펙트를 위한 가교제로서 알맞게 작용하기 위해서); 바람직하게는, 본 발명에 따른 가교 중합체는 5000 Da 이상, 특히 8000 Da 이상의 분자량을 갖는다.

일부 친수성 가교제의 경우, 염기성 반응 조건의 존재(예를 들어, 투여 부위)가 기능의 수행을 위해(예를 들어, 투여 부위에서의 보다 빠른 가교 반응을 위해) 바람직하거나 필요하다. 예를 들어, 본 발명에 따른 스펀지의 성능 개선 또는 지혈 및/또는 상처 접착 물질로서 효율적인 사용이 가능하도록, 탄산염 또는 중탄산염 이온(예를 들어, 7.6 이상, 바람직하게는 8.0 이상, 특히 8.3 이상의 pH를 갖는 완충액으로서)이 투여 부위에 추가로 제공될 수 있다(예를 들어, 완충 용액으로서 또는 그러한 완충액으로 적서진 직물 또는 패드로서).

본 발명을 그로 한정되지 않는 하기 실시예에 의해 추가로 예시하겠다.

이어지는 부분에서는 하기 약어를 사용한다:

ACT 활성화 응고 시간

AcOH 아세트산

NaOAc 아세트산나트륨

aq. 수성

COH102 펜타에리트리톨폴리(에틸렌글리콜)에테르 테트라숙신이미딜 글루타레이트 = 펜타에리트리톨 테트라키스[1-1'-옥소-5'-숙신이미딜펜타노에이트-2-폴리-옥소에틸렌글리콜]에테르 (= MW 10,000의 NHS-PEG)

EtOH 에탄올

PEG 폴리에틸렌 글리콜

PET 폴리에틸렌 테레프탈레이트

min 분

$$\text{NHS-PEG-NHS} \quad \alpha\text{-[6-[(2,5-디옥소-1-피롤리딘)옥시]-6-옥소헥실]-}\omega\text{-[6-[(2,5-디옥소-1-피롤리딘)옥시]-6-옥소헥실옥시]-폴리옥시에틸렌}$$

8-암-NHS-PEG 헥사글리세롤 옥타(숙신이미딜옥시글루타릴)폴리옥시에틸렌

- [0121] 4-암-p-NP-PEG 펜타에리트리톨테트라(4-니트로페녹시카르보닐) 폴리옥시에틸렌
- [0122] CHO-PEG-CHO 동중이관능성 알데히드-폴리에틸렌글리콜
- [0123] Epoxy-PEG-Epoxy 동중이관능성 에폭시-폴리에틸렌글리콜
- [0124] 4-암-Epoxy-PEG 동중다관능성 에폭시 폴리에틸렌글리콜
- [0125] ISC-PEG-ISC 동중이관능성 이소시아네이트-폴리에틸렌글리콜
- [0126] AA-dextran 알데히드-활성화 덱스트란
- [0127] DSS 디숙신이미딜 수베레이트
- [0128] EGS 에틸렌 글리콜-비스(숙신산 N-히드록시숙신이미드 에스테르)
- [0129] **실시예:**
- [0130] **본 발명의 지혈용 패드의 효능을 시험하기 위한 동물 지혈 모델(간 표면 찰과상 모델)**
- [0131] 본 발명의 지혈용 패드의 효능을 해파린화($2 \times \text{ACT}$) 피그에서 간 표면 찰과상 모델로 시험하였다. 평평하고 둥근 회전 마모 기구로 원형의 출혈 상처(1.8 cm 직경)를 간 표면 상에 생성하였다. 본 발명의 패드(크기 = 3×3 cm)를 건조된 상태로 출혈 상처 상에 적용하고 염수로 적신 거즈로 2분 동안 약한 압력을 가하여 제자리에 유지하였다. 출혈 정지 효능을 평가하였다.
- [0132] **실시예 1: 소 콜라겐 현탁액의 제조**
- [0133] 얇게 자른 소 진피 50 g을 2M NaOH-용액 500 ml에 분산시키고 약 90분 동안 25℃에서 교반하였다. 진피를 체로 걸러내고, 유출된 H_2O 가 약 8.0의 pH에 도달할 때까지 증류한 H_2O 로 행구었다. 세척한 진피 조각을 H_2O 에 재현탁시키고 pH를 HCl로 약 2.0으로 조절하였다. 얻어진 현탁액을 밤새 약 25℃에서 교반하여 콜라겐 용액을 얻었다. 얻어진 용액을 5℃로 냉각시키고, pH를 NaOH로 중성으로 조절하였다. 용액을 교반없이 밤새 18℃로 유지함으로써 콜라겐 침전을 밤새 실시하였다. 얻어진 침전 콜라겐을 여과로 분리하였다. 얻어진 물질의 콜라겐 농도를 무게분석법으로 측정하였다. 임의로는, 글루타르알데히드를 이용한 화학적 가교를 실시할 수 있으며, 이를 위해 1% aq. 콜라겐 현탁액을 제조하고 5000 ppm의 글루타르알데히드를 12℃에서 첨가하였다. 얻어진 현탁액을 밤새 교반하였다. 얻어진 가교 콜라겐을 여과하고 H_2O 로 세척하였다. 얻어진 물질의 콜라겐 농도를 상술한 바와 같이 측정하였다.
- [0134] **실시예 2: NHS-PEG로 코팅된 콜라겐 패드**
- [0135] COH102분말을 시중에서 입수 가능한 콜라겐 스펀지(Matristypt[®], 독일의 Dr. Suwelack Skin- and Healthcare, 두께 1 mm 또는 2 mm)의 표면 상에 균일하게 분포시켰다. 2 mg/cm², 7 mg/cm², 10 mg/cm², 14 mg/cm², 20 mg/cm²의 양의 COH102를 코팅에 사용하였다. COH102분말을 용유에 의해 스펀지 표면 상에 고착시켰다. 이것은 PEG 분말 혼합물을 갖는 스펀지를 예열된 오븐 안에 위치시키고 60℃ 내지 65℃에서 4분 동안 수행하였다.
- [0136] 얻어진 건조 스펀지를 기체 불투과성 파우치에 건조제 봉지와 함께 봉입하고 25 kGray에서 γ -멸균하였다.
- [0137] **실시예 3: NHS-PEG로 함침된 콜라겐 패드**
- [0138] 농도가 10 mg/cm², 20 mg/cm², 30 mg/cm² 및 40 mg/cm²인 COH102의 aq. 산성 용액(pH 3.0, AcOH)을 제조하고 9×7 cm PET-트레이에 채웠다. 앞에서 채운 COH102 용액과 동일 부피를 갖는, 시중에서 입수 가능한 소 콜라겐 스펀지(Matristypt[®]) 9×7×0.1 또는 0.2 cm를 용액 위에 놓고 20분 동안 함침시켰다. COH102 용액이 흡수되었고, 얻어진 콜라겐 물질을 동결건조시켰다. 얻어진 스펀지는 추가로, 실시예 2에 기재한 것과 같이 COH102로 코팅될 수 있었다.
- [0139] 동결건조 및/또는 코팅 후, 얻어진 각각의 건조 스펀지를 기체 불투과성 파우치에 건조제 봉지와 함께 봉입하고 25 kGray에서 γ -멸균하였다.
- [0140] **실시예 4: NHS-PEG로 코팅된 산화 셀룰로오스 분말을 함유하는 콜라겐 패드**
- [0141] Traumastem[®] P 분말(체코 공화국의 Bioster) 0.5 g 또는 1 g을 실시예 1에 따라 제조된 중성 수성 콜라겐 현탁액(2.15 mg/ml; 4.3 mg/ml 및 10 mg/ml) 22 ml에 균일하게 분포시켰다. 얻어진 혼합물을 9×7 cm PET-트레이

에 채우고 동결건조시켰다. 얻어진 플리스는 약 3 내지 4 mm의 두께를 가졌으며, 이를 실시예 2에 기재된 바와 같이 COH102로 코팅하였다.

[0142] 코팅 후, 얻어진 각각의 스펀지를 기체 불투과성 파우치에 건조제 봉지와 함께 봉입하고 25 kGray에서 γ -멸균하였다.

[0143] **실시예 5: NHS-PEG로 코팅된 산화 셀룰로오스 직물을 함유하는 콜라겐 패드**

[0144] 6×5 cm Traumastem® TAF 경량 직물(체코 공화국의 Bioster)을 실시예 1에 기재한 바와 같은 1% 소 콜라겐 현탁액에 침지하였다. 6×5 cm 산화 셀룰로오스 직물은 약 6 g의 콜라겐 현탁액을 보유하였다. 콜라겐 현탁액으로 적셔진 직물을 얻고, 이를 트레이에 넣고 동결건조시켰다. 얻어진 플리스는 약 3 내지 4 mm의 두께를 가졌으며, 이를 실시예 2에 기재된 바와 같이 COH102로 코팅하였다.

[0145] 코팅 후, 얻어진 각각의 스펀지를 기체 불투과성 파우치에 건조제 봉지와 함께 봉입하고 25 kGray에서 γ -멸균하였다.

[0146] **실시예 6: NHS-PEG로 코팅된 산화 셀룰로오스 직물**

[0147] 이중층 Traumastem® 플리스(체코 공화국의 Bioster)를 실시예 2에 기재된 바와 같이 14 mg/cm² COH102로 코팅하였다. 얻어진 패드의 두께는 약 1 내지 2 mm였다.

[0148] **실시예 7: NHS-PEG로 코팅된 지혈 강화 물질로서 후코이단을 함유하는 콜라겐 패드**

[0149] 소 콜라겐 스펀지 Matristypt®(9×7×0.2 cm)를 동일 부피의, A. nodosum의 후코이단 용액(40 mM Ca²⁺-용액 중 10 μ M 및 200 μ M)으로 함침시키고 동결건조하였다. 얻어진 스펀지를 실시예 2에 기재된 바와 같이 COH102로 코팅하였다.

[0150] **실시예 8: NHS-PEG로 코팅된 지혈 강화 물질로서 트롬빈을 함유하는 콜라겐 패드**

[0151] 소 콜라겐 스펀지 Matristypt®(9×7×0.2 cm)를 동일 부피의 트롬빈 용액(500 IU/ml)으로 함침시키고 동결건조하였다. 얻어진 스펀지를 실시예 2에 기재된 바와 같이 COH102로 코팅하였다.

[0152] **실시예 9: NHS-PEG로 코팅된 콜라겐 패드의 밀봉 효능**

[0153] 14 mg/cm² COH102로 코팅된 지혈 패드를 실시예 2에 따라 제조하였다. 직경 약 1.5 내지 2 cm의 병소를 메스로 피그의 폐에 생성하였다. 3×3 cm의 상기 패드 샘플을 상처에 적용하고, 거즈를 이용하여 2분 동안 약한 압력을 가하여 제자리에 고정시켰다. 거즈는 염수 또는 염기성 중탄산염 용액(pH 8.3)으로 예비습윤시켰다. 적용 후, 패드는 폐 표면에 단단히 접촉되었다(도 6 참조). 접착이 얻어지는 속도는 중탄산염으로 습윤된 거즈를 사용함으로써 증가되었다. 기밀성 및 조직에 대한 패드 접착성을 조절하기 위해, 10분 후 흉부를 링거액으로 채웠다. 기체 누출 또는 패드의 탈리는 관찰되지 않았다.

[0154] **실시예 10: NHS-PEG로 함침된 콜라겐 패드의 밀봉 효능**

[0155] 40 mg/cm² COH102로 함침된 지혈 패드를 실시예 3에 따라 제조하였다.

[0156] 직경 약 1.5 내지 2 cm의 병소를 메스로 피그의 폐에 생성하였다. 3×3 cm의 상기 패드 샘플을 상처에 적용하고, 거즈를 이용하여 2분 동안 약한 압력을 가하여 제자리에 고정시켰다. 거즈는 염기성 중탄산염 용액(pH 8.3)으로 예비습윤시켰다. 적용 후, 패드는 폐 표면에 단단히 접촉되었다. 기밀성 및 조직에 대한 패드 접착성을 실시예 9에 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0157] **실시예 11: 한 패드 표면의 컬러 마킹**

[0158] 구멍 패턴을 갖는 스테인리스 강판(1 mm 두께)으로 제조된 마스크를 1 또는 2 mm 두께의 콜라겐 스펀지(Matristypt®, 독일의 Dr. Suwelack Skin- and Healthcare)의 한 면에 위치시켰다. 마스크의 구멍은 직경이 2 mm이었고, 정사각형 격자의 교점에 서로 1 cm 이격하여 위치하였다. 0.5% 수성 에리오클라우신(Erioglaucine)(스위스의 Fluka) 용액을 표준 에어브러쉬 장치로 마스크의 구멍 위에 분무하였다. 마스크를 제거하고 얻어진 청색 점 패턴을 갖는 콜라겐 시트를 주위 온도에서, 진공 오븐에서 또는 데시케이터에서 건조시켰다. 한 면의 점 패턴은 코팅된 패드의 활성 및 비활성 표면을 구별해주는 역할을 한다. 코팅은 점이 있는 면 또는 점이 없는 면 어느 쪽에나 적용할 수 있다.

[0159] **실시예 12: 피브린 플리스의 제조**

- [0160] 2.5 mg/ml의 피브리노겐 용액, 10 mM Tris/HCl, 150 mM NaCl, pH 7.4, 및 동일 부피의 55 IU 트롬빈/ml, 10 mM CaCl₂를 스태틱 믹서(static mixer)를 사용하여 혼합하고, 곧이어 트레이에 0.7 cm 깊이로 채웠다. 피브린 응고가 트레이에 얻어졌다. 응고를 냉동 건조시켜 피브린 플리스를 얻었다.
- [0161] **실시예 13: NHS-PEG-NHS로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험**
- [0162] 6×6 cm 콜라겐 패드(실시예 11에 기재된 바와 같이 제조됨)의 비착색 면에 14 mg/cm² 및 28 mg/cm²의 이관능성 NHS-PEG-NHS(MW 10000, 일본의 NOF Corporation)를 균일하게 분포시키고, 용융에 의해 고착시켰다. 이것은 PEG 분말로 코팅된 스펀지를 예열된 오븐에 넣고 약 70℃에서 4분 동안 수행하였다.
- [0163] 얻어진 스펀지를 건조제를 함유하는 주머니와 함께 기체 불투과성 파우치 내에 봉입하였다.
- [0164] 상기 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같이 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였다. 2분 후 지혈이 달성되었다. 10분 후 재출혈은 관찰되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하였다.
- [0165] **실시예 14: 8-암-NHS-PEG로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험**
- [0166] 실시예 11에 기재된 바와 같이 제조된 6×6 cm 콜라겐 패드의 비착색 면에 14 mg/cm²의 8-암-NHS-PEG(MW 15000, 일본의 NOF Corporation)를 균일하게 분포시키고, 용융에 의해 고착시켰다. 이것은 PEG 분말을 갖는 스펀지를 예열된 오븐에 넣고 65℃에서 4분 동안 수행하였다.
- [0167] 얻어진 스펀지를 건조제를 함유하는 주머니와 함께 기체 불투과성 파우치 내에 봉입하였다.
- [0168] 상기 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같이 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였다. 2분 후 지혈이 달성되었다. 10분 후 재출혈은 관찰되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하였다.
- [0169] **실시예 15a: 4-암-p-NP-PEG로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험**
- [0170] 실시예 11에 기재된 바와 같이 제조된 6×6 cm 콜라겐 패드의 비착색 면에 14 mg/cm²의 4-암-p-NP-PEG(MW 10000, 일본의 NOF Corporation)를 균일하게 분포시키고, 용융에 의해 고착시켰다. 이것은 PEG 분말을 갖는 스펀지를 예열된 오븐에 넣고 65℃에서 4분 동안 수행하였다.
- [0171] 얻어진 스펀지를 건조제를 함유하는 주머니와 함께 기체 불투과성 파우치 내에 봉입하였다.
- [0172] 상기 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같이 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였다. 2분 후 지혈이 달성되었다. 10분 후 재출혈은 관찰되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하였다.
- [0173] **실시예 15b: 4-암-p-NP-PEG로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험**
- [0174] 실시예 15a에서 제조된 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같은 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였으나, 패드를 염기성 8% 중탄산나트륨 용액으로 예비습윤된 거즈로 적용하는 것으로 변형하였다. 2분 후에 지혈이 달성되었다. 10분 후 재출혈은 관찰되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하였다.
- [0175] **실시예 16a: CHO-PEG-CHO로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험**
- [0176] 실시예 11에 기재된 바와 같이 제조된 6×6 cm 콜라겐 패드의 비착색 면에 9.5 mg/cm²의 CHO-PEG-CHO(MW 3400, 프랑스의 Interchim)를 균일하게 분포시키고, 용융에 의해 고착시켰다. 이것은 PEG 분말을 갖는 스펀지를 예열된 오븐에 넣고 70℃에서 4분 동안 수행하였다.
- [0177] 얻어진 스펀지를 건조제를 함유하는 주머니와 함께 기체 불투과성 파우치 내에 봉입하였다.
- [0178] 상기 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같이 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였다. 2분 후 지혈이 달성되었다. 10분 후 재출혈은 관찰되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하였다.
- [0179] **실시예 16b: CHO-PEG-CHO로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험**
- [0180] 실시예 16a에서 제조된 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같은 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였으나, 패드를 염기성 중탄산나트륨 용액으로 예비습윤된 거즈로 적용하는 것으로 변형하였다. 2분 후에 지혈이 달성되었다. 10분 후 재출혈은 관찰되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하였다.
- [0181] **실시예 17a: Epoxy-PEG-Epoxy로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험**
- [0182] 실시예 11에 기재된 바와 같이 제조된 6×6 cm 콜라겐 패드의 비착색 면에 9.5 mg/cm²의 Epoxy-PEG-Epoxy(MW

3400, 프랑스의 Interchim)를 균일하게 분포시키고, 용융에 의해 고착시켰다. 이것은 PEG 분말을 갖는 스펀지를 예열된 오븐에 넣고 70℃에서 4분 동안 수행하였다.

[0183] 얻어진 스펀지를 건조제를 함유하는 주머니와 함께 기체 불투과성 파우치 내에 봉입하였다.

[0184] 상기 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같이 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였다. 2분 후 지혈이 달성되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하지 않았다.

[0185] **실시예 17b: Epoxy-PEG-Epoxy로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험**

[0186] 실시예 17a에서 제조된 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같은 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였으나, 패드를 염기성 중탄산나트륨 용액으로 예비습윤된 거즈로 적용하는 것으로 변형하였다. 2분 후에 지혈이 달성되었다. 5분 후 재출혈은 관찰되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하였다.

[0187] **실시예 18: 4-암-Epoxy-PEG로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험**

[0188] 실시예 11에 기재된 바와 같이 제조된 6×6 cm 콜라겐 패드의 비착색 면에 14 mg/cm²의 4-암-Epoxy-PEG(MW 10000, 프랑스의 Interchim)를 균일하게 분포시키고, 용융에 의해 고착시켰다. 이것은 PEG 분말을 갖는 스펀지를 예열된 오븐에 넣고 70℃에서 4분 동안 수행하였다.

[0189] 얻어진 스펀지를 건조제를 함유하는 주머니와 함께 기체 불투과성 파우치 내에 봉입하였다.

[0190] 상기 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같이 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였으나, 패드를 염기성 중탄산나트륨 용액으로 예비습윤된 거즈로 적용하는 것으로 변형하였다. 2분 후 지혈이 달성되었다. 5분 후 재출혈은 관찰되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하였다.

[0191] **실시예 19: ISC-PEG-ISC로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험**

[0192] 실시예 11에 기재된 바와 같이 제조된 6×6 cm 콜라겐 패드의 비착색 면에 9.5 mg/cm²의 ISC-PEG-ISC(MW 3400, 프랑스의 Interchim)를 균일하게 분포시키고, 용융에 의해 고착시켰다. 이것은 PEG 분말을 갖는 스펀지를 예열된 오븐에 넣고 70℃에서 4분 동안 수행하였다.

[0193] 얻어진 스펀지를 건조제를 함유하는 주머니와 함께 기체 불투과성 파우치 내에 봉입하였다.

[0194] 상기 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같이 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였다. 2분 후 지혈이 달성되었다. 10분 후 재출혈은 관찰되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하였다.

[0195] **실시예 20: AA-dextran으로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험**

[0196] 실시예 11에 기재된 바와 같이 제조된 6×6 cm 콜라겐 패드의 비착색 면에 14 mg/cm²의, 0.1 mg/cm² AA-dextran(MW 40000, 미국의 Pierce)과 13.9 mg/cm²의 비치환 PEG(MW 10000, 독일의 Sigma Aldrich)의 혼합물을 균일하게 분포시키고, 용융에 의해 고착시켰다. 이것은 분말 혼합물을 갖는 스펀지를 예열된 오븐에 넣고 80℃에서 4분 동안 수행하였다.

[0197] 얻어진 스펀지를 건조제를 함유하는 주머니와 함께 기체 불투과성 파우치 내에 봉입하였다.

[0198] 상기 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같은 찰과상 간엽 모델로 피그에 시험하였으나, 패드를 염기성 중탄산나트륨 용액으로 예비습윤된 거즈로 적용하는 것으로 변형하였다. 2분 후에 지혈이 달성되었다. 10분 후 재출혈은 관찰되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하였다.

[0199] **실시예 21a: DSS로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험**

[0200] 실시예 11에 기재된 바와 같이 제조된 6×6 cm 콜라겐 패드의 비착색 면에 20 mg/cm²의, DSS(MW 368.35, 독일의 Sigma Aldrich)와 비치환 PEG(MW 10000, 독일의 Sigma Aldrich)의 1:1 혼합물을 균일하게 분포시키고, 용융에 의해 고착시켰다. 이것은 분말 혼합물을 갖는 스펀지를 예열된 오븐에 넣고 80℃에서 4분 동안 수행하였다.

[0201] 얻어진 스펀지를 건조제를 함유하는 주머니와 함께 기체 불투과성 파우치 내에 봉입하였다.

[0202] 상기 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같이 찰과상 간엽 모델로 피그에 시험하였다. 2분 후 지혈이 달성되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하지 않았다.

[0203] **실시예 21b: DSS로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험**

[0204] 실시예 21a에서 제조된 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같은 찰과상 간엽 모델로 피그에 시험하였으나,

패드를 염기성 중탄산염 용액으로 예비습윤된 거즈로 적용하는 것으로 변형하였다. 2분 후에 지혈이 달성되었다. 10분 후 재출혈은 관찰되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하였다.

[0205] 실시예 22a: EGS로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험

[0206] 실시예 11에 기재된 바와 같이 제조된 6×6 cm 콜라겐 패드의 비착색 면에 26 mg/cm²의 EGS(MW 456.36, 독일의 Sigma Aldrich)과 비치환 PEG(MW 10000, 독일의 Sigma Aldrich)의 1:1 혼합물을 균일하게 분포시키고, 용융에 의해 고착시켰다. 이것은 분말 혼합물을 갖는 스펀지를 예열된 오븐에 넣고 80℃에서 4분 동안 수행하였다.

[0207] 얻어진 스펀지를 건조제를 함유하는 주머니와 함께 기체 불투과성 파우치 내에 봉입하였다.

[0208] 상기 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같이 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였다. 2분 후 지혈이 달성되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하지 않았다.

[0209] 실시예 22b: EGS로 코팅된 콜라겐 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험

[0210] 실시예 22a에서 제조된 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같은 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였으나, 패드를 염기성 중탄산나트륨 용액으로 예비습윤된 거즈로 적용하는 것으로 변형하였다. 2분 후에 지혈이 달성되었다. 10분 후 재출혈은 관찰되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하였다.

[0211] 실시예 23: NHS-PEG로 코팅된 피브린 플리스

[0212] 실시예 12에 기재된 바와 같이 제조된 피브린 플리스의 한 면에 14 mg/cm²의 COH102를 균일하게 분포시키고, 용융에 의해 고착시켰다. 이것은 PEG 분말을 갖는 스펀지를 예열된 오븐에 넣고 65℃에서 4분 동안 수행하였다.

[0213] 얻어진 스펀지를 건조제를 함유하는 주머니와 함께 기체 불투과성 파우치 내에 봉입하였다.

[0214] 상기 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같이 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였다. 2분 후 지혈이 달성되었다. 10분 후에 재출혈은 관찰되지 않았다. 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하였다.

[0215] 실시예 24: 조직에 대한 접착력과 콜라겐 패드 코팅에 사용되는 가교제 사이의 상관성

[0216] 패드를 간 찰과상 모델의 출혈 조직에 적용한 후 간 조직에 대한 패드의 접착성을 평가하였다. 검자의 측부를 이용하여 약한 접선력을 가하였다. 패드를 적용 부위로부터 이동시키는 것이 불가능할 경우 접착성(조직에의 결합)이 존재하는 것으로 간주하였다. 접착성 점수: 1 = 적용 5분 후 이동 없음; 2 = 적용 10분 후 이동 없음; 3 = 적용 10분 후 이동(접착성 없음).

표 1

실시예 번호	가교제	접착성 점수
13	NHS-PEG-NHS	1
14	8-암-NHS-PEG	1
15a	4-암-p-NP-PEG	3
15b	4-암-p-NP-PEG - 염기성 적용	2
16a	CHO-PEG-CHO	1
16b	CHO-PEG-CHO - 염기성 적용	2
17a	Epoxy-PEG-Epoxy	3
17b	Epoxy-PEG-Epoxy - 염기성 적용	2
18	4-암-Epoxy-PEG - 염기성 적용	2
19	ISC-PEG-ISC	1
20	AA-dextran - 염기성 적용	1
21a	DSS	3
21b	DSS - 염기성 적용	2
22a	EGS	3
22b	EGS - 염기성 적용	2

[0218] 실시예 25: NHS-PEG로 코팅된 키토산/젤라틴 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험

[0219] 시중에서 입수 가능한 키토산/젤라틴 스펀지(Chitoskin®, 독일의 Beese Medical) 상에 14 mg/cm²의 COH102를 균일하게 분포시키고, 용융에 의해 고착시켰다. 이것은 PEG 분말을 갖는 스펀지를 예열된 오븐에 넣고 65℃에

서 4분 동안 수행하였다.

[0220] 얻어진 스펀지를 건조제를 함유하는 주머니와 함께 기체 불투과성 파우치 내에 봉입하였다.

[0221] 상기 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같이 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였다. 2분 후 지혈이 달성되었다. 10분 후 재출혈은 관찰되지 않았다(도 9). 조직 상에서 패드의 접착성은 충분하였다.

[0222] 실시예 26: NHS-PEG로 코팅된 젤라틴 패드의 제조 및 동물 모델에서 그의 시험

[0223] 시중에서 입수 가능한 젤라틴 스펀지(Gelfoam®, 미국의 Pfizer) 상에 14 mg/cm²의 COH102를 균일하게 분포시키고, 용융에 의해 고착시켰다. 이것은 PEG 분말로 코팅된 스펀지를 예열된 오븐에 넣고 약 70℃에서 4분 동안 수행하였다.

[0224] 얻어진 스펀지를 건조제를 함유하는 주머니와 함께 기체 불투과성 파우치 내에 봉입하였다.

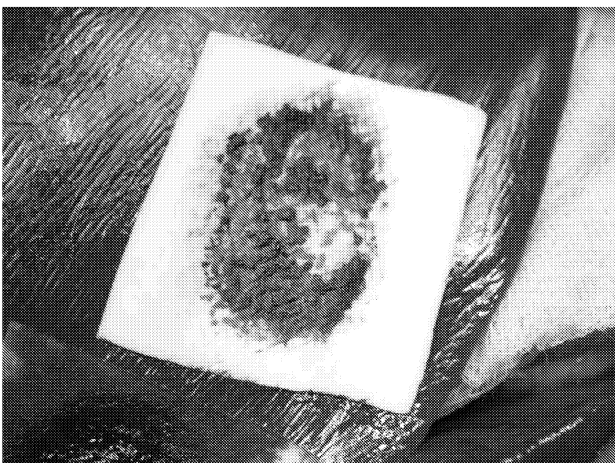
[0225] 상기 패드의 지혈 성능을 상기 기재한 바와 같이 간 찰과상 모델로 피그에 시험하였다. 10분 후, 스펀지의 조직에 대한 접착성 결여 및 느린 액체 흡수로 인해 지혈이 달성되지 않았다.

[0226] 실시예 27: 수분 흡수 속도

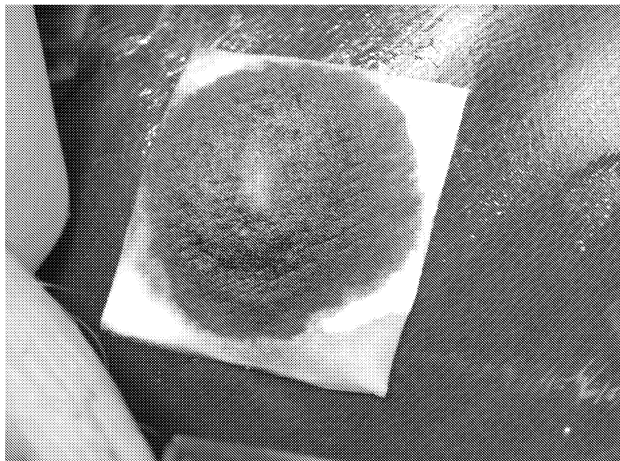
[0227] 건조 콜라겐 스펀지(Matristypt®, 독일의 Dr. Suwelack) 또는 건조 가교 젤라틴 스펀지(Gelfoam®, Pfizer)의 2×2 cm 조각을 비커 내의 증류한 H₂O 상에 놓았다. 건조 스펀지는 수면에 뜨며, 2×2 cm 접촉면 전체에서 물을 흡수하였다. 6초 후, Matristypt®는 H₂O로 완전히 젖었고, 이를 수면으로부터 제거하였다. 더 두꺼운 Gelfoam® 스펀지는 13초 후에 H₂O에 의해 완전히 적셔지지 않았으나, 13초 후에 수면으로부터 제거하였다. 수면과 접촉 전 및 후의 2×2 cm 스펀지의 중량, 수면과의 접촉 시간 및 수면과의 접촉 면적으로부터, 접촉면(cm² 단위) 당 스펀지의 초기 수분 흡수 속도(mg 물/초 단위)를 계산하였다. 초기 수분 흡수 속도는 Matristypt®의 경우 35 mg×cm⁻² s⁻¹였고 Gelfoam®의 경우 0.8 mg×cm⁻² s⁻¹였다.

도면

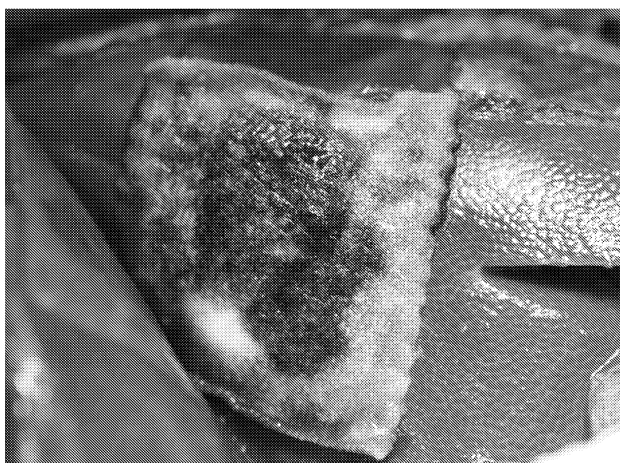
도면1



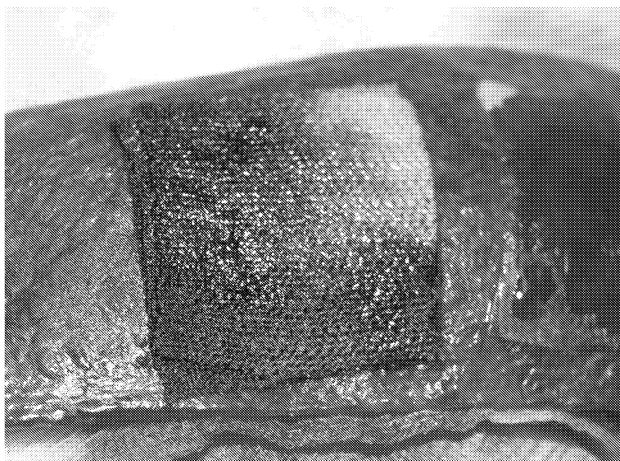
도면2



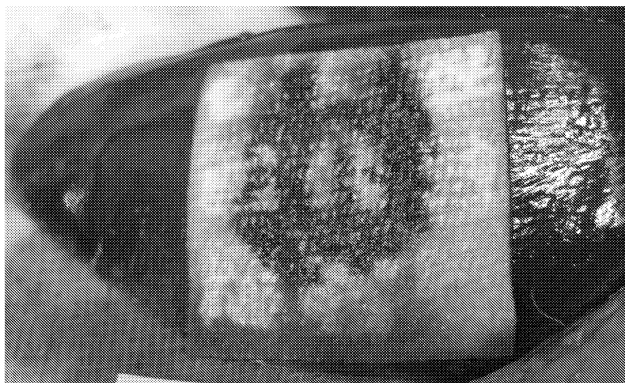
도면3



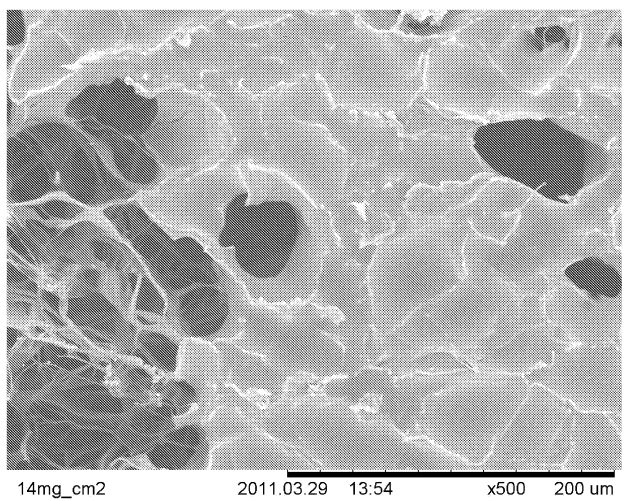
도면4



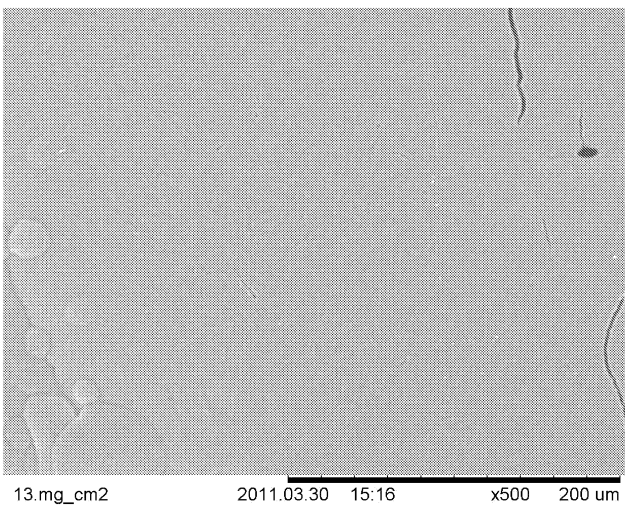
도면5



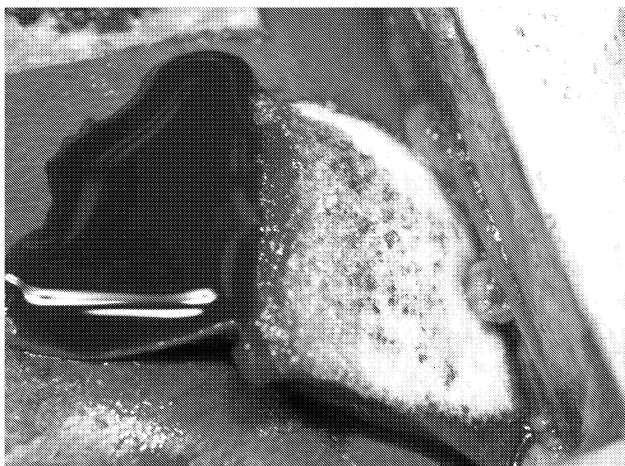
도면6



도면7



도면8



도면9

