

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0042597

(43) 공개일자 2023년03월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 14/00 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)

A61K 47/69 (2017.01) A61L 26/00 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 14/001 (2013.01)

A61K 38/00 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-7008211

(22) 출원일자(국제) 2021년08월09일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2022년03월08일

(86) 국제출원번호 PCT/US2021/045265

(87) 국제공개번호 WO 2022/035779

국제공개일자 2022년02월17일

(30) 우선권주장

63/063,743 2020년08월10일 미국(US)

(71) 출원인

젤4메드, 인크.

미국 매사추세츠주 02135 브라이튼 솔저스 필드
로드 1660 에스티이 7 #1063

(72) 발명자

메타 마나브

미국 매사추세츠주 02135 보스턴 웨이벌리 스트리트
15 스위트 210

메칼라 라비 키란

미국 매사추세츠주 02135 보스턴 웨이벌리 스트리트
15 스위트 210

(74) 대리인

하영욱

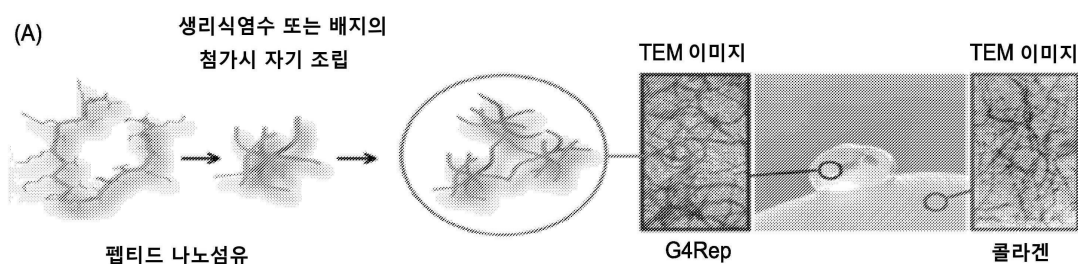
전체 청구항 수 : 총 148 항

(54) 발명의 명칭 자기 조립 양친매성 펩티드 하이드로겔

(57) 요약

실질적으로 교대 패턴으로 배열된 복수의 하전된 아미노산 잔기와 소수성 아미노산 잔기, 및 턴 서열을 갖는 폴딩기를 포함하고, 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되고, 열적으로 안정한 정제된 양친매성 펩티드를 포함하는 제제가 개시된다. 펩티드는 -7~+11의 순 전하를 가질 수 있다. 펩티드는 유효량의 카운터이온을 포함할 수 있다. 제제는 0.5% w/v~6.0% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다. 제제는 생체적합성 용액을 포함할 수 있다. 제제는 버퍼를 포함할 수 있다. 버퍼는 하이드로겔을 형성하기 위해 유효량의 이온성 염 및 생물학적 완충제를 포함할 수 있다. 또한, 제제를 포함하는 키트도 개시된다. 키트는 혼합 장치 및/또는 전달 장치를 포함할 수 있다. 또한, 외부 표면의 적어도 일부가 하이드로겔로 코팅된 의료 또는 수술 도구도 개시된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 47/6903 (2017.08)

A61L 26/0047 (2013.01)

A61L 26/0076 (2013.01)

A61L 26/008 (2013.01)

A61P 31/00 (2018.01)

C07K 2319/735 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

실질적으로 교대 패턴으로 배열된 복수의 하전된 아미노산 잔기와 소수성 아미노산 잔기, 및 턴 서열을 갖는 폴딩기를 포함하는 정제된 양친매성 펩티드로서, 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되고 또한 순 전하가 $-7 \sim +11$ 인 정제된 양친매성 펩티드; 및

생체적합성 수용액을 포함하는 제제로서:

상기 제제는 열적으로 안정한 제제.

청구항 2

실질적으로 교대 패턴으로 배열된 복수의 하전된 아미노산 잔기와 소수성 아미노산 잔기, 및 턴 서열을 갖는 폴딩기를 포함하는 정제된 양친매성 펩티드로서, 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 정제된 양친매성 펩티드 0.5% w/v ~ 6.0% w/v; 및

생체적합성 수용액을 포함하는 제제로서:

상기 제제는 열적으로 안정한 제제.

청구항 3

실질적으로 교대 패턴으로 배열된 복수의 하전된 아미노산 잔기와 소수성 아미노산 잔기, 및 턴 서열을 갖는 폴딩기를 포함하는 정제된 양친매성 펩티드로서, 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되고 또한 유효량의 카운터이온을 포함하는 정제된 양친매성 펩티드; 및

생체적합성 수용액을 포함하는 제제로서:

상기 제제는 열적으로 안정한 제제.

청구항 4

실질적으로 교대 패턴으로 배열된 복수의 하전된 아미노산 잔기와 소수성 아미노산 잔기, 및 턴 서열을 갖는 폴딩기를 포함하는 정제된 양친매성 펩티드로서, 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 정제된 양친매성 펩티드;

생체적합성 수용액; 및

하이드로겔을 형성하기 위해 유효량의 이온성 염 및 생물학적 완충제를 포함하는 버퍼를 포함하는 제제로 형성된 하이드로겔로서:

상기 제제는 열적으로 안정한 하이드로겔.

청구항 5

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 하이드로겔을 형성하기 위해 상기 펩티드의 자기 조립을 유도하도록 구성된 버퍼를 추가로 포함하는 제제.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드, 생체적합성 용액 및 버퍼 중 어느 하나 이상이 개별적으로 제공되는 제제.

청구항 7

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 약 10~200개의 아미노산 잔기를 갖는 제제.

청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 폴딩기는 약 2~50개의 아미노산 잔기를 갖는 제제.

청구항 9

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 소수성 아미노산 잔기는 독립적으로 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트레오닌, 트립토판 및 이들의 조합에서 선택되는 제제.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

상기 소수성 아미노산 잔기가 발린인 제제.

청구항 11

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제제는 무균인 제제.

청구항 12

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 하전된 아미노산 잔기는 양으로 하전된 아미노산 잔기인 제제.

청구항 13

제 12 항에 있어서,

상기 하전된 아미노산 잔기는 독립적으로 아르기닌, 라이신, 히스티딘 및 이들의 조합에서 선택되는 제제.

청구항 14

제 12 항에 있어서,

상기 폴딩기는 2~10개의 양으로 하전된 아미노산 잔기를 갖는 제제.

청구항 15

제 14 항에 있어서,

상기 폴딩기는 아르기닌 및 라이신에서 선택되는 6개의 양으로 하전된 아미노산 잔기를 갖는 제제.

청구항 16

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 하전된 아미노산 잔기는 음으로 하전된 아미노산 잔기인 제제.

청구항 17

제 16 항에 있어서,

상기 하전된 아미노산 잔기는 독립적으로 아스파르트산, 글루탐산 및 이들의 조합에서 선택되는 제제.

청구항 18

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드의 N-말단 및 C-말단 중 적어도 하나는 수식되는 제제.

청구항 19

제 18 항에 있어서,

상기 수식은 아미드화인 제제.

청구항 20

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드의 N-말단 및 C-말단 중 적어도 하나를 포함하지 않는 제제.

청구항 21

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 폴딩기는 $Y[AY]_N[T][YA]_MY$ 를 포함하는 서열을 갖고, 여기서 A는 염기성, 중성, 지방족, 방향족, 극성 및 하전된 아미노산 중 하나 이상에서 선택되는 1~3개의 아미노산이고, Y는 1~3개의 소수성 아미노산이고, T는 2~8개의 턴 서열 아미노산이고, N 및 M은 각각 독립적으로 2~10인 제제.

청구항 22

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 폴딩기는 $Y[XY]_N[T][YX]_MY$ 를 포함하는 서열을 갖고, 여기서 X는 1~3개의 하전된 아미노산이고, Y는 1~3개의 소수성 아미노산이고, T는 2~8개의 턴 서열 아미노산이고, N 및 M은 각각 독립적으로 2~10인 제제.

청구항 23

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 턴 서열은 독립적으로 D-프롤린, L-프롤린, 아스파르트산, 트레오닌 및 아스파라긴에서 선택되는 2~8개의 아미노산 잔기를 갖는 제제.

청구항 24

제 23 항에 있어서,

상기 턴 서열은 1~4개의 프롤린 잔기를 갖는 제제.

청구항 25

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 폴딩기는 $(Z)c(Y)b(X)a-[(d)PP, (d)PG, \text{ 또는 } NG]-(X)a(Y)b(Z)c$ 를 포함하는 서열을 갖고, 여기서 상기 턴 서열은 (d)PP, (d)PG 또는 NG이고, (d)P는 D-프롤린이고, X는 하전된 아미노산이고, Y는 소수성 아미노산이고, Z는 소수성 아미노산 또는 극성 아미노산이고, a, b 및 c는 각각 독립적으로 1~10의 정수인 제제.

청구항 26

제 1 항, 제 2 항 또는 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 유효량의 카운터이온을 포함하는 제제.

청구항 27

제 26 항 또는 제 3 항에 있어서,

상기 카운터이온은 아세테이트, 시트레이트 및 클로라이드 카운터이온 중 적어도 하나를 포함하는 제제.

청구항 28

제 27 항에 있어서,

상기 카운터이온은 아세테이트 카운터이온을 포함하는 제제.

청구항 29

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 클로라이드 카운터이온을 실질적으로 포함하지 않고 및/또는 상기 생체적합성 용액은 클로라이드 이온을 실질적으로 포함하지 않는 제제.

청구항 30

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 적어도 80%, 예를 들면 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 95%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 적어도 99.9% 정제된 제제.

청구항 31

제 30 항에 있어서,

상기 정제된 펩티드는 10중량% 미만, 예를 들면, 8중량% 미만, 5중량% 미만, 2중량% 미만, 1중량% 미만 또는 0.1중량% 미만의 잔류 유기 용매를 갖는 제제.

청구항 32

제 31 항에 있어서,

상기 정제된 펩티드는 약 1% w/v 미만의 잔류 트리플루오로아세트산(TFA) 농도를 갖는 제제.

청구항 33

제 31 항에 있어서,

상기 정제된 펩티드는 약 410ppm 미만의 잔류 아세토니트릴 농도를 갖는 제제.

청구항 34

제 31 항에 있어서,

상기 정제된 펩티드는 약 880ppm 미만의 잔류 N,N-디메틸포름아미드 농도를 갖는 제제.

청구항 35

제 31 항에 있어서,

상기 정제된 펩티드는 약 5000ppm 미만의 잔류 트리에틸아민 농도를 갖는 제제.

청구항 36

제 31 항에 있어서,

상기 정제된 펩티드는 약 1000ppm 미만의 잔류 에틸에테르 농도를 갖는 제제.

청구항 37

제 31 항에 있어서,

상기 정제된 펩티드는 약 100ppm 미만의 잔류 이소프로판올 농도를 갖는 제제.

청구항 38

제 31 항에 있어서,

상기 정제된 펩티드는 약 0.1% w/v 미만의 잔류 아세트산 농도를 갖는 제제.

청구항 39

제 30 항에 있어서,

상기 정제된 펩티드는 동결건조된 제제.

청구항 40

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 온도 변화, pH 변화, 광에 대한 노출, 적용된 음파, 및 경과된 기간 중 적어도 하나에 반응하여 미리 결정된 2차 구조를 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 41

제 2 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 -7~+11의 순 전하를 갖는 제제.

청구항 42

제 1 항 또는 제 41 항에 있어서,

상기 펩티드는 +2~+11, 예를 들면 +5~+9의 순 전하를 갖는 제제.

청구항 43

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 70% w/v~99.9% w/v 질소를 갖는 제제.

청구항 44

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 약 10EU/mg 미만의 박테리아 내독소 수준을 갖는 제제.

청구항 45

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 약 1% w/v~약 15% w/v의 수분 함량을 갖는 제제.

청구항 46

제 1 항, 제 3 항 또는 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

0.1% w/v~8.0% w/v의 펩티드를 포함하는 제제.

청구항 47

제 2 항 또는 제 46 항에 있어서,

0.5% w/v~6.0% w/v의 펩티드, 예를 들면 0.5% w/v~3.0% w/v, 0.5% w/v~1.5% w/v, 0.5% w/v~1.0% w/v, 또는 0.7% w/v~0.8% w/v의 펩티드를 포함하는 제제.

청구항 48

제 4 항에 있어서,

0.25% w/v~6.0% w/v의 펩티드를 포함하는 하이드로겔.

청구항 49

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 90% w/v~99.9% w/v 수용액을 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 50

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 하이드로겔을 형성하기 위해 유효량의 이온성 염 및 생물학적 완충제를 포함하는 버퍼를 추가로 포함하는 제제.

청구항 51

제 50 항 또는 제 4 항에 있어서,

상기 버퍼는 물, 산, 염기 및 무기물 중 적어도 하나를 추가로 포함하는 제제.

청구항 52

제 50 항 또는 제 4 항에 있어서,

상기 버퍼는 실질적으로 생리적 pH를 갖거나, 산성이거나, 알칼리이거나, 또는 실질적으로 중성인 제제.

청구항 53

제 50 항 또는 제 4 항에 있어서,

상기 버퍼의 양 및 조성은 표적 부위에서 실질적으로 생리적 pH를 유지하도록 하이드로겔의 pH를 조절하기 위해 선택되는 제제.

청구항 54

제 50 항 또는 제 4 항에 있어서,

상기 버퍼는 약 5mM~약 200mM의 이온성 염을 포함하는 제제.

청구항 55

제 54 항에 있어서,

상기 이온성 염은 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 철, 암모늄, 피리듐, 4차 암모늄, 클로라이드, 시트레이트, 아세테이트 및 술페이트 이온 중 적어도 하나로 해리되는 제제.

청구항 56

제 54 항에 있어서,

상기 이온성 염은 염화나트륨, 염화암모늄, 염화마그네슘, 염화칼륨, 염화칼슘, 황산암모늄, 황산마그네슘, 황산나트륨, 황산칼륨, 황산칼슘, 중탄산나트륨, 및 이들의 조합 중 적어도 하나를 포함하는 제제.

청구항 57

제 56 항에 있어서,

상기 버퍼는 약 10mM~약 150mM의 염화나트륨을 포함하는 제제.

청구항 58

제 54 항에 있어서,

상기 버퍼는 상기 하이드로겔의 강성을 제어하는 데 유효한 양의 이온성 염을 포함하는 제제.

청구항 59

제 50 항 또는 제 4 항에 있어서,

상기 버퍼는 약 1mM~약 150mM의 생물학적 완충제를 포함하는 제제.

청구항 60

제 59 항에 있어서,

상기 생물학적 완충제는 비스-트리스 프로판(BTP), 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄술폰산(HEPES), 둘베코 변형 이글 배지(DMEM), 트리스(히드록시메틸)아미노메탄(TRIS), 2-(N-모르폴리노)에탄술폰산 헤미나트륨염, 4-모르폴린에탄술폰산 헤미나트륨염(MES), 3-(N-모르폴리노)프로판술폰산(MOPS), 및 3-(N-모르폴리노)프로판술폰산산(MOBS), 트리신, 비신, (트리스(히드록시메틸)메틸아미노)프로판술폰산(TAPS), N-(2-아세트아미도)-2-아미노에탄술폰산(ACES), β -히드록시-4-모르폴린프로판술폰산, 3-모르폴리노-2-히드록시프로판술폰산(MOPSO), (N,N-비스(2-히드록시에틸)-2-아미노에탄술폰산)(BES) 및 이들의 조합에서 선택되는 제제.

청구항 61

제 60 항에 있어서,

상기 버퍼는 약 10mM~약 100mM BTP를 포함하는 제제.

청구항 62

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 2.5~9.0의 pH 수준을 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 63

제 62 항에 있어서,

상기 펩티드는 7.0~8.0의 pH 수준을 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 64

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 실질적으로 투명한 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 65

제 64 항에 있어서,

상기 실질적으로 투명한 하이드로겔은 거시적 및 미시적 광학 이미징에 의해 결정된 바와 같은 가시적 탁도를 실질적으로 갖지 않는 제제.

청구항 66

제 65 항에 있어서,

상기 실질적으로 투명한 하이드로겔은 정적 광산란(SLS) 및 UV-VIS 시험에 의해 나타난 바와 같은 가시적인 펩티드 응집체를 실질적으로 포함하지 않는 제제.

청구항 67

제 64 항에 있어서,

상기 실질적으로 투명한 하이드로겔은 약 205nm~약 300nm의 파장에서 약 $0.1 \sim 3.0 \pm 1.5$ 의 UV-VIS 흡광도를 갖는 제제.

청구항 68

제 64 항에 있어서,

생체적합성 염료를 추가로 포함하는 제제.

청구항 69

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 펩티드는 나노 다공성 구조를 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 70

제 69 항에 있어서,
상기 나노 다공성 구조는 1nm~1000nm의 평균 공극 크기 및 1nm~100nm의 피브릴 폭을 갖는 제제.

청구항 71

제 70 항에 있어서,
상기 나노 다공성 구조는 표적 미생물에 대해 불투과성이도록 선택되는 제제.

청구항 72

제 71 항에 있어서,
상기 나노 다공성 구조는 가스 교환을 허용하도록 선택되는 제제.

청구항 73

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 펩티드는 양이온성 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 74

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 펩티드는 전단 담화 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 75

제 74 항에 있어서,
상기 펩티드는 적용된 기계적 힘에 반응하여 가역적으로 분해되도록 구성되는 제제.

청구항 76

제 74 항에 있어서,
상기 펩티드는 온도 변화, pH 변화, 이온 킬레이트제와의 접촉, 용매로의 희석, 적용된 음파, 동결건조, 및 공기 건조 중 적어도 하나에 반응하여 가역적으로 분해되도록 구성되는 제제.

청구항 77

제 74 항에 있어서,
상기 펩티드는 실질적으로 스프레이 가능한 및/또는 주사 가능한 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 78

제 74 항에 있어서,
상기 펩티드는 유동학 시험에 의해 결정된 바와 같은 약 2Pa~약 3500Pa의 전단 모듈러스를 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 79

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 실질적으로 이온 가교된 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 80

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 소수성 아미노산 잔기는 미리 결정된 2차 구조를 갖는 폴리머로 펩티드를 자기 조립하도록 선택되는 제제.

청구항 81

제 80 항에 있어서,

상기 미리 결정된 2차 구조는 β -시트, α -나선, 및 랜덤 코일 중 적어도 하나에서 미리 선택된 구조를 포함하는 제제.

청구항 82

제 81 항에 있어서,

상기 미리 선택된 구조는 β -헤어핀을 포함하는 제제.

청구항 83

제 82 항에 있어서,

상기 소수성 아미노산 잔기는 대부분의 β -시트 구조를 갖는 폴리머로 펩티드가 자기 조립하도록 선택되는 제제.

청구항 84

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 소수성 아미노산 잔기의 양 및 유형은 상기 하이드로겔의 강성을 제어하도록 선택되는 제제.

청구항 85

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 폴딩기는 β -헤어핀 2차 구조를 채택하도록 구성되는 제제.

청구항 86

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 폴딩기는 나노 다공성 하이드로겔 3차 구조를 채택하도록 구성되는 제제.

청구항 87

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 항미생물 특성, 항바이러스 및/또는 항진균 특성을 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 88

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 실질적으로 생체적합성인 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 89

제 88 항에 있어서,

상기 펩티드는 세포친화성 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 90

제 89 항에 있어서,

상기 펩티드는 실질적으로 생분해성, 비염증성 및/또는 무독성 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 91

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 관능기를 포함하는 제제.

청구항 92

제 91 항에 있어서,

상기 관능기는 3~30개의 아미노산 잔기를 갖는 제제.

청구항 93

제 91 항에 있어서,

상기 관능기는 생체활성 특성을 발현하도록 조작되는 제제.

청구항 94

제 91 항에 있어서,

상기 관능기는 상기 펩티드 또는 제제의 전하 또는 pH를 조절 또는 변경하도록 조작되는 제제.

청구항 95

제 91 항에 있어서,

상기 관능기는 표적 표시를 위해 조작되는 제제.

청구항 96

제 95 항에 있어서,

상기 표적 표시는 세포 배양, 세포 전달, 상처 치유, 생물막의 치료, 및 이들의 조합에서 선택되는 제제.

청구항 97

제 91 항에 있어서,

상기 관능기는 RGD, IKVAV, YIGSR, LKKTETQ, SNKPGVL, PKPQQFFGLM, GKLTWQELYQLKYKGI, 및 GGG에서 선택되는 서열을 갖는 제제.

청구항 98

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 펩티드는 링커 및 스페이서에서 선택되는 수식을 포함하는 제제.

청구항 99

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제제는 국소, 경장 또는 비경구 투여를 위해 포물레이팅되는 제제.

청구항 100

제 99 항에 있어서,

스프레이, 에어로졸, 드롭퍼, 튜브, 앰플, 필름, 점적주입, 주사, 또는 시린지에 의한 투여를 위해 포물레이팅

되는 제제.

청구항 101

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
전신 투여를 위해 포물레이팅되는 제제.

청구항 102

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
미생물 오염의 치료 또는 표적 미생물의 증식의 제거 또는 억제를 위해 포물레이팅되는 제제.

청구항 103

제 102 항에 있어서,
상기 표적 미생물이 병원성 미생물인 제제.

청구항 104

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
미생물 바이오버든의 관리 또는 억제를 위해 포물레이팅되는 제제.

청구항 105

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
진균 오염의 치료를 위해 포물레이팅되는 제제.

청구항 106

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
바이러스 오염의 치료를 위해 포물레이팅되는 제제.

청구항 107

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
박테리아 오염의 치료를 위해 포물레이팅되는 제제.

청구항 108

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
세포 배양 및/또는 세포 전달을 위해 포물레이팅되는 제제.

청구항 109

제 108 항에 있어서,
조직 배양 및/또는 조직 전달을 위해 포물레이팅되는 제제.

청구항 110

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
감염된 상처의 치료 및/또는 생물막의 치료 또는 억제를 위해 포물레이팅되는 제제.

청구항 111

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상처 및/또는 생물막 관리를 위해 포물레이팅되는 제제.

청구항 112

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

상처 또는 조직의 수분 관리 및/또는 삼출물 관리를 위해 포물레이팅되는 제제.

청구항 113

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

필름, 배리어, 배리어 드레싱, 피사 조직 제거제 및/또는 지혈제로서 포물레이팅되는 제제.

청구항 114

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

활성제, 예를 들면 항균 조성물, 항진균 조성물, 항바이러스 조성물, 항종양 조성물, 항취 조성물, 지혈제, 항염증 조성물, 세포 배양 배지, 세포 배양 혈청, 및 진통, 국소 마취 또는 통증 완화 조성물 중 적어도 하나를 추가로 포함하는 제제.

청구항 115

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

유효량의 무기물 점토를 추가로 포함하는 제제.

청구항 116

제 115 항에 있어서,

약 0.1% w/v~약 20% w/v의 무기물 점토를 포함하는 제제.

청구항 117

제 116 항에 있어서,

상기 무기물 점토는 라포나이트 및 몬모릴로나이트 중 적어도 하나를 포함하는 제제.

청구항 118

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

-20℃~150℃에서 열적으로 안정한 제제.

청구항 119

제 118 항에 있어서,

최종 멸균 및/또는 오토클레이브 멸균에 의해 멸균되는 제제.

청구항 120

제 118 항에 있어서,

실온에서 적어도 약 1~5년의 저장 수명을 갖는 제제.

청구항 121

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

2℃~125℃에서 열적으로 안정한 제제.

청구항 122

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
초음파 처리되는 제제.

청구항 123

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
약 25psi 이하의 압력에서, 안정한, 예를 들면 물리적으로 안정하고, 화학적으로 안정하고, 및/또는 생물학적으로 안정한 제제.

청구항 124

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 펩티드는 2℃~40℃의 온도에서 자기 조립할 수 있는 제제.

청구항 125

제 124 항에 있어서,
상기 펩티드는 40℃ 초과 온도에서 실질적으로 조립되지 않는 제제.

청구항 126

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 펩티드는 약 60분 미만, 약 30분 미만, 약 15분 미만, 약 10분 미만, 또는 약 5분 미만, 약 2분 미만, 약 60초 미만, 약 30초 미만, 약 10초 미만, 약 3초 미만 또는 약 1초 미만 내에 자기 조립하도록 구성되는 제제.

청구항 127

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 펩티드는 약 30초 미만, 약 10초 미만, 또는 약 3초 미만 내에 자기 조립을 개시하도록 구성되는 제제.

청구항 128

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 펩티드는 생체적합성 용액에 용해되는 제제.

청구항 129

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 생체적합성 용액은 탈이온수, 제약 등급수 또는 주사 등급수를 포함하거나 또는 이들로 본질적으로 이루어진 수용액인 제제.

청구항 130

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,
방부제를 실질적으로 포함하지 않는 제제.

청구항 131

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 기재된 제제의 유효량을 피험체에게 투여하는 단계를 포함하는 피험체를 치료하는 방법.

청구항 132

제 1 항 내지 제 131 항 중 어느 한 항에 기재된 펩티드와 생체적합성 용액을 조합하는 단계를 포함하는 펩티드 제제의 제조 방법.

청구항 133

제 1 항 내지 제 132 항 중 어느 한 항에 기재된 펩티드, 생체적합성 용액 및 버퍼를 조합하는 단계를 포함하는 자기 조립 펩티드 하이드로겔의 제조 방법.

청구항 134

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 기재된 제제;

하이드로겔로의 펩티드의 자기 조립을 유도하도록 구성된 버퍼; 및

피험체에게 제제를 투여하기 전 또는 투여와 동시에 상기 제제와 상기 버퍼를 조합하기 위한 설명서를 포함하는 키트.

청구항 135

제 134 항에 있어서,

상기 버퍼는 하이드로겔을 형성하기 위해 유효량의 이온성 염 및 생물학적 완충제를 포함하는 키트.

청구항 136

제 134 항에 있어서,

전달 장치를 추가로 포함하는 키트.

청구항 137

제 136 항에 있어서,

상기 전달 장치는 시린지, 드롭퍼, 필름 또는 스프레이인 키트.

청구항 138

제 134 항에 있어서,

혼합 장치를 추가로 포함하는 키트.

청구항 139

제 138 항에 있어서,

상기 혼합 장치는 다중 챔버 장치, 예를 들면 2-챔버 장치인 키트.

청구항 140

제 138 항에 있어서,

상기 혼합 장치는 정적 혼합 장치인 키트.

청구항 141

제 138 항에 있어서,

하이드로겔을 형성하기 위해 상기 혼합 장치에서 제제와 버퍼를 조합하기 위한 설명서를 추가로 포함하는 키트.

청구항 142

제 134 항에 있어서,

항박테리아 포물레이션, 항진균 포물레이션, 항바이러스 포물레이션, 지혈제 포물레이션, 항종양 포물레이션, 항염증 포물레이션, 세포 배양 배지, 세포 배양 혈청, 항취 포물레이션, 및 진통, 국소 마취 또는 통증 완화 포물레이션 중 적어도 하나를 추가로 포함하는 키트.

청구항 143

제 134 항에 있어서,
국소 드레싱을 추가로 포함하는 키트.

청구항 144

제 134 항에 있어서,
키트를 실온에서 보관하기 위한 설명서를 추가로 포함하는 키트.

청구항 145

제 144 항에 있어서,
포장 후 약 1~5년의 유통기한의 표시를 추가로 포함하는 키트.

청구항 146

제 134 항에 있어서,
온도 조절 장치, pH 조절 첨가제, 이온 킬레이트제 조성물, 용매, 소음 조절 장치, 동결건조 장치 및 공기 건조 장치 중 적어도 하나를 추가로 포함하는 키트.

청구항 147

생체적합성 수용액 중에 정제된 양친매성 펩티드를 포함하는 열적으로 안정한 제제로서, 상기 펩티드는 실질적으로 교대 패턴으로 배열된 복수의 하전된 아미노산 잔기와 소수성 아미노산 잔기, 및 턴 서열을 갖는 폴딩기를 포함하고, 상기 펩티드는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성되는 열적으로 안정한 제제, 및

하이드로겔을 형성하기 위해 유효량의 이온성 염 및 생물학적 완충제를 포함하는 버퍼로 형성된 하이드로겔로 외부 표면의 적어도 일부가 코팅된 의료 또는 수술 도구.

청구항 148

제 147 항에 있어서,
상기 도구는 적어도 부분적으로 이식형인 의료 또는 수술 도구.

발명의 설명

기술 분야

[0001] (관련 출원에 대한 상호 참조)

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. § 119(e) 하에 2020년 8월 10일에 출원된 발명의 명칭이 "자기 조립 양친매성 펩티드 하이드로겔"인 미국 가특허출원번호 63/063,743에 대한 우선권을 주장하고, 그 전체 개시가 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다.

[0003] (미국연방정부가 지원하는 연구에 관한 진술)

[0004] 본 발명은 미국국립보건원(NIH)이 수여한 미국 중소기업기술혁신연구(SBIR) 보조금 번호 1R44GM133305-01 하에 정부 지원으로 이루어졌다. 미국 정부는 본 발명에 대해 소정 권리를 갖는다.

[0005] (서열 목록)

[0006] 본 출원은 ASCII 형식으로 전자적으로 제출된 서열목록을 포함하며, 이로써 그 전체가 참고로 포함된다. 2021년 8월 6일에 생성된 상기 ASCII 사본의 명칭은 G2093-7001WOFSR_SL.txt이며, 크기는 9,674바이트이다.

[0007] 본원에 개시된 양태 및 실시형태는 자기 조립 펩티드의 투여를 위한 시스템 및 방법에 관한 것이다. 특히, 양태 및 실시형태는 양친매성 펩티드 포물레이션(amphiphilic peptide formulation) 및 양친매성 펩티드 포물레이션의 투여 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0008] 조직 공학은 생물학적 조직을 대체, 복구 및/또는 강화시키기 위해 적절한 생화학적 및 생리학적 특성을 갖는 재료를 사용하는 것을 포함한다. 관련된 특정 조직은 적절한 기능을 위한 소정의 기계적 및 구조적 요건을 가질 수 있다. 특정 표적 조직과 함께 사용하기 위해 쉽게 조정할 수 있고 또한 조직 공학에 적합한 생화학적 및 생리학적 특성을 갖는 재료에 대한 필요성이 있다.

발명의 내용

[0009] 한 양태에 따르면, 실질적으로 교대 패턴으로 배열된 복수의 하전된 아미노산 잔기 및 소수성 아미노산 잔기, 및 턴 서열을 갖는 폴딩기를 포함하는 정제된 양친매성 펩티드를 포함하는 제제가 제공된다. 상기 펩티드는 하이드로겔로 자기 조립하고, 또한 -7~+11의 순 전하(net charge)를 갖도록 구성될 수 있다. 제제는 생체적합성 수용액을 포함할 수 있다. 제제는 열적으로 안정할 수 있다.

[0010] 또 다른 양태에 따르면, 실질적으로 교대 패턴으로 배열된 복수의 하전된 아미노산 잔기와 소수성 아미노산 잔기, 및 턴 서열을 갖는 폴딩기를 포함하는 정제된 양친매성 펩티드를 0.5% w/v~6.0% w/v를 포함하는 제제가 제공된다. 상기 펩티드는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다. 제제는 생체적합성 수용액을 포함할 수 있다. 제제는 열적으로 안정할 수 있다.

[0011] 또 다른 양태에 따르면, 실질적으로 교대 패턴으로 배열된 복수의 하전된 아미노산 잔기와 소수성 아미노산 잔기, 및 턴 서열을 갖는 폴딩기를 포함하는 정제된 양친매성 펩티드를 포함하는 제제가 제공된다. 상기 펩티드는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다. 제제는 유효량의 카운터이온을 포함할 수 있다. 제제는 생체적합성 수용액을 포함할 수 있다. 제제는 열적으로 안정할 수 있다.

[0012] 또 다른 양태에 따르면, 실질적으로 교대 패턴으로 배열된 복수의 하전된 아미노산 잔기와 소수성 아미노산 잔기, 및 턴 서열을 갖는 폴딩기 턴 서열을 포함하는 정제된 양친매성 펩티드를 포함하는 제제로 형성된 하이드로겔이 제공된다. 상기 펩티드는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다. 제제는 생체적합성 수용액을 포함할 수 있다. 제제는 하이드로겔을 형성하기 위해 유효량의 이온성 염 및 생물학적 완충제를 포함하는 버퍼를 포함할 수 있다. 제제는 열적으로 안정할 수 있다.

[0013] 제제는 하이드로겔을 형성하기 위해 펩티드의 자기 조립을 유도하도록 구성된 버퍼를 포함할 수 있다.

[0014] 일부 실시형태에 있어서, 펩티드, 생체적합성 용액 및 버퍼 중 임의의 하나 이상은 개별적으로 제공될 수 있다.

[0015] 펩티드는 약 10~200개의 아미노산 잔기를 가질 수 있다.

[0016] 폴딩기는 약 2~50개의 아미노산 잔기를 가질 수 있다.

[0017] 소수성 아미노산 잔기는 독립적으로 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트레오닌, 트립토판 및 이들의 조합에서 선택될 수 있다.

[0018] 일부 실시형태에 있어서, 소수성 아미노산 잔기는 발린일 수 있다.

[0019] 일부 실시형태에 있어서, 제제는 무균일 수 있다.

[0020] 하전된 아미노산 잔기는 양으로 하전된 아미노산 잔기일 수 있다.

[0021] 하전된 아미노산 잔기는 독립적으로 아르기닌, 라이신, 트립토판, 히스티딘 및 이들의 조합에서 선택될 수 있다.

[0022] 폴딩기는 2~10개의 양으로 하전된 아미노산 잔기를 가질 수 있다.

[0023] 폴딩기는 아르기닌 및 라이신에서 선택되는 6개의 양으로 하전된 아미노산 잔기를 가질 수 있다.

[0024] 하전된 아미노산 잔기는 음으로 하전된 아미노산 잔기일 수 있다.

[0025] 하전된 아미노산 잔기는 독립적으로 아스파르트산, 글루탐산 및 이들의 조합에서 선택될 수 있다.

[0026] 일부 실시형태에 있어서, 펩티드의 N-말단 및 C-말단 중 적어도 하나는 수식될 수 있다.

[0027] 수식은 amid화될 수 있다.

[0028] 일부 실시형태에 있어서, 펩티드의 N-말단 및 C-말단 중 적어도 하나는 포함되지 않을 수 있다.

[0029] 일부 실시형태에 있어서, 폴딩기는 $Y[AY]_N[T][YA]_MY$ 를 포함하는 서열을 가질 수 있으며, 여기서 A는 염기성, 중

성, 지방족, 방향족, 극성 및 하전된 아미노산 중 하나 이상에서 선택되는 1~3개의 아미노산이고, Y는 1~3개의 소수성 아미노산이고, T는 2~8개의 턴 서열 아미노산이고, N 및 M은 각각 독립적으로 2~10이다.

- [0030] 일부 실시형태에 있어서, 폴딩기는 $Y[XY]_N[T][YX]_MY$ 를 포함하는 서열을 가질 수 있으며, 여기서 X는 1~3개의 하전된 아미노산이고, Y는 1~3개의 소수성 아미노산이며, T는 2~8개의 턴 서열 아미노산이고, N 및 M은 각각 독립적으로 2~10이다.
- [0031] 턴 서열은 독립적으로 D-프롤린, L-프롤린, 아스파르트산, 트레오닌 및 아스파라긴에서 선택된 2~8개의 아미노산 잔기를 가질 수 있다.
- [0032] 턴 서열은 1~4 개의 프롤린 잔기를 가질 수 있다.
- [0033] 일부 실시형태에 있어서, 폴딩기는 $(Z)c(Y)b(X)a-[(d)PP, (d)PG, \text{ 또는 } NG]-(X)a(Y)b(Z)c$ 를 포함하는 서열을 가질 수 있고, 여기서 턴 서열은 (d)PP, (d)PG 또는 NG이고, (d)P는 D-프롤린이고, X는 하전된 아미노산이고, Y는 소수성 아미노산이고, Z는 소수성 아미노산 또는 극성 아미노산이고, a, b 및 c는 각각 독립적으로 1~10의 정수이다.
- [0034] 펩티드는 유효량의 카운터이온을 포함할 수 있다.
- [0035] 카운터이온은 아세테이트, 시트레이트 및 클로라이드 카운터이온 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [0036] 카운터이온은 아세테이트 카운터이온을 포함할 수 있다.
- [0037] 펩티드는 클로라이드 카운터이온을 실질적으로 포함하지 않을 수 있다.
- [0038] 생체적합성 용액은 클로라이드 이온을 실질적으로 포함하지 않을 수 있다.
- [0039] 펩티드는 적어도 80% 정제될 수 있다. 예를 들면, 펩티드는 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 95%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 적어도 99.9% 정제될 수 있다.
- [0040] 정제된 펩티드는 10중량% 미만의 잔류 유기 용매를 가질 수 있다. 예를 들면, 정제된 펩티드는 8% 미만, 5% 미만, 2% 미만, 1% 미만 또는 0.1% 미만의 잔류 유기 용매를 가질 수 있다.
- [0041] 정제된 펩티드는 약 1% w/v 미만의 잔류 트리플루오로아세트산(TFA) 농도를 가질 수 있다.
- [0042] 정제된 펩티드는 약 410ppm 미만의 잔류 아세토니트릴 농도를 가질 수 있다.
- [0043] 정제된 펩티드는 약 880ppm 미만의 잔류 N,N-디메틸포름아미드 농도를 가질 수 있다.
- [0044] 정제된 펩티드는 약 5000ppm 미만의 잔류 트리에틸아민 농도를 가질 수 있다.
- [0045] 정제된 펩티드는 약 1000ppm 미만의 잔류 에틸에테르 농도를 가질 수 있다.
- [0046] 정제된 펩티드는 약 100ppm 미만의 잔류 이소프로판올 농도를 가질 수 있다.
- [0047] 정제된 펩티드는 약 0.1% w/v 미만의 잔류 아세트산 농도를 가질 수 있다.
- [0048] 정제된 펩티드는 동결건조될 수 있다.
- [0049] 펩티드는 온도 변화, pH 변화, 광 노출, 적용된 음파, 시간 경과 중 적어도 하나에 반응하여 미리 결정된 2차 구조를 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0050] 펩티드는 -7~+11의 순 전하를 가질 수 있다.
- [0051] 펩티드는 +2~+11의 순 전하를 가질 수 있다.
- [0052] 펩티드는 +5~+9의 순 전하를 가질 수 있다.
- [0053] 펩티드는 70% w/v~99.9% w/v 질소를 가질 수 있다.
- [0054] 펩티드는 약 10EU/mg 미만의 박테리아 내독소 수준을 가질 수 있다.
- [0055] 펩티드는 약 1% w/v~약 15% w/v의 수분 함량을 가질 수 있다.
- [0056] 제제는 0.1% w/v~8.0% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다.

- [0057] 제제는 0.5% w/v~6.0% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다.
- [0058] 제제는 0.5% w/v~3.0% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다.
- [0059] 제제는 0.5% w/v~1.5% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다.
- [0060] 제제는 0.5% w/v~1.0% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다.
- [0061] 제제는 0.7% w/v~2.0% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다.
- [0062] 제제는 0.7% w/v~0.8% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다.
- [0063] 하이드로겔은 0.25% w/v~6.0% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다.
- [0064] 하이드로겔은 1.5% w/v~6.0% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다.
- [0065] 하이드로겔은 0.25% w/v~3.0% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다.
- [0066] 펩티드는 90% w/v~99.9% w/v 수용액을 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0067] 제제는 하이드로겔을 형성하기 위해 유효량의 이온성 염 및 생물학적 완충제를 포함하는 버퍼를 포함할 수 있다.
- [0068] 상기 버퍼는 물, 산, 염기 및 무기물 중 적어도 하나를 추가로 포함할 수 있다.
- [0069] 버퍼는 실질적으로 생리적 pH를 가질 수 있다.
- [0070] 버퍼는 산성일 수 있다.
- [0071] 버퍼는 알칼리성일 수 있다.
- [0072] 버퍼는 실질적으로 중성일 수 있다.
- [0073] 일부 실시형태에 있어서, 버퍼의 양 및 조성은 표적 부위에서 실질적으로 생리적 pH를 유지하기 위해 하이드로겔의 pH를 조절하도록 선택될 수 있다.
- [0074] 버퍼는 약 5mM~약 200mM의 이온성 염을 포함할 수 있다.
- [0075] 이온성 염은 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 철, 암모늄, 피리듐, 4차 암모늄, 클로라이드, 시트레이트, 아세트이트 및 술페이트 이온 중 적어도 하나로 해리될 수 있다.
- [0076] 이온성 염은 염화나트륨, 염화암모늄, 염화마그네슘, 염화칼륨, 염화칼슘, 황산암모늄, 황산마그네슘, 황산나트륨, 황산칼륨, 황산칼슘, 중탄산나트륨 및 이들의 조합 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [0077] 버퍼는 약 10mM~약 150mM 염화나트륨을 포함할 수 있다.
- [0078] 버퍼는 하이드로겔의 강성을 조절하는 데 유효한 양의 이온성 염을 포함할 수 있다.
- [0079] 버퍼는 약 1mM~약 150mM의 생물학적 완충제를 포함할 수 있다.
- [0080] 생물학적 완충제는 비스-트리스 프로판(BTP), 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄술폰산(HEPES), 돌베코 변형 이글 배지(DMEM), 트리스(히드록시메틸)아미노메탄(TRIS), 2-(N-모르폴리노)에탄술폰산 헤미나트륨염, 4-모르폴린에탄술폰산 헤미나트륨염(MES), 3-(N-모르폴리노)프로판술폰산(MOPS), 및 3-(N-모르폴리노)프로판술폰산산(MOBS), 트리신, 비신, (트리스(히드록시메틸)메틸아미노)프로판술폰산(TAPS), N-(2-아세트아미도)-2-아미노에탄술폰산(ACES), β -히드록시-4-모르폴린프로판술폰산, 3-모르폴리노-2-히드록시프로판술폰산(MOPSO), (N,N-비스(2-히드록시에틸)-2-아미노에탄술폰산)(BES) 및 이들의 조합에서 선택된다.
- [0081] 버퍼는 약 10mM~약 100mM의 BTP를 포함할 수 있다.
- [0082] 펩티드는 4.0~9.0의 pH 수준을 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0083] 펩티드는 7.0~8.0의 pH 수준을 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0084] 펩티드는 실질적으로 투명한 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0085] 실질적으로 투명한 하이드로겔은 거시적 및 미시적 광학 이미징에 의해 결정되는 가시적 탁도를 실질적으로 갖지 않을 수 있다.

- [0086] 실질적으로 투명한 하이드로겔은 정적 광산란(SLS) 및 UV-VIS 테스트에 의해 보여진 바와 같이 가시적 펩티드 응집체를 실질적으로 포함하지 않을 수 있다.
- [0087] 실질적으로 투명한 하이드로겔은 약 205nm~약 300nm의 파장에서 약 $0.1\sim3.0\pm1.5$ 의 UV-VIS 흡광도를 가질 수 있다.
- [0088] 제제는 생체적합성 염료를 추가로 포함할 수 있다.
- [0089] 펩티드는 나노 다공성 구조를 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0090] 나노 다공성 구조는 1nm~1000nm의 평균 공극 크기 및 1nm~100nm의 피브릴 폭을 가질 수 있다.
- [0091] 나노 다공성 구조는 표적 미생물에 불투과성이도록 선택될 수 있다.
- [0092] 나노 다공성 구조는 가스 교환을 허용하도록 선택될 수 있다.
- [0093] 펩티드는 양이온성 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0094] 펩티드는 전단 담화(shear-thinning) 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0095] 펩티드는 적용된 기계적 힘에 반응하여 가역적으로 분해되도록 구성될 수 있다.
- [0096] 펩티드는 온도 변화, pH 변화, 이온 킬레이트제와의 접촉, 용매로의 희석, 적용된 음파, 동결건조, 및 공기 건조 중 적어도 하나에 반응하여 가역적으로 분해되도록 구성될 수 있다.
- [0097] 펩티드는 실질적으로 스프레이 가능한 및/또는 주사 가능한 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0098] 펩티드는 유동학 시험에 의해 결정된 바와 같은 약 2Pa~약 3500Pa의 전단 모듈러스를 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0099] 펩티드는 실질적으로 이온 가교된 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0100] 소수성 아미노산 잔기는 미리 결정된 2차 구조를 갖는 폴리머로 펩티드를 자기 조립하도록 선택될 수 있다.
- [0101] 미리 결정된 2차 구조는 β -시트, α -나선, 및 랜덤 코일 중 적어도 하나에서 미리 선택된 구조를 포함할 수 있다.
- [0102] 미리 선택된 구조는 β -헤어핀을 포함할 수 있다.
- [0103] 소수성 아미노산 잔기는 대부분의 β -시트 구조를 갖는 폴리머로 펩티드가 자기 조립하도록 선택될 수 있다.
- [0104] 일부 실시형태에 있어서, 소수성 아미노산 잔기의 양 및 유형은 상기 하이드로겔의 강성(stiffness)을 제어하도록 선택될 수 있다.
- [0105] 일부 실시형태에 있어서, 폴딩기는 β -헤어핀 2차 구조를 채택하도록 구성될 수 있다.
- [0106] 일부 실시형태에 있어서, 폴딩기는 나노 다공성 하이드로겔 3차 구조를 채택하도록 구성될 수 있다.
- [0107] 펩티드는 항미생물 특성, 항바이러스 및/또는 항진균 특성을 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0108] 펩티드는 실질적으로 생체적합성인 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0109] 펩티드는 세포친화성 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0110] 펩티드는 실질적으로 생분해성, 비염증성 및/또는 무독성 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0111] 펩티드는 관능기를 포함할 수 있다.
- [0112] 관능기는 3~30개의 아미노산 잔기를 가질 수 있다.
- [0113] 관능기는 생체활성 특성을 발현하도록 조작될 수 있다.
- [0114] 관능기는 펩티드 또는 제제의 전하를 제어 또는 변경하도록 조작될 수 있다.
- [0115] 관능기는 펩티드 또는 제제의 pH를 조절 또는 변경하도록 조작될 수 있다.
- [0116] 상기 관능기는 표적 표시를 위해 조작될 수 있다.

- [0117] 표적 표시는 세포 배양, 세포 전달, 상처 치유, 생물막의 치료, 및 이들의 조합에서 선택될 수 있다.
- [0118] 관능기는 RGD, IKVAV, YIGSR, LKKTETQ, SNKPGVL, PKPQQFFGLM, GKLTWQELYQLKYKGI, 및 GGG에서 선택되는 서열을 가질 수 있다.
- [0119] 펩티드는 링커 및 스페이서에서 선택되는 수식을 포함할 수 있다.
- [0120] 제제는 국소, 경장 또는 비경구 투여를 위해 포물레이팅될 수 있다.
- [0121] 제제는 스프레이, 에어로졸, 드롭퍼, 튜브, 앰플, 필름, 점적주입, 주사, 또는 시린지에 의한 투여를 위해 포물레이팅될 수 있다.
- [0122] 제제는 전신 투여를 위해 포물레이팅될 수 있다.
- [0123] 제제는 미생물 오염의 치료 또는 표적 미생물의 증식의 제거 또는 억제에 위해 포물레이팅될 수 있다.
- [0124] 표적 미생물은 병원성 미생물일 수 있다.
- [0125] 제제는 미생물 바이오버든의 관리를 위해 포물레이팅될 수 있다.
- [0126] 제제는 진균 오염의 치료를 위해 포물레이팅될 수 있다.
- [0127] 제제는 바이러스 오염의 치료를 위해 포물레이팅될 수 있다.
- [0128] 제제는 박테리아 오염의 치료를 위해 포물레이팅될 수 있다.
- [0129] 제제는 세포 배양 및/또는 세포 전달을 위해 포물레이팅될 수 있다.
- [0130] 제제는 조직 배양 및/또는 조직 전달을 위해 포물레이팅될 수 있다.
- [0131] 제제는 감염된 상처의 치료 및/또는 생물막의 치료 또는 억제를 위해 포물레이팅될 수 있다.
- [0132] 제제는 상처 및/또는 생물막 관리를 위해 포물레이팅될 수 있다.
- [0133] 제제는 상처 또는 조직의 수분 관리 및/또는 삼출물 관리를 위해 포물레이팅될 수 있다.
- [0134] 제제는 필름, 배리어 드레싱, 피사 조직 제거제 및/또는 지혈제로 포물레이팅될 수 있다.
- [0135] 제제는 활성제, 예를 들면 항박테리아 조성물, 항진균 조성물, 항바이러스 조성물, 항종양 조성물, 항취 조성물, 지혈제, 항염증 조성물, 세포 배양 배지, 세포 배양 혈청, 및 진통, 국소 마취 또는 통증 완화 조성물 중 적어도 하나를 추가로 포함할 수 있다.
- [0136] 제제는 유효량의 무기물 점토를 추가로 포함할 수 있다.
- [0137] 제제는 약 0.1% w/v~약 20% w/v의 무기물 점토를 포함할 수 있다.
- [0138] 무기물 점토는 라포나이트 및 몬토릴로나이트 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [0139] 제제는 -20℃~150℃에서 열적으로 안정할 수 있다.
- [0140] 제제는 최종 멸균 및/또는 오토클레이브 멸균에 의해 멸균될 수 있다.
- [0141] 제제는 실온에서 적어도 약 1~5년의 저장 수명을 가질 수 있다.
- [0142] 제제는 2℃~125℃에서 열적으로 안정할 수 있다.
- [0143] 제제는 초음파 처리될 수 있다.
- [0144] 제제는 약 25psi 이하의 압력에서 안정하고, 예를 들면 물리적으로 안정하고, 화학적으로 안정하고 및/또는 생물학적으로 안정할 수 있다.
- [0145] 펩티드는 2℃~40℃의 온도에서 자기 조립할 수 있다.
- [0146] 펩티드는 40℃ 초과 온도에서 실질적으로 조립되지 않을 수 있다.
- [0147] 펩티드는 약 60분 미만 내에 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0148] 펩티드는 약 30분 미만 내에 자기 조립하도록 구성될 수 있다.

- [0149] 펩티드는 약 15분 미만 내에 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0150] 펩티드는 약 10분 미만 내에 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0151] 펩티드는 약 5분 미만 내에 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0152] 펩티드는 약 2분 미만 내에 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0153] 펩티드는 약 60초 미만 내에 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0154] 펩티드는 약 30초 미만 내에 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0155] 펩티드는 약 10초 미만 내에 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0156] 펩티드는 약 3초 미만 내에 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0157] 펩티드는 약 1초 미만 내에 자기 조립하도록 구성될 수 있다.
- [0158] 펩티드는 약 30초 미만 내에 자기 조립을 개시하도록 구성될 수 있다.
- [0159] 펩티드는 약 10초 이내에 자기 조립을 개시하도록 구성될 수 있다.
- [0160] 펩티드는 약 3초 이내에 자기 조립을 개시하도록 구성될 수 있다.
- [0161] 펩티드는 생체적합성 용액에 용해될 수 있다.
- [0162] 생체적합성 용액은 수용액일 수 있다. 생체적합성 용액은 탈이온수, 제약 등급수 또는 주사 등급수를 포함할 수 있다. 생체적합성 용액은 본질적으로 탈이온수, 제약 등급수 또는 주사 등급수로 이루어질 수 있다.
- [0163] 제제는 방부제를 실질적으로 포함하지 않을 수 있다.
- [0164] 또 다른 양태에 따르면, 유효량의 제제를 피험체에게 투여하는 단계를 포함하는 피험체를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0165] 또 다른 양태에 따르면, 선행하는 청구항 중 임의의 하나에 기재된 펩티드와 생체적합성 용액을 조합하는 단계를 포함하는 펩티드 제제의 제조 방법이 제공된다.
- [0166] 또 다른 양태에 따르면, 선행하는 청구항 중 어느 하나에 기재된 펩티드, 생체적합성 용액 및 버퍼를 조합하는 단계를 포함하는 자기 조립 펩티드 하이드로겔의 제조 방법이 제공된다.
- [0167] 또 다른 양태에 따르면, 제제, 하이드로겔로의 펩티드의 자기 조립을 유도하도록 구성된 버퍼, 및 피험체에게 제제를 투여하기 전 또는 투여와 동시에 제제와 버퍼를 조합하기 위한 설명서를 포함하는 키트가 제공된다.
- [0168] 버퍼는 하이드로겔을 형성하기 위해 유효량의 이온성 염 및 생물학적 완충제를 포함할 수 있다.
- [0169] 키트는 전달 장치를 추가로 포함할 수 있다.
- [0170] 전달 장치는 시린지, 드롭퍼, 필름 또는 스프레이일 수 있다.
- [0171] 키트는 혼합 장치를 추가로 포함할 수 있다.
- [0172] 혼합 장치는 다중 챔버 장치일 수 있다.
- [0173] 혼합 장치는 2-챔버 장치일 수 있다.
- [0174] 혼합 장치는 정적 혼합 장치일 수 있다.
- [0175] 키트는 하이드로겔을 형성하기 위해 혼합 장치에서 제제와 버퍼를 조합하기 위한 설명서를 추가로 포함할 수 있다.
- [0176] 키트는 항균 포물레이션, 항진균 포물레이션, 항바이러스 포물레이션, 지혈제 포물레이션, 항종양 포물레이션, 항염증 포물레이션, 세포 배양 배지, 세포 배양 혈청, 항취 포물레이션, 및 진통, 국소 마취 또는 통증 완화 포물레이션 중 적어도 하나를 추가로 포함할 수 있다.
- [0177] 키트는 국소 드레싱을 추가로 포함할 수 있다.
- [0178] 키트는 키트를 실온에서 보관하기 위한 설명서를 추가로 포함할 수 있다.

[0179] 키트는 포장 후 약 1~5년의 유통기한의 표시를 추가로 포함할 수 있다.

[0180] 키트는 온도 조절 장치, pH 조절 첨가제, 이온 킬레이트제 조성물, 용매, 소음 조절 장치, 동결건조 장치 및 공기 건조 장치 중 적어도 하나를 추가로 포함할 수 있다.

[0181] 본 개시는 임의의 하나 이상의 상술한 양태 및/또는 실시형태의 모든 조합뿐만 아니라, 상세한 설명 및 임의의 예에서 설명된 임의의 하나 이상의 실시형태와의 조합을 고려한다.

도면의 간단한 설명

[0182] 첨부된 도면은 축척대로 그려지지 않았다. 도면에서, 다양한 도면에 도시된 각각의 동일하거나 거의 동일한 구성요소는 동일한 도면부호로 표시된다. 명확성을 위해, 모든 도면에 모든 구성요소에 표식되어 있지 않을 수 있다. 도면에서:

도 1a는 일 실시형태에 따른, 콜라겐과 비교하여 캡슐화된 세포를 갖는 조립된 펩티드 하이드로겔 매트릭스의 개략도 및 현미경 이미지를 포함하고;

도 1b는 일 실시형태에 따른, 혼합 장치의 개략도 및 하이드로겔 매트릭스 내의 세포의 모식도를 포함하고;

도 2는 일 실시형태에 따른, 종래의 폴리머와 비교하여 투여된 펩티드 하이드로겔의 지속적 치료 활성의 이미지를 포함하고;

도 3은 일 실시형태에 따른, 양으로 하전된 펩티드 하이드로겔의 현미경 이미지이고;

도 4는 일 실시형태에 따른, 펩티드 하이드로겔의 항미생물 활성을 나타내는 그래프이고;

도 5는 일 실시형태에 따른, 펩티드 하이드로겔의 항미생물 활성을 나타내는 박테리아 감염이 있는 마우스 모델의 화상 후 상처 이미지를 포함하고;

도 6은 일 실시형태에 따른, 펩티드 하이드로겔 상에 생착된 세포의 현미경 이미지를 포함하고;

도 7a는 일부 실시형태에 따른, 온도의 함수로서 예시적인 펩티드의 266nm에서의 정적 광산란(SLS)의 그래프이고;

도 7b는 일부 실시형태에 따른, 온도의 함수로서 예시적인 펩티드의 266nm에서의 정적 광산란(SLS)의 그래프이고;

도 8은 일 실시형태에 따른, 펩티드 농도의 함수로서 펩티드 하이드로겔의 흡광도를 나타내는 그래프를 포함하고;

도 9는 일 실시형태에 따른, pH 값의 함수로서 펩티드 제제의 순 전하를 나타내는 그래프이고;

도 10은 일 실시형태에 따른, 수 개의 아미노산 잔기에 대한 pH 7.4에서의 순 펩티드 전하의 시각적 표현이고;

도 11은 일 실시형태에 따른, 펩티드 제제로 처리한 후 MRSA의 미생물 증식의 그래프이고;

도 12는 일 실시형태에 따른, 제제의 저장 모듈러스 및 손실 모듈러스의 그래프이고;

도 13a는 일 실시형태에 따른, 제제 적용 후 녹농균(*P. aeruginosa*)의 성장을 나타내는 그래프이고;

도 13b는 일 실시형태에 따른, 제제 적용 후 MRSA의 성장을 나타내는 그래프이고;

도 14a는 일 실시형태에 따른, 제제의 저장 모듈러스 및 손실 모듈러스의 그래프이고;

도 14b는 일 실시형태에 따른, 제제의 저장 모듈러스 및 손실 모듈러스의 그래프이고;

도 15는 일 실시형태에 따른, 제제의 항미생물 활성의 그래프이고;

도 16a는 일 실시형태에 따른, 제제의 UPLC의 그래프이고;

도 16b는 일 실시형태에 따른, 제제의 UPLC의 그래프이고;

도 17은 일 실시형태에 따른, 제제의 항미생물 활성 그래프이고;

도 18은 일 실시형태에 따른, 제제의 세포 생존율의 그래프이고;

도 19는 일 실시형태에 따른, 제제의 유동학 데이터의 그래프이고;

도 20a는 일 실시형태에 따른, 라포나이트 제제의 유동학 데이터의 그래프이고;

도 20b는 일 실시형태에 따른, 제제의 유동학 데이터의 그래프이고;

도 21은 일 실시형태에 따른, 라포나이트 제제의 유동학 데이터의 그래프 및 펩티드 제제의 유동학 데이터의 그래프를 포함하고;

도 22는 일 실시형태에 따른, 비강 스프레이 어플리케이션에 의해 투여되는 제제의 이미지이고;

도 23은 일 실시형태에 따른, 에어로졸화에 의한 제제 투여 후의 박테리아 집락의 이미지이고;

도 24는 일 실시형태에 따른, 제제의 항미생물 활성 그래프이고;

도 25는 일 실시형태에 따른, 에어로졸화에 의한 제제의 투여 전후의 박테리아 집락의 이미지를 포함하고; 또한

도 26은 일 실시형태에 따른, 최종용도 용기에 제공된 제제의 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0183] 자기 조립 펩티드 하이드로겔을 포함하는 제제가 본원에 개시되어 있다. 자기 조립 펩티드는 양친매성일 수 있다. 펩티드는 일반적으로 실질적으로 고대 패틴으로 배열된 복수의 하전된 아미노산 잔기 및 소수성 잔기를 갖는 폴딩기를 가질 수 있다. 펩티드는 투여시 소망하는 물리적 또는 화학적 특성을 제공하기 위해 관능기를 포함할 수 있다. 정제된 펩티드는 제제의 생체적합성을 향상시키는 카운터이온을 포함할 수 있다. 카운터이온은 펩티드의 자기 조립, 물리적 및 화학적 특성을 제어할 수 있다. 카운터이온은 펩티드의 치료 기능적 특성을 향상시킬 수 있다. 제제는 생체적합성 수용액 중의 펩티드를 포함할 수 있다. 제제는 접촉 시 펩티드의 자기 조립을 유도할 수 있는 버퍼 용액을 포함할 수 있다. 버퍼 용액은 버퍼제 및 이온성 염을 함유할 수 있다. 버퍼 용액은 조립된 하이드로겔의 물리적 또는 화학적 특성을 제어하도록 설계될 수 있다. 제제는 열적으로 안정하도록 설계될 수 있다.
- [0184] 일반적으로, 제제는 전단 담화 특성 및 실질적으로 생리적 pH 수준을 가질 수 있다. 자기 조립된 하이드로겔은 항미생물, 항바이러스 및/또는 항진균 특성을 가질 수 있다. 제제는 국소적으로 또는 비경구적으로 투여될 수 있다. 제제는 조직 공학 적용을 위해 투여될 수 있다. 소정의 예시적인 적용은 세포 전달, 세포 배양, 진균 감염의 치료 및 예방, 박테리아 감염의 치료 및 예방, 상처 치유, 생물막의 치료, 생물막 관리, 및 만성 상처의 감염을 포함한 생물막 및 상처 감염의 예방을 포함한다. 다른 조직 공학 적용은 본 개시의 범위 내에 있다.
- [0185] 피험체에게 제제를 투여하는 방법이 본원에 개시되어 있다. 상기 방법은 일반적으로 투여를 위한 표적 부위를 선택하는 단계 및 표적 부위에 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 또한, 제제를 투여하는 방법은 하이드로겔을 형성하기 위해 펩티드의 자기 조립을 유도하도록 구성된 버퍼와 제제를 혼합하는 단계 및 하이드로겔을 표적 부위에 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 소정의 예시적인 실시형태에 있어서, 제제 및/또는 하이드로겔은 스프레이, 에어로졸, 드롭퍼, 튜브, 앰플, 점적주입, 주사, 또는 시린지에 의해 투여될 수 있다.
- [0186] 소정 실시형태에 있어서, 피험체에게 세포를 투여하는 방법이 본원에 개시되어 있다. 상기 방법은 일반적으로 자기 조립 펩티드를 포함하는 용액에 세포를 현탁시키는 단계 및 피험체의 표적 부위에 유효량의 현탁액을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 방법은 상기 용액을 펩티드의 자기 조립을 유도하도록 구성된 버퍼와 조합하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 용액은 투여 전, 투여와 동시에, 또는 투여 후에 버퍼와 조합될 수 있다. 상기 버퍼는 일반적으로 유효량의 이온성 염 및 생물학적 완충제를 포함할 수 있다.
- [0187] 수용액 중의 다른 펩티드와 달리, 본원에 개시된 펩티드는 자기 조립을 겪는다. 자기 조립은 펩티드가 표적 조직에 집중적으로 또는 국부적으로 투여되게 할 수 있다. 예를 들면, 자기 조립 펩티드는 유리 유동 펩티드(free floating peptide)와 비교했을 때 더 높은 농도로 투여될 수 있다. 자기 조립 펩티드는 투여시 국소화 효과로 인해 펩티드의 오프사이트(offsite) 독성을 감소시키는 임상적 이점을 나타낼 수 있다. 부가적으로, 표적 투여 부위의 부근에서 펩티드의 치료 용량이 증가될 수 있다.
- [0188] 수용액 중의 다른 폴리머와 달리, 본원에 개시된 펩티드는 표적 부위의 원위치에서 자기 조립을 겪을 수 있다. 원위치 자기 조립은 펩티드가 표적 조직에 투여되는 것을 가능하게 할 수 있고, 또한 물리적 또는 이온적으로 가교결합을, 예를 들면 투여 후 수초 이내에 할 수 있게 한다. 예를 들면, 자기 조립 펩티드는 표적 부위에 직접 투여될 수 있다. 기존의 유리 유동 펩티드 또는 폴리머는 일반적으로 가교결합제 또는 외부에서 첨가된 공유

가교결합제를 필요로 한다. 따라서, 본원에 개시된 자기 조립 펩티드는 제품 적용 및 복잡성을 감소시키는 임상적 이점을 제공할 수 있다. 부가적으로, 자기 조립 시 펩티드의 이온 가교결합은 생성물 제거와 표적 투여 부위에 대한 영구적 부착 사이에서 선택하는 이점을 제공할 수 있다.

[0189] 정의 선택

[0190] 하이드로겔은 연조직 및 골 공학(bone engineering)에 사용할 가능성이 큰 재료이다. 이러한 적용에서 중요한 재료가 되는 하이드로겔의 일반적인 특징은 잘 수화된 다공성 구조이다. 하이드로겔은 다양한 세포 유형, 예를 들면 섬유아세포 및 조골세포의 부착 및 증식과 호환되도록 설계되어, 연골, 힘줄, 인대 및 뼈와 같은 결합 조직을 생성하기 위한 잠재적인 조직 공학 스캐폴드가 될 수 있다.

[0191] 하이드로겔 재료는 세포적합성(cytocompatible)일 수 있다. 본원에서 정의된 세포적합성이란, 하이드로겔이 시험관내 및/또는 생체내에서 소망하는 세포에 유해하지 않아야 한다는 것을 의미한다. 세포에 대한 유해성은 세포독성, 세포 부착, 증식, 표현형 유지 및/또는 전구 세포의 분화에 의해 측정될 수 있다.

[0192] 하이드로겔 재료는 생체적합성일 수 있다. 본원에 정의된 "생체적합성"이란, 재료가 생체내에 배치될 경우 유익한 면역학적 및/또는 염증 반응을 야기하지 않는다는 것을 의미한다. 생체적합성은 국제표준화기구(ISO) 10993 표준에 따라 측정될 수 있다.

[0193] 하이드로겔 재료는 무독성 종을 제공하는 생분해성일 수 있다. 하이드로겔 재료는 단백질분해적 생분해성일 수 있다. 본원에서 정의된 "단백질분해적" 생분해는 세포 유래 프로테아제의 존재 및/또는 세포 증식에 따른 점진적인 분해에 반응하는 물질의 국소적 분해를 지칭한다. 하이드로겔 재료는 가수분해적 생분해성일 수 있다. 본원에서 정의된 "가수분해적" 생분해는 생물학적 조건 하에서 효소의 도움이 없는 폴리머 분해를 지칭한다.

[0194] 하이드로겔 재료는 생체흡수성일 수 있다. 본원에서 정의된 생체흡수성이란, 하이드로겔 재료가 신체에 신속히 흡수되는 자연 생성물인 잔유물로 분해되어 원래 질량이 완전히 손실되게 되는 것을 의미한다.

[0195] 하이드로겔 재료는 전단 담화(shear-thinning)일 수 있다. 본원에 기재된 "전단 담화"는 가변 겔보기 점도, 특히 적용된 응력이 증가함에 따라 감소하는 점도를 지칭한다. 예를 들면, 전단 담화 하이드로겔은 비뉴턴 유체 특성을 나타낼 수 있다. 특히 본원에 개시된 하이드로겔은 바늘 또는 카테터를 통해 투여될 수 있고, 기계적 힘이 제거된 후 빠르게 겔화를 재개할 수 있다.

[0196] 본원에 개시된 하이드로겔 및/또는 기타 재료는 하나 이상의 생리학적 특성을 갖는 것으로 나타내어질 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, 생리학적 특성 또는 값은 피험체와 호환되는 것들을 지칭한다. 특히, 생리학적 특성 또는 값은 특정 표적 조직과 호환되는 것들을 지칭할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 생리학적 특성 또는 값은 표적 조직의 특성 또는 값과 실질적으로 유사한 것들을 지칭할 수 있다. 생리학적 특성은 pH 값, 온도, 순 전하, 수분 함량, 강성 등 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0197] "자기 조립" 펩티드는 일반적으로 자극에 노출된 후 소망하는 2차 구조를 취하는 이러한 펩티드를 포함한다. 펩티드는 고차 구조, 예를 들면 3차원 네트워크, 및 결과적으로 하이드로겔로 자기 조립할 수 있다. 자기 조립된 하이드로겔은 전하 스크리닝, 소수성 및 디설피드 상호작용을 통해 3차 및/또는 4차 구조의 펩티드를 함유할 수 있다. 펩티드는 나선형 리본, 나노섬유, 나노튜브 및 소포, 표면 조립된 구조 등으로 자기 조립하는 것으로 관찰되었다. 자기 조립 펩티드는 소정 환경 조건, 예를 들면 pH, 온도, 순 전하, 광에 대한 노출, 적용된 음파, 또는 환경 요인의 존재 또는 부재에 반응하여 조립될 수 있다. 환경 조건은 피험체에게 투여시 또는 버퍼와의 조합에 의해 발생할 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 펩티드는 중성 pH 수준 하에서 용액 중에서 자발적으로 조립될 수 있다. 펩티드는 생리학적 조건 하에서 및/또는 양이온 및/또는 음이온의 존재하에서 용액 중에서 자발적으로 조립될 수 있다.

[0198] 자기 조립 펩티드는 알파 나선, 파이 나선, 베타 시트, 랜덤 코일, 턴, 베타 주름 평행(beta pleated parallel), 역평행, 트위스트, 벌지, 또는 가닥 연결 2차 구조, 및 이들의 조합으로 조립할 수 있다. 예를 들면, β -가닥으로 자기 조립하는 20개의 아미노산 펩티드는 테트라펩티드 서열(-VDPPT-)의 측면에 위치하는 교대하여 있는 발린 및 라이신 잔기를 포함할 수 있다. 낮은 이온 강도 및 완충 수용액에 용해될 때, 예시적인 펩티드는 양으로 하전된 라이신 잔기의 정전기적 반발로 인해 랜덤 코일 배좌이성체의 앙상블도 존재한다. 용액의 이온 강도 및/또는 pH의 증가시, 전하의 스크리닝 또는 충분한 양의 측쇄 아민의 탈양성자화로 인해 라이신계 양전하가 경감된다. 이 예시적인 작용에 의해 양친매성 β -헤어핀으로의 펩티드의 폴딩이 가능하게 된다. 폴딩된 상태에서, 예시적인 펩티드는 헤어핀의 측면 및 면 결합을 통해 자기 조립하여, β -시트가 풍부한 피브릴을 함유하는 비공유적으로 가교결합된 하이드로겔을 형성한다. 따라서, 자기 조립 펩티드는 펩티드 서열의 합리적

설계를 통해 다양한 조건 하에서 하이드로겔화되도록 설계될 수 있다.

- [0199] 본원에 개시된 자기 조립 펩티드는 나노 다공성 3차 구조로 조립될 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, 나노 다공성 구조는 평균 크기가 1~1000nm인 공극을 포함하는 3차원 매트릭스이다. 공극 또는 보이드는 3차원 매트릭스의 10체적%~90체적%를 구성할 수 있다. 예를 들면, 공극 또는 보이드는 3차원 매트릭스의 10체적%, 20체적%, 30체적%, 40체적%, 50체적%, 60체적%, 70체적%, 80체적% 또는 90체적%를 구성할 수 있다. 공극은 투과성일 수 있고, 액체 및/또는 기체의 확산을 허용할 수 있다. 나노 다공성 구조는 물리적 가교결합에 의해 구성됨으로써, 응력이 가해지면 이온 결합이 절단되고 재형성될 수 있다. 이러한 나노 다공성 구조는 세포가 매트릭스를 통해 부착 및/또는 이동할 수 있게 한다. 또한, 나노 다공성 구조는 조직의 내인성 세포외 매트릭스 환경을 모방할 수 있으며, 선택적으로 특정 조직을 모방하도록 선택될 수 있다.
- [0200] 펩티드의 "분해"는 자극에 노출된 후 저차 구조를 취하는 펩티드의 능력을 지칭할 수 있다. 또한, 분해는 자극에 노출된 후 저차 구조를 취하도록, 일시적으로 소수성 및 디설피드 결합을 절단하는 물리적으로 가교결합된 펩티드의 능력을 지칭할 수 있다. 예를 들면, 3차 구조 단백질은 2차 구조 단백질로 분해될 수 있고, 더 나아가 1차 구조 펩티드로 분해될 수 있다. 소정 실시형태에 따르면, 펩티드의 자기 조립 및 분해는 가역적일 수 있다.
- [0201] 본원에 개시된 제제 및 포몰레이션은 일반적으로 펩티드 제제라고 칭해질 수 있다. 펩티드 제제는 자기 조립 펩티드 및/또는 본원에 개시된 자기 조립 하이드로겔을 포함할 수 있다. 펩티드 제제는 세포적합성 및/또는 생체적합성 용액을 포함할 수 있다. 제제는 버퍼를 포함할 수 있다. 용액을 언급하지만, 제제는 액체, 겔 또는 고체 입자의 형태일 수 있다는 것은 이해되어야 한다. 소정 실시형태에 있어서, 예를 들면 제제는 조립된 하이드로겔의 형태일 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 제제는 동결건조된 분말의 형태일 수 있다.
- [0202] 펩티드 제제는 관능화된 펩티드, 세포, 배지, 혈청, 콜라겐 및 기타 구조 부여 성분, 항체 및 항원, 생체활성 소분자, 및 기타 생체활성 약물과 같은 조직 공학을 위한 하나 이상의 생체활성 성분을 추가로 포함할 수 있다. 본원에 기재된 "생체활성"은 생물학적 효과를 부여하는 화합물의 능력을 지칭한다.
- [0203] 본원에 개시된 세포 함유 제제 및 포몰레이션은 세포 현탁액이라고 칭해질 수 있다. 세포 현탁액은 용액에 현탁된 복수의 세포, 예를 들면 살아있는 세포를 포함한다. 용액은 물, 배지 또는 버퍼이거나 또는 이를 포함할 수 있다. 현탁액은 일반적으로 본원에 개시된 자기 조립 펩티드 및/또는 자기 조립 하이드로겔을 추가로 포함할 수 있다. 세포에 대해 언급하지만, 현탁액은 세포에 추가 또는 세포를 대신하여, 세포 단편 및/또는 조직, 예를 들면 조직 이식편을 함유할 수 있다. 예를 들면, 현탁액은 살아있는 또는 죽은 세포 또는 세포 단편, 스페로이드 및/또는 세포 집합체를 포함할 수 있다.
- [0204] 세포는 살아있는 조직으로부터 분리되고, 이어서 세포 배양에서 유지 및/또는 성장될 수 있다. 세포 배양 조건은 다양할 수 있지만, 일반적으로 필수 영양소, 예를 들면 아미노산, 탄수화물, 비타민, 무기물, 성장 인자, 호르몬, 및 가스, 예를 들면 CO₂ 및 O₂를 공급하고, 물리화학적 환경, 예를 들면 pH, 삼투압, 온도를 조절하는 기질 또는 배지를 구비한 적합한 용기에 세포를 유지하는 것을 포함한다. 세포는 살아있는 세포주, 예를 들면 단일 세포에서 유래하고 동일한 유전자 구성을 포함하는 HeLa 세포의 집단에서 유지될 수 있다.
- [0205] 본원에서 사용되는 "단리된"이라는 용어는 원래 또는 고유 환경(예를 들면, 자연적으로 발생하는 경우 자연 환경)에서 제거되는 물질을 지칭한다. 예를 들면, 살아있는 동물에 존재하는 자연 발생 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩티드는 단리되지 않지만, 자연계에서 공존하는 물질의 일부 또는 전부로부터 인간의 개입에 의해 분리된 동일한 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩티드는 단리된다. 이러한 폴리뉴클레오타이드는 벡터의 일부일 수 있고, 및/또는 이러한 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩티드는 조성물의 일부일 수 있으며, 이러한 벡터 또는 조성물이 자연에서 발견되는 환경의 일부가 아니라는 점에서는 여전히 단리될 수 있다.
- [0206] 본원에 사용된 상처, 병태 또는 질병의 "치료"는 유사하지만 치료되지 않은 피험체와 비교하여, 상처, 병태 또는 질병 중 적어도 하나의 증상의 중증도 또는 빈도를 감소시키는 것을 지칭한다. 또한, 치료는 유사하지만 치료되지 않은 피험체와 비교하여, 상처, 병태 또는 질병의 진행을 정지, 둔화 또는 반전시키는 것을 지칭할 수 있다. 치료는 상처, 병태 또는 질병 및/또는 하나 이상의 증상의 근본 원인을 해결하는 것을 포함할 수 있다. 상처, 병태 또는 질병의 "관리"는 이 상처, 병태 또는 질병 중 적어도 하나의 증상의 중증도 또는 빈도를 피험체 또는 의료 제공자가 결정한 바와 같이 허용 가능한 수준으로 감소시키는 것을 지칭할 수 있다.
- [0207] 본원에서 사용되는 유효량은 소망하는 결과를 달성하기에 충분한 용량을 지칭한다. 예를 들면, 유효량은 하이드로겔의 자기 조립을 달성하고 및/또는 소망하는 특성을 제공하기에 충분한 농도를 지칭할 수 있다. 유효량은 상처, 병태 또는 질병의 진행을 억제 또는 퇴행을 일으키기에 충분한 용량, 또는 상처, 병태 또는 질병의 증상을

완화할 수 있거나 또는 소망하는 결과를 달성할 수 있는 용량을 지칭할 수 있다. 유효량은, 예를 들면 제제, 용액 또는 버퍼 중에서의 펩티드 또는 기타 성분의 농도로 측정될 수 있다. 유효량은, 예를 들면 생체활성제의 농도, 또는 생체활성제의 효과 또는 부작용으로서 측정될 수 있다. 유효량은, 예를 들면 세포의 수 또는 생존 세포의 수, 또는 세포의 질량(예: 밀리그램, 그램 또는 킬로그램) 또는 세포의 부피(예를 들면 μm^3)로 측정될 수 있다.

[0208] 본 개시 전반에 걸쳐, 포물레이션은 조성물 또는 제제 또는 생성물을 지칭할 수 있다.

[0209] 본원에 사용된 바와 같이 "조합" 투여되는 것은 2개(또는 그 이상)의 상이한 치료가 상처를 입은 피험체의 고통의 과정 동안에 피험체에게 전달되는 것, 예를 들면 제제는 피험체가 병태 또는 상처가 진단된 후, 및 병태 또는 상처가 치료 또는 제거되기 전에, 제 2 제와 함께 전달되는 것 의미한다. 소정 실시형태에 있어서, 조합 투여는 제제가 하나 이상의 제 2 제를 추가로 포함하는 것을 의미한다. 일부 실시형태에 있어서, 제 2 치료의 전달이 개시될 때에도 하나의 치료의 전달이 여전히 일어나고 있으므로, 중복이 있다. 이는 본원에서 때때로 "동시(simultaneous)" 또는 "부대(concomitant)" 또는 "동시 전달"로 지칭된다. 다른 실시형태에 있어서, 하나의 치료의 전달은 다른 치료의 전달이 개시되기 전에 종료된다, 이는 때때로 본원에서 "연속적인" 또는 "순차적인 전달"로 지칭된다.

[0210] 어느 경우의 실시형태에 있어서, 조합 투여로 인해 치료가 더욱 효과적이다. 예를 들면, 제 2 제는 보다 효과적이며, 예를 들면 더 적은 양의 제 2 제로 동일한 효과가 나타나거나, 또는 제 2 제가, 본원에 개시된 제제의 부재하에 제 2 제가 투여된 경우에 나타나는 것보다 더 큰 정도로 증상을 감소시키거나. 또는 유사한 상황이 제제에 의해서 나타난다. 일부 실시형태에 있어서, 전달은 증상 또는 장애와 관련된 다른 파라미터의 감소가 다른 치료 없이 전달된 하나의 치료에 의해 관찰되는 것보다 더 커지는 것이다. 2개의 치료의 효과는 부분적으로 부가적이거나, 완전히 부가적이거나, 또는 부가적보다 더 커질(즉, 시너지적) 수 있다. 전달은 제 2 제가 전달될 때 제제의 투여 효과가 여전히 검출 가능한 것이다. 일부 실시형태에 있어서, 하나 이상의 치료는 상처가 있는 환자의 진단 이전에 전달될 수 있다.

[0211] 본원에서 사용되는 바와 같이, 피험체는 동물, 포유동물, 인간, 비인간 동물, 가축, 또는 반려동물을 포함할 수 있다. 용어 "피험체"는 인간 및 비인간 동물, 예를 들면 척추동물, 대동물 및 영장류를 포함하도록 의도된다. 소정 실시형태에 있어서, 피험체는 포유동물 피험체이고, 특정 실시형태에 있어서, 피험체는 인간 피험체이다. 인간에 대한 적용이 분명히 예견되지만, 예를 들면 비인간 동물에 대한 수의학적 적용도 본원에서는 예상된다. 본 개시의 "비인간 동물"이라는 용어는 모든 척추동물, 예를 들면 비포유동물(예를 들면 새, 예를 들면 닭; 양서류; 파충류) 및 포유동물, 예를 들면 비인간 영장류, 가축, 및 농업적으로 유용한 동물, 예를 들면 양, 개, 고양이, 소, 돼지, 래트 등을 포함한다. "비인간 동물"이라는 용어는, 예를 들면 마우스, 래트, 토끼, 개, 고양이, 돼지 등과 같은 실험용 동물을 포함한다.

[0212] 펩티드 서열 및 2차 구조의 특성

[0213] 본원에 개시된 펩티드는 소망하는 2차 구조로 폴딩되도록 구성된 서열을 가질 수 있다. 2차 구조는 단백질의 국소 세그먼트의 3차원 형태를 지칭할 수 있다. 2차 구조는, 예를 들면 주름 시트, 나선형 리본, 나노튜브 및 소포, 표면 조립된 구조 등을 포함할 수 있다. 본원에 개시된 펩티드는 소망하는 3차 구조로 자기 조립하도록 구성된 서열을 가질 수 있다. 3차 구조는 2차 구조 단백질 형태의 3차원적 조직체를 지칭할 수 있다. 3차 구조는, 예를 들면 3차원 매트릭스, 다공성 매트릭스, 나노다공성 매트릭스를 포함할 수 있다.

[0214] 개시된 자기 조립 펩티드는 하나 이상의 신호에 반응하여 2차, 예를 들면 β -헤어핀 및/또는 3차 구조를 채택하도록 설계될 수 있다. 전형적으로, 2차 구조를 채택한 후, 펩티드는 고차 구조, 예를 들면 하이드로겔로 자기 조립할 것이다. 소정 실시형태에 있어서, 펩티드 분자 상의 측쇄가 2차 구조 형태로 독특하게 존재되지 않는 한 자기 조립은 일어나지 않는다. 자기 조립 펩티드는 소정의 환경 조건, 예를 들면 pH, 온도, 순 전하, 광에 대한 노출, 적용된 음파 또는 환경 요인의 존재 또는 부재에 반응하여 조립할 수 있다. 자기 조립을 유도하는 환경 조건은 피험체에게 투여시, 예를 들면 표적 조직과 접촉시 발생할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 자기 조립을 유도하는 환경 조건은 자기 조립을 유도하도록 구성된 버퍼와 펩티드 제제의 조합시 발생할 수 있다. 버퍼는 자기 조립을 유도하도록 구성된 pH 또는 조성을 가질 수 있다. 예를 들면, 버퍼는 자기 조립을 유도하도록 구성된 이온의 농도를 가질 수 있다.

[0215] 본원에 개시된 펩티드의 자기 조립은 펩티드의 의도된 기능과 생물물리학적 구조적 관계를 나타내는 콤팩트한 구조를 생성할 수 있다. 예를 들면, 콤팩트한 3차 구조는 비조립 펩티드와 비교하여, 단위 면적당 더 많은 수의

활성 아미노산 잔기를 가질 수 있다. 항미생물 펩티드의 특정 예에서, 3차 구조는 항미생물 특성을 증가시키는 (예를 들면, 박테리아막 불안정화 및 파괴), 면적당 하전된, 예를 들면 양으로 하전된 아미노산 잔기의 농도를 높게 할 수 있다.

[0216] 소정 실시형태에 있어서, 자기 조립 펩티드 하이드로겔은 모든 목적을 위해 그 전체를 참조에 의해 본원에 인용된 미국 특허번호 8,221,773; 7,884,185; 8,426,559; 7,858,585; 및 8,834,926 중 어느 하나에 개시된 것들 및/또는 그에 개시된 방법에 의해 제조된 것들을 포함할 수 있다. 예를 들면, 자기 조립 펩티드 하이드로겔은 미국 특허번호 8,221,773, 7,884,185, 및 7,858,585로부터의 서열번호 1~20; 및 미국 특허번호 8,834,926로부터의 서열번호 1~33 중 어느 하나이거나 또는 이들 중 어느 하나를 포함할 수 있다. 다른 자기 조립 펩티드가 공지되어 있고, 본원에 개시된 방법을 수행하기 위해 사용될 수 있다.

[0217] 자기 조립 펩티드의 소망하는 특성은 펩티드 설계에 의해 제어될 수 있다. 자기 조립 펩티드는 작은 펩티드, 예를 들면 약 6~약 200개의 잔기 또는 약 6~약 50개의 잔기 또는 약 10~약 50개의 잔기일 수 있다. 임의의 아미노산 잔기는 D 이소폼일 수 있다. 임의의 아미노산 잔기는 L 이소폼일 수 있다.

[0218] 본원에 개시된 자기 조립 펩티드는 3차 구조로 조립될 때 실질적으로 양친매성이 되도록 설계될 수 있다. 본원에 개시된 바와 같은 "양친매성" 분자, 예를 들면 거대분자 또는 폴리머는 전형적으로 소수성 및 친수성 성분을 함유한다. 양친매성 펩티드는 양친매성 분자의 한 예시적인 부류이다. 양친매성 펩티드는 일반적으로 소정 조건에서 높은 중형비 나노구조로 자기 조립하는 경향을 갖는 펩티드계 분자이다. 예시적인 조건은 선택된 pH, 온도 및 이온 강도 값을 포함할 수 있다. 한 특정 유형의 양친매성 펩티드는, 예를 들면 본원에 개시된 바와 같이 교대하는 하전된 잔기, 중성 잔기 및 소수성 잔기를 반복되는 패턴으로 포함한다. 분자간 수소 결합과 소수성 및 정전기적 상호작용의 조합은 개시된 양친매성 펩티드의 조립에 의해 명확한 자기 조립 나노구조를 형성하도록 설계될 수 있다.

[0219] 자기 조립 펩티드는 추가 아미노산, 예를 들면 에피토프를 포함할 수 있다. 예를 들면, 자기 조립 펩티드는 선택적으로 펩티드 설계에 의해 선택되는 추가 관능기를 포함할 수 있다. 본원에 개시된 예시적인 관능기는, 예를 들면 세포 신호 전달, 세포외 매트릭스(ECM)에서의 세포 부착, 세포 성장 및 세포 이동성과 같은 생물학적 과정에 영향을 미치는 생체 유래 모티프를 포함한다. 펩티드는, 예를 들면 링커 또는 스페이서와 같은 하나 이상의 수식을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, N-말단 및 C-말단 중 적어도 하나는 수식될 수 있다. 예를 들면, N-말단 및 C-말단 중 적어도 하나는 아미드화될 수 있다. N-말단 및 C-말단 중 적어도 하나는 아세틸화될 수 있다. 소정 예시적인 실시형태에 있어서, C-말단은 아미드화될 수 있고 및/또는 N-말단은 아세틸화될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, N-말단 및 C-말단 중 적어도 하나는 유리될 수 있다.

[0220] 일반적으로, 자기 조립 펩티드는 2차 및/또는 고차 구조를 채택하도록 구성되는 폴딩기를 가질 수 있다. 예시적인 자기 조립 펩티드는 β -헤어핀 2차 구조를 채택하도록 설계된 폴딩기를 가질 수 있다. 예시적인 자기 조립 펩티드는 3차원 나노 다공성 매트릭스 3차 구조를 채택하도록 설계된 폴딩기를 가질 수 있다. 본원에 개시된 자기 조립 펩티드는 표적 부위, 예를 들면 국소 또는 비경구 부위에서 하나 이상의 환경 자극에 반응하여 β -헤어핀 2차 구조 및/또는 나노 다공성 매트릭스 3차 구조를 채택하도록 설계될 수 있다. 또한, 자기 조립 펩티드는 구형 마이셀, 소포, 이중층(라멜라 구조), 나노섬유, 나노튜브 및 리본과 같은 다양한 다른 자기 조립 구조로 자기 조립하도록 설계될 수 있다.

[0221] 자기 조립 폴딩기는 약 2~약 200개의 잔기, 예를 들면 약 2~약 50개의 잔기, 약 10~약 30개의 잔기, 약 15~약 25개의 잔기, 예를 들면 약 20개의 잔기를 가질 수 있다.

[0222] 일부 실시형태에 따르면, 자기 조립 폴딩기는 소수성 아미노산을 포함할 수 있다. "소수성" 아미노산 잔기는 물을 밀어내는 경향이 있는 것들이다. 이러한 소수성 아미노산은 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트레오닌 및 트립토판을 포함할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 소수성 아미노산 잔기는 발린을 포함할 수 있다.

[0223] 폴딩기는 본원에 기재된 바와 같이 다른 관능적 잔기의 첨가에 의해 관능화되거나, 또는 자기 조립을 위해 보존될 수 있다. 예시적인 관능성 잔기는 염기성, 중성, 지방족, 방향족 및 극성 아미노산 잔기를 포함한다.

[0224] 폴딩기는 다수의 염기성, 중성, 지방족, 방향족, 극성, 하전된 아미노산 잔기를 가질 수 있다. 폴딩기는 비소수성 아미노산 잔기와 실질적으로 교대 패턴으로 배열된 복수의 소수성 아미노산 잔기를 가질 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 폴딩기는 복수의 하전된 아미노산 잔기와 실질적으로 교대 패턴으로 배열된 복수의 소수성 아미노산 잔기를 가질 수 있다.

- [0225] 폴딩기는 턴 서열을 포함할 수 있다. 턴 서열은 폴딩기 내에 하나 이상의 내부 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 턴 서열은 폴딩기 내에서 실질적으로 중앙에 위치할 수 있다.
- [0226] 턴 서열은 약 2~약 20개의 잔기, 예를 들면 약 2~약 10개의 잔기, 약 2~약 8개의 잔기, 약 2~약 5개의 잔기, 예를 들면 약 2개의 잔기, 약 3개의 잔기, 약 4개의 잔기, 또는 약 5개의 잔기를 가질 수 있다.
- [0227] 예시적인 실시형태에 있어서, 턴 서열은 프롤린, 아스파르트산, 트레오닌 및 아스파라긴 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 턴 서열은 D-프롤린 및/또는 L-프롤린을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 턴 서열은 1~4개의 프롤린 잔기, 예를 들면 1개의 프롤린 잔기, 2개의 프롤린 잔기, 3개의 프롤린 잔기 또는 4개의 프롤린 잔기를 가질 수 있다.
- [0228] 예시적인 자기 조립 펩티드는 $[AY]_N[T][YA]_M$ 을 포함하는 폴딩기 서열을 가질 수 있으며, 여기서 A는 하나 이상의 염기성, 중성, 지방족, 방향족, 극성 및 하전된 아미노산에서 선택되는 1~3개의 아미노산이고, Y는 1~3개의 소수성 아미노산이고, T는 2~8개의 턴 서열 아미노산이고, N 및 M은 각각 독립적으로 2~10이다. Y 아미노산은 독립적으로 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트레오닌 및 트립토판에서 선택될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 폴딩기 서열은 $Y[AY]_N[T][YA]_MY-NH_2$ 일 수 있다.
- [0229] 소정의 예시적인 자기 조립 펩티드는 $[XY]_N[T][YX]_M$ 을 포함하는 폴딩기 서열을 가질 수 있으며, 여기서 X는 1~3개의 하전된 아미노산이고, Y는 1~3개의 소수성 아미노산이며, T는 2~8개의 턴 서열 아미노산이고, N 및 M은 각각 독립적으로 2~10이다. X 아미노산은 독립적으로 아르기닌, 라이신, 트립토판 및 히스티딘에서 선택될 수 있다. Y 아미노산은 독립적으로 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트레오닌 및 트립토판에서 선택될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 폴딩기 서열은 $Y[XY]_N[T][YX]_MY-NH_2$ 일 수 있다.
- [0230] 소정의 예시적인 자기 조립 펩티드는 $[ZY]_N[T][YZ]_M$ 을 포함하는 폴딩기 서열을 가질 수 있으며, 여기서 Z는 1~3개의 극성 또는 하전된 아미노산이고, Y는 1~3개의 소수성 아미노산이며, T는 2~8개의 턴 서열 아미노산이고, N 및 M은 각각 독립적으로 2~10이다. Z 아미노산은 독립적으로 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 아르기닌, 라이신, 아스파르트산 및 글루탐산에서 선택될 수 있다. Y 아미노산은 독립적으로 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트레오닌 및 트립토판에서 선택될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 폴딩기 서열은 $Y[ZY]_N[T][YZ]_MY-NH_2$ 일 수 있다.
- [0231] 하나의 예시적인 자기 조립 펩티드는 -RYRYRYTYRYRYR-을 포함하는 폴딩기를 가질 수 있으며, 여기서 R은 아르기닌 잔기이고, Y는 1~3개의 소수성 아미노산이며, T는 2~6개의 턴 서열 아미노산이다.
- [0232] 하나의 예시적인 자기 조립 펩티드는 -VXVXVXVTVXVXVXV-를 포함하는 폴딩기를 가질 수 있으며, 여기서 V는 발린 잔기이고, X는 독립적으로 하전된 및 중성 아미노산 잔기인 세린, 글루탐산, 라이신, 트립토판 및 히스티딘에서 선택될 수 있고, T는 2~8개의 턴 서열 아미노산이다. 일부 실시형태에 있어서, 예시적인 폴딩기는 독립적으로 선택된 친수성 및/또는 중성 아미노산 잔기와 교대하여 있는 일련의 소수성 발린 아미노산 잔기를 포함할 수 있다.
- [0233] 하나의 예시적인 자기 조립 펩티드는 -KYKYKYTYKYKYK-를 포함하는 폴딩기를 가질 수 있으며, 여기서 R은 아르기닌 잔기이고, Y는 1~3개의 소수성 아미노산이며, T는 2~6개의 턴 서열 아미노산이다.
- [0234] 하나의 예시적인 자기 조립 펩티드는 -VZVZVZTVZVZVZV-를 포함하는 폴딩기를 가질 수 있으며, 여기서 V는 발린 잔기이고, Z는 1~3개의 친수성 아미노산이고, T는 2~6개의 턴 서열 아미노산이다.
- [0235] 예시적인 자기 조립 펩티드는 2~8개의 턴 서열 아미노산, 예를 들면 2~5개의 턴 서열 아미노산을 포함하는 턴 서열을 가질 수 있다. 턴 서열 아미노산은 프롤린, 예를 들면 D-프롤린 및/또는 L-프롤린, 아스파르트산 및 아스파라긴에서 선택될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 턴 서열은 (d)PP, (d)PG, 또는 NG일 수 있다.
- [0236] 턴 서열을 갖는 예시적인 자기 조립 펩티드는 VKVRVRVRV(d)PPTVRVRVKV-NH₂ 및 VLTKVKTKV(d)PPTKVEVKVLV-NH₂를 포함한다. 예시적인 펩티드에서, 테트라펩티드 턴 서열(-V(d)PPT-)은 유형 II' 턴을 채택하도록 선택되었고, 펩티드 서열의 중간 내에 위치되었다. 이 4개의 잔기의 턴 서열은 턴의 i , $i+1$, $i+2$ 및 $i+3$ 위치를 차지한다. 헤테로키랄 서열((d)P($i+1$) - P($i+2$)) 디펩티드는 유형 II' 턴과 일치하는 이면각(dihedral angle)을 채택하는 경향 때문에 선택되었다. 턴 서열의 i 위치에서의 벌키한 β -분기상 잔기(발린)를 통합하면 $i+1$ 위치에서 트랜

스 프롤릴 아미드 결합이 형성되게 된다. 이 위치에서의 발린의 배치는 시스 프롤릴 결합의 형성에 대비하여 설계하도록 선택되며, 이는 의도된 헤어핀이 아닌 확장된 형태를 채택하는 β -가닥이 생성되게 된다. 트레오닌은 $i+3$ 위치에 존재하는 통계적 성향을 나타낸다. 따라서, 테트라펩티드 서열 내의 이 위치에서 통합되도록, i 위치에서 아미드 백본 카르보닐에 수소 결합할 수 있는 측쇄 하이드록실기를 갖는 트레오닌을 선택하면, 턴을 더욱 안정화시켰다.

[0237] 예시적인 폴딩 펩티드는 유형 II' 턴 서열의 측면에 있는 β -시트 형성 성향이 높은 잔기를 포함하도록 설계될 수 있다. 가닥을 따라 교대하는 소수성 및 친수성 잔기의 선택은 펩티드가 폴딩할 때 양친매성 β -시트를 제공한다. 예를 들면, 라이신은 친수성 잔기로서 선택되어 약 10.5의 측쇄 pKa 값을 제공할 수 있다. 측쇄 아민은 일반적으로 약산성 조건에서 용해될 때 양성화되어, 헤어핀의 β -가닥 사이에 불리한 정전기적 상호작용을 형성하여 펩티드 폴딩 및 자기 조립을 억제한다. 그러나, pH가 약 pH 9로 증가함에 따라, 라이신 측쇄의 충분한 부분이 탈양성화됨으로써, 펩티드가 양친매성 β -헤어핀으로 폴딩될 수 있게 된다. 정전 상호작용은 개시된 펩티드의 pH 반응성을 설계하기 위해 사용될 수 있다.

[0238] 이론에 얽매이고 싶지는 않지만, 양친매성 β -헤어핀은 동일한 헤어핀 내의 인접한 아미노산 측쇄 사이에서의 반 데르 발스 접촉에 의해 분자내 폴드 상태에서 안정화되는 것으로 생각된다. 헤어핀의 교차 β -가닥 사이의 분자 내 수소 결합의 형성 및 유형 II' 턴에서 채택하는 턴 서열에 대한 성향은 폴드 형태를 더욱 안정화시킬 수 있다. 일단 폴드 상태가 되면, 자기 조립을 설계하기 위해 β -헤어핀의 측면 및 면 회합이 선택될 수 있다. 예를 들면, β -헤어핀의 측면 회합은 분자간 수소 결합의 형성, 및 인접한 아미노산 사이의 반 데르 발스 접촉을 촉진시킨다.

[0239] 예시적인 자기 조립 펩티드는 (X)a(Y)b(Z)c-[(d)PP, (d)PG, 또는 NG]-(Z)c(Y)b(X)a를 포함하는 폴딩기 서열을 갖고, 여기서 턴 서열은 (d)PP, (d)PG 또는 NG이고, (d)P는 D-프롤린이고, X는 하전된 아미노산이고, Y는 소수성 아미노산이고, Z는 소수성 아미노산 또는 극성 아미노산이고, a, b 및 c는 각각 독립적으로 1~10의 정수이다. 소정 실시형태에 있어서, X는 독립적으로 발린, 류신, 이소류신, 페닐알라닌, 트립토판, 티로신, 트레오닌, 및 이들의 조합에서 선택된다. 소정 실시형태에 있어서, Y는 독립적으로 글루탐산, 세린, 알라닌, 프롤린, 아스파르트산, 및 이들의 조합에서 선택된다. 일부 실시형태에 있어서, Z는 독립적으로 글루타민, 글루탐산, 라이신, 아르기닌, 및 이들의 조합에서 선택된다.

[0240] 예시적인 자기 조립 펩티드는 (Z)c(Y)b(X)a-[(d)PP, (d)PG, 또는 NG]-(X)a(Y)b(Z))c를 포함하는 폴딩기 서열을 가질 수 있고, 여기서 턴 서열은 (d)PP, (d)PG 또는 NG이고, (d)P는 D-프롤린이고, X는 하전된 아미노산이고, Y는 소수성 아미노산이고, Z는 소수성 아미노산 또는 극성 아미노산이고, a, b 및 c는 각각 독립적으로 1~10의 정수이다. 소정 실시형태에 있어서, X는 독립적으로 발린, 류신, 이소류신, 페닐알라닌, 트립토판, 티로신, 트레오닌, 및 이들의 조합에서 선택된다. 소정 실시형태에 있어서, Y는 독립적으로 글루탐산, 세린, 알라닌, 프롤린, 아스파르트산, 및 이들의 조합에서 선택된다. 일부 실시형태에 있어서, Z는 독립적으로 글루타민, 글루탐산, 라이신, 아르기닌 및 이들의 조합에서 선택된다.

[0241] 본원에 개시된 임의의 하전된, 소수성, 극성 또는 양친매성 아미노산은 생체적합성 용액의 조성물로부터 이들의 특성 중 하나 이상을 유도할 수 있다.

[0242] 소수성 아미노산은 물을 밀어내는 경향이 있는 아미노산이다. 소수성 아미노산은 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 티로신, 트립토판, 페닐알라닌, 메티오닌 및 시스테인을 포함한다. 소수성 아미노산은 독립적으로 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 시스테인, 및 이들의 조합에서 선택될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 소수성 아미노산은 발린을 포함한다.

[0243] 하전된 아미노산은 주어진 조건에서 전하를 갖는 경향이 있는 아미노산이다. 하전된 아미노산은 염다리를 형성하는 측쇄를 가질 수 있다. 하전된 아미노산은 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 시스테인, 아르기닌, 라이신, 히스티딘, 아스파르트산 및 글루탐산을 포함한다. 폴딩기는 2~10개의 하전된 아미노산, 예를 들면 2~8개의 하전된 아미노산을 포함할 수 있다.

[0244] 하전된 아미노산은 양으로 하전된 아미노산일 수 있다. 폴딩기는 2~10개의 하전된 아미노산, 예를 들면 2~8개의 하전된 아미노산을 포함할 수 있다. 양으로 하전된 아미노산은 독립적으로 아르기닌, 라이신, 히스티딘 및 이들의 조합에서 선택될 수 있다. 폴딩기는 2~8개의 아르기닌 잔기, 라이신 잔기, 또는 아르기닌과 라이신 잔기의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 폴딩기는 아르기닌, 라이신, 또는 아르기닌과 라이신의 조합에서 선택되는 6개의 양으로 하전된 잔기를 포함할 수 있다.

- [0245] 하전된 아미노산은 음으로 하전된 아미노산일 수 있다. 폴딩기는 2~10개의 음으로 하전된 아미노산, 예를 들면 2~8개의 음으로 하전된 아미노산을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 음으로 하전된 아미노산은 독립적으로 아스파르트산, 글루탐산, 및 이들의 조합에서 선택될 수 있다.
- [0246] 극성 아미노산은 불균일 전하 분포를 갖는 것들이다. 극성 아미노산은 양성자 공여체 또는 수용체로서 수소 결합을 형성하는 경향이 있다. 극성 아미노산은 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 세린, 트레오닌, 티로신 및 시스테인을 포함한다.
- [0247] 양친매성 아미노산은 극성 성분과 비극성 성분을 모두 갖는 것들이다. 양친매성 아미노산은 단백질 또는 지질막의 표면에서 발견될 수 있다. 양친매성 아미노산은 트립토판, 티로신 및 메티오닌을 포함한다.
- [0248] 예시적인 자기 조립 펩티드는 서열번호 1~23 중 임의의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 1의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 특정 실시형태에 있어서, 자기 조립 펩티드는 서열번호 2의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 3의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 4의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 5의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 6의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 7의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 8의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 9의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 10의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 11의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 12의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 13의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 14의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 15의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 16의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 17의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 18의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 19의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 20의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 21의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 22의 폴딩기 서열을 가질 수 있다. 자기 조립 펩티드는 서열번호 23의 폴딩기 서열을 가질 수 있다.
- [0249] 전단 담화 특성을 갖는 예시적인 자기 조립 펩티드는 VKVRVRVRV(d)PPTRVRVRVKV-NH₂, 및 VKVRVRVRV(d)PPTRVEVRVKV-NH₂(친수성 면의 위치 15에서 글루탐산의 단일 치환을 가짐)을 포함한다. 글루탐산 치환은, 생체적합성 용액 중에 이온성 염이 존재하는 경우, 자기 조립 펩티드 겔의 겔화 속도가 더욱 빨라지게 한다. 음으로 하전된 글루탐산은 펩티드의 전체 양전하를 저하시켜서, 더욱 빠른 폴딩 및 자기 조립을 가능하게 한다.
- [0250] 순 펩티드 전하를 위해 조정될 수 있는 전단 담화 특성을 갖는 예시적인 자기 조립 펩티드는 VKVRVRVRV(d)PPTRVEVRVKV-NH₂ 및 VKVKVKVKV(d)PPTKVEVKVKV-NH₂(친수성 면의 라이신이 아르기닌으로 치환됨)을 포함한다. 라이신 치환은 아르기닌 함량이 높은(높은 순 전하) 펩티드와 비교했을 때, 포유동물 세포 세포적합성을 더욱 양호하게 하는 생리적 pH에서 펩티드 순 전하를 저하시킨다. 예시적인 펩티드는 항미생물성 자기 조립 펩티드이다.
- [0251] 보다 빠른 겔화 속도 및 증가된 강성을 갖는 펩티드 겔을 위해 조정될 수 있는 전단 담화 특성을 갖는 예시적인 자기 조립 펩티드는 FKFRFRFRV-(d)PPTRFRFRFKF-NH₂(소수성 면의 페닐알라닌이 발린으로 치환됨)를 포함한다. 페닐알라닌 치환은 펩티드 겔의 더욱 단단하고 빠른 겔화를 가능하게 하는 펩티드의 소수성 면을 증가시킨다. 예시적인 펩티드는 항균성 자기 조립 펩티드이다.
- [0252] 전단 담화 특성을 갖는 예시적인 자기 조립 펩티드는 VKVRVRVRV(d)PPTRVRVRVKV-NH₂, (d)V(d)K(d)V(d)R(d)V(d)R(d)V(d)R(d)V(L)P (d)P(d)T(d)R(d)V(d)R(d)V(d)R(d)V(d)K(d)V-NH₂(서열의 D 이소폼 및 P의 E 이소폼을 가짐)의 거울상 이성질체 형태와 같은 상기 열거된 예시적인 서열의 거울상 이성질체 형태를 포함한다. 이소폼 치환은 생리적 pH에서 펩티드 순 전하를 손상시키지 않고 펩티드 분해의 제어 및 증가된 안정성을 제공할 수 있다. 서열은 포유동물 세포와의 더욱 양호한 호환성을 제공할 수 있다. 펩티드는 완전한 거울상 이성질체(상기 나타낸 바와 같음) 또는 부분적 거울상 이성질체일 수 있어서, 임의의 하나 이상의 아미노산이 상기 열거된 서열의 거울상 이성질체일 수 있다. 예시적인 펩티드는 항균성 자기 조립 펩티드이다.
- [0253] 다른 예시적인 자기 조립 펩티드는 Ac-VEVSVSVEV(d)PPTVSVSVEVGGGGRGDV-NH₂ 및 VEVSVSVEVdPPTVSVSVEV-NH₂를

포함한다.

- [0254] 자기 조립 펩티드는 적어도 하나의 구아니딘 부위를 포함할 수 있다. 구아니딘 부위는 펩티드쇄의 일부를 구성하는 유기 분자와 회합될 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 구아니딘기는 아르기닌 잔기의 측쇄의 일부로서 통합될 수 있다. 그러나, 펩티드는 아르기닌 잔기와 회합되지 않은 구아니딘 부위를 포함할 수 있다.
- [0255] 구아니딘 부위는 일반적으로 양이온성 펩티드에 위치할 때, 염다리 및 수소 결합을 형성하는 소수성 및 친수성기와 쌍을 이룰 수 있게 하는 고극성 기이다. 이러한 펩티드는 세포막을 관통하는 높은 능력을 나타낼 수 있고, 항미생물 활성을 제공할 수 있다. 또한, 구아니딘 부위는 펩티드 폴딩, 물리적 특성 및 펩티드 및/또는 하이드로겔의 열 안정성을 개선함으로써 펩티드 안정성을 촉진할 수 있다.
- [0256] 펩티드는 일반적으로 펩티드의 아미노산 잔기의 총 수에 의한 구아니딘기의 수로 측정되는 구아니딘 함량은 20~50%일 수 있다. 예를 들면, 20개의 아미노산 잔기(6개는 구아니딘기를 갖는 아르기닌 잔기임)를 갖는 예시적인 펩티드 서열은 30% 구아니딘 함량을 갖는다. 예시적인 펩티드는 세포막을 관통하여 파괴할 수 있다.
- [0257] **펩티드 하이드로겔 제제의 특성**
- [0258] 제제는 일반적으로 생체적합성 용액 중에 자기 조립 펩티드를 포함할 수 있다. 예를 들면, 펩티드는 생체적합성 용액에 용해되거나 또는 실질적으로 용해될 수 있다. 제제는 약 0.1% w/v~약 8.0% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다. 제제는 표적 표시를 위해 포물레이팅될 수 있다. 예를 들면, 자기 조립 펩티드의 농도는 표적 표시에 기반하여 선택될 수 있다. 예를 들면, 항미생물 특성을 갖는 예시적인 제제는 1.5% w/v 미만의 펩티드, 예를 들면 약 0.5% w/v의 펩티드~1.0% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다.
- [0259] 예시적인 제제는 약 0.25% w/v~약 6.0% w/v의 펩티드, 예를 들면 약 0.5% w/v~약 6.0% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다. 펩티드가 정제된 경우, 제제는 약 6.0% w/v 이하의 펩티드를 포함할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 제제는 약 3.0% w/v 미만의 펩티드, 예를 들면 약 0.25% w/v~약 3.0% w/v의 펩티드, 약 0.25% w/v~약 2.0% w/v의 펩티드, 약 0.25% w/v~약 1.25% w/v의 펩티드, 또는 약 0.5% w/v의 펩티드~약 1.5% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다. 제제는 약 0.5% w/v~약 1.0% w/v의 펩티드, 약 0.7% w/v~약 2.0% w/v의 펩티드, 또는 약 0.7% w/v~약 0.8% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다. 예를 들면, 제제는 약 0.25% w/v, 약 0.5% w/v, 약 0.7% w/v, 약 0.75% w/v, 약 0.8% w/v, 약 1.0% w/v, 약 1.5% w/v, 약 2.0% w/v, 또는 약 3.0% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에 있어서, 제제는 약 1.5% w/v 미만의 펩티드를 포함할 수 있다. 제제는 약 1.25% w/v 미만의 펩티드 또는 약 1.0% w/v 미만의 펩티드를 포함할 수 있다. 하나의 예시적인 실시형태에 있어서, 제제는 약 0.75% w/v의 펩티드를 포함할 수 있다.
- [0260] 버퍼와 조합한 후, 하이드로겔은 약 0.05% w/v~6.0% w/v의 펩티드를 가질 수 있다. 예를 들면, 하이드로겔은 약 0.1% w/v~6.0% w/v의 펩티드, 약 0.25% w/v~6.0% w/v의 펩티드, 약 1.5% w/v~약 6.0% w/v의 펩티드, 약 0.25% w/v~3.0% w/v의 펩티드, 펩티드의 약 0.25% w/v~1.0% w/v의 펩티드, 약 0.25% w/v~0.5% w/v의 펩티드, 또는 약 0.3% w/v~0.4% w/v의 펩티드를 가질 수 있다. 펩티드 제제와 버퍼는 약 2:1~0.5:1의 펩티드 제제와 버퍼의 비율로 하이드로겔을 형성하도록 화합될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 펩티드 제제와 버퍼는 약 1:1의 비율로 하이드로겔을 형성하도록 화합될 수 있다.
- [0261] 제제 중의 펩티드는 정제될 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, "정제된"은 오염물 제거를 위해 처리된 조성물을 지칭할 수 있다. 특히, 정제된 펩티드는 임상 적용에 적합한 조성을 가질 수 있다. 예를 들면, 펩티드는 임상 투여를 위한 건강 기준 및/또는 규제 기준을 충족하도록 정제될 수 있다. 펩티드는 적어도 80%, 예를 들면 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 95%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 적어도 99.9% 정제될 수 있다.
- [0262] 소정 실시형태에 있어서, 펩티드는 펩티드의 고상 합성으로부터 잔류 유기 용매 함량을 제거 또는 감소시키기 위해 정제될 수 있다. 펩티드는 20중량% 미만의 잔류 유기 용매를 포함할 수 있다. 펩티드는 15중량% 미만의 잔류 유기 용매를 포함할 수 있다. 펩티드는 10중량% 미만의 잔류 유기 용매를 포함할 수 있다. 예를 들면, 펩티드는 8중량% 미만, 5중량% 미만, 2중량% 미만, 1중량% 미만 또는 0.1중량% 미만의 잔류 유기 용매를 포함할 수 있다. 합성된 펩티드로부터 제거 또는 감소될 수 있는 예시적인 유기 용매는 트리플루오로아세트산(TFA), 아세트ونی트릴, 이소프로판올, N,N-디메틸포름아미드, 트리에틸아민, 에틸에테르 및 아세트산을 포함한다.
- [0263] 정제된 펩티드는 트리플루오로아세트산(TFA)을 실질적으로 포함하지 않을 수 있다. 예를 들면, 정제된 펩티드는 1% w/v 미만의 잔류 TFA, 또는 약 0.005% w/v~1% w/v의 잔류 TFA를 가질 수 있다.

- [0264] 정제된 펩티드는 아세트니트릴을 실질적으로 포함하지 않을 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 정제된 펩티드는 약 410ppm 미만의 잔류 아세트니트릴을 가질 수 있다. 정제된 펩티드는 약 0.005ppm~약 410ppm의 잔류 아세트니트릴을 가질 수 있다.
- [0265] 정제된 펩티드는 이소프로판올을 실질적으로 포함하지 않을 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 정제된 펩티드는 약 400ppm 미만의 잔류 이소프로판올을 가질 수 있다. 정제된 펩티드는 약 100ppm 미만의 잔류 이소프로판올을 가질 수 있다. 정제된 펩티드는 약 0.005ppm~100ppm의 잔류 이소프로판올을 가질 수 있다.
- [0266] 정제된 펩티드는 N,N-디메틸포름아미드를 실질적으로 포함하지 않을 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 정제된 펩티드는 약 880ppm 미만의 잔류 N,N-디메틸포름아미드를 가질 수 있다. 정제된 펩티드는 약 0.005ppm~약 880ppm의 잔류 N,N-디메틸포름아미드를 가질 수 있다.
- [0267] 정제된 펩티드는 트리에틸아민을 실질적으로 포함하지 않을 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 정제된 펩티드는 약 5000ppm 미만의 잔류 트리에틸아민을 가질 수 있다. 정제된 펩티드는 약 0.005ppm~약 5000ppm의 잔류 트리에틸아민을 가질 수 있다.
- [0268] 정제된 펩티드는 에틸에테르를 실질적으로 포함하지 않을 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 정제된 펩티드는 약 1000ppm 미만의 잔류 에틸에테르를 가질 수 있다. 정제된 펩티드는 약 0.005ppm~약 1000ppm의 잔류 에틸에테르를 가질 수 있다.
- [0269] 정제된 펩티드에는 아세트산을 실질적으로 포함하지 않을 수 있다. 예를 들면, 정제된 펩티드는 2% w/v 미만의 잔류 아세트산, 예를 들면 1% w/v 미만의 잔류 아세트산, 0.5% w/v 미만의 잔류 아세트산, 0.1% w/v 미만의 잔류 아세트산, 약 0.0001% w/v~2% w/v의 잔류 아세트산, 또는 약 0.005% w/v~0.1% w/v의 잔류 아세트산을 가질 수 있다.
- [0270] 일반적으로, 정제된 펩티드 및/또는 생체적합성 용액은 국제의약품규제조화위원회(ICH)에서 정의한 규제 제한과 일치하는 특성을 가질 수 있다.
- [0271] 제제의 생체적합성 용액은 펩티드를 위한 실질적으로 액체인 담체를 지칭할 수 있다. 생체적합성 용액은 일반적으로 수용액일 수 있다. 생체적합성 용액은 물, 예를 들면 탈이온수를 포함할 수 있다. 탈이온수는 25℃에서 약 18 MQ 초과와 저항률과 약 0.056 μ S 미만의 전도도를 가질 수 있다. 탈이온수는 0.03 내독소 단위(EU)/ml 및 1CFU/ml 미생물 작용 이하의 최대 내독소 사양을 가질 수 있다. 탈이온수는 총 유기 탄소(TOC) 농도가 10ppb 이하일 수 있다. 생체적합성 용액은 제약 등급수를 포함할 수 있다. 제약 등급수는 총 유기 탄소(TOC)가 500ppb 이하이고, 미생물 활동이 100CFU/ml 이하일 수 있다. 생체적합성 용액은 주사 등급수를 포함할 수 있다. 주사 등급수는 0.25 내독소 단위(EU)/ml 및 10CFU/10ml 미생물 작용 이하의 최대 내독소 사양을 가질 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 제제 또는 생체적합성 용액은 실질적으로 클로라이드 이온을 포함하지 않을 수 있다.
- [0272] 제제 또는 펩티드는 카운터이온을 포함할 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, 카운터이온은 전하 균형 이온을 지칭할 수 있다. 제제 또는 펩티드는 제제를 실질적으로 전기적으로 중성으로 만들기 위해 유효량의 카운터이온을 가질 수 있다. 제제 또는 펩티드는 제제를 실질적으로 생체적합성 및/또는 안정하게 만들기 위해 유효량의 카운터이온을 가질 수 있다. 제제 또는 펩티드는 펩티드의 음이온성 또는 양이온성 잔기의 반발을 제어하기 위해 유효량의 카운터이온을 가질 수 있다. 카운터이온의 농도는 펩티드 서열 및 펩티드와 임의의 첨가제의 농도에 따라 달라질 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 펩티드는 0.1~20%의 카운터이온을 포함할 수 있다. 부가적으로, 카운터이온의 전하는 펩티드 및 임의의 첨가제의 전하에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 카운터이온은 음이온 또는 양이온일 수 있다. 일반적으로, 카운터이온은 세포적합성일 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 카운터이온은 생체적합성일 수 있다. 예를 들면, 카운터이온은 아세테이트, 시트레이트, 암모늄, 플루오라이드 또는 클로라이드를 포함할 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 제제 또는 펩티드는 실질적으로 클로라이드 카운터이온을 포함하지 않을 수 있다.
- [0273] 예시적인 실시형태에 있어서, 제제 또는 펩티드는 유효량의 아세테이트 카운터이온을 포함할 수 있다. 특히, 잔류 TFA를 포함하는 펩티드 농도를 갖는 제제는 잔류 TFA의 균형을 맞추기에 충분한 양의 아세테이트 카운터이온을 가질 수 있다. 간략하게, TFA는 일반적으로 고상 수지로부터 합성된 펩티드를 방출하는 데 사용된다. 또한, TFA는 펩티드의 역상 HPLC 정제 동안에 일반적으로 사용된다. 그러나, 잔류 TFA 또는 플루오라이드는 독성일 수 있어서, 임상용 펩티드에서는 바람직하지 않다. 또한, TFA는 양으로 하전된 잔기(예: 라이신, 히스티딘 및 아르기닌)의 N-말단 및 측쇄에서 유리 아민기와 상호 작용할 수 있다. 펩티드 제제에 TFA-염 카운터이온이 존재하면 생체 물질에 해로울 수 있고, 의도된 펩티드 활성의 정확성과 재현성에 부정적인 영향을 미칠 수 있다.

- [0274] 아세테이트 또는 하이드로클로라이드에 의한 TFA-아세테이트염 교환은 상기 기재된 TFA의 부정적인 효과 중 일부 또는 전부를 상쇄하기 위해 채용될 수 있다. 본 발명자들은 아세테이트 카운터이온이 놀랍게도 펩티드 제제의 생물학적 활성을 유지하고 또한 펩티드의 용해도 및 펩티드의 자기 조립을 위한 전하를 제어하는 데 매우 적합하다는 것을 알아냈다. 또한, 아세트산($pK_a = 4.5$)은 트리플루오로아세트산(pK_a 약 0) 및 염산($pK_a = -7$) 둘 다보다 약산이다. 아세테이트 카운터이온은 펩티드 제제의 pH를 생리학적으로 중성으로 추가로 제어할 수 있다.
- [0275] 제제는 다양한 하이드로겔화 동역학을 가질 수 있다. 소정 실시형태에 따르면, 제제의 하이드로겔화 동역학은 특정 투여 방식으로 설계될 수 있다. 제제는 액체로 투여될 수 있다. 제제는 고체 또는 반고체로 투여될 수 있다. 제제는 겔로 투여될 수 있다. 제제는 액체에 현탁된 하이드로겔의 조합으로 투여될 수 있다. 제제는 가변 겔보기 점도를 가질 수 있다. 예를 들면, 제제는 투여 조건 하에서 주사를 허용하기에 효과적인 겔보기 점도를 가질 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 제제는 전단 응력이 증가함에 따라 감소하는 겔보기 점도를 가질 수 있다.
- [0276] 제제는 적용된 응력, 예를 들면 적용된 기계적 힘에 반응하여 가역적으로 자기 조립 및 분해되도록 구성될 수 있다. 고체 또는 겔 제제는 적용된 응력이 증가함에 따라 붕괴될 수 있고, 적용된 응력이 감소되면 추후에 복원된다. 고체 또는 겔은, 예를 들면 전달 장치를 통한 전달 동안에 적용된 응력에 반응하여 유체가 될 수 있다. 펩티드는 적용된 응력에 반응하여 순차적 상전이를 겪을 수 있다. 펩티드는 각각 하나 이상의 순차적 상전이 후에 회복될 수 있다.
- [0277] 제제는 온도 변화, pH 변화, 이온 킬레이터와의 접촉, 용매로의 희석, 적용된 음파, 동결건조, 진공 건조, 및 공기 건조 중 적어도 하나에 반응하여 가역적으로 자기 조립 및 분해되도록 구성될 수 있다. 투여된 유체는 조직 보이드에 일치된 후 고체 또는 겔로 재형성될 수 있다. 따라서, 고체 또는 겔 제제는 적절한 전단 응력 하에서 주사 가능하거나, 유동 가능하거나 또는 스프레이 가능할 수 있다. 일단 투여되면, 제제는 표적 부위에 실질적으로 일치하는 고체 또는 겔 형태로 복원될 수 있다. 형성은 1분 미만, 약 1분, 약 2분 미만, 약 3분 미만, 약 5분 미만 또는 약 10분 미만 내에 발생할 수 있다. 형성은 약 1분, 약 30초 미만, 약 10초 미만, 또는 약 3~5초 내에 발생할 수 있다.
- [0278] 펩티드는 정제될 수 있다. 예를 들면, 펩티드는 동결건조될 수 있다. 도 9에 도시된 바와 같이, 순 전하는 pH 값의 함수로 정량화될 수 있다. 도 9에서 측정된 예시적인 펩티드는 2개의 라이신 잔기를 갖는 아르기닌이 풍부한 펩티드이다. 도 9의 예시적인 펩티드는 pH 7에서 +9의 순 전하를 갖는다. 다른 펩티드는 본 개시의 범위 내에 있다. 예를 들면, 정제된 펩티드는 pH 7에서 -9~+11, 예를 들면 pH 7에서 -7~+9의 순 전하를 가질 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, "순 전하"는 일반적으로 pH 7에서 측정되는 생물물리학적 및 생화학적 특성으로서의 펩티드의 총 전하로 지칭될 수 있다.
- [0279] 정제된 펩티드는 pH 7에서 -7~+11의 순 전하를 가질 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 펩티드는 +2~+9, 예를 들면 +5~+9 또는 +7~+9의 순 전하를 가질 수 있다. 정제된 펩티드는 pH 7에서 약 +5, +6, +7, +8, +9, +10 또는 +11의 전하를 가질 수 있다. +5~+9의 전하를 갖는 예시적인 펩티드는 VLTKVTKV(d) PPTKVEVKVLV, VKVRVRVRV(d)PPTRVRVRKV 및 VKVRVRVRV(d)PPTRVEVRVKV를 포함한다. 다른 실시형태에 있어서, 정제된 펩티드는 실질적으로 중성일 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 펩티드는 순 음전하를 가질 수 있다. 순 음전하를 갖는 예시적인 펩티드는 VEVSVSVEV(d)PPTVSVEVEV이다. 도 10에 도시된 바와 같이, 펩티드 서열에서 글루탐산의 단일 치환은 pH 7에서 순 펩티드 전하를 +7(상부 패널)에서 +9(하부 패널)로 변경할 수 있을 뿐만 아니라, 등전점을 11.45에서 14로 변경할 수 있다. 순 전하는 펩티드 설계에 의해 선택될 수 있다. 펩티드 하이드로겔의 정전하 설계에 의해 세포막 및 단백질과의 전하 상호작용을 제어할 수 있다.
- [0280] 펩티드는 표적 투여 부위에서 단백질의 불활성화를 흡착 및/또는 촉진하는 전하를 갖도록 설계될 수 있다. 예를 들면, 양으로 하전된 펩티드 하이드로겔은 소분자, 단백질 및 세포외막(extravesicular membrane)과 같은 음으로 및 중성으로 하전된 분자의 흡착을 촉진할 수 있다. 음으로 하전된 펩티드 하이드로겔은 소분자, 단백질 및 세포외막과 같은 양으로 및 중성으로 하전된 분자의 흡착을 촉진할 수 있다. 또한, 펩티드는 다양한 정도로 양전하, 중성전하 또는 음전하의 영역을 갖도록 설계될 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 펩티드 전하는 하전된 분자가 풍부한 용액 중에 있을 때, 펩티드는 하이드로겔 내로 분자를 스며들게 하거나 또는 흡수되게 하여, 흡착에 의해 분자를 펩티드에 부착시키도록 설계될 수 있다. 도 3은 양으로 하전된 하이드로겔에 흡수된 음으로 하전된 트리판 블루를 나타내는 현미경 이미지이다.
- [0281] 정제된 펩티드는 70% w/v 초과, 80% w/v 초과 또는 90% w/v 초과, 예를 들면 70% w/v~99.9% w/v의 질

소를 가질 수 있다.

- [0282] 정제된 펩티드는 약 10EU/mg 미만, 예를 들면 약 5EU/mg 미만, 약 2EU/mg 미만, 또는 약 1EU/mg 미만의 박테리아 내독소 수준을 가질 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 정제된 펩티드는 약 $-0.010 \sim -0.015$ EU/ml의 내독소 수준을 가질 수 있다. 예를 들면, 정제된 펩티드는 0.004~0.008, 예를 들면 약 0.006의 410nm에서의 OD를 가질 수 있다. 펩티드 하이드로겔은 0.010~0.020, 예를 들면 약 0.015의 410nm에서의 OD를 가질 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 정제된 펩티드 및/또는 제제는 내독소를 실질적으로 포함하지 않을 수 있다.
- [0283] 생체적합성 용액 중의 정제된 펩티드는 약 1% w/v~약 20% w/v, 예를 들면 적어도 약 10% w/v 또는 약 15% w/v 미만의 수분 함량을 가질 수 있다.
- [0284] 정제된 펩티드는 약 7~14의 등전점을 가질 수 있다. 예를 들면, 정제된 펩티드는 약 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 또는 14의 등전점을 가질 수 있다.
- [0285] 정제된 펩티드는 유동학 시험에 의해 측정시 약 2Pa~3500Pa의 전단 모듈러스를 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 구성될 수 있다. 예를 들면, 정제된 펩티드는 100Pa 초과, 100Pa~3500Pa, 100Pa~3000Pa, 2Pa~1000Pa, 또는 2Pa~500Pa의 전단 모듈러스를 갖는 하이드로겔로 자기 조립할 수 있다. 예를 들면, 0.75% w/v 펩티드를 갖는 포물레이션은 약 2Pa~500Pa의 전단 모듈러스를 가질 수 있다. 1.5% w/v 펩티드를 갖는 포물레이션은 약 100Pa~3000Pa의 전단 모듈러스를 가질 수 있다. 3.0% w/v 펩티드를 갖는 포물레이션은 약 1000Pa~10000Pa의 전단 모듈러스를 가질 수 있다. 따라서, 하이드로겔의 전단 모듈러스는 포물레이션에서의 펩티드 농도의 선택에 의해 제어될 수 있다.
- [0286] 펩티드는 미리 결정된 2차 구조를 채택하도록 설계될 수 있다. 예를 들면, 상술한 바와 같이, 펩티드는 β -헤어핀 2차 구조를 채택하도록 설계될 수 있다. 미리 결정된 2차 구조는 β -시트, α -나선, 및 랜덤 코일 중 적어도 하나에서 미리 선택된 구조를 포함할 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 소수성 아미노산 잔기(예를 들면, 소수성 아미노산 잔기의 양, 배치 및/또는 구조)는 대부분의 β -시트 구조를 갖는 폴리머로 펩티드를 자기 조립하도록 선택될 수 있다. 특정 실시형태에 있어서, 소수성 아미노산 잔기는 하이드로겔의 강성을 제어하기 위해 선택될 수 있다. 예를 들면, 소수성 아미노산 잔기의 양 및 유형은 하이드로겔의 강성을 제어하기 위해 선택될 수 있다.
- [0287] 일부 실시형태에 있어서, 온도, pH 변화, 광, 적용된 음파와 같은 외부 자극은 자기 조립 펩티드의 우선적인 2차 구조 형성을 제어 및 촉진하기 위해 사용될 수 있다. 2차 구조 형성의 제어는 펩티드의 생물학적, 생물물리학적 및 화학적 치료 기능을 향상시킬 수 있다. 예를 들면, β -헤어핀 펩티드를 높은 pH(예를 들면, 적어도 pH 9) 또는 고온(예를 들면, 적어도 125°C) 또는 저온(예를 들면, 4°C 이하)에 노출시킴으로써, 자기 조립 펩티드의 더 높은 세포막 투과가 달성될 수 있다. 그 결과, 하이드로겔은 대부분의 β -시트 또는 α -나선 형성을 갖는 펩티드 2차 구조를 갖게 된다.
- [0288] 펩티드는 제제에 전단 담화 특성을 부여하도록 설계될 수 있다. 특히, 펩티드는 주사 가능하도록 설계될 수 있다. 예를 들면, 펩티드는 전단 담화 동역학을 채용함으로써 주사 가능한 고체 또는 겔이도록 설계될 수 있다. 적용 전 고체 또는 겔 형태의 제제는 전달 장치에 의해 투여하는 동안 적용되는 유효 전단 응력 하에서 유동 가능한 상태로 전단 담화되도록 구성될 수 있다. 일부 예시적인 실시형태에 있어서, 고체 또는 겔은 주사 또는 시린지로 주사 또는 국소 적용하는 동안 유동 가능한 상태로 전단 담화될 수 있다. 다른 투여 방식이 채용될 수 있다. 고체 또는 겔은 내시경 투여 중에 유동 가능한 상태로 전단 담화될 수 있다. 고체 또는 겔은 해부학적 내강, 예를 들면 동맥, 정맥, 위장관, 기관지, 신관, 생식관 등을 통해 유동하도록 전단 담화되도록 구성될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 전단 담화 특성이 경벽적 수술(transluminal procedure) 중에 채용될 수 있다. 펩티드는 스프레이 가능하도록 설계될 수 있다. 예를 들면, 펩티드는, 상술한 바와 같이, 전단 담화 동역학을 채용함으로써, 스프레이 또는 다른 액적, 예를 들면 다른 추진식 액적으로서 투여하도록 설계될 수 있다.
- [0289] 하이드로겔의 전단 담화 동역학은 펩티드의 순 전하를 변경함으로써 조작될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 순 전하는 양이온성 입자 또는 펩티드의 존재 또는 부재, 음이온성 입자 또는 펩티드의 존재 또는 부재, 버퍼, 염, 펩티드 농도, 펩티드 순도, 및 펩티드 카운터이온의 존재 또는 부재 중 하나 이상을 제어함으로써 변경될 수 있다. 특히, 소망하는 전단 담화 동역학을 달성하기 위해 펩티드 순도를 변경함으로써, 전단 담화가 제어될 수 있다. 펩티드의 순 전하는 양성일 수 있다. 펩티드의 순 전하는 음성일 수 있다.
- [0290] 전단 담화는 하이드로겔에 대한 기계적 교반 또는 환경 자극에 의해 유도될 수 있다. 기계적 교반은, 예를 들면 전달 또는 초음파 혼합을 통해 유도될 수 있다. 환경 자극은 열, 광, 이온제, 킬레이트제, 버퍼 또는 단백질을

첨가하거나 pH 수준을 변경함으로써 유도될 수 있다.

- [0291] 따라서, 제제는 실질적으로 유동 가능할 수 있다. 상기 방법은 캐놀러 또는 바늘을 통해 제제를 분배하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 방법은 임의의 크기 및 형상의 상처 베드를 등각하게 충전하는 단계를 포함할 수 있다. 펩티드 하이드로겔은 전단 담화 기계적 특성을 가질 수 있다. 전단 담화 기계적 특성은 투여 동안, 예를 들면 바늘로부터의 주사 또는 스프레이 노즐을 사용한 투여 동안, 겔 네트워크가 파괴되어 유체가 되게 할 수 있다. 적용된 응력이 중단되면, 겔 네트워크가 재형성될 수 있고, 탄성 모듈러스가 미리 결정된 시간, 예를 들면 수분 내에 복원될 수 있다. 전단 담화 펩티드 하이드로겔은 주입 중에 세포가 손상되는 것을 방지하기 위해 채용될 수 있어서, 식염수 또는 배지에 직접 주사에 비해 개선된 생존율을 나타낸다. 전단 담화 하이드로겔은, 예를 들면 수 분 내지 수 시간 내에 부형제의 효과적인 혼합을 가능하게 할 수 있는 비뉴턴 유체 유동을 나타낼 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 염료, 작은 분자 및 큰 분자는 120분 미만, 예를 들면 30~120분 내에 하이드로겔 내에서 실질적으로 균질하게 분산될 수 있다.
- [0292] 펩티드는 반투명 하이드로겔로 자기 조립될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 펩티드는 실질적으로 투명한 하이드로겔로 자기 조립할 수 있다. 하이드로겔의 투명도는 사용자 또는 의료 제공자가 하이드로겔을 통해 주변 조직을 볼 수 있게 할 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 수술 절차는 하이드로겔에 의한 실질적인 시야 방해없이 수행될 수 있다. 상기 하이드로겔의 광 투과율은 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 99% 또는 약 100%일 수 있다. 하이드로겔은 무색일 수 있다. 하이드로겔의 광 투과율 및 색상은 펩티드의 서열 및/또는 제제 또는 용액의 조성을 조정함으로써 조작될 수 있다. 도 8의 그래프에 도시된 바와 같이, 펩티드 하이드로겔의 투명도는 흡광도 측정에 의해 정량화될 수 있다. 도 8에서 측정된 예시적인 펩티드 하이드로겔은 실질적으로 투명하다.
- [0293] 일부 실시형태에 있어서, 제제는 염료를 포함할 수 있다. 염료는 식품 등급 염료 또는 제약 등급 염료일 수 있다. 염료는 세포적합성일 수 있다. 염료는 생체적합성일 수 있다. 일반적으로, 염료는 적용 후 사용자 또는 의료 제공자가 하이드로겔을 보는 데 도움이 될 수 있다. 제제는 하이드로겔의 소망하는 불투명도를 제공하기 위해 유효량의 염료를 포함할 수 있다. 하이드로겔은 약 60% 미만, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 30% 미만, 약 20% 미만, 또는 약 10% 미만의 광투과율을 갖기 위해 유효량의 염료를 포함할 수 있다. 하이드로겔은 염료를 포함하는 경우 실질적으로 불투명할 수 있다.
- [0294] 펩티드는 실질적으로 이온 가교결합된 하이드로겔로 자기 조립할 수 있다. "이온 가교"는 2차 구조 단백질을 형성하는 펩티드 사이 및/또는 하이드로겔 3차 구조를 형성하는 2차 구조 단백질 사이의 이온 결합을 지칭할 수 있다. 하이드로겔의 전단 담화 특성은 물리적 가교결합에 의해 활성화됨으로써, 이온 결합이 절단되고 재형성될 수 있다. 소정 실시형태에 따르면, 하이드로겔은 다수의 이온 가교결합으로 형성된다. 예를 들면, 형성된 하이드로겔의 물리적 가교결합의 50% 초과, 60% 초과, 70% 초과, 80% 초과, 90% 초과, 95% 초과, 99% 초과, 또는 실질적으로 모두는 본질적으로 이온성이어야 한다.
- [0295] 제제 및/또는 조립된 하이드로겔은 실질적으로 생리적 pH 수준을 갖도록 설계될 수 있다. 제제 또는 하이드로겔은 약 4.0~9.0의 pH 수준을 가질 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 제제 또는 하이드로겔은 약 7.0~8.0의 pH 수준을 가질 수 있다. 제제 또는 하이드로겔은 약 7.3~7.5의 pH 수준을 가질 수 있다. 실질적으로 생리적 pH는 겔화 시점에서 제제의 투여를 허용할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 하이드로겔은 포인트 오브 케어(point of care)시 제조될 수 있다. 상기 방법은 자기 조립을 유도하도록 구성된 버퍼와 제제를 혼합하는 단계, 선택적으로 혼합물을 교반하는 단계, 및 포인트 오브 케어시 제제 또는 하이드로겔을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 투여는 이하에 보다 상세히 기재된 바와 같이 국소 또는 비경구적일 수 있다.
- [0296] 펩티드는 자극에 반응하여 자기 조립하도록 설계될 수 있다. 자극은 환경 자극, 예를 들면 온도 변화(예를 들면 열의 적용), 광에 대한 노출, pH 변화, 적용된 음파, 또는 이온제, 킬레이트제 또는 단백질에 대한 노출일 수 있다. 자극은 기계적 교반, 예를 들면 전달, 초음파 처리 또는 혼합을 통해 유도될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 상기 방법은 제제를 액체로 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 방법은 겔로서 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 방법은 제제를 고체 또는 반고체로서 투여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0297] 일부 실시형태에 있어서, 제제는 시간이 경과한 후에 자기 조립하도록 설계될 수 있다. 예를 들면, 제제는 펩티드가 약 5분 미만, 약 3분 미만, 약 2분 미만, 약 30초 미만, 약 10초 미만, 또는 약 3초 미만 내에 자기 조립을 개시하도록 구성된다. 소정 실시형태에 있어서, 제제는 펩티드가 약 60분 이내, 약 30분 이내, 약 15분 이내, 약 10분 이내, 약 5분 이내, 약 3분 이내, 약 2분 이내, 약 30초 이내, 약 10초 이내, 약 5초 이내, 약 3초 이내에 자기 조립, 즉 실질적으로 자기 조립하도록 구성되도록 설계될 수 있다. 제제는 자기 조립의 타이밍

을 제어하도록 구성된 조성을 가질 수 있다. 예를 들면, 제제는 이온제 또는 pH 변경제의 지효성을 위해 구성된 조성을 가질 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 펩티드의 서열 또는 구조는 펩티드의 자기 조립을 제어하도록 설계될 수 있다.

[0298] 일부 실시형태에 있어서, 상기 방법은 제제를 버퍼와 화합하는 단계를 포함할 수 있다. "버퍼"는 피험체에게 제제를 투여하기 전, 투여 후 또는 투여와 동시에 겔화를 유도하도록 구성된 작용제(agent)를 지칭할 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에 있어서, 제제는 버퍼를 포함할 수 있다. 예를 들면, 제제는 약 1000mM 이하의 버퍼를 포함하거나 이와 화합될 수 있다. 버퍼는, 예를 들면 겔화를 유도하고 및/또는 소망하는 특성을 제공하기 위해 유효량의 이온성 염 및 버퍼를 포함할 수 있다. 예를 들면, 버퍼는 제제의 pH를 조절 또는 유지하기 위해 포물레이팅될 수 있다.

[0299] 특정 실시형태에 있어서, 버퍼는 하이드로겔의 강성을 제어하기 위해 유효량의 이온성 염을 가질 수 있다. "이온성 염"은 용액 중에서 이온으로 해리되는 화합물을 지칭할 수 있다. 버퍼는 약 5mM~400mM의 이온성 염을 포함할 수 있다. 예를 들면, 버퍼는 약 5mM~200mM의 이온성 염, 약 50mM~400mM의 이온성 염, 약 50mM~200mM의 이온성 염, 또는 약 50mM~100mM의 이온성 염을 포함할 수 있다. 이온성 염은 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 철, 암모늄, 피리듐, 4차 암모늄, 클로라이드, 시트레이트, 아세테이트 및 술페이트 이온 중 적어도 하나로 해리되는 것일 수 있다. 이온성 염은 염화나트륨, 염화암모늄, 염화마그네슘, 염화칼륨, 염화칼슘, 황산암모늄, 황산마그네슘, 황산나트륨, 황산칼륨, 황산칼슘, 중탄산나트륨 및 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0300] 예시적인 실시형태에 있어서, 버퍼는 약 1mM~약 200mM의 염화나트륨을 포함할 수 있다. 예를 들면, 버퍼는 약 10mM~약 150mM의 염화나트륨, 예를 들면 약 50mM~약 100mM의 염화나트륨을 포함할 수 있다.

[0301] 버퍼는 카운터이온을 포함할 수 있다. 버퍼는 하이드로겔을 실질적으로 전기적으로 중성으로 만들기 위해 유효량의 카운터이온을 가질 수 있다. 버퍼는 펩티드의 자기 조립을 유도하기 위해 유효량의 카운터이온을 가질 수 있다. 카운터이온의 농도는 펩티드 제제의 구성에 따라 달라질 수 있다. 또한, 카운터이온의 전하는 펩티드 제제의 전하에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 카운터이온은 음이온 또는 양이온일 수 있다. 일반적으로, 카운터이온은 세포적합성일 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 카운터이온은 생체적합성일 수 있다. 예를 들면, 카운터이온은 아세테이트 또는 클로라이드를 포함할 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 생체적합성 용액은 클로라이드 카운터이온을 실질적으로 포함하지 않을 수 있다.

[0302] 버퍼는 약 1mM~약 150mM의 생물학적 완충제를 포함할 수 있다. 예를 들면, 버퍼는 약 1mM~약 100mM의 생물학적 완충제, 약 1mM~약 40mM의 생물학적 완충제, 또는 약 10mM~약 20mM의 생물학적 완충제를 포함할 수 있다. 생물학적 완충제는 비스-트리스 프로판(BTP), 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄술포산(HEPES), 둘베코 변형 이글 배지(DMEM), 트리스(히드록시메틸)아미노메탄(TRIS), 2-(N-모르폴리노)에탄술포산 헤미나트륨염, 4-모르폴린에탄술포산 헤미나트륨염(MES), 3-(N-모르폴리노)프로판술포산(MOPS) 및 3-(N-모르폴리노)프로판술포산(MOBS), 트리신, 비신, (트리스(히드록시메틸)메틸아미노)프로판술포산(TAPS), N-(2-아세트아미도)-2-아미노에탄술포산(ACES), β -히드록시-4-모르폴린프로판술포산, 3-모르폴리노-2-히드록시프로판술포산(MOPSO), (N,N-비스(2-히드록시에틸)-2-아미노에탄술포산)(BES) 및 이들의 조합에서 선택될 수 있다. 다른 생물학적 완충제는 본 개시의 범위 내에 있다.

[0303] 예시적인 실시형태에 있어서, 버퍼는 약 1mM~약 150mM의 BTP를 포함할 수 있다. 버퍼는 약 10mM~약 100mM BTP, 예를 들면 약 10mM~약 50mM BTP, 약 10mM~약 40mM, 약 20mM~약 40mM, 또는 약 20mM~약 40mM를 포함할 수 있다.

[0304] 버퍼는 물, 산 및 염기 중 적어도 하나를 추가로 포함할 수 있다. 산 및/또는 염기는 버퍼의 pH를 실질적으로 생리적 pH로 조절하는 데 유효한 양으로 첨가될 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 버퍼는 산성, 알칼리성 또는 실질적으로 중성일 수 있다. 버퍼는 하이드로겔의 pH를 조절하고, 표적 부위에서 소망하는 pH를 유지하도록 선택될 수 있다. 예를 들면, 하이드로겔의 pH가 표적 부위에서 실질적으로 생리적 pH가 되도록 조절하기 위해. 따라서, 버퍼의 특성은 표적 부위에 기반하여 선택될 수 있다. 버퍼는, 예를 들면 순 전하, 추가 단백질의 존재 또는 부재 등을 선택함에 따라 추가 특성을 가질 수 있다. 버퍼는 추가로 하나 이상의 무기물을 포함할 수 있다.

[0305] 제제는 유효량의 무기물 점토를 추가로 포함할 수 있다. 제제는 약 0.1% w/v~약 20% w/v의 무기물 점토를 포함할 수 있다. 예를 들면, 제제는 0.75% w/v, 1.5% w/v, 2% w/v, 3% w/v, 4% w/v, 8% w/v, 10% w/v, 또는 20% w/v의 무기물 점토를 포함할 수 있다. 무기물 점토의 양은 적용 표적 부위에 소망하는 유동학 특성을 제공하는

데 효과적일 수 있다. 무기물 점토의 양은 필름 형성에 효과적일 수 있다. 무기물 점토는 천연 또는 합성일 수 있다. 무기물 점토는 라포나이트 및 몬모릴로나이트 중 적어도 하나를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 제제는 펩티드와 무기물 점토를 1:1~1:2의 비율(w/v)로 포함할 수 있다. 예를 들면, 제제에서의 펩티드와 무기물 점토의 비율은 1:1, 3:4, 3:8 또는 1:2(w/v)일 수 있다.

[0306] 제제는 표적 표시를 위해 포물레이팅될 수 있다. 예를 들면, 제제는 미생물 감염의 치료 또는 병원성 미생물과 같은 미생물의 증식 억제를 위해 포물레이팅될 수 있다. 제제는 진균 감염의 치료 또는 진균 유기체의 증식 억제를 위해 포물레이팅될 수 있다. 제제는 세포 배양 및/또는 세포 전달을 위해 포물레이팅될 수 있다. 제제는 만성 상처 또는 생물막과 같은 상처의 치료 또는 억제를 위해 포물레이팅될 수 있다. 제제는 이하에 더욱 상세히 기재된 바와 같이 펩티드를 조작함으로써 포물레이팅될 수 있다. 제제는 생체적합성 용액 및/또는 첨가제를 선택함으로써 포물레이팅될 수 있다.

[0307] 소정 실시형태에 있어서, 제제는 조합 치료를 위해 포물레이팅될 수 있다. 제제는 조합 치료를 제공하도록 구성된 적어도 하나의 활성제를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 제제는 활성제의 조합으로 시너지적 결과를 나타낼 수 있다. 활성제는, 예를 들면 항박테리아 조성물, 항바이러스 조성물, 항진균 조성물, 항종양 조성물, 항염증 조성물, 지혈제, 세포 배양 배지, 세포 배양 혈청, 항취 조성물, 진통, 국소 마취 또는 통증 완화 조성물일 수 있다. 제제는 상술한 조성물 중 하나와 함께 투여하기 위해 포물레이팅될 수 있다. 제제는 동시 또는 병용 조합 투여를 위해 포물레이팅될 수 있다. 제제는 순차적 조합 투여를 위해 포물레이팅될 수 있다.

[0308] 일부 실시형태에 있어서, 제제 및/또는 하이드로겔은 $-20^{\circ}\text{C} \sim 150^{\circ}\text{C}$, $-20^{\circ}\text{C} \sim 125^{\circ}\text{C}$, $-20^{\circ}\text{C} \sim 100^{\circ}\text{C}$, $2^{\circ}\text{C} \sim 125^{\circ}\text{C}$, 및 $37^{\circ}\text{C} \sim 125^{\circ}\text{C}$ 에서 열적으로 안정되도록 설계될 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, "열 안정성"은 실질적인 분해, 생물학적 활성의 손실 또는 화학적 활성의 손실 없이 온도 처리를 견디는 능력을 지칭한다. 도 7a~도 7b의 그래프는 온도의 함수로서 예시적인 펩티드의 266nm에서의 정적 광산란(SLS)에 의해 측정된 펩티드 응집을 도시한다. 예시적인 펩티드는 아르기닌, 라이신, 발린, 트레오닌 및 프롤린 잔기를 포함한다. 도 7a~7b의 그래프에 도시된 바와 같이, 펩티드 하이드로겔 및 펩티드는 온도의 함수로서 열안정적이다.

[0309] 소정 실시형태에 있어서, 제제 및/또는 펩티드는 기계적으로 안정할 수 있다. 예를 들면, 제제는 전단 담화 또는 초음파 처리될 수 있다. 제제는 실질적인 분해, 생물학적 또는 화학적 활성의 손실 없이 초음파 처리될 수 있다. 제제는 실질적인 분해, 생물학적 또는 화학적 활성의 손실 없이 전단 담화될 수 있다.

[0310] 소정 실시형태에 있어서, 제제 및/또는 펩티드는 무균 상태 또는 멸균될 수 있다. 제제 및/또는 펩티드는 오토클레이브 멸균에 의해 멸균될 수 있다. 오토클레이브 멸균 동안, 제제 및/또는 펩티드는 $120^{\circ}\text{C} \sim 150^{\circ}\text{C}$, 예를 들면 최대 125°C , 최대 135°C 또는 최대 150°C 의 온도로 가열될 수 있다. 제제 및/또는 펩티드는 적어도 약 2분, 예를 들면 약 2~20분 또는 약 10~160분 동안 오토클레이브 온도에서 유지될 수 있다. 오토클레이브 멸균은 임의의 병원성 미생물의 적어도 약 90%, 95%, 99%, 99.9%, 99.99%, 99.999% 또는 100%를 멸균하기에 충분할 수 있다. 제제 및/또는 펩티드는 오토클레이브 멸균 동안 및 이후에 안정하게 유지될 수 있다. 예를 들면, 제제 및/또는 펩티드는 오토클레이브 멸균 후 물리적으로, 화학적으로, 생물학적으로 및/또는 기능적으로 안정하게 유지될 수 있다.

[0311] 소정 실시형태에 있어서, 제제 및/또는 펩티드는 저온살균될 수 있다. 저온살균 동안, 제제 및/또는 펩티드는 $50^{\circ}\text{C} \sim 100^{\circ}\text{C}$, 예를 들면 최대 60°C , 최대 70°C 또는 최대 100°C 의 온도로 가열될 수 있다. 제제 및/또는 펩티드는 적어도 약 15초, 예를 들면 약 1~30분 또는 약 3~15분 동안 저온살균 온도에서 유지될 수 있다. 저온살균은 임의의 병원성 미생물의 적어도 약 90%, 95%, 99%, 99.9%, 99.99%, 또는 99.999%를 멸균하기에 충분할 수 있다.

[0312] 소정 실시형태에 있어서, 제제는 초고온(UHT) 멸균 또는 고온/단시간(HTST) 멸균에 의해 멸균될 수 있다. UHT 또는 HTST 멸균 동안, 제제 및/또는 펩티드는 $100^{\circ}\text{C} \sim 150^{\circ}\text{C}$, 예를 들면 최대 130°C , 최대 140°C 또는 최대 150°C 의 온도로 가열될 수 있다. 제제 및/또는 펩티드는 적어도 약 15초, 예를 들면 약 1분 미만~약 6분, 예를 들면 약 2~4분 동안 UHT 또는 HTST 온도에서 유지될 수 있다. UHT 또는 HTST 멸균은 임의의 병원성 미생물의 적어도 약 90%, 95%, 99%, 99.9%, 99.99% 또는 99.999%를 멸균하기에 충분할 수 있다.

[0313] 소정 실시형태에 있어서, 멸균 또는 저온살균은 최종일 수 있다. 최종 멸균 또는 저온살균은 밀봉된 최종용도(end-use) 패키지에서의 제제의 처리를 지칭할 수 있다.

[0314] 제제 및/또는 펩티드는 열처리 동안 및 열처리 후에 안정할 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, 열처리, 예를 들면 오토클레이브 멸균 동안 및 이후의 안정성은 저하된 또는 억제된 분해, 생물학적 활성 및 화학적 활성을

지칭할 수 있다. 예를 들면, 제제 및/또는 펩티드는 분해, 생물학적 활성의 손실 또는 화학적 활성의 손실 없이 열처리될 수 있다. 생물학적 활성은 본원에 개시된 펩티드의 임의의 생체활성 특성을 지칭할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 생물학적 활성은 항미생물 활성을 지칭할 수 있다. 화학적 활성은 본원에 개시된 펩티드의 임의의 화학적 또는 물리화학적 특성을 지칭할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 화학적 활성은 본원에 개시된 펩티드의 자기 조립 특성 및/또는 전단 담화 특성을 지칭할 수 있다. 따라서, 제제 및/또는 펩티드는 항미생물 활성, 자기 조립, 또는 전단 담화 특성의 손실 없이 열처리될 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 열처리되는 펩티드 및/또는 제제의 하나 이상의 생물학적 활성 또는 화학적 활성을 향상시킬 수 있다. 예를 들면, 열처리되는 펩티드 또는 제제의 항미생물 활성, 자기 조립, 또는 전단 담화 특성을 향상시킬 수 있다.

[0315] 제제는 무균 상태일 수 있다. 예를 들면, 제제는 방부제를 첨가하지 않고 실질적으로 무균 상태를 유지할 수 있다. 제제는 감마선 조사 처리 없이 실질적으로 무균 상태일 수 있다. 제제는 전자빔 처리 없이 실질적으로 무균 상태일 수 있다.

[0316] 제제는 미리 결정된 저장 수명을 가질 수 있다. "저장 수명"은 주어진 조건 하에서 보관 후 제제를 안정적으로 유지하고 및/또는 효능을 유지할 수 있는 기간을 지칭할 수 있다. 제제 및/또는 하이드로겔은 -20℃~150℃의 온도에서 적어도 약 1년의 저장 수명을 가질 수 있다. 예를 들면, 제제 및/또는 하이드로겔은 실온(약 20℃~25℃)에서 적어도 약 1년의 저장 수명을 가질 수 있다. 제제 및/또는 하이드로겔은 실온에서 적어도 약 2년, 약 3년, 약 4년, 약 5년 또는 약 6년의 저장 수명을 가질 수 있다. 제제 및/또는 하이드로겔은 최대 약 25psi, 예를 들면 최대 약 15psi의 압력에서 안정할 수 있다.

[0317] 펩티드는 2℃~40℃의 온도에서 자기 조립이 가능할 수 있다. 예를 들면, 펩티드는 2℃~20℃, 20℃~25℃, 또는 36℃~40℃의 온도를 갖는 환경에서 자기 조립이 가능할 수 있다.

[0318] 펩티드는 40℃보다 높은 온도에서 실질적으로 조립되지 않을 수 있다. 예를 들면, 펩티드 제제는 40℃~150℃의 온도에서 실질적으로 액체일 수 있다. 펩티드 제제는 실질적으로 액체이고, 40℃~125℃ 또는 최대 150℃의 온도에서 열적으로 안정할 수 있다. 온도는 제제의 취급을 위해 제어될 수 있다. 예를 들면, 제제는 액체 상태에서 패키징, 취급 및/또는 투여하기 위해 40℃보다 높은 온도로 가열될 수 있다.

[0319] 제제는 소망하는 투여 경로를 위해 포물레이팅될 수 있다. 예를 들면, 제제는 국소 또는 비경구 투여를 위해 포물레이팅될 수 있다. 특히, 제제는 국소 투여 또는 비경구 투여에 적합한 점도를 갖도록 조작될 수 있다. 국소 투여를 위한 제제는 투여 부위 또는 표적 부위에서 환경적 및 기계적 스트레스를 견디도록 포물레이팅될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제는 투여 부위 또는 표적 부위로부터의 이동이 감소하도록 포물레이팅될 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 비경구 투여를 위한 제제는 투여 부위에서 표적 부위로의 이동을 촉발하도록 포물레이팅될 수 있다. 제제는 특정 전달 장치에 의한 투여를 위해 포물레이팅될 수 있다. 예를 들면, 제제는 스프레이, 드롭퍼 또는 시린지에 의한 투여를 위해 포물레이팅될 수 있다. 제제는 주사 또는 카테터에 의한 투여를 위해 포물레이팅될 수 있다.

[0320] 표 1은 3개의 예시적인 펩티드 제제 샘플의 분석적 특징화를 포함한다. 예시적인 펩티드는 2개의 라이신 아미노산 잔기를 포함하는 아르기닌이 풍부한 서열을 갖는다. 값은 기존의 검출 방법에 의해 검출했다.

[0321] "N.D."로 표시된 성분은 검출한계 이하였다. 펩티드 정제, 잔류 용매, 펩티드 함량 및 수분 함량이 하이드로겔의 항미생물 활성 및 세포막 파괴 가능성을 제어하기 위해 선택될 수 있다.

표 1

예시적인 펩티드 제제

#	순도 (%)	아세트아미노산 (%)	TFA (%)	물 (%)	순 펩티드 (%)	이소프로판올 (ppm)	메탄올 (ppm)	아세트아미노산 (ppm)	잔류 용매					
									트리에틸아민 (ppm)	N, N-디메틸포름아미드 (ppm)	에틸에테르 (ppm)	DCM	DIC	MPS
1	97.9	19.3	N.D.	6.5	78.6	81	28	17	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2	93.7	16.3	N.D.	7.1	79.3	63	28	18	56	116	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
3	96.0	16.9	N.D.	6.2	76.1	N.D.	N.D.	4.6	2.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

[0322]

[0323] 정제된 펩티드 및 하이드로겔은 표 2에 나타난 바와 같이 방부제의 첨가 또는 멸균 없이 실질적으로 내독소를 포함하지 않을 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에 있어서, 펩티드 제제는 방부제를 실질적으로 포함하지 않을 수 있다.

표 2

상이한 조성물의 내독소 레벨

	410nm에서의 OD	내독소 레벨 (EU/mL)
내독소 비포함 물	-0.000333333	-0.016148109
RO 수	3.436666667	1.267607913
Tap 수	3.463666667	1.2776927
완충액	-0.056	-0.036940201
펩티드	0.006	-0.013782542
펩티드 하이드로겔	0.015	-0.010420946

[0324]

[0325] 자기 조립 펩티드 하이드로겔

[0326] 본원에 개시된 제제는 미리 선택된 특성을 갖는 하이드로겔로 자기 조립하도록 제공될 수 있다. 폴리머 하이드로겔은 실질적으로 생리적 pH를 가질 수 있다. 일반적으로, 폴리머 하이드로겔은 4.0~9.0, 예를 들면 7.0~8.0, 7.2~7.8, 또는 7.3~7.5의 pH를 가질 수 있다.

[0327] 폴리머 하이드로겔은 실질적으로 투명할 수 있다. 예를 들면, 폴리머 하이드로겔은 탁도, 예를 들면 가시적 탁도를 실질적으로 포함하지 않을 수 있다. 가시적 탁도는 거시적 및 미시적 광학 이미징에 의해 결정될 수 있다. 폴리머 하이드로겔은 펩티드 응집체(펩티드 클러스터), 예를 들면 가시적 펩티드 응집체를 실질적으로 포함하지 않을 수 있다. 가시적 펩티드 응집체는 정적 광산란(SLS) 및 UV-VIS 테스트에 의해 결정될 수 있다. "투명도"는 가시광을 통과시키는 하이드로겔의 능력을 지칭할 수 있다. 실질적으로 투명한 하이드로겔은 약 205nm~약 300nm의 파장에서 약 $0.1\sim3.0\pm1.5$ 의 UV-VIS광 흡광도를 가질 수 있다.

[0328] 조립된 폴리머 하이드로겔은 나노 다공성 구조를 가질 수 있다. 폴리머 하이드로겔은 수화되거나 또는 실질적으로 포화될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 하이드로겔은 90% w/v~99.9% w/v의 수용액, 예를 들면 92% w/v~99.9% w/v 또는 94% w/v~99.9% w/v의 수용액을 가질 수 있다. 나노 다공성 구조는 표적 미생물에 대해 불투과성이도록 선택될 수 있다. 따라서, 하이드로겔은 표적 미생물을 캡슐화하거나 또는 표적 부위에 표적 미생물이 없게 유지하는데 사용될 수 있다. 나노 다공성 구조는 표적 부위에서 가스 교환을 허용하도록 선택될 수 있다. 폴리머 하이드로겔은 선택된 바에 따라(예를 들면, 표적 미생물, 표적 세포 또는 소망하는 기능성에 기반함) 1nm~1000nm의 공극 크기를 갖는 나노 다공성 구조를 가질 수 있다. 폴리머 하이드로겔은 선택된 바에 따라 1nm~100nm의 피브릴 폭을 가질 수 있다.

[0329] 하이드로겔은 일반적으로 본질적으로 양이온성일 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 하이드로겔은 본질적으로 음이온성일 수 있다. 또 다른 실시형태에 있어서, 하이드로겔은 양이온성 및/또는 음이온성 성분의 다중-도메인을 함유하도록 블렌딩될 수 있다. 하이드로겔은 미리 선택된 전하를 갖도록 설계될 수 있다. 본원에 개시된 자기 조립 펩티드 하이드로겔은 수술 중 환경에서 용이하고 신속하게 투여할 수 있게 하는 전단 담화 기계적 특성을 나타내고, 상처 바이오버든(bioburden)을 제어하기 위해 항미생물 특성을 나타내고, 바이러스 감염을 치료 또는 억제하기 위해 항바이러스 특성을 나타내고, 및/또는 진균 감염을 치료 또는 억제하기 위해 항진균 특성을 나타내도록, 이식된 치료 세포의 생존을 및 기능을 지원하는 생물학적 기능성으로 조정 가능할 수 있다.

[0330] 특히, 펩티드 서열 및 구조는 나노섬유를 형성하는 펩티드 관능기를 포함할 수 있으며, 이는 거대분자 구조를 형성하도록 추가로 자기 조립한다(도 1a~1b). 펩티드는 환경 자극에 반응하여 자기 조립할 수 있다. 펩티드는 배지 또는 식염수와 같은 실질적으로 생리적 버퍼의 존재하에 자기 조립할 수 있다. 펩티드 하이드로겔은 천연 근모상의 콜라겐과 유사한 세포외 스캐폴딩 매트릭스에 조립될 수 있다(도 1a~1b). 겔 매트릭스 자기 조립의 개략도 및 예시적인 나노구조가 도 1a~1b에 도시되어 있다. 도 1a에 도시된 바와 같이, 단일 펩티드 나노섬유는 이온 버퍼가 첨가되면 겔로 자기 조립한다. 도 1a는 펩티드 겔의 나노구조 및 공극 크기가 네이티브(native) ECM(콜라겐)과 유사하게 보이는 것을 입증하는 TEM 이미지를 포함한다. 도 1b는 세포 현탁액을 펩티드 겔 매트릭스와 혼합하기 위한 수술 중 혼합 장치의 개략도를 포함한다. 세포 함유 매트릭스(cell-laden matrix)의 도

1b의 SEM 이미지는 매트릭스 내의 세포의 예시적인 개념을 보여준다.

- [0331] 펩티드는 실질적으로 생체적합성인 하이드로겔로 자기 조립하도록 설계에 의해 조작될 수 있다. 펩티드는 세포 친화적인 하이드로겔로 자기 조립하도록 설계에 의해 조작될 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 세포친화적인 폴리머 하이드로겔은 비염증성 및/또는 무독성일 수 있다. 세포친화적인 폴리머 하이드로겔은 실질적으로 생분해성일 수 있다. 펩티드는 실질적으로 항미생물성, 항바이러스성 및/또는 항진균성이 되도록 설계에 의해 조작될 수 있다.
- [0332] 짧은 펩티드 및/또는 펩티드 관능기는 합성적으로 생성될 수 있다. 따라서, 펩티드는 제조, 스케일 업(scale-up) 및 품질 관리의 용이성을 제공할 수 있다. 일반적으로, 펩티드는 식물 또는 동물 발현 시스템을 사용하지 않고 제조될 수 있다. 펩티드는 자연적으로 발생하는 내독소 및 질병을 전염시키는 병원균을 실질적으로 포함하지 않을 수 있다. 또한, 펩티드 서열 및 관능기는 조정될 수 있어, 생분해, 기계적 특성 및 생물학적 활성과 같은 물리적 및 화학적 특성에 관한 것을 포함한, 조립된 하이드로겔의 제어 및 설계의 다양성을 허용한다.
- [0333] 펩티드는 표적 표시를 위해 조작된 관능기를 가질 수 있다. 예를 들면, 펩티드는 생체활성 관능기를 가질 수 있다. 표적 표시는 표적 조직의 조직 공학일 수 있다. 표적 표시는, 예를 들면 세포 배양, 세포 전달, 상처 치유 및/또는 생물막의 치료를 포함할 수 있다. 따라서, 펩티드는 실질적으로 생체적합성인 하이드로겔로 자기 조립하도록 설계에 의해 조작될 수 있다. 펩티드 관능기는 약 3~약 30개의 아미노산 잔기를 가질 수 있다. 예를 들면, 펩티드 관능기는 약 3~약 20개의 아미노산 잔기를 가질 수 있다. 펩티드 관능기는 RGD, IKVAV, YIGSR, LKKTETQ, SNKPGVL, PKPQQFFGLM, GKLTWQELYQLKYKGI, 및 GGG에서 선택된 서열을 가질 수 있다.
- [0334] 일부 실시형태에 있어서, 펩티드는 링커 및 스페이서에서 선택되는 수식을 포함할 수 있다. 펩티드 "링커"는 일반적으로 펩티드의 다중 도메인을 연결하기 위해 포함된 짧은 아미노산 서열을 지칭할 수 있다. 펩티드 "스페이서"는 일반적으로 조립된 단백질의 다중 도메인의 공간적 관계를 연결 및 제어하도록 위치한 아미노산 서열을 지칭할 수 있다. 링커 또는 스페이서는 소수성 또는 친수성일 수 있다. 링커 또는 스페이서는 강성 또는 가요성일 수 있다. 예시적인 스페이서는 아미노헥산산(Ahx)(소수성) 및 폴리(에틸렌)글리콜(PEG)(친수성)을 포함한다. 글리신이 풍부한 스페이서는 일반적으로 가요성이다.
- [0335] 예시적인 생체활성 관능기는 라미닌, 골수 호밍(bone marrow homing), 콜라겐(예를 들면 I, II 및 VI), 골수 정제, 및 RGD/피브로넥틴 유형을 포함한다.
- [0336] 예시적인 생체활성 관능기는 VEGF, 서브스텐스 P, 티모신 베타, 심장 호밍 펩티드, 골수 호밍 펩티드, 오스테오폰틴 및 골형성 펩티드를 포함한다. 예시적인 생체활성 관능기는 하기 표 3~5의 것을 포함한다.

표 3

예시적인 생체활성 관능기

ECM 모티프	ECM 유형
-GGPDSSGR	라미닌
-GGSDPGYIGSR	라미닌
-GGSKPPGTSS	골수 호밍
-GGDGEA	콜라겐 II
-GGPFSSTKT	골수 호밍
-GGFLGFPT	골수 정제
-GGRGDS	RGD/ 피브로넥틴
-GGIKVAV	라미닌
-GGFPDERGVEGPGP	콜라겐 I
-GGPRGDSGYRGDSF	콜라겐 VI

[0337]

표 4

예시적인 생체활성 관능기

단백질/펩티드	생체활성 모티프
VEGF	GKLTWQELYQLKYKGI
서브스텐스 P	RPKPQQFFGLM
티모신 베타	SNKPG
티모신 베타	LKKTETQG
심장 호밍 펩티드	CSTMLKAC
골수 호밍 펩티드	GCPFSSTKTE
오스테오폰틴	TLEGTKKGHLHLDY
골형성 펩티드	ALKRQGRTLYGFGG

[0338]

표 5

예시적인 생체활성 관능기

펩티드 명칭	서열	소스
RGD	X <u>RGD</u> X	피브로넥틴, 오스테오폰틴, BSP 등
pRGD/bsp-RGD	CGGNGE <u>PRGD</u> TYRAY	BSP
hBSP ₂₇₈₋₂₉₃	YESENGE <u>PRGD</u> NYRAY	BSP
PHSRN	PHSRN	피브로넥틴
F105	YKRSRYT	FGF-2
F119	KRTGQYKLGSKTGPGQK	FGF-2
F36	<u>PDGR</u> VD	FGF-2
F77	<u>KEDGR</u> LL	FGF-2
GFOGER	GGYGGGPC(GPP) ₅ GFOGER (GPP) ₅ GPC	콜라겐 유형 I

[0339]

DGEA	DGEA	콜라겐 유형 I
P15	GTPGPQGIAGQRGVV	콜라겐 유형 I
AC-100	ERGD NDISPFSGDGQ	MEPE
ODP (오스테오폰틴 유래 펩티드)	DVDVDPDGR RGD SLAYG	오스테오폰틴
RRETAWA	RRETAWA	파지 디스플레이로 식별
YIGSR	YIGSR	라미닌
IKVAV	IKVAV	라미닌
Ln2-P3	DLTIDDSYWYRI	라미닌
KRSR	KRSR	BSP, 피브로넥틴, 오스테오폰틴 등
컨센서스 헤파린 결합 도메인	FHRRIKA	BSP
HBD 펩티드	RKKNPNCRRH	BMP-4
BMP-2- 유래 펩티드	NSVNSKIPKACCVPTLSAI	BMP-2
BMP-2- 유래 펩티드	KIPKASSVPTLSAISTLYL	BMP-2
P24	S ^[PO₄] KIPKASSVPTLSAISTLYLDDD	BMP-2
pBMP-9/SpBMP-9	CGGKVGKA(CC/SS)VPTKLSPISVLYK	BMP-9
BMP-9- 유래 펩티드	RKVGKASSVPTKLSPI SILYK	BMP-9
BMP-7- 유래 펩티드	RTVPKPSSAPTQLNAI STLYF	BMP-7
BFP-1	GQGFSYPYKAVFSTQ	BMP-7
OPD (글유도재생 도메인)	DWIVA	BMP-2
CBM	GLRSKSKKFRRPDIQYPDA TDEDITSHM	오스테오폰틴
BCSP TM -1	NGLPGPIGP	콜라겐 유형 I
OGP (골형성 성장 펩티드)	ALKRQGRPLYGFGG	자연 발생
OGP ₁₀₋₁₄	YGFGG	OGP
PTH ₁₋₃₄	SVSEIQLMHNLGKHLNSMERVEWLRKKLQDVHNF	부갑상선호르몬
CB	NGVFKYRRRYLYKHAYFYPHLKRFPVQ	BSP
CTC 펩티드	IAGVGGEKSGGF	콜라겐 -IIIa
서브스텐스-P	RPKPQQFFGLM	자연 발생
엔도텔린 -1	CSCSSLMDKECVYFCHLDIIW	자연 발생
QK	KLTWQELYQLKYKGI	VEGF
PBA2-1c	(CVRKIEIVRKK) ₂ -Ahx-Ahx-Ahx-RKRKLERIAR	PDGF
엑센틴 4	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVALFIEWLKNGGPSSGAPPS	글루카곤형 펩티드
OPD (오스테오폰틴 유래 펩티드)	SVVYGLR	오스테오폰틴
SPARC 113	TLEGTKKGHKLHLDY	오스테오넥틴
SPARC 118	KKGHK	오스테오넥틴

[0340]

TP508	AGYKPDEGK RGD ACEGDSGGPFV	트롬빈
RoY	YPHIDSLGHWRR	설계됨
LL-37	LLGDFFRKSKEKIGKEFKRI VQRIKDFLRNLVPRTES	hCAP18

[0341]

[0342]

펩티드는 펩티드 또는 제제의 전하 또는 pH를 조절 또는 변경하도록 조작된 관능기를 가질 수 있다. 미리 선택된 전하 또는 pH는 생체활성 특성을 제공할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 미리 선택된 전하 또는 pH는 항미생물, 항진균 및/또는 항바이러스 특성을 제공할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 미리 선택된 전하 또는 pH는 적합한 표적 부위에 제제가 투여되도록 허용할 수 있다.

[0343]

펩티드는 항미생물 관능기를 가질 수 있다. 항미생물 관능기는 항미생물 잔기의 보존 서열을 포함할 수 있다.

다른 실시형태에 있어서, 항미생물 관능기는 자기 조립 관능기와 중첩되거나 또는 부분적으로 중첩될 수 있다. 적어도 하나의 실시형태에 있어서, 펩티드는 교대하는 또는 실질적으로 교대하는 항미생물 및 자기 조립 잔기를 가질 수 있다.

[0344] 펩티드는 항진균 관능기를 가질 수 있다. 항진균 관능기는 항진균 잔기의 보존 서열을 포함할 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 항진균 관능기는 자기 조립 관능기와 중첩되거나 또는 부분적으로 중첩될 수 있다. 적어도 하나의 실시형태에 있어서, 펩티드는 교대하는 또는 실질적으로 교대하는 항진균 및 자기 조립 잔기를 가질 수 있다.

[0345] 펩티드는 항바이러스 관능기를 가질 수 있다. 항바이러스 관능기는 항바이러스 잔기의 보존 서열을 포함할 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 항바이러스 관능기는 자기 조립 관능기와 중첩되거나 또는 부분적으로 중첩될 수 있다. 적어도 하나의 실시형태에 있어서, 펩티드는 교대하는 또는 실질적으로 교대하는 항바이러스 및 자기 조립 잔기를 가질 수 있다.

[0346] 자기 조립된 하이드로겔은 세포 보호 특성을 표적 부위에 갖도록 설계될 수 있다. 특히, 자기 조립 하이드로겔은 외래 미생물, 예를 들면 병원성 미생물에 대해 보호되도록 설계될 수 있다. 자기 조립 하이드로겔은 진균 유기체에 대해 보호하도록 설계될 수 있다. 자기 조립 하이드로겔은 환경 면역 세포로부터의 면역 공격에 대해 보호되도록 설계될 수 있다. 하이드로겔의 항미생물, 항바이러스, 항진균 및/또는 보호 특성은 표적 부위에서의 세포의 생존율, 성장 또는 기능에 실질적으로 영향을 미치지 않을 수 있다.

[0347] 하이드로겔의 보호 특성은 펩티드의 순 전하를 변경함으로써 조작될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 순 전하는 양이온성 입자 또는 펩티드의 존재 또는 부재, 음이온성 입자 또는 펩티드의 존재 또는 부재, 버퍼, 염, 펩티드 농도, 펩티드 순도, 및 펩티드 카운터이온의 존재 또는 부재 중 하나 이상을 제어함으로써 변경될 수 있다. 펩티드는 양으로 하전된, 음으로 하전된, 소수성 또는 친수성 아미노산 잔기를 갖도록 조작될 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 펩티드는 실질적으로 중성 pH 수준에서 양으로 하전된 아미노산을 포함함으로써 항미생물, 항바이러스 및/또는 항진균 특성을 제공할 수 있다. 이러한 아미노산은, 예를 들면 아르기닌, 라이신, 트립토판 및 히스티딘을 포함할 수 있다.

[0348] 펩티드 하이드로겔은 추가로 항미생물 특성을 나타낼 수 있다. 일반적으로 항미생물 관능기를 포함함으로써 항미생물 특성이 제공될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 항미생물 관능기는 양이온이 풍부한 펩티드 서열을 포함할 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 항미생물 관능기는 다양한 비율의 라이신(L) 및 아르기닌(R)을 포함할 수 있다(도 4). 항균 펩티드 하이드로겔은 대장균(도 4), 황색포도상구균 및 녹농균을 포함하는 그람 양성 및 음성 박테리아에 대해 항미생물 효과를 제공할 수 있다. 도 4는 8개의 아르기닌 잔기(PEP8R), 6개의 아르기닌 잔기(PEP6R), 4개의 아르기닌 잔기(PEP4R) 및 2개의 아르기닌 잔기(PEP2R)를 갖는 다양한 농도의 펩티드의 항미생물 활성(투여 24시간 후 잔존하는 생존 불가능 대장균 백분율)을 나타내는 그래프이다.

[0349] 펩티드 하이드로겔은 광역 스펙트럼 항미생물 활성을 나타낼 수 있다. 소정 실시형태에 따르면, 펩티드 하이드로겔은 메티실린 내성 황색포도상구균(MRSA)이 접종된 부분층 상처에서 생체내 바이오버든을 감소시킬 수 있다(도 5). 도 5는 펩티드 겔로 생물발광 MRSA(US300)를 처리하는 것의 항미생물 이점을 입증하는 예비 데이터를 도시한다. 이미지(A) 및 (B)는 1시간 및 3시간(n=3)에서 대조군과 비교한 펩티드 겔의 항미생물 활성을 입증하는, 100 μ l의 겔 및 100 μ l의 US300(1×10^8 CFU/ml)으로 플레이팅된 웰을 도시한다. 이미지(C)는 50 μ l의 10^8 CFU/ml US300을 접종하고 펩티드 겔로 처리한 부분층 화상을 가진 마우스를 도시한다. 이미지(C)에 도시된 바와 같이, 마우스는 투여 3시간 후에 감소된 바이오버든을 나타낸다.

[0350] 특히, 펩티드 하이드로겔은 외래 및/또는 병원성 미생물에 대해 항미생물 특성을 나타낼 수 있고, 투여된 세포와 호환될 수 있다. 예를 들면, 이러한 펩티드 하이드로겔은 포유류 적혈구 및 대식세포와 호환될 수 있다. 하나의 예시적인 실험에서, 박테리아 및 포유동물 세포가 본원에 개시된 펩티드 하이드로겔 상에 동시에 시딩되었을 때, 박테리아는 사멸되었지만, 포유동물 세포는 24시간 후에 >90% 생존율을 유지하고 증식을 계속할 수 있었다.

[0351] 일부 실시형태에 있어서, 펩티드는 MSC 기능과 호환되거나 시너지적인 생물학적 활동을 향상시키거나 촉진하는 관능기를 포함할 수 있다. 예를 들면, 소정 실시형태에 있어서, 펩티드 서열은 피브로넥틴을 모방하고 다른 ECM 리간드보다 더 큰 정도로 인간 MSC의 접착 및 증식을 촉진하는 관능기를 함유할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 펩티드 서열은 염증을 억제하고 혈관신생을 유도함으로써 당뇨병성 상처 치유를 촉진하도록 신경펩티드를 포함하는 관능기를 함유할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 펩티드 서열은 MSC의 증식 및 이동을 유도할 뿐만

아니라 MSC의 면역조절 기능을 향상시키도록 신경펩티드를 포함하는 관능기를 함유할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 펩티드 서열은 혈관신생을 증가시키고 MSC 증식 및 이동을 유도함으로써 상처 치유를 개선하도록 관능기를 함유할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 펩티드 서열은 단백질 분해 활성을 억제하는 관능기를 결여시킬 수 있다. 펩티드는 당업자에게 공지된 다른 관능기를 함유하도록 조작될 수 있다.

[0352] 시험관내에서, 본원에 개시된 펩티드 하이드로겔은 3D 구축물에서 세포 침입 및 증식을 가능하게 하여, 하이드로겔이 조직 재생을 위한 스캐폴딩 매트릭스의 역할을 하게 할 수 있다. 펩티드 하이드로겔은 피하 이식 후 생체적합성을 나타낼 수 있다. 실험은 피하 투여 7일 후 겔 이식 부위에서 최소한의 세포 파편(cell debris) 또는 죽은 세포를 보여준다. 실험은 나이브(naive) 조직과 비교하여 겔과 주변 조직에서 사이토카인 농도의 증가가 최소인 것을 보여주며, 이는 겔이 미미한 급성 염증 효과를 갖는 것을 시사한다.

[0353] 펩티드 제제를 포함하는 키트

[0354] 펩티드 제제를 포함하는 키트는 본원에 기재되어 있다. 키트는 펩티드 제제 및 버퍼 용액을 포함할 수 있다. 버퍼는 펩티드 투여 전 또는 투여와 동시에 펩티드의 자기 조립을 유도하도록 구성될 수 있다. 펩티드 제제 및 버퍼 각각은 바이알 또는 챔버에 포함될 수 있다. 예를 들면, 키트는 제제 및 버퍼 중 하나 이상을 포함하는 프리필드 패키징(pre-filled packaging)을 포함할 수 있다. 키트는 펩티드 제제의 사용 및/또는 전달을 위한 하나 이상의 장치를 포함할 수 있다. 키트는 혼합 장치를 포함할 수 있다. 키트는 전달 장치를 포함할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 전달 장치 및/또는 혼합 장치는 프리필드 패키징일 수 있으며, 예를 들면 키트는 프리필드 시린지, 스프레이 보틀, 앰플 또는 튜브를 포함할 수 있다. 도 26은 최종 사용 용기에 패키징된 제제의 사진이다. 도 26의 예시적인 최종 사용 용기는 프리필드 시린지이다. 최종 사용 용기는 전달 장치 또는 혼합 장치로 채용될 수 있다. 키트 및/또는 키트의 임의의 구성요소는 살균 또는 멸균될 수 있다. 예를 들면, 키트 및/또는 구성요소는 오토클레이브 멸균, 선택적으로 최종 오토클레이브 멸균을 이용하여 멸균될 수 있다.

[0355] 키트의 임의의 하나 이상의 구성요소는 오토클레이브 처리할 수 있다. 패키징된 키트는 오토클레이브 처리할 수 있다. 키트의 임의의 하나 이상의 구성요소는 멸균 또는 무균일 수 있다. 예를 들면, 키트의 임의의 하나 이상의 구성요소는 오토클레이브에 의해 멸균될 수 있다. 멸균된 하나 이상의 구성요소는 실질적으로 기밀 용기에 패키징될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 패키징된 키트는, 예를 들면 오토클레이브에 의해 멸균될 수 있다.

[0356] 소정 실시형태에 있어서, 키트는 정제된 펩티드를 건조 또는 분말 형태로 포함할 수 있다. 예를 들면, 정제된 펩티드는 동결건조될 수 있다. 키트는 펩티드 제제를 제조하기 위해 정제된 펩티드와 조합될 생체적합성 용액을 포함할 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 키트는 제제를 제조하기 위해 정제된 펩티드를 생체적합성 용액과 조합하기 위한 설명서를 포함할 수 있다. 키트는 버퍼 용액을 추가로 포함할 수 있다.

[0357] 키트는 사용 설명서를 포함할 수 있다. 특히, 키트는 하이드로겔을 형성하기 위해 선택적으로 혼합 장치에서 버퍼를 제제와 조합하기 위한 설명서를 포함할 수 있다. 사용자는 사용 현장에서 제제와 버퍼를 조합하도록 지시받을 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 사용자는 투여 전에 또는 투여와 동시에 제제와 버퍼를 조합하도록 지시받을 수 있다. 사용자는 표적 부위에 제제와 버퍼를 개별적으로 적용하도록 지시받을 수 있다.

[0358] 키트는 권장 보관 조건하에서 키트를 보관하기 위한 설명서를 추가로 포함할 수 있다. 예를 들면, 키트는 실온(약 20~25℃)에서 제제 또는 임의의 구성요소를 보관하기 위한 설명서를 포함할 수 있다. 키트는 냉장 온도(약 1~4℃)하에서 제제 또는 임의의 구성요소를 보관하기 위한 설명서를 포함할 수 있다. 키트는 냉동 온도(약 0~-20℃)하에서 제제 또는 임의의 구성요소를 보관하기 위한 설명서를 포함할 수 있다. 키트는 제제 또는 임의의 구성요소를 체온(약 36~38℃)에서 보관하기 위한 설명서를 포함할 수 있다. 키트는 시원하고 건조한 조건하에서 제제 또는 임의의 구성요소를 저장하기 위한 설명서를 포함할 수 있다.

[0359] 키트는 제제 또는 임의의 구성요소에 대한 유효기한의 표시를 추가로 포함할 수 있다. 유효기한의 표시는 패키징 후 약 1년일 수 있다. 유효기한의 표시는 패키징 후 약 6개월~약 10년, 예를 들면 패키징 후 약 1년~약 5년일 수 있다.

[0360] 키트는 제제와 조합하여 투여하기 위한 추가 구성요소를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 키트는 투여 전에 또는 투여와 동시에 추가 구성요소와 조합하기 위한 설명서를 포함할 수 있다. 키트는 제제 및 추가 구성요소를 표적 부위에 개별적으로 투여하기 위한 설명서를 포함할 수 있다. 추가 구성요소는 항박테리아 포물레이션, 항바이러스 포물레이션, 항진균 포물레이션, 항종양 포물레이션, 항염증 포물레이션, 세포 배양 배지, 세포 배양 혈청, 항취 포물레이션, 진통제, 지혈제 포물레이션, 국소 마취제 또는 진통제 포물레이션이거나 또는 이를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에 있어서, 키트는 본원에 기재된 바와 같은 제제와 조합하여 투여하기 위한

세포의 배양물을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 키트는 드레싱, 예를 들면 국소 드레싱, 배리어 드레싱 및/또는 상처 드레싱을 추가로 포함할 수 있다.

[0361] 키트는 하이드로겔의 전단 담화를 유도하도록 구성된 하나 이상의 구성요소를 포함할 수 있다. 혼합 장치 또는 전단 장치(후술됨)를 사용하여 기계적 교반에 의해 하이드로겔의 전단 담화를 유도할 수 있다. 상기 키트는 전단 담화를 유도하기 위해 온도 조절 장치, pH 조절 첨가제, 이온 킬레이트제 조성물, 용매, 소음 조절 장치, 동결건조 장치 및 공기 건조 장치에서 선택된 하나 이상의 구성요소를 포함할 수 있다. 예를 들면, 키트는 히터 또는 냉각기, 산 또는 염기 소스, 이온 킬레이터의 소스, 용매의 소스, 스피커 또는 음향 송신기, 동결건조기 또는 압축 공기 건조기, 또는 팬을 포함할 수 있다.

[0362] 혼합 장치

[0363] 포인트 오브 케어에서 하이드로겔을 준비하기 위한 혼합 장치가 본원에 개시되어 있다. 이 장치는 다중 챔버 장치일 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 장치는 2-챔버 장치일 수 있다. 장치는 펩티드 제제를 위한 제 1 챔버를 포함할 수 있다. 제제는 생체적합성 용액 중에 자기 조립 펩티드를 포함할 수 있다. 장치는 버퍼 용액을 위한 제 2 챔버를 포함할 수 있다. 제 1 챔버와 제 2 챔버는 제 1 챔버와 제 2 챔버 사이의 유체 연통을 방지하기 위해 제공된 배리어에 의해 분리될 수 있다. 장치는 선택적으로 혼합 챔버를 추가로 포함할 수 있다. 혼합 챔버는 제 1 챔버 및 제 2 챔버에 유동적으로 연결될 수 있다. 혼합 전에, 혼합 챔버는 배리어에 의해 제 1 챔버 및/또는 제 2 챔버로부터 분리될 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 혼합 장치는 제 1 및 제 2 챔버의 내용물을 직접 혼합하도록 구성될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 장치는 피험체에게 투여될 추가 포플레이션 또는 화합물을 위한 제 3 챔버를 포함할 수 있다. 제 3 챔버는 제 1 챔버, 제 2 챔버 및/또는 혼합 챔버와 분리될 수 있다. 제 3 챔버는 직접적으로 또는 혼합 챔버를 통해 제 1 챔버 및/또는 제 2 챔버에 유동적으로 연결될 수 있다.

[0364] 장치는 일회용 장치일 수 있다. 장치는 다중 사용 장치일 수 있다.

[0365] 예시적인 실시형태에 있어서, 제 1, 제 2 또는 제 3 챔버 각각은 시린지 베럴일 수 있다. 각 베럴에는 교반을 위한 연관된 플런저를 가질 수 있다. 각 베럴은 커플링 어댑터에 밀폐식으로 장착될 수 있어서 혼합 챔버를 형성한다. 밀폐식 장착은, 예를 들면 루어 록(luer lock) 또는 루어 테이퍼(luer taper) 연결될 수 있다.

[0366] 제제 및 버퍼는 교반되거나 또는 혼합되어 균질한 또는 실질적으로 균질한 혼합물을 형성하여 하이드로겔화를 유도할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 제제 및 버퍼는 혼합물을 제 1 챔버와 제 2 챔버 사이에서 앞뒤로 이동시킴으로써 교반될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 하이드로겔은 교반 동안 혼합물이 실질적으로 액체이도록 전단 담화(shear-thinning) 특성을 나타낸다. 침강 시 혼합물은 고체 또는 겔 물질을 형성할 수 있다.

[0367] 예시적인 실시형태에 있어서, 장치는 사용 현장에서 세포 이식편을 준비하도록 구성될 수 있다. 사용시, 제 1 챔버는 세포 제제를 포함할 수 있고, 제 2 챔버는 펩티드 제제를 포함할 수 있다. 세포 제제는 버퍼를 포함할 수 있다. 대안적으로, 제 3 챔버는 버퍼를 포함할 수 있다. 작동 시, 세포 제제와 펩티드 제제가, 즉 혼합 챔버에서 혼합 또는 접촉할 수 있다. 세포는 펩티드 용액 중에 현탁되어 자기 조립 펩티드를 포함하는 세포 현탁액을 형성할 수 있다.

[0368] 세포 제제 및 펩티드 제제가 버퍼와 혼합되어, 버퍼 현탁액이 형성될 수 있다. 버퍼 현탁액은 상기 기재된 바와 같이 교반되어, 하이드로겔의 자기 조립을 유도할 수 있다. 버퍼 현탁액은 세포를 분산시키도록 교반되어, 균질한 또는 실질적으로 균질한 혼합물을 형성할 수 있다. 균질한 또는 실질적으로 균질한 현탁액은 하이드로겔 세포 이식편을 형성하도록 자기 조립할 수 있다.

[0369] 혼합 장치는 정적 혼합 장치일 수 있다. 정적 혼합기는 일반적으로 움직이는 구성요소 없이 제제를 실질적으로 연속적으로 혼합하기 위한 장치를 포함할 수 있다. 예를 들면, 정적 혼합기는 혼합될 각 구성요소를 위한 하나 이상의 입구 및 혼합물을 위한 단일 출구를 갖는 원통형 또는 직사각형 하우징을 포함할 수 있다. 정적 혼합기는 판형 혼합기를 포함할 수 있다.

[0370] 혼합 장치는 일반적으로 불활성, 열적으로 안정한 재료로 형성되거나 또는 라이닝될 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 재료는 불투명 및/또는 비산 방지성일 수 있다.

[0371] 전달 장치

[0372] 일부 실시형태에 있어서, 키트는 전달 장치를 포함할 수 있다. 예를 들면 키트는 시린지 또는 카테터를 포함할 수 있다. 키트는 드롭퍼를 포함할 수 있다. 키트는 보틀과 함께 스프레이를 포함할 수 있다. 스프레이 장치는,

예를 들면 비강 스프레이일 수 있다. 키트는 튜브 또는 앰플을 포함할 수 있다. 키트는, 예를 들면 필름을 포함할 수 있다. 전달 장치의 유형은 표적 표시에 기반하여 선택될 수 있다. 추가적으로, 전달 장치의 특성은 표적 표시에 기반하여 선택될 수 있다. 예를 들면, 제제의 국소 전달용 시린지는 제제 주사용 시린지보다 더 큰 통로를 가질 수 있다.

[0373] 일부 실시형태에 있어서, 시린지는 제제의 국소 적용을 위해 사용될 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 시린지는 비경구 적용을 위한 바늘을 포함할 수 있다. 시린지의 바늘에는 7~34의 버밍엄 시스템 게이지를 가질 수 있다. 카테터는 비경구 적용에 사용될 수 있다. 카테터의 바늘은 14~26의 버밍엄 시스템 게이지를 가질 수 있다. 펌프는 특정 게이지 바늘을 통한 투여를 위해 포물레이팅될 수 있다. 예를 들면, 특정 게이지 바늘을 통해 제제를 적용할 수 있는 가변 점도를 갖도록 펌프를 선택할 수 있다.

[0374] 일부 실시형태에 있어서, 스프레이 보틀은 제제의 국소 적용을 위해 사용될 수 있다. 스프레이 보틀은 제제용 용기 및 스프레이 노즐을 포함할 수 있다. 스프레이 노즐은 표적 조직으로의 표적화된 전달을 위해 구성될 수 있다. 예를 들면, 상피 조직으로의 표적 전달을 위한 스프레이 노즐은 실질적으로 편평한 표면을 가질 수 있고, 비강내 조직으로의 표적화된 전달을 위한 스프레이 노즐은 실질적으로 원추형 표면을 가질 수 있다. 스프레이 노즐은 미리 정해진 양의 제제를 전달하도록 구성될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 스프레이 노즐은 선택적으로 스프레이 보틀의 배향에 관계없이 실질적으로 단방향 유동으로 제제를 전달하도록 구성될 수 있다.

[0375] 스프레이 노즐은 역행 흐름을 감소시키도록 구성될 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 스프레이 노즐은 스프링 장착식일 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 스프레이 노즐은 압력 작동식일 수 있다. 작동 압력은 제제의 다양한 점도에 기반하여 선택될 수 있다. 예를 들면, 작동 압력은 스프레이 노즐을 통해 하이드로겔을 분배하기에 충분하도록 선택될 수 있다.

[0376] 필름은 제제의 국소 적용에 사용될 수 있다. 필름은 제제로 포화될 수 있다. 필름은 배리어 드레싱 및/또는 지혈제로 사용될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 필름은 배리어 드레싱을 수반할 수 있다.

[0377] 전달 장치는 일회용 장치일 수 있다. 전달 장치는 다중 사용 장치일 수 있다. 전달 장치는 펌프 제제를 위한 제 1 챔버를 포함할 수 있다. 제제는 생체적합성 용액 중에 자기 조립 펌프를 포함할 수 있다. 전달 장치는 버퍼 용액을 위한 제 2 챔버를 포함할 수 있다. 제 1 챔버와 제 2 챔버는 제 1 챔버와 제 2 챔버 사이의 유체 연통을 방지하기 위해 제공된 배리어에 의해 분리될 수 있다. 전달 장치는 펌프 제제와 버퍼 용액을 동시에 또는 실질적으로 동시에 투여하기 위해 구성 및 배열될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 전달 장치는 피험체에게 투여될 추가 포물레이션 또는 화합물을 위한 제 3 챔버를 포함할 수 있다. 제 3 챔버는 제 1 챔버 및/또는 제 2 챔버와 분리될 수 있다.

[0378] 전달 장치는 일반적으로 불활성, 열적으로 안정한 재료로 형성되거나 또는 라이닝될 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 재료는 불투명 및/또는 비산 방지성일 수 있다.

[0379] **코팅된 의료 장치 또는 수술 장치**

[0380] 일부 실시형태에 있어서, 의료 또는 수술 도구는 본원에 개시된 제제 또는 하이드로겔로 코팅된 적어도 일부의 외부 표면을 가질 수 있다. 코팅은 도구의 외부 표면이 항미생물 특성을 나타내게 할 수 있어서, 감염 발생률을 감소시킬 수 있다. 코팅은 도구의 외부 표면이 생체적합성 또는 세포적합성이 되게 할 수 있어서, 접촉으로 인한 거부반응 및 부작용을 감소시킬 수 있다.

[0381] 수술 도구는 수술 기구일 수 있다. 예를 들면, 도구는 그라스퍼(grasper), 예를 들면 겸자, 클램프 또는 교합기, 바늘 드라이버 또는 바늘 홀더, 봉합사 또는 봉합 바늘, 견인기, 연장장치(distractor), 포지셔너, 정위 장치(stereotactic device), 메카니컬 커터(mechanical cutter), 예를 들면 메스, 란셋, 드릴 비트, 라스프(rasp), 트로카(trocar), 리가쥬어(ligasure), 하모닉 메스(harmonic scalpel), 수술용 가위 또는 론저(rongeur), 확장기, 검경, 흡입 팁 또는 튜브, 실링 장치, 예를 들면 외과용 스테이플러, 이리게이션 또는 주사 바늘, 팁 및 튜브, 전력 장치, 예를 들면 드릴, 두개골 드릴(cranial drill) 또는 피부절제기, 광섬유 내시경 및 촉각 탐침을 포함한 스코프 또는 탐침, 광학, 전자 및 기계 장치용 캐리어 또는 어플라이어, 초음파 조직 디스rupter(ultrasound tissue disruptor), 크라이오톰(cryotome), 커팅 레이저 가이드, 또는 측정 장치, 예를 들면 롤러 또는 캘리퍼스일 수 있다. 다른 수술 도구 또는 기구는 본 개시의 범위 내에 있다.

[0382] 의료 또는 수술 도구는 이식형 도구일 수 있다. 예를 들면, 의료 또는 수술 도구는 이식형 장치, 예를 들면 이식형 제세동기(ICD), 심박조율기, 자궁내 장치(IUD), 스텐트, 예를 들면 관상 동맥 스텐트, 이어 튜브 또는 아이 렌즈와 같은 이식형 장치일 수 있다. 다른 이식형 도구는 본 개시의 범위 내에 있다. 이식형 의료 또는 수술

도구는 보철 또는 보철 장치의 일부, 예를 들면 인공 고관절, 무릎, 어깨, 또는 뼈, 또는 의수족의 일부일 수 있다. 이식형 의료 또는 수술 도구는 나사, 막대, 핀, 플레이트, 디스크 또는 기타 기계적 지지체와 같은 기계적 도구일 수 있다. 이식형 의료 또는 수술 도구는 유방 임플란트, 종아리 임플란트, 둔부 임플란트, 턱 임플란트, 광대뼈 임플란트 또는 기타 성형 또는 재건 수술 임플란트와 같은 미용 도구일 수 있다. 다른 의료 또는 이식형 도구는 본 개시의 범위 내에 있다.

[0383] 코팅의 제형 및/또는 두께는 일시적일도록, 예를 들면 미리 결정된 기간 내에, 예를 들면 약 3개월 미만, 약 1개월 미만 또는 약 2주 미만 내에 분해되도록 선택될 수 있다. 코팅의 포물레이션 및/또는 두께는, 예를 들면 약 3개월~3년, 또는 약 6개월~2년의 미리 결정된 기간 내에 분해되는 반영구적일도록 선택될 수 있다. 코팅의 포물레이션 및/또는 두께는, 예를 들면 2년 초과 또는 3년 초과 수명을 갖거나, 또는 의료 또는 수술 도구가 피험체와 접촉하는 미리 결정된 기간보다 더 긴 수명을 갖는 영구적일도록 선택될 수 있다.

[0384] 펩티드 하이드로겔의 투여에 의한 치료 방법

[0385] 일부 실시형태에 있어서, 본원에 개시된 제제는 미리 결정된 요법에 따라 투여될 수 있다. 본원에 개시된 제제는 매일, 매주, 매달, 매년 또는 격년으로 투여될 수 있다.

[0386] 본원에 개시된 제제는 즉시 방출 효과를 제공할 수 있다. 예를 들면 활성 성분의 작용 개시는 1분 미만, 수 분 또는 1시간 미만일 수 있다.

[0387] 본원에 개시된 제제는 지연 방출 효과를 제공할 수 있다. 예를 들면, 활성 성분의 작용 개시는 1시간 초과, 수 시간, 1일 초과, 수 일 초과 또는 1주일 초과일 수 있다.

[0388] 본원에 개시된 제제는 연장된 방출 효과를 제공할 수 있다. 예를 들면, 제제는 1일 초과, 수 일 초과, 1주일 초과, 1개월 초과, 수개월 또는 최대 약 6개월 동안 효과적일 수 있다.

[0389] 본원에 개시된 제제는 관련 질병 또는 장애, 또는 관련 질병 또는 장애의 증상을 치료하는 의학적 접근법과 함께 투여될 수 있다. 예를 들면, 제제는 관련 질병 또는 장애, 또는 관련 질병 또는 장애의 증상을 치료하기 위해 승인된 의학적 접근법과 함께 투여될 수 있다. 제제는 관련 질병 또는 장애, 또는 관련 질병 또는 장애의 증상을 치료하기 위해 일반적으로 사용되는 의학적 접근법과 함께 투여될 수 있다.

[0390] 본원에 개시된 제제는 외과적 치료와 함께 투여될 수 있다. 본원에 개시된 제제는 외과적 치료와 관련된 상처를 치료하기 위해 및/또는 생물막을 예방 또는 치료하기 위해 투여될 수 있다.

[0391] 본원에 개시된 제제는 항염증제 또는 치료제와 함께 투여될 수 있다. 항염증제는 국소 또는 전신 염증을 감소시키거나 억제하는 조성물 또는 치료제를 지칭할 수 있다. 항염증제는, 예를 들면 비스테로이드성 항염증 약물(NSAID), 항류코트리엔, 면역 선택적 항염증 유도제(ImSAID) 및/또는 저체온증 치료제를 포함할 수 있다.

[0392] 본원에 개시된 제제는 항박테리아제, 항바이러스제 및/또는 항진균제와 함께 투여될 수 있다. 이러한 제제는 박테리아, 바이러스 및/또는 진균 유기체의 증식을 각각 제거 또는 억제하는 조성물 또는 치료제를 지칭할 수 있다. 예시적인 항박테리아제는 항생제 및 국소 방부제 및 소독제를 포함한다. 항바이러스제는 표적 특이적 항바이러스제 또는 광역 스펙트럼 항바이러스제(예를 들면, 램데시비르, 리토나비르/로피나비르)일 수 있다. 예시적인 국소 항바이러스제는 국소 방부제 및 소독제를 포함한다. 예시적인 항진균제는 항진균성 항생제, 합성제(예를 들면, 플루시토신, 아졸, 알릴아민 및 에키노칸딘), 및 국소 방부제 및 소독제를 포함한다.

[0393] 본원에 개시된 제제는 상처, 예를 들면 급성, 아급성 또는 만성 상처를 치료하기 위해 투여될 수 있다. 상처는 외과적 상처, 열상, 화상 상처, 교상/자상, 혈관 상처(정맥, 동맥 또는 혼합), 당뇨병성 상처, 신경병성 상처, 욕창, 허혈성 상처, 수분 관련 피부염, 또는 병리학적 절차로 인한 상처일 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 제제는 당뇨병성 족부 궤양(DFU)을 치료하는데 유효한 양으로 투여될 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 제제는 항문 누공, 게실염 또는 궤양과 같은 위장 상처를 치료하는데 유효한 양으로 투여될 수 있다. 특히, 제제는 무감염 상처 봉합을 촉진하는데 유효한 양으로 투여될 수 있다.

[0394] 본원에 개시된 제제는 마취 및/또는 통증 완화를 제공하는 치료제 또는 작용제, 예를 들면 국소 마취제와 조합하여 투여될 수 있다. "마취제"는 일시적인 감각 또는 의식 상실을 제공하는 조성물을 지칭할 수 있다. 마취제는 전신 마취제(예를 들면 GABA 수용체 작용제, NMDA 수용체 길항제 또는 2-공극 칼륨 채널 활성화제) 또는 국소 마취제(예를 들면 에스테르기 작용제, 아마이드기 작용제 및 천연 유래 작용제)일 수 있다.

[0395] 제제는 진통제 또는 통증 완화제와 조합하여 투여될 수 있다. "진통제"는 통증의 전신 치료 또는 억제를 위한

조성물을 지칭할 수 있다. 진통제는 항염증제 또는 오피오이드를 포함할 수 있다.

- [0396] 본원에 개시된 제제는 지혈제와 조합하여 투여될 수 있다. "지혈제"는 출혈을 조절하기 위한 도구 또는 조성물을 지칭할 수 있다. 예시적인 지혈제 조성물은 콜라겐계 작용제, 셀룰로소계 작용제 및 키토산계 작용제를 포함한다.
- [0397] 본원에 개시된 제제는 세포 또는 조직 이식 요법을 강화하기 위한 치료제 또는 작용제와 조합하여 투여될 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 본원에 개시된 제제는 세포 사멸을 예방 또는 억제하고 및/또는 염증을 제어 또는 감소시키기 위한 치료제 또는 작용제와 함께 투여될 수 있다. 본원에 개시된 제제는 세포 배양 배지 또는 세포 배양 혈청과 조합하여 투여될 수 있다.
- [0398] 투여된 펩티드 하이드로겔은 즉각적인 국소 효과를 가질 수 있다. 예를 들면, 투여되는 제제는 상처를 봉합하거나 또는 보이드를 채움으로써 국소 상처 치유 또는 상해 치료 효과를 제공할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 투여된 하이드로겔은 전신 효과를 가질 수 있다. 예를 들면, 투여된 하이드로겔은 세포 이식편과 환경 세포 사이의 세포 이동 또는 연통을 가능하게 하여, 전신 효과를 야기할 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 투여된 하이드로겔은 세포 생성물 또는 부산물의 전달을 가능하게 하여, 전신 효과를 야기할 수 있다. 투여된 펩티드 하이드로겔은 국소 투여 부위에서 항미생물, 항바이러스 및/또는 항진균 특성을 가질 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 투여된 펩티드 하이드로겔은 전신 항미생물, 항바이러스 및/또는 항진균 특성을 제공할 수 있다.
- [0399] 투여된 펩티드 하이드로겔은 국소 투여 부위에서 장기간 지속된 항미생물, 항바이러스 및/또는 항진균 특성을 가질 수 있다. 펩티드는 직접 접촉 항미생물, 항바이러스, 항진균 효과를 갖는 하이드로겔을 형성하도록 설계될 수 있다. 따라서, 하이드로겔은 표적 부위에서 하이드로겔과 직접 접촉하는 미생물을 박멸할 수 있다. 하이드로겔은 캡슐화된 항미생물제, 항바이러스제 및/또는 항진균제를 실질적으로 포함하지 않을 수 있다. 또한, 국소 항미생물, 항바이러스 및/또는 항진균 효과는 하이드로겔이 표적 조직과 접촉하는 한 지속될 수 있다. 도 2는 표적 부위에서 지속적 항미생물, 항바이러스 및/또는 항진균 효과를 나타내는 이미지를 포함한다.
- [0400] 전신 항미생물, 항바이러스 및/또는 항진균 효과를 제공하기 위해, 펩티드 하이드로겔은 캡슐화된 항미생물제, 항바이러스제 및/또는 항진균제를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 하이드로겔의 투여는 일반적으로: (1) 상술한 바와 같이 직접 접촉에 의한 국소 항미생물, 항바이러스 및/또는 항진균 치료, 및 (2) 캡슐화된 치료제의 비히클로서 전신 항미생물, 항바이러스 및/또는 항진균 치료를 제공할 수 있다.
- [0401] 본원에 개시된 제제는 지혈제, 피사조직 제거제 또는 배리어 드레싱(예를 들면 항미생물, 항진균 또는 항바이러스 배리어 드레싱)으로 포물레이팅될 수 있다. 제제는 상처 치료를 위해 포물레이팅될 수 있다. 제제의 투여에 의해 치료될 수 있는 예시적인 상처는 부분층 및 전층 상처(예를 들면, 욕창, 다리 궤양, 당뇨병성 궤양), 1도 및 2도 화상, 수도창/잠식성 상처(tunneled/undermined wound), 수술 상처(예를 들면 공여 부위/이식편, 조직 및 세포 이식편, 모스 수술 후, 레이저 수술 후, 족질환전료, 사운드 디히스스(sound dehiscence)와 관련된 상처), 외상 상처(예를 들면 찰과상, 열상, 화상, 피부 찢김), 위장관 상처(예를 들면 항문 누공, 게실염, 궤양), 및 배농중인 상처(draining wound)를 포함한다. 제제는 미리 결정된 표적 조직, 예를 들면 중간엽 조직, 결합 조직, 근육 조직, 신경 조직, 배아 조직, 진피 조직, 뼈 조직, 치아 조직, 각막 조직, 경피 조직, 외피 조직, 연조직 및 경조직, 또는 생체 체액에 투여하기 위해 포물레이팅될 수 있다.
- [0402] **미생물 감염의 치료 방법**
- [0403] 제제는 표적 부위에 투여시 항미생물 특성을 제공하도록 포물레이팅될 수 있다. 예를 들면, 자기 조립된 폴리머 하이드로겔은 항미생물 특성을 가질 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, "항미생물" 특성은 미생물 집단에 대한 효과, 예를 들면 미생물 집단으로부터 하나 이상의 미생물을 사멸 또는 억제하는 효과를 지칭할 수 있다. 따라서, 미생물 감염을 치료하거나 또는 표적 미생물을 사멸시키거나 증식을 억제하는 방법이 본원에 개시되어 있다. "증식"은 일반적으로 유기체의 대사 활동 또는 번식 활동을 지칭할 수 있다. 미생물 오염을 감소 또는 제거하는 방법이 본원에 개시되어 있다. 미생물 바이오버든의 관리 방법이 본원에 개시되어 있다. 상기 방법은 일반적으로 표적 미생물의 불활성화를 촉진하는데 유효한 양으로 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 특히, 약 3.0% w/v 이하의 펩티드, 예를 들면 1.5% w/v 이하, 또는 1.0% w/v 이하의 펩티드를 포함하는 제제는 표적 부위에 항미생물 특성을 제공할 수 있다.
- [0404] 상기 방법은 미생물 오염, 집락화 또는 감염에 대한 치료가 필요한 피험체를 식별하는 단계를 포함할 수 있다. 일반적으로, 미생물의 집락화 또는 감염은 병원성 미생물(질병 유발 미생물)의 증식에 의해 유도될 수 있다. 미생물 오염은 하나 이상의 미생물의 존재에 의해 식별될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 상기 방법은 미생물

집락화 또는 감염의 예방 또는 치료를 위해 채용될 수 있다. 미생물 집락화는 하나 이상의 미생물의 확립된 집락을 지칭할 수 있다. 미생물 감염은 임상 평가에 의해 진단된 하나 이상의 미생물의 확립된 집락을 지칭할 수 있다. 미생물 집락화 또는 감염은 국소적 또는 전신적일 수 있다. 일반적으로, 미생물 오염은 적절한 치료가 제공되지 않으면 미생물 집락화 또는 감염으로 발전할 수 있다.

[0405] 제제는 생물막 또는 미생물 감염을 치료하는데 유효한 양으로 투여될 수 있다. 상기 방법은 일반적으로 병원성 미생물의 불활성화를 촉진하는 데 유효한 양으로 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 병원성 미생물은 병원성 박테리아 유기체일 수 있다. 예를 들면, 제제 및 방법은 광역 스펙트럼(그람 양성 및 그람 음성) 박테리아의 불활성화를 촉진하는 데 효과적일 수 있다. 상기 병원성 미생물은 바실러스, 바르토넬라, 보르데텔라, 보렐리아, 브루셀라, 캄필로박터, 클라미디아, 클라미도필라, 클로스트리듐, 코리네박테리움, 엔테로코커스, 에세리키아, 프란시셀라, 헤모필루스, 헬리코박터, 레지오넬라, 렙토스피라, 리스테리아, 미코박테리움, 미코플라스마, 네이세리아, 슈도모나스, 리케티시아, 살모넬라, 시겔라, 포도상구균, 연쇄상 구균, 트레포네마, 우레아플라스마, 비브리오, 예르시니아에서 선택된 속의 종일 수 있다.

[0406] 제제는 수술 절차와 조합하여 투여될 수 있다. 상기 방법은 표적 부위에서 표적 미생물의 적어도 90%를 멸균시키는 데 유효한 양으로 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들면, 상기 방법은 표적 부위에서 표적 미생물의 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.9%, 적어도 99.99%, 또는 적어도 99.999%를 멸균하는 데 유효한 양으로 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 예시적인 표적 부위는 상피 조직, 위장관계 조직, 호흡계 조직, 심장계 조직, 신경계 조직, 생식계 조직, 안구 조직, 청각 조직 및 혈류를 포함한다. 상피 조직은, 예를 들면 표피, 진피, 모발 및 손발톱을 포함할 수 있다. 그러나, 추가적인 표적 부위는 본원에 개시된 방법에 의해 치료될 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, 멸균은 표적 부위에서 미생물을 없애거나, 제거하거나, 사멸시키거나 또는 불활성화시키는 임의의 과정을 지칭할 수 있다.

[0407] 진균 감염의 치료 방법

[0408] 제제는 표적 부위에 투여시 항진균 특성을 제공하도록 포물레이팅될 수 있다. 예를 들면, 자기 조립된 폴리머 하이드로겔은 항진균 특성을 가질 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, "항진균" 특성은 진균 집단에 대한 효과, 예를 들면 진균 집단으로부터 하나 이상의 유기체를 사멸 또는 억제하는 효과를 지칭할 수 있다. 따라서, 진균 감염을 치료하거나 또는 진균 유기체의 증식을 억제하는 방법이 본원에 개시되어 있다. 상기 방법은 일반적으로 진균 유기체의 불활성화를 촉진하는 데 유효한 양으로 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 진균 오염을 감소 또는 제거하는 방법이 본원에 개시되어 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 약 3.0% w/v 이하의 펩티드, 예를 들면, 1.5% w/v 이하, 또는 1.0% w/v 이하의 펩티드를 포함하는 제제는 표적 부위에서 항진균 특성을 제공할 수 있다.

[0409] 상기 방법은 진균 오염, 집락화 또는 감염에 대한 치료가 필요한 피험체를 식별하는 단계를 포함할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 제제는 피험체의 생물막, 몸 백선, 칸디다증, 분아균증, 콕시디오이테스진균증, 히스토플라스마증, 크립토코쿠스증, 파라콕시디오이테스진균증, 아스페르길루스증, 국균종(Aspergilloma), 수막염, 털곰팡이증(Mucormycosis), 주폐포자충 폐렴(PCP), 탈라마이코시스(Talaromycosis), 스포로트리쿰증, 및 유마이세토마(Eumycetoma) 중 적어도 하나를 치료하는 데 유효한 양으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 진균 유기체는 아스페르길루스 및 칸디다에서 선택되는 속의 종일 수 있다.

[0410] 제제 및 방법은 광역 스펙트럼(포자 형성 및 비포자 형성) 진균 유기체의 불활성화를 촉진하는 데 효과적일 수 있다. 제제는 아스페르길루스 클라바투스(*Aspergillus clavatus*), 아스페르길루스 피셔리아누스(*Aspergillus fischerianus*), 아스페르길루스 플라부스(*Aspergillus flavus*), 아스페르길루스 푸미가투스(*Aspergillus fumigatus*), 아스페르길루스 니제르(*Aspergillus niger*), 트리코파이톤 멘타그로파이테스(*Trichophyton mentagrophytes*), 트리코파이톤 루브럼(*Trichophyton rubrum*), 마이크로스포룸 카니스(*Microsporum canis*), 칸디다 알비칸스 (*Candida albicans*), 칸디다 아우리스 (*Candida auris*), 칸디다 파라프실로시스 (*Candida parapsilosis*), 칸디다 트로피칼리스(*Candida tropicalis*), 블라스토마이세스 데르마티티디스(*Blastomyces dermatitidis*), 콕시디오이테스 이미티스 (*Coccidioides immitis*), 콕시디오이테스 포사다시(*Coccidioides posadasii*), 크립토코쿠스 가티(*Cryptococcus gattii*), 크립토코커스 네오포르만스 (*Cryptococcus neoformans*), 히스토플라스마 캡슐라툼(*Histoplasma capsulatum*), 파라콕시디오이테스 브라질리엔시스(*Paracoccidioides brasiliensis*), 뉴모시스티스 지로베치(*Pneumocystis jirovecii*), 뮤코르미세테스 리조푸스(*Mucormycetes rhizopus*), 뮤코르미세테스 뮤코르(*Mucormycetes mucor*), 뮤코르미세테스 리크테이미아(*Mucormycetes lichtheimia*), 탈라로미세스 마르네페이(*Talaromyces marneffeii*), 스포로트리쿰 첸카이

(*Sporothrix schenckii*), 아크레모늄 스트릭툼(*Acremonium strictum*), 노에테스투디나 로사티(*Noettestudina rosatii*), 파에오아크레모늄 크라즈데니(*Phaeoacremonium kraidenii*), 슈달레체리아 보이디(*Pseudallescheria boydii*), 쿠르볼라리아 루나타(*Curvularia lunata*), 클라도필라오포라 반티아나(*Cladophilaophora bantiana*), 엑소피알라 진셀메이(*Exophiala jeanselmei*), 랩토스페리아 세네갈렌시스(*Leptosphaeria senegalensis*), 랩토스페리아 톰킨시(*Leptosphaeria tompkinsii*), 마두렐라 그리세아(*Madurella grisea*), 마두렐라 미세토마티스(*Madurella mycetomatis*), 피레노캐타 로메로이(*Pyrenochaeta romeroi*), 트리코스포론 아사히(*Trichosporon asahii*), 클라도스포리움 헤르바룸(*Cladosporium herbarum*), 및 푸사리움 스포로트리키오이데스(*Fusarium sporotrichioides*) 중 적어도 하나와 관련된 진균 감염을 치료하거나 또는 그 중 적어도 하나의 증식을 억제하는 데 유효한 양으로 투여될 수 있다.

[0411] 제제는 수술 절차와 조합하여 투여될 수 있다. 상기 방법은 표적 부위에서 진균 유기체의 적어도 90%를 멸균시키는 데 유효한 양으로 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들면, 상기 방법은 표적 부위에서 진균 유기체의 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.9%, 적어도 99.99% 또는 적어도 99.999%를 멸균하는데 유효한 양으로 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 예시적인 표적 부위는 상피 조직, 구강 조직, 식도 조직, 기관 조직, 폐 조직, 심장 조직, 신장 조직, 안구 조직 및 혈류를 포함할 수 있다. 상피 조직은, 예를 들면 표피, 진피, 모발 및 손발톱을 포함할 수 있다. 그러나, 추가적인 표적 부위는 본원에 개시된 방법에 의해 치료될 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, 멸균은 표적 부위에서 진균 유기체를 없애거나, 제거하거나, 사멸시키거나 또는 불활성화시키는 임의의 과정을 지칭할 수 있다.

[0412] 생물막의 치료 방법

[0413] 제제는 생물막 치료를 위해 포물레이팅될 수 있다. 따라서, 본원에 개시된 방법은 생물막의 치료를 포함할 수 있다. 생물막의 치료는 일반적으로 생물막의 적어도 일부를 제거하거나 또는 생물막 형성을 억제하는 것을 포함할 수 있다. 제제의 투여는, 예를 들면 생물막 군집에서 하나 이상의 유기체를 사멸 또는 억제하는 것과 같이 생물막 집단에 대해 영향을 미칠 수 있다. 일반적으로, 하전된 펩티드 폴리머 하이드로겔은 접촉시 다균성 진균 및 박테리아 생물막 배리어를 분해할 수 있다. 이론에 얽매는 것은 아니지만, 본원에 개시된 제제는 생물막 집단의 세포외 매트릭스를 분해하도록 선택하여, 생물막의 진균, 바이러스 및 미생물 유기체를 하이드로겔의 양이온성 펩티드에 노출시킬 수 있다고 생각된다. 펩티드 하이드로겔은 생물막 내의 미생물, 곰팡이 및 바이러스 유기체를 파괴함으로써 효과적일 수 있다. 제제는, 예를 들면 생물막 집단에서 세포 용해를 통해 진균, 미생물 및/또는 바이러스 유기체를 파괴하기 위해 항진균, 항미생물 및/또는 항바이러스 펩티드로서 투여될 수 있다.

[0414] 생물막의 관리 방법도 본원에 개시되어 있다. 예를 들면, 상기 방법은 생물막 방지를 위해 채용될 수 있다. 제제는 생물막의 집단을 갖거나, 또는 생물막이 발달하기 쉬운 것으로 확인된 표적 조직, 예를 들면 상처 또는 상처 조직에 투여될 수 있다. 제제는 조직 오염 또는 냄새에 반응하여 투여될 수 있다.

[0415] 상기 방법은 일반적으로 생물막의 치료 및/또는 생물막 집단의 불활성화를 촉진하는 데 유효한 양으로 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 생물막 집단은 박테리아 유기체, 예를 들면 그람 양성 및/또는 그람 음성 박테리아 유기체를 포함할 수 있다. 생물막 집단은 진균 유기체, 예를 들면 포자 형성 및/또는 비포자 형성 진균 유기체를 포함할 수 있다. 따라서, 제제는 상술한 항진균 및/또는 항진균 특성 및 방법에 의한 생물막의 치료를 제공할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 생물막 집단은 바이러스 유기체를 포함할 수 있다. 제제는 본원에 기재된 항바이러스 특성 및 방법에 의한 생물막의 치료를 제공할 수 있다.

[0416] 제제는 생물막 제거제로 포물레이팅될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 제제는 생물막 제거를 위해 표적 조직에 투여될 수 있다. 예를 들면, 생물막 및/또는 생물막 감염된 조직의 괴사 조직 제거를 위해 제제가 투여될 수 있다.

[0417] 바이러스 감염의 치료 방법

[0418] 제제는 표적 부위에 투여시 항바이러스 특성을 제공하도록 포물레이팅될 수 있다. 예를 들면, 자기 조립된 폴리머 하이드로겔은 항바이러스 특성을 가질 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, "항바이러스" 특성은 바이러스 집단에 대한 효과, 예를 들면 바이러스 집단으로부터 하나 이상의 유기체를 사멸 또는 억제하는 효과를 지칭할 수 있다. 따라서, 바이러스 감염을 치료하거나 또는 바이러스 유기체의 증식을 억제하는 방법이 본원에 개시되어 있다. 상기 방법은 일반적으로 바이러스 유기체의 불활성화를 촉진하는 데 유효한 양으로 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 바이러스 오염을 감소 또는 제거하는 방법이 본원에 개시되어 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 약 3.0% w/v 이하의 펩티드, 예를 들면 1.5% w/v 이하, 또는 1.0% w/v 이하의 펩티드를 포함하는 제제

는 표적 부위에서 항바이러스 특성을 제공할 수 있다.

[0419] 상기 방법은 바이러스 오염, 집락화 또는 감염에 대한 치료가 필요한 피험체를 식별하는 단계를 포함할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 제제는 피험체의 호흡기 바이러스 집락화 또는 감염(예를 들면, 리노바이러스, 인플루엔자, 코로나바이러스 또는 호흡기 세포융합 바이러스와 관련됨), 바이러스성 피부 감염(예를 들면, 전염성 연속증(Molluscum contagiosum), 단순 헤르페스 바이러스 또는 수두대상포진바이러스와 관련됨), 식인성 바이러스 감염(예를 들면 A형 간염, 노로바이러스 또는 로타바이러스와 관련됨), 성 매개 바이러스 감염(예를 들면 인유두종 바이러스, B형 간염, 생식기 헤르페스, 또는 인간 면역결핍 바이러스와 관련됨), 및 기타 바이러스 감염(예: 엡스타인바 바이러스(Epstein-Barr virus), 웨스트 나일 바이러스 (West Nile virus) 또는 바이러스성 수막염과 관련됨) 중 적어도 하나를 치료하는 데 유효한 양으로 투여될 수 있다.

[0420] 제제는 수술 절차와 조합하여 투여될 수 있다. 상기 방법은 표적 부위에서 바이러스 유기체의 적어도 90%를 멸균시키는 데 유효한 양으로 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들면, 상기 방법은 표적 부위에서 또는 전신적으로 바이러스 유기체의 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.9%, 적어도 99.99%, 또는 적어도 99.999%를 멸균시키는 데 유효한 양으로 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 상기 방법은 표적 부위에서 또는 전신적으로 바이러스 유기체의 100%를 멸균시키는 데 유효한 양으로 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 제제는 생물막을 치료하거나 또는 바이러스 유기체를 함유하는 생물막 집단을 사멸 또는 불활성화시키는 데 유효한 양으로 투여될 수 있다.

[0421] 예시적인 표적 부위는 상피 조직, 구강 조직, 식도 조직, 기관 조직(tracheal tissue), 폐 조직, 심장 조직, 신장 조직, 안구 조직 및 혈류를 포함할 수 있다. 그러나, 추가적인 표적 부위는 본원에 개시된 방법에 의해 치료될 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, 멸균은 표적 부위에서 바이러스 유기체를 없애거나, 제거하거나, 사멸시키거나 또는 불활성화시키는 임의의 과정을 지칭할 수 있다.

[0422] 펩티드 하이드로겔의 투여 방법

[0423] 펩티드 하이드로겔은 당업자에게 공지된 임의의 투여 방식에 의해 투여될 수 있다. 투여 방법은 피험체의 표적 부위를 선택하는 단계 및 표적 부위에 제제를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 상기 방법은 펩티드의 자기 조립을 유도하도록 구성된 버퍼와 펩티드를 혼합하여 하이드로겔을 형성하는 단계를 포함할 수 있다. 일반적으로, 펩티드는 투여 전에 버퍼와 혼합될 수 있다. 그러나, 일부 실시형태에 있어서, 펩티드는 표적 부위에서 버퍼와 조합될 수 있다.

[0424] 표적 부위는 임의의 신체 조직 또는 혈류일 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 표적 부위는 상피 조직, 위장관계 조직, 호흡계 조직, 심장계 조직, 신경계 조직, 생식계 조직, 안구 조직 또는 청각 조직일 수 있다. 투여 경로는 표적 조직에 기반하여 선택될 수 있다. 예시적인 투여 경로는 이하에 더욱 상세히 논의된다.

[0425] 일부 실시형태에 있어서, 상기 방법은 제제의 투여를 필요로 하는 피험체를 식별하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 방법은 표적 부위를 이미지화하거나 또는 전신적으로 또는 표적 부위에서 피험체의 적어도 하나의 파라미터를 모니터링하는 단계를 포함할 수 있다. 모니터링될 수 있는 예시적인 파라미터는 온도, pH, 광학적 자극에 대한 반응, 및 유전체 자극에 대한 반응을 포함한다. 따라서, 일부 실시형태에 있어서, 상기 방법은 반응을 측정하기 위해 표적 부위에서 선택적으로 광학 자극 또는 유전체 자극을 피험체에게 제공하는 단계를 포함할 수 있다. 반응은 선택적으로 메모리 저장 장치에 기록될 수 있다. 일반적으로, 사용자의 제제의 투여에 대한 필요 또는 희망을 알릴 수 있는 임의의 파라미터가 모니터링 및/또는 기록될 수 있다. 상기 방법은 제제의 투여 전, 제제의 투여와 동시에, 또는 제제의 투여 이후 피험체의 적어도 하나의 파라미터를 모니터링하거나 또는 표적 부위를 이미징하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들면, 상기 방법은 표적 부위를 이미징하거나 또는 제제의 초기 투여 후 및 잠재적인 후속 투여 전에 피험체의 적어도 하나의 파라미터를 모니터링하는 단계를 포함할 수 있다.

[0426] 소정 실시형태에 있어서, 제제는 표적값의 허용 범위 밖에 있는 측정된 파라미터에 대응하여 투여될 수 있다. 제제는 측정된 파라미터에 반응하여 자동 또는 수동으로 투여될 수 있다.

[0427] 제제는 국소, 비경구 또는 경장 투여를 위해 포물레이팅될 수 있다. 제제는 전신 투여를 위해 포물레이팅될 수 있다. 다양한 약제학적으로 허용되는 담체 및 그의 포물레이션은 표준 포물레이션 논문, 예를 들면 E.W. Martin의 Remington's Pharmaceutical Sciences에 기재되어 있다. 또한, Wang, Y.J. 및 Hanson, M.A., Journal of Parenteral Science and Technology, Technical Report No. 10, Supp. 42:2 S, 1988; Aulton, M. 및 Taylor,

K., Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines, 제 5 판, 2017; Antoine, A., Gupta M.R. 및 Stagner, W.C., Integrated Pharmaceutics: Applied Preformulation, Product Design, and Regulatory Science, 2013; Dodou K. Exploring the Unconventional Routes - Rectal and Vaginal Dosage Formulations, The Pharmaceutical Journal, 2012년 8월 29일도 참조한다.

[0428] **펩티드 하이드로겔의 비경구 투여**

[0429] 소정 실시형태에 있어서, 하이드로겔은 비경구적으로 투여될 수 있다. 일반적으로, 비경구 투여는 경장이 아닌 임의의 투여 경로를 포함할 수 있다. 제제는 최소 침습 절차를 통해 비경구적으로 투여될 수 있다. 특정 실시형태에 있어서, 비경구 투여는 시린지, 예를 들면 바늘 또는 카테터에 의한 전달을 포함할 수 있다. 예를 들면, 비경구 투여는 주사에 의한 전달을 포함할 수 있다. 비경구 투여는 근육내, 피하, 정맥내 또는 피내일 수 있다. 하이드로겔의 전달 담화 능력은 최소 침습 치료를 제공하면서 작은 관내강(lumen)을 통한 분포를 허용할 수 있다.

[0430] 상기 방법은 비경구 투여를 위해 하이드로겔에 기계적 힘을 적용하는 단계를 포함할 수 있다. 하이드로겔은 적용된 기계적 힘, 예를 들면 주사에 의해 제제를 투여하기 위해 시린지에 의해 적용된 압력에 의해 담화될 수 있다. 특히, 바늘 또는 카테터를 통해 제제를 투여하기 위해 가해지는 압력은 적용을 위해 하이드로겔을 전달 담화시키기에 충분할 수 있다.

[0431] 펩티드 하이드로겔은 이를 필요로 하는 임의의 내부 표적 부위에 비경구적으로 투여될 수 있다. 예를 들면, 심장 조직, 신경 조직, 결합 조직, 상피 조직 또는 근육 조직 등이 표적 부위가 될 수 있다. 펩티드 하이드로겔은 고형 중앙의 표적 부위에 비경구적으로 투여될 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 폐 조직의 항진균 치료는 본원에 기재된 펩티드 하이드로겔의 비경구 투여에 의해 제공될 수 있다.

[0432] **펩티드 하이드로겔의 국소 투여**

[0433] 소정 실시형태에 있어서, 하이드로겔은 국소적으로 투여될 수 있다. 일반적으로, 국소 투여는 임의의 외부 또는 경피 투여를 포함할 수 있다. 예를 들면, 투여를 위한 표적 부위는 상피 조직일 수 있다. 특정 실시형태에 있어서, 국소 투여는 상처 드레싱 또는 지혈제를 수반할 수 있다.

[0434] 제제는 전달 장치로 국소적으로 투여될 수 있다. 예를 들면, 제제는 스프레이, 에어로졸, 드롭퍼, 튜브, 앰플, 필름 또는 시린지에 의해 국소적으로 투여될 수 있다. 특정 실시형태에 있어서, 제제는 스프레이에 의해 국소적으로 투여될 수 있다. 스프레이는, 예를 들면 비강 스프레이일 수 있다. 투여를 위해 선택될 수 있는 스프레이 파라미터는 액적 크기, 스프레이 패턴, 용량, 스프레이 임팩트, 스프레이 각도 및 스프레이 직경을 포함한다. 따라서, 상기 방법은 표적 부위 또는 표적 표지와 상관되도록 스프레이 파라미터를 선택하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들면, 작은 상처에 투여하기 위해 더 작은 스프레이 직경이 선택될 수 있다. 도달하기 어려운 표적 부위에 투여하기 위해 특정 스프레이 각도가 선택될 수 있다. 습한 표적 부위에 투여하기 위해 더 조밀한 스프레이 패턴 또는 더 큰 액적 크기가 선택될 수 있다.

[0435] 예시적인 액적 크기는 $65\mu\text{m}$ ~ $650\mu\text{m}$ 일 수 있다. 예를 들면, 평균 직경이 $65\mu\text{m}$ ~ $225\mu\text{m}$ 인 미세한 액적, 평균 직경이 $225\mu\text{m}$ ~ $400\mu\text{m}$ 인 중간 액적, 또는 평균 직경이 $400\mu\text{m}$ ~ $650\mu\text{m}$ 인 조대 액적이 선택될 수 있다. 스프레이 패턴은 조밀하게 패킹된 액적에서 성긴 액적까지 다양할 수 있다. 스프레이 직경은 1cm 미만에서 100cm까지의 범위일 수 있다. 예를 들면, 스프레이 직경은 1cm 미만~10cm, 10cm~50cm, 또는 50cm~100cm이도록 선택될 수 있다. 스프레이 각도는 0° 에서 90° 까지의 범위일 수 있다. 예를 들면, 스프레이 각도는 0° ~ 10° , 10° ~ 45° , 또는 45° ~ 90° 이도록 선택될 수 있다.

[0436] 일부 실시형태에 있어서, 제제는 필름으로 국소적으로 투여될 수 있다. 필름은 경질, 반가요성 또는 가요성 필름일 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 가요성 또는 반가요성 필름은 표적 부위의 위상 형태(topological conformation)를 채택하도록 구성될 수 있다. 일반적으로, 필름은 제제 또는 하이드로겔로 포화된 기재의 형태일 수 있다. 기판은 경질, 반가요성 또는 가요성일 수 있다. 필름은 배리어 드레싱 및/또는 지혈제로 투여될 수 있다. 제제는 필름으로 국소적으로 투여될 수 있으며, 배리어 드레싱을 수반할 수 있다.

[0437] 포화 필름 또는 배리어 드레싱으로 포물레이팅된 펩티드는 상술한 바와 같이 표적 집단과 직접 접촉함으로써 항미생물, 항바이러스 및/또는 항진균 치료를 제공할 수 있다. 기존의 항미생물 상처 드레싱은 전통적인 항생제에 의존하며, 항생제를 위한 비히클로서만 기능한다. 그러나, 본원에 기재된 펩티드 하이드로겔 포화 필름 또는 배리어 드레싱은 광역 스펙트럼(그람 양성 및 그람 음성) 박테리아 배양에 대한 세포막 파괴의 생물물리학적 방식을 제공하도록 설계될 수 있다. 따라서, 항미생물, 항바이러스 및/또는 항진균 펩티드 하이드로겔 포화 필름 또는

는 배리어 드레싱은 일반적으로 종래의 작은 분자가 로딩된 폴리머에 전형적인 최소 억제 박테리아 농도에 대한 우려를 회피할 수 있다. 대신에, 본원에 개시된 펩티드 하이드로겔은 펩티드의 아미노산 전하 비율을 선택함으로써 세포친화적, 비염증성 및 무독성을 유지하면서, 그람 양성 및 그람 음성 박테리아(항생제 내성 균주 포함)에 대해 독성을 발휘하도록 설계될 수 있다. 마찬가지로, 본원에 개시된 펩티드 하이드로겔은 진균 유기체(예를 들면, 포자 형성 및 비포자 형성 진균 유기체) 및/또는 바이러스 유기체에 대해 독성을 발휘하도록 설계될 수 있다. 본원에 개시된 포화 필름 또는 배리어 드레싱은 조직 재생을 위한 임시 세포외 매트릭스 스캐폴드를 제공할 수 있다.

[0438] 펩티드 하이드로겔은 이를 필요로 하는 임의의 표적 부위에 국소적으로 투여될 수 있다. 상처 치유, 예를 들면 당뇨병성 상처 치유가 하나의 예시적인 실시형태로서 본원에 기재된다. 그러나, 예를 들면 상기 기재된 바와 같이, 많은 다른 국소 표적 부위 및 치료가 구상된다는 것은 이해되어야 한다. 상처는 급성, 아급성 및 만성 상처를 포함할 수 있다. 상처는 외과적 상처 또는 허혈성 상처일 수 있다. 정맥 및 동맥 궤양 상처 또는 욕창 상처 같은 만성 상처, 및 외상으로 인한 것과 같은 급성 상처를 치료할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 제제는 필름, 배리어 드레싱 및/또는 지혈제로 포물레이팅될 수 있다. 제제의 투여는 배리어 드레싱 및/또는 지혈제를 수반할 수 있다.

[0439] 생물막의 치료 및/또는 관리 또는 억제는 또 다른 예시적인 실시형태로서 본원에 기재되어 있다. 상처 또는 조직의 수분 관리 및/또는 삼출물 관리는 또 다른 예시적인 실시형태로서 본원에 기재되어 있다. 조직 괴사조직 제거는 또 다른 예시적인 실시형태로서 본원에 기재되어 있다. 제제는, 예를 들면 상처와 관련하여 예방약으로서 국소적으로 투여될 수 있다. 제제는, 예를 들면 만성 상처 또는 생물막 부위에 진통제로서 국소적으로 투여될 수 있다.

[0440] 펩티드 하이드로겔의 경장 투여

[0441] 소정 실시형태에 있어서, 하이드로겔은 경장적으로 투여될 수 있다. 일반적으로, 경장 투여는 임의의 경구 또는 위장관 투여(gastrointestinal administration)를 포함할 수 있다. 예를 들면, 투여를 위한 표적 부위는 구강 조직 또는 위장관 조직일 수 있다. 특정 실시형태에 있어서, 경장 투여는 음식 또는 음료를 수반할 수 있다. 제제는 실질적으로 공복에 투여될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 물은 제제의 투여 후에 피험체에게 투여된다. 일부 실시형태에 있어서, 투여 후 음식 소비 전에 수 시간을 대기한다.

[0442] 이러한 경장 제제는 경구, 설하, 순하, 협측 또는 직장 적용을 위해 포물레이팅될 수 있다. 경구 적용 포물레이션은 일반적으로 입을 통한 섭취를 위해 특별히 제조된다. 설하 및 순하 포물레이션, 예를 들면 정제, 스트립, 점적제, 스프레이, 에어로졸, 미스트, 로젠지 및 발포성 정제는 혀 또는 입술 아래의 결합 조직을 통한 확산을 위해 경구로 투여될 수 있다. 구체적으로, 설하 투여를 위한 포물레이션은 혀 아래에 위치될 수 있고, 순하 투여를 위한 포물레이션은 입술과 치은(잇몸) 사이에 위치될 수 있다. 제형이 혀 아래의 민감한 조직을 부식시킬 수 있는 물질을 포함할 경우, 순하 투여가 유익할 수 있다. 협측 포물레이션은 일반적으로 뺨을 감싸는 구강 점막 조직을 통해 확산되도록 협측 부위에 국소적으로 유지 또는 적용될 수 있다. 직장 적용은 장치의 도움을 받거나 또는 받지 않고 직장강 내에 포물레이션을 삽입함으로써 달성될 수 있다. 장치 보조 적용은, 예를 들면 어플리케이터 또는 삽입형 어플리케이터, 카테터, 공급 튜브를 통한 전달, 또는 내시경 또는 초음파를 병용한 전달을 포함할 수 있다. 적합한 어플리케이터는 액체 포물레이션 벌브 및 런처(launcher) 및 고체 포물레이션 삽입형 어플리케이터를 포함한다.

[0443] 본원에 개시된 임의의 투여 경로에 대해, 상기 방법은 제제의 단일 투여량을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 투여 부위는 제제의 추가 투여량 또는 후속 투여량을 투여할지 여부를 결정하기 위해 일정 기간 동안 모니터링될 수 있다. 예를 들면, 상기 방법은 투여 부위를 모니터링하는 단계를 포함할 수 있다. 선택적으로 표적 부위에서 피험체의 파라미터는 상기 기재된 바와 같이 모니터링될 수 있다. 피험체는 매시간, 2~3시간마다, 6~8시간마다, 10~12시간마다, 12~18시간마다 또는 매일 한 번 모니터링될 수 있다. 피험체는 매일, 이틀에 한 번, 며칠에 한 번 또는 매주 모니터링될 수 있다. 피험체는 매월 또는 격월로 모니터링될 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 피험체는 최대 약 6개월의 기간 동안 모니터링될 수 있다. 예를 들면, 피험체는 약 1개월, 약 2개월, 약 3개월, 약 4개월, 약 5개월 또는 약 6개월 동안 모니터링될 수 있다.

[0444] 상기 방법은 제제의 적어도 하나의 추가 투여량 또는 후속 투여량을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들면, 상기 방법은 첫 투여 후 적어도 약 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일 또는 14일 후에 표적 부위에 추가 투여량을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 방법은 첫 번째 투여 후 1주, 2주, 3주, 4주, 5주 또는 6주 후에 추가 투여량을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 방법은 첫 번째

투약 후 적어도 6개월 또는 1년 후에 추가 투약량을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 하이드로겔의 적어도 일부는 추가 투약의 시점에서 표적 부위에 존재할 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 하이드로겔은 추가 투약의 시점에서 표적 부위로부터 완전히 대사되거나 그렇지 않으면 제거될 수 있다.

[0445] **펩티드 하이드로겔을 사용한 생체 물질의 전달 방법**

[0446] 피험체에게 생체 물질을 투여하는 방법이 본원에 개시되어 있다. 상기 방법은 일반적으로 생체 물질을 하이드로겔에 현탁시키는 단계를 포함할 수 있다. 상기 생체 물질은, 하이드로겔의 자기 조립을 유도하기 위해, 생체적 합성 용액 중에 자기 조립 펩티드를 포함하는 제제, 및 유효량의 이온성 염 및 생물학적 완충제를 포함하는 버퍼와 조합될 수 있다. 상기 방법은 유효량의 생체 물질, 제제 및 버퍼(선택적으로 하이드로겔 형태)를 피험체의 표적 부위에 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 제제 또는 버퍼와 함께 생체 물질을 현탁시키면, 일반적으로 액체 현탁액을 생성할 것이다. 제제를 버퍼와 조합하면, 생체 물질을 포함하는 하이드로겔로의 현탁액의 겔화를 촉발할 수 있다.

[0447] 투여될 생체 물질은 생체 체액, 세포 및/또는 조직 물질을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 투여되는 하나 이상의 생체 물질은 합성일 수 있다. 예를 들면, 생체 체액은 합성 체액이거나 또는 합성 체액을 포함할 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 생체 물질은 공여체로부터 얻어질 수 있다. 생체 물질은 자가 조직(수용 피험체로부터 획득)일 수 있다. 생체 물질은 동종이계(수용 피험체와 동일한 종의 공여 피험체로부터 획득) 또는 이종계(수용 피험체와 다른 종의 공여 피험체로부터 획득)일 수 있다.

[0448] 자기 조립 하이드로겔은 생체 물질의 네이티브 세포와 매트릭스와 실질적으로 유사한 물리적 구조를 가질 수 있어서, 겔이 세포 성장, 기능 및/또는 생존을 촉진하기 위한 일시적 스캐폴드 역할을 할 수 있게 한다. 특히, 자기 조립 하이드로겔은, 예를 들면 공극 크기, 밀도, 수화, 전하, 경질성 등을 포함한 생체 물질의 네이티브 세포와 매트릭스와 유사한 특성을 가질 수 있다. 특성은 생체 물질 유형에 대응하여 선택될 수 있다.

[0449] 자기 조립된 하이드로겔은 선택된 분해율을 가질 수 있다. 분해율은 이식 또는 투여의 표적 부위에 대응하여 선택될 수 있다. 자기 조립된 하이드로겔 특성은 하이드로겔 환경으로의 세포의 이동을 촉진하도록 선택될 수 있다. 자기 조립된 하이드로겔 특성은 적대적 환경에서 세포 보호를 촉진하도록 선택될 수 있다. 자기 조립 하이드로겔 특성은, 예를 들면 숙주 조직에 생착되지 않는 세포와 같이, 하이드로겔 내 생체 물질의 고정을 촉진하도록 선택될 수 있다. 자기 조립된 하이드로겔 특성은 하이드로겔 환경으로의 세포 생성물 또는 부산물 또는 조직 유래 물질, 예를 들면 성장 인자, 엑소솜, 세포 용해물, 세포 단편 또는 유전 물질의 이동을 촉진하도록 선택될 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 자기 조립 하이드로겔 특성은 세포, 예를 들면 전구 세포 또는 줄기 세포, 예를 들면 중간엽 줄기 세포의 분화를 제어하도록 선택될 수 있다.

[0450] 자기 조립된 하이드로겔의 특성은 펩티드를 설계함으로써 제어될 수 있다. 예를 들면, 펩티드는 하나 이상의 선택된 물리적 특성을 제공하는 관능기를 포함할 수 있다. 상기 특성은 배지 또는 버퍼의 조성을 선택함으로써 제어될 수 있다. 예를 들면, 배지는 혈청을 포함하거나 또는 실질적으로 혈청을 포함하지 않을 수 있다. 예를 들면, 버퍼는 순 양전하를 가질 수도 있고, 순 중성일 수도 있고, 또는 순 음전하를 가질 수도 있다. 일부 실시형태에 있어서, 관능기는 펩티드가 용액에 현탁될 때 펩티드 순 전하 또는 카운터이온을 변경하도록 구성될 수 있다.

[0451] 표적 부위에서 세포 및 세포 생성물, 부산물, 조직, 또는 조직 유래 물질의 투여는 하이드로겔의 방출 특성을 변경함으로써 제어될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 방출 특성은 세포와 매트릭스 또는 단백질 motif의 발현, 융합 단백질의 존재 또는 부재, 펩티드의 순 전하, 양이온성 입자 또는 펩티드의 존재 또는 부재, 음이온 입자 또는 펩티드의 존재 또는 부재, 버퍼, 염, 펩티드 농도, 펩티드 순도, 및 펩티드 카운터이온의 존재 또는 부재의 하나 이상의 발현을 제어함으로써 조작될 수 있다. 상기 특성은 표적 부위에 세포를 배치하도록 설계될 수 있다. 상기 특성은, 예를 들면 엑소솜, 성장 인자, 유전 물질, RNA, siRNA, shRNA, miRNA 등의 전달과 같이 표적 부위에 세포 생성물 또는 부산물을 배치하도록 조작될 수 있다.

[0452] 자기 조립된 하이드로겔은 세포 보호 특성을 갖도록 설계될 수 있다. 특히, 자기 조립 하이드로겔은 이중 미생물, 예를 들면 병원성 미생물에 대해 보호되도록 설계될 수 있다. 자기 조립된 하이드로겔은, 예를 들면 물리적 배리어 또는 생화학적 변조를 제공함으로써, 환경 면역 세포로부터의 면역 공격에 대해 보호되도록 설계될 수 있다. 하이드로겔의 항미생물 및/또는 보호 특성은 생착된 세포의 생존율, 성장 또는 기능에 실질적으로 영향을 미치지 않을 수 있다.

[0453] 하이드로겔의 보호 특성은 펩티드의 순 전하를 변경함으로써 조작될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 순 전하

는 양이온성 입자 또는 펩티드의 존재 또는 부재, 음이온성 입자 또는 펩티드의 존재 또는 부재, 버퍼, 염, 펩티드 농도, 펩티드 순도, 및 펩티드 카운터이온의 존재 또는 부재 중 하나 이상을 제어함으로써 변경될 수 있다.

- [0454] 현탁액은 실질적으로 생리적 pH 수준을 갖도록 설계될 수 있다. 현탁액은 약 4.0~9.0의 pH 수준을 가질 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 현탁액은 약 7.0~8.0의 pH 수준을 가질 수 있다. 현탁액은 약 7.3~7.5의 pH 수준을 가질 수 있다. 실질적으로 생리적 pH는 준비 시점에서 현탁액의 투여를 가능하게 한다. 일부 실시형태에 있어서, 현탁액은 포인트 오브 케어에서 준비될 수 있다. 상기 방법은 펩티드 용액에 세포를 현탁시키는 단계, 선택적으로 세포의 실질적으로 균질한 분포를 제공하도록 현탁액을 교반하는 단계, 및 현탁액을 포인트 오브 케어에서 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 투여는 본원에 기재된 바와 같이 국소 또는 비경구적일 수 있다.
- [0455] **펩티드 하이드로겔을 이용한 생체 물질 이식편의 바이오제조(biofabrication)**
- [0456] 생체내 투여를 위한 시험관내 생체 물질 이식편을 준비하는 방법이 본원에 개시되어 있다. 상기 방법은 세포를 포함하는 액체 현탁액을 시험관내에서 펩티드 스캐폴드 매트릭스로 자기 조립하는 단계를 포함할 수 있다. 자기 조립된 고차 구조체는 피험체의 표적 부위에 투여될 수 있다.
- [0457] 생체내 생체 물질 이식편을 준비하는 방법이 본원에 개시되어 있다. 상기 방법은 표적 부위에서 고차 구조체로 자기 조립하기 위한 생체 물질을 포함하는 액체 현탁액을 투여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0458] 상기 방법은 이하에 더욱 상세히 기재된 바와 같이 포인트 오브 케어에서 생체 물질 이식편의 바이오제조를 포함할 수 있다.
- [0459] 본원에 개시된 하이드로겔은 생체 물질이 매트릭스 내에 실질적으로 균질하게 통합되는 것을 확보할 만큼 충분히 빠른 겔화 동역학을 갖는다. 특히, 겔화 동역학은 매트릭스 내의 세포 밀도에 대해 재현 가능한 제어를 허용하기 위해 캡슐화된 세포의 균등한 분포를 제공하기에 충분히 빠르다. 추가적으로, 본원에 개시된 하이드로겔은 생체내 도입될 수 있고, 예를 들면 공간 공동 없이도 투여 지점에서 국소화된 상태로 유지될 수 있는 구성물을 갖는다. 투여 시 하이드로겔의 국소화는 이웃 조직으로의 세포 구성물의 누출을 제한 또는 억제할 수 있다.
- [0460] 상기 방법은 생체 물질을 제제에 현탁시키는 단계, 선택적으로 생체 물질의 실질적으로 균질한 또는 비균질한 분포를 제공하도록 현탁액을 교반하는 단계, 및 현탁물을 포인트 오브 케어에서 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 현탁액은 생체 물질의 실질적으로 균질한 분포를 제공하기 위해 교반될 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 현탁액은, 예를 들면 생체 물질의 클러스터 또는 스페로이드를 포함하는 비균질 현탁액을 제공하도록 준비 또는 교반될 수 있다.
- [0461] 생착 전에, 세포는 시험관내에서 배양될 수 있다. 세포 배양 프로토콜은 일반적으로 세포 유형에 따라 다르다. 세포 배양 프로토콜의 조건은 세포 유형에 기반하여 선택될 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 세포는 자가, 동종이계 세포 또는 이종 세포일 수 있다. 배양된 세포는 물 및/또는 배지에 현탁될 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 본원에 개시된 방법은 유기체로부터 세포를 수집 또는 수확하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들면, 본원에 개시된 방법은 피험체로부터 세포를 수집 또는 수확하는 단계를 포함할 수 있다. 본원에 개시된 방법은 유기체, 예를 들면 피험체로부터 조직 이식편을 수집 또는 수확하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0462] 현탁액은 외부 자극에 반응하여 자기 조립하는 펩티드를 포함할 수 있다. 현탁액 및/또는 펩티드는 소망하는 특성을 발현하도록 조작될 수 있다. 예를 들면, 현탁액 및/또는 펩티드는 전단 담화 및/또는 항미생물 특성을 발현하도록 설계될 수 있다.
- [0463] 일부 실시형태에 있어서, 투여 전 또는 투여와 동시에 하이드로겔화를 유도하기 위해 현탁액 또는 현탁액의 일부에 버퍼 용액을 첨가할 수 있다. 하이드로겔은 균질하거나 또는 실질적으로 균질한 세포 매트릭스를 형성할 수 있다. 세포 매트릭스는 상술한 바와 같이 선택적으로 전단 담화 특성을 갖는 고체 또는 겔로서 표적 부위에 투여될 수 있다.
- [0464] 세포는 피험체에게 세포 현탁액을 투여하기 전에 미리 결정된 기간 동안 시험관내에서 세포 이식편에서 배양될 수 있다. 상기 기간은 수 분에서 수 시간, 수 일까지의 범위일 수 있다. 배양 기간은 세포 유형 및 표적 적용에 기반하여 선택될 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 세포는 현탁 또는 생착 직후에 투여될 수 있다. 세포는 이식된 세포 이식편에서 원위치에서 배양될 수 있다.
- [0465] 현탁액 및/또는 펩티드는 소망하는 특성을 발현하도록 조작될 수 있다. 소정 실시형태에 있어서, 현탁액 및/또는 펩티드는 적대적인 환경으로부터 세포를 보호하도록 조작될 수 있다. 특히, 현탁액 및/또는 펩티드는 높은

미생물 부담, 적대적인 면역 세포, 또는 환경 단백질을 갖는 환경으로부터 세포를 보호하도록 조작될 수 있다. 현탁액 및/또는 펩티드는 세포 생존율을 증가시키도록 조작될 수 있다. 현탁액 및/또는 펩티드는 분화를 제어하거나, 원위치에서 세포 운명을 제어하거나, 생체내에서 세포 운명을 제어하거나, 생체외에서 세포 운명을 제어하거나, 시험관내에서 세포 운명을 제어하도록 조작될 수 있다. 현탁액 및/또는 펩티드는 매트릭스에 대한 세포 부착을 증가시키거나, 또는 환경에서 세포 부착 및/또는 이동을 증가시키도록 조작될 수 있다. 현탁액 및/또는 펩티드는, 예를 들면 세포 부착 및/또는 생물학적 변조를 제공함으로써 아포토시스(apoptosis)를 감소시키도록 조작될 수 있다.

[0466] 현탁액 및/또는 펩티드는 단백질 모티프의 발현 또는 펩티드의 순 전하를 변경함으로써 상기 기재된 결과를 달성하도록 조작될 수 있다. 하이드로겔 특성은 세포의 매트릭스 또는 단백질 모티프의 발현, 융합 단백질의 존재 또는 부재, 펩티드의 순 전하, 양이온성 입자 또는 펩티드의 존재 또는 부재, 음이온 입자 또는 펩티드의 존재 또는 부재, 버퍼, 염, 펩티드 농도, 펩티드 순도, 펩티드 카운터이온의 존재 또는 부재, 특화된 단백질의 존재 또는 부재, 특화된 작은 분자 또는 큰 분자의 존재 또는 부재 중 하나 이상을 제어함으로써 조작될 수 있다.

[0467] 포인트 오브 케어에서 세포 이식편의 바이오제조를 위한 혼합 장치가 본원에 개시되어 있다. 상기 장치는 세포 준비를 위한 제 1 챔버를 포함할 수 있다. 세포 제제는 물, 배지 또는 버퍼에 현탁된 세포를 포함할 수 있다. 상기 장치는, 상술한 바와 같이, 펩티드 제제를 위한 제 2 챔버, 및 선택적으로 버퍼를 위한 제 3 챔버포함할 수 있다.

[0468] **실시예**

[0469] 이들 및 다른 실시형태의 기능 및 이점은 다음의 실시예로부터 더 잘 이해될 수 있다. 이들 실시예는 사실상 예시를 위한 것이며, 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 간주되지 않는다.

[0470] **실시예 1: 0.5%, 0.75% 및 1.5% w/v의 다양한 농도에서 생착된 펩티드 하이드로겔을 이용한 병원체 오염된 당뇨 병성 상처의 치료**

[0471] 깨끗한 및 오염된 당뇨병성 상처 모두에서 조직 재생을 촉진하기 위해 치료 세포를 전달하기 위한 본원에 기재된 펩티드 하이드로겔의 효능에 대해 시험할 것이다. db/db 마우스에서 전층 절개 상처 부목 모델(splinted, full-thickness excisional wound model)이 사용될 것이다. 마우스의 상처에 실리콘 부목을 적용하면 치유 중 피부 수축이 최소화되어, 인간의 상처 치유에 더 근접한 모델이 얻어지고, 또한 새로운 치료 전략이 상처 재생 피하 및 육아 조직 형성을 개선하는 능력에 대해 평가할 수 있는 것으로 나타났다. 1차 동종이계 마우스 MSC는 면역적격 당뇨병 마우스에 전달될 것이다. 그러나, 자가 또는 이종 MSC가 사용될 수 있다. 후속 연구에서는 돼지 모델을 사용할 것이다.

[0472] 특히, 이 연구는 펩티드 하이드로겔에서 캡슐화된 MSC의 생체내 생존율을 확인할 것이다. 이 연구는, 펩티드 하이드로겔이 1차 MSC를 신속하고 완만하게 캡슐화하는 데 사용될 수 있을 뿐만 아니라, 생체내에서 생존율을 지원하는 스캐폴드를 제공하는 데 사용될 수 있다는 것을 입증할 것이다. 이 연구는, 펩티드 하이드로겔이 생체내에서 생체적합성이고, 또한 상기 겔이 이식 후 높은 세포 유지성 및 생존율로 1차 MSC를 캡슐화할 수 있다는 것을 입증할 것이다.

[0473] 항미생물 세포의 매트릭스에서 캡슐화한 후 세포의 시험관내 생존율 및 증식이 입증될 것이다. 특정 펩티드에 대해서는 시험관내 캡슐화 후 MSC의 높은 세포 유지성 및 생존율을 테스트할 것이다. 마우스 상처 치유 모델에 사용된 GFP(Cyagen)를 발현하는 C57BL/6 마우스 유래의 1차 MSC는 생체내 이식된 세포의 검출을 용이하게 하기 위해 연구 전반에 걸쳐 사용될 것이다. GFP+ MSC는 0.5%, 0.75% 및 1.5% w/v의 펩티드 함량으로 펩티드 매트릭스 내에 캡슐화될 것이다. 혼합 후, 겔은 상처 베드에서의 적용을 시뮬레이션하기 위해 시린지를 통해 세포 배양 웰 플레이트에 분배될 것이다. 조직 배양 폴리스티렌(TCPS) 및 콜라겐 스캐폴드(Integra® 상처 매트릭스 또는 기타 유사한 다공성 콜라겐 스캐폴드)에 시딩된 MSC는 대조군 역할을 한다.

[0474] 세포 캡슐화 또는 시딩 후, MSC는 30분 동안 부착되게 할 것이다. 그 다음, 초기 세포 캡슐화/시딩 후 1일, 3일 및 7일 후에 세포를 배양하고 생존율과 증식을 평가하기 위해 배지는 상이한 조건에 첨가될 것이다. 세포 매트릭스는 펩티드 네트워크를 방해하기 위해 매체에 부드러운 파이펫팅 및 희석에 의해 해리될 것이다. 제어 조건의 경우, 세포는 트립신-EDTA를 사용하여 효소적으로 방출될 것이다. 세포에 대해 생존율 염색으로 염색하고 혈구 계산기를 사용하여 계수함으로써 총 세포 수, 생존율 및 증식에 대해 평가할 것이다. 이 연구는 펩티드 하이드로겔이 신속하고 안전하며 완만한 방식으로 1차 MSC를 캡슐화하여, 캡슐화된 세포의 높은 유지성 및 생존율을 유도한다는 것을 확인할 것이다.

- [0475] MG-63 조골세포 전구 세포주를 사용한 예비 결과는 세포가 겔 내에서 캡슐화 및 전달 담화 후 높은 생존율을 나타내는 것을 입증했다. 이 연구는 치료 가능성을 가진 세포 유형인 1차 MSC를 사용하여 이러한 발견을 확장할 것이다. 펩티드 자기 조립 메커니즘과 겔의 유동성 특성의 결과로서, 펩티드 하이드로겔 내의 세포 캡슐화가 빠르고 완만할 것으로 예상된다. 캡슐화 후 펩티드 매트릭스 내에서 높은(>95%) 초기 세포 유지성뿐만 아니라, 수일 동안 높은(>80%) 세포 생존율이 예상된다. 생리활성 모터플를 갖는 펩티드는 세포 생존율 및/또는 증식을 더욱 향상시킬 것으로 예상된다. 1일, 3일 및 7일째에 MSC의 세포 생존율을 >90%로 되게 하는 펩티드 포물레이션은 생체내 테스트로 이월될 것이다.
- [0476] 이 연구는 이식된 매트릭스의 생체내 생체적합성 및 캡슐화된 세포의 생존율을 입증할 것이다. 이 연구는 이식된 매트릭스가 생체내에서 생체적합성이 있고, 이식 후 3일째와 14일째에 겔 내에 캡슐화된 MSC의 생존을 지원한다는 것을 입증할 것이다. GFP+ MSC는 생체내 전달 후 세포를 검출하게 하기 위해 사용된다. 40마리의 암컷 CD1 마우스는 다음의 치료제의 100ul 피하 주사를 받을 것이다: 1) PBS, 2) 0.5×10^6 MSC만(대조군), 3) 콜라겐 스캐폴드 + 0.5×10^6 MSC(대조약 제품 대조군), 4) 자기 조립 펩티드 하이드로겔 + 0.5×10^6 MSC, 및 5) 생체활성 자기 조립 펩티드 하이드로겔 + 0.5×10^6 MSC. 자기 조립 펩티드의 0.75% w/v 농도가 사용되며, 각 마우스는 2개의 피하 임플란트를 받을 것이다. 3일째 및 14일째에 마우스를 안락사시키고, 이식 생체적합성뿐만 아니라 MSC 생존율 및 기능 활성을 분석하기 위해 겔 임플란트를 주변 조직과 함께 절제할 것이다.
- [0477] 각 시점에서, 조직학을 위해 조건당 4개의 임플란트가 처리될 것이고, 조직 재생과 관련된 측분비 인자(paracrine factor)의 발현을 분석하기 위해 조건당 또 다른 4개의 임플란트를 보관할 것이다. 조직학 샘플은 헤마톡실린 및 에오신(H&E)으로 염색될 것이며, 임플란트 주변의 조직 형태, 괴사 및 섬유성 조직 두께를 평가함으로써 상이한 조건에서 생체적합성을 평가할 것이다. 생체내 전달 후 MSC의 생존을 촉진하는 조건을 확인하기 위해, 조직 절편을 겔에 GFP+ MSC를 나열(세포/ cm^2)하고, 아포토시스를 겪고 있는 세포를 제외시키기 위해 분석할 것이다(터널 어세이(TUNEL assay)). 이 연구는 펩티드 포물레이션이 생체내에서 안전하고 생체적합성이고, 또한 이식 후 MSC 생존을 촉진한다는 것을 확인할 것이다.
- [0478] 예비의 시험관내 결과는 펩티드 하이드로겔이 포유동물 세포와 세포적합성이라는 것을 보여주었다(도 5). 따라서, 펩티드 하이드로겔은 이식 기간 내내 안전하고 MSC와 생체적합성인 것으로 예상된다. 겔 내의 10% 미만의 괴사 세포는 전시점(세포/ cm^2 로 정량화)에서 예상되고, 또한 겔 주변의 최소 섬유성 조직(두께/ cm^2 로 정량화)에서 예상된다. 14일째의 겔은 3일째와 비교하여 약간의 분해를 나타낼 것이지만, 겔 분해 생성물에 반응하여 상당한 대식세포 또는 거대 체세포 반응(세포/ cm^2 로 정량화)은 예상되지 않는다. 또한, 펩티드 하이드로겔은 조직 절편에서 생존 가능한 GFP+ MSC를 정량화함으로써 확인된 겔에 전달된 MSC의 생존율을 지원할 것으로 예상된다. 생체활성 펩티드 포물레이션은 매트릭스 내에서 MSC의 더 큰 생존 및 임플란트로의 내인성 세포의 증가된 침윤을 촉진할 수 있다.
- [0479] 다운드롭을 설명하고, MSC에 작용할 수 있는 생물학적 기능이 부여된 생리활성 포물레이션을 테스트하기 위해, 16마리의 추가 동물이 제공된다. VEGF, Ang-1, EGF 및 KGF와 같은 재생 촉진 측분비 인자의 발현은 저장된 샘플을 사용하여 ELISA(pg 단백질/mg 조직으로 정량화)뿐만 아니라, 조직 절편의 면역조직화학적 염색에 의해 분석될 것이다(3일째 및 14일째에 단백질 공간 및 시간적 국소화를 식별하기 위한 이미지 분석).
- [0480] **실시예 2: MSC 생착된 펩티드 하이드로겔의 항미생물 특성**
- [0481] 이 연구는 항미생물 펩티드 매트릭스에 캡슐화된 MSC가 당뇨병의 db+/db+ 마우스에서의 전충 상처의 조직 재생을 향상시킨다는 것을 입증할 것이다. db/db 당뇨병 마우스 모델(db+/db+; BKS.Cg-Dock7m +/+ Leprdb/J)은 감염, 변경된 숙주 반응, 및 장애가 있는 치유에 대해 취약성을 나타내는, 일반적으로 사용되는 당뇨병성 상처 치유 모델이다. 지연된 조직 재생을 나타낼 것으로 예상되는, 깨끗한 당뇨병성 상처의 경우 14일째(부분적 상처 봉합) 및 28일째(완전한 상처 봉합), 및 병원균 오염된 상처의 경우 28일째의 상이한 치료군 사이의 조직 형태를 검사할 것이다. 이 연구는 MSC를 전달하는 펩티드 매트릭스가 대조군에 비해 상처 봉합 속도를 높이고 또한 재생 조직의 품질을 향상시킨다는 것을 입증할 것이다.
- [0482] 이 연구는 깨끗한 당뇨병성 상처에서 가속화된 조직 재생을 입증할 것이다. 이 연구에서는, 하이드로겔 매트릭스가 db+/db+ 마우스의 감염되지 않은 상처의 치유를 향상시킬 수 있다는 것을 입증할 것이다. 총 30마리의 암컷 10주령 db+/db+ 마우스는 각각 2개의 전충 피부 상처를 받게 되며, 이후 다음 치료군으로 무작위 배정된다: 1) PBS(대조군), 2) 0.5×10^6 MSC만(대조군), 3) 콜라겐 스캐폴드 + 0.5×10^6 MSC(대조약 제품 대조군), 4) 자

기 조립 펩티드 하이드로겔, 및 5) 자기 조립 펩티드 하이드로겔 + 0.5×10^6 MSC.

- [0483] 동물 수술은 이전에 확립된 프로토콜에 따라 수행될 것이다. 간략하게, 마우스를 마취하에 놓고, 각 마우스의 정중선 양쪽에 있는 등에 5mm 전층 절개 상처 2개를 생성할 것이다. 도넛 형상의 실리콘 부목을 상처 주위에 배치하고, 액상 접착제(Krazy® Glue, Elmer 제품)와 단속 봉합사를 사용하여 부착한다. 비부착식 상처 드레싱인 Tegaderm™(3M)으로 덮기 전에 상처에 100 μ L의 치료제를 적용할 것이다. MSC 단독 대조군의 경우, 100 μ L의 PBS에 현탁된 MSC를 상처 주변의 4개 부위에 피내 주사할 것이다. 대조약 제품 대조군의 경우, 스캐폴드를 상처 베드에 배치하기 전에, MSC를 콜라겐 스캐폴드(Integra® 상처 매트릭스 또는 기타 유사한 다공성 콜라겐 스캐폴드)에 37°C에서 30분 동안 미리 시딩할 것이다. 상처 표면적을 측정하고 이미지 분석에 의해 시간 경과에 따른 상처 봉합률을 정량화하기 위해, 0, 3, 7, 14, 21 및 28일째에 상처를 촬영할 것이다.
- [0484] 상처 드레싱이 제거되면, 상처에 점수를 매기고(상처 점수, 피부 자극에 대한 트레이즈 점수), 수화, 크러스팅(crusting), 삼출물 및 관리 용이성에 대해 정성적으로 평가할 것이다. 마우스는 14일째 및 28일째에 안락사시키고, 상처와 주변 조직을 10mm 생검 펀치를 사용하여 절제할 것이다. 조건당 6개의 상처를 H&E 염색을 위해 처리하고, 조직 절편을 재상피화, 육아 조직 형성, 부종, 홍반, 섬유 조직, 및 거대 체세포 반응에 대해 평가할 것이다(세포/ cm^2 로 정량화). 이 연구는 대조군과 비교하여 치료군에서 가속화된 상처 봉합률 및 재생 조직의 개선된 품질(재상피화 및 육아 조직 형성 증가)을 확립할 것이다.
- [0485] 예비의 시험관내 결과는 펩티드 하이드로겔이 세포적합성임을 보여주었고, 이것은 겔이 외인성으로 전달된 MSC의 생존 및 기능을 모두 지원할 수 있을 뿐만 아니라, 조직 재생을 위한 내인성 세포의 침입과 증식을 허용할 수 있다는 것을 시사한다. MSC를 전달하는 펩티드 하이드로겔은 상처 치유율(이미지 분석에 의함) 및 의사면허가 있는 병리학자에 의한 조직병리학 평가에 의해 측정했을 때, 대조군에 비해 당뇨병성 상처의 개선된 치유를 보여줄 것으로 예상된다.
- [0486] 펩티드 하이드로겔은 캡슐화된 MSC의 생존율과 기능을 지원하기 위해 세포 부착(도 6)을 매개할 수 있을 뿐만 아니라, 상처 치유 과정 동안 내인성 세포의 침투를 위한 스캐폴딩 매트릭스 역할을 할 수 있다. 도 6은 병원체에 대한 선택적 독성을 나타내는 이미지를 포함한다. 특히, 도 6은 펩티드 하이드로겔에서 공동 배양된 MRSA와 C3H10t1/2 중간엽 줄기 세포의 어세이 상에서의 살아있는 세포(녹색) 및 죽은 세포(빨간색)를 도시한다. 도 6의 우측 이미지에 도시된 바와 같이, 포유류 세포가 건강하게 유지되는 동안 MRSA는 사멸된다. 더 높은 배율은 C3H10H/2 세포가 하이드로겔에 부착하고 확산될 수 있다는 것을 보여준다.
- [0487] 향상된 세포 부착 능력 및 상처 치유에 대한 생리활성 펩티드 하이드로겔 효과를 시험할 것이다. 또한, 생리활성 펩티드 매트릭스는 생물학적 활성을 통해 MSC와 시너지를 일으켜 상처 치유를 가속화할 가능성이 있다.
- [0488] 펩티드 하이드로겔은 병원균에 오염된 당뇨병성 상처에서 조직 재생을 촉진시킬 수 있다. 펩티드 하이드로겔의 고유한 항미생물 특성은 감염된 당뇨병성 상처에 전달된 후 매트릭스 내에 캡슐화된 치료 MSC를 보호하도록 결정되어, 상처 치유를 개선시킬 수 있을 것이다. 상기 기재된 바와 같이, 20db+/db+ 마우스에 상처가 생성될 것이다. 상처 생성 및 부목 적용 후, 10 μ L의 PBS 중 10^5 CFU의 황색포도상구균(ATCC 25923)를 상처 베드에 놓고, 15분 동안 그대로 두었다. 접종 후, 테가덤(Tegaderm) 상처 드레싱으로 덮기 전에 100 μ L의 치료제가 적용될 것이다.
- [0489] 치료군은 1) PBS(대조군), 2) 0.5×10^6 MSC만(대조군), 3) 콜라겐 스캐폴드 + 0.5×10^6 MSC(대조약 제품 대조군), 4) 자기 조립 펩티드 하이드로겔, 및 5) 자기 조립 펩티드 하이드로겔 + 0.5×10^6 MSC로 구성된다. 상처 봉합률을 3, 7, 14, 21 및 28일째에 디지털 사진으로 모니터링하고, 상기 기재된 바와 동일한 방법에 따라 상처에 점수를 매길 것이다. 28일째에 안락사시킨 후, 상처를 10mm 생검 펀치를 사용하여 절제할 것이다. 치료군당 8개의 상처를 H&E 염색을 위해 처리하고, 조직병리학 평가를 할 것이다. 이 연구는 대조군과 비교하여 펩티드 하이드로겔로 치료된 군에서 가속화된 상처 봉합률 및 재생 조직의 개선된 품질(재상피화 및 육아 조직 형성 증가)을 확립할 것이다.
- [0490] 예비의 시험관내 결과는 펩티드 하이드로겔이 강력한 항균 효과를 나타내면서, 동시에 포유동물 세포와 세포적합성을 유지하는 것을 보여주었다. 따라서, MSC를 전달하는 펩티드 하이드로겔은 상처 치유율(이미지 분석에 의해) 및 의사면허가 있는 병리학자에 의한 조직병리학 평가에 의해 측정했을 때, 대조군 치료에 비해 당뇨병 마우스에 있어서의 감염된 상처의 치유를 개선시킬 것으로 예상된다. 상기 기재된 바와 같이 시험된 병렬 치료군은 여기서 연구된 감염된 상처와 비교하기 위해 감염되지 않은 상처 치유 대조군 역할을 할 것이다.

- [0491] 상처의 바이오버든은 1~7일째 사이에 조직 생검(vs. 면봉)을 사용하여 측정할 수 있다. 또한, 치유 표현형도 평가할 수 있다. 치료군에서의 상처 바이오버든은 상처 생검을 취하고 박테리아 버든(CFU/조직의 g)을 정량화함으로써 3일째 및 7일째에서를 비교할 것이다. 보완적이고 지속적 연구는 임상적으로 관련된 병원체의 더욱 많은 세트를 테스트할 것이다.
- [0492] 펩티드 하이드로겔의 실현 가능성(feasibility)은 펩티드 하이드로겔에 캡슐화된 이식된 MSC의 생체내 생존율, 및 펩티드 하이드로겔에 캡슐화된 MSC로 치료한 후의 깨끗한 및 오염된 당뇨병성 상처에서의 개선된 생체내 조직 재생을 확인함으로써 입증될 것이다. 다음으로, 당뇨병 돼지 모델에서 조직 재생을 촉진하기 위한 펩티드 하이드로겔의 효능이 결정될 것이다. 이 연구는 합성 매트릭스에 캡슐화된 국소 적용 치료 세포로 구성할 것이다.
- [0493] **실시예 3: MRSA에 감염된 전층 상처의 치료**
- [0494] 0.75% w/v 및 1.5% w/v 펩티드에서 하이드로겔의 유효성을 MRSA에 감염된 전층 상처의 치료에서 테스트했다.
- [0495] 간략하게, 이전에 개시된 바와 같이 마우스에서 전층 절개를 생성했다. 절개부를 MRSA 미생물 집락에 감염시켰다. 감염된 상처를 대조군, 0.75% w/v 펩티드 하이드로겔 또는 1.5% w/v 펩티드 하이드로겔로 치료했다. MRSA 증식은 감염 후 24시간 후에 측정했다. 결과는 도 11의 그래프에 제시되어 있다.
- [0496] 도 11의 그래프에 도시된 바와 같이, 0.75% w/v 및 1.5% w/v 펩티드 제제 모두를 사용한 치료는 대조군과 비교하여 미생물 증식을 감소시켰다. 또한, 0.75% w/v 펩티드 제제를 사용한 치료와 1.5% w/v 펩티드 제제를 사용한 치료 사이에는 유의한 차이가 없었다.
- [0497] **실시예 4: 포물레이션의 저장 안정성**
- [0498] 보관 안정성을 보여주기 위해, 일정 기간 보관 후 제제의 향미생물 효능 및 유동학을 테스트했다. 포물레이션은 향미생물 효능을 유지했고, 겔화를 나타냈고, 보관 후 세포 생존 및 증식을 가능하게 했다.
- [0499] 간략하게, 포물레이션은 0.75% w/v에서 6-아르기닌 펩티드로 제조되었다.
- [0500] 겔화는 버퍼와의 조합에 의해 유도했다. 버퍼는 생물학적 완충제로서 BTP, 아세테이트, 시트레이트, 포스페이트 Tris 중 하나를 33mM, 50mM, 및 100mM의 다양한 농도로 포함했다. 겔은 1일 또는 7일 동안 보관했다. 형태학은 육안 검사에 의해 결정되었다. 겔이 액체가 되는 변형을 결정하기 위해 유동학을 테스트했다. 향미생물 효능은 그람 양성 MRSA(ATCC 33591) 및 그람 음성 녹농균(ATCC 9027)에 대해 테스트했다. 결과는 표 6 및 도 12~13b의 그래프에 제시되어 있다.

표 6

제조 후 7일째의 포물레이션

버퍼 (0.75% w/v PEP6R, pH 7.4)	최종 형태	유동학 (변형률 %)	농균에 대한 항균 활성 (박테리아의 성장(%))		MRSA에 대한 항미생물 활성 (박테리아의 성장(%))	
			1일	7일	1일	7일
BTP 33mM	투명한 겔	125.8	0.000	0.000	0.000	0.000
	투명한 겔	125.4	0.000	1.532	0.000	11.753
	투명한 겔	125.4	0.000	1.650	0.003	5.600
아세테이트 33mM	투명한 액체	-	0.026	0.000	0.000	3.503
	투명한 액체	-	0.000	0.002	0.005	8.660
	투명한 액체	-	0.000	0.000	0.001	1.376
시트레이트 33mM	탁한 액체	-	0.000	1.147	0.000	0.003
	탁한 액체	-	0.000	1.087	0.003	0.004
	탁한 액체	-	7.580	88.200	0.013	0.013
포스페이트 33mM	탁한 액체	-	0.000	0.000	7.580	13.467
	탁한 액체	-	0.000	0.000	7.580	13.467
	탁한 액체	-	2.532	1.001	5.053	6.286
Tris 33mM	투명한 겔	7.97	0.000	0.705	0.001	11.200
	투명한 겔	99.69	0.000	3.970	0.001	0.008
	투명한 겔	125.43	0.001	1.294	0.015	5.120

[0501]

- [0502] 보고된 <0.001% 성장 값은 항미생물 활성에 대한 FDA 표준인 박테리아의 4-로그 감소보다 큰 값에 해당한다. 33mM BTP를 갖는 포물레이션은 테스트 병원체에 대해 6-로그 감소를 초과하는 항미생물 효능을 나타냈고, $G' > 100\text{Pa}$ 를 갖는 유동학 특성에 의해 측정된 바와 같이 겔을 형성했다. 도 12는 저장 모듈러스(G') 및 손실 모듈러스(G'')에서 33mM BTP를 갖는 포물레이션의 유동학 데이터를 도시한다. 크로스오버점(cross over point)은 겔(G')이 용액 상태(G'')로 변환되는 변형 백분율을 나타낸다. 도 13a~13b는 겔 제조 후 1일째 및 7일째에 녹농균(도 13a) 및 MRSA(도 13b)에 대해 테스트된 상이한 버퍼 포물레이션의 항미생물 활성을 나타내는 그래프를 포함한다. 흑색 점선은 $10^6 \sim 10^7$ CFU의 대조군 점종물과 비교하여 박테리아의 4 로그 감소(0.01% 성장)를 나타낸다. 적색 점선은 $10^6 \sim 10^7$ CFU의 대조군 점종물과 비교하여 박테리아의 6 로그 감소(0.0001% 성장)를 나타낸다.
- [0503] 또한, 세포적합성 어세이도 수행되었다. BTP와 Tris로 제조된 모든 하이드로겔은 뮤린(murine) 중간엽 줄기 세포의 강력한 세포 생존율과 증식을 나타냈다.
- [0504] 따라서, 하이드로겔은 보관 7일 후에도 항미생물 효능, 유동학 특성 및 세포적합성을 유지한다. 하이드로겔은 장기간 보관 후에도 유사한 특성을 유지할 것으로 예상된다.
- [0505] **실시예 5: 포물레이션의 온도 안정성**
- [0506] 제제의 온도 안정성을 열처리 후 항미생물 효능 및 자기 조립을 시험함으로써 테스트했다. 이 제제는 가열 멸균 후에도 항미생물 효능 및 자기 조립을 유지했다.
- [0507] 간략하게, 포물레이션은 0.75% w/v에서 6-아르기닌 펩티드로 제조되었다. 겔화는 33mM 농도의 생물학적 완충제로서 BTP를 갖는 버퍼와 조합함으로써 유도했다. 제제를 125℃에서 습열 멸균했다. 제제의 항미생물 활성을 비가열 멸균 겔 및 0.2 μm 여과 겔과 비교했다. 항미생물 활성은 10 μL 의 박테리아(10^6 CFU)를 멸균 한천 평판에 놓은 다음, 실험 포물레이션으로 점종물을 덮음으로써 측정했다. 그 후, 처리된 점종물을 37℃에서 24시간 동안 배양했다.
- [0508] 자기 조립 결과는 도 14a~14b의 그래프에 제시되어 있다. 도 14a는 비가열 멸균된 겔의 유동학을 도시한다. 도 14b는 가열 멸균된 겔의 유동학을 도시한다. 두 샘플 모두 자기 조립의 특성을 표시했다. 또한, 두 샘플 간의 최대 변형률에는 유의한 차이가 없었다.
- [0509] 항미생물 활성 결과는 도 15의 그래프에 제시되어 있다. 가열 멸균된 샘플은 박테리아의 6-로그 감소 초과를 나타냈다. 도 15에 도시된 바와 같이, 가열 멸균된 하이드로겔은 비가열 멸균된 하이드로겔에 비해 현저하게 증가된 항미생물 활성을 나타낸다.
- [0510] 펩티드 하이드로겔의 또 다른 실험 샘플은 0.2 μm 무균 필터를 통과시켜 멸균시켰다. 또한, 무균 여과는 박테리아의 6-로그 감소 초과를 달성했다. 그러나, 이 멸균 방법은 펩티드 손실 가능성이 있다.
- [0511] 또한, 가열 멸균 후 펩티드 안정성도 테스트했다. 그 결과를 도 16a~16b의 그래프에 나타낸다. 간략하게, 가열 멸균 및 비가열 멸균 하이드로겔의 고성능 액체 크로마토그래피(UPLC)는 동일한 체류 시간(각각 5.2분 및 5.3분)에서 피크를 나타낸 바, 두 하이드로겔 모두에 6-아르기닌 펩티드가 존재함을 확인했다. 도 16a는 비가열 멸균된 하이드로겔의 UPLC 데이터를 도시한다. 도 16b는 가열 멸균된 하이드로겔의 UPLC 데이터를 도시한다. 부가적으로, 크로마토그래프는 비가열 멸균된 하이드로겔과 비교하여 가열 멸균된 하이드로겔에서 추가 피크가 나타나지 않았다. 이 결과는 펩티드가 가열 멸균 공정 동안 분해되지 않았다는 것을 입증한다.
- [0512] 따라서, 가열 멸균된 제제는 항미생물 활성(≥ 6 -로그 감소)을 나타내고, 하이드로겔로 자기 조립되며($G' > 100\text{Pa}$), 가열 멸균 후에 안정/분해되지 않는다.
- [0513] **실시예 6: 포물레이션의 장기 저장 수명 안정성**
- [0514] 제제의 저장 수명 안정성은 상이한 시간 및 온도 조건 하에서 테스트했다. 저장 수명 안정성은 항미생물 효능 및 자기 조립을 측정함으로써 결정했다.
- [0515] 포물레이션은 실시예 6에 기재된 바와 같이 제조했고, 실시예 5에 기재된 바와 같이 1, 10, 40 및 180일 동안 실온에서 보관했다. 항미생물 활성은 실시예 5에 기재된 바와 같이 10^6 CFU MRSA에 대해 테스트했다. 그 결과는 도 17에 도시되어 있다.
- [0516] 간략하게, 도 17에 도시된 바와 같이, 흑색 점선은 대조군에 비해 4-로그 감소를 나타낸다. 테스트된 모든 샘플

은 적색 점선으로 표시된 바와 같이 박테리아의 6-로그 감소를 초과하는 항미생물 효능을 나타냈다. 따라서, 테스트된 포물레이션은 최대 180일까지 모든 테스트된 시점에서 항미생물 효능을 유지했다.

[0517] 또한, 제제에 대해 세포적합성을 테스트했다. 그 결과는 도 18의 그래프에 제시되어 있다. 테스트된 모든 샘플은 100%를 초과하는 세포 생존율을 보였다.

[0518] 따라서, 가열 멸균된 제제는 항미생물 활성 및 세포 생존율에 의해 나타내어진 바와 같이 제조 후 최대 180일까지 상온에서 안정하다. 장기 안정성을 위한 생존율 시험이 진행 중이다. 그러나, 180일을 초과하여 보관된 제제에 대해서도 유사한 결과가 예상된다.

[0519] 실시예 7: 시린지에서의 제제의 유동학 평가

[0520] 시린지에서의 하이드로겔의 모듈러스를 평가했다. 포물레이션은 실시예 5에 기재된 바와 같이 6-아르기닌 펩티드로 제조했다. 겔화는 버퍼와 조합하여 유도했다. 제제를 실시예 6에 기재된 바와 같이 스탬 멸균했다.

[0521] 제제를 시클로-올레핀-폴리머(COP) 시린지에 로딩하고 유동학을 측정했다. 그 결과를 도 19의 그래프에 나타냈다.

[0522] 도 19에 도시된 바와 같이, 제제는 시린지로부터 적용된 기계적 응력으로 가역적으로 자기 조립한다.

[0523] 실시예 8: 라포나이트를 함유하는 포물레이션

[0524] 라포나이트를 포함하는 제제를 테스트했다. 하이드로겔은 제제에 라포나이트가 포함되었을 때, 더 높은 모듈러스와 더 낮은 최대 변형 퍼센트를 나타낸다.

[0525] 간략하게, 포물레이션은 1.5% w/v에서 6-아르기닌 펩티드로 제조했다. 제 1 라포나이트 포물레이션은 2mL의 펩티드 포물레이션과 2% w/v의 농도를 갖는 2mL의 라포나이트 제제를 조합하여 제조했다. 제 2 라포나이트 포물레이션은 2mL의 펩티드 포물레이션과 1.5% w/v 농도를 갖는 2mL의 라포나이트 제제를 조합하여 제조했다. 라포나이트 포물레이션을 초음파 혼(sonication horn)을 사용하여 2분 동안 펄스 균질화했다(20% Amp에서 10초 온/10초 오프). 겔화는 버퍼와의 조합에 의해 유도되었다.

[0526] 수중 2% w/v 라포나이트와 비교했을 때의 2% w/v 라포나이트 포물레이션에 대한 데이터는 도 20a~20b의 그래프에 도시되어 있다. 수중 1.5% w/v 라포나이트(상단 열)와 비교했을 때의 1.5% w/v 라포나이트 포물레이션(하단 열)에 대한 데이터를 도 21의 그래프에 나타낸다. 데이터가 나타낸 바와 같이, 라포나이트를 첨가하면 겔 메커니즘을 개선시켜서 겔화 과정을 개선시킬 수 있다. 펩티드에 대한 라포나이트의 비율이 1:1인 제제는 라포나이트의 농도가 더 높은 제제보다 저장 모듈러스는 더 높았지만 최대 변형률은 더 낮았다.

[0527] 실시예 9: 에어로졸화된 하이드로겔의 항미생물 효능

[0528] 비강 스프레이 장치에 의한 투여 후 제제의 항미생물 효능을 테스트했다. 24시간 후, 박테리아 집락의 완전한 제거가 관찰된 바, 이는 에어로졸 제제가 우수한 항미생물 효능을 나타내는 것을 나타낸다.

[0529] 간략하게, 포물레이션을 0.75% w/v에서 6-아르기닌 펩티드로 제조했다. 겔화는 버퍼와의 조합에 의해 유도했다. 포물레이션을 비강 스프레이 어플리케이션에 연결된 시린지에 로딩했다. 10 μ L 체적의 그람 양성 MRSA 또는 그람 음성 녹농균 PA01(10⁴~10⁶ CFU)을 BHI 한천 평판에 플레이팅하고, 실온에서 건조시켰다. 15분 후, 제제를 박테리아 스폿에 3회 스프레이 전달하고, 상기 평판을 37°C에서 24시간 동안 인큐베이션했다. 도 22는 비강 스프레이 디스펜서를 통한 스프레이 적용의 이미지이다. 그 결과는 도 23~25의 이미지 및 그래프에 도시한다. 24시간 후, 평판을 이미지화하고(도 23, 도 25), 얻어진 집락을 나열했다. 도 24의 그래프에 도시된 바와 같이, 하이드로겔이 스프레이 전달되었을 때 테스트된 CFU 농도 중 어느 것에서도 집락이 관찰되지 않았다. 따라서, 박테리아의 완전한(100%) 제거는 하이드로겔의 에어로졸화에 의해 달성되었다.

[0530] 본원에서 사용된 어법 및 용어는 설명을 위한 것이며 제한하는 것으로 간주되어서는 안 된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "복수"라는 용어는 2개 이상의 아이템 또는 구성요소를 의미한다. "포함하는(comprising, including)", "담지하는(carrying)", "갖는(having)", "함유하는(containing)" 및 "수반하는(involving)"이라는 용어는 서면 설명 또는 청구범위 등이든지 개방형 용어, 즉 "포함하지만, 이에 한정되지 않는다"는 것을 의미한다. 따라서, 이러한 용어의 사용은 이후에 열거된 아이템 및 그의 등가물뿐만 아니라 추가 아이템을 포함하는 것을 의미한다. 청구범위와 관련하여, "~로 이루어진" 및 "본질적으로 ~로 이루어진"이라는 연결구만이 각각 폐쇄형 또는 반폐쇄형 연결구이다. 청구범위 요소를 변형하기 위해 청구범위에서 "제 1", "제 2", "제 3" 등과 같은 서수 용어를 사용하는 것은 그 자체로 하나의 청구범위 요소가 다른 것에 대한 임의의 우선순위, 선행

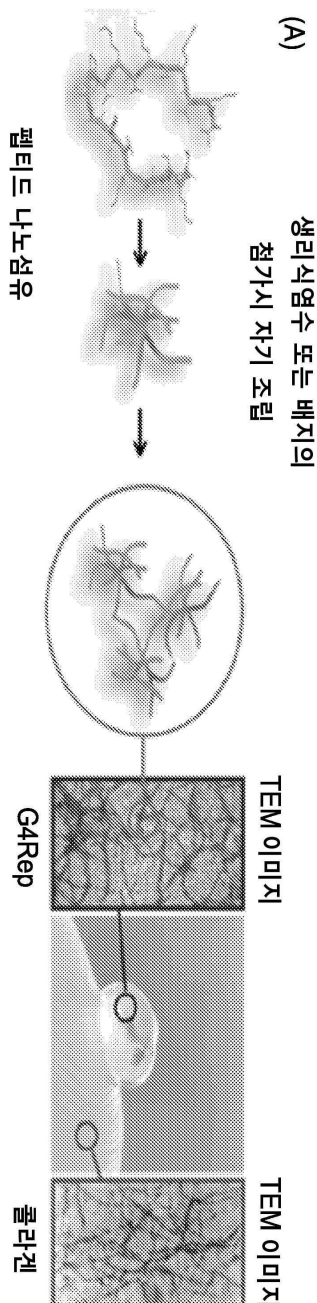
또는 순서, 또는 방법의 동작이 수행되는 시간순서를 함축하는 것이 아니라, 청구범위 요소를 구별하기 위해, 소정 명칭을 갖는 하나의 청구범위 요소를 동일한 명칭(단, 서수 용어 사용)을 갖는 다른 요소와 구별하기 위한 라벨로만 사용된다.

[0531] 적어도 하나의 실시형태의 여러 양태에 대해 기재했지만, 다양한 변경, 수정 및 개선이 당업자에게 용이하게 일어날 수 있다는 것은 인식되어야 한다. 임의의 실시형태에 기재된 임의의 특징은 임의의 다른 실시형태의 임의의 특징에 포함되거나 대체될 수 있다. 그러한 변경, 수정 및 개선은 본 개시의 일부로 의도되고, 또한 본 발명의 범위 내에 있도록 의도된다. 따라서, 상술한 설명 및 도면은 예시를 위한 것일 뿐이다.

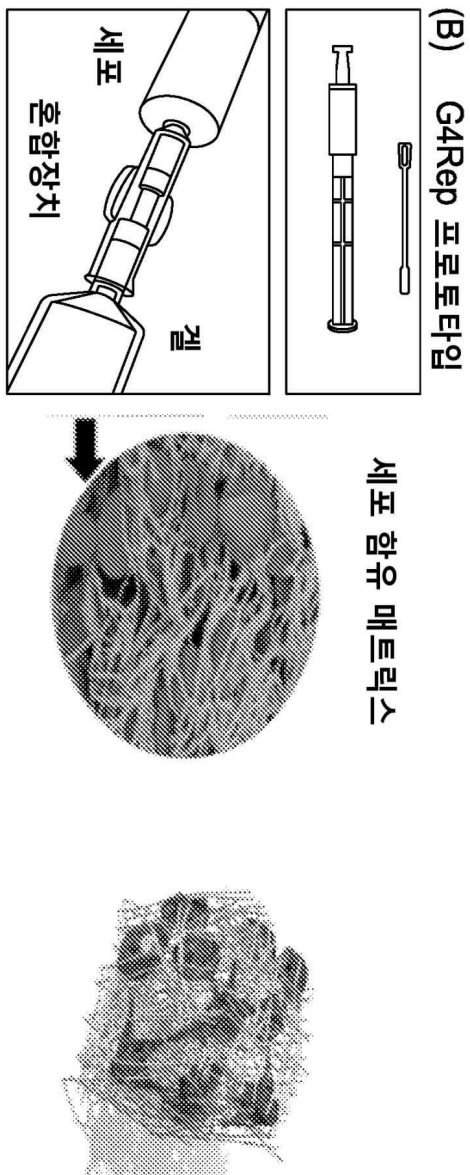
[0532] 당업자는 본원에 기재된 파라미터 및 구성이 예시적이며, 실제 파라미터 및/또는 구성이 개시된 방법 및 재료가 사용되는 특정 적용에 의존적일 것이라는 것을 이해해야 한다. 또한, 당업자는 단지 일상적인 실험을 사용하여 개시된 특정 실시형태에 대한 등가물을 인식하거나 확인할 수 있어야 한다.

도면

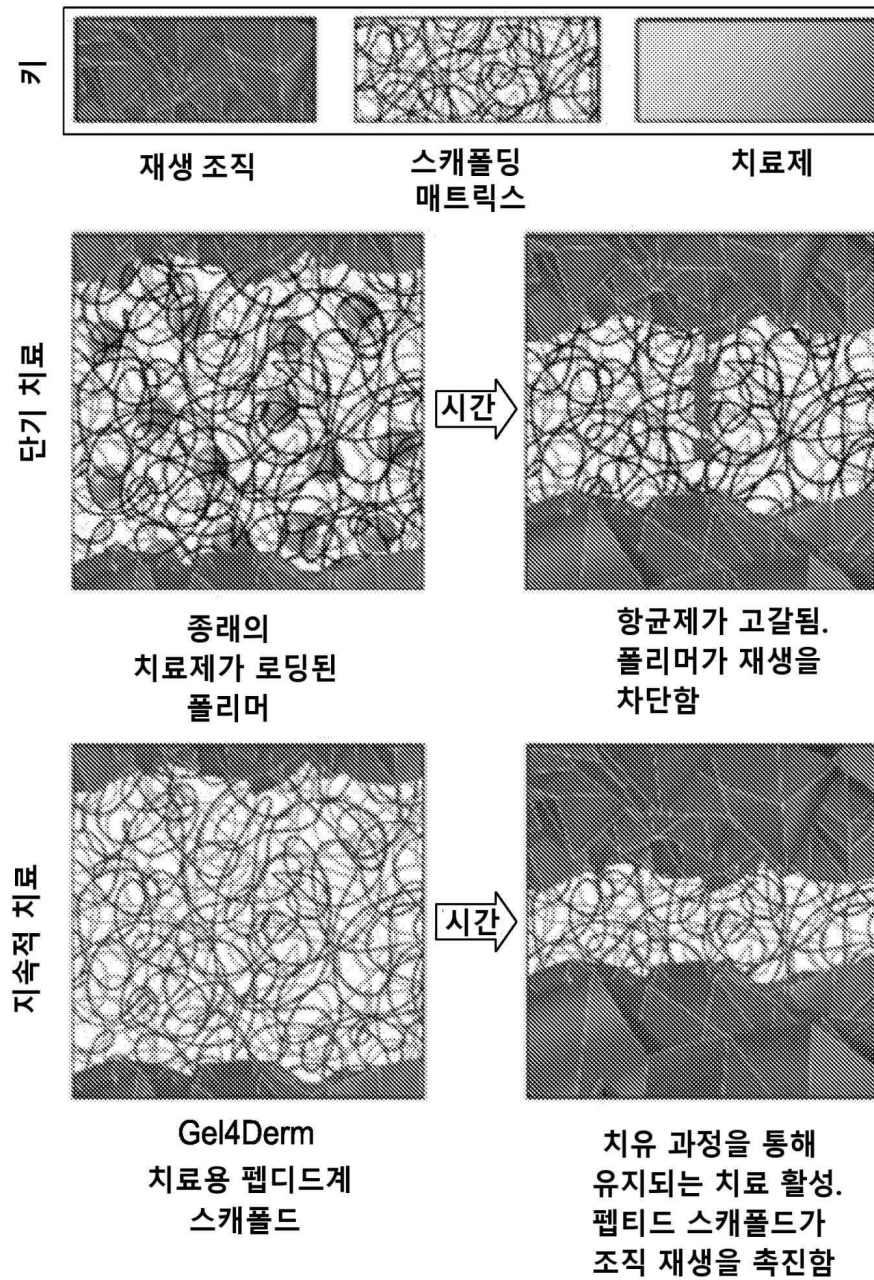
도면1a



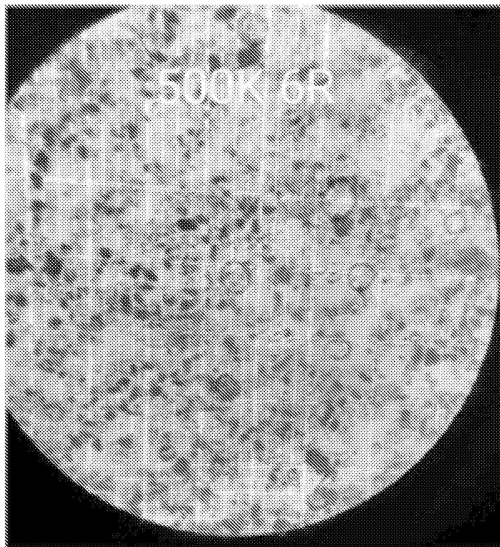
도면1b



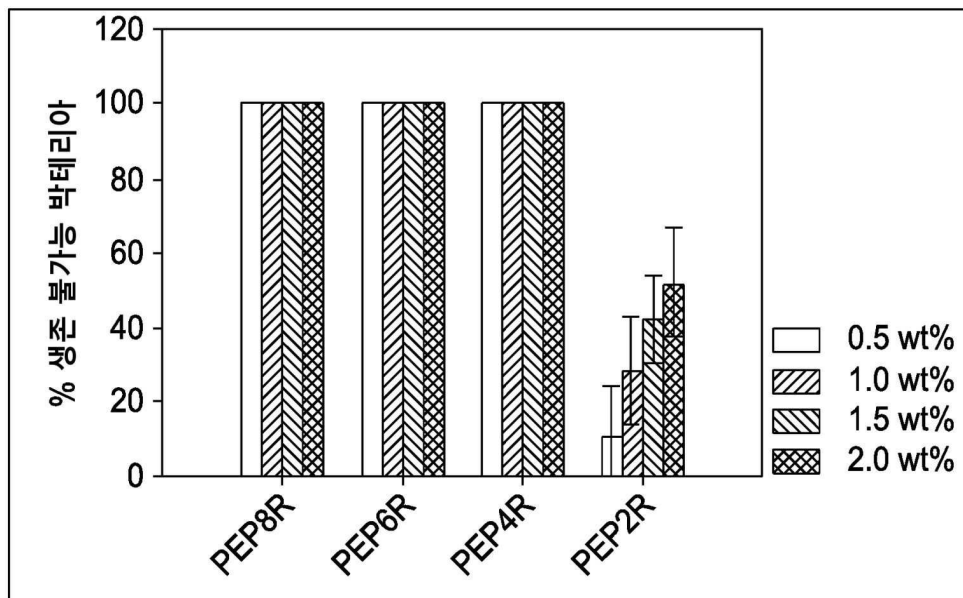
도면2



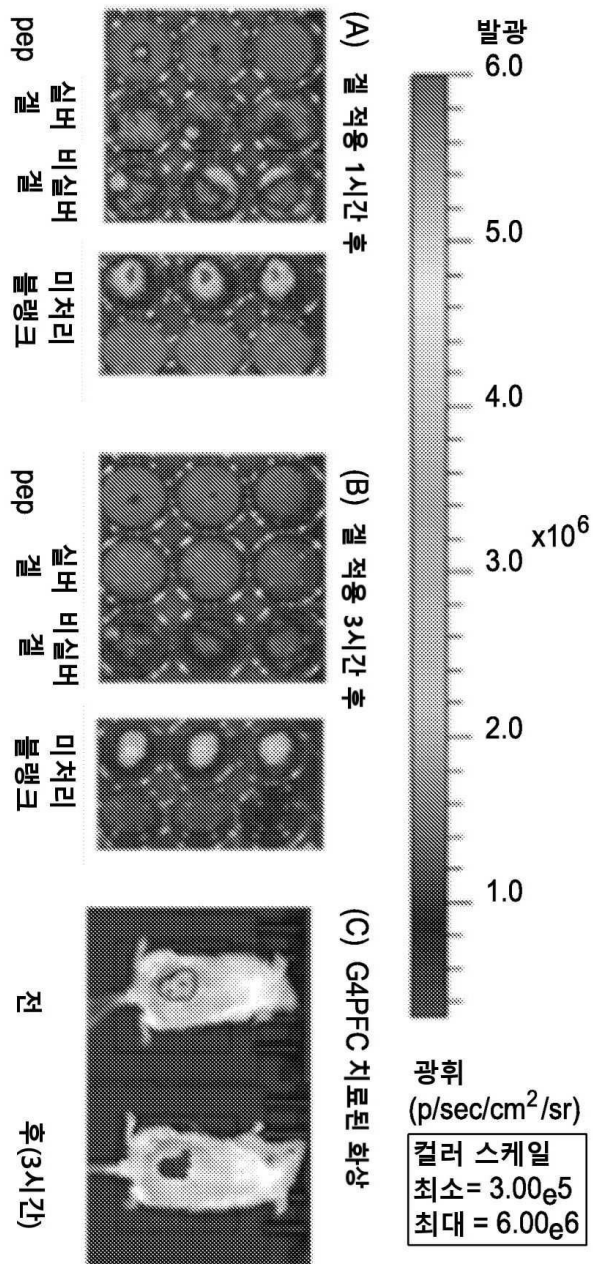
도면3



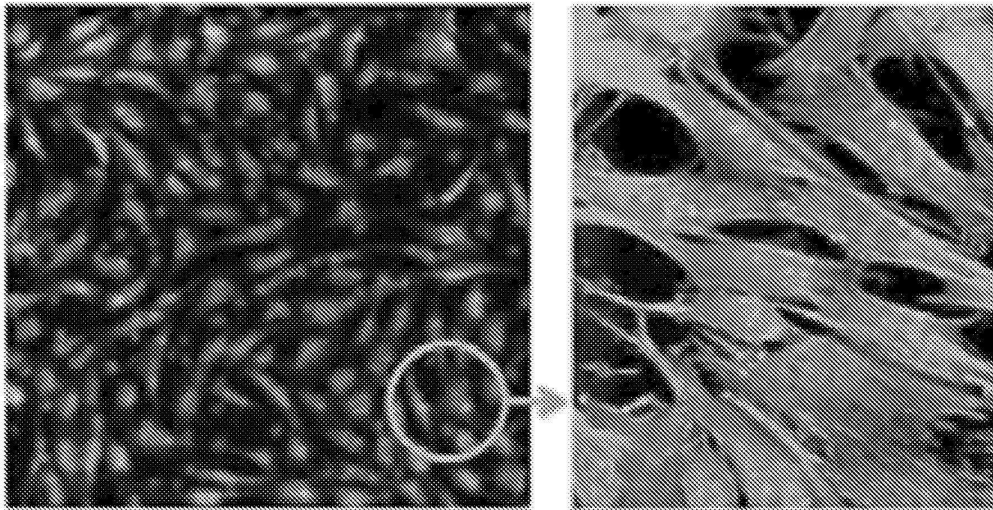
도면4



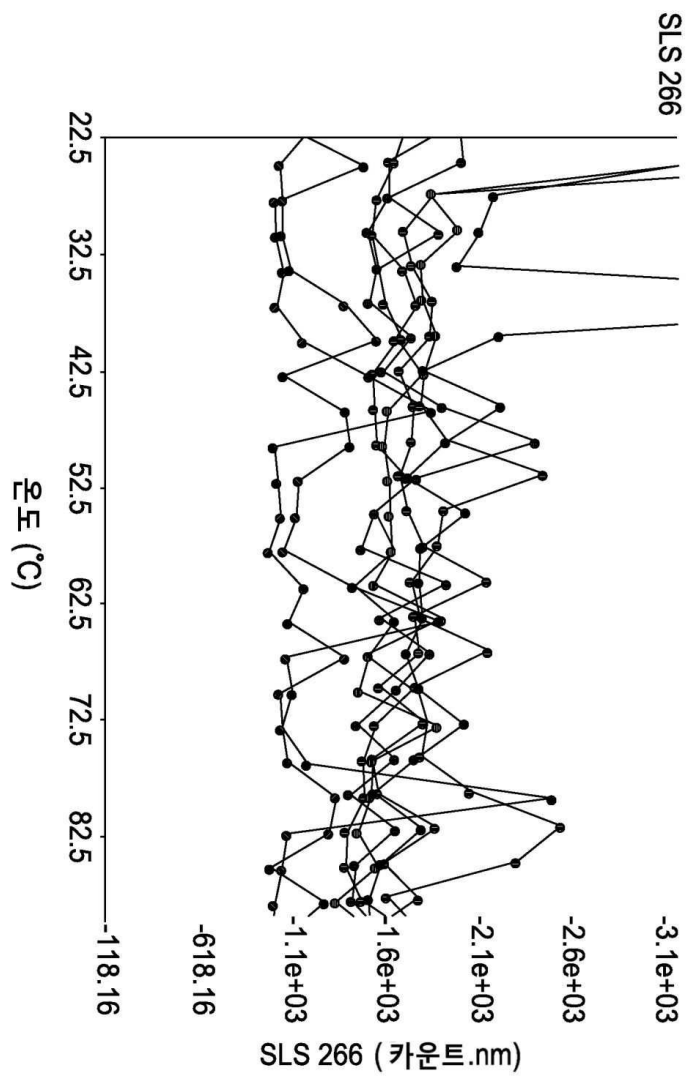
도면5



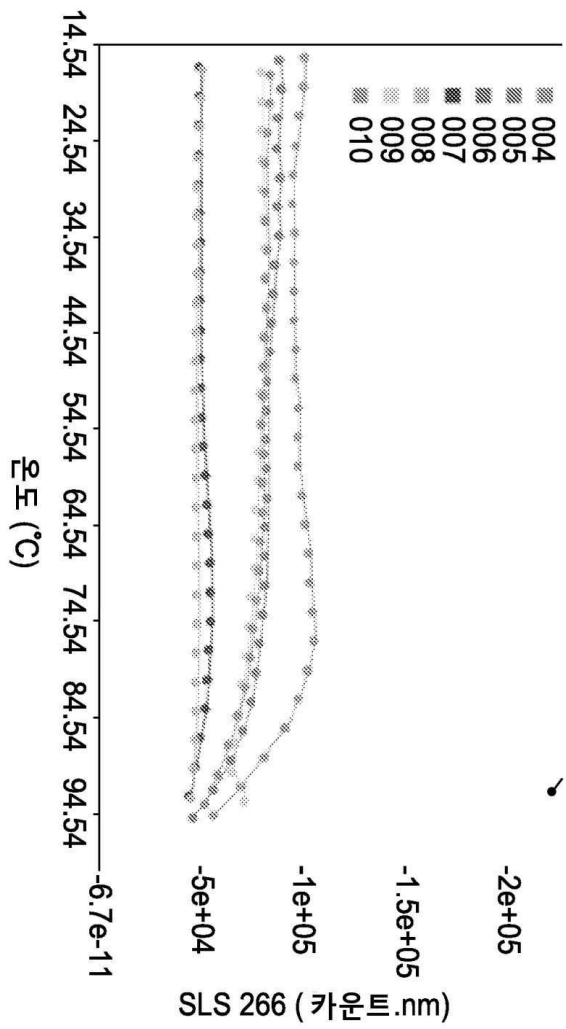
도면6



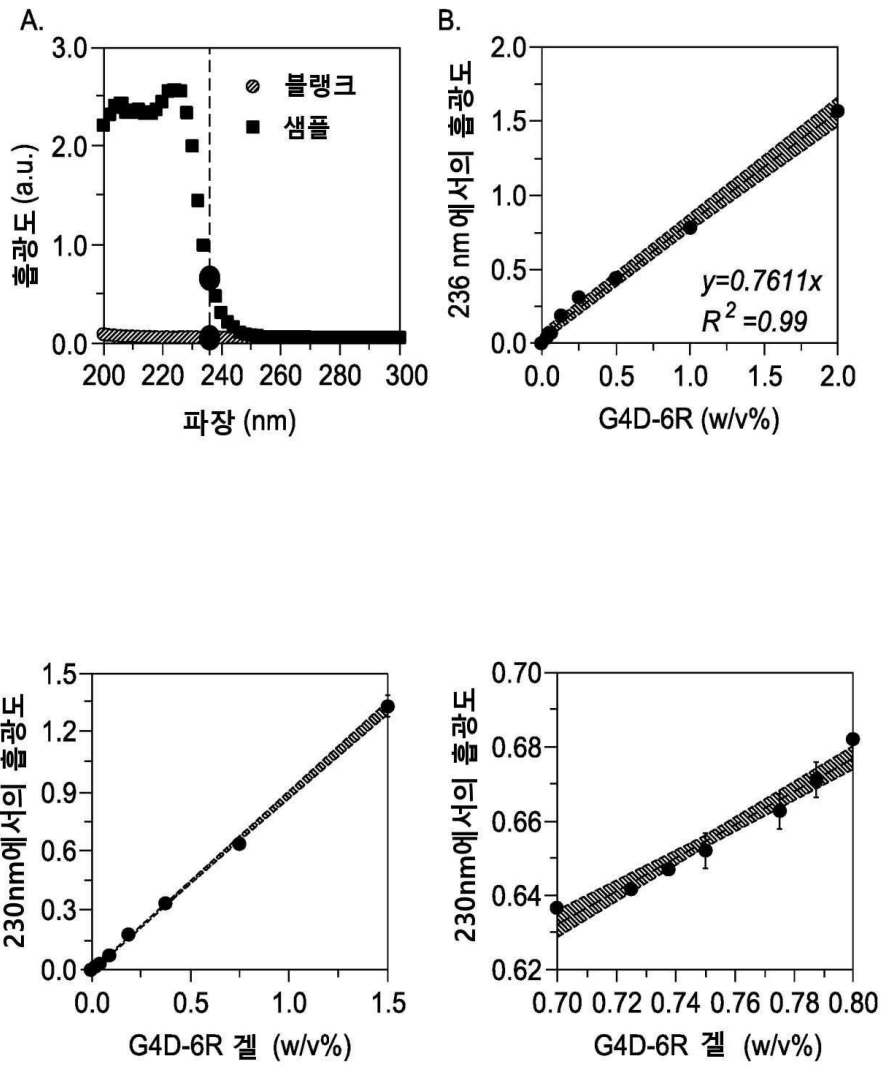
도면7a



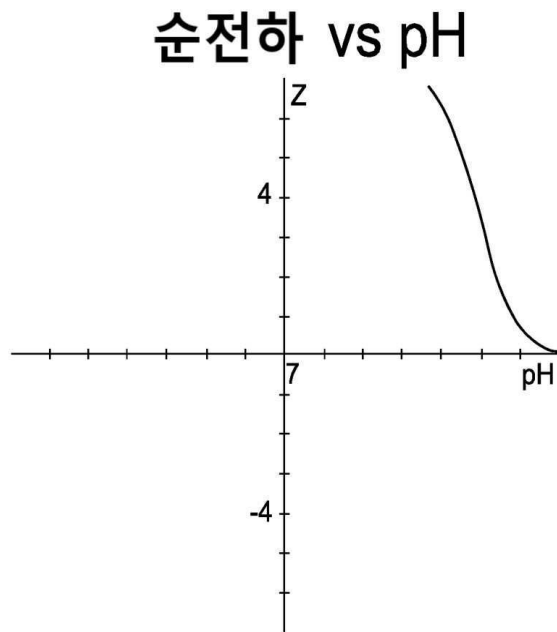
도면7b



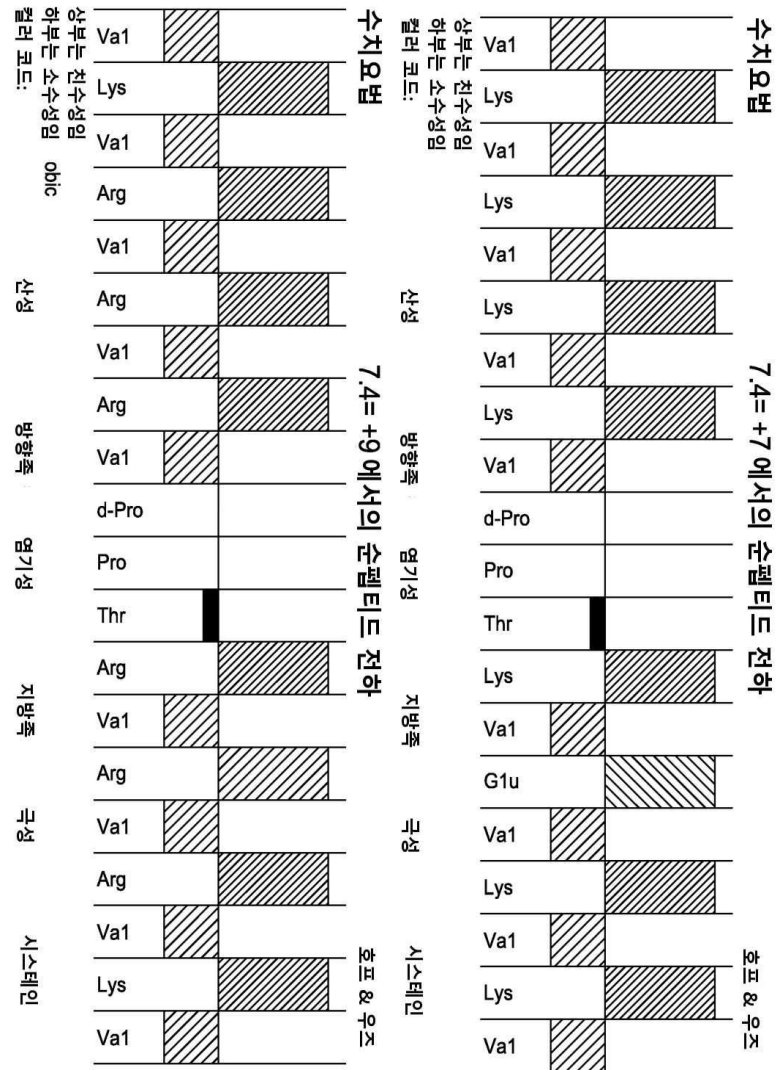
도면8



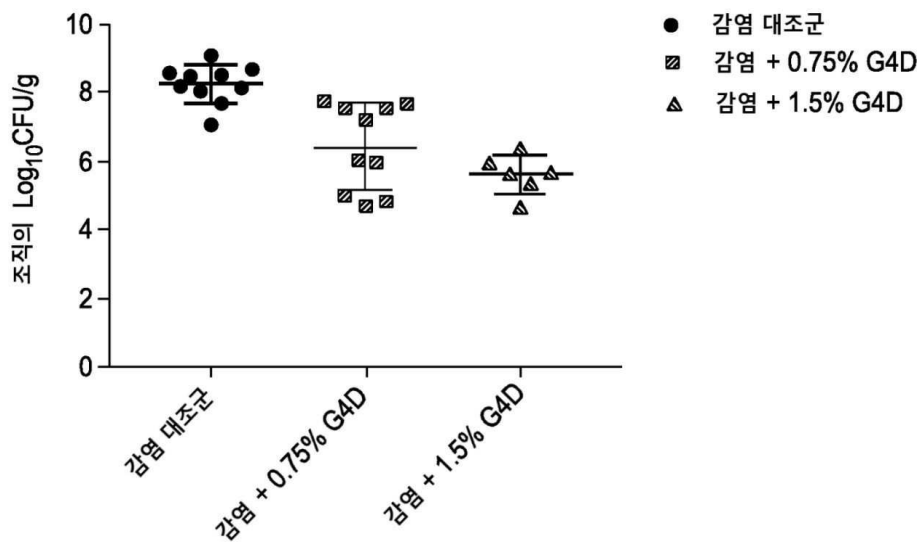
도면9



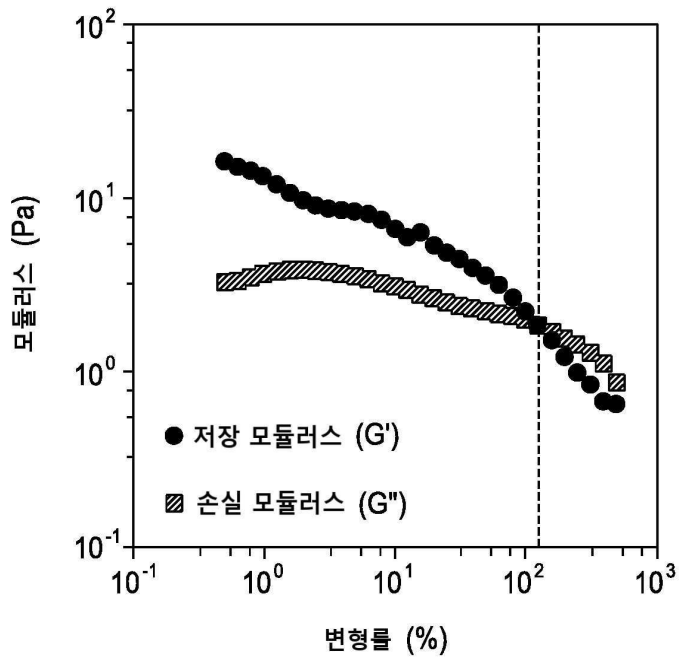
도면10



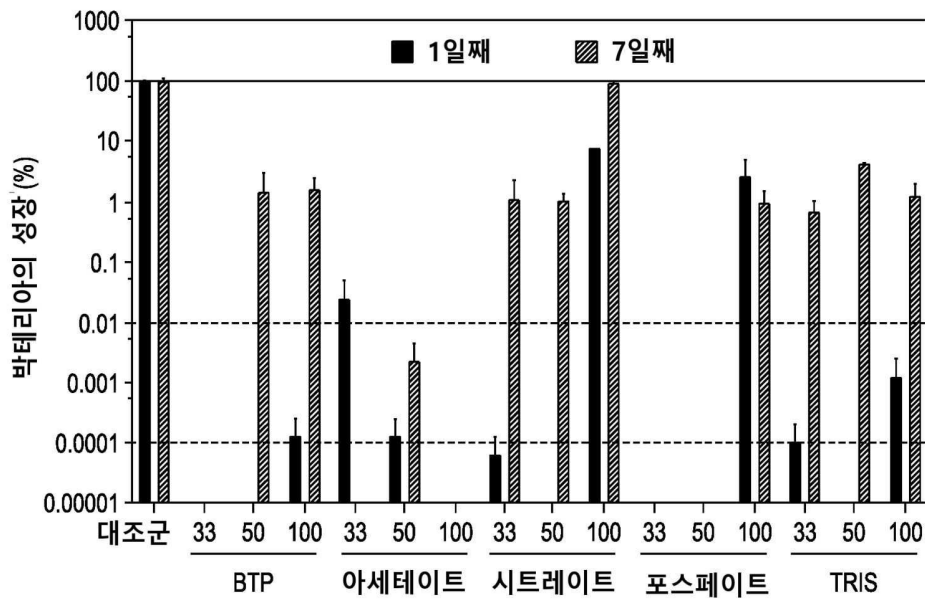
도면11



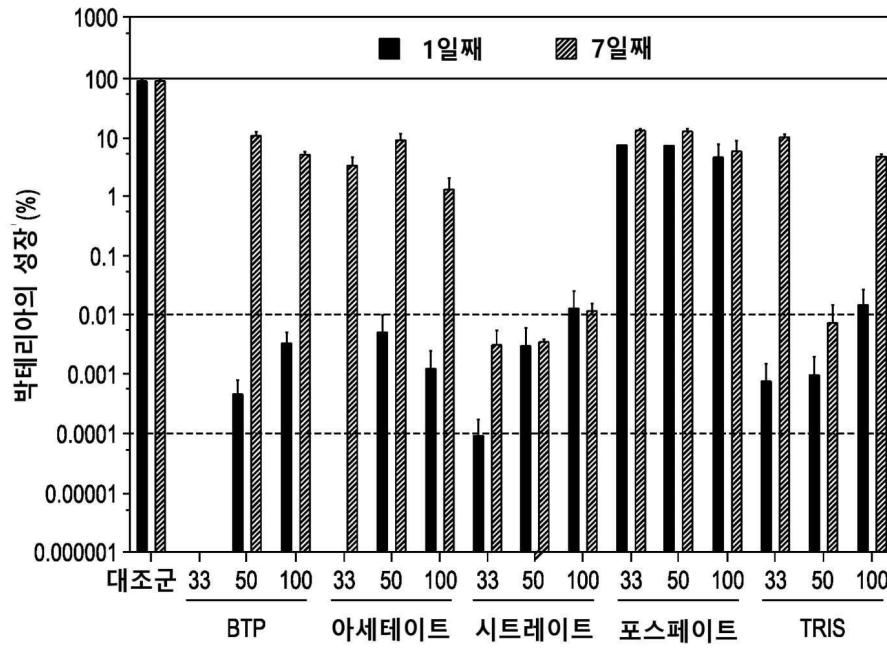
도면12



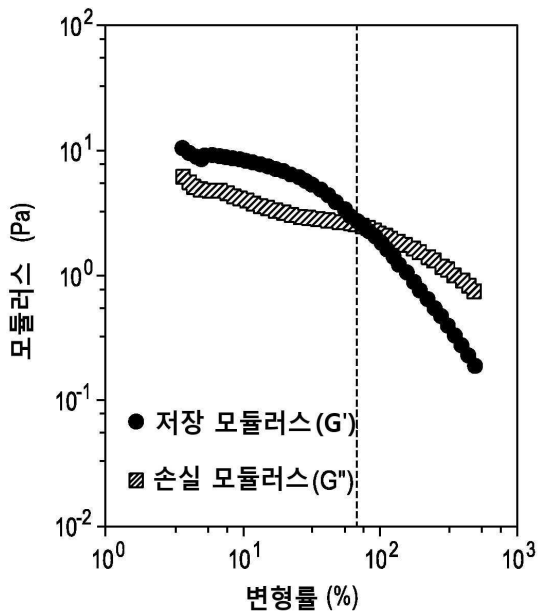
도면13a



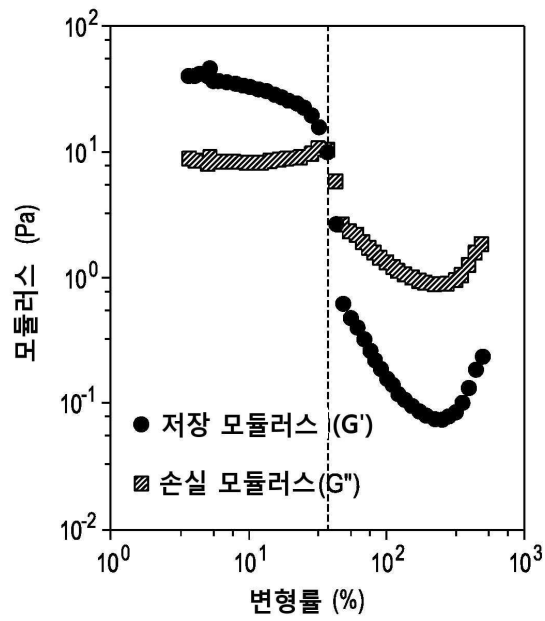
도면13b



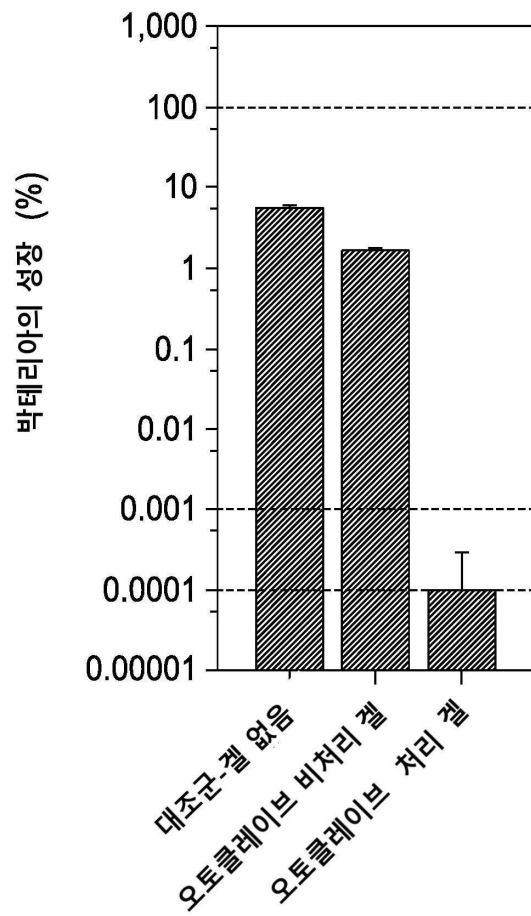
도면14a



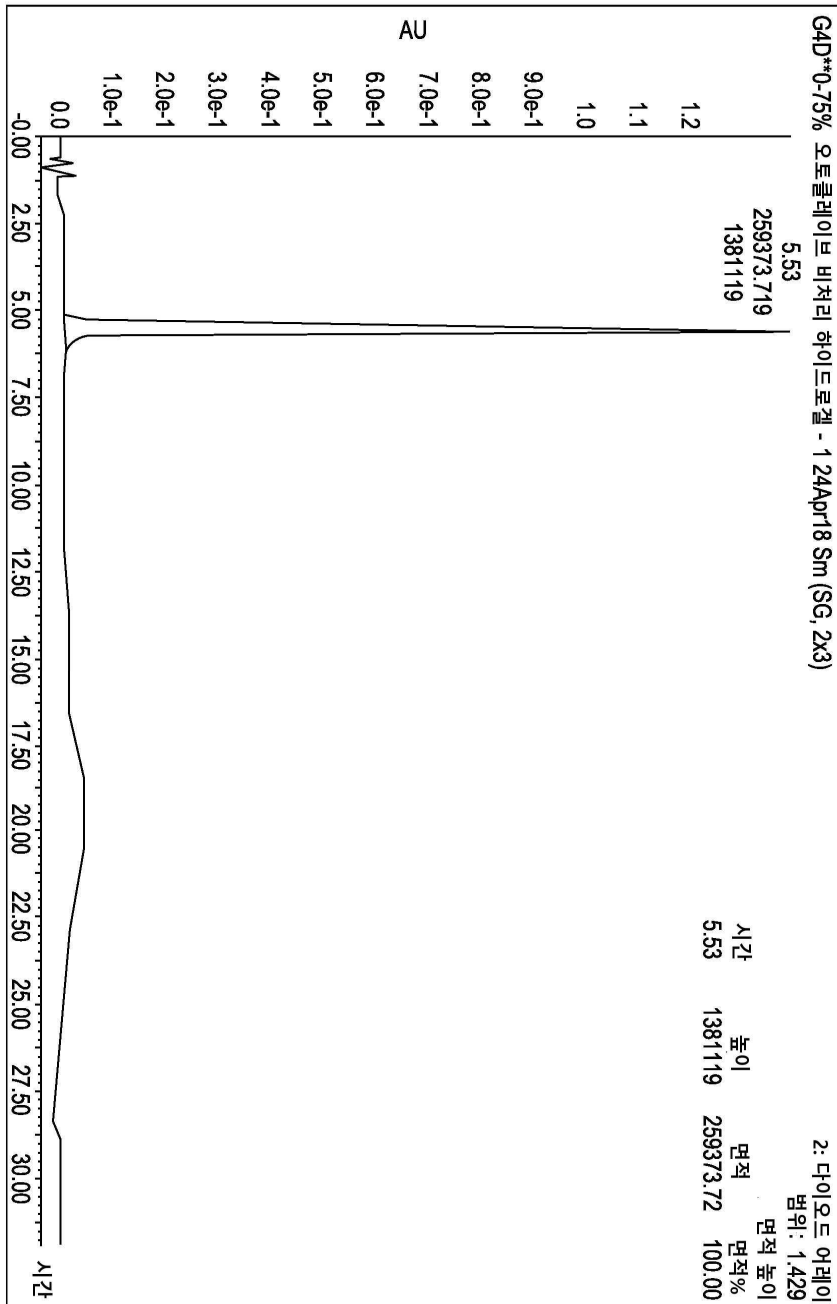
도면14b



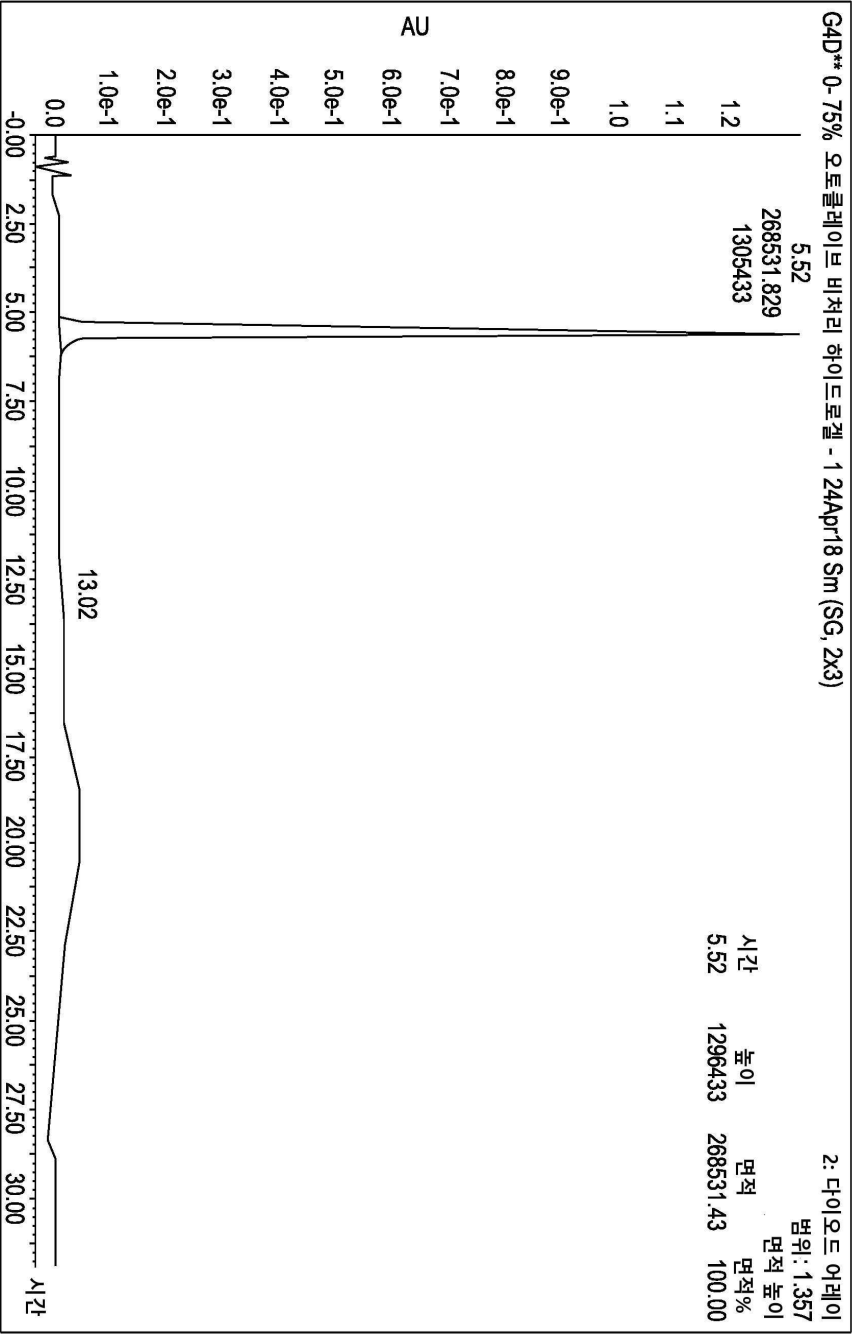
도면15



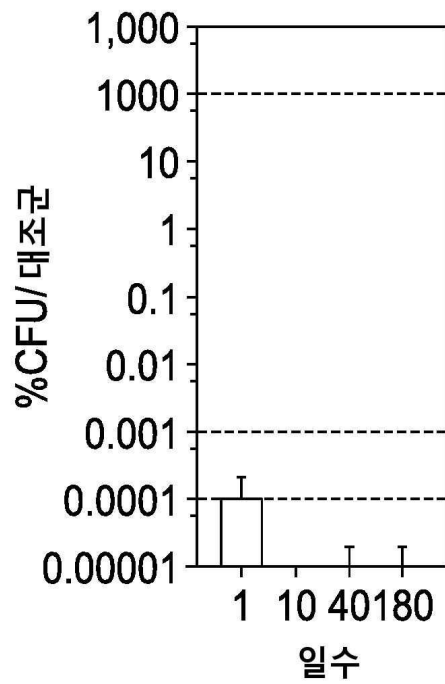
도면16a



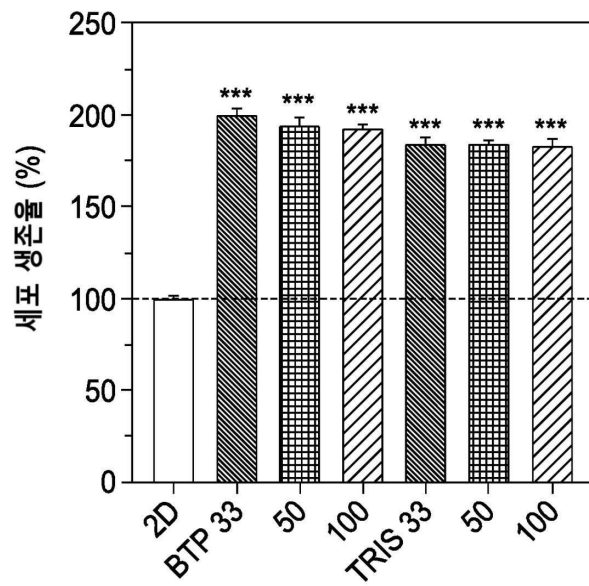
도면16b



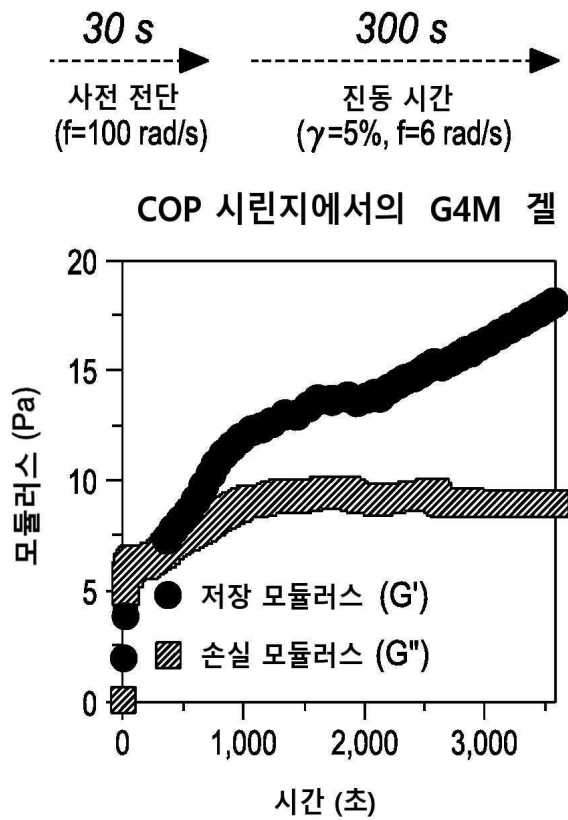
도면17



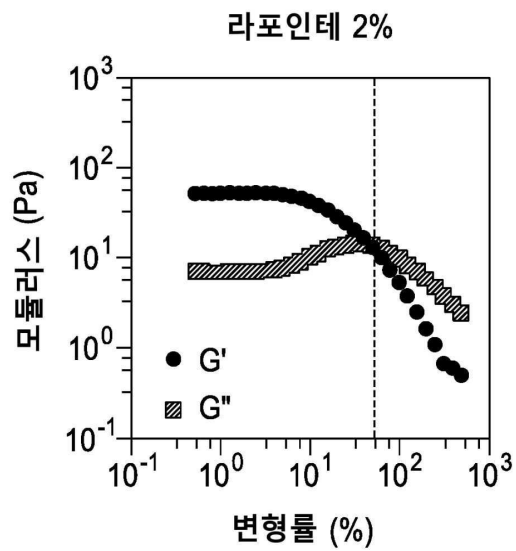
도면18



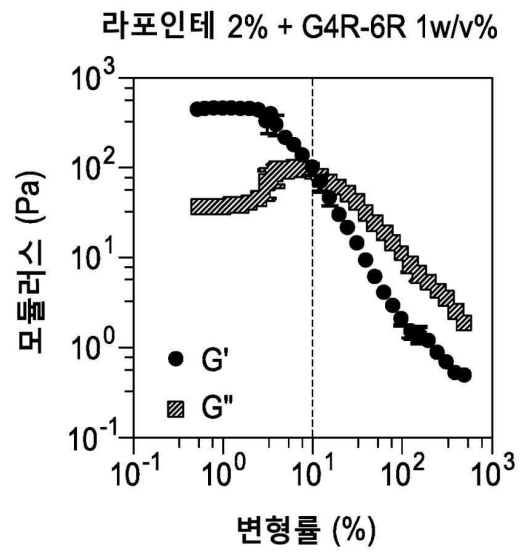
도면19



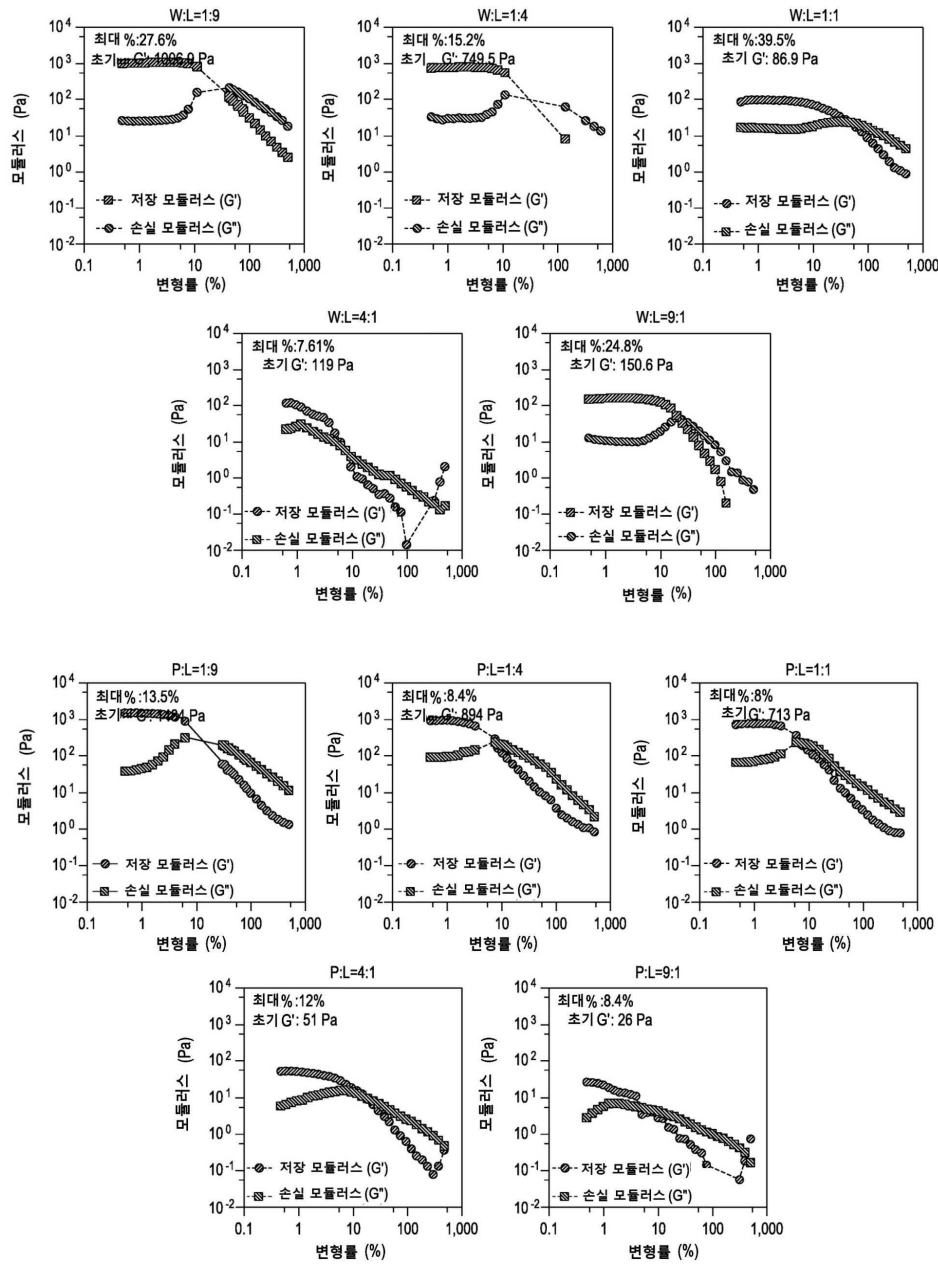
도면20a



도면20b

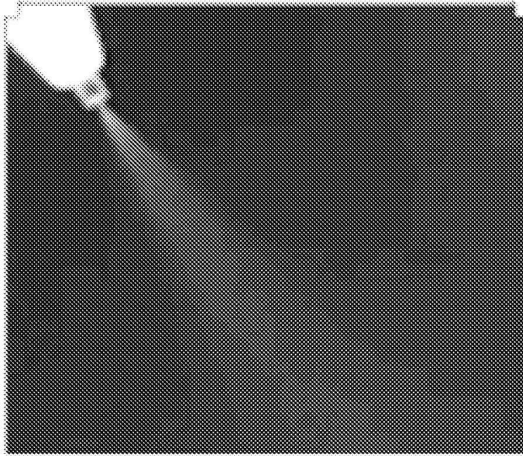


도면21



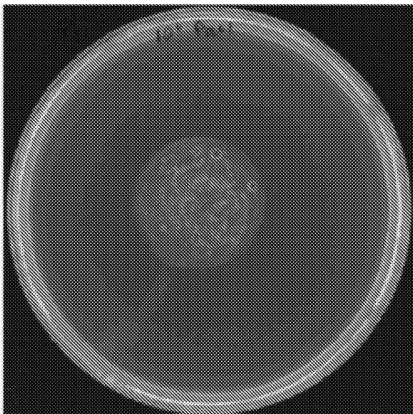
도면22

비강 스프레이 디스펜서



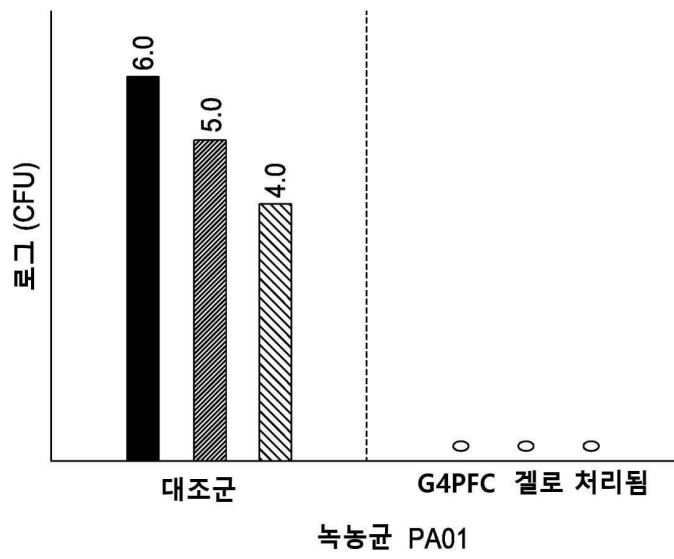
도면23

PA01 집락에 대한 겔 스프레이

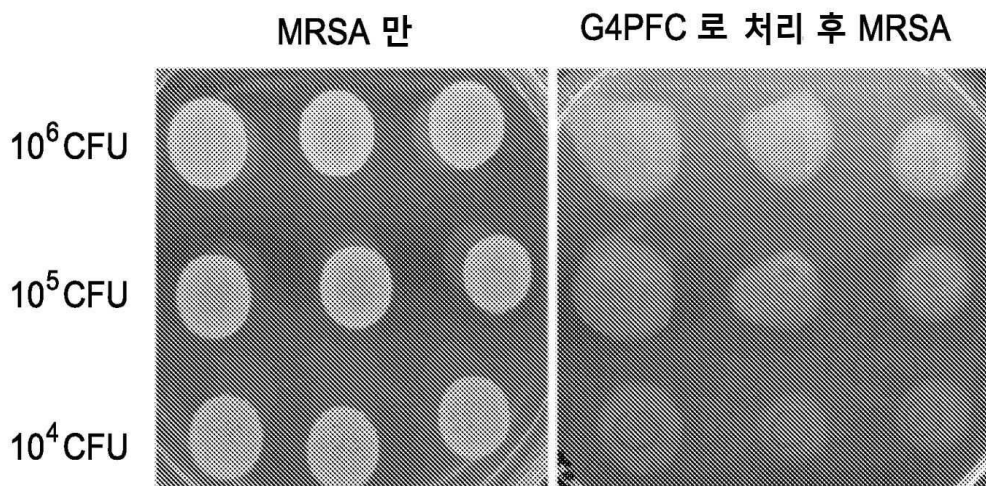


PA01 의 100% 박멸

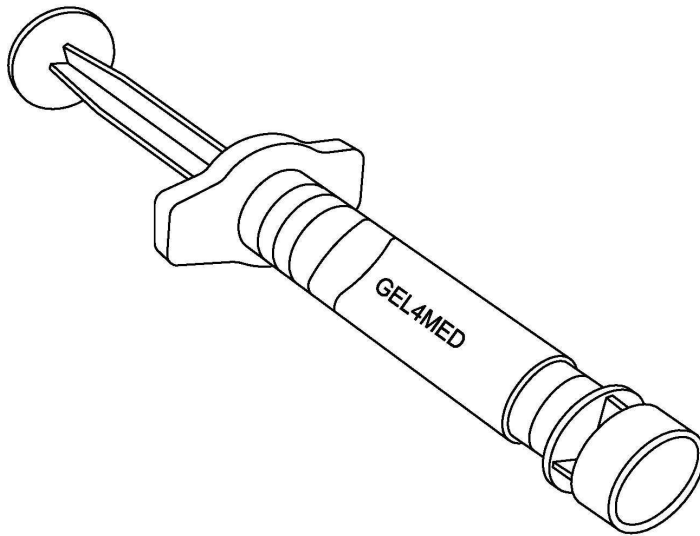
도면24



도면25



도면26



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> GEL4MED, INC.

<120> SELF-ASSEMBLING AMPHIPHILIC PEPTIDE HYDROGELS

<130> G2093-7001WOFSR

<140><141><150> 63/063,743

<151> 2020-08-10

<160> 23

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> D-amino acid

<400> 1

Val Lys Val Lys Val Lys Val Lys Val Pro Pro Thr Lys Val Lys Val

1 5 10 15

Lys Val Lys Val

20

<210> 2

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> D-amino acid

<400> 2

Val Lys Val Arg Val Arg Val Arg Val Pro Pro Thr Arg Val Arg Val

1 5 10 15

Arg Val Lys Val

20

<210> 3

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> D-amino acid

<400> 3

Val Lys Val Arg Val Arg Val Arg Val Pro Pro Thr Arg Val Arg Val

1 5 10 15

Arg Val Lys Val Gly Arg Gly Asp Ser Pro

20

25

<210> 4

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> D-amino acid

<400> 4

Val Arg Val Arg Val Lys Val Arg Val Pro Pro Thr Arg Val Glu Val

1 5 10 15

Arg Val Arg Val

20

<210> 5

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> D-amino acid

<400> 5

Val Arg Val Arg Val Arg Val Lys Val Pro Pro Thr Lys Val Arg Val

1 5 10 15

Arg Val Arg Val

20

<210> 6

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> D-amino acid

<400> 6

Arg Gly Asp Ser Val Arg Val Arg Val Arg Val Lys Val Pro Pro Thr

1 5 10 15

Lys Val Arg Val Arg Val Arg Val

20

<210> 7

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> D-amino acid

<400> 7

Val Lys Val Arg Val Arg Val Arg Val Pro Pro Thr Arg Val Arg Val

1 5 10 15

Arg Val Lys Val Gly Lys Leu Thr Trp Gln Glu Leu Tyr Gln Leu Lys

20 25 30

Tyr Lys Gly Ile

35

<210> 8

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> D-amino acid

<400> 8

Val Lys Val Arg Val Arg Val Arg Val Pro Pro Thr Arg Val Arg Val
1 5 10 15

Arg Val Lys Val Arg Pro Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Met
20 25 30

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 9

Val Lys Val Arg Val Arg Val Arg Val Arg Val Arg Val Arg Val Lys

1 5 10 15

Val

<210> 10

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> D-amino acid

<400> 10

Val Lys Val Lys Val Arg Val Lys Val Pro Pro Thr Lys Val Lys Val

1 5 10 15

Arg Val Lys Val

20

<210> 11

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 11

Val Lys Val Arg Val Arg Val Arg Tyr Asn Gly Thr Arg Val Arg Val

1 5 10 15

Arg Val Lys Val

20

<210> 12

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (18)..(18)

<223> D-amino acid

<400> 12

Leu Lys Lys Thr Glu Thr Gln Gly Val Lys Val Arg Val Arg Val Arg

1 5 10 15

Val Pro Pro Thr Arg Val Arg Val Arg Val Lys Val

20

25

<210> 13

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (15)..(15)

<223> D-amino acid

<400> 13

Ser Asp Lys Pro Gly Val Leu Val Arg Val Arg Val Arg Val Pro Pro

1 5 10 15

Thr Arg Val Arg Val Arg Val Lys Val

20 25

<210> 14

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> D-amino acid

<400> 14

Arg Gly Asp Ser Val Arg Val Arg Val Arg Val Lys Val Pro Pro Thr

1 5 10 15

Lys Val Arg Val Arg Val Arg Val

20

<210> 15

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> D-amino acid

<400> 15

Val Lys Val Lys Val Lys Val Lys Val Pro Pro Thr Lys Val Glu Val

1 5 10 15

Lys Val Lys Val

20

<210> 16

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> D-amino acid

<400> 16

Val Leu Thr Lys Val Lys Thr Lys Val Pro Pro Thr Lys Val Glu Val

1 5 10 15

Lys Val Leu Val

20

<210> 17

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> D-amino acid

<400> 17

Val Leu Thr Lys Val Lys Thr Lys Val Pro Pro Thr Lys Val Glu Val

1 5 10 15

Lys Val Leu Val Gly Gly Gly Gly Arg Gly Asp Val

20

25

<210> 18

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> D-amino acid

<400> 18

Arg Gly Asp Ser Val Lys Val Arg Val Arg Val Arg Val Pro Pro Thr

1 5 10 15

Arg Val Arg Val Arg Val Lys Val

20

<

210> 19

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (16)..(16)

<223> D-amino acid

<400> 19

Ile Lys Val Ala Val Gly Val Lys Val Arg Val Arg Val Arg Val Pro

1 5 10 15

Pro Thr Arg Val Arg Val Arg Val Lys Val

20

25

<210> 20

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (16)..(16)

<223> D-amino acid

<400> 20

Tyr Ile Gly Ser Arg Gly Val Lys Val Arg Val Arg Val Arg Val Pro

1 5 10 15

Pro Thr Arg Val Arg Val Arg Val Lys Asn

20 25

<210> 21
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <220><221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> D-amino acid
 <400> 21

Val Leu Thr Lys Val Lys Thr Val Pro Pro Thr Lys Val Glu Val Lys
 1 5 10 15
 Val Leu

<210> 22
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
 <220><221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> D-amino acid
 <400> 22

Val Glu Val Ser Val Ser Val Glu Val Pro Pro Thr Glu Val Ser Val
 1 5 10 15
 Glu Val Glu Val Gly Gly Gly Gly Arg Gly Asp Val

20 25

<210> 23
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> D-amino acid

<400> 23

Val Glu Val Ser Val Ser Val Glu Val Pro Pro Thr Glu Val Ser Val

1 5 10 15

Glu Val Glu Val

20