

요약

상처 치유 및 근육 재생을 촉진하고 상처를 치료하는 방법 및 기구. 이 방법은 상당한 표면 전하(surface charge)를 가지는 비생분해성 미세구를 함유하는 조성물을 치료 대상에게 가하는 것을 포함한다. 이 기구는 제약학적으로 허용되는 담체 및 이 담체와 조성물을 함유하는 용기를 더 포함한다. 본원 발명에 사용된 미세구는 생체내 및 시험관내에서 실험 모두에서 상처 치유 및 근육 재생을 촉진하는 것으로 증명되었다.

색인어

미세구(microsphere), 표면전하, 비생분해성 폴리스티렌, 겔형성물질

명세서

본 발명은 상처 치료에 관한 것이고, 특히 미세구를 치료제로 하여 상처 치유 및 근육 재생을 향상시키는 기구 및 방법에 관한 것이다.

상처 치유는 세포 성분, 세포밖 매트릭스(ECM) 성분 및 세포의 미세 환경과 같은 인자들을 포함하는 복잡한 과정이다. 본질적으로, 모든 상처 치유는 손상된 조직의 복구 또는 교체를 포함한다. 비록 이러한 모든 과정에 어떤 기본적인 원리가 관여하지만, 이러한 복구 또는 교체의 정확한 성격은 관련된 조직에 따라 다르다. 이들 원리를 설명하기 위하여, 각질 또는 피부 상처 치유에 대하여 기술할 것이지만, 이 논의는 모든 유형의 상처 복구에도 확대될 수 있음을 이해해야 한다.

피부는 케라틴, 표피 및 진피를 포함하는 다수 층을 갖는다. 대부분의 가벼운 상처에 있어서 처럼, 만일 단지 표피만이 손상되면, 상처 가장자리에서 케라티노사이트(keratinocyte)가 이동하여 결국에는 상처를 덮고, 표피 및 케라틴을 재형성시킨다[D.R. Knighton 및 V.D. Fiegel, *Invest. Radiol.*, **26**: 604-611, 1991].

만일 모든 피부층이 손상되거나 파괴되면, 육아(새살)(granulation) 조직이라고 불리는 새로운 연결조직이 먼저 상처난 공간을 채워야 한다. 이 조직은 섬유아세포에 의한 ECM 성분들의 축적에 의해 형성되어, 상처 공간으로 이동한다[D.R. Knighton 및 V.D. Fiegel, *Invest. Radiol.*, **26**: 604-611, 1991]. 콜라겐과 같은 이들 ECM 성분들의 축적이 상처 치유에 중요하다고 현재 믿어지고 있다. 선행문헌은 상처 치유력이 궁극적으로 콜라겐 축적에 의존적이라고 교시하고 있다 [Haukipuro, K., et al., *Ann. Surg.*, **213**: 75-80, 1991]. 따라서, 콜라겐 축적은 상처 치유력을 제공하고 상처 치유를 지지할만큼 충분히 다량으로 존재해야 한다.

성공적인 상처 치유를 위하여는 이 전체적인 다단계 과정이 완성되어야 한다. 이들 성분들 중 하나 이상이 빠지면, 치유가 일어나지 않고, 피부가 복구되지 않아서 상처가 개방상태로 남는다. 이러한 개방 상처는 쉽게 감염될 수 있고, 치유 과정을 더욱 지연시키고, 피부 궤양 및 쓰라린 상처를 형성한다. 상처 치유의 과정은 많은 환자에 있어서 당뇨 및 고령의 나이와 같은 기타 복잡한 조건의 존재에 의해 더 방해된다. 이러한 조건의 환자는 종종 피부 상처가 궤양화하고 치유되지 않거나 또는 오랜 기간이 경과한 후 단지 천천히 치유된다. 상처 치유 속도를 가속화시키기 위하여 다양한 치료법이 사용되었다. 예를 들어, 미국 특허 번호 제4,772,591호는 아스코르브산, 칼슘, 티로신 또는 페닐알라닌 및 항염증물질의 조합을 피부에 가하여 상처 치유 속도를 가속화하는 방법을 개시한다. 유사하게, 미국 특허 번호 제4,590,212호는 아세타미노펜을 상처에 적용하는 방법을 공개한다. 많은 다른 특허들도 상처 치유를 가속화하는 기타 방법에 초점을 맞추고 있다. 그러나, 이들 방법의 어느 것도 광범위하게 효과적인 것으로 증명되지 않았다.

상처 치유를 향상시키기 위한 시도로서, 다양한 제약학적 담체들이 화학적 치료제를 상처에 전달하는데 이용되어 왔다. 이러한 담체는 특히 피부 상처에 필요한데, 이는 피부의 상처는 공기중에 노출되거나 또는 밴드 또는 의복으로 덮여지기 때문이다. 어느 경우에서나, 예를 들어 문지름에 의해 치료제가 쉽게 제거될 수 있다. 따라서, 이 문제를 극복하기 위하여 다양한 크림, 겔, 분말이 제약학적 담체로서 사용되어 왔다.

제약학적 담체의 흥미로운 한 그룹은 플라스틱 및 장쇄 탄수화물을 포함하는 다양한 물질로 제조된 작은 극미세 입자인 미세구(microsphere)이다. 다양한 치료제용 담체로서의 미세구에 대한 많은 선행 출원들이 알려져 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,264,207호는 제약학적 또는 화장품적 물질을 위한 담체로서의 미세구를 개시한다. 미세구 및 활성 물질을 함유하는 조성물을 피부적으로 가하는데, 여기서 미세구는 활성 물질의 이러한 투여 경로를 가능하게 하는 작용을 한다. 그러나 이 참고 문헌은 미세구 자체를 치료 물질로서 사용하는 것에 대하여 교시나 암시를 하지 않는다.

유사하게, PCT 출원 제 WO96/13164 및 WO94/13333은 모두 특정 치료 물질의 생산 또는 방출을 촉매하는 물질로 이루어진 미세구를 개시한다. PCT 출원 제 WO96/13164호는 손상된 조직에 직접적으로 가해질 때 산화질소를 방출하는 중합적 산화 질소 어덕트(adduct)를 공개한다. PCT 출원 제 WO94/13333호는 상처 환경에서 자유 라디칼 활성을 가지도록 화학적으로 개질시킨 입자를 공개한다. 이들 참고문헌 또한, 미세구 물질의 화학적 개질 없이 미세구 자체를 치료적 물질로서 이용하는 것을 교시 또는 암시하지 않는다.

그러나, 제약학적 담체로서 사용된 미세구의 특정 성질은 치료 물질 자체의 효과에 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 예를 들면, 라텍스(latex) 미세구상에 고정된 class I 동종 항원(allo antigen)에 의한 세포파괴적 T 림프세포(cytotoxic T lymphocyte)의 활성화 연구가 있다. 비록 이 class I 동종 항원이 명백히 그 자체로서 자극을 제공하지만, 세포 자극의 정도는 4 내지 5 마이크로미터의 입자 크기를 이용함으로써 증가한다[M.F.Mescher, *J. Immunol.*, 149:2402-2405, 1992]. 이러한 증가된 자극은 세포파괴적 T 림프세포에서 표면 접촉의 필요성을 증명하는 것일 수 있다. 환언하면, 최적의 입자 크기는 세포 접촉을 위한 최적의 표면 영역을 제공함으로써 class I의 동종 항원의 효과를 증가시킬 수도 있다. 그러나 이러한 비드들은 여전히 활성 물질을 위한 담체일 뿐이라는 것이 강조되어야 한다.

활성 물질의 상처 치유 촉진 효과를 향상시키는 특정 입자의 표면적인 능력을 탐구하기 위한 시도가 있었다. 예를 들어, 미국특허 제 3,842,830호는 유리 미세입자가 손상된 조직에 직접 가해질 때 상처 치유를 촉진하는 것을 개시한다. 미국 특허 제 5,092,883호는 골형성 촉진 및 연조직 손상의 치유를 촉진하는 유사한 능력을 갖는 생분해성 양전하의 텍스트란 비드를 공개한다. 그러나, 이들 참고 문헌 어느 것도 미세구를 상처에 투여함으로써 근육 재생을 촉진하는 것을 교시 또는 암시하지 않는다. 더우기, 이들 참고문헌의 어느 것도 처음에는 더욱 빠른 세포 대사 및 증식을 촉진하나, 이러한 빠른 세포 대사 및 증식이 영구적으로 유도되지는 않도록 제한적이고 유한적인 효과를 갖는 미세구를 교시하지는 않는다.

이러한 제한된 효과는 처음에는 세포 대사 및 증식이 필요하나, 치유가 일어난 후에는 이러한 세포 활성화의 중단이 요구되는 상처 치유에 특히 중요하다. 이러한 활성화의 유도 없이는, 상처 치유는 일어나지 않을 것이다. 그러나, 만일 치유가 실질적으로 완료된 후에도 세포 활성화가 중단되지 않는다면, 켈로이드(keloid)의 형성에서와 같은 비정상적인 흉터(scar) 형성이 생길 수 있다. 따라서 상처 치유 도중에 세포 대사 및 증식의 촉진과 억제 사이의 균형이 있어야 한다.

따라서, 자기-제한적인 효과를 갖고, 실질적으로 독성이 없고, 또한 근육 재생을 촉진할 수 있는 미립자 물질로서, 치유를 촉진하기 위하여 손상된 조직에 직접 가해질 수 있는 미립자 물질에 대한 충족되지 않은 의료계의 요구가 있다.

발명의 요약

본원 발명의 목적은 치료 대상의 상처를 치료하는 조성물을 제공하는 것이다.

본원 발명의 또다른 목적은 상처 치유의 촉진을 위하여 세포막과 다점 접촉(multi-point contact)을 형성할 수 있는 물질을 함유하는 조성물을 제공하는 것이다.

본원 발명의 또다른 목적은 이러한 물질로서의 미세구를 제공하는 것이다.

본원 발명의 또다른 목적은 본원 발명의 조성물을 포함하는 기구를 제공하는 것이다.

또다른 목적은 본원 발명의 조성물을 이용하는 방법을 제공하는 것이다.

본원 발명의 이들 및 기타 목적들을 하기의 설명, 도면 및 청구범위에서 더욱 상세히 기술한다.

본원 발명은 미세구를 이용함으로써 상처 치유를 촉진하는 조성물, 기구 및 방법에 관한 것이다. 예기치 않게, 본원에 기술된 특정 크기 범위의 미세구가 다른 의약 또는 기타 치료적 물질의 추가적 첨가 또는 혼입없이도 상처 치유를 촉진할 수 있다. 실제로, 하기 기술하는 바와 같이, 이들 미세구는 그들의 치료적 효과를 내기 위하여 분해되거나 기타 다른 화학적 변화를 거치지 않는다. 따라서, 이들 미세구는 단지 또다른 상이한 활성 성분을 위한 담체로서 작용한다기 보다는 본원 발명의 조성물에서 활성 성분이다.

본원 발명의 교시에 따르면, 치료 대상의 상처를 치료하는 조성물, 방법 및 기구가 제공된다. 본 조성물은 핵심적으로 세포막과 다점 접촉을 형성할 수 있는 물질로 구성되고, 이 물질은 치료 기간 도중에 실질적으로 비생분해성이다. 바람직하게는 이 물질은 하전된 표면기를 갖는 미세구이다. 한 실시 태양에 따르면, 본 조성물은 양성 또는 음성일 수 있는 하전된 표면기를 갖는 물질로 본질적으로 구성된다.

본원 발명의 특정 실시 태양에 따르면, 본 미세구 물질은 폴리스티렌, 폴리스티렌 유도체, 폴리메틸메타크릴레이트 (PMMA), 실리콘, 폴리리신, 폴리-N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드 및 라텍스로 이루어진 군에서 선택된다. 본원 발명의 특정 실시 태양에 따르면, 하전된 표면기는 폴리스티렌, 폴리스티렌 유도체, 황산염, 폴리-N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드, 프로타민, 황산 프로타민, 프로타민염, 폴리리신 및 카르복실로 이루어진 하전된 기 중에서 선택되어 진다. 또한, 미세구의 직경은 바람직하게는, 약 0.01 미크론 내지 약 200 미크론, 더욱 바람직하게는 약 0.1 내지 약 100 미크론 및 가장 바람직하게는 약 0.1 내지 약 20 미크론이다.

본원 발명의 또다른 바람직한 실시 태양에 따르면, 본 조성물은 또한, 미세구에 대한 제약학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 바람직하게는, 제약학적으로 허용되는 담체가 수용액이다. 대안적이고 바람직하게는 제약학적으로 허용되는 담체가 겔 형성 물질이다. 더욱 바람직하게는 겔 형성 물질이 메틸 셀룰로스를 포함한다.

본원 발명의 또다른 바람직한 실시 태양에 따르면, 본 미세구가 약 0.0001% 내지 1.5 중량%의 농도로 존재한다. 더욱 바람직하게는 약 0.001% 내지 1.0 중량%의 농도로 존재한다. 가장 바람직하게는, 미세구가 약 0.01% 내지 약 0.2 중량%의 농도로 존재한다.

본원 발명의 또다른 실시 태양에 따르면, 치료 대상에서 근육 재생을 촉진하는 조성물이 제공되고, 이 조성물은 근육 세포와 다점 접촉을 형성할 수 있는 물질을 포함하고, 양성 또는 음성일 수 있는 상당한 전하를 가지는 표면기를 갖는 미세구를 바람직하게는 포함한다.

본원 발명의 또다른 실시 태양에 따르면, (a) 세포막과 다점 접촉을 형성할 수 있는 물질 및 이 물질이 실질적으로 불용성인 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 조성물; 및 (b) 이 조성물을 함유하는 용기를 포함하는, 상처 치유를 위한 기구가 제공된다. 예로 든 바와 같이, 담체는 바람직하게는 수성 매체, 에어로졸 담체, 연고 및 밴드로 구성된 군에서 선택된다.

본원 발명의 다른 바람직한 실시 태양에 따르면, 제약학적 담체는 수용액, 겔 형성 물질 에어로졸 담체 및 연고로 구성된 군에서 선택된다. 바람직하게는, 제약학적 담체는 겔 형성 물질이다. 더욱 바람직하게는, 이 겔 형성 물질은 메틸 셀룰로스를 포함한다. 가장 바람직하게는, 용기는 짜서 쓸 수 있는 튜브이다. 대안적으로 그리고 바람직하게는, 제약학적 담체가 수용액이다. 더욱 바람직하게는, 용기가 실질적으로 밀봉된 멸균 용기이다. 가장 바람직하게는, 실질적으로 밀봉된, 멸균 용기가 에어로졸 분무기이다.

본원 발명의 또다른 실시 태양에 따르면, (a) 세포막과 다점 접촉을 형성할 수 있는 물질 및 상기 물질이 실질적으로 불용성인 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 조성물; 및 (b) 이 조성물을 함유하는 용기를 포함하는 근육 재생을 촉진하는 기구를 제공한다.

본원 발명의 방법은 또한, 얼굴과 같은 피부에의 절개 또는 기타의 상처에 심한 흉터가 생기는 것을 방지하고 여드름을 치료하기 위하여 화장품학적으로 사용될 수 있다.

발명의 상세한 설명

본원 발명은 미세구를 이용하여 상처 치유를 촉진하는 방법 및 기구에 관한 것이다. 기대치 않게, 본원에 기술된 특정 크기 범위의 미세구는 어떤 약이나 다른 치료제를 첨가하거나 포함하지 않아도 상처 치유를 촉진할 수 있다. 실제로, 하기에 기술하는 바와 같이, 이들 미세구는 그 치료적 효과를 내기 위하여 분해되거나 다른 화학적 변화를 겪지 않는다.

이들 미세구의 구조는 코어(core) 및 적어도 미세구의 코어의 바깥쪽에 존재하는 적어도 하나 이상의 유형의 하전된 표면기를 포함한다. 코어에 적합한 물질의 예로는 폴리스티렌, 폴리스티렌 유도체, 라텍스, 폴리-β-알라닌, 폴리리신, 폴리-N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드, 폴리메틸아크릴레이트(PMMA) 및 실리콘과 같은 장쇄 중합체 등이 있으나, 이에 국한되지 않는다. 바람직하게는, 이들 물질은 폴리스티렌 및 폴리스티렌 유도체로 구성된 군에서 선택된다.

표면기의 예로는, 황산염, 폴리-N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드, 프로타민, 황산 프로타민, 프로타민 염, 폴리리신, 카르복실, 폴리스티렌 및 폴리스티렌 유도체 등이 있으나, 이에 국한되지 않는다. 더욱 바람직하게는, 표면기는 폴리리신, 폴리스티렌, 폴리스티렌 유도체 및 카르복실로 구성된 군에서 선택된다. 이들 표면기들은 미세구의 코어의 일부로서 존재할 수도 있고, 또는 장쇄 중합체의 유도화(derivatization)와 같은 화학적 과정으로 후에 첨가될 수도 있다. 본원에서, "유도화"란 분자 또는 분자의 일부를 화학적 변경, 개질, 또는 변화시키는 것을 말한다.

따라서, 미세구의 구조는 비록 각 요소의 각각의 가능한 종의 목록은 중첩되더라도, "코어" 및 "표면기"라는 분리된 두 요소를 포함한다. 예를 들어, 폴리스티렌은 미세구의 표면기 및 코어 물질 모두일 수 있다.

중합체로부터 제조된 미세구들은 수성 매질에 실질적으로 불용성이어야 하고, 대신에 현탁액 또는 분산액을 형성해야 한다.

본원 발명의 매개 변수들을 더욱 명확히 하기 위하여, 많은 용어들이 정의되어야 한다. 본원에서, "상처"란 열에 의한 화상, 화학물질에 의한 화상, 노광에 의한 화상(radiation), 자외선에 의한 과도한 노출에 의해 생긴 화상(태양에 의한 화상과 같은)과 같은 급성적인 상태; 외음절개술과 같은 의료적 절차 도중에 지속되는 손상, 절개(cut), 교통사고 및 기타 기계적 사고에서 지속되는 손상, 및 총알, 칼 및 기타 무기에 의해 생긴 손상들을 포함하는 외상-유발된 손상, 및 수술후 손상을 포함하는 노동 및 출산의 결과로서의 회음부과 같은 신체 조직의 손상 뿐만 아니라, 욕창, 압박 창상, 당뇨병 관련 및 순환 장애와 관련된 상태와 같은 만성적 상태 및 모든 유형의 좌창을 포함하는 치료 대상의 몸체의 어떤 부분의 어떤 손상도 포함하나 이에 국한되지 않는다. 본원 발명으로 치료될 수 있는 신체 부위로는 피부, 근육 및 내부 기관 등이 있으나 이에 국한되지 않는다. 본원에서, "치료 대상(subject)"이란 인간 또는 본원 발명이 실시될 수 있는 하류 동물을 말한다.

본원에서 "촉진하는(promoting)"이란 가속하는 것 및 향상시키는 것을 포함한다. 본원에서 "흉터 감소"란, 켈로이드 및 비후성 흉터와 같은 심한 흉터의 예방 또는 감소 뿐만 아니라, 외부적으로는 치료 대상의 피부상에 그리고 내부적으로는 응집과 같은 흉터 조직 형성 정도를 감소시키는 것을 포함한다. 마지막으로, 본원 발명의 방법은 절개 또는 얼굴 피부와 같은 피부의 기타 상처에서의 심한 흉터 형성을 방지하고 여드름을 치료하기 위하여 화장품학적으로 사용될 수도 있다는 것에 유의해야 한다. 화장품적인 의미에서, "심한 흉터 형성"이란 화장품학적으로 바람직하지 않고, 수용할 수 없는 모든 흉터를 포함한다.

비록 하기 논의가 특정 유형의 미세구에 관한 것이어도, 이것은 어떠한 방법으로도 제한하려는 의도는 아님에 유의한다. "물질"로서 더욱 일반적으로 기술되는 미세구는, 비드, 입자 또는 속이 꽉차거나 빈 소구체일 수 있음을 이 기술분야의 당업자는 이해할 수 있을 것이다. 본원 발명의 바람직한 실시 태양에서는, 이들 물질이 제약학적으로 허용되는 담체 매질(상기 물질은 이 매질중에 실질적으로 불용성이다)중에 예를 들어 수성 매질, 또는 연고 또는 에어로졸 분사와 같은 비수용성 매질중의 현탁액으로서 분산된다. 물질의 형태는 구형 또는 타원형과 같이 규칙적이거나, 규칙적인 비구형일 수 있다. 또는, 입자의 형태가 비규칙적이어서 표면이 단일의 연속 곡선이 아니거나 또는 표면이 매끄럽지 않을 수 있다.

더우기, 물질은 상이한 중합체의 혼합물일 수 있고, 또한 상이한 크기의 상이한 입자, 비드 또는 소구의 혼합물일 수 있다. 이 물질은 또한 상이한 크기의 개구(pore)를 가진다.

예로서, 폴리-β-알라닌과 같은 물질을 형성하는 장쇄 중합체를 가교 결합시킬 수 있고, 비록 가교결합 없이도 얻어질 수 있지만, 가교 결합은 특히 구형의 미세구를 선호한다. 가교 결합된 폴리-β-알라닌 미세구의 제조방법의 예가 미국 특허 제 5,077,058호에 기재되어 있으나, 미세구의 전체적인 표면 전하를 얻기 위하여 이 물질은 더욱 유도화될 것을 필요로 할 것임에 주의해야 한다.

대안적으로, 특히 입자가 가교 결합되지 않으면, 입자는 무질서하고 불규칙적인 형태를 가질 수 있다. 이 입자는 코일된 코일(coiled coil), 구형의 코일, 신장된 코일 및 무작위 코일과 같은 임의의 형태를 가질 수 있다. 바람직하게는, 이 중합체는 생화학적으로 반응적이지 않아야 하고 생분해되지 않아야 한다. 가장 바람직하게는 이 중합체는 실질적으로 처리 기간동안 생분해되지 않아서, 상처를 치유하는데 필요한 기간 동안 분해되지 않고 남아 있어야 한다. 본원에서 "비생분해성"이란, 상처 치료를 위해 필요한 기간인 치료 기간 동안에는 생분해되지 않는 물질을 말한다.

최소한, 이 물질은 하기의 특성을 가져야 한다.

1. 세포 외막 및 이 막상의 분자들과 같은 세포 또는 세포의 부분들과 다점 접촉을 형성할 수 있어야 한다.

2. 현저한 화학적 변형 또는 분해 없이 상처 치유를 촉진할 수 있어야 한다.
3. 체액과 같은 수성 매체중에 실질적으로 불용성이고, 대신 현탁액을 형성할 수 있어야 한다.

이들 특성들은 이하 더욱 상세히 논의하는 바와 같은 이유로 중요하고, 본원 발명의 물질의 효과는 물질 물질과 세포 외막과 같은 세포 부분 사이의 다점 접촉의 형성(이에 의해 세포가 부착할 수 있는 부착표면을 형성한다)과 직접적으로 연관되어 있다. 이러한 다점 접촉은 하전된 기들이 세포 외막의 분자들 및 부분들과의 상호작용을 위하여 접근가능할 수 있도록 허락하는 많은 상이한 중합체들과도 가능하다. 따라서, 후술하는 설명이 한 유형의 미세구 물질에 대하여 중점을 두어도, 본원 발명은 이러한 다점 접촉을 형성할 수 있는 어떠한 물질도 포함함을 이해해야 한다.

상기하는 바와 같이, 바람직하게는 미세구가 약 0.01 미크론 내지 약 200 미크론 범위의 직경을 갖고, 더욱 바람직하게는 약 0.1 내지 약 100 미크론 범위, 가장 바람직하게는 약 0.1 내지 약 20 미크론 범위를 갖는다. 어떠한 기작에 의해서도 본원이 구속되기를 원하지 않으면서, 이들 바람직한 범위는 상처 부위를 침입하는 대식세포가 미세구를 흡수하는데 가장 적합한 크기임에 유의한다. 이 미세구는 실질적으로 대식세포의 적어도 일부분(아마 대식 세포의 세포 외막의 분자)과의 접촉을 통하여 대식세포를 유인하고 활성화시키는 것으로 보인다. 미세구에서 관찰되는 항-염증성 및 항균성 효과는 따라서 대식 세포 또는 다른 세포의 활성화를 통하여 얻어지는 간접적인 효과인 것 같다.

미세구의 또다른 중요한 특성은 표면기의 전하이다. 특정 바람직한 실시예의 미세구가 갖는 전체적인 전하는 ZetaMaster (Malvern Instruments, 영국)에 의하여 전기영동시킨 이동에 의한 Z 또는 제타 전위로서 측정되었다. 본원에서 예로 든 특정 실시 태양에서 측정된 Z 전위의 범위는 -29.58 mV 내지 -79.76 mV이었다. 본원에서 사용된 용어 "하전된"이란, Z 전위가 양성 또는 음성의 약 1 mV 이상의 절대값, 및 바람직하게는 약 10 mV 이상인 것을 말한다.

시험된 현탁액 중의 미세구는 응집하거나, 뭉치거나, 덩어리화하거나, 비가역적으로 케이크화가 일어나지 않았다. 비록 다소 시간이 지나면 미세구가 가라앉으나, 이들은 가벼운 혼합으로도 쉽게 재현탁된다.

도면의 간단한 설명

도1은 본원 발명의 미세구가 크레아틴 포스포키나제 활성을 증가시키는 능력을 보여주는 그래프이다.

도2는 본원 발명의 미세구가 콜라겐 합성에 미치는 효과를 보여주는 도표이다.

도3a-3c는 본원 발명의 미세구가 근모세포 형태에 미치는 영향을 보여준다.

도4a-4d는 랫(rat)에서 미세구가 상처 치유를 촉진하는 능력을 보여준다.

도5는 도4의 상처 영역이 감소하는 속도에 관한 그래프이다.

도6a 및 6b는 랫에서 상처 치유에 미치는 본원 발명의 미세구의 효과에 대하여 조직 배양 배지에서의 것과 염수에서의 것을 비교한 것이다.

도7a-7d는 본원 발명의 미세구가 첫번째 인간 사례 연구에서 상처 치유를 촉진하는 능력을 나타낸다.

도8a 및 도8b는 도7a-7d의 인간 사례 연구에서 본원 발명의 효과를 더 증명하고 있다.

도9a 및 도9b는 두번째 인간 사례 연구에서의 본원 발명의 효과를 나타낸다.

도10a-10d는 세번째 인간 사례 연구에서의 본원 발명의 효과를 보여준다.

도11a 및 11b는 4번째 인간 사례 연구에서의 본원 발명의 효과를 보여준다.

도12는 본원 발명의 겔 제형의 효과를 보여준다.

실시예

본원에서 본원 발명은 근육 재생 뿐만 아니라 일반적인 상처 치유를 촉진하는데 사용될 수 있는 미세구의 용도를 예로 들어 설명된다. 상처 치유 및 근육 재생은 모두 손상된 조직의 복구 및 상실된 조직의 교체를 포함한다. 특정 유형의 세포의 이동 및 증식이 순서적이고 구조적으로 일어나야 하고, 이는 고체 종양과 같은 악성 조직의 비제한적인 성장과 쉽게 구별될 수 있다. 특히, 상처 치유 및 근육 복구에 관여하는 세포는 치유 과정에 필요한 그들의 역할을 수행하기 위하여 먼저 활성화되어야 한다. 비록 정확한 기작은 알려지지 않았으나, 상처 치유에서 일어나는 증식에서의 순서적이고 구조적인 세포 성장은, 명백하게 고도로 조직화된 조절 프로세스가 존재함을 증명한다.

후술하는 실시예에서 증명되는 바와 같이, 본원 발명의 미세구들은 단지 이 프로세스의 특정 단계 뿐만 아니라 전체적인 치유 프로세스의 속도를 빠르게 할 뿐이기 때문에, 본원 발명의 미세구가 이 복잡하고 조직화된 구조적인 프로세스를 간섭하지는 않는 것으로 보인다. 그러나, 본원 발명의 미세구는 세포에게 예기치 않은 연속적이고 비구속적인 대사 활성을 야기하지는 않는데, 이는 정상적인 조절 프로세스는 영향을 받지 않음을 나타낸다. 따라서, 본원 발명의 미세구는 비구속적인 세포 활성을 야기하지 않는다.

특정 메카니즘으로 본원 발명을 제한하지 않으면서, 음으로 하전된 기를 갖는 미세구의 첨가는 미세구가 세포의 부착 및 세포 플레이팅을 위한 부가적인 표면으로서 기능함으로써 상처 치유에 치료적 효과를 낼 수 있다. 본원 발명의 미세구의 효과에 대한 하나의 가설은 음으로 하전된 기가 미세구의 고체 표면과 세포막과의 사이에 다수의 링크를 형성할 수 있게 하고, 이는 미세구의 물질과 세포막 사이의 다점 접촉을 나타낸다. 이들 링크의 형성은 막 리간드의 분포 및 상태의 변화, 세포골격의 재조직, 세포내 신호전달의 활성화 및 기타 생화학적 변화를 야기하고, 결국 세포의 활성화를 가져온다. 이어서 세포 활성화는 세포 증식 및 성장 인자의 생산, 및 콜라겐 및 기타 세포밖 매트릭스의 생산을 야기한다. 본원 발명은 후술하는 바와 같이 이들 미세구가 생체내에서 상처 치료에 명백하게 유익한 효과를 갖기 때문에 특정 메카니즘에 의존할 필요가 없음에 유의해야 한다.

하기 실시예에서 수많은 상이한 유형의 미세구들을 시험하였다. 이들 미세구들은 카르복실 또는 아미노 표면을 갖거나 또는 부가적인 표면을 갖지 않는, 폴리스티렌으로 제조되었다. 이 미세구의 직경은 약 0.1 내지 약 20 미크론의 범위이다. 또한 특정 미세구의 제타 전위를 측정하였고, 이는 미세구의 크기 및 표면기의 유형이 각 미세구가 갖는 전체적인 전하량에 명백하게 영향을 미치는 것을 증명하였고, 이 전하량은 상처 치유를 촉진하는 미세구의 능력에 중요한 영향을 미칠 수 있다.

비록 특정 유형의 미세구가 설명되어지나, 관련된 유형의 많은 다른 미세구도 하기의 특징을 충족시킨다면 사용될 수 있음을 이해해야 한다.

1. 이들은 세포 또는 세포의 일부분과 다점 접촉을 형성할 수 있어야 한다.
2. 이들의 작용 메카니즘은 화학적 변화나 분해를 요구하지 않아야 한다.
3. 이들은 체액과 같은 수성 매질에 실질적으로 불용성이고, 대신 현탁액을 형성하여야 한다.

기타 바람직한 특성으로는 하기의 것을 포함한다. 첫째, 미세구는 치료 기간 동안 비생분해성인 물질로 제조되는 것이 바람직하고, 가장 바람직하게는 폴리스티렌이다. 둘째, 미세구는 바람직하게는 상당한 전하, 더욱 바람직하게는 전체적으로 음의 전하를 가져야 한다. 미세구의 크기는 덜 중요하나, 바람직하게는 직경이 약 0.1 내지 약 20 미크론이어야 한다. 바람직하게는 미세구가 카르복실 표면기로 유도화되어야 하나, 다른 음으로 하전된 기도 또한 사용될 수 있다. 따라서, 이들 미세구의 유형은 예시적인 목적으로 제시되었고 어떠한 방법으로도 제한하려는 의도는 아니다.

본원 발명에 따른 미세구의 원리 및 작동은 실시예, 도면 및 수반되는 설명을 참조하여 더욱 잘 이해할 수 있을 것이다.

<실시예 1>

미세구의 크레아틴 포스포키나제에의 영향

본원 발명의 미세구는 도 1에 도시된 바와 같이, 배양된 근모세포의 크레아틴 포스포키나제(CPK) 활성의 초기 증가를 명백하게 유도하였다. 그러나, 8일 후, 처리한 세포와 처리하지 않은 세포 모두 CPK 활성이 동일하였는데, 이는 본원 발명의 미세구에 의한 CPK 활성의 증가 유도는 일시적임을 나타낸다. 실험 방법은 하기와 같았다.

랫(rat) 배의(embryonic) 골격 근육의 일차 배양을 프레쉬니[R.J.Freshney, *Culture of Animal Cells*, Willey, 1986, p. 117, 170-172]가 기술하는 방법에 따라 제조하였다. 요약하면, 근육을 피부 및 뼈로부터 절제하여, 따뜻한 트립신화처리(36.5°C에서 0.25% 트립신)하여 분리시켰다. 섬유아세포는 조직 배양 플레이트에 먼저 부착될 것이기 때문에, 세포를 37°C 인큐베이터에서 5% CO₂와 함께 1시간 동안 예비 플레이팅하여 섬유아세포가 쉬는 것을 제거하였다. 근모세포를 항생제, 10%(v/v) 말 혈청 및 4%(v/v) 병아리 배 추출물이 강화된 배지(둘베코 개질 이글스 배지:배지199 = 1:4의 비율) 2 ml씩을 갖는 35 mm 페트리 접시상에 ml당 50,000 세포의 농도로 심었다. 병아리 배 추출물은 R.J.Freshney(*Culture of Animal Cells*, Willey, 1986)에 따라 10일된 병아리 배로부터 제조하였다. 항생제로는 암포테리신 및 젠타마이신을 표준의 2.5 mg/ml의 초기 농도로부터 1:1000으로 희석하여 포함하였다. 24시간 후, 배지를 따라 버리고, 20% (v/v) 태아 말 혈청 및 1% (v/v) 병아리 배 추출물을 함유하는 새로운 배지로 교체하였다.

배양된 세포를 플레이팅시부터 시작하여 4-8일 동안 미세구가 포함된 배지로 처리하거나 또는 배지만으로 처리하였다. 미세구는 직경이 1, 2 또는 4.5 마이크론인 카르복실화 폴리스티렌이거나 또는 직경이 4.5 마이크론인 오직 폴리스티렌만인 것이었다. 미세구의 농도는 배지당 10⁶ 또는 10⁷이었고, 두 농도에서 유사한 결과가 얻어졌다(도시 안함). 처리 후 4, 5, 6, 7 또는 8일 후, 크레아틴 포스포키나제 활성을 표준적인 방법("Creatine Kinase", *Worthington Enzyme Manual*, Worthington Biochemical Corporation, Freehold, N.J., USA, 1972, pp 54-55)으로 측정하였다. 결과를 세포 총 단백질 mg당 CPK 활성의 유닛(Unit)으로서 도1에 도시한다.

도1은 본원 발명의 미세구가 대조군 세포와 비교시 명백하게 크레아틴 포스포키나제 활성의 초기 증가를 유도하는 능력을 보여주고 있다. 처리 4일 후, 미세구 처리한 세포는 대조군 세포와 비교시 CPK 활성의 초기 증가를 보였다. 이 증가는 처리 5일 및 6일에서 특별히 현저하였다. 그러나, 7일에는 대조군 세포에서의 CPK 활성이 미세구 처리한 세포의 것과 동등해지기 시작하였다. 8일째에는 대조군 및 미세구 처리한 세포 모두에서 유사한 활성을 보인다. 명백히 미세구는 근모세포에서 CPK 활성의 초기 증가를 촉진하고, 이 증가는 처리 8일 후 정상으로 돌아갔다. 이러한 CPK 활성의 증가는 근형성 세포의 생화학적 성숙과 상관이 있다. 따라서, 미세구는 배양된 근모세포의 생화학적 성숙을 촉진하였다.

<실시예 2>

미세구의 세포 증식 및 융합에의 영향

본원 발명의 미세구는 하기 나타내는 바와 같이, 대조군(비처리)세포와 비교시 세포 증식 및 근모세포 융합 모두의 초기 증가를 유도하는 것으로 증명되었다.

랫 근모세포의 1차 배양은 세포를 커버 슬립(cover slip)상에서 키운 것을 제외하고는 상기 실시예 1에서와 같이 제조되었다. 처리한 세포는 하기 더 설명하는 바와 같이 배지중의 미세구와 함께 배양시켰고, 대조군은 배지만으로 배양시켰다.

세포 증식의 정도를 측정하기 위하여 세포를 에탄올/아세트산(3:1)에 고정시키고 헤마톡실린-에오신으로 염색하였다. 염색된 세포를 광학 현미경으로 계수하였다. 1000 세포당 계수된 세포분열중인 세포의 비율로서 세포분열중 지수를 계산하였다.

세포 증식을 시험하기 위하여, 0.18 마이크론의 직경을 갖고 황산염 표면을 갖는 폴리스티렌 미세구를 배지 ml당 10⁷의 미세구 농도로 사용하였다. 미세구로 24시간 동안 처리한 후 관찰된 세포분열중 지수는 대조군에 비해 20배 증가하였다. 특히, 대조군 세포의 세포분열중 지수는 1.25±0.7%인 반면, 미세구 처리한 세포의 것의 24.6±1.0%이었다. 따라서, 미세구가 근모세포의 세포분열중 지수의 큰 증가를 명백하게 촉진하였다.

근모세포 융합에 대한 미세구의 영향을 또한 시험하였다. 결과가 표1에 주어진다. 일반적으로, 미세구로 처리한 세포는 대조군에 비해 약 150%의 융합 속도를 보였다. 그러나 이 영향의 정도는 미세구의 유형 및 처리 기간에 의존적이었다.

시험되어진 미세구의 유형을 표1에 도시한다. 미세구의 직경은 "직경"하에 마이크론으로 주어진다. 폴리스티렌 비드의 표면기는 "표면기"하에 주어진다. 어떠한 유도화도 더 되지 않은 폴리스티렌 비드는 "폴리스티렌"이다. 카르복실 또는 아미노 표면기로 유도화된 비드는 "카르복실" 및 "아미노"라고 각각 표시된다. 비드의 농도는 "농도"하에 배지 ml당 비드의 수로서 주어진다.

근모세포의 증식 속도를 측정하기 위하여 상술한 바와 같이 세포를 준비하고, 고정시키고 염색하였다. 처음에는 "초기 세포" 칼럼하에 배지 ml당 세포로서 표1에 나타낸 밀도로 세포를 플레이팅하였다. 근모세포의 융합 측정은 "처리후 일수"하의 처리후 주어진 일 후에 이루어졌다.

융합 정도는 다핵세포내 핵의 비율로서 또는 현미경 필드 내의 핵의 총량과 관계되는 미오심플라스트(myosimplast)로서 계산하여, 미세구 처리한 세포에 대하여는 "융합 비율"로, 대조의 비처리 세포에 대하여는 "대조군 융합"으로서 주어진다. 각 실험 조건에서 최소한 400개의 핵을 계수하였다. 미세구 처리한 세포 및 대조의 비처리 세포에서의 융합 정도의 비율을 "상대적인 효과"로서 나타낸다. 표1에서 특정 슬롯에 대하여 아무런 값도 주어지지 않았다면, 그 값은 상부 행의 것과 동일한 것이다.

[표 1]
미세구의 근모세포 융합에의 영향

직경	표면기	농도	초기 세포	처리후 일수	융합 비율	대조군 융합	상대적 향상
0.22	폴리스티렌	10^7	3×10^4	6	0.75 ± 0.06	0.58 ± 0.10	1.29
				7	0.82 ± 0.09	0.64 ± 0.09	1.28
0.49				6	0.86 ± 0.06	0.58 ± 0.10	1.48
				7	0.91 ± 0.07	0.64 ± 0.09	1.57
0.91	카르복실	10^8	5×10^5	5	0.84 ± 0.06	0.64 ± 0.09	1.31
				4	0.63 ± 0.09	0.51 ± 0.06	1.23
1.12	아미노		3×10^4	6	0.69 ± 0.15	0.58 ± 0.10	1.18
					0.73 ± 0.08	0.58 ± 0.10	1.25
2.01	카르복실	10^7	5×10^5	5	0.84 ± 0.06	0.64 ± 0.09	1.31
				4	0.63 ± 0.06	0.51 ± 0.06	1.23
4.58		10^6		5	0.72 ± 0.09	0.64 ± 0.09	1.12
				4	0.67 ± 0.09	0.51 ± 0.09	1.31
10.85				5	0.68 ± 0.08	0.64 ± 0.09	1.06
				4	0.60 ± 0.10	0.51 ± 0.09	1.17

표1에서 볼 수 있는 바와 같이, 비록 그 영향의 정도는 미세구의 직경, 미세구상의 표면기, 처리후 일 수 및 농도에 의존적이었지만, 모든 상이한 유형의 미세구들이 근모세포의 세포 융합을 촉진하였다. 근모세포의 융합은 배발생중 근육 조직의 형성시에 일어나고, 또한 근육 재생 및 손상된 근육 세포의 복구에 매우 중요하다. 따라서, 이러한 융합을 촉진시킬 수 있는 미세구의 능력은 하기 실시예 5에서 나타내는 바와 같이 이들 미세구가 근육 재생을 촉진할 수 있음을 명백히 나타낸다.

<실시예 3>

미세구의 콜라겐 합성 및 축적에의 영향

상기 배경기술 부분에서 지적한 바와 같이, 콜라겐 합성 및 축적은 상처 치유의 과정에서 중요한 단계이다. 더우기, 상처에 축적되는 콜라겐의 양은 상처 치유력의 중요한 결정인자이다. 따라서, 본원 발명의 미세구가 상기 및 하기의 실시예에서 증명하는 바와 같이 상이한 세포 유형에서 다양한 효과를 가지지만, 이 조성물이 상처 치유를 촉진하는 능력을 가진다는 것을 판단하는 명백한 하나의 중요한 결정인자는 이들이 콜라겐 합성 및 축적에 영향을 미친다는 사실이다.

도2A 및 2B에서 나타내는 바와 같이, 본원 발명의 미세구는 배양된 섬유아세포에 의한 콜라겐 합성을 명백하게 촉진한다. 가장 큰 효과는 유형 I 및 유형 II 미세구에서 관찰된다. 유형 I 미세구는 4.5 미크론의 직경을 갖고, 카르복실화된 폴리스티

렌으로 제조되고, 약 -29.96 mV의 Z 전위를 갖는다. 유형 II 미세구는 0.49 미크론의 직경을 갖고, 폴리스티렌만으로 제조되고, 약 -34.5 mV의 Z 전위를 갖는다. 유형 III 미세구는 1.0 미크론의 직경을 갖고, 카르복실화된 폴리스티렌으로 제조되고, 약 -53.34 mV의 Z 전위를 갖는다. 실험 방법은 하기와 같다.

포피(foreskin) 섬유아세포 배양물을 10% (v/v) 태아 송아지 혈청, 2 mM L-글루타민, 50 µg/ml 젠타마이신 설페이트 및 2.5 mg/ml 암포테리신 B가 첨가된 4.5 mg/ml 글루코스를 함유하는 돌베코의 개질된 이글스 배지(DMEM)중에서 75 cm² 플라스틱 플라스크(뉴욕 코닝, Corning Glass Works)에서 키웠다. 이 배양물을 5% CO₂ 중 37°C에서 가득 자랄때까지 배양하였다. 섬유아세포를 0.25% 트립신/0.05% EDTA 용액을 이용하여 수거하고, 24웰 플레이트에서 200,000 세포/웰의 밀도로 동일한 배지에서 24시간 동안 계대 배양하고, 이 때 처리한 세포는 유형 I, II 또는 III 미세구와 함께 배양하고, 대조 세포는 배지만으로 배양시켰다.

콜라겐 합성은 하기와 같이 측정하였다. 배양된 섬유아세포를 0.5% 투석된 태아 송아지 혈청이 첨가된 DMEM에서 24시간 동안 예비 배양시켰다. 세포를 나타낸 바와 같이 10 µM 아스코르브산의 존재(도2A) 또는 부존재(2B)에서, β-아미노프 로피오니트릴 푸마레이트(BAPN)를 최종 농도 100 µM로 함유하는 3 µCi 2,3-³H-프롤린 또는 3,4-³H-프롤린 용액으로 표지하였다. 아스코르브산은 섬유아세포에서 콜라겐 합성을 촉진하는 중요한 촉진 인자이다.

배양 24시간 후 반응은 종료하고, 펩신을 함유하는(최종 농도 0.5mg/ml) 냉 아세트산(0.5M) 30µl를 첨가하고 이어서 실온에서 4시간 동안 부드럽게 저어주어 각 웰로부터 콜라겐을 추출하였다. 원심분리후, 세포 부스러기를 버리고 0.5M 아세트산중의 콜라겐 용액 80µl를 각 상청액에 첨가하여 최종 콜라겐 농도가 200 mg/ml이 되게하였다. 0.5 M 아세트산 중의 5.2M NaCl 용액 0.4ml를 첨가하여 각 상청액으로부터 콜라겐을 침전시켰다. 2시간 동안 방치한 후 15,000rpm에서 15분 동안 원심분리하여 침전된 콜라겐을 분리하였다. 그 다음, 펠릿(pellet)을 1M NaCl을 함유하는 10mM TRIS 완충액(pH 7.4) 750µl중에 재현탁시켰다. 5M NaCl을 함유하는 TRIS 완충액(pH 7.4) 750µl를 첨가하여 콜라겐을 침전시켰다. 2시간 후, 원심분리에 의하여 콜라겐을 분리하고, 0.5M 아세트산중에 다시 용해시키고, 각 시료를 신틸레이션 계수기에서 측정하였다. 결과는 웰당 cpm으로서 도2A 및 2B에 도시된다. 데이터는 4개의 동일하게 처리한 시료에 대한 측정의 평균이다.

유형 I 및 유형 II 미세구 모두는 아스코르브산의 존재(도2A) 및 부존재(도2B) 모두에서 대조군(비처리) 섬유아세포에서 나타난 수준 이상의 콜라겐 합성을 촉진할 수 있었다. 아스코르브산의 부존재시에는 비록 두 유형이 유사한 효과를 보였지만, 아스코르브산의 존재시에는 유형 I 미세구가 유형 II 미세구에 비하여 더 큰 효과를 보였다. 유형 III 미세구는 아스코르브산의 존재 또는 부존재에서 콜라겐 합성에 검출가능한 효과를 가지지 않았다.

특히 흥미로운 발견의 하나는, 유형 I 및 유형 II 미세구 모두 효과를 가지나, 유형 III 미세구는 그렇지 않았는데, 이는 미세구의 특정 크기 및 재질이 중요함을 나타낸다. 더우기, 유형 I 및 유형 II 미세구는 아스코르브산의 부존재에서조차도 효과를 유발하는데, 이는 이들 두 유형의 미세구는 다른 자극 인자가 없이도 콜라겐 합성을 가능하게 할 수 있음을 나타낸다. 따라서, 유형 I 및 유형 II 미세구 모두는 명백하게 콜라겐 합성에 대하여 실질적으로 자극효과를 가진다.

<실시예 4>

미세구가 근모세포 형태에 미치는 효과

랫 근모 세포의 1차 세포 배양은 상기 실시예 1에서 기술한 바와 같이 제조하였다. 이어서 세포를 폴리스티렌 미세구와 함께(처리한 세포) 또는 미세구 없이(대조군 세포) 48시간 동안 배양하였다. 그 다음 세포를 인산염 완충된 염수중의 1% 글루타르알데히드중에서 1-4일 동안 고정시키고, PBS에서 행구었다. 그다음, 세포를 PBS 중의 1% 타닌산 및 1% 구아니딘 HCl(1:1 비율) 용액에서 1 시간 동안 두었다. 표본을 1% OsO₄ 중에서 1시간 동안 후고정시키고 실온에서 등급 에탄올 및 프레온(Freon) 113 에서 탈수시켰다. 그다음 표본을 슬라이드상에 올리고 금으로 코팅하여 JEOL T-300 주사전자현미경(scanning electron microscope)에서 2kV에서 측정하였다.

도3A-3C는 본원 발명의 미세구가 근모세포 형태에 미치는 영향을 나타낸다. 도3A에서 세포는 미세구 위로 자라서, 세포 표면이 평편하기 보다는 굴곡이 있다. 도3B 및 3C는 세포가 미세구가 위치하는 세포의 일부로부터 가족(pseudopod)을 신장시키는 것을 보여준다. 도3C에서 세포의 가족은 특히 현저하여 미세구가 명백히 근모세포의 형태에 영향을 미치는 것

을 보여준다. 또한, 가족의 형성 및 긴장은 세포골격 구조의 변화를 명백히 요구하고, 이는 미세구가 세포의 세포골격에도 영향을 미침을 나타낸다. 이러한 가족의 형성은 세포가 상처난 부위로 이동하는데 중요할 수 있다. 따라서, 미세구에 의한 이러한 가족의 자극은 이들 미세구의 상처 치유 과정의 또다른 중요한 단계를 촉진하는 능력을 나타낸다.

<실시예 5>

응용을 위한 기구 및 방법

하기 설명은 상처 치유를 위한 물질의 응용을 위한 일반적 기구 및 방법이다. 미세구와 같은 물질은 바람직하게는 치료될 상처에 반복적으로 적용된다. 가하는 횟수 및 가하는 농도는 증상의 심한 정도 및 치료 대상의 치료에 대한 응답성에 따라 다르다. 이 기술분야에서 통상의 지식을 가진 사람은 최적 농도, 투여 방법론 및 반복 횟수를 쉽게 결정할 수 있을 것이다. 물론 다른 적용 빈도도 가능하지만, 본 연구에서는 미세구를 치료되어질 상처에 하루에 한 번 또는 두 번 가하였다.

이 방법은 이 물질이 실질적으로 불용성인 제약학적으로 허용되는 담체중의 미세구와 같은 물질을 치료되어야 할 치료 대상에게 투여하는 단계를 포함한다. 제약학적으로 허용되는 담체의 예로는, 물질의 현탁을 위한 수성 매질, 연고, 크림 및 에어로졸 형성 물질과 같은 비수성 매질 및 물질과 함께 다른 매체에 담근 또는 다른 매체를 함유하는 밴드 등이 있다. 하기 및 실시예 9에서 더욱 상세히 기술하는 바와 같이, 특히 바람직한 제약학적으로 허용되는 담체는 메틸 셀룰로스와 같은 겔 형성물질이어서 미세구가 겔 형태이다. 비록 메틸 셀룰로스가 이러한 겔 형성물질의 특히 바람직한 예이지만, 특히 이들 겔 형성물질이 실질적으로 생리학적으로 불활성이기만 하면 다른 겔 형성물질도 또한 사용될 수 있다는 것을 이해해야 한다. 밴드는 폐쇄적이거나 비폐쇄적일 수 있다. 어느 경우이든, 제약학적으로 허용되는 담체중에 존재하는 이 물질은 물질의 분산체로서 기술될 수 있다.

이 물질은 치료 대상에게서 임상적인 증상의 소멸과 같은 바람직하게는 소정의 종점에 도달할때까지 효과적인 투여 방법론에 따라 투여된다. 치료되어질 상처의 폐쇄가 이러한 종점의 한 예이다.

본원 발명의 기구는 하나 이상의 물질 및 제약학적으로 허용되는 물질을 위한 담체를 갖는 조성물, 및 이 조성물을 함유하는 용기를 포함한다. 바람직하게는, 이 용기는 실질적으로 에어로졸-분산 펌프 또는 스프레이 캔과 같은 실질적으로 밀폐되고 멸균된 용기이다. 선택적이고, 바람직하게는 이 용기는 실질적으로 멸균 밴드이다. 또한 선택적이고 바람직하게는 이 용기는 짜서 쓸 수 있는 튜브 또는 겔 분산 펌프이다. 이 기술분야의 당업자는 선택된 담체의 특성에 따라 적합한 조성물의 용기를 쉽게 선택할 수 있다.

단순하게 미세구를 직접 상처위에 둠으로써, 본원 발명의 미세구는 비록 담체 없이도 사용될 수 있지만, 상처 치유에 효과적인 극히 낮은 농도의 미세구는 이들이 제약학적 담체중에 존재할 때 적용하기가 훨씬 쉽다. 바람직하게는 미세구는 약 0.0001% 내지 1.5%(w/w) 범위의 농도로 존재한다. 더욱 바람직하게는 미세구는 약 0.001% 내지 1.0%(w/w) 범위의 농도로 존재한다. 가장 바람직하게는 미세구는 약 0.01% 내지 약 0.2%(w/w) 범위의 농도로 존재한다. 이러한 매우 낮은 농도는 적합한 제약학적 담체중에서 적합한 용기에 포함될 때 저장, 운반 및 특히 적용에 가장 효과적이다.

바람직한 담체 및 용기 조합의 한 예는 에어로졸 분산 펌프 내에 함유된 수성 또는 기타 액체 현탁액이다. 특히 바람직한 담체 및 용기의 조합의 또다른 예는 짜서 쓰는 튜브에 함유된 메틸 셀룰로스 또는 다른 적합한 겔 형성 물질과 같은 겔 형성 물질이다. 겔 제형은 특히 바람직한데, 그 이유는 미세구를 상처부위에 오랫동안 유지시켜 소량의 겔 물질이 동일한 상처 치유 효과를 나타내도록 한다. 이러한 효과는 하기 실시예 9에 설명되어 있다. 따라서, 특히 바람직한 담체 및 용기의 조합은 특히 이렇게 매우 낮은 바람직한 미세구 농도에서 본원 발명 조성물의 운반, 저장 및 적용을 명백히 효과적이고 편리하게 한다.

사용된 특정 기구와는 무관하게, 미세구와 같은 물질은 바람직하게는 두 단계 절차로 적용된다. 먼저 미세구는 적하, 분무, 페인팅, 세척 또는 기타 적합한 국부 적용 방법에 의해 상처에 분산되어 가해진다. 2단계 전에 바람직하게는 30초 내지 2분 동안 미세구가 상처와 초기 접촉을 형성하도록 놓아둔다. 바람직하게는 2단계는 폐쇄적 또는 비폐쇄적 밴드, 또는 미세구를 함유하는 액체 현탁액중에 침지시킨 적합한 덮개를 상처에 가하는 것을 포함한다. 이것은 밴드 또는 덮개에 미세구가 흡착하는 것을 현저히 감소시키거나 제거한다. 하기 실시예에서 기술하는 바와 같이 이 방법은 랫 및 인간 모두에서 상처 치유를 위하여 사용되었다.

현탁액중의 미세구는 응집, 결집, 덩어리화 또는 비가역적 케이크화가 일어나지 않는다. 비록 시간이 지나면 미세구가 다소 침전하나 이들은 가벼운 혼합으로 쉽게 재현탁된다.

<실시예 6>

랫에서 미세구에 의한 상처 치유의 촉진

상기 실시예 1 내지 4에서 지적인 바와 같이, 본원 발명의 미세구는 상처 치유에 중요한 다양한 시험관내(in vitro) 세포 과정을 촉진한다. 그러나, 시험관내 효과와 생체내 효과가 항상 상관관계가 있지는 않다. 따라서, 미세구가 랫에서 상처치유를 촉진하는 능력을 측정하기 위한 생체내 실험을 수행하였다. 도4A-4D에서 도시되는 바와 같이, 본원 발명의 미세구는 랫에서 명백히 상처 치유를 촉진한다. 도5는 상처 부위가 줄어드는 속도 그래프이고, 이는 본원 발명의 미세구가 이러한 감소가 일어나는 속도를 증가시키는 것을 보여준다. 마지막으로 표2는 미세구가 랫에서 근육 재생을 촉진하는 것을 보여준다. 실험 방법은 하기와 같다.

300 내지 400g의 무게가 나가는 Male Wistar rat을 냄부탈(체중 kg당 5mg)로 마취시켰다. 전경골근의 측부 제거 손상을 하기와 같이 수행하였다. 먼저 전경골근에 노출된 피부에 수직적 삽입을 한다. 그 다음, 근육 폭의 약 절반을 따라 근육섬유를 횡으로 절단하여 이 근육의 부분적 절개를 이룬다. 절개된 조직을 근육으로부터 잘라내고 근육에는 약 5 mm × 5 mm의 간격을 남긴다. 모든 랫에서 정확하게 같은 위치로부터 동일한 양의 근육의 절개된 조직(80±10 mg)을 제거하였다. 상처 부위는 치료된 랫의 경우에는 염수중의 2 마이크론 폴리스티렌 미세구로 덮고, 대조군 랫의 경우에는 염수로만 덮었다. 상처 부위를 상처 후 3일과 15일 사이에서 측정하였다.

도4A-4D는 상기한 바와 같이 준비된 상처 부위의 사진을 보여준다. 도4A는 상처 직후 대조군 랫에서의 상처를 보여주고, 도4B는 치료된 랫에서의 동일한 상처를 보여준다. 도4C 및 4D는 상처 5일 후의 동일한 랫을 보여준다. 대조군 랫의 상처는 염수로만 치료되었고, 여전히 완전히 치유되지 않았다. 반면에, 미세구로 치료한 치료된 랫은 완전히 치유되었다. 따라서, 본원 발명의 미세구는 명백하게 빠른 상처 치유를 촉진하였다.

도5는 본원 발명의 미세구에 의한 상처 치유의 촉진을 더 예시하고 있다. 대조군 랫의 상처는 결과적으로는 치유되나 치료된 랫의 상처보다는 훨씬 느린 속도였다. 따라서, 미세구는 상처 부위가 줄어드는 속도 및 상처 치유 속도를 명백하게 증가시킨다.

상처부위의 해부 편치(biopsy punch)를 제작함으로써 조직학적 분석을 위한 슬라이드를 제조하였다. 상처 후 4,5,6,7,8,9,13 또는 14일에 랫을 희생시키고, 조직학적 실험을 위하여 해부를 하였다. 새롭게 형성된 또는 복구된 근육 섬유에 투입된 특정화된 근형성 세포의 수를 활성화된 근형성 세포를 나타내는 "새로운"핵의 수를 측정하여 계수하였다. 이들 세포의 핵은 크고, 분산된 염색질을 갖는 호염기성 세포이고, 기존의 근모세포의 핵과는 쉽게 구별될 수 있다. 결과를 표2에 나타낸다.

[표 2]
미세구에 의한 근육 재생의 촉진

치료	수술후 경과 일	슬라이드 당 "새로운" 핵의 수	필드 당 "새로운" 핵의 수	섬유 당 "새로운" 핵의 수
M	4	422±67	52.8±22	9.5±3.5
C	4	117±37	14.6±10	5.9±1.4
M	5	350±84	43.8±13.5	8.6±1.8
C	5	110±31	14.1±4.6	4.8±1.2
M	6	1221±180	94±25	11.9±5
C	6	676±120	52±11	4.9±0.9
M	7	762±110	95±51	9.4±3.5
C	7	169±47	21.1±4.8	4.5±0.8
M	8	715±140	89.4±36	11±2.2
C	8	126±32	18.6±12	5.2±1.5
M	9	299±75	42.7±19	7.4±1.3
C	9	235±84	33±12	6.5±2.8
M	13	747±129	53.3±15	9.7±1.5
C	13	582±140	42±24	5±1.7
M	14	665±143	83±24	9.4±1.9

C	14	491±124	61±36	5.5±2.7
---	----	---------	-------	---------

표2에 나타난 바와 같이, 본원발명의 미세구는 근섬유 내의 새로운 핵 또는 도입된 핵의 수에 의하여 측정된 바와 같이 근육의 재생을 명백히 촉진하였다. 이러한 측정이 생체내(in vivo) 처리된 랫으로부터 취해진 조직학적 표본상에서 수행되었다는 사실은 또한 미세구가 시험관내 뿐만 아니라 생체내 근육의 재생을 촉진한다는 사실을 나타낸다.

최종적으로, 도 6은 랫의 경우에 조직 배양 배지 및 염수로 상처를 치료하는데 대한 본원발명의 미세구의 효과를 비교한다. 랫에 상처는 상기에 기재된 바와 같이 유도되었고, 랫은 염수만으로 치료하거나(도 6A, \$), 조직 배양 배지만으로 치료하거나(도 6B, \$), 염수 더하기 미세구(도 6A, 그) 또는 조직 배양 배지 더하기 미세구(도 6B, 그)로 치료하였다. 이어서 랫은 상처가 생긴지 4 일 후에 사진 촬영하였다. 도 6A 및 6B로부터 관찰할 수 있는 바와 같이, 미세구는 담체가 염수 또는 조직 배양 배지 인지의 여부에 관계없이 보다 신속한 상처 치료 속도를 유도할 수 있었다. 따라서, 조직 배양 배지는 상처 치료에 대한 본원 발명의 미세구의 효과에 관여하지 않았다.

<실시예 7>

미세구의 독성 연구

미세구를 함유하는 물질의 독성 효과는 관측되지 않았다. 상처가 생긴지 65 및 180 일후에 미세구 처리한 쥐의 예비 시험은 하기의 어느 기관에서도 병리학적 변화의 징후를 보이지 않음을 보여주었다: 심장, 간, 폐, 신장, 혈관, 위, 림프절 및 뇌. 형광 표지된 미세구로 수행한 실험은 처리한 랫에서 어떠한 병리학적 징후도 보이지 않음을 보여 주었다. 나아가, 미세구는 상기 언급된 어떠한 기관으로도 침투하지 않았다. 어떠한 새로운 성장도 상기에 언급된 기관에서 감지되지 않았다. 최종적으로, 미세구는 상처 부위내에 분산되었고 재생되는 근섬유내로 침투하지는 않았다.

<실시예 8>

인간의 상처 치료에 대한 미세구의 효과

상기 실시예 6에 기재한 생체내 실험은 본원발명의 미세구가 랫의 상처 치료 및 근육 재생을 촉진시킬 수 있다는 사실을 명확히 증명한다. 나아가, 실시예 7에 기재된 랫에서의 독성 연구의 결과는 미세구가 실질적으로 비독성임을 나타낸다. 그러므로, 연구는 인간의 상처 치료에 대한 본원발명 미세구의 효과를 측정하기 위하여 수행되었다. 하기에 상세히 기재되는 바와 같이, 사례 연구는 미세구가 인간의 상처 치료를 명백히 촉진한다는 사실을 증명하였다. 바람직하게는 약 0.0001 내지 약 1.5중량% 범위의 미세구 농도가 염수 수용액 내에서 사용되었다. 더욱 바람직하게는, 상기 농도는 약 0.001 내지 약 1.0중량% 범위 이었다. 가장 바람직하게는, 상기 농도는 약 0.01 내지 약 0.2중량% 범위 이었다.

제1 사례 연구는 치료가 되지 않던 66 세 할머니의 왼쪽 다리내의 궤양에 대한 연구였다. 환자는 또한 왼쪽 다리의 세포염 및 양쪽 다리 모두에 정맥류성 정맥을 가지고 있었다. 환자의 안쪽 대퇴부의 궤양은 부식성 염소염 수용액인 Milton 2%로 치료하였다. 환자의 바깥쪽 대퇴부의 궤양은 조직 배양 배지내의 폴리스티렌으로 제조된 본원발명의 4.5 미크론 미세구로 치료하였다. 도 7A는 제 0일의 대조군 상처를 나타내고, 도 7B는 치료 4 개월 후의 대조군 상처를 나타낸다. 도 7C는 제0일의 치료된 상처를 나타내고, 도 7D는 치료 4 개월 후의 치료된 상처를 나타낸다.

본원발명의 미세구로 치료된 상처와 Milton으로 치료된 상처 모두가 이후 4개월 동안에 감염의 징후 및 기타 치료의 어려움을 보였다. 그러나, 치료기간의 종료시에, 미세구로 치료된 상처가 현저한 개선을 보였다. 상처 크기가 감소하고 상처가 깨끗하였으며 감염의 징후가 없었다. 따라서, 감염과 같은 어려움 때문에 치료하기 어려웠던 상처 조차에 대해서도 본원발명의 미세구는 현재 사용가능한 치료보다도 큰 상처 치료 촉진 효과를 나타내었다.

추가적 증거로서, 상기 도 7(도 7 A 및 7B)에 대한 대조군으로 쓰인 상처를 도 7D 및 7C에서 상처를 치료하기 위하여 사용한 것과 동일한 미세구로 치료하였다. 결과가 도 8A 및 8B에 나타나 있다. 도 8A는 미세구로 치료한 제 0일의 상처를 나타내고, 도 8B는 치료 21일 후의 상처를 나타낸다. 명백하게, 짧은 기간에서 조차도 상처의 범위가 감소하였다. 나아가, 상처는 표면적이었고 깨끗하였으며 더이상 삼출이 진행되지 않았다.

제2 사례 연구는 왼쪽 대퇴부의 정면에 1년된 감염 상처를 가진 52세의 여성이었다. 상처를 1 주일 동안 1% Milton으로 치료하였고, 괴사조직을 제거하고 이어서 10일 동안 도 7 및 도 8의 미세구로 치료하였다. 도 9A는 치료 제 0일의 상처를 나타내고, 도 9B는 치료 제 10일의 상처를 나타낸다.

10일 후, 상처는 현저한 개선을 보였다. 도 9B에서 볼 수 있는 바와 같이, 상처의 범위가 작은 크기로 감소하였고, 깨끗하였으며 더이상의 삼출이 진행되지 않았다. 상대적으로 짧은 치료 기간 동안에 상처가 완전히 아물지 않았지만, 그 효과는 현저히 개선되었다.

제3 사례 연구는 산업 현장의 사고시 화학약품의 방류로 인하여 피해를 입은 19세 남자에 대한 연구였다. 사고 화학약품은 술퍼리드(sulfurides)로서 상기 남자의 목 및 오른쪽 손에 심각한 화상 및 물집을 유발하였다. 처음 2일 동안, 모든 상처를 Silverol(강한 흡수 성질을 가진 히드로겔)로 치료하였다. 이어서, 오른쪽 팔뚝의 상처를 사례연구 1 및 2의 미세구로 치료하고 나머지 상처를 Silverol로 치료하였다. 결과가 도 10A 및 10B(각각 제0일 및 제5일에서의 대조군 상처), 및 도 10C 및 10D(각각 제0일 및 제5일에서의 치료된 상처)에 나타나 있다.

미세구로 치료한지 5일 후, 치료된 팔뚝의 상처의 조건은 미세구로 치료하지 않은 나머지 상처에 비하여 현저히 개선되었다. 팔뚝의 상처는 미세구로 치료한지 5일 후에 완전히 치료되었다. 이에 반하여, Silverol로 치료한 나머지 상처는 완전히 치료되지 않았다. 따라서, 미세구는 상처의 치료를 명백히 촉진하고 현재의 이용가능한 치료보다 양호한 효율을 가짐을 증명하였다.

제4 사례 연구는 뜨거운 목욕물로 인하여 엉덩이에 2도 화상을 입은 52-세 여성에 대한 연구였다. 왼쪽 엉덩이의 상처는 Silverol로 치료하였고 오른쪽 엉덩이는 상기 사례연구의 미세구로 치료하였다. 미세구로 치료된 상처에 대한 결과 만이 도 11A(제 0일) 및 도 11B(제 7일)에 나타나 있다. 치료를 개시한지 7일 후, 미세구로 치료한 오른쪽 엉덩이의 상처는 양호한 상피세포가 성장하여 완전히 치료되었다. 이에 반하여, Silverol로 치료한 왼쪽 엉덩이는 완전히 치료되지 않았고 상대적으로 느리게 아물었다. 따라서, 미세구는 종래의 치료보다 더 빠른 속도로 상처 치료를 촉진할 수 있었다.

제5 사례 연구는 넓은 영역의 심각한 태양광 화상을 입은 28-세의 여성에 대한 연구였다(데이터 도시 안함). 그녀는 앞선 사례 연구의 미세구로 치료하였다. 상기 환자에 대해서는 고통의 현저한 감소 및 화상의 신속한 치료가 보고되었다. 따라서, 본원발명의 방법 및 기구에서 사용된 미세구는 고통도 감소시키고 상처 치료도 촉진할 수 있는데, 이 고통의 감소는 직접적인 진통효과에 의한다기 보다는 미세구의 매우 간접적인 효과일 수 있음에 유의해야 한다.

실제로, 상기 환자에 대한 보고서는 태양광 화상으로부터의 고통의 감지를 명백히 감소시켰다는 것을 포함하는 사실을 추론하는데 있어서 언급할 의미가 있다. 이러한 고통 감소가 아마도 미세구가 신경 충격의 전달에 직접적인 효과를 가지거나 또는 실제로 고통을 느끼게 하는 많은 요인을 직접적으로 변경시키는 것을 증명하지는 못한다. 대신에, 이러한 효과는 대식세포의 활성화 및 잇다른 항-염증 효과가 환자의 고통의 감소를 가져오는 아마도 매우 간접적인 효과일 것이다.

제6 연구 사례는 당뇨병에 걸리고, 수술후 8개월된 진통적인 치료로 치유되지 않는 왼쪽 다리에 외과 수술후 상처가 있는 64세 남자의 경우이다. 이전 연구 사례에서의 미세구를 17일 동안 매일 2회 가하였다. 미세구로 치료하기 전의 수술후 상처의 크기는 7.5 cm × 8 cm에 깊이가 6 cm 이었다. 이 깊이는 뼈가 위치하고 있고 연조직 및 뼈의 괴저에 의해 표시가 된다. 미세구로 치료한 3일 후 괴저가 치유되고 8일 후 완전히 제거되었다(데이터 도시 안함). 치료 3일 후 근육 및 뼈에 육아(새살)가 나타났다. 뼈 재생은 치료 10일 후 완료되었다. 14일까지는 상처가 아물지는 않았으나 건강한 색상의 새살로 덮였다. 상처의 깊이가 거의 0.5 cm로 줄었고 환자에게 피부 이식 수술이 가능하다고 한다. 치료를 시작한 거의 직후부터 고통도 또한 감소하였으나, 제5사례 연구에서 언급한 바와 같이, 이러한 고통 감소는 미세구의 직접적인 작용에 의해 야기된 것이라기 보다는 매우 간접적인 효과일 것이다. 따라서, 명백히 미세구는 통상적인 치료가 실패한 후, 당뇨와 관련된 순환 장애와 같은 복잡한 요소의 존재에서조차도 상처치료를 성공적으로 촉진할 수 있었다.

이 여섯의 사례들 및 랫에서의 연구로부터 얻은 폭넓은 증거들로부터, 본원 발명에 따른 미세구와 같은 물질의 사용이 현재 사용가능한 기존의 치료들보다 상처 치유 및 근육 재생의 촉진에 더 큰 효과를 갖는다는 사실이 명백해졌다. 본 방법 및 기구는 상처 치유를 촉진, 가속 및 향상 뿐만 아니라 치료 대상이 경험하는 고통도 감소시킬 수 있다.

고통의 감소에 대하여는, 상기 사례 연구에서 미세구의 (간접적) 항염증 작용을 통한 간접적 효과에 기인하는 것으로 추측되는, 특히 태양광에 의한 화상으로부터 고통받는 환자의 처치된 상처로부터의 고통 및 불편의 국부적인 감소를 보고하고 있음에 주의해야 한다.

마지막으로, 데이터는 도시하지 않았으나, 인간에게서 수도모나스(*Pseudomonas*) 종에 의한 상처의 감염에 대하여 간접적인 정균적 효과를 또한 보였다.

간접적 항염증 작용 및 간접적 정균적 효과의 기작은 명확하지 않으나, 대식세포의 유인 및 활성이 관여하는 세포적 효과의 결과일 것 같다. 정확한 기작과는 무관하게, 본원 발명에 따른 미세구의 사용은 명백하게 상처 치료의 상당한 개선을 나타낸다.

이들 시험된 응용 이외에도 본원 발명의 미세구가 많은 상이한 화장품적 응용에도 매우 적합할 것이라고 예상된다. 예를 들어, 태양광에 의한 화상 이외에, 본원 발명의 미세구는 여드름의 개선 또는 실질적으로 완전한 치료에 유용할 것으로 기대된다. 본원 발명의 미세구는 또한 면도와 관련된 작은 손상 및 절개와 같은 피부 손상의 치유를 위하여 면도 크림 또는 젤에 포함시킬 수도 있다. 본원 발명의 미세구는 또한 실질적으로 어떠한 유형의 피부 손상도 개선시키고 실질적으로 완전히 치유하기조차 하는데 유용하다고 기대된다.

본원 발명의 미세구는 부가적으로 위궤양, 궤양성 대장염과 관련된 궤양 및 헬리코박터 필로리(*Helicobacter pylori*)와 관련된 궤양과 같은 장내 궤양 및 치질의 개선 또는 이의 실질적으로 완전한 치유에 유용한 것으로 기대된다.

<실시예 9>

젤 형태의 미세구

상기 실시예 8에서 실험한 바와 같은 수용액 중의 미세구의 액체 현탁액을 메틸 셀룰로스(Hoechst A.G., 독일)나 다른 비활성 물질을 첨가하여 젤 형태로 변환시켰다. 메틸 셀룰로스는 약 0.1% 내지 약 5 중량%의 농도로 사용되었다. 젤 제형의 미세구는 상처 치유에 매우 효과적인 것으로 밝혀졌고, 젤 제형은 상처 부위에 미세구를 보유시키는 것을 도와주기 때문에 더 적은 양의 젤 제형이 동일한 치유효과를 발휘할 수 있었다. 실험 방법은 하기와 같다.

본 연구에서는 Hartley-유래의 알비노 기니아 돼지(무게 300 내지 400g)를 사용하였다. 모든 외과적 수술절차는 ketamine HCl(150 mg/kg, Parke-Davis, USA)의 투여후 일반적인 마취하에서 수행하였다. 마취후, 4의 좌우대칭인 완전한 두께의 피부 부분(2 cm × 2 cm)을 각 동물의 등으로부터 2개는 견갑골(scapular) 부분으로부터 2개는 요부(lumbar) 부분로부터 절제하였다.

수술후 젤 형태의 미세구를 상처에 가하였다. 이어서 밴드를 상처에 가하였다. 드레싱은 일반적인 마취하에서 48시간 마다 교체하였고, 이 때 모든 상처는 미온 염수로 세척하여 상처에 남은 젤 및 조직파편을 제거하였다. 이어서 모든 상처를 측정하고 사진 찍었다. 그다음 젤 형태의 미세구를 다시 상처에 가하고, 새로운 밴드를 붙였다. 밴드상에도 젤 제형을 두었다. 각 동물에서 4개의 상처 모두를 동일한 농도의 젤 형태의 미세구로 치료하였다. 미세구의 농도는 2.5% 메틸 셀룰로스 중의 0.0027 중량%이었다. 미세구는 폴리스티렌이었고, 직경은 4.3 마이크론이었다. 대조군으로서, 일부 동물의 상처들에는 밴드상에 위치한 액체 현탁액 중의 동일한 미세구의 동일한 농도로 처리하였다. 양자 모두에 대하여 액체 현탁액중 미세구 또는 젤 제형의 미세구를 상처 부위를 실질적으로 채울 수 있는 충분한 부피를 가하였고, 액체 현탁액에서 보다 젤 제형이 더 적은 양이 가해졌다.

ImageMeasure™ 소프트웨어 프로그램(Phoenix Corp., 씨에틀, 와싱턴, 미국)으로 사진을 분석하였다. 그 결과를 대조군에 대한 상처의 분획적 면적에서의 시간 변화로서 또는 덮히는 속도(closure rate)로서 도표화하였고, 도 12에 도시한다. 상처의 분획적 면적의 시간 변화는 $A_0 - A_i / A_0$ (A_0 는 0일째의 상처 면적이고, A_i 은 i 일째의 상처 면적이다)으로 계산하였다. 명백히, 미세구의 액체 현탁액으로 치료한 상처 및 미세구의 젤 제형으로 치료한 상처 모두에서 실질적으로 유사한 속도로 치유되었으나, 액체 현탁액에 비교시 젤 제형이 감소된 부피로 상처에 가해졌다.

상기 기술은 단지 실시예로서만 기능하려고 의도하는 것이고 본원 발명의 원리 및 범주 내에서 많은 다른 실시 태양이 가능함을 이해해야 할 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

세포막과 다점 접촉(multi-point contact)을 형성할 수 있고, 폴리스티렌, 폴리스티렌 유도체, 라텍스, 폴리-β-알라닌, 폴리리신, 폴리-N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드, 폴리메틸아크릴레이트(PMMA) 및 실리콘, 또는 이들의 혼합물로부터 선택되는 1종을 포함하는, 치료기간 동안 비생분해성인 물질(agent)을 주로하여 이루어진 치료 대상의 상처 치료를 위한 조성물.

청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 물질은 황산염, 폴리-N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드, 프로타민, 황산 프로타민, 프로타민 염, 폴리리신, 카르복실, 폴리스티렌 및 폴리스티렌 유도체로부터 선택되는 1종을 포함하는, 양전하 또는 음전하를 띤 표면기(surface groups)가 특징인 미세구인 조성물.

청구항 3.

제2항에 있어서, 상기 미세구가 폴리스티렌, 폴리스티렌 유도체, 폴리리신, 폴리-N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드, 폴리메틸아크릴레이트 및 실리콘으로 이루어진 군에서 선택된 물질로부터 제조되는 것인 조성물.

청구항 4.

제3항에 있어서, 상기 미세구가 폴리스티렌 및 폴리스티렌 유도체로 이루어진 군에서 선택된 물질로부터 제조되는 것인 조성물.

청구항 5.

제2항에 있어서, 상기 표면기는 황산염, 폴리-N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드, 프로타민, 황산 프로타민, 프로타민 염, 폴리리신, 폴리스티렌, 폴리스티렌 유도체 및 카르복실로 이루어진 군에서 선택된 것인 조성물.

청구항 6.

제5항에 있어서, 상기 표면기가 폴리리신, 폴리스티렌, 폴리스티렌 유도체 및 카르복실로 이루어진 군에서 선택된 것인 조성물.

청구항 7.

제2항에 있어서, 상기 표면 전하가 음전하인 조성물.

청구항 8.

제2항에 있어서, 상기 미세구가 0.01 μm 내지 200 μm 범위의 직경을 갖는 조성물.

청구항 9.

제2항에 있어서, 상기 미세구가 0.1 μm 내지 100 μm 범위의 직경을 갖는 조성물.

청구항 10.

제9항에 있어서, 상기 미세구가 0.1 μm 내지 20 μm 범위의 직경을 갖는 조성물.

청구항 11.

제2항에 있어서, 상기 미세구가 담체내에서 불용성인, 상기 미세구를 위한 제약학적으로 허용되는 담체를 더 함유하는 조성물.

청구항 12.

제11항에 있어서, 상기 제약학적으로 허용되는 담체가 수용액인 조성물.

청구항 13.

제11항에 있어서, 상기 제약학적으로 허용되는 담체가 겔형성물질인 조성물.

청구항 14.

제13항에 있어서, 상기 겔형성물질이 메틸 셀룰로스를 포함하는 조성물.

청구항 15.

제1항에 있어서, 상기 상처가 화상, 외상, 수술후상처, 출산후 상처 및 만성적 상처로 이루어진 군에서 선택되는 것인 조성물.

청구항 16.

제15항에 있어서, 상기 화상이 태양광에 의한 화상, 화학물질에 의한 화상, 노광 화상(radiation burn) 및 열적 화상(thermal burn)으로 이루어진 군에서 선택되는 것인 조성물.

청구항 17.

제15항에 있어서, 상기 만성적 상처가 욕창, 압박 창상, 당뇨병 관련 및 순환 장애와 관련된 상처로 이루어진 군에서 선택되는 것인 조성물.

청구항 18.

제1항에 있어서, 상기 상처가 피부, 뼈 및 근육으로 이루어진 군에서 선택된 치료 대상의 신체의 일부상에 위치하는 것인 조성물.

청구항 19.

제18항에 있어서, 상기 조성물이 근육 재생을 촉진하는 것인 조성물.

청구항 20.

제1항에 있어서, 상기 조성물이 상처 치유를 촉진하고, 흉터를 감소시키고, 치료 대상의 고통을 경감시켜주는 것을 할 수 있는 조성물.

청구항 21.

제1항에 있어서, 상기 미세구가 0.0001% 내지 1.5%(w/w)의 범위내 농도로 존재하는 것인 조성물.

청구항 22.

제21항에 있어서, 상기 미세구가 0.001% 내지 1.0%(w/w)의 범위내 농도로 존재하는 것인 조성물.

청구항 23.

제22항에 있어서, 상기 미세구가 0.01% 내지 0.2%(w/w)의 범위내 농도로 존재하는 것인 조성물.

청구항 24.

(a) (i) 상처를 치유하기 위하여 세포막과 다점 접촉을 형성할 수 있고, 폴리스티렌, 폴리스티렌 유도체, 라텍스, 폴리-β-알라닌, 폴리리신, 폴리-N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드, 폴리메틸아크릴레이트(PMMA) 및 실리콘, 또는 이들의 혼합물로부터 선택되는 1종을 포함하는, 치료기간 동안 비생분해성인 물질 및

(ii) 상기 물질이 담체내에서 불용성인, 상기 물질을 위한 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 조성물, 및

(b) 상기 조성물을 함유하는 용기를 포함하는 상처 치유를 위한 기구.

청구항 25.

제24항에 있어서, 상기 물질은 황산염, 폴리-N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드, 프로타민, 황산 프로타민, 프로타민염, 폴리리신, 카르복실, 폴리스티렌 및 폴리스티렌 유도체로부터 선택되는 1종을 포함하는, 양전하 또는 음전하를 띤 표면기가 특징인 미세구인 기구.

청구항 26.

제25항에 있어서, 상기 미세구가 폴리스티렌, 폴리스티렌 유도체, 폴리리신, 폴리-N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드, 폴리메틸아크릴레이트 및 실리콘으로 이루어진 군에서 선택된 물질로부터 제조되는 것인 기구.

청구항 27.

제26항에 있어서, 상기 미세구가 폴리스티렌 및 폴리스티렌 유도체로 이루어진 군에서 선택된 물질로부터 제조되는 것인 기구.

청구항 28.

제25항에 있어서, 상기 표면기는 황산염, 폴리-N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드, 프로타민, 황산 프로타민, 프로타민 염, 폴리로신, 폴리스티렌, 폴리스티렌 유도체 및 카르복실로 이루어진 군에서 선택되는 것인 기구.

청구항 29.

제28항에 있어서, 상기 표면기가 폴리로신 및 카르복실로 이루어진 군에서 선택되는 것인 기구.

청구항 30.

제25항에 있어서, 상기 표면 전하가 음전하인 기구.

청구항 31.

제25항에 있어서, 상기 미세구가 0.01 μm 내지 200 μm 범위의 직경을 갖는 기구.

청구항 32.

제31항에 있어서, 상기 미세구가 0.1 μm 내지 100 μm 범위의 직경을 갖는 기구.

청구항 33.

제32항에 있어서, 상기 미세구가 0.1 μm 내지 20 μm 범위의 직경을 갖는 기구.

청구항 34.

제25항에 있어서, 상기 상처는 화상, 외상, 수술후 상처, 출산후 상처 및 만성적 상처로 이루어진 군에서 선택되는 것인 기구.

청구항 35.

제34항에 있어서, 상기 화상은 태양광에 의한 화상, 화학물질에 의한 화상, 노광 화상 및 열적 화상으로 이루어진 군에서 선택되는 것인 기구.

청구항 36.

제34항에 있어서, 상기 만성적 상처는 당뇨병 합병증 및 순환 장애와 관련된 상처로 이루어진 군에서 선택된 것인 기구.

청구항 37.

제25항에 있어서, 상기 상처가 피부 및 근육으로 이루어진 군에서 선택된 치료 대상의 신체의 일부상에 위치하는 것인 기구.

청구항 38.

제37항에 있어서, 상기 조성물이 근육 재생을 촉진하는 것인 기구.

청구항 39.

제25항에 있어서, 상기 물질이 상처 치유, 흉터 감소 및 고통 감소의 촉진을 할 수 있는 기구.

청구항 40.

제25항에 있어서, 상기 제약학적으로 허용되는 담체가 수용액, 겔형성물질 에어로졸 담체 및 연고로 이루어진 군에서 선택된 것인 기구.

청구항 41.

제40항에 있어서, 상기 제약학적으로 허용되는 담체가 겔형성물질인 기구.

청구항 42.

제41항에 있어서, 상기 겔형성물질이 메틸 셀룰로스를 포함하는 것인 기구.

청구항 43.

제41항에 있어서, 상기 용기가 짜서 쓸 수 있는 튜브(squeezable tube)인 기구.

청구항 44.

제40항에 있어서, 상기 제약학적으로 허용되는 담체가 수용액인 기구.

청구항 45.

제44항에 있어서, 상기 용기가 밀폐된 멸균 용기인 기구.

청구항 46.

제45항에 있어서, 상기 밀폐된 멸균 용기가 에어로졸 분무기인 기구.

청구항 47.

제44항에 있어서, 상기 용기가 멸균된 밴드인 기구.

청구항 48.

세포막과 다점 접촉을 형성할 수 있고 치료기간 동안 비생분해성인 미세구로서, 이 미세구는 폴리스티렌, 아미노기 및 카르복실기로 이루어진 군에서 선택되는 잔기로 유도화된 폴리스티렌 유도체, 폴리리신, 폴리-N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드, 폴리메틸아크릴레이트 및 실리콘으로 이루어진 군에서 선택된 물질로 제조되고, 상기 미세구의 상기 물질은 황산염, 폴리-N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드, 프로타민, 황산 프로타민, 프로타민 염, 폴리리신, 카르복실, 폴리스티렌 및 폴리스티렌 유도체를 포함하는, 양전하 또는 음전하를 띤 표면기가 특징인 미세구를 주로하여 이루어진 치료 대상의 상처를 치유하는 조성물.

청구항 49.

제48항에 있어서, 상기 표면기는 황산염, 프로타민, 황산 프로타민, 프로타민염 및 카르복실로 이루어진 군에서 선택된 것인 조성물.

청구항 50.

제49항에 있어서, 상기 표면기가 카르복실인 조성물.

청구항 51.

제48항에 있어서, 상기 미세구가 0.01 μm 내지 200 μm 범위의 직경을 갖는 조성물.

청구항 52.

제51항에 있어서, 상기 미세구가 0.1 μm 내지 100 μm 범위의 직경을 갖는 조성물.

청구항 53.

제48항에 있어서, 상기 미세구가 담체내에서 불용성인, 상기 미세구를 위한 제약학적으로 허용되는 담체를 더 함유하는 조성물.

청구항 54.

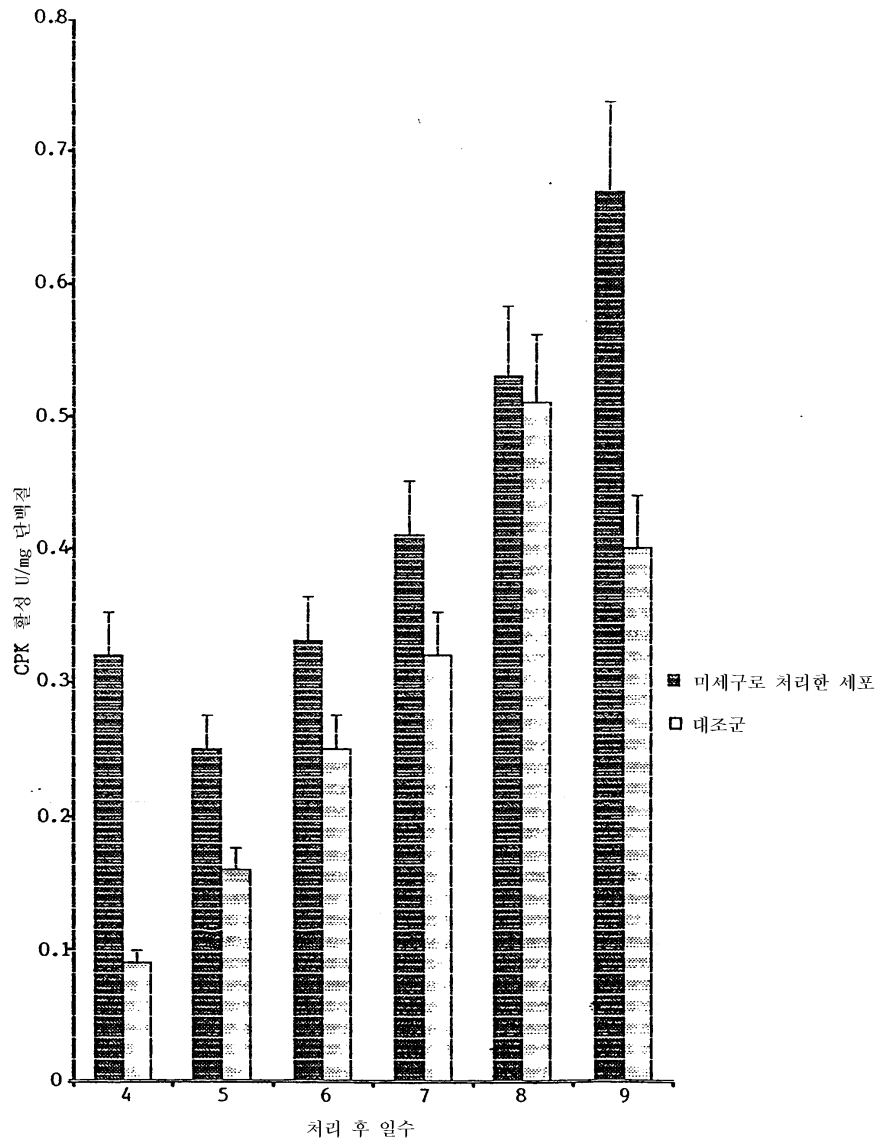
제49항에 있어서, 상기 상처가 화상, 외상, 수술후 상처, 출산후 상처 및 만성적 상처로 이루어진 군에서 선택되는 것인 조성물.

청구항 55.

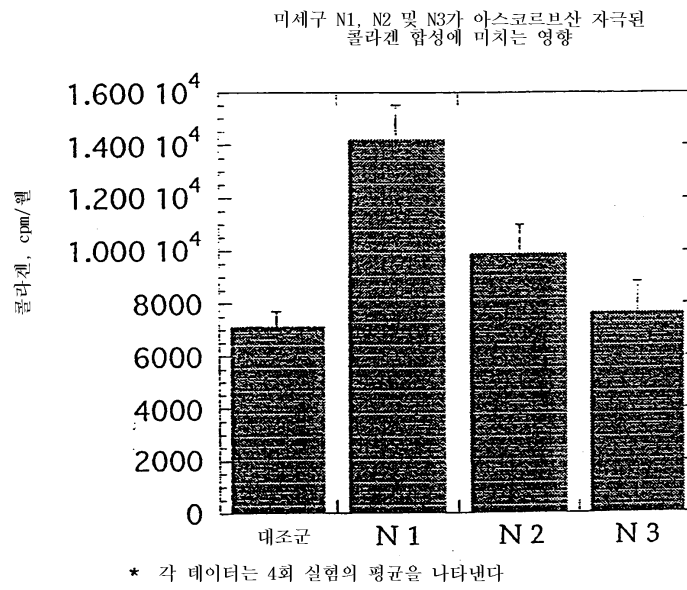
제48항에 있어서, 상기 상처가 피부 및 근육으로 이루어진 군에서 선택된, 치료 대상 신체의 일부에 위치하는 것인 조성물.

도면

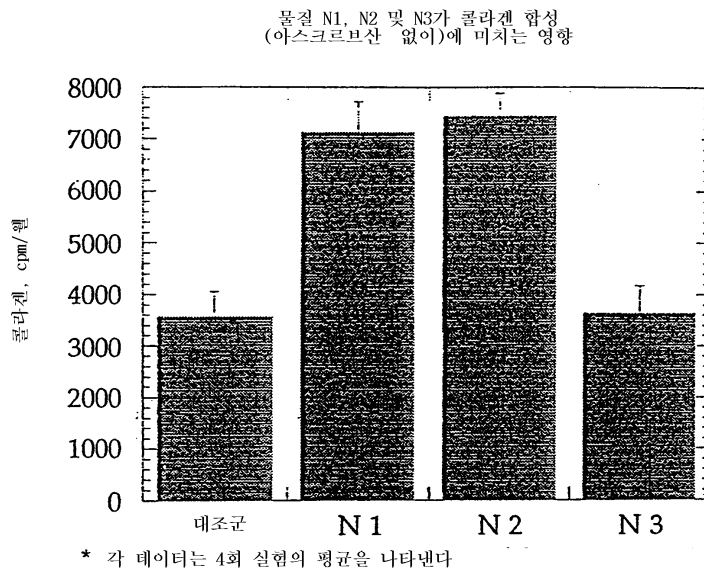
도면1



도면2a



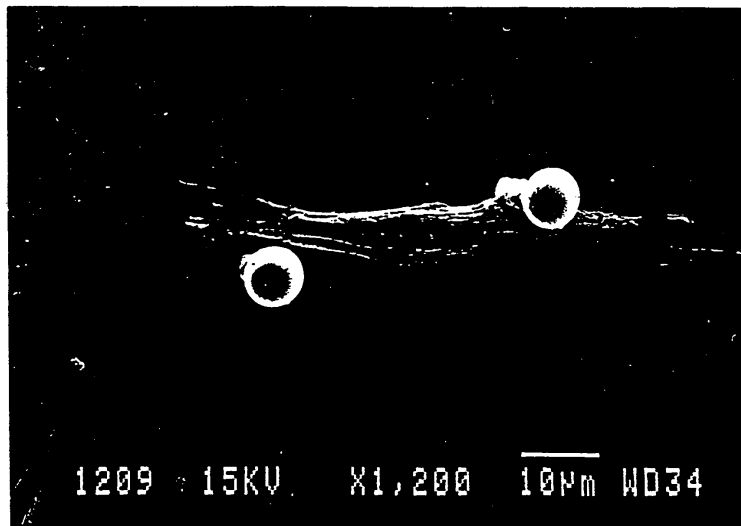
도면2b



도면3a



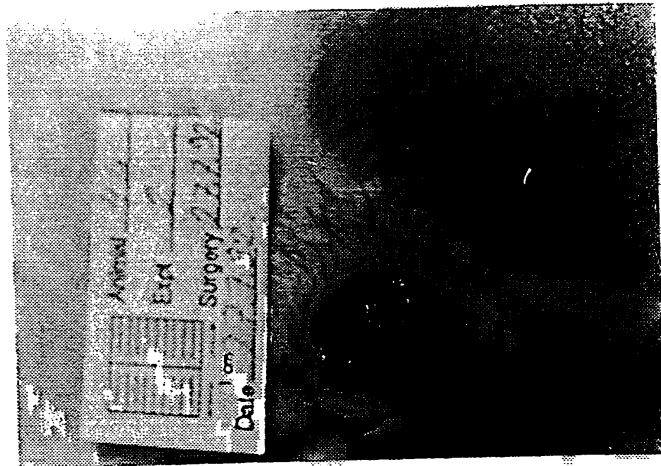
도면3b



도면3c



도면4a



대조군 랫

도면4b



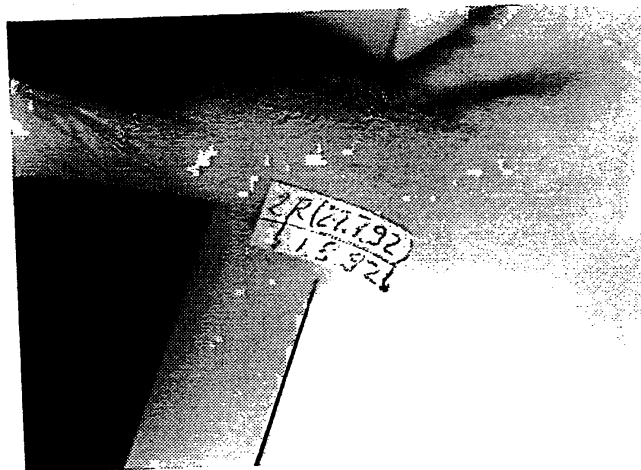
실험적 랫

도면4c



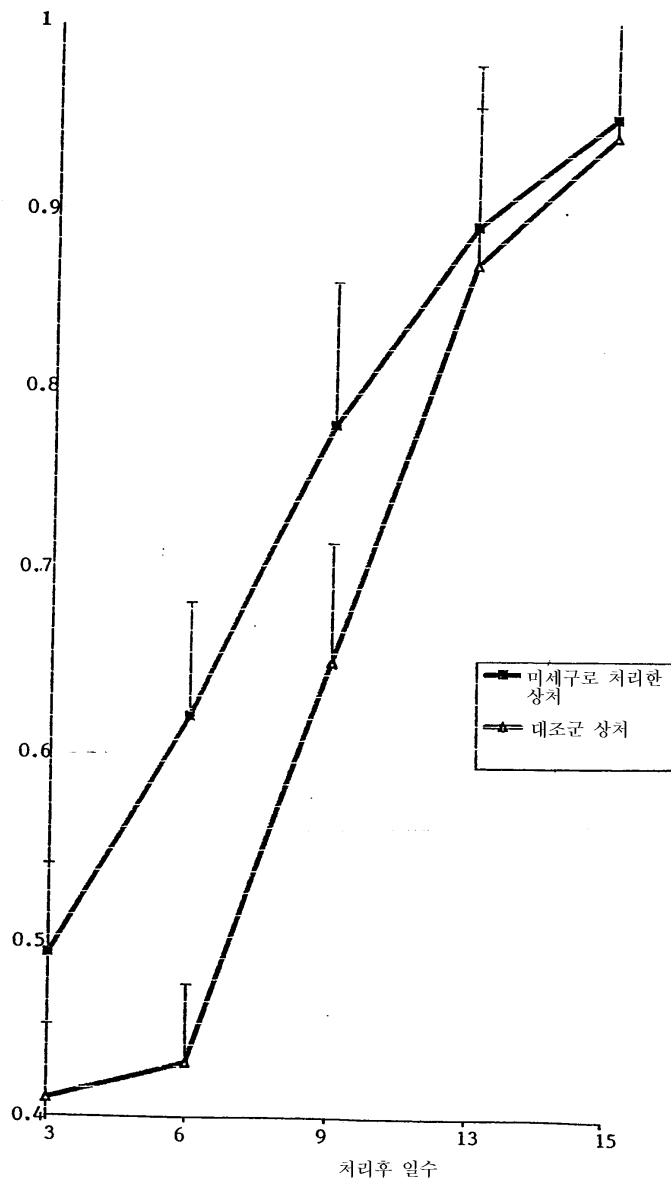
대조군 랫

도면4d

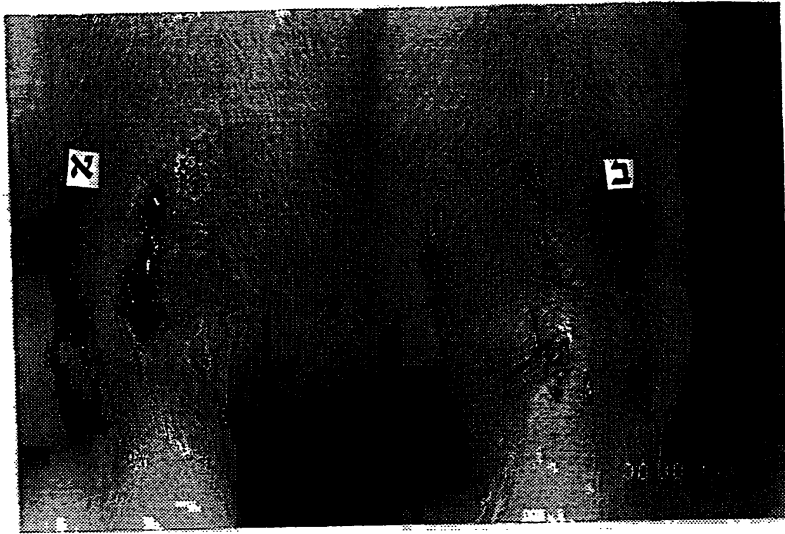


실험적 랫

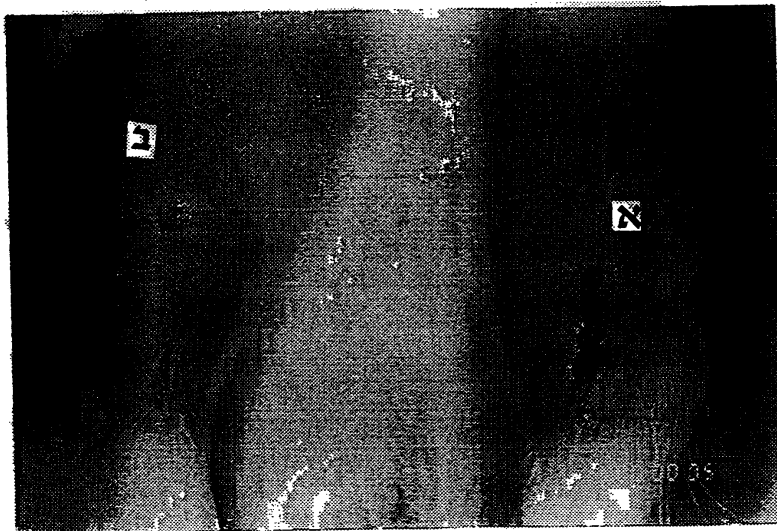
도면5



도면6a



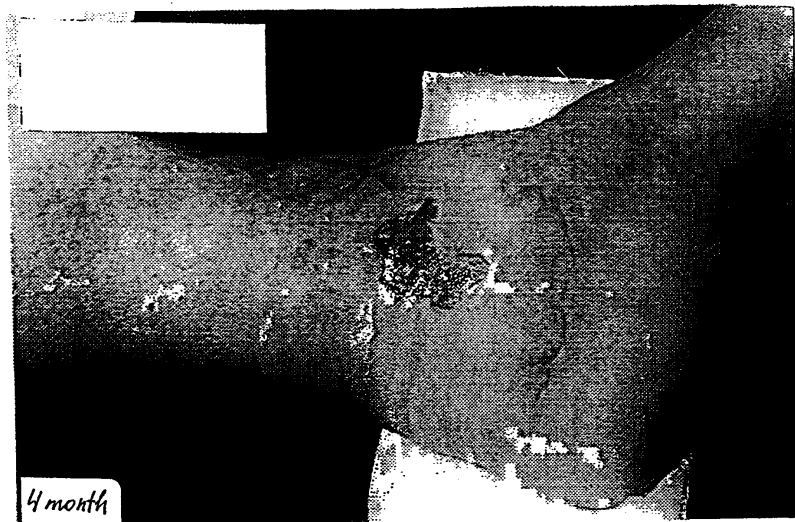
도면6b



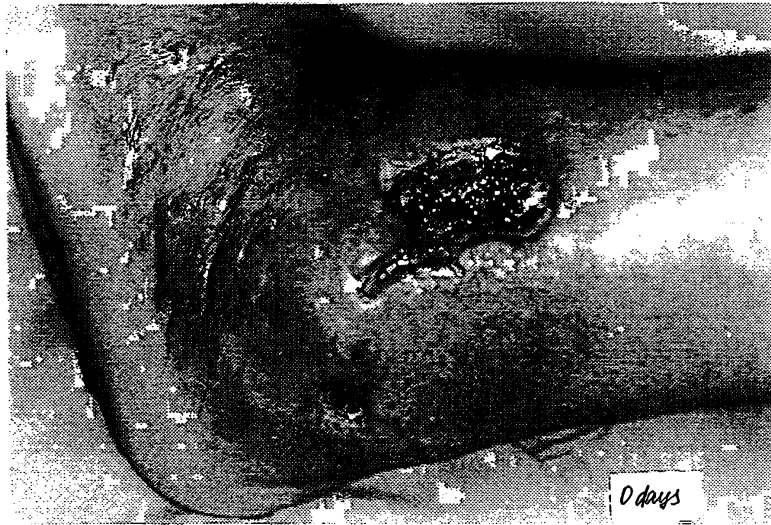
도면7a



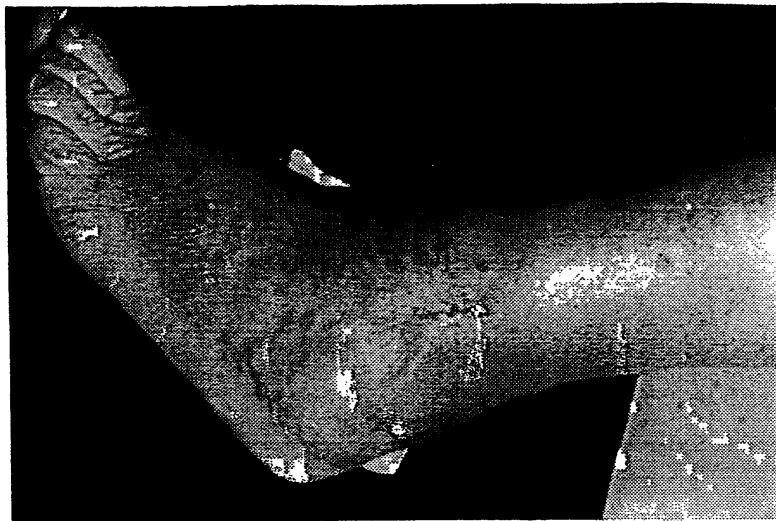
도면7b



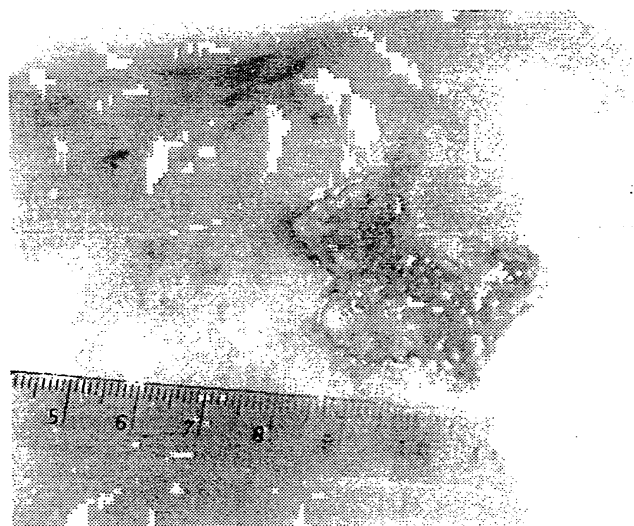
도면7c



도면7d



도면8a



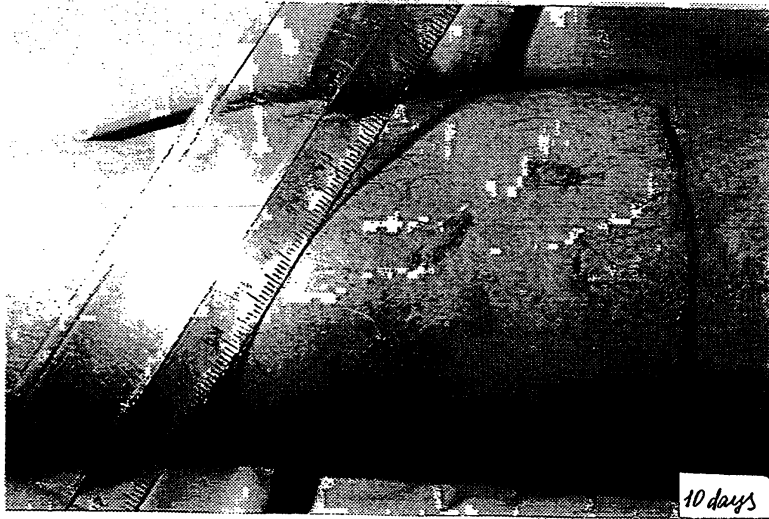
도면8b



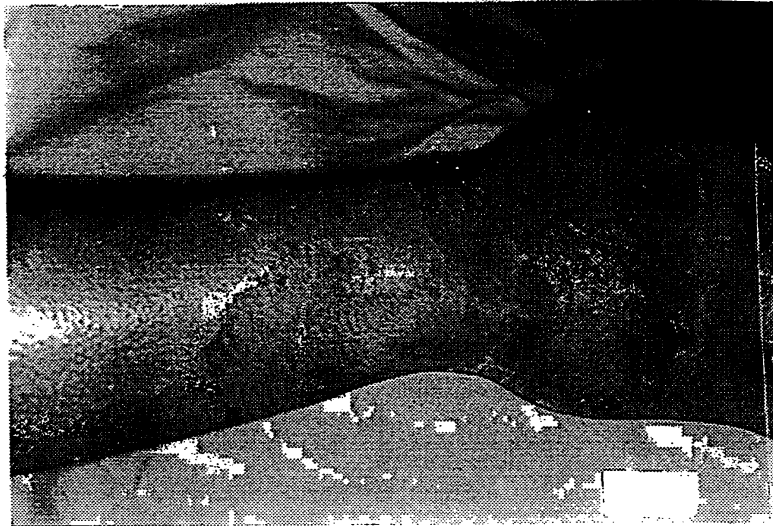
도면9a



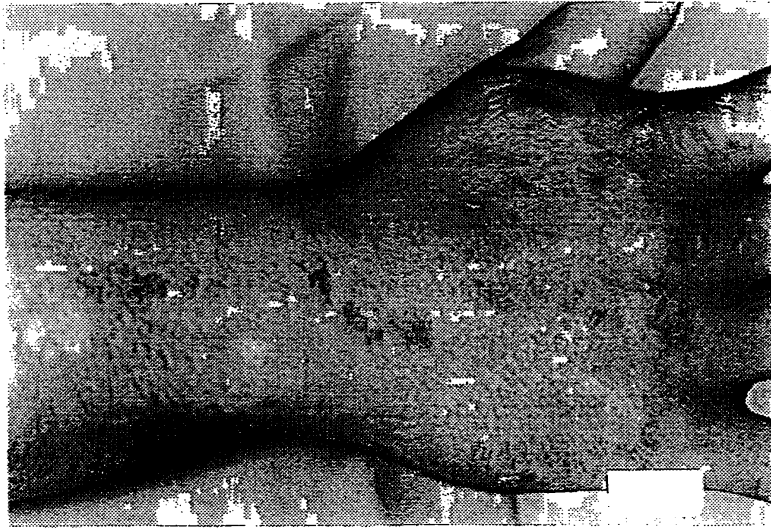
도면9b



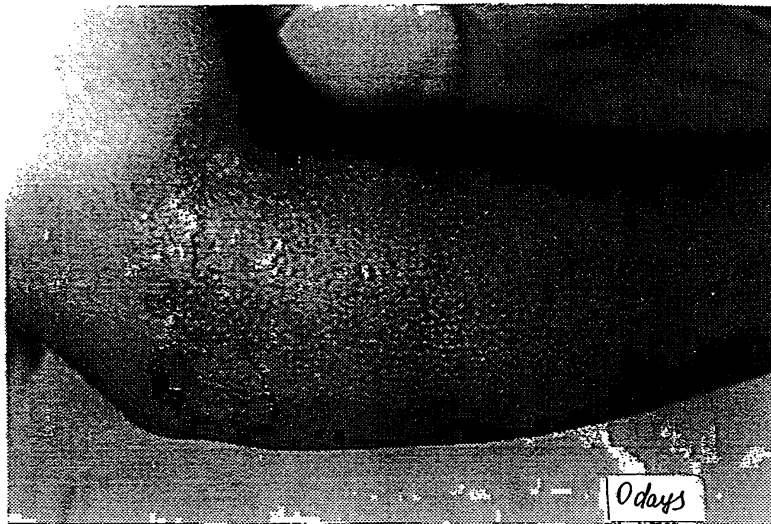
도면10a



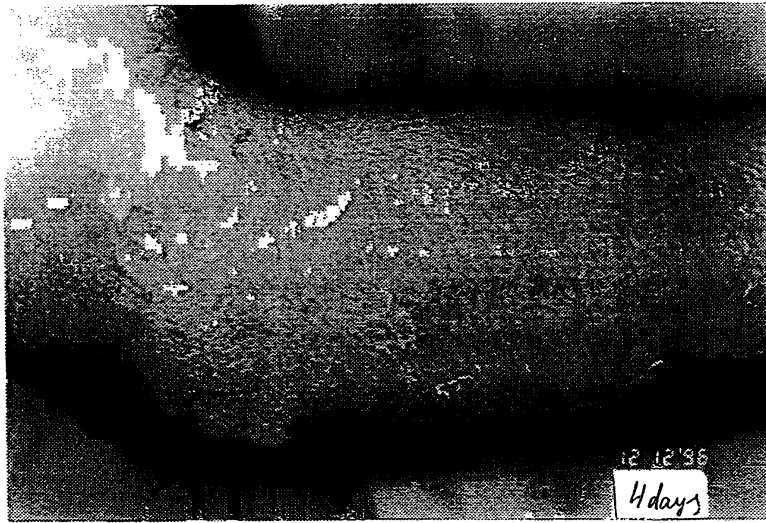
도면10b



도면10c



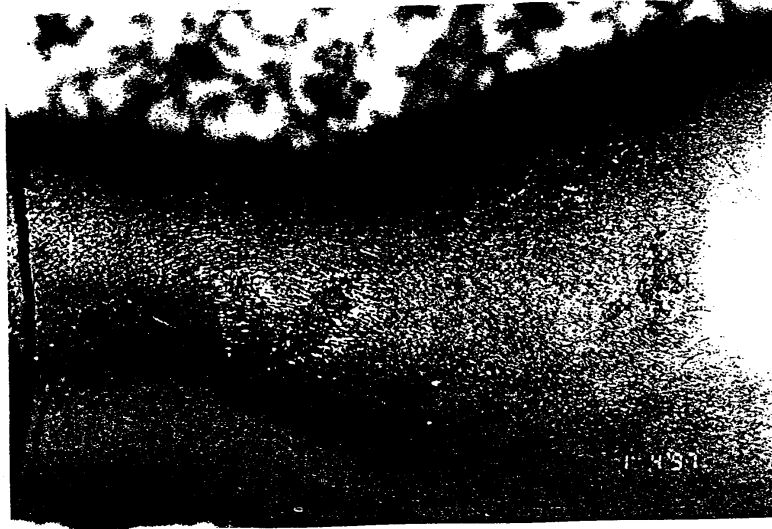
도면10d



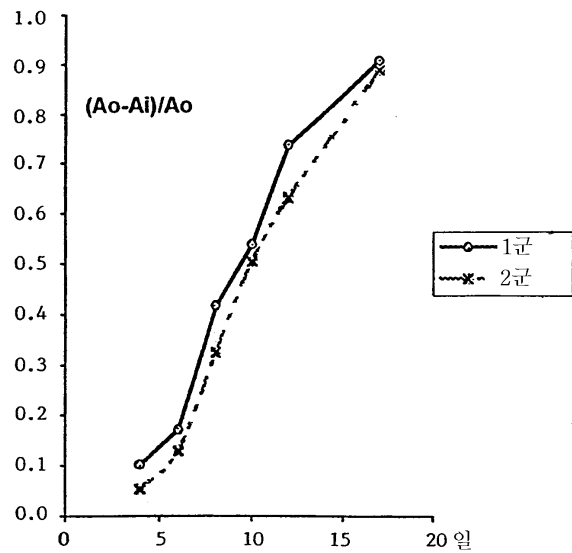
도면11a



도면11b



도면12



상처 봉합에 있어서 액체 및 겔의 효능 비교

1군-겔로 처리한 상처
2군-의약의 액체 형태로 처리한 상처