



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0153142  
(43) 공개일자 2021년12월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 8/64 (2006.01) A61K 38/01 (2006.01)  
A61K 8/02 (2006.01) A61K 8/27 (2006.01)  
A61K 8/29 (2006.01) A61K 8/67 (2006.01)  
A61K 8/92 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01)  
C07K 14/435 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A61K 8/64 (2013.01)  
A61K 38/012 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2021-7039838(분할)  
(22) 출원일자(국제) 2014년09월30일  
심사청구일자 없음  
(62) 원출원 특허 10-2016-7011430  
원출원일자(국제) 2014년09월30일  
심사청구일자 2019년09월27일  
(85) 번역문제출일자 2021년12월03일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2014/058462  
(87) 국제공개번호 WO 2015/048805  
국제공개일자 2015년04월02일  
(30) 우선권주장  
61/884,820 2013년09월30일 미국(US)  
(뒷면에 계속)

(71) 출원인  
실크 테라퓨틱스, 인코퍼레이티드  
미국, 메사추세츠 02155, 메드포드, 보스턴 애버뉴 196  
(72) 발명자  
알트만, 그레고리, 에이치.  
미국, 메사추세츠 02474, 알링턴, 메디슨 애버뉴 101  
호란, 레베카, 엘.  
미국, 메사추세츠 02474, 알링턴, 락커웨이 레인 12  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
강명구

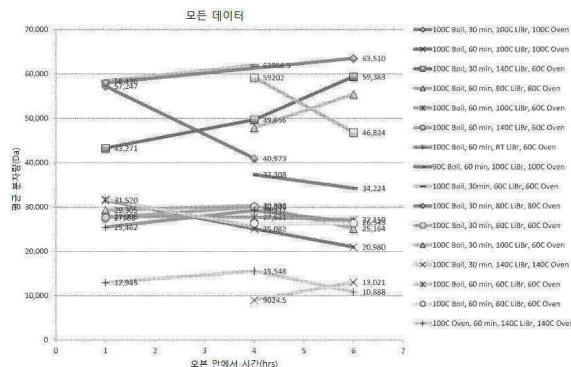
전체 청구항 수 : 총 117 항

(54) 발명의 명칭 실크 단백질 단편 조성물 및 이로부터 제작된 물질

(57) 요약

실질적으로 세리신이 없는, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들이 포함된 조성물이 공개되며, 이때 상기 조성물은 약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고, 이때 상기 조성물은 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 갖고, 이때 상기 조성물은 실질적으로 균일하고, 이때 상기 조성물은 0 ppm 내지 약 500 ppm의 무기 잔유물들을 포함하며, 이때 상기 조성물은 0 ppm 내지 약 500 ppm의 유기 잔유물을 포함한다.

대표도



(52) CPC특허분류

*A61K 8/0216* (2013.01)  
*A61K 8/27* (2013.01)  
*A61K 8/29* (2013.01)  
*A61K 8/676* (2013.01)  
*A61K 8/678* (2013.01)  
*A61K 8/922* (2013.01)  
*A61Q 19/08* (2013.01)  
*C07K 14/43586* (2013.01)

(72) 발명자

**다우, 라첼, 리**

미국, 메사추세츠 02155, 메드포드, 힐즈데일 로드  
 76

**린드, 라첼, 엠.**

미국, 뉴욕 10589, 소머스, 워터뷰 드라이브 647에  
 이

**하스, 딜런, 에스.**

미국, 뉴욕 10598, 요커타운 하이츠, 그윈 드라이  
 브 8

(30) 우선권주장

62/000,928	2014년05월20일	미국(US)
62/036,450	2014년08월12일	미국(US)
14/503,021	2014년09월30일	미국(US)
14/503,076	2014년09월30일	미국(US)

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

다음을 포함하는 조성물:

실질적으로 세리신이 없는 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들,

이때 상기 조성물은 약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고,

이때 상기 조성물은 약 1.5 내지 약 3.0 사이의 다분산성을 갖고,

이때 상기 조성물은 실질적으로 균질하며,

이때 상기 조성물은 0 ppm 내지 약 500 ppm의 무기 잔유물을 포함하며, 그리고

이때 상기 조성물은 0 ppm 내지 약 500 ppm의 유기 잔유물을 포함한다.

#### 청구항 2

청구항 1에 있어서, 이때 무기 잔유물은 리튬 브롬화물을 포함하며, 유기 잔유물은 탄산나트륨을 포함하는, 조성물.

#### 청구항 3

청구항 2에 있어서, 10 ppm 내지 300 ppm의 리튬 브롬화물 잔유물과 10 ppm 내지 100 ppm의 탄산나트륨 잔유물을 포함하는, 조성물.

#### 청구항 4

청구항 3에 있어서, 이때 상기 리튬 브롬화물 잔유물은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정가능하며, 그리고 탄산나트륨 잔유물은 고성능액체크로마토그래피 탄산나트륨 분석을 이용하여 측정가능한, 조성물.

#### 청구항 5

청구항 1에 있어서, 10% 미만의 물을 더 포함하는, 조성물.

#### 청구항 6

청구항 1에 있어서, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 약 0.1 wt% 내지 약 30.0 wt% 인, 조성물.

#### 청구항 7

청구항 1에 있어서, 동결건조된 형태 또는 구조인, 조성물.

#### 청구항 8

청구항 1에 있어서, 용액 형태인, 조성물.

#### 청구항 9

청구항 8에 있어서, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 용액 안에서 안정적인, 조성물.

#### 청구항 10

청구항 8에 있어서, 이때 용액은 수성 용액인, 조성물.

#### 청구항 11

청구항 8에 있어서, 이때 용액은 유기 용액인, 조성물.

#### 청구항 12

청구항 1에 있어서, 밀봉된 용기 안에 있는, 조성물.

#### 청구항 13

청구항 1에 있어서, 치료제들, 성장인자들, 항산화제들, 단백질, 비타민, 탄수화물, 폴리머, 핵산, 염, 산, 염기, 생물분자들, 글리코사미노 글리칸, 폴리사카라이드, 세포외 매트릭스 분자들, 금속, 금속 이온, 금속 산화물, 합성 분자들, 폴리무수물, 세포, 지방산, 향수, 미네랄, 식물, 식물 추출물, 보존제 및 필수 오일로 구성된 집단으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 분자를 더 포함하는, 조성물.

#### 청구항 14

청구항 13에 있어서, 용액 형태인, 조성물.

#### 청구항 15

청구항 14에 있어서, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 용액 안에서 안정적인, 조성물.

#### 청구항 16

청구항 13에 있어서, 이때 비타민은 비타민 C 또는 이의 유도체인, 조성물.

#### 청구항 17

청구항 13에 있어서, 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 군에서 선택된 알파 히드록시 산을 더 포함하는, 조성물.

#### 청구항 18

청구항 13에 있어서, 약 0.5% 내지 약 10.0%의 농도로 히알루론산 또는 이의 염 형태를 더 포함하는, 조성물.

#### 청구항 19

청구항 13에 있어서, 산화 아연 또는 이산화 티타늄중 최소 한 가지를 더 포함하는, 조성물.

#### 청구항 20

청구항 1에 있어서, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 저자극성인, 조성물.

#### 청구항 21

청구항 1에 있어서, g 당 10CFU 미만을 갖는, 조성물.

#### 청구항 22

다음을 포함하는 필름:

실질적으로 세리신이 없고, 다음을 포함하는 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들:

약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고; 그리고

약 1.5 내지 약 3.0 사이의 다분산성을 갖고,

이때 상기 필름은 약 2.0 wt. % 내지 약 20.0 wt 범위의 물 함량을 가지며,

이때 상기 필름은 0 ppm 내지 500 ppm의 무기 잔유물을 포함하며,

이때 상기 필름은 0 ppm 내지 500 ppm의 유기 잔유물을 포함하고, 그리고

이때 상기 필름은 해부학적 형태에 맞도록 충분한 유연성을 갖는다.



### 청구항 23

청구항 22에 있어서, c약 1.0% 내지 약 50.0% 결정 단백질 도메인을 포함하고, 실온에서 물에 잠기면, 용해가능한, 필름.

### 청구항 24

청구항 22에 있어서, 약 30.0 wt. % 내지 약 99.5 wt. %의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함하는, 필름.

### 청구항 25

청구항 22에 있어서, pH 약 1.0 내지 약 7.0을 갖는, 필름.

### 청구항 26

청구항 22에 있어서, 약 0.5 wt. % 내지 약 2.5 wt. %의 카페인을 더 포함하는, 필름.

### 청구항 27

청구항 22에 있어서, 약 1.0 wt. % 내지 약 50.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 더 포함하는, 필름.

### 청구항 28

청구항 27에 있어서, 이때 비타민 C 또는 이의 유도체는 약 5 일 내지 약 5 년 기간 동안 상기 필름 안에서 안정적으로 유지되는, 필름.

### 청구항 29

청구항 27에 있어서, 이때 비타민 C 또는 이의 유도체는 상기 필름 안에서 안정적이며, 생물학적으로 활성 형태로 비타민 C가 방출되는, 필름.

### 청구항 30

청구항 22에 있어서, 치료제들, 성장인자들, 항산화제들, 단백질, 탄수화물, 폴리머, 핵산, 염, 산, 염기, 생물 분자들, 글리코사미노 글리칸, 폴리사카라이드, 세포외 매트릭스 분자들, 금속, 금속 이온, 금속 산화물, 합성 분자들, 폴리무수물, 세포, 지방산, 향수, 미네랄, 식물, 식물 추출물, 보존제 및 필수 오일로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 분자를 더 포함하는, 필름.

### 청구항 31

청구항 22에 있어서, 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 군에서 선택된 알파 히드록시 산을 더 포함하는, 필름.

### 청구항 32

청구항 22에 있어서, 약 0.5 wt. % 내지 약 10.0 wt. % 범위의 농도로 히알루론산 또는 이의 염 형태를 더 포함하는, 필름.

### 청구항 33

청구항 22에 있어서, 산화 아연 또는 이산화 티타늄중 최소 한 가지를 더 포함하는, 필름.

### 청구항 34

청구항 22에 있어서, 밀봉 및 빛 차단되는 포일계통 포장 안에 포장되는, 필름.

### 청구항 35

청구항 22에 있어서, 국소 적용에 맞도록 충분히 기획된, 필름.

#### 청구항 36

청구항 22에 있어서, 신체 안으로 투여하는데 적합하도록 기획된 필름.

#### 청구항 37

청구항 22에 있어서, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 저자극성인, 필름.

#### 청구항 38

잔주름 및 주름을 감소시키는 방법:

청구항 22의 필름을 사람의 피부에 최소한 일주일 동안 바르고; 그리고

사람의 피부에서 잔주름 및 주름 감소를 관찰한다.

#### 청구항 39

다음을 포함하는 겔:

실질적으로 세리신이 없고, 다음을 포함하는 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들:

약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고; 그리고

약 1.5 내지 약 3.0 사이의 다분산성을 갖고; 그리고

약 20 wt. % 내지 약 99.9 wt. %의 물,

이때 상기 겔은 0 ppm 내지 500 ppm의 무기 잔유물을 포함하고, 그리고

이때 상기 겔은 0 ppm 내지 500 ppm의 유기 잔유물을 포함한다.

#### 청구항 40

청구항 39에 있어서, 약 1.0% 내지 약 50.0% 결정 단백질 도메인을 포함하는, 겔.

#### 청구항 41

청구항 39에 있어서, 약 0.1 wt. % 내지 약 6.0 wt. %의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함하는, 겔.

#### 청구항 42

청구항 39에 있어서, pH 약 1.0 내지 약 7.0을 갖는, 겔.

#### 청구항 43

청구항 39에 있어서, 약 0.5 wt. % 내지 약 20.0 wt. %의 비타민 C 또는 그의 유도체를 더 포함하는, 겔.

#### 청구항 44

청구항 43에 있어서, 이때 비타민 C 또는 그의 유도체는 약 5 일 내지 약 5 년 기간 동안 상기 겔 안에서 안정적으로 유지되는, 겔.

#### 청구항 45

청구항 43에 있어서, 이때 비타민 C 또는 그의 유도체는 상기 겔 안에서 안정적이며, 생물학적으로 활성 형태로 비타민 C가 방출되는, 겔.

#### 청구항 46

청구항 39에 있어서, 비타민 E, 로즈마리 오일, 장미 오일, 레몬 주스, 레몬 글라스 오일 및 카페인으로 구성된 집단에서 선택된 첨가제를 더 포함하는, 겔.

#### 청구항 47

청구항 39에 있어서, 밀폐 용기 안에 포장되는, 겔.

#### 청구항 48

청구항 39에 있어서, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 저자극성인, 겔.

#### 청구항 49

청구항 39에 있어서, mL 당 10CFU 미만을 갖는, 겔.

#### 청구항 50

사람의 피부를 매끄럽게 하고, 회춘시키는 방법:

청구항 39의 겔을 사람의 피부에 최소한 일주일 동안 바르고; 그리고  
피부 결의 개선을 관찰한다.

#### 청구항 51

다음을 포함하는 세럼:

실질적으로 세리신이 없고, 다음을 포함하는 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들:

약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고; 그리고

약 1.5 내지 약 3.0 사이의 다분산성을 갖고; 그리고

약 0.5% 내지 약 10.0% 히알루론산 또는 이의 염 형태,

이때 상기 세럼은 0 ppm 내지 500 ppm의 무기 잔유물을 포함하고, 그리고

이때 상기 세럼은 0 ppm 내지 500 ppm의 유기 잔유물을 포함한다.

#### 청구항 52

청구항 51에 있어서, 약 1.0% 내지 약 50.0% 결정 단백질 도메인을 포함하는, 세럼.

#### 청구항 53

청구항 51에 있어서, 약 0.1 wt. % 내지 약 6.0 wt. %의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함하는, 세럼.

#### 청구항 54

청구항 51에 있어서, pH는 약 1.0 내지 약 7.0인, 세럼.

#### 청구항 55

청구항 51에 있어서, 비타민 E, 로즈마리 오일, 장미 오일, 레몬 주스, 레몬 글라스 오일, 바닐라, 제라늄, 및 녹차로 구성된 집단에서 선택된 첨가제를 더 포함하는, 세럼.

#### 청구항 56

청구항 51에 있어서, 약 0.5 wt. % 내지 약 30.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 더 포함하는, 세럼.

#### 청구항 57

청구항 56에 있어서, 이때 비타민 C 또는 이의 유도체는 약 5 일 내지 약 5 년 기간 동안 상기 겔 안에서 안정적으로 유지되는, 세럼.

#### 청구항 58

청구항 56에 있어서, 이때 비타민 C 또는 이의 유도체는 상기 겔 안에서 안정적이며, 생물학적으로 활성 형태로 비타민 C가 방출되는, 세럼.

#### 청구항 59

청구항 51에 있어서, 밀폐 용기 안에 포장되는, 세럼.

#### 청구항 60

청구항 51에 있어서, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 저자극성인, 세럼.

#### 청구항 61

사람의 피부에 수분을 제공하는 방법:

청구항 51의 세럼을 사람의 피부에 최소한 일주일 동안 바르고; 그리고

피부 수분공급 개선을 관찰한다.

#### 청구항 62

다음에 포함하는 피부 박피 조성물: 최소한 한 가지 피부 박리제와 복합되어, 실질적으로 세리신이 없는, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함하고, 상기 단편들은 약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량과, 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 갖는다.

#### 청구항 63

청구항 62에 있어서, 이때 최소한 한 가지 피부 박리제는 글리콜산 및 젖산으로 구성된 군에서 선택되는, 피부 박리제.

#### 청구항 64

청구항 62에 있어서, 약 1.0% 내지 약 50.0% 결정 단백질 도메인을 포함하는, 피부 박피 조성물.

#### 청구항 65

청구항 62에 있어서, pH가 약 1.0 내지 약 6.0인, 피부 박피 조성물.

#### 청구항 66

청구항 62에 있어서, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 저자극성인 피부 박피 조성물.

#### 청구항 67

약 6 kDa 내지 약 16 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖는 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 만드는 방법에 있어서, 상기 방법은:

약 30 분 내지 약 60 분의 처리 기간 동안 끓는 탄산나트륨 수성 용액에 실크 원료를 추가하여, 실크 원료를 탈검시키고;

실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인 추출물을 만들기 위하여 용액으로부터 세리신을 제거하고;

상기 실크 피브로인 추출물로부터 용액을 배출시키고;

약 60℃ 내지 약 140℃ 범위의 리튬 브롬화물용액 안에 실크 피브로인 추출물을 위치시킬 때 출발 온도를 갖는 리튬 브롬화물 용액 안에 실크 피브로인 추출물을 용해시키고;

약 140℃ 온도의 오븐 안에 최소한 1 시간 동안 실크 피브로인-리튬 브롬화물 용액을 유지시키고;

상기 실크 피브로인 추출물로부터 리튬 브롬화물을 빼내고; 그리고

순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액이 만들어지는 것을 포함하며,

이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 0 ppm 내지 약 300 ppm의 리튬 브롬화물 잔유

물을 포함하고,

이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 0 ppm 내지 약 100 ppm의 탄산나트륨염을 포함하며,

이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 6 kDa 내지 약 16 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고, 그리고

이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 1.0 내지 약 3.0의 다분산성을 포함하는, 방법.

#### 청구항 68

청구항 67에 있어서, 용해 단계 전, 실크 피브로인 추출물을 건조시키는 단계를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 69

청구항 67에 있어서, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 용액은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정하였을 때, 300 ppm 미만의 리튬 브롬화물 잔유물을 포함하는, 방법.

#### 청구항 70

청구항 67에 있어서, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 용액은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정하였을 때, 100 ppm 미만의 리튬 브롬화물 잔유물을 포함하는, 방법.

#### 청구항 71

청구항 67에 있어서, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 치료제의 추가를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 72

청구항 67에 있어서, 항산화제 또는 효소중에서 선택된 분자를 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 73

청구항 67에 있어서, 비타민을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 것을 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 74

청구항 73에 있어서, 이때 비타민은 비타민 C 또는 이의 유도체인, 방법.

#### 청구항 75

청구항 67에 있어서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 동결건조시키는 것을 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 76

청구항 67에 있어서, 알파 히드록시산을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 것을 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 77

청구항 76에 있어서, 이때 알파 히드록시산은 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 집단에서 선택되는, 방법.

#### 청구항 78

청구항 76에 있어서, 약 0.5% 내지 약 10.0% 농도의 히알루론산 및 이의 염을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 것을 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 79

청구항 67에 있어서, 산화 아연 또는 이산화 티타늄 중 최소 한 가지를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 80

청구항 67에 따라 만들어진 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 직조되고, 약 1.0 wt. % 내지 약 50.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 포함하는 필름에 있어서, 이때 미용 필름은 약 2.0 wt. % 내지 약 20.0 wt. %의 물 함량을 갖는, 필름

#### 청구항 81

청구항 80에 있어서, 약 30.0 wt. % 내지 약 99.5 wt. %의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함하는, 필름.

#### 청구항 82

청구항 67에 따라 만들어진 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 직조되고, 약 0.5 wt. % 내지 약 20.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 포함하는 필름.

#### 청구항 83

청구항 82에 있어서, 최소한 2%의 실크 함량을 갖고, 최소한 20%의 비타민 함량을 갖는, 필름.

#### 청구항 84

약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖는 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 만드는 방법에 있어서, 상기 방법은:

약 30 분 내지 약 60 분의 처리 기간 동안 끓는 탄산나트륨 수성 용액에 실크 원료를 추가하여, 실크 원료를 탈검시키고;

실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인 추출물을 만들기 위하여 용액으로부터 세리신을 제거하고;

상기 실크 피브로인 추출물로부터 용액을 배출시키고;

약 80℃ 내지 약 140℃ 범위의 리튬 브롬화물 용액 안에 실크 피브로인 추출물을 위치시킬 때 출발 온도를 갖는 리튬 브롬화물 용액 안에 실크 피브로인 추출물을 용해시키고;

약 60℃ 내지 약 100℃ 온도의 건조 오븐 안에 최소한 1 시간 동안 실크 피브로인-리튬 브롬화물 용액을 유지시키고;

상기 실크 피브로인 추출물로부터 리튬 브롬화물을 빼내고; 그리고

순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액이 만들어지는 것을 포함하며,

이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 0 ppm 내지 약 300 ppm의 리튬 브롬화물 잔유물을 포함하고,

이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 0 ppm 내지 약 100 ppm의 탄산나트륨염을 포함하며,

이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖는 단편들을 포함하고, 그리고

이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 1.0 내지 약 3.0의 다분산성을 포함하는, 방법.

#### 청구항 85

청구항 84에 있어서, 용해 단계 전, 실크 피브로인 추출물을 건조시키는 단계를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 86

청구항 84에 있어서, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 용액은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정하였을 때, 300 ppm 미만의 리튬 브롬화물 잔유물을 포함하는, 방법.

#### 청구항 87

청구항 84에 있어서, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 용액은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정하였을 때, 100 ppm 미만의 리튬 브롬화물 잔유물을 포함하는, 방법.

#### 청구항 88

청구항 84에 있어서, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 치료제의 추가를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 89

청구항 84에 있어서, 항산화제 또는 효소중에서 선택된 분자를 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 90

청구항 84에 있어서, 비타민을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 것을 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 91

청구항 84에 있어서, 이때 비타민은 비타민 C 또는 이의 유도체인, 방법.

#### 청구항 92

청구항 84에 있어서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 동결건조시키는 것을 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 93

청구항 84에 있어서, 알파 히드록시산을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 것을 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 94

청구항 93에 있어서, 이때 알파 히드록시산은 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 집단에서 선택되는, 방법.

#### 청구항 95

청구항 93에 있어서, 약 0.5% 내지 약 10.0% 농도의 히알루론산 및 이의 염을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 것을 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 96

청구항 93에 있어서, 산화 아연 또는 이산화 티타늄중 최소 한 가지를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 97

청구항 84에 따라 만들어진 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 직조되고, 약 1.0 wt. % 내지 약 50.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 포함하는 필름에 있어서, 이때 미용 필름은 약 2.0 wt. % 내지 약 20.0 wt. %의 물 함량을 갖는, 필름

#### 청구항 98

청구항 97에 있어서, 약 30.0 wt. % 내지 약 99.5 wt. %의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함하는, 필름.

#### 청구항 99

청구항 84에 따라 만들어진 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 직조되고, 약 0.5 wt. % 내지 약 20.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 포함하는 필름.

#### 청구항 100

청구항 99에 있어서, 최소한 2%의 실크 함량을 갖고, 최소한 20%의 비타민 함량을 갖는, 필름.

#### 청구항 101

약 39 kDa 내지 약 80 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖는 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 만드는 방법에 있어서, 상기 방법은

약 30 분의 처리 기간 동안 끓는 탄산나트륨 수성 용액에 실크 원료를 추가하여, 실크 원료를 탈검시키고;

실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인 추출물을 만들기 위하여 용액으로부터 세리신을 제거하고;

상기 실크 피브로인 추출물로부터 용액을 배출시키고;

약 80℃ 내지 약 140℃ 범위의 리튬 브롬화물용액 안에 실크 피브로인 추출물을 위치시킬 때 출발 온도를 갖는 리튬 브롬화물 용액 안에 실크 피브로인 추출물을 용해시키고;

약 60℃ 내지 약 100℃ 온도의 건조 오븐 안에 최소한 1 시간 동안 실크 피브로인-리튬 브롬화물 용액을 유지시키고;

상기 실크 피브로인 추출물로부터 리튬 브롬화물을 빼내고; 그리고

순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액이 만들어지는 것을 포함하며,

이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 0 ppm 내지 약 300 ppm의 리튬 브롬화물 잔유물을 포함하고,

이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 0 ppm 내지 약 100 ppm의 탄산나트륨염을 포함하며,

이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 39 kDa 내지 약 80 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖는 단편들을 포함하고, 그리고

이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 1.0 내지 약 3.0의 다분산성을 포함하는, 방법.

#### 청구항 102

청구항 101에 있어서, 용해 단계 전, 실크 피브로인 추출물을 건조시키는 단계를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 103

청구항 101에 있어서, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 용액은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정하였을 때, 300 ppm 미만의 리튬 브롬화물 잔유물을 포함하는, 방법.

#### 청구항 104



청구항 101에 있어서, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 용액은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정하였을 때, 100 ppm 미만의 리튬 브롬화물 잔유물을 포함하는, 방법.

#### 청구항 105

청구항 101에 있어서, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 치료제의 추가를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 106

청구항 101에 있어서, 항산화제 또는 효소중에서 선택된 분자를 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 107

청구항 101에 있어서, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 비타민의 추가를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 108

청구항 107에 있어서, 이때 비타민은 비타민 C 또는 이의 유도체인, 방법.

#### 청구항 109

청구항 101에 있어서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 동결건조시키는 것을 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 110

청구항 101에 있어서, 알파 히드록시산을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 것을 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 111

청구항 110에 있어서, 이때 알파 히드록시산은 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 집단에서 선택되는, 방법인 방법.

#### 청구항 112

청구항 101에 있어서, 약 0.5% 내지 약 10.0% 농도의 히알루론산 및 이의 염을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 것을 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 113

청구항 101에 있어서, 산화 아연 또는 이산화 티타늄중 최소 한 가지를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 114

청구항 101에 따라 만들어진 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 직조되고, 약 1.0 wt. % 내지 약 50.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 포함하는 필름에 있어서, 이때 미용 필름은 약 2.0 wt. % 내지 약 20.0 wt. %의 물 함량을 갖는, 필름.

#### 청구항 115

청구항 114에 있어서, 약 30.0 wt. % 내지 약 99.5 wt. %의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함하는, 필름.

#### 청구항 116

청구항 101에 따라 만들어진 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 직조되고, 약 0.5

wt. % 내지 약 20.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 포함하는 필름.

## 청구항 117

청구항 116에 있어서, 최소한 2%의 실크 함량을 갖고, 최소한 20%의 비타민 함량을 갖는, 필름.

## 발명의 설명

### 기술 분야

#### [0001] 관련 출원들

[0002] 본 출원은 2014년 9월 30일자로 제출된 U.S. 실용 출원 번호 14/503,021, 2014년 9월 30일자로 제출된 U.S. 실용 출원 번호 14/503,076, 2013년 9월 30일자로 제출된 U.S. 가출원 번호 61/884,820, 2014년 5월 20일자로 제출된 U.S. 가출원 번호 62/000,928, 그리고 2014년 8월 12일자로 제출된 U.S. 가출원 번호 62/036,450를 우선 권으로 주장하며, 이의 잇점을 청구한다. 이들 각 출원의 내용은 본 명세서에 전문이 참고자료에 편입된다.

### 배경 기술

#### [0003] 배경

[0004] 실크는 다양한 곤충 및 거미에 의해 생산되는 천연 폴리머다. 실크는 필라멘트 코어단백질, 실크 피브로인, 그리고 비-필라멘트성 단백질, 세리신(sericin)으로 구성된 끈적끈적한 코팅을 포함한다. 의료 분야에 사용을 위하여 실크는 역사적으로 연구되어 왔었다. 실크는 이의 천연 섬유성 형태로 잘 설명되어 왔으며, 그리고 실크 겔, 스폰지, 세럼(serums), 필름, 분말 및 합성물과 같은 잠재적으로 유용한 2차 형태에 대해 연구되고 있다. 이들 많은 2차 형태는 실크 섬유를 수성 실크 용액으로 가공한 후에만 만들어질 수 있다.

[0005] 실크 용액은 다양한 방법을 이용하여 생성되었으며, 최종 용액은 다양한 특징 및 다양한 순도 수준을 갖는다. 실크 용액은 의료 용도에 이용될 뿐만 아니라, 화장 및 전자제품과 같은 다른 영역으로 확장되어 왔었다.

### 발명의 내용

#### [0006] 요약

[0007] 실크 단백질 단편 조성물 및 이로부터 제작된 물품을 본 명세서에서 공개한다. 실크 단백질 단편 조성물은 더 가공되어 물을 다양한 수준으로 제거함으로써, 동결건조된 분말에서 수성 겔까지 광범위한 물품이 생성된다. 한 구체예에서, 본 명세서의 물품은 실크 필름이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 실크 필름은 입과 코 주변의 잔주름(fine lines)과 주름과 같은 피부의 잔주름들과 주름을 해결하는데 이용될 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 실크 필름은 피부 상의 암점(dark spots)을 해결하는데 이용될 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 실크 필름은 부어있는 눈(puffy eyes)을 감소시키는데 이용된다. 한 구체예에서, 본 명세서의 물품은 실크 겔이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 실크 겔은 펄밍 아이(firming eye) 겔로 이용될 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 실크 겔은 수분을 보충하고, 얼굴에 나타나는 빛을 복원시키는 동안, 세포 재생을 증가시킬 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 실크 겔은 수딩(soothing) 겔이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 실크 겔은 부어있는 눈을 감소시키는데 이용된다. 한 구체예에서, 본 명세서의 실크 겔은 눈 주변 다크 서클을 감소시키는데 이용된다. 한 구체예에서, 본 명세서의 물품은 실크 세럼이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 실크 세럼은 수화 세럼(hydrating serums)으로 이용되어 피부에 수분공급을 복원시킬 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 실크 세럼은 피부의 붉어짐, 여드름 및 과다색소침착을 치료하는데 이용될 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 물품은 제어된 방식으로 피부에 손상을 주는 화학적 실크 박피(peel)다. 한 구체예에서, 본 명세서의 화학적 실크 박피가 피부에 제공되면, 건강한, 생기가 넘치는 피부가 된다. 한 구체예에서, 본 명세서의 화학적 실크 박피가 피부에 제공되면, 피부의 잔주름들이 감소된다. 한 구체예에서, 본 명세서의 화학적 실크 박피가 피부에 제공되면, 피부가 탄탄(firming)해진다. 한 구체예에서, 본 명세서의 물품은 실크 자외선차단(sunscreen) 겔이다.

[0008] 본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 준비하는 방법들이 공개된다. 한 구체예에서, 특이적 평균 중량 평균 분자량 (MW) 범위 및 다분산성을 보유한 최소한 한 가지 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편 (SPF) 혼합물 용액이 만들어진다. 한 구체예에서, 약 6 kDa 내지 16 kDa 사이의 MW 범위 및 약 1.5 내지 약 3.0 사이의 다분산성 범위를 가진 최소한 SPF 혼합물 용액이 만들어진다. 한 구체예에서, 약 17 kDa 내지 38 kDa 사이의 MW 범위 및 약 1.5 내지 약 3.0 사이의 다분산성 범

위를 가진 최소한 SPF 혼합물 용액이 만들어진다. 한 구체예에서, 약 39 kDa 내지 80 kDa 사이의 MW 범위 및 약 1.5 내지 약 3.0 사이의 다분산성 범위를 가진 최소한 SPF 혼합물 용액이 만들어진다.

[0009]

본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 실질적으로 세리신이 없는 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들이 포함된 조성물이 공개되는데, 이때 상기 조성물은 약 6 kDa 내지 약 16 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고, 이때 상기 조성물은 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 갖고, 이때 상기 조성물은 실질적으로 균일하고, 이때 상기 조성물은 0 ppm 내지 약 500 ppm의 무기 잔유물들을 포함하며, 이때 상기 조성물은 0 ppm 내지 약 500 ppm의 유기 잔유물을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 약 10 ppm 내지 약 300 ppm의 리튬 브롬화물 잔유물과 약 10 ppm 내지 약 100 ppm의 탄산나트륨 잔유물을 갖는다. 한 구체예에서, 상기 리튬 브롬화물 잔유물은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정가능하며, 상기 탄산나트륨 잔유물은 고성능액체크로마토그래피 탄산나트륨 분석을 이용하여 측정가능하다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 10% 미만의 물을 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 동결건조된 구조, 이를 테면, 동결건조된 분말 형태이다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 용액 형태다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 약 0.1 wt% 내지 약 30.0 wt% 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함한다. 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 최소한 30 일 동안 용액 안에서 안정적이다. 한 구체예에서, 용어 "안정적"이란 용액의 색 또는 탁도에서 가시적 변화없이 자발적 또는 점진적 겔 형성이 없는 것을 말한다. 한 구체예에서, 용어 "안정적"이란 단편들의 응집이 없고, 따라서 시간이 경과함에 따라 분자량의 증가가 없음을 말한다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 수성 용액 형태다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 유기 용액 형태다. 상기 조성물은 밀봉된 용기 안에 제공될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 조성물은 치료제들, 성장인자들, 항산화제들, 단백질들, 비타민, 탄수화물, 폴리머, 핵산, 염, 산, 염기, 생물분자들, 글리코사미노 글리칸, 폴리사카라이드, 세포외 매트릭스 분자들, 금속, 금속 이온, 금속 산화물, 합성 분자들, 폴리무수물, 세포, 지방산, 향수, 미네랄, 식물, 식물 추출물, 보존제 및 필수 오일로 구성된 집단으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 분자를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 추가된 분자 또는 분자들은 상기 조성물 안에서 안정적 (가령, 시간의 경과에 있어서 활성을 유지하며), 그리고 바람직한 속도로 방출될 수 있다. 한 구체예에서, 상기 하나 또는 그 이상의 분자들은 비타민 C 또는 이의 유도체다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 집단에서 선택된 알파 히드록시산을 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 약 0.5% 내지 약 10.0% 농도에서 히알루론산 또는 이의 염을 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 산화 아연 또는 이산화 티타늄중 최소한 가지를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 조성물 안에 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 저자극성 (hypoallergenic)이다. 한 구체예에서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 생물적합성, 비-민감성, 및 비-면역원성이다. 한 구체예에서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 이식 또는 적용 후 생체 흡수가능한 또는 생체분해가능하다.

[0010]

본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 실질적으로 세리신이 없는, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들이 포함된 조성물이 공개되며, 이때 상기 조성물은 약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고, 이때 상기 조성물은 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 갖고, 이때 상기 조성물은 실질적으로 균일하고, 이때 상기 조성물은 0 ppm 내지 약 500 ppm의 무기 잔유물들을 포함하며, 이때 상기 조성물은 0 ppm 내지 약 500 ppm의 유기 잔유물을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 약 10 ppm 내지 약 300 ppm의 리튬 브롬화물 잔유물과 약 10 ppm 내지 약 100 ppm의 탄산나트륨 잔유물을 갖는다. 한 구체예에서, 상기 리튬 브롬화물 잔유물은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정가능하며, 상기 탄산나트륨 잔유물은 고성능액체크로마토그래피 탄산나트륨 분석을 이용하여 측정가능하다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 10% 미만의 물을 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 동결건조된 구조, 이를 테면, 동결건조된 분말 형태이다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 용액 형태다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 약 0.1 wt% 내지 약 30.0 wt% 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함한다. 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 최소한 30 일 동안 용액 안에서 안정적이다. 한 구체예에서, 용어 "안정적"이란 용액의 색 또는 탁도에서 가시적 변화없이 자발적 또는 점진적 겔 형성이 없는 것을 말한다. 한 구체예에서, 용어 "안정적"이란 단편들의 응집이 없고, 따라서 시간이 경과함에 따라 분자량의 증가가 없음을 말한다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 수성 용액 형태다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 유기 용액 형태다. 상기 조성물은 밀봉된 용기 안에 제공될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 조성물은 치료제들, 성장인자들, 항산화제들, 단백질들, 비타민, 탄수화물, 폴리머, 핵산, 염, 산, 염기, 생물분자들, 글리코사미노 글리칸, 폴리사카라이드, 세포외 매트릭스 분자들, 금속, 금속 이온, 금속 산화물, 합성 분자들, 폴리무수물, 세포, 지방산, 향수, 미네랄, 식물, 식물 추출물, 보존제 및 필수 오일로 구성된 집단으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 분자를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 추가된 분자 또는 분자들은 상기 조성물 안에서 안정적 (가령, 시간의 경과에 있어서 활성을

유지하며), 그리고 바람직한 속도로 방출될 수 있다. 한 구체예에서, 상기 하나 또는 그 이상의 분자들은 비타민 C 또는 이의 유도체다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 집단에서 선택된 알파 히드록시산을 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 약 0.5% 내지 약 10.0% 농도에서 히알루론산 또는 이의 염을 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 산화 아연 또는 이산화 티타늄중 최소한 가지를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 조성물 안에 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 저자극성이다. 한 구체예에서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 생물적합성, 비-민감성, 및 비-면역원성이다. 한 구체예에서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 이식 또는 적용 후 생체흡수가능한 또는 생체분해가능하다.

[0011] 본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 실질적으로 세리신이 없는, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들이 포함된 조성물이 공개되며, 이때 상기 조성물은 약 39 kDa 내지 약 80 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고, 이때 상기 조성물은 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 갖고, 이때 상기 조성물은 실질적으로 균일하고, 이때 상기 조성물은 0 ppm 내지 약 500 ppm의 무기 잔유물들을 포함하며, 이때 상기 조성물은 0 ppm 내지 약 500 ppm의 유기 잔유물을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 약 10 ppm 내지 약 300 ppm의 리튬 브롬화물 잔유물과 약 10 ppm 내지 약 100 ppm의 탄산나트륨 잔유물을 갖는다. 한 구체예에서, 상기 리튬 브롬화물 잔유물은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정가능하며, 상기 탄산나트륨 잔유물은 고성능액체크로마토그래피 탄산나트륨 분석을 이용하여 측정가능하다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 10% 미만의 물을 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 동결건조된 구조, 이를 테면, 동결건조된 분말 형태이다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 용액 형태다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 약 0.1 wt% 내지 약 30.0 wt% 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함한다. 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 최소한 30 일 동안 용액 안에서 안정적이다. 한 구체예에서, 용어 "안정적"이란 용액의 색 또는 탁도에서 가시적 변화없이 자발적 또는 점진적 겔 형성이 없는 것을 말한다. 한 구체예에서, 용어 "안정적"이란 단편들의 응집이 없고, 따라서 시간이 경과함에 따라 분자량의 증가가 없음을 말한다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 수성 용액 형태다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 유기 용액 형태다. 상기 조성물은 밀봉된 용기 안에 제공될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 조성물은 치료제들, 성장인자들, 항산화제들, 단백질들, 비타민, 탄수화물, 폴리머, 핵산, 염, 산, 염기, 생물분자들, 글리코사미노 글리칸, 폴리사카라이드, 세포외 매트릭스 분자들, 금속, 금속 이온, 금속 산화물, 합성 분자들, 폴리무수물, 세포, 지방산, 향수, 미네랄, 식물, 식물 추출물, 보존제 및 필수 오일로 구성된 집단으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 분자를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 추가된 분자 또는 분자들은 상기 조성물 안에서 안정적 (가령, 시간의 경과에 있어서 활성을 유지하며), 그리고 바람직한 속도로 방출될 수 있다. 한 구체예에서, 상기 하나 또는 그 이상의 분자들은 비타민 C 또는 이의 유도체다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 집단에서 선택된 알파 히드록시산을 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 약 0.5% 내지 약 10.0% 농도에서 히알루론산 또는 이의 염을 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 산화 아연 또는 이산화 티타늄중 최소한 가지를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 조성물 안에 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 저자극성이다. 한 구체예에서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 생물적합성, 비-민감성, 및 비-면역원성이다. 한 구체예에서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 이식 또는 적용 후 생체흡수가능한 또는 생체분해가능하다.

[0012] 본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 실질적으로 세리신이 없는, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들이 포함된 필름이 공개되며, 이 필름은 약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고; 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 포함하고, 이때 상기 필름은 약 2.0 wt. % 내지 약 20.0 wt. % 범위의 물 함량을 갖고, 이때 상기 필름은 0 ppm 내지 500 ppm의 무기 잔유물들을 포함하며, 이때 상기 필름은 0 ppm 내지 500 ppm의 유기 잔유물들을 포함하며, 이때 상기 필름은 해부학적 형태에 순응될 수 있는 충분한 유연성이 있다. 한 구체예에서, 상기 필름은 약 1.0% 내지 약 50.0% 결정 단백질 도메인을 포함하고, 실온에서 물에 잠기면, 용해가능하다. 한 구체예에서, 상기 필름은 약 30.0 wt. % 내지 약 99.5 wt. %의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 필름의 pH는 약 1.0 내지 약 7.0이다. 한 구체예에서, 상기 필름은 약 0.5 wt. % 내지 약 2.5 wt. %의 카페인을 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 필름은 약 1.0 wt. % 내지 약 50.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 더 포함한다. 한 구체예에서, 비타민 C 또는 이의 유도체는 약 5 일 내지 약 5 년 기간 동안 상기 필름 안에서 안정적으로 유지된다. 한 구체예에서, 비타민 C 또는 이의 유도체는 상기 필름 안에서 안정적이며, 생물학적으로 활성 형태로 비타민 C가 방출된다. 한 구체예에서, 상기 필름은 치료제들, 성장인자들, 항산화제들, 단백질, 탄수화물, 폴리머, 핵산, 염, 산, 염기, 생물분자들, 글리코사미노 글리칸, 폴리사카라이드, 세포외 매트릭스 분자들, 금속, 금속 이온, 금속 산화물, 합성 분자들, 폴리무수물, 세포,



지방산, 향수, 미네랄, 식물, 식물 추출물, 보존제 및 필수 오일로 구성된 집단으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 분자를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 필름은 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 집단에서 선택된 알파 히드록시산을 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 필름은 약 0.5 wt. % 내지 약 10.0 wt. % 범위의 농도로 히알루론산 또는 이의 염 형태를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 필름은 산화 아연 또는 이산화 티타늄 중 최소 한 가지를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 필름은 밀봉 및 빛 차단되는 포일계통 포장 안에 포장된다. 한 구체예에서, 상기 필름은 국소 적용에 맞도록 충분히 기획된다. 한 구체예에서, 상기 국소 적용은 미용을 위한 것이다. 한 구체예에서, 상기 국소 적용은 상처 드레싱을 위한 것이다. 한 구체예에서, 상기 필름은 신체 안에 투여하는데 충분히 적합하도록 기획된다. 한 구체예에서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 저자극성이다. 한 구체예에서, 잔주름 및 주름을 감소시키는 방법은 본 명세서의 필름을 최소한 일주일 기간 동안 매일 사람 피부에 바르고, 사람의 피부에서 잔주름들과 주름의 감소를 관찰하는 것을 포함한다.

[0013] 본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 실질적으로 세리신이 없는, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들이 포함된 겔이 공개되며, 이 필름은 약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고; 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 포함하고, 그리고 약 20 wt. % 내지 약 99.9 wt. % 범위의 물 함량을 포함하고, 이때 상기 겔은 0 ppm 내지 500 ppm의 무기 잔유물을 포함하며, 이때 상기 겔은 0 ppm 내지 500 ppm의 유기 잔유물을 포함하며, . 한 구체예에서, 상기 겔은 약 1.0% 내지 약 50.0% 결정 단백질 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 겔은 약 0.1 wt. % 내지 약 6.0 wt. %의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 겔의 pH는 약 1.0 내지 약 7.0이다. 한 구체예에서, 상기 겔은 약 0.5 wt. % 내지 약 20.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 더 포함한다. 한 구체예에서, 비타민 C 또는 이의 유도체는 약 5 일 내지 약 5 년 기간 동안 상기 겔 안에서 안정적으로 유지된다. 한 구체예에서, 비타민 C 또는 이의 유도체는 상기 겔 안에서 안정적이며, 생물학적으로 활성 형태로 비타민 C가 방출된다. 한 구체예에서, 상기 겔은 비타민 E, 로즈마리 오일, 장미 오일, 레몬 주스, 레몬 글라스 오일 및 카페인으로 구성된 집단에서 선택된 첨가제를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 겔은 밀폐 용기 안에 포장된다. 한 구체예에서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 저자극성이다. 한 구체예에서, 상기 겔은 밀리리터당 10 미만의 콜리니 형성 단위를 가진다. 한 구체예에서, 사람의 피부를 진정시키고, 회춘시키는 방법은 본 명세서의 겔을 최소한 일주일 기간 동안 매일 사람 피부에 바르고, 그리고 피부 결의 개선을 관찰하는 것을 포함한다.

[0014] 본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 실질적으로 세리신이 없는, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들이 포함된 세럼이 공개되며, 이 세럼은 약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고; 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 포함하고; 그리고 약 0.5% 내지 약 10.0%의 히알루론산 또는 이의 염 형태를 포함하고, 이때 상기 세럼은 0 ppm 내지 500 ppm의 무기 잔유물을 포함하고, 그리고 이때 상기 세럼은 0 ppm 내지 500 ppm의 유기 잔유물을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 세럼은 약 1.0% 내지 약 50.0% 결정 단백질 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 세럼은 약 0.1 wt. % 내지 약 6.0 wt. %의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 세럼의 pH는 약 1.0 내지 약 7.0이다. 한 구체예에서, 상기 세럼은 비타민 E, 로즈마리 오일, 장미 오일, 레몬 주스, 레몬 글라스 오일, 바닐라, 제라늄, 및 녹차로 구성된 집단에서 선택된 첨가제를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 세럼은 약 0.5 wt. % 내지 약 30.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 더 포함한다. 한 구체예에서, 비타민 C 또는 이의 유도체는 약 5 일 내지 약 5 년 기간 동안 상기 세럼 안에서 안정적으로 유지된다. 한 구체예에서, 비타민 C 또는 이의 유도체는 상기 세럼 안에서 안정적이며, 생물학적으로 활성 형태로 비타민 C가 방출된다. 한 구체예에서, 상기 세럼은 밀폐 용기 안에 포장된다. 한 구체예에서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 저자극성이다. 한 구체예에서, 사람의 피부에 수분을 공급하는 방법은 본 명세서의 세럼을 최소한 일주일 기간 동안 매일 사람 피부에 바르고, 그리고 피부 수분공급의 개선을 관찰하는 것을 포함한다.

[0015] 본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 최소한 한 가지 피부 박리제와 복합되어, 실질적으로 세리신이 없는, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들이 포함된 피부 박피 조성물이 공개되며, 상기 단편들은 약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량과, 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 갖는다. . 한 구체예에서, 상기 피부 박피 조성물은 글리콜산과 젖산으로 구성된 집단에서 선택된 최소한 한 가지 피부 박리제를 포함한다. 한 구체예에서, 상기 피부 박피 조성물은 약 1.0% 내지 약 50.0% 결정 단백질 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 피부 박피 조성물의 pH는 약 1.0 내지 약 6.0이다. 한 구체예에서, 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 저자극성이다.

[0016] 본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 약 6 kDa 내지 약 16 kDa의 평균 중량 평균 분자량을 갖는 순수 실크

피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 제조하는 방법이 공개되며, 상기 방법은 다음의 단계들을 포함한다: 실크 원료를 끓는 (100℃) 탄산나트륨 수성 용액에 넣고 약 30 분 내지 약 60 분을 처리하여 실크 원료를 탈검(degumming)시키는 단계; 상기 용액으로부터 세리신을 제거하여탐지불가능한 수준의 세리신이 포함된 실크 피브로인 추출물을 만드는 단계; 상기 실크 피브로인 추출물로부터 용액을 따라내는 단계; 리튬 브롬화물 용액 안에 상기 실크 피브로인 추출물을 넣을 때 약 60℃ 내지 약 140℃ 범위 시작 온도에서 리튬 브롬화물 용액에 실크 피브로인 추출물을 용해시키는 단계; 약 140℃ 온도의 오븐 안에 최소한 1 시간 동안 실크 피브로인-리튬 브롬화물 용액을 유지시키는 단계; 실크 피브로인 추출물로부터 상기 리튬 브롬화물을 제거하는 단계; 그리고 실크 단백질 단편들의 수성 용액을 만드는 단계, 상기 수성 용액은 약 6 kDa 내지 약 16 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고, 이때 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 용해 단계 전, 실크 피브로인 추출물을 건조시키는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 수성 용액 안에 리튬 브롬화물 잔유물의 양은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정될 수 있다. 한 구체예에서, 수성 용액 안에 탄산나트륨 잔유물의 양은 고성능액체크로마토그래피 탄산나트륨 분석을 이용하여 측정될 수 있다. 한 구체예에서, 상기 방법은 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 치료제를 추가하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 항산화제 또는 효소중에서 선택된 분자를 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 비타민을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 비타민은 비타민 C 또는 이의 유도체중 하나에서 선택된다. 한 구체예에서, 상기 방법은 알파 히드록시산을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 알파 히드록시산은 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 집단에서 선택된다. 한 구체예에서, 상기 방법은 약 0.5% 내지 약 10.0% 농도의 히알루론산을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 산화 아연 또는 이산화 티타늄중 최소한 한 가지를 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 동결건조시키는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 미용 필름은 상기 실크 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 제작된다. 한 구체예에서, 미용 겔은 상기 실크 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 제작된다.

[0017]

본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 약 17 kDa 내지 약 38 kDa의 평균 중량 평균 분자량을 갖는 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 제조하는 방법이 공개되며, 상기 방법은 다음의 단계들을 포함한다: 실크 원료를 끓는 (100℃) 탄산나트륨 수성 용액에 넣고 약 30 분 내지 약 60 분을 처리하여 탈검(degumming)시키는 단계; 상기 용액으로부터 세리신을 제거하여탐지불가능한 수준의 세리신이 포함된 실크 피브로인 추출물을 만드는 단계; 상기 실크 피브로인 추출물로부터 용액을 따라내는 단계; 리튬 브롬화물 용액 안에 상기 실크 피브로인 추출물을 넣을 때 약 80℃ 내지 약 140℃ 범위 시작 온도에서 리튬 브롬화물 용액에 실크 피브로인 추출물을 용해시키는 단계; 약 60℃ 내지 약 100℃ 온도의 건조 오븐 안에 최소한 1 시간 동안 실크 피브로인-리튬 브롬화물 용액을 유지시키는 단계; 실크 피브로인 추출물로부터 상기 리튬 브롬화물을 제거하는 단계; 그리고 실크 단백질 단편들의 수성 용액을 만드는 단계, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 10 ppm 내지 약 300 ppm의 리튬 브롬화물 잔유물을 포함하고, 이때 상기 실크 단백질 단편들의 수성 용액은 약 10 ppm 내지 약 100 ppm의 탄산나트륨 잔유물을 포함하고, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고, 이때 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 용해 단계 전, 실크 피브로인 추출물을 건조시키는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 수성 용액 안에 리튬 브롬화물 잔유물의 양은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정될 수 있다. 한 구체예에서, 수성 용액 안에 탄산나트륨 잔유물의 양은 고성능액체크로마토그래피 탄산나트륨 분석을 이용하여 측정될 수 있다. 한 구체예에서, 상기 방법은 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 치료제를 추가하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 항산화제 또는 효소중에서 선택된 분자를 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 비타민을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 비타민은 비타민 C 또는 이의 유도체중 하나에서 선택된다. 한 구체예에서, 상기 방법은 알파 히드록시산을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 알파 히드록시산은 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 집단에서 선택된다. 한 구체예에서, 상기 방법은 약 0.5% 내지 약 10.0% 농도의 히알루론산을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들

의 수성 용액에 추가하는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 산화 아연 또는 이산화 티타늄중 최소한 한 가지를 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 수성 용액에 추가하는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 수성 용액을 동결건조시키는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 미용 필름은 상기 실크 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 제작된다. 한 구체예에서, 미용 겔은 상기 실크 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 제작된다.

[0018] 본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 약 39 kDa 내지 약 80 kDa의 평균 중량 평균 분자량을 갖는 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 제조하는 방법이 공개되며, 상기 방법은 다음의 단계들을 포함한다: 실크 원료를 끓는 (100℃) 탄산나트륨 수성 용액에 넣고 약 30 분을 처리하여 탈검(degumming)시키는 단계; 상기 용액으로부터 세리신을 제거하여탐지불가능한 수준의 세리신이 포함된 실크 피브로인 추출물을 만드는 단계; 상기 실크 피브로인 추출물로부터 용액을 따라내는 단계; 리튬 브롬화물 용액 안에 상기 실크 피브로인 추출물을 넣을 때 약 80℃ 내지 약 140℃ 범위 시작 온도에서 리튬 브롬화물 용액에 실크 피브로인 추출물을 용해시키는 단계; 약 60℃ 내지 약 100℃ 온도의 건조 오븐 안에 최소한 1 시간 동안 실크 피브로인-리튬 브롬화물 용액을 유지시키는 단계; 실크 피브로인 추출물로부터 상기 리튬 브롬화물을 제거하는 단계; 그리고 실크 단백질 단편들의 수성 용액을 만드는 단계, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 10 ppm 내지 약 300 ppm의 리튬 브롬화물 잔유물, 약 10 ppm 내지 약 100 ppm의 탄산나트륨 잔유물을 포함하고, 이때 단편들은 약 40 kDa 내지 약 65 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고, 이때 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 용해 단계 전, 실크 피브로인 추출물을 건조시키는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 수성 용액 안에 리튬 브롬화물 잔유물의 양은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정될 수 있다. 한 구체예에서, 수성 용액 안에 탄산나트륨 잔유물의 양은 고성능액체크로마토그래피 탄산나트륨 분석을 이용하여 측정될 수 있다. 한 구체예에서, 상기 방법은 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 치료제를 추가하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 항산화제 또는 효소중에서 선택된 분자를 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 비타민을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 비타민은 비타민 C 또는 이의 유도체중 하나에서 선택된다. 한 구체예에서, 상기 방법은 알파 히드록시산을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 알파 히드록시산은 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 집단에서 선택된다. 한 구체예에서, 상기 방법은 약 0.5% 내지 약 10.0% 농도의 히알루론산을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 산화 아연 또는 이산화 티타늄중 최소한 한 가지를 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 상기 방법은 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 동결건조시키는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 미용 필름은 상기 실크 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 제작된다. 한 구체예에서, 미용 겔은 상기 실크 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 제작된다.

[0019] 본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 본 명세서의 SPF 혼합물 용액으로부터 제조된 실크 필름이 개시된다. 한 구체예에서, 관심대상의 최소한 한 가지 분자 또는 치료제는 본 명세서의 SPF 혼합물 용액이 필름으로 가공되는 동안 이 용액 안에 물리적으로 포집된다. 본 명세서의 실크 필름을 이용하여 관심대상의 최소한 한 가지 분자 또는 치료제를 방출시킬 수 있다.

[0020] 본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 포집된 분자들 또는 치료제들을 갖는 실크 필름을 만드는 방법이 개시된다.

[0021] 본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 포집된 분자들 또는 치료제들 이를 데면, 다음 단락에 열거된 것들을 갖는 실크 겔을 만드는 방법이 개시된다. 한 구체예에서, 관심대상의 최소한 한 가지 분자 또는 치료제는 본 명세서의 SPF 혼합물 용액이 수성 겔로 가공되는 동안 이 용액 안에 물리적으로 포집된다. 본 명세서의 수성 실크 겔을 이용하여 관심대상의 최소한 한 가지 분자 또는 치료제를 방출시킬 수 있다.

[0022] 본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 본 명세서의 SPF 혼합물 용액은 다음을 포함하나, 이에 국한되지 않는 분자들을 포집하는 실크 필름 또는 수성 겔을 직조하는데 이용된다: 셀레늄, 유비퀴논 유도체들, 티올-기반 항산화제들, 사카라이드-포함 항산화제들, 폴리페놀, 식물 추출물들, 카페인산, 아피게닌, 피크로제놀, 레스베라트롤, 엽산, 비타민 b12, 비타민 b6, 비타민 b3, 비타민 E, 비타민 C 및 이의 유도체들, 비타민 D, 비타민 A, 아스탁사틴, 루테인, 리코펜, 필수 지방산 (오메가 3 및 6), 철, 아연, 마그네슘, 플라보노이드 (대두, 쿠르쿠민, 실리마린, 피콘겔), 성장인자들, 알로에, 히알루론산, 세포외 매트릭스 단백질, 세포, 핵산, 생물표지들,

생물학적 시약들, 산화 아연, 과산화 벤조일, 레티노이드, 티타늄, 카페인, 녹차, 공지의 투여 분량의 알레르겐 (민감성 치료용), 레몬그라스 또는 로즈마리 오일을 포함하나 이에 국한되지 않는 필수 오일, 및 향수. 본 명세서의 필름은 수분이 가해진 피부에 부착되어, 용이한 적용이 가능하며, 치료 부위로 표적화된 운반이 가능하고, 물로 닦아낼 수 있다. 분자 적재된(loaded) 필름, 겔 또는 세럼은 약물 운반, 의료 및 항-노화, 주름 및 잔주름들의 감소 및 방지, 잔주름들에 의한 눈가 잔주름 및 미간 주름 감소가 포함된 개인적 관리; 여드름 치료; UV 보호; 모든 유형의 상처 관리; 국소, 피내 및 피부 아래 그리고 이식가능한 의학적 그리고 약학적 제공; 모든 유형 및 상태의 염증, 이를 테면, 습진 또는 주사비; 고른 피부 색을 만들고, 색소 감소, 과다색소침착 치료, 여드름으로부터 생성된 암점 또는 검버섯, 임신 및 피임, 광손상; 반흔 및 임신선 감소, 그리고 여드름 흉터 감소를 위하여 이용될 수 있다. 본 명세서의 필름 또는 겔 안에 있는 분자들을 안정화시킴으로써, 활성 형태의 분자의 제어된 방출이 이루어진다. 한 구체예에서, 본 명세서의 필름 또는 겔은 매일 피부 치료(들)를 위하여 소비자에 적합한 시간 틀 안에서 이 분자를 운반할 수 있다. 한 구체예에서, 수성 또는 유기 용액 안의 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 조성물은 의료 및 소비 시장을 위한 섬유 또는 직물을 갖는데 이용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0023]

현재 공개된 구체예들은 첨부된 도면들을 참고하여 더 설명될 것이다. 나타낸 도면들은 반드시 일정 비율로 된 것이 아니며, 대신 일반적으로 현재 공개된 구체예들의 원리를 설명할 때 강조되어 있다.

도 1은 본 명세서의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들 (SPFs)을 만들기 위한 다양한 구체예들을 나타내는 순서도다.

도 2는 추출 및 용해 단계들 동안 본 명세서의 SPFs를 생산하는 공정 동안 변형될 수 있는 다양한 매개변수들을 나타내는 순서도다.

도 3은 추출된 건조 실크 피브로인을 나타내는 사진이다.

도 4는 본 명세서에서 용액 형태의 SPF의 구체예를 나타내는 사진이다.

도 5a-5d는 60℃ 오븐 안에서 4 시간 동안 용해된 실온 리튬 브롬화물 (LiBr) 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

도 6a-6d는 60℃ 오븐 안에서 6 시간 동안 용해된 실온 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

도 7a-7d는 60℃ 오븐 안에서 8 시간 동안 용해된 실온 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

도 8a-8d는 60℃ 오븐 안에서 12 시간 동안 용해된 실온 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

도 9a-9d는 60℃ 오븐 안에서 24 시간 동안 용해된 실온 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

도 10a-10c는 60℃ 오븐 안에서 168/192 시간 동안 용해된 실온 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

도 11a-11c는 60℃ 오븐 안에서 1, 4, 및 6 시간 동안 용해된 실온 LiBr 용액 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들으로써, 이때 세리신 추출은 100℃에서 60 분 동안 완료되었다.

도 12a-12d는 60℃ 오븐 안에서 1 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

도 13a-13d는 60℃ 오븐 안에서 4 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

도 14a-14d는 60℃ 오븐 안에서 6 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

도 15a-15d는 60℃ 오븐 안에서 1 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.



**도 16a-16d**는 60℃ 오븐 안에서 4 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 17a-17d**는 60℃ 오븐 안에서 4 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 18a-18d**는 60℃ 오븐 안에서 1 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 19a-19d**는 60℃ 오븐 안에서 4 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 20a-20d**는 60℃ 오븐 안에서 6 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 21a-21d**는 140℃(끓는 LiBr) 오븐 안에서 1 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 22a-22d**는 140℃(끓는 LiBr) 오븐 안에서 4 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 23a-23d**는 140℃(끓는 LiBr) 오븐 안에서 6 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 24a-24d**는 80℃ 오븐 안에서 1 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 25a-25d**는 80℃ 오븐 안에서 4 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 26a-26d**는 80℃ 오븐 안에서 6 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 27a-27d**는 100℃ 오븐 안에서 1 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 28a-28d**는 100℃ 오븐 안에서 4 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 29a-29d**는 100℃ 오븐 안에서 6 시간 동안 용해된 LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 30a-30d**는 120℃ 오븐 안에서 1시간 동안 용해된 140℃(끓는 LiBr) LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 31a-31d**는 120℃ 오븐 안에서 4시간 동안 용해된 140℃(끓는 LiBr) LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 32a-32d**는 120℃ 오븐 안에서 6시간 동안 용해된 140℃(끓는 LiBr) LiBr 용액 (세리신 추출 온도 및 시간은 변화되었다) 안에 용해된 실크를 보여주는 사진들이다.

**도 33**은 본 명세서의 실크 용액으로부터 본 명세서의 실크 필름을 만들기 위한 구체예를 나타내는 순서도다.

**도 34**는 본 명세서의 실크 필름 건조 연구를 위한 매개변수들의 구체예를 요약하고 있다.

**도 35**는 실크 필름 건조 시간을 나타내는 그래프다 (다양한 공기 흐름 및 온도 조건하에서).

**도 36a** 및 **36b**는 비타민 C가 포함된 시료로부터 HPLC 크로마토그램을 나타낸다. **도 36a**는 (1) 실온에서 화학적으로 안정화된 비타민 C 시료의 피크와 (2) 산화를 방지하기 위한 화학적 안정화없이(이때 분해 산물을 볼 수 있다), 실온에서 1시간 후 취한 비타민 C 시료의 피크를 나타낸다. **도 36b**는 실온에서 최소한 30 일 동안 노화된, 본 명세서의 실크 필름의 2가지 상이한 구체예의 피크를 나타낸다. 분해 산물들은 볼 수 없었다.

**도 37a-37d**는 개방 공기 흐름 하에 실온에서 48시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름을 나타내

는 사진이다.

도 38a-38d는 개방 공기 흐름 하에 40℃의 대류 오븐 안에서 8시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름을 나타내는 사진이다.

도 39a-39d는 개방 공기 흐름 하에 40℃의 대류 오븐 안에서 48시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름을 나타내는 사진이다.

도 40a-40d는 닫힌 접시 안에서 40℃의 대류 오븐 안에서 48시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름을 나타내는 사진이다.

도 41a-41d는 개방 접시 안에서 54℃의 대류 오븐 안에서 8시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름을 나타내는 사진이다.

도 42a-42d는 개방 접시 안에서 54℃의 대류 오븐 안에서 48시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름을 나타내는 사진이다.

도 43a-43d는 개방 접시 안에서 54℃의 필름 건조기 안에서 8시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름을 나타내는 사진이다.

도 44a-44d는 개방 접시 안에서 54℃의 필름 건조기 안에서 48시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름을 나타내는 사진이다.

도 45a-45d는 개방 접시 안에서 실온의 대류 오븐 안에서 48시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름을 나타내는 사진이다.

도 46a-46d는 개방 공기 흐름 하에 실온에서 48시간 동안 건조된 본 명세서의 형성된 실크 단백질 단편-필름의 물 안에 용해를 나타내는 사진이다.

도 47a-47d는 개방 공기 흐름 하에 40℃의 대류 오븐 안에서 8시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름의 물 안에 용해를 나타내는 사진이다.

도 48a-48d는 개방 공기 흐름 하에 40℃의 대류 오븐 안에서 48시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름의 물 안에 용해를 나타내는 사진이다.

도 49a-49d는 닫힌 접시에서 40℃의 대류 오븐 안에서 48시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름의 물 안에 용해를 나타내는 사진이다.

도 50a-50d는 개방 접시에서 54℃의 대류 오븐 안에서 8시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름의 물 안에 용해를 나타내는 사진이다.

도 51a-51d는 개방 접시에서 54℃의 대류 오븐 안에서 48시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름의 물 안에 용해를 나타내는 사진이다.

도 52a-52d는 개방 접시에서 54℃의 필름 건조기 안에서 8시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름의 물 안에 용해를 나타내는 사진이다.

도 53a-53d는 개방 접시에서 54℃의 필름 건조기 안에서 48시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름의 물 안에 용해를 나타내는 사진이다.

도 54a-54d는 개방 접시에서 실온의 대류 오븐 안에서 48시간 동안 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름의 물 안에 용해를 나타내는 사진이다.

도 55는 본 명세서의 실크 단백질 용액 안에 LiBr 및 탄산나트륨 ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )의 농도를 요약한 표다.

도 56은 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름 안에  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  농도를 요약한 표다.

도 57은 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름 안에 LiBr 농도를 요약한 표다.

도 58은 본 명세서의 실크 단백질 용액 안에 LiBr 및  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 의 농도를 요약한 표다.

도 59는 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름 안에 비타민 C 농도를 요약한 표다.

도 60은 화학적으로 안정화된 용액 안에 비타민 C의 안정성을 요약한 표다.

도 61은 본 명세서의 실크 단백질 용액의 분자량을 요약한 표다.

도 62a 및 62b는 질량 손실 %로 추출 용적의 효과를 나타내는 그래프다.

도 63은 상이한 LiBr 농도 및 상이한 추출 및 용해 크기로부터 용해된 실크 분자량을 요약한 표다.

도 64는 100℃ 추출 온도, 100℃ LiBr 및 100℃ 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 추출 시간의 효과를 요약한 표다.

도 65는 100℃ 추출 온도, 끓는 LiBr 및 60℃ 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 추출 시간의 효과를 요약한 표다.

도 66은 100℃ 추출 온도, 60℃ LiBr 및 60℃ 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 추출 시간의 효과를 요약한 표다.

도 67은 100℃ 추출 온도, 80℃ LiBr 및 80℃ 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 추출 시간의 효과를 요약한 표다.

도 68은 100℃ 추출 온도, 80℃ LiBr 및 60℃ 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 추출 시간의 효과를 요약한 표다.

도 69는 100℃ 추출 온도, 100℃ LiBr 및 60℃ 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 추출 시간의 효과를 요약한 표다.

도 70은 100℃ 추출 온도, 140℃ LiBr 및 140℃ 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 추출 시간의 효과를 요약한 표다.

도 71은 60분 추출 온도, 100℃ LiBr 및 100℃ 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 추출 온도의 효과를 요약한 표다.

도 72는 60분 추출 온도, 100℃ 추출 온도 및 60℃ 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 LiBr 온도의 효과를 요약한 표다.

도 73은 30분 추출 온도, 100℃ 추출 온도 및 60℃ 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 LiBr 온도의 효과를 요약한 표다.

도 74는 100℃ 추출 온도, 30분 추출 시간 및 100℃ 브롬화리튬 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 오븐/용해 시간의 효과를 요약한 표다.

도 75는 100℃ 추출 온도, 60분 추출 시간 및 100℃ 브롬화리튬 조건하에 가공된 실크 분자량에서 오븐/용해 시간의 효과를 요약한 표다. (오븐/용해 시간은 변화되었다)

도 76은 100℃ 추출 온도, 60분 추출 시간 및 140℃ 브롬화리튬 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 오븐/용해 시간의 효과를 요약한 표다.

도 77은 100℃ 추출 온도, 30분 추출 시간 및 140℃ 브롬화리튬 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 오븐/용해 시간의 효과를 요약한 표다.

도 78은 100℃ 추출 온도, 60분 추출 시간 및 80℃ 브롬화리튬 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 오븐/용해 시간의 효과를 요약한 표다.

도 79는 추출 시간, 추출 온도, 리튬 브롬화물 (LiBr) 온도, 용해를 위한 오븐 온도, 용해를 위한 오븐 시간이 포함된 조건들을 변화시키면서 가공된 실크의 분자량을 요약한 표다.

도 80은 오븐/용해 온도가 LiBr 온도와 대등한 조건하에서 가공된 실크의 분자량을 요약한 표다.

도 81은 PureProC™ 겔에서 비타민 C의 활성 %를 나타내는 그래프다.

도 82a-82c는 보관 후 필름 색 및 물리적인 통합성에 있어서 필름 건조의 효과를 나타내는 사진이다 (최다 건조 (도 82a), 최저 건조 (도 82c)).

도 83a 및 83b는 레이저 컷 실크 필름의 사진이다.

도 84는 30일 기간에 걸쳐 PureProC™과 경쟁대상 산물의 일일 투여분량(가령, 피부 25 cm<sup>2</sup> 면적을 덮는데 이용되는 산물의 평균 양)에서 비타민 C의 양을 요약한 그래프다.

도 85는 사용자의 경험으로 수집된 PureProC™의 사용 편의성을 요약한 그래프다.

도 86은 사용자의 관찰 및 소비자의 지식에 뒷받침된 PureProC™의 초기 장점들을 요약한 것이다.

도 87은 PureProC™ 스무딩(Smoothing) 겔을 이용한 시험 참가자들을 요약한 그래프다.

도 88은 시험 참가자들에 의한 PureProC™: 레몬글라스 스무딩 겔을 이용한 후 피부의 장점을 요약한 것이다.

도 89a-89b는 겔화에서 비타민 C 유도체와 함께, 또는 없이 비타민 C의 효과를 요약한 표다.

도 90은 본 명세서의 실크 필름 형성에 있어서, 비타민 C 및 비타민 C 유도체들의 효과를 요약한 표다.

도 91a-91b는 본 명세서의 실크 필름 형성에 있어서, 비타민 C 및 카페인 효과의 효과를 요약한 표다.

도 92는 본 명세서의 카페인 겔의 구체예를 요약한 표다.

도 93은 본 명세서의 보존제 겔의 구체예들을 요약한 표다.

도 94a-94c는 자외선(UV)에 대한 보호를 위하여 적합한 첨가제 및 성분의 농도를 변화시킨, 본 명세서의 미용 세럼의 구체예를 요약한 표다.

도 95a-95c는 본 명세서의 고농도 비타민 C 겔의 구체예들을 요약한 표다.

도 96은 사용에서 3가지 상이한 상태(손대지 않은 상태(intact), 사용중, 최종 사용 후)에서 가능한 미생물 오염을 평가하기 위하여 본 명세서의 다양한 겔의 결과를 요약한 표다.

도 97은 UV에 대한 보호에 적합한 본 명세서의 포말 산물의 구체예의 사진이다.

도 98은 UV에 대한 보호에 적합한 본 명세서의 점성 액체의 구체예의 사진이다.

도 99는 UV에 대한 보호에 적합한 본 명세서의 점성 액체의 구체예의 사진이다.

도 100은 UV에 대한 보호에 적합한 본 명세서의 포말 산물의 구체예의 사진이다.

상기 확인된 도면들은 공개된 구체예들을 제시하지만, 논의에서 명시되는 바와 같이, 다른 구체예들 또한 고려된다. 본 공개는 예시를 통하여 설명을 위한 구체예를 설명하지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 다수의 다른 변형 및 구체예들은 본 공개된 구체예의 원리의 범위 및 사상 안에서 당업자들에 의해 고안될 수 있다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024]

### 상세한 설명

[0025]

다양한 용도를 위한 다중 산업에 걸쳐 이용될 수 있는 순수하고, 매우 확장가능한(scalable) 실크 단백질 단편(SPF) 혼합물 용액을 만드는 방법들이 본 명세서에서 제공된다. 상기 용액은 미가공 순수한 손대지 않은 실크 단백질 재료로부터 생성되고, 임의의 세리신을 제거하고, 단편 혼합물의 원하는 중량 평균 분자량(MW) 및 다분산성을 획득하기 위하여 가공된다. 선별 방법 매개변수들을 변경시켜, 의도된 용도에 따라 별개의 최종 실크 단백질 단편 특징들을 획득할 수 있다. 생성된 최종 단편 용액은 순수 실크 단백질 단편들과 물이며, 제약, 의학 및 소비자 미용 시작에서 수용되는 수준인, 공정 오염물질의 탐지불가능한 수준내지 PPM을 가진다. 용액 안에 실크 단백질 단편들의 농도, 크기 및 다분산성은 바람직한 용도 및 수행 요구조건에 따라 추가 변경될 수 있다. 한 구체예에서, 용액 안에 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 약 6 kDa 내지 약 16 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량, 그리고 약 1.5 내지 약 3.0 범위의 다분산성을 갖고, 실질적으로 세리신이 없다. 한 구체예에서, 용액 안에 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량, 그리고 약 1.5 내지 약 3.0 범위의 다분산성을 갖고, 실질적으로 세리신이 없다. 한 구체예에서, 용액 안에 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 약 39 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량, 그리고 약 1.5 내지 약 3.0 범위의 다분산성을 갖고, 실질적으로 세리신이 없다.

[0026]

한 구체예에서, 본 명세서의 실크 용액은 물 함량/농도를 변화시키면서 다양한 모양 및 크기의 실크 필름을 만드는데 이용될 수 있거나, 또는 의학, 미용, 또는 전자 시장의 미가공 성분으로 판매될 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 상기 용액은 물 함량/농도를 변화시키면서 겔 및 액체 농도를 변화시킨 실크 겔과 같은 물품을

만드는데 이용될 수 있거나, 또는 제약, 의학, 미용, 또는 전자 시장의 미가공 성분으로 판매될 수 있다. 이용된 실크 용액과 상기 필름 또는 겔을 주물하는 방법들에 따라, 다양한 성질들이 획득된다. 상기 물품에는 최소한 한 가지 치료제 및/또는 최소한 한 가지 분자가 적재될 수 있다.

[0027] 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 용어 "실질적으로 세리신 프리(free)" 또는 "실질적으로 세리신이 없는"이란 대부분의 세리신 단백질이 제거된 실크 섬유를 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 0.01% (w/w) 내지 약 10.0% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 0.01% (w/w) 내지 약 9.0% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 0.01% (w/w) 내지 약 8.0% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 0.01% (w/w) 내지 약 7.0% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 0.01% (w/w) 내지 약 6.0% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 0.01% (w/w) 내지 약 5.0% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 0% (w/w) 내지 약 4.0% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 0.05% (w/w) 내지 약 4.0% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 0.1% (w/w) 내지 약 4.0% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 0.5% (w/w) 내지 약 4.0% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 1.0% (w/w) 내지 약 4.0% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 1.5% (w/w) 내지 약 4.0% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 2.0% (w/w) 내지 약 4.0% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 2.5% (w/w) 내지 약 4.0% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 0.01% (w/w) 내지 약 0.1% (w/w) 세리신을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 0.1% (w/w) 이하의 세리신 함량을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 세리신이 없는 실크 피브로인은 약 0.05% (w/w) 이하의 세리신 함량을 갖는 실크 피브로인을 말한다. 한 구체예에서, 실크 원료가 약 30 분 내지 약 60 분의 처리 시간 동안 끓는(100℃) 탄산나트륨 수성 용액에 추가될 때, 약 26 wt. % 내지 약 31 wt.%의 탈검 손실(degumming loss)이 있다.

[0028] 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 용어 "실질적으로 균질한"이란 확인된 분자량에 대한 정상적 분포 범위내에서 분배된 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 말한다. 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 용어 "실질적으로 균질한"이란 본 명세서의 조성물을 통하여 첨가제, 예를 들면 비타민 C의 고른 분포를 말한다.

[0029] 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 용어 "실질적으로 무기 잔유물이 없는"이란 상기 조성물이 0.1% (w/w) 또는 미만의 잔유물을 가진다는 것을 의미한다. 한 구체예에서, 실질적으로 무기 잔유물이 없다는 것은 0.05% (w/w) 또는 미만의 잔유물을 가진 조성물을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 무기 잔유물이 없다는 것은 0.01% (w/w) 또는 미만의 잔유물을 가진 조성물을 말한다. 한 구체예에서, 무기 잔유물의 양은 0 ppm ("탐지불가능한" 또는 "ND") 내지 1000 ppm이다. 한 구체예에서, 무기 잔유물의 양은 ND 내지 약 500 ppm이다. 한 구체예에서, 무기 잔유물의 양은 ND 내지 약 400 ppm이다. 한 구체예에서, 무기 잔유물의 양은 ND 내지 약 300 ppm이다. 한 구체예에서, 무기 잔유물의 양은 ND 내지 약 200 ppm이다. 한 구체예에서, 무기 잔유물의 양은 ND 내지 약 100 ppm이다. 한 구체예에서, 무기 잔유물의 양은 10 ppm 내지 1000 ppm이다.

[0030] 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 용어 "실질적으로 유기 잔유물이 없는"이란 상기 조성물이 0.1% (w/w) 또는 미만의 잔유물을 가진다는 것을 의미한다. 한 구체예에서, 실질적으로 유기 잔유물이 없다는 것은 0.05% (w/w) 또는 미만의 잔유물을 가진 조성물을 말한다. 한 구체예에서, 실질적으로 유기 잔유물이 없다는 것은 0.01% (w/w) 또는 미만의 잔유물을 가진 조성물을 말한다. 한 구체예에서, 유기 잔유물의 양은 0 ppm ("탐지불가능한" 또는 "ND") 내지 1000 ppm이다. 한 구체예에서, 유기 잔유물의 양은 ND 내지 약 500 ppm이다. 한 구체예에서, 유기 잔유물의 양은 ND 내지 약 400 ppm이다. 한 구체예에서, 유기 잔유물의 양은 ND 내지 약 300 ppm이다. 한 구체예에서, 유기 잔유물의 양은 ND 내지 약 200 ppm이다. 한 구체예에서, 유기 잔유물의 양은 ND 내지 약 100 ppm이다. 한 구체예에서, 유기 잔유물의 양은 10 ppm 내지 1000 ppm이다.

[0031] 본 명세서의 조성물은 "생체적합성(biocompatibility)"을 나타내는데, 이 의미는 상기 조성물이 살아있는 조직 또는 살아있는 시스템과 양립가능하며, 독성, 유해 또는 생리학적 반응이 없고, 면역학적 거부를 야기하지 않는

다는 것을 의미한다. 이러한 생체적합성은 연장된 기간 동안 피부에 본 명세서의 조성물을 국소적으로 제공한 참가자들에 의해 증명된다. 한 구체예에서, 연장된 기간은 약 3 일이다. 한 구체예에서, 연장된 기간은 약 7 일이다. 한 구체예에서, 연장된 기간은 약 14 일이다. 한 구체예에서, 연장된 기간은 약 21 일이다. 한 구체예에서, 연장된 기간은 약 30 일이다. 한 구체예에서, 연장된 기간은 약 1 개월, 약 2 개월, 약 3 개월, 약 4 개월, 약 5 개월, 약 6 개월, 약 7 개월, 약 8 개월, 약 9 개월, 약 10 개월, 약 11 개월, 약 12 개월, 및 무한대로 구성된 집단에서 선택된다.

[0032] 본 명세서의 조성물이 "저자극성"이라는 것은 알레르기 반응을 상대적으로 일으키지 않는다는 것을 말한다. 이러한 저자극은 연장된 기간 동안 피부에 본 명세서의 조성물을 국소적으로 제공한 참가자들에 의해 증명된다. 한 구체예에서, 연장된 기간은 약 3 일이다. 한 구체예에서, 연장된 기간은 약 7 일이다. 한 구체예에서, 연장된 기간은 약 14 일이다. 한 구체예에서, 연장된 기간은 약 21 일이다. 한 구체예에서, 연장된 기간은 약 30 일이다. 한 구체예에서, 연장된 기간은 약 1 개월, 약 2 개월, 약 3 개월, 약 4 개월, 약 5 개월, 약 6 개월, 약 7 개월, 약 8 개월, 약 9 개월, 약 10 개월, 약 11 개월, 약 12 개월, 및 무한대로 구성된 집단에서 선택된다.

[0033] 한 구체예에서, 본 명세서의 용액은 제품이 형성되기 앞서, 치료제 및/또는 분자에 접촉된다. 한 구체예에서, 분자들은 항산화제들 및 효소를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 한 구체예에서, 분자들은 셀레늄, 유비퀴논 유도체들, 티올-기반 항산화제들, 사카라이드-포함 항산화제들, 폴리페놀, 식물 추출물들, 카페인산, 아피게닌, 피크로제놀, 레스베라트롤, 엽산, 비타민 b12, 비타민 b6, 비타민 b3, 비타민 E, 비타민 C 및 이의 유도체들, 비타민 D, 비타민 A, 아스타틴, 루테인, 리코펜, 필수 지방산 (오메가 3 및 6), 철, 아연, 마그네슘, 플라보노이드 (대두, 쿠르쿠민, 실리마린, 피코켈), 성장인자들, 알로에, 히알루론산, 세포외 매트릭스 단백질, 세포, 핵산, 생물표지들, 생물학적 시약들, 산화 아연, 과산화 벤조일, 레티노이드, 티타늄, 공지의 투여 분량의 알레르겐(민감성 치료용), 레몬그라스 또는 로즈마리 오일을 포함하나 이에 국한되지 않는 필수 오일, 및 향수를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 치료제들은 작은 분자들, 약물, 단백질, 펩티드 및 핵산을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 한 구체예에서, 본 명세서의 실크 필름은 비타민, 이를 테면, 비타민 C, 비타민 A 및 비타민 E 인 분자를 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 용액은 제품이 형성되기 앞서, 공지의 양의 알레르겐과 접촉된다. 알레르겐은 우유, 계란, 땅콩, 견과류, 물고기, 조개류, 대두 및 밀을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 실크 물품 안에 적재된 공지의 분량의 알레르겐은 알레르기 연구, 시험 및 민감화 치료를 위하여 조절된 노출에 공지된 속도로 방출된다.

[0034] 한 구체예에서, 본 명세서의 용액은 피부로 또는 피부를 통하여 분자 또는 치료제의 조절된 운반을 위하여 당업자에게 공지된 표본 방법에 의해 미세바늘로 물품을 만드는데 이용된다.

[0035] 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 용어 "피브로인"은 누에 피브로인 및 곤충 또는 거미 실크 단백질을 포함한다. 한 구체예에서, 피브로인은 bombyx mori로부터 획득된다.

[0036] 도 1은 본 명세서의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들 (SPFs)을 만들기 위한 다양한 구체예들을 나타내는 순서도다. 본 명세서의 모든 실크 용액을 만들기 위하여 설명된 모든 단계들이 반드시 요구되는 것이 아니라는 것을 이해해야 한다. 도 1, 단계 A에서 설명된 바와 같이, 고치 (열-처리된 또는 열-처리안된), 실크 섬유, 실크 분말 또는 거미 실크는 실크 원료로 이용될 수 있다. bombyx mori의 미가공 실크 고치로부터 출발한다면, 상기 고치는 작은 크기, 예를 들면 적절한 동일 크기의 조각으로 절단한다, 단계 B1. 상기 미가공 실크는 그 다음 추출되고, 씻어내어 임의의 세리신을 제거한다, 단계 C1a. 이로써 실질적으로 세리신 프리 미가공 실크가 된다. 한 구체예에서, 물을 84℃ 내지 100℃ (이상적인 끓는점)의 온도로 가열시키고, 그 다음 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (탄산나트륨)은 끓는 물에 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>가 완전하게 용해될 때까지 추가된다. 상기 미가공 실크는 끓는 물/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (100℃)에 추가되고, 대략적으로 15 - 90 분 동안 담구고, 이때 더 긴 시간 동안 끓이면 더 작은 실크 단백질 단편들이 만들어진다. 한 구체예에서, 물 용적은 약 0.4 x 미가공 실크 중량에 대등하고, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용적은 약 0.848 x 미가공 실크 중량에 대등하다. 한 구체예에서, 물 용적은 0.1 x 미가공 실크 중량에 대등하고, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용적은 2.12g/L로 유지된다. 이것은 도 62a 및 도62b에서 설명된다: 실크 질량 (x-축)은 동일한 용적의 추출 용액에서 변화되어 (가령, 동일한 용적의 물과 동일한 농도의 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 세리신 제거 (실질적으로 세리신 프리)가 이루어지며, 이는 전체 실크 질량이 26 내지 31% 상실되는 것으로 설명된다 (y-축). 후속적으로, 물 용해된 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액은 따라내고, 과량의 물/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>는 실크 피브로인 섬유로부터 제거된다 (가령, 손으로 피브로인 추출 물을 건져올리거나, 기계들을 이용한 스핀 사이클 등등). 생성된 실크 피브로인 추출물은 따뜻하거나 뜨거운



물로 행귀내어 임의의 남아있는 흡착된 세리신 또는 오염물질을 제거하는데, 일반적인 온도 범위는 약 40℃ 내지 약 80℃이며, 최소 한번은 물을 교환한다(필요한 횟수만큼 반복한다). 생성된 실크 피브로인 추출물은 실질적으로 세리신-감손된 실크 피브로인이다. 한 구체예에서, 생성된 실크 피브로인 추출물은 약 60℃ 온도에서 물로 행귀낸다. 한 구체예에서, 각 주기의 행굼 물의 용적은 0.1 L 내지 0.2 L x 미가공 실크 중량에 상응한다. 행굼 효과를 최대화시키기 위하여 행굼 물을 교반, 회전 또는 순환시키는 것이 유익할 수 있다. 행굼 후, 과량의 물은 추출된 실크 피브로인 섬유로부터 제거된다 (가령, 손이나 또는 기계를 이용하여 피브로인 추출물을 건져올린다). 대안으로, 당업자들에게 공지된 방법, 이를 테면, 압력, 온도, 또는 다른 시약들 또는 이의 조합들이 세리신 추출을 위한 목적에 이용될 수 있다. 대안으로, 실크 선(gland) (100% 세리신 프리 실크 단백질)은 벌레로부터 직접 제거될 수 있다. 단백질 구조의 임의의 변형없이, 세리신이 없는 액체 실크 단백질이 만들어질 수 있다.

[0037] 그 다음 추출된 피브로인 섬유는 완전하게 건조되도록 한다. 도 3은 추출된 건조 실크 피브로인을 나타내는 사진이다. 일단 건조되면, 추출된 실크 피브로인은 실온 내지 끓는 점 사이의 온도에서 실크 피브로인에 추가된 용매를 이용하여 용해된다, 단계 C1b. 한 구체예에서, 상기 용매는 리튬 브롬화물 (LiBr)의 용액이다 (끓는 LiBr은 140℃이다). 대안으로, 상기 추출된 피브로인 섬유는 건조되지 않고 젖어 있고, 용매 안에 둔다; 용매에 건조된 실크를 추가할때와 유사한 농도를 얻기 위하여 용매 농도를 변화시킬 수 있다. LiBr 용매의 최종 농도는 0.1M 내지 9.3M 범위일 수 있다. 도 63은 상이한 리튬 브롬화물 (LiBr) 농도 및 상이한 추출 및 용해 크기로부터 용해된 실크 분자량을 요약한 표다. 추출된 피브로인 섬유의 완전한 용해는 용해 용매의 농도와 함께, 처리 시간 및 온도를 변화시켜, 획득될 수 있다. 다른 용매들이 이용될 수 있는데, 인산염 인산, 질산 칼슘, 염화 칼슘 용액 또는 무기염의 농축된 다른 수성 용액이 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 완전하게 용해되도록 하기 위하여, 실크 섬유를 이미 가열된 용매 용액 안에 완전하게 담귀야 하고, 그 다음 약 60℃ 내지 약 140℃의 온도 범위에서 1-168 시간 동안 유지되어야 한다. 한 구체예에서, 상기 실크 섬유는 용액 안에 완전하게 담귀야 하고, 그 다음 약 100℃ 온도의 건조 오븐 안에 약 1 시간 동안 두어야 한다.

[0038] 상기 실크 피브로인 추출물이 LiBr 용액에 추가되는(또는 이의 역) 온도는 피브로인을 완벽하게 용해시키는데 요구되는 시간, 그리고 최종 SPF 혼합물 용액의 생성된 분자량 및 다분산성에 영향을 갖는다. 한 구체예에서, 실크 용매 용액 농도는 20% w/v이거나 또는 그 미만이다. 추가로, 도입 또는 용해 동안 교반을 이용하여 다양한 온도 및 농도에서 용해를 용이하게 할 수 있다. LiBr 용액의 온도는 만들어지는 실크 단백질 단편 혼합물 분자량 및 다분산성에 대한 통제를 제공할 것이다. 한 구체예에서, 더 높은 온도는 더 신속하게 상기 실크를 용해시키고, 실크 용액의 강화된 공정 확장성과 대량 생산을 제공한다. 한 구체예에서, 80℃ - 140℃ 범위의 온도로 가열된 LiBr 용액을 이용하면 완전한 용해를 얻기 위하여 오븐 안에서 요구되는 시간을 감소시킨다. 60℃ 또는 그 이상의 용해 용매에서 시간 및 온도를 변화시키면 고유의 실크 피브로인 단백질의 원래 분자량으로부터 만들어진 SPF 혼합물 용액의 MW 및 다분산성을 변경 또는 제어할 수 있다.

[0039] 대안으로, 전체 고치를 용매, 이를 테면, LiBr에 바로 넣을 수 있다, 우회(bypassing) 추출, 단계 B2. 이것은 소수성 단백질과 친수성 단백질을 분리하기 위하여 당분야에 공지된 방법, 이를 테면, 컬럼 분리 및/또는 크로마토그래피, 이온 교환, 염 및/또는 pH에 의한 화학적 침전, 그리고 또는 효소적 절단 및 여과 또는 추출을 이용하여 상기 실크 및 용매 용액으로부터 실크 벌레 입자들의 후속적 여과 및 세리신 제거가 요구되며, 모든 방법은 공통적인 예들이며, 표준 단백질 분리 방법에 제한은 없다, 단계 C2. 누에가 제거된 비-열 처리된 고치는 대안으로 용매 이를 테면, LiBr에 둘 수 있다, 우회 추출. 상기 설명된 방법들은 세리신 분리에 이용될 수 있는데, 비-열 처리된 고치는 벌레 찌꺼기를 상당히 더 적게 가지고 있는 장점이 있다.

[0040] 투석을 이용하여 물 용적에 대하여 용액을 투석함으로써, 생성된 용해된 피브로인 단백질 단편 용액으로부터 용해 용매를 제거할 수 있다, 단계 E1. 투석에 앞서, 사전 여과는 상기 실크와 LiBr 용액으로부터 임의의 찌꺼기 (가령, 누에 잔유물)을 제거하는데 유용하다, 단계 D. 한 실시예에서, 3μm 또는 5μm 필터를 분당 200-300mL의 유속으로 이용하여, 투석 및 필요한 경우 잠재적 농축에 앞서, 0.1% 내지 1.0 % 실크-LiBr 용액을 여과시킨다. 상기에서 설명된 바와 같이, 본 명세서에서 공개된 방법은 확장성 공정 방법을 만드는 것을 고려할 때, 특히 여과 및 하류 투석을 용이하게 하기 위하여, 9.3M LiBr 농도를 0.1M 내지 9.3M로 감소시키기 위하여 시간 및/또는 온도를 이용하는 것이다. 대안으로, 추가적인 시간 또는 온도의 이용없이, 9.3M LiBr-실크 단백질 단편 용액은 물과 희석되어, 찌꺼기 여과 및 투석을 용이하게 한다. 바람직한 시간 및 온도 여과에서 용해 결과는 공지의 MW 및 다분산성을 가진 반투명 입자-없는, 실온 보관-안정적 실크 단백질 단편-LiBr 용액이다. 용매가 완전하게 제거될 때까지 정기적으로 투석 물을 교환하는 것이 유익하다 (예를 들면., 1 시간, 4 시간 후 그 다음 매 12 시간 마다 물 교환, 총 6회 물 교환). 물 용적 교환 총 횟수는 실크 단백질 용해 및 단편화에

이용된 용매의 생성된 농도에 근거하여 변화될 수 있다. 투석 후, 최종 실크 용액은 추가 여과되어, 임의의 남아있는 찌꺼기 (가령, 누에 잔유물)가 제거될 수 있다.

[0041] 대안으로, 생물분자들의 분리 및 정제를 위한 신속하고 효과적인 방법인 탄젠트 흐름 여과 (TFF)를 이용하여 생성된 용해된 피브로인 용액으로부터 용매를 제거할 수 있다, **단계 E2**. TFF는 상당히 순수 수성 실크 단백질 단편 용액을 제공하고, 그리고 제어된 그리고 반복적 방식으로 대규모 용적의 용액을 생산하기 위하여 공정의 확장성을 가능하게 한다. 상기 실크 및 LiBr 용액은 TFF에 앞서, 희석될 수 있다 (물 또는 LiBr 안에서 20%에서 0.1%로 낮아진 실크). TFF 공정에 앞서, 상기에서 설명된 바와 같이, 사전-여과는 찌꺼기가 존재함으로써, 필터 표면에서 실크 겔 경계 층이 만들어지는 것을 잠재적으로 피할 수 있게 한다. TFF에 앞서 사전-여과는 또한 상기 실크 및 LiBr 용액으로부터 임의의 잔류 찌꺼기 (가령, 누에 잔유물)를 제거하는데 유용한데, 이들 잔류물은 생성된 물 오직 용액의 자발적 또는 장기 겔형성의 원인이 된다, **단계 D**. TFF, 재순환 또는 단일 통과는 0.1 % 내지 30.0 % 실크(더욱 바람직하게, 0.1% - 6.0 % 실크) 범위의 물-실크 단백질 단편 용액을 만드는데 이용될 수 있다. 용액 안에서 상기 실크 단백질 단편 혼합물의 바람직한 농도, 분자량 및 다분산성에 근거하여 상이한 컷오프 크기의 TFF 막이 요구된다. 예를 들면 추출 가열 시간 또는 용해 용매 (가령, LiBr)안에서 시간 및 온도를 변화시킴으로써, 만들어지는 분자량 실크 용액을 다양하게 하는데 1-100 kDa 범위의 막이 필요할 수 있다. 한 구체예에서, TFF 5 또는 10 kDa 막을 이용하여 상기 실크 단백질 단편 혼합물 용액을 정제하고, 실크-대-물의 최종 바람직한 비율을 만든다. 마찬가지로, TFF 단일 패스, TFF, 및 당분야에 공지된 다른 방법들, 이를 테면, 강하 필름 증발기(falling film evaporator)를 이용하여 용해 용매 (가령, LiBr)를 제거한 후 용액을 농축시킬 수 있다(결과되는 바람직한 농도 범위는 0.1% 내지 30 % 실크). 이것은 물-기반 용액을 만들기 위하여 당분야에 공지된 표준 HFIP 농도 방법의 대안으로 이용될 수 있다. 큰 포어 막을 또한 이용하여 작은 실크 단백질 단편들을 걸러내고, 더 조밀한 다분산성 값을 가진, 또는 없는 더 큰 분자량 실크 용액을 만들 수 있다. **도 61**은 본 명세서의 실크 단백질 용액의 일부 구체예를 위한 분자량을 요약한 표다. 실크 단백질 용액 가공 조건은 다음과 같다: 100℃ 20분 동안 추출, 실온 행균, 60℃ 오븐에서 4-6 시간 동안 LiBr. 물-가용성 필름의 TFF 가공 조건은 다음과 같다: 100℃에서 60 분 동안 추출, 60℃ 행균, 100℃ 오븐에서 60 분 동안 100℃ LiBr. **도 67-78**은 추출 시간의 조작, LiBr 용해 조건, 그리고 TFF 가공 및 생성된 예시적인 분자량 및 다분산성을 추가 설명한다. 이들 실시예는 제한을 위한 것이 아니며, 특이적 분자량 실크 단편 용액에 대한 명시된 매개변수의 잠재성을 설명하는 것이다.

[0042] LiBr 및 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 탐지에 대한 분석은 증발에 의한 빛산란 탐지기 (ELSD)가 구비된 HPLC 시스템을 이용하여 실행되었다. 산출은 농도에 대하여 플롯된 피분석물의 생성된 피크 면적의 선형회귀에 의해 실행되었다. 시료 준비 및 분석을 위하여 본 명세서의 다수의 제형에 있어서 하나 이상의 시료가 이용되었다. 일반적으로, 상이한 제형의 4세 시료는 10 mL 용적 플라스크에서 직접 무게를 달았다. 상기 시료는 5 mL의 20mM 암모늄 포르메이트(pH 3.0)에 현탁되었고, 2-8℃에서 2 시간 동안 유지되었는데, 상기 필름으로부터 피분석물을 추출하기 위하여 간헐적으로 교반되었다. 2 시간 후, 상기 용액은 20mM 암모늄 포르메이트 (pH 3.0)로 희석되었다. 용적 플라스크 안의 시료 용액은 HPLC 바이알로 옮겨졌고, 탄산나트륨 및 리튬 브롬화물의 측정을 위하여 HPLC-ELSD 시스템에 주입되었다.

[0043] 실크 단백질 제형 안에 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 및 LiBr의 정량화를 위하여 개발된 분석 방법에서 주사 정밀도를 위한 RSD와 함께, 범위 10 - 165 µg/mL에서 선형인 것으로 확인되었으며, 탄산나트륨 및 리튬 브롬화물은 차례로 면적은 2%와 1% 그리고 정제 시간은 0.38% 및 0.19%이었다. 상기 분석 방법은 실크 단백질 제형 안의 탄산나트륨 및 리튬 브롬화물의 정량적 결정에 적용될 수 있다.

[0044] 도 4에서 나타낸 바와 같이, 최종 실크 단백질 단편 용액은 LiBr 및 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>이 포함된, 미립자 찌꺼기 및/또는 공정 오염물질의 탐지불가능한 수준내지 PPM을 가진, 순수 실크 단백질 단편들과 물이다. **도 55** 및 **도 58**은 본 명세서의 용액 안에 LiBr 및 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 농도를 요약한 표들이다. **도 55**에서, 공정 조건은 100℃에서 60분간 추출, 60℃ 행균, 100℃ 오븐에서 60 분간 100℃ LiBr을 포함하였다. 압력 차등 및 다수의 디아-여과 용적이 포함된 TFF 조건들은 변화되었다. **도 58**에서, 공정 조건은 100℃에서 60분 동안 가열, 60℃ 행균, 60℃ 오븐에서 4-6 시간 동안 LiBr이 포함되었다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 단백질의 결정화로 인하여 수성 용액 안에서 가용성이 아니다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 수성 용액 안에서 가용성이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 약 2/3의 결정 부분과 약 1/3의 무정형 부분을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 약 1/2의 결정 부분과 약 1/2의 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 99% 결정 부분과 1% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 95% 결



정 부분과 5% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 90% 결정 부분과 10% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 85% 결정 부분과 15% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 80% 결정 부분과 20% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 75% 결정 부분과 25% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 70% 결정 부분과 30% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 65% 결정 부분과 35% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 60% 결정 부분과 40% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 50% 결정 부분과 50% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 40% 결정 부분과 60% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 35% 결정 부분과 65% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 30% 결정 부분과 70% 무정형 영역. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 25% 결정 부분과 75% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 20% 결정 부분과 80% 무정형 영역. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 15% 결정 부분과 85% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 10% 결정 부분과 90% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 5% 결정 부분과 90% 무정형 영역을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 조성물은 1% 결정 부분과 99% 무정형 영역을 포함한다.

[0045] 본 명세서의 SPF 조성물의 독특한 특징은 보관 안정성인데(수성 용액 안에 보관될 때 서서히 또는 자발적으로 겔이 되지 않으며, 단편들의 응집이 없고, 따라서 시간이 경과함에 따라 분자량의 증가가 없다), 저장 조건, 실크 비율, 수송 횟수 및 수송 조건등에 따라 10일 내지 3년이다. 추가적으로 상기 실크의 조기 폴딩 및 응집을 방지함으로써 보관 기간을 연장시키거나 및/또는 운반 조건을 지원하기 위하여 pH가 변경될 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 용액 조성물은 실온 (RT)에서 최대 2주까지 보관 안정성을 갖는다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 용액 조성물은 RT에서 최대 4주까지 보관 안정성을 갖는다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 용액 조성물은 RT에서 최대 6주까지 보관 안정성을 갖는다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 용액 조성물은 RT에서 최대 8주까지 보관 안정성을 갖는다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 용액 조성물은 RT에서 최대 10주까지 보관 안정성을 갖는다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 용액 조성물은 RT에서 최대 12주까지 보관 안정성을 갖는다. 한 구체예에서, 본 명세서의 SPF 용액 조성물은 RT에서 약 4주 내지 약 52주의 보관 안정성을 갖는다. 아래 표 1에서는 본 명세서의 SPF 조성물의 구체예들의 보관 안정성 테스트 결과를 나타낸다.

표 1

표 1. 본 명세서의 SPF 조성물의 보관 안정성		
실크 %	온도	겔화될 때까지 시간
2	RT	4 주
2	4C	>9 주
4	RT	4 주
4	4C	>9 주
6	RT	2 주
6	4C	>9 주

[0046]

[0047] 실온(RT)에서 10 일 내지 3 년까지 안정적인 겔을 만들기 위하여 본 명세서의 SPF 조성물에 공지의 첨가제 이를 테면, 비타민 (가령, 비타민 C)가 추가될 수 있다. 두 가지 예시, SPF 조성물과 첨가제가 포함된 동일 조성물은 보관 및 운반 조건에 따라 10 일 내지 10 년 범위의 강화된 보관 관리를 위하여 동결건조될 수 있다. 상기 동결건조된 실크 분말은 의학, 소비재 및 전자 시장에서 미가공 성분으로 또한 이용될 수 있다. 추가적으로, 동결건조된 실크 분말은 이것의 처음 생산된 것보다 더 높은 농도의 용액이 포함된 다양한 농도의 실크 용액을 만들기 위하여 보관 후, 동결건조된 실크 분말은 물, HFIP, 또는 유기 용액에 재현탁될 수 있다. 또다른 구체예에서, 상기 실크 피브로인-기반 단백질 단편들은 10% 미만 중량의 물이 포함된 건조된 단백질 형태를 만들기 위하여, 로토썸 증발기(rototherm evaporator)를 이용하거나 또는 당분야에 공지된 다른 방법을 이용하여 건조되었다.

[0048] 상기 실크 단편-물 용액 또는 동결건조된 실크 단백질 단편 혼합물은 여과, 가열, 방사선 또는 e-빔(beam)이 포

함되나, 이에 국한되지 않는 표준 방법에 따라 살균될 수 있다. 상기 실크 단백질 단편 혼합물은 이들의 짧은 단백질 폴리머 길이 때문에, 당분야에서 설명된 손대지 않은 실크 단백질 용액보다 더 잘 살균소독에 견뎌낼 수 있을 것으로 예상된다. 추가적으로, 본 명세서에서 설명된 SPF 혼합물로부터 만들어진 실크 물품은 용도에 적절하게 살균될 수 있다. 예를 들면, 개방 상처/절개의 의학 용도에 사용되는 분자가 적재된 실크 필름은 표준 방법 이를 테면, 방사선 또는 e-빔(beam)에 의해 살균될 수 있다.

[0049] **도 2**는 추출 및 용해 단계들 동안 본 명세서의 실크 단백질 단편 용액을 생산하는 공정 동안 변형될 수 있는 다양한 매개변수들을 나타내는 순서도다. 선별 방법 매개변수를 변경시켜, 의도된 용도에 따른 별개의 최종 용액 특징들, 가령, 분자량 및 다분산성을 획득할 수 있다. 본 명세서의 모든 실크 용액을 만들기 위하여 설명된 모든 단계들이 반드시 요구되는 것이 아니라는 것을 이해해야 한다.

[0050] 한 구체예에서, 본 명세서의 실크 단백질 단편 용액을 만드는 공정은 *봄빅스 모리(bombyx mori)* 누에로부터 실크 고치 조각을 만들고; 실크 피브로인 추출물을 만들기 위하여 약 100℃에서 물과 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>의 용액에서 약 60 분 동안 상기 조각들을 추출해내고, 이때 물의 용적은 약 0.4 x 미가공 실크 중량과 대등하며, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>의 양은 약 0.848 x 조각 중량이고; 상기 실크 피브로인 추출물은 평균 물 용적에서 약 60℃에서 약 20 분 동안 3회 행귀내고, 이때 각 행귀의 평균 물은 조각의 약 0.2 L x 조각 중량에 대등하고; 상기 실크 피브로인 추출물로부터 과량의 물을 제거하고; 상기 실크 피브로인 추출물을 건조시키고; 건조된 실크 피브로인 추출물은 LiBr 용액에 용해시키고, 이때 LiBr 용액은 우선 약 100℃로 가열되어 실크와 LiBr 용액이 만들어지고, 유지되며; 상기 실크와 LiBr 용액은 건조 오븐 안에 넣고 약 100℃에서 약 60 분 동안 유지되어, 완전한 용해를 얻고, 고유의 실크 단백질 구조는 바람직한 분자량과 다분산성을 가진 혼합물로 추가 단편화되고; 용액을 여과시켜, 상기 누에에서 온 임의의 잔류 찌꺼기를 제거하고; 상기 용액은 물로 희석시켜 1실크 % 용액이 되도록 하고; 그리고 탄젠트 흐름 여과 (TFF)를 이용하여 용액에서 용매가 제거되는 것을 포함한다. 한 구체예에서, 10 kDa 막을 이용하여 상기 실크 용액을 정제하고, 그리고 최종 바람직한 실크-대-물의 비율을 만든다. 그 다음 TFF를 이용하여 상기 순수 실크 용액은 물에 대하여 2% 실크 농도로 더 농축시킬 수 있다.

[0051] 미가공 고치에서부터 투석까지 각 공정 단계는 제조의 효과를 증가시키기 위하여 확장될 수 있다. 온전한 고치는 현재 미가공 재료로 구입가능하지만, 그러나 사전-세정된 고치 또는 비-열 처리된 고치(벌레 제거로 최소한의 찌꺼기만 남은) 또한 이용되었다. 고치의 절단 및 세정은 수작업 공정이지만, 이 공정의 확장성을 위하여 다소 노동력이 덜 드는 것으로 만들 수 있는데, 예를 들면, 벌레 및 임의의 미립자를 제거하기 위하여 압착 공기와 복합된 자동화된 기계를 이용하거나, 또는 고치를 더 작은 조각으로 절단하기 위한 커팅 밀을 이용한다. 현재 작은 배취(배취)에서 실행되는 추출 단계는 더 큰 용기에서 완성될 수 있는데, 예를 들면 60℃ 내지 100℃의 온도에서 유지될 수 있는 산업용 세척 기계가 이용될 수 있다. 행귀 단계는 수작업의 행귀 과정을 없애고, 산업용 세척 기계에서 또한 완료될 수 있다. LiBr 용액 안에 실크의 용해는 대류 오븐이 아닌 용기, 예를 들면 교반된 탱크 반응기 안에서 일어날 수 있다. 연속적인 물 교환을 통한 상기 실크의 투석은 수작업의 시간 소모적인 공정으로, 특정 매개변수의 변화에 의해, 예를 들면 투석에 앞서 상기 실크 용액을 희석시킴으로써 가속화될 수 있다. 제작을 위하여 상기 투석 공정은 반-자동화된 장비, 예를 들면 탄젠트 흐름 여과 시스템의 이용에 의해 확대될 수 있다.

[0052] 추출 (가령, 시간 및 온도), LiBr (가령, 실크 피브로인 추출물에 추가될 경우 LiBr 용액의 온도 또는 이의 역) 그리고 용해 (가령, 시간 및 온도) 매개변수들을 변화시키면 상이한 점성, 균일성 및 색을 가진 용매와 실크 용액이 만들어진다 (**도 5-32** 참고). 추출을 위한 온도를 높이고, 추출 시간을 연장시키고, 출현(emersion)이 더 높은 온도의 LiBr 용액을 이용하고, 그리고 상기 실크를 용해할때 초과 시간 및 온도 (가령, 본 명세서에서 나타낸 바와 같이 오븐에서, 또는 대체 가열 원료)에서 시간을 늘이면 모두 점성이 덜 하고, 더 균질한 용매 및 실크 용액이 만들어진다. 거의 모든 매개변수는 생존가능한 실크 용액을 만들기는 하였지만, 4 내지 6 시간 이내에 완전한 용해를 허용하는 방법이 공정 확장성에 바람직하다.

[0053] **도 5-10**은 테스트된 4가지 상이한 실크 추출 조합의 사진을 나타낸다: 90℃ 30 분, 90℃ 60 분, 100℃ 30 분, 및 100℃ 60 분. 간략하게 설명하자면, 9.3 M LiBr이 준비되고, 실온에서 최소한 30 분 동안 방치해둔다. 5 mL의 LiBr 용액이 1.25 g의 실크에 추가되었고, 60℃ 오븐 안에 넣는다. 각 세트 시료는 4, 6, 8, 12, 24, 168 및 192 시간에 취하였다. 남아있는 시료는 사진을 찍어두었다.

[0054] **도 11-23**에서는 테스트된 4가지 상이한 실크 추출 조합의 사진을 나타낸다: 90℃ 30 분, 90℃ 60 분, 100℃ 30 분, 및 100℃ 60 분. 간략하게 설명하자면, 9.3 M LiBr 용액은 다음 4가지 온도중 하나로 가열되었다: 60℃, 80℃, 100℃ 또는 가열점. 5 mL의 뜨거운 LiBr 용액이 1.25 g의 실크에 추가되었고, 60℃ 오븐 안에 넣는다. 각

세트 시료는 1, 4 및 6 시간에 취하였다. 남아있는 시료는 사진을 찍어두었다.

[0055] **도 24-32**에서는 테스트된 4가지 상이한 실크 추출 조합의 사진을 나타낸다: 4가지 상이한 실크 추출 조합이 이용되었다: 90℃ 30 분, 90℃ 60 분, 100℃ 30 분, 및 100℃ 60 분. 간략하게 설명하자면, 9.3 M LiBr 용액은 다음 4가지 온도중 하나로 가열되었다: 60℃, 80℃, 100℃ 또는 가열점. 5 mL의 뜨거운 LiBr 용액이 1.25 g의 실크에 추가되었고, LiBr의 온도와 동일한 온도의 오븐 안에 넣는다. 각 세트 시료는 1, 4 및 6 시간에 취하였다. 각 시료 1 mL은 7.5 mL의 9.3 M LiBr에 추가되고, 점성 테스트를 위하여 냉동된다. 남아있는 시료는 사진을 찍어두었다.

[0056] 상기 실크 단백질 단편들의 분자량은 추출 단계 동안 이용된, 추출 시간 및 온도가 포함된 특이적 매개변수; 용해 단계 동안 이용된, 상기 실크가 상기 리튬 브롬화물에 담구는 시점에서 LiBr 온도 및 이 용액이 특정 온도에 유지되는 시간이 포함된, 특이적 매개변수; 그리고 여과 단계 동안 이용된 특이적 매개변수에 근거하여 조절될 수 있다. 공개된 방법들을 이용하여 공정 매개변수를 조절함으로써, 5 kDa 내지 200 kDa, 더욱 바람직하게 10 kDa 내지 80 kDa 범위의 상이한 분자량에서 2.5 또는 이보다 낮은 다분산성을 가진, SPF 혼합물 용액을 만드는 것이 가능하다. 상이한 분자량을 가진 실크 용액을 얻기 위하여 공정 매개변수를 변경시킴으로써, 2.5 또는 이보다 낮은 바람직한 다분산성을 가진, 단편 혼합물 최종 산물의 범위는 바람직한 수행 요구조건에 따라 표적화될 수 있다. 예를 들면, 더 낮은 분자량 실크 필름이 포함된 약물은 더 높은 분자량 필름과 비교하여 더 신속한 방출 속도를 가질 수 있고, 이는 화장품 소비재 안에 일일 운반 비이클용으로 더 이상적일 수 있다. 추가적으로, 2.5 이상의 다분산성을 가진 SPF 혼합물 용액이 획득될 수 있다. 더욱이, 상이한 평균 분자량과 다분산성을 가진 두 용액을 혼합하여 복합 용액이 만들어질 수 있다. 대안으로, 벌레로부터 직접적으로 제거된 액체 실크 선 (100% 세리신 프리 실크 단백질)은 본 명세서의 임의의 SPF 혼합물 용액과 복합 이용될 수 있다. 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편 조성물의 분자량은 굴절 지수 탐지기 (RID)와 함께 고압력 액체 크로마토그래피 (HPLC)를 이용하여 결정되었다. 다분산성은 Cirrus GPC Online GPC/SEC Software Version 3.3 (Agilent)을 이용하여 산출되었다.

[0057] 미가공 실크 고치를 실크 용액으로 가공하는 동안 매개변수들이 변화되었다. 이들 매개변수의 변화는 생성된 실크 용액의 MW에 영향을 주었다. 조작된 매개변수에는 (i) 추출 시간 및 온도, (ii) LiBr의 온도, (iii) 용해 오븐의 온도, 그리고 (iv) 용해 시간이 포함된다. 분자량은 **도 64-80**에 나타난 것과 같이, 질량 분광(mass spec)에 의해 결정되었다.

[0058] 추출 시간의 변화 효과를 측정하기 위한 실험이 실행되었다. **도 64-70**은 이들 결과를 나타내는 그래프이며, **표 2-8**는 이들 결과를 요약한다. 요약은 다음과 같다:

[0059] - 30 분의 세리신 추출 시간으로 60분의 세리신 추출 시간보다 MW는 더 커졌다.

[0060] - MW는 오븐 안의 시간에 의해 감소된다.

[0061] - 140℃ LiBr 및 오븐으로 MW 9500 Da 이하의, 신뢰구간 하단이 초래되었다.

[0062] - 1 시간 및 4 시간 시점에서 30분 추출은 절단안된 실크가 있었다.

[0063] - 1 시간 시점에서 30분 추출로 상당히 더 높은 분자량이 결과되었으며, 신뢰구간 하단은 35,000 Da이다.

[0064] - 신뢰 구간 상단의 MW의 범위는 18000 내지 216000 Da (명시된 상한을 가진 용액을 제공하는데 중요)이다.

표 2

표 2. 100°C 추출 온도, 100°C 리튬 브롬화물 (LiBr) 및 100°C 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다)의 조건하에 가공된 실크의 분자량에 있어서 추출 시간 (30 분 vs 60 분)의 효과						
가열 시간	오븐 시간	평균 Mw	표준 편차(Std dev)	신뢰 구간		PD
30	1	57247	12780	35093	93387	1.63
60	1	31520	1387	11633	85407	2.71
30	4	40973	2632	14268	117658	2.87
60	4	25082	1248	10520	59803	2.38
30	6	25604	1405	10252	63943	2.50
60	6	20980	1262	10073	43695	2.08

[0065]

표 3

표 3. 100°C 추출 온도, 가열점 리튬 브롬화물 (LiBr) 및 4 hr 동안 60°C 오븐 용해의 조건하에 가공된 실크의 분자량에 있어서 추출 시간 (30 분 vs 60 분)의 효과						
시료	가열 시간	평균 Mw	표준 편차(Std dev)	신뢰 구간		PD
30 분, 4 hr	30	49656	4580	17306	142478	2.87
60 분, 4 hr	60	30042	1536	11183	80705	2.69

[0066]

표 4

시료	가열 시간	오븐 시간	평균 Mw	표준 편차(Std dev)	신뢰 구간		PD
30 분, 1 hr	30	1	58436		22201	153809	2.63
60 분, 1 hr	60	1	31700		11931	84224	2.66
30 분, 4 hr	30	4	61956.5	13337	21463	178847	2.89
60 분, 4 hr	60	4	25578.5	2446	9979	65564	2.56

[0068]

표 5

표 5. 100°C 추출 온도, 80°C 리튬 브롬화물 (LiBr) 및 6 hr 동안 80°C 오븐 용해의 조건하에 가공된 실크의 분자량에 있어서 추출 시간 (30 분 vs 60 분)의 효과						
시료	가열 시간	평균 Mw	표준 편차(Std dev)	신뢰 구간		PD
30 분, 6 hr	30	63510		18693	215775	3.40
60 분, 6 hr	60	25164	238	9637	65706	2.61

[0069]

표 6

표 6. 100°C 추출 온도, 60°C 리튬 브롬화물 (LiBr) 및 80°C 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화됨) 조건하에 가공된 실크의 분자량에 있어서 추출 시간 (30 분 vs 60 분)의 효과							
시료	가열 시간	오븐 시간	평균 Mw	표준 편차(Std dev)	신뢰 구간		PD
30 분, 4 hr	30	4	59202	14028	19073	183760	3.10
60 분, 4 hr	60	4	26312.5	637	10266	67442	2.56
30 분, 6 hr	30	6	46824		18076	121293	2.59
60 분, 6 hr	60	6	26353		10168	68302	2.59

[0070]

표 7

표 7. 100℃ 추출 온도, 60℃ 리튬 브롬화물 (LiBr) 및 100℃ 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화됨) 조건하에 가공된 실크의 분자량에 있어서 추출 시간 (30 분 vs 60 분)의 효과							
시료	가열 시간	오븐 시간	평균 Mw	표준 편차(Std dev)	신뢰 구간		PD
30 분, 4 hr	30	4	47853		19758	115900	2.42
60 분, 4 hr	60	4	25082	1248	10520	59804	2.38
30 분, 6 hr	30	6	55421	8992	19153	160366	2.89
60 분, 6 hr	60	6	20980	1262	10073	43694	2.08

[0071]

표 8

표 8. 100℃ 추출 온도, 140℃ 리튬 브롬화물 (LiBr) 및 140℃ 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다)의 조건하에 가공된 실크의 분자량에 있어서 추출 시간 (30 분 vs 60 분)의 효과							
시료	가열 시간	오븐 시간	평균 Mw	표준 편차(Std dev)	신뢰 구간		PD
30 분, 4 hr	30	4	9024.5	1102	4493	18127	2.00865
60 분, 4 hr	60	4	15548		6954	34762	2.2358
30 분, 6 hr	30	6	13021		5987	28319	2.1749
60 분, 6 hr	60	6	10888		5364	22100	2.0298

[0072]

[0073] 추출 온도의 변화 효과를 측정하기 위한 실험이 수행되었다. 도 71은 이들 결과를 나타내는 그래프이며, 표 9는 이들 결과를 요약한다. 요약은 다음과 같다:

[0074] - 90℃에서 세리신 추출은 100℃에서 세리신 추출보다 더 큰 MW를 만들었다.

[0075] - 90℃와 100℃은 모두 오븐 안에서 시간 경과에 따른 MW 감소를 보여준다.



표 9

표 9. 60 분, 추출 온도, 100°C 리튬 브롬화물 (LiBr) 및 100°C 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다)의 조건하에 가공된 실크의 분자량에 있어서 추출 온도 (90°C vs. 100°C)의 효과							
시료	가열 시간	오븐 시간	평균 Mw	표준 편차(Std dev)	신뢰 구간		PD
90C, 4 hr	60	4	37308	4204	13368	104119	2.79
100C, 4 hr	60	4	25082	1248	10520	59804	2.38
90C, 6 hr	60	6	34224	1135	12717	92100	2.69
100C, 6 hr	60	6	20980	1262	10073	43694	2.08

[0076]

[0077] 실크에 추가될 때, 리튬 브롬화물(LiBr) 온도의 변화 효과를 측정하기 위한 실험이 실행되었다. 도 72-73은 이들 결과를 나타내는 그래프이며, 표 10-11은 이들 결과를 요약한다. 요약은 다음과 같다:

[0078] - MW 또는 신뢰 구간 (모두 CI ~10500-6500 Da)에서 영향은 없다.

[0079] - 연구에서 LiBr이 추가되고, 용해되기 시작할 때 LiBr-실크 용해의 온도는 실온에서 질량의 대부분이 실크이기 때문에, 원래 LiBr 온도 아래로 급격하게 떨어진다는 것이 설명된다.

표 10

표 10. 60 분. 추출 시간., 100°C 추출 온도 그리고 60°C 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 리튬 브롬화물 (LiBr) 온도의 효과							
시료	LiBr 온도 (°C)	오븐 시간	평균 Mw	표준 편차(Std dev)	신뢰 구간		PD
60C LiBr, 1hr	60	1	31700		11931	84223	2.66
100C LiBr, 1hr	100	1	27907	200	10735	72552	2.60
RT LiBr, 4hr	RT	4	29217	1082	10789	79119	2.71
60C LiBr, 4hr	60	4	25578	2445	9978	65564	2.56
80C LiBr, 4hr	80	4	26312	637	10265	67441	2.56
100C LiBr, 4hr	100	4	27681	1729	11279	67931	2.45
가열 LiBr, 4hr	가열	4	30042	1535	11183	80704	2.69
RT LiBr, 6hr	RT	6	26543	1893	10783	65332	2.46
80C LiBr, 6hr	80	6	26353		10167	68301	2.59
100C LiBr, 6hr	100	6	27150	916	11020	66889	2.46

[0080]

표 11

표 11. 30 분. 추출 시간., 100°C 추출 온도 그리고 60°C 오븐 용해 (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 리튬 브롬화물 (LiBr) 온도의 효과							
시료	LiBr 온도 (°C)	오븐 시간	평균 Mw	표준 편차(Std dev)	신뢰 구간		PD
60C LiBr, 4hr	60	4	61956	13336	21463	178847	2.89
80C LiBr, 4hr	80	4	59202	14027	19073	183760	3.10
100C LiBr, 4hr	100	4	47853		19757	115899	2.42
80C LiBr, 6hr	80	6	46824		18075	121292	2.59
100C LiBr, 6hr	100	6	55421	8991	19152	160366	2.89

[0081]

[0082]

v 오븐/용해 온도의 효과를 측정하기 위한 실험이 실행되었다. 도 74-78은 이들 결과를 나타내는 그래프이며, 표 12-16은 이들 결과를 요약한다. 요약은 다음과 같다:

[0083]

- 오븐 온도는 30 분 추출된 실크보다 90분 추출된 실크에 효과가 더 적다. 이론에 결부되지 않고, 30 분 실크는 추출 동안 덜 분해되고, 따라서, 상기 실크의 덜 분해된 부분, 더 큰 MW에 더 큰 효과를 가진다.

[0084]

- 60°C vs. 140°C 오븐의 경우, 30 분 추출된 실크는 더 높은 오븐 온도에서 더 낮은 MW에 매우 유의미적인 효과를 보였고, 60 분 추출된 실크는 훨씬 더 적은 효과를 가졌다.

[0085]

- 140°C 오븐은 신뢰 구간의 하단 ~6000 Da를 초래하였다.

표 12

표 12. 100°C 추출 온도, 30 분 추출 시간 및 100°C 브롬화리튬 (LiBr) (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 오븐/용해 시간의 효과							
가열 시간	오븐 온도 (°C)	오븐 시간	평균 Mw	표준 편차(Std dev)	신뢰 구간		PD
30	60	4	47853		19758	115900	2.42
30	100	4	40973	2632	14268	117658	2.87
30	60	6	55421	8992	19153	160366	2.89
30	100	6	25604	1405	10252	63943	2.50

[0086]



표 13

**표 13.** 100°C 추출 온도, 60 분 추출 시간 및 100°C 브롬화리튬 (LiBr) (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 오븐/용해 시간의 효과

가열 시간	오븐 온도 (°C)	오븐 시간	평균 Mw	표준 (Std dev)	신뢰 구간		PD
60	60	1	27908	200	10735	72552	2.60
60	100	1	31520	1387	11633	85407	2.71
60	60	4	27681	1730	11279	72552	2.62
60	100	4	25082	1248	10520	59803	2.38
60	60	6	27150	916	11020	66889	2.46
60	100	6	20980	1262	10073	43695	2.08

[0087]

표 14

**표 14.** 100°C 추출 온도, 60 분 추출 시간 및 140°C 브롬화리튬 (LiBr) (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 오븐/용해 시간의 효과

가열 시간	오븐 온도(°C)	오븐 시간	평균 Mw	표준 차(Std dev)	신뢰 구간		PD
60	60	4	30042	1536	11183	80705	2.69
60	140	4	15548		7255	33322	2.14

[0088]

표 15

**표 15.** 100°C 추출 온도, 30 분 추출 시간 및 140°C 브롬화리튬 (LiBr) (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 오븐/용해 시간의 효과

가열 시간	오븐 온도 (°C)	오븐 시간	평균 Mw	표준 편차(Std dev)	신뢰 구간		PD
30	60	4	49656	4580	17306	142478	2.87
30	140	4	9025	1102	4493	18127	2.01
30	60	6	59383	11640	17641	199889	3.37
30	140	6	13021		5987	28319	2.17

[0089]

표 16

표 16. 100°C 추출 온도, 60 분 추출 시간 및 80°C 브롬화리튬 (LiBr) (오븐/용해 시간은 변화되었다) 조건하에 가공된 실크 분자량에서 오븐/용해 시간의 효과							
가열 시간	오븐 온도 (°C)	오븐 시간	평균 Mw	표준 편차(St d dev)	신뢰 구간		PD
60	60	4	26313	637	10266	67442	2.56
60	80	4	30308	4293	12279	74806	2.47
60	60	6	26353		10168	68302	2.59
60	80	6	25164	238	9637	65706	2.61

[0090]

[0091]

한 구체예에서, 본 명세서에서 공개된 상기 방법들은 제조하는 동안 조절될 수 있는 특징들을 가진 용액을 만드는데, 여기에는 하기의 것들이 포함되나, 이에 국한되지 않는다: MW - 추출 및/또는 용해 시간 및 온도 (가열, LiBr 온도), 압력, 및 여과 (가령, 크기 압출 크로마토그래피)의 변경에 의해 변화될 수 있다; 구조 - 피브로인 단백질 폴리머의 중쇄 또는 경쇄의 제거 또는 절단; 순도 - 상기 실크 단편 단백질 혼합물 용액의 보관 정성에 불리하게 영향을 주는 미립자 제거 개선을 위한 개선된 세리신 제거 또는 필터 능력을 위한 뜨거운 물 행굼 온도; 색 - 용액의 색은 예를 들면, LiBr 온도 및 시간으로 제거가능하며; 점성; 투명성; 그리고 용액의 안정성. 용액의 결과적인 pH는 전형적으로 약 7이며, 보관 요구조건에 적합한 산 또는 염기를 이용하여 변경될 수 있다.

[0092]

상기에서 설명된 SPF 혼합물 용액을 이용하여 다양한 용도(가령, 약물, 비타민, 항산화제, 등을 상기 피부로 운반)를 위한 순수 실크 단백질 단편-필름 또는 순수 실크 단백질 단편-겔을 만들 수 있다. 도 33은 본 명세서의 실크 용액으로부터 본 명세서의 실크 필름을 만들기 위한 구체예를 나타내는 순서도다. 단계 A에서, 본 명세서의 실크 용액이 선택되며, 그 다음 최소한 한 가지 분자 또는 치료제가 상기 실크 용액에 바로 추가되고, 그 다음 겔 또는 필름 공정을 거친다. 단계 B. 실크 필름이 만들어질 때, 첨가제(들)과 실크 용액은 독특한 필름 모양을 얻기 위한 주형 틀에 바로 던져넣을 수 있고(가령, 실리콘 몰드) 또는 상기 실크 용액은 쉬트로 주물되고, 그 다음 원하는 용도에 따라, 회전 날 또는 레이저 커팅이 이용되나, 이에 한정되지 않는 커팅 기술, 예를 들면 (도 83A 및 83B)에 의해 다양한 모양으로 후속적으로 절단 또는 펀칭될 수 있다. 단계 C. 몰드, 예를 들면 실리콘 상에서 주조되는 경우, 실리콘 몰드는 레이저-에칭된/패턴의 표면 상에서 가열되어, 최종 필름으로 전이될 수 있는 각인이 만들어질 수 있다. 예를 들면, 산물 로고는 눈에는 보이나 손으로 만져지지 않도록, 상기 필름으로 옮겨질 수 있고, 제품의 진위를 보이는데 이용될 수 있다. 최종 실크 단백질 단편 필름의 농도 및/또는 양은 상기 필름의 유연성 정도를 조절하고, 상이한 해부학적 형태에 부합되도록 변화될 수 있다. 실크 필름의 건조 방법을 변경시키면 또한 상이한 최종 필름 특징들이 결과될 수 있다. 공기흐름 및/또는 가열의 적용은 상기 필름의 성질에 영향을 준다 (가령, 메짐성(brittleness), 버블의 수, 컬링, 용해도, 표면 모양). 단계 D. 추가적으로, 포장 시점에서 필름 안에 수분 비율은 시간의 경과에 따라 안정성에 영향을 주는데, 너무 수분이 많은 경우 시간이 경과함에 따라 필름이 황변하게 된다(도 82a-82c). 일부 구체예들에서, 필름은 이상적으로 건조 완료시 약 2 내지 약 20% 물 함량을 가질 수 있다. 필름에서 수분 함량이 20%를 넘는 경우 보관 수명이 감소될 것이라는 것이 관찰되었다. 필름이 포장 전, 충분히 건조되지 않은 경우(20%이상의 물 함량을 가지는 경우) 시간의 경과 (2+ 주)시 황변될 것이다. 필름은 인큐베이트 안의 상대습도가 주변 상대 습도보다 적을 때까지 또는 36%보다 크지 않을 때까지 인큐베이터 안에서 건조되어야 한다. 주변 습도는 수분을 제거하는 능력에 영향을 주고, 따라서, 촉각/청각 테스트를 이용하여 필름이 포장 상태가 되어 있는지를 판단할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 테스트는 건조 시스템으로부터 필름을 제거하고, 상기 필름의 한쪽 단부를 살짝 구부리고, 이를 놓는 것을 포함한다. 상기 필름이 종이 또는 얇은 플라스틱 조각과 유사한 느낌과 소리가 난다면, 건조된 것으로 간주된다. 상기 필름이 완전하게 건조되지 않았다면, 유연할 것이며, 구부리고 이를 놓을 때 소리가 나지 않을 것이다. 한 구체예에서, 상기 필름은 공정 첨가제 이를 테면, 글리세린 없이도 유연하며, 2.5cm 폭, 10cm 길이의 필름을 절반으로 구부릴 수 있고, 상기 필름의 양단은 필름의 부서짐 또는 크래킹없이 서로 맞닿을 수

있다. 동일한 크기의 필름은 필름의 부서짐 또는 크래킹없이 45-도 각을 만들 수 있도록 필름의 길이를 따라 절반으로 구부릴 수 있다.

[0093] 최종 실크 단백질 단편-필름은 LiBr 및  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 이 포함된, 미립자 찌꺼기 및/또는 공정 오염물질의 탐지불가능한 수준을 가지고, 순수하다. 대안으로, 최종 SPF 혼합물 용액은 500ppm 미만의 공정 오염물질을 갖는다. 도 56 및 도 57은 본 명세서의 필름(RT에서 공기 건조된 2% 실크 필름)에서 LiBr 및  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  농도의 농도를 요약한 표들이다. 도 56에서, 공정 조건에는 100℃에서 20 분 동안 추출, RT 행균, 60℃ 오븐에서 LiBr에서 4-6 시간이 포함되었다. 도 57에서, 공정 조건에는 100℃에서 20 분 동안 추출, RT 행균, 60℃ 오븐에서 LiBr에서 4-6 시간이 포함되었다.

[0094] 한 구체예에서, 실크 겔이 만들어 질 때, 겔화 진행을 돕기 위하여 산이 이용된다. 한 구체예에서, 중성 또는 염기성 분자 및/또는 치료제가 포함된 실크 겔이 만들어 질 때, 겔화를 촉진시키기 위하여 산이 추가될 수 있다. 한 구체예에서, 실크 겔이 만들어질 때, pH를 높이면(상기 겔을 더 염기성으로 만들면) 상기 겔의 보관 안정성이 증가된다. 한 구체예에서, 실크 겔이 만들어질 때, pH를 높이면(상기 겔을 더 염기성으로 만들면) 상기 겔 안에 적재되는 산성 분자의 양이 더 많아진다.

[0095] 한 구체예에서, 천연 첨가제들이 상기 실크 겔에 추가되어 첨가제들을 더 안정화시킬 수 있다. 예를 들면, 미량 성분들, 이를 테면, 셀레늄 또는 마그네슘 또는 L-메티오닌이 이용될 수 있다. 더욱이, 빛-차단 용기가 추가되어 안정성을 더 증가시킬 수 있다.

[0096] 도 34는 본 명세서의 실크 단편-필름 건조 연구를 위한 매개변수들의 구체예를 요약하고 있다. 도 35는 도 34의 상기 실크 단편-필름 건조 연구에 근거하여 실크 단편-필름 건조 시간(다양한 공기 흐름 및 온도 조건하에서)을 보여주는 그래프다. 이들 결과에서, 공기 흐름은 건조에 고려되는 중요한 매개변수이며(가령, 덮혀있는 용기안의 시료는 건조되지 않았다), 온도는 건조 속도를 변경시키기 위하여 변경될 수 있고(가령, 온도를 높이면 물이 더 빠르게 제거되며) 그리고 상기 필름 안에 수분 함량의 일정상태는 다양한 매개변수(가령, 24 내지 48 시간, 온도와 상관없이 덮혀있지 않은 시료에서 양은 일관됨)로 획득될 수 있다. 물론, 상기 필름의 최종 성질, 예를 들면 메짐성은 건조 조건에 따라 변화될 것이다. 대안으로, SPF 용액 안에 첨가제, 이를 테면, 계면활성제 또는 오일을 이용하여 필름 건조 속도는 가속화될 수 있다. 이들 첨가제는 가열과 함께, 또는 가열 없이 이용되어, 건조 속도 및 최종 필름의 물리적 성질을 변경시킬 수 있다.

[0097] 한 구체예에서, SFP 필름의 건조 조건은 필름의 수와 주변 습도에 따라 12 내지 48시간 동안 강제된 공기 흐름 인큐베이트 안에서 24℃이다. 이들 건조 조건하에서, 포일 주머니 안에 보관될 경우, 시간의 경과에 따라 5% 이상으로 수축되지 않는 필름이 만들어진다. 추가적으로, 상기 필름은 조성물 안에서 균질하며, 측면성이 없고, 첨가제, 예를 들면 비타민 C가 고루분포된 물리적 구조다.

[0098] 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 비타민 C 및 이의 유도체들을 안정화시킬 수 있는데, 빛 아래 보관될 때 실온에서 30일 보관 후 이의 활성의 약 30% 내지 약 100%가 유지된다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 비타민 C 및 이의 유도체들을 안정화시킬 수 있는데, 빛 아래 보관될 때 실온에서 30일 보관 후 이의 활성의 약 35% 내지 약 95%가 유지된다. 한 구체예에서, 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 비타민 C 및 이의 유도체들을 안정화시킬 수 있는데, 빛 아래 보관될 때 실온에서 30일 보관 후 이의 활성의 약 40% 내지 약 90%가 유지된다. 한 구체예에서, 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 비타민 C 및 이의 유도체들을 안정화시킬 수 있는데, 빛 아래 보관될 때 실온에서 30일 보관 후 이의 활성의 약 45% 내지 약 85%가 유지된다. 한 구체예에서, 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 비타민 C 및 이의 유도체들을 안정화시킬 수 있는데, 빛 아래 보관될 때 실온에서 30일 보관 후 이의 활성의 약 50% 내지 약 80%가 유지된다. 한 구체예에서, 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 비타민 C 및 이의 유도체들을 안정화시킬 수 있는데, 빛 아래 보관될 때 실온에서 30일 보관 후 이의 활성의 약 55% 내지 약 75%가 유지된다. 한 구체예에서, 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 비타민 C 및 이의 유도체들을 안정화시킬 수 있는데, 빛 아래 보관될 때 실온에서 30일 보관 후 이의 활성의 약 60% 내지 약 70%가 유지된다. 한 구체예에서, 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 비타민 C 및 이의 유도체들을 안정화시킬 수 있는데, 필름에 빛에 접촉되는 것을 방지하는 공기 밀봉된 용기 또는 주머니에 보관될 때 실온에서 3 내지 24개월 보관 후 이의 활성의 약 80% 내지 약 100%가 유지된다. 한 구체예에서, 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 비타민 C 및 이의 유도체들을 안정화시킬 수 있는데, 필름에 빛에 접촉되는 것을 방지하는 공기 밀봉된 용기 또는 주머니에 보관될 때 실온에서 약 3 내지 약 60개월 보관 후 이의 활성의 약 80% 내지 약 100%가 유지된다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 20분 안에 50% 내지 90%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을

방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 20분 안에 최소한 50%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 20분 안에 최소한 60%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 20분 안에 최소한 70%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 20분 안에 최소한 80%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 20분 안에 최소한 90%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 5분 내지 8시간 안에 최소한 10% 내지 100%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 5분 내지 8시간 안에 최소한 10%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 5분 내지 8시간 안에 최소한 20%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 5분 내지 8시간 안에 최소한 30%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 5분 내지 8시간 안에 최소한 40%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 5분 내지 8시간 안에 최소한 50%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 5분 내지 8시간 안에 최소한 60%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 5분 내지 8시간 안에 최소한 70%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 5분 내지 8시간 안에 최소한 80%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 실크 단백질 단편-필름은 축축한 피부에 부착될 경우 5분 내지 8시간 안에 최소한 90%의 활성 비타민 C 및 이의 유도체들을 방출할 수 있다. 더 오랜 시간 동안 더 높은 온도에 노출은 상기 실크 단백질을 더 다양한 실크 단백질 단편 혼합물로 분해하거나 및/또는 임의의 실크 단백질 3차 및/또는 2차 실크 단백질 구조로 분해할 수 있는데, 이는 생성된 구조 (가령, 겔, 필름, 포말, 등)의 보관 안정성 및/또는 수행에 불리한 영향을 줄 수 있으며, 뿐만 아니라 상기 실크 단백질 안에 중쇄 수를 감소시킬 것으로 보인다.

[0099] **도 36a** 및 **36b**는 비타민 C가 포함된 시료로부터 2개의 HPLC 크로마토그램을 나타낸다. 좌측의 것은 (1) 실온에서 화학적으로 안정화된 비타민 C 시료의 피크와 (2) 산화를 방지하기 위한 화학적 안정화없이(이때 분해 산물을 볼 수 있다), 실온에서 1시간 후 취한 비타민 C 시료의 피크를 나타낸다. 우측의 크로마토그램은 실온에서 최소한 30 일 동안 노화된, 본 명세서의 실크 필름의 2가지 상이한 구체예의 피크를 나타낸다. 분해 산물들은 볼 수 없었다. **도 59**는 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름(RT에서 공기 건조된 2% 실크 필름)안에 비타민 C 농도를 요약한 표다. **도 59**에서, 공정 조건에는 100℃에서 20 분 동안 추출, RT 행균, 60℃ 오븐에서 LiBr에서 4-6 시간이 포함되었다. **도 60**은 화학적으로 안정화된 용액 안에 비타민 C의 안정성을 요약한 표다. **도 89a-89b**는 경쟁대상의 항-노화 피부관리 산물에 있는 화학적으로 안정화된 비타민 C와 비교하였을 때, 화학적 안정 화제 없이 SPF 겔 안에서 비타민 C 안정성을 요약한 표다. 20% 총 비타민 C 첨가제 농도에서 겔 주물은 겔이 되지 않았다 이론에 결부되지 않고, 비타민 C 농도, 실크 농도, 및 겔화 사이에 상관관계가 있는 것으로 보인다. 주어진 농도의 실크에서 비타민 C의 증가는 겔화까지의 시간을 더 연장시키거나 또는 겔화를 저해할 것이다. 이는 비타민 C 분자가 실크 단백질 단편들 사이의 상호작용을 물리적으로 차단시키거나 또는 실크 단백질의 가 교를 물리적으로 차단하기 때문일 것이다.

[0100] 한 구체예에서, 분자 또는 분자들은 안정적이며, 가령, 시간의 경과에 따라 방출될 수 있다. 한 구체예에서, 방출 속도는 이용된 상기 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 특이적 중량 평균 분자량에 의해 조절된다. 또 다른 구체예에서, 방출 속도는 다중-층 구조의 창조에 의해 조절된다. 예를 들면, 다중 필름이 주물될 수 있고, 각 서로에 대해 건조될 수 있다. 추가적으로, 동일한 또는 상이한 분자량 조성물을 이용하여 각 층이 형성될 수 있다. 한 구체예에서, 단백질 구조의 결정 정도는 필름 건조 조건을 통하여 변경되고, 이로 인하여 방출 속도가 조절된다. 이식, 또는 경구 투여를 통하여 국소 또는 전신으로, 또는 이식 후, 분자 또는 분자들은 상기 피부에 국소적으로 방출될 수 있다. 한 구체예에서, 상기 분자 또는 분자들은 1 분 내지 20 분 사이에 방출된다. 한 구체예에서, 상기 분자 또는 분자들은 20 분 내지 60 분 사이에 방출된다. 한 구체예에서, 상기 분자 또는 분자들은 1 시간 내지 4 시간 사이에 방출된다. 한 구체예에서, 상기 분자 또는 분자들은 4 시간 내지 8 시간 사이에 방출된다. 한 구체예에서, 상기 분자 또는 분자들은 8 시간 내지 24 시간 사이에 방출된다. 한 구체예에서, 상기 분자 또는 분자들은 1 일 내지 7 일 사이에 방출된다. 한 구체예에서, 상기



분자 또는 분자들은 1 주 내지 4 주 사이에 방출된다. 한 구체예에서, 상기 분자 또는 분자들은 1 개월 내지 3 개월 사이에 방출된다. 한 구체예에서, 상기 분자 또는 분자들은 3 개월 내지 6 개월 사이에 방출된다. 한 구체예에서, 상기 분자 또는 분자들은 20 분 내지 6 개월 사이에 방출된다. 한 구체예에서, 상기 분자 또는 분자들은 극한 온도 및 습도 조건에서 안정적이다.

[0101] 약 20 kDa 평균 중량 평균 분자량 실크 피브로인-기반 단백질 단편들과 약 20중량%의 비타민 C를 포함하는 본 명세서의 필름은 포일 주머니 안에 개별적으로 보관되고, 극한 온도에 노출되었다. 필름이 포함된 포일 주머니는 다음에 노출되었다:

[0102] · 실온 조건 (시간 0 필름)

[0103] · "극도로 추운" ( $-29^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 72 시간), 이후 "덥고 습한" ( $38^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 85% 습도  $\pm 5\%$ , 72 시간), 그리고 후속적으로 "극도의 열, 중간 습도" ( $60^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 30% 습도  $\pm 5\%$ , 6 시간)

[0104] HPLC를 이용하여 활성 비타민 C의 양이 측정되었다. 표 17에 요약된 바와 같이, 극한 조건에 노출되어도 모든 필름은 비타민 C 활성 유지를 지원하는 것으로 관찰되었다.

표 17

표 17. 다양한 조건하에 필름에서 활성 비타민 C의 양			
N	조건	시료 안에 vit C의 평균 농도 (mg/g)	Std. Dev
4	시간 0, 실온 조건	184.90	15.15
16	1) $-29^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 72 시간 2) $38^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 85% 습도 $\pm 5\%$ , 72 시간 3) $60^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 30% 습도 $\pm 5\%$ , 6 시간	193.97	10.25

[0105]

[0106] 도 37-45는 다양한 온도, 시간 내지 건조 조건 하에서 건조된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름을 보여주는 사진들이다.

[0107] 도 46-54는 다양한 온도, 시간 내지 건조 조건 하에서 형성된, 물에 용해된 본 명세서의 실크 단백질 단편-필름을 보여주는 사진들이다. 본 명세서의 필름의 물 용해도는 건조 조건을 변경시킴으로써 다양화될 수 있다. 예를 들면, 강제 공기 인큐베이터 안에서 필름은 20% 습도로 건조시키고, 그 다음 일정 시간 동안 주변 습도를 50%로 증가시키고, 후속적으로 상기 필름을 20% 습도로 다시 건조시키면, 불용성 필름이 만들어질 것이다. 습도가 일정하게 감소되는 보통의 조건하에, 물-가용성 실크 필름이 만들어진다. 습도의 증가로 단백질 구조가 상기 필름에서 더 유동적이 되도록 하며, 더 결정화되고, 따라서 비-가용성 필름이 만들어지는 것으로 예상된다. 비-가용성 필름을 만들기 위하여 당분야의 대체 방법은 메탄올의 도입을 포함한다. 본 명세서의 필름은 물 안에서 이의 용해도로 인하여 필름과는 명백하게 상이하다. 본 명세서에서 설명된 SFP 겔 물품은 국소적으로 주사될 수 있거나 또는 펼쳐질 수 있는 히드로겔에서부터 필름의 외양으로, 그리고 최소한의 그러나 제어된 물 함량이 포함된 필름-겔 물품까지 범위가 되며, 이로 인하여 결정화가 방지되며, 그리고 물 용해도가 허용된다.

[0108] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 조성물은 술폭시드 (이를 테면, 디메틸술폭시드), 피롤리돈 (이를 테면, 2-피롤리돈), 알코올 (이를 테면, 에탄올 또는 데카놀), 아존 (이를 테면, 라우로카프람 및 1-도데실아자시클로헥탄-2-온), 계면활성제 (알킬 카르복실레이트 및 이의 대응하는 산 이를 테면, 올레산, 플루오르알킬카르복실레이트 및 이의 대응하는 산, 알킬 술페이트, 알킬 에테르 술페이트, 도쿠세이트 이를 테면, 디옥틸 소듐 술포숙시네이트, 알킬 벤젠 술포네이트, 알킬 에테르 포스페이트, 및 알킬 아릴 에테르 포스페이트를 포함), 글리콜 (이를 테면, 프로필렌 글리콜), 테르페네스 (이를 테면, 리모넨, p-시메네, 게라니올, 파르네솔, 유게놀, 멘톨, 테르피네올, 카르베올, 카르보네, 펜초네, 및 베르네논), 및 디메틸 이소소르비데가 포함되나, 이에 국한되지 않는 피부 침투 강화제를 더 포함할 수 있다.

[0109] 본 명세서의 실크 용액에서 다양한 매개변수의 적절한 범위와 이를 준비하기 위한 적절한 범위의 비-제한적인 예들은 다음과 같다. 본 명세서의 실크 용액은 이들 매개변수의 하나 또는 그 이상을 포함하지만, 반드시 모든 것을 포함하지는 않으며, 이러한 매개변수의 범위의 다양한 조합을 이용하여 준비될 수 있다.

[illegible]



[illegible]



[illegible]

[0115] 한 구체예에서, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 갖는 본 명세서의 조성물은 약 1 내지 약 5.0 범위의 다분산성을 갖는다. 한 구체예에서, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 갖는 본 명세서의 조성물은 약 1.5 내지 약 3.0 범위의 다분산성을 갖는다. 한 구체예에서, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 갖는 본 명세서의 조성물은 약 1 내지 약 1.5 범위의 다분산성을 갖는다. 한 구체예에서, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 갖는 본 명세서의 조성물은 약 1.5 내지 약 2.0 범위의 다분산성을 갖는다. 한 구체예에서, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 갖는 본 명세서의 조성물은 약 2 내지 약 2.5 범위의 다분산성을 갖는다. 한 구체예에서, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 갖는 본 명세서의 조성물은 약 2.0 내지 약 3.0 범위의 다분산성을 갖는다. 한 구체예에서, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 갖는 본 명세서의 조성물은 약 2.5 내지 약 3.0 범위의 다분산성을 갖는다.

[0116] 한 구체예에서, 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 갖는 본 명세서의 조성물은 탐지불가능한 수준의 LiBr 잔유물을 보유한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물 안에 LiBr 잔유물의 양은 10 ppm 내지 1000 ppm 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물 안에 LiBr 잔유물의 양은 10 ppm 내지 300 ppm 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물 안에 LiBr 잔유물의 양은 25ppm 미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물 안에 LiBr 잔유물의 양은 50ppm미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물 안에 LiBr 잔유물의 양은 75ppm미만 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물 안에 LiBr 잔유물의 양은 100ppm미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물 안에 LiBr 잔유물의 양은 200ppm미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물 안에 LiBr 잔유물의 양은 300ppm 미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물 안에 LiBr 잔유물의 양은 400ppm 미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물 안에 LiBr 잔유물의 양은 500ppm 미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물 안에 LiBr 잔유물의 양은 600ppm미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물 안에 LiBr 잔유물의 양은 700ppm미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물 안에 LiBr 잔유물의 양은 800ppm미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물 안에 LiBr 잔유물의 양은 900ppm미만이다. 한 구체예에서, 본 명세



단편들의 용해도는 80 내지 100% 이다. 한 구체예에서, 유기 용액 안에서 본 명세서의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 용해도는 90 내지 100% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 실크 피브로인-기반 단편들은 유기 용액 안에서 비-가용성이다.

[0120] 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 20% 내지 99.9% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 20% 내지 25% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 25% 내지 30% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 30% 내지 35% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 35% 내지 40% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 40% 내지 45% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 45% 내지 50% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 50% 내지 55% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 55% 내지 60% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 60% 내지 65% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 미용 겔 안에 물 함량 백분율은 65% 내지 70% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 70% 내지 75% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 75% 내지 80% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 80% 내지 85% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 85% 내지 90% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 90% 내지 95% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 겔 안에 물 함량 백분율은 95% 내지 99% 이다.

[0121] 한 구체예에서, 본 명세서의 필름 안에 물 함량 백분율은 20% 이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 필름 안에 물 함량 백분율은 20% 미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 필름 안에 물 함량 백분율은 18% 미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 필름 안에 물 함량 백분율은 16% 미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 필름 안에 물 함량 백분율은 14% 미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 필름 안에 물 함량 백분율은 12% 미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 필름 안에 물 함량 백분율은 10% 미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 필름 안에 물 함량 백분율은 약 2% 내지 약 20% 이다.

[0122] 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물을 제조하는 방법 동안 추출 온도는 84 이상이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물을 제조하는 방법 동안 추출 온도는 100 미만이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물을 제조하는 방법 동안 추출 온도는 84 내지 100이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물을 제조하는 방법 동안 추출 온도는 84 내지 94이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 조성물을 제조하는 방법 동안 추출 온도는 94 내지 100이다.

[0123] 다음의 실시예들은 본 발명이 설명된 구체예들이 어떻게 만들어지고, 이용되는지에 대한 완벽한 공개 및 설명을 당업계 숙련자들에게 제시하기 위하여 제공되는 것이며, 발명자들이 이들의 발명으로 간주하는 본 발명의 범위를 제한하려는 의도는 아니며, 하기 실험들이 실행할 수 있는 모든 또는 유일한 실험으로 제시하려는 의도도 아니다. 이용된 수치(가령, 양, 온도, 등)에 있어서 정확성을 보장하기 위한 노력이 있었지만, 일부 실험적 오류 및 편차들은 고려되어야 한다. 다른 언급이 없는 한, 부분은 중량부이며, 분자량은 중량 평균 분자량이며, 온도는 섭씨 또는 실온이며, 압력은 대기압 또는 그 주변값이다.

#### [0124] 실시예들

[0125] 실시예 1. 잔주름 올림 용도에 사용하기 위한 본 명세서의 실크 필름의 개발

**표 18**

<b>표 18. 잔주름 올림용 필름을 위한 필름 레시피 - 도 82a</b>	
본 명세서의 SPF 혼합물 용액 %	2.4%
비타민 C 양	4:1 (실크:Vit C) (0.006g/mL 2.4% 용액) 20%
필름 당 mL (2.5cm X 10cm)	7.08 mL
필름 당 실크의 양:	170mg
필름 당 1-아스코르브산 양:	42.5mg
pH	4.0 (물이 제공될 경우)

[0126]

- [0127] 공정 매개변수를 변화시키면서, 본 명세서에서 공개된 방법에 따라 실크 필름 (2.5 cm x 10 cm)이 제작되어, 잔 주름 올림용 필름이 만들어졌다. 상기 실크 필름은 "PureProC™ 필름"으로 명명되었으며, 공기 밀봉 및 빛 차단되는 포일 계통 포장 안에 포장될 수 있다. 표 18에서는 4 주 동안 상기 필름을 이용한 32명의 개인 연구에 이용된 PureProC™ 필름의 상세 설명을 제시한다. 상기 필름의 생체적합성 및 저자극성이 관찰되었다. 더욱이, 민감화, 독성, 또는 면역 반응면역 반응은 관찰되지 않았다. 도 84는 30일 기간에 걸쳐 PureProC™과 경쟁대상 산물의 일일 투여분량(가령, 피부 25 cm<sup>2</sup> 면적을 덮는데 이용되는 산물의 평균 양)에서 비타민 C의 양을 요약한 그래프다. 도 85와 86은 사용 첫 달 안에 관찰된 결과적인 용이한 사용 데이터 및 관찰된 장점들을 요약한다.
- [0128] 한 구체예에서, PureProC™ 필름은 필름을 벗겨냄으로써 제거된다. 한 구체예에서, PureProC™ 필름은 젖은 코튼 볼 또는 유사한 제거 패드를 사용하여 제거되었다. 한 구체예에서, PureProC™ 필름은 상기 필름에 세수 수건에 두고 그 부위를 씻어냄으로써 제거된다. 한 구체예에서, PureProC™ 필름 PureProC™ 필름은 물을 이용하여 제거되었다. 상기 PureProC™ 필름은 얼굴의 다중 부위를 위한 스트립으로 형상화되거나, 또는 더 큰 조각들은 표적 부위에 맞도록 절단될 수 있다. 한 구체예에서, 용이한 적용을 위하여 상기 PureProC™ 필름에 그립 또는 뒤판(들)이 포함될 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 PureProC™ 필름은 실크와 비타민 C (20%)를 포함한다.
- [0129] 한 구체예에서, 본 명세서의 필름은 물에 가용성 (불용성 둘레)이다. 한 구체예에서, 본 명세서의 필름은 깨끗한/투명하다. 한 구체예에서, 본 명세서의 필름은 물이 가해질 때 pH=4이다. 본 명세서의 필름은 3mg/cm<sup>2</sup> 내지 10mg/cm<sup>2</sup>의 실크 양을 가진 필름을 만들기 위하여, 상이한 조합의 실크 % 및 용적으로 만들어질 수 있다. 본 명세서의 필름은 약 1% 내지 약 50% 1-아스코르브산으로 만들어질 수 있다. 본 명세서의 필름은 물을 사용하여 피부에 부착될 수 있다. 본 명세서의 필름은 일단 물이 제공된 피부에 퍼질 수 있다. 본 명세서의 필름은 건조 장비의 습도가 16-40%인 경우, 실험실 습도 이하로 건조될 수 있다.
- [0130] **실시예 2. 본 명세서의 실크 겔 개발**



표 19

표 19. 겔 시료 - 첨가제가 포함된 실크 겔 제형, 실크 및 첨가제의 농도, 겔형성 조건 및 겔형성 시간.							
시료 이름	2 % 실크 용액 mL	Vit C 양 (g)	실크 : VitC 비율	첨가제	첨가제의 양	온도/ 처리	겔형성까지 일수
1	10	0.04	5:01	없음	없음	RT	8
2	10	0.08	2.5:1	없음	없음	RT	8
3	10	0.2	1:01	없음	없음	RT	8
4	10	0.4	1:02	없음	없음	RT	14
5	10	0.8	1:04	없음	없음	RT	없음
6	10	0.04	5:01	없음	없음	냉장고	~39
7	10	0.08	2.5:1	없음	없음	냉장고	~39
8	10	0.2	1:01	없음	없음	냉장고	~39
9	10	0.4	1:02	없음	없음	냉장고	없음
10	10	0.8	1:04	없음	없음	냉장고	없음
11	10	0.2	1:01	없음	없음	RT/왕성하게 교반	8
O-1	10	0.04	5:01	없음	없음	37C 오븐	3
O-2	10	0.04	5:01	없음	없음	50C 오븐	2
O-3	10	0.2	1:01	없음	없음	37C 오븐	4
O-4	10	0.2	1:01	없음	없음	50C 오븐	3
M	40	0.16	5:01	없음	없음	RT	5
D	40	0.16	5:01	없음	없음	RT	5
E1	10	0.04	5:01	Vit E	1 방울	RT	7
E2	10	0.04	5:01	Vit E	3 방울	RT	7
E3	10	0	없음	Vit E	1 방울	RT	없음
E4	10	0	없음	Vit E	3 방울	RT	없음
L1	10	0.04	5:01	레몬	300 uL	RT	6
L2	10	0.04	5:01	레몬 주스	300 uL	RT	6
L3	10	0.04	5:01	레몬 주스	1000 uL	RT	5
L4	10	0	없음	레몬	300 uL	RT	6
L5	10	0	없음	레몬 주스	300 uL	RT	7
병(jar) 1	20	0.08	5:01	레몬 주스	2000 uL	RT	5-7
병(jar) 2	5	0.02	5:01	레몬글라스 오일	1 방울	RT	2-3
R-1	10	0.04	5:01	로즈마리 오일	1 방울	RT	7

[0131]

T-1	10	0.04	5:01	없음	없음	RT/튜브	7
RO-1	10	0.04	5:01	장미 오일	1 방울	RT	6
RO-2	10	없음	없음	장미 오일	1 방울	RT	없음

[0132]

[0133] 실크과 비타민 C의 비율

[0134]

시료 1-10을 이용하여 세럼 겔형성에 있어서 비타민 C에 대한 실크 비율의 효과를 검사하였다. 비타민 C가 적은 시료 1-3은 시료 4와 5와 비교하여 더 신속하게 겔화되었다. 모든 다른 조건은 일정하게 유지되었다. 비타민 C가 적은 시료 6-8은 시료 9와 10과 비교하여 더 신속하게 겔화되었다. 모든 다른 조건은 일정하게 유지되었다. 비타민 C에 대한 실크 비율의 감소(비타민 C의 양을 증가)시키면 겔이 만들어지기 까지 시간이 연장되는 것으로 결론났다. 소량의 비타민 C 비율에서, 겔 형성까지 소요되는 일수는 크게 변화되지 않았다.

- [0135] **물리적 자극**
- [0136] 시료 3 및 11을 이용하여 세럼 겔형성에 있어서 물리적 자극의 효과를 검사하였다. 각 시료는 동일한 조건하에서 준비되었다. 시료 11은 비타민 C를 추가한 후 약 3분 동안 왕성하게 교반되었다. 3 및 11의 다른 처리는 동일하였다. 교반 결과 버블이 형성되었지만, 겔 형성 시간을 크게 변화시키지는 않았다.
- [0137] **온도 처리**
- [0138] 시료 1, 3, 6, 8, 0-1, 0-2, 0-3, 및 0-4를 이용하여 세럼 겔형성에 있어서 온도 처리의 효과를 검사하였다. 시료 1, 6, 0-1, 및 0-2는 온도 처리를 제외하고 동일하다. 시료 3, 8, 0-3, 및 0-4는 온도 처리를 제외하고 동일하다. 두 집단은 비타민 C에 대한 실크 비율에서 상이하였다. 시간 to 세럼 겔형성까지 시간은 온도 처리와 직접적으로 관련되어 있는데, 온도가 높을 수록 세럼 겔형성이 더 빠르다.
- [0139] **용액 용적**
- [0140] 시료 1, M 및 D를 이용하여 세럼 겔형성에 있어서 용액 용적의 효과를 검사하였다. 시료 1로부터 시료 M 및 D는 오직 용액 용적의 증가로만 변화되었다. 시료 M 및 D는 5 일 이내에 겔화된 반면, 시료 1은 8 일 이내에 겔화되었다. 시료 M 및 D는 겔이 형성되는 날 확실히 겔화되는 것이 눈에 띄지만, 시료 1은 일주일에 겔화되었다.
- [0141] **첨가제**
- [0142] 시료 E1, E2, E3, E4, L1, L2, L3, L4, L5, 병(jar) 2, R1, R0-1 내지 R0-2를 이용하여 세럼 겔형성 시간에 있어서 첨가제의 효과를 검사하였다. 시료 E1-4는 비타민 E를 포함하고 있다. 시료 E1 내지 E2만 비타민 C를 포함하였고, 오직 이 두 시료만 겔화되었다. 비타민 E가 겔이 되도록 용액에 추가될 수 있지만, 겔을 만들기 위하여 또다른 첨가제가 필요할 수 있다. 시료 L1-5는 레몬 주스 형태를 포함하고 있었다. 시료 L1과 L4는 레몬으로부터 직접 짠 주스를 가지고 있지만, 시료 L2, L3 및 L5는 플라스틱 레몬 용기 안에 있는 레몬 주스를 가지고 있다. 시료 L4와 L5는 비타민 C를 가지고 있지 않지만, 다른 것들은 모두 가지고 있다. 모든 시료가 겔화되었고, 이는 레몬 주스 자체가 겔을 만들 수 있음을 보여준다. 레몬 주스의 양과 레몬 주스의 유형은 겔형성 시간에 거의 영향을 주지 않았다. 시료 병(jar) 2는 레몬 글라스 오일을 포함하고 있는데, 처음 추가될 때 알부민 유사한 물질이 형성되었다. 이 시료 또한 비타민 C를 보유하고 있지만, 다른 비타민 C 시료보다 상당히 더 신속하게 겔형성된다. 시료 R1은 가용성인 것으로 보이는 로즈마리 오일 뿐만 아니라 비타민 C를 보유한다. 이 시료는 오직 비타민 C만을 보유하는 다른 시료와 유사한 시간으로 겔화되었다. 시료 R0-1과 R0-2는 장미 오일을 보유하고, 오직 R0-1만 비타민 C를 갖는다. 오직 R0-1만이 겔화되는데, 이는 장미 오일 자체가 겔을 신속하게 만들지 않음을 보여준다. 두 가지 모두에서, 장미 오일은 섞이지 않으며, 황색 기포로 보인다.
- [0143] 수성 실크 피브로인-기반 단편 용액과 필수 오일은 섞이지 않는 액체다. 한 구체예에서, 용액 안에 오일을 포집시키지 않고 상기 실크 피브로인-기반 단편 용액의 향을 증가시키기 위하여, 이 용액은 교반 막대(stir bar)를 이용하여 필수 오일과 혼합된다. 상기 교반 막대는 혼합물 안에 약간의 난기류가 관찰되는 속도로 회전되고, 따라서 이 용액 안에 향이 나는 필수 오일과 상기 분자들이 접촉하게 되고, 용액에 향이 추가된다. 이 용액으로부터 산물을 주물하기에 앞서, 혼합을 중단하고, 오일이 용액의 상단으로 분리되도록 하였다. 용액의 바닥 분획으로부터 최종 산물로 분배하면 최종 산물 안에 눈에 띄는 필수 오일 없는 향수가 된다.
- [0144] 대안으로, 상기 실크 피브로인-기반 용액과 필수 오일은 추가 성분 및/또는 유화제 성분이 포함된 조성물을 만들기 위하여 이들과 함께 복합되거나, 또는 추가 성분 및/또는 유화제없이 복합될 수 있다.
- [0145] 한 구체예에서, 상기에서 설명된 것과 같이 이 용액을 혼합하면, 이 용액을 이용하여 겔 제형을 만들 경우 겔형성 시간을 감소시킬 수 있다.
- [0146] **용기**
- [0147] 시료 T1 내지 병(jar) 1을 이용하여 세럼 겔형성에 있어서 주물 용액 용적의 효과를 검사하였다. 병(jar) 1은 유리병으로 주물되었고, T1은 알루미늄 튜브로 주물되었다. 두 시료 모두 겔형성되었고, 세럼 겔 시간에는 영향이 없었다.
- [0148] **요약**
- [0149] 겔 용액을 위한 실크 용액의 모든 처리는 다른 언급이 없는 한, 실온에서 삼각 튜브에서 있었다. 비타민 C에 대한 실크의 비율은 용액이 겔화되는 능력에 영향을 주었으며, 1:2이상의 비율은 겔이 되지 않았고, 1:2 비율은 다른 더 낮은 비율 (5:1, 2.5:1, 1:1) 보다 두배 이상이 소요되었다. 온도는 겔 형성 시간에 영향을 주었는데,

온도가 높을 수록 더 신속하게 겔화된다. 50℃ 처리는 2일로 신속하게 겔화되었고, 37℃ 처리는 3일로 신속하게 겔화되었고, 실온 처리는 5-8 일로 겔화되었고, 냉장 보관은 겔화까지 최소한 39 일이 소요되었다. 겔 형성에서 첨가제의 효과는 첨가제에 따라 달랐다. 비타민 E, 로즈마리 오일 및 장미 오일은 모두 겔 형성에 영향을 주지 않았다. 각 첨가제는 겔형성을 방해하지 않았거나 또는 겔형성까지 시간에 영향을 주지 않았다. 각각은 또한 겔이 되기 위하여 비타민 C를 필요로 하였다. 신선한 레몬, 미리-짜놓은 레몬 주스, 그리고 플라스틱 레몬 용기의 레몬 주스, 및 레몬 글라스 오일은 겔 형성에 영향을 주었다. 이론에 결부되지 않고, 이들 첨가제가 겔형성 시간을 감소시키는데 영향을 주는 이유는 이들 첨가제로 인하여 더 낮아진 pH인 것으로 본다. 이들 모든 레몬 주스 유형은 비타민 C 없이 겔형성을 야기할 수 있었다. 이들은 비타민 C가 있는 경우와 동일한 일자에 일어났다. 레몬글라스 오일은 겔형성까지의 일수를 2-3 일로 감소시킬 수 있었다. 모든 첨가제는 레몬글라스 오일과 장미 오일 이외에 가용성인 것으로 보인다. 장미 오일은 황색 기포로 남아있었고, 레몬글라스 오일은 부분적으로 가용성이었으며, 알부민과 유사한 덩어리를 형성하였다. 한 구체예에서, 완전한 가용성이 아닌 오일들은 첨가제로써 겔 안에 여전히 현탁될 수 있다. 교반에 의한 물리적인 자극, 용액이 주물되는 용기, 그리고 용액 용적은 겔형성 시간에 영향을 주지 않았다. 도 81은 본 명세서의 겔 안에 활성 비타민 C %를 나타내는 그래프다.

표 20

표 20. 다양한 겔 제형에서 비타민 C의 농도.			
시료 정보	시료 중량	비타민 C의 농도(mg/g)	
	(mg)	시료안에	평균
로즈마리 (실온 보관)	685.7	3.2511	3.2657
		3.2804	
	638	3.3336	3.3334
		3.3332	
레몬글라스(실온 보관)	646	2.8672	2.877
		2.8868	
	645.5	2.9051	2.9051
		2.9052	
로즈마리 (실온; 포일 덮어서 보관)	645.2	3.9063	3.9147
		3.923	
	649	3.9443	3.9374
		3.9305	
레몬글라스(실온; 포일 덮어서 보관)	630.1	3.8253	3.8274
		3.8295	
	660.4	3.8283	3.8253
		3.8222	
로즈마리 (냉장고, 포일 덮어서 보관)	672.4	5.1616	5.1484
		5.1352	
	616.5	5.1984	5.201
		5.2036	
레몬글라스(냉장고, 포일 덮어서 보관)	640.5	5.1871	5.1824
		5.1776	
	627.7	5.2098	5.2126
		5.2154	

[0150]

[0151]

실시예 3. 스무딩 겔로 사용하기 위한 본 명세서의 실크 겔 개발



표 21

표 21. 레몬글라스 겔	
실크 % 용액	2%
비타민 C 양	100mg/15mL 용액
레몬글라스 오일 양	20uL/15mL 용액

[0152]

표 22

표 22. 로즈마리 겔	
실크 % 용액	2%
비타민 C 양	100mg/15mL 용액
로즈마리 오일 양	20uL/50mL 용액

[0153]

표 23

표 23. 레몬글라스 겔 (50 mL)	
실크 % 용액 (60 분 가열, 25kDA)	2%
비타민 C (아스코르빌 글루코시드)의 양	12.82 mg/mL 용액 (총 641mg)
레몬글라스 오일 양	1.33uL/mL 용액
pH	4

[0154]

표 24

표 24. 로즈마리 겔 (50 mL)	
실크 % 용액 (60 분 가열, 25kDA)	2%
비타민 C (아스코르빌 글루코시드)의 양	12.82 mg/mL 용액 (총 641mg)
로즈마리 오일 양	0.8uL/mL 용액
pH	4

[0155]

[0156] 본 명세서의 겔은 약 0.5% 내지 약 8% 실크 용액과 함께 만들 수 있다. 본 명세서의 겔은 약 0.67% 내지 약 15% w/v 농도의 아스코르빌 글루코시드와 함께 만들 수 있다. 본 명세서의 겔은 투명/흰 색이다. 본 명세서의 겔은 피부에 용이하게 퍼바르고 흡수되는 일관성을 가질 수 있다. 본 명세서의 겔은 사용후 시각적인 잔유물 또는 미끈거리는 느낌을 제공하지 않을 것이다. 본 명세서의 겔은 시간 경과에 따라 갈변되지 않는다.

[0157] 필수 오일이 든 실크 겔은 본 명세서의 실크 용액을 2%로 희석시켜 만들었다. 비타민 C가 상기 용액에 추가되었고, 용해되도록 두었다. 상기 필수 오일이 추가되었고, 교반되고, 그리고 용해되었다. 상기 용액은 병안으로 분취되었다.

[0158] 본 명세서의 두 제형, PureProC™ 로즈마리 겔과 PureProC™ 레몬글라스겔을 44명에게 시험하였다 (도 87 및 88). 매주 한번 사용후 각 시료의 사용에 대하여 응답자들에게 문의하였다. 응답자의 대부분은 상기 겔을 전체 얼굴에 발랐다. 가장 공통적으로 제공된 다른 부위는 이마, 눈 아래 그리고 입 주변이 포함되었다.

[0159] 응답자의 대부분은 아침에 상기 겔을 발랐고(67%), 나머지 33%는 저녁에 상기 겔을 발랐다. 참가자의 98%는

테스트 동안 하루에 한 차례 상기 겔을 이용하였다. 응답자들에게 상기 겔을 발랐을 때 느낌과 다음 바를 때까지 24시간 동안 느낌이 어땠는지 그들만의 방식으로 설명해줄 것을 요청하였다. 겔의 느낌이 어땠는지를 설명하는데 이용된 단어들 중 매끄럽다, 시원하다, 부드럽다가 가장 흔히 사용된 표현이다. 테스트 참가자의 80%는 상기 겔을 지속적으로 사용할 것에 대한 높은 관심을 나타내었다.

[0160] 응답자에게 시험 동안 얼굴에 통상적으로 사용했던 이들의 다른 제품의 사용에 대해 질문하였다. 대부분은 먼저 상기 겔을 바르고, 그 다음 다른 제품을 바르거나 또는 추가 제품없이 밤에 상기 겔을 발랐다. 단지 14%의 참가자만이 상기 겔을 테스트하는 동안 이들이 평상시 사용한 제품중 하나를 뺐다고 했다. PureProC™는 다른 제품과 병용하여, 또는 대신하여 이용될 수 있다. 추가적으로, 자외선차단제가 상기 겔에 추가될 수 있고, 또는 병 대신 펌프로 분배될 수 있다. 반복된 국소 사용과 함께, 피부 자극, 발진, 또는 비-적합성 징후는 관찰되지 않았다. 상기 겔의 생체적합성 및 저자극성이 관찰되었다. 더욱이, 민감화, 독성, 또는 면역 반응면역 반응은 관찰되지 않았다.

[0161] **실시예 4. 본 명세서의 실크 용액으로 만든 본 명세서의 실크 제품**

[0162] 다양한 분자량 및/또는 분자량의 조합의 실크 용액이 특이적 용도에 최적화될 수 있다. 다음은 이 공정의 실시예를 제공하지만, 용도 또는 제형을 한정시키하고자 하는 의도는 아니다.

[0163] 문헌에서 표준 방법에 따라 3가지 실크 용액이 표준 실크 구조에 이용되었고, 다음의 결과물을 얻는다:

[0164] · 용액 #1은 실크 농도 5.9%, 평균 MW 19.8 kDa 및 2.2 PD (60 분 가열 추출, 100 도 LiBr 용해, 1 hr)이다.

[0165] · 용액 #2는 실크 농도 6.4% (30 분 가열 추출, 60 도 LiBr 용해, 4 hrs)이다.

[0166] · 용액 #3은 실크 농도 6.17% (30 분 가열 추출, 100C LiBr 용해, 1 시간)이다.

[0167] **필름:** 필름은 Rockwood et al (Nature Protocols; Vol. 6; No. 10; 온라인 공개 9/22/2011; doi:10.1038/nprot.2011.379)에 따라 만들어졌다. 간략하게 설명하자면, 4mL of 1% 또는 2% (wt/vol) 수성 실크 용액이 100mm 배양접시 (더 두꺼운 또는 더 얇은 필름을 위하여 실크의 용적이 변화될 수 있으며, 이는 중요하지 않음)에 추가되었으며, 덮지 않고 하룻밤 동안 건조되도록 하였다. 진공 건조지 바닥은 물로 채웠다. 건조 필름은 건조기 안에 넣고, 진공을 가하여, 상기 필름이 4시간 동안 물에 어닐(anneal)되도록 둔 후, 접시에서 빼내었다. 용액 #1에서 필름 주물로 구조적으로 연속성 필름이 만들어지지는 않았고; 상기 필름은 몇 조각으로 균열되었다. 이들 필름 조각은 물 어닐 처리에도 불구하고 물에 용해되었다.

[0168] **E겔(Egel):** "E겔"은 Rockwood et al.에서 설명된 바와 같이, 전자겔형성(electrogelation) 공정이다. 간략하게 설명하자면, 10 ml의 수성 실크 용액이 50 ml 원뿔 튜브에 추가되며, 한쌍의 백금 전극을 상기 실크 용액에 집어넣었다. 20 볼트 전위를 상기 백금 전극에 5 분 동안 제공하고, 전력 공급을 차단하고, 상기 겔은 수집된다. 용액 #1은 5분간 공급된 전류에서 E겔을 형성하지 않았다.

[0169] **겔형성:** 용액 #2와 #3은 공개된 홍당무과산화효소 (HRP) 프로토콜에 따라 겔화되었다. 거동은 전형적인 공개된 용액과 같았다.

[0170] **초음파파쇄된(Sonicated) 겔:** Rockwood et al의 초음파파쇄 공정에 따라 겔이 만들어졌다. 간략하게 설명하자면, 5 ml의 실크 용액이 15 ml 원뿔 튜브에 추가되었다. 초음파분쇄 혼(horn)은 용액 안에 넣고, 용액은 50% 진폭 (21W)에서 초음파분쇄되었다. 실크 겔은 2%, 4%, 및 6 % 실크 용액으로 만들어졌다. 표준 문헌 실크과 비교하였을 때, 용액 #2 및 #3은 더 오랜 시간 후에 겔을 형성하였는데, 예를 들면:

[0171] · 표준 문헌 실크: 5-8 분

[0172] · 용액 #2: 20 분

[0173] · 용액 #3: 120 분

[0174] **다공성 3D 스캐폴드:** 물 기반, 염 침출(leached) 스캐폴드는 Rockwood의 공개된 방법에 따라 만들어졌다. 관심대상의 입자 크기를 가진 염은 최고 크기의 메쉬는 위에, 그리고 최저 크기의 메쉬는 아래에 적재하여 준비될 수 있다. 염이 추가되었고, 체를 강력하게 흔들고, 염이 수집된다. 5-ml 주사기를 이용하여, 6% (wt/vol) 피브로인 용액은 플라스틱 용기 안에 분취되고, 몰드당 2 ml과 5-600 마이크론 염 입자들이 몰드 안에 있는 피브로인 용액의 상단이 서서히 추가되며, 이때 염이 균일하도록 용기는 회전된다. 용액 안에 실크에 대한 염의 비율은 25:1로 유지되었다.

- [0175] 공기 기포를 제거하기 위하여 벤치 상부에서 상기 용기를 부드럽게 두드리며, 뚜껑은 닫고, 용액은 실온에서 하룻밤 동안 두었다. 일단 겔화되며, 뚜껑은 제거되며, 물드는 여분의 물(물 2L에 3개 용기)이 있는 2-리터 비이커 안에 두었다. 비이커는 교반 플레이트로 이동되며, 2일 동안 일일 2-3 회 물이 교환되었다(총 4-6회 세척). 물드로부터 스캐폴드가 제거되었으며, 추가 일일 동안 새로운 물 안에 두었다.
- [0176] 용액 #1은 스캐폴드를 만들지 않았고; 겔화되지 않았다. 용액 #2 & #3은 모두 스캐폴드를 형성하였다. 용액 #3으로 만들어진 스캐폴드는 용액 #2로 만들어진 것보다 더 부드러운 것으로 보이지만, 두 스캐폴드 모두 균질하였다.
- [0177] **실시예 5. 용해된 본 명세서의 실크 용액에서 용매를 제거하기 위한 탄젠트 흐름 여과(TFF)**
- [0178] 탄젠트 흐름 여과 (TFF)를 이용하여 다양한 실크 농도가 만들어졌다. 모든 경우, 1 % 실크 용액이 주입 피드(input feed)로 이용되었다. 750-18,000mL 범위의 1% 실크 용액은 출발 용적으로 이용되었다. 리튬 브롬화물을 제거하기 위하여 TFF에서 용액은 희석여과(diafilter)되었다. 잔류 LiBr이 명시된 수준이하가 되면, 물을 제거함으로써 농도를 증가시키기 위하여 용액은 한외여과를 거치게 된다. 하기 실시예들 참고.
- [0179] **7.30 % 실크 용액:** 배취 당 100g 실크 고치의 30 분 추출로 시작하여 7.30 % 실크 용액이 만들어졌다. 그 다음 추출된 실크 섬유는 100C 오븐에서, 1 시간 동안 100C 9.3M LiBr을 이용하여 용해되었다. LiBr 안에 20 % 실크를 만들기 위하여 배취당 100g의 실크 섬유가 용해되었다. 그 다음 LiBr 안에 용해된 실크는 1 % 실크로 희석되었고, 5 um 필터를 통하여 여과되어, 큰 찌꺼기들이 제거되었다. 15,500 mL의 1%, 여과된 실크 용액은 TFF를 위한 출발 용적/희석여과 용적으로 이용되었다. 일단 LiBr이 제거되면, 이 용액은 한외여과되어 용적이 대략 1300mL이 되었다. 1262mL의 7.30 % 실크가 수집되었다. 남아있는 용액을 제거하는데 도움을 주기 위하여 물이 피드에 추가되었고, 547mL의 3.91 % 실크가 수집되었다.
- [0180] **6.44 % 실크 용액:** 배취 당 25, 33, 50, 75 및 100g 실크 고치 혼합물로 30 분 추출로 시작하여 6.44 % 실크 용액이 만들어졌다. 그 다음 추출된 실크 섬유는 100C 오븐에서, 1 시간 동안 100C 9.3M LiBr을 이용하여 용해되었다. 배취 당 35, 42, 50 및 71g의 실크 섬유가 용해되어 LiBr 안에 20 % 실크가 만들어지고, 복합되었다. 그 다음 LiBr 안에 용해된 실크는 1 % 실크로 희석되었고, 5 um 필터를 통하여 여과되어, 큰 찌꺼기들이 제거되었다. 17,000 mL의 1%, 여과된 실크 용액은 TFF를 위한 출발 용적/희석여과 용적으로 이용되었다. 일단 LiBr이 제거되면, 이 용액은 한외여과되어 용적이 대략 3000mL이 되었다. 1490mL의 6.44% 실크가 수집되었다. 남아있는 용액을 제거하는데 도움을 주기 위하여 물이 피드에 추가되었고, 1454mL의 4.88 % 실크가 수집되었다.
- [0181] **2.70 % 실크 용액:** 배취 당 25g 실크 고치의 60 분 추출로 시작하여 2.70 % 실크 용액이 만들어졌다. 그 다음 추출된 실크 섬유는 100C 오븐에서, 1 시간 동안 100C 9.3M LiBr을 이용하여 용해되었다. LiBr 안에 20 % 실크를 만들기 위하여 배취당 35.48g의 실크 섬유가 용해되었다. 그 다음 LiBr 안에 용해된 실크는 1 % 실크로 희석되었고, 5 um 필터를 통하여 여과되어, 큰 찌꺼기들이 제거되었다. 1,000 mL의 1%, 여과된 실크 용액은 TFF를 위한 출발 용적/희석여과 용적으로 이용되었다. 일단 LiBr이 제거되면, 이 용액은 한외여과되어 용적이 대략 300mL이 되었다. 312mL의 2.7% 실크가 수집되었다.
- [0182] **실시예 6. 본 명세서의 겔 비타민 C 유도체들**
- [0183] 상기 가장 순수한 형태의 비타민 C는 L-아스코르브산이다. 몸 안에서 L-아스코르브산으로 순수 비타민 C와 유사한 기능을 하는 다수의 비타민 C 유도체들이 있다. 비타민 C 유도체들은 보존 기간을 연장시키는데 이용되어 왔다. 유도체들은 안정적 형태의 L-아스코르브산이며, 산화되거나 또는 안정성을 잃지 않을 것이다. 하기 표 25는 본 명세서의 상기 피부 관리 제품에서 테스트된 일부 비타민 C 유도체들을 요약한 것이다:

표 25

<b>표 25. 조사된 유도체들</b>
소듐 아스코빌 포스페이트 (Aromantic)
소듐 아스코빌 포스페이트 (DSM)
마그네슘 아스코빌 포스페이트
아스코르브산-2-글루코시드
아스코빌 테트라소팔미테이트

[0184]

[0185]

도 89a-89b에서 표는 본 명세서의 겔의 구체예들을 요약한 것이다. 아스코르브산-2-글루코시드가 겔 형성에 있어서 가장 성공적인 비타민 C 유도체이며, 2 % 실크 용액에서 3 일 안에 겔이 형성된다. DSM 공급업자의 소듐 아스코빌 포스페이트는 2 % 실크 용액에서 28 일 후에 겔이 형성되며, 한편 Aromantic의 동일한 분자는 겔을 만들지 못하였다. 모든 경우에 있어서, 100 mg의 비타민 C 유도체는 15 mL의 2 % 실크 용액에 혼합되며, 그리고 모든 겔은 아스코르브산으로 만들어진 겔과 동일한 외양을 가지고 있었다.

[0186]

겔은 또한 2개의 비타민 C 옵션 조합과 함께 주물되었다. 각 경우에 있어서, 최소한 한 가지 비타민 C 옵션이 겔형성 (L-아스코르브산 또는 아스코르브산-2-글루코시드)을 일으키는 것으로 알려졌다. 모든 조합 겔은 1% 총 비타민 C 첨가제 농도에서 겔을 형성할 수 있었다. 20% 총 비타민 C 첨가제 농도에서 겔 주물은 겔이 되지 않았다 이론에 결부되지 않고, 비타민 C 농도, 실크 농도, 및 겔화 사이에 상관관계가 있는 것으로 보인다. 주어진 농도의 실크에서 비타민 C의 증가는 겔화까지의 시간을 더 연장시키거나 또는 겔화를 저해할 것이다. 이는 비타민 C 분자가 실크 단백질 단편들 사이의 상호작용을 물리적으로 차단시키거나 또는 실크 단백질의 가교를 물리적으로 차단하기 때문일 것이다. pH의 변형은 추가되는 비타민 C 및 이의 유도체들의 추가 농축을 허용할 수 있다.

[0187]

아스코빌 테트라소팔미테이트는 임의의 겔 형성 제형에 이용되지 않았는데, 그 이유는 이것은 수성 실크 용액 안에서 용해되거나 또는 분산되지 못하기 때문이다. 아스코빌 테트라소팔미테이트는 매우 점성이 크고, 오일 가용성 액체로써, 수성 실크 용액 안에 용해되려면 유화제의 도움이 필요할 것이다.

[0188]

**실시예 7. 본 명세서의 필름 비타민 C 유도체들**

[0189]

도 90은 본 명세서의 필름의 구체예들을 요약한 표다. 소듐 아스코빌 포스페이트, 마그네슘 아스코빌 포스페이트 및 아스코르브산-2-글루코시드는 다양한 외양의 필름으로 주물될 수 있다. 소듐 아스코빌 포스페이트 필름은 플라스틱과 유사한 겔의 상부 표면을 가진 불투명 백색이다. 마그네슘 아스코빌 포스페이트 필름은 플라스틱과 유사한 겔의 상부 표면을 가진 맑고 흐리다(clear and cloudy). 아스코르브산-2-글루코시드 필름은 대부분 L-아스코르브산 필름과 유사하나, 약간 덜 유연하고, 약간 거칠다(textured). 모든 필름은 불용성 둘레를 가지며, 가용성이었다. 한 구체예에서, 불용성 둘레를 가진 필름은 가용성 부문 안에 포함된 영역으로부터 형태를 편칭함으로써 완전하게 펼쳐질 수 있다.

[0190]

**실시예 8. 본 명세서의 비타민 C와 함께 카페인 필름**

[0191]

도 91a-91b는 카페인 본 명세서의 필름의 구체예들을 요약한 표다. 필름은 0.5%, 1%, 2.5%, 5%, 10%, 15%, 20% 카페인 그리고 20% 또는 25% 비타민 C와 함께 주물되었다. 모든 조합은 필름을 형성하였다. 20% 카페인 필름은 카페인을 침전시켰다. 0.5%-2.5%의 필름은 가용성이었다. 한 구체예에서, 카페인 본 명세서의 필름은 부은 눈을 가라앉히는데 이용된다.

[0192]

**실시예 9. 본 명세서의 비타민 C와 함께 카페인 겔**

[0193]

50 mg 카페인/15mL 용액의 추가와 함께, 2 % 실크와 100mg L-아스코르브산/15 mL 용액으로 실크 겔을 만들었다. 상기 겔은 표준 L-아스코르브산 겔과 동일한 모양을 가진다. 한 구체예에서, 본 명세서의 카페인 겔은 부은 눈을 가라앉히는데 이용된다. 레몬글라스, 바닐라, 제라늄, 및 녹차를 포함하나, 이에 국한되지 않는 범위의 필수 오일이 이용될 수 있다.

[0194] **실시예 10. 본 명세서의 비타민 C와 함께 녹차 겔**

단계들:

녹차 준비            250mL 물은 끓인다.  
차 주머니를 2-3 분 담구고, 이따금 흔든다.  
차 주머니를 빼내고, 식힌다.

겔 용액 준비        TFF-10-0047 (3.71 % 실크) 이용  
물을 이용하여 3 % 실크로 희석시킨다.  
녹차를 이용하여 2%로 희석시킨다.  
L-아스코르브산을 추가한다.

겔                    실온에서 표준 겔과 같이 겔형성이  
일어난다.  
녹색/황색  
녹차 향

용액 명세:        2 % 실크 용액  
65 mL (35mL의 3.71 % 실크, 8.3mL 물,  
21.66mL 녹차)  
0.43 g L-아스코르브산

[0195]

[0196] 도 92는 본 명세서의 카페인 겔의 구체예를 요약한 표다. 50 mg 카페인/15mL 용액의 추가와 함께, 2 % 실크와 100mg L-아스코르브산/15 mL 용액으로 실크 겔을 만들었다. 상기 겔은 표준 L-아스코르브산 겔과 동일한 모양을 가진다.

[0197] **실시예 11. 본 명세서의 비타민 C와 함께 보존제 겔**

[0198] 도 93은 본 명세서의 보존제 겔의 구체예들을 요약한 표다. 실크 겔은 표준 2 % 실크 용액과 100mg L-아스코르브산/15 mL 용액, 그리고 보존제와 킬레이트제를 추가하여 만들었다. 추가된 보존제는 Kinetic의 1.5%의 Verstatil SL (물, 소듐 레불리네이트, 포타슘 소르베이트)이며, 킬레이트제는 Kinetic의 0.1%의 Dermofeel-PA3 (소듐 피테이트이다. 보존제의 추가로 겔형성 시간이 7 일로 연장되었다. 겔은 L-아스코르브산과 아스코르브산-2-글루코시드 겔 비교와 함께 변색 및 일체성에 대하여 관찰된다.

[0199] **실시예 12. 본 명세서의 화학적 박피**

[0200] 조사된 주요 변수는 바람직한 pH의 실크 용액을 만드는데 필요한 젖산 및/또는 글리콜산의 농도였다. 실크 농도와 pH 사이에 상관관계를 결정하기 위하여, 2 % 실크 용액 (60 분 가열, 25kDA)은 글리콜 및 젖산으로 적정되었고, pH 스트립으로 pH에 대하여 테스트되었다. 다음은 적정/제형을 참고한다:

표 26

표 26. 젖산 박피 1: 초기 용액: 25mL 의 2 % 실크 용액, pH=7-8		
추가된 젖산의 양	총 젖산	pH
100μL	100μL	3
100μL	200μL	2
100μL	300μL	1-2

겔까지 시간: 3 일

[0201]

표 27

표 27. 젖산 박피 2: 초기 용액: 25mL 의 2 % 실크 용액, pH=7-8		
추가된 젖산의 양	총 젖산	pH
25μL	25μL	4

겔까지 시간: >5 일

[0202]

표 28

표 28. 글리콜산 박피 1: 초기 용액: 25mL 의 2 % 실크 용액, pH=7-8		
추가된 글리콜산의 양	총 글리콜산	pH
41mg	41 mg	4
43.25mg	84.25mg	3
30.7mg	114.95mg	3
56.4 mg	171.35 mg	2-3
91.66 mg	263.01mg	2
171.35mg	434.4mg	1-2

겔까지 시간: 3 일

[0203]

표 29

표 29. 글리콜산 박피 2: 초기 용액: 25mL 의 2 % 실크 용액, pH=7-8		
추가된 젖산의 양	총 젖산	pH
41mg	41mg	4

겔까지 시간: >5 일

[0204]

표 30

표 30. 젖산/글리콜산 박피: 초기 용액: 25mL 의 2 % 실크 용액, pH=7-8			
총 젖산	총 글리콜산	레몬글라스	pH
150μL	200mg	33.3μL	2

겔까지 시간: 3 일

[0205]



표 31

표 31. 젖산/글리콜산 박피: 초기 용액: 30mL 의 2 % 실크 용액, pH=7-8	
실크 % 용액 (60 분 가열, 25kDA)	2%
젖산 농도	6μL/mL
글리콜산 농도	8mg/mL
pH	2
레몬글라스농도	1.33 μL/mL

[0206]

[0207]

본 명세서의 박피는 약 0.5% 내지 약 8% 실크를 보유할 수 있다. 본 명세서의 박피의 pH는 젖산 및 글리콜산의 양을 변화시킴으로써 조정될 수 있다. 박피는 오직 젖산 만으로, 또는 글리콜산 만으로 또한 만들 수 있다. 본 명세서의 박피는 투명/흰 색일 수 있다. 본 명세서의 박피는 피부에 용이하게 퍼바르고 흡수되는 일관성을 가질 수 있다. 본 명세서의 박피는 갈변하거나 색이 변하지 않는다.

[0208]

한 구체예에서, 본 명세서의 화학 박피는 건강한, 생기가 넘치는 피부를 드러내기 위하여 매주 사용할 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 화학 박피는 잔주름을 감소시키기 위하여 매주 사용할 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 화학 박피는 피부를 탄탄하게 하기 위하여 매주 사용할 수 있다.

[0209]

각 제형(이용가능하다면 적정 후)은 액체로 그리고 겔로 제공되었으며, 외모와 느낌에 대하여 관찰되었다. pH=4 (젖산 박피 2, 글리콜산 박피 2)의 박피는 바른 후 몇 분 뒤 약간의 타는 듯한 느낌이 있었고, pH=2 (젖산 박피 1, 글리콜산 박피 1, 젖산/글리콜산 박피)의 박피는 약간 더 강한 타는 듯한 느낌을 일으켰다. 타는 듯한 감각이 겔 형태에서 좀더 지연되는 것을 제외하고, 액체와 겔 형태 사이에서 타는 듯한 느낌의 차이는 거의 없었다. PH는 상기 겔 형태에서 유지되었고, 그리고 pH 스트립을 이용하여 확인되었다.

[0210]

글리콜산과 젖산은 모두 알파 히드록시 산 (AHA's)으로써 표면 박피(가장 바깥쪽에 있는 피부 층의 박피)를 박피하는데 가장 흔히 사용되는 것들이다. 화학 박피는 외양을 개선시키기 위하여 표면 피부 층과 죽은 피부를 제거하기 위하여, 제어된 방식으로 상기 피부의 상부 층을 태우려는 시도이다. AHAs는 부작용 위험이 낮고, 강도 조절이 잘되기 때문에(pH 및 사용 시간 조절) 화학 박피에 흔히 이용된다. 글리콜산이 가장 흔하게 이용되며, 매우 작은 분자 크기를 가지고 있기 때문에, 표피 안으로 깊숙히 침투할 수 있다. 젖산은 또다른 흔히 이용되는 AHA이며, 이의 분자 크기가 좀더 크기 때문에 더 제어가 잘되는, 좀더 부드러운 박피를 제공한다. pH를 낮추고, 물리적 박리가 되는 당분야에 공지된 임의의 화학물질이 AHAs를 대신하여 사용될 수 있다.

[0211]

**실시예 13. 본 명세서의 수분 세럼**

[0212]

변수들로는 용액 안에 실크 농도, HA의 농도, 비타민 C의 추가, 그리고 세럼 제조 방법이 포함된다. 표 32는 평가되었던 시료의 목록이다:

표 32

표 32. 본 명세서의 세럼의 구체예들은 비타민 C와 함께, 또는 비타민 C 없이, 그리고 20uL/15mL 레몬글라스필수 오일 (30 mL 용액)와 함께, HA 및 실크 (60 분 가열, 25kDA)를 포함한다.				
방법	HA (%)	실크 (%)	Vit C (mg)	관찰
실크 희석 전 물에 추가된 HA	0.5	2	0	백색, 약간 불투명, 점성 액체
	1			백색/황색, 약간 불투명, 점성 액체
	0.5	2	0	낮은 점성, 상부에 필름과 함께 맑고-흰 불투명, 피부에 국소적으로 발랐을 때 약간 흰색 잔류물
	1			약간의 점성, 상단에 필름과 함께 맑은 액체
	0.5	1	0	약간의 점성, 상단에 필름과 함께 맑은 액체
	1			매끄러운 점성 액체, 피부에 국소적으로 발랐을 때 흰색 잔류물 없음
	0.5	0.5	0	중간 정도의 점성 액체, 맑음
	1			매끄러운, 맑음, 피부에 국소적으로 발랐을 때 흰색 잔류물 없음
	0.5	2	35	경질 겔과 점성 액체의 비균일 혼합
	1			경질 겔과 점성 액체의 비균일 혼합
	1	1	35	경질 겔과 점성 액체의 비균일 혼합
		0.5		불투명, 백색 액체/비-점성
	1	4	35	경질 겔과 점성 액체의 별도 혼합물
			0	경질 겔과 점성 액체의 비균일 혼합
	5	2	0	황색, 겔
실크 희석 전 물에 추가된 HA, 활발하게 교반됨	10	2	0	용해안된 HA와 함께 교반시, 점성 젤리
	5			교반시, 점성이 큰 젤리
	1			교반시, 점성 젤리
	0.5			
실크 희석 전 물에 추가된 HA, 혼돈다	1	2	0	비 균질성 농후한, 점성 젤리/겔
	5	1	0	
물에 HA 추가, 그리고 1일 동안 방치 후, 실크 희석	1	1	0	맑은/약간 불투명, 점성 액체, 매끄러운 느낌, 피부에 국소적으로 발랐을 때 흰색 잔류물 없거나 거의 없음
희석된 실크 용액에 HA 추가, 교반	0.5	2	0	일관성이 변화된 점성, 맑은/백색 액체
	1			
	0.5	1		일관성이 변화된, 맑은 점성 액체
	1			
	0.5	6		일관성이 변화된, 백색, 불투명 젤리
	1			

[0213]

희석된 실크 용액에 HA 추가, 교반	0.5	3.9	0	백색, 약간 불투명, 점성 액체
	1			
	0.5	2	35	일관성이 변화된 백색 겔
	1			

[0214]

[0215]

한 구체예에서, 본 명세서의 수화 세럼은 실크 피브로인-기반 단편 단백질 분말에 의해 피부를 보호하고, 수분을 밀봉한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 수화 세럼은 농축된 히알루론산과 함께 하루 종일 즉각적이고, 장기적 수분 공급을 위하여 수분을 전달한다. 레몬글라스, 바닐라, 제라늄, 및 녹차가 포함되나 이에 한정되지 않는 본 명세서의 수화 세럼에는 일정 범위의 필수 오일이 이용될 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 수화 세럼 한 두 방울은 얼굴과 목을 매끄럽게 할 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 수화 세럼은 물, 수성 실크 피브로인-기반 단편 용액, 히알루론산, 및 레몬글라스 오일을 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 수화 세럼 안에 실크 피브로인-기반 단편 단백질은 강한 화학적 보존제 또는 합성 첨가제 없이, 피부를 안정화시키고, 보호하고, 수분을 잡아두는 능력을 갖는다. 한 구체예에서, 본 명세서의 수화 세럼 안에 히알루론산은 피부에 영양을 공급하고, 수분 공급을 지속하기 위하여 수분을 운반한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 수화 세럼 안에 레몬글라스필수 오일은 항산화성을 나타내고, 항-염증 성질이 있어, 피부 회복을 지원한다. 한 구체예에서, 본

명세서의 수화 세럼의 pH는 약 6.0이다.

**[0216]** 실크 피브로인-기반 단편 용액

**[0217]** 실크 피브로인-기반 단편 용액은 수성이며, 작은 분자들을 붙잡아서 운반할 수 있기 때문에, 상기 용액은 수분 공급을 위하여 피부로 물과 습분성(hygroscopic) HA 분자들을 운반할 수 있다. 실행가능성 및 제품 결과에 대하여 용액 안에 실크 피브로인-기반 단편 조성물의 농도 범위 0.5%-6.0%가 테스트되었다. 테스트된 모든 농도는 실행가능한 것으로 밝혀졌다.

**[0218]** 히알루론산

**[0219]** 히알루론산 (히알루론산 나트륨)은 이의 습분성 성질과 부드럽고, 수분을 가진 피부를 촉진시키는 능력으로 인하여 수화 세럼의 성분으로써 테스트되었다. 실행가능성 및 제품 결과에 대하여 용액 안에 히알루론산 농도 범위 0.5%-10.0%가 테스트되었다. 10.0%를 제외하고, 테스트된 모든 농도는 실행가능한 것으로 밝혀졌다. 히알루론산을 용해시키는 능력에 근거하여 실행가능성이 결정되었다.

**[0220]** 비타민 C 및 이의 유도체들

**[0221]** 비타민 C (L-아스코르브산)는 수화 세럼에서 성분으로써 테스트되었다. 처음 비타민 C 시료는 겔과 액체의 비-균질한 혼합물이 되었다. 비타민 C를 이용한 추가 시험에서 균질한, 백색의, 불투명한, 비-점성 액체가 되었고, 이것은 피부에서 신속하게 흡수되지 않았다. 한 구체예에서, 겔 형성을 야기하지 않는 비타민 C 유도체, 이를 테면, 소듐 아스코빌 포스페이트가 더 이상 가용성이 되지 않을 농도까지 (예를 들면, 0% 내지 약 40%) 추가될 수 있다. 한 구체예에서, 20% 소듐 아스코빌 포스페이트가 추가될 수 있다. 겔형성을 야기하기 하는 비타민 C 옵션 (L-아스코르브산 및 아스코르빌 글루코시드)은 겔 형성이 저해되는 높은 농도 (예를 들면 약 10% 이상에서 최대 약 50%)까지 추가될 수 있다.

**[0222]** 세럼 형성 방법

**[0223]** 최초 세럼은 HA를 실크 피브로인-기반 단편 용액에 추가하고, 교반시켜 만들었다. HA는 서로 엉겨붙고, 강력하게 교반시키지 않으면 용해되지 않았다. 그 다음 혼합 공정을 변화시켜, HA가 먼저 물에 용해되었고, 그 다음 즉시 고농도 실크 피브로인-기반 단편 용액 (>4%)은 바람직한 농도로 희석시키는데 이용되었다. 생성된 세럼은 더 균질하고, 바람직한 매끄러움과 맑은 모양 및 느낌을 보유하였다. 상기 피부에 발랐을 때, 백색 잔류물이 잡지 나타났고, 이는 비벼 문지를 수 있다. 대체 방법에서, HA를 물에 용해시키고, 완전한 용해가 관찰될 때까지 1일 동안 방치함으로써, 제형이 만들어졌다. 그 다음 HA와 물 용액을 이용하여, 고농도 실크 피브로인-기반 단편 용액을 바람직한 농도로 희석시켰다. 생성된 세럼은 맑고, 매끄럽고, 균질하며, 발랐을 때 백색 잔류물이 남지 않거나 거의 남지 않았다.

**[0224]** 실시예 14. 본 명세서의 UV 수화 세럼

**[0225]** 변수들로는 HA의 농도, 산화 아연의 농도, 이산화 티타늄의 농도, 비타민 C의 추가, 그리고 세럼 제조 방법이 포함된다.

**[0226]** 도 94a-94c는 자외선(UV)에 대한 보호를 위하여 적합한 첨가제 및 성분의 농도를 변화시킨, 본 명세서의 미용 세럼의 구체예를 요약한 표다. 표 33은 비타민 C와 함께, 본 명세서의 수화 세럼의 구체예를 제공한다.

**표 33**

<b>표 33. 비타민 C와 함께, 본 명세서의 수화 세럼의 구체예</b>	
실크 % 용액 (60 분 가열, 25kDA)	1.0% w/v
히알루론산 (히알루론산 나트륨염)	0.75% w/v
레몬글라스 오일	20uL/15mL 실크 용액
소듐 아스코빌 포스페이트	6g
젖산	1.2 mL

**[0228]** 본 명세서의 세럼은 약 0.25% 내지 약 10% 히알루론산 나트륨염으로 만들 수 있다 (%를 증가시키면 점성이 더

큰 세럼이 된다). 0.5% 내지 약 10 %실크 용액을 이용하여 본 명세서의 세럼을 만들 수 있다. 본 명세서의 세럼은 옅은 투명하고, 옅은 황색일 수 있다. 본 명세서의 세럼은 pH=6일 수 있다. 본 명세서의 세럼은 잔유물이 없이 쉽게 문지르게 되는 매끄러운 질감을 가질 수 있다.

[0229] HA의 농도:

[0230] 히알루론산 (히알루론산 나트륨염)은 이의 습분성 성질과 미용 제품에 광범위하게 사용되기 때문에, 피부의 수분 공급을 촉진시키기 위하여 UV 실크 세럼 안의 성분으로써 테스트되었다. 1%, 2.5% 내지 5% HA 용액이 테스트되었다. HA %가 증가될 수록, 상기 세럼은 점성이 더 강하고, 겔과 같이 되었다. 1% HA는 UV 첨가제들 (산화 아연, 이산화 티타늄)이 물 가용성이 아니고, 분산되어야 하기 때문에, UV 세럼에는 이용되지 못하였다. 1% HA는 분산에 충분한 점성이 아니었고, UV 첨가제들이 침출되었다. 2.5%는 바람직한 느낌, 질감 및 점성에 근거하여 가장 일관성있었고, UV 첨가제들을 분산시키는 능력도 있었다. 5%는 매우 농후하고, 점성인 세럼이 되었다.

[0231] 미네랄 필터의 농도: 산화 아연 및 이산화 티타늄:

[0232] 산화 아연 및 이산화 티타늄은 안전한 것으로 간주되는 UV 첨가제로써 조사되었다. 이들 첨가제는 피부에 물리적인 반사 장벽을 형성함으로써, UV 방사선으로부터 피부를 기계적으로 보호한다. 둘다 물에 가용성이 아니기 때문에, 현재 수성 용액을 위하여 분산되어야만 한다. 산화 아연 농도는 2.5%, 3.75%, 5%, 5.625%, 10%, 12% 및 15% 로 변화되었다. 이산화 티타늄 농도는 1.25%, 1.875%, 3%, 5% 및 10%로 변화되었다. UV 첨가제의 농도를 증가시키면 백색 잔류물이 약간 증가되었으며, 첨가제들이 잘 분산되었으며, 잘 혼합되는 경우, 그 효과는 무시할 수 있었다. 광범위한 스펙트럼 보호를 얻기 위하여, 산화 아연과 이산화 티타늄은 함께 세럼 안에 혼합되었다. 산화 아연은 긴, 그리고 짧은 UV A 및 UV B 선으로부터 보호할 수 있는 광범위한 스펙트럼의 UV 첨가제다. 그러나, 이산화 티타늄이 UV B 보호에 더 우수하고, 최고의 광범위한 스펙트럼 보호를 위하여 산화 아연과 함께 흔히 추가된다. 조합에는 3.75%/1.25% ZnO/TiO<sub>2</sub>, 5.625%/1.875% ZnO/TiO<sub>2</sub>, 12%/3% ZnO/TiO<sub>2</sub>, 15%/5% ZnO/TiO<sub>2</sub>을 포함하였다. The 3.75%/1.25% ZnO/TiO<sub>2</sub>는 spf 5를 나타내며, 5.625%/1.875% ZnO/TiO<sub>2</sub>는 spf 8을 나타낸다.

[0233] 비타민 C:

[0234] 소듐 아스코빌 포스페이트가 비타민 C 원료로 이용되었다. 상기 실크 겔 (0.67%)과 동일한 비타민 C 농도로 제형이 만들어졌다. 물에 가용성인 20% 소듐 아스코빌 포스페이트를 이용하여 또한 제형이 만들어졌다.

[0235] 세럼 제조:

[0236] 비타민 C (소듐 아스코빌 포스페이트)를 우선 물에 용해시켜야 한다. 그 다음 히알루론산 나트륨염이 물에 추가되며, 활발하게 혼합하고, 완전하게 용해되도록 두었다. 점성 액체가 생성되었다 (HA %에 의존적). 용액의 점성은 산화 아연과 이산화 티타늄이 고르게 분산되도록 하며, 따라서 HA는 UV 첨가제 추가하기 전에 혼합되어야 한다. 그 다음 산화 아연 및 이산화 티타늄이 용액에 추가되었고, 전기 혼합기를 이용하여 활발하게 혼합되었다. 그 다음 실크 용액이 추가 및 혼합되어 상기 세럼 제형이 완성되었다.

[0237] 화학 필터:

[0238] 본 명세서의 UV 세럼은 활성 화학 필터 성분: 옥시벤존, 아보벤존, 옥티살레이트, 옥토크리렌, 호모살레이트 및 옥틴옥세이트중 하나, 또는 2개 또는 그 이상의 조합을 포함할 수 있다. 본 명세서의 UV 세럼은 또한 화학적 필터와 함께 산화 아연의 조합을 또한 포함할 수 있다.

[0239] 한 구체예에서, 본 명세서의 UV 세럼은 햇볕에 노출되는 모두 피부에 노출하기 전 대략적으로 15 분에 바를 수 있고, 최소 매 12 시간 마다 다시 바를 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 UV 세럼은 물, 산화 아연, 히알루론산 나트륨염, 이산화 티타늄, 실크, 그리고 비타민 C 또는 비타민 C 유도체 이들 테면, 소듐 아스코빌 포스페이트를 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 UV 세럼은 실크 단백질 분말에 의해 피부를 보호하고, 수분을 밀봉한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 UV 세럼은 비타민 C의 항산화 능력과 함께, 피부 톤을 개선시키고, 콜라겐 생산을 촉진시키고, 주름 및 잔주름 출현을 감소시킨다. 한 구체예에서, 본 명세서의 UV 세럼은 농축된 히알루론산과 함께 하루 종일 즉각적이고, 장기적 수분 공급을 위하여 수준을 전달한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 UV 세럼은 산화 아연 및 이산화 티타늄의 복합된 작용으로 일광화상을 방지하는데 도움이 된다. 한 구체예에서, 본 명세서의 UV 세럼은 강력한 UVA 및 UVB 선으로부터 피부를 차폐시키면서, 피부를 보호하고, 수분을 공급하고, 잔주름을 감소시키도록 기획된다. 한 구체예에서, 본 명세서의 UV 세럼 안의 실크 단백질은 강한 화학적 보존제 또는 합성 첨가제 없이, 피부를 안정화시키고, 수분을 잡아둠으로써, 피부를 보호한다. 한 구체

예에서, 본 명세서의 UV 세럼 안에 비타민 C/유도체는 강력한 항산화제로 작용하여, 피부 회춘을 지원한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 UV 세럼 안에 히알루론산 나트륨염은 상기 피부에 영양을 공급하고, 수분 공급을 지속하기 위하여 수분을 운반한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 UV 세럼 안에 산화 아연 및 이산화 티타늄은 유해한 UVA 및 UVB 선으로부터 피부를 차단시킨다. 본 명세서의 UV 세럼 안에 실크 단백질 안정화 매트릭스는 공기로부터 활성 성분들을 보호하여, 강한 화학적 보존제 또는 합성 첨가제 없이, 이들의 충분한 장점을 전달한다. 상기 실크 매트릭스는 또한 상기 피부 안에 수분을 잡아두어, 히알루론산 나트륨염의 수화 효과를 더 제공한다.

#### [0240] 실시예 15. 본 명세서의 압점 필름

[0241] 압점 출현을 감소시키기 위하여, 멜라닌의 과다생산을 역전시키기 위하여 고농도의 비타민 C가 필요할 수 있다. 본 실시예에서, 40% 비타민 C (1.5:1 실크: 비타민 C)가 연구되었다. 상기 필름의 크기 및 모양은 표적 지역에 적절하게 맞출 수 있는데, 예를 들면 직경 1in (2.54cm)의 작은 원형 필름으로 만들 수 있다.

[0242] 비타민 C 농도 (0-50%)를 변화시키면서, 본 명세서의 압점 필름, 또는 유사한 필름이 히드로필름으로 적용될 수 있다. 피부는 물에 의해 젖게 할 수 있다. 그 다음 상기 필름은 젖은 지역에 제공된다. 그 다음 물은 상기 필름의 상단에 제공되어, 겔로 변화게 된다. 그 다음 상기 겔이 퍼지게 되고, 적용 지역으로 부드럽게 마사지될 수 있다. 표 34는 본 명세서의 히드로 필름 (불용성 둘레는 없음)의 구체예의 상세를 제공한다.

표 34

표 34. 본 명세서의 히드로필름의 구체예	
실크 % 용액 (60 분 가열, 25kDA)	2.56%
비타민 C (L-아스코르브산)의 양	총 15.62 mg (1 인치 원형 펀치 안에 10 mg)
물당 용액 용적	2.44 mL
필름 크기	1.25 in 직경 원형 (7.917cm <sup>2</sup> )

[0243]

[0244] 본 명세서의 필름은 3mg/cm<sup>2</sup> 내지 10mg/cm<sup>2</sup>의 실크 양을 가진 필름을 만들기 위하여, 실크 % 및 용적의 상이한 조합을 이용하여 만들어질 수 있다. 본 명세서의 필름은 약 1% 내지 약 50% L-아스코르브산으로 만들어질 수 있다. 본 명세서의 필름은 물에 가용성이다 (불용성 둘레는 상기 필름을 중앙을 찍어냄으로써 제거된다). 본 명세서의 필름은 물로 피부에 부착될 수 있다. 본 명세서의 필름은 물이 제공된 후 피부에 퍼질 수 있다. 본 명세서의 필름은 건조 기구의 습도가 16-40% 이고, 실험실 습도 이하인 경우 건조될 수 있다. 본 명세서의 필름은 맑고/투명할 수 있다.

[0245] 한 구체예에서, 본 명세서의 압점 필름은 물, 실크, 그리고 비타민 C (L-아스코르브산)를 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 압점 필름은 40% 비타민 C를 포함한다. 한 구체예에서, 본 명세서의 압점 필름은 매일 사용으로 표적 지역에서 피부 색소침착을 줄이고, 피부 톤을 고르게 한다. 비타민 C는 지속 사용으로 소위 멜라닌 세포로 불리는 색소를 만드는 세포로부터 피부 표면 세포로 색소 이동을 방지할 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 압점 필름은 깨끗한 축축한 피부에 20 분 동안 적용시킬 수 있다. 한 구체예에서, 부착된 필름에 물을 추가 제공할 수 있다. 본 명세서의 압점 필름의 실크 단백질 안정화 매트릭스는 공기로부터 활성 성분들을 보호하여, 강한 화학물질 또는 보존제 이를 테면, 파라벤 및 프탈레이트 사용 없이, 이들의 충분한 장점을 전달한다. 따라서, 본 명세서의 압점 필름은 파라벤 및 프탈레이트-프리다. 표 35는 본 명세서의 필름의 구체예의 상세를 제공한다.



표 35

표 35. 본 명세서의 필름의 구체예	
실크 % 용액 (60 분 가열, 25kDA)	2.2%
표면적	5.07cm <sup>2</sup>
주물용 실크 용액의 용적	1.56mL
필름 당 실크의 양:	34mg
필름 당 1-아스코르브산 양:	23mg
필름에서 1-아스코르브산의 농도:	40%
pH	3

[0246]

[0247]

본 명세서의 실크 2.1% 용액 (0.321mL/cm<sup>2</sup>) 내지 본 명세서의 실크 용액 2.4% (0.282mL/cm<sup>2</sup>)을 이용하여 34mg의 실크 (6.7mg/cm<sup>2</sup>)를 가진 본 명세서의 압점 필름을 만들 수 있다. 한 구체예에서, 본 명세서의 실크 2.2% 용액 (60 분 가열, 25kDA)을 이용하여 본 명세서의 필름을 만들었다. 용액의 실크 %와 용적을 변화시켜 대등한 필름을 만들 수 있다. 본 명세서의 압점 필름은 3mg/cm<sup>2</sup> 내지 10mg/cm<sup>2</sup>의 실크 양을 가진 필름을 만들기 위하여, 상이한 조합의 실크 % 및 용적으로 만들어질 수 있다. 본 명세서의 압점 필름은 약 15 내지 약 50% 1-아스코르브산으로 만들어질 수 있다. 본 명세서의 압점 필름은 본 명세서의 필름은 물에 가용성 (불용성 둘레)이다. 본 명세서의 압점 필름은 맑고/투명하다. 본 명세서의 압점 필름은 물이 가해질 때 pH=3이다. 본 명세서의 압점 필름은 물을 사용하여 피부에 부착될 수 있다. 본 명세서의 압점 필름은 건조 장비의 습도가 16-40%인 경우, 실험실 습도 이하로 건조될 수 있다.

[0248]

**실시예 16. 본 명세서의 고농도 비타민 C 겔**

[0249]

고농도 비타민 C 겔은 최대 20%까지 추구되었다. 비타민 C 유형, 비타민 C 농도, 실크 % 및 pH를 변화시켜, 겔 안에 비타민 C의 양을 증가시켰다.

[0250]

**도 95a-95c**는 본 명세서의 고농도 비타민 C 겔의 구체예들을 요약한 표다. 겔에 대한 비타민 C의 최대 농도는 12일 후 3.8실크 % 용액으로 15% 아스코르브산 2 글루코시드 겔이었다. 2, 3 및 3.8 % 실크를 가진 5 및 10 % 아스코르브산-2-글루코시드 제형은 모두 겔화되었다. 각 집단의 비타민 C에서, 겔형성은 3.8 % 실크에서 가장 먼저 일어났고, 이어서 3%, 그 다음 마지막으로 2% 이었다. 비타민 C 농도, 실크 농도 그리고 겔형성 사이에 상관관계가 있는 것으로 보인다. 용액이 실크와 비교하여 너무 많은 비타민 C를 갖는 경우, 겔형성이 방해될 수 있다. 따라서, 고농도 비타민 C 겔을 만들기 위하여, 실크 농도를 높일 필요가 있다. 시료가 5.5 % 실크와 20% 비타민 C에서 주물은 되지만 겔형성이 일어나지 않았고, 더 높은 실크 %이 필요할 수 있다. 10 또는 20% 비타민 C와 함께 3% 실크 용액에서 겔형성을 유도하기 위하여 젖산으로 pH 2로 만들면, 이 시료는 12일 안에 겔형성이 일어나지 않았다.

[0251]

**실시예 17. 본 명세서의 겔의 미생물학 연구**

[0252]

화장품에 미생물의 오염은 제품의 부패 원인이 될 수 있으며, 병원균인 경우, 전세계적으로 소비자에게 심각한 건강상 위험이 된다. United States Pharmacopoeia (USP) Microbial Limits Test는 세균, 이스트 및 곰팡이에 관한 총 미생물량을 결정하는 몇 가지 방법을 제시한다. 사용에서 3가지 상이한 상태(손대지 않은 상태 (intact), 사용중, 사용 종료)에서 가능한 미생물 오염의 평가를 위하여 본 명세서의 다양한 겔이 테스트되었다. **도 96**은 이러한 테스트의 결과를 요약한 표다.

[0253]

카보이에서 겔 시료와 물 시료는 호기성 세균 및 효모 그리고 곰팡이에 대하여 CFU/mL (밀리리터당 콜로니 형성 단위)를 결정하기 위하여 분석되었다. 시료는 세균용 트립신 대두 한천 (TSA)과 곰팡이(효모/곰팡이)용 감자 텍스트로즈 한천 (PDA)에 23±3℃의 온도에서 노출되었다. 시료는 30.0 ± 2℃에서 3 일 (세균)과 5 일 (곰팡이) 동안 항온처리되었다. 그 다음 CFU/mL를 결정하기 위하여 시료를 관찰하였다.

[0254]

세균 및 곰팡이의 분석 탐지 한계는 10 CFU/ml 또는 g이며, 값이 < 10인 경우 시료 안에 미생물은 탐지되지 않을 수 있음을 나타낸다. 값이 > 1.00E+04 인경우 미생물 콜로니는 너무 많아서, 도달된 희석액 안에 카운트되



지 못함을 나타낸다.

**실시예 18. 본 명세서의 UV 실크 포말 및 액체**

한 구체예에서, 비타민 C 유도체 소듐 아스코빌 포스페이트 (DSM)는 물에 용해되었다. 그 다음 히알루론산 나트륨 ("HA")이 물에 추가되었고, 활발하게 혼합하고, 완전하게 용해되도록 두었다. 점성 액체가 생성되었다 (HA %에 의존적). 용액의 점성은 산화 아연과 이산화 티타늄이 고르게 분산되도록 하며, 따라서 HA는 UV 첨가제 추가하기 전에 전형적으로 혼합된다. 산화 아연 및 이산화 티타늄이 용액에 추가되고, 예를 들면, 전기 혼합기를 이용하여 활발하게 혼합되었다. 그 다음 60 분 가열된 (~25 kDa) 실크 용액이 추가되고, 혼합되어 1 % 실크 제형이 완성되었다.

소듐 아스코빌 포스페이트 (시료 "HU2" 및 "HU4") 추가 없이 2개 제형이 만들어졌다. 시료 HU2의 경우, 산화 아연 및 이산화 티타늄이 추가되고, 전기 블렌드와 휘스크를 이용한 블렌딩에 의해 혼합되었다. 점성의 백색 액체가 되었다 (도 98 및 도 99). 그 다음 실크가 추가되고, 전기 블렌드와 휘스크를 이용한 블렌딩에 의해 혼합되었다. 이 용액은 면도 크림과 유사한 크림색 포말이 되었다(도 97 및 도 100). d1-알파 토크페릴 아세테이트 형태의 비타민 E가 용액에 추가되어, 점성 액체 질감이 회복되어 매끄럽고 고른 질감으로 바를 수 있다(도 98). d1-알파 토크페릴 아세테이트의 양을 증가시키면, 이 제형은 포말 느낌이 줄고, 매끈한 액체 또는 로션 느낌이 증가된다.

HU4는 2개의 배취로 나누었다: 도 99, 배취 2 및 도 100, 배취 1. 첫 배취는 HU2와 동일한 과정을 밟았고, 포말이 되었다. HU4의 제 2 배취의 경우, 소듐 아스코빌 포스페이트가 추가되었고, 그리고 임의의 아연, 티타늄 또는 실크가 추가되기에 앞서 용해되었다. 그 다음 UV 첨가제들은 전기 블렌드와 휘스크를 이용한 블렌딩에 의해 추가되었고, 표준 백색 점성 액체가 만들어졌다. 그 다음 전기 블렌드와 휘스크에 의해 실크가 추가되었다. 보통 볼 수 있는 것보다 약간 더 농후한 점성 액체가 되었다. 이론에 결부되지 않고, 소듐 아스코빌 포스페이트를 추가하면 포말이 방해되는 것으로 보인다. 이론에 결부되지 않고, 블렌딩 또는 믹싱과 반대로 휘스크는 실크 포말을 만드는 것으로 보인다.

**표 36**

표 36. 본 명세서의 UV 실크 포말과 액체의 구체예									
시료	총 용적	% 실크	HA (히알루론산 나트륨) %	질량 HA (g)	ZnO %	질량 ZnO (g)	TiO <sub>2</sub> %	질량 TiO <sub>2</sub> (g)	소듐 아스코빌 포스페이트 (g)
HU2	55	1	2.5	1.375	12	6.6	3	1.65	N/A
HU4 배취 1	27.5	1	3.5	0.9625	12	3.3	3	0.825	5.5
HU4 배취 2	27.5	1	3.5	0.9625	12	3.3	3	0.825	N/A

**실시예 19. 본 명세서의 동결건조된 실크 분말**

표 37

표 37. 동결건조된 실크 분말의 구체예		
실크 용액	처리	가용성
~60 kDa 실크, 6 % 실크, pH=7-8	동결건조시키고, 블렌드로 절단	없음
~60 kDa 실크, 6실크 %, pH=10	동결건조시키고, 블렌드로 절단	없음
~25 kDa 실크, 6실크 %, pH=7-8	동결건조시키고, 블렌드로 절단	있음
~25 kDa 실크, 6실크 %, pH=10	동결건조시키고, 블렌드로 절단	있음

[0261]

[0262]

상기 실크 용액은 동결건조를 통하여 대규모의 물을 제거하고, 블렌드를 이용하여 작은 조각으로 잘게 잘라서 실크 분말로 변형되었다. 수산화나트륨을 이용하여 pH가 조정되었다. 낮은 분자량 실크 (~25 kDa)는 가용성이었지만, 큰 분자량 실크 (~60 kDa)는 가용성이 아니다.

[0263]

동결건조된 실크 분말은 보관 및 운반 조건에 따라 10 일 내지 10 년 범위의 강화된 보관관리에 유익할 수 있다. 동결건조된 실크 분말은 약학, 의학, 소비재 및 전자 시장에서 미가공 성분으로 또한 이용될 수 있다. 추가적으로, 동결건조된 실크 분말은 이것의 처음 생산된 것보다 더 높은 농도의 용액이 포함된 다양한 농도의 실크 용액을 만들기 위하여 보관 후, 동결건조된 실크 분말은 물, HFIP, 또는 유기 용액에 재현탁될 수 있다.

[0264]

한 구체예에서, 1%, 3%, 및 5 중량 % 실크가 포함된 % 본 명세서의 수성 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편 용액은 각각 1.8L Lyoguard 트레이에 분배되었다. 3개 트레이 모두 12 ft<sup>2</sup> 동결건조기 안에 두고, 1회 운전을 실행하였다. 생성물은 ≤ -40℃의 선반 온도에서 냉동되었고, 2 시간 동안 유지되었다. 그 다음 조성물은 3 시간 램프와 함께 -20℃의 선반 온도에서 동결건조되었고, 20 시간 동안 유지되었고, 그리고 후속적으로 5시간 램프와 함께, 30℃의 온도에서 건조되고, 약 34 시간 유지되었다. 트레이는 모두 빼내고, 추가 공정이 있을 때까지 주변 조건하에서 보관되었다. 각 생성된 동결건조된 실크 단편 조성물은 0.1 wt% 내지 8 wt% 범위의 실크 단편 용액으로 재구성되도록 수성 용매 및 유기 용매에 용해될 수 있었다. 가열과 혼합이 필요하지는 않았지만, 용해 속도를 가속화시키는데 이용되었다. 모든 용액은 주변 조건에서 선반-안정적이었다.

[0265]

한 구체예에서, 본 명세서의 방법을 이용하여 30분 가열과 함께 직조된 수성 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편 용액의 분자량은 약 57 kDa이고, 다분산성은 약 1.6이며, 무기 및 유기 잔유물은 500 ppm 미만이며, 그리고 옅은 호박색을 띤다.

[0266]

한 구체예에서, 본 명세서의 방법을 이용하여 60분 가열과 함께 직조된 수성 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편 용액의 분자량은 약 25 kDa이고, 다분산성은 약 2.4이며, 무기 및 유기 잔유물은 500 ppm 미만이며, 그리고 옅은 호박색을 띤다.

[0267]

약 6 kDa 내지 약 16 kDa의 평균 중량 평균 분자량을 갖는 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 제조하는 방법은 다음의 단계들을 포함한다: 실크 원료를 끓는 (100℃) 탄산나트륨 수성 용액에 넣고 약 30 분 내지 약 60 분을 처리하여 실크 원료를 탈검(degumming)시키는 단계; 상기 용액으로부터 세리신을 제거하여 탐지불가능한 수준의 세리신이 포함된 실크 피브로인 추출물을 만드는 단계; 상기 실크 피브로인 추출물로부터 용액을 따라내는 단계; 리튬 브롬화물 용액 안에 상기 실크 피브로인 추출물을 넣을 때 약 60℃ 내지 약 140℃ 범위 시작 온도에서 리튬 브롬화물 용액에 실크 피브로인 추출물을 용해시키는 단계; 약 140℃ 온도의 오픈 안에 최소한 1 시간 동안 실크 피브로인-리튬 브롬화물 용액을 유지시키는 단계; 실크 피브로인 추출물로부터 상기 리튬 브롬화물을 제거하는 단계; 그리고 실크 단백질 단편들의 수성 용액을 만드는 단계, 상기 수성 용액은 약 6 kDa 내지 약 16 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고, 이때 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 포함한다. 상기 방법은 용해 단계 전, 실크 피브로인 추출물을 건조시키는 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 고성능 액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정하였을 때, 300 ppm 미만의 리튬 브롬화물 잔유물을 포함할 수 있다. 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 고성능액체크로마토그래피 탄산나트륨 분석을 이용하여 측정하였을 때, 100 ppm 미만의 탄산나트륨 잔유물을 포함할 수 있다. 상기 방법은 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 치료제를 추가를 더 포함할 수 있다. 상기 방법은 항산화제

또는 효소중에서 선택된 분자를 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가를 더 포함할 수 있다. 상기 방법은 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 비타민을 추가하는 것을 더 포함할 수 있다. 비타민은 비타민 C 또는 이의 유도체일 수 있다. 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 동결건조될 수 있다. 상기 방법은 알파 히드록시산을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 것을 더 포함할 수 있다. 상기 알파 히드록시산은 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 집단에서 선택될 수 있다. 상기 방법은 약 0.5% 내지 약 10.0% 농도의 히알루론산 및 이의 염을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 더 추가하는 것을 포함할 수 있다. 상기 방법은 산화 아연 또는 이산화 티타늄중 최소 하나를 추가하는 것을 더 포함할 수 있다. 이 방법에 의해 만들어진 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 필름이 직조될 수 있다. 상기 필름은 약 1.0 wt. % 내지 약 50.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 포함할 수 있다. 상기 필름은 약 2.0 wt. % 내지 약 20.0 wt. % 범위의 물 함량을 가질 수 있다. 상기 필름은 약 30.0 wt. % 내지 약 99.5 wt. %의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함할 수 있다. 이 방법에 의해 만들어진 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 겔이 직조될 수 있다. 상기 겔은 약 0.5 wt. % 내지 약 20.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 포함할 수 있다. 상기 겔은 최소한 2%의 실크 함량과 최소 20%의 비타민 함량을 가질 수 있다.

[0268]

약 17 kDa 내지 약 38 kDa의 평균 중량 평균 분자량을 갖는 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 제조하는 방법은 다음의 단계들을 포함한다: 실크 원료를 끓는 (100℃) 탄산나트륨 수성 용액에 넣고 약 30 분 내지 약 60 분을 처리하여 탈검시키는 단계; 상기 용액으로부터 세리신을 제거하여탐지불가능한 수준의 세리신이 포함된 실크 피브로인 추출물을 만드는 단계; 상기 실크 피브로인 추출물로부터 용액을 따라내는 단계; 리튬 브롬화물 용액 안에 상기 실크 피브로인 추출물을 넣을 때 약 80℃ 내지 약 140℃ 범위 시작 온도에서 리튬 브롬화물 용액에 실크 피브로인 추출물을 용해시키는 단계; 약 60℃ 내지 약 100℃ 온도의 건조 오븐 안에 최소한 1 시간 동안 실크 피브로인-리튬 브롬화물 용액을 유지시키는 단계; 실크 피브로인 추출물로부터 상기 리튬 브롬화물을 제거하는 단계; 그리고 실크 단백질 단편들의 수성 용액을 만드는 단계, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 10 ppm 내지 약 300 ppm의 리튬 브롬화물 잔유물을 포함하고, 이때 상기 실크 단백질 단편들의 수성 용액은 약 10 ppm 내지 약 100 ppm의 탄산나트륨 잔유물을 포함하고, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 17 kDa 내지 약 38 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고, 이때 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 포함한다. 상기 방법은 용해 단계 전, 실크 피브로인 추출물을 건조시키는 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정하였을 때, 300 ppm 미만의 리튬 브롬화물 잔유물을 포함할 수 있다. 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 고성능액체크로마토그래피 탄산나트륨 분석을 이용하여 측정하였을 때, 100 ppm 미만의 탄산나트륨 잔유물을 포함할 수 있다. 상기 방법은 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 치료제를 추가를 더 포함할 수 있다. 상기 방법은 항산화제 또는 효소중에서 선택된 분자를 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가를 더 포함할 수 있다. 상기 방법은 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 비타민을 추가하는 것을 더 포함할 수 있다. 비타민은 비타민 C 또는 이의 유도체일 수 있다. 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 동결건조될 수 있다. 상기 방법은 알파 히드록시산을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 것을 더 포함할 수 있다. 상기 알파 히드록시산은 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 집단에서 선택될 수 있다. 상기 방법은 약 0.5% 내지 약 10.0% 농도의 히알루론산 및 이의 염을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 더 추가하는 것을 포함할 수 있다. 상기 방법은 산화 아연 또는 이산화 티타늄중 최소 하나를 추가하는 것을 더 포함할 수 있다. 이 방법에 의해 만들어진 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 필름이 직조될 수 있다. 상기 필름은 약 1.0 wt. % 내지 약 50.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 포함할 수 있다. 상기 필름은 약 2.0 wt. % 내지 약 20.0 wt. % 범위의 물 함량을 가질 수 있다. 상기 필름은 약 30.0 wt. % 내지 약 99.5 wt. %의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함할 수 있다. 이 방법에 의해 만들어진 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 겔이 직조될 수 있다. 상기 겔은 약 0.5 wt. % 내지 약 20.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 포함할 수 있다. 상기 겔은 최소한 2%의 실크 함량과 최소 20%의 비타민 함량을 가질 수 있다.

[0269]

본 명세서에서 설명된 측면들에 따르면, 약 39 kDa 내지 약 80 kDa의 평균 중량 평균 분자량을 갖는 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액을 제조하는 방법이 공개되며, 상기 방법은 다음의 단계들을 포함한다: 실크 원료를 끓는 (100℃) 탄산나트륨 수성 용액에 넣고 약 30 분을 처리하여 탈검(degumming)시키는

단계; 상기 용액으로부터 세리신을 제거하여탐지불가능한 수준의 세리신이 포함된 실크 피브로인 추출물을 만드는 단계; 상기 실크 피브로인 추출물로부터 용액을 따라내는 단계; 리튬 브롬화물 용액 안에 상기 실크 피브로인 추출물을 넣을 때 약 80℃ 내지 약 140℃ 범위 시작 온도에서 리튬 브롬화물 용액에 실크 피브로인 추출물을 용해시키는 단계; 약 60℃ 내지 약 100℃ 온도의 건조 오븐 안에 최소한 1 시간 동안 실크 피브로인-리튬 브롬화물 용액을 유지시키는 단계; 실크 피브로인 추출물로부터 상기 리튬 브롬화물을 제거하는 단계; 그리고 실크 단백질 단편들의 수성 용액을 만드는 단계, 이때 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 10 ppm 내지 약 300 ppm의 리튬 브롬화물 잔유물, 약 10 ppm 내지 약 100 ppm의 탄산나트륨 잔유물을 포함하고, 이때 단편들은 약 40 kDa 내지 약 65 kDa 범위의 평균 중량 평균 분자량을 갖고, 이때 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 약 1.5 내지 약 3.0의 다분산성을 포함한다. 상기 방법은 용해 단계 전, 실크 피브로인 추출물을 건조시키는 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 고성능액체크로마토그래피 리튬 브롬화물 분석을 이용하여 측정하였을 때, 300 ppm 미만의 리튬 브롬화물 잔유물을 포함할 수 있다. 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 고성능액체크로마토그래피 탄산나트륨 분석을 이용하여 측정하였을 때, 100 ppm 미만의 탄산나트륨 잔유물을 포함할 수 있다. 상기 방법은 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 치료제를 추가를 더 포함할 수 있다. 상기 방법은 항산화제 또는 효소중에서 선택된 분자를 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가를 더 포함할 수 있다. 상기 방법은 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 비타민을 추가하는 것을 더 포함할 수 있다. 비타민은 비타민 C 또는 이의 유도체일 수 있다. 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액은 동결건조될 수 있다. 상기 방법은 알파 히드록시산을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 추가하는 것을 더 포함할 수 있다. 상기 알파 히드록시산은 글리콜산, 젖산, 타르타르산 및 구연산으로 구성된 집단에서 선택될 수 있다. 상기 방법은 약 0.5% 내지 약 10.0% 농도의 히알루론산 및 이의 염을 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액에 더 추가하는 것을 포함할 수 있다. 상기 방법은 산화 아연 또는 이산화 티타늄중 최소 하나를 추가하는 것을 더 포함할 수 있다. 이 방법에 의해 만들어진 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 필름이 직조될 수 있다. 상기 필름은 약 1.0 wt. % 내지 약 50.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 포함할 수 있다. 상기 필름은 약 2.0 wt. % 내지 약 20.0 wt. % 범위의 물 함량을 가질 수 있다. 상기 필름은 약 30.0 wt. % 내지 약 99.5 wt. %의 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들을 포함할 수 있다. 이 방법에 의해 만들어진 상기 순수 실크 피브로인-기반 단백질 단편들의 수성 용액으로부터 겔이 직조될 수 있다. 상기 겔은 약 0.5 wt. % 내지 약 20.0 wt. %의 비타민 C 또는 이의 유도체를 포함할 수 있다. 상기 겔은 최소한 2%의 실크 함량과 최소 20%의 비타민 함량을 가질 수 있다.

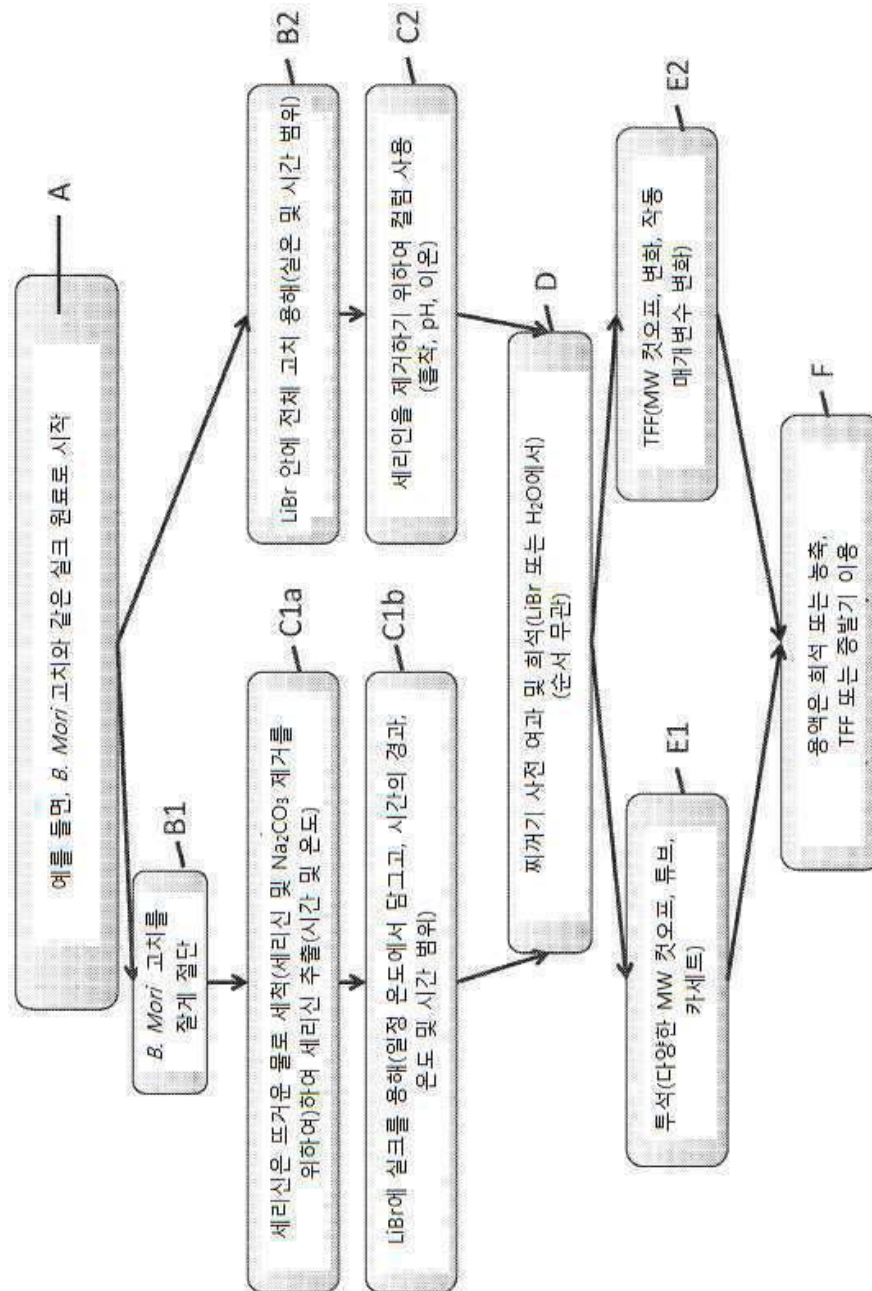
[0270]

본 명세서에서 언급된 특허, 특허 출원 및 공개들이 포함된 모든 참고자료는 이들의 전문이 참고자료에 편입된다. 본 명세서의 방법들은 이의 특이적 구체예들과 관련되어 설명되지만, 추가 변형될 수 있음을 이해할 것이다. 더욱이, 본 출원은 본 명세서의 방법이 본 명세서의 범위로부터 벗어나, 본 방법이 속하는 기술 분야에 공지의 또는 관습적 실행 범위 안에서 임의의 변화, 사용 또는 채용을 포함하는 것으로 의도된다.

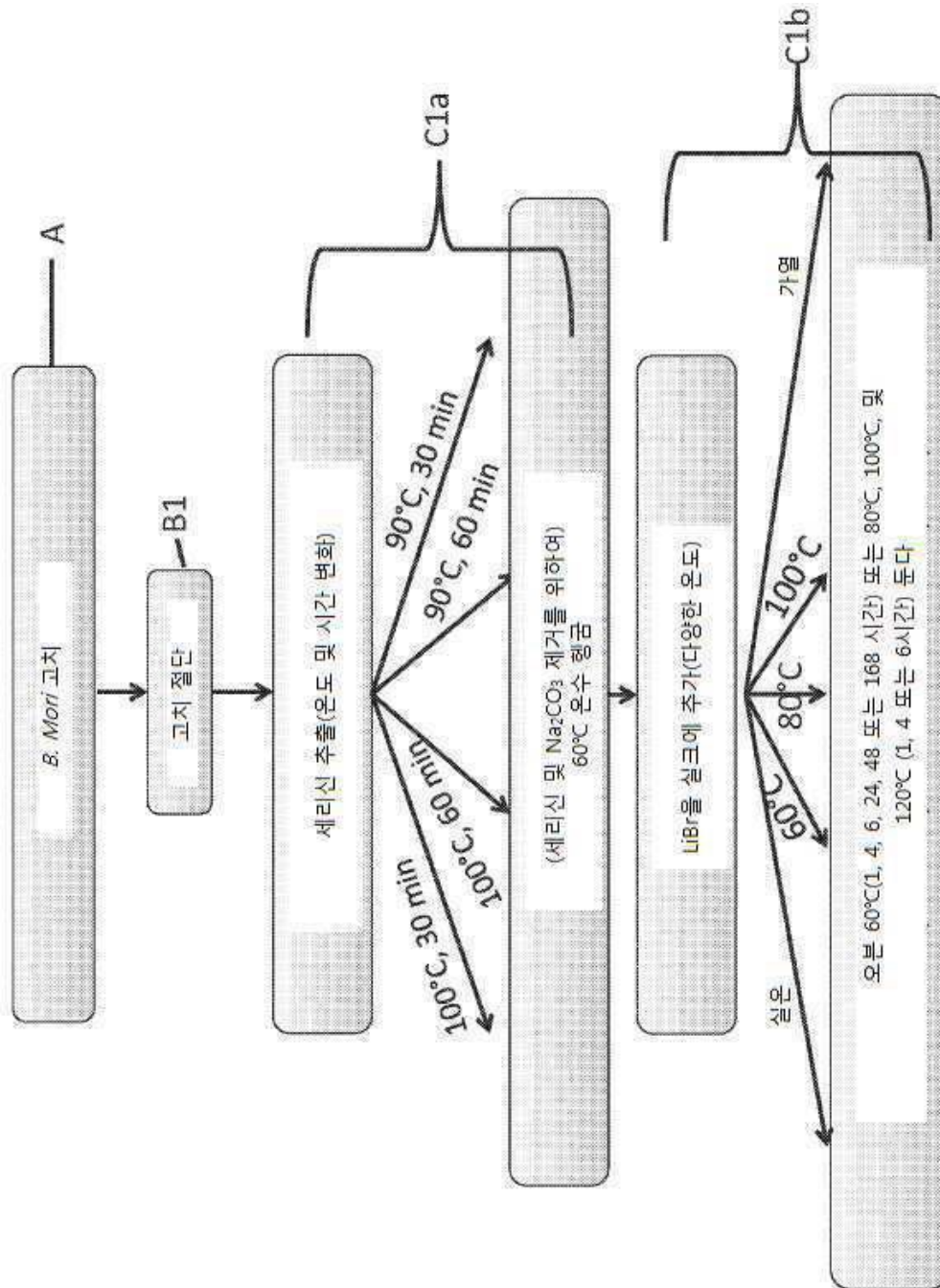


도면

도면1

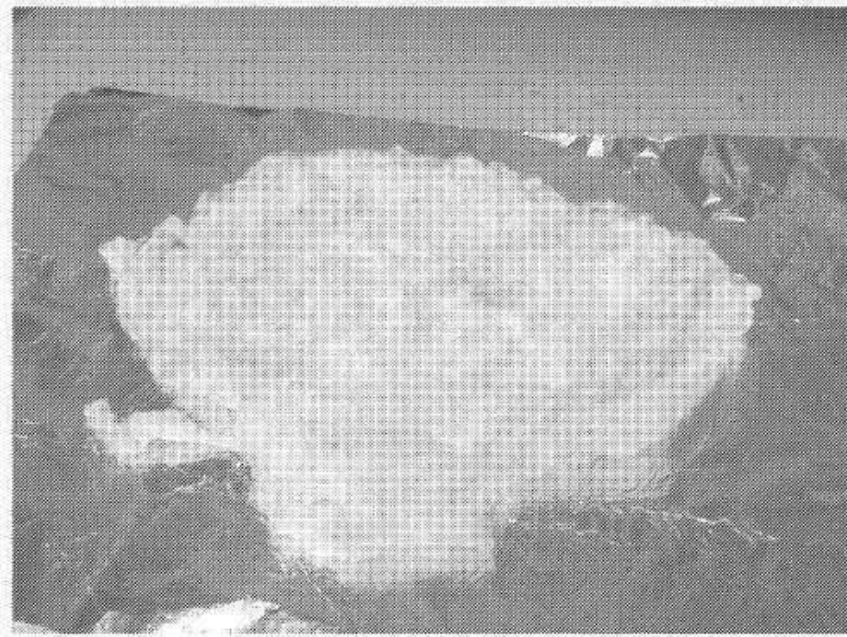


도면2

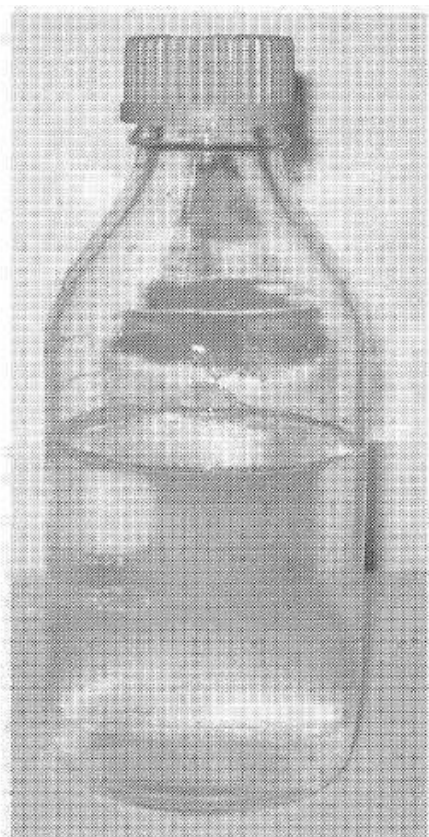




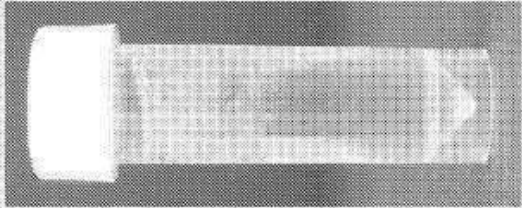
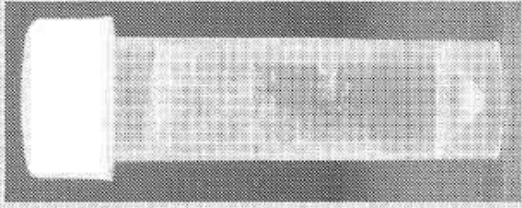
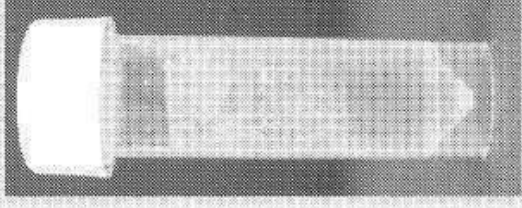
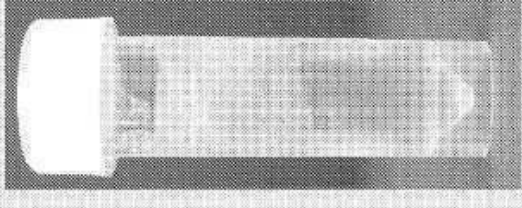
도면3



도면4

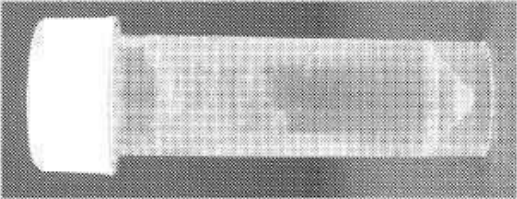
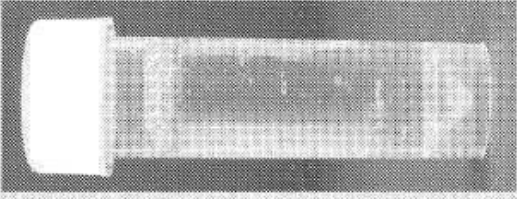
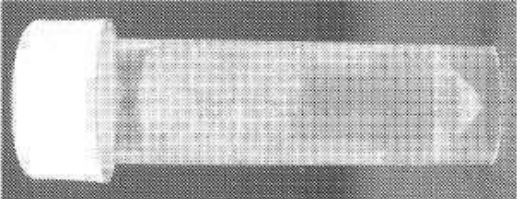
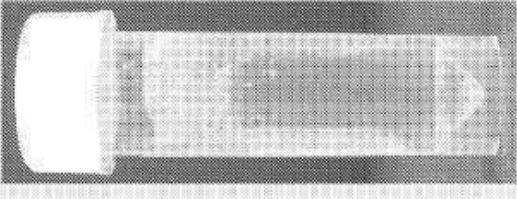


도면5

시점	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨
	일부 용해안된 실크	일부 용해안된 실크	상당량의 용해안된 실크	상당량의 용해안된 실크
4시간				
	도. 5A	도. 5B	도. 5C	도. 5D



도면6

시점	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨
6시간	일부 용해안된 실크	소량의 용해안된 실크	상당량의 용해안된 실크	일부 용해안된 실크
				

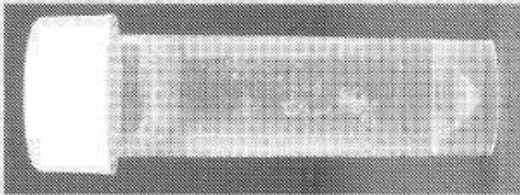
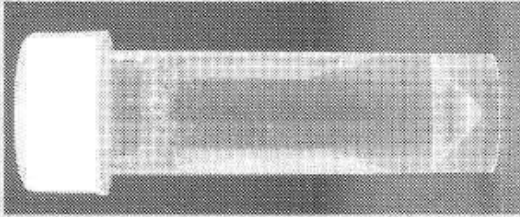
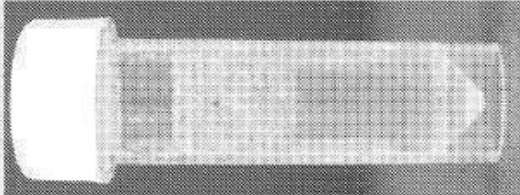
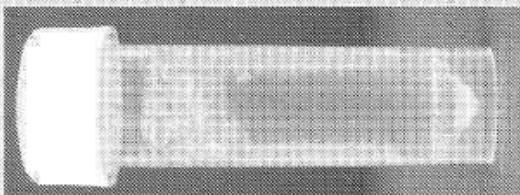
도. 6A

도. 6B

도. 6C

도. 6D

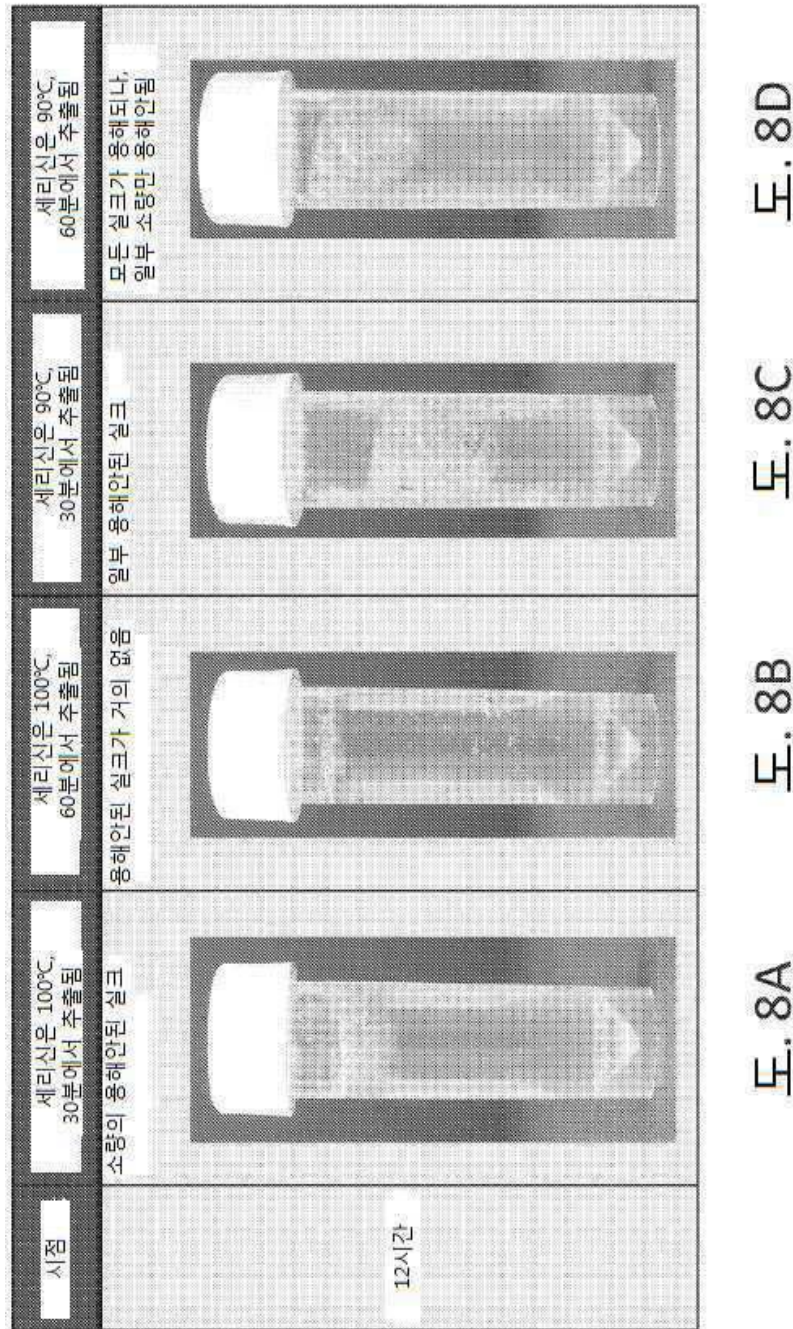
도면7

시점	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨
8시간	상당량의 용해안된 실크	용해안된 실크가 거의 없음	상당량의 용해안된 실크	일부 용해안된 실크
				

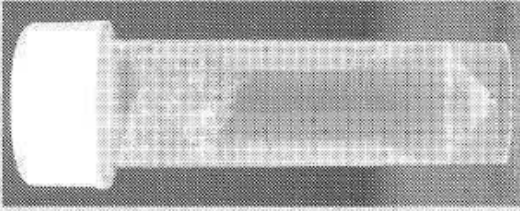
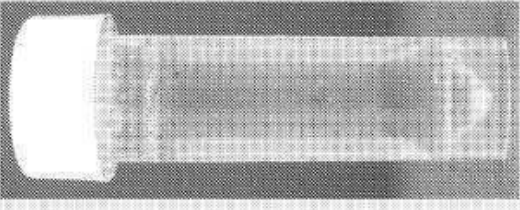
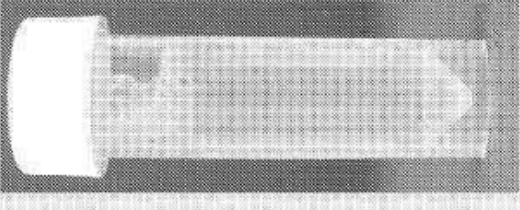
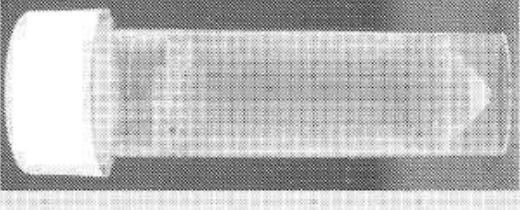
도. 7A      도. 7B      도. 7C      도. 7D



도면8



도면9

시점	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨
24시간	소량의 용해인된 실크	용해인된 실크가 거의 없음	일부 용해인된 실크	모든 실크가 용해되거나, 일부 소량만 용해인됨
				

도. 9A

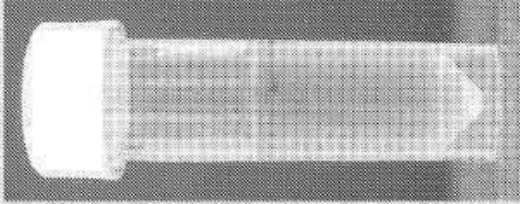
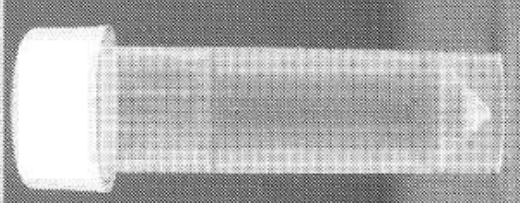
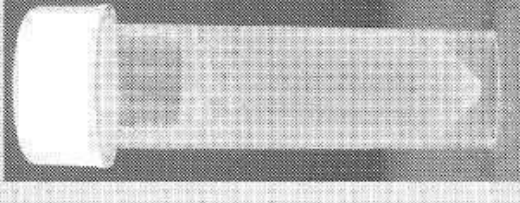
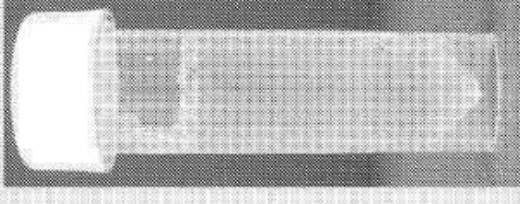
도. 9B

도. 9C

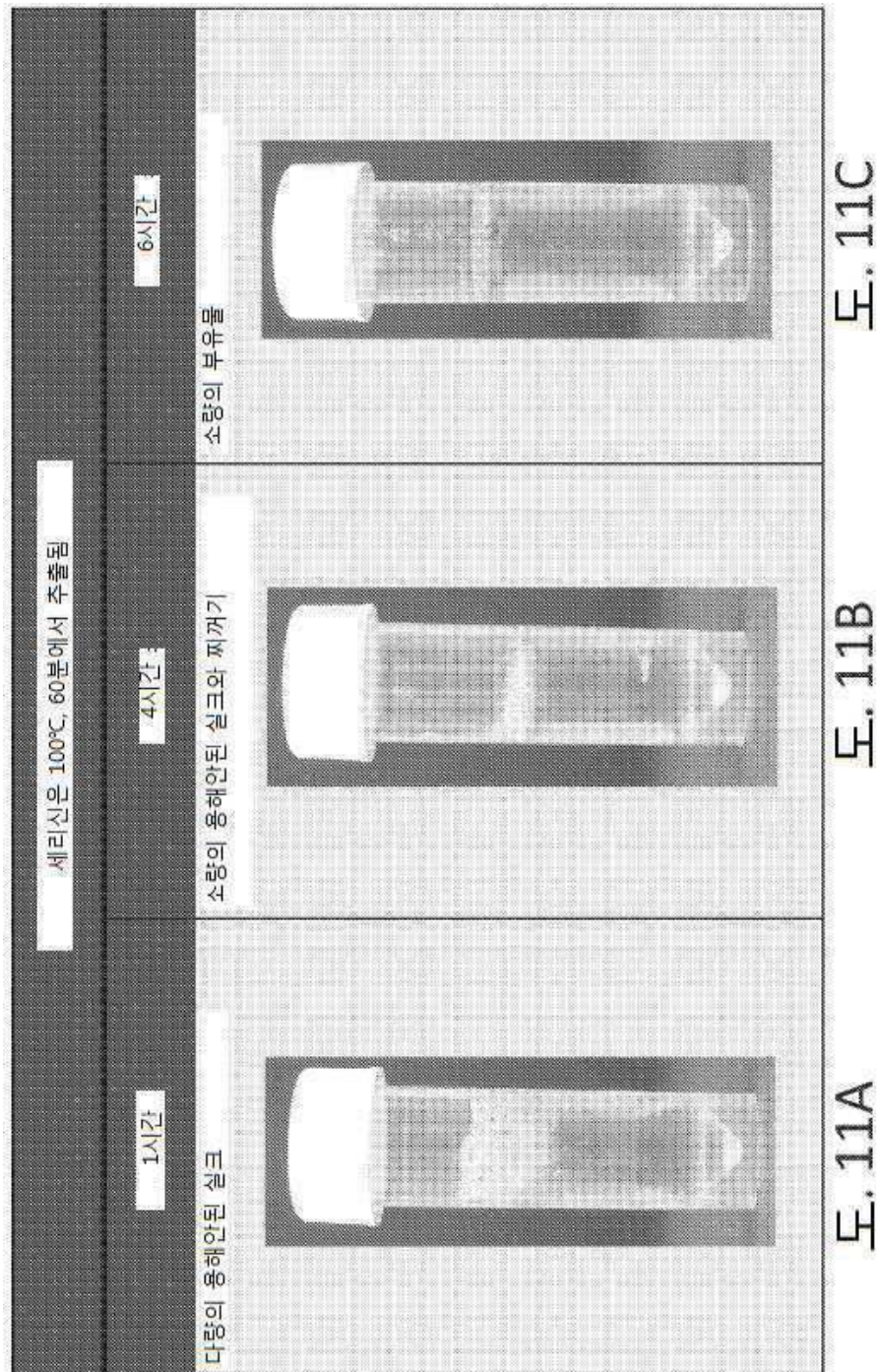
도. 9D



도면10

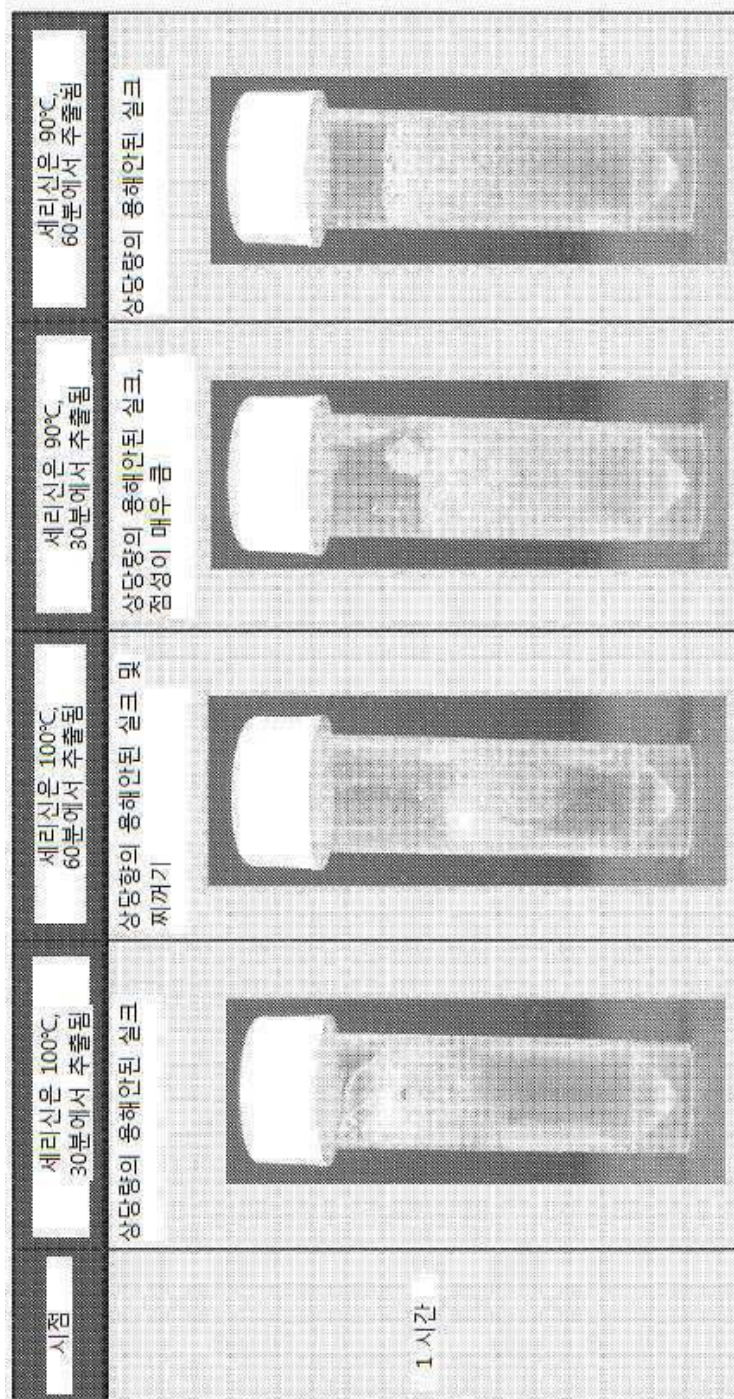
시점	1	2	3	4
	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨, 용해인된 실크 없음, 단, 회림	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨, 용해인된 실크는 없고, 완전하게 녹음	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨, 일부 용해인된 실크	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨, 약간 소량의 용해인된 실크
168시간 (1&2) 192시간 (3&4)				
	도. 10A	도. 10B	도. 10C	도. 10D

도면11



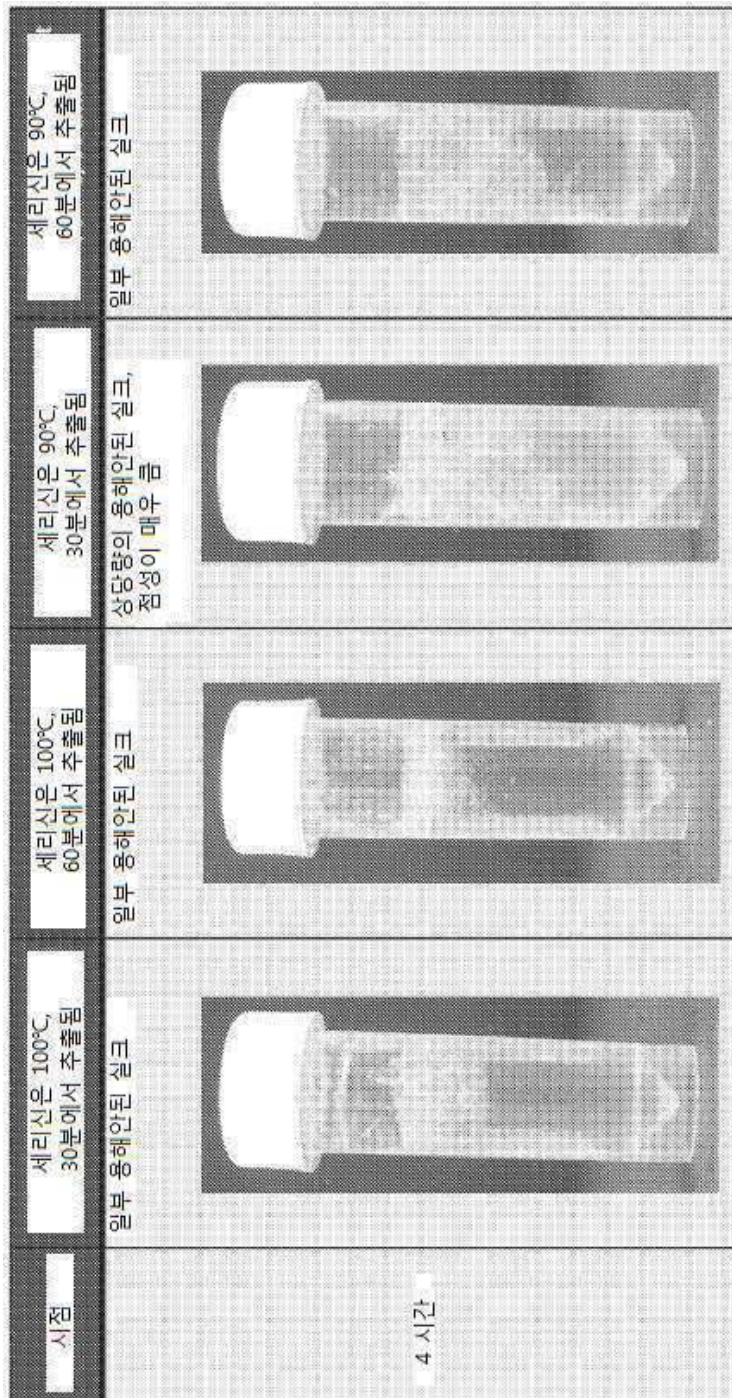


도면12



도. 12A      도. 12B      도. 12C      도. 12D

도면13



도. 13A

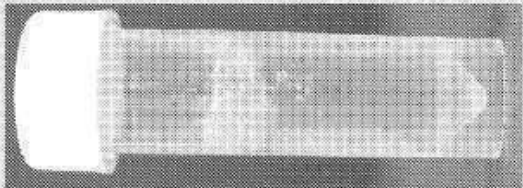
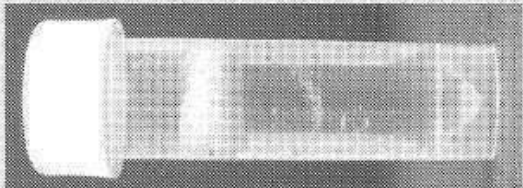
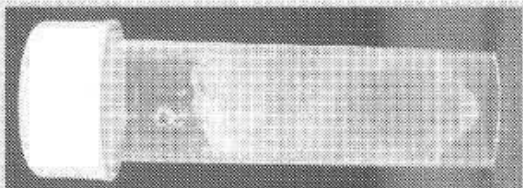
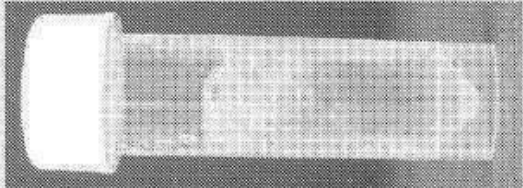
도. 13B

도. 13C

도. 13D



도면14

시점	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨,	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨,	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨,	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨,
6시간	소량의 용해인된 실크 	소량의 용해인된 실크 	일부 용해인된 실크 	일부 용해인된 실크 

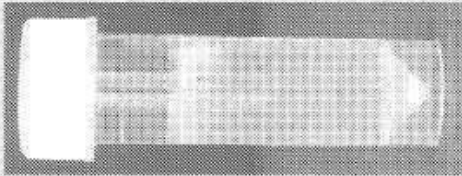
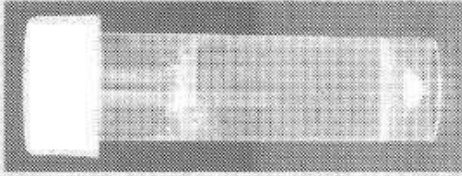
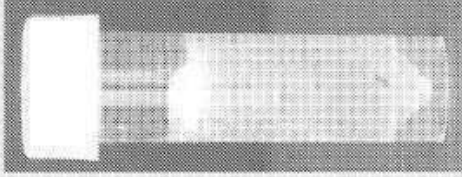
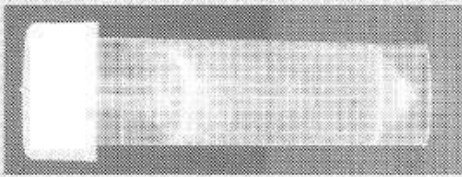
도. 14A

도. 14B

도. 14C

도. 14D

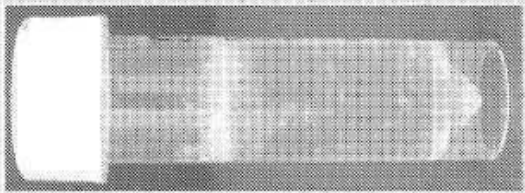
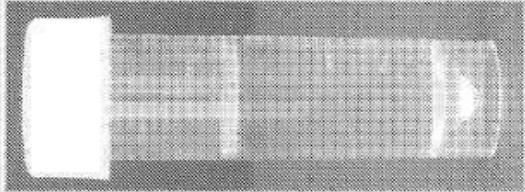
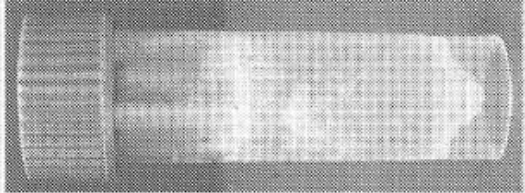
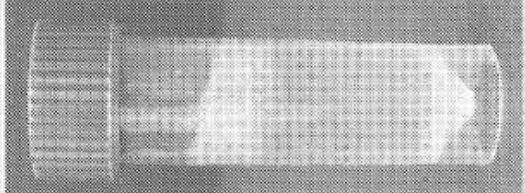
도면15

시점	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨.	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨.	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨.	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨.
1시간	매우 소량의 용해안된 실크, 상당한 점성, 기포에서 형성된 침전물	set1 미만의 점성, 용해안된 실크 없음	상당한 점성, 일부 용해안된 실크	set3 미만의 점성, 일부 용해안된 실크
				

도. 15A      도. 15B      도. 15C      도. 15D

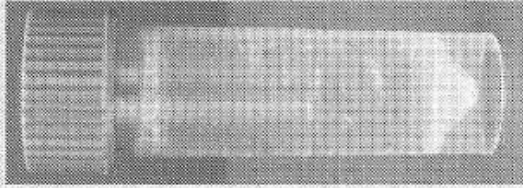
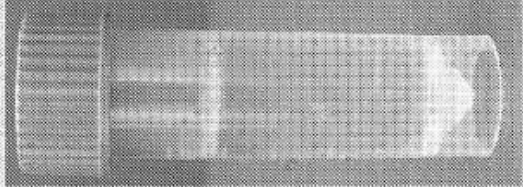
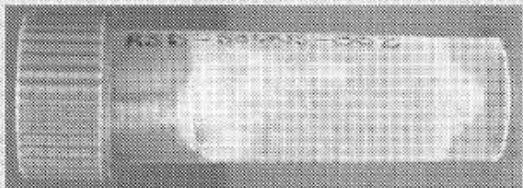
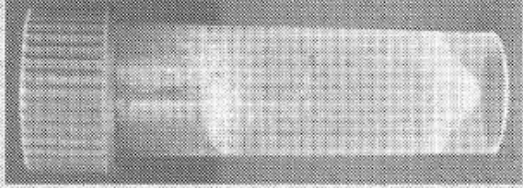


도면16

시점	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨,	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨,	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨,	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨,
4시간	극소량의 용해안된 실크	용해안된 실크 없음	상당한 점성, 용해안된 실크	일부 용해안된 실크
				

도. 16A      도. 16B      도. 16C      도. 16D

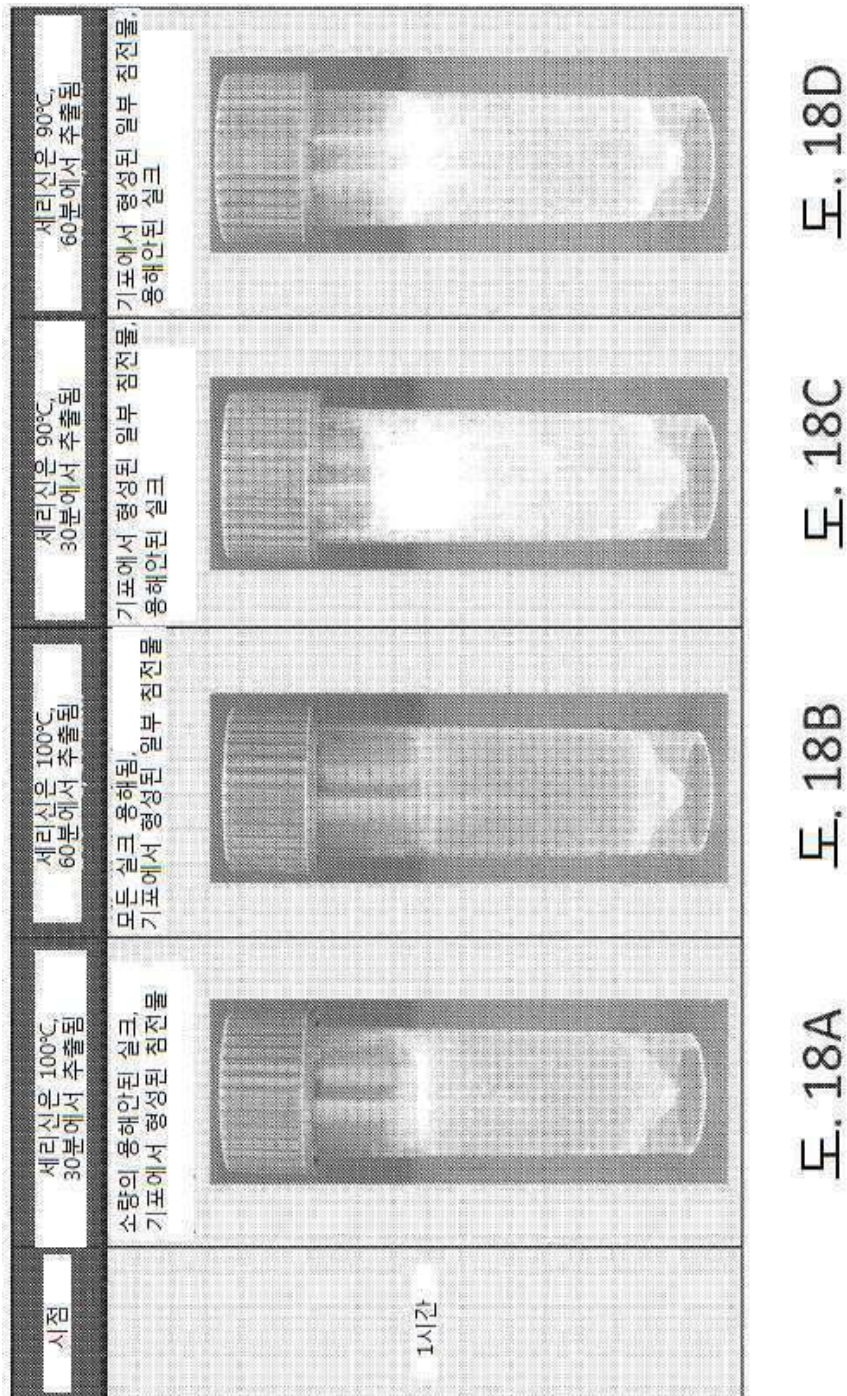
도면17

시점	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨,	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨,	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨,	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨,
6시간	극소량의 용해안된 실크	용해안된 실크 없음	상당한 점성, 실크 겔 부 용해안된 실크	용해안된 실크 거의 없음
				

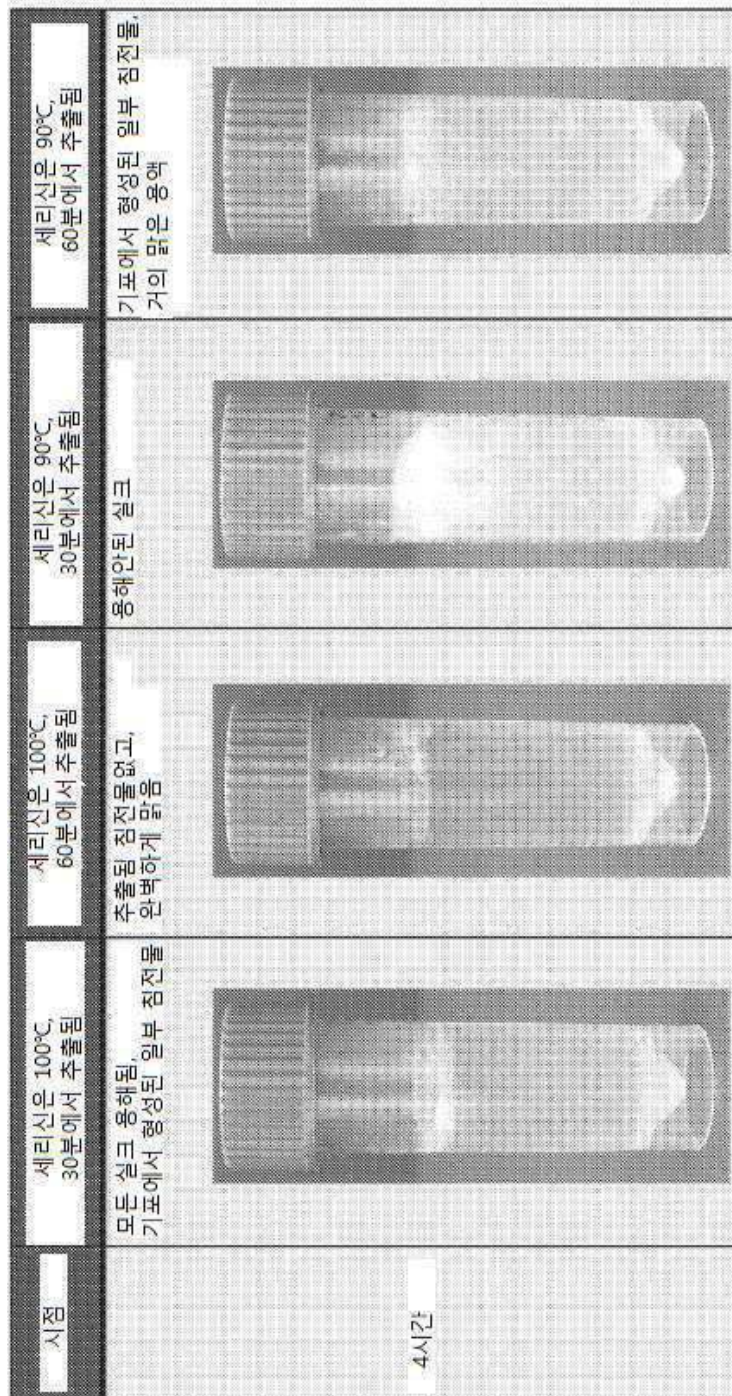
도. 17A      도. 17B      도. 17C      도. 17D



도면18



도면19



도. 19A

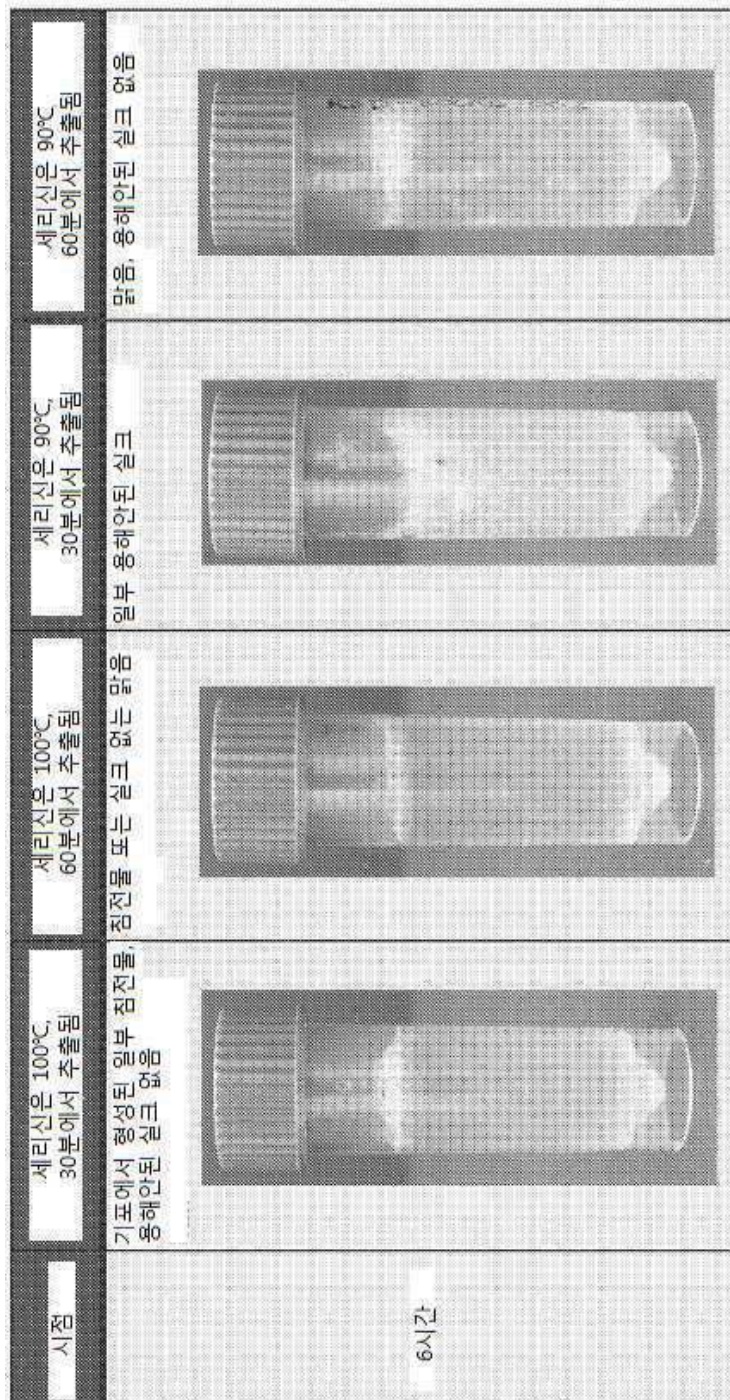
도. 19B

도. 19C

도. 19D

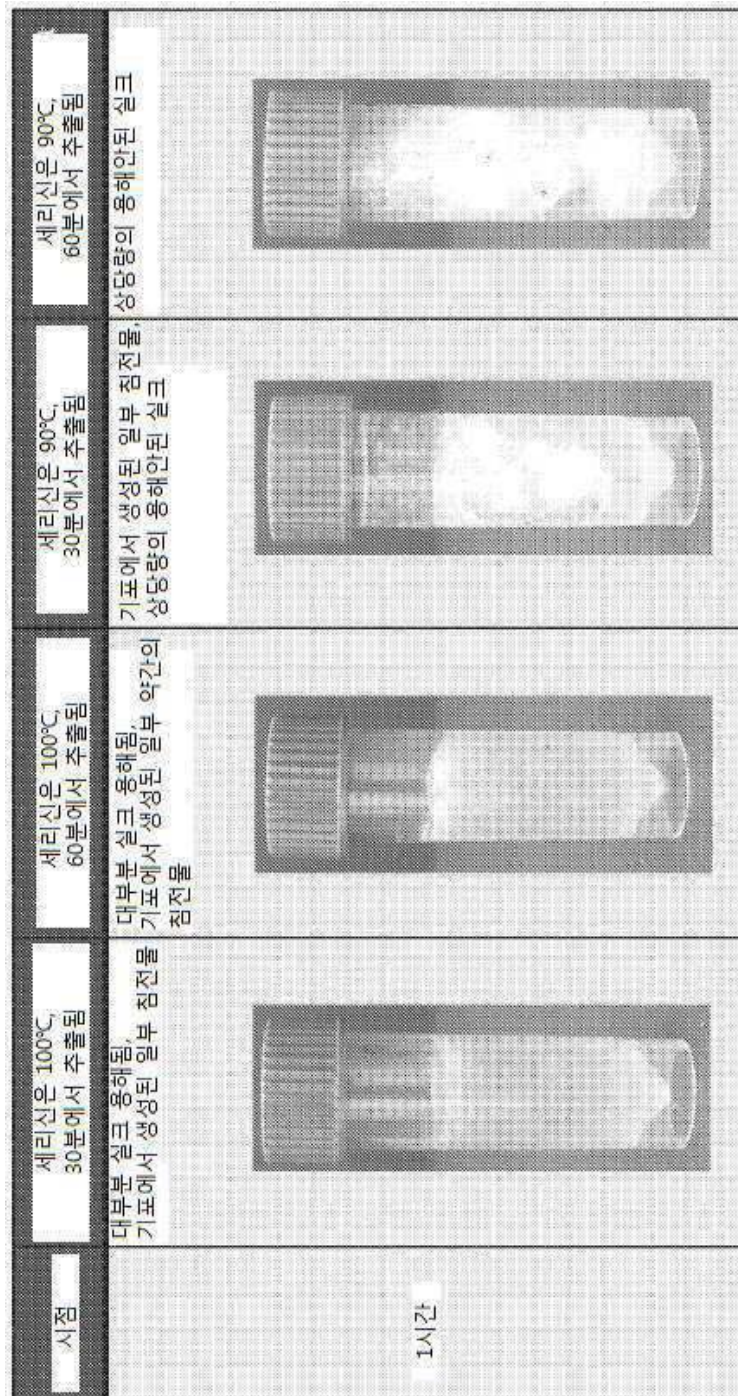


도면20



도. 20A      도. 20B      도. 20C      도. 20D

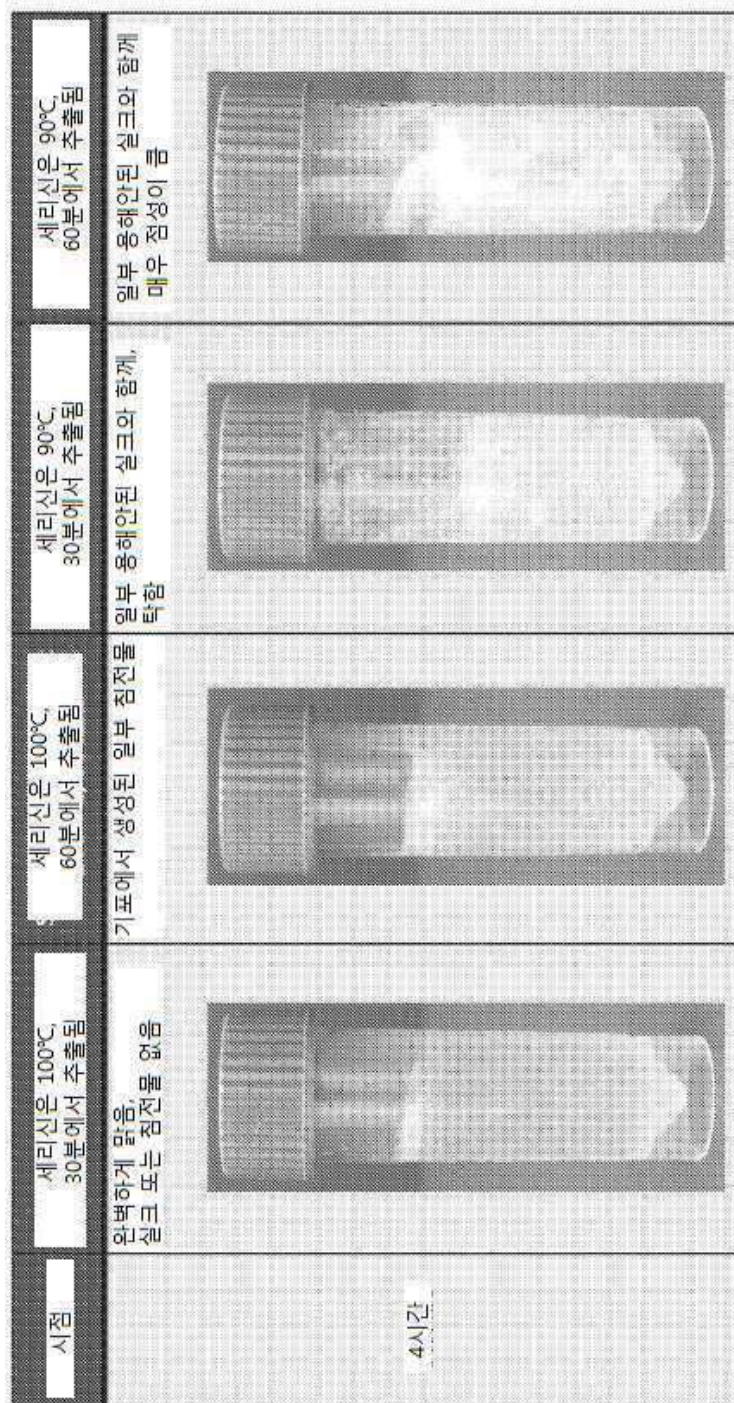
도면21



도. 21A      도. 21B      도. 21C      도. 21D



도면22



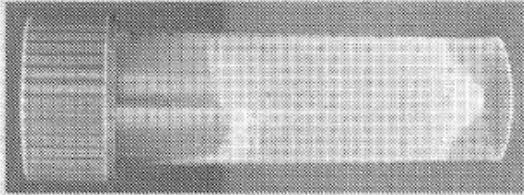
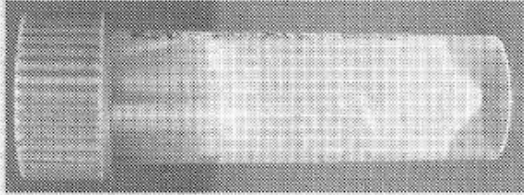
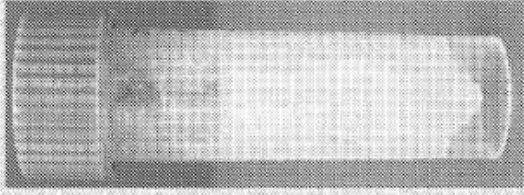
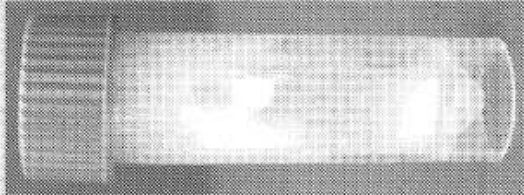
도. 22A

도. 22B

도. 22C

도. 22D

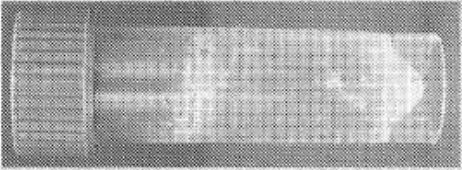
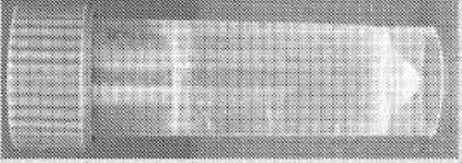
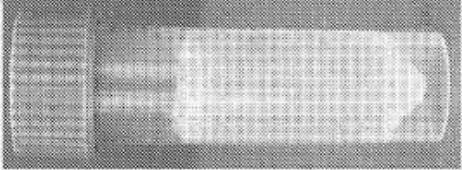
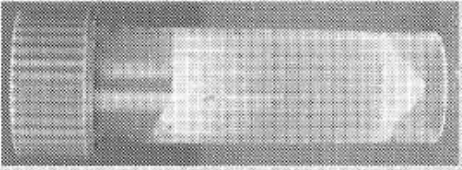
도면23

시점	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨
6시간	상단에 실크 점진물과 함께, 약간 탁함	기포에서 생성된 침전물과 함께, 탁함	매우 점성이 크고, 탁하며, 거의 고정	매우 점성이 크고, 탁하며, 거의 고정
				

도. 23A      도. 23B      도. 23C      도. 23D



도면24

시점	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨
1시간	일부 용해안된 실크. Set 2 이상의 약간 높은 점성	물과 유사한 점성. 거의 모든 실크는 완벽하게 용해됨, 점진물 없음, 맑은 오렌지/노란색	점성이 큼, 일부 용해안된 실크와 기포	일부 용해안된 실크가 있지만, 점성은 크지 않음
				

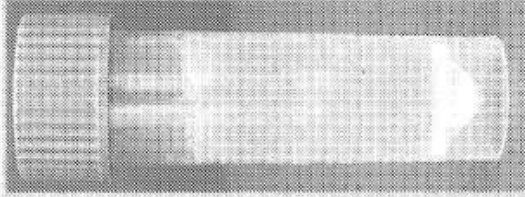
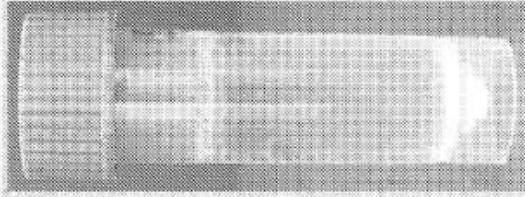
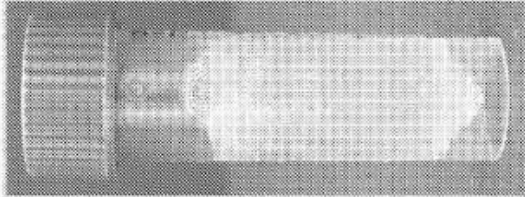
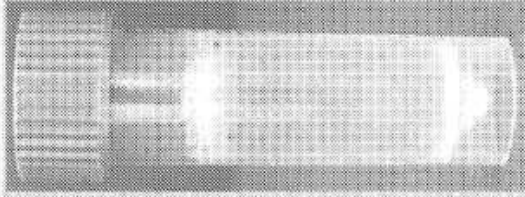
도. 24A

도. 24B

도. 24C

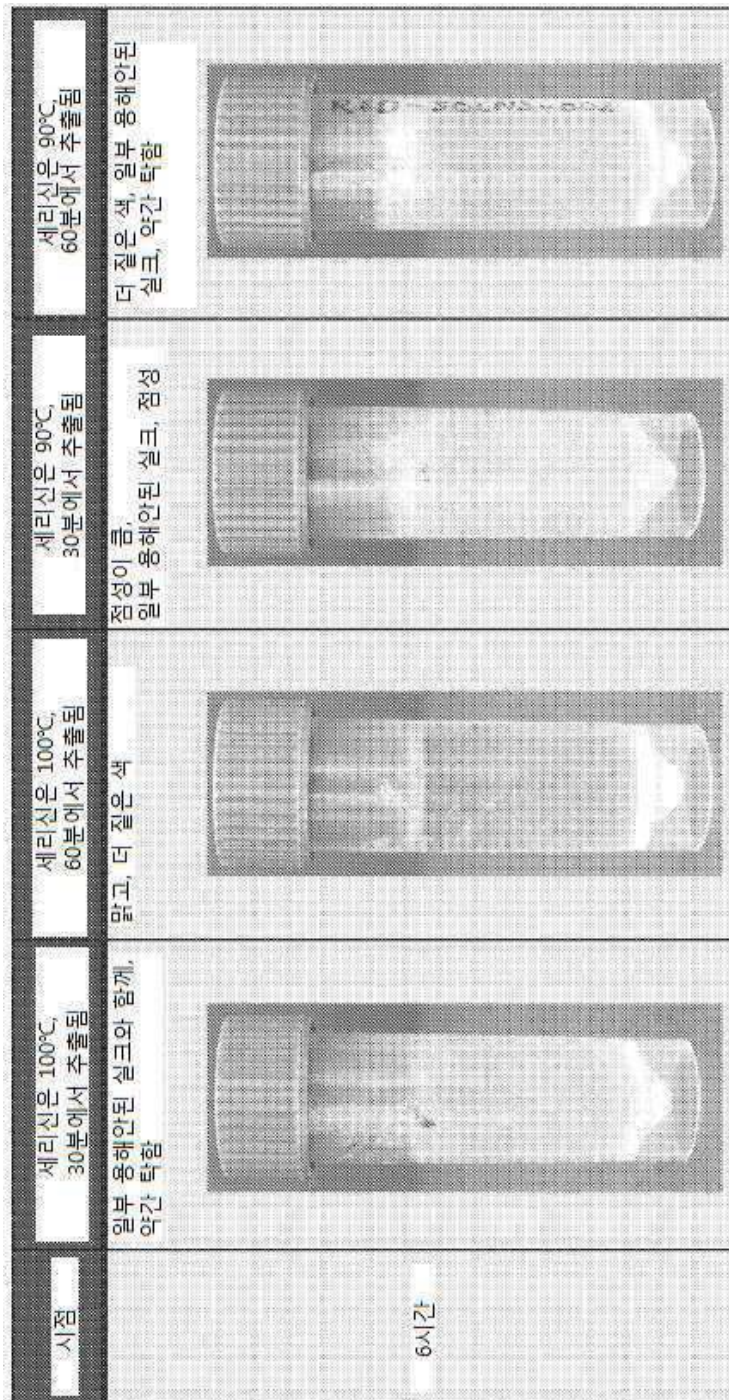
도. 24D

도면25

시점	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨
4시간	일부 용해인된 실크 약간의 점성	매우 소량의 용해인된 실크, 많은 질은 색	점성이 큼, 일부 용해인된 실크	소량의 용해인된 실크가 있지만, 점성은 크지 않음
				
	도. 25A	도. 25B	도. 25C	도. 25D



도면26



도. 26A

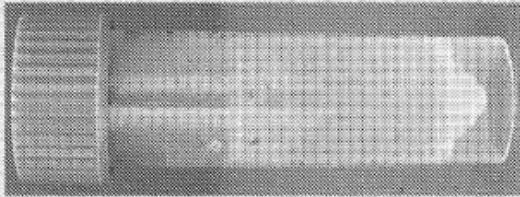
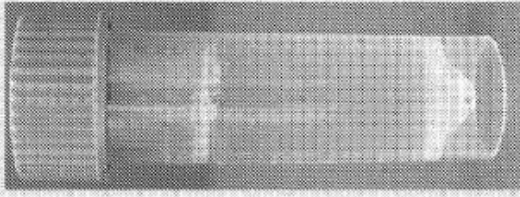
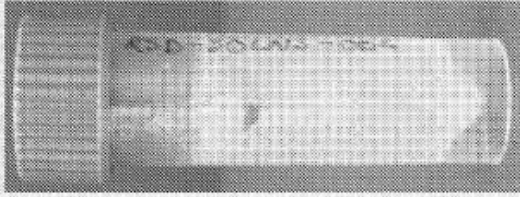
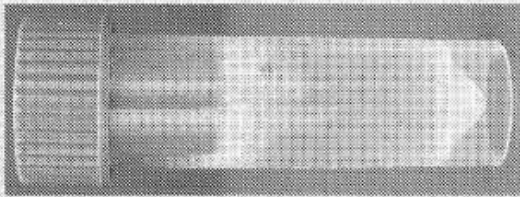
도. 26B

도. 26C

도. 26D



도면27

시점	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨
1시간	더 짙은 색, 일부 실크 입자와 함께, 다소 탁함	더 짙은 색, 소량의 실크 입자와 함께, 완벽하게 맑음	탁함, 일부 용해안된 실크, 점성이 큼	소량의 용해안된 실크, 부분적으로 탁함, 더 짙은 색
				

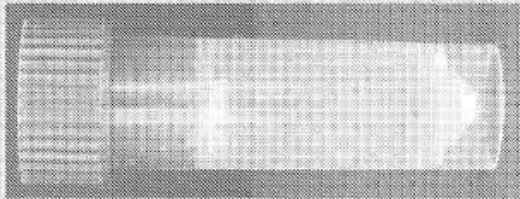
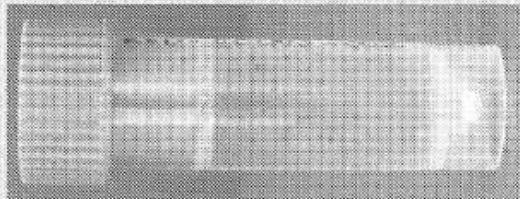
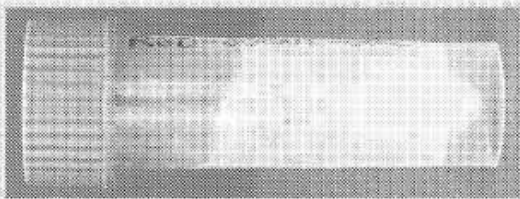
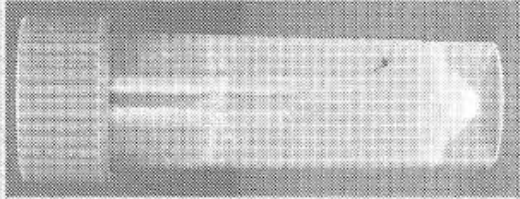
도. 27A

도. 27B

도. 27C

도. 27D

도면28

시점	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨
소량의 용해안된 실크, 매우 탁함.	용해안된 실크는 거의 없음. 진은 적갈색	매우 탁함, 일부 용해안된 실크	소량의 실크 입자, 더 진은 색, 점성은 적음	
4시간				

도. 28A

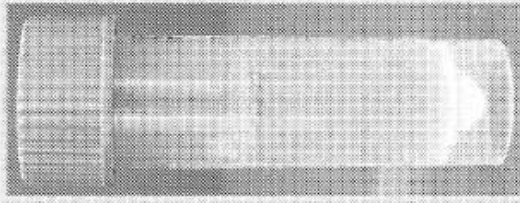
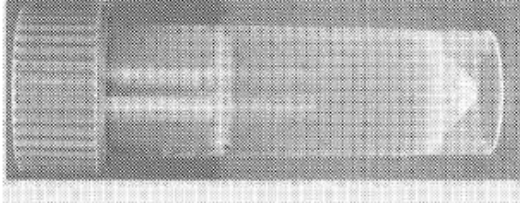
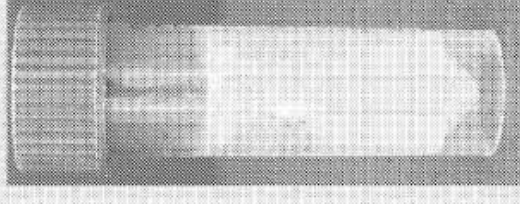
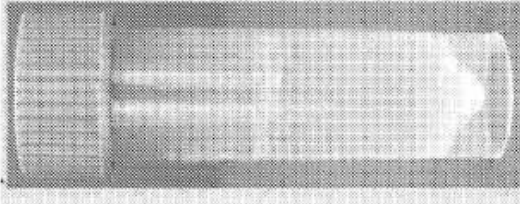
도. 28B

도. 28C

도. 28D



도면29

시점	세리신은 100°C, 30분에서 추출됨	세리신은 100°C, 60분에서 추출됨	세리신은 90°C, 30분에서 추출됨	세리신은 90°C, 60분에서 추출됨
6시간	약간 탁함. 소량의 용해안된 실크	용해안된 실크는 없음, 겔은 작을수록	탁함, 점성, 일부 용해안된 실크	소량의 용해안된 실크, 약간 탁함
				

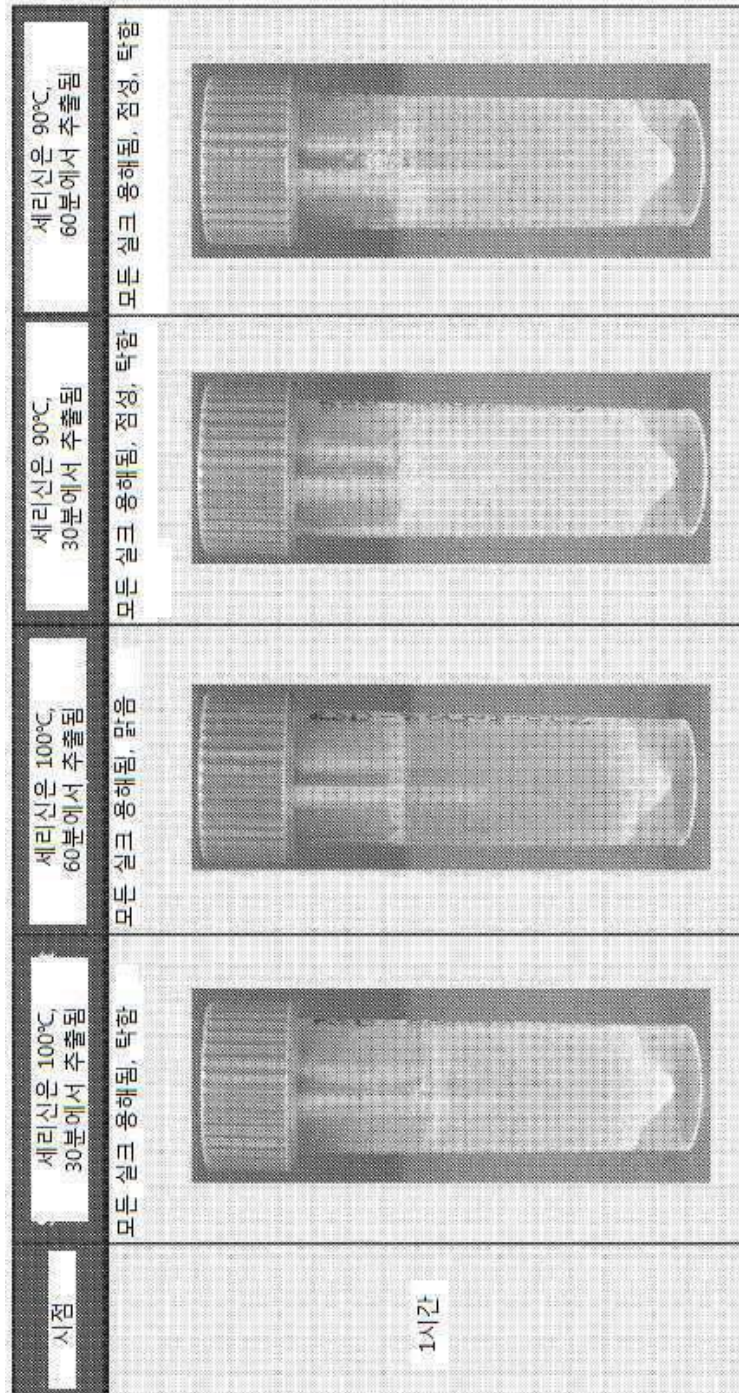
도. 29A

도. 29B

도. 29C

도. 29D

도면30



도. 30D

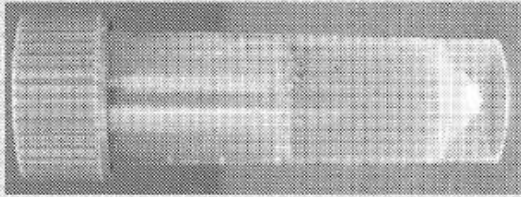
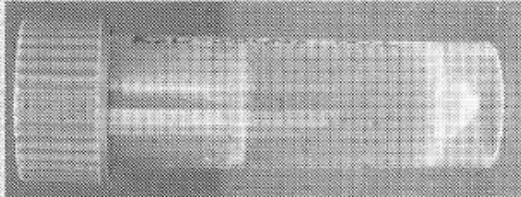
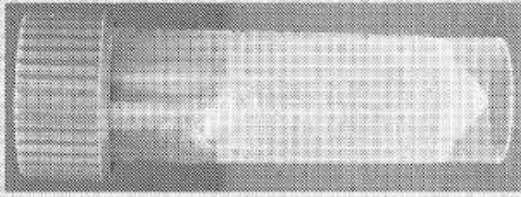
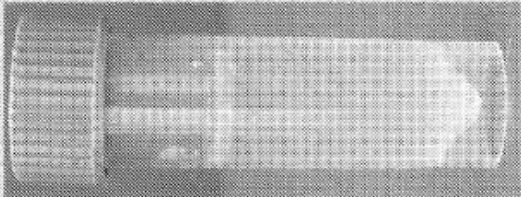
도. 30C

도. 30B

도. 30A

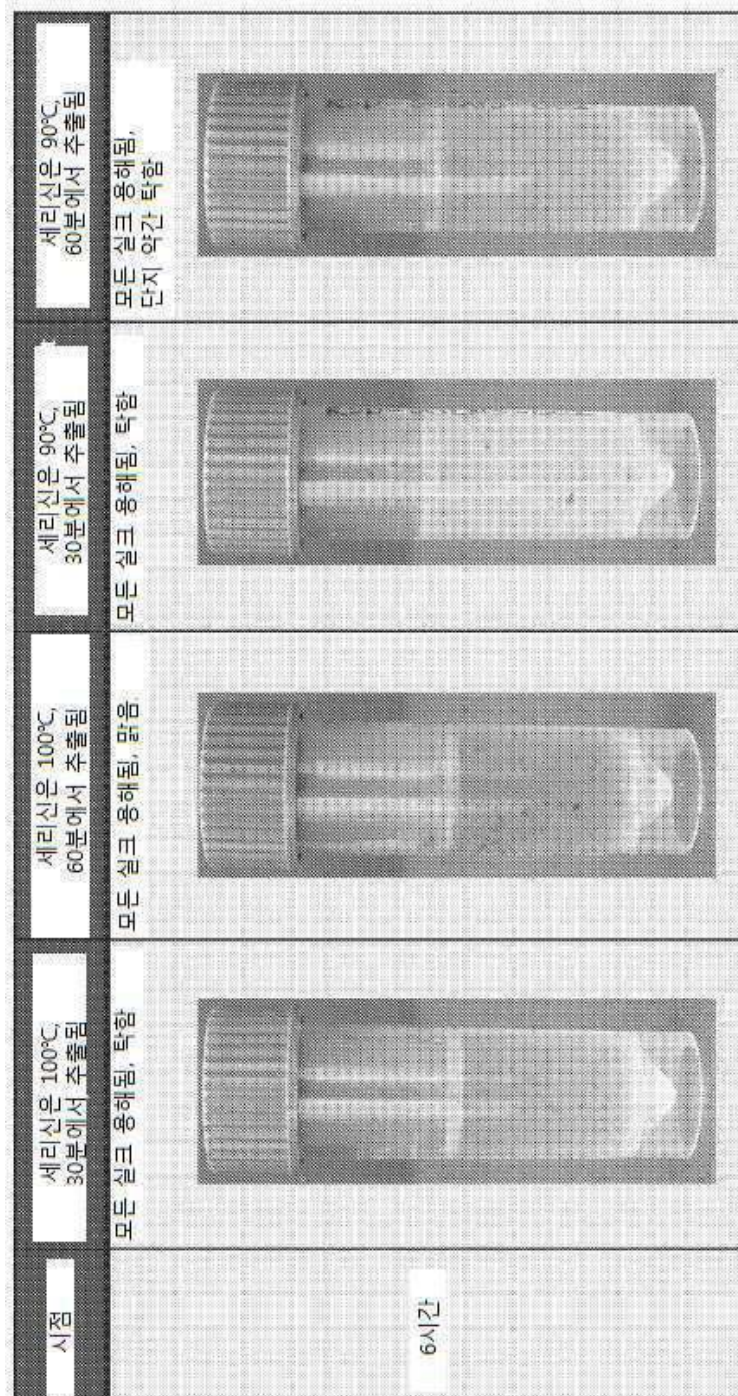


도면31

시점	세리신은 100°C; 30분에서 추출됨	세리신은 100°C; 60분에서 추출됨	세리신은 90°C; 30분에서 추출됨	세리신은 90°C; 60분에서 추출됨
4시간	모든 실크 용해됨, 약간 탁하지만, 대체로 맑음	모든 실크 용해됨, 맑음, 질음	모든 실크 용해됨, 탁함	모든 실크 용해됨, 탁함
				

도. 31A      도. 31B      도. 31C      도. 31D

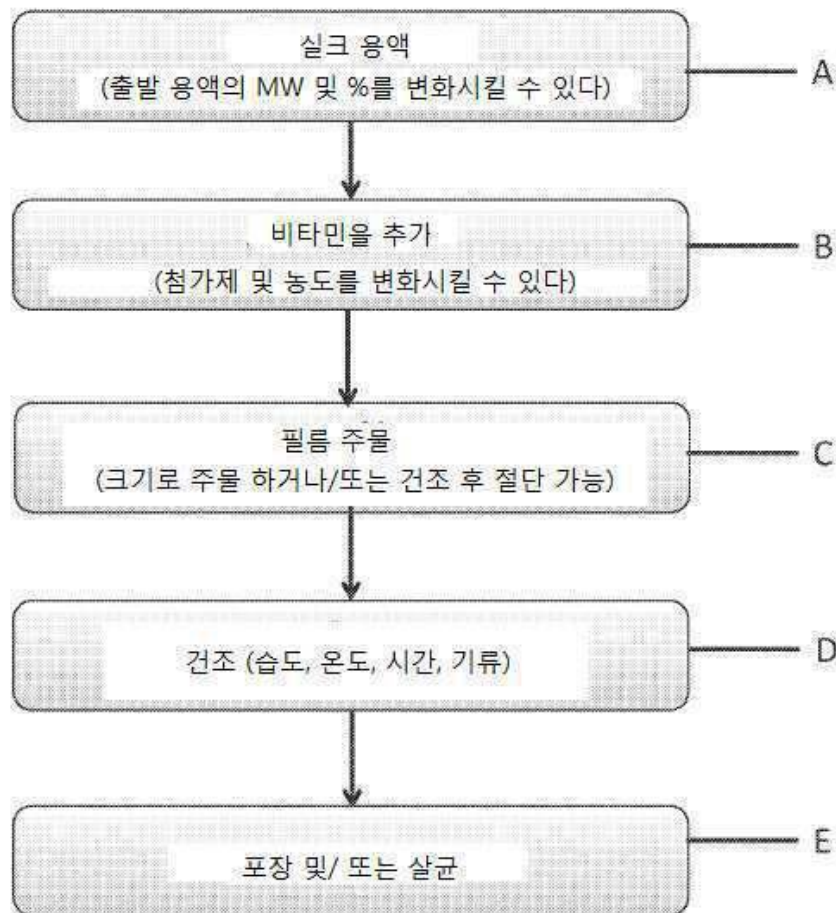
도면32



도. 32A      도. 32B      도. 32C      도. 32D



도면33



도면34

### 실크 필름 건조 연구를 위한 방법

- 실크 용액을 2%(m/v%) 실크 농도로 희석시켰다.
- 5:1 실크:비타민 C 비율로 비타민 C 첨가

#### 필름 주물

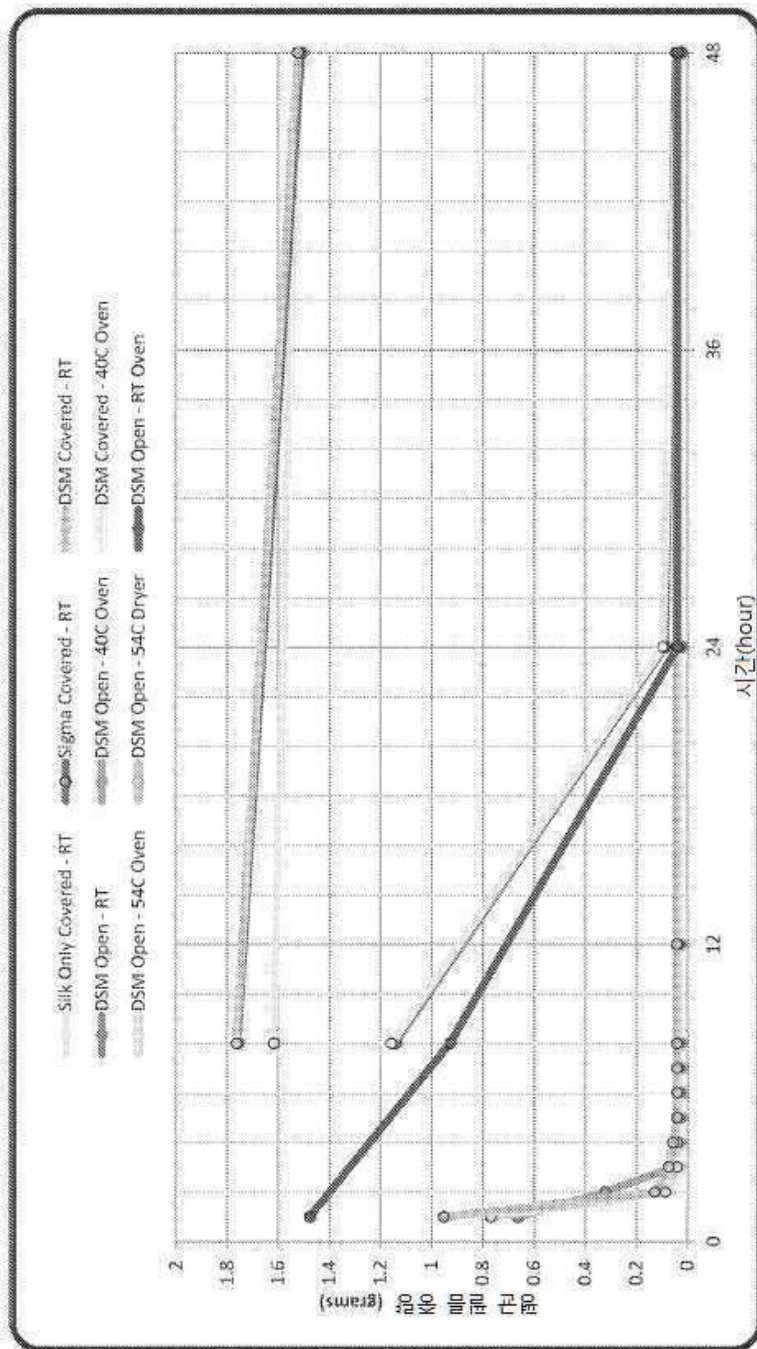
- 1" 직경 실리콘 몰드에 피펫팅된 1.85mL 용액과 함께 각 세트에 15개의 시료 주물
- 필름은 건조 위치에서 주물되며, 테스트될 때까지 이동안됨

#### 관찰 및 테스트

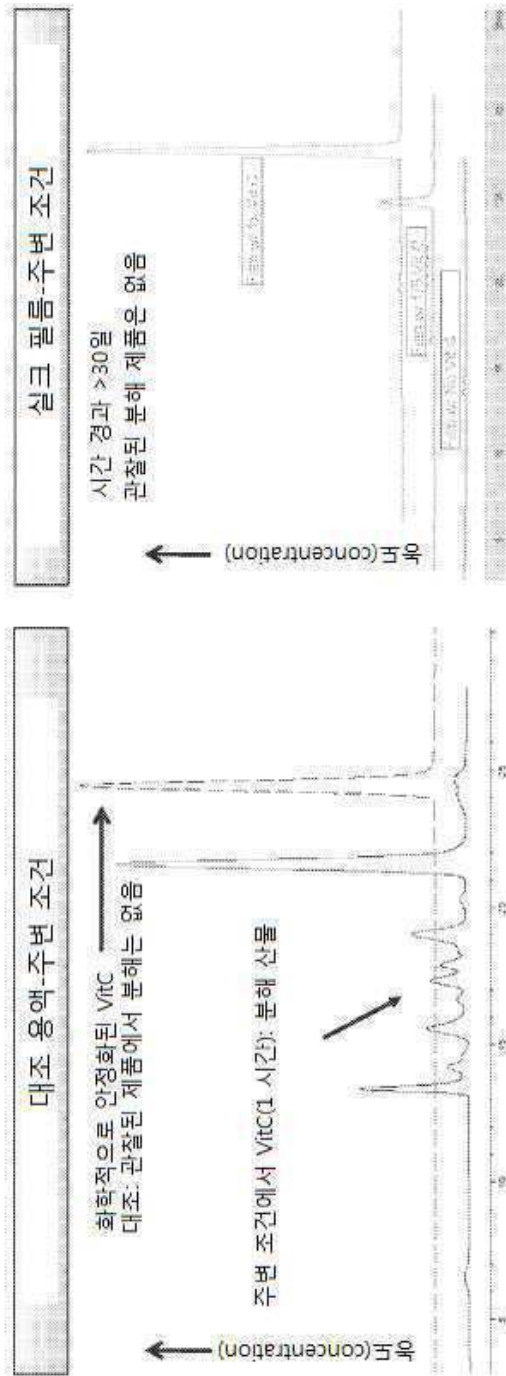
- 필름은 주물 후 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 24, 및 48시간에 관찰 및 측정되었다.
- 주물 후 1, 8, 및 48시간에 각 세트에서 5개 필름이 테스트되었다.
- 테스트 과정은 중량 측정, 사진촬영 및 필름 용해로 구성되었다.



도면35



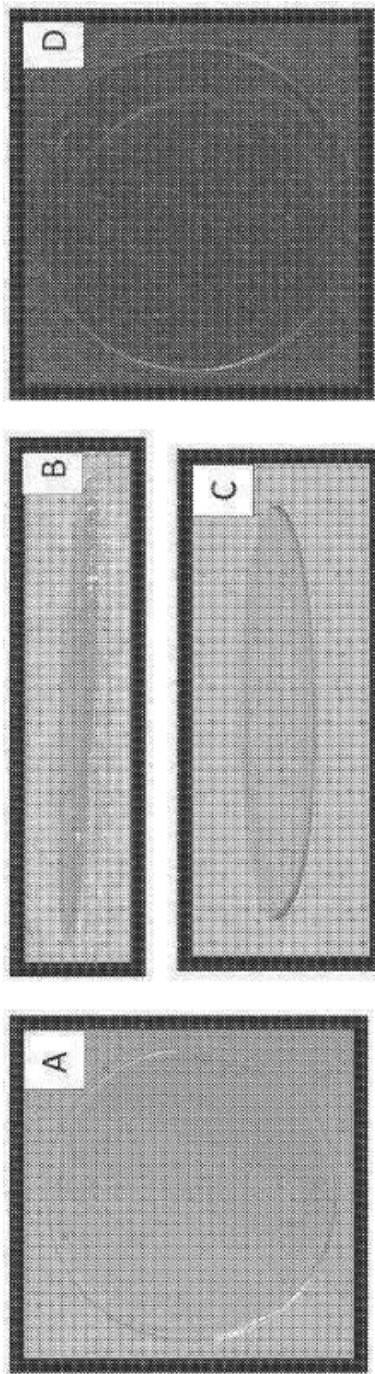
도면36



도. 36A

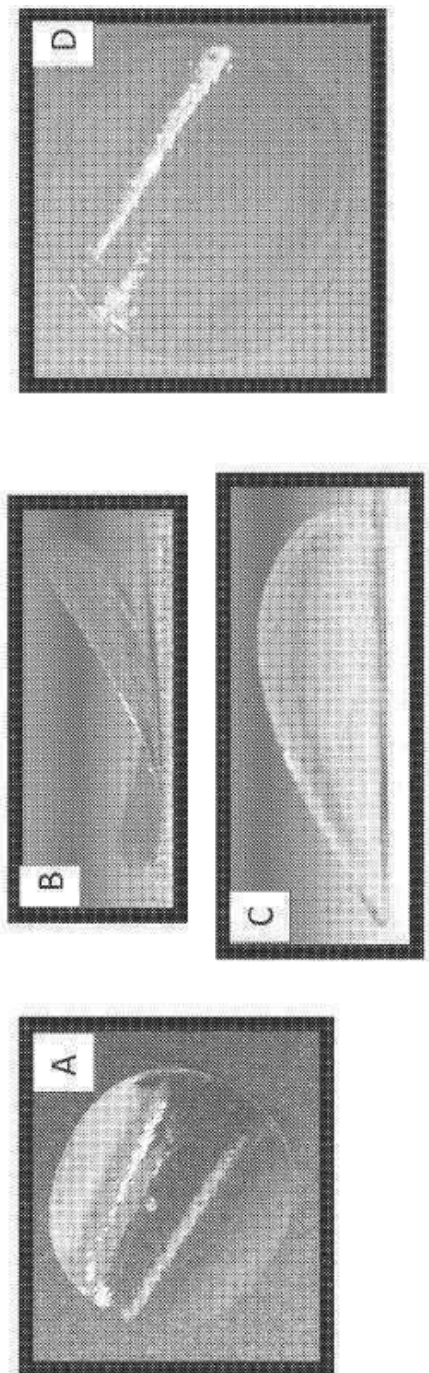
도. 36B

도면37



도. 37A-37D

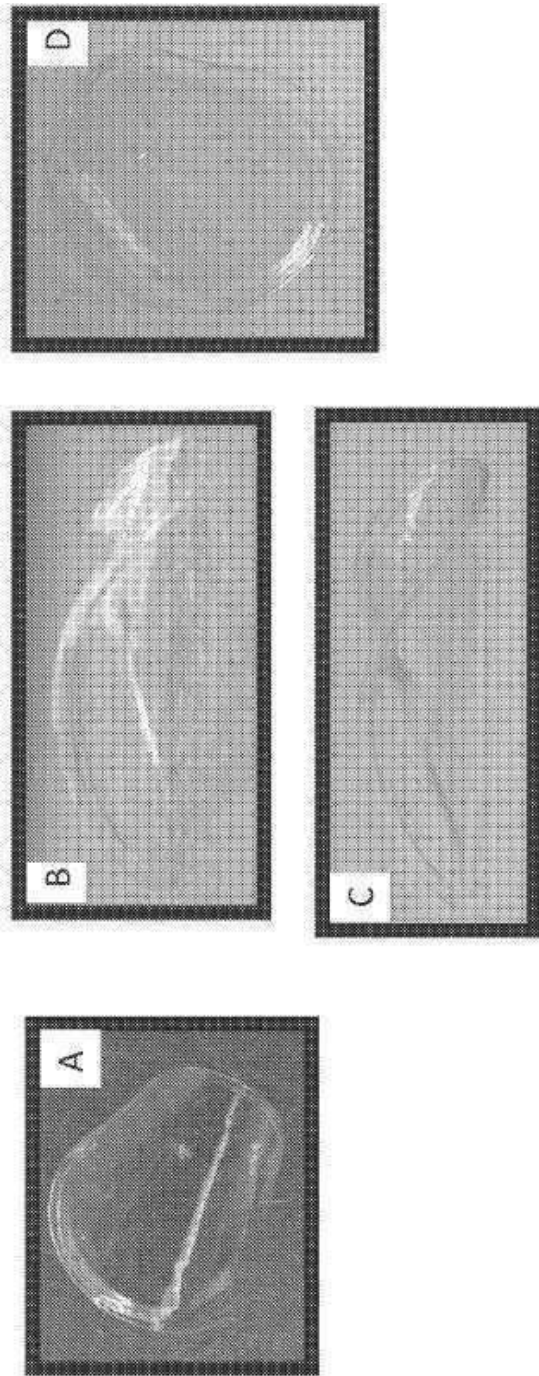
도면38



도. 38A-38D

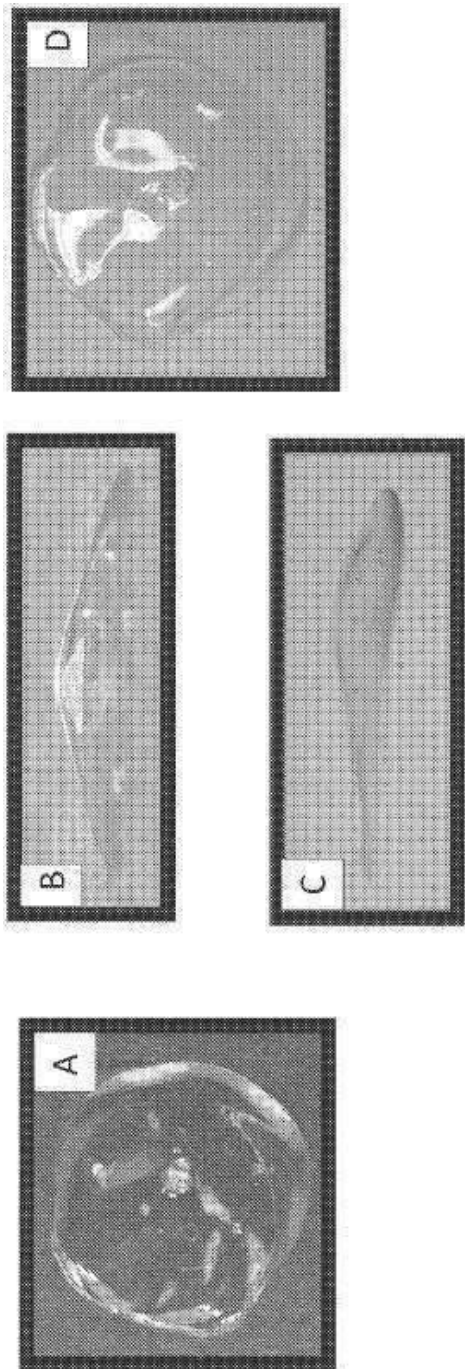


도면39



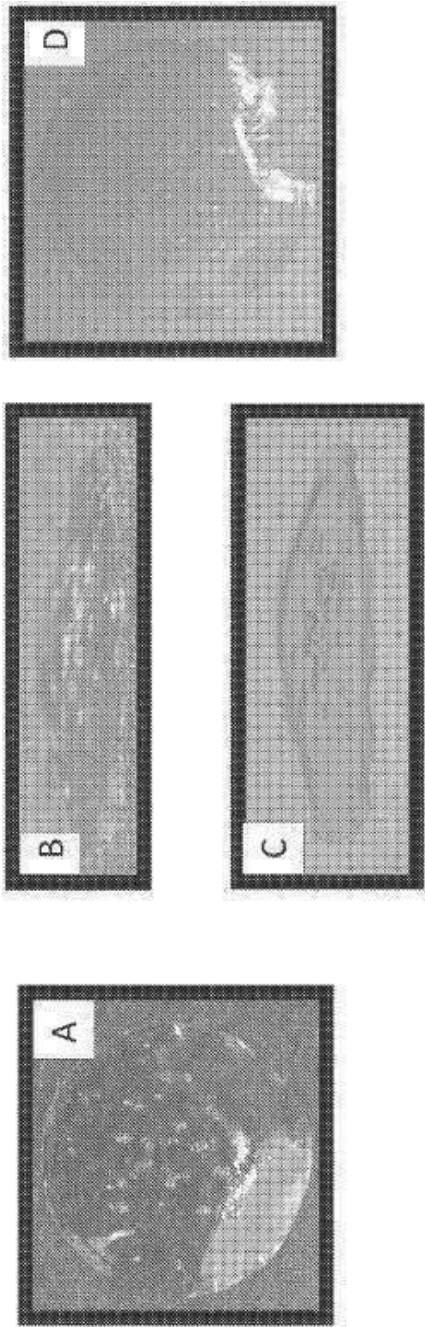
도. 39A-39D

도면40



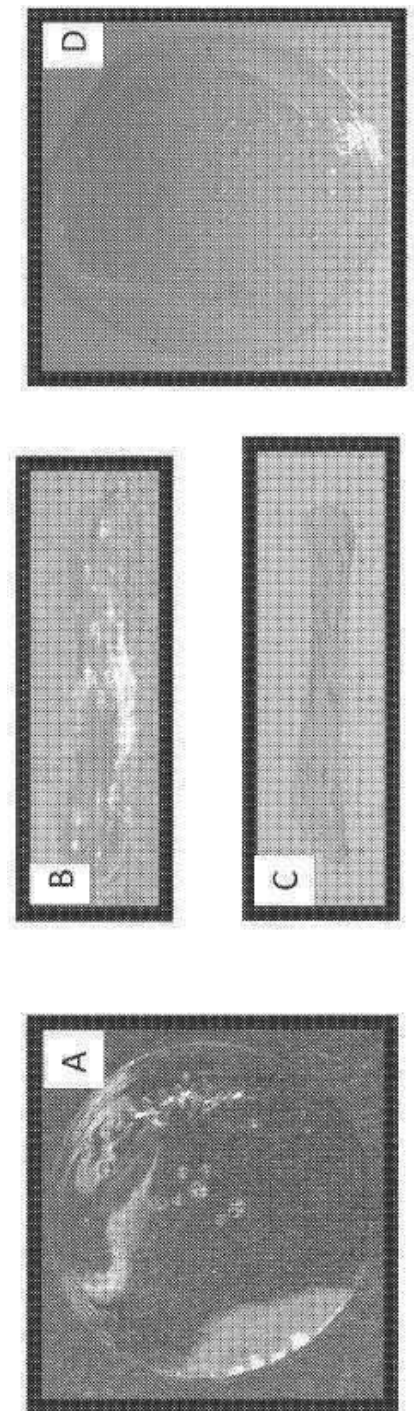
도. 40A-40D

도면41



도. 41A-41D

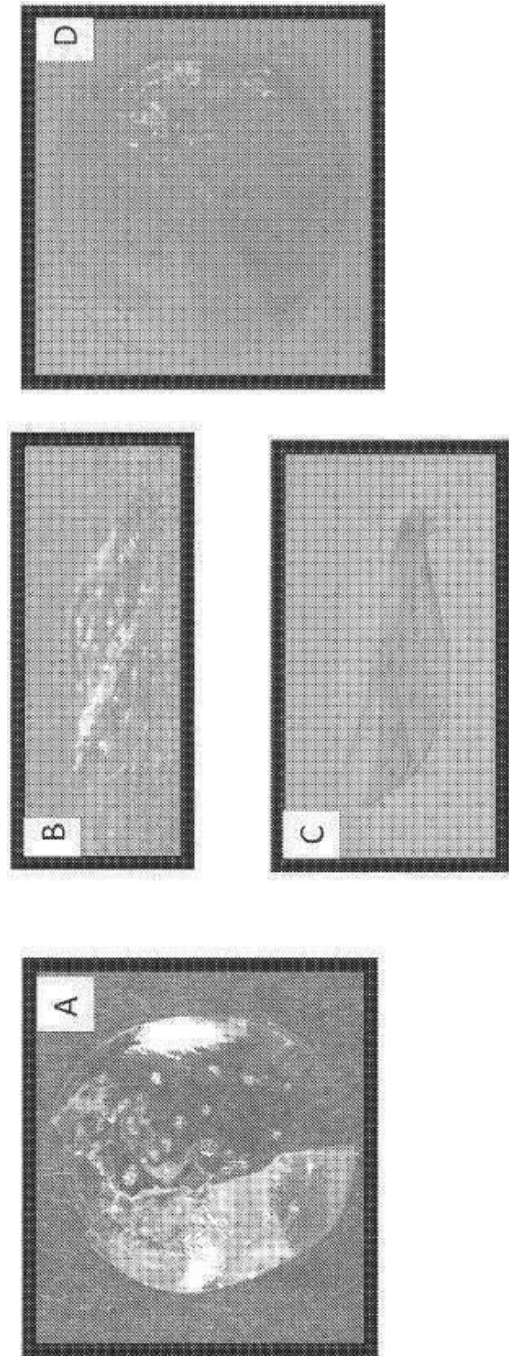
도면42



도. 42A-42D

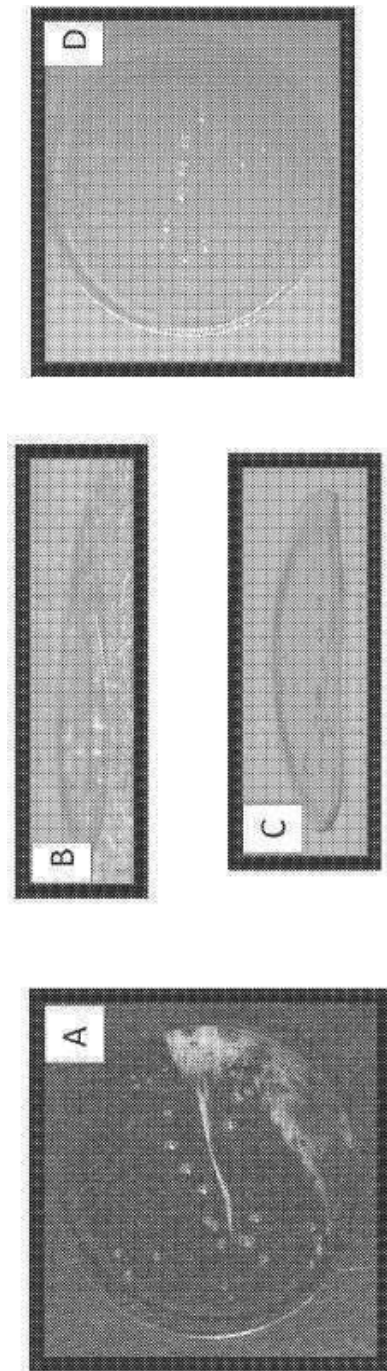


도면43



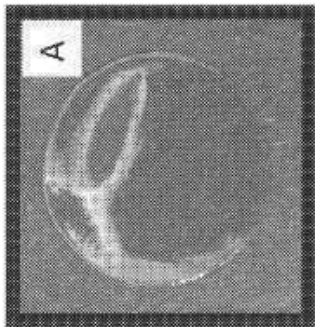
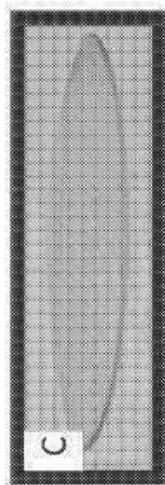
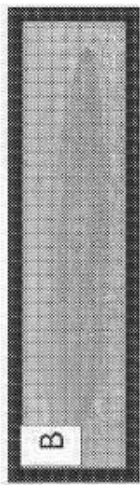
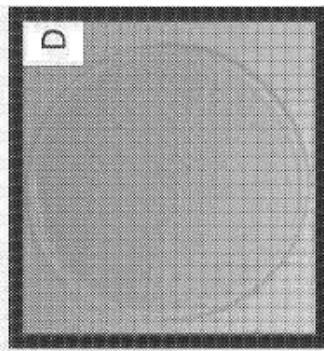
도. 43A-43D

도면44



도. 44A-44D

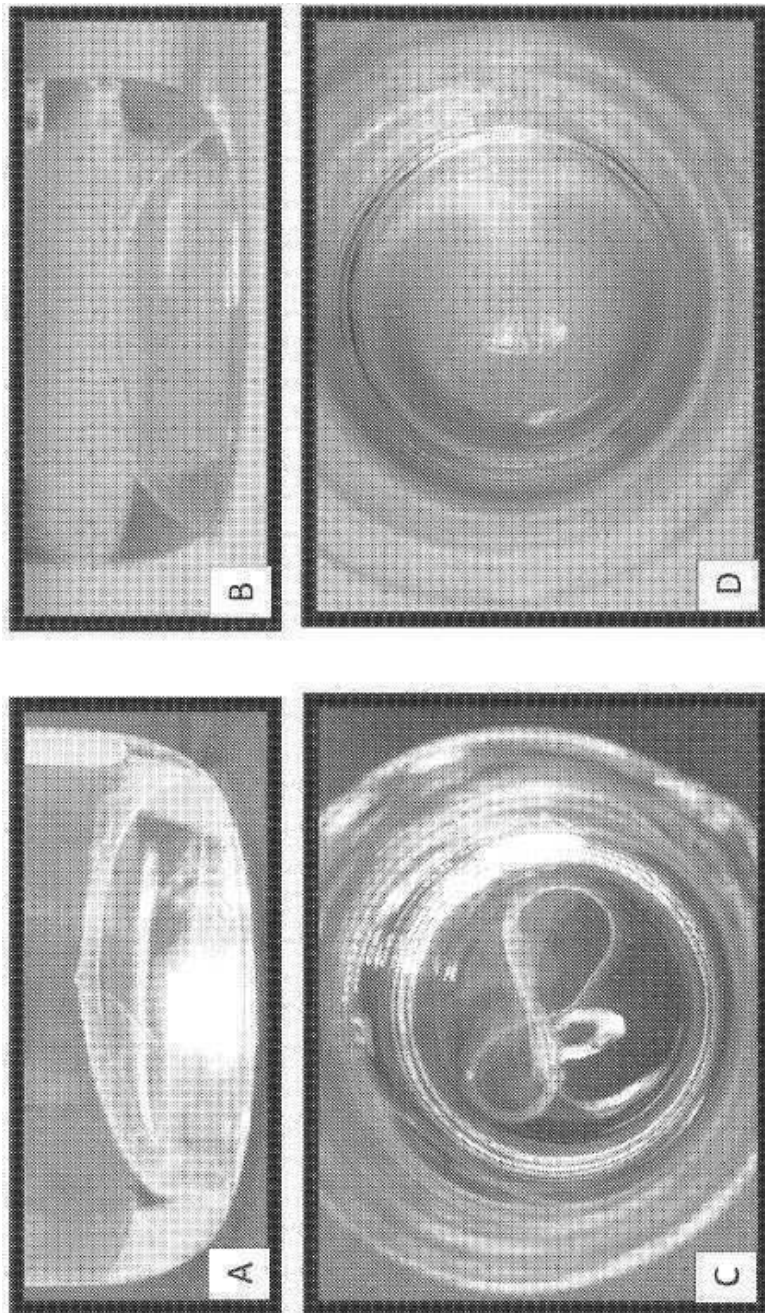
도면45



도. 45A-45D



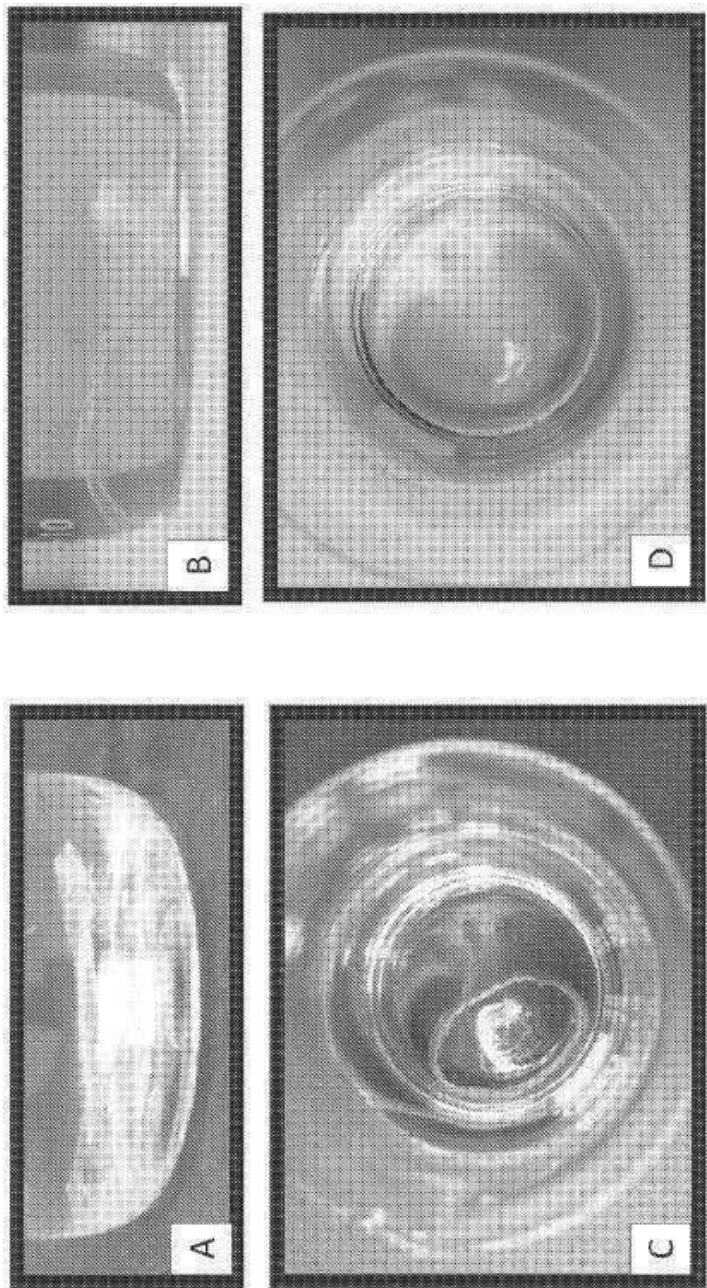
도면46



도. 46A-46D

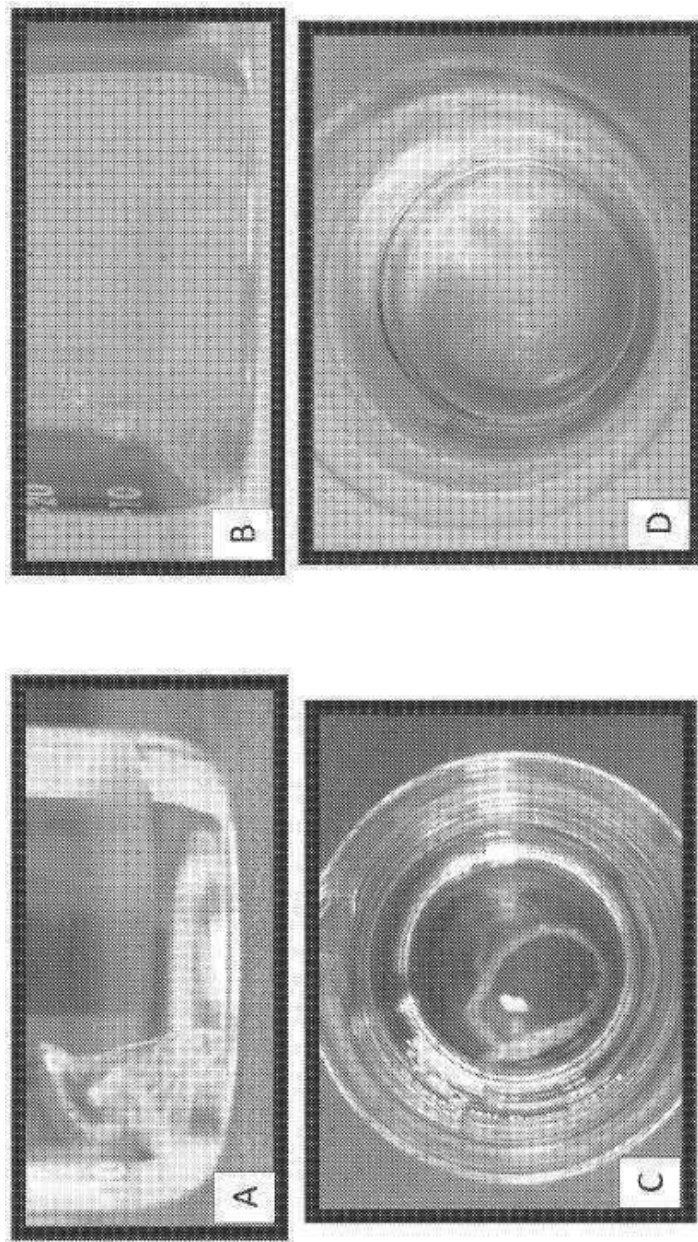


도면47



도. 47A-47D

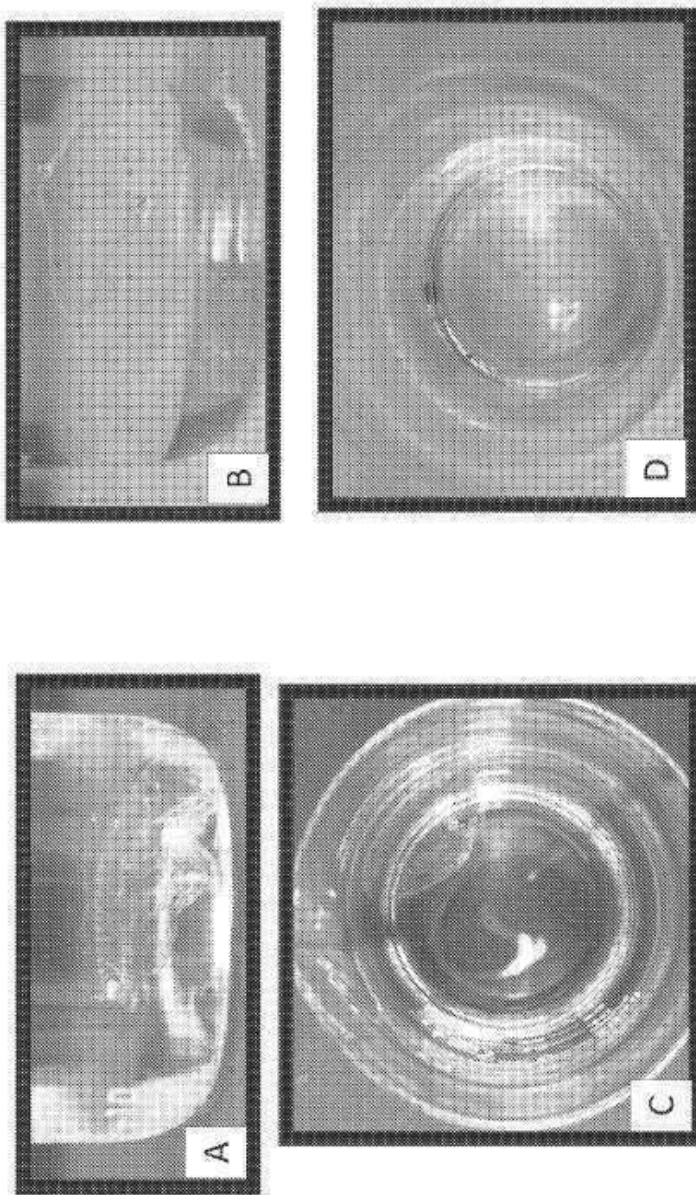
도면48



도. 48A-48D

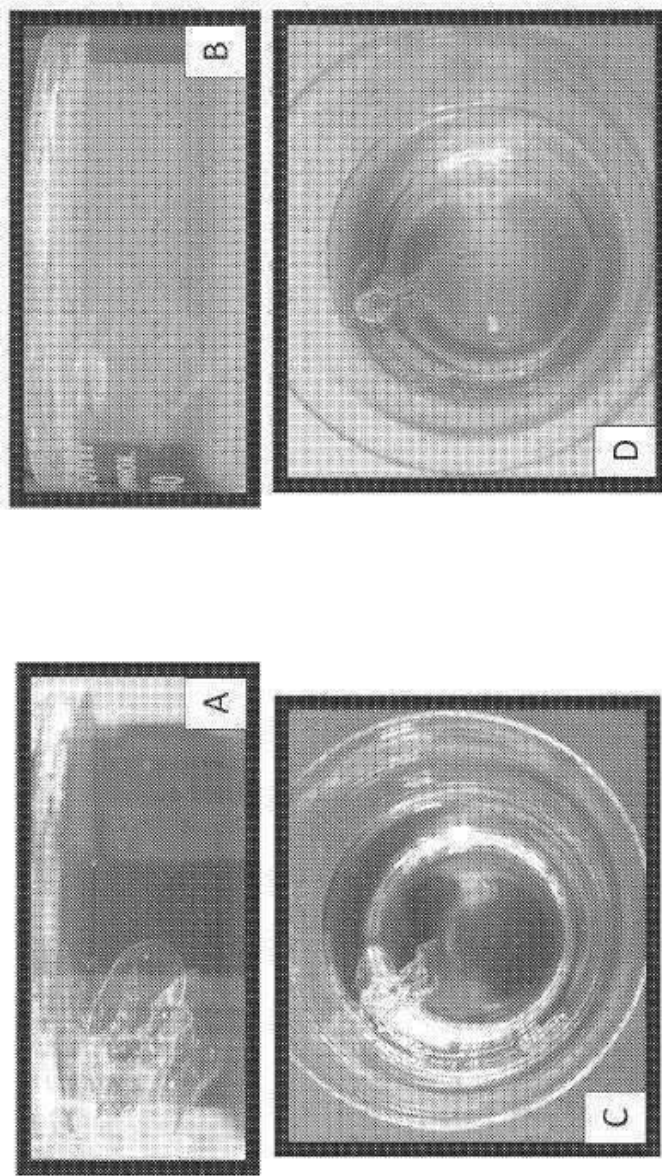


도면49



도. 49A-49D

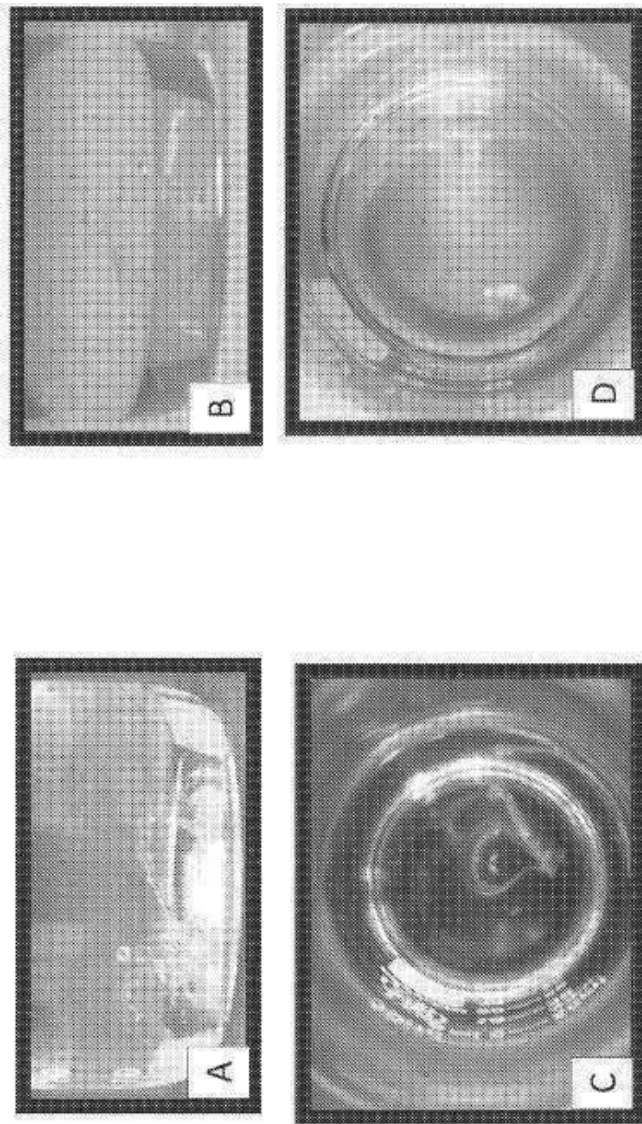
도면50



도. 50A-50D

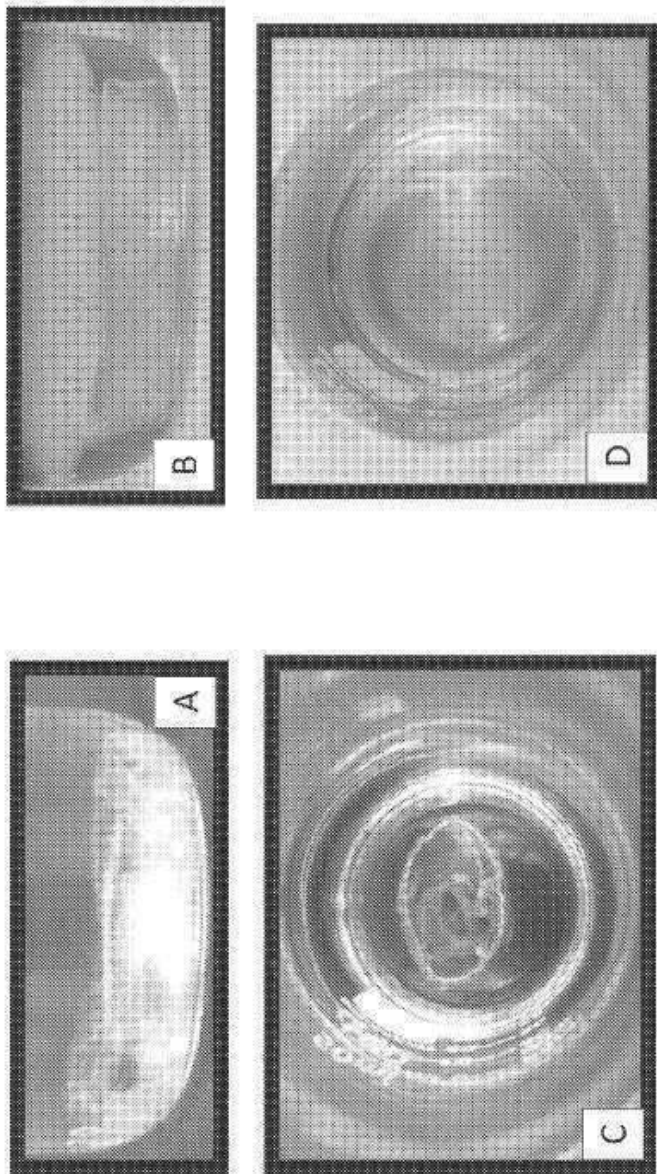


도면51



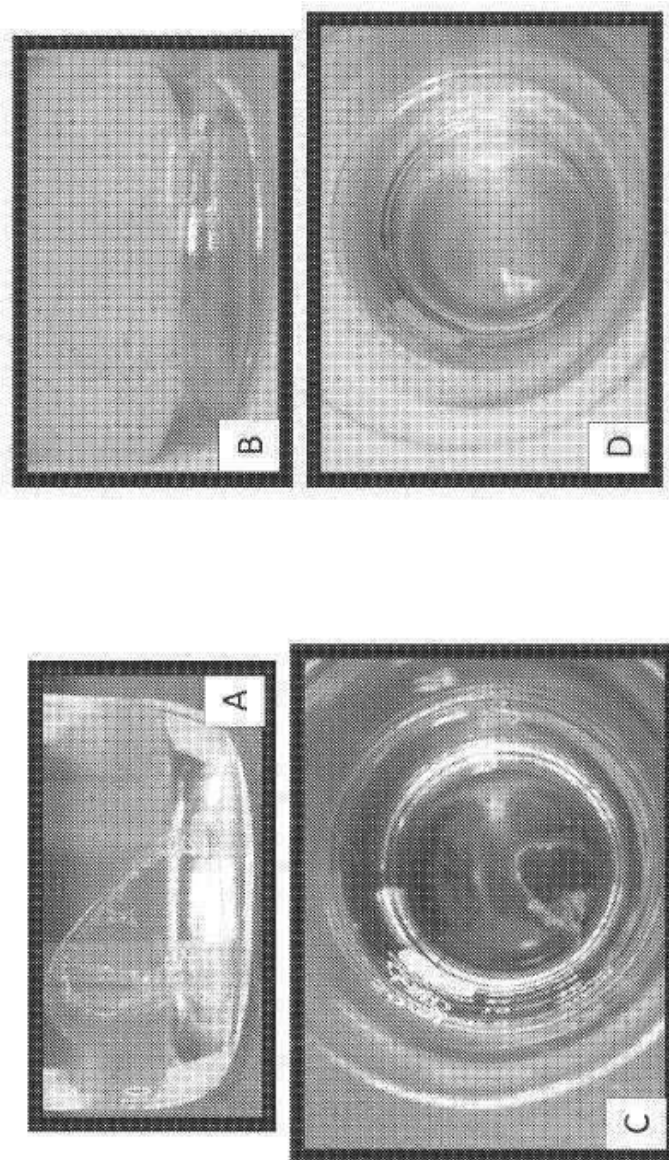
도. 51A-51D

도면52



도. 52A-52D

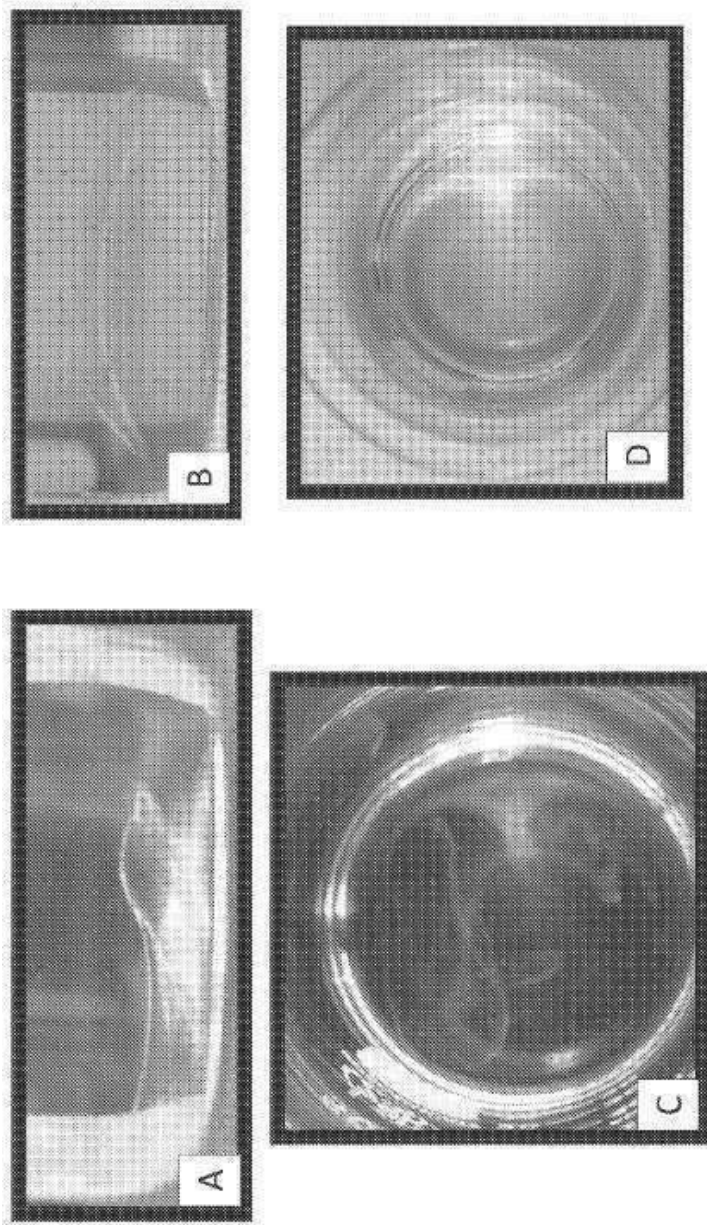
도면53



도. 53A-53D



도면54



도. 54A-54D



도면55

실크 단백질 용액 안에 리튬 브롬화물과 탄산나트륨 농도

시료 ID	시료 설명	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 평균 농도 (ppm)	LiBr 평균 농도 (ppm)
A	TFF 5kDa	32.13	90.85
B	TFF 10 kDa	42.91	107
C	TFF 10 kDa	49.06	78.55
D	STI 1(TFF-10-0019)	2.17	129.07
E	STI 2(TFF-10-0033)	2.63	196.2
F	STI 3(TFF-10-0034)	4.18	248.93

방법: 60분 동안 100°C추출, 60°C행균, 100°C오븐 안에서 60분간 100°CLiBr

주: TFF는 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 및 LiBr의 ppm을 변경시키기 위하여 더 오래 및/ 또는 상이한 유속 (A-C와 D-F 사이에서 변화될 수 있음)에서 진행될 수 있다.

도면56

실크 단백질 제형 안에 탄산나트륨

시료 ID	상세	시료 무게 (mg)	원 필름 안에 Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 농도	Std. Dev	오차%
			평균(mg/필름)		
A	빈 필름	ND	NA	NA	NA
B	1:1 필름	30.1	0.0141	0.0008	5.55%
C	5:1 필름	17.3	0.0127	0.0006	4.69%

방법. 100°C에서 20분 추출, 실온 행균, 60°C오븐에 4-6시간 동안 LiBr 2% 실크 필름은 RT에서 건조됨

도면57

실크 단백질 제형 안에 리튬 브롬화물

시료 ID	상세	시료 무게 (mg)	원 필름 안에 LiBr 농도	Std. Dev	오차%
			평균(mg/필름)		
A	빈 필름	ND	NA	NA	NA
B	1:1 필름	30.1	0.0363	0.0042	11.47%
C	5:1 필름	17.3	0.0259	0.0005	1.82%

방법. 100°C에서 20분 추출, 실온 행균, 60°C오븐에 4-6시간 동안 LiBr

2% 실크 필름은 RT에서 건조됨



도면58

실크 단백질 용액 안에 리튬 브롬화물과 탄산 나트륨 함량

시료 ID	(X) 필름에 대등한 용액 용적	시료 중량(mg)	농도	
			Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	LiBr
1	6	0.171	ND	ND
2	8	0.228	ND	ND
3	10	0.285	ND	ND
4	12	0.342	ND	ND
5	Neat	-	ND	ND

\*ND -=탐지된 것이 없음

방법. 100C에서 6분 가열, 60°C헝균, 60°C오븐에 4-6시간 동안 LiBr

도면59

실크 단백질 제형에서 비타민 C

시료 ID	상세 (Silk:Vit C)	시료 중량 (mg)	비타민C 농도		Std. Dev	오차%
			평균(mg/필름)			
A	빈 필름	4.2	0	0	0	0.00%
B1	1:1 필름	7.8	3.0974		0.0538	1.74%
B2	1:1 필름	7.7	3.2534		0.0312	0.96%
C1	5:1 필름	4.9	0.6194		0.0096	1.54%
C2	5:1 필름	4.9	0.6454		0.0061	0.94%

방법. 100C에서 20분 추출, 실온 행균, 60°C오븐에 4-6시간 동안 LiBr  
2% 실크 필름은 RT에서 건조됨

도면60

용액 안에 비타민 C의 안정성

시료ID	시간 (hour)	실제농도 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	면적	vitC 농도 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	회복 (%)	24시간후 안정성(%)
A	0	82.4	4277.9	80.53	97.73	
B	26	82.4	4088.94	77.62	94.2	
평균=			4183.42	79.07	95.96	96.39
Std. Dev. =			133.62	2.06	2.49	
오차%			3%	3%	3%	

방법: 비타민 C 용액(실크 없음)



도면61

실크 단백질 용액의 분자량

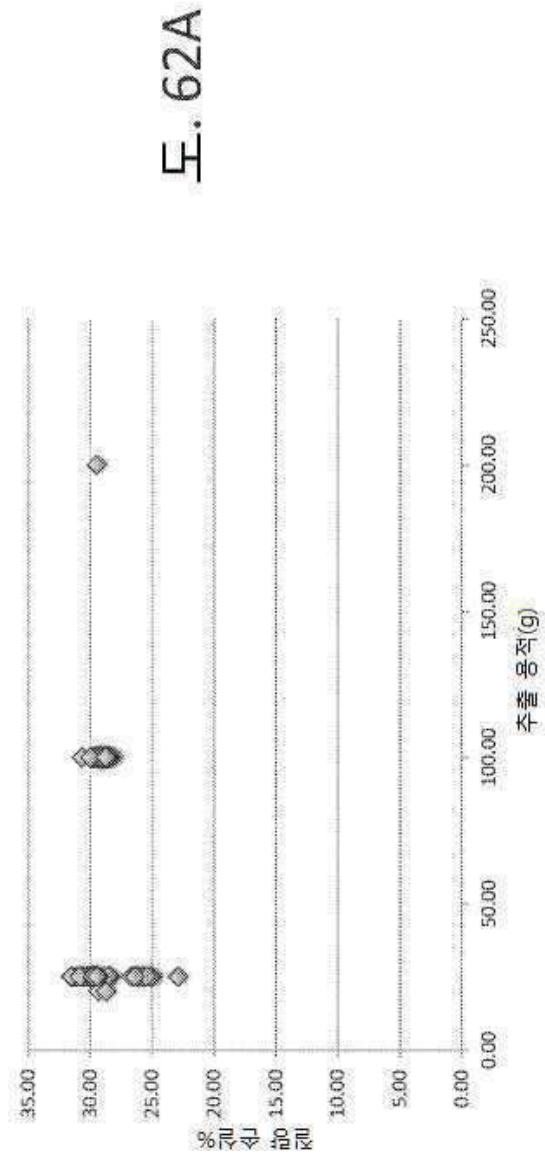
시료 ID	시료 설명	Mn	Mw	다분산성(PD) (Mw/Mn)
A	TFF 5kDa	14,497	33,874	2.3366
B	TFF 10 kDa	14,542	33,455	2.3006
C	TFF 10 kDa	14,972	34,026	2.2726
D	물 안에 실크 단백질 용액	12,055	26,531	2.2008

방법:

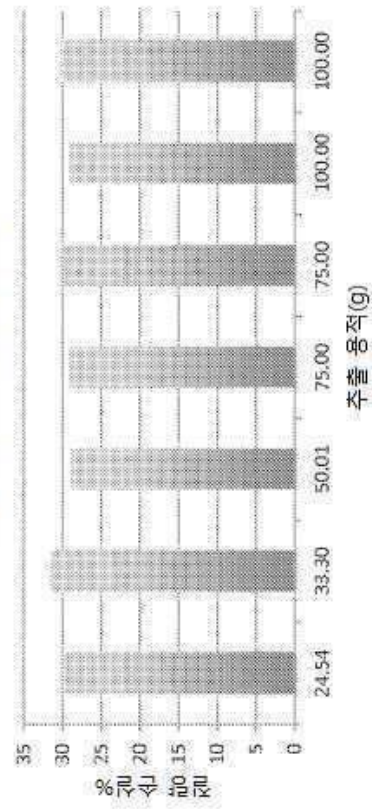
TFF: 100°C 60분 추출, 60°C 헹굼, 100°C 오븐 안에 60분간 100°C LiBr

실크 단백질; 100°C 20분 추출, RT 헹굼, 60°C 오븐 안에 60분간 100°C LiBr

도면62



추출 용적 vs. 질량 손실%



도면63

시료	LiBr (M)	Avg MW	PD
STI 1(TFF-10-0019)	9.3	15727	2.033
STI 2(TFF-10-0033)	9.3	24587	2.3669
STI 3(TFF-10-0034)	9.3	25273	2.338
STI 9.3 M avg		21862	2.25
STI 1(TFF-10-0031)	~7.5	29645	3.0868
STI 2(TFF-10-0030)	~7.5	26856	2.9748
STI 7.5M avg		28250.5	3.0308

\*TFF-10-0019 2.26g 추출/35g 용해

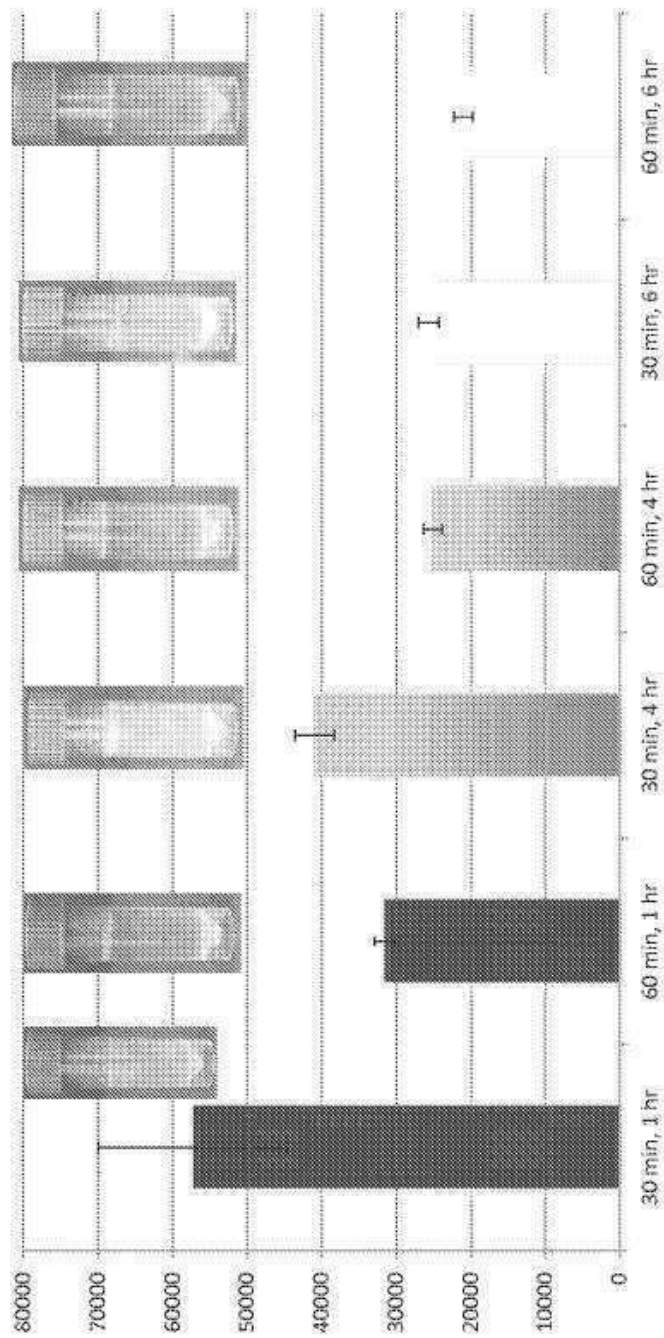
\*TFF-10-0034 100g 추출/17-35g 용해

\*TFF-10-0033 100g 추출/100g 용해

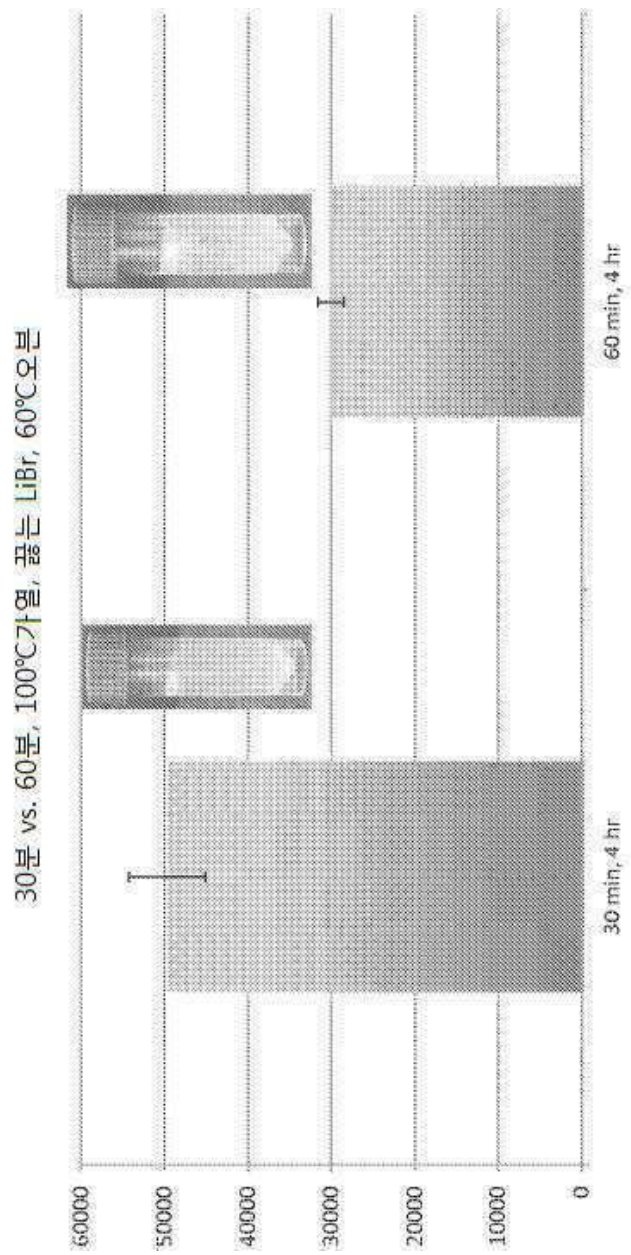


도면64

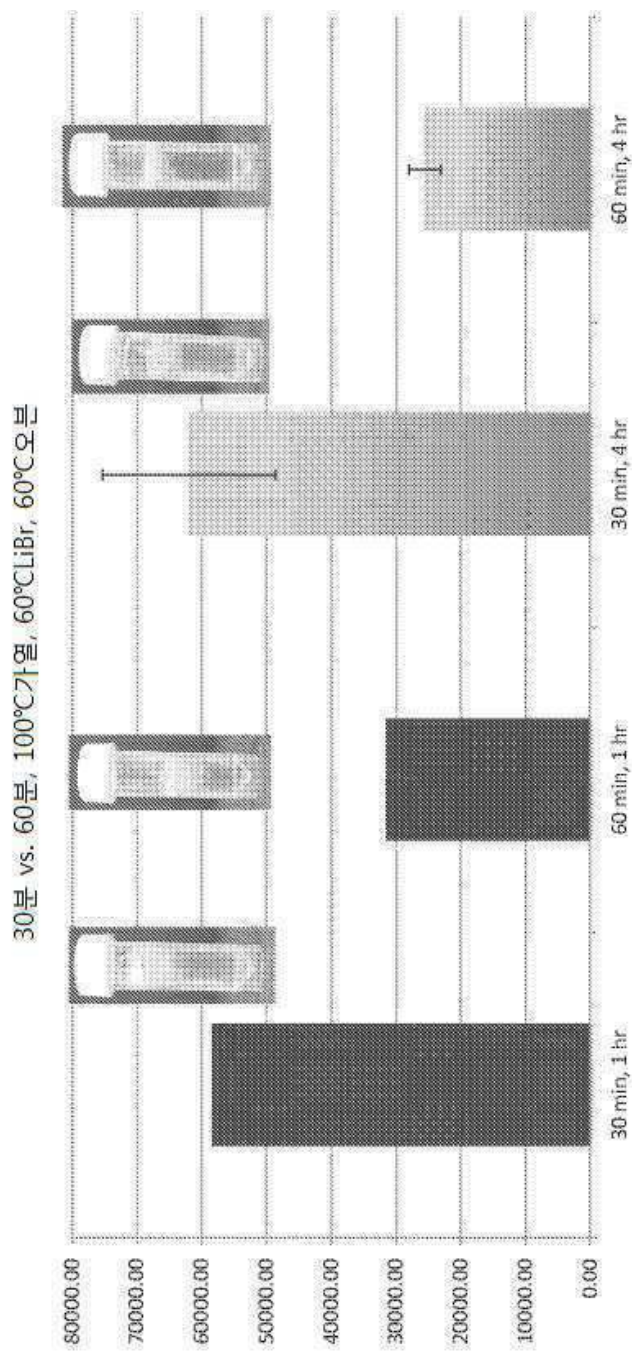
30분 vs. 60분, 100°C가열, 100°CLiBr, 100°C오븐



도면65

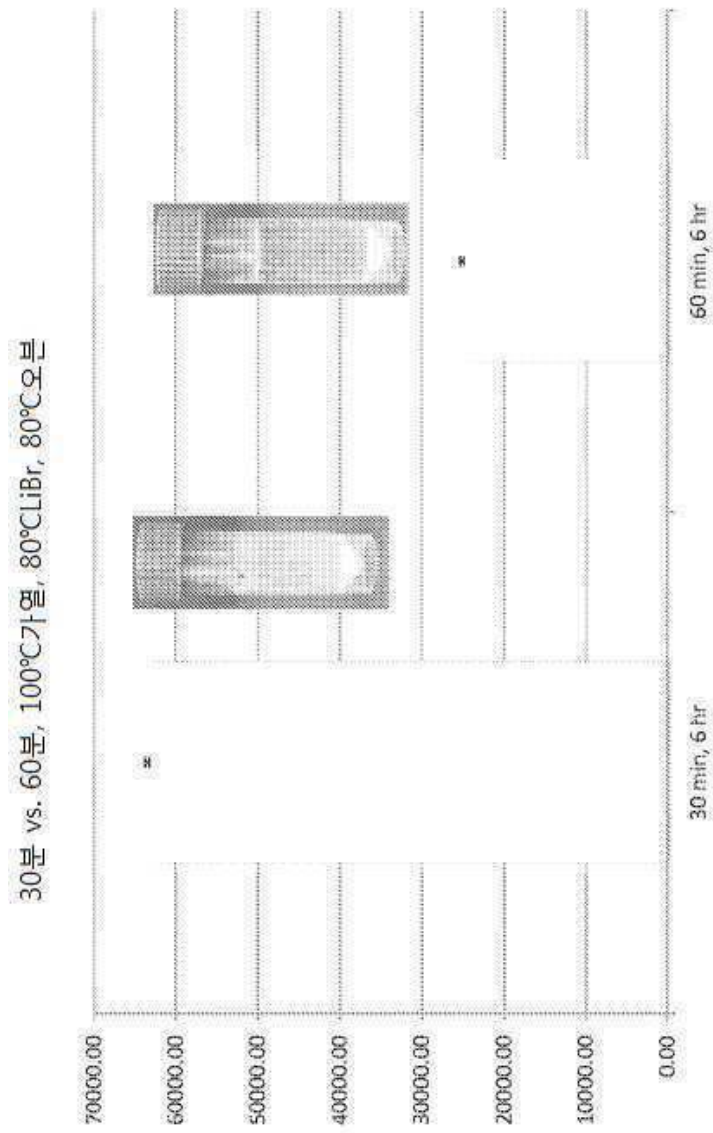


도면66

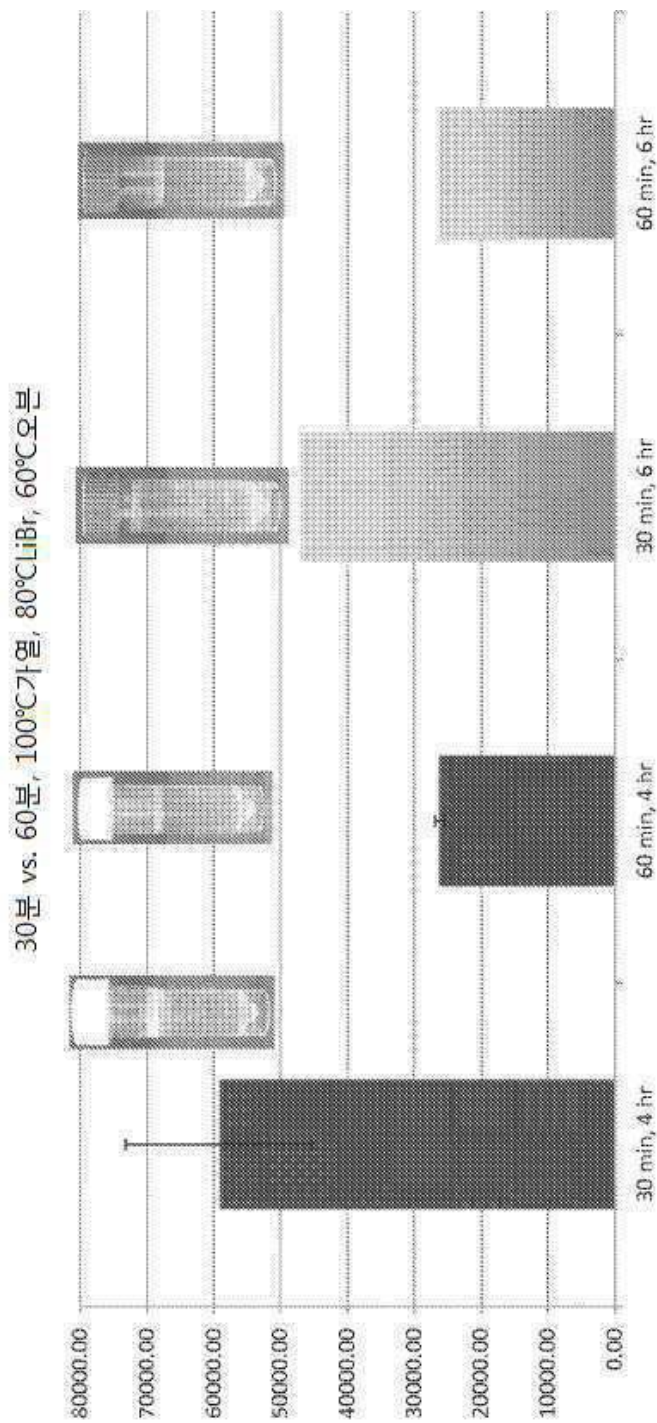




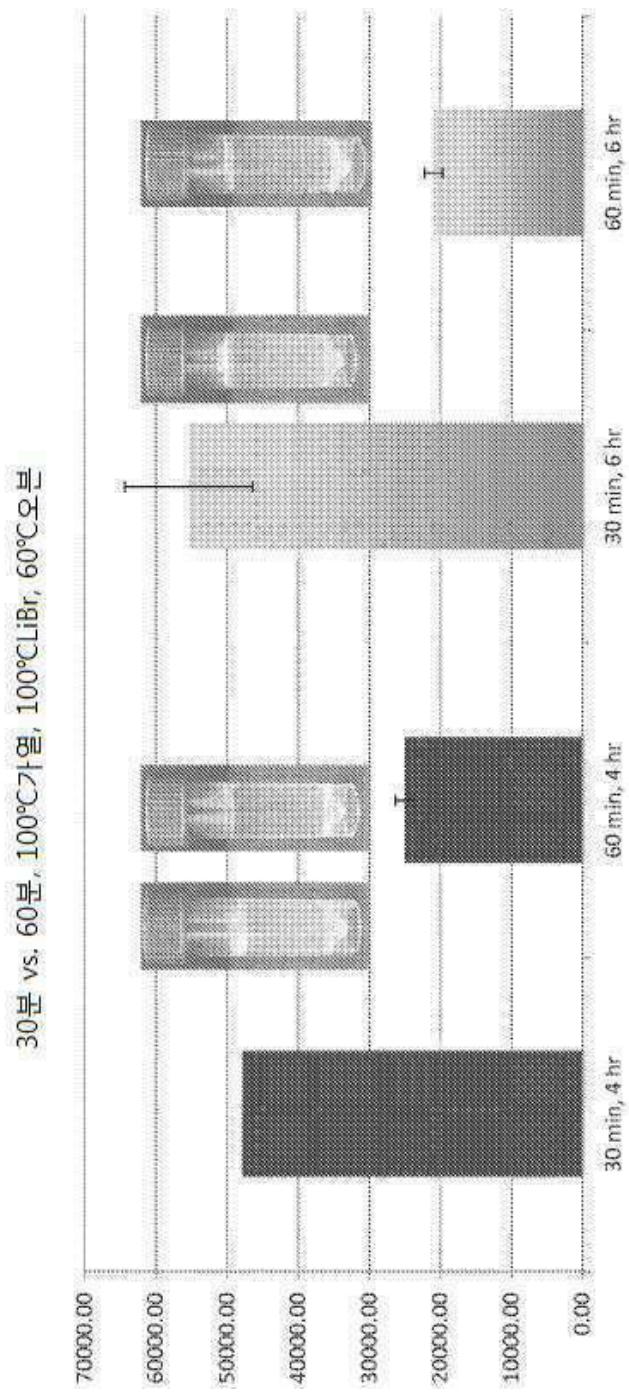
도면67



도면68

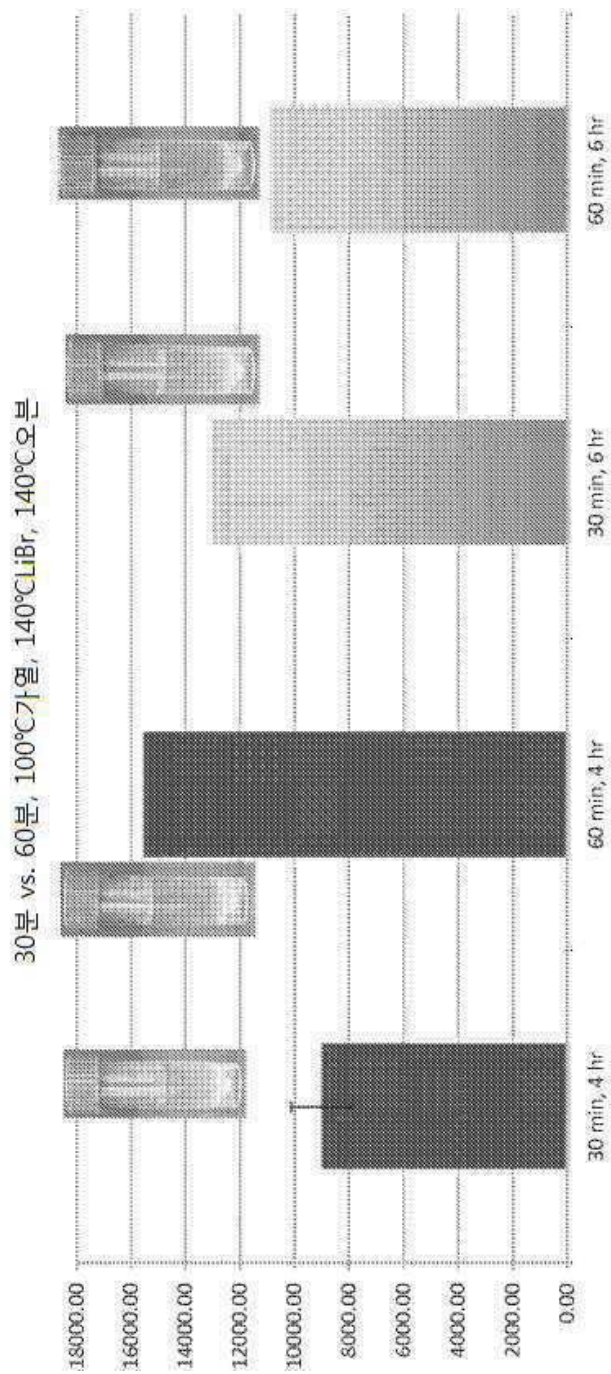


도면69

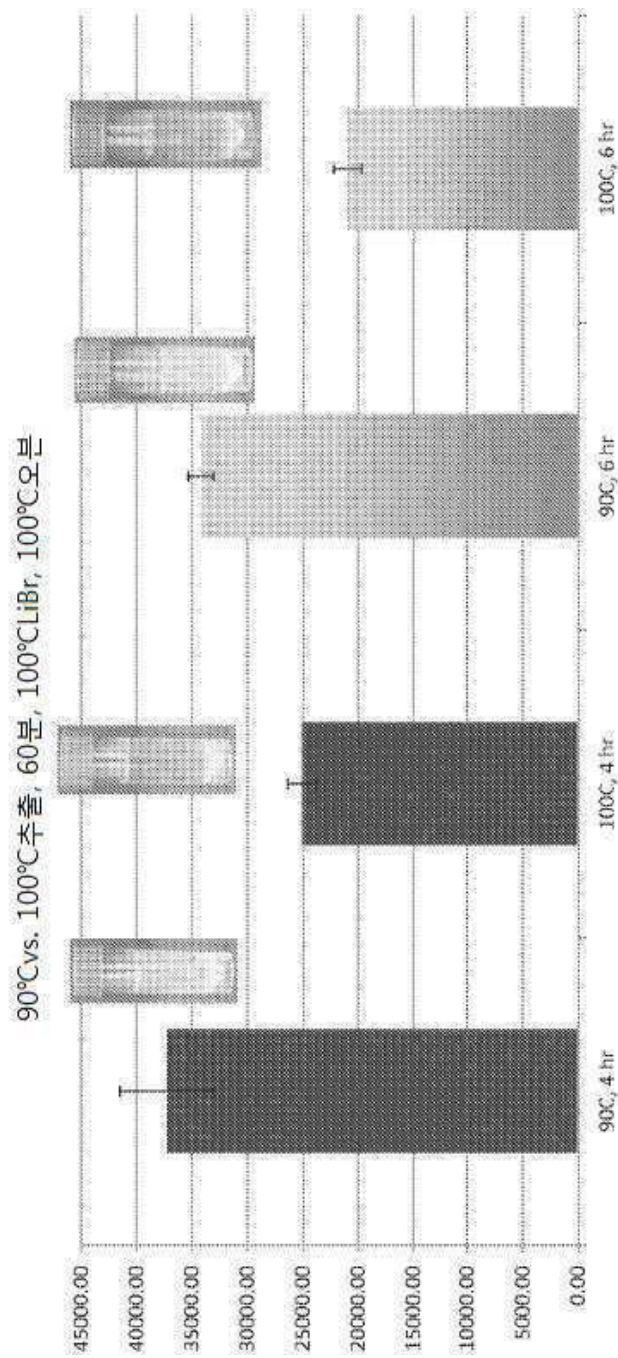




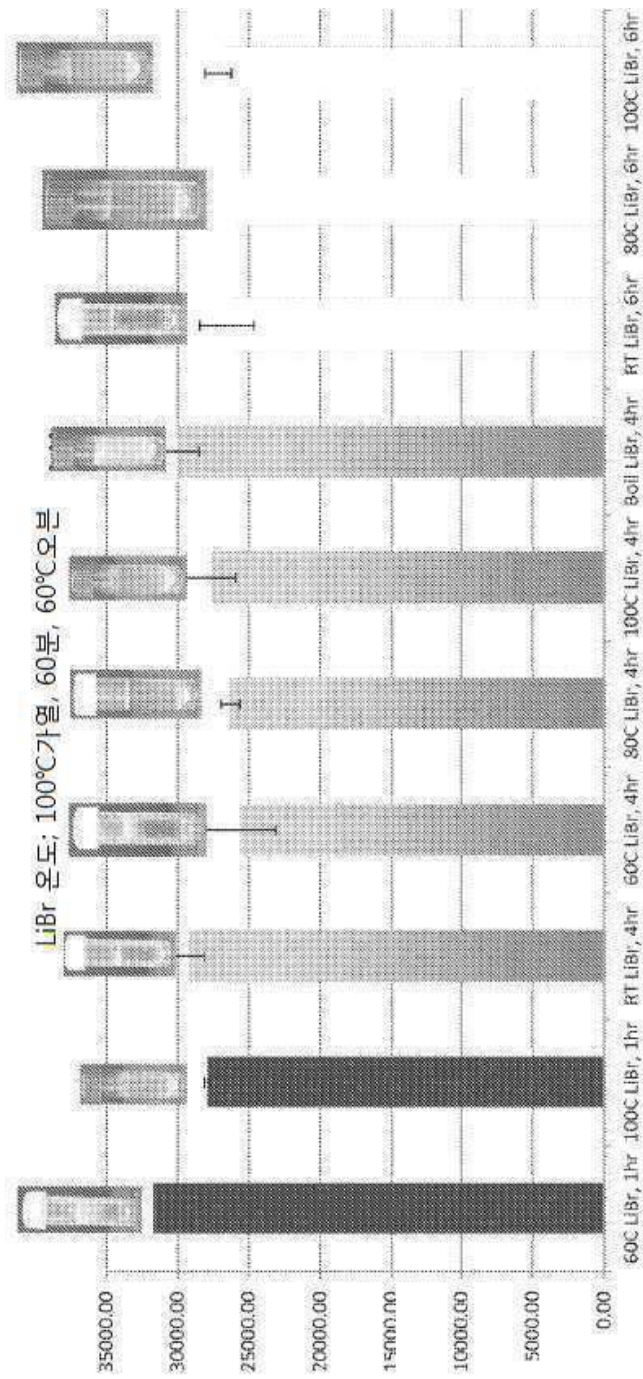
도면70



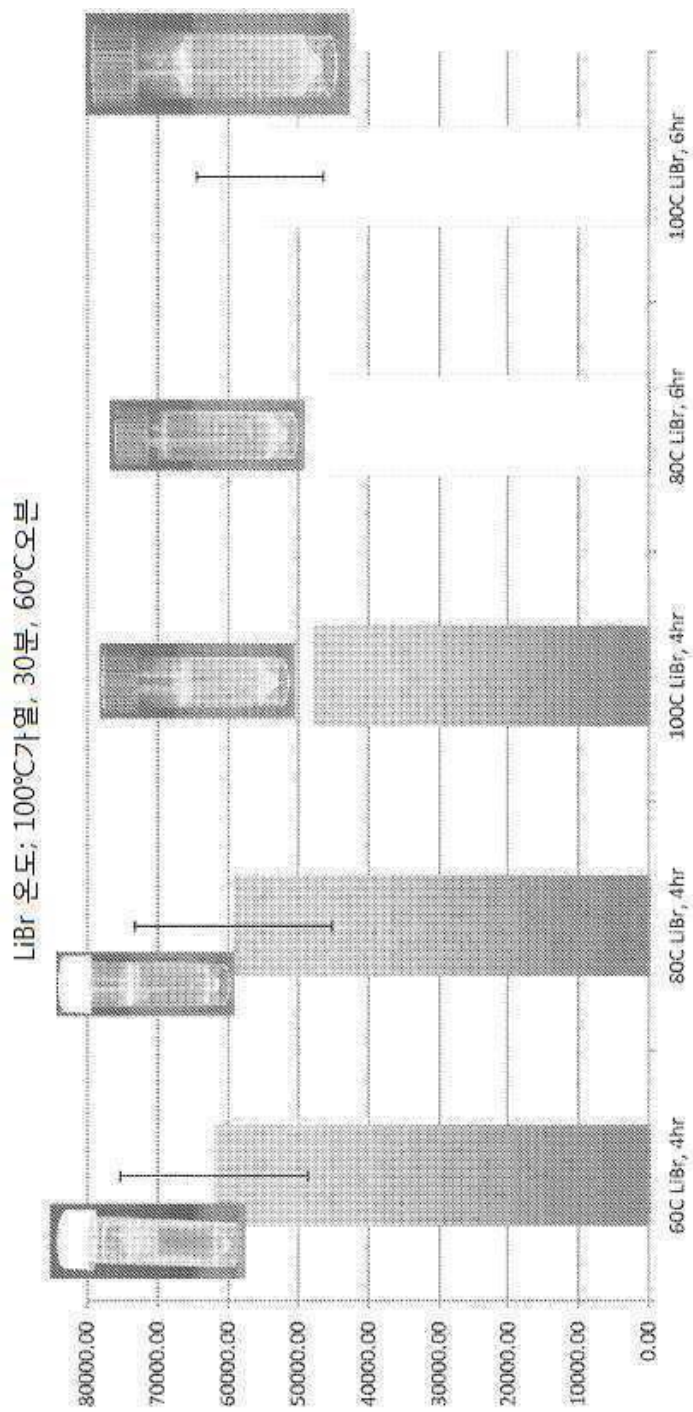
도면71



도면72

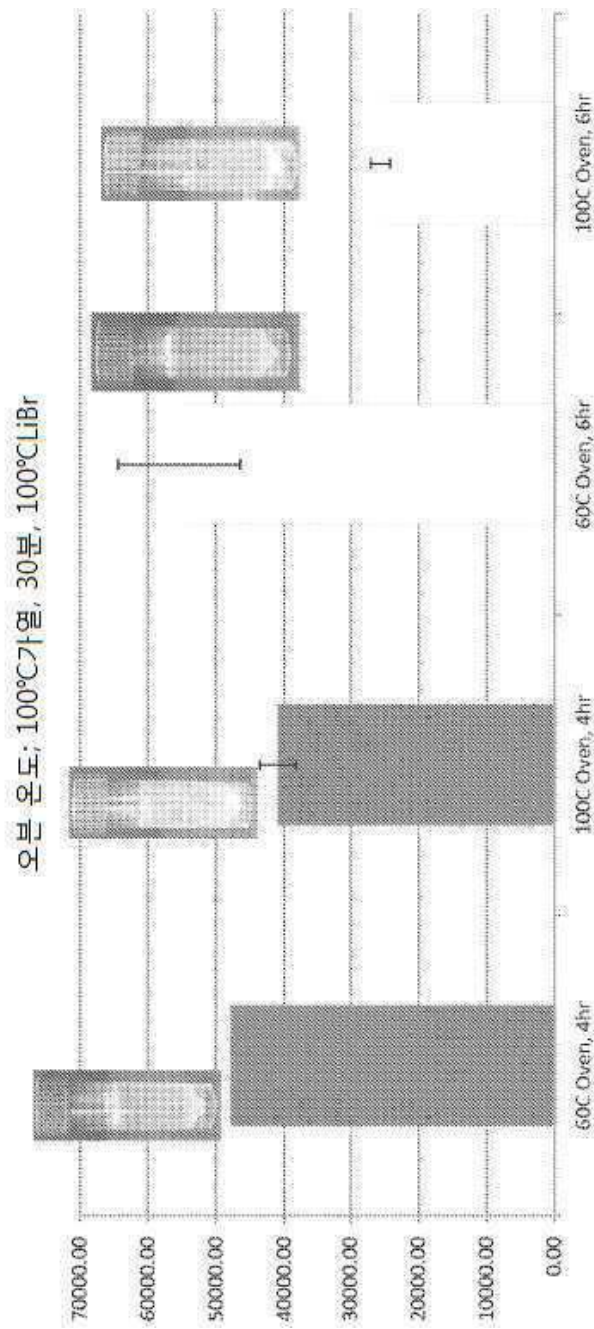


도면73

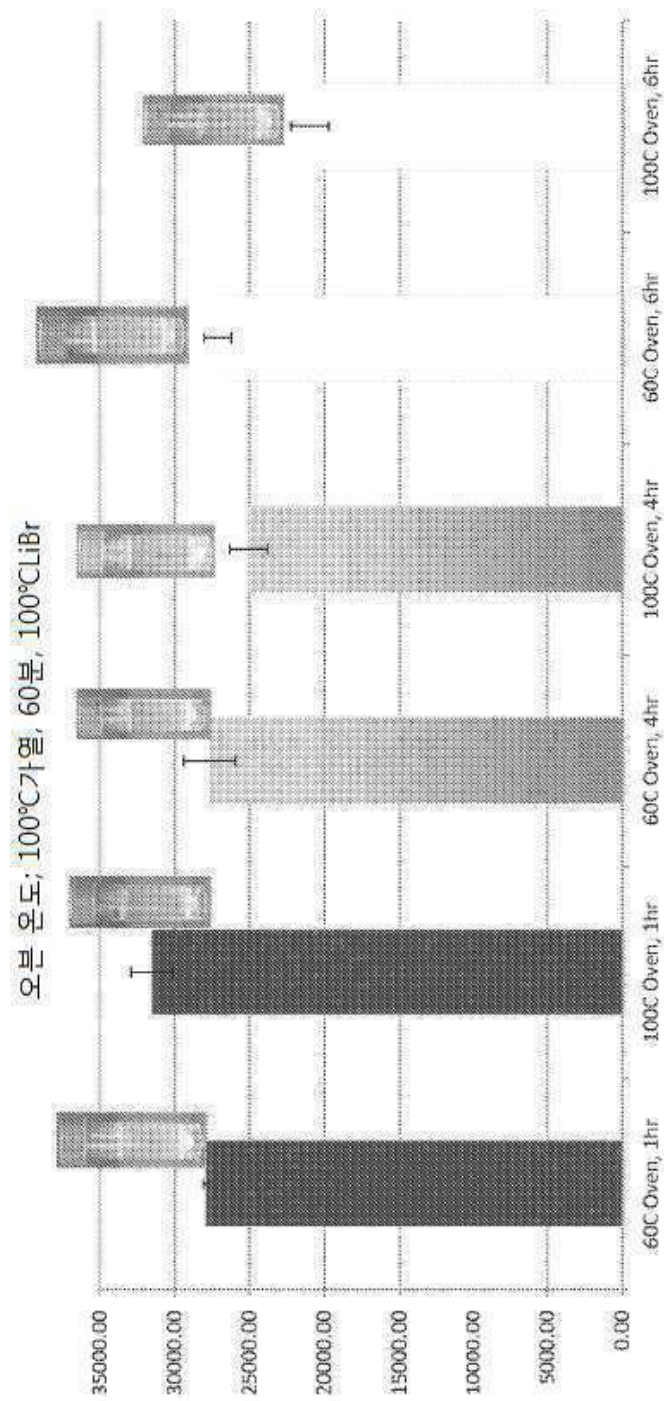




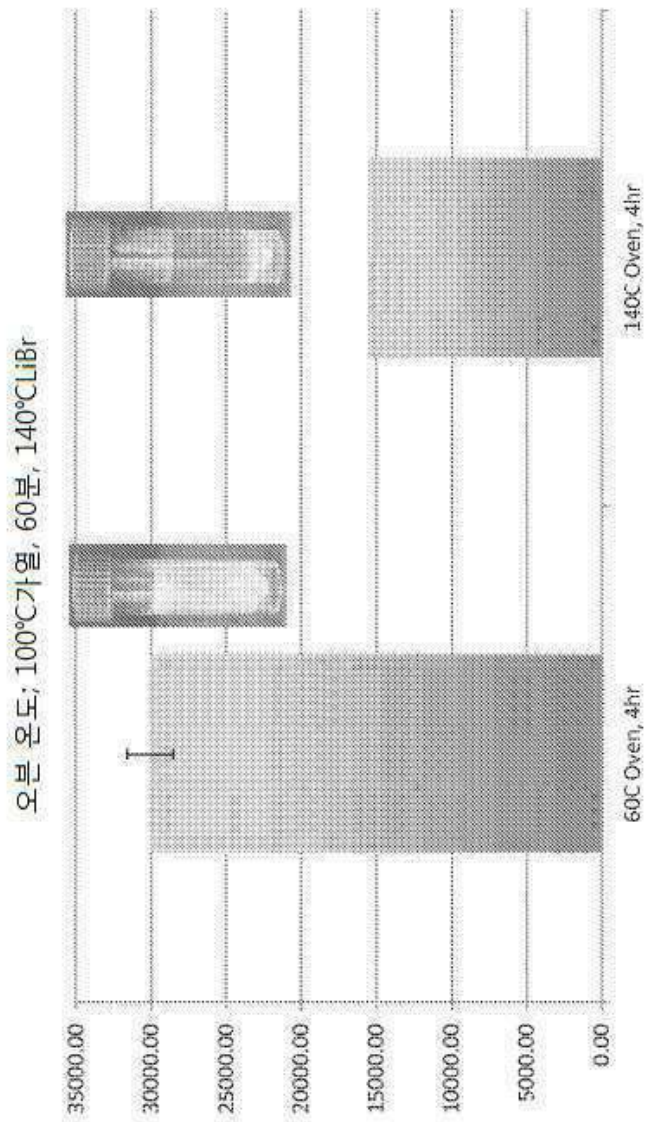
도면74



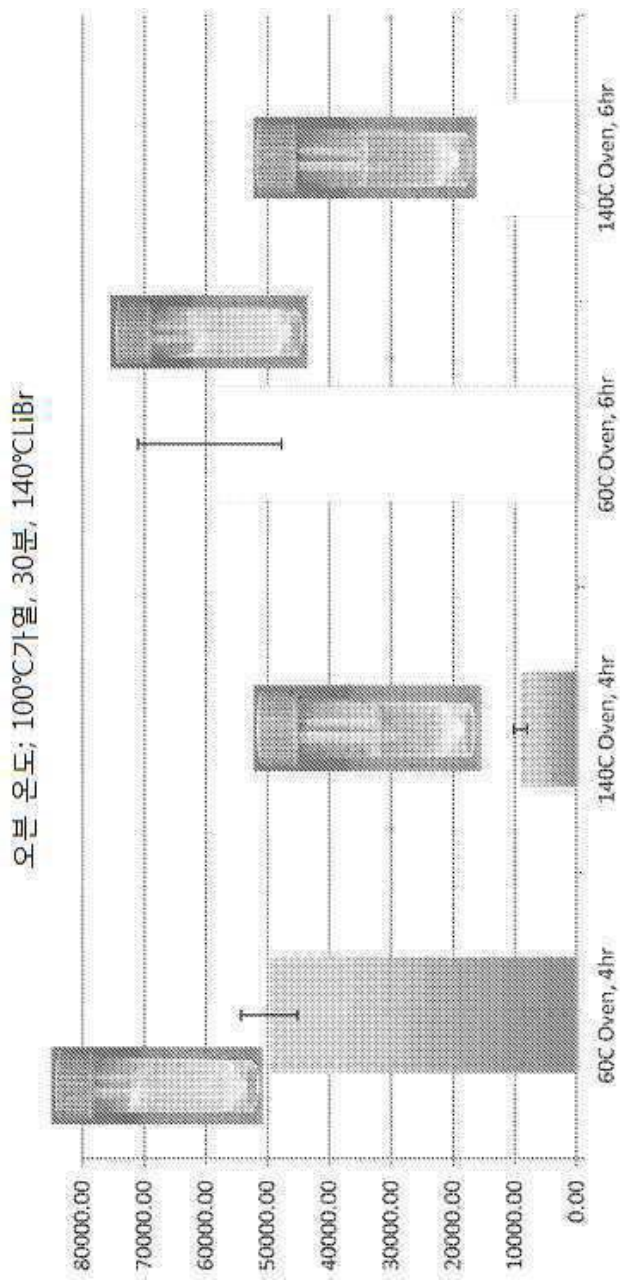
도면75



도면76

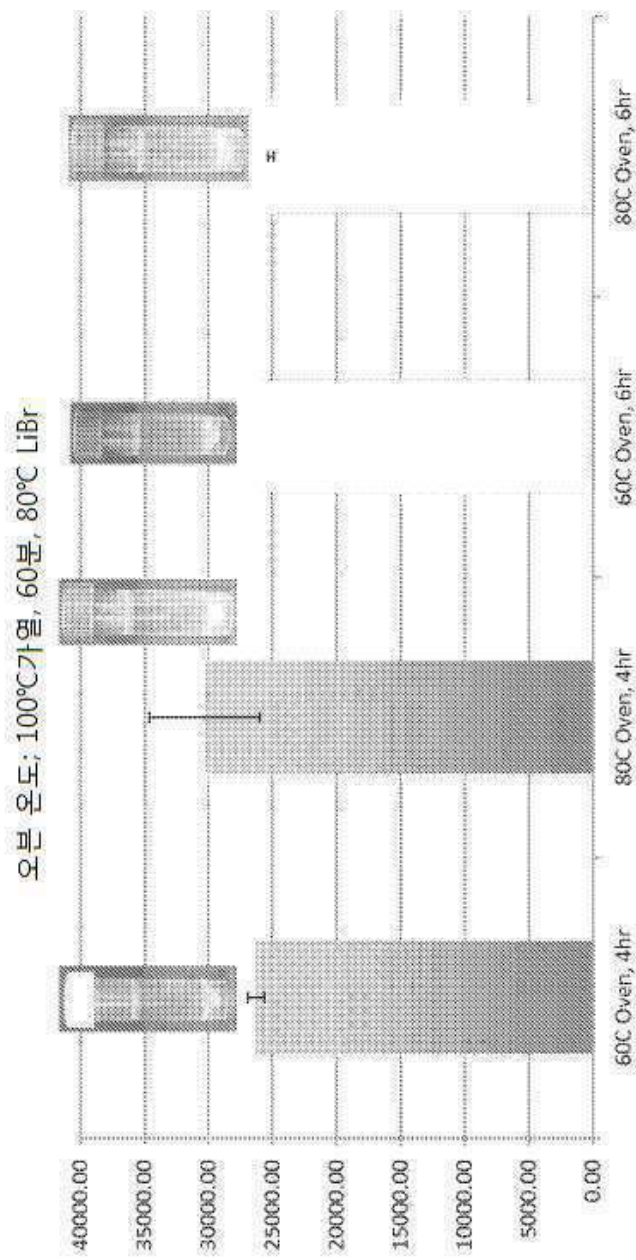


도면77

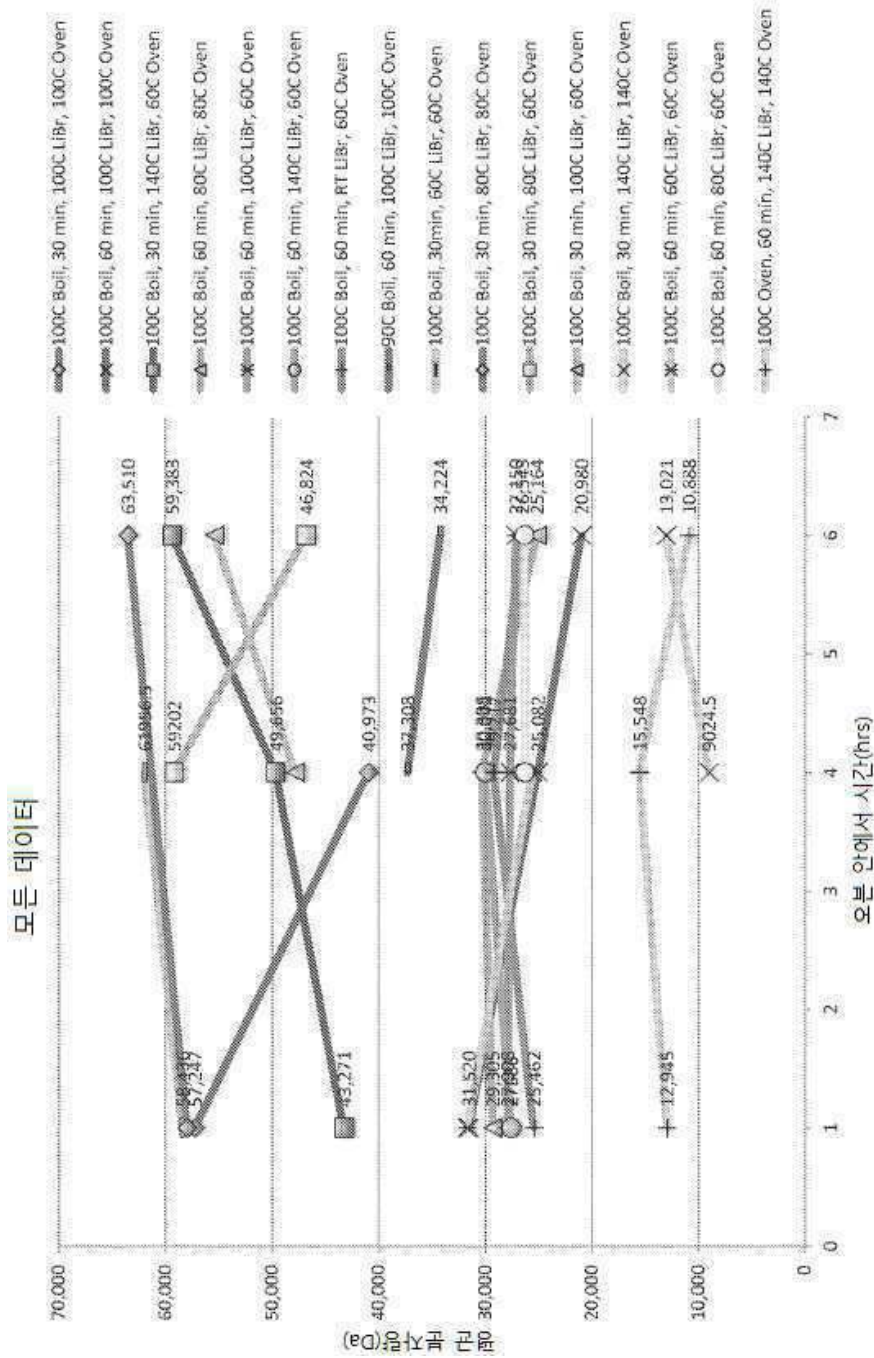




도면78



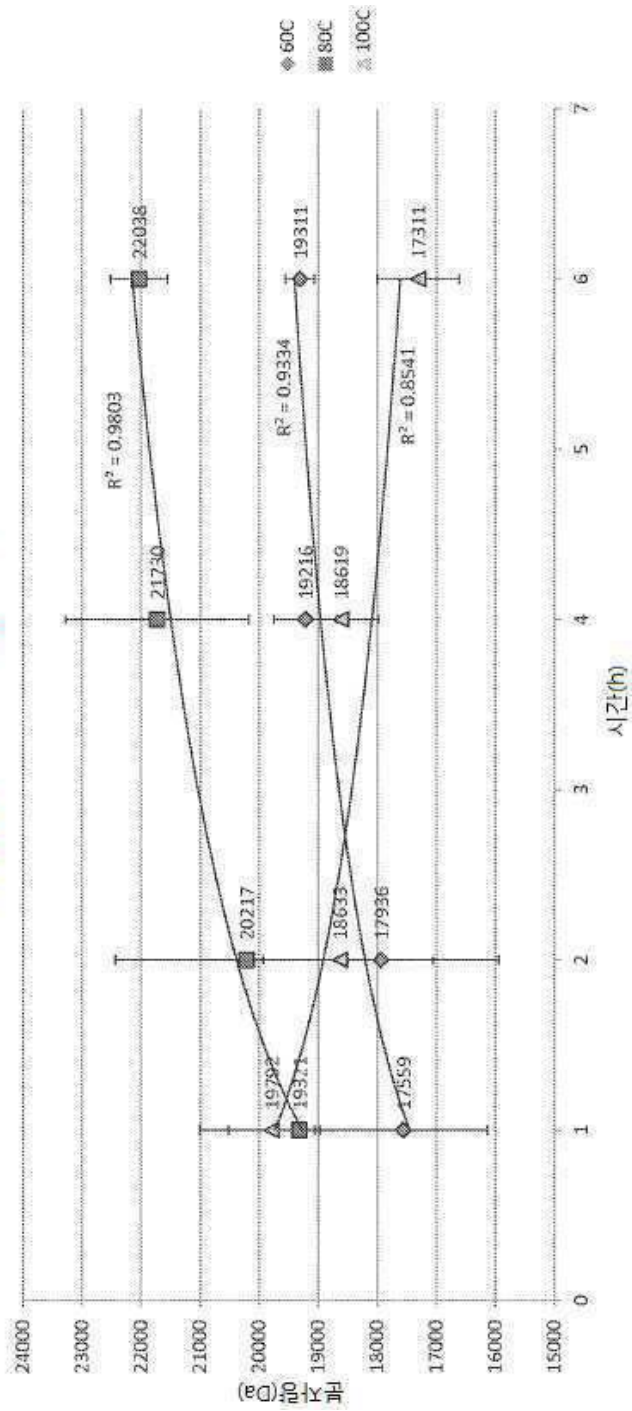
도면79



도면80

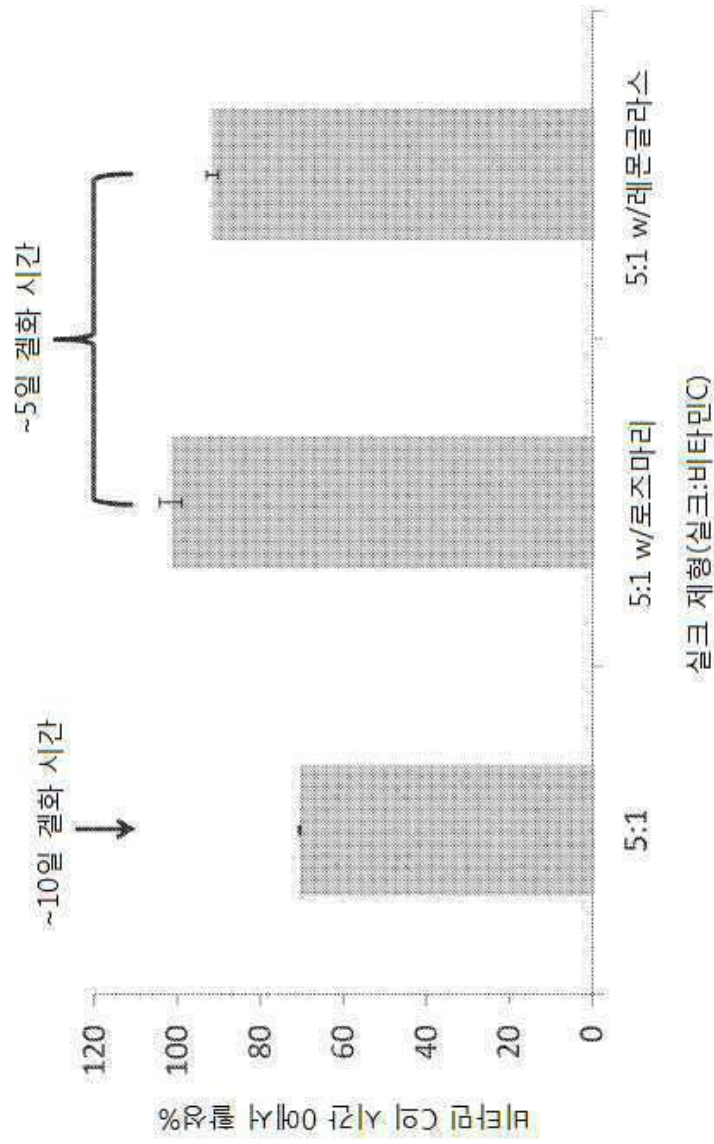
# 오븐 온도=LiBr 온도 데이터: 라운드 2

분자량 데이터: 오븐 온도=LiBr 온도



도면81

# PureProC™ 겔 안에 비타민 C는 활성이 있다





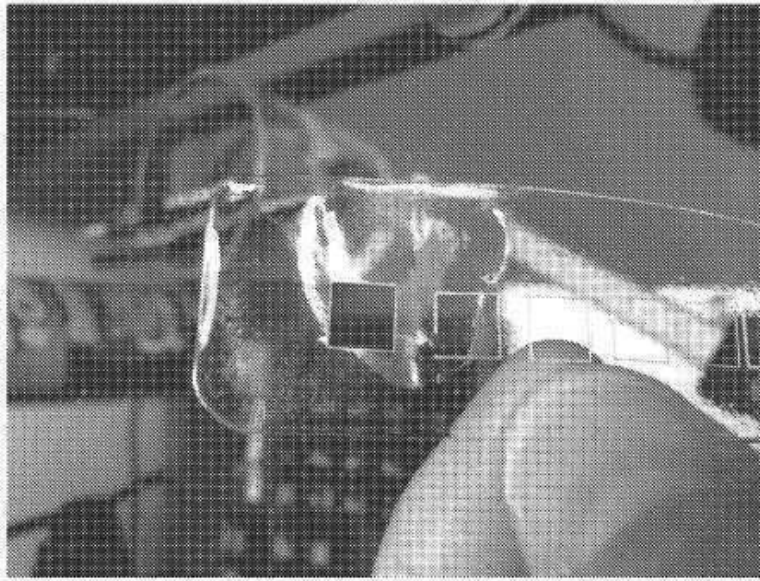
도면82



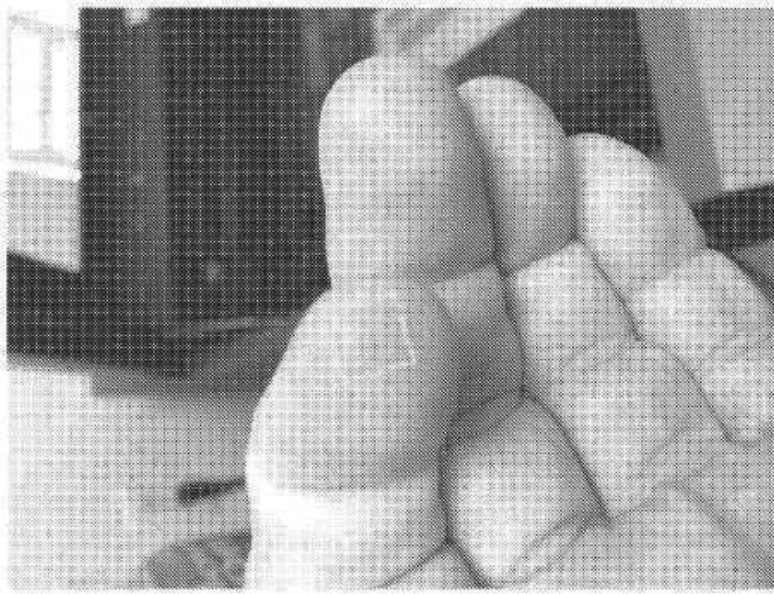
도. 82A-82C

도면83

효과 및 모양에 대한 레이저 커팅



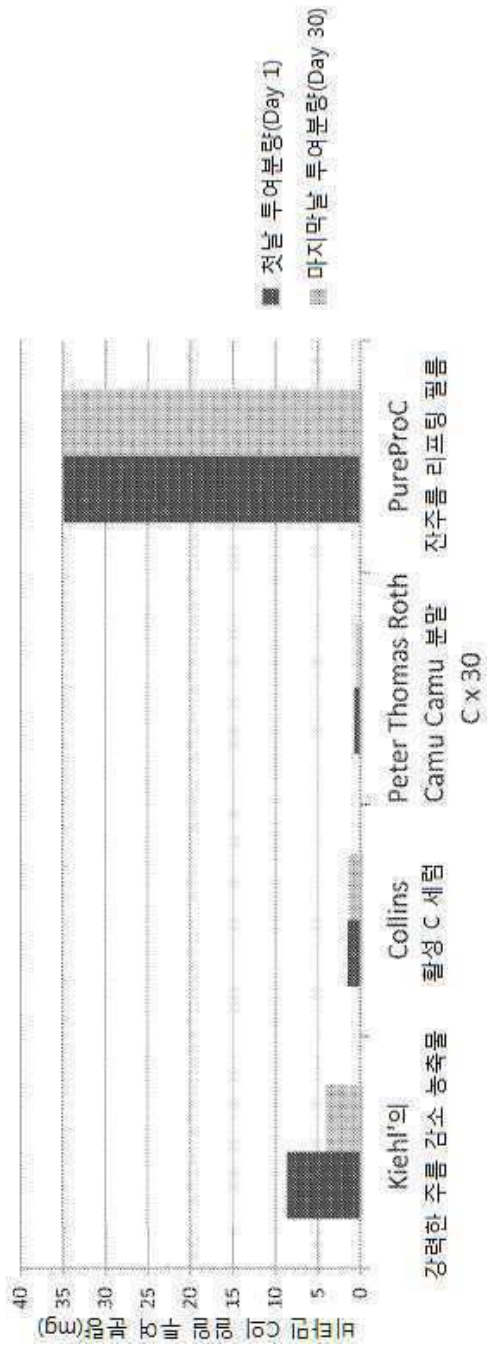
도. 83A



도. 83B

도면84

화장 제품에서 비타민 C의 일일 투여분량

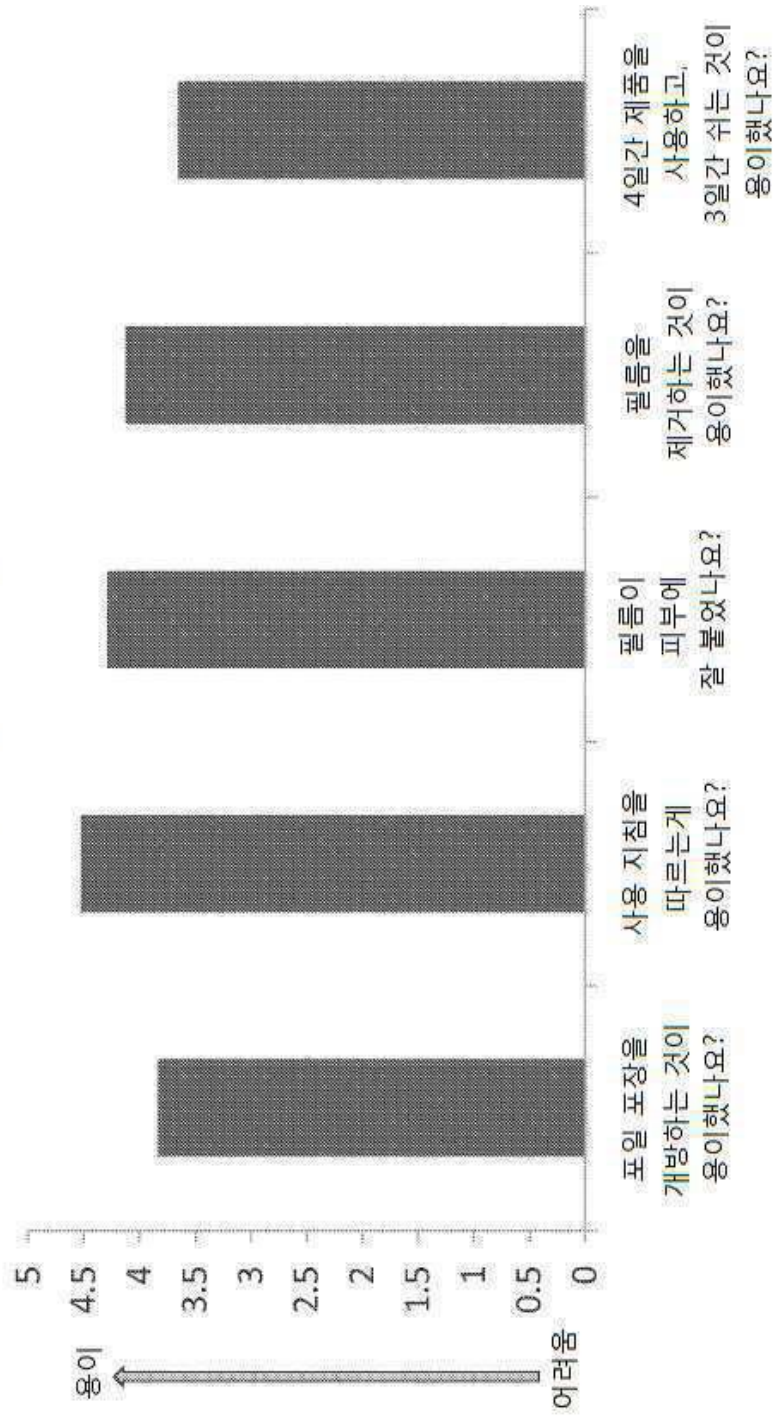


Vitamin C Cosmetic Product



도면85

# PureProC™ 의 사용 용이성





도면86

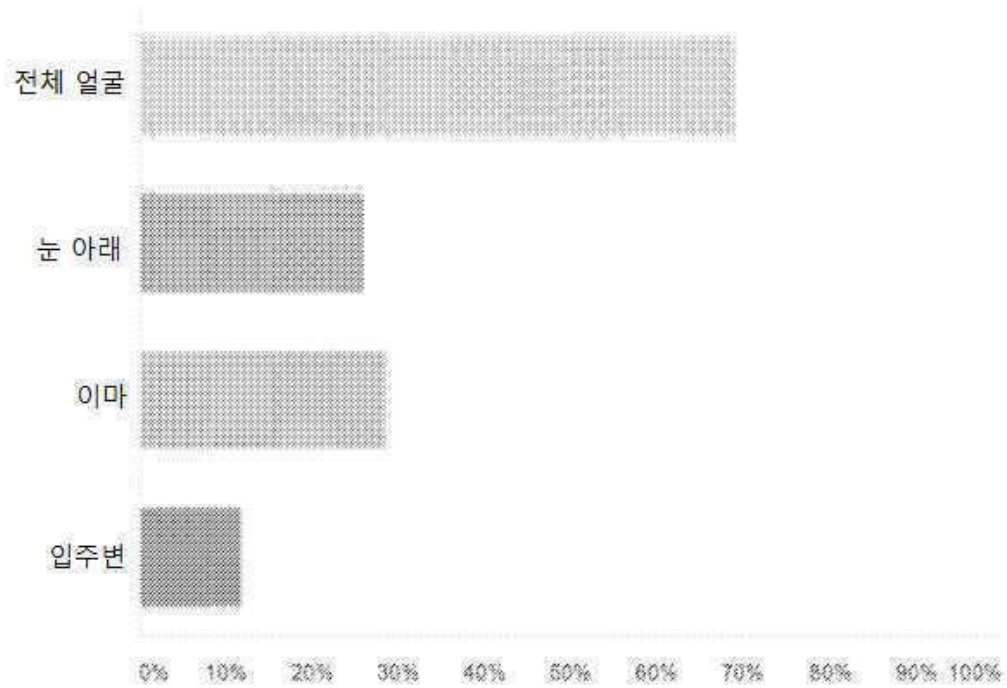
- 피부에 비타민 C의 가시적인 장점은 3-6개월의 지속 사용후에 가장 일반적이다
  - 피부 표면 세포는 매 28일마다 대략 진피에 있는 세포에 의해 대체된다.
  - 임상 문헌에서 매월 추가 사용되는 첨가제로써 비타민C의 장점을 보여주는데, 피부가 지속적으로 비타민 C에 노출되고, 세포는 반복적으로 대체되어, 새로운 콜라겐이 발생되고, 점진적으로 잔주름을 채워가게 되기 때문이다.
  - 더 오래 사용하면 장점을 더 많이 볼 수 있을 것이다.
- 사용자 언급

사용 1개월 후:	▼	동의	▼	확실하지 않음	▼	동의하지 않음	▼
내피부가 개선됨		63%		21%		16%	
내피부가 치밀해짐		53%		34%		13%	
내피부가 더 밝아짐		25%		53%		22%	
피부톤이 더 일관됨		25%		47%		28%	

도면87

겔을 어디에 발랐나요? 해당되는 것을 모두 선택하세요

응답: 42 불응: 2



도면88

오직 레몬클라스 겔에 대한 생각은 사용 후 당신의 피부에 대한  
다음의 의견에 동의하는지를 나타낸다

응답: 44 불응: 0

	동의	비동의	확신없음	합계
피부가 더 밝아짐	25.00% 11	13.64% 6	61.36% 27	44
피부 톤이 더 나아짐	34.09% 15	15.91% 7	50.00% 22	44
피부가 더 매끈해짐	36.82% 16	13.64% 6	29.55% 13	44
피부가 더 부드러워짐	52.27% 23	9.09% 4	38.64% 17	44
피부 느낌이 나아짐	50.00% 22	13.64% 6	36.36% 16	44
피부 촉감이 개선됨	43.18% 19	15.91% 7	40.91% 18	44

도면89a

비타민C 유형	용액내 질크 %	결당 용액 용적(ml)	결당 비타민C의 양 (mg)	Vitamin C %	다른 첨가제 이름	다른 첨가제 양	주석
소듐 아스코르빌 포스페이트 (Aromantic)	2	15	100 mg	0.67%	레몬글라스 오일	20 uL	겔화가 일어나지 않음
소듐 아스코르빌 포스페이트 (DSM)	2	15	100 mg	0.67%	레몬글라스 오일	20 uL	~28일에 겔화, 정상적인 겔 모양
아스코르빌 테트라팔미테이트	2	15	100 mg	0.67%	레몬글라스 오일	20 uL	아스코르빌 테트라팔미테이트는 점성 액체로, 용해되지 않음, 용액은 버림
아스코르브산-2- 글루코시드	2	15	100 mg	0.67%	레몬글라스 오일	20 uL	~3일에 겔화, 정상적인 겔 모양
I-아스코르브산과 소듐 아스코르빌 포스페이트(DSM)	2	5	25mg의 I-아스코르브산과 25mg의 소듐 아스코르빌 포스페이트	1%	레몬글라스 오일	6.67 uL	6일 안에 겔화



도면89b

비타민C 유형	용액내 질크 %	겔당 용액 용적(ml)	겔당 비타민C의 양 (mg)	Vitamin C %	다른 첨가제 이름	다른 첨가제 양	주석
1-아스코르브산과 아스코르브산 2-글루코시드	2	5	500mg의 1-아스코르브산과 500mg의 아스코르브산 2- 글루코시드	20%	레몬글라스 오일	6.67 uL	겔화 일어나지 않음
1-아스코르브산과 마그네슘 아스코르빌 포스페이트	2	5	25mg의 1-아스코르브산과 25mg의 마그네슘 아스코르빌 포스페이트	1%	레몬글라스 오일	6.67 uL	8일 안에 겔화
아스코르브산 2- 글루코시드와 소듐 아스코르빌 포스페이트	2	5	25mg의 아스코르브산 2- 글루코시드와 25mg의 소듐 아스코르빌 포스페이트	1%	레몬글라스 오일	6.67 uL	13일 안에 겔화
아스코르브산 2- 글루코시드와 마그네슘 아스코르빌 포스페이트	2	5	25mg의 아스코르브산- 2-글루코시드와 25mg의 마그네슘 아스코르빌 포스페이트	1%	레몬글라스 오일	6.67 uL	8일 안에 겔화
1-아스코르브산과 아스코르브산 2-글루코시드	2	5	25mg의 1-아스코르브산과 25mg의 아스코르브산 2- 글루코시드	1%	레몬글라스 오일	6.67 uL	3일 안에 겔화

도면90

필름	비타민C유형	실크% 용액	물드량 용액	모트 면적	비타민 C %	결과	용해도
1	쇼돌 아스코르빌 포스페이트 (DSM)	2.2	1.56 mL	5.06 cm <sup>2</sup>	40	백색/물투명, 플라스틱 느낌, 거진(울통불통) 상부 표면	불용성 테두리와 일부 작은 불용성 조각과 함께, 가용성
2	마그네슘 아스코르빌 포스페이트	2.2	1.56 mL	5.06 cm <sup>2</sup>	40	깨끗한/탁한 플라스틱 느낌, 거진(울통불통) 상부 표면	불용성 테두리와 함께, 가용성
3	아스코르브산-2- 글루코사이드	2.2	1.56 mL	5.06 cm <sup>2</sup>	40	깨끗, 대조보다 유연, 미묘한 상부 표면	불용성 테두리와 일부 작은 불용성 조각과 함께, 가용성
4	L-아스코르브산 (대조)	2.2	1.56 mL	5.06 cm <sup>2</sup>	40	깨끗, 유연, 거진 느낌 없음	불용성 테두리와 함께, 가용성

도면91a

용액안 실크 %	필름 안 VitC(1-아스코르브산)	필름 안 카페인%	결과
2.4	20	20	24-26C에서 19.5hr 건조, 피부에 발랐을 때 물 안에 모서리가 깨지지 않고, 말린, 불용성의 백색 결정
2.4	25	15	24-26C에서 18hr 반건조: 깨끗, 신축성, 유연성, 불용성. 24-26C에서 22hr 반건조: 깨끗, 깨지기 쉬운, 불용성
2.4	25	5	24-29C에서 51hr 건조, 높은 실험실 습도로, 불용성 필름
2.4	25	10	24-29C에서 51hr 건조, 높은 실험실 습도로, 불용성 필름

도면91b

용액안 실크 %	필름 안 VitC(I-아스코르브산)	필름 안 카페인%	결과
2.4	25	0.5	건조 시간 모름, 가용성 필름
2.4	25	0.5	24-30C에서 46시간 건조, 가용성 필름
2.4	25	1	24-30C에서 46시간 건조, 가용성 필름
2.4	25	2.5	24-30C에서 46시간 건조, 가용성 필름



도면92

용액인 실크 %	겔 용적	겔 안 Vit C (L-아스코르브산) 양	겔 안 카페인 양	결과
2	15 mL	100 mg	50 mg	4일 안에 젤화됨, 표준 비타민 C 겔과 동일한 외양

도면93

시료	용액 용적(ml)	실크%	비타민C 유형	첨가제1 이름/양	첨가제2 이름/양	비타민C 양	겔화까지 시간
1	5	2	I-아스코르브산	베르스타틸/75 $\mu$ l	Dermofeel PA-3/5 $\mu$ L	33	7
2	5	2	I-아스코르브산	베르스타틸/75 $\mu$ l	Dermofeel PA-3/5 $\mu$ L	33	7
3	5	2	I-아스코르브산	없음	없음	33	2
4	5	2	아스코르브산 2 클루코사이드	없음	없음	33	5

도면94a

최종용액 용적	실크% (최종용액)	TFF 배취, 실크 %	TFF 배취 용적	RO/Di 물 의 용적	HA %	HA 양 (mg)	첨가제	첨가제 %	첨가제 양 (g)	비타민C 유형	비타민C 양(mg)
5	1	TFF-10- 0055, 3.98%	1.25	3.75	1	0.05	산화아연	10	0.5	소듐 아스코르빌 포스페이트	33
결과 ZnO는 불용성이지만, 점성 HA 용액에 분산될 수 있다. ZnO는 물과 혼합된 후, HA와 혼합되고, 덩어리가 된다. 피부에 바르면 큰 백색 잔류물이 남는다											
5	1	TFF-10- 0055, 3.98%	1.25	3.75	1	0.05	이산화 티타늄	10	0.5	소듐 아스코르빌 포스페이트	33
결과 TiO <sub>2</sub> 는 불용성이지만, 점성 HA 용액에 분산될 수 있다. TiO <sub>2</sub> 는 물과 혼합된 후, HA와 혼합되고, 덩어리가 된다. 피부에 바르면 큰 백색 잔류물이 남는다											
5	1	TFF-10- 0055, 3.98%	1.25	3.75	1	0.05	산화아연	5	0.25	소듐 아스코르빌 포스페이트	33
결과 ZnO는 혼합 후 고르게 분산되었다. 용액의 점성은 낮았고, 몇일 후 ZnO는 바닥에 가라앉았다. 피부에 바르면 최소한의 백색 잔류물이 남는다											
5	1	TFF-10- 0055, 3.98%	1.25	3.75	1	0.05	이산화 티타늄	5	0.25	소듐 아스코르빌 포스페이트	33
결과 ZnO는 혼합 후 고르게 분산되었다. 용액은 높은 점성을 가지고, ZnO는 분산된 상태로 유지된다. 피부에 바르면 최소한의 백색 잔류물이 남는다											

도면94b

외종용액 용적	실크% (외종용액)	TFF 배위, 실크 %	TFF 배위 용적	RO/DI 를 의 용적	HA%	HA 양 (mg)	첨가제	첨가제%	첨가제 양(g)	비타민C 유형	비타민C 양(mg)
5	1	TFF-10- 0055, 3.98%	1.25	3.75	2.5	0.125	산화아연	5	0.25	소듐 아스코르빌 포스페이트	33
결과											
ZnO는 혼합 후 고르게 분산되었다. 용액은 시럽 점성을 가지고, ZnO는 분산된 상태로 유지된다. 최고의 노점과 균일성 피부에 바르면 최소한의 백색 잔류물이 남는다											
5	1	TFF-10- 0055, 3.98%	1.25	3.75	2.5	0.125	이산화 티타늄	5	0.25	소듐 아스코르빌 포스페이트	33
결과											
TiO <sub>2</sub> 는 혼합 후 고르게 분산되었다. 용액은 시럽 점성을 가지고, TiO <sub>2</sub> 는 분산된 상태로 유지된다. 최고의 노점과 균일성 피부에 바르면 최소한의 백색 잔류물이 남는다											
5	1	TFF-10- 0055, 3.98%	1.25	3.75	5	0.25	산화아연	5	0.25	소듐 아스코르빌 포스페이트	33
결과											
ZnO는 혼합 후 고르게 분산되었다. 용액은 높은 점성을 가지고, ZnO는 분산된 상태로 유지된다. 최고의 노점과 균일성, 피부에 바르면 작은 백색 잔류물이 남는다											
5	1	TFF-10- 0055, 3.98%	1.25	3.75	5	0.25	이산화 티타늄	5	0.25	소듐 아스코르빌 포스페이트	33
결과											
TiO <sub>2</sub> 는 혼합 후 고르게 분산되었다. 용액은 높은 점성을 가지고, TiO <sub>2</sub> 는 분산된 상태로 유지된다. 최고의 노점과 균일성, 피부에 바르면 작은 백색 잔류물이 남는다											
5	1	TFF-10- 0055, 3.98%	1.25	3.75	5	0.25	산화아연	2.5	0.125	소듐 아스코르빌 포스페이트	33
결과											
ZnO는 혼합 후 고르게 분산되었다. 용액은 높은 점성을 가지고, ZnO는 분산된 상태로 유지된다. 피부에 바르면 작은 백색 잔류물이 남는다											



도면94c

최종용액 용적	실크% (최종용액)	TFF 배위, 실크 %	TFF 배위 용적	RO/Di 물의 용적	% HA	HA 양 (mg)	첨가제	첨가제 %	첨가제 양(g)	비타민C 유형	비타민C 양 (mg)
100	1	TFF-10-0057, 3.8%	26.3	73.7	2.5	2.5	산화 아연과 이산화 티타늄	ZnO (3.75%), TiO <sub>2</sub> (1.25%)	ZnO (3.75g), TiO <sub>2</sub> (1.25g)	소듐 아스코르빌 포스페이트	666
결과											
ZnO와 TiO <sub>2</sub> 는 혼합 후 고르게 분산되었다. 용액은 시험 점성을 가지고, ZnO 및 TiO <sub>2</sub> 는 분산된 상태로 유지된다. 피부에 바르면 최소한의 백색 잔류물이 남는다. 전기믹서로 혼합되었음.											
100	1	TFF-10-0057, 3.8%	26.3	73.7	2.5	2.5	산화 아연과 이산화 티타늄	ZnO (5.625%), TiO <sub>2</sub> (1.875%)	ZnO (5.625g), TiO <sub>2</sub> (1.875g)	소듐 아스코르빌 포스페이트	666
결과											
ZnO와 TiO <sub>2</sub> 는 혼합 후 고르게 분산되었다. 용액은 시험 점성을 가지고, ZnO 및 TiO <sub>2</sub> 는 분산된 상태로 유지된다. 피부에 바르면 최소한의 백색 잔류물이 남는다. 전기믹서로 혼합되었음.											
110	1	TFF-10-0055, 3.83%	29	81	2.5	2.75	산화 아연과 이산화 티타늄	ZnO (12%), TiO <sub>2</sub> (3%)	ZnO (13.2g), TiO <sub>2</sub> (3.3g)	소듐 아스코르빌 포스페이트	22000
결과											
ZnO와 TiO <sub>2</sub> 는 혼합 후 고르게 분산되었다. 용액은 물의 점성을 가지고, ZnO 및 TiO <sub>2</sub> 는 분산된 상태로 유지된다. 피부에 바르면 최소한의 백색 잔류물이 남는다. 전기믹서로 혼합되었음.											
110	1	TFF-10-0055, 3.83%	29	81	2.5	2.75	산화 아연과 이산화 티타늄	ZnO (15%), TiO <sub>2</sub> (5%)	ZnO (16.5g), TiO <sub>2</sub> (5.5g)	소듐 아스코르빌 포스페이트	22000
결과											
ZnO와 TiO <sub>2</sub> 는 혼합 후 고르게 분산되었다. 용액은 물의 점성을 가지고, ZnO 및 TiO <sub>2</sub> 는 분산된 상태로 유지된다. 피부에 바르면 최소한의 백색 잔류물이 남는다. 전기믹서로 혼합되었음.											

도면95a

비타민C 유형	용적 (ml)	Vit C %	Vit C 양(g)	실크 %	젖산	젖산 응적 (uL)	결과까지 걸리는 일수
I-아스코르브산	5	5	0.25	2	없음	N/A	10
I-아스코르브산	5	5	0.25	3	없음	N/A	7
I-아스코르브산	5	5	0.25	3.8	없음	N/A	5
I-아스코르브산	5	10	0.5	2	없음	N/A	12일까지 결과 안됨
I-아스코르브산	5	10	0.5	3	없음	N/A	12일까지 결과 안됨
I-아스코르브산	5	10	0.5	3.8	없음	N/A	12일까지 결과 안됨
I-아스코르브산	5	15	0.75	2	없음	N/A	12일까지 결과 안됨
I-아스코르브산	5	15	0.75	3	없음	N/A	12일까지 결과 안됨
I-아스코르브산	5	15	0.75	3.8	없음	N/A	12일까지 결과 안됨
I-아스코르브산	5	20	1	2	없음	N/A	12일까지 결과 안됨
I-아스코르브산	5	20	1	3	없음	N/A	12일까지 결과 안됨
I-아스코르브산	5	20	1	3.8	없음	N/A	12일까지 결과 안됨

도면95b

비타민C 유형	용적 (ml)	Vit C %	Vit C 양 (g)	실크 %	젖산	젖산 용적 (uL)	결화까지 걸리는 일수
아스코르브산-2-글루코시드	5	5		2	없음	N/A	4
아스코르브산-2-글루코시드	5	5		3	없음	N/A	4
아스코르브산-2-글루코시드	5	5		3.8	없음	N/A	3
아스코르브산-2-글루코시드	5	10		2	없음	N/A	7
아스코르브산-2-글루코시드	5	10		3	없음	N/A	7
아스코르브산-2-글루코시드	5	10		3.8	없음	N/A	5
아스코르브산-2-글루코시드	5	15		2	없음	N/A	12일까지 결화 안됨
아스코르브산-2-글루코시드	5	15		3	없음	N/A	12일까지 결화 안됨
아스코르브산-2-글루코시드	5	15		3.8	없음	N/A	12
아스코르브산-2-글루코시드	5	20		2	없음	N/A	12일까지 결화 안됨
아스코르브산-2-글루코시드	5	20		3	없음	N/A	12일까지 결화 안됨
아스코르브산-2-글루코시드	5	20		3.8	없음	N/A	12일까지 결화 안됨

도면95c

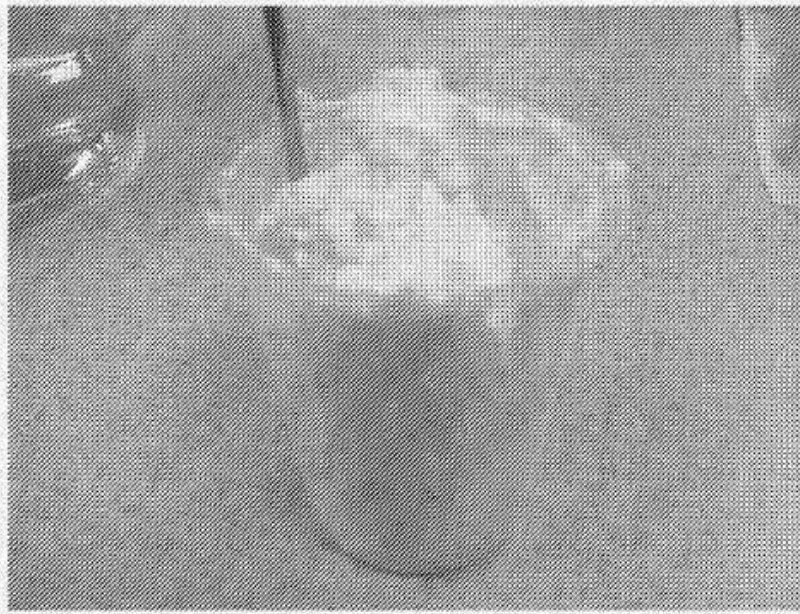
비타민 C 유형	용적 (ml)	Vit C %	Vit C 양(g)	실프 %	젖산	젖산용적 (ul)	결과까지 걸리는일수
L-아스코르브산	5	20		3	yes	5	12일까지 결과 안됨
L-아스코르브산	5	10		3	yes	5	12일까지 결과 안됨
L-아스코르브산	5	20		5.5	no	N/A	12일까지 결과 안됨



도면96

테스트 물질	미생물 유형	탐지 배지	CFU/mL 또는 그림	사용일 (가용하면 월수)
물 시료 #1 (55 겔론 탱크에서)	호기성 세균	트립신 대두 한천	1.00E+01	N/A
	호모 및 공광이	감자 엑스트로스 한천	<10	
	호기성 세균	트립신 대두 한천	5.60E+02	
물 시료 #2 (55 겔론 탱크에서)	호모 및 공광이	감자 엑스트로스 한천	1.25E+02	N/A
	호기성 세균	트립신 대두 한천	<10	
	호모 및 공광이	감자 엑스트로스 한천	<10	
물 시료 #3 (수돗물)	호기성 세균	트립신 대두 한천	1.00E+01	0
	호모 및 공광이	감자 엑스트로스 한천	<10	
	호기성 세균	트립신 대두 한천	<10	
Pure ProC 실크 스무딩 겔+레몬 클라스	호모 및 공광이	감자 엑스트로스 한천	1.00E+01	0
	호기성 세균	트립신 대두 한천	<10	
	호모 및 공광이	감자 엑스트로스 한천	<10	
물 시료 #1 (5 겔론)	호기성 세균	트립신 대두 한천	1.00E+01	N/A
	호모 및 공광이	감자 엑스트로스 한천	<10	
	호기성 세균	트립신 대두 한천	<10	
물 시료 #2 (55 겔론 탱크)	호기성 세균	트립신 대두 한천	2.50E+01	N/A
	호모 및 공광이	감자 엑스트로스 한천	<10	
	호기성 세균	트립신 대두 한천	<10	
물 시료 #1 (카르보이)	호기성 세균	트립신 대두 한천	<10	N/A
	호모 및 공광이	감자 엑스트로스 한천	<10	
	호기성 세균	트립신 대두 한천	<10	
물 시료 #2 (겔론 탱크)	호기성 세균	트립신 대두 한천	<10	26
	호모 및 공광이	감자 엑스트로스 한천	<10	
	호기성 세균	트립신 대두 한천	<10	
Pure ProC 실크 스무딩 겔+레몬 클라스	호기성 세균	트립신 대두 한천	<10	25
	호모 및 공광이	감자 엑스트로스 한천	<10	
	호기성 세균	트립신 대두 한천	<10	

도면97

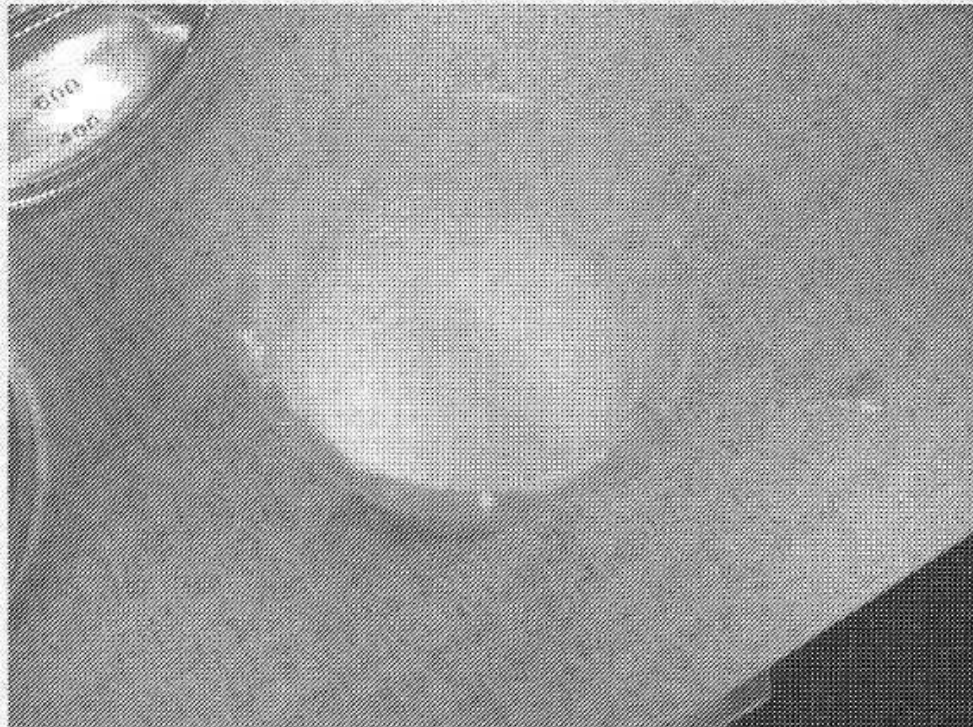


도면98





도면99



도면100

