



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I548417 B

(45)公告日：中華民國 105 (2016) 年 09 月 11 日

(21)申請案號：101139396

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 10 月 25 日

(51)Int. Cl. : *A61K38/39 (2006.01)* *A61K9/00 (2006.01)*
A61P7/04 (2006.01) *A61P17/02 (2006.01)*
A61P41/00 (2006.01) *A61L31/10 (2006.01)*
A61L31/16 (2006.01)

(30)優先權：2011/10/27 美國 61/552,270

(71)申請人：巴克斯特國際公司 (美國) BAXTER INTERNATIONAL INC. (US)

美國

巴克斯特保健公司 (瑞士) BAXTER HEALTHCARE S.A. (CH)

瑞士

(72)發明人：麥可 吉爾 MCCOY, JILL (US)；道亞 約瑟夫 F DWYER, JOSEPH F. (US)；楊
 席平 YANG, ZIPING (US)

(74)代理人：閻啟泰；林景郁

(56)參考文獻：

US 6066325A

US 2009/232877A1

百特醫療產品股份有限公司, https://web.archive.org/web/20101129225559/http://www.baxter.com.tw/patients_and_caregivers/therapies/critical.html, date: 2010/11/29.

審查人員：李家旭

申請專利範圍項數：24 項 圖式數：8 共 47 頁

(54)名稱

止血組成物

HEMOSTATIC COMPOSITIONS

(57)摘要

本發明揭示一種止血組成物，其包含適用於止血之呈微粒形式經交聯明膠，其中該組成物係呈糊劑形式存在，含有 15.0%至 19.5%(w/w)，較佳 16.0%至 19.5%(w/w)、16.5%至 19.5%(w/w)、17.0%至 18.5%(w/w)或 17.5%至 18.5%(w/w)，更佳 16.5%至 19.0%(w/w)或 16.8%至 17.8%(w/w)，尤佳 16.5%至 17.5%(w/w)，且其中該組成物包含擠壓增強劑。

The invention discloses a hemostatic composition comprising crosslinked gelatin in particulate form suitable for use in hemostasis, wherein the composition is present in paste form containing 15.0 to 19.5% (w/w), preferably 16.0 to 19.5% (w/w), 16.5 to 19.5% (w/w), 17.0 to 18.5% (w/w) or 17.5 to 18.5% (w/w), more preferred 16.5 to 19.0% (w/w) or 16.8 to 17.8% (w/w), especially preferred 16.5 to 17.5% (w/w), and wherein the composition comprises an extrusion enhancer.

指定代表圖：

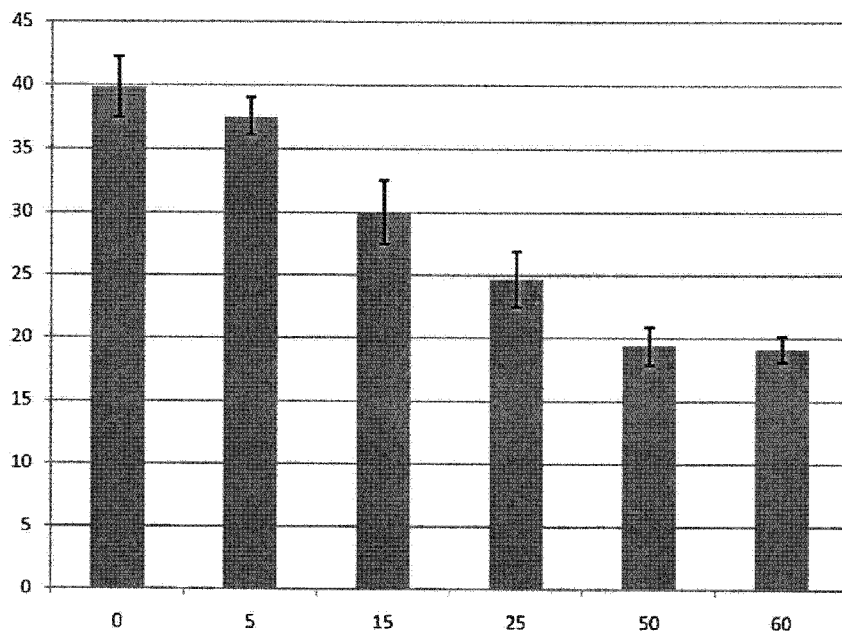


圖 1

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：101139396

※申請日：101.10.25

※IPC 分類：

A61K 38/39 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 7/04 (2006.01)

A61P 17/02 (2006.01)

A61P 41/00 (2006.01)

A61L 31/10 (2006.01)

A61L 31/16 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

止血組成物

Hemostatic compositions

二、中文發明摘要：

本發明揭示一種止血組成物，其包含適用於止血之呈微粒形式經交聯明膠，其中該組成物係呈糊劑形式存在，含有 15.0% 至 19.5% (w/w)，較佳 16.0% 至 19.5% (w/w)、16.5% 至 19.5% (w/w)、17.0% 至 18.5% (w/w) 或 17.5% 至 18.5% (w/w)，更佳 16.5% 至 19.0% (w/w) 或 16.8% 至 17.8% (w/w)，尤佳 16.5% 至 17.5% (w/w)，且其中該組成物包含擠壓增強劑。

三、英文發明摘要：

The invention discloses a hemostatic composition comprising crosslinked gelatin in particulate form suitable for use in hemostasis, wherein the composition is present in paste form containing 15.0 to 19.5% (w/w), preferably 16.0 to 19.5% (w/w), 16.5 to 19.5% (w/w), 17.0 to 18.5% (w/w) or 17.5 to 18.5% (w/w), more preferred 16.5 to 19.0% (w/w) or 16.8 to 17.8% (w/w), especially preferred 16.5 to 17.5%

(w/w), and wherein the composition comprises an extrusion enhancer.

406.9695)

(10.0695)

20.0695)

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：圖 1。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於止血組成物及製造此等組成物之方法。

【先前技術】

例如自 WO98/008550A 或 WO2003/007845A 已知呈乾燥儲存穩定形式之止血組成物，其包含生物相容性生物可降解的乾燥穩定性粒狀物質。此等產品已在此項技術中成功用於止血。FloSeal[®]為高度有效之止血劑的一個實例，其由在含凝血酶之溶液中膨脹形成可流動糊劑之粒狀明膠基質組成。

因為此等產品須施用於人類，所以有必要為最終產品及其組分之品質、儲存穩定性及滅菌提供最高安全標準。另外，應儘可能便利且高效地進行製造及操作。

此領域中之成功產品（上述 FloSeal[®]產品）利用了與復原之凍乾凝血酶溶液結合使用之明膠基質。明膠基質係呈可流動之粒狀形式明膠與凝血酶一起施用，其中明膠含量為約 11%至 14.5%。較低明膠含量產生鬆軟產品，其因難以使產品保持在治療部位（尤其在高血流量情況下）而具有較低效能。較高的明膠粒子濃度由於抗流動性較高，而產生難以藉由常見投藥手段（諸如注射器或導管）傳遞之產品。已建議在該組成物中包括增塑劑，例如聚乙二醇、山梨糖醇、甘油及其類似物（EP0927053B1），且此舉可減小擠壓力，但包括此等物質不一定會改良效能。

本發明之一個目的在於提供一種基於經交聯明膠之止

血組成物，該經交聯明膠之黏著性及止血性相比根據製造此等止血組成物之先前技術及方法製造之明膠產品（諸如 Floseal）有所改良。該等組成物亦應以便利且可用之方式提供，亦即呈可用於內窺鏡手術及顯微手術中之可流動糊劑形式提供。該等產品必須具有 40 N 或 40 N 以下，較佳在 35 N 以下，尤佳在 20 N 以下之擠壓力。該等產品較佳應呈能夠便利地提供「即用型」止血組成物之產品形式提供，其可直接施用於損傷而無需任何耗時之復原步驟。

【發明內容】

因此，本發明提供一種止血組成物，其包含適用於止血之呈微粒形式之經交聯明膠，其中該組成物呈糊劑形式存在，含有 15.0% 至 19.5% (w/w)，較佳 16.0% 至 19.5% (w/w)、16.5% 至 19.5% (w/w)、17.0% 至 18.5% (w/w) 或 17.5% 至 18.5% (w/w)，更佳 16.5% 至 19.0% (w/w) 或 16.8% 至 17.8% (w/w)，尤佳 16.5% 至 17.5% (w/w) 之經交聯明膠，且其中該組成物包含擠壓增強劑 (extrusion enhancer)，尤其是白蛋白。

本發明亦關於此止血組成物之用途，其用於治療選自由傷口、出血、受損組織及/或出血組織組成之群的損傷，其包含投予此止血組成物及製造此止血組成物以便治療此損傷之套組。

【實施方式】

本發明提供一種止血組成物，其包含適用於止血之呈微粒形式之經交聯明膠，其中該組成物呈糊劑形式存在，

含有 15.0%至 19.5% (w/w)，較佳 16.0%至 19.5% (w/w)、16.5%至 19.5% (w/w)、17.0%至 18.5% (w/w) 或 17.5%至 18.5% (w/w)，更佳 16.5%至 19.0% (w/w) 或 16.8%至 17.8% (w/w)，尤佳 16.5%至 17.5% (w/w) 之經交聯明膠 (=乾燥經交聯明膠重量/最終組成物重量)，且其中該組成物包含擠壓增強劑。

在本發明之過程中已意外地發現，提供適量擠壓增強劑 (諸如白蛋白) 能夠使用較高明膠濃度且使用較高明膠濃度將改良此等產品之止血性質。此為先前未提出之作用。此外，令人驚訝的是，較高經交聯明膠濃度產生較佳的黏著性質 (與先前技術中已知之結果 (例如 WO2008/076407A2 之圖 4) 相比)。

為實現由根據本發明之糊劑中之較高明膠濃度所引起之較佳性質，有必要提供適量擠壓增強劑。該等量應足夠高以便獲得擠壓作用，亦即甚至對於 15%至 19.5%之經交聯明膠量亦可實現可流動糊劑，以致止血組成物可應用於例如顯微手術中；另一方面，該等量應低至防止該止血組成物之負面功能性質，例如黏著於傷口或止血效能。舉例而言，若擠壓增強劑為白蛋白 (其尤佳，尤其是人類血清白蛋白)，則其提供量必須在 0.5%至 5.0% (w/w) (=擠壓增強劑重量/最終組成物重量)、較佳在 1.0%至 5.0% (w/w)、較佳在 2.0%至 4.5% (w/w)、更佳在 1.5%至 5.0% (w/w) 之間，尤佳為約 1.5% (w/w)。

另一較佳種類之根據本發明之擠壓增強劑為磷脂，諸

如磷脂醯膽鹼及磷脂醯絲胺酸，或諸如卵磷脂或大豆油之複雜混合物。

在另一較佳具體實例中，本發明提供一種止血組成物，其包含適用於止血之呈微粒形式之經交聯明膠，其中該組成物呈糊劑形式存在，含有 16.0%至 19.5% (w/w)，較佳 16.5%至 19.5% (w/w)、17.0%至 18.5% (w/w) 或 17.5%至 18.5% (w/w)，更佳 16.5%至 19.0% (w/w) 或 16.8%至 17.8% (w/w)，尤佳 16.5%至 17.5% (w/w)，且其中該組成物包含擠壓增強劑。擠壓增強劑較佳為人類血清白蛋白。

在另一較佳具體實例中，本發明提供一種止血組成物，其包含適用於止血之呈微粒形式之經交聯明膠，其中該組成物呈糊劑形式存在，含有 15.0%至 19.5% (w/w)，較佳 16.0%至 19.5% (w/w)、16.5%至 19.5% (w/w)、17.0%至 18.5% (w/w) 或 17.5%至 18.5% (w/w)，更佳 16.5%至 19.0% (w/w) 或 16.8%至 17.8% (w/w)，尤其 16.5%至 17.5% (w/w) 之經交聯明膠，且其中該組成物包含濃度大於 0.8% (w/w)，較佳為約 3.3% (w/w) 之擠壓增強劑。增強劑擠壓較佳為人類血清白蛋白，例如具有上述濃度。

較之使用較低量經交聯明膠 (13%至 14.5%) 之組成物，根據本發明之止血組成物，尤其是使用白蛋白作為擠壓增強劑之止血組成物具有特定優勢，具體言之，其具有增強之活體內功效。在本發明之過程中出乎意料地揭露，在使用全人血之活體外測試方法中與在臨床前動物實驗中，含較高明膠粒子濃度之調配物均產生較高止血效能。根據本

發明之產品能夠縮短手術修復 (surgical approximation) 時間且加快止血時間。

根據本發明之組成物的平均擠壓力 (採用實施例 1 中所述之測試方法) 為 40 N 或 40 N 以下, 較佳在 35 N 以下, 尤佳在 20 N 以下。

根據本發明之較佳具體實例, 止血組成物包含戊二醛交聯型明膠或京尼平 (genipin) (*(1R,2R,6S)*-2-羥基-9-(羥甲基)-3-氧雜雙環[4.3.0]壬-4,8-二烯-5-甲酸甲酯) 交聯型明膠, 較佳為 B 型明膠, 更佳為獸皮來源之 B 型明膠。

經交聯明膠較佳呈粒狀物質存在。

根據本發明之止血組成物較佳包含明膠聚合物, 尤其是 B 型明膠聚合物。因為基底處理在產生具有適當性質之明膠及在減輕病毒及人畜共患性感染之風險方面高度有效, 所以已證明 B 型明膠特別適宜用於止血劑中。一種尤佳之明膠製劑可如下製備: 在室溫下以 2 N NaOH 處理小牛真皮約 1 小時, 中和至 pH 7 至 8 並加熱至 70°C。接著將真皮完全溶解為明膠, 其中溶液中含 3% 至 10% (w/w)、較佳 7% 至 10% (w/w) 之明膠。此溶液可經澆鑄、乾燥及研磨以提供 B 型明膠粉末。

該明膠較佳具有 200 至 400 之布倫強度 (Bloom strength), 具體言之, B 型明膠具有 200 至 400 之布倫強度。布倫為量測明膠強度之測試。該測試測定探針 (直徑通常為 0.5 吋) 將凝膠表面偏轉 4 mm 而不使其破損所需之重量 (公克)。結果以布倫 (級別) 表示。為了對明膠進

行布倫測試，在測試之前在 10℃ 下保持 6.67% 明膠溶液 17 小時至 18 小時。

根據本發明之止血組成物較佳含有呈微粒形式，尤其呈粒狀物質之經交聯明膠。此粒狀物質當暴露於流體（亦即稀釋劑）時可快速膨脹，且呈此膨脹形式能夠有助於可流動糊劑施用於出血部位。根據一個較佳具體實例，該經交聯明膠係由乾燥經交聯明膠提供。此乾燥的經交聯明膠粉末可製備成當與醫藥學上可接受之稀釋劑接觸時快速再水合。如 WO98/08550A 及 WO2003/007845A 中所述，明膠顆粒，尤其呈明膠粉末形式之明膠顆粒較佳包含相對較大的粒子，亦稱作片段或次單元。較佳（中值）粒度將在 10 μm 至 1.000 μm 、較佳在 200 μm 至 800 μm 之範圍內，但在此較佳範圍外之粒度許多情況亦可適用。

明膠粒子之平均粒徑（「平均粒徑（mean particle diameter）」為如藉由雷射繞射測定法量測之中值尺寸；「中值尺寸（median size）」（或質量中值粒徑）為將頻率分佈分成兩半之粒徑；既定製劑之 50% 粒子具有較大直徑，且 50% 粒子具有較小直徑）通常為 10 μm 至 1000 μm ，較佳為 50 μm 至 700 μm 、200 μm 至 700 μm 、300 μm 至 550 μm ，尤佳為 350 μm 至 550 μm （中值尺寸）。儘管有時使用術語粉末及粒狀（或碎粒（granulate））區分個別物質種類，但粉末在本文中定義為粒狀物質之特定子集。具體言之，粉末係指具有較細晶粒尺寸之粒狀物質，且因此其在流動時具有較大之形成塊之傾向。顆粒包括較

粗粒狀物質，該等物質除了在濕潤時外否則不傾向於形成塊。

適用於止血之本發明之微粒形式之經交聯明膠可包括在空間上呈各向同性或非各向同性之形式。舉例而言，根據本發明之套組中的經交聯明膠可為顆粒或纖維；且可呈不連續結構形式存在，例如呈粉末形式存在。

乾燥的明膠組成物具有液體吸收性。舉例而言，在與液體（例如水性溶液或懸浮液，具體言之緩衝液或血液）接觸時，該經交聯明膠吸收液體且將視水化程度而呈現一定程度膨脹。該物質較佳吸收至少 400 重量%，較佳約 500 重量%至約 2000 重量%，尤其約 500 重量%至約 1300 重量%水或水性緩衝液，對應於次單元個別粒子之直徑或寬度在例如約 50%至約 500%，通常在約 50%至約 250%之範圍內之標稱增加。舉例而言，若（乾燥）粒狀粒子之較佳尺寸範圍為 0.01 mm 至 1.5 mm，尤其為 0.05 mm 至 1 mm，則完全水合之組成物（例如在投予傷口上之後或在與緩衝水溶液接觸之後）之尺寸範圍可為 0.05 mm 至 3 mm，尤其為 0.25 mm 至 1.5 mm。

乾燥組成物當暴露於水性再水合介質（=醫藥學上可接受之稀釋劑，亦稱作復原介質）時亦將呈現顯著「平衡膨脹（equilibrium swell）」。視預定用途而定，該膨脹較佳將在 400%至 1300%，較佳在 400%至 1000%，更佳在 500%至 1100%，尤佳在 500%至 900%之範圍內。此平衡膨脹可例如（對於經交聯聚合物）藉由改變交聯程度來控制，交

聯程度又係藉由改變諸如以下之交聯條件來達成：交聯劑之暴露持續時間、交聯劑濃度、交聯溫度及其類似因素。具有不同平衡膨脹值之物質在不同應用中具有不同效能。控制交聯及平衡膨脹之能力允許針對多種應用最佳化本發明之組成物。除平衡膨脹外，在即將傳遞至目標部位之前控制物質之水合作用亦很重要。水合與平衡膨脹當然密切關聯。0%水合之物質將不膨脹。100%水合之物質將處於其平衡水含量。在0%與100%之間的水合將對應於在最小量與最大量之間的膨脹。「平衡膨脹」可藉由用完全水合且因此完全膨脹時明膠水凝膠粉末之重量減去其乾重來測定。接著用該差值除以乾重且乘以100以得到膨脹之量度。乾重應在物質暴露於高溫一段足以移除實質上所有殘留水分之時間（例如在120°C下兩小時）後量測。如下可達成物質之平衡水合：將乾燥物質浸於醫藥學上可接受之稀釋劑（諸如鹽水溶液）中一段足以使水含量變得恆定之時期，典型地在室溫下持續18小時至24小時。

經交聯明膠可呈膜形式提供，其可接著經粉碎形成粒狀物質。粒狀物質中所含大部分粒子（例如大於90% w/w）之粒度較佳為10 μm 至1,000 μm ，較佳為50 μm 至700 μm 、200 μm 至700 μm 、300 μm 至550 μm ，尤佳為350 μm 至550 μm 。

可流動形式之止血組成物較佳含有超過50%（w/w）具有100 μm 至1000 μm 之尺寸，較佳超過80%（w/w）具有100 μm 至1000 μm 之尺寸的粒子。

適用於經交聯之明膠物質的實例尤其描述於 EP1803417B1 之實施例 1 及實施例 2，以及 US6,066,325A 及 US6,063,061A 之實施例 14 中。明膠亦可與處理助劑（諸如作為再水合助劑之 PVP、PEG 及/或聚葡萄糖）一起使用。

在本發明之一個特定態樣中，組成物將包含水分含量為 20% (w/w) 或 20% (w/w) 以下之經交聯明膠粉末，其中該粉末在再水合助劑存在下交聯，以致粉末之水溶液再水合率比在無再水合助劑下製備之類似粉末之再水合率高至少 5%。「再水合率 ((re-hydration rate))」係根據 EP1803417B1 來定義，意謂 1 公克粉末（乾重）在三十秒內所吸收之水溶液（典型地為 0.9% (w/w) 鹽水）之量，以 g/g 表示。再水合率係藉由混合經交聯明膠與鹽水溶液 30 秒並在真空下將濕明膠沈積於濾膜上以移除自由水溶液來量測。接著記錄截留於過濾器上之濕明膠之重量，將其乾燥（例如在 120°C 下 2 小時），接著記錄明膠乾重且計算每公克乾燥明膠所吸收之溶液的重量。

較佳本發明之組成物的再水合率將為至少 3 g/g，較佳為至少 3.5 g/g 且經常為 3.75 g/g 或 3.75 g/g 以上。在無再水合助劑下製備之類似粉末之再水合率典型地低於 3，且再水合率之增加百分比將通常為至少 5%，較佳為為至少 10%，且更佳為至少 25% 或 25% 以上。

交聯可用任何適合之交聯劑，例如戊二醛（諸如 WO98/08550A 及 WO2003/007845A 中所述）來進行。交聯亦可用無毒交聯劑（諸如京尼平及其類似物）來進行。

因為試劑、能量及時間成本較低，所以根據本發明之京尼平交聯型明膠產品的製造成本要低於戊二醛交聯型明膠產品。京尼平交聯型明膠反應可在中性 pH 值之水中在室溫下進行 <16 小時。該產品可乙醇及/或水洗滌來清潔，如此不僅比較便宜，而且更重要的是，對操作者比較安全。

該方法較佳應用在交聯步驟之前呈乾燥形式存在之明膠。

根據本發明之較佳京尼平型交聯劑當然為京尼平（(1*R*,2*R*,6*S*)-2-羥基-9-(羥甲基)-3-氧雜雙環[4.3.0]壬-4,8-二烯-5-甲酸甲酯）；然而，亦可使用環烯醚萜型或裂環烯醚萜型之其他交聯劑，諸如橄欖苦苷（oleuropein）。用於交聯之京尼平的較佳濃度係在 0.5 mM 至 20 mM，較佳在 1 mM 至 15 mM，尤其在 2 mM 至 10 mM 之範圍內。

根據本發明之一個較佳具體實例，京尼平交聯型明膠用諸如漂白劑、tBu-氫過氧化物等氧化劑進行淬滅/氧化步驟，較佳用過碳酸鈉、次氯酸鈉、氯水或過氧化氫（H₂O₂）進行處理，尤佳用過碳酸鈉或 H₂O₂ 進行處理，最佳用過碳酸鹽進行處理。

較佳 H₂O₂ 濃度為 0.5% 至 20%（w/w），尤其為 1% 至 15%（w/w），更佳為約 5%（w/w）。在一個尤佳具體實例中，京尼平濃度係在 5 mM 至 10 mM 之間，明膠與京尼平之反應時間係在 3 小時至 10 小時之間，具體言之為 6 小時，H₂O₂ 濃度係在 3% 至 5%（w/w）之間且京尼平交聯型明膠與 H₂O₂ 之反應時間為約 20 小時。

較佳過碳酸鹽濃度係在 1% 至 10% (w/w)、尤其在 1% 至 5% (w/w)、更佳在 1% 至 4% (w/w) 之間。在一個尤佳具體實例中，京尼平濃度係在 5 mM 至 10 mM 之間（具體言之為約 8 mM），明膠與京尼平之反應時間係在 3 小時至 10 小時之間（具體言之為約 5 小時），過碳酸鹽濃度係在 1% 至 10% (w/w) 之間，尤佳在 1% w/w 至 4% (w/w) 之間，且京尼平交聯型明膠與過碳酸鹽之反應時間係在 1 小時至 20 小時之間，較佳在 1 小時至 5 小時之間（例如 1 小時、2 小時或 3 小時）。

淬滅亦可在抗氧化劑（諸如抗壞血酸鈉）存在下進行，或藉由控制反應環境之氧化電位，諸如在諸如氮氣或氬氣之惰性氛圍中進行淬滅及/或京尼平反應來進行。

較佳交聯反應條件包括在水溶液中進行，較佳在磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）/乙醇緩衝液中進行，尤其在 4 至 12，較佳在 5.0 至 10.0，尤其 6 至 8 之 pH 值下進行，或在去離子水或可含有介於 0% 至 50% 之間之水混溶性有機溶劑之其他水性緩衝液中進行。PBS 緩衝液在生理學 pH 值之磷酸鹽緩衝液中含有生理量之 NaCl 及 KCl。PBS 緩衝液之一個實例含有 137 mM NaCl、2.7 mM KCl、10 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、1.76 mM KH_2PO_4 (pH = 7.4)。PBS 緩衝液之另一實例由以下組成：137 mM NaCl、2.7 mM KCl、4.3 mM Na_2HPO_4 及 1.4 mM KH_2PO_4 (pH = 7.5)。

該反應亦可在含有至多 50% 水混溶性有機溶劑及/或處理助劑（諸如 PEG、PVP、甘露糖醇、過碳酸鈉、乳酸鈉、

檸檬酸鈉、抗壞血酸鈉等)之水性緩衝液中進行。

交聯步驟較佳在 4°C 至 45°C、較佳在 15 至 45°C、尤其 20°C 至 40°C 之溫度下進行。

交聯步驟之後可為淬滅步驟，尤其用含有胺基之淬滅劑，較佳用胺基酸，尤其甘胺酸進行之淬滅步驟。在用淬滅劑之情況下，尚未反應之京尼平型交聯劑經失活（例如藉由與過量淬滅劑反應）以防止進一步交聯。淬滅亦可藉由將溶液 pH 值升高至介於 8 至 14 之間，或藉由使用含有胺基、硫醇基或羥基之親核性化合物以及升高 pH 值與使用親核性化合物之組合來進行。在根據本發明之京尼平-明膠交聯反應之後之淬滅步驟可積極地針對賦予所需物理效能，諸如膨脹及 TEG，其為高於單獨之一般京尼平交聯之止血活性的重要決定因素。

經交聯明膠較佳在交聯步驟後進行洗滌，較佳藉由甲醇、乙醇或水，尤其藉由去離子水進行洗滌。另一較佳的洗滌步驟應用含有至多 50% (v/v) 水混溶性有機溶劑及/或一或多種處理助劑之水性緩衝液。

根據一個較佳具體實例，經交聯明膠經乾燥。在此乾燥狀態下，止血組成物甚至在高溫（例如超過 20°C、超過 30°C 或甚至超過 40°C）下亦可長期穩定儲存。較佳乾燥條件包括經交聯之生物相容性聚合物經乾燥至具有低於 15% (w/w)、較佳低於 10%、更佳低於 5%、尤其低於 1% 之水分含量。在另一較佳具體實例中，該產品可以水合狀態或濕潤狀態提供，其中水合溶液可為生物相容性緩衝液或溶

液。

Glu-Gel 產品因其中雜有微黃色摻合物而具有被周圍組織掩蔽之傾向。此使得所需應用之目測評估成問題。依據交聯程度、反應條件以及後續處理及最終加工步驟，根據本發明之京尼平交聯型明膠產品顯現自淺黃色至深藍色或綠色之可變顏色。因為此顏色將其與周圍組織區分開，而非可能被周圍組織掩蔽，所以成品顏色之此顏色可調性及獲得所需顏色之能力具有一個附加優勢，即向醫師提供在傷口部位中適當產品施用之視覺指示。此為本發明之另一新穎特徵。另一方面，視對於最終產品之需要而定，可移除顏色以獲得無色產品。

在一個較佳具體實例中，與京尼平型交聯劑（例如京尼平）交聯之生物相容性聚合物（例如明膠）為均質（均一）交聯之聚合物，如可例如藉由如本申請案之實施例 3 中所述之螢光量測來顯示。I 在一個尤佳具體實例中，生物相容性聚合物（諸如明膠）係呈均質京尼平交聯型微粒形式生物相容性聚合物（諸如明膠）形式存在。

根據本發明之止血組成物中較佳存在賦形劑，諸如潤滑劑，例如玻尿酸。

在本發明之另一具體實例中，不包括賦形劑，諸如潤滑劑，例如玻尿酸。

醫藥學上可接受之稀釋劑較佳為水溶液且可含有選自由 NaCl、CaCl₂ 及乙酸鈉組成之群的物質。

舉例而言，醫藥學上可接受之稀釋劑包含注射用水，

5

且彼此獨立地為 50 mM 至 200 mM NaCl(較佳為 150 mM)、10 mM 至 80 mM CaCl_2 (較佳為 40 mM) 及 1 mM 至 50 mM 乙酸鈉 (較佳為 20 mM)。在另一具體實例中，醫藥學上可接受之稀釋劑含有小於 35 g/l、較佳小於 25 g/l、更佳小於 10 g/l 之甘露糖醇，醫藥學上可接受之稀釋劑尤佳基本上不含甘露糖醇。

根據一個較佳具體實例，醫藥學上可接受之稀釋劑包含凝血酶，較佳為 10 I.U.至 1000 I.U.凝血酶/毫升，尤其為 250 I.U.至 700 I.U.凝血酶/毫升。此即用形式之止血組成物較佳含有 10 I.U.(國際單位)至 100,000 I.U.、更佳含有 100 I.U.至 10,000 I.U.、尤其含有 500 I.U.至 5,000 I.U.凝血酶。凝血酶 (或任何其他凝結誘導劑 (coagulation inducing agent)，諸如蛇毒、血小板活化劑、凝血酶受體活化肽及纖維蛋白原沈澱劑) 可源自適用於人類 (亦即醫藥學上可接受) 之任何凝血酶製劑。凝血酶之適合來源包括人血及牛血、血漿或血清 (若預期無不良免疫反應，則可應用其他動物來源之凝血酶)、重組來源之凝血酶 (例如人類重組型凝血酶)，且自體性人類凝血酶對於一些應用可為較佳的。

醫藥學上可接受之稀釋劑之用量應在即用型組成物中達成所需最終濃度。凝血酶製劑可含有其他有用組分，諸如離子、緩衝劑、賦形劑、穩定劑等。凝血酶製劑較佳含有人類白蛋白作為擠壓增強劑。較佳鹽為 NaCl 及/或 CaCl_2 ，兩者均以適用於凝血酶之常用量及濃度使用 (例如

0.5%至 1.5% NaCl(例如 0.9%)及/或 20 mM 至 80 mM CaCl_2 (例如 40 mM)) 。

在另一具體實例中，稀釋劑亦可包括緩衝液或緩衝系統以便緩衝復原之乾燥組成物的 pH 值，該緩衝液或緩衝系統之 pH 值較佳為 3.0 至 10.0，更佳為 6.4 至 7.5，尤其為 6.9 至 7.1。

經交聯明膠、稀釋劑及擠壓增強劑之適當量的確定可根據上述先決條件在套組中進行：例如可提供 a)含 0.736 g 至 0,995 g 乾燥經交聯明膠（對應於最終產品中之 15.0%至 19.5% (w/w)）之小瓶，及 b)含 4 ml 稀釋劑與 60 mg 至 240 mg 白蛋白及視情況選用之濃度為 500 I.U./ml 之凝血酶及/或 40 mM CaCl_2 的第二小瓶。或者，白蛋白可呈凍乾形式添加至套組之乾燥明膠組分 a)中。舉例而言，可提供 a)含 0.573 g 至 0.775 g 乾燥經交聯明膠（對應於最終產品中之 15.0%至 19.5% (w/w)）、48 mg 至 192 mg 白蛋白之小瓶，及 b)含 3.2 ml 稀釋劑及視情況選用之濃度為 500 I.U./ml 之凝血酶及/或 40 mM CaCl_2 的第二小瓶。

根據本發明之套組的經交聯明膠組分較佳以乾燥組成物形式提供，其中該經交聯明膠係呈乾燥形式存在。

根據本發明之實質上乾燥之經交聯明膠組成物的殘留水分含量可近似地對應於相當的可用產品（諸如 Floseal[®]，Floseal 之乾燥產品形式例如具有約 8%至 12%水分）之水分含量。

根據本發明之套組中的適用於止血之微粒形式之乾燥

經交聯明膠較佳為粉末形式之明膠，具體言之其中粉末粒子之中值粒度為 $10\ \mu\text{m}$ 至 $1000\ \mu\text{m}$ ，較佳為 $50\ \mu\text{m}$ 至 $700\ \mu\text{m}$ 、 $200\ \mu\text{m}$ 至 $700\ \mu\text{m}$ 、 $300\ \mu\text{m}$ 至 $550\ \mu\text{m}$ ，尤佳為 $350\ \mu\text{m}$ 至 $550\ \mu\text{m}$ 。根據本發明之「經交聯明膠之乾燥粒狀製劑」通常為已知的，例如自 WO98/08550A 已知。經交聯明膠較佳為生物相容性生物可降解的乾燥穩定性粒狀物質。

根據另一態樣，本發明係關於一種用於治療選自由傷口、出血、受損組織、出血組織及/或骨缺損組成之群之損傷的根據本發明之止血組成物。

本發明之另一態樣為一種治療選自由傷口、出血、受損組織及/或出血組織組成之群之損傷的方法，其包含向損傷部位投予根據本發明之止血組成物。

根據另一態樣，本發明亦提供一種用於將根據本發明之止血組成物傳遞至患者身體之目標部位的方法，該方法包含將藉由根據本發明之方法製得的止血組成物傳遞至目標部位。儘管乾燥組成物亦可直接施用於目標部位（且必要時，視情況在目標部位與稀釋劑接觸），但較佳使乾燥止血組成物在投予目標部位之前與醫藥學上可接受之稀釋劑接觸，以便獲得糊劑形式之根據本發明之止血組成物。

在此方法中，可應用供製造經交聯明膠之可流動糊劑以治療選自由傷口、出血、受損組織及/或出血組織組成之群之損傷的套組，此套組包含

a) 乾燥止血組成物，其包含待復原成可流動糊劑之微粒

形式之經交聯明膠，該可流動糊劑含有 15.0% 至 19.5% (w/w) 經交聯明膠 (=乾燥明膠重量/最終組成物重量)，較佳 16.0% 至 19.5% (w/w)、16.5% 至 19.5% (w/w)、17.0% 至 18.5% (w/w) 或 17.5% 至 18.5% (w/w)，更佳 16.5% 至 19.0% (w/w) 或 16.8% 至 17.8% (w/w)，尤佳 16.5% 至 17.5% (w/w) 經交聯明膠及

b) 用於復原止血組成物之醫藥學上可接受之稀釋劑，

其中該組成物或該稀釋劑包含適量擠壓增強劑，具體言之為白蛋白，例如 (對於白蛋白) 其量使得復原糊劑中之白蛋白濃度在 0.5% 至 5.0% (w/w) (=擠壓增強劑重量/最終組成物重量)、較佳在 1.0% 至 5.0% (w/w)、較佳在 2.0% 至 4.5% (w/w)、更佳在 1.5% 至 5.0% (w/w) 之間，尤佳為約 1.5% (w/w)。

此套組之較佳另一組分為 (尤其是當含有乾燥形式之止血組成物時) 用於復原止血組成物之稀釋劑 (=再水合介質)。該套組之其他組分可為投藥構件，諸如注射器、導管、刷子等 (若組成物未曾提供於投藥構件中)，或用於醫學 (手術) 實踐所必需之其他組分，諸如代用針或導管、額外小瓶或其他傷口覆蓋構件。根據本發明之套組較佳包含容納乾燥且穩定之止血組成物的注射器，及含有稀釋劑之注射器 (或提供用於自另一稀釋劑容器吸取稀釋劑)。

在一個較佳具體實例中，醫藥學上可接受之稀釋劑係提供於單獨容器中。此可較佳為注射器。注射器中之稀釋劑接著可輕易地施加於最終容器中以便復原根據本發明之

乾燥止血組成物。若最終容器亦為注射器，則兩個注射器可一起裝在一個包裝中作為成品。因此，較佳將根據本發明之乾燥止血組成物提供於一個注射器中，將該注射器與含有用於復原該乾燥且穩定之止血組成物的醫藥學上可接受之稀釋劑的稀釋劑注射器一起作為成品。

根據一個較佳具體實例，最終容器進一步含有當暴露於滅菌輻射時有效抑制聚合物改質之量的穩定劑，較佳為抗壞血酸、抗壞血酸鈉、抗壞血酸之其他鹽，或抗氧化劑。

用此醫藥學上可接受之稀釋劑，可提供即用形式之本發明止血組成物，其可接著直接施用於患者。因此，亦提供一種用於提供即用形式之根據本發明之止血組成物的方法，其中在第一注射器中提供止血組成物且在第二注射器中提供復原用稀釋劑，將第一注射器與第二注射器彼此連接，且將流體引入第一注射器以產生可流動形式之止血組成物；且視情況使可流動形式之止血組成物返回至第二注射器至少一次。即用型製劑較佳呈水凝膠形式存在或提供。在此項技術中通常已知此類產品，但呈不同形式。因此，本發明之一個較佳具體實例為用於提供即用形式之根據本發明之止血組成物的方法，其中在第一注射器中提供止血組成物且在第二注射器中提供復原用稀釋劑，將第一注射器與第二注射器彼此連接，且將稀釋劑引入第一注射器以產生可流動形式之止血組成物；且視情況使可流動形式之止血組成物返回至第二注射器至少一次。此方法（亦稱作「噴湧（swooshing）」）提供適合的即用形式之根據

本發明組成物，其可在短時間內輕易且高效地進行，例如在手術期間在緊急情況下進行。由此方法提供的此可流動形式之該止血組成物尤其適用於治療選自由傷口、出血、受損組織、出血組織及/或骨缺損組成之群的損傷。

出於穩定性原因，此等產品（以及根據本發明之產品）通常呈乾燥形式提供於最終容器中且在臨用前轉變為即用形式（其通常呈（水）凝膠、懸浮液或溶液形式），由此需要添加醫藥學上可接受之稀釋劑（=再水合介質）。

根據另一態樣，本發明係關於一種用於提供即用形式之根據本發明之止血組成物的方法，其中在第一注射器中提供止血組成物且在第二注射器中提供復原用稀釋劑，將第一注射器與第二注射器彼此連接，且將流體引入第一注射器以產生可流動形式之止血組成物；且視情況使可流動形式之止血組成物返回至第二注射器至少一次。

根據本發明之可流動形式之止血組成物較佳含有超過 50% (w/w) 具有 100 μm 至 1000 μm 尺寸之粒子，較佳超過 80% (w/w) 具有 100 μm 至 1000 μm 尺寸之粒子。

根據本發明之生物相容性止血經交聯聚合物一旦施用於傷口即形成高效基質，其可形成血流之屏障。具體言之，該止血聚合物之膨脹性質可使其成為針對出血及再出血過程之有效機械屏障。

本發明之組成物可另外含有親水性聚合物組分（亦稱作「反應性親水性組分」或「親水性（聚合物）交聯劑」），其進一步增強本發明組成物的黏著性質。根據本發明之止

血劑組成物之此親水性聚合物組分充當親水性交聯劑，一旦該止血劑組成物施用於患者（例如施用於患者之傷口或患者需要止血活性之另一位置），其即能夠與該親水性聚合物組分之反應性基團反應。因此，對於本發明而言重要的是，親水性聚合物組分之反應性基團當施用於患者時具有反應性。因此必需製造根據本發明之止血劑組成物以使得應在止血組成物施用於傷口後立即反應的聚合物組分之反應性基團在製造製程期間得以保留。

對於反應性基團可水解之親水性聚合物交聯劑，必須防止在投予患者止血劑組成物之前，尤其在製造期間過早與水或水性液體接觸。然而，在製造期間對於親水性聚合物組分之處理亦可能在水性介質中在反應性基團之反應受抑制之條件下（例如在低 pH 值下）進行。若親水性聚合物組分可熔融，則可將熔融之親水性聚合物組分噴灑或印刷於經交聯明膠之基質上。亦可能將乾燥形式（例如粉末）親水性聚合物組分與乾燥形式之經交聯明膠混合。必要時，接著可提高溫度以使噴撒於經交聯明膠之親水性聚合物組分熔融，從而達成止血組成物之持久性塗佈。或者，可將此等親水性聚合物組分溶解於惰性有機溶劑（相對於親水性聚合物組分之反應性基團為惰性的）中且置於經交聯明膠之基質上。此等有機溶劑之實例為無水乙醇、無水丙酮或無水二氯甲烷（其對於諸如 NHS 酯取代之 PEG 之親水性聚合物組分而言為例如惰性的）。或者，亦可添加親核基團（例如 PEG-SH）。

在一個較佳具體實例中，親水性聚合物組分為單一親水性聚合物組分且為聚氧化烯聚合物，較佳為包含 PEG 之聚合物。此反應性聚合物之反應性基團較佳為親電子基團。

反應性親水性組分可為多親電子性聚氧化烯聚合物，例如多親電子性 PEG。反應性親水性組分可包括兩個或兩個以上親電子基團，較佳為包含兩個或兩個以上選自以下之反應性基團之 PEG：丁二醯亞胺基酯（ $-\text{CON}(\text{COCH}_2)_2$ ）、醛（ $-\text{CHO}$ ）及異氰酸酯（ $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$ ），例如 WO2008/016983 A（以全文引用的方式併入本文中）中揭示之組分。

根據本發明之親水性聚合物交聯劑的較佳親電子基團為對蛋白質之胺基、羧基、硫醇基及羥基具有反應性之基團，或其混合物。

較佳胺基特異性反應性基團為在碳化二亞胺、異氰酸酯或 THPP（ β -[參(羥甲基)膦基]丙酸)存在下之 NHS-酯基、醯亞胺基酯基、醛基、羧基，尤佳為季戊四醇聚(乙二醇)醚戊二酸四丁二醯亞胺基酯（=季戊四醇肆[1-1'-側氧基-5'-丁二醯亞胺基戊酸酯-2-聚側氧基乙二醇]醚（=具有 MW 10,000 之 NHS-PEG））。

較佳羧基特異性反應性基團為在碳化二亞胺存在下之胺基。

較佳硫醇基特異性反應性基團為順丁烯二醯亞胺或鹵基乙醯基。

較佳羥基特異性反應性基團為異氰酸酯基。

親水性交聯劑上之反應性基團可相同（同官能性）或

不同（異官能性）。親水性聚合物組分可具有兩個（同雙官能性或異雙官能性）或兩個以上（同/異-三官能性或三官能性以上）反應性基團。

在特定具體實例中，該物質為合成聚合物，較佳包含 PEG。該聚合物可為包含適於交聯及黏著於組織之反應性側基之 PEG 的衍生物。

利用該等反應性基團，親水性反應性聚合物能夠交聯血蛋白以及組織表面蛋白質。亦有可能與經交聯明膠交聯。

多親電子性聚氧化烯可包括兩個或兩個以上丁二醯亞胺基。多親電子性聚氧化烯可包括兩個或兩個以上順丁烯二醯亞胺基。

多親電子性聚氧化烯較佳為聚乙二醇或其衍生物。

在一個最佳具體實例中，親水性聚合物組分為季戊四醇聚(乙二醇)醚戊二酸四丁二醯亞胺基酯(=COH102，亦為季戊四醇肆[1-1'-側氧基-5'-丁二醯亞胺基戊酸酯-2-聚側氧基乙二醇]醚)。

該親水性聚合物組分為一種親水性交聯劑。根據一個較佳具體實例，此交聯劑具有兩個以上用於交聯之反應性基團（「臂（arm）」），例如三、四、五、六、七、八個或八個以上具有用於交聯之反應性基團之臂。舉例而言，NHS-PEG-NHS 為根據本發明之有效親水性交聯劑。然而，對於一些具體實例，4 臂聚合物（例如 4 臂-p-NP-PEG）可為更佳的；基於相同基本原理，8 臂聚合物（例如 8 臂-NHS-PEG）對於多反應性交聯為有利之具體實例而言可甚

至為最佳的。此外，親水性交聯劑為一種聚合物，亦即由典型地藉由共價化學鍵連接之重複結構單元構成之大分子（巨分子）。親水性聚合物組分應具有至少 1000 Da 之分子量（以適當地用作根據本發明之止血組成物中的交聯劑）；根據本發明之經交聯聚合物較佳具有至少 5000 Da，尤其至少 8000 Da 之分子量。

對於一些親水性交聯劑，存在鹼性反應條件（例如在投藥部位）對於功能效能（例如對於在投藥部位較快地進行交聯反應）為較佳或必需的。舉例而言，碳酸根或碳酸氫根離子（例如當緩衝液 pH 值為 7.6 或 7.6 以上，較佳為 8.0 或 8.0 以上，尤其為 8.3 及 8.3 以上時）可另外提供於投藥部位（例如呈緩衝溶液形式或以此緩衝液浸泡之織物或襯墊之形式），以使根據本發明之止血組成物的效能得到改良或使其高效用作止血及/或傷口黏著材料。

根據本發明之組成物中的親水性聚合物組分（如所提及的，其充當交聯劑）之反應性保留於組成物中。此意謂交聯劑之反應性基團尚未與止血劑組成物反應且未被水水解（或至少未以顯著量發生，而以顯著量發生會對本發明組成物之止血功能具有負面影響）。此可藉由以不引起交聯劑之反應性基團與止血聚合物或與水反應之方式組合經交聯明膠與親水性交聯劑來達成。此通常包括省去水性條件（或潤濕），尤其在不存在酸性條件情況下下進行之潤濕（若在酸性條件下交聯劑無反應性）。此允許提供活性止血材料。

根據本發明之止血組成物中經交聯明膠與親水性聚合物組分之較佳比率為 0.1% 至 50% (w/w)，較佳為 5% 至 40% (w/w)。

根據本發明之止血組成物中可存在其他組分。根據較佳具體實例，根據本發明之止血組成物可進一步包含選自由以下組成之群的物質：抗纖維蛋白溶解劑、促凝血劑、血小板活化劑、抗生素、血管收縮劑、染料、生長因子、骨形態生成蛋白及止痛藥。

本發明亦關於一種含有根據本發明之止血組成物的成品最終容器。此成品容器含有呈無菌、儲存穩定且可銷售形式的根據本發明之止血組成物。最終容器可為適於容納（及儲存）醫藥學上可投予之化合物的任何容器。可使用注射器、小瓶、管等；然而，尤佳在注射器中提供根據本發明之止血組成物。亦因為注射器在醫學實踐中具有操作優勢，所以如先前技術中所揭示，注射器已成為投予止血組成物之較佳手段。該等組成物接著可較佳經由注射器之特定針或經由適合導管來施用（在復原後）。復原之止血組成物（其較佳經復原形成水凝膠）亦可藉由各種其他手段施用，例如藉由刮勺、刷子、噴霧劑施用，藉由壓力手動地施用，或藉由任何其他習知技術施用。藉由內窺鏡（內視鏡）手段向患者投予復原之止血組成物尤佳。復原之根據本發明之止血組成物通常將使用注射器或能夠擠壓復原組成物穿過孔口（orifice）、小孔（aperture）、針、管或其他通道以形成珠粒、層或類似材料部分的類似施料器來

施用。可藉由擠壓穿過注射器或其他施料器中之孔口（典型地具有在 0.01 mm 至 5.0 mm，較佳在 0.5 mm 至 2.5 mm 之範圍內之尺寸）來機械破壞組成物。然而，止血組成物較佳將最初自具有所需粒度之乾燥形式製備（其在復原時，尤其是藉由水合復原時得到必要尺寸之次單元（例如水凝膠次單元））或將在最終擠壓或其他施用步驟之前以機械方式部分或完全地機械破壞至必要尺寸。當然顯而易知的是，此等機械組件必須呈無菌形式（內部及外部）提供以滿足人類使用之安全性要求。

根據本發明之止血組成物較佳用 40 N 或 40 N 以下，諸如低於 30 N 或低於 20 N，較佳在 15 N 至 30 N 範圍內之擠壓力自如實施例 1 中所述之容器呈其糊狀形式施用於患者。

本發明之另一態樣係關於一種用於提供即用型止血組成物之方法，其包含接觸根據本發明之止血組成物。

以下實施例及圖式中將進一步描述本發明，然而本發明不限於此。

實施例

實施例 1：測定擠壓力（EF）：

使用以 250 mm/min 之橫桁速度（cross-beam speed）操作的配備有 100 N 測力計之 Instron 型 5544 機械測試器量測自注射器擠出產品所需之擠壓力。在完全橫桁移位（偏轉 34 mm）期間量測必需的擠壓力，該位移對應於為了自注射器擠出幾乎全部產品，注射器活塞所移動之距離。自此等力如下計算平均擠壓力：

總能量 (mJ) = 平均力 (N)

最大偏轉 (mm)

如下製備用於此測試之樣本：用 0.704 g 乾質量之固體樣本（約 0.8 g，考慮約 12% 之殘餘水分）填充配有公型魯爾鎖（male luer lock）系統（連接配接器之內部噴嘴內腔直徑量測值為 2.54 mm）之 5 ml 標準注射器（具有內徑為 12.2 mm 之圓柱形主體）。使用在 40 mM 氯化鈣及 0、5 mg/ml、15 mg/ml、25 mg/ml、50 mg/ml 或 75 mg/ml 人類血清白蛋白中含有 500 IU/mL 凝血酶之 3.2 ml 凝血酶溶液作為稀釋劑。藉由將容納稀釋劑之注射器（配有母型（female）魯爾鎖系統之標準 5 ml 注射器）與容納乾燥組分之注射器連接，並來回推動內容物至少 10 次（此混合技術稱作「噴湧」）來混合稀釋劑與固體組分。此後，在量測之前在室溫下培育樣本 30 分鐘。在培育之後，將各樣本「再噴湧」兩次且將容納產品之注射器（如以上提及之先前容納乾燥組分之注射器）連接至可伸展施料器（母型魯爾連接器系統，內管直徑為 2.29 mm，容納兩根線且總長度為 141.5 mm）。將注射器組裝於施料器且置於 Instron 裝置中且開始測試。

注射器及施料器係作為 Floseal 止血基質產品之部件自 Baxter 公司購得。

如在 Floseal 中之戊二醛交聯型明膠之結果描繪於圖 1 中，且如下述之京尼平交聯型明膠之結果描繪於圖 3 中且亦相應展示於表 1 及表 2 中。

圖 2 中展示取決於白蛋白濃度，含有 17.5% (w/w) 經交聯明膠之經交聯明膠糊劑之稠度（在凝血酶組分中具有 0、25 g/l、50 g/l 及 75 g/l 人類血清白蛋白）。

表 1：

凝血酶組分中之 c (白蛋白) [g/l]	擠壓力[N]	標準差
0	40	2,4
5	38	1,5
15	30	2,6
25	25	2,2
50	19	1,5
60	19	1,0

表 2：

凝血酶組分中之 c (白蛋白) g/l	擠壓力[N]	標準差
0	54	1.9
15	29	3.6
50	17	2.2

製備京尼平交聯型明膠：

經由鹼處理來處理源自牛之膠原蛋白，隨後以去離子製程水 (deionized process water, DIW) 沖洗以移除殘留鹽。藉由熱處理來提取明膠且以薄片乾燥。將薄片研磨成粉末，使用京尼平作為交聯劑處理該等粉末。

將 1 kg 明膠顆粒添加至 20 l 之 10 mM 京尼平之 DIW 溶液中。在夾套溫控槽中在 23°C 下在中性 pH (7.2) 下進行反應。混合 6 小時且排出溶液，固體截留於篩網內，且用 DIW 沖洗來洗掉殘留京尼平。將該物質再懸浮於 5% H₂O₂ 溶液中，保持 20 小時。用 DIW 沖洗該物質以移除 H₂O₂。5

在真空下在濾紙上預乾燥固體，接著烘箱乾燥 2.5 日。將乾燥基質研磨成粉末且填入個別塑膠注射器中，隨後曝露於 γ 輻射。

實施例 2：測定止血效率

材料及方法：

動物模型

對於此模型，進行中線剖腹術，接著進行電灼法以使手術切口停止出血。暴露出肝且分離肝葉。使用 10 mm 直徑穿刺活組織檢查產生一系列 2 個不完全厚度之損害，約 5 mm 深，且核心組織已移除。對該損害進行預處理評估，其包括用預稱重之紗布收集自各損害流出之血液，持續 10 秒。

將測試物品隨機化且提供給對樣本處理不知情之外科醫師。將約 1.0 ml 指定測試物品局部施用於損害。使用鹽水潤濕之紗布來幫助測試物品接近其指定損害，且計時器開始計時。30 秒之後移除鹽水潤濕之接近紗布。

按照圖 3 中所描繪，評估在將測試物品施用於其指定損害後 30 秒、60 秒、90 秒、120 秒、300 秒及 600 秒時之出血程度（出血評分：0：不出血（產品中充滿血液）；1：滲出（血液滲出產品，但無血液滴出）；2：極輕微（血液滴於產品上）；3：輕度（血滴流下）；4：中度（少量血液流下）；5：嚴重（大量血液流下））。

產品中充滿血液，但無活動性出血計為「0」（零）。在評估 300 秒之後使用鹽水自損害灌洗去除過量測試物品沖洗遠離病。重複該程序且在多個肝葉中進行。由單個外

科醫師製造損害、進行處理及進行觀察結果評估。

測試物品之合成

藉由製備經交聯明膠糊劑（濃度為 14.5% 及 17.5%，含 25 g/l 或 50 g/l 人類血清白蛋白於凝血酶溶液中（存在或不存在另外的 2.5% PEG）），來製造用於在豬肝模型中進行活體內評估之測試物品。

結果描繪於圖 5 至圖 8 中，其展示用 17.5% 明膠時效能改良且在增塑劑（PEG）存在下效用降低。

實施例 3：

按照 Floseal 藥品說明書調配明膠樣本，但存在幾個關鍵差別。首先，使用氯化鈉代替氯化鈣且以 125% 固體代替 100% 固體來調配明膠。使明膠/凝血酶調配物靜置 25 分鐘，接著棄置 1 ml 製劑。將另外 1 ml 物質施用於局部止血系統（topical hemostasis system，THS）。預先用貧血小板血漿底塗 THS 裝置。

THS 為一種設計用於模擬流血傷口之裝置。人工傷口為在聚矽氧基板中之圓柱形孔。用纖維蛋白原層塗佈聚矽氧圓柱之表面。注射泵排出凝結流體（全血、血漿等），在此情況下為貧血小板血漿，同時記錄背壓。在此實驗中，血漿以 0.25 ml/min 之固定速率流過在圓柱形傷口之底部中心之小孔。在即將施用止血基質前，用紗布吸收過量血漿。當血漿繼續流動時，將 1 ml 止血基質施用於圓柱形傷口。將其立即以濕紗布覆蓋且施加固定壓力。30 秒之後，移除重物且血漿繼續流動 8 分鐘至 10 分鐘，此時停止流動且凝

塊保留於潮濕箱中，在其中停留超過 2 小時。在兩小時結束時，在 8°C 下將凝塊安裝於振動組織切片機 (vibratome) 上，在其中自凝塊切下約 500 μm 厚之切片。將此等切片浸於 PBS 緩衝液中。切片在不使用時儲存於 5°C 冰箱中。將該切片置於蓋玻片上且用運行 NIS-Elements Advanced Research v3.22.00 Build 710 軟體之 Nikon A1R 共焦顯微鏡成像。為收集顯微照片，將平場螢光型 (plan fluor) 10 $\times$ 物鏡與 488 nm 之雷射激發光及 500 nm 至 550 nm 之發射收集窗一起使用。使用透射光偵測器同時收集透射光影像。用此等成像參數，使用由該軟體進行之自動拼接來產生肉眼可見之樣本圖。樣本之較小區域亦藉由收集光學薄片厚度為 5.125 μm 之影像之 3D z-堆疊來特性化。使用複合共焦圖鑑別位於表面之明膠顆粒，且將其切片。此對於原子力顯微鏡 (atomic force microscope, AFM) 中彈性量測之定位很重要。將凝塊切片安裝於 Veeco Multimode AFM 中。該 multimode 配備有 Nanoscope V 控制器及 JV 壓電掃描儀。用支撐 4.5 μm 聚苯乙烯球之 Novascan AFM 懸臂進行力量測。藉由熱調法，測定懸臂之力常數為 0.779 N/m。將懸臂定位於明膠顆粒中心上方，接著以 16 $\times$ 16 陣列量測力。每一力曲線包括向上移動明膠顆粒使其與聚苯乙烯球接觸，及繼續向上移動顆粒直至懸臂偏轉達到 2 伏之預置引發值為止，此時，明膠自引發位置縮回 1.00 微米之距離。

討論

螢光資料顯示戊二醛交聯型明膠未均一交聯。實情

為，在顆粒邊緣周圍之交聯密度似乎較高，且顆粒中心部分之交聯顯著少於邊緣。相比之下，京尼平交聯型明膠似乎在整個顆粒中均一（均質）交聯。對螢光強度不存在實質邊緣效應。因為交聯劑本身可能造成螢光差異，所以京尼平交聯型及戊二醛交聯型物質之螢光強度不能直接比較。然而，AFM 量測之彈性模數量測值顯示京尼平交聯型明膠比戊二醛交聯型明膠硬，戊二醛交聯型明膠似乎較軟（可撓性較強）。

【圖式簡單說明】

圖 1 展示在凝血酶組分中含有 17.5% (w/w) 經交聯明膠與各種濃度之人類血清白蛋白之戊二醛交聯型明膠糊劑的平均擠壓力(以 35 mm 距離計算，以壓縮速度 250 mm/min 將產品自注射器推出所需的擠壓力；所有產品均在室溫下培育 30 分鐘，在即將進行擠壓力量測之前快速再噴湧)。x 軸展示凝血酶組分中之人類血清白蛋白濃度[g/l]，y 軸展示平均擠壓力[N]。

圖 2 展示取決於人類血清白蛋白之濃度，含有 17.5% (w/w) 經交聯明膠之經交聯明膠糊劑之稠度。

圖 3 展示在凝血酶組分中含有 17.5% (w/w) 明膠與各種濃度之人類血清白蛋白之京尼平交聯型明膠糊劑之平均擠壓力。x 軸展示凝血酶組分中之人類血清白蛋白濃度[g/l]，y 軸展示平均擠壓力[N]。

圖 4 展示對於測試物品施用及接近 (approximation) 後之出血嚴重性的評估。

圖 5 至圖 8 展示不同製劑在豬肝穿刺活組織檢查模型 (Porcine Liver Punch-Biopsy Model) 中之止血功效。x 軸展示在施用後之時間[秒]，y 軸展示止血成功之百分比 (圖 5 中定義為「不出血」且圖 6 中定義為「不出血」或「滲出 (ooze) 」) 。

在圖 5 及圖 6 中，各符號意謂：

_____含 50 g/l 人類血清白蛋白於凝血酶溶液中之戊二醛交聯型明膠 (n = 8)

-----含 75 g/l 人類血清白蛋白於凝血酶溶液中之戊二醛交聯型明膠 (n = 8)

在圖 7 及圖 8 中，各符號意謂：

_____約 17.5% (w/w) 戊二醛交聯型明膠

-----約 14.5% (w/w) 戊二醛交聯型明膠

... ..約 17.5% (w/w) 戊二醛交聯型明膠 + 2.5% PEG10.000 於凝血酶溶液中

【主要元件符號說明】

無

七、申請專利範圍：

1.一種止血組成物，其包含適用於止血之呈微粒形式經交聯明膠，其中該組成物係呈糊劑形式存在，含有 15.0%至 19.5% (w/w) 之經交聯明膠，且其中該組成物包含擠壓增強劑，其中該擠壓增強劑為量在 0.5%至 5.0% (w/w) 之間的白蛋白。

2.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其中該白蛋白之量在 1.0%至 5.0% (w/w) 之間。

3.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其中該白蛋白之量在 2.0%至 4.5% (w/w) 之間。

4.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其中該白蛋白之量在 1.5%至 5.0% (w/w) 之間。

5.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其中該組成物係以含有 16.0%至 19.5% (w/w) 的交聯明膠的糊劑形式存在。

6.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其中該組成物係以含有 16.5%至 19.5% (w/w) 的交聯明膠的糊劑形式存在。

7.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其中該組成物係以含有 17.0%至 18.5% (w/w) 的交聯明膠的糊劑形式存在。

8.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其中該組成物係以含有 17.5%至 18.5% (w/w) 的交聯明膠的糊劑形式存在。

9.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其中該組成物係以含有 16.5%至 19.0% (w/w) 的交聯明膠的糊劑形式存在。

10.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其中該組成物係以含有 16.8%至 17.8% (w/w) 的交聯明膠的糊劑形式存在。

11.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其中該組成物係以含有 16.5%至 17.5% (w/w) 的交聯明膠的糊劑形式存在。

12.如申請專利範圍第 1 或 2 項之止血組成物，其中該經交聯明膠為戊二醛交聯型明膠或京尼平 (genipin) 交聯型明膠。

13.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其中該經交聯明膠為 B 型明膠。

14.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其中該經交聯明膠係以粒狀物質存在。

15.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其中該經交聯明膠之粒度為 100 μm 至 1000 μm 。

16.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其中該組成物含有凝血酶。

17.如申請專利範圍第 1 項之止血組成物，其係用於治療選自由傷口、出血、受損組織、出血組織及/或骨缺損組成之群的損傷。

18.一種如申請專利範圍第 1 項之止血組成物的用途，

其係用於製造用於治療選自由傷口、出血、受損組織及/或出血組織組成之群之損傷的醫藥品，其中該醫藥品係投予至損傷部位。

19.一種用於製造如申請專利範圍第 1 及 12-17 項中任一項之止血組成物的可流動糊劑的套組，其係用於治療選自由傷口、出血、受損組織及/或出血組織組成之群之損傷，該套組包含

a)乾燥止血組成物，其包含呈微粒形式之經交聯明膠，該微粒形式之經交聯明膠將被復原成含有 15.0%至 19.5% (w/w) 經交聯明膠之可流動糊劑，及

b)用於復原該止血組成物之醫藥學上可接受之稀釋劑，其中該乾燥止血組成物或該稀釋劑包含白蛋白，其量使得在該復原糊劑中產生在 0.5%至 5.0% (w/w) 之間的白蛋白濃度。

20.如申請專利範圍第 19 項之套組，其中該醫藥學上可接受之稀釋劑包含緩衝液或緩衝系統。

21.如申請專利範圍第 19 或 20 項之套組，其中該醫藥學上可接受之稀釋劑包含凝血酶。

22.如申請專利範圍第 19 項之套組，其中該醫藥學上可接受之稀釋劑含有選自由 NaCl、CaCl₂ 及乙酸鈉組成之群的物質。

23.一種用於提供即用形式之如申請專利範圍第 1 項之止血組成物的方法，其中在第一注射器中提供該止血組成物且在第二注射器中提供復原用稀釋劑，將該第一注射器

與該第二注射器彼此連接，且將流體引入該第一注射器中以產生可流動形式之該止血組成物；且視情況使該可流動形式之該止血組成物返回至該第二注射器至少一次。

24.如申請專利範圍第 23 項之方法，其中該可流動形式之該止血組成物含有超過 50%(w/w)具有 100 μm 至 1000 μm 之尺寸的粒子。

八、圖式：

(如次頁)

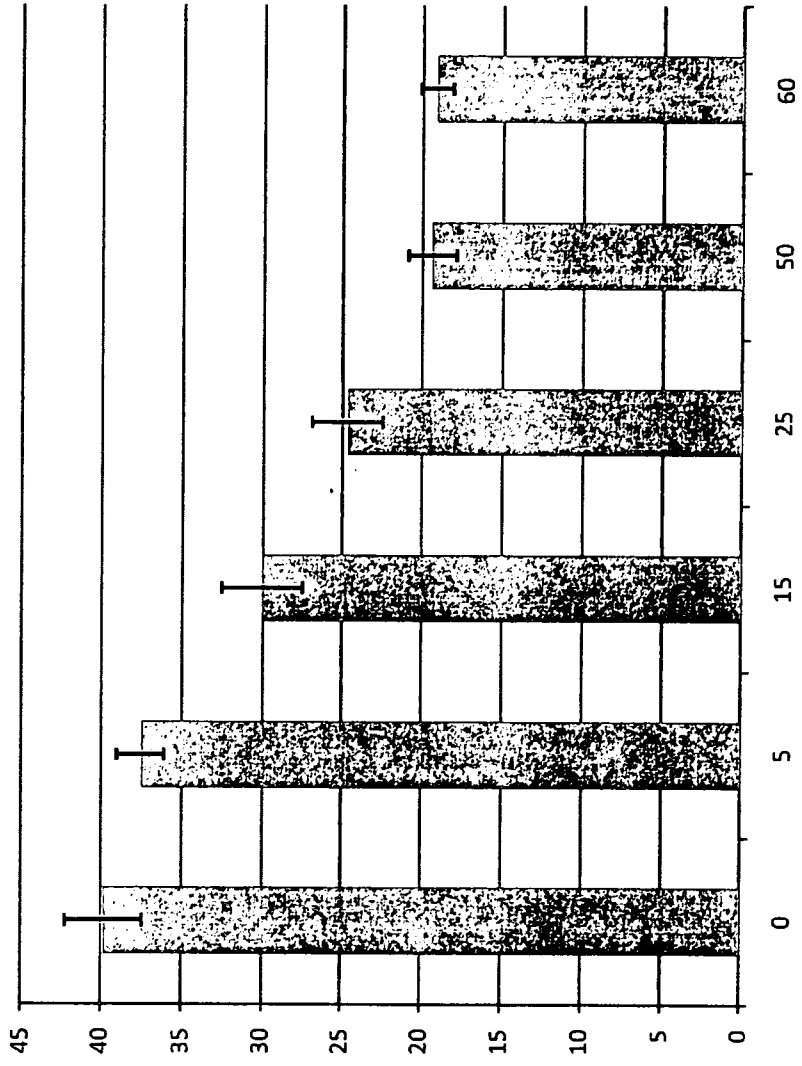


Figure 1

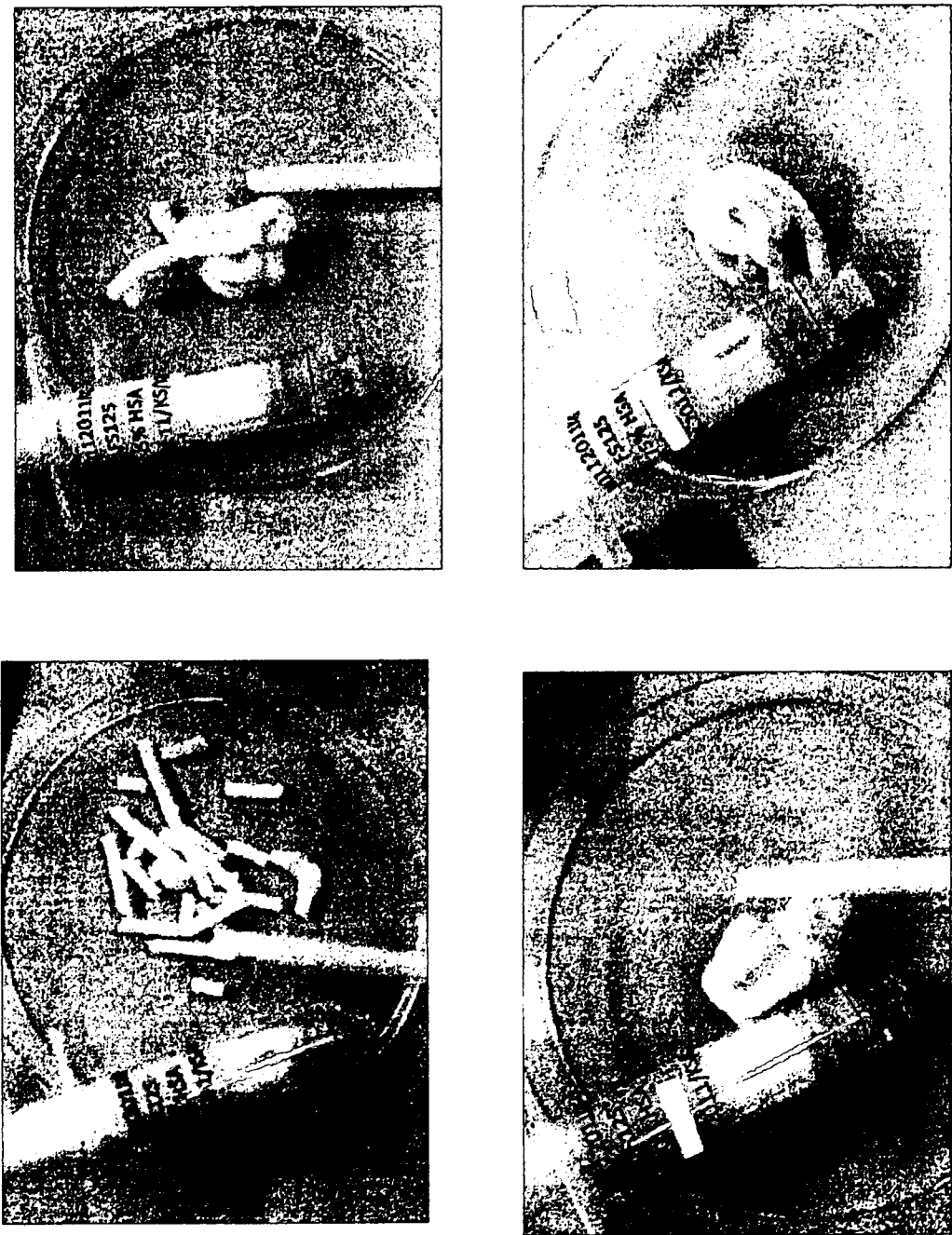


圖2

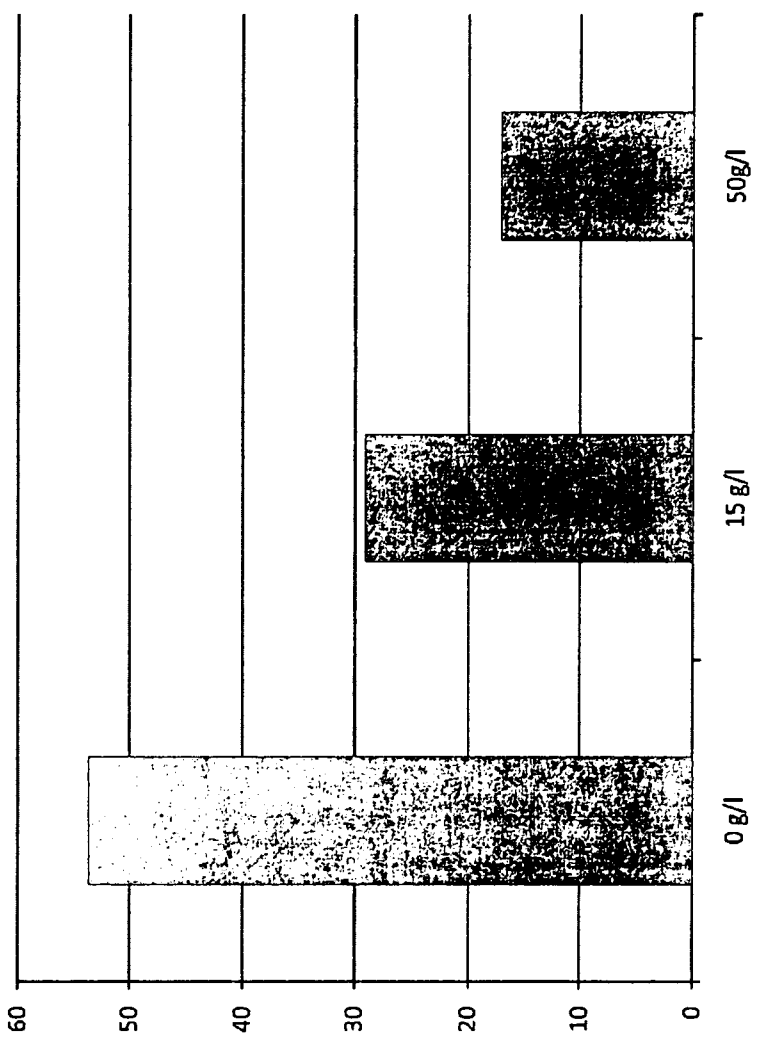


圖3

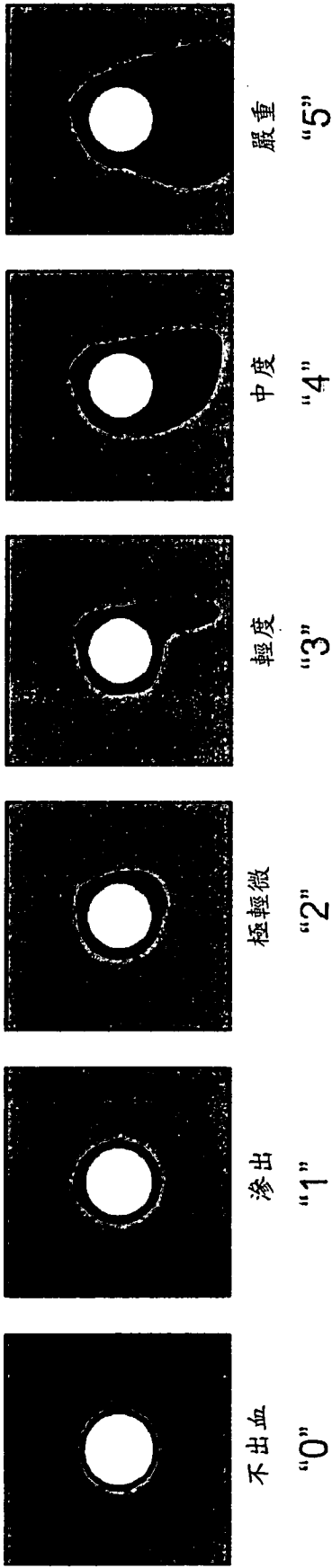


圖4



圖5

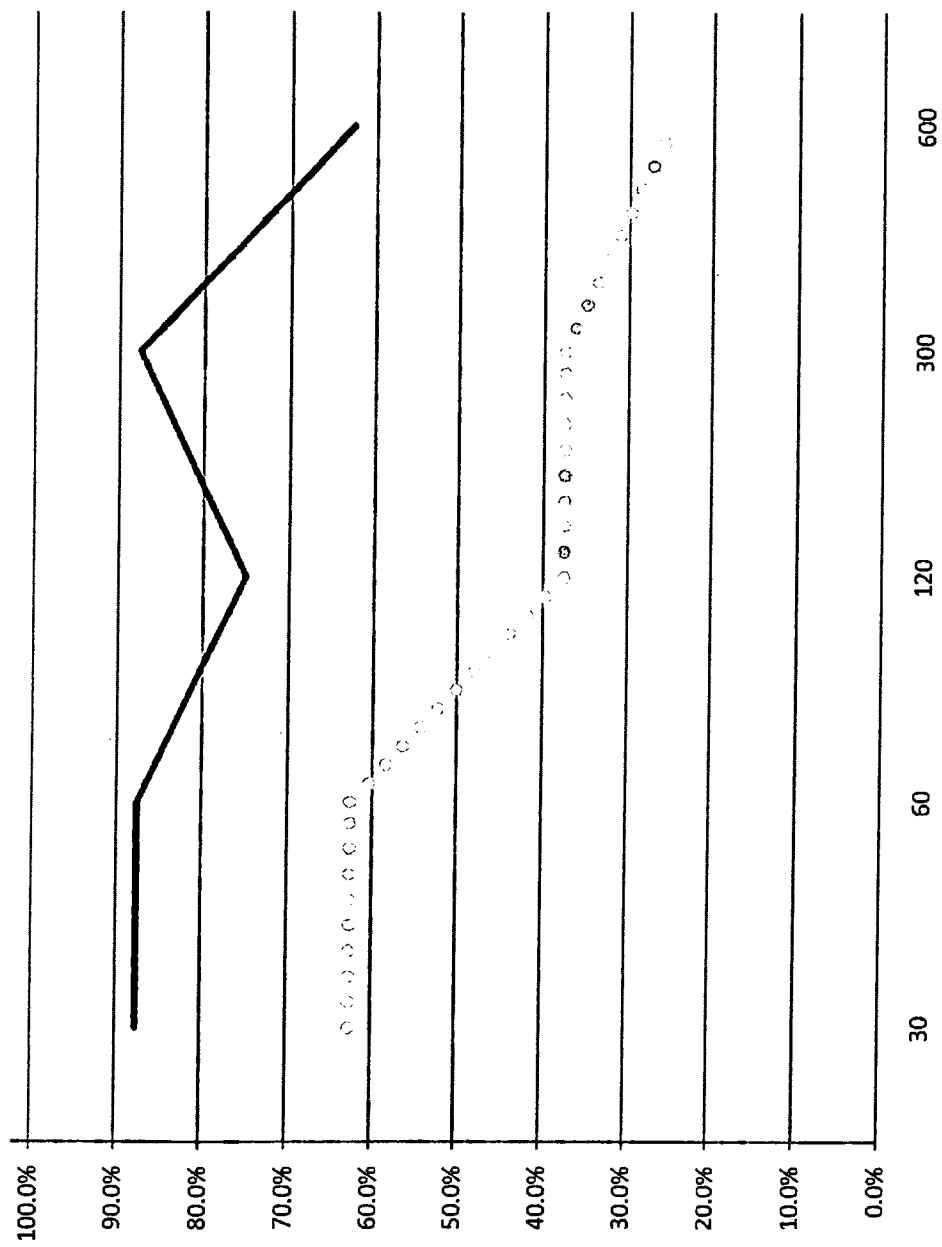


圖6

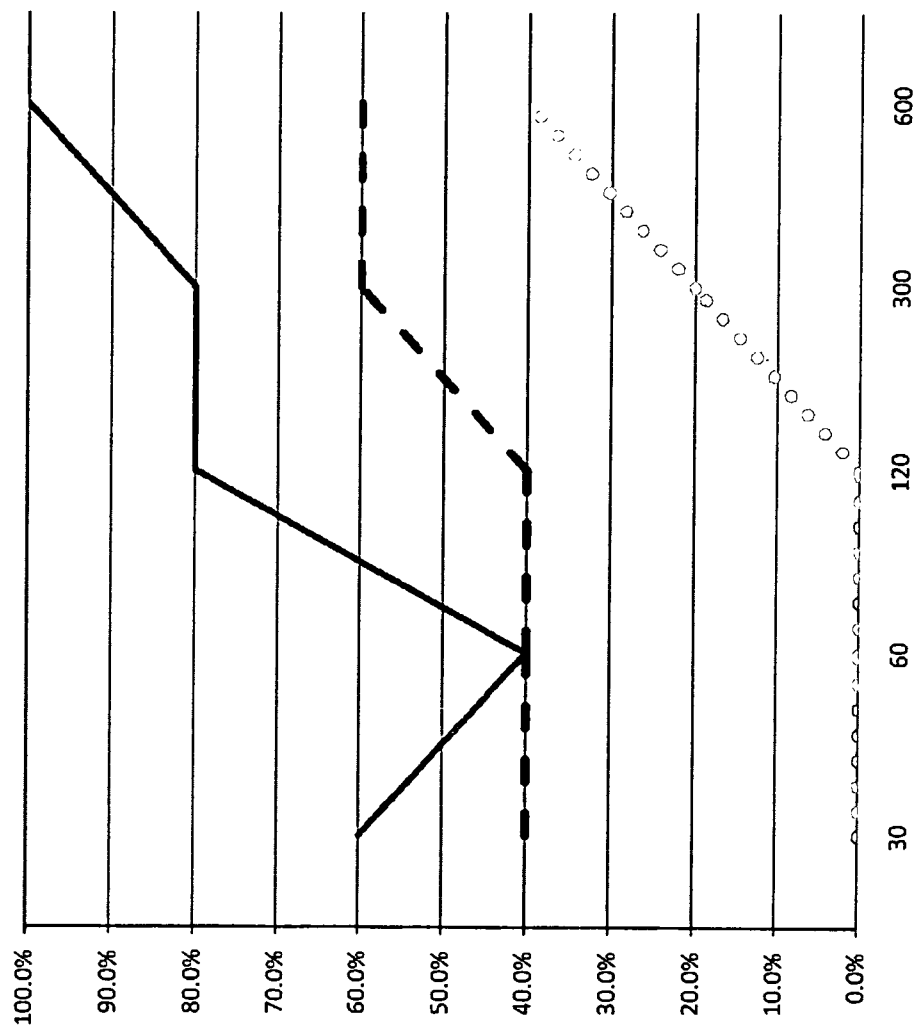


圖7

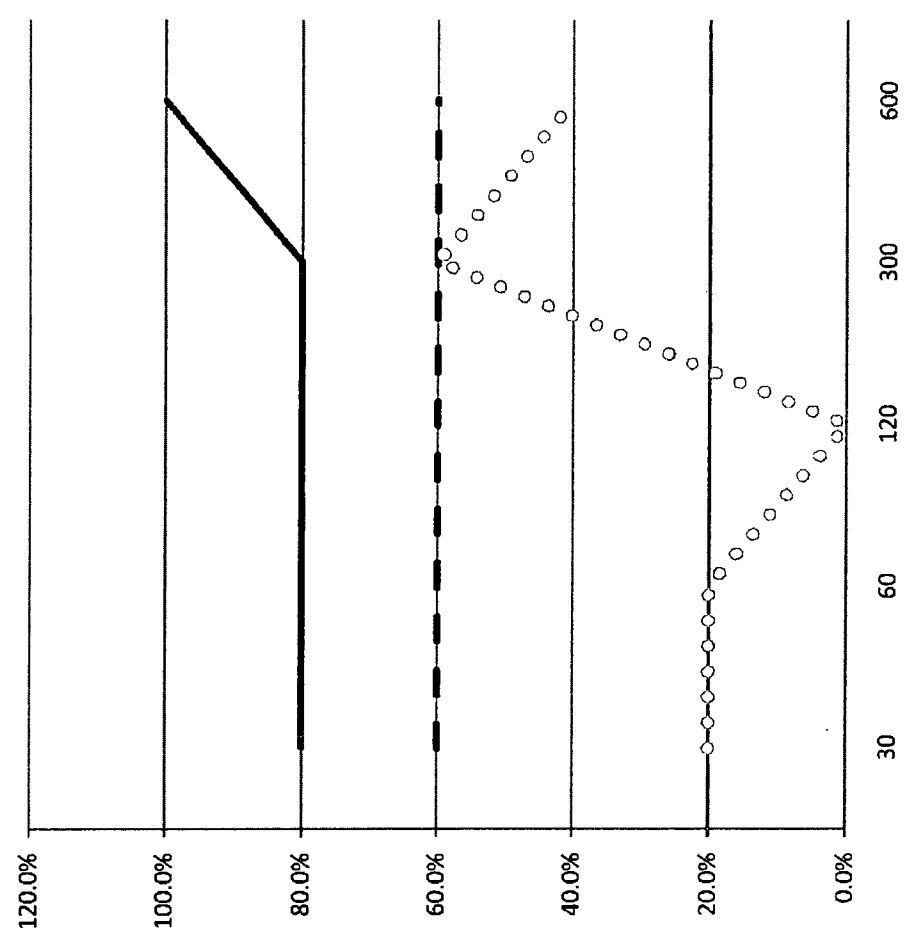


圖8