



(19) 대한민국특허청(KR)

(45) 공고일자 2017년10월18일

(11) 등록번호 10-1786786

(24) 등록일자 2017년10월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 24/10 (2006.01) A61L 24/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2012-7022330

(22) 출원일자(국제) 2011년01월27일

심사청구일자 2015년12월07일

(85) 번역문제출일자 2012년08월27일

(65) 공개번호 10-2012-0128132

(43) 공개일자 2012년11월26일

(86) 국제출원번호 PCT/IL2011/000092

(87) 국제공개번호 WO 2011/092694

국제공개일자 2011년08월04일

(30) 우선권주장

61/299,127 2010년01월28일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

US4427650 A

JP2004521115 A

JP2002528180 A

JP2009545424 A

(73) 특허권자

올릭스 바이오파머슈티컬스 리미티드

이스라엘 레호보트 76106 피.오.박스 619 바이츠
만 사이언스 파크 빌딩 14

(72) 발명자

일란 에레즈

이스라엘 세레니 70395 키부츠 네체르

누르 이스라엘

이스라엘 모스하브 팀모림 79860 하우스 넘버 277

레게브 크피르

이스라엘 텔-아비브 64293 아를로조로브 스트리트
190

(74) 대리인

장훈

전체 청구항 수 : 총 26 항

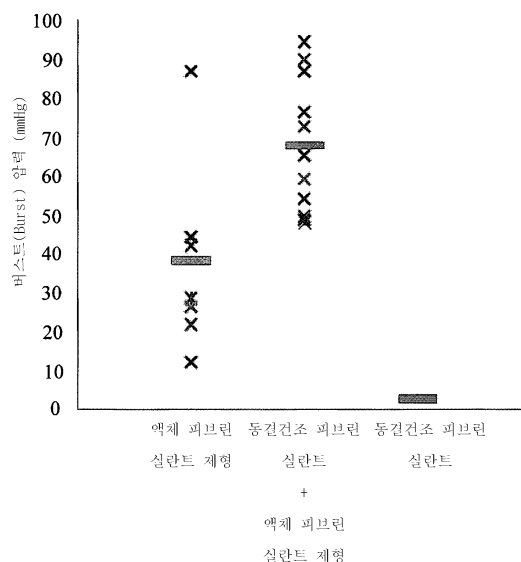
심사관 : 정재철

(54) 발명의 명칭 개선된 피브리린 밀봉 방법

(57) 요약

본 발명은 피브린 매트릭스, 그의 제조 및 점막 또는 기타 습성 조직에서의 결함을 효과적으로 밀봉하기 위한 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도2



명세서

청구범위

청구항 1

피브린 매트릭스로서, 상기 피브린 매트릭스는

- a) 유효량의 고탄성 피브린 실란트 블렌드를 습성 조직 상에 적용하여 수화된 고탄성 피브린 실란트 블렌드를 형성함으로써 상기 조직을 프라이밍하는 단계; 및
- b) 상기 프라이밍된 조직 위에 유효량의 액체 피브린 실란트 제형을 적용하는 단계에 의해 상기 습성 조직을 밀봉하는데 사용되고,

상기 유효량의 고탄성 피브린 실란트 블렌드 및 상기 유효량의 액체 피브린 실란트 제형은 상기 액체 피브린 실란트 제형 또는 상기 고탄성 피브린 실란트 블렌드 중 어느 하나의 유효량의 적용에 의하여 밀봉 강도가 향상된 피브린 매트릭스를 상기 습성 조직 상에 생성하기에 충분하고,

상기 고탄성 피브린 실란트 블렌드는 피브리노겐을 포함하는 고탄성 성분 및 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소 성분을 포함하는 고탄성 성분을 포함하는, 피브린 매트릭스.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 밀봉 강도는 상기 액체 피브린 실란트 제형의 적용에 의하여 1.2배 이상 향상된, 피브린 매트릭스.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 밀봉 강도는 상기 액체 피브린 실란트 제형의 적용에 의하여 1.7배 향상된, 피브린 매트릭스.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 적용은 혈관이 풍부하지 않거나, 소량이거나, 박탈되거나 또는 결여된 조직 및/또는 삼출성 또는 비출혈성 조직 상에 하는, 피브린 매트릭스.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 피브리노겐의 농도는 20 mg/ml인, 피브린 매트릭스.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 단백질 분해 효소는 트롬빈인, 피브린 매트릭스.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 적용은 조직 결함 상에 하는, 피브린 매트릭스.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 적용은 상기 조직에 존재하는 스테이플(staple) 또는 봉합 선의 적어도 일부분 상에 하는, 피브린 매트릭스.

청구항 9

고탄성 피브리노겐을 포함하는 성분, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 성분, 및 액체 피브린 실란트 제형을 포함하는 제품으로서, 상기 제품이

- a) 고탄성 피브리노겐을 포함하는 성분을 제공하고, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 고탄성 단백질 분해 효소를 포함하는 성분을 제공하고, 액체 피브린 실란트 제형을 제공하는 단계;

b) a)의 상기 고형 성분들의 유효량을 습성 조직의 적어도 일부분 상에 적용하는 단계; 및

c) 상기 적용된 고형 성분들의 적어도 일부분 위에 a)의 상기 액체 피브린 실란트 제형의 유효량을 적용하는 단계에 의해 상기 습성 조직에서의 결합의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상에서 상기 습성 조직에서의 결합을 치료 또는 예방하는데 사용되는, 고형 피브리노겐을 포함하는 성분, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 성분, 및 액체 피브린 실란트 제형을 포함하는 제품.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 습성 조직은 혈관이 풍부하지 않거나, 소량이거나, 박탈되거나 또는 결여된 것이고/것이거나 삼출성 또는 비출혈성 조직인, 고형 피브리노겐을 포함하는 성분, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 성분, 및 액체 피브린 실란트 제형을 포함하는 제품.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 결합은 상기 조직에서의 누출인, 고형 피브리노겐을 포함하는 성분, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 성분, 및 액체 피브린 실란트 제형을 포함하는 제품.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 누출 물질은 혈장 또는 혈액 성분이 풍부하지 않거나, 소량이거나, 박탈되거나 또는 결여된, 고형 피브리노겐을 포함하는 성분, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 성분, 및 액체 피브린 실란트 제형을 포함하는 제품.

청구항 13

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 액체 피브린 실란트 제형을 고형으로 제공하고 재구성한 후 적용하는, 고형 피브리노겐을 포함하는 성분, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 성분, 및 액체 피브린 실란트 제형을 포함하는 제품.

청구항 14

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 액체 피브린 실란트 제형을 냉동된 형태로 제공하고 해동한 후 적용하는, 고형 피브리노겐을 포함하는 성분, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 성분, 및 액체 피브린 실란트 제형을 포함하는 제품.

청구항 15

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 고형 성분을 액체 형태로 제공하고 건조시킨 후 적용하는, 고형 피브리노겐을 포함하는 성분, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 성분, 및 액체 피브린 실란트 제형을 포함하는 제품.

청구항 16

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 고형 성분을 냉동된 형태로 제공하고 건조시킨 후 적용하는, 고형 피브리노겐을 포함하는 성분, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 성분, 및 액체 피브린 실란트 제형을 포함하는 제품.

청구항 17

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 고형 성분들을 동시에 또는 연이어서 적용하는, 고형 피브리노겐을 포함하는 성분, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 성분, 및 액체 피브린 실란트 제형을 포함하는 제품.

청구항 18

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 액체 성분들을 동시에 또는 연이어서 적용하는, 고형 피브리노겐을 포함하는 성분, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 성분, 및 액체 피브린 실

란트 제형을 포함하는 제품.

청구항 19

제9항에 있어서, a)의 상기 고형 성분들을 블렌드로 제공하는, 고형 피브리노겐을 포함하는 성분, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 성분, 및 액체 피브린 실란트 제형을 포함하는 제품.

청구항 20

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 결합은 스테이플 또는 봉합부인, 고형 피브리노겐을 포함하는 성분, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 성분, 및 액체 피브린 실란트 제형을 포함하는 제품.

청구항 21

키트로서, 상기 키트는

(i) (a) 피브리노겐 성분 및 (b) 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소 성분을 포함하는 고형 성분들을 포함하는, 바이알, 사전 충전 시린지, 작은 바틀(bottle) 및 튜브로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 용기(들)[여기서, (a) 및 (b) 성분들은 별도의 용기들 내에 있거나 또는 블렌드로서 동일한 용기 내에 있다]; 및

(ii) 적어도 2개의 분리된 용기들(상기 적어도 하나의 분리된 용기는 액체, 냉동 또는 고형 피브리노겐 성분을 포함하며, 상기 적어도 다른 하나의 분리된 용기는 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 액체, 냉동 또는 고형 단백질 분해 효소 성분을 포함한다)을 포함하고,

여기서, (ii)의 상기 적어도 2개의 분리된 용기들이 고형 성분들을 포함하면, (a) 및 (b) 성분들은 블렌드로서 동일한 용기 내에 있는, 키트.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 단백질 분해 효소는 트롬빈인, 키트.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 습윤 표면 상에 적용하기 위한 키트.

청구항 24

제21항 또는 제22항에 있어서, 혈관이 풍부하지 않거나, 소량이거나, 박탈되거나 또는 결여된 조직 및/또는 삼출성 또는 비출혈성 조직에서의 누출부 밀봉용의 키트.

청구항 25

습성 조직에서의 결함을 치료 또는 예방하는 데 사용하기 위한 제1항 또는 제2항의 피브린 매트릭스.

청구항 26

습성 조직에서의 결함을 치료 또는 예방하는 데 사용하기 위한 제21항 또는 제22항의 키트.

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 밀봉 특성이 개선된 피브린 매트릭스, 그의 제조 및 사용에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 피브린 실란트는 전형적으로 상업적 공급원 또는 몇몇 지역 수혈 센터로부터 획득되는 혈액 제품이다. 피브린 실란트의 제조에 일반적으로 사용되는 성분은 주로 다양한 양의 인자 VIII, 인자 XIII, 피브로넥틴(fibronectin), 비트로넥틴(vitronectin), 및 폰 빌레브란트 인자(von Willebrand factor; vWF)가 보충된 피브리노겐이다. 피브리노겐 성분은 전형적으로 응고 캐스케이드의 마지막 프로테아제, 트롬빈에 의해 활성화된다.
- [0003] 피브린 실란트는 특히 피브리노겐, 트롬빈 및 인자 XIII를 포함하는 효소 반응에 의해 형성된다. 트롬빈은 트롬빈의 농도에 의해 결정되는 속도로 효소 작용에 의해 피브리노겐을 피브린으로 전환시킨다. 인자 XIII는 전형적으로 실란트의 피브리노겐 성분에 존재하며, 피브린 응괴를 가교결합시켜 안정화시키는 혈액 응고 시스템의 효소이다. 이러한 과정은 정상적인 응고의 대부분의 단계를 우회하며, 그의 마지막 시기를 모방한다. 몇몇 제조업자는 단백질 분해 방지제를 피브린 실란트 제형에 첨가하거나 (이는 국제특허 공개 WO 93/05822호에 개시된 바와 같음) 또는 특정적으로 플라스미노겐을 제거하여 피브린 분해를 중단시키거나 또는 지연시킨다 (이는 미국 특허 제5,792,835호 및 미국 특허 제7,125,569호에 개시된 바와 같음).
- [0004] 미국 특허 제4,427,650호에는 창상 상에 또는 수술 부위 내에 즉각적으로 그리고 직접적으로 건조 분말형 혼합물의 형태로 적용될 수 있는 조직 접착제가 개시되어 있다. 접착제는 고형, 분말형의 생물 활성 구성성분으로 이루어지며, 냉동 불용성(cryo-insoluble) 글로불린으로부터 대부분 유리되는 피브리노겐 60 내지 96 중량%, 피브린 분해 저해제 0.05 내지 5 중량%, 및 트롬빈 및/또는 프로트롬빈 0.1 내지 15 중량%를 함유한다.
- [0005] 미국 특허 제5,962,405호에는 조직 접착제로 사용하기 위한 피브리노겐 용액 제조용의 동결건조 피브리노겐 제제가 개시되어 있다. 피브리노겐 제제는 용해도 개선 물질을 함유한다.
- [0006] 피브린 실란트는 창상을 폐쇄하고, 출혈을 중단시키고, 감염 에이전트(agent)와 같은 다른 물질이 창상에 들어가지 못하도록 하기 위하여, 사람의 개방된 창상과 같은 창상에 적용될 수 있음이 오랫동안 공지되었었다.
- [0007] 일정한 움직임 하에 있는 조직, 예를 들어 위장 조직 및 폐조직에서의 결함 밀봉에 있어서의 피브린 실란트의 효과가 보고되었다. 그러나, 이들 보고들에서 불일치가 있다.
- [0008] 하나는 위장 절제에서 스테이플/봉합 선 강화를 이용한 후 스테이플 또는 봉합(스테이플/봉합) 선에서 누출과 같은 수술 후 결함을 감소시키는 접근법을 보고하였다. 상이한 스테이플/봉합 선 강화 제품이 구매가능하다. 예를 들어, 의사는 비흡수성 또는 반흡수성 스테이플 선 강화 제품, 예를 들어 시임가드(Seamguard)(등록상표), 페리스트립스 드라이(Peristrips Dry)(등록상표) 및 서지시스(Surgisis)(등록상표)를 시도하였다. 그러나, 초기 실험 및 임상 연구에서, 흡수성 스테이플 선 강화제는 비흡수성 또는 반흡수성 스테이플 선 강화제에 비하여 상당한 이점을 갖는 것으로 보인다 (문헌[Yo et al. "Buttressing of the staple line in gastrointestinal anastomoses: overview of new technology designed to reduce perioperative complications". Dig Surg. 2006;23:283-291]). 위장 수술 후 누출의 예방을 위한 흡수성 스테이플 선 강화제로서 피브린을 사용한 최근의 보고서(문헌[Fullum et al. "Decreasing anastomotic and staple line leaks after laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass". Surg Endosc. 2009;23:1403-1408]; 문헌[Efthimiou et al. "Fibrin sealant associated with increased body temperature and leukocytosis after laparoscopic gastric bypass". Surg Obes Relat Dis. 2009 Mar 17])는 현재의 피브린 실란트 제형이 스테이플/봉합 선 강화에 적당하지 않음을 제안하고 있다.
- [0009] 미국 특허 제5,690,675호에는 본질적으로 체결구들 (예를 들어, 스테이플, 클립, 핀, 후크)을 창상에 인접한 영역에 적용하는 단계로 이루어진 2단계 방법에 의해 폐조직에서 창상을 폐쇄시키는 것이 개시되어 있으며, 여기서, 체결구들은 관통을 야기할 수 있다. 체결구들은 콜라겐, 피브린, 피브리노겐, 엘라스틴, 알부민 또는 이들의 조합의 사전 형성된 층에 존재하며, 상기 재료를 조직에 융합시켜 조직에서의 천공을 밀봉하기 위하여 에너지가 상기 영역에 적용된다.
- [0010] 미국 특허 제5,883,078호에는 피브리노겐과, 프로트롬빈의 활성화자 또는 전환성자를 포함하는 안정한 조직 접착제가 개시되어 있다. 상기 접착제는 액체 또는 건조 제제로 존재할 수 있다. 일 실시 형태에서, 고형 양면 접착형 조직 접착제는 고형의 건조 접착제를 창상 표면에 적용함으로써 만들어지며, 제2 창상 표면(제2 조직 부분)은 후속적으로 적응되고 곧 함께 눌러진다. 이 제제는 존재하는 혈액 및/또는 창상 분비물에 의해 즉시 용해되며, 후속적으로, 이는 응고의 시작에 의해 고형화되고, 이로써 접착 및 지혈 효과가 성취된다. 고형 양면 접착형 조직 접착제가 간 또는 비장과 같은 연조직 부분들의 연결에 특히 적합하다.
- [0011] 문헌[Lillemoe et al., (2004) J Gastrointest Surg., Vol. 8, No.7 pp 766-774, 논문의 명칭: "Does Fibrin

Glue Sealant Decrease the Rate of Pancreatic Fistula After Pancreaticoduodenectomy? Results of a Prospective Randomized Trial]은 췌장 문합 표면에 피브린 글루 실란트를 국소 적용하는 것이 췌십이지장 절제술 후 환자에 있어서 췌장 누공 또는 총체적 합병증의 발생을 감소시키지 않았음을 보여주었으며, 이러한 세팅에서 이 물질의 사용과 관련하여 이득이 없는 것으로 보인다는 결론을 내렸다.

[0012] 다른 연구 (문헌["The sealing effect of fibrin glue against alveolar air leakage evaluated up to 48h: comparison between different methods of application" Kawamura et al. (2005) Eur J of Cardiothorac Surg. 28(1):39-42])에서는 동물 모델에서 폐포 공기 누출에 대한 피브린 글루의 밀봉 효과가 개시되어 있으며, 상이한 적용 방법들이 평가된다. 피브리노겐을 포함하는 단백질 농축물로 이루어진 용액 A 및 트롬빈을 포함하는 용액 B가 사용되었다. 문지르고 스프레이하는 방법에 있어서, 용액 A가 공기 누출 영역 상에 적하되어 부드럽게 문질러졌다. 이어서 상기 둘 모두의 용액은 혼합된 에어로졸로서 동시에 스프레이되었다. 다른 방법에서, 이중층은 용액 A를 공기 누출 표면 상에 적하하고, 그 후 용액 B를 적하함으로써 제조되었다. 다른 방법에서, 일 면 상에서 건조 피브리노겐 및 트롬빈으로 코팅된 콜라겐 플리스(fleece)(타코콤(TachoComb)이 동물(개) 모델에서 사용되었으며, 24시간 후에 검사되었다. 저자에 따르면, 피브린 글루의 밀봉 효과는 그의 적용 후 12시간 이하의 시간까지 상대적으로 불안정하다. 또한, 상기 저자는 문지르고 스프레이하는 방법이 다른 두 방법과 비교하여 피브린 시일이 더 빠르게 그의 전강도(full strength)에 도달하는 것을 도울 수 있다.

[0013] 문헌[Yo et al (2006), Dig Surg 23: 283-291]의 다른 연구에는 위장 절제를 수행할 때 스테이플 선에서의 출혈 또는 누출과 같은 문합 합병증을 감소시키려는 노력이 개시되어 있다. 요(Yo)는 쥐 결장 문합술의 동물 모델에서, 누출을 밀봉 및 예방하기 위하여 피브린 글루를 적용하는 것은 실현가능한 기술이 아닌 것으로 보인다고 나타냈다. 위 절제에서, 스테이플 선을 지지하고 밀폐시키기 위하여 피브린 글루를 적용하는 것이 더 성공적인 것으로 보였음이 개시되어 있다.

[0014] 미국 특허 제7,196,054호에는 환자에 있어서 창상을 입은 조직을 치료하는 방법이 개시되어 있으며, 이는 창상을 입은 조직에 트롬빈, 인자 XIII, Ca^{2+} 및 수성 용액의 존재 하에 피브린 매트릭스를 형성하는 양의 피브리노겐을 포함하는 건조 분말 형태의 조성물을 적용하는 단계와; 피브리노겐의 존재 하에 피브린 매트릭스를 형성하는 양의 트롬빈, 인자 XIII, Ca^{2+} 및 수성 용액을 상기 조성물에 제공하는 단계를 포함한다.

[0015] 문헌[Fullum et al. (2009)]에는 문합 및 스테이플 선 누출(anastomotic and staple line leak; ASL)이 비만 환자에서 복강경 루와이 위 우회술(laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass; LRYGB) 후 발생함이 개시되어 있다. 피브린 실란트는 위 스테이플 선을 따라 배치되었다. 상기 저자들은 적당한 스테이플 크기, 스테이플 선 강화, 수동봉합식 절개술 클로저(handsewnotomy closure), 유치 봉합(stay suture), 수술 중 누출 검사, 및 피브린 실란트가 LRYGB 후 ASL의 발생 감소에 도움을 주었다는 결론을 내렸다. 상기 저자들은 어떠한 하나의 구성 요소가 ASL 예방에 가장 필수 불가결한지를 결정할 수 없었다.

[0016] 이와는 대조적으로, 문헌[Efthimiou et al. 2009]에는 피브린 실란트 사용이 LRYGB에 있어서 문합 또는 스테이플 선 누출 속도에 어떠한 영향도 주지 않았음이 개시되어 있다.

[0017] 일정하게 운동 중인 조직, 예를 들어 위장 조직 및 폐조직에 있어서 결합 밀봉을 위한 탁월한 피브린 실란트 제형에 대한 충족되지 못한 필요성이 있다.

발명의 내용

[0018] 피브린 실란트의 주요한 현재 용도는 지혈을 위한 것이며, 이러한 작용은 창상을 입은 부위를 커버하는 혈액에 존재하는 자가 응고 인자, 예를 들어, 피브리노겐에 의해 향상될 수 있다.

[0019] 피브린 실란트의 다른 용도는 공기 및/또는 액체, 예를 들어 소변액, 장액, 혈청종의 누출부와 같은 조직 누출부의 밀봉이다. 전형적으로, 이들 조직 누출부에는 자가 응고 인자는 부재한다. 합성 실란트를 포함하는 대부분의 실란트는 조직 누출 밀봉에서 효율적이지 못하다. 기작에 의해 한정됨이 없이, 공기/액체는 실란트와 조직 사이의 장벽으로 작용하고 그에 따라 실란트와 조직 사이의 친밀한 접촉을 방지할 수 있다.

[0020] 일반적으로, 흔히 외과 의사는 창상을 입은 누출 조직을 실란트의 적용 이전에 가능한 한 많이 건조시킨다. 흔히, 건조는 스핀지/거즈 및 가스 스프레이를 이용하여 수동으로 수행된다 (문헌[Hidas et al. "Sutureless nephron-sparing surgery: use of albumin glutaraldehyde tissue adhesive (BioGlue)". Urology, 2006;67:697-700]. 이들 건조 절차는 조직 유착을 발달시킬 위험성을 증가시킨다 (문헌[Kamel RM. "Prevention

of postoperative peritoneal adhesions". Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2010;150(2):111-118].

- [0021] 게다가, 이들 건조 절차는 또한 예를 들어 복강경 과정을 실시할 때 외과 의사가 접근가능하지 않은 영역에서 문제시된다.
- [0022] 본 발명은 조직 누출부 밀봉에 효율적인 피브린 매트릭스를 제공한다.
- [0023] 일 태양에서, 본 발명은 피브린 매트릭스를 습성 조직 상에 적용하는 방법을 제공하며, 이는 유효량의 고형 피브린 실란트 블렌드를 습성 조직 상에 적용하는 단계; 및 적용된 고형 피브린 실란트 블렌드의 적어도 일부분 위에 유효량의 액체 피브린 실란트 제형을 적용하는 단계를 포함하고, 여기서 고형 피브린 실란트 블렌드 및 액체 피브린 실란트 제형의 유효량은 액체 피브린 실란트 제형 또는 고형 피브린 실란트 블렌드 중 어느 하나의 유효량의 적용에 비하여 밀봉 강도가 향상된 피브린 매트릭스를 습성 조직 상에 생성하기에 충분하다.
- [0024] 본 발명의 일 실시 형태에서, 밀봉 강도는 액체 피브린 실란트 제형의 적용에 비하여 1.2배 이상 향상된다.
- [0025] 본 발명의 다른 실시 형태에서, 밀봉 강도는 액체 피브린 실란트 제형의 적용에 비하여 약 1.7배 향상된다.
- [0026] 본 발명의 다른 추가의 실시 형태에서, 혈관이 풍부하지 않거나, 소량이거나, 박탈되거나 또는 결여된 조직 및/또는 삼출성 또는 비출혈성인 조직 상에 적용을 한다.
- [0027] 본 발명의 일 실시 형태에서, 고형 피브린 실란트 블렌드는 피브리노겐을 포함하는 고형 성분 및 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소 성분을 포함하는 고형 성분을 포함한다.
- [0028] 본 발명의 다른 추가의 실시 형태에서, 고형 피브린 실란트 블렌드의 피브리노겐 포함 성분은 피브리노겐 농도가 25 mg/ml 미만인 피브리노겐 함유 용액을 건조시키는 단계에 의해 제조된다.
- [0029] 본 발명의 일 실시 형태에서, 피브리노겐 농도는 약 20 mg/ml이다.
- [0030] 본 발명의 또 다른 실시 형태에서, 단백질 분해 효소는 트롬빈이다.
- [0031] 본 발명의 또 다른 추가의 실시 형태에서, 조직 결함 상에 적용이 된다.
- [0032] 본 발명의 또 다른 실시 형태에서, 조직에 존재하는 스테이플 또는 봉합 선의 적어도 일부분 상에 적용이 된다.
- [0033] 본 발명의 다른 태양은 습윤 표면 상에 피브린 매트릭스를 제조하는 방법에 관한 것이며, 이는 피브리노겐을 포함하는 고형 성분을 제공하는 단계; 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 고형 성분을 제공하는 단계; 액체 피브린 실란트 제형을 제공하는 단계; 유효량의 상기 고형 성분들을 습윤 표면의 적어도 일부분 상에 적용하는 단계; 및 상기 적용된 고형 성분들의 적어도 일부분 위에 유효량의 액체 피브린 실란트 제형을 적용하는 단계를 포함한다.
- [0034] 본 발명의 일 실시 형태에서, 습윤 표면에는 피브리노겐이 없다.
- [0035] 본 발명의 다른 실시 형태에서, 액체 피브린 실란트 제형을 고체 형태로 제공하고 재구성한 후 적용한다.
- [0036] 본 발명의 다른 추가의 실시 형태에서, 액체 피브린 실란트 제형을 냉동된 형태로 제공하고 해동한 후 적용한다.
- [0037] 본 발명의 또 다른 실시 형태에서, 고형 성분을 액체 형태로 제공하고 건조시킨 후 적용한다.
- [0038] 본 발명의 또 다른 실시 형태에서, 고형 성분을 냉동된 형태로 제공하고 건조시킨 후 적용한다.
- [0039] 본 발명의 또 다른 추가의 실시 형태에서, 고형 성분들은 동시에 또는 연이어서 적용된다.
- [0040] 본 발명의 다른 실시 형태에서, 액체 성분들은 동시에 또는 연이어서 적용된다.
- [0041] 본 발명의 다른 추가의 실시 형태에서, 고형 성분들은 블렌드로 제공된다.
- [0042] 본 발명의 일 실시 형태에서, 표면은 조직이다.
- [0043] 본 발명의 일 실시 형태에서, 조직은 혈관이 풍부하지 않거나, 소량이거나, 박탈되거나 또는 결여되고/되거나 삼출성 또는 비출혈성이다.
- [0044] 다른 태양에서, 본 발명은 본 발명에 따라 수득가능한 피브린 매트릭스에 관한 것이다.
- [0045] 또 다른 태양에서, 본 발명은 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상의 습성 조직에서 결함을 치료 또는 예방하는

방법을 제공하며, 이는

- [0046] a) 고형 피브리노겐을 포함하는 성분을 제공하고, 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 고형 단백질 분해 효소를 포함하는 성분을 제공하고, 액체 피브린 실란트 제형을 제공하는 단계;
- [0047] b) a)의 상기 고형 성분들의 유효량을 상기 습성 조직의 적어도 일부분 상에 적용하는 단계; 및
- [0048] c) 상기 적용된 고형 성분들의 적어도 일부분 위에 a)의 상기 액체 피브린 실란트 제형의 유효량을 적용하는 단계를 포함한다.
- [0049] 본 발명의 일 실시 형태에서, 습성 조직은 혈관이 풍부하지 않거나, 소량이거나, 박탈되거나 또는 결여되고/되거나 삼출성 또는 비출혈성이다.
- [0050] 본 발명의 다른 실시 형태에서, 결합은 조직에서의 누출이다.
- [0051] 본 발명의 다른 추가의 실시 형태에서, 누출 물질은 혈장 또는 혈액 성분이 풍부하지 않거나, 소량이거나, 박탈되거나 또는 결여되어 있다.
- [0052] 본 발명의 일 실시 형태에서, 액체 피브린 실란트 제형을 고체 형태로 제공하고 재구성한 후 적용한다.
- [0053] 본 발명의 다른 추가의 실시 형태에서, 액체 피브린 실란트 제형을 냉동된 형태로 제공하고 해동시킨 후 적용한다.
- [0054] 본 발명의 일 실시 형태에서, 고형 성분을 액체 형태로 제공하고 건조시킨 후 적용한다.
- [0055] 본 발명의 또 다른 실시 형태에서, 고형 성분을 냉동된 형태로 제공하고 건조시킨 후 적용한다.
- [0056] 본 발명의 또 다른 추가의 실시 형태에서, 고형 성분들은 동시에 또는 연이어서 적용된다.
- [0057] 본 발명의 일 실시 형태에서, 액체 성분들은 동시에 또는 연이어서 적용된다.
- [0058] 본 발명의 다른 실시 형태에서, a)의 고형 성분들은 블렌드로 제공된다.
- [0059] 본 발명의 다른 추가의 실시 형태에서, 결합은 스테이플 또는 봉합부이다.
- [0060] 일 태양에서, 본 발명은 (i) (a) 피브리노겐 성분 및 (b) 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소 성분을 포함하는 고형 성분들을 포함하는 용기(들)[여기서, (a) 및 (b) 성분들은 별도의 상기 용기들 내에 있거나 또는 블렌드로서 동일한 상기 용기 내에 있다]; 및 (ii) 적어도 2개의 분리된 용기들(상기 적어도 하나의 분리된 용기는 액체, 냉동 또는 고형 피브리노겐 성분을 포함하며, 상기 적어도 다른 하나의 분리된 용기는 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 액체, 냉동 또는 고형 단백질 분해 효소 성분을 포함한다)을 포함하고, 여기서, (ii)의 상기 적어도 2개의 분리된 용기들이 고형 성분들을 포함하면, (a) 및 (b) 성분들은 블렌드로서 동일한 상기 용기 내에 있는 키트를 제공한다.
- [0061] 본 발명의 일 실시 형태에서, 단백질 분해 효소는 트롬빈이다.
- [0062] 본 발명의 다른 실시 형태에서, 키트는 습윤 표면 상에의 적용용으로 사용된다.
- [0063] 본 발명의 다른 추가의 실시 형태에서, 키트는 혈관이 풍부하지 않거나, 소량이거나, 박탈되거나 또는 결여된 조직 및/또는 삼출성 또는 비출혈성인 조직에서의 누출부 밀봉용으로 사용된다.
- [0064] 본 발명에 따른 피브린 매트릭스 또는 키트는 습성 조직의 결합의 치료 또는 예방용으로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0065] <도 1>
 도 1에는 2가지의 상이한 피브린 실란트 제형들, 즉 동결건조 피브리노겐 및 트롬빈의 혼합물 대 2성분 액체 피브린 실란트 제형을 이용하여 함께 접합시킨 회장 조직의 두 층의 분리에 필요한 힘(박리력)이 도시되어 있다.
- <도 2>
 도 2에는 동결건조 피브리노겐 및 트롬빈의 혼합물, 2성분 액체 피브린 실란트 제형 및 동결건조 피브리노겐 및 트롬빈과 2성분 액체 피브린 실란트의 순차적 적용에 의해 형성된 피브린 매트릭스의 밀봉 강도(버스트(burst) 시험에 의해 측정함)가 도시되어 있다.

<도 3>

도 3에는 동결건조 트롬빈의 적용, 이어서 액체 피브린 실란트의 스프레이에 의해 형성된 피브린; 동결건조 피브리노겐의 적용, 이어서 액체 피브린 실란트의 스프레이에 의해 형성된 피브린; 동결건조 피브리노겐 및 트롬빈의 혼합물의 적용, 이어서 액체 피브린 실란트의 스프레이에 의해 형성된 피브린; 및 알부민 분말의 적용, 이어서 액체 피브린 실란트의 스프레이에 의해 형성된 피브린 제형의 밀봉 강도(버스트 시험에 의해 측정함)가 도시되어 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0066] 본 발명은 점막 또는 다른 습성 조직 상에 피브린 매트릭스를 적용하는 방법에 관한 것이며, 본 방법은 상기 조직의 표면 상에의 고품 피브린 실란트 블렌드의 순차적 적용 단계, 이어서 상기 표면의 적어도 일부분 위에의 액체 피브린 실란트 제형의 적용 단계를 포함한다. 또한 본 발명은 제1 고품 피브린 실란트 블렌드, 이어서 액체 피브린 실란트 제형의 순차적 적용에 의한 점막 또는 다른 습성 조직의 결합의 효과적인 밀봉에 관한 것이다.
- [0067] 본 발명은 하기 발견을 기반으로 한다:
- [0068] 상이한 시험 피브린 제형들의 접착력(또는 박리력)을 박리 시험에 의해 시험하였다. 이 시험은 돼지 소장 점막 하 조직의 층들 사이에서의 피브린 글루의 접합 강도를 측정한다. 일 실시 형태에서, 시험 접착제 제형은 돼지 회장의 장막 상에 적용되었다. 시험 피브린 실란트 제형의 적용 후 회장 조직을 (장막이 서로 맞닿게) 접었으며, 피브린 실란트 제형이 중합되게 하였다. 접착된 두 회장 조직 층을 서로로부터 분리하는 데 필요한 힘은 만능 인장 시험기(Universal Tensile Testing Machine) - 로이드 인스트루먼트(Lloyd Instruments) LFPLUS를 이용하여 측정하였다. 전형적으로, 측정된 박리력이 더 높을수록 시험 제형의 접착력이 더 크다. 본 발명에 따르면, 접착력은 액체 피브린 실란트 제형의 사용과 비교하여 동결건조 피브린 실란트 제형을 사용할 때 유의하게 개선됨이 밝혀졌다. 동결건조 피브린 실란트 제형의 접착력은 액체 피브린 실란트 제형의 접착력과 비교하여 약 2.7배 더 높음이 밝혀졌다.
- [0069] 상이한 피브린 제형들의 밀봉 특성은 버스트 시험에 의해 측정되었다. 버스트 시험은 실란트가 누출을 방지하는 능력을 결정 및 평가할 수 있다. 간략하게는, 수원에 연결되고 구멍을 갖는 알루미늄 파이프가 돼지 회장의 관형 세그먼트 내로 도입되며, 관형 세그먼트는 파이프의 양 말단에서 밀봉되고 죄어진다. 알루미늄 파이프 내로의 물 유동의 허용시에, 물은 알루미늄 파이프 내로의 물의 역류가 방지되게 하는 방식으로 구멍을 통하여 회장과 알루미늄 파이프 사이의 공간 내로 들어간다. 물 유동 허용 전에, 장 길이 방향에 대하여 수직으로 10 mm 절개부를 형성하고, 상기 절개부를 먼저 그의 정중선에서 봉합하고, 이어서 시험 피브린 실란트 제형을 절개 부위 주위에 두어진 6 cm² 파라필름 템플릿 프레임을 통하여 절개 부위 상에 적용한다. 시험 제형의 적용 후, 피브린을 10분 동안 경화되도록 (또는 중합되도록) 두고, 장에 물을 채워서 압력을 건디는 그의 능력을 시험한다. 일단 물이 회장과 파이프 사이의 공간 내로 유동하면, 절개부의 밀봉부가 개방될 때까지 수압이 증가되며 수압의 격심한 강하가 관찰된다. 압력 수준은 액체 유동 라인에 연결된 압력 게이지(D-로그메이트(logmate) 590 MRC 이스라엘(Israel))를 사용하여 모니터링된다. 강하 전의 관찰된 압력이 기록되며, 이는 버스트 압력으로 간주된다. 전형적으로, 더욱 높은 관찰된 버스트 압력은 시험되는 제형의 더욱 큰 밀봉 특성을 나타낸다.
- [0070] 본 발명에 따르면, 액체 피브린 실란트보다 더 우수한 접착력을 갖는 것으로 밝혀진 동결건조 피브린 실란트는 밀봉에 있어서 효과적이지 못함이 또한 발견되었다. 이와는 대조적으로, 액체 피브린 실란트 제형은 동결건조 피브린 실란트보다 더 우수한 밀봉 효과를 가졌다.
- [0071] 또한 놀랍게도, 동결건조 피브린 실란트 및 액체 피브린 실란트 제형의 순차적인 적용은 밀봉 특성의 상승작용적 증가를 나타냄이 발견되었다. 액체 피브린 실란트 제형의 밀봉 강도와 비교하여 밀봉 강도의 약 1.7배 증가가 관찰되었다. 그러나, 밀봉 특성의 상승작용적 증가는 동결건조 피브리노겐 또는 동결건조 트롬빈의 순차적 적용, 이어서 액체 피브린 실란트 제형의 투여를 이용하면 발견되지 않았다.
- [0072] 또한, 액체 피브린 실란트 제형의 적용 (예를 들어, 점막 층 상에의 알부민 분말과 같은 단백질 분말의 적용에 의해) 이전에 점막을 건조시키는 것은 액체 피브린 실란트 제형의 밀봉 성능을 증가시키지 못함이 발견되었다.
- [0073] 이들 발견은 점막 조직 또는 기타 습성 조직 상에 밀봉 강도가 더욱 큰 피브린 매트릭스를 생성하는 개선된 방법의 개발을 고무시켰다. 본 발명에 따라 생성된 피브린 매트릭스는 점막 조직 또는 기타 습성 조직에서, 예를 들어 끊임없이 운동 중인 조직, 예를 들어 위장 조직 및 폐 조직에서 결합 밀봉에 사용될 수 있다.

- [0074] 용어 "조직"은 특정 기능을 수행하는 데 있어서 일치된 세포들 및/또는 세포 구성요소들의 회합체를 말한다. 조직 중 세포는 전부가 한 가지 유형이거나, 전부가 한 가지 초과 유형일 수 있다. 조직은 세포를 살아있는 유기체에서 조직과 유사한 방식으로 기능하도록 성장시킨 인공 조직일 수 있다. 조직은 인체 조직 또는 동물 조직일 수 있다.
- [0075] 용어 "피브린 매트릭스"는 고형 피브린 실란트 블렌드 및 액체 피브린 실란트 제형의 순차적 적용에 의해 수득되는 피브린을 말한다.
- [0076] 용어 "고형 피브린 실란트 블렌드의 유효량"은 습성 조직 상에서의 수화 후 피브린 응괴를 형성하는 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 고형 성분의 양 및 피브리노겐을 포함하는 고형 성분의 양을 말한다.
- [0077] 용어 "액체 피브린 실란트 제형의 유효량"은 액체 성분들의 혼합 후 피브린 응괴 형성을 허용하는 단백질 분해 효소를 포함하는 액체 성분 (이것이 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있음)의 양 및 피브리노겐을 포함하는 액체 성분의 양을 말한다.
- [0078] 기작에 구애됨이 없이, 일단 고형 실란트 블렌드가 습성 조직 상에 적용되면 이것은 수화되는 것으로 보인다. 수화된 고형 실란트 블렌드는 습성 조직에 존재하는 액체를 고형화하고 상기 조직에 매우 근접하여 피브린 층을 형성함에 의해 조직을 프라이밍한다. 이어서 액체 피브린 실란트 제형은 이러한 프라이밍된 조직 상에 적용되며 그 결과로서 밀봉 강도 및 내구성이 향상된다.
- [0079] 유리하게는, 스펀지 또는 거즈를 필요로 하지 않고서 표면 상에서 습성인 것을 고형화하면 수술 후 유착 형성의 위험이 감소될 수 있다.
- [0080] 용어 "유착"은 조직 및/또는 기관 사이의 비정상적인 부착을 말한다. 전형적으로, 유착은 수술 처치 후, 예를 들어 조직의 조악한 조작 후; 조직 표면 건조 후; 및/또는 수술 부위에서의 반응성 외래체 (예를 들어, 봉합 재료, 활석 분말 또는 린트 잔사)의 존재로 인하여 일어난다.
- [0081] 용어 "점막" 또는 "점막 조직"은 몇몇 기관 및 체강을 커버하는 습성 조직을 말한다. 전형적으로, 점막 조직은 점액성 물질을 분비한다. 점막 조직의 예에는 구강 점막, 예를 들어 협측 및 설하 점막; 비점막; 안점막; 생식기 점막; 직장 점막; 귀점막; 폐점막; 기관지 점막; 위점막; 장점막; 후점막; 자궁 점막; 및 식도 점막이 포함되지만, 이에 한정되지 않는다. 용어 "점막"은 뮤신, 당단백질의 알부민, 및/또는 점성에 기여하는 임의의 기타 성분이 풍부한 물질과 같은 습윤/습성 그리고 점성인 물질을 말한다.
- [0082] 용어 "기타 습성 조직"은 습윤 조직을 말한다. 조직은 체액, 예를 들어 혈청, 혈청 침윤물, 혈액 및 염증액에 의해 및/또는 다른 유체/액체, 예를 들어 인산염 완충 염수(phosphate buffered saline; PBS)에 의해 습윤될 수 있다. 본 발명의 일 실시 형태에서, 유체는 응고 인자를 함유하지 않는다 (예를 들어, 피브리노겐을 함유하지 않는다).
- [0083] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "결함"은 예를 들어 조직에서의 인열(tear), 애퍼처(aperture), 보어(bore), 열구(fissure), 천자(puncture), 구멍(hole), 균열(crack), 개구(opening), 슬릿(slot), 갭(gap), 천공(perforation), 파쇄(fracture), 천자 또는 파열, 누출을 말한다. 예를 들어, 결함은 문합 절차 후에 형성될 수 있다. 결함은 선천적인 것, 예를 들어 헤르니아; 수술, 봉합 및/또는 스테이플링 후 형성된, 신체 관련 병상, 예를 들어 혈청종, 헤르니아, 감염, 염증에서 생긴 병태; 또는 비신체 인자, 예를 들어 사고, 상해에서 생긴 병태일 수 있다.
- [0084] 용어 "누출"은 예를 들어 조직에서의 인열, 애퍼처, 보어, 열구, 천자, 구멍, 균열, 개구, 슬릿, 갭, 천공, 파쇄, 천자 또는 파열을 통한 물질, 예를 들어 유체, 점성 물질 및/또는 공기의 유출 또는 통과를 말한다.
- [0085] 용어 "문합"은 전형적으로 기관 또는 조직의 2개 이상의 섹션을 재연결하는 데 사용되는 수술 처치를 말한다. 상기 처치는 요로(요도), 목(식도)의 절개 후 또는 장 수술에서 사용될 수 있다. 상기 처치는 또한 질환에 걸린 조직(예를 들어, 염증이 생긴, 암성의 또는 달리 병리학적인 조직, 예를 들어 궤양성 질환)의 적출 후에 사용될 수 있다.
- [0086] 또한 본 발명은 (i) (a)-피브리노겐 성분 및 (b)- 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소 성분을 포함하는 고형 성분들을 포함하는 용기(들); 및 (ii) 적어도 하나의 분리된 용기는 액체, 냉동 또는 고형 피브리노겐 성분을 포함하며, 적어도 두 번째의 분리된 용기는 피브리노겐과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 액체, 냉동 또는 고형 단백질 분해 효소 성분을 포함하는 적어도 2개의 분리된 용기를 포함하는

키트에 관한 것이다.

- [0087] 요소 (i)의 (a) 및 (b) 성분은 분리된 용기에 또는 블렌드로서 동일한 용기에 있을 수 있다. 일 실시 형태에서, (ii)의 상기 적어도 2개의 분리된 용기가 고형 성분들을 포함하면, (a) 및 (b) 성분은 블렌드로서 동일한 용기에 있다. 다른 실시 형태에서, (ii)의 상기 적어도 2개의 분리된 용기가 고형 성분들을 포함하면, 상기 고형 성분들의 수화를 위한 수성 용액을 포함하는 적어도 하나의 용기가 포함된다.
- [0088] 특히 지혈용으로 의도된 상업적 피브린 키트와는 대조적으로, 본 발명의 키트는 혈관이 풍부하지 않거나, 소량이거나, 박탈되거나, 또는 결여된 조직에서 누출부를 밀봉하는 데 또한 적합하다.
- [0089] 혈관이 풍부하지 않거나, 혈관이 소량이거나, 혈관이 박탈되거나, 또는 혈관이 결여된 조직의 비제한적 예로는 경막, 방광, 눈, 폐 및 담낭이 있다.
- [0090] 본 발명의 일 실시 형태에서, 키트는 혈관이 풍부하지 않거나, 혈관이 소량이거나, 혈관이 박탈되거나, 또는 혈관이 결여된 조직에서 누출부를 밀봉하기 위한 것이다.
- [0091] 용어 "지혈"은 에이전트가 손상된 혈관으로부터의 출혈을 중단시키거나 또는 혈액이 혈관 내에 계속하여 함유되게 하는 것에 기여하는 능력을 말한다.
- [0092] 또한, 특히 손상된 혈관으로부터의 출혈을 중단시키기 위한 것 및/또는 혈액이 혈관 내에 계속하여 함유되게 하는 것을 위한 것으로 의도된 상업적 피브린 키트와는 대조적으로, 본 발명의 키트는 비 혈액 또는 혈장 물질, 예를 들어 뇌척수액(cerebrospinal fluid; CSF), 공기, 장 내용물, 담즙, 림프액 및 유리의 누출부의 밀봉에 또한 적합하다.
- [0093] 일 실시 형태에서, 본 발명의 피브린 매트릭스 또는 키트는 삼출성 또는 비출혈성 조직에서의 누출부의 밀봉을 위한 것이다. 용어 삼출성은 예를 들어 경증 출혈을 말한다. 용어 삼출성은 상대적으로 적은 부피의 혈액이 상대적으로 낮은 속도로 손실되는 출혈의 경우를 포함한다.
- [0094] 본 키트는 사용 설명서를 또한 함유할 수 있다. 본 키트는 조직 또는 기관을 절단 및/또는 스테이플링 또는 봉합하는 수단, 예를 들어 기계적 또는 수동적 절단 및 스테이플링 장치를 또한 포함할 수 있다. 용기는 고형 또는 액체 성분을 함유하는 바이알, 사전 충전 시린지, 작은 바틀(bottle), 튜브 또는 임의의 기타 적합한 용기일 수 있다. 용기는 상이한 크기의 것일 수 있으며, 상이한 부피/중량의 조성물을 함유할 수 있고, 예를 들어, 각각의 액체 성분의 부피는 약 10 ml 이하일 수 있으며, 각각의 고체 성분은 분말 중량이 약 3 g 이하일 수 있다. 선택적으로, 고형 및 액체 성분의 적용을 위한 어플리케이션이 키트에 또한 포함될 수 있다.
- [0095] 본 발명에 따른 피브린 매트릭스 또는 키트는 임의의 치료적 목적에 사용될 수 있다. 용어 "임의의 치료적 목적"은 대상에 있어서 임의의 치유적 또는 예방적 치료를 말한다. 치료적 목적의 예에는 조직 또는 기관, 예를 들어 뼈에 형성된 보어 구멍의 밀봉; 혈관에서의 문합; 조직 부분들, 예를 들어 연조직 부분들의 연결; 경막 결함, 예를 들어 경막 주사 후 인열 및 누출, 열구 또는 균열의 치료 또는 예방; 출혈의 치료 또는 예방; 폐 절제 후와 같은 공기 누출의 치료 또는 예방; 장 천공 후 결함의 치료 또는 예방; 예를 들어 자궁, 식도, 위, 췌장, 췌관, 담낭, 담관, 장 (소장 및 대장을 포함함), 및 직장에서의 수행되는 문합 절차 후의 결함의 치료 또는 예방; 임의의 조직, 예를 들어 자궁, 식도, 위, 췌장, 췌관, 담낭, 담관, 장 (소장 및 대장을 포함함), 및 직장에서의 수술 후 누출의 치료 또는 예방; 예를 들어 본 발명에 따른 피브린 매트릭스를 스테이플/봉합 선과 같은 결함의 적어도 일부분 상에 적용함에 의한 스테이플 또는 봉합 선에서의 수술 후 누출의 발생의 예방 또는 감소; 예를 들어 헤르니아 수술 동안의 보철물의 강한 부착; 스테이플/봉합 선 강화; 폐포 누출의 예방 또는 감소; 신장 결함의 치료 또는 예방; 누공의 치료 또는 예방; 신장 결함, 예를 들어 관통 심장 창상의 치료 또는 예방; 혈관 이식편 보철물의 강화; 및 뇌척수액 누출의 치료 또는 예방이 포함되지만, 이에 한정되지 않는다.
- [0096] 본 발명의 일 실시 형태에서, 치료적 용도는 혈관이 풍부하지 않거나 또는 혈관이 결여된 조직에서의 누출부의 밀봉을 위한 것이다.
- [0097] 본 발명의 다른 실시 형태에서, 치료적 용도는 스테이플/봉합 선의 강화를 위한 것이다.
- [0098] 본 발명의 피브린 매트릭스는 스테이플 또는 봉합사를 필요로 하지 않고서 결함을 밀봉하는 데 사용될 수 있다.
- [0099] 용어 "스테이플 또는 봉합사"는 스테이플, 클립, 핀, 후크, 봉합사 등과 같은 그러나 이에 한정되지 않는, 창상 폐쇄에 사용되는 임의의 체결구를 포함한다.
- [0100] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "결함의 적어도 일부분"은 결함보다 더 작거나, 그와 동일하거나, 또는

그보다 더 큰 영역을 말한다. 예를 들어, 상기 영역은 개시된 백분율들 사이의 임의의 범위를 포함하여 결합의 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100%이거나 또는 그보다 더 클 수 있다. 본 발명의 일 실시 형태에서, 본 발명에 따른 피브린 매트릭스 또는 키트는 스테이플/봉합 선 강화에 사용된다. 예를 들어, 외과 수술 동안 대상에서 형성된 10 mm 절개부가 먼저 봉합되거나 또는 스테이플된다. 강화를 위해서는, 100 mg의 고탄성 피브린 실란트 블렌드(1000 IU의 트롬빈/70 mg의 피브리노겐)가 스테이플/봉합 선 상에 적용되고 이어서 액체 피브린 실란트 제형이 스프레이된다. 액체 피브린은 1000 IU/ml의 트롬빈 및 70 mg/ml의 피브리노겐의 2 ml의 총 부피 (두 성분 사이의 1:1의 비)로 스프레이함으로써 적용된다.

[0101] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "대상"은 인간을 비롯하여 포유류 기원의 동물을 포함한다. 일 실시 형태에서, 대상은 환자이다.

[0102] 일 태양에서, 본 발명은 피브린 매트릭스를 습성 조직 상에 적용하는 방법을 제공한다. 본 방법은 하기 단계, 즉 유효량의 고탄성 피브린 실란트 블렌드를 습성 조직 상에 적용하는 단계; 및 고탄성 피브린 실란트 블렌드의 적어도 일부분 위에 유효량의 액체 피브린 실란트 제형을 적용하는 단계를 포함하고, 여기서 고탄성 피브린 실란트 블렌드 및 액체 피브린 실란트 제형의 유효량은 액체 피브린 실란트 제형 또는 고탄성 피브린 실란트 블렌드 중 어느 하나의 유효량의 적용과 관련하여 밀봉 강도가 향상된 피브린 매트릭스를 습성 조직 상에 생성하기에 충분하다. 유리하게는, 액체 피브린 실란트 전에 고탄성 피브린 실란트를 적용하는 것은 액체 피브린 실란트의 밀봉 강도를 향상시킨다.

[0103] 용어 "습성 조직"은 습성 조직을 말하며, 예를 들어 점막, 점막 조직 및 기타 습성 조직을 포함한다. 본 발명의 다른 실시 형태에서, 조직은 무피브리노겐 유체에 의해 축축해진다. 용어 "무피브리노겐"은 예를 들어 1.5 g/L 미만의 피브리노겐 농도를 말한다.

[0104] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "고형 피브린 실란트 블렌드의 적어도 일부분 위에"는 고탄성 피브린 실란트 성분(들)이 적용된 면적과 비교하여 더욱 작은 표면적으로부터 더욱 큰 표면적까지 변화하는 영역을 말한다. 예를 들어, 액체 피브린 실란트 제형은 고탄성 성분(들)이 적용된 표면 영역의 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100%에 적용될 수 있으며, 이는 개시된 백분율들 사이의 임의의 범위를 포함한다. 대안적으로, 액체 피브린 실란트 제형은 고탄성 성분(들)이 적용된 표면 영역, 예를 들어 전체적인 습성 조직 또는 기관보다 더 큰 표면 영역에 적용될 수 있다.

[0105] 본 출원의 목적상, 용어 "액체 피브린 실란트 제형"은 피브린 실란트의 형성에 필요한 적어도 2가지의 분리된 액체 성분을 말한다. 적어도 하나의 분리된 성분은 피브리노겐을 포함하며, 적어도 두 번째의 분리된 성분은 피브리노겐 (또는 피브리노겐 함유 제형)과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질을 분해 효소를 포함한다. 상기 적어도 2가지의 분리된 성분이 표적 부위 내로 투여될 때, 예를 들어 주사될 때, 액체 성분들은 접촉하게 되어, 혈액 응고 캐스케이드 과정의 마지막 단계를 모방하여 잘 알려진 응괴, 피브린을 형성한다.

[0106] 전형적으로, 용어 "연조직"은 다른 구조체들 및 기관들을 연결하고/하거나, 지지하고/하거나, 감싸고/감싸거나 둘러싸는 신체의 구조체를 말한다. 연조직은 결합 조직 또는 비 결합 조직일 수 있다. 연조직의 예에는 건, 인대, 섬유 조직, 활막, 근막, 근육, 근육벽, 신경, 장, 지방 조직, 간, 피부, 비장 및 혈관이 포함되지만, 이에 한정되지 않는다.

[0107] 본 출원의 목적상, 용어 "고형 피브린 실란트 블렌드"는 피브린 실란트의 형성을 위한 전구체를 포함하는 고탄성 조성물을 말한다. 이 조성물은 고탄성 피브리노겐 및 피브리노겐 (또는 피브리노겐 함유 제형)과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 고탄성 단백질을 분해 효소를 포함한다. 고탄성 블렌드는 또한 알부민과 같은 다른 성분들을 포함할 수 있다. 단백질을 분해 효소는 뱀 독으로부터 수득가능한 물질 및/또는 트롬빈일 수 있다. 본 발명의 일 실시 형태에서, 고탄성 조성물은 동결건조 형태의 피브리노겐 및 트롬빈 성분을 포함한다. 다른 실시 형태에서, 트롬빈 및 피브리노겐 함유 용액을 예를 들어 동결건조에 의해 별도로 건조시켜 전체 고탄성 피브린 실란트 블렌드 중 이들의 각각의 고탄성 성분들을 생성한다. 본 발명의 다른 실시 형태에서, 생성된 고탄성 물질은 초미세 밀 또는 냉각 블레이드 밀을 이용하여 또는 예를 들어 스페큘라의 사용에 의해 체에 고탄성 물질을 통과시킴으로써 수동적으로 분말로 분쇄시킨다. 본 발명의 일 실시 형태에서, 상기 물질은 스페큘라를 이용하여 200 μ m 체를 통하여 분쇄시켰다. 본 발명의 다른 실시 형태에서, 고탄성 물질은 본 명세서에 참고로 포함된 국제특허 공개 WO 2008/053475호에 개시된 방법을 이용하여 분말로 분쇄된다.

[0108] 밀링 후 고탄성 물질의 입자 크기는 1000 μ m 미만일 수 있다. 본 발명의 일 실시 형태에서, 밀링 후 고탄성 물질의 입자 크기는 200 μ m 이하이다. 입자 크기 분포는 10 내지 100 μ m의 범위 또는 10 내지 60 μ m의 범위일 수 있다.

고형 단백질 분해 효소 및 고형 피브리노젠은 함께 제공될 수 있다. 고형 전구체는 별도로 제공되며, 원하는 표면 상에 동시에 또는 연이어서 적용된다. 본 발명의 일 실시 형태에서, 고형 단백질 분해 효소 및 고형 피브리노젠은 블렌드로서 공급된다.

[0109] 또한 본 발명은 습윤 표면 상에 피브린 매트릭스를 제조하는 방법을 제공한다. 본 방법은 피브리노젠을 포함하는 고형 성분을 제공하는 단계; 피브리노젠과 반응할 때 피브린을 형성할 수 있는 단백질 분해 효소를 포함하는 고형 성분을 제공하는 단계; 액체 피브린 실란트 제형을 제공하는 단계; 유효량의 상기 고형 성분들을 습성 표면의 적어도 일부분 상에 적용하는 단계; 및 고형 성분들의 적어도 일부분 위에 유효량의 액체 피브린 실란트 제형을 적용하는 단계를 포함한다.

[0110] 용어 "습윤 표면"은 습성 표면을 말한다. 상기 표면은 점막, 점막 조직 및/또는 다른 습성 조직일 수 있다. 상기 표면은 체액, 예를 들어 혈청 침윤물, 혈액 및 염증액에 의해 및/또는 비 체액, 예를 들어 PBS에 의해 습윤될 수 있다.

[0111] 습윤 표면은 환자의 신체 부분의 표면, 예를 들어 액체 또는 공기를 함유하는 임의의 조직일 수 있다. 용어 "표면"은 자궁, 질 및 난소를 포함하는 생식기 부위; 폐; 항문; 비장; 간; 경막; 신장; 식도; 위; 췌장; 췌관; 담낭; 담관; 장 (소장 및 대장을 포함함); 및 심근을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 표면은 출혈성 또는 비출혈성 부위일 수 있다. 본 발명의 일 실시 형태에서, 표면은 비출혈성 부위이다. 본 발명의 다른 실시 형태에서, 표면은 무 응고 인자 (예를 들어, 무 피브리노젠) 유체에 의해 습윤된다. 또한 표면은 임의의 표면, 예를 들어 작업면, 보철 장치의 표면일 수 있다.

[0112] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "습윤 표면의 적어도 일부분"은 습윤 표면보다 더 작거나, 그와 동일하거나, 또는 그보다 더 큰 영역을 말한다. 예를 들어, 상기 영역은 개시된 백분율들 사이의 임의의 범위를 포함하여 표면의 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100%이거나 또는 그보다 더 클 수 있다.

[0113] 용어 "고형 성분(들)의 적어도 일부분 위에"는 고형 피브린 실란트 성분(들)이 적용된 면적과 비교하여 더욱 작은 표면적으로부터 더욱 큰 표면적까지 변화하는 영역을 말한다. 예를 들어 액체 피브린 실란트 제형은 고형 성분(들)이 적용된 표면 영역의 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100%에 적용될 수 있으며 이는 개시된 백분율들 사이의 임의의 범위를 포함한다. 대안적으로 액체 피브린 실란트 제형은 고형 성분(들)이 예를 들어 전체 표면에 적용된 경우보다 더 큰 표면 영역에 적용될 수 있다.

[0114] 고형 피브린 블렌드 중 고형 성분들은 일단 수화되면, 예를 들어 습성 조직과 접촉시에 반응하여 피브린 실란트를 형성한다. 전형적으로, 피브리노젠 제제는 용해도가 상대적으로 낮으며, 점막 조직은 상대적으로 낮은 액체 함량을 나타낸다. 유리하게는, 사용되는 고형 피브린 실란트 블렌드의 피브리노젠 성분은 조직 상에의 적용시에 신속하게 용해되고/되거나 수화될 수 있다.

[0115] 본 발명에 따르면, 피브리노젠 농도가 20 mg/ml인 피브리노젠 함유 용액의 동결건조 단계에 의해 제조되는 고형 피브리노젠은 10분 미만의 시간 후에 실온에서 수성 용액 중에 재구성됨이 발견되었다. 본 발명의 일 실시 형태에서, 고형 피브린 실란트 블렌드의 피브리노젠 성분은 피브리노젠 농도가 150 mg/ml 이하, 예를 들어 85, 25 mg/ml 이하 또는 20 mg/ml 미만인 피브리노젠 함유 용액으로부터 제조된다.

[0116] 고형 피브린 실란트 블렌드는 액체 피브린 실란트 제형의 건조에 의해 제조될 수 있다. 당업계에 공지된 임의의 건조 절차가 이용될 수 있으며, 이는 동결건조(냉동 건조) 또는 스프레이 건조 절차를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 건조는 다양한 건조 장비, 예를 들어 습도 제어 챔버, 건조 오븐, 건조 터널, 진공 건조기를 사용하여, 또는 응괴 형성에 영향을 주지 않는 임의의 다른 적합한 방법으로 상이한 온도에서 수행될 수 있다.

[0117] 본 명세서 전체에 걸쳐 사용되는 바와 같이, 용어 "고형"은 건조 조성물의 총 중량을 기준으로 5 중량% 미만, 예를 들어 4, 3, 2, 1 중량% 미만이거나 또는 그보다 더 낮은 액체 내용물을 포함하는 조성물을 말한다. 용어 "고형"은 용어 "건조" 또는 "분말"과 상호교환가능하다.

[0118] 고형 피브린 실란트는 디스펜서에 의해 조직 상에 적용될 수 있다. 디스펜서의 예는 본 명세서에 참고로 포함된 미국 특허 제1,776, 489호 및 미국 특허 제7,455,248호에 예시되어 있다.

[0119] 용어 "개선된 밀봉 강도"는 예를 들어 액체 실란트 단독에 의해 얻어지는 밀봉 강도와 비교하여 약 1.2배 이상 더 높은 밀봉 강도를 말한다. 본 발명의 일 실시 형태에서, 밀봉 강도는 액체 피브린 실란트 제형의 적용에 비하여 약 1.7배 더 높다. 밀봉 강도는 예를 들어 상기에 기재된 버스트 시험에 의해 측정될 수 있다.

[0120] "1.2배 더 높은 향상된 밀봉 강도"는 액체 피브린 실란트 제형의 적용에 의해 성취되는 밀봉 강도보다 20% 더

높은 밀봉 강도를 말한다. "1.7배 더 높은 향상된 밀봉 강도"는 액체 피브린 실란트 제형의 적용에 의해 성취되는 밀봉 강도보다 70% 더 높은 밀봉 강도를 말한다.

[0121] 단백질 분해 효소는 뱀 독으로부터 수득가능한 물질 및/또는 트롬빈일 수 있다. 액체 성분은 사용할 때까지 (예를 들어 -18°C 이하의 온도에서) 냉동되거나 또는 예를 들어 장기간 보관을 위하여 동결건조에 의해 건조될 수 있다. 건조된 성분들은 사용 전에 다양한 부피의 약학적으로 허용가능한 담체의 첨가에 의해 재구성될 수 있다. 용어 "약학적으로 허용가능한 담체"는 인간 또는 기타 동물용으로 적합한 임의의 희석제 또는 비히클을 말한다. 담체는 인산염 완충 염수(PBS), 염수, 염화나트륨 용액, 염화칼슘 용액, 락테이트 링거액(lactated ringer; LR), 보통 염수 중 5% 텍스트로스, 및 주사용수와 같은 그러나 이에 한정되지 않는, 당업계에서 공지된 임의의 담체로부터 선택될 수 있다. 동결건조 피브리노젠은 사용 전에 살균수에 의해 재구성될 수 있다. 동결건조 트롬빈은 사용 전에 살균 염화칼슘 용액 또는 물, 예를 들어 증류수에 의해 재구성될 수 있다. 재구성된 동결건조 피브리노젠 및 트롬빈은 액체 피브린 실란트 제형에서 사용될 수 있으며, 이는 그 후 조합되어 피브린을 형성할 수 있다. 상기 두 성분은 원하는 부위에 동시에 또는 연이어서 적용될 수 있다.

[0122] 본 발명의 일 실시 형태에서, 피브리노젠을 포함하는 성분은 혈장으로부터 유래된 단백질의 용액인 생물학적 활성 성분(biologically active component; BAC)으로 이루어진다. 이 성분은 트라넥삼산 및 아르기닌 또는 라이신 또는 아르기닌과 라이신의 혼합물, 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염을 추가로 포함할 수 있다.

[0123] BAC는 한랭침전물, 예를 들어 농축된 한랭침전물로부터 유래될 수 있다. 용어 "한랭침전물"은 전혈로부터 제조되는 냉동 혈장으로부터 얻어지는 혈액 성분을 말한다. 한랭침전물은 냉동된 혈장이 저온에서, 전형적으로 $0-4^{\circ}\text{C}$ 의 온도에서 해동되어 피브리노젠 및 인자 XIII을 함유하는 침전형 상청액을 형성할 때 얻어질 수 있다. 침전물은 예를 들어 원심분리에 의해 수집될 수 있다. 전형적으로, BAC는 인자 VIII, 피브로넥틴, 폰 빌레브란트 인자(von Willebrand factor; vWF), 비트로넥틴 등을 포함하며, 이는 예를 들어 각각이 본 명세서에 참고로 포함된 미국 특허 제6,121,232호 및 상응하는 국제특허 공개 WO 98/33533호에 기재된 바와 같다.

[0124] BAC는 안정제, 예를 들어 아르기닌 염산염을 포함할 수 있다. 전형적으로, BAC 중 피브리노젠의 양은 약 40 내지 약 60 mg/ml의 범위이다. BAC 용액 중 트라넥삼산의 양은 약 80 내지 약 110 mg/ml일 수 있다. 아르기닌 염산염의 양은 약 15 내지 약 25 mg/ml일 수 있다.

[0125] 선택적으로, 상기 용액은 생리학적으로 양립가능한 pH 값으로 완충된다. 완충제는 글라이신, 시트르산나트륨, 염화나트륨, 염화칼슘 및 비히클로서 주사용수로 구성될 수 있다. 글라이신은 조성물 중에 약 6 내지 약 10 mg/ml의 양으로 존재할 수 있으며, 시트르산나트륨은 약 1 내지 약 5 mg/ml의 범위일 수 있고, 염화나트륨은 약 5 내지 약 9 mg/ml의 범위일 수 있으며, 염화칼슘은 약 0.1-0.2 mg/ml의 농도일 수 있다.

[0126] 다른 실시 형태에서, BAC 조성물 중 플라스미노젠 및 플라스민의 농도는 예를 들어 각각이 본 명세서에 참고로 포함된 미국 특허 제7,125,569호 및 상응하는 국제특허 공개 WO 02/095019호에 기재된 방법을 이용하여, 예를 들어 $5\text{ }\mu\text{g/ml}$ 이하의 플라스미노젠과 같이 $15\text{ }\mu\text{g/ml}$ 이하로 저하된다.

[0127] 피브린 실란트 제형은 응괴의 형성을 고무시키는 성분들, 예를 들어 Ca^{2+} , 인자 VIII, 피브로넥틴, 비트로넥틴, 폰 빌레브란트 인자(vWF)를 포함하는 것이 또한 가능한데, 이는 별도의 성분으로 제공되거나 또는 액체 성분들과 함께 제형화될 수 있다.

[0128] 액체 피브린 실란트 제형은 에어 스프레이를 이용하거나 이용하지 않고서, 예를 들어 점하에 의해 조직 또는 기타 기재 또는 작업면 상에 직접적으로 실란트를 배출하는 디스펜서를 사용하여 조직 상에 적용될 수 있다. 본 발명의 일 실시 형태에서, 실란트는 103.4 kPa(15 PSI)의 기압으로 스프레이된다. 조직 실란트 디스펜서의 예는 모두가 본 명세서에 참고로 포함된 미국 특허 제4,631,055호, 미국 특허 제4,846,405호, 미국 특허 제5,116,315호, 미국 특허 제5,582,596호, 미국 특허 제5,665,067호, 미국 특허 제5,989,215호, 미국 특허 제6,461,361호 및 미국 특허 제6,585,696호, 미국 특허 제6,620,125호 및 미국 특허 제6,802,822호와, 국제특허 공개 WO 96/39212호, 국제특허 공개 WO 2007/059801호, 및 국제특허 공개 WO 2010/095128호에 예시되어 있다.

[0129] 액체 피브린 실란트 제형은 외과 수술에서 적용 전에 적어도 2가지의 성분을 포함한다. 일 실시 형태에서, 액체 피브린 실란트 제형은 두 액체 성분을 포함하며, 하나의 성분은 피브리노젠을 포함하고, 인간 트롬빈과 같은 단백질 분해 효소를 포함하는 두 번째 성분에 노출시에 피브린 응괴가 형성된다. 외과 수술 동안, 분리된 액체 성분들, 예를 들어 2가지의 액체 성분은 예를 들어 동시에 또는 연이어서 비워져서 두 성분이 혼합되게 하여 피브린이 형성되게 하는 두 시린지에 의해 적용된다.

- [0130] 본 발명의 일 실시 형태에서, 단백질 분해 효소는 활성이 약 2 내지 약 4,000 IU/ml인 인간 트롬빈이다. 트롬빈의 응고 활성은 예를 들어 유럽 약전 분석((0903/1997) 절차에 따라 직접적으로 및/또는 경사면 상에서의 이동 길이의 측정에 의한 것과 같이 간접적으로 (미국 특허 공개 제2010/0203033호에 기재된 바와 같이 "점적 시험") 또는 당업계에 공지된 임의의 다른 방법에 의해 측정될 수 있다. 피브리린 글루는 응괴성 피브리노겐을 기반으로 한 정의 대신 그의 응괴성 단백질 함량에 의해 정의될 수 있음이 숙련자에 의해 이해된다.
- [0131] 본 발명의 다른 실시 형태에서, 피브리노겐 및 단백질 분해 효소 성분은 동일한 부피의 두 성분이 혼합되고 각각의 창상 부위에서 환자에 적용되는 그러한 방식으로 적용된다. 물론, 본 발명의 피브리린 매트릭스는 외과 수술 동안 그리고 또한 지혈되어야 하는 다른 상황에서 이용될 수 있음이 이해되어야 한다.
- [0132] 고형 피브리린 실란트 블렌드는 임의의 원하는 범위의 비로 고형 피브리노겐 및 고형 트롬빈을 혼합함으로써 제조될 수 있다. 예를 들어, 고형 피브리노겐 성분을 피브리노겐 농도가 40-85 mg/ml인 피브리노겐 함유 용액으로부터 제조하고, 고형 트롬빈 성분을 트롬빈 농도가 약 800-1200 IU/ml인 트롬빈 함유 용액으로부터 제조하였을 때, 상기 두 고형 성분은 각각 1:1, 3.2:1, 6.4:1 등의 비로 혼합될 수 있다. 혼합은 습도 제어 영역 (25%의 상대 습도, 37°C의 온도)에서 수행될 수 있다. 혼합된 분말은 사용할 때까지 폐쇄된 챔버에서 유지될 수 있다.
- [0133] 피브리노겐 함유 용액은 건조 단계 전에 예를 들어 25 mg/ml 또는 20 mg/ml의 피브리노겐을 함유하도록 희석될 수 있다. 두 성분의 혼합은 조직 상에 고형 피브리린 실란트 블렌드를 적용하기 전에 수행되거나 또는 이는 원하는 비로 즉각적으로 조직 상에 적용될 수 있다.
- [0134] 조직 상으로의 액체 피브리린 실란트 제형의 적용 동안, 피브리노겐 함유 성분 및 트롬빈 함유 성분은 임의의 원하는 범위의 비로 적용될 수 있다. 예를 들어, 피브리노겐 성분의 농도가 40-85 mg/ml이고 트롬빈 농도가 약 800-1200 IU/ml일 때, 상기 두 성분은 각각 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 등의 비로 혼합될 수 있다. 본 발명의 일 실시 형태에서, 액체 피브리린 실란트의 성분들은 1:1의 비로 적용된다.
- [0135] 본 발명의 피브리린 매트릭스는 치료적 유효량으로 적용될 수 있다. 용어 "치료적 유효량"은 질환, 장애 또는 병태를 예방 또는 치료하는 데 필요한 용량을 말한다. 유효 용량은 대상의 연령 및 체중, 질환 및 그의 중증도 (예를 들어, 절개부 크기) 및 당업자에 의해 인식될 수 있는 기타 인자에 따라 변화될 수 있다. 예를 들어, 고형 피브리린 실란트 블렌드는 0.1 내지 100 mg/cm²의 범위의 중량, 예를 들어 0.5, 1, 4, 8, 16, 30, 60 또는 100 mg/cm²의 중량으로 적용될 수 있다. 액체 피브리린 실란트 제형은 약 0.01 내지 약 1 ml/cm²의 부피 범위로, 예를 들어 0.01, 0.05, 0.5 또는 1 ml/cm²의 부피로 적용될 수 있다.
- [0136] 일 실시 형태에서, 10 mm 절개부의 경우, 100 mg의 고형 피브리린 실란트 블렌드 (1000 IU의 트롬빈/70 mg의 피브리노겐)를 분배하고, 이어서 액체 피브리린 실란트 제형을 스프레이함으로써 6 cm² 영역 상에서 순차적 적용이 수행된다. 액체 제형은 1000 IU/ml의 트롬빈 및 70 mg/ml의 피브리노겐의 2 ml의 총 부피 (두 성분 사이의 1:1의 비)로 스프레이함으로써 적용된다.
- [0137] 본 발명의 방법에서 액체 피브리린 실란트 제형을 고체 형태로 제공하고 재구성한 후 적용할 수 있다. 재구성은 다양한 부피의 약학적으로 허용가능한 담체의 첨가에 의해 수행될 수 있다. 용어 "재구성"은 고형물을 액체 형태로 전환시키는 과정을 말한다. 재구성된 생성물은 액체를 이전에 제거한 건조 고형물에 수성 액체를 첨가함으로써 만들어지는 액체 생성물일 수 있다.
- [0138] 대안적으로, 액체 피브리린 실란트 제형을 예를 들어 -18°C 이하의 온도에서 냉동된 형태로 제공하고 해동시킨 후 적용할 수 있다. 해동은 액체 성분들을 포함하는 용기들을 실온(20°C 내지 25°C), 2 내지 8°C의 온도 또는 37°C의 온도에서 인큐베이션함으로써 수행될 수 있다. 다른 실시 형태에서, 액체 성분들은 동시에 적용된다. 또 다른 추가의 실시 형태에서, 액체 성분들은 연이어서 적용된다.
- [0139] 고형 성분은 액체 형태로 제공되며, 예를 들어 동결건조 (냉동 건조) 또는 스프레이 건조 절차에 의해 그의 적용 전에 건조될 수 있다. 대안적으로, 고형 성분은 냉동된 형태로 제공되고 건조된 후 적용될 수 있다. 냉동된 성분들은 해동되고 이어서 건조될 수 있거나, 또는 예를 들어 승화에 의해 냉동된 것으로부터 고형물로 직접적으로 전환될 수 있다.
- [0140] 고형 성분은 예를 들어 비수성 액체를 포함하는 임의의 적합한 용매, 예를 들어 하이드로플루오로카본(HFE) 또는 고형 성분이 용해되지 않는 임의의 다른 담체 유체, 예를 들어 알코올, 에테르 또는 기타 유기 유체 중 현탁물로 제공될 수 있다. 고형 성분들 및/또는 액체 성분들은 본 발명의 방법에서 동시에 또는 연이어서 적용될 수 있다. 일 실시 형태에서, 고형 성분들은 블렌드로 제공되며, 동시에 적용된다. 다른 실시 형태에서, 고형 성

분들은 별도의 용기 중에 제공되며, 동시에 적용된다. 다른 추가의 실시 형태에서, 고형 성분들은 별도의 용기 중에 제공되며, 연이어서 적용된다.

[0141] 본 발명의 피브린 매트릭스는 개복 수술, 및 복강경 처치에서와 같은 최소 침습 시술(minimal invasive procedure; MIS)을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 결함의 치료 또는 예방을 위하여 외과 의사가 사용하는 임의의 수단에 의해 적용될 수 있다. 본 발명의 일 실시 형태에서, 절개가 수술 부위에서 이루어지며, 피브린 매트릭스는 당해 결함 상에 적용된다. 다른 실시 형태에서, 절개가 수술 부위에서 이루어지며, 절개부는 스테이플링되거나 또는 봉합되고, 피브린 매트릭스가 스테이플 또는 봉합 선 상에 적용된다. 환자는 국소, 국부 또는 전신 마취를 받을 수 있다.

[0142] 용어 "개복 수술"은 외과 의사가 상대적으로 큰 절개에 의해 수술 부위에 직접적으로 접근하는 수술을 말한다.

[0143] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "최소 침습 시술"은 외과 의사가 적은 절개를 통하여 또는 체강 또는 해부학적 개구를 통하여, 예를 들어 복강경 검사법을 통하여 수술 부위에 접근하는 수술을 말한다. 특수 기술, 예를 들어 현미경, 초소형 광섬유 플래시 및 고화질 모니터를 갖춘 소형 카메라를 이용하여 수술 부위를 볼 수 있게 한다. "엔드 이펙터"(end effector)를 갖는 도구, 예를 들어 집자(forceps), 커터(cutter), 니들 홀더(needle holder), 소작기(cauterizer) 등이 수술 부위에 도입될 수 있다.

[0144] 피브리노겐 및 트롬빈 함유 성분이 제조업자, 예를 들어 옴릭스(OMRIX)로부터, 예를 들어 에비셀(EVICEL)(등록상표), 퀵실(QUIXIL)(등록상표), 어드헥실(ADHEXIL™); 에비트롬(EVITHROM)(등록상표)으로; 박스터(Baxter)로부터, 예를 들어 티셀(TISEEL)(등록상표)로; 씨에스엘(CSL)로부터, 예를 들어 베리플라스트(Beriplast)(등록상표) 등으로 입수가능하다. 일 실시 형태에서, 액체 피브린 실란트 성분은 풀링된(pooled) 인간 공급원 혈장으로부터 제공되며, 2개의 바이알로 이루어진 단회 사용 키트로 제공되는데, 하나의 바이알은 생물 활성 성분(Biological Active Component 2; BAC2)을 함유하며, 다른 바이알은 트롬빈을 함유한다. 키트는 살균 적용 장치 및 사용 설명서를 추가로 포함할 수 있다.

[0145] 일 실시 형태에서, BAC2 성분은 pH 6.7-7.2의 살균 용액이며, 이는 인간 피브리노겐의 농축물로 주로 이루어져 있다. 피브리노겐은 트롬빈과 조합될 때 응괴를 형성하는 인간 혈액 유래의 단백질이다. 액체 피브린 실란트 제형, 예를 들어 BAC2 용액은 인간 피브리노겐의 농축물 (55-85 mg/ml), 아르기닌 염산염, 글라이신, 염화나트륨, 시트르산나트륨, 염화칼슘 및 주사용수(water for injection; WFI)를 함유할 수 있다.

[0146] 일 실시 형태에서, 트롬빈 성분은 pH 6.8-7.2의 살균 용액이며, 이는 최종 조합 생성물의 응혈을 활성화하는 고도로 정제된 인간 트롬빈을 함유한다. 트롬빈은 BAC2에 함유된 피브리노겐을 피브린으로 변환시키는 고도로 특이적인 프로테아제이다. 트롬빈 용액은 인간 트롬빈 (800-1200 IU/ml), 염화칼슘, 인간 알부민, 만니톨, 아세트산나트륨 및 주사용수를 함유할 수 있다.

[0147] BAC2를 위한 출발 물질일 수 있는 한랭 침전물, 및 트롬빈 생성을 위한 출발 물질일 수 있는 한랭 상청액(cryopoor plasma) 둘 모두는 풀링된 인간 공급원 혈장으로부터 만들어질 수 있다. 한랭 침전물 및 한랭 상청액의 생성 단계는 잘 알려져 있다. 일 실시 형태에서, 트롬빈은 한랭 상청액으로부터의 프로트롬빈의 크로마토그래피에 의한 정제, 이어서 염화칼슘에 의한 활성화에 의해 제조되며, 이는 예를 들어 본 명세서에 참고로 포함된 미국 특허 제5,143,838호에 기재된 바와 같다. 다른 실시 형태에서, 피브리노겐 성분은 한랭 침전물, 특히 농축된 한랭 침전물로부터 유래된다.

[0148] 두 액체 피브린 실란트 성분 또는 동결건조 성분의 어느 하나의 부분으로서 상기에서 사용된 피브리노겐 및 트롬빈 성분은 인간 또는 포유류의 혈장으로부터 제조될 수 있다. 그러나, 상기 성분들은 재조합 방법에 의해 제조되는 것이 또한 가능하다. 피브리노겐 성분은 미국 특허 제6,121,232호 및 국제특허 공개 WO 98/33533호에 기재된 방법에 따라 제조될 수 있으며, 여기서 플라스민(플라스미노겐)은 제거되는데, 이는 유럽 특허 공개 제1,390,485호에 기재된 바와 같고, 트라넥삼산은 첨가되지 않는다.

[0149] 2성분 액체 피브린 실란트의 부분으로서든지 또는 고형 피브린 실란트 블렌드의 부분으로서든지 간에 혈액 또는 혈액 분획물로부터 유래된 피브린 실란트 성분들은 적어도 2개의 별개의 바이러스 불활성화/제거 단계에 처해진다. 바이러스 불활성화 및 제거 공정은 예를 들어 하기 방법, 즉 나노여과; 용매/세제(solvent/detergent); 저 pH 처리, UV 조사; 소듐 티오시아네이트 처리에 의해 및/또는 당업계에 공지된 임의의 다른 방법에 의해 수행될 수 있다.

[0150] 용어 "바이러스 불활성화 단계"는 바이러스가 용액 중에 유지되지만 예를 들어 그의 지질 코트의 용해에 의해 비생존성으로 된 상황을 말한다. 용어 "바이러스 제거 단계"는 바이러스가 예를 들어 크기 배제 기술에 의해 용

액으로부터 물리적으로 제거된 상황을 말한다.

[0151] 용어 "적어도 2개의 별도의 바이러스 불활성화/제거 단계"는 바이러스를 불활성화시키거나 또는 제거하는 적어도 2가지의 상이한 그리고 독립적인 처리를 수행하는 것을 포함한다. 하기의 비제한적 처리예들 중 둘 이상의 조합이 이용될 수 있다: 저온 살균법(pasteurization), 용매/세제(S/D), 나노여과, 저 pH 처리, UV 조사 및 소듐 티오시아네이트 처리.

[0152] 농축된 한랭 침전물로부터 유래된 BAC의 사용이 유리하며, 그 이유는 그러한 분획물이 피브리노겐 외에, 인간 트롬빈과 같은 단백질 분해 효소가 BAC 용액과 접촉할 때 응혈에서 중요한 역할을 하는 가치있는 혈액 성분들도 함유하기 때문이다. 가치있는 성분들로는 예를 들어 인자 VIII, 인자 XIII, 피브로넥틴, 비트로넥틴, 폰 빌레브란트 인자(vWF) 등이 있다.

[0153] 고형 피브린 실란트 블렌드 조성물, 이어서 액체 피브린 실란트 조성물의 적용은 상기 실란트 조성물들 중 어느 하나 단독의 적용에 의해서는 성취되지 않는 밀봉 탁월성을 갖는 피브린 매트릭스를 조직 상에서 생성한다. 본 발명에 따라 생성된 피브린 매트릭스는 끊임없이 운동 중인 점막 조직 및 기타 장 또는 습성 조직, 예를 들어 위장 조직에서 결합 밀봉에 특히 적합하다. 예를 들어, 본 발명의 피브린은 위장 수술에서 스테이플링된 절제부 또는 문합부에서 일어나는 누출 합병증을 예방하는 데 사용될 수 있다. 게다가, 본 발명의 피브린은 헤르니아 수술 동안 보철물을 강하게 부착시키는 데 유리하게 사용될 수 있다.

[0154] 상기 또는 하기에 인용된 특허 출원, 특허 및 간행물의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0155] 본 발명을 하기의 비제한적 실시예를 참조로 하여 추가로 설명한다.

[0156] 실시예

[0157] 재료 및 방법

[0158] 동결건조

동결건조를 하기 사이클에 따라 수행하였다:

단계	시기	시간 (h:m)	온도 (°C)	진공 (Pa (mBar))
1	출발 값	1:00	4	오프(OFF)
2	냉동	1:00	-30	오프
3	냉동	1:00	-50	오프
4	냉동	5:40	-50	오프
5	준비	0:20	-45	오프
6	승화	0:15	-42	20 (0.2)
7	승화	0:15	-25	20 (0.2)
8	승화	25:00	-25	20 (0.2)
9	승화	1:00	-15	20 (0.2)
10	승화	12:00	-15	20 (0.2)
11	승화	2:00	20	20 (0.2)
12	승화	5:00	20	20 (0.2)
13	제2 건조	0:30	25	12 (0.12)
14	제2 건조	18:00	25	12 (0.12)

[0159]

[0160] 액체 피브리노겐 및 트롬빈.

[0161] 하기 실험에서, 에비셀(등록상표) 피브린 실란트 (BAC2 및 트롬빈; 옴릭스 바이오파마슈티칼스 엘티디.(Omrix Biopharmaceuticals Ltd.))의 두 액체 성분들을 2성분 액체 피브린 실란트로 사용하였다. 피브리노겐 성분(70 mg의 피브리노겐/ml을 포함함)은 그대로 사용하였으며, 달리 나타내지 않으면, 트롬빈 성분은 그대로 사용하거나(1000 IU/ml) 또는 희석 완충제 [증류한 탈이온수(distilled, deionized water; DDW) 중 0.04 M CaCl₂]로 10 배 희석시켰다. 모든 실험에서 액체 피브린 실란트를 103.4 kPa(15 PSI)의 기압으로 스프레이하였다.

[0162] 동결건조 피브리노겐 및 트롬빈 혼합물의 제조.

[0163] 동결건조 분말들의 제조를 위하여 사용한 용액들의 조성물들은 에비셀(등록상표)의 두 액체 성분으로서의 것이었다. 상기 성분들 각각은 상기에 설명한 동결건조 사이클에 따라 개별적으로 동결건조시켰다. 동결건조 절차 전에 피브리노겐 성분을 DDW를 이용하여 피브리노겐 1 ml 당 20 mg의 농도로 희석시켰다.

[0164] 동결건조 후, 분말들을 200 μm 체를 통하여 스페큘라로 밀링하였다. 피브리노겐 및 트롬빈 밀링 분말을 각각 3.2:1 (이는 에비셀에서와 같이 70 mg의 피브리노겐 당 1000 IU의 트롬빈의 비와 동일함) 또는 6.4:1 (이는 70 mg의 피브리노겐 당 500 IU의 트롬빈의 비와 동일함)의 중량비로 혼합하였다. 혼합을 습한 제어 영역(25%의 상

대 습도, 37℃의 온도) 내에서 수행하였다. 혼합된 분말을 사용할 때까지 폐쇄된 챔버에서 유지하였다. 신선한 분말 혼합물을 각각의 실험을 위하여 제조하였다.

[0165] 실시예 1- 동결건조 피브린 실란트 및 액체 피브린 실란트 제형의 접착력.

[0166] 하기 실험에서, 동결건조 피브린 실란트 및 액체 피브린 실란트 제형의 접착력을 측정하였다.

[0167] 평가를 박리력 시험에 의해 수행하였으며, 이는 본질적으로 문헌[Nicoson ZR, Buckley CA. "Bond strength of fibrin glue between layers of porcine small intestine submucosa (SIS)". Biomed Sci Instrum. 2002;38:179-184]에 기재된 바와 같았다. 간략하게는, 시험 접착제 제형을 4×4 cm (16 cm²) 파라필름 템플릿 프레임 내의 패치 회장(4×10 cm의 세그먼트)의 장막층 상에 적용하였다 (하기의 적용 방식 참조).

[0168] 상이한 피브린 실란트 제형들의 적용 후, 파라필름 템플릿을 제거하고, 회장 조직을 (장막이 서로 맞닿게) 접었 으며, 중합을 위하여 실온(약 20-25℃)에서 10 min 동안 두었다. 4개의 반복체를 얻기 위하여, 상기 세그먼트를 1×10 cm의 스트립으로 절단하고, 2개의 접착된 회장 조직 층들을 서로로부터 분리하는 데 필요한 힘(박리력 으로 공지됨)을 만능 인장 시험기 - 로이드 인스트루먼트 LFPLUS를 이용하여 측정하였다.

[0169] 시험 제형들을 하기 방식으로 적용하였다:

[0170] - 액체 피브리노겐 및 트롬빈 성분은 동일 부피의 피브리노겐 및 트롬빈을 2 ml의 총 부피로 스프레이함으로써 적용. 트롬빈을 두 상이한 농도들, 100 또는 1000 IU/ml로 그리고 피브리노겐을 70 mg/ml로 적용; 및

[0171] - 400 mg의 각각의 동결건조 혼합물(재료 및 방법 섹션에서 특정한 바와 같이 제조한, 70 mg의 피브리노겐 당 500 또는 1000 IU의 트롬빈을 함유하는 혼합물)을 16 cm² 파라필름 템플릿 내에 적용하였다(100 mg을 각각의 반 복체에 적용하였다). 이어서, 조직이 건조되지 않게 하기 위하여, 분말이 습윤된 것으로 보일 때까지 PBS를 분 말 상에 스프레이하였다.

[0172] 상이한 시험 제형들의 접착력이 도 1에 예시되어 있다.

[0173] 액체 피브린 실란트 조성물을 사용할 때 필요한 힘과 비교하여 동결건조 조성물에 의해 피브린을 형성할 때 장 조직의 두 층들을 박리하기 위하여 더욱 큰 힘이 필요함이 관찰되었다(70 mg의 피브리노겐 당 1000 IU의 트롬빈 의 동일 농도로 적용할 때 동결건조 제형 및 액체 제형의 박리력을 비교).

[0174] 따라서, 두 샘플들 사이의 접착력은 동결건조 제형을 사용할 때 유의하게 향상됨이 밝혀졌다.

[0175] 또한, 피브리노겐 농도가 20 mg/ml인 피브리노겐 함유 용액의 동결건조 단계에 의해 제조한 고형 피브리노겐은 10분 미만의 시간 후에 실온에서 수성 용액 중에 재구성됨이 관찰되었다. 더욱 낮은 피브리노겐 농도는 더욱 다 공성인 동결건조 케이크와, 상기 케이크의 밀링 후 더욱 다공성인 입자를 생성한다. 다공도의 증가는 액체가 더 욱 용이하게 입자에 들어가게 할 수 있어서 재수화 시간이 더욱 빨라지게 할 수 있다고 여겨진다.

[0176] 실시예 2 - 상이한 피브린 실란트 제형들의 밀봉 특성.

[0177] 이전의 실시예는 동결건조 제형의 사용이 접착력을 증가시킴을 보여주고 있다. 이 실험에서, 3가지의 상이한 피브린 실란트 제형들, 즉 동결건조 피브리노겐과 트롬빈의 혼합물, 액체 피브린 실란트 제형, 및 동결건조 피 브리노겐과 트롬빈의 혼합물의 순차적인 적용, 이어서 액체 피브린 실란트 제형의 적용에 의해 형성한 피브린 실란트의 밀봉 특성을 시험하였다. 버스트 시험[이는 본질적으로 문헌[Vilela et al. "What Is Important For Continent Catheterizable Stomas: Angulations or Extension? Int Braz J Urol. 2007; Vol. 33(2): 254-263]에 기재된 바와 같음]을 수행하여 실란트가 효과적으로 밀봉하고 압력을 견디는 능력을 결정 및 평가하였다.

[0178] 이 모델에서 버스트 압력은 밀봉부의 버스트가 일어나 압력의 즉각적인 손실 및 가시적인 물 누출로 이어지는 압점까지 시험 제형이 조직에 부착하여 그의 기계적 완전성(integrity)을 유지하는 능력을 나타낸다.

[0179] 상기에 설명한 바와 같이, 구멍을 갖는 특수 설계된 알루미늄 파이프(27 cm의 길이)를 25 내지 30 cm의 길이의 패치 회장의 관형 세그먼트 내로 삽입하였다. 이 관형 세그먼트를 파이프의 양 말단에서 플라스틱 디스크로 밀 봉하고 금속 스크류를 이용하여 죄었다. 알루미늄 파이프를 수원에 연결하였다. 물을 알루미늄 파이프 내로 유 동되게 할 때, 물은 알루미늄 파이프 내로의 물의 역류가 방지되는 방식으로 파이프 주위에 존재하는 구멍을 통 하여 회장과 알루미늄 파이프 사이의 공간 내로 들어가게 하였다.

[0180] 물을 유동시키기 전에, 날카로운 블레이드를 이용하여 장 길이 방향에 대하여 수직으로 10 mm 절개부를 형성하

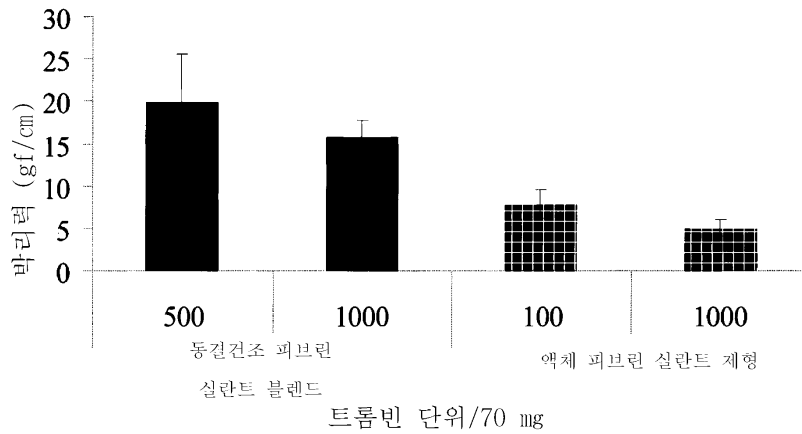
였다. 임상 현장을 더욱 잘 시뮬레이션하기 위하여, 절개부를 먼저 그의 정중선에서 봉합하고 (하나의 3×0 봉합사를 사용; 에티콘(ETHICON); 카탈로그 번호 ss684), 이어서 시험 피브린 실란트 제형을 절개 부위 주변에 둔 파라필름 템플릿 프레임(20×30 mm; 6 cm²)을 통하여 절개 부위 상에 적용하였다. 시험 제형의 적용 후 (하기 적용을 참조), 피브린을 10 min 동안 경화되게 두고, 장을 물로 채우고, 압력을 건디는 그의 능력을 시험하였다. 일단 물이 회장과 파이프 사이의 공간 내로 유동하면, 절개부의 밀봉부가 개방될 때까지 수압이 증가되며 수압의 격심한 강하가 관찰된다. 압력 곡선의 격심한 강하가 관찰될 때까지 액체 유동 라인에 연결된 압력 게이지 (D-로그메이트(logmate) 590 MRC 이스라엘(Israel))를 사용하여 관찰 압력 수준을 모니터링하였다. 강하 전 압력을 기록하고, 버스트 압력으로 간주하였다.

- [0181] 시험 제형들을 하기와 같이 적용하였다:
- [0182] - 총 2 ml (두 성분들 사이의 비: 1:1)을 스프레이함으로써 액체 피브린을 적용하였다. 트롬빈의 단지 하나의 농도, 즉 70 mg의 피브리노겐 당 1000 IU를 이 실험에서 시험하였다.
- [0183] - 100 mg의 동결건조 혼합물을 6 cm² 템플릿 내에 분산시켰다. 단지 하나의 혼합물, 즉 70 mg 당 1000 IU의 트롬빈(재료 및 방법 섹션에서 설명한 바와 같이 제조한, 3.2:1의 비로 혼합한 동결건조 피브리노겐 및 트롬빈 성분)을 함유하는 혼합물을 시험하였다. 조직이 건조되지 않게 하기 위하여, 동결건조 제형의 분산 후 PBS를 스프레이하였다.
- [0184] - 100 mg의 동결건조 피브리노겐 및 트롬빈(70 mg 당 1000 IU의 트롬빈)의 분산, 이어서 액체 피브리노겐 및 트롬빈 성분(총 2 ml)의 스프레이에 의해 순차적 적용을 수행하였다. 동결건조 분말이 장을 둘러싸고 있는 점막에 의해 완전히 습윤되지 않을 경우, 동결건조 제형의 분산 후 PBS를 스프레이하였다.
- [0185] 액체 피브린 실란트보다 접착력이 더 우수한 동결건조 피브린 실란트(도 1 참조)는 밀봉에서 효과적이지 못함이 관찰되었다(낮은 버스트 압력 값이 얻어짐; 도 2).
- [0186] 액체 피브린 실란트는 동결건조 피브린 실란트보다 더 우수한 밀봉 효과를 나타냈다. 놀랍게도, 액체 피브린 실란트 스프레이 전의 동결건조 피브린 실란트의 순차적 적용은 밀봉 특성에 있어서 단순한 가산적 합보다 더 큰 증가를 나타냈다. 따라서, 분말 및 액체 실란트의 순차적 적용의 밀봉 특성은 각각의 제형의 개별적인 밀봉 특성과 비교하여 탁월함이 밝혀졌다.
- [0187] 기작에 의해 구애됨이 없이, 동결건조 피브리노겐 및 트롬빈 분말은 장 조직을 둘러싸고 있는 점막에 용해되며 그에 따라 장막 조직과 매우 근접하여 피브린 층을 형성하는 것으로 보인다. 액체 피브린 실란트를 동결건조 분말 후에 스프레이할 때, 상기에 기재된 바와 같이 조직 밀봉의 상승작용적 개선이 관찰된다(도 2).
- [0188] 실시예 3 - 고품 피브린 실란트 블렌드, 이어서 액체 피브린 실란트 제형의 적용에 의해 형성한 피브린 제형의 탁월한 밀봉 효과.
- [0189] 이전의 실시예에서, 동결건조 피브리노겐 및 트롬빈 혼합물의 순차적 적용, 이어서 액체 피브린 실란트 스프레이에 의해 형성한 피브린 실란트가 탁월한 밀봉 특성을 가짐이 밝혀졌다.
- [0190] 하기 실시예에서는 동결건조 성분들 중 단지 하나(피브리노겐 또는 트롬빈 중 어느 하나)의 개별적인 적용, 이어서 액체 피브린 실란트의 적용의 밀봉 능력을 버스트 시험 방법을 이용하여 조사한다. 또한, 장을 둘러싸고 있는 점막을 건조시키는 절개부위의 알부민의 적용은 피브린 실란트가 상기 조직에 더욱 잘 부착하는 것을 돕고 이로써 실란트의 밀봉 능력을 증가시킬 수 있는지를 하기 실시예에서 조사한다.
- [0191] 이 목적을 위하여 상기에 설명한 버스트 시험(실시예 2)을 수행하였으며, 하기의 피브린 실란트들의 밀봉 특성을 평가하였다: 25 mg의 동결건조 트롬빈(에비셀의 트롬빈 액체 성분으로서 1000 IU/ml의 트롬빈을 포함하는 용액으로부터 제조; 625 μl의 용액을 동결건조함)의 적용, 이어서 2 ml의 액체 피브린 실란트의 스프레이에 의해 형성한 피브린; 75 mg의 동결건조 피브리노겐(상기에 설명한 바와 같이 20 mg/ml의 피브리노겐을 포함하는 용액으로부터 제조)의 적용, 이어서 2 ml의 액체 피브린 실란트의 스프레이에 의해 형성한 피브린; 동결건조 피브리노겐 및 트롬빈의 혼합물(상기에 설명한 바와 같이 3.2:1의 중량비로 제조) 100 mg의 적용, 이어서 2 ml의 액체 피브린 실란트의 스프레이에 의해 형성한 피브린; 및 100 mg의 알부민 분말(시그마(Sigma); 카탈로그 번호 078k1503)의 적용, 이어서 2 ml의 액체 피브린 실란트의 스프레이에 의해 형성한 피브린 제형. 모든 분말(알부민 분말을 포함함)을 200 μm 체를 통하여 스페툴라로 밀링한 후 사용하였다.
- [0192] 결과가 도 3에 제시되어 있다. 통계를 투키-크레이머 일원 분산 분석(Tukey-Kramer one way ANOVA) 검정에 의해 수행하였다. 동일한 문자들은 유의하게 상이하지 않은 평균 값 (p>0.05)을 나타내며, 상이한 문자는 유의하게

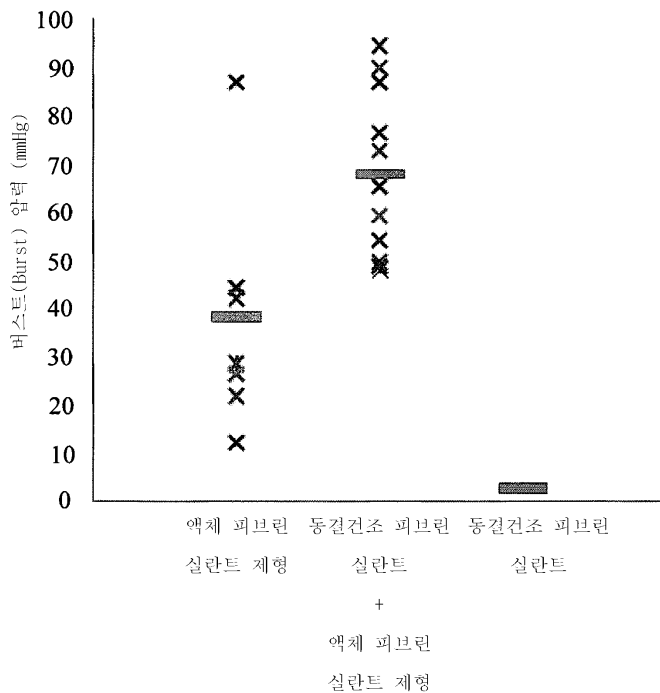
상이한 평균 값 ($p < 0.05$)을 나타낸다. 고형 피브린 실란트, 이어서 액체 피브린 실란트 제형의 순차적인 적용은 동결건조 성분들 중 단지 하나 (피브리노겐 또는 트롬빈 중 어느 하나)의 개별적인 적용, 이어서 액체 제형의 적용에 의해 형성한 피브린 매트릭스와 비교하여 밀봉 특성이 탁월한 피브린 매트릭스를 생성함이 관찰되었다. 또한, 점막을 건조시키는 단백질 분말 (예를 들어, 알부민)의 적용은 액체 피브린 실란트 제형의 밀봉 능력을 증가시키지 않음이 밝혀졌다.

도면

도면1



도면2



도면3

