

**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)**(11) 공개번호** 10-2021-0008479
(43) 공개일자 2021년01월22일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 24/04 (2006.01) *A61B 17/00* (2006.01)
A61B 17/12 (2006.01) *A61J 1/20* (2006.01)
A61L 15/32 (2006.01) *A61L 15/64* (2006.01)
A61L 24/00 (2006.01) *A61L 24/10* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61L 24/043 (2013.01)
A61B 17/00491 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7032304
(22) 출원일자(국제) 2019년05월09일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년11월09일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2019/061903
(87) 국제공개번호 WO 2019/215274
국제공개일자 2019년11월14일
- (30) 우선권주장
62/669,056 2018년05월09일 미국(US)

- (71) 출원인
헤로산 메디칼 디바이스 에이/에스
덴마크 디케이-2860 소버그 시드마켄 5
에티콘, 인코포레이티드
미국 뉴 저지주 08876 서머빌 유.에스. 루트 #22
- (72) 발명자
해머쇠이 피터 룬드
덴마크, 2700 브윈쇠이, 스텐뢰세베이 55
라센 크리스티안
덴마크, 3500 벨뢰스, 하레스코브, 스코브다렌 8
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 37 항

(54) 발명의 명칭 지혈 조성물을 제조하는 방법**(57) 요약**

본 개시내용은 트롬빈을 포함하는 지혈 조성물을 제조하는 방법으로서, 건조 트롬빈을 페이스트, 예를 들어, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트에서 직접 재구성하는 단계를 포함하는, 방법에 관한 것이다. 트롬빈을 포함하는 지혈 조성물은 건조 트롬빈 조성물 및 페이스트로부터 단일 단계 조작으로 제조하고, 창상의 치료에 사용할 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61B 17/12186 (2013.01)
A61J 1/2089 (2013.01)
A61L 15/32 (2013.01)
A61L 15/64 (2013.01)
A61L 24/0042 (2013.01)
A61L 24/104 (2013.01)
A61L 2300/418 (2013.01)
A61L 2400/04 (2013.01)
A61L 2400/06 (2013.01)

(72) 발명자

존스 더글라스 비.

미국, 뉴저지 08848, 밀포드, 9 우즈 에지 로드

스미스 니콜

미국, 뉴저지 07030, 호보켄, 아파트먼트 3, 1107
워싱턴 스트리트

카디날르 마이클

미국, 뉴저지 07960, 모리스타운, 7썸 도라도 드라
이브

페라라 가브리엘라

미국, 뉴저지 07675, 올드 타판, 75 오렌지버그 로
드

장 구양후이

미국, 뉴저지 08502, 벨르 미드, 4 밀러스 그로브
로드

명세서

청구범위

청구항 1

지혈 조성물을 제조하는 방법으로서,

- a) 건조 트롬빈 조성물을 제1 용기에 제공하는 단계;
- b) 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 제2 용기에 제공하는 단계;
- c) 적합한 접속 수단(connecting means)을 사용하여 제1 용기 및 제2 용기를 접속시키는 단계; 및
- d) 용기의 내용물을 혼합하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 혼합이, 용기의 내용물을 다수회 전후로 이동시켜 트롬빈의 실질적으로 균일한 분포를 수득함으로써 수행되는, 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 이동 수가 20회 미만, 예를 들어, 15회 미만, 예를 들어, 10회 미만, 예를 들어, 8회 미만, 예를 들어, 약 6회인, 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중의 어느 한 항에 있어서, 트롬빈의 균일한 분포가, 지혈 조성물 전체에 걸쳐 트롬빈 함유량의 20% 미만, 예를 들어, 10% 미만, 예를 들어, 5% 미만의 변동을 특징으로 하는, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중의 어느 한 항에 있어서, 지혈 조성물이 지혈 및/또는 창상 치유(wound healing)에 사용하기에 적합한 페이스트(paste)인, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중의 어느 한 항에 있어서, 지혈 조성물이 유동 가능한 조성물인, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중의 어느 한 항에 있어서, 건조 트롬빈 조성물이 분무 건조 또는 동결 건조에 의해 제조되는, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중의 어느 한 항에 있어서, 건조 트롬빈 조성물이 동결 건조에 의해 제조되는, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 건조 트롬빈 조성물이 2% 미만의 물, 예를 들어, 1% 미만의 물을 포함하는, 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중의 어느 한 항에 있어서, 생체적합성 중합체가, 수성 매질에 실질적으로 불용성인 분말 입자로 이루어지는, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중의 어느 한 항에 있어서, 생체적합성 중합체(biocompatible polymer)가 가교-결합되는, 방법.

청구항 12

제1항 내지 제10항 중의 어느 한 항에 있어서, 생체적합성 중합체가 생물학적으로 흡수가능한, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중의 어느 한 항에 있어서, 생체적합성 중합체가 젤라틴을 포함하거나 젤라틴으로 이루어지는, 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 젤라틴이 미분화(micronized) 젤라틴 스폰지 또는 하이드로겔로부터 수득되는, 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계 b)의 페이스트가, 물, 식염수, 염화칼슘 용액 및 완충 수성 매질로 이루어진 그룹으로부터 선택된 수성 매질을 포함하는, 방법.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계 b)의 페이스트가 생체적합성 중합체를 약 7 내지 20%, 예를 들어, 약 8 내지 18%, 예를 들어, 약 10 내지 16%, 예를 들어, 약 11 내지 15%, 바람직하게는 약 12 내지 14%의 함유량으로 포함하는, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중의 어느 한 항에 있어서, 지혈 조성물이 하나 이상의 친수성 화합물(들)을 포함하는, 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 하나 이상의 친수성 화합물(들)이 하나 이상의 폴리올(들)인, 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 하나 이상의 폴리올(들)이 당 알콜, 당 및/또는 이의 유도체로부터 선택되는, 방법.

청구항 20

제18항에 있어서, 하나 이상의 폴리올(들)이 당 알콜인, 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 당 알콜이 글리콜, 글리세롤, 에리트리톨, 트라이톨, 아라비톨, 자일리톨, 리비톨, 만니톨, 솔비톨, 둘시톨(dulcitol), 푸시톨(fucitol), 이디톨, 이노시톨, 불레미톨, 이소말트, 말티톨, 락티톨, 폴리글리시톨 및 이의 혼합물로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 22

제20항에 있어서, 당 알콜이 만니톨인, 방법.

청구항 23

제17항에 있어서, 하나 이상의 친수성 화합물(들)이 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG)인, 방법.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중의 어느 한 항에 있어서, 지혈 조성물이, 지혈, 창상 치유, 골 치유, 조직 치유 및/또는 긴(tendon) 치유를 자극할 수 있는 하나 이상의 추가 생물활성제를 포함하는, 방법.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중의 어느 한 항에 있어서, 지혈 조성물이 하나 이상의 압출 촉진제(들), 예를 들어, 알부민, 바람직하게는 인간 혈청 알부민을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중의 어느 한 항에 있어서, 제17항 내지 제23항 중의 어느 한 항에 따르는 친수성 화합물, 제24항에 따르는 생물활성제 및/또는 제25항에 따르는 압출 촉진제(extrusion enhancer)가 단계 a)에서 건조 트롬빈의 성분이고, 단계 b)에서 페이스트의 성분이고/이거나, 단계 d) 후의 별개의 단계에서 지혈 조성물에 도입되는, 방법.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중의 어느 한 항에 있어서, 제17항 내지 제23항 중의 어느 한 항에 따르는 친수성 화합물, 제24항에 따르는 생물활성제 및/또는 제25항에 따르는 압출 촉진제가 단계 a)에서 건조 트롬빈 조성물의 성분인, 방법.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중의 어느 한 항에 있어서, 제17항 내지 제23항 중의 어느 한 항에 따르는 친수성 화합물, 제24항에 따르는 생물활성제 및/또는 제25항에 따르는 압출 촉진제가 단계 b)에서 페이스트의 성분인, 방법.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중의 어느 한 항에 있어서, 제1 및 제2 용기가 건조 트롬빈 조성물을 재구성하고 트롬빈을 포함하는 지혈 조성물을 분배하기에 적합한 의료 전달 디바이스(medical delivery device)인, 방법.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중의 어느 한 항에 있어서, 제1 및 제2 용기가 시린지인, 방법.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중의 어느 한 항에 있어서, 제1 용기가 유리 시린지이거나, 제1 용기가 건조 트롬빈 조성물을 포함하는 유리 인서트(glass insert)를 포함하는, 방법.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중의 어느 한 항에 있어서, 제2 용기가 플라스틱 시린지인, 방법.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중의 어느 한 항에 있어서, 방법이, 단계 a)에서 건조 트롬빈 조성물, 단계 b)에서 페이스트 및/또는 지혈 조성물을 멸균시키는 추가 단계를 포함하는, 방법.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중의 어느 한 항의 방법에 의해 수득되거나 수득될 수 있는, 지혈 조성물.

청구항 35

제34항에 있어서, 창상의 치료에 사용하기 위한 지혈 조성물.

청구항 36

- a) 건조 트롬빈 조성물을 포함하는 제1 시린지;
- b) 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 포함하는 제2 시린지; 및
- c) 임의로 외부 캡키지

를 포함하는, 키트(kit)로서,
2개 시린지가 상호 접속가능한, 키트.

청구항 37

건조 트롬빈 조성물을 재구성하는 방법으로서,
a) 건조 트롬빈 조성물을 제1 용기에 제공하는 단계;
b) 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 제2 용기에 제공하는 단계;
c) 적합한 접속 수단을 사용하여 제1 용기와 제2 용기를 접속시키는 단계; 및
d) 용기의 내용물을 혼합하는 단계
를 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 개시내용은 트롬빈을 포함하는 지혈 페이스트 조성물(haemostatic paste composition)을 제조하는 방법으로서, 건조 트롬빈을 페이스트, 예를 들어, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트에서 직접 재구성하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다. 트롬빈을 포함하는 지혈 조성물은 건조 트롬빈 조성물 및 페이스트로부터 단일 단계 조작으로 제조하고, 창상(wound)의 치료에 사용할 수 있다.

배경 기술

[0002] 단백질-기반 지혈 재료, 예를 들어, 콜라겐 및 젤라틴은 외과 수술에서 사용하기 위해 고체 스폰지 및 느슨하거나 포장되지 않은 분말 형태로 시판되고 있다. 느슨하거나 포장되지 않은 분말을 유체, 예를 들어, 식염수 또는 트롬빈 용액과 혼합하면, 혼합 조건 및 재료의 상대 비율에 따라, 특히 요철 표면 또는 도달하기 어려운 영역으로부터 확산 출혈의 경우에 사용하는 지혈 조성물로서 유용한 페이스트 또는 슬러리(slurry)를 형성할 수 있다.

[0003] 종래의 지혈 페이스트는 통상, 조성물의 균일성을 제공하기 위해, 기계적 교반 및 생체적합성 중합체, 예를 들어, 젤라틴과 액체, 예를 들어, 트롬빈 용액의 혼합에 의해 사용시에 제조된다. 페이스트를 형성하기 위한 혼합은 통상 광범위한 혼합, 예를 들어, 2개 시린지 사이의 혼련(kneading) 또는 이동을 필요로 한다.

[0004] 지혈 페이스트는, 페이스트의 최적 지혈 효과를 제공하기 위해 트롬빈 성분을 포함하는 것이 종종 바람직하다. 안정성의 이유 때문에, 트롬빈 성분은 통상 생체적합성 중합체 성분과 분리된 건조 조성물로서 제공된다. 이어서, 건조 트롬빈은, 생체적합성 중합체와 혼합하기 전에, 재구성하여 현탁액 또는 용액을 형성한다. 트롬빈 성분의 재구성의 이러한 단계는 통상 생체적합성 중합체와 혼합하기 직전에 수행된다. 트롬빈의 재구성은 시간 소모적이고 다단계 시린지(syringe) 취급이 수반되기 때문에 곤란하며; 지혈제가 준비될 때까지 기다리는 동안 외과의가 갑자기 시술을 해야 하기 때문에, 어느 요인은 출혈이 있는 수술실 환경에서 바람직하지 않다.

[0005] Surgiflo[®] 지혈 매트릭스(Ethicon)는 트롬빈을 포함하는 지혈 젤라틴 페이스트를 제조하기 위한 키트(kit)이고, 이는 먼저 건조 트롬빈 조성물을 재구성하고, 후속적으로 젤라틴 매트릭스-트롬빈 용액 혼합물을 합계 6회 이상의 통과 동안 2개의 접속된 시린지 사이에서 전후로 이동시킴으로써 제조된다. Floseal[®] 지혈 매트릭스(Baxter)는 또한 지혈 젤라틴 페이스트를 제조하기 위한 키트이고, 건조 트롬빈 조성물의 최초의 재구성, 이어서 합계 20회 이상의 통과 동안 2개의 접속된 시린지 사이에서 전후로 젤라틴 매트릭스-트롬빈 용액 혼합물의 이동을 필요로 한다. 실질적으로 균질한 페이스트 조성물이 달성되면, 지혈 페이스트를 출혈에 적용하여, 시린지로부터 페이스트를 압출시킴으로써 지혈을 촉진시킬 수 있다.

[0006] 생체적합성 중합체 및 트롬빈을 동일한 시린지에서 건조 형태로 제공하는 것이 또한 시도되어 왔고, 예를 들어, WO 2011/151400, WO 2011/151384, WO 2011/151386 및 WO 2013/185776에 이미 기재되어 있으며, 이들의 교시는 이의 전체가 참조로서 도입된다. 그러나, 지혈 제품, 즉, 이온화 방사선 및/또는 에틸렌 옥사이드의 제조에 통

상 사용된 멸균 방법에 대한 트롬빈의 감수성, 물에 대한 트롬빈의 감수성 및 통상 사용된 트롬빈 및 중합체, 예를 들어, 젤라틴의 상이한 물리-화학적 특성 때문에, 이러한 "올-인-원(all-in-one)" 제품을 제조하는 것은 곤란한 것으로 증명되어 있고, 이에 따라 이들은 제조, 멸균 및 제품의 저장 수명 전체에 걸쳐 충분한 트롬빈 활성을 보유하고/하거나, 최종적으로 재구성된 지혈 페이스트 제품에서 트롬빈의 만족스러운 분포를 보장한다.

[0007] 상술한 바와 같이, 지혈 페이스트 중에 트롬빈의 도입은 제조 또는 안정성 이유 중의 어느 하나 때문에, 또는 생체적합성 중합체와 혼합하기 전에 건조 트롬빈 조성물의 시간 소모적 재구성 때문에 곤란하다. 따라서, 지혈 페이스트에 트롬빈을 신속하고 용이하게 도입하기 위한 신규한 방법을 개발하는 것이 당해 기술분야에서 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 개시내용은, 지혈 페이스트에 트롬빈의 도입에 관한 상기 문제에 대처하고, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트에서 건조 트롬빈 조성물을 직접 재구성하여, 단일 단계 조각으로 트롬빈을 포함하는 지혈 페이스트를 생성하는 방법을 제공한다. 지혈 조성물을 제조하는 이러한 단순하고 신속한 방법은 잠재적 출혈을 신속하고 효율적 방식으로 제어해야 하는 수술실에서 매우 가치가 있다.

과제의 해결 수단

[0009] 따라서, 한 가지 국면에서, 본 개시내용은, 지혈 조성물을 제조하는 방법으로서,

[0010] a) 건조 트롬빈 조성물을 제1 용기에 제공하는 단계;

[0011] b) 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 제2 용기에 제공하는 단계;

[0012] c) 적합한 접속 수단(connecting means)을 사용하여 제1 용기 및 제2 용기를 접속시키는 단계; 및

[0013] d) 용기의 내용물을 혼합하는 단계

[0014] 를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0015] 제2 국면에서, 본 개시내용은, 건조 트롬빈 조성물을 재구성하는 방법으로서,

[0016] a) 건조 트롬빈 조성물을 제1 용기에 제공하는 단계;

[0017] b) 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 제2 용기에 제공하는 단계;

[0018] c) 적합한 접속 수단을 사용하여 상기 제1 용기와 제2 용기를 접속시키는 단계; 및

[0019] d) 용기의 내용물을 혼합하는 단계

[0020] 를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0021] 용기의 내용물의 혼합은 용기의 내용물을 수회, 예를 들어, 20회 미만, 예를 들어, 15회 미만, 예를 들어, 10회 미만, 바람직하게는 약 6회 전후로 이동시켜 수행할 수 있다.

[0022] 본 발명자들은, 놀랍게도, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트에서 건조 트롬빈 조성물을 직접 재구성하는 이러한 방법이 지혈 조성물 중의 트롬빈의 실질적으로 균일한 분포를 야기하는 것을 발견했다. 따라서, 본 개시내용은, 생체적합성 중합체와 혼합하기 전에 트롬빈 성분의 별도의 재구성을 필요로 하지 않는, 신속하고 간단한 방식으로 트롬빈을 포함하는 지혈 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.

[0023] 본 개시내용은 추가로, 본원에 기재된 방법에 의해 획득할 수 있는 지혈 조성물, 및 이의 용도에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0024] 도 1은, 지혈 조성물을 생성하기 위해, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트에서 건조 트롬빈 조성물을 직접 재구성하기 위한 예시적 설정 및 방법을 나타낸다. 건조 트롬빈 조성물은 제1 시린지에 함유되고, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트(여기서는 젤라틴 페이스트에 의해 예시됨)는 제2 시린지에 함유된다. 2개 시린지는, 이 구현예에서, 정적 믹서(static mixer)를 통해 상호 접속되고, 시린지의 내용물은 전후로 6회 이동시켜 지혈 조성물을 생성한다.

도 2는, 본 개시내용의 방법을 사용하여 재구성한 지혈 조성물을 포함하는 시린지의 개시, 중간 및 종료 부분에서 트롬빈 활성 분포를 나타낸다. 평균 트롬빈 활성은 함께 트롬빈 활성의 퍼센트로서 제공된다. 데이터는, 건조 트롬빈을 페이스트로 재구성하면, 트롬빈의 균일한 분포를 갖는 지혈 페이스트 조성물이 수득되는 것을 나타낸다. 에러 바(error bar)는 평균치로부터 1 표준 편차를 사용하여 작성된다.

도 3은, 대조군(2ml 트롬빈 용액과 혼합한 Surgiflo)와 비교하여 본 발명의 페이스트(6TM 페이스트)의 지혈 효과(지혈까지의 시간(TTH))를 나타낸다(평균 \pm SEM, n=7). 본 발명에 따라 제조한 6TM 페이스트는 대조군 페이스트보다 신속하고 보다 지속적으로 지혈을 유도하는 것으로 밝혀졌다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025] 정의

"생물활성제"는, 생체내 또는 시험관내에서 입증될 수 있는 몇몇 약리학적, 종종 유익한 효과를 제공하는 임의의 약제, 약물, 화합물, 물질의 조성물 또는 혼합물이다. 따라서, 약제가 인간 또는 동물 체내의 세포 조직과 상호작용 또는 영향을 제공하는 경우, 그 약제는 생물활성이 있는 것으로 간주된다. 본원에 사용된 바와 같이, 이 용어는 개체에서 국소 또는 전신적 효과를 생성하는 임의의 생리학적 또는 약리학적 활성 물질을 추가로 포함한다. 생물활성제는 단백질, 예를 들어, 효소일 수 있다. 생물활성제의 추가 예는 올리고당, 다당, 임의로 글리코실화 펩티드, 임의로 글리코실화 폴리펩티드, 올리고뉴클레오티드, 폴리뉴클레오티드, 지질, 지방산, 지방산 에스테르 및 2차 대사산물을 포함하거나 이들로 이루어진 약제를 포함하지만, 이들로 한정되지 않는다. 이는, 개체, 예를 들어, 인간 또는 임의의 기타 동물의 치료와 관련하여 예방적 또는 치료적 중의 어느 하나로 사용될 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "생물활성제"는 세포, 예를 들어, 진핵세포 또는 원핵세포를 포함하지 않는다.

"생체적합성"은 숙주에서 실질적으로 바람직하지 않은 국소 또는 전신적 영향을 유발하지 않고서 이의 의도된 기능을 실행하는 재료의 능력을 지칭한다.

"생물학적으로 흡수가능한" 또는 "흡수성"은, 본 문맥에서, 상기 분말이 제조되는 재료가, 그들을 혈류 중으로 수송하는 것을 가능하게 하는 크기를 갖는 보다 작은 분자로 체내에서 분해될 수 있는 것을 기재하기 위해 사용되는 용어이다. 상기 분해 및 흡수에 의해, 상기 분말 재료는 적용 부위로부터 서서히 제거될 것이다. 예를 들어, 젤라틴은 단백질분해 조직 효소에 의해 흡수가능한 보다 작은 분자로 분해될 수 있고, 이에 의해 젤라틴은, 조직에 적용되는 경우, 통상, 약 4 내지 6주 이내에 흡수되고, 출혈 표면 및 점막에 적용되는 경우, 통상 3 내지 5일 이내에 흡수된다.

"겔"은 유연하고 약한 것으로부터 경질이고 거친 것까지의 범위의 특성을 가질 수 있는, 고체의 젤리-유사 재료이다. 겔은 실질적으로 희석 가교-결합된 시스템으로서 정의되고, 정상 상태에서 유동을 나타내지 않는다. 중량으로, 겔은 거의 액체이지만, 액체 내의 3차원 가교-결합된 네트워크에 기인하여 고체와 같이 거동한다. 겔에 이의 구조(경도)를 제공하고 점착성(점착(tack))에 기여하는 것은 유체 내의 가교결합이다. 이러한 방식에서, 겔은, 고체가 연속 상이고 액체가 불연속 상인, 고체 내의 액체의 분자의 분산이다. 겔은 페이스트 또는 슬러리가 아니다. 예를 들어, 비-가교결합 젤라틴은 가용성이고, 수성 매질, 예를 들어, 물과 접촉시에 겔을 형성한다.

"지혈"은 출혈을 감소 또는 정지시키는 프로세스이다. 지혈은, 혈액이 신체 또는 혈관 외측에 존재하는 경우에 발생하고, 출혈 및 혈액 손실을 정지하기 위한 신체의 본능적 반응이다. 지혈 동안, 3개 단계가 신속한 순서로 발생한다. 혈관 경련은, 혈관이 수축하여 소실되는 혈액이 적어지도록 하기 때문에, 최초의 반응이다. 제2 단계인 혈소판 플러그(plug) 형성에서, 혈소판이 함께 점착하여 일시적 밀봉을 형성하고 혈관벽의 파괴를 커버한다. 제3 및 최후 단계는 응고 또는 혈액 응고로서 불리운다. 응고는 "분자 점착제"로서 작용하는 피브린 사로 혈소판 플러그를 강화한다. 따라서, 지혈 화합물은 지혈을 자극할 수 있다.

"국제 단위(IU)". 약학에서, 국제 단위는 생물학적 활성 또는 효과에 기초하여, 물질의 양에 대한 측정 단위이다. 이는 IU, UI 또는 IE로 약칭된다. 비타민, 호르몬, 일부 의약품, 백신, 혈액 제제, 및 유사한 생물학적 활성 물질을 정량화하기 위해 사용된다.

본 개시내용에 따르는 "페이스트"는 가단성, 퍼티-유사 조도(putty-like consistency), 예를 들어, 치약을 갖는다. 페이스트는 분말상의 분쇄된 고체/고체와 액체의 농후한 유체 혼합물이다. 페이스트는 충분히 큰 하중 또는 응력이 적용될 때까지 고체로서 거동하는 물질이고, 그 시점에서 유체와 같이 유동하며, 즉 페이스트는 유동

성이다. 유동성 물질은, 도포시에 불규칙 표면에 효율적으로 적합한다. 페이스트는 통상 백그라운드 유체 중의 입상 재료의 현탁액으로 구성된다. 각각의 입자는 해변의 모래와 같이 함께 얽혀, 무질서한 유리질 또는 무정형 구조를 형성하고 페이스트에 고체-유사 특징을 제공한다. 페이스트에 가장 특이한 특성 중의 일부를 제공하는 것은 이러한 "함께 얽히는" 것이고, 이는 페이스트가 파괴되기 쉬운 물질의 특성을 나타내게 한다. 페이스트는 겔/젤리가 아니다. "슬러리"는 분말/분쇄된 고체와 액체, 예를 들어, 물과의 유체 혼합물이다. 슬러리는 일부 방식에서 농후한 유체와 같이 거동하고, 중력하에 유동하며, 과도하게 농후하지 않은 경우에도 펄핑될 수 있다. 슬러리는 기능적으로 얽고 묶은 페이스트로서 볼 수 있지만, 슬러리는 일반적으로 페이스트보다 많은 물을 함유한다. 실질적으로 수-불용성 분말 입자, 예를 들어, 가교-결합된 젤라틴 입자는 수성 매질과의 혼합시에 페이스트를 형성한다.

[0033] "퍼센트". 어떠한 것도 나타내지 않는 경우, 퍼센트는 중량 퍼센트이다: % w/w 또는 wt%. 비율은 중량에 의한 중량(w/w)으로서 나타낸다.

[0034] "트롬빈 함유량의 변동". 본원에서 사용된 트롬빈 함유량의 변동은 지혈 조성물의 2개 분획 사이의 평균 트롬빈 활성의 퍼센트 차이로서 정의된다. 평균 트롬빈 활성은 완전 지혈 조성물의 합계 트롬빈 활성의 퍼센트로서의 분획의 트롬빈 활성으로서 제공된다.

[0035] **상세한 설명**

[0036] 본 개시내용은 트롬빈을 포함하는 지혈 페이스트 조성물을 제조하는 단순화 방법에 관한 것이다. 이 방법은 건조 트롬빈 조성물을 페이스트, 예를 들어, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트에서 직접 재구성하는 단계를 포함한다.

[0037] 따라서, 본 발명은, 지혈 조성물을 제조하는 방법으로서,

[0038] a) 건조 트롬빈 조성물을 제1 용기에 제공하는 단계;

[0039] b) 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 제2 용기에 제공하는 단계;

[0040] c) 적합한 접속 수단을 사용하여 제1 용기 및 제2 용기를 접속시키는 단계; 및

[0041] d) 용기의 내용물을 혼합하는 단계

[0042] 를 포함하는, 방법에 관한 것이다.

[0043] 혼합 후, 제1 및 제2 용기(이동 수에 따라)는 지혈 조성물을 조직으로 전달하기 위한 전달 디바이스(delivery device)로서 사용될 수 있다.

[0044] 따라서, 트롬빈을 포함하는 지혈 조성물은, 용액에서 건조 트롬빈 조성물의 사전 시간-소모적이고 오류 발생이 쉬운 재구성을 필요로 하지 않고서, 단일 단계 조작으로 건조 트롬빈 조성물 및 페이스트로부터 제조할 수 있다.

[0045] 지혈 조성물을 제조하는 이러한 단순하고 신속한 방법은, 잠재적 출혈이 신속하고 효율적 방식으로 제어되어야 하는 수술실에서 매우 가치가 있다.

[0046] 본 개시내용에서 제공된 방법 및 이러한 방법에 의해 수득된 지혈 조성물의 이점은 다수이고, 다음을 포함한다:

[0047] · 지혈 조성물의 제조에 소비되는 시간의 단축, 예를 들어, 출혈을 조기에 정지시킬 수 있다.

[0048] · 취급 단계가 적기 때문에, 준비 동안 지혈 조성물의 멸균성을 손상시킬 위험이 감소한다.

[0049] · 페이스트의 준비가 단순하기 때문에, 준비 동안 실수할 위험이 감소한다.

[0050] · 단기간 내에 신뢰성 및 일관성이 있는 재구성.

[0051] · 표준 지혈 조성물 조제물의 시간-소모적 및 오류 발생이 쉬운 트롬빈 회석 단계를 회피한다.

[0052] · 현재 기재된 제품의 준비가 매우 간단하고 신속하고, 따라서 사용될 수 없는 수술 전에 지혈 유동물을 사전-준비할 이유가 없기 때문에, 수술실의 비용을 최소화한다.

[0053] · 최종 혼합 조성물의 조도를 변경하기 위해, 페이스트에 수성 매질을 첨가하는 유연성이 증가한다.

[0054] 상기 모든 요인에 의해 환자의 안전성이 증가한다.

- [0055] 건조 트롬빈 조성물
- [0056] 본 개시내용은 건조 트롬빈 조성물을 페이스트에서 직접 재구성하는 방법에 관한 것이다.
- [0057] 트롬빈은 "트립신-유사" 세린 프로테아제 단백질이고, 인간에서는 F2 유전자에 의해 코딩된다(encoded). 프로 트롬빈(응고 인자 II)은 단백질분해로 절단되어 응고 캐스케이드(cascade)에서 트롬빈을 형성하고, 이는 최종적으로 혈액 손실의 차단을 야기한다. 트롬빈은 또한, 가용성 피브리노겐을 피브린의 불용성 가닥으로 전환하고 다수의 기타 응고-관련 반응을 촉매하는 세린 프로테아제로서 작용한다. 혈액 응고 경로에서, 트롬빈은 인자 XI를 XIa로, 인자 VIII을 VIIIa로, V를 Va로, 및 피브리노겐을 피브린으로 전환하도록 작용한다.
- [0058] 한 가지 구현예에서, 트롬빈은 인간 트롬빈이다.
- [0059] 한 가지 구현예에서, 트롬빈은 재조합 인간 트롬빈이다.
- [0060] 다른 구현예에서, 트롬빈의 기원은 인간을 제외한 포유동물, 예를 들어, 소(bovine) 트롬빈으로부터 유래한다.
- [0061] 한 가지 구현예에서, 트롬빈은 프로트롬빈의 형태이다.
- [0062] 건조 트롬빈 조성물은 당업자에게 공지된 임의의 방법으로 제조할 수 있고, 통상 멸균 형태로 제공된다. 따라서, 한 가지 구현예에서, 건조 트롬빈 조성물은 멸균성이다.
- [0063] 한 가지 구현예에서, 건조 트롬빈 조성물은 분무 건조 또는 동결 건조에 의해 제조된다.
- [0064] 바람직한 구현예에서, 건조 트롬빈 조성물은 동결 건조에 의해 제조된다.
- [0065] 한 가지 구현예에서, 건조 트롬빈 조성물은 2% 미만의 물, 예를 들어, 1% 미만의 물을 포함한다.
- [0066] 지혈 조성물 중의 트롬빈의 양은 효과적 지혈을 보장하기에 충분해야 한다. 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물 중의 트롬빈의 최종 농도는 약 50IU/mL 내지 약 1000IU/mL, 예를 들어, 100IU/mL 내지 약 500IU/mL, 예를 들어, 약 150IU/mL 내지 약 450IU/mL, 예를 들어, 약 200IU/mL 내지 약 400IU/mL, 예를 들어, 약 200IU/mL 내지 약 300IU/mL의 범위이다.
- [0067] 건조 트롬빈 조성물은 임의로 하나 이상의 친수성제(들), 예를 들어, 예를 들어, 하나 이상의 폴리올(들) 및/또는 하나 이상의 폴리(에틸렌 글리콜)(들)(PEG)을 포함할 수 있다.
- [0068] 한 가지 구현예에서, 건조 트롬빈 조성물은 하나 이상의 추가 생물활성제(들)를 포함한다. 이러한 하나 이상의 생물활성제(들)는 지혈, 창상 치유, 골(bone) 치유, 조직 치유 및/또는 건(tendon) 치유를 자극할 수 있다.
- [0069] 한 가지 구현예에서, 건조 트롬빈 조성물은 임의로 하나 이상의 압출 촉진제(extrusion enhancer)(들), 예를 들어, 예를 들어, 알부민을 포함한다. 지혈 페이스트의 압출성을 개선시키기 위한 압출 촉진제의 사용은, 예를 들어, 이의 전체가 참조로서 도입되는 제WO 2015/086028호에 기재되어 있다.
- [0070] 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트
- [0071] 본 개시내용의 건조 트롬빈 조성물은 페이스트, 예를 들어, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트에서 직접 재구성된다.
- [0072] 본 개시내용의 생체적합성 페이스트는 생물학적 또는 비-생물학적 중합체일 수 있다. 적합한 생물학적 중합체는 단백질, 예를 들어, 젤라틴, 콜라겐, 알부민, 헤모글로빈, 카세인, 피브리노겐, 피브린, 피브로넥틴, 엘라스틴, 케라틴 및 라미닌; 또는 이의 유도체 또는 조합을 포함한다. 젤라틴 또는 콜라겐, 보다 바람직하게는 젤라틴을 사용하는 것이 특히 바람직하다. 기타 적합한 생물학적 중합체는 다당류, 예를 들어, 글리코사미노글리칸, 전분 유도체, 자일란, 셀룰로즈 유도체, 헤미셀룰로즈 유도체, 아가로즈, 알기네이트 및 키토산; 또는 이의 유도체 또는 조합을 포함한다. 적합한 비-생물학적 중합체는 2개 메카니즘, 즉 (1) 중합체 골격의 분해 또는 (2) 수용성을 야기하는 측쇄의 분해 중의 어느 하나에 의해 분해가능하도록 선택된다. 예시적 비생물학적 중합체는 합성물, 예를 들어, 폴리아크릴레이트, 폴리메타크릴레이트, 폴리아크릴아미드, 폴리비닐 수지, 폴리락티드-글리콜라이드, 폴리카프롤락톤 및 폴리옥시에틸렌; 또는 이의 유도체 또는 조합을 포함한다. 또한, 상이한 종류의 중합체의 조합도 가능하다.
- [0073] 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체는 생물학적으로 흡수가능하다. 적합한 생물학적으로 흡수가능한 재료의 예는 젤라틴, 콜라겐, 키틴, 키토산, 알기네이트, 셀룰로즈, 산화 셀룰로즈, 폴리글리콜산, 폴리아세트산 및 이들의 조합을 포함한다. 이의 다양한 형태, 예를 들어, 선형 또는 가교-결합된 형태, 염, 에스테르 등도 또한

본 개시내용을 위해 고려되는 것으로 이해된다. 본 발명의 바람직한 구현예에서, 생물학적으로 흡수가능한 재료는 젤라틴이다. 젤라틴은 생물학적으로 매우 흡수성이 높기 때문에, 젤라틴이 바람직하다. 추가로, 젤라틴은 생체적합성이 높고, 이는, 혈류에 도입될 때 또는 인간 조직과 장기간 접촉할 때, 동물, 예를 들어, 인간에 대해 무독성인 것을 의미한다.

- [0074] 젤라틴은 통상 돼지(porcine) 공급원으로부터 유래하지만, 기타 동물 공급원, 예를 들어, 소 또는 어류 공급원으로부터 유래할 수 있다. 젤라틴은 또한 합성적으로 제조, 즉 제조합 수단에 의해 제조될 수 있다.
- [0075] 바람직한 구현예에서, 생체적합성 중합체는 가교-결합된다. 가교-결합은 통상 중합체를 수성 매질에 실질적으로 불용성으로 되게 한다. 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체는 수성 매질에서 실질적으로 불용성인 분말 입자로 이루어진다. 화학적 및 물리적 가교-결합 방법 둘 다를 포함하는 당업자에게 공지된 임의의 적합한 가교-결합 방법을 사용할 수 있다.
- [0076] 본 개시내용의 한 가지 구현예에서, 중합체는 물리적 수단, 예를 들어, 건조 열에 의해 가교-결합되어 있다. 건조 열 처리는 통상 100℃ 내지 250℃, 예를 들어, 약 110℃ 내지 약 200℃의 온도에서 실시된다. 특히, 온도는 110 내지 160℃의 범위, 예를 들어, 110 내지 140℃의 범위 또는 120 내지 180℃의 범위, 또는 130 내지 170℃의 범위 또는 130 내지 160℃의 범위 또는 120 내지 150℃의 범위일 수 있다. 가교-결합의 기간은 당업자가 최적화할 수 있고, 통상 약 10분 내지 약 12시간의 기간, 예를 들어, 약 1시간 내지 약 10시간, 예를 들어, 약 2시간 내지 약 10시간, 예를 들어, 약 4시간 내지 약 8시간, 예를 들어, 약 5시간 내지 약 7시간, 예를 들어, 약 6시간의 기간이다.
- [0077] 또 다른 구현예에서, 중합체는 화학적 수단, 즉 화학적 가교-결합제에 대한 노출에 의해 가교-결합되어 있다. 적합한 화학적 가교-결합제의 예는, 이들로 한정되지 않지만, 알데하이드, 특히 글루타르알데하이드 및 포름알데하이드, 아실 아지드, 카보디이미드, 헥사메틸렌 디이소시아네이트, 폴리에테르 옥사이드, 1,4-부탄디올디글리시딜 에테르, 탄닌산, 알도즈 당, 예를 들어, D-프럭토즈, 제니핀 및 염료-매개된 광-산화를 포함한다. 특정 화합물은, 이로 한정되지 않지만, 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드(EDC) 및 디티오비스(프로판산 디하이드라지드)(DTP)를 포함한다.
- [0078] 한 가지 구현예에서, 본 개시내용에 따르는 페이스트의 제조에 사용된 생체적합성 중합체 입자는, 예를 들어, 젤라틴 또는 콜라겐의 가교-결합된 스폰지, 특히 젤라틴의 가교-결합된 스폰지(예를 들어, 상업적으로 시판되는 Spongostan[®] 스폰지 및 Surgifoam[®] 스폰지)로부터 취득할 수 있다. 가교-결합된 스폰지는 가교-결합된 생체적합성 중합체를 분말 형태로 취득하기 위해 당해 기술분야에 공지된 방법, 예를 들어, 회전 베드(rotary bed), 압출, 과립화 및 강력 믹서에서의 처리, 또는 분쇄(예를 들어, 해머 밀 또는 원심분리 밀을 사용하여)에 의해 미분화된다. 이어서, 분말 형태의 가교-결합된 생체적합성 중합체를 소정량의 수성 매질과 혼합하여 바람직한 조도의 페이스트를 제공한다.
- [0079] 에티콘(Ethicon)으로부터 입수가 가능한 Spongostan[®]/Surgifoam[®]은 젤라틴 기반 가교-결합된 흡수성 지혈 스폰지이다. 이는 >35g의 혈액/g을 흡수하고, 4 내지 6주 이내에 인체에 완전히 흡수된다.
- [0080] 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는, 건조 열 처리에 의해 가교-결합된, 미분화 다공성 젤라틴 스폰지로부터 취득된 가교-결합된 젤라틴 입자를 포함한다.
- [0081] 미분화 다공성(micronized porous) 젤라틴 스폰지는 소정량의 가용성 젤라틴을 수성 매질과 혼합하여 불연속 기체 상을 포함하는 폼(foam)을 생성하고, 상기 폼을 건조시키고, 건조된 폼을 건조 열에 노출시켜 가교결합시킴으로써 제조할 수 있다. 취득된 가교-결합된 스폰지는 당해 기술분야에 공지된 방법에 의해 미분화시킬 수 있다. 젤라틴 폼은 통상 약 1중량% 내지 70중량%, 통상 3중량% 내지 20중량%의 젤라틴 농도를 갖는다. 건조는 통상 약 20℃ 내지 약 40℃에서 약 5 내지 20시간 동안 실시한다. 건조된 폼은 통상 약 110℃ 내지 약 200℃의 온도에 약 15분 내지 약 8시간, 예를 들어, 약 150℃ 내지 약 170℃에서 약 5 내지 7시간 동안 노출시켜 가교-결합시킨다.
- [0082] 한 가지 구현예에서, 본 개시내용에 따르는 페이스트의 제조에 사용된 생체적합성 중합체 입자는, 예를 들어, 젤라틴 또는 콜라겐의 가교-결합된 겔, 특히 가교-결합된 젤라틴 겔로부터 취득된다. 가교-결합된 겔은 상기 기재된 바와 같이 미분화시킬 수 있다. 이어서, 분말 형태의 가교-결합된 생체적합성 중합체를 소정량의 수성 매질과 혼합하여 바람직한 조도의 페이스트를 제공한다.
- [0083] 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는, 건조 열 처리에 의해 가교-결합된, 미분화 젤

라틴 겔로부터 수득된 가교-결합된 젤라틴 입자를 포함한다.

- [0084] 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 젤라틴 하이드로겔로부터 수득된 가교-결합된 젤라틴 입자를 포함하거나 가교-결합된 젤라틴 입자로 이루어진다. 젤라틴 하이드로겔은 소정량의 젤라틴을 수성 완충액에 용해시켜, 통상 1중량% 내지 70중량%, 통상 3중량% 내지 10중량%의 고체 함유량을 갖는 비-가교-결합된 하이드로겔을 형성함으로써 제조할 수 있다. 젤라틴은, 예를 들어, 글루타르알데히드(예를 들어, 0.01% 내지 0.05% w/w, 수성 완충액에서 0°C 내지 15°C에서 밤새), 나트륨 퍼요오데이트(예를 들어, 0.05M, 0°C 내지 15°C에서 48시간 동안 유지) 또는 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보다이미드(EDC)(예를 들어, 0.05% 내지 1.5% w/w, 실온에서 밤새)에 대한 노출, 또는 약 0.3 내지 3 메가라드(megarad)의 감마 또는 전자 빔 방사선에 대한 노출에 의해 가교-결합시킬 수 있다. 수득되는 가교결합된 하이드로겔을 단편화하고, 건조시켜 젤라틴 분말을 수득할 수 있다. 또는, 젤라틴 입자는 1중량% 내지 70중량%, 통상 3중량% 내지 10중량%의 고체 함유량으로 알콜, 바람직하게는 메틸 알콜 또는 에틸 알콜에 현탁시키고, 가교결합제, 통상 글루타르알데히드(예를 들어, 0.01% 내지 0.1% w/w, 실온에서 밤새)에 대한 노출에 의해 가교-결합시킬 수 있다. 글루타르알데히드로 가교-결합시키는 경우, 가교-결합은, 후속 환원, 예를 들어, 나트륨 보로하이드라이드를 사용한 처리에 의해 안정화시킬 수 있는 슈프(Schiff) 염기를 통해 형성된다. 가교-결합 후, 수득되는 과립을 물에서 세척하고, 임의로 알콜에서 세정하고, 건조시켜 젤라틴 분말을 수득한다. 한 가지 구현예에서, 가교-결합된 젤라틴 입자는 본질적으로 미국 특허 제6,066,325호에 기재된 바와 같이 제조한다.
- [0085] 한 가지 구현예에서, 페이스트는 생체적합성 중합체를 약 7% 내지 20%, 예를 들어, 약 8% 내지 18%, 예를 들어, 약 10% 내지 16%, 예를 들어, 약 11%-15%, 예를 들어, 약 12%-14%의 함유량으로 포함한다.
- [0086] 한 가지 구현예에서, 페이스트는 생체적합성 중합체를 약 7% 내지 20%, 예를 들어, 약 7% 내지 18%, 예를 들어, 약 7% 내지 16%, 예를 들어, 약 7% 내지 14%, 예를 들어, 약 7% 내지 13%, 예를 들어, 약 7% 내지 12%, 예를 들어, 약 7% 내지 11%, 예를 들어, 약 7% 내지 10%, 예를 들어, 약 7% 내지 9%의 함유량으로 포함한다.
- [0087] 한 가지 구현예에서, 페이스트는 생체적합성 중합체를 약 7% 내지 20%, 예를 들어, 약 10% 내지 20%, 예를 들어, 약 11% 내지 20%, 예를 들어, 약 12% 내지 20%, 예를 들어, 약 13% 내지 20%, 예를 들어, 약 14% 내지 20%, 예를 들어, 약 15% 내지 20%, 예를 들어, 약 17% 내지 20%, 예를 들어, 약 19% 내지 20%의 함유량으로 포함한다.
- [0088] 한 가지 구현예에서, 페이스트는 생체적합성 중합체를 약 10% 내지 20%, 예를 들어, 약 10% 내지 18%, 예를 들어, 약 10% 내지 16%, 예를 들어, 약 10% 내지 15%의 함유량으로 포함한다.
- [0089] 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 하나 이상의 친수성제(들), 예를 들어, 예를 들어, 하나 이상의 폴리에올(들) 및/또는 하나 이상의 폴리(에틸렌 글리콜)(들)(PEG)을 추가로 포함할 수 있다.
- [0090] 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 하나 이상의 추가 생물활성제(들)를 포함한다. 이러한 하나 이상의 생물활성제(들)는 지혈, 창상 치유, 골 치유, 조직 치유 및/또는 건 치유를 자극시킬 수 있다.
- [0091] 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 하나 이상의 압출 촉진제(들), 예를 들어, 예를 들어, 알부민을 포함한다.
- [0092] 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 하나 이상의 항미생물제(antimicrobial agents), 예를 들어, 하나 이상의 항균제(antibacterial agents)를 포함한다.
- [0093] 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 벤즈알코늄 클로라이드를 포함한다.
- [0094] 본원에 기재된 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 당해 기술분야에 공지된 기술에 따라 제조할 수 있다. 따라서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 생체적합성 중합체 분말을 수성 매질과 혼합하여 상기 페이스트를 생성함으로써 제조할 수 있다.
- [0095] 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 통상 멸균 형태로 제공된다. 따라서, 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 멸균이다.
- [0096] 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 수성 매질, 예를 들어, 예를 들어, 물, 식염수, 염화나트륨 용액 또는 완충 수성 매질을 추가로 포함한다.
- [0097] 수성 매질

- [0098] 수성 매질은 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 제조하기 위해 본 개시내용에서 사용될 수 있다.
- [0099] 본 개시내용의 수성 매질은 당업자에게 공지된 페이스트를 제조하기에 적합한 임의의 수성 매질, 예를 들어, 물, 식염수 또는 완충 수성 매질일 수 있다. 물은 WFI(주사용수)일 수 있다. 재구성된 페이스트 제품이 인간 또는 동물 대상체에서의 사용, 예를 들어, 지혈 및/또는 창상 치유 목적으로 의도되는 경우, 본질적으로 등장성 이도록 수성 매질을 선택하는 것이 중요하다. 수성 매질은 바람직하게는 멸균이다.
- [0100] 본 개시내용의 수성 매질은 한 가지 구현예에서 식염수 용액이다.
- [0101] 한 가지 구현예에서, 수성 매질은 염화나트륨 용액이다.
- [0102] 다른 구현예에서, 수성 매질은 물이다.
- [0103] 수성 매질은 또한 지혈 페이스트에서 사용하기에 적합한 완충 수성 매질일 수 있다. 당업자에게 공지된 임의의 적합한 완충제, 예를 들어, 나트륨 시트레이트; 시트르산; 나트륨 시트레이트; 아세트산, 나트륨 아세테이트; K_2HPO_4 , KH_2PO_4 ; Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 ; CHES; 보락스(Borax), 수산화나트륨; TAPS; 비신; 트리스; 트리신; TAPSO; HEPES; TES; MOPS; PIPES; 카코딜레이트; SSC; MES 등으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 완충제를 사용할 수 있다. 완충 수성 매질의 pH는 인간 사용을 목적으로 한 지혈 페이스트를 생성하는데 적합해야 하고, 당업자가 결정할 수 있다.
- [0104] 따라서, 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 물, 식염수, 염화나트륨 용액 및 완충 수성 매질로 이루어진 그룹으로부터 선택된 수성 매질을 포함한다.
- [0105] 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 약 60% 내지 약 95%의 물, 예를 들어, 약 70% 내지 약 90%의 물, 예를 들어, 약 75% 내지 약 90%의 물, 예를 들어, 약 80% 내지 약 90%의 물을 포함한다.
- [0106] 수성 매질은 하나 이상의 친수성제(들), 예를 들어, 예를 들어, 하나 이상의 폴리올(들) 또는 하나 이상의 폴리(에틸렌 글리콜)(들)(PEG)을 포함할 수 있다.
- [0107] 한 가지 구현예에서, 수성 매질은 하나 이상의 추가 생물활성제(들)를 포함한다. 이러한 하나 이상의 생물활성제(들)는 지혈, 창상 치유, 골 치유, 조직 치유 및/또는 건 치유를 자극시킬 수 있다.
- [0108] 한 가지 구현예에서, 수성 매질은 하나 이상의 압출 촉진제(들), 예를 들어, 예를 들어, 알부민을 포함한다.
- [0109] *친수성 화합물*
- [0110] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 하나 이상의 친수성 화합물을 포함한다. 친수성 화합물은 통상 극성 또는 하전된 관능기를 함유하여, 이들을 물에 가용성으로 되게 한다. 본 개시내용의 지혈 조성물에 하나 이상의 친수성 화합물의 포함은 트롬빈 안정성에 유익한 효과를 갖고 건조 트롬빈 조성물의 재구성 효율을 개선시킬 수 있는 것으로 생각된다. 친수성 화합물은 또한 지혈 조성물의 조도를 개선시킬 수 있다.
- [0111] 한 가지 구현예에서, 친수성 화합물은 친수성 중합체이다. 친수성 중합체는 천연 또는 합성, 선형 또는 분지형 일 수 있고, 임의의 적합한 길이를 갖는다.
- [0112] 한 가지 구현예에서, 친수성 중합체는 폴리에틸렌이민(PEI), 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG), 폴리(에틸렌 옥사이드) 폴리(비닐 알콜)(PVA), 폴리(스티렌설포네이트)(PSS), 폴리(아크릴산)(PAA), 폴리(알릴아민 하이드로클로라이드) 및 폴리(비닐 산)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 한 가지 구현예에서, 친수성 화합물은 PEG이다.
- [0113] 한 가지 구현예에서, 친수성 화합물은 세틸피리디늄 클로라이드, 도쿠사테 나트륨, 글리신, 하이프로멜로즈, 프탈레이트, 레히틴, 인지질, 폴록사머, 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르, 폴리옥시에틸렌 피마자유 유도체, 폴리옥시에틸렌 솔비탄 지방산 에스테르, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 폴리비닐 알콜, 나트륨 라우릴 설페이트, 솔비탄 에스테르(솔비탄 지방산 에스테르) 및 트리카프릴린으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0114] 바람직한 구현예에서, 친수성 화합물은 폴리올이다. 따라서, 본 발명의 한 가지 구현예에 따르면, 하나 이상의 폴리올이 지혈 조성물에 포함될 수 있다. 폴리올은 건조 트롬빈 조성물의 재구성 속도를 증강시키고 트롬빈 활성을 안정화시키고 지혈 조성물의 최적 조도를 보장하는 역할을 할 수 있다.
- [0115] 본원에 정의된 폴리올은 복수의 하이드록실 관능기를 갖는 화합물이다. 폴리올은 당(단당류, 이당류 및 다당류), 당 알콜 및 이의 유도체를 포함한다. 특히 바람직한 것은 당 알콜이다.

- [0116] 단당류는 글루코즈, 프럭토즈, 갈락토즈, 크실로즈 및 리보스를 포함하지만, 이들로 한정되지 않는다.
- [0117] 이당류는 슈크로즈(사카로즈), 락툴로즈, 락토즈, 말토즈, 트레할로즈 및 셀로비오스를 포함하지만, 이들로 한정되지 않는다.
- [0118] 다당류는 전분, 글리코겐, 셀룰로즈 및 키틴을 포함하지만, 이들로 한정되지 않는다.
- [0119] 당 알콜은, 폴리알콜로서도 공지되어 있고, 수소화된 형태의 탄수화물이고, 이의 카보닐 그룹(알데히드 또는 케톤, 환원 당)은 1급 또는 2급 하이드록실 그룹(따라서 알콜)로 환원되어 있다. 당 알콜은 화학식 $H(HCHO)_nH$ 를 갖고, 당은 $H(HCHO)_nHCO$ 을 갖는다. 본 개시내용의 방법에 사용될 수 있는 일부 통상적 당 알콜은 글리콜(2-탄소), 글리세롤(3-탄소), 에리트리톨(4-탄소), 트레이톨(4-탄소), 아라비톨(5-탄소), 자일리톨(5-탄소), 리비톨(5-탄소), 만니톨(6-탄소), 솔비톨(6-탄소), 돌시톨(6-탄소), 푸시톨(6-탄소), 이디톨(6-탄소), 이노시톨(6-탄소; 사이클릭 당 알콜), 볼레미톨(7-탄소), 이소말트(12-탄소), 말티톨(12-탄소), 락티톨(12-탄소), 폴리글리시톨을 포함하지만, 이들로 한정되지 않는다.
- [0120] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 단일 친수성 화합물, 예를 들어, 단일 폴리올을 포함한다.
- [0121] 본 발명의 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 하나 이상의 친수성 화합물, 예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6 또는 그 이상의 상이한 친수성 화합물을 포함한다.
- [0122] 바람직한 구현예에서, 친수성 화합물은 폴리올이다.
- [0123] 본 발명의 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 2개의 폴리올, 예를 들어, 만니톨 및 글리세롤 또는 트레할로즈 및 글리콜을 포함한다.
- [0124] 본 발명의 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 하나 이상의 당 알콜, 예를 들어, 글리콜, 글리세롤, 에리트리톨, 트레이톨, 아라비톨, 자일리톨, 리비톨, 만니톨, 솔비톨, 돌시톨, 푸시톨, 이디톨, 이노시톨, 볼레미톨, 이소말트, 말티톨, 락티톨, 폴리글리시톨로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 당 알콜을 포함한다.
- [0125] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 하나 이상의 당 알콜 및 하나 이상의 당, 예를 들어, 하나의 당 알콜 및 하나의 당을 포함한다.
- [0126] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 하나의 당 알콜 및 임의로 하나 이상의 추가 친수성 화합물, 예를 들어, 당 알콜 또는 당일 수 있는 하나 이상의 폴리올을 포함한다.
- [0127] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 유일한 폴리올로서 당을 포함하지 않는다.
- [0128] 본 발명의 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 만니톨을 포함한다.
- [0129] 본 발명의 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 솔비톨을 포함한다.
- [0130] 본 발명의 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 글리세롤을 포함한다.
- [0131] 본 발명의 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 트레할로즈를 포함한다.
- [0132] 본 발명의 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 글리콜, 예를 들어, 프로필렌 글리콜을 포함한다.
- [0133] 본 발명의 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 자일리톨을 포함한다.
- [0134] 본 발명의 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 말티톨을 포함한다.
- [0135] 본 발명의 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 솔비톨을 포함한다.
- [0136] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 약 1% 내지 약 20%의 하나 이상의 친수성 화합물, 예를 들어, 약 1% 내지 약 15%의 하나 이상의 친수성 화합물, 예를 들어, 약 1% 내지 약 10%의 하나 이상의 친수성 화합물, 예를 들어, 약 1% 내지 약 7%의 하나 이상의 친수성 화합물, 예를 들어, 약 1% 내지 약 5%의 하나 이상의 친수성 화합물, 예를 들어, 약 2% 내지 약 5%의 하나 이상의 친수성 화합물, 예를 들어, 약 3% 내지 약 5%의 하나 이상의 친수성 화합물을 포함한다.
- [0137] 한 가지 구현예에서, 본 개시내용의 친수성 화합물은 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG)이 아니다.
- [0138] 친수성 화합물은 건조 트롬빈 조성물의 성분, 생체적합성 중합체를 포함하고/하거나 건조 트롬빈 조성물의 재구

성후 별개의 단계에서 지혈 조성물에 도입되는 페이스트의 성분일 수 있다.

- [0139] 한 가지 구현예에서, 하나 이상의 친수성 화합물(들)은 건조 트롬빈 조성물의 성분이다.
- [0140] 한 가지 구현예에서, 하나 이상의 친수성 화합물(들)은 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트의 성분이다.
- [0141] 한 가지 구현예에서, 하나 이상의 친수성 화합물(들)은 건조 트롬빈 조성물의 재구성후 별개의 단계에서 지혈 조성물에 도입된다.
- [0142] 바람직하게는, 친수성 화합물(들)은 지혈 조성물을 생성하는 추가의 혼합 단계를 회피하기 위해 트롬빈 성분 또는 페이스트 성분에 포함된다.
- [0143] *추가 생물활성제*
- [0144] 본 발명의 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 지혈, 창상 치유, 골 치유, 조직 치유 및/또는 건 치유를 자극시킬 수 있는 하나 이상의 추가 생물활성제를 포함한다. 하나 이상의 생물활성제는 건조 트롬빈 조성물의 성분, 생체적합성 중합체를 포함하고/하거나 건조 트롬빈 조성물의 재구성후 별개의 단계에서 지혈 조성물에 도입되는 페이스트일 수 있다. 바람직하게는, 이러한 생물활성제는 추가 혼합 단계를 회피하기 위해 건조 트롬빈 조성물 또는 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트에 포함된다. 생물활성제가 저장 및 재구성 동안 그 생물활성을 유지하는 것, 즉 약제가 최종 지혈 조성물에서 그 생물학적 기능을 보유하는 것이 필수적이다. 다수의 생물활성제는, 물이 존재하는 경우, 이들의 이차 구조를 분해하고 손실할 수 있는 용액, 특히 효소 및 단백질에서 불안정하다.
- [0145] 하나 이상의 추가 생물활성제는, 예를 들어, 피브리노겐, 인자 XIII과 조합된 피브리노겐, 또는 트라넥삼산과 조합된 피브리노겐 및 인자 XIII일 수 있다.
- [0146] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 골 및/또는 건 및/또는 조직 치유를 자극하는 하나 이상의 추가 생물활성제, 예를 들어, 매트릭스 메탈로프로테이나제(MMP), 인슐린-유사 성장 인자 1(IGF-I), 혈소판-유래 성장 인자(PDGF), 혈관 상피 성장 인자(VEGF), 기본 섬유아세포 성장 인자(bFGF) 및 형질전환 성장 인자 베타(TGF-β)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 성장 인자를 포함한다.
- [0147] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 하나 이상의 골 형태형성 단백질(BMP)을 포함한다. 골 형태형성 단백질(BMP)는 TGF-β 상과의 하위그룹이다. 골 형태형성 단백질(BMP)는 사이토킨 및 메타볼로겐으로도 공지된 성장 인자의 그룹이다. 골 및 연골의 형성을 유도하는 이들의 능력에 의해 본래 발견된 바와 같이, BMP는 신체 전체의 조직 구조를 조정하는, 매우 중요한 형태형성 신호의 그룹을 구성하는 것으로 생각되고 있다.
- [0148] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 하나 이상의 매트릭스 메탈로프로테이나제(MMP)를 포함한다. MMP는 아연-의존성 엔도펩티다제이다. MMP는 손상 후의 치유 과정에서 세포외 매트릭스(ECM)의 분해 및 재모델링에 매우 중요한 역할을 담당한다. MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-13 및 MMP-14를 포함하는 특정 MMP는 콜라게나제 활성을 갖고, 이는, 다수의 다른 효소와 달리, 이들이 콜라겐 I 피브릴(fibril)을 분해할 수 있음을 의미한다.
- [0149] 이들 성장 인자는 모두 치유 과정에서 상이한 역할을 담당한다. IGF-1은 염증의 초기 단계에서 콜라겐 및 프로테오글리칸 생성을 증가시키고, PDGF는 또한 손상후 초기 단계에서 존재하고 DNA의 합성 및 세포의 증식과 함께 다른 성장 인자의 합성을 촉진시킨다. 3개 이소형의 TGF-β(TGF-β1, TGF-β2, TGF-β3)은 창상 치유 및 흉터 형성에서 역할을 담당하는 것으로 공지되어 있다. VEGF는 혈관신생을 촉진하고 내피 세포 증식 및 이주를 유도하는 것으로 공지되어 있다.
- [0150] 한 가지 구현예에서, 본 개시내용의 지혈 조성물은 세포외 매트릭스(ECM)의 플레이크(flake) 또는 입자를 포함한다. ECM은 동물 조직의 세포외 부분이고, 통상 다른 다양한 중요한 기능을 실행하는 것에 추가하여, 동물 세포에 구조적 서포트를 제공한다. ECM은, 기능적 조직 재생을 촉진하기 때문에, 치유에 매우 유익한 효과를 갖는 것으로 밝혀져 있다.
- [0151] 본 발명의 지혈 조성물과 조합하여 사용될 수 있는 다양한 추가 생물활성제는 거대하다. 일반적으로, 본 발명의 지혈 조성물을 통해 투여될 수 있는 생물활성제는, 제한 없이, 항감염제, 예를 들어, 항생물질 및 항바이러스제; 진통제 및 진통약 조합물; 구충제; 항관절염; 항경련제; 항우울제; 항히스타민제, 항염증제, 항편두통 제제; 항종양제; 항파킨슨병 약; 항정신병제; 해열제; 진경제; 항콜린작용약; 교감신경자극제; 크산틴 유도제; 갈슘 채널 차단제 및 베타-차단제, 예를 들어, 핀돌롤 및 항부정맥제를 포함하는 심혈관 제제; 강압제; 이뇨제; 일반적 관상동맥, 말초신경 및 뇌를 포함하는 혈관확장제; 중추신경계 자극제; 호르몬, 예를 들어, 에스트라디

을 및 코르티코스테로이드를 포함하는 기타 스테로이드; 면역억제제; 근육 이완제; 부교감신경차단약; 정신자극 약; 천연 유래 또는 유전자 조작된 단백질, 다당류, 당단백질 또는 지단백질; 올리고뉴클레오티드, 항체, 항원, 콜린작용약, 화학요법제, 방사활성제, 골유도제, 낭종 해파린 중화제, 응고촉진제 및 지혈제, 예를 들어, 프로 트롬빈, 트롬빈, 피브리노겐, 피브린, 피브로넥틴, 헤파리나제, 인자 X/Xa, 인자 VII/VIIa, 인자 VIII/VIIIa, 인자 IX/IXa, 인자 XI/XIa, 인자 XII/XIIa, 인자 XIII/XIIIa, 조직 인자, 바트록소빈, 안크로드, 에카린, 폰 빌레브란트 인자, 혈소판 표면 당단백질, 바소프레신, 바소프레신 유사체, 에피네프린, 셀렉틴, 응고촉진 독, 플라스미노겐 활성화인자 억제제, 혈소판 활성화제 및 지혈 활성을 갖는 합성 펩티드를 포함한다.

- [0152] 한 가지 구현예에서, 하나 이상의 추가 생물활성제(들)는 건조 트롬빈 조성물의 성분이다.
- [0153] 한 가지 구현예에서, 하나 이상의 추가 생물활성제(들)는 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트의 성분이다.
- [0154] 한 가지 구현예에서, 하나 이상의 추가 생물활성제(들)는 건조 트롬빈 조성물의 재구성후 별개의 단계에서 지혈 조성물에 도입된다.
- [0155] *추가 화합물*
- [0156] 본 발명의 지혈 조성물은 이하의 하나 이상을 추가로 포함할 수 있다: DMSO(디메틸 설펡사이드) 및/또는 2-메틸 -2,4-펜탄디올(MPD).
- [0157] 한 가지 구현예에서, 본 개시내용의 지혈 조성물은 하나 이상의 향미생물제, 예를 들어, 하나 이상의 향균제를 포함한다.
- [0158] 한 가지 구현예에서, 본 개시내용의 지혈 조성물은 벤즈알코늄 클로라이드를 포함한다.
- [0159] 한 가지 구현예에서, 본 개시내용의 지혈 조성물은 향미생물제를 포함하지 않는다.
- [0160] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 압출 촉진제, 즉 시린지로부터 페이스트의 압출을 용이하게 할 수 있는 화합물을 추가로 포함한다.
- [0161] 이전에, 특정 압출 촉진제, 예를 들어, 적절한 양의 알부민의 제공은, 예를 들어, 시린지로부터 젤라틴 페이스 트 조성물을 압출시키는데 필요한 힘의 양을 감소시키기 때문에, 보다 높은 젤라틴 농도의 사용을 가능하게 하 는 것으로 밝혀졌다. 보다 높은 젤라틴 농도의 사용은 또한 이러한 제품의 지혈 특성을 개선시킬 수 있다. 압 출 촉진제를 적절한 양으로 제공할 필요가 있다. 그 양은 바람직하게는 압출 효과를 수득하기에, 즉, 예를 들 어, 지혈 조성물이 어플리케이터 팁(applicator tip)을 포함하는 시린지를 사용하여 외과에 의해 정확하게 적 용될 수 있도록, 비교적 높은 양의 생체적합성 중합체, 예를 들어, 가교-결합된 젤라틴에 대해서도 유동성 페이 스트를 가능하게 하기에 충분히 높고; 다른 한편, 그 양은 지혈 조성물의 잠재적 부정적 기능 특성을 방지할 수 있을 만큼 낮아야 한다.
- [0162] 압출 촉진제는 바람직하게는 알부민, 특히 인간 혈청 알부민이다.
- [0163] 본 발명의 지혈 조성물에서, 압출 촉진제, 예를 들어, 알부민은 약 0.1% 내지 약 10%, 예를 들어, 약 0.2% 내지 약 8%, 예를 들어, 약 0.3% 내지 약 7%, 바람직하게는 약 0.5% 내지 약 5%, 예를 들어, 약 1% 내지 약 4%의 양 으로 존재한다.
- [0164] 한 가지 구현예에서, 본 발명의 지혈 조성물은 미량의 알부민, 예를 들어, 0.1% 미만, 예를 들어, 0.01% 미만, 예를 들어, 0.001% 미만, 예를 들어, 0.0001% 미만을 포함한다.
- [0165] 하나 이상의 추가 화합물(들)은 건조 트롬빈 조성물의 성분, 생체적합성 중합체를 포함하고/하거나 건조 트롬빈 조성물의 재구성후 별개의 단계에서 지혈 조성물에 도입되는 페이스트의 성분일 수 있다.
- [0166] 한 가지 구현예에서, 하나 이상의 추가 화합물(들)은 건조 트롬빈 조성물의 성분이다.
- [0167] 한 가지 구현예에서, 하나 이상의 추가 화합물(들)은 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트의 성분이다.
- [0168] 한 가지 구현예에서, 하나 이상의 추가 화합물(들)은 건조 트롬빈 조성물의 재구성후 별개의 단계에서 지혈 조 성물에 도입된다.
- [0169] *지혈 조성물의 제조/건조 트롬빈 조성물의 재구성*
- [0170] 본 개시내용은 창상의 치료에 사용하기에 적합함; 특히 지혈 목적을 위한 지혈 조성물을 생성하기 위해 건조 트 롬빈 조성물을 페이스트에서 직접 재구성하는 방법에 관한 것이다.

- [0171] 따라서, 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물을 제조하는 방법으로서,
- [0172] a) 건조 트롬빈 조성물을 제1 용기에 제공하는 단계;
- [0173] b) 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 제2 용기에 제공하는 단계;
- [0174] c) 적합한 접속 수단을 사용하여 제1 용기 및 제2 용기를 접속시키는 단계; 및
- [0175] d) 용기의 내용물을 혼합하는 단계
- [0176] 를 포함하는, 방법이 제공된다.
- [0177] 한 가지 구현예에서, 건조 트롬빈 조성물을 재구성하는 방법으로서,
- [0178] a) 건조 트롬빈 조성물을 제1 용기에 제공하는 단계;
- [0179] b) 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 제2 용기에 제공하는 단계;
- [0180] c) 적합한 접속 수단을 사용하여 상기 제1 용기와 제2 용기를 접속시키는 단계; 및
- [0181] d) 용기의 내용물을 혼합하는 단계
- [0182] 를 포함하는, 방법이 제공된다.
- [0183] 용기는 통상 시린지이고, 보다 바람직하게는 상호 접속가능한 시린지이다.
- [0184] 한 가지 구현예에서, 적합한 접속 수단은 정적 믹서를 포함한다. 정적 믹서는 혼합 중에 페이스트에 공기를 혼합하는 능력을 제공할 수 있다. 정적 믹서의 치수는 지혈 조성물의 조도 및 지혈 조성물에 공기를 혼합하는 능력에 영향을 미칠 수 있다.
- [0185] 한 가지 구현예에서, 적합한 접속 수단은 표준 타입의 커넥터 부분, 예를 들어, 루어 록(Luer lock) 또는 루어 슬립(Luer slip) 커넥터를 포함한다. 루어 록 또는 루어 슬립 접속의 치수는 지혈 조성물의 조도 및 지혈 조성물에 공기를 혼합하는 능력에 영향을 미칠 수 있다.
- [0186] 혼합은 용기의 내용물을 수회 전후로 이동시킴으로써 실시한다.
- [0187] 한 가지 구현예에서, 이동 수는 20회 미만, 예를 들어, 15회 미만, 예를 들어, 12회 미만, 예를 들어, 10회 미만, 예를 들어, 6회 미만이다.
- [0188] 한 가지 구현예에서, 이동 수는 10회 미만, 예를 들어, 9회 미만, 예를 들어, 8회 미만, 예를 들어, 7회 미만, 예를 들어, 6회 미만, 예를 들어, 5회 미만이다.
- [0189] 한 가지 구현예에서, 이동 수는 8회 미만이다.
- [0190] 바람직한 구현예에서, 이동 수는 약 6회 이하이다.
- [0191] 6회 이동에 의한 혼합은 다음과 같이 실시할 수 있다: 혼합은 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를, 건조 트롬빈 조성물을 보유하는 제1 용기로 이동시켜 개시한다. 따라서, 제1 이동은 제2 용기로부터 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 제1 용기로 이동시키는 것을 특징으로 한다. 제2 이동은, 제1 용기로부터 제2 용기(생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 처음에 보유함)로 트롬빈 및 페이스트 혼합물(제1 이동의 결과)의 이동을 특징으로 한다. 제3 이동은, 제2 용기로부터 제1 용기로 트롬빈 및 페이스트 혼합물(제2 이동의 결과)의 이동을 특징으로 한다. 제4 이동은 제1 용기로부터 제2 용기로 트롬빈 및 페이스트 혼합물(제3 이동의 결과)의 이동을 특징으로 한다. 제5 이동은 제2 용기로부터 제1 용기로 트롬빈 및 페이스트 혼합물(제4 이동의 결과)의 이동을 특징으로 한다. 제6 및 최종 이동은 제1 용기로부터 제2 용기로 트롬빈 및 페이스트 혼합물(제5 이동의 결과)의 이동을 특징으로 한다.
- [0192] 한 가지 구현예에서, 제1 용기와 제2 용기 사이의 6회 이상의 이동이 페이스트에서 건조 트롬빈 조성물의 재구성에 사용된다.
- [0193] 한 가지 구현예에서, 최종 이동은 제1 용기로부터 제2 용기로 트롬빈 및 페이스트 혼합물의 이동을 특징으로 한다. 이어서, 수득되는 지혈 조성물을 상기 제2 용기로부터 치료 부위, 예를 들어, 출혈 창상에 적용할 수 있다. 어플리케이터 팁은 일부 구현예에서 시린지에 장착하고 이전에 기재된 바와 같이 사용할 수 있다.
- [0194] 건조 트롬빈 조성물 및 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트의 혼합은 지혈 조성물 중의 트롬빈의 실질적으

로 균일한 분포를 야기한다.

- [0195] 지혈 조성물
- [0196] 본 개시내용의 지혈 조성물은 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트에서 건조 트롬빈 조성물을 직접 재구성함으로써 제조된다. 페이스트의 재구성은 본원에 기재된 방법에 의해 실시할 수 있다. 지혈 조성물은 지혈 조성물 중의 트롬빈의 실질적으로 균일한 분포를 갖는다.
- [0197] 한 가지 구현예에서, 트롬빈의 균일한 분포는 지혈 조성물 전체에 걸친 트롬빈 함유량의 변동이 20% 미만, 예를 들어, 10% 미만, 예를 들어, 5% 미만, 예를 들어, 4% 미만, 예를 들어, 3% 미만, 예를 들어, 2% 미만, 예를 들어, 1% 미만인 것을 특징으로 한다. 트롬빈 함유량의 변동은 용기 중의 지혈 페이스트의 상이한 분획, 예를 들어, 예를 들어, 시린지의 개시 분획, 시린지의 중간 분획 또는 시린지의 종료 분획 사이의 트롬빈 활성 또는 농도의 차이로서 측정할 수 있다.
- [0198] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물 전체에 걸친 트롬빈 함유량의 변동은 10% 미만이다.
- [0199] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물 전체에 걸친 트롬빈 함유량의 변동은 5% 미만이다.
- [0200] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물 전체에 걸친 트롬빈 함유량의 변동은 4% 미만이다.
- [0201] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물 전체에 걸친 트롬빈 함유량의 변동은 3% 미만이다.
- [0202] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물 전체에 걸친 트롬빈 함유량의 변동은 2% 미만이다.
- [0203] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물 전체에 걸친 트롬빈 함유량의 변동은 1% 미만이다.
- [0204] 본원에 기재된 방법에 의해 수득된 지혈 조성물은 바람직하게는 유동 조성물이다. 본원에 기재된 방법에 의해 수득된 지혈 조성물은 지혈 및/또는 창상 치유에서 사용하기에 적합하다.
- [0205] 지혈 조성물은 하나 이상의 친수성제(들), 예를 들어, 예를 들어, 하나 이상의 폴리올(들) 또는 하나 이상의 폴리(에틸렌 글리콜)(들)(PEG)를 포함할 수 있다.
- [0206] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 트롬빈 이외에 하나 이상의 추가 생물활성제(들)를 포함한다. 이러한 하나 이상의 생물활성제(들)는 지혈, 창상 치유, 골 치유, 조직 치유 및/또는 건 치유를 자극시킬 수 있다.
- [0207] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 하나 이상의 압출 촉진제(들), 예를 들어, 예를 들어, 알부민을 포함한다.
- [0208] 지혈 조성물은 본원에 기재된 건조 트롬빈 조성물의 임의의 재구성 방법에 의해 수득할 수 있다.
- [0209] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 약 100 g×초 내지 약 10,000 g×초, 예를 들어, 약 500 g×초 내지 약 5000 g×초, 예를 들어, 약 1000 g×초 내지 약 3000 g×초, 예를 들어, 약 1500 g×초 내지 약 2000 g×초 범위 내의 조도를 갖는다.
- [0210] 한 가지 구현예에서, 지혈 조성물은 약 5000 g×초 미만, 예를 들어, 약 4000 g×초 미만, 예를 들어, 약 3000 g×초 미만, 예를 들어, 약 2000 g×초 미만의 조도를 갖는다.
- [0211] 용기
- [0212] 당업자에게 공지된 임의의 적합한 용기, 예를 들어, 바이알, 자르(jar), 튜브, 트레이, 카트리지 또는 시린지를 지혈 조성물의 제조에 사용할 수 있다.
- [0213] 건조 트롬빈 조성물은 제1 용기에 제공되고, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 제2 용기에 제공된다.
- [0214] 제1 및 제2 용기는 임의의 적합한 재료, 예를 들어, 플라스틱, 유리, 세라믹, 플라스틱 또는 금속, 예를 들어, 스테인레스 강으로부터 제조될 수 있다. 적합한 플라스틱 재료의 예는 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리비닐 클로라이드 및 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE)을 포함하지만, 이들로 한정되지 않는다.
- [0215] 한 가지 구현예에서, 건조 트롬빈 조성물은, 시린지, 바이알, 자르, 튜브, 트레이 또는 카트리지로부터 선택될 수 있는 제1 용기에 제공된다.
- [0216] 바람직한 구현예에서, 건조 트롬빈 조성물을 보유하는 상기 제1 용기는, 이를 필요로 하는 환자에게 유동성 지혈 조성물을 분배하기에 적합한 의료용 전달 디바이스, 예를 들어, 시린지이다.
- [0217] 제1 용기는 통상, 용기의 내용물에 영향을 미치지 않고서, 화학적 표면 멸균화에 적합한 재료로부터 제조된다.

예를 들어, 상기 제1 용기는, 에틸렌 옥사이드에 투과성인 재료, 예를 들어, 예를 들어, 에틸렌 옥사이드에 투과성인 금속, 유리 또는 플라스틱으로 제조된다.

- [0218] 건조 트롬빈 조성물은 바람직하게는 유리 용기에 제공될 수 있고, 따라서 에틸렌 옥사이드 가스를 사용한 상기 용기의 멸균화를 가능하게 한다. 한 가지 구현예에서, 상기 제1 용기는 유리 시린지이다. 한 가지 구현예에서, 상기 제1 용기는 건조 트롬빈을 보유하는 유리 인서트(glass insert)를 갖는 시린지이다.
- [0219] 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는, 시린지, 바이알, 자르, 튜브, 트레이 또는 카트리지로부터 선택될 수 있는 제2 용기에 제공된다. 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는, 당해 기술분야에 공지된 방법에 의해, 예를 들어, 생체적합성 중합체 분말을 수성 매질과 혼합하여 상기 페이스트를 생성함으로써 제조할 수 있다. 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 적합하게는 별크로 제조될 수 있고, 상기 제2 용기에 이동/분주(aliquoting)될 수 있다.
- [0220] 바람직한 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 보유하는 용기는 이를 필요로 하는 환자에게 유동성 지혈 조성물을 분배하는데 적합한 의료용 전달 디바이스, 예를 들어, 시린지이다. 한 가지 구현예에서, 제2 용기는 단일-사용 플라스틱 시린지이다.
- [0221] 한 가지 구현예에서, 제1 및 제2 용기는 상호 접속가능하다. 커넥터 부분은 표준 타입의 커넥터 부분, 예를 들어, 루어 록 또는 루어 슬립 커넥터일 수 있다. 커넥터 부분은 대응하는 커넥터와의 안전한 접속을 위해 트레드화 부분을 구비할 수 있다. 상기 루어 록 또는 루어 슬립 접속의 치수는 건조 트롬빈 조성물 및 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트의 혼합 동안 지혈 조성물로 공기 중에서 혼합하는 능력을 변화시킬 수 있다. 추가로, 루어 록 또는 루어 슬립 접속의 치수는 지혈 조성물의 조도에 영향을 미칠 수 있다.
- [0222] 한 가지 구현예에서, 커넥터 부분은 정적 믹서를 포함한다. 상기 정적 믹서의 치수는, 건조 트롬빈 조성물 및 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트의 혼합 동안 공기 중에서 지혈 조성물에 혼합하는 능력을 변화시킬 수 있다. 추가로, 정적 믹서의 치수는 지혈 조성물의 조도에 영향을 미칠 수 있다.
- [0223] *외부 패키지(package)*
- [0224] 한 가지 구현예에서, 예를 들어, 시린지, 예를 들어, 본원에 개시된 시린지 또는 기타 격리 유닛 내에 함유된 생체적합성 중합체를 포함하는 건조 트롬빈 조성물 및/또는 페이스트는, 사용할 때까지 제품이 멸균으로 유지되도록 외부 패키지에 추가하여 함유된다. 이에 의해, 사용자는 외부 패키지를 제거하고 지혈 조성물의 성분을 멸균 필드(sterile field)로 이동시킬 수 있다.
- [0225] 외부 패키지는 통상, 유연한, 반경질 또는 경질 재료로 제조되고, 통상 재료, 예를 들어, 플라스틱, 알루미늄 호일 및/또는 플라스틱 라미네이트로 구성되고, 여기서 플라스틱은 PET, PETG, PE, LLDPE, CPP, PA, PETP, METPET, Tyvek로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있고, 임의로 접착제, 예를 들어, 폴리우레탄으로 결합되거나, 공-압출될 수 있다.
- [0226] 한 가지 구현예에서, 외부 패키지는 알루미늄 호일 외부 패키지이다.
- [0227] 외부 패키지는 바람직하게는 수분에 대한 완전한 배리어(barrier)를 형성한다.
- [0228] 외부 패키지는 바람직하게는, 예를 들어, 방사선에 의한 멸균 처리에 견딜 수 있다.
- [0229] 한 가지 구현예에서, 건조 트롬빈 조성물을 포함하는 제1 시린지 및 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 포함하는 제2 시린지는 별개의 외부 패키지에 함유된다.
- [0230] *멸균*
- [0231] 건조 트롬빈 조성물, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트 및/또는 본 개시내용의 지혈 조성물은 바람직하게는 멸균이다. 당해 기술분야에 공지되어 있는 임의의 적합한 멸균 기술을 이용할 수 있다. 멸균은, 전염성 물질(예를 들어, 진균, 세균, 바이러스, 프리온 및 포자 형태 등)을 효과적으로 사멸 또는 배제하는 임의의 프로세스를 지칭한다. 멸균은, 예를 들어, 열, 화학품 및/또는 방사선의 적용에 의해 달성할 수 있다.
- [0232] 멸균은 열 멸균에 의해 달성할 수 있고, 오토클레이빙(고온에서 수증기 사용) 및 건조 열을 포함한다.
- [0233] 멸균은, 성분에 멸균성을 제공하도록, 방사선, 예를 들어, 이온화 방사선에 의해 달성할 수 있다. 이러한 조사선(irradiation)은 e-빔(베타 조사선), X-선, 감마 및 베타 선, UV 광 및 아원자 입자(subatomic particle)를 포함할 수 있다. 시간을 포함하여 멸균을 위한 조사 수준 및 조건은 멸균 조성물을 제공하는 것들이다. 멸균

조건은 당해 기술분야에서 현재 이용되는 것들과 유사하고, 당업자에 의해 결정될 수 있다.

- [0234] 멸균은 화학적 멸균, 예를 들어, 에틸렌 옥사이드 가스, 오존, 염소계 표백제, 글루타르알데히드, 포름알데히드, 오르토 프탈알데히드, 과산화수소 및/또는 과아세트산을 사용하여 실시할 수 있다.
- [0235] 건조 트롬빈 조성물은 통상 무균 방법을 사용하여 상기 제1 용기에 멸균 건조 트롬빈 조성물을 제공함으로써 제조된다.
- [0236] 한 가지 구현예에서, 건조 트롬빈 조성물을 포함하는 제1 용기의 표면은 화학적 멸균, 예를 들어, 에틸렌 옥사이드 가스로 멸균된다.
- [0237] 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트는 조사선, 예를 들어, 감마 조사선에 의해 멸균된다.
- [0238] 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 포함하는 제2 용기의 멸균은 베타 또는 감마 조사선을 사용하여 멸균 페이스트 및 멸균 용기를 제공함으로써 멸균된다.
- [0239] 한 가지 구현예에서, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 포함하는 제2 용기의 멸균은, 즉 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 포함하는 제2 용기가 외부 패키지에 함유되는 경우, 최종 멸균으로서 발생한다.
- [0240] 의료 용도
- [0241] 본 개시내용은 추가로, 지혈 및/또는 창상 치유를 촉진하기 위한 본 개시내용의 방법에 의해 획득된 지혈 조성물의 사용에 관한 것이다.
- [0242] 본 개시내용의 지혈 조성물은, 예를 들어, 출혈 제어가 바람직한 일련의 외과적 처치에서 사용될 수 있다. 지혈 조성물은, 출혈을 신속하게 정지시키기 위해 불규칙한 표면에 적합한 페이스트의 형태이고, 따라서 지혈 스폰지가 효율적이지 않은 거친 또는 불균일한 표면 상에서 신속한 지혈을 제공하는데 유용하다.
- [0243] 일반적으로, 지혈 페이스트는 개업의, 즉 의사 또는 간호사가 필요에 따라 수술 부위에서 직접 제조하고, 통상 용기, 예를 들어, 소정량의 생체적합성 중합체를 함유하는 시린지에 액체(임의로 트롬빈을 포함)를 첨가함으로써 제조된다. 생체적합성 중합체는 액체로 사전-습윤화될 수 있거나 본질적으로 건조 상태일 수 있다(자유-유동 분말). 따라서, 페이스트는 매우 스트레스 조건하에 종종 제조되고, 따라서 페이스트를 제조하는 프로세스가 단순하고 신속하여 출혈을 가능한 신속하게 저지하고 페이스트를 제조하는 동안에 실수가 없도록 하는 것이 필수적이고, 간호사는 지혈제를 준비하는 대신에 외과의의 니즈(needs)에 집중할 수 있다. 또한, 페이스트의 조도가 지혈 페이스트로서 사용하기에 적합하고 제품의 조도가 제조로부터 제조까지 및 시간 경과에 따라 독립적인 것도 중요하다.
- [0244] 현재 이용가능한 유동성 페이스트 제품(Floseal[®] 및 Surgiflo[®])은, 상기 재구성된 트롬빈 용액을 생체적합성 중합체와 기계적 혼합하기 전에, 실질적으로 균질한 페이스트를 획득하기 위해 생체적합성 중합체 및 액체를 2개 접속된 시린지 사이에 수회 통과시킴으로써 액체에서 트롬빈 조성물의 재구성을 필요로 한다. 트롬빈의 재구성은 시간 소모적이고 오차 발생이 쉽고, OR 설정에서 바람직하지 않은 2가지 요인이다. 이들 제품은 종종 수술중에 필요로 하는 경우에 수술 전에 OR에서 사전-준비되고, 미사용 제품은 종종 폐기되어 불필요한 높은 OR 비용을 발생시킨다.
- [0245] 본 개시내용의 지혈 조성물을 제조하는 방법은 현재 이용가능한 방법보다 우수하여, 페이스트에서 건조 트롬빈 조성물의 직접 재구성을 가능하게 하여 수술에서 취급 단계의 수를 감소시킨다. 본 개시내용의 지혈 조성물은 생체적합성 중합체를 포함하는 소정량의 페이스트를 건조 트롬빈 조성물을 포함하는 용기에 첨가하고 내용물을 혼합, 예를 들어, 내용물을 상호 접속된 2개 시린지 사이에서 수회 이동시킴으로써 제조할 수 있고, 이에 의해 실질적으로 균일하게 분포된 트롬빈을 포함하는 사용 준비의 지혈 페이스트가 형성된다.
- [0246] 액체에서 건조 트롬빈 조성물의 사전 재구성이 필요하지 않다는 사실은 페이스트의 제조에 보다 적은 시간이 소비되고 또한 환자 안전성의 증가를 유도하며, 이들 둘 다는 지혈 조성물이 환자에게 보다 신속하게 적용될 수 있고 단순한 제조 방법이 지혈 조성물의 제조 동안 실수가 발생할 가능성을 감소시키기 때문이다. 또한, 본 개시내용의 지혈 조성물을 제조하는 방법은, 제조가 매우 단순하고 신속하기 때문에, 수술 전에 현재 제품을 사전-제조할 필요가 없으므로, OR 비용을 감소시킬 수 있다.
- [0247] 본 발명의 방법의 또 다른 주목할만한 이점은, 현재의 지혈 유동성 키트와 비교하여, 보다 적은 성분으로 이루어진 키트를 제조할 수 있다는 것이다. OR에서 유동성 페이스트 조성물을 제조하는데 필요한 것은, 제1 용기,

예를 들어, 시린지에 포함된 본원에 기재된 건조 트롬빈 조성물, 및 제2 용기, 예를 들어, 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 포함하는 의료 전달 디바이스이다. 2개를 접속하여 혼합하면, 트롬빈을 포함하는 효과적인 지혈에 필요한 모든 약제를 함유하는 사용 준비의 유동성 페이스트가 형성된다. 따라서, 본 개시내용의 방법에 따라 제조한 제품에는 추가의 시린지, 바이알 어댑터, 바늘 및 혼합 보울이 요구되지 않는다. 이는, 수술 동안 OR 스태프가 추적하는 성분이 보다 적기 때문에, 제조 비용을 감소시킬 수 있고 또한 환자의 안전성도 확보할 수 있음을 의미한다. 지혈제의 바늘-비함유 제조는 또한 OR 스태프의 안전성을 보장한다.

[0248] 한 가지 구현예에서, 본 개시내용은, 본 개시내용의 방법에 의해 제조된 지혈 조성물을 출혈 부위에 적용함으로써 이를 필요로 하는 개체에서 출혈 저지/지혈 촉진을 위한 방법에 관한 것이다.

[0249] 본 개시내용의 지혈 조성물은, 일반 수술, 심장흉부 수술, 혈관 수술, 플라스틱 수술, 소아 수술, 결장직장 수술, 이식 수술, 외과 종양학, 외상 수술, 내분비 수술, 유방 수술, 피부 수술, 이비인후과, 부인과, 경구 및 악안면 수술, 치과외과, 정형외과, 신경외과, 안과, 소아외과, 비뇨기과를 포함하는 임의 타입의 수술에 사용할 수 있다.

[0250] 한 가지 구현예에서, 본 개시내용은, 본 개시내용의 방법에 의해 제조된 지혈 조성물을 창상에 적용함으로써 이를 필요로 하는 개체에서 창상 치유를 촉진시키는 방법에 관한 것이다.

[0251] "창상"은, 상이한 방식(예를 들어, 장시간 침상 안정으로부터의 욕창 및 외상에 의해 유발된 창상) 및 상이한 특성으로 개시된 피부 및/또는 피층(피하) 조직의 손상을 광범위하게 지칭한다. 창상은 창상의 깊이에 따라 4 개 등급 중의 하나로 분류할 수 있다: i) 등급 I: 상피로 한정된 창상; ii) 등급 II: 진피로 확장하는 창상; iii) 등급 III: 피하 조직으로 확장하는 창상; 및 iv) 등급 IV(또는 전층 창상): 골이 노출되어 있는 창상(예를 들어, 골의 압력점, 예를 들어, 대전자 또는 천골). 본 개시내용은, 본 개시내용의 지혈 조성물을 사용하는 상술한 임의 타입의 창상의 치료에 관한 것이다.

[0252] 창상의 치료는, 원칙적으로, 창상의 치유 또는 창상 치유의 가속을 야기할 수 있다. 가속된 치유는, 예를 들어, 창상 치유 촉진 물질의 투여 결과일 수 있다. 또는, 창상 치유는, 세균 또는 바이러스 감염을 예방하거나, 달리는 창상 치료 프로세스를 연장시킬 수 있는 이러한 감염 위험을 감소시킴으로써 촉진될 수 있다.

[0253] 한 가지 구현예에서, 본 개시내용은, 본 개시내용의 방법에 의해 제조된 지혈 조성물을 손상된 골/건에 적용함으로써 이를 필요로 하는 개체에서 골 및/또는 건 치유를 촉진시키는 방법에 관한 것이다.

[0254] 본원에서 지칭되는 "개체"는, 설치류 목의 포유동물, 예를 들어, 마우스 및 햄스터, 및 로고모르파(Logomorpha) 목의 포유동물, 예를 들어, 래빗을 포함하지만 이들로 한정되지 않는, 임의의 포유동물일 수 있다. 포유동물은, 펠린(고양이) 및 캐닌(개)을 포함하는 육식동물 목에 속하는 것이 바람직하다. 포유동물은, 보빈(소) 및 스와인(돼지)를 포함하는 아티오닥틸라 목, 또는 에퀴(말)을 포함하는 페르소닥틸라 목인 것이 보다 바람직하다. 포유동물은, 영장류, 세보이드(Ceboid) 또는 시모이드(원숭이) 목, 또는 유인원(인간 및 유인원) 목인 것이 가장 바람직하다. 특히 바람직한 포유동물은 인간이다.

[0255] 한 가지 구현예에서, 본 개시내용은, 창상의 치료에 사용하기 위한, 예를 들어, 출혈을 저지하고 창상 치유를 촉진하기 위한, 본원에 개시된 지혈 조성물에 관한 것이다.

[0256] 지혈 키트

[0257] 본 개시내용은, 본 개시내용의 건조 트롬빈 조성물 및 건조 트롬빈 조성물의 양에 적합시킨 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 포함하는 지혈 조성물에 관한 것이고, 혼합시, 지혈에 사용하기에 적합한 트롬빈 함유량을 갖는 지혈 조성물이 형성될 것이다.

[0258] 따라서, 한 가지 구현예에서, 본 개시내용은,

[0259] a) 건조 트롬빈 조성물을 포함하는 제1 시린지;

[0260] b) 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 포함하는 제2 시린지; 및

[0261] c) 임의로 외부 팩키지

[0262] 를 포함하고,

[0263] 상기 2개 시린지가 상호 접속가능한, 지혈 키트에 관한 것이다.

- [0264] 한 가지 구현예에서, 지혈 키트는
- [0265] a) 건조 트롬빈 조성물을 외부 팩키지에 포함하는 제1 시린지;
- [0266] b) 생체적합성 중합체를 포함하는 페이스트를 외부 팩키지에 포함하는 제2 시린지; 및
- [0267] c) 임의로, a) 및 b)의 성분을 포함하는 외부 팩키지
- [0268] 를 포함하고,
- [0269] 상기 2개 시린지는 상호 접속가능하다.
- [0270] 한 가지 구현예에서, 키트는 하나 이상의 어플리케이터 팁을 추가로 포함한다.
- [0271] 키트는 키트의 사용을 위한 설명서를 추가로 함유할 수 있다.
- [0272] 지혈 키트의 성분은 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같을 수 있다.

[0273] **실시예**

[0274] **실시예 1: 페이스트 중의 트롬빈 분포**

[0275] *재료:*

[0276] 10mL 유리 시린지(제1 시린지) 중의 2000IU 건조 트롬빈.

[0277] 10mL 시린지(제2 시린지) 중의 5mL의 젤라틴 페이스트.

[0278] *방법:*

[0279] 2개 시린지는 루어 록을 통해 상호 접속되어 있고, 젤라틴 페이스트 내용물은 건조 트롬빈 조성물을 함유하는 시린지로 이동시킨다(1차 이동). 이어서, 수득되는 트롬빈 및 젤라틴 페이스트의 혼합물을 제1 시린지와 제2 시린지 사이에서 5회 전후로 이동시켜, 제2 시린지 내에 함유된 지혈 조성물을 수득한다(도 1). 이동의 총 수는 6회이다. 수득된 지혈 조성물은 트롬빈을 포함하는 유동성 페이스트 제형이고, 본원에서 "6tomix" 또는 "6TM" 페이스트로서 식별된다. 혼합 결과로서, 총 약 3mL의 공기를 페이스트와 혼합하여 약 8mL의 페이스트의 최종 용적을 제공한다.

[0280] *결과:*

[0281] 최종 지혈 조성물은 약 8mL의 용적을 갖는 페이스트이다.

[0282] 지혈 조성물의 트롬빈 함유량은 지혈 조성물의 상이한 분획에서 평균 트롬빈 활성으로서 측정된다.

[0283] 하기 분수 분할이 적용된다: 개시 분획(즉, 시린지로부터 압출된 최초 1/3 지혈 조성물), 중간 분획(시린지로부터 압출된 중간 1/3 지혈 조성물) 및 종료 분획(시린지로부터 압출된 최종 1/3 지혈 조성물).

[0284] 총 지혈 조성물의 트롬빈 활성은 100%로 설정되고, 개개 분획의 평균 트롬빈 활성은 총 활성의 퍼센트로서 계산된다. 지혈 조성물 중의 완전히 균일한 트롬빈 분포는, 33.333%의 3개 분획 각각의 평균 트롬빈 활성을 가져올 것이다.

	최초 분획	중간 분획	종료 분획
평균 트롬빈 활성	33 %	31 %	36 %

[0285]

[0286] *트롬빈 함유량의 변동:*

[0287] 트롬빈 함유량의 변동은 2개 분획 사이의 평균 트롬빈 활성의 퍼센트 차이로서 계산된다.

[0288] 트롬빈 함유량의 최대 변동은 여기서 다음과 같이 계산된다:

[0289] $(36/(31+36))-0.50)*100 = 3.7\%$.

[0290] 결론적으로, 이는 건조 트롬빈 조성물이, 지혈 조성물 중의 트롬빈의 실질적으로 균일한 분포를 갖는 지혈 조성물을 생성하기 위해, 2개 시린지 사이의 2개 성분의 6회 이동을 통해 젤라틴 페이스트 중에서 직접 재구성될 수 있음을 입증한다.

- [0291] **실시예 2: 페이스트의 지혈 효과**
- [0292] **목적**
- [0293] 연구 목적은 실시예 1의 6TM 페이스트의 지혈 유효성을 시험하기 위한 것이었다. 페이스트의 지혈 유효성은 상업적으로 시판되는 Surgiflo[®] 페이스트의 것과 비교했다. Surgiflo[®]은 출혈 표면에 도포함으로써 지혈용으로 승인된 무균의 흡수성 돼지 젤라틴 페이스트 제형이고, 시장에서 확립된 제품이다.
- [0294] 지혈 유효성은 하기 기재된 바와 같이 돼지 비장 생검 모델에서 시험했다.
- [0295] **실험 모델**
- [0296] 돼지 비장 생검-천공 모델을 사용하여, 10초의 초기 압박 기간, 120초의 평가 기간 및 이어서 10초의 후속 압박 기간으로 비장에 8mm 천공(3mm 깊이)을 적용했다.
- [0297] 돼지 비장 생검-천공 모델은 생체내에서 지혈 페이스트의 지혈 유효성을 평가하기 위한 확립된 모델이다[참조: Hutchinson et al., 2015, Surgical Technology International XXVII]. 본 연구의 돼지 비장 생검-천공 모델은 헛친슨 등(Hutchinson et al., 2015)에서 사용된 것과 유사하다. 본 연구는 덴마크의 동물 실험 검사관(Dyrefors øgstilsynet)의 허가를 얻어 실행되었다.
- [0298] **실험 동물**
- [0299] 돼지는 대량의 혈액(70ml/kg)과 대혈관 비장을 갖기 때문에 이 모델에 최적의 동물이고, 단일 동물에서 다수의 지혈 비교를 가능하게 한다. 본 연구의 암컷 돼지는 체중 약 40kg(±5kg) 및 3개월의 연령을 갖는다. 돼지의 포함 기준은 체중이다. 체중의 하한은, 시험되는 장기가 적절한 크기인 것을 확인하기 위해 설정되었고, 상한은 돼지의 크기가 표준화되어 있는 것을 확인하기 위한 가이드라인이었다.
- [0300] 수술 시점에서, 시험된 돼지는 임상적 질병의 징후를 나타내지 않았다.
- [0301] **마취 및 수액 요법**
- [0302] 돼지는 수술 전에 적어도 6시간 동안 절식시켰다. 마취는 다음 혼합물의 근육내 주사(1mL/10kg)에 의해 유도했다: 졸레틸(Zoletil) 50 Vet(125mg 티레타민 및 125mg 졸아제팜 함유)의 바이알에 첨가된, 6.25mL 나르코실(Narcoxy1)(Xylazin 20mg/mL), 1.25mL 케타미놀(Ketaminol)(Ketamin 100mg/mL), 2mL 투르보게신(Turbogesic)(Butorphanol 10mg/mL).
- [0303] 돼지에 삽관하고, 0.5L 산소/2.5L 공기/분의 혼합물을 갖는 호흡기로 환기시켰다. 마취는 펜타닐(50µg/mL, 1mL/10kg/시간) 및 프로포폴(10mg/mL, 1.5mL/kg/시간)의 정맥내 투여에 의해 유지했다. 동물은, 락테이트화 링거 용액(125mL/시간)으로 정상 수화상태로 유지했다. 상기 언급된 약제의 사용은 지혈에 영향을 미치지 않는다는 것이 이전에 평가되어 있다.
- [0304] 본 연구에 사용된 돼지는 심장 정지를 가져 오는 과량의 바비투레이트를 사용하여 수술 후에 안락사시켰다.
- [0305] **시험 절차**
- [0306] **샘플 준비**
- [0307] 본 발명의 6TM 페이스트는, 실시예 1에 기재된 바와 같이, 즉 식염수 중에서 트롬빈의 사전 재구성 없이, 습윤 젤라틴 페이스트를 트롬빈의 건조 조제물과 혼합함으로써 제조했다.
- [0308] 2014년 6월 11일자의 서지플로(Surgiflo) 사용 설명서에 따라 서지플로(대조군)을 트롬빈 용액과 혼합했다.
- [0309] 일단 트롬빈과 혼합하면, 대조군 제품(서지플로) 및 본 발명의 6TM 페이스트의 화학 조성 및 함수량은 동일했다.
- [0310] 저장 조건을 모방(mimic)하기 위해, 트롬빈과의 혼합 및 후속 시험 전에 페이스트를 40°C에서 3개월 동안 저장하고, 유일한 차이는 대조군 페이스트가 저장 동안 본 발명의 6TM 페이스트보다 2ml 적은 액체(식염수)를 함유했다는 것이다. 시험 직전에, 트롬빈을 포함하는 2ml 식염수를 대조군 페이스트에 첨가하고, 본 발명의 6TM 페이스트는 시험 직전에 실시예 1에 기재된 바와 같이 건조 트롬빈과 혼합했다.
- [0311] **외과 처치(Surgical procedure)**

- [0312] 비장을 노출시키기 위해 정중선 복부 절개를 수행했다. 8mm의 천공(깊이 3mm)을 비장에 만들었다. 출혈 강도는 하기 본원에 기재된 바와 같이 0 내지 5의 등급으로 평가했다. 출혈 강도 3 및 4만이 허용되는 것으로 간주되었다. 천공은 대조군 샘플 또는 시험 샘플의 어느 것을 위해 준비가 되었다. 모든 시험 샘플에 대해 새로운 천공을 만들었다.
- [0313] 각 샘플 타입은 7회 시험했다(n=7). 샘플은 랜덤화 순서로 시험했다.
- [0314] 습윤 거즈만을 사용하는 12분 음성 대조군은 각 돼지의 시험 기간의 개시시 및 완료시에 수행했다. 음성 대조군은 연구 전체에 걸쳐 출혈하는 동물의 능력의 지표로서 사용되었다.
- [0315] 주요 시험 파라미터는 지혈까지의 시간(TTH)을 측정하는 것이었다. TTH는, 총 시간으로부터 최종 지혈 평가 시간을 뺀 것으로서 정의되고, 그 이상의 출혈이 발행하지 않는, 즉 재-출혈이 없는 것을 보장한다.
- [0316] 출혈 강도의 평가, 및 시험 샘플 및 음성 대조군의 적용은 하기에 상세하게 기재되어 있다.
- [0317] 출혈 강도
- [0318] 각 천공의 출혈 강도는 외과이에 의해 0 내지 5의 등급으로 평가했다(하기 표 참조).
- [0319] 출혈 강도는 각 천공에 대해 t=0에서 확인했다. 출혈 강도가 3 내지 4인 창상에서 수행된 시험만이 추가 분석에 사용되었다.
- [0320] **표: 출혈 강도 수준**

수준 0	출혈 없음(적어도 30초 동안)
수준 1	초기에 출혈은 관찰되지 않고, 손상 최초 30초 이내에 출혈이 관찰된다
수준 2	손상 직후에 출혈이 관찰되고, 창상 부위는 약 30초 이내에 충전된다
수준 3	손상 직후에 출혈이 관찰되고, 창상 부위는 약 3초 이내에 충전된다
수준 4	손상 직후에 출혈이 관찰되고, 손상 직후에 창상 부위가 충전된다(동맥 또는 맥동 출혈은 포함하지 않음)
수준 5	손상 직후에 출혈이 관찰되고, 손상 직후에 창상 부위가 충전된다(동맥 또는 맥동 출혈을 포함)

- [0321]
- [0322] 음성 대조군
- [0323] 습윤 거즈를 천공에 직접 배치했다. 디지털 압력은 30초 동안 인가하고, 이어서 120초 지혈 평가 기간을 수행했다. 지혈을 평가했다(30초 동안 시험 제품 하부로부터 혈액 시빙(sieving)이 없는 것으로 정의됨). 120초 이내에 지혈이 달성되지 않는 경우, 추가로 30초간 디지털 압력을 인가하고, 지혈의 120초 재-평가를 수행했다. 탐포나데(Tamponade) 적용 및 관찰 기간은, 출혈이 정지되고 지혈이 달성되거나 시험 기간이 12분에 도달할 때까지 수행했다. 음성 대조군의 경우 12분 시험 기간 이내에 지혈이 달성되지 않기 때문에, 연구 전체에 걸쳐 돼지가 출혈하는 능력을 나타낸다.
- [0324] 시험 샘플의 적용
- [0325] 대략 1 내지 2 mL 페이스트를, 어플리케이터 팁을 사용하여 천공에 직접 적용했다. 적용 동안, 조직 접촉을 보장하기 위해, 팁을 천공에 침투시켰다. 0.9% 식염수에서 습윤화시킨 적용 거즈를 천공에 배치한 후, 디지털 압력(탐포나데)을 10초 동안 인가했다. 압력을 중지시키고, 거즈를 제거한 다음, 지혈을 평가했다. 시험 제품의 하부로부터 120초 동안 혈액의 시빙이 관찰되지 않는 경우, 지혈이 달성되었고 실험이 종료된 것으로 결론지었다. 시험 제품 하부로부터 120초 프레임 이내에 혈액이 시빙되는 경우, 시빙 시간을 기록하고 디지털 압력을 다시 10초 동안 인가한 다음, 지혈을 검사했다. 이 절차는 지혈이 달성될 때까지 또는 12분 동안의 어느 것이 먼저 일어나든지, 수행했다.
- [0326] 지혈까지의 시간을 평가하기 위한 계산 예
- [0327] 디지털 압력 10초, 지혈 검사: 39초 후에 혈액 시빙, 또 다른 10초 동안 디지털 압력, 120초 동안 지혈 검사:

시빙 없음 - 결론: 지혈은 10+39+10초 = 59초 후에 달성되었고, 즉 최종 관찰 기간은 TTH의 계산에 포함되지 않는다.

[0328] **결과**

[0329] 본 연구의 결과는 하기 표에 제시되어 있고, 추가로 도 3에 도시되어 있다.

측정	대조군 페이스트 (n=7)	6TM 페이스트 (n=7)
지혈까지의 시간(TTH) 평균 ± SEM*	43 ± 9.8 s	24 ± 10.9 s

[0330]

* SEM: 평균의 표준 오차. "s"는 초이다.

[0331]

[0332] 결과는, 대조군 페이스트와 비교하여, 6TM 페이스트의 평균 TTH가 거의 2배 감소하는 것을 나타낸다.

[0333]

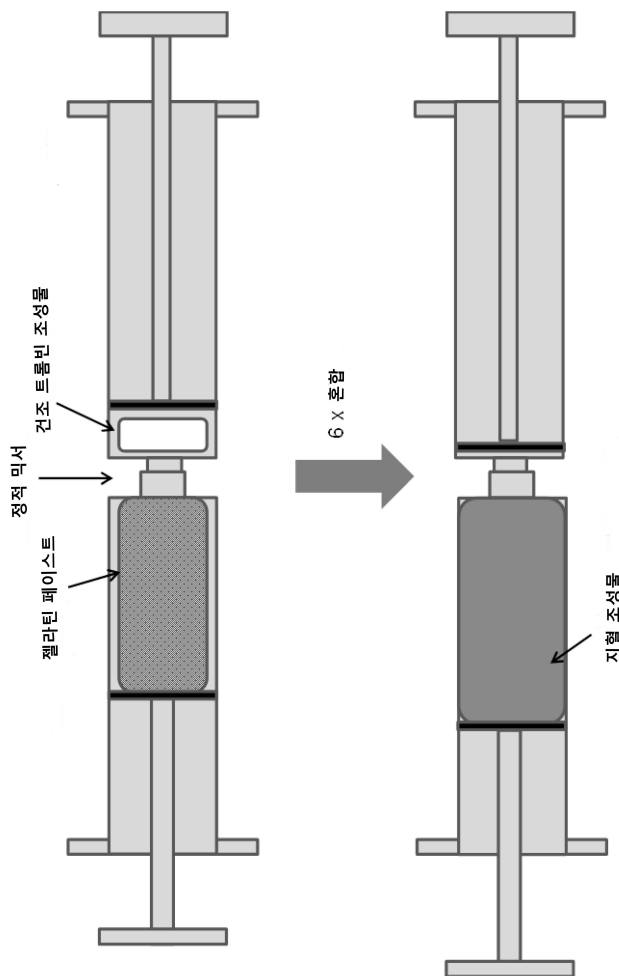
[0333] 대조군 페이스트의 중앙치(median) TTH는 37초였지만, 6TM 페이스트의 중앙치 TTH는 10초였다.

[0334]

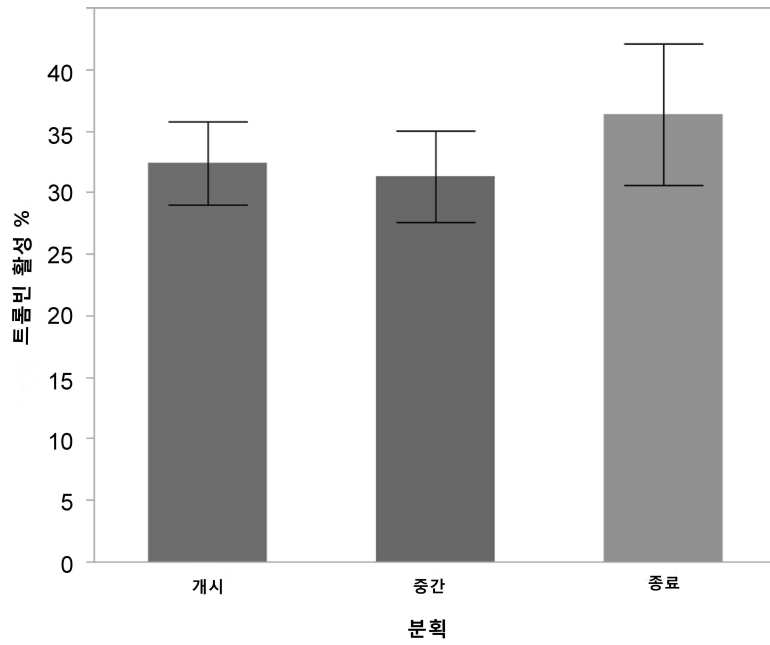
[0334] 데이터는, 놀랍게도, 본 발명에 따라 제조한 6TM 페이스트가 대조군 페이스트보다도 신속하고 보다 일관하여 지혈을 유도하는 것을 나타낸다.

도면

도면1



도면2



도면3

