



등록특허 10-2109317



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년05월29일
(11) 등록번호 10-2109317
(24) 등록일자 2020년05월06일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01F 3/12 (2006.01) *A61L 24/00* (2006.01)
A61M 5/28 (2006.01) *B01F 13/00* (2006.01)
B01F 15/02 (2006.01) *B01F 5/06* (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2014-7021027
(22) 출원일자(국제) 2012년12월20일
심사청구일자 2017년12월18일
(85) 번역문제출일자 2014년07월25일
(65) 공개번호 10-2014-0108709
(43) 공개일자 2014년09월12일
(86) 국제출원번호 PCT/IL2012/000393
(87) 국제공개번호 WO 2013/098805
국제공개일자 2013년07월04일
(30) 우선권주장
217273 2011년12월29일 이스라엘(IL)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
US05122117 A*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
움릭스 바이오파머슈티컬스 리미티드
이스라엘 레호보트 76106 피.오.박스 619 바이츠
만 사이언스 파크 빌딩 14
(72) 발명자
이란 에레츠
이스라엘 70395 키부츠 네체르 세레
레제브 크파르
이스라엘 64923 텔-아이브 아로조로브 스트리트
190
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
장훈

전체 청구항 수 : 총 29 항

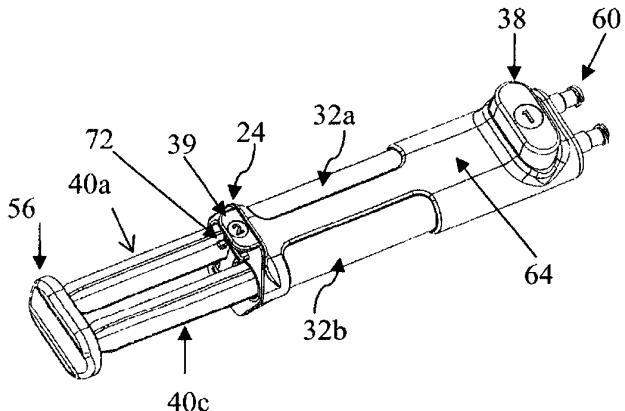
심사관 : 전선애

(54) 발명의 명칭 고체 단백질 조성물의 신속한 용해를 위한 방법 및 장치

(57) 요 약

본 발명은 고체 단백질 조성물, 예컨대 피브리노겐을 포함하는 고체 조성물을 수성 용매 중에 용해시키는 방법 및 장치를 제공한다. 방법은 고체 피브리노겐 조성물 및 상부공간의 부피를 함유하는 폐쇄 용기를 사용하는 것을 포함하며, 여기서 상부공간 내의 압력은 대기압보다 낮다. 수성 용매는 대기압보다 낮은 압력을 유지시키는 동안 용기에 도입되고, 용매의 첨가 후, 상부공간의 크기는 압력이 대기압이 되도록 감소된다. 장치는 개시된 방법에서 사용하기에 적합하다.

대 표 도 - 도6a



(72) 발명자

레이트만 다나

이스라엘 67890 텔-아비브 아파트먼트 153 슈네롯
하하스카라 17번

누르 이스라엘

이스라엘 79860 모스하브 텁모림 하우스 277호

메론 모티

이스라엘 46352 헤르츨리아 아보카 스트리트 19

굿맨 존

미국 미시건 48103 앤 아보 코تون데일 코트 3228

(30) 우선권주장

221180 2012년07월30일 이스라엘(IL)

61/582,524 2012년01월03일 미국(US)

61/677,048 2012년07월30일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

고체 피브리노겐 조성물을 수성 용매 중에 용해시키는 방법으로서,

i) 상기 고체 피브리노겐(fibrinogen) 조성물의 부피 및 상부공간(head space)을 포함하는 폐쇄 용기를 제공하는 단계로서, 상기 상부공간 내의 압력은 대기압보다 낮은 압력인, 상기 폐쇄 용기를 제공하는 단계;

ii) 상기 상부공간의 내부 압력을 대기압보다 낮은 압력으로 유지시키면서, 상기 용기에 상기 고체 피브리노겐 조성물의 부피보다 작은 수성 용매의 부피를 도입하여 적어도 40 mg 피브리노겐/ml를 포함하는 용액을 형성하는 단계; 및

iii) ii)에 이어서, 상기 상부공간의 압력이 대기압과 같아질 때까지 상기 용기의 상기 상부공간의 크기를 감소시키는 단계를 포함하는, 고체 피브리노겐 조성물을 수성 용매 중에 용해시키는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 용액을 교반(agitating)하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 고체 피브리노겐 조성물은 동결건조된 케이크(lyophilized cake)인 방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 고체 피브리노겐 조성물 중의 피브리노겐의 밀도는 적어도 5 내지 63 mg/cc 미만 범위인 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 피브리노겐의 밀도는 23 mg/cc 이하인 방법.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 수득된 용액 중의 상기 피브리노겐 농도는 40 mg/ml 내지 120 mg/ml인 방법.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 수성 용매는 탈기된 수성 용매인 방법.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 단계 i)에서 상기 상부공간의 내부 압력은 50 kPa (500 mBar) 이하인 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 단계 i)에서 상기 상부공간의 내부 압력은 0.012 kPa (0.12 mBar) 이하인 방법.

청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 용기는 상호 유체 소통하는 적어도 2개의 별개의 부분, 즉 상기 수성 용매를 함유하는 제1 부분, 및 상기 고체 피브리노겐 조성물을 함유하는 제2 부분을 포함하며, 상기 수성 용매는 상기 용기의 상기 별개의 부분 중 상기 제1 부분으로부터 상기 별개의 부분 중 상기 제2 부분으로 도입되는 방법.

청구항 11

제2항에 있어서, 상기 수성 용매는 저장소 내에 수용되고, 상기 용기 및 상기 저장소는 상호 유체 소통하고, 상

기 교반하는 단계는 상기 수성 용매를 상기 용기와 상기 저장소 사이에서 반복적으로 전달하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 12

제2항에 있어서, 상기 용기는 상기 용액 중에 불용성이고, 상기 용액의 밀도보다 큰 밀도를 갖는 불활성 물질의 적어도 하나의 구체(sphere)를 포함하고, 상기 교반하는 단계는 상기 용기를 진탕하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 구체들은 3 내지 7 mm 범위의 직경의 비드들을 포함하는 방법.

청구항 14

제1항 또는 제2항에 있어서, 단계 ii)의 완결과 단계 iii)의 개시 사이에 적어도 5초의 시간 간격의 경과가 허용되는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 시간 간격은 적어도 20초인 방법.

청구항 16

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 용액을 상기 용기 내에서 인큐베이션하는 단계(incubating)를 추가로 포함하는 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 인큐베이션하는 단계는 2분 이하 동안 수행하는 방법.

청구항 18

고체 조성물을 수성 용매 중에 용해시키기에 적합한 장치로서,

제1 고체 조성물을 보유하기에 적합하고, 폐쇄 상태 및 개방 상태를 갖는 제1 폐쇄 용기 (18a)를 포함하는 제1 폐쇄 용기 (12a)로서, 상기 폐쇄 상태에서 상기 제1 폐쇄 용기 입구는 유체의 통로에 대해 실링(sealing)되고, 상기 개방 상태에서 상기 제1 폐쇄 용기 입구는 상기 제1 폐쇄 용기로의 유체 소통을 위한 통로를 제공하는, 상기 제1 폐쇄 용기 (12a);

상기 제1 폐쇄 용기를 실링하기 위해서 상기 제1 폐쇄 용기 내에 배열되고, 상기 제1 폐쇄 용기의 내부 부피를 감소시키기 위해 상기 제1 폐쇄 용기 내에서 적어도 제1 위치와 제2 위치 사이에서 이동하는 동안 상기 제1 폐쇄 용기의 실링을 유지하도록 구성되는, 제1 이동식 시일 부재(movable seal element) (22a);

상기 제1 폐쇄 용기 내의 제1 위치에 상기 제1 이동식 시일 부재를 해제가능하게(releasably) 보유하도록 구성된 제1 보유 부재 (24); 및

상기 제1 폐쇄 용기 입구의 폐쇄 상태와 개방 상태 사이에서의 변경을 제어하기 위한 제1 제어기 (20a)를 포함하고,

상기 제1 이동식 시일 부재가 상기 제2 위치에 있는 동안에 상기 제1 폐쇄 용기 입구가 폐쇄 상태이고, 이어서 상기 제1 이동식 시일 부재가 상기 제1 위치로 이동되어, 상기 제1 보유 부재가 상기 제1 이동식 시일 부재를 보유할 때, 대기압보다 낮은 압력을 갖는 상부공간이 형성되거나; 또는 상기 장치에는 대기압보다 낮은 압력을 갖는 상부공간을 추가로 포함하는 상기 제1 폐쇄 용기; 제1 폐쇄 용기 입구; 및 상기 제1 위치에 상기 제1 이동식 시일 부재를 보유하는 상기 제1 보유 부재가 제공되고,

상기 제1 폐쇄 용기 입구가 상기 개방 상태에 있고, 상기 제1 보유 부재가 상기 제1 이동식 시일 부재를 해제할 때, 상기 제1 이동식 시일 부재가 상기 제1 폐쇄 용기 내에서 제1 위치에서 제2 위치로 이동하여, 상기 제1 폐쇄 용기의 내부 부피를 감소시키고, 상기 제1 폐쇄 용기 내의 내부 압력은 증가되는, 고체 조성물을 수성 용매 중에 용해시키기에 적합한 장치.

청구항 19

삭제

청구항 20

제18항에 있어서, 제1 수성 용매를 보유하기에 적합한 제1 저장소; 및 상기 제1 저장소의 실링을 유지시키도록 구성된 상기 제1 저장소 내에 배열된 제2 이동식 시일 부재 (22b)를 추가로 포함하고, 상기 제1 저장소는 상기 제1 폐쇄 용기 입구와 유체 소통하도록 적용된 제1 저장소 출구 (46a)를 포함하는 장치.

청구항 21

제18항에 있어서, 상기 제1 폐쇄 용기는 전방 단부(front end) (34) 및 후방 단부(back end) (36)를 갖는 제1 주사기 외통(syringe barrel) (32a)을 포함하고, 상기 전방 단부는 상기 제1 폐쇄 용기 입구를 포함하고, 상기 제1 이동식 시일 부재는 상기 제1 주사기 외통의 상기 후방 단부로부터 상기 전방 단부를 향해서 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는(slidably displaceable) 상기 제1 주사기 외통 내에 배열되고, 제1 피스톤 막대 (40a)에 연결된 제1 피스톤을 포함하는 장치.

청구항 22

제20항에 있어서, 상기 제1 저장소는 전방 단부 (34) 및 후방 단부 (36)를 갖는 제2 주사기 외통 (44a)을 포함하고, 상기 전방 단부는 상기 제1 저장소 출구를 포함하고, 상기 제2 이동식 시일 부재는 상기 제2 주사기 외통의 상기 후방 단부로부터 상기 전방 단부를 향해서 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는 상기 제2 주사기 외통 내에 배열되고, 제2 피스톤 막대 (40b)에 연결된 제2 피스톤을 포함하는 장치.

청구항 23

제20항에 있어서,

제2 고체 조성물을 보유하기에 적합하고, 폐쇄 상태 및 개방 상태를 갖는 제2 폐쇄 용기 입구 (18b)를 포함하는 제2 폐쇄 용기 (12b)로서, 상기 폐쇄 상태에서 상기 제2 폐쇄 용기는 유체의 통로에 대해 실링되고, 상기 개방 상태에서 상기 제2 폐쇄 용기 입구는 상기 제2 폐쇄 용기로의 유체 소통을 위한 통로를 제공하는, 상기 제2 폐쇄 용기 (12b);

상기 제2 폐쇄 용기를 실링하기 위해서 상기 제2 폐쇄 용기 내에 배열되고, 상기 제2 폐쇄 용기의 내부 부피를 감소시키기 위해 상기 제2 폐쇄 용기 내에서 적어도 제1 위치와 제2 위치 사이에서 이동하는 동안 상기 제2 폐쇄 용기의 실링을 유지하도록 구성된 제3 이동식 시일 부재 (22c);

상기 제2 폐쇄 용기 내의 제1 위치에 상기 제3 이동식 시일 부재를 해제가능하게 보유하도록 구성된 제2 보유 부재; 및

상기 제2 폐쇄 용기 입구의 폐쇄 상태와 개방 상태 사이에서의 변경을 제어하기 위한 제2 제어기 (20b)를 추가로 포함하고,

상기 장치에는 대기압보다 낮은 압력을 갖는 상부공간 (16)을 추가로 포함하는 상기 제2 폐쇄 용기; 제2 폐쇄 용기 입구 (18b); 및 상기 제3 이동식 시일 부재를 제1 위치에 보유하는 상기 제2 보유 부재가 제공되거나; 또는 상기 제3 이동식 시일 부재가 상기 제2 위치에 있는 동안, 상기 제2 폐쇄 용기 입구가 폐쇄 상태이고, 이어서 상기 제3 이동식 시일 부재가 상기 제1 위치로 이동되어, 상기 제2 보유 부재가 상기 제3 이동식 시일 부재를 보유할 때, 대기압보다 낮은 압력을 갖는 상부공간이 형성되는 장치.

청구항 24

제23항에 있어서, 제2 수성 용매를 보유하기에 적합한 제2 저장소 및 상기 제2 저장소의 실링을 유지시키도록 구성된 상기 제2 저장소 내에 배열된 제4 이동식 시일 부재 (22d)를 추가로 포함하고, 상기 제2 저장소는 상기 제2 폐쇄 용기 입구와 유체 소통하도록 적용된 제2 유체 출구 (46b)를 포함하는 장치.

청구항 25

제24항에 있어서,

상기 제1 폐쇄 용기는 전방 단부 및 후방 단부를 갖는 제1 주사기 외통이고, 상기 제1 주사기 외통의 상기 전방 단부는 상기 제1 폐쇄 용기 입구를 포함하고, 상기 제1 폐쇄 용기의 상기 제1 이동식 시일 부재는 상기 제1 주사기 외통의 상기 후방 단부로부터 상기 전방 단부를 향해서 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는 상기 제1 주사기 외통 내에 배열된 제1 피스톤을 포함하고;

상기 제1 저장소는 전방 단부 및 후방 단부를 갖는 제2 주사기 외통을 포함하고, 상기 제2 주사기 외통의 상기 전방 단부는 상기 제1 저장소 출구를 포함하고, 상기 제2 이동식 시일 부재는 상기 제2 주사기 외통의 상기 후방 단부로부터 상기 전방 단부를 향해서 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는 상기 제2 주사기 외통 내에 배열된 제2 피스톤을 포함하고;

상기 제2 폐쇄 용기는 전방 단부 및 후방 단부를 갖는 제3 주사기 외통이고, 상기 제3 주사기 외통의 상기 전방 단부는 상기 제2 폐쇄 용기 입구를 포함하고, 상기 제3 이동식 시일 부재는 상기 제3 주사기 외통의 상기 후방 단부로부터 상기 전방 단부를 향해서 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는 상기 제3 주사기 외통 내에 배열되고, 제3 피스톤 막대 (40c)에 연결된 제3 피스톤을 포함하고;

상기 제2 저장소는 전방 단부 및 후방 단부를 갖는 제4 주사기 외통 (44b)을 포함하고, 상기 제4 주사기 외통의 상기 전방 단부는 상기 제2 저장소 출구를 포함하고, 상기 제4 이동식 시일 부재는 상기 제4 주사기 외통의 상기 후방 단부로부터 상기 전방 단부를 향해서 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는 상기 제4 주사기 외통 내에 배열되고, 제4 피스톤 막대 (40d)에 연결된 제4 피스톤을 포함하는 장치.

청구항 26

제25항에 있어서, 내부에 상기 제1 폐쇄 용기와 제2 폐쇄 용기 및/또는 상기 제1 저장소와 제2 저장소를 수용하기 위한 하우징 (64, 66)을 추가로 포함하는 장치.

청구항 27

제18항에 있어서, 상기 제1 고체 조성물은 고체 피브리노겐을 포함하는 장치.

청구항 28

제23항에 있어서, 상기 제2 고체 조성물은 고체 트롬빈을 포함하는 장치.

청구항 29

제21항에 있어서, 상기 제1 피스톤은 적어도 하나의 리세스(recess) (70)를 갖는 피스톤 막대에 부착되고, 상기 제1 보유 부재는 상기 리세스 내에 맞물리도록 구성된 적어도 하나의 돌출부(protrusion) (72)를 포함하는 장치.

청구항 30

제18항에 있어서, 작동될 때, 상기 제1 제어기를 상기 폐쇄 상태에서 상기 개방 상태로 이동시키는 제어기 작동기(controller actuator) (38)를 추가로 포함하는 장치.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 제약 조성물의 제조 분야, 보다 특별하게는 고체 단백질 조성물, 예컨대 피브리노겐(fibrinogen)을 포함하는 고체 조성물을 수성 용매 중에 용해시키기 위한 방법 및 장치에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 피브리노겐은 피브린 실란트(fibrin sealant)의 제조에 중요한 성분이며, 이것은 유체, 예컨대 공기 및/또는 액체, 예를 들어 혈액이 조직으로부터 새는 것을 방지하기 위해서 사용된다. 피브리노겐은 트롬빈 및 인자(factor) XIII을 포함하는 효소 반응에 의해서 피브린으로 전환된다.

[0003] 피브리노겐은 단백질 분해를 감소시키기 위해서 저장 전에, 예를 들어 동결건조(lyophilization)에 의해서 고체 형태로 전환될 수 있다. 고체 피브리노겐 제제는, 이의 생활성을 유지시키면서, 이것이 적어도 4°C의

온도에서, 예컨대 실온에서 비교적 장기간에 걸쳐서 저장될 수 있다는 이점을 갖는다. 치료 용도를 위해서, 고체 피브리노겐은 전형적으로는 사용 전에 수성 용매 중에 용해된다. 예를 들어 피브리노겐을 트롬빈 성분과 함께 피브린 실란트의 성분으로서 사용하는 경우, 고농도의 피브리노겐을 갖는 용액이 종종 요구되는데, 그 이유는 접착 강도가 전형적으로 피브리노겐 농도에 비례하기 때문이다.

[0004] 피브리노겐은 용해성이 가장 적은 혈장 단백질 중 하나이다 (문헌 [The Preparation and Properties of Human Fibrinogen of Relatively High Solubility* M. W. Mosesson, Sol Sherry Biochemistry, 1966, 5 (9), pp 2829-2835]). 따라서, 고체 피브리노겐 제제를 용해시켜서 고농도의 피브리노겐, 예를 들어 적어도 40 mg 피브리노겐/ml를 갖는 용액을 수득하는 것은 어렵고 시간 소모적이다. 고체 피브리노겐 조성물의 용해 동안 거품 (foam)이 형성되고, 천천히 사라질 때는 문제가 더 복잡해 진다. 거품의 존재는 용해 시간을 더 연장시키고/거나 피브리노겐 작용 및 피브리노겐 용액으로 제조된 피브린 실란트의 기계적 특성에 부정적인 영향을 미친다.

[0005] 배경 기술은 미국 특허 제6,349,850호; 제4,650,678호; 제4,909,251호; 및 5,962,405호; 미국 특허 공개 제2004/0005310호; 및 유럽 특허 공개 제EP 2130549A1호를 포함한다.

[0006] 피브리노겐의 용해도를 증가시키기 위한 부형제(excipient)를 첨가하지 않고, 고체 피브리노겐을 신속히 용해시켜서 고도로 농축된 피브리노겐 용액을 형성할 수 있는 방법 및 장치에 대한 요구는 충족되지 않았다.

발명의 내용

[0007] 본 발명은 고체 단백질 조성물, 예컨대 고체 피브리노겐 조성물을 수성 용매 중에 용해시키기 위한 방법 및 장치를 제공한다.

[0008] 본 발명자들은, 고체 피브리노겐 조성물, 예컨대 낮은 단백질 밀도를 갖는 동결건조된 (lyophilized) "케이크 (cake)"를 수성 용매 중에 용해시키는 것이 더 높은 단백질 밀도의 "케이크"를 사용하는 것에 비해서, 더 높은 용해 수준 및 더 신속한 용해를 유발한다는 것을 발견하였다. 대기압보다 낮은 압력 (sub-atmospheric pressure)에서 수성 용매를 고체 조성물에 첨가하고, 이어서 용해 과정 동안 용해가 수행되는 용기에 공기가 도입되는 것을 방지하면서, 대기압으로 평형화시키는 것은 거품의 존재를 최소화하거나 방지한다는 것을 추가로 발견하였다.

[0009] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "고체 조성물"은 고체 조성물의 총 중량을 기준으로 약 5% (w/w) 이하의 물, 예컨대 3% 이하의 물 함량을 갖는 조성물을 나타낸다.

[0010] 본 발명의 측면 및 실시양태는 하기 명세서 및 청구된 특허청구범위에서 설명된다.

[0011] 본 발명의 일부 실시양태의 측면에 따라서, 고체 피브리노겐 조성물의 부피 및 상부공간 (headspace) - 여기서 상부공간 내의 압력은 대기압보다 낮은 압력임 -을 함유하는 폐쇄 용기를 제공하는 단계; 상부공간의 내부 압력을 대기압보다 낮은 압력으로 유지시키면서, 용기에 고체 피브리노겐 조성물의 부피보다 작은 수성 용매의 부피를 도입하여 적어도 40 mg 피브리노겐/ml를 포함하는 용액을 형성하는 단계; 및 이어서 상부공간의 압력이 대기압과 같아질 때까지 용기의 상부공간의 크기를 감소시키는 단계를 포함하는, 고체 피브리노겐 조성물을 수성 용매 중에 용해시키는 방법을 제공한다.

[0012] 일부 실시양태에서, 방법은 용기를 교반 (agitating)하는 단계를 추가로 포함한다.

[0013] 본 발명에 개시된 방법은 90초 이하 내에 적어도 40 mg 피브리노겐/ml의 높은 피브리노겐 농도를 포함하는 용액을 제공한다. 일부 실시양태에서, 용액은 약 90, 85, 80, 75, 70, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 또는 30 초 내에 수득된다. 일부 실시양태에서, 농축된 피브리노겐 용액은 약 45 내지 약 90초의 시간 범위 내에 수득된다.

[0014] 본 발명에 개시된 고체 조성물은 단백질, 예컨대 피브리노겐을 고체 상태로 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 발명에 개시된 고체 피브리노겐 조성물은 주 성분으로서 피브리노겐을 포함하지만, 다른 성분, 예를 들어 다른 단백질을 추가로 포함할 수 있다. 조성물 중의 피브리노겐은 혈액-유래될 수 있거나 또는 재조합물일 수 있다. 조성물 중에 존재하는 피브리노겐 이외의 단백질의 예에는 피브로넥틴, 인자 VIII, 폰 빌레브란트 인자 (von Willebrand factor), 및 인자 XIII이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 일부 실시양태에서, 조성물은 동결침전물 (cryoprecipitate)로부터 유래된다. 본 발명의 일부 실시양태에서, 구체적으로, 섬유소 용해 (fibrinolysis)를 지연시키거나 중지시키기 위해서 동결침전물로부터 플라스미노겐을 제거한다 (미국 특허 제5,792,835호 및 제7,125,569호에 기재된 바와 같음).

- [0015] 일부 실시양태에서, 피브리노겐 조성물은 인간 피브리노겐 (또한 본 발명에서 BAC, 생활성 성분(Biological Active Component)이라 칭함)을 포함한다. BAC는 본 발명에 완전히 언급된 것처럼 참고로 포함된 유럽 특허 제534,178호에 기재된 바와 같이 제조된 인간 혈장의 농축 바이러스-비활성화 동결침전물(concentrated viral-inactivated cryoprecipitate)일 수 있고, 주로 피브리노겐 (대략 85%)으로 구성된다. 조성물은 본 발명에 완전히 언급된 것처럼 참고로 포함된 유럽 특허 제1,390,485호에서와 같이 플라스미노겐이 부족할 수 있고, 이 경우 섬유소 용해 억제제(anti-fibrinolytic agent)는 포함되지 않을 수 있다. 본 발명의 일부 실시양태에서, BAC는 동결건조된 고체 "케이크"로서 제공된다.
- [0016] 용어 "동결침전물"은 전체 혈액, 회수된 혈장 또는 혈장교환술(plasmapheresis)에 의해서 수집된 근원 혈장(source plasma)로부터 제조된 냉동 혈장으로부터 수득된 혈액 유래 성분이다. 동결침전물은 냉동된 혈장이 저온에서, 전형적으로 0 내지 4°C의 온도에서 해동되어, 피브리노겐 및 인자 XIII을 함유하는 침전물을 형성할 때 수득될 수 있다. 침전물은 예를 들어 원심분리에 의해서 수집될 수 있다.
- [0017] 본 발명에 기재된 방법 및 장치를 사용하여 용해될 수 있는 고체 조성물의 형태의 비제한적인 예에는 동결건조된 "케이크", 고체 입자, 입자 분산물, 분말 및 플레이크가 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 상이한 단백질 밀도를 갖는 고체 조성물이 제조될 수 있다.
- [0018] 일부 실시양태에서, 고체 피브리노겐 조성물은 동결건조된 케이크이다. 동결건조된 "케이크" 내의 피브리노겐 밀도는, 임의의 "케이크" 봉과 없이 동결건조물(lyophilizate)의 안정성을 유지시키면서, 약 5 mg/cc로 감소될 수 있다 (문헌 [Parker et. al. "Determination of the influence of primary drying rates on the microscale structural attributes and physicochemical properties of protein containing lyophilized products". J Pharm Sci. 2010; 99:4616-4629]). 전형적으로, 적어도 5 mg 피브리노겐/cc의 고체 "케이크"는 봉과 없이 그 자신의 구조를 실질적으로 지탱할 수 있다.
- [0019] 일부 실시양태에서, 고체 피브리노겐 조성을 중의 피브리노겐의 밀도는 약 5 내지 약 63 mg/cc 미만, 예컨대 약 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 또는 62 mg/cc 이하의 범위이다. 일부 실시양태에서, 고체 피브리노겐 조성물은 약 23 mg/cc 이하의 피브리노겐 밀도를 갖는다.
- [0020] 고체, 예컨대 동결건조된 "케이크"는 약 5 내지 약 63 mg/ml 미만, 예컨대 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 및 62 mg/ml 이하 범위의 피브리노겐 농도를 갖는 피브리노겐-함유 용액으로부터 제조될 수 있다. 전형적으로, 생성된 "케이크"의 부피는 "케이크"를 제조하는데 사용되는 피브리노겐-함유 용액의 부피에 동일하다.
- [0021] 일부 실시양태에서, 고체 피브리노겐 조성물은 BAC 스톡 용액(stock solution), 예컨대 피브리노겐 농도가 약 63 mg/ml인 BAC 스톡 용액 (예를 들어 EVICEL™ 중의 피브리노겐 성분)으로부터 수득된다. 일부 실시양태에서, 고체 피브리노겐은 BAC 스톡 용액의 동결건조에 의해서 수득된다.
- [0022] 일부 실시양태에서, 고체 피브리노겐 조성을 수성 용매 중에 용해시킴으로써 수득된 용액 중의 높은 피브리노겐 농도는 약 40 내지 약 120 mg 피브리노겐/ml 범위, 예컨대 약 40, 41, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 또는 120 mg 피브리노겐 /ml이다. 일부 실시양태에서, 약 63 내지 약 70 mg/ml 범위의 농도로 피브리노겐을 포함하는 농축된 피브리노겐 용액이 수득된다. 피브리노겐은 실질적으로 완전히 용해된다.
- [0023] 일부 실시양태에서, 수성 용매는 실질적으로 부형제가 존재하지 않는 주사용수(Water for Injection)이다. 일부 실시양태에서, 수성 용매는 고체 조성을 포함하는 용기에 도입되기 전에 털기된다.
- [0024] "케이크"를 수성 용매 중에 용해시키기 위해서, 임의로는 "케이크"를 기계적으로 분쇄함으로써 고체 분산물을 제조할 수 있다. 분산물을 임의로는 밀링(milling) 장치에 도입하여, 제W008/053475호 (이의 내용은 본 발명에 완전히 언급된 것처럼 참고로 포함됨)에 기재된 바와 같은 미세 분말을 생성한다.
- [0025] 수성 용매는 물 (일부 실시양태에서, 적어도 50 부피%의 물)을 포함하며, 일부 실시양태에서는 추가 성분, 예컨대 완충제 및/또는 다른 부형제, 예컨대 제약상 허용되는 부형제 (예를 들어 아르기닌 염산염, 글리신, 염화나트륨, 시트르산나트륨 및 염화칼슘으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상 포함)를 임의로 포함할 수 있다.

물은 예를 들어 BWFI (정균성 주사용수(Bacteriostetic Water for Injection)), SWFI (주사용 멸균수(Sterile Water for Injection)) 등일 수 있다.

[0026] 고체 피브리노겐 조성물을 수성 용매 중에 용해시킴으로써 형성된 용액 중의 단백질 용해 수준은 물질 및 방법 부분의 "단백질 용해 수준의 측정법" 하에 하기에 기재된 바와 같이 측정될 수 있다. 거품의 존재는 육안으로 인지될 수 있다.

[0027] 일부 실시양태에서, 상부공간의 내부 압력은 초기에 약 50 kPa (500 mBar) 미만, 예를 들어 약 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 2.5, 2, 1.5, 1, 0.5, 0.1, 0.05 또는 0.012 kPa (500, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 50, 25, 20, 15, 10, 5, 1, 0.5 또는 0.12 mBar) 이하이다. 일부 실시양태에서, 상부공간의 내부 압력은 약 0.012 kPa (0.12 mBar) 이하이다.

[0028] 일부 실시양태에서, 프로그래밍 가능한 동결건조 장치에서 목적하는 내부 압력에 도달하도록 장치를 프로그래밍하고, 목적하는 압력에 도달되었을 때 용기를 폐쇄함으로써, 폐쇄 용기 내의 내부 압력을 대기압보다 낮은 목적하는 압력으로 만든다.

[0029] 일부 실시양태에서, 예를 들어 진공 펌프를 사용함으로써 폐쇄 용기로부터 공기를 취출함으로써 폐쇄 용기 내의 내부 압력을 대기압보다 낮은 목적하는 압력으로 만든다. 일부 실시양태에서, 용기 내의 압력을 모니터링하고/하거나 조정하기 위해서, 전자 진공 게이지 또는 전자 압력계(electronic manometer)가 사용된다.

[0030] 일부 실시양태에서, 피브리노겐 밀도가 약 21 mg/cc인 고체 피브리노겐 조성물을 용매 중에 용해시키고, 여기서 상부공간의 압력은 약 0.012 kPa (0.12 mBar)이다.

[0031] 일부 실시양태에서, 용기는 상호 유체 소통하는 적어도 2개의 별개의 부분, 즉 수성 용매를 함유하는 제1 부분, 및 고체 피브리노겐 조성물을 함유하는 제2 부분을 포함하며, 여기서 수성 용매는 용기의 제1 별개의 부분으로부터 제2 별개의 부분으로 도입된다.

[0032] 일부 실시양태에서, 수성 용매는 저장소 내에 함유되며, 여기서 용기 및 저장소는 상호 유체 소통하며, 여기서 교반은 수성 용매를 용기와 저장소 사이에 반복적으로 전달하는 것을 포함한다.

[0033] 일부 실시양태에서, 교반은 용기를 수동으로 진탕하는 것을 포함한다. 이러한 일부 실시양태에서, 용액의 밀도보다 큰 밀도를 갖는 불활성 고체 물질 (예컨대 금속, 예를 들어 스테인레스강)의 적어도 하나의 구체(sphere)를 수동 진탕 전에 용기에 도입한다. 일부 실시양태에서, 구체는 약 3 내지 약 7 mm 범위의 직경을 갖는 비드를 포함한다.

[0034] 일부 실시양태에서, 용매의 용기로의 도입의 완결에서 상부공간의 부피 감소의 개시까지 적어도 5초 (예컨대 적어도 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20초)의 시간 간격이 걸리는 것이 허용된다. 일부 실시양태에서, 시간 간격은 적어도 약 20초이다.

[0035] 일부 실시양태에서, 상부공간의 부피 감소 후, 용액은 예를 들어 약 2분 이하의 시간 기간 동안 용기 내에서 인큐베이션(incubation)된다 (즉, 사용 전 정치된다).

[0036] 본 발명에 기재된 방법은 본 기술 분야에 공지된 병, 동결건조 용기, 통(barrel), 자(jar) 및 주사기가 포함되지만 이에 제한되지 않는 임의의 적합한 장치 또는 용기를 사용하여 수행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 방법은 하기에 기재된 장치를 사용하여 수행된다.

[0037] 본 발명의 일부 실시양태의 측면에 따라서, 제1 고체 조성물을 보유하기에 적합하고, 폐쇄 상태 및 개방 상태를 갖는 제1 폐쇄 용기 입구를 포함하는 제1 폐쇄 용기 - 여기서 폐쇄 상태에서 제1 폐쇄 용기 입구는 유체의 통로에 실링되고, 개방 상태에서 제1 폐쇄 용기 입구는 제1 폐쇄 용기로의 유체 소통을 위한 통로를 제공함 -를 포함하는, 고체 조성물을 수성 용매 중에 용해시키기에 적합한 장치를 제공한다. 장치는 제1 폐쇄 용기를 실링하기 위해서 제1 폐쇄 용기 내에 배열되고, 제1 폐쇄 용기 내에서 적어도 제1 위치와 제2 위치 사이를 그 내에서 이동하는 동안 제1 폐쇄 용기의 실링을 유지시키기 위해서 구성되어, 제1 폐쇄 용기의 내부 부피를 감소시키는 제1 이동식 실링(movable seal) 부재를 추가로 포함한다. 장치는 제1 폐쇄 용기 내의 제1 위치에 제1 이동식 시일 부재를 해체가능하게(releasably) 보유하도록 구성된 보유 부재, 및 제1 폐쇄 용기 입구를 폐쇄 상태와 개방 상태 사이에서 변경시키는 것을 제어하기 위한 제1 제어기를 추가로 포함한다.

[0038] 임의로는, 제1 이동식 시일 부재가 제2 위치이고, 이어서 제1 이동식 시일 부재가 제1 위치로 이동되는 동안, 제1 폐쇄 용기 입구가 폐쇄 상태이고, 제1 보유 부재가 제1 이동식 시일 부재를 보유할 때, 대기압보다 낮은 압

력을 갖는 상부공간이 형성된다. 대안적으로, 장치에는 대기압보다 낮은 압력을 갖는 상부공간을 추가로 함유하는 폐쇄 용기; 폐쇄 용기 입구; 및 제1 이동식 시일 부재를 제1 위치에 보유하는 보유 부재가 제공된다.

[0039] 일부 실시양태에서, 장치는 제1 수성 용매를 보유하기에 적합한 제1 저장소; 및 제1 저장소 - 여기서 제1 저장소는 제1 폐쇄 용기 입구와 (직접 또는 간접적으로) 유체 소통하도록 개작된 제1 저장소 출구를 포함함 -의 실링을 유지시키도록 구성된 제1 저장소 내에 배열된 제2 이동식 시일 부재를 추가로 포함한다.

[0040] 일부 실시양태에서, 제1 폐쇄 용기는 전방 단부(front end) 및 후방 단부(back end)를 갖는 제1 주사기 외통(syringe barrel)이고, 여기서 전방 단부는 제1 폐쇄 용기 입구를 포함하고, 제1 이동식 시일 부재는 제1 주사기 외통의 후방 단부로부터 전방 단부를 향해서 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는(slidingly displaceable) 제1 주사기 외통 내에 배열되고, 제1 피스톤 막대에 연결된 제1 피스톤을 포함한다.

[0041] 일부 실시양태에서, 제1 저장소는 전방 단부 및 후방 단부를 갖는 제2 주사기 외통을 포함하고, 여기서 전방 단부는 제1 저장소 출구를 포함하고, 제2 이동식 시일 부재는 제2 주사기 외통의 후방 단부로부터 전방 단부를 향해서 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는 제2 주사기 외통 내에 배열되고, 제2 피스톤 막대에 연결된 제2 피스톤을 포함한다.

[0042] 일부 실시양태에서, 입구가 개방 위치이고, 여기서 보유 부재가 제1 이동식 시일 부재를 해제할 때, 제1 이동식 시일은 제1 폐쇄 용기 내에서 제1 위치에서 제2 위치로 이동하여 제1 폐쇄 용기의 내부 부피를 감소시키고, 여기서 제1 폐쇄 용기 내의 내부 압력이 증가된다.

[0043] 일부 실시양태에서, 장치는 제2 고체 조성물을 보유하기에 적합한 제2 폐쇄 용기를 추가로 포함하고, 제2 폐쇄 용기는 폐쇄 상태 및 개방 상태를 갖는 제2 폐쇄 용기 입구를 포함하고, 여기서 폐쇄 상태에서 제2 폐쇄 용기는 유체의 통로에 실링되고, 개방 상태에서 제2 폐쇄 용기 입구는 제2 폐쇄 용기로의 유체 소통을 위한 통로를 제공한다. 이러한 실시양태에서, 장치는 제2 폐쇄 용기를 실링하기 위해서 제2 폐쇄 용기 내에 배열되고, 제2 폐쇄 용기 내에서 적어도 제1 위치와 제2 위치 사이를 그 내에서 이동하는 동안 제2 폐쇄 용기의 실링을 유지시키기 위해서 구성되어, 제2 폐쇄 용기의 내부 부피를 감소시키는 제3 이동식 시일 부재를 추가로 포함한다. 이러한 실시양태에서, 장치는 제2 폐쇄 용기 내의 제1 위치에 제3 이동식 시일 부재를 해제가능하게 보유하도록 구성된 보유 부재, 및 제2 폐쇄 용기 입구를 폐쇄 상태와 개방 상태 사이에서 변경시키는 것을 제어하기 위한 제2 제어기를 추가로 포함한다. 임의로는, 단일 보유 부재가 제1 위치에서 제1 이동식 시일 부재 및 제3 이동식 시일 부재 모두를 해제가능하게 보유할 수 있다. 대안적으로, 장치는 제3 이동식 시일 부재를 보유하기 위한 제2 보유 부재를 추가로 포함할 수 있다. 장치에는 대기압보다 낮은 압력을 갖는 상부공간을 추가로 함유하는 제2 폐쇄 용기; 폐쇄 용기 입구; 및 제1 위치에서 제3 이동식 시일 부재를 보유하는 보유 부재가 제공되거나, 또는 제3 이동식 시일 부재가 제2 위치이고, 이어서 제3 이동식 시일 부재가 제1 위치로 이동되는 동안, 제2 폐쇄 용기 입구가 폐쇄 상태이고, 보유 부재가 제3 이동식 시일 부재를 보유할 때, 대기압보다 낮은 압력을 갖는 상부공간이 형성된다.

[0044] 일부 실시양태에서, 장치는 제2 수성 용매를 보유하기에 적합한 제2 저장소 및 제2 저장소의 실링을 유지시키도록 구성된 제2 저장소 내에 배열된 제4 이동식 시일 부재를 추가로 포함하고, 제2 저장소는 제2 폐쇄 용기 입구와 유체 소통하도록 개작된 제2 유체 출구를 포함한다.

[0045] 일부 실시양태에서, 제1 폐쇄 용기는 전방 단부 및 후방 단부를 갖는 제1 주사기 외통이고, 여기서 제1 주사기 외통의 전방 단부는 제1 폐쇄 용기 입구를 포함하고, 제1 폐쇄 용기의 제1 이동식 시일 부재는 제1 주사기 외통의 후방 단부로부터 전방 단부를 향해서 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는 제1 주사기 외통 내에 배열되고, 제1 피스톤 막대에 연결된 제1 피스톤을 포함한다. 이러한 실시양태에서, 제1 저장소는 전방 단부 및 후방 단부를 갖는 제2 주사기 외통을 포함하고, 여기서 제2 주사기 외통의 전방 단부는 제1 저장소 출구를 포함하고, 제2 이동식 시일 부재는 제2 주사기 외통의 후방 단부로부터 전방 단부를 향해서 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는 제2 주사기 외통 내에 배열되고, 제2 피스톤 막대에 연결된 제2 피스톤을 포함한다. 이러한 실시양태에서, 제2 저장소는 전방 단부 및 후방 단부를 갖는 제3 주사기 외통이고, 여기서 제3 주사기 외통의 전방 단부는 제2 폐쇄 용기 입구를 포함하고, 제3 이동식 시일 부재는 제3 주사기 외통의 후방 단부로부터 전방 단부를 향해서 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는 제3 주사기 외통 내에 배열되고, 제3 피스톤 막대에 연결된 제3 피스톤을 포함한다. 이러한 실시양태에서, 제2 저장소는 전방 단부 및 후방 단부를 갖는 제4 주사기 외통을 포함하고, 여기서 제4 주사기 외통의 전방 단부는 제2 저장소 출구를 포함하고, 제4 이동식 시일 부재 제4 주사기 외통의 후방 단부로부터 전방 단부를 향해서 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는 제4 주사기 외통 내에 배열되고, 제4 피스톤 막대에 연결된 제4 피스톤을 포함한다.

- [0046] 일부 실시양태에서, 장치는 제1 폐쇄 용기 및 제2 폐쇄 용기, 및/또는 제1 저장소 및 제2 저장소를 함유하기 위한 하우징(housing)을 추가로 포함한다.
- [0047] 일부 실시양태에서, 장치는 제1 폐쇄 용기 및 제2 폐쇄 용기를 함유하기 위한 제1 하우징 및/또는 제1 저장소 및 제2 저장소를 함유하기 위한 제2 하우징을 추가로 포함한다.
- [0048] 일부 실시양태에서, 제1 고체 조성물은 고체 피브리노겐을 포함한다.
- [0049] 일부 실시양태에서, 제2 고체 조성물은 고체 트롬빈을 포함한다.
- [0050] 일부 실시양태에서, 제1 피스톤은 적어도 하나의 리세스(recess)를 포함하는 피스톤 막대에 부착되고, 보유 부재는 리세스 내에 맞물리도록 구성된 적어도 하나의 돌출부(protrusion)/별지(bulge)를 포함한다.
- [0051] 일부 실시양태에서, 장치는 작동될 때 제1 제어기 및/또는 제2 제어기를 폐쇄 상태에서 개방 상태로 이동시키는 제어기 작동기를 추가로 포함한다.
- [0052] 적어도 일부 실시양태에서, 본 발명에 개시된 방법 및 장치는 고체 피브리노겐 조성물을 짧은 시간 내에 (예를 들어 90초 이하 내에) 수성 용매 중에 실질적으로 완전히 용해시켜서, 매우 농축된 피브린 용액 (예를 들어, 적어도 40 mg/ml의 피브린 농도를 가짐)을 수득할 수 있다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체에 투여될 때 또는 대상체에 투여되기 전에, 예를 들어 대상체에 투여하기 90초 이하 전에 또는 그 이전에 피브리노겐 용액을 제조할 수 있다.
- [0053] 적어도 일부 실시양태에서, 본 발명에 개시된 방법 및 장치에 따라서 제조된 피브리노겐 용액 중의 거품의 존재는 최소화되거나 또는 무시할 만한 정도이다. 일부 실시양태에서, 피브리노겐 용액은 실질적으로 거품이 존재하지 않는다.
- [0054] 적어도 일부 실시양태에서, 방법은 피브리노겐의 용해도를 증가시키기 위해서 부형제를 첨가할 필요가 없다.
- [0055] 적어도 일부 실시양태에서, 방법은 가열 단계, 예를 들어 실온을 초과하게 가열하는 것을 포함하지 않는다.
- [0056] 적어도 일부 실시양태에서, 용해가 수행되는 용기에 어떤 공기도 출입되지 않는다.
- [0057] 달리 정의되지 않으면, 본 명세서에서 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 분야의 당업자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 또한, 설명, 물질, 방법 및 실시예는 단지 예시적인 것이며, 제한하고자 하는 것은 아니다. 본 발명에 기재된 것과 유사하거나 또는 동등한 방법 및 물질이 본 발명의 실시에서 사용될 수 있다.
- [0058] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "용액"은 액체 용매 중에 부분적으로 또는 실질적으로 완전히 용해된 적어도 하나의 물질 (용질(solute))을 포함하는 균일한 혼합물을 나타낸다. "실질적으로 완전히 용해된"은 용질이 용매 중에 적어도 89% 용해된 것을 의미한다.
- [0059] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "용해"는 물질, 예컨대 고체를 액체 용매 중에 혼입하여 용액을 수득하는 것을 나타낸다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "용해", "용해시키기", 및 "제구성"은 상호교환적일 수 있다.
- [0060] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "대기압"은 주어진 위치에서 표면 위의 공기의 중량에 의해서 표면 상에 가해지는 단위 면적 당 힘을 나타낸다. 표준 해수면 대기압은 0.1 MPa (1 기압(atmosphere), 또는 1000 mBar)이다.
- [0061] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "상부공간"은 고체 내의 기체의 부피와 함께, 폐쇄 용기 내에서 액체 또는 고체 위의 기체 부피를 나타낸다.
- [0062] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "제어기"는 액체의 유동을 위한 개방 입구를 제공함으로써 액체의 방향 및/또는 예를 들어 통로 또는 파이프를 통한 액체 유동을 조절하는 성분을 나타낸다. 제어기는 밸브, 스탑 콕(stopcock) 등일 수 있다. 대안적으로, 제어기는 피어싱 부재(piercing element), 예컨대 커버(cover), 예를 들어 고무 마개 또는 폐쇄 용기의 벽을 피어싱하기 위한 바늘을 포함하여, 개방 입구를 제공할 수 있다.
- [0063] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "동결건조"는 용액을 냉동시키고, 이어서 예를 들어 생물 반응 또는 화학 반응을 지지하지 않는 수준으로 승화시킴으로써 물의 농도를 감소시키는 방법을 나타낸다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "케이크" 또는 "고체 케이크"는 동결건조 방법으로부터 생성된 다공성 스폰지 구조-

유사 조성물을 나타낸다. 적어도 5 mg/cc의 "고체 케이크"는 붕괴 없이 그 자신의 구조를 실질적으로 지탱할 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 케이크와 관련된 용어 "붕괴되다"는 케이크가 그 자신의 구조를 더 이상 지탱할 수 없는 시점을 나타낸다.

[0064] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "부형제"는 제약 조성물 중에 포함된 실질적으로 불활성인 물질을 나타낸다. 부형제는 예를 들어 저장 시 조성물의 활성 물질이 이들의 화학적 안정성 및/또는 생물학적 활성을 유지할 수 있도록 하여 제조 방법에 도움이 되기 위해서 첨가될 수 있고/거나 심미적인 이유, 예를 들어 색상을 위해서 첨가될 수 있다.

[0065] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "제약 조성물"은 대상체에 투여하기 위한 물질 또는 물질의 혼합물을 나타낸다.

[0066] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "포함하는", "비롯한", "갖는" 및 이들의 문법 변형체는 언급된 특징부, 정수, 단계 또는 성분을 특정하는 것으로 간주되지만, 이들의 하나 이상의 추가 특징부, 정수, 단계, 성분 또는 그룹을 배제하지 않는다. 이들 용어는 용어 "이루어지는" 및 "본질적으로 이루어지는"을 포함한다.

[0067] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 부정 관사 ("a" 및 "an")는 문맥이 명확하게 달리 언급하지 않는 한 "적어도 하나" 또는 "하나 이상"을 의미한다.

[0068] 일부 실시양태에서, 본 발명에 개시된 방법 및 장치는 임의로는 하기 이점 중 적어도 하나를 제공한다: 사용자 (예컨대 외과의 또는 다른 의사)가 실란트의 제조를 위해서 고체 조성물을 포함하는 고체 제약 조성물을 신속히 용해시킬 수 있음; 최소량 또는 무시할 만한 양의 거품을 갖는 용액을 형성할 수 있음; 고체 조성물로서 매우 다공성이고/하거나 부서지기 쉬운 동결건조된 케이크를 사용할 수 있음; 고체 피브리노겐 조성물로부터 매우 농축된 피브리노겐 용액을 신속하게 형성할 수 있음; 농축된 고체 조성물의 저장, 용해 및 사용이 가능함. 일부 실시양태에서, 본 발명에 기재된 방법 및 장치는 피브리노겐을 저장하고, 신속히 용해하고, 생성된 용액을 환자에 적용하기에 특히 유용하다.

도면의 간단한 설명

[0069] 본 발명의 일부 실시양태를 첨부 도면을 참고로 본 발명에 기재한다. 도면과 함께 설명은 본 발명의 일부 실시양태를 어떻게 실시할 수 있는지를 본 기술 분야의 숙련인에게 자명하게 할 것이다. 도면은 예시적인 논의의 목적이며, 본 발명의 기본적인 이해를 위해서 필요한 것보다 더 상세하게 실시양태의 구조적인 상세사항을 나타내려는 시도가 아니다. 명확성을 위해서, 도면에 도시된 일부 물품은 축적대로 도시되지 않는다.

도면에서:

<도 1a>

도 1a는 본 발명에 개시된 교시에 따른 장치, 즉 입구를 갖는, 고체 조성물을 보유하기 위한 용기, 용기 내에 배열된 제1 이동식 시일 부재, 및 초기 상태에서 제1 이동식 시일 부재를 해제가능하게 보유하는 보유 부재를 포함하는 장치의 도식 표현이고;

<도 1b>

도 1b는 입구가 초기 폐쇄 상태에서 개방 상태로 변경된 상태의 도 1a의 장치의 도식 표현이고;

<도 1c>

도 1c는 이동식 시일 부재가 초기 위치에서 제2 위치로 이동된 도 1b의 장치의 도식 표현이다.

<도 2>

도 2는 본 발명의 일부 실시양태에 따른 장치의 측단면도를 나타내고, 장치는 입구를 갖는, 고체 조성물을 보유하기 위한 용기, 용기 내에 배열된 제1 이동식 시일 부재, 제1 이동식 시일 부재를 해제가능하게 보유하는 보유 부재, 제1 제어기, 출구 개구부를 갖는 용매를 보유하기 위한 저장소, 및 저장소 내에 배열된 제2 이동식 시일 부재를 포함한다.

<도 3>

도 3은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 장치의 상부도를 나타낸다. 장치는 고체-함유 유닛 및 용매-함유 유닛을 포함한다.

<도 4>

도 4는 서로로부터 분리된 도 3의 2개의 유닛의 사시도를 나타낸다.

<도 5>

도 5는 도 3의 장치의 용매-함유 유닛의 분해도를 나타낸다.

<도 6a>

도 6a는 도 3의 고체-함유 유닛의 사시도를 나타낸다.

<도 6b>

도 6b는 보유 부재의 실시양태를 포함하는, 도 3의 고체-함유 유닛의 분해도를 나타낸다.

<도 7a>

도 7a는 도 6b의 보유 부재의 확대 사시도를 나타낸다.

<도 7b>

도 7b는 도 3의 고체-함유 유닛의 주사기의 피스톤 막대의 사시도를 나타낸다.

<도 8a>

도 8a 및 b는 고체-함유 유닛을 보유하는 하우징 상에 위치된 도 6b의 보유 부재의 측면 사시도를 나타낸다.

<도 9a>

도 9a는 보유 부재가 초기 위치인 고체-함유 유닛을 보유하는 하우징 상에 위치된, 도 6b의 보유 부재의 상부 사시도를 나타낸다.

<도 9b>

도 9b는 보유 부재가 도 9a에서와 동일한 초기 위치인 고체-함유 유닛을 보유하는 하우징 상에 위치된, 도 6b의 보유 부재의 하부 사시도를 나타낸다.

<도 9c>

도 9c는 보유 부재가 제2 위치인 고체-함유 유닛을 보유하는 하우징 상에 위치된, 도 6b의 보유 부재의 하부 사시도를 나타낸다.

<도 10>

도 10은 제어기의 실시양태의 측면도를 나타낸다.

<도 11a 내지 c>

도 11a 내지 c는 초기 위치인 본 발명에 개시된 바와 같은 장치의 실시양태를 나타낸다. 도 11a는 상부도를 나타내고; 도 11b는 측단면도를 나타내고; 도 11c는 도 11b의 제어기를 포함하는 면적의 확대도를 나타낸다.

<도 12a 내지 c>

도 12a 내지 c는 본 발명의 일부 실시양태에 따른 작동의 제1 단계에서 본 발명에 개시된 장치의 실시양태를 나타낸다. 도 12a는 상부도를 나타내고; 도 12b는 측단면도를 나타내고; 도 12c는 도 12b의 제어기를 포함하는 면적의 확대도를 나타낸다.

<도 13>

도 13은 용해된 조성물이 전달될 수 있는 유체-연결기 시스템에 연결된 용매-함유 유닛을 나타낸다.

<도 14a>

도 14a는 본 발명의 일부 실시양태에 따라서 피스톤 막대 상에 존재하도록 구성된 스페이서 부재를 나타낸다.

<도 14b>

도 14b는 고체-함유 유닛의 주사기의 피스톤 막대 상에 존재하는 도 14a에 도시된 스페이서를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0070]

본 발명은 피브리노겐을 포함하는 고체 조성물을 용해시키기 위한 방법 및 장치를 개시한다.

[0071]

일부 실시양태의 측면에 따라서, 고체 피브리노겐 조성물의 부피 및 상부공간 - 여기서 상부공간 내의 압력은 대기압보다 낮은 압력임 -을 함유하는 폐쇄 용기를 제공하는 단계; 상부공간의 내부 압력을 대기압보다 낮은 압력으로 유지시키면서, 용기에 고체 피브리노겐 조성물의 부피보다 작은 수성 용매의 부피를 도입하여 적어도 40 mg 피브리노겐/ml를 포함하는 용액을 형성하는 단계; 및 이어서 상부공간의 압력이 대기압과 같아질 때까지 용기의 상부공간의 크기를 감소시키는 단계를 포함하는, 고체 피브리노겐 조성물을 수성 용매 중에 용해시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 용기를 교반하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 용매를 고체 조성물에 첨가하여 형성된 부분적으로 용해된 용액을 교반하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 90초 이하 이내에 용해된다.

[0072]

일부 실시양태의 측면에 따라서, 고체 조성물을 수성 용매 중에 용해시키기에 적합한 장치를 제공한다. 장치는 제1 고체 조성물을 보유하기에 적합하고, 폐쇄 상태 및 개방 상태를 갖는 제1 폐쇄 용기 입구를 포함하는 제1 폐쇄 용기를 포함하고, 여기서 폐쇄 상태에서 제1 폐쇄 용기 입구는 유체의 통로에 실링되고, 개방 상태에서 제1 폐쇄 용기 입구는 제1 폐쇄 용기로의 유체 소통을 위한 통로를 제공한다. 장치는 제1 폐쇄 용기를 실링하기 위해서 제1 폐쇄 용기 내에 배열되고, 제1 폐쇄 용기 내에서 적어도 제1 위치와 제2 위치 사이를 그 내에서 이동하는 동안 제1 폐쇄 용기의 실링을 유지시키기 위해서 구성되어 제1 폐쇄 용기의 내부 부피를 감소시키는 제1 이동식 시일 부재를 추가로 포함한다. 제1 위치는 용기 내의 상부공간이 대기압보다 낮은 압력을 갖도록 하고, 제2 위치는 상부공간이 대기압과 같은 압력을 갖도록 한다. 장치는 제1 이동식 시일 부재를 제1 폐쇄 용기 내에서 제1 위치에 해제가능하게 보유하도록 구성된 제1 보유 부재를 추가로 포함한다. 장치는 제1 폐쇄 용기 입구를 폐쇄 상태와 개방 상태 사이에서 변경하는 것을 제어하기 위한 제1 제어기를 추가로 포함한다.

[0073]

제1 폐쇄 용기 입구가 폐쇄 상태이고, 제1 이동식 시일 부재가 제1 위치일 때, 제1 폐쇄 용기의 압력은 대기압보다 낮다. 대안적으로, 제1 이동식 시일 부재가 제2 위치이고, 이어서 제1 이동식 시일 부재가 제1 위치로 이동되는 동안, 제1 폐쇄 용기 입구가 폐쇄 상태이고, 제1 보유 부재가 제1 이동식 시일 부재를 보유할 때, 대기압보다 낮은 압력을 갖는 상부공간이 형성된다.

[0074]

본 발명의 교시의 원리, 사용 및 실시는 첨부된 설명 및 도면을 참고로 보다 양호하게 이해될 수 있다. 본 발명에 존재하는 설명 및 도면을 정독하면, 본 기술 분야의 숙련인은 과도한 노력 또는 실험 없이 본 발명을 실시할 수 있다. 도면에서, 유사한 참고 부호는 전체를 통해서 유사한 부품을 나타낸다.

[0075]

적어도 하나의 실시양태를 자세하게 설명하기 전에, 본 발명은 그것의 응용에 있어서 하기의 기재에서 설명되고/되거나 도면에서 도시되는 구조의 세부 사항 및 성분의 배열 및/또는 방법에 필수적으로 제한되는 것은 아니라 는 점이 이해될 것이다. 본 발명은 다른 실시양태가 가능할 수 있으며, 다양한 방법으로 실시되거나 수행될 수 있다. 본 발명에 사용된 어법 및 용어는 설명의 목적을 위해서이며, 제한으로서 간주되어서는 안된다.

[0076]

이제 도 1a내지 1c를 참고하면, 본 발명에 개시된 교시에 따른 장치 (10)의 도식적 표현이 도시되어 있다. 장치 (10)는 고체 조성물의 부피 (14) 및 상부공간 (16)을 보유하는 폐쇄 용기 (12)를 포함한다. 용기는 고체 조성물을 보유하기에 적합한 임의의 리셉터클(receptacle)일 수 있다. 용기의 예에는 병, 동결건조 용기, 통, 자 및 주사기가 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 용기는 제1 이동식 시일 부재, 예를 들어 고무 마개에 의해서 폐쇄된다. 용기는 임의의 적합한 물질, 예컨대 유리, 플라스틱, 금속 등으로 제조될 수 있다.

[0077]

폐쇄 용기 (12)는 수성 용매가 폐쇄 용기 (12)의 내부 부피로 통과하는 것을 제어하기 위한 입구 (18)를 포함한다. 입구 (18)는 수성 용매가 용기 (12)의 내부 부피로 유동하는 것이 방지되는 폐쇄 상태, 및 입구 (18)가 용기 (12)의 내부 부피로의 수성 용매의 유동을 위한 통로를 제공하는 개방 상태를 갖는다. 제어기 (20)는 입구 (18)의 개방 상태에서 폐쇄 상태로의 변경을 제어한다. 대안적으로, 일부 실시양태에서, 제어기 (20)는 피어싱 부재, 예컨대 수성 용매를 포함하는 주사기에 부착된 바늘 (도시되지 않음)을 포함하고, 피어싱 부재를 사용하여 마개를 피어싱함으로써 폐쇄 용기 (12)의 마개에 입구 (18)의 개방 상태가 제공된다.

[0078]

용기 (12) 내에는 용기 (12)를 실링하기 위한 이동식 시일 부재 (22)가 배열되어 있다. 이동식 시일 부재 (22)는 용기 (12) 내에서 이동되어 용기 (12) 내의 상부공간 (16)의 부피를 변경시킬 수 있고, 여기서 상부공간 (16)의 부피를 감소시키는 방향으로 시일 부재 (22)를 이동시키는 것은 상부공간 (16) 내의 압력을 증가시킨다.

이동식 시일 부재 (22)는 (직접 또는 간접적으로) 보유 부재 (24)에 의해서 용기 (12) 내의 제1 위치에서 해제 가능하게 보유되어, 이동식 시일 부재 (22)가 제1 위치일 때, 상부공간 (16)의 부피는 상부공간 (16) 내의 압력이 대기압보다 낮은 압력이도록 한다. 보유 부재 (24)는 임의로는 이동식 시일 부재 (22)를 보유 부재 (24)로부터 해제시키는 작동을 하는 보유 부재 작동기 (39) (도 6B에 도시됨)에 연결된다.

- [0079] 해제 시, 이동식 시일 부재 (22)는 제2 위치로 이동하여, 상부공간 (16)의 부피가 감소하고, 상부공간 (16)의 압력이 증가하여 대기압과 같아진다.
- [0080] 용기 (12)는 임의로는 하우징 (64) (예를 들어 도 3에 도시됨) 내에 보유될 수 있다.
- [0081] 장치 (10)는 수성 용매를 함유하기 위한 저장소 (42) (예를 들어 도 2에 도시됨)를 추가로 포함할 수 있다.
- [0082] 초기 상태에서, 도 1a에 도시된 바와 같이, 입구 (18)는 폐쇄 상태이고, 보유 부재 (24)는 이동식 시일 부재 (22)를 제1 위치에 보유하고, 상부공간 (16)의 압력은 대기압보다 낮은 압력이다.
- [0083] 도 1b는 장치 (10)의 사용을 나타내며, 입구 (18)가 초기 폐쇄 상태에서 개방 상태로 변경되어, 수성 용매가 용기 (12)의 내부 부피로 유동하게 하지만, 이동식 시일 부재 (22)가 보유 부재 (24)에 의해서 용기 (12) 내에서 제1 위치에 보유되어, 상부공간 (16)의 압력이 대기압보다 낮은 수준에서 유지된다. 수성 용매가 차지하는 부피는 고체 조성물이 차지하는 부피보다 작다.
- [0084] 도 1c에 도시된 바와 같이, 수성 용매가 용기 (12)의 내부 부피로 유동한 후, 이동식 시일 부재 (22)는 보유 부재 (24)로부터 해제되고, 용기 (12) 내에서 제2 위치로 이동하여 상부공간 (16)의 부피가 감소되어, 대기압에 도달할 때까지 상부공간 (16) 내의 압력이 비례하게 증가한다.
- [0085] 일부 실시양태에 따라서, 폐쇄 용기 (12)는 주사기 외통을 포함하고, 이동식 시일 부재 (22)는 외통 내에 적어도 부분적으로 둘러싸인 플런저(plunger)를 포함한다. 이러한 일부 실시양태에서, 보유 부재 (24)는 사용 전에 제1 위치에 플런저를 해제가능하게 보유한다.
- [0086] 이제 도 2를 참고하면, 예시적인 장치 (30), 입구 (18)를 갖는 전방 단부 (34) 및 후방 단부 (36)를 갖는 제1 주사기 외통 (32), 제1 주사기 외통 (32) 내에 배열된 제1 이동식 시일 부재 (22a), 제1 이동식 시일 부재 (22a)를 해제가능하게 보유하기 위한 보유 부재 (24), 및 입구 (18)를 폐쇄 상태에서 개방 상태로 변경시키기 위한 제어기 (20)의 측단면도가 도시되어 있다. 제어기 (20)는 제어기 작동기 (38) - 이것은 작동될 때 제어기 (20)가 입구 (18)를 폐쇄 상태에서 개방 상태로 변경시키도록 함 -에 간접적으로 또는 직접적으로 연결되어 있다.
- [0087] 제1 이동식 시일 부재 (도 2) (22a)는 제1 피스톤을 작동시키기 위해서 주사기 외통 (32)의 후방 단부로부터 연장된 제1 피스톤 막대 (40a)를 갖는 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는 제1 피스톤을 포함한다.
- [0088] 일부 실시양태에서, 보유 부재 (24)는 피스톤 막대 (40a)의 후방 단부와 제1 주사기 외통 (32)의 후방 단부 (36) 사이에 위치된 스페이서를 포함하여, 피스톤 막대 (40a)가 제1 주사기 외통 (32)으로 전진 이동하는 것을 방지한다. 보유 부재 (24)는 임의로는 작동기 (도시되지 않음) - 이것은 작동될 때 보유 부재 (24)가 제1 이동식 시일 부재 (22a)를 해제시키도록 함 -에 연결된다.
- [0089] 일부 실시양태에서, 리세스가 피스톤 막대 (40a)에 제공되고, 보유 부재 (24)는 리세스 (70) (도 7b에 도시됨) 내에 가역적으로 맞물리도록 구성된 적어도 하나의 돌출부 (72) (도 6b 및 7a에 도시됨)를 포함한다.
- [0090] 일부 실시양태에서, 장치 (30) (예를 들어 도 2)는 사용 전에 수성 용매를 함유하기 위한 제2 주사기 외통 (44), 및 저장소 (42)를 설정하기 위해서 외통(44) 내에 배열된 제2 이동식 시일 부재 (22b)를 포함하는 저장소 (42)를 추가로 포함한다. 외통 (44) 내에는 제2 피스톤을 작동하기 위해서 주사기 외통 (44)의 후방 단부로부터 연장된 제2 피스톤 막대 (40b)를 갖는 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는 제2 피스톤을 포함하는 제2 이동식 시일 부재 (22b)가 배열되어 있다.
- [0091] 저장소 (42)는 입구 (18)에 직접 또는 간접적으로 연결된 출구 (46)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 폐쇄 용기 (12) 및 저장소 (42)는 고체 조성물에 첨가된 후 수성 용매의 교반을 허용하여 고체 조성물이 용매 중에서 용해되는 것을 용이하게 하도록 구성된다. 일부 실시양태에서, 폐쇄 용기 (12) 및 저장소 (42)는 저장소 (42) 와 용기 (12) 간의 수성 용매 (및 고체 조성물에 수성 용매를 첨가한 후 형성된 부분적으로 용해된 용액을 포함하는 혼탁액)의 반복 전달에 의한 교반을 허용하도록 구성된다.
- [0092] 제어기 (20)는 임의로는 입구 (18)와 출구 (46) 사이에 위치한다.

- [0093] 도 3은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 장치 (50)의 상부도를 나타내며, 여기서 장치 (50)는 고체 조성물을 함유하기 위한 고체-함유 유닛 (52) 및 용매를 함유하기 위한 용매-함유 유닛 (54)을 포함한다.
- [0094] 고체-함유 유닛 (52)은 입구 (18a), (18b)를 갖는 주사기 외통 (32a), (32b)을 각각 포함하는 2개의 폐쇄 용기 (12a), (12b)를 포함하며, 각각의 주사기 외통 (32a), (32b)은 상이한 고체 조성물 (예를 들어, 각각 트롬빈 및 피브리노겐)을 함유하기 위해서 구성된다. 용매-함유 유닛 (54)은 출구 (46a), (46b)를 갖는 주사기 외통 (44a), (44b)을 각각 포함하는 2개의 저장소를 포함하며, 각각의 주사기 외통 (44a), (44b)은 각각 주사기 외통 (32a), (32b)에 함유된 고체 조성물을 용해시키기 위해서 구성된다. 주사기 외통 (44a), (44b)은 동일하거나 또는 상이한 수성 용매를 함유할 수 있다.
- [0095] 주사기 외통 (32a), (32b), (44a), (44b) 각각은 그 내에 각각 배열된 이동식 시일 부재 (22a), (22c), (22b), (22d) (도시되지 않음) 및 이동식 시일 부재 (22a), (22c) 중 적어도 하나를 해제가능하게 보유하기 위한 보유 부재 (24) 및, 입구 (18a), (18b) 중 적어도 첫번째 것을 폐쇄 상태에서 개방 상태로 변경시키기 위한 적어도 하나의 제어기 (20)를 갖는다. 일부 실시양태에서, 제어기 (20)는 입구 (18a), (18b) 모두를 폐쇄 상태에서 개방 상태로 변경시킨다. 장치 (50)는 임의로는 입구 (18a), (18b) 중 두번째 것을 폐쇄 상태에서 개방 상태로 변경시키기 위한 제2 제어기 (20b)를 포함할 수 있다. 제어기 (20a), (20b) (도 6B에 도시됨)는 임의로는 각각 입구 (18a) 와 출구 (46a) 사이, 및 입구 (18b)와 출구 (46b) 사이에 존재한다.
- [0096] 장치 (50)는 고체-함유 유닛 (52)을 보유하기 위한 하우징 (64), 및 용매-함유 유닛 (54)을 보유하기 위한 하우징 (66)을 포함한다. 대안적으로, 고체-함유 유닛 (52) 및 용매-함유 유닛 (54) 모두는 단일 하우징 (도시되지 않음) 내에 보유될 수 있다. 추가 대안적으로, 고체-함유 유닛 (52) 및 용매-함유 유닛 (54) 중 적어도 하나에는 하우징이 제공되지 않을 수 있다. 보유 부재 (24)는 임의로는 하우징 (64) 내에/상에 위치한다. 제어기 (20a) 및/또는 (20b)는 임의로는 하우징 (64) 내에 위치한다.
- [0097] 일부 실시양태에서, 제어기 (20)는 제어기 작동기 (38)에 연결되고, 이것은 작동될 때 제어기 (20)가 입구 (18a), (18b)의 적어도 첫번째 것을 폐쇄 상태에서 개방 상태로 변경시키도록 한다. 대안적으로, 일부 실시양태에서, 제1 제어기 (20a) 및 제2 제어기 (20b)를 포함하고, 각각의 제어기 (20a), (20b)는 각각 제어기 작동기 (38a), (38b)를 포함하거나 또는 이것에 연결되고, 제어기 (20a), (20b)는 임의로는 제어기 작동기 (38a), (38b) 아래에 존재한다. 대안적으로, 일부 실시양태에서, 도 6a 및 6b에 도시된 바와 같이, 단일 제어기 작동기 (38)가 제1 제어기 (20a) 및 제2 제어기 (20b) 모두에 연결되어, 이들 모두를 제어한다.
- [0098] 장치 (50)가 초기 상태에 존재할 때, 적어도 제어기 작동기 (38)의 활성화 및 제어기 (20a), (20b)의 작동 전에, 입구 (18a), (18b)는 폐쇄되어 수성 용매가 주사기 외통 (32a), (32b)으로 유동하는 것이 방지된다. 제어기 작동기 (38)의 활성화 시, 제어기 (20a), (20b) 중 적어도 하나가 작동되어, 입구 (18a), (18b) 중 적어도 하나가 폐쇄 위치에서 개방 위치로 변경되어 수성 용매가 주사기 외통 (32a), (32b) 중 적어도 하나로 유동할 수 있다.
- [0099] 각각의 이동식 시일 부재 (22a), (22b), (22c), (22d)는 피스톤을 작동하기 위해서 각각의 주사기 외통 (32a), (44a), (32b), (44b)의 후방 단부로부터 연장된 피스톤 막대 (40a), (40b), (40c), (40d)를 각각 갖는 슬라이딩방식으로 변위될 수 있는 피스톤을 포함한다.
- [0100] 임의로는, 고체-함유 유닛 (52)의 피스톤 막대 (40a), (40c)는 커플링 부재 (56)를 통해서 기계적으로 연결되고, 용매-함유 유닛 (54)의 피스톤 막대 (40b), (40d)는 커플링 부재 (58)를 통해서 기계적으로 연결되어, 각각의 유닛 내의 피스톤 막대의 쌍은 함께 이동할 수 있다.
- [0101] 고체-함유 유닛 (52)의 주사기 외통 (32a), (32b)은 유체 연결기 (60), (62)를 통해서 용매-함유 유닛 (54)의 주사기 외통 (44a), (44b) 각각과 유체 소통하게 가역적으로 연결된다. 유체 연결기는 예를 들어 루어 피팅 (luer fitting)일 수 있다. 예를 들어, 고체-함유 유닛 (52)은 2개의 수(male) 루어 피팅을 포함하는 유체 연결기 (60)를 포함할 수 있고, 용매-함유 유닛 (54)은 2개의 암(female) 루어 피팅을 포함하는 유체 연결기 (62)를 포함할 수 있다. 주사기 외통 (32a), (32b)은 각각 주사기 외통 (44a), (44b)에 대향하게 존재하며, 유체 소통을 제공하는 루어 피팅에 의해서 연결된다.
- [0102] 장치 (50)가 초기 위치일 때, 각각의 주사기 외통 (32a), (32b) 내의 상부공간 (16)의 압력은 대기압보다 낮고, 입구 (18a), (18b)는 폐쇄 상태이고, 보유 부재 (24)는 피스톤 막대 (40a), (40c)를 제1 위치에 보유하며, 여기서 상부공간 (16)의 압력은 대기압보다 낮은 수준으로 유지된다.

- [0103] 일부 실시양태에서, 입구 (18a), (18b)가 개방되고, 이로 인해서 용매가 주사기 외통 (32a), (32b)으로 유동하는 단계는 상부공간 (16) 내의 압력 증가를 유발한다. 상부공간 (16)의 압력은 이롭게는 용매가 주사기 외통 (32a), (32b)으로 도입되는 단계 동안 대기압보다 낮은 압력으로 유지된다. 예를 들어, 큰 표면적을 갖는 매우 다공성인 케이크가 용해 시간을 단축시키기 위해서 사용될 수 있는데, 그 이유는 용매가 주사기 외통 (32)으로 도입되기 전에 주사기 외통 (32) 내의 플런저에 의한 이러한 케이크의 붕괴가 방지되기 때문이다.
- [0104] 일부 실시양태에서, 입구 (18a), (18b)를 개방하는 동안, 주사기 외통 (32a), (32b)의 상부공간 (16)의 압력과 주사기 외통 (44a), (44b) 내의 압력의 압력차를 유지시켜서 용매가 주사기 외통 (32a), (32b)으로 자발적으로 도입되도록 한다.
- [0105] 일부 실시양태에 따라서, 장치 (50)가 고체 조성물을 각각 보유하는 2개의 주사기 외통 (32a), (32b)을 포함하는 경우, 2개의 고체 조성물의 용해 및 2개의 용해된 고체 조성을 (예를 들어 용해된 페브리노겐을 포함하는 용액 및 용해된 트롬빈을 포함하는 용액)의 즉각적인 동시 투여가 가능하다.
- [0106] 도 4는 암 루어 피팅을 포함하는 유체 연결기 (62)로부터 수 루어 피팅을 포함하는 유체 연결기 (60)를 탈착시킴으로써 서로로부터 분리된 도 3의 고체-함유 유닛 (52) 및 용매-함유 유닛 (54)을 나타내는 도 3의 장치 (50)의 사시도를 나타낸다.
- [0107] 도 5는 주사기 외통 (44a), (44b), 각각의 주사기 외통 (44a), (44b) 내에 위치된 피스톤 막대 (40b), (40d)를 각각 갖는 피스톤을 포함하는, 도 3 및 4의 용매-함유 유닛 (54)의 실시양태의 분해도를 나타낸다. 각각의 주사기 외통 (44a), (44b)은 각각 출구 (46a), (46b)를 갖는다. 주사기 외통 (44a), (44b)은 용매를 함유하도록 구성된다. 주사기 외통 (44a), (44b) 각각은 동일하거나 또는 상이한 용매를 포함할 수 있다.
- [0108] 도 6a는 도 3 및 4의 고체-함유 유닛 (52)의 실시양태의 사시도이고, 이것은 하우징 (64) 내에 함유되고, 보유 부재 (24)를 포함하고, 임의로는 하우징 (64) 상에 존재하고, 임의로는 채널-유사 구조를 형성하는 2개의 "U"자 형 성분 (25) (도 6b에 도시됨)에 의해서 고정된다. 고체-함유 유닛 (52)은 각각 고체 조성물을 보유하기 위해서 구성된 2개의 주사기 외통 (32a), (32b)을 포함한다. 각각의 주사기 외통 (32a), (32b)은 동일하거나 또는 상이한 고체 조성물을 보유할 수 있다. 일 실시양태에서, 주사기 외통 (32a)은 페브리노겐을 포함하는 고체 조성물을 포함하고, 주사기 외통 (32b)은 트롬빈을 포함하는 고체 조성물을 포함한다. 장치 (50)는 제어기 작동기 (38)를 추가로 포함한다.
- [0109] 도 6b는 도 6a의 고체-함유 유닛 (52)의 분해도를 나타내고, 여기서 피스톤 막대 (40a), (40c)는 적어도 하나의 리세스 (70)를 포함하고, (임의로는 고체-함유 유닛 (52)의 후방 단부 상에 또는 하우징 (64) 상에 직접 또는 간접적으로 존재하는) 보유 부재 (24)는 적어도 하나의 돌출부, 예컨대 적어도 하나의 별지 (72)를 포함하고, 여기서 리세스 (70)는 별지 (72)와 가역적으로 맞물리도록 구성되어, 장치 (50)가 초기 위치일 때 별지 (72)는 리세스 (70) 내에 맞물리고, 보유 부재 (24)는 적어도 하나의 이동식 시일 부재 (22a), (22c)를 고정 위치에 보유하여 고체-함유 유닛 (52)의 주사기-외통 (32a), (32b) 내에서 대기압보다 낮은 압력을 유지시킨다. 리세스 (70)의 위치는 상부공간 (16) 내에서 목적하는 압력을 유지시키기 위해서 요구되는 외통 (32a), (32b) 내의 상부공간 (16)의 부피에 따라서 결정된다.
- [0110] 일부 실시양태에서, 각각의 피스톤 막대 (40a), (40c)는 각각 하나의 리세스 (70a), (70b)를 포함하고, 보유 부재 (24)는 2개의 별지 (72a), (72b)를 포함하고, 이를 각각은 리세스 (70a) 및 (70b) 중 하나에 맞물리도록 구성되어, 이동식 시일 (22a), (22c)이 보유 부재 (24)에 의해서 유지되어, 각각의 외통 (32a), (32b)의 상부공간 (16)의 부피가 상부공간 (16)에 대기압보다 낮은 압력을 제공하는 수준으로 유지되도록 한다.
- [0111] 대안적으로, 제1 피스톤 막대 (40a)만 보유 부재 (24)의 하나의 별지 (72)와 맞물리도록 구성된 리세스 (70)를 포함한다. 이러한 실시양태에서, 피스톤 막대 (40c)는 임의로는 피스톤 막대 (40a)에 연결되어 모든 피스톤 막대 (40a), (40c)가 초기에는 보유 부재 (24)에 의해서 제1 위치에 보유되어 각각의 주사기 외통 (32a), (32b) 내의 상부공간 (16)에서 대기압보다 낮은 압력이 유지된다. 대안적으로, 피스톤 막대 (40a), (40c)는 분리되어 주사기 외통 (32a)의 상부공간 (16)에서만 대기압보다 낮은 압력이 유지될 수 있다.
- [0112] 추가로 임의로, 피스톤 막대 (40a), (40c) 중 하나 이상은 피스톤 막대 (40a) 및/또는 (40c)를 따르는 상이한 위치에 위치하는 하나를 초과하는 리세스 (70)를 포함하여 상부공간 (16) 내에 상이한 임의적인 압력 수준을 제공할 수 있다.
- [0113] 도 6b에 추가로 도시된 바와 같이, 제어기 (20a), (20b)는 제어기 작동기 (38)에 연결되며, 이것은 (예를 들어

장치 (50)의 작동의 제1 단계에서 사용자가 아래로 누름으로써) 작동될 때 제1 제어기 (20a)가 입구 (18a)를 폐쇄 상태에서 개방 상태로 변경시키도록하여 용매를 고체-함유 유닛 (52)의 주사기 외통 (32a)으로 유동시고, 제2 제어기 (20b)가 입구 (18b)를 폐쇄 상태에서 개방 상태로 변경시키도록하여 용매를 주사기 외통 (32b)으로 유동시킨다. 임의로는, 단일 제어기 (20)가 입구 (18a) 및 (18b)를 폐쇄 위치에서 개방 위치로 동시에 변경시킨다.

[0114] 보유 부재 (24)는 임의로는 보유 부재 작동기 (39)를 포함하거나, 이것에 연결되며, 이것은 (예를 들어 장치 (50)의 작동의 제2 단계에서 사용자가 아래로 누름으로써) 활성화될 때 이동식 시일 부재 (22a), (22c) 중 적어도 하나가 보유 부재 (24)로부터 해제되도록 하여, 적어도 하나의 이동식 시일 부재 (22a), (22c)가 용기 내에서 이동할 수 있게 한다. 임의로는, 이동식 시일 부재 (22a), (22c) 각각은 보유 부재 (24)로부터 동시에 해제된다. 대안적으로, 장치 (50)는 이동식 시일 부재 (22a), (22c) 각각을 개별적으로 보유하기 위해서 보유 부재 (24a), (24b)를 각각 포함할 수 있다. 보유 부재 작동기 (39)는 임의로는 단일 보유 부재 (24)를 활성화시켜서 이동식 시일 부재 (22a), (22c) 각각을 동시에 해제한다. 대안적으로, 장치 (50)는 보유 부재 (24a), (24b)를 각각 작동하기 위해서 개별 보유 부재 작동기 (39a), (39b)를 포함할 수 있다.

[0115] 일부 실시양태에서, 장치 (50)의 초기 위치에서, 고체 조성물을 함유하는 주사기 외통 (32a), (32b) 각각은 상부공간 (16)에서 대기압보다 낮은 압력을 갖고, 제어기 (20) (또는 제어기들 (20a), (20b))는 폐쇄되고, 피스톤 막대 (40a), (40c)는 보유 부재 (24)에 의해서 제1 위치에 보유되어 주사기 외통 (32a), (32b)의 상부공간 (16)에서 대기압보다 낮은 압력을 유지하고, 주변의 대기압과 외통 (32a), (32b)의 상부공간 (16) 내의 대기압보다 낮은 압력 간의 압력차로 인해서 피스톤 막대 (40a), (40c)가 주사기 외통 (32a), (32b)으로 흡인되는 것을 방지한다.

[0116] 도 7a는 2개의 벌지 (72a), (72b), 및 보유 부재 작동기 (39)를 포함하는 보유 부재 (24)의 실시양태의 확대 사시도이다. 보유 부재 (24)는 좁은 기부 부분 (74) 및 더 넓은 상부 (76)을 포함한다. 이러한 실시양태에서, 보유 부재 (24)는 상부 부분 (76)의 폭으로 인해서, "U" 자형 성분 (25) (도 6b에 도시됨)에 의해서 형성된 채널-유사 구조 내에서 아래로 눌러지는 것이 방지된다.

[0117] 도 7b는 본 발명에 개시된 일부 실시양태에 따른 고체-함유 유닛 (52)의 주사기 외통 (32a), (32b)의 피스톤 막대 (40a), (40c)의 실시양태의 사시도를 나타낸다. 리세스 (70a), (70b)는 벌지 (72a), (72b) 각각과 맞물리도록 구성된다.

[0118] 도 8a 및 8b는 고체-함유 유닛 (52)의 주사기 외통 (32a), (32b)을 함께 보유하는 하우징 (64)의 인접 단부 상에 존재하는 벌지 (72a), (72b)를 포함하는 보유 부재 (24)의 실시양태의 사시도를 나타낸다. 도 8a에서, 보유 부재 (24)는 작동 전에 제1 위치 (78)에 존재하고, 여기서 벌지 (72a), (72b)는 각각 리세스 (70a), (70b) 내에 맞물린다. 도 8b에서, 보유 부재 작동기 (39)에 의한 작동 후, 벌지 (72a), (72b)가 리세스 (70a), (70b)로부터 해방되고, 보유 부재 (24)는 하우징 (64) 상에서 제2 위치 (80)로 이동한다.

[0119] 도 9a는 피스톤 막대 (40a), (40c)를 따르는 고정 위치에 위치한 2개의 리세스 (70a), (70b) 내에 맞물린 보유 부재 (24)의 2개의 벌지 (72a), (72b)를 갖는, 활성화 전 제1 위치 (78)에서의 보유 부재 (24)의 실시양태의 상부 사시도를 나타낸다.

[0120] 도 9b는 도 9a와 동일한 위치에서의 보유 부재 (24)의 실시양태의 하부 사시도를 나타낸다.

[0121] 도 9c는 보유 부재 작동기 (39)에 의한 작동 후, 제2 위치 (80)에서의 보유 부재 (24)의 실시양태의 하부 사시도이고, 여기서 벌지 (72a), (72b)는 리세스 (70a), (70b)로부터 해방되어, 보유 부재 (24)를 피스톤 막대 (40a), (40c)로부터 해제시켜서, 피스톤 막대 (40a), (40c)가 각각 주사기 외통 (32a), (32b)으로 자유롭게 이동한다.

[0122] 도 10은 실질적으로 원통형인 부분 (82) 및 더 넓은 옴폭한(concave) 하부 부분 (84)을 갖는 제어기 (20)의 실시양태의 측면도를 나타낸다. 제어기 (20)의 작동 전에, 더 넓은 부분 (84)은 고체 조성물을 포함하는 주사기 외통 (32a), (32b)과 수성 용매를 포함하는 주사기 외통 (44a), (44b) 사이의 유동 통로에 위치하여, 주사기 외통 (44a), (44b)으로부터 주사기 외통 (32a), (32b)으로 용매가 유동하는 것이 물리적으로 방지된다. 제어기 작동기 (38)가 제어기 (20)를 작동할 때, 제어기 (20)는 원통형 부분 (82)이 유동 통로에 위치하도록 이동하여, 원통형 부분 (82) 주변에서 주사기 외통 (44a), (44b)으로부터 주사기 외통 (32a), (32b)으로 용매의 흐름이 발생할 수 있다. 일 실시양태에서, 제어기 (20)의 작동 시, 유동 통로는 개방된 채로 유지된다.

[0123] 도 11a 내지 c는 초기 상태의 장치 (50)를 나타내고, 여기서 용매는 주사기 외통 (44a), (44b) 내에 함유되고,

입구 (18a), (18b)는 제어기 (20)에 의해서 유지된 채로 폐쇄 위치에 존재한다. 도 11a는 상부도를 나타내고, 도 11b는 측단면도를 나타내고, 도 11c는 제어기 (20)를 포함하는 면적의 확대도를 나타낸다. 이 도에서, 피스톤 막대 (40a), (40c)는 초기 위치여서 상부공간 (16)의 부피를 유지시켜서 상부공간 (16)의 압력이 대기압보다 낮은 압력으로 유지된다. 이어서, 제어기 작동기 (38)가 활성화되어, 예컨대 제어기 (20)의 더 넓은 음폭한 하부 부분 (84)을 유동 통로로부터 제거함으로써, 제어기 (20)가 입구 (18a), (18b)를 폐쇄 위치에서 개방 위치로 변경한다. 용매-함유 유닛 (54)의 피스톤 막대 (40b), (40d)는, 주위 환경의 대기압과 주사기 (32a), (32b) 내의 상부공간 (16)의 대기압보다 낮은 압력 간의 압력 차이로 인해서 주사기 외통 (44a), (44b)으로 당겨져서, 용매가 주사기 외통 (44a), (44b)으로부터 각각 주사기 외통 (32a), (32b)으로 흐른다.

[0124] 도 12a 내지 c는 용매가 주사기 외통 (44a), (44b)으로부터 주사기 외통 (32a), (32b)으로 전달된 후 장치 (50)를 나타낸다. 도 12a는 상부도를 나타내고, 도 12b는 측단면도를 나타내고, 도 12c는 제어기 (20)를 포함하는 면적의 확대도를 나타낸다. 이 단계 동안, 제어기 (20)의 실질적으로 원통형인 부분 (82)이 유체 유동 통로 내에 위치한다.

[0125] 도 13은 고체-함유 유닛 (52)으로부터 분리되어, 루어 피팅을 포함하는 유체 연결기 (60), (62)를 포함하는 유체 연결기 시스템 (86) - 이를 통해서 용매 중의 2개의 고체 조성물의 용해로부터 형성된 용액이 대상에 투여될 수 있음 -에 연결된 용매-함유 유닛 (54)을 나타낸다. 유체 연결기 시스템 (86)은 임의로는 다수의 루멘 (lumen)을 갖는 카테터를 포함하여 다수의 유동 채널을 제공한다.

[0126] 도 14a는 터널-유사 구조 (90)를 갖고, 임의로는 경성 (rigid) 물질을 포함하고, 임의로는 피스톤 막대 (40a), (40c)의 후방 단부와 고체 조성물을 함유하는 주사기 외통 (32)의 후방 단부 사이의 고체-함유 유닛 (52)의 피스톤 막대 (40a), (40c) 상에 존재하도록 구성된 스페이서 (88)를 포함하는 보유 부재 (24)의 실시양태를 나타낸다.

[0127] 도 14b는 고체-함유 유닛 (52)의 주사기 외통 (32)의 피스톤 막대 (40) 상에 존재하는 스페이서 (88)를 나타낸다. 이러한 실시양태에서, 스페이서 (88)는 피스톤 막대 (40)가 주사기 외통 (32)으로 당겨지는 것을 방지한다. 스페이서 (88)를 피스톤 막대 (40)로부터 제거하면, 피스톤 막대 (40)는 해제되어, 주사기 외통 (32)으로 당겨진다. 스페이서 (88)의 길이 및 위치는 상부공간 (16) 내에 요구되는 압력을 제공하기 위해서, 주사기 외통 (32) 내에서 요구되는 상부공간 (16)의 부피에 따라서 결정된다.

[0128] 일부 실시양태에서, 장치 (50)의 작동 순서는 하기 단계를 포함한다:

[0129] 초기 위치에서, 고체-함유 유닛 (52) 및 액체/용매-함유 유닛 (54)은 (예를 들어 루어 피팅을 포함하는 유체 연결기 (60), (62)를 통해서) 용매-함유 유닛 (54)의 주사기 외통 (44a), (44b)과 고체-함유 유닛 (52)의 주사기 외통 (32a), (32b) 간에 유체 소통을 제공하도록 구성된 서로에 연결된다. 이 단계에서, 입구 (18a), (18b)는 폐쇄되어, 주사기 외통 (44a), (44b)으로부터 주사기 외통 (32a), (32b)으로의 유체 유동이 방지된다. 주사기 외통 (44a), (44b)에서 용매가 차지하는 부피는 주사기 외통 (32a), (32b)에서 고체 조성물이 차지하는 부피보다 작다. 주사기 외통 (32a), (32b) 내의 상부공간 (16)의 압력은 대기압보다 낮다. 주사기 외통 (44a), (44b)의 상부공간 내의 압력은 주변 압력, 예를 들어 대기압과 같다. 고체-함유 유닛 (52)의 주사기의 피스톤 막대 (40a), (40c)는 상기에 설명된 바와 같이 보유 부재 (24)를 사용하여 이들의 상응하는 외통 내에 부분적으로 둘러싸인 이들의 초기 위치에 유지된다.

[0130] 제1 단계에서, 사용자가 예를 들어 아래로 눌러서 제어기 작동기 (38)를 활성화시켜서 제어기 (20a), (20b)를 작동시키고, 입구 (18a), (18b) 및 출구 (46a), (46b)를 개방함으로써, 용매가 주사기 외통 (44a)으로부터 주사기 외통 (32a)으로, 그리고 주사기 외통 (44b)으로부터 주사기 외통 (32b)으로 유동한다. 용매가 주사기 외통 (32a), (32b)으로 유동할 때, 외통 (32a), (32b)의 상부공간 (16) 내의 압력은 대기압보다 낮은 수준으로 유지된다.

[0131] 일 실시양태에서, 제어기 작동기 (38)의 활성화 후, 유체 연결부는 개방된 채로 유지된다.

[0132] 제2 단계에서, 모든 용매가 주사기 외통 (32a), (32b)으로 도입된 후, 사용자는 보유 부재 작동기 (39) (이것은 임의로는 보유 부재 (24)의 부품임)를 활성화시켜서, 고체-함유 유닛 (52)의 피스톤 막대 (40a), (40c)를 해제시킨다. 이어서, 주변의 대기압에 비해서 주사기 외통 (32a), (32b)의 압력이 더 낮기 때문에, 피스톤 막대 (40a), (40c)가 이들의 상응하는 주사기 외통 (32a), (32b)으로 당겨져서 상부공간 (16) 내의 압력이 대기압과 같아질 때까지 외통 (32a), (32b)의 상부공간 (16) 내의 압력이 증가된다.

[0133] 본 발명에 개시된 원리에 따라서, 압력 증가는 주사기에 기체를 도입하지 않고, 주사기 외통 (32a), (32b)에서

상부공간을 감소시킴으로써 성취된다. 이롭게는, 상부공간 (16) 내에서의 압력 수준 변화는 거품 형성을 제거하거나 최소화하며, 거품이 거의 완전히 존재하지 않는 용매 중의 고체 조성물의 혼탁액의 교반을 가능하게 한다.

[0134] 혼탁액은 퍼스톤 막대 (40a), (40b), (40c), (40d)를 사용한 수희의 주사기 외통 (44a)과 (32a) 간의 혼탁액 전달에 의해서, 그리고 주사기 외통 (44b)과 (32b) 간의 혼탁액 전달에 의해서 교반되어 완전한 용해를 용이하게 하고, 고체 조성물이 용매 중에 완전히 용해된 용액을 형성할 수 있다. 용해 또는 재구성의 완결 후, 사용자는 유닛 (52)을 유닛 (54)으로부터 분리하고, 예를 들어 2개의 재구성된 용액이 전달될 수 있는 유체 연결기 시스템 (86)을 연결함으로써, 재구성된 용액을 바람직한 위치에 투여할 수 있다.

[0135] 명확성을 위해서 개별 실시양태와 관련하여 설명된 본 발명의 소정의 특징부는 또한 단일 실시양태와 조합하여 제공될 수 있다는 것이 인지된다. 반대로, 간결성을 위해서 단일 실시양태와 관련하여 설명된 본 발명의 다양한 특징부는 또한 본 발명의 임의의 다른 기재된 실시양태와 별개로 또는 임의의 적합한 하위조합으로 또는 적합하게 제공될 수 있다. 다양한 실시양태와 관련하여 기재된 소정의 특징부는, 실시양태가 이들 부재 없이 사용될 수 있는 한, 이들 실시양태의 본질적인 특징부가 아니다.

[0136] 본 발명은 이의 구체적인 실시양태와 관련하여 설명되었지만, 다수의 대안, 개질 및 변형은 본 기술 분야의 숙련인에게 자명함이 분명하다. 따라서, 특허청구범위의 범주에 포함된 모든 이러한 대안, 개질 및 변형을 포함하고자 한다.

[0137] 본 출원에서 임의의 참고문헌의 언급 또는 인지는 이러한 참고문헌이 본 발명에 대한 선행 기술로서 사용될 수 있음을 허용하는 것으로서 이해해서는 안된다.

실시예

물질 및 방법

동결건조

[0141] 동결건조는 크리스탈 입실론(Christ Epsilon) 2-8D 동결건조기를 사용하여 표 1에 기재된 사이클에 따라서 수행하였다. 동결건조는 원통형 바이알 또는 캡 내에서 수행하였고, 동결건조 방법의 완결 시 이를 실링하였다. 동결건조 방법은 3차원 고체 피브리노겐 "케이크"를 생성하였다.

[표 1]

색	션	상	시 간 (h:m)	온 도 (°C)	진 공 (kPa (mBar))
1		시 작 값	--:--	4	오 끄 (o ff)
2		동 결	1:0 0	- 3 0	오 끄
3		동 결	1:0 0	- 5 0	오 끄
4		동 결	5:4 0	- 5 0	오 끄
5		준 비	0:2 0	- 4 5	오 끄
6		승 화	0:1 5	- 4 2	0.0 2 (0.2)
7		승 화	0:1 5	- 2 5	0.0 2 (0.2)
8		승 화	2 5:0 0	- 2 5	0.0 2 (0.2)
9		승 화	1:0 0	- 1 5	0.0 2 (0.2)
10		승 화	1 2:0 0	- 1 5	0.0 2 (0.2)
11	제 2 건 조		2:0 0	2 0	0.0 2 (0.2)
12	제 2 건 조		5:0 0	2 0	0.0 2 (0.2)
13	제 2 건 조		1 8:3 0	2 5	0.0 1 2 (0.1 2)

[0143]

[0144] 임의로는, 동결 건조 바이알을 실링하기 전에, 단계 13 이후에, 동결건조 바이알 내의 압력을 목적하는 압력으로 증가시킴으로써, 0.012 kPa (0.12 mBar)보다 높은 압력을 제공할 수 있다.

클라우스(Clauss) 응고(clotting) 시간 방법

[0146] 이 방법은 응고 시간 기계 (디아그노스티카 스태고 인크.(Diagnostica Stago Inc.) (미국))를 사용하여 일정한 양의 트롬빈의 존재 하에서 응고 시간에 따른 샘플 중의 응고성(clottable) 피브리노겐 농도를 측정한다. 샘플에 대해서 측정된 응고 시간을 피브리노겐 표준품으로 생성된 검정 곡선으로 수득된 것과 비교하였다. 사용된 방법은 문헌 [Eu. Ph. assay 0903/1997 as elaborated in: European Pharmacopoeia, Fibrin sealant kit. 1997; 0903: 858]; 및 문헌 [Clauss A. Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens. Acta Haematol. 1957; 17: 237-246]의 변형이다.

- [0147] 탈기된 이중 증류수(Double Distilled Water) (탈기된 DDW)의 제조.
- [0148] 공기 방울이 물의 표면 위에 나타나지 않을 때까지, 이중 증류수 (DDW)를 진공 하에서 교반하였다.
- [0149] 피브리노겐 스톡 용액.
- [0150] 응고성 피브리노겐 농도가 55 내지 85 mg/ml인 EVICEL® 피브린 실란트 (옴릭스 바이오파마슈티컬즈 엘티 디.(Omrix Biopharmaceuticals Ltd.)) 중의 생물 활성 성분 (BAC) 용액을 하기에 기재된 모든 실험에서 피브리노겐 스톡 용액으로서 사용하였다.
- [0151] 단백질 용해 수준의 측정법.
- [0152] 동결건조 및 용해 후의 피브리노겐 시험 용액, 및 동결건조 및 용해에 적용하지 않은 BAC 피브리노겐 스톡 용액을 포함하는 대조군 용액에 대해서 광학 밀도 (OD)를 측정하였다.
- [0153] 각각의 피브리노겐 시험 용액으로부터의 150 μ l 샘플을 DDW를 사용하여 1:400으로 희석하였다, 280 내지 320 nm에서, DDW 블랭크에 대해서 OD를 측정하였다. 울트라스펙 2100프로 분광광도계(ULTRASPEC 2100pro spectrophotometer) (아머샴 파마시아 바이오테크(Amersham Pharmacia Biotech) (스웨덴))를 사용하여 아크릴 큐벳(cuvette) (사르스테트(Sarstedt) (독일); Cat. number 67.740) 내에서 측정을 수행하였다.
- [0154] 대조군 용액의 OD를 100%로서 간주하였다. 하기 식에 따라서 계산하였고, 결과는 %로 표현된다.
- [0155] 단백질 용해 수준 = $\frac{\text{시험 용액 OD}_{280}-\text{OD}_{320}}{\text{대조군 용액 OD}_{280}-\text{OD}_{320}} \times 100$
- [0156] $\text{대조군 용액 OD}_{280}-\text{OD}_{320}$
- [0157] 실시예 1: 고체 피브리노겐을 용해시켜서 농축된 피브리노겐 용액을 제조함.
- [0158] 수성 용매 중의 단백질 용해 수준에 대해서 상기에 기재된 바와 같이, 동결건조에 의해서 수득된 3차원 고체 피브리노겐 저밀도 "케이크"의 피브리노겐 밀도의 효과를 조사하였다. 동결건조 후 단백질 용액으로부터 수득된 "케이크" 중의 단백질 밀도 (mg/cc로 표현됨)는 동결건조 전 용액 중의 단백질 농도 (mg/ml)와 실질적으로 동일하다. 따라서, 동결건조 전 스톡 용액의 희석은 희석되지 않은 스톡 용액의 동결건조에 의해서 수득된 "케이크"의 밀도보다 더 낮은 밀도의 "케이크"를 생성한다. "케이크"의 부피는 "케이크"가 제조된 용액의 부피와 실질적으로 동일하다. 따라서, "케이크"의 부피와 동일한 부피 중에 "케이크"를 용해시키는 것은 "케이크"가 제조된 용액의 농도와 동일한 농도를 갖는 용액을 생성하며, 반면에 고체 "케이크"의 부피보다 작은 부피 중에 "케이크"를 용해시키는 것은 "케이크"가 제조된 용액의 농도보다 더 큰 농도를 갖는 용액을 생성한다.
- [0159] 상이한 피브리노겐 밀도를 갖는 저밀도 "케이크"를 제조하기 위해서, (상기 물질 및 방법 부분에 기재된 바와 같은) 63 mg/ml의 피브리노겐을 포함하는 피브리노겐 스톡 용액을 DDW로 희석하여 21 내지 42 mg/ml 범위의 농도를 갖는 피브리노겐 용액을 수득하였다. 희석된 용액, 및 희석되지 않은 피브리노겐 스톡 용액을 포함하는 대조군 샘플을 동결건조하여, 상이한 피브리노겐 밀도를 갖는 "케이크"를 산출하였다. "케이크"를 수성 용매 중에 용해시키고, 단백질 용해 수준을 하기와 같이 측정하였다.
- [0160] 보다 구체적으로, 스톡 용액 5 ml를 DDW로 희석하여 각각 응고성 피브리노겐 농도가 42, 32, 및 21 mg/ml이고 최종 부피가 7.5, 10 및 15 ml인 희석된 용액을 산출하였다. 다음 단계에서, 피브리노겐 스톡 용액 및 희석된 용액의 최종 부피를 포함하는 대조군 샘플 5 ml를 각각 주사기 내에 합치될 수 있는 케이크를 제조하도록 설계된 원통형 유리 컵 (직경: 30 mm/높이: 25 mm)에 옮기고, 물질 및 방법 부분에 기재된 사이클에 따른 동결건조에 적용하였다. 이 실험에서, 원통형 유리 컵은 마개를 닫지 않았다.
- [0161] 동결건조 사이클의 마지막에, (대조군 샘플로부터) 63 mg/cc의 피브리노겐 밀도, (희석된 시험 샘플로부터) 42, 32, 및 21 mg/cc의 피브리노겐 밀도를 갖는 동결건조된 무수 "케이크"를 수득하였다. 각각의 "케이크"를 원통형 유리 컵으로부터 제거하고, 주사기의 플런저를 제거하고, "케이크"를 주사기의 외통에 삽입하고, 이어서 외통에 플런저를 교체함으로써, "케이크"를 50 ml 주사기 (PIC 인돌라(PIC Indolor) (이탈리아))의 외통 내에 합치시켰다. 50 ml 주사기를 3 방향 스탑 콕 (메디팜(Medipharm) (UK))의 제1 연결 지점에 연결하고, 5 ml의 탈기된 DDW (상기에 기재된 바와 같이 제조됨)를 함유하는 5 ml 주사기 (테루모(TERUMO) (벨기에))를 스탑 콕의 제2 연결 지점에 연결하고, 20 μ m의 여과기 (MDI (인도)); Cat. number SYPP0611MNXX104)를 제3 연결 지점에 연결하였다.
- [0162] 하기 방법 중 하나로 (특히 지혈제로서 사용되는 피브리노겐 스톡 용액의 농도와 유사한) 63 mg/ml의 최종 피브

리노겐 농도를 갖는 용액을 수득하기 위해서, 희석된 용액으로부터 수득된 저밀도 "케이크" 각각을 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 온도에서 5 ml DDW 중에 용해시켰다.

[0163] 방법 1: 탈기된 DDW를 함유하는 5 ml 주사기와 저밀도 "케이크"를 함유하는 50 ml 주사기 간의 유체 소통을 허용하도록 3 방향 스탑 콕을 설정하고, 탈기된 DDW를 50 ml 주사기에 도입하였다. 탈기된 DDW를 50 ml 주사기에 도입한 후, 이에 따라 형성된 부분적으로 용해된 피브리노겐을 포함하는 용액을, 피브리노겐의 용해를 증가시키기 위해서, 주사기의 플런저를 앞뒤로 이동시킴으로써 한 주사기로부터 다른 주사기로 전달하는 것을 3회 반복하였다. 주사기 어셈블리를 실온에서 2분 동안 인큐베이션하여 실질적으로 완전히 용해된 피브리노겐을 포함하는 용액을 수득하였다. 탈기된 DDW의 도입에서부터 인큐베이션의 마지막까지의 총 시간은 약 150초였다. 이어서, 용액으로부터 용해되지 않은 입자를 제거하기 위해서, 20 μm 여과기를 통해서 피브리노겐 용액이 유동하도록 3 방향 스탑 콕을 설정하였다.

[0164] 방법 2: 부분적으로 용해된 피브리노겐을 포함하는 용액을 한 주사기로부터 다른 주사기로 5회 전달하고, 생성된 용액을 임의의 인큐베이션 기간 없이 즉시 여과한 것을 제외하고는, 상기 방법 1에 기재된 것과 유사한 방식으로 용해를 수행하였다. 탈기된 DDW의 도입으로부터 두 주사기 사이에서 용액을 5회 전달할 때까지의 시간은 약 30초였다.

[0165] 물질 및 방법 부분에 "단백질 용해 수준의 측정법" 하에 상기에 기재된 바와 같이 용액 중의 용해된 단백질의 백분율을 측정하였다. 그 결과가 하기 표 2에 나타나 있다.

[0166] [표 2]

동결건조된 "케이크" 내의 피브리노겐 밀도 (mg/cc)	단백질 용해 \pm SD (%)	
	방법 1에 의해 혼합 3회 뜯 인큐베이션	방법 2에 의해 혼합 5회 뜯 인큐베이션 하지 않음
6.3	12.3 \pm 4.6	15.3 \pm 7
4.2	28.1 \pm 7.4	25 \pm 9.9
3.2	51.6 \pm 7.5	29.8 \pm 5.2
2.1	81.8 \pm 8.2	43 \pm 2.3

* 측정을 3회 반복 수행함

[0167] [0168] 두 용해 방법 모두에서, 물 중에 더 낮은 단백질 밀도의 "케이크"를 용해시키는 것이 더 높은 단백질 밀도의 "케이크"를 용해시켜서 수득된 것에 비해서 단백질 용해 백분율을 증가시킨다는 것이 관찰되었다. 이 실험에서, 인큐베이션 및 150초 동안 지속하는 방법 1을 사용함으로써 피브리노겐 밀도가 21 mg/cc인 동결건조된 "케이크"를 용해시키는 동안, 최적의 단백질 용해가 수득되었다. 이 결과는, 인큐베이션 및 혼합 또는 교반이 중요하며, 고체 피브리노겐 제제를 용해시키기 위해서 비교적 긴 시간이 필요함을 나타낸다. 중요하게는, 동결건조된 "케이크" 내의 피브리노겐 밀도는, 임의의 "케이크" 봉괴 없이 동결건조물의 안정성을 유지시키면서, 약 5 mg/cc로 감소될 수 있다 (문헌 [Parker et. al. "Determination of the influence of primary drying rates on the microscale structural attributes and physicochemical properties of protein containing lyophilized products". J Pharm Sci. 2010;99:4616-4629]).

[0169] 용액을 육안으로 관찰하면 상기에 기재된 방식으로 동결건조된 "케이크"를 용해시키는 것은 거품성 용액의 형성을 유발한다는 것을 알 수 있었다.

[0170] 실시예 2: 용해 동안 거품 제거 속도에 대한 압력의 효과.

[0171] 대기압보다 낮은 압력 조건을 사용하고, 이어서 대기압 (100 kPa (1000 mBar))으로 평형화시켜서, 동결건조된 저밀도 피브리노겐 "케이크"의 용해 동안 형성된 거품의 제거 속도에 대한 압력의 효과를 연구하였다.

[0172] 이러한 목적을 위해서, 피브리노겐 밀도가 21 mg/cc인 "케이크"를 제조하였다. 상기에 기재된 바와 같이, 피브리노겐 농도가 63 mg/ml인 스톡 용액 5 ml를 10 ml DDW로 희석함으로써, 각각 부피가 15 ml이고, 응고성 피브리노겐 농도가 21 mg/ml인 8개의 시험 용액을 제조하였다. 용액을 각각 50 ml 유리 바이알 내에서 동결건조하였다. 8개의 동결건조 바이알을 고무 마개로 부분적으로 막고, "물질 및 방법 부분"에 표 1에 기재된 바와 같이 동결건조하였다. 동결건조 사이클의 마지막에, 피브리노겐 밀도가 21 mg/cc인 무수 "케이크"를 수득하였다.

[0173] "케이크"를 하기의 대기압보다 낮은 압력에 적용하였다: 0.012, 10, 25, 또는 50 kPa (0.12, 100, 250, 또는

500 mBar). 이러한 목적을 위해서, 필요한 압력으로 동결건조기 내의 압력을 조정하고, 동결건조기 선반을 고무 마개 상에 내림으로써 "케이크"를 함유하는 유리 바이알을 실링하고, 마개를 닫았다. 각각의 압력에서 시험하기 위한 샘플을 2개씩 제공하였다.

[0174] 이어서, 하기와 같이, 시험 샘플의 "케이크"를 실온 ($22\pm2^{\circ}\text{C}$)에서 DDW 중에 용해시켜서 피브리노겐 농도가 63 mg/ml인 용액을 제공하였다. 먼저, 바이알 내의 압력을 대기압보다 낮은 규정된 압력으로 유지시키면서, 23G 바늘 (메디 플러스(Medi plus) (중국))에 연결된 5 ml 주사기 (테루모 (벨기에))를 사용하여, "케이크"를 함유하는 바이알에 탈기된 DDW 4.4 ml를 고무 마개를 통해서 주입하였다. 바늘은 주입 후에 고무 마개 내에 남아있었다. 탈기된 DDW를 바이알에 주입하고 20초 후, 주사기를 바늘로부터 분리하여, 주위 영역으로부터의 공기가 바늘을 통해서 바이알에 들어가도록 함으로써 바이알 내의 압력을 대기압과 같아지도록 하였다. 각각의 압력 수준에서 하나의 샘플을 이러한 방식으로 용해시켰다.

[0175] 하기와 같이, 대기압에서, $22\pm2^{\circ}\text{C}$ 의 온도에서 탈기된 DDW를 주입함으로써 각각의 압력 수준에서 제2 (대조군) 샘플의 "케이크"를 용해시켰다: 먼저, 바이알 내의 압력을 대기압으로 만들기 위해서 바이알의 마개를 약간 개방하고, 이어서 탈기된 DDW 4.4 ml를 바이알에 첨가하여 63 mg/ml의 응고성 피브리노겐의 농도 (스톡 용액의 농도에 대한 것)를 성취하였다. 동결건조된 저밀도 "케이크"에 탈기된 DDW를 첨가한 시간으로부터, 상부에서 볼 때 용해된 용액의 표면적의 1/3이 보이는 시간까지를 측정하여 흡이 제거되는데 필요한 시간으로 하였다. 그 결과가 하기 표 3에 나타나 있다.

[표 3]

용해 방법	DDW를 주입하고, 20초 까지의 바이알 내의 압력 수준 (kPa (mBar))	DDW를 주입하고, 20초 후의 바이알 내의 압력 수준 *** (kPa (mBar))	거품 제거 시간 ± SD (초) **
저압 하에서의 용해 이후에 대기압 *	0.012 (0.12)	100 (1000)	30.50±6.95
	(100) 10	100 (1000)	160.70±203.0
	(250) 25	100 (1000)	622.25±158.51
	(500) 50	100 (1000)	801.25±428.54
대조군 *	(1000) 100	100 (1000)	5,235±2533.48

* 측정을 3회 반복 수행함

** 탈기된 DDW의 도입으로부터, 상부에서 볼 때 용해된 용액의 표면적의

1/3이 보이는 시점 까지

*** 바이알 내에 공기의 증가때문에 압력 수준이 100 kPa (1000 mBar)로 증가함

[0177]

[0178] 대기압보다 낮은 압력에서 동결건조된 피브리노겐 "케이크"를 용해시킨 후 대기압으로 평형화됨으로써, 대조군 그룹 (대기압 하에서 탈기된 DDW를 주입함)에 비해서 거품 제거 속도가 증가되는 것이 관찰되었다. 탈기된 DDW의 첨가 동안의 바이알 내의 압력 수준은 거품 제거 시간에 직접적으로 연관됨을 나타내었다 (즉, 탈기된 DDW의 첨가 동안 바이알 내의 압력이 낮으면 거품 제거 시간이 짧아졌다). 이 실험에서, 0.012 kPa (0.12 mBar)의 압력에서 DDW를 저밀도 "케이크"에 첨가하고, 20초 동안 인큐베이션하고, 이어서 대기압으로 평형화시킴으로써, 최적의 결과가 관찰되었다.

[0179] 이러한 결과는, 동결건조된 피브리노겐 "케이크"의 용해 동안 거품의 존재를 최소화하기 위해서, 용매를 대기압보다 낮은 압력 하에서 첨가한 후 대기압으로 평형화시키는 것이 이롭다는 것을 나타낸다.

[0180] 실시예 3: 거품 형성, 단백질 용해 수준 및 용해 속도에 대한 용액 교반의 효과.

[0181] 이전의 실험은 동결건조된 저밀도 "케이크"를 대기압보다 낮은 압력에서 용해시킨 후 바이알 내에 공기를 도입하여 동결건조 바이알 내의 압력을 대기압과 평형화시키는 것이 더 짧은 거품 제거 시간을 유발한다는 것을 나타낸다.

[0182] 혼합물의 교반은 용해 시간을 단축시키고 균일한 용액을 수득하기 위해서 바람직하다. 다음 실험에서, 공기를 바이알 내에 도입하지 않고, 대기압으로의 평형화를 수행하였고, 이어서 단백질 용해 수준, 용해 속도 및 거품 제거에 대한 용액 교반의 효과를 조사하였다. 용액의 교반은 2가지의 상이한 방법에 의해서 수행하였다: A- 2 개의 연결된 주사기를 사용하여 한 주사기로부터 다른 주사기로 용액을 전달함 (즉, 왕복 혼합 장치를 사용함); 또는 B- 용액을 함유하는 용기를 수동으로 진탕함. 두 실험 모두에서, 용해는 실온 ($22\pm2^{\circ}\text{C}$)에서 수행하였고, 첨가된 DDW는 $22\pm2^{\circ}\text{C}$ 의 온도였다.

[0183]

A. 왕복 혼합 장치에 의한 용액 교반-

[0184]

저밀도 "케이크"를 하기와 같이 제조하였다. 63 mg/ml의 응고성 피브리노겐을 갖는 4 ml의 피브리노겐 스톡 용액을 DDW로 용해시켜 48, 32 및 21 mg/ml의 응고성 피브리노겐 농도를 갖는 용액을 수득하였다. 희석 단계 이후에, 각각 6, 8, 및 12 ml의 최종 부피를 수득하였다. 다음 단계에서, 희석되지 않은 피브리노겐 스톡 용액 각각 4 ml, 및 희석된 용액의 최종 부피를 물질 및 방법 부분에 기재된 사이클에 따라서 동결건조하였다. 동결건조 절차는 특별히 설계된 원통형 유리 컵 (직경: 23 mm/높이: 25 mm)에서 수행하였다.

[0185]

희석된 용액의 최종 부피가 유리 컵의 부피 (5 ml)보다 큰 경우에는, 희석된 용액을 하나를 초과하는 유리 컵 (즉 63 mg/ml- 1개의 컵, 48 mg/ml- 2개의 컵, 32 mg/ml- 2개의 컵, 21 mg/ml- 3개의 컵)에서 동결건조하였다. 이 실험에서, 원통형 유리 컵을 동결건조 사이클의 마지막에 대기압보다 낮은 압력 하에서 마개를 닫지 않거나 또는 실링하지 않았다. 4종의 상이한 피브리노겐 용액의 동결건조는 피브리노겐 밀도가 63, 48, 32, 및 21 mg/cc인 동결건조된 "케이크"를 산출하였다. 이어서, 주시기의 플런저를 제거하고, 주사기의 외통에 "케이크"를 삽입하고, 플런저를 외통에 다시 설치함으로써, 수득된 동결건조된 "케이크" 각각을 12 ml 주사기에 합치시켰다. 하나를 초과하는 컵이 동결건조를 위해서 사용되는 경우, 수득된 케이크 모두를 동일한 외통에 삽입하였다. 12 ml 주사기를 3 방향 스탑 콕 (메디팜 (UK))의 제1 연결 지점에 연결하고, 대략 3.6 ml의 탈기된 DDW (물질 및 방법 부분에 기재된 같이 제조됨)를 함유하는 제2의 12 ml 주사기를 스탑 콕의 제2 연결 지점에 연결하고, 진공 펌프 (KNF 노이베르거(KNF Neuberger) (독일))를 진공 압력계 (피셔 사이언티픽(Fisher Scientific) (미국))와 함께 제3 연결 지점에 연결하였다.

[0186]

이어서, 저밀도 "케이크"를 대기압보다 낮은 압력 수준에 적용하였다. 이러한 목적을 위해서, 진공 펌프와, 동결건조된 "케이크"를 보유하는 12 ml 주사기 간의 유체 소통을 허용하도록 3 방향 스탑 콕을 설정하고; 동결건조된 "케이크"를 보유하는 12 ml 주사기의 플런저를 알루미늄 스페이서에 의해서 주사기 외통의 상부에 유지시키고, 플런저를 고정시켜서, 저밀도 "케이크"를 대기압보다 낮은 압력에 적용하는 단계 동안 플런저가 주사기의 외통으로 당겨지는 것을 방지하였다. 이어서, 진공 펌프에 의해서, 공기를 동결건조된 "케이크"를 보유하는 12 ml 주사기로부터 배출하여, 2.5, 20 또는 50 kPa (25, 200 또는 500 mBar)의 소정의 압력을 제공하였다. 또다른 시험 그룹에서, 주사기 내의 압력이 100 kPa (1000 mBar)이도록, 공기를 주사기의 외통로부터 배출하지 않았다.

[0187]

하기 방법을 사용하여, 동결건조된 "케이크"를 DDW 중에 용해시켜서 63 mg/ml의 피브리노겐 농도를 갖는 용액 (희석되지 않은 스톡 용액과 같음)을 제공하였다: 먼저, 탈기된 DDW (3.6 ml)를 보유하는 12 ml 주사기와 동결건조된 "케이크"를 보유하는 12 ml 주사기 간의 유체 소통을 허용하도록 3 방향 스탑 콕을 설정하여, 대기압보다 낮은 압력을 유지하면서, 탈기된 DDW를 동결건조된 "케이크"를 보유하는 주사기로 유동시켜서, 부분적으로 용해된 피브리노겐을 포함하는 용액을 제공하였다. 이 단계에서, 부분적으로 용해된 피브리노겐을 포함하는 용액을 보유하는 주사기 내의 압력이 이전 단계 동안의 압력에 비해서 증가되었지만, 여전히 대기압보다 낮았다. 이어서, 플런저로부터 알루미늄 스페이서를 제거하고, 플런저가 외통으로 당겨지게 하거나 또는 플런저를 눌러서 공기 없이 주사기 내의 압력을 대기압으로 평형화시켰다. 주위 영역으로부터의 공기를 바이알에 도입함으로써 대기압으로의 평형화를 수행하는 실시예 2와 반대로, 이렇게 공기 또는 기체를 도입하지 않고 이렇게 기계적으로 대기압의 평형화를 수행하였다. 이어서, 부분적으로 용해된 피브리노겐을 포함하는 용액이 존재하는 주사기 어셈블리를 30초 동안 방치하고, 동시에 진공 펌프를 3 방향 스탑 콕으로부터 분리하였다. 다음 단계에서, 커스터마이징된(customised) 용해 기계를 사용하여 3.8 cm/sec의 속도에서 용액을 한 주사기로부터 다른 주사기로 10회 전달함으로써 부분적으로 용해된 피브리노겐을 포함하는 용액을 교반하여 실질적으로 완전히 용해된 피브리노겐을 포함하는 용액을 수득하였다. 간략히, 커스터마이징된 용해 기계는 각각 주사기를 함유하고 서로 대향하는 2개의 주사기 펌프를 포함한다. 2개의 주사기 펌프의 주사기는 벨브를 함유하는 연결 부재와 함께 연결되어 물의 통과를 제어하고, 고체-함유 주사기 내에서 진공을 유지시킨다. 2개의 주사기 펌프는, 제1 주사기 펌프가 제1 주사기의 플런저를 당길 때, 제2 주사기 펌프가 제2 주사기의 플런저를 밀도록 (그리고 그 반대로 작동하도록) 동시에 작동한다.

[0188]

그 후, 실질적으로 완전히 용해된 피브리노겐을 포함하는 용액을 보유하는 주사기를 3 방향 스탑 콕으로부터 분리하고, 용액을 20 μ m 여과기를 통해서 여과하여 임의의 용해되지 않은 물질을 용액으로부터 분리하였다.

[0189]

알루미늄 스페이서를 사용하지 않고, 전체 용해 단계 동안 압력을 대기압으로 평형화시킨 것을 제외하고는, 대기압 하에서의 동결건조된 저밀도 "케이크"의 용해를 상기에 기재된 동일한 방식으로 수행하였다. 탈기된 DDW의 도입으로부터, 두 주사기 사이에서 용액을 10회 전달할 때까지의 시간은 약 45초였다.

[0190]

상기에 기재된 조건 하에서 고체 단백질의 용해 능력을 평가하기 위해서, 용해된 용액 중의 단백질 용해 수준을

물질 및 방법 부분에 "단백질 용해 수준의 측정법" 하에 상기에 기재된 바와 같이 측정하였다. 거품의 존재를 육안으로 관찰하였다.

[0191] 그 결과가 하기 표 4에 나타나 있다.

[표 4]

동결건조된 "케이크" 내의 피브리노겐 밀도		DDW 첨가 시 바이알 내의 압력 수준 (kPa (mBar))	
	100 (1000)	50 (500)	20 (200)
6.3	7.2	5.1	6.9
6.2	8.3	4.6	8.7
5.9	움직일 수 없음 (stuck)	6.0	8.2
움직일 수 없음	움직일 수 없음	움직일 수 없음	7.8
움직일 수 없음	움직일 수 없음	움직일 수 없음	8.4
6.3	6.1 ± 2	7.8 ± 8	5.2 ± 7
	7.0	7.7	9.1
	7.1	8.0	7.7
	8.0	8.2	8.0
	움직일 수 없음	움직일 수 없음	9.6
	움직일 수 없음	움직일 수 없음	9.0
4.2	7.4 ± 5	7.9 ± 2	8.2 ± 7
	8.6	7.8	8.7
	7.7	8.1	9.2
	8.8	9.1	8.7
	8.1	9.1	8.7
	움직일 수 없음	8.8	8.7
3.2	8.3 ± 5	8.6 ± 5	8.8 ± 2
	9.4	9.6	8.8
	9.0	9.2	9.6
	8.7	9.3	8.7
	9.6	9.5	9.3
2.1	9.0	9.1	8.9
	9.1 ± 3	9.4 ± 2	9.0 ± 4
			1.00 ± 5

* 움직일 수 없음. 용해되지 않은 입자에 의해서 주사기가 막혀서 용해 기계가
풀려서 이를 동시에 칠 수 없는 것을 의미함

** 각각의 실험을 5회 반복 수행함

[0193]

[0194] 결과는, 42 mg/cc 보다 낮은, 예를 들어 32 mg/cc 또는 21 mg/cc의 피브리노겐 밀도를 갖는 동결건조된 "케이크"를 20 kPa (200 mBar) 보다 낮은, 예를 들어 2.5 kPa (25 mBar)의 압력하에서 용해시킨 후, 공기를 도입하지 않고 대기압으로 평형화시키고, (예를 들어 용액을 두 주사기 사이에서 왕복시킴으로써) 용액을 교반하는 것이 45초의 짧은 시간 내에 100% 단백질 용해를 유발한다는 것을 나타낸다. 2.5 kPa (25 mBar)의 압력 하에서의 용해 후에는 유의한 양의 거품이 관찰되지 않았지만, 더 높은 압력 수준은 유의한 거품 형성을 유발하였다.

[0195]

B- 용액을 함유하는 용기의 수동 진탕에 의한 교반.

[0196]

스테인레스강 구체의 존재 하에서 용액을 함유하는 주사기를 수동으로 진탕함으로써 교반을 수행하였다.

[0197]

수동 진탕의 효과를 조사하기 위해서, 상기에 기재된 방식으로, 피브리노겐 농도가 각각 23, 35, 47, 및 70 mg/ml인 피브리노겐 용액으로부터 피브리노겐 밀도가 23, 35, 47, 및 70 mg/cc인 동결건조된 "케이크"를 제조하였다. 간략하면, 4 ml의 피브리노겐 스톡 용액을 상기에 기재된 바와 같이 DDW를 사용하여 23, 35, 47 mg/ml의 피브리노겐 농도로 희석하였다. 각각의 희석된 피브리노겐 용액의 총 부피 및 희석되지 않은 피브리노겐 스톡 용액 샘플 4 ml를 표 1에 기재된 동결건조 사이클에 따라서 동결건조하였다. 동결건조된 "케이크"를 함유하는 바이알을 동결건조 사이클의 마지막에 저압 조건 하에서 마개를 닫지 않거나 또는 실링하지 않았다. 수득된 저밀도 "케이크"를 4개의 스테인레스강 구체와 함께 상기에 기재된 바와 같이 12 ml 주사기의 외통에 삽입하였다. 2종의 상이한 스테인레스강 구체를 본 실험에서 사용하였다: 4 mm 직경의 구체 (중량 260 mg) 및 6.4 mm 직경.

[0198]

12 ml 주사기를 3 방향 스탑 콕 (메디팜 (UK))의 제1 연결 지점에 연결하고, 대략 4.35 ml의 탈기된 DDW (상기에 기재된 바와 같이 제조됨)를 함유하는 5 ml 주사기 (테루모 (벨기에))를 스탑 콕의 제2 연결 지점에 연결하고, 진공 펌프 (KNF 노이베르거 (독일))를 진공 압력계 (피셔 사이언티픽 (미국))와 함께 제3 연결 지점에 연결하였다.

[0199]

이어서, 저밀도 "케이크"를 2.5 kPa (25 mBar)의 압력 수준에 적용하였다. 이를 위해서, 동결건조된 "케이크"를 보유하는 주사기와 진공 펌프 간의 유체 소통을 허용하도록 3 방향 스탑 콕을 설정하고, "케이크"를 보유하는 주사기의 플런저를 상기에 기재된 바와 같이 스페이서에 의해서 주사기의 외통의 상부에 고정시켰다. 이어서, 2.5 kPa (25 mBar)의 압력에 도달할 때까지, 진공 펌프에 의해서 동결건조된 "케이크"를 보유하는 주사기로부터 공기를 축출하였다. 공기의 축출 후, 탈기된 DDW를 보유하는 주사기로부터 동결건조된 "케이크"를 보유하는 주사기로 유체가 소통하도록 3 방향 스탑 콕을 설정하여 부분적으로 용해된 피브리노겐을 포함하는 용액을 수득하였다. 알루미늄 스페이서를 제거하여, 주사기에 공기를 도입하지 않고, 용액을 보유하는 주사기 내의 압력을 대기압으로 평형화시켰다. 탈기된 DDW를 "케이크"에 도입하고 30초 후, 부분적으로 용해된 피브리노겐을 포함하는 용액을 함유하는 주사기를 3 방향 스탑 콕과 함께 주사기 어셈블리로부터 분리하고, 60초 동안 수동으로 진탕하여, 외통 내에서 스테인레스강 구체를 이동시켜서, 실질적으로 완전히 용해된 피브리노겐을 포함하는 용액을 제공하였다. 탈기된 DDW의 도입에서부터 수동 진탕 단계의 마지막까지의 시간은 약 90초였다.

[0200]

이어서, 3 방향 스탑 콕을 $20 \mu\text{m}$ 여과기에 연결하고, 실질적으로 완전히 용해된 피브리노겐을 포함하는 용액을 여과하여 임의의 용해되지 않은 물질을 용액으로부터 분리하였다. 단백질 용해 백분율을 상기와 같이 측정하였다. 거품의 존재를 육안으로 관찰하였다.

[0201]

실험은 각각의 시험 그룹에 대해서 3회 반복 수행하였다. 그 결과가 표 5에 나타나 있다.

[0202]

[표 5]

동결건조된 "케이크" 내의 피브리노겐 밀도 (mg/cc)	단백질 용해 \pm SD (%)	
	구체 직경 (mm)	
7.0	4	6.4
4.7	5.8 ± 8	6.5 ± 1.8
3.5	9.0 ± 4	10.0 ± 3
2.3	8.3 ± 3	10.3 ± 3
	9.2 ± 5	9.7 ± 3

[0203]

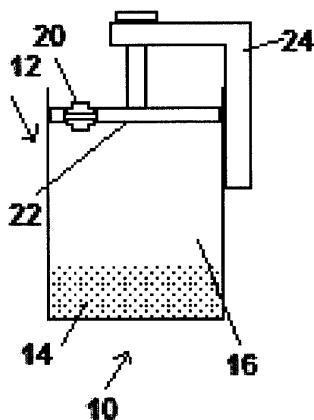
낮은 피브리노겐 밀도 (예를 들어 47 mg/cc 이하)를 갖는 동결건조된 "케이크"를 2.5 kPa (25 mBar)의 압력에서 용해시키고, 이어서 공기를 도입하지 않고 대기압으로 평형화시키고, 큰 구체, 예를 들어 직경이 6.4 mm인 구체를 사용하여 용액을 수동으로 진탕함으로써, 90초의 짧은 시간 내에 완전한 단백질 용해가 수득됨을 인지할 수 있다. 시험 그룹 중 어느 것에서도 유의한 양의 거품이 관찰되지 않았다.

[0205]

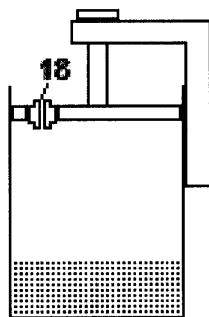
비교하면, 단백질 용해 수준에 대한, 동결건조된 "케이크" 내의 단백질 밀도의 효과를 조사한 실시예 1에서, 완전한 단백질 용해 ($97.4 \pm 9.8\%$)는 150초 이내에 수득되었으며, 이는 본 실험에서 완전한 용해를 위해 필요한 시간 (45초 내지 90초)보다 약 1.7 내지 3.4배 길다.

도면

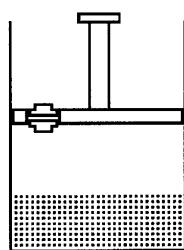
도면 1a



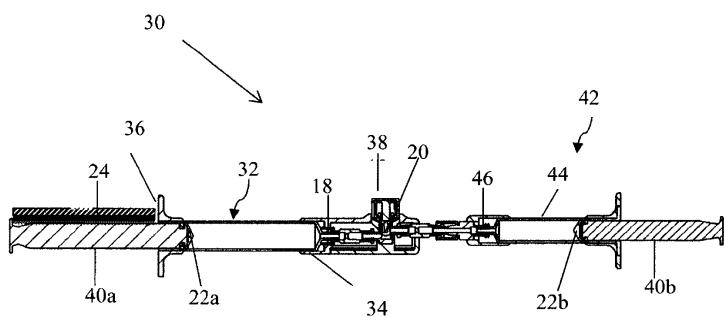
도면1b



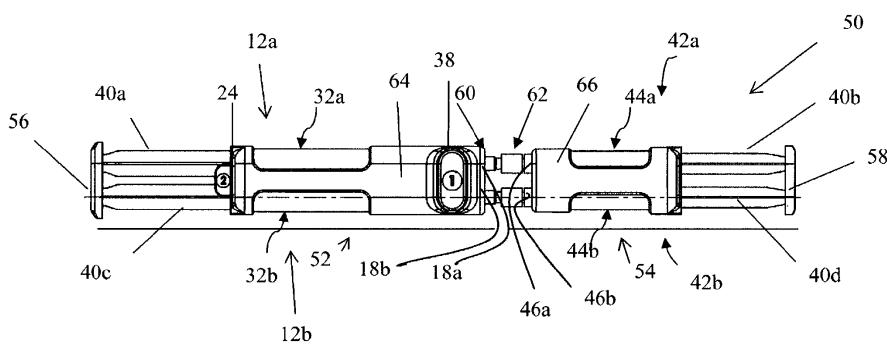
도면1c



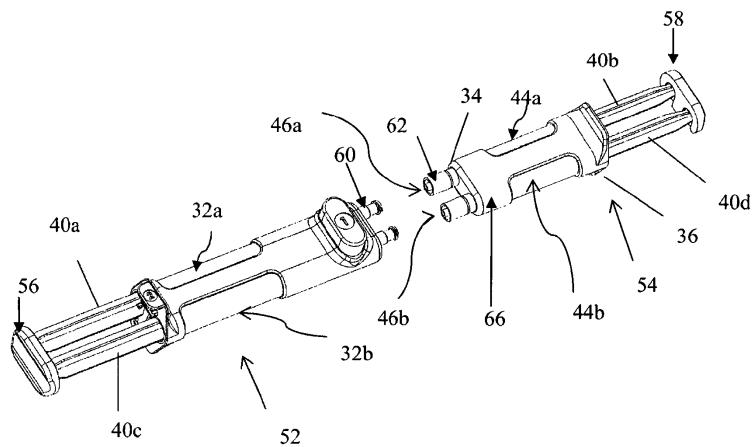
도면2



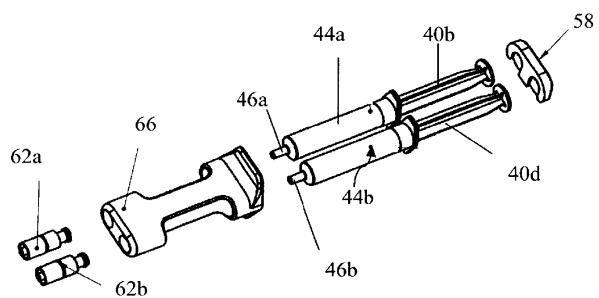
도면3



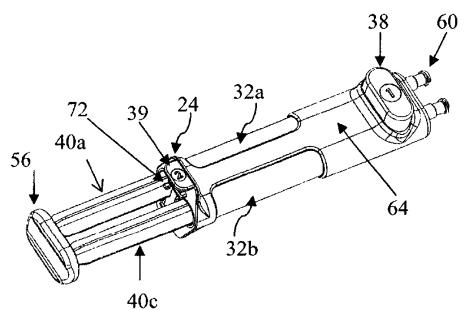
도면4



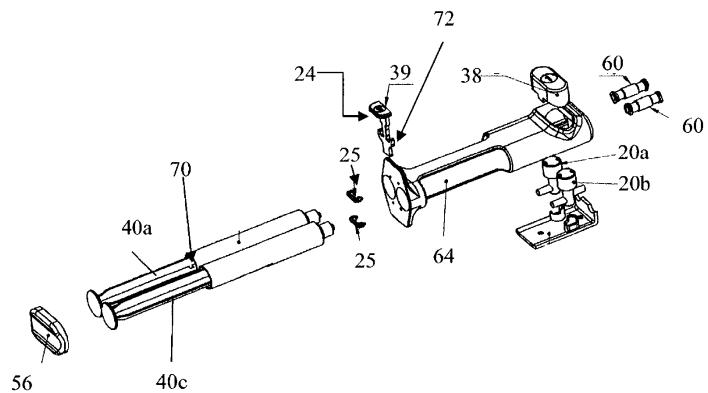
도면5



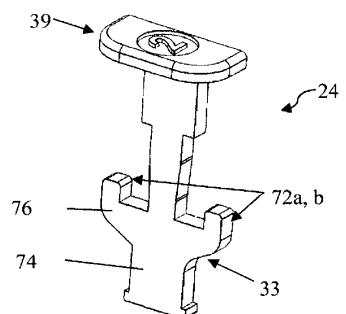
도면6a



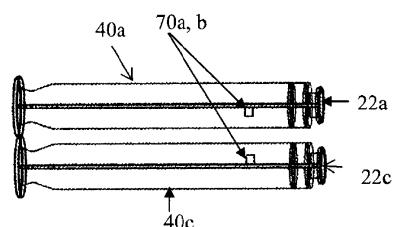
도면6b



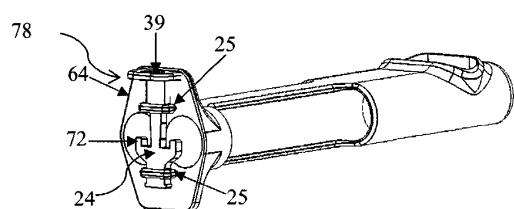
도면7a



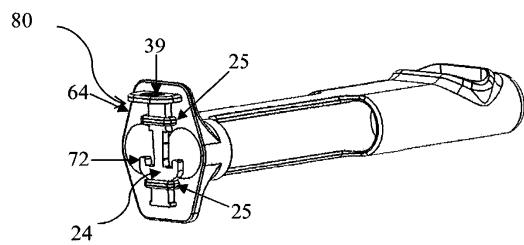
도면7b



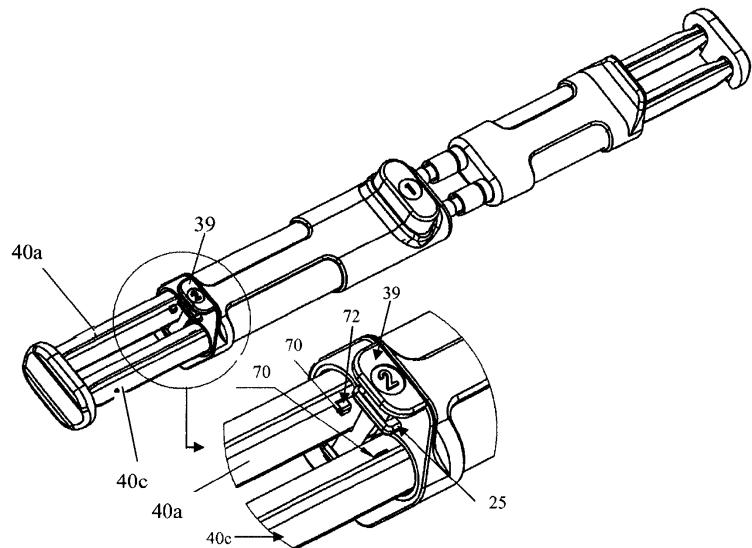
도면8a



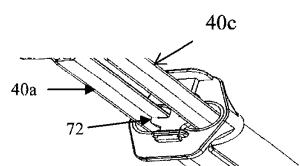
도면8b



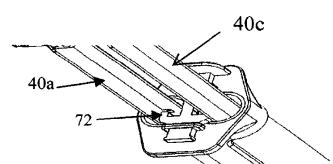
도면9a



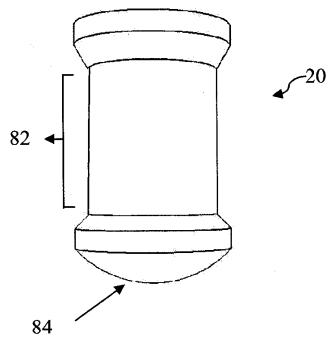
도면9b



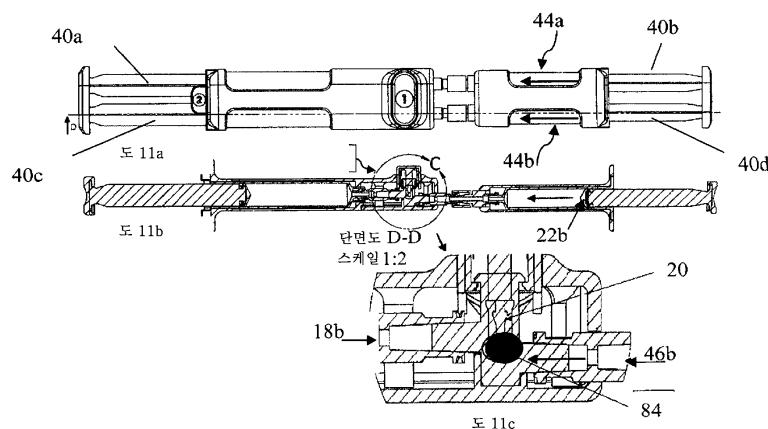
도면9c



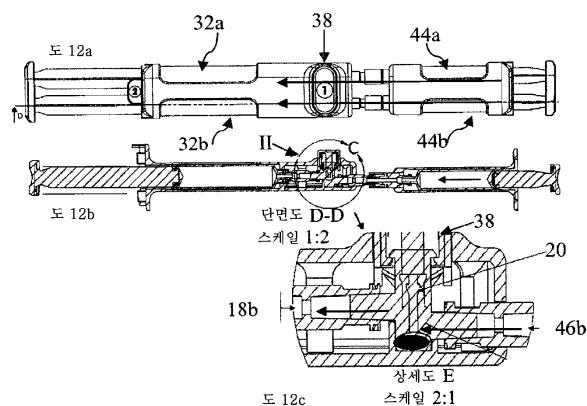
도면10



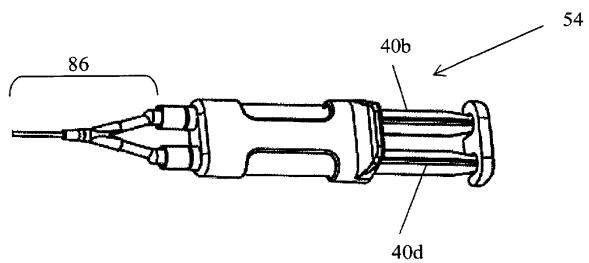
도면11



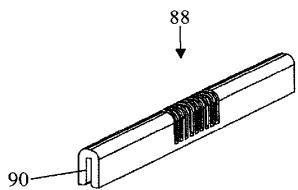
도면12



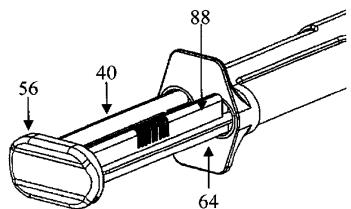
도면13



도면14a



도면14b



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 20

【변경전】

제1 저장소 (42a)

【변경후】

제1 저장소

【직권보정 2】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 24

【변경전】

제2 저장소 (42b)

【변경후】

제2 저장소

【직권보정 3】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 23

【변경전】

제18항에 있어서

【변경후】

제20항에 있어서