(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.[6]
A61M 3/00

(45) 공고일자 1999년06월15일
(11) 등록번호 10-0197930
(24) 등록일자 1999년02월25일

(21) 출원번호 10-1992-0701579
(22) 출원일자 1992년07월02일
번역문제출일자 1992년07월02일
(86) 국제출원번호 PCT/US 91/00003
(86) 국제출원일자 1991년01월02일
(81) 지정국 EP 유럽특허 : 오스트리아 벨기에 스위스 리히텐슈타인 독일 덴마크 스페인 프랑스 영국 이탈리아 룩셈부르크 네덜란드 스웨덴
국내특허 : 오스트레일리아 캐나다 일본 대한민국 러시아

(65) 공개번호 특1992-0703146
(43) 공개일자 1992년12월17일
(87) 국제공개번호 WO 91/09641
(87) 국제공개일자 1991년07월11일

(30) 우선권주장 7/460,379 1990년01월03일 미국(US)
7/460379 1990년01월03일 미국(US)

(73) 특허권자 크리오라이프 인코포레이티드 스티븐 지. 앤더슨
미합중국 조지아주 30350 마리에타 뉴 마켓트 파크웨이 2211
(72) 발명자 브렌다 스미스 모스
미합중국 조지아주 30341 챔블리 하트스 런 1703
에이. 데니스 터너
미합중국 조지아주 30350 로스웰 인올라 트레일 4125
로버트 티. 맥날리
미합중국 조지아주 30068 마리에타 칼스 게이트 드라이브 4693
(74) 대리인 송재련, 한규환

심사관 : 이성우

(54) 피브린 실란트 딜리버리 방법

요약

본 발명은 단일 딜리버리 계내에서 피브린 실란트를 형성시키는 방법에 관한 것이다. 본 방법은 피브리노겐/인자 XIII 침전 용액을 트롬빈과 트롬빈 응혈 활성이 억제되는 조건하에 혼합하고 이 혼합물을 피브리노겐이 피브린 실란트로 전환하도록 트롬빈을 활성화하는 조건하에 신체부위에 적용하는 것을 포함한다.

명세서

[발명의 명칭]

피브린 실란트 딜리버리 방법

[발명의 상세한 설명]

[발명의 배경]

[기술분야]

본 발명은 단일 딜리버리(delivery) 장치의 사용이 가능한, 피브린 실란트 제제 및 딜리버리 방법에 관한 것이다. 이 방법은 인간 및 수의학 분야에 있어서 다양한 외과적 처치를 위한 자가(autologous), 단일-공여, 혼주공여(pooled-donor) 또는 세포배양-유도된 피브린 실란트에 사용할 수 있다.

본 발명은 또한 이러한 방법에서 사용되기에 적합한 킷트에 관한 것이다.

[배경기술]

혈액응고계는 피브린 겔 또는 응혈을 연속적으로 생성하도록 활성화한 인자와 단백질로 된 일련의 복합체이다. 생산의 최종단계에서, 피브리노겐은 트롬빈에 의해 분리되어, 피브린 모노머를 생성하여 신속하게 중합하며, 활성화된 인자 XIII에 의해 가교결합하여, 피브린 매트릭스를 형성한다.

피브리노겐 및 트롬빈을 포함하여 인간 응고 인자 제제는 지난 10여년간 외과에서 광범위하게 사용되었다 (Schlag et al. (eds), Fibrin Sealant in Operative Medicine, vol 1-7, Springer-Verlag, Heidelberg). 이들 생물학적 피브린 실란트는 지혈을 촉진하고 또한 조직, 봉합, 스테이플 및 보철로부터의 누설을 실링함으로써 상처의 치료도 촉진하며, 특히 헤파린화한 환자에 있어서 심장 개방 수술시 유용하다.

이 실란트는 또한 조직의 접합을 위한 접합제로서 사용되며, 수술동안 출혈을 억제함으로써 수혈에 요구

되는 혈액의 양을 감소할 수 있다. 이들의 효용성은 심장 혈관 수술, 성형수술, 정형외과, 비뇨기과, 산부인과, 치과, 악골안면 및 눈수술을 포함하여 이들이 사용되고 있는 외과적 적용에 있어서 광범위하게 반영된다.

혼주 인간 플라스마 피브리노겐/인자 XIII로부터 제조된 피브린 실란트 제품은 유럽에서 시판되고 있으나 (Tissucol/Tisseel, Immuno AG, Vienna, Austria and Beriplast P, Hoechst, West Germany), 이러한 제품은 미국의 FDA에서 승인 받은 것이 아니다.

대안으로서, 어떤 병원에서는 환자 자신의 혈액(자가) 또는 단일-공여(동종) 플라스마를 피브리노겐 및 인자 XIII의 공급원으로서 사용하여 피브린 실란트 인-하우스(in-house)를 제조한다.

피브린 실란트의 피브리노겐/인자 XIII 성분은 전형적으로 -20°C 이하의 온도에서 하루밤 동안 동결하고, 그 물질을 0 내지 4°C 로 서서히 녹인다음, 원심분리하고 한냉침전물을 시린지 또는 스프레이 용기에 옮김으로써 제조된다 (Dresdale et al., Ann. Thorac. Surg. 40 : 385 1985; 미국특허 제4,627,879).

소 플라스마로부터 통상적으로 정제하는 트롬빈 성분은 시판되고 있으며, 전형적으로는 별도의 시린지 또는 스프레이 용기내에서 제조한다. 사용시, 두 용액을 동시에 또는 따로따로 상처 부위에서 피브린 실란트가 생성되도록 공급하거나, 이와 달리, 실란트를 콜라겐 매트릭스(예, 겔포옴 또는 아비텐)에 도포하고 상처부위에 가압한다 (Lupinetti et al., J.Thorac. Cardiovasc. surg. 90 : 502 1985; 미국특허 제4,453,939호).

상처 부위에서의 피브린 실란트의 형성은 두 시린지 시스템을 사용하여 실시할 수 있다.

그러나, 그러한 시스템은 상처 부위에 딜리버리 장치를 충전하고 조작하는데 따르는 어려움 때문에 만족스럽지 못하다. 이밖에도 시린지 시스템은 두 용액의 부적절한 혼합의 문제가 수반되어 미약한 응혈을 형성하게 된다. 이와 달리, 두 시린지를 바늘이 들어가기 전에 두용액이 혼합할 수 있도록 고안된 홀더에 놓을 수 있다(미합중국특허 제4,735,616호, 제4,359,049호 및 제4,631,055호).

이 방법을 사용하여 얻는 응혈의 강도는 재생할 수 있으나, 바늘이 종종 막히게 되어 반복하여 교체하여야 한다.

피브린 실란트를 딜리버리하기 위해 현재 사용되고 있는 방법론에 있어서 내재하는 문제점의 견지에서, 간단하면서도 재생가능한 기술의 필요성은 의심할 여지가 없다. 그러한 기술은 사용이 편리하고 특정 부위에서 적절한 강도의 응혈을 생성해야 한다. 그러한 딜리버리 기술은 여기에 기술된 본 발명에 의해 제공된다.

[발명의 요약]

본 발명의 일반적인 목적은 이 기술분야에서 공지된 방법이 지니는 문제점들을 해소하는 혈액응고 성분들로부터 피브린 실란트를 형성하는 방법을 제공하는데 있다.

본 발명의 특수한 목적은 상처 부위에 피브린 실란트를 딜리버리 하는 방법에 있어서, 피브리노겐/인자 XIII-강화 침전물(또는 피브리노겐/인자 XIII 혼합물) 및 트롬빈을, 실란트 형성이 요구되는 시간까지 응혈화가 방지되는 조건하에 혼합하는 딜리버리 방법을 제공하는데 있다.

본 발명의 다른 목적은 상기한 방법에서 사용하기에 적합한 킷트를 제공하는데 있다.

본 발명의 더욱 완벽한 이해와 이의 잇점에 대해서는 다음에 설명하는 내용으로부터 이 기술분야에 통상의 지식을 가진 사람에게는 용이하게 알 수 있게 될 것이다.

본 발명의 한 실시태양은 신체부위에 피브린 실란트를 형성시키는 방법에 관한 것이다. 이 방법은

i) 용기 수단내에서, 피브리노겐, 인자 XIII 및 성숙 트롬빈으로 이루어진 수용액을 트롬빈 응혈 작용이 억제되는 조건하에 혼합하고,

ii) i) 단계에서 생성된 제제를 트롬빈 응혈 작용이 복구되고 피브린 실란트가 형성되는 조건하에 신체부위에 적용하는 것으로 이루어진다.

본 발명의 다른 실시태양은

i) 피브리노겐 및인자 XIII 로 구성된 제1상과 트롬빈으로 구성된 제2상으로 이루어진 현탁액을 형성시키고,

ii) 이 현탁액을 피브리노겐, 인자 XIII 및 트롬빈의 혼합이 일어나서 피브린 실란트가 형성되는 조건하에 신체부위에 적용하는 것으로 이루어지는 신체부위에 피브린 실란트를 형성시키는 방법에 관한 것이다.

본 발명의 또 다른 실시태양은 피브린 실란트의 제제에 사용하기 위한 킷트에 관한 것이다. 이 킷트는

i) 피브리노겐, 인자 XIII 및 성숙 트롬빈으로 이루어진 용액을 그안에서 분산시키는 용기수단; 그리고

ii) 상기 용기수단에 작동 가능하게 연결된 배출수단으로 이루어진 어플리케이터를 포함한다.

[본 발명의 상세한 설명]

본 발명은 피브린 실란트[칼슘, 성숙 트롬빈(프로트롬빈에 반대되는) 및 플라스마-유도 피브리노겐/인자 XIII 침전물]를 응혈 형성이 일어나는 방식으로 신체부위에 딜리버리하는 방법 및 상기한 방법에서 사용하기에 적합한 킷트에 관한 것이다(여기에서 사용된 신체부위는 상처 또는 절개영역의 조직 뿐만 아니라, 예를 들면 인공 혈관, 뼈 또는 콜라겐 패드와 같은 영역으로 삽입하는 이식할 수 있는 가능한 조직

또는 성분들을 포함한다).

다음의 상세한 설명에서, 플라스마-유도 침전물 대신에, 분리된 형태의 피브리노겐 및 인자 XIII 의 조합물을 사용할 수 있다는 것을 알 수 있을 것이다.

본 발명의 방법에서, 피브리노겐/인자 XIII 강화 침전물 및 성숙 트롬빈은 트롬빈 및/또는 인자III가 불활성화(또는 하기한 칼슘 결핍 태양에서와 같이, 트롬빈이 활성화 형태로 존재하나 이용할 수 없는 상태로 되는 조건하에)하여 이로써 응혈화가 방지되는 조건하에 함께 혼합한다.

이 혼합물은 그후 효소활성이 복귀(또는 트롬빈 이용성이 복귀)되는 조건하에 신체부위에 딜리버리한다.

본 발명의 한 실시태양에서, 트롬빈 및 피브리노겐/인자 XIII 침전물의 혼합물은 낮은 PH 완충액 [트롬빈에 의한 피브리노겐의 응결은 낮은 PH(5.5이하)에서 억제된다] 중에서 제조한다.

이 실시태양에서, 트롬빈 형성은 복귀되고 혼합물을 약제학적으로 허용되는 완충액으로 중화하거나, 또는 이와 달리 혼합물을 환자 자신의 체액과 접촉시킴에 따라 응혈이 신속하게 개시된다.

이 실시태양에서, 피브리노겐/인자 XIII 침전물을 낮은 PH에서 제조하거나, 또는 이와 달리 낮은 PH 완충액을 사용하여 플라스마 침전물 및 동결건조된 트롬빈을 용해시킬 수 있다. 어느 경우든지, 혼합물을 딜리버리 용기(예, 분무식 병 또는 시린지)에 옮겨서 신체부위에 직접 적용할 수 있는데, 이때는 환자의 체액이 응혈이 일어나는 지점까지 PH가 증가하기에 충분한 조건을 가져야 한다.

환자의 체액이 침전물/트롬빈 혼합물의 PH를 트롬빈 활성이 복구되는 지점까지 증가하기에는 충분하지 않은 조건에서는, 산성 혼합물을 장치에 옮김에 따라 장치의 내부에 도포된 완충염과 접촉할 수 있도록 고안된 딜리버리 장치를 사용할 수 있다. 완충염은 산성 혼합물과 접촉할 때, 용해가 일어나서 PH를 응혈이 생성되는 지점까지 증가시킬 수 있는 것을 선택한다.

예를 들면, 시린지를 딜리버리 장치(어플리케이터)로서 사용할 수 있는데, 이 경우 시린지는 처치 가능한 팁이 부착되어 있고, 이의 내부표면을 적절한 완충염으로 도포한 것을 사용한다. 산성 혼합물이 도포된 팁을 통과함에 따라, 완충제(예를 들면 결정 또는 겔 형태)는 산성 혼합물을 중화하여 트롬빈 활성을 복귀시키고 원하는 부위에서 응혈의 형성을 일으킨다.

팁내에서 응혈 형성이 발생되면 팁을 간단히 떼어내고, 새로운 도포된 팁을 부착한다.

다른 실시태양에서, 피브리노겐 및 인자 XIII 침전물/트롬빈 혼합물을 칼슘이 결핍된 완충제 중에서 제조할 수 있따. 신속한 응혈의 형성은 칼슘이온이 존재하는 것을 필요로 한다. 따라서, 칼슘이 제거되면, 피브린 중합은 억제된다[참조, Carr et al., Biochem. J.(1986) 239:513; Kaminiski et al., J. Biol. Chem. (1983) 258:10530; KKanaide et al.,(1982) 13:229].

칼슘 킬레이터(칼슘을 단단히 결합하고 근접을 어렵게 만드는, 나트륨 시트레이트 또는 에틸렌디아민테트라아세트산과 같은 화합물이다)를 피브리노겐 및 인자 XIII 및/또는 용해성 완충제를 침전시키는데 사용하는 용액에 가할 수 있다. 활성을 복귀하기 위해서는, 용기(예, 시린지)를, 킬레이트가 포화하기에 충분한 정도의 칼슘염으로 그 내부표면을 도포한, 처치가능한 멸균 팁에 부착할 수 있다. 혼합물이 팁을 통과함으로서 유리칼슘 농도가 증가함에 따라, 응혈이 신체부위에서 일어나게된다.

또다른 실시태양에서는, 침전물/트롬빈 혼합물 중에서, 트롬빈의 응결 작용은 감광성 억제제를 사용하여 억제할 수 있다. 예를 들면, 감광성 신나모일 유도체를 사용하여 광부재하에서 실온에서 26시간 이상동안 트롬빈을 불활성화 할 수 있다 [Turner et al., J. Am. Chem. Soc. 109:1274-1275 (1987); Turner et al., J. Am. Chem. Soc. 110:244-250 (1988)].

이들 동일한 트롬빈 억제제 착제는 조사(낮은 강도) 1 내지 2초 이내에서 활성 트롬빈을 생성할 수 있다. 이들 억제제는 활성 부위 세린히드록시(SER 195)을 포함하는 아실-효소 착체를 형성하는 것으로 알려져 있다. 조사함에 따라 신나모일 유도체는 광이성질화하여 쿠마린을 방출하고 활성 세린히드록실을 재생한다.

쿠마린 유도체는 양호한 트롬빈 억제제가 아니기 때문에, 이 광고리화 반응은 효소용액으로부터 억제제를 효과적으로 제거한다. 따라서, 피브리노겐/인자 XIII 강화 침전물 용액을 어두운 주변(예를 들면 불투명하거나 착색된 시린지 또는 용기) 내에서 동결 건조된 억제제:트롬빈 착체와 혼합하여 상처 부위에 딜리버리할 수 있다. 효소의 활성화에 따른 응결의 형성은 상처에 딜리버리 됨에 따라 용액이 정상의 실내광에 노출되는 것에 기인하여 발생되게 된다. 이와달리, 활성화는 광원에 의해 조절함으로써 예를 들면, 어플리케이터로 직접 광원을 도입하여 조명 상태의 변화가 응혈되는 시간의 변화를 초래하지 않도록 한다.

또 다른 실시태양에서는, 조기의 응혈 형성은 피브리노겐/인자 XIII 트롬빈 혼합물을 딜리버리하기 전에 피브리노겐/인자 XIII 침전물로부터 트롬빈을 물리적으로분리함으로써 방지할 수 있다. 이 실시태양에서, 물리적인 분리는 2상계를 사용하여 수행한다.

이 실시태양에서 사용하기에 적합한 액체는 비혼화성이고 2상으로 용이하게 분리될 수 있는 것이다. 2상을 각각의 적용전에 현탁액과 혼합하고 상처에 딜리버리한다. 환자의 체액이 비수용성 상의 가용성 성분을 추출할 수 있는 조건하에서 신체 부위에서의 혼합이 일어나며 이로써 응혈이 개시된다. 성분들의 적절한 혼합을 유도할 수 없는 조건인 경우, 현탁액이 장치를 통과시, 장치의 내부에 도포한 가용화제와 접촉이 되도록 고안된 딜리버리 장치를 사용할 수 있다.

가용화제는 현탁액과 접촉할 때 용해가 되어 응혈이 형성될 수 있는 정도까지 혼합을 일으키는 것을 선택한다. 예를 들면, 시린지에 그 내부면이 적절한 상 전이제(들)로 도포된, 처치가능한 팁을 부착시킨다. 현탁액이 도포된 팁을 통과함에 따라, 상전이제(예를 들면, 결정형태)는 혼합과정에서 조력을 하게 되며 이로써 응혈의 형성이 가능하게 된다. 응혈 형성이 팁내에서 일어나며, 팁은 간단히 떼어내고 새

로운 도포된 팁을 부착시킨다.

본 발명은 또한 피브린 실란트 성분을 상처 부위에 딜리버링 하는 상기한 방법에서 사용하기에 적합한 킷트에 관한 것이다. 바람직한 실시태양에서, 킷트는 피브리노겐/인자 XIII 침전물 및 트롬빈을 단일계내에서 혼합할 수 있도록 고안된 어플리케이터를 포함한다. 이 어플리케이터는 신체부위에, 예를 들면 피브린 실란트 성분의 필름 또는 얇은 라인을 적용할 수 있는 것이다. 이와 달리, 펌프 또는 에어로졸 스프레이식 어플리케이터를 사용할 수 있다.

상기에서 제시한 바와 같이, 어플리케이터는 예를 들면, 처치 가능한 팁이 있는 유리 또는 플라스틱 시린지 형태를 사용할 수 있다. 팁의 형상은 성분을 딜리버리하는 형태를 결정한다. 편평하고, 넓은 단면을 가진 팁은 얇고 넓은 선 형태의 피브린 실란트를 딜리버리하는데 사용할 수 있는 반면, 좁은 관형의 단면을 가진 팁은 둥근 실 형태의 실란트를 딜리버리하는데 사용할 수 있다. 혼합물에 예를 들면 망상 스크린을 부착한 팁을 통하여 압력을 인가하면 스프레이가 형성되며, 이로 인해 미세한 유리상의 피브린 실란트가 얻어진다.

상기한 감광성 트롬빈 억제제와 함께 사용하기에 특히 적합한, 다른 실시태양에서는, 어플리케이터는 실란트 성분이 장치를 통과할 때 광에 조사되도록 위치시킨 조립광원을 가진 펌프 또는 에어로졸 스프레이 장치 형태로 사용할 수 있다. 사용되는 광의 파장은 감광제에 따라 좌우된다.

킷트는 각각의 피브린 실란트 성분들을 개별적으로 저장하는 용기를 넣을 수 있도록 구성할 수 있다. 킷트는 또한 이 안에 용매, 완충제 등을 포함하여 필요한 어느 시약들을 담을 수 있는 하나 이상의 다른 저장 용기를 포함 할 수 있다.

본 발명을 다음 실시예로서 더욱 상세히 설명하며, 이들 실시예로 본 발명을 한정하는 것은 아니다.

[실시예]

피브리노겐 및 인자 XIII을 함유한 침전물을 다음과 같이 제조한다.

1M 황산 아연 원액 450㎕를 응고방지된 [시트레이트 인산염 덱스트로스아데닌(CPDA-1)] 인간 플라즈마 5ml에 가한다. 용액을 소용돌이 되지 않게 잘 혼합하고 2000 내지 9000g에서 5분간 원심분리한다. 상등액을 경사여과하여 버린다.

응혈의 억제 및 재활성화는 다음 방법으로 성취한다.

A. 산억제-동결 건조된 소트롬빈을 시트레이트 완충액(500mM 시트르산, 150mM NaCl 및 20mM EACA, PH4.5) 에 최종농도가 100U/ml가 되도록 용해한다.

침전된 피브리노겐을 트리스 완충액(50mM Tris, 250mM 나트륨 시트레이트, 150mM 염화 나트륨, 50mM 알기닌(Arg) 및 20mM- 아미노-카프로산(EACA), PH7.4) 에 대략 15.0mg/ml의 농도가 되도록 용해한다.

이 피브리노겐 원액을 시트레이트 완충액에 25배로 희석한다. 100㎕의 트롬빈을 합한 이 피브리노겐 용액 200㎕ 가 응혈되는 시간은 응혈 형성이 없는 것을 나타내는 표준조건하에 측정한 피브로메타에서 (Becton Dickinson BBL Fibrosystem fibrometer 사용) 90초를 초과하였다. 1N 수산화나트륨 70㎕를 가한 경우 3.8초(10 시료의 평균) 이내에서 응혈이 형성되었다.

다음 방법은 상처부위의 적용에 사용할 수 있다.

체액이 침전물 및 트롬빈의 산성 혼합물을 중화하기에 충분한 경우는 혼합물을 상처부위에 직접 적용할 수 있다. 이와 달리, 딜리버리 장치를 중화용 염 또는 겔(예. 트리스)로 내부를 도포한 처치가능한 팁에 연결할 수 있다. 완충 염에 의해 산성용액을 중화하면 트롬빈을 활성화하고 응혈 활성을 복귀시킨다.

B. 킬레이터 억제-침전된 피브리노겐 및 동결 건조된 소 트롬빈을 트리스 완충액(50mM Tris, 250mM 나트륨 시트레이트, 150mM 염화 나트륨, 50mM Arg 및 20mM EACA, PH7.4) 에 각기 대략 15.0mg/ml 및 100U/ml의 농도가 되도록 용해한다. 피브리노겐 원액을 500mM 나트륨 시트레이트를 함유한 트리스 완충액에 25배로 희석한다. 트롬빈 100㎕를 합한 이 피브리노겐 용액 200㎕이 응혈되는 시간은 표준조건하에 측정한 피브로메타에서 (Becton Dickinson BBL fibrosystem fibrometeer 사용) 90초를 초과하였다.

1M $CaCl_2$용액 50㎕을 가한 경우 1.8초(10 시료의 평균) 내에서 응혈이 형성되었다.

다음 방법을 상처 부위에 적용할 수 있다.

딜리버리 장치를 칼슘염 또는 겔로 내부를 도포한 처치가능한 팁에 연결한다. 혼합물이 팁을 통과함에 따라, 칼슘의 몰과량이 킬레이터를 포화하고 이로써 응혈이 촉진된다.

C. 감광성 억제- 광부재하에, 4-아미디노-페닐-2-히드록시-4-디에틸아미노-a- 메틸신나메이트 염산염 5 내지 20배 과량을 완충액 중 트롬빈에 가한다 (50mM Tris, 250mM 염화나트륨, 250mM 나트륨 시트레이트, 20mM EACA, 50mM 알기닌(또는 우레아), PH7.4, 최종메탄올 농도 10%). 실온에서 적어도 1시간 동안 진행하도록 방치한다.

이 용액 최소의 양을 사용하여 침전된 피브리노겐/인자 XIII을 용해한다.

이 실란트가 완전히 응결하는데는 표준 작동 광 조건하에 대략 2 내지 3분간의 조명을 필요로 하는 반면, 암소에 보관한 시료 혼합물은 90분 후에도 응결하지 않았다.

다음 방법은 상처부위에 따른 적용에 사용할 수 있다.

감광성 억제제-트롬빈 착체를 활성화 파장의 광을 투과하지 않는 착색 딜리버리 장치내에서 침전된 피브

리노겐/인자 XIII와 혼합할 수 있다.

조명된 상처부위에 혼합물을 딜리버리하면 응혈이 형성된다.

D. 2상 현탁액-동결 건조된 소트롬빈을 유화제에 최종 농도 약 100U/㎕가 되도록 용해한다. 침전된 피브리노겐/인자 XIII을 최소 용적의 완충액(50mM Tris, 150mM NaCl, 250mM 나트륨 시트레이트, 20mM EACA, 50mM Arg, PH7.4)에 용해한다. 불혼화성 액체의 현탁액이 형성된다. 상처 표면상에서, 체액은 양 성분들을 충분하게 용해할 수 있고, 적절한 혼합과 응혈의 생성을 촉진한다.

상기에서 인용된 각 문헌의 내용 전부를 본원에서 인용 참조하였다.

본 발명의 명확성과 이해의 목적에서 상세히 기술하였다. 당해 기술분야의 종사자는 상기 상세한 설명으로부터 본 발명의 범위를 이탈하지 않는 범위내에서, 본 발명을 다양한 형태로 변경할 수 있다는 것이 명백하게 될 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

피브린 실란트의 형성이 필요한 곳에 피브린 실란트를 딜리버리 하는 방법에 있어서, i) 피브리노겐 및 인자 XIII 및 성숙 트롬빈을 포함하고 있는 수용액을, 용기 내에서, 트롬빈의 응혈 활성이 억제되는 조건하에서 혼합하는 단계; ii) 제 i) 단계에서 제조된 제제를 상기 트롬빈의 응혈 활성이 복귀하여 피브린 실란트가 형성되는 조건하에서 적용하는 단계를 포함하여 구성되며, 제 i) 단계를 트롬빈의 응혈 활성이 억제되는 PH 5.5 미만에서 수행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제 i) 단계의 수용액이, ii) 단계에서 상기 피브린 실란트를 형성하기에 충분한 양의 약제학적으로 허용되는 칼슘염을 추가로 포함하고 있는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 제 i) 단계에서 제조된 제제의 PH를, 제 ii) 단계에서 트롬빈의 응혈 활성이 복귀되도록 증가시키는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 제 i) 단계에서 제조된 제제의 PH가 체액과 접촉하여 증가되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제3항에 있어서, 제i) 단계에서 제조된 제제가 제 ii) 단계에서 완충액과 접촉하여 PH가 증가되어 트롬빈의 응혈활성이 복귀되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

피브린 실란트의 형성이 필요한 곳에 피브린 실란트를 딜리버리하는 방법에 있어서, i) 피브리노겐 및 인자 XIII 및 성숙 트롬빈을 포함하고 있는 수용액을, 용기 내에서, 트롬빈의 응혈 활성이 억제되는 조건하에서 혼합하는 단계; ii) 제 i) 단계에서 제조된 제제를 상기 트롬빈의 응혈 활성이 복귀하여 피브린 실란트가 형성되는 조건하에서 적용하는 단계를 포함하여 구성되며, 제i) 단계의 용액이 트롬빈의 응혈 활성을 억제하기에 충분한 양의 감광성 트롬빈 응혈 활성 억제제를 포함하고 있는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 제i) 단계에서 제조된 제제의 감광성 억제제를 불활성화하는 파장의 광을, 제ii)단계에서 조사하여 트롬빈의 응혈 활성을 복귀시키는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

피브린 실란트의 형성이 필요한 곳에 피브린 실란트를 딜리버리하는 방법에 있어서, i) 피브리노겐, 인자 XIII 및 성숙 트롬빈을 포함하고 있는 수용액을, 용기 내에서, 트롬빈의 응혈 활성이 억제되는 조건하에서 혼합하는 단계; ii) 제i)단계에서 제조된 제제를 상기 트롬빈의 응혈 활성이 복귀하여 피브린 실란트가 형성되는 조건하에서 적용하는 단계를 포함하여 구성되며, 제 i) 단계에서 칼슘 이온이 부족하여 트롬빈의 응혈 활성이 억제되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 피브린 실란트를 형성하기에 충분한 양의 칼슘이온이 제 ii) 단계에 존재하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

제8항에 있어서, 제i)단계의 용액이 충분한 양의 칼슘 킬레이터를 포함하여, 유리칼슘이온이 감소되어 피브린 실란트의 형성이 억제되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

제9항에 있어서, 제i)단계에서 제조된 제제가, 제ii)단계에서 피브린 실란트를 형성하기에 충분한 양의 칼슘 이온과 접촉하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

피브린 실란트의 형성이 필요한 곳에 피브린 실란트를 딜리버리 하는 방법에 있어서, i) 피브리노겐 및 인자 XIII를 포함하고 있는 제1상과 트롬빈을 포함하고 있는 제2상으로 구성된 현탁액을 제조하는 단계; ii) 상기 현탁액을, 피브리노겐, 인자 XIII 및 트롬빈이 혼합되어 피브린 실란트가 형성되는 조건하에서 적용하는 단계를 포함하여 구성되며, 상기 ii) 단계에서의 혼합이 체액내에서 이루어지는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

피브린 실란트의 형성이 필요한 곳에 피브린 실란트를 딜리버리하는 방법에 있어서, i) 피브리노겐 및 인자 XIII를 포함하고 있는 제1상과 트롬빈을 포함하고 있는 제2상으로 구성된 현탁액을 제조하는 단계; ii) 상기 현탁액을, 피브리노겐, 인자 XIII 및 트롬빈이 혼합되어 피브린 실란트가 형성되는 조건하에서 적용하는 단계를 포함하여 구성되며, 제ii)단계에서, 피브린 실란트가 형성되도록 제1상과 제2상을 혼합시키는 상전이제와 제i)단계의 현탁액을 접촉시키는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

i) 피브리노겐, 인자 XIII 및 성숙 트롬빈을 포함하고 있는 용액을 수납하는 단일 유닛의 용기수단; ii) 상기 용기수단에 작동 가능한 상태로 접속되어 있는 배출 수단을 포함하는 어플리케이터로 구성된 피브린 실란트 제조용 킷트.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 용액이 칼슘 킬레이트를 더욱 포함하고 있는 것을 특징으로 하는 킷트.

청구항 16

제 13항에 있어서, 상기 배출수단이 칼슘염을 포함하고 있는 것을 특징으로 하는 킷트.

청구항 17

제13항에 있어서, 상기 용액의 PH가 약 5.5 미만인 것을 특징으로 하는 킷트.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 배출수단이 중화성 완충염을 포함하고 있는 것을 특징으로 하는 킷트.

청구항 19

제17항에 있어서, 상기 용액이 감광성 트롬빈 응혈활성 억제제를 더욱 포함하고, 상기 용기수단 및 배출수단은 억제제가 감광성을 가지게 되는 파장의 광을 투과하지 않는 물질로 만들어진 것을 특징으로 하는 킷트.

청구항 20

제18항에 있어서, 상기 배출수단이, 감광성 억제제를 불활성화 하는 파장의 광

을 활성화시 방출하는 광원을 포함하고 있는 것을 특징으로 하는 킷트.