



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 201702385 A

(43) 公開日：中華民國 106 (2017) 年 01 月 16 日

(21) 申請案號：105107822

(22) 申請日：中華民國 105 (2016) 年 03 月 14 日

(51) Int. Cl. : C12N3/00 (2006.01)

(30) 優先權：2015/03/13 美國 62/132,751

(71) 申請人：孫 崇謹 (加拿大) SUN, CHUNG CHIN (CA)

臺北市松山區八德路 2 段 366 巷 19 號 5F

(72) 發明人：蘇正堯 SU, CHENG-YAO (TW)；孫 崇謹 SUN, CHUNG CHIN (CA)

(74) 代理人：鄭志玲

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：4 項 圖式數：0 共 7 頁

(54) 名稱

穩定凝血酶之方法及其組合物

METHOD OF STABILIZING THROMBIN AND COMPOSITION THEREOF

(57) 摘要

本發明提供一種在一凝血酶溶液中穩定凝血酶的方法。該方法包含在 35-85°C 的溫度下加熱該凝血酶溶液 1 至 20 秒，以及淬熄加熱。本發明亦提供一種穩定化的凝血酶組合物。該穩定化的凝血酶組合物之特徵在於其係藉由在 35-85°C 的溫度下加熱一凝血酶溶液 1 至 20 秒，以及淬熄加熱而製得。可進一步凍乾該凝血酶溶液以獲得一凍乾型態之穩定化的的凝血酶組合物。

A method of stabilizing thrombin in a thrombin solution is provided. The method comprises heating the thrombin solution at a temperature of 35-85°C for 1 to 20 seconds, and quenching the heating. Also provided is a stabilized thrombin composition. The stabilized thrombin composition is characterized in that it is prepared by heating a thrombin solution at a temperature of 35-85°C for 1 to 20 seconds, and quenching the heating. The thrombin solution may be further lyophilized to obtain a stabilized thrombin composition in lyophilized form.



申請日: 105.3.14

IPC分類:

C12Q 3/00 (2006.01)

201702385

## 【發明摘要】

【中文發明名稱】穩定凝血酶之方法及其組合物

【英文發明名稱】METHOD OF STABILIZING THROMBIN AND

COMPOSITION THEREOF

【中文】本發明提供一種在一凝血酶溶液中穩定凝血酶的方法。該方法包含在35-85°C的溫度下加熱該凝血酶溶液1至20秒，以及淬熄加熱。本發明亦提供一種穩定化的凝血酶組合物。該穩定化的凝血酶組合物之特徵在於其係藉由在35-85°C的溫度下加熱一凝血酶溶液1至20秒，以及淬熄加熱而製得。可進一步凍乾該凝血酶溶液以獲得一凍乾型態之穩定化的的凝血酶組合物。

【英文】A method of stabilizing thrombin in a thrombin solution is provided. The method comprises heating the thrombin solution at a temperature of 35-85°C for 1 to 20 seconds, and quenching the heating. Also provided is a stabilized thrombin composition. The stabilized thrombin composition is characterized in that it is prepared by heating a thrombin solution at a temperature of 35-85°C for 1 to 20 seconds, and quenching the heating. The thrombin solution may be further lyophilized to obtain a stabilized thrombin composition in lyophilized form.

【指定代表圖】無

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】穩定凝血酶之方法及其組合物

【英文發明名稱】METHOD OF STABILIZING THROMBIN AND

COMPOSITION THEREOF

【技術領域】

【0001】本發明係關於一種在一凝血酶溶液中穩定凝血酶的方法。

【先前技術】

● 【0002】凝血酶是在血液凝固的過程中具有關鍵作用的絲氨酸蛋白酶。在凝血機制中，凝血酶原會裂解而形成凝血酶，最終造成血液流失的減少。凝血酶接著扮演絲氨酸蛋白酶的角色，將可溶性纖維蛋白原轉化為不溶性纖維蛋白，進而促進血液凝結。

● 【0003】然而，凝血酶本質上是不穩定的，甚至在新鮮製得後僅僅2-3小時，其對於血液凝結的活性即顯著降低。過去對於如何穩定凝血酶，已有廣泛的嘗試，但基本上都是化學方式。例如，EP 1221479 B1揭示使用一種非離子性界面活性劑和鈣離子，而US 8071090 B2則揭示使用一種苯甲醇或氯丁醇的防腐劑以及蔗糖。

● 【0004】鑑於過去使用於穩定凝血酶的化學品通常不具生物相容性，因此仍需要一種更安全且更具生物相容性的方法，以製備用於臨床用途的凝血酶溶液或組合物。

【發明內容】

● 【0005】本發明非預期地發現可經由物理的處理，即，一短暫的熱處理，來穩定一凝血酶溶液中的凝血酶。

【0006】 因此，在一方面，本發明提供一種在一凝血酶溶液中穩定凝血酶的方法，其包含在35-85°C的溫度下加熱該凝血酶溶液1至20秒，然後淬熄加熱。

【0007】 另一方面，本發明提供一種藉由本發明之方法而製得的穩定化的凝血酶組合物。

【0008】 在本發明的部分實施例中，該方法進一步包含淬熄加熱的步驟。

【0009】 根據本發明，可進一步進行凍乾而將一穩定化的凝血酶溶液或組合物製成凍乾型態。

【0010】 應理解的是，前述的一般性說明及以下的詳細說明皆只是示例性及解釋性的，並不限制本發明。

【圖式簡單說明】 無

【實施方式】

【0011】 本發明係基於可藉由熱處理而穩定凝血酶之非預期性的發現。

【0012】 在一方面，本發明提供一種在一凝血酶溶液中穩定凝血酶的方法，其包含在35-85°C的溫度下加熱該凝血酶溶液1至20秒，以及淬熄加熱。

【0013】 可經由本領域中所習知的方法而自血液中製得該凝血酶溶液。在一實例中，可藉由凝血酶生成裝置，從約10 mL的血小板稀少之血漿(platelet poor plasma；PPP)中製得6-7 mL的凝血酶溶液。

【0014】 根據一具體實施例，在水浴槽中進行加熱。舉例而言，將在微量離心管中的1.5 mL凝血酶溶液置於35-85°C水浴下1至20秒，然後在冰水中淬熄加熱，以獲得穩定化的凝血酶溶液。

【0015】本領域技術人員可決定適當的加熱溫度及時間的組合。舉例而言，在較短的加熱時間下使用較高的加熱溫度，而在較長的加熱時間下使用較低的加熱溫度。

【0016】根據本發明，淬熄步驟是藉由將凝血酶溶液的溫度返回加熱處理前的溫度，即，室溫或更低的溫度，例如，0-25°C的溫度。可藉由將凝血酶溶液浸溶於冰的溶液（例如，冰水）中，以進行淬熄步驟。

【0017】一般而言，未經處理的凝血酶溶液會在新鮮製得2小時後喪失其凝血活性。然而，經由本發明方法而穩定的凝血酶溶液可在新鮮製得2小時後仍維持其凝血活性，甚至，當其由凍乾型態再溶解後，仍可維持其凝血活性。

【0018】另一方面，本發明提供一種穩定化的凝血酶組合物，其係經由在35-85°C的溫度下加熱一凝血酶溶液1至20秒，然後淬熄加熱，而獲得該穩定化的凝血酶組合物。

【0019】在部分較佳實施例中，進一步凍乾該凝血酶溶液而獲得一凍乾型態的穩定化的凝血酶組合物。

【0020】因此，本發明亦提供一種經凍乾的穩定化的凝血酶組合物，其係藉由包含以下步驟的方法而製得：(i) 在35-85°C的溫度下加熱一凝血酶溶液1至20秒，然後淬熄加熱，以獲得穩定化的凝血酶溶液；以及(ii) 將該穩定化的凝血酶溶液凍乾

【0021】通過實例以下進一步說明本發明，其係提供用於示例的而非限制的目的。

【0022】本領域技術人員應理解在不脫離本發明的廣義發明性構思的情況下，可針對上述實施例進行改變。因此，可理解的是，本發明並不局限於其

所揭示的特定實施例，其旨在於涵蓋由所附申請專利範圍所界定的本發明精神及範圍內的修飾。

**【符號說明】**

**【0023】 無**

**【生物材料寄存】**

**【0024】 無**

**【發明申請專利範圍】**

【第1項】一種在一凝血酶溶液中穩定凝血酶之方法，其包含在35-85°C的溫度下加熱該凝血酶溶液1至20秒，以及淬熄加熱。

【第2項】如請求項1之方法，其中該藉淬熄係藉由將該凝血酶溶液浴浸至一冰的溶液中以進行。

【第3項】一種穩定化的凝血酶組合物，其係藉由在35-85°C的溫度下加熱一凝血酶溶液1至20秒，以及淬熄加熱而製得。

● 【第4項】如請求項3的穩定化的凝血酶組合物，其為凍乾型態。