



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109700998 B

(45) 授权公告日 2022. 02. 08

(21) 申请号 201910135188.3

A61K 36/82 (2006.01)

(22) 申请日 2019.02.25

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 103405578 A, 2013.11.27

申请公布号 CN 109700998 A

CN 104784209 A, 2015.07.22

(43) 申请公布日 2019.05.03

CN 106074605 A, 2016.11.09

(73) 专利权人 曾湘红

US 2002177563 A1, 2002.11.28

地址 511430 广东省广州市番禺大石锦绣

CN 105726378 A, 2016.07.06

银湾4座2梯1401

CN 101347632 A, 2009.01.21

专利权人 王鹏

CN 101347632 A, 2009.01.21

广州缘源生物科技服务有限公司

CN 102178617 A, 2011.09.14

(72) 发明人 曾湘红 王鹏 黄志刚 郑峥

范彩彩等. 纤维蛋白原的5种提取方法比较

王皓林 惠子君 周煜 冯娜

研究.《中国农学通报》.2014,

王利霞 田改琴

Gui-Qiu Shan等. Evaluation of the

(74) 专利代理机构 郑州中民专利代理有限公司

Effects of Homologous Platelet Gel on

41110

Healing Lower Extremity Wounds in

代理人 姜振东

Patients With Diabetes.《The International

(51) Int. Cl.

Journal of Lower Extremity Wounds》.2013,

A61K 38/01 (2006.01)

陈健民等. 自体富血小板血浆促进慢性难愈

A61P 17/02 (2006.01)

合伤口修复的研究进展.《医学理论与实践》

A61K 31/164 (2006.01)

.2010,

审查员 魏应亮

权利要求书3页 说明书13页

(54) 发明名称

一种复方肌肤损伤再生修复剂及其制备方法

天然生物制品,易于机体吸收,与市场现有产品相比,本发明产品有疗效快、价格低、使用方便、无毒副作用等优点,具有良好的医用开发价值和

(57) 摘要

本发明提供的是一种复方肌肤损伤再生修复剂及其制备方法,其特征在于,该修复剂是以血浆高分子蛋白提取物、茶树根提取物和神经酰胺为主料,以冰片、聚乙二醇(4000-8000)、甘油、ε-多聚赖氨酸、卡波姆等为辅料制备而成。本发明将动物血浆中高分子活性蛋白提取物、茶树根提取物和神经酰胺等多种活性成分经科学配比制成的一种复方肌肤损伤再生修复剂。它具有提高肌肤免疫力,改善创面微循环、促进血管生成与肉芽组织生长,显著加速创面修复愈合速度,实现创面完美无斑痕愈合的功效。本发明属于纯

1. 一种复方肌肤损伤再生修复剂,其特征在于,是以血浆高分子蛋白提取物、茶树根提取物和神经酰胺为主料,以冰片、聚乙二醇(4000-8000)、甘油、 ϵ -多聚赖氨酸、卡波姆中的一种或多种为辅料制备而成;其中,血浆高分子蛋白提取物的占比为1.5-10%,茶树根提取物的占比为10-30%,神经酰胺的占比为0.05-0.2%;所述复方肌肤损伤再生修复剂为水剂、膏剂或冻干粉剂型;

所述血浆高分子蛋白提取物是通过以下步骤制备而成:

(1) 采集卫生检验合格的新鲜动物:猪、牛、羊的抗凝血浆,按体积加入20-25%饱和度硫酸铵,搅拌使硫酸铵完全溶解、静置2小时左右,300-500目过滤或离心,收集沉淀为高分子蛋白提取物粗品,滤液或离心液经加热脱盐可做动物蛋白副产品;

(2) 病毒灭活:将高分子蛋白提取物粗品,加入3倍体积纯水稀释成粥状,放入反应釜中加热至60℃,保温10小时,灭活病毒;

(3) 循环超滤脱盐:将经病毒灭活后的高分子蛋白提取物粗品按1:4-1:5的比例用纯水稀释成溶液,离心去除不溶性沉淀物,收集离心液,将离心液经截留分子量100KD的超滤设备进行超滤处理,当截留液体浓缩至原体积的1/4-1/5时,再向截留液中加入4-5倍截留液体体积的纯水,继续超滤脱盐至原体积的1/4-1/5,重复上述步骤2-3次,至透过液中硫酸根离子全部脱去,收集截留液A;循环脱盐过程的含硫酸铵的透过液可作为下次溶解高分子蛋白提取物粗品的溶解液进行重复利用;

(4) 超滤精制:将步骤(3)中最后得到的截留液A再经截留分子量300KD的超滤设备进行超滤浓缩,超滤至截留液体积为原体积的1/3-1/5,收集截留液即为血浆高分子蛋白提取物精制液,该提取物精制液中的总蛋白含量 $\geq 20\text{mg/ml}$;

所述茶树根提取物是通过以下步骤制备而成:

(1) 超微粉碎:收取卫生合格的茶树根原料,用超微粉碎机粉碎,放入反应釜中,加入原料总重8-10倍的水调pH6.0-7.0,加10-20%的氯化钠浸泡24小时以上;

(2) 热与超声处理:反应釜在搅拌下加热至在85~90℃热保温30-60分钟,降至室温,进行超声裂解时间30-60分钟;

(3) 碱性酶解:将裂解液用10%的氢氧化钠调pH11.0-12.0,加入1-5%混合酶:胰酶和纤维素酶,0.5-2%的活性炭,混合均匀,在连续搅拌下升温至45-50℃进行水解8-10小时;

(4) 过滤澄清:将上述酶解液用100-300目过滤,滤液再用沉降式离心机澄清,再经0.45-0.6 μm 无机膜精滤茶树根粗品液;滤渣做饲料副产品处理;

(5) 超滤精制:将粗品液通过截留分子量1万的超滤装置,透过液即为茶树根提取物精制液,该提取物精制液总黄酮含量 $\geq 30\%$,茶多糖含量应 $\geq 10\%$;收集截留液可加入下批酶解步骤中配碱液再利用。

2. 如权利要求1所述的一种复方肌肤损伤再生修复剂,其特征在于,所述水剂配方组分质量百分比为:

血浆高分子蛋白提取物 1.5-10%

茶树根提取物 10-30%

神经酰胺 0.05-0.2%

甘油 10-20%

ϵ -多聚赖氨酸 0.01-0.5%

生理盐水余量, pH7.5-9.0。

3. 如权利要求1所述的一种复方肌肤损伤再生修复剂, 其特征在于, 所述膏剂配方组分质量百分比为:

血浆高分子蛋白提取物 1.5-10%

茶树根提取物 10-30%

神经酰胺 0.05-0.2%

冰片 1-5%

ϵ -多聚赖氨酸 0.01-0.5%

甘油 5-15%

卡波姆 0.1-2%

生理盐水余量, pH7.5-9.0。

4. 如权利要求1所述的一种复方肌肤损伤再生修复剂, 其特征在于, 所述冻干粉剂配方组分质量百分比为:

血浆高分子蛋白提取物 1.5-10%

茶树根提取物 10-30%

神经酰胺 0.05-0.2%

冰片 1-5%

聚乙二醇(4000-8000) 5-10%

ϵ -多聚赖氨酸 0.01-0.5%

生理盐水余量, pH7.5-9.0。

5. 一种如权利要求1或2所述的复方肌肤损伤再生修复剂的制备方法, 其特征在于: 该修复剂水剂的制备方法如下:

按水剂配方依次加入1.5-10%血浆高分子蛋白提取物、10-30%茶树根提取物、0.05-0.2%神经酰胺、0.01-0.5% ϵ -多聚赖氨酸, 按配方比例以余量的生理盐水配成活性料液, 将活性料液分别使用1.0 μ m, 0.65 μ m, 0.22 μ m滤膜进行精滤及微孔滤膜除菌, 按比例加入10-20%经高压灭菌甘油, 混合均匀后, 并调PH值在7.5-9.0, 无菌分装, 冷冻保存。

6. 一种如权利要求1或3所述的复方肌肤损伤再生修复剂的制备方法, 其特征在于: 该修复剂膏剂的制备方法如下:

按膏剂配方依次加入1.5-10%血浆高分子蛋白提取物、10-30%茶树根提取物、0.05-0.2%神经酰胺、0.01-0.5% ϵ -多聚赖氨酸, 按配方比例以余量的生理盐水配成活性料液, 将活性料液分别使用1.0 μ m, 0.65 μ m, 0.22 μ m滤膜进行精滤及微孔滤膜除菌, 按比例加入10-20%经高压灭菌甘油、1-5%冰片和0.1-2%卡波姆, 混合均匀后, 并调PH值在7.5-9.0, 无菌分装, 冷藏保存。

7. 一种如权利要求1或4所述的复方肌肤损伤再生修复剂的制备方法, 其特征在于: 该修复剂冻干粉剂的制备方法如下:

按粉剂配方依次加入1.5-10%血浆高分子蛋白提取物、10-30%茶树根提取物、0.05-0.2%神经酰胺、0.01-0.5% ϵ -多聚赖氨酸, 按配方比例以余量的生理盐水配成活性料液, 将活性料液分别使用1.0 μ m, 0.65 μ m, 0.22 μ m滤膜进行精滤及微孔滤膜除菌, 按比例加入、1-5%冰片和5-10%灭菌聚乙二醇(4000-8000), 混合均匀后, 并调PH值在7.5-9.0, 放入冻干机冻

干、无菌分装,冷藏保存。

一种复方肌肤损伤再生修复剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明专利属于生物医药领域,具体涉及一种复方肌肤损伤再生修复剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 急、慢性创伤特别是慢性难愈合溃疡一直是医学领域的研究热点。近年来,虽然关于创面修复的研究越来越多,进展迅速,但是在现有的治疗水平下,越来越多的各种急、慢性难愈性溃疡让医患难以应对,随着人们生活水平的不断提高和再生医学的发展,开发可以促进损伤部位结构和功能上完美无瘢痕修复的再生修复产品和技术已经成为创面修复领域新的研究热点和方向。

[0003] 体表慢性难愈合创面是由一系列创伤和疾病所致。主要包括创伤性溃疡、下肢静脉性溃疡、压迫性溃疡、糖尿病溃疡等。这类创面虽然不像癌症那样迅速致人死亡,但由于它发生在体表,具有病程长、并发症多、外观影响大等特点对患者的身心、生活和工作质量造成极大的危害。因此,如何加速肌肤损伤的再生性修复实现创面从结构和功能上的完美无斑痕修复已成为组织修复领域亟待解决的难题之一。

[0004] 造成慢性难愈合溃疡的发病机制至今尚未完全阐明,目前西医论点如下:1、创面细胞外基质成分细胞支架的基因表达下调导致其产生减少,结果使组织修复细胞的移动支架遭破坏从而延缓创面愈合。2、除细胞环境外,主要修复细胞,特别是成纤维细胞的迅速凋亡进一步影响了胞外基质,特别是胶原的产生。3、局部创面生长因子浓度变化的影响,生长因子活性下降及靶细胞受体结构与功能发生改变,使因子与受体正常的结合发生障碍,产生所谓的“失偶联”现象。4、创面愈合调控的网络发生障碍。中医认为慢性皮肤溃疡是由于创伤、挤压伤、皮外伤等直接伤害了人体而再感受毒邪,造成气血运行失常,导致皮肤溃疡,又不能做好皮肤的保护或脱离刺激环境,造成久治不愈,严重危害患者健康。

[0005] 目前临床治疗方法西医常用抗生素类,不仅疗效差而且长期使用抗生素会使人体产生依赖、破坏人体的微生物平衡,还会对肝肾功能造成损害。近些年来基因药物-即各种细胞生长因子应用于临床显著增强了肌肤修复与再生的功能,加速了创面愈合的效果,但在应用过程中也出现了许多问题。如EGF—表皮生长因子,又称人寡肽-1,它可直接促进表皮细胞的生长,随着科学技术的发展,检测研究发现EGF是单向刺激细胞增生,甚至是无序地刺激细胞增生,这种刺激可能会导致皮肤细胞出现难以预测的问题。根据相关文献显示,滥用EGF也会产生副作用,可能会引起表皮细胞过度或无限生长,从而使角质层增厚或诱发其他癌变。目前整形医院和化妆品行业已出现不少滥用EGF而“毁容”的案例。

[0006] (参考文献1,中国普外基础与临床杂志2008年3月第15卷第3期《表皮生长因子促进胰腺癌细胞侵袭和转移的实验研究》,参考文件2,国家药品监督管理局2019年01月10日发布“EGF不能作为化妆品原料报道”)

[0007] 中医对慢性皮肤溃疡的治疗多采用中草药,如紫草油、如意金黄散、祛腐生肌散等,副作用小,但愈合缓慢、治疗周期长且疗效欠佳。

[0008] 据中国、日本、美国等国家的调查表明：在综合性疾病中慢性难愈合创面患者的发病率为7-23%；该类患者伴有心血管疾病发生率约41%，伴有神经性障碍者27%，在整形外科为15%。英国一项调查显示，糖尿病溃疡的发生率近年来呈逐渐增高趋势，在Ⅱ型糖尿病患者中，发生溃疡者占5.3%；糖尿病患者因下肢溃疡而住院者占20%，其中截肢者约0.6%。中国部分调查结果表明：溃疡发生原因主要为创伤感染(67.5%)，压迫性溃疡(9.2%)，静脉性溃疡(6.5%)，糖尿病溃疡(4.9%)，其它因素(11.9%)。

[0009] 体表慢性难愈合创面治疗的费用相当昂贵，据报道：美国每年用于静脉性溃疡的治疗费用为1.65-10.78亿美元，每例患者的年治疗费用2400美元，年老者更高而且有逐年上涨的趋势。因此，体表慢性难愈合创面的发生率和社会危害已成为现代化社会必须面对的重要问题。因此，寻求一种疗效快、副作用小、费用低的肌肤再生修复产品是外科临床的急需，也是广大患者解决痛苦的渴望与需求。

发明内容

[0010] 本发明的目的正是基于上述状况而专门研究开发的一种复方肌肤损伤再生修复剂及其制备方法。本发明将动物血浆中高分子活性蛋白提取物、茶树根提取物和神经酰胺等多种活性成分经科学配比制成的一种复方肌肤损伤再生修复剂。它具有提高肌肤免疫力，改善创面微循环、促进血管生成与肉芽组织生长，显著加速创面修复愈合速度，实现创面完美无斑痕愈合的功效。

[0011] 本发明属于纯天然生物制品，易于机体吸收，无毒副作用，可广泛应用于各种原因引起的创伤、烧烫伤、灼伤及各种急慢性溃疡等。与市场现有产品相比，本发明产品有疗效快、价格低、使用方便、无毒副作用等优点。对肌肤损伤的修复与再生，尤其是对慢性难愈合创面疗效显著，具有良好的医用开发价值和市场应用前景。

[0012] 本发明的目的是通过以下技术方案来实现的：

[0013] 一种复方肌肤损伤再生修复剂，是以血浆高分子蛋白提取物、茶树根提取物和神经酰胺为主料，以冰片、聚乙二醇(4000-8000)、甘油、 ϵ -多聚赖氨酸、卡波姆中的一种或多种为辅料制备而成；其中，血浆高分子蛋白提取物的占比为1.5-10%，茶树根提取物的占比为10-30%，神经酰胺的占比为0.05-0.2%。

[0014] 本发明产品可根据患者和创面需求，制成水剂、膏剂、冻干粉等剂型。

[0015] 所述水剂产品配方组分质量百分比如下：

[0016] 血浆高分子蛋白提取物 1.5-10%

[0017] 茶树根提取物 10-30%

[0018] 神经酰胺 0.05-0.2%

[0019] 甘油 10-20%

[0020] ϵ -多聚赖氨酸 0.01-0.5%

[0021] 生理盐水余量，pH7.5-9.0。

[0022] 所述膏剂产品配方组分质量百分比如下：

[0023] 血浆高分子蛋白提取物 1.5-10%

[0024] 茶树根提取物 10-30%

[0025] 神经酰胺 0.05-0.2%

- [0026] 冰片 1-5%
- [0027] ϵ -多聚赖氨酸 0.01-0.5%
- [0028] 甘油 5-15%
- [0029] 卡波姆 0.1-2%
- [0030] 生理盐水余量,pH7.5-9.0。
- [0031] 所述冻干粉剂配方组分质量百分比如下:
- [0032] 血浆高分子蛋白提取物 1.5-10%
- [0033] 茶树根提取物 10-30%
- [0034] 神经酰胺 0.05-0.2%
- [0035] 冰片 1-5%
- [0036] 聚乙二醇(4000-8000) 5-10%
- [0037] ϵ -多聚赖氨酸 0.01-0.5%
- [0038] 生理盐水余量,pH7.5-9.0。
- [0039] 一种复方肌肤损伤再生修复剂的制备方法,包括以下步骤:
- [0040] (一)制备血浆高分子蛋白提取物
- [0041] (1)采集卫生检验合格的新鲜动物(猪、牛、羊等)抗凝血浆,按体积加入20-25%饱和度硫酸铵,搅拌使硫酸铵完全溶解、静置2小时左右,过滤(300-500目)或离心(3000-4000r/min,15-20分),收集沉淀为高分子蛋白提取物粗品。滤液或离心液经加热脱盐可做动物蛋白副产品。
- [0042] (2)病毒灭活:将高分子蛋白提取物粗品,加入3倍体积纯水稀释成粥状,放入反应釜中加热至60℃,保温10小时,灭活病毒。
- [0043] (3)循环超滤脱盐:将经病毒灭活后的高分子蛋白提取物粗品按1:4-1:5的比例用纯水稀释成溶液,离心(3000-4000r/min,15-20分)去除不溶性沉淀物,收集离心液,将离心液经截留分子量100KD的超滤设备进行超滤处理,当截留液体浓缩至原体积的1/4-1/5时,再向截留液中加入4-5倍截留液体体积的纯水,继续超滤脱盐至原体积的1/4-1/5,重复上述步骤2-3次,至透过液中硫酸根离子全部脱去,收集截留液A。循环脱盐过程的含硫酸铵的透过液可作为下次溶解高分子蛋白提取物粗品的溶解液进行重复利用。
- [0044] (4)超滤精制:将步骤(3)中最后得到的截留液A再经截留分子量300KD的超滤设备进行超滤浓缩,超滤至截留液体积为原体积的1/3-1/5,收集截留液即为血浆高分子蛋白提取物精制液(总蛋白含量 $\geq 20\text{mg/ml}$)。
- [0045] (二)制备茶树根提取物
- [0046] (1)超微粉碎:收取卫生合格的茶树根原料,用超微粉碎机粉碎,放入反应釜中,加入原料总重8-10倍的水调pH6.0-7.0,加10-20%的氯化钠浸泡24小时以上。(2)热与超声处理:反应釜在搅拌下加热至在85~90℃热保温30-60分钟,降至室温,进行超声裂解(400-500W)时间30-60分钟。
- [0047] (3)碱性酶解:将裂解液用10%的氢氧化钠调pH11.0-12.0,加入1-5%混合酶(胰酶:纤维素酶=1:2),0.5-2%的活性炭,混合均匀,在连续搅拌下(转速130-150r/min)升温至45-50℃进行水解8-10小时。
- [0048] (4)过滤澄清:将上述酶解液用100-300目过滤,滤液再用沉降式离心机澄清,再经

0.45-0.6 μ m无机膜精滤茶树根粗品液。滤渣做饲料副产品处理。

[0049] (5)超滤精制:将粗品液通过截留分子量1万的超滤装置,透过液即为茶树根精制提取液(总黄酮含量 $\geq 30\%$,茶多糖含量应 $\geq 10\%$)。收集截留液可加入下批酶解步骤中配碱液再利用。

[0050] (三)成品生产工艺:

[0051] 1、水剂生产工艺:

[0052] 按水剂配方依次加入1.5-10%高分子蛋白精制液(总蛋白含量 $\geq 20\text{mg/ml}$)、10-30%茶树根提取物(总黄酮含量 $\geq 30\%$,茶多糖含量应 $\geq 10\%$)、0.05-0.2%神经酰胺、0.01-0.5% ϵ -多聚赖氨酸、按配方比例以余量的生理盐水配成活性料液,将活性料液分别使用1.0 μ m, 0.65 μ m, 0.22 μ m滤膜进行精滤及微孔滤膜除菌,按比例加入10-20%经高压灭菌甘油,混合均匀后,并用40%的氢氧化钠调PH值在7.5-9.0,无菌分装,冷冻保存。

[0053] 2、膏剂成品生产工艺:

[0054] 按膏剂配方依次加入1.5-10%高分子蛋白精制液(总蛋白含量 $\geq 20\text{mg/ml}$)、10-30%茶树根提取物(总黄酮含量 $\geq 30\%$,茶多糖含量应 $\geq 10\%$)、0.05-0.2%神经酰胺、0.01-0.5% ϵ -多聚赖氨酸,按配方比例以余量的生理盐水配成活性料液,将活性料液分别使用1.0 μ m, 0.65 μ m, 0.22 μ m滤膜进行精滤及微孔滤膜除菌,按比例加入10-20%经高压灭菌甘油、1-5%冰片和0.1-2%卡波姆,混合均匀后,并调PH值在7.5-9.0,无菌分装,冷藏保存。

[0055] 3、冻干粉剂生产工艺:

[0056] 按粉剂配方依次加入1.5-10%高分子蛋白精制液(总蛋白含量 $\geq 20\text{mg/ml}$)、10-30%茶树根提取物(总黄酮含量 $\geq 30\%$,茶多糖含量应 $\geq 10\%$)、0.05-0.2%神经酰胺、0.01-0.5% ϵ -多聚赖氨酸,按配方比例以余量的生理盐水配成活性料液,将活性料液分别使用1.0 μ m, 0.65 μ m, 0.22 μ m滤膜进行精滤及微孔滤膜除菌,按比例加入、1-5%冰片和5-10%灭菌聚乙二醇(4000-8000),混合均匀后,并调PH值在7.5-9.0,放入冻干机冻干、无菌分装,冷藏保存。

[0057] 产品配方机理:

[0058] 以上配方成分中的血浆高分子蛋白提取物中主要含有纤维蛋白原(分子量340KD)、纤连蛋白(分子量450KD)、层粘连蛋白(分子量804KD)、凝血因子(如凝血因子VIII分子量大于200KD、凝血因子XIII分子量15-30KD)等高分子活性蛋白,这些蛋白质虽然在结构、性质及生理功能上不同,但在受损组织修复的整个过程中都起着关键性作用。它们具有多重细胞生物学活性,可刺激上皮细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞、巨噬细胞等细胞的产生,介导细胞和各种蛋白质之间的相互作用。这些高分子蛋白可参与机体复杂的炎症应激反应,增强对细胞外或细胞间质的保护作用,通过与其相应受体结合与人体内各种酶形成良好的协调效应,起到迅速止血、调节血管壁的通透性,调节蛋白质、水、电解质扩散及运转等。与此同时,它们又是多功能细胞生长因子,能刺激来源于中胚层和神经外胚层细胞的生长,如成纤维细胞、血管内皮细胞、上皮细胞、神经细胞、肌细胞、骨细胞等,具有广泛的生物活性。

[0059] 药理研究表明,在创伤修复过程中的三个阶段,即局部炎症反应阶段、细胞增殖分化及肉芽组织形成阶段、组织重建阶段,各类血浆高分子蛋白均有不同程度的促进作用。在炎症期,对创伤细胞有明显的趋化活性,可以刺激成纤维细胞,血管内皮细胞等向创伤部位移动。当细胞迁移至损伤部位时,开始进入增殖和修复期,其中最关键的步骤之一是肉芽组

组织的形成。肉芽组织的本质是大量的毛细血管和丰富的成纤维细胞。纤维蛋白原、纤连蛋白、层粘连蛋白、凝血因子等高分子蛋白正是成纤维细胞、血管内皮细胞及血管平滑肌细胞的高效促生长剂,能够强烈促进新生毛细血管的形成,显著增加肉芽组织毛细血管数量和血液流量,改善创面微循环,为组织修复提供所必须的氧及丰富的营养物质;同时对损伤组织部位神经纤维的再生也有显著的促进作用,可加速损伤组织功能的恢复。大量研究与临床实践证明:在创伤愈合整个过程中,这些高分子蛋白的生物活性在机体内可以相辅相成、相互促进、相互制约形成良好的协同效应,使机体各种细胞和纤维有序排列与生长,避免瘢痕组织的形成。如果把他们中的任一成份提纯单独应用不仅使生产成本升高,而且均会大大减小创伤组织修复愈合的效果。所以本发明将血浆中各种高分子蛋白联合提取并综合应用,充分发挥纤维蛋白原、纤连蛋白、层粘连蛋白、凝血因子等高分子蛋白的团队效应,实现各种高分子蛋白的优势互补,全面参与并介导创面修复的三个过程,促进创面快速无瘢痕修复。

[0060] (参考文献:中国修复重建外科杂志2008年2月第22卷第2期《纤维蛋白基生物医用材料》);

[0061] 参考文献:四川生理科学杂志2002;24(2)《人纤维蛋白原结构和功能研究》;

[0062] 参考文献:《血浆纤维结合蛋白修复皮肤创伤的临床应用》,徐焱徐爽等,中国生物制品学杂志2001年第14卷第4期;

[0063] 参考文献:国外医学生理、病理科学与临床分册1998,18(1)《层粘连蛋白研究进展》;

[0064] 参考文献:医师进修杂志1983年第6期《凝血因子及凝血原理》;

[0065] 参考文献:《冷沉淀临床应用新进展》雷千红,叶东等,南京军区南京总医院输血科,江苏南京210002医学研究生学报第17卷第1期2004年1月。)

[0066] 配方成分茶树根是一味常用中草药,味苦,性平,有强心利尿、降血脂、降血糖、抗肿瘤、抗菌消炎、抗痛风等功效。临床上用于心脏病;水肿;肝炎;疮疡肿毒;口疮;汤火灼伤;带状疱疹;牛皮癣等。茶树根提取物中主要含总黄酮、总皂苷、原花青素、茶多糖及多酚化合物等成分;具有抗氧化作用,可以清除超氧离子等自由基;能明显改善血液粘滞度;防癌、抗突变;茶多糖是继茶多酚之后发现的茶中又一类有生理活性的重要物质,是一种酸性糖蛋白,并结合有大量的矿质元素。其中蛋白部分主要由约20种常见的氨基酸组成,糖的部分主要由阿拉伯糖、木糖、岩藻糖、葡萄糖、半乳糖等,矿质元素主要由钙、镁、铁、锰等及少量的微量元素,如稀土元素等组成。药理研究表明,茶多糖具有降血糖、降血脂、降血压、抗癌、抗凝血、抗血栓、抗动脉粥样硬化、耐缺氧、防辐射、防治心血管疾病、增加冠状动脉血流量、增强机体免疫力等多种功能。综上所述,茶树根提取物中总黄酮、茶多糖等各种活性成分具备抗炎镇痛、修复体表溃疡,增强机体免疫力、改善局部血液循环等多种功能,可以有效辅助的发病机制复杂的慢性难愈合创面的再生修复。

[0067] (参考文献1:现代中药研究与实践2012年第26卷第4期《茶树根的抗炎镇痛作用研究》;参考文献2:上海中医药杂志1992年第8期《茶树根对大鼠血浆脂质的调整作用》;参考文献3:国外医学中医中药分册1999年第12卷第2期《茶树根提取物对实体瘤的作用》)

[0068] 神经酰胺是构成皮肤角质层脂质的主要成分,具有保湿、抗过敏、抗衰老作用,还可以辅助美白,抗氧化。神经酰胺可在表皮角质层中形成网状结构来缔合水分子,保持皮肤

的水分,因此对皮肤具有很强的保湿作用;皮肤在衰老过程中,脂质合成下降,角质层中神经酰胺含量减少,表现为皮肤干燥、脱屑、粗糙,失去光泽;使用神经酰胺能使皮肤角质层中神经酰胺含量增高,可改善皮肤干燥、脱屑、粗糙等症状;同时,神经酰胺能增加皮肤角质层厚度,提高皮肤的持水能力,减少皱纹,增加皮肤弹性,延缓皮肤衰老使皮肤细胞得到良好的恢复和再生。(参考文献4:中藥材第36卷第11期2013年11月《植物神经酰胺的研究进展》;参考文献5:粮食与油脂2007年第一期《神经酰胺对皮肤生理作用及其在化妆品中应用》)

[0069] 配方中的其它成份:冰片、聚乙二醇(4000-8000)、甘油、 ϵ -多聚赖氨酸、卡波姆940均为产品配方中的辅料。冰片经粘膜、皮下组织均易吸收,具有清热解毒、防腐生肌、消肿止痛作用。聚乙二醇(4000-8000)与甘油均有亲脂亲水性、生物相容性和无毒、无免疫原性,也是很好的润滑剂、缓释剂和稳定剂。聚乙二醇还可吸收溶液中的水,改善与血液接触的医用高分子材料的生物相容性,常用于促进细胞融合或原生质体融合并有助于生物体在转化中摄入DNA且通用性强,可用于动、植物和微生物各种细胞。卡波姆具有内在特有的交联结构,其良好的粘滞性和亲水凝胶性使其对药物的释放具有较好的调控、缓释作用。卡波姆具有良好的生物粘附性能,并具有水凝胶及对机体无毒、无刺激性,形成的水凝胶均匀透明,稳定性好,用后感觉舒适,易涂布易清洁。以上辅料均为我国药典已收载。

[0070] ϵ -多聚赖氨酸是一种天然防腐剂,抑菌谱广,对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、酵母菌、霉菌均有一定的抑菌效果。 ϵ -多聚赖氨酸对其他天然防腐剂不易抑制的革兰氏阴性的大肠杆菌、沙门氏菌抑菌效果非常好,而且其对耐热性芽孢杆菌和一些病毒也有抑制作用。

[0071] 本发明产品依据以上功效成分的作用机理和各种辅料的性能经科学配比而制成,至目前为止,未见相同文献与专利报导。

[0072] 与现有技术相比,本发明专利的创新点主要有:

[0073] 1、原料丰富,可实现资源的高附加值利用

[0074] 本发明产品利用资源丰富的动物血浆和植物茶树根为主要原料,扩大了这些资源的综合利用,提高了其附加值。具有纯天然、无刺激性,无化学残留,安全有效且价格低廉,具有广阔的市场应用前景、良好的经济效益和社会效益。

[0075] 2、工艺可操作性强、便于规模化生产

[0076] 我们已完成了从实验室试制到中小规模生产研究及产品稳定性观察,证明该生产工艺可操作性强、成本低、质量稳定,可实现规模化生产。本发明创新的改进了主要功效成分血浆高分子蛋白提取物和茶树根提取的提取工艺。该工艺目前国内外未见相似产品及生产报道,所以技术优势明显。

[0077] 高分子蛋白传统提取工艺常用冻融法、冷沉淀法、亲和层析法等生产成本低,不利于规模生产。本工艺采用盐析与不同截留分子量循环超滤脱盐和超滤精致相结合方法,生产效率高、成本低、便于操作、可规模化生产。

[0078] 茶树根中起作用的药理成分主要是总黄酮、多糖及其皂苷元类等,现有工艺大量使用酒精等有机溶剂,造成对人员和环境的污染,限制了该产品的规模化生产与开发应用。本发明采用超声、酶、碱性水解联合工艺有效避免了常规有机溶剂萃取法高耗能、重污染的缺点,且简单易控,目标成分得率高、可规模化生产,有利于高值化利用茶树根资源。

[0079] 3、产品配方创新,成分优势互补,疗效显著

[0080] 经我们近多年的研究发现：血浆高分子蛋白提取物与茶树根提取物、神经酰胺联合应用比单独应用效果更佳。三种有效成份联合应用，结合传统中草药提取物和动物组织提取物的功效优势，可起到互补短缺、相辅相成、相互促进、疗效稳定的作用，所选用的辅料无毒、无刺激，均是很好的润滑剂、缓释剂和稳定剂，可有效提高功效成分的生物利用度和稳定性。同时我们对产品应用效果进行了多次动物实验和自愿受试人群的跟踪调查，疗效显著，获得患者的好评。至目前为止，该配方未见相同文献与专利报导。

[0081] 4、生产全过程绿色环保

[0082] 由本发明的生产流程可知，各提取步骤中产生的下脚料均可综合利用，生产其它副产品或可循环利用，基本没有废水、废渣的排放，做到了真正意义上的绿色环保。

具体实施方式

[0083] 下面实施例只为进一步说明本发明，不以任何形式限制本发明。

[0084] 实施例1

[0085] 本发明产品可根据患者和创面需求，制成水剂。产品具体配方重量份为：血浆高分子蛋白提取物10%、茶树根提取物30%、神经酰胺0.2%、甘油20%、 ϵ -多聚赖氨酸0.5%、剩余量为生理盐水。

[0086] 其制备方法，包括以下步骤：

[0087] (一)制备血浆高分子蛋白提取物

[0088] (1)采集卫生检验合格的新鲜动物羊抗凝血浆，按体积加入25%饱和度硫酸铵，搅拌使硫酸铵完全溶解、静置2小时左右，500目过滤，收集沉淀为高分子蛋白提取物粗品。滤液经加热脱盐可做动物蛋白副产品。

[0089] (2)病毒灭活：将高分子蛋白提取物粗品，加入3倍体积纯水稀释成粥状，放入反应釜中加热至60℃，保温10小时，灭活病毒。

[0090] (3)循环超滤脱盐：将经病毒灭活后的高分子蛋白提取物粗品按1:5的比例用纯水稀释成溶液，离心(4000r/min, 20分)去除不溶性沉淀物，收集离心液，将离心液经截留分子量100KD的超滤设备进行超滤处理，当截留液体浓缩至原体积的1/5时，再向截留液中加入5倍截留液体体积的纯水，继续超滤脱盐至原体积的1/5，重复上述步骤3次，至透过液中硫酸根离子全部脱去，收集截留液。循环脱盐过程的含硫酸铵的透过液可作为下次溶解高分子蛋白提取物粗品的溶解液进行重复利用。

[0091] (4)超滤精制：将步骤(2)中截留液经截留分子量300KD的超滤设备进行超滤浓缩，超滤至截留液体积为原体积的1/5，收集截留液即为血浆高分子蛋白提取物精制液(总蛋白含量 $\geq 20\text{mg/ml}$)。

[0092] (二)制备茶树根提取物

[0093] (1)超微粉碎：收取卫生合格的茶树根原料，用超微粉碎机粉碎，放入反应釜中，加入原料总重10倍的水调pH7.0，加20%的氯化钠浸泡24小时以上。(2)热与超声处理：反应釜在搅拌下加热至在90℃热保温60分钟，降至室温，进行超声裂解(500W)时间60分钟。

[0094] (3)碱性酶解：将裂解液用10%的氢氧化钠调pH12.0，加入5%混合酶(胰酶和纤维素酶)，2%的活性炭，混合均匀，在连续搅拌下(转速150r/min)升温至50℃进行水解10小时。

[0095] (4)过滤澄清：将上述酶解液用300目过滤，滤液再用沉降式离心机澄清，再经0.6 μ

m无机膜精滤茶树根粗品液。滤渣做饲料副产品处理。

[0096] (5)超滤精制:将粗品液通过截留分子量1万的超滤装置,透过液即为茶树根精制提取液(总黄酮含量 $\geq 30\%$,茶多糖含量应 $\geq 10\%$)。收集截留液可加入下批酶解步骤中配碱液再利用。

[0097] (三)制备成品

[0098] 按水剂配方依次加入10%高分子蛋白精制液、30%茶树根提取物、0.2%神经酰胺、0.5% ϵ -多聚赖氨酸,按配方比例以余量的生理盐水配成活性料液,将活性料液分别使用1.0 μm ,0.65 μm ,0.22 μm 滤膜进行精滤及微孔滤膜除菌,按比例加入20%经高压灭菌甘油,混合均匀后,并调PH值在9.0,无菌分装,冷冻保存。

[0099] 实施例2

[0100] 本发明产品可根据患者和创面需求,制成水剂。产品具体配方重量份为:血浆高分子蛋白提取物2%、茶树根提取物10%、神经酰胺0.05%、甘油10%、 ϵ -多聚赖氨酸0.02%、剩余量为生理盐水。

[0101] 其制备方法,包括以下步骤:

[0102] (一)制备血浆高分子蛋白提取物

[0103] (1)采集卫生检验合格的新鲜动物牛抗凝血浆,按体积加入20饱和度硫酸铵,搅拌使硫酸铵完全溶解、静置2小时左右,离心(4000r/min,20分),收集沉淀为高分子蛋白提取物粗品。离心液经加热脱盐可做动物蛋白副产品。

[0104] (2)病毒灭活:将高分子蛋白提取物粗品,加入3倍体积纯水稀释成粥状,放入反应釜中加热至60 $^{\circ}\text{C}$,保温10小时,灭活病毒。

[0105] (3)循环超滤脱盐:将经病毒灭活后的高分子蛋白提取物粗品按1:4的比例用纯水稀释成溶液,离心(3000r/min,15分)去除不溶性沉淀物,收集离心液,将离心液经截留分子量100KD的超滤设备进行超滤处理,当截留液体浓缩至原体积的1/4时,再向截留液中加入4倍截留液体体积的纯水,继续超滤脱盐至原体积的1/4,重复上述步骤2次,至透过液中硫酸根离子全部脱去,收集截留液。循环脱盐过程的含硫酸铵的透过液可作为下次溶解高分子蛋白提取物粗品的溶解液进行重复利用。

[0106] (4)超滤精制:将步骤(2)中截留液经截留分子量300KD的超滤设备进行超滤浓缩,超滤至截留液体积为原体积的1/3,收集截留液即为血浆高分子蛋白提取物精制液(总蛋白含量 $\geq 20\text{mg/ml}$)。

[0107] (二)制备茶树根提取物

[0108] (1)超微粉碎:收取卫生合格的茶树根原料,用超微粉碎机粉碎,放入反应釜中,加入原料总重8倍的水调pH6.0,加10的氯化钠浸泡24小时以上。(2)热与超声处理:反应釜在搅拌下加热至在85 $^{\circ}\text{C}$ 热保温40分钟,降至室温,进行超声裂解(400W)时间50分钟。

[0109] (3)碱性酶解:将裂解液用10%的氢氧化钠调pH11.0,加入2%混合酶(胰酶和纤维素酶),0.5%的活性炭,混合均匀,在连续搅拌下(转速130r/min)升温至45-50 $^{\circ}\text{C}$ 进行水解8-10小时。

[0110] (4)过滤澄清:将上述酶解液用100目过滤,滤液再用沉降式离心机澄清,再经0.45 μm 无机膜精滤茶树根粗品液。滤渣做饲料副产品处理。

[0111] (5)超滤精制:将粗品液通过截留分子量1万的超滤装置,透过液即为茶树根精制

提取液(总黄酮含量 $\geq 30\%$,茶多糖含量应 $\geq 10\%$)。收集截留液可加入下批酶解步骤中配碱液再利用。

[0112] (三)制备成品

[0113] 按水剂配方依次加入2%高分子蛋白精制液、10%茶树根提取物、0.05%神经酰胺、0.02% ϵ -多聚赖氨酸,按配方比例以余量的生理盐水配成活性料液,将活性料液分别使用1.0 μm ,0.65 μm ,0.22 μm 滤膜进行精滤及微孔滤膜除菌,按比例加入10%经高压灭菌甘油,混合均匀后,并调PH值在7.5,无菌分装,冷冻保存。

[0114] 实施例3

[0115] 本发明产品可根据患者和创面需求,制成膏剂。产品具体配方重量份为:血浆高分子蛋白提取物10%、茶树根提取物30%、神经酰胺0.2%、冰片5%、 ϵ -多聚赖氨酸0.5%、甘油15%、卡波姆2%,剩余量为生理盐水。

[0116] 其制备方法,包括以下步骤:

[0117] (一)制备血浆高分子蛋白提取物

[0118] (1)采集卫生检验合格的新鲜动物猪抗凝血浆,按体积加入22%饱和度硫酸铵,搅拌使硫酸铵完全溶解、静置2小时左右,过滤(400目),收集沉淀为高分子蛋白提取物粗品。滤液经加热脱盐可做动物蛋白副产品。

[0119] (2)病毒灭活:将高分子蛋白提取物粗品,加入3倍体积纯水稀释成粥状,放入反应釜中加热至60 $^{\circ}\text{C}$,保温10小时,灭活病毒。

[0120] (3)循环超滤脱盐:将经病毒灭活后的高分子蛋白提取物粗品按1:5的比例用纯水稀释成溶液,离心(4000r/min,20分)去除不溶性沉淀物,收集离心液,将离心液经截留分子量100KD的超滤设备进行超滤处理,当截留液体浓缩至原体积的1/5时,再向截留液中加入5倍截留液体体积的纯水,继续超滤脱盐至原体积的1/5,重复上述步骤3次,至透过液中硫酸根离子全部脱去,收集截留液。循环脱盐过程的含硫酸铵的透过液可作为下次溶解高分子蛋白提取物粗品的溶解液进行重复利用。

[0121] (4)超滤精制:将步骤(2)中截留液经截留分子量300KD的超滤设备进行超滤浓缩,超滤至截留液体积为原体积的1/5,收集截留液即为血浆高分子蛋白提取物精制液(总蛋白含量 $\geq 20\text{mg/ml}$)。

[0122] (二)制备茶树根提取物

[0123] (1)超微粉碎:收取卫生合格的茶树根原料,用超微粉碎机粉碎,放入反应釜中,加入原料总重10倍的水调pH6.5,加15%的氯化钠浸泡24小时以上。(2)热与超声处理:反应釜在搅拌下加热至在90 $^{\circ}\text{C}$ 热保温50分钟,降至室温,进行超声裂解(450W)时间50分钟。

[0124] (3)碱性酶解:将裂解液用10%的氢氧化钠调pH11.0,加入4%混合酶(胰酶和纤维素酶),2%的活性炭,混合均匀,在连续搅拌下(转速150r/min)升温至50 $^{\circ}\text{C}$ 进行水解10小时。

[0125] (4)过滤澄清:将上述酶解液用200目过滤,滤液再用沉降式离心机澄清,再经0.6 μm 无机膜精滤茶树根粗品液。滤渣做饲料副产品处理。

[0126] (5)超滤精制:将粗品液通过截留分子量1万的超滤装置,透过液即为茶树根精制提取液(总黄酮含量 $\geq 30\%$,茶多糖含量应 $\geq 10\%$)。收集截留液可加入下批酶解步骤中配碱液再利用。

[0127] (三)制备成品

[0128] 按膏剂配方依次加入10%高分子蛋白精制液、30%茶树根提取物、0.2%神经酰胺、0.5% ϵ -多聚赖氨酸,按配方比例以余量的生理盐水配成活性料液,将活性料液分别使用1.0 μm ,0.65 μm ,0.22 μm 滤膜进行精滤及微孔滤膜除菌,按比例加入15%经高压灭菌甘油、5%冰片和2%卡波姆,混合均匀后,并调PH值在9.0,无菌分装,冷藏保存。

[0129] 实施例4

[0130] 本发明产品可根据患者和创面需求,制成膏剂。产品具体配方重量份为:血浆高分子蛋白提取物3%、茶树根提取物20%、神经酰胺0.06%、冰片1%、 ϵ -多聚赖氨酸0.02%、甘油5%、卡波姆0.5%,剩余量为生理盐水。

[0131] 其制备方法,包括以下步骤:

[0132] (一)制备血浆高分子蛋白提取物

[0133] (1)采集卫生检验合格的新鲜动物牛抗凝血浆,按体积加入20饱和度硫酸铵,搅拌使硫酸铵完全溶解、静置2小时左右,离心(3000,15分),收集沉淀为高分子蛋白提取物粗品。离心液经加热脱盐可做动物蛋白副产品。

[0134] (2)病毒灭活:将高分子蛋白提取物粗品,加入3倍体积纯水稀释成粥状,放入反应釜中加热至60 $^{\circ}\text{C}$,保温10小时,灭活病毒。

[0135] (3)循环超滤脱盐:将经病毒灭活后的高分子蛋白提取物粗品按1:4的比例用纯水稀释成溶液,离心(3000r/min,18分)去除不溶性沉淀物,收集离心液,将离心液经截留分子量100KD的超滤设备进行超滤处理,当截留液体浓缩至原体积的1/4时,再向截留液中加入4倍截留液体体积的纯水,继续超滤脱盐至原体积的1/4,重复上述步骤2次,至透过液中硫酸根离子全部脱去,收集截留液。循环脱盐过程的含硫酸铵的透过液可作为下次溶解高分子蛋白提取物粗品的溶解液进行重复利用。

[0136] (4)超滤精制:将步骤(2)中截留液经截留分子量300KD的超滤设备进行超滤浓缩,超滤至截留液体积为原体积的1/3,收集截留液即为血浆高分子蛋白提取物精制液(总蛋白含量 $\geq 20\text{mg/ml}$)。

[0137] (二)制备茶树根提取物

[0138] (1)超微粉碎:收取卫生合格的茶树根原料,用超微粉碎机粉碎,放入反应釜中,加入原料总重8倍的水调pH6.0,加10%的氯化钠浸泡24小时以上。(2)热与超声处理:反应釜在搅拌下加热至在85 $^{\circ}\text{C}$ 热保温30分钟,降至室温,进行超声裂解(400W)时间30分钟。

[0139] (3)碱性酶解:将裂解液用10%的氢氧化钠调pH11.0,加入1%混合酶(胰酶和纤维素酶),0.5%的活性炭,混合均匀,在连续搅拌下(转速130r/min)升温至45 $^{\circ}\text{C}$ 进行水解8小时。

[0140] (4)过滤澄清:将上述酶解液用100目过滤,滤液再用沉降式离心机澄清,再经0.45 μm 无机膜精滤茶树根粗品液。滤渣做饲料副产品处理。

[0141] (5)超滤精制:将粗品液通过截留分子量1万的超滤装置,透过液即为茶树根精制提取液(总黄酮含量 $\geq 30\%$,茶多糖含量应 $\geq 10\%$)。收集截留液可加入下批酶解步骤中配碱液再利用。

[0142] (三)制备成品

[0143] 按膏剂配方依次加入3%高分子蛋白精制液、20%茶树根提取物、0.06%神经酰胺、0.02% ϵ -多聚赖氨酸,按配方比例以余量的生理盐水配成活性料液,将活性料液分别使用1.0 μm ,0.65 μm ,0.22 μm 滤膜进行精滤及微孔滤膜除菌,按比例加入5%经高压灭菌甘油、1%冰

片和0.5%卡波姆,混合均匀后,并调PH值在8.5,无菌分装,冷藏保存。

[0144] 实施例5

[0145] 本发明产品可根据患者和创面需求,制成冻干粉剂。产品具体配方重量份为:血浆高分子蛋白提取物9%、茶树根提取物25%、神经酰胺0.2%、冰片4%、聚乙二醇(6000)10%、 ϵ -多聚赖氨酸0.4%,剩余量为生理盐水。

[0146] 其制备方法,包括以下步骤:

[0147] (一)制备血浆高分子蛋白提取物

[0148] (1)采集卫生检验合格的新鲜动物牛抗凝血浆,按体积加入25%饱和度硫酸铵,搅拌使硫酸铵完全溶解、静置2小时左右,离心(3500r/min,20分),收集沉淀为高分子蛋白提取物粗品。离心液经加热脱盐可做动物蛋白副产品。

[0149] (2)病毒灭活:将高分子蛋白提取物粗品,加入3倍体积纯水稀释成粥状,放入反应釜中加热至60℃,保温10小时,灭活病毒。

[0150] (3)循环超滤脱盐:将经病毒灭活后的高分子蛋白提取物粗品按1:5的比例用纯水稀释成溶液,离心(4000r/min,20分)去除不溶性沉淀物,收集离心液,将离心液经截留分子量100KD的超滤设备进行超滤处理,当截留液体浓缩至原体积的1/5时,再向截留液中加入5倍截留液体积的纯水,继续超滤脱盐至原体积的1/5,重复上述步骤3次,至透过液中硫酸根离子全部脱去,收集截留液。循环脱盐过程的含硫酸铵的透过液可作为下次溶解高分子蛋白提取物粗品的溶解液进行重复利用。

[0151] (4)超滤精制:将步骤(2)中截留液经截留分子量300KD的超滤设备进行超滤浓缩,超滤至截留液体积为原体积的1/4,收集截留液即为血浆高分子蛋白提取物精制液(总蛋白含量 $\geq 20\text{mg/ml}$)。

[0152] (二)制备茶树根提取物

[0153] (1)超微粉碎:收取卫生合格的茶树根原料,用超微粉碎机粉碎,放入反应釜中,加入原料总重9倍的水调pH7.0,加15%的氯化钠浸泡24小时以上。(2)热与超声处理:反应釜在搅拌下加热至在88℃热保温55分钟,降至室温,进行超声裂解(500W)时间60分钟。

[0154] (3)碱性酶解:将裂解液用10%的氢氧化钠调pH12.0,加入5%混合酶(胰酶和纤维素酶),2%的活性炭,混合均匀,在连续搅拌下(转速140r/min)升温至50℃进行水解10小时。

[0155] (4)过滤澄清:将上述酶解液用250目过滤,滤液再用沉降式离心机澄清,再经0.6 μm 无机膜精滤茶树根粗品液。滤渣做饲料副产品处理。

[0156] (5)超滤精制:将粗品液通过截留分子量1万的超滤装置,透过液即为茶树根精制提取液(总黄酮含量 $\geq 30\%$,茶多糖含量应 $\geq 10\%$)。收集截留液可加入下批酶解步骤中配碱液再利用。

[0157] (三)制备成品

[0158] 按粉剂配方依次加入9%高分子蛋白精制液、25%茶树根提取物、0.2%神经酰胺、0.4% ϵ -多聚赖氨酸,按配方比例以余量的生理盐水配成活性料液,将活性料液分别使用1.0 μm ,0.65 μm ,0.22 μm 滤膜进行精滤及微孔滤膜除菌,按比例加入4%冰片和10%灭菌聚乙二醇(6000),混合均匀后,并调PH值在9.0,放入冻干机冻干、无菌分装,冷藏保存。

[0159] 实施例6

[0160] 本发明产品可根据患者和创面需求,制成冻干粉剂。产品具体配方重量份为:血浆

高分子蛋白提取物3%、茶树根提取物12%、神经酰胺0.08%、冰片2%、聚乙二醇(8000)6%、 ϵ -多聚赖氨酸0.05%,剩余量为生理盐水。

[0161] 其制备方法,包括以下步骤:

[0162] (一)制备血浆高分子蛋白提取物

[0163] (1)采集卫生检验合格的新鲜动物羊抗凝血浆,按体积加入20%饱和度硫酸铵,搅拌使硫酸铵完全溶解、静置2小时左右,过滤(300目),收集沉淀为高分子蛋白提取物粗品。滤液经加热脱盐可做动物蛋白副产品。

[0164] (2)病毒灭活:将高分子蛋白提取物粗品,加入3倍体积纯水稀释成粥状,放入反应釜中加热至60℃,保温10小时,灭活病毒。

[0165] (3)循环超滤脱盐:将经病毒灭活后的高分子蛋白提取物粗品按1:4的比例用纯水稀释成溶液,离心(3000r/min,15分)去除不溶性沉淀物,收集离心液,将离心液经截留分子量100KD的超滤设备进行超滤处理,当截留液体浓缩至原体积的1/4时,再向截留液中加入4倍截留液体体积的纯水,继续超滤脱盐至原体积的1/4,重复上述步骤2次,至透过液中硫酸根离子全部脱去,收集截留液。循环脱盐过程的含硫酸铵的透过液可作为下次溶解高分子蛋白提取物粗品的溶解液进行重复利用。

[0166] (4)超滤精制:将步骤(2)中截留液经截留分子量300KD的超滤设备进行超滤浓缩,超滤至截留液体积为原体积的1/3,收集截留液即为血浆高分子蛋白提取物精制液(总蛋白含量 $\geq 20\text{mg/ml}$)。

[0167] (二)制备茶树根提取物

[0168] (1)超微粉碎:收取卫生合格的茶树根原料,用超微粉碎机粉碎,放入反应釜中,加入原料总重8倍的水调pH6.0,加10%的氯化钠浸泡24小时以上。(2)热与超声处理:反应釜在搅拌下加热至在85℃热保温35分钟,降至室温,进行超声裂解(400W)时间35分钟。

[0169] (3)碱性酶解:将裂解液用10%的氢氧化钠调pH11.0,加入2%混合酶(胰酶和纤维素酶),0.5%的活性炭,混合均匀,在连续搅拌下(转速130r/min)升温至45℃进行水解8小时。

[0170] (4)过滤澄清:将上述酶解液用100目过滤,滤液再用沉降式离心机澄清,再经0.45 μm 无机膜精滤茶树根粗品液。滤渣做饲料副产品处理。

[0171] (5)超滤精制:将粗品液通过截留分子量1万的超滤装置,透过液即为茶树根精制提取液(总黄酮含量 $\geq 30\%$,茶多糖含量应 $\geq 10\%$)。收集截留液可加入下批酶解步骤中配碱液再利用。

[0172] (三)制备成品

[0173] 按粉剂配方依次加入3%高分子蛋白精制液、12%茶树根提取物、0.08%神经酰胺、0.05% ϵ -多聚赖氨酸,按配方比例以余量的生理盐水配成活性料液,将活性料液分别使用1.0 μm ,0.65 μm ,0.22 μm 滤膜进行精滤及微孔滤膜除菌,按比例加入2%冰片和6%灭菌聚乙二醇(8000),混合均匀后,并调PH值在8.5,放入冻干机冻干、无菌分装,冷藏保存。

[0174] 实施例7 药效学实验:本发明的复方肌肤损伤再生修复剂对兔III度烧伤应用效果的研究。

[0175] 试验动物:60只普通新西兰大白兔,清洁级,兔龄3~4月,雌雄各半,体质量(2.5 $\pm$ 0.2)kg,购郑州大学实验动物中心,所有兔均混合分笼人工饲养,环境温度为20~22℃、相对湿度为50%,人工混合饲料饲养1周后,用乙醇燃烧法构建III度烧伤模型。

[0176] 试验分组及给药：将60只模型兔，随机分为5组，实验组、对照组1、对照组2、对照组3、空白对照组、每组12只。各组伤后24小时给药，每日早晚各一次，各药剂以完全覆盖创面为准，具体分组情况见表1：

[0177] 表1实验组及各对照组用药情况

[0178]	组别	用药	制备方法
	实验组	复方肌肤损伤再生修复剂	同实施例1中制备的制剂相同
	对照组1	纤连蛋白制剂	郑州弗博瑞生物技术有限公司提供
	对照组2	贝复济	购买自珠海亿胜生物制药有限公司
	对照组3	祛腐生肌散	河南省中医院提供
	对照空白组	生理盐水	0.85%灭菌生理盐水

[0179] 观察指标：

[0180] 创面愈合时间：即创面完全上皮化所需要的时间。创面愈合判定标准为创面痂皮脱落，新上皮完全形成。肉眼连续观察35天。

[0181] 皮肤愈合程度：

[0182] I期愈合：修复处含少量纤维化组织，无瘢痕或少量瘢痕增生，真皮层结构清晰、完整，成纤维细胞和胶原纤维排列整齐、皮脂膜完整。

[0183] II期愈合：创面修复以纤维组织为主，修复处有瘢痕挛缩或增生皮下纤维无序排列、肌脂膜不完整。

[0184] 表2本发明的复方肌肤损伤再生修复剂对兔III度烧伤治疗效果

[0185]	组别	愈合时间	I期愈合数量	II期愈合数量
	实验组	17±1.2	9	3
	对照组1	18±1.5	8	4
	对照组2	22±1.7	2	10
	对照组3	24±0.7	3	9
	对照空白组	26±1.3	12	0

[0186] 从表2中可以看出，本发明的复方肌肤损伤再生修复剂、纤连蛋白组、贝复济组、祛腐生肌散组与对照组相比均可以缩短创面愈合时间，具有促进伤后愈合的作用，同时本发明的复方肌肤损伤再生修复剂和纤连蛋白组还具有显著促进III度烧伤I期愈合，减少III度烧伤瘢痕组织增生的作用。本发明的复方肌肤损伤再生修复剂组促进伤口I期愈合的作用优于纤连蛋白组，有显著差异。故本发明的复方肌肤损伤再生修复剂具有促进创面无瘢痕再生修复的作用，临床可以应用于各类肌肤损伤的治疗。