(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116744983 A
(43)申请公布日 2023.09.12

(21)申请号 202280009368.7
(22)申请日 2022.01.03
(30)优先权数据
21150755.3 2021.01.08 EP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.07.07
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2022/050024 2022.01.03
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/148725 EN 2022.07.14
(71)申请人 西拉格国际有限公司
地址 瑞士楚格市
(72)发明人 J·C·M·E·本德
J·M·范迪杰克
(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
专利代理师 陈文平 吕小羽
(51)Int.Cl.
A61L 24/00(2006.01)

权利要求书2页 说明书27页

(54)发明名称

生物可吸收性密封粉末

(57)摘要

本发明涉及生物可吸收性密封粉末，该生物可吸收性密封粉末包含：(a)携带至少3个反应性亲电子基团的水溶性亲电子聚合物，该反应性亲电子基团能够与胺基团反应形成共价键；(b)携带至少2个反应性亲核基团的水溶性亲核交联剂，该反应性亲核基团在水的存在下能够与亲电子聚合物的反应性亲电子基团反应，在亲电子聚合物与亲核交联剂之间形成共价键；(c)吸水性颗粒，该吸水性颗粒含有按所述吸水性颗粒的重量计至少50％的水不溶性聚合物，该水不溶性聚合物含有反应性亲核基团；(d)在20℃下为固体的水溶性分散剂，该水溶性分散剂选自单糖、二糖、低聚糖、糖醇以及它们的组合。其中组分(a)、(b)、(c)和(d)可以包含在相同颗粒中或不同颗粒中。本发明还提供了一种制备上述生物可吸收性密封粉末的方法。还提供了(i)用于粉末施用的装置，该装置包含该生物可吸收性密封粉末，(ii)包含该生物可吸收性密封粉末的生物相容性柔性止血片材，和(iii)用于制备密封悬浮液的试剂盒，所述试剂盒容纳该生物可吸收粉末，和(iv)包含该生物可吸收性密封粉末的密封悬浮液。

CN 116744983 A

1.一种生物可吸收性密封粉末,包含:

(a)至少5重量%的携带至少3个反应性亲电子基团的水溶性亲电子聚合物,所述反应性亲电子基团能够与胺基团反应形成共价键;

(b)1重量%至50重量%的携带至少2个反应性亲核基团的水溶性亲核交联剂,所述反应性亲核基团在水的存在下能够与所述亲电子聚合物的反应性亲电子基团反应,在所述亲电子聚合物与所述亲核交联剂之间形成共价键;

(c)1重量%至60重量%的吸水性颗粒,所述吸水性颗粒含有按所述吸水性颗粒的重量计至少50%的水不溶性聚合物,所述水不溶性聚合物含有选自胺基团、硫醇基团以及它们的组合的反应性亲核基团;

(d)10重量%至75重量%的在20℃下为固体的水溶性分散剂,所述水溶性分散剂选自单糖、二糖、低聚糖、糖醇以及它们的组合;

其中组分(a)、(b)、(c)和(d)的组合占所述密封粉末的至少60重量%;

其中所述密封粉末具有在0.3g/ml至0.9g/ml范围内的振实密度;

其中至少90重量%的所述粉末具有小于600μm的直径,并且不超过10重量%的所述粉末具有小于10μm的直径;并且

其中所述组分(a)、(b)、(c)和(d)可以包含在相同颗粒中或不同颗粒中。

2.根据权利要求1所述的粉末,其中,所述亲电子聚合物选自亲电子聚噁唑啉、亲电子聚乙二醇以及它们的组合。

3.根据权利要求1或2所述的粉末,其中,所述亲核交联剂选自亲核聚噁唑啉、亲核聚乙二醇、聚乙烯亚胺以及它们的组合。

4.根据前述权利要求中任一项所述的粉末,其中,所述含有反应性亲核基团的水不溶性聚合物选自蛋白质、脱乙酰壳多糖以及它们的组合。

5.根据前述权利要求中任一项所述的粉末,其中,由所述亲电子聚合物提供的反应性亲电子基团的总数与由所述亲核交联剂提供的反应性亲核基团的总数之间的比率在1:0.05至1:0.4的范围内。

6.根据前述权利要求中任一项所述的粉末,其中,所述粉末包含20重量%至80重量%的仅含有组分(a)和(d)的颗粒和20重量%至80重量%的仅含有组分(b)、(c)和(d)的颗粒。

7.根据权利要求6所述的粉末,其中,所述仅含有组分(a)和(d)的颗粒和所述仅含有组分(b)、(c)和(d)的颗粒一起构成所述密封粉末的至少60重量%。

8.根据权利要求1至5中任一项所述的粉末,其中,所述粉末含有至少60重量%的含有组分(a)、(b)、(c)和(d)中的每一者的颗粒。

9.根据权利要求8所述的粉末,其中,所述粉末含有至少50重量%的仅含有组分(a)和(d)的亚颗粒A和仅含有组分(a)、(c)和(d)的亚颗粒B的附聚物形式的含有组分(a)、(b)、(c)和(d)中的每一者的颗粒。

10.一种制备根据前述权利要求中任一项所述的生物可吸收性密封粉末的方法,包括以下步骤:

(a)提供包含所述亲电子聚合物和所述水溶性分散剂的颗粒A;

(b)提供包含所述亲核交联剂、所述吸水性颗粒和所述水溶性分散剂的颗粒B;

(c)组合所述颗粒A和所述颗粒B。

11.根据权利要求10所述的方法,其中,将所述颗粒A和所述颗粒B组合成附聚物。

12.一种用于施用密封粉末的装置,包括:

●容纳根据权利要求1至9中任一项所述的生物可吸收性密封粉末的贮存器;

●具有近侧端部和远侧端部的细长中空管状结构,所述远侧端部具有粉末出口,所述近侧端部连接到所述贮存器;

●手动空气泵,所述手动空气泵被布置成产生气流,所述气流将粉末从所述贮存器经由所述细长中空管状结构运送通过所述粉末出口。

13.一种生物相容性柔性止血片材,包括:

●包含三维互连间隙空间的内聚性纤维载体结构;和

●根据权利要求1至9中任一项所述的生物可吸收性密封粉末;

其中所述密封粉末分布在所述间隙空间内和/或固定到所述纤维载体结构上。

14.一种用于制备生物可吸收性密封悬浮液的试剂盒,包括:

●包含生物相容性液体的第一容器或隔室;和

●包含根据权利要求1至9中任一项所述的生物可吸收性密封粉末的第二容器或隔室。

15.一种生物可吸收性密封悬浮液,包含:

●生物相容性连续液体非水相;和

●包含根据权利要求1至9中任一项所述的生物可吸收性密封粉末的分散相。

生物可吸收性密封粉末

技术领域

[0001] 本发明涉及一种生物可吸收性密封粉末，该生物可吸收性密封粉末包含：

[0002] (a)携带至少3个反应性亲电子基团的水溶性亲电子聚合物，该反应性亲电子基团能够与胺基团反应形成共价键；

[0003] (b)携带至少2个反应性亲核基团的水溶性亲核交联剂，该反应性亲核基团在水的存在下能够与亲电子聚合物的反应性亲电子基团反应，在亲电子聚合物与亲核交联剂之间形成共价键；

[0004] (c)吸水性颗粒，该吸水性颗粒含有按所述吸水性颗粒的重量计至少50％的水不溶性聚合物，该水不溶性聚合物含有选自胺基团、硫醇基团的反应性亲核基团；

[0005] (d)在20℃下为固体的水溶性分散剂，所述水溶性分散剂选自单糖、二糖、低聚糖、糖醇以及它们的组合；

[0006] 其中组分(a)、(b)、(c)和(d)可以包含在相同颗粒中或不同颗粒中。

[0007] 当将本发明的密封粉末施用到湿组织上时，粉末中的反应性组分快速反应形成组织粘附性水凝胶，该组织粘附性水凝胶封闭下面的组织。粘附性水凝胶提供足够强的密封以提供对肺气漏的有效密封。

背景技术

[0008] 止血是一种严格调节的过程，其在发生对组织损伤的血栓形成反应的同时维持血液流过脉管系统。维持止血需要血管壁、血小板以及凝血和纤维蛋白溶解系统的复杂相互作用。止血有两个主要阶段：初级阶段(即，细胞阶段)和次级阶段(即，体液阶段)。

[0009] 初级止血在内皮破裂后立即开始，其特征在于血管收缩、血小板粘附和软聚集栓塞的形成。损伤发生后，血管平滑肌暂时局部收缩，血液流动减慢，促进血小板粘附和活化。在损伤的20秒内，循环血管性血友病因子附着于损伤部位的内皮下膜并粘附于血小板表面上的糖蛋白。当血小板粘附于损伤表面时，它们通过与结合循环纤维蛋白原的暴露于胶原的受体接触而被活化。形成聚集的血小板和纤维蛋白原的软栓塞。该止血阶段是短暂的，并且软栓塞可以容易地从损伤表面上剪切下来。

[0010] 在次级止血期间使该软血小板栓塞稳定以形成凝块。在凝血级联开始时，通过血小板分泌血清素、前列腺素和血栓素来维持血管收缩和由此引起的血流减少。凝血级联是涉及几种血浆蛋白、钙离子和血小板的一系列依赖性反应，其导致纤维蛋白原转化成纤维蛋白。凝血因子由肝脏产生并以无活性形式循环，直到凝血级联开始。然后经由一系列连续的和依赖性的凝血因子活化反应启动和完成级联的每个步骤。在最后步骤中，凝血酶将可溶性血浆蛋白纤维蛋白原转化成不溶性蛋白纤维蛋白，同时将因子XIII转化成因子XIIIa。这种因子转化稳定纤维蛋白并导致纤维蛋白单体的交联，从而产生稳定的凝块。

[0011] 在手术期间，重要的是维持流血与凝血之间的精细平衡，使得血液继续流动到手术部位处的组织而不过度失血，以优化手术成功率和患者结局。在手术期间，来自扩散的小毛细血管或小静脉的持续出血可掩盖手术区域，延长手术时间，增加生理并发症的风险，并

且使患者暴露于与输血相关的风险。

[0012] 外科医生具有一系列控制出血的选择，包括机械和热技术及装置以及药物疗法和局部药剂。

[0013] 最早的局部止血剂中的一种局部止血剂是纱布海绵形式的棉。尽管此类材料经由物理吸附来浓缩血液和经血产物，但是它们不被身体吸收，并且在移除时，凝块可能被移除，导致进一步出血。可吸收的局部止血剂已经被开发出来，并且当传统的止血方法无效或不实用时，提供有用的辅助治疗。局部止血剂可直接施用到出血部位，并可防止持续不断的出血。使用局部药剂进行的止血还可以避免全身止血药物的不利影响，诸如“不想要的”血块。此外，在失血量不可预测的外科手术中，当失血最少时可少量使用局部止血剂，并且在严重出血期间可更充分地使用局部止血剂。

[0014] 许多局部止血剂目前可用于外科手术。它们可分为两类：以生物活性方式提供其对凝血级联的作用机制的那些和通过接触活化和促进血小板聚集而被动作用的那些。被动局部止血剂包括胶原、纤维素和明胶，而活性剂包括凝血酶和其中凝血酶与被动剂组合以提供活性总体产品的产品。

[0015] US 2003/0064109描述了一种通过包括以下步骤的方法制备的干止血粉末：提供包含与至少一种再水化助剂组合的明胶的水溶液；干燥该溶液以产生固体；研磨固体以产生粉末；交联粉末；除去至少50％(w/w)的再水化助剂；以及干燥交联明胶以产生粉末。再水化助剂可包括选自聚乙二醇(PEG)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和葡聚糖的至少一种材料。

[0016] US 2012/0021058描述了一种用于制备止血组合物的方法，所述方法包括：a)提供生物相容性聚合物的干颗粒制剂；以及b)用凝血诱导剂制剂(诸如凝血酶溶液)对所述干颗粒制剂中的颗粒进行包衣。生物相容性聚合物可选自明胶、可溶性胶原、白蛋白、血红蛋白、纤维蛋白原、纤维蛋白、酪蛋白、纤连蛋白、弹性蛋白、角蛋白、层粘连蛋白、以及它们的衍生物或组合。

[0017] US 2013/0316974描述了一种包含压实的ORC粉末的止血材料，该压实的ORC粉末包含平均长宽比为约1至约18的颗粒。止血材料还可包含选自多糖、钙盐、抗感染剂、止血促进剂、明胶、胶原蛋白的添加剂。

[0018] US 2016/0271228描述了一种止血组合物，该止血组合物包含：

[0019] ●颗粒形式的止血生物相容性聚合物，该止血生物相容性聚合物选自蛋白质、多糖、生物聚合物、非生物聚合物、以及它们的衍生物和组合，其中颗粒形式的止血生物相容性聚合物作为中值直径范围为50μm至700μm的粒状颗粒存在；

[0020] ●一种包含亲电子反应性基团的亲水性交联剂，其中亲电子反应性基团保持它们的反应性直至组合物暴露于患者的血压，其中亲电子反应性基团被构造成与患者的血液蛋白交联以形成具有密封和止血特性的凝胶；和

[0021] ●不与该一种亲水性交联剂的亲电子反应性基团反应的粘合剂；其中止血组合物为糊剂形式。

[0022] WO 2012/057628描述了一种用于生产生物相容性交联聚合物的试剂盒，所述试剂盒包含亲电活化的聚噁唑啉(EL-POx)，所述EL-POX包含m个亲电子基团；并且所述亲核交联剂包含n个亲核基团，其中m个亲电子基团能够与n个亲核基团反应以形成共价键；其中m>2，n>2且m+n>5；其中m个亲电子基团中的至少一个亲电子基团为亲电子侧基。

[0023] WO 2016/056901描述了一种选自包衣网、包衣泡沫或包衣粉末的粘附性止血产品，所述止血产品包含：

[0024] ●具有至少5体积％的孔隙度并且包括外表面的多孔固体基底，该外表面包括含有反应性亲核基团的亲核聚合物；

[0025] ●覆盖至少一部分固体基底的粘合剂涂层，所述涂层包含亲电活化的聚噁唑啉(EL-POX)，所述EL-POX平均含有至少一个反应性亲电子基团。

[0026] US 2016/0375202描述了一种用于挤出止血粉末的装置，该装置包括：

[0027] a)细长中空贮存器，所述贮存器具有附接到所述贮存器的手动空气泵和在所述贮存器的远侧端部处的挤出端口，

[0028] b)多孔过滤器，所述多孔过滤器以能够滑动的方式设置在所述贮存器内、在所述空气泵和所述挤出端口之间；

[0029] c)弹簧，所述弹簧设置在所述贮存器内、在所述空气泵和所述过滤器之间；

[0030] 其中所述粉末被设置在所述贮存器内、在所述过滤器和所述挤出端口之间，并且所述泵通过所述多孔过滤器并通过所述粉末与所述挤出端口流体连通。

发明内容

[0031] 本发明人已开发了一种生物可吸收性密封粉末，该生物可吸收性密封粉末可方便地用于在手术期间控制出血和/或提供保护性密封。

[0032] 本发明的密封粉末包含：

[0033] (a)至少5重量％的携带至少3个反应性亲电子基团的水溶性亲电子聚合物，该反应性亲电子基团能够与胺基团反应形成共价键；

[0034] (b)1重量％至50重量％的携带至少2个反应性亲核基团的水溶性亲核交联剂，该反应性亲核基团在水的存在下能够与亲电子聚合物的反应性亲电子基团反应，在亲电子聚合物与亲核交联剂之间形成共价键；

[0035] (c)1重量％至60重量％的吸水性颗粒，该吸水性颗粒含有按所述吸水性颗粒的重量计至少50％的水不溶性聚合物，该水不溶性聚合物含有选自胺基团、硫醇基团以及它们的组合的反应性亲核基团；

[0036] (d)10重量％至75重量％的在20℃下为固体的水溶性分散剂，所述水溶性分散剂选自单糖、二糖、低聚糖、糖醇以及它们的组合；

[0037] 其中组分(a)、(b)、(c)和(d)的组合占密封粉末的至少60重量％；

[0038] 其中密封粉末具有在0.3g/ml至0.9g/ml范围内的振实密度；

[0039] 其中至少90重量％的粉末具有小于600μm的直径，并且不超过10重量％的粉末具有小于10μm的直径；并且

[0040] 其中组分(a)、(b)、(c)和(d)可以包含在相同颗粒中或不同颗粒中。

[0041] 当施用到湿组织上时，本发明的密封粉末快速形成粘附到组织上的水凝胶形式的密封。密封粉末可适当地用于提供对例如肺气漏的有效密封。另外，密封粉末具有优异的止血能力，这是因为它能够吸收大量血液，形成封闭出血部位的强胶凝血块。

[0042] 本发明的密封粉末可以容易地分布在组织上。如果需要，可施用额外的密封粉末以形成粘附到水凝胶下层的额外的密封层。

[0043] 尽管本发明人不希望受理论的束缚，但据信当将一层止血粉末施用到湿组织上时，水溶性亲电子聚合物和水溶性亲核聚合物快速溶解。溶解的亲电子聚合物与溶解的水溶性亲核聚合物的反应性亲核基团反应，形成其中夹带有吸水性颗粒的水凝胶。这些吸水性颗粒由于它们的溶胀能力而提供吸湿能力。溶解的亲电子聚合物还与组织中的蛋白质反应，从而将水凝胶固定到组织上。此外，溶解的亲电子聚合物与血液中的蛋白质反应，从而产生胶凝的血块。

[0044] 本发明的密封粉末中的水溶性分散剂确保当密封粉末与水分接触时密封粉末的其它组分快速且均匀地分散。此外，包含水溶性分散剂使得能够制备由颗粒组成的密封粉末，该颗粒具有足够高的密度以使得能够借助于气流(例如，由波纹管产生的气流)将粉末精确地施用到组织上。

[0045] 令人惊奇的是，在将密封粉末施用到湿组织上之后，可以适当地用盐水浸泡的湿纱布垫挤压，因为纱布垫不粘到胶凝的/胶凝密封粉末上。

[0046] 本发明的另一个方面涉及一种制备本发明的生物可吸收性密封粉末的方法，该方法包括以下步骤：

[0047] (a)提供包含亲电子聚合物和水溶性分散剂的颗粒A；

[0048] (b)提供包含亲核交联剂、吸水性颗粒和水溶性分散剂的颗粒B；

[0049] (c)组合颗粒A和颗粒B。

[0050] 本发明的另一方面涉及一种用于粉末施用的装置，该装置包括：

[0051] ●容纳本发明的生物可吸收性密封粉末的贮存器；

[0052] ●具有近侧端部和远侧端部的细长中空管状结构，该远侧端部具有粉末出口，该近侧端部连接到该贮存器；

[0053] ●手动空气泵，优选地为球或波纹管，该手动空气泵被布置成产生气流，该气流将粉末从该贮存器经由该细长中空管状结构运送通过该粉末出口。

[0054] 本发明的另一方面涉及一种生物相容性柔性止血片材，该止血片材包含：

[0055] ●包含三维互连间隙空间的内聚性纤维载体结构；和

[0056] ●本发明的生物可吸收性密封粉末；

[0057] 其中该密封粉末分布在该间隙空间内和/或固定到该纤维载体结构上。

[0058] 本发明还涉及一种用于制备生物可吸收性密封悬浮液的试剂盒，所述试剂盒包括：

[0059] ●包含生物相容性液体的第一容器或隔室；和

[0060] ●包含本发明的生物可吸收性密封粉末的第二容器或隔室。

[0061] 本发明的又一个方面涉及一种生物可吸收性密封悬浮液，该密封悬浮液包含：

[0062] ●生物相容性连续液体非水相；和

[0063] ●包含本发明的生物可吸收性密封粉末的分散相。

具体实施方式

[0064] 因此，本发明的第一方面涉及一种生物可吸收性密封粉末，该密封粉末包含：

[0065] (a)至少5重量％的携带至少3个反应性亲电子基团的水溶性亲电子聚合物，该反应性亲电子基团能够与胺基团反应形成共价键；

[0066] (b)1重量%至50重量%的携带至少2个反应性亲核基团的水溶性亲核交联剂，该反应性亲核基团在水的存在下能够与亲电子聚合物的反应性亲电子基团反应，在亲电子聚合物与亲核交联剂之间形成共价键；

[0067] (c)1重量%至60重量%的吸水性颗粒，该吸水性颗粒含有按所述吸水性颗粒的重量计至少50%的水不溶性聚合物，该水不溶性聚合物含有选自胺基团、硫醇基团以及它们的组合的反应性亲核基团；

[0068] (d)10重量%至75重量%的在20℃下为固体的水溶性分散剂，所述水溶性分散剂选自单糖、二糖、低聚糖、糖醇以及它们的组合；

[0069] 其中组分(a)、(b)、(c)和(d)的组合占密封粉末的至少60重量%；

[0070] 其中密封粉末具有在0.3g/ml至0.9g/ml范围内的振实密度；

[0071] 其中至少90重量%的粉末具有小于600μm的直径，并且不超过10重量%的粉末具有小于10μm的直径；并且

[0072] 其中组分(a)、(b)、(c)和(d)可以包含在相同颗粒中或不同颗粒中。

[0073] 如本文所用，术语“生物可吸收性密封粉末”是指密封粉末的所有组分都被身体再吸收。密封粉末的一些组分，特别是聚合物组分，在被再吸收之前在体内逐渐降解。

[0074] 如本文所用，术语“水溶性亲电子聚合物”是指在20℃、pH 7的去矿物质中具有至少50g/L的溶解度的亲电子聚合物。为了测定亲核聚合物在不同pH下的水溶性，使用盐酸调节去矿物质的pH。

[0075] 如本文所用，术语“聚噁唑啉”是指聚(N-酰基亚烷基亚胺)或聚(芳酰基亚烷基亚胺)，并且还称为POx。POx的示例为聚(2-乙基-2-噁唑啉)。术语“聚噁唑啉”还包括POx共聚物。

[0076] 如本文所用，术语“水溶性亲核交联剂”是指在20℃、pH 7的去矿物质中具有至少50g/L的溶解度的亲核交联剂。为了测定亲核交联剂在不同pH下的水溶性，使用盐酸调节去矿物质的pH。

[0077] 除非另有说明，如本文所用，术语“蛋白质”还包括交联蛋白质和水解蛋白质。同样，除非另有说明，否则无论何时提及特定的蛋白质种类，诸如明胶或胶原，也包括该蛋白质种类的水解和交联形式。

[0078] 如本文所用，术语“胶原”是指动物体内各种结缔组织的细胞外间隙中的主要结构蛋白。胶原形成三条多肽链的特征性三重螺旋体。根据矿化程度，胶原组织可以是刚性的(骨)或顺应性的(腱)，或者具有从刚性到顺应性的梯度(软骨)。除非另有说明，术语“胶原”还包括除明胶以外的改性胶原(例如交联胶原)。

[0079] 如本文所用，术语“明胶”是指通过部分水解从动物诸如家养牛、鸡、猪和鱼的皮肤、骨和结缔组织中提取的胶原而产生的肽和蛋白质的混合物。在水解过程中，单个胶原链之间的天然分子键被分解成更容易重排的形式。如本文所用，术语“明胶”还包括改性明胶，如交联明胶和还原交联明胶。

[0080] 如本文所用，术语“还原交联明胶”是指已部分水解的交联明胶。交联明胶中肽键的部分水解可通过例如碱处理来实现。交联明胶的水解导致游离羧基基团和游离胺基团的密度增加。

[0081] 除非另有说明，否则如本文所用，术语“明胶海绵”是指具有海绵状结构的交联明

胶材料。

[0082] 术语“含有反应性亲核基团的水不溶性聚合物”是指在20℃、pH 7的去矿物质中具有小于5g/L的溶解度的含有反应性亲核基团的聚合物。为了测定水溶性聚合物在不同pH下的水溶性，使用盐酸调节去矿物质的pH。

[0083] 除非另有说明，则否如本文所用，术语“止血片材”是指具有阻止受损组织出血的能力的片材。本发明的止血片材可以通过使血液变成凝胶和/或通过形成封闭伤口部位的密封来实现止血。

[0084] 如本文所用，与纤维载体结构相关的术语“耐水的”是指该结构不是水溶性的，并且在中性pH条件(pH 7)和37℃的温度下在水中不崩解形成胶态分散体。

[0085] 如本文所用，术语“间隙空间”是指纤维载体结构内的空隙(“空”)空间。纤维载体结构内的间隙空间允许将止血粉末引入该结构中。血液和其它体液也可以进入间隙空间，从而允许止血粉末发挥其止血效果和/或提供对止血片材的组织粘附性。

[0086] 如本文所用，术语“振实密度”是指通过用250mL粉末小心地填充带刻度的量筒(250mL，内径37mm)，随后机械地轻敲量筒直至观察不到进一步的体积减小而获得的密度。振实密度计算为质量除以粉末的最终体积。

[0087] 除非另有说明，否则如本文所用，术语“颗粒”包括由单个均匀颗粒组成的颗粒以及亚颗粒的附聚物两者。附聚物可通过本领域已知的制粒技术制备，诸如湿法制粒。

[0088] 除非另有说明，否则如本文所用，术语“液体”是指在20℃的温度和1个大气压下的液体。

[0089] 密封粉末的直径分布和密封粉末的颗粒成分的直径分布可以适当地通过激光衍射使用Malvern Mastersizer 2000结合不锈钢样品分散单元来确定。用约120ml环己烷/乙醚(1:1v/v)填充样品分散单元，将其在1800rpm的搅拌速度下稳定5分钟至10分钟，随后进行背景测量(Blanc测量)。摇动样品管并水平转动20次。接着，将约50mg分散在含有环己烷的样品分散单元中。在将样品引入分散单元之后，在进行测量之前，将样品在1800rpm下搅拌1.5分钟以确保所有颗粒适当地分散。对分散的颗粒不进行超声波处理。平均粒度表示为D[4,3]，即体积加权平均直径($\Sigma niDi^4$)/($\Sigma niDi^3$)。

[0090] 除了组分(a)、(b)、(c)和(d)之外，本发明的密封粉末还可以适当地含有一种或多种其它组分，诸如表面活性剂、缓冲剂和/或多糖。优选地，组分(a)、(b)、(c)和(d)的组合占密封粉末的至少80重量%，最优选至少90重量%。

[0091] 密封粉末优选地具有在0.25g/ml至0.8g/ml，更优选0.3g/ml至0.6g/ml范围内的振实密度。

[0092] 根据另一个优选的实施方案，至少90重量%的密封粉末具有小于500μm的直径，并且不超过10重量%的密封粉末具有小于20μm的直径。更优选地，至少90重量%的密封粉末具有小于400μm的直径，并且不超过10重量%的密封粉末具有小于40μm的直径。

[0093] 优选地，至少50重量%的密封粉末具有在65μm至300μm的范围内，更优选在80μm至280μm的范围内，最优选在100μm至200μm的范围内的直径。

[0094] 密封粉末优选地具有在65μm至300μm，更优选80μm至250μm，并且最优选125μm至180μm范围内的体积加权平均直径(D[4,3])。

[0095] 包含在本发明的密封粉末中的水溶性亲电子聚合物优选地选自亲电子聚噁唑啉、

亲电子聚乙二醇以及它们的组合。

[0096] 优选地，密封粉末含有10重量％至50重量％，更优选20重量％至30重量％的水溶性亲电子聚合物。

[0097] 水溶性亲电子聚合物在20℃、pH 3-7的去矿物质中的溶解度优选地为至少100g/L，更优选至少200g/L。

[0098] 水溶性亲电子聚合物在20℃下在丙酮中的溶解度优选地小于10mg/L，更优选小于5mg/L，并且最优选小于1mg/L。

[0099] 水溶性亲电子聚合物优选地具有至少2kDa的分子量。更优选地，亲电子聚合物的分子量为5kDa至200kDa，最优选地为10kDa至100kDa。

[0100] 水溶性亲电子聚合物和水溶性亲核交联剂优选地组合在本发明的密封粉末中，其中亲电子聚合物之间的交联反应最少，并且亲电子聚合物的降解最少。因此，在本发明的一个非常优选的实施方案中，密封粉末中的水溶性亲电子聚合物具有小于2.0，更优选小于1.8，并且最优选小于1.5的多分散指数(PDI)。

[0101] 水溶性亲电子聚合物优选地含有至少4个反应性亲电子基团，更优选至少8个反应性亲电子基团，甚至更优选至少16个反应性亲电子基团，并且最优选至少32个反应性亲电子基团。

[0102] 水溶性亲电子聚合物通常平均携带至少10个，更优选至少20个反应性亲电子基团。

[0103] 根据一个特别优选的实施方案，亲电子聚合物是亲电子聚噁唑啉。

[0104] 亲电子聚噁唑啉优选地衍生自其重复单元由下式(I)表示的聚噁唑啉：

[0105] $(CHR^1)_mNCOR^2$

[0106] 其中R^2和R^1各自独立地选自H、任选取代的C_{1-22}烷基、任选取代的环烷基、任选取代的芳烷基、任选取代的芳基；并且m为2或3。

[0107] 优选地，式(I)中的R^1和R^2选自H和C_{1-8}烷基，甚至更优选地选自H和C_{1-4}烷基。R^1最优选地为H。式(I)中的整数m优选地等于2。

[0108] 根据一个优选的实施方案，聚噁唑啉是聚合物，甚至更优选2-烷基-2-噁唑啉的均聚物，所述2-烷基-2-噁唑啉选自2-甲基-2-噁唑啉、2-乙基-2-噁唑啉、2-丙基-2-噁唑啉、2-丁基-2-噁唑啉以及它们的组合。优选地，聚噁唑啉是2-丙基-2-噁唑啉或2-乙基-噁唑啉的均聚物。最优选地，聚噁唑啉是2-乙基-噁唑啉的均聚物。

[0109] 根据一个特别优选的实施方案，亲电子聚噁唑啉包含至少20个噁唑啉单元，更优选至少30个噁唑啉单元，最优选至少80个噁唑啉单元。

[0110] 亲电子聚噁唑啉优选地每噁唑啉残基平均包含至少0.05个反应性亲电子基团。甚至更优选地，亲电子聚噁唑啉每噁唑啉残基平均包含至少0.1个反应性亲电子基团。最优选地，亲电子聚噁唑啉每噁唑啉残基平均包含0.12至0.5个反应性亲电子基团。

[0111] 聚噁唑啉可在其侧链(活性亲电子侧基)、在其末端或在这两个位置携带活性亲电子基团。根据本发明采用的亲电子聚噁唑啉有利地含有一个或多个反应性亲电子侧基。

[0112] 通常，亲电子聚噁唑啉每单体含有0.03至0.5个反应性亲电子侧基，更优选每单体含有0.04至0.35个反应性亲电子侧基，甚至更优选每单体含有0.05至0.25个反应性亲电子侧基。

[0113] 根据优选的实施方案，亲电子聚噁唑啉的反应性亲电子基团选自羧酸酯、磺酸酯、膦酸酯、五氟苯基酯、对硝基苯酯、对硝基苯硫基酯、酰卤基团、酸酐、酮、醛、异氰酸根、硫代异氰酸根、异氰基、环氧化物、活化羟基、烯烃、缩水甘油醚、羧基、琥珀酰亚胺酯、磺基琥珀酰亚胺酯、马来酰亚胺(马来酰亚胺基)、乙烯磺酰基、酰亚胺酯、乙酰乙酸酯、卤代缩醛、邻吡啶基二硫醚、二羟基苯衍生物、乙烯基、丙烯酸酯、丙烯酰胺、碘乙酰胺以及它们的组合。更优选地，反应性亲电子基团选自羧酸酯、磺酸酯、膦酸酯、五氟苯基酯、对硝基苯酯、对硝基硫苯基酯、酰卤基团、酸酐、酮、醛、异氰酸根、硫代异氰酸根、异氰基、环氧化物、活化羟基、缩水甘油醚、羧基、琥珀酰亚胺酯、磺基琥珀酰亚胺酯、亚氨酸酯、二羟苯基衍生物以及它们的组合。甚至更优选地，反应性亲电子基团选自卤代缩醛、邻吡啶基二硫化物、马来酰亚胺、乙烯基砜、二羟基苯基衍生物、乙烯基、丙烯酸酯、丙烯酰胺、碘乙酰胺、琥珀酰亚胺酯以及它们的组合。最优选地，反应性亲电子基团选自马来酰亚胺、乙烯基、丙烯酸酯、丙烯酰胺、琥珀酰亚胺酯、磺基琥珀酰亚胺酯以及它们的组合。

[0114] 可被采用的琥珀酰亚胺酯的示例包括琥珀酰亚胺基戊二酸酯、琥珀酰亚胺基丙酸酯、琥珀酰亚胺基琥珀酰胺、琥珀酰亚胺基碳酸酯、二琥珀酰亚胺基辛二酸酯、双(磺基琥珀酰亚胺基)辛二酸酯、二硫代双(琥珀酰亚胺基丙酸酯)、双(2-琥珀酰亚胺氧基羰氧基)乙基砜、3,3'-二硫代双(磺基琥珀酰亚胺基-丙酸酯)、琥珀酰亚胺基氨基甲酸酯、磺基琥珀酰亚胺基(4-碘乙酰基)氨基苯甲酸酯、双(磺基琥珀酰亚胺基)辛二酸酯、磺基琥珀酰亚胺基-4-(N-马来酰亚胺甲基)-环己烷-基-羧酸酯、二硫代双-磺基琥珀酰亚胺基丙酸酯、二磺基琥珀酰亚胺基酒石酸酯;双[2-(磺基琥珀酰亚胺氧基羰氧基乙基砜)]、乙二醇双(磺基琥珀酰亚胺基琥珀酸酯)、二硫代双(琥珀酰亚胺基丙酸酯)。

[0115] 可被采用的二羟基苯基衍生物的示例包括二羟基苯丙氨酸、3,4-二羟基苯丙氨酸(DOPA)、多巴胺、3,4-二羟基氢化肉桂酸(DOHA)、去甲肾上腺素、肾上腺素和儿茶酚。

[0116] 在本发明的密封粉末中采用的水溶性亲核交联剂优选地选自亲核聚噁唑啉、亲核聚乙二醇、聚乙烯亚胺、蛋白质以及它们的组合。更优选地，亲核交联剂选自亲核聚噁唑啉、亲核聚乙二醇以及它们的组合。最优选地，亲核交联剂是亲核聚噁唑啉。

[0117] 水溶性亲核交联剂优选地含有至少3个反应性亲核基团，更优选至少4个反应性亲核基团，甚至更优选至少8个反应性亲核基团，并且最优选至少10个反应性亲核基团。最优选地，这些反应性亲核基团是胺基团，最优选伯胺基团。

[0118] 根据本发明的实施方案，水溶性亲核交联剂是亲核聚乙二醇(PEG)。优选地，亲核PEG含有至少3个，更优选至少5个，并且最优选8个反应性亲核基团。

[0119] 根据一个特别优选的实施方案，亲核交联剂是亲核聚噁唑啉。优选地，亲核聚噁唑啉含有至少3个，更优选至少5个，并且最优选8至20个反应性亲核基团。

[0120] 优选地，亲核聚噁唑啉每噁唑啉残基平均包含至少0.1个反应性亲核基团。最优选地，亲核聚噁唑啉每噁唑啉残基平均包含0.12个至0.5个反应性亲核基团。

[0121] 优选地，密封粉末含有1.5重量％至35重量％，更优选2重量％至20重量％，最优选3重量％至10重量％的水溶性亲核交联剂。

[0122] 水溶性亲核交联剂在20℃、pH 7的去矿物质中的溶解度优选地为至少100g/L，更优选至少200g/L。

[0123] 水溶性亲核交联剂在20℃下在丙酮中的溶解度优选地小于10mg/L，更优选小于

5mg/L,并且最优选小于1mg/L。

[0124] 根据一个特别优选的实施方案,水溶性亲核交联剂相对缓慢地溶解于水中。据信,当水溶性亲电子聚合物与水溶性亲核交联剂以相对慢的速率反应时,亲电子聚合物也可与出血部位处的血液和组织中的蛋白质反应。通过使用相对缓慢溶解的水溶性亲核交联剂,溶解的亲电子聚合物有机会与血液和组织中的蛋白质以及与(缓慢)水溶性亲核交联剂反应,从而产生强的均匀密封凝胶。

[0125] 具有高分子量的水溶性亲核交联剂倾向于相对缓慢地溶解于水中。因此,在一个非常优选的实施方案中,水溶性亲核交联剂具有至少3kDa,更优选至少10kDa,并且最优选20kDa至3000kDa的分子量。

[0126] 如果水溶性亲电子聚合物在与亲核基团反应时释放酸性物质,则本发明可适当地使用在酸性pH下可溶的水溶性亲核交联剂。例如,当亲电子聚合物含有N-羟基琥珀酰亚胺基团时就是这种情况。

[0127] 根据一个优选的实施方案,水溶性亲核交联剂含有两个或更多个胺基团,并且水溶性亲电子聚合物的反应性亲电子基团选自羧酸酯、磺酸酯、膦酸酯、五氟苯基酯、对硝基苯酯、对硝基硫苯基酯、酰卤基团、酸酐、酮、醛、异氰酸根、硫代异氰酸根、异氰基、环氧化物、活化羟基、缩水甘油醚、羧基、琥珀酰亚胺酯、磺基琥珀酰亚胺酯、亚氨酸酯、二羟苯基衍生物以及它们的组合。

[0128] 根据另一个优选的实施方案,水溶性亲核交联剂含有两个或更多个硫醇基团,并且水溶性亲电子聚合物的反应性亲电子基团选自卤代缩醛、邻吡啶基二硫化物、马来酰亚胺、乙烯基砜、二羟基苯基衍生物、乙烯基、丙烯酸酯、丙烯酰胺、碘乙酰胺、琥珀酰亚胺酯、磺基琥珀酰亚胺酯以及它们的组合。更优选地,反应性亲电子基团选自琥珀酰亚胺酯、磺基琥珀酰亚胺酯、卤代缩醛、马来酰亚胺或二羟基苯基衍生物以及它们的组合。最优选地,反应性亲电子基团选自马来酰亚胺或二羟基苯基衍生物以及它们的组合。

[0129] 水溶性亲电子聚合物和水溶性亲核交联剂的组合优选地占密封粉末的至少20重量%,更优选20重量%至60重量%,并且最优选25重量%至35重量%。

[0130] 由水溶性亲电子聚合物提供的反应性亲电子基团的总数与由水溶性亲核交联剂提供的反应性亲核基团的总数之间的比率优选地在1:0.05至1:0.4的范围内,更优选在1:0.1至1:0.3的范围内,并且最优选在1:0.15至1:0.25的范围内。

[0131] 本发明的生物可吸收性密封粉末优选地含有10重量%至60重量%,更优选12重量%至40重量%,最优选15重量%至30重量%的含有水不溶性聚合物的吸水性颗粒,该水不溶性聚合物含有反应性亲核基团。

[0132] 根据一个特别优选的实施方案,吸水性颗粒是耐水的,这意味着这些颗粒不是水溶性的并且在中性pH条件(pH 7)和37℃的温度下在水中不崩解形成胶态分散体。明胶海绵颗粒可适当地用作根据本发明的吸水性颗粒。

[0133] 吸水性颗粒优选地含有按所述吸水性颗粒的重量计至少50%,更优选至少70%的水不溶性聚合物,该水不溶性聚合物含有选自胺基团、硫醇基团以及它们的组合的反应性亲核基团。

[0134] 根据一个特别优选的实施方案,吸水性颗粒含有按所述吸水性颗粒的重量计至少10重量%,更优选至少15重量%的水不溶性聚合物,该水不溶性聚合物含有反应性胺基团。

[0135] 含有反应性亲核基团的水不溶性聚合物优选地在20℃、pH 7的去矿物质中具有小于3g/L,更优选小于2g/L的水溶解度。

[0136] 含有反应性亲核基团的水不溶性聚合物在20℃下在丙酮中的溶解度优选地小于10mg/L,更优选小于5mg/L,并且最优选小于1mg/L。

[0137] 包含在吸水性颗粒中的含有反应性亲核基团的水不溶性聚合物优选地选自蛋白质、脱乙酰壳多糖以及它们的组合。最优选地,含有反应性亲核基团的水不溶性聚合物是蛋白质。

[0138] 脱乙酰壳多糖是一种天然存在的物质,即甲壳质(聚-N-乙酰基-D-葡糖胺)的生物可降解、无毒的络合碳水化合物。脱乙酰壳多糖是甲壳质的脱乙酰化形式。根据本发明施用的脱乙酰壳多糖优选地具有大于50%的脱乙酰度。根据本发明采用的脱乙酰壳多糖优选地具有至少5kDa,更优选10kDa至10,000kDa的分子量。

[0139] 可被采用的蛋白质的示例包括明胶、交联明胶、胶原以及它们的组合。更优选地,含有反应性亲核基团的水不溶性聚合物是交联明胶。

[0140] 交联明胶优选地具有在30kDa至3,000kDa的范围内,更优选在400kDa至2000kDa的范围内,最优选在500kDa至1,500kDa的范围内的分子量。

[0141] 交联明胶的平均伯胺含量优选在每μg还原的交联明胶5×10^{-4}μmol至2×10^{-2}μmol,更优选1.0×10^{-3}μmol至1.0×10^{-2}μmol伯胺的范围内。

[0142] 在本发明的密封粉末中采用的吸水性颗粒优选地具有至少10μm,更优选在20μm至250μm的范围内,最优选在25μm至180μm的范围内的体积加权平均直径(D[4,3])。

[0143] 吸水性颗粒的吸水能力为每克吸水性颗粒至少0.2克水,更优选每克吸水性颗粒0.5克至3克水,并且最优选每克吸水性颗粒0.8克至2克水。吸水能力可适当地通过重量分析测定。

[0144] 本发明的密封粉末中所含的水溶性分散剂优选地选自蔗糖、海藻糖、乳糖、麦芽糖醇、甘露糖醇、山梨糖醇、木糖醇、环糊精、麦芽糖糊精、葡聚糖以及它们的组合,更优选地水溶性分散剂选自蔗糖、海藻糖、甘露糖醇以及它们的组合。

[0145] 水溶性分散剂优选地具有高于30℃的玻璃化转变温度,更优选50℃至200℃的玻璃化转变温度,最优选75℃至95℃的玻璃化转变温度。

[0146] 优选地,密封粉末含有25重量%至70重量%,更优选30重量%至65重量%,并且最优选40重量%至60重量%的水溶性分散剂。

[0147] 在一个优选的实施方案中,密封粉末含有至少30重量%,更优选至少35重量%,并且最优选至少40重量%的含有组分(a)和(d)两者的颗粒。

[0148] 根据另一个优选的实施方案,密封粉末含有至少20重量%,更优选至少30重量%,并且最优选至少40重量%的包含组分(b)和(d)两者的颗粒。

[0149] 根据一个特别优选的实施方案,密封粉末含有至少20重量%,更优选至少30重量%,并且最优选至少40重量%的包含组分(b)、(c)和(d)两者的颗粒。

[0150] 本发明的密封粉末可以由具有相同组成的颗粒组成,或者它可以是不同颗粒的混合物。不同颗粒的混合物的示例包括:

[0151] (a)(i)仅含有组分(a)和(d)的颗粒和(ii)仅含有组分(b)、(c)和(d)的颗粒的混合物

[0152] (b)i)仅含有组分(a)和(d)的颗粒、(ii)仅含有组分(b)和(d)的颗粒和(iii)仅含有组分(c)和(d)的颗粒的混合物。

[0153] 这里,术语“仅”用于表示除了所述组分之外,颗粒不包含密封粉末的任何其它组分(a)至(d)。

[0154] 在密封粉末由不同颗粒的混合物组成的情况下,粉末优选地包含30重量%至70重量%的仅包含组分(a)和(d)的颗粒和30重量%至70重量%的仅包含组分(b)、(c)和(d)的颗粒。更优选地,密封粉末包含40重量%至60重量%的仅含有组分(a)和(d)的颗粒和40重量%至60重量%的仅含有组分(b)、(c)和(d)的颗粒。

[0155] 优选地,仅包含组分(a)和(d)的颗粒和仅包含组分(b)、(c)和(d)的颗粒一起构成密封粉末的至少60重量%,更优选至少80重量%,并且最优选至少90重量%。

[0156] 在一个特别优选的实施方案中,本发明的密封粉末含有至少60重量%,更优选至少80重量%,并且最优选至少90重量%的含有组分(a)、(b)、(c)和(d)中的每一者的颗粒。此类颗粒可以例如通过将上述不同颗粒的混合物的制粒来制备。

[0157] 根据另一个特别优选的实施方案,密封粉末含有至少50重量%,更优选至少70重量%,并且最优选至少80重量%的以仅包含组分(a)和(d)的亚颗粒A和仅包含组分(b)、(c)和(d)的亚颗粒B的附聚物形式的含有组分(a)、(b)、(c)和(d)中的每一者的颗粒。更优选地,亚颗粒A和B的附聚物含有20重量%至80重量%的亚颗粒A和20重量%至80重量%的亚颗粒B。更优选地,亚颗粒A和B的附聚物含有40重量%至60重量%的亚颗粒A和40重量%至60重量%的亚颗粒B。

[0158] 优选地,密封粉末的颗粒包含0.05重量%至5重量%,更优选0.1重量%至2重量%的熔点为30℃或更高的表面活性剂。

[0159] 在一个优选实施方案中,表面活性剂选自嵌段共聚物表面活性剂、聚氧乙烯硬脂酸酯、十二烷基硫酸钠以及它们的组合,更优选泊洛沙姆,最优选泊洛沙姆188或泊洛沙姆407。

[0160] 根据另一个优选的实施方案,表面活性剂包含在另外含有组分(b)和(d)的颗粒中,更优选包含在另外含有组分(b)、(c)和(d)的颗粒中,最优选包含在另外含有组分(a)、(b)、(c)和(d)的颗粒中。

[0161] 本发明的另一个方面涉及一种治疗伤口或减少出血部位处的出血的方法,该方法包括向伤口或出血部位局部施用根据本发明的密封粉末。

[0162] 优选地,在本发明的治疗方法中,粉末以5mg/cm^2至250mg/cm^2的量,更优选以20mg/cm^2至200mg/cm^2的量,最优选以50mg/cm^2至125mg/cm^2的量局部施用。

[0163] 本发明的方法特别适用于a)选自轻微擦伤、切口、刮伤、刮痕、烧伤、晒伤、溃疡、内部静脉出血、外部静脉出血的伤口,和b)选自胃肠手术、对实质器官的手术的外科干预;耳鼻喉科(ENT)外科干预、心血管外科手术、美容外科手术、脊柱外科手术、神经外科手术;淋巴管、胆管和脑脊液(CSF)瘘管、胸腔和肺部外科手术、胸腔外科手术、骨科外科手术期间的漏气;妇科外科手术;血管外科手术和紧急外科手术、肝脏切除和软组织损伤或外科手术。

[0164] 本发明的另一方面涉及一种制备本发明的生物可吸收性密封粉末的方法,该方法包括以下步骤:

[0165] (a)提供包含水溶性亲电子聚合物和水溶性分散剂的颗粒A;

[0166] (b)提供包含水溶性亲核交联剂、吸水性颗粒和水溶性分散剂的颗粒B；

[0167] (c)组合颗粒A和颗粒B。

[0168] 在本发明的制备方法中，有效避免了一方面水溶性亲电子聚合物与另一方面水溶性亲核交联剂和含有反应性亲核基团的水不溶性聚合物之间的过早交联反应。

[0169] 颗粒A优选地含有20重量％至90重量％的水溶性亲电子聚合物和10重量％至80重量％的水溶性分散剂。更优选地，颗粒A含有30重量％至70重量％的水溶性亲电子聚合物和30重量％至70重量％的水溶性分散剂。最优选地，含有40重量％至60重量％的水溶性亲电子聚合物和40重量％至60重量％的水溶性分散剂。

[0170] 水溶性亲电子聚合物和水溶性分散剂一起优选地占颗粒A的至少60重量％，更优选至少80重量％，并且最优选至少90重量％。

[0171] 颗粒A优选地通过水溶性亲电子聚合物颗粒和水溶性分散剂颗粒的附聚而制备。附聚优选地通过湿法制粒来实现。

[0172] 颗粒B优选地含有5重量％至20重量％的水溶性亲核交联剂、25重量％至60重量％的吸水性颗粒和30重量％至70重量％的水溶性分散剂。更优选地，颗粒B含有6重量％至18重量％的水溶性亲核交联剂、30重量％至50重量％的吸水性颗粒和35重量％至65重量％的水溶性分散剂。最优选地，颗粒B含有8重量％至15重量％的水溶性亲核交联剂、35重量％至45重量％的吸水性颗粒和40重量％至60重量％的水溶性分散剂。

[0173] 水溶性亲核交联剂、吸水性颗粒和水溶性分散剂一起优选地占颗粒B的至少60重量％，更优选至少80重量％，并且最优选至少90重量％。

[0174] 颗粒B优选地通过水溶性亲核聚合物的颗粒、水不溶性吸收性颗粒的颗粒和水溶性分散剂的颗粒的附聚而制备。附聚优选地通过湿法制粒来实现。

[0175] 颗粒A和B的组合优选地通过简单混合或通过制粒(以形成附聚物)来实现。

[0176] 在通过简单混合来组合颗粒A和B的情况下，颗粒A优选地具有在25μm至300μm的范围内，更优选在80μm至250μm的范围内，最优选在125μm至180μm的范围内的体积加权平均直径(D[4,3])。在简单混合的情况下，颗粒B的体积加权平均直径(D[4,3])优选地在25μm至300μm的范围内，更优选在80μm至250μm的范围内，最优选在125μm至180μm的范围内。

[0177] 优选地，将颗粒A和颗粒B组合成附聚物。根据一个特别优选的实施方案，通过湿法制粒将颗粒A和颗粒B组合成附聚物。更优选地，使用含有至少60重量％的有机溶剂的非水性制粒液体将颗粒A和颗粒B组合成附聚物，该有机溶剂选自丙酮、异丙醇、乙醇、甲醇、乙醚、庚烷、己烷、戊烷、环己烷、二氯甲烷以及它们的混合物。更优选地，非水性制粒液体含有至少60重量％，最优选至少85重量％的选自丙酮、异丙醇、乙醇以及它们的混合物的有机溶剂。甚至更优选地，非水性制粒液体含有至少60重量％，最优选至少85重量％的丙酮。

[0178] 在通过制粒来组合颗粒A和B的情况下，颗粒A优选地具有在10μm至200μm的范围内，更优选在20μm至150μm的范围内，最优选在25μm至120μm的范围内的体积加权平均直径(D[4,3])。在制粒的情况下，颗粒B的体积加权平均直径(D[4,3])优选地在10μm至200μm的范围内，更优选在20μm至150μm的范围内，最优选在25μm至120μm的范围内。

[0179] 非水性制粒液体优选地含有不超过1重量％的水，更优选不超过0.1重量％的水。

[0180] 在组合颗粒A和B的本发明方法中采用的非水性制粒液体的量优选地为颗粒A和颗粒B的组合量的0.5重量％至5重量％。更优选地，所采用的非水性制粒液体的量为颗粒A和

颗粒B的组合量的1重量％至4重量％，最优选1.5重量％至3重量％。

[0181] 本发明的又一方面涉及一种用于粉末施用的装置，该装置包括：

[0182] ●容纳根据本发明的生物可吸收性密封粉末的贮存器；

[0183] ●具有近侧端部和远侧端部的细长中空管状结构，该远侧端部具有粉末出口，该近侧端部连接到该贮存器；

[0184] ●手动空气泵，该手动空气泵附接到该贮存器并且被布置成产生气流，该气流将粉末从该贮存器经由该细长中空管状结构运送通过该粉末出口。

[0185] 根据一个优选的实施方案，该装置包括多孔过滤器，该多孔过滤器被设置在贮存器内、在空气泵和粉末出口之间；并且其中粉末被设置在贮存器内、在过滤器和粉末出口之间，并且其中泵通过多孔过滤器并通过粉末与粉末出口流体连通。过滤器优选地对于容纳在贮存器中的粉末是不可渗透的。

[0186] 优选地，手动空气泵包括波纹管。

[0187] 本发明的密封粉末可以有利地施用于止血片材中以改善其粘合和止血特性。因此，本发明的另一方面涉及一种生物相容性柔性止血片材，该止血片材包含：

[0188] ●包含三维互连间隙空间的内聚性纤维载体结构；和

[0189] ●根据本发明的生物可吸收性密封粉末；

[0190] 其中该密封粉末分布在该间隙空间内和/或固定到该纤维载体结构上。

[0191] 密封粉末可适当地通过粘合剂固定到纤维载体结构上，该粘合剂包括粘结剂，优选地为可熔固体粘结剂。此类粘结剂的示例包括基于聚酯、聚丙烯、丙烯酸或聚乙烯的粉末。

[0192] 根据一个优选的实施方案，密封粉末分布在纤维载体的间隙空间内。

[0193] 止血片材的内聚性纤维载体结构优选地是抗水的。

[0194] 根据一个特别优选的实施方案，本发明的止血片材是生物可吸收性的。载体结构和密封粉末的再吸收通常需要包含在其中的聚合物的化学分解(例如水解)。止血片材被人体的完全吸收通常在1周至10周内实现，优选在2周至8周内实现。

[0195] 本发明的止血片材通常具有0.5mm至25mm的非压缩平均厚度。更优选地，非压缩平均厚度在1mm至10mm的范围内，最优选在1.5mm至5mm的范围内。

[0196] 止血片材的尺寸优选使得片材的顶部和底部各自具有至少2cm^2，更优选至少10cm^2并且最优选25cm^2至50cm^2的表面积。通常，该片材是矩形形状并且具有25mm至200mm的长度、25mm至200mm的宽度。

[0197] 止血片材优选具有小于200mg/cm^3，更优选小于150mg/cm^3，并且最优选10mg/cm^3至100mg/cm^3的非压缩密度。

[0198] 本发明的止血片材优选地是基本上无水的。通常，止血片材具有不超过5重量％，更优选不超过2重量％，并且最优选不超过1重量％的水含量。

[0199] 止血片材的吸水能力优选地为至少50％，更优选在100％至800％的范围内，最优选在200％至500％的范围内。

[0200] 本发明的止血片材优选地是无菌的。

[0201] 在本发明的止血片材中使用纤维载体结构提供的优点是，密封粉末可以毫无困难地均匀分布在整个载体结构中。此类均匀分布在例如发泡载体结构中很难实现。

[0202] 纤维载体结构中的纤维优选地具有1μm至500μm，更优选2μm至300μm，并且最优选5μm至200μm的平均直径。纤维的平均直径可适当地使用显微镜测定。

[0203] 通常，纤维载体结构中至少50重量％，更优选至少80重量％的纤维具有1μm至300μm的直径和至少1mm的长度。

[0204] 优选地，纤维载体结构中至少50重量％，更优选至少80重量％的纤维具有至少1000的纵横比(长度与直径的比率)。

[0205] 根据本发明采用的纤维载体结构优选地是毛毡结构、机织结构或针织结构。最优选地，纤维载体结构是毛毡结构。这里，术语“毛毡结构”是指通过将纤维铺垫和压制在一起以形成粘性材料而产生的结构。

[0206] 纤维载体结构优选地包含至少50重量％，更优选至少80重量％并且最优选至少90重量％的纤维，该纤维含有选自以下的纤维聚合物：明胶、胶原、纤维素、改性纤维素、羧甲基右旋糖苷、乳酸-羟基乙酸共聚物PLGA、透明质酸钠/羧甲基纤维素、聚乙烯醇、脱乙酰壳多糖以及它们的组合。

[0207] 根据一个特别优选的实施方案，纤维载体结构包含至少50重量％，更优选至少80重量％，并且最优选至少90重量％的含有明胶和/或改性纤维素的纤维。优选采用的明胶是交联明胶。优选采用的改性纤维素是氧化纤维素，并且最优选氧化再生纤维素。

[0208] 在另一个优选的实施方案中，该纤维载体结构包含至少50重量％，更优选至少80重量％并且最优选至少90重量％的纤维，该纤维含有至少80重量％的一种或多种上述纤维聚合物。

[0209] 优选的纤维载体结构具有开孔结构，其透气性为至少0.1L/min×cm^2，更优选地为至少0.5L/min×cm^2。透气性根据EN ISO 9237:1995(纺织品-织物透气性的测定)测定。

[0210] 纤维载体结构中的纤维可通过本领域已知的方法生产，诸如静电纺丝、电吹纺丝和高速旋转喷雾器纺丝。在US 2015/0010612中描述了通过高速旋转喷雾器纺丝生产纤维载体结构。还可以使用可商购获得的止血纤维片材作为纤维载体结构。

[0211] 密封粉末优选地以按纤维载体结构的重量计5％至90％，更优选10％至80％，甚至更优选20％至75％，并且最优选50％至70％的量存在于本发明的止血片材中。

[0212] 本发明的另一方面涉及一种用于制备生物可吸收性密封悬浮液的试剂盒，所述试剂盒包括：

[0213] ●包含生物相容性液体的第一容器或隔室；和

[0214] ●包含本发明的生物可吸收性密封粉末的第二容器或隔室。

[0215] 可使用上述试剂盒通过将生物相容性液体与密封粉末混合来制备生物可吸收性悬浮液。可有利地施用如此获得的悬浮液例如以填充和密封胸膜腔或出血。

[0216] 生物相容性液体优选地含有选自以下的一种或多种生物相容性液体：聚乙二醇、丙二醇、柠檬酸三乙酯、聚甘油、DMSO、甘油、甘油二乙酸酯、三醋精、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、水以及它们的混合物。悬浮液中使用的聚乙二醇优选地具有不超过550g/mol，更优选不超过450g/mol的分子量。

[0217] 本发明的试剂盒的生物相容性液体可适当地含有水。生物相容性液体中水的存在使得能够在将密封悬浮液施加到组织上之前在密封粉末的组分之间发生交联反应。这些初始交联反应将使悬浮液更粘稠和粘性，这有利于将悬浮液施用到组织上。生物相容性液体

的水含量优选地在1重量％至50重量％的范围内，更优选不超过2重量％至30重量％，并且最优选不超过3重量％至10重量％。

[0218] 生物相容性液体可适当地含有缓冲剂和/或粘度调节剂，诸如透明质酸、藻酸盐、羧甲基纤维素以及它们的组合。

[0219] 本发明的又一个方面涉及一种生物可吸收性密封悬浮液，该密封悬浮液包括：

[0220] • 生物相容性连续液体非水相；和

[0221] • 包含根据本发明的生物可吸收性密封粉末的分散相。

[0222] 密封悬浮液的非水相优选地含有选自以下的一种或多种生物相容性液体：聚乙二醇、丙二醇、柠檬酸三乙酯、聚甘油、DMSO、甘油、甘油二乙酸酯、三醋精、N-甲基吡咯烷酮(NMP)以及它们的混合物。悬浮液中使用的聚乙二醇优选地具有不超过550g/mol，更优选不超过450g/mol的分子量。

[0223] 非水相的水含量优选地不超过3重量％，更优选不超过1重量％，并且最优选不超过0.3重量％。

[0224] 除了密封粉末之外，非水相可以适当地包含其它组分，诸如缓冲剂和粘度调节剂(例如透明质酸、藻酸盐和/或羧甲基纤维素)。

[0225] 密封悬浮液优选地含有5重量％至75重量％，更优选10重量％至40重量％，并且最优选15重量％至30重量％的密封粉末。

[0226] 由于随着时间推移，悬浮液中密封粉末的颗粒可能开始下沉或漂浮，因此在使用之前可能需要摇动或搅拌悬浮液。

[0227] 本发明通过下述非限制性示例进一步举例说明。

[0228] 实施例

[0229] 一般而言：在没有明确提及干燥后残留水分(即干燥粉末、颗粒和/或内聚纤维载体结构中的残留水)的情况下，含量低于2.0％w/w。

[0230] NHS-POx的制备

[0231] 如下合成含有20％ NHS-酯基(＝EL-POx，20％ NHS)的NHS-侧链活化的聚[2-(乙基/羟基-乙基-酰胺-乙基/NHS-酯-乙基-酯-乙基-酰胺-乙基)-2-噁唑啉]三元共聚物：

[0232] 使用60％2-乙基-2-噁唑啉(EtOx)和40％2-甲氧基羰基-乙基-2-噁唑啉(MestOx)，通过CROP合成聚[2-(乙基/甲氧基-羰基-乙基)-2-噁唑啉]共聚物(DP＝+/-100)。得到含有40％2-甲氧基羰基-乙基基团的统计共聚物(^{1}H-NMR)。

[0233] 第二，使含有40％2-甲氧基羰基-乙基基团的聚合物与乙醇胺反应，产生具有40％2-羟基-乙基-酰胺-乙基-基团的共聚物(^{1}H-NMR)。之后，一半2-羟基-乙基-酰胺-乙基-基团与琥珀酸酐反应，得到根据^{1}H-NMR具有60％2-乙基基团、20％2-羟基-乙基-酰胺-乙基-基团和20％2-羧基-乙基-酯-乙基-酰胺-乙基-基团的三元共聚物。

[0234] 最后，通过N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)和二异丙基碳二亚胺(DIC)活化2-羧基-乙基-酯-乙基-酰胺-乙基-基团，产生EL-POx，20％ NHS，对应于100％的NHS官能化程度(NHS-DF)。根据^{1}H-NMR，NHS-POx含有20％的NHS-酯基。

[0235] 在2℃至8℃之间将NHS-POx溶解在水中(300mL中60g)，在-80℃冷却半小时并冷冻干燥。将如此获得的冷冻干燥粉末在旋转蒸发仪中在40℃下干燥，直到经由Karl Fischer滴定测定的水含量低于0.8％w/w。使用球磨(Retch MM400)研磨该干燥(白色)粉末直至平

均粒度不大于40μm(D[4,3]),并真空密封在铝-铝袋中。

[0236] NHS-POx粉末的染色

[0237] 使用高效分散仪(Ultra-Turrax,IKA)将31.25mg染料蓝1号(CAS 3844-45-9,Spectrum Chem.,VWR)溶解在500mL冷超纯水中。在混合(5分钟)后,使用高效分散仪(Ultra-Turrax,IKA)将62.5g NHS-POx溶解在FD&C溶液中。在混合(5分钟)后立即将溶液快速冷冻,随后冷冻干燥。将冷冻干燥的粉末在旋转蒸发仪中在40℃下干燥直至通过Karl Fischer滴定测定的残留水含量低于0.8%w/w。接着,使用球磨(Retch MM400)研磨干燥的(蓝色)粉末,直到蓝色染色的NHS-POx粉末具有不大于40μm(D[4,3])的平均粒度,并且真空密封在铝-铝袋中。使用^{1}H-NMR光谱分析共冷冻干燥的NHS-POx。将15mg共冷冻干燥的粉末溶解在氘代二甲基亚砜(DMSO-d_6)中。将样品转移到NMR管中,并记录^{1}H-NMR谱。从获得的谱,计算与NHS-POx结合的NHS的量:平均NHS-DF为90%至100%。

[0238] NU-POx的制备

[0239] 通过EtOx和MestOx的CROP以及随后用乙二胺将甲酯侧链酰胺化以产生聚(2-乙基/氨基乙基酰胺乙基-2-噁唑啉)共聚物(NU-POx)来合成在烷基侧链中含有乙基和胺基的聚噁唑啉。

[0240] 根据^{1}H-NMR,NU-POx含有10% NH_2。在2℃至8℃之间将NU-POx溶解在水中(300mL中60g),在-80℃冷却半小时并冷冻干燥。将如此获得的冷冻干燥粉末在旋转蒸发仪中在40℃下干燥,直到经由Karl Fischer滴定测定的水含量低于0.8%w/w。将该干燥粉末在切碎机(Retsch GM200)中研磨直至平均粒度不大于100μm(D[4,3]),并真空密封在铝-铝袋中。

[0241] 通过共冷冻干燥制备NHS-POx/糖混合物(方法A1)

[0242] 如下制备共冷冻干燥的NHS-POx/糖粉:

[0243] 使用高效分散仪(Ultra-Turrax,IKA)将15g糖溶解在200mL冷超纯水中。随后,在混合(3分钟)后,使用高效分散仪(Ultra-Turrax,IKA)将15g蓝色染色的NHS-POx溶解在糖混合物中。在混合(3分钟)后立即将溶液在液氮中冷冻并冷冻干燥。

[0244] 将冷冻干燥的粉末在旋转蒸发仪中在40℃下干燥直至通过Karl Fischer滴定测定的残留水含量低于0.8%w/w。将该干燥粉末在切碎机中研磨直至粒度不大于63μm,并真空密封在铝-铝袋中。

[0245] 使用^{1}H-NMR光谱分析共冷冻干燥的NHS-POx/糖(1:1w/w):将15mg共冷冻干燥的粉末溶解在氘代二甲基亚砜(DMSO-d_6)中。将样品转移到NMR管中,并记录^{1}H-NMR谱。从获得的谱计算NHS-DF,平均在85%和100%之间。

[0246] NHS-POx/糖颗粒的制备(方法A2)

[0247] 如下制备NHS-POx/糖颗粒:

[0248] 将23g根据方法A1的共冷冻干燥的NHS-POx/糖加入到研钵中。随后,在混合过程中,将10mL丙酮:水(95:5v/v)以每份1mL缓慢加入。将颗粒在40℃下在旋转蒸发仪中减压干燥1小时,并在切碎机中研磨10秒。将研磨的颗粒再次减压干燥,直到经由^{1}H-NMR和Karl Fischer滴定测定的丙酮含量小于0.2%且水含量小于0.8%。

[0249] 将干燥的颗粒再次研磨直至粒度在期望的范围内(参见下文)并真空密封在铝-铝袋中。

[0250] 使用1H-NMR光谱分析NHS-POx/糖颗粒(1:1w/w):将25mg颗粒溶解在含有马来酸

(3mg/mL)作为内标(1.0mL)的氘代二甲基亚砜(DMSO-d6)中,转移到NMR管中,并记录1H-NMR光谱。从获得的谱计算NHS-DF,平均在85%和100%之间。

[0251] NU-POx/明胶海绵/糖颗粒的制备(方法B1)

[0252] 称取0.2g NU-POx、0.8g明胶海绵(除非另有说明:GELITA-SPON粉末,购自Gelita Medical AG,Germany)和0.8g糖并放入研钵中。用50%w/w超纯水将赋形剂制粒。将湿颗粒在70℃的烘箱中干燥直至经由Karl Fischer滴定测定的水含量小于0.5%。研磨干燥的颗粒直至其具有期望的粒度范围(见下文)。颗粒的反应性可通过在干燥前用NaOH调节pH至9.5或使用硼酸盐缓冲液调节pH至9.2来控制。

[0253] NU-POx/明胶海绵/糖/表面活性剂颗粒的制备(方法B2)

[0254] 如方法B1所述制备NU-POx/明胶海绵/糖颗粒,其中添加溶解在用于制粒的超纯水中的表面活性剂,得到在含有NHS-POx/糖和NU-POx/明胶海绵/糖的最终颗粒中0.10%w/w至0.50%w/w表面活性剂。

[0255] NHS-POx糖/NU-POx/明胶海绵/糖/表面活性剂粉末混合物的制备(方法C1)

[0256] 如下制备粉末混合物:

[0257] 将NHS-POx糖粉末(方法A2,根据需要的粒度)和NU-POx/明胶海绵/糖/表面活性剂颗粒(方法B1或B2,根据需要的粒度)以1:1的重量比加入到小瓶中,并通过振摇混合,真空密封在铝-铝袋中。

[0258] NHS-POx糖/NU-POx/明胶海绵/糖/表面活性剂粉末混合物的制备(方法C2)

[0259] 如下制备粉末混合物:

[0260] 将NHS-POx糖粉末(方法A1,粒度<63μm)和NU-POx/明胶海绵/糖/

[0261] 表面活性剂颗粒(方法B1或B2,根据需要的粒度)以1:1的重量比加入到研钵中,干混并真空密封在铝-铝袋中。

[0262] NHS-POx糖/NU-POx/明胶海绵/糖/表面活性剂颗粒的制备(方法C3)。

[0263] 颗粒制备如下:将NHS-POx糖颗粒(方法A2,粒度<63μm)和NU-POx/明胶海绵/糖/表面活性剂颗粒(方法B2,粒度<63μm)以1:1的重量比引入研钵中。随后,在研磨和混合过程中以每份1mL添加总计1mL/g的丙酮。

[0264] 将如此获得的颗粒减压干燥直至经由^{1}H-NMR测定的丙酮含量小于0.2%。将干燥的颗粒在研钵中研磨直至粒度在125μm和180μm之间,并真空密封在铝-铝袋中。

[0265] 使用1H-NMR光谱分析NHS-POX/糖颗粒(1:1)。将25mg颗粒溶解在含有马来酸(3mg/mL)作为内标(1.0mL)的氘代二甲基亚砜(DMSO-d6)中,转移到NMR管中,并记录1H-NMR谱。从获得的谱计算NHS-DF,平均在85%和100%之间。

[0266] 研磨和筛分

[0267] 用研钵和研杵或切碎机(Retsch GM 200)进行研磨。执行筛分以获得具有期望粒度和粒度分布的级分。为此,使用具有以下尺寸的筛的Retsch AS 200筛分塔:45μm、63μm、90μm、125μm、180μm、250μm和500μm。为了获得期望的粒度,将粉末研磨并过筛;通过取样期望的筛分级分,获得合适的粉末粒度范围。

[0268] 在穿孔出血、擦伤出血和肺部损伤处施用粉末

[0269] 穿孔出血(通过小瓶):在直径为15mm的封闭小瓶中容纳一定量的粉末。通过从小瓶中直接倾倒在穿孔出血处施用粉末。一旦实现出血的充分覆盖,用0.9% NaCl湿纱布施

加压力1分钟,并小心地除去湿纱布。

[0270] 擦伤(通过波纹管):经由具有80mm长的施用管的波纹管施用装置来施用一定量的粉末。通过将粉末吹散来将粉末直接施用到损伤(擦伤)处,并在1分钟后评估止血功效。在未实现(全部)止血覆盖擦伤区域的情况下,用0.9% NaCl湿纱布施加额外压力1分钟,并小心地移除湿纱布。

[0271] 肺部损伤:将粉末手动施用到围绕标准化缺损的5cm×5cm见方的肺部表面。一旦实现均匀覆盖,用0.9% NaCl湿纱布施加压力2分钟,同时在1分钟后调节手的位置以防止最终水凝胶的不规则性,并且小心地移除湿纱布。

[0272] 止血和密封实验

[0273] 使用标准化的体外和体内猪出血模型来评估止血功效。所有模型均使用肝素将凝血时间增加至活化凝血时间(ACT)的约2倍至3倍。

[0274] 体外模型:具有新鲜肝脏的活体外猪模型,用来自屠宰场的肝素化新鲜血灌注以尽可能接近地模拟真实体内情况。将肝脏安装在灌注机上,通过该灌注机将氧合、血液的pH、温度和血压保持在体内边界内。在屠宰场收集两个肝脏和10升肝素化血(5000单位/L)。肝脏在冰上运输;血液在环境温度下制备。在收集后2小时内,检查肝脏的损伤,用手套和氰基丙烯酸酯胶封闭。

[0275] ●灌注参数:流速600ml/min;压力10mmHg至12mmHg;温度37℃(+/-1℃);每分钟0.25升的碳氧气;

[0276] ●用活检穿孔器在肝脏表面上产生圆形出血伤口(8mm直径),用橡胶覆盖,使得穿孔出血的深度总是3mm,或者另选地使用砂纸产生擦伤损伤(3cm×3cm)(深度约1mm);

[0277] ●在肝脏被适当灌注后(检查颜色和温度),根据以下程序测试样品:相机开启;相机上的部位编号;活检穿孔器8mm;切除活检部位;用纱布(2x)除去出血处的血液;在预先称重的纱布中收集血液30秒;对出血进行评分;

[0278] ●将止血粉末施用在出血部位上(穿孔或擦伤),并且在穿孔出血的情况下使用湿纱布(盐水)来分配粉末并且按压一分钟;

[0279] ●对密封和止血进行观察和评分。

[0280] 体内模型:对麻醉猪(家猪,雄性,体重范围:40kg至100kg成年)进行标准化联合穿透性脾破裂。执行中线剖腹术以接近脾和其它器官。使用解剖刀,制作n=3个囊下标准化损伤(10mm×10mm)。通过预先润湿的纱布(盐水)在温和压力下施用止血粉末,并保持1分钟,进行密封和止血评分。

[0281] 密封实验

[0282] 使用猪肺的标准化体外通气模型来评估在不存在血液的情况下的密封能力,更具体地说是空气静力学功效。

[0283] 体外模型:从屠宰场订购新鲜采集的猪心肺样本并在冰上运输至研究设施。在移除所有过量组织、结扎主肺动脉并缝合左心房残留物后,使用手动充气和手动肺复张法在肺复张后选择性地插管和通气尾叶。

[0284] 在实验装置中,将肺漂浮在0.9% NaCl(37℃)上,并从下面拍摄以用于目测泄漏评估。在每次测量期间执行在增加的平台通气压力(Pplat)下的测量方案。机械呼吸机设置为压力控制通气、呼吸速率12/min、吸气与呼气比1:2、呼气末正压(PEEP)5cm H_2O、压力高

于PEEP 5cm H_2O。每90秒，将PEEP以上的压力增加5cm H_2O直至40cm H_2O的Pplat。

[0285] ●首先，用该测量方案进行基线测量，以便进行顺应性测量。

[0286] ●然后，在肺以10cm H_2O PEEP充气的情况下，通过使用Dremel上的研磨轮附件以45°角切割胸膜边缘并且然后使用镊子和剪刀小心地剥离中心胸膜，在尾叶的背侧面上产生标准化的25mm×25mm表面胸膜缺损。然后用相同的方案执行基线泄漏测量。

[0287] ●然后将密封粉末手动施用到围绕标准化缺损的5×5cm见方的肺部表面，在0cm H_2O至5cm H_2O PEEP下对肺部进行充气(如果空气通过干粉泄漏，则调低PEEP直到问题解决)。一旦实现均匀覆盖，用0.9% NaCl湿纱布施加压力2分钟，同时在1分钟后调节手的位置以防止最终水凝胶的不规则性。小心地除去纱布后，使水凝胶在测量装置(0.9% NaCl，37℃)中再凝固5分钟。

[0288] ●基于Macchiarini等人(Macchiarini P,Wain J,Almy S,Dartevelle P.Experimental and clinical evaluation of a new synthetic,absorbable sealant to reduce air leaks in thoracic operations.J Thorac Cardiovasc Surg.1999;117(4):751-8)，测量定量泄漏(Pplat)并视觉评估失效模式。

[0289] 出血部位处粉末的密封评分系统(基于施用后1分钟的粘附性和内聚性的评估)：

[0290] +++非常强的密封(只有当超过80重量%的粉末通过刮削被去除时密封才破裂)

[0291] ++强密封(当部分粉末通过刮削被去除时密封破裂)

[0292] +良好的密封(当粉末被机械操纵时密封破裂)

[0293] +/-中度密封(当周围组织被操纵时密封破裂)

[0294] -没有实现密封

[0295] 施用后1分钟出血部位处粉末的止血评分系统：

[0296] +++非常强的止血(粉末仅在粉末-损伤界面处填充有血液;出血停止)

[0297] ++强止血(粉末部分填充有血液。在顶部存在不含血液的粉末层;出血停止)

[0298] +良好的止血(粉末完全充满血液;出血停止)

[0299] +/-中度止血(粉末完全充满血液，一些血液通过)

[0300] -没有实现止血(出血没有停止)

[0301] 在取出之前施加用盐水(0.9% NaCl)浸泡的纱布1分钟后测定出血部位处粉末的润湿评分(在取出纱布后4分钟通过测定渗入粉末层的深度对润湿进行评分)：

[0302] -盐水很难被粉末层吸收，仅粉末层的表面是湿的，并且盐水的液滴容易从粉末表面滚落

[0303] +/-盐水已经部分渗透粉末层

[0304] +盐水已经完全渗透粉末层

[0305] 比较例A

[0306] 通过与单独的明胶海绵(EL-POx:明胶海绵＝1:0.8w/w)或与明胶海绵和NU-POx(EL-POx:明胶海绵:Nu-POx＝1:0.8:0.2w/w)共研磨(用研钵和研杵)来干混EL-POx。两种粉末的振实密度均小于0.2g/mL。

[0307] 在体外猪肝脏系统中测试这两种粉末和两种可商购获得的止血粉末的密封和止血特性(肝素化的)。以1克的量施用粉末。

[0308] 测试结果汇总于表1中。

[0309] 表1

[0310]

粉末	密封	止血	润湿
NHS-POx+明胶海绵[1]	-	+/-	+/-
NHS-POx+明胶海绵[1]+NU-POx	-	+/-	+/-
淀粉[2]	-	-	++
明胶海绵[1]	-	-	+/-

[0311] [1] GELITA-SPON®粉末,Gelita Medical AG,Germany

[0312] [2]Arista AH,Bard,USA

[0313] 实施例2

[0314] 使用通过方法A1获得的粉末(EL-POX:糖＝1:1w/w)和通过方法B1获得的粉末通过方法C2制备粉末混合物(粉末混合物1)。在两种粉末中,海藻糖用作糖组分。使用通过方法A2获得的粉末(EL-POX:糖＝1:1w/w,使用丙酮/水(95:5)作为制粒液体制粒)和通过方法B1获得的粉末通过方法C1制备相同组成的粉末混合物(粉末混合物2)。

[0315] 在体外猪肝脏系统中测试这两种粉末的密封和止血特性(肝素化的)。以0.5克的量施用粉末。

[0316] 测试结果汇总于表2中。

[0317] 表2

[0318]

粉末	粒度(μm)	密封	止血	润湿
粉末混合物1	<63	+/-	+/-	+
粉末混合物2	63-125	+	+	+

[0319] 实施例3

[0320] 使用通过方法A2获得的粉末(EL-POX:糖＝1:1w/w)和通过方法B1获得的三种不同粉末通过方法C1制备三种不同的粉末混合物。在所有粉末中,海藻糖用作糖组分。

[0321] 三种粉末混合物的不同之处仅在于通过方法B1获得的粉末含有不同量的NU-POx:

[0322]

	通过方法B1获得的粉末中的NU-POx:明胶海绵:糖的重量比
粉末混合物1	2:8:8
粉末混合物2	1:8:8
粉末混合物3	3:8:8

[0323] 在体外猪肝脏系统中测试这两种粉末的密封和止血特性(肝素化的)。以0.5克的量施用粉末。

[0324] 测试结果汇总于表3中。

[0325] 表3

[0326]

粉末	粒度(μm)	密封	止血	润湿
粉末混合物1	63-125	+	+	+
粉末混合物2	63-125	-	+/-	+
粉末混合物3	63-125	+	+	+

[0327] 实施例4

[0328] 通过将1重量份的NHS-POx粉末(无糖)与2重量份的通过方法B1获得的并含有海藻

糖的粉末或1重量份的通过方法B1获得的不含有任何糖的粉末混合来制备两种不同的粉末。

[0329] 通过方法B1获得的粉末的组成如下：

[0330]

	通过方法B1获得的粉末中的NU-POx:明胶海绵:糖的重量比
粉末混合物1	2:8:8
粉末混合物2	2:8:0

[0331] 在体外猪肝脏系统中测试这两种粉末的密封和止血特性(肝素化的)。使用波纹管施用装置(Surgicel®)以0.5克的量施用粉末。

[0332] 测试结果汇总于表4中。

[0333] 表4

[0334]

粉末	粒度(μm)	密封	止血	润湿
粉末混合物1	125-180	+/-	+/-	+/-
粉末混合物2	大约500	-	+/-	-

[0335] 粉末混合物1可容易地通过波纹管施用装置施用。然而，粉末混合物2难以施用，因为粉末颗粒非常蓬松。为了允许密封、止血和润湿特性的可比性，在该实验中，用管施用粉末混合物2。

[0336] 实施例5

[0337] 使用通过方法A2获得的粉末(EL-POX:糖＝1:1w/w)和通过方法B1获得的五种不同粉末通过方法C1制备五种不同的粉末混合物。在所有粉末中，海藻糖用作糖组分。

[0338] 这五种不同的粉末混合物的不同之处仅在于通过方法B1获得的粉末含有不同量的海藻糖：

[0339]

	通过方法B1获得的粉末中的NU-POx:明胶海绵:糖的重量比
粉末混合物1	2:8:8
粉末混合物2	2:8:2
粉末混合物3	2:8:4
粉末混合物4	2:8:12
粉末混合物5	2:8:16

[0340] 在体外猪肝脏系统中测试这两种粉末的密封和止血特性(肝素化的)。使用波纹管施用装置以0.5克的量施用粉末。

[0341] 测试结果汇总于表5中。

[0342] 表5

[0343]

粉末	粒度(μm)	密封	止血	润湿
粉末混合物1	125-180	+	+	+
粉末混合物2	125-180	-	+/-	-
粉末混合物3	125-180	+/-	+	-/+
粉末混合物4	125-180	+/-	+	+
粉末混合物5	125-180	+/-	+/-	+

[0344] 粉末混合物1、3、4和5可以容易地用波纹管施用装置施用。粉末混合物2不太容易

施用,因为颗粒相当蓬松。

[0345] 实施例6

[0346] 使用通过方法A2获得的粉末(EL-POX:糖＝1:1w/w)和通过方法B1获得的三种不同粉末通过方法C1制备三种不同的粉末混合物。通过方法B1获得的三种不同粉末仅在所用糖的类型上不同。在所有情况下,NU-POx、明胶海绵和糖以2:8:8的重量比存在于来自方法B的粉末中。

[0347]

	所用糖的类型
粉末混合物1	海藻糖
粉末混合物2	甘露糖醇
粉末混合物3	葡聚糖40

[0348] 在体外猪肝脏系统中测试这两种粉末的密封和止血特性(肝素化的)。以0.5克的量施用粉末。

[0349] 测试结果汇总于表6中。

[0350] 表6

[0351]

粉末	粒度(μm)	密封	止血	润湿
粉末混合物1	125-180	+	+	+
粉末混合物2	125-180	+	+	+
粉末混合物3	125-180	+/-	+	+

[0352] 实施例7

[0353] 使用通过方法A2获得的粉末(EL-POX:糖＝1:1w/w)通过方法C1制备四种不同的粉末混合物,一种粉末通过方法B1获得,三种不同的粉末通过方法B2获得。通过方法B2获得的三种不同粉末的不同之处在于所用的表面活性剂(Pluronic F-127)的量。在所有粉末中,海藻糖用作糖组分。

[0354]

	Pluronic F-127的重量%
粉末混合物1	0
粉末混合物2	0.1
粉末混合物3	1.0
粉末混合物4	3.0

[0355] 在体外猪肝脏系统中测试这两种粉末的密封和止血特性(肝素化的)。以0.5克的量施用粉末。

[0356] 测试结果汇总于表7中。

[0357] 表7

[0358]

粉末	粒度(μm)	密封	止血	润湿
粉末混合物1	63-125	+	+	+
粉末混合物2	63-125	++	++	++
粉末混合物3	63-125	++	++	++
粉末混合物4	63-125	++	++	++

[0359] 实施例8

[0360] 重复实施例7,不同的是这次使用十二烷基硫酸钠(SDS)作为表面活性剂。

[0361]

	SDS的重量%
粉末混合物1	0
粉末混合物2	0.1
粉末混合物3	1.0
粉末混合物4	3.0

[0362] 在体外猪肝脏系统中测试这两种粉末的密封和止血特性(肝素化的)。以0.5克的量施用粉末。

[0363] 结果汇总于表8中。

[0364] 表8

[0365]

粉末	粒度(μm)	密封	止血	润湿
粉末混合物1	63-125	+	+	+
粉末混合物2	63-125	++	++	++
粉末混合物3	63-125	++	++	++
粉末混合物4	63-125	++	++	++

[0366] 实施例9

[0367] 重复实施例7,不同的是这次使用泊洛沙姆P-188作为表面活性剂。

[0368]

	泊洛沙姆P-188的重量%
粉末混合物1	0
粉末混合物2	0.1
粉末混合物3	1.0
粉末混合物4	3.0

[0369] 在体外猪肝脏系统中测试这两种粉末的密封和止血特性(肝素化的)。以0.5克的量施用粉末。

[0370] 测试结果汇总于表9中。

[0371] 表9

[0372]

粉末	粒度(μm)	密封	止血	润湿
粉末混合物1	63-125	+	+	+
粉末混合物2	63-125	++	++	++
粉末混合物3	63-125	++	++	++
粉末混合物4	63-125	++	++	++

[0373] 实施例10

[0374] 使用通过方法A2获得的一种粉末(EL-POX:糖=1:1w/w)和通过方法B1获得的三种不同粉末通过方法C1制备三种不同的粉末混合物。通过方法B2获得的三种粉末的不同之处在于它们含有不同类型的明胶海绵。

[0375]

	明胶海绵
粉末混合物1	GELITA-SPON粉末[1]
粉末混合物2	Cutanplast粉末[2]

粉末混合物3	Surgispon粉末[3]

[0376] [1]Gelita Medical AG,Germany

[0377] [2]Mascia Brunelli S.p.a.,Italy

[0378] [3]Aegis Lifesciences PVT Ltd,India

[0379] 在体外猪肝脏系统中测试这些密封粉末的密封和止血特性(肝素化的)。以1.0克的量施用粉末。

[0380] 测试结果汇总于表10中。

[0381] 表10

[0382]

粉末	粒度(μm)	密封	止血	润湿
粉末混合物1	63-125	+	+	+
粉末混合物2	63-125	+	+	+
粉末混合物3	63-125	+	+	+

[0383] 实施例11

[0384] 使用通过方法A2获得的粉末(EL-POX:糖＝1:1w/w)和通过方法B1获得的粉末通过方法C1制备不同的粉末混合物。在所有粉末中,海藻糖用作糖组分。粉末的粒度如表11所示变化。

[0385] 在体外猪肝脏系统中测试这些密封粉末的密封和止血特性(肝素化的)。以0.5克的量施用粉末。

[0386] 测试结果汇总于表11中。

[0387] 表11

[0388]

粉末	粒度(μm)	密封	止血	润湿
粉末混合物1	63-125	+	+	+
粉末混合物2	125-250	+	+	+
粉末混合物3	250-500	-	-	+
粉末混合物4	63-90	+	+	+
粉末混合物5	90-125	++	++	+
粉末混合物6	125-180	++	++	+
粉末混合物7	180-250	+	+-	+

[0389] 实施例12

[0390] 使用通过方法A1或A2获得的粉末(EL-POX:糖＝1:1w/w)和通过方法B2获得的粉末,通过粉末混合方法C1或C2或通过制粒方法C3制备不同的粉末混合物。

[0391]

	含有NHS-POx的颗粒	含有NU-POx的颗粒	粉末的组合
粉末混合物1	方法A1	方法B2	方法C2
粉末混合物2	方法A2	方法B2	方法C1
粉末混合物3	方法A2	方法B2	方法C3

[0392] 在所有粉末中,海藻糖用作糖组分。

[0393] 在体外猪肝脏系统中测试这两种粉末的密封和止血特性(肝素化的)。以0.5克的量施用粉末。

[0394] 测试结果汇总于表12中

[0395] 表12

[0396]

粉末	粒度(μm)	密封	止血	润湿
粉末混合物1	<63	+	+/-	+
粉末混合物2	125-180	++	++	+
颗粒3	125-180	+++	+++	+

[0397] 实施例13

[0398] 使用由方法A2获得的粉末(EL-POX:糖＝1:1w/w)和由方法B1获得的粉末通过方法C1制备的粉末混合物(0.5克)对猪脾进行体内试验。在所有粉末中,海藻糖用作糖组分。粉末仅在粒度上不同。测试结果汇总于表13中。

[0399] 表13

[0400]

粉末	粒度(μm)	密封	止血	润湿
粉末混合物1	90-125	+	+	+
粉末混合物2	125-180	++	+	+

[0401] 实施例14

[0402] 还使用0.5克粉末混合物在体内脾试验中评价了实施例12的粉末混合物的性能。结果示于表14中。

[0403] 表14

[0404]

粉末	粒度(μm)	密封	止血	润湿
粉末混合物1	90-125	+	+	+
粉末混合物2	125-180	++	+	+

[0405] 实施例15

[0406] 体外试验在具有擦伤损伤(3cm×3cm)的猪肝脏(肝素化的)上进行。使用的密封粉末(1克)通过干混方法C1(粉末混合物1)或制粒方法C3(颗粒2)制备。在两种情况下,使用通过方法A2获得的粉末和通过方法B2获得的粉末。使用波纹管施用装置施用粉末。在所有粉末中,海藻糖用作糖组分。

[0407] 测试结果汇总于表15中。

[0408] 表15

[0409]

粉末	粒度(μm)	密封	止血	润湿
粉末混合物1	125-180	++	++	+
颗粒2	125-180	+++	++	+

[0410] 实施例16

[0411] 在上文所述的体外通气肺模型中评估密封粉末在不存在血液的情况下的密封特性。在施用密封粉末之后,记录开始泄漏时的压力。

[0412] 通过将含有NHS-POx的粉末和含有NU-POx的粉末干混(方法C1)或制粒(方法C3)获得测试的密封粉末。含有NHS-POx的粉末由NHS-POx组成,或者它是通过方法A2获得的NHS-POx和海藻糖的颗粒。含有NU-POx的粉末是进一步含有明胶海绵和海藻糖并且通过方法B1或B2获得的颗粒。

[0413] 测试结果汇总于表16中。

[0414] 表16

[0415]

粉末	粒度（μm）	NHS-POx:海藻糖的重量比	表面活性剂[1]的重量%	施用的克数	泄漏压力（Pplat）
粉末混合物1	63-125	1:0	0	3.0	3
粉末混合物2	63-125	1:0	0	3.0	8
粉末混合物3	63-125	1:1	0	3.0	20
粉末混合物4	63-125	1:1	0.1	3.0	25
粉末混合物5	63-125	1:1	0.5	3.0	25
颗粒6	125-180	1:1	0.5	1.5	42

[0416] [1]Pluronic F-177

[0417] 实施例17

[0418] 使用通过方法A2获得的粉末(EL-POX:海藻糖＝1:1w/w)和通过方法B2获得的粉末(含有NU-POx的颗粒)通过制粒方法C3制备颗粒，不同的是在每种情况下后一粉末中的明胶海绵被如下所示的含有反应性亲核基团的另一种水不溶性聚合物代替：

[0419]

	含有反应性亲核基团的水不溶性聚合物
颗粒1	脱乙酰壳多糖[1]
颗粒2	还原的交联明胶[2]

[0420] 1购自Sigma Aldrich,MW 100,000-300,000,脱乙酰等级85％

[0421] 2通过WO 2021/009014(第29页第3行至第14行)中所述的方法制备。

[0422] 在体外猪肝脏系统中测试这两种颗粒的密封和止血特性(肝素化的)。以0.5克的量施用颗粒。测试一式两份进行。测试结果汇总于表17中。

[0423] 表17

[0424]

	密封	止血	润湿
颗粒1	++	++	+
颗粒2	++	++	+

[0425] 比较例B

[0426] 使用通过方法A2获得的粉末(EL-POX:海藻糖＝1:1w/w)和通过方法B2获得的粉末(含有NU-POx的颗粒)，通过制粒方法C3制备颗粒，不同的是在这种情况下明胶海绵被氧化的可吸收纤维素(GeltaCel®,购自Gelita Medical GmbH)代替。

[0427] 在体外猪肝脏系统中测试这些颗粒的密封和止血特性(肝素化的)。以0.5克的量施用颗粒。测试一式两份进行。测试结果汇总于表18中

[0428] 表18

[0429]

	密封	止血	润湿
颗粒	-	-	-

[0430] 实施例18

[0431] 使用通过方法A2获得的粉末(EL-POX:糖＝1:1w/w)和通过方法B2获得的粉末(含有NU-POx的颗粒)，通过制粒方法C3制备颗粒，不同的是在这种情况下第一粉末中的海藻糖被甘露醇代替。

[0432] 在体外猪肝脏系统中测试这些颗粒的密封和止血特性(肝素化的)。以0.5克的量施用颗粒。测试一式两份进行。测试结果汇总于表19中

[0433] 表19

[0434]

	密封	止血	润湿
颗粒	++	++	+

[0435] 实施例19

[0436] 通过制粒方法C3制备颗粒,使用通过方法A2获得的粉末(EL-POX:糖＝1:1w/w)和通过方法B2获得的粉末,不同的是在后者粉末中使用携带8个胺基的8-臂聚乙二醇(8-臂PEG-NH,购自Creative PEGWorks)代替NU-POx。

[0437] 在体外猪肝脏系统中测试这些颗粒的密封和止血特性(肝素化的)。以0.5克的量施用颗粒。测试一式两份进行。测试结果汇总于表20中

[0438] 表20

[0439]

	密封	止血	润湿
颗粒	+	+	+