



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101485897 B

(45) 授权公告日 2015. 05. 20

(21) 申请号 200810032631. 6

A61L 33/12(2006. 01)

(22) 申请日 2008. 01. 14

(56) 对比文件

(73) 专利权人 纪欣

地址 200030 上海市中山南二路 1500 号东
亚大厦 2101 室

CN 1533751 A, 2004. 10. 06,

GB 2425474 A, 2006. 11. 01,

CN 1502374 A, 2004. 06. 09,

US 2003073663 A1, 2003. 04. 17,

(72) 发明人 纪欣

张友松. 变性淀粉生产与应用手册. 《变性淀粉生产与应用手册》. 中国轻工业出版社, 2001,

(74) 专利代理机构 北京金思港知识产权代理有限公司 11349

审查员 谢林

代理人 邵毓琴 李晶

(51) Int. Cl.

A61L 15/28(2006. 01)

A61L 15/32(2006. 01)

A61L 15/58(2006. 01)

A61L 15/64(2006. 01)

A61L 24/08(2006. 01)

A61L 31/04(2006. 01)

A61L 33/14(2006. 01)

权利要求书1页 说明书28页 附图6页

(54) 发明名称

生物相容性止血、防粘连、促愈合、外科封闭的变性淀粉材料

(57) 摘要

一种作为生物相容性止血、生物相容性的防粘连、促进组织愈合、可吸收性外科封闭、及组织粘结的变性淀粉材料, 施予一种生物相容变性淀粉予动物组织, 其中, 该变性淀粉材料, 分子量为 15, 000 道尔顿以上, 颗粒粒径为 1-1000 μm 。本发明的变性淀粉止血材料可以起到止血作用, 减少了伤口出血、渗血, 组织液渗出并保持创面或伤口的相对湿润或干燥, 抑制了细菌生长及炎症反应, 有助于对伤口进行局部消炎, 减少病人的疼痛。在手术完成后可对局部进行冲洗, 除去多余的未参与止血的变性淀粉, 在战伤、自救、急救处理后进行清创处理时, 可轻易清除止血剂, 残留有少量变性淀粉止血材料可为机体所吸收, 避免因撕开纱布、绷带而给人员造成痛苦。

1. 一种用于止血、防粘连、促进组织愈合或封闭伤口组织的生物相容性变性淀粉,其中,所述生物相容性变性淀粉为羧甲基淀粉、羟乙基淀粉或交联羧甲基淀粉,所述生物相容性变性淀粉的分子量为 15,000 道尔顿至 2,000,000 道尔顿,粒径为 10 ~ 1000 μm ,吸水倍率为 2 ~ 500,该生物相容性变性淀粉在水中溶解或溶胀形成粘性胶或粘性液。

2. 如权利要求 1 所述的生物相容性变性淀粉,其中,粒径为 30 ~ 500 μm 的生物相容性变性淀粉颗粒占总淀粉颗粒量不低于 95%。

3. 如权利要求 1 所述的生物相容性变性淀粉,其中,所述生物相容性变性淀粉为羧甲基淀粉,该羧甲基淀粉在摄氏 37 $^{\circ}\text{C}$,浓度为 6.67% 的水混悬液的粘度为不低于 30mPa. s。

4. 如权利要求 3 所述的生物相容性变性淀粉,其中,所述羧甲基淀粉在常温下吸水 100% 饱和时,用质构仪测粘性功,测试条件为应力 100g,速度为 10.0mm/sec,所述羧甲基淀粉的粘性功指数超过 40g. sec。

5. 如权利要求 1 所述的生物相容性变性淀粉,其中,所述生物相容性变性淀粉为羟乙基淀粉,该羟乙基淀粉在常温下吸水 100% 饱和时,用质构仪测粘性功,测试条件为应力 100g,速度为 10.0mm/sec,所述羟乙基淀粉的粘性功指数超过 60g. sec。

6. 如权利要求 1 所述的生物相容性变性淀粉,其中,所述生物相容性变性淀粉为交联羧甲基淀粉,该交联羧甲基淀粉在摄氏 37 $^{\circ}\text{C}$ 浓度为 6.67% 水混悬液的粘度为不低于 30mPa. s。

7. 如权利要求 6 所述的生物相容性变性淀粉,其中所述交联羧甲基淀粉在常温下吸水 100% 饱和时,用质构仪测粘性功,测试条件为应力 100g,速度为 10.0mm/sec,所述交联羧甲基淀粉的粘性功指数超过 40g. sec。

8. 如权利要求 1-7 任一项所述的生物相容性变性淀粉,其中,将所述生物相容性变性淀粉施予有血创面以提供止血作用、防粘连作用、促进组织愈合作用以及封闭伤口作用中的一种或其组合。

9. 如权利要求 8 所述的生物相容性变性淀粉,其中,所述有血创面为动物组织的体表、体内组织器官或体腔内组织或体腔内器官,所述动物包含哺乳动物、鸟类、爬行动物。

10. 一种生物相容性变性淀粉止血制品,所述止血制品包括权利要求 1 至 9 中任一项所述的生物相容性变性淀粉。

11. 如权利要求 10 所述的生物相容性变性淀粉止血制品,其中,所述止血制品还含有明胶、胶原蛋白、氧化纤维素、羧甲基纤维素、壳聚糖、透明质酸、海藻酸钠、高岭土、凝血因子、凝血酶、纤维蛋白、钙剂、鱼精蛋白、多肽、氨基酸中的一种或其组合。

12. 如权利要求 11 所述的生物相容性变性淀粉止血制品,所述止血制品为止血粉剂、止血球、止血气雾剂、止血海绵、止血膜、止血胶或止血贴的形式。

13. 一种制备生物相容性变性淀粉止血粉剂的方法,其中,所述方法包括以下步骤:

(a) 提供权利要求 1 至 9 任一项所述的生物相容性变性淀粉作为原料,在沸腾机内,在 40 $^{\circ}\text{C}$ ~ 50 $^{\circ}\text{C}$ 下处理;

(b) 加入蒸馏水,经过凝聚、制丸、筛分从而制成所述生物相容性变性淀粉止血粉剂;

其中,粒径在 30 ~ 500 μm 的生物相容性变性淀粉颗粒占总淀粉颗粒量不低于 95%。

生物相容性止血、防粘连、促愈合、外科封闭的变性淀粉材料

技术领域

[0001] 本发明涉及一种作为生物相容性止血、生物相容性的防粘连、促进组织愈合、可吸收性外科封闭剂、及组织粘结的变性淀粉材料,尤其是一种直接作用在人、哺乳动物等的创面,包括有血创面或有渗出液的创面,用于止血、防粘连、促进组织愈合、封闭创伤组织断面、防止出血和组织液渗出、粘结因外伤、手术造成损伤的组织器官,帮助组织修复、避免或减少外科缝合,且能为人、动物体所吸收的变性淀粉材料。

背景技术

[0002] 外科手术及外伤都会形成有血创面,其间会有大量血液流失,需要及时采用止血手段。使用具有生物相容性的可吸收止血材料于有血创面止血是一种常见的止血手段,在外科手术止血、外伤、急救、家庭自救止血时均有迫切需求,由此可见提供一种安全、有效、使用方便且成本低廉的止血材料对人类的重要性。

[0003] 现有常用的可吸收止血材料包括以下几种:

[0004] 1、止血海绵 (SPONGE) 类:明胶海绵、胶原蛋白海绵、壳聚糖止血海绵、羧甲基纤维素止血海绵、含凝血酶或纤维蛋白的止血海绵;

[0005] 2、止血纱布/止血膜 (GAUZE、FILM) 类:氧化纤维素、氧化再生纤维素止血纱布、含羧甲基纤维素的氧化纤维素止血纱布;

[0006] 3、止血胶类:纤维蛋白胶、人工合成胶;

[0007] 4、多聚糖止血粉类:微孔多聚糖止血粉、壳聚糖止血粉、藻类止血粉。

[0008] 以下对常用的生物相容性止血材料作具体分析:

[0009] 1、可吸收性明胶海绵及胶原蛋白海绵

[0010] 明胶海绵来源于动物组织的提取物,它的主要成分为动物胶原。它的亲水性和多孔结构可迅速吸收血液中的水分而浓缩血液,从而达到止血的目的。但是,明胶是来源于动物的胶原提取物,含异种蛋白,易引起过敏反应,临床上可引起病人发热等症状;同时,人体对明胶海绵的吸收较慢,一般为4周以上,因此会增加伤口的感染率,影响伤口愈合。

[0011] 胶原蛋白海绵亦来源于动物组织的胶原提取物。除可以通过吸收血液中的水分而浓缩血液外,还可以通过激活内源性凝血机制而促凝。

[0012] 同明胶海绵一样,胶原蛋白海绵的原料来源于动物,为异种蛋白;且人体对它吸收慢,临床上表现为病人过敏反应、伤口愈合慢和伤口易感染的并发症,故临床使用受到很大局限。

[0013] 2、氧化纤维素 (Oxidized Cellulose)、氧化再生纤维素 (Oxidized regenerated cellulose) 止血纱布

[0014] 氧化纤维素是纤维素衍生物的一种。其止血机制是通过材料吸水的特性而浓缩血液,启动凝血机制;同时,羧基与血红蛋白 Fe 结合,使血液产生酸性正铁血红素,形成棕色胶块,封闭毛细血管末端而止血。氧化再生纤维素与氧化纤维素的止血机制相同。

[0015] 氧化纤维素为人工合成。正常的人体组织因缺乏代谢氧化纤维素的酶而对该类产品降解速度相对较慢,根据用量和使用的部位一般在体内吸收的时间至少为 3~6 周,临床上可引起局部的感染及影响局部组织愈合。公开号 CN1533751A 公开了一种止血创伤敷料,商品名为 SURGICEL,包括织物和涂布在织物与创伤接触的表面并至少部分分散于织物中的多孔聚合物基质,该基质包含生物相容的水溶性或水溶胀性聚合物,而织物的纤维为氧化再生纤维素,水溶性或水溶胀性聚合物为多糖。但这种止血敷料选用的主体是氧化的纤维素,人体吸收缓慢,因此临床应用受到限制。

[0016] 3、纤维蛋白胶 (Fibrin glue)

[0017] 纤维蛋白胶是由纤维蛋白原、凝血酶、抑肽酶和氯化钙组成。止血作用主要是凝血酶激活纤维蛋白原促进机体的凝血。近年临床应用较为广泛的是纤维蛋白封闭剂,是纤维蛋白原与凝血酶的混合装置。纤维蛋白胶中的凝血酶和纤维蛋白来源于人体或动物,易引起病人过敏反应,并导致感染人源性和动物源性疾病,如肝炎、爱滋病、疯牛病等。纤维蛋白胶应用在湿润组织创面时的粘附性较弱,不能对活动性出血进行有效的控制。并且,蛋白胶不易储存和运输、使用不便。

[0018] 4、天然生物多聚糖类产品

[0019] 近年来,天然生物多聚糖类产品发展迅速,受到关注。目前用于止血的天然生物多聚糖类产品是植物多聚糖和壳聚糖。它们的生物相容性好,无毒、无刺激,不易引起机体的过敏反应,同时不会引起传染或感染人源性及动物源性疾病。

[0020] (1) 壳聚糖 / 甲壳素类产品

[0021] 壳聚糖 / 甲壳素的产品代表性的是高膨溶壳聚糖海绵,是以天然海洋生物提取物壳聚糖为原料制作而成。壳聚糖有较好的吸水性,可以引发并加速启动自身的凝血机制而促凝,因此可以成为外用的止血剂。但是,由于人体内缺乏将其迅速有效降解的酶,尚无法在外科手术中使用。目前,国内外尚未见将其作为 III 类的止血材料用于临床 外科术中止血的报道。

[0022] (2) 微孔多聚糖 -(Microporous Polysaccharide Hemospheres, MPH)

[0023] 2002 年,美国的 Medafor 公司研发的一种称为 Arista™的可吸收性止血材料(美国专利 US6060461),其有效成分是多微孔多聚糖,包括葡聚糖。该微孔多聚糖由多聚糖与表氯醇反应制得,带有羟基的表氯醇与淀粉分子作用生成乙基丙三醇,可以使葡萄糖分子交联成三维网状结构。

[0024] Arista™止血材料存在着一些问题。首先,从应用面上,这种止血材料主要还是局限于皮肤或软组织创面的止血,对体腔深部的组织器官进行止血特别是内窥镜下的止血(如胃镜、肠镜及腹腔镜等微创手术时)尚缺乏有效的手段;第二,从制备方法上,表氯醇为无色油状液体,有毒性和麻醉性,因此生产该产品对环保不利,生产成本亦较高;第三,从止血效果上,由于它的吸水性不够强,吸水倍率低,且吸水的速度较慢,止血效果不理想,特别是对活动性出血止血效果欠佳;第四,它的粘度低,吸水后形成的凝胶粘性差,因此与血作用后形成的凝血块与组织的粘附性差,不能对破损的组织、血管产生有效的粘性封堵,因而影响止血的效果;第五,在活动性出血时,止血粉难以附着在出血处,易被血流冲走,若在止血粉上用辅料按压,则辅料很容易被凝血块粘连,揭开辅料时造成再次出血。因此,对活动性出血止血效果不好。

发明内容

[0025] 本发明在于提供一种生物相容性变性淀粉材料,该变性淀粉材料可作为止血材料直接作用于人、动物体的有血创面,包括对体表、体内及体腔内组织、器官的止血,止血迅速、有效。

[0026] 本发明还在于提供一种除对有血创面提供止血作用外,可以防止术后组织粘连、促进组织愈合、对伤口及出血的血管封闭、粘堵及粘合组织的作用、亦对有血创面产生抑菌和抗炎所用的方法,使当该有血创面是属于人体体表、体内组织器官及体腔内组织或器官、使用于外科手术、创伤救治、喉镜、内窥镜及腔镜下的时,提供止血、防粘连、促进组织愈合、外科密封、伤口组织粘合的作用。

[0027] 本发明还提供了制备变性淀粉止血材料的方法和工艺途径,将变形淀粉制备成粉剂、海绵、胶体、膜等形式的材料,可以适合各种各样需求的手术止血需要,且使用方便。

[0028] 本发明还提供了通过选择将淀粉变性的不同方法和工艺使变性淀粉能够达到满足止血、防粘连、封闭、粘堵、促愈合、粘合以及适合应用环境要求的重要理化性质、性状、技术参数和技术指标。该变性淀粉止血材料可为人、动物体所吸收,快速降解,安全可靠。

[0029] 同时,本发明提供的变性淀粉还可用作生物相容性的防粘连材料、促进组织愈合材料、外科封闭剂和有助于组织修复的组织粘合剂。

[0030] 本发明解决上述技术问题所采取的技术方案是应用变性淀粉作为生物相容性止血材料,其机理包括:该变性淀粉为经变性而可在水中溶解或溶胀形成粘性胶或粘性液的变性淀粉。

[0031] 机理还包括:所述的变性淀粉为经变性而带有亲水基团的变性淀粉。

[0032] 吸水性的、吸水后成高粘性的变性淀粉作用到出血的伤口时,可以迅速吸取血液中的水分、浓缩血液;同时,与血液、血浆形成的胶性混合物粘附于出血伤口处,机械封堵破损的血管及伤口,达到止血目的。

[0033] 所述的变性淀粉材料包括通过物理变性、化学变性、酶处理变性、天然变性,及上述1种方法的多次变性或至少上述两种方法的复合变性而获得的变性淀粉。

[0034] 其中,所述的物理变性包括辐照、机械、湿热处理。

[0035] 纯物理变性制成的变性淀粉,如经干法、辐照法的预糊化淀粉,由于其未经任何化学试剂处理,因此用作生物可吸收性止血材料其安全性尤为显著。

[0036] 预糊化淀粉是一种比较典型的物理变性淀粉,其制备方法可以为干法变性,包括挤压法、滚筒干燥法;也可以为湿法变性,包括喷雾干燥法。

[0037] 具体的,将原淀粉在一定量的水存在下进行加热处理后,淀粉颗粒溶胀为糊状,规则排列的胶束被破坏,微晶消失,并且易接受淀粉酶的作用而被降解。预糊化淀粉能够在冷水中及常温的水中溶胀或溶解,形成具有一定粘度的糊液,且其凝沉性比原淀粉要小便于加工配制。

[0038] 用预糊化的方式可以在不添加任何化学试剂的条件下而只采用纯物理的方法将天然淀粉变性,利用天然淀粉变性后吸水性及粘度增加的特点制作止血材料,安全、无毒副作用,预糊化后的淀粉更易于被人体进一步酶分解、代谢,生物相容性好,使用安全。

[0039] 所述的化学变性包括经化学试剂进行酸解、氧化、酯化、醚化、交联、接枝变性处

理,或采用至少上述两种方法进行复合变性处理,或上述一种方法的至少两次变性处理。

[0040] 通过淀粉葡萄糖单元的官能团与化学试剂反应,例如通过羧基化改性、羟基化改性,使淀粉带有亲水基团,通过双官能团或多官能团的试剂则可使原淀粉大分子之间形成交联体,或者通过接枝获得大分子的亲水基团,从而增加淀粉的吸水特性并且提高粘度。变性淀粉的粘度与原淀粉的种类、取代度以及交联或接枝上的功能基团等因素有关。变性淀粉的吸水性及吸水后的粘性使与遇血液接触后形成的“淀粉-凝血混合物”有高粘性,或形成的凝血混合物与组织蛋白质的功能基团发生作用,使“淀粉-凝血混合物”粘附于破损的伤口组织上达到止血和封闭的作用。

[0041] 具体的,所述的变性淀粉为预糊化淀粉、酸变性淀粉、糊精、氧化淀粉、酯化淀粉、醚化淀粉、交联淀粉中的一种或以上的组合。

[0042] 包含两种或以上变性淀粉构成的止血材料,根据对止血材料理化性质的要求,其两种变性淀粉的重量百分比可以为 99 : 1 ~ 1 : 99。

[0043] 具体可以包括 :95 : 5,90 : 10,85 : 15,80 : 20,75 : 25,70 : 30,65 : 35,60 : 40,55 : 45,50 : 50。

[0044] 本发明变性淀粉的主要参数 :

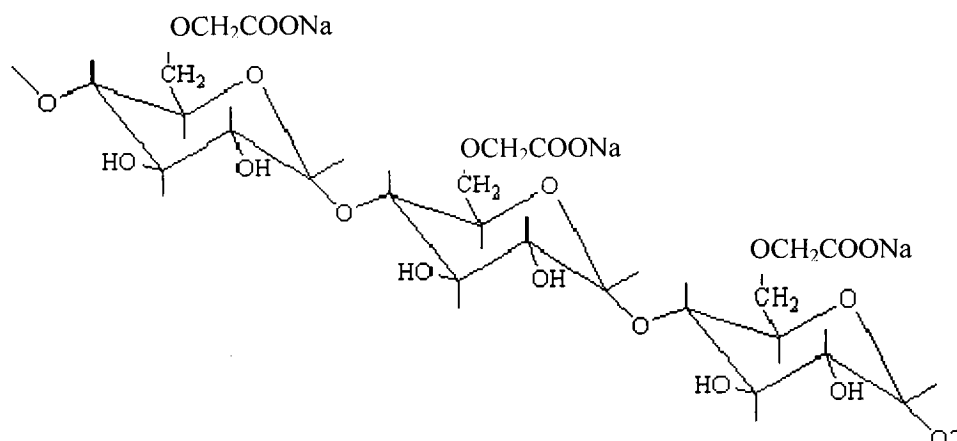
[0045] 所述的变性淀粉其分子量为 15,000 道尔顿以上 (如 15,000 ~ 2,000,000 道尔顿)。

[0046] 所述变性淀粉的吸水倍率不低于 1 倍,一般可以为 1 ~ 500 倍,最佳为 2 ~ 100。

[0047] 所述的醚化淀粉至少包括羧甲基淀粉、羧乙基淀粉、羟乙基淀粉、阳离子淀粉中的一种或其组合。

[0048] 其中以羧甲基淀粉为例,其为线性结构聚合物,结构式如下 :

[0049]



[0050] 采用长期以来在临床上已知的用于血浆代用品的变性淀粉,如羧甲基淀粉 (CMS) 和羟乙基淀粉,其生物相容性好,可用于人体血管内,无毒副作用,安全性高。本发明的止血材料可以拓宽到其他血浆代用品,利用其普遍所知的药代途径和理化性质制成安全可靠的止血材料。

[0051] 变性淀粉中的阳离子淀粉作为止血材料,由于其表面带有的正电荷,用来吸引带负电的红细胞,与其相互作用,从而更加速了凝血的过程;另一方面,带正电的变性淀粉在与血液接触后能紧紧地贴附于组织,封闭伤口,从而快速止血。阳离子淀粉可以单独用作止血材料,也可以与其他变性淀粉混合作止血材料使用。

[0052] 所述的复合变性淀粉至少包括预糊化的羟丙基二淀粉磷酸酯。具体的,羟丙基二淀粉磷酸酯是由淀粉经环氧丙烷和磷酸交联醚化后,再经过喷雾干燥法预糊化变性制成,在酸性、碱性条件下均较稳定、粘度高、吸水性强、止血效果好,可以用来作为生物相容的止血材料、外科封闭剂、促进组织愈合材料、帮助组织修复的胶粘剂以及防粘连材料等使用。

[0053] 所述的接枝淀粉至少包括丙烯酸-羧甲基淀粉接枝共聚物和丙烯酸-羧甲基淀粉接枝共聚物。接枝淀粉具有超强的吸水能力和粘性,用于创伤表面可达到迅速止血的目的,尤其适用于处理战伤、急救及临床手术当中的动、静脉瘤破裂等大动、静脉出血的情况。

[0054] 本发明的变性淀粉止血材料可以制成止血粉剂、止血球、止血气雾剂,可直接洒于有血创面,或制成汽雾状喷洒于有血创面止血。

[0055] 对大面积烧伤的创面,采用气雾、汽雾的方法不仅可以使创面止血,还可以减少组织液渗出,保持创面湿润,易于组织愈合。

[0056] 所述的止血材料也可以为止血海绵、止血膜、止血贴,可直接接触在有血创面上止血,其中海绵、止血膜、止血贴可以是制成膜状或层状附着在纤维织物内部或纤维织物表面,如绷带、创可贴等。所述的止血海绵、止血膜、止血贴可以为柱状、片状、块状、絮状、膜状。

[0057] 所述的变性淀粉止血海绵对于活动性出血容易操作,具有很好的疗效。所述的止血海绵可以由一种或以上的变性淀粉经真空冷冻干燥制成。所述的止血海绵可以为一种或以上的变性淀粉与除变性淀粉外的其他生物相容性止血材料经真空冷冻干燥及其它干燥技术制成的复合止血海绵。

[0058] 其中,所述的除变性淀粉外的生物相容性止血材料可以包含明胶、胶原蛋白、羧甲基纤维素、氧化纤维素、氧化再生纤维素、壳聚糖中的一种或其几种组合。

[0059] 为了解决部分变性淀粉制作海绵时成型不佳的问题,本发明利用已知的生物相容性较好、广泛被临床所接受的其他生物可吸收性止血材料与变性淀粉联合制成复合止血海绵,其中,其他生物可吸收性止血材料可以采用一种或多种,变性淀粉也可采用一种或多种,具体如:变性淀粉+明胶、变性淀粉+胶原蛋白、变性淀粉+壳聚糖、变性淀粉+羧甲基纤维素、变性淀粉+透明质酸等,利于海绵成型,满足临床需要。

[0060] 变性淀粉与其他生物相容性止血材料的重量百分比可以为99.9:0.1~1:99。

[0061] 具体的,变性淀粉与其他生物相容性止血材料的优选重量百分比可以包含:95:5,90:10,85:15,80:20,75:25,70:30,65:35,60:40,55:45,50:50,45:55,40:60,35:65,30:70,25:75,20:80。

[0062] 所述的变性淀粉止血海绵制备时还可以直接添加凝血剂,或在与其他生物相容性止血材料制备复合止血海绵的情况下添加凝血剂,经真空冷冻干燥制成含凝血剂的止血海绵。制备的方法可以是将凝血剂直接与变性淀粉混合后进行冷冻干燥但不限于上述制备工艺。

[0063] 其中,所述的凝血剂可以包括凝血因子、凝血酶、纤维蛋白、钙剂、多肽、缩氨酸、氨基酸、鱼精蛋白中的一种或其组合。

[0064] 所述的变性淀粉可以与成型剂、增塑剂经真空冷冻干燥制成止血海绵。

[0065] 其中,所述的成型剂包括有机成型剂、无机成型剂、天然成型剂、人工合成增塑剂,包括但不限于甘油、高岭土、山梨醇、乙醇、氨水、聚乙二酸中的一种或其组合。

[0066] 具体的,真空冷冻干燥技术是将湿物料或溶液在较低的温度($-10 \sim -50^{\circ}\text{C}$)下冻结成固态,然后在真空($1.3 \sim 15$ 帕)下使其中的水分不经液态直接升华成气态,最终使物料脱水的干燥技术。由于真空冷冻干燥在低温、低压下进行,而且水分直接升华,因此赋予产品许多特殊的性能。

[0067] 真空冷冻干燥技术的基本参数包括物性参数和过程参数,物性参数指物料的导热系数、传递系数等,过程参数包括冷冻、供热和物料形态等有关参数。对冷冻过程的研究意在为系统找到最优冷冻曲线。

[0068] 所述的生物相容的变性淀粉止血材料为制成止血胶,物理形态包括胶状、溶胶状、融胶状、半流体状、凝胶状等。

[0069] 止血胶的制作可由变性淀粉加不限于水的其它液体以一定比例稀释、溶胀、溶解获得。

[0070] 本发明变性淀粉材料作为止血材料的应用,用于哺乳动物(包含人类)、鸟类、爬行动物有血创面的止血;用于人体体表、体内组织器官及体腔内组织或器官有血创面、或用于外科手术、创伤急救、鼻镜、喉镜、内窥镜、腔镜下的止血。

[0071] 本发明的变性淀粉止血材料可以应用在外科手术或因外伤造成的骨组织损伤的止血,特别是骨松质部位的止血。在部分病人如小儿、老人、骨质疏松病人的开胸、开颅手术中,胸骨、颅骨断面的出血难以控制,临床上多用骨蜡(BONEWAX)在胸骨、颅骨的断面上加以处理,但骨蜡不易吸收,易引起骨不连、感染等并发症。本发明的变性淀粉生物材料可以替代骨蜡,利用其吸水作用和粘性好、成型好等特点,起到对骨折或因手术形成的骨断面的止血和机械封闭、封堵,术后,可很快代谢、降解,避免了使用骨蜡引起骨不连、感染的并发症的医学问题。

[0072] 在变性淀粉用作止血材料止血的同时,变性淀粉具有的其他生物学特性也是及其重要和值得关注的。因为使用变性淀粉止血材料对伤口是否会引起感染、粘连、对组织愈合的影响、对伤口炎性反应的抑制作用以及减少创面的组织液渗出、对组织的修复作用等对在手术、外伤、急救等的处理均具有重大意义。

[0073] 本发明的变性淀粉材料还有进一步的用途,包括可以作为可吸收性防止术后组织粘连的材料。其作用机理是本发明的变性淀粉可以通过减少局部出血、渗出,并使伤口或创面与邻近组织器官如腹膜等形成机械隔离,从而达到防止创伤的组织或器官与周围的其他组织或器官发生粘连的目的。

[0074] 本发明的变性淀粉材料还可以促进组织愈合,采取适当的操作方法、选择适当的变性淀粉以及施加合适的用量,对于皮肤、皮下软组织、肌肉组织、骨组织、脑组织、神经组织、肝、肾、脾等脏器损伤组织可有促进愈合的作用。如施予在大面积烧伤病人的创面可以作为皮肤组织细胞生长的“支架”促进皮肤组织愈合生长;在施予因外伤、骨肿瘤切除术等原因造成的骨缺损处可作为骨细胞生长、爬行的“支架”,帮助骨组织愈合生长;在施予因脑外伤、脑肿瘤切除等原因造成的脑组织缺损处可作为脑组织细胞生长、爬行的“支架”,帮助脑组织细胞生长。

[0075] 本发明的变性淀粉材料的再一用途是,用作生物相容的外科封闭剂,可以在伤口或创面表面形成一层保护胶体或膜,封闭因手术、外伤等原因造成的血液、组织液、淋巴液、脑脊液、胆汁、胃液、肠液的渗出,从而防止淋巴瘘、胆瘘、胸膜瘘、肠瘘、脑脊液瘘、血管瘘等

发生。

[0076] 本发明的变性淀粉材料的又一用途是,用作生物相容的组织粘结剂,可以用于对损伤的神经组织、肌肉组织、骨组织、皮肤、皮下组织、脏器等组织进行粘合、修复、修补,也可以将其他医用材料粘结在需要修补的组织、器官及其创面上。

[0077] 本发明的变性淀粉材料在临床上应用时还具有对出血创面的抑菌和抗炎的作用。由于本发明的变性淀粉止血材料可以起到止血作用,减少了伤口出血、渗血,组织液渗出并保持创面或伤口的相对湿润或干燥,因此抑制了细菌生长及炎症反应,有助于对伤口进行局部消炎,减少病人的疼痛。此外,为加强抗炎效果,在制作变性淀粉止血粉、海绵、止血胶等材料时,可在材料中加入已知的抗生素或其它消炎剂,制成体表用、体内用的消炎止血复合材料使用。

[0078] 本发明的又一优点是:由于本发明的变性淀粉材料易于溶胀或溶解于水,在达到止血目的后可以对创面用生理盐水等液体进行冲洗,未参与止血作用的变性淀粉止血材料可以轻易的被水冲掉、经吸引器吸走或用辅料擦去,减少在体内的残留,利于快速代谢和吸收,减少异物反应,利于伤口愈合。在战伤、自救、急救处理后进行清创处理时,可以轻易清除止血剂,即使残留有少量变性淀粉止血材料也可为机体所吸收,避免因撕开纱布、绷带而给病人、伤员造成的痛苦。

[0079] 变性淀粉止血材料还具有稳定、不易分解、保质期长、便于储存、耐高压、低压、耐高温(可达60℃以上)、耐低温(可达-40℃以下)、不易改变理化特性等特点,可以作为军队、消防人员、急救车、家庭,特别适用作为在寒冷、炎热地区和沙漠、南极、北极、高山、太空、水下等极端条件下的止血材料。

[0080] 作为变性淀粉的海绵变性淀粉材料具有柔软、有弹性,易成型、易卷曲等特点,可以适用于各种形状、特点的伤口,如对深部、弯曲、不规则伤口、生理器官、生理腔隙的内外表面,腔镜及内窥镜下的止血、处理,有助于医者进行操作。

[0081] 为了进一步增强变性淀粉在创面、组织等方面直接使用的安全性,可以对本发明的变性淀粉材料包装后进行消毒,消毒方法包括但不限于 γ 射线辐照消毒、环氧乙烷消毒、臭氧消毒。

[0082] 本发明一种生物相容变性淀粉材料的制备方法,包括以下步骤:

[0083] (a) 提供一种已变性的吸水性的生物相容性淀粉原料,放入沸腾机内,在40~50℃下;

[0084] (b) 加入蒸馏水,经过凝聚、制丸,制成变性淀粉材料成品;

[0085] 其中,该变性淀粉材料,分子量为15,000道尔顿以上(如15,000~2,000,000道尔顿),颗粒粒径为10~1000 μ m,其中,粒径在30~500 μ m的淀粉颗粒占总淀粉颗粒量不低于95%,其中,该变性淀粉材料能对有血创面提供止血作用、防粘连、促进组织愈合、封闭、粘堵、粘合作用,亦对有血创面,产生抑菌和抗炎作用,使当该有血创面是属于人体体表、体内组织器官及体腔内组织或器官,使用于外科手术、创伤救治、喉镜、内窥镜及腔镜下的时候,提供止血、防粘连、促进组织愈合、外科伤口封闭、伤口组织粘合。

附图说明

[0086] 图1为兔肝出血阳性对照组(Arista™)止血效果图。

- [0087] 图 2 为兔肝出血羧甲基淀粉 66# 变性淀粉样品组止血效果图。
- [0088] 图 3 为兔肝出血阴性对照组（原淀粉）止血效果图。
- [0089] 图 4 为羧甲基淀粉 66# 实验组 24 小时小鼠腹腔内粘连情况图。
- [0090] 图 5 为羧甲基淀粉 66# 实验组 24 小时小鼠腹腔内降解情况图。
- [0091] 图 6 为大鼠肠粘连对照组（空白）粘连效果图。
- [0092] 图 7 为大鼠肠粘连羧甲基淀粉 66# 变性淀粉防粘连效果图。
- [0093] 图 8 为大鼠肠粘连阳性对照组透明质酸钠防粘连效果图。
- [0094] 图 9 为家兔骨愈合指标比较图。
- [0095] 图 10 为预糊化羟丙基二淀粉磷酸酯（51#）止血海绵 A 断面的扫描电子显微镜照片。
- [0096] 图 11 为预糊化羟丙基二淀粉磷酸酯（51#）止血海绵 B 断面的扫描电 子显微镜照片。

具体实施方式

[0097] 本发明提供一种作为生物相容性止血、生物相容性的防粘连、促进组织愈合、可吸收性外科封闭剂、及组织粘结的变性淀粉材料，尤其是一种直接作用在人、哺乳动物等的创面，包括有血创面或有渗出液的创面，用于止血、防粘连、促进组织愈合、封闭创伤组织断面、防止出血和组织液渗出、粘结因外伤、手术造成的组织器官损伤，帮助组织修复、避免或减少外科缝合，且能为人、动物体所吸收的变性淀粉材料。

[0098] 淀粉是一种葡聚糖，一般不溶于水，常温下不吸水或难以吸水，天然淀粉在 60℃ 以上的热水中会吸水膨胀而变成具有粘性的半透明胶体溶液。原淀粉经加工处理分子发生异构，获得了新的化学物理特性，成为变性淀粉。淀粉根据来源分成包括薯类淀粉、玉米淀粉等，含直链淀粉和支链淀粉。颗粒大小为 1 ~ 100 μm ，平均直径在 15 ~ 30 μm 。

[0099] 天然的淀粉因颗粒小、颗粒轻、常温下吸水性不好，难以达到止血的目的。

[0100] 变性淀粉是淀粉分子链被切断、重排或引入其它化学基团以改变其结构而获得的，经过变性的淀粉比原来淀粉具有更优良的性能。以变性方法划分主要分为物理变性淀粉、化学变性淀粉、酶变性淀粉和天然变性淀粉。

[0101] 物理变性是通过加热、挤压、辐射等物理方法使淀粉微晶结构发生变化，而生成所需要功能性质的变性淀粉。具体的，经物理变性制成的变性海绵主要包括预糊化（ α 化）淀粉、 γ 射线、微波或高频辐 射淀粉、机械研磨淀粉、湿热处理淀粉等。

[0102] 化学变性淀粉是将原淀粉经化学试剂处理，发生结构变化而改变其性质，达到应用的要求。具体的，经过化学变性制成的变性淀粉主要包括酸变性淀粉、氧化淀粉、焙烤糊精、酯化淀粉、醚化淀粉、接枝淀粉等。

[0103] 酶变性淀粉对原淀粉通过酶的作用产生变性淀粉，如 α 、 β 、 γ - 环状糊精、麦芽糊精、支链淀粉等。

[0104] 天然变性淀粉是通过品种培育和遗传技术改变淀粉的结构，使之具有化学变性淀粉相同特性的天然淀粉。

[0105] 变性淀粉通常需要对原淀粉进行多次变性以期达到要求的理化性状，也就是通过两种或以上的变性方法进行变性，所制成的变性淀粉称之为复合变性淀粉，而在普遍使用

的变性淀粉中,大部分都是经多次变性的复合变性淀粉。

[0106] 本发明所提供的生物相容性变性淀粉材料可作为止血材料直接作用于人、动物体的有血创面,包括对体表、体内及体腔内组织、器官的止血,止血迅速、有效。

[0107] 本发明所提供的制备变性淀粉止血材料的方法和工艺途径,将变性淀粉制备成粉剂、海绵、胶体、膜等形式的材料,可以适合各种各样需求的手术止血需要,且使用方便。

[0108] 本发明还提供了通过选择将淀粉变性的不同方法和工艺使变性淀粉能够达到满足止血、封闭、粘堵、促愈合、粘合以及适合应用环境要求的重要理化性质、性状、技术参数和技术指标。该变性淀粉止血材料可为人、动物体所吸收,快速降解,安全可靠。

[0109] 同时,本发明所提供的变性淀粉还可用作生物相容性的防粘连材料、促进组织愈合材料、外科封闭剂和有助于组织修复的组织粘合剂。

[0110] 本发明解决上述技术问题所采取的技术方案是应用一种变性淀粉作为生物相容性止血材料,其机理包括:该变性淀粉为经变性而可在水中溶解或溶胀形成粘性胶或粘性液的变性淀粉。

[0111] 机理还包括:所述的变性淀粉为经变性而带有亲水基团的变性淀粉。

[0112] 吸水性的、吸水后成高粘性的变性淀粉作用到出血的伤口时,可以迅速吸取血液中的水分,浓缩血液,同时,与血液、血浆形成的胶性混合物粘附于出血伤口处,机械封堵破损的血管及伤口,达到止血目的。

[0113] 所述的变性淀粉材料包括通过物理变性、化学变性、酶处理变性、天然变性,及上述1种方法的多次变性或至少上述两种方法的复合变性而获得的变性淀粉。

[0114] 其中,所述的物理变性包括辐照、机械、湿热处理。

[0115] 纯物理变性制成的变性淀粉,如经干法、辐照法的预糊化淀粉,由于其未经任何化学试剂处理,因此用作生物可吸收性止血材料其安全性尤为显著。

[0116] 预糊化淀粉是一种比较典型的物理变性淀粉,其制备方法可以为干法变性,包括挤压法、滚筒干燥法;也可以为湿法变性,包括喷雾干燥法。

[0117] 具体的,将原淀粉在一定量的水存在下进行加热处理后,淀粉颗粒溶胀为糊状,规则排列的胶束被破坏,微晶消失,并且易接受淀粉酶的作用而被降解。预糊化淀粉能够在冷水中及常温的水中溶胀或溶解,形成具有一定粘度的糊液,且其凝沉性比原淀粉要小便于加工配制。

[0118] 用预糊化的方式可以在不添加任何化学试剂的条件下而只采用纯物理的方法将天然淀粉变性,利用天然淀粉变性后吸水性及粘度增加的特点制作止血材料,安全、无毒副作用,预糊化后的淀粉更易于被人体进一步酶分解、代谢,生物相容性好,使用安全。

[0119] 所述的化学变性包括经化学试剂进行酸解、氧化、酯化、醚化、交联、接枝变性处理,或采用至少上述两种方法进行复合变性处理,或上述一种方法的至少两次变性处理。

[0120] 通过淀粉葡萄糖单元的官能团与化学试剂反应,例如通过羧基化改性、羟基化改性,使淀粉带有亲水基团,通过双官能团或多官能团的试剂则可使原淀粉大分子之间形成交联体,或者通过接枝获得大分子的亲水基团,从而增加淀粉的吸水特性并且提高粘度。变性淀粉的粘度与原淀粉的种类、取代度以及交联或接枝上的功能基团等因素有关。变性淀粉的吸水性及吸水后的粘性使与遇血液接触后形成的“淀粉-凝血混合物”有高粘性,或形成的凝血混合物与组织蛋白质的功能基团发生作用,使“淀粉-凝血混合物”粘附于破损的

伤口组织上达到止血和封闭的作用。

[0121] 本发明的又一优点是：由于本发明的变性淀粉材料易于溶胀或溶解于水，在达到止血目的后可以对创面用生理盐水等液体进行冲洗，未参与止血作用的变性淀粉止血材料可以轻易的被水冲掉、经吸引器吸走或用辅料擦去，减少在体内的残留，利于快速代谢和吸收，减少异物反应，利于伤口愈合。

[0122] 具体的，所述的变性淀粉为预糊化淀粉、酸变性淀粉、糊精、氧化淀粉、酯化淀粉、醚化淀粉、交联淀粉中的一种或以上的组合。

[0123] 包含两种或以上变性淀粉构成的止血材料，根据对止血材料理化性质的要求，其两种变性淀粉的重量百分比可以为 99 : 1 ~ 1 : 99。

[0124] 具体可以包含 :95 : 5, 90 : 10, 85 : 15, 80 : 20, 75 : 25, 70 : 30, 65 : 35, 60 : 40, 55 : 45, 50 : 50。

[0125] 以下提供本发明变性淀粉的主要参数：

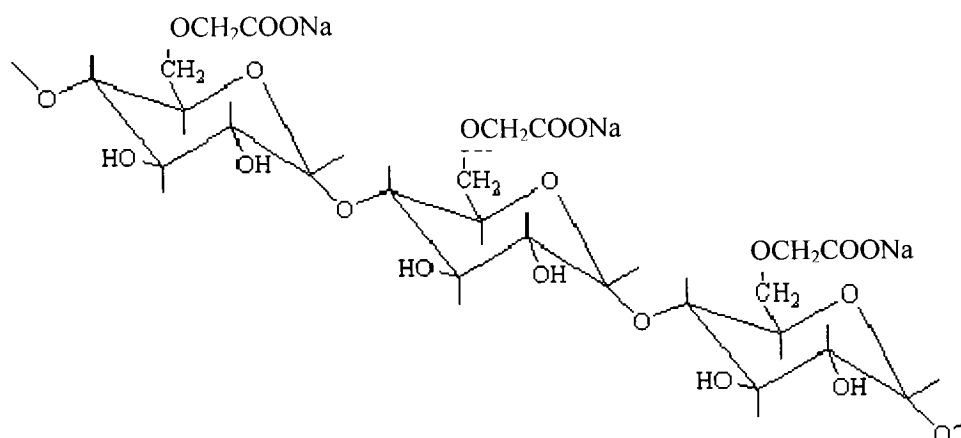
[0126] 所述的变性淀粉其分子量为 15,000 道尔顿以上（如 15,000 ~ 5,000,000 道尔顿）。

[0127] 所述变性淀粉的吸水倍率不低于 1 倍，一般可以为 1 ~ 500 倍，最佳为 2 ~ 100。

[0128] 所述的醚化淀粉至少包括羧甲基淀粉、羟乙基淀粉、阳离子淀粉中的一种。

[0129] 其中以羧甲基淀粉为例，其为线性结构聚合物，结构式如下：

[0130]



[0131] 采用长期以来在临床上已知的用于血浆代用品的变性淀粉，如羧甲基淀粉（CMS）和羟乙基淀粉，其生物相容性好，可用于人体血循环中，无毒副作用，安全性高。本发明的止血材料可以拓宽到其他血浆代用品，利用其普遍所知的药物代谢途径和理化性质制成安全可靠的止血材料。

[0132] 变性淀粉中的阳离子淀粉作为止血材料，由于其表面带有的正电荷，用来吸引带负电的红细胞，与其相互作用，从而更加速了凝血的过程；另一方面，带正电的变性淀粉在与血液接触后能紧紧地贴附于组织，封闭伤口，从而快速止血。阳离子淀粉可以单独用作止血材料，也可以与其他变性淀粉混合作止血材料使用。

[0133] 所述的复合变性淀粉至少包括预糊化的羟丙基二淀粉磷酸酯。具体的，羟丙基二淀粉磷酸酯是由淀粉经环氧丙烷和磷酸交联醚化后，再经过喷雾干燥法预糊化变性制成，在酸性、碱性条件下均较稳定、粘度高、吸水性强、止血效果好，可以用来作为生物相容的止血材料、外科封闭剂、促进组织愈合材料、帮助组织修复的胶粘剂以及防粘连材料等使用。

[0134] 所述的交联淀粉至少包括表氯醇交联淀粉、交联羧甲基淀粉中的一种。

[0135] 所述的接枝淀粉至少包括丙烯酸-羧甲基淀粉接枝共聚物和丙烯酸-羧甲基淀粉接枝共聚物。接枝淀粉具有超强的吸水能力和粘性,用于创伤表面可达到迅速止血的目的,尤其适用于处理战伤、急救及临床手术当中的动、静脉瘤破裂等大动、静脉出血的情况。

[0136] 本发明的变性淀粉止血材料可以制成止血粉剂、止血球、止血气雾剂,可直接洒于有血创面,或制成汽雾状喷洒于有血创面止血。

[0137] 对大面积烧伤的创面,采用喷洒气雾、汽雾变性淀粉止血粉的方法及在创面覆盖变性淀粉海绵、膜不仅可以使创面止血,还可以减少组织液渗出,保持创面湿润,成为成纤维细胞生长爬行的“支架”,易于组织愈合。

[0138] 具体的,所述的止血粉剂为变性淀粉经凝聚、制丸、筛分制成。对于不同的变性淀粉,由于有些变性淀粉的粉颗粒较小,因此采取凝聚工艺增加其颗粒粒径,从而提高其止血性能。对于变性淀粉本身具有较大的粒径,如交联淀粉、接枝淀粉,则这种工艺并非必要。

[0139] 所述的经过凝聚后制成的变性淀粉颗粒粒径为 $10 \sim 1000 \mu\text{m}$,优选颗粒粒径为 $30 \sim 500 \mu\text{m}$,且粒径在 $30 \sim 500 \mu\text{m}$ 的淀粉颗粒占总淀粉颗粒量不低于 95%;最佳颗粒粒径为 $50 \sim 250 \mu\text{m}$ 。

[0140] 具体的,由于未经聚合造粒的原变性淀粉颗粒小、轻,吸水后容易在颗粒表面或与血液中的水份之间形成一种胶体,阻碍了水分子进一步进入其余的淀粉颗粒中而影响止血的效果。而本发明设计和利用了食品及制药工业中的造粒技术,将细小的变性淀粉颗粒,一般在 $5 \sim 50 \mu\text{m}$,进行聚集,制得的颗粒具有适合临床应用的粒径,同时可以加以滚圆、筛分,以制成可流动的均匀颗粒,一般粒径在 $30 \sim 500 \mu\text{m}$ 。通过上述工艺制成的变性淀粉颗粒,吸水速度快,吸水性强,颗粒可以在血液中迅速扩散,不易形成胶状的保护层而影响的止血效果,故止血效果更好。

[0141] 为了满足临床手术的需要,本发明通过不同的方法及工艺条件制备出不同性状的止血材料,方便医生应对各种手术中的止血需要。粉剂适合于大面积的弥漫性渗血,或经腹腔镜、鼻镜、内窥镜下输送止血粉剂喷洒到出血创面。粉剂也可以达到封闭效果,防止术后胆瘘、胸腔瘘、淋巴瘘、肠瘘、及创面的渗血、渗出等。术后用生理盐水冲洗多余的粉剂,以免残留,减少异物反应,保证安全。

[0142] 所述的止血材料可以为止血海绵、止血膜、止血贴,可直接接触在有血创面上止血,其中海绵、止血膜、止血贴可以是制成膜状或层状附着在纤维织物内部或纤维织物表面,如绷带、创可贴等。

[0143] 所述的止血海绵、止血膜、止血贴为柱状、片状、块状、絮状、膜状,且不限于上述形式。

[0144] 对于活动性出血及血管压力较高的出血,术者或救护人员必须对出血处进行施压,阻断血流,此时,由于出血速度很快、血管压力高,出血容易将止血粉及止血粉与血液形成的凝血块冲开,达不到止血效果。若在止血粉上对出血点施压,则血液与粉剂形成的凝血块胶体易粘连在手套或止血纱布、绷带等辅料上,拿开手套或辅料时容易撕脱凝血块造成再出血。而本发明将变性淀粉制成止血海绵可以直接接触出血点,在海绵上进行按压则很好地避免了上述情况的发生。因此,变性淀粉止血海绵对于活动性出血容易操作,具有很好的疗效。

[0145] 所述的止血海绵可以由一种或以上的变性淀粉经真空冷冻干燥制成,但不限于上述制备工艺。

[0146] 所述的止血海绵为一种或以上的变性淀粉与除变性淀粉外的其他生物相容性止血材料经真空冷冻干燥制成的复合止血海绵,但不限于上述制备工艺。

[0147] 其中,所述的除变性淀粉外的生物相容性止血材料包含明胶、胶原蛋白、羧甲基纤维素、氧化纤维素、氧化再生纤维素、壳聚糖、海藻酸钠中的一种或其几种组合,但不限于此。

[0148] 为了解决部分变性淀粉制作海绵时成型不佳的问题,本发明利用已知的生物相容性较好、广泛被临床所接受的其他生物可吸收性止血材料与生物相容的变性淀粉联合制成复合止血海绵,其中,其他生物可吸收性止血材料可以采用一种或多种,变性淀粉也可采用一种或多种,具体如:变性淀粉+明胶、变性淀粉+胶原蛋白、变性淀粉+壳聚糖、变性淀粉+羧甲基纤维素、变性淀粉+透明质酸等,利于海绵成型,满足临床需要。

[0149] 生物相容的变性淀粉与其他生物相容性止血材料的重量百分比可以为 99.9 : 0.1 ~ 1 : 99。

[0150] 具体的,变性淀粉与其他生物相容性止血材料的优选重量百分比可以包含有: 95 : 5, 90 : 10, 85 : 15, 80 : 20, 75 : 25, 70 : 30, 65 : 35, 60 : 40, 55 : 45, 50 : 50, 45 : 55, 40 : 60, 35 : 65, 30 : 70, 25 : 75, 20 : 80。

[0151] 所述的变性淀粉止血海绵制备时还可以直接添加凝血剂,或在与其他生物相容性止血材料制备复合止血海绵的情况下添加凝血剂,经真空冷冻干燥制成含凝血剂的止血海绵。制备的方法可以是将凝血剂直接与变性淀粉混合后进行冷冻干燥但不限于上述制备工艺。

[0152] 其中,所述的凝血剂包括凝血因子、凝血酶、纤维蛋白、钙剂、多肽、缩氨酸、氨基酸、鱼精蛋白中的一种或其组合,但不限于此。

[0153] 所述的变性淀粉与成型剂、增塑剂经真空冷冻干燥制成止血海绵。

[0154] 其中,所述的成型剂包括有机成型剂、无机成型剂、天然成型剂、人工合成增塑剂,包括但不限于甘油、高岭土、山梨醇、乙醇、氨水、聚乙二酸中的一种或其组合。

[0155] 具体的,真空冷冻干燥技术是将湿物料或溶液在较低的温度($-10 \sim -50^{\circ}\text{C}$)下冻结成固态,然后在真空(1.3 ~ 15 帕)下使其中的水分不经液态直接升华成气态,最终使物料脱水的干燥技术。由于真空冷冻干燥在低温、低压下进行,而且水分直接升华,因此赋予产品许多特殊的性能。

[0156] 真空冷冻干燥技术的基本参数包括物性参数和过程参数,物性参数指物料的导热系数、传递系数等,过程参数包括冷冻、供热和物料形态等有关参数。对冷冻过程的研究意在为系统找到最优冷冻曲线。

[0157] 所述的生物相容的变性淀粉止血材料为制成止血胶,物理形态包括胶状、溶胶状、融胶状、半流体状、凝胶状等。

[0158] 止血胶的制作可由变性淀粉加不限于水的其它液体以一定比例稀释、溶胀、溶解获得。

[0159] 本发明变性淀粉作为止血材料的应用,用于人、哺乳动物、鸟类、爬行动物有血创面的止血;用于人体体表、体内组织器官及体腔内组织或器官有血创面、或用于外科手术、

创伤急救、鼻镜、喉镜、内窥镜、腔镜下的止血。

[0160] 值得一提的是,本发明的变性淀粉止血材料可以应用在外科手术或因外伤造成的骨组织损伤的止血,特别是骨松质部位的止血。在部分病人如小儿、老人、骨质疏松病人的开胸、开颅手术中,胸骨、颅骨断面的出血难以控制,临床上多用骨蜡(BONEWAX)在胸骨、颅骨的断面上加以处理,但骨蜡不易吸收,易引起骨不连、感染等并发症。本发明的变性淀粉生物材料可以替代骨蜡,利用其吸水作用和粘性好、成型好等特点,起到对骨折或因手术形成的骨断面的止血和机械封闭、封堵,术后,可很快代谢、降解,避免了使用骨蜡引起骨不连、感染的并发症的医学问题。

[0161] 在变性淀粉用作止血材料止血的同时,变性淀粉具有的其他生物学特性也是及其重要和值得关注的。因为使用变性淀粉止血材料对伤口是否会引起感染、粘连、对组织愈合的影响、对伤口炎性反应的抑制作用以及减少创面的组织液渗出、对组织的修复作用等对在手术、外伤、急救等的处理均具有重大意义。

[0162] 而实验证明,本发明的变性淀粉还可以有进一步的用途,包括作为可吸收性防止术后组织粘连的材料。其作用机理是本发明的变性淀粉可以通过减少局部出血、渗出,并使伤口或创面与邻近组织器官如腹膜等形成机械隔离,从而达到防止创伤的组织或器官与周围的其他组织或器官发生粘连的目的。

[0163] 本发明的变性淀粉还可以促进组织愈合,采取适当的操作方法、选择适当的变性淀粉以及施加合适的用量,对于皮肤、皮下软组织、肌肉组织、骨组织、脑组织、神经组织、肝、肾、脾等脏器损伤组织可有促进愈合的作用,如施予在大面积烧伤病人的创面可以作为皮肤组织细胞生长的“支架”促进皮肤组织愈合生长;在施予因外伤、骨肿瘤切除术等原因造成的骨缺损处可作为骨细胞生长、爬行的“支架”,帮助骨组织愈合生长;在施予因脑外伤、脑肿瘤切除等原因造成的脑组织缺损处可作为脑组织细胞生长、爬行的“支架”,帮助脑组织细胞生长。

[0164] 其原理为:变性淀粉与血液混合后而形成的“胶状物”可以作为“支架”在伤口处,利于成骨细胞、成纤维细胞等其它组织细胞的附着、爬行及连接、生长;此外,伤口局部处的血小板聚集、局部的血小板浓度增加、血小板被激活,从而使血小板释放组织因子,可促进组织愈合。

[0165] 本发明的变性淀粉的再一用途是,用作生物相容的外科封闭剂,可以在伤口或创面表面形成一层保护胶体或膜,封闭因手术、外伤等原因造成的血液、组织液、淋巴液、脑脊液、胆汁、胃液、肠液的渗出,从而防止淋巴瘘、胆瘘、胸膜瘘、肠瘘、脑脊液瘘、血管瘘等发生。

[0166] 本发明的变性淀粉的又一用途是,用作生物相容的组织粘结剂,可以用于对损伤的神经组织、肌肉组织、骨组织、皮肤、皮下组织、脏器等进行粘合、修复、修补,也可以将其其他医用材料粘结在需要修补的组织、器官及其创面上。

[0167] 本发明与现有止血材料的区别在于:

[0168] 相对于美国专利 US6060461-多微孔多聚糖,也是一种生物相容的止血材料,可由淀粉经表氯醇交联形成,可为体内吸收。其机理是:由于该止血材料表面或内部具有微孔,通过微孔起到分子筛的作用,孔的大小可以决定允许水分子等小分子进入颗粒内部,而红细胞、血小板、纤维蛋白等大分子物质则阻隔在颗粒的表面,从而促进凝血。

[0169] 该专利中的多微孔多聚糖是经由一种特殊的工艺制成的,在该专利中并未公开,对于普通的变性淀粉,包括交联变性淀粉,多数情况下是不具有这种多微孔结构的。在本发明中也并未利用变性淀粉的多微孔作分子筛的特性达到止血目的,而本发明是通过其他的工艺手段使原淀粉带有亲水基团,直接与水分子发生水合作用,从而达到浓缩血液、促进凝血的效果,而非与变性淀粉表面有无微孔相关。

[0170] 另外,本发明将通过改变取代度、选择支链淀粉与直链淀粉的含量比例、以及改变官能基团等手段提高淀粉吸水性及在吸水后的粘度,使变性淀粉与血液接触后形成淀粉-血液混合物的“粘性胶体”,粘附于组织上,机械性地封堵了血管破口及伤口,这是US6060461 专利中多微孔多聚糖所未提及的特性,也是本发明优于传统止血材料的一大特点。将变性淀粉制成止血粉剂、止血海绵、止血胶与淀粉表面是否具有微孔结构并无关系,粉剂、海绵或胶的止血效果与制成它们的变性淀粉的特性有关。

[0171] 相对于公开号 CN1533751A 专利,该专利止血敷料包括必不可少的两个组成部分,一是织物、二是涂布其上的多孔聚合物基质,形成一种结构上的复合形式。织物具体由氧化再生纤维素制成,在之前的内容中已经介绍了这种止血材料由于人体内缺乏相应的降解酶,难以为人体所吸收,影响组织愈合、易引起局部感染,因此使该产品有较大的局限性。在对基质的描述中该专利提到了葡聚糖及羧甲基纤维素,而羧甲基纤维素是葡聚糖的一种。纤维素和淀粉是葡聚糖中的两大类,尽管他们都是葡萄糖单体脱水缩聚而成的多聚糖,但其性质是截然不同的,首先,淀粉的聚合度一般几百到几千,分子量为几万到几十万道尔顿;纤维素的聚合度一般几千,分子量约为几十万至百万 道尔顿;其次,淀粉中所有的葡萄糖重复单元都朝一个方向排列,而纤维素的重复单元相互之间则沿轴向旋转 180° 连接,使两者结构不同,因此,淀粉容易为人体富含的淀粉酶及糖酶所降解代谢,而纤维素因人体缺乏相应降解酶,难以被代谢吸收。

[0172] 因此,制备用作止血的生物相容性可吸收性材料,淀粉的特性远远优于纤维素,变性淀粉因易于被人体内富含的淀粉酶降解成葡萄糖而吸收快,生物相容性的优势也就显而易见,这是纤维素无法达到的。另外,上述止血敷料粘性差,与组织难以粘连,需外部施压方能与组织保持紧密接触,不能起到有效封堵血管、创面,封闭创伤的作用,使得临床上可应用的技术手段受到限制。

[0173] 在上述区别特征的基础上,本发明的变性淀粉在临床上应用时还具有对出血创面的抑菌和抗炎的作用。由于本发明的变性淀粉止血材料可以起到止血作用,减少了伤口出血、渗血,组织液渗出并保持创面或伤口的相对湿润或干燥,因此抑制了细菌生长及炎症反应,有助于对伤口进行局部消炎,减少病人的疼痛。此外,为加强抗炎效果,在制作止血粉、海绵、止血胶等材料时,可在材料中加入已知的抗生素或其它消炎剂,作为体表或体内使用的消炎止血复合材料。

[0174] 使用变性淀粉止血材料的又一优点是,由于所发明的变性淀粉遇水后可易溶解或混悬于水中,因此,便于在手术完成后局部清洗清除残余的变性淀粉止血材料以及创伤急救后的二次清创处理。在手术完成后可对局部进行冲洗,除去多余的未参与止血的变性淀粉。在战伤、自救、急救处理后进行清创处理时,可以轻易清除止血剂,即使残留有少量变性淀粉止血材料也可为机体所吸收,避免因撕开纱布、绷带而给病人、伤员造成的痛苦。

[0175] 变性淀粉止血材料还具有稳定、不易分解、保质期长、便于储存、耐高压、低压、耐

高温（可达 60℃ 以上）、耐低温（可达 -40℃ 以下）、不易改变理化特性等特点，可以作为军队、消防人员、急救车、家庭，特别适用作为在寒冷、炎热地区和沙漠、南极、北极、高山、太空、水下等极端条件下的止血材料。

[0176] 变性淀粉海绵具有柔软、有弹性，易成型、易卷曲等特点，可以适用于各种形状、特点的伤口，如对深部、弯曲、不规则伤口、生理器官、生理腔隙的内外表面，腔镜及内窥镜下的止血、处理，有助于医者进行操作。

[0177] 为了进一步增强变性淀粉在创面、组织等方面直接使用的安全性，可以对本发明的变性淀粉材料包装后进行消毒，消毒方法包括但不限于 γ 射线辐照消毒、环氧乙烷消毒、臭氧消毒。

[0178] 但是不推荐采用酒精消毒或用高温、蒸汽消毒，因为这样可能会改变变性淀粉的物化特性而影响止血效果。

[0179] 一、变性淀粉粉剂的制备

[0180] 实施例 1

[0181] 一种用于止血材料的生物相容性变性淀粉材料，包括羧甲基淀粉（66#），将羧甲基淀粉原料置于沸腾机内在 40 ~ 50℃ 下，加入蒸馏水，经过凝聚、制丸，制成变性淀粉材料 66#，分子量为 15,000 ~ 2,000,000 道尔顿，颗粒粒径为 10 ~ 1000 μm ，其中，粒径在 30 ~ 500 μm 的淀粉颗粒占总淀粉颗粒量不低于 95%，摄氏 37 度 6.67% 混悬液的粘度为 557.9 $\text{mPa} \cdot \text{s}$ ，常温下变性淀粉吸水饱和时的粘性功指数为 68.1 $\text{g} \cdot \text{sec}$ 。

[0182] 实施例 2

[0183] 一种变性淀粉可吸收止血材料，包括羟乙基淀粉（88#），将羟乙基淀粉原料置于沸腾机内在 40 ~ 50℃ 下，加入蒸馏水，经过聚合、制丸，制成变性淀粉材料 88#，分子量为 15,000 ~ 1,000,000 道尔顿，颗粒粒径为 10 ~ 1000 μm ，其中，粒径在 50 ~ 500 μm 的淀粉颗粒占总淀粉颗粒量不低于 95%，常温下变性淀粉吸水饱和时的粘性功指数为 420.9 $\text{g} \cdot \text{sec}$ 。

[0184] 本发明吸水性能采用毛细管法测定装置测得，在酸式滴定管内注水，使酸式滴定管零刻度液面与砂心漏斗滤板下端平齐。以 2.25cm 大小为半径裁减滤纸，称量，放入砂心漏斗，与滤板完全接触。打开活塞，至滤纸完全吸水。调整酸式滴定管至零刻度，称取 0.1g 粉末，在滤纸上均匀铺开，放入砂心漏斗，从液面开始下降，每 20s, 40s, 60s 计时，记录并观察液面下降距离，计算样品吸水速度及在单位时间内的吸水饱和情况。

[0185] 本发明的羧甲基淀粉 66# 与 Arista™ 的吸水性能对照如表 1 所示。

[0186] 表 1

[0187]

	Arista™	66#
吸水速率 (ml/s) (第一个 20s)	0.011	0.056
吸水速率 (ml/s) (第二个 20s)	0.008	0.040
吸水速率 (ml/s) (第三个 20s)	0.007	0.030
吸水饱和率 (%) (20s)	28.21	58.42
吸水饱和率 (%) (40s)	41.03	84.74
吸水饱和率 (%) (60s)	50.00	94.74

[0188] 由表 1 可见，本发明的羧甲基淀粉 66# 在分别三个 20 秒内的吸水速度均大于 Arista™，说明 66# 比 Arista™ 吸水更快，更有效。66# 在第一个 20 秒内吸水量为 Arista™

的将近 5 倍。

[0189] 吸水速度分别为在第一,第二和第三个 20 秒里,吸水的平均速度, $V_{20s}=20$ 秒内的吸水量 (ml)/20 (s)。

[0190] 吸水饱和率指样品在一定时间内的吸水量与其最大吸水能力 (即吸水倍率的绝对值) 之比,它同样可以从一个侧面反映样品的吸水速度快慢。

[0191] 由表 1 可见,66# 在 20 秒,40 秒,60 秒的吸水饱和率均大于 Arista™,表明在相同时间下 66# 相比 Arista™吸水量更多;66# 在 20 秒内已达到总吸水倍率的 58%,1 分钟内接近达到总吸水倍率的 95%,其吸水速度比 Arista™更快。

[0192] 本发明粘性性能的测试方法采用粘性功指数测试法,采用的质构仪 (物性测试仪) 由 Stable Micro System 公司生产,产品型号为 TA-XT plus。实验用探头:A/BE (反挤压探头) 和 P36R (圆柱型探头)。

[0193] 测试条件为:试验前速度:0.5mm/sec;测试速度 10.0mm/sec;应力:100g;回复距离 5.0mm;接触时间 10.0sec;触发类型:自动 5g。

[0194] 本发明的羧甲基淀粉 66#,羟乙基淀粉 88# 与 Arista™的粘性功指数对照如表 2 所示。

[0195] 表 2

[0196]

	88#	66#	Arista TM
粘性功指数 g • sec (25%饱和度)	420.9	15.0	0.7
粘性功指数 g • sec (50%饱和度)	307.4	78.9	4.0
粘性功指数 g • sec (100%饱和度)	75.2	68.1	17.0

[0197] 粘性功指数是指探头在做返回运动时,会受到一个样品对它的粘 结力,而探头要完全脱离实验样品,它就必须做功,这期间所做的功就是粘性功,可以反映粘性剂和探头表面的一个结合强度(牢固程度)。

[0198] 25%饱和度代表样品最大吸水能力 1/4 时的饱和情况。

[0199] 50%饱和度代表样品最大吸水能力 1/2 时的饱和情况。

[0200] 100%饱和度代表样品最大吸水能力时的饱和情况。

[0201] 由表 2 可见, Arista™ 的粘性性能远不及 66# 和 88#, 88# 的粘性功随着饱和度的增加而递减,在饱和度较低的情况下,88# 的粘性尤为高,而 66# 的粘性功逐渐增加,而且两者的吸水饱和时的粘性功均要较 Arista™ 显著提高,故在止血过程中,能够更好的起到粘性封堵作用。

[0202] 本发明粘度性能的测试方法采用粘度计 (brookfield Dv-2), 转子 3 号; 转速 60 转; 变性淀粉溶液浓度 6.67%, 温度 37℃。

[0203] 本发明的羧甲基淀粉 66# 与 Arista™ 的粘度性能对照如表 3 所示。

[0204] 表 3

[0205]

	Arista™	66#
粘度 (mPa · s)	2	557.9

[0206] 由表 3 可见, 66# 粘度明显大于 Arista™。

[0207] 实施例 3

[0208] 一种用于止血的生物相容性变性淀粉材料, 包括预糊化的羟丙基二淀粉磷酸酯 (51#), 分子量为 15,000 道尔顿以上 (15,000 ~ 2,000,000 道尔顿), 颗粒粒径为 10 ~ 1000 μm, 其中, 粒径在 50 ~ 500 μm 的淀粉颗粒占总淀粉颗粒量不低于 95%。

[0209] 实施例 4

[0210] 一种用于止血的生物相容性变性淀粉, 包括交联羧甲基淀粉 (66#+), 分子量为 15,000 道尔顿以上 (15,000 ~ 2,000,000 道尔顿), 颗粒粒径为 10 ~ 1000 μm, 其中, 粒径在 50 ~ 500 μm 的淀粉颗粒占总淀粉颗粒量不低于 95%。

[0211] 实施例 5

[0212] 一种用于止血的生物相容性变性淀粉, 包括预糊化淀粉, 经由喷雾干燥法制备而成, 分子量为 15,000 道尔顿以上 (15,000 ~ 2,000,000 道尔顿), 颗粒粒径为 10 ~ 1000 μm, 其中, 粒径在 50 ~ 500 μm 的淀粉颗粒占总淀粉颗粒量不低于 95%。

[0213] 对各种变性淀粉进行离心法测定吸水倍率, 结果如表 4 所示:

[0214] 表 4

[0215]

试样	吸水倍率
51#	17.5
66#	23
66# ⁺	23.5
88#	4.4
Arista™	12.8

[0216] 吸水倍率指 1g 样品所能吸水的最大量。

[0217] 吸水倍率 (ml/g) = 吸水量 (ml) / 样品量 (g)。

- [0218] 由表 4 可见,所制备的变性淀粉均具有较佳的吸水倍率。
- [0219] 对照实验 1
- [0220] 对新西兰兔肝出血模型止血效果实验的影响
- [0221] 试验目的:
- [0222] 观察 66# 产品对新西兰兔肝出血模型的止血效果。
- [0223] 受试药物:
- [0224] 名称:66# 产品(即羧甲基淀粉止血球)
- [0225] 动物:新西兰大白兔,中国第二军医大学动物实验中心提供。
- [0226] 动物合格证号:SCKK(沪)2002-0006
- [0227] 每组动物 5 只,共 15 只,2.0±0.3kg,雌雄各半
- [0228] 试验方法:取新西兰大白兔 15 只,随机分 3 组,每组 5 只,分为 66# 产品组、阳性对照组(Arista™)和阴性对照组(原淀粉)。试验新西兰大白兔用戊巴比妥钠耳缘静脉麻醉(40mg/kg);仰位固定后去毛、消毒、逐层打开腹腔,充分暴露肝脏,在兔肝脏表面用打孔器做直径 1cm,深度 0.3cm 的创面,立即喷洒止血材料止血,压迫 20 秒,观察各组动物止血效果。阳性对照组和阴性对照材料组分别给予 Arista™ 和原淀粉。试验动物术后自由饮水、饮食。各受试材料组分别于手术后半小时、一天、二天、三天、七天各取 1 只麻醉后,用碘酒对肝脏创面染色,观察止血材料的降解情况。取下肝脏创面组织,用 10% 甲醛固定,做组织切片观察止血材料的降解情况。
- [0229] 剂量设置:50mg/创口
- [0230] 给药途径:喷洒给药。
- [0231] 给药次数:1 次/创口
- [0232] 观察指标及观察时间:观察药物喷洒在创面后的止血情况、药物在动物肝脏上的吸收降解情况以及创面恢复情况。观察时间为术后半小时、一天、二天、三天、七天。
- [0233] 试验结果:
- [0234] 1、对止血效果的影响
- [0235] 阳性对照组(Arista™)喷洒止血材料后立刻止血;66# 产品组喷洒止血材料后立刻止血;原淀粉组喷洒止血材料后在给予一定压力后仍不能止血。(见图 1~3)
- [0236] 2、在体内的降解情况
- [0237] 阳性对照组(Arista™)和 66# 产品组半小时后碘酒染色无颜色反应;阴性对照组半小时后碘酒染色有颜色反应,24 小时后无颜色反应。
- [0238] 对照实验 2
- [0239] 在小鼠腹腔内降解情况
- [0240] 试验目的:观察 66# 产品在小鼠腹腔内粘连情况及降解情况。
- [0241] 受试药物:
- [0242] 名称:66# 产品(即羧甲基淀粉止血球)
- [0243] 动物:ICR 种小鼠,由中国第二军医大学动物中心提供。
- [0244] 动物合格证号:SCXK(沪)2002-0006
- [0245] 每组动物 10 只,共 30 只,18-23g,雌雄各半
- [0246] 试验方法:66# 产品、阳性对照 Arista™和阴性对照原淀粉分别用生理盐水配成

0.1g/ml 的溶液。取 30 只 ICR 小鼠随机分组,分为 66# 产品组,阳性对照组 (Arista™) 和阴性对照组 (原淀粉)。每只腹腔注射 1ml 对应溶液,24 小时后开腹腔,滴入碘酒,观察颜色变化及腹腔内器官粘连情况。阳性对照组和阴性对照材料组分别给予 Arista™和原淀粉。

[0247] 剂量设置 :1ml/ 只

[0248] 给药途径 :腹腔注射

[0249] 给药次数 :1 次 / 只

[0250] 观察指标及观察时间 :24 小时后开腹腔,观察小鼠腹腔内器官粘连情况及降解情况。

[0251] 试验结果 :

[0252] 1、在体内的粘连情况

[0253] 24 小时后,打开 66# 实验组小鼠腹腔内器官均无出现粘连情况。(见图 4)

[0254] 2、在体内的降解情况

[0255] 24 小时后,打开 66# 实验组小鼠腹腔,经碘酒染色法染色,均无颜色反应,表明 66# 在小鼠体内完全降解。(见图 5)

[0256] 对照实验 3

[0257] 犬股动脉损伤模型的止血观察

[0258] 试验目的 :观察 66# 和 88# 产品在严重创伤情况下的止血效果,测试不同物理特性的 66# 和 88# 与 Arista™止血效果比较。

[0259] 试验动物 :试验犬。

[0260] 每组动物 5 只,共 20 只,20-25kg,雄性

[0261] 试验方法 :取犬随机分组,分为对照组 (纱布按压),66# 产品组,88# 产品组和 Arista™组。暴露股动脉,用 18 号针头 (直径为 2F) 穿刺暴露好的股动脉,见动脉血自穿刺孔喷出,令其自由喷血 2 秒钟。股动脉损伤模型建立,立即以 1g 的 Arista™、66# 和 88# 分别喷洒于出血点处,并进行手法按压,对照组以普通纱布来进行按压。然后分别在按压后 60 秒、90 秒、120 秒及 180 秒观察止血情况,以穿刺处停止出血、渗血为止血成功,记录止血成功例数,受试动物在不同止血条件下的止血状况如表 5 所示。

[0262] 表 5

[0263]

	纱布按压	Arista™	66#	88#
按压 60 秒成功止血例数	0/10	0/10	1/10	4/10
按压 90 秒成功止血例数	0/10	2/10	5/10	8/10
按压 120 秒成功止血例数	0/10	3/10	9/10	10/10
按压 180 秒成功止血例数	2/10	9/10	10/10	10/10

[0264] 试验结论

[0265] 66# 组、88# 组和 Arista™ 组对犬的股动脉出血的止血较对照组有显著的止血效果性。且 66# 组、88# 组较 Arista™ 组对股动脉穿刺口封堵效果更佳,止血时间明显缩短。进一步,粘性大的 88# 组较 66# 组和 Arista™ 组对股动脉穿刺口封堵效果有提高,止血时间缩短。

[0266] 对照实验 4

[0267] 观察大鼠术后肠粘连状况

[0268] 实验组 66# 样品与阳性对照组市售医用透明质酸钠 (SodiumHyaluronate) 及空白对照组比较。

[0269] 实验动物与分组

[0270] SD 雄性大鼠 34 只,体重 200 ~ 250g,由第四军医大学实验动物中心提供。随机分为空白对照组,66# 组,阳性对照组医用透明质酸钠组 (SH) 等 3 组,每组 11 或 12 只。

[0271] 大鼠肠粘连模型的制备

[0272] 各组所有动物禁食不禁水 12h,以 3% 戊巴比妥钠溶液按 30mg/kg 体重肌肉注射麻醉。取下腹部正中切口约 2cm,提出盲肠,轻刮盲肠浆膜,直至渗血,再滴无水乙醇于创面上,然后以五齿镊夹住盲肠系膜动脉约 2min,造成暂时局部缺血。经上述处理后,66# 和 SH 组分别以相应药物完全覆盖创面;空白对照组不给予任何药物。用药后回纳盲肠入腹腔原位后以止血钳夹伤相应腹壁,分层以 1-0 号丝线关闭腹腔。术后连续 3 天每天肌注庆大霉素 4U 预防感染。14 天后以同样的麻醉方法开腹检验、取材。

[0273] 相关测量

[0274] 1) 一般情况记录术后大鼠的存活情况。

[0275] 2) 肠粘连情况 再次腹腔切口时包含原正中切口在内的、以底 朝下的“U”型切口切开腹腔,然后将腹壁组织瓣向上掀起暴露腹腔,观察盲肠末端与腹壁创伤处之间的粘连情况。肠粘连程度参照 Nair 5 级分级标准:0 级,完全无粘连;1 级,内脏间或腹壁间一条粘连带;2 级,内脏间或内脏与腹壁间二条粘连带;3 级,多于二条粘连带,而内脏未直接粘连到腹壁;4 级,内脏直接粘连到腹壁,而不管粘连带多少。

[0276] 表 6 各组大鼠肠粘连评级结果

[0277]

	空白对照组	66# 组	医用透明质酸钠 SH 组
0 级	0	2	4
1 级	0	7	3
2 级	0	1	3
3 级	3	0	0
4 级	8	2	1
平均分级	3.72	1.42*	1.18*

[0278] *P < 0.05vs 对照组。

[0279] 请参阅图 6 为大鼠肠粘连空白对照组粘连效果图,图 7 为大鼠肠粘连 66# 防粘连效果图,图 8 为大鼠肠粘连透明质酸钠防粘连效果图。结果表明,透明质酸钠、羧甲基淀粉 66# 均可明显降低大鼠术后肠粘连程度。

[0280] 对照实验 5

[0281] 观察家兔术后骨愈合情况

[0282] 实验方法

[0283] 主要材料

[0284] 羧甲基淀粉 66#、预糊化羟丙基二淀粉磷酸酯 51#、市售骨蜡 (Bonewax) 和空白对照组。

[0285] 实验动物和分组

[0286] 成年新西兰兔 32 只,雌性,2.0~2.5kg,由第四军医大学实验动物中心提供。每只可钻 2 个缺损空洞,随机分为空白对照组,66# 组,51# 组和骨蜡组 (Bonewax) 等 4 组,每组 8 个。

[0287] 手术方法

[0288] 以 3% 戊巴比妥钠溶液按 30mg/kg 体重行耳缘静脉注射麻醉,俯卧固定于手术台上。行头部正中长约 4cm 的矢状切口,暴露颅骨,完整剥开骨外膜。以直径 6mm 钻头在颅骨中缝两侧钻出 2 个圆形缺损孔洞,缺损穿透顶骨全层 (顶骨处骨质厚度基本一致),不跨越中缝。缺损处随机分配覆盖一种上述材料,对照组不应用任何材料。用 4-0 的可吸收线缝合骨膜和头皮,无菌包扎后放回笼中饲养 6 周。术后连续 3 天每天肌注庆大霉素 40U 预防感染。每天观察动物一般情况。

[0289] 处死前 7 天动物耳缘静脉注射钙黄绿素 20mg/kg (Calcein, Sigma 公司, 2% 的碳酸氢钠溶解);处死前 1 天另一侧耳缘静脉注射四环素 30mg/kg (Tetracycline, Sigma 公司, 双蒸水溶解)。钙黄绿素和四环素沉积在新形成骨基质的矿化前缘,因此可以作为标记检测骨质 6d 期间的生长范围。

[0290] 取材和骨愈合评价方法

[0291] 1) 取材 手术 6w 后,动物经静脉注射过量戊巴比妥处死,取原缺损边缘扩展至少 1.5cm 范围的颅骨,包括相连的骨膜和硬脑膜。颅骨标本以 70% 酒精固定。

[0292] 2) 骨愈合评分对所有缺损处骨质愈合情况进行愈合评分 (healing score),愈合评分标准:0 = 无可见缺损;1 = 较少可见缺损;2 = 中度可见缺损;3 = 广泛可见缺损。

[0293] 3) 病理和免疫组化 固定的颅骨标本石蜡包埋,常规切片,荧光显微镜紫外光下观察照相。钙黄绿素和四环素两种荧光标记物结合在新生骨的骨质与前骨质 (未矿化骨质) 交界处,呈现线型荧光,因此两条荧光标记线之间的距离表示 6 天期间矿物质沉积速度 (mineral apposition rate, MAR),反映了成骨细胞的活性,也就是成骨速度。

[0294]

两次标记荧光线距 (μm)

MAR = $\frac{\text{两次标记荧光线距}}{\text{两次给药间隔天数}}$

两次给药间隔天数

[0295] 切片脱蜡、脱水、透明,应用 Goldner-Mason-Trichrome 和丽春红染色,可以不同颜色显示类骨质 (osteoid) 和矿化骨 (mineralization bone) 区域,光学显微镜观察、拍照,应用图象分析软件测量各染色部分面积。

[0296]

缺损孔类骨质面积

$$\text{Osteiod Rate} = \frac{\text{缺损孔类骨质面积}}{\text{缺损孔总面积}}$$

缺损孔总面积

[0297]

缺损孔矿化骨面积

$$\text{Mineralization Bone Rate} = \frac{\text{缺损孔矿化骨面积}}{\text{缺损孔总面积}}$$

缺损孔总面积

[0298]

缺损孔缺如区域面积

$$\text{Defect Area Rate} = \frac{\text{缺损孔缺如区域面积}}{\text{缺损孔总面积}}$$

缺损孔总面积

[0299] 4) 评价指标骨愈合评分、矿物质沉积速度、类骨质、矿化骨和缺如面积。

[0300] 5) 统计学处理

[0301] 数据用 SPSS11.0 统计软件处理,各组间数据比较采用 ANOVA 方差分析。

[0302] 实验结果

[0303] 表 7 各组家兔骨愈合指标结果

[0304]

组别	愈合评分	矿物质沉积速度 ($\mu\text{m}/\text{d}$)	类骨质面积 (%)	矿化骨面积 (%)	缺如面积 (%)
对照组	2.14 $\pm$ 0.84	2.02 $\pm$ 0.34	12.02 $\pm$ 4.32	6.23 $\pm$ 2.34	76.21 $\pm$ 19.35
66#	1.23 $\pm$ 0.45*	3.86 $\pm$ 1.19*	35.02 $\pm$ 9.85*	28.25 $\pm$ 9.35*	43.12 $\pm$ 11.87*
51#	1.14 $\pm$ 0.43*	4.04 $\pm$ 1.04*	34.02 $\pm$ 9.22*	31.23 $\pm$ 8.45*	40.34 $\pm$ 12.60*
骨蜡	1.86 $\pm$ 0.65	2.87 $\pm$ 0.84*	22.02 $\pm$ 6.32	16.23 $\pm$ 6.86*	58.34 $\pm$ 17.64

[0305] *P < 0.05vs 空白对照组

[0306] 结果

[0307] 术后 6 周观察缺损处愈合评分,51# 和 66# 组均明显低于空白对照组和骨蜡组; 51# 和 66# 组的矿物质沉积速度、类骨质面积和矿化骨面积等指标均明显高于空白对照组; 51# 和 66# 的缺如面积明显低于对照组。

[0308] 请参阅图 9 为家兔骨愈合指标比较图,结果显示,66# 和 51# 对促进家兔颅骨愈合的作用显著。

[0309] 二、变性淀粉海绵

[0310] 实施例 6

[0311] 将 2g 预糊化羟丙基二淀粉磷酸酯 51# 置于 30ml 水中,不断搅拌,使淀粉颗粒充分溶胀并分散于水中,形成均匀的悬浮液,并加入数滴 甘油为增塑剂 (成形剂),然后倒入容

器中,在-40℃下预冷 22 小时,再放入冷冻干燥机中,在-40℃、真空度小于 20 帕下冷冻干燥 20 小时,得到变性淀粉止血海绵 A。

[0312] 实施例 7

[0313] 将 1g 预糊化羟丙基二淀粉磷酸酯 51# 置于 30ml 水中,不断搅拌,使淀粉颗粒充分溶胀并分散于水中,形成均匀的悬浮液,然后倒入容器中,在-40℃下预冷 22 小时,再放入冷冻干燥机中,在-50℃、真空度小于 20 帕下冷冻干燥 20 小时,得到变性淀粉止血海绵 B。

[0314] 请参阅图 10 为止血海绵 A 断面的扫描电子显微镜照片,图 11 为止血海绵 B 断面的扫描电子显微镜照片所示,在制备过程中添加增塑剂使海绵孔隙的孔径降低,增加了密度和比表面积。

[0315] 实施例 8

[0316] 将 2g 羧甲基淀粉 66# 置于 30ml 水中,不断搅拌,使淀粉颗粒充分溶胀并分散于水中,形成均匀的悬浮液,然后倒入容器中,在-40℃下预冷 22 小时,再放入冷冻干燥机中,在-50℃、真空度小于 20 帕下冷冻干燥 20 小时,得到变性淀粉止血海绵 C。

[0317] 实施例 9

[0318] 将 3g 交联羧甲基淀粉 66#⁺置于 30ml 水中,不断搅拌,使淀粉颗粒充分溶胀并分散于水中,形成均匀的悬浮液,然后倒入容器中,在-40℃下预冷 22 小时,再放入冷冻干燥机中,在-45℃、真空度小于 20 帕下冷冻干燥 20 小时,得到变性淀粉的止血海绵 D。

[0319] 实施例 10

[0320] 将 3g 羟乙基淀粉 88# 变性淀粉置于 30ml 水中,不断搅拌,使淀粉颗粒充分溶胀并分散于水中,形成均匀的悬浮液,然后倒入容器中,在-40℃下预冷 22 小时,再放入冷冻干燥机中,在-50℃、真空度小于 20 帕下冷冻干燥 20 小时,得到变性淀粉止血海绵 E。

[0321] 实施例 11

[0322] 将 10g 医用明胶加水 100ml,在烧杯中加热至 60℃制成溶胶状,2g 羧甲基淀粉 66# 置于 30ml 水中,不断搅拌,使淀粉颗粒充分溶胀并分散于水中,形成均匀的悬浮液,两者倒入容器中混合,其中 66# 与明胶质量比为 1 : 1,在-40℃下预冷 22 小时,再放入冷冻干燥机中,在-45℃、真空度小于 20 帕下冷冻干燥 20 小时,得到变性淀粉复合止血海绵 F。

[0323] 实施例 12

[0324] 将 10g 医用明胶加水 100ml,在烧杯中加热至 60℃制成溶胶状,2g 羧甲基淀粉 66# 置于 30ml 水中,不断搅拌,使淀粉颗粒充分溶胀并分散于水中,形成均匀的悬浮液,两者倒入容器中混合,其中 66# 与明胶质量比为 2 : 1,在-40℃下预冷 22 小时,再放入冷冻干燥机中,在-45℃、真空度小于 20 帕下冷冻干燥 20 小时,得到变性淀粉复合止血海绵 G。

[0325] 实施例 13

[0326] 将 10g 医用明胶加水 100ml,在烧杯中加热至 60℃制成溶胶状,1g 羟丙基二淀粉磷酸酯 51# 置于 30ml 水中,不断搅拌,使淀粉颗粒充分溶胀并分散于水中,形成均匀的悬浮液,两者倒入容器中混合,其中 51# 与明胶质量比为 2 : 1,在-40℃下预冷 22 小时,再放入冷冻干燥机中,在-45℃、真空度小于 20 帕下冷冻干燥 20 小时,得到变性淀粉复合止血海绵 H。

[0327] 实施例 14

[0328] 将 10g 医用明胶加水 100ml,在烧杯中加热至 60℃制成溶胶状,1g 羟丙基二淀粉磷

酸酯 51# 置于 30ml 水中,不断搅拌,使淀粉颗粒 充分溶胀并分散于水中,形成均匀的悬浮液,两者倒入容器中混合,其中 51# 与明胶质量比为 1 : 1,在 -40℃下预冷 22 小时,再放入冷冻干燥机中,在 -45℃、真空度小于 20 帕下冷冻干燥 20 小时,得到变性淀粉复合止血海绵 I。

[0329] 取 0.1g 各止血海绵与其他止血海绵进行理化参数比较如表 8 所示。

[0330] 表 8

[0331]

试验样品	体积密度 (g/cm ³)	吸水倍率 (倍)	亲水性	吸水速率
止血海绵 A	0.0679	19.7	亲水,无平衡接触角	瞬时吸入
止血海绵 B	0.0563	21.4	亲水,无平衡接触角	瞬时吸入
止血海绵 C	0.0688	22.8	亲水,无平衡接触角	瞬时吸入
止血海绵 D	0.0983	24.9	亲水,无平衡接触角	瞬时吸入
止血海绵 E	0.11179	7.6	亲水,无平衡接触角	瞬时吸入
可吸收明胶海绵	0.0099	40.6	疏水,接触角为 106°	极慢
北京 KROD 公司的胶原蛋白 白海绵	0.0235	33.2	亲水,无平衡接触角	较慢
强生公司 SURGICEL (氧化纤维素止血纱布)	0.0288	16.4	亲水,无平衡接触角	瞬时吸入
美国 HEMCON 公司壳聚糖 止血海绵	0.1071	35.3	亲水,无平衡接触角	较慢

[0332] 接触角测量方法介绍

[0333] 仪器 :德国 Dataphysics 公司 OCA40Micro 视频接触角测量仪

[0334] 方法 :采用座滴法,通过动态记录功能和电影功能跟踪和记录海绵吸水的情况。具体操作步骤如下 :将海绵试样放置在载物台上,缓慢调节使载物台出现在视野的下 1/3 处。将加入去离子水的针头后固定在 注射单元上,通过自动进样系统使一定体积的水滴挂在针头上,聚焦使视野中的海绵样品和水滴图象清晰。缓慢上移载物台,使海绵样品接触水滴,同时打开摄像及动态记录功能,观察水滴被吸入的过程,并得到动态的接触角值。

[0335] 各复合止血海绵的吸水性能如表 9 所示。

[0336] 表 9

[0337]

	样品量 (g)	吸水量 (ml)	吸水倍率
复合止血海绵 F	0.1	1.73	17.3
复合止血海绵 G	0.1	1.95	19.5
复合止血海绵 H	0.1	0.82	8.2
复合止血海绵 I	0.1	1.1	11.0

[0338] 其中,海绵吸水倍率采用离心法测定,即将约 0.025g 海绵至于 2ml 水中,平衡 10 分钟,然后放入离心机中,在 500rpm 转速下,离心 10 分钟后取出,称重计算残液量,每个样品测试 6 次取平均值。

[0339] 海绵体积密度的测量为剪取一定长宽的海绵试样,用游标卡尺分别量出长、宽、高,并称重,求出密度。

[0340] 海绵的亲水性和吸水速率通过德国 Dataphysics 公司 OCA40Micro 视频接触角测量仪观察。

[0341] 各复合止血海绵与其他止血海绵的吸水速率比较如表 10 所示

[0342] 表 10

[0343]

吸水速率 (ml/s)	第一个 20s	第二个 20s	第三个 20s	第四个 20s	第五个 20s	第六个 20s
复合止血海绵 F	0.004	0.0035	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025
复合止血海绵 G	0.0035	0.0035	0.003	0.0025	0.0025	0.0025
复合止血海绵 H	0.003	0.002	0.0007	0.0003	0.0003	0.0003
复合止血海绵 I	0.0008	0.0008	0.0008	0.0005	0.0003	0.0003
南京吸收性明胶海绵	0.0008	0.0008	0.0005	0.0003	0.0003	0.0003
北京 KROD 公司的 胶原蛋白海绵	0.0017	0.0008	0.0005	0.0003	0.0003	0.0003

[0344] 由表 10 可知,包含变性淀粉的复合止血海绵其吸水速率明显高于明胶海绵和胶原蛋白止血海绵,其最大吸水速率可达普通明胶海绵和胶原蛋白止血海绵的 2~5 倍,吸水更快、更有效,并且在之后的第 5、6 个 20 秒内仍然可以保持较高的吸水速率。

[0345] 实施例 15

[0346] 动物实验

[0347] 试验目的:

[0348] 观察变性淀粉止血海绵对肝脏出血模型的止血效果

[0349] 试验方法:

[0350] 于猪肝脏表面用手术刀切取肝脏浆膜层面积 $2\text{cm} \times 1\text{cm}$,创面深度为 0.3cm,制成出血创面,采用的实验止血海绵有:51# 止血海绵 B、66# 止血海绵 C、51# 与医用明胶质量比 1:1 的复合止血海绵 I、66# 与明胶质量比 1:1 的复合止血海绵 F、66# 与羧甲基纤维素质量比 1:1、66# 与胶原蛋白质量比 10:1 的复合止血海绵对创面进行止血,并以单纯明胶海绵和胶原蛋白海绵为对照组。出血后,立即将止血海绵放置在伤口上并用医用外科手套或止血纱布在海绵上施压,阻断血流,1~2min 后将手套或纱布轻轻松开,观察止血效果、手套及纱布是否粘连海绵及凝血块,揭开时造成再次出血。止血后无需将变性淀粉海绵拿开或揭除,而是用生理盐水做适当浸润冲洗即可。

[0351] 试验结果:

[0352] 包含变性淀粉的止血海绵实验组止血效果均较为理想,且使用方便。实验组的海绵遇血后立即吸水/血、并与血液形成粘性的海绵-凝血块胶状体,在 1-2 分钟内均可有效地控制肝脏创面的出血,对照组明胶海绵和胶原海绵组均需要 3-5 分钟或以上的时间才可以控制出血。实验组的止血海绵遇血后与肝脏创面组织紧密粘附,促进凝血,并形成对创面出血点破损血管的封闭作用。实验组的海绵弹性好,易操作,使用方便,与按压的手套或纱布敷料不发生粘连,揭开手套或纱布时不会破坏凝血块,不会造成再次出血。而对照组的明胶海绵和胶原蛋白止血海绵吸水/血的速度慢,须多次挤压海绵体,与创面的组织粘附性很弱,止血效果较差。

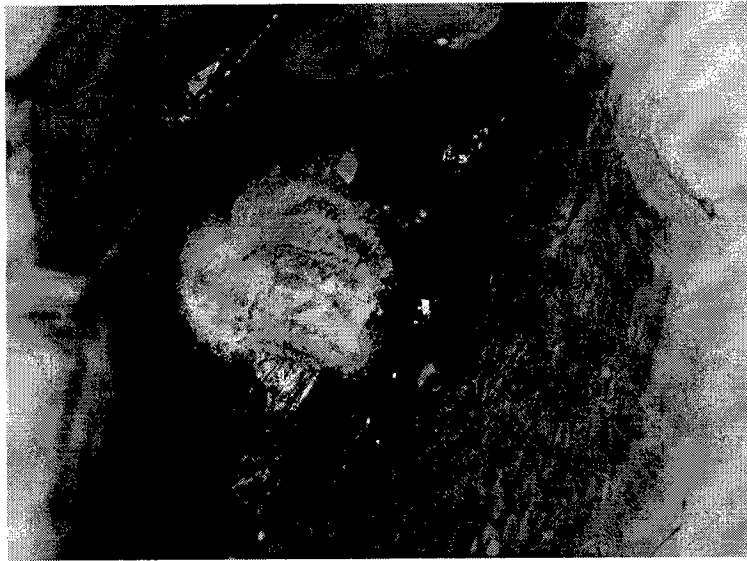


图 1

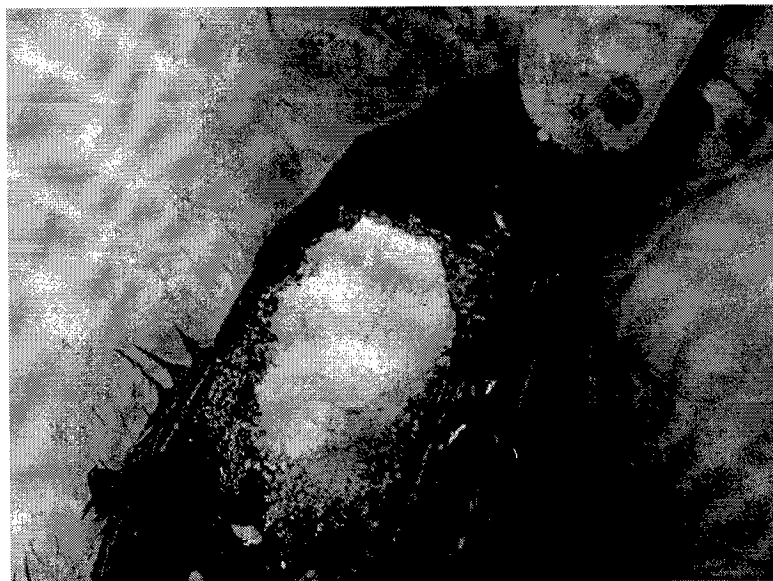


图 2



图 3

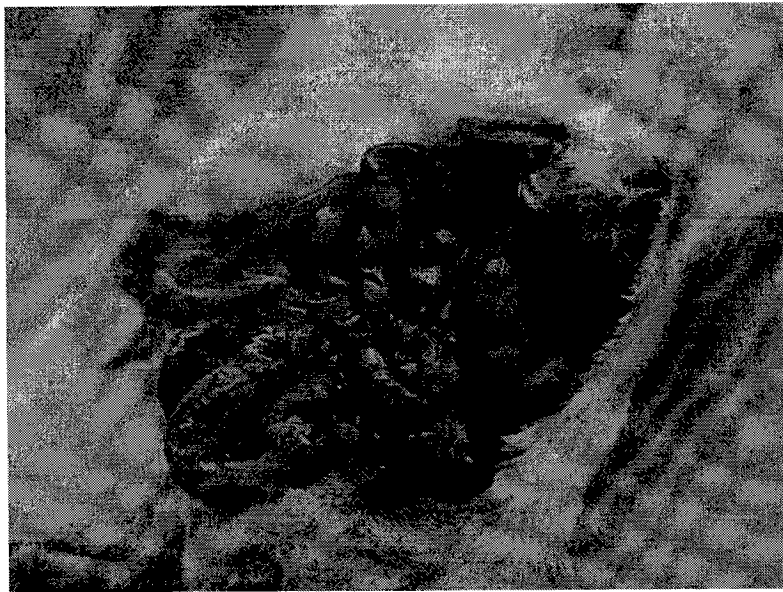


图 4



图 5

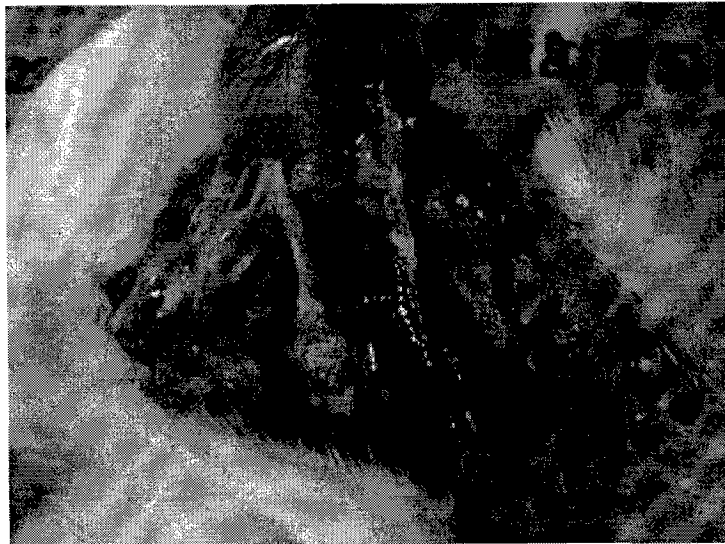


图 6



图 7

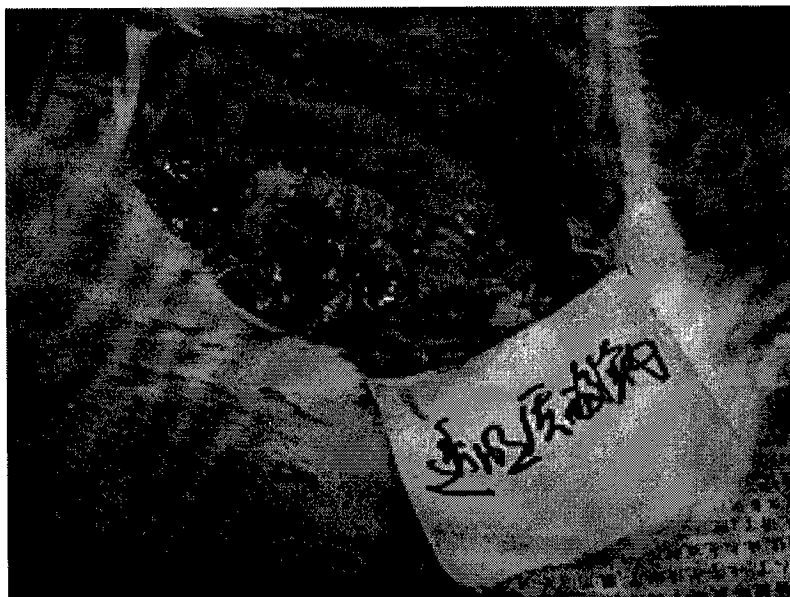


图 8

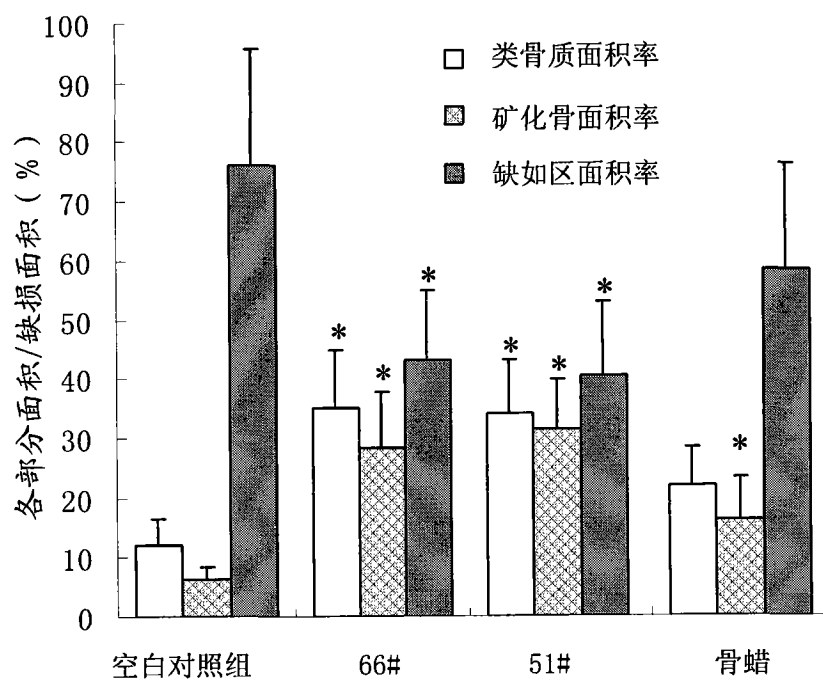


图 9

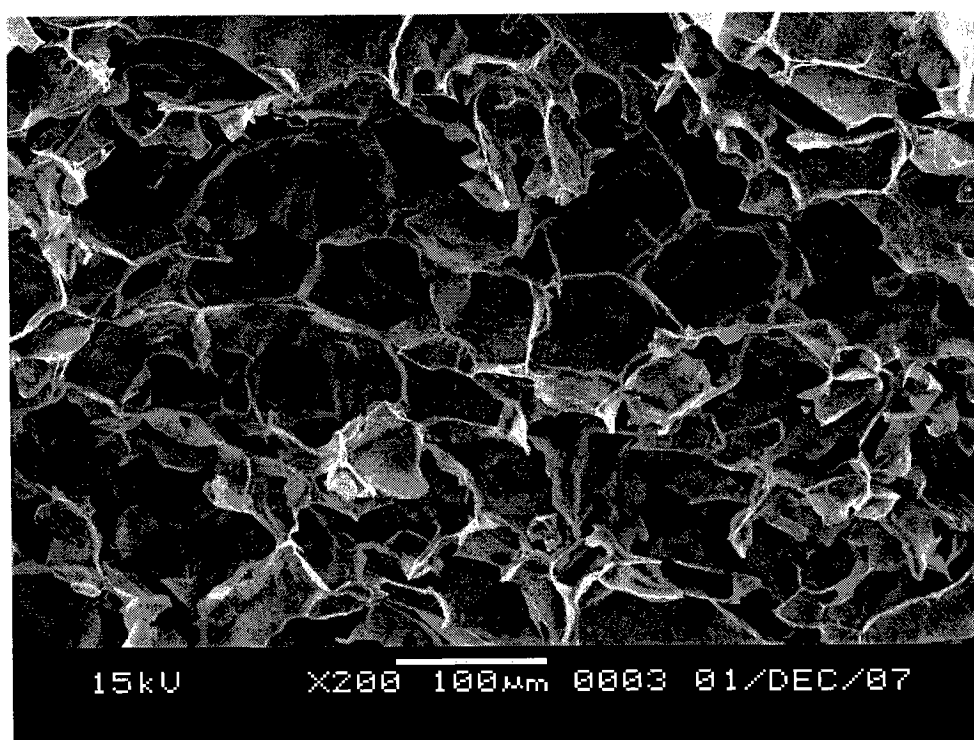


图 10

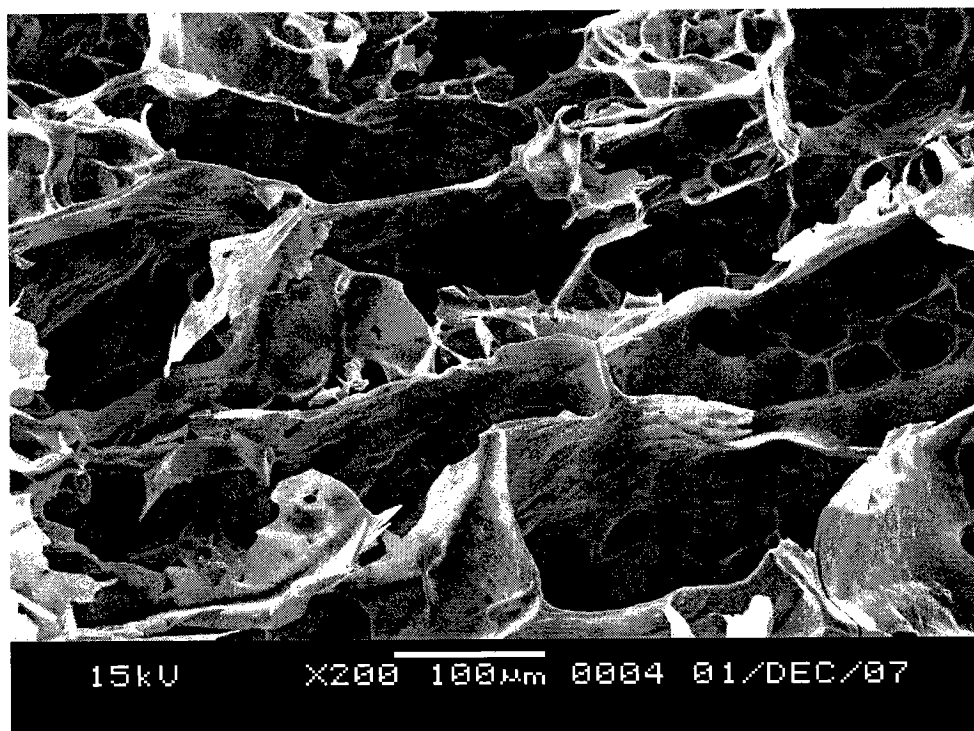


图 11