



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105126152 A

(43) 申请公布日 2015. 12. 09

(21) 申请号 201510662318. 0

(22) 申请日 2015. 10. 07

(71) 申请人 中国海洋大学

地址 266003 山东省青岛市崂山区松岭路  
238 号

(72) 发明人 李八方 侯虎 张姝妹 姚迪  
牛慧娜 赵雪

(74) 专利代理机构 北京科亿知识产权代理事务  
所(普通合伙) 11350

代理人 汤东风

(51) Int. Cl.

A61L 15/32(2006. 01)

A61L 15/28(2006. 01)

A61L 15/42(2006. 01)

A61L 15/44(2006. 01)

权利要求书1页 说明书5页

(54) 发明名称

一种明胶壳聚糖复合止血粉

(57) 摘要

本发明提供一种明胶壳聚糖复合止血粉,是将鱼皮明胶溶液和壳聚糖溶液混合后,在低温下搅拌,再冷冻干燥,超微粉碎后消毒灭菌制备的。本发明将制备的鱼皮明胶中加入壳聚糖,可以发挥材料之间的协同效应,提高了复合材料的吸水性和粘附性,使得复合材料的止血性能得到了提高,同时还具备了壳聚糖抗菌、抑菌的性能。复合材料的力学性能、止血性能和愈合伤口的能力都得到了提高,成为了一种综合性能优良的止血剂。

1. 一种明胶壳聚糖复合止血粉,其特征在于,所述的明胶壳聚糖复合止血粉是将鱼皮明胶溶液和壳聚糖溶液混合后,在低温下搅拌,再冷冻干燥,超微粉碎后消毒灭菌制备的。

2. 如权利要求 1 所述的明胶壳聚糖复合止血粉,其特征在于,所述的鱼皮明胶的制备方法如下:

将鱼皮浸泡在碱性溶液中,然后用清水洗至中性,再将鱼皮浸泡在酸性溶液中,浸泡结束后用清水洗至中性,在 45 ~ 70℃ 在水中提取 4 ~ 8h;提取液过滤后通过截留分子量为 700KDa、孔径大小为 0.45 μm 的微孔滤膜,再通过超滤技术分离得到分子量不小于 700KDa 的鱼皮明胶。

3. 如权利要求 2 所述的明胶壳聚糖复合止血粉,其特征在于,所述鱼皮为鳕鱼皮。

4. 如权利要求 2 所述的明胶壳聚糖复合止血粉,其特征在于,所述的碱性溶液为 0.05M 的 NaOH 溶液。

5. 如权利要求 2 所述的明胶壳聚糖复合止血粉,其特征在于,所述的酸性溶液为 0.1M 的硫酸溶液。

6. 如权利要求 1 所述的明胶壳聚糖复合止血粉,其特征在于,所述的壳聚糖溶液,是将壳聚糖溶解在酸溶液中制备的。

7. 权利要求 1 所述的明胶壳聚糖复合止血粉的制备方法,其特征在于,所述的方法如下:

将脱乙酰度不小于 50% 的壳聚糖溶解在 0.05 ~ 0.2M 的醋酸溶液中,配置成 1 ~ 2% 的壳聚糖溶液,然后将明胶溶液与壳聚糖溶液混合,得到鱼皮明胶与壳聚糖质量比为 5:1 ~ 4 的混合溶液;将混合溶液在 4℃ 温度下搅拌 8 ~ 10h,冷冻干燥、超微粉碎使颗粒粒径平均分布在 3-4 μm 左右,用剂量为 25K Gy<sup>60</sup>Co 消毒灭菌,得到明胶壳聚糖复合止血粉剂。

## 一种明胶壳聚糖复合止血粉

### 技术领域

[0001] 本发明属于医用材料制备技术领域,具体涉及一种明胶壳聚糖复合止血粉。

### 背景技术

[0002] 出血是创伤患者死亡的重要原因之一。在出现突发事故或进行外科手术时,降低出血时间,减少出血量,防止伤口与外界接触造成感染,有利于后续治疗和患者伤口愈合。

[0003] 传统的止血方法主要是将止血材料(如绷带、止血带、海绵、棉纱等)贴附于创面,利用机械外力挤压创面或利用材料吸水性阻止创面继续流血,但上述材料在面对复杂的创面部位及形状时,或者大面积弥漫性出血时,效果欠佳。粉末状止血产品不受创面大小和部位的影响,使用方便快捷,有其独到的优点。因此开发新型粉末状止血产品为止血类产品的一个新的热点。除此之外,目前常用的局部止血材料主要有:多孔海绵类材料(胶原海绵)、粉末类材料(沸石、马铃薯淀粉)、纤维类材料、止血纱布类等。这些止血材料各有一定的不足之处:传统的明胶胶原材料来自于牛皮、猪皮等陆生动物皮,容易出现排异性和过敏反应;沸石和淀粉材料主要通过吸收血液中的水分起到止血效果,但容易导致伤口炎症反应;氧化再生纤维素结构松散,对伤口粘附性差,止血效果不佳。因此针对传统止血材料的局限性,开发新型高效止血剂就显得十分必要。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的是在于针对上述现有技术的不足,提供一种明胶壳聚糖复合止血粉,所提供的止血粉能够快速止血,具有较好的粘附性和生物相容性,并且具有抗菌和消炎的效果。

[0005] 本发明的明胶壳聚糖复合止血粉,是将鱼皮明胶溶液和壳聚糖溶液混合后,在低温下搅拌,再冷冻干燥,超微粉碎后消毒灭菌制备的。

[0006] 其中使用的鱼皮明胶的制备方法如下:

[0007] 将鱼皮浸泡在碱性溶液中,然后用清水洗至中性,再将鱼皮浸泡在酸性溶液中,浸泡结束后用清水洗至中性,在 45 ~ 70℃ 在水中提取 4 ~ 8h;提取液过滤后通过截留分子量为 700KDa、孔径大小为 0.45um 的微孔滤膜,再通过超滤技术分离得到分子量不小于 700KDa 的鱼皮明胶;

[0008] 所述的鱼皮优选为鳕鱼皮;

[0009] 所述的碱性溶液优选为 0.05M 的 NaOH 溶液;

[0010] 所述的酸性溶液优选为 0.1M 的硫酸溶液;

[0011] 本发明所使用的壳聚糖溶液,是将壳聚糖溶解在酸溶液中制备的;

[0012] 本发明的明胶壳聚糖复合止血粉,其一种具体制备方法如下:

[0013] 将脱乙酰度不小于 50% 的壳聚糖溶解在 0.05 ~ 0.2M 的醋酸溶液中,配置成 1 ~ 2% 的壳聚糖溶液,然后将明胶溶液与壳聚糖溶液混合,得到鱼皮明胶与壳聚糖质量比为 5:1 ~ 4 的混合溶液;将混合溶液在 4℃ 温度下搅拌 8 ~ 10h,冷冻干燥、超微粉碎使颗粒粒

径平均分布在 3-4  $\mu\text{m}$  左右,用剂量为 25K Gy<sup>60</sup>Co 消毒灭菌,得到明胶壳聚糖复合止血粉剂。

[0014] 本发明将制备的鱼皮明胶中加入壳聚糖,可以发挥材料之间的协同效应,提高了复合材料的吸水性和粘附性,使得复合材料的止血性能得到了提高,同时还具备了壳聚糖抗菌、抑菌的性能。复合材料的力学性能、止血性能和愈合伤口的能力都得到了提高,成为了一种综合性能优良的止血剂。

### 具体实施方式

[0015] 为了使本技术领域的人员更好地理解本发明技术方案,下面就具体的实施方式做进一步的说明。

[0016] 实施例 1

[0017] 一种明胶壳聚糖复合止血粉的制备方法,包括以下步骤:

[0018] 步骤一:鳕鱼皮明胶的提取

[0019] 新鲜鳕鱼皮储存在 -20℃ 的冰箱中。将鳕鱼皮从冰箱中取出,室温下解冻,去除鱼皮上粘连的鱼肉,用清水冲洗干净。将鱼皮剪成 2cm×2cm 的小块,用浓度为 0.05M 的 NaOH 溶液浸泡鱼皮 45min,料液比 1:30(w/v) 使其充分溶胀,将鱼皮用清水冲洗至中性,再用浓度为 0.1M 的硫酸溶液浸泡 30min,料液比为 (1:30),将鱼皮冲洗至中性。鱼皮加 3 倍体积的水,在 65℃ 下用水浴摇床提取 5h,用两层娟纱过滤,滤液离心,取上清液即为鳕鱼皮明胶提取液。

[0020] 步骤二:高分子量鳕鱼皮明胶的制备

[0021] 将鳕鱼皮明胶提取液抽滤,滤液通过 0.45 $\mu\text{m}$  的微孔滤膜进一步去除杂质,用截留分子量为 700KDa 的超滤膜在 4℃ 下进行超滤,氮气加压 0.2MPa,冷冻干燥后得到分子量高于 700KDa 的高分子量鳕鱼皮明胶。

[0022] 步骤三:明胶壳聚糖复合止血粉的制备及理化性质研究

[0023] 将高分子量的鳕鱼皮明胶样品用 65℃ 热水溶解,配置成 2% 的明胶溶液,将脱乙酰度 65% 的壳聚糖溶解在 0.2M 的醋酸溶液中,配置成 1.2% 的壳聚糖溶液,将明胶溶液和壳聚糖溶液按照 1:1 混合,得到明胶:壳聚糖为 10:6 的混合溶液。将混合液放在 4℃ 下搅拌 8h,冷冻干燥得到海绵状复合物。将复合物用超微粉碎机粉碎,得到粉末用剂量为 25K Gy<sup>60</sup>Co 消毒灭菌,成型包装,得到明胶壳聚糖复合止血粉,混合止血粉剂的粒径平均分布在 3.97  $\mu\text{m}$  左右,体外实验测定其吸水倍率为 0.926,体外溶血率为 3.01%,低于 5%,符合国家生物材料评价规定的溶血率安全范围。体外促凝实验的平均凝血时间为 46.16s,与自然止血组平均止血时间 103.17s 相比缩短了 57.01s,说明其具有促凝作用。

[0024] 步骤四:高分子量明胶壳聚糖复合止血粉的动物实验研究

[0025] 选取体重 200g 左右的健康雄性 wistar 大鼠做断尾止血实验,用体积分数为 75% 的酒精消毒尾部,并用刀片在鼠尾端约 2cm 处割断,在伤口处撒上 30mg 的高分子量明胶壳聚糖复合止血粉,每隔 15s 观察一次,以断尾不再渗血为止血完毕,高分子量明胶壳聚糖复合止血粉的止血时间为 3.77min,与自然止血组的止血时间 6min、云南白药组的止血时间 4.87min 相比,止血时间缩短,止血效果较好;选取体重 200g 左右的健康雄性 wistar 大鼠做股动脉止血实验,小心沿股内侧切一 3cm 切口,暴露大鼠股动脉,小心将股动脉横向剪开约直径 1/3 的切口。立即用脱脂棉擦去喷出的血液,将 200mg 的高分子量明胶壳聚糖复合止

血粉撒在切口上,用无菌纱布覆盖,每隔 15s 揭开纱布观察一次,直到伤口不再出血为止,高分子量明胶壳聚糖复合止血粉的止血时间为 1.88min,与自然止血组的时间 5.21min、云南白药组的止血时间 2.5min 相比较,止血时间缩短,止血效果较好;选取体重 200g 左右的健康雄性 wistar 大鼠做肝创面止血实验,于大鼠的腹中线作一长约 3cm 纵行切口,暴露大鼠的肝脏,用无菌纱布将肝脏中叶隔离,用刀片在肝脏中叶纵向切开一长 1cm,深 0.5cm 的切口,用脱脂棉立即擦去血液,分别将 200mg 高分子量明胶壳聚糖复合止血粉撒在创面上,覆盖无菌纱布,每隔 15s 观察创面出血的情况,直到伤口不再出血为止,记录止血时间为 1.55min,与自然止血组的止血时间 3.24min、云南白药组的止血时间 1.85min 相比较,止血时间缩短,止血效果较好。

#### [0026] 实施例 2

[0027] 一种明胶壳聚糖复合止血粉的制备方法,包括以下步骤:

#### [0028] 步骤一:鳕鱼皮明胶的提取

[0029] 新鲜鳕鱼皮储存在  $-20^{\circ}\text{C}$  的冰箱中。将鳕鱼皮从冰箱中取出,室温下解冻,去除鱼皮上粘连的鱼肉,用清水冲洗干净。将鱼皮剪成  $2\text{cm}\times 2\text{cm}$  的小块,用浓度为  $0.05\text{M}$  的  $\text{NaOH}$  溶液浸泡鱼皮 45min,料液比 1:30(w/v) 使其充分溶胀,将鱼皮用清水冲洗至中性,再用浓度为  $0.1\text{M}$  的硫酸溶液浸泡 30min,料液比为 (1:30),将鱼皮冲洗至中性。鱼皮加 3 倍体积的水,在  $55^{\circ}\text{C}$  下用水浴摇床提取 6h,用两层娟纱过滤,滤液离心,取上清液即为鳕鱼皮明胶提取液。

#### [0030] 步骤二:高分子量鳕鱼皮明胶的制备

[0031] 将鳕鱼皮明胶提取液抽滤,滤液通过  $0.45\mu\text{m}$  的微孔滤膜进一步去除杂质,用截留分子量为  $700\text{KDa}$  的超滤膜在  $4^{\circ}\text{C}$  下进行超滤,氮气加压  $0.2\text{MPa}$ ,冷冻干燥后得到分子量高于  $700\text{KDa}$  的高分子量鳕鱼皮明胶。

#### [0032] 步骤三:明胶壳聚糖复合止血粉的制备及理化性质研究

[0033] 将高分子量的鳕鱼皮明胶样品用  $55^{\circ}\text{C}$  热水溶解,配置成 2% 的明胶溶液,将脱乙酰度 55% 的壳聚糖溶解在  $0.1\text{M}$  的醋酸溶液中,配置成 1% 的壳聚糖溶液,将明胶溶液和壳聚糖溶液按照 1:1 混合,得到明胶:壳聚糖为 10:5 的混合溶液。将混合液放在  $4^{\circ}\text{C}$  下搅拌 8h,冷冻干燥得到海绵状复合物。将复合物用超微粉碎机粉碎,得到粉末用剂量为  $10\text{K Gy } 60\text{Co}$  消毒灭菌,成型包装,得到明胶壳聚糖复合止血粉。混合止血粉剂的粒径平均分布在  $3.95\mu\text{m}$  左右,体外实验测定其吸水倍率为 0.916,体外溶血率为 2.98%,低于 5%,符合国家生物材料评价规定的溶血率安全范围。促凝实验的平均凝血时间为 46.31s,与自然止血组平均止血时间 103.17s 比较缩短了 56.86s,说明其具有促凝作用。

#### [0034] 步骤四:高分子量明胶壳聚糖复合止血粉动物实验研究

[0035] 选取体重 200g 左右的健康雄性 wistar 大鼠做断尾止血实验,用体积分数为 75% 的酒精消毒尾部,并用刀片在鼠尾端约 2cm 处割断,在伤口处撒上 30mg 的高分子量明胶壳聚糖复合止血粉,每隔 15s 观察一次,以断尾不再渗血为止血完毕,高分子量明胶壳聚糖复合止血粉的止血时间为 3.69min,与自然止血组的止血时间 6min、云南白药组的止血时间为 4.87min 相比较,止血时间缩短,止血效果较好;选取体重 200g 左右的健康雄性 wistar 大鼠做股动脉止血实验,小心沿股内侧切一 3cm 切口,暴露大鼠股动脉,小心将股动脉横向剪开约直径  $1/3$  的切口。立即用脱脂棉擦去喷出的血液,将 200mg 的高分子量明胶壳聚糖

复合止血粉撒在切口上,用无菌纱布覆盖,每隔 15s 揭开纱布观察一次,直到伤口不再出血为止,高分子量明胶壳聚糖复合止血粉的止血时间为 2.01min,与自然止血组的止血时间 5.21min、云南白药组的止血时间 2.5min 相比较,止血时间缩短,止血效果较好;选取体重 200g 左右的健康雄性 wistar 大鼠做肝创面止血实验,于大鼠的腹中线作一长约 3cm 纵行切口,暴露大鼠的肝脏,用无菌纱布将肝脏中叶隔离,用刀片在肝脏中叶纵向切开一长 1cm,深 0.5cm 的切口,用脱脂棉立即擦去血液,分别将 200mg 高分子量明胶壳聚糖复合止血粉撒在创面上,覆盖无菌纱布,每隔 15s 观察创面出血的情况,直到伤口不再出血为止,记录止血时间为 1.65min,与自然止血组的止血时间 3.24min、云南白药组的止血时间 1.85min 相比较,止血时间缩短,止血效果较好。

[0036] 实施例 3 不同分子量的鳕鱼皮明胶

[0037] 使用其它分子量的鳕鱼皮明胶制备的明胶壳聚糖复合止血粉,其效果不如实施例 1 或实施例 2 的明胶壳聚糖复合止血粉的效果好。

[0038] 步骤一:鳕鱼皮明胶的提取和理化性质的研究

[0039] 新鲜鳕鱼皮储存在  $-20^{\circ}\text{C}$  的冰箱中。将鳕鱼皮从冰箱中取出,室温下解冻,去除鱼皮上粘连的鱼肉,用清水冲洗干净。将鱼皮剪成  $2\text{cm}\times 2\text{cm}$  的小块,用浓度为  $0.05\text{M}$  的  $\text{NaOH}$  溶液浸泡鱼皮 45min,料液比 1:30(w/v) 使其充分溶胀,将鱼皮用清水冲洗至中性,再用浓度为  $0.1\text{M}$  的硫酸溶液浸泡 30min,料液比为 (1:30),将鱼皮冲洗至中性。鱼皮加 3 倍体积的水,在  $65^{\circ}\text{C}$  下用水浴摇床提取 5h,用两层娟纱过滤,滤液离心,取上清液即为鳕鱼皮明胶提取液。

[0040] 步骤二:低分子量鳕鱼皮明胶的制备

[0041] 将鳕鱼皮明胶提取液抽滤,滤液通过  $0.22\mu\text{m}$  的微孔滤膜进一步去除杂质,用截留分子量为  $500\text{KDa}$  的超滤膜在  $4^{\circ}\text{C}$  下进行超滤,氮气加压  $0.2\text{MPa}$ ,冷冻干燥后得到分子量低于  $500\text{KDa}$  的高分子量鳕鱼皮明胶。

[0042] 步骤三:低分子量明胶-壳聚糖复合止血粉的制备及理化性质研究

[0043] 将低分子量的鳕鱼皮明胶样品用  $65^{\circ}\text{C}$  热水溶解,配置成 2% 的明胶溶液,将脱乙酰度 65% 的壳聚糖溶解在  $0.2\text{M}$  的醋酸溶液中,配置成 1.2% 的壳聚糖溶液,将明胶溶液和壳聚糖溶液按照 1:1 混合,得到混合溶液。将混合液放在  $4^{\circ}\text{C}$  下搅拌 8h,冷冻干燥得到海绵状复合物。将复合物用超微粉碎机粉碎,得到粉末用剂量为  $25\text{KGy}60\text{Co}$  消毒灭菌,成型包装,得到明胶壳聚糖复合止血粉。体外实验测定其吸水倍率为 0.626,与高分子量的吸水倍率 0.926 相比偏低。体外促凝实验的平均凝血时间为 58.16s,与高分子量的明胶壳聚糖复合止血粉的平均凝血时间 46.16s 相比较,凝血时间长,止血效果差。

[0044] 步骤四:明胶壳聚糖复合止血粉的动物实验研究

[0045] 选取体重 200g 左右的健康雄性 wistar 大鼠做断尾止血实验,用体积分数为 75% 的酒精消毒尾部,并用刀片在鼠尾端约 2cm 处割断,在伤口处撒上 30mg 的低分子量明胶-壳聚糖复合止血粉,每隔 15s 观察一次,以断尾不再渗血为止血完毕,低分子量明胶-壳聚糖复合止血粉的止血时间为 5.37min,与高分子量明胶-壳聚糖复合止血粉的止血时间 3.77min 相比,止血时间较长,止血效果差;选取体重 200g 左右的健康雄性 wistar 大鼠做股动脉止血实验,小心沿股内侧切一 3cm 切口,暴露大鼠股动脉,小心将股动脉横向剪开约直径  $1/3$  的切口。立即用脱脂棉擦去喷出的血液,将 200mg 的低分子量明胶壳聚糖复

合止血粉撒在切口上,用无菌纱布覆盖,每隔 15s 揭开纱布观察一次,直到伤口不再出血为止,低分子量明胶壳聚糖复合止血粉的止血时间为 2.97min,与高分子量明胶-壳聚糖复合止血粉的止血时间 1.88min 相比,止血时间较长,止血效果差;选取体重 200g 左右的健康雄性 wistar 大鼠做肝创面止血实验,于大鼠的腹中线作一长约 3cm 纵行切口,暴露大鼠的肝脏,用无菌纱布将肝脏中叶隔离,用刀片在肝脏中叶纵向切开一长 1cm,深 0.5cm 的切口,用脱脂棉立即擦去血液,分别将 200mg 低分子量明胶壳聚糖复合止血粉撒在创面上,覆盖无菌纱布,每隔 15s 观察创面出血的情况,直到伤口不再出血为止,记录出血时间为 3.05min,与高分子量明胶-壳聚糖复合止血粉的止血时间 1.55min 相比,止血时间较长,止血效果较差。研究表明,明胶低分子量复合止血粉也具有止血效果,但没有明胶高分子量复合止血粉止血效果明显。

[0046] 按照此技术制备得到的高分子量明胶壳聚糖复合止血粉综合性能优良,便于携带、使用和保存,并且制备工艺简单,适合工业化生产。