



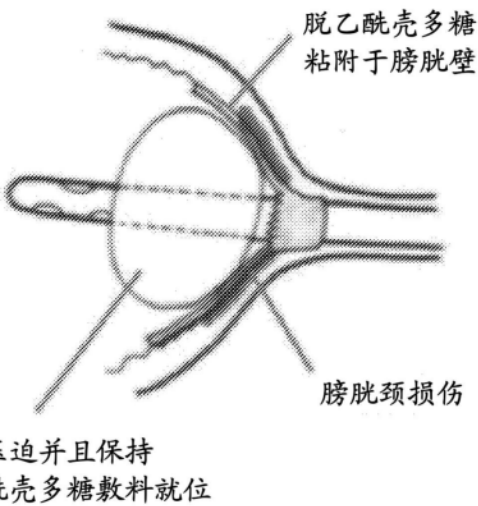
(21) 申请号 201880090516.6
(22) 申请日 2018.12.28
(65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 111787892 A
(43) 申请公布日 2020.10.16
(30) 优先权数据
 62/612,013 2017.12.29 US
 62/631,290 2018.02.15 US
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
 2020.08.28
(86) PCT国际申请的申请数据
 PCT/US2018/068064 2018.12.28
(87) PCT国际申请的公布数据
 W02019/133936 EN 2019.07.04
(73) 专利权人 金珂生物医药公司
 地址 美国俄勒冈
(72) 发明人 S·J·麦卡锡 C·甘尼特
 M·R·琼斯 E·温纳塔
(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所
 有限公司 11038
 专利代理师 于巧玲

(51) Int.Cl.
 A61F 13/01 (2024.01)
 A61L 15/28 (2006.01)
 A61L 15/42 (2006.01)
(56) 对比文件
 CN 104013990 A,2014.09.03
 W0 2009111282 A2,2009.09.11
 Ji Hyun Ryu等.Bio-Inspired, Water-Soluble to Insoluble Self-Conversion for Flexible, Biocompatible, Transparent, Catecholamine Polysaccharide Thin Films.Advanced Functional Materials.2014, 第24卷(第48期),7709-7716.
 Ji Hyun Ryu等.Bio-Inspired, Water-Soluble to Insoluble Self-Conversion for Flexible, Biocompatible, Transparent, Catecholamine Polysaccharide Thin Films.Advanced Functional Materials.2014, 第24卷(第48期),7709-7716.
 审查员 赵恰恰

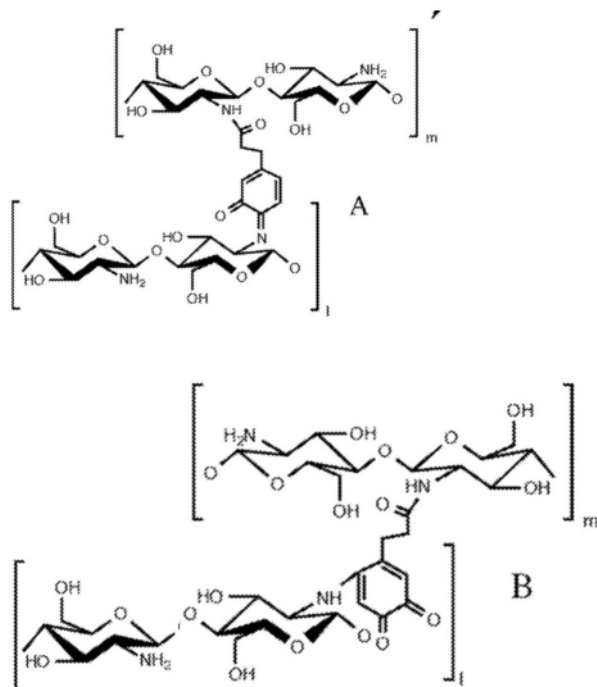
权利要求书4页 说明书43页 附图46页

(54) 发明名称
 抵抗溶解的组织粘附脱乙酰壳多糖材料

(57) 摘要
 本发明涉及生物相容性、可折叠、薄型、低质量和高表面积脱乙酰壳多糖敷料,其任选地用儿茶酚修饰,并且适合于在生理环境、例如胃肠道、膀胱(特别是与TURP操作相关)中治疗出血。提供了脱乙酰壳多糖敷料的特性和结构。还提供了制备和使用脱乙酰壳多糖敷料的方法。



1. 脱乙酰壳多糖材料, 所述脱乙酰壳多糖材料用3,4-二羟基氢化肉桂酸(氢化咖啡酸)、3,4-二羟基肉桂酸(咖啡酸)、反式-3,4-二羟基肉桂酸(反式-咖啡酸)和3,4-二羟基苯乙酸(DOPAC, 高原儿茶酸)中的至少一种修饰, 并且包含儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖, 其中所述儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖进一步包含儿茶酚被氧化成邻-醌并且交联形成化合物(A)或化合物(B)的至少一种,



其中该脱乙酰壳多糖材料为干固体形式, 其在施用前12小时之内在37℃下暴露在pH3.0-pH8.0范围的生物流体中抵抗溶解, 并且在7天内从目标组织部位完全溶解, 其中当该脱乙酰壳多糖材料是湿的且粘附强度大于或等于1kPa时, 该脱乙酰壳多糖材料粘附到组织表面, 其中该脱乙酰壳多糖材料具有500微米或更小的厚度。

2. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料, 其中该脱乙酰壳多糖材料具有范围为0.03g/cm³-0.7g/cm³的密度。

3. 权利要求2的脱乙酰壳多糖材料, 其中该脱乙酰壳多糖材料具有如下范围的密度: (i) 0.3g/cm³-0.4g/cm³; 或(ii) 0.4g/cm³-0.5g/cm³。

4. 权利要求2的脱乙酰壳多糖材料, 其中该脱乙酰壳多糖材料具有0.35g/cm³-0.55g/cm³的密度。

5. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料, 其中该脱乙酰壳多糖材料为压缩的。

6. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,

其中该脱乙酰壳多糖材料为正方形、矩形、圆形或环状花瓣形;

其中正方形或矩形的长和宽各自的测量值可以在范围: 1) 10-50mm; 或2) 30mm-70mm; 且

其中圆形或环状花瓣形各自的直径测量值在范围: a) 10mm-50mm; 或30mm-70mm。

7. 权利要求6的脱乙酰壳多糖材料, 其中该脱乙酰壳多糖材料测量值为如下之一: (i) 70mm×70mm; (ii) 50mm×50mm; (iii) 30mm×30mm; (iv) 25mm×25mm; (v) 20mm×20mm; 或(vi) 10mm×10mm。

8. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料, 其中脱乙酰壳多糖材料具有如下的含湿量: (1)

15%或更低重量(w/w);(2)8%或更低重量(w/w);或(3)4%或更低重量(w/w)。

9.权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中脱乙酰壳多糖材料具有粘附侧和非粘附侧。

10.权利要求9的脱乙酰壳多糖材料,其中粘附侧提供在第一层上,且非粘附侧提供在第二层上。

11.权利要求9的脱乙酰壳多糖材料,其中当该脱乙酰壳多糖材料湿润时,粘附侧与组织表面粘附。

12.权利要求9的脱乙酰壳多糖材料,其中当该脱乙酰壳多糖材料湿润时,非粘附侧不粘附到递送装置。

13.权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中该脱乙酰壳多糖材料在1分钟或更短时间之内粘附到胃肠道粘膜上,或在3分钟或更短时间之内粘附到膀胱粘膜上,或它们两者。

14.权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中该脱乙酰壳多糖材料在组织部位在脱乙酰壳多糖葡萄糖胺C-2胺上形成季铵阳离子。

15.权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中脱乙酰壳多糖材料具有如下着色:1)棕色着色,包括深棕色着色;或2)粉红色至粉红棕色着色。

16.权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,还包含冷冻干燥层。

17.权利要求16的脱乙酰壳多糖材料,其中冷冻干燥的结构具有50微米或更小;或100微米或更小的厚度。

18.权利要求16的脱乙酰壳多糖材料,其中冷冻干燥的结构包含一个以上冷冻干燥层。

19.权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,还包含纺制纤维。

20.权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,还包含多孔表面。

21.权利要求20的脱乙酰壳多糖材料,其中多孔表面提供以下一种或多种:(i)吸收性表面;以及(ii)使水分重新定向远离目标组织表面部位的通道。

22.权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中在湿润条件下,该脱乙酰壳多糖材料粘附到湿润组织上。

23.权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中该脱乙酰壳多糖材料在约37℃下可抵抗在水、盐水溶液、血液、胃肠流体或尿中的溶解至少约6小时。

24.权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中该脱乙酰壳多糖材料可以折叠或卷起而不会破裂或撕裂。

25.权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中该脱乙酰壳多糖材料在打开、展开或未折叠状态下具有面向外的表面积,它是相同脱乙酰壳多糖材料在闭合、卷起或折叠状态时面向外的表面积的约8倍、约7倍、约6倍、约5倍或约4倍。

26.权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中可以刺破或缝制该脱乙酰壳多糖材料而不会破裂或撕裂。

27.权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中该脱乙酰壳多糖材料能够通过球囊装置、金属丝装置或内窥镜装置完整地递送。

28.权利要求27的脱乙酰壳多糖材料,其中球囊装置或金属丝装置或内窥镜装置包含直径为3.2mm或更小或7.0mm或更小的工作通道,并且其中该脱乙酰壳多糖材料通过工作通道递送。

29.权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中在施加轻压的情况下,该脱乙酰壳多糖材料

能够在不到30秒的时间内润湿并完整粘附到胃粘膜上,或者在不到3分钟的时间内润湿并粘附到膀胱粘膜上,或它们两者。

30. 权利要求29的脱乙酰壳多糖材料,其中所述轻压为200-300g,或该脱乙酰壳多糖材料在不到2分钟的时间内完整地粘附到膀胱粘膜上,或它们两者。

31. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中脱乙酰壳多糖材料能够去除会干扰粘附的亲水性和疏水性生物流体。

32. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中脱乙酰壳多糖材料能够完整地保持就位并且停止中度至如下范围的渗血:1) 20ml/min-150ml/min;或2) 1ml/min-150ml/min。

33. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中粘附到目标组织部位后,脱乙酰壳多糖材料易于从递送装置上脱离。

34. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中在腐蚀性酶和约pH 3的酸性环境存在下,或在尿液存在下,或在这两种情况存在下,脱乙酰壳多糖材料在粘附到损伤部位后能够抵抗溶解至少6小时。

35. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中脱乙酰壳多糖材料能够封闭和保护目标组织部位至少12小时。

36. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中该脱乙酰壳多糖材料能够实现受控、缓慢地从附着部位溶解。

37. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中该脱乙酰壳多糖材料能够折叠和未折叠。

38. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中该脱乙酰壳多糖材料能够卷起和展开。

39. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中该脱乙酰壳多糖材料在约37℃下不易溶于水、盐水溶液、血液、或胃肠流体或膀胱流体或尿长达:1) 施用后至少12小时;或2) 施用后至少24小时。

40. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中该脱乙酰壳多糖材料不与递送装置粘附。

41. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中在约37℃下,在水、盐水溶液、血液、或胃肠流体或膀胱流体或尿存在下,该脱乙酰壳多糖材料的长和宽尺寸增加或减小不超过约25%,或厚度的尺寸增加或减小不超过约50%。

42. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中该脱乙酰壳多糖材料包含与损伤部位相互作用的粘合侧,且其中脱乙酰壳多糖材料包含非粘合侧,所述非粘合侧在当该脱乙酰壳多糖材料处于干燥和折叠或干燥和卷起状态时与递送装置或粘合侧之一相互作用。

43. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中该脱乙酰壳多糖材料能够在不影响脱乙酰壳多糖材料特性的情况下进行最终灭菌。

44. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中脱乙酰壳多糖材料能够在受控条件下随时间的推移储存,而不会影响脱乙酰壳多糖材料特性。

45. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中干固体形式为粉末。

46. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中干固体形式为基体。

47. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中干固体形式为膜。

48. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中干固体形式为薄层箔。

49. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中干固体形式为pleget。

50. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中干固体形式为纤维。

51. 权利要求1的脱乙酰壳多糖材料,其中干固体形式为涂层。
52. 生产权利要求1的儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖材料的方法,包含:
- (a) 使用脱乙酰壳多糖和儿茶酚在水性反应溶液中进行合成;
 - (b) 维持反应溶液的pH在或低于pH 5.5;
 - (c) 在步骤(b)后,增加反应溶液的pH,并且控制氧暴露于反应溶液,得到儿茶酚氧化和交联;和
 - (d) 干燥反应溶液;
- 其中该方法在步骤(b)与步骤(c)之间不包含中间干燥步骤。
53. 权利要求52的方法,其中在步骤(c)中,反应溶液的pH增加至5.8-6.2的范围。
54. 生产权利要求1的脱乙酰壳多糖材料的方法,包含:
- (a) 冷冻干燥包含脱乙酰壳多糖的第一水溶液;
 - (b) 冷冻干燥包含脱乙酰壳多糖的第二水溶液;
 - (c) 得到来自步骤(a)和(b)的每一个的具有互连的多孔结构的低密度脱乙酰壳多糖材料;和
 - (d) 压缩来自步骤(a)和(b)的每一个的低密度脱乙酰壳多糖材料;和
 - (e) 由来自步骤(a)和(b)的每一个的压缩的低密度脱乙酰壳多糖材料制备两层脱乙酰壳多糖材料。
55. 权利要求54的方法,其中在压缩前合并来自步骤(a)和(b)的每一个的低密度脱乙酰壳多糖材料。
56. 权利要求54的方法,其中步骤(d)的压缩可以在20°C-150°C范围的温度下进行。
57. 权利要求54的方法,还包含将所述脱乙酰壳多糖材料干燥至低于15% (w/w) 的含湿量。
58. 生产权利要求1的儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖材料的方法,包含:
- (a) 控制取代度;
 - (b) 控制氧化水平;和
 - (c) 制备干固体儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖材料,其中该脱乙酰壳多糖材料抵抗在37°C下在水、盐水溶液、血液、胃肠流体或尿中的溶解至少6小时。

抵抗溶解的组织粘附脱乙酰壳多糖材料

[0001] 政府特许权利

[0002] 本发明在国家糖尿病与消化和肾脏疾病研究所 (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease) 授予的R42DK078400和R44DK104564的政府支持下完成。政府对本发明享有一定权利。

背景

[0003] 技术领域

[0004] 生物活性脱乙酰壳多糖材料再体内的安全、可靠和有效递送仍然是一个主要问题。在使用中,生物活性脱乙酰壳多糖材料必须在生物流体存在下保持完整至少12小时期限,例如胃液、血液、胆汁和尿液,并且必须能够粘附至组织,包括胃肠道粘膜和血管系统的内部弹性层超过24小时期限。生物活性脱乙酰壳多糖在体内有许多应用,不限于药物递送、止血、伤口愈合、组织再生和栓塞疗法。在身体上或体内使用的当前的脱乙酰壳多糖材料和脱乙酰壳多糖材料的组合物在其应用方面受到限制,因为它们无法抵抗在苛刻环境中的溶解和快速损失,例如在胃中并且因其与组织粘附而无法维持在原位。

[0005] 本公开涉及包含儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖的脱乙酰壳多糖材料及其用途的领域。

[0006] 相关领域的描述

[0007] 存在许多针对血管器官和组织的手术,例如心脏,肝脏,胰腺,胃,肠,结肠,前列腺,扁桃体,耳,鼻,喉和大脑,它们通常在损伤后以及通过伤口愈合会继续出血。除非施用标准止血,否则最初的损伤可能会持续出血数天,并且出血也可能在以后再次发生。术后出血的初始止血护理标准根据手术类型的不同而改变。包扎、纱布包裹、生物敷料、烧灼和绑扎可以施用于局部解决该问题。如果持续出血,则可能需要长达24小时的包扎时间。如果在保守处置期限后出血无法控制,则患者可能必须立即返回外科手术室以通过开放式或内窥镜手术止血。尽管使用高级敷料在止血方面取得了进展,但这些进展无一转化成在独特的手术条件下的可靠治疗选择,在这种情况下,递送、组织粘连和持续出血与其他生物流体考虑混杂在一起极具挑战性。在任何情况下快速止血都是高度期望的。

[0008] 微创外科手术程序正成为介入治疗的优选方式,这归因于能够进入具有显著降低的风险(与开放手术相比)与更低的发病率、更低的住院费用和更少的患者不适感的身体区域。先进的生物材料已成为解决目前局限性的最前沿的技术,并且能够改善安全性、可靠性并增加微创外科手术程序的实践和应用。当前微创外科操作方面的限制包括控制出血(尤其是出血)、无创细腻缝合软组织部位、局部促进愈合、病原性疾病的局部治疗以及在手术/介入部位锚定或粘附的局部放置。更近来,微创干预用于解决血管发病机制,包括血管畸形、动脉瘤和脉管肿瘤。解决血管畸形、动脉瘤和脉管肿瘤优选手术为利用栓塞疗法封闭异常血管。栓塞疗法牵涉封闭装置的局部递送,例如支架或材料的线圈或锚定的生物材料,它们可在延长的时间内保留在原位,以促进大量凝块的形成,并随后永久封闭血管。

[0009] 能够长时间保持完整并促进局部凝块的形成和正常组织的愈合的生物相容性组

织粘合剂脱乙酰壳多糖材料具有先进的材料属性,其可以在外科实践中取得重大进展。

[0010] 此外,长时间的出血及其相关的死亡和发病风险仍然是胃肠(GI)道中的严重问题。需要能够为上消化道出血(UGIB)和下消化道出血(LGIB)提供胃肠道出血(GIB)的快速止血的技术和装置。前列腺经尿道切除术(TURP)中和之后的当前止血依赖于用于小血管动脉出血的烧灼术并施加球囊压力以解决静脉渗血。膀胱颈和前列腺都是高度血管化的组织,它们通常在损伤后和伤口愈合过程中持续出血。除非进行标准止血,否则最初的损伤部位可能会持续出血数天,并且在TURP手术后大约1周或2周时,当前列腺腔结痂脱落时,出血可能还会复发。目前用于治疗TURP后出血的标准初始止血方法在于使用球囊导管手动牵引,然后连续用盐水冲洗膀胱。典型地,在持续出血的情况下,可以施加球囊压力至多24小时。如果在保守处置后仍然无法控制出血,则患者可能必须立即返回外科手术室以通过开放式或内窥镜手术止血。

[0011] 尽管在GIB或TURP止血之外使用高级敷料施用在止血方面取得了进步,但这些进步无一转化成胃肠道或膀胱特别是上消化道的独特情况,并在其递送、粘附、酶活性、持续渗血、酸度以及与尿有关的考量因素方面都具有很高的挑战性。TURP、开放性前列腺切除术和膀胱切除术中的快速止血是高度期望的。

[0012] 胃肠道出血(GIB)是急诊科的常见现象。根据美国卫生与公共服务部(U.S.Department of Health and Human Service)的数据,从2000年到2014年,每年平均有超过350,000例因胃肠出血出院。在美国,2010年由于GIB造成的直接医院费用超过11亿美元[1]。定义为特赖茨(Treitz)韧带附近的胃道出血的上GIB(UGIB),通常为下GIB(LGIB)的约五倍以上[2]。急性UGIB为潜在的危害生命急诊,其需要进行速效评估、复苏术和适当的医疗和内镜处理。尽管近期在西方国家在处置GIB方面取得了进展,但是急性UGIB的死亡率尚未得到显著改善,保持高至10-14%[3,4]。GIB后的主要死亡原因为继发于心肺并发症的死亡,考虑到此类患者并存病的负担,这不足为奇;据报道,由于不可控制的出血引起的死亡占病例的20%-25%[5,6]。尽管几乎没有可以紧急纠正并存病的方法,但是更有效和快速的止血将显著降低UGIB相关发病率和死亡率的发生率。通常,急性UGIB最常见的原因是溃疡病、胃食管静脉曲张、马洛里-魏斯二氏撕裂(Mallory-Weiss tears)和糜烂性食管胃炎(erosive esophagogastritis)[7]。非静脉曲张性上消化道出血(NVUGIB)涵盖了除食道出血或胃静脉曲张以外的所有UGIB原因。由于质子泵抑制剂的开发和利用以及个体患者幽门螺杆菌的鉴定、治疗和根除,消化性溃疡疾病的发生率已经降低[8]。尽管消化性溃疡(peptic ulcer)发生率降低,但NVUGIB患者中的死亡率为3-4%[9]。胃恶性肿瘤虽然很少威胁生命,但会导致脆弱的组织散布出血,而传统的物理止血方法(夹子、绷带、结扎)或烧灼难以解决[10]。

[0013] 当前具有急性UGIB的患者的内镜处置包括热疗法(例如双极电凝、加热器探头、单极电凝、氩等离子凝固术和激光)、注射(肾上腺素、硬化剂(例如无水乙醇、聚乙二醇单十二醚和乙醇胺))、凝血酶或纤维蛋白胶(凝血酶+纤维蛋白原)和夹子[11,12]。

[0014] 通常,在大多数具有消化性溃疡出血的患者中,上述内窥镜治疗方法的组合可实现止血。然而,仍然存在一部分其中使用内窥镜治疗不足以止血且由此需要介入放射学或外科手术干预的患者(约5%)[13,14]。

[0015] 内镜疗法因各种原因而失败,包括由于活动性脉动性出血引起的病变可见度差,

内窥镜难以确定病变的解剖位置,使用目前可利用的工具进行的最大治疗以及严重的凝血病。也仅考虑在美国以外使用三种不同的基于喷雾的止血粉装置Ankeford Blood Stopper [15]、EndoClot™[16]和HemoSpray™[17-19]来控制NVUGIB。Hemospray的潜在问题在于,它是WoundStat™的相关产品,由于其促凝性纳米粒膨润土促进弥漫性微栓子[20] (其可能导致组织坏死和器官衰竭) 而于2009年在美国退出。

[0016] 良性前列腺增生症 (BPH) 和前列腺癌是老年男性中最常见通过外科手术治疗的两​​种泌尿外科疾病。据估计,到50岁,有50%的男性存在BPH的组织学证据,到80岁,认为75%的男性表现出BPH的组织学证据。在这些患者的40-50%中,BPH具有临床意义。尽管涉及前列腺和尿道的外科手术引起的失控出血发生率相对较低,但仍然存在重大风险,他们必须住院至少两到三晚才能解决。根据美国卫生与公共服务部从2005年到2010年的统计分析,在美国,平均有150,000人通过开放式或经尿道的经尿道手术进行前列腺切除术而出院,其中直接手术费用每年平均超过45亿美元。在这些患者中,开放或经尿道前列腺切除术的平均住院时间分别为3.1天和2.4天。在手术中因大量失血(4-5%)而输血的患者,平均住院时间延长至五或六天,与在2010年的前列腺切除术患者的平均费用(\$29,300)相比,每种情况平均要多花费\$15,700。由于手术室时间、外科医师时间和住院时间的原因,前列腺切除术的费用较高。

[0017] 认为TURP是BPH的基准疗法。前列腺的部分去除(切除)通过使用膀胱镜(通过尿道用于膀胱的内窥镜)经尿道进行微创手术和电烙术在TURP中进行。与其他较不常见的微创前列腺切除术相比,TURP中使用的细环电烙术可减少组织坏死,然而,使用TURP的手术中更多存在出血。像其他形式的前列腺切除术一样,适当的前列腺切除术和TURP的出血控制是其主要挑战。前列腺切除术中手术中出血的量取决于前列腺的大小、切除前列腺的时间长度以及外科医生的技能。前列腺切除术后出现明显出血或大出血通常会在膀胱和尿道中引起不良的血栓滞留(并导致尿潴留),这可能会延长住院时间,甚至有必要进行再次手术。通常,通过电凝很容易鉴定和控制动脉出血,但TURP中常见的静脉出血更难以控制。尝试通过电灼和冲洗控制静脉出血可能会导致不良后果,例如TURP综合征。在护理控制标准中,通过用灌注液填充膀胱并施加充气的经尿道球囊导管来压缩出血的前列腺腔来控制静脉出血。TURP相关的手术后发病率据报道高达18%,其中手术死亡率为0.3%。在老年患者中,与失血相关的发病率和死亡率的风险与凝血障碍和心血管异常相关地显著增加。TURP期间无法控制的出血仍然是前列腺切除术的主要并发症之一,且这通常导致转换为不太理想的开放手术。尽管在BPH的处置方面取得了重大进展,但失控的大出血发生率仍保持在6%左右,并且解决该出血的输血率为4%-5%。

[0018] 在典型的TURP中,住院时间为2至4天,并且患者已将充气的球囊导管插入就位,直到出血停止并且尿液变得澄清为止。TURP后术后出血的任何显著减少将缩短导管插入时间和病床需求。它还将减少尿道感染、与导管有关的患者不适感和相关并发症的发生率。经尿道或开放式手术导致的大量血尿(尿血)会引起血流动力学不稳定和血栓滞留,这需要立即就医,并进行医学护理以便止血、凝块清除、输血和凝固评价。通过经尿道方法治疗严重血尿由于有限的手术视觉和空间限制而繁琐。大多数情况下,患者必须返回手术室进行开放性膀胱手术,以实现止血和清除囊性血凝块。前列腺切除术的一个复杂因素在于,由于存在其他慢性病症,例如心血管疾病,TURP患者通常需要抗凝。尽管因为出血的风险而优选使这

些患者在TURP手术前服用抗凝药物例如Coumadin和Plavix,但优选在患者继续使用药物的同时进行手术,以减少手术期间中风或心肌梗塞的发生。对于经尿道施用以控制前列腺切除术后的大出血,迫切需要一种可靠且可持续的止血技术,优选在抗凝个体的情况下有效。

[0019] 脱乙酰壳多糖材料已在本领域中用于解决各种应用中的出血问题并取得了不同程度的成功,但是迫切需要改进和改善以释放儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖的潜能,以提供可替代的和更好基于脱乙酰壳多糖的解决方案,其用于体内且特别是在具有挑战性的体内生物环境中安全、可靠和有效地递送生物活性脱乙酰壳多糖材料。

[0020] 简要概括

[0021] 本发明涉及抵抗溶解的组织粘附脱乙酰壳多糖材料。这些脱乙酰壳多糖材料包含儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖,并且在本文中通常称作“敷料”,该术语用于指由本发明的脱乙酰壳多糖材料形成的固体干材料。所述脱乙酰壳多糖材料可以适合于和适用于微创程序。

[0022] 应当理解,本文所述的脱乙酰壳多糖材料具有来源于脱乙酰壳多糖材料本身的许多有益的特性,并且这些脱乙酰壳多糖材料可以采取多种潜在的固体形式。来源于和特征在于本文所述的脱乙酰壳多糖材料的有益特性包括、但不限于通过控制取代度和氧化水平来调节材料的能力。通过经控制取代度和氧化程度来调节材料,脱乙酰壳多糖材料可以在困难的生物环境中抵抗快速降解,例如胃肠道,尿道,下消化道,体内腔,例如腹腔和胸腔,但仍然足以溶解,可在不到七(7)天内消失。脱乙酰壳多糖材料的其他有益特性是它也具有生物相容性、止血性和组织粘附性。此外,本文所述的固体干脱乙酰壳多糖材料可以最终形式或离散的干材料构造形式提供,其由于其毛细作用(孔隙或多孔性存在)和/或施加压力而可能会置换干扰流体,在某些情况下,压力应较轻(例如约1atm),在干粉情况下,应在充气压力下递送。本发明的脱乙酰壳多糖材料产生最终形式或离散的干材料构造,其以提供快速的粘附力并抵抗溶解。

[0023] 本文所述的敷料作为使用本发明的脱乙酰壳多糖材料制成的非限制性实施例最终形式提供。本文所述和示例的敷料提供了将儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖材料转化成各种测试制品或最终形式的实例,它们显示出固体脱乙酰壳多糖材料的固体属性。进一步的干固体脱乙酰壳多糖的最终形式包括、但不限于冷冻相分离的基体和由此形成的敷料,纤维,粉末,薄膜,膜,网状物,pleglet等。本公开一般涉及脱乙酰壳多糖敷料,鉴于其特性,该敷料可以在不同的生理环境中施用以便止血。实施方案包括脱乙酰壳多糖胃肠道止血敷料(CGHD)和脱乙酰壳多糖腔内止血敷料(CEHD)等。

[0024] 本发明的材料具有以下一种或多种或全部性能的组合:(1)能够被压紧以进行递送而不会撕裂或损害机械性能;(2)能够在有血液和其他生物流体存在下在约37℃施用,没有明显的长、宽和高尺寸的改变或机械性能损失;(3)能够在生物流体和血液存在下进行递送;(4)能够手动或通过微创递送装置递送至手术部位;(5)能够从递送部位的压紧状态扩展;(6)能够进行毛细作用,实现孔隙率和吸收率,其能够去除会干扰粘附的亲水性和疏水性生物流体;(7)在施加均匀压力的情况下通过润湿而粘附于粘膜、切除的粘膜和切除的组织而被激活;(8)干燥时能够接触自身和包装材料,而不会粘附自身或包装;(9)包含材料的至少一个组织粘附侧,当被尿液或血液润湿时如果湿接触不超过300秒,能够与自身或包装或输送材料接触,而不会与自身或与包装或输送材料粘附,(10)能够均匀地粘附在组织上

并迅速促进局部血凝块形成；(11) 能够从递送装置中释放出来，以允许将递送装置从手术部位撤回；(12) 在施用的前12小时内，在约37℃的温度下约pH 3.0-约pH 8范围内能够抵抗暴露于生物流体的溶解；(13) 能够利用(有或没有递送装置就位的情况下)造口术连接通道，例如胃肠道中的通道和尿道中的那些以保持开放(patent)中存在的材料或材料残留物以及排泄通畅通过；(14) 保护损伤部位并提供促进愈合；(15) 提供可控的缓慢降解和/或从附着部位溶解的功能，以允许在造口术使用后不到七天的时间内无需外科手术辅助就可去除；(16) 本发明的材料可以包括粉末，薄膜，基体，膜，薄箔，填絮(pleget)，纤维和涂层中的一种；(17) 本发明的组织粘附材料可以包括、但不限于用作粘附敷料，粘附止血敷料，内部粘附固定剂，用于局部控制释放活性剂的粘附贴剂，缝合线，纤维(staple)，矫形外科的骨固定物，无闭塞缝合线的贴片(occlusive suture-less patch)以及促进凝血和封闭血管畸形的材料。

[0025] 尽管在美国现有的工具易于控制UGIB的很大一部分，但仍未满足对本发明主题的低风险装置的需求，该装置可快速控制快动性动脉出血。本发明主题的广泛应用将能够显著降低在胃肠道出血治疗中的发病率和死亡率，同时减少相关的医疗保健费用。

[0026] 本发明主题的脱乙酰壳多糖材料适用于在所有胃肠道出血应用中，并可以通过例如标准内窥镜工作通道($\leq 3.2\text{mm}$ 直径)或通过球囊导管递送作为脱乙酰壳多糖胃肠道止血敷料(CGHD)递送。本发明的主题材料将提供解决或减少当前模式例如剪切、热凝和注射的缺陷的机会，这需要高精确性并且在较快的出血状况的可见性受损时具有挑战性。

[0027] 本发明包含组合物、该组合物的使用方法和制备该组合物的方法。

[0028] 在优选的实施方案中，脱乙酰壳多糖材料包含儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖，其中由该材料形成的CGHD敷料具有止血功能且具有500微米或更小的厚度。CGHD敷料可以具有为如下之一的干敷料厚度：(i) 约200微米或以下；(ii) 约100微米或以下；或(iii) 约50微米或以下。该敷料可以具有在约 $0.03\text{g}/\text{cm}^3$ -约 $0.7\text{g}/\text{cm}^3$ 范围的密度，在如下的密度：(i) 约 $0.3\text{g}/\text{cm}^3$ -约 $0.4\text{g}/\text{cm}^3$ ；(ii) 约 $0.4\text{g}/\text{cm}^3$ -约 $0.5\text{g}/\text{cm}^3$ ；或约 $0.35\text{g}/\text{cm}^3$ -约 $0.55\text{g}/\text{cm}^3$ 。该敷料可以为压缩的。该敷料可以为正方形、矩形、圆形或环状花瓣形，并且对于正方形或矩形的长和宽中的每一个，测量值可以在约10mm-约50mm，或者对于圆形或环状花瓣形，直径测量值在约10mm-约50mm。在某些实施方案中，该敷料测量值为如下之一：(i) $10\text{mm} \times 10\text{mm}$ ；(ii) $20\text{mm} \times 20\text{mm}$ ；或(iii) $25\text{mm} \times 25\text{mm}$ 。该敷料在干燥时具有如下含湿量：(1) 15%或以下重量(w/w)；(2) 8%或以下重量(w/w)；或(3) 4%或以下重量(w/w)。敷料可以具有粘合侧和非粘合侧。敷料可以具有在第一层上设置的粘合侧而在第二层上设置的非粘合侧。当敷料湿润时，敷料的粘合侧会粘附到组织表面。当敷料湿润时，敷料的非粘性侧不会粘附到递送装置上。敷料可以在1分钟或更短时间的时间内粘附在胃肠道粘膜上。敷料可在组织部位的脱乙酰壳多糖葡萄糖胺C-2胺上形成季铵阳离子。该敷料可以包含被氧化为邻-醌并交联在脱乙酰壳多糖敷料中的儿茶酚。脱乙酰壳多糖敷料可以具有褐色着色，包括深褐色着色。在一个实施方案中，敷料可以包含未氧化的儿茶酚，且其中脱乙酰壳多糖敷料具有粉红色着色。敷料可以包含冷冻干燥层。敷料可以包含冷冻干燥的结构，其具有50微米或以下的厚度。敷料可以包含一种冷冻干燥的结构，其包括一个以上的冷冻干燥层。敷料可以包含纺丝纤维。敷料可以包含多孔表面。敷料可以包含多孔表面，其中该多孔表面提供以下一种或多种：(i) 和吸收性表面；和(ii) 使水分重新定向远离目标组织表面部位的通道。处于湿润状态时，敷料

可能会粘附在湿组织上。敷料的粘附强度可以大于或等于约1kPa。敷料在约37℃下在水、盐水溶液、血液或GI流体中抵抗溶解至少约6小时。敷料可以折叠或卷起而不会破裂或撕裂。敷料在打开、展开或未折叠状态下具有面向外的表面积,其为同一敷料在处于闭合、卷起或折叠状态时的面向外表面面积的约六倍、约五倍或约四倍。敷料可以具有打开、展开或未折叠状态相对于闭合、卷起或折叠状态的面向外表面积之比约为15:1或约14:1或约13:1或约12:1或约11:1或约10:1或约9:1或约8:1或约7:1或约6:1或约5:1或约4:1或约3:1或约2:1。可以穿刺或缝合敷料而不会破裂或撕裂。敷料可以是交联的。敷料可以通过球囊装置、金属丝装置或内窥镜装置完整地递送,其中所述装置可以包含直径为3.2mm或以下的工作通道,并且其中敷料通过工作通道被递送。通过施加轻压,例如约200-300g,敷料能够在不到30秒的时间内润湿并完整地粘附在胃粘膜上。敷料能够去除会干扰粘附的亲水性和疏水性生物流体。敷料能够完整地保持原位,并停止约20ml/min-约150ml/min的中度渗血。粘附到目标组织部位后,敷料就容易从递送装置上脱离。在腐蚀酶和约pH 3的酸性环境中,附着于损伤部位后,敷料能够抵抗至少六个小时的溶解。敷料能够在至少12小时内密封和保护目标组织部位。敷料能够在不超过七(7)天的时间期限内实现受控的从附着位置缓慢溶解。敷料能够折叠和展开。敷料可以卷起和展开。施用后至少12小时,敷料在约37℃下不易溶于水,盐水溶液,血液或GI流体。施用后至少24小时,敷料在约37℃下不易溶于水,盐水溶液,血液或胃肠液。敷料不粘附在递送装置上。在水,盐水溶液,血液或GI流体存在下在约37℃,敷料的尺寸在长和宽上的增加或减小不超过约25%,在厚度尺寸上的增加或减小不超过约50%。敷料包含与损伤部位相互作用的粘合侧,而脱乙酰壳多糖敷料包含与粘合装置在干燥和折叠或干燥和展开状态时与递送装置之一或粘合侧相互作用的非粘合侧面。敷料能够在不影响敷料特性的情况下进行最终灭菌。脱乙酰壳多糖敷料能够在受控条件下随时间的推移储存而不影响敷料特性。

[0029] 适合于通过本文所述的装置进行治疗的以ml/min表示的UGIB排泄速率或血液流速的范围可以在约1ml/min-约200ml/min。在优选的实施方案中,该装置所解决的出血速率在约1ml/min-约150ml/min。Forrest 1a UGIB约为25ml/min。对于出血速率远高于Forrest 1a的受试者,除非他们已经在手术室中,否则生存的可能性不大。将约20ml/min-25ml/min的UGIB出血速率视为“快速”出血。渗血通常大于约1ml/min,因为注意到低出血速率例如1ml/min典型地会凝结并自行停止,除非受试者由于某种原因接受抗凝治疗或患有凝血级联疾病,不包括服用抗凝药物。对于使用不可逆的抗凝药物或具有出血性疾病的受试者,对于1ml/min的渗血仍然保持关注并且需要通过由本发明的材料形成的装置来解决。在一些实施方案中,本文所述的装置用于解决UGIB的出血速率在约1ml/min-约25ml/min或约1ml/min-约20ml/min或约1ml/min-约15ml/min或约1ml/min-约10ml/min或约1ml/min-约5ml/min。在一些实施方案中,敷料可用于治疗疾病、病症、障碍、创伤或损伤。例如,该敷料在治疗疾病、病症、障碍、创伤或损伤中的用途包含在润湿时直接将敷料粘附在损伤部位,并对敷料施加压力约30秒。用于治疗疾病、病症、障碍、创伤或损伤的敷料可在粘附时去除亲水性和疏水性生物流体。用于治疗疾病、病症、障碍、创伤或损伤的敷料可以包含使敷料留在目标组织部位处就位,并且敷料可在目标组织部位保留至少24小时。用于治疗疾病、病症、障碍、创伤或损伤的敷料能够在目标组织部位缓慢溶解,并且在7天或以下的时间内无需人工干预即可完全溶解。

[0030] 在一些实施方案中,本文公开的发明包含生产脱乙酰壳多糖敷料的方法。在一个实施方案中,该方法包含:在水性反应溶液中用脱乙酰壳多糖和儿茶酚进行合成;将反应溶液的pH维持在pH5.5或以下;增加反应溶液的pH;并且将氧气暴露于反应溶液,以提供儿茶酚氧化和交联;并干燥反应溶液。在某些实施方案中,该方法在步骤之间不包含中间干燥步骤。在某些实施方案中,该方法包含将反应溶液的pH从约5.8提高到约6.2。生产脱乙酰壳多糖敷料的方法的另一个实施方案包含生产脱乙酰壳多糖敷料的方法,该方法包含:冷冻干燥包含脱乙酰壳多糖的第一水溶液;冷冻干燥包含脱乙酰壳多糖的第二水溶液;通过上述各步骤得到具有相互连接的多孔结构的低密度脱乙酰壳多糖敷料;并压缩来自各步骤中的低密度脱乙酰壳多糖敷料;并且由压缩的低密度脱乙酰壳多糖敷料制备两层脱乙酰壳多糖敷料。在某些实施方案中,在压缩之前,将来自上述每个冷冻干燥步骤的低密度脱乙酰壳多糖敷料合并在一起。在某些实施方案中,压缩步骤可以在约20℃-约150℃的温度范围内发生。在某些实施方案中,将敷料干燥至含湿量低于约15% (w/w)。

[0031] 除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的相同含义。本文描述了用于本发明的方法和材料;也可以使用本领域已知的其他适合的方法和材料。材料、方法和实例仅是示例性的,而无意于进行限制。本文提及的所有出版物、专利申请、专利、序列、数据库条目和其他参考文献通过引用整体并入本文。在发生冲突的情况下,以本说明书包括定义为准。

[0032] 通过以下详细描述和附图以及权利要求,本发明的其他特征和优点将变得显而易见。

[0033] 附图的多视角的简述

[0034] 图1A、1B、1C、1D、1E、1F和1G描述由本发明的材料形成的敷料的介绍、放置和应用。

[0035] 图2描述用带手套的双手把持的由本发明的材料形成的折叠的双面敷料的数字图像,其中较暗的一侧是组织粘合剂儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖侧,而较亮的一侧和其他边缘区域为未修饰的脱乙酰壳多糖敷料侧(未修饰的敷料的表面直径为2.5英寸,而修饰儿茶酚敷料的表面直径为2英寸)。

[0036] 图3A和图3B描述由本发明的材料形成的双面儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖敷料的数字图像,所述敷料在初次附着后在接近48小时时在 $25 \pm 3^\circ\text{C}$ 通过球囊导管施用2小时并浸入0.9%w/w生理水溶液中而粘附在250ml容量瓶的壁上。注意,在48小时时不存在任何原始未修饰的脱乙酰壳多糖敷料的痕迹。图3A是侧视图,图3B是平面图。

[0037] 图4描述在30分钟内均匀地附着在接近100磅雌性猪的膀胱颈和尿道腔上的由本发明的材料形成的儿茶酚脱乙酰壳多糖敷料的数字内窥镜图像。膀胱因注射尿液和盐水而肿胀,以有助于观察。该图像通过经猪膀胱壁的内窥镜的套管针递送并且使用内窥镜视口对准猪膀胱颈部并进入尿道递送而取得。该图像显示了明显的未愈合、稀疏的迅速降解的未修饰的脱乙酰壳多糖衬以及紧密粘附在尿道的膀胱颈和内腔上的修饰的儿茶酚敷料。

[0038] 图5A和5B描述折叠敷料的一个图像平面图,所有其他图像均为横截面/侧面。附图标记(如果包括在附图中)相当于如下书面文字:1-前列腺;2-膀胱;3-尿道粘膜;4-导管镜筒;5-护套;6-递送导管的递送球囊上的卷起CEHD;7a-圆锥形折叠式CEHD,其连接点(14)位于递送球囊导管近端(左侧);7b-圆锥形折叠式CEHD,其连接点(14)位于递送球囊导管远端(右侧);7c-CEHD圆锥形折叠的CEHD的平面图,具有连接点(14)远端。注意,一个球囊上可能

存在两个敷料,分别带有远端和近端连接,或者只有一个敷料,仅带有近端连接。CEHD的可替代递送方式为其围绕着递送球囊卷起为圆柱状,但未画出;8-递送球囊(存在单一球囊导管(较不优选)和双球囊(优选)的图)。在双球囊导管中,递送球囊也是近端球囊;9-切割以创建朝向圆锥形折叠敷料顶点的圆形窗连接点(近端9a;远端9b);10-圆锥形敷料的两个面的重叠边缘彼此面对;11-圆锥形折叠CEHD的顶端(11a近端;11b远端);12-灌洗端口(12a近端;12b远端);14-圆锥形折叠的CEHD顶点至球囊导管上的连接点,其中CEHD的主体折叠并围绕着递送球囊卷起。简单的双面压力粘合剂可以很好地将CEHD顶点固定在导管上。该连接有助于紧密贴合的护套在折叠和卷起的CEHD上滑动,而在使用中CEHD不会被护套卡住;15-远端或在双球囊递送导管中放置/定位球囊。这比单一球囊导管更为优选,因为远端球囊可用于破裂并开始移除护套,且提供了理想的定位递送球囊的能力。在吻合术和膀胱颈损伤的情况下,远端球囊可用于实现CEHD对膀胱颈的并置;和16-球囊导管的端口(2个球囊导管中典型地有3个端口,然而,具有2个球囊的多腔导管可能有更多)。典型地,每个球囊有一个端口,且至少一个点用于灌洗和排水。这些端口典型地连接到标准的注射器鲁尔接头。

[0039] 图6描述脱乙酰壳多糖($R_1 = H$ 和乙酰基)和儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖($R_1 = H$,乙酰基,氢化咖啡酸残基,咖啡酸残基,反式-咖啡酸基和高原儿茶酸残基)的化学结构代表。对于脱乙酰壳多糖聚合物,优选 $n > 60$,更优选 $n > 300$,且最优选 $n > 600$ 。

[0040] 图7描述1-乙基-3-(3-二甲基氨基-丙基)-碳二亚胺存在下的N-酰化加成反应,其中3,4-二羟基氢肉桂酸在水溶液中在pH 5.5下以25%的取代度共价连接至脱乙酰壳多糖C-2胺上。

[0041] 图8描述在升高的pH和氧气存在下,将儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖氧化为邻-醌修饰的脱乙酰壳多糖。

[0042] 图9描述导致儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖与脱乙酰壳多糖之间交联的希夫碱(A)和迈克尔加成(B)反应。

[0043] 图10描述4cm长、1.5cm内径的玻璃流动池,其通过包裹池的两端并施加压力结扎能够支撑猪小肠粘膜下层的6cm长、1.5cm直径的拉伸管。

[0044] 图11描述典型的流通池设计(并联连接3个池),用于测试在37°C的尿液流中粘附于池支撑的离体组织表面的新型敷料的粘附力和溶解阻力。

[0045] 图12A-12G显示用于制备脱乙酰壳多糖敷料的批号的不同参数的表。

[0046] 图13A-13E显示不同脱乙酰壳多糖敷料制剂的表,包括制剂,溶解度,可折叠性,破裂测试,离体,加速稳定性和体内特性。

[0047] 图14描述圆形的儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖敷料,其为(预切成的)直径为2.5英寸乘2英寸并压缩到接近50微米的形状。这些儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖敷料的着色从左到右范围从浅粉红棕色(第一敷料),2较深的粉红棕色敷料,2棕褐色敷料(无粉红色),1棕色敷料,且最后1个为深褐色敷料。儿茶酚脱乙酰壳多糖敷料5和6由2.5英寸和2英寸的模具形成,并且它们分别由2.5英寸模具使用未修饰的脱乙酰壳多糖敷料衬,且在敷料6中可以清楚地将未修饰的脱乙酰壳多糖观察为白色光环(无棕色或粉红色)。在压缩过程中,将儿茶酚脱乙酰壳多糖和未修饰的脱乙酰壳多糖敷料彼此粘合在一起,达到最终共享密度 $> 0.4\text{g}/\text{cm}^3$ 。粉色着色与未氧化的儿茶酚有关,而棕色与氧化的儿茶酚(邻-醌)有关。较浅的

棕色和较浅的粉红色与脱乙酰壳多糖被儿茶酚的取代度较低(接近10%)有关,而较深的着色(粉红色棕色和棕色)与脱乙酰壳多糖与儿茶酚的较高取代度有关(接近20%)。

[0048] 图15描述儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖敷料,其已折叠和未折叠,同时保持完整,并具有可见的折叠轴(折痕)。

[0049] 图16A-16C描述显示溶解测试结果的表。

[0050] 图17A-17C描述显示配制方法、亲水性聚合物和溶液亲水性聚合物成分的%w/w的表。

[0051] 图18描述紧密粘附在胃粘膜上的本发明的修饰的儿茶酚脱乙酰壳多糖敷料的胃镜数字图像,其显示出胃环境中的轻微肿胀,并且在将该敷料施用于动脉损伤后3小时有效控制在肝素化($ACT \geq 250s$)猪的胃内部撕裂的胃网膜动脉的上消化道出血(Forrest 1a)。

[0052] 图19显示在动物处死时图18的敷料下存在完整的强凝块,该凝块的拍摄在拍摄图18的图像的45分钟之内。经证实修饰的脱乙酰壳多糖敷料在处死时均匀地粘附在损伤处和胃粘膜处。

[0053] 图20-25描述一项实验,其牵涉0.9%盐水的循环蠕动泵送系统通过直径为15mm的玻璃池,其中包含猪小肠粘膜下层的内腔,以20ml/min的流速泵送163小时(接近7天-168小时),其中系统温度接近27°C。用手将一小块10mm×10mm的本发明的修饰的儿茶酚脱乙酰壳多糖材料贴片在玻璃池内附着在小肠粘膜下层表面上,并随时间观察。图像显示该材料在7天之内一直牢固地粘附在粘膜下层内腔,没有任何粘附力损失。在第7天并且从池中取出内腔,发现该材料已降解并变得非常脆弱。该系统用于筛选经尿道开展的制剂。在该模型中,未修饰的脱乙酰壳多糖持续时间不到2-3小时。

[0054] 图26描述紧密粘附在胃粘膜上的由本发明的发明材料形成的修饰的儿茶酚脱乙酰壳多糖敷料的胃镜数字图像,其显示出胃环境中的轻微肿胀,并且在将该敷料施用于动脉损伤后3小时有效控制在肝素化($ACT \geq 250s$)猪的胃内部撕裂的胃网膜动脉的上消化道出血(Forrest 1a)。

[0055] 详细描述

[0056] 在一个方面,本发明涉及一种生物相容性的、可折叠的、薄型的、包含儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖的基于脱乙酰壳多糖的敷料,并且其特征在于以下特征中的一种或多种或全部,使得它:(1)能够通过球囊或通过内窥镜装置完整地递送;(2)在施加轻压下,能够在30秒内润湿并完整地粘附在胃粘膜上;(3)具有毛细作用、孔隙率和吸收性,这能够去除会干扰粘附的亲水性和疏水性生物流体;(4)能够保持原位并停止中度渗血,例如出血速率在约20ml/min-约100ml/min或以上;(5)能够从递送装置中释放出来,以使递送装置从GI环境中抽出;(6)能够抵抗GI环境中的腐蚀酶有害快速分解(<6小时)和酸度($\geq pH3$);(7)能够保护胃肠损伤部位优选至多12小时,更优选至多24小时,且最优选至多96小时,以辅助其随后的急性愈合和闭合;和(8)能够从附着部位实现受控的缓慢溶解,从而可以在不到7天的时间内不加辅助地将其完全清除,其中溶解的残留物安全地通过消化道。

[0057] 本发明解决在使用可折叠的、薄型(厚度 $\leq$ 约500微米)、组织粘附性、基于脱乙酰壳多糖的止血敷料在经尿道前列腺切除术、开放式前列腺切除术、膀胱切除术中快速止血。由本发明的材料形成的敷料具有以下一个或多个或全部特征,使得它:(1)能够折叠或展开、未折叠和展开而不会撕裂或损害机械性能;(2)能够在约37°C下在有血液和尿液存在下

施用,而长、宽和高的尺寸没有明显变化或机械性能损失;(3)能够在存在尿液和血液的情况下递送;(4)能够通过腔内或经尿道递送装置递送到损伤部位;(5)能够在递送部位未折叠或展开;(6)其特征在于毛细作用、孔隙率和吸收性,这能够去除会干扰粘附的亲水性和疏水性生物流体;(7)在施加均匀压力下通过润湿而粘附至膀胱粘膜、切除的膀胱粘膜和切除的前列腺而激活;(8)干燥时能够自身和包装材料接触,而不会粘附于自身或包装;(9)包含敷料的组织粘合侧,如果与湿接触不超过约300秒,其能够在被尿液或血液湿润时自身或包装或递送材料接触,而不会粘附于自身,或包装或递送材料;(10)能够均匀地粘附在组织上,并在 $\leq$ 约50mmHg或以下的压力下,迅速停止中度渗血出血,例如,出血速率在约20ml/min-约100ml/min或以上,得到进行允许TURP的机会作为门诊手术;(11)能够从递送装置中释放,以允许将递送装置从尿道中撤回;(12)能够在施用的前12小时之内在约pH 4.5-约pH 8在约37℃下暴露于尿液时抵抗溶解;(13)使尿道保持(无论使用或不使用放置递送装置就位)开放状态,其中存在使用敷料或敷料的残留物,并允许尿液无阻地通过;(14)保护受伤部位和提供促进愈合;(15)提供从附着部位(膀胱颈、前列腺和/或尿道)可控的、缓慢的降解和/或溶解,以允许在不到约7天的时间内无需手术辅助即可去除。

[0058] 本发明提供:(1)使用非侵入性操作快速控制前列腺切除术中出血的能力;(2)控制抗凝患者出血的能力;(3)通过控制出血而无需长时间的导管插入可显著减轻患者的疼痛和不适感;(4)显著减少住院时间;(5)显著降低医疗保健成本;(6)显著降低发病率;以及(7)趋向于降低死亡率的结果。

[0059] 如本文所用,膀胱粘膜被广义地定义为包括膀胱中任何暴露的组织表面,包括通过手术(例如外科手术)暴露的任何组织表面。因此,膀胱粘膜包括天然存在于膀胱中的膀胱粘膜、切除的膀胱粘膜和切除的前列腺等。

[0060] 如本文所用,脱乙酰壳多糖腔内止血敷料(CEHD)是指脱乙酰壳多糖敷料,其为止血的,并且可用于例如膀胱内侧的腔内区域。CEHD不受其施用位置的限制,并且包括可在人体任何位置使用的脱乙酰壳多糖敷料,包括、但不限于膀胱粘膜。

[0061] 以适合于通过本文所述的装置治疗的以ml/min计的出血速率或血液流速可以在约1ml/min-约200ml/min。在优选的实施方案中,该装置所解决的出血速率在约1ml/min-约150ml/min。将约20ml/min-25ml/min的出血速率视为“快速”出血。渗血出血通常大于约1ml/min,因为注意到低出血速率例如1ml/min典型地会自行凝结并停止,除非受试者由于某种原因正在接受抗凝疗法或患有凝血级联疾病,不包括服用抗凝药物。对于使用不可逆的抗凝药物或具有出血性障碍的这样的受试者,仍然关注1ml/min的渗血,并且需要例如通过由本发明的材料形成的装置来解决。在一些实施方案中,本文所述的装置用于解决约1ml/min-约25ml/min或约1ml/min-约20ml/min或约1ml/min-约15ml/min或约1ml/min-约10ml/min或约1ml/min-约5ml/min的TURP出血率。

[0062] TURP递送装置可以包括用于TURP操作中的任何装置,或与TURP操作结合使用的任何装置。

[0063] 脱乙酰壳多糖敷料

[0064] 脱乙酰壳多糖敷料可以指包括不同量的脱乙酰壳多糖组合物。例如,在美国专利7820872、7482503、7371403、8313474、7897832、9004918、8920514、9204957、8741335、8269058、9205170和10086105中,描述了脱乙酰壳多糖敷料的一般内容物、一般化学组成和

不同形式。这类脱乙酰壳多糖敷料因其如上所述的化学和物理特性而用于止血。

[0065] 优选使用的脱乙酰壳多糖包含非哺乳动物材料聚[β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-氨基-2-脱氧-D-吡喃葡萄糖。脱乙酰壳多糖可以用常规方式由例如从动物甲壳类贝壳中得到的壳多糖中加工。脱乙酰壳多糖在体内可以为生物相容性和生物可降解的,并且能够分解成良性物质葡萄糖胺。本文所用的儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖可以包括涉及的添加儿茶酚的脱乙酰壳多糖。

[0066] 脱乙酰壳多糖敷料可以为干的或湿的。如果脱乙酰壳多糖敷料中的含湿量小于约15重量%,优选约10重量%,且更优选约5重量%,则脱乙酰壳多糖敷料为“干的”。当脱乙酰壳多糖敷料与水源(包括生理环境和生物流体或水溶液中的水)接触时,“脱乙酰壳多糖敷料”为“湿的”。例如,当本公开所述的脱乙酰壳多糖敷料与胃肠道流体、尿液或血液或胃肠道或膀胱的组织表面(膀胱粘膜或GI粘膜)接触时将变湿润。基本上以固体形式保留的脱乙酰壳多糖敷料在胃肠道或膀胱粘膜的生理环境中吸收、置换、重新定向或引导水/水分,其量足以使脱乙酰壳多糖敷料粘附到组织表面上。粘附的脱乙酰壳多糖敷料可以用于封闭伤口表面,并且减缓或阻止进一步的出血。

[0067] 在一个优选的实施方案中,由本发明的材料形成的脱乙酰壳多糖胃肠道止血敷料(CGHD)或脱乙酰壳多糖腔内止血敷料(CEHD)优选包含大于或等于25%重量的脱乙酰壳多糖;更优选大于或等于50%重量的脱乙酰壳多糖,且最优选大于或等于75%重量的脱乙酰壳多糖。脱乙酰壳多糖为通用术语,其用于描述由 β -(1-4)糖苷键连接的葡萄糖胺和N-乙酰葡萄糖胺残基组成的直链多糖(典型地葡萄糖胺的数量 $\geq$ N-乙酰葡萄糖胺),并且其组成可溶于稀酸水溶液中(Roberts 1991)。脱乙酰壳多糖家族包括聚- β -(1-4)-N-乙酰-葡萄糖胺和聚- β -(1-4)-N-葡萄糖胺,其中乙酰基残基部分及其基元装配(decoration)(随机或嵌段)影响脱乙酰壳多糖化学。脱乙酰壳多糖中的葡萄糖胺环上的C-2氨基允许质子化,且由此使脱乙酰壳多糖在水中溶解($pK_a \approx 6.5$)(Roberts 1991)。可以使用其他亲水性聚合物,例如,瓜尔胶、果胶、淀粉和聚丙烯酸。

[0068] 在CGHD的一个优选的实施方案中,由本发明的材料形成的敷料是聚合的、薄的(优选干敷料的厚度约为 ≤ 500 微米,更优选为约 ≤ 200 微米的厚度,最优选约为 ≤ 100 微米的厚度)、柔性的、多孔的、干的、生物相容性的、组织粘附性的和止血的。

[0069] 在CEHD的一个优选的实施方案中,由本发明的材料形成的敷料是聚合的、薄的(优选干敷料的厚度约为 ≤ 500 微米,更优选约 ≤ 200 微米或约 ≤ 100 微米的厚度,最优选约为 ≤ 150 微米的厚度)、柔性的、多孔的、干的、生物相容性的、组织粘附性的和止血的。

[0070] 在一些实施方案中,敷料的厚度约为100微米,且可以包含两个约70微米层的双层敷料(一层为粘附性和抗溶解性,而另一层为直接脱乙酰壳多糖),其中递送时总厚度接近150微米。

[0071] 敷料的形状不受限制,不过,优选正方形、矩形、圆形或环状瓣形敷料。在一个实施方案中,最大尺寸可以至多约为50mm x 50mm正方形或50mm直径。在另一个实施方案中,敷料尺寸可以约为45mm x 45mm正方形或45mm直径,40mm x 40mm正方形或40mm直径,35mm x 35mm正方形或35mm直径,30mm x 30mm正方形或30mm直径,25mm x 25mm正方形或25mm直径,15mm x 15mm正方形或15mm直径,10mm x 10mm正方形或10mm直径等。在另一个实施例中,长和宽中的每一个的直径可以在约10mm-约50mm或约10mm-约50mm。随着敷料的尺寸变大,它

们越来越受到有限腔中的递送限制。

[0072] 在另一个优选的实施方案中,敷料由球囊导管递送,且敷料具有约5cm或7cm最大值的直径尺寸。球囊导管优选地穿过敷料中的中心小孔(与导管球囊直径相同,通常约为4mm-约7mm直径,或者该孔可以更大,例如至多为12mm),且该敷料(敷料30mm-70mm直径)通过孔任一侧的小敷料片粘附到与球囊相对的导管(与导管直径相同)上。在一些实施方案中,敷料在折叠、卷起或压紧状态下的表面积改变约为当敷料处于未折叠、展开或未压紧状态时表面积的1/8。本文所述的敷料可以在开放、展开或未折叠的状态下提供较大的敷料表面积。或者,本文所述的敷料可以提供处于闭合、卷起或折叠状态的小的敷料表面。敷料折叠、卷起或闭合的能力使它们更加紧密并能保护递送,并减少了在递送到目标组织治疗部位之前过早润湿敷料表面的可能性。

[0073] 在CGHD的一个优选的实施方案中,敷料的厚度约为50微米,直径约为约2.5cm,并且具有约9.856cm²的打开、未折叠或展开的面向外的表面积。在递送装置护套内(典型的氟化乙烯丙烯(FEP)递送管的壁厚约为150微米),闭合、卷起或折叠的敷料在直径0.45cm的胃镜通道内具有约2.07cm²的面向外的圆柱形表面积(在1.25cm长的圆柱中),或在0.32cm直径的胃镜通道内具有约1.56cm²;或在0.28cm直径的胃镜通道内具有约1.41cm²。因此,在一个实例中,本发明的敷料在打开、未折叠或展开状态下可以具有面向外表面积约大于相同敷料在其闭合、卷起或折叠状态下的面向外表面积的六(6)倍、约五(5)倍或约四(4)倍以上。在一些实施方案中,打开、展开或未折叠的敷料的面向外的敷料表面积与闭合、卷起或折叠面向外的敷料表面积之比约为15:1或约14:1或约13:1或约12:1或约11:1或约10:1或约9:1或约8:1或约7:1或约6:1或约5:1或约4:1或约3:1或约2:1。

[0074] 在一些CGHD的实施方案中,最常见的胃镜通道为是0.28cm直径(2.8mm),因此这是敷料递送的最优选尺寸。或者,更优选的尺寸0.32cm为直径,这是标准的胃镜通道直径,但低于0.28cm米通道。另一优选的胃镜通道直径尺寸在0.45cm-0.32cm之间,其更为定制的胃镜通道尺寸,且由此比0.32或0.28cm胃镜通道直径尺寸少见。

[0075] 在CEHD的一个优选的实施方案中,敷料的厚度约为100微米,直径约为约5.0cm,并且具有约38.66cm²的打开、未折叠或展开的面向外表面积。在球囊递送装置上,闭合、卷起或折叠的敷料在直径为7mm的导管球囊上具有约5.09cm²的面向外圆柱形表面积(在2.5cm长的圆柱体中)或在带有3.0cm直径敷料的4mm直径导管球囊上具有约14.0cm²的开放和1.85cm²的封闭表面积。因此,在一个实例中,本发明的敷料在打开、展开或未折叠状态下的面向外表面积大于相同敷料在处于闭合、卷起或折叠状态时的面向外表面积约八(8)倍。在一些实施方案中,打开、展开或未折叠的敷料的面向外表面积与闭合、卷起或折叠敷料的面向外表面积之比约为15:1或约14:1或约13:1或约12:1或约11:1或约10:1或约9:1或约8:1或约7:1或约6:1或约5:1或约4:1或约3:1或约2:1。

[0076] 在一些CEHD的实施方案中,在TURP中,与递送装置一起使用的最常见的导管球为0.4cm囊直径米(4.0mm),因此,这是敷料递送的最佳尺寸。或者,更优选的尺寸为0.5cm直径,这是TURP递送装置的标准导管直径,但比0.4cm导管更不常见。TURP递送装置的另一优选的导管直径尺寸在0.5cm-0.7cm之间,这更为定制通道尺寸,因此比0.4或0.5cm的导管直径尺寸更不常见。

[0077] 在约37℃的温度下,优选在施用前6小时,更优选在施用前12小时,最优选在施用

前24小时,如本文所述的敷料能够折叠和展开,并且易溶于血液或体液,例如GI流体或尿液中,并且在约7天内约37℃下与GI流体或膀胱液接触时完全降解和/或溶解。

[0078] 如本文所述的敷料将不会粘附到递送装置上,并且在约37℃的温度下在血液和体液(GI流体、尿液或膀胱流体或其混合物)存在下不会明显膨胀或收缩,即,其长和宽的尺寸的增加或减小不超过约25%,或在厚度尺寸上不超过约50%。

[0079] 在一个优选的实施方案中,敷料可以在不影响敷料特性的情况下进行最终灭菌。当将其在约21℃-约25℃的室温下在受控条件下储存在其包装中时,其组织粘附特性、机械特性、在GI或膀胱流体中的溶解性、溶胀特性和止血特性为稳定的且不会随时间(例如约 ≤ 2 年)发生明显变化。

[0080] 在优选的实施方案中,敷料具有组织粘合侧和非粘合侧。在该实施例中,非粘合侧可提供这样的表面,当湿润时,该表面容易从其自身以及从对内腔内和/或胃肠道或膀胱内的敷料施加压力的任何施涂器或递送装置表面滑落。

[0081] 敷料的一个优选实施方案为它由具有约 $\leq 15\%$ 或约 $\leq 8\%$ 的水含量的基本上干燥的脱乙酰壳多糖组合形成。干脱乙酰壳多糖组合优选使用相分离和脱乙酰壳多糖和水的水溶液的干燥来形成。优选将干脱乙酰壳多糖敷料制成片状,其可以切成一定尺寸。

[0082] 生物相容性、生物可溶性组织粘附脱乙酰壳多糖敷料的优选实施方案能够在约37℃下抵抗胃肠(GI)流体和血液中的溶解至少约6小时,其为组织粘附性的并且包括促进在低pH值和上消化道的强酶消化液中快速溶解和降解的抵抗力的材料和材料结构。这是本文公开的脱乙酰壳多糖敷料的显著优点,因为胃肠道的上消化道已经发展为快速消化大部分有机材料,包括脱乙酰壳多糖、纤维素和淀粉。

[0083] 生物相容性、生物可溶性组织粘附脱乙酰壳多糖敷料的优选实施方案能够在约37℃下抵抗膀胱流体和血液中的溶解至少约6小时,其为组织粘附性的并且包括促进对膀胱尿液快速溶解和降解的抵抗力的材料和材料结构。这是本文公开的脱乙酰壳多糖敷料的显著优点。

[0084] 本文提供的脱乙酰壳多糖敷料可以通过轻压或至多数百KPa的压力施加于粘液表面,例如GI或膀胱中。如本文所用,施加在组织表面上的敷料上的轻压是指一种压力,该压力使脱乙酰壳多糖敷料附着并保持与损伤部位的接触而组织没有明显的偏转或移动,从而允许脱乙酰壳多糖敷料通过其组成结构和特征发生相互作用来促进与损伤部位的粘附以止血。在一些实施方案中,轻压是约最优为10kPa或以下,更优选为25kPa或以下,或优选为50kPa或以下(注意 $100\text{g}/\text{cm}^2 = 9.8\text{kPa}$)的压力。典型地,在向软组织例如胃施加高于100kPa的载荷时会产生显著的偏转,使得在没有施加支持性反压的情况下,施加压力是不可能的。探索人胃的弹性模量提供在Saraf等人2007中。Saraf, H. 等人 Mechanical properties of soft human tissues under dynamic loading, J. OF BIOMECHANICS, 40(9), pp.1960-1967 (2007)。

[0085] 脱乙酰壳多糖敷料的生产

[0086] 可以使用各种方法和工艺来产生本发明的脱乙酰壳多糖敷料。在一些实施方案中,脱乙酰壳多糖敷料可以通过冷冻相分离和干燥而形成。在可选的实施方案中,通过在冷冻之后干燥之前添加发泡剂以提供低密度泡沫来形成敷料。冷冻相分离,然后通过升华除去冷冻溶剂的过程称作冷冻干燥。冷冻相分离是从稀溶液中固化的过程,其中通过保留稀

溶液的容器或模具表面进行的热量去除和由此引起的温度降低导致纯溶剂的局部固态晶体成核,以及随后纯溶剂晶体的传播和生长。纯溶剂晶体在稀溶液中生长的结果在于,溶质从生长的晶体前沿扩散开,从而在生长的晶体之间的空隙处固化。稀聚合物水溶液的冷冻相分离导致较厚的冰层之间交替形成薄的聚合物层。用不破坏聚合物层的方法除去冰,得到具有相互连接的多孔结构的低密度聚合物敷料。例如,在一个实施方案中,低密度聚合物敷料可以具有约 $0.005\text{g}/\text{cm}^3$ -约 $0.05\text{g}/\text{cm}^3$ 的初始敷料密度。

[0087] 在一个可选的实施方案中,冷冻相分离的敷料通过将泡沫的稀释溶液冷冻然后干燥而形成。在一个可选的实施方案中,通过非织造纤维纺丝工艺,例如离心纺丝、静电纺丝或溶剂纤维挤出到凝固浴中形成敷料。在又一替代实施方案中,由本发明的材料形成的干敷料可以由编织纤维工艺形成。在又一个替代实施方案中,由本发明的材料形成的干敷料可以通过使用非溶剂的相转化和沉淀来形成(如典型地用于生产透析膜和滤膜)。在又一替代实施方案中,由本发明的材料形成的敷料可以由添加剂3D打印方法形成。

[0088] 在由本发明的材料形成的一个优选实施方案中,敷料制备过程可以包括压缩过程,其将初始敷料密度从约 $0.005\text{g}/\text{cm}^3$ -约 $0.05\text{g}/\text{cm}^3$ 的初始优选范围改变为约 $0.03\text{g}/\text{cm}^3$ -约 $0.7\text{g}/\text{cm}^3$ 最终的优选范围;然而,也关注约 $0.08\text{g}/\text{cm}^3$ -约 $1.2\text{g}/\text{cm}^3$ 的范围。应当注意,约 $1.5\text{g}/\text{cm}^3$ 的密度是无空隙的脱乙酰壳多糖敷料的密度。压缩过程可以包括施加约 20°C -约 150°C 的温度。为了避免干压缩的敷料在与生物流体接触时大量膨胀,优选通过一种方法施加压缩温度,该方法可以包括、但不限于对流、传导和辐射,并且压缩敷料的温度应当优选维持至少约 80°C 至少约15秒。

[0089] 压缩过程中的热量是一种工具,其可以使脱乙酰壳多糖进行增塑和成型,而不会破裂或撕裂脱乙酰壳多糖(无损成型)。纯干脱乙酰壳多糖的第一个玻璃化转变温度(T_g)接近 80°C ,如果在接近此温度纯干脱乙酰壳多糖的情况下进行处理,则脱乙酰壳多糖将立即进行无损成型,并对其结构进行一定程度的结晶退火。通过将增塑剂例如水或甘油施加到脱乙酰壳聚糖上能够降低 T_g ,因此在较低温度下提供相似水平的无损成型。在本文中,注意到脱乙酰壳多糖可以在 20°C - 150°C 的范围内无损地成型。超出此范围,仍然能够无损地模制脱乙酰壳多糖,但难度更大。高于 150°C ,脱乙酰壳多糖开始发生热降解,而低于 20°C ,增塑剂的加入可能导致脱乙酰壳多糖结晶度的不良损失,而其结晶度提供了耐溶解性和对例如灭菌过程中发生的降解过程的抵抗力。

[0090] 优选地,压缩防止干压缩敷料在与生物流体接触时充分膨胀,并且在压缩期间以干敷料的含湿量约为 $\leq 15\% \text{w/w}$ 进行。可以通过双辊或多辊压缩和/或在相邻压板之间单轴施加压缩。

[0091] 压缩可以抵靠均匀的平坦或弯曲表面,以为压缩的敷料提供平滑的光洁度。

[0092] 或者,压缩可以施加在蚀刻的、机加工的、烧蚀的或其他类型的表面处理上,这赋予耗尽的或增加的表面纹理。表面纹理可以是随机的,也可以是规则的重复图案。表面的图案可以有助于折叠和展开敷料,或者可以使敷料卷起和展开,并且可以在敷料中提供铰链样的特性。这样的质地可以用作辅助,以快速将敷料锁定在适当的位置,并在施用阻止其运动。面对目标组织表面上放置的同时敷料表面的运动会引起成膜,且由此导致开放表面结构的封闭,从而可以导致丧失去除表面抗粘着性生物流体的能力,且由此丧失敷料粘附表面的能力。在敷料表面发生变化的时间尺度非常重要,使得具有明显的表面敷料通道封

闭的流体吸收为非常不期望的。避免这种运动的一种良好方式在于一旦在敷料与组织表面接触则立即将其物理固定。

[0093] 在本发明之前,薄固体脱乙酰壳多糖敷料通常是刚性的,没有足够的柔性以致不足以弯曲或折叠或卷起而不会断裂、破裂,或以其他方式失去其完整形状或以其他方式不适用。由于其组成结构和特性,可以提供本文的脱乙酰壳多糖敷料可以沿折叠轴折叠和展开,同时仍然完整且适用于可用于止血。有意义地,并且与预期相反,已经发现,本文所述的脱乙酰壳多糖敷料在折叠时变得较不耐受沿着折叠的接缝撕裂或断裂。在一些实施方案中,由于其组成结构和特性,本文提供的脱乙酰壳多糖敷料可以卷起而不会失去其组成结构和特性,并且仍然完整并能够止血。

[0094] 在CGHD的一些实施方案中,由于其组成结构和特征,本文提供的脱乙酰壳多糖敷料可以被卷起而不会丢失其组成结构和特征,并且仍然完整并且能够止血。因此,在一些实施方案中,此处提供的脱乙酰壳多糖敷料能够通过狭窄的工作通道递送,同时仍维持其组成结构和特性完整。可通过其提供的脱乙酰壳多糖敷料递送的狭窄工作通道的典型直径包括约3.2mm或以下的直径,并且包括、但不限于0.1mm、0.2mm、0.3mm、0.4mm、0.5mm、0.6mm、0.7mm、0.8mm、0.9mm、1.0mm、1.1mm、1.2mm、1.3mm、1.4mm、1.5mm、1.6mm、1.7mm、1.8mm、1.9mm、2.0mm、2.1mm、2.2mm、2.3mm、2.4mm、2.5mm、2.6mm、2.7mm、2.8mm、2.9mm、3.0mm、3.1mm和3.2mm。

[0095] 在CEHD的一些实施方案中,由于其组成结构和特征,本文提供的脱乙酰壳多糖敷料可以被卷起而不会丢失其组成结构和特征,并且仍然完整并能够止血。因此,在一些实施方案中,此处提供的脱乙酰壳多糖敷料能够通过球囊导管沿尿道递送,同时仍保持其组成结构和特征完整。支撑脱乙酰壳多糖敷料的球囊导管的示例性直径可以包括约12mm或以下的直径,并且包括、但不限于3mm、3.5mm、4.0mm、4.5mm、5.0mm、5.5mm、6.0mm、6.5mm、7.0mm、7.5mm、8.0mm、8.5mm、9.0mm、9.5mm、10.0mm、10.5mm、11.0mm、11.5mm和12.0mm。

[0096] 儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖及其生产

[0097] 本文所述的脱乙酰壳多糖敷料涉及包含儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖和/或亲水性聚合物的脱乙酰壳多糖敷料。包含儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖的脱乙酰壳多糖敷料的其他方面如下文更详细地描述。

[0098] 本公开的CGHD或CEHD的优选实施方案包括具有儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖和/或任选地其他亲水性聚合物的组合物。优选地,敷料中的儿茶酚修饰剂的脱乙酰壳多糖提供对湿润组织的长期粘附,其中组织粘附 $\geq$ 约1kPa,在约37°C时抵抗在水、盐水溶液、血液和/或GI或膀胱流体中的溶解 $\geq$ 约6小时。优选地,儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖通过在脱乙酰壳多糖葡萄糖胺上的C-2胺被3,4-二羟基氢化肉桂酸(也称为3-(3,4-二羟基苯基)丙酸,氢化咖啡酸)N-酰化形成。或者,脱乙酰壳多糖N-酰化产生儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖包括、但不限于用3,4-二羟基肉桂酸(咖啡酸);反式-3,4-二羟基肉桂酸(反式-咖啡酸);和3,4-二羟基苯乙酸(DOPAC,高原儿茶酸)之一修饰。

[0099] 组合物中儿茶酚的存在提供了一些多共轭结构,因为儿茶酚被氧化为邻-醌。这在未修饰的脱乙酰壳多糖与儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖组合物之间造成可见的差异,它们的颜色分别为灰白色或粉红色至深棕色。应当注意,当儿茶酚中发生氧化时,儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖组合物从粉红色变成棕色。

[0100] 通过将pH反应溶液维持在pH 5.5或以下,在水性合成中提供了在儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖中的粉红色着色,表明基本上没有交联。还可通过在基本上无氧存在下进行修饰和随后的处理步骤而在水性合成中提供粉红色着色,例如,使用用惰性气体吹扫的水性体系,该惰性气体可以包括、但不限于氩气或氮气。尽管在最终溶液或儿茶酚修饰的产品中不期望获得粉红色着色,但在中间处理阶段(例如,在用儿茶酚进行脱乙酰壳多糖衍生化和/或随后儿茶酚脱乙酰壳多糖溶液的透析和/或洗涤以去除残留的未定义材料)可能是期望的,因为它可以用于稳定干燥的聚合物储存和干品重量的测定,并具有将纯净的干儿茶酚修饰的产品基本上重新溶解在水中随后达到期望的干重能力。然后将这种水溶性脱乙酰壳多糖儿茶酚材料氧化并交联(呈棕色着色)。然而,在氧化之前干燥的儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖不适用于由本发明的材料形成的脱乙酰壳多糖敷料中,因为包括这种经处理的儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖的敷料不易重新溶解,并且最终溶液中包括不期望的质量分数(>5%w/w)的不溶性颗粒(直径>10微米)。另外,在中间冷冻干燥阶段之后制备的儿茶酚脱乙酰壳多糖更易于在胃肠道流体或膀胱中早期溶解。应当注意,在TURP中过多的交联(即棕色)是不期望的,因为这会使尿液中的溶解花费更长的时间,例如,当目标在约72小时-约168小时之间完全溶解时,比168小时更长。

[0101] 在一个优选的实施方案中,不会通过中间干燥步骤从溶液中除去儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖以进行储存,而是将其保持在水溶液中,并在大气氧存在下暴露于高于约pH 5.5的条件下在水溶液中氧化。优选的pH控制通过调节溶解的二氧化碳水溶液的分压来实现(增加的分压降低pH,而降低的分压将pH提高至接近pH 7)。pH控制的替代优选方式通过逐渐添加强酸以降低pH和通过强碱以增加pH进行。强酸的实例可以包括、但不限于盐酸、硫酸和硝酸。强碱的实例可以包括、但不限于氢氧化钠和氢氧化钾。该水性水溶性氧化的儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖的随后干燥导致儿茶酚脱乙酰壳多糖的优选交联水平,并且对上消化道和膀胱中的溶解和降解具有良好的抵抗性。儿茶酚脱乙酰壳多糖溶液可以通过加水稀释或通过除水浓缩。可以通过包括、但不限于超滤、反渗透和离心的技术除去水。可通过从溶液中取样已知体积并进行分析,包括、但不限于重量分析法、傅立叶变换红外光谱法、紫外-可见光谱法、折光法和比重法来确定溶液的固体部分。

[0102] 在一个优选的实施方案中,儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖组合物具有由儿茶酚氧化为邻-醌所致的棕色。醌是通过在氧气存在下,且pH值大于约5.5的情况下,将儿茶酚羟基进行自氧化而产生。醌与脱乙酰壳多糖C-2胺的希夫碱反应在修饰的脱乙酰壳多糖中产生交联。在合成过程中,通过控制pH和氧气的暴露量,可以控制儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖组合物的颜色。将pH维持在约pH 5.5或以下会抑制邻-醌的产生。随后将透析溶液、最终洗涤或透析的儿茶酚脱乙酰壳多糖溶液调节至优选的pH范围为5.8至6.2可提供更高的抗溶解性,更暗,更氧化的儿茶酚。在一些实施方案中,儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖敷料的着色表征了儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖敷料的一个方面。在一些实施方案中,颜色反映了脱乙酰壳多糖被儿茶酚的取代度。在一些实施方案中,从粉红色到棕色的着色与取代度相关。图15显示了不同着色的示例性实施方案,其反映了脱乙酰壳多糖被儿茶酚的不同取代度并与之相关。

[0103] 为了由所述儿茶酚脱乙酰壳多糖制备干敷料,制备优选的浅棕色至深棕色的儿茶酚水性脱乙酰壳多糖溶液,其可以单独作为其自身使用或可以与其他水性亲水性聚合物溶

液混合使用,包括、但不限于脱乙酰壳多糖和/或任选地亲水性聚合物的溶液。优选地,将干燥相分离的儿茶酚脱乙酰壳多糖敷料制备成致密的干燥的冷冻相分离的和纤维状敷料结构。

[0104] 与基本上由未修饰的脱乙酰壳多糖形成的敷料相比,本发明的优选的交联的儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖组合物提供了良好的组织粘附性,并且对上消化道或膀胱的溶解抵抗性提高了10倍-100倍。例如,图16A、16B和16C显示了溶解测试结果,表明脱乙酰壳多糖敷料在15分钟内消失,而某些儿茶酚的敷料持续24小时以上。本文所述的儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖组合物提供了迄今未知的寿命、生物相容性和最终溶解的能力。

[0105] 在干敷料组合物中存在酸的条件下,通过在脱乙酰壳多糖葡萄糖胺C-2上促进季铵阳离子形成,在干脱乙酰壳多糖敷料中提供与由本发明的材料形成的CGHD或CEHD的胃肠道粘膜或膀胱粘膜的优选快速粘附(≤ 1 分钟)。敷料中优选的脱乙酰壳多糖酸式盐可以包括乙酸,乳酸,乙醇酸,柠檬酸,琥珀酸,苹果酸,盐酸,谷氨酸,抗坏血酸,丙二酸,戊二酸,己二酸,庚二酸和酒石酸的盐,及其组合。优选地,脱乙酰壳多糖的酸式盐的重量%大于约2%且小于约15%。为了实现对湿组织的快速粘附(例如 ≤ 1 分钟),干肠胃道或膀胱敷料中的水分优选小于约15%重量;更优选小于约10%重量,且最优选小于约5%重量。

[0106] 在致密的冷冻相分离和干脱乙酰壳多糖敷料的情况下,将脱乙酰壳多糖溶液倾入冷冻相分离模具中(典型地为具有水平平坦底盘的锅形),优选具有约0.1%w/w,更优选约0.5%w/w,最优选约0.25%w/w的亲水性聚合物脱乙酰壳多糖溶液。优选将亲水性聚合物溶液添加至水平平底锅至垂直深度优选约为10mm,更优选为2.5mm,且最优选为5.0mm的模具深度。随后将模具中的溶液冷冻并干燥,以通过升华或冷冻相替代(用非溶剂将冰提取到聚合物中)至低密度($>99\%$ 空隙体积)的开放或多孔干海绵,其具有干燥密度 $< \text{约} 0.01 \text{g/cm}^3$ (或者,例如,来自0.5%溶液的儿茶酚脱乙酰壳多糖未压缩的敷料,约 0.005g/cm^3),其为约 0.025g/cm^3 的HemCon Bandage脱乙酰壳多糖海绵密度的约1/5或20%)。冻干典型地在低于300mTorr的压力下进行,而涉及干燥、冷(例如 $< -20^\circ\text{C}$)溶剂例如乙醇的冷冻替代在大气压下进行。然后将干海绵压缩,优选压缩至大于约 0.4g/cm^3 密度和小于约100微米的厚度。优选的压缩不限于但可以包括对齐的平板之间的单轴压缩,其中将平板加热到 18°C - 150°C ,并且压力加载至多达10,000巴。

[0107] 优选的压缩产生非常薄的(例如,约 ≤ 50 微米-约 ≤ 200 微米)强(例如5MPa-25 MPa UTS)的易折叠脱乙酰壳多糖敷料,可以将其以微创方式以有限的折叠形式放置在人体的任何位置,可以对其进行变形而不会降低性能,而不会损害原始的展开式敷料形式,从而实现准确有效的高表面积放置和附着。

[0108] 可折叠性在下面的实例中解决。在一个实施方案中,折叠测试包括将水平平面的最终压缩圆形敷料在边缘上折成 180° 边缘,首先沿逆时针方向折叠,将边缘固定在一起并在敷料的中间牢固压缩以在敷料中形成单个线性折叠轴(或折痕)。然后打开折叠的敷料,并在新的折叠轴上再现边到边的折叠,但沿相反的逆时针方向折叠。可折叠性的成功可归因于沿折叠轴没有可见的撕裂或裂缝,并且敷料的拉伸性能没有明显损失(通过经敷料的折叠轻轻拉动来确定)。图15显示已折叠并展开但保持完整的且具有可见折叠轴(折痕)的儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖敷料。

[0109] 稀的水性聚合物溶液的冷冻相分离导致微米级和亚微米级薄的聚合脱乙酰壳多

糖层的相分离,所述聚合脱乙酰壳多糖层规则地散布在宽度接近200微米的冰晶片之间。通过升华(冷冻干燥)或可替代地通过溶剂萃取除去冰,保留由排列紧密对齐的、稀薄(≤ 1 微米)的聚合的脱乙酰壳多糖层组成的干海绵。在接近或高于其玻璃化转变温度(干脱乙酰壳多糖的 T_g 接近 80°C)附近压缩聚合物脱乙酰壳多糖层可以将其压缩成由数以百计的强顺应性聚合脱乙酰壳多糖叶片(层)形成的薄(接近50微米)致密的聚合物结构,其不易散布裂纹,并且可以反复折叠而不会失效。这样的多叶分层获得了显著的强度。在本发明之前,在先尚未研究过如本文所述制备和应用的高密度的冷冻相分离的脱乙酰壳多糖敷料,其目的是解决本发明解决的关键问题,例如粘合性,通过去除干扰流体(通过吸收,引导,移位和/或重新定向),形成折叠轴的能力以及抵抗沿折叠轴反复折叠和展开时机械故障的能力来实现。

[0110] 在一个实施方案中,在非压缩敷料中,孔隙度(空隙空间 $>99\%$)是完整且不间断的,其中孔隙大小范围在20-300微米,基本上大部分孔隙在100-200微米附近。连续的孔结构在压缩敷料中通过其吸收生物流体例如血液的能力显示。

[0111] 在一些实施方案中,压缩后,可通过局部施用窄规格(直径接近500微米)、锋利的尖头针穿过敷料,并进入的面对敷料紧密施加平坦、坚硬的弹性表面上,在敷料上形成直径近500微米的无裂纹清洁的边缘孔,该敷料可以接受和释放针尖点。优选的接收支撑平面包括、但不限于硬度为Shore 55D至90D的清洁、干燥的热塑性弹性体。孔形成的替代方法可以包括、但不限于使用小直径(接近500微米)打孔器或激光切割孔。

[0112] 在一些实施方案中,本文提供的脱乙酰壳多糖敷料在敷料上有孔。在一些实施方案中,孔容纳纤维或其他加强附着元件。这种加强元件可以通过简单地局部施加增强流体以与孔的边缘局部结合而形成。在本发明的研发过程中使用的增强流体包括氰基丙烯酸酯胶,其将敷料的压缩的脱乙酰壳多糖层结合在一起,并防止了在孔应力点处的脱乙酰壳多糖的局部分层和原纤化。孔加强元件的另一个实施方案为塑料或金属的微模制互锁部分(可溶于上消化道或膀胱或在施用的体内的替代区域),该互锁部分放置在孔的一侧,与孔的相反侧永久装配在一起,并且能够通过孔支撑负载,而在加载时不会导致敷料孔处出现分层、原纤化或其他与应力有关的故障。在一些实施方案中,微模制部分可以包括在递送装置连接的侧面上的部分,该部分使得可以便利地将敷料进行插入式附接和拔出式分离至递送装置上。

[0113] 如本文所用,术语折叠轴意在表示在弯曲应力和或折叠的材料中显示记忆力并且典型地局限于高弯曲应力和剪切力的狭窄区域的敷料片的组成部分。折叠纸中的折痕是折叠轴的实例。

[0114] 在一个优选的实施方案中,敷料的组织粘成分由冷冻相分离并干燥的脱乙酰壳多糖片材形成,该片材具有包括儿茶酚脱乙酰壳多糖的组成。在一个优选的实施方案中,敷料的非组织粘成分由冷冻相分离的脱乙酰壳多糖干燥片材形成,而未使用任何修饰的脱乙酰壳多糖。在一个优选的实施方案中,在压缩至最终密度 $\geq$ 约 $0.4\text{g}/\text{cm}^3$ 之前,组织粘合和非组织粘合干片材具有 $\leq$ 约 $0.03\text{g}/\text{cm}^3$ 的密度。

[0115] 为了由两片均具有组织粘合表面层和非粘合表面层的一个敷料制备敷料,通过例如在敷料上将一片放置在另一片之上并在其上施加足够的均匀压力以将它们压缩至更高密度将这两片粘合在一起。在优选的方法中,将每种片材类型的原始密度在 $\leq$ 约 $0.03\text{g}/\text{cm}^3$

增加至最终敷料密度 $\geq$ 约 $0.30\text{g}/\text{cm}^3$ 。在更优选的方法中,将每种片材的原始密度在 $\leq$ 约 $0.015\text{g}/\text{cm}^3$ 增加至最终敷料密度 $\geq$ 约 $0.4\text{g}/\text{cm}^3$ 。在最优选的方法中,将每种片材的原始密度在 $\leq$ 约 $0.01\text{g}/\text{cm}^3$ 增加至最终敷料密度 $\geq$ 约 $0.5\text{g}/\text{cm}^3$ 。在压缩结束时,将两个压缩的片材粘合在一起,以使其中一个片材不易从另一片上剥离,并且可以通过折叠和卷起操作敷料,而不会发生任何分离。

[0116] 通过将两种或更多种低密度多孔材料压缩在一起以形成最终的更高密度的最终两层或多层多孔材料来实现材料的物理粘附性解决了一个难题,即如何在不对单个材料进行物理或化学改变的情况下将这些材料粘附在一起,无需添加其他粘合剂或粘附剂。可以预期到,粘合可归因于微表面冲击和敷料穿过敷料的孔的渗透,并且由于孔压缩而物理联锁。低密度、冷冻相分离的干燥片的这种物理联锁不限于两种相同厚度的材料或仅限于两层,因为联锁效果既不取决于侧面,也不取决于厚度。因此,可以通过将低密度片材(优选密度 $\leq 0.05\text{g}/\text{cm}^3$)分层并且彼此压缩至密度 $\geq 0.3\text{g}/\text{cm}^3$),形成单个冷冻相分离和干燥的相同或不同厚度的相同或不同材料片材的多层结构。预期这种最终的物理粘附组件将提供薄的顶表面和底表面层的优点,包括、但不限于粘附或抗粘附的材料,在其内部提供包括、但不限于结构、物理和化学元件。

[0117] 在一些实施方案中,脱乙酰壳多糖敷料具有粘合侧面和非粘合侧面。在一些实施方案中,脱乙酰壳多糖的粘合侧面粘附到组织上并吸收和/或重新定向表面水分。在一些实施方案中,当将脱乙酰壳多糖敷料附着到损伤部位时,非粘合侧面从递送装置上脱离,其中脱乙酰壳多糖敷料变得湿润。部分原因在于,脱乙酰壳多糖敷料对组织表面的粘附强度控制了敷料从递送装置上脱离时的敷料位置。如本文所用,在双面脱乙酰壳多糖敷料中脱离或“容易脱离”表示脱乙酰壳多糖敷料(其粘附面施用于组织表面或损伤部位并由于吸收水分吸收而粘附)保持在组织面或损伤部位,而非粘附侧从递送装置释放,由此允许递送装置从损伤部位撤回而不会破坏脱乙酰壳多糖敷料在组织表面或损伤部位上的位置。在一些实施方案中,脱乙酰壳多糖敷料在干燥时会附着在递送装置上,由此允许脱乙酰壳多糖敷料连同该装置一起递送到损伤部位。

[0118] 在一个实施方案中,需要将敷料局部地附接到递送装置。通常,这些局部附着区域位于敷料的末端。例如,一种设计在于在敷料的周边上在敷料的末端小片上提供局部的精确连接,并且没有其他附接位置,以避免将敷料附连到递送护套、递送装置或自身(卷起/折叠时)上的风险。可以将附接位置设计成在湿润时变弱,或者可选地通过某种类型的物理释放结构激活以释放。

[0119] 在一种机制中,本公开提供的脱乙酰壳多糖敷料能够通过损伤部位吸收、引导和/或重定向亲水性和疏水性流体来止血。吸收从损伤部位清除了足够的水分,使脱乙酰壳多糖敷料与损伤部位的组织之间发生了随后的止血反应,由此止血,并且使脱乙酰壳多糖敷料保持附着状态,从而密封损伤部位。本文提供的脱乙酰壳多糖敷料的多孔、致密和多层结构有利于水分在损伤部位的吸收、引导和/或重新定向,以及脱乙酰壳多糖敷料对损伤部位的附着或粘附。

[0120] 本文公开的脱乙酰壳多糖敷料是生物相容的。在一些实施方案中,来自施加于体内损伤部位的脱乙酰壳多糖敷料的溶解残留安全地通过消化道或尿道,并与其他身体废物一起排出体外。

[0121] 可以将一种以上或多种脱乙酰壳多糖敷料以连续方式用于或施用于组织治疗部位或损伤部位。当展开一种以上的脱乙酰壳多糖敷料时,这些敷料可以分别粘附在相邻的组织部位或损伤部位上,或者会在不同程度上相互重叠。由于本文所述的脱乙酰壳多糖敷料的厚度薄,所以根据应用的不同,可以预期的是,可以根据需要使用多种脱乙酰壳多糖敷料来促进或实现损伤部位的止血。

[0122] 在一个实施方案中,脱乙酰壳多糖敷料在施用时会相互重叠。在这种情况下,理想的是随后的敷料的湿润的粘合侧与较早敷料的润湿的敷料衬有一定的粘附性。因此,在一个实施方案中,该脱乙酰壳多糖敷料不具有抗粘附衬,但具有带有弱的湿粘附的衬,该湿粘附性为随后的重叠的脱乙酰壳多糖敷料的放置提供了足够的粘附性。

[0123] 递送装置

[0124] 如本文所用,递送装置是用于递送脱乙酰壳多糖敷料的装置。递送装置将脱乙酰壳多糖敷料递送至动物,包括人、猪、狗等的不同部位。

[0125] 在一些实施方案中,递送装置是可以以无创或微创方式将例如脱乙酰壳多糖敷料这样的敷料递送至动物体内的生理部位的微创装置。在一些实施方案中,递送装置是球囊装置。在一些实施方案中,递送装置是金属丝装置或由镍钛合金或不锈钢的小直径圆柱体激光切割而成的装置。在一些实施方案中,递送装置的无创或微创特征为通过狭窄的导管或相当的工作通道递送敷料、例如脱乙酰壳多糖敷料来实现。在CGHD的一些实施方案中,导管或相当的工作通道的直径小于3.2mm。在其他CGHD实施方案中,胃镜通道的直径大小可以在2.8mm-4.5mm。在一些CEHD的实施方案中,球囊导管或相当的工作通道的直径小于约7mm。在其他CEHD实施方案中,TURP递送装置的通道的直径尺寸范围可以为5mm-7mm。

[0126] 在一些CGHD的实施方案中,导管或球囊导管或相当的工作通道具有小于3.2mm的直径。在其他CGHD实施方案中,胃镜通道的直径大小可以在2.8mm-4.5mm。

[0127] 在一些CEHD的实施方案中,导管或球囊导管或相当的工作通道具有小于约7mm的直径。在其他实施方案中,TURP递送装置的通道的直径尺寸范围可以在5mm-7mm。

[0128] 示例性的递送装置包括、但不限于球囊装置、球囊导管、金属丝装置、具有激光切割端的圆柱形装置、留置导管、尿道或耻骨上导管、外部导管、短期导管和间歇导管。

[0129] 递送装置也可以是在医疗操作的各个方面中使用的内窥镜装置。在一些实施方案中,内窥镜装置为无创的或微创的,这归因于该装置的狭窄导管或管/管道或类似的狭窄直径部分。

[0130] 递送装置也可以是经腔或经尿道的递送装置。在一些实施方案中,经尿道递送装置是无创的或微创的,这归因于装置的狭窄导管或管/管道或类似的直径部分。

[0131] 递送装置包括具有狭窄直径的管或导管或类似结构的其他装置。

[0132] 敷料与递送装置的连接

[0133] CGHD

[0134] 冷冻相分离的敷料由压紧的易脆层和分层倾向的层组成,这些层需要将敷料与金属丝和圆柱状激光切割的递送装置进行特殊连接。在卷起和展开敷料的过程中,敷料与递送装置的每个连接点必须能够承受50-100g的负荷。由于表面层的低内聚强度,对于由充分溶解的溶液形成的冷冻相分离的敷料,将敷料直接粘附到递送装置(例如通过氰基丙烯酸酯胶)并非选择。较少问题的一个实施方案在于,其中由碳酸溶解的碳酸脱乙酰壳多糖形成

儿茶酚脱乙酰壳多糖,其中碱沉淀和随后在溶解于碳酸脱乙酰壳多糖中之前用水洗涤纯的脱乙酰壳多糖水凝胶包含不溶于碳酸的固体脱乙酰壳多糖纤维($\geq 0.2\%w/w$ 的脱乙酰壳多糖)的分散体,其可为随后的来自碳酸溶液的儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖提供强化作用。除了这种低含量碳酸脱乙酰壳多糖($0.2\% - 5\%w/w$ 的脱乙酰壳多糖)的敷料的冷冻相分离的整体和表面结构的脱乙酰壳多糖纤维强化的实例以外,局部强化和金属丝递送情况下敷料与递送装置的附着的优选方式,是通过在递送装置的连接点处的敷料中放置贯穿于始终的带有加强元件的小直径(接近500微米)孔进行。

[0135] 在冷冻相分离的干敷料海绵状物中的预制孔是在未压缩的敷料海绵状物中形成接收孔的优选方式。由于低密度未压缩海绵状物($< 0.05g/cm^3$)易于分层,非常易碎,且由此不能接受牵涉海绵状物上任何负载的常规打孔方法,因此在这些海绵状物上打孔而不损坏海绵状物层结构的优选方法是将绝缘的疏水性(非粘性)棒状芯棒施加到模制溶液中(从溶液的顶部开始,通过溶液到达另一侧并与模具的底表面接触,最好通过底表面并进入模具的底部),然后即刻进行溶液的冷冻相分离。这些心轴可以是锥形的,以便在冷冻相分离的海绵状物干燥后易于去除。可以预期,这种心轴将由可以机器加工或模制的刚性或半刚性疏水材料制成。适合的芯棒材料包括、但不限于氟化材料TeflonTM和Kel-FTM以及高密度聚乙烯(HDPE)。移除心轴后所形成的孔的直径设计为可便利地穿过易碎的未压缩海绵状物,而不会损坏该海绵状物。可以通过在模具基体表面上开槽到合适尺寸的接收孔中,将心轴支撑在模具中。或者,它们可以由一片可释放的疏水性薄膜支撑,该薄膜立即置于冷冻相分离模具和模具溶液的上表面上。在干燥冷冻相分离溶液的情况下,在干燥之前将该膜从冷冻相分离表面除去,将心轴留在原位。在干燥之后,预成型的孔因此准备好容纳系紧线,以将敷料附接到递送/部署装置上。系紧线在按适合的排布压缩之前先放置在海绵状物中,以承受敷料卷起、展开和递送的所有力。将海绵状物压缩(从低密度 $< 0.05g/cm^3$)压缩到高密度($> 0.4g/cm^3$)会将扎线和任何其他加强/固定元件锁定在适当的位置。可以在加压压缩料之前或之后将细线胶合在适当的位置,或者可以使用细线局部地将液体加强元件例如氰基丙烯酸酯胶通过孔局部地施加,而在施加之后将细线去除。用于在未压缩的海绵状物中形成用于获取支撑线或其他类型的支撑元件的适合孔的替代实施方案通过激光孔切割进行。

[0136] 压缩后,可通过局部施加窄径纱布(直径接近500微米),锋利的尖头针穿过敷料,并进入面对敷料紧密施加的平坦、坚硬的弹性表面,在敷料上形成直径近500微米的无裂纹的清洁边缘孔,该弹性表面可以接受和释放针尖。优选的接收支撑平面包括、但不限于使用Shore55D-90D硬度的清洁、干燥的热塑性弹性体。孔形成的替代方法可以包括、但不限于使用小直径(接近500微米)打孔器或激光切割孔。

[0137] 敷料中的孔可以容纳纤维或其他加固附件。这种加固元件可以通过简单地局部施加增强流体以与孔的边缘局部结合而形成。在本发明的研发中使用的加强流体包括氰基丙烯酸酯胶,其将敷料的压缩的脱乙酰壳多糖层彼此结合在一起,并防止了在孔应力点处的脱乙酰壳多糖的局部分层和原纤化。孔加强元件的另一个实施方案为塑料或金属的微模制互锁部件(可溶于上消化道或应用主体的可替代区域),将它们放置在孔的一侧和相对的孔侧以永久固定在一起并能够支撑通过孔的负载,而在加载时不会引起敷料孔处的分层、原纤化或其他与应力有关的故障。可以预期,这样的微模制部件可以包括在附接到递送装置的侧面上的部分,其使得能够方便地将敷料快速卡扣附接和脱模(snap-off)分离到递送装

置。

[0138] 敷料的一般递送装置释放可以通过多种方法来实现,包括脱模分离。敷料释放的一种优选方法通过使用递送装置至敷料附着纤维,该纤维在干燥时是牢固的,而在湿润时是脆弱的。这样的纤维包括、但不限于已经被处理成快速水溶性的脱乙酰壳多糖纤维。优选的脱乙酰壳多糖纤维是水溶性的复丝纤维,其在干燥时的强度 $>30\text{MPa}$,而在湿润时的强度 $<0.1\text{MPa}$ 。

[0139] CEHD(TURP敷料与球囊的连接)

[0140] 在一个实施方案中,圆形敷料在其自身的边缘到边缘折叠一次,然后将折叠的敷料(现在是一半)再次在其自身的边缘到边缘折叠(现在是四分之一)。敷料被展开,现在存在两条折线穿过敷料的中部。在敷料的中部(一个小的中心圆)画出了导管圆周的轨迹。使用剪刀点或其他锋利的切割工具沿敷料中部的相交折叠线切割至导管的绘制圆周。一旦折叠线被切割,则敷料中部将出现四个三角形的窗口或导管连接片。导管可穿过敷料中的中心开口,且敷料片可通过双面胶带或其他施用粘贴方法连接,以将小片固定在导管的所需位置上,从而将敷料的主体固定在上面紧贴导管球囊。优选地,将敷料料片优选放置在敷料一侧上,其与导管球囊背对背,敷料料在其上折叠。优选地,用于将接小片附接至导管的粘合剂是水溶性的,以允许敷料从导管滑出并在通过球囊导管施加压力之后留在适当的位置(使用任选的导管移除)。

[0141] 治疗应用和方法

[0142] 由在本公开中提供的本发明的材料形成的脱乙酰壳多糖敷料的实施方案可用于在特定疾病、病症、障碍或紧急创伤或受伤中止血。在一些实施方案中,本发明的干固体脱乙酰壳多糖材料可用于对来自任何湿的生理表面例如粘液出血。示例性应用包括、但不限于胃肠道或膀胱出血,其他腔内施用,包括血管施用,内部手术出血,内部活检出血,实质器官切除后的内部出血以及口腔、眼、听觉或鼻腔出血。还关注可能需要添加水或流体以促进脱乙酰壳多糖敷料粘附到组织表面或损伤部位的其他应用,例如,在体外表面上应用脱乙酰壳多糖敷料。

[0143] 本发明的干脱乙酰壳多糖材料可用于治疗胃肠道出血,包括、但不限于治疗食道静脉曲张出血、消化性溃疡出血、十二指肠溃疡出血、上消化道和下消化道的活检相关出血切除,上消化道和下消化道的切除以及上消化道和下消化道的撕裂或破裂。其他疾病、病症、障碍或急性创伤或损伤可以包括、但不限于内部动脉损伤;肝脏内部出血,腔静脉内部出血;胸腔损伤,包括心脏和肺及其血管穿孔;和腹腔损伤。

[0144] 本发明的脱乙酰壳多糖材料还可以用于治疗经尿道前列腺切除术和膀胱颈出血,包括、但不限于治疗出血。

[0145] 本发明的脱乙酰壳多糖材料还可以在急性内部损伤后使用(例如在UGIB、TURP或其他微创术或开放手术中发生),以通过封闭损伤部位并提供有利于细胞再生的环境来保护受伤部位,然后在7天内溶解或降解。

[0146] 为了一般的治疗目的,本发明的脱乙酰壳多糖材料还可以用于递送至或局部粘附于特定目标部位,包括活性药物制剂和/或生物制剂的递送。这类目标部位包括、但不限于:吻合术,食管静脉曲张,消化性溃疡,切除的前列腺窝,肝脏的切除和活检,肾脏的切除和活检,膀胱的切除和活检,喉的切除和活检,胰腺的切除和活检,胃的切除和活检,下消化道的

切除和活检,肺的切除和活检,以及心脏的切除和活检。

[0147] 可以将上述不同实施方案组合以提供另外的实施方案。本说明书中涉及和/或在申请数据表中列出的所有美国专利、美国专利申请出版物、美国专利申请、外国专利、外国专利申请和非专利出版物,包括、但不限于美国临时专利申请号62/612,013和62/631,290的全部内容通过引用完整地并入本文。如果需要采用不同专利、申请和出版物的理念以提供进一步的实施方案,则可以修改实施方案的各方面。

[0148] 可以根据以上详细描述对实施方案进行这些和其他改变。通常,在以下权利要求中,所使用的术语不应解释为将权利要求限定为说明书和权利要求书中公开的具体实施方案,而应解释为包括所有可能的实施方案以及这些权利要求赋予的等效方案的全部范围。因此,权利要求不受本公开的限制。

实施例

[0149] 实施例1-6涉及CEHD脱乙酰壳多糖敷料。

[0150] 在脱乙酰壳多糖腔内止血敷料的本发明方法中考虑如下材料和制品。

[0151] 脱乙酰壳多糖A:Primex ChitoClear 65010,TM 4375,MW=250-300kDa, Brookfield

[0152] 脱乙酰壳多糖B:Primex ChitoClear 43000,TM 4167,MW=110-150kDa,在1.0%乙酸中的1.0%w/w脱乙酰壳多糖溶液中的Brookfield粘度,在25℃和主轴LV1=9cPs,DDA=95% (通过胶体滴定)。

[0153] 冰醋酸:Fisher Scientific,目录号A38-212。

[0154] 盐酸:1.0M水溶液Sigma Aldrich,目录号H9892。

[0155] L-乳酸:JT Baker,目录号0196-01。

[0156] 乙醇酸:JT Baker,目录号M821-05。

[0157] 氢氧化钠:5.0M NaOH水溶液Sigma Aldrich,目录号S8263-150ml。

[0158] 氢氧化钾:0.1M KOH的甲醇溶液(BDH)。

[0159] 乙醇:200°Proof Sigma Aldrich,目录号459844-1L。

[0160] 乙酐:ACS试剂级,得自Sigman Aldrich,目录号320102-1L。

[0161] 3,4-二羟基氢化肉桂酸(氢化咖啡酸):98% Sigma Aldrich,目录号102601。

[0162] 3,4-二羟基肉桂酸(咖啡酸):98% Sigma Aldrich目录号C0625

[0163] 反式-3,4-二羟基肉桂酸(反式-咖啡酸):Sigma Aldrich目录号51868

[0164] 3,4-二羟基苯乙酸(DOPAC,高原儿茶酸):98% Sigma Aldrich目录号850217。

[0165] 1-乙基-3-(3-二甲基氨基-丙基)-碳二亚胺:(或者N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐,具有常用首字母缩写EDC)Sigma Aldrich,目录号E7750。

[0166] N-乙酰-L-半胱氨酸Sigma Aldrich,目录号A7250

[0167] 氯化钠Sigma Aldrich,目录号793566-500g。

[0168] 甘油:Sigma Aldrich,目录号G-8773。

[0169] 聚乙二醇:Spectrum,目录号P0108。

[0170] 聚氧化乙烯:Mw 400,000da,Sigma Aldrich目录号372773-500G。

[0171] 泊洛沙姆407:Spectrum,目录号P1166。

- [0172] 蔗糖:Sigma目录号S3929。
- [0173] D-山梨醇:Sigma Catalogue S1876
- [0174] 羟丙基纤维素(HPC):Aldrich目录号191892
- [0175] 羟乙基纤维素(HEC):Aldrich目录号308633。
- [0176] 合成尿制剂:加入氯化钙二水合物Sigma目录号C5080(1.30g);氯化镁六水合物Sigma目录号M2670(1.30g);氯化钠Sigma目录号793566(9.20g);硫酸钠Aldrich目录号238597(4.60g);柠檬酸钠二水合物Sigma目录号S4641(1.30g);草酸钠Sigma目录号71800(0.04g);正磷酸二氢钾Sigma目录号P5655(5.60g);氯化钾Fisher目录号BP366(3.20g);氯化铵Sigma目录号09718(2.00g);脲Sigma目录号U1250(50.00g);肌酐Acros目录号228940500(2.20g)至2.0升容量瓶中,加入1.5升去离子水以溶解。将成分溶于水并且将溶液温度平衡至室温后,用去离子水达到2.0L刻度。
- [0177] 猪的带尿道的膀胱,Animal Biotech Industries Inc.,(Danboro,PA 18916)
- [0178] 猪小肠肠衣,Butcher和Packer(29/32mm)(Madison Heights,MI 48071)
- [0179] 柠檬酸化牛全血:Lampire Biological Laboratory Bovine CPD,目录号7720010。
- [0180] 氰基丙烯酸酯A:Permabond 910组织粘合剂,目录号72590。
- [0181] 氰基丙烯酸酯B:Loctite 4902即时粘合剂目录号1875841
- [0182] 透析管:3,500Da MWC0 Snakeskin透析管(Fisher Scientific),目录号PI88244。
- [0183] 封口膜:“M”实验室薄膜,Pechiney塑料包装(Chicago,IL 60631)
- [0184] 粘合剂:双侧3M目录号21200-46144-6(St Paul,MN 55144)
- [0185] Scotch Fine Line Tape 218,3M目录号70-0060-4397-3(St Paul,MN 55144)
- [0186] 实施例1
- [0187] 儿茶酚脱乙酰壳多糖的制备和表征
- [0188] 儿茶酚脱乙酰壳多糖的合成是含有末端羧酸的儿茶酚分子与脱乙酰壳多糖的葡萄糖胺聚合物的C-2胺之间的N-酰化反应(参见图7)。该反应在室温下在受控pH下于稀水溶液中进行。图12A和12B提供了用于本发明制品中的儿茶酚修饰制剂的许多实例。图12B的第1列提供了敷料制品的列表。制品的配方列于图12B的第2列。儿茶酚脱乙酰壳多糖制剂具有“Cs-Cat”的首字母缩写。Cs-Cat制剂编号紧接在“Cs-Cat”之后提供,并书写为“Cs-Cat,XX”,其中XX是代表儿茶酚脱乙酰壳多糖制剂编号的数字。制备脱乙酰壳多糖溶液,并将它们典型地书写为“脱乙酰壳多糖”或“Cs”与酸(乳酸或乙酸),用于提供水溶液。HPMC是羟丙基甲基纤维素。HPC是羟丙基纤维素,而HEC是羟乙基纤维素。壳聚糖的批号如第3列中所示。脱乙酰壳多糖(图12B的第4列)的儿茶酚取代度如下测定:石英UV测试池,路径长度1cm,x2(HACH Co.,目录号48228-00)用于获取UV/vis光谱。UV/Vis分光光度计为Varian Cary Bio 100。用水制备3,4-二羟基氢化肉桂酸的标准溶液,并将在280nm的吸光度对浓度作图。如下所示的Beer Lambert关系中的消光系数 ϵ ,用于稀溶液中的吸光度。
- [0189] $A = \epsilon \cdot c \cdot l$
- [0190] A为吸光度(无维),且l为路径长度。
- [0191] 将(吸光度<0.5)测定为 $2,540 \pm 50$ 升/(mol.cm)。该值用于确定在已知质量的修饰的脱乙酰壳多糖稀水溶液、已知体积的溶液和在280nm处测定的峰吸光度中的修饰的脱乙

酰壳多糖中的取代度。

[0192] 稀释脱乙酰壳多糖儿茶酚溶液,使其在280nm处的吸光度低于0.5(通常约为1:50或1:100)。使用吸光度、稀释液中所用溶液的重量以及固体百分比(CS-儿茶酚)根据如下等式来确定HCA相对于脱乙酰壳多糖骨架上游离胺的分数取代度(f_{DS}):

$$f_{DS} = \frac{n_{HCA}}{f_{DDA} \cdot n_{\text{总的脱乙酰壳多糖聚合物}}}$$

[0193]

$$f_{DS} = \frac{A \cdot V \cdot \{(f_{DDA} \cdot 161) + (1 - f_{DDA} \cdot 203)\}}{\epsilon \cdot l \cdot \left\{ m_{cc} - \left(\frac{A \cdot V}{\epsilon \cdot l} \cdot 165.17 \right) \right\} \cdot f_{DDA}}$$

[0194] 其中A是修饰的脱乙酰壳多糖在280nm处的UV/vis吸光度;V是干燥至恒定干质量后取得的修饰的脱乙酰壳多糖溶液的体积(升); m_{cc} 是儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖的测定的干质量(g); f_{DDA} 是脱乙酰壳多糖的脱乙酰化度的分数。

[0195] 溶液中溶质(主要是亲水性聚合物)的百分比如图12B的第5栏中所示。图12B的第6栏提供了注入到平井式模具中以进行冷冻相分离的溶液深度。在冷冻时,倾注的深度基本上保持不变,使得当参比最后一组压缩的敷料时(图12B的第7栏中提供),倾注的深度为压缩变化的程度提供了有用的指示。干压缩敷料的最终密度在图12B的第8栏中提供。图12B的第9栏提供了有关敷料制品的任何其他信息。有意义地注意到,将敷料17制品进行至高干燥度,而敷料制品71、79、80、83、84和85均与非-儿茶酚脱乙酰壳多糖敷料共压缩而进行。这些用作衬衬的非-儿茶酚脱乙酰壳多糖敷料均由5毫米倾注的430000.5%w/w脱乙酰壳多糖乙酸溶液形成。

[0196] 儿茶酚脱乙酰壳多糖合成的实例如下文提供的6种方法的变化形式中所示。

[0197] 方法1

[0198] CS-儿茶酚,批号15:

[0199] 脱乙酰壳多糖(1.51g)溶于去离子水(140g)与1.0M HCl(5mL)。制备去离子水与乙醇的1:1v/v溶液(145mL)。将3,4-二羟基氢化肉桂酸(HCA;10.5mmol)和N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC;13.0mmol)溶于水/醇溶液。接下来,将水/醇溶液缓慢地加入到上述制备的脱乙酰壳多糖溶液中,搅拌放置反应混合物。使用5.0M NaOH溶液将该反应混合物的pH维持在5.5并且过夜反应。过夜反应后,将该溶液对用1滴1.0M HCl溶液酸化的5L去离子水透析3天并且对去离子水透析4小时。在透析期间的自始至终定期改变透析液(至少每隔24-48小时)。

[0200] 方法2

[0201] CS-儿茶酚,批号22-1:

[0202] 将脱乙酰壳多糖(9.03g)溶于去离子水(126g)与1.0M HCl(30mL)。然后使用1.0M NaOH溶液使该溶液的pH达到5.1。制备去离子水与乙醇的1:1v/v溶液(150mL),将N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC;31.3mmol)溶解水/醇溶液。将3,4-二羟基氢化肉桂酸(HCA;15.7mmol)溶于去离子水(15mL)。接下来,将HCA溶液缓慢地加入到上述制备的脱乙酰壳多糖溶液中,在高架搅拌下放置该反应混合物。然后将EDC溶液缓慢地加入到HCA/

脱乙酰壳多糖溶液。使用0.1N KOH甲醇溶液将该反应混合物的pH维持在4.9。反应过夜后,将该溶液对用1滴1.0M HCl溶液酸化的5L去离子水透析4天。在透析期间的自始至终定期改变透析液(至少每隔24-48小时)。

[0203] 将透析后从批号22的CS-儿茶酚中分离的一些溶液放入烘箱中以浓缩该溶液。将该溶液在80℃下烘烤,体积减少约三分之一。

[0204] 方法3

[0205] CS-儿茶酚,批号32(原型A,急性体内I):

[0206] 将脱乙酰壳多糖(1.504g)溶于去离子水(143.5g)与1.0M HCl溶液(5.0mL)。然后用1.0M NaOH溶液使该溶液的pH达到5.5。制备1:1v/v溶液(150mL)去离子水与乙醇),将N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC;2.93mmol)和3,4-二羟基氢化肉桂酸(HCA;10.41mmol)溶于水/醇溶液。接下来,将水/醇反应剂溶液缓慢地加入到脱乙酰壳多糖氯化物溶液中。在将反应剂添加至脱乙酰壳多糖溶液期间使用1.0M NaOH溶液将pH控制在4.9-5.5。在添加反应剂后,监测反应混合物2-4小时,根据需要,使用数滴1.0M HCl和1.0M NaOH将pH控制在5.4-5.7。接下来,将pH控制在5.5,保持反应过夜。反应过夜后(约18-24小时),将脱乙酰壳多糖儿茶酚溶液的pH控制返回至5.5。接下来,将脱乙酰壳多糖儿茶酚在约pH 5.8对5L去离子水透析5天,并且在约pH 6.1对去离子水透析4-24小时。在透析操作的自始至终定期改变透析液(至少每隔24-48小时)。

[0207] 方法4

[0208] CS-儿茶酚,批号33

[0209] 将脱乙酰壳多糖(0.507g)溶于去离子水(47.5g)与1.0M HCl溶液(2.0mL)。然后用5.0M NaOH溶液使该溶液的pH达到5.5。制备去离子水与乙醇的1:1v/v溶液(50mL),将N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC;2.94mmol)和3,4-二羟基氢化肉桂酸(HCA;1.49mmol)溶于水/醇溶液(-反应剂溶液-)。接下来,将水/醇反应剂溶液缓慢地加入到脱乙酰壳多糖氯化物溶液中。将pH控制在5.4-5.6达2.5小时。然后将pH控制降至5.4,保持反应过夜(约18-24小时)。将得到的脱乙酰壳多糖儿茶酚溶液的pH控制在约5.5,随后在约pH 5.8透析3天,对去离子水透析3天。在透析操作的自始至终定期改变透析液。透析后,通过将溶液悬挂在通风橱中的透析管中过夜,使溶液蒸发掉透析过程中获得的过量水。将溶液静置直至其恢复透析前的重量。

[0210] 方法5

[0211] CS-儿茶酚,批号35

[0212] 将脱乙酰壳多糖(1.681g+10.6%w/w湿度)溶于去离子水(143.5g)与1.0M HCl溶液(11mL)。然后用1.0M NaOH溶液使脱乙酰壳多糖氯化物溶液的pH达到约5.5。制备去离子水与乙醇的1:1v/v溶液(150mL),将N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC;8.76mmol)、3,4-二羟基氢化肉桂酸(HCA;2.39mmol)和N-乙酰-L-半胱氨酸(NAC;2.36mmol)溶于水/醇溶液(-反应剂溶液-)。接下来,将反应剂溶液添加至脱乙酰壳多糖氯化物溶液中。在添加反应剂溶液期间控制该反应混合物的pH在5.2-5.3。2小时后,使该反应混合物的pH达到约5.4。然后保持该溶液反应过夜(约18-24小时)。反应过夜后,将该溶液的pH控制达到约5.5。将该溶液对5L去离子水透析6天。在透析操作的自始至终定期改变透析液(至少每隔24-48小时)。

[0213] 方法6

[0214] CS-儿茶酚,批号38

[0215] 将脱乙酰壳多糖(1.678g+10.6%w/w湿度)溶于去离子水(143.3g)与1.0M HCl溶液(8g)。然后用1.0M NaOH溶液使脱乙酰壳多糖氯化物溶液的pH达到约5.5。制备去离子水和乙醇的1:1v/v溶液(150mL),将N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC; 2.95mmol)、3,4-二羟基氢化肉桂酸(HCA;1.475mmol)溶于水/醇溶液(-反应剂溶液-)。接下来,将反应剂溶液添加至脱乙酰壳多糖氯化物溶液。在添加反应剂溶液期间将该反应混合物的pH控制在接近pH 5.5。2小时后,将该反应混合物的pH调节至5.51。然后保持该溶液在室温在覆盖烧杯中反应20小时。20小时后,该溶液的pH为5.54。将该溶液在透析管中分成3个批号接近至100g溶液,对5L去离子水透析5天,在前3天pH在5.8-5.9,在第4天pH为6.2。在透析操作的自始至终定期改变透析液(每隔24小时)。

[0216] 实施例2.

[0217] 冷冻相分离的亲水性聚合物敷料

[0218] 在500ml、1000ml或2000ml Nalgene LDPE瓶或聚丙烯烧杯中,通过添加成分(包括、但不限于预先制备的溶液、亲水聚合物、水、酸和其他成分)来制备亲水性聚合物水溶液。图12B列出了所研究的85种制剂类型。

[0219] 在为直接与尿液接触的敷料的经尿道前列腺切除术施用配制时遇到的主要问题为:1)快速(通常<30min)尿液促进的脱乙酰壳多糖的溶解;2)在实现与纯儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖快速粘附过程中来自血液的干扰;3)为解决溶解和粘附问题对制品进行改变时对敷料破裂和撕裂的敏感性。最终的亲水性聚合物溶液的%w/w为0.1%-4%重量的聚合物。使用IKA KS260轨道振荡器或Wheaton台式瓶滚筒,将带盖的瓶及其内容物在室温下连续混合12-24小时,以实现完全的溶液均质性。将烧杯溶液在带有磁力搅拌珠的磁力搅拌板上在室温下混合12-24小时,以实现溶液均匀性。在混合过程中,使用封口膜将烧杯与外部环境隔离。当不存在悬浮条件时,为冷冻相分离而制备的溶液基本上是均质和澄清的。儿茶酚脱乙酰壳多糖溶液显示出一些混浊和乳白色外观,表明存在一些分散的细的儿茶酚脱乙酰壳多糖球形颗粒。

[0220] 制备脱乙酰壳多糖溶液作为冷冻相分离的敷料,其中最终溶液的重量%亲水聚合物为0.25%-4%w/w水溶液。冻结相分离在具有水平平底的特氟龙涂覆的铝制模具孔中进行。将溶液倾入孔中至距模具底部的高度优选不超过约10mm,更优选2.5mm,且最优选5.0mm。对最初在冷冻前温度为15℃-30℃的模具中溶液,通过模具底部施加冷却,然后冷冻。尽管可以施加其他冷却温度以实现适合的冻结相分离的结构,但是优选的是,对货架施加的冷却温度为-40℃,更优选冷却温度为-55℃,且最优选冷却温度为-45℃。在溶液达到冷冻相分离并且冷冻溶液的温度在冷冻温度达到平衡之后,使系统进一步冷冻相分离并在干燥之前再平衡至少1小时。在一种改进的冷冻和模具填充方法以容纳不同的冷冻相分离溶液层中,将第一层添加到模具中达到优选的深度并冷冻,然后添加第二层并冷冻,然后按照这种方式制备多层冷冻相分离的敷料。需要注意确保第(n-1)个冷冻溶液与第n个倾注溶液之间没有结霜,并且层间冷冻结构的差异可能会导致破裂。彼此粘附的单独的冷冻层的分层是一个显著的问题。在本研究过程中,将单层预先干燥的亲水性聚合物基体分层并粘附到单一共粘附的压缩多层复合片材上的成功方法的发现是出乎意料和重要的发现。

[0221] 使用24平方英尺的货架Virtis Benchmark 2000中试规模的冷冻干燥机,对分离的冷冻溶液斑片进行升华冷冻干燥。在初次冷冻干燥中(除去不与亲水性聚合物氢键合的冰),在冷冻干燥机中将其模具中平衡的冷冻斑片减压至 $\leq 300\text{mTorr}$,并将冷冻干燥机冷凝器设定至 $\leq -65^\circ\text{C}$,并且将冷冻干燥器架加热以促进冰从冷冻分离的斑片升华,而不将斑片温度提高到 -15°C 以上。基本上除去所有未结合的冰之后,将货架温度升高至接近 25°C ,以除去氢结合的冰,并将干燥的敷料基体中的水分降低至干敷料中的残留水不超过4%。最终干燥的基体符合填充模具的原始形状,其长和宽收缩近5%,密度在 $0.005\text{g}/\text{cm}^3$ - $0.04\text{g}/\text{cm}^3$ 。它们包含超过95%的空隙空间,且它们为具有精细的聚合物层(亚微米至5微米厚度)和相邻层之间的空隙为100微米至300微米的相互多孔结构。

[0222] 在冷冻相分离和干燥之后,将干燥的基体从其原始厚度(10mm-2.5mm)压缩至优选接近50微米的最终厚度。如果两个未压缩的敷料以一个在另一个之上的方式压缩,则在压缩过程结束时它们将永久地粘结在一起。可以在压缩中使用校准的均匀厚度的薄垫片,以实现期望的压缩敷料厚度,该厚度基本上与垫片厚度相同。存在多种方法可以实现这种压缩,其中期望的压缩设定值接近50微米。在本研究中使用的优选压缩方法是对整个干燥的未压缩敷料(尺寸典型地接近100mm长x 100mm宽x 2.5mm高或50mm直径x 2.5mm高)压缩至 ≤ 100 微米对齐的压板之间的厚度,其中单轴压缩率在 $\leq 0.5\text{mm}/\text{min}$ 。将压板(喷有金刚石的涂层或涂覆特氟龙的Mic 6铝300mm x 300mm x 90mm)机加工成平坦的平面(300mm内 ≤ 5 微米),而在机加工表面没有或存在一些可控的纹理。在压缩期间,压板的温度优选在单轴压缩的3-5分钟内维持在 80°C 附近。压缩通过在压板的四个角处加载螺钉实现,每个角处的加载量至多为4吨。在释放负载之前,压缩至少要坚持2分钟。测量新型压缩的亲水性聚合物基体的压缩厚度和重量。最终密度为 0.25 - $0.9\text{g}/\text{cm}^3$ 。压缩后,进一步处理敷料。这项额外的处理包括将模头切成2.5cm直径的测试片,并在某些情况下进行热退火热处理(在对流烘箱中于 60°C - 150°C 加热5-30分钟)。在加工结束时,将敷料放入带有拉链锁或热封口的铝箔袋中。将预期用于动物和生物相容性测试的包装敷料用 25kGy 射线照射。

[0223] 实施例3.

[0224] 脱乙酰壳多糖的体外和离体测试

[0225] 腔内止血敷料原型

[0226] 体外烧杯测试

[0227] 在与TURP体内使用过程经历的相似条件下研究了CEHD的溶解行为。监测溶解长达7天,以确保CEHD溶解满足针对早期溶解(在最初的24小时内)和随后的后续溶解的目标抗性,使得在168小时(7天)后无残留CEHD存在。

[0228] 将具有面向外的粘膜表面猪膀胱组织切片(25mm x 25mm x 3mm)用氰基丙烯酸酯胶泥固定在200-毫升聚苯乙烯烧杯的底部。将1滴1:250v/v血液在标准盐水中的溶液滴到离体切片的膀胱组织的上表面上。通过将500-克标准重量(Troemner, Thorofare NJ 08086)施加到2.54cm直径的探头上持续5分钟,以 9.7kPa (73mmHg)的压力将CEHD敷料片(1.3cm x 1.9cm)施加到湿润的组织表面上。在室温下将足够的合成尿液(50ml)添加到烧杯中,以浸没CEHD片。将烧杯用封口膜覆盖,在 37°C 下温育(Fisher Scientific Model 146E, CAT. 97-990E),并以120rpm置于摇床上(IKA AS260.1, KS260)。合成尿液每24小时更换一次,并根据定期间隔可视存在的敷料量直至完全溶解或至多168小时记录溶解行为。在

某些测试中,通过镊子的水平刮擦运动来评估CEHD测试片对组织的粘附力,以测量对剪切力的抵抗力。CEHD组织粘附测试在体外溶解测试中基于合格或失败进行,并且注明为低、中或高。

[0229] 体外溶解和对猪膀胱粘膜的粘附的结果如图15中所示。将体外溶解和对猪膀胱粘膜的粘附结果与折叠和装置展开测试的结果一起使用,以选择三种优选的敷料类型进行生物相容性和体内测试。这些敷料类型包括儿茶酚修饰的脱乙酰壳聚糖制品以及儿茶酚和硫酸脱乙酰壳多糖修饰的制品。优选的前体内敷料类型标记为A、B和C。敷料批号71和81代表A型敷料;批号78和83代表B型敷料,且批号75、80和84代表C型敷料。

[0230] 体外模拟静脉伤口封闭(SVWS)测试

[0231] 构建实验室模拟静脉伤口密封(SVWS)装置,以测试在标准PVC板中心在1.5mm直径“损伤”孔上,由1滴稀释血液、标准盐水中1:250v/v血液和9.7kPa负荷下粘附CEHD持续5分钟的密封能力,所述标准PVC板表面先前已显示出在与真皮结合的粘膜粘着性脱乙酰壳多糖方面模拟真皮。Silastic Laboratory Tubing,尺寸-0.250I.D.x 0.3750.D.,Dow Corning Corporation(Midland,MI 48686)将开口的柠檬酸化牛全血储存器通过紧接在孔口之前的截止阀连接到孔口。相对于孔上方的储器中血液水平的垂直高度从0.0至50cm可调节。将CEHD测试敷料固定在标准PVC表面孔的中央后,打开塞阀并观察敷料15分钟,并评估(合格/失败)其维持密封的能力(无血液通过或在其下方泄漏)。在每个测试中都记录了压力头。该测试提供了CEHD原型在静脉出血压力下的快速模拟止血测试。

[0232] 通过预先称重的吸收性片材与放置在“损伤”部位的相同吸收性片材之间的重量差来确定模拟的出血速率(g/min),采集流动的血液15秒并乘以4。

[0233] 在23°C 20cm-42cm的顶部高度差相当于14.7mmHg-30.9mmHg的压力(前列腺出血中静脉压力的典型值)。20cm和42cm高度差的出血速率分别测定为4.7g/min和8.0g/min。

[0234] 表1中提供了25kGy γ 辐照敷料批号B和C的体外模拟静脉伤口封闭(SVWS)测试结果(箔包装在25°C的温度下储存的货架期限为0和6个月)。

[0235] 表1.

[0236] 体外模拟静脉伤口封闭(SVWS)测试结果。

[0237]	货架期限(月)	敷料类型	高(cm)	测试 1	测试 2	测试 3	测试 4	测试 5
	0	C	21	合格	合格	合格	合格	合格
	0	B	21	合格	合格	合格	合格	合格
	6	C	21	合格	合格	合格		
	6	B	21	合格	合格	合格		
	6	C	42	合格	合格	合格	合格	合格
	6	B	42	失败	失败	失败	失败	失败

[0238] SIS中3mm直径穿孔上附着的10mm x 10mm敷料的离体流动测试

[0239] 将在体外表现良好的测试敷料(敷料B和C型,每个N=10)-参见图12A、12B和15)在接近7psi的球囊压力下粘附约3分钟,以将猪的小肠粘膜下层(SIS)集中在SIS中的一个3mm

直径孔上,SIS由Adams和Chittenden定制玻璃测试池支撑(参见图10)。包含附着在SIS上以密封缺陷的敷料的测试池已连接到图11所示的流动系统。具有13-310-911流量盒的Fisher Scientific FH100M多通道蠕动泵用于提供接近20ml/min的受控流速。在34℃-37℃附近并完全充满池体积的合成尿以接近每分钟20ml的流速流经池6-20小时。该测试的目的在于证明敷料在流动的尿液下保持粘附在粘膜上的能力,而不会从敷料上撕裂或丢失颗粒或较大的碎片。

[0240] 对于C型敷料(敷料批号75号和第80号),进行一次测试20小时。在测试结束时,通过玻璃测试池的夹套回路在近20mmHg的标准盐水中施加1:250v/v血液的外部压力,以测试测试敷料对组织的粘附力。施加了4次压力,并且在3mm直径的孔上,敷料成功地保持粘附在SIS的内部表面上,从而抵抗了所有4种压力施加情况下的外部流体压力。还检查了该20小时测试的敷料的质量损失(通过重量测试比较测试前后的干重)。20小时后对C型敷料的重量测试表明,按原敷料干重计,儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖的材料损失(最可能是由于溶解) $\leq 15\%$ 。在不施加外部压力的情况下,对C型敷料的所有其他测试均进行6小时。对于C型敷料,敷料没有明显的可见溶解或敷料的任何材料损失。在测试结束时,所有敷料仍粘附SIS。敷料的粘着力(对SIS粘膜)和内聚力为中等。

[0241] 对于B型批号的敷料(批号78和83),进行了24小时的一次测试。检查了该24小时测试的敷料的质量损失(通过重量测试比较测试前后的干重)。24小时后对B型敷料的重量测试表明,以原始敷料的干重计,儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖的材料损失(很可能是由于溶解)是显著的,为39.4%。B型敷料的所有其他测试均进行6小时。对于B型敷料,有明显迹象表明敷料显著溶解(胶凝)和从敷料中损失材料(可见的碎片从敷料中释放)。将敷料的粘着力(对SIS粘膜附着力)和内聚力定为中度到低度。

[0242] 实施例4.

[0243] 敷料的可折叠性和展开测试

[0244] 测试了所有敷料批号($N \geq 3$)的可折叠性,因为这是附着、卷起和展开由本发明的材料形成的敷料对前列腺和膀胱颈损伤部位的能力的重要特征。折叠测试包括首先沿逆时针方向将水平平面的最终压缩圆形敷料通过180°边沿边折起来,将边保持在一起,然后在敷料的中部牢固地压缩,以在敷料中创建单一线性折叠轴(或折痕)。然后打开折叠的敷料,并在新的折叠轴上再现边到边的折叠,但沿相反的顺时针方向折叠。可折叠性成功的评价是,沿折叠轴看不到任何裂口或裂缝,并且敷料的拉伸性能也没有明显损失(通过在敷料的折叠轻轻拉动来确定)。可折叠性的测试结果如图15的第4列中所示。

[0245] 使用充满生理盐水的250-毫升容量瓶作为尿液填充的膀胱颈模型,对优选的脱乙酰壳多糖衬的A、B和C型敷料进行展开测试($N=5$)。将带有CEHD敷料、鞘套和球囊导管(远端球囊和近端球囊)的完全组装的装置浸没在容量瓶颈部下方的生理盐水中。通过向远端球囊充气以破坏其远端的防水保护套启动CEHD应用,然后通过将其干燥的自由端拉到烧瓶外部,将远端球囊快速定位到膀胱颈手动完成并完整去除撕裂的护套,随后迅速平滑地向近端球囊充气,以打开并粘附在烧瓶颈部附近的敷料。所有敷料类型(A、B和C)均已成功递送,并且与玻璃容器颈部的附着力良好。

[0246] 实施例5.

[0247] 敷料类型的生物相容性

[0248] 根据对带有间接血液通路接触以进行有限接触的外部通信装置的测试要求,对成品、包装的无菌(25kGy终末伽马射线)装置进行ISO 10993-1生物相容性测试。测试包括细胞毒性、皮肤刺激和急性全身毒性(每次测试一式三份)。

[0249] A和C型敷料对所有生物相容性测试都合格,而B型敷料对急性全身毒性测试失败。疑似 γ 射线在B型敷料中产生了细胞毒硫氢基残基。

[0250] 实施例6.

[0251] 急性体内膀胱颈和猪脾脏囊剥离止血模型(Acute in vivo bladder neck and swine splenic capsular stripping models of hemostasis)

[0252] 在6只体重40-50Kg(Oak Hill Genetics,CA)的雌性家畜Yorkshire猪中进行急性体内测试,并将递送装置与三个CEHD原型组装在一起(敷料A:n=6;敷料B:n=9;敷料C:n=10)。该实验被设计为在急性猪膀胱颈和脾实质出血损伤模型中单个原型相对于对照的功效率的盲式随机研究。

[0253] 表2.

[0254] 急性体内研究结果

条件	敷料 A	敷料 B	敷料 C*	对照
体内粘附评分(0-4)‡	1.75 ± 0.29	1.58 ± 0.91	1.7 ± 0.97	
[0255] 膀胱颈损伤在 5 min 时的初始出血速率(ml/min)	0.035 ± .007	0.032 ± .027	0.039 ± .031	
膀胱颈损伤 2 hr 时施用 CEHD 后的出血速率	0.0045 ± .0029	0.0042 ± .0034	0.0034 ± .0011	
(ml/min)				
[0256] 脾损伤模式下 30 秒时的止血(比率)	1/12	3/12	5/12	0/12†
脾损伤模式下 3 min 时的止血(比率)	6/12	7/12	4/12	6/12†

[0257] *选择敷料C进行7天生存研究。

[0258] ‡0、1、2、3和4=相应地,无(材料不会粘附),低(粘附,但很容易脱落),中等(可以通过在边缘进行探测去除),中度至强(阻止通过探测边缘进行去除)和强(探头不能去除边缘)粘附。

[0259] †手术纱布用作脾损伤模型的阴性对照。

[0260] 实施例7-11.

[0261] 实施例7-11涉及CGHD脱乙酰壳多糖敷料。

[0262] 下列材料用于CGHD研发:

- [0263] 脱乙酰壳多糖A:Primex ChitoClear 65010,TM 4375,MW=250-300kDa,在1.0%乙酸中的1.0%w/w脱乙酰壳多糖溶液中的Brookfield粘度,在25℃和主轴LV1=390cPs,DDA=80%(通过胶体滴定)。
- [0264] 脱乙酰壳多糖B:Primex ChitoClear 43000,TM 4167,MW=110-150kDa,在1.0%乙酸中的1.0%w/w脱乙酰壳多糖溶液中的Brookfield粘度,在25℃和主轴LV1=9cPs,DDA=95%(通过胶体滴定)。
- [0265] 冰醋酸:Fisher Scientific,目录号A38-212。
- [0266] 盐酸:1.0M水溶液Sigma Aldrich,目录号H9892。
- [0267] L-乳酸:JT Baker,目录号0196-01。
- [0268] 乙醇酸:JT Baker,目录号M821-05。
- [0269] 氢氧化钠:5.0M NaOH水溶液Sigma Aldrich,目录号S8263-150ml。
- [0270] 氢氧化钾:0.1M KOH的甲醇溶液(BDH)。
- [0271] 乙醇:200°Proof Sigma Aldrich,目录号459844-1L。
- [0272] 微纤维壳多糖:100%乙酰化的长宽比~100/1的~10微米直径。
- [0273] Weifang
- [0274] 基础重量12g/m²的离心旋转的脱乙酰壳多糖纳米纤维批号G01
- [0275] Tricol医用级无纺布超细纤维。
- [0276] 去离子水:Ricca ACS试剂级去离子水,目录号9152-5。
- [0277] 乙酐:得自Sigman Aldrich的ACS试剂级,目录号320102-1L。
- [0278] 3,4-二羟基氢化肉桂酸(Mw=182.17g/mo):98% Sigma Aldrich,目录号102601。
- [0279] 1-乙基-3-(3-二甲基氨基-丙基)-碳二亚胺:(或者N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐,具有常规的字母简称EDC)Sigma Aldrich,目录号E7750。
- [0280] 氯化钠:Sigma Aldrich,目录号793566-500g。
- [0281] 合成胃液:胃蛋白酶-Sigma Aldrich P7000-25G,NaCl-Sigma Aldrich 793566-500G,H2O ACS试剂级,NaOH-Sigma Aldrich,目录号S8263-150ml。
- [0282] 组织:新鲜的猪膀胱粘膜,来自Animal Biotech Industries Inc.的新鲜的猪胃粘膜
- [0283] 柠檬酸化全血:Lampire Biological Laboratory Bovine CPD,目录号7720010。
- [0284] 氰基丙烯酸酯(Cyanoacrylate):Permabond 910组织粘合剂,目录号72590。
- [0285] 透析管:3,500Da MWC0 Snakeskin透析管(Fisher Scientific),目录号PI88244。
- [0286] 果胶:MP Biomedicals LLC,目录号102587。
- [0287] 甘油:Sigma Aldrich,目录号G-8773。
- [0288] 聚乙二醇:Spectrum,目录号P0108。
- [0289] 聚氧化乙烯:Mw 400,000da,Sigma Aldrich目录号372773-500G。
- [0290] 伯洛沙姆407:Spectrum,目录号P1166。
- [0291] 瓜尔胶:Sigma Aldrich,目录号G4129。
- [0292] 纤维素(微晶粉末):Sigma Aldrich,目录号435236。
- [0293] 聚丙烯酸:Mv 1,250,000Sigma Aldrich,目录号306215-100G。
- [0294] HemCon **Patch®**Pro,高度有效的商品脱乙酰壳多糖止血敷料,用作阳性急性止血

研究中的对照敷料。

[0295] 在急性止血研究中,将标准手术纱布用作阴性对照。

[0296] 实施例7

[0297] 儿茶酚脱乙酰壳多糖的制备和表征

[0298] 方法1.

[0299] 将脱乙酰壳多糖A (9.0g) 溶于去离子水 (148g) 和HCl (28ml, 1.0M HCl)。制备1:1 (150ml) 的水:乙醇溶液。将3,4-二羟基氢肉桂酸 (25.9mmol) 和N- (3-二甲基氨基丙基) -N'-乙基碳二亚胺盐酸盐 (51.8mmol) 溶于水/醇溶液。将水/醇溶液添加到脱乙酰壳多糖溶液中。将该溶液剧烈混合。使用滴加0.1M HCl和0.1NaOH溶液将反应混合物的pH控制到5.4,在塔顶搅拌下反应至少12小时。此后,将脱乙酰壳多糖溶液 (~300ml) 对5升用1滴1.0M HCl溶液酸化的水透析6天,再对未酸化的水透析至少3小时。在整个透析过程的自始至终中,透析液每隔 ~24小时更换一次,至少换水5次。

[0300] 方法2

[0301] 将脱乙酰壳多糖A (1.5g) 溶于水 (140g) 和HCl (5ml, 1.0M HCl) 中。制备水:乙醇的1:1溶液 (145ml)。将3,4-二羟基氢化肉桂酸 (10.5mmol) 和N- (3-二甲基氨基丙基) -N'-乙基碳二亚胺盐酸盐 (13.0mmol) 溶于水/醇溶液。将水/醇溶液缓慢加入脱乙酰壳多糖溶液中,用塔顶机械搅拌器在低搅拌器速度下搅拌反应混合物。通过滴加0.1M NaOH和0.1M NaOH溶液将反应混合物控制到pH 5.5,并在搅拌下反应 ~12小时。反应过程后,如方法1中所述透析该溶液。

[0302] 方法3

[0303] 将脱乙酰壳多糖A (9.0g) 溶于用HCl (30ml, 1.0M) 酸化的水 (126g)。用溶于水/醇溶液的N- (3-二甲基氨基丙基) -N'-乙基碳二亚胺盐酸盐 (31.3mmol) 制备1:1的水:乙醇溶液 (150ml)。此后,将3,4-二羟基氢化肉桂酸 (15.7mmol) 溶于15ml水,将该溶液在塔顶机械搅拌下缓慢地加入到脱乙酰壳多糖溶液。将包含N- (3-二甲基氨基丙基) -N'-乙基碳二亚胺盐酸盐的水/醇溶液缓慢地加入到脱乙酰壳多糖溶液中,用塔顶机械搅拌器以低搅拌器速度搅拌该反应混合物。使用滴加0.1M KOH(甲醇溶液) 和0.1M HCl溶液将该反应混合物控制到pH 5.5,在搅拌下保持反应 ~12小时。反应过程后,如方法1中所述透析该溶液。

[0304] 方法4

[0305] 将脱乙酰壳多糖A (9.0g) 溶于用盐酸 (30ml, 1.0M) 酸化的水 (126g)。然后使用0.1M HCl和0.1M NaOH水溶液将溶液调节至pH接近5.1。用溶于水/醇溶液的N- (3-二甲基氨基丙基) -N'-乙基碳二亚胺盐酸盐 (31.3mmol) 制备1:1的水:乙醇溶液 (150ml)。此后,将3,4-二羟基氢化肉桂酸 (15.7mmol) 溶于15ml水,将该溶液在适度塔顶机械搅拌下缓慢地加入到脱乙酰壳多糖溶液。将包含N- (3-二甲基氨基丙基) -N'-乙基碳二亚胺盐酸盐的水/醇溶液缓慢地加入到脱乙酰壳多糖溶液中,用塔顶机械搅拌器以低搅拌器速度搅拌该反应混合物。使用滴加0.1M KOH(甲醇溶液) 和0.1M HCl溶液将该反应混合物控制到pH 5.0,在搅拌下保持反应 ~12小时。反应过程后,如方法1中所述透析该溶液。

[0306] 儿茶酚脱乙酰壳多糖的取代度

[0307] 使用石英UV测试池 (路径长度1cm, x2 (HACH Co., 目录号48228-00) 用于获取UV/vis光谱。UV/Vis分光光度计为Varian Cary Bio 100。

[0308] 用水制备3,4-二羟基氢化肉桂酸的标准溶液,并将在280nm的吸光度对浓度作图。如下对稀溶液中的吸光度所示的Beer Lambert相关性中的消光系数 ϵ

[0309] $A = \epsilon \cdot c \cdot l$

[0310] A为吸光度(无维),且l为路径长度。

[0311] 将(吸光度<0.5)测定为 $2,540 \pm 50 \text{ liter}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。该值用于确定在已知质量的修饰的脱乙酰壳多糖稀水溶液、已知体积的溶液和在280nm处测定的峰吸光度中的修饰的脱乙酰壳多糖中的取代度。

[0312] 稀释脱乙酰壳多糖儿茶酚溶液,使其在280nm处的吸光度低于0.5(通常约为1:50或1:100)。使用吸光度、稀释液中使用的溶液重量以及固体百分比(CS-儿茶酚)根据如下等式来确定HCA相对于脱乙酰壳多糖骨架上游离胺的分数取代度(f_{DS}):-

$$f_{DS} = \frac{n_{HCA}}{f_{DDA} \cdot n_{\text{总脱乙酰壳多糖聚合物}}}$$

[0313]

$$f_{DS} = \frac{A \cdot V \cdot \{(f_{DDA} \cdot 161) + (1 - f_{DDA} \cdot 203)\}}{\epsilon \cdot l \cdot \left\{ m_{cc} - \left(\frac{A \cdot V}{\epsilon \cdot l} \cdot 165.17 \right) \right\} \cdot f_{DDA}}$$

[0314] 其中A是修饰的脱乙酰壳多糖在280nm处的UV/vis吸光度;V是干燥至恒定干质量后取得的修饰的脱乙酰壳多糖溶液的体积(升); m_{cc} 是儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖的测定的干质量(g); f_{DDA} 是脱乙酰壳多糖的脱乙酰化度的分数。

[0315] 结果

[0316] 脱乙酰壳多糖-儿茶酚合成物可产生50-300mL脱乙酰壳多糖儿茶酚溶液,其范围从乳白色到透明色,从浅粉红色到棕色,且粘度范围从稀液体稠度(例如接近1cps粘度的水)至浓稠的液体稠度(例如蜂蜜:粘度>100,000cps)。合成结果(参见表1)取决于脱乙酰壳多糖的初始浓度,在从接近pH 2到pH 5的pH调节步骤中避免脱乙酰壳多糖的沉淀,反应过程中pH维持在5.0-5.5,并在透析洗涤步骤中彻底去除低分子量成分。

[0317] 表3.

[0318] 表征结果的概述

	Cs-Cat 方法	固体百分比(w/w) [¶]	取代百分比
	1	0.72 ± 0.1	17.2 ± 2
[0319]	2	0.42 ± 0.1	132*
	3 浓缩的 [†]	0.63 ± 0.1	29.0 ± 3
	4 浓缩的 [†]	1.80 ± 0.1	26.4 ± 3

[0320] [¶]通过重量分析法测定溶液中的干固体百分比

[0321] *方法2中的合成导致取代度确定中的Uv/vis吸光度过高

[0322] [†]通过加热辅助干燥从悬浮在透析膜中的溶液中除去水来浓缩儿茶酚脱乙酰壳多

糖

[0323] 实施例8.

[0324] 冷冻相分离的亲水性聚合物敷料

[0325] 通过添加包括、但不限于预先制备的溶液、亲水聚合物、水、酸和其他成分的成分,在500ml、1000ml或2000ml的Nalgene LDPE瓶或聚丙烯烧杯中制备亲水性聚合物水溶液。图17A-17C列出了配制方法、亲水性聚合物和溶液亲水性聚合物成分的%w/w。图17A-17C中的某些配方不包含脱乙酰壳多糖。配方策略在图17A-17C中以A,B,C,D,E,F和G列出。策略A主要是作为材料(例如脱乙酰壳多糖)对照,这些材料预计通过体外模拟胃肠液测试不会抵抗胃中的溶解。再乙酰化(策略B)是降低溶解/降解速率的提出的策略之一,直到在胃蛋白酶存在下的体外模拟胃肠液测试显示脱乙酰壳多糖的降解和溶解速率更快,而脱乙酰化度较低。策略C是研究不含脱乙酰壳多糖的已知多糖(瓜尔胶、果胶和淀粉)的组成,该多糖可抵抗体外模拟胃肠液消化。策略D是使用脱乙酰壳多糖和其他可能的亲水性聚合物的策略C。策略E是使用儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖作为唯一的亲水性聚合物。策略F是与其他亲水性聚合物一起使用儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖。策略G是使用离心纺制的脱乙酰壳多糖纤维。

[0326] 为胃肠道止血敷料施用配制时遇到的主要问题是:(1)胃蛋白酶在合成胃液中令人意外且快速(<10min)促进了壳多糖和脱乙酰壳多糖的降解,其中胃蛋白酶以相当于低脱乙酰化度的递增速率促进了脱乙酰壳多糖的降解速率;(2)在实现与纯儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖的粘附中来自血液的令人意外的干扰;(3)改配方以解决其他问题时在敷料破裂和撕裂方面的敏感性。

[0327] 最终的亲水性聚合物溶液%w/w在0.1%-4%聚合物之间。使用IKA KS260轨道振荡器或Wheaton台式瓶滚轴,将封盖的瓶子及其内容物在室温下连续混合12-24小时,以实现完全的溶液均质性。将烧杯溶液在带有磁搅拌珠的磁搅拌板上在室温下混合12-24小时,以实现溶液均匀性。在混合过程中,使用封口膜将烧杯与外部环境隔离。当不存在悬浮条件时(A06,B02,B04和C05除外),为冷冻相分离制备的溶液基本均匀且澄清。儿茶酚脱乙酰壳多糖溶液显示出一些混浊和乳白色外观,表明存在一些分散的细的儿茶酚脱乙酰壳多糖球形颗粒。

[0328] 除策略G的情况外,制备脱乙酰壳多糖溶液作为冷冻相分离的敷料,其中最终溶液的亲水聚合物重量%为0.25%-4%w/w水溶液。冻结相分离在具有水平平底的特氟龙涂覆的铝制模具孔中进行。将溶液倾入孔中至距模具底部的高度优选不超过约10mm,更优选2.5mm,且最优选5.0mm。对最初在冷冻前温度为15℃-30℃之间的模具中的溶液,通过模具底部施加冷却,然后冷冻。尽管可以施加其他冷却温度以实现适合的冻结相分离的结构,但是优选的是,对货架(shelf)施加的冷却温度为-40℃,更优选为-55℃,且最优选冷却温度为-45℃。在溶液达到冷冻相分离并且冷冻溶液的温度在冷冻温度达到平衡之后,使系统进一步冷冻相分离并在干燥之前再平衡至少1小时。在一种改进的冷冻和模具填充以容纳不同的冷冻相分离溶液层的方法中,将第一层添加到模具中达到优选的深度并冷冻,然后添加第二层并冷冻,然后按照这种方式制备多层冷冻相分离的敷料。需要注意确保第(n-1)个冷冻溶液与第n个倾注溶液之间没有结霜,并且层间冷冻结构的差异可能会导致破裂。在本研究过程中,将单层预先冷冻干燥的亲水性聚合物基体分层并粘附到单一共粘附的压缩多层复合片材上的成功方法的发现是出乎意料和重要的发现。也能够使用压缩将分开制备的

冷冻干燥的组合物合并。

[0329] 使用24平方英尺的Virtis Benchmark 2000中试规模的冷冻干燥机,对冷冻相分离出的冷冻溶液斑片进行升华冷冻干燥。在初次冷冻干燥中(除去不与亲水性聚合物氢键合的冰),在冷冻干燥机中将其模具中平衡的冷冻斑片减压至 $\leq 300\text{mTorr}$,并将冷冻干燥机冷凝器设定至 $\leq -65^\circ\text{C}$,并且将冷冻干燥器架加热以促进冰从冷冻分离的斑片升华,而不将斑片温度提高到 -15°C 以上。基本上除去所有未结合的冰后,将货架温度升高至接近 25°C ,以除去氢结合的冰并降低干敷料中的含湿量,使干敷料中的残留水不超过约4%。最终干燥的基体符合填充模具的原始形状,其长和宽收缩近5%,密度在 $0.005\text{g}/\text{cm}^3$ - $0.04\text{g}/\text{cm}^3$ 。它们包含超过95%的空隙空间,并且它们为相互连接的多孔结构(例如20-300微米),具有精细的聚合物层(例如亚微米至5微米厚度),并且在相邻层之间的孔间距为例如20微米-300微米。

[0330] 在冷冻相分离和干燥之后,将干燥的基体从其原始厚度(10mm-2.5mm)压缩至优选接近50微米的最终厚度。如果两个未压缩的敷料以一个在另一个之上的方式压缩,则在压缩过程结束时它们将永久地粘结在一起。可以在压缩中使用校准的均匀厚度的薄垫片,以实现期望的压缩敷料厚度,该厚度基本上与垫片厚度相同。存在多种方法可以实现这种压缩,其中期望的压缩接近50微米。在本研究中使用的优选压缩方法是对整个干燥的未压缩敷料(尺寸典型地接近100mm长x100mm宽x 2.5mm高或50mm直径x 2.5mm高)压缩,其中单轴压缩率 $\leq 10\text{mm}/\text{min}$ 或约 $\leq 0.5\text{mm}/\text{min}$,对齐的压板之间的厚度应接近 ≤ 100 微米厚度。虽然较低的压缩率导致最终敷料的更好的机械性能,但是以初始压缩率接近例如约 $10\text{mm}/\text{min}$ 制备的敷料是可接受的。将压板(涂覆特氟龙的Mic 6铝300mm x 300mm x 90mm)加工成平坦的平面(300mm内 ≤ 5 微米)。压缩期间,压板的温度优选在单轴压缩的3至5分钟内保持在 80°C 附近。压缩通过在压板的四个角处进行螺钉加载来实现,每个角处的加载量最多为四吨(吨是指1000kg)。在释放负载之前,压缩至少要坚持2分钟。测量新型压缩的亲水性聚合物基体的压缩厚度和重量。最终密度在 0.35 - $0.55\text{g}/\text{cm}^3$ 。压缩后,进一步处理敷料。此附加处理包括将模头切成2.5cm直径的测试片,并在某些情况下进行热退火热处理(在对流烘箱中于 60°C - 150°C 加热5-30分钟)。在加工结束时,将敷料放入带有热封的箔袋中。将用于动物和生物相容性测试的包装敷料用25kGy γ 射线照射。

[0331] 实施例9.

[0332] 胃肠道止血敷料原型的体外测试

[0333] 合成胃液制备:将胃蛋白酶(1.6g)、NaCl(1g)、水(500ml)添加到1000ml Nalgene LDPE瓶中并混合。使用Millipore pH 0-14通用指示条并滴加3.0M HCl,将酸度调节至pH值为3-4。如果需要,使用滴加1.0M NaOH以提高pH。

[0334] 1. 试管法

[0335] 为了快速筛选测试制品对合成胃液中的溶解/碎裂的抵抗力,将一片 $0.5\text{cm} \times 0.5\text{cm}$ 的测试制品片添加到已标记的15ml Falcon管的底部,并将5ml胃液添加到该管中,然后覆盖并将其在 37°C 竖直放置在温育箱中并轻轻摇动。监测试管直到观察到样品可显示出溶解/碎裂,并记录溶解/碎裂的时间。图16A-16C提供了试管测试的结果。

[0336] 2. 烧杯法

[0337] 对于在试管测试中显示出抗性的材料,开发了一种改进的测试方法,其中将38mm

x 38mm的新鲜胃粘膜片粘附在应用使用棉签涂抹的氰基丙烯酸酯粘合剂薄层的聚苯乙烯烧杯(250ml, Fisher目录号08-732-124)内的底部。使用Texwipe纸巾将胶粘之前的粘膜表面擦干。使粘合剂干燥2-5分钟。完全粘附在烧杯上后,将暴露的顶部组织表面用柠檬酸化的全牛血逐滴润湿(通常为2滴),并通过经直径为25mm的PVC平头探头将500g正交于粘膜表面的载荷施加1分钟将来自测试制品的20mm x 20mm片粘附到血液覆盖的粘膜表面。将室温下的合成胃液(~90ml)添加到烧杯中。使用封口膜密封烧杯,并将烧杯在温和摇动(130rpm)下于37℃在温育箱中直立放置在IKA KS260轨道摇床上。每分钟监测烧杯的内部,然后每小时监测一次,直到观察到与粘膜的明显分离和/或样品的溶解/碎裂,并记录了分离/溶解/碎裂的时间。

[0338] 在测试方法开发过程中,施加的负载(至多5kg)和附着的施加时间至多为5分钟。与微创体内应用相比,胃肠外科手术团队建议在2.5cm直径的敷料上均匀施加不超过300g的负荷不超过30秒。将5kg和120秒的原始条件修改为500g持续1分钟。现在应用300g负载30秒的施用。烧杯测试结果如图16A-16C中所示。

[0339] 3. 机械折叠测试

[0340] 将样品片沿长度和宽度轴折叠180°,且压痕线被压缩。将干测试片材(25mm x 25mm)折叠并展开,并记录其抗撕裂性和抗裂性。折叠测试结果如图16A-16C中所示。

[0341] 4. 机械组织粘附

[0342] 使用具有10N称重传感器的单轴机械测试仪(Instron型号5844)来研究对粘膜的湿粘附力。使用ASTM F2258-03“强度的标准测试方法:组织粘合剂的拉伸特性”进行粘合力测试。使用在z垂直方向上单轴对齐的下和上PVC探头的测试配置进行测试,以使其x-y水平的直径为15.2mm的面的边缘在单轴降低的情况下可以准确地($\pm 0.2\text{mm}$)彼此重合,其中顶部探头单轴下降,该探头支撑在卡盘固定装置中的上部可移动Instron十字头上。下部PVC探头支撑在固定的底部卡盘固定装置中。在用氰基丙烯酸酯胶测试PVC表面之前,使用底部PVC水平表面支撑至少5分钟粘附的10mm x 10mm粘膜组织样品。顶部PVC水平表面用于支撑10mm x 10mm CGHD测试片,该片材在测试前至少5分钟用3M双面胶带粘合。在将探头降低到测试表面之前,用0.25ml的去柠檬酸化牛全血CPD润湿正方形组织块。探头以10mm/min的速度下降,直到达到0.98N的最大载荷。接触时,测试片和组织片精确接触($\pm 0.2\text{mm}$),并且相互共面。维持0.98N的单轴探头负载30秒,此后以10mm/min的速度移出探头,并记录最大失效应力。粘附力测试的结果如表4中所示。

[0343] 表4.

[0344] 探头附着结果

	G01 -纳米纺制的 CS (6-层) (kPa)	F11 - 25% CS-目录号, 22-1 浓缩的 /2% CS AcOH 溶液(kPa)	PVC 探头(无数料) (kPa)
[0345] 1	0.86	2.07	0.30
2	1.47	3.53	0.26
3	2.13	4.46	0.08
4	1.82	6.82	0.25
5	0.92	3.69	
平均值	1.44	4.11	0.22
标准偏差	0.55	1.74	0.10

[0346] 实施例10.

[0347] 体内(猪上消化道出血模型)筛选研究

[0348] 动物

[0349] 本研究中总计使用4只体重为40-50千克的杂种成年家猪。

[0350] 所有实验均根据2011年国家研究委员会“实验动物的护理和使用指南”(2011National Research Council,“Guide for the Care and Use of Laboratory Animal”)和适用的联邦法规进行。该动物的方案符合《NIH实验动物的护理和使用指南》(NIH Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals),并得到机构动物护理和使用委员会(Institutional Animal Care and Use Committee)批准。对动物的所有操作和护理均在批准的动物研究机构进行。

[0351] 兽医人员检查了所有动物,以确保基线健康。在手术前72小时将动物从所有就寝处取出,并且在手术前24小时不允许食物进食。允许动物随意饮水。手术前20分钟,给动物静脉给予500mg的头孢替坦和250ml林格氏乳酸盐流体推注。在用格隆溴铵和替来他明HCl和唑拉西泮HCl(**Telazol®**,Fort Dodge Laboratories, Fort Dodge, IA)联合用药前,使用5%异氟烷进行面罩诱导麻醉。将猪插管,放在呼吸机上,并通过气管插管维持2-3%的异氟烷。手术分离右股动脉,并用6Fr导管插管,以促进连续血压监测和血液回收以进行实验室研究。为了诱发凝血病状态,静脉内(IV)给予5000单位肝素。在手术过程中连续输注50单位/kg的肝素以维持抗凝作用。10分钟后测试活化凝血时间(ACT)水平,然后在手术过程中根据需要每20分钟测试一次IV给予的额外的肝素(初始剂量的50%,2500个单位),以维持ACT>250秒抗凝。在手术和恢复期间监测ECG、血压和血氧饱和度。每15分钟记录一次重要数据,包括血压,异氟烷%,O₂流量,呼吸频率,心率,SpO₂,毛细血管补充时间,血压和平均动脉压以及体温。

[0352] 实验完成时,在麻醉下,通过IV施用Euthasol(1mg/101bs)使动物安乐死。平波ECG和听诊器发现用不存在心跳证实死亡。

[0353] 胃出血模型

[0354] 用氯己定制备猪,并以无菌方式遮盖。进行中线剖腹术以暴露胃。从胃壁剥离5-cm

的胃上肌血管段。对于每个节段,在游离但完整的血管附近实施1-cm的胃切开术。然后将动脉推过胃切开术并定位,使其暴露于胃腔。然后以标准方式将胃切口与腹壁一起封闭。进行了上部内窥镜检查 (GIF Q180型,Olympus),以鉴定胃中的胃伤口部位。然后定位伤口部位和胃血管并用内窥镜活检钳切开以产生搏动性出血。

[0355] 用手手工施用下文表5中鉴定的脱乙酰壳多糖胃肠道止血敷料 (CGHD)。简言之,在前胃壁上做一个约12cm的切口,以暴露胃腔,并在胃出血部位施加CGHD原型敷料 (20mm x 20mm)。在敷料施用之前,使用干燥的预称重折叠纱布海绵在15秒钟的时间内吸收来自伤口的任何血液并且称重,并乘以 (x) 4,以计算每分钟的出血速率 (血液重量)。将CGHD敷料置于伤口上方,并用纱布海绵覆盖在伤口上。在接近200-300g的轻压下,在贴片上均匀施加手动压力30秒。在30秒时,除去纱布,并且观察该区域的最初止血,然后观察再出血的迹象至多10分钟。在完成施用后,将CGHD敷料去除,并按照使用粘附评分系统 (表5) 如何将敷料粘附到组织表面的方法,根据粘附评分对敷料组织的附着力进行排名。

[0356] 表5:

[0357] 粘附评分

评分	描述
0	无粘附
1	几乎不粘附
2	中度粘附
3	中度至强粘附
4	强粘附

[0359] 结果

敷料类型	代码#	胃血管损伤		
		出血速率 (g/min)	止血率(%)	粘附评分
4Ch01.Pect	D24	8	70%	2
ChCatechol	E1 和 E2	NA	29%	2.5
0.25Cat1.5Ch	F11	NA	63%	2
0.75Cat0.5Ch	F12	NA	50%	1.5
纳米纤维 12GSM	G01	5	67%	1
Patch Pro	H01	NA	100%	3.5
纱布	H02	13	33%	0

[0361] 在胃血管损伤模型中,三个CGHD家族原型 (D24、F11和G01) 在即刻止血和可接受的

粘附力评分方面表现出良好的止血性能。通过将未修饰的脱乙酰壳多糖与儿茶酚脱乙酰壳多糖组合解决了纯儿茶酚修饰的脱乙酰壳多糖对伤口组织的缓慢粘附。在接近80℃的温度下,对这些压缩的冷冻相分离敷料进行15分钟至30分钟的最终热处理,得到具有良好的即刻组织粘附性的敷料,且由此有望在短(30秒)低压施用下快速控制搏动性出血性胃肠道出血的止血性能。应当注意,Patch Pro不适用于胃镜递送,因为它无法按要求折叠且过厚。此外,Patch Pro由标准脱乙酰壳多糖形成,该脱乙酰壳多糖在上消化道中约15分钟或更短时间之内降解。

[0362] 实施例11.

[0363] 体内(猪上消化道出血模型) 3小时研究

[0364] 动物

[0365] 本研究中总计使用4只体重为40-50千克的杂种成年家猪。

[0366] 动物准备、手术准备、动物麻醉和动物处死与实施例4中呈现的相同。

[0367] 胃出血模型

[0368] 用氯己定制备猪,并以无菌方式遮盖。进行中线剖腹术以暴露胃。从胃壁剥离5-cm的胃上肌血管段。对于每个节段,在游离但完整的血管附近实施1-cm 1的胃切开术。然后将动脉推过胃切开术并定位,使其暴露于胃腔。然后以标准方式将胃切口与腹壁一起关闭(图2)。在前胃壁上切出约12cm的切口以暴露胃腔。然后定位伤口部位和胃血管,并用镊子切开以产生搏动性出血。在施用之前,使用预先测量的折叠纱布海绵测定吸收敷料出血速率,以吸收伤口上的任何血液,时间为15秒,然后称重,乘以x 4以计算出血速率。然后将CGHD敷料置于出血的伤口上方,并用纱布海绵覆盖在伤口上。手动向贴片均匀施加压力30秒。在30秒时,去除纱布,并观察该区域最初是否止血并且至多10分钟。观察10-分钟后,如果实现止血,则以层状方式封闭胃切口,即,其中外科医生一起连续地缝合切开的层。然后封闭腹壁进行3-小时观察。在3小时的施用完成后,进行上内镜检查(GIF Q180型,Olympus),以鉴定伤口敷料,以便进行视觉检查。然后重新打开腹部和胃部的切口,以对敷料进行总体检查。去除CGHD敷料,并根据使用粘附评分系统(表5)如何将敷料粘附到组织表面的方式给出粘附力评分。

[0369] 在完成这些操作后,通过去除旧的血块和伤口敷料的残留物来重新准备伤口部位,以便如上所述再次施用第二组敷料。在本研究阶段,每个伤口部位均用于测试2种敷料。

[0370] 出血速率

[0371] 使用Metzenbaum剪刀在胃血管处形成半横断的血管损伤,以产生搏动性出血。用预先称重的纱布测量出血率,并以g/min记录。在施用敷料之前,确定并记录每次损伤出血速率。

[0372] 测试片为20mm x 20mm.

[0373] 测试来自每种类型的纳米纺制的脱乙酰壳多糖(G01)和脱乙酰壳多糖儿茶酚配混合物(F11)中的八种敷料。

[0374] 测试片的施用

[0375] 当将测试片集中放在损伤上并用手指施加足够的压力来止血,时将30秒钟计时器启动。将一片50mm x 50mm的纱布折叠成两半,并施加于20mm x 20mm测试片上。从该部位吸出所有随后汇集的血液。在30秒钟的轻压(接近300g的负载)后,将手指移开,并观察测试敷

料是否有出血迹象。如果观察到出血,则重新施加压力30秒。如果在释放压力后达到止血效果,则观察敷料10分钟。如果没有出血复发,则关闭胃壁并通过GI镜观察3小时。如果3小时后没有出血复发,则认为敷料测试片成功。如果在5分钟内再次出现出血,则应去除敷料,并使用新的敷料。最多使用两次重复施用。

[0376] 表6:

[0377] 下面概述了本研究的结果。

敷料代码#	合格的敷料#			测试的敷料#	%成功
	第一次施用	第二次施用	第三次施用		
F11	3	1	2*	13	46
G01	0	3**	1*	12	31

[0379] *1来自每组的敷料具有额外的敷料以在第三次施压后停止渗出

[0380] **1将敷料保持额外30秒

[0381] 纳米纺制的脱乙酰壳多糖敷料(G01)在12种施加敷料中成功应用了4种。而25%儿茶酚/75%2%脱乙酰壳多糖敷料(F11)在13种测试敷料中有6种取得了成功应用。对于敷料的应用,存在两个偏差:来自每组中的1种敷料具有额外的敷料以阻止渗出,其没有在#4猪上停止;而纳米纺制的脱乙酰壳多糖敷料之一可以保持额外的30秒。

[0382] 在所有应用中,都插入了内窥镜以评估敷料是否仍然存在并且止血。在所有情况下,所有敷料均被确认为存在,止血且在整个范围内均可见。敷料施用超过3小时后,打开胃以检查损伤部位和检查敷料。所有敷料均完整。在所有伤口上均观察到凝块形成。注意到在所有初始敷料成功的情况下,在3小时的时间点没有观察到来自伤口的后续出血。

[0383] 通过在实施例3、4和5中的测试中鉴定的最终最佳敷料原型显示,一旦它们对通过标准的胃镜递送出口递送所需要的在轻微的手动压力下并短期限的施加保持后粘附,其功效得以延长。所开发的最佳敷料易于折叠(或卷曲)配置,以通过标准胃镜的2.8mm的标准直径递送通道被递送。

[0384] 在封闭的猪胃内经过3小时的测试期,在最初的施用10分钟内实现成功止血(完全止血)且不超过3x 30秒的应用的全部CGHD敷料均保持完全止血。对于31%的G01原型施用和46%的F11原型施用都获得成功。本研究的挑战性使得成功取得了与临床应用相关的成功率接近50%(即F11原型),尤其是当注意到所有最初成功的粘膜粘附剂应用都产生了100%的长期成功时。混合的脱乙酰壳多糖和儿茶酚脱乙酰壳多糖敷料提供了对消化液消化的显著抵抗力,能够折叠/卷起成最复杂和紧凑的形式,并与未修饰的脱乙酰壳多糖混合时提供良好的粘合特性。

[0385] 参考文献

[0386] 以下是按编号列出的参考文献清单,并且对应于贯穿于本说明书中注明的括号内的数字。

[0387] 1.HCUP,Outcomes by 153Gastrointestinal hemorrhage,in U.S.Department of Health and Human/Hcupnet2014,U.S.Department of Health and Human Services:

Washington DC.

[0388] 2.Rockey,D.C.,Gastrointestinal bleeding.Gastroenterol Clin North Am, 2005.34(4):p.581-8.

[0389] 3.Crooks,C.J.,West,J.and Card,T.R.,Upper gastrointestinal haemorrhage and deprivation:a nationwide cohort study of health inequality in hospital admissions.Gut,2012.61(4):p.514-20.

[0390] 4.Jairath,V.,Kahan,B.C.,Logan,R.F.,Hearnshaw,S.A.,Travis,S.P.,Murphy, M.F.and Palmer,K.R.,Mortality from acute upper gastrointestinal bleeding in the United kingdom:does it display a“weekend effect”?Am J Gastroenterol, 2011.106(9):p.1621-8.

[0391] 5.Sung,J.J.,Tsoi,K.K.,Ma,T.K.,Yung,M.Y.,Lau,J.Y.and Chiu,P.W.,Causes of mortality in patients with peptic ulcer bleeding:a prospective cohort study of 10,428 cases.Am J Gastroenterol,2010.105(1):p.84-9.

[0392] 6.Jairath,V.,Kahan,B.C.,Stanworth,S.J.,Logan,R.F.,Hearnshaw,S.A., Travis,S.P.,Palmer,K.R.and Murphy,M.F.,Prevalence,management,and outcomes of patients with coagulopathy after acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding in the United Kingdom.Transfusion,2013.53(5):p.1069-76.

[0393] 7.Elta,G.H.,Approach to the patient with gross gastrointestinal bleeding.Textbook of Gastroenterology,2003.In:Yamada T.,Alper,D.H.,Editors (Lippincott Williams and Wilkins):p.698-723.

[0394] 8.Boonpongmanee,S.,Fleischer,D.E.,Pezzullo,J.C.,Collier,K.,Mayoral, W.,Al-Kawas,F.,Chutkan,R.,Lewis,J.H.,Tio,T.L.and Benjamin,S.B.,The frequency of peptic ulcer as a cause of upper-GI bleeding is exaggerated.Gastrointest Endosc,2004.59(7):p.788-94.

[0395] 9.Jairath,V.,Martel,M.,Logan,R.F.and Barkun,A.N.,Why do mortality rates for nonvariceal upper gastrointestinal bleeding differ around the world?A systematic review of cohort studies.Can J Gastroenterol,2012.26(8): p.537-43.

[0396] 10.Sheibani,S.,Kim,J.J.,Chen,B.,Park,S.,Saber,B.,Keyashian,K., Buxbaum,J.and Laine,L.,Natural history of acute upper GI bleeding due to tumours:short-term success and long-term recurrence with or without endoscopic therapy.Aliment Pharmacol Ther,2013.38(2):p.144-50.

[0397] 11.Adler,D.G.,Leighton,J.A.,Davila,R.E.,Hirota,W.K.,Jacobson,B.C., Qureshi,W.A.,Rajan,E.,Zuckerman,M.J.,Fanelli,R.D.,Hambrick,R.D.,Baron,T.and Faigel,D.O.,ASGE guideline:The role of endoscopy in acute non-variceal upper-GI hemorrhage.Gastrointest Endosc,2004.60(4):p.497-504.

[0398] 12.Banerjee,S.,Cash,B.D.,Dominitz,J.A.,Baron,T.H.,Anderson,M.A.,Ben-Menachem,T.,Fisher,L.,Fukami,N.,Harrison,M.E.,Ikenberry,S.O.,Khan,K.,Krinsky, M.L.,Maple,J.,Fanelli,R.D.and Strohmeyer,L.,The role of endoscopy in the

management of patients with peptic ulcer disease. *Gastrointest Endosc*, 2010. 71(4): p. 663-8.

[0399] 13. Peng, Y.C., Chen, S.Y., Tung, C.F., Chou, W.K., Hu, W.H. and Yang, D.Y., Factors associated with failure of initial endoscopic hemoclip hemostasis for upper gastrointestinal bleeding. *J Clin Gastroenterol*, 2006. 40(1): p. 25-8.

[0400] 14. Peng, Y.C., Tung, C.F., Chow, W.K., Chen, S.Y. and Chang, C.S., Factors contributing to the failure of argon plasma coagulation hemostasis in patients with nonvariceal upper gastrointestinal tract bleeding. *Hepatogastroenterology*, 2010. 57(101): p. 781-6.

[0401] 15. Karaman, A., Baskol, M., Gursoy, S., Torun, E., Yurci, A., **Çelikkilek, M.**, Guven, K., Ozbakir, O. and Yucesoy, M., Endoscopic topical application of ankaferd blood **stopper®** in gastrointestinal bleeding. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 2012. 18(1): p. 65-68.

[0402] 16. Halkerston, K., Evans, J., Ismail, D., Catnach, S., Chaudhary, R., Fullard, M., King, A. and Leahy, A., PWE-046 Early Clinical Experience of Endoclot™ in the Treatment of Acute Gastro-Intestinal Bleeding. *Gut*, 2013. 62(Suppl 1): p. A149.

[0403] 17. Holster, I.L., Kuipers, E.J. and Tjwa, E.T.T.L., Hemospray in the treatment of upper gastrointestinal hemorrhage in patients on antithrombotic therapy. *Endoscopy*, 2013. 45(1): p. 63-66.

[0404] 18. Sung, J.J.Y., Luo, D., Wu, J.C.Y., Ching, J.Y.L., Chan, F.K.L., Lau, J.Y.W., MacK, S., Ducharme, R., Okolo, P., Canto, M., Kalloo, A. and Giday, S.A., Early clinical experience of the safety and effectiveness of Hemospray in achieving hemostasis in patients with acute peptic ulcer bleeding. *Endoscopy*, 2011. 43(4): p. 291-295.

[0405] 19. Yau, A.H.L., Ou, G., Galorport, C., Amar, J., Bressler, B., Donnellan, F., Ko, H.H., Lam, E. and Enns, R.A., Safety and efficacy of **Hemospray®** in upper gastrointestinal bleeding. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2014. 28(2): p. 72-76.

[0406] 20. Kheirabadi, B.S., Mace, J.E., Terrazas, I.B., Fedyk, C.G., Estep, J.S., Dubick, M.A. and Blackburne, L.H., Safety Evaluation of New Hemostatic Agents, Smectite Granules, and Kaolin-Coated Gauze in a Vascular Injury Wound Model in Swine. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 2010. 68(2): p. 269-278.

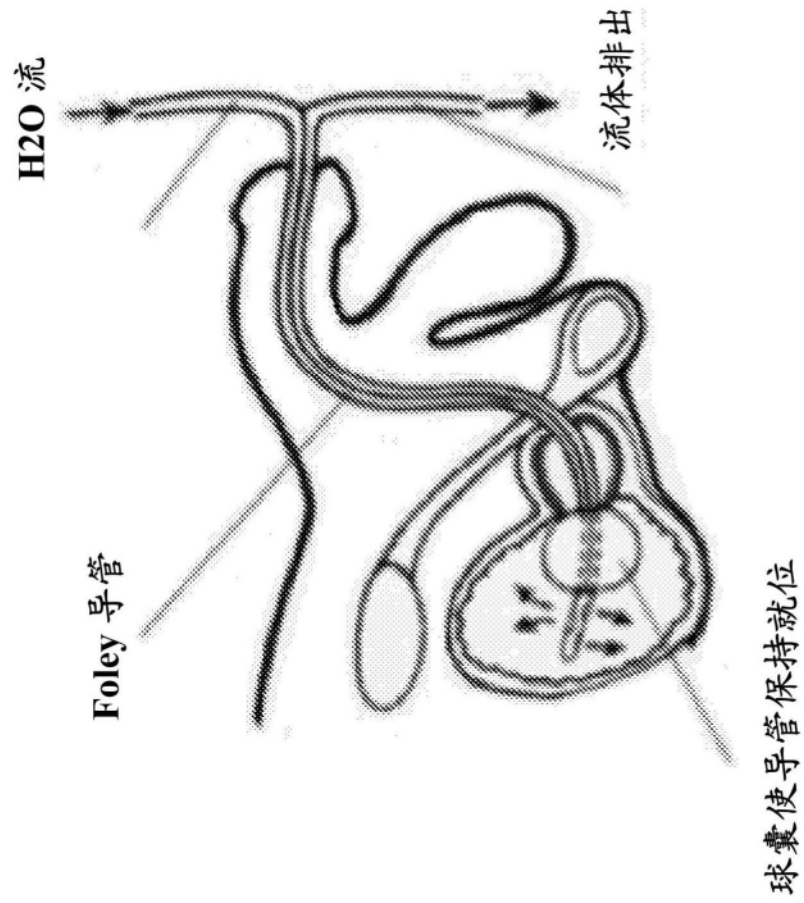


图1A

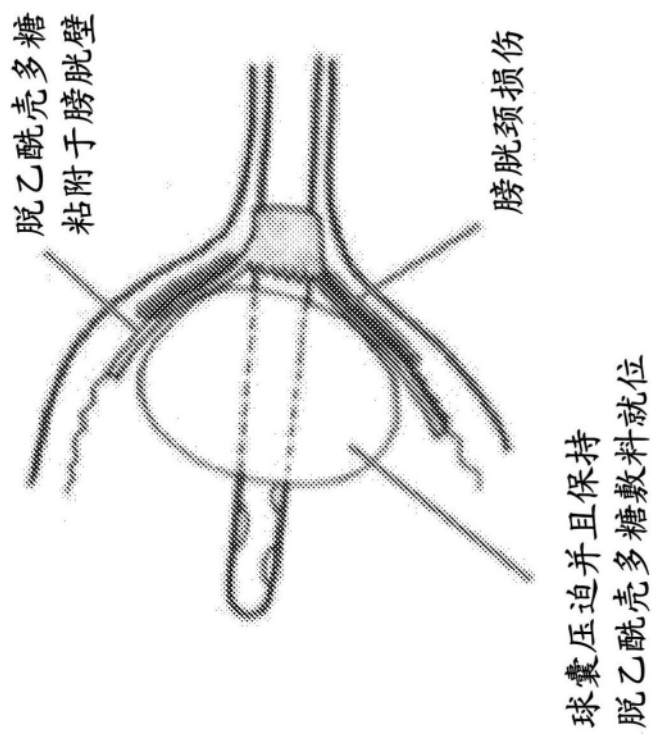


图1B

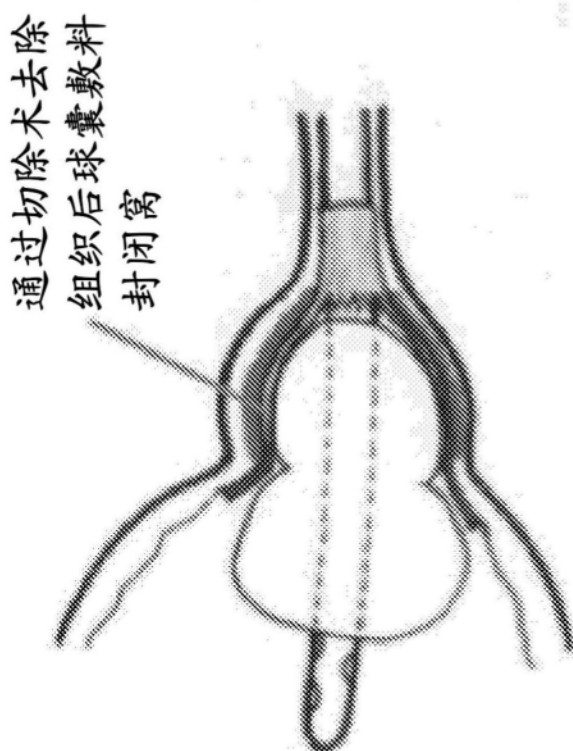


图1C

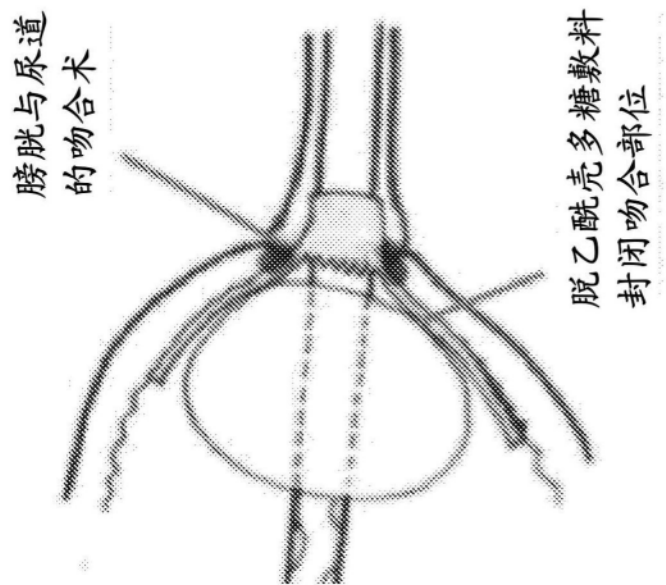


图1D

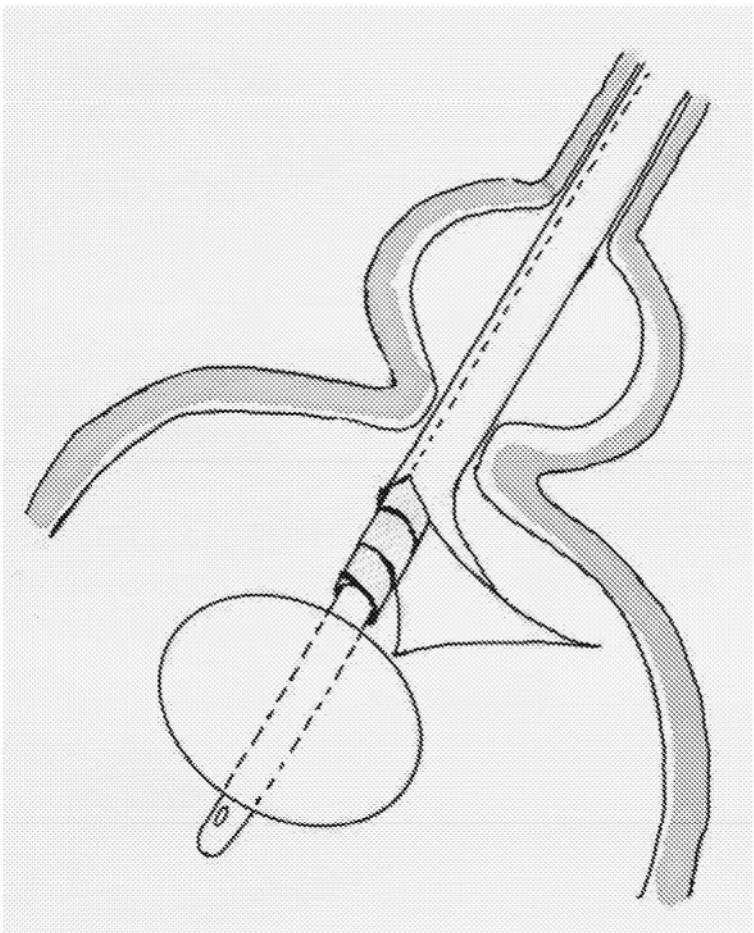


图1E

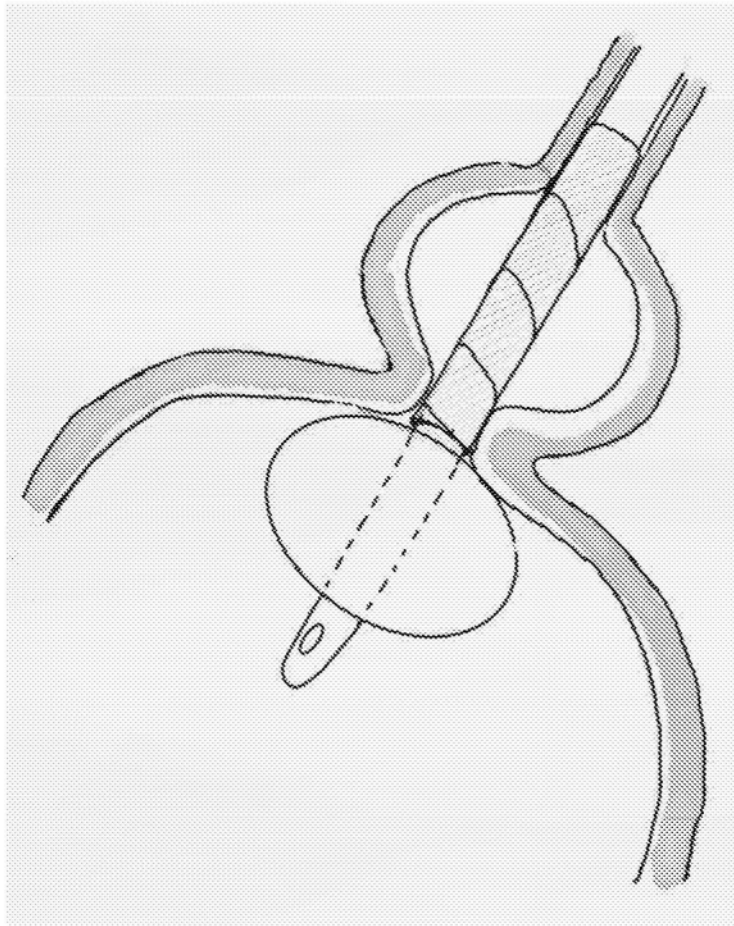


图1F

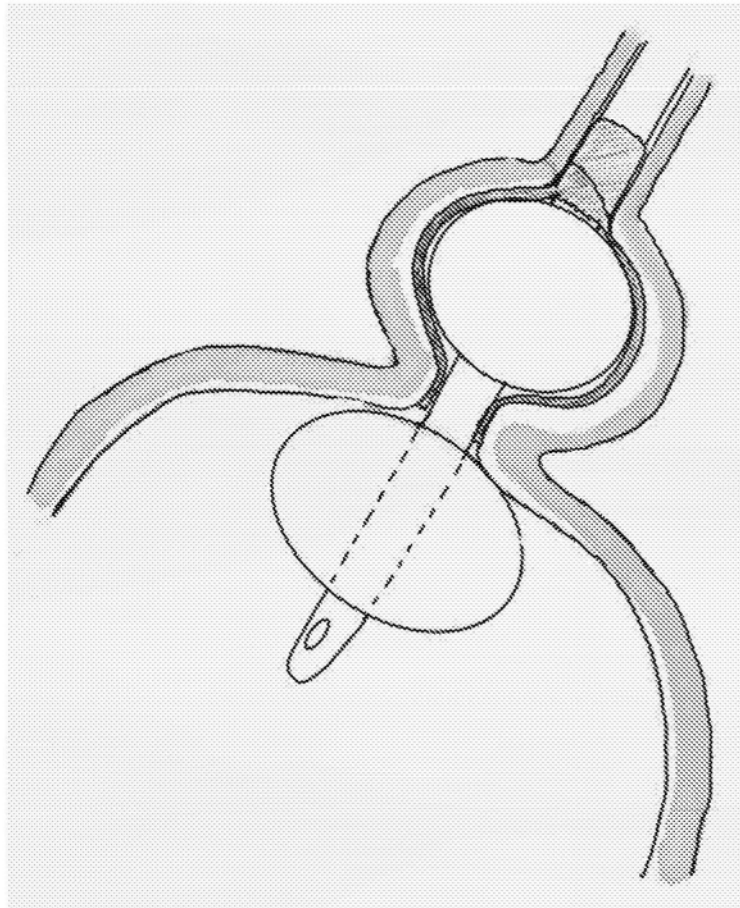


图1G

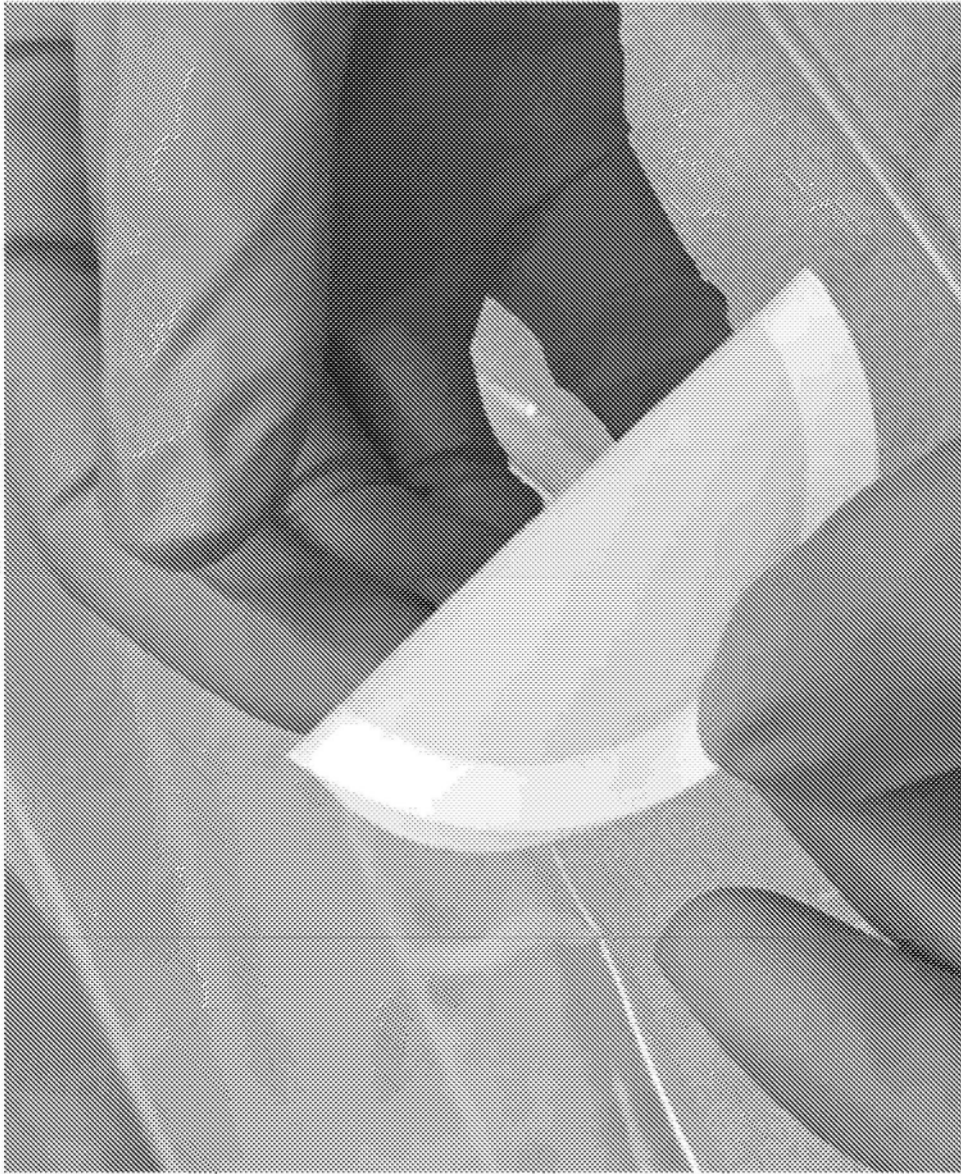


图2

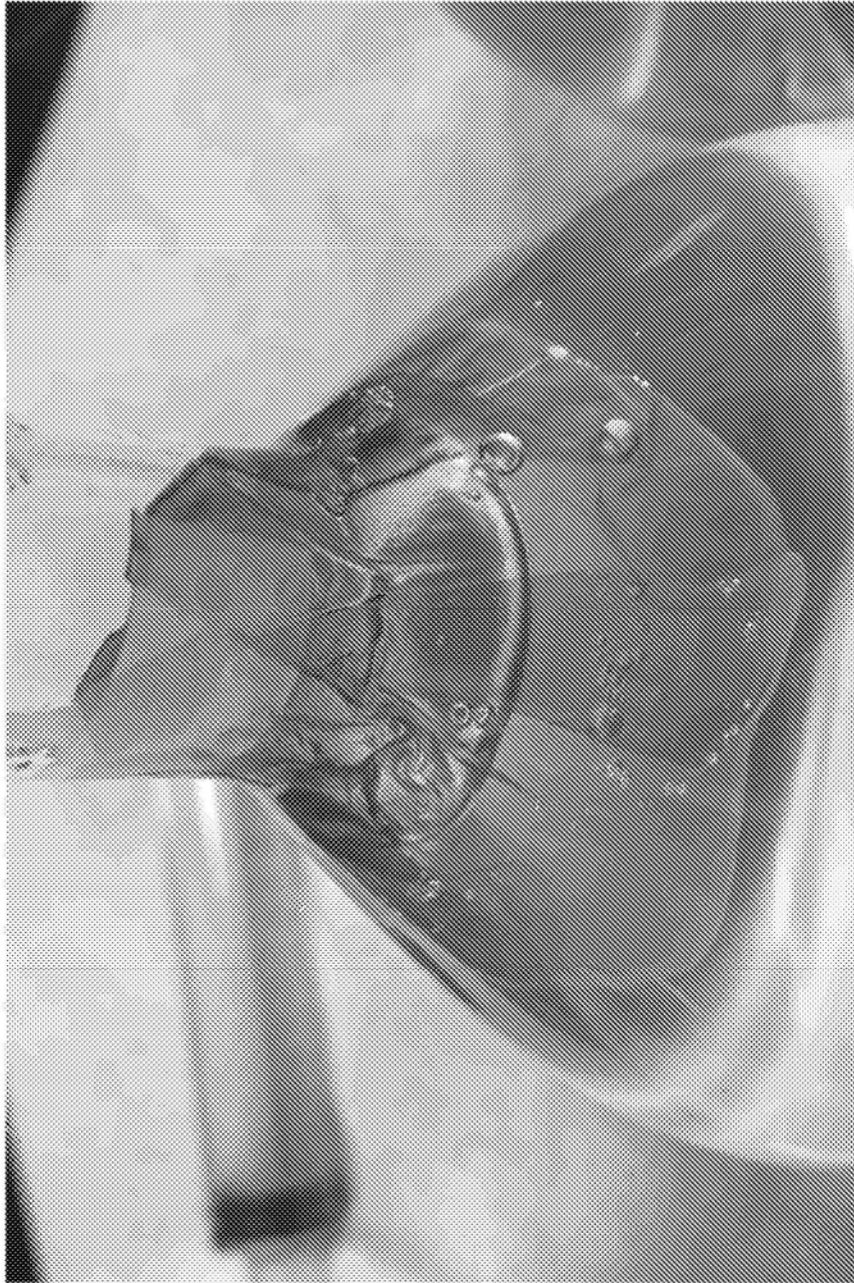


图3A



图3B



图4

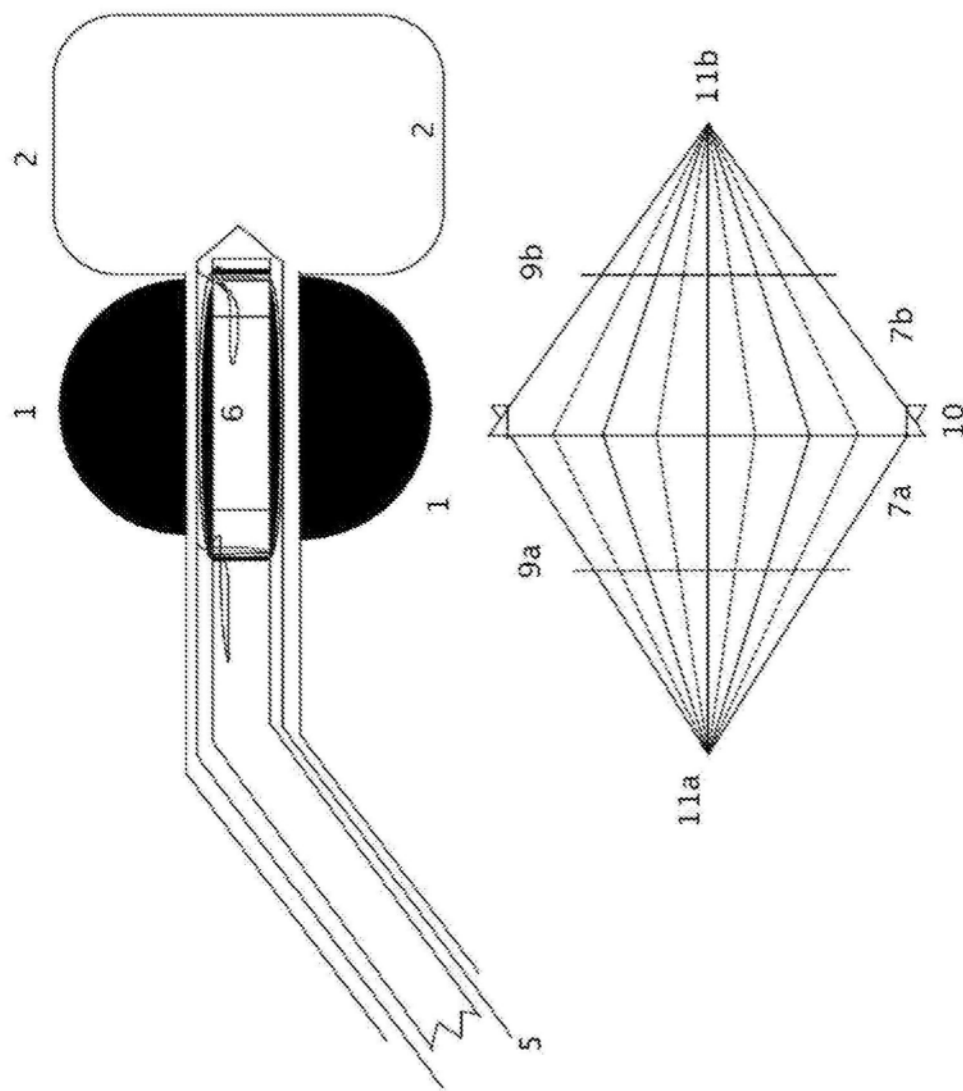


图5A

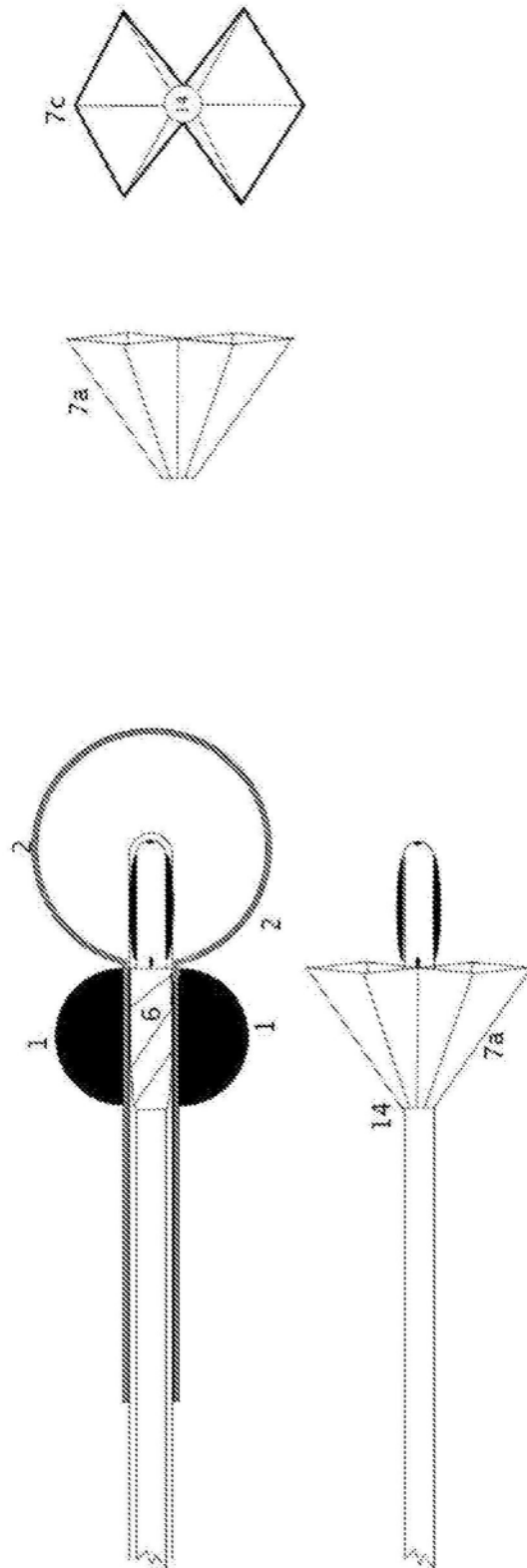


图5B

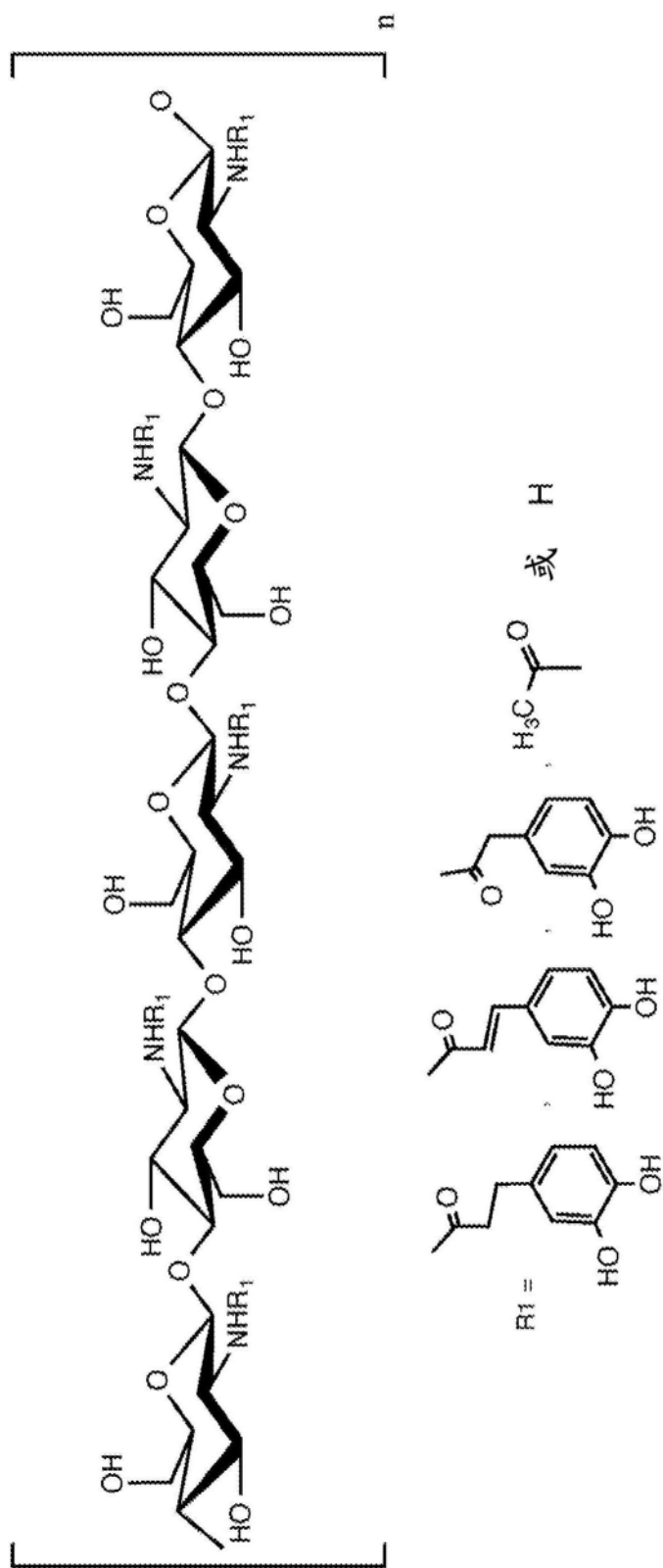


图6

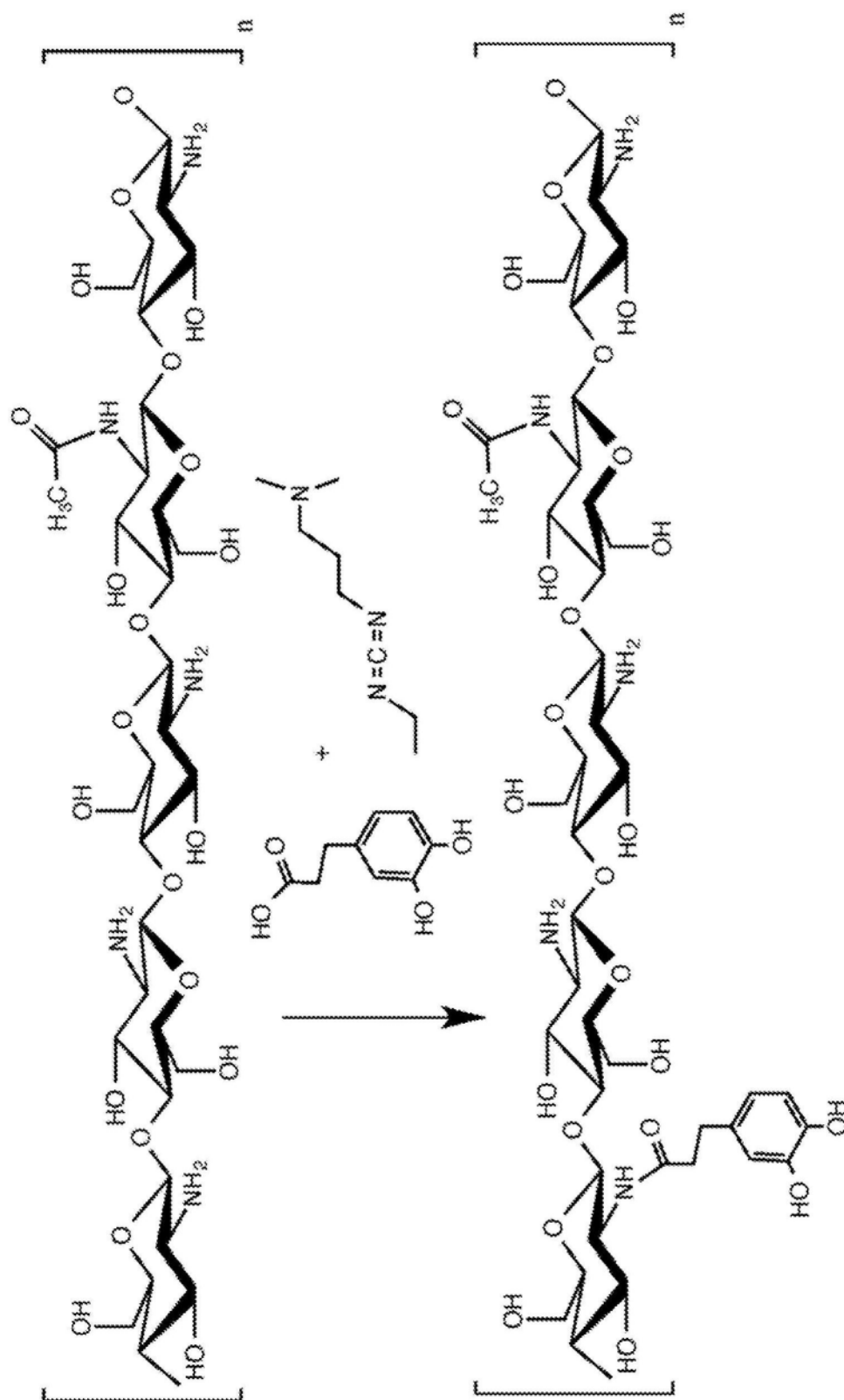


图7

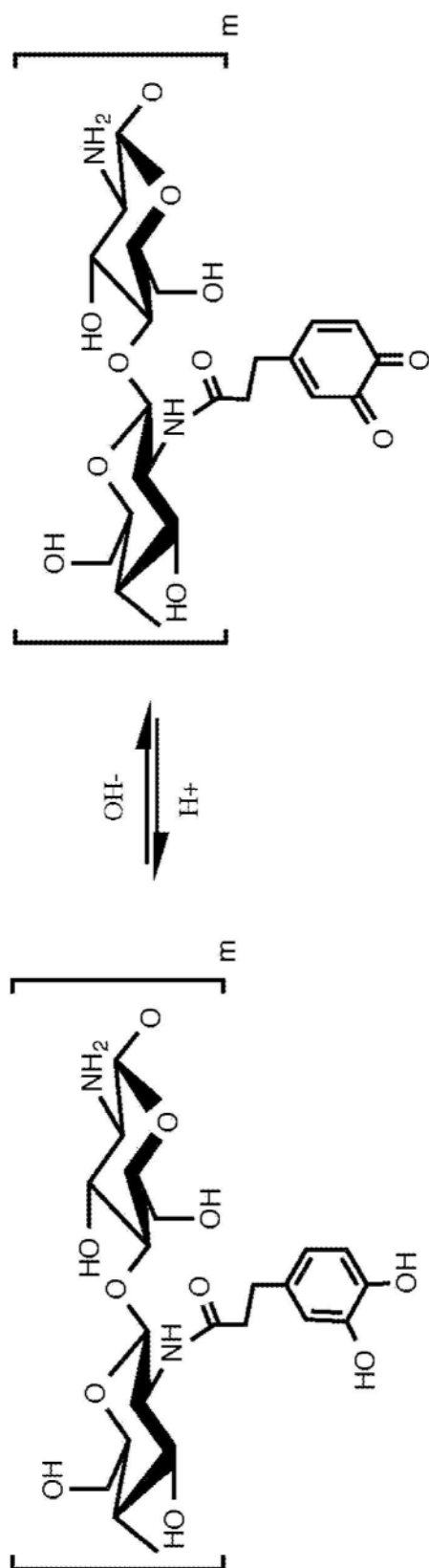


图8

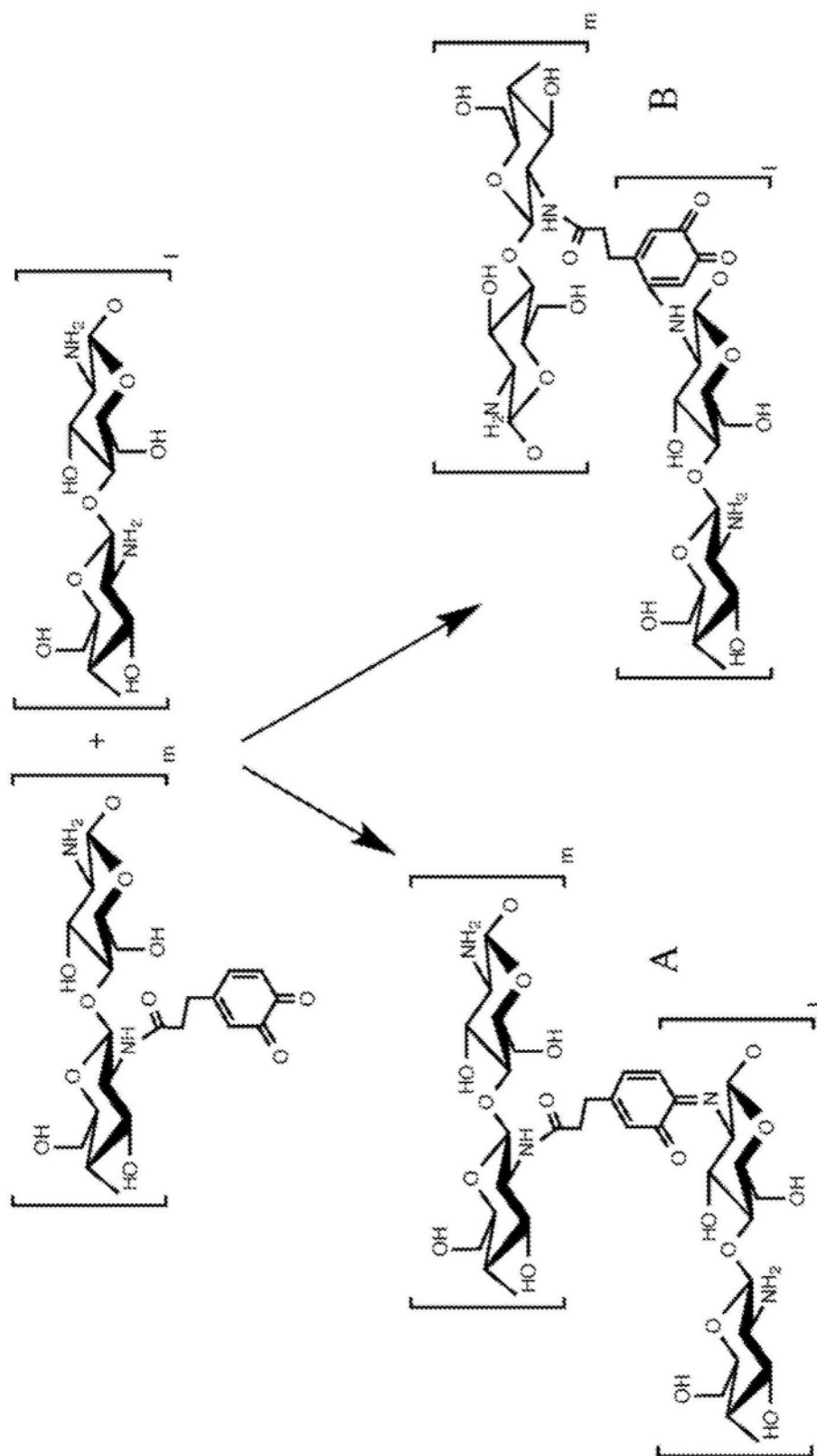


图9

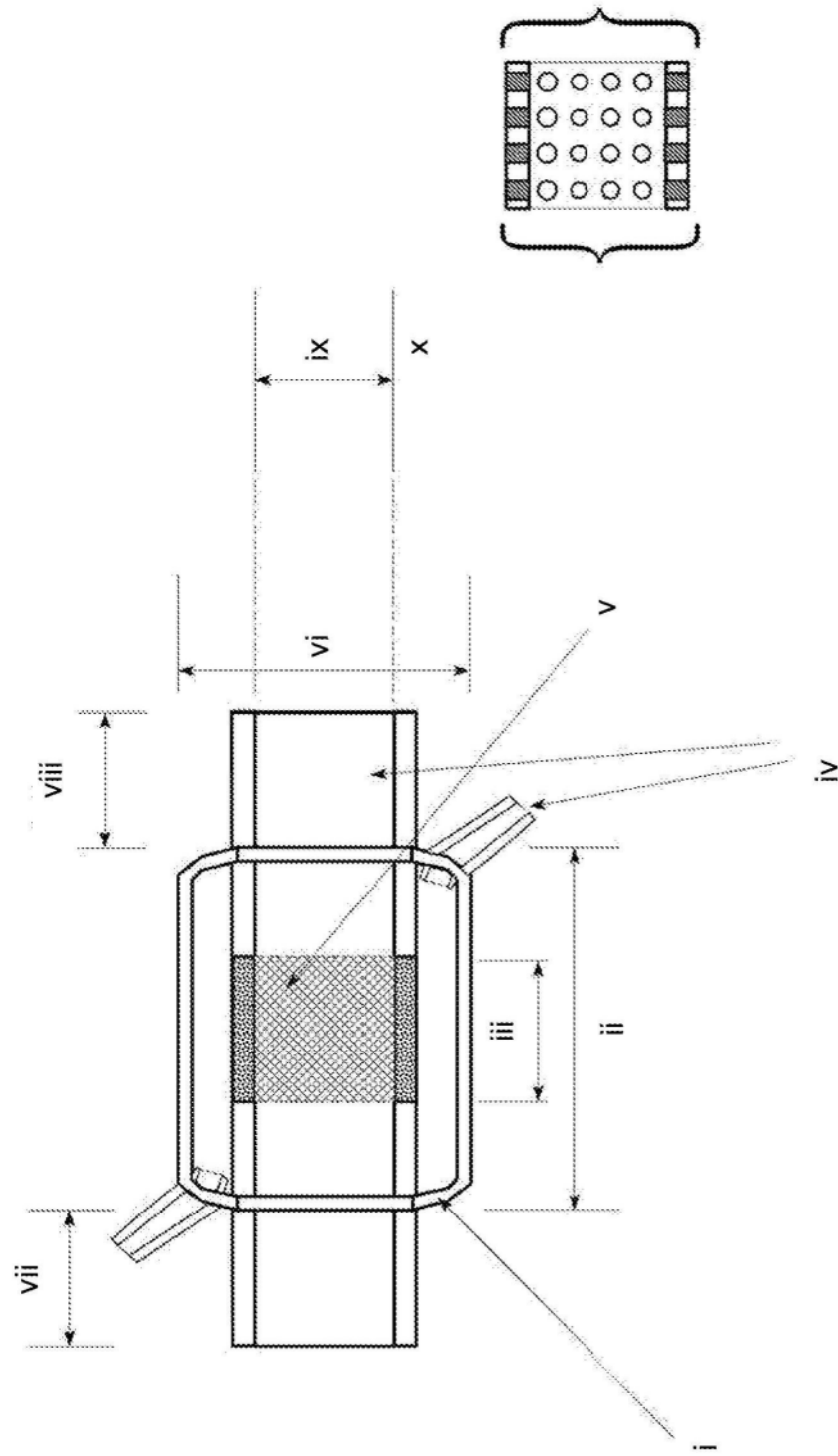


图10

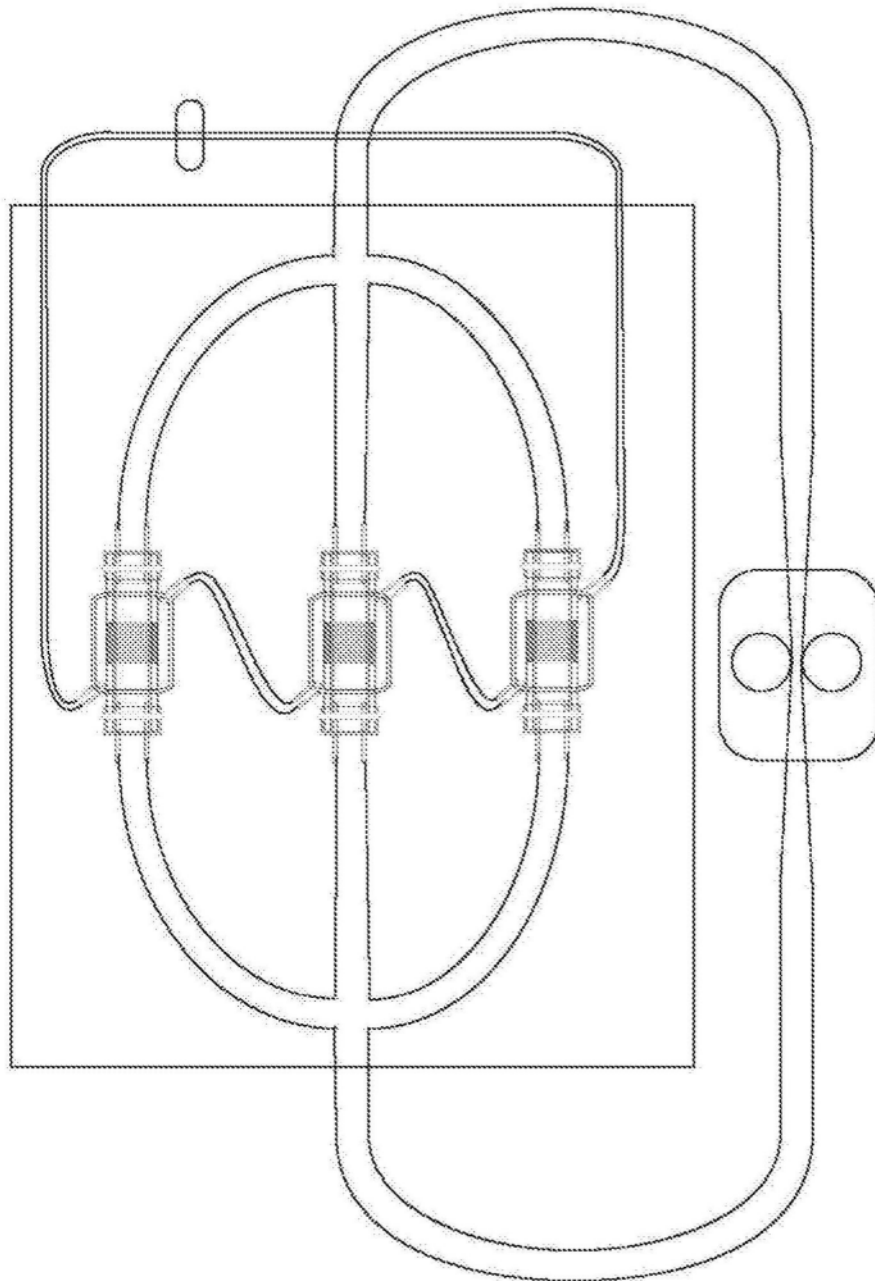


图11

批号 #	儿茶酚 CS ID#	使用的 CS	溶液中的起始 % CS	mmol 游离胺	mmol HCA	mmol EDC HCl	mmol 其他
1	N/A	65010	~0.5	N/A	N/A	N/A	N/A
2	N/A	43000	0.37	N/A	N/A	N/A	N/A
3	N/A	43000	0.48	N/A	N/A	N/A	N/A
4	N/A	65010	~0.5	N/A	N/A	N/A	N/A
5	N/A	65010	~0.5	N/A	N/A	N/A	N/A
6	N/A	43000	0.42	N/A	N/A	N/A	N/A
7	N/A	43000	~0.5	N/A	N/A	N/A	N/A
8	N/A	43000	~0.5	N/A	N/A	N/A	N/A
9	N/A	43000	0.29	N/A	N/A	N/A	N/A
10	N/A	43000	0.72	N/A	N/A	N/A	N/A
11	N/A	43000	0.51	N/A	N/A	N/A	N/A
12	N/A	43000	~0.5	N/A	N/A	N/A	N/A
13	N/A	43000	0.69	N/A	N/A	N/A	N/A
14	N/A	65010	0.46	N/A	N/A	N/A	N/A
15	N/A	43000	0.42	N/A	N/A	N/A	N/A
16	N/A	43000	1.8	N/A	N/A	N/A	N/A
17	N/A	43000	~0.5	N/A	N/A	N/A	N/A
18	N/A	43000	~0.5	N/A	N/A	N/A	N/A
19	N/A	43000	~0.5	N/A	N/A	N/A	N/A
20	N/A	43000	~0.5	N/A	N/A	N/A	N/A
21	21	43000	~0.5	N/A	N/A	N/A	N/A
22	22	43000	1.8	52.6	15.7	31.3	N/A
23	23	43000	0.5	2.94	2.96	5.94	N/A
24	24	43000	0.5	2.94	2.95	5.92	N/A
25	25	43000	0.5	2.92	2.95	5.97	N/A
26	26	43000	0.5	2.95	2.98	6.01	N/A
27	27	43000	0.5	6.20	5.91	11.82	N/A
28	CS-cat, 28	43000	0.5	2.92	0.76	2.97	0.79 mmol NAC, 7.36 mmol NHS
29	CS-cat, 29	43000	0.5	2.95	0.77	2.96	N/A

图12A

批号 #	儿茶酚 CS ID#	使用的 CS	溶液中的起始% CS	mmol 游离胺	mmol HCA	mmol EDC HCl	mmol 其他
30	CS-cat, 30	43000	0.5	2.93	1.48	2.93	N/A
31	CS-cat, 31	43000	0.5	8.74	10.39	12.98	N/A
32	CS-cat, 32	43000	0.5	8.76	10.41	12.98	N/A
33	CS-cat, 33	43000	0.5	2.95	1.49	2.94	N/A
34	CS-cat, 34	43000	0.5	2.96	0.85	2.97	0.81 mmol NAC
35	CS-cat, 35	43000	0.5	8.75	2.39	8.76	2.36 mmol NAC
36	CS-cat, 36	43000	0.5	8.74	1.48	2.95	N/A
37	CS-cat, 37	43000	0.5	8.73	10.41	12.99	N/A
38	CS-cat, 38	43000	0.5	8.74	1.47	2.96	N/A
39	CS-cat, 39	43000	0.5	8.74	2.39	8.75	2.40 mmol NAC
40	CS-cat, 40	43000	0.5	8.75	1.47	2.95	N/A
41	CS-cat, 41	43000	0.5	8.79	1.48	2.96	N/A

图12B

敷料 制品 #	制剂类型	CS	CAT % 取代度	溶液中 % 溶质 (w/w)	模具倾注 深度(mm)	估计的压缩 力(mm)	压缩的敷料 ρ (g/cm ²)	压缩的 敷料信息
1	2% CS, 2% 乙酸 (对照)	65010	N/A	2	5	0.2	0.63	
2	100% CS-Cat, 1	65010	NA	-	5	0.1	-	
3	100% CS-Cat, 1	65010	NA	-	5	0.2	-	
4	100% CS-Cat, 2	43000	21.8	0.4	5	0.1	0.21	
5	25:75 CS-Cat, 2	43000	21.8	-	5	0.1		
6	50:50 CS-Cat, 2	43000	21.8	-	5	0.1		
7	75:25 CS-Cat, 2	43000	21.8	-	5	0.1		
8	100% CS-Cat, 3	43000	11.5	0.5	5	0.1	0.25	
9	50:50 CS-Cat, 3	43000	11.5	-	5	0.1		
10	75:25 CS-Cat, 3	43000	11.5	-	5	0.1		
11	100% CS-Cat, 3	43000	11.5	0.5	5	0.1	0.25	
12	50:50 CS-Cat, 3	43000	11.5	-	5	0.1		
13	75:25 CS-Cat, 3	43000	11.5		5	0.1		
14	脱乙酰壳多糖 乳酸盐/乙酸盐	65010	-	2.8	3	0.15		
15	脱乙酰壳多糖, HPMC (90/10)	65010	-	2.6	3	0.15	0.56	
16	2% CS, 2% 乙酸	65010	-	2	3	0.1	0.6	
17	2% CS, 0.2% 乙酸	65010	-	2	3	0.1	0.6	> 98% 干
18	脱乙酰壳多糖, 泊洛沙姆 90/10	65010	-	2.5	3	0.12	0.63	
19	脱乙酰壳多糖: 蔗糖 0.05%	65010	-	2.2	3	0.12	0.55	
20	脱乙酰壳多糖: 蔗糖 0.1%	65010	-	2	3	0.1	0.6	

图12C

敷料 制品 #	制剂类型	CS	CAT % 取代度	溶液中 % 溶质 (w/w)	模具倾注 深度(mm)	估计的压缩 力(mm)	压缩的敷料 ρ (g/cm ²)	压缩的 敷料信息
21	25:75 CS-Cat, 4:CS 乳酸盐/乙酸盐	43000	11.5	-	3	0.1		
22	50:50 CS-Cat, 4:CS 乳酸盐/乙酸盐	43000	11.5	-	3	0.1		
23	75:25 CS-Cat, 4:CS 乳酸盐/乙酸盐	43000	11.5	-	3	0.1		
24	2% CS, 0.222% HPC	65010	-	2.5	3	0.12	0.63	
25	2% CS, 0.222% HEC	65010	-	2.5	3	0.12	0.63	
26	2% CS 对照	65010	-	2	3	0.1	0.6	
27	1% CS, 0.05% 蔗糖	65010	-	2	2	0.05	0.8	
28	2% CS, 0.05% 山梨醇	65010	-	2	2	0.05	0.8	
29	CS-儿茶酚, 批号 6	43000	7.5	0.4	3	0.05	0.24	
30	CS-儿茶酚, 批号 8	43000	-	-	3	0.05		
31	CS-儿茶酚, 批号 9	43000	-	0.3	3	0.05	0.18	
32	CS-儿茶酚, 批号 10	43000	17	0.7	3	0.05	0.42	
33	CS-儿茶酚, 批号 11	43000	26	0.5	2	0.05	0.2	
34	CS-儿茶酚, 批号 12	43000	-	-	2	0.05		
35	CS-儿茶酚, 批号 13	43000	-	0.7	3	0.05	0.42	
36	CS-儿茶酚, 批号 14	65010	-	0.5	3	0.05	0.3	
37	CS-儿茶酚, 批号 15	43000	-	0.4	3	0.05	0.24	
38	CS-儿茶酚, 批号 16	43000	29	0.6	3	0.05	0.36	

图12D

敷料 制品 #	制剂类型	CS	CAT % 取代度	溶液中 % 溶质 (w/w)	模具倾注 深度(mm)	估计的压缩 力(mm)	压缩的敷料 ρ (g/cm ²)	压缩的 敷料信息
39	CS-儿茶酚, 批号 16	43000	26	1.8	3	0.07	0.77	
40	CS-儿茶酚, 批号 17	43000	-	0.6	3	0.05	0.36	
41	CS-儿茶酚, 批号 18	43000	-	0.7	2	0.05	0.28	
42	CS-儿茶酚, 批号 19	43000	-	0.5	2	0.05	0.20	
43	CS-儿茶酚, 批号 20	43000	-	-	3	0.05		
44	CS-儿茶酚, 批号 21	43000	-	-	3	0.05		
45	CS-儿茶酚, 批号 22-1	43000	7	1.6	3	0.07	0.68	
46	CS-儿茶酚, 批号 22-2	43000	-	1.1	3	0.05	0.66	
47	CS-儿茶酚, 批号 23	43000	13	0.4	3	0.05	0.24	
48	CS-儿茶酚, 批号 24	43000	20	0.3	3	0.05	0.18	
49	CS-儿茶酚, 批号 25	43000	15	0.4	3	0.05	0.24	
50	CS-儿茶酚, 批号 26	43000	25	0.35	10	0.05	0.7	
51	CS-儿茶酚, 批号 27	43000	18	0.3	10	0.05	0.6	
52	CS-儿茶酚, 批号 26	43000	25	1.0	4	0.05	0.8	
53	CS-儿茶酚, 批号 25	43000	15	2.0	2	0.05	0.8	
54	CS-儿茶酚, 批号 28	43000	26	0.3	5	0.05	0.3	
55	50/50 CS-cat, 28/CS	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	
56	65/35 CS-cat, 28/CS	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	
57	CS-儿茶酚, 批号 29	43000	-	0.3	5	0.05	0.3	
58	CS-儿茶酚, 硫醇化	43000	21	0.35	5	0.05	0.7	
59	50/50 CS-cat, 硫醇化/CS	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	

图12E

敷料 制品 #	制剂类型	CS	CAT % 取代度	溶液中% 溶质 (w/w)	模具倾注 深度(mm)	估计的压缩 力(mm)	压缩的敷料 ρ (g/cm2)	压缩的 敷料信息
60	65/35 CS-cat, 硫醇化/CS	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	CS 襟衬的
61	51/49 CS-cat, 硫醇化/CS	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	
62	75/25 CS-cat, 硫醇化/CS	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	
63	CS-儿茶酚, 批号 30	43000	21.74	0.5	5	0.05	0.5	
64	CS-儿茶酚, 批号 31a	43000	-	0.4	5	0.05	0.4	
65	CS-儿茶酚, 批号 31b	43000	-	0.4	5	0.05	0.4	
66	CS-儿茶酚, 批号 31c	43000	-	0.4	5	0.05	0.4	
67	CS-儿茶酚, 批号 32	43000	-	0.5	7	0.05	0.7	
68	CS-儿茶酚, 批号 32	43000	-	0.5	7	0.05	0.7	
69	CS-儿茶酚, 批号 32	43000	-	0.5	7	0.05	0.7	
70	CS-儿茶酚, 批号 32	43000	-	0.5	8	0.05	0.8	
71	CS-儿茶酚, 批号 32	43000	-	0.5	7	0.05	0.7	
72	65/35 CS-cat, 32/CS	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	
73	50/50 CS-cat, 32/CS	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	
74	70/30 CS-cat, 32/CS	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	
75	CS-儿茶酚, 批号 33	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	
76	CS-儿茶酚, 批号 34	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	
77	CS-儿茶酚, 批号 35	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	
78	70/30 CS-cat 35/CS	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	
79	70/30 CS-cat 35/CS	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	
80	CS-儿茶酚, 批号 36	43000	-	0.5	3	0.05	0.3	CS 襟衬的

图12F

敷料 制品 #	制剂类型	CS	CAT % 取代度	溶液中% 溶质 (w/w)	模具倾注 深度(mm)	估计的压缩 力(mm)	压缩的敷料 ρ (g/cm2)	压缩的 敷料信息
81	CS-儿茶酚, 批号 37	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	
82	CS-儿茶酚, 批号 38	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	
83	70/30 CS-儿茶酚, 批号 39/CS	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	CS 襟衬的
84	CS-儿茶酚, 批号 40	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	CS 襟衬的
85	CS-儿茶酚, 批号 41	43000	-	0.5	5	0.05	0.5	CS 襟衬的

图12G

数料 制品 #	制剂类型	溶解时间(小 时)	可折叠性 F = 失败 P = 合格	破裂测试	离体	加速稳定性	体内
1	2% CS, 2% 乙酸 (Co-rol)	2	F	-	-	-	-
2	100% CS-Cat, 1	-	P	-	-	-	-
3	100% CS-Cat, 1	-	P	-	-	-	-
4	100% CS-Cat, 2	61.7	P	-	-	-	-
5	25:75 CS-Cat, 2	15.6	P	-	-	-	-
6	50:50 CS-Cat, 2	35.7	P	-	-	-	-
7	75:25 CS-Cat, 2	168	P	-	-	-	-
8	100% CS-Cat, 3	-	P	-	-	-	-
9	50:50 CS-Cat, 3	27	P	-	-	-	-
10	75:25 CS-Cat, 3	57.8	P	-	-	-	-
11	100% CS-Cat, 3	68.8	P	-	-	-	-
12	50:50 CS-Cat, 3	31.7	P	-	-	-	-
13	75:25 CS-Cat, 3	68.5	P	-	-	-	-
14	脱乙酰壳多糖 乳酸盐/乙酸盐	5.8	F	-	-	-	-
15	脱乙酰壳多糖, HPMC (90/10)	2.8	F	-	-	-	-
16	2% CS, 2% 乙酸	0.7	F	-	-	-	-
17	2% CS, 0.2% 乙酸	1.8	F	-	-	-	-
18	脱乙酰壳多糖, 泊洛沙姆 90/10	1.5	F	-	-	-	-
19	脱乙酰壳多糖: 蔗糖 0.05%	6.7	F	-	-	-	-
20	脱乙酰壳多糖: 蔗糖 0.1%	1	F	-	-	-	-

图13A

敷料 制品 #	制剂类型	溶解时间(小 时)	可折叠性 F = 失败 P = 合格	破裂测试	离体	加速稳定性	体内
21	25:75 CS-Cat, 4:CS 乳酸盐/乙酸盐	2	P	-	-	-	-
22	50:50 CS-Cat, 4:CS 乳酸盐/乙酸盐	2	P	-	-	-	-
23	75:25 CS-Cat, 4:CS 乳酸盐/乙酸盐	2	P	-	-	-	-
24	2% CS, 0.222% HPC	-	F	-	-	-	-
25	2% CS, 0.222% HEC	-	F	-	-	-	-
26	2% CS Co-rol	-	F	-	-	-	-
27	1% CS, 0.05% 蔗糖	6.7	F	-	-	-	-
28	2% CS, 0.05% 山梨醇	19	F	-	-	-	-
29	CS-儿茶酚, 批号 6	120	P	-	-	-	-
30	CS-儿茶酚, 批号 8	92	P	-	-	-	-
31	CS-儿茶酚, 批号 9	NA	P	-	-	-	-
32	CS-儿茶酚, 批号 10	16.3	P	-	-	-	-
33	CS-儿茶酚, 批号 11	26	P	-	-	-	-
34	CS-儿茶酚, 批号 12	NA	P	-	-	-	-
35	CS-儿茶酚, 批号 13	27	P	-	-	-	-
36	CS-儿茶酚, 批号 14	46	P	-	-	-	-
37	CS-儿茶酚, 批号 15	27	P	-	-	-	-
38	CS-儿茶酚, 批号 16	-	P	-	-	-	-
39	CS-儿茶酚, 批号 16	32	F	-	-	-	-
40	CS-儿茶酚, 批号 17	20	P	-	-	-	-

图13B

敷料制品 #	制剂类型	溶解时间(小时)	可折叠性 F = 失败 P = 合格	破裂测试	离体	加速稳定性	体内
41	CS-儿茶酚, 批号 18	57.8	P	-	-	-	-
42	CS-儿茶酚, 批号 19	13.6	P	-	-	-	-
43	CS-儿茶酚, 批号 20	23	P	-	-	-	-
44	CS-儿茶酚, 批号 21	71.7	P	-	-	-	-
45	CS-儿茶酚, 批号 22-1	46	P	-	-	-	-
46	CS-儿茶酚, 批号 22-2	71	P	-	-	-	-
47	CS-儿茶酚, 批号 23	24	P	-	-	-	-
48	CS-儿茶酚, 批号 24	23	P	-	-	-	-
49	CS-儿茶酚, 批号 25	14.8	P	-	-	-	-
50	CS-儿茶酚, 批号 26	-	P	-	-	-	-
51	CS-儿茶酚, 批号 27	-	P	-	-	-	-
52	CS-儿茶酚, 批号 26	-	P	-	-	-	-
53	CS-儿茶酚, 批号 25	-	P	-	-	-	-
54	CS-儿茶酚, 批号 28	-	P	-	-	-	-
55	50/50 CS-cat, 28/CS	65	P	-	-	-	-
56	65/35 CS-cat, 28/CS	44	P	-	-	-	-
57	CS-儿茶酚, 批号 29		P	-	-	-	-
58	CS-儿茶酚, 硫醇化		P	-	-	-	-
59	50/50 CS-cat, 硫醇化/CS	47	P	-	-	-	-
60	65/35 CS-cat, 硫醇化/CS	84.2	P	-	-	-	-

图13C

敷料制品 #	制剂类型	溶解时间(小时)	可折叠性 F = 失败 P = 合格	破裂测试	离体	加速稳定性	体内
61	51/49 CS-cat, 硫醇化/CS	43.3	P	-	-	-	-
62	75/25 CS-cat, 硫醇化/CS	71	P	-	-	-	-
63	CS-儿茶酚, 批号 30	90	P	-	-	-	-
64	CS-儿茶酚, 批号 31a	156.7	P	-	-	-	-
65	CS-儿茶酚, 批号 31b	133.3	P	-	-	-	-
66	CS-儿茶酚, 批号 31c	122	P	-	-	-	-
67	CS-儿茶酚, 批号 32	128.3	P	-	-	-	-
68	CS-儿茶酚, 批号 32	144.5	P	-	-	-	-
69	CS-儿茶酚, 批号 32	200	P	-	-	-	-
70	CS-儿茶酚, 批号 32	240	P	-	-	-	-
71	CS-儿茶酚, 批号 32	215	P w/衬	-	-	-	A, 急性体内 1
72	65/35 CS-cat, 32/CS	107.6	P	-	-	-	-
73	50/50 CS-cat, 32/CS	9.5	P	-	-	-	-
74	70/30 CS-cat, 32/CS	142	P	-	-	-	-
75	CS-儿茶酚, 批号 33	109.8	P	-	-	-	C, 急性体内 1
76	CS-儿茶酚, 批号 34		P	-	-	-	-
77	CS-儿茶酚, 批号 35	-	-	-	-	-	-
78	70/30 CS-cat 35/CS	66	P	-	-	-	B, 急性体内 1

图13D

敷料制品 #	制剂类型	溶解时间(小时)	可折叠性 F = 失败 P = 合格	破裂测试	离体	加速稳定性	体内
79	70/30 CS-cat 35/CS	59.3	P	-	-	-	-
80	CS-儿茶酚, 批号 36	65.5	P	-	Y	-	C, 急性体内 2
81	CS-儿茶酚, 批号 37		P	-	-	-	A, 急性体内 2
82	CS-儿茶酚, 批号 38		P	-	-	-	-
83	70/30 CS-儿茶酚, 批号 39/CS	168	P	Y	Y	6 mo-hs	B, 急性体内 2
84	CS-儿茶酚, 批号 40	168	P	Y	-	6 mo-hs	C, 慢性体内
85	CS-儿茶酚, 批号 41	-	P	Y	-	-	-

图13E

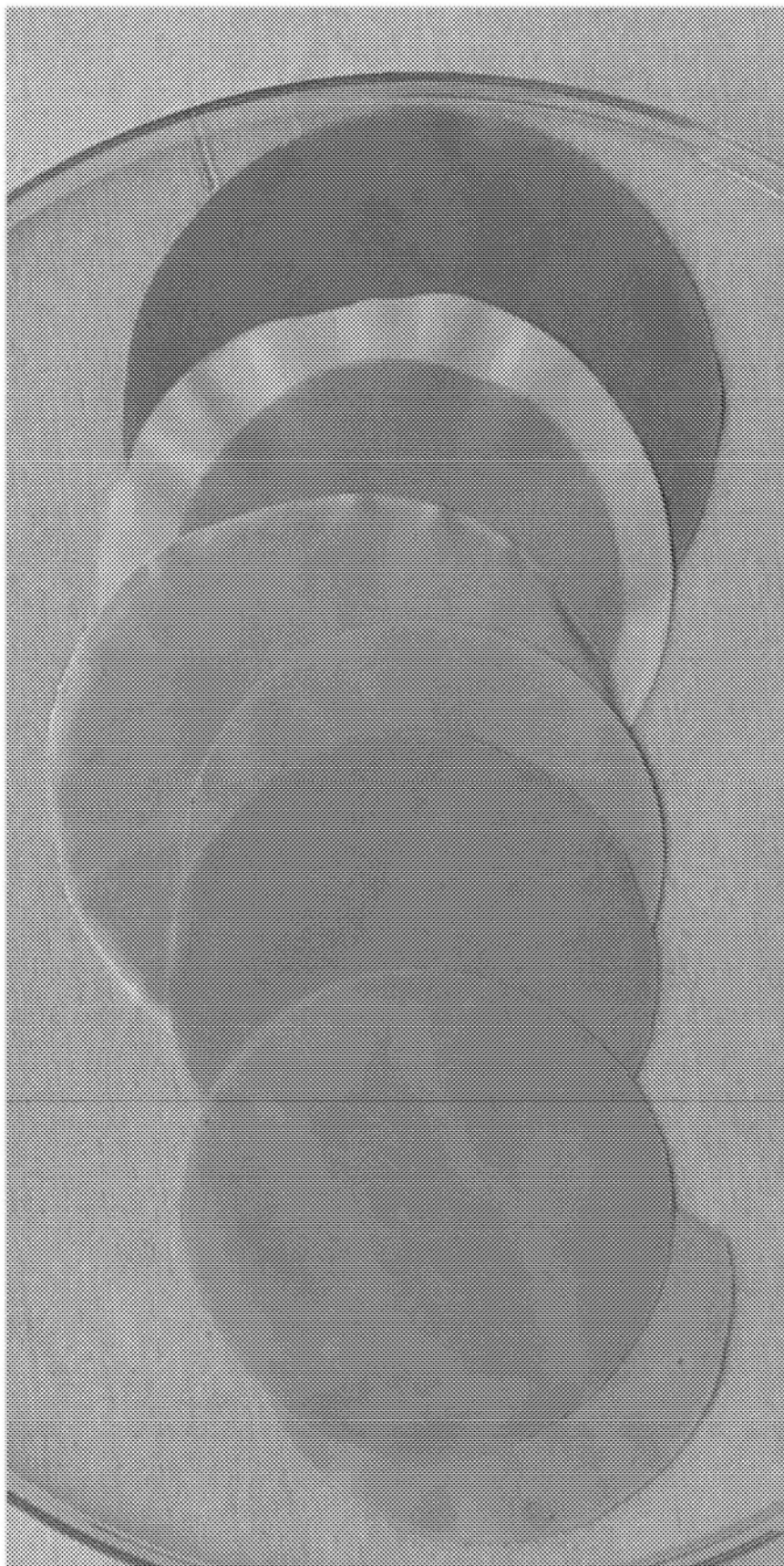


图14

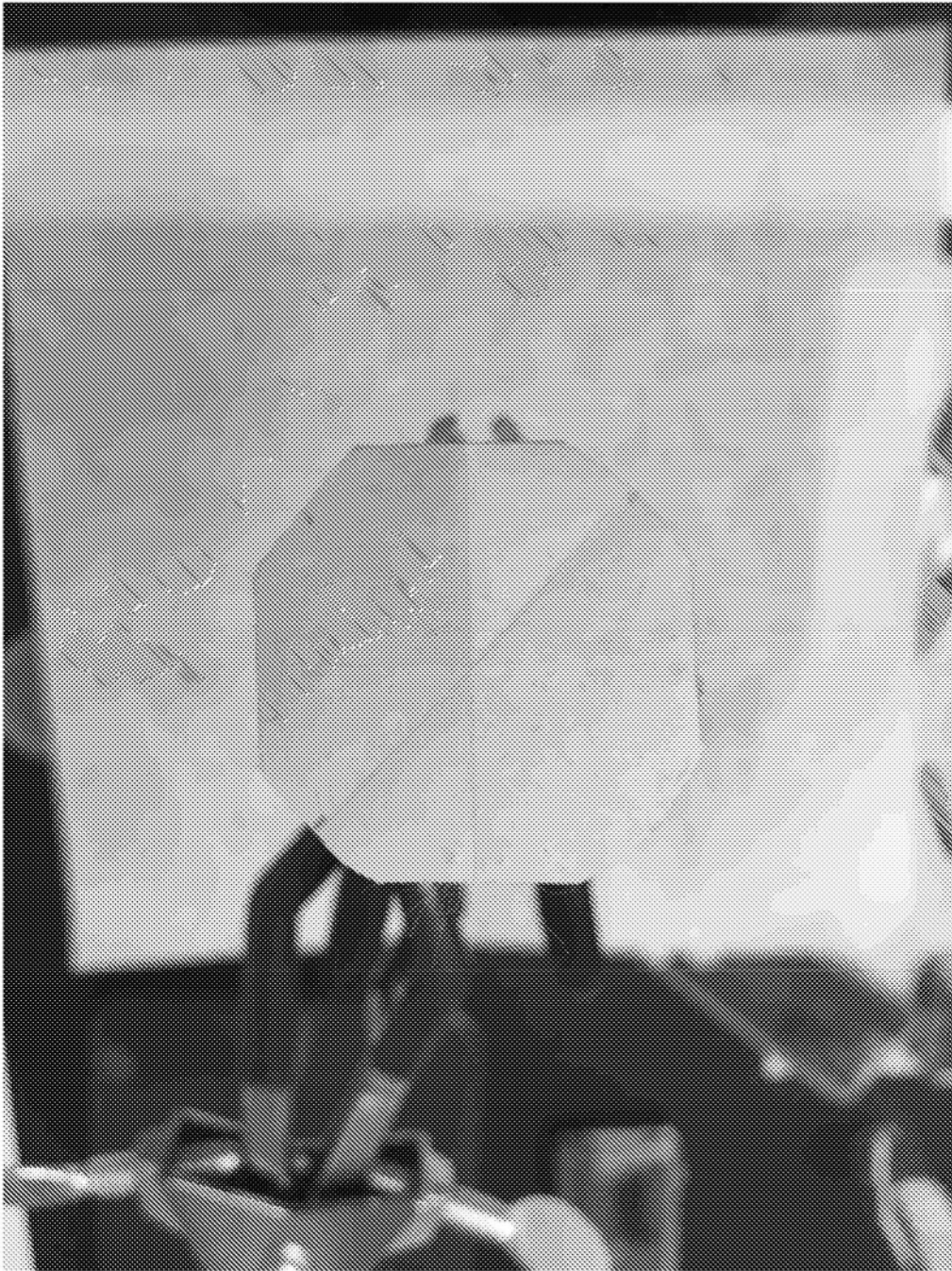


图15

代码 #	原型	层	测试试管测试 (mins)	烧杯测试(小时)	可折叠性	体内筛选 #1	体内筛选 #2	体内筛选 #3
A01	2Ch	N		0	Y			
A02	2Ch	N		0	Y			
A03	2Ch	N		0	Y			
A04	4Ch	N		>8	Y			
A05	2ChGlycer	N	<15					
A06	2Ch1cel	N		0	Y			
A07	2Ch1Gel	N		1	Y	N		
A08	10Gel	N			N		N	
A09	2PAA	N			N			
A10	1PAA	N		1	Y	N		
A11	2PAA	N		0	N			
A12	0.3PAA	N			N			
B01	2Ch35DDA1	N	<15					
B02	2Ch35DDA2	N	<15					
B03	2Ch40DDA1	N	<15					
B04	2Ch40DDA2	N	<15					
C01	5 淀粉	N	<15					
C02	3 果胶	N	<15					
C03	3 瓜尔胶	N	>60	>7	N	N		
C03-2	3Gu	N		24	N			
C04	3.5Gu	N		0	N			
C05	2Gu1cel	N		>4	N			
C06	3Gu0.1Pol	N		>4	N			
C06-2	3Gu0.1Pol	N		24	N			
C07	3.5Gu0.1Pol	N		23	N	Y		

图16A

代码 #	原型	层	测试试管测试 (mins)	烧杯测试(小时)	可折叠性	体内筛选 #1	体内筛选 #2	体内筛选 #3
D01	1Ch5 淀粉 1	N	<15	2	N			
D02	1Ch1 果胶 1	N	<15					
D03	1Ch1 瓜尔胶 1	N	>60	2	Y			
D04	1Ch5 淀粉 2	Y	<15		Y (破裂)			
D05	1Ch1 果胶 2	Y	<15					
D06	1Ch1 瓜尔胶 1	Y	>60	0.25/6-17	Y (破裂)			
D07	4Ch2.5Gu	Y		0.25/6-23	Y (破裂)			
D08	2Ch2.5Gu	Y		0.25/3-19	Y (破裂)			
D09	4Ch2.5Gu	Y			Y (破裂)			
D10	2Ch2.5Gu	Y			Y (破裂)			
D11	2Ch1Gu	N			Y (破裂)			
D12	3Ch0.6Gu	N		3	Y (破裂)			
D13	2Ch1.25Gu	N		3	Y (破裂)			
D14	1Ch1.9Gu	N		2	Y (破裂)			
D15	0.7Ch2.1Gu	N		2	Y (破裂)			
D16	1.5Gu1Cat	N		2	Y (破裂)			
D17	4Ch3Gu	N		3	N			
D18	2Ch2Gu	N		>5	N			
D19	3Gu4Ch	Y		24	Y (破裂)	N		
D20	3Gu0.1Pol4Ch	Y		0	Y			
D21	0.1PAA2Gu	N			Y (破裂)			
D22	1PAA3Gu	N		31	N	N, N, N		
D23	1PAA2Gu	N		48	N	N		
D24	4Ch0.1Pect	N		2-19	Y	Y, N	Y, Y, Y, Y	N, Y, Y, N

图16B

代码 #	原型	层	测试试管测试 (mins)	烧杯测试(小时)	可折叠性	体内筛选 #1	体内筛选 #2	体内筛选 #3
E1	Ch 儿茶酚	N		42	Y	Y, N, Y,	Y, N, N, N	N, N, N, N
E2	Ch 儿茶酚	N			Y	Y, N	N, N, N, N, N	N, Y, Y, Y, N, N, N
F01	2Ch1Cat1Gu	Y			Y (破裂)			
F02	1Cat1Gu	N			Y	N		
F03	1Cat3Gu	N		>6	N	N		
F04	0.5Cat1Gu0.5Ch	N			N	Y		
F05	0.5Cat3Gu0.5Ch	N		>6	N	N		
F06	1Cat1PAA	N			N			
F07	1Cat1Gu1PAA	N			Y			
F08	1Cat3Gu1PAA	N			Y			
F09	1Cat0.25Gu0.25PAA	N			Y			
F10	1Cat1Gu0.25PAA	N			Y			
F11	0.25Cat1.5Ch	N		2	Y		N, Y, Y, Y	N, N, Y, Y
F12	0.75Cat0.5Ch	N			N		Y, N, N, N, N	Y, N, Y, Y
F13	0.75cat0.5Ch1Gu	N					N	
F14	0.5Cat1.5Ch	N			Y			
G01	纳米纤维 (Nanofiber)							
H01	12GSM PatchPro	N		2	Y		N, Y, N, N, Y	Y, Y, Y, Y
H02	纱布	NA		NA	NA	Y	Y	
		NA		NA	NA		N, N, N, Y, N	N, N, Y, Y

图16C

代码 #	原型	% 脱乙酰壳 多糖	脱乙酰壳 多糖批号	%乙 酸	%DDA	% 脱乙酰壳 多糖 儿茶酚	儿茶酚 方法	%PAA	%淀粉	%果胶	%瓜尔 胶	混合物	层	壳多糖微 纤维	注释 1
A01	2Ch	2	A	2	80										
A02	2Ch	2	B	1	95										
A03	2Ch	2	B	2	95										
A04	4Ch	4	B	2	95										
A05	2ChGlycer	2	A	2	40										+2% 甘油
A06	2ChIcel	2	A	1	80							是			1% 纤维素
A07	2ChIGel	2	A	1	80							是			1% 明胶
A08	10Gel														10% 明胶
A09	2PAA							2							
A10	1PAA							1							
A11	2PAA							2							
A12	0.3PAA							0.25							
B01	2Ch35DDA1	2	A	2	35										
B02	2Ch35DDA2	2	A	2	35									是	0.1% 壳多糖
B03	2Ch40DDA1	2	A	2	40										
B04	2Ch40DDA2	2	A	2	40									是	0.1% 壳多糖
C01	5 淀粉								5						单一聚合物
C02	3 果胶									3					单一聚合物
C03	3 瓜尔胶										3				单一聚合物
C03-2	3Gu										3				
C04	3.5Gu										3.5				
C05	2GuIcel														
C06	3Gu0.1Pol										2	是			1% 纤维素
C06-2	3Gu0.1Pol										3	是			0.1 Polox
C07	3.5Gu0.1Pol										3	是			0.1% Polox
											3.5	是			0.1% Polox

图17A

代码 #	原型	% 脱乙酰壳多糖	脱乙酰壳 多糖批号	%乙 酸	%DDA	% 脱乙酰壳多糖 儿茶酚	儿茶酚 方法	%PAA	%淀粉	%果胶	%瓜尔 胶	混合物	层	壳多糖微 纤维	注释 1
D01	1Ch5 淀粉 1	1	A	1	80				5			是			
D02	1Ch1 果胶 1	1	A	1	80					1		是			
D03	1Ch1 瓜尔胶 1	1	A	1	80						1	是			
D04	1Ch5 淀粉 2	1	A	1	80				5				是		
D05	1Ch1 果胶 2	2	A	2	80					1			是		
D06	1Ch1 瓜尔胶 1	2	A	2	80						1		是		
D07	4Ch2.5Gu	4	B	2	95						2.5		是		
D08	2Ch2.5Gu	2	B	2	95						2.5		是		
D09	4Ch2.5Gu	4	B	2	95						2.5		是		
D10	2Ch2.5Gu	2	B	2	95						2.5		是		↑瓜尔胶层
D11	2Ch1Gu	2	B	2	95						1.25	是			
D12	3Ch0.6Gu	3	B	2	95						0.625	是			
D13	2Ch1.25Gu	2	B	2	95						1.25	是			
D14	1Ch1.9Gu	1	B	2	95						1.875	是			
D15	0.7Ch2.1Gu	0.68	B	2	95						2.075	是			
D16	1.5Gu1Cat					1	1				1.5	是			
D17	4Ch3Gu	4	B	2	95						3	是			
D18	2Ch2Gu	2	A	2	80						2	是			
D19	3Gu4Ch	4	B	2	95						3		是		
D20	3Gu0.1Pol4Ch	4	B	2	95						3	是	是		Gu+0.1% Polox
D21	0.1PAA2Gu							0.07			2.21	是			
D22	1PAA3Gu							1			3	是			
D23	1PAA2Gu							1			2	是			
D24	4Ch0.1Pect	4	B	2	95							是			0.1 果胶
E01	Ch 儿茶酚					1	2								
E02	Ch 儿茶酚					1	3								

图17B

代码 #	原型	% 脱乙酰壳 多糖	脱乙酰壳 多糖批号	% 乙 酸	%DDA	% 脱乙酰壳 多糖 儿茶酚	儿茶酚 方法	%PAA	%淀粉	%果胶	%瓜尔 胶	混合物	层	壳多糖微 纤维	注释 1
F01	2Ch1Cat1Gu	2	B	2	95	1	3				2.5		是		
F02	1Cat1Gu					1	1				1	是			
F03	1Cat3Gu					1	1				3	是			
F04	0.5Cat1Gu0.5Ch	0.5	A	1	80	0.5	1				1	是			
F05	0.5Cat3Gu0.5Ch	0.5	A	1	80	0.5	1				3	是			
F06	1Cat1PAA					1	1	1				是			
F07	1Cat1Gu1PAA					1	1	1			1	是			
F08	1Cat3Gu1PAA					1	1	1			3	是			
F09	1Cat0.25Gu0.25PAA					1	1	0.25			0.25	是			
F10	1Cat1Gu0.25PAA					1	1	0.25			1	是			
F11	0.25Cat1.5Ch	1.5	A	1	80	0.25	2					是			
F12	0.75Cat0.5Ch	0.5	A	1	80	0.75	1					是			
F13	0.75cat0.5Ch1Gu	0.5	A	1	80	0.75	3				1	是			
F14	0.5Cat1.5Ch	1.5	A	2	80	0.5	3					是			
G01	纳米纤维 12GSM														

图17C



图18

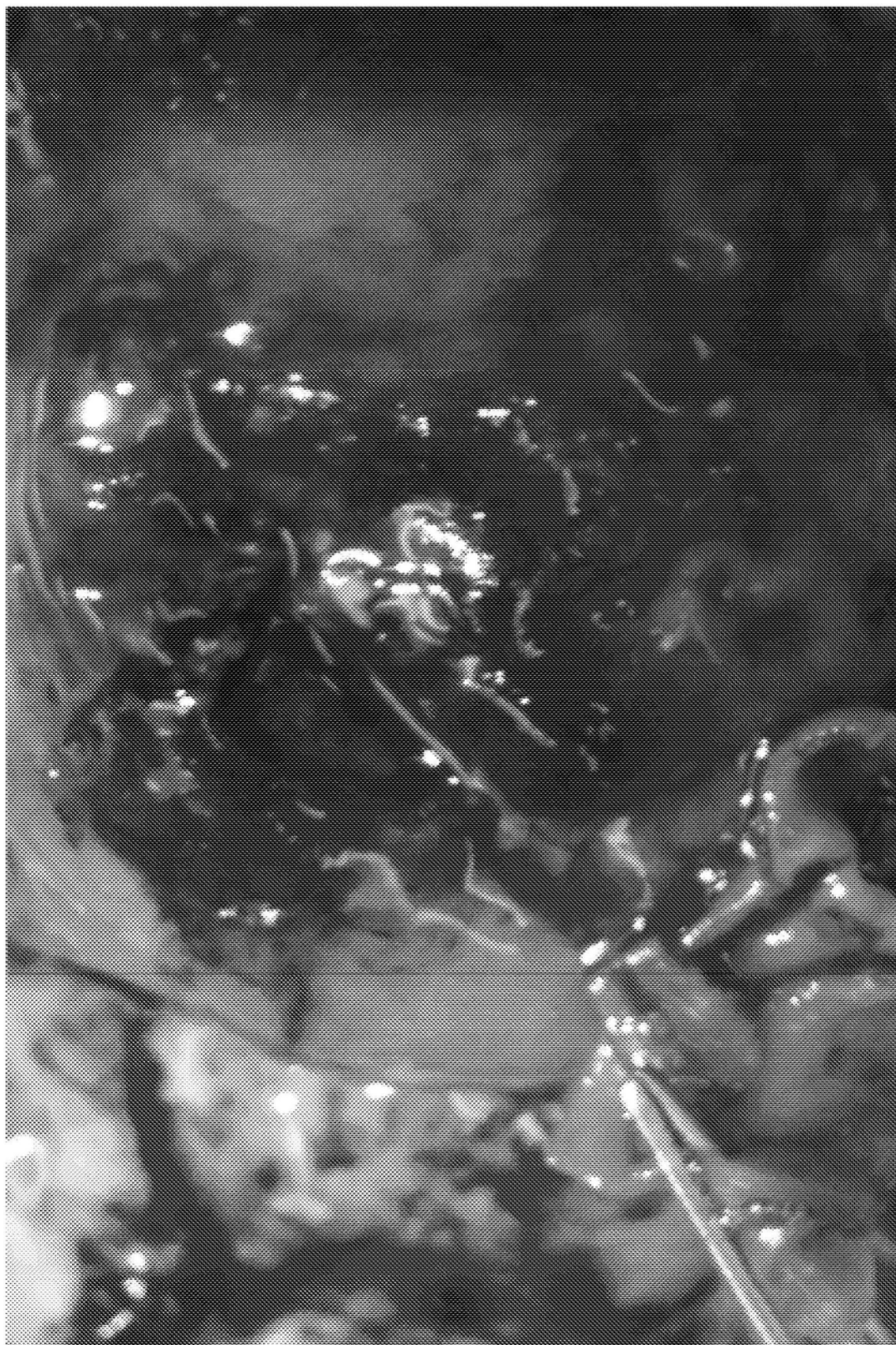


图19

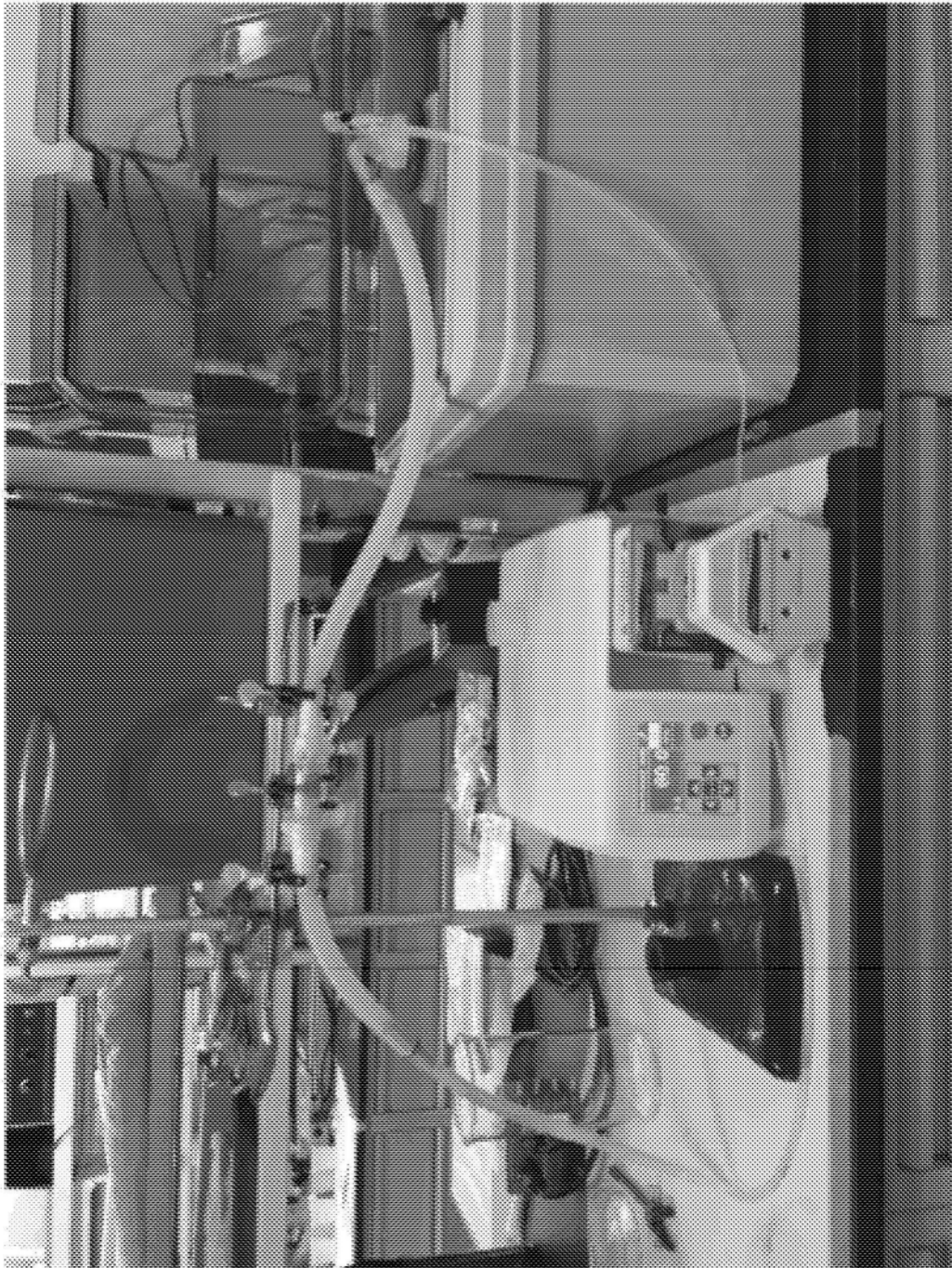


图20



图21

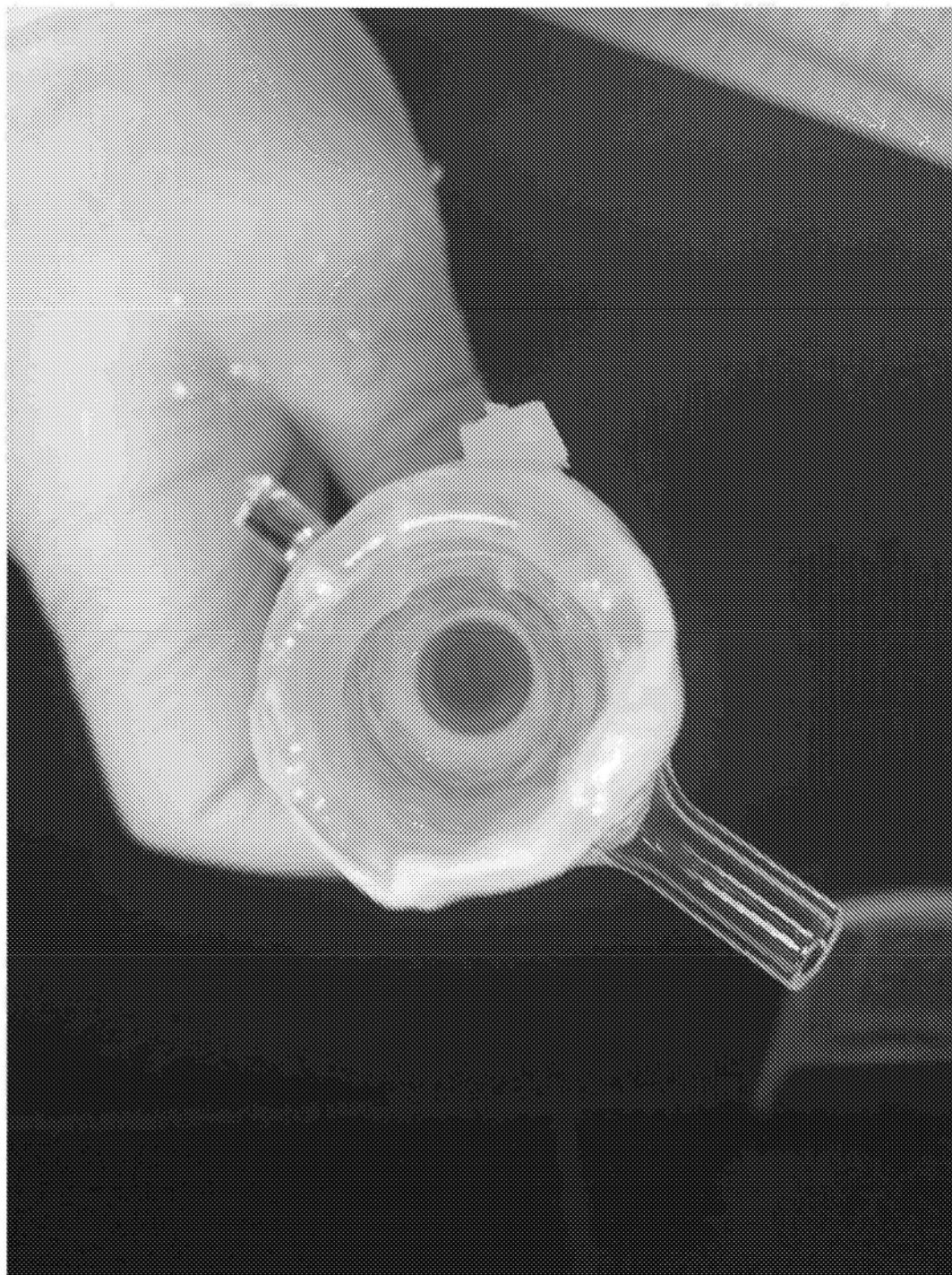


图22



图23

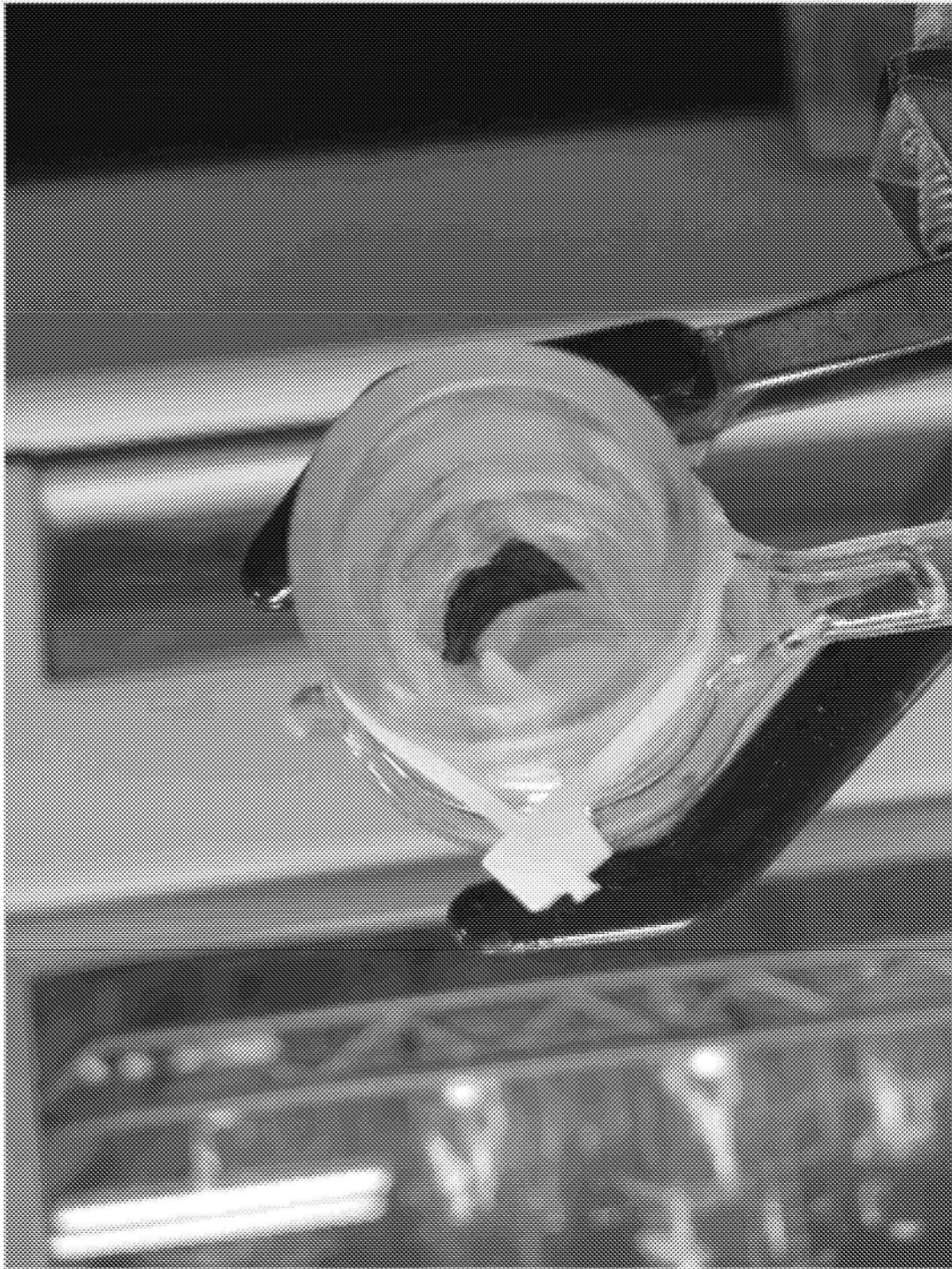


图24



图25



图26