



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101583383 B

(45) 授权公告日 2013.12.25

(21) 申请号 200780049937.6

(22) 申请日 2007.11.30

(30) 优先权数据

323720/2006 2006.11.30 JP

11/881,941 2007.07.30 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009.07.15

(86) PCT申请的申请数据

PCT/JP2007/073251 2007.11.30

(87) PCT申请的公布数据

W02008/066182 JA 2008.06.05

(73) 专利权人 BMG 株式会社

地址 日本京都

(72) 发明人 中岛直喜 须贺井一 近田英一

玄丞然

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 陈昕

(51) Int. Cl.

A61L 24/00(2006.01)

(56) 对比文件

CN 1150070 A, 1997.05.21, 说明书第 3-9

段.

CN 1888002 A, 2007.01.03, 说明书第 5-11

段.

WO 2006080523 A1, 2006.08.03, 具体实施方式.

审查员 林丹丹

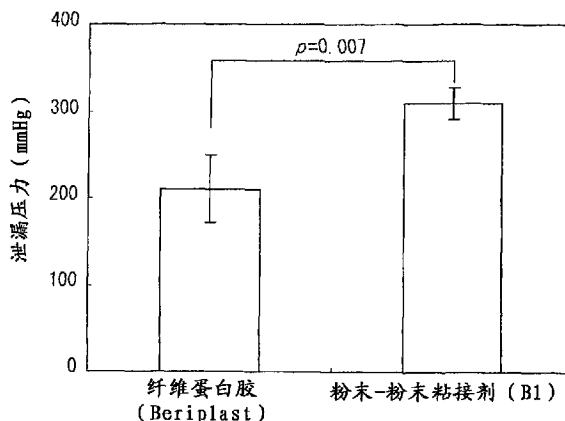
权利要求书3页 说明书15页 附图11页

(54) 发明名称

具有自分解性的粉末-液体及粉末-粉末的
2 反应剂型的医疗用粘接剂

(57) 摘要

本发明提供一种自分解性的医疗用粘接剂, 该粘接剂即使对于大量渗出血液和其他生物体液的部位也能进行充分粘接, 特别是这种部位为垂直面的情况下也可以毫无问题地进行粘接操作。另外, 本发明提供一种针孔堵塞性优良的医疗用粘接剂。该粘接剂是将重均分子量为 1000 ~ 20 万的醛化 α -葡聚糖的粉末作为第 1 反应剂, 将由含氨基单元的链构成的含氨基聚合物的水溶液或粉末作为第 2 反应剂。上述含氨基聚合物的重均分子量为 1000 ~ 2 万, 在将上述第 1 反应剂和第 2 反应剂混合时, pH 值为 5.0 ~ 8.0。



1. 医疗用 2 反应剂型粘接剂,其特征在于,由粉末混合物构成,其中,将含有重均分子量为 1000 ~ 20 万的醛化 α -葡聚糖的粉末的第 1 反应剂和含有重均分子量为 1000 ~ 2 万的聚-L-赖氨酸 (A) 的粉末 (B) 的第 2 反应剂相互混合,使醛基 / 氨基的摩尔比为 0.9 ~ 3.5,

其中,

将本身为粉末混合物形式的粘接剂与压缩空气一起喷出来进行喷雾,涂布在被体液或血液湿润、或者已经被生理盐水或蒸馏水湿润的要粘接的部位,

上述醛化 α -葡聚糖是通过将右旋糖酐或糊精用高碘酸或高碘酸盐氧化,在每个葡糖酐单元中引入 0.1 ~ 1.0 个醛基而得到的,

上述醛化 α -葡聚糖的粉末和聚-L-赖氨酸的粉末 (B) 均为无规形状的多孔体,其平均粒径均为 10 ~ 150 μm ,并且,

上述粉末混合物的水含量为 2.0% 以下,当其溶于水时,其 pH 值为 5.0 ~ 8.0。

2. 权利要求 1 所述的医疗用 2 反应剂型粘接剂,其特征在于,上述醛化 α -葡聚糖的粉末和上述聚-L-赖氨酸的粉末 (B) 是通过将水溶液冻干后,将该冻干产物进行机械粉碎而得到的。

3. 权利要求 1 所述的医疗用 2 反应剂型粘接剂,其特征在于,向上述第 2 反应剂中添加 1 ~ 10 重量%的乙酸、柠檬酸、琥珀酸、戊二酸、苹果酸、富马酸、马来酸、或者其他的 1 元或多元羧酸化合物、或者与这些酸中的至少一种相对应的羧酸酐。

4. 医疗用 2 反应剂型粘接剂,其特征在于,由粉末混合物构成,其中,将含有重均分子量为 1000 ~ 20 万的醛化 α -葡聚糖的粉末的第 1 反应剂和含有向重均分子量为 1000 ~ 2 万的聚-L-赖氨酸 (A) 中添加羧酸酐而得到的添加有酸酐的聚-L-赖氨酸的粉末 (B1) 的第 2 反应剂相互混合,使醛基 / 氨基的摩尔比为 0.9 ~ 3.5,

其中,

上述醛化 α -葡聚糖是通过将右旋糖酐或糊精用高碘酸或高碘酸盐氧化,在每个葡糖酐单元中引入 0.1 ~ 1.0 个醛基而得到的,

上述醛化 α -葡聚糖的粉末和上述添加有酸酐的聚-L-赖氨酸的粉末 (B1) 均为无规形状的多孔体,其平均粒径均为 10 ~ 150 μm ,

当将上述第 1 反应剂与第 2 反应剂混合时,pH 值为 5.0 ~ 8.0。

5. 权利要求 4 所述的医疗用 2 反应剂型粘接剂,其中,上述羧酸酐是与乙酸、柠檬酸、琥珀酸、戊二酸、苹果酸、富马酸、马来酸、或者其他的羧酸化合物中的至少一种相对应的酸酐。

6. 权利要求 4 所述的医疗用 2 反应剂型粘接剂,其中,上述添加有酸酐的聚-L-赖氨酸的粉末 (B1) 是通过向 25 重量%的 ϵ -聚赖氨酸水溶液 10ml 中添加琥珀酸酐 0.5g 和蒸馏水 14.5ml,得到 10 重量%的中性聚赖氨酸水溶液,然后冻干后进行机械粉碎而得到的。

7. 权利要求 4 所述的医疗用 2 反应剂型粘接剂,其特征在于,上述粉末混合物溶于水时的 pH 是 5.0 ~ 8.0。

8. 权利要求 1 ~ 7 任一项所述的医疗用 2 反应剂型粘接剂,其特征在于,上述醛化 α -葡聚糖的粉末、以及上述聚-L-赖氨酸的粉末 (B)、上述经过酸添加处理的聚-L-赖氨酸的粉末、或者上述添加有酸酐的聚-L-赖氨酸的粉末 (B1) 的平均粒径均为 20 ~ 80 μm 。

9. 权利要求 1 ~ 7 任一项所述的医疗用 2 反应剂型粘接剂,其特征在于,上述醛化 α -葡聚糖的粉末的平均长宽比均为 1.5 ~ 2.0。

10. 权利要求 1 ~ 7 任一项所述的医疗用 2 反应剂型粘接剂,其特征在于,它是通过向上述粉末混合物照射 10 ~ 50K Gy 的电子束进行灭菌而获得的。

11. 权利要求 1 ~ 7 任一项所述的医疗用 2 反应剂型粘接剂,其特征在于,上述聚-L-赖氨酸(A)为使用微生物或酶生产的 ϵ -聚-L-赖氨酸。

12. 医疗用 2 反应剂型粘接剂,它是用于闭塞泄漏、止血、粘接、或防组织粘连的医疗用试剂盒,其特征在于,包含:

含有重均分子量为 1000 ~ 20 万的醛化 α -葡聚糖的水溶液的第 1 反应剂、
含有重均分子量为 1000 ~ 2 万的聚-L-赖氨酸的水溶液的第 2 反应剂、以及
重均分子量为 1000 ~ 20 万的醛化 α -葡聚糖的片材;

其中,

上述醛化 α -葡聚糖均是通过将右旋糖酐或糊精用高碘酸或高碘酸盐氧化,在每个葡糖酐单元中引入 0.1 ~ 1.0 个醛基而得到的,

在将上述第 1 反应剂和第 2 反应剂混合的状态下,醛基 / 氨基的摩尔比为 0.9 ~ 3.5,

在将上述第 1 反应剂和第 2 反应剂混合时,所得混合物的 pH 值为 5.0 ~ 8.0,上述片材的厚度为 0.1 ~ 2mm。

13. 医疗用 2 反应剂型粘接剂,其特征在于,包含:含有重均分子量为 1000 ~ 20 万的醛化 α -葡聚糖的粉末的第 1 反应剂和含有重均分子量为 1000 ~ 2 万的聚-L-赖氨酸的水溶液的第 2 反应剂,

其中,

上述醛化 α -葡聚糖是通过将右旋糖酐或糊精用高碘酸或高碘酸盐氧化,在每个葡糖酐单元中引入 0.1 ~ 1.0 个醛基而得到的,

在将上述第 1 反应剂和第 2 反应剂混合的状态下,醛基 / 氨基的摩尔比为 0.9 ~ 3.5,

上述醛化 α -葡聚糖的粉末为无规形状的多孔体,水含量为 2.0% 以下,平均粒径为 10 ~ 150 μ m,并且,

在将上述第 1 反应剂和第 2 反应剂混合时,所得混合物的 pH 值为 5.0 ~ 8.0。

14. 权利要求 13 所述的医疗用 2 反应剂型粘接剂,其特征在于,上述醛化 α -葡聚糖的粉末的平均粒径均为 20 ~ 80 μ m。

15. 医疗用 2 反应剂型粘接剂,它是用于闭塞泄漏、止血、粘接、或防组织粘连的医疗用试剂盒,其特征在于,包含:

含有重均分子量为 1000 ~ 20 万的醛化 α -葡聚糖的粉末的第 1 反应剂、
含有重均分子量为 1000 ~ 2 万的聚-L-赖氨酸(A)的粉末(B)的第 2 反应剂、以及
重均分子量为 1000 ~ 20 万的醛化 α -葡聚糖的片材;

其中,

上述醛化 α -葡聚糖是通过将右旋糖酐或糊精用高碘酸或高碘酸盐氧化,在每个葡糖酐单元中引入 0.1 ~ 1.0 个醛基而得到的,

在将上述第 1 反应剂和第 2 反应剂混合的状态下,醛基 / 氨基的摩尔比为 0.9 ~ 3.5,

上述醛化 α -葡聚糖的粉末和上述聚-L-赖氨酸的粉末均为无规形状的多孔体,其平

均粒径均为 $10 \sim 150 \mu\text{m}$, 并且,

上述粉末混合物的水含量为 2.0% 以下, 当其溶于水时, 其 pH 值为 $5.0 \sim 8.0$, 并且上述片材在干燥状态下的厚度为 $0.1 \sim 2\text{mm}$ 。

16. 权利要求 15 所述的医疗用 2 反应剂型粘接剂, 其特征在于,

上述聚-L-赖氨酸的粉末 (B) 是通过向 25 重量%的 ϵ -聚赖氨酸水溶液 10ml 中添加琥珀酸酐 0.5g 和蒸馏水 14.5ml, 得到 10 重量%的中性聚赖氨酸水溶液, 然后冻干后进行机械粉碎而得到的,

通过该添加, 上述聚-L-赖氨酸的粉末 (B) 是经过酸酐添加处理的粉末, 使得上述粉末混合物 (C) 溶于水时的 pH 为 $5.0 \sim 8.0$ 。

具有自分解性的粉末 - 液体及粉末 - 粉末的 2 反应剂型的 医疗用粘接剂

技术领域

[0001] 本发明涉及外科手术时及其他情况下用于生物体组织的粘接、填充、以及防止粘连、止血等的医疗用粘接剂。特别是涉及包含含有第 1 反应成分的粉末（粉末状反应剂）和含有第 2 反应成分的液体（液状反应剂）或粉末（粉末状反应剂），通过在水的存在下使第 1 反应成分与第 2 反应成分相互反应，使其固化成凝胶状，然后经过一定时间后，分解、流动化并排泄出去的粘接剂。

背景技术

[0002] 作为医疗用、尤其是外科手术用的粘接剂，一直以来主要使用（1）氰基丙烯酸酯类粘接剂和（2）纤维蛋白胶。然而，氰基丙烯酸酯类粘接剂的固化物缺乏柔软性、发硬，因此往往妨碍创伤治愈，而且，由于其在生物体内难以分解，因此，容易被包裹而成为异物，这些都是存在的问题。另一方面，由于纤维蛋白胶的粘接力相当低，因此，生成的血纤蛋白块往往会从组织上剥落下来。进而，由于其是血液制剂，因此，存在有可能发生病毒感染的问题。

[0003] 另一方面，近年来，人们研究了（3）醛化右旋糖酐 - 高分子量壳聚糖（专利文献 1）、（4）胶束形成性的末端醛聚合物 - 高分子量的聚烯丙胺（专利文献 2）、（5）醛化淀粉 - 胶原（专利文献 3）、（6）明胶 - 琥珀酰亚胺化聚 -L- 谷氨酸（专利文献 4）、（7）明胶 - 二羧酸酐、（8）氨基甲酸酯预聚物等，但它们各自存在问题点（参见专利文献 7 的背景技术部分）。

[0004] 因此，本发明人等进行了精心的研究，结果开发出既能充分满足医疗用粘接剂所要求的一般性质，又能在经过所设计的崩解时间后快速崩解，同时，能够比较自由地调节、控制该设计期间的医疗用粘接剂以及医疗用含水凝胶状树脂（专利文献 7）。

[0005] 另一方面，通过将作为“固化剂”的粉末添加到作为“主剂”的液体中而形成的类型的粘接剂，已知有木材用的尿素树脂粘接剂和酚醛清漆树脂粘接剂等。此处的“固化剂”为低聚甲醛粉末、或者作为 pH 调节剂的酸或盐等。

[0006] 另外，也有人提出将由酒石酸等与 N- 羟基琥珀酰亚胺反应而得到的粉末作为“固化成分”，将其加入到白蛋白水溶液中而使其固化的“粘合性医用材料”（专利文献 8）。也有人提出将血纤蛋白粘接剂制成颗粒状的粉末来使用（专利文献 9）。进而，有人提出将右旋糖酐羧甲基化后，使其与 N- 羟基琥珀酰亚胺反应，将由此得到的“活性酯化 CM 右旋糖酐”的粉末压附在聚醚酯的海绵片上以使其得到支持的“医疗用处理材料”（专利文献 10）。专利文献 1：国际公开 WO 2003/035122（对应于 AESCULAP AG & CO KG (DE), US2005/0002893A-1 和 EP1438079 B1）专利文献 2：日本特开 2005-21454“以高分子胶束作为有效成分的组织粘接剂”西田博，横山昌幸专利文献 3：国际公开 W098/15299（对应于“高分子聚醛类的粘接剂组合物及胶原的交联方法”日本专利 323871）专利文献 4：日本特开平 9(1997)-103479“医用材料及其制造法”专利文献 5：日本特开平 11(1999)-239610“生物体组织粘合性医用材料及其制造法”专利文献 6：日本特开 2004-261590“医疗用粘接剂”专利文献 7：国际公开

WO/2006/080523 “具有自分解性的医疗用 2 反应剂型粘接剂、及医疗用树脂”专利文献 8；特开 2006-346049 “固-液混合型二成分系生物体内分解吸收性粘合性医用材料”专利文献 9；特表 2002-533164 (W000/38752) “血纤蛋白粘接剂颗粒及其制造方法”专利文献 10；特开 2005-253830 “医疗用处理材料及其制造方法”

发明内容

发明要解决的课题

[0007] 本发明人等以前开发的医疗用 2 反应剂型粘接剂具有完全满足下述各种特性的优良性能：(1) 对生物体等含有水分的被粘接物具有强的粘接性，(2) 常温常压下对生物体组织表面具有较快的固化反应性，以及 (3) 在创伤部位治愈之前的期间内均能对皮肤、血管或脏器被粘接物牢固地粘接，并且具有不妨碍被粘接物的物理运动那样程度的柔软性等。

[0008] 本发明提供一种自分解性的医疗用粘接剂，它是以上述医疗用 2 反应剂型粘接剂为基本理念，创造出的崭新形态的医疗用粘接剂，其即使对大量渗出血液及其他生物体液的部位也能进行充分粘接，特别是即使在这种部位为垂直面的情况下也可以毫无问题地进行粘接操作。

用于解决课题的手段

[0009] 本发明的医疗用 2 反应剂型粘接剂，其特征在于，包括含有重均分子量为 1000 ~ 20 万的醛化 α -葡聚糖的粉末的第 1 反应剂和含有由含氨基单元的链形成的含氨基聚合物的水溶液或粉末的第 2 反应剂，其中，上述含氨基聚合物的重均分子量为 1000 ~ 2 万，当将上述第 1 反应剂与第 2 反应剂混合时，所得水溶液的 pH 值为 5.0 ~ 8.0。

[0010] 此处，含氨基聚合物特别优选为使用微生物或酶生产的 ϵ -聚-L-赖氨酸。

[0011] 优选地，醛基/氨基的反应摩尔比为 0.2 ~ 4.0，只要以含水状态保存，在经过可任意设定的 1 天 ~ 1 个月的凝胶状态保存期间后，即可通过自分解而变成溶胶状态。

[0012] 将第 1 反应剂的粉末预先采用喷雾等操作涂布到将要进行粘接等的生物体部位上，然后，涂布作为第 2 反应剂的液体。或者，也可以在将第 1 反应剂的粉末与作为第 2 反应剂的液体混合之后，立即涂布到生物体部位上。在第 1 和第 2 反应剂均为粉末的情况下，可以将它们预先混合，然后作为混合粘接剂粉末（粘接剂粉末混合物）保存在瓶子中，这样可以涂布到湿润状态的生物体部位。

发明效果

[0013] 根据本发明，可以获得一种自分解性的医疗用粘接剂，该粘接剂即使对大量渗出血液及其他生物体液的部位也能进行充分粘接，特别是这种部位为垂直面的情况下也可以毫无问题地进行粘接操作。而且，由于醛化 α -葡聚糖（第 1 反应剂）为粉末，因此可以认为，其保存稳定性良好，即使在常温下放入塑料容器中的情况下保存，也能够 36 个月期间几乎不发生分子量降低。另外，通过直接涂布粉末、或者在粉末完全溶解之前涂布，可以获得优良的针孔堵塞性。附图说明 [0097] 图 1-1 为第 1 反应剂粉末的显微镜照片。图

1-2 为示出通过凝胶化时间的变化来评价醛化右旋糖酐水溶液的长期保存稳定性的结果的曲线图。图 2-1 为示出使用滴管橡皮帽制成的手控粉末喷雾装置的照片。图 2-2 为示出该手控装置的构成的模式图。图 3 为示出确认对肝脏的止血效果的样子照片。图 4 为示出用实施例的粉末-液体的 2 反应剂型粘接剂获得的防粘连效果的照片。图 5 为示出市售 Seprafilm(一种以透明质酸为主的生物可吸收膜)的防粘连效果的与图 4 同样的照片。图 6 为示出不使用防粘面膜时的样子的与图 4 同样的照片。图 7 为示出用粉末-粉末的 2 反应剂型粘接剂将从人工制成的肺缺损部位的漏气闭塞的样子的照片。图 8 为示出用于评价针孔堵塞性的微量注入泵装置及其使用状态的模式立体图。图 9 为示出针孔堵塞性的评价结果与纤维蛋白胶的情况相比较的曲线图。图 10 为示出在大鼠腹腔内配置含水凝胶状粘接剂树脂层 1 周后的样子的照片。图 11 为增加涂布量的结果、观察到含水凝胶状粘接剂树脂层残留时的与图 10 同样的照片。图 12-1 为示出将家兔肾脏部分切断并进行止血的样子照片(1)。图 12-2 为示出将家兔肾脏部分切断并进行止血的样子照片(2)。示出刚切断后的状态。图 12-3 为示出将家兔肾脏部分切断并进行止血的样子照片(3)。示出止血的状态。图 13 为评价各种医疗用粘接剂和防粘面膜的防粘连效果并进行比较的曲线图。图 14 为对于粒径较小的混合粘接剂粉末的、与图 1-1 同样的显微镜照片。图 15-1 示出带有气泵球的喷雾装置,为与图 2-1 同样的照片。图 15-2 示出图 15-1 的带有气泵球的喷雾装置的构成,为与图 2-2 同样的模式图。图 16 为在附着力试验中使用的夹具的照片。图 17 为示出附着力试验的结果与市售纤维蛋白胶、以及市售止血剂片材进行比较的曲线图。

具体实施方式

[0014] 作为第 1 反应剂的醛化 α -葡聚糖,是一种在 α -葡聚糖氧化后引入醛基,其重均分子量在 1000 ~ 20 万范围内的制品。 α -葡聚糖是葡萄糖之间经脱水缩合、以 α 键键合的形态的糖链,葡聚糖中的糖残基(葡糖酐单元)的分子量为 162.14。本发明所用的 α -葡聚糖包括右旋糖酐、糊精、和茁霉多糖,也可以将它们混合使用。淀粉或直链淀粉也可以进行适度分解后使用。而且,高分子量的茁霉多糖制品也可以经适度分解后使用。另外,可根据一般的高碘酸氧化法引入醛基,为了向每个葡糖酐单元赋予适当的自分解性等,优选引入 0.1 ~ 1.0 个醛基,更优选引入 0.2 ~ 0.9 个,进一步优选引入 0.2 ~ 0.6 个醛基。为了提高第 1 反应剂的保存稳定性,醛化程度以较低为好,例如,每个葡糖酐单元可引入 0.2 ~ 0.4 个醛基。通过使用粉末形态的第 1 反应剂、或者后述的混合粘接剂粉末,即使醛基的引入量相对于每个葡糖酐单元为 0.2 ~ 0.4 个,也可以在短时间内充分实现固化。

[0015] 在醛化 α -葡聚糖中,因粘接剂性能的稳定性等理由,特别优选为醛化右旋糖酐和醛化糊精。用于得到醛化右旋糖酐的右旋糖酐的重均分子量优选为 2000 ~ 20 万,更优选为 2000 ~ 10 万。例如,可以使用 Pharmacosmos A/S 公司市售的医用级的右旋糖酐 40、右旋糖酐 60、右旋糖酐 70,以及 T-右旋糖酐系列的右旋糖酐 T10 ~ 右旋糖酐 T2000。另一方面,作为用于得到醛化糊精的糊精,可以使用和光纯药公司市售的糊精等。糊精的重均分子量例如为 1000 ~ 1 万。此外,醛化 α -葡聚糖的最适分子量可根据具体用途而异,通过选择特定的分子量或分子量分布,能够调节由于自分解而发生液化的时间。醛化 α -葡聚糖的分子量过大时,会过度延迟由于自分解而发生的液化。另外,醛化 α -葡聚糖的分子量过小时,凝胶化状态的维持时间会过短。

[0016] α -葡聚糖的重均分子量及分子量分布,可以通过通常的含水 GPC(凝胶渗透色谱,正式的名称为尺寸排阻色谱(SEC))的测定,容易地求得。具体来讲,可通过将由水溶性聚合物交联体(东曹公司 TSK gel G3000PW 和 G5000PW、TSK 保护柱 PWH)构成的 GPC 用色谱柱加热至 40℃,以缓冲液(10mM KH_2PO_4 +10mM K_2HPO_4)作为洗脱液进行测定、求得。

[0017] 作为醛化 α -葡聚糖的粉末(第 1 反应剂),可以直接使用在通过高碘酸氧化引入醛基后,经过冻干且机械粉碎而得到的产物。根据不同情况,也可以在减压下、或者在吹入氮等惰性气体下,通过在较低的温度下进行喷雾干燥来将其制成粉末。

[0018] 作为第 2 反应剂的含氨基聚合物由含氨基单元的链构成,其重均分子量为 1000 ~ 2 万,优选为 1000 ~ 1 万,更优选为 1500 ~ 8000。而且,优选为基本上不含分子量 3 万以上的高分子量级分的含氨基聚合物。

[0019] 特别优选的含氨基聚合物,在通过 SDS 凝胶电泳测定其分子量时,基本上仅有 1000 以上且不足 3 万的分子量级分,更优选为仅有 1000 ~ 2.5 万的分子量级分,进一步优选为仅有 1000 ~ 2 万的分子量级分。这里,“基本上”是指忽略其重量比率在总体的 5% 以下的分子量级分或其染色点图案。

[0020] 通过下述任一方法,可容易且高精度地求得聚赖氨酸及其他含氨基聚合物的分子量分布(聚合度分布)和平均分子量。

[0021] (1) SDS-PAGE(十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳)使用 Atto(株)制的电泳装置和 Densitograph(AE-6920V 型)可以容易地测定。此时,使用标准蛋白标记物。

[0022] (2) 离子缔合色谱:按照高效液相色谱(HPLC)的离子缔合色谱法,使用反相色谱柱(TSKgel ODS-80Ts)测定。此时,使用乙腈作为非水溶剂进行梯度测定。

[0023] (3) 含水 GPC:使用通过向 GPC 级蒸馏水中添加磷酸缓冲液和乙腈而成的洗脱液(5%磷酸二氢铵/3%乙腈(pH = 4.0)),例如可将上述含水 GPC 柱加热至 40℃进行测定。此时,为了测定绝对分子量,可以将 GPC 与低角度激光散射法组合使用(GPC-LALLS)。

[0024] 作为用于第 2 反应剂的含氨基聚合物,作为优选例也可举出使用微生物或酶生产的、分子量为 1000 ~ 2 万、特别是 1000 ~ 6000 的 ϵ -聚-L-赖氨酸。也可以使用 α -聚-L-赖氨酸。另外,只要具有适当的分子量和分子量分布,也可以使用低聚壳聚糖(chitosan oligomer)或降解壳聚糖。根据情况,也可以使用通过向聚甘油或聚乙烯醇中引入大量氨基侧链而成的聚合物等。

[0025] 对于 ϵ -聚-L-赖氨酸,具体可使用例如如下所得的 ϵ -聚-L-赖氨酸。使用日本专利第 3525190 号或日本专利第 3653766 号记述的菌株——白色链霉菌属(*Streptomyces albulus* subsp.)的 *Lysinopolymerus*。在含有葡萄糖 5 重量%、酵母提取物 0.5 重量%、硫酸铵 1 重量%、磷酸氢二钾 0.08 重量%、磷酸二氢钾 0.136 重量%、硫酸镁七水合物 0.05 重量%、硫酸锌七水合物 0.004 重量%、硫酸铁七水合物 0.03 重量%、pH 调节至 6.8 的培养基中培养,然后从所得培养物中分离、收集 ϵ -聚赖氨酸。

[0026] 当聚赖氨酸及其他含氨基聚合物的分子量过大、或者过度含有分子量过大的级分时,由于自分解而发生液化的时间会过度延长。

[0027] 处于规定分子量范围的含氨基聚合物,可以部分地被更高分子量或更低分子量的含氨基聚合物替代。例如,可在仅由 1000 ~ 2 万的分子量级分组成的聚赖氨酸中配合大致同等重量的高分子量(例如分子量 20 万)的壳聚糖。另外,同样地也可以配合向多官能

(羟基数为 2 ~ 8) 聚乙二醇引入末端氨基而形成的分子量约 500 ~ 1000 的氨基化聚乙二醇 (PEG-NH₂)。此时, 优选配合以蔗糖等为起始物质的、官能数特别大的含氨基聚合物。

[0028] 在第 2 反应剂中, 可添加酸或酸性盐等作为 pH 调节剂。这样, 在第 1 反应剂与第 2 反应剂混合时, pH 值为 5.0 ~ 8.0 范围内, 优选为 5.5 ~ 7.5 范围内, 更优选为 6.5 ~ 7.5 范围内。另外, 第 2 反应剂的 pH 值优选为 7.0 ~ 9.0。

[0029] 作为 pH 调节剂, 优选添加一元或多元羧酸或其酸酐。作为该羧酸, 例如优选可举出天然存在的羧酸, 即乙酸、柠檬酸、琥珀酸、戊二酸、苹果酸、富马酸、马来酸等。这样的羧酸因缓冲作用而 pH 调节能力大, 且对生物体无害。但是, 若 pH 为 5.0 ~ 8.0 的适当值时, 也可以使用盐酸、硫酸等无机酸或无机盐, 也可并用上述羧酸或其酸酐。另外, 也可以使用磷酸缓冲盐。

[0030] 作为 pH 调节剂的羧酸, 可以通过选择一元羧酸、二元羧酸和三元羧酸中的任一种, 来调节固化后的凝胶体在含水条件下由于自分解而发生液化的时间。可以认为这是因为当使用多元羧酸时, 在聚赖氨酸及其他含氨基聚合物之间生成类似的交联, 从而延迟了由于自分解而发生的液化的缘故。

[0031] 在第 1 反应剂和第 2 反应剂混合的状态下, 醛基 / 氨基的摩尔比为 0.1 以上至小于 5, 优选为 0.2 ~ 4.0, 更优选为 0.9 ~ 3.5, 进一步优选为 1.0 ~ 3.5。醛基 / 氨基的摩尔比小于该范围时, 所生成的凝胶的分解过快, 而摩尔比大于该范围时, 不能实现快速凝胶化。

[0032] 作为第 1 反应剂的醛化 α -葡聚糖粉末, 只要是分散性和溶解性优良的形态, 任一种均可以使用。作为粉末的形态, 平均粒径为 0.1mm 以下, 只要能够容易进行喷雾, 就没有特殊制约。然而, 优选无规形状 (与球体差别较大的形状) 的多孔体, 因此, 优选在将水溶液冻干后进行机械粉碎而成的粉末。如果使用这种粉末, 则不仅喷雾性优良, 而且对泄漏的堵塞、特别是对漏气的堵塞优良。可以认为, 这样的粉末在反应固化时, 由于具有适度地不均匀的溶液结构, 因此可以进行微米级的、适度不均匀的反应, 结果使得, 固化树脂变得更强韧。粉末的平均粒径, 其优选范围按照下述范围的 (1) ~ (7) 的次序逐步变得更为优选。(1) 1 ~ 500 μ m、(2) 5 ~ 350 μ m、(3) 10 ~ 250 μ m、(4) 10 ~ 150 μ m、(5) 15 ~ 120 μ m、(6) 20 ~ 100 μ m、(7) 20 ~ 80 μ m。即, 可以说 10 ~ 150 μ m 是特别优选的范围, 但更优选为 15 ~ 120 μ m 等。此处, 平均粒径是通过采用图像分析程序 (可以使用例如 Mountech 公司的图像分析式粒度分布测定软件 “Mac-View”) 等, 以从立体显微镜得到的映像求出各粒子的 2 轴平均直径 (长轴长与短轴长的单纯平均值 X), 再由 2 轴平均直径求出长度平均半径 ($\Sigma X^2 / \Sigma X$) 而获得的。粉末的平均长宽比 (长轴长 / 短轴长), 例如为 1.3 ~ 3.0, 特别是 1.5 ~ 2.0。这是由于, 当粉末的平均粒径小于或者大于上述范围时, 吸收水时的溶解很有可能变得过度不均匀。如果小于上述范围, 则溶解时可能 “结块”, 除此之外, 还会发生微粉飞散的问题。予以说明, 在冻干后用高速旋转刀刃式粉碎机进行粉碎时, 在粉碎至 10 ~ 150 μ m 的平均粒径时, 平均粒径 1.5 倍以上的粉末, 按与长度平均直径相同的长度基准, 为 3% 以下, 平均粒径 1/2 以下的粉末, 按同样基准, 为 5% 以下。可以认为, 这样窄的粒径分布是理想的。

[0033] 当第 2 反应剂也采取粉末形态时, 该粉末优选分别采取以上说明的形状、制法、平均粒径等。通过预先制成混合粘接剂粉末, 不仅可使喷雾变得容易, 而且根据与上述说明的

同样的理由,有利于提高泄漏压力、特别是有利于提高对空气泄漏的闭塞性。另外,在将第 1 和第 2 反应剂的粉末按照规定的反应摩尔比进行混合,制成混合粘接剂粉末时,即使在瓶中或注射器等中保存并加以振动,也不会由于分级作用而导致第 1 和第 2 反应剂的粉末的混合比发生局部变动。作为混合粘接剂粉末,在放入样品瓶等中保存时,其水含量应保持在 2.0% 以下,优选保持在 1.0% 以下。在只保存第 1 反应剂的粉末的情况下,水含量也是同样的。如果水含量比该值高,则醛化右旋糖酐会发生水解,从而导致其分子量在例如 1 年的保存期间中发生劣化。

[0034] 在第 1 反应剂和第 2 反应剂均为粉末形式的情况下,第 1 反应剂和第 2 反应剂与只有第 1 反应剂为粉末的情况同样,可以通过使它们与压缩空气等一起喷出来进行喷雾涂布。可以把第 1 和第 2 反应剂的粉末混合物直接喷雾并涂布到被体液、血液等湿润的部位。另外,将利用喷雾等的涂布操作重复进行,即进行 2 次以上,这样有利于实现涂布的均匀性等,在该重复涂布期间及涂布之后,滴下或者喷雾生理盐水或蒸馏水等。所述滴下或喷雾操作,可以通过例如,从注射针的直径很细的小型注射器滴下、或用化妆水用指压式喷雾瓶进行喷雾等。予以说明,在应粘接的部位或患部的水分不够多的情况下,希望在混合粘接剂粉末开始涂布之前,预先滴下或喷雾生理盐水等。

[0035] 在第 1 反应剂和第 2 反应剂均为粉末形态的情况下,既可以在预定的粘接部位或患部依次喷雾第 1 反应剂和第 2 反应剂来进行涂布,也可以将第 1 反应剂和第 2 反应剂按照醛基与氨基的混合比大致为 1 的条件预先进行混合,只要涂布该混合粘接剂粉末即可。如果使用这种混合粘接剂粉末,则不仅涂布作业变得简便,而且也可以抑制混合比例的波动,这样有利于实现确实的粘接。混合粘接剂粉末可以在密闭的容器中或者装有脱水干燥剂的容器中、在室温下长期保存。另外,可以使用将其在水中瞬间分散并与压缩水一起喷雾的方法来代替上述与压缩空气或压缩气体一起喷雾涂布的方法。

[0036] 第 1 反应剂和第 2 反应剂可以通过放射线灭菌法容易地进行灭菌,优选为照射 10 ~ 50K Gy 的电子束、更优选为照射 20 ~ 30K Gy 的电子束进行灭菌。这样的灭菌处理,可以在对固化时间及其他粘接剂性能无不良影响下进行条件的设定。在第 1 反应剂和第 2 反应剂均为粉末的情况下,特别是在将它们按规定摩尔比混合的混合粘接剂粉末的情况下,可以特别容易地进行放射线灭菌的处理。

[0037] 在使用本发明的粉末-液体 2 反应剂型医疗用粘接剂时,第 1 反应剂与第 2 反应剂的混合及涂布可以通过各种方法进行。例如,可将第 1 和第 2 反应剂中的一方涂布于被粘接部位表面,接着再涂布另一方以进行混合。另外,也可以将第 1 反应剂和第 2 反应剂在涂布装置的混合室中混合后,从喷嘴喷出进行喷雾,还可以从涂布装置的孔口中排出进行涂布。

[0038] 将第 1 反应剂与第 2 反应剂混合时,醛化 α -葡聚糖的醛基与含氨基聚合物的氨基之间可形成席夫键,并以此为交联点而形成具有网眼结构的水凝胶。其结果,在混合开始后 2 ~ 150 秒,优选为 3 ~ 100 秒,更优选为 5 ~ 50 秒内发生固化。从混合开始至固化为止的优选时间,随用途的不同而异,为使其浸透至生物体组织内、发挥高度粘接力,优选固化时间在 10 秒以上,特别优选为 15 秒以上。

[0039] 通过这样的固化反应生成的含水凝胶状的固化粘接剂层或含水凝胶状的树脂,只要经过所设计的液化时间后,即可通过自分解而变为液体状态。即,即使不经过生物体内的

酶分解等,只要处于含水状态,就可以自然分解而变成液体状态(可流动的溶胶状态)。因而,在生物体内,经过某一规定时间后,可被迅速吸收或被排泄而消除。所设计的分解时间可在数小时~4个月内,通常为1天~1个月的范围,特别是2天~2周的范围任意设定。

[0040] 与此相比,对于在生物体内只有通过酶分解才能被分解吸收的以往的生物体分解树脂,其所需的分解时间波动很大,在经过必要的粘接力保持时间后也不易被迅速分解。

[0041] 自分解的分解时间,可通过选择或调整醛化 α -葡聚糖和/或含氨基聚合物的分子量或其分布、使用/不使用或选择多元羧酸、以及调整2液混合时的pH,来进行任意调整和设定。即,被分解吸收的时间可通过调整2液粘接剂的构成来预先进行任意设计。

[0042] 自分解的机制虽尚不明了,但可以认为是醛化 α -葡聚糖的醛基在与氨基结合形成席夫碱时,与席夫碱相连的 α -糖酐键易被分解的缘故。

[0043] 本发明的医疗用粘接剂及医疗用树脂可优选作为生物体粘接剂、组织填充剂、止血剂、血管堵塞(栓塞)剂、动脉瘤封闭剂、防粘连材料以及释药系统(DDS)用载体等使用。

实施例

[0044] <粉末-液体的2反应剂型医疗用粘接剂>A1. 粉末状醛化右旋糖酐(第1反应剂)的配制将重均分子量75000的右旋糖酐(和光纯药工业株式会社、批号:EWK3037)20g溶解于100ml蒸馏水中。接着,添加3g高碘酸钠(分子量213.89),在40℃下一边搅拌5小时一边反应。然后,将反应后的溶液用蒸馏水透析24小时(使用分级分子量为14000的透析膜),然后将其冻干。进而,用小型粉碎机(Wonder Blender WB-1、大阪化学株式会社制)进行1分钟的粉碎处理,得到粉末状的醛化右旋糖酐。

[0045] 每葡萄糖酐单位(摩尔)的醛基引入量为0.28。予以说明,醛基引入量的测定通过氧化还原滴定法进行。具体地,将0.05mol/l的碘水溶液20ml、10mg/ml的醛化右旋糖酐水溶液10ml和1mol/l的氢氧化钠水溶液20ml放入100ml锥形瓶中,在25℃下搅拌15分钟。接着,添加6v/v%硫酸水溶液15ml,用0.1mol/l的硫代硫酸钠水溶液滴定。以反应系统为无色透明时作为终点,指示剂为淀粉水溶液。

[0046] 当用立体显微镜评价粉末的粒度时,如图1的照片所示,平均粒径为90 μ m。进而,用电子显微镜观察表面性状的结果,表明已形成多孔体。

[0047] A2. ϵ -聚赖氨酸水溶液(第2反应剂)的配制向25重量%的 ϵ -聚赖氨酸水溶液(分子量4000、智索株式会社、批号:2050506、游离胺)中加入乙酸酐和蒸馏水,配制成乙酸酐的浓度为2重量%、10重量%中性聚赖氨酸水溶液。

[0048] A3. 醛化右旋糖酐的保存稳定性将上述A1得到的粉末状醛化右旋糖酐放入聚乙烯容器中,分别在-20℃和+50℃下放置。经过40天之后对其进行GPC分子量测定,结果发现,峰顶的分子量在各温度下分别为19,223和18,659,从而可以确认,即便在高温下保存也不会使分子量降低。将相同样品不制成粉末状态而是配制成20重量%的水溶液,同样地考察在+50℃下的分子量变化,结果如表1所示,14天后降低至原来的84%,28天后降低至原来的71%。

[0049] 另一方面,使用这些右旋糖酐水溶液,与上述A2中得到的聚赖氨酸水溶液混合,通过测定凝胶化时间来评价醛化右旋糖酐的劣化程度。此处,凝胶化时间的测定,按如下操作进行。首先,将2液反应型粘接剂的第1液(上述A1的粉末醛化右旋糖酐的20%水溶

液) 0.5ml 取样到直径 16mm 的玻璃制试管中,放入直径 4mm、长 10mm 的磁力搅拌棒,加热至 37°C,以 100rpm 的速度进行搅拌。然后,用微量移液管添加预先加热至 37°C 的第 2 液(上述 A2) 0.5ml,用秒表测定直至由于粘接剂固化而引起的搅拌棒停止的时间。表 1 中示出在 +50°C 下保存 2 周和 4 周时凝胶化时间的变化,图 1A 中示出在 +25°C 下保存 1 年时凝胶化时间的变化和在 +4°C 下的测定结果。其中,在图 1A 的实验时,将 2% 的琥珀酸酐代替乙酸酐添加到聚赖氨酸水溶液中。

[表 1] 在 50°C、水溶液状态下的醛化右旋糖酐的物性变化(加速试验)1)

时间 / 周	凝胶化时间 / 秒 ²⁾	相对分子量	相对醛量
0	10.2±0.0	100	100
2	24.7±0.4	84	95
4	50.5±1.6	71	89

1) 醛化右旋糖酐, 75K, $-\text{CHO} = 0.43/\text{糖单位}$, 20w/w% 2) 使用 10% 聚(L-赖氨酸)(含有 2% 乙酸酐), 数据 = 平均值 ± 标准偏差 (n = 3)

[0050] 表 1 和图 1A 的凝胶化时间变化的结果显示,在 +50°C 下经过 14 天和 28 天,相当于在 25°C 下分别经过约 1 年和 3 年。这暗示如果不使醛化右旋糖酐处于水溶液状态,而是直接以粉末状态保存,即使在 25°C 下经过 3 年以上其分子量也不会变化。予以说明,如图 1A 所示,如果水溶液中的醛化右旋糖酐在 4°C 下保存,则 1 年后凝胶化时间未发现显著性变化,这意味着水溶液形式的醛化右旋糖酐也可以长期保存。

[0051] A4. 封口(封闭)效果的确认使用上述 A1 中得到的粉末状醛化右旋糖酐和上述 2 中得到的中性聚赖氨酸水溶液,考察由这些反应中生成的凝胶(含水凝胶)产生的封口性。具体地按照下述方法进行。

[0052] 首先,使用滴管橡皮帽,制成如图 2-1 的照片和图 2-2 的模式图所示的、手控粉末喷雾用装置 10。即,通过加热将外径 5mm、内径 3mm 的派热克斯玻璃细管 11 大致弯曲成直角,在其一端安装外径 6mm、内径 4mm 的硅橡胶管 2。在上述玻璃细管 11 上熔接外径 10mm、内径 8mm 的玻璃外管 12。向 10ml 容积的硅橡胶滴管橡皮帽 3 中装入粉末的醛化右旋糖酐 4 约 3g,固定在上述那样制作的玻璃管固定构件 1 的玻璃外管 12。

[0053] 在试剂瓶的盖子(聚乙烯制、直径 37mm、高 20mm) 上开一个直径 10mm 的孔,将盖置于实验台上,使盖的内侧面朝上露出。使用上述手控粉末喷雾用装置,将第 1 反应剂粉末 0.5g 大致均匀且薄薄地喷雾到盖的内表面。然后,将第 2 反应剂液体 0.1g 大致均匀地滴入。再在其上使用手控粉末喷雾用装置喷雾第 1 反应剂的粉末 0.5g。得到的凝胶化物为饼状,富于柔软性。2 分钟后,将试剂瓶的盖子拧合到瓶主体(聚乙烯制、约 500ml 容积、高约 175mm) 上恢复原状,将预先切除底部的瓶体上下颠倒并缓慢地向其中加入水。结果确认,即使加入 500g 的水,也不会由于凝胶破裂而漏水,具有优良的封口效果。

[0054] A5. 粘接性和柔软性的确认使用上述 A1 中得到的粉末状醛化右旋糖酐和上述 2 中得到的中性聚赖氨酸水溶液,考察与组织的粘接性和柔软性。具体地,首先,向麻醉状态的比格犬插管以使其肺暴露并用人工呼吸器维持肺运动。然后,使用在上述 4 中使用的手控粉末喷雾用装置,将第 1 反应剂粉末 1g 大致均匀而且薄薄地喷雾到在肺表面上。然后,大

致均匀地滴下第 2 反应剂液体 0.5g。进而在其上,同样地使用手控粉末喷雾用装置喷雾第 1 反应剂的粉末 1g。

[0055] 2 分钟后,通过向气管内送入氧气来施加压力,考察由反应生成的凝胶是否从肺表面脱落。结果观察到,即使压力在 40cmH₂O 柱以上,凝胶也不会从肺表面上剥落而是仍然粘接在肺表面。另外,即使反复使肺扩张、收缩,凝胶也不会破裂,可以确认凝胶具有优良的柔软性。

[0056] A6. 在肝脏中的止血效果的确认使用上述 A1 中得到的粉末状醛化右旋糖酐和上述 2 中得到的中性聚赖氨酸水溶液,对从部分肝切除部位渗出的血进行止血(止渗)。具体地,将比格犬的肝动脉结扎后,用钳子将肝脏部分切除,在此过程中,直径 1mm 以下的血管用电手术刀切除,直径 1mm 以上的血管结扎后用电手术刀切除,如此进行部分肝切除,使切割面露出。在沿大致垂直方向的切割表面 5(图 3 照片中央所见的上弦半月状或月牙状的部分)上,使用上述 4 中使用的手控粉末喷雾用装置,将第 1 反应剂粉末 2g 大致均匀且薄薄地喷雾。然后,使用市售纤维蛋白胶用喷雾装置(Bolheal 喷雾装置),将第 2 反应剂液 1g 大致均匀地喷雾。进而在其上,使用该手控装置喷雾第 1 反应剂粉末 2g。

[0057] 2 分钟后,将预先测定重量的纱布放置于止血处理部位,解除对肝动脉的结扎,使渗出的血液渗入到纱布中,通过测定重量,求出出血量。其结果,在解除肝动脉的结扎 2 分钟后,只观察到 1g 以下的出血量,与此相比,如果未对切割面 5 进行,则可观察到 10g 以上的出血量,从而可以确认如图 3 照片那样的优良的止血效果。

[0058] A7. 防粘连使用上述 A1 中得到的粉末状醛化右旋糖酐和上述 2 中得到的中性聚赖氨酸水溶液,进行防粘连实验。将体重约 300g 的 SD 大鼠从正中切开腹部后,将左侧腹膜和一部分肌肉层切除约 2.5cm 见方、深约 1mm 左右,将整个患部用电手术刀处理。然后,使用上述 4 中使用的手控装置,将第 1 反应剂粉末 1g 大致均匀而且薄薄地喷雾,然后,滴下第 2 反应剂液 0.3ml,大致均匀地涂布。进而,使用该手控装置再在其上面喷雾第 1 反应剂的粉末 1g,2 分钟后将腹腔缝合。

[0059] 评价是通过在 2 周后开腹,将粘连的程度按 3 级评分表示来使其数值化(0:无粘连;1:可剥离的轻微粘连;2:不可剥离的牢固粘连)。另外,设置了将市售的防粘连膜(注册商标 Seprafilm、Genzyme 日本公司)粘贴到患部的比较对象组。粘连程度的评分按照未处理组、Seprafilm 组、以及 2 反应剂型粘接剂组的顺序分别为 2.0±0.0、1.1±0.7、0.4±0.5(P = 0.02 和 0.0001)。对于各组的样品数 n,未处理组为 6, Seprafilm 组为 9, 2 反应剂型粘接剂组为 10。

[0060] 如图 4~6 的照片所示,虽然可以确认 Seprafilm 组(图 5)、2 反应剂型粘接剂组(图 4)的防粘连效果均比未处理组(图 6)好,但发现 2 反应剂型粘接剂组(图 4)的效果与 Seprafilm 组(图 5)的效果相比显著性提高(P = 0.03)。如图 4 的例子所示,在使用 2 反应剂型粘接剂组的情况下,大网膜与腹膜的粘连,即便有也很轻微。与此相比,在图 5 的例子所示的 Seprafilm 组的情况下,观察到大面积的粘连。

[表 2]

	粘连程度(0~2.0 之间的官能评价)	与未处理组间有显著性差异的不存在概率	与 Seprafilm 组间有显著性差异的不存在概率
未处理组	2.0±0.0		

Seprafilm 组	1.1±0.7	P = 0.02	
2 反应剂型粘接剂组	0.4±0.5	P = 0.0001	P = 0.03

[0061] <粉末-粉末的 2 反应剂型医疗用粘接剂>B1. 粉末状醛化右旋糖酐（第 1 反应剂）和 ϵ -聚赖氨酸粉末（第 2 反应剂）除了使用分子量 70,000 的右旋糖酐（名糖产业株式会社、“右旋糖酐 70”，药品级（注射用））以外，其余与上述 A1 节进行完全相同的操作，得到粉末状的醛化右旋糖酐。然后，在以下的实验中用作第 1 反应剂。采用上述 A1 节的方法测定的每单位葡糖酐（摩尔）的醛基引入量，与 A1 节相同，为 0.28。另外，与 A1 节同样地使用立体显微镜来评价粉末的粒度，测得其平均粒径为 90 μm ，形成了完全相同的多孔体。另外，平均长宽比（长轴与短轴之比）约为 1.6。

[0062] 另一方面，作为第 2 反应剂，与上述醛化右旋糖酐的情况完全相同，使用由 10 重量%的中性聚赖氨酸水溶液冻干后进行机械粉碎而得到的粉末。该中性聚赖氨酸水溶液是通过向 25 重量%的 ϵ -聚赖氨酸水溶液（分子量 4000、智索株式会社、批号：2050506、游离胺）10ml 中添加琥珀酸酐 0.5g 和蒸馏水 14.5ml 配制而成的。与上述的醛化右旋糖酐的情况同样地使用立体显微镜来评价得到的聚赖氨酸粉末，结果发现，其是与图 1 基本相同的无规形状的多孔体。另外，其平均粒径为 80 μm ，平均长宽比约为 1.7。在如 B1 节的将粉末状醛化右旋糖酐与 ϵ -聚赖氨酸粉末制品按 4/1 的重量比混合的情况下，醛基与氨基的摩尔比大致为 1。

[0063] 以下的实验，如上述那样使用按照反应摩尔比大致为 1 的条件混合的混合粘接剂粉末来进行。予以说明，该混合粘接剂粉末通过保存在带有铝盖的玻璃制管形瓶中，其水含量保持在 1.0% 以下。

[0064] B2. 在呼吸器外科领域中的使用例（对肺漏气的闭塞）-1 为了确认对肺漏气的闭塞效果，使用比格犬进行以下实验。按照常规方法进行麻醉、气管内插管，然后开胸，使用电手术刀，在右肺上制作直径 15mm 的圆形的胸膜缺损部位（图 7 中央稍偏左的深色部分）。向患部加入生理盐水，通过提高人工呼吸器的压力来确认出现漏气。然后，涂布 2 反应剂型粘接剂，2 分钟后用生理盐水充满胸腔内，进行泄漏测试。作为比较对象，使用纤维蛋白胶（Botheal、化学及血清疗法研究所），向患部滴下纤维蛋白原溶液，先以手指涂抹，然后使用喷雾盒在其上涂布（“Rub & Spray method”）。在使用纤维蛋白胶的情况下，按照上述文献，涂布 5 分钟后进行泄漏测试。

[0065] 另外，2 反应剂型粘接剂的涂布按下述操作进行。首先，在包含胸膜缺损部位在内的附近部位，使用 1ml 容积的注射器，普遍地滴下约 0.5ml 的生理盐水。接着，在相同部位，使用 A4 节中使用的手控粉末喷雾用装置（图 2-1 ~ 2-2），将混合粘接剂粉末 0.2g 大致均匀而且薄薄地喷雾。再次使用注射器在其上面滴下约 0.1g 生理盐水。图 7 的照片中示出采用这种操作将胸膜缺损部位闭塞（封闭）时的样子。从图 7 的照片得知，利用含水凝胶可实现闭塞。

[0066] 2 分钟后，当利用人工呼吸器使向气管内输送的氧的压力从 5cmH₂O 柱缓慢上升时，可以确认在约 30cmH₂O 柱的压力下发生漏气。因此，即使通过这种简单的实验也可以确认 2 反应剂型粘接剂具有与纤维蛋白胶同等程度的漏气闭塞效果。

[0067] B3. 人造血管的针孔堵塞（栓塞）在人造血管（W. L. Gore & Associates 公司的 GORE-TEX（注册商标）人造血管，直径 8mm）上只在 1 个部位扎出 18G（外径 1.3mm ϕ ）的针孔，喷雾涂布粉末-粉末的 2 反应剂型医用粘接剂。详细地说，在针孔的附近（面积 1cm²），按照以下的顺序，进行使用上述注射器的蒸馏水的滴下，和使用手控粉末喷雾用装置（图 2-1 ~ 2-2）的上述 B1 的混合粘接剂粉末（第 1 反应剂和第 2 反应剂的粉末混合物，醛基与氨基的摩尔比 = 1）的涂布。（1）滴下蒸馏水、（2）喷雾混合粘接剂粉末、（3）滴下蒸馏水、（4）喷雾混合粘接剂粉末、以及（5）滴下蒸馏水。此时，混合粘接剂粉末的涂布量以 2 次的合计量计约为 0.2g/cm²。予以说明，为了识别粘接剂层，向生理盐水中加入 50ppm 的“蓝色 1 号”（亮蓝 FCF；和光纯药株式会社、批号：KLN3789）。

[0068] 2 分钟后，从人造血管的一端施加水压，确认是否能够防止水从针孔漏出。详细地说，使用图 8 那样的微量注入泵装置 6（Terumo 公司的 TERUFUSION 微量注入泵 STC-523），按照 20mL/h 的速度，将生理盐水抽入人造血管 8 中，使水压缓缓上升。如图所示，在微量注入泵装置 6 中，安装有 30mL 容积的塑料注射器 7。此时，微量注入泵装置 6 的固定臂 61 和活动臂 62 分别抵触在注射器 7 中的手指放置部 71 的前端面上以及活塞杆的后端面 72 上。通过使活动臂 62 向前移动，从注射器 7 挤出的生理盐水经过内径 8mm 的硅橡胶管 73 和配置于中途及远端的氟树脂制的带活塞的管子连接件 74，被挤压入人造血管 8 的端部。远端的带有活塞的管子连接件 74 是一个 3 通阀，以便能够在测定结束后将压力解除，3 通阀的另一个支管则插入人造血管 8 的端部。在该支管的四周，用尼龙绳从人造血管 8 的外侧强力地缠绕，以防止从连接部的泄漏。

[0069] 从压力监测器 65 的显示部读取最初观察到着色的生理盐水从人造血管 8 的针孔堵塞部位 81 漏出时的压力，以此作为泄漏压。

[0070] 予以说明，为了比较，将纤维蛋白胶（“Beriplast PCombi-Set”、CSL Behring 公司）按照规定的用法，每 10cm² 涂布 A 液和 B 液各 1mL。此时，抹上 A 液之后，使用市售的纤维蛋白胶用喷雾装置（Bolheal 喷雾装置）一边将 A 液和 B 液混合，一边进行喷雾（“Rub & Spray method”Naoki Minato 等人，“New Application Method of Fibrin Glue for More Effective Hemostasis in Cardiovascular Surgery”Jpn. J. Thorac. Caridiovasc. Surg. 2004 ;52 :361-366）。

[0071] 对实施例的混合粉末粘接剂和纤维蛋白胶，分别进行 4 次试验，将该结果示于表 3 和图 9。在使用纤维蛋白胶时，泄漏压为 167 ~ 262mmHg，而在使用实施例的混合粉末粘接剂（见 B1 节）时，在 4 次试验中，3 次的泄漏压超过 320mmHg，只有 1 次为 277mmHg。此处，“超过 320mmHg”是指，由于在针孔以外的部位观察到泄漏等的理由而使得超出测定界限。这样，与纤维蛋白胶相比，使用实施例的混合粉末粘接剂能够发挥出显著优良的针孔堵塞（闭塞）性能（显著性检验获得的 $p = 0.007$ ）。

[0072] 予以说明，可以认为，在使用纤维蛋白胶时，所获结果的波动大是由于喷雾装置在性质上难以每次相同地进行涂布的缘故。换言之，如果使用实施例的混合粉末粘接剂，则无需熟练操作，而且每次均可以实现可靠性高的堵塞（封闭）。

[表 3]

	1	2	3	4	平均值 \pm SD
--	---	---	---	---	--------------

纤维蛋白胶	232	262	181	167	210±18mmHg
混合粉末粘接剂	> 320	277	> 320	> 320	309±6

[0073] B4. 在腹腔内的分解性将大鼠麻醉后,将腹部从正中切开,将大鼠的右侧腹膜与一部分肌肉层剥离约 $2.5 \times 2.5\text{cm}$ 。然后,对该腹膜缺损部位,按照以下的顺序进行利用喷雾瓶的生理盐水的喷雾,和利用手控粉末喷雾用装置(图2-1~2-2)的上述B1的混合粘接剂粉末(第1反应剂和第2反应剂的粉末混合物,醛基与氨基的摩尔比=1)的涂布。(1)滴下生理盐水、(2)喷雾混合粘接剂粉末、(3)滴下生理盐水。此时,混合粘接剂粉末的涂布量约为 $0.1\text{g}/\text{cm}^2$ 。另外,生理盐水的喷雾量均为约 $0.1\text{ml}/\text{cm}^2$ 。

[0074] 1周后,开腹,目测确认含水凝胶状粘接剂树脂层的残留,结果发现,含水树脂层已基本上分解、消失(图10)。另一方面,当使用专利文献7(WO/2006/080523)的第7节中记载的实施例1的2液反应型粘接剂时,含水树脂层在1周内90%左右分解。因此,当使用上述混合粘接剂粉末涂布约 $0.1\text{g}/\text{cm}^2$ 的适当厚度时,观察到与本发明人等的2液反应型粘接剂完全相同的生物体内分解性。

[0075] 另一方面,将与上述同样的混合粘接剂粉末的涂布操作重复进行2次,使合计涂布量约为 $0.2\text{g}/\text{cm}^2$,同样地,在一周后开腹,目测确认含水凝胶状粘接剂树脂层的残留,结果发现,含水树脂层仍有50%左右残留(图11)。在图11的照片中,从中央稍微偏上方的圆形露出部位为覆盖有含水凝胶状粘接剂树脂层的部分。即,当使涂布量为上述的2倍以上时,粉末-粉末的2反应型粘接剂在大鼠腹腔内的分解速度变得更迟缓。因此,可以认为,即使不添加多元羧酸(专利文献7的第8节)和高分子量的含氨基聚合物(专利文献7的第6节)等,只要很厚地涂布,粉末-粉末的2反应型粘接剂就可以应用于象肝脏止血那样需要1~2周或者更长保持期间的情况。

[0076] 与使用专利文献7(特别是实施例1或2)的2液反应型粘接剂的情况相比,粉末-粉末的2反应型粘接剂吸收组织水分的能力强,因此止血能力优良,可以确认,粉末-粉末的2反应型粘接剂能够与纤维蛋白胶同样地,在同等程度渗血(oozing)的情况下,能够充分地止血。

[0077] B5. 比格犬的肺漏气闭塞后在生物体内的分解性在比格犬右肺上制作 $\phi 15\text{mm}$ 的胸膜缺损部位。详细地说,将预先开出 $\phi 15\text{mm}$ 的孔的 $\phi 30\text{mm}$ 的硅橡胶片贴在肺上,使氰基丙烯酸酯流入该孔,1分钟后从肺上取下该硅橡胶片,用手术刀将氰基丙烯酸酯部分的胸膜剥离。然后,在该胸膜缺损部位,与B4节同样地涂布B1节的混合粘接剂粉末。另外,重复进行2次和3次同样的混合粘接剂粉末的涂布,考察重复涂布的影响。在涂布2次时,按照(1)滴下生理盐水、(2)喷雾混合粘接剂粉末、(3)滴下生理盐水、(4)喷雾混合粘接剂粉末、以及(5)滴下生理盐水的顺序进行。涂布3次时也是以同样顺序进行。即,涂布2次时的合计涂布量约为 $0.2\text{g}/\text{cm}^2$,涂布3次时的合计涂布量约为 $0.3\text{g}/\text{cm}^2$ 。

[0078] 在1周后和2周后开胸,目测观察分解的样子(目测观察粘接剂的含水凝胶树脂层的残留)。1周后,肉眼看出仍有少量固化树脂残留,2周后几乎看不出残留。

[0079] 另外,涂布2次时以及涂布3次时,与涂布1次时相比,虽然肉眼看不出分解程度有大的差别,但当将其制作成组织切片进行详细观察时,可以看出,随着涂布次数的增加,残留量也增多。

[0080] B6. 肾脏部分切除时的止血使用家兔,考察肾脏部分切除时的切除面是否能够止血。与使用粉末-液体的 2 反应剂型粘接剂在肝脏中的止血情况(A6 节)同样地,在将肾动脉用夹子夹紧并将其部分切除后,用 2 反应剂型粘接剂进行止血。该样子示于图 12-1~12-3 的照片中。图 12-1 示出切断前的肾脏;图 12-2 示出用剪子刚刚剪切后的样子;图 12-3 示出涂布完了后的样子。粉末-粉末的 2 反应剂型粘接剂的涂布,按照与上述 B2 节中完全相同的顺序来进行。即,向切除面(约 5cm^2)用 1ml 的注射器滴下生理盐水,然后喷雾 0.5g 上述混合粘接剂粉末,将此操作重复进行 2 次,最后再次滴下 1ml 生理盐水。

[0081] 2 分钟后,松开夹子,使纱布吸收流出的血液,然后根据纱布的重量测定出血量,结果,10 分钟的总出血量约为 0.3g,未处理组约为 20g。因此,认为可以充分期待粉末-粉末的 2 反应型粘接剂在将肾部分切除时的止血效果。

[0082] B7. 防粘连对于上述混合粉末粘接剂(B1 节),通过采用与上述 A7 节相同的方法,使用体重 300~310g 的 SD 大鼠来确认防粘连效果。其中,在切除和用电手术刀处理之后,将患部用林格液(NaCl 0.9%, KCl 0.3%, CaCl_2 0.2%)洗涤。然后,按照(1)滴下林格液、(2)喷雾混合粘接剂粉末、以及(3)滴下蒸馏水的顺序,在患部进行涂布,使涂布量为约 $0.1\text{g}/\text{cm}^2$,放置 2 分钟直至固化。

[0083] 评价采用与上述 A7 节相同的方法来进行。即,2 周后开腹,将粘连的状态按 3 等级评分来进行数值化评价。另外,作为比较对照,采用下述各组:(1)将上述市售的防粘连膜(“Seprafilm”)粘贴到患部的组、(2)将上述的纤维蛋白胶(“Beriplast P Combi-Set”)与 B3 节同样地涂布的组、(3)涂布由上述 A1 的粉末醛化右旋糖酐的 20%水溶液与上述 A2 的聚赖氨酸水溶液按等重量混合而成的混合物,按照以固体成分换算的涂布量为约 $0.1\text{g}/\text{cm}^2$ 的量涂布的组、以及(4)采用与上述 A4 节的记载相同的粉末-液体的 2 反应剂粘接剂以及相同的涂布方法进行涂布的组。

[0084] 该结果汇总示于图 13。从图 13 可知,使用本实施例的粉末-粉末和粉末-液体的 2 反应剂型粘接剂时,与同样组成的 2 液反应型粘接剂(专利文献 7:WO/2006/080523)的情况完全相同,发挥出优良的防粘连效果。与市售的防粘连膜等的情况相比,防粘连效果显著性增大。从图 13 可知,使用粉末-粉末的 2 反应剂型粘接剂时的防粘连效果最好。对于与使用市售防粘连膜(“Seprafilm”)的情况之间有显著性差异的不存在概率(无显著性差异概率) p ,粉末-粉末粘接剂的 p 值为 0.0003,粉末-液体的粘接剂的 p 值为 0.0030。

[0085] 予以说明,在使用本实施例的粉末-粉末的粘接剂的场合,在 2 周后的开腹时,目测观察到含水凝胶层有少量残留。在使用粉末-粉末的粘接剂时,与使用其他形态的粘接剂相比,防粘连效果要大一些,可以认为,这是由于其含水凝胶层要比其他形态的粘接剂能在更长时间内残留的缘故。

[0086] B8. 粒径较小的混合粘接剂粉末、以及它的涂布当制作与上述 B1 节中配制的完全相同的混合粘接剂粉末时,只变更机械粉碎的条件,以使平均粒径变得更小。制作时,使用与 B1 节的机械粉碎中所用相同的微粉碎机(大阪化学(株)的“Wonder BlenderWB-1”),将粉碎时间从 10 秒(B1 节中使用的粉碎时间)延长至 30 秒。图 14 示出用立体显微镜拍摄到的所得混合粘接剂粉末(粘接剂粉末混合物)的照片。可以判断,几乎不含有直径超过 $50\mu\text{m}$ 的粉末粒子,即直径超过 $50\mu\text{m}$ 的粉末粒子的含量在 1%以下。该混合粘接剂粉末的平均粒径约为 $30\mu\text{m}$ 。(该混合粘接剂粉末只在下述 B9 和 B10 节中使用。)另一方面,关

于喷雾装置,制作一种从气泵球 55 向贮存粘接剂粉末的耐压玻璃容器 52 中吹入空气的方式的装置,来代替滴管橡皮帽式的装置(图 2-1 ~ 2-2)。图 15-1 的照片和图 15-2 的模式图示出这种气泵球式喷雾装置 10' 的试制品。此处使用的气泵球 55 为血压计用的气泵球(“无水银血压计优质气泵球”)。该气泵球中带有止逆球阀,能够单向送气。如图 15-2 所示,使用在图 2-1 ~ 2-2 的“滴管橡皮帽安装用玻璃管 1”的玻璃外管 12 上设有支管 13 的形态的带有支管的双重玻璃管 1'。圆筒形的耐压玻璃容器 52 中,嵌装有由硅橡胶制成的盖 51,在该盖 51 的中央部贯穿地安装有带有支管的双重玻璃管 1' 的双重管部。

[0087] 可以认为,这种气泵球式喷雾装置 10',在均匀涂布粘接剂的粉末方面,比滴管橡皮帽式的喷雾装置 10(图 2-1 ~ 2-2)更为有利。另一方面,在使用滴管橡皮帽式的喷雾装置 10 涂布平均粒径约为 30 μm 的、更微细粒径的粘接剂粉末时,在滴管橡皮帽 3 中,吸湿了的粉末粒子有可能由于部分凝聚而凝固。

[0088] B9. 在呼吸器外科领域中的使用例(对肺漏气的闭塞)-2 使用上述 B8 节中得到的微细混合粘接剂粉末和气泵球式喷雾装置 10',采用 B2 节中记载的方法进行泄漏测试。

[0089] 进行各 8 次的试运行,对于被认为引起漏气的压力,求出大约的最小值~最大值的范围、以及平均值。其结果,对于上述 B8 的微细混合粘接剂粉末,漏气压力的范围约为 40 ~ 50 cmH_2O ,平均约为 46 cmH_2O ,在使用“Bolheal”纤维蛋白胶的场合,漏气压力的范围约为 30 ~ 40 cmH_2O ,平均约为 36 cmH_2O 。予以说明,在使用 2 液粘接剂代替混合粘接剂粉末的形态时,在同样的实验中,其漏气闭塞的效果与 Bolheal 纤维蛋白胶为同等程度(专利文献 7 的第 16 节)。使用上述 B8 的微细混合粘接剂粉末,在肺表面上扎出 23G 的针孔来代替胸膜缺损部位的制作,同样地进行试验,结果表明,即使泄漏压力提高至 80 cmH_2O (柱),也没有发现泄漏。

[0090] 因此,通过使用上述 B8 节中得到的平均粒径小的混合粘接剂粉末,可以确认,与 2 液粘接剂的形态以及纤维蛋白胶相比,具有显著高的漏气闭塞效果。可是,如 B2 节中所述,在使用 B1 节的平均粒径约 90 μm 的混合粘接剂和滴管橡皮帽式的喷雾装置 10 时,观察到比纤维蛋白胶要略小一些的耐泄漏压力。可以认为,这是由于混合粘接剂粉末的粒径差异引起反应均匀性的程度发生差异的缘故。

[0091] B10. 组织附着性试验使用上述 B8 节中得到的微细混合粘接剂粉末,评价组织附着性(粘接性)。评价按照对作为市售的微纤维性胶原局部止血剂的 EliLilly 公司的“Avitene”进行的附着性试验的报告(“新药与临床”、第 37 卷、第 2 号、PP. 241-245、昭和 63 年)中记载的方法来进行,不同之处是对夹具(jig)进行了改良。即,作为试验用“圆形贴片”的夹具,使用如下述那样制作的夹具。将外径 12mm、内径 10mm 的不锈钢管切割成 10mm 长,作为用于拉伸夹具的把持部位,用铜焊法焊上一个 M3 的螺母。然后,在与组织接触的面上,纤焊如文献中记载的金属筛网(筛网尺寸与文献相同,20 目/英寸,从加工性的观点考虑,材质使用黄铜)。图 16 的照片示出从这样得到的夹具的上面、下面和侧面观察到的图像。为了进行附着性试验,在从家兔身上摘除的肝脏的表面上放置夹具,涂布微细混合粘接剂粉末。微细混合粘接剂粉末的涂布,按下述方法进行,即,使用药刀取 0.2 ~ 0.3g 上述粉末混合物,将其通过夹具的圆筒部进行散布,然后立即喷雾生理盐水。然后,涂布 2 分钟后,在夹具的 M3 螺母部,通过连接在拉伸试验机上部的测压传感器上的金属的水平螺杆,以 10mm/min 的速度进行拉伸。

[0092] 予以说明,作为比较例,使用上述的 Bolheal 粘接剂(纤维蛋白胶)、以及由 Zeria 新药工业株式会社销售的“Avitene”。“Avitene”为以牛真皮胶原为原料制成的止血剂,由直径 250 ~ 6000nm、长 1 ~ 12mm 的微纤维构成,呈白色线状。“Avitene”的止血机理可认为是,通过与出血面接触而捕捉血小板并使血小板凝固因子活化,以及将凝固性产物捕捉到纤维组织的间隙中等。Bolheal 粘接剂(纤维蛋白胶)的涂布通过使用上述的“Bolheal 喷雾装置”来进行,上述“Avitene”的涂布,通过将该微细纤维铺填在夹具底部的网面上来进行。

[0093] 其结果,得到图 17 的曲线图所示的结果。从图 17 可知,在使用 B8 的混合粘接剂粉末时,附着力显著地高于使用“Avitene”时的附着力 ($p < 0.0001$)。另一方面,“Avitene”与纤维蛋白胶的附着力之间没有显著性差异 ($p = 0.07$)。

[0094] < 醛化 α -葡聚糖的片材 > 使用分子量 75000 的右旋糖酐(和光纯药工业株式会社、批号 EWK3037),按照 A1 节中记载的方法配制每葡糖酐单元的醛引入量为 0.26 的醛化右旋糖酐 ($-CHO = 0.264 \pm 0.003$ /糖残基)。将这样得到的醛化右旋糖酐 15g 与甘油 3.75g 和蒸馏水 131.25ml 混合,一边保持在 50℃ 一边进行搅拌。在 20×20×0.5cm 尺寸的玻璃板上粘贴的厚 40 μ m 的聚乙烯薄片上,将得到的溶液流延,在 25℃ 下风干 24 小时,由此得到厚 0.5mm 的醛化右旋糖酐的薄片。

[0095] 用以下的实验例进行说明,醛化右旋糖酐薄片可以与上述的 2 反应剂型粘接剂组合使用。通过采用与 B2 节和 B9 节同样的方法,确认对肺漏气具有闭塞效果。其中,制作 3×3cm 面积的矩形的胸膜缺损部位。然后,向患部添加生理盐水,通过提高人工呼吸器的压力来确认漏气。然后,使用专用的混合装置,向胸膜缺损部位滴下约 2ml 的粘接剂。快速地将醛化右旋糖酐薄片粘贴到胸膜缺损部位。放置 2 分钟后,用生理盐水充满胸腔内,进行泄漏测试。确认存在漏气时的压力为 43.5 ± 6.0 (样品数 $n = 6$,标准偏差 6.0)。该值显著性高于不使用醛化右旋糖酐薄片时的值 35.4 ± 6.8 。

[0096] 作为醛化右旋糖酐薄片,可以使用厚度为 0.1 ~ 2mm、优选 0.3 ~ 8mm 的薄片,也可以与上述说明的任一种 2 反应剂型粘接剂组合使用。醛化右旋糖酐薄片在用于泄漏闭塞、止血、粘接、防粘连等时,也可以与 2 液型、粉-液型和 2 粉末型粘接剂的任一种组合使用。另外,也可以使用其他的醛化 α -葡聚糖的薄片、例如醛化糊精薄片来代替醛化右旋糖酐薄片。每葡糖酐单元的醛引入量为 0.1 ~ 1.0,优选为 0.2 ~ 0.9,更优选为 0.3 ~ 0.8。

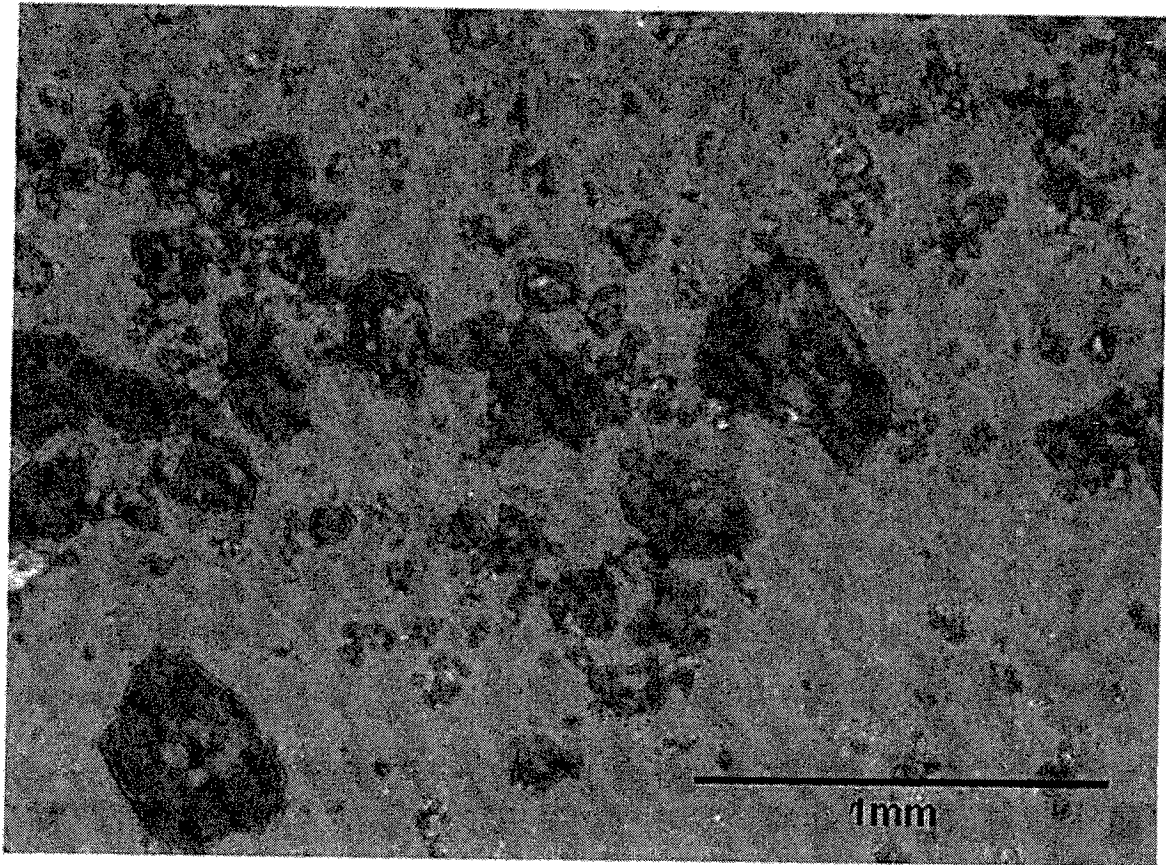


图 1-1

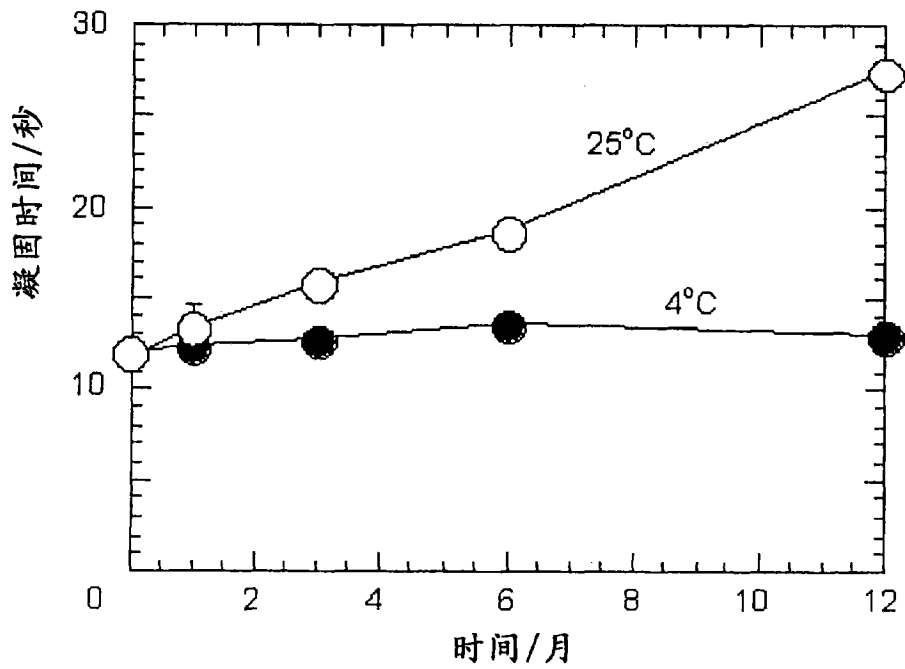


图 1-2

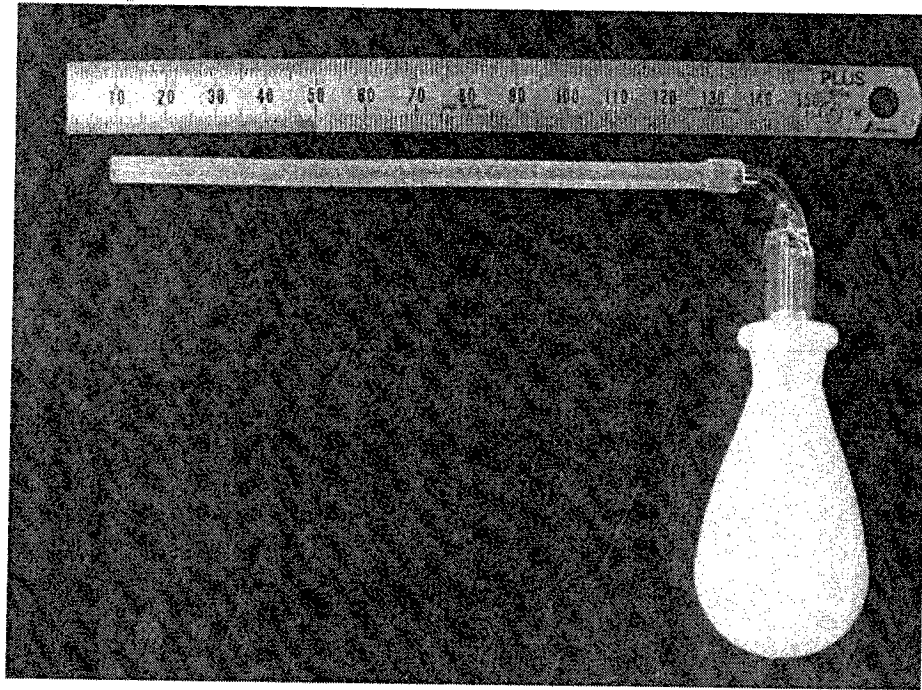


图 2-1

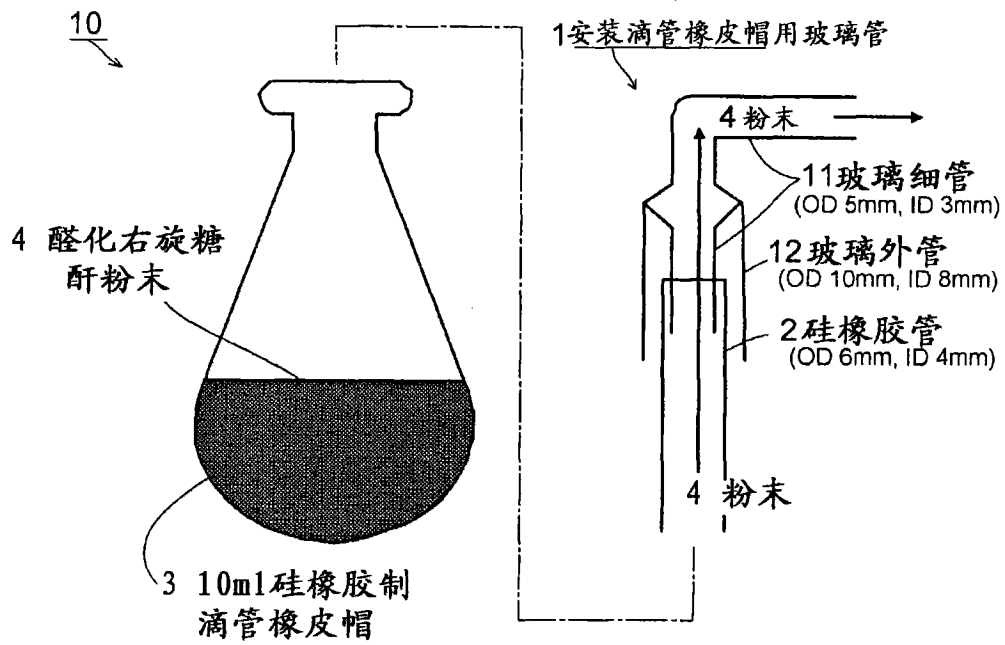


图 2-2

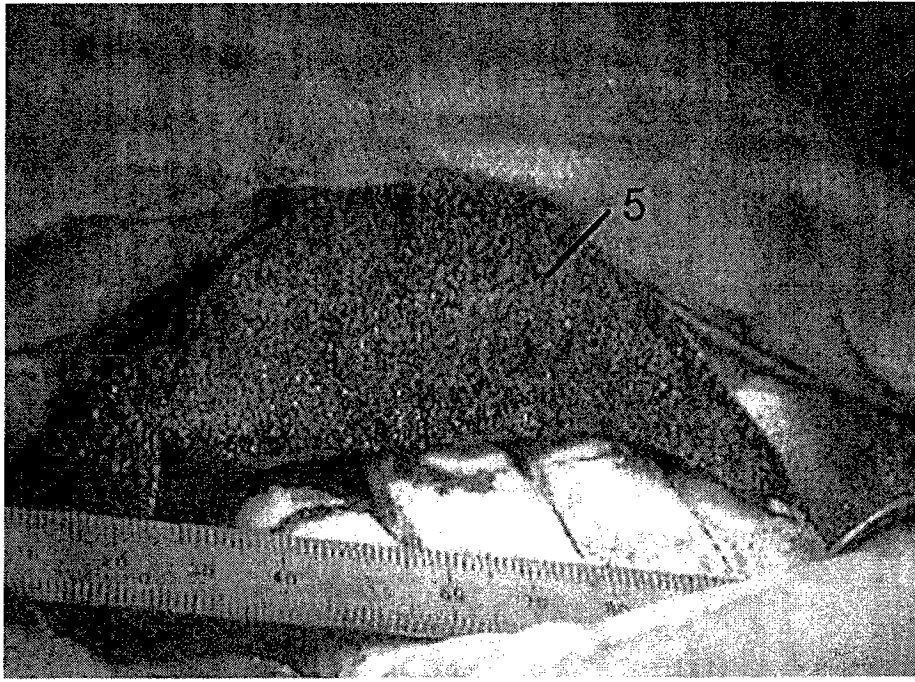


图 3



图 4

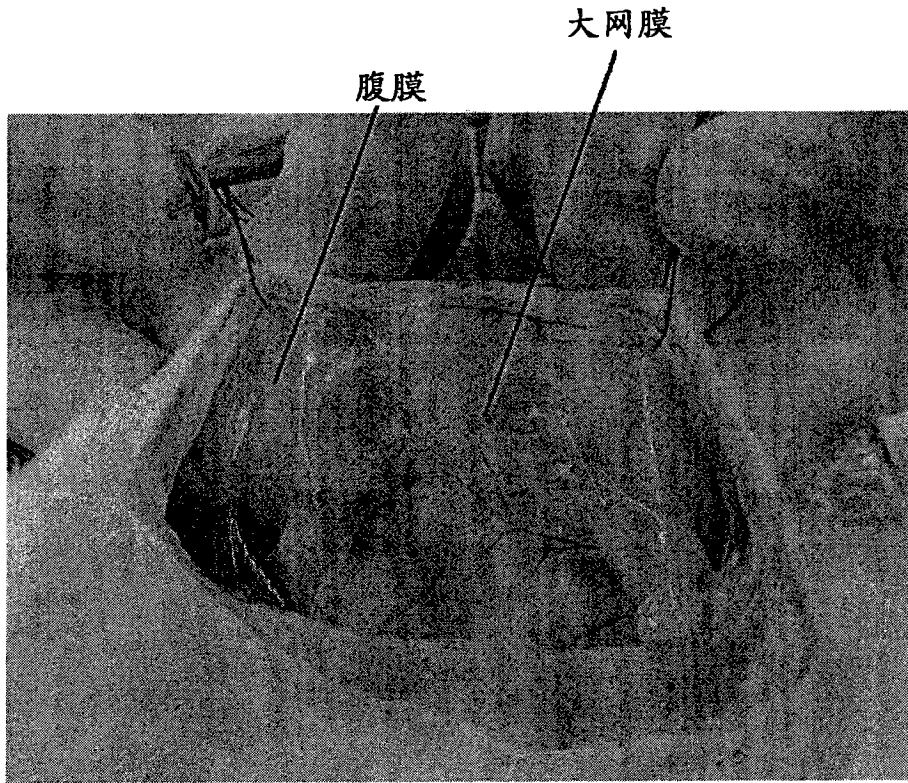


图 5

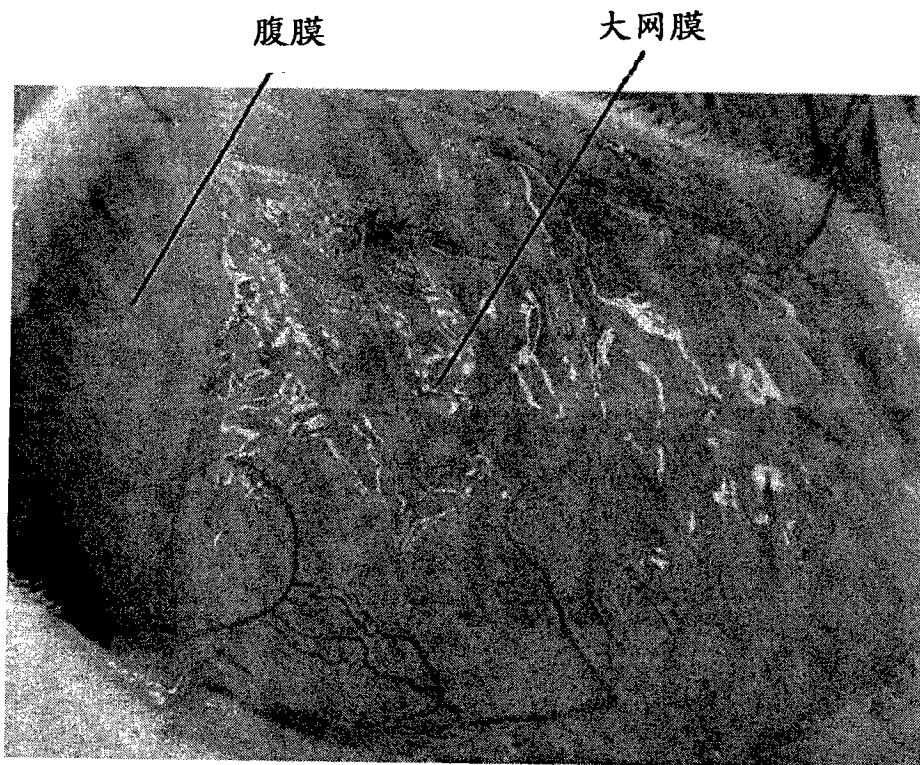


图 6



图 7

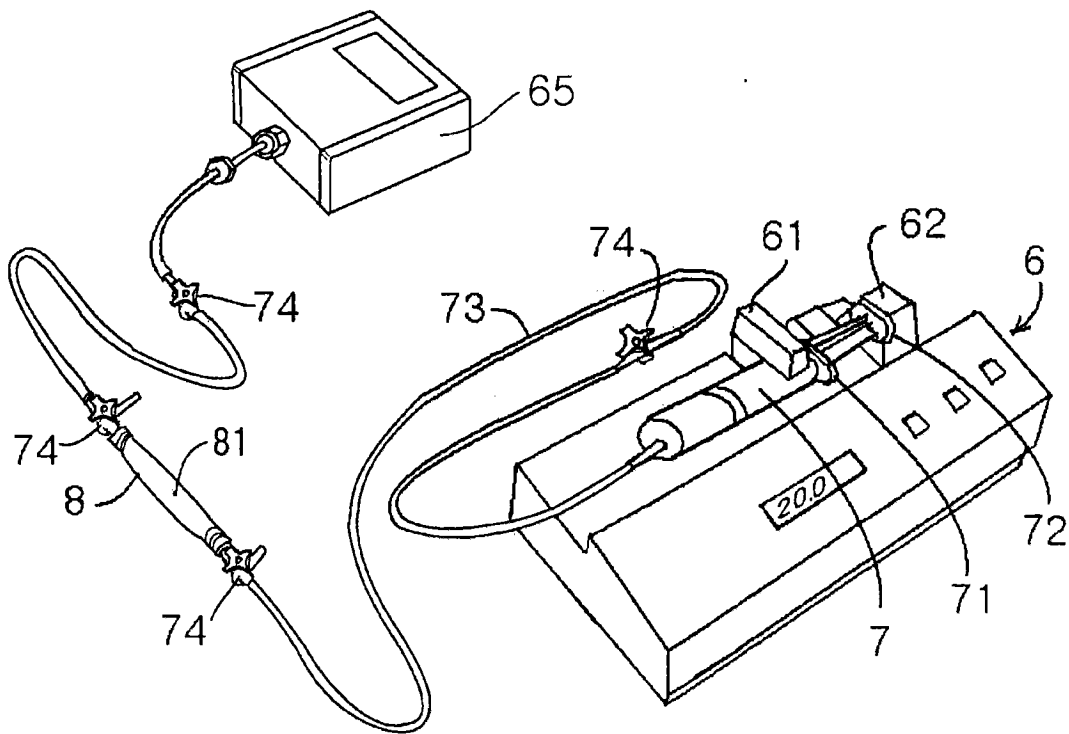


图 8

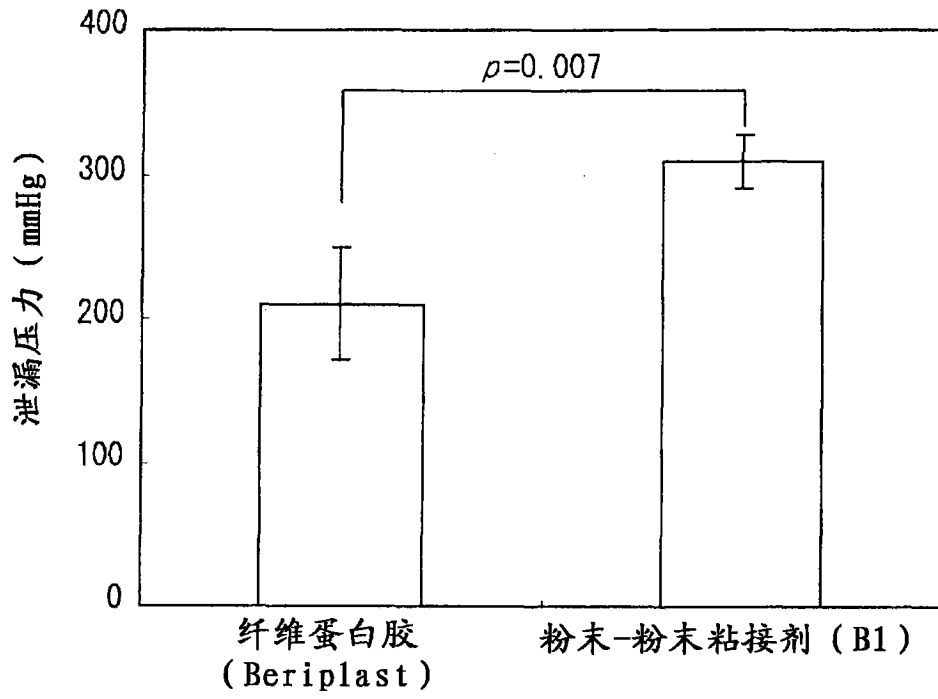


图 9



图 10

残留含水凝胶



图 11



图 12-1

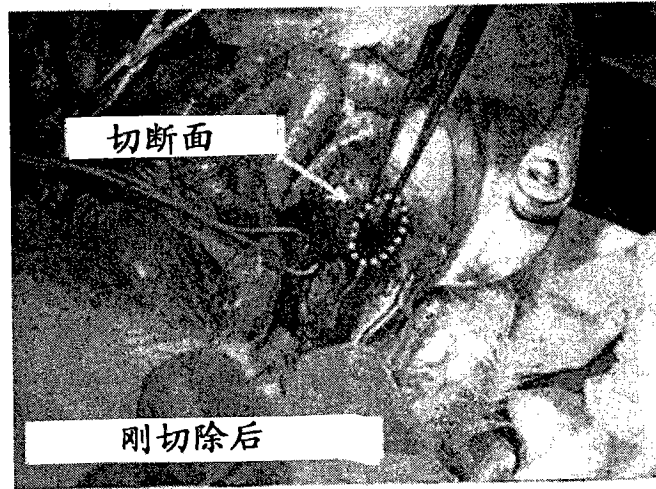


图 12-2

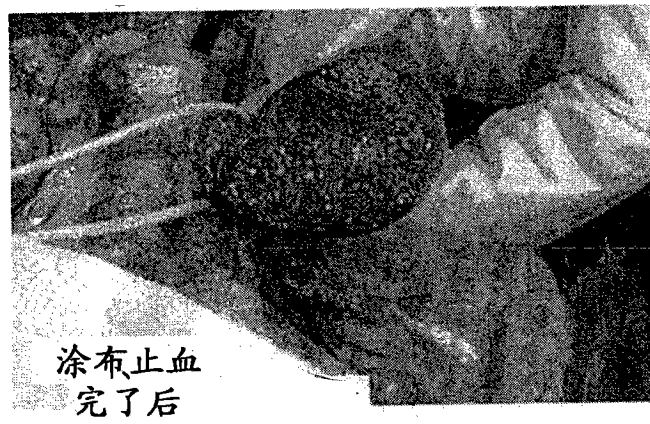


图 12-3

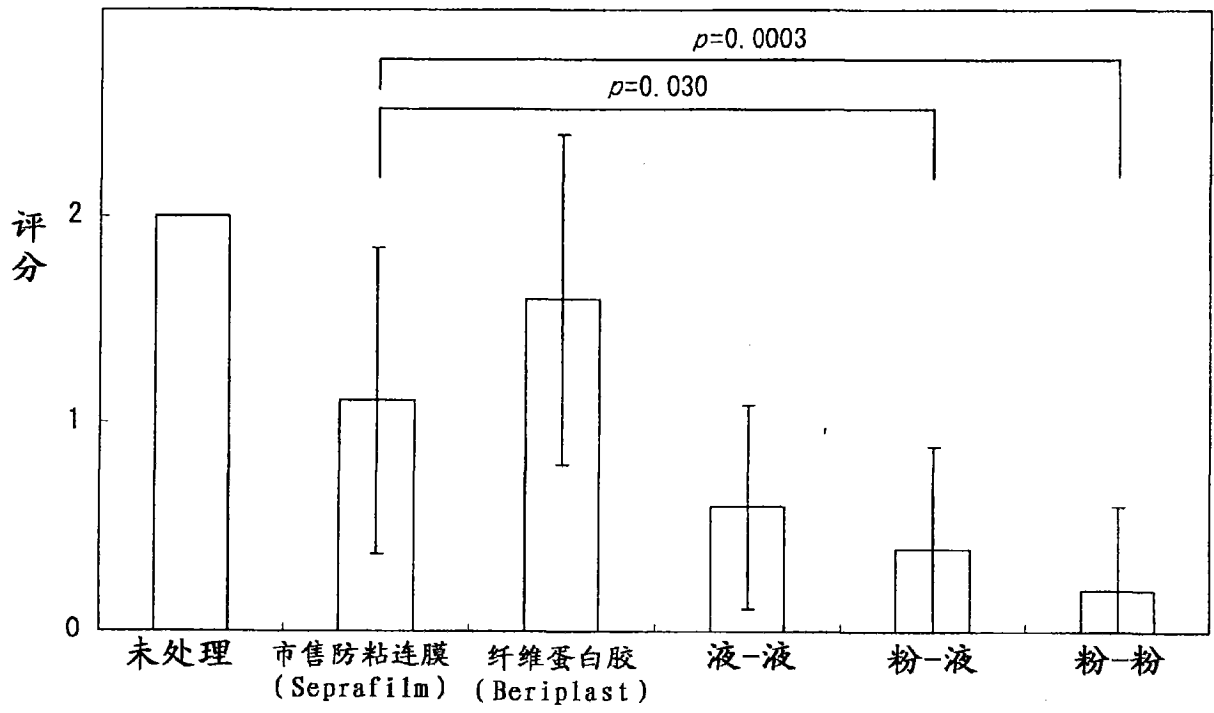


图 13

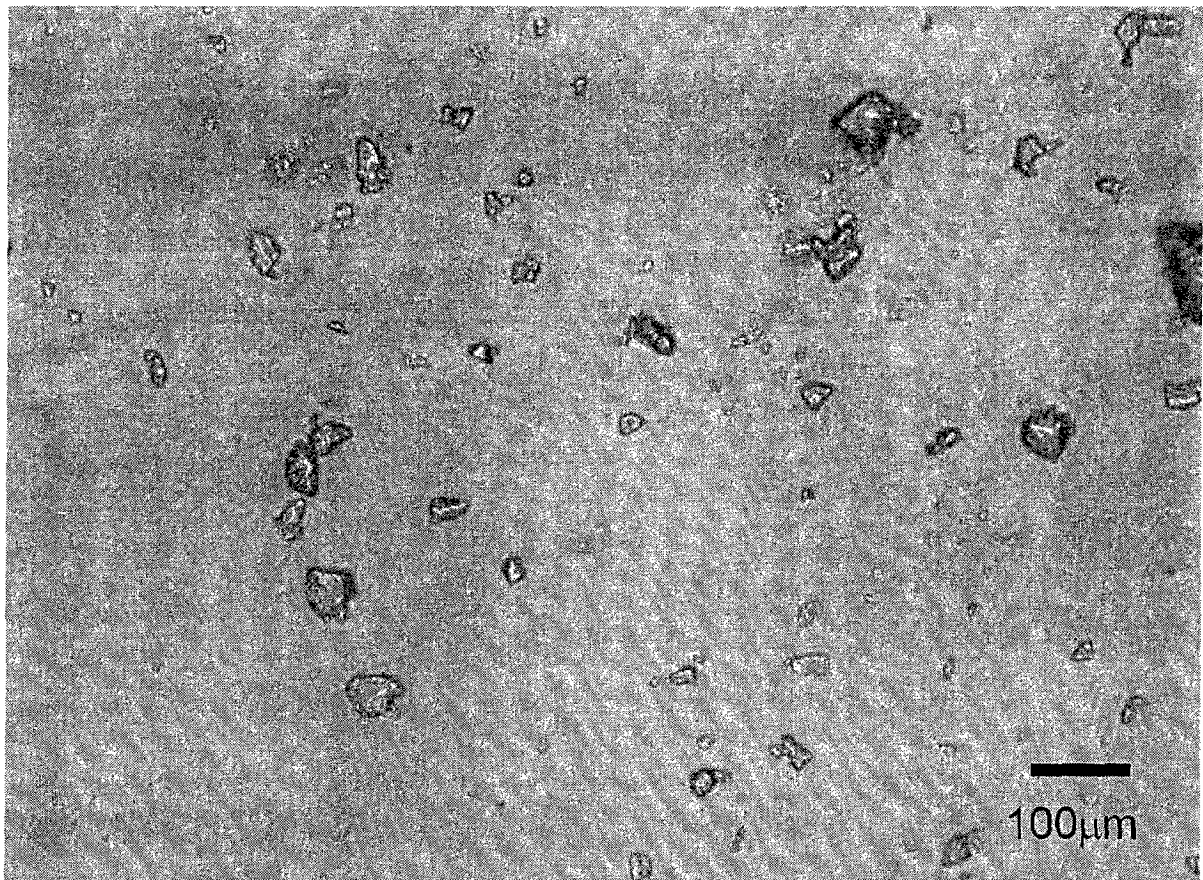


图 14

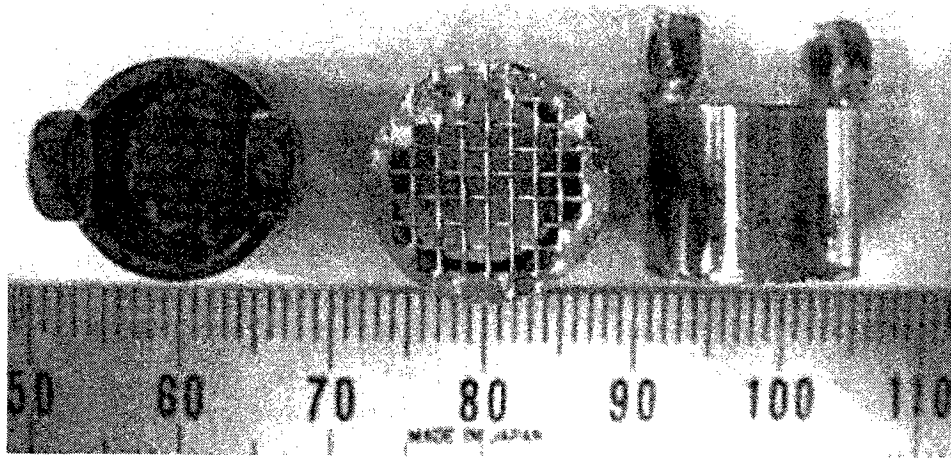


图 16

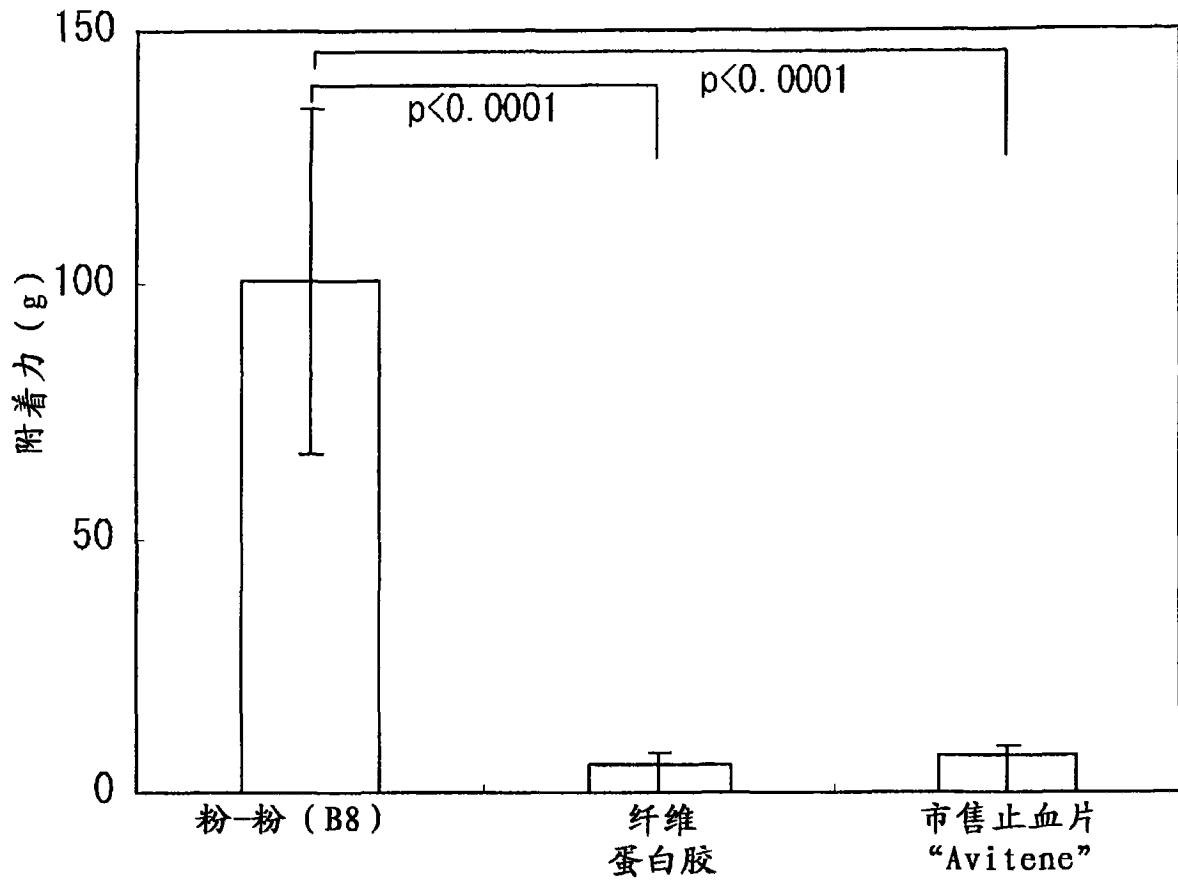


图 17