



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112402688 B

(45) 授权公告日 2022.08.30

(21) 申请号 202011503943.8

审查员 周丹

(22) 申请日 2020.12.18

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 112402688 A

(43) 申请公布日 2021.02.26

(73) 专利权人 曲阜师范大学

地址 273165 山东省济宁市曲阜市静轩西路57号

(72) 发明人 杨革 刘逸霏 车程川 刘金锋

巩志金 孙阳 陈琦

(74) 专利代理机构 济南泉城专利商标事务所

37218

专利代理师 陈娟

(51) Int. Cl.

A61L 26/00 (2006.01)

权利要求书1页 说明书5页

(54) 发明名称

一种生物相容性且抗菌的快速止血纳米材料及其制备方法

(57) 摘要

本发明属于生物化工技术领域,具体涉及一种生物相容性且抗菌的快速止血纳米材料及其制备方法。该快速止血纳米材料通过以下方法制备而成:所述纳米材料是由壳聚糖和 γ -聚谷氨酸在酸性条件下通过静电相互作用而形成的水凝胶,并在水凝胶上以PVP为分散剂原位合成负载了纳米银或纳米铜。本发明制备的聚 γ -谷氨酸/壳聚糖/纳米银(铜)复合水凝胶抑菌效果明显,用于创伤敷料能够有效地避免伤口感染,加快伤口愈合。本发明制备的聚 γ -谷氨酸/壳聚糖/纳米银(铜)复合水凝胶制备方法简单,原料成本较低,所得到的水凝胶复合材料纳米银粒径小,且均匀分布不易团聚,还可用于止血材料、骨组织工程材料或抗菌性化妆品中。

1. 一种生物相容性且抗菌的快速止血纳米材料的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 将壳聚糖和 γ -聚谷氨酸加入蒸馏水中,搅拌混合均匀,形成混合液;然后,在快速搅拌的同时加入冰醋酸充分搅拌10-15s后混匀,停止搅拌,然后加入酪氨酸水溶液,搅拌10-12s,室温下静置即可形成水凝胶;将水凝胶材料置于蒸馏水中,进行除酸,直至体系的pH不再变化;将除酸后的水凝胶材料置于-20℃冷冻干燥机中冻干至海绵状,即可得到干燥的由壳聚糖、 γ -聚谷氨酸形成的壳聚糖/聚谷氨酸水凝胶;

(2) 配置 AgNO_3 溶液,并向其中加入PVP,快速搅拌至完全溶解并混合均匀得PVP/ AgNO_3 溶液;将上述冷冻干燥的壳聚糖/聚谷氨酸水凝胶切成片状,浸泡在该均匀的PVP/ AgNO_3 溶液中20-60min直至溶胀平衡;

(3) 将新配置的 NaBH_4 溶液逐滴加到上述已溶胀平衡的壳聚糖/聚谷氨酸水凝胶的PVP/ AgNO_3 溶液体系,并快速搅拌,反应10-30 min,待反应完全之后,取出浸泡体系中的水凝胶,将其进行冷冻干燥12 h即可;

步骤(1)中,所述壳聚糖和 γ -聚谷氨酸的质量比为1:0.5-2;所述混合液的质量体积百分浓度为5%g/ml;

步骤(1)中,所述冰醋酸的加入量占混合液总体积的0.7-1%;所述酪氨酸水溶液的加入量占混合液总体积的0.3-0.5%;所述酪氨酸水溶液的质量浓度为15%。

2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤(2)中,所述 AgNO_3 溶液的浓度为2.5-3.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

3. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述 AgNO_3 溶液替换为 CuCl_2 溶液。

4. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,步骤(2)中,所述PVP与 AgNO_3 的摩尔比为1.5:1。

5. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤(2)中,所述 AgNO_3 用量为壳聚糖/ γ -聚谷氨酸水凝胶干重的0.039-0.083%。

6. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤(3)中,所述 NaBH_4 溶液的浓度为2.0-4.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

7. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤(3)中,所述 NaBH_4 的加入量为 AgNO_3 摩尔量的1.2-3.4倍。

一种生物相容性且抗菌的快速止血纳米材料及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物化工技术领域,具体涉及一种生物相容性且抗菌的快速止血纳米材料及其制备方法。

背景技术

[0002] 壳聚糖是唯一自然存在的碱性多糖,不仅具有杀菌、免疫活性,良好的生物相容性、生物降解性及高生物活性,还具有诱导红细胞聚集,促进血小板活化以及激活补体系统等优点。而生物来源的 γ -聚谷氨酸(γ -PGA)是一种特殊的聚阴离子电解质,具有良好的水溶性,生物降解性和生物相容性,并且能够与壳聚糖形成具有优良性能的电解质复合物水凝胶体系。含有 γ -PGA的水凝胶具有高吸湿性,能为伤口愈合提供湿润的环境,并能快速吸收伤口表面渗出液和血液,促进伤口愈合。纳米银作为一种无机纳米粒子,具有比表面积大,表面反应活性高、表面活性中心多、催化效率高、吸附能力强等性能,特别是具有持续性、持久性和广谱性抗菌特征,并同时具有耐热性好、安全性高和不易产生耐药性等优势。铜是一种天然金属元素,也是人体的一种必需元素之一,但是无机铜的使用往往会引起环境的污染,还容易引发中毒,使铜的应用受到限制。

[0003] 理想的生物医用敷料,需要具有良好的生物相容性、止血抗菌、吸收伤口浸出液,保持创面清洁,同时为创伤的修复提供湿润的愈合环境。水凝胶是一种新型生物材料,其在创伤修复方面有着重要的应用价值,创伤修复过程中创伤感染及其引起的并发症是目前临床应用上的一个重要问题。近年来,多采用抗生素来解决这类问题。然而抗生素的广泛使用导致致病原菌产生了耐药性,因此寻找新的广谱抗菌药物来替代抗生素非常必要。

发明内容

[0004] 针对现有技术中存在的问题,本发明提供了一种生物相容性且抗菌的快速止血纳米材料。

[0005] 本发明还提供了一种生物相容性且抗菌的快速止血纳米材料的制备方法。

[0006] 本发明为了实现上述目的所采用的技术方案为:

[0007] 本发明提供了一种生物相容性且抗菌的快速止血纳米材料,通过以下方法制备而成:所述纳米材料是由壳聚糖和 γ -聚谷氨酸在酸性条件下通过静电相互作用而形成的水凝胶,并在水凝胶上以PVP为分散剂原位合成负载了纳米银或纳米铜。

[0008] 本发明还提供了一种快速止血纳米材料的制备方法,包括以下步骤:

[0009] (1) 将壳聚糖和 γ -聚谷氨酸加入蒸馏水中,搅拌混合均匀,形成混合液;然后,在快速搅拌的同时加入冰醋酸充分搅拌10-15s后混匀,停止搅拌,然后加入酪氨酸水溶液,搅拌10-12s,室温下静置即可形成水凝胶;将水凝胶材料置于蒸馏水中,进行除酸,直至体系的pH不再变化;将除酸后的水凝胶材料置于-20℃冷冻干燥机中冻干至海绵状,即可得到干燥的由壳聚糖、 γ -聚谷氨酸形成的壳聚糖/聚谷氨酸水凝胶;

[0010] (2) 配置 AgNO_3 溶液,并向其中加入PVP,快速搅拌至完全溶解并混合均匀得PVP/

AgNO₃溶液;将上述冷冻干燥的壳聚糖/聚谷氨酸水凝胶切成片状,浸泡在该均匀的PVP/AgNO₃溶液中20-60min直至溶胀平衡;

[0011] (3) 将新配置的NaBH₄溶液逐滴加到上述已溶胀平衡的壳聚糖/聚谷氨酸水凝胶的PVP/AgNO₃溶液体系,并快速搅拌,反应10-30 min,待反应完全之后,取出浸泡体系中的水凝胶,将其进行冷冻干燥12 h即可;

[0012] 所述AgNO₃溶液可以替换为CuCl₂溶液。

[0013] 进一步的,步骤(1)中,所述壳聚糖和 γ -聚谷氨酸的质量比为1:0.5-2;所述混合液的质量体积百分浓度为5% (g/ml)。

[0014] 进一步的,步骤(1)中,所述冰醋酸的加入量占混合液总体积的0.7-1%;所述酪氨酸水溶液的加入量占混合液总体积的0.3-0.5%;所述酪氨酸水溶液的质量浓度为15%。

[0015] 进一步的,步骤(2)中,所述AgNO₃溶液的浓度为2.5-3.5 μ g/ml。

[0016] 进一步的,步骤(2)中,所述PVP与AgNO₃的摩尔比为1.5:1。

[0017] 进一步的,步骤(2)中,所述AgNO₃用量为壳聚糖/ γ -聚谷氨酸水凝胶干重的0.039-0.083%。

[0018] 进一步的,步骤(3)中,所述NaBH₄溶液的浓度为2.0-4.0 μ g/ml。

[0019] 进一步的,步骤(3)中,所述NaBH₄的加量为AgNO₃摩尔量的1.2-3.4倍。

[0020] 本发明针对现有创伤敷料存在的吸湿性差、抗菌性不强或存在耐药性等问题,结合以上三种材料的优良性能,制备出一种具有较强抗菌性能的水凝胶创伤敷料。具体设计思路为:在酸性环境下,壳聚糖侧链上的氨基发生质子化成为聚阳离子电解质,使得溶液带正电荷,酪氨酸水溶液的加入,提高交联度的同时,能够提高制备载体对药物的负载率。 γ -聚谷氨酸侧链带有羧基,为聚阴离子电解质,通过静电相互作用,可以形成均一的水凝胶。再利用水凝胶的溶胀作用,使得用稳定剂(也叫保护剂或分散剂)PVP(聚乙烯吡咯烷酮)均匀分散好的硝酸银(AgNO₃)或氯化铜(CuCl₂)中的银离子、铜离子均匀吸附在水凝胶网状结构中,利用还原剂(NaBH₄),在水凝胶上原位合成纳米银离子、铜离子,即制备出纳米银均匀分布的具有强抗菌性能的水凝胶复合材料,可用作抗菌性创伤敷料,还可用于止血材料、骨组织工程材料或用于抗菌性日用化学品当中。

[0021] 本发明的有益效果为:

[0022] (1) 本发明制备的聚 γ -谷氨酸/壳聚糖/纳米银(铜)复合水凝胶抑菌效果明显,用于创伤敷料能够有效地避免伤口感染,加快伤口愈合。

[0023] (2) 本发明制备的聚 γ -谷氨酸/壳聚糖/纳米银(铜)复合水凝胶制备方法简单,原料成本较低。

[0024] (3) 本发明制备的聚 γ -谷氨酸/壳聚糖/纳米银(铜)具有良好的生物相容性和止血活性,广谱抗菌性和不产生耐药性的特点,所得到的水凝胶复合材料纳米银粒径小,且均匀分布不易团聚,因而具有强抗菌性能,用于创伤敷料能够有效地避免伤口感染,加快伤口愈合,还可用于止血材料、骨组织工程材料或抗菌性化妆品中。

具体实施方式

[0025] 下面通过具体的实施例对本发明的技术方案作进一步的解释和说明。

[0026] 本发明所用壳聚糖为Mw:6 \times 10⁵;脱乙酰化度: \geq 90%;粘度:400MPa \cdot s; γ -聚谷

氨酸 $M_w:4.4 \times 10^5$;所用聚乙烯吡咯烷酮PVP的分子量为 $M_w=630000$ 。

[0027] 实施例1

[0028] (1) 质量体积百分数为2.43%的壳聚糖、2.57%的 γ -聚谷氨酸,即壳聚糖0.2434 g, γ -PGA0.2566 g,于10mL蒸馏水中搅拌混合均匀,搅拌均匀的同时快速加入1%的醋酸溶液,快速搅拌15s混合均匀,然后加入占混合液总体积的0.3%的质量浓度为15%的酪氨酸水溶液,搅拌10s,停止搅拌后室温静置得到均一的水凝胶,将得到的水凝胶材料放入蒸馏水中,磁力搅拌器轻微搅拌,每6 h换一次蒸馏水,至体系pH不再变化;将除酸后的水凝胶材料置于 -20°C 冷冻干燥12 h,至海绵状即可;

[0029] (2) 配置浓度为 $2.5\mu\text{g/ml}$ AgNO_3 溶液20 ml,并向其中加入0.164 mg PVP,快速搅拌至完全溶解并混合均匀。切取1/6质量的冷冻干燥的水凝胶材料浸泡在该均匀的溶液中35 min直至溶胀平衡;

[0030] (3) 将新配置的浓度为 $2.75\mu\text{g/ml}$ 的 NaBH_4 溶液20 ml逐滴加入含溶胀平衡的水凝胶的 AgNO_3 溶液体系,并快速搅拌,反应20分钟,待反应完全之后,取出浸泡的水凝胶,将其冷冻12 h,冷冻干燥之后,进行抗菌试验,证明得到抗菌性水凝胶复合材料。

[0031] 实施例2

[0032] (1) 质量体积百分数为2.53%的壳聚糖、2.53%的 γ -聚谷氨酸,即壳聚糖0.2533 g, γ -PGA0.2533 g,于10mL蒸馏水中搅拌混合均匀,搅拌均匀的同时快速加入0.8%的醋酸溶液,快速搅拌13 s混合均匀,然后加入占混合液总体积的0.3%的质量浓度为15%的酪氨酸水溶液,搅拌10s,停止搅拌后室温静置得到均一的水凝胶,将得到的水凝胶材料放入蒸馏水中,磁力搅拌器轻微搅拌,每6 h换一次蒸馏水,至体系pH不再变化;将除酸后的水凝胶材料置于 -20°C 冷冻干燥12 h,至海绵状即可;

[0033] (2) 配置浓度为 $3.5\mu\text{g/ml}$ AgNO_3 溶液20 ml,并向其中加入0.25 mg PVP,快速搅拌至完全溶解并混合均匀。取质量为1/4的上述冷冻干燥的水凝胶材料浸泡在该均匀的溶液中40 min直至溶胀平衡;

[0034] (3) 将新配置的浓度为 $3.00\mu\text{g/ml}$ 的 NaBH_4 溶液20 ml逐滴加入含溶胀平衡的水凝胶的 AgNO_3 溶液体系,并快速搅拌,反应23分钟,待反应完全之后,取出浸泡体系中的水凝胶,将其冷冻12 h,冷冻干燥之后,进行抗菌试验,证明得到抗菌性水凝胶复合材料。

[0035] 实施例3

[0036] (1) 质量体积百分数为1.01%的壳聚糖、2.02%的 γ -聚谷氨酸,即壳聚糖0.1013 g, γ -PGA0.2026 g,于6 mL蒸馏水中搅拌混合均匀,搅拌均匀的同时快速加入1%的醋酸溶液,快速搅拌10 s混合均匀,然后加入占混合液总体积的0.3%的质量浓度为15%的酪氨酸水溶液,搅拌10s,停止搅拌后室温静置得到均一的水凝胶,将得到的水凝胶材料放入蒸馏水中,磁力搅拌器轻微搅拌,每6 h换一次蒸馏水,至体系pH不再变化;将除酸后的水凝胶材料置于 -20°C 冷冻干燥12 h,至海绵状即可;

[0037] (2) 配置浓度为 $3.5\mu\text{g/ml}$ AgNO_3 溶液20 ml,并向其中加入0.25 mg PVP,快速搅拌至完全溶解并混合均匀,取质量为1/3的上述冷冻干燥的水凝胶材料浸泡在该均匀的溶液中40 min直至溶胀平衡;

[0038] (3) 将新配置的浓度为 $3.00\mu\text{g/ml}$ 的 NaBH_4 溶液20 ml逐滴加入含溶胀平衡的水凝胶的 AgNO_3 溶液体系,并快速搅拌,反应20分钟,待反应完全之后,取出浸泡体系中的水凝

胶,将其冷冻12 h,冷冻干燥之后,进行抗菌试验,证明得到抗菌性水凝胶复合材料。

[0039] 实施例4

[0040] (1) 质量体积百分数为2.02%的壳聚糖、1.01%的 γ -聚谷氨酸,即壳聚糖0.2024 g, γ -PGA0.1012 g,于6 mL蒸馏水中搅拌混合均匀,搅拌均匀的同时快速加入0.8%的醋酸溶液,快速搅拌13 s混合均匀,然后加入占混合液总体积的0.3%的质量浓度为15%的酪氨酸水溶液,搅拌10s,停止搅拌后室温静置得到均一的水凝胶,将得到的水凝胶材料放入蒸馏水中,磁力搅拌器轻微搅拌,每6 h换一次蒸馏水,至体系pH不再变化;将除酸后的水凝胶材料置于-20℃冷冻干燥12 h,至海绵状即可;

[0041] (2) 配置浓度为3.5 μ g/ml AgNO_3 溶液20 ml,并向其中加入0.25 mg PVP,快速搅拌至完全溶解并混合均匀。取质量为1/2的上述冷冻干燥的水凝胶材料浸泡在该均匀的溶液中40 min直至溶胀平衡;

[0042] (3) 将新配置的浓度为3.00 μ g/ml的 NaBH_4 溶液20 ml逐滴加入含溶胀平衡的水凝胶的 AgNO_3 溶液体系,并快速搅拌,反应30分钟,待反应完全之后,取出浸泡体系中的水凝胶,将其冷冻12 h,冷冻干燥之后,进行抗菌试验,证明得到抗菌性水凝胶复合材料。

[0043] 实施例5

[0044] (1) 质量体积百分数为2.02%的壳聚糖、1.01%的 γ -聚谷氨酸,即壳聚糖0.2024 g, γ -PGA0.1012 g,于6 mL蒸馏水中搅拌混合均匀,搅拌均匀的同时快速加入0.8%的醋酸溶液,快速搅拌13 s混合均匀,然后加入占混合液总体积的0.3%的质量浓度为15%的酪氨酸水溶液,搅拌10s,停止搅拌后室温静置得到均一的水凝胶,将得到的水凝胶材料放入蒸馏水中,磁力搅拌器轻微搅拌,每6 h换一次蒸馏水,至体系pH不再变化;将除酸后的水凝胶材料置于-20℃冷冻干燥12 h,至海绵状即可;

[0045] (2) 配置浓度为3.5 μ g/ml CuCl_2 溶液20 ml,并向其中加入0.25 mg PVP,快速搅拌至完全溶解并混合均匀。取质量为1/2的上述冷冻干燥的水凝胶材料浸泡在该均匀的溶液中40 min直至溶胀平衡;

[0046] (3) 将新配置的浓度为3.00 μ g/ml的 NaBH_4 溶液20 ml逐滴加入含溶胀平衡的水凝胶的 CuCl_2 溶液体系,并快速搅拌,反应30分钟,待反应完全之后,取出浸泡体系中的水凝胶,将其冷冻12 h,冷冻干燥之后,进行抗菌试验,证明得到抗菌性水凝胶复合材料。

[0047] 对比例1

[0048] (1) 质量体积百分数为2.43%的壳聚糖、2.57%的 γ -聚谷氨酸,即壳聚糖0.2434 g, γ -PGA0.2566 g,于10mL蒸馏水中搅拌混合均匀,搅拌均匀的同时快速加入1%的醋酸溶液,快速搅拌15s混合均匀,停止搅拌后室温静置得到均一的水凝胶,将得到的水凝胶材料放入蒸馏水中,磁力搅拌器轻微搅拌,每6 h换一次蒸馏水,至体系pH不再变化;将除酸后的水凝胶材料置于-20℃冷冻干燥12 h,至海绵状即可;

[0049] (2) 配置浓度为2.5 μ g/ml AgNO_3 溶液20 ml,并向其中加入0.164 mg PVP,快速搅拌至完全溶解并混合均匀。切取1/6质量的冷冻干燥的水凝胶材料浸泡在该均匀的溶液中35 min直至溶胀平衡;

[0050] (3) 将新配置的浓度为2.75 μ g/ml的 NaBH_4 溶液20 ml逐滴加入含溶胀平衡的水凝胶的 AgNO_3 溶液体系并快速搅拌,反应20分钟,待反应完全之后,取出浸泡的水凝胶,将其冷冻12 h,冷冻干燥之后,进行抗菌试验,证明得到抗菌性水凝胶复合材料。

[0051] 通过试验发现,对比例1的药物负载率较本发明实施例1降低5%左右。

[0052] 性能测试:

[0053] (一)采用大肠杆菌和金黄色葡萄球菌为试验菌种,按照ISO 22196-2007和QB/T 2591-2003标准进行抗菌能力测试,拟用牛津杯法对本发明实施例1及5制得的复合水凝胶进行检测,检测试验水凝胶的24 h抑菌圈大小,参照GB 4789.2-2010标准进行试验前后的菌落总数测定,菌落培养条件为 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度大于90%,所得试验数据使用SPSS13.0软件进行统计处理, $P<0.05$ 表示有显著性差异,得到24 h抑菌圈大小。

[0054] 所得数据如表1所示。

[0055] 表1:抑菌效果(抑菌圈直径)

	菌种	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
	聚 γ -谷氨酸/壳聚糖	18mm	16mm
[0056]	实施例 1	29mm	28.5mm
	实施例 5	30mm	27mm
	对比例 1	24mm	23.5mm