



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114832144 A

(43) 申请公布日 2022.08.02

(21) 申请号 202210446134.0 *A61L 15/42* (2006.01)  
(22) 申请日 2022.04.26 *A61L 15/44* (2006.01)  
(71) 申请人 深圳湾实验室 *A61L 15/46* (2006.01)  
地址 518132 广东省深圳市光明区玉塘街  
道田寮社区光侨路高科创新中心  
(72) 发明人 彭琴 钱智勇  
(74) 专利代理机构 北京元本知识产权代理事务  
所(普通合伙) 11308  
专利代理师 黎昌莉  
(51) Int. Cl.  
*A61L 15/32* (2006.01)  
*A61L 15/18* (2006.01)  
*A61L 15/24* (2006.01)  
*A61L 15/26* (2006.01)  
*A61L 15/28* (2006.01)

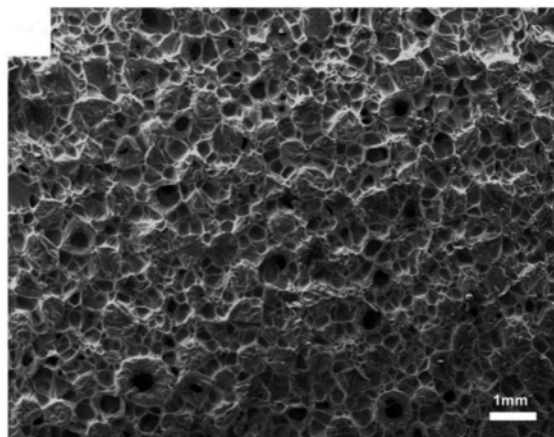
权利要求书2页 说明书14页 附图1页

(54) 发明名称

广谱抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴及其制备和应用

(57) 摘要

本发明属于医疗技术领域,具体涉及的是广谱抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴及其制备和应用。该创可贴由内层的隔离膜、外层的粘性背衬和中间的药物层组成,药物层包括丝素蛋白、活力碘和制备创可贴药物层的辅料,其质量比为1:0.5~2:0.1~10。本专利发明的丝素蛋白创可贴具有广谱抗菌抗氧化作用,通过降低创面氧化应激反应加速创面愈合。该创可贴保湿性好,透气性强,具有阻隔性和易揭性,是一种广谱抗菌抗氧化的新型创可贴。该创可贴通过冻干制备完成,制备工艺简单、成本低廉、治疗效果突出、生物安全性好,弥补现有市售创可贴不足,具有显著的医用价值和产业化潜力。



1. 用于制备丝素蛋白创可贴的药物层的组合物,其特征在于,所述组合物包括丝素蛋白、活力碘和制备创可贴药物层的辅料,其质量比为1:0.5~2:0.1~10;所述辅料组分包括壳聚糖和吸水聚合物;

所述丝素蛋白为天然丝素蛋白和/或改性丝素蛋白;所述改性丝素蛋白为部分去除或完全去除钙的丝素蛋白、加热处理的丝素蛋白及其衍生物、紫外照射的丝素蛋白及其衍生物、有机溶剂处理的丝素蛋白及其衍生物中的任一种或几种;

所述活力碘由单质碘和碘的缓释材料组成。

2. 根据权利要求1所述的组合物,其特征在于,所述辅料组分壳聚糖和吸水聚合物的质量比为1:0.1~5。

3. 根据权利要求2所述的组合物,其特征在于,所述吸水聚合物选自天然吸水聚合物和/或人工合成吸水聚合物;所述天然吸水聚合物为胶原、明胶或纤维素及其衍生物;所述人工合成吸水聚合物为聚乙二醇、聚丙烯酰胺、聚丙烯酸钠或聚乙烯醇。

4. 根据权利要求1所述的组合物,其特征在于,所述碘的缓释材料选自聚合物材料和/或小分子材料,所述聚合物材料包括淀粉、纤维素及其衍生物、聚乙烯吡咯烷酮和聚乙二醇,所述小分子材料包括 $\alpha$ -环糊精、 $\beta$ -环糊精和 $\gamma$ -环糊精。

5. 根据权利要求1-4所述的组合物,其特征在于,所述组合物中丝素蛋白、活力碘、壳聚糖和明胶的质量比为1:0.5~2:2~10:0.1~5。

6. 在制备权利要求1所述的创可贴时所述丝素蛋白作为抗氧化剂的应用。

7. 权利要求1所述的创可贴的药物层的制备方法,其特征在于,具体包括以下步骤:

S1: 将权利要求1所述活力碘、所述丝素蛋白和所述辅料混合并冷冻,制备抗菌抗氧化多孔海绵;

S2: 在S1所述抗氧化多孔海绵的光滑表面上均匀滴入硬脂酸溶液,得权利要求1所述的丝素蛋白创可贴的药物层。

8. 根据权利要求7所述的制备方法,其特征在于,所述丝素蛋白选用改性丝素蛋白时,改性丝素蛋白的改性方法为未改性丝素蛋白通过添加钙的螯合剂或能与钙发生螯合作用的氨基酸制备所述改性丝素蛋白;所述钙的螯合剂为EDTA及其衍生物、EGTA AM及其衍生物、BAPTA及其衍生物;所述能与钙发生螯合作用氨基酸包括谷氨酸、丙氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸、天冬酰胺氨酸、精氨酸、苏氨酸、酪氨酸、色氨酸、甘氨酸、丝氨酸、缬氨酸、组氨酸、异亮氨酸和半胱氨酸及其衍生物中的任一种或几种;

或通过加热处理制备所述改性丝素蛋白;

或通过紫外照射制备所述改性丝素蛋白;

或通过有机溶剂处理制备所述改性丝素蛋白。

9. 权利要求7-8所述的制备方法制备的创可贴的药物层。

10. 根据权利要求9所述的药物层,其特征在于,所述药物层为多孔结构,其孔隙率为60%~85%,其孔径大小为0.5~2mm。

11. 根据权利要求9所述的药物层,其特征在于,所述药物层的吸水倍率为15~20倍;吸水倍率Q计算公式如下: $Q = (M_2 - M_1) / M_1$ ,单位为g/g;M<sub>1</sub>为吸液前试样质量,单位为g;M<sub>2</sub>为吸液后试样质量,单位为g。

12. 根据权利要求11所述的药物层,其特征在于,所述药物层在水中吸水倍率为15~

20;在盐水中吸水倍率为10~16;在磷酸缓冲液中吸水倍率为8~12;在细胞培养液中吸水倍率为5~10;在血清中吸水倍率为3~7。

13.一种含有权利要求9所述的药物层的创可贴,其特征在于,所述创可贴由内层的隔离膜、外层的粘性背衬和中间的权利要求9所述的药物层组成。

14.权利要求1所述的组合物或权利要求9所述的药物层或权利要求13所述的创可贴在制备用于伤口愈合的促进剂中的应用。

15.根据权利要求14所述的应用,其特征在于,权利要求1所述的组合物或权利要求9所述的药物层或权利要求13所述的创可贴在制备用于伤口愈合的抗氧化剂中的应用。

16.根据权利要求14所述的应用,其特征在于,权利要求1所述的组合物或权利要求9所述的药物层或权利要求13所述的创可贴在制备用于伤口愈合的抗菌剂中的应用。

17.根据权利要求14所述的应用,其特征在于,权利要求1所述的组合物或权利要求9所述的药物层或权利要求13所述的创可贴在制备用于血管再生的促进剂中的应用。

## 广谱抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴及其制备和应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于医疗技术领域,具体涉及的是广谱抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴及其制备和应用。

### 背景技术

[0002] 创可贴是人们生活中最常用的一种外科用药,具有止血和护创作用,适用于日常生活中皮肤擦挂伤、切割伤和面积较小、创伤表浅、伤口出血不多、不需要缝合的小伤口使用,起到应急治疗、暂时止血和保护创面作用,能够有效防止伤口感染。

[0003] 传统市场销售的创可贴分为不含药型和含药型。不含药物创可贴是由一块胶布中间附以一小块纱布构成,其结构简单,日常应用十分有限;含药型创可贴主要有云南白药创可贴、呋喃西林创可贴、苯扎氯铵创可贴等。现有的创可贴因其外层的胶布透气性差而不能持久使用,使用时间过长会使伤口和伤口周围的皮肤发白、变软,从而导致细菌继发性感染,加速伤口恶化。并且,创可贴本身没有促进创面愈合的功能,即使是载药创可贴也仅仅是防止创面感染,不具备抗菌和加速创面愈合的功效。

[0004] 经过文献调研得知创伤会导致创面产生炎症反应,从而导致创面处于氧化应激状态。氧化应激反应是由于过量的活性氧对伤口部位的DNA、脂质、蛋白质和碳水化合物造成严重破坏而造成的,不平衡的活性氧会改变细胞功能,导致信号传导通路异常,诱发炎症和瘢痕挛缩。

[0005] 现有研究证明,抗氧化剂治疗可以有效加速损伤组织修复。本发明通过对丝素蛋白的进一步研究发现,无钙或低钙的丝素蛋白具有良好的广谱抗氧化作用,经过加热处理、有机试剂处理、紫外照射和/或醇类改性修饰后的广谱抗氧化丝素蛋白,作为抗氧化剂可降低创面的氧化应激反应。

[0006] 针对现有市售创可贴产品的不足,本专利结合广谱抗氧化丝素蛋白、壳聚糖、吸水聚合物、抗菌剂、增塑剂和/或乳化剂,制备出具有广谱抗菌抗氧化作用的海绵,然后以该海绵作药物层,制备出一种新型的抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴。该创可贴不仅具有广谱抗氧化作用,可以有效清除羟基自由基、过氧化氢、超氧阴离子和单线态氧,还具有广谱抗菌功能,能有效杀死白色念珠菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌。在铜绿假单胞菌感染小鼠全层皮肤缺损模型中,促进创面愈合、血管再生和神经再生效果显著。

[0007] 本专利发明的创可贴保湿性好,透气性强,具有阻隔性和易揭性,是一种广谱抗菌抗氧化的新型创可贴。该创可贴通过冻干制备完成,制备工艺简单,成本低廉,治疗效果突出,并且生物安全性好,弥补现有市售创可贴不足,具有显著的医用价值和产业化潜力。

[0008] 公开号为CN105031714A的发明专利公开了一种以丝素蛋白为基本原料的创可贴,其具有良好的抗菌作用,可促进创口愈合,然而该创可贴主要利用丝素蛋白膜的透气性和生物相容性,未公开丝素蛋白的抗氧化性能,无法快速有效地解决创伤引发的氧化应激反应。

## 发明内容

[0009] 本发明的目的之一在于提供的是具有高强度广谱抗氧化作用的改性丝素蛋白,该改性丝素蛋白具有高强度广谱抗氧化作用,可以清除损伤器官微环境过量活性氧,加速修复因氧化应激导致的急性和慢性炎症损伤器官。

[0010] 为实现上述目的,本发明采用以下技术方案:

[0011] 具有高强度广谱抗氧化作用的改性丝素蛋白,其特征在于,所述改性丝素蛋白为部分去除钙或完全去除钙的丝素蛋白。

[0012] 去除丝素蛋白中的钙离子,可以提高丝素蛋白的抗氧化作用,从而有效清除羟基自由基、过氧化氢、超氧阴离子和单线态氧。

[0013] 本发明的目的之二在于提供用于改性丝素蛋白的试剂,该试剂可以将丝素纤维和/或丝素蛋白中的钙部分去除或者完全去除。

[0014] 为实现上述目的,本发明采用以下技术方案:

[0015] 用于改性丝素蛋白的试剂,其特征在于,所述试剂为钙的螯合剂或能与钙发生螯合作用的氨基酸。

[0016] 进一步,所述钙的螯合剂为EDTA及其衍生物、EGTAAM及其衍生物、BAPTA及其衍生物。

[0017] 进一步,所述能与钙发生螯合作用的氨基酸包括谷氨酸、丙氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸、天冬酰胺氨酸、精氨酸、苏氨酸、酪氨酸、色氨酸、甘氨酸、丝氨酸、缬氨酸、组氨酸、异亮氨酸和半胱氨酸及其衍生物中的任一种或几种。

[0018] 更进一步,所述EDTA及其衍生物为EDTA及其衍生物水溶液、EDTA及其衍生物改性的大分子、EDTA及其衍生物改性的高分子中的任一种或几种;所述EGTA AM及其衍生物为EGTAAM及其衍生物水溶液、EGTA AM及其衍生物改性的大分子、EGTA AM及其衍生物改性的高分子中的任一种或几种;所述BAPTA及其衍生物为BAPTA及其衍生物水溶液、BAPTA及其衍生物改性的大分子、BAPTA及其衍生物改性的高分子中的任一种或几种。

[0019] 更进一步,所述氨基酸为氨基酸的水溶液、氨基酸改性大分子、氨基酸改性高分子中的任一种或几种。

[0020] 进一步,所述试剂还包括中性盐溶液。

[0021] 更进一步,所述中性盐溶液为溴化锂溶液、氯化钙三元液、硫氰酸锂溶液、氯化锌溶液中的任一种或几种。

[0022] 本发明的目的之三在于提供一种运用试剂提升丝素蛋白广谱抗氧化作用的方法。

[0023] 为实现上述目的,本发明采用以下技术方案:

[0024] 运用试剂提升丝素蛋白广谱抗氧化作用的方法,用所述钙的螯合剂将丝素蛋白和/或丝素纤维中的钙部分去除或者完全去除,所述丝素蛋白来源于蚕茧、生丝或熟丝中的任一种或几种。

[0025] 进一步,用所述钙的螯合剂将丝素蛋白和/或丝素纤维中的钙部分去除或者完全去除,再用所述中性盐溶液充分反应;

[0026] 或用所述中性盐溶液与丝素蛋白和/或丝素纤维充分反应后,再用所述钙的螯合剂将丝素蛋白和/或丝素纤维中的钙部分去除或者完全去除。

[0027] 进一步,用所述钙的螯合剂处理丝素纤维后,用所述溴化锂溶液溶解丝素纤维获

得的高强度广谱抗氧化作用丝素蛋白溶液；

[0028] 或用所述溴化锂溶液溶解丝素纤维制备的丝素蛋白溶液，再用所述钙的螯合剂处理溴化锂提取的丝素蛋白溶液；

[0029] 或用所述氯化钙三元液溶解丝素纤维制备的丝素蛋白溶液，再用所述钙的螯合剂处理氯化钙提取的丝素蛋白溶液。

[0030] 本发明的目的之四在于提供的是改性丝素蛋白的制备方法，该方法工序简单，节约成本，方便质控，可以大规模生产。

[0031] 为实现上述目的，本发明采用以下技术方案：

[0032] 改性丝素蛋白的制备方法，具体包括以下步骤：

[0033] S1：用所述氯化钙三元液和/或溴化锂溶液溶解丝素纤维，经过除盐得到丝素蛋白溶液；

[0034] S2：将所述钙的螯合剂加入S1所得的丝素蛋白溶液中充分反应，除盐处理后得到低钙或者无钙的丝素蛋白溶液。

[0035] 其中，除盐方法为透析法；中性盐溶液溶解丝素纤维的温度条件优选为80℃；加入钙的螯合剂后，反应时间为0.1~24h。

[0036] 进一步，S1中所述氯化钙三元液为氯化钙、无水乙醇和水以摩尔比为1:1~5:1~20的比例配制而成。

[0037] 进一步，S1中所述溴化锂溶液浓度为1-20M。

[0038] 进一步，S2所述钙的螯合剂为EDTA或其衍生物，浓度为0.1~500mM。

[0039] 进一步，改性丝素蛋白在制备治疗或检测氧化应激导致的急性和慢性炎症疾病中的药物和设备中的应用。

[0040] 更进一步，所述设备为可穿戴设备。

[0041] 进一步，含有改性丝素蛋白制备的药学上可接受的载体的制剂。

[0042] 更进一步，所述制剂为喷剂、水凝胶、支架、药物载体。

[0043] 本发明的目的之五在于提供的是用于制备丝素蛋白创可贴的药物层的组合物，该组合物具有广谱抗菌抗氧化作用，可以有效抗菌抗氧化，加速创面愈合。

[0044] 为实现上述目的，本发明采用以下技术方案：

[0045] 用于制备丝素蛋白创可贴的药物层的组合物，所述组合物包括丝素蛋白、活力碘和制备创可贴药物层的辅料，其质量比为1:0.5~2:0.1~10；所述辅料组分包括壳聚糖和吸水聚合物；

[0046] 所述丝素蛋白为天然丝素蛋白和/或改性丝素蛋白；所述改性丝素蛋白为部分去除或完全去除钙的丝素蛋白、加热处理的丝素蛋白及其衍生物、紫外照射的丝素蛋白及其衍生物、有机溶剂处理的丝素蛋白及其衍生物中的任一种或几种；

[0047] 所述活力碘由单质碘和碘的缓释材料组成。

[0048] 丝素蛋白作为广谱抗氧化剂，可以是强度抗氧化丝素蛋白溶液、强度抗氧化丝素蛋白海绵和/或强度抗氧化丝素蛋白微纳米级颗粒。

[0049] 进一步，广谱抗氧化剂优选为脱丝胶高纯度丝素纤维、经过加热处理的丝素蛋白溶液、经过紫外照射的丝素蛋白溶液、经过有机溶剂处理的丝素蛋白溶液、经过丙烯酸酐修饰的丝素蛋白、经过甲基丙烯酸酐修饰丝素蛋白、经过衣康酸酐修饰的丝素蛋白、经过马来

酸酐修饰的丝素蛋白中的任一种或几种。

[0050] 进一步,所述辅料组分壳聚糖和吸水聚合物的质量比为1:0.1~5。

[0051] 进一步,所述吸水聚合物选自天然吸水聚合物和/或人工合成吸水聚合物;所述天然吸水聚合物为胶原、明胶或纤维素及其衍生物;所述人工合成吸水聚合物为聚乙二醇、聚丙烯酰胺、聚丙烯酸钠或聚乙烯醇。

[0052] 更进一步,所述聚乙二醇优选为PEG-400、PEG-600、PEG-1500、PEG-4000、PEG-6000、PEG-20000中的任一种或几种。

[0053] 进一步,所述壳聚糖为酸溶性壳聚糖及其衍生物、水溶性壳聚糖及其衍生物、酸酐类修饰的壳聚糖及其衍生物中的任一种或几种;所述酸酐类化合物为丙烯酸酐、甲基丙烯酸酐、丙烯酸酐、马来酸酐和/或衣康酸酐。

[0054] 更进一步,所述壳聚糖优选为高脱乙酰度壳聚糖、经过丙烯酸酐修饰的壳聚糖、经过甲基丙烯酸酐修饰壳聚糖、经过马来酸酐修饰的壳聚糖、经过衣康酸酐修饰的壳聚糖中的任一种或几种。

[0055] 进一步,所述碘的缓释材料选自聚合物材料和/或小分子材料,所述聚合物材料包括淀粉、纤维素及其衍生物、聚乙烯吡咯烷酮和聚乙二醇,所述小分子材料包括 $\alpha$ -环糊精、 $\beta$ -环糊精和 $\gamma$ -环糊精。

[0056] 更进一步,所述活力碘作为广谱抗菌剂,还可以是纳米四氧化三铁、纳米氧化锌、纳米二氧化钛、纳米金,纳米银、纳米锌、壳聚糖季铵盐、胍盐类抗菌材料、单质碘中的任一种或几种与抗菌剂缓释载体制备而成。

[0057] 抗菌剂缓释载体可以缓慢释放抗菌剂到创面,有效清除创面微生物,并将正常组织伤害降到最低。

[0058] 活力碘的制备:将碘溶液和 $\beta$ -环糊精溶液按体积比1:1混合,并利用超声波将碘装填到环糊精内部,制备出具有广谱抗菌功能的活力碘。

[0059] 进一步,所述组合物中丝素蛋白、活力碘、壳聚糖和明胶的质量比为1:0.5~2:2~10:0.1~5。

[0060] 进一步,在制备所述创可贴时所述丝素蛋白作为抗氧化剂的应用。

[0061] 丝素蛋白具有良好的广谱抗氧化作用,经过钙的螯合剂、加热、有机试剂或紫外线等处理过的改性丝素蛋白,抗氧化能力会增强,作为抗氧化剂,可以有效降低创面的氧化应激反应,促进创面愈合,血管再生和神经再生。

[0062] 本发明的目的之六在于提供的是创可贴的药物层的制备方法,该制备方法成本低廉,方便质控,可用于大规模生产。

[0063] 为实现上述目的,本发明采用以下技术方案:

[0064] 创可贴的药物层的制备方法,具体包括以下步骤:

[0065] S1:将所述活力碘、所述丝素蛋白和所述辅料混合并冷冻,制备抗菌抗氧化多孔海绵;

[0066] S2:在S1所述抗氧化多孔海绵的光滑表面上均匀滴入硬脂酸溶液,得丝素蛋白创可贴的药物层。

[0067] S1中冷冻条件为:-4℃预冻1~24h,-20℃冷冻4~12h,-70℃冷冻6~12h。

[0068] 进一步,所述丝素蛋白选用改性丝素蛋白时,所述改性丝素蛋白的改性方法为未

改性丝素蛋白通过添加钙的螯合剂或能与钙发生螯合作用的氨基酸制备所述改性丝素蛋白;所述钙的螯合剂为EDTA及其衍生物、EGTA AM及其衍生物、BAPTA及其衍生物;所述能与钙发生螯合作用氨基酸包括谷氨酸、丙氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸、天冬酰胺氨酸、精氨酸、苏氨酸、酪氨酸、色氨酸、甘氨酸、丝氨酸、缬氨酸、组氨酸、异亮氨酸和半胱氨酸及其衍生物中的任一种或几种;

[0069] 或通过加热处理制备所述改性丝素蛋白;

[0070] 或通过紫外照射制备所述改性丝素蛋白;

[0071] 或通过有机溶剂处理制备所述改性丝素蛋白。

[0072] 进一步,丝素蛋白采用加热处理改性时,加热温度为60℃~120℃,加热时间为1~12h。

[0073] 本发明的目的之七在于提供创可贴的药物层,该药物层具有良好的力学强度、柔性韧性、吸水功能和广谱抗氧化抗菌作用,可有效加速创面愈合。

[0074] 为实现上述目的,本发明采用以下技术方案:

[0075] 创可贴的药物层,所述药物层的为多孔结构,其孔隙率为60%~85%,其孔径大小为0.5~2mm。

[0076] 进一步,所述药物层的吸水倍率为15~20倍; $Q = (M_2 - M_1) / M_1$ ,单位为g/g;M<sub>1</sub>为吸液前试样质量,单位为g;M<sub>2</sub>为吸液后试样质量,单位为g。

[0077] 进一步,所述药物层在水中吸水倍率为12~18;在盐水中吸水倍率为10~16;在磷酸缓冲液中吸水倍率为8~12;在细胞培养液中吸水倍率为5~10;在血清中吸水倍率为3~7。

[0078] 进一步,所述药物层还包括增塑剂和/或乳化剂。

[0079] 进一步,所述增塑剂为甘油、丙二醇、山梨醇中的任一种或几种;所述乳化剂为硬脂酸钠、硬脂酸钾、油酸钠、脂肪酸山梨坦、十六烷基硫酸化蓖麻油中的任一种或几种。

[0080] 进一步,所述丝素蛋白、壳聚糖、明胶、活力碘和增塑剂的质量比为1:2-10:0.1-2:0.5-2:1-5。

[0081] 本发明的目的之八在于提供一种含有药物层的创可贴,该药物层将广谱抗菌剂和广谱抗氧化剂负载到壳聚糖-吸水聚合物中,壳聚糖-吸水聚合物多孔海绵作为吸水和隔离层,广谱抗氧化剂和广谱抗菌剂联用,使得含有该药物层的创可贴具有良好的抗氧化作用、抗菌功能、力学性能、柔韧性、吸水性和保湿作用。

[0082] 为实现上述目的,本发明采用以下技术方案:

[0083] 一种含有药物层的创可贴,所述创可贴由内层的隔离膜、外层的粘性背衬和中间的药物层组成。

[0084] 进一步,所述粘性胶布层为粘性无纺布、粘性医用绷带、粘性PE膜中的任一种;所述隔离膜层为PE塑料膜。

[0085] 进一步,所述组合物或所述药物层或创可贴在制备用于伤口愈合的促进剂中的应用。

[0086] 更进一步,所述组合物或所述药物层或创可贴在制备用于伤口愈合的抗氧化剂中的应用。

[0087] 更进一步,所述组合物或所述药物层或创可贴在制备用于伤口愈合的抗菌剂中的



应用。

[0088] 更进一步,所述组合物或所述药物层或创可贴在制备用于血管再生的促进剂中的应用。

[0089] 本发明将广谱抗氧化剂和广谱抗菌剂负载到壳聚糖-吸水聚合物中,再采用非对称改性烷烃衍生物修饰海绵光滑面,制备出具有抗菌抗氧化作用的多孔非对称性海绵,再以该海绵作药物层制备出抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴,由于壳聚糖刚性的分子结构使得药物层具有良好的力学强度,加上添加了具有柔性结构和吸水能力的大分子或聚合物,使得该药物层又具有良好柔韧性性和良好的吸水功能,与皮肤接触比较舒适。负载了抗菌剂和抗氧化剂的丝素蛋白创可贴不但具有广谱抗菌功能,同时还能降低创面微环境氧化应激反应,加速创面愈合。

[0090] 创可贴可用于治疗日常生活中皮肤擦伤、割伤、面积较小、创伤表浅、伤口出血不多、不需要缝合的小伤口,起到应急治疗、暂时止血和保护创面作用。

[0091] 本发明的有益之处在于:

[0092] 1. 本专利发明的创可贴的药物层中含有抗氧化丝素蛋白,使用时创面与药物层直接接触,可以有效降低创面氧化应激反应,恢复机体的修复功能,加速创面的愈合。

[0093] 2. 本专利发明的创可贴的药物层中含有的吸水大分子或聚合物具有一定吸水作用,其吸水倍率为15~20倍,遇水后瞬时吸收。吸水功能有助于创面止血,与血液接触时,血液中的血小板、凝血酶、纤维蛋白等止血成分高度浓缩,从而加速和加强血凝块的形成。并且药物层还能吸收多余的渗出物,减少细菌滋生。

[0094] 3. 本专利发明的创可贴的药物层中含有的吸水大分子或聚合物具有一定锁水作用,当药物层与体液接触时,材料自身溶胀形成凝胶状,可以有效将创面与外界隔绝,同时具有良好的透气性。药物层中的吸水大分子富含羧基或者羟基,氢键与水分子结合,使得该药物层具有分子内锁水特性,通过外力不能将吸收的水分挤出。药物层的锁水作用使接触面保持一定的湿度,从而有利于加速上皮组织形成、减轻疼痛、分解坏死组织,并利于抗菌剂的缓慢释放。

[0095] 4. 本专利发明的创可贴的药物层中的抗菌剂缓释载体长时间缓慢释放抗菌剂,减少或阻止了创面微生物的生长。

[0096] 5. 抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴具有广谱抗菌抗氧化作用,可以清除创面微环境中过量的自由基,加速伤口愈合,有效防止创面感染。该创可贴可以用于治疗日常生活中皮肤擦伤、割伤、面积较小、创伤表浅、伤口出血不多以及不需要缝合的小伤口,弥补了现有市售创可贴的不足,具有显著的医用价值和产业化潜力。

[0097] 6. 抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴采用冻干法制备,中间无须分离纯化过程,既节约成本,方便质控,又利于大规模生产。

## 附图说明

[0098] 图1为实施例1制备的抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴的照片;

[0099] 图2实施例1中药物层的扫描电镜照片。

## 具体实施方式

[0100] 所举实施例是为了更好地对本发明进行说明,但并不是本发明的内容仅局限于所举实施例。所以熟悉本领域的技术人员根据上述发明内容对实施方案进行非本质的改进和调整所获得的技术方案,仍属于本发明的保护范围。

[0101] 如无特殊说明,实施例中的百分数表示溶剂的质量分数。

[0102] 实施例1

[0103] 制备抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴样品1,具体步骤如下:

[0104] (1) 2% $\beta$ -环糊精加热溶解后,与5%碘酒按体积比1:1混合,超声30min后,蒸干溶剂,收集固体粉末;

[0105] (2) 取20mL 4%丝素蛋白在95℃条件下处理2h,加入1mL甘油,机械搅拌10min,然后加入10mL 5%明胶溶液,机械搅拌10min形成白色乳液,再加入10mL 2%壳聚糖溶液,机械搅拌30分钟备用;

[0106] (3) 取步骤(1)制备的棕色粉末1g,加入4mL去离子水,加入步骤(2)制备的混合溶液中,搅拌30分钟,得到浅棕色乳液,将其倒入100×150mm容器中,4℃放置1h,-20℃放置4h,-70℃放置6h,冻干机冻干,获得抗菌抗氧化多孔海绵(CTS-GEL/SF/CD-I)。

[0107] (4) 将步骤(3)制备的CTS-GEL/SF/CD-I海绵在水中完全溶胀,-20℃放置4h,将8mL硬脂酸溶液均匀地滴在CTS-GEL/SF/CD-I海绵的光滑表面上,冷冻持续2小时,20℃下用无水乙醇冲洗3次CTS-GEL/SF/CD-I海绵的光滑表面,获得创口贴的药物层(CTS-GEL/SF/CD-I/SA海绵)。

[0108] (5) 将步骤(4)制备的药物层裁切合适尺寸,粘贴于粘性无纺布胶面层,覆盖隔离膜,包装,并进行塑封辐照灭菌,获得抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴样品1。

[0109] 实施例2

[0110] 制备抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴样品2,具体步骤如下:

[0111] (1) 5%碘酒与2%聚乙烯吡咯烷酮溶液混合,超声30min,蒸干溶剂,收集固体粉末;

[0112] (2) 取20mL 4%丝素蛋白在95℃条件下处理2h,加入1mL甘油,机械搅拌10min,然后加入10mL 5%明胶溶液,机械搅拌10min形成白色乳液,再加入10mL 2%壳聚糖溶液,机械搅拌30分钟备用;

[0113] (3) 取步骤(1)制备的棕色粉末1g,加入5mL去离子水,加入步骤(2)制备的溶液中,搅拌10分钟后,倒入100×150mm容器中,4℃放置1h,-20℃放置4h,-70℃放置6h,冻干机冻干,获得CTS-GEL/SF/PP-I海绵。

[0114] (4) 将步骤(3)制备的CTS-GEL/SF/PP-I海绵在水完全溶胀,-20℃放置4h,将8mL硬脂酸溶液均匀地滴在CTS-GEL/SF/PP-I海绵的光滑表面上,冷冻持续2小时,在20℃下用无水乙醇冲洗3次CTS-GEL/SF/PP-I海绵的光滑表面,获得创口贴的药物层(CTS-GEL/SF/PP-I/SA海绵)。

[0115] (5) 将步骤(4)制备的药物层裁切合适尺寸,粘贴于粘性无纺布胶面层,覆盖隔离膜,包装,并进行塑封辐照灭菌,获得抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴样品2。

[0116] 实施例3

[0117] 制备抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴样品3,具体步骤如下:

[0118] (1) 2% $\beta$ -环糊精加热溶解后,与5%碘酒按体积比1:1混合,超声30min,蒸干溶剂收集固体粉末;

[0119] (2) 取20mL 4%丝素蛋白在95℃条件下处理2h,加入1mL甘油,机械搅拌10min,然后加入10mL 5%聚乙烯醇溶液,机械搅拌10min形成白色乳液,再加入10mL 2%壳聚糖溶液,机械搅拌30分钟备用;

[0120] (3) 取步骤(1)制备的棕色粉末1g,加入5mL去离子水,加入步骤(2)制备的溶液中,搅拌10分钟后,倒入100×150mm容器中,4℃放置1h,-20℃放置4h,-70℃放置6h,冻干机冻干,获得CTS-PVA/SF/CD-I海绵;

[0121] (4) 将步骤(3)制备的CTS-PVA/SF/CD-I海绵在水中完全溶胀,-20℃放置4h,将8mL硬脂酸溶液均匀地滴在CTS-PVA/SF/CD-I海绵的光滑表面上,冷冻持续2小时,在20℃下用无水乙醇冲洗3次CTS-PVA/SF/CD-I海绵的光滑表面,获得创口贴的药物层(CTS-PVA/SF/CD-I/SA海绵),包装,裁切,钴60辐照灭菌;

[0122] (5) 将步骤(4)制备的药物层裁切合适尺寸,粘贴于粘性无纺布胶面层,覆盖隔离膜,包装,并进行塑封辐照灭菌,获得抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴样品3。

[0123] 实施例4

[0124] 制备抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴样品4,具体步骤如下:

[0125] (1) 将5%碘酒加入到聚乙烯吡咯烷酮溶液中,超声30min,蒸干溶剂,收集固体粉末;

[0126] (2) 取20mL 4%丝素蛋白在95℃条件下处理2h,加入1mL甘油,机械搅拌10min,然后加入10mL 5%聚乙烯醇溶液,机械搅拌10min形成白色乳液,再加入10mL 2%壳聚糖溶液,机械搅拌30分钟备用;

[0127] (3) 取步骤(1)制备的棕色粉末1g,加入5mL去离子水,加入步骤(2)制备的溶液中,搅拌10分钟后,倒入100×150mm容器中,4℃放置1h,-20℃放置4h,-70℃放置6h,冻干机冻干,获得CTS-PVA/SF/PP-I海绵;

[0128] (4) 将步骤(3)制备的CTS-PVA/SF/PP-I海绵在水完全溶胀,-20℃放置4h,将8mL硬脂酸溶液均匀地滴在CTS-PVA/SF/PP-I海绵的光滑表面上,冷冻持续2小时,20℃下用无水乙醇冲洗3次CTS-PVA/SF/PP-I海绵的光滑表面,获得创口贴的药物层(CTS-PVA/SF/PP-I/SA海绵);

[0129] (5) 将步骤(4)制备的药物层裁切合适尺寸,粘贴于粘性无纺布胶面层,覆盖隔离膜,包装,并进行塑封辐照灭菌,获得抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴样品4。

[0130] 实施例5.抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴外观表征

[0131] 将实施例1-4所制备的抗菌抗氧化丝素蛋白创伤创可贴进行外观拍照。以样品1为代表,进行外观结构拍照,具体见图1。

[0132] 如图2所示,对药物层进行表面结构表征。采用扫描电子显微镜进行微观结构观察,电镜下样品为相互连通的多孔道结构,其孔隙率在60%~85%之间。互相贯穿的孔道结构与体液接触后其孔隙结构迅速将体液吸入孔内,吸水聚合物迅速凝胶化,一方面使得孔道壁吸水后增厚并凝胶化,管腔变窄,管壁粘弹性增加;另一方面迅速凝胶化敷料开始缓慢释放活力碘,起到广谱抗菌和促进愈合的作用。

[0133] 实施例6.物理性能表征

[0134] 测试实施例1-4制备的药物层样品的溶胀性能。具体方法如下：分别称取实施例1-4中的试样0.1g，将其浸于pH7.0的去离子水、生理盐水、磷酸缓冲液、DMEM培养基和血清液中；37℃条件下吸水完全溶胀，吸去表面水分，称取试样吸液后质量，计算样品的吸水倍率。

[0135] 吸水倍率计算公式如下： $Q = (m_2 - m_1) / m_1$ ，Q为吸水(盐水)倍率，单位为g/g； $m_1$ 为吸液前试样质量(g)； $m_2$ 为吸液后试样质量(g)。

[0136] 表1不同介质吸水倍率

[0137]

材料	去离子水	生理盐水	PBS	DMEM	血清
实施例1样品	14±2.12	12±1.14	9±1.71	7±2.68	5±2.32
实施例2样品	13±1.82	11±1.32	9±2.12	6±2.53	4±1.51
实施例3样品	16±1.42	14±1.51	11±1.32	9±1.31	6±1.46
实施例4样品	17±2.71	15±1.14	11±1.86	9±1.54	5±1.94

[0138] 结果如表1所示，样品1-4表现出相近的吸水性。

[0139] 以实施例1制备的药物层为例，该药物层在水中溶胀倍率为12~18；盐水中溶胀倍率为10~16；磷酸缓冲液中溶胀倍率为8~12；细胞培养液中溶胀倍率为5~10；血清中溶胀倍率为3~7。

[0140] 检测实施例1药物层的保湿性能，结果显示其保湿时间在15小时以上，比对照组长。

[0141] 测试实施例1和2获得的药物层的碘缓释功能，以其为例说明海绵的缓释功能。准确称取实施例1中的试样0.1g，37℃将其浸于生理盐水中，于2h、4h、8h、12h、24h、36h、48h、60h和72h分别取生理盐水，电感耦合等离子光谱发生仪检测生理盐水释放碘的含量，绘制缓释曲线。结果表2所示，相同时间下，CTS-GEL/SF/PP-I/SA的释放率普遍高于CTS-GEL/SF/GD-I/SA。

[0142] 表2碘缓释功能评价

[0143]

缓释时间 (小时)	碘的含量(%)	
	CTS-GEL/SF/CD-I/SA	CTS-GEL/SF/PP-I/SA
2	18.6±1.87	21.87±3.75
4	24.27±2.82	27.66±3.42

[0144]	8	27.98±2.25	30.9±5.1
	12	28.37±3.23	34.66±5.65
	24	30.5±3.72	41.43±1.58
	36	32.53±2.99	43.96±3.6
	48	34.2±3.15	49.6±3.14
	60	39.61±4.2	55.33±4.72
	72	42.57±3.87	57.86±5.16

[0145] 实施例7. 体外广谱抗氧化性能实验

[0146] 测试实施例1-4制备的抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴样品的广谱抗氧化能力。将实施例1-4中的样品1-4、谷胱甘肽溶液和水与超氧阴离子、羟基自由和 $H_2O_2$ 反应,用超氧阴离子测试试剂盒、羟基自由基测试试剂盒和过氧化氢定量分析试剂盒检验6组样品分别清除超氧阴离子、羟基自由和 $H_2O_2$ 的能力。结果如表3所示,样品1-4和谷胱甘肽均具有良好的抗氧化作用。

[0147] 表3样品的广谱抗氧化能力

试样	清除率			
	羟基自由基清除率(%)	过氧化氢清除率(%)	超氧阴离子清除率(%)	氧化物清除率(%)
加热丝素蛋白	78.2	86.9	70.4	78.9
丝素蛋白	64.2	80.6	57.9	68.3
[0148] 实施例样品1	52.9	64.1	53.8	54.6
实施例样品2	46.9	57	33.4	45.3
实施例样品3	34.6	61.8	41.3	54.3
实施例样品4	33.3	53.9	37.8	32.5
谷胱甘肽	76.7	55.8	42.2	41.2
$H_2O$	0	0	0	0

[0149] 实施例8. 体外广谱抗菌性能实验

[0150] 通过抑菌环法测试实施例1-4制备的抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴的抗菌作用。采用金黄色葡萄球菌、耐药型金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、耐药型铜绿假单胞菌和白色念珠菌进行海绵的抗菌活性评估。具体方法如下:将70 $\mu$ L细菌悬浮液( $1 \times 10^8$ CFU/mL)铺在LB琼脂平板上,将无菌纱布、含碘纱布、创可贴样品1-4(提前用打孔器将创可贴制

作成10mm圆片)放在琼脂表面,37℃孵育12h后,测抑菌环的直径。6种材料对上述6种菌株的杀伤作用如表4所示。

[0151] 表4六种菌株抗菌效果评价

材料	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	铜绿假单胞菌	白色念珠菌	金黄色葡萄球菌(耐药)	铜绿假单胞菌(耐药)
无菌纱布	—	—	—	—	—	—
含碘纱布	++	++	++	++	++	++
[0152] 实施例1样品	+	+	+	+	+	+
实施例2样品	+	+	+	+	+	+
实施例3样品	+	+	+	+	+	+
实施例4样品	+	+	+	+	+	+

[0153] 注：“—”表示不抗菌；“+”表示抗菌；“++”表示抑菌圈直径大于3mm。

[0154] 对含碘纱布和实施例1样品对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌和白色念珠菌进行敷料的抗菌活性评估。结果表明本发明的抗菌抗氧化丝素蛋白创可贴具有良好的抗菌效果,实施例1样品的抑菌圈小于含碘纱布组,说明其具有良好的缓释效果。

[0155] 实施例9.感染性伤口愈合效应体内评估

[0156] 体内动物实验经深圳湾实验室动物伦理委员会批准。将120只BALB/c小鼠,雄性,每只约重18g±2g,随机分为6组,每组20只小鼠;腹腔注射戊巴比妥钠(20mg/kg)麻醉小鼠,脱除皮毛;在每只小鼠背部做成Φ1cm全层皮肤损伤,创面上滴加浓度为 $1 \times 10^8$ CFU的铜绿假单胞菌菌液,每个创面50μl,形成感染创面;分别用本发明实施例1-4样品、含碘纱布和无菌纱布紧密覆盖创面,每周进行2次更换。

[0157] 通过BALB/c小鼠感染创面修复情况,对本发明抗菌抗氧化丝素蛋白创伤创可贴进行伤口愈合效应的评价。6组治疗方式下的创面均有不同程度的结痂,并且创面开始收缩,其中实施例1样品修复的创面收缩较为明显,治疗效果最佳,结果如表5所示。

[0158] 术后第3天,本发明实施例1-4样品伤口愈合分别达到 $49.62 \pm 1.51$ 、 $42.52 \pm 2.38$ 、 $47.33 \pm 1.54$ 和 $41.45 \pm 1.45$ ,纱布和含碘纱布组仅达到 $26.51 \pm 2.88$ 和 $17.71 \pm 2.51$ 。实施例1-4样品治疗组创面边缘未见红肿发生,含碘纱布组创面边缘红肿,纱布组仍可见部分感染渗出物。

[0159] 术后第7天,实施例1-4样品治疗组愈合率在 $66.53 \pm 1.45 \sim 78.47 \pm 2.41$ ;含碘纱布与创面粘连严重,创面边缘红肿明显;纱布组肉芽生长明显,仍存在部分炎性渗出物。

[0160] 术后第12天,实施例1样品治疗组最佳可以达到 $98.51 \pm 2.12$ ,实施例2-4样品治疗组分别为 $92.34 \pm 2.31$ 、 $94.53 \pm 1.93$ 和 $91.35 \pm 1.74$ ,而含碘纱布组仅仅是 $65.22 \pm 2.51$ 。此时三组的愈合率具有显著的统计学差异(Table1  $p < 0.01$ ),结果说明实施例1-4样品治疗组

最佳,纱布组次之,含碘纱布较差。

[0161] 表5感染性创面的创面愈合率

试样	愈合率			
	0d	3d	7d	12d
纱布	0	26.51±2.88	40.13±1.91	82.91±2.51
含碘纱布	0	17.71±2.51	34.62±1.71	65.22±2.51
[0162] 实施例 1 样品	0	49.62±1.51	78.47±2.41	98.51±2.12
实施例 2 样品	0	42.52±2.38	66.53±1.45	92.34±2.31
实施例 3 样品	0	47.33±1.54	73.21±2.38	94.53±1.93
实施例 4 样品	0	41.45±1.45	68.74±1.32	91.35±1.74

[0163] 实施例10. 制备丝素蛋白样品①

[0164] (1) 丝素纤维10g, 加入100mL氯化钙三元液, 于80℃条件下溶解, 透析3天, 每天换去离子水3次, 得丝素蛋白溶液;

[0165] (2) 取丝素蛋白溶液20mL, 加入2mL浓度为100mmol/L的EDTA水溶液反应1h, 透析3天, 每天换水3次, 得低钙或无钙的丝素蛋白溶液, 即样品①。

[0166] 实施例11. 制备丝素蛋白样品②

[0167] (1) 丝素纤维10g, 加入100mL浓度为10mol/L的溴化锂溶液, 于80℃条件下溶解, 透析3天, 每天换去离子水3次, 得丝素蛋白溶液;

[0168] (2) 取丝素蛋白溶液20mL, 加入浓度为100mmol/L的EDTA水溶液反应1h, 透析3天, 每天换水3次, 得低钙或无钙的丝素蛋白溶液, 即样品②。

[0169] 实施例12. 制备丝素蛋白样品③

[0170] (1) 丝素纤维1g, 加入20ml浓度为100mmol/L的EDTA水溶液反应24h, 透析3天, 每天换水3次; 50℃烘干, 得低钙或无钙的丝素纤维。

[0171] (2) 取10g低钙或无钙的丝素纤维, 加入100mL浓度为10mol/L的溴化锂溶液, 80℃反应24h, 透析3天, 每天换水3次, 得低钙或无钙的丝素蛋白溶液, 即样品③。

[0172] 实施例13. 制备丝素蛋白的部分优选条件

[0173] 表6

优选条件		试剂			蛋白含钙量	
		溴化锂溶液浓度 (mol/L)	EDTA 水溶液浓度 (mmol/L)	氯化钙三元液 (氯化钙、无水乙醇和水的摩尔比)		
[0174]	1	丝素蛋白	1	0.1	-	低钙
	2		20	500	-	无钙
	3		-	0.1	1:1:1	低钙
	4		-	500	1:5:20	无钙
	5	脱钙丝素纤维	1	-	-	无钙
	6		20	-	-	无钙

[0175] 实施例14. 体外广谱抗氧化性能实验

[0176] 将实施例10-12中制备的低钙或无钙的丝素蛋白溶液样品进行广谱抗氧化性能测试。具体方法为：将实施例10制备所得样品①、实施例11制备所得样品②、实施例12制备所得样品③、谷胱甘肽和水分别与超氧阴离子、羟基自由和 $H_2O_2$ 反应，然后用超氧阴离子测试试剂盒、羟基自由基测试试剂盒和过氧化氢定量分析试剂盒检验5组样品各自清除超氧阴离子、羟基自由和 $H_2O_2$ 的能力。样品抗氧化作用评价记载于表7。

[0177] 表7抗氧化作用评价

样品	羟基自由基	过氧化氢	超氧阴离子	单线态氧
去离子水	—	—	—	—
谷胱甘肽	+++	+	++	++
样品①	++	+++	++	+++
样品②	+	++	++	++
样品③	++	++	++	+

[0179] 注：“—”表示无抗氧化作用；“+”表示清除率10%~50%；“++”表示清除率50%~90%；“+++”表示清除率>90%。

[0180] 通过表7可以看出，不同制备工艺制备出的丝素蛋白溶液清除超氧阴离子、羟基自由和 $H_2O_2$ 的能力不同，但采用本发明的三种工艺制备出的3组样品均具有良好的抗氧化作用。

[0181] 本专利从细胞水平检测了丝素蛋白的抗氧化能力，二氯二氢荧光素作为细胞活性氧指示探针，绿色荧光越强说明细胞内活性氧含量越高。当用过氧化氢刺激细胞时，二氯二氢荧光素发出很强的绿色荧光。

[0182] 谷胱甘肽具有良好的抗氧化作用。将谷胱甘肽、实施例制备样品1、实施例制备样



品2和实施例制备样品3加入细胞发现,绿色荧光含量很低,统计学结果表明实施例制备样品1、实施例制备样品2和实施例制备样品3抗氧化作用与谷胱甘肽相同,无显著性差异,详见表8。

[0183] 表8

[0184]

样品	胞内活性氧清除效率(%)
对照	64.54
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0
谷胱甘肽	81.64
实施例样品1	80.07
实施例样品2	83.75
实施例样品3	76.18

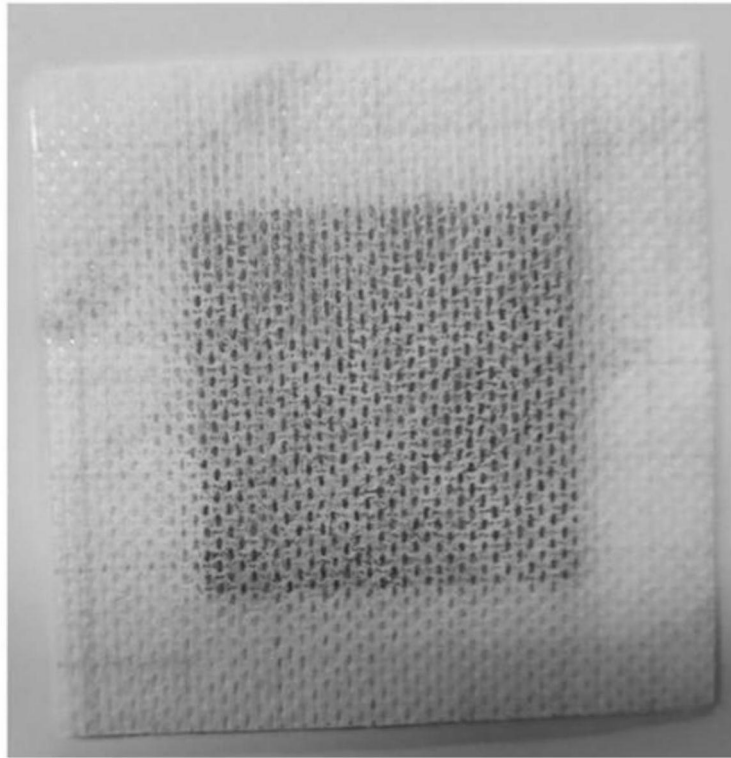


图1

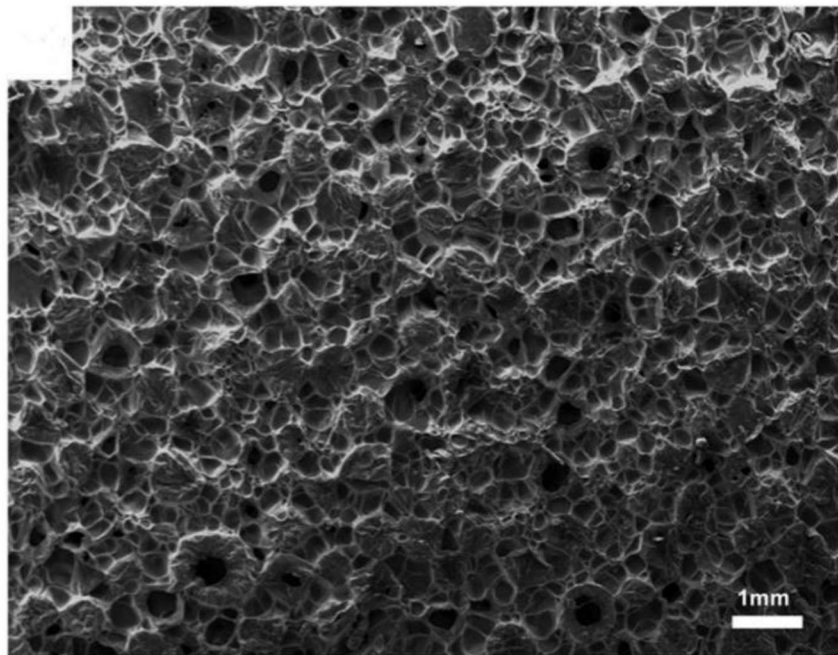


图2