



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113069588 B

(45) 授权公告日 2022.04.22

(21) 申请号 202110414953.2

CN 109620999 A, 2019.04.16

(22) 申请日 2021.04.17

IN 201911023786 A, 2020.12.18

(65) 同一申请的已公布的文献号

WO 2010052191 A2, 2010.05.14

申请公布号 CN 113069588 A

CN 110354295 A, 2019.10.22

(43) 申请公布日 2021.07.06

Bing Song等. Metal Ion-Chelated Tannic Acid Coating for Hemostatic Dressing. 《Materials》. 2019, 第12卷第1803页.

(73) 专利权人 北京化工大学

Anzhi Wang等. Bioswitchable Antibacterial Coatings Enable SelfSterilization of Implantable Healthcare Dressings. 《Adv. Funct. Mater.》. 2021, 第31卷第1-12页.

地址 100029 北京市朝阳区北三环东路15号

Lu Deng等. Effect of tannic acid on blood components and functions. 《Colloids and Surfaces B: Biointerfaces》. 2019, 第184卷第1-6页.

(72) 发明人 徐福建 胡杨 徐士楠

(74) 专利代理机构 重庆信航知识产权代理有限公司 50218

代理人 孙章虎

(51) Int. Cl.

A61L 24/02 (2006.01)

A61L 24/00 (2006.01)

A61L 15/18 (2006.01)

A61L 15/44 (2006.01)

A61L 31/08 (2006.01)

A61L 31/16 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 112316204 A, 2021.02.05

审查员 余婷

权利要求书1页 说明书5页

(54) 发明名称

一种多酚金属离子促凝涂层在制备止血材料上的应用

(57) 摘要

本发明公开了一种多酚金属离子促凝涂层在制备止血材料上的应用,所述的多酚金属离子促凝涂层的制备步骤为:1)使浓度为0.01~20mg/mL的多酚溶液和第一种浓度为0.01~10mg/mL金属离子溶液在基材表面相互作用络合成涂层,调解pH至弱碱性,随后进行洗涤,并重复该步骤若干次以加厚涂层,得到附着多酚金属复合涂层的基材;2)根据基材的种类和需要达到的促凝血性能,选择第二种金属离子溶液的浓度,将步骤1)得到的附着多酚金属复合涂层的基材用第二种浓度的金属离子溶液浸泡;3)洗涤、干

燥,得到包覆促凝涂层的止血材料。可根据不同的基体调节金属离子的加入量从而获得达到最佳的涂层促凝血性能,且涂层具有高生物相容性。

CN 113069588 B

1. 一种多酚金属离子促凝涂层在制备止血材料上的应用,其特征在于,其应用步骤为:

1) 使浓度为0.01~20mg/mL的多酚溶液和浓度为0.01~10mg/mL的第一种金属离子溶液在基材表面相互作用络合成涂层,调节pH至弱碱性,随后进行洗涤,并重复该步骤若干次以加厚涂层,得到附着多酚金属复合涂层的基材;

2) 根据基材的种类和需要达到的促凝血性能,选择浓度为2~25mg/mL的第二种金属离子溶液,将步骤1)得到的附着多酚金属复合涂层的基材用浓度为2~25mg/mL的金属离子溶液浸泡;

3) 洗涤、干燥,得到包覆促凝涂层的止血材料;使其基材表面最终负载的金属离子和多酚的摩尔比为10~60:1;

所述的第一种和第二种金属离子为 Zr^{4+} 、 Sn^{4+} 、 Fe^{3+} 、 V^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 其中至少一种;

步骤1)的第一种金属离子和步骤2)的第二种金属离子为同一种金属离子;

步骤2)所述的第二种金属离子溶液浓度的确定方法如下:通过检测步骤3)得到的止血材料上负载金属离子和多酚的摩尔比及促凝血性能,根据止血材料所需要达到的促凝血性能,将其对应的金属离子溶液浓度确定为最适应浓度。

2. 根据权利要求1所述的一种多酚金属离子促凝涂层在制备止血材料上的应用,其特征在于,步骤2)所述的基材为高分子材料颗粒、纤维敷料、海绵或金属类医用材料,所述的高分子材料为明胶、壳聚糖、海藻酸盐、淀粉、聚乙烯醇、纤维素;所述的金属类医用材料是形状记忆微弹簧圈、注射针头。

3. 根据权利要求1所述的一种多酚金属离子促凝涂层在制备止血材料上的应用,其特征在于,所述的基材为纱布时,步骤2)的金属离子溶液的浓度为3~20mg/mL;其负载金属离子和多酚的摩尔比为10~25:1。

4. 根据权利要求1所述的一种多酚金属离子促凝涂层在制备止血材料上的应用,其特征在于,所述的基材为聚乙烯醇海绵时,步骤2)的金属离子溶液的浓度为5~25mg/mL;其负载金属离子和多酚的摩尔比为20~50:1。

5. 根据权利要求1所述的一种多酚金属离子促凝涂层在制备止血材料上的应用,其特征在于,所述的基材为明胶海绵时,步骤2)的金属离子溶液的浓度为2~20mg/mL;其负载金属离子和多酚的摩尔比为10-55:1。

6. 根据权利要求1所述的一种多酚金属离子促凝涂层在制备止血材料上的应用,其特征在于,步骤1)所述的多酚为石榴多酚、葡萄多酚、茶多酚、苹果多酚、单宁酸或原花青素中的至少一种。

一种多酚金属离子促凝涂层在制备止血材料上的应用

技术领域

[0001] 本发明属于止血材料,涉及一种多酚金属离子促凝涂层在制备止血材料上的应用。

背景技术

[0002] 止血材料在创伤后的出血紧急控制中发挥关键作用,但目前的止血材料技术多侧重于宏观止血材料形式的创新,如新型止血海绵、水凝胶等,对于促凝涂层的研究较少。在目前的表面材料抗凝血性相关研究中(Acta Biomaterialia,2017,64:187-199)发现,如果表面具有过强的蛋白粘附能力,和蛋白产生较强的相互作用力,将不利于关键凝血蛋白如Fgn(纤维蛋白原)的构象转变,进而抑制血小板的粘附和激活,最终实现抗凝。因此,有必要开发具有可控/温和的蛋白黏附能力的促凝涂层,实现关键凝血蛋白活化和血小板激活,促进凝血。这种新型止血涂层,将不仅利于与现有止血器械(纱布、明胶海绵等)结合,实现止血性能增强,还可以与多孔淀粉等体内可降解材料复合,得到新一代的可吸收止血材料,对提高现有止血器械的止血性能,扩大止血材料的种类具有重要意义。

发明内容

[0003] 有鉴于此,本发明提供一种多酚金属离子促凝涂层在制备止血材料上的应用。

[0004] 本发明具体提供了如下的技术方案:

[0005] 一种多酚金属离子促凝涂层在制备止血材料上的应用,所述的多酚金属离子促凝涂层的制备步骤为:

[0006] 1)使浓度为0.01~20mg/mL的多酚溶液和第一种浓度为0.01~10mg/mL金属离子溶液在基材表面相互作用络合成涂层,调解pH至弱碱性,随后进行洗涤,并重复该步骤若干次以加厚涂层,得到附着多酚金属复合涂层的基材;

[0007] 2)根据基材的种类和需要达到的促凝血性能,选择第二种金属离子溶液的浓度,将步骤1)得到的附着多酚金属复合涂层的基材用第二种浓度的金属离子溶液浸泡;

[0008] 3)洗涤、干燥,得到包覆促凝涂层的止血材料。

[0009] 进一步,步骤2)所述的金属离子溶液浓度的确定方法如下:通过检测步骤3)得到的止血材料上负载金属离子和多酚的摩尔比及促凝血性能,根据止血材料所需要达到的促凝血性能,将其对应的金属离子溶液浓度确定为最适应浓度。

[0010] 进一步,所述的基材可以为高分子材料为基材的颗粒、纤维敷料、海绵或金属类医用材料,所述的高分子材料为明胶、壳聚糖、海藻酸盐、淀粉、聚乙烯醇、纤维素;所述的金属类医用材料是形状记忆微弹簧圈、注射针头。

[0011] 进一步,步骤2)的金属离子溶液的浓度为2~25mg/mL;其负载金属离子和多酚的摩尔比为10~60:1。

[0012] 进一步,所述的基材为纱布时,步骤2)的金属离子溶液的浓度为3~20mg/mL;其负载金属离子和多酚的摩尔比为10~25:1。

[0013] 进一步,所述的基材为聚乙烯醇海绵时,步骤2)的金属离子溶液的浓度为5~20mg/mL;其负载金属离子和多酚的摩尔比为20~50:1。

[0014] 进一步,所述的基材为明胶海绵时,步骤2)的金属离子溶液的浓度为2~20mg/mL;其负载金属离子和多酚的摩尔比为10-55:1。

[0015] 进一步,步骤1)所述的多酚为石榴多酚、葡萄多酚、茶多酚、苹果多酚、单宁酸或原花青素中的至少一种。

[0016] 进一步,所述的第一种和第二种金属离子为 Zr^{4+} 、 Sn^{4+} 、 Fe^{3+} 、 V^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 其中至少一种。

[0017] 本发明的有益效果在于:本发明利用多酚和金属离子的络合作用,在基材表面形成涂层,多酚可以提供对血液中凝血关键成分如血浆蛋白(纤维蛋白原等)的作用力,使之粘附聚集,有利于凝血。本发明利用多酚和金属离子的络合作用使基体表面形成促凝涂层,并具有高生物相容性,而且可与现有止血器械(如纱布、明胶海绵、栓塞弹簧圈、针头等)和可降解材料复合,增强其止血性能。本发明利用步骤2)中的金属离子会络合涂层中过多的酚羟基,削弱酚羟基和体内生物大分子(如蛋白等)的氢键作用,形成温和的作用力,有利于提高止血性能,因为这种温和作用力,有利于蛋白构象的转变,在不阻碍体内凝血机制发挥作用的情况下促进凝血,可根据不同的基体,调节金属离子的加入量,从而获得达到最佳的促凝血性能。同时,也有利于提高生物相容性,因为这种温和作用力几乎不会对细胞膜和组织蛋白功能产生破坏作用,从而获得优异的生物相容性。

具体实施方式

[0018] 下面对本发明的优选实施例进行详细的描述。

[0019] 实施例1

[0020] 1)将市售明胶海绵放入30mL单宁酸(TA)溶液中(4mg/mL),随后加入30mL氯化铁(1mg/mL)溶液搅拌,用MOPS缓冲液(PH=7.4)调节PH,三分钟后,将海绵用去离子水洗涤三次,除出未附着的单宁酸及铁离子,重复上述步骤五次,得到GS-TF1材料。

[0021] 2)步骤1)中的GS-TF1材料浸泡入氯化铁(10mg/mL)溶液中2小时,随后用生理盐水洗涤两次,再用去离子水洗涤一次,以去除未多余的铁离子。随后冷冻干燥即可得到促凝涂层改性的海绵GS1。通过紫外分析测试可得, Fe^{3+} :TA的摩尔比为44.3:1。

[0022] 实施例2

[0023] 1)将市售明胶海绵放入30mL茶多酚(TP)溶液中(3.2mg/mL),随后加入30mL氯化铁(0.8mg/mL)溶液搅拌,用MOPS缓冲液(PH=7.4)调节PH,三分钟后,将海绵用去离子水洗涤三次,除出未附着的茶多酚及铁离子,重复上述步骤五次,得到GS-TP1材料。

[0024] 2)将步骤1)中的GS-TP1材料浸泡入氯化铁溶液(10mg/mL)中2小时,随后用生理盐水洗涤两次,再用去离子水洗涤一次,以去除未多余的铁离子。随后冷冻干燥即可得到促凝涂层改性的海绵GS2,通过紫外分析测试可得, Fe^{3+} :TP摩尔比为10:1。

[0025] 实施例3

[0026] 1)将市售明胶PVA海绵放入30mL单宁酸(TA)溶液中(4mg/mL),随后加入30mL氯化铁(1mg/mL)溶液搅拌,用MOPS缓冲液(PH=7.4)调节PH,三分钟后,将海绵用去离子水洗涤三次,除出未附着的单宁酸及铁离子,重复上述步骤五次,得到PVA-TA1材料。

[0027] 2) 步骤1) 中的PVA-TA1材料浸泡入氯化铁(10mg/mL) 溶液中2小时, 随后用生理盐水洗涤两次, 再用去离子水洗涤一次, 以去除未多余的铁离子。随后冷冻干燥即可得到促凝涂层改性的海绵PVA-1。通过紫外分析测试可得, Fe^{3+} :TA的摩尔比为37.9:1。

[0028] 实施例4

[0029] 1) 将医用纱布放入30mL单宁酸(TA) 溶液中(4mg/mL), 随后加入30mL氯化铁(1mg/mL) 溶液搅拌, 用MOPS缓冲液(PH=7.4) 调节PH, 三分钟后, 将纱布用去离子水洗涤三次, 除出未附着的单宁酸及铁离子, 重复上述步骤五次, 得到G-TA1材料。

[0030] 2) 将步骤1) 中的G-TA1材料浸泡入氯化铁(10mg/mL) 溶液中2小时, 随后用生理盐水洗涤两次, 再用去离子水洗涤一次, 以去除未多余的铁离子。随后冷冻干燥即可得到促凝涂层改性的纱布G-1。通过紫外分析测试可得, Fe^{3+} :TA的摩尔比为18.8:1。

[0031] 对比例1

[0032] 将市售明胶海绵放入30mL单宁酸(TA) 溶液中(4mg/mL), 随后加入30mL氯化铁(1mg/mL) 溶液搅拌, 用MOPS缓冲液(PH=7.4) 调节PH, 三分钟后, 将海绵用去离子水洗涤三次, 取出未附着的单宁酸及铁离子, 重复上述步骤五次, 冷冻干燥得到GS-a(同GS-TF1) 通过紫外分析测试可得, Fe^{3+} :TA摩尔比为3.4:1。

[0033] 对比例2

[0034] 将市售明胶海绵浸泡入去离子水中2小时随后冷冻干燥即可得对比海绵样品GS-b。

[0035] 对比例3

[0036] 将市售明胶海绵浸泡入氯化铁溶液(10mg/mL) 中2小时随后洗涤冷冻干燥即可得对比海绵样品GS-c。

[0037] 对比例4

[0038] 1) 将市售明胶海绵放入30mL单宁酸溶液中(4mg/mL), 随后加入30mL氯化铁(1mg/mL) 溶液搅拌, 用MOPS缓冲液(PH=7.4) 调节PH, 三分钟后, 将海绵用去离子水洗涤三次, 除出未附着的单宁酸及铁离子, 重复上述步骤五次, 得到GS-TF1材料。

[0039] 2) 步骤1) 中的GS-TF1材料浸泡入氯化铁(1mg/mL) 溶液中0.5小时, 随后用生理盐水洗涤两次, 再用去离子水洗涤一次, 以去除未多余的铁离子。随后冷冻干燥即可得到促凝涂层改性的海绵GS-d。通过紫外分析测试可得, Fe^{3+} :TA摩尔比为5.3:1。

[0040] 对比例5

[0041] 1) 将市售明胶海绵放入30mL单宁酸溶液中(4mg/mL), 随后加入30mL氯化铁(1mg/mL) 溶液搅拌, 用MOPS缓冲液(PH=7.4) 调节PH, 三分钟后, 将海绵用去离子水洗涤三次, 除出未附着的单宁酸及铁离子, 重复上述步骤五次, 得到GS-TF1材料。

[0042] 2) 步骤1) 中的海绵浸泡入氯化铁(30mg/mL) 溶液中2小时, 随后用生理盐水洗涤两次, 再用去离子水洗涤一次, 以去除未多余的铁离子。随后冷冻干燥即可得到促凝涂层改性的海绵GS-e。通过紫外分析测试可得, Fe^{3+} :TA摩尔比为64.5:1。

[0043] 测试例1凝血性能BCI指数对比

[0044] 检测条件: 将各实验例、对比例得到的材料进行凝血效果对比实验, 检测用血液为大鼠心脏新鲜柠檬酸钠抗凝血液。

[0045] 检测方法: 称取5mg材料放入10mL离心管中, 然后将100 μ L抗凝全血加入到上述管

中和材料混匀,随后加入10 μ L氯化钙溶液(0.2M)。试样在37 $^{\circ}$ C水浴锅中恒温2分钟后,取出加入10mL去离子水,再放入37 $^{\circ}$ C的水浴锅中3分钟后取出。吸取100 μ L液体加入96孔板,用酶标仪读取各孔在545nm处的吸收值($OD_{\text{材料}}$),空白组为100 μ L抗凝全血加10mL去离子水,取混合液测定的545nm处的吸收值($OD_{\text{空白}}$),计算试样的BCI指数: $BCI = OD_{\text{材料}} / OD_{\text{空白}} \times 100\%$,凝血结果即BCI指数如表1所示:

[0046] 表1凝血性能BCI指数测试

[0047] 材料	GS-1	GS-2	GS-3	GS-4	PVA-1	G-1
BCI	34.5%	30.5%	36.5%	38.3%	23.3%	34.3%
GS-a	GS-b	GS-c	GS-d	GS-e		
42.2%	52.5%	65.9%	45.3%	37.9%		

[0048] BCI (Blood clotting index,凝血指数) 可以表征材料的止血效果,一般来说,BCI指数越小,表示材料的止血效果越好。从表1中可以看出,GS-1、GS-2、GS-3、GS-4(实施例1、2、3、4)相较于GS-a、GS-b、GS-c、GS-d、GS-e、GS-f、GS-g(对比例1-7)的BCI指数更小,说明优化后的多酚及金属离子涂层改性的材料具有更优异的凝血性能。具体分析如下:

[0049] 对比例1是仅采用实施例1的步骤1), 未经过步骤2) 金属离子络合过多的酚羟基, 因为没有步骤2), 涂层上过多的酚羟基过多不利于一些凝血关键蛋白的活化, 因此凝血指数较高, 止血效果不好。

[0050] 对比例2是市售明胶海绵, 不做任何改性, 因此凝血指数很高, 止血效果不好。

[0051] 对比例3是仅用金属离子溶液浸泡, 负载的金属离子呈游离状, 会脱落, 游离的金属离子会使血液蛋白聚沉, 因此凝血指数较高, 止血效果不好。

[0052] 对比例4是采用实施例1的步骤1), 但是步骤2) 中的金属离子浓度过低, 过低浸泡浓度会导致负载的铁离子含量不足, 进而会导致酚羟基和凝血蛋白相互作用力过强, 抑制其活化, 因此凝血指数较高, 止血效果不好。

[0053] 对比例5是采用实施例1的步骤1), 但是步骤2) 中的金属离子浓度过高, 过高浸泡浓度会导致负载的金属离子含量过高进而会屏蔽过多的多酚, 不具有促进关键凝血蛋白活化的能力, 因此凝血指数较高, 止血效果不好。

[0054] 测试例2血液相容性测试

[0055] 通过溶血测试材料血液相容性。具体步骤如下: 首先取用新鲜抗凝全血, 将柠檬酸钠抗凝血以3000rpm的转速下离心15min, 弃掉上层血浆后, 沿着管壁轻轻加入PBS, 轻柔吹洗几次后, 再次离心, 重复洗涤3遍, 确保洗涤至上清液无色透明。然后用PBS稀将血细胞释为2%悬液。在天平上称取海绵2mg放入1.5mL离心管内(每组样品设置三个品行样), 加入1.5mL RBC悬在37 $^{\circ}$ C下恒温孵育2h。2h后取出样品, 在离心机上以3000rpm离心后进行拍照记录, 随后吸取上清液100 μ L于96孔板, 读取OD545。本实验的阴性对照组为质量分数为0.5%的Triton X-100, 阳性对照组为PBS。

[0056] $\text{溶血率}(\%) = (OD_{\text{测试样}} - OD_{\text{阳性}}) / (OD_{\text{阴性}} - OD_{\text{阳性}}) \times 100\%$

[0057] 表2血液相容性测试

	材 料	GS-1	GS-2	GS-3	GS-4	PVA-1	G-1
[0058]	溶 血 率	1.1%	0.5%	0.9%	1.2%	0.4%	0.6%

[0059] 由表2可以看出：

[0060] 本发明多酚金属离子制备的促凝涂层材料的溶血率均低于5%，表明该涂层有良好的血液相容性。

[0061] 最后说明的是，以上优选实施例仅用以说明本发明的技术方案而非限制，尽管通过上述优选实施例已经对本发明进行了详细的描述，但本领域技术人员应当理解，可以在形式上和细节上对其作出各种各样的改变，而不偏离本发明权利要求书所限定的范围。