



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113214507 A

(43) 申请公布日 2021.08.06

(21) 申请号 202110518029.9

A61L 26/00 (2006.01)

(22) 申请日 2021.05.12

(71) 申请人 中国医学科学院生物医学工程研究所

地址 300192 天津市南开区白堤路236号

(72) 发明人 王伟伟 刘文帅 冯祖建 黄平升
孔德领 张闯年

(74) 专利代理机构 北京慕达星云知识产权代理
事务所(特殊普通合伙)
11465

代理人 崔自京

(51) Int. Cl.

C08J 3/075 (2006.01)

C08L 5/08 (2006.01)

C08L 5/00 (2006.01)

权利要求书2页 说明书8页 附图6页

(54) 发明名称

一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法,具体步骤如下:取葡甘聚糖与高碘酸钠发生反应,加入乙二醇终止反应,得到氧化葡甘聚糖,透析冻干,与抗菌肽混合反应,得到抗菌肽葡甘聚糖;将透明质酸与3-马来酰亚胺基丙酸在室温下反应,得到酯化透明质酸,透析、冷冻干燥,然后与胶原肽混合,发生加成反应透析冻干,得到胶原肽透明质酸;将胶原肽透明质酸与抗菌肽葡甘聚糖混合制备成抗菌糖肽水凝胶。本发明所得水凝胶对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和真菌等微生物菌具有良好的抗菌性能,水凝胶的制备工艺简单,可降解、生物相容性好。

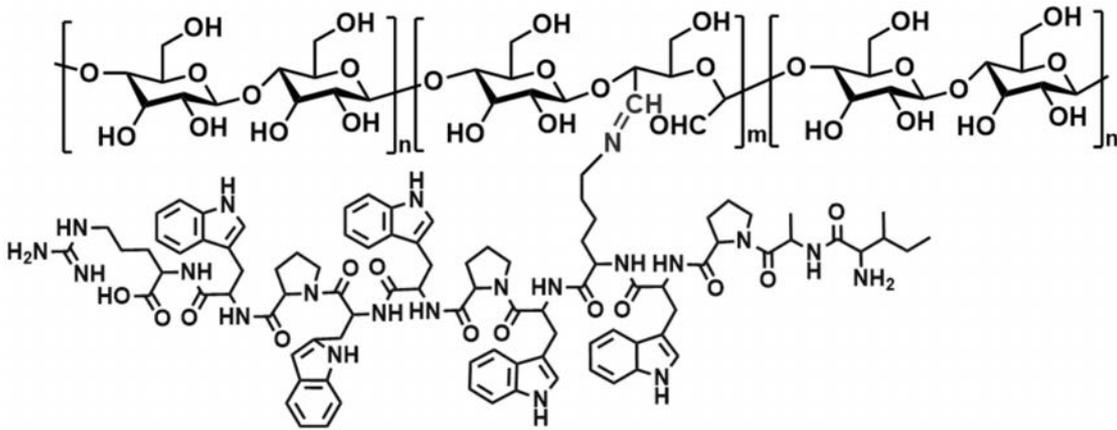
1. 一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法,其特征在于,具体步骤如下:

S1,取葡甘聚糖与高碘酸钠在避光条件下反应3-12h,葡甘聚糖与高碘酸钠的摩尔比为1:0.1-1,加入乙二醇终止反应,高碘酸钠与乙二醇的摩尔比为1:2-10,得到混合物,对混合物透析48-60h,冻干48-60h,得到氧化葡甘聚糖,将氧化葡甘聚糖与抗菌肽混合,氧化葡甘聚糖与抗菌肽反应的摩尔比为1:0.1-1,反应24-48h,得到抗菌肽葡甘聚糖;

S2,将透明质酸与3-马来酰亚胺基丙酸在室温下反应24-72h,透明质酸与3-马来酰亚胺基丙酸的摩尔比为1:1-2,得到酯化透明质酸,透析48-60h,冻干48-60h,将酯化透明质酸与胶原肽混合,酯化透明质酸与胶原肽的摩尔比为1:0.1-1,反应24-48h,透析48-60h,冻干48-60h得到胶原肽透明质酸;

S3,将抗菌肽葡甘聚糖与胶原肽透明质酸混合,室温条件下,磁力搅拌转速为300rpm,搅拌10min,静置得到抗菌糖肽水凝胶。

2. 根据权利要求1所述的一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法,其特征在于,所述步骤S1中抗菌肽葡甘聚糖的结构式如式I所示:

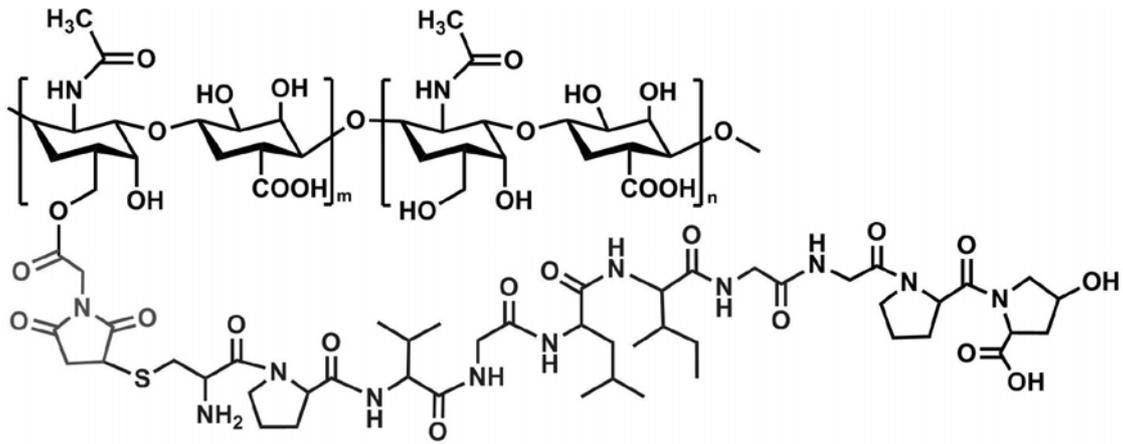


式 I。

3. 根据权利要求1所述的一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法,其特征在于,所述步骤S1中的透明质酸的分子量为50k Da-2000k Da。

4. 根据权利要求1所述的一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法,其特征在于,所述步骤S1中抗菌肽为生物内源性抗菌肽,葡甘聚糖分子量为100k Da-1000k Da。

5. 根据权利要求1所述的一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法,其特征在于,所述步骤S2中胶原肽透明质酸的结构式如式II所示:



式 II。

6. 根据权利要求1所述的一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法,其特征在于,所述步骤S3中胶原肽透明质酸与抗菌肽葡甘聚糖的摩尔比为1:0.1-10混合,加入水中,制备得到浓度为5-40wt%的抗菌糖肽水凝胶。

7. 根据权利要求1-6任一项所述的抗菌糖肽水凝胶的制备方法,其特征在于,所制备的抗菌糖肽水凝胶在治疗伤口感染、促进组织修复中应用。

一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物医用材料暨相关医疗器械研发技术领域,更具体的说是涉及一种兼具抗菌修复性能的糖肽水凝胶及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] 随着健康中国2030战略的实施,国家大健康产业引导的经济转型,人们越来越关注有关健康方面的问题。由细菌感染所引起的相关医学问题日益成为临床研究的热点。感染是创伤和其他开放性伤口普遍发生的严重并发症之一,细菌感染导致的伤口难以愈合是重大的临床问题。抗生素滥用导致的细菌耐药性给感染的治疗带来了极大的困难。随着材料学和工程技术的飞速发展,许多新型医用抗菌敷料应运而生,通过物理或化学的方法赋予生物医用材料一定的抗菌性,从而减少细菌传播,最终减少细菌感染相关疾病的发生。

[0003] 抗菌水凝胶作为一种新型的医用抗菌敷料,具有三维网络结构和较好的保湿性,良好的生物相容性,不会粘合伤口,从而减轻更换敷料时带来的二次损伤。还可以吸收伤口组织液,具有一定的保护伤口的作用,减少创面感染。

[0004] 具有抗菌活性的水凝胶是目前创面敷料研究的热点。常用的抗菌剂分为无机抗菌剂和有机抗菌剂。当前常用的无机抗菌剂是银粒子或纳米银,含有纳米银的抗菌水凝胶虽然具有良好的抗菌活性,但是纳米银易在体内富集,难以排出体外,产生潜在的生物安全性,阻碍了该类抗菌水凝胶的广泛应用。有机抗菌剂包括传统的抗生素、季铵盐等,含有抗生素的抗菌水凝胶可以用于预防感染,但是抗生素易导致细菌产生耐药性。季铵化壳聚糖水凝胶是另一类常用的外用抗菌生物制品,具有广谱的抗菌效果,不会产生耐药性;但是季铵盐细胞毒性较大,会对其产生损伤,不利于细胞增殖。

[0005] 目前所应用的抗菌肽降解周期短,易降解,细胞毒性较大,限制其应用;葡甘聚糖具有调控巨噬细胞极化,调控组织修复过程中的免疫和炎症反应;透明质酸具有保湿性、粘弹性、生物活性以及可降解性;胶原肽是创伤修复的必需物质。目前大多数研究集中在通过调节水凝胶的理化性质和结构特征来制备糖肽水凝胶。很少有通过调节材料自身生物活性,调控组织修复过程的炎症和免疫反应,从而促进创伤愈合。本研究中设计了仿生细胞外基质ECM中多糖和蛋白质组份,及其三维网络纤维结构的糖肽复合水凝胶。构建酸敏感希夫碱化学键连接的抗菌肽葡甘聚糖GM-P,基质金属蛋白酶-2敏感多肽连接的胶原肽透明质酸HA-P。将GM-P与HA-P混合形成具有三维网络和微米显微结构的抗菌糖肽水凝胶GM-P@HA-P,为组织缺损提供适宜的修复微环境。GM-P能够通过甘露糖受体介导途径激活巨噬细胞M2极化,对MRSA和大肠杆菌均具有良好的抗菌活性;HA-P组份有利于细胞黏附、增殖和迁移。大鼠体内构建皮肤烫伤和糖尿病伤口感染模型,涂抹水凝胶治疗,显著加速伤口愈合,并且明显提高M2型巨噬细胞比例,加快血管新生。因此,GM-P@HA-P水凝胶在治疗慢性难愈合伤口、促进组织再生领域具有潜在的应用前景。

[0006] 因此,在不使用抗生素、细胞因子或治疗性细胞的情况下,迫切需要开发具有高效抗菌能力,并且能够加速创面愈合的新型水凝胶。如何提供一种安全性高且兼具抗菌修复

性能的水凝胶是本领域技术人员亟需解决的问题。

发明内容

[0007] 有鉴于此,本发明提供了一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法。使用胶原肽修饰的透明质酸和抗菌肽修饰葡甘聚糖制备水凝胶,所得水凝胶对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和真菌等微生物菌具有良好的抗菌性能;本发明制备的水凝胶制备工艺简单,可降解、生物相容性好,具有很好的商业前景。

[0008] 为了实现上述目的,本发明采用如下技术方案:

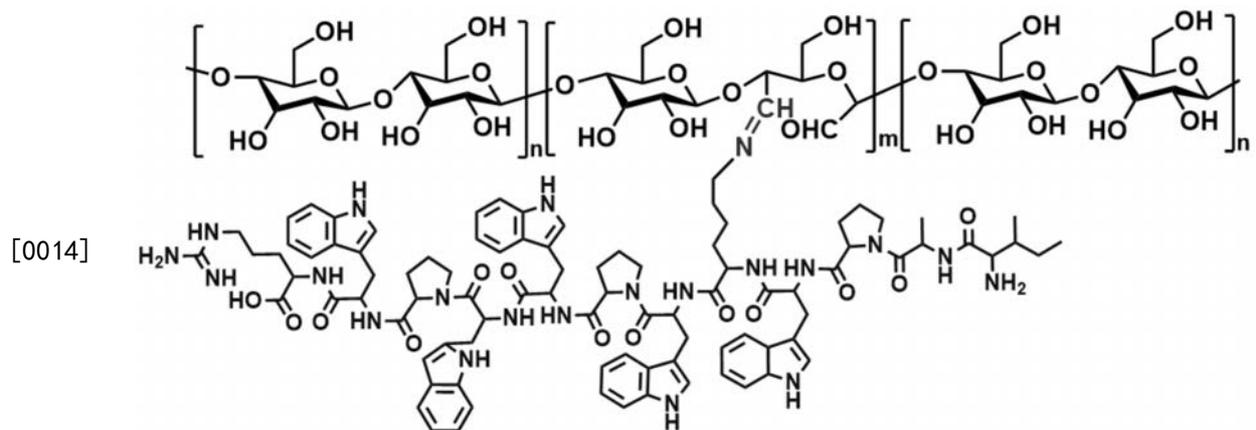
[0009] 一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法,具体步骤如下:

[0010] S1,取葡甘聚糖与高碘酸钠在避光条件下反应3-12h,葡甘聚糖与高碘酸钠的摩尔比为1:0.1-1,加入乙二醇终止反应,高碘酸钠与乙二醇的摩尔比为1:2-10,得到混合物,对混合物透析48-60h,冻干48-60h,得到氧化葡甘聚糖,将氧化葡甘聚糖与抗菌肽混合,氧化葡甘聚糖与抗菌肽反应的摩尔比为1:0.1-1,反应24-48h,得到抗菌肽葡甘聚糖;

[0011] S2,将透明质酸与3-马来酰亚胺基丙酸在室温下反应24-72h,透明质酸与3-马来酰亚胺基丙酸的摩尔比为1:1-2,得到酯化透明质酸,透析48-60h,冻干48-60h,将酯化透明质酸与胶原肽混合,酯化透明质酸与胶原肽的摩尔比为1:0.1-1,反应24-48h,透析48-60h,冻干48-60h得到胶原肽透明质酸;

[0012] S3,将抗菌肽葡甘聚糖与胶原肽透明质酸混合,室温条件下,磁力搅拌转速为300rpm,搅拌10min,静置得到抗菌糖肽水凝胶。

[0013] 优选的,所述步骤S1中抗菌肽葡甘聚糖的结构式如式I所示:

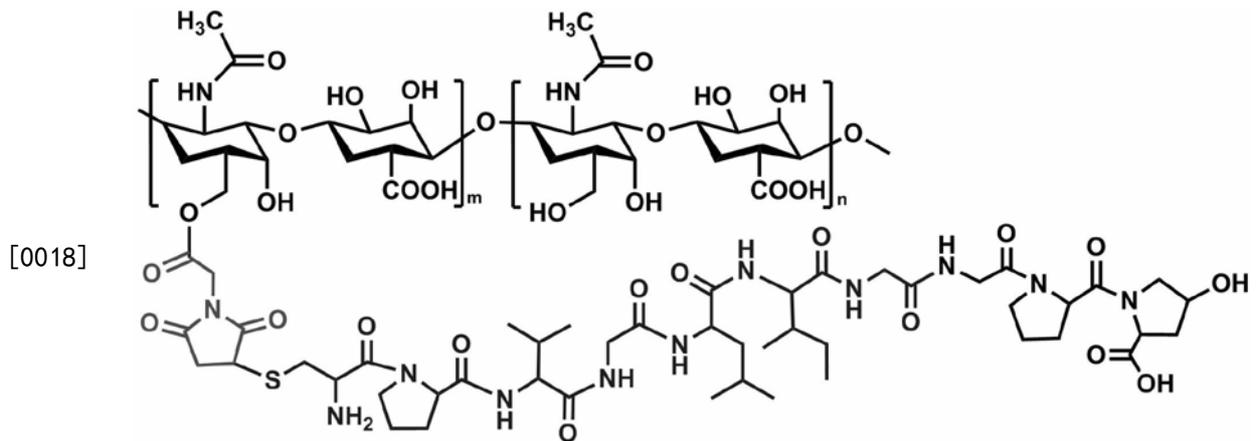


式 I。

[0015] 优选的,所述步骤S1中的透明质酸的分子量为50k Da-2000k Da。

[0016] 优选的,所述步骤S1中抗菌肽为生物内源性抗菌肽,葡甘聚糖分子量为100k Da-1000k Da。

[0017] 优选的,所述步骤S2中胶原肽透明质酸的结构式如式II所示:



式 II。

[0019] 优选的,所述步骤S3中胶原肽透明质酸与抗菌肽葡甘聚糖的摩尔比为1:0.1-10混合,加入水中,制备得到浓度为5-40wt%的抗菌糖肽水凝胶。

[0020] 优选的,所述透析的条件为,在室温条件下用截留分子量为10k Da的透析袋在蒸馏水中透析24-72h。

[0021] 优选的,所述冻干的条件为-20℃至-60℃。

[0022] 一种抗菌糖肽水凝胶在治疗伤口感染、促进组织修复中应用。

[0023] 通过采用上述技术方案,本发明的有益效果如下:

[0024] 本发明采用广谱抗菌活性高、无细胞毒性的内源性抗菌肽和促进修复的胶原肽、透明质酸,以及具有抗炎作用的葡甘聚糖为原料,将胶原肽修饰的透明质酸和抗菌肽修饰的葡甘聚糖混合,制备成抗菌糖肽水凝胶;并且可以通过调整抗菌肽和胶原肽的比例,调控其含量;水凝胶与细菌细胞膜结合,在膜上形成跨膜的离子通道,破坏膜的完整性,使细菌的内容物泄露,导致细菌的死亡。另外,葡甘聚糖可以诱导巨噬细胞极化,产生M2型巨噬细胞,诱导自身免疫,产生抗炎促修复作用;透明质酸可以加速伤口愈合。所以,本发明的抗菌糖肽水凝胶对细胞无毒、可以降解为小分子,最终排除体外;而且,由于制备的水凝胶具有微孔结构,也可以促进细胞增殖,进一步促进伤口愈合。因此,该水凝胶作为很有前途的创面敷料,在杀灭微生物的同时,可以激活体内免疫系统,对于难以愈合的创面很大的应用潜力。

[0025] 在制备水凝胶时,在室温条件下,利用两步催化反应,即可得到所需要的材料,反应条件温和,时间短,效率高;将得到的产物透析就可以除去杂质;将冻干后的GM-P和HA-P溶于水中,即可制备出性能优良的水凝胶,不在需要额外的输送系统和有机交联剂。该抗菌水凝胶成本低,无毒,不需要光照就可以发挥抗菌活性。这些优点将有利于其临床应用。

[0026] (1) 本发明方法制得的抗菌糖肽水凝胶采用天然材料透明质酸、葡甘聚糖、内源性抗菌肽、胶原肽为原料,具有良好的抗菌效果和生物相容性,并且对耐药菌具有良好的抗菌效果。

[0027] (2) 本发明制备的水凝胶是由GM-P和HA-P分子间C=N键、氢键形成物理交联,无需额外的交联剂。

[0028] (3) 本发明方法制得的抗菌糖肽水凝胶可以在感染部位长期滞留,不用多次给药,起到长期抗菌效果。

[0029] (4) 本发明方法制得的水凝胶可以降解,在创伤感染部位的滞留时间可控。可根据创伤的需求采用不同分子量、不同降解速率的水凝胶,与创伤修复时间相匹配,更好地促进伤口的愈合;分子量达到2000k Da时,降解速度大约在1~2个月完全降解,分子量为50k Da时,降解速度大约在1周完全降解。

[0030] 综上所述,本发明制备的水凝胶具有多孔三维网络结构,与现有技术相比:

[0031] 1) 将抗菌肽修饰在葡甘聚糖,制备成一种化合物,生成C=N键,是酸敏感化学键,在炎症处可以智能响应,起到控释的作用,不需要额外的水凝胶负载抗菌剂,这是制备技术上的优势;

[0032] 2) 只含有抗菌肽葡甘聚糖一个抗菌组分,与负载无机金属颗粒抗菌水凝胶相比,不需要外界光照就可以产生杀菌效果;

[0033] 3) 可吸收、无毒,不含有金属离子或金属纳米粒子;

[0034] 4) 有利于组织细胞向凝胶内部生长,促进伤口愈合。该水凝胶可以完全降解为小分子化合物氨基酸、糖胺聚糖、甘露糖和葡萄糖,无潜在的安全性问题。

附图说明

[0035] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据提供的附图获得其他的附图。

[0036] 图1附图为本发明GM-P聚合物的合成路线;

[0037] 图2附图为本发明HA-P聚合物的合成路线;

[0038] 图3附图为本发明葡甘聚糖(A)和抗菌肽葡甘聚糖(B)的核磁图谱;

[0039] 图4附图为本发明透明质酸(A)和胶原肽透明质酸(B)的核磁图谱;

[0040] 图5附图为本发明葡甘聚糖(GM)和抗菌肽葡甘聚糖(GM-P)的红外图谱;

[0041] 图6附图为本发明透明质酸(A)和胶原肽透明质酸(B)的红外图谱;

[0042] 图7附图为本发明GM-P@HA-P水凝胶;

[0043] 图8附图为本发明GM-P@HA-P水凝胶的SEM图;

[0044] 图9附图为本发明GM-P@HA-P水凝胶的细胞相容性;

[0045] 图10附图为本发明GM-P@HA-P水凝胶的抗菌活性;

[0046] 图11附图为本发明创伤感染的愈合;

[0047] 图12附图为本发明创伤部位的H&E和Masson's染色。

具体实施方式

[0048] 下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范畴。

[0049] 实施例1:

[0050] 实施例1公开了一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法。

[0051] 一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法,包括下述步骤:

[0052] S1,将葡甘聚糖与高碘酸钠按照5:1的摩尔比溶解在蒸馏水中,在避光条件下反应4h,加入过量乙二醇终止反应,透析48h,冻干48h,得到氧化葡甘聚糖(GM-CHO),将GM-CHO与抗菌肽按照5:1的摩尔比溶解在蒸馏水,在室温下反应48h,得到抗菌肽葡甘聚糖;

[0053] S2,将透明质酸、3-马来酰亚胺基丙酸按照1:2的摩尔比溶解在蒸馏水中,并向其中加入催化剂1-(3-二甲氨基丙基)3-乙基碳二亚胺盐酸盐和4-二甲氨基吡啶,在室温下反应48h,然后透析冻干,得到酯化透明质酸(HA-COO),将HA-COO与胶原肽溶解在蒸馏水中,摩尔比是10:1,在室温条件下反应24h,透析48h,冻干48h,得到胶原肽透明质酸(HA-P);

[0054] S3,将胶原肽透明质酸与抗菌肽葡甘聚糖以摩尔比为5:1的比例混合,室温条件下,磁力搅拌转速为300rpm,搅拌10min,静置得到浓度为10wt%的抗菌糖肽水凝胶。

[0055] 实施例2

[0056] 实施例2公开了一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法。

[0057] 一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法,包括下述步骤:

[0058] S1,将葡甘聚糖与高碘酸钠按照10:1的摩尔比溶解在蒸馏水中,在避光条件下反应5h,加入过量乙二醇终止反应,透析48h,冻干48h,得到GM-CHO,将GM-CHO与抗菌肽按照10:1的摩尔比溶解在蒸馏水,在室温下反应48h,然后透析冻干,得到抗菌肽葡甘聚糖;

[0059] S2,将透明质酸、3-马来酰亚胺基丙酸按照1:1的摩尔比溶解在蒸馏水中,并向其中加入催化剂1-(3-二甲氨基丙基)3-乙基碳二亚胺盐酸盐和4-二甲氨基吡啶,在室温下反应48h,得到HA-COO,将HA-COO与胶原肽溶解在蒸馏水中,摩尔比是5:1,在室温条件下反应,透析48h,冻干48h,得到胶原肽透明质酸;

[0060] S3,将胶原肽透明质酸与抗菌肽葡甘聚糖以摩尔比为10:1的比例混合,室温条件下,磁力搅拌转速为300rpm,搅拌10min,静置得到浓度为20wt%的抗菌糖肽水凝胶。

[0061] 实施例3

[0062] 实施例3公开了一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法。

[0063] 一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法,包括下述步骤:

[0064] S1,将葡甘聚糖与高碘酸钠按照6:1的摩尔比溶解在蒸馏水中,在避光条件下反应6h,加入过量乙二醇终止反应,透析48h,冻干48h,得到氧化葡甘聚糖,将氧化葡甘聚糖与抗菌肽按照6:1的摩尔比溶解在蒸馏水,在室温下反应48h,得到抗菌肽葡甘聚糖;

[0065] S2,将透明质酸、3-马来酰亚胺基丙酸按照1:1.5的摩尔比溶解在蒸馏水中,并向其中加入催化剂1-(3-二甲氨基丙基)3-乙基碳二亚胺盐酸盐和4-二甲氨基吡啶,在室温下反应48h,透析48h,冻干72h,得到HA-COO,将HA-COO与胶原肽溶解在蒸馏水中,摩尔比是6:1,在室温条件下反应,透析48h,冻干48h,得到胶原肽透明质酸;

[0066] S3,将胶原肽透明质酸与抗菌肽葡甘聚糖以摩尔比为6:1的比例混合,室温条件下,磁力搅拌转速为300rpm,搅拌10min,静置得到浓度为30wt%的抗菌糖肽水凝胶。

[0067] 实施例4

[0068] 实施例4公开了一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法。

[0069] 一种抗菌糖肽水凝胶的制备方法,包括下述步骤:

[0070] S1,将葡甘聚糖与高碘酸钠按照8:1的摩尔比溶解在蒸馏水中,在避光条件下氧化反应5h,加入过量乙二醇终止反应,透析48h,冻干48h,得到氧化葡甘聚糖,将GM-CHO与抗菌

肽按照8:1的摩尔比溶解在蒸馏水中,在室温下反应48h,得到抗菌肽葡甘聚糖;

[0071] S2,将透明质酸、3-马来酰亚胺基丙酸按照1:2的摩尔比溶解在蒸馏水中,并向其中加入催化剂1-(3-二甲氨基丙基)3-乙基碳二亚胺盐酸盐和4-二甲氨基吡啶,在室温下反应48h,透析冻干48h,得到HA-COO,将HA-COO与胶原肽溶解在蒸馏水中,摩尔比为8:1,在室温条件下反应,透析48h,冻干48h,得到胶原肽透明质酸;

[0072] S3,将胶原肽透明质酸与抗菌肽葡甘聚糖以摩尔比为8:1的比例混合,室温条件下,磁力搅拌转速为300rpm,搅拌10min,静置得到浓度为40wt%的抗菌糖肽水凝胶。

[0073] 为了能够进一步地证明本发明的技术效果,申请人进行了如下实验分析:

[0074] ^1H NMR分析

[0075] 采用氘代水为溶剂,在核磁共振仪Bruker400进行测试;结果如图3所示,化学位移3.4-4.0ppm是葡甘聚糖的特征吸收峰;化学位移在5.6ppm处吸收峰是抗菌肽的特征吸收。以上分析证明了实施例抗菌肽葡甘聚糖化学结构的正确性;

[0076] 采用氘代水为溶剂,在核磁共振仪Bruker400进行测试;结果如图4所示,化学位移2.8,1~1.2ppm为胶原肽的特征吸收峰。以上分析证明了实施例中胶原肽葡甘聚糖化学结构的正确性。

[0077] 红外光谱分析

[0078] 采用KBr压片,在Nicolet MAGNA-IR 550型红外光谱仪上测得,如图5、图6所示,3500-3300 cm^{-1} 之间的宽峰是葡甘聚糖羟基的伸缩振动吸收峰,3000-2800 cm^{-1} 对应亚甲基的伸缩振动峰;800 cm^{-1} 为抗菌肽苯环的特征吸收峰。

[0079] 水凝胶的制备

[0080] 称取适量的HA-P和GM-P冻干粉末,溶解在蒸馏水中,涡旋混匀,完全溶解,静置得到抗菌糖肽水凝胶,如图7所示。将抗菌糖肽水凝胶样品冻干,得到冻干样品,用SEM观察期微观结构。如图8所示,抗菌糖肽水凝胶内部具有高度交联的三维网状结构,孔径大小为微米级别。

[0081] 对本实施例制备的水凝胶的生物相容性和抗菌活性测试实验

[0082] 水凝胶的体外细胞毒性评价

[0083] 本发明采用CCK-8法检测水凝胶对脐静脉内皮细胞(HUVECs)杀伤作用。将水凝胶与细胞共培养,孵育一定时间,然后用CCK-8溶液(20 μL ,5mg/mL)作用4h。检测450nm处的吸光度,与未处理细胞对比计算其对细胞毒性大小。如图9所示,随着时间的延长,细胞存活率仍然在90%以上,证明该水凝胶对HUVECs没有明显的细胞毒性。

[0084] 参考《GB/T 16886.5-2003,医疗器械生物学评价第5部分:体外细胞毒性试验》,由实验结果可知,细胞的存活率大于75%,细胞毒性分级为I级,因此,该材料没有细胞毒性。

[0085] 凝胶溶血性评价

[0086] 根据《GB/T 16886.4-2003/ISO 10993-4:2002,医疗器械生物学评价第4部分:与血液相互作用试验选择》中的要求,按照溶血率=(试验组OD-阴性组OD)/(阳性组OD-阴性组OD) $\times 100\%$,计算水凝胶的溶血性。实验结果(表1)显示,水凝胶的溶血率 $<5\%$,符合医疗器械使用要求。

[0087] 表1水凝胶的溶血率

组别	阳性对照	阴性对照	水凝胶
[0088] 溶血率	100±3.5%	2.3±0.6%	3.1±0.9

[0089] 水凝胶的抗菌性能测试

[0090] 定性测试方法

[0091] 将水凝胶灭菌处理,取0.1mL菌悬液(10^7 CFU/mL,MRSA细菌)至于水凝胶上,培养12h;

[0092] 分别将不同组别培养后的菌液至于固体培养基上,用涂布器涂布均匀;培养0.5h后,然后翻转,继续在37℃的恒温培养箱中培养24h。如图10所示,实验组水凝胶没有菌落,而其他组别均有一定量的菌落,说明该水凝胶具有较好的抗菌活性。

[0093] 体内细菌感染皮肤创伤修复试验

[0094] 将SD大鼠(糖尿病模型)进行全身麻醉,背部手术区域备皮后,固定于手术台上,在背部制造直径1cm开放性全层皮肤缺损的圆形创面,至肌筋膜深层,创建全层皮肤创伤膜。然后用MRSA感染,实验组分为三组:未治疗组,壳聚糖水凝胶(白云山)对照组,GM-P@HA-P水凝胶实验组;观察不同时间点的创伤愈合情况。如图11所示,各组创伤面积在7、14、21天均明显减小,愈合率逐渐提高。实验组在同一时间点的创面愈合率优于对照组,21天时,实验组的愈合率基本达到100%,显著高于对照组和壳聚糖水凝胶对照组。此结果说明抗菌肽水凝胶对MRSA具有较好的抗菌活性,并且可以进一步促进伤口愈合。

[0095] 表2不同时间点创面愈合率($n=5, x \pm s, \%$)

时间(天) \ 组别	7 天	14 天	21 天
[0096] 未治疗组	13.8±2.6	26.5±4.3	58.9±5.7
壳聚糖组	21.6±3.7	40.3±6.4	67.2±7.8
实验组**	30.1±3.2	69.8±8.3	99.5±5.4

[0097] **与未治疗组相比, $p<0.01$;与壳聚糖水凝胶组相比, $p<0.01$ 。

[0098] 如图11所示,21天后,实验组已经基本痊愈,创面上皮化,痂皮脱落,创面基本愈合,创面基本被毛发覆盖,证明真皮层已基本恢复其功能。

[0099] 取材研究皮肤的修复情况,H&E染色和Masson's染色。如图12所示,结果表明,第7天,实验组创面上皮细胞的基本结构已经形成,并且具有丰富的胶原纤维,炎症细胞相对较少。第14天,实验组形成了高度有序的上皮层和具有丰富成纤维细胞的结缔组织。第21天,实验组的创面部位已经形成了高度有序的胶原纤维结构和完整的表皮,并且与正常皮肤组织基本一致。

[0100] 说明抗菌肽水凝胶具有更好的抗菌效果,对MRSA具有强烈的杀伤作用,并且可以加速创伤皮肤的愈合与修复。

[0101] 综上所述,所制备的水凝胶具有明显的抗菌抗炎、促进创伤修复的疗效。与壳聚糖水凝胶相比,具有更有效的抗菌活性;同时具有较好的生物相容性,是一种非常适合感染伤口治疗的水凝胶。

[0102] 本说明书中各个实施例采用递进的方式描述,每个实施例重点说明的都是与其他实施例的不同之处,各个实施例之间相同相似部分互相参见即可。对于实施例公开的装置而言,由于其与实施例公开的方法相对应,所以描述的比较简单,相关之处参见方法部分说明即可。

[0103] 对所公开的实施例的上述说明,使本领域专业技术人员能够实现或使用本发明。对这些实施例的多种修改对本领域的专业技术人员来说将是显而易见的,本文中所定义的一般原理可以在不脱离本发明的精神或范围的情况下,在其它实施例中实现。因此,本发明将不会被限制于本文所示的这些实施例,而是要符合与本文所公开的原理和新颖特点相一致的最宽的范围。

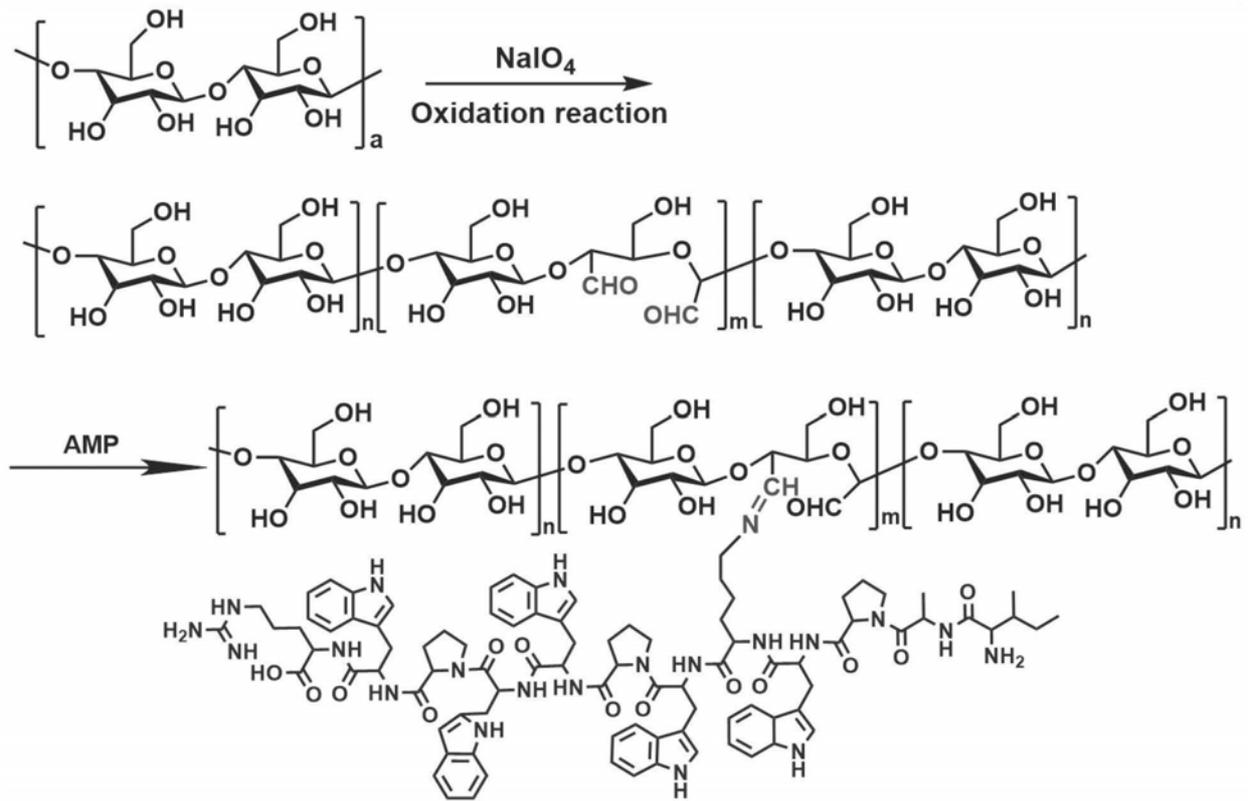


图1

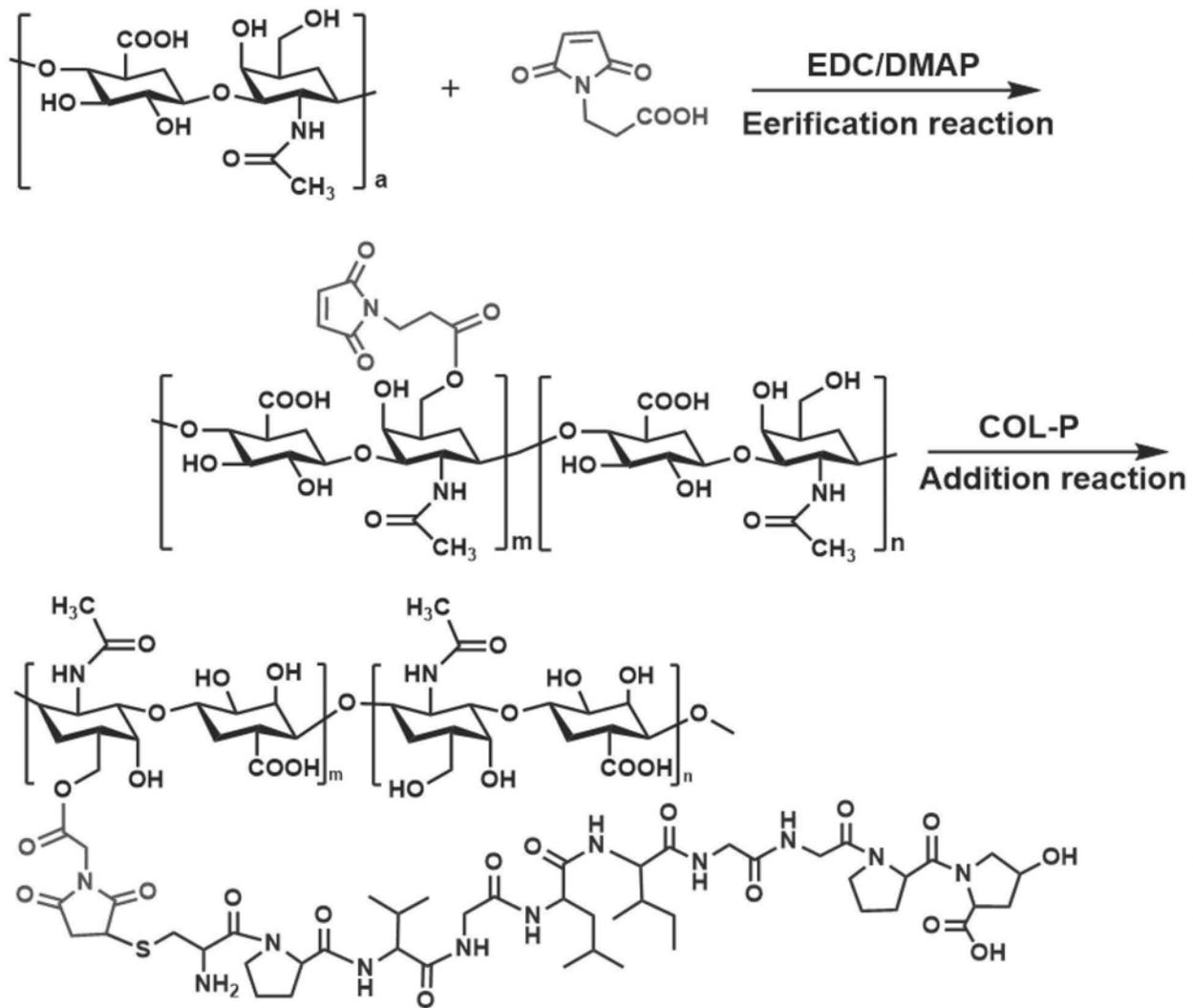


图2

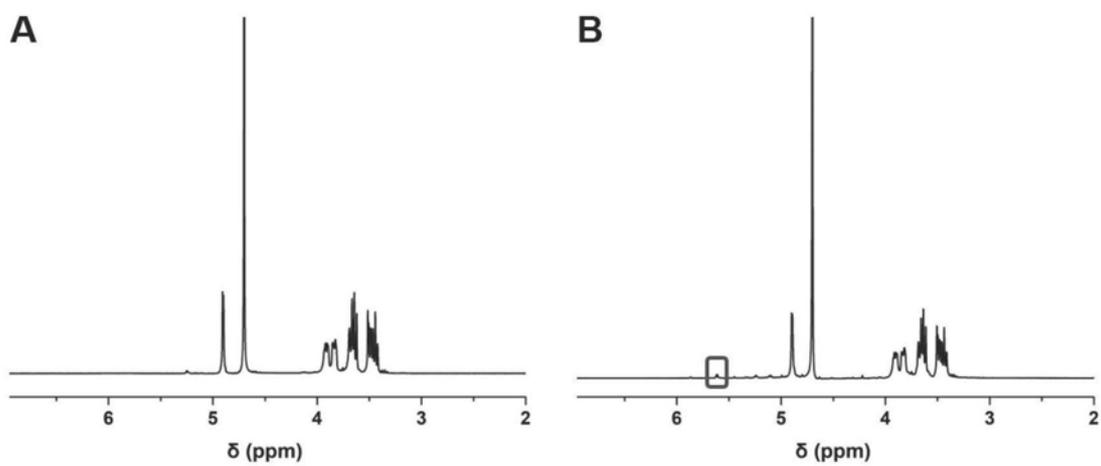


图3

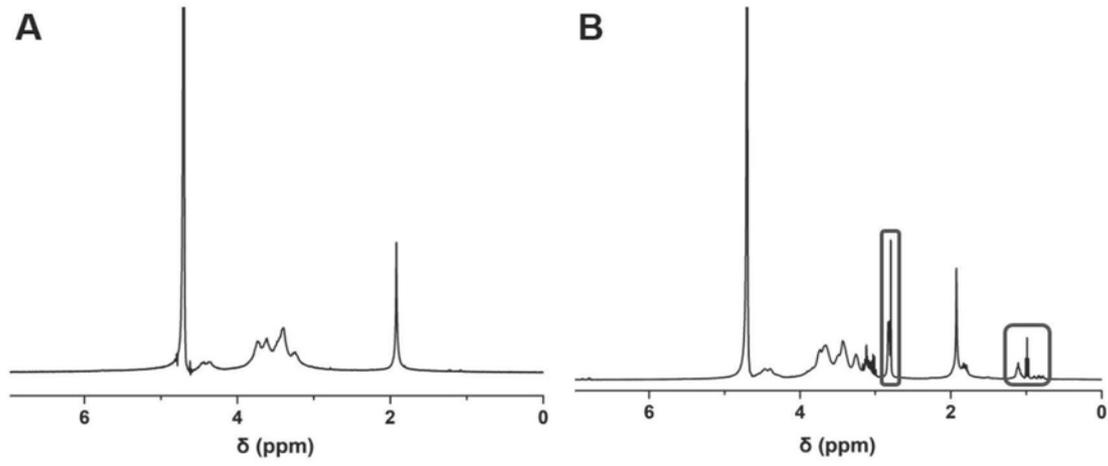


图4

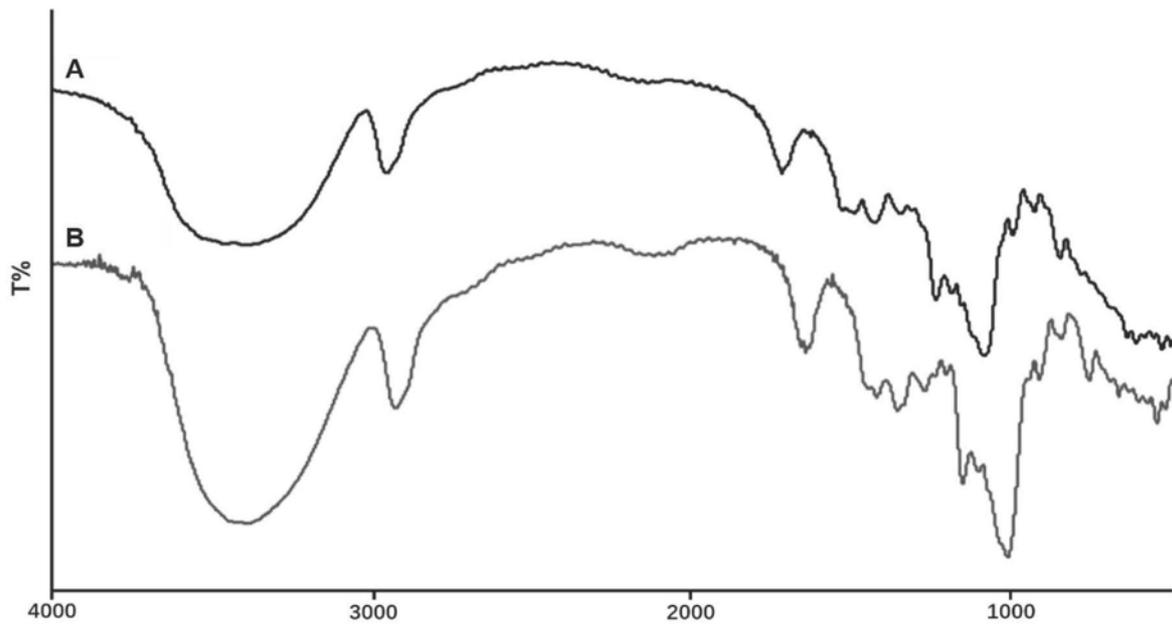


图5

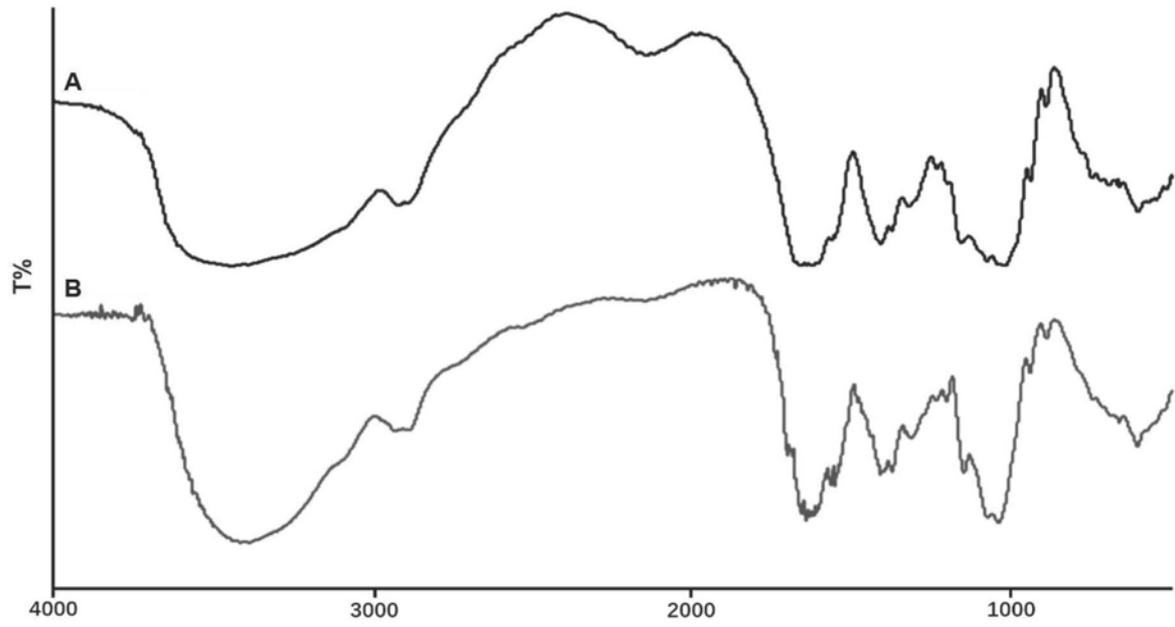


图6

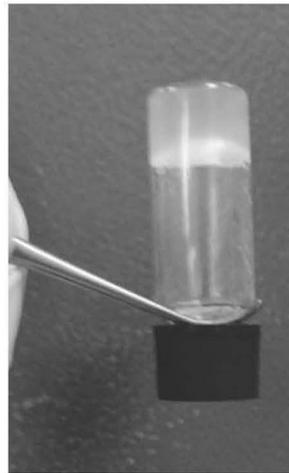


图7

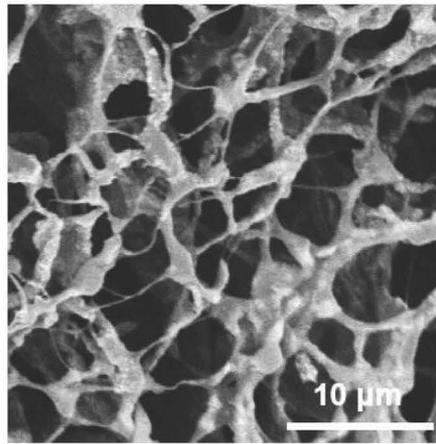


图8

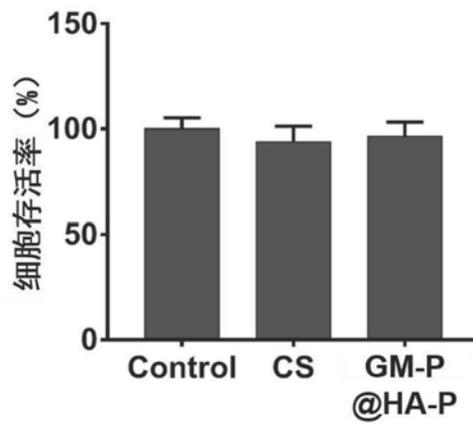


图9

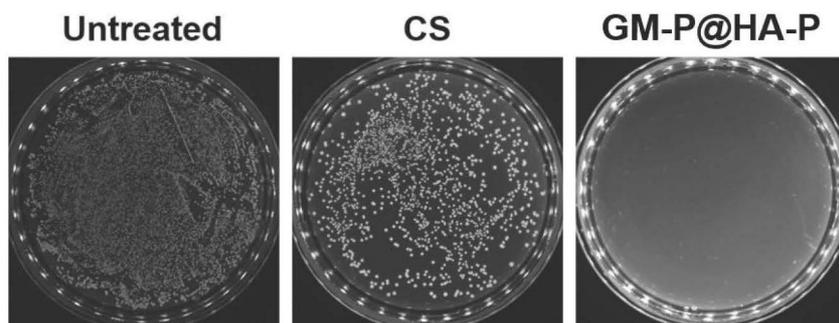


图10

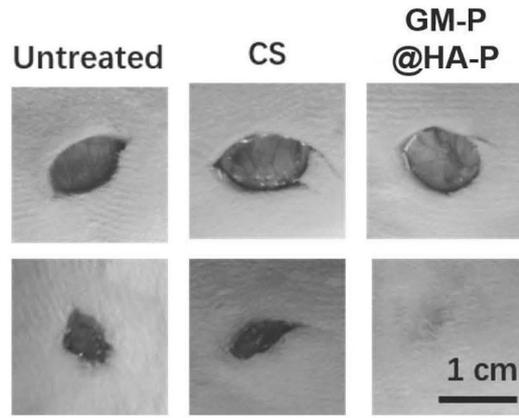


图11

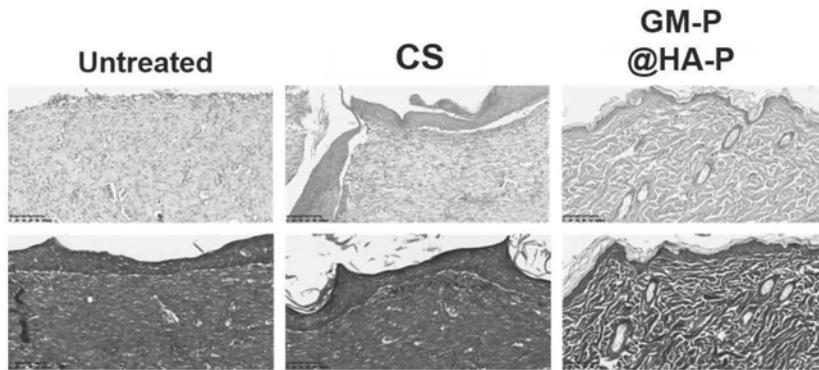


图12