



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 116440317 B

(45) 授权公告日 2024. 09. 03

(21) 申请号 202310357917.6

(22) 申请日 2023.04.06

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 116440317 A

(43) 申请公布日 2023.07.18

(73) 专利权人 福州大学

地址 350000 福建省福州市福州大学城乌龙江北大道2号

(72) 发明人 程翠 张媛 韩霄 林抒今 林婷

(74) 专利代理机构 浙江千克知识产权代理有限公司 33246

专利代理师 沈涛

(51) Int. Cl.

A61L 26/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 110894302 A, 2020.03.20

CN 114213675 A, 2022.03.22

审查员 戴智斌

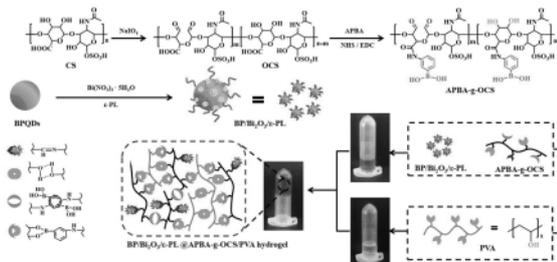
权利要求书2页 说明书7页 附图5页

(54) 发明名称

一种光热抗菌水凝胶及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种光热抗菌水凝胶及其制备方法。本发明以氧化铋和 ε - 聚赖氨酸改性的黑磷量子点、3-氨基苯硼酸改性的氧化硫酸软骨素和聚乙烯醇为原料,在水溶液中通过形成以动态硼酸酯键为主,氢键、π - π 堆积和动态亚胺键交联为辅的BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ ε -PL @APBA-g-OCS/PVA水凝胶。该水凝胶具有良好的多重刺激响应性、自愈合性、黏附性、止血性,不仅可以通过光热化学作用协同抗菌,同时能够改善伤口微环境。不但可以为普通伤口提供良好愈合环境,也可以加速糖尿病感染伤口愈合。



1. 一种光热抗菌水凝胶制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1、将研磨好的黑磷晶体分散在NMP中,冰浴、超声后离心,得到含均一粒径的BPQDs上清液;

S2、在所述的BPQDs上清液中加入 $\epsilon$ -PL醇溶液和 $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 醇溶液,搅拌均匀后,静置、离心,取沉淀物分散在水中,配制BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3$ / $\epsilon$ -PL纳米粒溶液;

S3、在CS溶液中加入 $\text{NaIO}_4$ ,混合均匀后,避光搅拌,加入还原性醇,透析所得溶液,透析液冷冻干燥,得到OCS;

S4、将所述OCS配制成水溶液,加入EDC和NHS,第一次调节pH值、避光反应,加入APBA溶液,第二次调节pH值、避光反应,透析所得反应液,透析液冷冻干燥,得到APBA-g-OCS;

S5、将所述BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3$ / $\epsilon$ -PL纳米粒溶液、APBA-g-OCS溶液和PVA水溶液混合,得到湿态的BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3$ / $\epsilon$ -PL@APBA-g-OCS/PVA抗菌水凝胶;所述的APBA-g-OCS溶液,由所述APBA-g-OCS溶于PBS中制得;

其中,所述NMP为N-甲基吡咯烷酮,所述BPQDs为黑磷量子点,所述 $\epsilon$ -PL为 $\epsilon$ -聚赖氨酸,所述 $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 为五水合硝酸铋,所述CS是硫酸软骨素,所述 $\text{NaIO}_4$ 是高碘酸钠,所述OCS是氧化态硫酸软骨素,所述EDC是1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺,所述NHS是N-羟基丁二酰亚胺,所述APBA是3-氨基苯硼酸,所述APBA-g-OCS是3-氨基苯硼酸修饰的氧化态硫酸软骨素,所述PVA是聚乙烯醇,所述PBS是磷酸盐缓冲液。

2. 根据权利要求1所述的光热抗菌水凝胶制备方法,其特征在于,步骤S1中,所述黑磷晶体的研磨是在 $\text{N}_2$ 中进行;所述BPQDs上清液的浓度为0.1~0.3 mg/mL。

3. 根据权利要求1所述的光热抗菌水凝胶制备方法,其特征在于,步骤S2中,所述 $\epsilon$ -PL醇溶液和 $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 醇溶液的溶剂均为乙二醇;所述 $\epsilon$ -PL醇溶液的浓度为2~6 mg/mL;所述 $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 醇溶液的浓度为30~34 mg/mL;静置时间为4~6 h。

4. 根据权利要求1所述的光热抗菌水凝胶制备方法,其特征在于,步骤S2中, $\epsilon$ -PL和 $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 和BPQDs的质量比为:(0.8~1.2):(16~24):(0.8~1.2),所述BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3$ / $\epsilon$ -PL纳米粒溶液浓度为0.01~0.45 mg/mL。

5. 根据权利要求1所述的光热抗菌水凝胶制备方法,其特征在于,步骤S3中,所述CS溶液的浓度为8~12 mg/mL;避光搅拌时间为5~7 h;所述还原性醇为乙二醇;透析时间为2~4 d;透析过程包括每6~8 h换一次水;透析液冷冻干燥温度为-70~-90 °C;透析液冷冻干燥时间为2~4 d;所述CS和 $\text{NaIO}_4$ 的摩尔比为(0.8~1.2):(2.4~3.6)。

6. 根据权利要求1所述的光热抗菌水凝胶制备方法,其特征在于,步骤S4中,所述OCS配制成水溶液的浓度为3~5 mg/mL;所述第一次调节pH值为4~5,避光反应时间为0.5~1.5h;所述第二次调节pH值为4~5,避光反应时间为10~12 h;透析条件是,在pH为4~5的水溶液中透析1.5~3 d,在超纯水中透析1.5~3 d;透析液冷冻干燥温度为-70~-90 °C;透析液冷冻干燥时间为2~4 d。

7. 根据权利要求1所述的光热抗菌水凝胶制备方法,其特征在于,步骤S4中,所述APBA溶液的浓度为11~13 mg/mL;所述APBA溶液的溶剂为DMSO;OCS、EDC、NHS、APBA的摩尔比为(0.8~1.2):(0.8~1.2):(0.8~1.2):(0.8~1.2)。

8. 根据权利要求1所述的光热抗菌水凝胶制备方法,其特征在于,步骤S5中,所述PBS的pH值为7.2~7.4;所述APBA-g-OCS溶液的浓度为6~12wt%;所述PVA水溶液的浓度为2~4wt%;

反应时间为25~35 s。

9. 根据权利要求1所述的光热抗菌水凝胶制备方法,其特征在于,步骤S5中,BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL:APBA-g-OCS:PVA质量比为:(0.01~0.45):(6~12):(2~4)。

10. 一种光热抗菌水凝胶,其特征在于,采用权利要求1~9任一项所述的制备方法制得;所述光热抗菌水凝胶由BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL纳米粒水溶液、APBA-g-OCS的PBS溶液与PVA的水溶液混合而成;

所述的BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL 纳米粒,是由ε-聚赖氨酸进行表面修饰、由氧化铋占据BP的缺陷位点形成的BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米颗粒;

所述的APBA-g-OCS,是3-氨基苯硼酸修饰的氧化态硫酸软骨素。

## 一种光热抗菌水凝胶及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种光热抗菌水凝胶及其制备方法,属于医用生物材料的技术领域。

### 背景技术

[0002] 皮肤作为人体的第一道屏障,不仅保护内脏免受外界环境干扰,还可以防止体液无节制流失。皮肤受到伤害后,若处理不当,细菌会引起伤口感染,影响组织修复、延缓愈合过程。尤其对于糖尿病足(DF)来说,耐药细菌生物膜的形成和伤口微环境的失调,使伤口很难愈合,严重时甚至会引发感染、溃疡,导致截肢。临床上,常利用清创术、全身性抗生素、负压治疗和蛆虫疗法来抵抗细菌生物膜引起的糖尿病足伤口感染,但效果并不理想。相反,在局部使用抗菌敷料更有利于伤口愈合。但传统抗菌敷料,在伤口干燥时易与伤口粘连,且易被渗出物污染而感染伤口。而抗菌水凝胶,因其具有抗菌、透气、保湿、控制和吸收渗出物等优点,可以帮助伤口快速愈合。

[0003] 如申请号为CN113999406A的专利,公开了一种多功能抗菌水凝胶敷料,其由抗菌活性季铵盐功能化的刚性天然聚糖与柔性聚丙烯酰胺网络组成双网络,二维纳米材料苯硼酸功能化石墨烯作为纳米填料,在预聚合的多巴胺中聚合制备而成。该多功能水凝胶具有优良的黏附性能和止血性能,但在治疗糖尿病伤口感染时效果不好。

[0004] 如申请号为CN115317660A的专利,公开了一种近红外相应的抗菌纳米复合水凝胶敷料,其由丙烯酰胺-海藻酸盐水凝胶和原位负载于水凝胶中的硫化铋纳米晶体粒子-蛋白复合物构成。该抗菌纳米复合水凝胶敷料具有光热抗菌性,但也无法加速糖尿病感染伤口的愈合。

### 发明内容

[0005] 本发明要解决上述问题,从而提供了一种光热抗菌水凝胶及其制备方法。本发明以 $\text{Bi}_2\text{O}_3$ 和 $\epsilon$ -PL改性的BPQDs, APBA改性的OCS和PVA为原料,在水溶液中通过形成以动态硼酸酯键为主,多种非共价黏附机制为辅的BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3$ / $\epsilon$ -PL @APBA-g-OCS/PVA抗菌水凝胶。该水凝胶不仅促进普通伤口愈合,更可以通过光热/化学协同抗菌、改善伤口微环境,来加速糖尿病感染伤口愈合。

[0006] 本发明解决上述问题的技术方案如下:

[0007] 一种光热抗菌水凝胶,由BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3$ / $\epsilon$ -PL 纳米粒水溶液、APBA-g-OCS的PBS溶液与PVA的水溶液混合而成;

[0008] 所述的BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3$ / $\epsilon$ -PL纳米粒,是由 $\epsilon$ -聚赖氨酸进行表面修饰、由氧化铋占据BP的缺陷位点形成的BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3$ 纳米颗粒;

[0009] 所述的APBA-g-OCS,是3-氨基苯硼酸修饰的氧化态硫酸软骨素。

[0010] 黑磷(BP)作为二维半导体纳米材料,具有高光热转换效率、良好的生物相容性、代谢产物无毒的优点。然而,2D BP的表面缺陷使其在水-氧条件下易于分解。氧化铋( $\text{Bi}_2\text{O}_3$ )可以占据BP的缺陷位点,形成异质结构的纳米颗粒,以提高BP的稳定性。同时将具有优良化学

抗菌作用的 $\epsilon$ -聚赖氨酸( $\epsilon$ -PL)修饰到纳米颗粒表面,制备光热转换剂BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ $\epsilon$ -PL,并将其负载到水凝胶中,可抵抗慢性伤口中的细菌生物膜。

[0011] 糖尿病足伤口过量活性氧的产生和炎症趋化因子的过度表达导致伤口微环境失调。细胞外基质糖胺聚糖(如硫酸软骨素CS)上带负电的硫酸基团可以通过静电相互作用与炎症趋化因子上带正电的氨基酸残基结合,调节细胞外基质外的趋化因子转运,来改善伤口微环境,促进DF伤口愈合。

[0012] PVA是一种天然高分子材料,具有很好的生物相容性,在水溶液中稳定性好,可以在水凝胶中作为交联剂和支撑材料。

[0013] 所述光热抗菌水凝胶的制备方法,包括以下步骤:

[0014] S1、将研磨后的黑磷晶体分散在甲基吡咯烷酮(NMP)中,冰浴、超声后离心,得到含均一粒径的黑磷量子点(BPQDs)上清液;

[0015] S2、在所述的BPQDs溶液中加入 $\epsilon$ -PL醇溶液和Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O醇溶液,搅拌均匀后,静置、离心,取沉淀物分散在水中,配制BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ $\epsilon$ -PL纳米粒溶液;

[0016] S3、在硫酸软骨素(CS)溶液中加入NaIO<sub>4</sub>,混合均匀后,避光搅拌,加入还原性醇,透析所得溶液,透析液冷冻干燥,得到氧化态硫酸软骨素(OCS);

[0017] S4、将所述OCS配制成水溶液,加入1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺(EDC)和N-羟基丁二酰亚胺(NHS),第一次调节pH值、避光反应,加入3-氨基苯硼酸(APBA)溶液,第二次调节pH值、避光反应,透析所得反应液,透析液冷冻干燥,得到3-氨基苯硼酸修饰的氧化态硫酸软骨素(APBA-g-OCS);

[0018] S5、将所述BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ $\epsilon$ -PL纳米粒溶液、APBA-g-OCS溶液和PVA水溶液混合,得到湿态的BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ $\epsilon$ -PL@APBA-g-OCS/PVA抗菌水凝胶;

[0019] 所述的APBA-g-OCS溶液,由所述APBA-g-OCS溶于PBS中制得。

[0020] 作为优选,步骤S1中,所述黑磷晶体的研磨是在N<sub>2</sub>中进行。

[0021] 作为优选,进一步将含BPQDs的上清液稀释到0.1~0.3 mg/mL。

[0022] 作为优选,进一步将0.1~0.3 mg/mL的含BPQDs的上清液在3~5℃下冷藏备用。

[0023] 作为优选,步骤S2中,所述 $\epsilon$ -PL醇溶液和Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O醇溶液的溶剂均为乙二醇;所述 $\epsilon$ -PL醇溶液浓度为2~6 mg/mL;所述Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O醇溶液浓度为30~34 mg/mL;所述静置时间为4~6 h。

[0024] 作为优选,步骤S2中,所述 $\epsilon$ -PL和Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O和BPQDs的质量比为:(0.8~1.2):(16~24):(0.8~1.2);所述BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ $\epsilon$ -PL纳米粒溶液浓度为0.01~0.45 mg/mL。

[0025] 作为优选,步骤S3中,所述CS溶液浓度为8~12 mg/mL;所述避光搅拌时间为5~7 h;所述还原性醇为乙二醇;所述透析时间为2~4 d;所述透析过程包括每6~8 h换一次水;所述透析液冷冻干燥温度为-70~-90℃;所述透析液冷冻干燥时间为2~4 d;所述CS和NaIO<sub>4</sub>的摩尔比为(0.8~1.2):(2.4~3.6)。

[0026] 作为优选,步骤S4中,所述OCS溶液浓度为3~5 mg/mL;所述第一次调节pH值为4~5,避光反应时间为0.5~1.5 h;所述第二次调节pH值为4~5,避光反应时间为10~12 h;所述透析条件是,在pH为4~5的水溶液中透析1.5~3 d,在超纯水中透析1.5~3 d;所述透析液冷冻干燥温度为-70~-90℃;所述透析液冷冻干燥时间为2~4 d。

[0027] 作为优选,步骤S4中,所述APBA溶液浓度为11~13 mg/mL;所述APBA溶液的溶剂为

二甲基亚砜(DMSO);所述OCS、EDC、NHS、APBA的摩尔比为(0.8~1.2):(0.8~1.2):(0.8~1.2):(0.8~1.2)。

[0028] 作为优选,步骤S5中,所述PBS的pH值为7.2~7.4;所述APBA-g-OCS溶液浓度为6~12wt%;所述PVA溶液浓度为2~4wt%;所述反应时间为25~35 s。

[0029] 作为优选,步骤S5中,所述BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL:APBA-g-OCS:PVA质量比为:(0.01~0.45):(6~12):(2~4)。

[0030] 本发明具有以下的有益效果:

[0031] 1、本发明所制备的光热抗菌水凝胶具有多重刺激响应性、自愈合性、黏附性、止血性,可以有效闭合伤口;

[0032] 2、本发明所制备的光热抗菌水凝胶可以光热/化学协同抗菌,利于抵抗伤口感染;

[0033] 3、本发明所制备的光热抗菌水凝胶具有清除活性氧和吸附炎性趋化因子的能力,可以改善伤口微环境;

[0034] 4、本发明所制备的光热抗菌水凝胶不仅可以为普通伤口提供良好愈合环境,也可以加速糖尿病感染伤口愈合;

[0035] 5、本发明所用原料廉价易得,制备工艺简单纯熟,水凝胶的制备无需有机溶剂,且制备周期极短,30 s内即可原位成胶,不需要昂贵的仪器。

## 附图说明

[0036] 图1为光热抗菌水凝胶的制备流程图;

[0037] 图2为BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL、APBA-g-OCS和PVA的质量比为0:9:3(Blank gel)和0.25:9:3(NPs@gel-2)的水凝胶的SEM图;

[0038] 图3为BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL、APBA-g-OCS和PVA的质量比为0:9:3(Blank gel)和0.25:9:3(NPs@gel-2)的水凝胶通过808 nm的NIR照射15 min的升温曲线图;

[0039] 图4为BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL、APBA-g-OCS和PVA的质量比为0.25:9:3(NPs@gel-2)的水凝胶的自愈合图;

[0040] 图5为BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL、APBA-g-OCS和PVA的质量比为0.25:9:3(NPs@gel-2)的水凝胶(a)对猪皮肤的粘附力;(b, d)对各种组织和不同材料的粘附;(c)对人体关节的粘附;

[0041] 图6为BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL、APBA-g-OCS和PVA的质量比为0.25:9:3(NPs@gel-2)的水凝胶浸入不同溶液中(PBS, 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 16.6 mM Glucose)在不同时间间隔的降解率;

[0042] 图7为BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL、APBA-g-OCS和PVA的质量比为0:9:3(Blank gel)和0.25:9:3(NPs@gel-2)的水凝胶在细胞内清除ROS;

[0043] 图8为BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL、APBA-g-OCS和PVA的质量比为0:9:3(Blank gel)和0.25:9:3(NPs@gel-2)的水凝胶对炎性趋化因子IL-8和MCP-1的吸附能力;

[0044] 图9为BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL、APBA-g-OCS和PVA的质量比为0:9:3(Blank gel)和0.25:9:3(NPs@gel-2)的水凝胶的抗菌活性;

[0045] 图10为BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL、APBA-g-OCS和PVA的质量比为0.25:9:3(NPs@gel-2)的水凝胶的止血性能。

## 具体实施方式

[0046] 以下结合附图来对本发明进行详细的说明。

[0047] 实施例1

[0048] 图1所示为光热抗菌水凝胶的制备流程图;依次包括BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL纳米粒的制备、APBA-g-OCS的制备和BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL @APBA-g-OCS/PVA水凝胶的制备。

[0049] BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL纳米粒的制备

[0050] BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL纳米粒的制备方法,包括以下步骤:

[0051] 将在N<sub>2</sub>中研磨的黑磷晶体分散在NMP中,冰浴、超声后离心,将含均一粒径BPQDs的上清液定量稀释到0.2 mg/mL,保存在冰箱中;

[0052] 在所述BPQDs溶液中加入溶剂均为乙二醇的4 mg/mL的ε-PL醇溶液和32 mg/mL的Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O醇溶液,将所得混合溶液搅拌均匀后室温静置5 h,离心。取0 mg沉淀物分散在水中,配制0 mg/mL的BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL纳米粒溶液。

[0053] 上述方法中,各物质的质量用量比为,ε-PL:Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O:BPQDs=1:20:1。

[0054] APBA-g-OCS的制备

[0055] APBA-g-OCS的制备方法,包括以下步骤:

[0056] 在10 mg/mL CS溶液中加入NaIO<sub>4</sub>,避光搅拌6 h后,加入1 mL乙二醇终止反应,所得溶液置于透析袋中,室温下透析3 d,所得透析液在-80 °C冷冻干燥3 d,得到OCS;

[0057] 在配置的4 mg/mL的OCS溶液中加入EDC和NHS,调节溶液pH至4~5,室温避光反应1 h;向所述溶液中加入溶剂为DMSO的浓度为12 mg/mL的APBA溶液,调节pH至4~5,室温避光反应过夜;将反应液置于透析袋中,在pH为4~5的水溶液中透析2天,再在超纯水中透析2天,所得透析液在-80 °C冷冻干燥3 d,得到APBA-g-OCS。

[0058] 上述方法中,各物质的摩尔比为,CS:NaIO<sub>4</sub>=1:3;OCS:EDC:NHS:APBA=1:1:1:1。

[0059] BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL @APBA-g-OCS/PVA水凝胶的制备

[0060] 在室温下:将APBA-g-OCS溶于pH = 7.4的PBS中,配制成9wt%的APBA-g-OCS溶液;将PVA溶于蒸馏水中,配制成3wt%的PVA溶液;按照质量比为:BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL:APBA-g-OCS:PVA=0:9:3混合上述溶液,所述混合溶液反应30 s得到湿态的BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL@APBA-g-OCS/PVA抗菌水凝胶;将所得湿态水凝胶冷冻干燥,即得干态的BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL @APBA-g-OCS/PVA水凝胶。

[0061] 实施例2

[0062] BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL纳米粒的制备

[0063] BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL纳米粒的制备方法,包括以下步骤:

[0064] 将在N<sub>2</sub>中研磨的黑磷晶体分散在NMP中,冰浴、超声后离心,将含均一粒径BPQDs的上清液定量稀释到0.2 mg/mL,保存在冰箱中;

[0065] 在所述BPQDs溶液中加入溶剂均为乙二醇的4 mg/mL的ε-PL醇溶液和32 mg/mL的Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O醇溶液,将所得混合溶液搅拌均匀后室温静置5 h,离心。取沉淀物分散在水中,配制0.25 mg/mL的BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL纳米粒溶液。

[0066] 上述方法中,各物质的质量用量比为,ε-PL:Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O:BPQDs=1:20:1。

[0067] APBA-g-OCS的制备

[0068] APBA-g-OCS的制备方法,包括以下步骤:

[0069] 在10 mg/mLCS溶液中加入 $\text{NaIO}_4$ ,避光搅拌6 h后,加入1 mL乙二醇终止反应,所得溶液置于透析袋中,室温下透析3 d,所得透析液在 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 冷冻干燥3 d,得到OCS;

[0070] 在配置的4 mg/mL的OCS溶液中加入EDC和NHS,调节溶液pH至4~5,室温避光反应1 h;向所述溶液中加入溶剂为DMSO的浓度为12 mg/mL的APBA溶液,调节pH至4~5,室温避光反应过夜;将反应液置于透析袋中,在pH为4~5的水溶液中透析2天,再在超纯水中透析2天,所得透析液在 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 冷冻干燥3 d,得到APBA-g-OCS。

[0071] 上述方法中,各物质的摩尔比为, $\text{CS}:\text{NaIO}_4=1:3$ ;OCS:EDC:NHS:APBA=1:1:1:1。

[0072] BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3/\epsilon\text{-PL}$ @APBA-g-OCS/PVA水凝胶的制备

[0073] 在室温下:将APBA-g-OCS溶于pH = 7.4的PBS中,配制成9wt%的APBA-g-OCS溶液;将PVA溶于蒸馏水中,配制成3wt%的PVA溶液;按照质量比为:BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3/\epsilon\text{-PL}:\text{APBA-g-OCS}:\text{PVA}=0.25:9:3$ 混合上述溶液,所述混合溶液反应30 s得到湿态的BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3/\epsilon\text{-PL}$ @APBA-g-OCS/PVA抗菌水凝胶;将所得湿态水凝胶冷冻干燥,即得干态的BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3/\epsilon\text{-PL}$ @APBA-g-OCS/PVA水凝胶。

[0074] 实施例3

[0075] BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3/\epsilon\text{-PL}$ 纳米粒的制备

[0076] BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3/\epsilon\text{-PL}$ 纳米粒的制备方法,包括以下步骤:

[0077] 将在 $\text{N}_2$ 中研磨的黑磷晶体分散在NMP中,冰浴、超声后离心,将含均一粒径BPQDs的上清液定量稀释到0.2 mg/mL,保存在冰箱中;

[0078] 在所述BPQDs溶液中加入溶剂均为乙二醇的4 mg/mL的 $\epsilon\text{-PL}$ 醇溶液和32 mg/mL的 $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 醇溶液,将所得混合溶液搅拌均匀后室温静置5 h,离心。取沉淀物分散在水中,配制0.15 mg/mL的BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3/\epsilon\text{-PL}$ 纳米粒溶液。

[0079] 上述方法中,各物质的质量用量比为, $\epsilon\text{-PL}:\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}:\text{BPQDs}=1:20:1$ 。

[0080] APBA-g-OCS的制备

[0081] APBA-g-OCS的制备方法,包括以下步骤:

[0082] 在10 mg/mLCS溶液中加入 $\text{NaIO}_4$ ,避光搅拌6 h后,加入1 mL乙二醇终止反应,所得溶液置于透析袋中,室温下透析3 d,所得透析液在 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 冷冻干燥3 d,得到OCS;

[0083] 在配置的4 mg/mL的OCS溶液中加入EDC和NHS,调节溶液pH至4~5,室温避光反应1 h;向所述溶液中加入溶剂为DMSO的浓度为12 mg/mL的APBA溶液,调节pH至4~5,室温避光反应过夜;将反应液置于透析袋中,在pH为4~5的水溶液中透析2天,再在超纯水中透析2天,所得透析液在 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 冷冻干燥3 d,得到APBA-g-OCS。

[0084] 上述方法中,各物质的摩尔比为, $\text{CS}:\text{NaIO}_4=1:3$ ;OCS:EDC:NHS:APBA=1:1:1:1。

[0085] BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3/\epsilon\text{-PL}$ @APBA-g-OCS/PVA水凝胶的制备

[0086] 在室温下:将APBA-g-OCS溶于pH = 7.4的PBS中,配制成7.5wt%的APBA-g-OCS溶液;将PVA溶于蒸馏水中,配制成3wt%的PVA溶液;按照质量比为:BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3/\epsilon\text{-PL}:\text{APBA-g-OCS}:\text{PVA}=0.15:7.5:3$ 混合上述溶液,所述混合溶液反应30 s得到湿态的BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3/\epsilon\text{-PL}$ @APBA-g-OCS/PVA抗菌水凝胶;将所得湿态水凝胶冷冻干燥,即得干态的BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3/\epsilon\text{-PL}$ @APBA-g-OCS/PVA水凝胶。

[0087] 实施例4

[0088] BP/ $\text{Bi}_2\text{O}_3/\epsilon\text{-PL}$ 纳米粒的制备

[0089] BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL纳米粒的制备方法,包括以下步骤:

[0090] 将在N<sub>2</sub>中研磨的黑磷晶体分散在NMP中,冰浴、超声后离心,将含均一粒径BPQDs的上清液定量稀释到0.2 mg/mL,保存在冰箱中;

[0091] 在所述BPQDs溶液中加入溶剂均为乙二醇的4 mg/mL的ε-PL醇溶液和32 mg/mL的Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O醇溶液,将所得混合溶液搅拌均匀后室温静置5 h,离心。取沉淀物分散在水中,配制0.35 mg/mL的BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL纳米粒溶液。

[0092] 上述方法中,各物质的质量用量比为,ε-PL:Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O:BPQDs=1:20:1。

[0093] APBA-g-OCS的制备

[0094] APBA-g-OCS的制备方法,包括以下步骤:

[0095] 在10 mg/mL LCS溶液中加入NaIO<sub>4</sub>,避光搅拌6 h后,加入1 mL乙二醇终止反应,所得溶液置于透析袋中,室温下透析3 d,所得透析液在-80 °C冷冻干燥3 d,得到OCS;

[0096] 在配置的4 mg/mL的OCS溶液中加入EDC和NHS,调节溶液pH至4~5,室温避光反应1 h;向所述溶液中加入溶剂为DMSO的浓度为12 mg/mL的APBA溶液,调节pH至4~5,室温避光反应过夜;将反应液置于透析袋中,在pH为4~5的水溶液中透析2天,再在超纯水中透析2天,所得透析液在-80 °C冷冻干燥3 d,得到APBA-g-OCS。

[0097] 上述方法中,各物质的摩尔比为,CS:NaIO<sub>4</sub>=1:3;OCS:EDC:NHS:APBA=1:1:1:1。

[0098] BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL @APBA-g-OCS/PVA水凝胶的制备

[0099] 在室温下:将APBA-g-OCS溶于pH = 7.4的PBS中,配制成10.5wt%的APBA-g-OCS溶液;将PVA溶于蒸馏水中,配制成3wt%的PVA溶液;按照质量比为:BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL:APBA-g-OCS:PVA=0.15:10.5:3混合上述溶液,所述混合溶液反应30 s得到湿态的BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL @APBA-g-OCS/PVA抗菌水凝胶;将所得湿态水凝胶冷冻干燥,即得干态的BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL @APBA-g-OCS/PVA水凝胶。

[0100] 水凝胶性能检测:

[0101] 将实施例1和2所得水凝胶分别命名为Blank gel和NPs@gel-2。

[0102] 从图2可以看出,Blank gel和NPs@gel-2两种水凝胶均显示出高度多孔和相互连接的网络结构,孔隙相对均匀,此结构有利于水凝胶作为伤口敷料吸收组织多余的渗出物。

[0103] 从图3可以看出,Blank gel和NPs@gel-2两种水凝胶在808 nm、1 W/cm<sup>2</sup>的NIR照射15 min后,Blank gel温度升至32.5 °C,NPs@gel-2温度升至63.8 °C;说明NPs@gel-2水凝胶具有良好的光热性能,且水凝胶的光热性能是BP/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ε-PL纳米粒赋予的。

[0104] 从图4可以看出,断裂的水凝胶在没有外部干预的情况下,在300s后,裂纹消失、完全愈合,说明NPs@gel-2水凝胶具有快速、稳定、高效的自愈能力,有利于给伤口提供封闭保湿的环境。

[0105] 从图5a可以看出,在没有任何外力的情况下,通过水凝胶粘连的两块猪皮可以悬挂75 g的砝码10 min仍然不会掉下来;从图5b和5d可以看出,NPs@gel-2水凝胶可黏附在大鼠不同内脏表面(如肾、肺、心、肝)和不同材质物品表面(如铁、橡胶、塑料、玻璃、纸),且表现出良好的黏附性;从图5c可以看出,NPs@gel-2水凝胶可牢固地附着在皮肤表面,且可以适应剧烈频繁且大幅度的手指关节运动。这些结果说明NPs@gel-2水凝胶在作为伤口敷料时,有利于封闭伤口且不容易被破坏,延长敷料寿命。

[0106] 从图6可以看出,在pH = 7.4时,NPs@gel-2的降解速率比在pH = 5.2、1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和

16 mM Glucose时的降解速率要慢。孵育6 h后,在pH= 7.4、pH = 5.2、1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和16 mM Glucose条件下,NPs@gel-2的剩余重量比分别为51%、36%、25%和19%;这些结果表明,水凝胶具有pH、过氧化氢和葡萄糖依赖性的降解行为;这有利于NPs@gel-2水凝胶在高糖和高活性氧浓度的DF伤口处加速降解,释放更多的活性物质,来对抗创面抗感染和调控伤口微环境。

[0107] 从图7可以看出,被Blank gel和NPs@gel-2水凝胶处理的NIH3T3细胞表现出明显的荧光猝灭,而对照组细胞仍保持强烈的荧光,表明Blank gel和NPs@gel-2水凝胶可以有效清除细胞中的活性氧;这有利于NPs@gel-2水凝胶保护伤口组织免受活性氧的影响,改善伤口微环境,避免伤口产生过度氧化应激反应。

[0108] 从图8可以看出,对照组几乎对炎症趋化因子MCP-1和IL-8不产生吸附;Blank gel和NPs@gel-2对MCP-1的吸附率分别高达87%和82%;Blank gel和NPs@gel-2对IL-8的吸附率分别为81%和73%;经计算,1 mL的NPs@gel-2可吸附4.2 ng的MCP-1和775 ng的IL-8,这显示水凝胶可有效去除炎症趋化因子,有利于水凝胶调节炎症趋化因子的转运,改善伤口微环境,加速DF感染伤口的愈合。

[0109] 从图9可以看出,观察不同组别处理的细菌在琼脂平板上的生长情况,Blank gel组对三种细菌的抗菌率为15~18%,这是由于硼酸分子能够与细菌细胞表面糖蛋白的二醇分子结合,产生一定的抗菌效果;NPs@gel-2组对三种细菌的抗菌率为84~89%,其明显的抗菌能力主要来源于ε-PL的氨基与细菌膜之间的物理化学作用,使细菌膜破裂而杀死细菌;NPs@gel-2+NIR组显示出最强的抗菌活性,对三种细菌的抑制率均为100%,说明光热和化学抗菌的结合更有利于彻底杀死细菌;这有利于NPs@gel-2水凝胶通过光热-化学联合抗菌抵抗DF伤口处的细菌感染,减少炎症反应,促进伤口愈合。

[0110] 从图10可以看出,Control (+)、医用纱布[Control (-)]和NPs@gel-2治疗5 min后的失血量分别为253.3mg、175.3mg和24.3 mg;Control (+)和Control (-)组止血所需时间为4 min,而NPs@gel-2治疗组可立即止血;这主要是由于NPs@gel-2具有良好的粘附性,可以有效地关闭肝出血部位,防止出血。

[0111] 结合以上对比数据和图片,本发明所制备的光热抗菌水凝胶,具有快速自愈合性、黏附性和止血性,利于封闭伤口,给伤口提供良好愈合环境;具有光热/化学协同杀菌作用,利于抵抗伤口感染;具有pH、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和葡萄糖等多重刺激响应性,利于水凝胶调控伤口微环境;可有效清除ROS,吸附炎症趋化因子,利于调控伤口微环境;本发明所制备的光热抗菌水凝胶,不仅可以有利于普通伤口愈合,更可有效促进糖尿病感染伤口的修复。

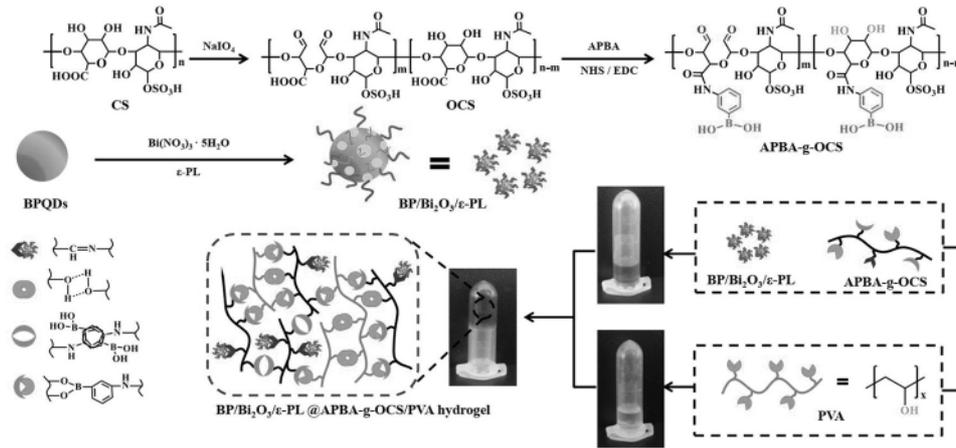


图1

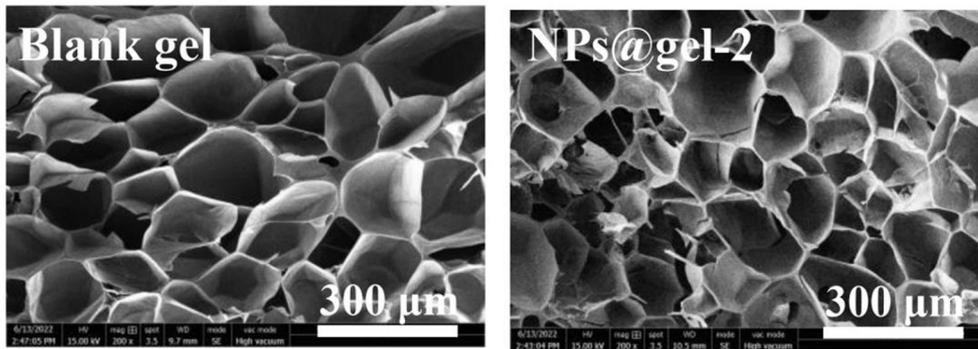


图2

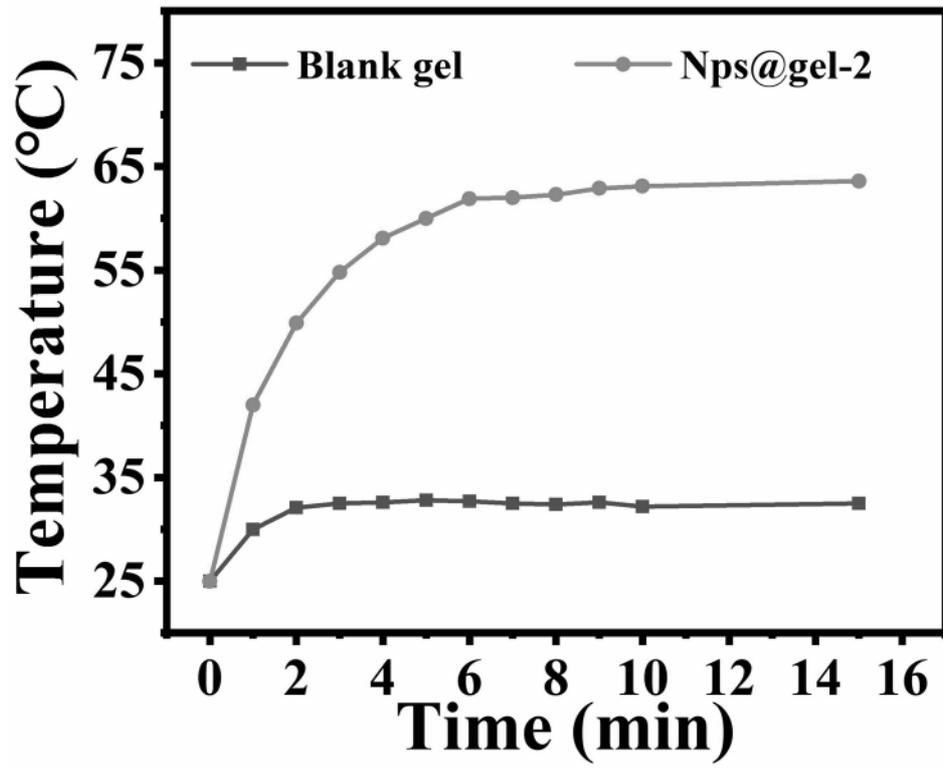


图3

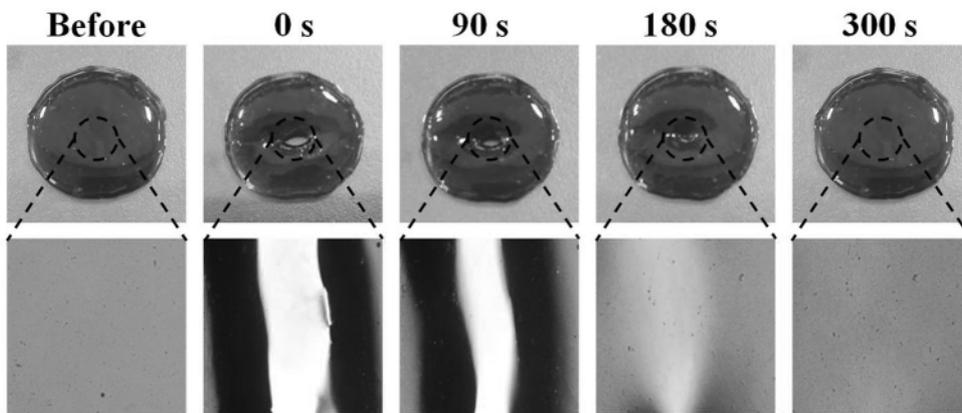


图4

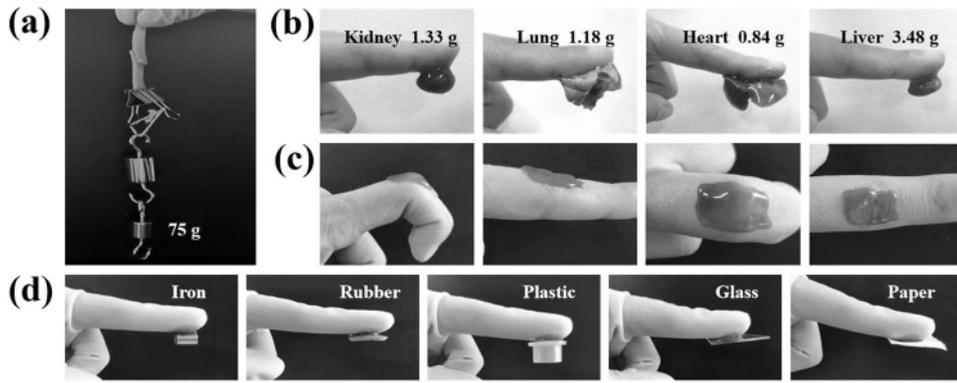


图5

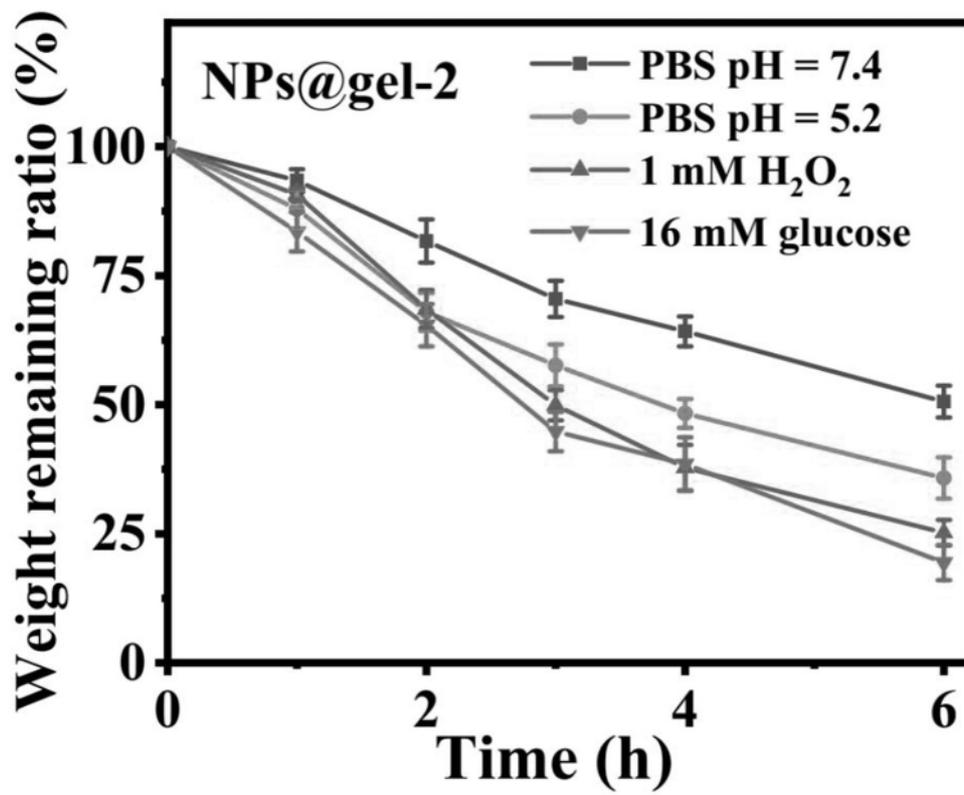


图6

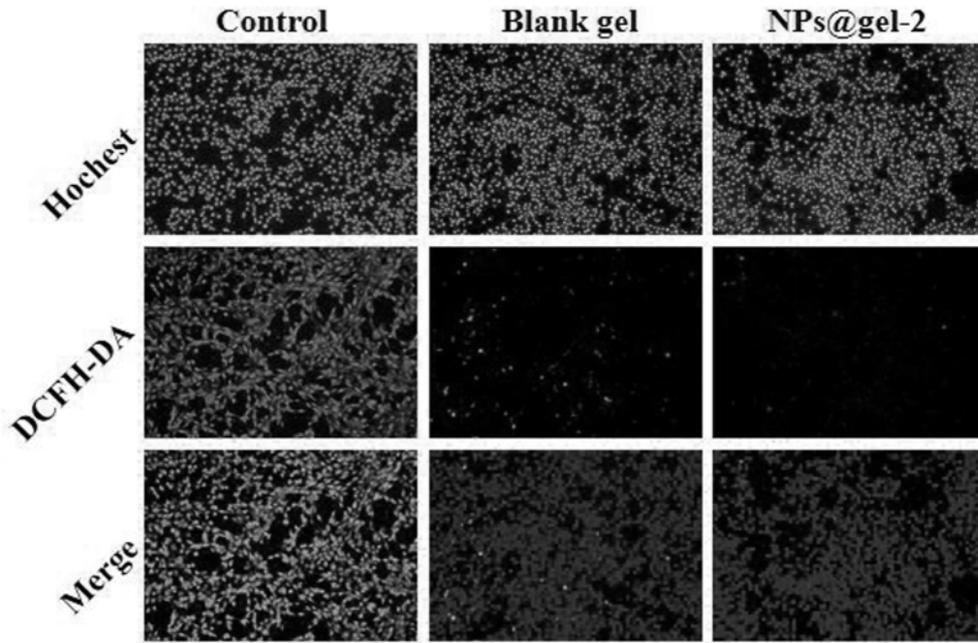


图7

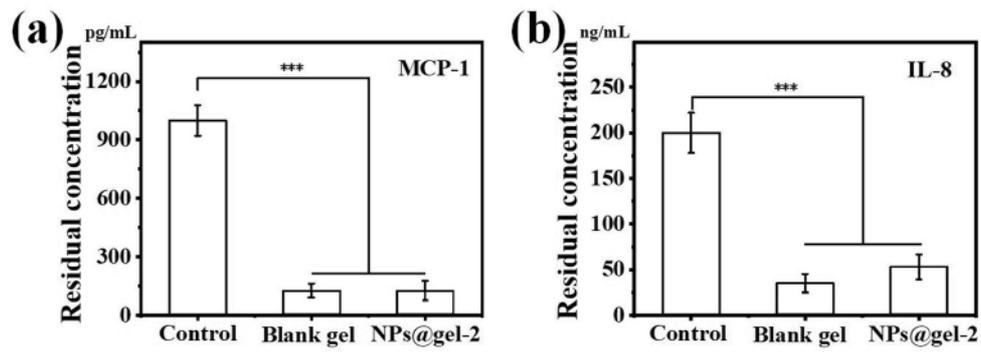


图8

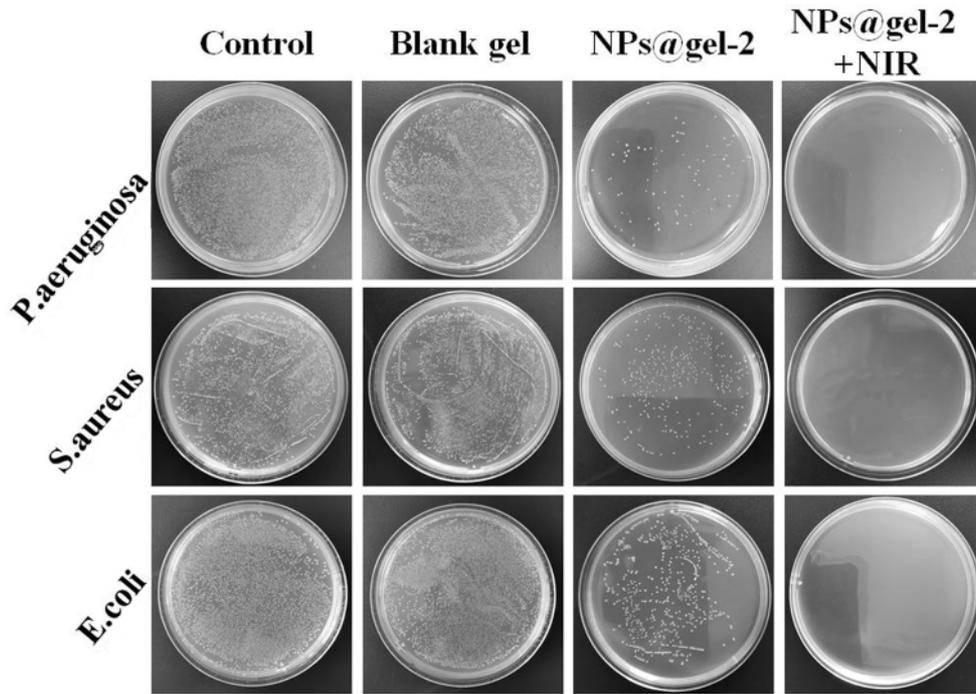


图9

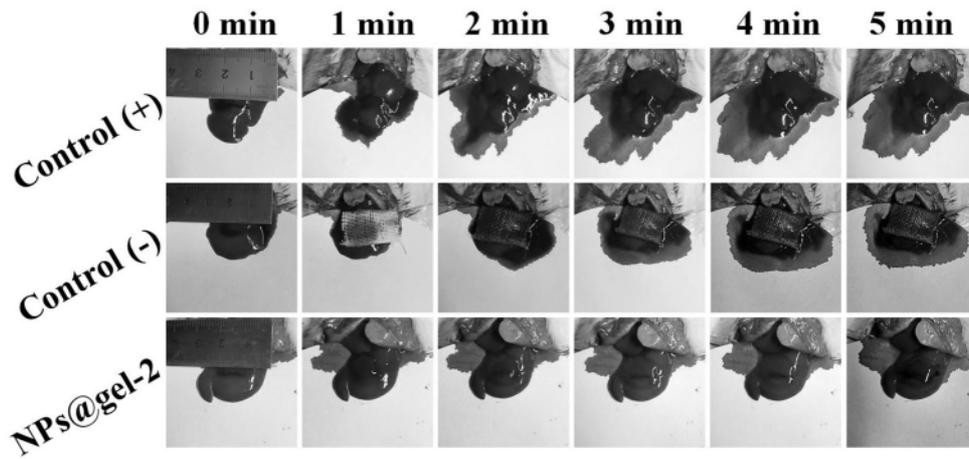


图10