



(21) 申请号 201911011525.4

(22) 申请日 2019.10.23

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110665051 A

(43) 申请公布日 2020.01.10

(73) 专利权人 四川大学
地址 610065 四川省成都市武侯区一环路
南一段24号

(72) 发明人 于云龙 李鹏飞 袁榆程 尹越

(74) 专利代理机构 北京德崇智捷知识产权代理
有限公司 11467

专利代理师 高琦

(51) Int. Cl.

A61L 26/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 112646228 A, 2021.04.13

US 2003232895 A1, 2003.12.18

Guangqian Lan等. Chitosan/gelatin
composite sponge is an absorbable
surgical hemostatic agent.《Colloids and
Surfaces B: Biointerfaces》. 2015, 第136卷

审查员 余婷

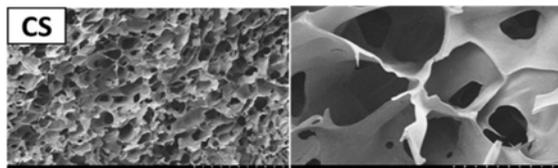
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54) 发明名称

一种具有止血和抗菌性的冷冻凝胶支架的
制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种具有止血和抗菌性的冷冻凝胶支架的制备方法,利用冷冻干燥技术将天然高分子多糖和天然高分子蛋白制备成天然高分子基的冷冻凝胶后利用强碱溶液浸泡交联该天然高分子基的冷冻凝胶,将交联后的冷冻凝胶浸泡到多酚化合物溶液中以达到将多酚化合物修饰到冷冻凝胶表面和内部网络的目的。最后,将多酚化合物修饰的冷冻凝胶浸泡到硝酸银(Ag^+)的溶液中,多酚化合物将还原 Ag^+ 进而在冷冻凝胶中原位生成银纳米颗粒(Ag-NPs)。该冷冻凝胶支架具有良好的生物相容性、吸液和止血以及优异的抗菌性能,在止血和治疗组织缺损方面具有广阔的应用前景。



1. 一种具有止血和抗菌性的冷冻凝胶支架的制备方法,其特征在于:包括以下步骤:
步骤 A:将天然高分子多糖和天然高分子蛋白按照质量比 1:0.1-1 溶解于水,通过冷冻干燥技术将天然高分子混合溶液制备成天然高分子基的冷冻凝胶支架后并在强碱溶液中交联,在室温下交联 10-60 分钟,所述天然高分子多糖为壳聚糖;
步骤 B:强碱溶液交联的所述冷冻凝胶支架浸泡到0.2-1mg/mL的多酚化合物溶液中浸泡 10-60 分钟,在室温下通过与天然高分子链形成氢键、静电相互作用等方式修饰到冷冻凝胶表面和内部网络中,所述强碱溶液为 1mol/L的NaOH 水溶液,所述多酚化合物为单宁酸;
步骤 C:将多酚化合物修饰后的冷冻凝胶浸泡到0.01-0.05 mg/mL的硝酸银的溶液中得到具有多孔结构的冷冻凝胶支架。
2. 根据权利要求 1 所述的一种具有止血和抗菌性的冷冻凝胶支架的制备方法,其特征在于:步骤 A 中的天然高分子蛋白是明胶、胶原蛋白和丝素蛋白中的一种或者多种。
3. 一种根据权利要求1-2中任一项所述制备方法制备获得的具有止血和抗菌性的冷冻凝胶支架,其特征在于:所述支架为天然高分子基的冷冻凝胶,所述冷冻凝胶具有 Ag 纳米颗粒分布相并通过所述多酚化合物修饰,所述冷冻凝胶为具有多孔结构的高分子聚合物。

一种具有止血和抗菌性的冷冻凝胶支架的制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物材料技术领域,具体涉及一种具有止血和抗菌性的冷冻凝胶支架的制备方法。

背景技术

[0002] 天然高分子基的冷冻凝胶因具有良好的生物相容性和仿细胞外基质微环境的成分和结构而被广泛应用于伤口愈合,医用冷冻凝胶材料有可靠的生物安全性以及很好的生物相容性,其较高的含水量与人体细胞基质环境极为相似,而且生长因子等小分子可自由出入凝胶内部的多孔结构,使得冷冻凝胶的生物相容性、可降解性、细胞粘附性以及生长因子之间很好的结合性,这样细胞就会粘附在支架材料上分化生长形成新的组织区域来代替原来的受损区域。

[0003] 然而单一的天然高分子基冷冻凝胶因生物活性不足而严重限制了冷冻凝胶在临床应用,而细菌感染在伤口愈合期也是亟待解决的问题,然而天然高分子基的冷冻凝胶几乎不具有抗菌活性。

[0004] 目前,在冷冻凝胶中引入抗生素是提高其抗菌活性最常用有效的手段,但抗生素的滥用可能会诱导耐药菌的产生或使细胞毒性过高,纳米银Ag因具有良好的抗菌活性、不易产生耐药性和光谱抗菌性等优点而受到研究者的广泛关注,直接在冷冻凝胶引入纳米银Ag,虽然能显著提高其抗菌活性,但是容易出现团聚、粒径不均一等问题,产生的细胞毒性也会降低伤口的愈合速率,因此如何在冷冻凝胶形成粒径均匀的分散相的纳米银是需要解决的问题。

发明内容

[0005] 鉴于上文所述问题,本发明提出了一种具有止血和抗菌性的冷冻凝胶支架的制备方法,本发明首先利用冷冻凝胶技术方法制备了天然高分子冷冻凝胶支架,采用多酚化合物溶液修饰后利用原位还原技术在冷冻凝胶中构造具有抗菌功能的纳米Ag粒子,最终形成了具有止血和抗菌性的冷冻凝胶支架;本发明制备出的冷冻凝胶支架不仅具有良好的生物相容性,而且具有快速止血和优异的抗菌功能。

[0006] 本发明通过以下技术方案实现:

[0007] 包括以下步骤:

[0008] 步骤A:将天然高分子多糖和天然高分子蛋白按照质量比1:0.1-1溶解于水通过冷冻干燥技术将天然高分子混合溶液制备成天然高分子基的冷冻凝胶支架后并在强碱溶液中交联,在室温下交联10分钟-60分钟。

[0009] 步骤B:强碱溶液交联的所述冷冻凝胶支架浸泡到(0.2-10mg/mL)多酚化合物溶液中,在室温下通过与天然高分子链形成氢键、静电相互作用等方式修饰到冷冻凝胶表面和内部网络中,浸泡时间为10分钟到60分钟。

[0010] 步骤C:将多酚化合物修饰后的冷冻凝胶浸泡到(0.01-1mg/mL)硝酸银(Ag⁺)的溶

液中得到冷冻凝胶支架。

[0011] 具体地,所述天然高分子多糖可以是壳聚糖、甲壳素、纤维素、魔芋葡聚糖和淀粉中的一种或者多种。

[0012] 具体地,所述步骤A中的天然高分子蛋白可以是明胶、胶原蛋白和丝素蛋白中的一种或者多种。

[0013] 具体地,所述多酚化合物可以是单宁酸、多巴、多巴胺、儿茶酚、香豆素和木质素的一种或者多种。

[0014] 具体地,所述强碱溶液为1mol/L NaOH水溶液。

[0015] 一种具有止血和抗菌性的冷冻凝胶支架,所述支架为天然高分子基的冷冻凝胶,所述冷冻凝胶具有Ag纳米颗粒分布相并通过所述多酚化合物修饰,所述冷冻凝胶为具有多孔结构的的高分子聚合物。

[0016] 与现有技术相比,本发明具有以下有益效果:

[0017] 1、本发明中多酚化合物的引入能协同冷冻凝胶的超强的吸液能力能快速地封闭伤口和止血。

[0018] 2、本发明中的多酚化合物能显著提高冷冻凝胶的细胞亲和性和生物活性,促进细胞行为和组织再生,进而有利于伤口的快速愈合。

[0019] 3、本发明的冷冻凝胶中含有多酚化合物原位还原的Ag-NPs不仅能赋予冷冻凝胶优异的抗菌性能,而且原位还原技术有利于Ag-NPs在冷冻凝胶中的均匀分散而降低因Ag-NPs团聚而产生的细胞毒性。

附图说明

[0020] 图1为实施例1中所述强碱溶液中交联后的纯壳聚糖冷冻凝胶多孔微观形貌结构图;

[0021] 图2为实施例2中所述强碱溶液中交联后的壳聚糖/明胶冷冻凝胶多孔微观形貌结构图;

[0022] 图3为实施例2所述多酚化合物溶液修饰后的冷冻凝胶多孔微观形貌结构图;

[0023] 图4为实施例2中银纳米粒子分散相的冷冻凝胶多孔微观形貌结构图;

[0024] 图5为实施例2中银纳米粒子分散相的冷冻凝胶随孵育时间变化的凝血指数示意图;

[0025] 图6为实施例2中冷冻凝胶随银纳米粒子浓度变化的抗菌效果示意图;

具体实施方式

[0026] 以下结合实施例对本发明进行进一步的阐述,但不应该理解为本发明上述主题范围仅限于下述实施例。在不脱离本发明上述技术思想的情况下,根据本领域普通技术知识和惯用手段,做出各种替换和变更,均应包括在本发明的保护范围内。

[0027] 实施例1:

[0028] 步骤A:首先,配置壳聚糖(30mg/mL)水溶液5mL;其次,用冷冻干燥技术将壳聚糖溶液制备成壳聚糖冷冻凝胶,将壳聚糖冷冻凝胶浸泡到强碱溶液中交联,交联时间为20分钟,多孔微观形貌如图1。

[0029] 步骤B:将A步强碱交联的壳聚糖冷冻凝胶浸泡到单宁酸(0.2mg/mL)溶液中,单宁酸通过与壳聚糖的分子链形成氢键、静电相互作用等方式修饰到壳聚糖冷冻凝胶的表面和内部网络中,浸泡时间为20分钟。

[0030] 步骤C:将B步制备的单宁酸修饰的壳聚糖冷冻凝胶浸泡到硝酸银溶液中(1mg/mL)。由于单宁酸具有一定的还原能力能将Ag⁺还原形成具有抗菌功能的Ag纳米颗粒并均匀分布于冷冻凝胶中形成具有止血和抗菌性的冷冻凝胶支架。

[0031] 实施例2:

[0032] 步骤A:首先,将壳聚糖和明胶溶解于水溶液中,制得壳聚糖(30mg/mL)和明胶(5mg/mL)混合溶液5mL;其次,用冷冻干燥技术将壳聚糖和明胶混合溶液制备成壳聚糖/明胶冷冻凝胶;最后,将壳聚糖/明胶冷冻凝胶浸泡到强碱溶液中交联,交联时间为30分钟,多孔微观形貌如图2。

[0033] 步骤B:将A步强碱交联的壳聚糖/明胶冷冻凝胶浸泡到单宁酸(0.2mg/mL)溶液中,单宁酸通过与壳聚糖、明胶的分子链形成氢键、静电相互作用等方式修饰到壳聚糖/明胶冷冻凝胶的表面和内部网络中,浸泡时间为40分钟,多孔形貌如图3。通过SEM获取了支架的微观形貌,纯CS支架孔径比较大,随着加入Gel1的量增加,孔径变小变致密。孔径变小的原因一是因为原料增多,二是因为交联点增多,孔径的变化会影响到吸水吸血率。

[0034] 步骤C:将B步制备的单宁酸修饰的壳聚糖/明胶冷冻凝胶浸泡到硝酸银溶液中(0.02mg/mL)。由于单宁酸具有一定的还原能力能将Ag⁺还原形成具有抗菌功能的Ag纳米颗粒(多孔形貌如图4所示),并均匀分布于冷冻凝胶中。如图5所示,随着冷冻凝胶和小鼠血孵育时间增加,BCI凝血指数降低,说明冷冻凝胶有很好的止血效果,由于单宁酸具有一定的还原能力能将Ag⁺还原形成具有抗菌功能的Ag纳米颗粒,还原后的银粒子也能均匀的分布在空隙当中,减少银纳米粒子团聚并络合固定银纳米粒子,降低了银纳米粒子游离度和冷冻凝胶支架的毒性。如图6所示为冷冻凝胶随银纳米粒子浓度变化的抗菌效果示意图,随着银离子浓度的增加,还原得到的银纳米粒子越多,则抗菌性越好。

[0035] 实施例3:

[0036] 本例的操作与实施实例1基本相同,只是将实施实例1中所使用天然高分子多糖换成甲壳素、纤维素、魔芋葡聚糖、淀粉。

[0037] 实施例4:

[0038] 本例的操作与实施实例1基本相同,只是将实施例1中所使用天然高分子蛋白换成胶原蛋白、丝素蛋白。

[0039] 实施例5:

[0040] 步骤A:首先,将壳聚糖和明胶溶解于水溶液中,制得壳聚糖(30mg/mL)和明胶(5mg/mL)混合溶液5mL;其次,用冷冻干燥技术将壳聚糖和明胶混合溶液制备成壳聚糖/明胶冷冻凝胶;最后,将壳聚糖/明胶冷冻凝胶浸泡到强碱溶液中交联,交联时间为30分钟

[0041] 步骤B:将A步强碱交联的壳聚糖/明胶冷冻凝胶浸泡到单宁酸(1mg/mL)溶液中,单宁酸通过与壳聚糖、明胶的分子链形成氢键、静电相互作用等方式,修饰到壳聚糖/明胶冷冻凝胶的表面和内部网络中。

[0042] 步骤C:将B步制备的单宁酸修饰的壳聚糖/明胶冷冻凝胶浸泡到硝酸银溶液中(0.02mg/mL)。由于单宁酸具有一定的还原能力能将Ag⁺还原形成具有抗菌功能的Ag纳米颗

粒并均匀分布于冷冻凝胶中形成具有止血和抗菌性的冷冻凝胶支架,浸泡时间为40分钟。

[0043] 实施例6:

[0044] 本例的操作与实施实例5基本相同,只是将实施实例1中所使用的多酚化合物换成多巴、多巴胺、儿茶酚、香豆素、木质素。

[0045] 本发明通过在冷冻凝胶支架中修饰多酚类化合物,使得冷冻凝胶支架兼具优异的细胞亲和性和生物活性,能促进细胞行为和组织再生的能力,进而加速伤口的快速愈合,此外,多酚能化合物可以有效粘附血细胞,能结合天然高分子基的冷冻凝胶的超强吸液能力,使得伤口快速封闭和止血,提高了冷冻凝胶支架的止血能力,同时利用多酚类化合物的还原性能在冷冻凝胶中原位还原生成Ag-NPs而降低其细胞毒性,本发明制备出的冷冻凝胶支架不仅具有良好的生物相容性,而且具有快速止血和优异的抗菌功能。

[0046] 上述说明也并不仅限于上述举例,本发明未经描述的技术特征可以通过或采用现有技术实现,在此不再赘述;以上实施例及附图仅用于说明本发明的技术方案并非是对本发明的限制,参照优选的实施方式对本发明进行了详细说明,本技术领域的普通技术人员在本发明的实质范围内所作的任何修改、等同替换、改进等也应属于本发明的权利要求保护范围。

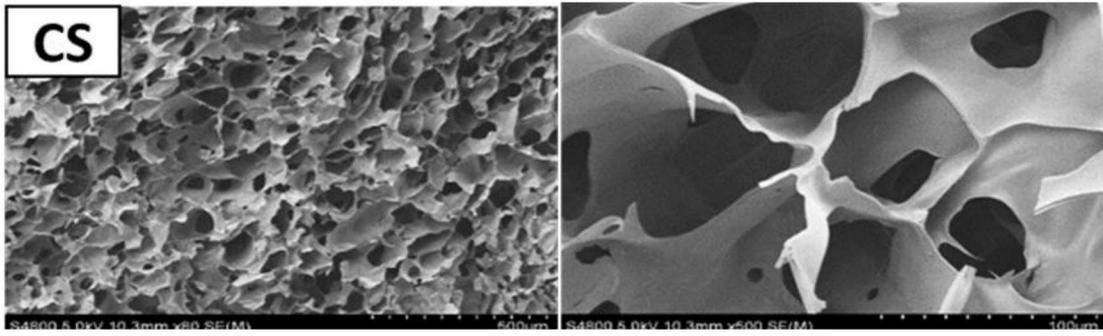


图1

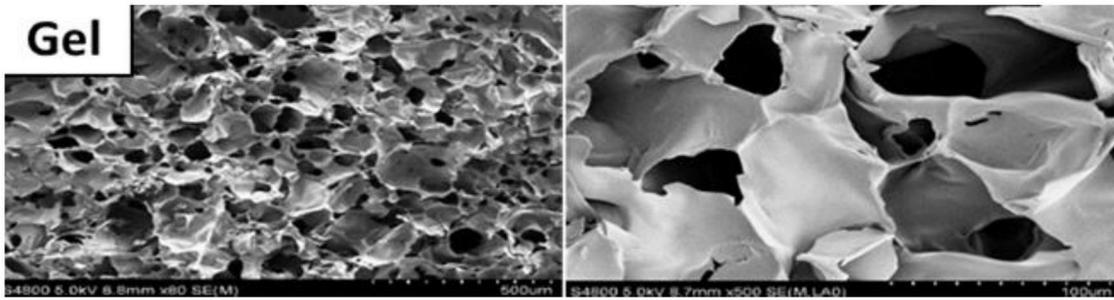


图2

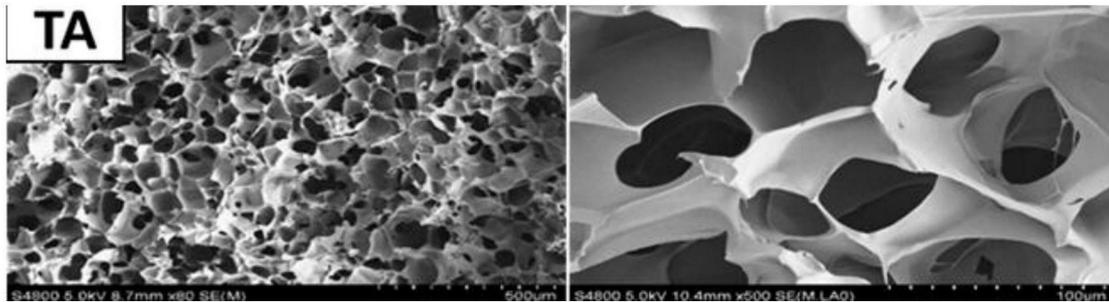


图3

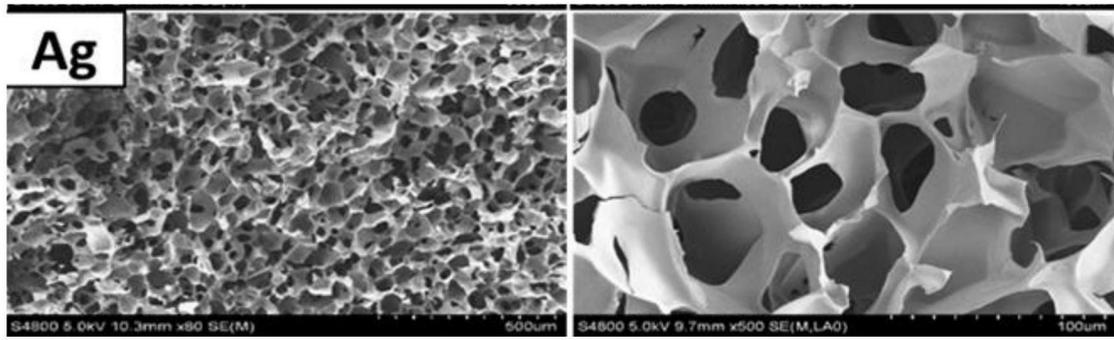


图4

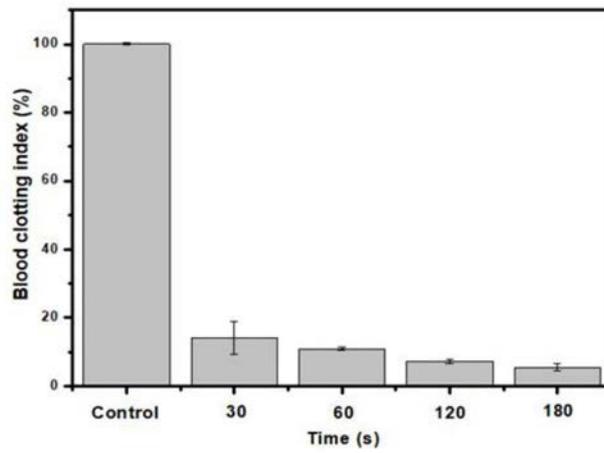


图5

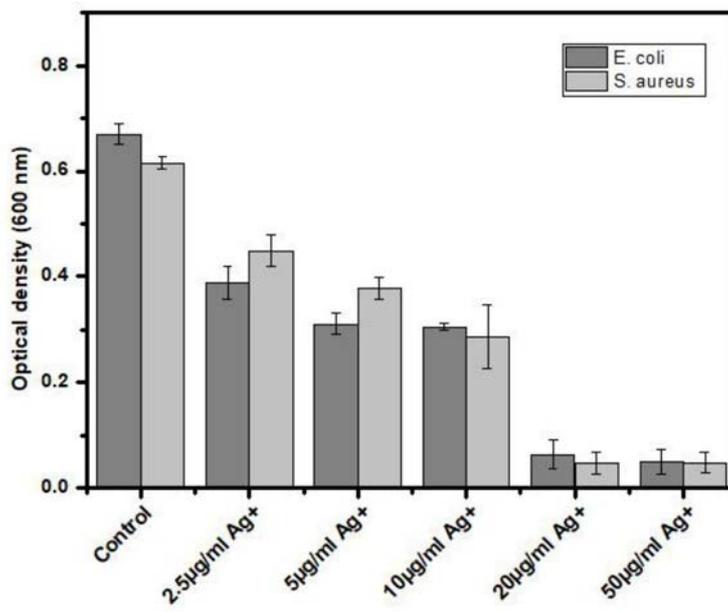


图6