



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107349459 A

(43)申请公布日 2017. 11. 17

(21)申请号 201710458188.8

(22)申请日 2017.06.16

(71)申请人 大连理工大学

地址 116024 辽宁省大连市高新园区凌工
路2号

(72)发明人 乔卫红 柳春玉 陈海亮

(74)专利代理机构 大连东方专利代理有限责任
公司 21212

代理人 周媛媛 李馨

(51) Int. Cl.

A61L 24/08(2006.01)

A61L 24/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页 附图2页

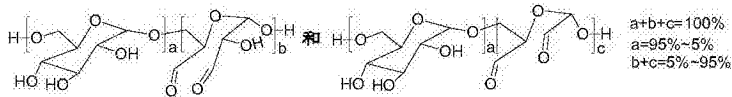
(54)发明名称

一种葡聚糖基止血抗菌促愈合材料及其制备方法

(57)摘要

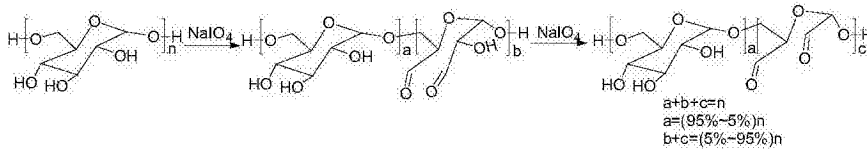
本发明公开了一种葡聚糖基止血抗菌促愈合材料及其制备方法,利用葡聚糖自身醛基化改性,能够自身发生缩醛化,在冷冻干燥条件下形成三维网状结构的海绵材料,孔径约为30-50 μ m,吸水率高达39.1g水/g材料。可快速吸收血液中的水分,形成“即时水凝胶”在伤口部位形成物理性屏障,同时大量聚集红细胞与血小板,快速激活凝血系统,从而实现止血材料的高效、快速止血,该材料同时兼具优良的抗菌与促愈合性能。本发明与传统的方法相比,其特点是:(1)高吸水与吸血率,止血快速;(2)成本低、生物安全性好;(3)止血同时抗菌、促伤口愈合。

1. 葡聚糖基止血抗菌促愈合材料, 为醛基葡聚糖, 分子量为15kDa~145kDa, 分子式如下:



其中, a、b、c为正整数。

2. 如权利要求1所述葡聚糖基止血抗菌促愈合材料的制备方法, 其特征在于: 黑暗条件下, 通过高碘酸钠在水溶液中氧化葡聚糖, 室温反应12~36h; 将反应液加入8~14kDa的透析袋中透析3~10次, 冷冻干燥, 得到醛基葡聚糖, 醛基含量为5%~95%; 葡聚糖分子量为20kDa~150kDa。



其中, n、a、b、c为正整数。

3. 如权利要求2所述葡聚糖基止血抗菌促愈合材料的制备方法, 其特征在于: 将醛基葡聚糖配制成1%~20%水溶液, 冷冻成型, 形成三维网状结构的海绵材料。

4. 如权利要求2所述葡聚糖基止血抗菌促愈合材料的制备方法, 其特征在于: 葡聚糖、高碘酸钠、水重量比为1:0.1~2:30~150。

5. 如权利要求2所述葡聚糖基止血抗菌促愈合材料的制备方法, 其特征在于: 冷冻干燥温度-60℃, 时间6~24h。

6. 如权利要求3所述葡聚糖基止血抗菌促愈合材料的制备方法, 其特征在于: 冷冻成型温度-60℃, 时间6~24h。

7. 如权利要求2~6任意一项所述制备方法得到的葡聚糖基止血抗菌促愈合材料, 其特征在于: 吸水率为20~50g水/g材料。

一种葡聚糖基止血抗菌促愈合材料及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种基于葡聚糖基的止血抗菌促愈合材料及其制备方法,属于生物医药止血材料技术领域。

背景技术

[0002] 出血失控被认为是外科手术、意外事故、战争现场死亡的首要原因。紧急情况下,院前出血死亡的人数约占三分之一。交通事故中导致伤者死亡的直接原因不是事故本身,而是失血过多,即使伤员能被送至医院抢救,院前大量失血仍会造成后期较高的死亡率和严重的并发症(如截肢、神经组织坏死等)。

[0003] 目前以硅铝酸盐和多聚糖的相关研究较多。军用硅铝酸盐类产品“Combat Gauze”尽管解决了放热和周边栓塞问题,但也仅适用于轻、中度出血;天然高岭土为天然混合物,成分、粒径、孔径不可控,加工工艺参数繁多、批间差异大、安全性能不稳定。而多聚糖类拥有明显的生物相容性优势,具有止血、抑菌和促愈合等多重功能,但现有氧化(再生)纤维素、壳聚糖、微孔淀粉类止血材料对于广泛出血创面的止血效果不理想,尤其是不规则创面和复合性血管破裂导致的出血。所以,控制不可控出血的新多聚糖基止血材料和新方法是打破目前多聚糖止血材料瓶颈的方法之一。

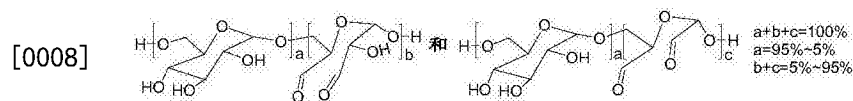
[0004] 葡聚糖是一种完全由 α -D-吡喃葡萄糖单体组成的多聚糖。作为多糖之一的 β -(1,3)-D-葡聚糖可从酵母、香菇、燕麦中提取,来源丰富,具有抗菌、促伤口愈合和可吸收降解等优越的性能。葡聚糖作为止血材料研究已有文献和专利报道(Journal of Surgical Research, 2009, 155 (1) :89-93; EP1424085A1; US2010/0299262A1; US2004/0101548A1; US2006/0159733A1; EP0693291B1),但其使用了戊二醛、环氧氯丙烷等高毒性的交联剂,或者为羧酸改性多糖基止血材料,生物相容性较差,限制了其应用发展。

发明内容

[0005] 为了解决上述问题,本发明提供一类基于新型葡聚糖基的快速止血、抗菌促愈合材料,并提供该类止血材料的制备方法。本发明利用葡聚糖自身醛基化改性,能够自身发生缩醛化,在冷冻干燥条件下形成三维网状结构的海绵材料。可快速吸收血液中的水分,形成“即时水凝胶”在伤口部位形成物理性屏障,同时大量聚集红细胞与血小板,快速激活凝血系统,从而实现止血材料的高效、快速止血,该材料同时兼具优良的抗菌与促愈合性能。

[0006] 本发明为了实现上述目的,采用如下技术方案:

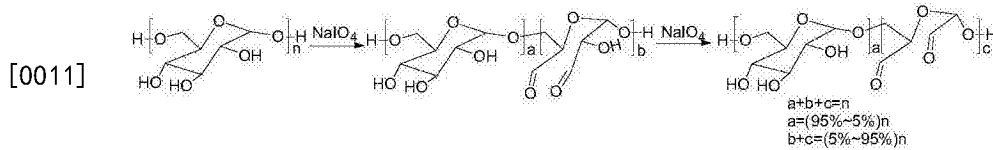
[0007] 葡聚糖基止血抗菌促愈合材料,为醛基葡聚糖,分子量为15kDa~145kDa,分子式如下:



[0009] 其中,a、b、c为正整数。

[0010] 本发明提供上述葡聚糖基止血抗菌促愈合材料的制备方法,黑暗条件下,通过高

碘酸钠在水溶液中氧化葡聚糖,室温反应12~36h;将反应液加入8~14kDa的透析袋中透析3~10次,冷冻干燥,得到得到葡聚糖基抗菌促愈合材料,醛基含量为5%~95%;葡聚糖分子量为20kDa~150kDa。



[0012] 其中,n、a、b、c为正整数。

[0013] 进一步地,在上述技术方案中,将醛基葡聚糖配制成1%~20%水溶液,冷冻成型,形成三维网状结构的海绵材料。

[0014] 进一步地,在上述技术方案中,葡聚糖、高碘酸钠、水重量比为1:0.1~2:30~150。

[0015] 进一步地,在上述技术方案中,冷冻干燥温度-60℃,时间6~24h。

[0016] 进一步地,在上述技术方案中,冷冻成型温度-60℃,时间6~24h。

[0017] 本发明提供上述制备方法得到的葡聚糖基止血抗菌促愈合材料,醛基葡聚糖溶液能够自身发生缩醛化,在冷冻干燥条件下形成三维网状结构的海绵材料,吸水率为20~50g水/g材料。

[0018] 葡聚糖基三维网状结构的海绵材料的特征是在伤口部位快速吸收血液中的血清,大量聚集红细胞与血小板,同时快速激活凝血系统,从而实现止血材料的高效、快速止血。

[0019] 醛基葡聚糖由于其醛基结构兼具优良的抗菌与促伤口愈合性能。

[0020] 葡聚糖基止血抗菌促愈合材料体外(猪血)、体内(兔肝损伤模型、兔股动脉离断模型)止血性能实验和兔皮肤伤口促愈合、体外抗菌以及皮肤刺激性实验,表明本发明材料具有快速止血的特点。

[0021] 本发明与传统的止血材料相比,其特点是:(1)高吸水与吸血率,止血快速;(2)成本低、生物安全性好;(3)止血同时抗菌、促伤口愈合。

附图说明

[0022] 图1为醛基葡聚糖止血材料扫描电镜图;

[0023] 图2为葡聚糖基材料的止血情况,(a)应用于兔肝出血模型;(b)应用于兔股动脉出血模型;

[0024] 图3为葡聚糖基止血材料的抗菌性能;其中,Dex表示为70kDa葡聚糖,050表示为醛基燕麦葡聚糖;

[0025] 图4为葡聚糖基止血材料促伤口愈合性能。

[0026] 具体实施方法

[0027] 下面结合实施例对本发明的方法做进一步说明,但并不是对本发明的限定。

[0028] (1) 葡聚糖基止血抗菌促愈合材料的制备实施例

[0029] 实施例1

[0030] 称取3.00g葡聚糖(20kDa),配成1%水溶液;将0.99g高碘酸钠(NaIO_4)溶于10mL水中,黑暗条件下室温反应14h。将反应液加入8~14kDa的透析袋中透析3次,-60℃冷冻干燥6h后,得到醛基葡聚糖(PDA25),收率为91.0%。采用盐酸羟胺测定葡聚糖醛基含量为

19.9%。将醛基葡聚糖配制成15%水溶液，-60℃冷冻成型6h，由图1PDA25扫描电镜图可知，制得了海绵三维孔状止血材料，吸水率为31.3g水/g材料。

[0031] 实施例2

[0032] 称取3.00g葡聚糖(50kDa)，配成1.5%水溶液；将1.98gNaIO₄溶于20mL水中，黑暗条件下室温反应20h。将反应液加入8~14kDa的透析袋中透析5次，-60℃冷冻干燥8h后，得到醛基葡聚糖(PDA50)，收率为92.7%。采用盐酸羟胺测定葡聚糖醛基含量为35.8%。将醛基葡聚糖配制成10%水溶液，-60℃冷冻成型8h，由图1PDA50扫描电镜图可知，制得了海绵三维孔状止血材料，吸水率为38.3g水/g材料。

[0033] 实施例3

[0034] 称取3.00g葡聚糖(70kDa)，配成2%水溶液；将2.97gNaIO₄溶于30mL水中，黑暗条件下室温反应24h。将反应液加入8~14kDa的透析袋中透析7次，-60℃冷冻干燥12h后，得到醛基葡聚糖(PDA75)，收率为90.0%。采用盐酸羟胺测定葡聚糖醛基含量为51.6%。将醛基葡聚糖配制成5%水溶液，-60℃冷冻成型12h，由图1PDA75扫描电镜图可知，制得了海绵三维孔状止血材料，吸水率为39.1g水/g材料。

[0035] 实施例4

[0036] 称取3.00g葡聚糖(150kDa)，配成2.5%水溶液；将3.96gNaIO₄溶于40mL水中，黑暗条件下室温反应28h。将反应液加入8~14kDa的透析袋中透析10次，-60℃冷冻干燥24h后，得到醛基葡聚糖(PDA100)，收率为70.6%。采用盐酸羟胺测定葡聚糖醛基含量为70.9%。将醛基葡聚糖配制成2%水溶液，-60℃冷冻成型24h，由图1PDA100扫描电镜图可知，制得了海绵三维孔状止血材料，吸水率为33.1g水/g材料。

[0037] (2) 葡聚糖基止血抗菌促愈合材料的性能实施例

[0038] 实施例5(体外凝血)

[0039] 以采血袋采集抗凝猪血400cc，取2mL猪血加入5mL离心管中，加入50mg止血材料，同时加入60μL0.1M CaCl₂，置于静音混合器摇匀，记录血液凝固的时间，重复3次，取平均值，体外凝血结果如表1所示：

[0040] 表1止血材料体外凝血结果

材料	凝血时间
空白	8'40"
PDA 100	2'33"
PDA 75	4'06"
PDA 50	1'14"
PDA 25	>11'
Celox (阳性对照)	8'55"
葡聚糖	>11'

[0042] 实施例6 (体内止血)

[0043] 实验动物为成年健康家兔12只,体重约为2kg,雌雄不限每组各3只。家兔在实验前一晚禁食。以10%水合氯醛对家兔进行麻醉,直到家兔进入深度麻醉,以暖风对其进行保温。

[0044] 肝脏损伤模型是在肝脏中叶以手术刀创制“X”形状(长2cm、深0.5cm),将50mgPDA50材料黏附于伤口,空白组不施加任何材料,观察伤口的止血情况,记录止血时间。与空白对照组止血时间85s相比,实验组PDA50止血材料即可瞬间止血。止血效果如图2(a)所示:

[0045] 股动脉离断出血模型,将家兔左右侧的股动脉剥离出来,以止血钳夹住动脉两端,眼科剪将动脉剪断,同时以PDA50敷住,按压伤口,观察伤口的止血情况。与空白对照组医用脱脂棉相比,止血材料能够快速的激活凝血系统,减少出血量,止血效果如下图2(b)所示:

[0046] 实施例7 (抗菌实验)

[0047] 用细菌玻璃涂布棒将制备好的 $200\mu\text{L}10^6\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 新鲜的大肠杆菌、金黄色葡萄球菌涂抹在直径为6cm大小的培养琼脂平板上。将材料PDA25、PDA50、PDA75、PDA100、050制备成直径约为6mm大小的海绵材料,贴附在已涂布细菌的琼脂平板上。在 37°C 下培养24h后观察有无抑菌环生成。图3为止血材料的抑菌环的大小图,由图3可知,本发明葡聚糖基止血材料的抑菌效果优于商品Celox和Surgel。

[0048] 实施例8 (促伤口愈合实验)

[0049] 实验动物为成年健康家兔3只,体重约为2kg,雌雄不限。家兔在实验前一晚禁食。以10%水合氯醛对家兔进行麻醉,直到家兔进入深度麻醉,以暖风对其进行保温。剔除背部毛发,用碘伏对皮肤进行消毒处理,所有实验材料均以紫外照射进行无菌处理,以眼科剪创制出直径约为1.8cm的圆形伤口,伤口深达肌膜。敷药后所有伤口均用凡士林油纱覆盖,再用纱布包扎。观察伤口愈合情况。如图4所示,与商品Celox、Surgel和空白相比,可知PDA25、PDA50和PDA75均显示出优异的促伤口愈合效果。

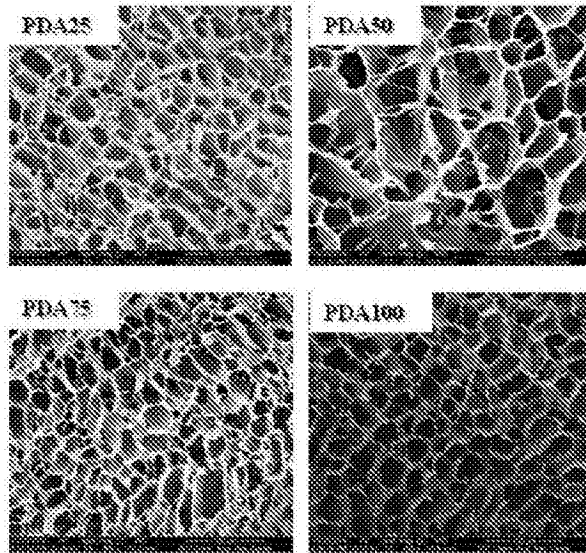


图1

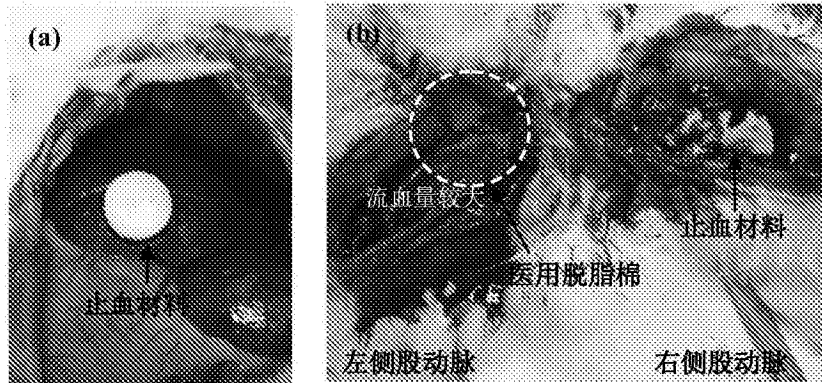


图2

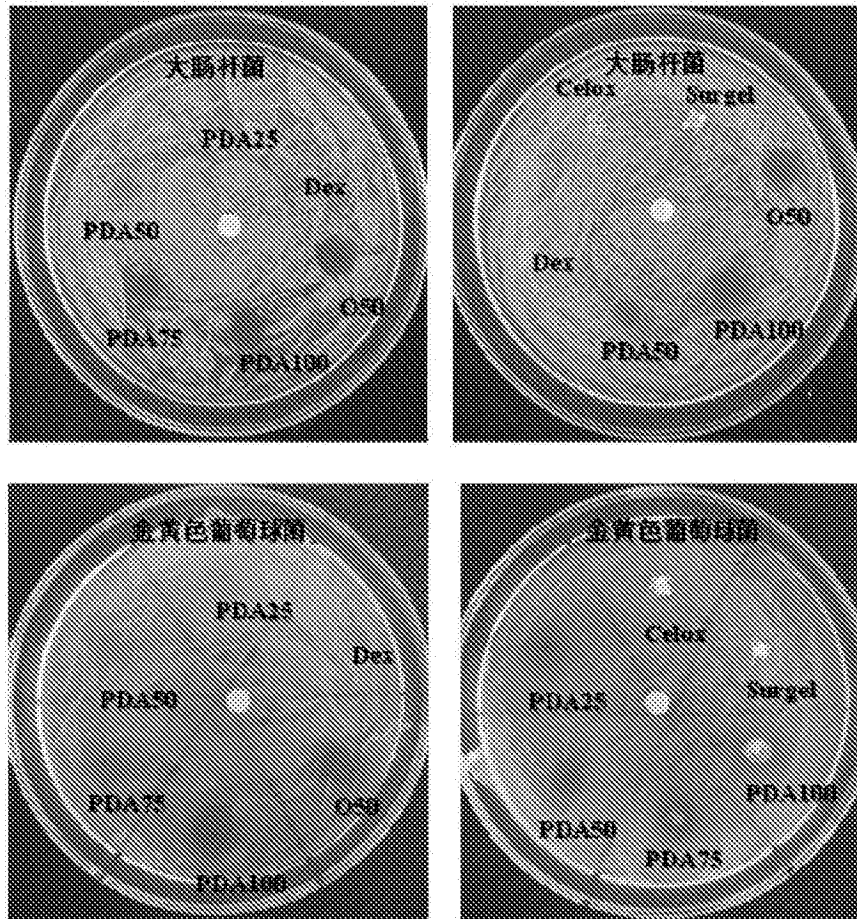


图3

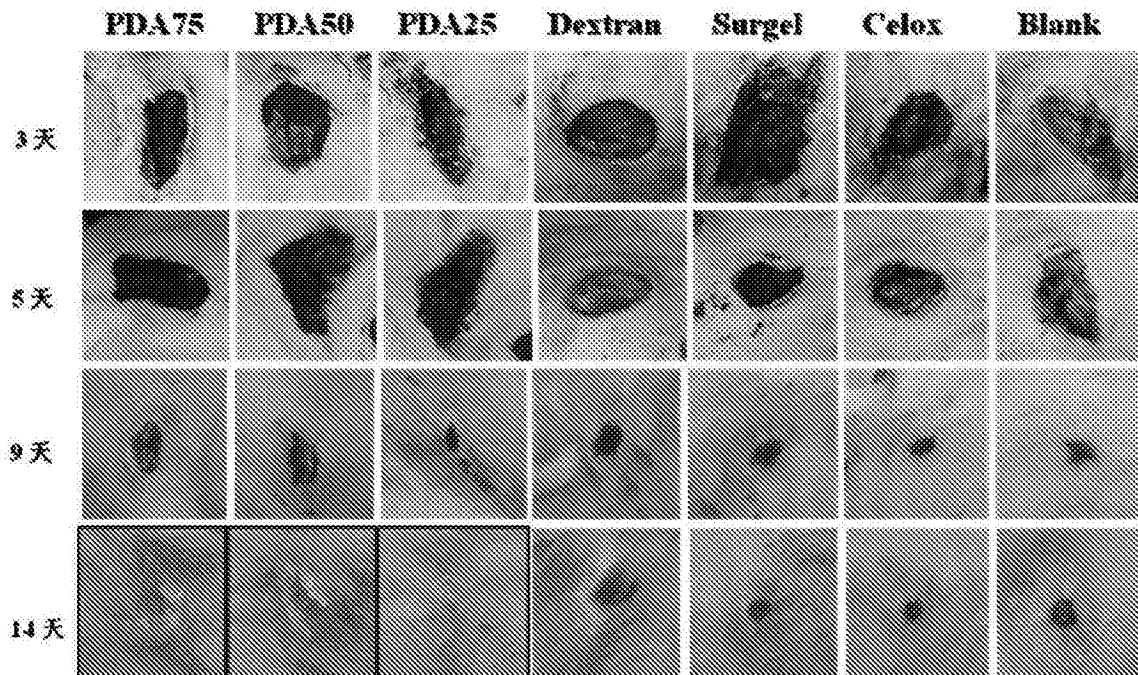


图4