



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112370567 B

(45) 授权公告日 2023.05.16

(21) 申请号 202011309230.8

CN 108440772 A, 2018.08.24

(22) 申请日 2020.11.19

US 2019307904 A1, 2019.10.10

(65) 同一申请的已公布的文献号

US 2013022548 A1, 2013.01.24

申请公布号 CN 112370567 A

王茹. 不同体系的双网络水凝胶及其增强机理. 材料导报. 2015, (第undefined期), 41-46.

(43) 申请公布日 2021.02.19

张敏. 互穿网络聚合物水凝胶的制备及其吸附研究进展. 化工进展. 2015, 1043-1049.

(73) 专利权人 南方医科大学南方医院

Zou Wanjiang. Cytocompatible chitosan based multi-network hydrogels with antimicrobial, cell anti-adhesive and mechanical properties. Carbohydrate Polymers. 2018, 第202卷246-257.

地址 510000 广东省广州市广州大道北路1838号

(72) 发明人 江娴 侯晓敏 朱丽瑜 彭焕椽

(74) 专利代理机构 北京高航知识产权代理有限公司

11530

专利代理师 郑华丽

Mandal Bidyadhar. Swelling, diffusion, network parameters and adsorption properties of IPN hydrogel of chitosan and acrylic copolymer. Materials science & engineering C-Materials for biological applications. 2014, 第44卷132-143.

(51) Int. Cl.

A61L 26/00 (2006.01)

C08F 120/34 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 101885906 A, 2010.11.17

CN 107708675 A, 2018.02.16

CN 108440772 A, 2018.08.24

CN 111388748 A, 2020.07.10

审查员 鄢瑞

权利要求书2页 说明书10页

(54) 发明名称

和治疗。

一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料

(57) 摘要

本发明提供一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料,属于医用水凝胶敷料领域,所述敷料以2-乙炔基-4,6-二氨基-1,3,5-三嗪和丙烯酸羟乙酯为单体,采用化学聚合法制备为线性共聚物,与淀粉样蛋白纤维共混后,在交联剂作用下生成疏松的交联网络,形成第一凝胶产物,在疏松的第一凝胶产物中引入羧甲基壳聚糖和水溶性多酚化合物的混合物,在第一凝胶产物中交联剂的共同作用下,经过冻融循环处理后发生二次凝胶化,形成以物理交联为主,化学交联为辅的交联水凝胶,大大提高了水凝胶敷料的机械性能,同时具有良好的抗菌消炎和自我恢复的功能,适用于烧伤、烫伤和外伤性创伤的创面保护

CN 112370567 B

1. 一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料,其特征在于,制备方法包括以下步骤:

S1、淀粉样蛋白纤维制备

将 $\beta$ -乳球蛋白或乳清分离蛋白或溶菌酶或牛血清蛋白或大豆蛋白溶于水中,得到蛋白溶液,在所述蛋白溶液中滴加稀盐酸溶液调节溶液pH至1.0-4.0,水浴加热将所述蛋白溶液升温至80-95℃,保温反应14-24h,得到淀粉样蛋白纤维溶液;

S2、聚合物制备

称取2-乙烯基-4,6-二氨基-1,3,5-三嗪3-5份,加入100份的二甲基甲酰胺或二甲基亚砷溶解,加入丙烯酸羟乙酯6-8份,加入过硫酸铵0.1-0.4份,将混合溶液置于冰水浴中,搅拌10-40min至充分溶解,再加入0.01-0.06份四甲基乙二胺,继续搅拌混合均匀,在混合溶液中通入氮气除氧,封闭反应体系,以氮气置换反应气氛,将混合溶液置于50-60℃的热水浴中反应10-16h,反应完成后冰水浴冷却,将反应产物转入截留分子量为7000的透析袋中,以去离子水透析,得到透析产物;

S3、第一凝胶产物制备

在所述透析产物中加入40-50份所述淀粉样蛋白纤维溶液,滴加稀盐酸溶液调节溶液pH至1.0-4.0,搅拌混合均匀后加入交联剂0.3-2份,再次搅拌均匀后静置过夜,得到第一凝胶产物,将所述第一凝胶产物用去离子水浸泡24h,70-90℃真空干燥;

所述交联剂为醛基化海藻酸钠、端醛基聚氧乙烯、醛基化粘多糖、铝的水溶性盐或锌的水溶性盐中的至少一种;

S4、第二凝胶产物制备

称取2-4份羧甲基壳聚糖,溶于100份的去离子水中,加入1-3份水溶性多酚化合物,充分搅拌溶解,得到第二凝胶前体溶液,将真空干燥后的第一凝胶产物浸入所述第二凝胶前体溶液中,密封后常温静置24h后取出,冻融循环3-10次后,去离子水浸泡48-72h,期间每12h换水一次,制得第二凝胶产物,切割即得所述水凝胶活性敷料。

2. 根据权利要求1所述的一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料,其特征在于,所述蛋白溶液的质量分数在4-15%。

3. 根据权利要求1所述的一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料,其特征在于,所述醛基化粘多糖为端醛基还原的肝素或硫酸乙酰肝素的钠盐,其制备方法为:

配制质量浓度为0.08%的亚硝酸钠溶液,将肝素或硫酸乙酰肝素的钠盐用所述亚硝酸钠溶液配制为质量浓度为0.5g/100mL的溶液,调节溶液pH至2.5-4,充分混合均匀后,于冰水浴下搅拌反应20-30min,碱性溶液调节溶液pH至7.0以终止反应,得到澄清溶液,将产物转入截留分子量为3500的透析袋中,以0.1mol/L的碳酸氢铵溶液透析,将透析产物冷冻干燥制得。

4. 根据权利要求1所述的一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料,其特征在于,所述冻融的冷冻温度在0℃以下,冷冻时间1-24h,融冻温度在25℃以下,融冻时间1-24h。

5. 根据权利要求1所述的一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料,其特征在于,所述水溶性多酚化合物为酚羟基苯甲酸类化合物、酚羟基肉桂酸类化合物、咖啡酸、绿原酸、鞣花酸、没食子酸、邻苯三酚、花色素、儿茶素、可水解单宁、缩合单宁中的一种或几种。

6. 根据权利要求5所述的一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料,其特征在于,所述水溶性多酚化合物中含有羧基。

7. 根据权利要求1所述的一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料,其特征在于,所述第二凝胶前体溶液中还添加有0.1-0.5份的纳米银。

8. 根据权利要求7所述的一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料,其特征在于,所述纳米银的制备方法包括以下步骤:

#### S1、微凝胶制备

称取N-异丙基丙烯酰胺9份、1,4-二溴丁烷2.6份、1-乙烯基咪唑1份,搅拌混合均匀后通入氮气以去除溶液中的氧气,得到溶液A,将所述溶液A升温至70℃,待所述溶液A温度稳定后,加入10份的质量浓度为1%的2,2'-偶氮二异丁基脒盐酸盐溶液,混合均匀得到溶液B,称取5,10,15,20-四(1-甲基-4-吡啶基)卟啉四(对甲苯磺酸盐)溶于50%的乙醇溶液中,配制为质量浓度1-2%的溶液,得到溶液C,将所述溶液B与所述溶液C按比混合,1000rpm搅拌反应6-8h,保持搅拌并自冷至室温,冷却后得到微凝胶乳液,将所述微凝胶乳液9000rpm离心30min分离微凝胶,再将得到的微凝胶以去离子水浸泡洗涤,真空干燥;

#### S2、纳米银负载

将干燥后的微凝胶浸入硝酸银溶液中,浸泡时间6-12h,再置于紫外灯下照射1-2h,滤出微凝胶,以无水乙醇淋洗后,浸入5%的硼氢化钠碱性溶液中,搅拌反应0.5-1h,滤出以去离子水洗涤即得。

9. 根据权利要求8所述的一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料,其特征在于,所述溶液B与所述溶液C的混合比例为12-20:1。

10. 根据权利要求8所述的一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料,其特征在于,所述硝酸银溶液的浓度为0.75-3mmol/L。

## 一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料

### 技术领域

[0001] 本发明涉及医用水凝胶敷料领域,具体涉及一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料。

### 背景技术

[0002] 医用敷料是伤口的覆盖物,在伤口愈合过程中替代受损的皮肤发挥暂时性屏障作用,提供利于伤口愈合的环境,在伤口愈合过程中,破损的皮肤易被细菌感染,导致伤口恶化、化脓,甚至患者死亡。因此,医用敷料具有较好的抗菌性能非常重要。

[0003] 水凝胶敷料是近年发展起来的一种新型创伤敷料,主要由高分子聚合物吸水溶胀后形成一种具有三维立体网状结构的胶状物质构成,其含水量高,可保持创面的局部湿润环境,同时吸收组织分泌液,可提供利于伤口愈合的环境,因此逐渐受到关注。为保证其抗菌性能,人们尝试将不同的抗生素组装到水凝胶敷料中,但抗生素在感染部位的长期应用会引起细菌的耐药性,还会产生毒副作用,另一方面,水凝胶通常表现出较差的机械性能,因而需要开发一种不含抗生素的、具有抗菌消炎功能、且机械性能与生物相容性良好的水凝胶敷料。

### 发明内容

[0004] 针对上述问题,本发明提供一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料。

[0005] 本发明的目的采用以下技术方案来实现:

[0006] 一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料的制备方法,包括以下步骤:

[0007] S1、淀粉样蛋白纤维制备

[0008] 将 $\beta$ -乳球蛋白或乳清分离蛋白或溶菌酶或牛血清蛋白或大豆蛋白溶于水中,得到蛋白溶液,滴加稀盐酸溶液调节溶液pH至1.0-4.0,水浴加热将所述蛋白溶液升温至80-95 $^{\circ}$ C,保温反应14-24h,得到淀粉样蛋白纤维溶液;

[0009] S2、聚合物制备

[0010] 称取2-乙基-4,6-二氨基-1,3,5-三嗪3-5份,加入100份的二甲基甲酰胺或二甲基亚砷溶解,加入丙烯酸羟乙酯6-8份,加入过硫酸铵0.1-0.4份,将混合溶液置于冰水浴中,搅拌10-40min至充分溶解,再加入0.01-0.06份四甲基乙二胺,继续搅拌混合均匀,在混合溶液中通入氮气除氧,封闭反应体系,以氮气置换反应气氛,将混合溶液置于50-60 $^{\circ}$ C的热水浴中反应10-16h,反应完成后冰水浴冷却,将反应产物转入截留分子量为7000的透析袋中,以去离子水透析,得到透析产物;

[0011] S3、第一凝胶产物制备

[0012] 在所述透析产物中加入40-50份所述淀粉样蛋白纤维溶液,滴加稀盐酸溶液调节溶液pH至1.0-4.0,搅拌混合均匀后加入交联剂0.3-2份,再次搅拌均匀后静置过夜,得到第一凝胶产物,将所述第一凝胶产物用去离子水浸泡24h,70-90 $^{\circ}$ C真空干燥;

[0013] 所述交联剂为醛基化海藻酸钠、端醛基聚氧乙烯、醛基化粘多糖、铝的水溶性盐或

锌的水溶性盐中的至少一种；

[0014] S4、第二凝胶产物制备

[0015] 称取2-4份羧甲基壳聚糖，溶于100份的去离子水中，加入1-3份水溶性多酚化合物，充分搅拌溶解，得到第二凝胶前体溶液，将真空干燥后的第一凝胶产物浸入所述第二凝胶前体溶液中，密封后常温静置24h后取出，冻融循环3-10次后，去离子水浸泡48-72h，期间每12h换水一次，制得第二凝胶产物，切割即得所述水凝胶活性敷料。

[0016] 优选的，所述蛋白溶液的质量分数在4-15%。

[0017] 优选的，所述醛基化粘多糖为端醛基还原的肝素或硫酸乙酰肝素，其制备方法为：

[0018] 配制质量浓度为0.08%的亚硝酸钠溶液，将肝素或硫酸乙酰肝素的钠盐用所述亚硝酸钠溶液配制为质量浓度为0.5g/100ml的溶液，调节溶液pH至2.5-4，充分混合均匀后，于冰水浴下搅拌反应20-30min，碱性溶液调节溶液pH至7.0以终止反应，得到澄清溶液，将产物转入截留分子量为3500的透析袋中，以0.1mol/L的碳酸氢铵溶液透析，将透析产物冷冻干燥制得。

[0019] 优选的，所述冻融的冷冻温度在0℃以下，冷冻时间1-24h，融冻温度在25℃以下，融冻时间1-24h。

[0020] 优选的，所述水溶性多酚化合物为酚羟基苯甲酸类化合物、酚羟基肉桂酸类化合物、咖啡酸、绿原酸、鞣花酸、没食子酸、邻苯三酚、花色苷、儿茶素、可水解单宁、缩合单宁中的一种或几种。

[0021] 进一步优选的，所述水溶性多酚化合物中含有羧基。

[0022] 优选的，所述第二凝胶前体溶液中还添加有0.1-0.5份的纳米银。

[0023] 进一步优选的，所述纳米银的制备方法包括以下步骤：

[0024] S1、微凝胶制备

[0025] 称取N-异丙基丙烯酰胺9份、1,4-二溴丁烷2.6份、1-乙基咪唑1份，搅拌混合均匀后通入氮气以去除溶液中的氧气，得到溶液A，将所述溶液A升温至70℃，待所述溶液A温度稳定后，加入10份的质量浓度为1%的2,2'-偶氮二异丁基脒盐酸盐溶液，混合均匀得到溶液B，称取5,10,15,20-四(1-甲基-4-吡啶基)卟啉四(对甲苯磺酸盐)溶于50%的乙醇溶液中，配制为质量浓度1-2%的溶液，得到溶液C，将所述溶液B与所述溶液C按比混合，1000rpm搅拌反应6-8h，保持搅拌并自冷至室温，冷却后得到微凝胶乳液，将所述微凝胶乳液9000rpm离心30min分离微凝胶，再将得到的微凝胶以去离子水浸泡洗涤，真空干燥；

[0026] S2、纳米银负载

[0027] 将干燥后的微凝胶浸入硝酸银溶液中，浸泡时间6-12h，再置于紫外灯下照射1-2h，滤出微凝胶，以无水乙醇淋洗后，浸入5%的硼氢化钠碱性溶液中，搅拌反应0.5-1h，滤出以去离子水洗涤即得；

[0028] 所述5%的硼氢化钠碱性溶液是以0.5%的氢氧化钠水溶液溶解硼氢化钠配制得到，5%指硼氢化钠质量浓度。

[0029] 优选的，所述溶液B与所述溶液C的混合比例为12-20:1。

[0030] 优选的，所述硝酸银溶液的浓度为0.75-3mmol/L。

[0031] 本发明的有益效果为：

[0032] (1) 本发明所述水凝胶活性敷料由两种水溶性良好而凝胶方法不同的凝胶组分构

成,其中,以2-乙烯基-4,6-二氨基-1,3,5-三嗪和丙烯酸羟乙酯为单体,采用化学聚合法制备为线性共聚物,与淀粉样蛋白纤维共混后,在交联剂作用下生成疏松的交联网络,同时,聚丙烯酸羟乙酯的羟基,可以在自身网络内以及网络之间形成氢键作用力,形成第一凝胶产物,在疏松的第一凝胶产物中引入羧甲基壳聚糖和水溶性多酚化合物的混合物,在第一凝胶产物中交联剂的共同作用下,经过冻融循环处理后发生二次凝胶化,形成以物理交联为主,化学交联为辅的交联水凝胶,大大提高了水凝胶敷料的机械性能,同时还具有良好的自我恢复能力。

[0033] (2) 本发明利用聚N-异丙基丙烯酰胺的温敏性,制备了具有温敏性的聚N-异丙基丙烯酰胺水凝胶微球,同时利用水凝胶的溶胀性,使得分散均匀的银离子均匀吸附在水凝胶微球中,再原位还原为纳米银,由此得到的纳米银粒径小,分布均匀,因而具有强抗菌性能,同时可促进伤口愈合;利用5,10,15,20-四(1-甲基-4-吡啶基)卟啉四(对甲苯磺酸盐)具有的良好光敏活性,在吸光的同时释放活性氧,对负载的纳米银起到良好的保护作用。

### 具体实施方式

[0034] 结合以下实施例对本发明作进一步描述。

[0035] 本发明的实施例涉及一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料的制备方法,包括以下步骤:

[0036] S1、淀粉样蛋白纤维制备

[0037] 将 $\beta$ -乳球蛋白或乳清分离蛋白或溶菌酶或牛血清蛋白或大豆蛋白溶于水中,得到蛋白溶液,滴加稀盐酸溶液调节溶液pH至1.0-4.0,水浴加热将所述蛋白溶液升温至80-95 $^{\circ}$ C,保温反应14-24h,得到淀粉样蛋白纤维溶液;

[0038] S2、聚合物制备

[0039] 称取2-乙烯基-4,6-二氨基-1,3,5-三嗪3-5份,加入100份的二甲基甲酰胺或二甲基亚砷溶解,加入丙烯酸羟乙酯6-8份,加入过硫酸铵0.1-0.4份,将混合溶液置于冰水浴中,搅拌10-40min至充分溶解,再加入0.01-0.06份四甲基乙二胺,继续搅拌混合均匀,在混合溶液中通入氮气除氧,封闭反应体系,以氮气置换反应气氛,将混合溶液置于50-60 $^{\circ}$ C的热水浴中反应10-16h,反应完成后冰水浴冷却,将反应产物转入截留分子量为7000的透析袋中,以去离子水透析,得到透析产物;

[0040] S3、第一凝胶产物制备

[0041] 在所述透析产物中加入40-50份所述淀粉样蛋白纤维溶液,滴加稀盐酸溶液调节溶液pH至1.0-4.0,搅拌混合均匀后加入交联剂0.3-2份,再次搅拌均匀后静置过夜,得到第一凝胶产物,将所述第一凝胶产物用去离子水浸泡24h,70-90 $^{\circ}$ C真空干燥;

[0042] 所述交联剂为醛基化海藻酸钠、端醛基聚氧乙烯、醛基化粘多糖、铝的水溶性盐或锌的水溶性盐中的至少一种;

[0043] S4、第二凝胶产物制备

[0044] 称取2-4份羧甲基壳聚糖,溶于100份的去离子水中,加入1-3份水溶性多酚化合物,充分搅拌溶解,得到第二凝胶前体溶液,将真空干燥后的第一凝胶产物浸入所述第二凝胶前体溶液中,密封后常温静置24h后取出,冻融循环3-10次后,去离子水浸泡48-72h,期间每12h换水一次,制得第二凝胶产物,切割即得所述水凝胶活性敷料;

[0045] 本发明所述水凝胶活性敷料由两种水溶性良好而凝胶方法不同的凝胶组分构成,通过二次凝胶化形成以物理交联为主,化学交联为辅的交联水凝胶,大大提高了水凝胶敷料的机械性能,同时还具有良好的自我恢复能力;

[0046] 丙烯酸羟乙酯的具有良好的水溶性和生物相容性,可以提高水凝胶与皮肤的亲和性,适合作为水凝胶基质,二次凝胶化中侧链羟基还可与多酚化合物形成氢键作用力;

[0047] 淀粉样蛋白纤维是由蛋白质(多肽)自组装形成的一种纳米纤维,属于蛋白质的一种有序聚集体,直径在2-8nm,长度可达20-30 $\mu$ m,加热处理可以破坏天然蛋白的聚合解离平衡,同时,分子剧烈的热运动和构像转化使原本隐于内部的疏水等活性基团暴露并与其他分子或基团相互作用交联聚集,多数情况下这是一种可逆变化,蛋白在远离等电点或较低离子强度下加热,可形成线型聚集体,即淀粉样蛋白纤维,淀粉样纤维具有高的比表面积和机械强度,同时表面具有多种活性官能团,将其添加到水凝胶中,在基质中形成水凝胶共混复合物,可以与二氨基三嗪官能团形成强的氢键结合,起到交联作用;

[0048] 为获得疏松的初步交联网络,同时从细胞毒性考虑,不宜采用戊二醛作交联剂,本发明采用醛基化海藻酸钠、端醛基聚氧乙烯、醛基化粘多糖或金属络合实现软交联,同时作为活性中心,诱导羧甲基壳聚糖和多酚化合物在所述第一水凝胶产物中的扩散和交联,结合冻融循环处理,羧甲基壳聚糖发生凝胶化,由此形成一种包括多种交联作用的水凝胶材料;

[0049] 多酚化合物可以与金属离子络合,还可以与线性共聚物中丙烯酸羟乙酯的侧链羟基形成氢键,从而起到交联作用,还可以促进羧甲基壳聚糖的冻融循环凝胶化,另一方面,多酚化合物与羧甲基壳聚糖、淀粉样蛋白纤维间相互协同,显著提高了抗菌性,使所述水凝胶敷料具备优良抗菌消炎性能;

[0050] 优选的,所述蛋白溶液的质量分数在4-15%;

[0051] 优选的,所述醛基化粘多糖为端醛基还原的肝素或硫酸乙酰肝素,其制备方法为:

[0052] 配制质量浓度为0.08%的亚硝酸钠溶液,将肝素或硫酸乙酰肝素的钠盐用所述亚硝酸钠溶液配制为质量浓度为0.5g/100ml的溶液,调节溶液pH至2.5-4,充分混合均匀后,于冰水浴下搅拌反应20-30min,碱性溶液调节溶液pH至7.0以终止反应,得到澄清溶液,将产物转入截留分子量为3500的透析袋中,以0.1mol/L的碳酸氢铵溶液透析,将透析产物冷冻干燥制得;

[0053] 优选的,所述冻融的冷冻温度在0 $^{\circ}$ C以下,冷冻时间1-24h,融冻温度在25 $^{\circ}$ C以下,融冻时间1-24h;

[0054] 优选的,所述水溶性多酚化合物为酚羟基苯甲酸类化合物、酚羟基肉桂酸类化合物、咖啡酸、绿原酸、鞣花酸、没食子酸、邻苯三酚、花色素、儿茶素、可水解单宁、缩合单宁中的一种或几种;

[0055] 进一步优选的,所述水溶性多酚化合物中含有羧基;

[0056] 伤口愈合是临床护理中的一个重要问题,尤其是愈合能力下降的老年人群以及患有糖尿病溃疡和褥疮的病人,伤口迟迟不能愈合会带来极大的痛苦和感染风险。目前包括纱敷料的治疗方案,主要目的只是保持伤口部位干净整洁,控制渗出物,并通过输送抗菌剂保护伤口免受病原体感染,并不能加快伤口愈合,肝素或硫酸乙酰肝素为常见的粘多糖硫酸酯抗凝血剂,还可以减少炎症的产生,加速伤口愈合,本申请以端醛基还原的肝素或硫酸

乙酰肝素为交联剂,不仅可以与二氨基三嗪官能团、蛋白纤维和羧甲基壳聚糖发生交联,还可以提高所述水凝胶活性敷料的功能性,促进伤口的主动愈合,可有效加快伤口愈合速度,同时促进胶原沉积和创面肉芽组织的形成,预防炎症和感染的发生;

[0057] 冻融循环的温度、次数以及多酚化合物的官能团种类均对羧甲基壳聚糖形成的凝胶的强度有影响,进而影响所述水凝胶敷料的机械强度,所述冻融的冷冻温度应在0℃以下,冷冻时间1-24h,融冻温度在25℃以下,融冻时间1-24h,冻融循环次数应不小于3次,同时含羧基的小分子多酚有利于生成更高强度的水凝胶;

[0058] 优选的,所述第二凝胶前体溶液中还添加有0.1-0.5份的纳米银;

[0059] 为进一步提高水凝胶的有效抗菌时长,还可在水凝胶基质中加入银纳米粒子(AgNP);

[0060] 进一步优选的,所述纳米银的制备方法包括以下步骤:

[0061] S1、微凝胶制备

[0062] 称取N-异丙基丙烯酰胺9份、1,4-二溴丁烷2.6份、1-乙烯基咪唑1份,搅拌混合均匀后通入氮气以去除溶液中的氧气,得到溶液A,将所述溶液A升温至70℃,待所述溶液A温度稳定后,加入10份的质量浓度为1%的2,2'-偶氮二异丁基脒盐酸盐溶液,混合均匀得到溶液B,称取5,10,15,20-四(1-甲基-4-吡啶基)卟啉四(对甲苯磺酸盐)溶于50%的乙醇溶液中,配制为质量浓度1-2%的溶液,得到溶液C,将所述溶液B与所述溶液C按比混合,1000rpm搅拌反应6-8h,保持搅拌并自冷至室温,冷却后得到微凝胶乳液,将所述微凝胶乳液9000rpm离心30min分离微凝胶,再将得到的微凝胶以去离子水浸泡洗涤,真空干燥;

[0063] S2、纳米银负载

[0064] 将干燥后的微凝胶浸入硝酸银溶液中,浸泡时间6-12h,再置于紫外灯下照射1-2h,滤出微凝胶,以无水乙醇淋洗后,浸入5%的硼氢化钠碱性溶液中,搅拌反应0.5-1h,滤出以去离子水洗涤即得;

[0065] 纳米银属于无机广谱抗菌剂,具有安全持久、性能稳定、微量高效等优点,但银的光敏性导致其需要避光保存,存在保存困难的问题。本发明利用聚N-异丙基丙烯酰胺的温敏性,制备了具有温敏性的聚N-异丙基丙烯酰胺水凝胶微球,同时利用水凝胶微球的溶胀性,使得分散均匀的银离子可以均匀吸附在水凝胶微球中,再原位还原为纳米银,由此得到的纳米银粒径小,分布均匀,因而具有强抗菌性能;5,10,15,20-四(1-甲基-4-吡啶基)卟啉四(对甲苯磺酸盐)具有良好的光敏活性,在吸光的同时释放活性氧,可以对负载的纳米银起到良好的保护作用,进一步提高敷料的抗菌性能;当水凝胶敷料传递到体温时,温度高于临界温度(32-33℃),水凝胶微球疏水收缩,将纳米银释放,从而达到缓释和光保护的作用,延长有效使用时间;

[0066] 优选的,所述溶液B与所述溶液C的混合比例为12-20:1;

[0067] 优选的,所述硝酸银溶液的浓度为0.75-3mmol/L。

[0068] 实施例1

[0069] 一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料的制备方法,包括以下步骤:

[0070] S1、淀粉样蛋白纤维制备

[0071] 将β-乳球蛋白溶于水中,得到质量分数在8%的蛋白溶液,滴加稀盐酸溶液调节溶液pH至3.0,水浴加热将所述蛋白溶液升温至85℃,保温反应18h,得到淀粉样蛋白纤维溶



液；

[0072] S2、聚合物制备

[0073] 称取2-乙烯基-4,6-二氨基-1,3,5-三嗪4份,加入100份的二甲基甲酰胺溶解,加入丙烯酸羟乙酯7份,加入过硫酸铵0.14份,将混合溶液置于冰水浴中,搅拌20min至充分溶解,再加入0.03份四甲基乙二胺,继续搅拌混合均匀,在混合溶液中通入氮气除氧,封闭反应体系,以氮气置换反应气氛,将混合溶液置于50-60℃的热水浴中反应12h,反应完成后冰水浴冷却,将反应产物转入截留分子量为7000的透析袋中,以去离子水透析,得到透析产物；

[0074] S3、第一凝胶产物制备

[0075] 在所述透析产物中加入所述淀粉样蛋白纤维溶液42份,滴加稀盐酸溶液调节溶液pH至4.0,搅拌混合均匀后加入端醛基还原的肝素0.52份,再次搅拌均匀后静置过夜,得到第一凝胶产物,将所述第一凝胶产物用去离子水浸泡24h,70-90℃真空干燥；

[0076] S4、第二凝胶产物制备

[0077] 称取羧甲基壳聚糖4份,溶于100份的去离子水中,加入没食子酸1份,充分搅拌溶解,得到第二凝胶前体溶液,将真空干燥后的第一凝胶产物浸入所述第二凝胶前体溶液中,密封后常温静置24h后取出,冻融循环7次,所述冻融的冷冻温度在-18℃,冷冻时间视凝胶块大小而定,一般不少于等体积水完全冻结所需的时间,融冻温度在23℃,融冻时间视凝胶块大小而定,一般不少于等体积冰块完全融化所需的时间,冻融循环后去离子水浸泡60h,期间每12h换水一次,制得第二凝胶产物,切割即得所述水凝胶活性敷料；

[0078] 所述端醛基还原的肝素的制备方法为：

[0079] 配制质量浓度为0.08%的亚硝酸钠溶液,将肝素或硫酸乙酰肝素的钠盐用所述亚硝酸钠溶液配制为质量浓度为0.5g/100ml的溶液,调节溶液pH至3-4,充分混合均匀后,于冰水浴下搅拌反应20-30min,碱性溶液调节溶液pH至7.0以终止反应,得到澄清溶液,将产物转入截留分子量为3500的透析袋中,以0.1mol/L的碳酸氢铵溶液透析,将透析产物冷冻干燥制得。

[0080] 实施例2

[0081] 一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料的制备方法,包括以下步骤：

[0082] S1、淀粉样蛋白纤维制备

[0083] 将β-乳球蛋白溶于水,得到质量分数在8%的蛋白溶液,滴加稀盐酸溶液调节溶液pH至3.0,水浴加热将所述蛋白溶液升温至85℃,保温反应18h,得到淀粉样蛋白纤维溶液；

[0084] S2、聚合物制备

[0085] 称取2-乙烯基-4,6-二氨基-1,3,5-三嗪4份,加入100份的二甲基甲酰胺溶解,加入丙烯酸羟乙酯7份,加入过硫酸铵0.14份,将混合溶液置于冰水浴中,搅拌20min至充分溶解,再加入0.03份四甲基乙二胺,继续搅拌混合均匀,在混合溶液中通入氮气除氧,封闭反应体系,以氮气置换反应气氛,将混合溶液置于50-60℃的热水浴中反应12h,反应完成后冰水浴冷却,将反应产物转入截留分子量为7000的透析袋中,以去离子水透析,得到透析产物；

[0086] S3、第一凝胶产物制备

[0087] 在所述透析产物中加入所述淀粉样蛋白纤维溶液42份,滴加稀盐酸溶液调节溶液pH至4.0,搅拌混合均匀后加入氯化铝0.3份,再次搅拌均匀后静置过夜,得到第一凝胶产物,将所述第一凝胶产物用去离子水浸泡24h,70-90℃真空干燥;

[0088] S4、第二凝胶产物制备

[0089] 称取羧甲基壳聚糖4份,溶于100份的去离子水中,加入没食子酸1份,充分搅拌溶解,得到第二凝胶前体溶液,将真空干燥后的第一凝胶产物浸入所述第二凝胶前体溶液中,密封后常温静置24h后取出,冻融循环7次,所述冻融的冷冻温度在-18℃,冷冻时间视凝胶块大小而定,一般不少于等体积水完全冻结所需的时间,融冻温度在23℃,融冻时间视凝胶块大小而定,一般不少于等体积冰块完全融化所需的时间,冻融循环后去离子水浸泡60h,期间每12h换水一次,制得第二凝胶产物,切割即得所述水凝胶活性敷料。

[0090] 实施例3

[0091] 一种具有抗菌消炎功能的水凝胶活性敷料的制备方法,包括以下步骤:

[0092] S1、淀粉样蛋白纤维制备

[0093] 将β-乳球蛋白溶于水,得到质量分数在8%的蛋白溶液,滴加稀盐酸溶液调节溶液pH至3.0,水浴加热将所述蛋白溶液升温至85℃,保温反应18h,得到淀粉样蛋白纤维溶液;

[0094] S2、聚合物制备

[0095] 称取2-乙基-4,6-二氨基-1,3,5-三嗪4份,加入100份的二甲基甲酰胺溶解,加入丙烯酸羟乙酯7份,加入过硫酸铵0.14份,将混合溶液置于冰水浴中,搅拌20min至充分溶解,再加入0.03份四甲基乙二胺,继续搅拌混合均匀,在混合溶液中通入氮气除氧,封闭反应体系,以氮气置换反应气氛,将混合溶液置于50-60℃的热水浴中反应12h,反应完成后冰水浴冷却,将反应产物转入截留分子量为7000的透析袋中,以去离子水透析,得到透析产物;

[0096] S3、第一凝胶产物制备

[0097] 在所述透析产物中加入所述淀粉样蛋白纤维溶液42份,滴加稀盐酸溶液调节溶液pH至4.0,搅拌混合均匀后加入端醛基还原的肝素0.52份,再次搅拌均匀后静置过夜,得到第一凝胶产物,将所述第一凝胶产物用去离子水浸泡24h,70-90℃真空干燥;

[0098] S4、第二凝胶产物制备

[0099] 称取羧甲基壳聚糖4份,溶于100份的去离子水中,加入没食子酸1份,充分搅拌溶解,加入纳米银0.4份,得到第二凝胶前体溶液,将真空干燥后的第一凝胶产物浸入所述第二凝胶前体溶液中,密封后常温静置24h后取出,冻融循环7次,所述冻融的冷冻温度在-18℃,冷冻时间视凝胶块大小而定,一般不少于等体积水完全冻结所需的时间,融冻温度在23℃,融冻时间视凝胶块大小而定,一般不少于等体积冰块完全融化所需的时间,冻融循环后去离子水浸泡60h,期间每12h换水一次,制得第二凝胶产物,切割即得所述水凝胶活性敷料;

[0100] 所述纳米银的制备方法包括以下步骤:

[0101] S1、微凝胶制备

[0102] 称取N-异丙基丙烯酰胺9份、1,4-二溴丁烷2.6份、1-乙基咪唑1份,搅拌混合均匀后通入氮气以去除溶液中的氧气,得到溶液A,将所述溶液A升温至70℃,待所述溶液A温

度稳定后,加入10份的质量浓度为1%的2,2'-偶氮二异丁基脒盐酸盐溶液,混合均匀得到溶液B,称取5,10,15,20-四(1-甲基-4-吡啶基)卟啉四(对甲苯磺酸盐)溶于50%的乙醇溶液中,配制为质量浓度1-2%的溶液,得到溶液C,将所述溶液B与所述溶液C按体积比15:1混合,1000rpm搅拌反应6-8h,保持搅拌并自冷至室温,冷却后得到微凝胶乳液,将所述微凝胶乳液9000rpm离心30min分离微凝胶,再将得到的微凝胶以去离子水浸泡洗涤,真空干燥;

[0103] S2、纳米银负载

[0104] 将干燥后的微凝胶浸入1mmol/L的硝酸银溶液中,浸泡时间6-12h,再置于紫外灯下照射1-2h,滤出微凝胶,以无水乙醇淋洗后,浸入5%的硼氢化钠碱性溶液中,搅拌反应0.5h,滤出以去离子水洗涤即得。

[0105] 对比例1

[0106] 一种水凝胶的制备方法,包括以下步骤:

[0107] S1、淀粉样蛋白纤维制备

[0108] 将 $\beta$ -乳球蛋白溶于水,得到质量分数在8%的蛋白溶液,滴加稀盐酸溶液调节溶液pH至3.0,水浴加热将所述蛋白溶液升温至85℃,保温反应18h,得到淀粉样蛋白纤维溶液;

[0109] S2、聚合物制备

[0110] 称取2-乙烯基-4,6-二氨基-1,3,5-三嗪4份,加入100份的二甲基甲酰胺溶解,加入丙烯酸羟乙酯7份,加入过硫酸铵0.14份,将混合溶液置于冰水浴中,搅拌20min至充分溶解,再加入0.03份四甲基乙二胺,继续搅拌混合均匀,在混合溶液中通入氮气除氧,封闭反应体系,以氮气置换反应气氛,将混合溶液置于50-60℃的热水浴中反应12h,反应完成后冰水浴冷却,将反应产物转入截留分子量为7000的透析袋中,以去离子水透析,得到透析产物;

[0111] S3、凝胶产物制备

[0112] 在所述透析产物中加入所述淀粉样蛋白纤维溶液42份,滴加稀盐酸溶液调节溶液pH至4.0,搅拌混合均匀后加入端醛基还原的肝素0.52份,再次搅拌均匀后静置过夜,得到第一凝胶产物,将所述第一凝胶产物用去离子水浸泡24h。

[0113] 对比例2

[0114] 一种水凝胶的制备方法,包括以下步骤:

[0115] 称取羧甲基壳聚糖4份,溶于100份的去离子水中,加入没食子酸1份,充分搅拌溶解,加入纳米银0.4份,得到凝胶前体溶液,冻融循环3-7次,所述冻融的冷冻温度在-18℃,冷冻时间视凝胶块大小而定,不少于等体积水完全冻结所需的时间,融冻温度在23℃,融冻时间视凝胶块大小而定,不少于等体积冰块完全融化所需的时间,冻融循环后去离子水浸泡60h,期间每12h换水一次,制得所述水凝胶。

[0116] 对比例3

[0117] 一种水凝胶的制备方法,包括以下步骤:

[0118] 称取羧甲基壳聚糖4份,溶于100份的去离子水中,加入邻苯三酚1份,充分搅拌溶解,加入纳米银0.4份,得到凝胶前体溶液,冻融循环7次,所述冻融的冷冻温度在-18℃,冷冻时间视凝胶块大小而定,不少于等体积水完全冻结所需的时间,融冻温度在23℃,融冻时间视凝胶块大小而定,不少于等体积冰块完全融化所需的时间,冻融循环后去离子水浸泡

60h,期间每12h换水一次,制得所述水凝胶。

[0119] 水凝胶检测实验

[0120] 1、力学性能

[0121] 将水凝胶切割为长30mm、宽15mm、厚1.5mm的长方形试样,室温条件下,在Instron1122万能材料试验机上进行拉伸测试,拉伸速率为15mm/min,试样测试平行5次取平均值,测得拉伸强度、弹性模量和断裂伸长率,测试结果见表1。

[0122] 表1力学性能测试结果

测试样品	拉伸强度(MPa)	弹性模量(MPa)	断裂伸长率(mm/mm)
实施例 1	1.53	6.0	0.92
实施例 2	1.51	5.8	0.90
实施例 3	1.51	5.7	0.92
[0123] 对比例 1	0.98	4.65	0.46
对比例 3	1.01	4.37	0.31
对比例 2	冻融 3 次	0.89	4.26
	冻融 5 次	1.02	4.35
	冻融 7 次	1.06	4.48

[0124] 2、抗菌性能

[0125] 将浸有金黄色葡萄球菌菌液的滤纸片与消过毒的水凝胶孵育不同时间后,将滤纸用无菌生理盐水洗脱,将洗下的菌液稀释后,计数计算杀菌率,测试结果见表2。

[0126] 表2抗菌性能测试结果

杀菌率/%	10min	30min	60min	100min
实施例1	83.25	90.82	96.27	99.81
实施例2	82.38	90.17	95.94	99.71
实施例3	89.73	95.34	98.79	99.92
对比例1	11.65	13.58	14.76	19.17
对比例2(7次)	65.42	73.53	81.07	83.64

[0128] 3、伤口愈合

[0129] 以糖尿病大鼠为动物模型测试水凝胶对慢性伤口愈合的促进作用,大鼠尾静脉注射链脲霉素45mg/(kg·d),至大鼠空腹血糖高于16.7mM,在大鼠背部脊柱两侧切割伤口,在每个伤口处加入200 $\mu$ L的 $1 \times 10^7$ CFU/mL的金黄色葡萄球菌菌液模拟感染,每24h测定伤口面积,计算伤口愈合百分比,测试结果见表3。

[0130] 表3愈合性能测试结果

愈合率/%	2d	4d	6d	8d	12d
实施例1	18	39	52	64	95
实施例2	15	26	40	51	78
实施例3	17	37	51	61	94

[0132] 4、细胞毒性

[0133] 采用体外细胞实验测试细胞毒性,将小鼠成纤维细胞L929以 $5 \times 10^4$ 个/cm<sup>2</sup>的密度种植在24孔板上,培养24h,测试细胞活性,采用浸提液法测定细胞毒性,测试结果见表4。

[0134] 表4细胞毒性测试结果

[0135]

样品	实施例1	实施例2	实施例3
细胞活性/%	101	100	99

[0136] 最后应当说明的是,以上实施例仅用以说明本发明的技术方案,而非对本发明保护范围的限制,尽管参照较佳实施例对本发明作了详细地说明,本领域的普通技术人员应当理解,可以对本发明的技术方案进行修改或者等同替换,而不脱离本发明技术方案的实质和范围。