



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114748682 A

(43) 申请公布日 2022.07.15

(21) 申请号 202210442226.1

(22) 申请日 2022.04.26

(71) 申请人 深圳湾实验室

地址 518132 广东省深圳市光明区玉塘街
道田寮社区光侨路高科创新中心

(72) 发明人 彭琴 钱智勇

(74) 专利代理机构 北京元本知识产权代理事务
所(普通合伙) 11308

专利代理师 黎昌莉

(51) Int. Cl.

A61L 26/00 (2006.01)

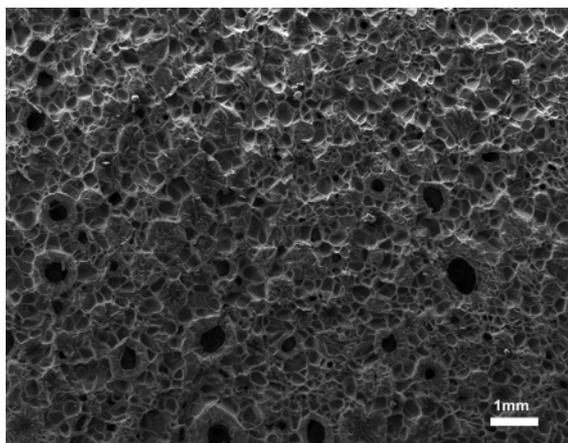
权利要求书2页 说明书10页 附图1页

(54) 发明名称

用于制备烧创伤敷料的组合物及其制剂和制备方法

(57) 摘要

本发明属于医用药品技术领域,具体涉及用于制备烧创伤敷料的组合物及其制剂和制备方法。本发明的生物敷料以丝素蛋白作为抗氧化剂;利用超声波将单质碘装填到 β -环糊精内部作为具有广谱抗菌功能的活力碘;将具有抗氧化能力的丝素蛋白和具有广谱抗菌功能的活力碘负载到壳聚糖-吸水分子的骨架上,制备出多孔非对称性的具有抗氧化抗菌保湿功能的烧创伤敷料。该烧创伤敷料中丝素蛋白、活力碘、骨架和辅料按1:0.5~2:0.1~10的质量比组成;所述骨架由壳聚糖和吸水聚合物按照1:0.1~5的质量比组成;所述活力碘由单质碘和碘的缓释材料组成。该烧创伤敷料是一种集聚抗氧抗菌、高保湿、高强度、透气性、阻隔性以及易揭性等优势的新型复合型敷料。



1. 用于制备烧创伤敷料的组合物,其特征在於,所述组合物由丝素蛋白、骨架和活力碘按照1:0.5~2:0.1~10的质量比组成;所述骨架由壳聚糖和吸水聚合物按照1:0.1~5的质量比组成;所述活力碘由单质碘和碘的缓释材料组成。

2. 根据权利要求1所述的组合物,其特征在於,所述丝素蛋白为天然丝素蛋白和/或改性丝素蛋白;所述改性丝素蛋白选自部分去除或完全去除钙的丝素蛋白、加热处理的丝素蛋白及其衍生物、紫外照射的丝素蛋白及其衍生物、有机溶剂处理的丝素蛋白及其衍生物中的任一种或几种。

3. 根据权利要求1所述的组合物,其特征在於,所述吸水聚合物选自天然吸水聚合物和/或人工合成吸水聚合物,所述天然吸水聚合物选自胶原、明胶、纤维素及其衍生物,所述工合成吸水聚合物选自聚乙二醇、聚丙烯酰胺、聚丙烯酸钠或聚乙烯醇。

4. 根据权利要求1所述的组合物,其特征在於,所述单质碘的缓释材料选自聚合物材料和/或小分子材料,所述聚合物材料包括淀粉、纤维素及其衍生物、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙二醇,所述小分子材料包括 α -环糊精、 β -环糊精和 γ -环糊精。

5. 用于制备烧创伤敷料的制剂组合物,其特征在於,所述制剂组合物由权利要求1所述的丝素蛋白、骨架、活力碘和辅料按照1:0.5~2:0.1~10的质量比组成;所述辅料为增塑剂和/或乳化剂。

6. 制备烧创伤敷料的方法,其特征在於,用权利要求1所述的组合物或权利要求5所述的制剂组合物进行制备,具体包括以下步骤:

S1:制备丝素蛋白溶液和活力碘;

S2:将S1所得物与骨架和辅料混合。

7. 根据权利要求6所述的方法,其特征在於,在S2之后还包括S3将S2所得物用硬脂酸改性。

8. 根据权利要求6所述的方法,其特征在於,S1在制备过程中加入了钙的螯合剂或能和钙发生螯合作用的氨基酸;所述钙的螯合剂为EDTA及其衍生物、EGTA AM及其衍生物、BAPTA及其衍生物;所述能和钙发生螯合作用氨基酸包括谷氨酸、丙氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸、天冬酰胺氨酸、精氨酸、苏氨酸、酪氨酸、色氨酸、甘氨酸、丝氨酸、缬氨酸、组氨酸、异亮氨酸和半胱氨酸及其衍生物中的任一种或几种。

9. 用权利要求6-8所述制备烧创伤敷料的方法获得的烧创伤敷料。

10. 根据权利要求9所述的烧创伤敷料,其特征在於,所述烧创伤敷料为多孔结构,其孔隙率为55%~80%,其孔径大小为0.5~2 mm。

11. 根据权利要求9所述的烧创伤敷料,其特征在於,所述烧创伤敷料的吸水倍率为1~20倍;其吸水倍率可用如下公式计算: $Q = (M_2 - M_1) / M_1$;Q为吸水倍率,单位为g/g;M1为吸液前试样质量,单位为g;M2为吸液后试样质量,单位为g。

12. 根据权利要求11所述的烧创伤敷料,其特征在於,所述烧创伤敷料在不同介质中的吸水倍率为:在去离子水中的吸水倍率14~16;在盐水中吸水倍率为12~14;在磷酸缓冲液中的吸水倍率为9~11;在细胞培养液中的吸水倍率为7~10;在血清中的吸水倍率为5~7。

13. 用权利要求9-12所述的烧创伤敷料吸附液体的方法,其特征在於,用所述烧创伤敷料对液体进行吸附,所述液体进入所述烧创伤敷料的孔隙结构,使所述烧创伤敷料孔道壁增厚并凝胶化使管腔变无。

14. 含有权利要求13所述方法的对微生物进行阻隔的方法,其特征在于,用所述烧创伤敷料对所述流体进行吸附,所述烧创伤敷料孔道壁增厚并凝胶化使管腔变无后将微生物隔绝在外。

用于制备烧创伤敷料的组合物及其制剂和制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药领域料,具体涉及用于制备烧创伤敷料的组合物及其制剂和制备方法。

背景技术

[0002] 烧伤是人类的重大灾难性事件之一,也是全球第四大常见创伤。烧伤后严重的高代谢反应以及抗氧化和细胞防御机制的损伤,局部或者全身氧化应激反应对患者创面恢复具有很重要的影响,会造成烧伤伤口长期处于炎症浸润状态,创面不愈合、瘢痕化,甚至导致多器官衰竭等严重后果。

[0003] 众所周知氧化应激反应是过量的活性氧(ROS)对伤口部位的DNA、脂质、蛋白质和碳水化合物造成严重破坏。因此,不平衡的ROS改变细胞功能,导致信号传导通路异常,诱发炎症和瘢痕挛缩。目前,已经证明,与其他烧伤创面处理方法相比,抗氧化剂治疗可以最大限度地减少烧伤病理生理学方面的损害,比如组织脂质过氧化,组织坏死,降低死亡率。然而,烧伤引起真皮挛缩/纤维化仍然是临床面临的主要挑战。

[0004] 在病理条件下,ROS主要由线粒体产生,导致细胞内产生过多的活性氧,从而诱导细胞氧化还原不受调控,导致纤维化。然而,现有的抗氧化策略侧重于细胞外活性氧的淬灭,很少使用烧伤敷料在细胞内/外协同作用调节活性氧。

[0005] 人们已经清楚地认识到,生物系统中的抗氧化防御能够精确地协同调节来自不同细胞产生的活性氧,例如:1)抗氧化酶(超氧化物歧化酶(SODs)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和血红素催化酶以及多种金属配位蛋白能使高活性的活性氧分解为惰性分子 H_2O 和 O_2 ;2)天然细胞外基质(透明质酸,HA)通过介导主要氧化还原转录因子、核因子NF-E2相关因子(Nrf2)清除细胞内活性氧;3)小分子抗氧化剂如维生素E(VE),可以精确地渗透到膜中,终止阻止脂质过氧化的连锁反应。因此,体内的抗氧化系统可以精确地对抗来自不同细胞的不平衡ROS,以保持体内氧化和抗氧化的平衡。但目前为止,很少有研究探索用于皮肤伤口护理的仿生抗氧化防御敷料。

[0006] 人工纳米酶材料在抗氧化损伤方面取得了蓬勃发展,例如金纳米材料、氧化铈纳米颗粒、纳米二氧化锰等,它们表现出强大的活性氧清除活性。然而,这些被使用的材料不仅由于其纳米尺寸导致细胞毒性和炎症,而且缺乏护理伤口的活性。在生理条件下,创伤愈合涉及许多复杂的过程诸如止血、炎症、新的组织形成和皮肤附属器官重塑等。理想的伤口敷料应促进伤口愈合,保持水分,维持电解质平衡和止血,它不仅可以提供类似的细胞外基质(ECM),还可以迅速覆盖伤口,防止细菌和其他病原体入侵伤口。最重要的是,这种烧伤敷料应具有良好的生物安全性,可以通过降低创面氧化应激反应,维持烧伤创面所需的组织微环境,从而促进坏死焦痂组织的自溶清创,防止伤口坏死,促进细胞增殖和迁移,敷料的原材料来源丰富,便于规模化生产。因此,针对上述抗氧化作用的纳米材料进行工业化生产,应用于临床治疗烧伤诱导氧化应激皮肤损伤仍然是一个挑战。

[0007] 公开号为US20140044758A1的发明专利公开了一种具有抑菌和吸湿性的伤口敷

料。该发明利用的壳聚糖纤维具有抑菌性能,化学改性纤维素具有流体吸收能力,但对于烧伤创面在ROS环境下所引发的氧化应激反应并不能有效地解决。

发明内容

[0008] 为解决上述问题,本发明选用具有良好的修复作用的丝素蛋白作为抗氧化剂用于降低创面的氧化应激反应;将碘(I₂)溶液和β-环糊精(CD)溶液混合,利用超声波将碘装填到环糊精内部,制备了具有广谱抗菌功能的活力碘。本发明将具有抗氧化作用的丝素蛋白(SF)和具有广谱抗菌功能的活力碘(CD-I)负载到壳聚糖(CTS)-吸水聚合物骨架上,在再用硬脂酸将海绵光滑面进行修饰,制备出具有抗氧化抗菌保湿功能的烧创伤敷料,将其命名为CTS-GEL/SF/CD-I/SA。

[0009] 本发明的目的之一,在于提供一种用于制备烧创伤敷料的组合物。

[0010] 为实现上述目的,本发明采取以下技术方案:

所述组合物由丝素蛋白、骨架和活力碘按照1:0.5~2:0.1~10的质量比组成;所述骨架由壳聚糖和吸水聚合物按照1:0.1~5的质量比组成;所述活力碘由单质碘和碘的缓释材料组成。

[0011] 进一步,所述丝素蛋白为天然丝素蛋白和/或改性丝素蛋白;所述改性丝素蛋白选自部分去除或完全去除钙的丝素蛋白、加热处理的丝素蛋白及其衍生物、紫外照射的丝素蛋白及其衍生物、有机溶剂处理的丝素蛋白及其衍生物中的任一种或几种。

[0012] 进一步,所述吸水聚合物选自天然吸水聚合物和/或人工合成吸水聚合物,所述天然吸水聚合物选自胶原、明胶、纤维素及其衍生物,所述人工合成吸水聚合物选自聚乙二醇、聚丙烯酰胺、聚丙烯酸钠或聚乙烯醇。

[0013] 进一步,所述壳聚糖选自酸溶性壳聚糖、和/或水溶性壳聚糖、和/或酞类改性壳聚糖衍烧创伤、和/或高脱乙酰度壳聚糖和/或经过酸酞类化合物修饰的壳聚糖。

[0014] 进一步,所述吸水聚合物选自天然吸水聚合物和/或人工合成吸水聚合物;所述天然吸水聚合物为胶原、明胶、纤维素及其衍生物,所述人工合成吸水聚合物为聚乙二醇、聚丙烯酰胺、聚丙烯酸钠或聚乙烯醇。

[0015] 进一步,所述聚乙二醇优选PEG-400,PEG-600,PEG-1500,PEG-4000,PEG-6000,PEG-20000中的一种或几种。

[0016] 进一步,所述抗菌剂选自纳米非金属抗菌材料、和/或纳米金属抗菌材料、和/或季铵盐类抗菌材料、和/或氧化性材料;所述纳米非金属抗菌材料包括纳米四氧化三铁、纳米氧化锌和纳米二氧化钛,所述纳米金属抗菌材料包括纳米金、纳米银和纳米锌,所述季铵盐类抗菌材料包括壳聚糖季铵盐类和胍盐类,所述氧化性材料包括单质碘。

[0017] 进一步,所述单质碘的缓释材料选自聚合物材料和/或小分子材料,所述聚合物材料包括淀粉、纤维素及其衍生物、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙二醇,所述小分子材料包括α-环糊精、β-环糊精和γ-环糊精。

[0018] 本发明的目的之二,在于提供一种用于制备烧创伤敷料的制剂组合物。

[0019] 为实现上述目的,本发明采取以下技术方案:

所述制剂组合物由上述丝素蛋白、骨架、活力碘和辅料按照1:0.5~2:0.1~10的质量比组成;所述辅料为增塑剂和/或乳化剂。

[0020] 进一步,所述增塑剂选自甘油、丙二醇或山梨醇。

[0021] 进一步,所述乳化剂选自硬脂酸钠、硬脂酸钾、油酸钠、脂肪酸山梨坦、十六烷基硫酸化蓖麻油中的任一种或几种。

[0022] 本发明的目的之三,在于提供一种用上述组合物或上述敷料制剂组合物制备烧创伤敷料的方法,该制备生物敷料的方法中间无须分离纯化过程,既节约成本,方便质控,又利于大规模生产。

[0023] 为实现上述目的,本发明采取以下技术方案:

基于一种制备烧创伤敷料的方法,具体包括以下步骤:

S1:制备丝素蛋白溶液和活力碘;

S2:将S1所得物与骨架和辅料混合。

[0024] 进一步,在S2之后还包括S3将S2所得物用硬脂酸改性。

[0025] 进一步,所述S2为将S1所得物与骨架和辅料混合,搅拌乳化后在4℃放置1h,-20℃放置4h,-70℃放置6h条件下冻干,即得。

[0026] 进一步,所述S3为将S2所得物在水中完全溶胀后,用硬脂酸溶液滴在其表面,后用无水乙醇冲洗,-20℃放置2h,-70℃条件下放置6h后再冻干,干燥,即得。

[0027] 进一步,所述S1在制备过程中加入了钙的螯合剂或能和钙发生螯合作用氨基酸;所述钙的螯合剂为EDTA及其衍生物、EGTA AM及其衍生物、BAPTA及其衍生物;所述能和钙发生螯合作用氨基酸包括谷氨酸、丙氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸、天冬酰胺氨酸、精氨酸、苏氨酸、酪氨酸、色氨酸、甘氨酸、丝氨酸、缬氨酸、组氨酸、异亮氨酸和半胱氨酸及其衍生物中的任一种或几种。

[0028] 本发明的目的之四,在于提供一种烧创伤敷料,该烧创伤敷料具有广谱抗氧化作用,能促进氧化应激微环境下慢性难愈合创面的愈合,集聚保湿性、高强度、透气性、阻隔性以及易揭性等特点。

[0029] 为实现上述目的,本发明采取以下技术方案:

用上述制备烧创伤敷料的方法获得的烧创伤敷料。

[0030] 进一步,所述烧创伤敷料为多孔结构,其孔隙率为60%~80%,其孔径大小为 0.5~2 mm。

[0031] 进一步,所述烧创伤敷料的吸水倍率为1~20倍;其吸水倍率可用如下公式计算: $Q=(M_2-M_1)/M_1$;Q为吸水倍率,单位为g/g;M₁为吸液前试样质量,单位为g;M₂为吸液后试样质量,单位为g。

[0032] 进一步,所述烧创伤敷料在不同介质中的吸水倍率:在去离子水中的吸水倍率为14~16;在盐水中吸水倍率为12~14;在磷酸缓冲液中的吸水倍率为9~11;在细胞培养液中的吸水倍率为7~10;在血清中的吸水倍率为5~7。

[0033] 进一步,所述烧创伤敷料经过冻干处理、和/或低温处理、和/或高温处理、和/或醇类改性修饰、和/或射线辐照。

[0034] 本发明的目的之五,在于提供一种吸附液体的方法,该方法为有效吸附液体提供了一种新思路。

[0035] 为实现上述目的,本发明采取以下技术方案:

所述方法为用上述烧创伤敷料对液体进行吸附,所述液体进入所述烧创伤敷料的

孔隙结构,使所述烧创伤敷料孔道壁增厚并凝胶化使管腔变无。

[0036] 本发明的目的之六,在于提供一种阻隔微生物的方法,该方法为有效阻隔微生物提供了一种新思路。

[0037] 为实现上述目的,本发明采取以下技术方案:

用含有上述吸附液体的方法的对微生物进行阻隔,用上述吸附液体的方法对上述液体进行吸附,上述烧创伤敷料孔道壁增厚并凝胶化使管腔变无后将微生物隔绝在外。

[0038] 本发明的有益效果在于:

1) 本发明提供的烧创伤敷料能降低创面氧化应激反应,恢复修复相关细胞的修复功能,加速创面的愈合。

[0039] 2) 本发明提供的烧创伤敷料中适当比例的吸水大分子或聚合物具有一定的吸水锁水作用。当敷料与体液接触时,材料自身溶胀形成凝胶状,可以有效将创面与外界隔绝,同时具有良好的透气性。该烧创伤敷料的锁水作用使接触面保持一定的湿度,从而有利于加速上皮组织形成、减轻疼痛、分解坏死组织,并利于抗菌剂的缓慢释放。

[0040] 3) 本发明提供的烧创伤敷料中抗菌剂缓释载体可以长时间发挥缓释抗菌剂,减少或者阻止创面微生物生长。

[0041] 4) 本发明提供的烧创伤敷料可与创面紧密贴合,封闭创面,阻隔有害微粒接触创面,具有良好的透气性,且不会与创面组织粘连。

[0042] 5) 本发明提供的烧创伤敷料采用冻干法制备,中间无须分离纯化过程,既节约成本,方便质控,又利于大规模生产。

附图说明

[0043] 图1为实施例5制备的烧创伤敷料样品电镜照片。

具体实施方式

[0044] 下面将结合具体的实施例对本发明的技术方案进行更进一步地清楚、完整地描述。显然,所描述的实施例仅仅是本发明的一部分实施例,而不是全部实施例。因此,基于本发明中的实施例,本领域技术人员在没有付出创造性劳动前提下所获得的其他所有实施例都属于本发明的保护范围。

[0045] 如无特殊说明,实施例中的百分数均表示溶剂的质量分数。

[0046] 实施例1. 改性丝素蛋白溶液样品1的制备

1) 取丝素纤维10g,加入100 mL的氯化钙三元液(氯化钙:水:乙醇=1:1~5:1~20),于80℃条件下溶解,透析3天,每天换去离子水3次,得丝素蛋白溶液;

2) 取步骤1)得到的丝素蛋白溶液20mL,加入2mL浓度为100mmol/L的EDTA水溶液反应1h,透析3天,每天换去离子水3次,得到低钙或无钙的丝素蛋白溶液样品1。

[0047] 实施例2. 改性丝素蛋白溶液样品2的制备

1) 取丝素纤维10g,加入100mL浓度为10mol/L的溴化锂溶液,于80℃条件下溶解,透析3天,每天换去离子水3次,得丝素蛋白溶液;

2) 取步骤1)得到的丝素蛋白溶液20mL,加入2mL浓度为100mmol/L的EDTA水溶液反应1h,透析3天,每天换去离子水3次,得到低钙或无钙的丝素蛋白溶液样品2。

[0048] 实施例3.改性丝素蛋白溶液样品3的制备

1) 取丝素纤维1g, 加入20ml浓度为100mmol/L的EDTA水溶液反应24h, 透析3天, 每天换去离子水3次, 50℃烘干, 得低钙或无钙的丝素纤维;

2) 取步骤1) 得到的低钙或无钙的丝素纤维10g, 加入100mL浓度为10mol/L的溴化锂溶液, 80℃反应24h, 透析3天, 每天换去离子水3次, 得到低钙或无钙的丝素蛋白溶液样品3。

[0049] 实施例4.改性丝素蛋白溶液样品的体外广谱抗氧化性能实验

对实施例1-3中制备的低钙或无钙的丝素蛋白溶液样品进行广谱抗氧化性能测试。将实施例1-3中制备的各样品、谷胱甘肽和去离子水分别与超氧阴离子、羟基自由基和H₂O₂反应, 然后用超氧阴离子测试试剂盒、羟基自由基测试试剂盒和过氧化氢定量分析试剂盒检验5组样品各自清除超氧阴离子、羟基自由基和H₂O₂的能力。

[0050] 各样品抗氧化作用评价如表1所示。从表1可以看出, 不同制备工艺制备出的丝素蛋白溶液清除超氧阴离子、羟基自由基和H₂O₂的能力不同, 但采用本发明的三种工艺制备出的3组样品均具有良好的抗氧化作用。

[0051] 表1 抗氧化作用评价

样品	羟基自由基	过氧化氢	超氧阴离子	单线态氧
去离子水	—	—	—	—
谷胱甘肽	+++	+	++	++
样品 1	++	+++	++	+++
样品 2	+	++	++	++
样品 3	++	++	++	+

注：“—”表示无抗氧化作用；“+”表示清除率10%~50%；“++”表示清除率50%~90%；“+++”表示清除率>90%。

[0052] 实施例5.烧创伤敷料样品1的制备

1) 将单质碘溶解在75%乙醇溶液中, 配制成质量分数为5%的碘酒。将2%β-环糊精加热溶解, 将5%碘酒加入到β-环糊精溶液中, 超声30min。旋转蒸发仪蒸干液体, 收集固体粉末备用;

2) 取20mL4%的丝素蛋白溶液经过95℃加热处理2h, 加入1mL纯甘油, 机械搅拌10min, 加入10mL5%的明胶溶液, 机械搅拌10min形成白色乳液, 取10mL2%壳聚糖溶液加入上述白色乳液中, 机械搅拌30min备用;

3) 取步骤1) 所得物1g溶解在4mL去离子水里, 加入步骤2) 所得物中, 机械搅拌10min后倒入100×150mm容器中, 4℃放置1h, -20℃放置4h, -70℃放置6h, 冻干机冻干, 获得CTS-GEL/SF/CD-I海绵备用;

4) 让CTS-GEL/SF/CD-I海绵充分吸收去离子水, -20℃放置4h, 将8mL硬脂酸溶液(40 mmol/L乙醇, DCC作为脱水剂)均匀地浇在CTS-GEL/SF/CD-I海绵的光滑表面上, 冷冻2小时, 在20℃条件下用无水乙醇冲洗CTS-GEL/SF/CD-I敷料的光滑表面3次, 干燥, 得到CTS-

GEL/SF/CD-I/SA敷料,裁切,包装,钴60辐照灭菌,即得。

[0053] 实施例6.烧创伤敷料样品2的制备

1)将单质碘溶解在75%乙醇溶液中,配制成5%的碘酒。将5%的碘酒加入到2%的聚乙烯吡咯烷酮溶液中,超声30min。旋转蒸发仪蒸干液体,收集固体粉末备用;

2)取20mL4%的丝素蛋白溶液经过95℃加热处理2h,加入1mL甘油,机械搅拌10min,加入10mL 5%的明胶溶液,机械搅拌10min形成白色乳液,取10mL 2%壳聚糖溶液加入上述白色乳液中,机械搅拌30min备用;

3)取步骤1)所得物1g溶解在5mL去离子水里,加入步骤2)所得物中,机械搅拌10min后倒入100×150mm容器中,4℃放置1h,-20℃放置4h,-70℃放置6h,冻干机冻干,获得CTS-GEL/SF/PP-I海绵备用;

4)让CTS-GEL/SF/PP-I海绵充分吸收去离子水,-20℃放置4h,将8mL硬脂酸溶液(40 mmol/L乙醇,DCC作为脱水剂)均匀地浇在CTS-GEL/SF/PP-I海绵的光滑表面上,冷冻2小时,在20℃条件下用无水乙醇冲洗CTS-GEL/SF/PP-I敷料的光滑表面3次,干燥,得到CTS-GEL/SF/PP-I/SA敷料,裁切,包装,钴60辐照灭菌,即得。

[0054] 实施例7.烧创伤敷料样品3的制备

1)将单质碘溶解在75%乙醇溶液中,配制成质量分数为5%的碘酒。将2%的β-环糊精加热溶解,将5%的碘酒加入到β-环糊精溶液中,超声30min。旋转蒸发仪蒸干液体,收集固体粉末备用;

2)取20mL 4%的丝素蛋白溶液经过95℃加热处理2h,加入1mL甘油,机械搅拌10min,加入10mL 5%的聚乙烯醇溶液,机械搅拌10min形成白色乳液,取10mL 2%壳聚糖溶液加入上述白色乳液中,机械搅拌30min备用;

3)取步骤1)所得物1g溶解在5mL去离子水里,加入步骤2)所得物中,机械搅拌10min后倒入100×150mm容器中,4℃放置1h,-20℃放置4h,-70℃放置6h,冻干机冻干,获得CTS-PVA/SF/CD-I海绵备用;

4)让CTS-PVA/SF/CD-I海绵充分吸收去离子水,-20℃放置4h,将8mL硬脂酸溶液(40 mmol/L乙醇,DCC作为脱水剂)均匀地浇在CTS-PVA/SF/CD-I海绵的光滑表面上,冷冻2小时,在20℃条件下用无水乙醇冲洗CTS-PVA/SF/CD-I敷料的光滑表面3次,干燥,得到CTS-PVA/SF/CD-I/SA敷料,裁切,包装,钴60辐照灭菌,即得。

[0055] 实施例8.烧创伤敷料样品4的制备

1)将单质碘溶解在75%乙醇溶液中,配制成质量分数为5%的碘酒。将5%的碘酒加入到2%的聚乙烯吡咯烷酮溶液中,超声30min。旋转蒸发仪蒸干液体,收集固体粉末备用;

2)取20mL4%的丝素蛋白溶液经过95℃加热处理2h,加入1mL甘油,机械搅拌10min,加入10mL5%的聚乙烯醇溶液,机械搅拌10min形成白色乳液,取10mL2%壳聚糖溶液加入上述白色乳液中,机械搅拌30min备用;

3)取步骤1)所得物1g溶解在5mL去离子水里,加入步骤2)所得物中,机械搅拌10min后倒入100×150mm容器中,4℃放置1h,-20℃放置4h,-70℃放置6h,冻干机冻干,获得CTS-PVA/SF/PP-I海绵备用;

4)让CTS-PVA/SF/PP-I海绵充分吸收去离子水,-20℃放置4h,将8mL硬脂酸溶液(40 mmol/L乙醇,DCC作为脱水剂)均匀地浇在CTS-PVA/SF/PP-I海绵的光滑表面上,冷冻2

小时,在20℃条件下用无水乙醇冲洗CTS-PVA/SF/PP-I敷料的光滑表面3次,干燥,得到CTS-PVA/SF/PP-I/SA敷料,裁切,包装,钴60辐照灭菌,即得。

[0056] 实施例9.物理和结构表征

实施例5-8制备的烧创伤敷料样品有弹性,可卷曲,无异味。以实施例5制备的烧创伤敷料样品1为代表,进行大体结构观察,并采用扫描电子显微镜进行微观结构观察。如图1所示,样品皆为相互连通的多孔道结构,孔隙率在60%-80%之间。互相贯穿的孔道结构与体液接触后其孔隙结构迅速将体液吸入孔内,吸水聚合物迅速凝胶化,一方面使得孔道壁吸水后增厚并凝胶化,管腔变窄,管壁粘弹性增加;另一方面迅速凝胶化敷料开始缓慢释放活力碘,起到广谱抗菌和促进愈合的作用。

[0057] 实施例10.物理性能表征

对实施例5-8制备的烧创伤敷料进行保湿性能检测,对照组为普通烧创伤敷料。

[0058] 结果表明实施例5-8获得的烧创伤敷料保湿时间比对照组长,保湿时间均在15小时以上。

[0059] 对实施例5-8中制备的烧创伤敷料样品吸水倍率进行测试,分别准确称取实施例5-8中的试样0.1g,将其浸于去离子水(pH=7.0)、生理盐水、磷酸缓冲液、DMEM培养基和血清液中,37℃吸水完全溶胀,吸去表面水分,称取试样吸液后质量,计算样品的吸水倍率。吸水倍率Q计算公式如下: $Q = (M2 - M1) / M1$,Q为吸水(盐水)倍率,单位为g/g;M1为吸液前试样质量,单位为g;M2为吸液后试样质量,单位为g。

[0060] 结果如表2所示,烧创伤敷料样品1-4表现出相近的吸水性。以实施例5制备的烧创伤敷料样品1为例,其在不同介质中的吸水倍率:在去离子水中的吸水倍率为14~16;在盐水中吸水倍率为12~14;在磷酸缓冲液中的吸水倍率为9~11;在细胞培养液中的吸水倍率为7~10;在血清中的吸水倍率为5~7。

[0061] 表2 不同介质吸水倍率

材料	去离子水	生理盐水	PBS	DMEM	血清
实施例5样品	15±1.21	13±1.14	10±1.43	8±1.17	6±1.21
实施例6样品	17±1.31	15±1.51	13±1.12	10±1.21	7±1.46
实施例7样品	14±1.35	11±1.32	8±1.65	7±1.41	5±1.83
实施例8样品	18±1.34	16±1.68	13±1.71	11±1.54	6±1.45

对实施例5和实施例6制备的烧创伤敷料样品进行碘缓释功能测试,分别准确称取实施例5和实施例6中样品试样0.1g,37℃将其浸于生理盐水中,于2h、4h、8h、12h、24h、36h、48h、60h和72h分别用电感耦合等离子光谱发生仪检测生理盐水释放碘的含量。

[0062] 结果如下表3所示,两组样品从2h开始碘释放量缓慢上升,直到72h达到一个较高水平。说明本发明制备的烧创伤敷料具有良好的碘缓释功能,其中实施例6制备的烧创伤敷料碘缓释效果更佳。

[0063] 表3 碘缓释功能评价

缓释时间 (小时)	碘的含量(%)	
	实施例 5 样品	实施例 6 样品
2	18.6±1.87	21.87±3.75
4	24.27±2.82	27.66±3.42
8	27.98±2.25	30.9±5.1
12	28.37±3.23	34.66±5.65
24	30.5±3.72	41.43±1.58
36	32.53±2.99	43.96±3.6
48	34.2±3.15	49.6±3.14
60	39.61±4.2	55.33±4.72
72	42.57±3.87	57.86±5.16

实施例11. 体外广谱抗氧化性能实验

对实施例5-8中制备的烧创伤敷料样品其广谱抗氧化能进行测试,将实施例5-8中制备的各样品、谷胱甘肽溶液和去离子水与含有超氧阴离子、羟基自由基和 H_2O_2 的溶液进行反应,用超氧阴离子测试试剂盒、羟基自由基测试试剂盒和过氧化氢定量分析试剂盒检验6组样品分别清除超氧阴离子、羟基自由基和 H_2O_2 的能力。

[0064] 结果如下表4所示,实施例5-8中制备的烧创伤敷料样品和谷胱甘肽具有良好的广谱抗氧化性能,其中实施例5制备的烧创伤敷料样品抗氧化效果最好。

[0065] 表4 广谱抗氧化性能

材料	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	铜绿假单胞菌	白色念珠菌	金黄色葡萄球菌(耐药)	铜绿假单胞菌(耐药)
无菌纱布	—	—	—	—	—	—
含碘纱布	++	++	++	++	++	++
实施例5样品	+	+	+	+	+	+
实施例6样品	+	+	+	+	+	+
实施例7样品	+	+	+	+	+	+
实施例8样品	+	+	+	+	+	+

注：“—”表示无抗氧化作用；“+”表示清除率10%~50%；“++”表示清除率50%~90%；“+++”表示清除率>90%。

[0066] 实施例12. 体外广谱抗菌性能实验

将实施例5-8制备的烧创伤敷料的抗菌活性通过抑菌环法进行测试,使用金黄色葡萄球菌、耐药型金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、耐药型铜绿假单胞菌和白色念珠菌进行烧创伤敷料的抗菌活性评估。

[0067] 将70 μ L细菌悬浮液(1×10^8 CFU/mL)铺在LB琼脂平板上,将无菌纱布、含碘纱布、实施例5-8制备的烧创伤敷料放在琼脂表面,37 $^{\circ}$ C孵育12h后,测得抑菌环的直径。

[0068] 下表5显示了实施例5-8制备的烧创伤敷料样品和两组对照组对6种菌株(白色念珠菌,大肠杆菌,金黄色葡萄球菌,铜绿假单胞菌,金黄色葡萄球菌耐药菌株和铜绿假单胞菌耐药菌株)的杀伤作用。从抑菌圈大小来分析,结果表明,实施例5-8制备的烧创伤敷料具有良好的抗菌效果;抑菌圈小于含碘纱布组,说明其具有良好的缓释效果。

[0069] 表5 抗菌效果评价

材料	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	铜绿假单胞菌	白色念珠菌	金黄色葡萄球菌(耐药)	铜绿假单胞菌(耐药)
无菌纱布	—	—	—	—	—	—
含碘纱布	++	++	++	++	++	++
实施例5样品	+	+	+	+	+	+
实施例6样品	+	+	+	+	+	+
实施例7样品	+	+	+	+	+	+
实施例8样品	+	+	+	+	+	+

注:不抗菌用“—”;抗菌用“+”表示,其中抑菌圈直径大于3mm用“++”表示。

[0070] 实施例13. 感染性伤口愈合效应体内评估

深圳湾实验室动物伦理委员会批准体内动物实验。将120只BALB/c小鼠,雄性,每只约重18g \pm 2g,随机分为6组(每组20只小鼠)。腹腔注射戊巴比妥钠(20 mg/kg)麻醉小鼠,脱除皮毛,在每只小鼠背部做成 Φ 1cm全层皮肤损伤,创面上滴加浓度为 1×10^8 CFU的铜绿假单胞菌菌液,每个创面80 μ l,形成感染创面。分别用本发明实施例5-8中的样品、含碘纱布和无菌纱布紧密覆盖创面。每周进行2次更换。通过BALB/c小鼠感染创面修复情况,对本发明抗氧化抗菌促愈合烧创伤敷料进行伤口愈合效应的评价。

[0071] 实验过程中,6组试样治疗下的创面均有不同程度的结痂,并且创面出现收缩。治疗结果如表6所示,创伤后第3天,本发明实施例5-8样品伤口愈合分别达到 50.42 ± 2.23 、 43.32 ± 1.21 、 48.56 ± 2.13 和 40.52 ± 1.34 ,含碘纱布和纱布组仅达到 19.34 ± 1.32 和 28.23 ± 1.08 。实施例5-8样品治疗组创面边缘未见红肿发生,含碘纱布组创面边缘红肿,纱布组仍可见部分感染渗出物。通过对小鼠创伤后第7天创面的观察我们发现,实施例5-8样品治疗组愈合率在 $67.43 \pm 2.12 \sim 79.73 \pm 1.24$ 。而含碘纱布与创面粘连严重,创面边缘红肿明显。纱布组肉芽生长明显,仍存在部分炎性渗出物。术后第12天,实施例5样品治疗组最佳可以达到 99.01 ± 1.31 ,实施例6-8样品治疗组分别为 93.24 ± 1.12 、 95.41 ± 1.36 和 $90.47 \pm$

1.67,而含碘纱布组仅仅是 67.02 ± 1.41 ,这可能是在消除感染后,过量的碘对伤口造成损伤。

[0072] 6组试样愈合率具有显著的统计学差异,实施例5-8样品治疗组最佳,纱布组次之,含碘纱布较差。其中实施例5制备的烧创伤敷料修复的创面收缩较为明显,治疗效果最佳。

[0073] 表6 感染性创面的创面愈合率

试样	愈合率			
	0d	3d	7d	12d
纱布	0	28.23 ± 1.08	42.47 ± 2.45	83.54 ± 1.78
含碘纱布	0	19.34 ± 1.32	36.42 ± 1.43	67.02 ± 1.41
实施例 5 样品	0	50.42 ± 2.23	79.73 ± 1.24	99.01 ± 1.31
实施例 6 样品	0	43.32 ± 1.21	68.25 ± 1.67	93.24 ± 1.12
实施例 7 样品	0	48.56 ± 2.13	74.42 ± 1.21	95.41 ± 1.36
实施例 8 样品	0	40.52 ± 1.34	67.43 ± 2.12	90.47 ± 1.67

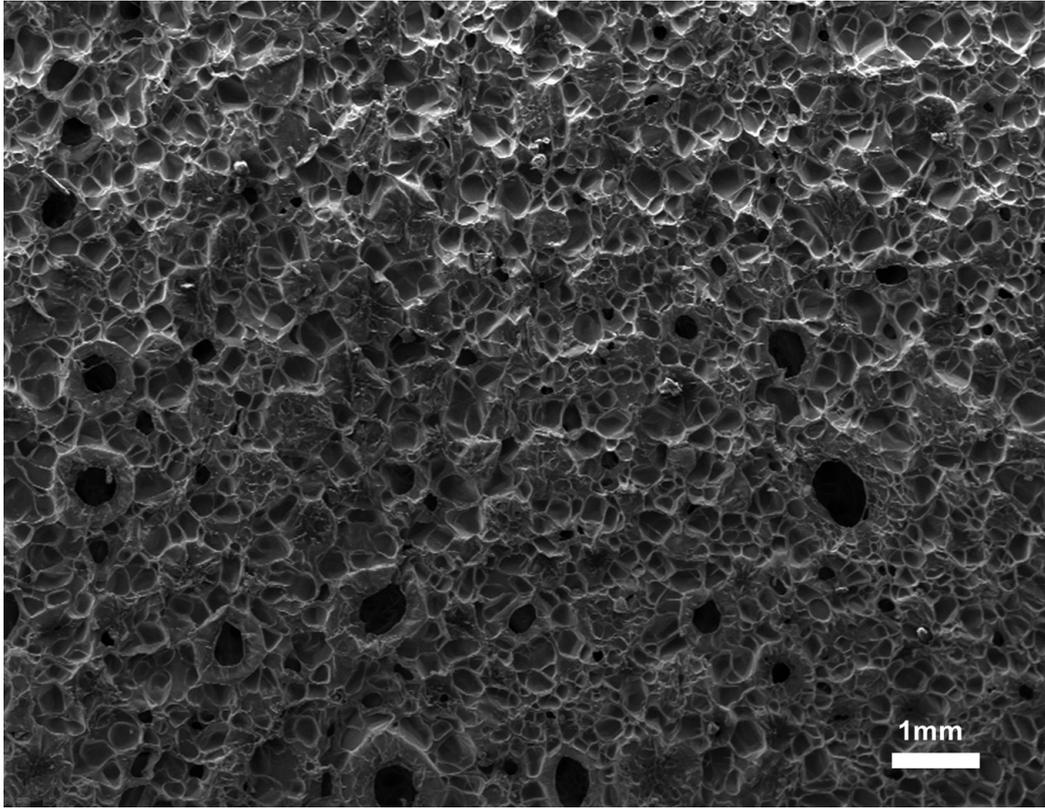


图1