



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106110383 A

(43)申请公布日 2016.11.16

(21)申请号 201610544092.9

(22)申请日 2016.07.07

(71)申请人 浙江大学

地址 310027 浙江省杭州市西湖区浙大路
38号

(72)发明人 谈伟强 张利云 王晓维 方青青
徐骥华

(74)专利代理机构 杭州求是专利事务所有限公
司 33200

代理人 张法高 赵杭丽

(51)Int.Cl.

A61L 26/00(2006.01)

A61L 24/08(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54)发明名称

一种壳聚糖藻酸盐敷料及其冻干制备方法

(57)摘要

本发明提供一种壳聚糖藻酸盐敷料,通过将壳聚糖混合物溶于酸溶液中,制得壳聚糖混合液,将藻酸钠溶于去离子水中,制得藻酸钠溶液,然后将二种溶液共混,并加入丙三醇得到壳聚糖-藻酸钠混合液,将壳聚糖-藻酸钠混合液冷冻抽干得冻干膜,将冻干膜置于CaCl₂溶液浸泡交联,蒸馏水冲洗后再次冷冻抽干,制得新型壳聚糖藻酸盐敷料。本发明结合壳聚糖和藻酸盐的优势,制备出一种新型医用敷料,既具有壳聚糖的药理作用,又具有抗菌、保湿、止血、促进创面愈合和减少疤痕形成的作用,在藻酸盐敷料原有的止血、吸湿保湿性能的同时,又具有显著的抗菌效果。原料丰富,制作成本低,可广泛应用于创面处理。

1. 一种壳聚糖藻酸盐敷料,其特征在于,通过以下步骤实现:

(1)制备壳聚糖混合液:取酸溶液,加入壳聚糖混合物,均匀混合,制得质量浓度为3%的壳聚糖混合液;

(2)制备藻酸钠溶液:取去离子水,加入藻酸钠,磁力搅拌器混匀,制得质量浓度为3%的藻酸钠溶液,静置过夜去泡;

(3)制备壳聚糖-藻酸钠混合液:将壳聚糖混合液、藻酸钠溶液按体积比为3:7-7:3均匀混合,按共混液体积10%加入丙三醇作为增塑剂,匀浆机高速搅拌混合;

(4)制备壳聚糖藻酸盐敷料:将壳聚糖-藻酸钠混合液倒入六孔板或培养皿,冷冻抽干12-24h得冻干膜,冻干膜置于5%CaCl₂溶液浸泡交联1h,蒸馏水冲洗后再次冷冻抽干24h,得壳聚糖藻酸盐敷料;

(5)消毒处理:将步骤(4)所得壳聚糖藻酸盐敷料经紫外光照30分钟消毒处理。

2. 根据权利要求1所述的一种壳聚糖藻酸盐敷料,其特征在于,步骤(1)所用的酸为醋酸、柠檬酸或山梨酸中的一种,酸溶液的质量浓度为1%。

3. 根据权利要求1所述的一种壳聚糖藻酸盐敷料,其特征在于,步骤(1)所用的壳聚糖混合物由高分子量和低分子量壳聚糖均匀混合,重量比范围为1:1;极端情况也可单独直接应用高分子量或低分子量壳聚糖。

4. 根据权利要求3所述的一种壳聚糖藻酸盐敷料,其特征在于,壳聚糖混合物由含高分子量壳聚糖和低分子量壳聚糖组成,分子量大于10万道尔顿的为高分子量壳聚糖,分子量低于10万道尔顿的为低分子量壳聚糖。

5. 根据权利要求1所述的一种壳聚糖藻酸盐敷料,其特征在于,步骤(3)所述壳聚糖-藻酸钠混合液由壳聚糖混合液、藻酸钠溶液经匀浆机共混制得。

一种壳聚糖藻酸盐敷料及其冻干制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于医用敷料领域,具体涉及一种壳聚糖藻酸盐敷料及其冻干制备方法。

背景技术

[0002] 20世纪60年代初,英国科学家Winter(Winter G D. Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig.[J]. Rev. ciênc. agron, 1995, 4(8):293-4)通过动物伤口对比试验提出了湿润性伤口愈合理论,即伤口在湿润环境下愈合效果比在开放式的干燥环境下要好。这个理论的产生带动了一批湿性敷料的研发、生产和应用,其中包括藻酸盐类敷料(赵琳,宋建星. 创面敷料的研究现状与进展[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(9):1724-6)。

[0003] 藻酸盐类敷料的原料是从褐色的海藻中提取的一种类似纤维素的藻蛋白酸,是一种难溶性多糖。海藻酸纤维可由湿法纺丝制备,将海藻酸钠碱性浓溶液经过喷丝板挤出后送入含钙离子的酸性凝固浴中,海藻酸钠与钙离子发生离子交换,即形成不溶于水的海藻酸盐纤维。纤维经无纺技术制成藻酸盐类敷料,该敷料易折叠和敷贴,同时也是一个理想的填充体。本品覆盖创面后与创面渗液接触,通过离子交换将不溶性藻酸盐变为可溶性藻酸钠,同时释放钙离子,故具有止血功能(王清华,钟文菲,何盟. 藻酸盐敷料的临床应用:与传统材料特征的比较[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(3):533-6),可用于术后创口填塞,起到良好的止血引流作用。此外,藻酸盐类敷料吸收性能好,可吸收自身质量20倍的渗液量(为纱布的5-7倍)(林晓华,黄宗海,俞金龙. 海藻酸纤维的研究发展及生物医学应用[J]. 中国组织工程研究, 2013(12):2218-24)。吸收液体后,该敷料膨胀成藻酸钠凝胶,在创面上形成柔软、潮湿、类似凝胶的半固体物质(叶臻,陈炯. 藻酸盐敷料在烧伤供皮区创面的应用[J]. 浙江医学, 2001, 23(4):248-9),使伤口同外界隔绝,这能形成一个密闭的无大气氧环境,加速新生微血管增生,对维持湿润环境、提高表皮细胞的再生能力、加快表皮细胞移动、促进创面愈合有重要意义(Lee K Y, Mooney D J. Alginate: Properties and biomedical applications[J]. Progress in Polymer Science, 2012, 37(1):106-26)。由于伤口处凝胶形成,这使得在去除敷料时不会与伤口发生粘连,防止摘除敷料过程中对伤口造成二次创伤。

[0004] 20世纪90年代初,英国研制出了首个海藻酸盐纤维伤口敷料(Sorbsan)(Gilchrist T, Martin A M. Wound treatment with Sorbsan—An Alginate fibre dressing[J]. Biomaterials, 1983, 4(4):317-20)。之后以海藻酸盐纤维为基本原料的敷料不断进入市场。目前市场上主要的海藻酸盐纤维敷料品牌有Sorbsan, Kahostat, MelgisorbPlus, AlgiSiteM和Seasorb等。但单纯海藻酸盐敷料促进伤口愈合能力有限(顾其胜,王帅帅,王庆生,等. 海藻酸盐敷料应用现状与研究进展[J]. 中国修复重建外科杂志, 2014(2):255-8)。商品化的功能型海藻酸盐敷料产品还比较单一,除了含银海藻酸敷料外,目前没有看到其他有突破性的产品上市。而含银海藻酸敷料作为抗菌伤口敷料,为了实现有效抗菌的目的,一般含银量都比较高。目前,市场上主要的含银敷料包括含银量9mg/

100cm的离子型敷料和104rag/100cm的金属型敷料两种。其含银量换算成占海藻酸盐纤维质量比例为1%~7%。此类敷料均存在一定的细胞毒性(Rattanaruengsrikul V, Pimpha N, Supaphol P. Development of Gelatin Hydrogel Pads as Antibacterial Wound Dressings[J]. Macromolecular Bioscience, 2009, 9(10):1004-15), 且银成分除了抗菌之外, 无其他明显促进创面愈合的功能。兼具功能性和抗菌性的藻酸盐敷料正在成为目前研究的热点。

[0005] 壳聚糖具有良好的生物相容性、生物可降解性以及抗菌消炎、止血促愈等生理功能, 是优异的医用敷料及组织工程材料。但是, 并非单一壳聚糖都具有以上作用, 而是不同分子量的壳聚糖有不同的药理作用, 如高分子量的壳聚糖有抗金黄色葡萄球菌的作用, 低分子量的壳聚糖有抗大肠杆菌和保湿的作用(杨虎, 郑丽君, 黄新建, 等. 壳聚糖护肤液促进大鼠伤口愈合的研究[J]. 中华皮肤科杂志, 2011, 44(12):891-3)。本研究小组将不同分子量的壳聚糖混合后, 加以其他辅料, 制成壳聚糖混合液, 以充分发挥壳聚糖的性能, 已获得国家发明专利(专利号: ZL 2011100512896, 授权公告日: 2012.11.28)(谈伟强, 杨虎. 壳聚糖护肤液及其制备方法. 专利号: ZL 2011100512896, 中华人民共和国国家知识产权局, 国家发明专利, 授权公告日: 2012.11.28)。该混合液性质稳定, 成膜性好, 同时具有良好的抗菌、保湿(张利云, 丁仕力, 陈璋, 等. 壳聚糖护肤液保湿和抗菌作用的研究[J]. 材料导报, 2013, 27(2):52-6)、抗衰老和促进伤口愈合的作用(杨虎, 郑丽君, 黄新建, 等. 壳聚糖护肤液促进大鼠伤口愈合的研究[J]. 中华皮肤科杂志, 2011, 44(12):891-3)。

发明内容

[0006] 本发明的目的是提供一种壳聚糖藻酸盐敷料, 通过以下方法制备: 将一定量的壳聚糖混合物溶于弱酸溶液中, 制得壳聚糖混合液; 将一定量的藻酸钠溶于去离子水中, 制得藻酸钠溶液; 将壳聚糖混合液、藻酸钠溶液按一定体积比共混, 并加入丙三醇作为增塑剂, 混合后制得壳聚糖-藻酸钠混合液; 将壳聚糖-藻酸钠混合液冷冻抽干得冻干膜; 将冻干膜置于CaCl₂溶液浸泡交联, 蒸馏水冲洗后再次冷冻抽干, 制成新型壳聚糖藻酸盐敷料。

[0007] 具体制备步骤如下:

[0008] (1) 制备壳聚糖混合液: 取一定量的稀酸溶液, 加入一定量的壳聚糖混合物, 均匀混合, 制得质量浓度为3%的壳聚糖混合液。所用酸为醋酸、柠檬酸或山梨酸中的一种, 酸溶液的质量浓度为1%。所用的壳聚糖混合物由高分子量和低分子量壳聚糖均匀混合, 重量比范围为1:1; 极端情况也可单独应用高分子量或低分子量壳聚糖。

[0009] 壳聚糖混合物由含高分子量壳聚糖和低分子量壳聚糖组成, 分子量大于10万道尔顿的为高分子量壳聚糖, 低于10万道尔顿的为低分子量壳聚糖;

[0010] (2) 制备藻酸钠溶液: 取一定量的去离子水, 加入一定量的藻酸钠, 磁力搅拌器混匀, 制得质量浓度为3%的藻酸钠溶液, 静置过夜去泡;

[0011] (3) 制备壳聚糖-藻酸钠混合液: 将壳聚糖混合液、藻酸钠溶液按体积比为3:7-7:3均匀混合, 按共混液体积10%加入丙三醇作为增塑剂, 匀浆机高速搅拌混合;

[0012] (4) 制备壳聚糖藻酸盐敷料: 将壳聚糖-藻酸钠混合液倒入六孔板或培养皿, 冷冻抽干12-24h得冻干膜, 冻干膜置于5%CaCl₂溶液浸泡交联1h, 蒸馏水冲洗后再次冷冻抽干24h, 得壳聚糖藻酸盐敷料;

[0013] (5)消毒处理:将步骤(4)所得壳聚糖藻酸盐敷料经紫外光照30分钟消毒处理。

[0014] 本发明结合壳聚糖和藻酸盐的优势,制备出一种新型医用敷料,具有以下优点:1)该敷料将壳聚糖溶于酸溶液中,壳聚糖呈溶解状态,其性能得以更好体现;2)该敷料所需材料简单,无复杂的技术要求和高端的设备需求,易于推广,可广泛应用于创面处理;3)该敷料含有酸溶液,给创面创造了微酸环境,且酸溶液有一定的抗菌作用,进一步加强了抗感染能力,促进伤口愈合;4)藻酸盐类敷料具有极强的吸收性,能有效控制渗液并延长使用时间。5)藻酸盐中的钙离子在伤口表面形成一层稳定的网状凝胶,有助于血液的凝固,能保持湿润环境,且对壳聚糖有缓释作用;6)该敷料拥有壳聚糖的药理作用,具有抗菌、保湿、止血、促进创面愈合和减少疤痕形成的作用。

附图说明

[0015] 图1为冻干法制备的新型壳聚糖藻酸盐敷料成品。

[0016] 图2为新型壳聚糖藻酸盐敷料对金黄色葡萄球菌(a)、大肠杆菌(b)的抑菌实验结果。(CST:壳聚糖;ALG:藻酸盐)。

具体实施方式

[0017] 本发明结合附图和实施例作进一步的描述。

[0018] 实施例1新型壳聚糖藻酸盐敷料的制作

[0019] 将1.5g高分子量壳聚糖(分子量为80万)、1.5g低分子量壳聚糖(分子量为3千)加入97g弱酸性溶液中,搅拌均匀后制得3%的壳聚糖混合液;将3g藻酸钠加入97g去离子水中,磁力搅拌器混匀,制得质量浓度为3%的藻酸钠溶液;将壳聚糖混合液、藻酸钠溶液按体积比3:7共混,并按共混液体积10%加入丙三醇作为增塑剂,匀浆机高速搅拌混合制得壳聚糖-藻酸钠混合液;将壳聚糖-藻酸钠混合液倒入六孔板或培养皿,冷冻抽干12h得冻干膜;冻干膜置于5%CaCl₂溶液浸泡交联1h,蒸馏水冲洗后再次冷冻抽干24h,即得新型壳聚糖藻酸盐敷料(3:7)。

[0020] 实施例2新型壳聚糖藻酸盐敷料的制作

[0021] 将1.5g高分子量壳聚糖(分子量为80万)、1.5g低分子量壳聚糖(分子量为3千)加入97g弱酸性溶液中,搅拌均匀后制得3%的壳聚糖混合液;将3g藻酸钠加入97g去离子水中,磁力搅拌器混匀,制得质量浓度为3%的藻酸钠溶液;将壳聚糖混合液、藻酸钠溶液按体积比5:5共混,并按共混液体积10%加入丙三醇作为增塑剂,匀浆机高速搅拌混合制得壳聚糖-藻酸钠混合液;将壳聚糖-藻酸钠混合液倒入六孔板或培养皿,冷冻抽干18h得冻干膜;冻干膜置于5%CaCl₂溶液浸泡交联1h,蒸馏水冲洗后再次冷冻抽干24h,即得新型壳聚糖藻酸盐敷料(5:5)(图1)。

[0022] 实施例3新型壳聚糖藻酸盐敷料的制作

[0023] 将1.5g高分子量壳聚糖(分子量为80万)、1.5g低分子量壳聚糖(分子量为3千)加入97g弱酸性溶液中,搅拌均匀后制得3%的壳聚糖混合液;将3g藻酸钠加入97g去离子水中,磁力搅拌器混匀,制得质量浓度为3%的藻酸钠溶液;将壳聚糖混合液、藻酸钠溶液按体积比7:3共混,并按共混液体积10%加入丙三醇作为增塑剂,匀浆机高速搅拌混合制得壳聚糖-藻酸钠混合液;将壳聚糖-藻酸钠混合液倒入六孔板或培养皿,冷冻抽干24h得冻干膜;

冻干膜置于5%CaCl₂溶液浸泡交联1h,蒸馏水冲洗后再次冷冻抽干24h,即得新型壳聚糖藻酸盐敷料(7:3)。

[0024] 实施例4新型壳聚糖藻酸盐敷料的制作

[0025] 抑菌圈法检测新型壳聚糖藻酸盐敷料的抗菌性

[0026] 实验方法:

[0027] 1)敷料准备:将藻酸盐敷料、壳聚糖藻酸盐敷料(3/7)、壳聚糖藻酸盐敷料(5/5)、壳聚糖藻酸盐敷料(7/3)裁剪为直径为8mm的圆形敷料若干。

[0028] 2)抑菌圈实验:取金黄色葡萄球菌和大肠杆菌,含菌数浊度为0.5mcf的菌悬液,用医用棉签将细菌均匀涂在平板上,每种菌重复3块平皿。用无菌镊子将制得的圆形敷料贴在含菌皿上,每皿贴4种不同敷料,分别为藻酸盐敷料、壳聚糖藻酸盐敷料(3/7)、壳聚糖藻酸盐敷料(5/5)、壳聚糖藻酸盐敷料(7/3),敷料之间间隔一定的距离。以上操作均在超净台上进行,37℃培养24h后测定敷料的抑菌圈直径。

[0029] 如果敷料有抑菌作用,则在敷料片贴敷区域周围会出现一个无菌生长的透明圈,即抑菌圈。以抑菌圈的直径作为评定指标,抑菌圈直径越大,说明该敷料对此种供试菌的抑制效果越好,反之则抑制效果越差。

[0030] 实验结果:各敷料对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的抑菌圈直径参见图2,统计结果参见表1。

[0031] 表1.各敷料样品对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的抑菌圈直径(mm, $\bar{x} \pm SD, n=4$)

[0032]

细菌	藻酸盐敷料	壳聚糖藻酸盐敷料 (3/7)	壳聚糖藻酸盐敷料 (5/5)	壳聚糖藻酸盐敷料 (5/5)
金黄色葡萄球菌	0±0	3.7±0.4	7.8±0.6	9.0±0.4
大肠杆菌	0±0	2.3±0.1	6.2±0.3	9.0±0.5

[0033] 注:敷料空白直径8mm,表中各个数据均为减去空白直径后的数值。

[0034] 金黄色葡萄球菌的实验结果(图2a):单纯藻酸盐敷料对金黄色葡萄球菌无明显抑菌圈出现,无抑菌作用。新型壳聚糖藻酸盐敷料(3/7)、壳聚糖藻酸盐敷料(5/5)、壳聚糖藻酸盐敷料(7/3),对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径分别为3.7mm、7.8mm、9.0mm,均有一定抑菌作用,且抑菌圈随着壳聚糖比例的增加显著增大,不同浓度组间行单因素方差比较有显著性差异($P<0.05$)。

[0035] 大肠杆菌的实验结果(图2b):单纯藻酸盐敷料对大肠杆菌无明显抑菌圈出现,无抑菌作用。新型壳聚糖藻酸盐敷料(3/7)、壳聚糖藻酸盐敷料(5/5)、壳聚糖藻酸盐敷料(7/3)对大肠杆菌的抑菌圈直径分别为2.3mm、6.2mm、9.0mm,均有一定抑菌作用,且抑菌圈随着壳聚糖比例的增加显著增大,不同浓度组间行单因素方差比较有显著性差异($P<0.05$)。

[0036] 实验结果表明:新型壳聚糖藻酸盐敷料对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌均有显著的抑菌作用,且抑菌作用随壳聚糖比例的增加显著增强。

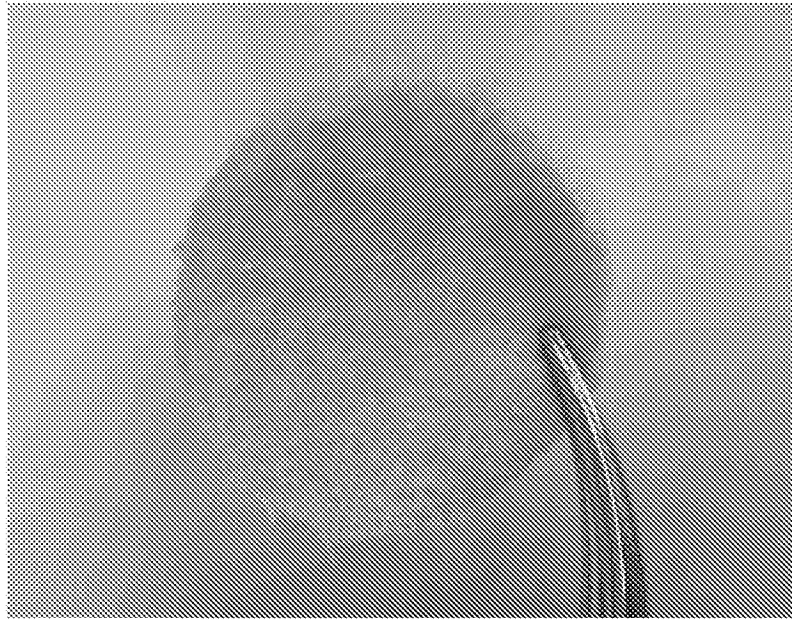


图1

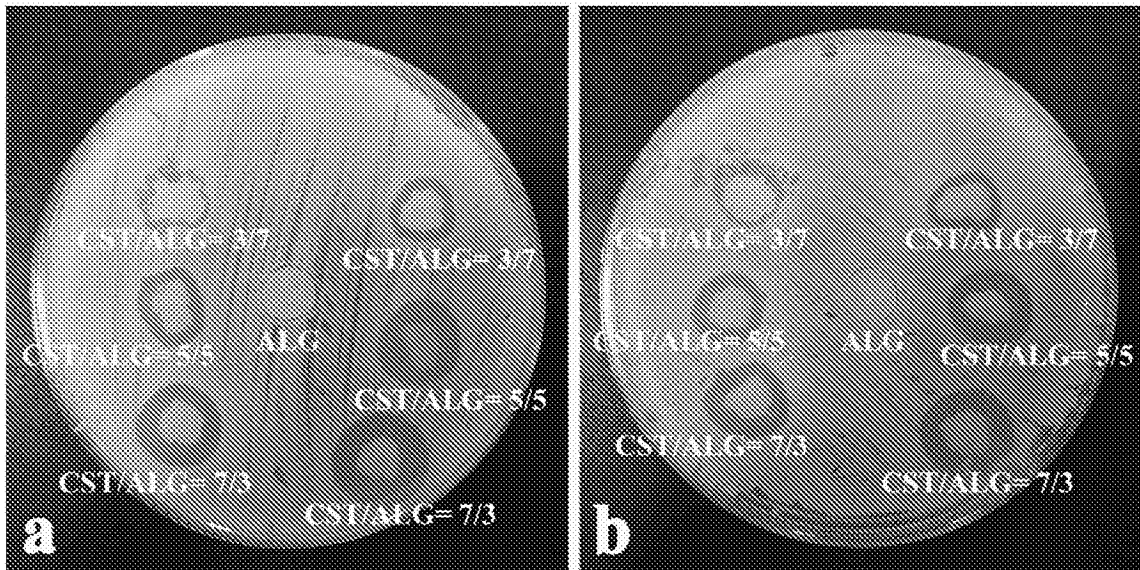


图2