



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116099059 A

(43) 申请公布日 2023.05.12

(21) 申请号 202310389638.8

(22) 申请日 2023.04.13

(71) 申请人 中日友好医院(中日友好临床医学
研究所)

地址 100029 北京市朝阳区樱花园东街

申请人 中国科学院过程工程研究所

(72) 发明人 李靖涛 白硕 梁森 张祎

(74) 专利代理机构 北京中誉至诚知识产权代理
事务所(普通合伙) 11858

专利代理师 霍丽惠

(51) Int. Cl.

A61L 31/14 (2006.01)

A61L 31/16 (2006.01)

A61L 31/04 (2006.01)

A61L 31/02 (2006.01)

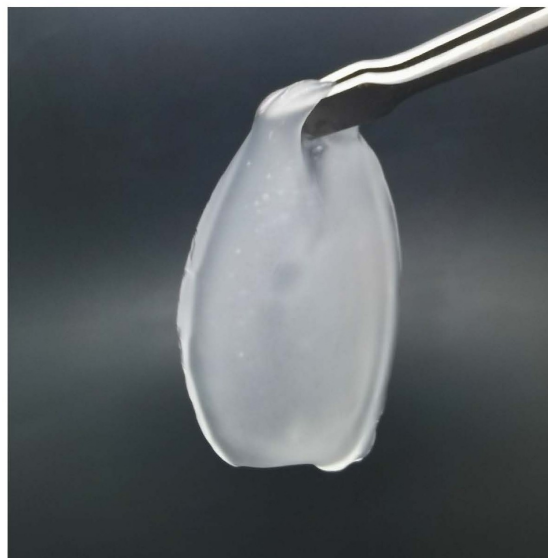
权利要求书1页 说明书5页 附图7页

(54) 发明名称

一种可注射抗菌堵瘘水凝胶及其制备方法

(57) 摘要

本发明属于生物医用材料技术领域,具体涉及一种可注射抗菌堵瘘水凝胶及其制备方法,将透明质酸盐溶解于缓冲液后干燥,然后浸泡于溶解有镓盐的缓冲液中反应,即得所述可注射抗菌堵瘘水凝胶。首先,对生物高分子透明质酸盐溶液进行干燥,此步骤基于分子间氢键作用进行物理交联,形成泡沫状多孔固体;然后,再将其浸泡在生物相容性良好的含镓盐的缓冲液中,此步骤基于透明质酸和 Ga^{3+} 之间的金属-有机配位作用,从而制备得到可注射抗菌堵瘘水凝胶,该水凝胶兼具剪切变稀、快速自修复、粘附性、抗菌性和良好生物相容性,在生物医用领域具有很好的应用前景。



1. 一种可注射抗菌堵瘘水凝胶的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:透明质酸盐溶解于缓冲液后干燥,然后浸泡于溶解有镓盐的缓冲液中反应,即得所述可注射抗菌堵瘘水凝胶。

2. 根据权利要求1所述的可注射抗菌堵瘘水凝胶的制备方法,其特征在于,所述透明质酸盐选自透明质酸钠、透明质酸钾、透明质酸锌中的一种或多种。

3. 根据权利要求1所述的可注射抗菌堵瘘水凝胶的制备方法,其特征在于,所述透明质酸盐的分子量为40-150万。

4. 根据权利要求1所述的可注射抗菌堵瘘水凝胶的制备方法,其特征在于,所述干燥的方式为冷冻干燥。

5. 根据权利要求1所述的可注射抗菌堵瘘水凝胶的制备方法,其特征在于,所述镓盐选自 $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{Ga}_2(\text{SO}_4)_3$ 、 GaCl_3 中的一种或多种。

6. 根据权利要求1所述的可注射抗菌堵瘘水凝胶的制备方法,其特征在于,透明质酸盐溶解后质量百分浓度为1.0wt%-4.0wt%;

和/或,溶解有镓盐的缓冲液的物质的量浓度为50-300 mmol/L。

7. 根据权利要求1所述的可注射抗菌堵瘘水凝胶的制备方法,其特征在于,所述浸泡的温度为10-50℃,浸泡的时间为10-40 h。

8. 根据权利要求1所述的可注射抗菌堵瘘水凝胶的制备方法,其特征在于,缓冲液的pH值为5.0-8.0。

9. 根据权利要求1所述的可注射抗菌堵瘘水凝胶的制备方法,其特征在于,所述缓冲液选自磷酸盐缓冲溶液、柠檬酸盐缓冲溶液、硼酸盐缓冲溶液中的一种或多种。

10. 一种权利要求1-9任一项所述制备方法制备得到的可注射抗菌堵瘘水凝胶。

一种可注射抗菌堵瘘水凝胶及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物医用材料技术领域,具体的,涉及一种可注射抗菌堵瘘水凝胶及其制备方法。

背景技术

[0002] 消化道瘘是指胃肠道与其它器官,或胃肠道与腹壁外之间的异常通道。消化道瘘多指胃肠道瘘,常继发于手术、损伤、炎症、感染、肿瘤等。外科手术作为消化道瘘的标准治疗方式,常常会导致严重的并发症。内窥镜手术是一种利用可送入消化道等人体腔道的内窥镜进行直观检查和治疗的先进技术。相较于传统的侵入性手术,内窥镜手术可以避免消化道内容物流出腔外,同时由于其无创或微创性,能在简化手术过程的同时,有效减轻病人的痛苦。目前在临床上,内镜下治疗方式主要利用钛夹、钛夹尼龙绳、堵瘘支架、OTSC等工具。然而,这些工具对操作人员封闭瘘口的经验技巧要求较高,尤其在处理大面积穿孔、组织过于脆弱等病况时难以展现令人满意的效果。

[0003] 近年来,可注射水凝胶因可以被便捷地注射并粘附在目标部位,发挥止血、堵瘘等作用,从而显著降低手术难度和感染风险,在临床应用中备受关注。例如,专利申请CN111632189A公开了一种基于海洋源明胶的可注射水凝胶止血剂,将其前驱液体注射于待止血部位,并使用紫外光照射使其固化。但紫外光的引入会增加手术难度和损伤组织的风险,同时前驱液体在注射时可能会外流至周围组织,或因体液稀释等生理影响造成延时甚至不成胶等问题。

[0004] 另一种基于预成型固态凝胶的可注射水凝胶则可以规避这些问题,其初始状态即为固态凝胶,在剪切力作用下因粘度降低而可流动,撤除应力后又可迅速自修复为凝胶态。例如,专利申请CN112006976A公开了一种可注射短肽自组织水凝胶,该水凝胶具有剪切变稀和快速自修复等特点,可用于消化道内镜粘膜下剥离术,但其对组织的粘附性仍有待提高,难以实现对瘘口的封堵治疗。此外,由于消化道复杂的细菌环境,极易引起伤口炎症,因此具有抗菌功能的可注射水凝胶更能有效促进瘘口的愈合。

[0005] 综上所述,为了满足消化道堵瘘手术的复杂需求,急需研发出一种兼具剪切变稀、快速自修复、粘附性、抗菌性和良好生物兼容性的可注射堵瘘水凝胶。

发明内容

[0006] 基于上述现有技术的缺陷,本发明提供一种兼具剪切变稀、快速自修复、粘附性、抗菌性和良好生物兼容性的可注射抗菌堵瘘水凝胶及其制备方法,该方法简单且制备条件温和,易于工业生产。

[0007] 本发明提供一种可注射抗菌堵瘘水凝胶的制备方法,包括以下步骤:透明质酸盐溶解于缓冲液后干燥,然后浸泡于溶解有镓盐的缓冲液中反应,即得所述可注射抗菌堵瘘水凝胶。

[0008] 优选的,所述透明质酸盐选自透明质酸钠、透明质酸钾、透明质酸锌中的一种或多

种。

[0009] 优选的,所述透明质酸盐的分子量为40-150万。

[0010] 优选的,透明质酸盐溶解后质量百分浓度为1.0wt%-4.0wt%。

[0011] 优选的,所述干燥的方式为冷冻干燥。

[0012] 优选的,干燥时间为5-20 h。

[0013] 优选的,所述镓盐选自 $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{Ga}_2(\text{SO}_4)_3$ 、 GaCl_3 中的一种或多种。

[0014] 优选的,含镓盐的溶液的物质的量浓度为50-300 mmol/L。

[0015] 优选的,所述浸泡的温度为10-50℃,浸泡的时间为10-40 h。

[0016] 优选的,所述缓冲液的pH值为5.0-8.0。

[0017] 优选的,所述缓冲液选自磷酸盐缓冲溶液、柠檬酸盐缓冲溶液、硼酸盐缓冲溶液中的一种或多种。

[0018] 本发明进一步提供一种由上述制备方法制备得到的可注射抗菌堵瘘水凝胶。

[0019] 本发明的有益效果为:

1、本发明通过“预先干燥-浸泡配位”的方式实现可注射抗菌堵瘘水凝胶的制备。首先,对生物高分子透明质酸盐溶液进行干燥,此步骤基于分子间氢键作用进行物理交联,形成泡沫状多孔固体;然后,再将其浸泡在生物相容性良好的含镓盐的溶液中,此步骤基于透明质酸和 Ga^{3+} 之间的金属-有机配位作用制备得到可注射抗菌堵瘘水凝胶。

[0020] 2、本发明提供的注射抗菌堵瘘水凝胶的制备工艺简单,条件温和,且无有害物质产生,易于进行大批量工业生产。

[0021] 3、本发明提供的注射抗菌堵瘘水凝胶以生物相容性良好的透明质酸盐、镓盐和缓冲液为原料。其中透明质酸盐为凝胶主体,镓盐为金属配位交联剂和高效抗菌剂,缓冲液为溶剂。该水凝胶兼具剪切变稀、快速自修复、粘附性、抗菌性和良好生物相容性,通过将其注射并粘附在瘘口处形成物理阻隔,既能防止瘘口与其他组织的黏连,又能阻止消化道内容物外溢,同时得益于镓盐的高效抗菌性,可有效促进瘘口的愈合。因此,本发明中的可注射抗菌堵瘘水凝胶在生物医用领域具有很好的应用前景。

附图说明

[0022] 图1为实施例1步骤(1)制备得到的透明质酸钾白色泡沫状多孔固体的外观图;

图2为实施例1制备得到的可注射抗菌堵瘘水凝胶的外观图;

图3为实施例1制备得到的可注射抗菌堵瘘水凝胶的流变学振幅扫描测试结果;

图4为实施例2制备得到的可注射抗菌堵瘘水凝胶的剪切后稀化测试结果;

图5为实施例2制备得到的可注射抗菌堵瘘水凝胶的分段剪切恢复测试结果;

图6为实施例2制备得到的可注射抗菌堵瘘水凝胶的可注射性测试结果图;

图7为实施例3制备得到的可注射抗菌堵瘘水凝胶的细胞毒性测试结果;

图8为实施例3制备得到的可注射抗菌堵瘘水凝胶的抗菌性测试结果;

图9为实施例3制备得到的可注射抗菌堵瘘水凝胶对SD大鼠胃瘘(直径8 mm)的治疗效果;

图10为对比例1制备得到的凝胶体系的倒置外观图;

图11为对比例2制备得到的凝胶体系的流变学测振幅扫描测试结果。

具体实施方式

[0023] 下面将结合本发明实施例,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都涉及本发明保护的范围。

[0024] 本发明对于冷冻干燥的温度和压强不做特殊限定,一般的冷冻干燥条件均可实现。优选的,温度低于0℃,压强低于610Pa。以下实施例中使用的冷冻干燥温度为-60℃,压强为100 Pa。

实施例1

[0025] 本实施例提供一种可注射抗菌堵瘘水凝胶的制备方法,包括以下步骤:

(1)将分子量在80-100万的透明质酸钾加入到pH5.0的柠檬酸盐缓冲液中,配制浓度为1.0wt%的透明质酸钾溶液,搅拌促进其完全溶解为透明液体,于-60℃,100 Pa对其进行冷冻干燥5 h后,得到白色泡沫状的透明质酸钾多孔固体,如图1;

(2)将硝酸镓加入到pH5.0的磷酸盐缓冲液中,配制物质的量浓度为300 mmol/L的硝酸镓溶液;

(3)将步骤(1)的泡沫状透明质酸钾多孔固体浸泡于步骤(2)的硝酸镓溶液中,在50℃下静置反应10 h,即得所述可注射抗菌堵瘘水凝胶。

[0026] 其中,透明质酸钾购置于上海源叶生物科技有限公司,货号为Y56867-1g;柠檬酸盐缓冲液购置于上海阿拉丁生化科技股份有限公司,货号C301550-250ml。

[0027] 本实施例还提供一种上述制备方法制备得到的可注射抗菌堵瘘水凝胶,其原料包括透明质酸钾、水性缓冲液和硝酸镓,产品如图2所示。

[0028] 使用安东帕MCR 302旋转流变仪对该可注射抗菌堵瘘水凝胶的流变学性能进行表征,测试温度设置为25℃,结果如图3所示,本实施例可注射水凝胶在0.01%-100%的剪切应变下,其储能模量始终大于损耗模量,这表明其通过“物理交联-金属配位交联”形成了固态水凝胶。

实施例2

[0029] 本实施例提供一种可注射抗菌堵瘘水凝胶的制备方法,包括以下步骤:

(1)将分子量在40-80万的透明质酸锌加入到pH8.0的硼酸盐缓冲液中,配制浓度为4.0wt%的透明质酸锌溶液,搅拌促进其完全溶解为透明液体,于-60℃,100 Pa对其进行冷冻干燥15 h后,得到白色泡沫状的透明质酸锌多孔固体;

(2)将氯化镓加入到pH8.0的磷酸盐缓冲液中,配制物质的量浓度为50 mmol/L的氯化镓溶液;

(3)将步骤(1)的泡沫状透明质酸锌多孔固体浸泡于步骤(2)的氯化镓溶液中,在10℃下静置反应40 h,即得所述可注射抗菌堵瘘水凝胶。

[0030] 其中,透明质酸锌购置于武汉克米克生物医药技术有限公司,货号为PC20230115;硼酸盐缓冲液购置于上海阿拉丁生化科技股份有限公司,货号为B407179-500mL。

[0031] 本实施例进一步提供一种上述制备方法制备得到的可注射抗菌堵瘘水凝胶,其原

料包括透明质酸锌、水性缓冲液和氯化镓。

[0032] 使用安东帕MCR 302旋转流变仪对本实施例可注射抗菌堵瘘水凝胶的流变学性能进行表征,测试温度设置为25℃,结果如图4所述,本实施例可注射水凝胶的黏度随着剪切速率的增加而逐渐降低,这表明其具有剪切变稀的性质。

[0033] 同时,对本实施例的可注射抗菌堵瘘水凝胶进行分段剪切恢复测试,即设置剪切应变参数为1%与100%交替振幅扫描,结果如图5所示,表明该水凝胶具有快速自修复的性能,得益于该凝胶体系兼具剪切变稀和快速自修复的性能,因此能将其注射到目标位置后重新快速原位成胶。

[0034] 进一步地,通过将上述水凝胶装入注射器中进行注射测试,实验结果见图6,利用注射器书写的“IPE”在基底倾斜状态下保持原状,这说明该水凝胶具有良好的可注射性。

实施例3

[0035] 本实施例提供一种可注射抗菌堵瘘水凝胶的制备方法,包括以下步骤:

(1)将分子量在100-150万的透明质酸钠加入到pH7.4的磷酸盐缓冲液中,配制浓度为3.0wt%的透明质酸钠溶液,搅拌促进其完全溶解为透明液体,于-60℃,100 Pa对其进行冷冻干燥20 h后,得到白色泡沫状的透明质酸钠多孔固体;

(2)将硝酸镓加入到pH 7.4的磷酸盐缓冲液中,配制物质的量浓度为150 mmol/L的硝酸镓溶液;

(3)步骤(1)的将泡沫状透明质酸钠多孔固体浸入到步骤(2)的硝酸镓溶液中,在25℃下静置反应24 h,即得所述可注射抗菌堵瘘水凝胶。

[0036] 其中,透明质酸钠购置于上海源叶生物科技有限公司,货号S12034-25g;磷酸盐缓冲液购置于上海源叶生物科技有限公司,货号为R26022-500mL。

[0037] 本实施例进一步提供一种上述制备方法制备得到的可注射抗菌堵瘘水凝胶,其原料包括透明质酸钠、水性缓冲液和硝酸镓。

[0038] 参照《GB/T 16886.5-2017医疗器械生物学评价 第5部分:体外细胞毒性试验》中有关规定对本实施例的可注射抗菌堵瘘水凝胶的细胞毒性进行测试,结果见图7。结果表明本发明的可注射抗菌堵瘘水凝胶基本没有细胞毒性,具有很好的生物相容性,有利于进行体内应用。

[0039] 同时考察本实施例可注射抗菌堵瘘水凝胶对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌测试结果(参考GB/T 20944.1-2007纺织品 抗菌性能的评价 第1部分_琼脂平皿扩散法中有关规定进行测试),以不加水凝胶的琼脂平皿为空白对照,结果表明本发明提供的可注射抗菌堵瘘水凝胶具有良好的抗菌效果。

[0040] 考察本实施例可注射抗菌堵瘘水凝胶对胃瘘模型大鼠的修复效果

使用异氟烷气体将12只体重180-220 g的SD大鼠(雌雄各半)进行麻醉,经固定、备皮后,使用手术刀在腹部正中处切口,将SD大鼠的胃暴露在腹腔中,使用直径为8 mm的环形刀在胃大弯侧进行环切使伤口贯穿胃壁,从而构筑大鼠胃瘘(直径8 mm)模型(参考文献Endoscopy Deliverable and Mushroom-Cap-Inspired Hyperboloid-Shaped Drug-Laden Bioadhesive Hydrogel for Stomach Perforation Repair. ACS Nano2023, 17, 1, 111-126)。

[0041] 将建模后的大鼠随机分为实验组和对照组,两组之间性别、体重、胃瘻直径均无显著性差异。将本实施例的水凝胶注射至实验组6只SD大鼠的瘻口处,实现了对瘻口的封堵,缝合腹部切口,继续饲养2周后解剖结果表明,6只大鼠胃瘻已经完全愈合,实验结果见图9。对照组大鼠仅对瘻口进行消毒处理,缝合后正常饲养,该组大鼠在3天内全部死亡。通过对大鼠胃瘻的修复实验,说明本发明提供的可注射抗菌堵瘻水凝胶取得了很好的应用效果,具有很好的应用前景。

对比例1

[0042] 本对比例提供一种水凝胶体系,其与实施例3相比区别仅在于配制透明质酸钠溶液后不进行预先干燥,直接与硝酸镓溶液混合。具体制备方法,包括以下步骤:

(1)将分子量在100-150万的透明质酸钠加入到pH 7.4的磷酸盐缓冲液中,配制浓度为3.0wt%的透明质酸钠溶液,搅拌促进其完全溶解为透明液体,不进行预先干燥;

(2)将硝酸镓加入到步骤(1)的透明质酸钠溶液中,使其物质的量浓度为150 mmol/L,在25℃下静置反应24 h,即得上述水凝胶体系。

[0043] 其中,透明质酸钠购置于上海源叶生物科技有限公司,货号S12034-25g;磷酸盐缓冲液购置于上海源叶生物科技有限公司,货号为R26022-500mL。

[0044] 图10为本对比例所制备的水凝胶体系的倒置外观图,由于未对透明质酸钠溶液进行预干燥,所得凝胶体内部不均一,且在倒置后整体仍为流动液体,这说明预先对透明质酸钠溶液进行冷冻干燥对于制备可注射抗菌堵瘻水凝胶是必不可少的关键步骤。

对比例2

[0045] 本对比例提供一种水凝胶体系,其与实施例3相比区别仅在于采用铜盐代替镓盐,具体制备方法包括以下步骤:

(1)将分子量在100-150万的透明质酸钠(加入到pH7.4的磷酸盐缓冲液中,配制浓度为3.0wt%的透明质酸钠溶液,搅拌促进其完全溶解为透明液体,对其进行冷冻干燥后,得到白色泡沫状的透明质酸钠多孔固体;

(2)将硝酸铜加入到pH7.4的磷酸盐缓冲液中,配制物质的量浓度为150 mmol/L的硝酸铜溶液;

(3)将步骤(1)的泡沫状透明质酸钠多孔固体浸入到步骤(2)的硝酸铜溶液中,在25℃下静置反应24 h。

[0046] 其中,透明质酸钠购置于上海源叶生物科技有限公司,货号S12034-25g;磷酸盐缓冲液购置于上海源叶生物科技有限公司,货号为R26022-500mL。

[0047] 使用安东帕MCR 302旋转流变仪对该体系的流变学性能进行表征,测试温度设置为25℃,结果如图11所示,本对比例所制备的体系在0.01%-100%的剪切应变下,其储能模量始终小于损耗模量,这说明该体系仍为液体,即Cu²⁺的引入无法构筑可注射抗菌堵瘻水凝胶,这说明Ga³⁺对于制备本申请中的可注射抗菌堵瘻水凝胶具有不可替代的作用。

[0048] 以上仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

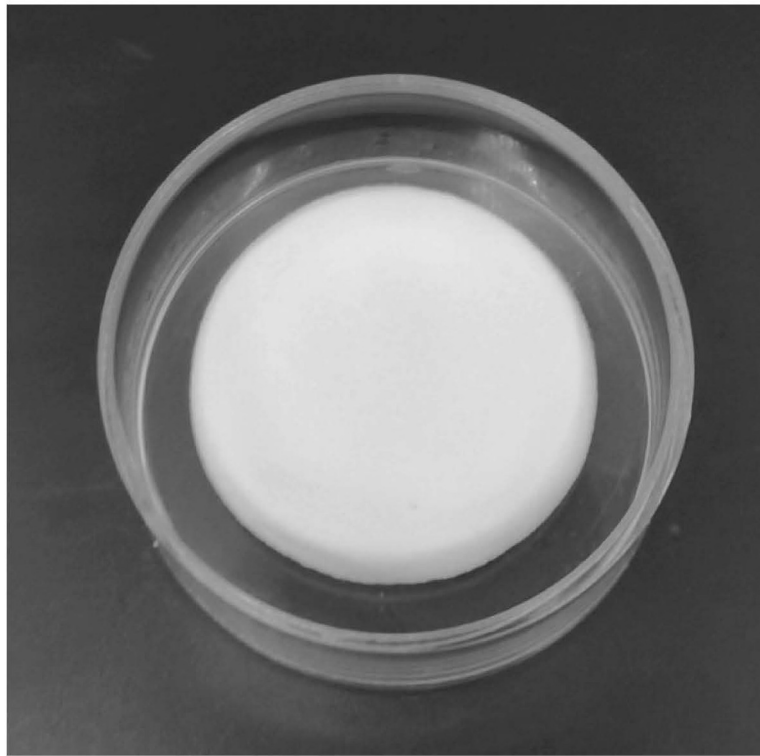


图 1

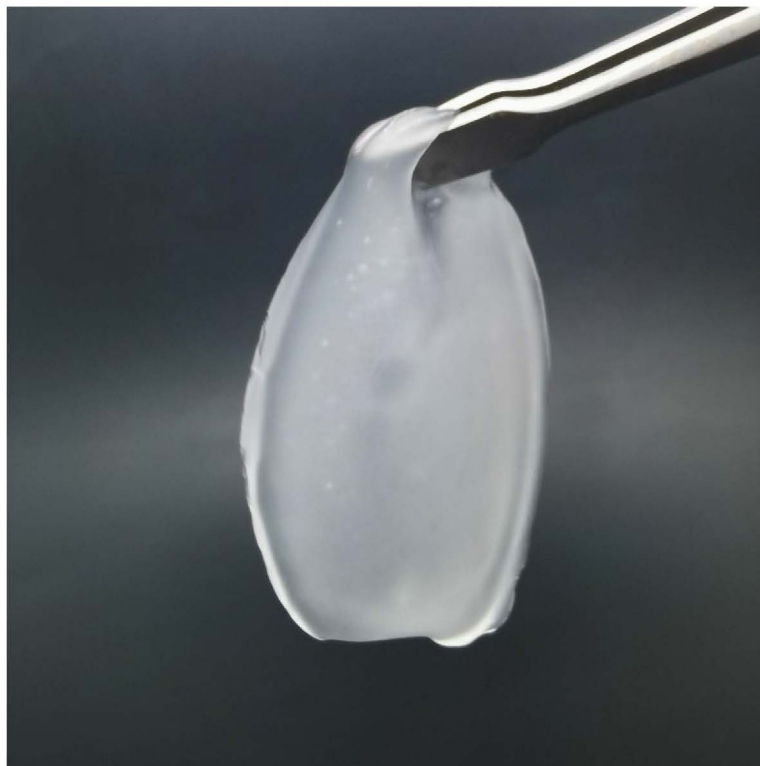


图 2

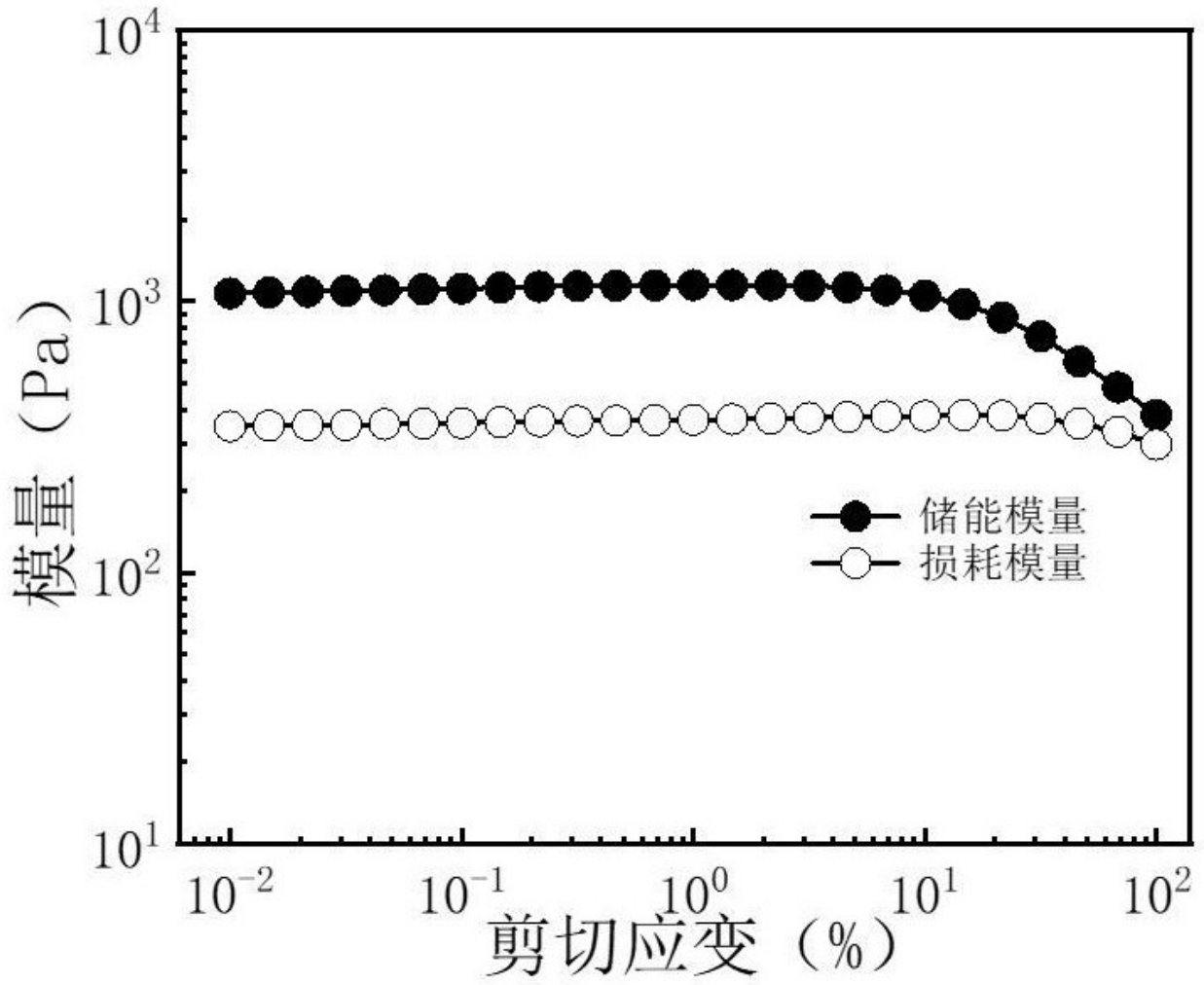


图 3

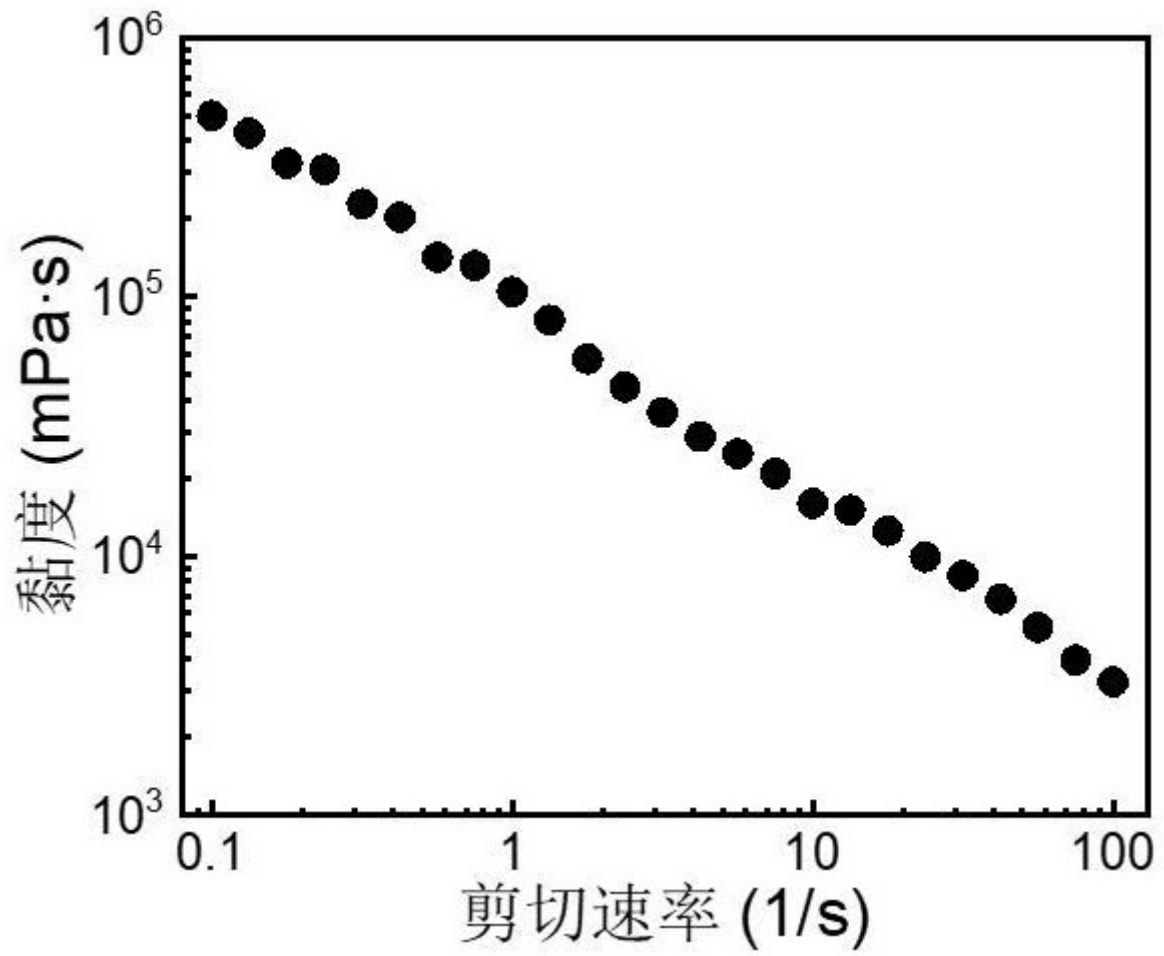


图 4

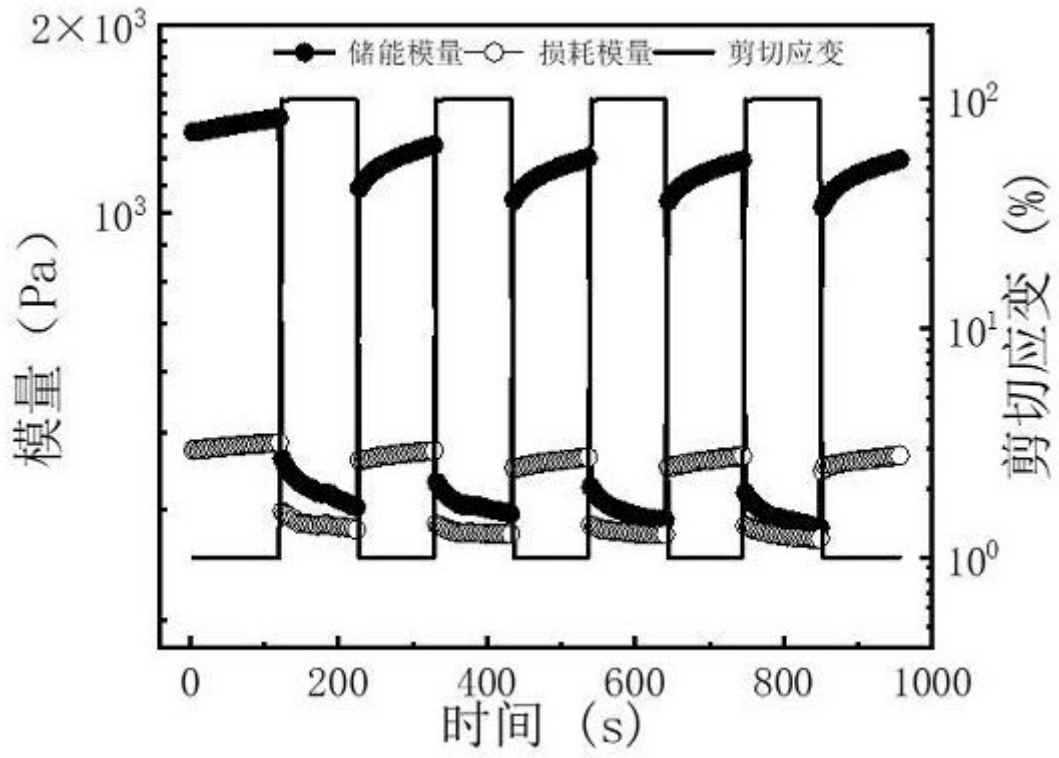


图 5



图 6

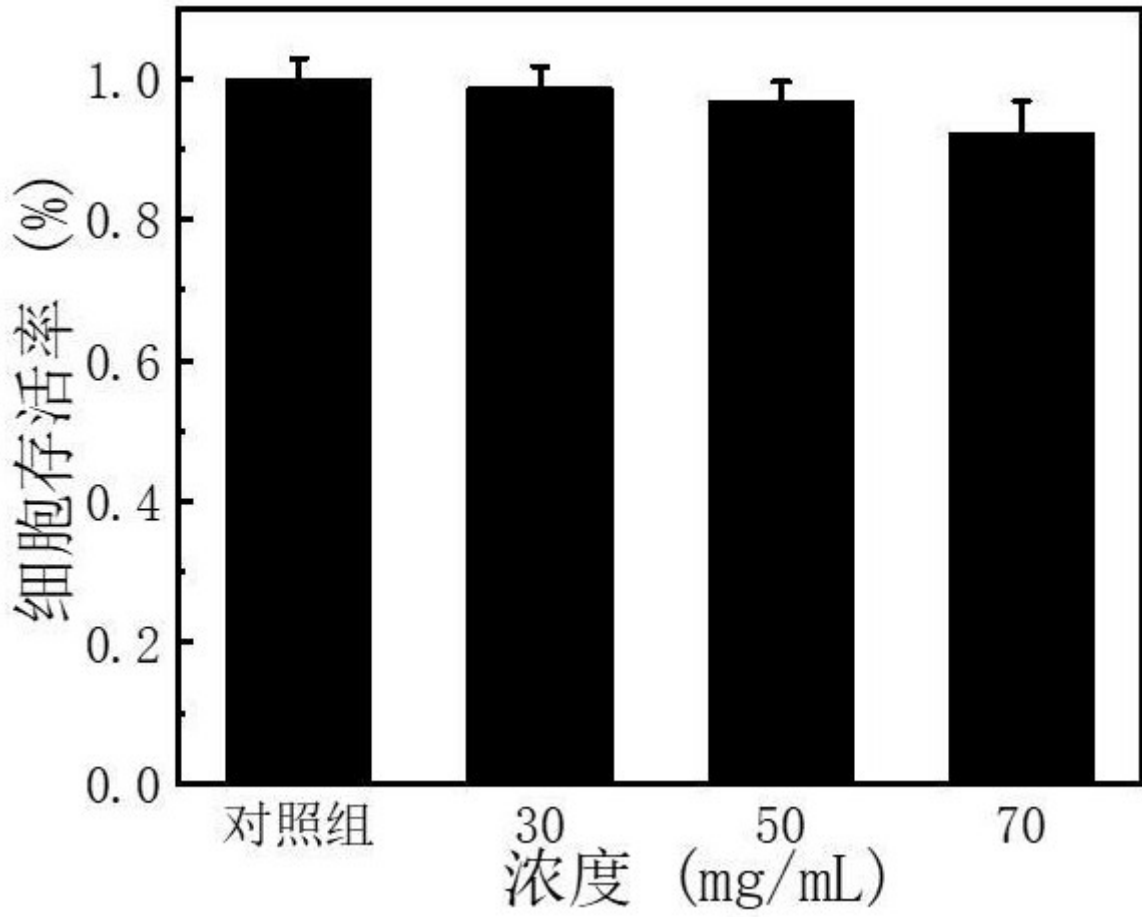


图 7

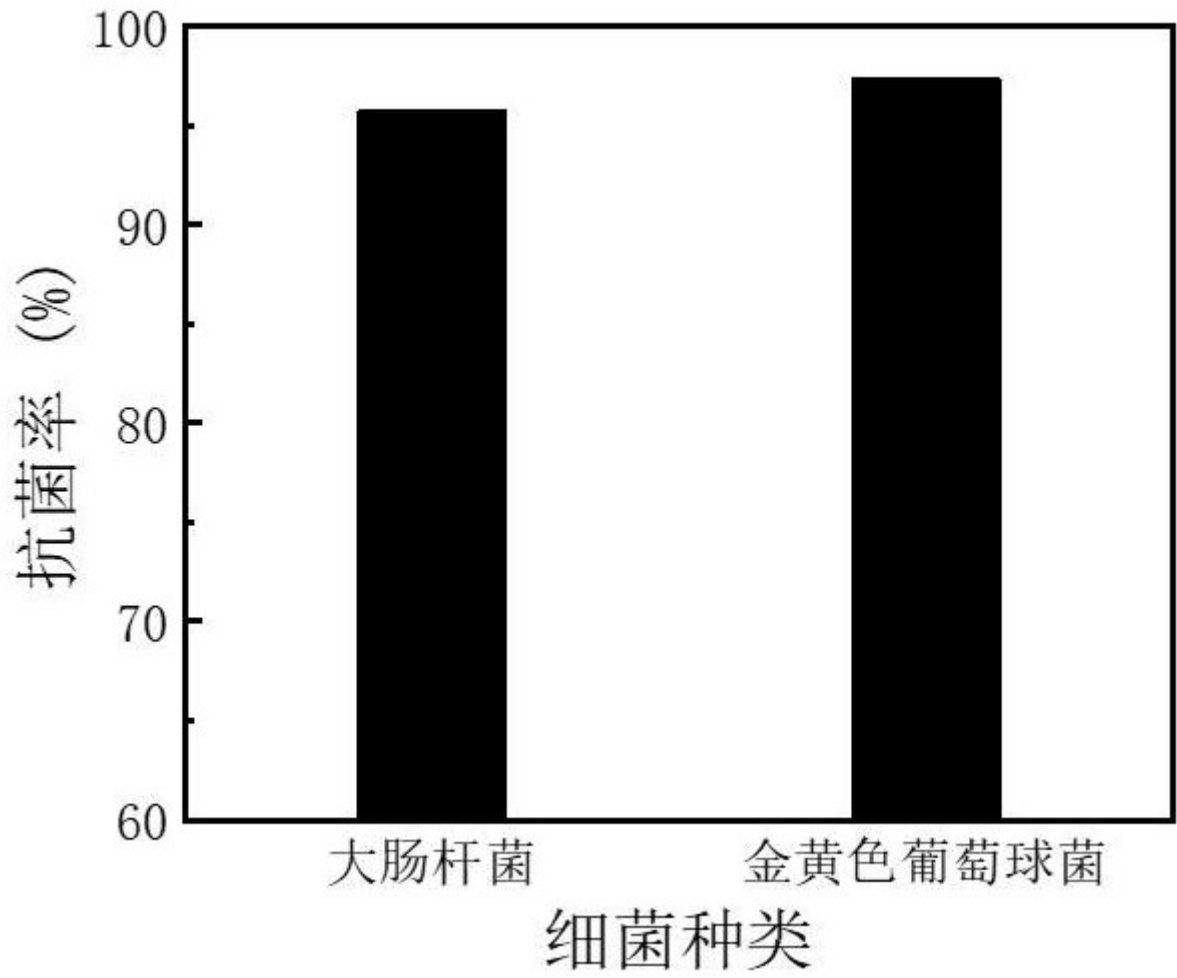


图 8

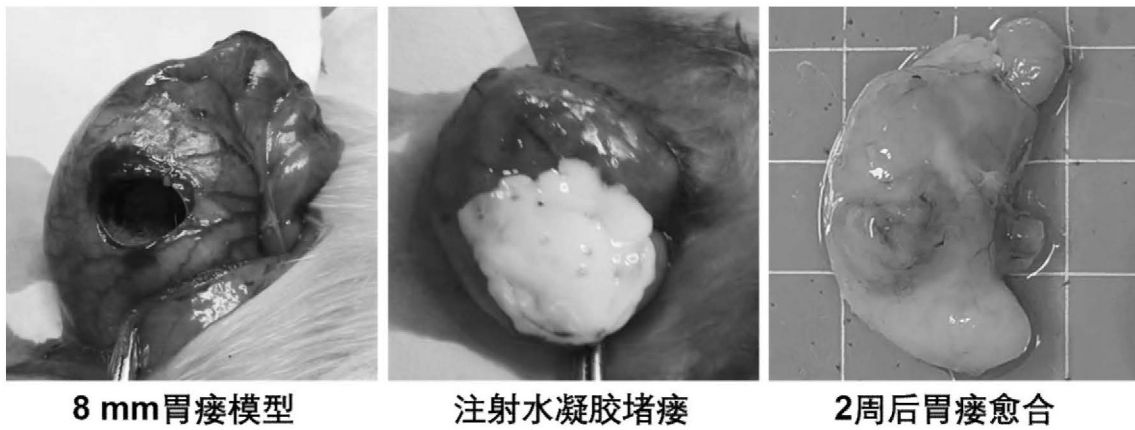


图 9



图 10

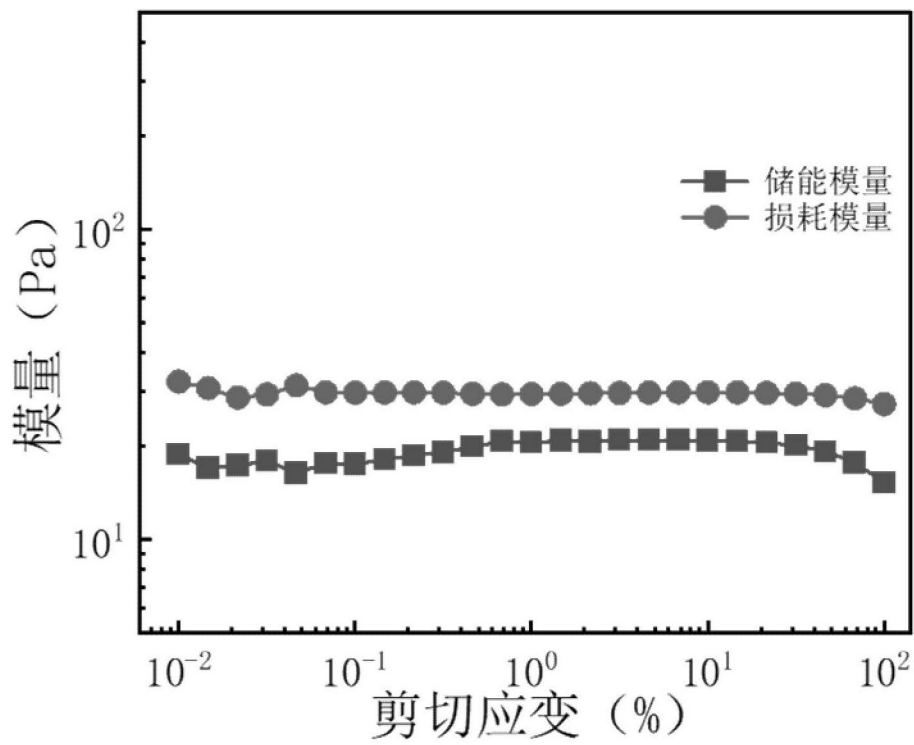


图 11