

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2022 年 2 月 10 日 (10.02.2022)



(10) 国际公布号
WO 2022/028396 A1

(51) 国际专利分类号:

A61L 31/10 (2006.01) *A61L 27/58* (2006.01)
A61L 31/14 (2006.01) *A61L 33/12* (2006.01)
A61L 31/16 (2006.01) *C07K 14/435* (2006.01)
A61L 27/34 (2006.01) *C07K 1/107* (2006.01)
A61L 27/54 (2006.01)

(XU, Jianmei); 中国江苏省苏州市相城区济学路8号, Jiangsu 215000 (CN)。

(74) 代理人: 北京集佳知识产权代理有限公司
(UNITALEN ATTORNEYS AT LAW); 中国北京市朝阳区建国门外大街22号赛特广场7层, Beijing 100004 (CN)。

(21) 国际申请号: PCT/CN2021/110228

(22) 国际申请日: 2021 年 8 月 3 日 (03.08.2021)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202010781130.9 2020年8月6日 (06.08.2020) CN

(71) 申请人: 苏州大学(SOOCHOW UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省苏州市相城区济学路8号, Jiangsu 215000 (CN)。

(72) 发明人: 宋广州(SONG, Guangzhou); 中国江苏省苏州市相城区济学路8号, Jiangsu 215000 (CN)。王建南(WANG, Jiannan); 中国江苏省苏州市相城区济学路8号, Jiangsu 215000 (CN)。裔洪根(YI, Honggen); 中国江苏省苏州市相城区济学路8号, Jiangsu 215000 (CN)。许建梅

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,

(54) Title: SILK ANTICOAGULANT VASCULAR STENT COVER FILM AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) 发明名称: 一种蚕丝抗凝血管支架覆膜及其制备方法

(57) Abstract: Disclosed are a silk anticoagulant vascular stent cover film and a preparation method therefor. Silkworm silk is divided into two groups, wherein one group is twisted and combined to obtain a silk thread group, and the other group is a single silk group, and then both groups are boiled with deionized water for degumming. The silk thread group is braided into a tubular structure by means of a braiding machine, and the silk in the single silk group is dissolved in a lithium bromide neutral salt solution to prepare a dissolved silk fibroin solution, the dissolved silk fibroin solution is then poured into a dialysis bag, and the dialysis bag filled with the dissolved silkworm silk fibroin solution is placed in a container containing deionized water for continuous dialysis, so as to obtain a purified silkworm silk fibroin aqueous solution; the silk fibroin aqueous solution is then concentrated by means of a rotary evaporator; and an appropriate amount of a cross-linking agent is then added therein for reaction and the layer-by-layer impregnation and coating of a silk fibroin tubular braid, during which the fibroin tubular braid is impregnated and coated with an anticoagulant drug hirudin alternately or in a hybrid way multiple times, so as to obtain the silk anticoagulant vascular stent cover film. The cover film has good biomechanical properties and long-lasting anticoagulant activity.

(57) 摘要: 本发明公开了一种蚕丝抗凝血管支架覆膜及其制备方法, 将家蚕蚕丝分为两组, 其中一组通过加捻合并获得丝线组, 另一组为单丝组, 然后均采用去离子水煮沸进行脱胶。丝线组采用编织机编结成管状结构, 单丝组蚕丝溶解于溴化锂中性盐溶液制备丝素蛋白溶解液, 然后将丝素溶解液灌注于透析袋内, 将灌注了家蚕丝素溶解液的透析袋置于盛有去离子水的容器内, 持续透析, 得到纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液, 然后采用旋转蒸发器浓缩丝素蛋白水溶液, 然后加入适量的交联剂反应并层层浸渍涂层丝素管状编结物, 其间多次交替或混合浸渍涂层抗凝药物水蛭素, 获得蚕丝抗凝血管支架覆膜。该覆膜具有卓越的生物力学性能和持久的抗凝活性。

RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

一种蚕丝抗凝血管支架覆膜及其制备方法

本申请要求于 2020 年 08 月 06 日提交中国专利局、申请号为 202010781130.9、发明名称为“一种蚕丝抗凝血管支架覆膜及其制备方法”的中国专利申请的优先权，其全部内容通过引用结合在本申请中。

5

技术领域

本发明涉及血管支架覆膜制备技术领域，具体涉及一种蚕丝抗凝血管支架覆膜及其制备方法。

10 背景技术

随着生活水平的提高和老龄化进程的加快，心脑血管疾病的发病率正逐年显著升高，栓塞、血管狭窄、血管动脉瘤等心脑血管疾病严重威胁着人类健康，已成为人类死亡率最高的病因。随着医学的发展，微创的腔内隔绝术由于手术创伤小逐渐成为动脉多种病变的主要治疗方式，血管覆膜支架是腔内隔绝术治疗的主体，其性能直接影响着临床治疗效果，但术后中、远期仍然会出现如血管覆膜支架的滑移、内漏和支架源性新破口等并发症，以及仍然会出现血栓和再狭窄，这些临床问题值得密切关注。血管覆膜支架本身的生物相容性（尤其是组织相容性和血液相容性）差、生物力学性能不相配及不降解材料长期被血液里的成分包裹是诱发术后并发症的主要原因，因此迫切需要开发出与宿主血管间生物学性能匹配的血管覆膜支架。

腔内修复术的关键在于血管支架系统的研制，其中包括支架、覆膜和输送系统，目前我国临床运用的覆膜支架依赖进口，价格昂贵。覆膜是腔内隔绝的重要承担者，其生物学性能极其重要。现在临床应用的覆膜材料没有优异的组织相容性和内皮化功能，术后远期仍发生较高比例的血栓和再狭窄，尤其是小口径血管支架，也发生滑移等并发症。对于发病率越来越高的中青年人群、甚至婴幼儿来说，长期靠药物来维持抗血栓是极不合适选择。因此，设计和制备新型的具有抗凝功能血管支架、且能彻底恢复血管凝血系统平衡功能对解决临床不断出现的新问题具有重要研究和

-2-

应用价值。

5 现有公开报导的血管支架的覆膜材料主要是聚四氟乙烯、聚酯、聚酰胺、聚乙烯、聚丙烯、聚氨酯等合成高分子，还有采用涤纶丝与镍钛合金丝编织或交替编织成覆膜。合成高分子缺乏组织相容性和血液相容性，是引起术后并发症的重要原因，覆膜内表面难以内皮化，置入体内一段时间后会产免疫排异，长期服药，会诱发其它更为严重疾病的发生。相比于合成高分子，天然高分子具有较好的生物相容性，其中蚕丝丝素蛋白已证明能够支持多种细胞的生长，在组织工程材料方面的应用研究受到极大的关注，是作为可吸收覆膜的优选材料。丝素蛋白的抗凝血改性现有技术主要报导了接枝具有抗凝作用的高分子及硫酸化或肝素化方法，肝素属于一种凝血酶间接抑制剂，材料中共混或键合的肝素不一定都能发挥抗凝作用。因此，针对现有临床应用瓶颈问题和越来越年轻化（甚至活产婴儿）的发病现象，有必要研发一种蚕丝抗凝血管支架覆膜。

发明内容

15 有鉴于此，本发明的目的在于提供一种蚕丝抗凝血管支架覆膜及其制备方法，用于生产可持续抗凝、可吸收、原位快速内皮化、诱导健康血管组织重建的血管支架。

本发明的一种技术方案是：

20 提供一种蚕丝抗凝血管支架覆膜，轴向抗拉伸强度 $>1.8\text{MPa}$ ，断裂伸长率 $>45\%$ ，圆周向抗拉伸强度 $>7.0\text{MPa}$ ，断裂伸长率 $>130\%$ ，整体水渗漏在 120mmHg 水压下小于 7ml/min.cm^2 ，溶血率 $<0.1\%$ ，所述蚕丝抗凝血管支架覆膜的持续抗凝大于 6 个月。

上述蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，包括如下步骤：

25 (1) 制备脱胶后的家蚕丝素纤维和熟丝线：选取 40~160D 丝线和蚕丝单丝，所述丝线由家蚕生丝加捻合并获得，将所述蚕丝单丝和丝线按 1:50 (g/mL) 的浴比放入去离子水中，在温度为 $98\sim 100^\circ\text{C}$ 的条件下沸煮 7 小时，并且在沸煮期间多次更换去离子水，直至所述去离子水将所述蚕丝单丝和丝线含有的丝胶充分去除干净，然后将所述蚕丝单丝和丝线置于温度为 60°C 烘箱内干燥，获得脱胶后的家蚕丝素纤维和熟丝线；

—3—

(2) 制备家蚕丝素蛋白水溶液：将所述脱胶后的家蚕丝素纤维按 1:10 (g/mL) 的浴比溶解于 9.3M 的溴化锂水溶液中，在温度为 $65 \pm 10^\circ\text{C}$ 的条件下处理直至家蚕丝素纤维完全溶解，得到家蚕丝素溶解液，将所述家蚕丝素溶解液灌注于透析袋内，所述透析袋的材质为半透膜，截留分子量为 10~100kDa，将灌注了所述家蚕丝素溶解液的透析袋置于盛有去离子水的容器内，每隔 2 小时用新的去离子水更换容器内的液体，持续透析 3 天，得到纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液；

(3) 制备改性丝素蛋白溶液：采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定所述纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液的质量分数，按质量比 100:5~10 配置丝素蛋白与聚乙二醇双胺的混合溶液，向所述混合溶液中添加质量比为丝素蛋白 20% 的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺，并搅拌均匀，再添加质量比为丝素蛋白 10% 的 N-羟基琥珀酰亚胺和质量比为丝素蛋白 20% 的 2-吗啉乙磺酸，反应 20 分钟后用去离子水透析 12~48 小时，得到聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，再次采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，使所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液的质量分数为 1~10%，得到改性丝素蛋白溶液；

(4) 制备丝素蛋白管状覆膜：将所述熟丝线采用编结技术在不锈钢棒上编成 $30 \sim 90^\circ$ 交织、内径为 2~20 mm 的管状结构，将所述管状结构放入所述改性丝素蛋白溶液中浸渍 30 ± 5 秒取出，置于鼓风干燥箱内在温度小于 37°C 的条件下沿圆周方向旋转风干，冲洗再风干，获得丝素蛋白管状覆膜；

(5) 配置水蛭素水溶液 0~500U/mL，将所述丝素蛋白管状覆膜放置于所述水蛭素水溶液中浸渍 20 ± 5 分钟取出，置于鼓风干燥箱内，在温度为小于 37°C 的条件下沿圆周方向旋转风干，重复步骤 (4) ~ (5) 2~10 次，获得蚕丝抗凝血管支架覆膜。

进一步的，步骤 (1) 中所述丝线为 80D~120D。

进一步的，步骤 (2) 中所述透析袋的截留分子量为 50kDa 或 14~16kDa。

进一步的，步骤 (3) 中所述按质量比 100:5~10 配置丝素蛋白与聚乙二醇双胺的混合溶液，向所述混合溶液中添加质量比为丝素蛋白 20% 的

-4-

1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺，并搅拌均匀，再添加质量比为丝素蛋白 10%的 N-羟基琥珀酰亚胺和质量比为丝素蛋白 20%的 2-吗啉乙磺酸，反应 20 分钟后用去离子水透析 12~48 小时，得到聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，再次采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，使所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液的质量分数为 1~10%，替换为：添加与丝素蛋白质量比为 0.6 的聚乙二醇二缩水甘油醚，搅拌均匀并脱气泡。

进一步的，步骤（4）中所述置于鼓风干燥箱内在温度小于 37 °C 的条件下沿圆周方向旋转风干，获得丝素蛋白管状覆膜替换为：置于热风干燥箱内在温度小于 65 °C 的条件下沿圆周方向旋转风干，获得管状覆膜支架。

进一步的，在步骤（4）之后，步骤（5）之前还包括：制备阳离子化的丝素蛋白管状覆膜：配置并测定聚乙二醇双胺溶液的浓度，所述聚乙二醇双胺溶液包括含有聚乙二醇双胺 1.5 倍摩尔浓度的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺和 2-吗啉乙磺酸，将所述管状覆膜支架浸渍于所述聚乙二醇双胺溶液中反应 20 分钟后取出室温风干、冲洗再风干，得到阳离子化的丝素蛋白管状覆膜。

本发明的另一种技术方案是：

提供一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，该方法包括如下步骤：

（1）制备脱胶后的家蚕丝素纤维和熟丝线：选取 40~160D 丝线和蚕丝单丝，所述丝线由家蚕生丝加捻合并获得，将所述蚕丝单丝和丝线按 1:50（g/mL）的浴比放入去离子水中，在温度为 98~100°C 的条件下煮沸 7 小时，并且在煮沸期间多次更换去离子水，直至所述去离子水将所述蚕丝单丝和丝线含有的丝胶充分去除干净，然后将所述蚕丝单丝和丝线置于温度为 60°C 烘箱内干燥，获得脱胶后的家蚕丝素纤维和熟丝线；

（2）制备家蚕丝素蛋白水溶液：将所述脱胶后的家蚕丝素纤维按 1:10（g/mL）的浴比溶解于 9.3M 的溴化锂水溶液中，在温度为 65±10°C 的条件下处理直至丝素纤维完全溶解，得到家蚕丝素溶解液，将所述家蚕丝素溶解液灌注于透析袋内，所述透析袋的材质为半透膜，截留分子量为 10~100kDa，将灌注了所述家蚕丝素溶解液的透析袋置于盛有去离子水的

—5—

容器内，每隔 2 小时用新的去离子水更换容器内的液体，持续透析 3 天，得到纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液；

(3) 制备改性丝素蛋白溶液：采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定所述纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液的质量分数，按质量比 100:5~10 配置丝素蛋白与聚乙二醇双胺的混合溶液，向所述混合溶液中添加质量比为丝素蛋白 20% 的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺，并搅拌均匀，再添加质量比为丝素蛋白 10% 的 N-羟基琥珀酰亚胺和质量比为丝素蛋白 20% 的 2-吗啉乙磺酸，反应 20 分钟后用去离子水透析 12~48 小时，得到聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，再次采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，使所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液的质量分数为 1~10%，向所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液中加入 0~500U/mL 凝血酶直接抑制剂水蛭素搅拌均匀并脱气泡，得到改性丝素蛋白溶液；

(4) 制备丝素蛋白管状覆膜：将所述熟丝线采用编结技术在不锈钢棒上编成 30~90° 交织、内径为 2~20 mm 的管状结构，将所述管状结构放入所述改性丝素蛋白溶液中浸渍 30±5 秒取出，置于鼓风干燥箱内在温度小于 37 °C 的条件下沿圆周方向旋转风干，重复浸渍涂层 2~10 次，获得蚕丝抗凝血管支架覆膜。

进一步的，步骤 (1) 中所述丝线为 80D~120D。

进一步的，步骤 (2) 中所述透析袋的截留分子量为 50kDa 或 14~16kDa。

本发明提供了一种蚕丝抗凝血管支架覆膜及其制备方法，所制备的覆膜具有卓越的生物力学性能和持久的抗凝活性，且原位诱导调节血液系统平衡的血管内膜再生，该覆膜可以用于制备成各种形貌应用于心血管疾病治疗，如心脏修补片、血管支架、人工心脏瓣膜的体内移植物，也可以拓展用于其它一些组织工程支架等医疗器械。

具体实施方式

本发明的目的是针对目前心脑血管疾病腔内隔绝术治疗术后出现的血管覆膜支架长期再狭窄、血栓再发生、滑移及长期疲劳损坏等严峻的临

—6—

床问题，而开发的一种载抗凝因子的天然高分子丝素蛋白材料的血管支架覆膜的制备技术，该覆膜轴向抗拉伸强度 $>1.8\text{MPa}$ ，断裂伸长率 $>45\%$ ，圆周向抗拉伸强度 $>7.0\text{MPa}$ ，断裂伸长率 $>130\%$ ，整体水渗漏在 120mmHg 水压下小于 7ml/min.cm^2 ，溶血率 $<0.1\%$ 。持续发挥抗凝功效，蚕丝抗凝血管支架覆膜的持续抗凝大于6个月，并具有诱导病变和缺损血管的组织再生与恢复血液平衡系统的调节功能。

本发明提供一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，包括：

步骤一、制备脱胶后的家蚕丝素纤维和熟丝线：

选取 $40\sim 160\text{D}$ （优选 $80\text{D}\sim 120\text{D}$ ）丝线和蚕丝单丝，所述丝线由家蚕生丝加捻合并获得，将所述蚕丝单丝和丝线按 $1:50\text{ (g/mL)}$ 的浴比放入去离子水中，在温度为 $98\sim 100^\circ\text{C}$ 的条件下煮沸7小时，并且在煮沸期间多次更换去离子水，直至所述去离子水将所述蚕丝单丝和丝线含有的丝胶充分去除干净，然后将所述蚕丝单丝和丝线置于温度为 60°C 烘箱内干燥，获得脱胶后的家蚕丝素纤维和熟丝线。

步骤二、制备家蚕丝素蛋白水溶液：

将所述脱胶后的家蚕丝素纤维按 $1:10\text{ (g/mL)}$ 的浴比溶解于 9.3M 的溴化锂水溶液中，在温度为 $65\pm 10^\circ\text{C}$ 的条件下处理直至家蚕丝素纤维完全溶解，得到家蚕丝素溶解液，将所述家蚕丝素溶解液灌注于透析袋内，所述透析袋的材质为半透膜，截留分子量为 $10\sim 100\text{kDa}$ ，将灌注了所述家蚕丝素溶解液的透析袋置于盛有去离子水的容器内，每隔2小时用新的去离子水更换容器内的液体，持续透析3天，得到纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液。

步骤三、制备改性丝素蛋白溶液：

方法一：采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定所述纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液的质量分数，按质量比 $100:5\sim 10$ 配置丝素蛋白与聚乙二醇双胺的混合溶液，向所述混合溶液中添加质量比为丝素蛋白20%的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺，并搅拌均匀，再添加质量比为丝素蛋白10%的N-羟基琥珀酰亚胺和质量比为丝素蛋白20%的2-吗啉乙磺酸，反应20分钟后用去离子水透析 $12\sim 48$ 小时，得到聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶

-7-

液，再次采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，使所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液的质量分数为 1~10%，得到改性丝素蛋白溶液。

5 方法二：采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定所述纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液的质量分数，添加与丝素蛋白质量比为 0.6 的聚乙二醇二缩水甘油醚（指纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液中的丝素蛋白与聚乙二醇二缩水甘油醚的质量比是 10: 6），搅拌均匀并脱气泡，得到改性丝素蛋白溶液。

10 方法三：采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定所述纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液的质量分数，按质量比 100:5~10 配置丝素蛋白与聚乙二醇双胺的混合溶液，向所述混合溶液中添加质量比为丝素蛋白 20% 的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺，并搅拌均匀，再添加质量比为丝素蛋白 10% 的 N-羟基琥珀酰亚胺和质量比为丝素蛋白 20% 的 2-吗啉乙磺酸，反应 20 分钟后用去离子水透析 12~48 小时，得到聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，再次采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，使所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液的质量分数为 1~10%，向所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液中加入 15 0~500U/mL 凝血酶直接抑制剂水蛭素搅拌均匀并脱气泡，得到改性丝素蛋白溶液。

步骤四、制备丝素蛋白管状覆膜：

20 将所述熟丝线采用编结技术在不锈钢棒上编成 30~90° 交织、内径为 2~20 mm 的管状结构，将所述管状结构放入所述改性丝素蛋白溶液中浸渍 30±5 秒取出，置于鼓风干燥箱内在温度小于 37 °C 的条件下沿圆周方向旋转风干，冲洗再风干，或者置于热风干燥箱内在温度小于 65 °C 的条件下沿圆周方向旋转风干，获得丝素蛋白管状覆膜。

25 如果上述步骤四是在利用步骤三的方法二作为步骤三的话，那么增加步骤：制备阳离子化的丝素蛋白管状覆膜：配置一定浓度的聚乙二醇双胺溶液，所述聚乙二醇双胺溶液包括含有聚乙二醇双胺 1.5 倍摩尔浓度的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺和 2-吗啉乙磺酸，将所述管状覆膜支架浸渍于所述聚乙二醇双胺溶液中反应 20 分钟后取出

室温风干、冲洗再风干，得到阳离子化的丝素蛋白管状覆膜。

步骤五、制备蚕丝抗凝血管支架覆膜。

配置水蛭素水溶液 0~500U/mL，将所述丝素蛋白管状覆膜放置于所述水蛭素水溶液中浸渍 20 ± 5 分钟取出，置于鼓风干燥箱内，在温度为小于 37 °C 的条件下沿圆周方向旋转风干，重复步骤 (4) ~ (5) 2~10 次，获得蚕丝抗凝血管支架覆膜。

上述步骤中的涂层次数与丝素蛋白浓度相关，如果浓度稀则需要增加涂层次数；如果浓度稠可以相应减少涂层次数，通过综合丝素蛋白浓度和涂层次数来调节覆膜性能和功能。

如果上述步骤四是在利用步骤三的方法三作为步骤三的话，那么不需要本步骤五。

上述方法所制备的蚕丝抗凝血管支架覆膜每一层涂层近乎为分子层，丝素蛋白大分子链在风干的过程中充分自组装为最稳定的分子构象，以及蚕丝采用去离子水脱胶保持了丝素纤维及再生丝素蛋白大分子链不被破坏，使覆膜具有优越的拉伸性能、爆破强度、顺应性和耐疲劳性，即使拉伸断裂时也不滑移，卓越地承担血流剪切和血管收缩扩张的作用。覆膜不发生内漏，植入后与病灶组织结合紧密不滑移。通过调节丝素蛋白浓度、管状纺织结构几何参数、自组装层数等制备参数获得生物体不同部位物理尺寸和物理性能要求的血管支架覆膜。另一方面，本发明提供的支架覆膜具有优异的细胞相容性、血液相容性和组织相容性。层层组装方式高倍数地提高了抗凝因子的加载，并随着覆膜梯度降解吸收同时持续发挥抗凝功能；丝素蛋白大分子量的调控也同时赋予了水蛭素的控释能力，长期阻止血栓和再狭窄；且覆膜内表面能获得快速内皮化，原位修复血管内膜组织，不会困扰于植入人体后因长期的疲劳损坏而导致装置失效。快速内皮化是抑制血栓形成和再狭窄的根本因素，内膜组织快速形成将彻底恢复血管凝血系统平衡的调节功能。

为使本发明的上述目的、特征和优点能够更加明显易懂，下面结合实施例进一步说明本发明的技术方案。但是本发明不限于所列出的实施例，还应包括在本发明所要求的权利范围内其他任何公知的改变。

首先，此处所称的“一个实施例”或“实施例”是指可包含于本发明至少一个实现方式中的特定特征、结构或特性。在本说明书中不同地方出现的“在一个实施例中”并非均指同一个实施例，也不是单独的或选择性的与其他实施例互相排斥的实施例。

5 实施例 1

本实施例展示一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，包括：

1. 将家蚕生丝加捻合并得 80~120D 丝线组，另一组为蚕丝单丝组，将蚕丝单丝和丝线按 1:50 (g/mL) 的浴比放入去离子水中，于 98~100℃ 沸煮 7 小时，期间多次更换去离子水，然后用去离子水将丝充分清洗干净，
10 置于 60℃ 烘箱内干燥，得到脱胶后的家蚕丝素纤维和熟丝线。

2. 称取脱胶后的家蚕丝素纤维按 1:10 (g/mL) 的浴比溶解于 9.3M 的溴化锂水溶液中，65℃ 处理直至家蚕丝素纤维完全溶解，得家蚕丝素溶解液。将家蚕丝素溶解液灌注于透析袋内，透析袋壁是半透膜，截留分子量为 14~16kDa 范围，将灌注了家蚕丝素溶解液的透析袋置于盛有去离子水的容器内，每隔 2 小时用新的去离子水更换容器内的水，持续透析 3 天，
15 得到纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液。

3. 采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液质量分数为 5%，添加与丝素蛋白质量比为 0.6 的聚乙二醇二缩水甘油醚，搅拌均匀并脱气泡，得到改性丝素蛋白溶液。

4. 将熟丝线采用编结技术在不锈钢棒上编成 30~90° 交织、内径为 2~20 mm 的管状结构，于上述第 3 步的改性丝素蛋白溶液中浸渍 30 秒左右取出，置于 65℃ 以下的热风干燥箱内圆周方向旋转风干。

5. 配置一定浓度聚乙二醇双胺的水溶液，其中含有聚乙二醇双胺 1.5 倍摩尔浓度的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺，少量的 N-羟基琥珀酰亚胺和 2-吗啉乙磺酸，搅拌均匀。将第 4 步的管状覆膜支架浸渍于聚乙二醇双胺溶液中反应 20 分钟后取出室温风干、冲洗再风干，得阳离子化的丝素蛋白管状覆膜。
25

6. 配置水蛭素水溶液 (100U/mL)，将丝素蛋白管状覆膜于水蛭素水溶液中浸渍 20 分钟左右取出，置于 37℃ 以下的鼓风干燥箱内圆周方向旋

-10-

转风干。交替重复 4~6 步骤 5 次，获得蚕丝素复合血管支架覆膜，即蚕丝抗凝血管支架覆膜。

经检测，上述蚕丝抗凝血管支架覆膜具有卓越的力学性能，按照国标检测方法测定轴向抗拉伸强度 $>1.8\text{MPa}$ ，断裂伸长率 $>45\%$ ，圆周向抗拉伸强度 $>7.0\text{MPa}$ ，断裂伸长率 $>130\%$ ，整体水渗漏在 120mmHg 水压下小于 5ml/min.cm^2 。

通过对蚕丝抗凝血管支架覆膜按照溶血率测试方法测定溶血率 $<0.1\%$ ，完全符合非溶血性材料的标准（ $0\sim2\%$ ）。蚕丝抗凝血管支架覆膜通过动物实验无致敏性，按照国标检测细胞毒性 ≤ 1 。同时，蚕丝抗凝血管支架覆膜有显著的抗凝性能，并有持续抗凝效果。

实施例 2

本实施案例展示一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，包括：

1. 将家蚕生丝加捻合并得 $80\sim120\text{D}$ 丝线组，另一组为蚕丝单丝组，将蚕丝单丝和丝线按 $1:50$ (g/mL) 的浴比放入去离子水中，于 $98\sim100^\circ\text{C}$ 沸煮 7 小时，期间多次更换去离子水，然后用去离子水将丝充分清洗干净，置于 60°C 烘箱内干燥，得到脱胶后的家蚕丝素纤维和熟丝线。

2. 称取脱胶后的家蚕丝素纤维按 $1:10$ (g/mL) 的浴比溶解于 9.3M 的溴化锂水溶液中， 65°C 处理直至家蚕丝素纤维完全溶解，得家蚕丝素溶解液。将家蚕丝素溶解液灌注于透析袋内，透析袋壁是半透膜，截留分子量为 50kDa 范围，将灌注了家蚕丝素溶解液的透析袋置于盛有去离子水的容器内，每隔 2 小时用新的去离子水更换容器内的液体，持续透析 3 天，得到纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液。

3. 采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液质量分数为 $5\sim10\%$ ，按质量比 $100:5\sim10$ 配置丝素蛋白与聚乙二醇双胺的混合溶液，向上述混合溶液中添加质量比为丝素蛋白 20% 的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺搅拌均匀、10% 的 N-羟基琥珀酰亚胺和 20% 的 2-吗啉乙磺酸，反应 20 分钟后用去离子水透析 $12\sim48$ 小时，得到聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，再次采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液质量分数为 5% 。

4. 将熟丝线采用编结技术在不锈钢棒上编成 30~90°交织、内径为 2~20 mm 的管状结构，于上述第 3 步的聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液中浸渍 30 秒左右取出，置于 37 °C 以下的鼓风干燥箱内圆周方向旋转风干，得丝素蛋白管状覆膜。

- 5 5. 配置水蛭素水溶液（100U/mL），将丝素蛋白管状覆膜于水蛭素水溶液中浸渍 20 分钟左右取出，置于 37 °C 以下的鼓风干燥箱内圆周方向旋转风干。交替重复 4 和 5 两步涂层各 5 次，获得蚕丝丝素复合血管支架覆膜，即蚕丝抗凝血管支架覆膜。

10 经检测，上述蚕丝抗凝血管支架覆膜具有卓越的力学性能，按照国标检测方法测定轴向抗拉伸强度>2.5MPa，断裂伸长率>70%，圆周向抗拉伸强度>8.0MPa，断裂伸长率>150%，整体水渗漏在 120mmHg 水压下小于 2ml/min.cm²。

15 通过对蚕丝抗凝血管支架覆膜按照溶血率测试方法测定溶血率<0.1%，完全符合非溶血性材料的标准（0~2%）。蚕丝抗凝血管支架覆膜通过动物实验无致敏性，按照国标检测细胞毒性≤1。同时，蚕丝抗凝血管支架覆膜有显著的抗凝性能，并有持续抗凝效果，持续抗凝效果显著优于实施例 1 和 4。

实施例 3

本实施案例展示一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，包括：

- 20 1. 将家蚕生丝加捻合并得 80~120D 丝线组，另一组为蚕丝单丝组，将蚕丝单丝和丝线按 1:50（g/mL）的浴比放入去离子水中，于 98~100°C 煮沸 7 小时，期间多次更换去离子水，然后用去离子水将丝充分清洗干净，置于 60°C 烘箱内干燥，得到脱胶后的家蚕丝素纤维和熟丝线。

- 25 2. 称取脱胶后的家蚕丝素纤维按 1:10（g/mL）的浴比溶解于 9.3M 的溴化锂水溶液中，65°C 处理直至家蚕丝素纤维完全溶解，得家蚕丝素溶解液。将家蚕丝素溶解液灌注于透析袋内，透析袋壁是半透膜，截留分子量为 50kDa 范围，将灌注了家蚕丝素溶解液的透析袋置于盛有去离子水的容器内，每隔 2 小时用新的去离子水更换容器内的水，持续透析 3 天，得到纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液。

3. 采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液质量分数为 5~10%，按质量比 100:5~10 配置丝素蛋白与聚乙二醇双胺的混合溶液，向上述混合溶液中添加质量比为丝素蛋白 20%的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺搅拌均匀、10%的 N-羟基琥珀酰亚胺和 20%的 2-吗啉乙磺酸，反应 20 分钟后用去离子水透析 12~48 小时，得到聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，再次采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定阳离子化的丝素蛋白溶液质量分数为 5%。再向阳离子化的丝素蛋白溶液中加入 100U/mL 凝血酶直接抑制剂水蛭素搅拌均匀并脱气泡，得到改性丝素蛋白溶液。

4. 将熟丝线采用编结技术在不锈钢棒上编成 30~90°交织、内径为 2~20 mm 的管状结构，于上述第 3 步的改性丝素蛋白溶液中浸渍 30 秒左右取出，置于 37 °C 以下的鼓风干燥箱内圆周方向旋转风干。重复浸渍涂层 5 次，获得蚕丝丝素复合血管支架覆膜，即蚕丝抗凝血管支架覆膜。

经检测，上述蚕丝抗凝血管支架覆膜具有卓越的力学性能，按照国标检测方法测定轴向抗拉伸强度>2.8MPa，断裂伸长率>70%，圆周向抗拉伸强度>10.0MPa，断裂伸长率>150%，整体水渗漏在 120mmHg 水压下小于 2ml/min.cm²。

通过对蚕丝抗凝血管支架覆膜按照溶血率测试方法测定溶血率<0.1%，完全符合非溶血性材料的标准（0~2%）。蚕丝抗凝血管支架覆膜通过动物实验无致敏性，按照国标检测细胞毒性≤1。同时，蚕丝抗凝血管支架覆膜有显著的抗凝性能，并有持续抗凝效果，持续抗凝效果显著优于实施例 1 和 4。

实施例 4

本实施案例展示一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，包括：

1. 将家蚕生丝加捻合并得 80~120D 丝线组，另一组为蚕丝单丝组，将蚕丝单丝和丝线按 1:50（g/mL）的浴比放入去离子水中，于 98~100°C 沸煮 7 小时，期间多次更换去离子水，然后用去离子水将丝充分清洗干净，置于 60°C 烘箱内干燥，得到脱胶后的家蚕丝素纤维和熟丝线。

2. 称取脱胶后的家蚕丝素纤维按 1:10（g/mL）的浴比溶解于 9.3M 的

溴化锂水溶液中，65℃处理直至家蚕丝素纤维完全溶解，得家蚕丝素溶解液。将家蚕丝素溶解液灌注于透析袋内，透析袋壁是半透膜，截留分子量为14~16kDa范围，将灌注了家蚕丝素溶解液的透析袋置于盛有去离子水的容器内，每隔2小时用新的去离子水更换容器内的水，持续透析3天，
5 得到纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液。

3. 采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定透析后的丝素蛋白水溶液质量分数为5~10%，按质量比100:5~10配置丝素蛋白与聚乙二醇双胺的混合溶液，向上述混合溶液中添加质量比为丝素蛋白20%的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺搅拌均匀、10%的N-羟基琥珀酰亚胺和20%的2-吗啉乙磺酸，反应20分钟后用去离子水透析12~48小时，得到聚乙二醇双胺
10 阳离子化的丝素蛋白溶液，再次采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定阳离子化的丝素蛋白溶液质量分数为5%。再向阳离子化的丝素蛋白溶液中加入100U/mL凝血酶直接抑制剂水蛭素搅拌均匀并脱气泡，得到改性丝素蛋白溶液。

4. 将熟丝线采用编结技术在不锈钢棒上编成30~90°交织、内径为2~20 mm的管状结构，于上述第3步的改性丝素蛋白溶液中浸渍30秒左右取出，置于37℃以下的鼓风干燥箱内圆周方向旋转风干。重复浸渍涂
15 层5次，获得蚕丝素复合血管支架覆膜，即蚕丝抗凝血管支架覆膜。

经检测，上述蚕丝抗凝血管支架覆膜具有卓越的力学性能，按照国标
20 检测方法测定轴向抗拉伸强度>2.0MPa，断裂伸长率>45%，圆周向抗拉伸强度>7.0MPa，断裂伸长率>130%，整体水渗漏在120mmHg水压下小于7ml/min.cm²。

通过对蚕丝抗凝血管支架覆膜按照溶血率测试方法测定溶血率<0.1%，完全符合非溶血性材料的标准（0-2%）。蚕丝抗凝血管支架覆膜通
25 过动物实验无致敏性，按照国标检测细胞毒性≤1。同时，支架覆膜有显著的抗凝性能，并有持续抗凝效果。

应说明的是，以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非限制，尽管参照较佳实施例对本发明进行了详细说明，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精

—14—

神和范围，其均应涵盖在本发明的权利要求范围当中。

权 利 要 求

1、一种蚕丝抗凝血管支架覆膜，其特征在于：轴向抗拉伸强度 $>1.8\text{MPa}$ ，断裂伸长率 $>45\%$ ，圆周向抗拉伸强度 $>7.0\text{MPa}$ ，断裂伸长率 $>130\%$ ，整体水渗漏在 120mmHg 水压下小于 7ml/min.cm^2 ，溶血率 $<0.1\%$ ，所述蚕丝抗凝血管支架覆膜的持续抗凝大于6个月。

2、一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，其特征在于，该方法包括如下步骤：

(1) 制备脱胶后的家蚕丝素纤维和熟丝线：选取 $40\sim 160\text{D}$ 丝线和蚕丝单丝，所述丝线由家蚕生丝加捻合并获得，将所述蚕丝单丝和丝线按 $1:50$ (g/mL) 的浴比放入去离子水中，在温度为 $98\sim 100^\circ\text{C}$ 的条件下沸煮7小时，并且在沸煮期间多次更换去离子水，直至所述去离子水将所述蚕丝单丝和丝线含有的丝胶充分去除干净，然后将所述蚕丝单丝和丝线置于温度为 60°C 烘箱内干燥，获得脱胶后的家蚕丝素纤维和熟丝线；

(2) 制备家蚕丝素蛋白水溶液：将所述脱胶后的家蚕丝素纤维按 $1:10$ (g/mL) 的浴比溶解于 9.3M 的溴化锂水溶液中，在温度为 $65\pm 10^\circ\text{C}$ 的条件下处理直至家蚕丝素纤维完全溶解，得到家蚕丝素溶解液，将所述家蚕丝素溶解液灌注于透析袋内，所述透析袋的材质为半透膜，截留分子量为 $10\sim 100\text{kDa}$ ，将灌注了所述家蚕丝素溶解液的透析袋置于盛有去离子水的容器内，每隔2小时用新的去离子水更换容器内的液体，持续透析3天，得到纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液；

(3) 制备改性丝素蛋白溶液：采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定所述纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液的质量分数，按质量比 $100:5\sim 10$ 配置丝素蛋白与聚乙二醇双胺的混合溶液，向所述混合溶液中添加质量比为丝素蛋白 20% 的 $1-(3\text{-二甲氨基丙基})\text{-3-乙基碳二亚胺}$ ，并搅拌均匀，再添加质量比为丝素蛋白 10% 的 N-羟基琥珀酰亚胺 和质量比为丝素蛋白 20% 的 2-吗啉乙磺酸 ，反应20分钟后用去离子水透析 $12\sim 48$ 小时，得到聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，再次采用旋转蒸发器浓缩、调整所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，使所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋

白溶液的质量分数为 1~10%，得到改性丝素蛋白溶液；

(4) 制备丝素蛋白管状覆膜：将所述熟丝线采用编结技术在不锈钢棒上编成 30~90° 交织、内径为 2~20 mm 的管状结构，将所述管状结构放入所述改性丝素蛋白溶液中浸渍 30±5 秒取出，置于鼓风干燥箱内在温度小于 37 °C 的条件下沿圆周方向旋转风干，冲洗再风干，获得丝素蛋白管状覆膜；

(5) 配置水蛭素水溶液 0~500U/mL，将所述丝素蛋白管状覆膜放置于所述水蛭素水溶液中浸渍 20±5 分钟取出，置于鼓风干燥箱内，在温度小于 37 °C 的条件下沿圆周方向旋转风干，重复步骤 (4) ~ (5) 2~10 次，获得蚕丝抗凝血管支架覆膜。

3、根据权利要求 2 所述的一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，其特征在于：步骤 (1) 中所述丝线为 80D~120D。

4、根据权利要求 2 所述的一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，其特征在于：步骤 (2) 中所述透析袋的截留分子量为 50kDa 或 14~16kDa。

5、根据权利要求 4 所述的一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，其特征在于，步骤 (3) 中所述按质量比 100:5~10 配置丝素蛋白与聚乙二醇双胺的混合溶液，向所述混合溶液中添加质量比为丝素蛋白 20% 的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺，并搅拌均匀，再添加质量比为丝素蛋白 10% 的 N-羟基琥珀酰亚胺和质量比为丝素蛋白 20% 的 2-吗啉乙磺酸，反应 20 分钟后用去离子水透析 12~48 小时，得到聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，再次采用旋转蒸发器浓缩、调整所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，使所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液的质量分数为 1~10%，替换为：添加与丝素蛋白质量比为 0.6 的聚乙二醇二缩水甘油醚，搅拌均匀并脱气泡。

6、根据权利要求 5 所述的一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，其特征在于，步骤 (4) 中所述置于鼓风干燥箱内在温度小于 37 °C 的条件下沿圆周方向旋转风干，获得丝素蛋白管状覆膜替换为：置于热风干燥箱内在温度小于 65 °C 的条件下沿圆周方向旋转风干，获得管状覆膜支架。

7、根据权利要求 6 所述的一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，

-17-

其特征在于，在步骤（4）之后，步骤（5）之前还包括：制备阳离子化的丝素蛋白管状覆膜：配置并测定聚乙二醇双胺溶液的浓度，所述聚乙二醇双胺溶液包括含有聚乙二醇双胺 1.5 倍摩尔浓度的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺和 2-吗啉乙磺酸，将所述管状覆膜支架浸渍于所述聚乙二醇双胺溶液中反应 20 分钟后取出室温风干、冲洗再风干，得到阳离子化的丝素蛋白管状覆膜。

8、一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，其特征在于，该方法包括如下步骤：

（1）制备脱胶后的家蚕丝素纤维和熟丝线：选取 40~160D 丝线和蚕丝单丝，所述丝线由家蚕生丝加捻合并获得，将所述蚕丝单丝和丝线按 1:50（g/mL）的浴比放入去离子水中，在温度为 98~100℃的条件下沸煮 7 小时，并且在沸煮期间多次更换去离子水，直至所述去离子水将所述蚕丝单丝和丝线含有的丝胶充分去除干净，然后将所述蚕丝单丝和丝线置于温度为 60℃烘箱内干燥，获得脱胶后的家蚕丝素纤维和熟丝线；

（2）制备家蚕丝素蛋白水溶液：将所述脱胶后的家蚕丝素纤维按 1:10（g/mL）的浴比溶解于 9.3M 的溴化锂水溶液中，在温度为 65±10℃的条件下处理直至丝素纤维完全溶解，得到家蚕丝素溶解液，将所述家蚕丝素溶解液灌注于透析袋内，所述透析袋的材质为半透膜，截留分子量为 10~100kDa，将灌注了所述家蚕丝素溶解液的透析袋置于盛有去离子水的容器内，每隔 2 小时用新的去离子水更换容器内的液体，持续透析 3 天，得到纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液；

（3）制备改性丝素蛋白溶液：采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定所述纯化后的家蚕丝素蛋白水溶液的质量分数，按质量比 100:5~10 配置丝素蛋白与聚乙二醇双胺的混合溶液，向所述混合溶液中添加质量比为丝素蛋白 20% 的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺，并搅拌均匀，再添加质量比为丝素蛋白 10% 的 N-羟基琥珀酰亚胺和质量比为丝素蛋白 20% 的 2-吗啉乙磺酸，反应 20 分钟后用去离子水透析 12~48 小时，得到聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，再次采用旋转蒸发器浓缩、调整并测定所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液，使所述聚乙二醇双胺阳离子化的

-18-

丝素蛋白溶液的质量分数为 1~10%，向所述聚乙二醇双胺阳离子化的丝素蛋白溶液中加入 0~500U/mL 凝血酶直接抑制剂水蛭素搅拌均匀并脱气泡，得到改性丝素蛋白溶液；

5 (4) 制备丝素蛋白管状覆膜：将所述熟丝线采用编结技术在不锈钢棒上编成 30~90° 交织、内径为 2~20 mm 的管状结构，将所述管状结构放入所述改性丝素蛋白溶液中浸渍 30±5 秒取出，置于鼓风干燥箱内在温度小于 37 °C 的条件下沿圆周方向旋转风干，重复浸渍涂层 2~10 次，获得蚕丝抗凝血管支架覆膜。

10 9、根据权利要求 8 所述的一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，其特征在于：步骤（1）中所述丝线为 80D~120D。

10、根据权利要求 8 所述的一种蚕丝抗凝血管支架覆膜的制备方法，其特征在于：步骤（2）中所述透析袋的截留分子量为 50kDa 或 14~16kDa。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/110228

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61L 31/10(2006.01)i; A61L 31/14(2006.01)i; A61L 31/16(2006.01)i; A61L 27/34(2006.01)i; A61L 27/54(2006.01)i;
A61L 27/58(2006.01)i; A61L 33/12(2006.01)i; C07K 14/435(2006.01)i; C07K 1/107(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61L,C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNKI, CNABS, SIPOABS, DWPI, CNTXT, USTXT, EPTXT, WOTXT: 蚕丝, 抗凝, 血管支架, 膜, 抗拉伸强度, 断裂伸长率, 水渗漏, 溶血率, 丝素, 丝线, 煮, 丝胶, 脱胶, 溴化锂, 透析, 聚乙二醇双胺, 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺, N-羟基琥珀酰亚胺, 2-吗啉乙磺酸, 编, 管, 浸, 风干, 干燥, 水蛭素, 聚乙二醇二缩水甘油醚, silk, anticoagulat+, vascular stent?, membrane, film, tensile strength, elongation at break, water leakag+, hemolysis rate, silk fibroin, silk thread, boil+, sericin, degum+, lithium bromide, dialysis+, polyethylene glycol diamine, 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide, N-hydroxysuccinimide, 2-morpholineethanesulfonic acid, EDC, NHS, MES, knit+, tube?, soak+, air-dry+, dry+, hirudin, Polyethylene glycol diglycidyl ether

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 112043877 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 08 December 2020 (2020-12-08) claims 1-10	1-10
Y	魏雅丽 (WEI, Yali). "丝素蛋白管状支架制备及其水蛭素改性研究 (Preparation and Hirudin Modification of Silk Fibroin Tubular Scaffold)" 《中国优秀博硕士学位论文全文数据库(硕士)工程科技I辑》 (Chinese Selected Doctoral Dissertations and Master's Theses Full-Text Databases (Master), Engineering Science & Technology I), 15 October 2014 (2014-10-15), ISSN: 1674-0246, pages 9, 12-16, 33, 40	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 August 2021

Date of mailing of the international search report

24 September 2021

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/110228

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	郑忠厚 (ZHENG, Zhonghou). "再生丝素蛋白材料的制备与性能研究 (5 Preparation and Properties of Regenerated Silk Fibroin Materials)" 《中国优秀博士学位论文全文数据库(硕士)工程科技I辑》 (Chinese Selected Doctoral Dissertations and Master's Theses Full-Text Databases (Master), Engineering Science & Technology I), 15 March 2008 (2008-03-15), ISSN: 1674-0246, pages 16-17 and 28	1
Y	王琼玉 (WANG, Qiongyu). "水蛭素改性丝素蛋白抗凝血材料的制备及其性能研究 (Preparation and Characterization of Hirudin Anticoagulant Modified Silk Fibroin Materials)" 《中国优秀博士学位论文全文数据库(硕士)医药卫生科技辑》 (Chinese Selected Doctoral Dissertations and Master's Theses Full-Text Databases (Master), Medicine & Public Health), 15 May 2018 (2018-05-15), ISSN: 1674-0246, pages 12-13 and 28	2-10
Y	CN 106902398 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 30 June 2017 (2017-06-30) description, paragraphs [0022]-[0043]	2-10
Y	CN 106693082 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 24 May 2017 (2017-05-24) description, paragraphs [0024]-[0039]	2-10
Y	CN 106730052 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 31 May 2017 (2017-05-31) description, paragraphs [0022]-[0037]	2-10
Y	CN 102274089 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 14 December 2011 (2011-12-14) description, paragraphs [0029]-[0044]	2-10
Y	CN 102343113 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 08 February 2012 (2012-02-08) description, paragraphs [0023]-[0046]	2-10
A	CN 103285431 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 11 September 2013 (2013-09-11) entire document	1-10
A	CN 110075309 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 02 August 2019 (2019-08-02) entire document	1-10
A	JP 2008073408 A (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY) 03 April 2008 (2008-04-03) entire document	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/110228

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	112043877	A	08 December 2020	None			
CN	106902398	A	30 June 2017	CN	106902398	B	22 May 2020
CN	106693082	A	24 May 2017	CN	106693082	B	22 May 2020
CN	106730052	A	31 May 2017	CN	106730052	B	07 April 2020
CN	102274089	A	14 December 2011	None			
CN	102343113	A	08 February 2012	CN	102343113	B	16 July 2014
CN	103285431	A	11 September 2013	CN	103285431	B	22 July 2015
CN	110075309	A	02 August 2019	None			
JP	2008073408	A	03 April 2008	JP	4541336	B2	08 September 2010
				WO	2008038424	A1	03 April 2008

A. 主题的分类 A61L 31/10(2006.01)i; A61L 31/14(2006.01)i; A61L 31/16(2006.01)i; A61L 27/34(2006.01)i; A61L 27/54(2006.01)i; A61L 27/58(2006.01)i; A61L 33/12(2006.01)i; C07K 14/435(2006.01)i; C07K 1/107(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类														
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) A61L, C07K 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNKI, CNABS, SIPOABS, DWPI, CNTXT, USTXT, EPTXT, WOTXT; 蚕丝, 抗凝, 血管支架, 膜, 抗拉伸强度, 断裂伸长率, 水渗漏, 溶血率, 丝素, 丝线, 煮, 丝胶, 脱胶, 溴化锂, 透析, 聚乙二醇双胺, 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺, N-羟基琥珀酰亚胺, 2-吗啉乙磺酸, 编, 管, 浸, 风干, 干燥, 水蛭素, 聚乙二醇二缩水甘油醚, silk, anticoagulat+, vascular stent?, membrane, film, tensile strength, elongation at break, water leakag+, hemolysis rate, silk fibroin, silk thread, boil+, sericin, degum+, lithium bromide, dialysis+, polyethylene glycol diamine, 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide, N-hydroxysuccinimide, 2-morpholineethanesulfonic acid, EDC, NHS, MES, knit+, tube?, soak+, air-dry+, dry+, hirudin, Polyethylene glycol diglycidyl ether														
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 112043877 A (苏州大学) 2020年 12月 8日 (2020 - 12 - 08) 权利要求1-10</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>魏雅丽. "丝素蛋白管状支架制备及其水蛭素改性研究" 《中国优秀硕士学位论文全文数据库(硕士)工程科技 I 辑》, 2014年 10月 15日 (2014 - 10 - 15), ISSN: 1674-0246, 第9, 12-16, 33, 40页</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>郑忠厚. "再生丝素蛋白材料的制备与性能研究" 《中国优秀硕士学位论文全文数据库(硕士)工程科技 I 辑》, 2008年 3月 15日 (2008 - 03 - 15), ISSN: 1674-0246, 第16-17, 28页</td> <td>1</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	CN 112043877 A (苏州大学) 2020年 12月 8日 (2020 - 12 - 08) 权利要求1-10	1-10	Y	魏雅丽. "丝素蛋白管状支架制备及其水蛭素改性研究" 《中国优秀硕士学位论文全文数据库(硕士)工程科技 I 辑》, 2014年 10月 15日 (2014 - 10 - 15), ISSN: 1674-0246, 第9, 12-16, 33, 40页	1-10	Y	郑忠厚. "再生丝素蛋白材料的制备与性能研究" 《中国优秀硕士学位论文全文数据库(硕士)工程科技 I 辑》, 2008年 3月 15日 (2008 - 03 - 15), ISSN: 1674-0246, 第16-17, 28页	1
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求												
PX	CN 112043877 A (苏州大学) 2020年 12月 8日 (2020 - 12 - 08) 权利要求1-10	1-10												
Y	魏雅丽. "丝素蛋白管状支架制备及其水蛭素改性研究" 《中国优秀硕士学位论文全文数据库(硕士)工程科技 I 辑》, 2014年 10月 15日 (2014 - 10 - 15), ISSN: 1674-0246, 第9, 12-16, 33, 40页	1-10												
Y	郑忠厚. "再生丝素蛋白材料的制备与性能研究" 《中国优秀硕士学位论文全文数据库(硕士)工程科技 I 辑》, 2008年 3月 15日 (2008 - 03 - 15), ISSN: 1674-0246, 第16-17, 28页	1												
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。														
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件														
国际检索实际完成的日期 2021年 8月 20日		国际检索报告邮寄日期 2021年 9月 24日												
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		受权官员 王墩 电话号码 86-(010)-62089179												

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	王琼玉. “水蛭素改性丝素蛋白抗凝血材料的制备及其性能研究” 《中国优秀硕士学位论文全文数据库(硕士)医药卫生科技辑》, 2018年 5月 15日 (2018 - 05 - 15), ISSN: 1674-0246, 第12-13, 28页	2-10
Y	CN 106902398 A (苏州大学) 2017年 6月 30日 (2017 - 06 - 30) 说明书第[0022]-[0043]段	2-10
Y	CN 106693082 A (苏州大学) 2017年 5月 24日 (2017 - 05 - 24) 说明书第[0024]-[0039]段	2-10
Y	CN 106730052 A (苏州大学) 2017年 5月 31日 (2017 - 05 - 31) 说明书第[0022]-[0037]段	2-10
Y	CN 102274089 A (苏州大学) 2011年 12月 14日 (2011 - 12 - 14) 说明书第[0029]-[0044]段	2-10
Y	CN 102343113 A (苏州大学) 2012年 2月 8日 (2012 - 02 - 08) 说明书第[0023]-[0046]段	2-10
A	CN 103285431 A (苏州大学) 2013年 9月 11日 (2013 - 09 - 11) 全文	1-10
A	CN 110075309 A (苏州大学) 2019年 8月 2日 (2019 - 08 - 02) 全文	1-10
A	JP 2008073408 A (JAPAN SCIENCE & TECH AGENCY) 2008年 4月 3日 (2008 - 04 - 03) 全文	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/110228

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	112043877	A	2020年 12月 8日	无	
CN	106902398	A	2017年 6月 30日	CN 106902398	B 2020年 5月 22日
CN	106693082	A	2017年 5月 24日	CN 106693082	B 2020年 5月 22日
CN	106730052	A	2017年 5月 31日	CN 106730052	B 2020年 4月 7日
CN	102274089	A	2011年 12月 14日	无	
CN	102343113	A	2012年 2月 8日	CN 102343113	B 2014年 7月 16日
CN	103285431	A	2013年 9月 11日	CN 103285431	B 2015年 7月 22日
CN	110075309	A	2019年 8月 2日	无	
JP	2008073408	A	2008年 4月 3日	JP 4541336	B2 2010年 9月 8日
				WO 2008038424	A1 2008年 4月 3日