

## (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  
2017年11月2日 (02.11.2017)



(10) 国际公布号  
**WO 2017/186168 A1**

(51) 国际专利分类号:  
*A61L 27/52* (2006.01)    *A61L 31/04* (2006.01)  
*A61L 27/26* (2006.01)    *A61L 31/06* (2006.01)  
*A61L 31/14* (2006.01)    *A61L 26/00* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2017/082425

(22) 国际申请日: 2017年4月28日 (28.04.2017)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
201610286118.4    2016年4月29日 (29.04.2016)    CN

(71) 申请人: 广州迈普再生医学科技有限公司 (MEDPRIN REGENERATIVE MEDICAL TECHNOLOGIES CO., LTD.) [CN/CN]; 中国广东

省广州市高新技术产业开发区科学城揽月路80号E区第三层, Guangdong 510633 (CN)。

(72) 发明人: 林丽敏(LIN, Limin); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城揽月路80号E区第三层, Guangdong 510633 (CN)。 杨亚亚(YANG, Yaya); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城揽月路80号E区第三层, Guangdong 510633 (CN)。 马骋(MA, Cheng); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城揽月路80号E区第三层, Guangdong 510633 (CN)。 邓坤学(DENG, Kunxue); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城揽月路80号E区第三层, Guangdong 510633 (CN)。 袁玉宇(YUAN, Yuyu); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城揽月路80号E区第三层, Guangdong 510633 (CN)。

(54) Title: MEDICAL HYDROGEL COMPOSITION, AND MEDICAL HYDROGEL, PREPARATION METHOD THEREFOR AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: 医用水凝胶组合物, 医用水凝胶及其制备方法与应用



图 9

(57) Abstract: A medical hydrogel composition, a medical hydrogel, a preparation method therefore and an application thereof, and a medical hydrogel kit. The medical hydrogel composition comprises a first component and a second component; the first component comprises polylysine and polyethyleneimine; the second component comprises one or more of 4-arm-polyethylene glycol-succinimidyl glutarate, 4-arm-polyethylene glycol-succinimidyl succinate, and 4-arm-polyethylene glycol-succinimidyl carbonate; the degree of polymerization of the polylysine is 20 or more. The medical hydrogel is formed by reacting the first component with the second component of the medical hydrogel composition. The medical hydrogel kit comprises the medical hydrogel composition and a buffer solution used for dissolving the components of the medical hydrogel composition. The medical hydrogel has a degree of swelling of -10-50%, and can be applied in narrow parts where cranial, spinal and peripheral nerves are densely distributed.

[见续页]



WO 2017/186168 A1

(74) 代理人: 北京林达刘知识产权代理事务所 (普通合伙) (LINDA LIU & PARTNERS); 中国北京市东城区北三环东路36号北京环球贸易中心C座16层, Beijing 100013 (CN)。

(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, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, 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))。

(57) 摘要: 一种医用水凝胶组合物, 一种医用水凝胶及其制备方法与应用, 以及一种医用水凝胶试剂盒。医用水凝胶组合物包括: 第一组分和第二组分, 第一组分包括聚赖氨酸和聚乙烯亚胺; 第二组分包括四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺戊二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺丁二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺碳酸酯中的一种或几种, 其中, 聚赖氨酸的聚合度为20以上。医用水凝胶由医用水凝胶组合物的第一组分和第二组分反应后形成。医用水凝胶试剂盒包括医用水凝胶组合物和用于溶解医用水凝胶组合物各组分的缓冲溶液。该医用水凝胶的溶胀度为-10~50%, 可应用在脑、脊椎以及周围神经分布密集的狭小部位。

## 医用水凝胶组合物，医用水凝胶及其制备方法与应用

### 技术领域

本公开涉及一种医用水凝胶组合物，医用水凝胶及其制备方法与应用，属于生物医药技术领域。

### 背景技术

在临床上，医用水凝胶可被用于体内创面的封闭、防粘连或载药等领域。水凝胶，是以水为分散介质的凝胶，具有三维空间网络结构，其不能在水中溶解，能够在水中溶胀，吸收大量的水分，使水凝胶体积增大。但是，在脑、脊椎以及周围神经分布密集的狭小部位，高溶胀性的水凝胶则会对周围神经造成压迫，而可能干扰机体的正常功能，严重时周围组织可能出现压迫性坏死。

目前在临床上的医用水凝胶大部分具有高溶胀度，比如Coseal混合胶、Duraseal混合胶。根据记载（Evaluation of Absorbable Surgical Sealants: In vitro Testing）这两种胶具有极高的溶胀度，分别在PBS溶液中浸泡三天，重量相应增加了558%，98%。

专利文件CN101843925A提供了一种低溶胀水凝胶，水凝胶的溶胀度大约-50%至大约50%。但是该专利中使用的原料是三赖氨酸，价格昂贵，并且所制得的低溶胀水凝胶呈碱性。由于在人体中，大部分组织的环境为中性，若植入物为碱性，则对周围细胞会产生较为严重的刺激作用。

### 发明内容

#### 技术问题

有鉴于此，本公开要解决的技术问题是，提供一种生物相容性好、溶胀度低，具有良好的生物降解性并且成本较低的医用水凝胶组合物及由该医用水凝胶组合物制备得到的医用水凝胶。进一步地，还提供一种对组织无刺激的医用水凝胶。

#### 解决方案

为了解决上述技术问题，本公开提供了一种医用水凝胶组合物，包括第一组分和第二组分，所述第一组分包括聚赖氨酸和聚乙烯亚胺；所述第二组分包括四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺戊二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺丁二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺碳酸酯中的一种或几种，其中，所述聚赖氨酸的聚合度为20以上，优选为25~35。

对于上述医用水凝胶组合物，在一种具体的实现方式中，在所述第一组分中，所述聚赖氨酸与所述聚乙烯亚胺的质量比为0.1~10。

对于上述医用水凝胶组合物，在一种具体的实现方式中，所述聚赖氨酸为 $\epsilon$ -聚赖氨酸和/或聚-L-赖氨酸。

对于上述医用水凝胶组合物，在一种具体的实现方式中，所述 $\epsilon$ -聚赖氨酸的重均分子量为3000~5000Da。

对于上述医用水凝胶组合物，在一种具体的实现方式中，所述聚-L-赖氨酸的重均分子量为7500~300000Da，优选100000~200000Da。

对于上述医用水凝胶组合物，在一种具体的实现方式中，所述聚乙烯亚胺的数均分子量为1000~3500Da，优选为1500~2000Da。

对于上述医用水凝胶组合物，在一种具体的实现方式中，所述四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺戊二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺丁二酸酯和四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺碳酸酯的重均分子量均为2000~40000Da，优选为10000~20000Da。

对于上述医用水凝胶组合物，在一种具体的实现方式中，所述医用水凝胶组合物负载有药物或活性因子，优选地，所述第一组分和/或第二组分中含有药物或活性因子。

本公开还提供了一种医用水凝胶，其由本发明的医用水凝胶组合物的第一组分和第二组分反应后形成；优选地，所述医用水凝胶由所述第一组分和所述第二组分在缓冲溶液中反应后形成。

对于上述医用水凝胶，在一种具体的实现方式中，所述医用水凝胶由所述第一组分溶于第一缓冲溶液中，所述第二组分溶于第二缓冲溶液中，然后混合、反应后形成。

对于上述医用水凝胶，在一种具体的实现方式中，所述医用水凝胶的溶胀度为-10~50%，优选为5~47%。

对于上述医用水凝胶，在一种具体的实现方式中，所述医用水凝胶浸泡于水中后，浸泡液的pH值为7~9.5，优选7~8。

对于上述医用水凝胶，在一种具体的实现方式中，所述第一缓冲溶液的pH值为7.0~7.4或9.1~10.0，优选7.0~7.4；所述第二缓冲溶液的pH值为5.0~6.0或7.0~7.4，优选7.0~7.4。

本公开还提供了一种对于上述医用水凝胶的制备方法，包括以下步骤：

将所述第一组分溶于第一缓冲溶液中，得到第一混合液；

将所述第二组分溶于第二缓冲溶液中，得到第二混合液；

将所述第一混合液和第二混合液混合，得到医用水凝胶。

对于上述医用水凝胶的制备方法，在一种具体的实现方式中，所述第一混合液中，所述聚赖氨酸的浓度为1~50mg/mL，所述聚乙烯亚胺的浓度为1~50mg/mL；所述第二混合液中，所述四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺戊二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺丁二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺碳酸酯或其混合物的浓度为100~200mg/mL，所述第一混合液与所述第二混合液等体积混合，得到医用水凝胶。

对于上述医用水凝胶的制备方法，在一种具体的实现方式中，所述第二混合液中还包括显色剂，优选地，所述显色剂包括FD&C Blue #1、FD&C Blue #2、亚甲基蓝中的一种或几种。

本发明还提供一种医用水凝胶试剂盒，其包括本发明的医用水凝胶组合物以及用于溶解医用水凝胶组合物的各组分的缓冲溶液。

对于上述医用水凝胶试剂盒，在一种具体的实现方式中，所述医用水凝胶组合物的第一组分与第二组分是分开储存的；优选地，所述医用水凝胶组合物的第一组分中的聚赖氨酸和聚乙烯亚胺是分开储存的。

本发明还提供一种对于上述医用水凝胶在止血辅助物、防止肺部漏气或脑脊液渗漏制品、防粘连制品中的应用。

### 有益效果

在本公开中，所制备得到的医用水凝胶的溶胀度低，仅为-10%~50%，可应用在脑、脊椎以及周围神经分布密集的狭小部位。本公开制备得到的医用水凝胶的生物相容性好，且具有良好的抗菌性和生物降解性。另外，本公开的医用水凝胶也能够具备对组织也无刺激的效果。

根据下面参考附图对示例性实施例的详细说明，本公开的其它特征及方面将变得清楚。

### **附图说明**

包含在说明书中并且构成说明书的一部分的附图与说明书一起示出了本公开的示例性实施例、特征和方面，并且用于解释本公开的原理。

图1示出细胞在实施例1的医用水凝胶I的浸提液中培养24h的生长状态；

图2示出细胞在实施例4的医用水凝胶IV的浸提液中培养24h的生长状态

图3示出五周解剖时大鼠皮下植入实施例4的医用水凝胶IV的降解情况；

图4示出五周解剖时大鼠皮下植入对比例4的医用水凝胶XI的降解情况；  
图5示出五周解剖时大鼠皮下植入实施例4的医用水凝胶IV的部位组织切片图；  
图6示出五周解剖时大鼠皮下植入对比例4的医用水凝胶XI的部位组织切片图；  
图7示出将试验动物狗的硬脑膜切开的图片；  
图8示出试验动物狗的硬脑膜缝合后的图片；  
图9示出试验动物狗的硬脑膜缝合后注入医用水凝胶的图片；  
图10示出试验动物狗的硬脑膜注胶后放回颅骨的图片；  
图11示出喂养4周后，试验动物狗的硬脑膜的切口位置的愈合情况修复效果图。

## 具体实施方式

以下将参考附图详细说明本公开的各种示例性实施例、特征和方面。在这里专用的词“示例性”意为“用作例子、实施例或说明性”。这里作为“示例性”所说明的任何实施例不必解释为优于或好于其它实施例。

另外，为了更好地说明本公开，在下文的具体实施方式中给出了众多的具体细节。本领域技术人员应当理解，没有某些具体细节，本公开同样可以实施。在另外一些实例中，对于本领域技术人员熟知的方法、手段、器材和步骤未作详细描述，以便于凸显本公开的主旨。

本公开提供一种医用水凝胶组合物以及由该医用水凝胶组合物的不同组分反应获得的医用水凝胶。本公开的医用水凝胶组合物主要包括含有亲核试剂的第一组分和含有亲电试剂的第二组分，所述亲核试剂包括聚赖氨酸和聚乙烯亚胺（PEI），所述亲电试剂包括四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺戊二酸酯（4-arms-PEG-SG）、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺丁二酸酯（4-arms-PEG-SS）、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺碳酸酯（4-arms-PEG-SC）中的一种或几种。

其中，所述第一组分和第二组分可以是分离的，在使用时将第一组分和第二组分混合。优选地，所述第一组分中的聚赖氨酸和聚乙烯亚胺（PEI）也是分离的，在使用之前几个小时或使用时将聚赖氨酸和聚乙烯亚胺（PEI）混合。

在实际应用的过程中，聚赖氨酸和聚乙烯亚胺（PEI）可以分别单独储存，使用前或使用后再溶解于同一溶剂中。为了使用方便，也可以将聚赖氨酸在溶剂中预先溶解的形式储存，例如可以溶解到少量的缓冲溶液中，使用前采用缓冲溶液进行稀释，也可以按照使用时的浓度溶解于缓冲溶液中储存。使用时，将溶解于缓冲溶液中的聚赖氨酸与

聚乙烯亚胺 (PEI) 混合。所述第二组分在使用前或使用后再溶解于溶剂中。本公开对所述的医用水凝胶组合中的各组分的储存方式没有限制, 所属技术领域人员可以根据需要, 选择具体的储存方式, 均在本公开的范围之内。

本公开的所述聚赖氨酸可以为 $\epsilon$ -聚赖氨酸和/或聚-L-赖氨酸, 所述聚赖氨酸的聚合度为20以上, 优选25~35之间。本公开加入聚合度在20以上的聚赖氨酸, 能够增大交联密度, 使平衡溶胀度降低。其中,  $\epsilon$ -聚赖氨酸的重均分子量优选为3000~5000Da, 聚-L-赖氨酸的重均分子量优选为7500~300000Da, 优选为100000~200000Da。所述聚乙烯亚胺 (PEI) 的数均分子量为1000~3500Da, 优选为1500~2000Da。

其中, 所述聚赖氨酸与所述聚乙烯亚胺的质量比为0.1~10。

本公开的医用水凝胶组合物的第二组分包含的四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺戊二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺丁二酸酯和四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺碳酸酯的重均分子量均为2000~40000Da, 优选为10000~20000Da。

一般而言, 本公开所述的聚赖氨酸 (包括  $\epsilon$ -聚赖氨酸和聚-L-赖氨酸), 可以以其盐酸盐、氢溴酸盐或其他盐的形式存在, 均在本公开所述范围内。

根据本公开的医用水凝胶组合物, 所述医用水凝胶组合物负载有药物或活性因子。优选地, 所述第一组分和/或第二组分中含有药物或活性因子。一般而言, 所述药物可以是抗菌剂、抗炎症药物、抗癌药物等, 用于防止/降低术后的感染风险或抑制癌细胞生长。所述活性因子可以是生长因子等, 用于促进组织生长。

所述药物和/或活性因子的加入方式是: 将药物和/或活性因子加入第一组分和/或第二组分中。一般而言, 优选将药物添加至第二组分中。另外, 通过化学改性方法, 可以将药物接枝在第一组分中。

在另一实施方式中, 本公开还提供一种医用水凝胶, 其由本公开的医用水凝胶组合物的第一组分溶于第一缓冲溶液中, 医用水凝胶组合物的第二组分溶于第二缓冲溶液中, 然后再进行混合、反应后形成。

根据本公开的医用水凝胶, 其中, 所述医用水凝胶的溶胀度为-10~50%, 优选为5~47%。

具体而言, 本公开所述的医用水凝胶的溶胀度是指, 当交联有效完成时医用水凝胶形成的时刻和将医用水凝胶以自由状态放在生理盐水或PBS溶液中24小时后的时刻 (在该时间点可以合理地假设水凝胶已经达到了其平衡溶胀的状态) 之间的体积或重量的变化。可以用以下公式表示:

溶胀度%=[(在24h的重量-初始形成重量)/初始形成重量]×100%。

根据所述医用水凝胶组合物中的第一组分和第二组分混合后形成的医用水凝胶，将该医用水凝胶浸泡于水中时，所得到的浸泡液的pH值为7~9.5，优选7~8。

本公开所述的医用水凝胶的酸碱性（pH值）或所述浸泡液的pH值，是通过以下方法测得：将一定量医用水凝胶置于纯水中，纯水的重量为医用水凝胶的80倍，恒温37℃放置24h，测试浸泡液的pH值。

优选地，用于溶解所述亲核试剂的第一缓冲溶液的pH值为7.0~7.4或9.1~10.0，用于溶解所述亲电试剂的第二缓冲溶液的pH值为5.0~6.0或7.0~7.4。

溶解亲核试剂、亲电试剂使用的溶剂pH值对所制成的水凝胶的pH有较大影响。当用于溶解所述亲核试剂的缓冲溶液的pH值为7.0~7.4时，所制得的医用水凝胶接近中性，对组织的刺激性小，有利于细胞、组织的生长。当溶解亲核试剂和亲电试剂的缓冲溶液的pH值均为7.0~7.4时，所制得的医用水凝胶呈现中性，对组织和细胞没有刺激性，更适合细胞、组织的生长。

在又一种实施方式中，本公开还提供一种医用水凝胶的制备方法，

将第一组分溶于第一缓冲溶液中，得到第一混合液；

将第二组分溶于第二缓冲溶液中，得到第二混合液；

将第一混合液和第二混合液混合，得到医用水凝胶；

其中，所述第一组分包括聚赖氨酸和聚乙烯亚胺；所述第二组分包括四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺戊二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺丁二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺碳酸酯中的一种或几种。

本公开的医用水凝胶的制备方法中的第一混合液和第二混合液混合后，例如可以使用双联混合器混合，第一混合液中的亲核试剂（聚赖氨酸和聚乙烯亚胺）与第二混合液中的亲电试剂（四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺戊二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺丁二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺碳酸酯中的一种或几种）发生迈克尔加成反应，可以快速成胶，即生成本公开的医用水凝胶。该医用水凝胶具有低溶胀的优良性质，并且具有良好的生物相容性、降解性和抗菌效果。

优选地，用于溶解所述亲核试剂的第一缓冲溶液的pH值为7.0~7.4或9.1~10.0，用于溶解所述亲电试剂的第二缓冲溶液的pH值为5.0~6.0或7.0~7.4。进一步地，当用于溶解所述亲核试剂的第一缓冲溶液的pH值为7.0~7.4，得到的医用水凝胶呈中性。

优选地，在第一混合液中，所述聚赖氨酸浓度为1~50mg/mL，所述聚乙烯亚胺的

浓度为1~50mg/mL；在第二混合液中，所述四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺戊二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺丁二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺碳酸酯或其混合物的浓度为100~200mg/mL，所述第一混合液与所述第二混合液等体积混合，得到医用水凝胶。

根据本公开的医用水凝胶的制备方法，进一步地，可以在包含亲电试剂的第二混合液中加入蓝色显色剂，可选择的蓝色显色剂包括：FD&C Blue #1、FD&C Blue #2、亚甲基蓝等。

在又一种实施方式中，本公开还提供一种医用水凝胶试剂盒，其包括根据本公开所述的医用水凝胶组合物以及本公开的第一缓冲溶液和第二缓冲溶液。

根据本公开所述的医用水凝胶试剂盒，其包括：第一组分、第二组分、第一缓冲溶液和第二缓冲溶液，所述第一组分包括聚赖氨酸和聚乙烯亚胺；所述第二组分包括四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺戊二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺丁二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺碳酸酯中的一种或几种，其中，所述聚赖氨酸的聚合度为20以上，优选为25~35。

根据本公开所述的医用水凝胶试剂盒，其中，所述第一组分和第二组分可以是分开储存的，在使用时将第一组分和第二组分混合。优选地，所述第一组分中的亲核试剂聚赖氨酸和聚乙烯亚胺（PEI）也可以分开储存，在使用之前几个小时或使用时将聚赖氨酸和聚乙烯亚胺（PEI）混合。

在具体的医用水凝胶试剂盒中，聚赖氨酸和聚乙烯亚胺（PEI）可以分别单独储存，使用前或使用后再溶解于同一溶剂中。为了不同的使用需要，可以将聚赖氨酸预先溶解于第一缓冲溶液中储存，例如可以溶解到少量的第一缓冲溶液中，使用前进行稀释，也可以按照使用时的浓度溶解于第一缓冲溶液中储存。使用时，将溶解于第一缓冲溶液中的聚赖氨酸与未溶解的聚乙烯亚胺（PEI）混合。

另外，本公开的第二组分可以单独储存，使用前溶解于溶剂中。本公开对所述的医用水凝胶试剂盒中各组分的储存方式和使用方式没有限制，可以根据需要，选择适合的储存方式和使用方式。

在又一种实施方式中，本公开所述的医用水凝胶可用于止血辅助物、防止肺部漏气或脑脊液渗漏制品、防粘连制品等，如：动静脉重建缝线针眼封堵、硬脑膜缝合针眼封堵、硬脑膜重建贴合封堵、防止肺切除术后肺漏气、脊椎硬膜部位防粘连等应用中。

## 实施例

下面将结合实施例对本公开的实施方案进行详细描述，但是本领域技术人员将会

理解，下列实施例仅用于说明本公开，而不应视为限定本公开的范围。实施例中未注明具体条件者，按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市购获得的常规产品。

4-arms-PEG-SG（北京键凯科技有限公司）、4-arms-PEG-SS（北京键凯科技有限公司）、4-arms-PEG-SC（北京键凯科技有限公司）、 $\epsilon$ -聚赖氨酸（上海研拓生物科技有限公司）、聚-L-赖氨酸（上海纪宁实业有限公司）、聚乙烯亚胺（陶氏化学(中国)有限公司）、三赖氨酸（sigma公司）、4-arm-PEG-SH（北京键凯科技有限公司）。

### 实施例1

取0.5g的4-arms-PEG-SG（重均分子量15kDa，下同）溶于5mL的pH为5.60的酸性磷酸氢二钠缓冲溶液中，得到浓度为100mg/mL的溶液A；取20mg的 $\epsilon$ -聚赖氨酸（重均分子量3500Da，聚合度25~35，下同）和80mg的聚乙烯亚胺（数均分子量1800Da，下同）溶于5mL的pH为9.90的碱性缓冲溶液中，得到浓度为20mg/mL的溶液B；将溶液A和溶液B通过双联混合器同等剂量喷出，形成医用水凝胶I。

### 实施例2

取0.5g的4-arms-PEG-SG溶于5mL的pH为5.60的酸性磷酸氢二钠缓冲溶液中，得到浓度为100mg/mL的溶液A；取50mg的 $\epsilon$ -聚赖氨酸和50mg的聚乙烯亚胺溶于5mL的pH为7.4的生理盐水中，得到浓度为20mg/mL的溶液B；将溶液A和溶液B通过双联混合器同等剂量喷出，形成医用水凝胶II。

### 实施例3

取0.75g的4-arms-PEG-SG溶于5mL pH为5.60的酸性磷酸氢二钠缓冲溶液中，得到浓度为150mg/mL的溶液A，在溶液A中加入FD&C Blue#1显色剂；取100mg 聚-L-赖氨酸（重均分子量150kDa，下同）和25mg的聚乙烯亚胺溶于5mL的pH为7.4的生理盐水中，得到浓度为25mg/mL的溶液B；将溶液A和溶液B通过双联混合器同等剂量喷出，形成医用水凝胶III。

### 实施例4

取0.5g的4-arms-PEG-SG溶于2.5mL的pH为7.4的生理盐水中，得到浓度为200mg/mL的溶液A，在溶液A中加入FD&C Blue#1显色剂；取10mg的 $\epsilon$ -聚赖氨酸和90mg的聚乙烯亚胺溶于2.5mL的pH为7.4的生理盐水中，得到浓度为40mg/mL的溶液B；将溶液A和溶液B通过双联混合器同等剂量喷出，形成医用水凝胶IV。

### 实施例5

取0.25g的4-arms-PEG-SS（重均分子量15kDa，下同）溶于2.5mL的pH为7.4的生理盐水中，得到浓度为100mg/mL的溶液A，在溶液A中加入FD&C Blue#1显色剂；取5mg的 $\epsilon$ -聚赖氨酸和45mg的聚乙烯亚胺溶于2.5mL的pH为7.4的生理盐水中，得到浓度为20mg/mL的溶液B；将溶液A和溶液B通过双联混合器同等剂量喷出，形成医用水凝胶V。

### 实施例6

取0.25g的4-arms-PEG-SS和0.25g的4-arms-PEG-SC(重均分子量15 kDa，下同)溶于2.5mL的pH为5.60的酸性磷酸氢二钠缓冲溶液中，得到浓度为200mg/mL的溶液A，在溶液A中加入FD&C Blue#1显色剂；取100mg的聚-L-赖氨酸和25mg的聚乙烯亚胺溶于2.5mL的pH为7.4的生理盐水中，得到浓度为50mg/mL的溶液B；将溶液A和溶液B通过双联混合器同等剂量喷出，形成医用水凝胶VI。

### 实施例7

取0.5g的4-arms-PEG-SC溶于5.0mL的pH为7.4的生理盐水中，得到浓度为100mg/mL的溶液A，在溶液A中加入FD&C Blue#1显色剂；取60mg的 $\epsilon$ -聚赖氨酸和90mg的聚乙烯亚胺溶于5.0mL的pH为7.4的生理盐水中，得到浓度为30mg/mL的溶液B；将溶液A和溶液B通过双联混合器同等剂量喷出，形成医用水凝胶VII。

### 对比例1

取0.5g的4-arm-PEG-SH（重均分子量15kDa）溶于2.5mL pH为6.0的磷酸二氢钠的缓冲溶液中，得到浓度为200mg/mL的溶液A；取0.5g的4-arms-PEG-SG溶于2.5mL pH为9.6的磷酸氢二钠—碳酸钠缓冲溶液中，得到浓度为200mg/mL的溶液B。将溶液A和溶液B通过双联混合器喷出，形成医用水凝胶VIII。

### 对比例2

使用购买的Duraseal注射器（所述注射器是双联注射器，其中包含有亲核试剂及用于溶解所述亲核试剂的缓冲溶液1，亲电试剂及用于溶解所述亲电试剂的缓冲溶液2，具体的所述亲核试剂是三赖氨酸，缓冲溶液1是pH约为10的硼酸盐缓冲溶液；所述亲电试剂是4-arm-PEG-SG，缓冲溶液2是pH约为4.5的磷酸盐缓冲溶液），通过双联混合器将溶解在缓冲溶液1中的亲核试剂和溶解在缓冲溶液2中的亲电试剂同等剂量喷出，形成医用水凝胶IX。

### 对比例3

取0.5g的4-arm-PEG-SG溶于2.5mL的pH为7.4的生理盐水中，得到浓度为200mg/mL的溶液A；取0.1g的聚乙烯亚胺溶于2.5mL的pH为7.4的生理盐水中，得到浓度为40mg/mL

的溶液B；将溶液A和溶液B通过双联混合器同等剂量喷出，形成医用水凝胶X。

#### 对比例 4

取0.5g的4-arm-PEG-SG溶于2.5mL的pH为6.0的磷酸二氢钠的缓冲溶液中，得到浓度为200mg/mL的溶液A；取0.1g的 $\epsilon$ -聚赖氨酸溶于2.5mL的pH为9.6的磷酸氢二钠-碳酸钠缓冲溶液中，得到浓度为40mg/mL的溶液B。将溶液A和溶液B通过双联混合器同等剂量喷出，形成医用水凝胶XI。

测定实施例1-7制备得到的医用水凝胶I-VII以及对比例1-2制备得到的医用水凝胶VIII-IX的溶胀度，并且将上述医用水凝胶浸泡于纯水中，测定所得到的浸泡液的pH值。结果如下表1所示：

表1

测试对象	溶胀度	pH 值
实施例 1	21.61%	9.10
实施例 2	18.04%	7.31
实施例 3	7.37%	7.44
实施例 4	43.34%	7.02
实施例 5	37.92%	7.15
实施例 6	12.56%	7.30
实施例 7	40.68%	7.21
对比例 1	129.05%	8.64
对比例 2	198.30%	8.55

从上述结果可以看出，本公开实施例1-7所制备得到的医用水凝胶I-VII的溶胀度远低于对比例1-2制备得到的医用水凝胶VIII-IX。在实施例1-7中，交联密度增大，溶胀度相比对比例1-2更低。

在实施例1和对比例1-2中溶解亲电试剂、亲核试剂的溶剂分别为酸性溶液、碱性溶液，其所对应的医用水凝胶的浸泡液均为碱性。在实施例2-7中，用于溶解亲核试剂的缓冲溶液为中性，制得的医用水凝胶的浸泡液为中性。上述结果表明溶解亲核试剂的溶剂为中性时，所制备的医用水凝胶的浸泡液为中性，更接近人体生理环境，因此该条件制备的医用水凝胶在使用时更安全。

#### 细胞毒实验

根据标准GB/T16886.5-2005，通过浸提液接触培养细胞，对细胞形态、增殖观察，评价实施例1和实施例4所制备的医用水凝胶对体外细胞的毒性作用。

实验的具体过程为：实验组：用血清培养基按照0.1g/mL的比例浸提医用水凝胶，

所得到的浸提液定义为100%浓度的浸提液；将所述100%浓度的浸提液采用血清培养基进行梯度稀释，稀释后的浓度梯度为100%，50%和25%，采用所述浓度梯度的浸提液培养细胞；control组：仅采用血清培养基，其余细胞培养条件与实验组相同。分别采用实施例1的医用水凝胶I和实施例4的医用水凝胶IV进行浸提液的配制，浸提温度为(37±1)℃，浸提时间为(24±2)h，细胞培养条件：37℃无菌二氧化碳培养箱培养。

图1示出细胞在实施例1的医用水凝胶I的浸提液中培养24h的生长状态；图2示出细胞在实施例4的医用水凝胶IV的浸提液中培养24h的生长状态。由图1可知，实施例1的医用水凝胶I的浸提液与control组相比，医用水凝胶I的100%浓度的浸提液对L929细胞生长有较大影响，随着浸提液浓度的降低，细胞毒性呈减少趋势，细胞的生长状态接近control组细胞生长状态。

实施例1中所制备的医用水凝胶I呈碱性，证明了碱性的浸提液在一定程度上会影响细胞的生长。

由图2可知，细胞在医用水凝胶IV的100%浓度的浸提液中生长状态接近control组，随着浸提液浓度降低，细胞毒性呈减少趋势，细胞生长呈较好趋势，细胞的生长状态优于control组细胞生长状态。实施例4所制备的医用水凝胶IV呈中性，从而说明中性pH环境的浸提液对L929细胞生长无任何阻碍作用，中性的医用水凝胶在人体使用中更加安全。

### 抗菌性评价实验

使用琼脂扩散法进行抗菌性评价实验：取已灭菌的肉汤琼脂培养基溶化后倒入直径为10cm的平皿约20mL，待其凝固，得到琼脂平板。用灭菌棉签蘸取实验菌液均匀涂布于琼脂平板上，每块琼脂平板上涂布一种实验菌，然后用直径为10mm的无菌钢圈均匀打孔，每块打3个孔，去除孔内琼脂后将医用水凝胶或ε-聚赖氨酸注于孔中，每孔注入相同体积溶液形成的医用水凝胶或ε-聚赖氨酸，37℃恒温培养24h后取出，结果可以看出，在每个孔的外周均有一个未生长细菌的环，即为抑菌环。重复实验2次，并计算抑菌环有效直径的大小。

其中，抑菌环有效直径(mm)=抑菌环实际直径(mm)-孔径(10mm)。

结果判断：抑菌环有效直径小于10mm为低度敏感或耐药，抑菌环有效直径在10-15mm之间为中度敏感，抑菌环有效直径大于15mm为高度敏感。

由于ε-聚赖氨酸常态为粉末，遇水溶解，为了与本公开的医用水凝胶作更好的对比，ε-聚赖氨酸采用纸片法，即配制一定浓度的ε-聚赖氨酸溶液（40mg/mL），将溶液滴在直径为8mm的纸片液上，晾干后将晾干的纸片置于营养琼脂平板中。

选择实施例4的医用水凝胶IV、实施例5的医用水凝胶V、对比例3-4的医用水凝胶X-XI以及 $\epsilon$ -聚赖氨酸溶液进行抗菌实验，选用的菌种为金黄色葡萄球菌和大肠杆菌，浓度约为 $10^6$  cfu/mL。抑菌环有效直径的大小如下表2所示：

表 2

实验对象	金黄色葡萄球菌/mm	大肠杆菌/mm
实施例 4	11.5	10.2
实施例 5	11.3	10.0
对比例 3	9.2	9.0
对比例 4	5.7	5.5
$\epsilon$ -聚赖氨酸	4.3	4.1

### 体外及体内降解实验

采用实施例4的医用水凝胶IV进行体外及体内降解实验，并在不同的时间点观察医用水凝胶IV的降解情况。其中，体外降解实验的方法如下：将实施例4中制备得到的溶液A和溶液B等体积注入直径为6mm，高为7mm的软管，制备得到水凝胶。取出水凝胶，将水凝胶放在透明玻璃瓶中并加入pH值为 $7.2\pm 0.2$ 的PBS缓冲溶液，完全浸没水凝胶，密封玻璃瓶，并将玻璃瓶放置在 $37\pm 1$  °C恒温箱中，于实验后一周、三周、五周观察该水凝胶，并记录水凝胶的降解情况，结果如表3所示。

体内降解实验的方法如下：选健康的实验大鼠8只，随机分成4组，每组2只。然后麻醉大鼠，取实施例4的医用水凝胶IV植入大鼠腹部皮下，闭合创面，正常喂养。于手术后一周、三周、五周、三个月进行解剖（每个时间点随机选择一组进行解剖），观察医用水凝胶IV在大鼠体内的降解情况。结果如表3所示：

表3

降解环境	观察项目	1w	3w	5w	3M
体外	肉眼是否可见	可见	可见	不可见	---
	胶体形态	块状	薄膜状	---	---
体内	肉眼是否可见	可见	可见	不可见	不可见
	胶体形态	块状	不规则	---	---
	残留量	多	少量	极少	无

**注：**“---”表示无数据。

按照上述体外降解实验和体内降解实验的方法，分别取实施例5的医用水凝胶V及实施例7的医用水凝胶VII进行体外降解实验和体内降解实验，结果与实施例4的观察结果

(表3)一致。

从实验结果可知，本公开的医用水凝胶在三周时仍能够保持着水凝胶的形态，五周时肉眼已看不到水凝胶，并且三个月时水凝胶已经完全降解。通常创面愈合需要一定的时间，组织粘连、脑脊液渗漏一般出现在手术后两周左右，本公开的水凝胶在三周时仍可以基本保持水凝胶的形态，有利于促进创面的愈合，降低组织粘连与脑脊液渗漏的风险。

### 体内降解对比实验

麻醉大鼠，分别取实施例4医用水凝胶IV和对比例4制备的医用水凝胶XI移入大鼠腹部皮下，闭合创面，于手术后三周、五周、八周进行解剖，观察医用水凝胶的降解情况。并取医用水凝胶附近的组织做组织切片，观察医用水凝胶与组织的生物相容性。并根据炎症与坏死评分标准表、以及纤维增生与修复评分标准进行综合评分，综合评分的计算方法为：综合评分=(炎症与坏死评分的总计1)×2+(纤维增生与修复评分的总计2)，计算得到的总分即为综合评分，所述综合评分为仅限于植入物周围面积百分比总分。

其中，图3示出五周解剖时大鼠皮下植入实施例4的医用水凝胶IV的降解情况；图4示出五周解剖时大鼠皮下植入对比例4的医用水凝胶XI的降解情况。如图3所示，五周解剖时大鼠皮下植入部位有大量的增生毛细血管，皮下无积液，无坏死；已经无法找寻到实施例4的医用水凝胶IV，降解明显（图中黑色粒状物为缝线）。如图4所示，五周解剖时大鼠皮下植入部位仍旧可以看到对比例4的医用水凝胶XI的存在，并且材料降解不明显（图中黑色粒状物为缝线，囊肿部分为纤维囊包裹未降解的水凝胶）。

图5示出五周解剖时大鼠皮下植入实施例4的医用水凝胶IV的部位组织切片图（20×）。如图5所示，植入材料（实施例4的医用水凝胶IV）呈细颗粒状。植入材料周边可见少量纤维组织增生，其间可见少量淋巴细胞浸润（1-5个/PHF），较多巨噬细胞浸润（5-10个/HPF），较多毛细血管增生（4-7个/HPF）。植入材料周边可见细带状囊腔壁的纤维化囊腔形成。其炎症与坏死评分结果如表4所示，纤维增生与修复评分结果如表5所示，综合评分为9。

表 4

细胞类型/反应	分值				
	0	1	2	3	4
中性粒细胞	0	1-5个/PHF*	5-10个/ PHF	>10个/PHF	充满切面
淋巴细胞	0	1-5个/PHF	5-10个/PHF	>10个/PHF	充满切面
浆细胞	0	1-5个/PHF	5-10个/PHF	>10个/PHF	充满切面
巨噬细胞	0	1-5个/PHF	5-10个/PHF	>10个/PHF	充满切面
多核巨细胞	0	1-2个/HPF	3-5个/HPF	>5个/HPF	成片浸润
变性或坏死	0	微小 (<20% <sup>Δ</sup> )	轻微 (21-40%)	中等 (41%-70%)	严重 (>70%)
(总计1) ×2	6				
PHF*=每高倍镜 (400x) <sup>Δ</sup> 表示占整个切面的面积百分比。					

表 5

反应	分值				
	0	1	2	3	4
纤维组织增生	0	微量毛细血管增生 (1-3个/PHF), 灶状, 1-3萌芽灶成纤维细胞增生	4-7个毛细血管团 (4-7个/PHF) 伴成纤维细胞增生	宽带状毛细血管 (8-20个/PHF) 和成纤维细胞增生	广泛的带状毛细血管 (>20个/PHF) 和成纤维细胞增生
纤维化囊腔形成	0	细带状囊腔壁 (<10层)	中等厚带状 (10-50层)	厚带状 (50-100层)	广泛带状 (>100层)
脂肪浸润	0	植入物周围微量脂肪细胞伴纤维化 (<20%)	植入物周围少量脂肪细胞和纤维化层 (21-40%)	植入物周围可见狭长和较大范围脂肪细胞聚集 (41-70%)	植入物周围可见广泛的脂肪浸润 (>70%)
总计2	3				

图6示出五周解剖时大鼠皮下植入对比例4的医用水凝胶XI的部位组织切片图(20x)。如图6所示, 植入材料(对比例4的医用水凝胶XI)呈碎片状, 内部疏松, 可见较多成纤维细胞长入材料内部, 残留材料面积百分比约为1-5%, 与周围组织之间未见明显空隙。植入材料周边可见较多纤维组织增生, 其间可见少量淋巴细胞浸润(1-5个/PHF), 较多巨噬细胞浸润(5-10个/HPF), 少量多核巨细胞浸润(1-2个/HPF), 较多毛细血管增生(4-7个/HPF)。植入材料周边可见中等厚带状的纤维囊形成, 较大范围脂肪细胞浸润(21-40%)。其炎症与坏死评分结果如表6所示, 纤维增生与修复评分结果如表7所示, 炎症与纤维增生的综合评分为14。

表6

细胞类型/反应	分值				
	0	1	2	3	4
中性粒细胞	0	1-5个/PHF*	5-10个/PHF	>10个/PHF	充满切面
淋巴细胞	0	1-5个/PHF	5-10个/PHF	>10个/PHF	充满切面
浆细胞	0	1-5个/PHF	5-10个/PHF	>10个/PHF	充满切面
巨噬细胞	0	1-5个/PHF	5-10个/PHF	>10个/PHF	充满切面
多核巨细胞	0	1-2个/HPF	3-5个/HPF	>5个/HPF	成片浸润
变性或坏死	0	微小 (<20% <sup>△</sup> )	轻微 (21-40%)	中等 (41%-70%)	严重 (>70%)
(总计1) ×2	8				
PHF*=每高倍镜 (400x) <sup>△</sup> 表示占整个切面的面积百分比。					

表7

反应	分值				
	0	1	2	3	4
纤维组织增生	0	微量毛细血管增生 (1-3个/PHF), 灶状, 1-3萌芽灶成纤维细胞增生	4-7个毛细血管团 (4-7个/PHF) 伴成纤维细胞增生	宽带状毛细血管 (8-20个/PHF) 和成纤维细胞增生	广泛的带状毛细血管 (>20个/PHF) 和成纤维细胞增生
纤维化囊腔形成	0	细带状囊腔壁 (<10层)	中等厚带状 (10-50层)	厚带状 (50-100层)	广泛带状 (>100层)
脂肪浸润	0	植入物周围微量脂肪细胞伴纤维化 (<20%)	植入物周围少量脂肪细胞和纤维化层 (21-40%)	植入物周围可见狭长和较大范围脂肪细胞聚集 (41-70%)	植入物周围可见广泛的脂肪浸润 (>70%)
总计2	6				

由上述结果分析可知, 实施例4的医用水凝胶IV与组织具有更好的生物相容性, 并且在八周时实施例4的医用水凝胶IV在大鼠皮下已经降解完全, 而对比例4的医用水凝胶XI仍然有部分未降解。

对机体来说, 体内植入物作为异物, 当其完成其特定目的之后, 应该被取出或降解。人体大部分内科手术创伤后修复时间大致在1-8周, 因此实施例4的医用水凝胶IV在降解时间上更适合临床使用。

#### 硬脑膜缝合针眼封堵动物实验

将试验动物狗麻醉, 将试验动物狗的左顶骨部位剖开, 并取出3cm×2.5cm大小的颅

骨；将试验动物狗的左边硬脑膜切开，长度为2.0cm，并用缝合线（4-0尼龙线）缝合硬脑膜切口，针线之间的间隔2-3mm。并将实施例4的医用水凝胶IV注在缝合部位；待医用水凝胶IV凝固后，将取下的颅骨放回，缝合创面皮肤；饲养试验动物狗4周。

观察指标：（1）术后定性评估试验动物狗的行为是否正常，总的健康信息（如切口愈合情况，食欲，体重），和可能脑脊液渗漏造成的不正常行为。（2）在将试验动物狗处死前，先使用腰椎穿刺包测定试验动物狗的颅内压，并记录数值，然后通过注射生理盐水增大颅内压，使颅内压增至200mm水柱，并保持至少5s，针眼部位有无脑脊液渗漏。（3）肉眼观察硬脑膜切口位置，医用水凝胶IV的降解和粘连（与脑组织）情况。

图7示出将试验动物狗的硬脑膜切开的图片；图8示出试验动物狗的硬脑膜缝合后的图片；图9示出试验动物狗的硬脑膜缝合后注入医用水凝胶的图片；图10示出试验动物狗的硬脑膜注胶后放回颅骨的图片；图11示出喂养4周后，试验动物狗的硬脑膜的切口位置的愈合情况修复效果图。如图7-11所示，由术后1-4周，受试动物狗的皮肤切口愈合正常，食欲和体重不出现明显差别，动物行为正常；术后4周时解剖，硬脑膜与上层组织无粘连；医用水凝胶肉眼不可见；当颅内压增至200mm水柱，在8s时，手术部位不出现脑脊液渗漏。

由上述实验可见，本公开中所成的医用水凝胶IV具有的低溶胀、呈中性、生物相容性好、可体内降解、具有抗菌效果，并且不会出现脑脊液渗漏。

以上所述，仅为本公开的具体实施方式，但本公开的保护范围并不局限于此，任何熟悉本技术领域的技术人员在本公开揭露的技术范围内，可轻易想到变化或替换，都应涵盖在本公开的保护范围之内。因此，本公开的保护范围应以权利要求的保护范围为准。

### 实用性

根据本公开实施例所提供的医用水凝胶组合物，医用水凝胶及其制备方法与应用可应用于生物医药技术领域，尤其可以用于止血辅助物、防止肺部漏气或脑脊液渗漏制品、防粘连制品等，如：动静脉重建缝线针眼封堵、硬脑膜缝合针眼封堵、硬脑膜重建贴合封堵、防止肺切除术后肺漏气、脊椎硬膜部位防粘连等应用中。本公开制备得到的医用水凝胶的生物相容性好，且具有良好的抗菌性和生物降解性。另外，本公开的医用水凝胶也能够具备对组织也无刺激的效果。

## 权 利 要 求 书

1、一种医用水凝胶组合物，其特征在于，包括第一组分和第二组分，所述第一组分包括聚赖氨酸和聚乙烯亚胺；所述第二组分包括四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺戊二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺丁二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺碳酸酯中的一种或几种，其中，所述聚赖氨酸的聚合度为20以上，优选为25~35。

5 2、根据权利要求1所述的医用水凝胶组合物，其特征在于，在所述第一组分中，所述聚赖氨酸与所述聚乙烯亚胺的质量比为0.1~10。

3、根据权利要求1或2所述的医用水凝胶组合物，其特征在于，所述聚赖氨酸为 $\epsilon$ -聚赖氨酸和/或聚-L-赖氨酸。

10 4、根据权利要求3所述的医用水凝胶组合物，其特征在于，所述 $\epsilon$ -聚赖氨酸的重均分子量为3000~5000Da。

5、根据权利要求3所述的医用水凝胶组合物，其特征在于，所述聚-L-赖氨酸的重均分子量为7500~300000Da，优选100000~200000Da。

6、根据权利要求1-5任一项所述的医用水凝胶组合物，其特征在于，所述聚乙烯亚胺的数均分子量为1000~3500Da，优选为1500~2000Da。

15 7、根据权利要求1-6任一项所述的医用水凝胶组合物，其特征在于，所述四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺戊二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺丁二酸酯和四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺碳酸酯的重均分子量均为2000~40000Da，优选为10000~20000Da。

20 8、根据权利要求1-7任一项所述的医用水凝胶组合物，其特征在于，所述医用水凝胶组合物负载有药物或活性因子，优选地，所述第一组分和/或第二组分中含有药物或活性因子。

9、一种医用水凝胶，其由权利要求1-8任一项所述的医用水凝胶组合物的第一组分和第二组分反应后形成；优选地，所述医用水凝胶由所述第一组分和所述第二组分在缓冲溶液中反应后形成。

25 10、根据权利要求9所述的医用水凝胶，其特征在于，所述医用水凝胶由所述第一组分溶于第一缓冲溶液中，所述第二组分溶于第二缓冲溶液中，然后混合、反应后形成。

11、根据权利要求9或10所述的医用水凝胶，其特征在于，所述医用水凝胶的溶胀度为-10~50%，优选为5~47%。

12、根据权利要求9-11任一项所述的医用水凝胶，其特征在于，所述医用水凝胶浸泡于水中后，浸泡液的pH值为7~9.5，优选7~8。

30 13、根据权利要求9-12任一项所述的医用水凝胶，其特征在于，所述第一缓冲溶液

的pH值为7.0~7.4或9.1~10.0, 优选7.0~7.4; 所述第二缓冲溶液的pH值为5.0~6.0或7.0~7.4, 优选7.0~7.4。

14、一种根据权利要求9-13任一项所述的医用水凝胶的制备方法, 其特征在于, 包括以下步骤:

- 5 将所述第一组分溶于第一缓冲溶液中, 得到第一混合液;  
将所述第二组分溶于第二缓冲溶液中, 得到第二混合液;  
将所述第一混合液和第二混合液混合, 得到医用水凝胶。

15、根据权利要求14所述的医用水凝胶的制备方法, 其特征在于, 所述第一混合液中, 所述聚赖氨酸的浓度为1~50mg/mL, 所述聚乙烯亚胺的浓度为1~50mg/mL; 所述第二混合液中, 所述四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺戊二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺丁二酸酯、四臂-聚乙二醇-琥珀酰亚胺碳酸酯或其混合物的浓度为100~200mg/mL; 所述第一混合液与所述第二混合液等体积混合, 得到医用水凝胶。

16、根据权利要求14或15所述的医用水凝胶的制备方法, 其特征在于, 所述第二混合液中还包括显色剂, 优选地, 所述显色剂包括FD&C Blue #1、FD&C Blue #2、亚甲基蓝中的一种或几种。

17、一种医用水凝胶试剂盒, 其特征在于, 其包括权利要求1-8任一项所述的医用水凝胶组合物以及用于溶解医用水凝胶组合物的各组分的缓冲溶液。

18、根据权利要求17所述的医用水凝胶试剂盒, 其特征在于, 所述医用水凝胶组合物的第一组分与第二组分是分开储存的; 优选地, 所述医用水凝胶组合物的第一组分中的聚赖氨酸和聚乙烯亚胺是分开储存的。

19、一种根据权利要求9-13任一项所述的医用水凝胶在止血辅助物、防止肺部漏气或脑脊液渗漏制品、防粘连制品中的应用。

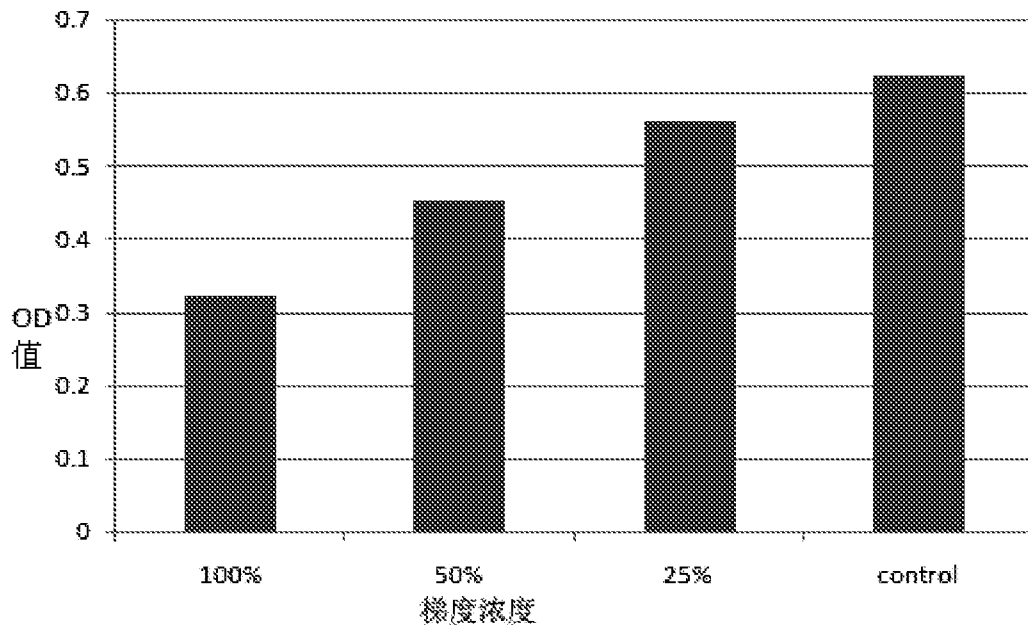


图 1

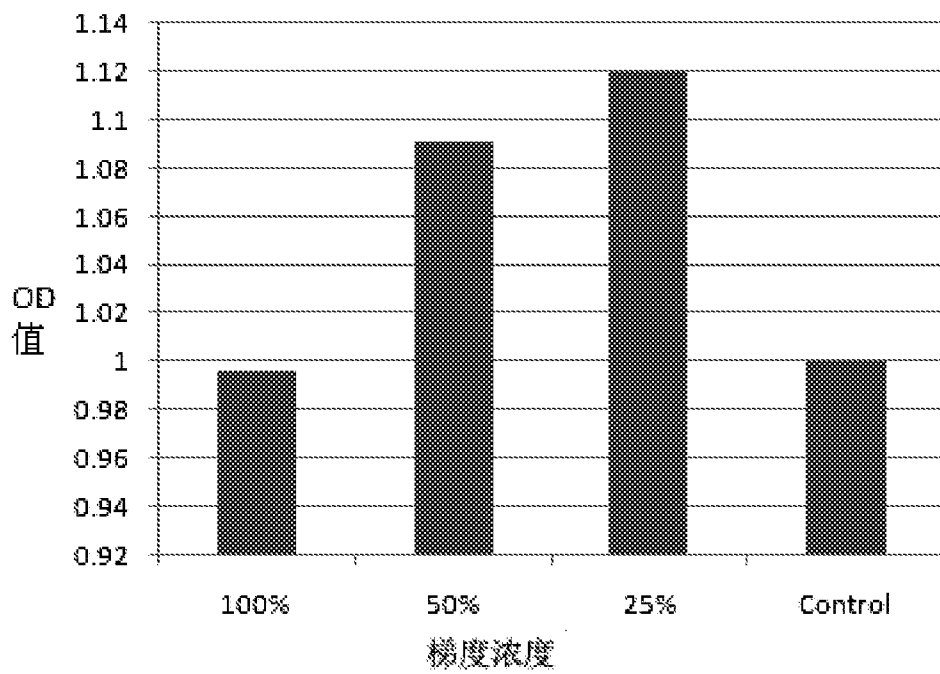


图 2



图 3



图 4

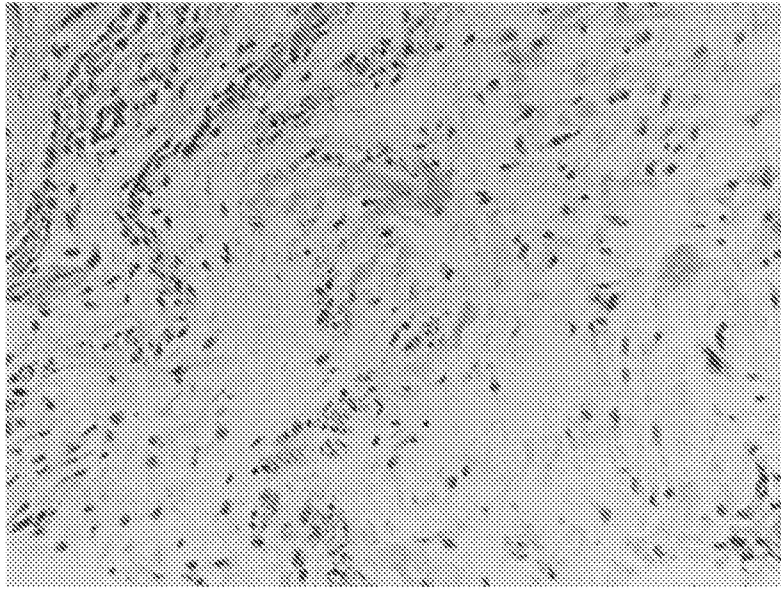


图 5

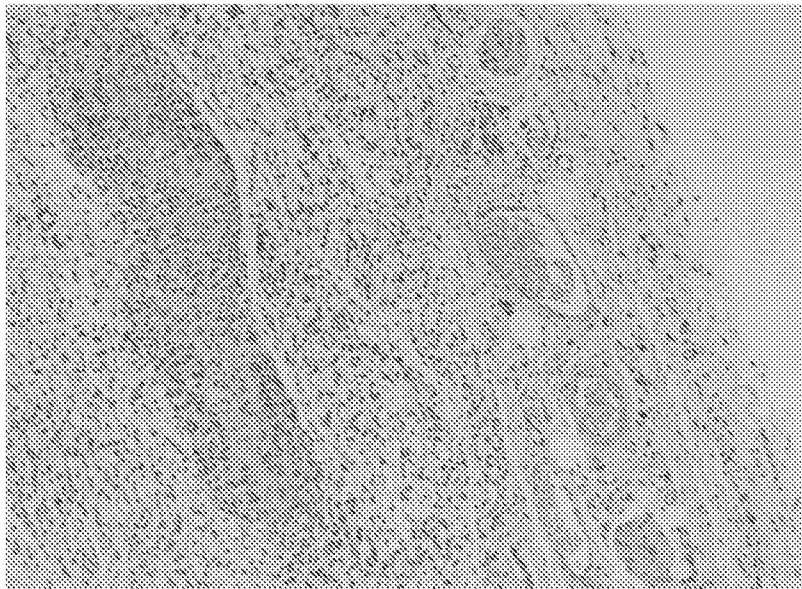


图 6

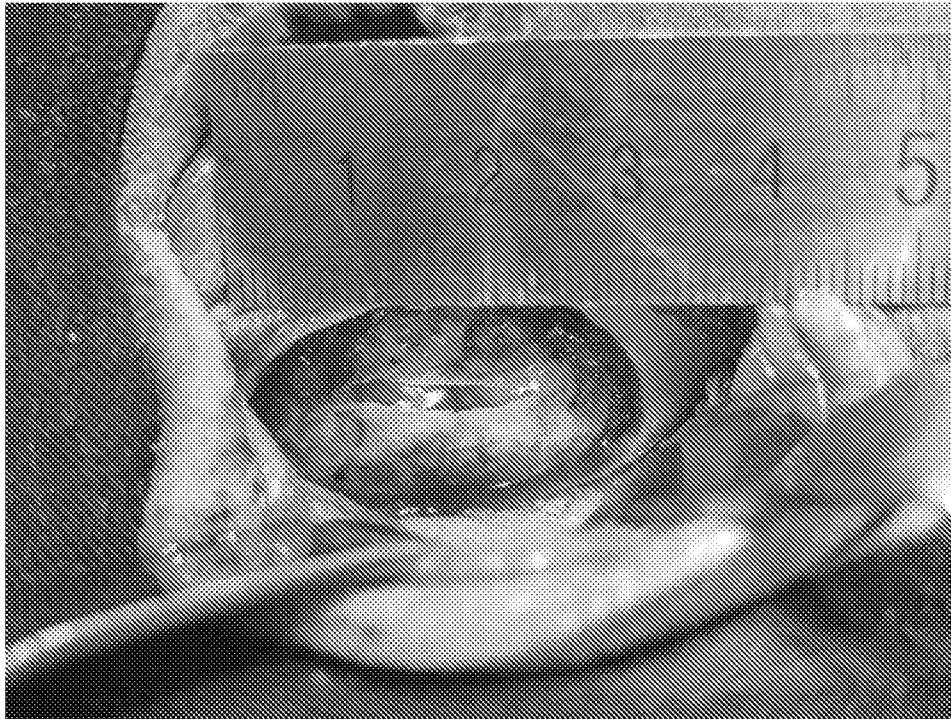


图 7

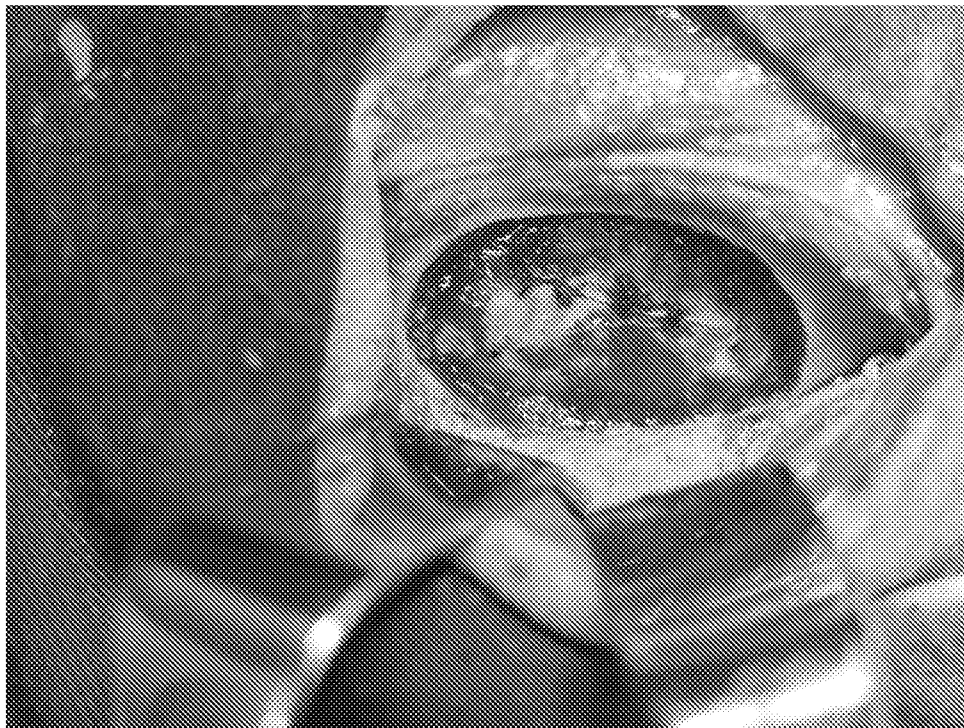


图 8



图 9



图 10

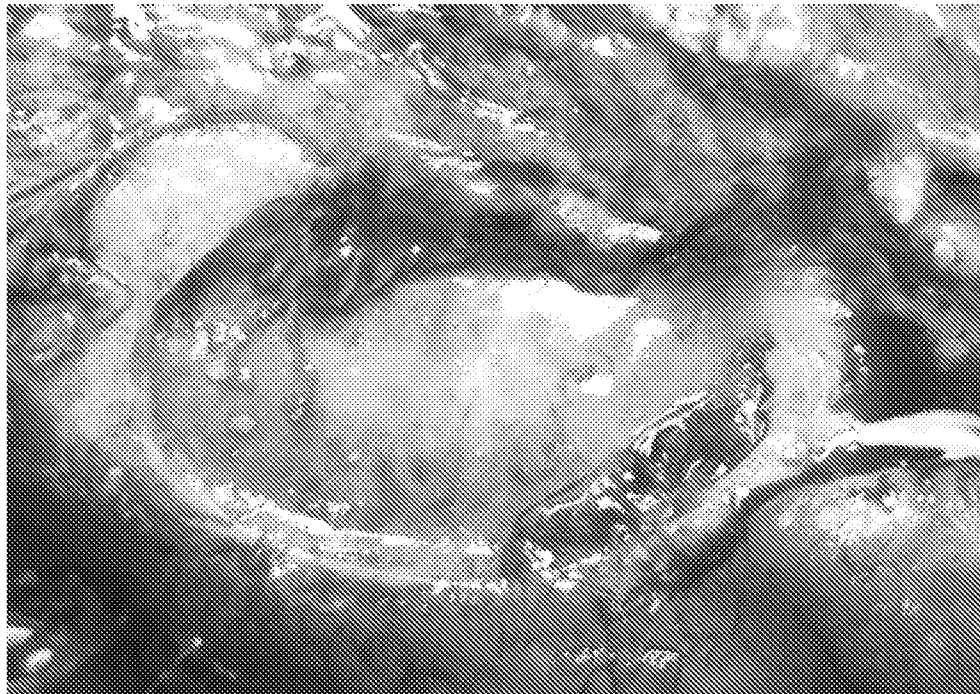


图 11

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/CN2017/082425**

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61L 27/52 (2006.01) i; A61L 27/26 (2006.01) i; A61L 31/14 (2006.01) i; A61L 31/04 (2006.01) i; A61L 31/06 (2006.01) i; A61L 26/00 (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

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, CNTXT, DWPI, EPODOC, SIPOABS: PLL, polyethyleneimine, PEI, PEG, hydrogel, polylysine, polyethylenimide, 4-arm, four-arm, polyethylene glycol, succinimidyl glutarate, succinimidyl succinate, succinimidyl carbonate

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 105963792 A (MEDPRIN REGENERATIVE MEDICAL TECHNOLOGIES CO., LTD.), 28 September 2016 (28.09.2016), claims 1-18	1-7, 9-19
Y	CN 102911493 A (SHANDONG SUCCESS PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY CO., LTD.), 06 February 2013 (06.02.2013), description, paragraphs [0007]-[0023], [0084]-[0106] and [0148]-[0153]	1-19
Y	US 2010297235 A1 (CPC AMERICA INC et al.), 25 November 2010 (25.11.2010), claim 1	1-19
A	CN 105169469 A (BEIJING NUOKANGDA PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY CO., LTD.), 23 December 2015 (23.12.2015), the whole document	1-19
A	CN 101843925 A (CONFLUENT SURGICAL, INC.), 29 September 2010 (29.09.2010), the whole document	1-19

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“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)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&amp;” document member of the same patent family</p>
---	---

Date of the actual completion of the international search

10 July 2017 (10.07.2017)

Date of mailing of the international search report

**08 August 2017 (08.08.2017)**

Name and mailing address of the ISA/CN:  
 State Intellectual Property Office of the P. R. China  
 No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao  
 Haidian District, Beijing 100088, China  
 Facsimile No.: (86-10) 62019451

Authorized officer

**WANG, Tun**

Telephone No.: (86-10) **62089179**

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
**PCT/CN2017/082425**

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 105963792 A	28 September 2016	None	
CN 102911493 A	06 February 2013	None	
US 2010297235 A1	25 November 2010	WO 2010134989 A1	25 November 2010
		WO 2010134988 A1	25 November 2010
		US 2011104280 A1	05 May 2010
CN 105169469 A	23 December 2015	None	
CN 101843925 A	29 September 2010	CA 2692917 A1	27 September 2010
		US 2009227689 A1	10 September 2009
		AU 2010200607 A1	14 October 2010
		JP 2010227563 A	14 October 2010
		EP 2233161 A2	29 September 2010

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2017/082425

<p><b>A. 主题的分类</b></p> <p>A61L 27/52(2006.01)i; A61L 27/26(2006.01)i; A61L 31/14(2006.01)i; A61L 31/04(2006.01)i; A61L 31/06(2006.01)i; A61L 26/00(2006.01)i</p> <p>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</p>																				
<p><b>B. 检索领域</b></p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>A61L</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>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))</p> <p>CNKI, CNABS, CNTXT, DWPI, EPODOC, SIPOABS: 水凝胶, 聚赖氨酸, PLL, 聚乙烯亚胺, PEI, 四臂, 聚乙二醇, PEG, 琥珀酰亚胺戊二酸酯, 琥珀酰亚胺丁二酸酯, 琥珀酰亚胺碳酸酯, hydrogel, polylysine, polyethylenimide, 4-arm, four-arm, polyethylene glycol, succinimidyl glutarate, succinimidyl succinate, succinimidyl carbonate</p>																				
<p><b>C. 相关文件</b></p> <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 105963792 A (深圳迈普再生医学科技有限公司) 2016年 9月 28日 (2016 - 09 - 28) 权利要求1-18</td> <td>1-7, 9-19</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 102911493 A (山东赛克赛斯药业科技有限公司) 2013年 2月 6日 (2013 - 02 - 06) 说明书第[0007]-[0023], [0084]-[0106], [0148]-[0153]段</td> <td>1-19</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2010297235 A1 (CPC AMERICA INC等) 2010年 11月 25日 (2010 - 11 - 25) 权利要求1</td> <td>1-19</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 105169469 A (北京诺康达医药科技有限公司) 2015年 12月 23日 (2015 - 12 - 23) 全文</td> <td>1-19</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 101843925 A (综合性外科公司) 2010年 9月 29日 (2010 - 09 - 29) 全文</td> <td>1-19</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 105963792 A (深圳迈普再生医学科技有限公司) 2016年 9月 28日 (2016 - 09 - 28) 权利要求1-18	1-7, 9-19	Y	CN 102911493 A (山东赛克赛斯药业科技有限公司) 2013年 2月 6日 (2013 - 02 - 06) 说明书第[0007]-[0023], [0084]-[0106], [0148]-[0153]段	1-19	Y	US 2010297235 A1 (CPC AMERICA INC等) 2010年 11月 25日 (2010 - 11 - 25) 权利要求1	1-19	A	CN 105169469 A (北京诺康达医药科技有限公司) 2015年 12月 23日 (2015 - 12 - 23) 全文	1-19	A	CN 101843925 A (综合性外科公司) 2010年 9月 29日 (2010 - 09 - 29) 全文	1-19
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
PX	CN 105963792 A (深圳迈普再生医学科技有限公司) 2016年 9月 28日 (2016 - 09 - 28) 权利要求1-18	1-7, 9-19																		
Y	CN 102911493 A (山东赛克赛斯药业科技有限公司) 2013年 2月 6日 (2013 - 02 - 06) 说明书第[0007]-[0023], [0084]-[0106], [0148]-[0153]段	1-19																		
Y	US 2010297235 A1 (CPC AMERICA INC等) 2010年 11月 25日 (2010 - 11 - 25) 权利要求1	1-19																		
A	CN 105169469 A (北京诺康达医药科技有限公司) 2015年 12月 23日 (2015 - 12 - 23) 全文	1-19																		
A	CN 101843925 A (综合性外科公司) 2010年 9月 29日 (2010 - 09 - 29) 全文	1-19																		
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																				
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“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)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&amp;” 同族专利的文件</p>																				
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2017年 7月 10日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2017年 8月 8日</p>																		
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>受权官员</p> <p>王墩</p> <p>电话号码 (86-10)62089179</p>																		

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/082425

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	105963792	A	2016年 9月 28日	无			
CN	102911493	A	2013年 2月 6日	无			
US	2010297235	A1	2010年 11月 25日	WO	2010134989	A1	2010年 11月 25日
				WO	2010134988	A1	2010年 11月 25日
				US	2011104280	A1	2010年 5月 5日
CN	105169469	A	2015年 12月 23日	无			
CN	101843925	A	2010年 9月 29日	CA	2692917	A1	2010年 9月 27日
				US	2009227689	A1	2009年 9月 10日
				AU	2010200607	A1	2010年 10月 14日
				JP	2010227563	A	2010年 10月 14日
				EP	2233161	A2	2010年 9月 29日