



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102940903 B

(45) 授权公告日 2014. 06. 25

(21) 申请号 201210473901. 3

US 2009043235 A1, 2009. 02. 12,

(22) 申请日 2012. 11. 20

US 6200595 B1, 2001. 03. 13,

(73) 专利权人 南京理工大学

审查员 谢林

地址 210094 江苏省南京市孝陵卫 200 号

(72) 发明人 谈华平

(74) 专利代理机构 南京理工大学专利中心

32203

代理人 朱显国

(51) Int. Cl.

A61L 15/28 (2006. 01)

C08B 37/08 (2006. 01)

C08B 37/04 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 102137684 A, 2011. 07. 27,

WO 2012056465 A1, 2012. 05. 03,

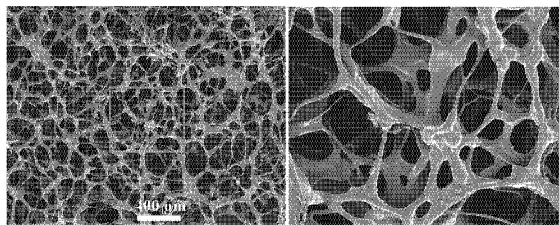
权利要求书1页 说明书7页 附图3页

(54) 发明名称

一种多聚糖海绵体医用敷料的制备方法

(57) 摘要

本发明涉及组织工程支架材料的制备技术, 提供了一种用于制备多聚糖海绵体医用敷料的交联方法。本发明以壳聚糖和海藻酸钠为基体材料, 通过共轭反应交联, 采用冷冻干燥技术, 提高了多聚糖海绵体医用敷料的吸水性能, 实现了对皮肤创口的有效保护作用。使用时直接敷于创面伤口, 具有极佳的吸附效果, 尤其适用于烧伤、脓病、伤口引流及溃疡等皮肤疾病。本发明工艺简单、成本低廉、交联温度低、固化速度快, 适用于大规模的工业化生产。本发明显著改善了敷料的吸水性能, 同时避免了有毒化学交联剂的残留, 降低了材料对皮肤的化学刺激, 提高了敷料的生物相容性和安全性。



1. 一种制备多聚糖海绵体医用敷料的方法,其特征在于,包括以下步骤:

步骤 1、将壳聚糖溶于乳酸水溶液,搅拌形成均匀溶液,加入琥珀酸酐,室温下搅拌反应,透析冻干后得到 N-琥珀酰壳聚糖;

步骤 2、将 N-琥珀酰壳聚糖溶解于磷酸盐缓冲溶液中,滴加糠胺-2-呋喃甲胺,加入水溶性碳化二亚胺后室温下搅拌反应,透析冻干后得到呋喃化壳聚糖;

步骤 3、将海藻酸钠溶于水中,滴加高碘酸钾溶液,避光条件下搅拌反应,透析冻干得到醛基化海藻酸钠;

步骤 4、将醛基化海藻酸钠溶于水中,加入 4-(4-N-马来酰亚胺苯基)丁酸盐于室温下反应,透析冻干后得到马来酰亚胺化海藻酸钠;

步骤 5、将呋喃化壳聚糖和马来酰亚胺化海藻酸钠水溶液在室温下充分混合,室温放置后冷冻放置,冷冻干燥后得到海绵体敷料。

2. 根据权利要求 1 所述的制备多聚糖海绵体医用敷料的方法,其特征在于,步骤 1 中乳酸水溶液浓度为体积百分比 5%,所述乳酸水溶液质量为壳聚糖的 4 倍,琥珀酸酐质量为壳聚糖的 1~4 倍,将壳聚糖溶于乳酸水溶液后搅拌 3 小时,加入琥珀酸酐后搅拌 12~24 小时。

3. 根据权利要求 1 所述的制备多聚糖海绵体医用敷料的方法,其特征在于,步骤 2 中滴加的糠胺-2-呋喃甲胺为 100~500 微升,所述 N-琥珀酰壳聚糖的质量为糠胺-2-呋喃甲胺的 1~5 倍,缓冲液的质量为 N-琥珀酰壳聚糖的 80 倍,水溶性碳化二亚胺质量为 N-琥珀酰壳聚糖的 0.5 倍,搅拌 12~24 小时。

4. 根据权利要求 1 所述的制备多聚糖海绵体医用敷料的方法,其特征在于,步骤 3 中滴加的高碘酸钾溶液为 2~5 毫升,浓度为 0.5M,搅拌 1~4 小时,所述海藻酸钠与水的质量比例为 1:100,海藻酸钠的质量为高碘酸钾的 200~500 倍。

5. 根据权利要求 1 所述的制备多聚糖海绵体医用敷料的方法,其特征在于,步骤 4 中加入的 4-(4-N-马来酰亚胺苯基)丁酸盐溶液为 3~12 毫升,浓度为质量体积百分比 0.5%,反应 0.5~3 小时,所述醛基化海藻酸钠与水的质量比例为 1:100,4-(4-N-马来酰亚胺苯基)丁酸盐的质量为醛基化海藻酸钠的 0.015~0.06 倍。

6. 根据权利要求 1 所述的制备多聚糖海绵体医用敷料的方法,其特征在于,步骤 5 中呋喃化壳聚糖和马来酰亚胺化海藻酸钠的反应体积比为 1:2,1:1 或 2:1;其中参与反应的呋喃化壳聚糖和马来酰亚胺化海藻酸钠的浓度各为质量体积百分比 0.5%~2.0%;室温放置 0.5~2 小时,冷冻放置为 -20°C 下冷冻 2 小时。

7. 根据权利要求 1 所述的制备多聚糖海绵体医用敷料的方法,其特征在于,所述透析的时间为 3~5 天。

## 一种多聚糖海绵体医用敷料的制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于组织工程支架材料的交联技术,特别是一种天然多聚糖海绵体医用敷料的制备方法。

### 背景技术

[0002] 敷料是一种用来暂时性覆盖伤口用的医用材料,其最主要的功能是控制伤口的渗出液及保护伤口,以免受细菌及尘粒的污染,提供有利于伤口愈合的环境。选择合适的敷料覆盖在伤口上,可协助控制出血、防止感染并吸收分泌物,从而促进伤口快速愈合。此时敷料起到保护创面、防止体液和蛋白质流失、防止细菌侵入引起炎症的作用,并对增殖细胞提供支撑。

[0003] 皮肤的创伤为临床常见疾病,当皮肤出现大面积缺损或短时间难于愈合的情况下,在创口表面覆盖敷料极其重要。在相当长一段时间内,使用最普遍的外科创伤敷料是医用脱脂棉和纱布。它对创伤的治疗能起到一定的促进作用,但是存在很大的不足。例如其使用时,创面肉芽组织向敷料内生长而引起粘连;解除时,易造成二次创伤;由于创面积液而易引起细菌感染。

[0004] 随着时代的进步和科技的发展,由传统的纱布逐步发展为今天的高科技成分含量的创伤敷料,敷料的成分及种类在近十几年中发生了突破性的变化。临床的需要给敷料的研发提出了更高要求,也成为进行新型敷料开发的动力。因此,开发一种新型敷料,使其不仅能覆盖创面,还能帮助伤口愈合,防止细菌侵袭,减少伤口区域的超高代谢和营养不良,减轻伤口疼痛,加快伤口愈合,成了科研人员的主攻方向。因此,对敷料的交联处理以提高其质量和吸水性能非常重要。

[0005] 通常用于敷料的基体材料有两类:天然高分子材料和合成高分子材料。天然高分子材料主要有胶原、明胶、壳聚糖、硫酸软骨素、海藻酸、纤维素等。常用的人工高分子材料包括聚乙二醇(PEG)、聚氨酯(PU)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)等。一般来说,天然高分子具有优异的生物相容性和降解性,而合成高分子具有良好的物理机械性能、加工性能及化学稳定性。这些材料可控性好,实用性高,具有各自的优点和特点,因此作为生物材料在组织工程与再生医学领域得到了广泛地应用。

[0006] 目前制备敷料常用的方法是化学试剂交联法和紫外光交联法。化学试剂交联法是通过在基体中加入化学交联剂(如多聚甲醛、戊二醛和水溶性碳化二亚胺等)作为缩合剂,其作用是将基体分子中的活性基团(如氨基或羧基等)经过缩合反应而达到交联的目的。紫外光交联法是将基体经过化学改性,使其带有不饱和双键,然后加入引发剂,通过紫外光辐照而引发不饱和双键的加合,从而使基体发生交联。采用这些方法交联的材料在化学结构上比较稳定,能满足材料制作的工艺要求,但是由于难免产生有毒的化学试剂或引发剂的残留,因此材料对肌体会有一定程度的刺激,安全性不能得到保障。此外,通常这些化学交联剂为小分子,交联后材料的分子间距离较小,导致吸水性能较低,直接影响敷料的保护效果和使用效果。因此,避免使用有毒的小分子化学交联剂,是降低敷料毒性及提高材料溶

胀性能的有效途径。但是,现有技术中不存在采用无毒化学试剂或引发剂交联多聚糖医用敷料的方法。

[0007] 天然多聚糖分子(如壳聚糖、海藻酸等)是医用敷料的理想材料,一方面它们具有很好的生物相容性,另一方面其分子链上具有多种可反应的活性官能团,可轻易通过接枝等改性手段进行化学修饰,能有效改善材料的性能和质量。目前很多海绵体敷料都基于这类材料,如能避免使用有毒化学试剂进行交联,比如采用双分子共轭反应交联法,则有望得到高溶胀率和生物相容性好的多聚糖海绵体医用敷料。

## 发明内容

[0008] 本发明的目的在于提供一种操作简便的共轭反应交联多聚糖敷料的制备方法。

[0009] 实现本发明目的的技术解决方案为:一种多聚糖海绵体医用敷料的制备方法,采用冷冻干燥技术,以壳聚糖和海藻酸钠为基材,通过 Diels-Alder 共轭反应交联而成,具体包括以下步骤:

[0010] 步骤 1、室温下将壳聚糖溶于乳酸溶液,加入琥珀酸酐与之反应,透析冻干后得到 N-琥珀酰壳聚糖;

[0011] 步骤 2、室温下将 N-琥珀酰壳聚糖溶解于缓冲溶液中,滴加糠胺-2-呋喃甲胺与之反应,透析冻干后得到呋喃化壳聚糖;

[0012] 步骤 3、室温下将海藻酸钠溶于水中,在避光条件下滴加高碘酸钾溶液,反应一段时间后,透析并冻干得到醛基化海藻酸钠;

[0013] 步骤 4、将醛基化海藻酸钠溶于水中,加入 4-(4-N-马来酰亚胺苯基)丁酸盐反应,透析冻干后得到马来酰亚胺化海藻酸钠;

[0014] 步骤 5、分别配制一定浓度的呋喃化壳聚糖和马来酰亚胺化海藻酸钠,室温下按比例充分混合,冷冻干燥后得到海绵体敷料。

[0015] 本发明所用的试剂来源:壳聚糖、海藻酸钠、高碘酸钾、糠胺-2-呋喃甲胺、水溶性碳化二亚胺(EDAC)、牛血清白蛋白(BSA)、3-(4,5-二甲基噻唑)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT),购于 Sigma 公司;琥珀酸酐,分析纯,中国医药集团;乳酸,分析纯,上海化学试剂有限公司;4-(4-N-马来酰亚胺苯基)丁酸盐(MPBH),购于 Thermo Fisher 公司。氯化钠、氯化钾,分析纯,上海试剂三厂;磷酸氢二钠、磷酸二氢钾,分析纯,杭州化学试剂有限公司;二甲基亚砜、十二烷基磺酸钠,分析纯,上海化学试剂厂。蛋白测定试剂盒,购于碧云天生物技术研究所。DMEM 培养基,Giboco 公司;小牛血清,杭州四季青生物材料工程研究所;青霉素、链霉素,华北制药股份有限公司。

[0016] 本发明所用的仪器:扫描电子显微镜(JSM-6330F, JEOL),酶标仪(Biorad, Model 550)。

[0017] 本发明与现有技术相比,其特征在于:1)基于共轭反应交联原理,本发明避免使用了有毒化学交联剂,因此敷料中不存在有毒试剂的残留,保证了敷料的安全性;2)由于本发明中所涉及的共轭反应产生于大分子-大分子间,保护了大分子之间的空间结构与距离,因此提高了敷料的吸水性能,实现了对创口的有效保护;3)在本发明中,所用基材材料为天然多聚糖材料,显示出极好地生物相容性,体感好;4)本发明交联的海绵体敷料吸水性强,与创面的结合强度高,避免了材料使用中的脱落,并具有良好的通透性;5)本发明技术具

有交联温度低、固化速度快、交联处理周期短等优点 ;6) 本发明工艺和设备简单、易行, 操作安全, 无有毒试剂, 对环境不产生污染, 使用的原材料成本低廉, 适用于大规模的工业化生产。

[0018] 下面通过实施例来进一步说明本发明。

#### 附图说明

[0019] 图 1 为采用 Diels-Alder 共轭反应交联制备壳聚糖 - 海藻酸钠海绵体医用敷料的示意图。

[0020] 图 2 为壳聚糖 - 海藻酸钠海绵体医用敷料内部结构的扫描电镜照片。

[0021] 图 3 不同比例的壳聚糖 - 海藻酸钠海绵体医用敷料的吸水率(壳聚糖 / 海藻酸钠溶液体积比分别为 1/2、1/1 和 2/1)。

[0022] 图 4 不同比例的壳聚糖 - 海藻酸钠海绵体医用敷料的水分蒸发速度(壳聚糖 / 海藻酸钠溶液体积比分别为 1/2、1/1 和 2/1)。

[0023] 图 5 不同比例的壳聚糖 - 海藻酸钠海绵体医用敷料的蛋白粘附性。

[0024] 图 6 不同比例的壳聚糖 - 海藻酸钠海绵体医用敷料的细胞粘附性。

#### 具体实施方式

[0025] 冷冻干燥是制备聚合物组织工程支架材料的一种常用技术, 本发明的一种多聚糖海绵体医用敷料的制备方法, 是以壳聚糖和海藻酸钠为基材, 通过 Diels-Alder 共轭反应交联固化而成。对壳聚糖和海藻酸钠分别进行改性处理, 使它们各自带有可以进行反应的活性基团, 使之混合后能在温和条件下自动交联成型, 无需添加有毒的化学交联剂, 保证了材料的安全性。具体包括以下步骤:

[0026] 步骤 1、室温下在 5%(v/v) 的乳酸水溶液中加入克壳聚糖, 搅拌 3 小时, 形成均匀溶液, 随后加入琥珀酸酐, 室温下搅拌 12~24 小时, 然后将反应溶液透析 3~5 天, 最后冻干得到 N-琥珀酰壳聚糖, 其中乳酸水溶液质量为壳聚糖的 4 倍, 琥珀酸酐质量为壳聚糖的 1~4 倍;

[0027] 步骤 2、室温下将 N-琥珀酰壳聚糖溶解于磷酸盐缓冲溶液中, 然后滴加 100~500 微升的糠胺-2-呋喃甲胺, 加入水溶性碳化二亚胺后室温下搅拌 12~24 小时, 透析 3~5 天后冻干得到呋喃化壳聚糖, 其中 N-琥珀酰壳聚糖的质量为糠胺-2-呋喃甲胺的 1~5 倍, 磷酸盐缓冲液的质量为 N-琥珀酰壳聚糖的 80 倍, 水溶性碳化二亚胺质量为 N-琥珀酰壳聚糖的 0.5 倍;

[0028] 步骤 3、室温下将海藻酸钠溶解于水中, 然后滴加浓度为 0.5M 的高碘酸钠溶液, 避光条件下搅拌 1~4 小时, 透析 3~5 天后冻干得到醛基化海藻酸钠, 其中海藻酸钠与水的质量比例为 1:100, 海藻酸钠的质量为高碘酸钠的 200~500 倍;

[0029] 步骤 4、室温下将醛基化海藻酸钠溶解于水中, 然后加入浓度为 0.5% 的 4-(4-N-马来酰亚胺苯基) 丁酸盐溶液, 室温下反应 0.5~3 小时, 透析 3~5 天后冻干得到马来酰亚胺化海藻酸钠, 其中醛基化海藻酸钠与水的质量比例为 1:100, 4-(4-N-马来酰亚胺苯基) 丁酸盐的质量为醛基化海藻酸钠的 0.015~0.06 倍;

[0030] 步骤 5、分别配制浓度为 0.5%~2.0%(w/v) 的呋喃化壳聚糖和马来酰亚胺化海藻

酸钠水溶液,室温下按体积比例 1:2/1:1/2:1 充分混合,37°C 下放置 0.5~2 小时,然后放置在 -20°C 下冷冻 2 小时,最后在 -50°C 下冷冻干燥 24 小时得到海绵体敷料。

[0031] 其中,磷酸盐缓冲溶液(PBS)的配制:称取分析纯氯化钠 8 克、氯化钾 0.2 克、磷酸氢二钠 2.9 克、磷酸二氢钾 0.2 克,溶于 1000 毫升蒸馏水中,调节 pH 为 7.4。

[0032] 敷料的结构观察:经 -50°C 冷冻干燥(FD1A50,北京博医康)24 小时后,将敷料喷金(Cressington 108 Auto),然后在扫描电子显微镜(JSM-6330F, JEOL)上观察内部微观结构。

[0033] 敷料的吸水性检测:先将敷料称重( $W_d$ ),25°C 下在磷酸盐缓冲溶液中浸泡 6 小时以保证充分溶胀。测试时,从溶液中取出敷料,用滤纸吸去敷料表面的水,立刻称重( $W_w$ ),每个样品平行测试 5 次。计算敷料吸水性能  $P_a$  的公式为  $P_a = (W_w - W_d) / W_d$ 。

[0034] 敷料的透湿率检测:透湿率表示的是单位时间面积上通过的水气的质量(单位:  $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ )。测定固定敷料的透湿瓶(容量为 5 毫升,内含蒸馏水 4 毫升,开口面积为  $1.18\text{cm}^2$ )的质量( $W_0$ ),然后将透湿瓶置于恒温恒湿的干燥器中。参照通用的透湿测试方法 ASTM method E96-90 标准,在干燥器中放置大量的硅胶,保持湿度在 40RH 左右。随测试时间测定透湿瓶的质量( $W_t$ ),得到质量随时间的变化曲线。根据曲线的斜率计算出敷料的透湿率,计算公式为透湿率 =  $L/S_0$ 。其中  $L$  为透湿曲线的斜率,表示单位时间通过水气的质量(单位:  $\text{mg} \cdot \text{h}^{-1}$ ); $S_0$  为通透水气的有效面积,即透湿瓶开口面积,为  $1.18\text{cm}^2$ 。

[0035] 敷料的蛋白吸附性检测:配制 0.2wt% 的蛋白溶液,25°C 下将敷料浸于该溶液中,24 小时后取出敷料,用大量蒸馏水冲洗,再将敷料置于 0.1wt% 的十二烷基磺酸钠溶液中,37°C 下摇床 24 小时,以将吸附于敷料的蛋白溶出。蛋白吸附量测定方法按照蛋白测定试剂盒标准操作流程执行。

[0036] 敷料的细胞粘附性检测:将敷料剪成圆形,尺寸与 24 孔培养板(Nunc™, Denmark)孔径一致,将敷料铺满培养板底部。使用前先将敷料用 75% 乙醇浸泡 2 小时消毒,然后用磷酸盐缓冲溶液反复漂洗除去乙醇。在敷料表面接种数量为  $4 \times 10^4$  的人体成纤维细胞,并加入 2 毫升培养液(DMEM 培养基 +10% 小牛血清 +100 单位 / 毫升青霉素 / 链霉素),将其放于 37°C 下孵育 4 小时后取出,用磷酸盐缓冲溶液反复冲洗以除去未粘附的细胞,然后加入 20 微升 0.5wt%MTT 的磷酸盐缓冲溶液,置于 37°C 下孵育 4 小时后加入 200 微升二甲基亚砷,振荡均匀后采用酶标仪(Biorad, Model 550)于 570 纳米处测定紫色物质的吸光度。

[0037] 本发明采用 ANOVA 方差分析法,显著差异值  $p$  设为  $\leq 0.05$ 。

[0038] 本发明所制备的敷料为海绵多孔结构,平均孔径为 200 微米左右且相互贯穿,有利于透气及水分的吸收。

[0039] 下面结合实施例对本发明做进一步详细的描述:

[0040] 实施例 1:

[0041] 具体操作步骤为:

[0042] (1)在 40 毫升 5%(v/v) 的乳酸溶液中加入 0.5 克壳聚糖,室温下搅拌 3 小时,形成均匀溶液,随后加入 2.0 克琥珀酸酐,室温下搅拌 24 小时,然后将反应溶液透析 3 天,最后冻干得到 N-琥珀酰壳聚糖;

[0043] (2)室温下将 0.5 克 N-琥珀酰壳聚糖溶解于 40 毫升缓冲溶液中,然后滴加 100 微升的糠胺-2-呋喃甲胺,加入 0.2 克水溶性碳化二亚胺后室温下搅拌 18 小时,透析 3 天后

冻干得到呋喃化壳聚糖；

[0044] (3) 室温下将 1.0 克海藻酸钠溶解于 100 毫升水中, 然后滴加 5 毫升浓度为 0.5M 的高碘酸钠溶液, 避光条件下搅拌 2 小时, 透析 3 天后冻干得到醛基化海藻酸钠；

[0045] (4) 室温下将 1.0 克醛基化海藻酸钠溶解于 100 毫升水中, 然后加入 6 毫升浓度为 0.5% 的 4-(4-N-马来酰亚胺苯基) 丁酸盐溶液, 室温下反应 0.5 小时, 透析 3 天后冻干得到马来酰亚胺化海藻酸钠；

[0046] (5) 分别配制浓度为 0.5% (w/v) 的呋喃化壳聚糖和马来酰亚胺化海藻酸钠水溶液, 室温下按体积比例 1:1 充分混合, 37°C 下放置 1 小时, 然后放置在 -20°C 下冷冻 2 小时, 最后在 -50°C 下冷冻干燥 24 小时得到海绵体敷料。

[0047] 实施例 2：

[0048] 具体操作步骤为：

[0049] (1) 在 40 毫升 5% (v/v) 的乳酸溶液中加入 0.5 克壳聚糖, 室温下搅拌 3 小时, 形成均匀溶液, 随后加入 1.8 克琥珀酸酐, 室温下搅拌 20 小时, 然后将反应溶液透析 3 天, 最后冻干得到 N-琥珀酰壳聚糖；

[0050] (2) 室温下将 0.5 克 N-琥珀酰壳聚糖溶解于 40 毫升缓冲溶液中, 然后滴加 200 微升的糠胺-2-呋喃甲胺, 加入 0.2 克水溶性碳化二亚胺后室温下搅拌 16 小时, 透析 3 天后冻干得到呋喃化壳聚糖；

[0051] (3) 室温下将 1.0 克海藻酸钠溶解于 100 毫升水中, 然后滴加 4 毫升浓度为 0.5M 的高碘酸钠溶液, 避光条件下搅拌 4 小时, 透析 3 天后冻干得到醛基化海藻酸钠；

[0052] (4) 室温下将 1.0 克醛基化海藻酸钠溶解于 100 毫升水中, 然后加入 8 毫升浓度为 0.5% 的 4-(4-N-马来酰亚胺苯基) 丁酸盐溶液, 室温下反应 1 小时, 透析 3 天后冻干得到马来酰亚胺化海藻酸钠；

[0053] (5) 分别配制浓度为 0.5% (w/v) 的呋喃化壳聚糖和马来酰亚胺化海藻酸钠水溶液, 室温下按体积比例 1:1 充分混合, 37°C 下放置 1.5 小时, 然后放置在 -20°C 下冷冻 2 小时, 最后在 -50°C 下冷冻干燥 24 小时得到海绵体敷料。

[0054] 实施例 3：

[0055] 具体操作步骤为：

[0056] (1) 在 40 毫升 5% (v/v) 的乳酸溶液中加入 0.5 克壳聚糖, 室温下搅拌 3 小时, 形成均匀溶液, 随后加入 1.5 克琥珀酸酐, 室温下搅拌 18 小时, 然后将反应溶液透析 4 天, 最后冻干得到 N-琥珀酰壳聚糖；

[0057] (2) 室温下将 0.5 克 N-琥珀酰壳聚糖溶解于 40 毫升缓冲溶液中, 然后滴加 250 微升的糠胺-2-呋喃甲胺, 加入 0.2 克水溶性碳化二亚胺后室温下搅拌 24 小时, 透析 4 天后冻干得到呋喃化壳聚糖；

[0058] (3) 室温下将 1.0 克海藻酸钠溶解于 100 毫升水中, 然后滴加 5 毫升浓度为 0.5M 的高碘酸钠溶液, 避光条件下搅拌 3 小时, 透析 4 天后冻干得到醛基化海藻酸钠；

[0059] (4) 室温下将 1.0 克醛基化海藻酸钠溶解于 100 毫升水中, 然后加入 10 毫升浓度为 0.5% 的 4-(4-N-马来酰亚胺苯基) 丁酸盐溶液, 室温下反应 1.5 小时, 透析 4 天后冻干得到马来酰亚胺化海藻酸钠；

[0060] (5) 分别配制浓度为 1.0% 的呋喃化壳聚糖和马来酰亚胺化海藻酸钠水溶液, 室

温下按体积比例 1:2 充分混合,37°C 下放置 2 小时,然后放置在 -20°C 下冷冻 2 小时,最后在 -50°C 下冷冻干燥 24 小时得到海绵体敷料。

[0061] 实施例 4:

[0062] 具体操作步骤为:

[0063] (1)在 40 毫升 5%(v/v) 的乳酸溶液中加入 0.5 克壳聚糖,室温下搅拌 3 小时,形成均匀溶液,随后加入 1.2 克琥珀酸酐,室温下搅拌 16 小时,然后将反应溶液透析 4 天,最后冻干得到 N-琥珀酰壳聚糖;

[0064] (2)室温下将 0.5 克 N-琥珀酰壳聚糖溶解于 40 毫升缓冲溶液中,然后滴加 300 微升的糠胺-2-呋喃甲胺,加入 0.2 克水溶性碳化二亚胺后室温下搅拌 20 小时,透析 4 天后冻干得到呋喃化壳聚糖;

[0065] (3)室温下将 1.0 克海藻酸钠溶解于 100 毫升水中,然后滴加 3 毫升浓度为 0.5M 的高碘酸钠溶液,避光条件下搅拌 2.5 小时,透析 4 天后冻干得到醛基化海藻酸钠;

[0066] (4)室温下将 1.0 克醛基化海藻酸钠溶解于 100 毫升水中,然后加入 3 毫升浓度为 0.5% 的 4-(4-N-马来酰亚胺苯基)丁酸盐溶液,室温下反应 2 小时,透析 4 天后冻干得到马来酰亚胺化海藻酸钠;

[0067] (5)分别配制浓度为 1.0%(w/v) 的呋喃化壳聚糖和马来酰亚胺化海藻酸钠水溶液,室温下按体积比例 1:2 充分混合,37°C 下放置 0.5 小时,然后放置在 -20°C 下冷冻 2 小时,最后在 -50°C 下冷冻干燥 24 小时得到海绵体敷料。

[0068] 实施例 5:

[0069] 具体操作步骤为:

[0070] (1)在 40 毫升 5%(v/v) 的乳酸溶液中加入 0.5 克壳聚糖,室温下搅拌 3 小时,形成均匀溶液,随后加入 1.0 克琥珀酸酐,室温下搅拌 24 小时,然后将反应溶液透析 5 天,最后冻干得到 N-琥珀酰壳聚糖;

[0071] (2)室温下将 0.5 克 N-琥珀酰壳聚糖溶解于 40 毫升缓冲溶液中,然后滴加 400 微升的糠胺-2-呋喃甲胺,加入 0.2 克水溶性碳化二亚胺后室温下搅拌 12 小时,透析 5 天后冻干得到呋喃化壳聚糖;

[0072] (3)室温下将 1.0 克海藻酸钠溶解于 100 毫升水中,然后滴加 4 毫升浓度为 0.5M 的高碘酸钠溶液,避光条件下搅拌 2 小时,透析 5 天后冻干得到醛基化海藻酸钠;

[0073] (4)室温下将 1.0 克醛基化海藻酸钠溶解于 100 毫升水中,然后加入 8 毫升浓度为 0.5% 的 4-(4-N-马来酰亚胺苯基)丁酸盐溶液,室温下反应 2.5 小时,透析 5 天后冻干得到马来酰亚胺化海藻酸钠;

[0074] (5)分别配制浓度为 0.8%(w/v) 的呋喃化壳聚糖和马来酰亚胺化海藻酸钠水溶液,室温下按体积比例 2:1 充分混合,37°C 下放置 2 小时,然后放置在 -20°C 下冷冻 2 小时,最后在 -50°C 下冷冻干燥 24 小时得到海绵体敷料。

[0075] 实施例 6:

[0076] 具体操作步骤为:

[0077] (1)在 40 毫升 5%(v/v) 的乳酸溶液中加入 0.5 克壳聚糖,室温下搅拌 3 小时,形成均匀溶液,随后加入 0.5 克琥珀酸酐,室温下搅拌 12 小时,然后将反应溶液透析 3 天,最后冻干得到 N-琥珀酰壳聚糖;



[0078] (2)室温下将 0.5 克 N-琥珀酰壳聚糖溶解于 40 毫升缓冲溶液中,然后滴加 500 微升的糠胺-2-呋喃甲胺,加入 0.2 克水溶性碳化二亚胺后室温下搅拌 24 小时,透析 5 天后冻干得到呋喃化壳聚糖;

[0079] (3)室温下将 1.0 克海藻酸钠溶解于 100 毫升水中,然后滴加 2 毫升浓度为 0.5M 的高碘酸钠溶液,避光条件下搅拌 1 小时,透析 5 天后冻干得到醛基化海藻酸钠;

[0080] (4)室温下将 1.0 克醛基化海藻酸钠溶解于 100 毫升水中,然后加入 12 毫升浓度为 0.5% 的 4-(4-N-马来酰亚胺苯基)丁酸盐溶液,室温下反应 3 小时,透析 5 天后冻干得到马来酰亚胺化海藻酸钠;

[0081] (5)分别配制浓度为 0.8%(w/v) 的呋喃化壳聚糖和马来酰亚胺化海藻酸钠水溶液,室温下按体积比例 2:1 充分混合,37°C 下放置 1.5 小时,然后放置在 -20°C 下冷冻 2 小时,最后在 -50°C 下冷冻干燥 24 小时得到海绵体敷料。

[0082] 本发明制备的敷料为海绵多孔结构,平均孔径为 200 微米左右且相互贯穿,有利于透气及水分的吸收(图 1)。该敷料的吸水能力极强,可吸收相当于自身重量 52~57 倍的液体(图 2)。该敷料的水汽蒸发速度在 2100g/m<sup>2</sup> 左右(图 3),一般认为控制水分蒸发速度在每天 2000~2500g/m<sup>2</sup> 可以较好的满足创面对伤口的要求,因此该敷料完全满足对水汽透过率的要求。该敷料的蛋白吸附能力显著低于常规的医用纱布(图 4),说明该敷料亲水性强,从而不容易引起细胞的粘连。细胞粘附性是敷料设计需要考虑的一个十分重要的问题。由于材料不恰当而导致的敷料粘附肉芽组织,从而引起敷料揭除时带来的二次损伤,包括对肉芽的粘连,对迁移的上皮细胞、增生的成纤维细胞的损害,甚至比不使用敷料更严重。该敷料表面细胞粘附值很低,显著低于组织培养板和医用纱布(图 5),这与敷料的蛋白吸附性结果一致,说明敷料的亲水性高、吸水能力强,从而不利于细胞的粘附,这样的敷料不致引起组织粘连。

[0083] 以上实施例涵盖了最具代表性的实验数据。

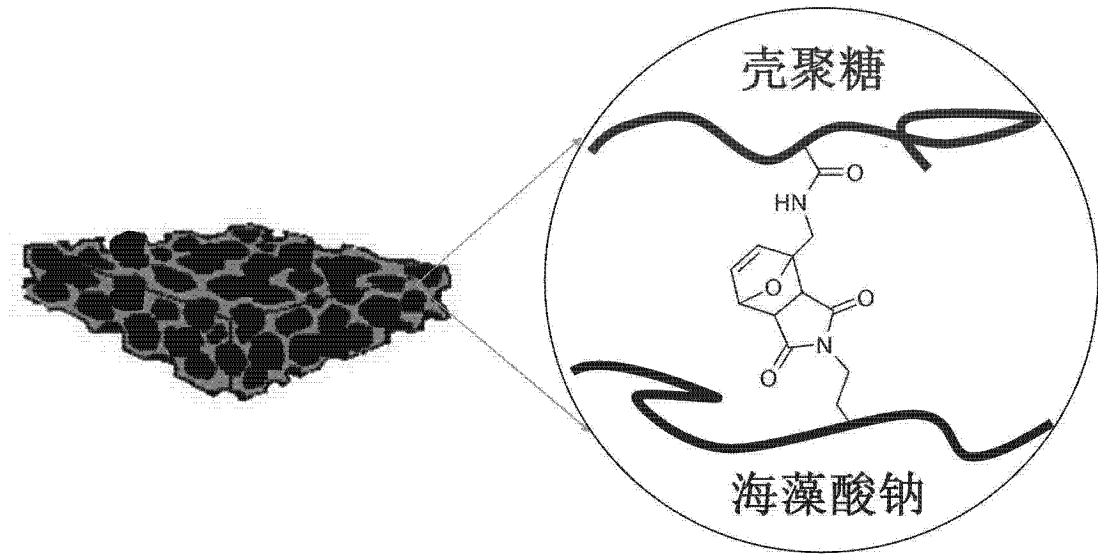


图 1

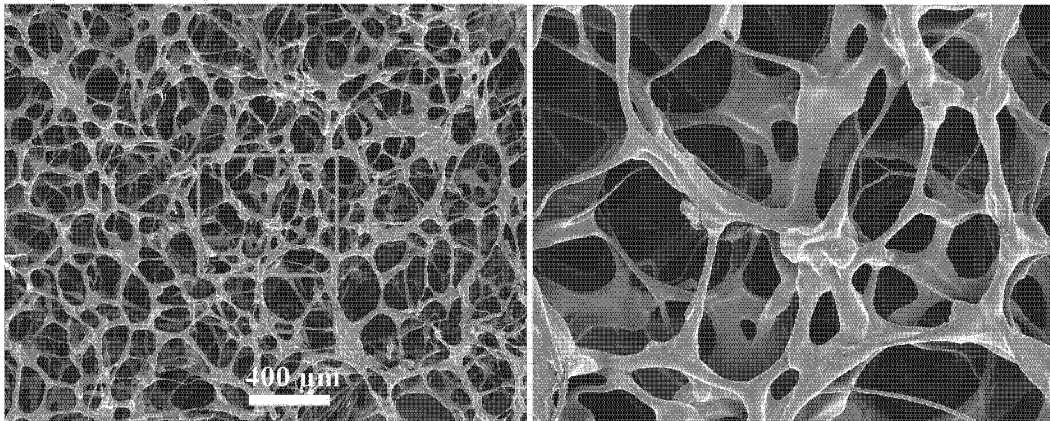


图 2

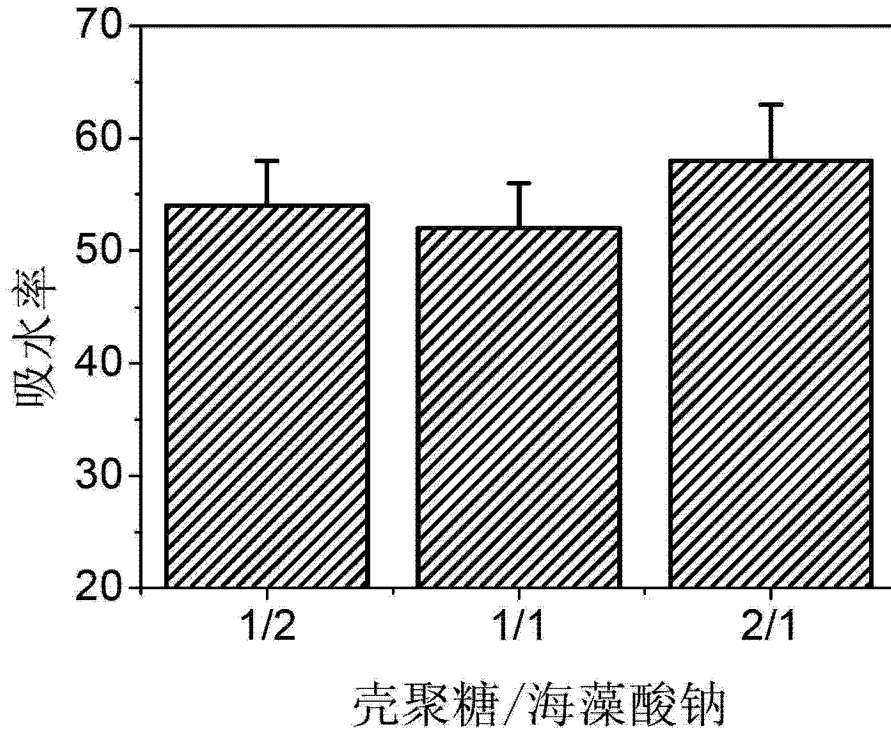


图 3

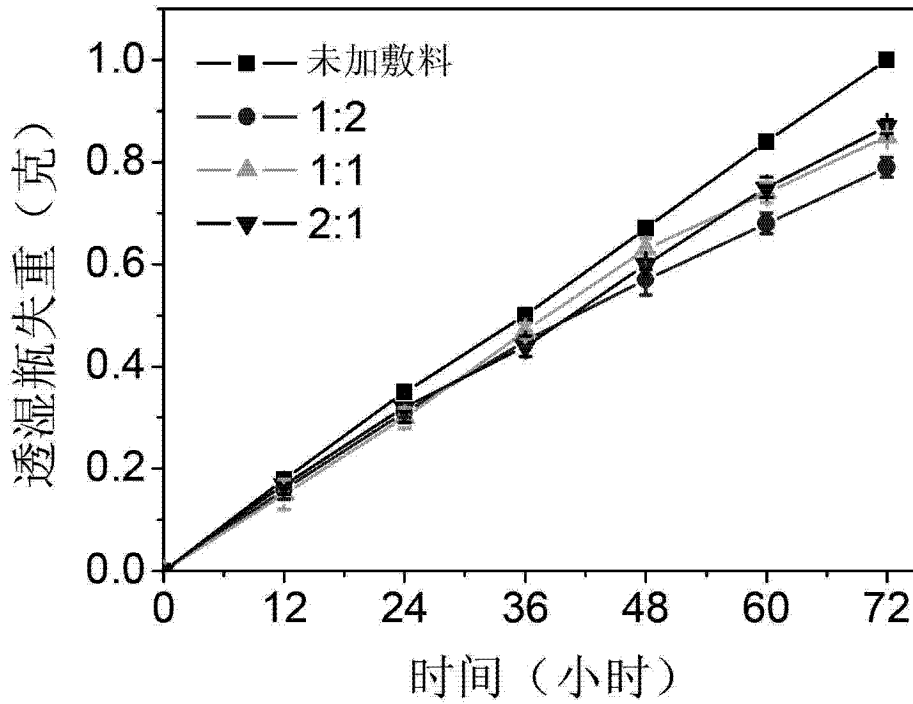


图 4

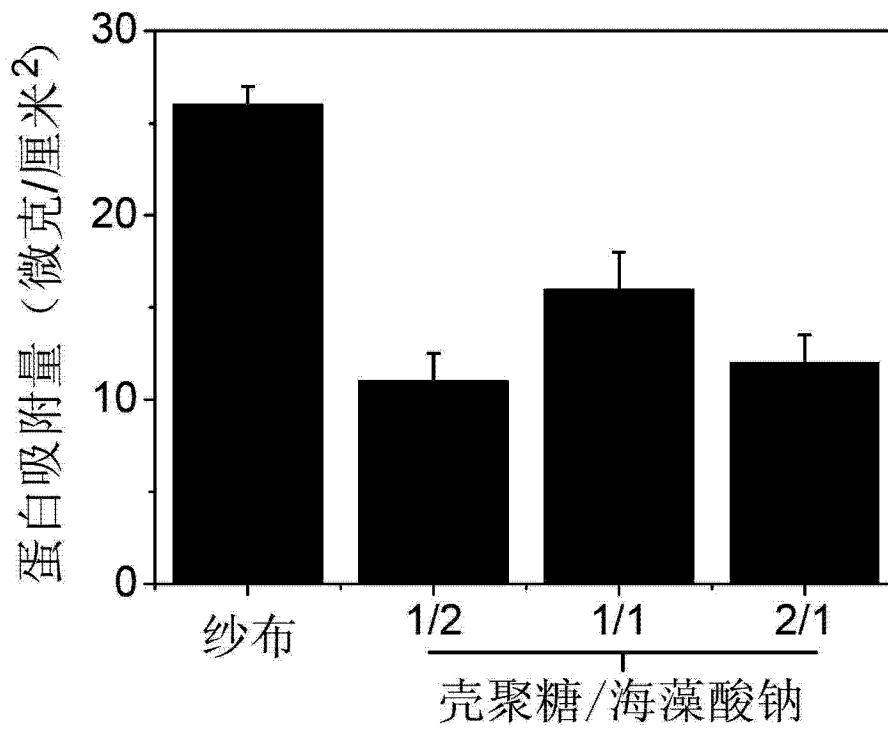


图 5

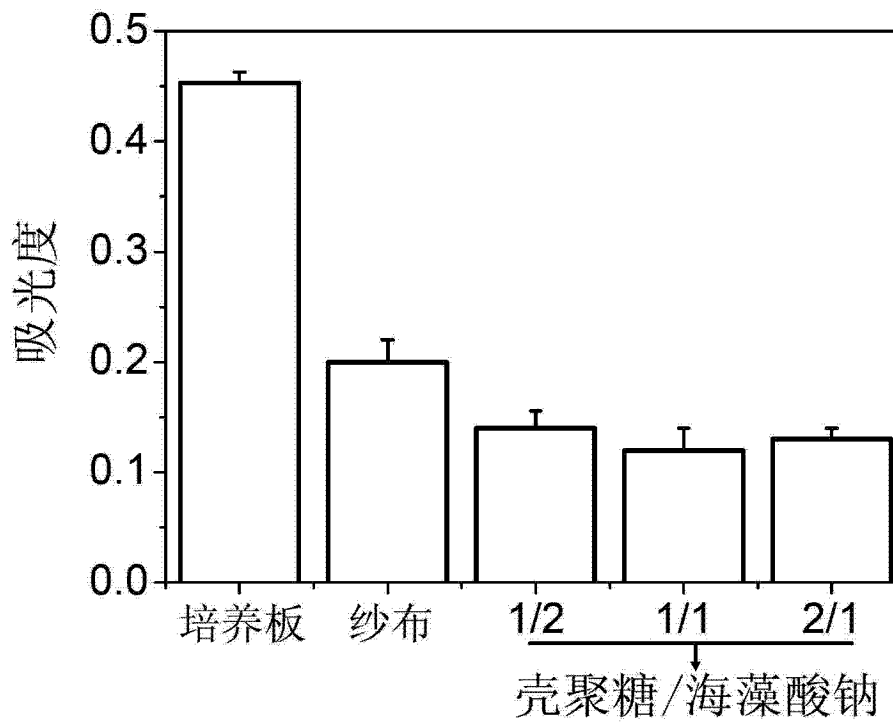


图 6