



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110960552 B

(45) 授权公告日 2022.04.05

(21) 申请号 201911385416.9

A61P 17/02 (2006.01)

(22) 申请日 2019.12.28

A61P 17/14 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

(56) 对比文件

申请公布号 CN 110960552 A

CN 108855069 A, 2018.11.23

CN 106975100 A, 2017.07.25

(43) 申请公布日 2020.04.07

CN 108993134 A, 2018.12.14

CN 108697653 A, 2018.10.23

(73) 专利权人 天津大学

地址 300072 天津市南开区卫津路92号

审查员 廖慨

(72) 发明人 张晓东 闫瑞娟 孙思 穆晓宇

刘爽杰

(74) 专利代理机构 天津市北洋有限责任专利代

理事务所 12201

代理人 曹玉平

(51) Int. Cl.

A61K 33/244 (2019.01)

A61K 9/70 (2006.01)

权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54) 发明名称

一种用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂及制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂及制备方法,制备:配制Ce(NO₃)₃·6H₂O水为溶液一;配制6-氨基己酸和浓盐酸水为溶液二;将浓氨水加入溶液一,搅拌,加入溶液二,反应,得到CeO₂团簇并配水悬浮液,将聚乙烯吡咯烷酮和K₂PtCl₄加入到水中,得到溶液三;将CeO₂团簇水悬浮液加到溶液三中,反应,再滴入NaBH₄水溶液;反应;得到单原子纳米酶,滴在活化亲水碳布上;干燥,得到含有单原子纳米酶的活化亲水碳布;在医用胶带上表面依次设置含有单原子纳米酶的活化亲水碳布和隔离纸,得到用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂。本发明贴剂能显著促进伤口愈合与疤痕修复以及后期毛发再生,且无毒副作用。

CN 110960552 B

1. 用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂的制备方法,其特征是包括如下步骤:

(1) 按比例,将100-120mg $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶于10mL去离子水,得到溶液一;在搅拌下将120-140mg 6-氨基己酸和5 μL 浓盐酸溶解在1mL去离子水中,得到溶液二;在室温下,将2ml浓氨水加入到溶液一中,搅拌均匀,加热至90-95 $^\circ\text{C}$,加入溶液二,反应3-4小时,冷却至室温,水洗,离心,得到 CeO_2 团簇;

(2) 按比例,配制80-100mg/mL的 CeO_2 团簇水悬浮液,将10-20mg的 $\text{MW} \approx 58000$ 的聚乙烯吡咯烷酮和10-40mg K_2PtCl_4 加入到5-10mL水中,得到溶液三;将1mL所述 CeO_2 团簇水悬浮液加入到溶液三中,90-95 $^\circ\text{C}$ 反应15-20分钟,再滴入0.8mL新配制的50-100mM的 NaBH_4 水溶液;在90-95 $^\circ\text{C}$ 反应20-30分钟;冷却至室温,水洗,离心,得到单原子纳米酶;

(3) 将单原子纳米酶的水溶液滴在活化亲水碳布上,或涂覆在活化亲水碳布上,或将活化亲水碳布浸于单原子纳米酶的水溶液中并取出;干燥,得到含有单原子纳米酶的活化亲水碳布;

(4) 在医用胶带上表面依次设置所述含有单原子纳米酶的活化亲水碳布和隔离纸,得到用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂。

2. 权利要求1的方法制备的用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂。

一种用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂及制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于医药领域,特别是涉及一种外用贴剂。

背景技术

[0002] 皮肤创伤是一个世界性的健康问题,给临床治疗带来了越来越大的挑战^[1,2]。有效地恢复组织的完整性和功能,同时最小化损伤后的美学影响仍然是临床护理的中心关注点。损伤组织的再生愈合仍然是难以捉摸的,这可能是由于目前大多数的伤口愈合治疗集中在结构恢复过程中,而利用宿主固有的再生能力对受伤部位的微环境调节很少被探索。皮肤损伤引发一系列事件,其中,创伤部位微环境中大量产生自由基(RONS)^[3,4],是其抵御病原体入侵的防御机制的一部分。虽然这个过程是有利的,但如果不控制RONS的过量产生,可能会阻碍伤口的修复和再生,从而导致生物大分子如蛋白质、DNA、脂类和碳水化合物的损伤^[5]。此外,损伤部位RONS生成的增加可能引发一系列有害影响,如细胞衰老、纤维化瘢痕和炎症^[6-8]。由于RONS具有双刃剑的作用,损伤组织的成功愈合和再生在很大程度上依赖于RONS的构建能力和破坏能力之间的最佳平衡。因此,在损伤部位的微环境中制备具有管理RONS水平,控制氧化损伤和缓解炎症反应的生物材料表面,是促进伤口愈合再生的潜在治疗策略。

[0003] 当今,单原子催化由于具有近100%的原子分散性和最大限度的金属利用率,已成为研究的热点,为显著提高催化活性和选择性提供了一条重要的潜在途径^[9]。在所有单原子体系中,典型的结构为贵金属负载的金属氧化物纳米材料。超小CeO₂团簇通过Ce³⁺和Ce⁴⁺离子的快速切换,拥有了较高的催化活性,显示出在氧化应激相关疾病治疗方面的显著优势^[10]。且CeO₂的(111)晶面表面能最低,稳定性最好^[11],尤其是单原子Pt/CeO₂(111)催化剂也通过表面晶格氧的活化实现了低温(<100℃)催化反应^[12],表现出应用于生物系统的潜在性能。通过国内外文献和专利调研,尚未发现有关单原子Pt/CeO₂催化剂治疗皮肤损伤方面的研究报道,特别是将Pt/CeO₂应用于生物医学器件组成部分的研究尚属空白,更缺乏对其体内疗效和毒副作用方面的研究报道。

发明内容

[0004] 本发明的目的是克服现有技术的不足,提供一种用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂。

[0005] 本发明的第二个目的是提供一种用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂的制备方法。

[0006] 本发明的技术方案概述如下:

[0007] 用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂的制备方法,包括如下步骤:

[0008] (1)按比例,将100-120mg Ce(NO₃)₃·6H₂O溶于10mL去离子水,得到溶液一;在搅拌下将120-140mg 6-氨基己酸和5μL浓盐酸溶解在1mL去离子水中,得到溶液二;在室温下,将2ml浓氨水加入到溶液一中,搅拌均匀,加热至90-95℃,加入溶液二,反应3-4小时,冷却至室温,水洗,离心,得到CeO₂团簇;

[0009] (2) 按比例,配制80-100mg/mL的 CeO_2 团簇水悬浮液,将10-20mg的 $\text{MW} \approx 58000$ 的聚乙烯吡咯烷酮和10-40mg K_2PtCl_4 加入到5-10mL水中,得到溶液三;将1mL所述 CeO_2 团簇水悬浮液加入到溶液三中,90-95℃反应15-20分钟,再滴入0.8mL新配制的50-100mM的 NaBH_4 水溶液;在90-95℃反应20-30分钟;冷却至室温,水洗,离心,得到单原子纳米酶;

[0010] (3) 将单原子纳米酶的水溶液滴在活化亲水碳布上,或涂覆在活化亲水碳布上,或将活化亲水碳布浸于单原子纳米酶的水溶液中并取出;干燥,得到含有单原子纳米酶的活化亲水碳布;

[0011] (4) 在医用胶带上表面依次设置所述含有单原子纳米酶的活化亲水碳布和隔离纸,得到用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂。

[0012] 上述方法制备的用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂。

[0013] 本发明的优点:

[0014] 本发明用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂能显著促进伤口愈合与疤痕修复以及后期毛发再生,且无毒副作用。

附图说明

[0015] 图1为用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂,图1a为示意图,图1b为主视示意图,其中1、医用胶带;2、含有单原子纳米酶的活化亲水碳布;3、隔离纸。

[0016] 图2为用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂的治疗效果——各组小鼠的时间依赖的组织愈合代表性图片。

[0017] 图3为用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂治疗脑创伤小鼠12天,26天的血液学分析。结果显示了白细胞、红细胞、血红蛋白、血细胞积压、平均红细胞容积、平均红细胞血红蛋白量、红细胞平均血红蛋白浓度、血小板的均值和标准偏差。

[0018] 图4为用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂治疗脑创伤小鼠12天,26天小鼠的血液生物化学分析。结果显示了谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总蛋白、血尿素氮、血清白蛋白、肌酸酐、球蛋白、白蛋白和球蛋白的比值的平均值和标准偏差。

具体实施方式

[0019] 亲水碳布(商品,上海河森电气有限公司)

[0020] 亲水碳布的活化:

[0021] 将亲水碳布剪成长15mm,宽8mm的矩形,放入浓硝酸和浓硫酸的混合液(体积比为1:3)中,80℃下回流3h,得到活化亲水碳布。

[0022] 下面结合具体实施例对本发明作进一步的说明。

[0023] 实施例1

[0024] 用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂的制备方法,包括如下步骤:

[0025] (1) 将110mg $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶于10mL去离子水,得到溶液一;在搅拌下将130mg6-氨基己酸和5 μL 浓盐酸溶解在1mL去离子水中,得到溶液二;在室温下,将2ml浓氨水加入到溶液一中,搅拌均匀,加热至93℃,加入溶液二,反应3.5小时,冷却至室温,水洗,离心,得到 CeO_2 团簇;

[0026] (2) 配制90mg/mL的 CeO_2 团簇水悬浮液,将15mg的 $\text{MW} \approx 58000$ 的聚乙烯吡咯烷酮和

25mgK₂PtCl₄加入到8mL水中,得到溶液三;将1mL所述CeO₂团簇水悬浮液加入到溶液三中,93℃反应18分钟,再滴入0.8mL新配制的80mM的NaBH₄水溶液;在93℃反应25分钟;冷却至室温,水洗,离心,得到单原子纳米酶;

[0027] (3) 将50mg/mL单原子纳米酶的水溶液0.5mL滴在活化亲水碳布上,干燥,得到含有单原子纳米酶的活化亲水碳布;

[0028] (4) 在医用胶带1上表面依次设置所述含有单原子纳米酶的活化亲水碳布2和隔离纸3(格拉辛离型纸)(见图1a和图1b),得到用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂(简称Pt/CeO₂组)。

[0029] 实施例2

[0030] 用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂的制备方法,包括如下步骤:

[0031] (1) 将100mg Ce(NO₃)₃·6H₂O溶于10mL去离子水,得到溶液一;在搅拌下将120mg6-氨基己酸和5μL浓盐酸溶解在1mL去离子水中,得到溶液二;在室温下,将2mL浓氨水加入到溶液一中,搅拌均匀,加热至90℃,加入溶液二,反应4小时,冷却至室温,水洗,离心,得到CeO₂团簇;

[0032] (2) 配制80mg/mL的CeO₂团簇水悬浮液,将10mg的MW≈58000的聚乙烯吡咯烷酮和10mgK₂PtCl₄加入到5mL水中,得到溶液三;将1mL所述CeO₂团簇水悬浮液加入到溶液三中,90℃反应20分钟,再滴入0.8mL新配制的50mM的NaBH₄水溶液;在90℃反应30分钟;冷却至室温,水洗,离心,得到单原子纳米酶;

[0033] (3) 将50mg/mL单原子纳米酶的水溶液0.5mL涂覆在活化亲水碳布上,干燥,得到含有单原子纳米酶的活化亲水碳布;

[0034] (4) 在医用胶带上表面依次设置所述含有单原子纳米酶的活化亲水碳布和隔离纸(格拉辛离型纸),得到用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂。

[0035] 实施例3

[0036] 用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂的制备方法,包括如下步骤:

[0037] (1) 将120mg Ce(NO₃)₃·6H₂O溶于10mL去离子水,得到溶液一;在搅拌下将140mg6-氨基己酸和5μL浓盐酸溶解在1mL去离子水中,得到溶液二;在室温下,将2mL浓氨水加入到溶液一中,搅拌均匀,加热至95℃,加入溶液二,反应3小时,冷却至室温,水洗,离心,得到CeO₂团簇;

[0038] (2) 配制100mg/mL的CeO₂团簇水悬浮液,将20mg的MW≈58000的聚乙烯吡咯烷酮和40mgK₂PtCl₄加入到10mL水中,得到溶液三;将1mL所述CeO₂团簇水悬浮液加入到溶液三中,95℃反应15分钟,再滴入0.8mL新配制的100mM的NaBH₄水溶液;在95℃反应20分钟;冷却至室温,水洗,离心,得到单原子纳米酶;

[0039] (3) 将活化亲水碳布浸于50mg/mL单原子纳米酶的水溶液0.5mL中,取出;干燥,得到含有单原子纳米酶的活化亲水碳布;

[0040] (4) 在医用胶带上表面依次设置所述含有单原子纳米酶的活化亲水碳布和隔离纸(格拉辛离型纸),得到用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂。

[0041] 实施例4

[0042] 用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂治疗皮肤损伤的实验

[0043] 将雄性小鼠(C57BL/6,19-21g)随机分成4组(每组14只):

- [0044] 损伤组,
- [0045] 碳布对照组(活化亲水碳布);
- [0046] CeO₂对照组(实施例1步骤(1)制备的CeO₂团簇再按实施例1步骤(3)和(4)制备的贴剂。
- [0047] Pt/CeO₂治疗组(实施例1制备)。
- [0048] 所有小鼠用水合氯醛(10%, 4mL/kg)麻醉。再将小鼠的头部剃光后,在头皮剪出约12mm的矢状切口。将各个实验材料贴在小鼠的伤口处,每两天更换一次。在异氟烷气体麻醉期间拍摄小鼠的伤口图片,如图2所示。
- [0049] Pt/CeO₂治疗组小鼠伤口在第8天完全修复,而损伤组和碳布对照组小鼠头皮仍存在小伤口。此外,与CeO₂对照组小鼠相比,Pt/CeO₂治疗组能显著促进疤痕愈合以及表皮保护性毛发的再生。动物实验表明,用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂(Pt/CeO₂治疗组)可以显著提高伤口愈合效率,增强皮肤组织再生效果。
- [0050] 实验证明,实施例2、3制备的用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂能显著促进疤痕愈合以及表皮保护性毛发的再生,可以显著提高伤口愈合效率,增强皮肤组织再生效果。
- [0051] 实施例5
- [0052] 用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂毒副作用研究
- [0053] 将雄性小鼠(C57BL/6, 19-21g)随机分成4组(每组10只):
- [0054] 正常对照组,
- [0055] 损伤组
- [0056] CeO₂对照组(实施例1步骤(1)制备的CeO₂团簇再按实施例1步骤(3)和(4)制备的贴剂。
- [0057] Pt/CeO₂治疗组(实施例1制备)。
- [0058] 在创伤处理后的第12天和第26天通过眼球取血收集血液样品,需要单独保存一份以及用抗凝剂预处理一份。获得样品后,抗凝剂预处理的血样使用血细胞计数仪进行血液学检查,未加抗凝剂的血样通过离心制备血清用于生化指标检测分析。
- [0059] 作为治疗皮肤损伤的可能方案之一,我们进一步检查了用于皮肤创伤的单原子纳米酶贴剂的毒性反应,包括血常规检查和血液生化指标检测。典型的血液学指标和血生化数据(图3和4)显示,治疗组小鼠的各项指标均与正常小鼠相近,均在健康范围之内。因此,在本发明实验研究中,将单原子Pt/CeO₂纳米酶制作成贴剂外用于皮肤损伤治疗是安全有效的,且基本没有副作用。
- [0060] 参考文献:
- [0061] [1]C.K.Sen,G.M.Gordillo,S.Roy,R.Kirsner,L.Lambert,T.K.Hunt,et al., Human skin wounds:a major and snowballing threat to public health and the economy,Wound Repair Regen.17(2009)763-771.
- [0062] [2]R.J.Hay,N.E.Johns,H.C.Williams,I.W.Bolliger,R.P.Dellavalle,D.J.Margolis et al.,The global burden of skin disease in 2010:an analysis of the prevalence and impact of skin conditions,J.Invest.Dermatol 134(2014)1527-1534.
- [0063] [3]P.Niethammer,C.Grabher,A.T.Look,T.J.Mitchison,A tissue-scale

gradient of hydrogen peroxide mediates rapid wound detection in zebrafish, *Nature* 459 (2009) 996-999.

[0064] [4] M. Schaefer, S. Werner, Oxidative stress in normal and impaired wound repair, *Pharmacol. Res.* 58 (2008) 165-171.

[0065] [5] C. K. Tsang, Y. Liu, J. Thomas, Y. Zhang, X. F. S. Zheng, Superoxide dismutase 1 acts as a nuclear transcription factor to regulate oxidative stress resistance, *Nat. Commun.* 5 (2014) 3446.

[0066] [6] T. Finkel, N. J. Holbrook, Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing, *Nature* 408 (2000) 239-247.

[0067] [7] A. Pellicoro, P. Ramachandran, J. P. Iredale, J. A. Fallowfield, Liver fibrosis and repair: immune regulation of wound healing in a solid organ, *Nat. Rev. Immunol.* 14 (2014) 181-194.

[0068] [8] M. Mittal, M. R. Siddiqui, K. Tran, S. P. Reddy, A. B. Malik, Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury, *Antioxid. Redox Sign.* 20 (2014) 1126-1167.

[0069] [9] Peterson E J, DeLaRiva A T, Lin S, et al. Low-temperature carbon monoxide oxidation catalysed by regenerable atomically dispersed palladium on alumina. *Nature communications*, 2014, 5:4885.

[0070] [10] Li Y, He X, Yin J J, et al. Acquired superoxide-scavenging ability of ceria nanoparticles. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, 54 (6) :1832-1835;

[0071] [11] Xie Q, Zhang H, Kang J, et al. Oxidative dehydrogenation of propane to propylene in the presence of HCl catalyzed by CeO₂ and NiO-modified CeO₂ nanocrystals. *ACS Catalysis*, 2018, 8 (6) :4902-4916.

[0072] [12] Nie L, Mei D, Xiong H, et al. Activation of surface lattice oxygen in single-atom Pt/CeO₂ for low-temperature CO oxidation. *Science*, 2017, 358 (6369) : 1419-1423.

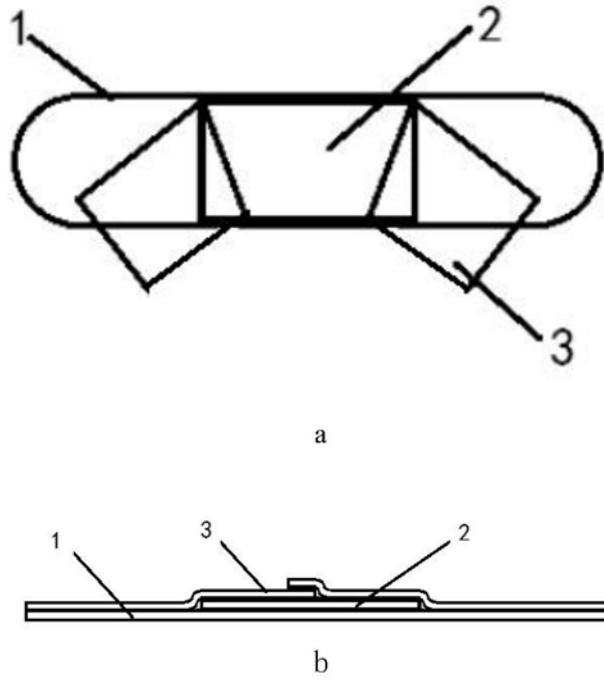


图1

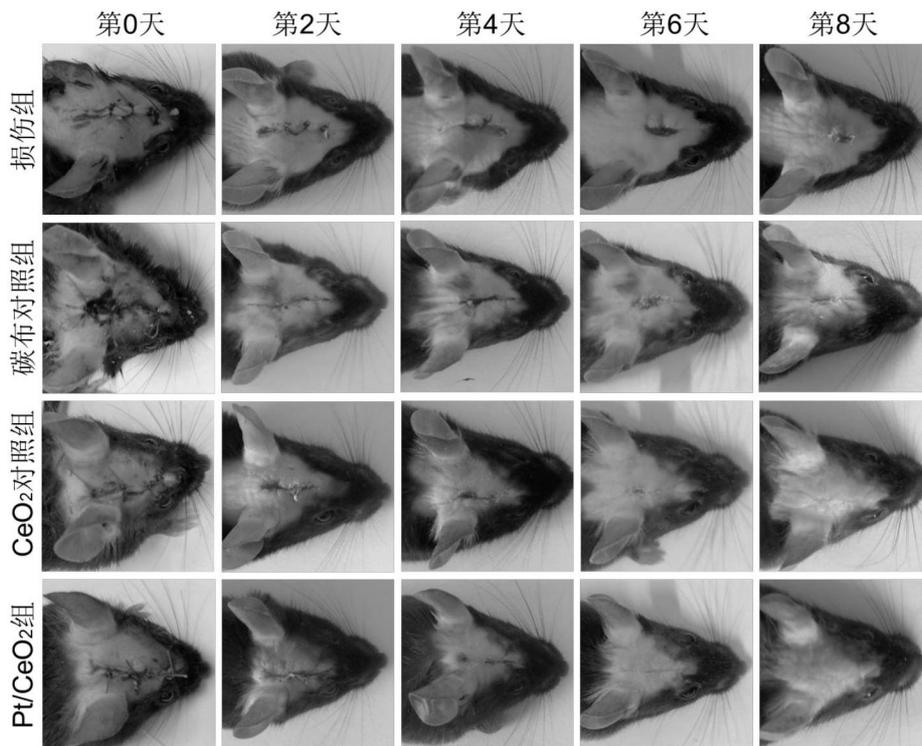


图2

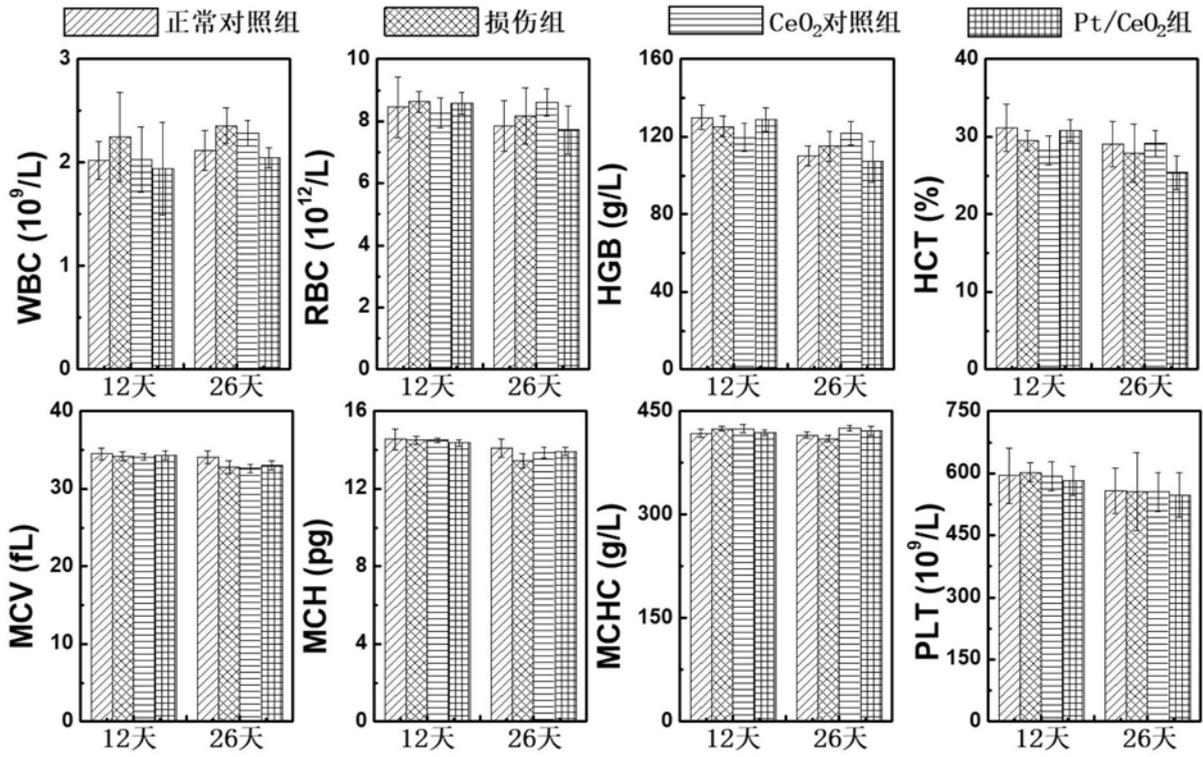


图3

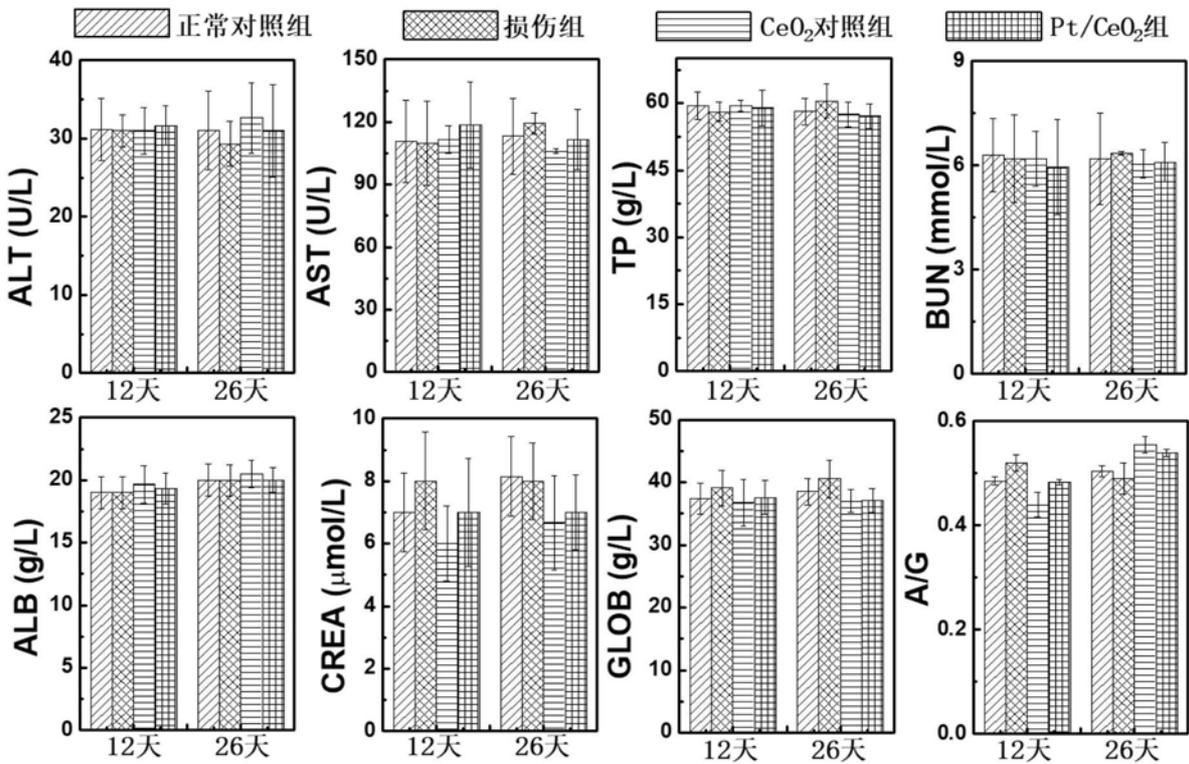


图4