



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410048040. X

[43] 公开日 2005 年 2 月 23 日

[11] 公开号 CN 1584143A

[22] 申请日 2004. 6. 11

[21] 申请号 200410048040. X

[71] 申请人 清华大学

地址 100084 北京市 100084 - 82 信箱

[72] 发明人 胡 平 施一平 方壮熙

权利要求书 1 页 说明书 4 页

[54] 发明名称 一种用于组织修复的生长因子缓释体系的制备方法

[57] 摘要

一种用于组织修复的生长因子缓释体系的制备方法，涉及一种利用电纺丝技术制备载有生长因子的纳米纤维缓释体系。本发明由生物可降解聚合物材料与生长因子复合，并利用电纺丝技术制成载有生长因子的纳米纤维缓释体系。该方法不仅操作简单，工序简便，而且可使生长因子在缺损组织的修复治疗中得到有效的利用。该缓释体系可在体内稳定恒速释放生长因子，避免了生长因子的失活，可长期促进细胞增殖及组织修复。所得产品既可制成膜片植入组织缺损部位以配合治疗，也可直接制成组织工程支架，种植上细胞并经体外培养，使细胞生长增殖而成组织替代物，再植入体内以修复缺损组织。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种用于组织修复的生长因子缓释体系的制备方法，其特征在于：该方法按如下步骤进行：

1) 将生物可降解聚合物材料与生长因子按质量比为 1~100: 1 共同溶解于生物无毒的相应溶剂中，配成质量浓度为 0.01-1g/mL 的电纺丝溶液；

2) 在步骤 1) 中加入质量浓度为 0-0.1g/mL 的生物无毒的表面活性剂及 0-0.1g/mL 的电解质，以调节纺丝性能；

3) 使用电纺丝技术，将上述配制的溶液电纺成纤维，制成载有生长因子的纳米纤维无纺布或取向纤维产品。

2. 按照权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：所述的生物可降解聚合物材料包括聚羟基烷酸酯类及其共聚物，选自聚 β -羟基丁酸酯、聚 β -羟基戊酸酯和聚 β -羟基己酸酯；聚丙交酯、聚乙交酯、聚己内酯及乙交酯和丙交酯的共聚物；蛋白质类，选自牛血清蛋白、胶原、明胶；聚乙烯醇；壳聚糖及其衍生物；可降解聚氨酯类；聚碳酸酯类或上述材料的共混物；所述的生长因子包括：骨形态发生蛋白、转化生长因子- β 1、碱性成纤维细胞生长因子、胰岛细胞生长因子、血管内皮细胞生长因子、表皮生长因子、神经胶质生长因子、软骨调节素-I、血小板衍化生长因子或角朊细胞生长因子。

3. 按照权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：所述的生物无毒的表面活性剂包括：十二烷基硫酸钠；环氧乙烷及环氧丙烷嵌段共聚物；脂肪族 PPO-PEO 共聚醚类；卵磷脂；聚乙二醇；蔗糖脂肪酸酯，选自硬脂酸蔗糖酯和月桂酸蔗糖酯。

4. 按照权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：所述的生物无毒的电解质采用脂肪族季铵盐类，选自氯化三乙基苄基铵和氯化甲基三辛基铵。

一种用于组织修复的生长因子缓释体系的制备方法

技术领域

本发明涉及一种用于组织修复的生长因子缓释体系，具体地说是涉及一种利用电纺丝技术制备载有生长因子的纳米纤维缓释体系的方法。

背景技术

生长因子是具有诱导和刺激细胞增殖、维持细胞存活等生物效应的蛋白类物质，其对促进细胞增殖、组织或器官的修复和再生都具有重要的促进作用，在组织工程中有着重要的地位。但各种生长因子都是多肽蛋白类物质，在有水存在及室温环境下很容易失去生物活性。如直接注入体内，生长因子将在一天之内被迅速的弥散及降解，无法起到长期促进缺损组织修复的作用。因此，如何在身体环境下保持且尽可能延长生长因子的生物活性，是生长因子能真正在临床发挥作用的关键所在。

为解决生长因子的应用问题，可将药物控缓释技术引入组织工程。即利用生物可降解聚合物材料负载各种生长因子或激素，向种子细胞定量持续释放，从而使生长因子能长期保持活性，促进细胞的生长和分化。

载有各种生长因子的微球缓释体系已开始应用于组织工程上，并取得了一定的促进细胞生长和增殖的作用。一般的做法是先制成载有生长因子的微球缓释体系，再涂覆于支架材料表面，工序繁复，而且达不到很好的固定效果，容易脱落。

电纺丝是一种可简便高效地制备纳米纤维的新技术。其通过向聚合物溶液或熔体施加高电场产生喷射流，喷射流经过空气中，由于流体不稳定性，产生高速鞭动而被迅速拉细，同时溶剂挥发或熔体固化，形成直径在3~5000nm的纤维。电纺丝纤维在功能材料领域特别是生物医用领域已取得了很多应用，如组织工程支架、伤口敷料、手术隔离膜等。而在药物缓释领域，电纺丝纤维也有着潜在的应用前景。国内发明专利申请《利用电纺丝制备组织工程支架材料的方法及装置》(申请号03137309.7)中公开了一种利用多种天然高分子聚合物或合成高分子溶液或熔融液进行纺丝的电纺丝工艺及设备，从而为电纺丝技术应用于组织工程提供了一种可能性。

发明内容

本发明的目的是提供一种利用电纺丝技术制备新型载有生长因子的纳米纤维缓释体系的方法，该方法工艺简单、操作方便；利用该方法，不但可制成载有生长因子的缓释膜片，植入体内以配合治疗，更可直接将缓释体系加工成组织工程支架，减少组织工程支架的活化工序，提高生长因子的有效利用率；使生长因子负载量及释放速率可调节范围宽、释放稳定。

本发明的目的是通过如下技术方案实现的：

一种用于组织修复的生长因子缓释体系的制备方法，其特征在于该方法按如下步骤进行：

1) 将生物可降解聚合物材料与生长因子按质量比为 1~100: 1 共同溶解于生物无毒的相应溶剂中, 配成质量浓度为 0.01-1g/mL 的电纺丝溶液;

2) 在步骤 1) 中加入质量浓度为 0-0.1g/mL 的生物无毒的表面活性剂及 0-0.1g/mL 的电解质, 以调节纺丝性能;

3) 使用电纺丝技术, 将上述配制的溶液电纺成纤维, 制成载有生长因子的纳米纤维无纺布或取向纤维产品。

本发明中所使用的生物可降解聚合物材料包括聚羟基烷酸酯类及其共聚物, 选自聚 β -羟基丁酸酯 (PHB)、聚 β -羟基戊酸酯 (PHV)、聚 β -羟基己酸酯 (PHHx); 聚丙交酯 (PLA)、聚乙交酯 (PGA)、聚己内酯 (PCL) 及乙交酯丙交酯共聚物 (PLGA); 蛋白质类, 选自牛血清蛋白 (BSA)、胶原 (Gellatin)、明胶; 聚乙烯醇 (PVA); 壳聚糖 (Chitosan) 及其衍生物; 可降解聚氨酯类; 聚碳酸酯类 (PC); 或上述材料的共混物。

本发明中所使用的生长因子包括骨形态发生蛋白 (BMP)、转化生长因子- β 1 (TGF- β 1)、碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF)、胰岛细胞生长因子 (IGF-1, IGF-2)、血管内皮细胞生长因子 (VEGF)、表皮生长因子 (EGF)、神经胶质生长因子 (GGF)、软骨调节素-I (ChM-I)、血小板衍化生长因子 (PDGF) 或角朊细胞生长因子 (KGF)。

本发明中所使用的生物无毒的表面活性剂包括: 十二烷基硫酸钠 (SDS); 环氧乙烷及环氧丙烷嵌段共聚物; 脂肪族 PPO-PEO 共聚醚类; 卵磷脂; 聚乙二醇; 蔗糖脂肪酸酯, 如: 硬脂酸蔗糖酯、月桂酸蔗糖酯等。

本发明中所使用的生物无毒的电解质包括: 脂肪族季铵盐类, 如氯化三乙基苄基铵 (TEBA)、氯化甲基三辛基铵等。

本发明所提供的方法与现有技术相比, 具有以下优点及突出性效果: 该方法操作简单, 工序简便, 可使生长因子在缺损组织的修复治疗中得到有效的利用。由于将药物加入可降解聚合物溶液中进行电纺丝得到的纳米纤维具有极高的比表面积, 载药量及释药速率可调节的范围大, 且随着聚合物材料的降解, 纤维表面的孔隙增大, 释药速率可得到提高, 由此弥补了由于药物释放使纤维内部所载药量减少而引起的释药速率降低。如条件控制适宜, 药物可得到稳定的零级释放。而且生长因子包裹在纳米纤维支架内部, 还可以促进细胞向支架内部增殖, 从而促进细胞之间的融合与胞外基质的分泌。随着细胞增殖成组织, 聚合物支架完全降解后, 生长因子的释放也随之结束, 从而可使成本较高的生长因子得到最有效的利用。本发明所制得的纳米纤维缓释体系制品可直接植入组织缺损部位配合治疗, 也可用制成各种不同形状的组织工程支架, 如用于血管组织工程和神经组织工程的管状支架, 用于皮肤组织工程的片状支架, 种植上细胞并经体外培养, 使细胞生长增殖而成组织替代物, 再植入体内以修复缺损组织。

具体实施方式

本发明使用的可降解材料中的可降解聚氨酯类参考国内发明专利《一种含有聚-β-羟基丁酸酯嵌段的聚氨酯弹性体的合成》(申请号 02129486.0)。

本发明采用的电纺丝技术可参考本申请人申请的《利用电纺丝制备组织工程支架材料的方法及装置》(申请号 03137309.7)中公开的技术和设备进行。

使用本方法制备得到的产品既可制成膜片植入体内组织缺损部位以配合治疗,也可直接制成各种不同形状的组织工程支架,如用于血管组织工程和神经组织工程的管状支架,用于皮肤组织工程的片状支架。

下面实施例可进一步说明和解释本发明的操作过程及其配方。

实施例 1:

(1)将质量比为 4:1 的 PLA 与 BMP 的混合物溶解于乙醚中,配成浓度为 0.1g/mL 的溶液,然后加入 0.01g/mL 量的 TEBA 调节溶液电性质;

(2)将所配得的溶液进行电纺丝,得到纤维直径为 800~1000nm 的纳米纤维无纺布产品;

(3)将所制得的纳米纤维无纺布植入骨折处,用骨螺钉固定,以促进骨折愈合。

实施例 2:

(1)将质量比为 100:1 的 PLA 与 BMP 的混合物溶解于乙醚中,配成浓度为 0.01g/mL 的溶液;

(2)将所配得的溶液进行电纺丝,得到纤维直径为 400~600nm 的纳米纤维无纺布产品;

(3)将所制得的纳米纤维无纺布植入骨折处,用骨螺钉固定,以促进骨折愈合。

实施例 3:

(1)将质量比为 1:1 的 PGA 与 BMP 的混合物溶解于乙醚中,配成浓度为 0.5g/mL 的溶液,然后加入 0.1g/mL 量的 TEBA 和 0.001g/mL 卵磷脂调节溶液性质;

(2)将所配得的溶液进行电纺丝,得到纤维直径为 1200~1500nm 的纳米纤维无纺布产品;

(3)将所制得的纳米纤维无纺布植入骨折处,用骨螺钉固定,以促进骨折愈合。

实施例 4:

(1)将质量比为 40:1 的 PHBV 与 BMP 的混合物溶解于丙酮中,配成浓度为 1g/mL 的溶液,加入 0.1g/mL SDS 调节溶液性质;

(2)将所配得的溶液进行电纺丝,得到纤维直径为 2000~2500nm 的纳米纤维无纺布产品;

(3)将所制得的纳米纤维无纺布植入骨折处,用骨螺钉固定,以促进骨折愈合。

实施例 5:

(1)将质量比为 20:20:1 的可降解 PU、PHBV 与 EGF 的混合物溶于 1,4-二氧六环中,配成浓度为 0.2g/mL 的溶液;

(2)将所配得的溶液进行电纺丝,纤维直径为 1200~1400nm 的得到纳米纤维无纺布产品;

(3)将所制得的纳米纤维无纺布用作表皮组织工程支架。

实施例 6:

- (1)将质量比为 6:1 的可降解 PU 与 EGF 的混合物溶于 1, 4-二氧六环中, 配成浓度为 0.3g/mL 的溶液;
- (2)将所配得的溶液进行电纺丝, 得到纤维直径为 1300~1600nm 的纳米纤维无纺布产品;
- (3)将所制得的纳米纤维无纺布用作表皮组织工程支架。

实施例 7:

- (1)将质量比为 50:1 的可降解 PU 与 VEGF 的混合物溶于 1, 4-二氧六环中, 配成浓度为 0.4g/mL 的溶液;
- (2)将所配得的溶液进行电纺丝, 用旋转接收装置, 得到纤维直径为 1500~1800nm 的, 直径为 1cm 管状纳米纤维无纺布;
- (3)将所制得的管状无纺布用作血管组织工程支架。

实施例 8:

- (1)将质量比为 20: 1 的胶原与 VEGF 的混合物溶于 1, 4-二氧六环中, 配成浓度为 0.05g/mL 的溶液;
- (2)将所配得的溶液进行电纺丝, 用旋转接收装置, 得到纤维直径为 70~100nm 的, 直径为 1.5cm 的管状纳米纤维无纺布;
- (3)将所制得的管状无纺布用作血管组织工程支架。

实施例 9:

- (1)将质量比为 10: 20: 1 的明胶、胶原与 GGF 的混合物溶于 1, 4-二氧六环中, 配成浓度为 0.3g/mL 的溶液;
- (2)将所配得的溶液进行电纺丝, 用旋转接收装置, 得到纤维直径为 150~200nm 的, 直径为 5mm 的管状纳米纤维无纺布;
- (3)将所制得的管状无纺布用作神经组织工程支架。

实施例 10:

- (1)将质量比为 1: 5: 1 的明胶、胶原与 GGF 的混合物溶于 1, 4-二氧六环中, 配成浓度为 0.2g/mL 的溶液;
- (2)将所配得的溶液进行电纺丝, 用旋转接收装置, 得到纤维直径为 110~140nm 的, 直径为 5mm 的管状纳米纤维无纺布;
- (3)将所制得的管状无纺布用作神经组织工程支架。