



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110951096 A

(43)申请公布日 2020.04.03

(21)申请号 201911302909.1

C08B 37/02(2006.01)

(22)申请日 2019.12.17

(71)申请人 广东省医疗器械研究所

地址 510500 广东省广州市天河区广州大道中1307号

(72)发明人 裴大婷 于珊 耿志杰 刘群峰

(74)专利代理机构 广州嘉权专利商标事务有限公司 44205

代理人 林德强

(51)Int.Cl.

C08J 3/28(2006.01)

C08J 3/24(2006.01)

C08J 3/075(2006.01)

C08L 5/02(2006.01)

C08L 89/00(2006.01)

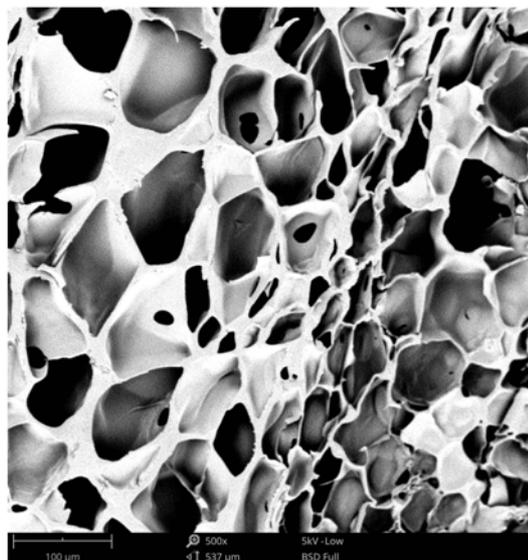
权利要求书1页 说明书6页 附图5页

(54)发明名称

一种GelMA-氧化葡聚糖双网络水凝胶及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种GelMA-氧化葡聚糖双网络水凝胶及其制备方法。这种双网络水凝胶是通过以下的制备方法制得:1)制备氧化葡聚糖:将葡聚糖溶液与氧化剂进行反应,得到氧化葡聚糖;2)制备甲基丙烯酰化明胶:将明胶溶液与甲基丙烯酸酐进行反应,得到甲基丙烯酰化明胶;3)制备双网络水凝胶:将氧化葡聚糖溶液与甲基丙烯酰化明胶溶液混合,再与光引发剂溶液混合,得到混合溶液,然后静置成胶,将所得的凝胶进行紫外光照射,得到GelMA-氧化葡聚糖双网络水凝胶。本发明这种光交联双改性的GelMA-氧化葡聚糖双网络水凝胶结构稳定,力学性能好,且制备原料安全环保,制备方法简单,反应条件温和,具有广阔的应用前景。



1. 一种GelMA-氧化葡聚糖双网络水凝胶的制备方法,其特征在于:包括以下步骤:
 - 1) 制备氧化葡聚糖:将葡聚糖溶液与氧化剂进行反应,得到氧化葡聚糖;
 - 2) 制备甲基丙烯酰化明胶:将明胶溶液与甲基丙烯酸酐进行反应,得到甲基丙烯酰化明胶;
 - 3) 制备双网络水凝胶:将氧化葡聚糖溶液与甲基丙烯酰化明胶溶液混合,再与光引发剂溶液混合,得到混合溶液,然后静置成胶,将所得的凝胶进行紫外光照射,得到GelMA-氧化葡聚糖双网络水凝胶。
2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:所述步骤1)中,葡聚糖与氧化剂的质量比为1:(0.5~1);所述氧化剂为高碘酸钠。
3. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:所述步骤2)中,明胶与甲基丙烯酸酐的用量比为10g:(1~3)mL。
4. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:所述步骤3)中,甲基丙烯酰化明胶溶液与氧化葡聚糖溶液的体积比为(0.6~7):1。
5. 根据权利要求1或4所述的制备方法,其特征在于:所述步骤3)中,氧化葡聚糖溶液的氧化葡聚糖质量浓度为5%~12%;甲基丙烯酰化明胶溶液的甲基丙烯酰化明胶质量浓度为15%~25%。
6. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:所述步骤3)中,光引发剂溶液的用量为甲基丙烯酰化明胶溶液和氧化葡聚糖溶液总体积的3%~10%。
7. 根据权利要求1或6所述的制备方法,其特征在于:所述步骤3)中,光引发剂溶液为光引发剂浓度是0.5w/v%~1.5w/v%的水溶液。
8. 根据权利要求7所述的制备方法,其特征在于:所述步骤3)中,光引发剂选自光引发剂LAP、光引发剂2959中的至少一种。
9. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:所述步骤3)中,静置成胶的温度为35℃~40℃。
10. 一种GelMA-氧化葡聚糖双网络水凝胶,其特征在于:是由权利要求1~9任一项所述的制备方法制得。

一种GelMA-氧化葡聚糖双网络水凝胶及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及水凝胶技术领域,特别是涉及一种GelMA-氧化葡聚糖双网络水凝胶及其制备方法。

背景技术

[0002] 天然高分子材料及其衍生聚合物所组成的水凝胶,由于其结构中的含水量高、具有高度的仿生性——物理性质与细胞外基质(ECM)相似等,因此可以很好地模拟人体组织结构,并在组织工程和生物医药等领域得到了广泛的应用。

[0003] 单网络水凝胶由于结构单一,往往不能承受太大的应力和形变,这在很大程度上限制了水凝胶的应用。为了通过结构设计提高水凝胶的力学性能,在单一网络的水凝胶中通过不同的官能团反应引入两种不同的交联点,这样制得的双交联的水凝胶具有更强的机械性能,还可以通过调节两种交联剂的含量制备不同强度的水凝胶。

[0004] 双网络水凝胶是在传统单一网络和互穿网络结构的基础上发展而来的,将刚性的第一网络和柔性第二网络协同起来共同承担抵抗外力的作用。CN102784414A公开了一种由氧化葡聚糖、氨基化明胶和四臂聚乙二醇丙烯酸酯组成的双交联网络水凝胶,氧化葡聚糖和氨基化明胶通过希夫碱反应形成第一交联网络,四臂聚乙二醇丙烯酸酯在光引发剂的存在下由紫外光引发交联形成独立并互穿于第一交联网络的第二交联网络。但双网络中两个网络是单独存在的,除了物理缠结之外两个网络之间并没有任何交联,这对于双网络的协同作用是不利的。在双网络水凝胶的基础上,设想假如两个独立的网络之间能够在结构上紧紧联合起来,那么他们在承受应力的时候,必定能更好的分散和消耗能量,也能使各自的网络结构更加稳定,这对于强韧水凝胶的研究和发展也具有积极的意义。

[0005] 葡聚糖是一种亲水的线性多糖,又称右旋糖酐,各个重复单元之间以糖苷键连接。分子链上有大量的羟基,在强氧化剂作用下使吡喃葡糖环开环形成含有醛基的葡聚糖,作为化学结合位点,与聚合物中-NH₂键合形成席夫碱键,具有反应活性高,交联度精细可控的特点。葡聚糖及其衍生物由于无毒、可降解、易溶于水等性质被广泛应用于水凝胶的制备。明胶是胶原蛋白的变性产物,分子链上广泛分布着羧基(-COOH)和氨基(-NH₂)等反应活性高的侧基,为进一步的改性提供了活性位点。甲基丙烯酸酐基明胶GelMA是由明胶与甲基丙烯酸酐化学改性制成的光交联材料。在水溶性光引发剂存在下,GelMA能够在暴露于紫外线(UV)下形成稳定的凝胶所得水凝胶在体温下保持其物理形态,具有结构稳定性。GelMA根据其甲基丙烯酸化程度和浓度的不同,具有可控的力学性能。此外,GelMA还保留了明胶固有的生物学特性。但纯的GelMA粘度低,交联时间长。

[0006] 目前双网络水凝胶中的两个网络是单独存在的,除了物理缠结之外,两个网络之间并没有任何交联,这对于双网络的协同作用是不利的。因此,如何制备得到一种网络结构更加稳定的双网络水凝胶,发挥双网络的协同作用,进一步提高水凝胶的力学性能使其具有更广泛的应用,成为了本领域工作者亟需解决的技术难题。

发明内容

[0007] 为了克服现有技术双网络水凝胶存在的问题,本发明的目的在于提供一种GelMA-氧化葡聚糖双网络水凝胶及其制备方法。

[0008] 本发明的发明构思如下:利用醛基化葡聚糖与部分双键化的GelMA上的氨基通过发生席夫碱反应,形成第一层交联网络,接着在紫外光条件下引发GelMA双键聚合反应形成第二层交联网络结构,两层网络结构通过GelMA联系起来,不是相互独立,网络结构更加稳定。

[0009] 为了实现上述目的,本发明所采取的技术方案是:

[0010] 本发明提供了一种GelMA-氧化葡聚糖双网络水凝胶的制备方法,这种制备方法包括以下步骤:

[0011] 1) 制备氧化葡聚糖(ODEX):将葡聚糖溶液与氧化剂进行反应,得到氧化葡聚糖;

[0012] 2) 制备甲基丙烯酰化明胶(GelMA):将明胶溶液与甲基丙烯酸酐(MAA)进行反应,得到甲基丙烯酰化明胶;

[0013] 3) 制备双网络水凝胶:将氧化葡聚糖溶液与甲基丙烯酰化明胶溶液混合,再与光引发剂溶液混合,得到混合溶液,然后静置成胶,将所得的凝胶进行紫外光照射,得到GelMA-氧化葡聚糖双网络水凝胶。

[0014] 优选的,这种制备方法的步骤1)中,葡聚糖与氧化剂的质量比为1:(0.5~1)。

[0015] 优选的,这种制备方法的步骤1)中,氧化剂为高碘酸钠。

[0016] 优选的,这种制备方法的步骤1)中,葡聚糖溶液为葡聚糖的水溶液;葡聚糖与水的用量比优选为1g:(50~100)mL。

[0017] 优选的,这种制备方法的步骤1)中,反应在避光条件下进行,反应的时间为3h~6h。

[0018] 优选的,这种制备方法的步骤1)中,反应具体是先加入高碘酸钠进行反应,然后加入乙二醇终止反应。

[0019] 优选的,这种制备方法的步骤1)中,反应后还包括将产物透析、冷冻干燥的步骤。透析所用的透析袋截留分子量Mw优选为14000。

[0020] 优选的,这种制备方法的步骤2)中,明胶与甲基丙烯酸酐的用量比为10g:(1~3)mL。

[0021] 优选的,这种制备方法的步骤2)中,明胶溶液的明胶浓度为80g/L~150g/L。

[0022] 优选的,这种制备方法的步骤2)中,反应是在弱碱性条件下进行;进一步优选的,反应是在体系pH=7.5~8.5的条件下进行。

[0023] 优选的,这种制备方法的步骤2)中,反应具体是:将明胶加入磷酸盐缓冲溶液中溶解,得到明胶溶液,然后加入甲基丙烯酸酐进行反应,最后加入磷酸盐缓冲溶液终止反应;所用磷酸盐缓冲溶液为 NaH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 的水溶液,磷酸盐缓冲溶液的pH值为8.0。

[0024] 优选的,这种制备方法的步骤2)中,反应后还包括加入乙醇进行沉淀,离心分离,将所得沉淀透析,冷冻干燥的步骤。透析所用的透析袋截留分子量优选为3500Da。

[0025] 优选的,这种制备方法的步骤3)中,甲基丙烯酰化明胶溶液与氧化葡聚糖溶液的体积比为(0.6~7):1;进一步优选的,甲基丙烯酰化明胶溶液与氧化葡聚糖溶液的体积比为(2/3~6):1。

[0026] 优选的,这种制备方法的步骤3)中,氧化葡聚糖溶液的氧化葡聚糖质量浓度为5%~12%;进一步优选的,氧化葡聚糖溶液的氧化葡聚糖质量浓度为8%~10%。氧化葡聚糖溶液优选为氧化葡聚糖的水溶液。

[0027] 优选的,这种制备方法的步骤3)中,甲基丙烯酰化明胶溶液的甲基丙烯酰化明胶质量浓度为15%~25%;进一步优选的,甲基丙烯酰化明胶溶液的甲基丙烯酰化明胶质量浓度为18%~22%。甲基丙烯酰化明胶溶液优选为甲基丙烯酰化明胶的水溶液。

[0028] 优选的,这种制备方法的步骤3)中,光引发剂溶液的用量为甲基丙烯酰化明胶溶液和氧化葡聚糖溶液总体积的3%~10%。

[0029] 优选的,这种制备方法的步骤3)中,光引发剂溶液为光引发剂浓度是0.5w/v%~1.5w/v%的水溶液。在本发明一些优选的具体实施方式中,光引发剂溶液为光引发剂浓度是1w/v%的水溶液。

[0030] 这种制备方法的步骤3)中,光引发剂为水溶性光引发剂;优选的,光引发剂选自光引发剂LAP(苯基-2,4,6-三甲基苯甲酰基膦酸锂)、光引发剂2959(2-羟基-4'-(2-羟乙氧基)-2-甲基苯丙酮)中的至少一种。在本发明一些优选的具体实施方式中,光引发剂选用光引发剂2959。

[0031] 优选的,这种制备方法的步骤3)中,静置成胶的温度为35℃~40℃。在本发明一些优选的具体实施方式中,静置成胶的温度为37℃。静置成胶优选是在烘箱中进行。

[0032] 优选的,这种制备方法的步骤3)中,紫外光照射的时间为8min~12min;进一步优选的,紫外光照射的时间为8min~10min。

[0033] 优选的,这种制备方法的步骤3)中,紫外光照射是在功率为400W,波长为365nm的紫外光固化设备下进行照射。

[0034] 本发明提供了一种GelMA-氧化葡聚糖双网络水凝胶,这种双网络水凝胶是由上述的制备方法制得。

[0035] 本发明的有益效果是:

[0036] 本发明这种光交联双改性的GelMA-氧化葡聚糖双网络水凝胶结构稳定,力学性能好,且制备原料安全环保,制备方法简单,反应条件温和,具有广阔的应用前景。

[0037] 具体来说,与现有技术相比,本发明的优点如下:

[0038] 1、本发明使用的明胶、葡聚糖均为天然大分子,无毒无害,具有良好的生物相容性,可生物降解。

[0039] 2、本发明的制备方法操作简单、反应温和。

[0040] 3、本发明制备的双网络水凝胶网络结构更加稳定,流变学测试储能模量 G' 达到1000Pa以上,在PBS缓冲液中浸泡72h后水凝胶不溃散。而不加光引发剂的水凝胶浸泡72h后凝胶松散变形坍塌。

附图说明

[0041] 图1是本发明双网络水凝胶制备方法的反应示意图;

[0042] 图2是双网络水凝胶的结构示意图;

[0043] 图3是单网络水凝胶的结构示意图;

[0044] 图4是实施例1双网络水凝胶的扫描电镜图;

[0045] 图5是对比例1单网络水凝胶的扫描电镜图。

具体实施方式

[0046] 附图1是本发明双网络水凝胶制备方法的反应示意图。以下结合图1,通过具体的实施例对本发明的内容作进一步详细的说明。实施例和对比例中所用的原料、试剂或装置如无特殊说明,均可从常规商业途径得到。除非特别说明,试验或测试方法均为本领域的常规方法。

[0047] 实施例1

[0048] 本例Ge1MA-氧化葡聚糖双网络水凝胶的制备方法如下:

[0049] 1) 制备氧化葡聚糖ODEX:将精确称取的5.000g葡聚糖置于400mL去离子水中,加热到50℃磁力搅拌溶解形成均一的溶液。然后把3.000g NaIO₄在避光的环境下缓慢加入反应液中。室温下避光搅拌反应4h后,加入2mL乙二醇终止反应,搅拌15min后将产物装入透析袋(M_w=14000)中透析2~3天,每天换水3~4次。透析完全后将溶液倒入培养皿中,放入-80℃冰箱预冻后,放入冻干机冷冻干燥得白色产物,密封保存备用。

[0050] 2) 制备Ge1MA:Ge1MA是通过甲基丙烯酸酐与明胶在弱碱性条件下反应得到。将6g明胶加入到60mL 0.2M的磷酸盐缓冲溶液中(NaH₂PO₄/Na₂HPO₄,pH=8.0),静置于60℃烘箱中待完全溶解取出。待溶液冷却到45℃时,快速搅拌的同时往里滴加1.2mL的甲基丙烯酸酐,反应1h后,另加入40mL的磷酸盐缓冲液用于终止反应。用500mL的乙醇进行沉淀,置于-20℃冰箱中过夜,通过离心洗去多余的甲基丙烯酸酐。将沉淀装入3500Da的透析袋中透析至少3天,后冻干得到干燥的Ge1MA备用。

[0051] 3) 分别配制ODEX浓度为8.9wt%的水溶液,Ge1MA浓度为20wt%的水溶液,1w/v%的光引发剂(2959)水溶液备用;按Ge1MA:ODEX的溶液体积比为2:1混合均匀后,在避光条件下加入Ge1MA和ODEX溶液总体积4%的光引发剂(2959)溶液继续搅拌,得到混合溶液,37℃烘箱中静置成胶,后将凝胶置于400W,365nm波长的紫外光固化设备中照射10min。

[0052] 实施例2

[0053] 本例Ge1MA-氧化葡聚糖双网络水凝胶的制备方法与实施例1不同之处仅在于:步骤3)中,将Ge1MA:ODEX的溶液体积比为1:1混合均匀,其余均与实施例1的相同。

[0054] 实施例3

[0055] 本例Ge1MA-氧化葡聚糖双网络水凝胶的制备方法与实施例1不同之处仅在于:步骤3)中,将Ge1MA:ODEX的溶液体积比为2:3混合均匀,其余均与实施例1的相同。

[0056] 实施例4

[0057] 本例Ge1MA-氧化葡聚糖双网络水凝胶的制备方法与实施例1不同之处仅在于:步骤3)中,将Ge1MA:ODEX的溶液体积比为4:1混合均匀,其余均与实施例1的相同。

[0058] 实施例5

[0059] 本例Ge1MA-氧化葡聚糖双网络水凝胶的制备方法与实施例1不同之处仅在于:步骤3)中,将Ge1MA:ODEX的溶液体积比为6:1混合均匀,其余均与实施例1的相同。

[0060] 实施例6

[0061] 本例Ge1MA-氧化葡聚糖双网络水凝胶的制备方法与实施例1不同之处仅在于:步骤3)中,将Ge1MA:ODEX的溶液体积比为4:3混合均匀,其余均与实施例1的相同。

[0062] 对比例1

[0063] 本例GelMA-氧化葡聚糖单网络水凝胶的制备方法如下：

[0064] 制备氧化葡聚糖ODEX的步骤1)和制备GelMA的步骤2)均与实施例1的相同。所不同的是步骤3),步骤3)具体如下：

[0065] 3) 分别配制ODEX浓度为8.9wt%的水溶液,GelMA浓度为20wt%的水溶液备用;按GelMA:ODEX的溶液体积比为2:1混合均匀后,将混合溶液在37℃烘箱中静置成胶。

[0066] 对比例2

[0067] 本例GelMA-氧化葡聚糖单网络水凝胶的制备方法与对比例1不同之处仅在于:步骤3)中,将GelMA:ODEX的溶液体积比为1:1混合均匀,其余均与对比例1的相同。

[0068] 对比例3

[0069] 本例GelMA-氧化葡聚糖单网络水凝胶的制备方法与对比例1不同之处仅在于:步骤3)中,将GelMA:ODEX的溶液体积比为2:3混合均匀,其余均与对比例1的相同。

[0070] 对比例4

[0071] 本例GelMA-氧化葡聚糖单网络水凝胶的制备方法与对比例1不同之处仅在于:步骤3)中,将GelMA:ODEX的溶液体积比为4:1混合均匀,其余均与对比例1的相同。

[0072] 对比例5

[0073] 本例GelMA-氧化葡聚糖单网络水凝胶的制备方法与对比例1不同之处仅在于:步骤3)中,将GelMA:ODEX的溶液体积比为6:1混合均匀,其余均与对比例1的相同。

[0074] 对比例6

[0075] 本例GelMA-氧化葡聚糖单网络水凝胶的制备方法与对比例1不同之处仅在于:步骤3)中,将GelMA:ODEX的溶液体积比为4:3混合均匀,其余均与对比例1的相同。

[0076] 性能测试

[0077] 一、最大溶胀率:经测试,实施例1~6和对比例1~6的水凝胶最大溶胀率测试结果如表1所示。

[0078] 表1水凝胶最大溶胀率测试结果

GelMA:ODEX 溶液体积比	双网络水凝胶		单网络水凝胶	
	实施例号	最大溶胀率/%	对比例号	最大溶胀率/%
2:1	实施例 1	625	对比例 1	1277
1:1	实施例 2	539	对比例 2	522
2:3	实施例 3	578	对比例 3	581
4:1	实施例 4	724	对比例 4	1314
6:1	实施例 5	762	对比例 5	1344
4:3	实施例 6	680	对比例 6	1064

[0080] 从表1的测试结果可知,在相同的GelMA:ODEX溶液体积比条件下,实施例的双网络水凝胶其最大溶胀率均低于对比例的单网络水凝胶。

[0081] 原因分析如下:加了光引发剂的GelMA和ODEX的双网络水凝胶结构示意图如附图2所示,未加光引发剂的GelMA和ODEX的单网络水凝胶结构示意图如附图3所示。从图3可见,

对比例的单网络水凝胶只有席夫碱反应形成的网络结构,交联密度较低。从图2可见,实施例的双网络水凝胶不仅有席夫碱网络,而且有光引发自由基聚合形成的第二层交联网络结构,其交联密度比单网络水凝胶的略高,高交联密度的水凝胶水分子更难进入水凝胶内部,导致溶胀率较小。

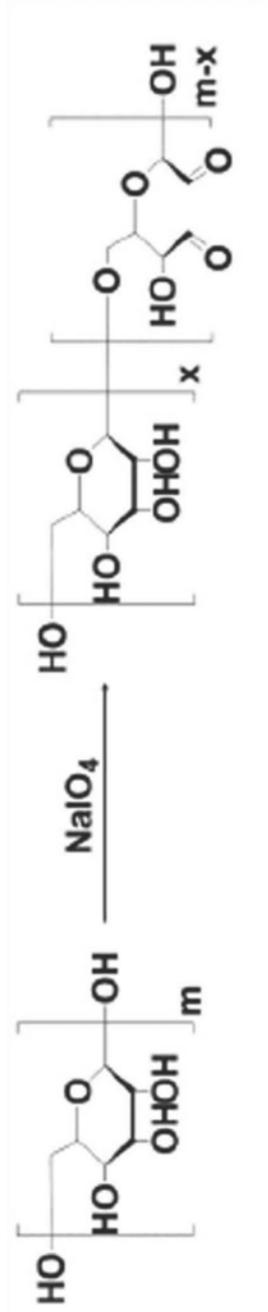
[0082] 二、表征分析:实施例1制得的双网络水凝胶扫描电镜图如附图4所示,对比例1制得的单网络水凝胶扫描电镜图如附图5所示。从图4和图5对比可知,由于实施例1添加了光引发剂,形成了双网络结构,其孔径比对比例1的单网络水凝胶小,交联密度更大。

[0083] 三、溃散性:分别将实施例1~6和对比例1~6的12组水凝胶放在PBS缓冲液中浸泡,72h后实施例1~6的双网络结构水凝胶不溃散,而对比例1~6的单网络水凝胶松散变形坍塌。

[0084] 四、流变学测试:用Anton Paar MR302流变仪对水凝胶进行流变学测试。测试参数如下:温度25℃,频率为1Hz,0.1%~100%应变范围。经测试,实施例1~6的双网络结构水凝胶储能模量 G' 达到1000Pa以上,其中最大储能模量 G' 达到1219.5Pa。而对比例的单网络结构水凝胶储能模量 G' 均只有几百Pa。

[0085] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。

氧化葡萄糖ODEX的制备



甲基丙烯酸酐改性明胶GelMA的合成

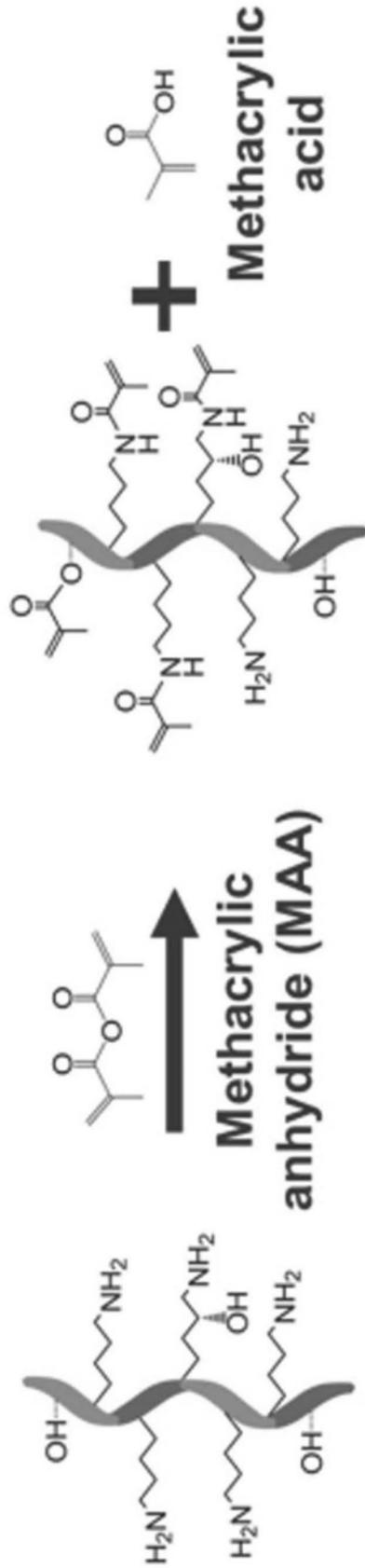
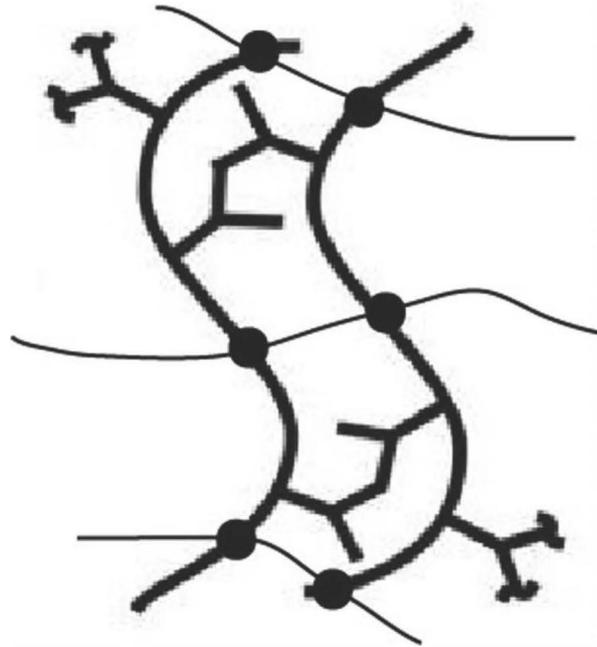


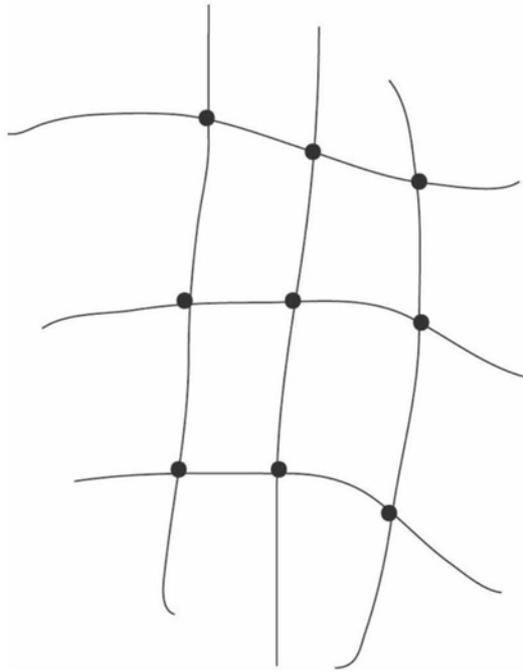
图1



● 席夫碱键交联点

∧ GelMA双键交联点

图2



● 席夫碱键交联点

图3

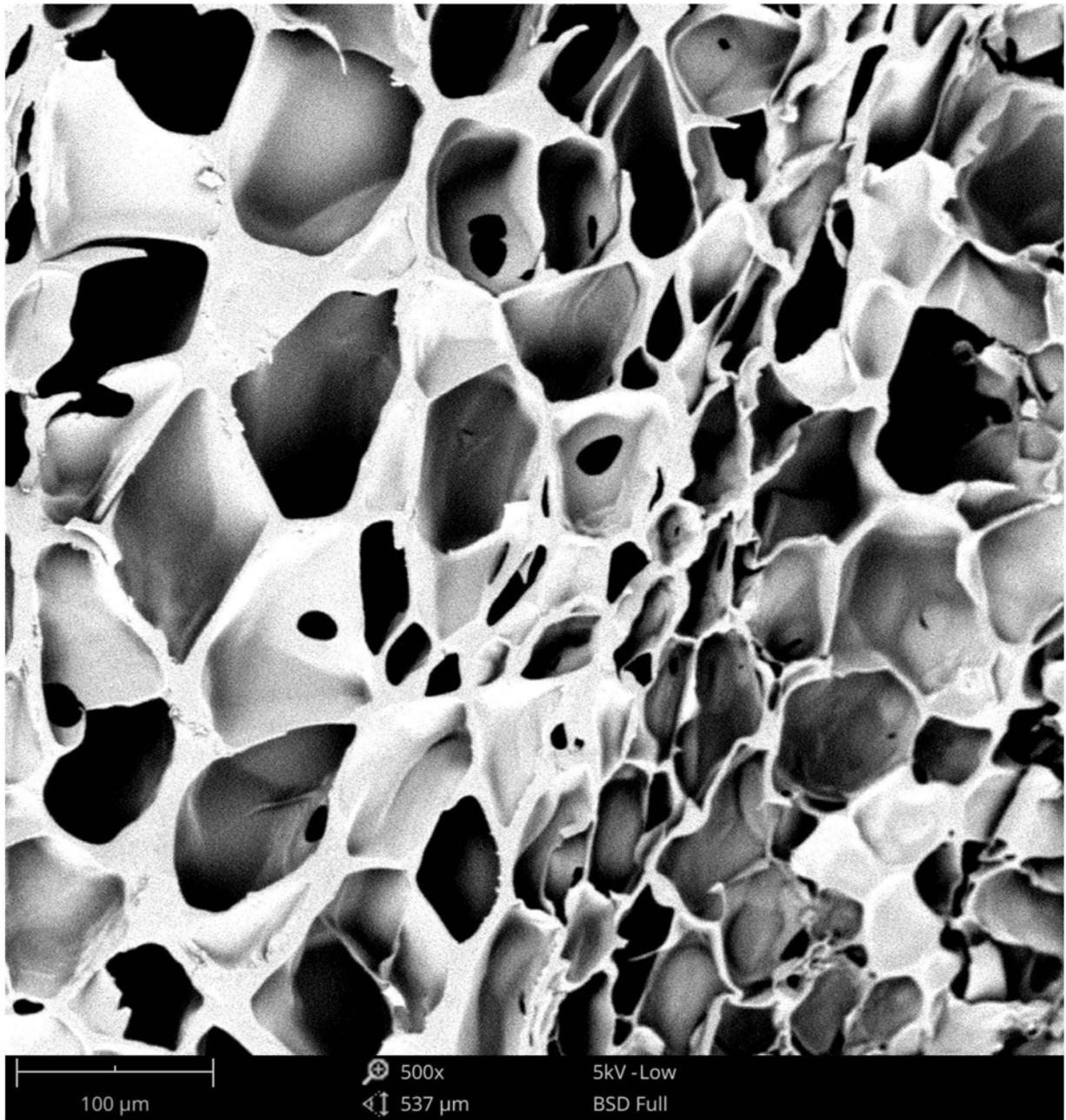


图4

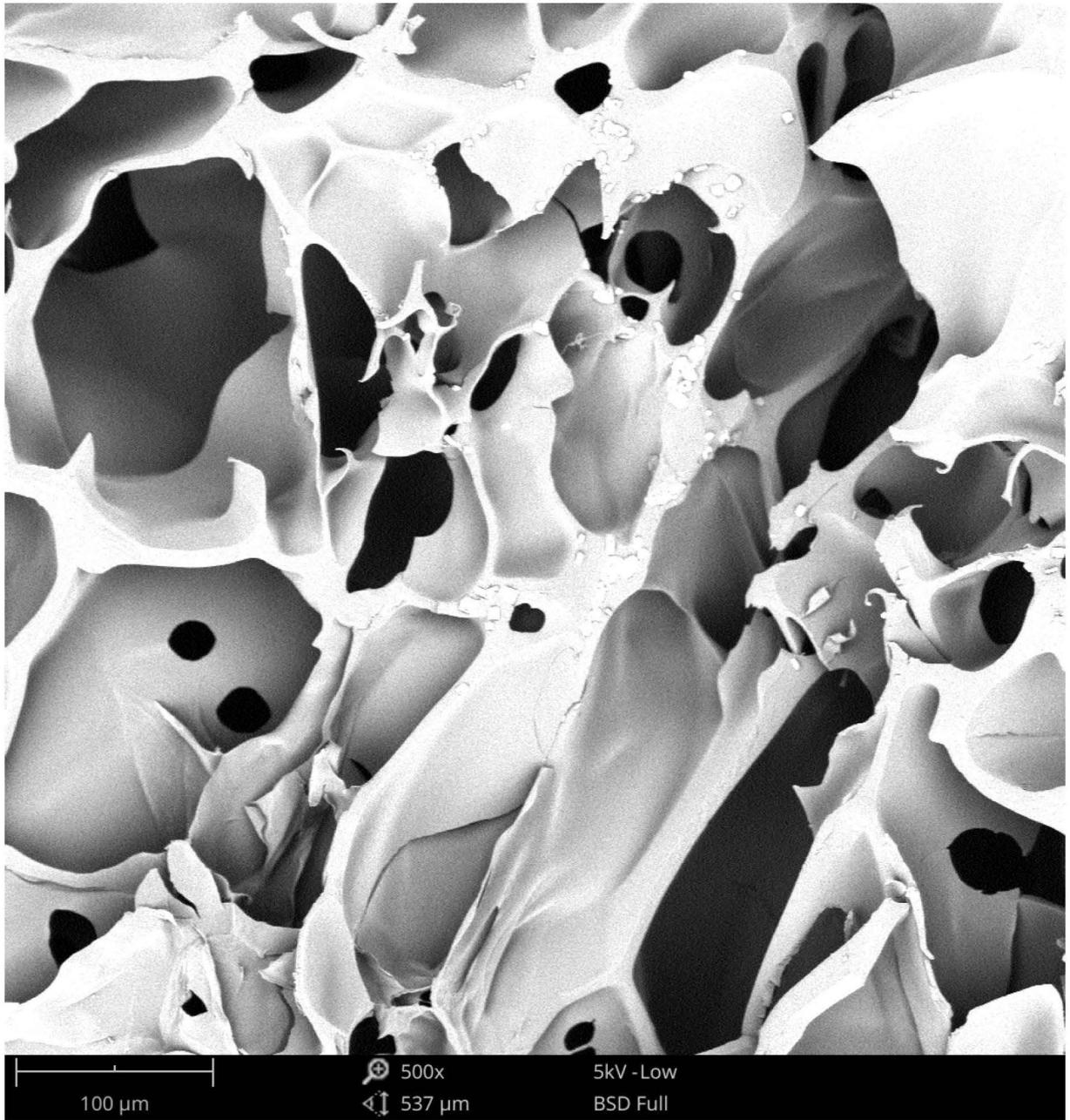


图5