



(10)授权公告号 CN 107428930 B

(45)授权公告日 2020.01.17

(21)申请号 201680014534.7

(22)申请日 2016.03.03

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107428930 A

(43)申请公布日 2017.12.01

(30)优先权数据
2015-047388 2015.03.10 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2017.09.08

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2016/056522 2016.03.03

(87)PCT国际申请的公布数据
W02016/143647 JA 2016.09.15

(73)专利权人 国立大学法人东京大学
地址 日本东京都

(72)发明人 酒井崇匡 郑雄一

(74)专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127

代理人 庞东成 褚瑶杨

(51)Int.Cl.
C08G 65/333(2006.01)
A61L 27/00(2006.01)

(56)对比文件
US 2002151650 A1,2002.10.17,
US 2012122949 A1,2012.05.17,
JP 2007111300 A,2007.05.10,
WO 2012035598 A1,2012.03.22,
Lihui Weng et al..Rheological
Characterization of in Situ Crosslinkable
Hydrogels Formulated from Oxidized
Dextran and N-Carboxyethyl Chitosan.
《Biomacromolecules》.2007,第8卷

审查员 郭杰

权利要求书2页 说明书14页 附图7页

(54)发明名称

使用了凝胶前体簇的低浓度凝胶的制造方法和通过该制造方法得到的凝胶

(57)摘要

本发明的课题在于提供一种低浓度的高分子含量的凝胶,其能够在短时间制作,且具有弹性模量、膨胀压等得到控制的物性。高分子凝胶的制造方法使凝胶前体簇相互交联而形成三维网眼结构,该制造方法的特征在于,其包含:a)使小于临界凝胶化浓度的单体单元或聚合物单元交联而形成上述凝胶前体簇的工序,其中,上述凝胶前体簇在储能模量 G' 和损耗模量 G'' 间具有 $G' < G''$ 的关系性;和b)利用交联剂使上述凝胶前体簇相互交联从而得到具有三维网眼结构的凝胶的工序。

1. 一种高分子凝胶的制造方法,其使凝胶前体簇相互交联而形成三维网眼结构,该制造方法的特征在于,其包含:
 - a) 使小于临界凝胶化浓度的单体单元或聚合物单元交联而形成所述凝胶前体簇的工序,其中,所述凝胶前体簇在储能模量 G' 和损耗模量 G'' 间具有 $G' < G''$ 的关系性;和
 - b) 利用交联剂使所述凝胶前体簇相互交联从而得到具有三维网眼结构的凝胶的工序。
2. 如权利要求1所述的制造方法,其中,所述损耗模量 G'' 在1Hz的频率下为0.005Pa~5Pa的范围。
3. 如权利要求1或2所述的制造方法,其中,所述凝胶前体簇具有1.5~2.5的分形维数。
4. 如权利要求1所述的制造方法,其中,所述凝胶前体簇具有10nm~1000nm的范围的直径。
5. 如权利要求1所述的制造方法,其中,所述凝胶具有50g/L以下的高分子含量。
6. 如权利要求1所述的制造方法,其中,所述单体单元具有乙烯基骨架,或者所述聚合物单元具有聚乙二醇骨架或聚乙烯基骨架。
7. 如权利要求1所述的制造方法,其中,所述凝胶前体簇包含第1聚合物单元和第2聚合物单元,所述第1聚合物单元在侧链或末端具有1个以上的亲核性官能团,所述第2聚合物单元在侧链或末端具有1个以上的亲电子性的官能团。
8. 如权利要求7所述的制造方法,其中,所述亲核性官能团选自由氨基、-SH以及-CO₂PhNO₂组成的组,所述亲电子性官能团选自由N-羟基-琥珀酰亚胺(NHS)基、磺基琥珀酰亚胺基、马来酰亚胺基、邻苯二甲酰亚胺基、咪唑基、丙烯酰基以及硝基苯基组成的组。
9. 如权利要求7所述的制造方法,其中,
所述凝胶前体簇包含第1凝胶前体簇和第2凝胶前体簇,
所述第1凝胶前体簇中,第1聚合物单元的含量多于第2聚合物单元的含量,
所述第2凝胶前体簇中,第2聚合物单元的含量多于第1聚合物单元的含量。
10. 如权利要求1所述的制造方法,其中,所述工序b)在1小时以内的反应时间进行。
11. 如权利要求1所述的制造方法,其中,所述工序b)中的交联剂为双(磺基琥珀酰亚胺基)戊二酸酯(BS₂G)、DL-二硫代苏糖醇(DTT)、或者在末端具有硫醇基的合成肽。
12. 一种凝胶前体簇,其是使小于临界凝胶化浓度的单体单元或聚合物单元交联而得到的,
该凝胶前体簇含有溶剂,
在储能模量 G' 和损耗模量 G'' 间具有 $G' < G''$ 的关系性,
所述单体单元具有乙烯基骨架,或者所述聚合物单元具有聚乙二醇骨架或聚乙烯基骨架,
所述凝胶前体簇虽然具有所述单体单元或所述聚合物单元相互键合或交联而成的结构,但其是在尚未达到凝胶化的条件下形成的,具有未反应的状态的取代基。
13. 如权利要求12所述的凝胶前体簇,其中,所述损耗模量 G'' 在1Hz的频率下为0.005Pa~5Pa的范围。
14. 如权利要求12或13所述的凝胶前体簇,其中,所述凝胶前体簇具有1.5~2.5的分形维数。
15. 如权利要求12所述的凝胶前体簇,其中,所述凝胶前体簇具有10nm~1000nm的范围

的直径。

16. 如权利要求12所述的凝胶前体簇,其中,包含第1聚合物单元和第2聚合物单元,所述第1聚合物单元在侧链或末端具有1个以上的亲核性官能团,所述第2聚合物单元在侧链或末端具有1个以上的亲电子性的官能团。

17. 如权利要求16所述的凝胶前体簇,其中,所述亲核性官能团选自由氨基、-SH以及- CO_2PhNO_2 组成的组,所述亲电子性官能团选自由N-羟基-琥珀酰亚胺(NHS)基、磺基琥珀酰亚胺基、马来酰亚胺基、邻苯二甲酰亚胺基、咪唑基、丙烯酰基以及硝基苯基组成的组。

18. 一种高分子凝胶,其是通过权利要求1所述的制造方法得到的。

19. 一种高分子凝胶,其通过聚合物单元相互交联而形成有三维网眼结构,

该高分子凝胶的特征在于,

其含有溶剂,且具有:

50g/L以下的高分子含量、

在1Hz的频率下为1Pa~10000Pa的储能模量 G' 、以及

1.5~3.0的分形维数,

具有30℃~40℃的范围内的所述高分子凝胶的体积相对于凝胶制成时的体积为90%~500%的体积变化的范围的溶胀度,具有0.001kPa~5kPa的溶胀压。

20. 如权利要求19所述的高分子凝胶,其中,具有1Pa~100Pa的损耗模量 G'' 。

21. 如权利要求19所述的高分子凝胶,其中,所述聚合物单元具有聚乙二醇骨架或聚乙烯基骨架。

22. 如权利要求19所述的高分子凝胶,其中,所述聚合物单元包含第1聚合物单元和第2聚合物单元,所述第1聚合物单元在侧链或末端具有1个以上的亲核性官能团,所述第2聚合物单元在侧链或末端具有1个以上的亲电子性的官能团。

23. 如权利要求22所述的高分子凝胶,其中,所述亲核性官能团选自由氨基、-SH以及- CO_2PhNO_2 组成的组,所述亲电子性官能团选自由N-羟基-琥珀酰亚胺(NHS)基、磺基琥珀酰亚胺基、马来酰亚胺基、邻苯二甲酰亚胺基、咪唑基、丙烯酰基以及硝基苯基组成的组。

24. 如权利要求19所述的高分子凝胶,其中,所述溶胀度为100%~200%的范围,所述溶胀压为0.1kPa~2kPa。

使用了凝胶前体簇的低浓度凝胶的制造方法和通过该制造方法得到的凝胶

技术领域

[0001] 本发明涉及一种新颖的高分子水凝胶。

背景技术

[0002] 近年来,具有网状结构的高分子凝胶由于其具有优异的保水能力和生物体适配性等特性,作为人造组织、再生支架用材料等埋设在生物体内的研究备受关注(非专利文献1)。但是,高分子凝胶在水中因凝胶内部与外部环境的浓度差而产生的渗透压或经时变化等带来的分解而导致发生膨胀,因此存在在埋设有该高分子凝胶的周围的组织中引起压迫障碍的问题。

[0003] 该膨胀压与构成凝胶的高分子浓度的平方成比例,因此溶胀所导致的影响特别是在高分子浓度高的情况下变得显著。即使为了降低溶胀率而提高交联度,交联也会由于经时变化而被切断,因此降低高分子的浓度成为根本性的解决对策。但是,若将高分子浓度降低至不产生溶胀所导致的组织障碍的水平,则利用现有的高分子凝胶的制造方法难以在短时间制作凝胶。此外,在高分子浓度低、在凝胶化点附近的区域形成凝胶的情况下,弹性模量等物性急剧变化,因此难以对其物性进行控制。

[0004] 现有技术文献

[0005] 非专利文献

[0006] 非专利文献1:Sakai等、Macromolecules、41、5379-5384、2008

[0007] 非专利文献2:Kurakazu等、Macromolecules、43、3935-3940、2010

[0008] 非专利文献2:Kamata等、Science、343、873-875、2014

发明内容

[0009] 发明所要解决的课题

[0010] 因此,本发明的目的在于开发一种凝胶及其制造方法,其能够避免在埋设于生物体内时的溶胀所导致的组织障碍的问题,本发明的课题在于提供一种低浓度的高分子含量的凝胶,其能够在短时间制作,且具有弹性模量、膨胀压等得到控制的物性。

[0011] 用于解决课题的手段

[0012] 本发明人为了解决上述课题进行深入研究,结果发现,通过人为地形成具有临近凝胶化的状态、更详细而言储能模量 G' 小于损耗模量 G'' 的状态的凝胶前体簇,并用作之后的凝胶化反应中的种子,从而该凝胶前体簇作为非常容易进行凝胶化的聚合物单元发挥功能,能够在短时间得到具有得到控制的物性的低高分子浓度的凝胶,从而完成了本发明。

[0013] 即,本发明在一个方式中提供:

[0014] (1) 一种高分子凝胶的制造方法,其使凝胶前体簇相互交联而形成三维网眼结构,该制造方法的特征在于,其包含:a) 使小于临界凝胶化浓度的单体单元或聚合物单元交联而形成上述凝胶前体簇的工序,其中,上述凝胶前体簇在储能模量 G' 和损耗模量 G'' 间具有

G' < G'' 的关系性; 和b) 利用交联剂使上述凝胶前体簇相互交联从而得到具有三维网眼结构的凝胶的工序。

[0015] 此外, 本发明的制造方法涉及的优选方式提供:

[0016] (2) 如上述 (1) 所述的制造方法, 其中, 上述损耗模量G'' 在1Hz的频率下为0.005~5Pa的范围;

[0017] (3) 如上述 (1) 或 (2) 所述的制造方法, 其中, 上述凝胶前体簇具有1.5~2.5的分形维数;

[0018] (4) 如上述 (1) ~ (3) 中任一项所述的制造方法, 其中, 上述凝胶前体簇具有10~1000nm的范围的直径;

[0019] (5) 如上述 (1) ~ (4) 中任一项所述的制造方法, 其中, 上述凝胶具有50g/L以下的高分子含量;

[0020] (6) 如上述 (1) ~ (5) 中任一项所述的制造方法, 其中, 上述单体单元具有乙烯基骨架, 或者上述聚合物单元具有聚乙二醇骨架或聚乙烯基骨架;

[0021] (7) 如上述 (1) ~ (6) 中任一项所述的制造方法, 其中, 上述凝胶前体簇包含第1聚合物单元和第2聚合物单元, 所述第1聚合物单元在侧链或末端具有1个以上的亲核性官能团, 所述第2聚合物单元在侧链或末端具有1个以上的亲电子性的官能团;

[0022] (8) 如上述 (7) 所述的制造方法, 其中, 上述亲核性官能团选自氨基、-SH以及-CO₂PhNO₂组成的组, 上述亲电子性官能团选自N-羟基-琥珀酰亚胺(NHS)基、磺基琥珀酰亚胺基、马来酰亚胺基、邻苯二甲酰亚胺基、咪唑基、丙烯酰基以及硝基苯基组成的组;

[0023] (9) 如上述 (7) 或 (8) 所述的制造方法, 其中, 上述凝胶前体簇包含第1凝胶前体簇和第2凝胶前体簇, 上述第1凝胶前体簇中, 第1聚合物单元的含量多于第2聚合物单元的含量, 上述第2凝胶前体簇中, 第2聚合物单元的含量多于第1聚合物单元的含量;

[0024] (10) 如上述 (1) ~ (9) 中任一项所述的制造方法, 其中, 上述工序b) 在1小时以内的反应时间进行; 和

[0025] (11) 如上述 (1) ~ (10) 中任一项所述的制造方法, 其中, 上述工序b) 中的交联剂为双(磺基琥珀酰亚胺基) 戊二酸酯(BS₂G)、DL-二硫代苏糖醇(DTT)、或者在末端具有硫醇基的合成肽。

[0026] 在另一方式中, 本发明关于凝胶前体簇, 提供:

[0027] (12) 一种凝胶前体簇, 其是使小于临界凝胶化浓度的单体单元或聚合物单元交联而得到的, 该凝胶前体簇含有溶剂, 在储能模量G' 和损耗模量G'' 间具有G' < G'' 的关系性;

[0028] (13) 如上述 (12) 所述的凝胶前体簇, 其中, 上述损耗模量G'' 在1Hz的频率下为0.005~5Pa的范围;

[0029] (14) 如上述 (12) 或 (13) 所述的凝胶前体簇, 其中, 上述凝胶前体簇具有1.5~2.5的分形维数;

[0030] (15) 如上述 (12) ~ (14) 中任一项所述的凝胶前体簇, 其中, 上述凝胶前体簇具有10~1000nm的范围的直径;

[0031] (16) 如上述 (12) ~ (15) 中任一项所述的凝胶前体簇, 其中, 上述单体单元具有乙烯基骨架, 或者上述聚合物单元具有聚乙二醇骨架或聚乙烯基骨架;

[0032] (17) 如上述 (12) ~ (16) 中任一项所述的凝胶前体簇, 其中, 包含第1聚合物单元和

第2聚合物单元,所述第1聚合物单元在侧链或末端具有1个以上的亲核性官能团,所述第2聚合物单元在侧链或末端具有1个以上的亲电子性的官能团;和

[0033] (18) 如上述 (17) 所述的凝胶前体簇,其中,上述亲核性官能团选自由氨基、-SH以及 $-CO_2PhNO_2$ 组成的组,上述亲电子性官能团选自由N-羟基-琥珀酰亚胺(NHS)基、磺基琥珀酰亚胺基、马来酰亚胺基、邻苯二甲酰亚胺基、咪唑基、丙烯酰基以及硝基苯基组成的组。

[0034] 在其他方式中,本发明关于高分子凝胶,提供:

[0035] (19) 一种高分子凝胶,其是通过上述 (1) ~ (11) 中任一项所述的制造方法得到的;

[0036] (20) 一种高分子凝胶,其通过聚合物单元相互交联而形成有三维网眼结构,该高分子凝胶的特征在于,其含有溶剂,具有50g/L以下的高分子含量、在1Hz的频率下为1~10000Pa的储能模量 G' 以及1.5~3.0的分形维数;

[0037] (21) 如上述 (20) 所述的高分子凝胶,其中,具有1~100Pa的损耗模量 G'' ;

[0038] (22) 如上述 (20) 或 (21) 所述的高分子凝胶,其中,上述单体单元具有乙烯基骨架,或者上述聚合物单元具有聚乙二醇骨架或聚乙烯基骨架;

[0039] (23) 如上述 (20) ~ (22) 中任一项所述的高分子凝胶,其中,上述聚合物单元包含第1聚合物单元和第2聚合物单元,所述第1聚合物单元在侧链或末端具有1个以上的亲核性官能团,所述第2聚合物单元在侧链或末端具有1个以上的亲电子性的官能团;

[0040] (24) 如上述 (23) 所述的高分子凝胶,其中,上述亲核性官能团选自由氨基、-SH以及 $-CO_2PhNO_2$ 组成的组,上述亲电子性官能团选自由N-羟基-琥珀酰亚胺(NHS)基、磺基琥珀酰亚胺基、马来酰亚胺基、邻苯二甲酰亚胺基、咪唑基、丙烯酰基以及硝基苯基组成的组;

[0041] (25) 如上述 (20) ~ (24) 中任一项所述的高分子凝胶,其中,在水溶液中,具有30~40℃的范围内的上述高分子凝胶的体积相对于凝胶制成时的体积为90~500%的体积变化的范围的溶胀度,具有0.001~5kPa的溶胀压;和

[0042] (26) 如上述 (25) 所述的高分子凝胶,其中,上述溶胀度为100~200%的范围,上述溶胀压为0.1~2kPa。

[0043] 发明效果

[0044] 根据本发明,通过将人为地以临近凝胶化的状态形成的凝胶前体簇用作种子并使其凝胶化,能够在短时间制作低浓度的高分子含量的凝胶,且能够对弹性模量、溶胀度等物性进行控制。由此,能够提供一种凝胶,其能够在埋设于生物体内的情况等避免溶胀所导致的组织障碍的问题。该凝胶能够在人造声带等生物体内的封闭腔或半封闭腔中应用。

附图说明

[0045] 图1是示出本发明的制造方法的概要的示意图。

[0046] 图2是示出通常的凝胶化工序中的弹性模量的时间变化的图表。

[0047] 图3是示出本发明的制造方法的工序a)中的弹性模量的时间变化的图表。

[0048] 图4是示出本发明的制造方法的工序b)中的弹性模量的时间变化的图表。

[0049] 图5是针对使用了凝胶前体簇1[TAPEG+TNPEG]的本发明的情况(Δ)和比较例(\bigcirc)示出凝胶化时间的图表。

[0050] 图6是针对使用了凝胶前体簇2[SHPEG+MAPEG]的本发明的情况(\bigcirc)和比较例(\square)示出凝胶化时间的图表。

- [0051] 图7是示出凝胶前体簇1[TAPEG+TNPEG]的尺寸分布的图表。
- [0052] 图8是示出对凝胶前体簇1[TAPEG+TNPEG]的凝胶化临界点处的动态粘度特性进行测定的结果的图表。
- [0053] 图9是示出凝胶前体簇1[TAPEG+TNPEG]的分形维数的图表。
- [0054] 图10是示出高分子凝胶1[TAPEG+TNPEG]中的弹性模量的高分子浓度依赖性的图表。
- [0055] 图11是示出高分子凝胶2[SHPEG+MAPEG]中的弹性模量的高分子浓度依赖性的图表。
- [0056] 图12是示出半封闭空间中的高分子凝胶1[TAPEG+TNPEG]的溶胀的时间变化的图像。
- [0057] 图13是针对水凝胶2[SHPEG+MAPEG]示出对溶胀压的时间变化进行测定的结果的图表。

具体实施方式

[0058] 以下,对本发明的实施方式进行说明。本发明的范围不限于这些说明,对于以下的示例以外的示例,也可以在不损害本发明的主旨的范围内进行适当变更并实施。

[0059] 图1是示出本发明的制造方法的概要的示意图。作为第1工序,如图1的a)所示,使最终构成高分子凝胶的单体单元或者聚合物单元(以下,将它们称为“前体单元”)暂时以临近凝胶化的状态反应,形成具有尚未达到形成凝胶的结构的聚合物簇,即溶胶状态的聚合物簇。然后,作为第2工序,如图1的b)所示,作为第2工序,其特征在于,通过添加适当的交联剂,使这些簇(凝胶前体簇)之间进一步反应,相互进行三维地交联,由此得到作为最终产物的高分子凝胶。此处,如后所述,凝胶前体簇不一定限于同一组成的单一种类的情况,也可以使用具有不同的组成的两种以上的凝胶前体簇。

[0060] 本发明是基于将该凝胶前体簇用作可以说是最终的凝胶的前体或中间体这一新颖的概念。由此,发现了下述在现有技术中难以实现的方法:即使在低浓度的高分子含量的情况下,也能够短时间形成凝胶,并且在低弹性区域中也能够控制凝胶的弹性模量。此处,“凝胶”通常是指在高粘度下失去流动性的分散体系。

[0061] (1) 凝胶前体簇

[0062] 如上所述,在本发明中所用的凝胶前体簇是通过在临近凝胶化的状态、即小于临界凝胶化浓度的条件下使前体单元反应而得到的溶胶状的聚合物簇。此处,“临界凝胶化浓度”是指在通过特定的前体单元的交联来构筑三维结构的凝胶的体系中为了实现该凝胶化所需的前体单元的最低浓度,也被称为最低凝胶化浓度。在本发明中,对于临界凝胶化浓度这一术语,例如包含在使用两种以上的前体单元的体系中,这些前体单元整体的浓度未达到凝胶化的浓度的情况,除此之外,还包含仅一种前体单元的浓度低的情况、即通过各前体单元的比例为非当量而不产生凝胶化的情况。

[0063] 该凝胶前体簇虽然具有前体单元相互键合或交联而成的结构,但其是在尚未达到凝胶化的条件下形成的,因此在前体单元中存在未反应的状态的取代基。该取代基在凝胶前体簇间的反应中相互形成进一步的交联,由此得到具有三维网眼结构的最终的高分子凝胶。

[0064] 该凝胶前体簇在储能模量 G' 和损耗模量 G'' 间具有 $G' < G''$ 的关系性。如图2所示,众所周知通常在进行凝胶化之前的聚合物中,损耗模量 G'' 的值大于储能模量 G' ,之后伴随着凝胶化,这些物性值的大小发生逆转, G' 变得较大。并且, $G' = G''$ 的点是所谓的凝胶化点。因此,凝胶前体簇中, $G' < G''$ 是指其为溶胶状态,是尚未达到凝胶化的状态。优选在1Hz的频率下 $G' < G'' < 100G'$ 。

[0065] 优选该凝胶前体簇的 G'' 在1Hz的频率下为0.005~5Pa的范围,更优选为0.01~1Pa,进一步优选为0.01~0.5Pa的范围。这些弹性模量可以使用流变仪等公知的测定设备通过动态粘弹性测定等公知的方法计算得到。

[0066] 此外,本发明中的凝胶前体簇优选具有1.5~2.5的分形维数。更优选具有1.5~2.0的分形维数。此处,分形维数是表示基于聚合物单元的交联结构接近哪种程度的三维结构的状态的指标,其计算方法可以参照例如(W.Hess,T.A.Vilgis,and H.H.Winter,Macromolecules 21,2536(1988))。具体而言,例如可以根据凝胶化点处的动态粘弹性特性的变化,使用动态标度理论计算得到。

[0067] 本发明中的凝胶前体簇优选具有10~1000nm的直径,更优选具有50~200nm的直径。此外,优选在其分布中具有100nm左右的直径的凝胶前体簇的存在比例最多。

[0068] 用于形成凝胶前体簇的前体单元只要是通过溶液中的凝胶化反应(交联反应等)而能够形成凝胶的单体或者聚合物,就可以根据最终的凝胶的用途、形状等使用该技术领域中公知的前体单元。更详细而言,优选在由凝胶前体簇得到的最终的凝胶中通过聚合物相互交联而能够形成网眼结构、特别是三维网眼结构的聚合物单元。

[0069] 用于形成凝胶前体簇的单体单元可以举出例如具有乙烯基骨架的单体单元。此外,作为用于形成凝胶前体簇的聚合物单元,典型地可以举出具有2个以上的聚乙二醇骨架的支链的聚合物种,特别优选具有4个聚乙二醇骨架的支链的聚合物种。包含该四支链型的聚乙二醇骨架的凝胶通常作为Tetra-PEG凝胶而被熟知,通过在各个末端具有活性酯结构等亲电子性的官能团和氨基等亲核性的官能团的两种四支链高分子间的AB型末端交叉偶联反应而构筑网眼结构网络。根据目前的研究报道,Tetra-PEG凝胶在200nm以下的尺寸区域中高分子网眼没有不均匀性,具有理想的均匀网眼结构(Matsunaga等、Macromolecules、Vol.42、No.4、pp.1344-1351、2009)。此外,Tetra-PEG凝胶能够利用各高分子溶液的单纯的双液混合当场简便地制作,通过调节凝胶制备时的pH、离子强度,还能够对凝胶化时间进行控制。并且,该凝胶以PEG作为主要成分,因此生物体亲和性也优异。

[0070] 其中,只要是能够进行相互交联而形成网眼结构网络的聚合物,则也可以使用聚乙二醇骨架以外的聚合物。也可以使用例如甲基丙烯酸甲酯等具有聚乙烯基骨架的聚合物。

[0071] 并不限于这些聚合物,但为了在最终的凝胶中形成网眼结构网络,优选形成凝胶前体簇的上述聚合物单元是使在侧链或末端具有1个以上的亲核性官能团的第1聚合物单元和在侧链或末端具有1个以上的亲电子性官能团的第2聚合物单元这两种聚合物种反应而交联的手段。此处,亲核性官能团和亲电子性官能团的合计优选为5以上。更优选这些官能团存在于末端。此外,凝胶前体簇也可以是第1聚合物单元的含量多于第2聚合物单元的含量组成,或者也可以是第2聚合物单元的含量多于第1聚合物单元的含量组成。如后所述,在优选的方式中,能够使这样的组成不同的两种以上的凝胶前体簇交联而得到高分

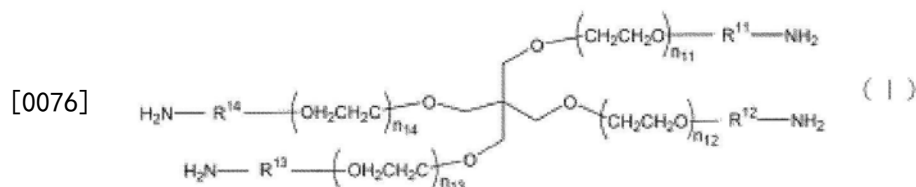
子凝胶。

[0072] 作为存在于聚合物单元的亲核性官能团,可以举出氨基、-SH、或者-CO₂PhNO₂ (Ph表示邻亚苯基、间亚苯基或者对亚苯基)等,若为本领域技术人员,则可以适当使用公知的亲核性官能团。优选亲核性官能团为-SH基。亲核性官能团各自可以相同,也可以不同,但优选相同。通过使官能团相同,与形成交联键合的亲电子性官能团的反应性均匀,容易得到具有均匀的立体结构的凝胶。

[0073] 作为存在于聚合物单元的亲电子性官能团,可以使用活性酯基。作为这样的活性酯基,可以举出N-羟基-琥珀酰亚胺(NHS)基、磺基琥珀酰亚胺基、马来酰亚胺基、邻苯二甲酰亚胺基、咪唑基、丙烯酰基或硝基苯基等,若为本领域技术人员,则可以适当使用其他公知的活性酯基。优选亲电子性官能团为马来酰亚胺基。亲电子性官能团各自可以相同,也可以不同,但优选相同。通过使官能团相同,与形成交联键合的亲核性官能团的反应性均匀,容易得到具有均匀的立体结构的凝胶。

[0074] 作为在末端具有亲核性官能团的聚合物单元,优选的非限定的具体例中,可以举出例如下述式(I)所表示的化合物,其具有4个聚乙二醇骨架的支链,在末端具有氨基。

[0075] [化1]



[0077] 式(I)中, $\text{R}^{11} \sim \text{R}^{14}$ 各自相同或不同,表示C₁-C₇亚烷基、C₂-C₇亚烯基、-NH-R¹⁵-、-CO-R¹⁵-、-R¹⁶-O-R¹⁷-、-R¹⁶-NH-R¹⁷-、-R¹⁶-CO₂-R¹⁷-、-R¹⁶-CO₂-NH-R¹⁷-、-R¹⁶-CO-R¹⁷-、或者-R¹⁶-CO-NH-R¹⁷- ,其中,R¹⁵表示C₁-C₇亚烷基,R¹⁶表示C₁-C₃亚烷基,R¹⁷表示C₁-C₅亚烷基)

[0078] $n_{11} \sim n_{14}$ 各自可以相同,或者也可以不同。 $n_{11} \sim n_{14}$ 的值越接近,越能够取得均匀的立体结构,越成为高强度。因此,为了得到高强度的凝胶,优选 $n_{11} \sim n_{14}$ 相同。 $n_{11} \sim n_{14}$ 的值过高时,凝胶的强度变弱, $n_{11} \sim n_{14}$ 的值过低时,由于化合物的立体障碍而难以形成凝胶。因此, $n_{11} \sim n_{14}$ 可以举出25~250的整数值,优选为35~180,进一步优选为50~115,特别优选为50~60。并且,作为其分子量,可以举出 $5 \times 10^3 \sim 5 \times 10^4$ Da,优选为 $7.5 \times 10^3 \sim 3 \times 10^4$ Da,更优选为 $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^4$ Da。

[0079] 上述式(I)中, $\text{R}^{11} \sim \text{R}^{14}$ 是连接官能团和核部分的连接部位。 $\text{R}^{11} \sim \text{R}^{14}$ 各自可以相同,也可以不同,为了制造具有均匀的立体结构的高强度的凝胶,优选相同。 $\text{R}^{11} \sim \text{R}^{14}$ 表示C₁-C₇亚烷基、C₂-C₇亚烯基、-NH-R¹⁵-、-CO-R¹⁵-、-R¹⁶-O-R¹⁷-、-R¹⁶-NH-R¹⁷-、-R¹⁶-CO₂-R¹⁷-、-R¹⁶-CO₂-NH-R¹⁷-、-R¹⁶-CO-R¹⁷-、或者-R¹⁶-CO-NH-R¹⁷-。其中,R¹⁵表示C₁-C₇亚烷基。R¹⁶表示C₁-C₃亚烷基。R¹⁷表示C₁-C₅亚烷基。

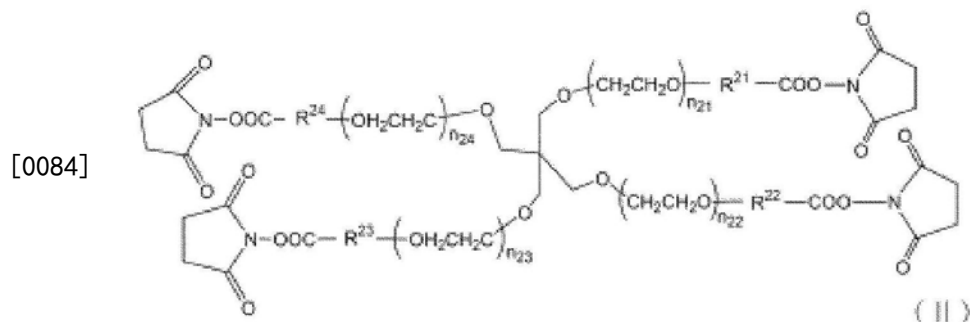
[0080] 其中,“C₁-C₇亚烷基”是指可以具有支链的碳原子数为1~7的亚烷基,是指直链C₁-C₇亚烷基或具有1个或2个以上的支链的C₂-C₇亚烷基(包含支链在内的碳原子数为2以上7以下)。C₁-C₇亚烷基的例子为亚甲基、亚乙基、亚丙基、亚丁基。C₁-C₇亚烷基的例子可以举出-CH₂-、-(CH₂)₂-、-(CH₂)₃-、-CH(CH₃)-、-(CH₂)₃-、-(CH(CH₃))₂-、-(CH₂)₂-CH(CH₃)-、-(CH₂)₃-CH(CH₃)-、-(CH₂)₂-CH(C₂H₅)-、-(CH₂)₆-、-(CH₂)₂-C(C₂H₅)₂-以及-(CH₂)₃C(CH₃)₂CH₂-等。

[0081] “C₂-C₇亚烯基”是指在链中具有1个或2个以上的双键的形状或支链状的碳原子数

为2~7个的亚烯基,可以举出例如具有从上述亚烷基去除2~5个相邻的碳原子的氢原子而形成的双键的二价基团。

[0082] 另一方面,作为在末端具有亲电子性官能团的聚合物单元,优选的非限定的具体例中,可以举出例如下述式(II)所表示的化合物,其具有4个聚乙二醇骨架的支链,在末端具有N-羟基-琥珀酰亚胺(NHS)基。

[0083] [化2]



[0085] 上述式(II)中, $n_{21} \sim n_{24}$ 各自可以相同,也可以不同。 $n_{21} \sim n_{24}$ 的值越接近,凝胶越能够取得均匀的立体结构,越成为高强度,因此优选,优选 $n_{21} \sim n_{24}$ 的值相同。 $n_{21} \sim n_{24}$ 的值过高时,凝胶的强度变弱, $n_{21} \sim n_{24}$ 的值过低时,由于化合物的立体障碍而难以形成凝胶。因此, $n_{21} \sim n_{24}$ 可以举出5~300的整数值,优选为20~250,更优选为30~180,进一步优选为45~115,若为45~55,则更加优选。作为本发明的第2四支链化合物的分子量,可以举出 $5 \times 10^3 \sim 5 \times 10^4$ Da,优选为 $7.5 \times 10^3 \sim 3 \times 10^4$ Da,更优选为 $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^4$ Da。

[0086] 上述式(II)中, $R^{21} \sim R^{24}$ 是连接官能团和核部分的连接部位。 $R^{21} \sim R^{24}$ 各自可以相同,也可以不同,为了制造具有均匀的立体结构的高强度的凝胶,优选相同。式(II)中, $R^{21} \sim R^{24}$ 各自相同或不同,表示 $C_1 \sim C_7$ 亚烷基、 $C_2 \sim C_7$ 亚烯基、 $-\text{NH}-R^{25}-$ 、 $-\text{CO}-R^{25}-$ 、 $-\text{R}^{26}-\text{O}-R^{27}-$ 、 $-\text{R}^{26}-\text{NH}-R^{27}-$ 、 $-\text{R}^{26}-\text{CO}_2-R^{27}-$ 、 $-\text{R}^{26}-\text{CO}_2-\text{NH}-R^{27}-$ 、 $-\text{R}^{26}-\text{CO}-R^{27}-$ 、或者 $-\text{R}^{26}-\text{CO}-\text{NH}-R^{27}-$ 。其中, R^{25} 表示 $C_1 \sim C_7$ 亚烷基。 R^{26} 表示 $C_1 \sim C_3$ 亚烷基。 R^{27} 表示 $C_1 \sim C_5$ 亚烷基。

[0087] 在本说明书中,亚烷基和亚烯基可以具有1个以上的任意的取代基。作为该取代基,可以举出例如烷氧基、卤原子(可以为氟原子、氯原子、溴原子或碘原子中的任一种)、氨基、单取代氨基或者二取代氨基、取代甲硅烷基、酰基、或者芳基等,但不限于这些取代基。在烷基具有2个以上的取代基的情况下,它们可以相同,也可以不同。对于包含烷基部分的其他取代基(例如烷基氧基、芳烷基等)的烷基部分也是同样的。

[0088] 此外,在本说明书中,对于某一官能团定义为“可以具有取代基”的情况下,对于取代基的种类、取代位置以及取代基的个数没有特别限定,在具有2个以上的取代基的情况下,它们可以相同,也可以不同。作为取代基,可以举出例如烷基、烷氧基、羟基、羧基、卤原子、磺基、氨基、烷氧羰基、氧代基等,但不限于这些取代基。这些取代基上可以进一步存在取代基。

[0089] 在上述式(I)和式(II)的聚合物单元的情况下,能够得到它们通过酰胺键连结而成的结构的凝胶前体簇。需要说明的是,如后所述,该情况下在最终得到的凝胶中,也成为各聚合物单元通过酰胺键交联而成的结构。

[0090] (2) 凝胶化工序

[0091] 作为本发明的制造方法中的凝胶化反应工序的典型的方式,包含:

[0092] a) 使小于临界凝胶化浓度的单体单元或聚合物单元(前体单元)交联而形成成为凝胶前体的簇的工序(图1的a)

[0093] b) 利用交联剂使上述凝胶前体簇相互交联从而得到作为最终目标物的具有三维网眼结构的凝胶的工序(图1的b)。

[0094] 在工序a)中,如上所述,通过调节前体单元的初期浓度,在小于临界凝胶化浓度的条件下使前体单元反应,形成未达到凝胶化的溶胶状态、优选具有临近凝胶化的结构的聚合物的簇。相对于最终的凝胶,该簇可以被称为前体,因此在本申请中,将该簇称为“凝胶前体簇”。

[0095] 作为将前体单元的初期浓度调节为小于临界凝胶化浓度的条件的方法,例如如上所述在使用具有亲核性官能团或亲电子性官能团的两种聚合物单元的情况下,可以使用下述条件,使这些聚合物单元当量含有,但整体上不足以达到凝胶化的低浓度的条件、或者通过使一种聚合物单元的浓度为低浓度、即采用非当量的方式而不产生凝胶化的条件。

[0096] 通常临界凝胶化浓度(最低凝胶化浓度)与所用的前体单元的种类相关,但该浓度在该技术领域中公知的,或者若为本领域技术人员,则能够在实验上容易把握。典型地为5~50g/L,下限为重叠浓度的1/5左右的浓度。此处,重叠浓度是聚合物单元填充溶液中的浓度,其计算方法可以参照例如Polymer Physics(M.Rubinstein,R.Colby著)。具体而言,例如可以根据稀薄溶液的粘度测定,使用Flory-Fox公式求出。

[0097] 工序a)典型地可以通过将含有两种前体单元的溶液混合或者提供刺激来进行。此外,也可以通过使用有自由基引发剂的单体的自由基聚合来进行。对于各溶液的浓度、添加速度、混合速度、混合比例没有特别限定,若为本领域技术人员,则可以适当调整。此外,在使用三种以上的前体单元的情况下,显然也能够同样地进行,制备含有对应的前体单元的溶液,并将它们适当混合。作为含有前体单元的溶液的溶剂,可以使用水、乙醇等醇类、DMSO等。该溶液为水溶液的情况下,可以使用磷酸缓冲液等适当的pH缓冲液。

[0098] 作为进行混合的手段,可以使用例如国际公开W02007/083522号公报所公开的双液混合注射器来进行。对于混合时的双液的温度没有特别限定,只要是前体单元分别溶解且各自的液体具有流动性的状态的温度即可。例如作为进行混合时的溶液的温度,可以举出1℃~100℃的范围。双液的温度可以不同,但温度相同时双液容易混合,因此优选。

[0099] 接着,在工序b)中,进一步使工序a)中得到的凝胶前体簇之间进行反应,使其相互三维地交联,由此能够得到作为最终产物的高分子凝胶。如上所述,凝胶前体簇形成为凝胶化点之前的状态,因此各前体单元中的交联中所用的取代基以未反应的状态残留。通过使凝胶前体簇中的该取代基与其他凝胶前体簇的残留取代基反应并交联,形成最终的凝胶。

[0100] 优选在该工序b)中,能够添加用于使凝胶前体簇相互交联的交联剂或提供刺激。作为这样的交联剂,可以使用具有与聚合物单元中的交联基相同的取代基的交联剂,也可以使用聚合物单元本身作为交联剂以追加的方式添加。例如在工序a)中,在使具有亲核性官能团或亲电子性官能团的两种聚合物单元以非当量的方式反应而得到凝胶前体簇的情况下,通过添加具有浓度更少的官能团的交联剂,能够使凝胶前体簇之间交联。作为这样的交联剂,可以使用双(磺基琥珀酰亚胺基)戊二酸酯(BS₂G)、DL-二硫代苏糖醇(DTT)、或在末端具有硫醇基的合成肽等。此外,作为用于交联的刺激,例如可以对引起光二聚那样的官能团(马来酰亚胺基等)照射紫外光。

[0101] 优选在工序b)中能够在2小时以内的反应时间、优选为1小时以内的反应时间得到最终的凝胶。通常在制作以低浓度含有高分子的凝胶的情况下,作为反应时间,需要长时间(也与体系相关,但例如在高分子含量为10g/L以下的情况下约为8小时),与此相对,在本发明中,能够在特别短的时间制作凝胶。

[0102] 工序b)中的其他反应溶液条件等与工序a)是同样的。

[0103] (3) 高分子凝胶

[0104] 通过本发明得到的高分子凝胶中,聚合物含量为低浓度,同时如上所述能够在短的反应时间得到,并且能够将弹性模量等物性控制在所期望的范围。如图2所示,通常在凝胶化点附近中的弹性模量急剧上升,因此难以得到在10~1000Pa等低弹性模量的范围控制为特定值的低弹性模量的凝胶。与此相对,本发明的凝胶经由上述的凝胶前体簇而制作凝胶,由此具有在低弹性区域得到控制的弹性模量。

[0105] 因此,本发明的高分子凝胶是通过聚合物单元相互交联而形成有三维网眼结构的高分子凝胶,其特征在于,具有低浓度的高分子含量、低区域的弹性模量以及特定的分形维数。

[0106] 本发明的高分子凝胶中的高分子含量为50g/L以下,优选为40g/L以下,更优选为15~30g/L。

[0107] 本发明的高分子凝胶具有1~10000Pa的储能模量 G' ,优选具有10~1000Pa的储能模量 G' 。该范围与生物体中的玻璃体(数10Pa)、声带(数100Pa)对应。此外,优选本发明的高分子凝胶具有1~100Pa的损耗模量 G'' 。这些弹性模量可以使用公知的测定设备,通过公知的方法计算得到。

[0108] 进一步,本发明的高分子凝胶优选具有1.5~2.5的分形维数。更优选具有1.5~2.0的分形维数。该分形维数是表示凝胶中的交联结构接近哪种程度的三维结构的状态的指标,其计算方法如上所述在该技术领域中公知的。

[0109] 本发明的高分子凝胶在水溶液中具有30~40℃的范围中的上述高分子凝胶的体积相对于凝胶制成时的体积为90~500%的体积变化的范围的溶胀度,具有0.001~5kPa的溶胀压。优选上述溶胀度为100~200%的范围,溶胀压为0.1~2kPa。溶胀压低是指,将凝胶放置在封闭空间时带给外部的压力低。即是指,即使在生物体内随着时间经过吸收水分而膨胀的情况下,组织障碍性也低。

[0110] 构成本发明的高分子凝胶的聚合物单元可以使用与上述的凝胶前体簇的情况同样的聚合物单元。在优选的方式中,凝胶前体簇包含在侧链或末端具有1个以上的亲核性官能团的第1聚合物单元和在侧链或末端具有1个以上的亲电子性的官能团的第2聚合物单元的情况下,该凝胶前体簇可以使用第1聚合物单元的含量多于第2聚合物单元的含量的组成的第1凝胶前体簇和第2聚合物单元的含量多于第1聚合物单元的含量的组成的第2凝胶前体簇这两种凝胶前体簇,能够形成这些组成不同的两种凝胶前体簇相互交联而得到的三维网眼结构的高分子凝胶。

[0111] 本发明的高分子凝胶可以根据其用途而加工成薄膜状等各种形状。这样的加工可以使用在该技术领域中公知的任意的任意的方法。例如薄膜的情况下,例如可以通过在凝胶完全固化前的具有流动性的状态下,涂布在玻璃等平面基板上等方法来得到薄膜。

[0112] 实施例

[0113] 以下,通过实施例更详细地说明本发明,但本发明并不限于这些实施例。

[0114] 实施例1

[0115] 聚合物单元的合成

[0116] 通过对在末端具有羟基的THPEG (四羟基-聚乙二醇) 分别进行氨基化、琥珀酰亚胺基化,由此得到TAPEG (四胺-聚乙二醇) 和TNPEG (N-羟基-琥珀酰亚胺基-聚乙二醇 (NHS-PEG))。

[0117] 此外,在末端具有-SH基的SHPEG (四硫醇-聚乙二醇) 和在末端具有马来酰亚胺基的MAPEG (四马来酰亚胺基-聚乙二醇) 分别使用来自日油株式会社的市售品。分子量均为10,000。

[0118] 在以下的实验中,¹H NMR光谱使用日本电子的JNM-ECS400 (400MHz) 进行解析。使用氘代氯仿作为溶剂,以四甲基硅烷作为内标。分子量使用bruker-daltonics的质谱计Ultraflex III的线性阳离子模式来确定。

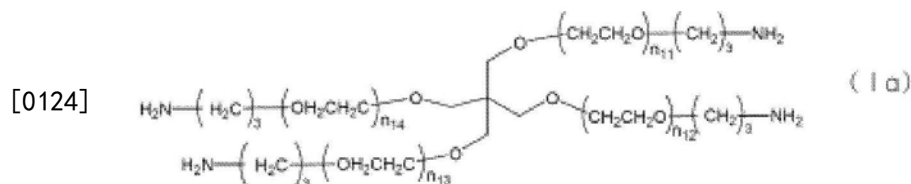
[0119] 1. THPEG的合成:

[0120] 将引发剂的季戊四醇 (0.4572mmol、62.3mg) 溶解于DMSO/THF (v/v=3:2) 50mL的混合溶剂中,金属化剂中使用蔡钾 (0.4157mmol、1.24mg),加入环氧乙烷 (200mmol、10.0mL),在Ar存在下、60℃加热搅拌约2天。反应结束后,在二乙醚中进行再沉淀,通过过滤取出沉淀物。然后,利用二乙醚清洗3次,将所得到的白色固体减压干燥,由此得到20k的THPEG。

[0121] 2. TAPEG的合成:

[0122] 将THPEG (0.1935mmol、3.87g、1.0equiv) 溶解在苯中,进行冷冻干燥后,溶解于THF62mL中,加入三乙胺 (TEA) (0.1935mmol、3.87g、1.0equiv)。在另一个茄形烧瓶中加入THF31mL和甲磺酰氯 (MsCl) (0.1935mmol、3.87g、1.0equiv) 并浸在冰浴中。将MsCl的THF溶液花费约1分钟滴加在THPEG、TEA的THF溶液中,在冰浴中搅拌30分钟后,在室温搅拌1个半小时。反应结束后,在二乙醚中进行再沉淀,通过过滤取出沉淀物。然后,利用二乙醚清洗3次,将所得到的白色固体转移至茄形烧瓶中,加入25%氨水250mL,搅拌4天。反应结束后,通过蒸发器将溶剂减压蒸馏去除,将水在外部液体中进行2、3次透析,并进行冷冻干燥,由此得到白色固体的TAPEG。所制作的TAPEG的化学式示于式 (Ia)。式 (Ia) 中,在TAPEG的分子量约为10,000 (10kDa) 时, $n_{11} \sim n_{14}$ 为50~60,在分子量约为20,000 (20kDa) 时, $n_{11} \sim n_{14}$ 为100~115。

[0123] [化3]

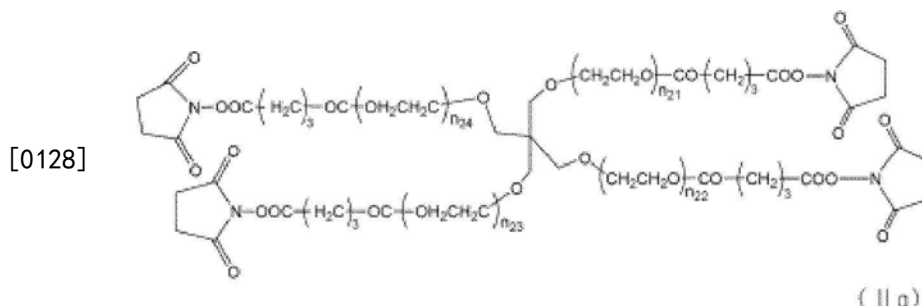


[0125] 3. TNPEG的合成:

[0126] 将THPEG (0.2395mmol、4.79g、1.0equiv) 溶解在THF中,加入0.7mol/L戊二酸/THF溶液 (4.790mmol、6.85mL、20equiv),在Ar存在下搅拌6小时。反应结束后,滴加至2-丙醇中,放入离心分离机中3次。将所得到的白色固体转移至300mL茄形烧瓶中,通过蒸发器将溶剂减压蒸馏去除。将残渣溶解在苯中,通过过滤去除不溶物。将所得到的滤液通过冷冻干燥而去除溶剂,从而得到末端被羧基修饰的白色固体的Tetra-PEG-COOH。将该Tetra-PEG-COOH

(0.2165mmol、4.33g、1.0equiv) 溶解在THF中,加入N-氢琥珀酰胺(2.589mmol、0.299g、12equiv)、N,N'-二异丙基琥珀酰胺(1.732mmol、0.269mL、8.0equiv),在40℃加热搅拌3小时。反应结束后,通过蒸发器将溶剂减压蒸馏去除。使其溶解在氯仿中,利用饱和食盐水进行3次提取,取出氯仿层。然后,利用硫酸镁进行脱水、过滤后,通过蒸发器将溶剂减压蒸馏去除。进行所得到的残渣的苯冷冻干燥,得到白色固体的TNPEG。所制作的TNPEG的化学式示于式(IIa)。式(IIa)中,在TNPEG的分子量约为10,000(10k)时, $n_{21} \sim n_{24}$ 为45~55,在分子量约为20,000(20k)时, $n_{21} \sim n_{24}$ 为90~115。

[0127] [化4]



[0129] 实施例2

[0130] 凝胶前体簇的合成

[0131] 如下合成成为凝胶化反应中的前体的凝胶前体簇。

[0132] (1) 凝胶前体簇1[TAPEG+TNPEG]

[0133] 首先,将实施例1中合成的TAPEG (1.0×10^4 g/mol) 和TNPEG (1.0×10^4 g/mol) 溶解在分别等量的81mM的磷酸缓冲液和柠檬酸-磷酸缓冲液中。此时,设物质质量比TAPEG/TNPEG=1/0.23,设整体的聚合物浓度为60g/L。将所得到的两个溶液在另一个容器中混合,通过自转/公转混合器进行脱泡/搅拌。然后,将混合液迅速地转移至FALCON管中,为了防止干燥而盖上盖子,然后在室温静置12小时。

[0134] 将该工序中的储能模量 G' 和损耗模量 G'' 的时间变化示于图3。显示出在反应的终点具有 $G' < G''$ 的关系性,是尚未达到形成凝胶的溶胶状态的聚合物簇。

[0135] (2) 凝胶前体簇2[SHPEG+MAPEG]

[0136] 使用SHPEG和MAPEG同样地合成凝胶前体簇2。设整体的聚合物浓度为60g/L。此时,按照SHPEG:MAPEG为(1-r):r的摩尔比的方式,制备包含任一种过量含有的两种凝胶前体簇的两个以上的样品。

[0137] 实施例3

[0138] 高分子凝胶的合成

[0139] 使用实施例2中合成的凝胶前体簇,如下合成高分子凝胶。

[0140] (1) 高分子凝胶1[TAPEG+TNPEG]

[0141] 将实施例2中得到的凝胶前体簇1的溶液用水稀释至25g/L。计算出溶液中的未反应的氨基量,添加与其等量的交联剂(双(磺基琥珀酰亚胺基)戊二酸酯(BS₂G)),通过自转/公转混合器进行脱泡/搅拌。然后,将混合液迅速地转移至FALCON管中,为了防止干燥而盖上盖子,然后在室温静置12小时。

[0142] 将该工序中的储能模量 G' 和损耗模量 G'' 的时间变化示于图4。显示出在反应的终

点具有 $G' > G''$ 的关系性,通过凝胶前体簇交联而形成了高分子凝胶。

[0143] 此外,将改变凝胶前体簇的浓度而进行凝胶化时的反应时间示于图5。图5的纵轴为凝胶化时间 t_{gel} (秒)、横轴为高分子凝胶中的高分子含量 c (g/L)。图中的 Δ 为通过凝胶前体簇进行凝胶化而得到的本发明的高分子凝胶的实施例, \bigcirc 为未使用凝胶前体簇而通过现有的方法从聚合物单元进行直接凝胶化而得到的比较例。其结果可知,通过凝胶前体簇进行凝胶化的情况下,能够在短的反应时间得到高分子凝胶。特别是在高分子含量为8g/L左右的低浓度的情况下,在现有方法情况下需要7小时以上的凝胶化时间,与此相对,使用本发明的凝胶前体簇的情况下,在1.5小时以内完成了凝胶化。此外,在比8g/L高的高浓度的区域中,使用凝胶前体簇的情况下,凝胶化时间小于30分钟。

[0144] 2) 高分子凝胶2[SHPEG+MAPEG]

[0145] 使用实施例2中得到的凝胶前体簇2同样地制作高分子凝胶。将SHPEG过量的凝胶前体簇(10g/L; $r=0.37$)和MAPEG过量的凝胶前体簇(10g/L; $r=0.63$)分别用含有NaCl的柠檬酸缓冲液稀释至6g/L,等量混合。与图5同样地,将改变凝胶前体簇的浓度而进行凝胶化时的反应时间示于图6。图中的 \bigcirc 为通过凝胶前体簇进行凝胶化而得到的本发明的高分子凝胶的实施例, \square 是未使用凝胶前体簇而通过现有的方法从聚合物单元进行直接凝胶化而得到的比较例。特别是在高分子含量为7g/L左右的低浓度的情况下,使用本发明的凝胶前体簇的情况下,在3分钟完成了凝胶化。这显示出在玻璃体手术时能够将凝胶前体簇注入眼内,在体内(in vivo)进行凝胶化。

[0146] 实施例4

[0147] 凝胶前体簇的物性

[0148] 1. 凝胶前体簇的尺寸

[0149] 将对实施例2中合成的凝胶前体簇1的尺寸分布进行测定的结果示于图7。横轴的 R_h 为凝胶前体簇的颗粒直径(nm)、纵轴的 $G(\Gamma^{-1})$ 为特性缓和与时间分布函数。其结果可知,凝胶前体簇的颗粒直径为数百nm,100nm左右的凝胶前体簇最多。对于实施例2中合成的凝胶前体簇2也得到大致同样的结果。

[0150] 2. 弹性模量

[0151] 对于溶液中的凝胶前体簇1,使用流变仪(Physica MCR501、Anton Paar公司制造)进行动态粘弹性测定,计算出储能模量 G' 和损耗模量 G'' 。其结果为,1Hz中的 G'' 为 $0.1 < G'' < 100$ Pa的范围, $G' < G'' < 100G'$ 。由此,也如上述图3所示的那样,确认到实施例2中得到的凝胶前体簇1为未达到凝胶化临界的结构。对于实施例2中合成的凝胶前体簇2也得到大致同样的结果。

[0152] 3. 分形维数

[0153] 将对使用各种聚合物单元的初期浓度时的凝胶化临界点处的动态粘度特性进行测定的结果示于图8。图8的纵轴为储能模量 G' (图中的 \bigcirc)和损耗模量 G'' (图中的 Δ),横轴为频率。(a)~(d)分别为初期浓度的条件。如图8所示,初期浓度越低, G' 与 G'' 的幂定律越增加。使用该结果,根据动态标度理论计算出凝胶前体簇的分形维数。将该结果示于图9。图9的纵轴为分形维数、横轴为初期浓度。由图可知,浓度越低,分形维数 D 越从理论的予测值(图中的虚线)向下方乖离,越形成更稀疏的结构。

[0154] 实施例5

[0155] 高分子凝胶的物性

[0156] 此外,对实施例3中得到的高分子凝胶1的弹性模量的高分子浓度依赖性进行测试。其结果如图10所示,显示出在20g/L的低浓度区域且储能模量 G' 小于400Pa的低弹性模量区域中,弹性模量与高分子含量成比例。这证实了通过使用从凝胶前体簇进行凝胶化的方法,即使在低弹性模量区域也能够控制凝胶的弹性模量。

[0157] 同样地,对实施例3中得到的高分子凝胶2的弹性模量的聚合物浓度依赖性进行测试。将结果示于图11。图中的○为通过凝胶前体簇进行凝胶化而得到的本发明的高分子凝胶的实施例,□为未使用凝胶前体簇而通过现有的方法从聚合物单元进行直接凝胶化而得到的比较例。可知任一情况下,本发明的高分子凝胶均示出高的弹性模量,形成有效的三维网眼结构。

[0158] 此外,在模拟半封闭空间中,对实施例3中得到的高分子凝胶1的溶胀的时间变化进行观测。在玻璃容器中加入高分子凝胶,加入磷酸缓冲溶液,放置一晚。其结果如图12所示,在溶液中也未表现出体积变化。该结果启发下述可能性:该高分子凝胶在半封闭空间中是非溶胀的,能够应用于生物体内的封闭空间、半封闭空间。

[0159] 进一步,将对于实施例3中得到的高分子凝胶2测定溶胀压的时间变化的结果示于图13。图中的○为通过凝胶前体簇进行凝胶化而得到的本发明的高分子凝胶的实施例(聚合物浓度10g/L),□为未使用凝胶前体簇而通过现有的方法从聚合物单元进行直接凝胶化而得到的比较例(聚合物浓度140g/L)。如图13所示,在比较例中,随着时间经过达到12kPa的平衡,但在本发明的高分子凝胶中,始终在0.19kPa左右恒定。该结果显示出发明的高分子凝胶即使在应用于生物体内且经过了长时间的情况下,也能够长期间稳定地使用。

[0160] 实施例6

[0161] 凝胶前体簇的通用性

[0162] 在各种体系中以与四支链系同样的过程制作低浓度凝胶,由此研究凝胶前体簇的通用性。

[0163] 〔三支链体系〕

[0164] 将分子量均为 2.0×10^5 的Tri-APEG(三胺-聚乙二醇)和Tri-NPEG(三-N-羟基-琥珀酰亚胺基-聚乙二醇(NHS-PEG))溶解在分别等量的45mM的磷酸缓冲液和柠檬酸-磷酸缓冲液中。此时,设物质量比Tri-APEG/Tri-NPEG=1/0.49、设整体的聚合物浓度为40g/L。将所得到的两个溶液在另一个容器中混合,通过自转/公转混合器进行脱泡/搅拌。然后,将混合液迅速地转移至FALCON管中,为了防止干燥而盖上盖子,然后在室温静置12小时。将所得到的溶液用水稀释至25g/L。计算出溶液中的未反应的氨基量,添加与其等量的交联剂(双(磺基琥珀酰亚胺基)戊二酸酯(BS₂G)),通过自转/公转混合器进行脱泡/搅拌。然后,将混合液迅速地转移至FALCON管中,为了防止干燥而盖上盖子,然后在室温静置12小时。最终与四支链体系同样地得到凝胶。

[0165] 〔四支链/二支链体系〕

[0166] 将分子量分别为 2.0×10^5 和 1.0×10^5 的Tetra-APEG(三胺-聚乙二醇)和Linear-NPEG(线性-N-羟基-琥珀酰亚胺基-聚乙二醇(NHS-PEG))溶解在分别等量的42mM的磷酸缓冲液和柠檬酸-磷酸缓冲液中。此时,设物质量比Tri-APEG/Tri-NPEG=1/1.17,设整体的聚合物浓度为40g/L。将所得到的两个溶液在另一个容器中混合,通过自转/公转混合器进行

脱泡/搅拌。然后,将混合液迅速地转移至FALCON管中,为了防止干燥而盖上盖子,然后在室温静置12小时。将所得到的溶液用水稀释至25g/L。计算出溶液中的未反应的氨基量,添加与其等量的交联剂(双(磺基琥珀酰亚胺基)戊二酸酯(BS₂G)),通过自转/公转混合器进行脱泡/搅拌。然后,将混合液迅速地转移至FALCON管中,为了防止干燥而盖上盖子,然后在室温静置12小时。最终与四支链体系同样地得到凝胶。

[0167] 在三支链体系和四支链/二支链体系中以与四支链系同样的过程也能够得到凝胶,因此可知,凝胶前体簇的通用性高。

[0168] 实施例7

[0169] 对小鼠的注入实验

[0170] 通过以下过程,将本发明的高分子凝胶注入到小鼠中。

[0171] 1.凝胶前体簇的制备

[0172] 量取Tetra-PEG-马来酰亚胺(TMPEG) (1.0×10^4 g/mol) 和Tetra-PEG-硫醇(TTPEG) (1.0×10^4 g/mol),使物质量比如下表所示,并溶解于分别等量的柠檬酸-磷酸缓冲液(pH 5.8, 5mM (NaCl, 149mM)) 中。此时,设整体的聚合物浓度为60g/L。将所得到的两个溶液在FALCON管中进行混合,为了防止干燥而盖上盖子,然后在室温静置12小时。

[0173] [表1]

[0174]

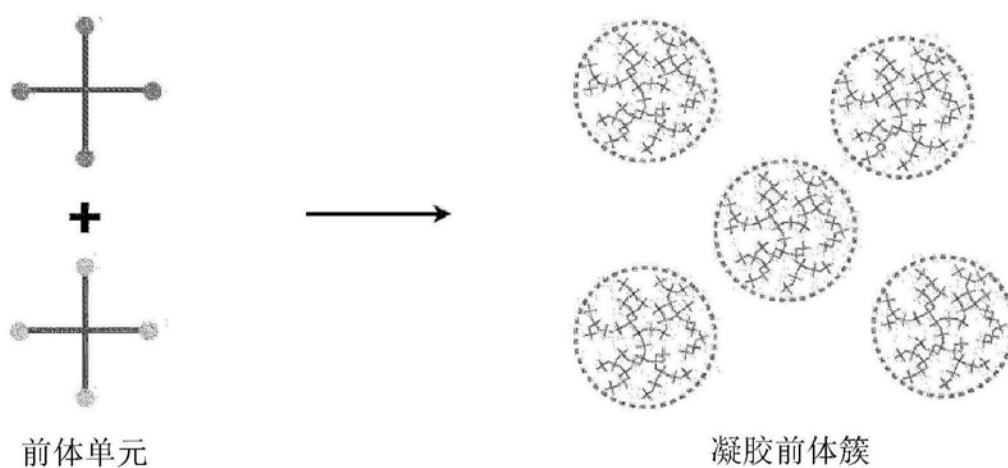
	物质量比 (TMPEG: TTPEG)	聚合物浓度 (g/L)
组 1	1: 015	60
组 2	0.16: 1	60

[0175] 2.高分子凝胶的制备

[0176] 按照高分子凝胶的总量为2mL、聚合物浓度分别为13g/L(组1)、11g/L(组2)的方式 量取凝胶前体簇溶液,加入注射器中。此外,对于组1和2,计算出各自的溶液中的未反应的 马来酰亚胺基、硫醇基量,分别量取与马来酰亚胺基、硫醇基量等量的交联剂(DL-二硫代苏 糖醇和1,8-双马来酰亚氨基二甘醇)。将该交联剂溶解在分别为高分子凝胶的总量和凝胶 前体簇的差量的柠檬酸-磷酸缓冲液(pH5.8, 5mM (NaCl, 149mM)) 中,加入与上述注射器不同 的注射器中。使用三通阀将两个溶液混合,向打了麻醉的小鼠的背中注入1mL。此外,作为比 较例,准备按照仅TMPEG(单体A)、仅TTPEG(单体B)为15g/L的方式分别溶解在柠檬酸-磷酸 缓冲液中(pH 5.8, 5mM (NaCl, 149mM)) 而得到的试样和仅柠檬酸-磷酸缓冲液(pH 5.8, 5mM (NaCl, 149mM)) (对样品)的试样,向打了麻醉的小鼠分别注入1mL。从注入起1周后,对小 鼠的组织进行观察。

[0177] 其结果确认到,在组1和2的任一组中均为发现凝胶的分解或排斥反应,从注入起1 周后在皮肤下也存在凝胶。另一方面,再仅注入单体的情况下,未伴随毒作用而发生了分解。全部小鼠均无体重变化且正常。

a) 凝胶前体簇的形成



b) 高分子凝胶的形成

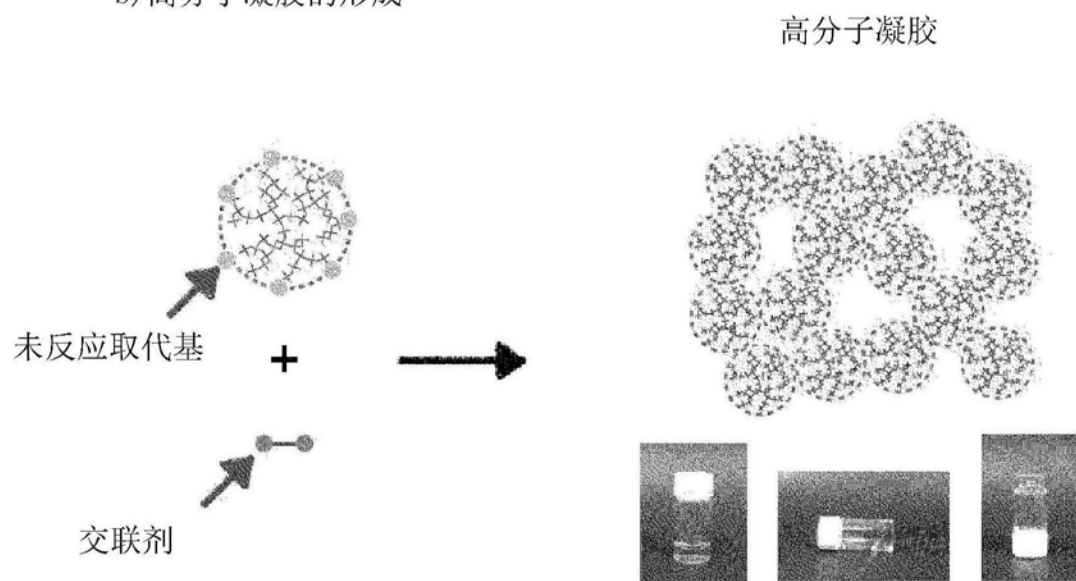


图1

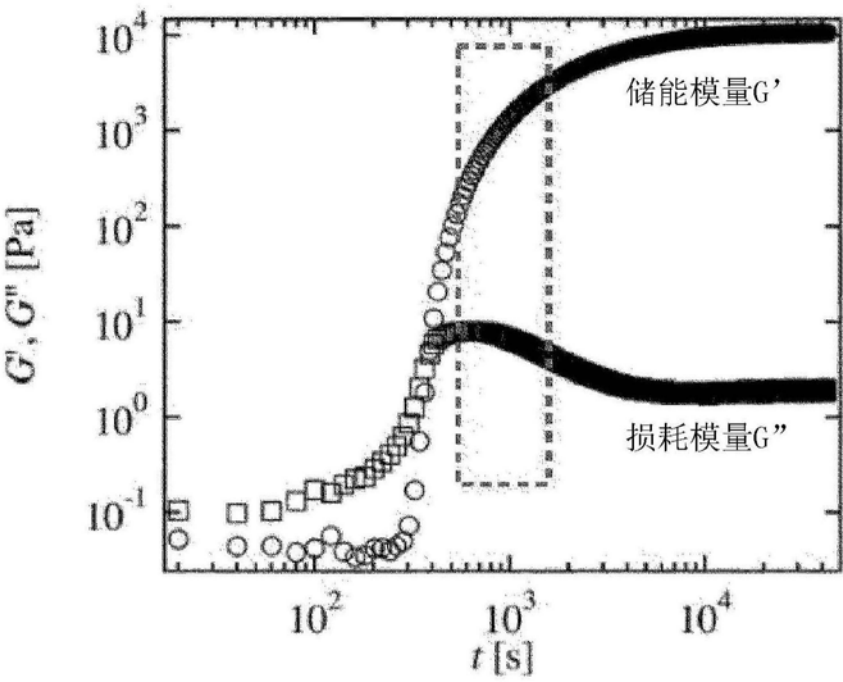


图2

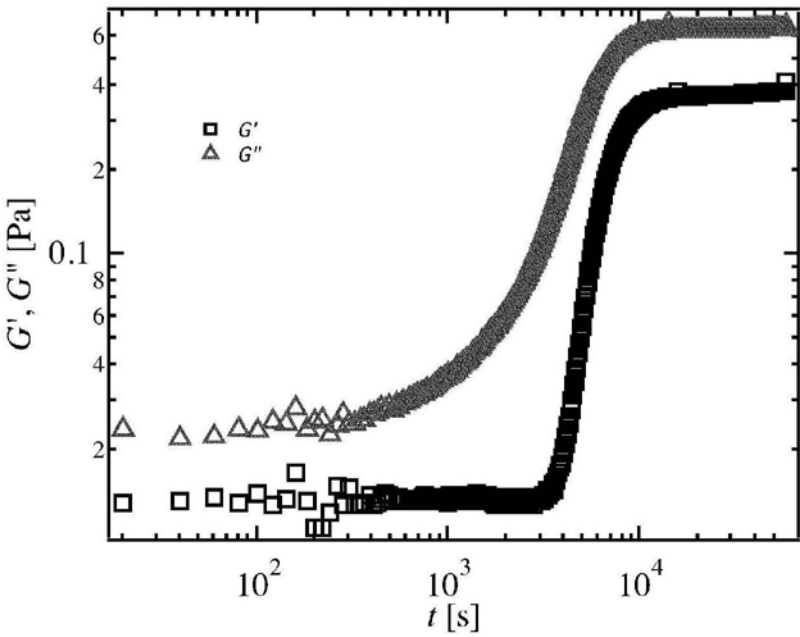


图3

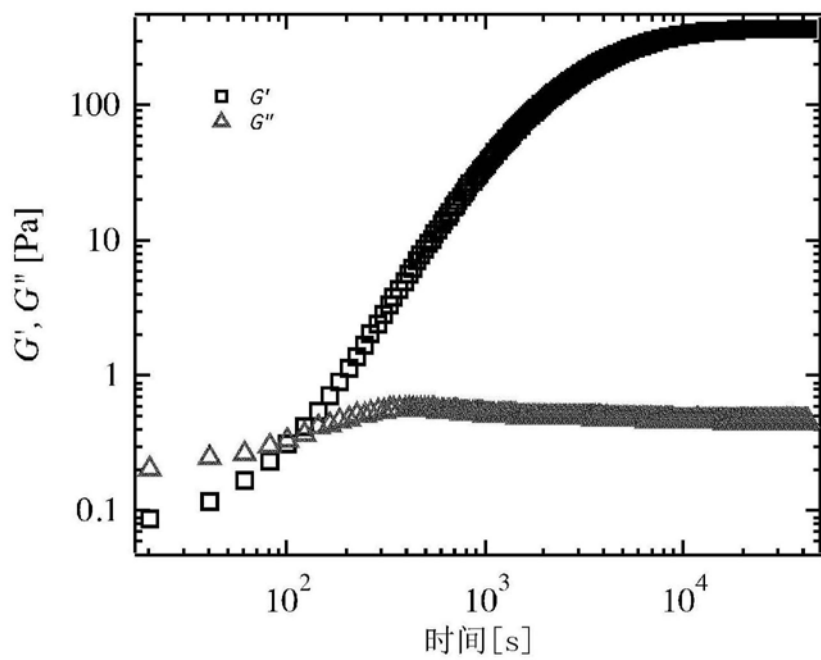


图4

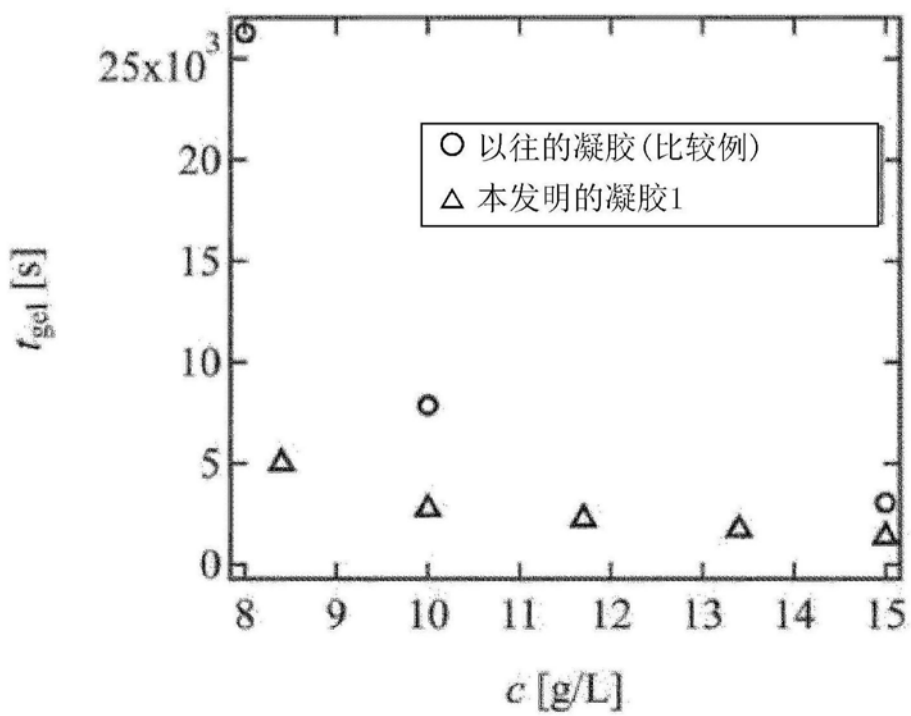


图5

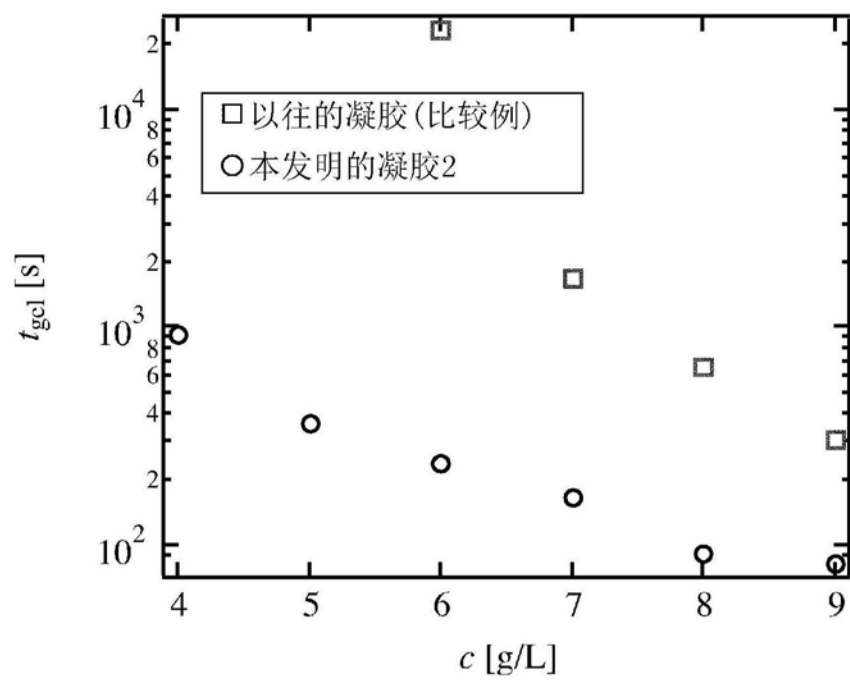


图6

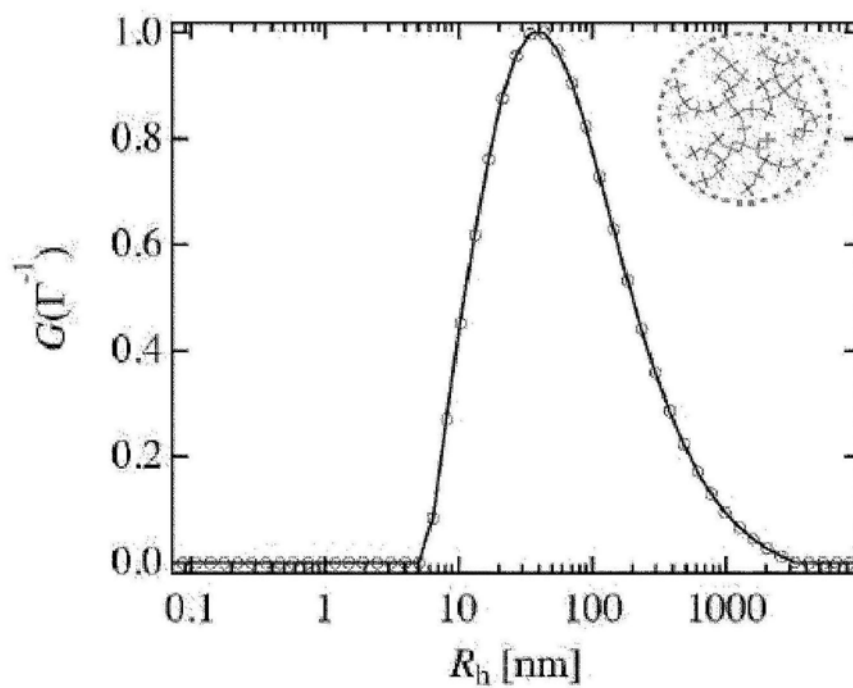


图7

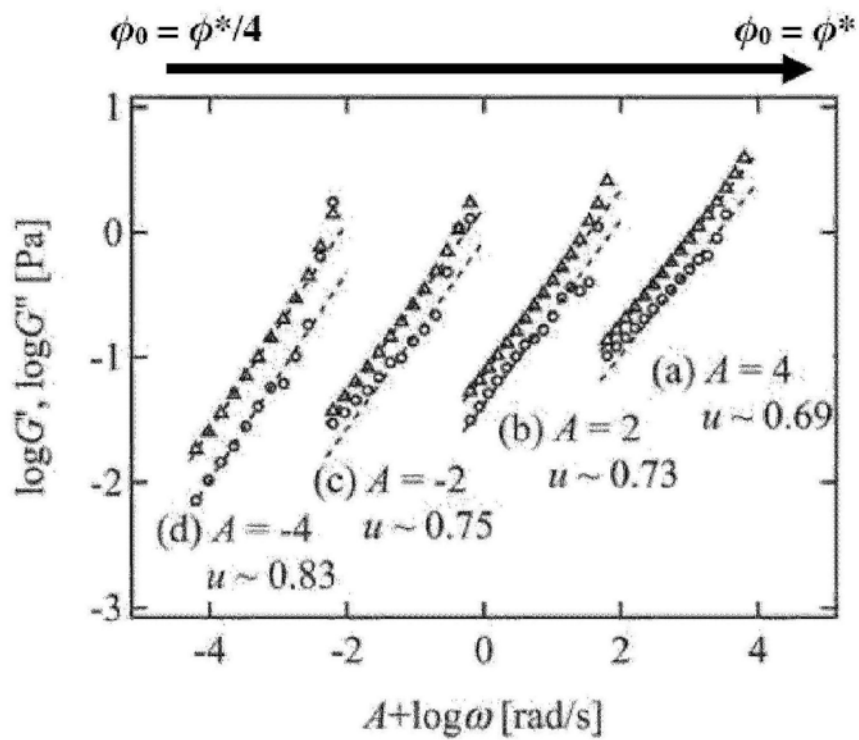


图8

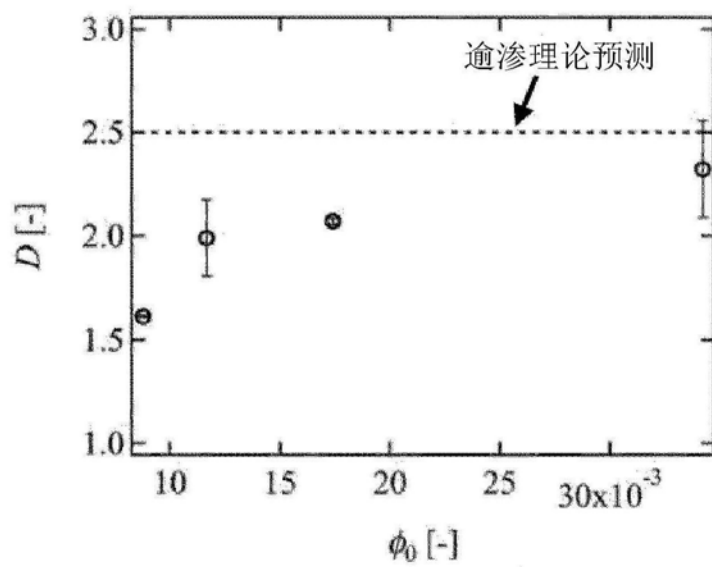


图9

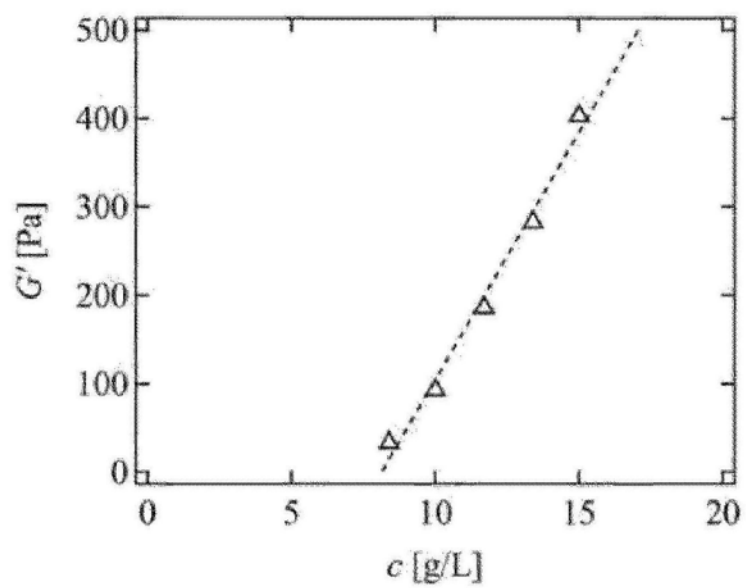


图10

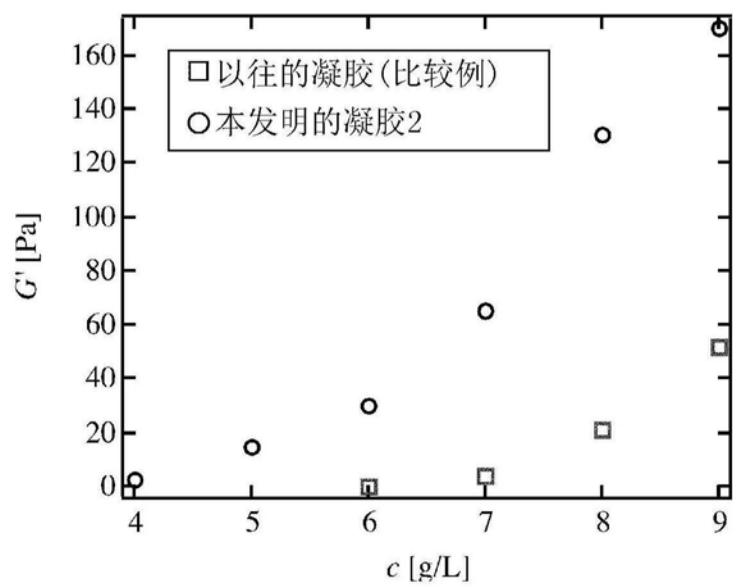


图11

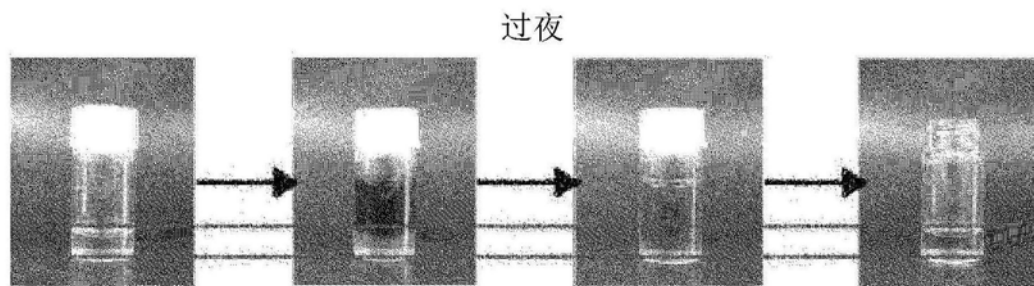


图12

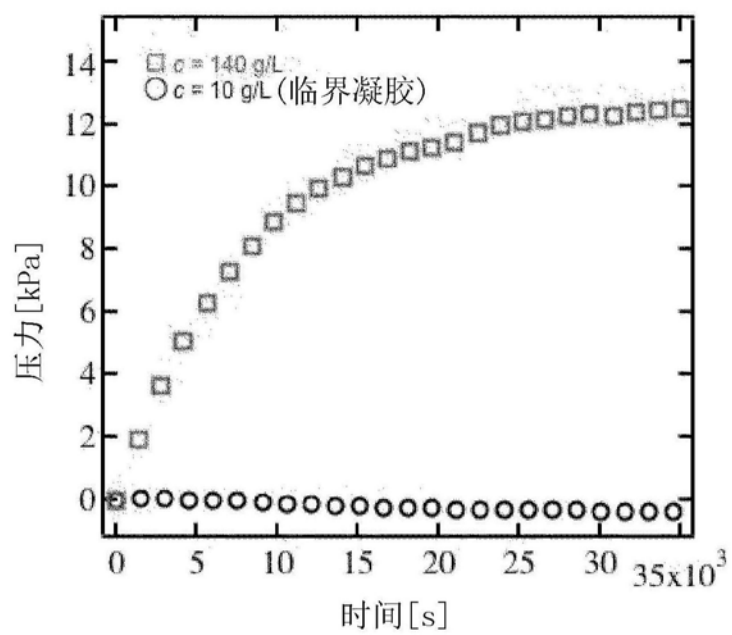


图13