



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108503857 A

(43)申请公布日 2018.09.07

(21)申请号 201810218280.1

(22)申请日 2018.03.16

(71)申请人 东华大学

地址 201620 上海市松江区松江新城人民
北路2999号

(72)发明人 莫秀梅 曾志文

(74)专利代理机构 上海泰能知识产权代理事务
所 31233

代理人 黄志达 魏峰

(51)Int.Cl.

C08J 3/075(2006.01)

C08J 3/24(2006.01)

C08L 5/08(2006.01)

C08L 71/02(2006.01)

C08B 37/08(2006.01)

C08G 65/333(2006.01)

A61L 24/00(2006.01)

A61L 24/08(2006.01)

A61L 24/04(2006.01)

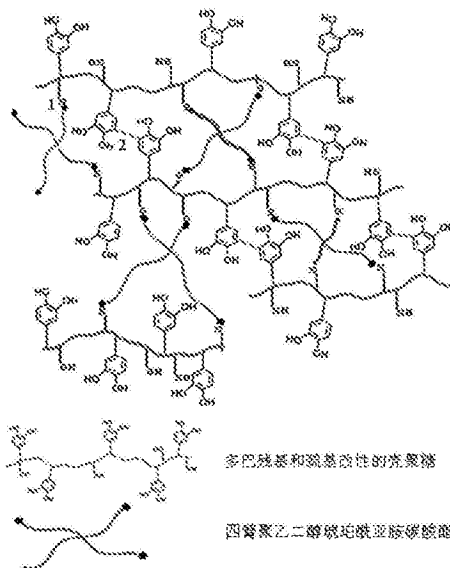
权利要求书2页 说明书4页 附图3页

(54)发明名称

一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘蛋白
仿生水凝胶及其制备方法

(57)摘要

本发明涉及一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘蛋白仿生水凝胶及其制备方法,所述水凝胶是以含有多巴残基和巯基改性的壳聚糖为基体,在四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯和高碘酸钠条件下双交联得到;制备方法包括:多巴残基改性壳聚糖制备,多巴残基和巯基改性的壳聚糖制备,四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯制备,双交联贻贝粘蛋白仿生水凝胶制备。本发明以高碘酸钠作为快速交联的交联剂,四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯作为一种反应较慢的交联剂,双交联制备水凝胶,交联速度快,制备得到的水凝胶具有很好的粘结性、生物相容性和机械强度,是一种可用于组织粘合剂的水凝胶。



1. 一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶, 其特征在于, 所述水凝胶是以含有多巴残基和巯基改性的壳聚糖为基体, 在四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯和高碘酸钠条件下双交联得到。

2. 按照权利要求1所述的一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶, 其特征在于, 所述含有多巴残基和巯基改性的壳聚糖是通过碳二亚胺盐法分两步在壳聚糖上接枝含有多巴残基的化合物和含有巯基的化合物得到。

3. 按照权利要求2所述的一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶, 其特征在于, 所述含有多巴残基的化合物为3,4-二羟基苯丙氨酸或其衍生物或3,4-二羟基苯基丙酸; 含有巯基的化合物为N-乙酰半胱氨酸或巯基乙酸。

4. 按照权利要求1所述的一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶, 其特征在于, 所述四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯是通过四臂聚乙二醇与N,N'-琥珀酰亚胺基碳酸酯反应制备得到。

5. 按照权利要求4所述的一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶, 其特征在于, 所述四臂聚乙二醇是相对分子量为10000的四臂聚合物。

6. 一种如权利要求1所述的用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶的制备方法, 具体步骤为:

(1) 将壳聚糖溶于溶剂中, 搅拌, 加入含有多巴残基的化合物, 搅拌, 加入1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐溶液, 反应, 透析, 冷冻干燥, 得到多巴残基改性壳聚糖, 其中, 含有多巴残基的化合物与1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐的摩尔比为1:5~8, 壳聚糖与含有多巴残基的化合物的质量比为1:1~2:1, 壳聚糖与溶剂的比例为0.5~1.0g:50~100mL;

(2) 将步骤(1)中多巴残基改性壳聚糖溶于溶剂中, 搅拌, 然后分别加入N-乙酰半胱氨酸和1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐, 反应, 透析, 冷冻干燥, 得到多巴残基和巯基改性的壳聚糖, 其中, 多巴残基改性壳聚糖与溶剂的比例为0.5~1.0g:50~100mL, 多巴残基改性壳聚糖、N-乙酰半胱氨酸和1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐的质量比为1:1~2:3~4;

(3) 将四臂聚乙二醇除水, 加入到4-二甲氨基吡啶溶液中, 搅拌, 加入N,N'-琥珀酰亚胺基碳酸酯溶液反应, 重结晶, 真空干燥, 得到四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯, 其中, 四臂聚乙二醇、4-二甲氨基吡啶和N,N'-琥珀酰亚胺基碳酸酯的质量比为3~5:0.1~0.2:0.5~0.8;

(4) 将步骤(2)中多巴残基和巯基改性的壳聚糖溶于溶剂中, 得到多巴残基和巯基改性的壳聚糖溶液, 将步骤(3)中四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯溶于溶剂中, 得到四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯溶液, 与多巴残基和巯基改性的壳聚糖溶液混合, 加入高碘酸钠, 得到预聚合物溶液, 搅拌, 得到双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶, 其中, 多巴残基和巯基改性的壳聚糖溶液的浓度为20~40mg/mL, 四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯溶液的浓度为0.3~0.6g/mL, 多巴残基和巯基改性的壳聚糖和四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯的质量比为0.08:1~0.15:1, 预聚合物溶液中交联剂的浓度为0.01~0.02mol/L。

7. 按照权利要求6所述的一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶的制备方法, 其特征在于, 所述步骤(1)中1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐溶液的

溶剂为体积比为1:1的去离子水和乙醇的混合液。

8.按照权利要求6所述的一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶的制备方法,其特征在于,所述步骤(1)、(2)中溶剂均为采用1mol/L的盐酸调节pH值为5的去离子水;反应时均调节溶液的pH值为4~5;反应温度均为室温,反应时间均为10~15h。

9.按照权利要求6所述的一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶的制备方法,其特征在于,所述步骤(3)中4-二甲氨基吡啶溶液、N,N'-琥珀酰亚胺基碳酸酯溶液的溶剂均为无水丙酮;反应温度为室温,反应时间为4~8h。

10.按照权利要求6所述的一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶的制备方法,其特征在于,所述步骤(4)中溶剂均为去离子水或者pH值为7.2的磷酸缓冲溶液。

一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于水凝胶及其制备领域,特别涉及一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶及其制备方法。

背景技术

[0002] 传统的机械式伤口闭合设备,诸如回形钉、铆钉以及手术缝合线等,往往会对伤口周围组织造成伤害,对内聚强度小的肝、脾和肾等器官不适用,而且这些伤口闭合设备在体内操作复杂,需要一定的技巧,还要进行二次手术将其取出。而组织粘合剂却能有效的解决或避免这些问题,组织粘合剂在恢复受损部位的功能时,还能很好的恢复其损伤之前的外观,具有良好的生物可降解性,无需二次手术,大大的减少了病人的痛苦和医生的工作量,因此组织粘合剂在近年来受到了世界各国科学家和研究者的青睐。当前广为人知的组织粘合剂有 α -丙烯酸酯类粘合剂以及纤维蛋白原类粘合剂,但是这两种粘合剂因其自身存在的缺点限制了它们的应用。例如, α -丙烯酸酯类粘合剂作为一种合成高分子材料,用于局部组织创伤的闭合时,它释放的毒性降解产物引起的生物不相容性极大地限制了在体内的应用。而纤维蛋白原类粘合剂的固化速度较慢、机械强度差、粘结强度小以及可能造成病毒感染等。

[0003] 水凝胶是一种具有优越的生物相容性的材料,它具有与人体体内细胞外基质类似的三维交联结构,能够制成各种形状,因此,水凝胶粘合剂得到了大力的开发,并开发出多种类型的水凝胶粘合剂。然而这些水凝胶往往很快溶胀或者溶解掉,或者粘结强度或机械强度低,因此降低了它们作为临床外科手术的效力。因此,要扩大水凝胶组织粘合剂的应用,就应当增加水凝胶的机械强度和粘结强度,提高其生物相容性。提高水凝胶机械强度的方法当前有以下四种:(1)双网络或三网络水凝胶;(2)滑动水凝胶;(3)纳米复合水凝胶;(4)其他类型水凝胶,如纤维增强水凝胶。

发明内容

[0004] 本发明所要解决的技术问题是提供一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶及其制备方法,该方法以高碘酸钠作为快速交联的交联剂,四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯作为一种反应较慢的交联剂,双交联制备水凝胶,交联速度快,制备得到的水凝胶具有很好的粘结性、生物相容性和机械强度,是一种可用于组织粘合剂的水凝胶。

[0005] 本发明的一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶,所述水凝胶是以含有多巴残基和巯基改性的壳聚糖为基体,在四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯和高碘酸钠条件下双交联得到。

[0006] 所述含有多巴残基和巯基改性的壳聚糖是通过碳二亚胺盐法分两步在壳聚糖上接枝含有多巴残基的化合物和含有巯基的化合物得到。

[0007] 所述含有多巴残基的化合物为3,4-二羟基苯丙氨酸或其衍生物或3,4-二羟基苯

基丙酸;含有巯基的化合物为N-乙酰半胱氨酸或巯基乙酸。

[0008] 所述四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯是通过四臂聚乙二醇与N,N'-琥珀酰亚胺基碳酸酯反应制备得到。

[0009] 所述四臂聚乙二醇是相对分子量为10000的四臂聚合物。

[0010] 本发明的一种用于组织粘合剂的双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶的制备方法,具体步骤为:

[0011] (1) 将壳聚糖溶于溶剂中,搅拌,加入含有多巴残基的化合物,搅拌,加入1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐EDC溶液,反应,透析,冷冻干燥,得到多巴残基改性壳聚糖,其中,含有多巴残基的化合物与1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐的摩尔比为1:5~8,壳聚糖与含有多巴残基的化合物的质量比为1:1~2:1,壳聚糖与溶剂的比例为0.5~1.0g:50~100mL;

[0012] (2) 将步骤(1)中多巴残基改性壳聚糖溶于溶剂中,搅拌,然后分别加入N-乙酰半胱氨酸和1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐,反应,透析,冷冻干燥,得到多巴残基和巯基改性的壳聚糖,其中,多巴残基改性壳聚糖与溶剂的比例为0.5~1.0g:50~100mL,多巴残基改性壳聚糖、N-乙酰半胱氨酸和1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐的质量比为1:1~2:3~4;

[0013] (3) 将四臂聚乙二醇除水,加入到4-二甲氨基吡啶DMAP溶液中,搅拌,加入N,N'-琥珀酰亚胺基碳酸酯DSC溶液反应,重结晶,真空干燥,得到四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯,其中,四臂聚乙二醇、4-二甲氨基吡啶和N,N'-琥珀酰亚胺基碳酸酯的质量比为3~5:0.1~0.2:0.5~0.8;

[0014] (4) 将步骤(2)中多巴残基和巯基改性的壳聚糖溶于溶剂中,得到多巴残基和巯基改性的壳聚糖溶液,将步骤(3)中四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯溶于溶剂中,得到四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯溶液,与多巴残基和巯基改性的壳聚糖溶液混合,加入高碘酸钠,得到预聚合物溶液,搅拌,得到双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶,其中,多巴残基和巯基改性的壳聚糖溶液的浓度为20~40mg/mL,四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯溶液的浓度为0.3~0.6g/mL,多巴残基和巯基改性的壳聚糖和四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯的质量比为0.08:1~0.15:1,预聚合物溶液中交联剂的浓度为0.01~0.02mol/L。

[0015] 所述步骤(1)中1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐溶液的溶剂为体积比为1:1的去离子水和乙醇的混合液。

[0016] 所述步骤(1)、(2)中溶剂均为采用1mol/L的盐酸调节pH值为5的去离子水;反应时均调节溶液的pH值为4~5;反应温度均为室温,反应时间均为10~15h。

[0017] 所述步骤(1)中壳聚糖是采购自Sigma-Aldrich公司,脱乙酰度大约为85%,分子量标识为Medium molecular weight。

[0018] 所述步骤(2)中多巴残基和巯基改性的壳聚糖中多巴残基的含量根据Waite和Benedict提供的测试法测定,巯基的含量根据Ellman测试法得到,根据Ellman试剂的使用说明测定。

[0019] 所述Benedict提供的测试法是引用文献“Waite J.Herbert,Benedict Christine V.Assay of Dihydroxyphenylalanine(Dopa)in Invertebrate Structural Proteins [J].METHODS IN ENZYMOLOGY,1984,107(4):397-413”。

[0020] 所述步骤(3)中4-二甲氨基吡啶溶液、N,N'-琥珀酰亚胺基碳酸酯溶液的溶剂均为无水丙酮;反应温度为室温,反应时间为4~8h。

[0021] 所述步骤(4)中溶剂均为去离子水或者pH值为7.2的磷酸缓冲溶液。

[0022] 本发明以高碘酸钠作为快速交联的交联剂,四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯作为一种反应较慢的交联剂,多巴残基和巯基改性的壳聚糖与四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯进行搅拌混合均匀,然后再加入高碘酸钠混合,快速交联形成水凝胶,放置一段时间进行二次固化得到双交联水凝胶粘合剂。

[0023] 有益效果

[0024] (1) 本发明以高碘酸钠作为快速交联的交联剂,四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯作为一种反应较慢的交联剂,双交联制备水凝胶,交联速度快,制备得到的水凝胶具有很好的粘结性、生物相容性和机械强度,是一种可用于组织粘合剂的水凝胶。

[0025] (2) 本发明水凝胶属于生物相容性好、生物可降解材料,是一种能够用于解决临床组织破坏引起的流血、组织缺损以粘合方式修复的问题。

附图说明

[0026] 图1是实施例1和实施例2制备多巴残基和巯基改性的壳聚糖的反应过程图(其中①是多巴残基改性过程,②是巯基改性的过程);

[0027] 图2是本发明制备四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯的反应过程图;

[0028] 图3是本发明制备双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶的双交联结构图,其中1是以四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯为交联剂进行交联;2是以高碘酸钠为交联剂进行交联。

具体实施方式

[0029] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。此外应理解,在阅读了本发明讲授的内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

[0030] 实施例1

[0031] (1) 称取0.5克壳聚糖,加入50毫升采用1mol/L的盐酸调节pH值为5的去离子水中,室温下搅拌,直至形成无色或淡黄色透明溶液,然后加入1.72mmol的3,4-二羟基苯基丙酸,搅拌混合均匀,加入溶解在50ml去离子水与乙醇混合溶液(v:v=1:1)中的1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(10.32mmol)溶液,调节反应液的pH值为4~5,室温反应12小时,在超纯水中透析3天,冷冻干燥得到多巴残基改性壳聚糖。

[0032] (2) 取0.5克步骤(1)中多巴残基改性壳聚糖溶解在50毫升采用1mol/L的盐酸调节pH值为5的去离子水中,室温下搅拌溶解,然后分别加入5.16mmol的N-乙酰半胱氨酸以及10.32mmol的1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐,用浓盐酸调节pH值为4~5,室温反应12小时,在超纯水中透析3天,冷冻干燥,得到多巴残基和巯基改性的壳聚糖,冷冻储存备用。

[0033] (3) 取4.0克四臂聚乙二醇在100ml 1,4-二氧六环中快速搅拌溶解,共沸蒸发除去聚乙二醇吸附的水。冷却至室温后,缓慢滴入溶解在10ml无水丙酮中的4-二甲氨基吡啶

(0.19 克), 搅拌一段时间, 然后滴入溶解在10ml无水丙酮中的N,N'-琥珀酰亚胺基碳酸酯(0.60克), 反应液在室温下进行6小时, 旋转浓缩, 反应液在丙酮-无水乙醚构成的溶解-沉淀溶液体系中反复三次, 达到纯化的目的, 最后得到四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯的沉淀, 真空干燥得到产品四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯。

[0034] (4) 称取步骤(2)中多巴残基和巯基改性的壳聚糖60毫克溶解在3毫升中性去离子水中, 得到浓度为20毫克/毫升的多巴残基和巯基改性的壳聚糖溶液, 然后取0.6克步骤(3)中四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯溶解在1.0毫升的去离子水中, 得到浓度为0.6克/毫升的聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯溶液, 混合两种溶液, 加入快速交联剂高碘酸钠, 得到预聚合物溶液, 预聚合物溶液中高碘酸钠的浓度为0.01mol/L, 预聚合物溶液快速交联形成水凝胶粘合剂, 放置一段时间形成双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶。

[0035] 实施例2

[0036] (1) 称取1.0克壳聚糖在100毫升采用1mol/L的盐酸调节pH值为5的去离子水中, 室温下搅拌, 直至形成无色或淡黄色透明溶液, 然后加入3.44mmol的3,4-二羟基苯基丙酸, 搅拌混合均匀, 加入溶解在100ml去离子水与乙醇混合溶液(v:v=1:1)的1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(20.64mmol)溶液, 调节反应液的pH值为4~5, 室温反应24小时, 在超纯水中透析3天, 冷冻干燥得到多巴残基改性壳聚糖。

[0037] (2) 取0.5克步骤(1)中制备的多巴残基改性壳聚糖溶解在50毫升采用1mol/L的盐酸调节pH值为5的去离子水中, 室温下搅拌溶解, 然后分别加入5.16mmol的N-乙酰半胱氨酸以及10.32mmol的1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐, 用浓盐酸调节pH值为4~5, 室温反应12小时, 在超纯水中透析3天, 冷冻干燥得到多巴残基和巯基改性的壳聚糖, 冷冻储存备用。

[0038] (3) 取4.0克四臂聚乙二醇在100ml的1,4-二氧六环溶液中快速搅拌溶解, 共沸蒸发除去聚乙二醇吸附的水。冷却至室温后, 缓慢滴入溶解在10ml无水丙酮中的4-二甲氨基吡啶(0.19克), 搅拌一段时间, 然后滴入溶解在10ml无水丙酮中的N,N'-琥珀酰亚胺基碳酸酯(0.60克), 反应液在室温下进行6小时, 旋转浓缩, 反应液在丙酮-无水乙醚构成的溶解-沉淀溶液体系中反复三次, 达到纯化的目的, 最后得到四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯的沉淀, 真空干燥得到产品四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯。

[0039] (4) 称取步骤(2)中多巴残基和巯基改性的壳聚糖60毫克溶解在2毫升中性去离子水中, 得到浓度为30毫克/毫升的多巴残基和巯基改性的壳聚糖溶液, 然后取0.6克步骤(3)中四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯溶解在2.0毫升的中性去离子水中, 得到浓度为0.3克/毫升的聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯溶液, 混合两种溶液, 加入快速交联剂高碘酸钠, 得到预聚合物溶液, 预聚合物溶液中高碘酸钠的浓度为0.01mol/L, 预聚合物溶液快速交联形成水凝胶粘合剂, 放置一段时间形成双交联贻贝粘结蛋白仿生水凝胶。

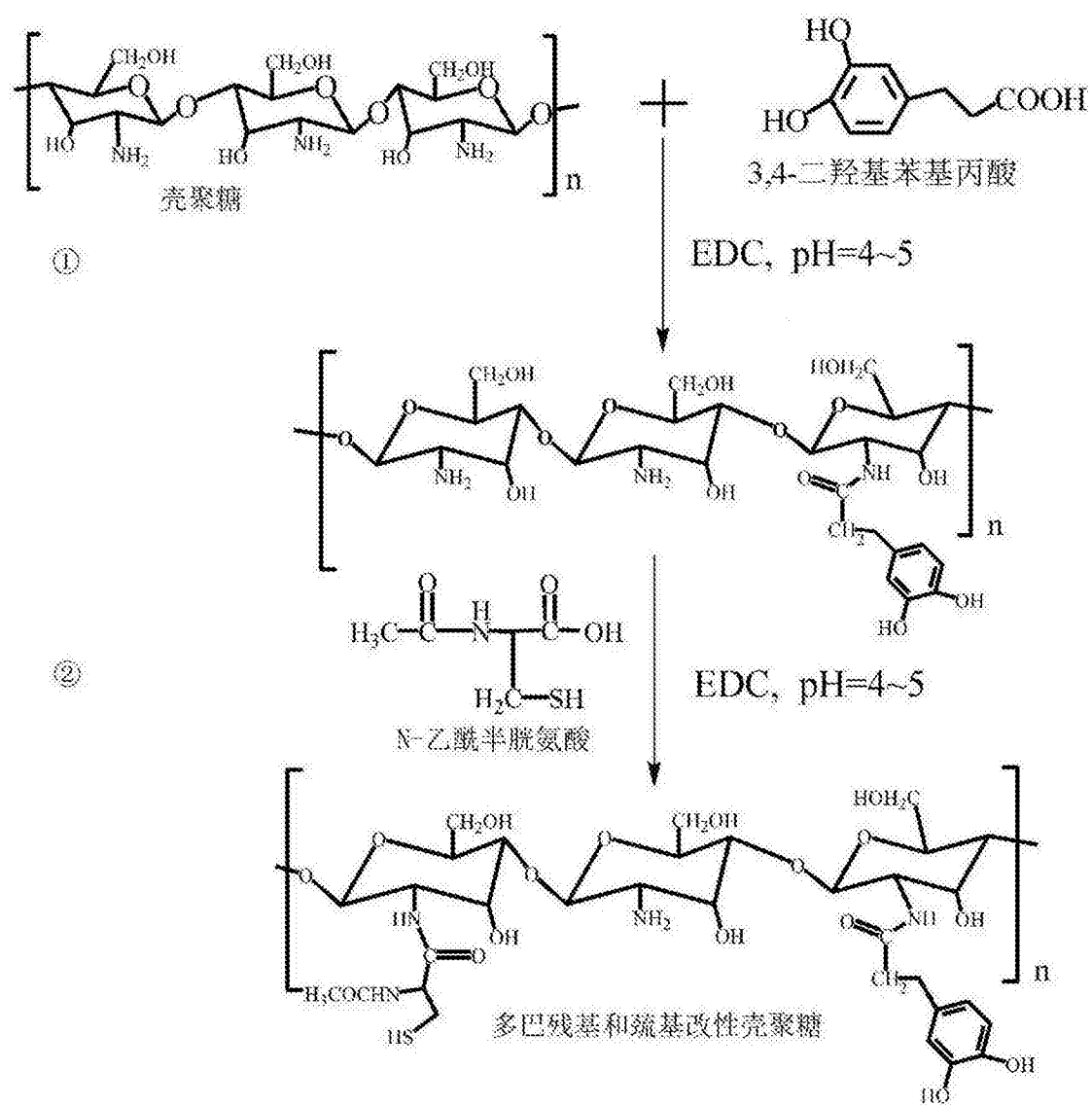


图1

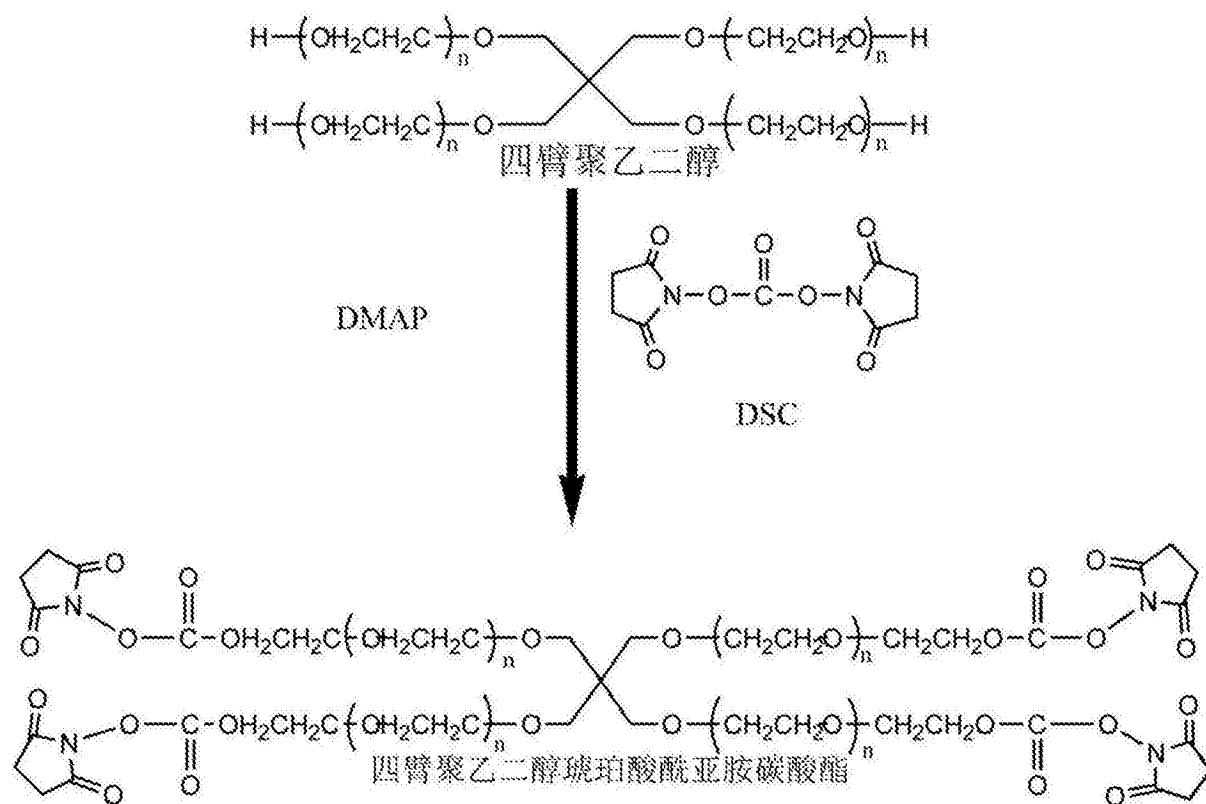


图2

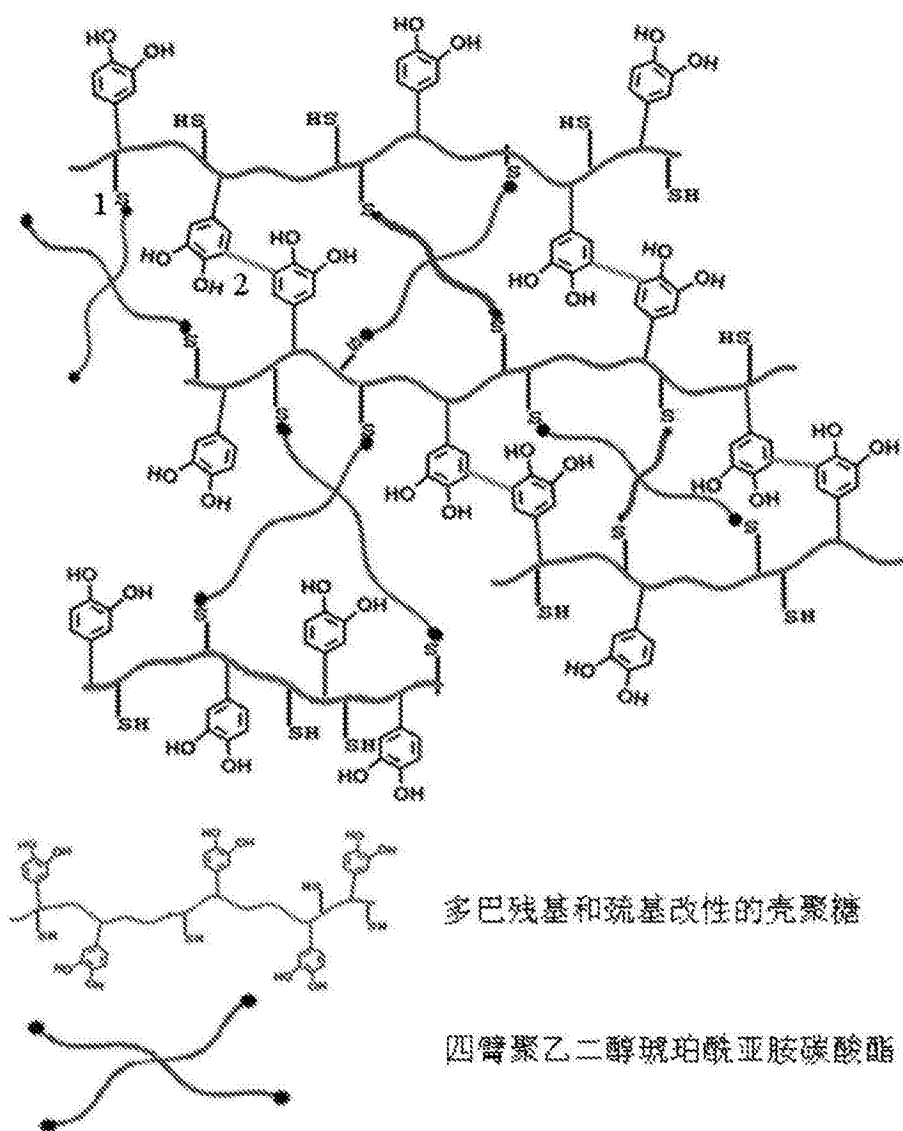


图3