



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106220874 B

(45)授权公告日 2019.03.22

(21)申请号 201610680225.5

A61L 27/20(2006.01)

(22)申请日 2016.08.17

A61L 27/16(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

A61L 27/24(2006.01)

申请公布号 CN 106220874 A

A61L 27/52(2006.01)

A61L 27/56(2006.01)

(43)申请公布日 2016.12.14

(73)专利权人 广东工业大学

地址 510062 广东省广州市越秀区东风东
路729号大院

(72)发明人 刘燕 谭帼馨 周蕾

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 赵青朵

(51)Int.Cl.

C08J 3/28(2006.01)

C08J 3/24(2006.01)

C08J 3/075(2006.01)

C08L 89/00(2006.01)

C08L 5/08(2006.01)

C08B 37/08(2006.01)

C08H 1/00(2006.01)

(56)对比文件

CN 104623725 A,2015.05.20,第0009-0013
段,第0048段.

Van Vlierberghe, S.

Dubrueel, P.

Schacht, E.Biopolymer-Based Hydrogels
As Scaffolds for Tissue Engineering
Applications: A Review.《BIOMACROMOLECULES
》.2011,全文.

S. Van Vlierberghe . P. Dubrueel .E.
Lippens. B. Masschaele .L. V.《Toward
modulating the architecture of hydrogel
scaffolds:curtains versus channels》.
《JOURNAL OF MATERIALS SCIENCE-MATERIALS
IN MEDICINE》.2008,第2.1-2.2小节.

审查员 宋云

权利要求书1页 说明书7页 附图3页

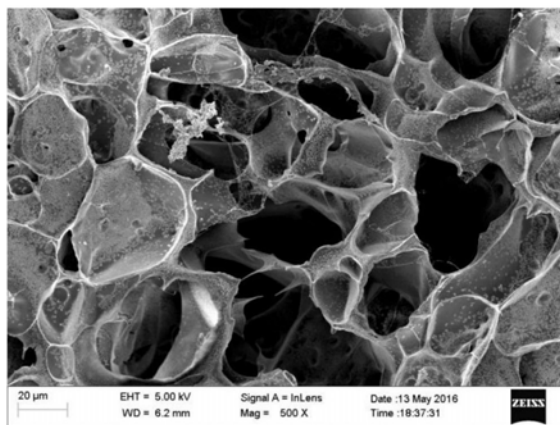
(54)发明名称

复合水凝胶的制备方法与应用、复合水凝胶
修复材料及其制备方法

(57)摘要

本发明提供了一种复合水凝胶的制备方法,
包括:S1)将硫酸软骨素与第一丙烯酸酯类单体
在磷酸盐缓冲液中反应,得到硫酸软骨素丙烯酸
酯类水凝胶单体;将所述硫酸软骨素丙烯酸酯类
水凝胶单体氧化后,得到氧化的硫酸软骨素丙烯
酸酯类水凝胶单体;S2)在紫外光照条件下,将所
述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与
可降解水凝胶单体经光引发剂引发进行聚合反
应,得到复合水凝胶。与现有技术相比,经过氧化
处理的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体中含
有的醛基可以与组织中存在的氨基发生希夫碱

反应,更有利于粘附体内组织,并且该复合水凝
胶含有正常软骨组织成分,易于快速形成新型软
骨组织,在临床软骨修复方面具有潜在的应用价
值。



1. 一种复合水凝胶的制备方法,其特征在于,包括:

S1) 将硫酸软骨素与第一丙烯酸酯类单体在磷酸盐缓冲液中反应,得到硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;将所述硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体经高碘酸钠氧化后,得到氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;

S2) 在紫外光照条件下,将所述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体经光引发剂引发进行聚合反应,得到复合水凝胶;

所述可降解水凝胶单体为明胶丙烯酸酯类水凝胶单体;

所述明胶丙烯酸酯类水凝胶单体按照以下方法制备:

A) 将明胶与第二丙烯酸酯类单体在磷酸盐缓冲液中反应,得到明胶丙烯酸酯类水凝胶单体;

所述第一丙烯酸酯类单体与第二丙烯酸酯类单体各自独立地为丙烯酸酯和/或烷基丙烯酸酯;所述烷基丙烯酸酯中烷基的碳原子数为1~3。

2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述步骤S1) 具体为:

将硫酸软骨素与磷酸盐缓冲液混合,然后加入第一丙烯酸酯类单体,得到反应液;

将所述反应液的pH值调节为弱碱性,在室温下反应1~3h后,置于0℃~10℃条件下反应,得到硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;

将所述硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体氧化后,得到氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体。

3. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述步骤S1) 中硫酸软骨素的质量与第一丙烯酸酯类单体的体积比为1g:(5~10) ml;

所述步骤A) 中明胶的质量与第二丙烯酸酯类单体的体积比为5g:(2~4) 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S2) 中氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体的质量比为1:(2~4)。

5. 权利要求1~4任意一项所制备的复合水凝胶作为软骨修复材料中的应用。

6. 一种复合水凝胶修复材料,其特征在于,包括基材与附着于基材表面的权利要求1~4任意一项所制备的复合水凝胶。

7. 一种复合水凝胶修复材料的制备方法,其特征在于,包括:

S1) 将硫酸软骨素与第一丙烯酸酯类单体在磷酸盐缓冲液中反应,得到硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;将所述硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体氧化后,得到氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;

S2) 在紫外光照条件下,将所述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体在硅烷化处理的基材表面经光引发剂引发进行聚合反应,得到复合水凝胶修复材料;

所述可降解水凝胶单体为明胶丙烯酸酯类水凝胶单体;

所述明胶丙烯酸酯类水凝胶单体按照以下方法制备:

A) 将明胶与第二丙烯酸酯类单体在磷酸盐缓冲液中反应,得到明胶丙烯酸酯类水凝胶单体;

所述第一丙烯酸酯类单体与第二丙烯酸酯类单体各自独立地为丙烯酸酯和/或烷基丙烯酸酯;所述烷基丙烯酸酯中烷基的碳原子数为1~3。

复合水凝胶的制备方法与应用、复合水凝胶修复材料及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于医用材料制造技术领域,尤其涉及一种复合水凝胶的制备方法与应用、复合水凝胶修复材料及其制备方法。

背景技术

[0002] 关节软骨主要由胶原蛋白、蛋白多糖和水组成的特殊结缔组织。但是因其没有血管、神经及淋巴组织,关节软骨一旦损伤几乎没有有效的自身修复和重建能力。人工关节置换术和关节软骨组织工程技术是当前修复关节软骨损伤、恢复关节功能的两种重要方法。有国外学者基于人工关节置换术提出带有“软垫轴承”的新型人工关节设计,国内邹郡等人在仿生关节系统结构中,也提出了构建带有软垫轴承的新型人工关节,在人工关节表面仿生设计人工软骨层。然而,人工关节置换术在手术中切除的骨质较多,患者必须接受很大的手术。而且手术一旦失败,难以补救,风险很大,不适用于小面积软骨缺损的患者。软骨缺损的手术治疗,用适当的软骨填充材料修复缺陷,是快速恢复病态的或创伤性的软骨缺损组织生理功能的有效方法。

[0003] 仿生关节软骨材料需要满足下列要求:1、具有粘弹性力学性质;2、两相多孔结构;3、强韧的软骨表层;4、具有良好的润滑和耐磨特性;5、弹性模量与周围宿主软骨之间相匹配;6、仿生软骨与周围宿主软骨以及软骨下骨实现良好的结合。水凝胶是一种三维多孔网络状、具有与关节软骨类似的力学特征,且生物相容性好等理化特性受到研究者的广泛关注,是作为关节软骨替代物修复关节软骨缺损的理想材料。美国波士顿大学最新研究出将软骨浸泡在两种聚合物单体和引发剂中,光照下形成一个能够修复受损软骨的聚合物网状结构材料即水凝胶,该材料确实能够对已经发生退行性病变的软骨起到增强作用(《生物医学工程学进展》2016,37,1),但其性能仍有待提高。

发明内容

[0004] 有鉴于此,本发明所要解决的技术问题在于提供一种复合水凝胶的制备方法与应用、复合水凝胶修复材料及其制备方法,该方法制备的复合水凝胶可促进细胞的生长。

[0005] 本发明提供了一种复合水凝胶的制备方法,包括:

[0006] S1) 将硫酸软骨素与第一丙烯酸酯类单体在磷酸盐缓冲液中反应,得到硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;将所述硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体经高碘酸钠氧化后,得到氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;

[0007] S2) 在紫外光照条件下,将所述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体经光引发剂引发进行聚合反应,得到复合水凝胶。

[0008] 优选的,所述步骤S1) 具体为:

[0009] 将硫酸软骨素与磷酸盐缓冲液混合,然后加入第一丙烯酸酯类单体,得到反应液;

[0010] 将所述反应液的pH值调节为弱碱性,在室温下反应1~3h后,置于0℃~10℃条件

下反应,得到硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;

[0011] 将所述酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体氧化后,得到氧化的酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体。

[0012] 优选的,所述可降解水凝胶单体为海藻酸钠水凝胶单体和/或明胶丙烯酸酯类水凝胶单体。

[0013] 优选的,所述明胶丙烯酸酯类水凝胶单体按照以下方法制备:

[0014] A) 将明胶与第二丙烯酸酯类单体在磷酸盐缓冲液中反应,得到明胶丙烯酸酯类水凝胶单体。

[0015] 优选的,所述第一丙烯酸酯类单体与第二丙烯酸酯类单体各自独立地为丙烯酸酯和/或烷基丙烯酸酯;所述烷基丙烯酸酯中烷基的碳原子数为1~3。

[0016] 优选的,所述步骤S1)中硫酸软骨素的质量与第一丙烯酸酯类单体的体积比为1g:(5~10)ml;

[0017] 所述步骤A)中明胶的质量与第二丙烯酸酯类单体的体积比为5g:(2~4)ml。

[0018] 优选的,所述步骤S2)中氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体的质量比为1:(1~3)。

[0019] 本发明还提供了一种复合水凝胶作为软骨修复材料中的应用。

[0020] 本发明还提供了一种复合水凝胶修复材料,包括基材与附着于基材表面的复合水凝胶。

[0021] 本发明还提供了一种复合水凝胶修复材料的制备方法,包括:

[0022] S1) 将硫酸软骨素与第一丙烯酸酯类单体在磷酸盐缓冲液中反应,得到硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;将所述硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体氧化后,得到氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;

[0023] S2) 在紫外光照条件下,将所述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体在硅烷化处理的基材表面经光引发剂引发进行聚合反应,得到复合水凝胶修复材料。

[0024] 本发明提供了一种复合水凝胶的制备方法,包括:S1) 将硫酸软骨素与第一丙烯酸酯类单体在磷酸盐缓冲液中反应,得到硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;将所述硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体氧化后,得到氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;S2) 在紫外光照条件下,将所述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体经光引发剂引发进行聚合反应,得到复合水凝胶。与现有技术相比,本发明将氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体,在紫外光照和光引发剂下,与可降解水凝胶单体发生双网络聚合,在体外制备出多孔半降解的具有软骨组织特点的三维材料,经过氧化处理的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体中含有的醛基可以与组织中存在的氨基发生希夫碱反应,更有利于粘附体内组织,并且硫酸软骨素是构成糖胺聚糖的主要成分,因此该复合水凝胶含有正常软骨组织成分,易于快速形成新型软骨组织,在临床软骨修复方面具有潜在的应用价值。

附图说明

[0025] 图1为本发明实施例4中得到的复合水凝胶修复材料的扫描电镜照片;

[0026] 图2为本发明实施例5中氧化处理的CS-MA与GelMA单体复合得到的复合水凝胶的

软骨细胞12h粘附图；

[0027] 图3为本发明实施例7中氧化处理的CS-MA与GelMA单体在紫外光照下在猪的关节软骨处聚合成水凝胶图。。

具体实施方式

[0028] 本发明提供了一种复合水凝胶的制备方法,包括:S1)将硫酸软骨素与第一丙烯酸酯类单体在磷酸盐缓冲液中反应,得到硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;将所述硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体经高碘酸钠氧化后,得到氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;

[0029] S2)在紫外光照条件下,将所述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体经光引发剂引发进行聚合反应,得到复合水凝胶。

[0030] 本发明对所有原料的来源并没有特殊的限制,为市售即可。

[0031] 将硫酸软骨素与第一丙烯酸酯类单体在磷酸盐缓冲液中反应;其中,所述第一丙烯酸酯类单体为本领域技术人员熟知的丙烯酸酯类单体即可,并无特殊的限制,本发明中优选为丙烯酸酯和/或烷基丙烯酸酯;所述烷基丙烯酸酯中烷基的碳原子数为1~3,优选为1~2,再优选为1即甲基丙烯酸酯;所述硫酸软骨素的质量与第一丙烯酸酯类单体的体积比优选为1g:(5~10)ml,更优选为1g:(6~10)ml,再优选为1g:(7~10)ml,最优选为1g:(7.5~9.5)ml;所述反应的温度优选为0℃~30℃;反应时间优选为20~30h。

[0032] 在本发明,上述步骤优选具体为:将硫酸软骨素与磷酸盐缓冲液混合,然后加入第一丙烯酸酯类单体,得到反应液;将所述反应液的pH值调节为弱碱性,在室温下反应1~3h后,置于0℃~10℃条件下反应,得到硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;将所述酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体氧化后,得到氧化的酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体。

[0033] 按照本发明,优选先将硫酸软骨素与硫酸盐缓冲液混合,搅拌直至完全溶解后,再加入第一丙烯酸酯类单体,得到反应液。

[0034] 将反应液的pH值调节为弱碱性,优选调节至7.5~8.5,更优选为8;在本发明中优选采用NaOH溶液调节pH值;所述NaOH溶液的浓度优选为3~6mol/L,更优选为4~6mol/L,再优选为5mol/L;采用NaOH溶液调节pH值可减少杂质离子的引入。

[0035] 调节pH值后,在室温下反应1~3h后,置于0℃~10℃条件下反应,更优选在室温下反应1.5~2.5h后,置于0℃~5℃条件下反应20~28h,再优选在室温下反应1.5~2.5h后,置于0℃~5℃条件下反应22~25h。

[0036] 反应完成后,优选用醇类溶剂沉淀硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;所述醇类溶剂为本领域技术人员熟知的醇类溶剂即可,并无特殊的限制,本发明中优选为乙醇。

[0037] 按照本发明,优选将沉淀得到的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体用醇类溶剂清洗,以除去未反应的第一丙烯酸酯类单体;将清洗后的产物进行冷冻干燥,得到硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;所述冷冻干燥的温度优选为-60℃~-80℃,更优选为-70℃~-80℃,再优选为-75℃~-80℃,最优选为-80℃;所述冷冻干燥的时间优选为1~3天,更优选为2~3天,再优选为3天。

[0038] 将所述硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体进行氧化;所述氧化所用的氧化剂优选为高碘酸钠;所述硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与氧化剂的质量比优选为1:(1~4),

更优选为1:(1.5~3),再优选为1:(2~3),最优选为1:2。在本发明中,优选将所述硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体加入至含有氧化剂的去离子水中避光搅拌进行氧化,得到氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;所述搅拌的时间优选为20~26h,更优选为22~25h,再优选为24~25h,最优选为24h。

[0039] 硫酸软骨素是构成软骨组织蛋白多糖中糖胺聚糖的主要成分,大量研究表明硫酸软骨素具有促进软骨细胞增殖的作用。用经过氧化处理的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体中含有的醛基可以与组织中存在的氨基发生希夫碱反应,更有利于粘附体内组织。

[0040] 在紫外光照条件下,将所述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体经光引发剂引发进行聚合反应。其中,所述可降解水凝胶单体为本领域技术人员熟知的降解型水凝胶单体即可,并无特殊的限制,本发明中优选为海藻酸钠水凝胶单体和/或明胶丙烯酸酯类水凝胶单体。

[0041] 按照本发明,所述明胶丙烯酸酯类水凝胶单体优选按照以下步骤进行制备:A)将明胶与第二丙烯酸酯类单体在磷酸盐缓冲液中反应,得到明胶丙烯酸酯类单体。

[0042] 其中,所述第二丙烯酸酯类单体为本领域技术人员熟知的丙烯酸酯类单体即可,并无特殊的限制,本发明中优选为丙烯酸酯和/或烷基丙烯酸酯;所述烷基丙烯酸酯中烷基的碳原子数为1~3,优选为1~2,再优选为1即甲基丙烯酸酯;所述明胶的质量与第二丙烯酸酯类单体的体积比优选为5g:(2~4)ml,更优选为5g:(2~3)ml,再优选为5g:(2.4~3)ml。

[0043] 在本发明中,优选先将明胶溶于磷酸盐缓冲液后,再加入第二丙烯酸酯类单体,进行反应;所述反应的温度优选为40℃~60℃,更优选为45℃~55℃,再优选为50℃~55℃,最优选为50℃;所述反应时间优选为1~5h,更优选为2~5h,再优选为3~4h,最优选为3h。

[0044] 反应完成后,优选用低于反应温度的磷酸盐缓冲液终止反应,得到反应后的溶液;再将反应后的溶液置于透析袋中,用纯水进行透析;所述透析的温度优选为30℃~50℃,更优选为35℃~45℃,再优选为35℃~40℃,最优选为40℃;所述透析的时间优选为4~8天,更优选为5~7天,再优选为6~7天,最优选为6天;在透析过程中,优选不断进行搅拌。

[0045] 将透析后的溶液离心,然后冷冻干燥,得到明胶丙烯酸酯类单体;所述为冷冻干燥的温度优选为-60℃~-80℃,更优选为-70℃~-80℃,再优选为-75℃~-80℃,最优选为-80℃;所述冷冻干燥的时间优选为1~3天,更优选为2~3天,再优选为3天。

[0046] 在紫外光照条件下,将所述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体经光引发剂引发进行聚合反应,得到复合水凝胶;其中,所述紫外光照的强度优选为650~780mW/cm²,更优选为650~750mW/cm²,再优选为680~720mW/cm²,最优选为690~700mW/cm²;所述紫外光照的时间优选为30~50s,更优选为30~40s,再优选为30~35s,最优选为30s;所述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体的质量比优选为1:(2~4),更优选为1:(2~3)。通过对氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体的用量比进行调节,可以制备出不同交联密度和多孔结构以及不同力学性能、降解性能的复合水凝胶。

[0047] 在本发明中,所述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体优选先溶解在磷酸盐缓冲液中,经光引发剂引发进行聚合反应,得到复合水凝胶;所述光引发剂为本领域技术人员熟知的光引发剂即可,并无特殊的限制,本发明中优选为光引发剂

Igracure 2959。

[0048] 构成本发明复合水凝胶的另一种水凝胶单体是具降解性质的,随着水凝胶封装细胞或者细胞在材料表面的生长,其中易降解的水凝胶慢慢消失溶解,氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶成为主要的三维网络支架,继续促进细胞的生长。可以体外细胞封装形成软骨组织层后再移植入体内,快速与周围组织形成整合,加快软骨组织修复能力。

[0049] 本发明将氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体,在紫外光照和光引发剂下,与可降解水凝胶单体发生双网络聚合,在体外制备出多孔半降解的具有软骨组织特点的三维材料,经过氧化处理的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体中含有的醛基可以与组织中存在的氨基发生希夫碱反应,更有利于粘附体内组织,并且硫酸软骨素是构成糖胺聚糖的主要成分,因此该复合水凝胶含有正常软骨组织成分,易于快速形成新型软骨组织,在临床软骨修复方面具有潜在的应用价值。

[0050] 本发明还提供了一种上述制备的复合水凝胶作为软骨修复材料中的应用。本发明制备的复合水凝胶具有优异的促软骨组织生长性能,从成分上模拟天然软骨组织中的蛋白多糖和细胞外基质,为软骨细胞生长提供了一个更加相似的微环境。

[0051] 本发明还提供了一种复合水凝胶修复材料,包括基材与附着于基材表面的上述制备的复合水凝胶。

[0052] 本发明还提供了一种复合水凝胶修复材料的制备方法,包括:S1)将硫酸软骨素与第一丙烯酸酯类单体在磷酸盐缓冲液中反应,得到硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;将所述硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体氧化后,得到氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体;S2)在紫外光照条件下,将所述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体在硅烷化处理的基材表面经光引发剂引发进行聚合反应,得到复合水凝胶修复材料。

[0053] 其中,所述步骤S1)同上所述,在此不再赘述。

[0054] 在紫外光照条件下,将所述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体在硅烷化处理的基材表面经光引发剂引发进行聚合反应。其中,所述可降解水凝胶单体为本领域技术人员熟知的降解型水凝胶单体即可,并无特殊的限制,本发明中优选为海藻酸钠水凝胶单体和/或明胶丙烯酸酯类水凝胶单体。所述可降解水凝胶单体同上所述,在此不再赘述。

[0055] 所述基材为本领域技术人员熟知的基材即可,并无特殊的限制,本发明中优选为钛或钛合金;所述硅烷化处理的基材优选按照进行步骤制备:将基材浸泡于NaOH溶液中,洗净然后浸泡于硅烷化试剂中,得到硅烷化处理的基材;更优选先将基材在去离子水、丙酮与乙醇中依次进行超声处理后,再浸泡于NaOH溶液中;所述超声处理的时间优选为5~20min,更优选为5~15min,再优选为10~15min,最优选为10min。

[0056] 其中,所述NaOH溶液的质量浓度优选为10%~20%,更优选为10%~15%,再优选为10%;所述NaOH溶液的温度优选为60℃~80℃;所述浸泡于NaOH溶液中的时间优选为10~24h;所述硅烷化试剂为本领域技术人员熟知的硅烷化试剂即可,并无特殊的限制,本发明中优选为3-三甲基硅丙基-甲基丙烯酸酯(3-(Trimethoxysilyl)propyl-methacrylate, TMSMA)或十八烷基三氯硅烷(octadecyltrichlorosilane,OTS);所述硅烷化试剂的温度优选为60℃~80℃;所述浸泡于硅烷化试剂中的时间优选为10~24h。

[0057] 在紫外光照条件下,将所述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体在硅烷化处理的基材表面经光引发剂引发进行聚合反应,得到复合水凝胶修复材料。

[0058] 在本发明中,所述氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体与可降解水凝胶单体优选先溶解在磷酸盐缓冲液中,然后在硅烷化处理的基材表面经光引发剂引发进行聚合反应,得到复合水凝胶修复材料;所述光引发剂为本领域技术人员熟知的光引发剂即可,并无特殊的限制,本发明中优选为光引发剂Igracure 2959。

[0059] 本发明制备的复合水凝胶修复材料可实现氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体、可降解水凝胶单体与硅烷化处理的基材之间具有很好的共价键合作用,从而实现基材、水凝胶层与周围软骨组织之间达到很好的整合作用。

[0060] 下面将结合本发明实施例的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范畴。

[0061] 实施例1

[0062] 称量2g硫酸软骨素放入50mL磷酸盐缓冲溶液中,进行磁力搅拌直到完全溶解(透明)。用移液枪移取15.0mL的甲基丙烯酸酯(MA)滴加到上述溶液,约30min滴加完MA后,使用5M NaOH溶液将溶液调为pH=8.0。将溶液置于室温中磁力搅拌反应2小时后,放入冰箱中反应24小时。使用200mL无水乙醇来沉淀CS-MA,并不断搅拌混匀,用大量无水乙醇清洗CS-MA沉淀去掉未反应的MA后离心分离。将样品在-80℃下冷冻3天,得到硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体,并用滤纸和橡皮筋封好离心管,在干燥器中保存。

[0063] 实施例2

[0064] 称量5g明胶放入50mL PBS溶液,进行磁力搅拌直到完全溶解(透明)。用移液枪移取2.4mL的甲基丙烯酸酯(MA)滴加到上述溶液中,滴加完MA后在恒温50℃的水浴锅中继续磁力搅拌反应3h,使用200ml在40℃的PBS反应液来终止反应,并不断搅拌混匀。将上述溶液置入透析袋,在40℃下的纯水中进行透析6天,并不断搅拌。将透析后的溶液离心,-80℃下冷冻3天,得到明胶丙烯酸酯类水凝胶单体(GelMA水凝胶单体),在干燥器中保存。

[0065] 实施例3

[0066] 称量2g硫酸软骨素放入80mL磷酸盐缓冲溶液中,进行磁力搅拌直到完全溶解(透明)。用移液枪移取19.0mL的甲基丙烯酸酯(MA)滴加到上述溶液,约30min滴加完MA后,使用5MNaOH溶液将溶液调为pH=8.0。将溶液置于室温中磁力搅拌反应2小时后,放入冰箱中反应24小时。使用200mL无水乙醇来沉淀CS-MA,并不断搅拌混匀,用大量无水乙醇清洗CS-MA沉淀去掉未反应的MA后离心分离。将样品在-80℃下冷冻3天,得到硫酸软骨素甲基丙烯酸酯水凝胶单体(CSMA水凝胶单体),并用滤纸和橡皮筋封好离心管,在干燥器中保存。

[0067] 称量0.4g硫酸软骨素甲基丙烯酸酯水凝胶单体加入到8mL含有0.8g高碘酸钠的去离子水中避光搅拌保存24h,之后去除未反应的物质,得到氧化的硫酸软骨素丙烯酸酯类水凝胶单体,干燥待用。

[0068] 实施例4

[0069] 钛基材或其合金依次在去离子水、丙酮、乙醇中超声处理10min,浸泡于10%NaOH

溶液中10~24h,温度60~80℃,之后洗净浸泡于硅烷化试剂中10~24h,温度60~80℃,获得表面经硅烷化处理的基材。

[0070] 将实施例2和3得到的水凝胶单体以质量比3:1的比例在紫外光下经由双键聚合反应制备多孔半降解复合水凝胶涂层,紫外光照30s,紫外光强度690mW/cm²,光引发剂为Igracure 2959。复合水凝胶涂层冷冻、干燥3d后,得到复合水凝胶修复材料。

[0071] 利用扫描电子显微对实施例4中得到的复合水凝胶修复材料进行分析,得到其扫描电镜照片如图1所示。

[0072] 实施例5

[0073] 实施例2与实施例3所得到的水凝胶单体按照2:1比例混合得到的复合水凝胶对小鼠ATDC-5前软骨细胞进行12小时细胞粘附。软骨细胞接种到各个材料表面,密度 2.0×10^4 cells/mL,培养12小时后4%多聚甲醛固定,用1:100Actin-Tracker Green和500 μ L/well DAPI染色。激光共聚焦观察CS-MA/Ge1MA复合水凝胶材料表面软骨细胞粘附铺展情况很好,如图2所示。

[0074] 实施例6

[0075] 将ATDC-5软骨细胞打散至2%、4%、6%CS-MA/Ge1MA复合水凝胶单体中,在紫外光照下,在基材表面形成一层约2mm的涂层,观察细胞在复合水凝胶网络中的生长状况。细胞开始时在2%水凝胶中生长快速,但随着培养天数的增加,水凝胶中的Ge1MA水凝胶慢慢降解,6%的复合水凝胶体系中细胞生长速度加快,软骨细胞在水凝胶中慢慢形成一层新的类似于天然软骨组织层。

[0076] 实施例7

[0077] 实施例3中氧化后的CS-MA水凝胶单体与Ge1MA单体按1:3在紫外光照下聚合成水凝胶后,粘附至猪的关节软骨处,发现粘附性很好,不脱落。没有经过氧化处理形成的CS-MA水凝胶与Ge1MA单体按1:3在紫外光照下聚合成水凝胶后粘附至小鼠的皮下组织,粘附性能没有经过氧化处理的CS-MA与Ge1MA单体混合形成的水凝胶的好。如图3所示。

[0078] 以上实施例的说明只是用于帮助理解本发明的方法及其核心思想。应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以对本发明进行若干改进和修饰,这些改进和修饰也落入本发明权利要求的保护范围内。

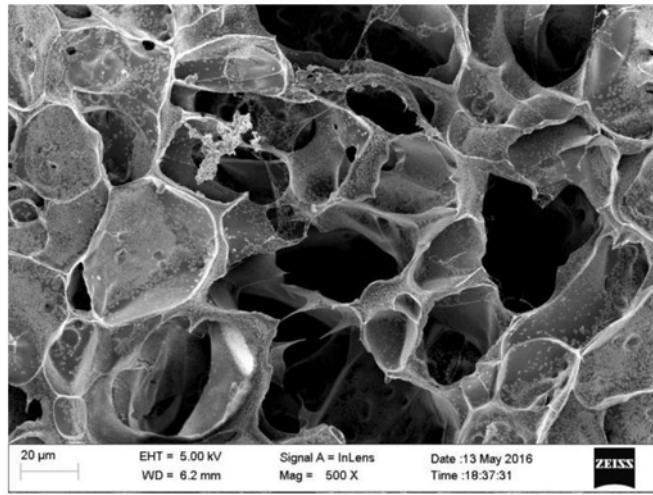


图1

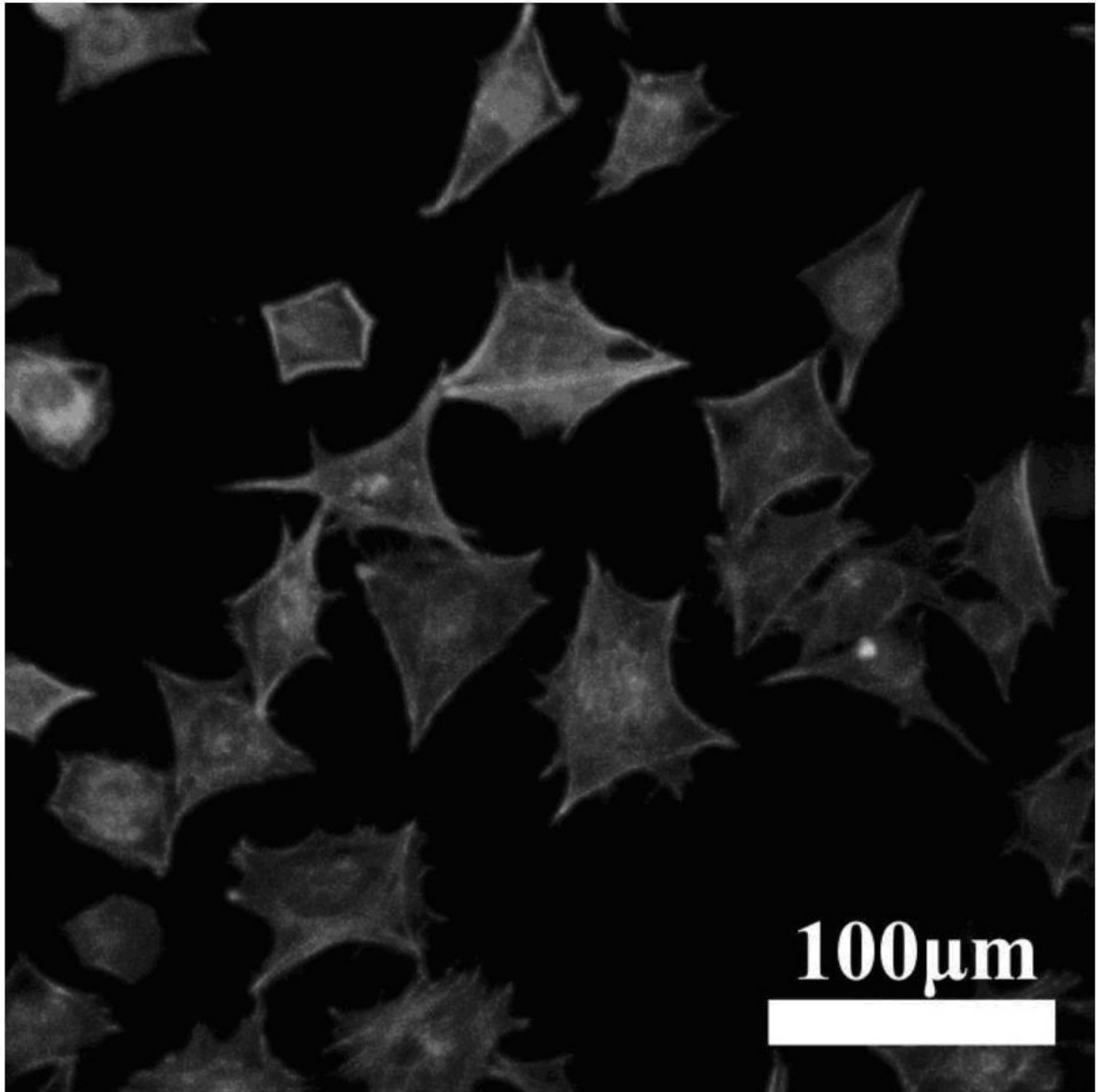


图2



图3