



# (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109568250 A

(43)申请公布日 2019. 04. 05

(21)申请号 201910031820.X

A61K 47/04(2006.01)

(22)申请日 2019.01.14

A61K 31/704(2006.01)

(66)本国优先权数据

A61P 35/00(2006.01)

201910008368.5 2019.01.04 CN

(71)申请人 四川大学

地址 610065 四川省成都市武侯区一环路  
南一段24号

(72)发明人 廖金凤 李奇文 文俊儒

(74)专利代理机构 成都虹桥专利事务所(普通  
合伙) 51124

代理人 梁鑫 黄鑫

(51)Int.Cl.

A61K 9/06(2006.01)

A61K 47/32(2006.01)

A61K 47/36(2006.01)

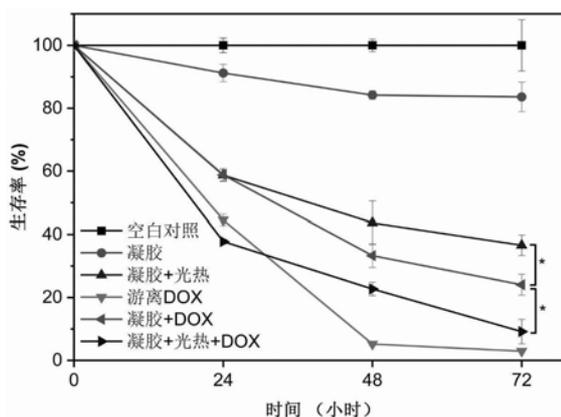
权利要求书2页 说明书7页 附图3页

## (54)发明名称

自愈合水凝胶及其制备方法和用途

## (57)摘要

本发明涉及自愈合水凝胶及其制备方法和用途,属于医学材料领域。本发明提供了自愈合水凝胶,它是包含聚乙烯亚胺和硫酸软骨素多醛的原料制备而成。本发明还提供了所述自愈合水凝胶的制备方法和用途。本发明提供的自愈合水凝胶不仅具有受到破坏后自我修复的能力,同时具有良好的流变性能、力学强度、光热效应,可以有效地杀伤肿瘤细胞,抑制肿瘤的术后复发,是一种极具潜力的抗肿瘤支架材料。



1. 自愈合水凝胶,其特征是:它是包含聚乙烯亚胺和硫酸软骨素多醛的原料制备而成。
2. 如权利要求1所述的自愈合水凝胶,其特征是:所述原料的重量配比为:聚乙烯亚胺15~90份、硫酸软骨素多醛90份。
3. 如权利要求1或2所述的自愈合水凝胶,其特征是:满足以下至少一项:  
所述聚乙烯亚胺为分支型聚乙烯亚胺;  
所述聚乙烯亚胺的分子量为1.8kDa;  
所述硫酸软骨素多醛由下述方法制备得到:将硫酸软骨素溶解在水中,加入高碘酸钠,硫酸软骨素:高碘酸钠质量比为5:1.35,在避光条件下于20℃反应6小时,即得。
4. 如权利要求1~3任意一项所述的自愈合水凝胶,其特征是:原料还包含改性石墨烯,所述改性石墨烯由聚乙烯亚胺与氧化石墨烯通过酰胺化反应得到。
5. 如权利要求4所述的自愈合水凝胶,其特征是:满足以下至少一项:  
所述改性石墨烯的粒径为100nm;  
所述改性石墨烯的厚度为3~4nm;  
所述改性石墨烯由下述方法制备得到:取氧化石墨烯、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐、N-羟基琥珀酰亚胺和聚乙烯亚胺,于反应溶剂中充分反应,即得;  
优选地,所述改性石墨烯由下述方法制备得到:将氧化石墨烯均匀分散在反应溶剂中,加入1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐和N-羟基琥珀酰亚胺,混合均匀,然后加入聚乙烯亚胺,充分反应,即得;  
所述反应溶剂为磷酸盐缓冲液;  
所述磷酸盐缓冲液的pH=7.4;  
氧化石墨烯:1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐:N-羟基琥珀酰亚胺:聚乙烯亚胺的质量比为20:85.8:102:200;  
加入聚乙烯亚胺后,将混合物于0~4℃超声处理2小时,然后在室温下充分反应;  
所述氧化石墨烯由下述方法制备得到:将石墨:KMnO<sub>4</sub>质量比为0.3:1.8加入到浓H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:浓H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>体积比为9:1的混合液中,料液比为2.1:40,g/mL,于50℃反应12小时,即得;  
所述氧化石墨烯的羧基含量为0.745mmol/g;  
所述聚乙烯亚胺为分支型聚乙烯亚胺;  
所述聚乙烯亚胺的分子量为1.8kDa。
6. 如权利要求4或5所述的自愈合水凝胶,其特征是:原料还包含改性石墨烯0.1~0.3份。
7. 如权利要求1~6任意一项所述的自愈合水凝胶,其特征是:所述原料的重量配比为:聚乙烯亚胺30~45份、硫酸软骨素多醛90份、改性石墨烯0.3份;优选地,所述原料的重量配比为:聚乙烯亚胺30份、硫酸软骨素多醛90份、改性石墨烯0.1份,或者,聚乙烯亚胺30份、硫酸软骨素多醛90份、改性石墨烯0.3份。
8. 如权利要求1~7任意一项所述的自愈合水凝胶,其特征是:由下述方法制备得到:取各原料,各自分散于溶剂中,然后将各原料的溶液混合,即得;优选地,先将聚乙烯亚胺溶液和改性石墨烯溶液混合均匀,再与硫酸软骨素多醛溶液混合;优选地,所述溶剂为水。
9. 如权利要求8所述的自愈合水凝胶,其特征是:由下述方法制备得到:将硫酸软骨素多醛溶于溶剂中,得到30wt%浓度的硫酸软骨素多醛溶液;配制10~60wt%浓度的分支型

聚乙烯亚胺溶液,调节pH至7.4;将改性石墨烯分散在溶剂中,得到0.2~0.6wt%浓度的溶液;将三种溶液混合,即得。

10. 权利要求1~9任意一项所述自愈合水凝胶的制备方法,其特征是:取各原料,各自分散于溶剂中,然后将各原料的溶液混合,即得。

11. 权利要求1~9任意一项所述的自愈合水凝胶在制备治疗和/或预防癌症的支架材料或药物中的用途;优选地,所述支架材料或药物具有降低癌症复发率的作用;优选地,所述癌症为乳腺癌;优选地,所述支架材料或药物用于光热疗和/或化疗。

12. 治疗和/或预防癌症的组合物,其特征是:它是由权利要求1~9任意一项所述的自愈合水凝胶携载抗癌药物制备而成;优选地,所述抗癌药物为化疗药物;优选地,所述化疗药物为多柔比星;优选地,所述组合物为光热疗和/或化疗支架材料或制剂;优选地,所述组合物具有降低癌症复发率的作用;优选地,所述癌症为乳腺癌。

## 自愈合水凝胶及其制备方法和用途

### 技术领域

[0001] 本发明涉及自愈合水凝胶及其制备方法和用途,属于医学材料领域。

### 背景技术

[0002] 肿瘤患者的治疗中,预防术后复发至关重要。目前常规的治疗方法包括辅助化疗,内分泌治疗和放疗等,但随之而来的一些毒性反应和全身副作用不可忽视。由于多种类型的肿瘤复发通常从局部开始,比如乳腺肿瘤,因而近年来提出将载有功能分子的生物支架材料(例如水凝胶,生物膜等)引入肿瘤部位以实现原位杀伤肿瘤细胞、抑制肿瘤复发的治疗策略。

[0003] 水凝胶是一种理想的组织工程修复材料,在肿瘤治疗领域得到了广泛关注。但其在应用时仍存在一些不足:一是在复杂的体内环境中,水凝胶易受到外部刺激的影响,从而不能稳定地发挥作用;二是水凝胶的结构完整性易被破坏,发生局部断裂,进而导致治疗效果受到影响,也会干扰组织空间的修复与细胞的生长分化。而自愈合水凝胶具有自我修复能力。当暴露于破坏性因素时,其具有恢复至初始状态的能力。在受到损伤后,自愈合水凝胶可通过交联结构或化学键作用,实现迅速愈合。

[0004] 因此,开发具备良好自愈合性能的水凝胶,并将其应用于肿瘤的防治,具有重要意义。

### 发明内容

[0005] 本发明旨在至少解决现有技术中存在的技术问题之一。为此,本发明的一个目的在于提供自愈合水凝胶,本发明的目的还在于提供该自愈合水凝胶的制备方法和用途。

[0006] 本发明提供了自愈合水凝胶,它是包含聚乙烯亚胺和硫酸软骨素多醛的原料制备而成。

[0007] 进一步地,所述原料的重量配比为:聚乙烯亚胺15~90份、硫酸软骨素多醛90份。

[0008] 进一步地,所述的自愈合水凝胶满足以下至少一项:

[0009] 所述聚乙烯亚胺为分支型聚乙烯亚胺;

[0010] 所述聚乙烯亚胺的分子量为1.8kDa;

[0011] 所述硫酸软骨素多醛由下述方法制备得到:将硫酸软骨素溶解在水中,加入高碘酸钠,硫酸软骨素:高碘酸钠质量比为5:1.35,在避光条件下于20℃反应6小时,即得。

[0012] 进一步地,原料还包含改性石墨烯,所述改性石墨烯由聚乙烯亚胺与氧化石墨烯通过酰胺化反应得到。

[0013] 进一步地,所述的自愈合水凝胶满足以下至少一项:

[0014] 所述改性石墨烯的粒径为100nm;

[0015] 所述改性石墨烯的厚度为3~4nm;

[0016] 所述改性石墨烯由下述方法制备得到:取氧化石墨烯、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐、N-羟基琥珀酰亚胺和聚乙烯亚胺,于反应溶剂中充分反应,即得;

[0017] 优选地,所述改性石墨烯由下述方法制备得到:将氧化石墨烯均匀分散在反应溶剂中,加入1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐和N-羟基琥珀酰亚胺,混合均匀,然后加入聚乙烯亚胺,充分反应,即得;

[0018] 所述反应溶剂为磷酸盐缓冲液;

[0019] 所述磷酸盐缓冲液的pH=7.4;

[0020] 氧化石墨烯:1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐:N-羟基琥珀酰亚胺:聚乙烯亚胺的质量比为20:85.8:102:200;

[0021] 加入聚乙烯亚胺后,将混合物于0~4℃超声处理2小时,然后在室温下充分反应;

[0022] 所述氧化石墨烯由下述方法制备得到:将石墨:KMnO<sub>4</sub>质量比为0.3:1.8加入到浓H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:浓H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>体积比为9:1的混合液中,料液比为2.1:40,g/mL,于50℃反应12小时,即得;

[0023] 所述氧化石墨烯的羧基含量为0.745mmol/g;

[0024] 所述聚乙烯亚胺为分支型聚乙烯亚胺;

[0025] 所述聚乙烯亚胺的分子量为1.8kDa。

[0026] 进一步地,原料还包含改性石墨烯0.1~0.3份。

[0027] 进一步地,所述原料的重量配比为:聚乙烯亚胺30~45份、硫酸软骨素多醛90份、改性石墨烯0.3份。

[0028] 优选地,所述原料的重量配比为:聚乙烯亚胺30份、硫酸软骨素多醛90份、改性石墨烯0.1份,或者,聚乙烯亚胺30份、硫酸软骨素多醛90份、改性石墨烯0.3份。

[0029] 进一步地,所述的自愈合水凝胶由下述方法制备得到:取各原料,各自分散于溶剂中,然后将各原料的溶液混合,即得。

[0030] 优选地,先将聚乙烯亚胺溶液和改性石墨烯溶液混合均匀,再与硫酸软骨素多醛溶液混合。由于硫酸软骨素多醛可以同时与PEI和PEI-GO反应,因此先将PEI和PEI-GO这两个携带氨基的成分混合均匀后,再与CSMA反应,能够保证水凝胶成分的均一分布,得到纳米粒均匀分布的水凝胶。

[0031] 优选地,所述溶剂为水。

[0032] 进一步地,所述的自愈合水凝胶由下述方法制备得到:将硫酸软骨素多醛溶于溶剂中,得到30wt%浓度的硫酸软骨素多醛溶液;配制10~60wt%浓度的分支型聚乙烯亚胺溶液,调节pH至7.4;将改性石墨烯分散在溶剂中,得到0.2~0.6wt%浓度的溶液;将三种溶液混合,即得。

[0033] 本发明提供了所述自愈合水凝胶的制备方法:取各原料,各自分散于溶剂中,然后将各原料的溶液混合,即得。

[0034] 本发明提供了所述的自愈合水凝胶在制备治疗和/或预防癌症的支架材料或药物中的用途。

[0035] 优选地,所述支架材料或药物具有降低癌症复发率的作用。

[0036] 优选地,所述癌症为乳腺癌。

[0037] 优选地,所述支架材料或药物用于光热疗和/或化疗。

[0038] 本发明提供了治疗和/或预防癌症的组合物,它是由所述的自愈合水凝胶携带抗癌药物制备而成。

[0039] 优选地,所述抗癌药物为化疗药物。

- [0040] 优选地,所述化疗药物为多柔比星。
- [0041] 优选地,所述组合物为光热疗和/或化疗支架材料或制剂。
- [0042] 优选地,所述组合物具有降低癌症复发率的作用。
- [0043] 优选地,所述癌症为乳腺癌。
- [0044] 本发明提供了自愈合水凝胶,不仅具有受到破坏后自我修复的能力,同时具有良好的流变性能、力学强度、光热效应,可以有效地杀伤肿瘤细胞,抑制肿瘤的术后复发,是一种极具潜力的抗肿瘤支架材料。

#### 附图说明

- [0045] 图1为试验例1中自愈合水凝胶的流变学表征结果图;
- [0046] 图2为试验例2中自愈合水凝胶的自愈合性能图;
- [0047] 图3为试验例3的光热效应图;
- [0048] 图4为试验例4中人乳腺癌细胞杀伤效率结果图;
- [0049] 图5为试验例5中体内小鼠乳腺癌复发率结果图。

#### 具体实施方式

- [0050] 本发明提供了自愈合水凝胶,它是包含聚乙烯亚胺和硫酸软骨素多醛的原料制备而成。
- [0051] 本发明是基于发明人的下列发现而完成的:
- [0052] 本发明以包含聚乙烯亚胺和硫酸软骨素多醛(CSMA)的原料制备自愈合水凝胶,主要是利用氨基与醛基之间的相互作用发生席夫碱反应,生成亚胺键( $-C=N-$ ),实现聚乙烯亚胺与CSMA之间的结合,从而形成水凝胶。席夫碱最适反应条件为中性,因而保证该水凝胶在体内能够发生自愈合。由此得到粘弹性以及自愈合性能较好的水凝胶。
- [0053] 本发明还可以具有下列附加技术特征:
- [0054] 根据本发明的一些实施例,所述原料的重量配比为:聚乙烯亚胺15~90份、硫酸软骨素多醛90份,由此得到成胶性能较好的水凝胶。
- [0055] 根据本发明的一些实施例,所述聚乙烯亚胺采用分支型聚乙烯亚胺。相比直链型,分支型聚乙烯亚胺带有的氨基数量更多,更容易与CSMA结合,毒性更低。
- [0056] 根据本发明的一些实施例,自愈合水凝胶的制备原料还包含改性石墨烯,所述改性石墨烯由聚乙烯亚胺与氧化石墨烯通过酰胺化反应得到。氧化石墨烯(GO)是一种碳纳米颗粒,它具有良好的胶体稳定性,表面可修饰性和生物相容性,是提高水凝胶力学强度的理想材料。此外,氧化石墨烯的光热效应和良好的药物缓释性能,也可以进一步增强水凝胶的肿瘤治疗效果。基于氧化石墨烯具有的上述优点,发明人试图将氧化石墨烯引入到自愈合水凝胶中,以改善水凝胶的力学性能。具体地,本发明创造性地使用聚乙烯亚胺(PEI)来修饰GO,形成了较小纳米颗粒(PEI-GO),其在体内生理环境中的分散性及稳定性良好。PEI-GO由于表面上接合了氨基,能够帮助GO发生基于席夫碱的可逆共价反应,得以进一步促进水凝胶的形成、改善水凝胶的力学性能,由此得到具备良好流变性能、自愈合性能、力学强度和生物相容性的水凝胶。同时,由于PEI-GO的光热效应和药物递送功能,将本发明水凝胶配合光热治疗、抗癌药物共同使用,可有效地杀伤肿瘤细胞、抑制肿瘤的术后复发。

[0057] 根据本发明的一些实施例,自愈合水凝胶由下述方法制备得到:将硫酸软骨素多醛溶于溶剂中,得到30wt%浓度的硫酸软骨素多醛溶液;配制10~60wt%浓度的分支型聚乙烯亚胺溶液,调节pH至7.4;将改性石墨烯分散在溶剂中,得到0.2~0.6wt%浓度的溶液;将三种溶液混合,即得。发明人经过考察原料浓度发现,在上述浓度范围内成胶,成胶效率较高。

[0058] 下面将结合实施例对本发明的方案进行解释。本领域技术人员将会理解,下面的实施例仅用于说明本发明,而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体技术或条件的,按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购获得的常规产品。

[0059] 实施例1硫酸软骨素多醛(CSMA)的制备

[0060] 将5g硫酸软骨素(购买的成品硫酸软骨素A钠盐)溶解在100mL去离子水中,再加入1.35g高碘酸钠。将混合溶液置于黑暗环境中,在20℃条件下搅拌混匀6小时。然后将所得溶液用去离子水透析3天。最终冻干后得到硫酸软骨素多醛(CSMA)。采用下述方法测定硫酸软骨素的氧化程度:取反应后液体5mL,加入10mL碳酸氢钠中和,再加入20%碘化钾溶液2mL析出未反应的碘,用硫代硫酸钠溶液滴定,淀粉为指示剂。

[0061] 实施例2氧化石墨烯(GO)的制备

[0062] 将40mL的浓H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:浓H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(体积比9:1)混合液加入到250mL烧瓶中,然后再加入0.3g石墨粉末和1.8g KMnO<sub>4</sub>的混合物。将得到的混合溶液在50℃下搅拌12小时。之后,将混合物倾倒在冰上,逐滴加入0.3mL的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>并不断搅拌,反应30分钟。将混合物以8000rpm的速度离心30分钟并去掉上层清液。将沉淀物用去离子水,0.2M HCl和乙醇依次洗涤,重复3次,再用无水乙醚洗涤。将产物在37℃下真空干燥,得到氧化石墨烯(GO)。通过酸碱滴定法测量GO的羧基量:将GO溶解于去离子水中,呈酸性,滴加NaOH中和至pH=7,计算NaOH消耗量,由此计算出GO的羧基含量为0.745mmol/g。

[0063] 实施例3改性石墨烯BPEI-GO的制备

[0064] 按照实施例2的方法制备GO,将20mg冻干的GO分散在PBS缓冲溶液(即磷酸盐缓冲液,pH=7.4)中,超声1小时。然后将85.8mg的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)和102mg的N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)加入到GO分散液中。超声处理15分钟后,将200mg分支型聚乙烯亚胺(BPEI,分子量为1.8kDa)的水溶液加入到GO分散液中。然后将混合物于0~4℃超声处理2小时,并在室温下搅拌过夜。将所得BPEI-GO分散体通过离心超滤(10kDa,3,000rpm)洗涤数次以去除未反应的BPEI,得到BPEI-GO。经测定,所得BPEI-GO的粒径为100nm,厚度为3~4nm。

[0065] 实施例4本发明CSMA/BPEI自愈合水凝胶的制备

[0066] 将一定量的CSMA(根据实施例1制备)溶于去离子水中,得到30wt%浓度的CSMA溶液。用去离子水稀释分支型聚乙烯亚胺(BPEI,分子量为1.8kDa),分别获得10、20、30、40和60wt%终浓度的溶液,调节pH至7.4。将两种成分混合(300μLCSMA,150μLBPEI),即可立即形成本发明自愈合水凝胶。

[0067] 实施例5本发明CSMA/BPEI/BPEI-GO自愈合水凝胶的制备

[0068] 将一定量的CSMA(根据实施例1制备)溶于去离子水中,得到30wt%浓度的CSMA溶液。用去离子水稀释分支型聚乙烯亚胺(BPEI,分子量为1.8kDa),分别获得10、20、30、40和

60wt%终浓度的溶液,调节pH至7.4。将BPEI-GO(根据实施例3制备)分散在去离子水中,得到0.2、0.4和0.6wt%终浓度的溶液。先将聚乙烯亚胺溶液和改性石墨烯溶液混合均匀,再与硫酸软骨素多醛溶液混合(300 $\mu$ LCSMA,150 $\mu$ LBPEI,50 $\mu$ LBPEI-GO),即可立即形成本发明自愈合水凝胶。

[0069] 表1自愈合水凝胶的原料配比

[0070]

成分	剂量 ( $\mu$ L)	浓度 (wt%)				
CSMA	300	30				
BPEI	150	10	20	30	40	60
BPEI-GO	50	0.2		0.4	0.6	

[0071] 实施例6携载多柔比星(DOX)的CSMA/BPEI/BPEI-GO自愈合水凝胶的制备

[0072] 将1mg DOX溶解于1mL去离子水中,加入6mg/mL BPEI-GO 1mL进行载药,搅拌过夜。用超滤离心管(10kDa,3000rpm)离心、洗涤三次,除去游离DOX后得到载药的BPEI-GO-DOX。紫外分光光度计测量游离DOX溶液吸光度,DOX标准曲线为 $Y=0.01266X-0.02562$ ;X:DOX浓度,mg/mL;Y:吸光度。计算得到1mL BPEI-GO载药量为597.48 $\mu$ g,包封率59.75%,将50 $\mu$ L BPEI-GO-DOX与150 $\mu$ LBPEI混合后,再与300 $\mu$ L CSMA混合得到载DOX的水凝胶。

[0073] 以下通过试验例来证明本发明的有益效果。

[0074] 实验动物:Balb/c雌性小鼠,4-6周龄,由中国北京华阜康生物科技有限公司提供。

[0075] 实验试剂:多柔比星(DOX)获自浙江海正制药公司。

[0076] 实验使用的自愈合水凝胶根据上文实施例记载的方法制备。

[0077] 试验例1本发明自愈合水凝胶的流变学表征

[0078] 本试验的目的是对水凝胶进行流变学的表征,进而判断凝胶的粘弹性。记录储能模量( $G'$ )和损耗模量( $G''$ ),以对应动态频率扫描和动态应变扫描测试。连续应变扫描测试用于表征水凝胶的自愈合行为。具体流程为:1)施加小幅度的剪切应变(1%应变,频率=1.0Hz)并且使水凝胶保持凝胶状态( $G' > G''$ );2)施加大幅度的剪切应变(400%应变,频率=1.0Hz,30s),导致凝胶破裂( $G'' < G'$ );3)恢复到初始状态(1%应变,频率=1.0Hz,200s)。重复循环该过程几次。应变扫描测试结果见图1,分别显示了加入300 $\mu$ L的300mg/mL CSMA和150 $\mu$ L不同浓度BPEI(100,200,300,400和600mg/mL)制备的CSMA/BPEI水凝胶的应变扫描测试结果,以及CSMA/BPEI/BPEI-GO水凝胶的应变扫描测试结果(300mg/mL CSMA300 $\mu$ L,300mg/mL BPEI150 $\mu$ L和2、4、6mg/mL BPEI-GO50 $\mu$ L)。

[0079] 在动态频率扫描测试中,CSMA/BPEI水凝胶的储能模量在10-60wt%BPEI和20-30wt%CSMA的浓度范围中,表现出最大 $G'$ 值约为1700Pa的浓度依赖性。将BPEI-GO(0.2-0.6wt%)引入反应体系能够显著改善储能模量,达到的最大 $G'$ 值约为7000Pa。

[0080] 试验例2本发明自愈合水凝胶的自愈合性能

[0081] 将几块CSMA/BPEI水凝胶(原料重量配比:30份BPEI,90份CSMA)并排接触放置,十分钟后观察水凝胶的修复情况。将几块CSMA/BPEI/BPEI-GO水凝胶(原料重量配比:30份BPEI,90份CSMA,0.1份BPEI-GO)并排接触放置,十分钟后观察水凝胶的修复情况。结果见图2,其中,图2A显示CSMA/BPEI水凝胶的自愈合,分别加入罗丹明B和台盼蓝以区分不同块的

水凝胶;图2B显示CSMA/BPEI/BPEI-GO水凝胶的自愈合。分别加入阿利新蓝和茜素红以区分不同块的水凝胶。

[0082] 结果可见,几块分散的CSMA/BPEI水凝胶并排放置10分钟后合并成了一个整体,可用镊子提起并承受其自身重量,但水凝胶被镊子拾起后,因为太软在拉伸时会被镊子破坏,无法完成拉伸试验。CSMA/BPEI/BPEI-GO同样可以用镊子提起,而且能够被拉伸,说明BPEI-GO的引入使得水凝胶的力学强度得到了明显提升。

[0083] 试验例3本发明自愈合水凝胶的光热效应

[0084] 不同浓度(0.2,0.4,0.6wt%)的BPEI-GO溶液,CSMA/BPEI/BPEI-GO水凝胶(30wt% CSMA300 $\mu$ L,15wt%BPEI150 $\mu$ L,0.6wt%BPEI-GO50 $\mu$ L)和CSMA/BPEI水凝胶(30wt%CSMA 300 $\mu$ L,15wt%BPEI 150 $\mu$ L)用808nm波长的NIR激光在 $2.5\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的能量密度下照射6分钟,同时用红外热成像仪记录该过程。结果见图3,其中,图3A显示用NIR激光照射CSMA/BPEI水凝胶和CSMA/BPEI/BPEI-GO水凝胶的温度变化;图3B显示用NIR激光照射不同浓度的BPEI-GO溶液的温度变化;图3C显示CSMA/BPEI/BPEI-GO水凝胶(6mg/mL BPEI-GO)经过波长为808nm,能量密度为 $2.5\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的NIR激光照射0、2、4和6分钟后的近红外成像情况。

[0085] 从图3可见,随着BPEI-GO溶液浓度的增加(2,4,6mg/mL),温度分别上升至 $55.5^{\circ}\text{C}$ , $59.5^{\circ}\text{C}$ 和 $65.4^{\circ}\text{C}$ 。在CSMA/BPEI/BPEI-GO水凝胶中也观察到了类似的结果。而CSMA/BPEI水凝胶未见明显变化。以上实验结果表明,本发明通过引入氧化石墨烯,所得自愈合水凝胶具有良好的光热效应。

[0086] 试验例4体外人乳腺癌细胞抑制实验

[0087] 将MCF-7细胞(人乳腺癌细胞系)接种在培养皿中。孵育24小时后,将细胞分别与不含DOX的本发明水凝胶(原料重量配比:90份CSMA,30份BPEI,0.3份BPEI-GO),游离的DOX,未经NIR激光( $2.5\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ ,5分钟/天)照射但携带DOX的水凝胶(水凝胶-DOX,根据实施例6制备),不含DOX但经NIR激光照射的本发明水凝胶(原料重量配比:90份CSMA,30份BPEI,0.3份BPEI-GO),携带有DOX且经NIR激光照射的本发明水凝胶(水凝胶-DOX,根据实施例6制备)进行共培养,各组剂量均为50 $\mu$ L。用MTT法测试水凝胶对肿瘤细胞的杀伤效率。结果见图4。

[0088] 结果可见,与游离DOX共培养的MCF-7细胞在第1、2和3天分别具有44.58%、5.20%和2.92%的细胞存活率。由于水凝胶中药物的延迟释放,携带有DOX的水凝胶表现出了下降但时间更长久的细胞毒性。不含有DOX的水凝胶经过NIR激光照射( $2.5\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ ,5分钟/处理/天)后,其第1、2和3天的细胞存活率分别为58.71%,43.67%和36.60%,这显示了光热治疗的杀伤作用。而化学-光热疗法的协同作用可以提高肿瘤细胞的杀伤效率,在第1、2和3天细胞存活率分别为37.8%,22.8%和9.2%。

[0089] 上述实验结果表明,本发明CSMA/BPEI/BPEI-GO水凝胶具有理想的癌细胞杀伤作用。

[0090] 试验例5体内小鼠乳腺癌复发实验

[0091] 将小鼠随机分成6组。当小鼠长至8周后,在右胸乳腺脂肪垫中注射 $1.0\times 10^6$ 的4T1细胞。当肿瘤长至200 $\text{mm}^3$ 大小时将其取出,但保留一层周围皮肤以便观察肿瘤术后复发情况。给6组小鼠分别注射A)生理盐水(200 $\mu$ L),B)游离的DOX(5mg/kg,200 $\mu$ L),C&D)不含DOX的CSMA/BPEI/BPEI-GO水凝胶(80 $\text{mm}^3$ ),E&F)携带DOX的CSMA/BPEI/BPEI-GO水凝胶(5mg/kg)。其中,所述CSMA/BPEI/BPEI-GO水凝胶的原料重量配比均为:90份CSMA,30份BPEI,0.3份

BPEI-GO。D组和F组在术后24小时进行一次NIR激光照射( $2.5\text{W cm}^{-2}$ , 5分钟)。每两天监测一次体重和肿瘤的复发情况。结果见图5。

[0092] 结果可见,不含DOX的D组水凝胶经过激光照射后未能抑制癌症的复发。接受游离的DOX治疗的B组和携载DOX未经激光照射的E组,最终的癌症复发率均为66.7%。但携载DOX未经激光照射的E组比接受游离的DOX治疗的B组癌症复发的时间晚约7天,表明将DOX载入水凝胶中可以实现药物的持续释放,延长药物细胞毒性的作用时间。在联合化学—光热治疗的F组中,最终的癌症复发率为33.3%,表明本发明与光热治疗、抗癌药物联合使用时,可以有效地抑制肿瘤术后复发。

[0093] 需要说明的是,本说明书中描述的具体特征、结构、材料或者特点可以在任一个或多个实施例中以合适的方式结合。此外,在不相互矛盾的情况下,本领域的技术人员可以将本说明书中描述的不同实施例以及不同实施例的特征进行结合和组合。

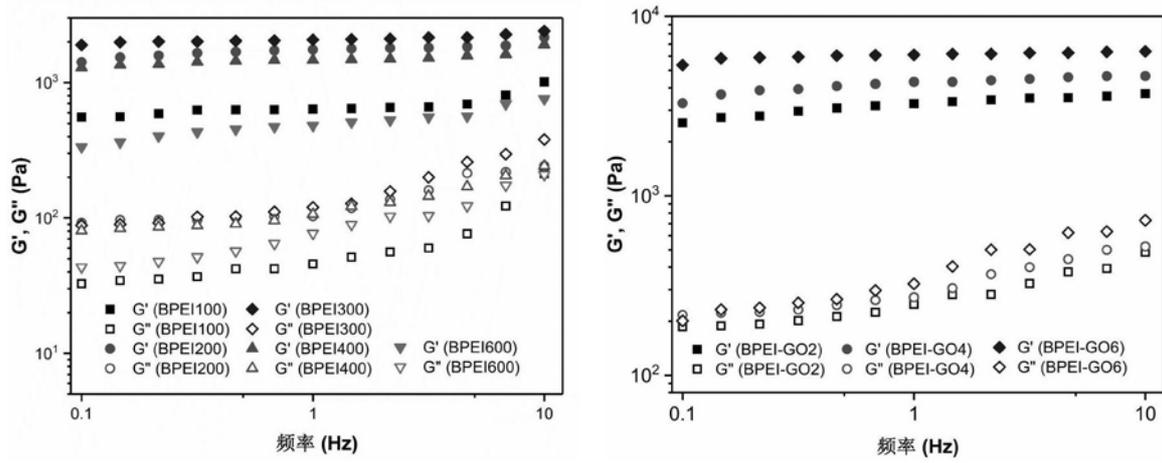


图1

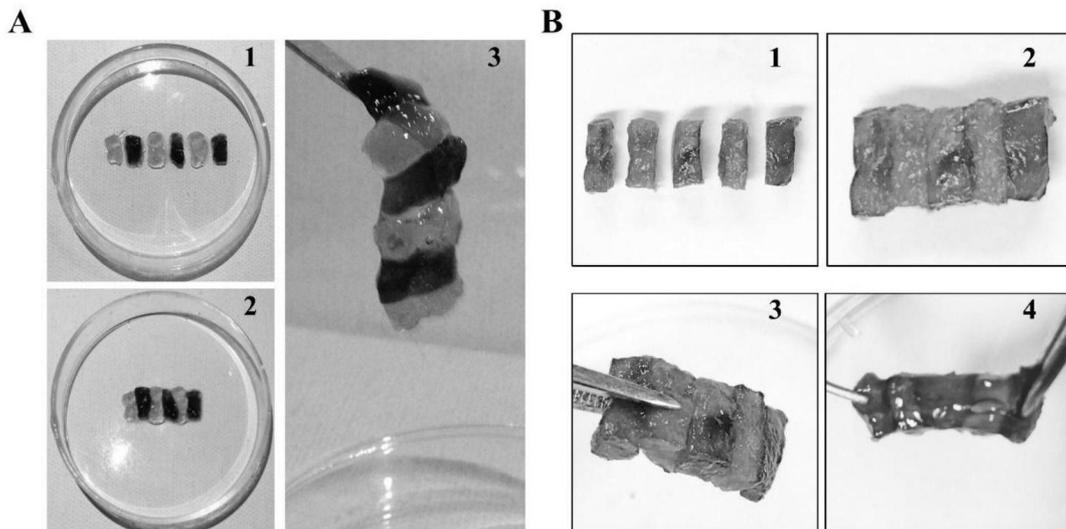


图2

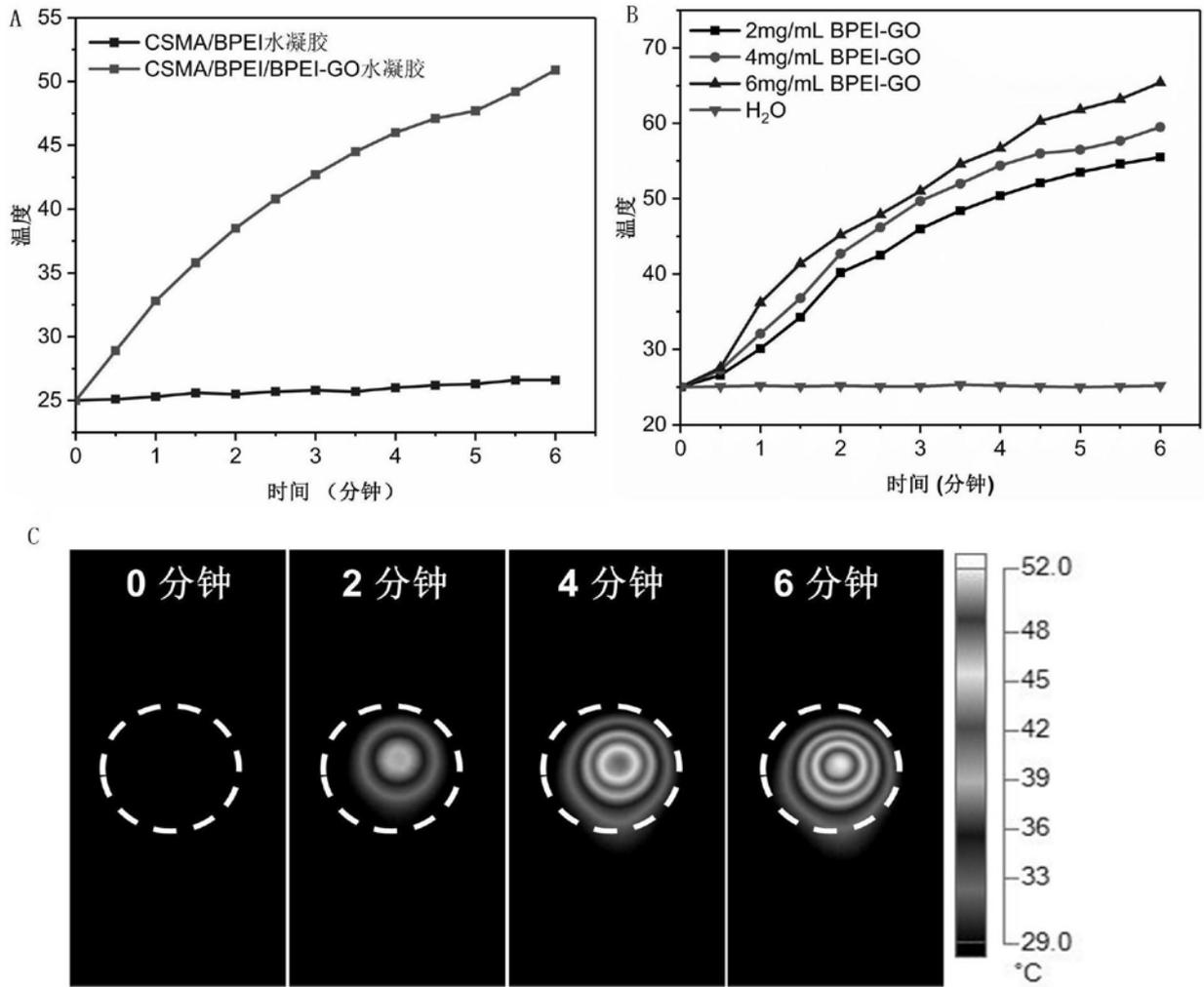


图3

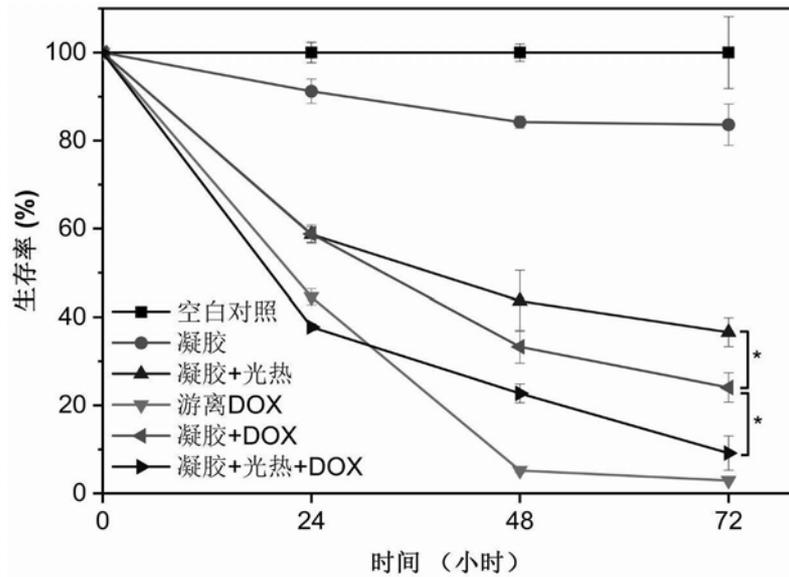


图4

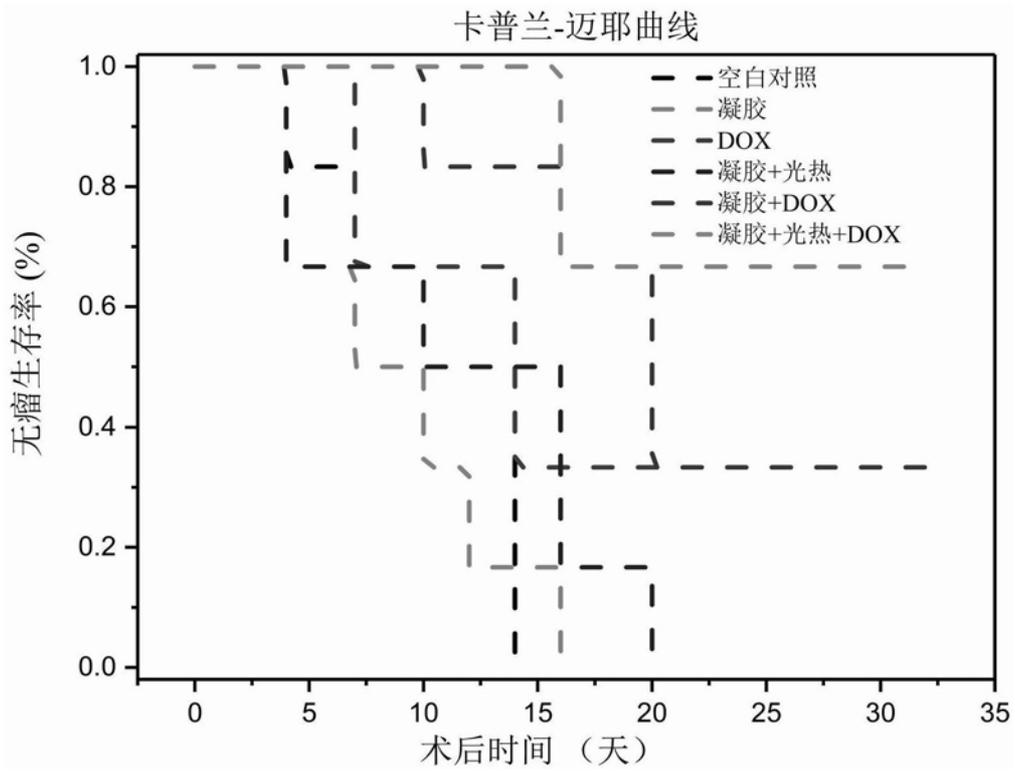


图5