



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101760027 B

(45) 授权公告日 2012. 01. 04

(21) 申请号 200810208015. 1

CN 101205367 A, 2008. 06. 25,

(22) 申请日 2008. 12. 26

审查员 段丽斌

(73) 专利权人 复旦大学

地址 200032 上海市医学院路 138 号

(72) 发明人 邵正中 尹建伟 杨宇红 陈新

(74) 专利代理机构 上海正旦专利代理有限公司

31200

代理人 吴桂琴

(51) Int. Cl.

C08L 89/00 (2006. 01)

C08J 7/02 (2006. 01)

B29C 55/02 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1157443 C, 2004. 07. 14,

US 6110590 A, 2000. 08. 29,

CN 1570128 A, 2005. 01. 26,

权利要求书 1 页 说明书 5 页

(54) 发明名称

再生丝素蛋白膜及其制备方法

(57) 摘要

本发明涉及一种高柔韧性高强度再生丝素蛋白膜及其制备方法。本发明采用天然蚕丝为主要原料,经过脱胶、溶解、透析、浓缩后,浇注成膜,并经过变性处理,得到一种非水溶性的再生丝素蛋白膜。然后利用水或其它极性溶剂作为增塑剂,进行拉伸,在保持拉伸状态并干燥后得到高韧性高强度的再生丝素蛋白膜。该膜具有优良的柔韧性和较高的强度,无毒无害且生物相容性良好。可以作为人工皮肤材料和药物缓释载体,也可以作为食道,血管等医疗外科修复材料。制备过程不涉及有毒有害的有机溶剂或者复杂的工艺过程,操作简单,绿色环保,具有良好的应用前景。

1. 一种再生丝素蛋白膜,其特征在于,该丝素蛋白膜是以 β -折叠结构为主的非水溶性的再生丝素蛋白膜,其沿拉伸方向的强度为 100-200MPa,断裂伸长率为 15-40%,杨氏模量为 2.8-3.7Gpa;其制备方法包括下述步骤:

(1) 将变性处理后的再生丝素蛋白膜用极性溶剂溶胀;

所述的变性处理是指采用醇类、酸和升高温度及延长制膜时间使得蛋白质分子改变构象的方法;

(2) 将步骤(1)得到的产品按照一定速度进行拉伸处理,使得其达到一定拉伸比为止;

(3) 将步骤(2)拉伸处理后的产品在控制条件下干燥,使得干燥后的产品长度至少为拉伸处理后的产品长度的 70%。

2. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于该膜厚度在 10-500 μm 之间。

3. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于该膜厚度在 50-400 μm 之间。

4. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于该膜厚度在 100-300 μm 之间。

5. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其中步骤(1)的极性溶剂为液态和/或气态极性溶剂。

6. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于,其制备方法的步骤(1)所述极性溶剂选自水、含离子的水溶液、 C_1 - C_5 的醇和水的混合物。

7. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于,其制备方法的步骤(1)所述极性溶剂是去离子水。

8. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于,其制备方法的步骤(2)所述的拉伸处理是单轴拉伸或双轴拉伸。

9. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于,其制备方法的步骤(2)所述的拉伸处理速度为 1%/min-10000%/min。

10. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于,其制备方法的步骤(2)所述的拉伸处理速度为 10%/min-2000%/min。

11. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于,其制备方法的步骤(2)所述的拉伸处理速度为 100%/min-1000%/min。

12. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于,其制备方法的步骤(2)所述的拉伸比在 1-5 之间。

13. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于,其制备方法的步骤(2)所述的拉伸比在 1.5-3.2 之间。

14. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于,其制备方法的步骤(2)所述的拉伸比在 2-3 之间。

15. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于,其制备方法的步骤(3)所述的干燥后的产品长度至少为拉伸处理后的产品长度的 80%。

16. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于,其制备方法的步骤(3)所述的干燥后的产品长度为拉伸处理后的产品长度的 90%。

17. 根据权利要求 1 所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于,其制备方法的步骤(3)所述的干燥后的产品长度为拉伸处理后的产品长度的 100%。

再生丝素蛋白膜及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于材料科学、生物化学、蛋白质化学领域,具体涉及一种高韧性高强度的再生丝素蛋白膜及其制备方法。

背景技术

[0002] 动物丝,例如蚕丝和蜘蛛丝,由于其优异的综合力学性能近年来受到了广泛的关注。同时,蚕丝的主要成分丝素蛋白由于产量大且具有良好的生物相容性和生物可降解性,在生物医药领域有着可观的应用前景。但尽管再生的丝素蛋白膜在化学(氨基酸序列)组成上和蚕丝十分类似(如果不是完全一致的话),两者的力学性能却相差甚远,即再生丝素蛋白膜的力学性能在通常的环境中非常脆且弱,这就极大地妨碍了其作为材料进行实际应用的价值。

[0003] 早期的很多研究都集中在通过共混的方法来提高丝素蛋白材料的力学性能,但是效果并不是很好。现有技术(《Journal of Applied Polymer Science》2002,86,3425)公开了再生丝素蛋白膜的拉伸强度在 30-50MPa,断裂伸长率低于 1%,通过与纤维素的共混,可以使混合膜的强度达到 150MPa,但是断裂伸长率依然低于 5%。近年来,Kaplan 课题组通过旋涂和层层组装的方法得到了力学性能比较好的再生丝素蛋白膜,但是膜的脆性依旧没有得到明显的改善,并且得到膜的厚度低于 500nm,在实际的应用中还是存在明显的弱点。

[0004] 众所周知,单轴和双轴拉伸是提高高分子纤维材料以及膜材料力学性能的常用方法。针对 PET 和 PS 等常见高分子材料的研究发现,经过一定的拉伸之后,高分子膜可以发生由脆性向柔韧性的转变。原因可能是分子链可以沿着拉伸方向延展以起到了阻止银纹的产生和增长的效果,从而达到了改善材料脆性的目的。同时也有研究发现,分子链之间缠结程度的大小也直接影响了材料的延展性。

发明内容

[0005] 本发明的目的是针对现有再生丝素蛋白膜力学性能较差的缺点,提供了一种具有高韧性高强度的再生丝素蛋白膜及其制备方法。

[0006] 本发明采用的技术方案如下:

[0007] 一种再生丝素蛋白膜,特征在于其沿拉伸方向的强度在 100-200MPa 之间,断裂伸长率在 15-40%之间,杨氏模量在 2.8-3.7GPa 之间。

[0008] 如上所述的再生丝素蛋白膜,其特征在于膜厚度在 10-500 μm 之间,优选 50-400 μm 之间,更优选 100-300 μm 之间。

[0009] 如上所述再生丝素蛋白膜的方法,包括:

[0010] (1) 将变性处理后的再生丝素蛋白膜用极性溶剂溶胀;

[0011] (2) 将步骤(1)得到的产品按照一定速度进行拉伸处理,使得其达到一定拉伸比为止;

[0012] (3) 将步骤(2)拉伸处理后的产品在控制条件下干燥,使得干燥后的产品长度至

少为拉伸处理后的产品长度的 70%。

[0013] 如上所述的方法,其中步骤(1)用液态和/或气态极性溶剂将再生丝素蛋白膜溶胀。

[0014] 如上所述的方法,其中步骤(1)所述极性溶剂选自水、含离子水溶液、C1-C5的醇和水的混合物;优选去离子水。

[0015] 如上所述的方法,其中步骤(2)的拉伸处理是单轴拉伸或双轴拉伸。

[0016] 如上所述的方法,其中步骤(2)拉伸处理速度在1%/min-10000%/min之间;优选10%/min-2000%/min之间;更优选100%/min-1000%/min之间。

[0017] 如上所述的方法,其中步骤(2)拉伸比在1-5之间;优选1.5-3.2之间;更优选2-3之间。

[0018] 如上所述的方法,步骤(3)中干燥后的产品长度至少为拉伸处理后的产品长度的80%;优选90%;更优选100%。

[0019] 上述方法的具体操作步骤如下:

[0020] 根据专利2L CN 143866A中所述的方法,将蚕茧去蛹,得到天然的蚕丝,用5%的碳酸氢钠水溶液在90-100℃下处理30分钟,两次,用去离子水漂洗干净,按需要重复3-5次以完全去除丝胶;在65℃下干燥24小时后的脱胶丝用10mol/L的溴化锂溶液在45℃下溶解50分钟。过滤去除未溶解的脱胶丝,溶液灌入截留分子量为14,000的纤维素透析袋中,用去离子水透析3天,并用PEG浓缩后得到浓度为1-30%的再生丝素蛋白水溶液。

[0021] 将制备的再生丝素蛋白溶液转移到半径为4cm的PS盒中,在室温下自然风干24h,得到厚度约为200μm的再生丝素蛋白膜。然后用80/20(v/v)的乙醇/水溶液变性处理24h,自然风干,得到以β-折叠结构为主的非水溶性的再生丝素蛋白膜。本发明所指的变性处理是指采用醇类、酸和升高温度及延长制膜时间等手段使得蛋白质分子改变构象的方法。通过这种变性处理后得到的再生丝素蛋白膜一般是非水溶性的。本发明中可以将再生丝素蛋白膜完全变性处理,也可以将再生丝素蛋白膜部分变性处理,以实际需要来确定。根据再生丝素蛋白膜不同的膜厚、不同的变性处理方式以及不同的变性程度,可以根据需要适当调整处理的时间和/或温度,以使得再生丝素蛋白膜成为非水溶性为度,这些变化对于本领域技术人员来说是容易知晓的。

[0022] 所制得的再生丝素蛋白膜放入水或者其它极性溶剂(如70/30~30/70(v/v)的乙醇/水溶液)中浸泡三个小时,使之充分溶胀。本领域技术人员也可以知晓,根据再生丝素蛋白膜不同的膜厚和溶剂的种类,可以根据需要适当调整浸泡的时间和温度,以使得再生丝素蛋白膜充分溶胀为度。

[0023] 然后用刀片将充分溶胀的再生丝素蛋白膜切成5cm×8cm的长方形条状。用Instron® 5565电子拉力机以1%/min-10000%/min之间;优选10%/min-2000%/min之间;更优选100%/min-1000%/min之间的拉伸速度将湿态再生丝素蛋白膜拉伸至原长的一至五倍,相应的拉伸比为1-5之间。本发明中的拉伸速度是指单位时间内(每分钟)净拉伸的距离与拉伸前样品长度的百分比,本发明中的拉伸比是指拉伸后样品的长度和拉伸前样品的长度之比。一般湿态的再生丝素蛋白膜最大拉伸比为3.2左右,但在较高的空气湿度条件中拉伸其可以适当增加,例如在空气湿度为90%时,再生丝素蛋白膜最大拉伸比可以达到5左右。

[0024] 保持夹具拉伸后的间距至少为拉伸处理后的产品长度的 70% ;优选 80% ;更优选 90% ;特别优选 100% ,直到样品充分干燥,在撤去外力后不再沿拉伸方向收缩。

具体实施方式

[0025] 以下实施例进一步详细说明本发明。

[0026] 实施例 1 :

[0027] 将 10 克蚕茧丝浸入 1 L 0.5wt. %碳酸氢钠溶液中煮沸 30 分钟,用离子水洗涤干净。重复以上操作一次,将脱胶后的蚕茧丝在 65℃下烘干备用。

[0028] 称取 10 克干燥后的脱胶蚕茧丝溶解于 100ml 浓度为 9.5mol/L 的溴化锂溶液中,在 40℃下溶解 45 分钟。过滤去除未溶解蚕茧丝,溶液灌入纤维素透析袋中,用去离子水透析三天,并用 10%的 PEG 水溶液浓缩 8h,得浓度为 6.2wt. %的再生丝素蛋白溶液。

[0029] 将 20ml 6.2wt. %的再生丝素蛋白溶液置于半径为 4cm 的 PS 盒子中,干燥 24h。得到厚度为 200 μ m 的再生丝素蛋白膜。用 80/20 的乙醇水溶液处理 24h,自然风干备用。

[0030] 将再生丝素蛋白膜在去离子水中浸泡 30min,充分溶胀后,切成 5cm×8cm 的条状样品,以 100% /min 的速度拉伸至原长的 2 倍,即拉伸比为 2。在室温条件下,保持拉伸处理后的产品长度的 100%至干燥。获得的再生丝素蛋白膜沿拉伸方向的力学性能指标如表 1 所示。

[0031] 实施例 2 :

[0032] 将 10 克蚕茧丝浸入 1 L 0.5wt. %碳酸氢钠溶液中煮沸 30 分钟,用离子水洗涤干净。重复以上操作一次,将脱胶后的蚕茧丝在 65℃下烘干备用。

[0033] 称取 10 克干燥后的脱胶蚕茧丝溶解于 100ml 浓度为 9.5mol/L 的溴化锂溶液中,在 40℃下溶解 45 分钟。过滤去除未溶解蚕茧丝,溶液灌入纤维素透析袋中,用去离子水透析三天,并用 10%的 PEG 水溶液浓缩 12h,得浓度为 12.2wt. %的再生丝素蛋白溶液。

[0034] 将 10ml 溶液置于半径为 4cm 的 PS 盒子中,干燥 18h。得到厚度为 200 μ m 的再生丝素蛋白膜。

[0035] 将再生丝素蛋白膜再在去离子水中浸泡 30min,充分溶胀后,切成 5cm×8cm 的条状样品,以 500% /min 的速度拉伸至原长的 3 倍,即拉伸比为 3,在室温条件下,保持拉伸处理后的产品长度的 100%至干燥。获得的再生丝素蛋白膜沿拉伸方向的力学性能指标如表 2 所示。

[0036] 实施例 3 :

[0037] 如实施例 1 所述的方法制备浓度为 6.4wt. %的再生丝素蛋白溶液。将 20ml 溶液置于半径为 4cm 的 PS 盒子中,干燥 24h。得到厚度为 200 μ m 的再生丝素蛋白膜。用 80/20 的乙醇水溶液变性处理 24h,自然风干备用。

[0038] 将再生丝素蛋白膜在去离子水中浸泡 30min,充分溶胀后,切成 5cm×8cm 的条状样品,以 1000% /min 的速度拉伸至原长的 2 倍,即拉伸比为 2。在室温条件下,保持拉伸处理后的产品长度的 100%至干燥。获得的再生丝素蛋白膜沿拉伸方向的力学性能指标如表 3 所示。

[0039] 实施例 4 :

[0040] 如实施例 1 所述的方法制备浓度为 5.9wt. %的再生丝素蛋白溶液。将 20ml 溶液

置于半径为 4cm 的 PS 盒子中,干燥 24h。得到厚度为 200 μ m 的再生丝素蛋白膜。用 80/20 的乙醇水溶液变性处理 24h,自然风干备用。

[0041] 将再生丝素蛋白膜再在去离子水中浸泡 30min,充分溶胀后,切成 5cm \times 8cm 的条状样品,以 500% /min 的速度拉伸至原长的 3 倍,即拉伸比为 3,在室温条件下,保持拉伸处理后的产品长度的 100%至干燥。获得的再生丝素蛋白膜沿拉伸方向的力学性能指标如表 4 所示。

[0042] 实施例 5 :

[0043] 如实施例 1 所述的方法制备浓度为 6.2wt. % 的再生丝素蛋白溶液。将 20ml 溶液置于半径为 4cm 的 PS 盒子中,干燥 24h。得到厚度为 200 μ m 的再生丝素蛋白膜。用 80/20 的乙醇水溶液变性处理 24h,自然风干备用。

[0044] 将再生丝素蛋白膜在 70/30(v/v) 乙醇 / 水中浸泡 50min,充分溶胀后,切成 5cm \times 8cm 的条状样品,以 500% /min 的速度拉伸至原长的 2 倍,即拉伸比为 2,在室温条件下,保持拉伸后产品长度的 70%至干燥。

[0045] 实施例 6 :

[0046] 如实施例 1 所述的方法制备浓度为 5.8wt. % 的再生丝素蛋白溶液。将 20ml 溶液置于半径为 4cm 的 PS 盒子中,干燥 24h。得到厚度为 200 μ m 的再生丝素蛋白膜。用 80/20 的乙醇水溶液变性处理 24h,自然风干备用。

[0047] 将再生丝素蛋白膜用水蒸气充分溶胀,切成 5cm \times 8cm 的条状样品,以 500% /min 的速度双轴拉伸至原面积的 4 倍。在室温条件下,保持拉伸后产品面积的 100%至干燥。

[0048] 实施例 7 :

[0049] 如实施例 1 所述的方法制备浓度为 6.0wt. % 的再生丝素蛋白溶液。将 20ml 溶液置于半径为 4cm 的 PS 盒子中,干燥 24h。得到厚度为 200 μ m 的再生丝素蛋白膜。用 80/20 的乙醇水溶液变性处理 30min,自然风干得到部分变性的再生丝素蛋白膜。

[0050] 将该部分再生丝素蛋白膜再在去离子水中浸泡 20min,充分溶胀后,切成 5cm \times 8cm 的条状样品,以 500% /min 的速度拉伸至原长的 3 倍,即拉伸比为 3。在室温条件下,保持拉伸处理后的产品长度的 80%至干燥。

[0051] 实施例 8 :

[0052] 如实施例 1 所述的方法制备浓度为 6.8wt. % 的再生丝素蛋白溶液。将 20ml 溶液置于半径为 4cm 的 PS 盒子中,干燥 24h。得到厚度为 200 μ m 的再生丝素蛋白膜。用 80/20 的乙醇水溶液变性处理 24h,自然风干备用。

[0053] 将该再生丝素蛋白膜再在去离子水中浸泡 40min,充分溶胀后,切成 5cm \times 8cm 的条状样品,将其在湿度 90% 的空气环境中以 10000% /min 的速度单轴拉伸至原长的 5 倍,即拉伸比为 5。在室温条件下,保持拉伸处理后的产品长度的 90%至干燥。

[0054] 实施例 9 对比实验

[0055] 如实施例 1 所述的方法制备浓度为 5.9wt. % 的再生丝素蛋白溶液。将 20ml 溶液置于半径为 4cm 的 PS 盒子中,干燥 24h。得到厚度为 200 μ m 的再生丝素蛋白膜。用 80/20 的乙醇水溶液变性处理 24h,自然风干备用。

[0056] 将再生丝素蛋白膜切成 5cm \times 8cm 的条状样品。该样品没有经过溶胀和拉伸处理,直接测试该再生丝素蛋白膜,其力学性能指标如表实施例 5 所示。

[0057] 表 1

[0058]

断裂伸长率 (%)	强度 (MPa)	杨氏模量 (GPa)
19.6 ± 7.2	129 ± 8	3.2 ± 0.2

[0059] 表 2

[0060]

断裂伸长率 (%)	强度 (MPa)	杨氏模量 (GPa)
16.1 ± 4.7	131 ± 10	3.5 ± 0.4

[0061] 表 3

[0062]

断裂伸长率 (%)	强度 (MPa)	杨氏模量 (GPa)
17.7 ± 6.0	130 ± 8	3.0 ± 0.2

[0063] 表 4

[0064]

断裂伸长率 (%)	强度 (MPa)	杨氏模量 (GPa)
34.9 ± 6.8	169 ± 11	3.5 ± 0.5

[0065] 表 5

[0066]

断裂伸长率 (%)	强度 (MPa)	杨氏模量 (GPa)
5.1 ± 0.6	79 ± 4	2.8 ± 0.2