



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106798949 B

(45)授权公告日 2019.09.20

(21)申请号 201710097417.8

(22)申请日 2017.02.22

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 106798949 A

(43)申请公布日 2017.06.06

(73)专利权人 福建吉特瑞生物科技有限公司  
地址 350010 福建省福州市高新区海西高  
新技术产业园创新园一期10号楼A-  
601、604室

(72)发明人 张其清 张瑗 陈灵艳 王临钊  
邢永振

(74)专利代理机构 福州元创专利商标代理有限  
公司 35100  
代理人 蔡学俊

(51)Int.Cl.

A61L 27/46(2006.01)

A61L 27/50(2006.01)

A61L 27/56(2006.01)

(56)对比文件

CN 101380486 A,2009.03.11,说明书第2-4  
页.

CN 103143059 A,2013.06.12,说明书第1-5  
页.

审查员 赵莉

权利要求书1页 说明书6页

(54)发明名称

一种多孔羟基磷灰石骨修复材料及其制备  
方法

(57)摘要

本发明提供一种多孔羟基磷灰石骨修复材  
料及其制备方法,所述骨修复材料的组成成分按  
重量份计包括:羟基磷灰石10-20份、胶原2.5-5  
份、壳聚糖16-20份、聚乙烯醇0.5-1.5份、聚乙二  
醇2-3份,所述的胶原为I型活性胶原蛋白。通过  
加入重量比为1:4的PVA和PEG对羟基磷灰石、胶  
原和壳聚糖体系进行改性,得到机械强度和力学  
性能优异的多孔羟基磷灰石复合骨修复材料。

1. 一种多孔羟基磷灰石骨修复材料的制备方法,其特征在于,所述骨修复材料的组成成分按重量份计包括:羟基磷灰石10-20份、胶原2.5-5份、壳聚糖16-20份、聚乙烯醇0.5-1.5份、聚乙二醇2-3份,所述的胶原为I型活性胶原蛋白,其中聚乙烯醇和聚乙二醇的重量比为1:4;

所述的多孔羟基磷灰石骨修复材料的制备方法,包括如下具体步骤:

(1) 将壳聚糖和胶原分别溶解于体积分数为1~2%的乙酸溶液中,聚乙烯醇和聚乙二醇溶解于体积分数为0.3~0.5%的丙二酸溶液中;

(2) 分别将壳聚糖的乙酸溶液和胶原的乙酸溶液缓慢地加入到聚乙烯醇/聚乙二醇的丙二酸溶液中,搅拌2~3h,使其充分混合均匀,得到胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇溶液;

(3) 在剧烈搅拌下,按照HAP的化学计量比 $Ca/P = 1.67$ 在步骤(2)的混合溶液中分别加入2~3mol/L硝酸钙溶液和1.2~1.8mol/L磷酸二氢钾溶液,二者间隔20~40min加入;

(4) 往步骤(3)的混合溶液中加入交联剂,常温交联0.5~1h,最终混合液注入模具,移至2~3℃冰箱预冷冻3~5h,再放入-10~-80℃冷冻至少12h;

(5) 将步骤(4)所得的冷冻样品转入冷冻干燥机中进行冷冻干燥至完全脱水;

(6) 将步骤(5)的干燥样品置于0.5~1.5mol/L的碱溶液中浸泡8~15h,再用去离子水反复浸洗至中性,-10~-80℃冷藏后进行冷冻干燥,即得到具有多孔结构的羟基磷灰石骨修复材料。

2. 根据权利要求1所述的一种多孔羟基磷灰石骨修复材料的制备方法,其特征在于,步骤(4)所述的交联剂为1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)碳二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺;交联剂1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)碳二亚胺的浓度为0.5~1 mg/mL,N-羟基琥珀酰亚胺的浓度为0.2~0.5mg/mL。

3. 根据权利要求1所述的一种多孔羟基磷灰石骨修复材料的制备方法,其特征在于,步骤(6)的碱溶液是0.5~1.0mol/L KOH或NaOH的乙醇/水溶液,其中乙醇与水的体积比为3:1。

## 一种多孔羟基磷灰石骨修复材料及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于骨组织修复材料制造领域,具体涉及一种多孔羟基磷灰石骨修复材料及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 生物医用复合材料是由两种或两种以上的不同材料复合而成的生物医用材料,它主要用于人体组织的修复、替换和人工器官的构建。单一高分子材料的力学性能和生物活性往往难以满足骨修复材料的要求。利用不同性质的材料复合而成的生物医用复合材料,不仅兼具组份材料的性质,而且可以得到单组份材料不具备的新性能,为获得结构和性能类似于人体组织的生物医学材料开辟了一条广阔的途径,生物医用复合材料已经成为生物医用材料研究和发展中最为活跃的领域之一。

[0003] 对于一种理想的骨修复材料首先应该具备的特性有:(1)生物相容性:可与骨直接进行化学结合,不阻止骨细胞在其表面的正常活性或干扰其周围骨细胞的自然再生过程,对骨组织的分解吸收具有传导性。(2)机械耐受性:以小梁骨为准,抗压强度应大于5MPa,抗压模量在45~100MPa之间。(3)生物降解性:在一定时间内被宿主骨替代,不影响骨组织的修复,无毒副作用。(4)诱导再生性:通过自身或添加骨诱导因素,刺激或诱导骨骼生长。简言之,移植物的生物特性应与自然骨相似。

[0004] 壳聚糖是天然的生物材料,带正电荷,其结构与细胞外基质中的主要成分—糖胺聚糖十分类似,其降解产物对人体无毒副作用,具有良好的生物降解性和生物相容性。

[0005] 胶原是动物结缔组织的主要结构成份,占人体蛋白总量的三分之一。目前发现的胶原有二十多种之多,其中以I、II、III型最为常见,约占体内总胶原蛋白总量的80%。骨组织中主要为I型胶原,占总重量的34%,I型胶原分子由3条叶螺旋肽链组成,每条肽链约含1000个氨基酸,基本结构单位是Gly-X-Y。胶原是最早被利用的天然生物材料,具有极好的生物相容性和生物可降解性,同时还具有低抗原性。胶原具有特异性的分子识别信号,可促进细胞的黏附和增殖,诱导细胞的分化,为细胞生长提供支架。胶原在体内降解为各种氨基酸,安全无毒、无刺激性、无致敏源。因此,胶原材料被广泛用作组织工程培养细胞的支架材料。但是,胶原材料的力学性能差,而且在体内体外应用时降解速率高,容易为体内的胶原酶分解,限制了其应用。

[0006] 胶原与HA复合后与天然骨的成分相近,因而与人体组织具有良好的生物相容性。复合物中胶原对HA颗粒有一定的束缚、增韧作用,并对成纤维细胞和成骨细胞起营养、刺激作用,有利于纤维血管、骨组织的长入。是一种有发展前途的生物植入材料。其缺点是机械性能较差。与骨的结构相比,这种复合材料的两相之间没有形成完整一致的复合,也不存在定向的取向关系,这对于材料的性能是至关重要的。

[0007] 为了提高胶原支架材料的机械强度和可加工性能,最常见的方法就是对胶原进行交联。经过交联后的胶原蛋白支架材料具有较好的机械强度性能,主要是抗压强度较好,但材料的韧性较差、植入体内胶原易被蛋白酶消化等缺点。

## 发明内容

[0008] 本发明的目的在于提供一种多孔羟基磷灰石骨修复材料及其制备方法,加入重量比为1:4的PVA和PEG对羟基磷灰石、胶原和壳聚糖体系进行改性,得到机械强度和韧性性能优异的多孔羟基磷灰石复合骨修复材料。

[0009] 为实现上述目的,本发明采用如下技术方案:

[0010] 一种多孔羟基磷灰石骨修复材料,所述骨修复材料的组成成分按重量份计包括:羟基磷灰石10-20份、胶原2.5-5份、壳聚糖16-20份、聚乙烯醇0.5-1.5份、聚乙二醇2-6份,所述的胶原为I型活性胶原蛋白。

[0011] 一种制备多孔羟基磷灰石骨修复材料的方法,包括如下具体步骤:

[0012] (1)将壳聚糖和胶原分别溶解于体积分数为1~2%的乙酸溶液中,聚乙烯醇和聚乙二醇溶解于体积分数为0.3~0.5%的丙二酸溶液中;

[0013] (2)分别将壳聚糖的乙酸溶液和胶原的乙酸溶液缓慢地加入到聚乙烯醇/聚乙二醇的丙二酸溶液中,搅拌2~3h,使其充分混合均匀,得到胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇溶液;

[0014] (3)在剧烈搅拌下,按照HAP的化学计量比 $Ca/P = 1.67$ 在步骤(2)的混合溶液中分别加入2~3mol/L硝酸钙溶液和1.2~1.8mol/L磷酸二氢钾溶液,二者间隔20~40min加入;

[0015] (4)往步骤(3)的混合溶液中加入交联剂,常温交联0.5~1h,最终混合液注入模具,移至2~3℃冰箱预冷冻3~5h,再放入-10~-80℃冷冻至少12h;

[0016] (5)将步骤(4)所得的冷冻样品转入冷冻干燥机中进行冷冻干燥至完全脱水;

[0017] (6)将步骤(5)的干燥样品置于0.5~1.5mol/L的碱溶液中浸泡8~15h,再用去离子水反复浸洗至中性,-10~-80℃冷藏后进行冷冻干燥,即得到具有多孔结构的羟基磷灰石/胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇骨修复材料。

[0018] 步骤(4)所述的交联剂为1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)碳二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺;交联剂1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)碳二亚胺的浓度为0.5~1 mg/mL,N-羟基琥珀酰亚胺的浓度为0.2~0.5mg/mL。

[0019] 步骤(6)的碱溶液是0.5~1.0mol/L KOH或NaOH的乙醇/水溶液,其中乙醇与水的体积比为3:1。

[0020] 本发明的显著优点:

[0021] 1)聚乙烯醇(PVA)和聚乙二醇(PEG)具有较高的拉伸强度外,还具有良好的水溶性和生物相容性等。从结构上看,这两种物质链结构规整,都是具有高结晶度的半结晶性高分子,PVA侧链上的羟基和PEG主链上的氧原子使得分子链能与壳聚糖上的羟基和胶原蛋白上的羧基、氨基等形成大量的分子外氢键,从而形成交联网络,显著增强羟基磷灰石复合材料的韧性。

[0022] 2)空间位阻:PVA侧链上的羟基能够与壳聚糖结构缝隙中的羟基和胶原蛋白结构缝隙中的羧基、氨基形成分子外氢键;PEG主链上的氧原子能够与壳聚糖结构表面上的羟基和胶原蛋白结构表面上的羧基、氨基形成分子外氢键;当PVA和PEG按重量比1:4加入到胶原和壳聚糖中,分子外氢键数量达到最佳值,羟基磷灰石复合材料的韧性性能达到最优。

[0023] 3)当羟基磷灰石/胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇骨修复材料受到外力时,PVA

的线形链段更易运动排入晶格形成结晶单元,并且能够与多糖或多肽分子链间形成氢键。这些晶区起到了物理交联点的作用,从而大大提高了羟基磷灰石复合材料的韧性性能。

### 具体实施方式

[0024] 为了使本发明所述的内容更加便于理解,下面结合具体实施方式对本发明所述的技术方案做进一步的说明,但是本发明不仅限于此。

#### [0025] 实施例1

[0026] 一种多孔羟基磷灰石骨修复材料,所述骨修复材料的组成成分按重量份计包括:羟基磷灰石10份、胶原2.5份、壳聚糖16份、聚乙烯醇0.5份、聚乙二醇2份,所述的胶原为I型活性胶原蛋白。

[0027] 一种制备多孔羟基磷灰石骨修复材料的方法,包括如下具体步骤:

[0028] (1)将壳聚糖和胶原分别溶解于体积分数为1%的乙酸溶液中,聚乙烯醇和聚乙二醇溶解于体积分数为0.3%的丙二酸溶液中;

[0029] (2)分别将壳聚糖的乙酸溶液和胶原的乙酸溶液缓慢地加入到聚乙烯醇/聚乙二醇的丙二酸溶液中,搅拌2h,使其充分混合均匀,得到胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇溶液;

[0030] (3)在剧烈搅拌下,按照HAP的化学计量比Ca/P = 1.67在步骤(2)的混合溶液中分别加入2 mol/L硝酸钙溶液和1.2mol/L磷酸二氢钾溶液,二者间隔20 min加入;

[0031] (4)往步骤(3)的混合溶液中加入交联剂,常温交联0.5h,最终混合液注入模具,移至2°C冰箱预冷冻3h,再放入-10°C冷冻13h;

[0032] (5)将步骤(4)所得的冷冻样品转入冷冻干燥机中进行冷冻干燥至完全脱水;

[0033] (6)将步骤(5)的干燥样品置于0.5mol/L的碱溶液中浸泡8 h,再用去离子水反复浸洗至中性,-10°C冷藏后进行冷冻干燥,即得到具有多孔结构的羟基磷灰石/胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇骨修复材料。

[0034] 步骤(4)所述的交联剂为1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)碳二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺;交联剂1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)碳二亚胺的浓度为0.5mg/mL,N-羟基琥珀酰亚胺的浓度为0.2 mg/mL。

[0035] 步骤(6)的碱溶液是0.5 mol/L KOH的乙醇/水溶液,其中乙醇与水的体积比为3:1。

#### [0036] 实施例2

[0037] 一种多孔羟基磷灰石骨修复材料,所述骨修复材料的组成成分按重量份计包括:羟基磷灰石15份、胶原4份、壳聚糖18份、聚乙烯醇1份、聚乙二醇4份,所述的胶原为I型活性胶原蛋白。

[0038] 一种制备多孔羟基磷灰石骨修复材料的方法,包括如下具体步骤:

[0039] (1)将壳聚糖和胶原分别溶解于体积分数为1.5%的乙酸溶液中,聚乙烯醇和聚乙二醇溶解于体积分数为0.4%的丙二酸溶液中;

[0040] (2)分别将壳聚糖的乙酸溶液和胶原的乙酸溶液缓慢地加入到聚乙烯醇/聚乙二醇的丙二酸溶液中,搅拌2.5h,使其充分混合均匀,得到胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇溶液;

[0041] (3) 在剧烈搅拌下,按照HAP 的化学计量比Ca/P = 1.67 在步骤(2)的混合溶液中分别加入2.5mol/L 硝酸钙溶液和1.5mol/L磷酸二氢钾溶液,二者间隔30min 加入;

[0042] (4) 往步骤(3)的混合溶液中加入交联剂,常温交联0.8h,最终混合液注入模具,移至2℃冰箱预冷冻4h,再放入-50℃冷冻15h ;

[0043] (5) 将步骤(4)所得的冷冻样品转入冷冻干燥机中进行冷冻干燥至完全脱水;

[0044] (6) 将步骤(5)的干燥样品置于1.0mol/L 的碱溶液中浸泡10h,再用去离子水反复浸洗至中性,-50℃冷藏后进行冷冻干燥,即得到具有多孔结构的羟基磷灰石/胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇骨修复材料。

[0045] 步骤(4)所述的交联剂为1- 乙基-3-(3- 二甲基氨丙基) 碳二亚胺和N- 羟基琥珀酰亚胺;交联剂1- 乙基-3-(3- 二甲基氨丙基) 碳二亚胺的浓度为0.8 mg/mL,N- 羟基琥珀酰亚胺的浓度为0.3mg/mL。

[0046] 步骤(6)的碱溶液是0.8mol/L NaOH 的乙醇/ 水溶液,其中乙醇与水的体积比为3:1。

[0047] 实施例3

[0048] 一种多孔羟基磷灰石骨修复材料,所述骨修复材料的组成成分按重量份计包括:羟基磷灰石20份、胶原5份、壳聚糖20份、聚乙烯醇1.5份、聚乙二醇6份,所述的胶原为I 型活性胶原蛋白。

[0049] 一种制备多孔羟基磷灰石骨修复材料的方法,包括如下具体步骤:

[0050] (1) 将壳聚糖和胶原分别溶解于体积分数为2% 的乙酸溶液中,聚乙烯醇和聚乙二醇溶解于体积分数为0.5%的丙二酸溶液中;

[0051] (2) 分别将壳聚糖的乙酸溶液和胶原的乙酸溶液缓慢地加入到聚乙烯醇/聚乙二醇的丙二酸溶液中,搅拌3h,使其充分混合均匀,得到胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇溶液;

[0052] (3) 在剧烈搅拌下,按照HAP 的化学计量比Ca/P = 1.67 在步骤(2)的混合溶液中分别加入3mol/L 硝酸钙溶液和1.8mol/L磷酸二氢钾溶液,二者间隔40min 加入;

[0053] (4) 往步骤(3)的混合溶液中加入交联剂,常温交联1h,最终混合液注入模具,移至3℃冰箱预冷冻5h,再放入-80℃冷冻15h ;

[0054] (5) 将步骤(4)所得的冷冻样品转入冷冻干燥机中进行冷冻干燥至完全脱水;

[0055] (6) 将步骤(5)的干燥样品置于1.5mol/L 的碱溶液中浸泡15h,再用去离子水反复浸洗至中性,-80℃冷藏后进行冷冻干燥,即得到具有多孔结构的羟基磷灰石/胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇骨修复材料。

[0056] 步骤(4)所述的交联剂为1- 乙基-3-(3- 二甲基氨丙基) 碳二亚胺和N- 羟基琥珀酰亚胺;交联剂1- 乙基-3-(3- 二甲基氨丙基) 碳二亚胺的浓度为1 mg/mL,N- 羟基琥珀酰亚胺的浓度为0.5mg/mL。

[0057] 步骤(6)的碱溶液是1.0mol/L KOH 或NaOH 的乙醇/ 水溶液,其中乙醇与水的体积比为3:1。

[0058] 骨修复材料性能测试实验

[0059] 1. 机械性能测试

[0060] ①根据 GB1040-79 分别将羟基磷灰石颗粒(对比例),以及实施例1~3得到的羟基

磷灰石/胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇复合骨修复材料制成弯曲强度测试试样。用 Instron1341材料试验机对试样进行弯曲性能测试,试样检测环境为:加载速度 10mm/分钟,室温:25℃,湿度:65%,

[0061] 计算公式:  $\sigma_f = \frac{3PL}{2bh^2}$ ,

[0062] 其中  $\sigma_f$  -弯曲强度,MPa; $P$ -破坏载荷,N; $L$ -试样的跨距,mm; $b$ -试样宽度,mm; $h$ -试样厚度,mm。

[0063] ②根据 GB1040-79 分别将羟基磷灰石颗粒(对比例),以及实施例1~3得到的羟基磷灰石/胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇复合骨修复材料制成拉伸强度测试试样。用 Instron1341材料试验机对试样进行拉伸强度性能测试,试样检测环境为:加载速度10mm/分钟,室温:25℃,湿度:75%,

[0064] 计算公式:  $\sigma_t = \frac{P}{a \times h}$ ,

[0065] 其中  $\sigma_t$  -拉伸强度,MPa; $P$ -破坏载荷,N; $a$ -试样的中间宽度,mm; $h$ -试样厚度,mm。

[0066] 弯曲强度和拉伸强度的具体测试结果如表1所示:

[0067] 表1 羟基磷灰石/胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇复合骨修复材料的机械强度

[0068]

	对比例	实施例 1	实施例 2	实施例 3
弯曲强度/MPa	120	182	189	193
拉伸强度/MPa	32	54	55	59

[0069] 从表1可以看出,与对比例相比,本发明的羟基磷灰石/胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇复合骨修复材料弯曲强度和拉伸强度都有了显著提高,说明复合材料的韧性有了显著提高。

[0070] 2. 体外降解实验

[0071] 将实施例1~3的羟基磷灰石/胶原/壳聚糖/聚乙烯醇/聚乙二醇复合骨修复材料制成圆形样品,所有样品 ( $\Phi 10\text{mm} \times 13\text{mm}$ ) 放入pH值为7的模拟体液SBF溶液中,于37℃的恒温摇床内,低速摇动,每隔7-10d取出,放于烘箱内40℃干燥、称重。

[0072] 溶胀过程中样品的质量损失率为:  $D = (m_1 - m_2) / m_1 \times 100\%$ ,

[0073] 式中: $m_1$ 为降解前的质量; $m_2$ 为降解后的质量;结果表明复合材料的抗压强度较高、3个月后质量损失率较低,弥补了单用亲水性的胶原蛋白和壳聚糖降解速度过快的缺点,满足骨修复所达到的要求。

[0074] 3. 生物相容性研究

[0075] 当羟基磷灰石、胶原蛋白、壳聚糖、聚乙烯醇、聚乙二醇复合时,能更好地促进骨髓间充质干细胞的黏附与增殖,为骨髓间充质干细胞提供了更适于其生长的空间结构与环境。

[0076] 以上所述仅为本发明的较佳实施例,凡依本发明申请专利范围所做的均等变化与

修饰,皆应属本发明的涵盖范围。