



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114699552 B

(45) 授权公告日 2023.05.16

(21) 申请号 202210175693.2

A61L 27/18 (2006.01)

(22) 申请日 2022.02.24

A61L 27/34 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61L 27/32 (2006.01)

申请公布号 CN 114699552 A

A61L 27/30 (2006.01)

A61L 27/50 (2006.01)

(43) 申请公布日 2022.07.05

A61L 27/54 (2006.01)

(73) 专利权人 武汉亚洲生物材料有限公司

B33Y 70/10 (2020.01)

B33Y 80/00 (2015.01)

地址 430206 湖北省武汉市洪山区东湖高

新技术开发区高新大道818号高科医

疗器械园B9栋1-2楼

(56) 对比文件

CN 113769166 A, 2021.12.10

CN 1739809 A, 2006.03.01

US 2013296929 A1, 2013.11.07

(72) 发明人 唐三 周雄 王喆 程一竹

许昌振. 钛表面微纳米仿生复合涂层的构建和其体外生物活性的研究. 医药卫生科技辑. 2023, E074-322.

(74) 专利代理机构 北京众达德权知识产权代理有限公司 11570

专利代理师 潘行

审查员 魏如男

权利要求书1页 说明书12页 附图2页

(51) Int. Cl.

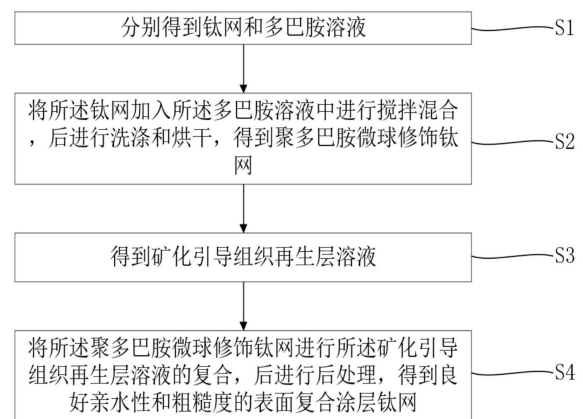
A61L 27/06 (2006.01)

(54) 发明名称

一种表面复合涂层钛网的制备方法及其应用

(57) 摘要

本申请涉及生物医用材料领域, 尤其涉及一种表面复合涂层钛网的制备方法及其应用; 所述方法包括: 分别得到钛网和多巴胺溶液; 将所述钛网加入所述多巴胺溶液中进行搅拌混合, 后进行洗涤和烘干, 得到聚多巴胺微球修饰钛网; 得到矿化引导组织再生层溶液; 将所述聚多巴胺微球修饰钛网进行所述矿化引导组织再生层溶液的复合, 后进行后处理, 得到良好亲水性和生物活性的表面复合涂层钛网; 所述应用包括: 将所述方法用于颅骨缺损修复的钛网制备中; 通过采用多巴胺溶液发生自聚合反应, 得到具多巴胺微球修饰钛网, 再通过矿化引导组织再生层溶液中的矿化成分, 从而提高钛网的亲水性、生物活性和促进骨修复效果。



1. 一种表面复合涂层钛网的制备方法,其特征在于,所述方法包括:

分别得到钛网和多巴胺溶液,所述多巴胺溶液的质量浓度为 $0.1\text{mg/mL}\sim 20\text{mg/mL}$,所述钛网的厚度为 $0.2\text{mm}\sim 10\text{mm}$,所述钛网的孔径为 $0.2\text{mm}\sim 0.8\text{mm}$;

将所述钛网加入所述多巴胺溶液中进行搅拌混合,后进行洗涤和烘干,得到聚多巴胺微球修饰钛网;

分别得到引导组织再生层溶液、钙离子溶液和磷酸根离子溶液;

向所述引导组织再生层溶液中加入所述钙离子溶液和所述磷酸根离子溶液进行混合,后进行pH调节,再进行过滤和洗涤,得到矿化引导组织再生层溶液;

将所述聚多巴胺微球修饰钛网进行所述矿化引导组织再生层溶液的复合,后进行后处理,得到良好亲水性和生物活性的表面复合涂层钛网;

所述后处理包括:冷冻干燥、戊二醛蒸汽交联、热交联、解析工艺和辐照灭菌;

所述矿化引导组织再生层溶液包括生物可降解膜材料、钙离子和磷酸根离子;其中,所述生物可降解膜材料占所述矿化引导组织再生层溶液总重的 $0.5\%\sim 20\%$,所述钙离子的物质的量占所述生物可降解膜材料总重的 $0.002\text{mol/g}\sim 0.02\text{mol/g}$,所述钙离子与所述磷酸根离子的物质的量的摩尔比为 $1\sim 2:1$;所述生物可降解膜材料为I型胶原蛋白和丝素蛋白,I型胶原蛋白和丝素蛋白的质量比为 $3:7$ 。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述搅拌混合时间为 $24\text{h}\sim 48\text{h}$;

所述烘干的温度为 $37^{\circ}\text{C}\sim 52^{\circ}\text{C}$,所述烘干的时间为 $12\text{h}\sim 24\text{h}$ 。

3. 一种表面复合涂层钛网的应用,其特征在于,将如权利要求1-2任一项所述的方法用于颅骨缺损修复的钛网制备中。

一种表面复合涂层钛网的制备方法及其应用

技术领域

[0001] 本申请涉及生物医用材料领域,尤其涉及一种表面复合涂层钛网的制备方法及其应用。

背景技术

[0002] 颅骨缺损是临床上一种常见的继发性疾病,主要见于各种外伤和术后,例如电击伤、车祸伤、枪弹伤、颅骨恶性肿瘤切除、先天性畸形和去颅骨瓣减压术后等,原则上最大直径超过3cm以上的颅骨缺损需进行颅骨重建手术,当颅骨缺损超过3cm,就可以产生对应的临床症状;成功的颅骨重建需满足3个要求:(1)保持硬脑膜的完整性,即大脑的保护;(2)颅脑与外界之间的屏障保护,即生物力学稳定;(3)维持头部正常穹窿状外形,即美学要求,理想的颅骨缺损修复材料满足下列特征:(1)获取方便;(2)生物相容性高;(3)能够完全匹配缺损部位和延展性好;(4)生物力学性能好,大脑屏障保护,抗外力;(5)具有诱导成骨潜能;(6)头颅影像检查兼容;(7)耐感染性。

[0003] 目前,应用于临床的颅骨修复材料主要有自体骨、同种异体骨、异种异体骨和人工骨材料,其特征如下:

[0004] (1)自体骨:自体骨修复是颅骨重建的金标准,由于自体骨组织具有良好的骨传导性和组织相容性,并且无免疫排斥反应,且术后股外漏率低,但存在供区有限、塑形困难、增加二次创伤和移植骨具有较高的骨吸收率等问题,临床应用受限;

[0005] (2)同种异体骨:同种异体骨一般是经过特殊的灭菌处理,不会出现一般的传染病,并且无免疫原性,同种异体骨术后可与自体组织生物性结合,允许组织血管化和自体组织的长入重建,但术后的高感染率、移植骨吸收率以及宗教、伦理等因素限制了同种异体骨在颅骨缺损上的临床应用;

[0006] (3)异种异体骨:异种异体骨的来源丰富,但免疫原性较强,临床上使用的冻干骨、煅烧骨和脱蛋白骨是将动物骨组织分别经过冻干、高温煅烧、辐照和脱钙等处理,去除了细胞,胶原等有机成分,保留了天然孔隙结构,消除了抗原性,但组织机械强度小,疏松易碎,力学强度差,降低了可塑性;

[0007] (4)人工骨材料:临床上常用的人工颅骨修复材料主要有羟基磷灰石、聚甲基丙烯酸甲酯、聚醚醚酮和钛网等,其中,由于临床上使用的钛网多为成品钛网,其可以维持稳定的空间结构和力学性能,可以根据不同的缺损情况进行重新裁剪和塑形,因此钛网被广泛的用于临床颅骨缺损修复领域,但是单一的钛网属于生物惰性材料,并且钛网由于是金属材质,表面光滑且不具备亲水性,不能与软组织快速融合,从而不能有效促进骨组织修复再生。

[0008] 因此如何提供具有良好亲水性和生物活性的钛网材料,是目前亟需解决的技术问题。

发明内容

[0009] 本申请提供了一种表面复合涂层钛网的制备方法及其应用,以解决现有技术中钛网材料的亲水性和生物活性都较低的技术问题。

[0010] 第一方面,本申请提供了一种表面复合涂层钛网的制备方法,所述方法包括:

[0011] 分别得到钛网和多巴胺溶液;

[0012] 将所述钛网加入所述多巴胺溶液中进行搅拌混合,后进行洗涤和烘干,得到聚多巴胺微球修饰钛网;

[0013] 得到矿化引导组织再生层溶液;

[0014] 将所述聚多巴胺微球修饰钛网进行所述矿化引导组织再生层溶液的复合,后进行后处理,得到良好亲水性和生物活性的表面复合涂层钛网;

[0015] 其中,所述矿化引导组织再生层溶液是由引导组织再生层溶液经过钙离子溶液和磷酸根离子溶液处理得到的。

[0016] 可选的,所述得到矿化引导组织再生层溶液,具体包括:

[0017] 分别得到引导组织再生层溶液、钙离子溶液和磷酸根离子溶液;

[0018] 向所述引导组织再生层溶液中加入所述钙离子溶液和所述磷酸根离子溶液进行混合,后进行pH调节,再进行过滤和洗涤,得到矿化引导组织再生层溶液。

[0019] 可选的,所述矿化引导组织再生层溶液包括生物可降解膜材料、钙离子和磷酸根离子;

[0020] 其中,所述生物可降解膜材料占所述矿化引导组织再生层溶液总重的0.5%~20%,所述钙离子的物质的量占所述生物可降解膜材料总重的0.002mol/g~0.02mol/g,所述钙离子与所述磷酸根离子的物质的量的摩尔比为1~2:1。

[0021] 可选的,所述生物可降解膜材料包括透明质酸、羧甲基壳聚糖、羧甲基纤维素钠、硫酸软骨素、改性纤维素、改性壳聚糖、海藻酸盐、I型胶原蛋白、丝素蛋白、聚丙交酯、聚乙交酯、聚己内酯、聚羟基丁酸酯以及其共聚物中的至少一种。

[0022] 可选的,所述多巴胺溶液的质量浓度为0.1mg/mL~20mg/mL。

[0023] 可选的,所述钛网的厚度为0.2mm~10mm,所述钛网的孔径为0.2mm~0.8mm。

[0024] 可选的,所述搅拌混合时间为24h~48h;所述烘干的温度为37℃~52℃,所述烘干的时间为12h~24h。

[0025] 可选的,所述后处理包括:冷冻干燥、戊二醛蒸汽交联、热交联、解析工艺和辐照灭菌中的至少一种。

[0026] 第二方面,本申请提供了一种表面复合涂层钛网的应用,将第一方面所述的方法用于颅骨缺损修复的钛网制备中。

[0027] 本申请实施例提供的上述技术方案与现有技术相比具有如下优点:

[0028] 本申请实施例提供了一种表面复合涂层钛网的制备方法,通过采用多巴胺溶液处理钛网,利用多巴胺溶液在碱性有氧环境下易发生自聚合反应,得到聚多巴胺微球修饰后的钛网,由于聚多巴胺在对三维表面修饰后,能使其具备二次反应,因此可将矿化引导组织再生层溶液吸附在钛网表面,再通过矿化引导组织再生层溶液中的矿化成分,从而通过聚多巴胺微球的结合能力,实现钛网表面的颗粒聚集,从而增加钛网的生物活性,再通过聚多巴胺微球的强亲水性能,能有效的提高钛网的亲水性和生物活性。

附图说明

[0029] 此处的附图被并入说明书中并构成本说明书的一部分,示出了符合本发明的实施例,并与说明书一起用于解释本发明的原理。

[0030] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,对于本领域普通技术人员而言,在不付出创造性劳动性的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0031] 图1为本申请实施例提供的方法的流程示意图;

[0032] 图2为本申请实施例提供的方法的详细流程示意图。

具体实施方式

[0033] 为使本申请实施例的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将结合本申请实施例中的附图,对本申请实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例是本申请的一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本申请中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动的前提下所获得的所有其他实施例,都属于本申请保护的范围。

[0034] 本发明的创造性思维为:羟基磷灰石具有良好生物相容性、骨传导性和骨诱导性,植入体内后,钙和磷会游离出材料表面被身体组织吸收,并诱导新的骨组织生长,但羟基磷灰石在术后外力作用下易破碎,术后感染率高,此外羟基磷灰石在体内降解过快,通常用来修复颅骨钻孔留下的小面积骨缺损,大面积骨缺损需要辅以钛网固定。

[0035] 聚甲基丙烯酸甲酯质量轻、价格低、塑性强,可以根据骨缺损的形状即时塑形,并牢靠固定。聚甲基丙烯酸甲酯的主要缺点是质地较脆,外力作用下易脆裂,术中固化的过程中对周围组织有一定的热力损伤,术后感染和外露的概率较高。

[0036] 聚醚醚酮(PEEK)是一种全芳香族半晶态热塑性高分子材料,具有良好的生物相容性、耐磨性和稳定的化学特性,可以用高温蒸汽或伽马辐照消毒;聚醚醚酮可塑性强,其弹性、强度、隔热性、稳定性等方面都与自体颅骨相当,所以一般不会有排异反应,并且X射线可穿透,不具有磁性,在CT或MRI图像中无伪影,不影响患者术后影像学分析;但聚醚醚酮的熔点极高(玻璃化温度143℃,熔点达到343℃),使其加工极其困难,此外,单纯采用3D打印制造的PEEK快速成形件材质疏松,机械性能达不到医用要求,PEEK个性化颅骨的手术费高昂,限制了其在个性化颅骨修复手术上的应用。

[0037] 钛网具有良好的生物相容性和理化性能,可以抗击二次外伤,可塑性强和无磁性等优点,植入后,成纤维细胞可以长入钛网的微孔,使钛网和组织融为一体,且有钙化和骨化的趋势,不影响头颅X射线检查和脑电图检查,手感良好,均匀美观,广泛应用于临床颅骨缺损修复领域。

[0038] 临床上使用的钛网多为成品钛网,其可以维持稳定的空间结构和力学性能,可以根据不同的缺损情况进行重新裁剪和塑形,然而单一的钛网属于生物惰性材料,其表面光滑且不具备亲水性,不能与软组织快速融合,从而不能有效促进骨组织修复再生。

[0039] 在本申请一个实施例中,如图1所示,提供一种表面复合涂层钛网的制备方法,所述方法包括:

[0040] S1. 分别得到钛网和多巴胺溶液;

[0041] S2. 将所述钛网加入所述多巴胺溶液中进行搅拌混合,后进行洗涤和烘干,得到聚

多巴胺微球修饰钛网；

[0042] S3.得到矿化引导组织再生层溶液；

[0043] S4.将所述聚多巴胺微球修饰钛网进行所述矿化引导组织再生层溶液的复合,后进行后处理,得到良好亲水性和生物活性的表面复合涂层钛网；

[0044] 其中,所述矿化引导组织再生层溶液是由引导组织再生层溶液经过钙离子溶液和磷酸根离子溶液处理得到的；

[0045] 所述多巴胺溶液的制备方法为:取三羟甲基氨基甲烷粉末溶解在去离子水中,用稀盐酸滴定调节pH至7.5~10,将盐酸多巴胺粉末溶解在三羟甲基氨基甲烷溶液中并混合搅拌30min~120min形成多巴胺溶液。

[0046] 在一些可选的实施方式中,如图2所示,所述得到含生长因子的矿化引导组织再生层溶液,具体包括:

[0047] S3.1.分别得到引导组织再生层溶液、钙离子溶液和磷酸根离子溶液；

[0048] S3.2.向所述引导组织再生层溶液中加入所述钙离子溶液和所述磷酸根离子溶液进行混合,后进行pH调节,再进行过滤和洗涤,得到矿化引导组织再生层溶液；

[0049] 其中,所述钙离子溶液可以是四水硝酸钙溶液,所述磷酸根离子溶液可以是磷酸氢二铵溶液,pH调节所用试剂为氨水。

[0050] 本申请中,通过利用钙离子溶液和磷酸根离子溶液将引导组织再生层溶液进行矿化,从而方便后续钙化的微小粒子依附在经过聚多巴胺微球修饰后的钛网上。

[0051] 在一些可选的实施方式中,所述矿化引导组织再生层溶液包括生物可降解膜材料、钙离子和磷酸根离子;其中,所述生物可降解膜材料占所述矿化引导组织再生层溶液总重的0.5%~20%,所述钙离子的物质的量占所述生物可降解膜材料总重的0.002mol/g~0.02mol/g,所述钙离子与所述磷酸根离子的物质的量的摩尔比为1~2:1。

[0052] 本申请中,生物可降解膜材料占矿化引导组织再生层溶液总重的0.5%~20%的积极效果是在该比例范围内,能保证生物可降解膜材料能充分促进细胞迁移、吸附和分化,从而调节细胞生长,进而提高钛网的生物活性;当占比的取值大于该范围的端点最大值,将导致的不利影响是过高的生物可降解材料将导致原料浪费,同时过高的生物可降解膜材料将导致细胞生长速度过快,影响骨缺损部位的修复,当占比的取值小于该范围的端点最小值,将导致的不利影响是过低的生物可降解膜材料将无法有效的促进细胞迁移、吸附和分化,从而影响钛网的生物活性。

[0053] 钙离子的物质的量占生物可降解膜材料总重的0.002mol/g~0.02mol/g的积极效果是在该占比的范围内能保证钙离子作为矿化引导液,有效的保证引导组织再生层溶液在矿化程度的范围内,从而保证微小颗粒的产生,保证修饰后的钛网表面的生物活性;当占比的取值大于该范围的端点最大值,将导致的钙离子的含量过高,影响引导组织再生层溶液的矿化程度,羟基磷灰石不能很好的复合在生物可降解膜材料上;当占比的取值小于该范围的端点最小值,将导致的不利影响是过低的钙离子浓度无法保证引导组织再生层溶液的矿化程度,导致修饰后的钛网表面无法有效的结合微小颗粒,导致钛网的表面生物活性过低。

[0054] 钙离子与所述磷酸根离子的物质的量的摩尔比为1~2:1的积极效果是在该摩尔比的范围内,能保证钙离子能有效的将引导组织再生层溶液固定在矿化程度的范围内,从

而保证微小颗粒的产生,保证修饰后的钛网表面的生物活性;摩尔比过大容易导致形成氧化钙,影响羟基磷灰石晶体结构,从而影响引导组织再生层溶液的矿化程度;摩尔比过小容易导致形成磷酸三钙,影响羟基磷灰石晶体结构,从而影响引导组织再生层溶液的矿化程度。

[0055] 进一步的,所述生物可降解膜材料包括透明质酸、羧甲基壳聚糖、羧甲基纤维素钠、硫酸软骨素、改性纤维素、改性壳聚糖、海藻酸盐、I型胶原蛋白、丝素蛋白、聚丙烯交酯、聚乙交酯、聚己内酯、聚羟基丁酸酯以及其共聚物中的至少一种。

[0056] 本申请中,生物可降解膜材料为I型胶原蛋白和丝素蛋白。

[0057] I型胶原蛋白是脊柱动物的主要结构蛋白,是成骨过程中成骨细胞分泌的细胞外基质,是钙盐沉积的支架和骨基质双层的促进剂、双层的模板,同时能够促进细胞迁移、吸附、分化,并能够调节细胞生长,但是其力学性能差,降解速率快;而丝素蛋白具有优良的生物相容性、生物可降解性和较好的力学特性,而且易于灭菌和塑形,广泛应用于韧带组织修补、血管组织移植、软骨组织修复、皮肤组织再生及神经组织工程等方面,但其力学强度远不及骨组织,且单纯丝素蛋白降解速度过慢,因此可将I型胶原蛋白和丝素蛋白联用,使I型胶原蛋白的力学特性和降解速度得到改善,最后辅以其他辅助试剂,帮助修饰后的钛网快速同组织融合。

[0058] 在一些可选的实施方式中,所述多巴胺溶液的质量浓度为0.1mg/mL~20mg/mL。

[0059] 本申请中,多巴胺溶液的质量浓度为0.1mg/mL~20mg/mL的积极效果是在该浓度范围内,能保证多巴胺溶液在有氧环境中生成足够多的聚多巴胺纳米微球,进而保证聚多巴胺纳米微球能同钛网结合充分,从而保证钛网的亲水性和生物活性;当浓度的取值大于该范围的端点最大值,将导致的不利影响是过多的多巴胺溶液将导致过多的聚多巴胺纳米微球产生,从而浪费原料,当浓度的取值小于该范围的端点最小值,将导致的不利影响是过少的多巴胺溶液将导致聚多巴胺纳米微球的含量不足,无法有效的同钛网稳定结合,从而无法保证钛网的亲水性和生物活性。

[0060] 在一些可选的实施方式中,所述钛网的厚度为0.2mm~10mm,所述钛网的孔径为0.2mm~0.8mm。

[0061] 本申请中,钛网的厚度为0.2mm~10mm的积极效果是在该厚度范围内,能保证钛网有足够的面积和厚度同聚多巴胺纳米微球结合,从而能保证后续经过聚多巴胺微球修饰的钛网对矿化引导组织再生层溶液中矿化后颗粒的结合能力充分,进而保证钛网的亲水性和生物活性;当厚度的取值大于该范围的端点最大值,将导致的不利影响是过大的厚度将导致钛网的面积过大,聚多巴胺微球无法将钛网充分的包裹,从而无法保证钛网的亲水性和生物活性,还不能满足实际临床使用;当厚度的取值小于该范围的端点最小值,将导致的不利影响是过小的厚度将导致钛网支撑力不足,同时无法有效的稳定骨缺损部位,影响骨缺损部位的修复。

[0062] 钛网的孔径为0.2mm~0.8mm的积极效果是在该孔径的范围内,能保证聚多巴胺微球修饰钛网的充分,同时有效的孔径能保证钛网的柔韧程度;当孔径的取值大于该范围的端点最大值,将导致的不利影响是过大孔径的钛网会降低成骨细胞的繁殖程度,不利于骨缺损部位的修复,同时过大的孔径将导致钛网的硬度降低,影响骨缺损部位的修复效果,当孔径的取值小于该范围的端点最小值,将导致的不利影响是过小的钛网孔径将导致钛网的

硬度过大,影响钛网的亲水性和生物活性,还不利于骨组织细胞增殖长入。

[0063] 在一些可选的实施方式中,所述搅拌混合时间为24h~48h;所述烘干的温度为37℃~52℃,所述烘干的时间为12h~24h。

[0064] 本申请中,搅拌混合时间为24h~48h的积极效果是在该时间范围内,能保证多巴胺溶液顺利的形成聚多巴胺纳米微球,同时也能保证聚多巴胺纳米微球能有效的包裹钛网;当时间的取值大于该范围的端点最大值,将导致的不利影响是过长的混合时间将导致工艺耗时增加,当时间的取值小于该范围的端点最小值,将导致的不利影响是过短的混合时间将导致多巴胺溶液部分形成聚多巴胺纳米微球,致使聚多巴胺纳米微球的数量不足,无法有效的包裹钛网,导致钛网的亲水性和生物活性降低。

[0065] 烘干的温度为37℃~52℃的积极效果是在该温度条件下,能保证聚多巴胺纳米微球的活性,从而保证钛网的生物活性;当温度取值大于该范围的端点最大值,将导致的不利影响是过高的温度将导致聚多巴胺纳米微球失活,影响聚多巴胺纳米微球对钛网的包裹效果,从而导致钛网的亲水性和生物活性降低,当温度的取值小于该范围的端点最小值,将导致的不利影响是过低的温度将导致溶液的水分干燥的不充分,影响聚多巴胺微球修饰钛网后续的吸收和结合,从而导致钛网的亲水性和生物活性降低。

[0066] 烘干的时间为12h~24h的积极效果是在该时间范围内,能保证聚多巴胺纳米微球的活性,从而保证钛网的生物活性;当时间的取值大于该范围的端点最大值,将导致的不利影响是过长的时间将导致聚多巴胺纳米微球失活,影响聚多巴胺纳米微球对钛网的包裹效果,从而导致钛网的亲水性和生物活性降低,当时间的取值小于该范围的端点最小值,将导致的不利影响是过短的烘干时间将导致溶液的水分干燥的不充分,影响聚多巴胺微球修饰钛网后续的吸收和结合,从而导致钛网的亲水性和生物活性降低。

[0067] 在一些可选的实施方式中,所述后处理包括:冷冻干燥、戊二醛蒸汽交联、热交联、解析工艺和辐照灭菌中的至少一种方法。

[0068] 本申请中,通过限定后处理的工艺能有效的保证表面复合涂层钛网的生物活性,防止其活性丧失或者降低。

[0069] 在本申请的一个实施例中,提供一种表面复合涂层钛网的应用,将所述方法用于颅骨缺损修复的钛网制备中。

[0070] 实施例1

[0071] 一种表面复合涂层钛网的制备方法,包括:

[0072] S1. 分别得到钛网和多巴胺溶液;多巴胺溶液制备:取0.121g三羟甲基氨基甲烷粉末溶解在100mL去离子水中,用稀盐酸滴定调节pH至8.0,取200mg盐酸多巴胺粉末溶解在三羟甲基氨基甲烷溶液中混合搅拌60min形成多巴胺溶液;钛网厚度为0.4mm,网孔直径为0.4mm;

[0073] S2. 将预先获得或制得的钛网加入多巴胺溶液中,于室温下磁力搅拌反应36h后,将聚多巴胺微球修饰钛网用纯水重复洗涤2~3次,于鼓风干燥箱中在40℃干燥24h烘干;

[0074] S3.1. 分别得到引导组织再生层溶液、钙离子溶液和磷酸根离子溶液;取I型胶原蛋白溶解于0.05mol/L的醋酸溶液中,质量分数为1%;取丝素蛋白溶解于溴化锂溶液或氯化钙三元体系溶液中,获得质量分数为5%的丝素蛋白溶液;将丝素蛋白溶液和I型胶原蛋白溶液混匀,获得混合蛋白溶液,其中I型胶原蛋白和丝素蛋白的质量比为3:7;

[0075] S3.2.向引导组织再生层溶液中滴加四水硝酸钙溶液和磷酸氢二铵溶液,并用氨水调节pH至7混匀,溶液静置,分离出沉淀并洗去杂质离子后,获得液体即为矿化引导组织再生层溶液;矿化引导组织再生层溶液中钙离子加入的物质的量与上述引导组织再生层溶液中混合蛋白的质量比为0.01mol/g,钙离子加入的物质的量与磷酸根离子加入的物质的量的摩尔比比值为1.67;

[0076] S4.将聚多巴胺微球修饰钛网进行矿化引导组织再生层溶液的复合,后进行后处理,得到良好亲水性和生物活性的表面复合涂层钛网,具体步骤为:将聚多巴胺微球修饰钛网加入矿化引导组织再生层溶液中于室温下浸泡24h后取出并进行后处理。后处理包括:冷冻干燥、戊二醛蒸汽交联、热交联、解析工艺和辐照灭菌;其中,冷冻干燥的工艺条件为:在-60℃条件下进行预冷冻12h,后在温度10℃和压强10Pa的条件下进行冷冻体干燥48h;戊二醛蒸汽交联的工艺条件为:在温度40℃和戊二醛蒸汽浓度10%的条件下交联12h;热交联的工艺条件为:在真空干燥箱以100℃和100Pa的条件交联48h;解析工艺条件为:鼓风干燥箱中,以解析温度37℃和解析时间2d进行解析;辐照灭菌的工艺条件为,以钴6025kGy辐照剂量灭菌。

[0077] 实施例2

[0078] 一种表面复合涂层钛网的制备方法,包括:

[0079] S1.分别得到钛网和多巴胺溶液;多巴胺溶液制备:取0.121g三羟甲基氨基甲烷粉末溶解在100mL去离子水中,用稀盐酸滴定调节pH至8.5,取250mg盐酸多巴胺粉末溶解在三羟甲基氨基甲烷溶液中混合搅拌80min形成多巴胺溶液。钛网厚度为0.4mm,网孔直径为0.6mm;

[0080] S2.将预先获得或制得的钛网加入多巴胺溶液中,于室温下磁力搅拌反应24h后,将聚多巴胺微球修饰钛网用纯水重复洗涤2~3次,于鼓风干燥箱中在50℃干燥12h烘干;

[0081] S3.1.分别得到引导组织再生层溶液、钙离子溶液和磷酸根离子溶液;取I型胶原蛋白溶解于0.05mol/L的醋酸溶液中,质量分数为1%;取丝素蛋白溶解于溴化锂溶液或氯化钙三元体系溶液中,获得质量分数为10%的丝素蛋白溶液;将丝素蛋白溶液和I型胶原蛋白溶液混匀,获得混合蛋白溶液,其中I型胶原蛋白和丝素蛋白的质量比为2:3;

[0082] S3.2.向引导组织再生层溶液中滴加四水硝酸钙溶液和磷酸氢二铵溶液,并用氨水调节pH至7.5混匀,溶液静置,分离出沉淀并洗去杂质离子后,获得液体即为矿化引导组织再生层溶液;矿化引导组织再生层溶液中钙离子加入的物质的量与上述引导组织再生层溶液中混合蛋白的质量比为0.015mol/g,钙离子加入的物质的量与磷酸根离子加入的物质的量的摩尔比比值为1.67;

[0083] S4.将聚多巴胺微球修饰钛网进行矿化引导组织再生层溶液的复合,后进行后处理,得到良好亲水性和生物活性的表面复合涂层钛网,具体步骤为:将聚多巴胺微球修饰钛网加入矿化引导组织再生层溶液中于室温下浸泡24h后取出并进行后处理。矿化引导组织再生层中后处理包括:冷冻干燥、戊二醛蒸汽交联、热交联、解析工艺和辐照灭菌;其中,冷冻干燥的工艺条件为:在-60℃条件下进行预冷冻12h,之后在温度20℃和压强20Pa下进行冷冻体干燥48h;戊二醛蒸汽交联的工艺条件为:在温度40℃、戊二醛蒸汽浓度20%的条件下交联6h;热交联的工艺条件为:真空干燥箱中在105℃和50Pa的条件下交联24h;解析工艺条件为:鼓风干燥箱中,以解析温度50℃和解析时间3d进行解析;辐照灭菌的工艺条件为,

以钴60 25kGy辐照剂量灭菌。

[0084] 实施例3

[0085] 一种表面复合涂层钛网的制备方法,包括:

[0086] S1.分别得到钛网和多巴胺溶液;多巴胺溶液制备:取0.121g三羟甲基氨基甲烷粉末溶解在100mL去离子水中,用稀盐酸滴定调节pH至9.0,取300mg盐酸多巴胺粉末溶解在三羟甲基氨基甲烷溶液中混合搅拌90min形成多巴胺溶液。钛网厚度为0.8mm,网孔直径为0.4mm;

[0087] S2.将预先获得或制得的钛网加入多巴胺溶液中,于室温下磁力搅拌反应48h后,将聚多巴胺微球修饰钛网用纯水重复洗涤2~3次,于鼓风干燥箱中在40℃干燥24h烘干;

[0088] S3.1.分别得到引导组织再生层溶液、钙离子溶液和磷酸根离子溶液;取I型胶原蛋白溶解于0.05mol/L的醋酸溶液中,质量分数为1.5%;取丝素蛋白溶解于溴化锂溶液或氯化钙三元体系溶液中,获得质量分数为5%的丝素蛋白溶液;将丝素蛋白溶液和I型胶原蛋白溶液混匀,获得混合蛋白溶液,其中I型胶原蛋白和丝素蛋白的质量比为1:1;

[0089] S3.2.向引导组织再生层溶液中滴加四水硝酸钙溶液和磷酸氢二铵溶液,并用氨水调节pH至7.5混匀,溶液静置,分离出沉淀并洗去杂质离子后,获得液体即为矿化引导组织再生层溶液;矿化引导组织再生层溶液中钙离子加入的物质的量与上述引导组织再生层溶液中混合蛋白的质量比为0.02mol/g,钙离子加入的物质的量与磷酸根离子加入的物质的量的摩尔比比值为1.67;

[0090] S4.将聚多巴胺微球修饰钛网进行矿化引导组织再生层溶液的复合,后进行后处理,得到良好亲水性和生物活性的表面复合涂层钛网,具体步骤为:将聚多巴胺微球修饰钛网加入矿化引导组织再生层溶液中于室温下浸泡24h后取出并进行后处理。矿化引导组织再生层中后处理包括:冷冻干燥、戊二醛蒸汽交联、热交联、解析工艺和辐照灭菌;其中,冷冻干燥的工艺条件为:在-60℃条件下进行预冷冻24h,之后在温度5℃和压强30Pa下进行冷冻体干燥48h;戊二醛蒸汽交联的工艺条件为:在温度40℃、戊二醛蒸汽浓度25%的条件下交联3h;热交联的工艺条件为:真空干燥箱中在110℃和30Pa的条件下交联24h;解析工艺条件为:鼓风干燥箱中,以解析温度45℃和解析时间3d进行解析;辐照灭菌的工艺条件为,以钴60 25kGy辐照剂量灭菌。

[0091] 实施例4

[0092] 一种表面复合涂层钛网的制备方法,包括:

[0093] S1.分别得到钛网和多巴胺溶液;多巴胺溶液制备:取0.121g三羟甲基氨基甲烷粉末溶解在100mL去离子水中,用稀盐酸滴定调节pH至9.5,取200mg盐酸多巴胺粉末溶解在三羟甲基氨基甲烷溶液中混合搅拌60min形成多巴胺溶液。钛网厚度为0.6mm,网孔直径为0.6mm;

[0094] S2.将预先获得或制得的钛网加入多巴胺溶液中,于室温下磁力搅拌反应36h后,将聚多巴胺微球修饰钛网用纯水重复洗涤2~3次,于鼓风干燥箱中在45℃干燥12h烘干;

[0095] S3.1.分别得到引导组织再生层溶液、钙离子溶液和磷酸根离子溶液;取I型胶原蛋白溶解于0.05mol/L的醋酸溶液中,质量分数为1%;取丝素蛋白溶解于溴化锂溶液或氯化钙三元体系溶液中,获得质量分数为5%的丝素蛋白溶液;将丝素蛋白溶液和I型胶原蛋白溶液混匀,获得混合蛋白溶液,其中I型胶原蛋白和丝素蛋白的质量比为7:3;

[0096] S3.2.向引导组织再生层溶液中滴加四水硝酸钙溶液和磷酸氢二铵溶液,并用氨水调节pH至7.5混匀,溶液静置,分离出沉淀并洗去杂质离子后,获得液体即为矿化引导组织再生层溶液;矿化引导组织再生层溶液中钙离子加入的物质的量与上述引导组织再生层溶液中混合蛋白的质量比为0.01mol/g,钙离子加入的物质的量与磷酸根离子加入的物质的量的摩尔比比值为1.67;

[0097] S4.将聚多巴胺微球修饰钛网进行矿化引导组织再生层溶液的复合,后进行后处理,得到良好亲水性和生物活性的表面复合涂层钛网,具体步骤为:将聚多巴胺微球修饰钛网加入矿化引导组织再生层溶液中于室温下浸泡24h后取出并进行后处理。矿化引导组织再生层中后处理包括:冷冻干燥、戊二醛蒸汽交联、热交联、解析工艺和辐照灭菌;其中,冷冻干燥的工艺条件为:在-50℃条件下进行预冷冻24h,之后在温度25℃和压强15Pa下进行冷冻体干燥72h;戊二醛蒸汽交联的工艺条件为:在温度40℃、戊二醛蒸汽浓度20%的条件下交联6h;热交联的工艺条件为:真空干燥箱中在110℃和100Pa的条件下交联48h;解析工艺条件为:鼓风干燥箱中,以解析温度45℃和解析时间4d进行解析;辐照灭菌的工艺条件为,以钴60 25kGy辐照剂量灭菌。

[0098] 实施例5

[0099] 该实施例中,S3步骤中,于单独I型胶原蛋白溶液中加入钙离子溶液和磷酸根离子溶液;其余步骤同实施例1。

[0100] 实施例6

[0101] 该实施例中,S3步骤中,于单独丝素蛋白溶液中加入钙离子溶液和磷酸根离子溶液;其余步骤同实施例1。

[0102] 对比例1

[0103] 市场购得成品钛网,进行裁剪和塑形,制得颅骨修复钛网,不进行表面涂层改性。

[0104] 相关实验:

[0105] 将实施例1至实施例6和对比例1得到的一种表面复合涂层钛网进行表面接触角检测、细胞粘附与增殖能力检测和碱性磷酸酶(ALP)活性检测。

[0106] 表面接触角检测:采用接触角测试仪室温下测定各组表面接触角,每组样品测试3个样本,每个样本测试2个位置,计算平均值。

[0107] 细胞粘附与增殖能力检测:在24孔板中的样品表面接种MG-63成骨细胞进行培养,分别在培养第1天和第7天后,加入人胆囊收缩素/缩胆囊素八肽(CCK-8)试剂,用酶标仪在450nm波长检测吸光光度值(OD)。

[0108] 碱性磷酸酶(ALP)活性检测:在24孔板中的样品表面接种MG-63成骨细胞进行培养,分别在培养第7天和第14天时进行ALP活性检测:用PBS液重复冲洗3次,加入0.1% Triton-X,放置在冰箱中,4℃下裂解40min,之后按照二奎琳甲酸(BCA)试剂盒说明书进行操作并检测ALP活性。

[0109] 检测结果如下表所示:

组别	接触角	细胞粘附与增殖能力		ALP 活性	
		1 天	7 天	7 天	14 天
实施例 1	28.73° ±	0.395±	1.514±	5.589±	10.125±
	1.11° ①	0.014 ^②	0.103 ^②	0.526 ^③	0.583 ^③
实施例 2	28.41° ±	0.386±	1.502±	5.577±	10.023±
	1.06° ①	0.011 ^②	0.105 ^②	0.523 ^③	0.574 ^③
实施例 3	27.95° ±	0.387±	1.498±	5.496±	10.086±
	1.08° ①	0.012 ^②	0.108 ^②	0.517 ^③	0.578 ^③
实施例 4	28.35° ±	0.381±	1.486±	5.543±	10.013±
	1.14° ①	0.012 ^②	0.114 ^②	0.496 ^③	0.546 ^③
实施例 5	28.49° ±	0.374±	1.435±	5.456±	9.612±
	1.06° ①	0.009 ^②	0.112 ^②	0.435 ^③	0.549 ^③
实施例 6	28.18° ±	0.367±	1.426±	5.356±	9.613±
	1.12° ①	0.011 ^②	0.117 ^②	0.425 ^③	0.492 ^③
对比例 1	84.16° ±	0.224±	0.497±	3.762±	4.326±
	1.17°	0.011	0.016	0.453	0.459

[0111] 注：与对比例1比较，① $p < 0.05$ ；与对比例1比较，② $p < 0.05$ ；与对比例1比较，③ $p < 0.05$

[0112] 从表中数据可得，相对于对比例1单纯钛网材料，实施例1——实施例6聚多巴胺微球修饰钛网上复合矿化引导组织再生层后，钛网材料接触角明显降低，说明亲水性提高，有利于细胞的黏附。

[0113] 相对于对比例1单纯钛网材料，实施例1——实施例6聚多巴胺微球修饰钛网上复合矿化引导组织再生层后，CCK试验结果说明，表面改性后的钛网材料有良好的生物相容性，改性后细胞的黏附和增殖显著提高，表面活性有效提高。

[0114] 相对于对比例1单纯钛网材料，实施例1——实施例6聚多巴胺微球修饰钛网上复合矿化引导组织再生层后，ALP活性试验结果说明，表面改性后的钛网材料ALP活性有效提高，表面成骨活性提高，说明表面改性后的钛网材料表面生物学活性有效提高。

[0115] 本申请实施例中的一个或多个技术方案，至少还具有如下技术效果或优点：

[0116] (1) 本申请实施例所提供的方法，利用多巴胺溶液在碱性有氧环境下易发生自聚合反应，得到聚多巴胺微球修饰后的钛网，再通过矿化引导组织再生层溶液中的矿化成分，可形成微小颗粒，再通过聚多巴胺微球的结合，实现钛网表面的颗粒聚集，从而增加钛网的生物活性，最后通过聚多巴胺微球的强亲水性能，能有效的提高钛网的亲水性和生物活性。

[0117] (2) 本申请实施例所提供的方法，通过采用由贻贝足腺分泌得到的聚多巴胺，其中含有大量粘附蛋白，其被分泌到海水中，逐渐凝固，并形成足丝，牢靠粘附于基底材料表面。

聚多巴胺可以促进细胞的粘附,具有良好的生物相容性和生物降解能力,作为一种简易、通用的功能表面修饰方法迅速的发展和广泛应用。聚多巴胺不仅可用于规则表面的修饰,也可利用其修饰一些复杂度较高的三维表面,如金属、心血管支架表面和碳纳米管等。这些三维表面经过聚多巴胺修饰以后,由于其具有二次反应性,还可以直接进行连接生物分子和药物的修饰或结合其它涂层技术制备具有多功能的复合涂层。聚多巴胺在包覆基底材料表面时可实现厚度薄,结合牢固,且基底材料表面可以获得良好的亲水性和粘附性。文献报道,采用聚多巴胺涂层,不仅可以促进体外成骨分化和钙矿化,体内实验亦可以促进成骨及增加骨整合性。在钛网上进行聚多巴胺纳米微球修饰,可改善多孔钛网的生物相容性和生物活性,再在其表面进行二次涂层改性,有利于种子细胞在材料表面的黏附、增殖、分泌细胞外基质,加快修补材料与软组织快速融合。

[0118] (3) 本申请实施例所提供的方法,具有良好的骨传导性,有利于新骨组织、血管组织的长入。羟基磷灰石是天然骨无机盐的主要成分,具有良好的骨传导性与生物相容性,被认为是骨缺损修复的理想材料,尤其是纳米级羟基磷灰石与天然骨中的无机成分相似,引入到骨修复材料中可使材料在力学和生物学方面具有很大的优越性,有利于新骨组织、血管组织的长入。

[0119] (4) 本申请实施例所提供的方法,将I型胶原蛋白和丝素蛋白复合使用,由于I型胶原蛋白和丝素蛋白均是天然的纤维型蛋白,具有良好的生物相容性和骨诱导性能,从而能进一步增强钛网的亲水性和生物活性,有利于种子细胞在材料表面的黏附、增殖、分泌细胞外基质,加快修补材料与软组织快速融合,能够刺激植入部位周围的软骨细胞和成骨细胞分化,形成新骨组织。纳米级羟基磷灰石具有良好的骨传导性与生物相容性,但单一的羟基磷灰石脆性较大,韧性低。因此,将羟基磷灰石和I型胶原蛋白和或丝素蛋白复合使用,可以解决单一材料性能不足,实现各类材料的优势互补,使得到的骨修复材料具有良好的力学性能和生物降解时间可控,使颅骨修复材料可以在一定时间内或长时间维持形态结构。

[0120] (5) 本申请实施例所提供的方法,不仅可以提高钛网的亲水性和生物活性,还可以改善单纯使用钛网的热胀冷缩、导热快,促使头皮、硬脑膜及周围颅骨对冷热敏感问题、刺激性问题和引起相关并发症等问题,促进修复材料与骨的结合,促进细胞的粘附、增殖及诱导成骨,使其表面形态、生物学性能更符合颅骨修复临床应用的需求。

[0121] (6) 本申请实施例所提供的方法,可应用在临床的颅骨修复用钛网的制备上。

[0122] 需要说明的是,在本文中,诸如“第一”和“第二”等之类的关系术语仅仅用来将一个实体或者操作与另一个实体或操作区分开来,而不一定要求或者暗示这些实体或操作之间存在任何这种实际的关系或者顺序。而且,术语“包括”、“包含”或者其任何其他变体意在涵盖非排他性的包含,从而使得包括一系列要素的过程、方法、物品或者设备不仅包括那些要素,而且还包括没有明确列出的其他要素,或者是还包括为这种过程、方法、物品或者设备所固有的要素。在没有更多限制的情况下,由语句“包括一个……”限定的要素,并不排除在包括所述要素的过程、方法、物品或者设备中还存在另外的相同要素。

[0123] 以上所述仅是本发明的具体实施方式,使本领域技术人员能够理解或实现本发明。对这些实施例的多种修改对本领域的技术人员来说将是显而易见的,本文中所定义的一般原理可以在不脱离本发明的精神或范围的情况下,在其它实施例中实现。因此,本发明将不会被限制于本文所示的这些实施例,而是要符合与本文所申请的原理和新颖特点相一

致的最宽的范围。

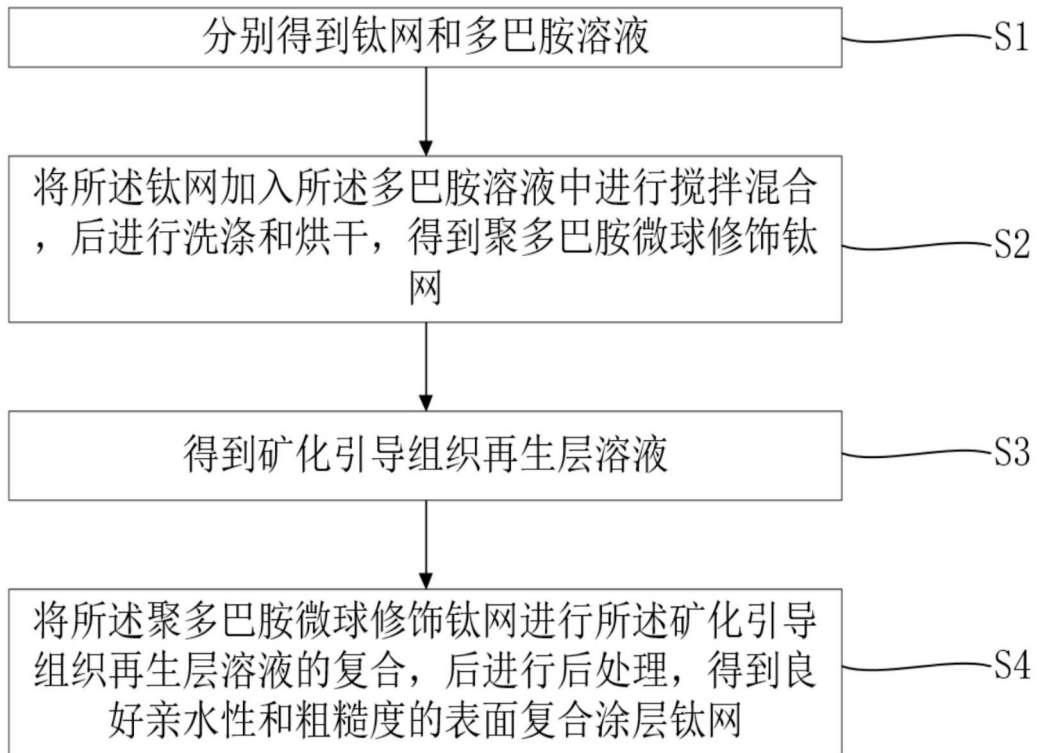


图1

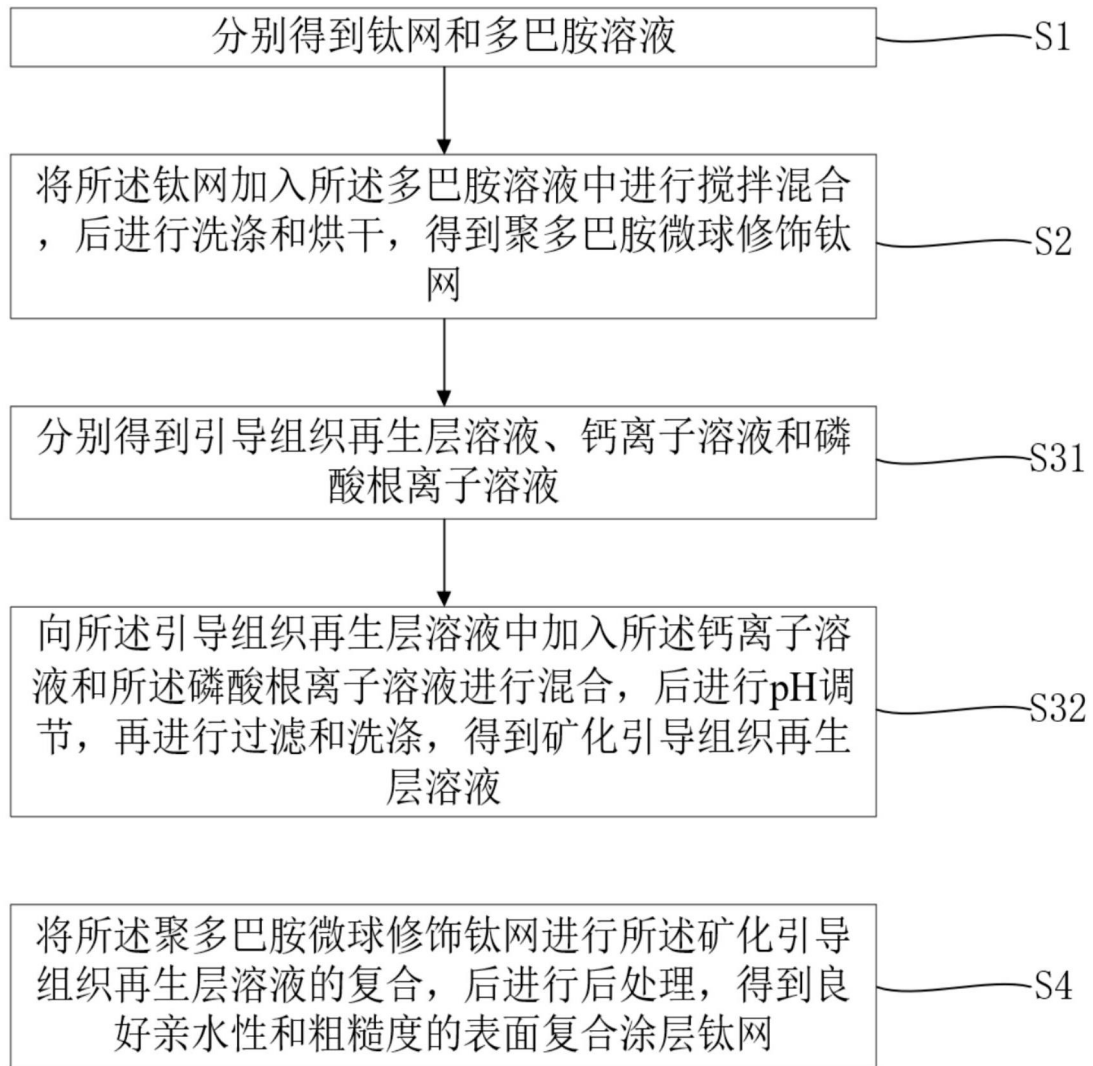


图2