



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104645419 A

(43) 申请公布日 2015. 05. 27

(21) 申请号 201410723345. X

A61F 2/36(2006. 01)

(22) 申请日 2014. 12. 02

(71) 申请人 中国人民解放军第四军医大学  
地址 710032 陕西省西安市长乐路 169 号

(72) 发明人 郭征 王财儒 吴智钢 张涌泉

(74) 专利代理机构 陕西增瑞律师事务所 61219  
代理人 孙卫增

(51) Int. Cl.

A61L 27/56(2006. 01)

A61L 27/54(2006. 01)

A61L 27/18(2006. 01)

A61L 27/06(2006. 01)

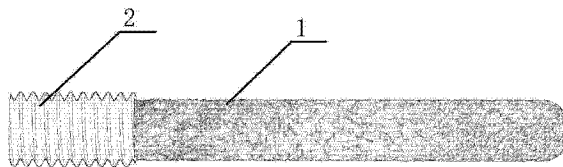
权利要求书2页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

一种具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒的制备方法

(57) 摘要

一种具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒的制备方法,该支撑棒制备原料为低弹性模量钛合金粉末,粒径 45 μm 以下,由选区激光熔化快速成型技术 (Selective Laser Melting, SLM) 或电子束熔融 (Electron Beam Melting, EBM) 技术打印;支撑棒体部具有和人类股骨头颈部松质骨骨小梁结构相似的小梁结构,尽可能实现和人类股骨头颈部弹性模量相仿,可有效减少棒体松动现象发生;同时,支撑棒小梁表面构建有聚乳酸-羟基乙酸共聚物 [poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA] 纳米微球、骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2) 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 复合体,实现生长因子缓释效应,有利于骨组织长入。



1. 一种具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒的制备方法,其特征在于:

1) 首先,构建具有人类股骨头内部松质骨结构的仿生骨小梁结构的仿生支撑棒三维模型;

2) 其次,选用粒径小于  $45\ \mu\text{m}$  的 Ti6Al4V 或 Ti2448 球形粉末,采取选区激光熔化快速成型或电子束熔融技术打印出与仿生支撑棒三维模型一致的支撑棒;

3) 打印完成后,使用酸性溶液侵蚀棒体,以去除游离钛合金粉末、增加支撑棒仿生骨小梁表面粗糙度;

4) 将支撑棒置于聚乳酸-羟基乙酸共聚物、骨形态发生蛋白-2和血管内皮生长因子的悬浊液中复合纳米载药微球得到具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒。

2. 根据权利要求1所述的具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒的制备方法,其特征在于:所述的仿生支撑棒三维模型由体部和尾部组成,体部为圆柱状的仿生多孔小梁结构,直径  $10\text{mm}$ ,长度为  $80\pm 25\text{mm}$ ,体部末梢设计成半球状,尾部为圆柱状,直径  $12\text{mm}$ ,长度为  $20\text{mm}$ ,外部设计成螺纹状,纹距  $2\text{mm}$ 、螺纹高  $1\text{mm}$ ,尾部末梢有内六方锁定孔。

3. 根据权利要求1所述的具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒的制备方法,其特征在于:所述的打印完成后先将支撑棒依次按照丙酮、酒精、蒸馏水的顺序依次超声清洗10分钟后干燥,钴60辐射灭菌。

4. 根据权利要求1所述的具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒的制备方法,其特征在于:所述的酸性溶液为硝酸、氢氟酸和水按1:4:5的摩尔比混合的混合液。

5. 根据权利要求1所述的具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒的制备方法,其特征在于:将贻贝粘附蛋白溶于质量浓度为5%乙酸中,配制浓度为  $5\ \mu\text{g}/\mu\text{L}$  的贻贝粘附蛋白溶液,再将酸性溶液侵蚀后的支撑棒浸入贻贝粘附蛋白溶液中负压处理10分钟,再浸泡30分钟,挥发去除乙酸,灭菌去离子水清洗,室温放置干燥。

6. 根据权利要求1所述的具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒的制备方法,其特征在于:所述的聚乳酸-羟基乙酸共聚物、骨形态发生蛋白-2和血管内皮生长因子纳米载药微球由纳米沉积法制成,直径100纳米和70纳米微球制备方法如下:

1) 将  $100\text{mg}$  聚乳酸-羟基乙酸共聚物、 $180\ \mu\text{g}$  骨形态发生蛋白-2和  $15\ \mu\text{g}$  血管内皮生长因子溶于  $5\text{mL}$  丙酮中,置于超声水浴箱30分钟;2) 使用自动注射器以  $20\text{mL}/\text{h}$  的速度将上述溶液注入  $200\text{mL}$  质量浓度为1%的聚乙烯醇溶液中,注入过程中,  $500\ \text{转}/\text{分}$  搅拌制成100纳米微球,  $20000\ \text{转}/\text{分}$  匀化制备70纳米微球;3) 合成的纳米微球以  $20000\times\text{g}$  离心力离心30分钟,蒸馏水冲洗3遍,冻干得纳米载药微球。

7. 根据权利要求1所述的具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒的制备方法,其特征在于:所述的聚乳酸-羟基乙酸共聚物、骨形态发生蛋白-2和血管内皮生长因子纳米载药微球由纳米沉积法制成:

1) 直径200纳米微球的制备如下:

将  $100\text{mg}$  聚乳酸-羟基乙酸共聚物、 $180\ \mu\text{g}$  骨形态发生蛋白-2和  $15\ \mu\text{g}$  血管内皮生长因子溶于  $6\text{mL}$  二氯甲烷中;将上述溶液加入  $18\text{mL}$  质量浓度为3%的PVA溶液,冰浴箱内超声探头乳化1分钟,条件设定为  $100\text{W}$ ;乳化液倒入  $40\text{mL}$  质量浓度为1%的PVA溶液中通风橱内搅拌24小时,蒸馏水冲洗微球3遍,冻干得200纳米载药微球;

2) 直径400纳米微球的制备如下:

将 100mg 聚乳酸-羟基乙酸共聚物、180  $\mu$ g 骨形态发生蛋白-2 和 15  $\mu$ g 血管内皮生长因子溶于 6mL 二氯甲烷中；将上述溶液加入 18mL 质量浓度为 3% 的 PVA 溶液，在冰浴箱内 30000 转/分钟摇匀 5 分钟；乳化液倒入 40mL 质量浓度为 1% 的 PVA 溶液通风橱内搅拌 24 小时，蒸馏水冲洗微球 3 遍，冻干得 400 纳米载药微球；

3) 直径 600 纳米微球的制备如下：

将 100mg 聚乳酸-羟基乙酸共聚物、180  $\mu$ g 骨形态发生蛋白-2 和 15  $\mu$ g 血管内皮生长因子溶于 20mL 二氯甲烷中，将上述溶液加入 60mL 质量浓度为 1% 的 PVA，冰浴箱内 30000 转/分摇匀 5 分钟，乳化液倒入 40mL 质量浓度为 1% 的 PVA 溶液通风橱内搅拌 24 小时，蒸馏水冲洗微球 3 遍，冻干得 600 纳米载药微球。

8. 根据权利要求 6、或 7 所述的具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒的制备方法，其特征在于：所述的棒体复合聚乳酸-羟基乙酸共聚物、骨形态发生蛋白-2 和血管内皮生长因子的纳米载药微球，是将聚乳酸-羟基乙酸共聚物、骨形态发生蛋白-2 和血管内皮生长因子纳米载药微球溶于水中配制成 1mg/mL、2mg/mL 或 5mg/mL 的悬浊液，将支撑棒浸入悬浊液，室温放置轻度旋转摇晃 24 小时，蒸馏水冲洗 3 次，室温干燥、钴 60 照射灭菌得到具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒。

## 一种具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒的制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于医疗器械领域,具体涉及一种用于治疗人类早期股骨头坏死,降低早期股骨头坏死塌陷风险的具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒的制备方法。

### 背景技术

[0002] 股骨头坏死好发于 20-50 岁的中青年,如不及时治疗,常进展为股骨头坏死塌陷,不得进行全髋关节置换术。目前,临床上应用的全髋关节假体使用寿命一般为 15-20 年,中青年行人全髋关节置换术后常面临假体翻修的问题。因此,如何积极有效治疗早期股骨头坏死,延缓或者避免患者行全髋关节置换术是目前临床上面临的一个难题。

[0003] 常见早期股骨头坏死的治疗方法包括髓芯减压、髓芯减压联合骨瓣移植治疗、钽棒支撑治疗和截骨术。髓芯减压术由于去除了股骨头内坏死骨质,软骨下骨缺乏有效的力学支撑,坏死股骨头仍然存在一定的塌陷风险。因此,多数学者倾向于髓芯减压后移植物支撑治疗,带血管蒂的骨移植物可为软骨下骨提供有效的力学支撑,且移植物易存活,但此方法术式复杂、术后制动时间较长。截骨术术式复杂、术后患髋存活率低,并发症高,且增加塌陷后行全髋关节置换术的难度。

[0004] 钽支撑棒是美国 Zimmer 公司生产的具有规则多孔结构的等模量植入物。其由纯钽制成连通的多孔结构,孔隙率为 75% -80%,平均孔径 430  $\mu\text{m}$ ,弹性模量 3GPa。其 2 年有效率为 81.7%,4 年有效率为 68.1%。棒体松动患者股骨头组织病理学研究发现,平均骨长入程度只有 1.9%,分散的骨长入仅限于棒体周边,深度小于 2mm。此外,部分文献报道,采取钽支撑棒治疗后患者大转子基底部骨折的风险增加。

[0005] 钛合金是生物惰性材料,具有良好的生物相容性,越来越广泛地应用于骨科及齿科领域。同时,新兴的 3D 打印技术可实现复杂多孔状结构钛合金植入体的轻松制备。

### 发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种骨长入良好、长期随访有效率高、骨折风险低的骨科植入物,为髓芯减压后股骨头软骨下骨提供有效的力学支撑的具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒的制备方法。

[0007] 为达到上述目的,本发明的制备方法如下:

[0008] 1) 首先,构建具有人类股骨头内部松质骨结构的仿生骨小梁结构的仿生支撑棒三维模型;

[0009] 2) 其次,选用粒径小于 45  $\mu\text{m}$  的 Ti6Al4V 或 Ti2448 球形粉末,采取选区激光熔化快速成型或电子束熔融技术打印出与仿生支撑棒三维模型一致的支撑棒;

[0010] 3) 打印完成后,使用酸性溶液侵蚀棒体,以去除游离钛合金粉末、增加支撑棒仿生骨小梁表面粗糙度;

[0011] 4) 将支撑棒置于聚乳酸-羟基乙酸共聚物、骨形态发生蛋白-2 和血管内皮生长因

子的悬浊液中复合纳米载药微球得到具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒。

[0012] 所述的仿生支撑棒三维模型由体部和尾部组成,体部为圆柱状的仿生多孔小梁结构,直径 10mm,长度为  $80 \pm 25$ mm,体部末梢设计成半球状,尾部为圆柱状,直径 12mm,长度为 20mm,外部设计成螺纹状,纹距 2mm、螺纹高 1mm,尾部末梢有内六方锁定孔。

[0013] 所述的打印完成后先将支撑棒依次按照丙酮、酒精、蒸馏水的顺序依次超声清洗 10 分钟后干燥,钴 60 辐射灭菌。

[0014] 所述的酸性溶液为硝酸、氢氟酸和水按 1:4:5 的摩尔比混合的混合液。

[0015] 将贻贝粘附蛋白溶于质量浓度为 5% 乙酸中,配制浓度为  $5 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  的贻贝粘附蛋白溶液,再将酸性溶液侵蚀后的支撑棒浸入贻贝粘附蛋白溶液中负压处理 10 分钟,再浸泡 30 分钟,挥发去除乙酸,灭菌去离子水清洗,室温放置干燥。

[0016] 所述的聚乳酸-羟基乙酸共聚物、骨形态发生蛋白-2 和血管内皮生长因子纳米载药微球由纳米沉积法制成,直径 100 纳米和 70 纳米微球制备方法如下:

[0017] 1) 将 100mg 聚乳酸-羟基乙酸共聚物、 $180 \mu\text{g}$  骨形态发生蛋白-2 和  $15 \mu\text{g}$  血管内皮生长因子溶于 5mL 丙酮中,置于超声水浴箱 30 分钟;2) 使用自动注射器以 20mL/h 的速度将上述溶液注入 200mL 质量浓度为 1% 的聚乙烯醇溶液中,注入过程中,500 转/分搅拌制成 100 纳米微球,20000 转/分匀化制备 70 纳米微球;3) 合成的纳米微球以  $20000 \times g$  离心力离心 30 分钟,蒸馏水冲洗 3 遍,冻干得纳米载药微球。

[0018] 所述的聚乳酸-羟基乙酸共聚物、骨形态发生蛋白-2 和血管内皮生长因子纳米载药微球由纳米沉积法制成:

[0019] 1) 直径 200 纳米微球的制备如下:

[0020] 将 100mg 聚乳酸-羟基乙酸共聚物、 $180 \mu\text{g}$  骨形态发生蛋白-2 和  $15 \mu\text{g}$  血管内皮生长因子溶于 6mL 二氯甲烷中;将上述溶液加入 18mL 质量浓度为 3% 的 PVA 溶液,冰浴箱内超声探头乳化 1 分钟,条件设定为 100W;乳化液倒入 40mL 质量浓度为 1% 的 PVA 溶液中通风橱内搅拌 24 小时,蒸馏水冲洗微球 3 遍,冻干得 200 纳米载药微球;

[0021] 2) 直径 400 纳米微球的制备如下:

[0022] 将 100mg 聚乳酸-羟基乙酸共聚物、 $180 \mu\text{g}$  骨形态发生蛋白-2 和  $15 \mu\text{g}$  血管内皮生长因子溶于 6mL 二氯甲烷中;将上述溶液加入 18mL 质量浓度为 3% 的 PVA 溶液,在冰浴箱内 30000 转/分钟摇匀 5 分钟;乳化液倒入 40mL 质量浓度为 1% 的 PVA 溶液通风橱内搅拌 24 小时,蒸馏水冲洗微球 3 遍,冻干得 400 纳米载药微球;

[0023] 3) 直径 600 纳米微球的制备如下:

[0024] 将 100mg 聚乳酸-羟基乙酸共聚物、 $180 \mu\text{g}$  骨形态发生蛋白-2 和  $15 \mu\text{g}$  血管内皮生长因子溶于 20mL 二氯甲烷中,将上述溶液加入 60mL 质量浓度为 1% 的 PVA,冰浴箱内 30000 转/分摇匀 5 分钟,乳化液倒入 40mL 质量浓度为 1% 的 PVA 溶液通风橱内搅拌 24 小时,蒸馏水冲洗微球 3 遍,冻干得 600 纳米载药微球。

[0025] 所述的棒体复合聚乳酸-羟基乙酸共聚物、骨形态发生蛋白-2 和血管内皮生长因子的纳米载药微球,是将聚乳酸-羟基乙酸共聚物、骨形态发生蛋白-2 和血管内皮生长因子纳米载药微球溶于水中配制成 1mg/mL、2mg/mL 或 5mg/mL 的悬浊液,将支撑棒浸入悬浊液,室温放置轻度旋转摇晃 24 小时,蒸馏水冲洗 3 次,室温干燥、钴 60 照射灭菌得到具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒。

[0026] 本发明采取 3D 打印技术制备具有仿生结构的多孔钛合金股骨头支撑棒,支撑棒体部具有和人类股骨头颈部松质骨骨小梁结构相仿的小梁结构,尽可能实现和人类股骨头颈部弹性模量相仿,可有效减少棒体松动现象发生;同时,支撑棒小梁表面构建有聚乳酸-羟基乙酸共聚物 [poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA] 纳米微球、骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2) 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 复合体,实现生长因子缓释效应,有利于骨组织长入。

### 附图说明

[0027] 图 1 为本发明的正视图

[0028] 图 2 为图 1 的剖视图

[0029] 图 3 为图 1 尾部的斜视图

### 具体实施方式

[0030] 下面结合附图对本发明作进一步详细说明。

[0031] 本发明的制备方法如下:

[0032] 1) 首先,构建具有人类股骨头内部松质骨结构的仿生骨小梁结构的仿生支撑棒三维模型;

[0033] 2) 其次,选用粒径小于  $45\ \mu\text{m}$  的 Ti6Al4V 或 Ti2448 球形粉末,采取选区激光熔化快速成型 (Selective Laser Melting, SLM) 或电子束熔融 (Electron Beam Melting, EBM) 技术打印出与仿生支撑棒三维模型一致的支撑棒;

[0034] 3) 打印完成后,将支撑棒依次按照丙酮、酒精、蒸馏水的顺序各自超声清洗 10 分钟后干燥,钴 60 辐射灭菌,将硝酸、氢氟酸和水按 1:4:5 的摩尔比混合得到酸性混合液,将支撑棒置于酸性混合液中侵蚀棒体,以去除游离钛合金粉末、增加支撑棒仿生骨小梁表面粗糙度;

[0035] 将贻贝粘附蛋白溶于质量浓度为 5% 乙酸中,配制浓度为  $5\ \mu\text{g}/\mu\text{L}$  的贻贝粘附蛋白溶液,再将酸性溶液侵蚀后的支撑棒浸入贻贝粘附蛋白溶液中负压处理 10 分钟,再浸泡 30 分钟,挥发去除乙酸,灭菌去离子水清洗,室温放置干燥;

[0036] 4) 将支撑棒置于聚乳酸-羟基乙酸共聚物 [poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]、骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2) 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的悬浊液中复合纳米载药微球得到具有仿生骨小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒。

[0037] 所述钛合金支撑棒由体部 1 和尾部 2 组成。体部 1 设计为圆柱状,设计为仿生多孔小梁结构(图 1 和图 2),直径 10mm,长度为  $80\pm 25\text{mm}$ ,以 5mm 为递变单位,制成不同长度规格的支撑棒,已适用于不同身高人群。体部末梢设计成半球状,以利于棒体和软骨下骨紧密接触,为软骨下骨提供有效的力学支撑。尾部 2 亦为圆柱状,直径 12mm,长度为 20mm,外部设计成螺纹状,纹距 2mm、螺纹高 1mm,尾部末梢设计有内六方锁定孔(图 3),便于支撑棒置入。尾部直径 12mm 可减小股骨大转子基底部骨缺损的直径,从而减小术后患者大转子基底部骨折风险。

[0038] 所述的聚乳酸-羟基乙酸共聚物、骨形态发生蛋白-2 和血管内皮生长因子纳米载

药微球由纳米沉积法制成,直径 100 纳米和 70 纳米微球制备方法如下:

[0039] 1) 将 100mg 聚乳酸-羟基乙酸共聚物 [poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]、180  $\mu$ g 骨形态发生蛋白-2 (bone morphogenetic protein-2, BMP-2) 和 15  $\mu$ g 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 溶于 5mL 丙酮,置于超声水浴箱 30 分钟;2) 使用自动注射器 (KDS 200) 以 20mL/h 的速度将上述溶液注入 200mL1% 聚乙烯醇 (polyvinyl alcohol, PVA) 溶液;3) 注入过程中,500 转/分搅拌制成 100 纳米微球,20000 转/分高速匀化制备 70 纳米微球;4) 残余溶剂通风橱内搅拌挥发 24 小时;5) 合成的纳米微球以 20000 $\times$ g 离心力离心 30 分,蒸馏水冲洗 3 遍,冻干。得纳米载药微球。

[0040] 所述的聚乳酸-羟基乙酸共聚物、骨形态发生蛋白-2 和血管内皮生长因子纳米载药微球由纳米沉积法制成,直径 200 纳米以上微球的制备如下:

[0041] 1) 将上述 PLGA/BMP-2、VEGF 溶于 6mL 二氯甲烷;2) 将溶液加入 18mL3% PVA 溶液,冰浴箱内超声探头乳化 (KFS-300N, 超声仪, 韩国) 1 分钟,条件设定为 100W;3) 乳化液倒入 40mL1% PVA 溶液通风橱内搅拌 24 小时。400 纳米微球制备方法和上述方法相似,不同的是乳化时在冰浴箱内 30000 转/分摇匀 5 分钟。制备 600 纳米微球时,将 PLGA/BMP-2、VEGF 溶于 20mL 二氯甲烷,后混入 60mL1% PVA,冰浴箱内 30000 转/分摇匀 5 分钟。上述残余的有机溶剂通风橱内搅拌挥发,较小直径微球离心去除。蒸馏水冲洗微球 3 遍,冻干得纳米载药微球。

[0042] 所述的棒体复合聚乳酸-羟基乙酸共聚物、骨形态发生蛋白-2 和血管内皮生长因子的纳米载药微球,是将聚乳酸-羟基乙酸共聚物、骨形态发生蛋白-2 和血管内皮生长因子纳米载药微球溶于水中配制成 1mg/mL、2mg/mL 或 5mg/mL 的悬浊液,将支撑棒浸入悬浊液,室温放置轻度旋转摇晃 24 小时,蒸馏水冲洗 3 次,室温干燥、钴 60 照射灭菌得到具有仿生小梁结构的多孔钛合金股骨头支撑棒。

[0043] 所述仿生结构支撑棒模型设计流程为:1) 取正常成年国人股骨头,行显微 CT (美国 GE 公司 Locus SP 显微 CT、德国 YXLON 微米 X 射线三维成像系统等) 扫描,获取 DICOM 原始数据,存盘;2) 将数据导入 MIMICS14.0 或 14.0 以上版本软件 (比利时 Materialise 公司);3) 利用 MIMICS 自带的 CAD 模块设计支撑棒体部 (规格见后述),并转化为面数据 (Mask),和导入的股骨头原始数据行布尔相交运算,获取具有仿生小梁结构的支撑棒模型体部面数据;4) 对面数据小梁进行削薄 (Erode) 处理后行三维重建,然后行平滑处理 (Smooth),获得仿生支撑棒体部三维模型;5) 将设计好的 STL 格式支撑棒尾部 (详见后述) 导入 MIMICS 软件,和体部面数据行布尔运算获得完整股骨头支撑棒模型三维数据。

[0044] 所述 3D 打印技术为选区激光熔化快速成型 (Selective Laser Melting, SLM) 或电子束熔融 (Electron Beam Melting, EBM) 技术,原材料为 Ti2448 (Ti-24Nb-4Zr-8Sn) 或者 Ti-6Al-4V 球形粉末,粉末粒径为 45  $\mu$ m 以下。打印后行超声清洗,去除孔隙内游离粉末。由于激光束光斑为 50  $\mu$ m、电子束光斑为 100  $\mu$ m,打印好的成品孔径可能略小于模型孔径,部分较小的孔可能被游离的钛合金粉末填充。因此,采取酸液 (硝酸和氢氟酸按照特定比例混合) 侵蚀的方法,去除较小的孔隙内填充的粉末,进一步减薄小梁厚度,并增加小梁表面粗糙度,以利于细胞粘附。

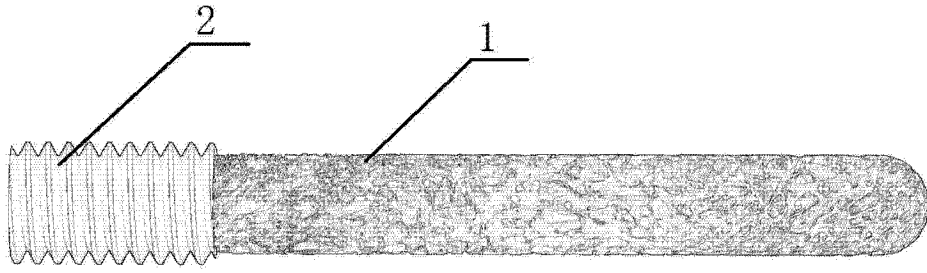


图 1

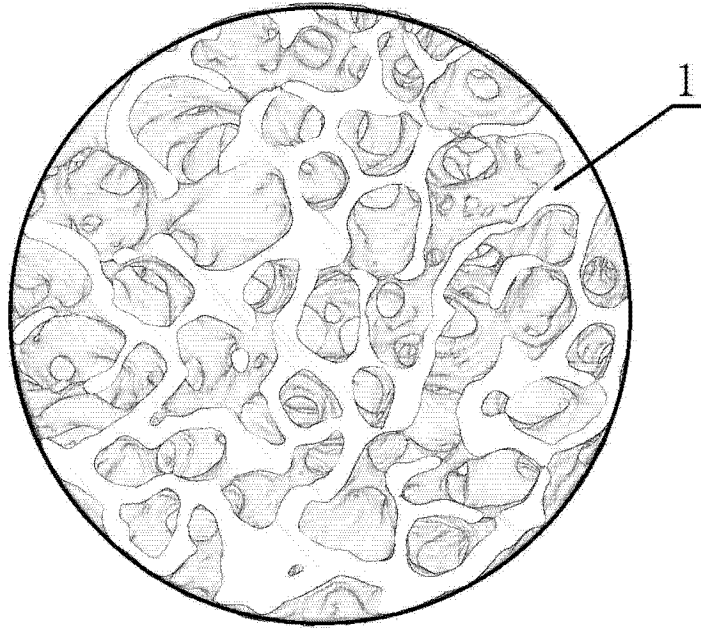


图 2

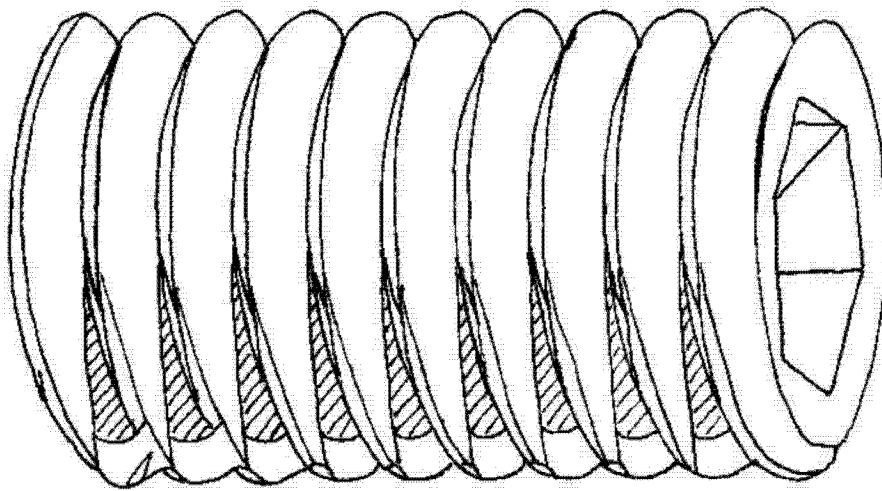


图 3