

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2019 年 2 月 21 日 (21.02.2019)



(10) 国际公布号
WO 2019/033646 A1

- (51) 国际专利分类号:
A61L 27/34 (2006.01) *A61L 27/18* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2017/116211
- (22) 国际申请日: 2017 年 12 月 14 日 (14.12.2017)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201710714542.9 2017年8月18日 (18.08.2017) CN
- (71) 申请人: 四川大学(SICHUAN UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。
- (72) 发明人: 左奕(ZUO, Yi); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 胡釜(HU, Fu); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 李玉宝(LI, Yubao);

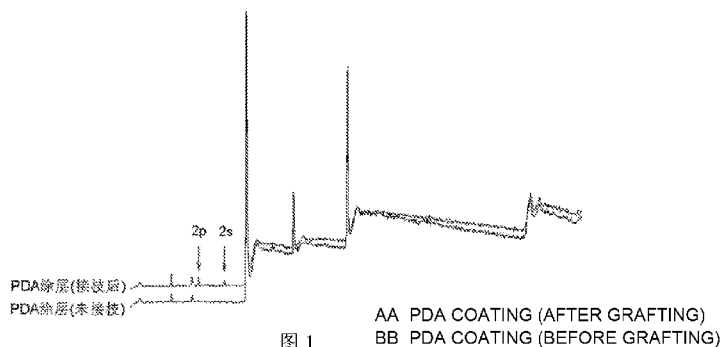
中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 陈杰(CHEN, Jie); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 邹琴(ZOU, Qin); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 李吉东(LI, Jidong); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。

(74) 代理人: 成都虹桥专利事务所(普通合伙)(CHENGDU HONGQIAO PATENT LAW OFFICE); 中国四川省成都市高新区天仁路259号1栋3层301-305号、306-1号、318-320号, Sichuan 610000 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS,

(54) Title: POROUS SCAFFOLD PROVIDED WITH SURFACE ORIENTATION FUNCTION MODIFICATION COATING AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) 发明名称: 具有表面定向功能修饰涂层的多孔支架及其制备方法



(57) Abstract: Provided in the invention are a porous scaffold provided with a surface orientation function modification coating and a preparation method therefor. The surface of the porous scaffold material structure is coated with a polydopamine coating structure, and a functional component structure layer capable of releasing drug molecules or biomolecules with bioactive function/action in a biological fluid environment is grafted in a modular way to a hydroxyl and/or amino part on the surface of the polydopamine coating structure. During preparation, firstly, the polydopamine coating is deposited on the surface of the porous scaffold; then, hydroxyl groups and/or amino groups in the surface of the scaffold material and corresponding functional components are subjected to azidation or alkynylation respectively; finally, a graft structure layer of the functional components is formed on the surface of the polydopamine coating of the porous scaffold material structure after specific azide-alkynyl modular grafting. The grafting efficiency of the functional components on the surface of the porous scaffold material is high, the grafting structure layer is firmer, the application field of the scaffold material is broadened, more function selections are provided for the scaffold material, and novel means are particularly provided for bone repair, blood vessel therapy, cancer therapy and the like.

JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明:

- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(57) 摘要: 具有表面定向功能修饰涂层的多孔支架及其制备方法。在该多孔支架材料结构的表面被覆有聚多巴胺涂层结构, 在聚多巴胺涂层结构表面的羟基和/或氨基部位, 以模块化方式接枝有在生物体液环境中可释放具有生物活性功能/作用的包括药物或生物分子在内的功能成分结构层。制备时先在该多孔支架的表面沉积有聚多巴胺涂层后, 再分别使支架材料表面及相应的功能成分中的羟基和/或氨基叠氮基化或炔基化, 最后经其间专一的叠氮-炔基模块化接枝后, 即在该多孔支架材料结构的聚多巴胺涂层表面形成功能成分的接枝结构层。该多孔支架材料表面的功能成分接枝效率高, 接枝结构层也更稳固, 既拓展了支架材料的应用领域, 也为支架材料提供了更多功能选择, 特别是可为骨修复、血管治疗、肿瘤治疗等提供了新手段。

具有表面定向功能修饰涂层的多孔支架及其制备方法

技术领域

5 本发明涉及一种在多孔支架结构的表面接枝有包括药物在内的功能成分修饰结构层的支架结构及其制备方法。

背景技术

多孔支架材料在生物医学工程领域有重要的应用，特别是在组织工程和骨再生医学中。常规的多孔支架材料制备主要有发泡法、静电纺丝、模具多孔烧结法、3D 增材打印等。以骨修复两次为例，但无论采用包括无机、有机、金属，或是其复合材料，即使
10 在其基质中共混复合有生物活性或药物等成分，因这些制备方法得到的多孔支架表层结构致密，都难以在植入时有效实现所设计的缓释或控释效应，无法为组织工程和骨关键修复过程提供初期细胞粘附增殖分化急需的如诱导骨生成、促进细胞增殖和分化、抑制细菌和炎性细胞等生物活性功能。为了实现支架材料的生物功能，在支架材料表面进行功能成分接枝处理，是目前一种常用的方法。目前大多数通过接枝方法制备功能分子的方法，都需使用硅烷偶联剂。如 CN201410001001 中国专利提供的一种改性医用钛金属材料，采用了硅烷偶联剂在钛表面接枝聚苯胺。CN201010587242 提供的是一种表面固定有抗体的药物血管支架的制备方法，采用的是在支架上喷涂聚酯，再用偶联剂与抗体进行交联。近年来，Lee H.等人报道了聚多巴胺能稳定地沉积并附着于各种材料表面(Lee H.; Dellatore S.M.; Miller W.M. Science. 2007, 318: 426.)。Wu, C.等人报道该聚多巴胺涂
20 层能提高 SiO₂ 多孔支架的体外矿化性能，并提升骨髓基质细胞 (Bone marrow stromal cells, BMSCs) 的粘附和增殖能力 (Wu, C.; Fan, W.; Chang, J.; Xiao, Y. Mussel-inspired porous SiO₂ scaffolds with improved mineralization and cytocompatibility for drug delivery and bone tissue engineering.[J] J. Mater. Chem. 2011, 21,18300)。在此基础上，利用多巴胺的粘附性能将药物混于多巴胺后粘附着于基底材料上，在 CN201210331666.6，
25 CN201010195840.X，CN201611034630.6 等文献中都有所报道。但在目前大部分文献报道的方法中，药物等都是通过浸泡或共混的方式附着的，其附着方式不明确，载药量和控释力受限。例如，虽然其中 CN201210331666.6 在所提出的以多巴胺为桥连的生物医用材料表面固定功能分子的方法中，提出利用化学反应将功能分子接枝到聚多巴胺层

上，但其固定功能分子方法仍是将固定有多巴胺的生物医用材料在功能分子中浸泡。

将生物功能性药物的活性基团与改性的支架表面以点击化学（Click Chemistry）方式进行点对点的化学桥接是近期报道的一种有效的接枝方法，包括利用铜催化的叠氮-炔基 Huisgen 环加成反应（Copper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition），以及 Thiol-ene 反应如巯基与烯体、非醇醛的羰基化学、碳碳多键如双烯体与亲双烯体的加成反应等（王莉莉等，有机叠氮化合物的合成与应用进展 I. 有机叠氮化合物的合成方法，化工科技，2010,18(1):72-75；Click Chemistry, a potent tool in medicinal sciences, F. Musumeci, S. Schenone, A. Desogus, E. Nieddu, D. Deodato and L. Botta, Current Medicinal Chemistry, 2015, Vol.22, No.17, 2022-2050）。例如，中国专利文献 201410019510.3 中提出的空心 TiO_2 微球表面接枝聚酰亚胺复合粒子的制备方法，就是利用这种方法，通过环加成反应将端炔基的聚酰亚胺接枝于叠氮基化的 TiO_2 微球。此类方法常具有操作简单、条件温和等显著优点。

发明内容

针对上述情况，本发明提供了一种具有表面定向功能修饰涂层的新结构形式的多孔支架，并进一步提供了该多孔支架的制备方法。

本发明具有表面定向功能修饰涂层的多孔支架，是在多孔支架材料结构的表面被覆有聚多巴胺涂层结构，在聚多巴胺涂层结构表面的羟基和/或氨基部位，以模块化方式接枝有在生物体液环境中可释放具有生物活性功能/作用的包括药物或生物分子在内的功能成分结构层。

上述结构中所述的多孔支架材料结构，可优选但并非仅限于由医学中可以接受的成分和/或材料制备而成的结构，一般可为惰性生物材料，或者是降解时间 ≥ 3 个月的可缓慢降解的生物材料的多孔结构体，包括钛合金、不锈钢在内的金属材料的支架结构、由包括氧化硅、氧化锆、聚氨酯（PU）、聚四氟乙烯（PTFE）、聚苯乙烯（PS）、聚乙烯（PE）、聚碳酸酯（PC）、聚酰胺（PA）在内的无机物成分、有机物成分、或由这些材料中的至少一种构成的复合成分。

为保证和提高所述多孔支架材料结构的孔隙，以接枝有更多的所述功能成分，多孔支架材料结构中孔隙的孔径优选为 0.01mm~1mm，更好的孔径可选择 0.3mm~0.8mm，和/或其孔隙率可优选为 20%~90%，更好的孔隙率可选择 30%~80%。

上述结构中所述的具有生物活性功能/作用的包括药物或生物分子在内的功能成分，

可以包括结构中含有端炔基、或可直接转化为端部状态的炔基或叠氮基的羟基，和/或氨基的药物或生物分子；或者是结构中含有可先经包括取代方式、加成方式在内的化学方式转化为包括端部状态的卤化物、羟基、巯基、烯基、烯酸、醛类、醚类在内的过渡形式结构后，再在同一反应系统中或以分步方式进一步转化为相应端部状态的炔基或叠氮基的药物或生物分子。

例如，成分中含有端炔基的药物或生物分子包括如特比奈酚等抗菌类药物，如炔雌醇等激素类药物，如厄洛替尼等抗癌类药物中的至少一种；所述的可先经化学方式转化后再进而可转化为相应端部状态的炔基或叠氮基的药物或生物分子，包括硫酸软骨素、胶原蛋白、玻尿酸、肝素、成骨蛋白中的至少一种。

在本发明上述的多孔支架材料结构中，增加其表面中所被覆的聚多巴胺涂层结构的厚度，可有利于功能成分的接枝量，并可提高所接枝的功能成分结构层的稳定性。因此，在上述基础上，多孔支架表面中被覆的聚多巴胺涂层结构的厚度进一步可优选的厚度为10~200 nm，更好的厚度可为60~500 nm。

现有研究表明，叠氮化物和炔烃几乎完全不与生物分子发生反应，且其分子结构小，不能形成强氢键，极性也相对较弱，对连接在其上的其它物质的结构和性质通常没有显著的影响（M.G. Finn 等，“点击化学-释义与目标”，《化学进展》2008, Vol.20, No.1:1-4）。例如，其上所连接的相应药物成分在生物体液环境中，在生物体内的酶的作用下很容易被释放出来，释放出来的药物的化学结构形式可逆转回原态（“Click” reactions: a versatile toolbox for the synthesis of peptide-conjugates, Chem Soc Rev, 2014, 43, 7013-7039; “Click Chemistry, a potent tool in medicinal sciences” F. Musumeci, S. Schenone, A. Desogus, E. Nieddu, D. Deodato and L. Botta, Current Medicinal Chemistry, 2015, Vol.22, No.17, 2022-2050）

因此，本发明所述的具有表面定向功能修饰涂层的多孔支架中，以模块化方式接枝在被覆于支架表面聚多巴胺涂层结构表面的所述功能成分结构层，优先推荐的是通过所述多孔支架多巴胺涂层表面的羟基和/或氨基部位经炔基化处理或者经叠氮化处理后，与经叠氮化处理和/或炔基化后的所述功能成分，以炔基-叠氮基对应的偶联方式接枝形成的功能成分结构层。

本发明上述的多孔支架结构表面被覆的聚多巴胺分子涂层中是由多巴胺聚合后形成的（虽然在不同 pH 条件下的聚合态有差异），其结构中的活性基团主要为羟基和氨基。例如，在酸性条件下其活性基团占优，且适宜于叠氮化。因此在制备时，一般可优先但

并非仅限于采用以聚多巴胺涂层叠氮化，对相应的药物或生物分子等功能成分则可采用炔基化。

对本发明上述具有表面定向功能修饰涂层的多孔支架的制备，一般可包括下述由所述的多孔支架材料形成在其表面背负有聚多巴胺涂层的基底材料，对基底材料和相应的功能成分中的-OH 和/或-NH₂ 进行炔基化和/或叠氮基化处理，以及将处理后的功能成分在基底材料的聚多巴胺涂层表面进行接枝等几步操作。

第一步，将表面清洁处理并干燥后的所述多孔支架材料，于 10℃~80℃ 条件下，在用含有 10mM 三羟甲基氨基甲烷且 pH 值为 8.0~9.0 的 Tris 溶液配制的含量为 0.1~5mg/ml 的盐酸多巴胺溶液中至少浸泡 6~72 小时，形成在多孔支架材料结构的表面沉积有聚多巴胺涂层的支架，即聚多巴胺涂层的基底材料后，水清洗。优选采用超声方式进行清洗，最后可选择用无水乙醇清洗（也可用超声方式），以利更好地除尽水分。清洗至洗液的 pH 值呈中性，干燥后待用。

为使所述的基底材料表面能有更理想的聚多巴胺涂层厚度，此步操作中对表面清洁处理并干燥后的多孔支架材料，可根据需要按所述方式，一般可在所述盐酸多巴胺溶液中浸泡沉积 1-10 次。实验显示，通常按所述方式在所述盐酸多巴胺溶液中浸泡沉积 3-6 次，即可得到具有满意厚度聚多巴胺涂层的支架-聚多巴胺涂层基底材料。

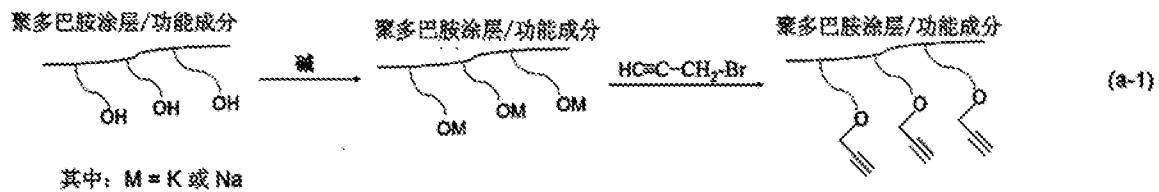
第二步，对表面沉积有聚多巴胺涂层的待用基底材料表面和所述的功能成分表面，进行包括下述方式的叠氮基化或炔基化处理：

a. 炔基化处理：按下述方式之一进行炔基化处理：

a-1：结构中的-OH 转换为炔基

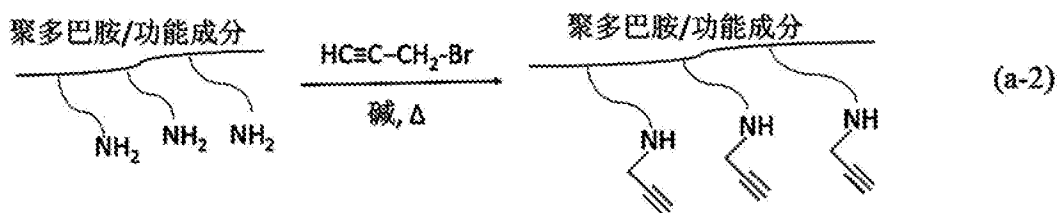
按下述比例的方式，将 0.1~1cm³ 所述待用的基底材料，或者 0.8~2g 所述功能成分，分别置于各自的 30~80ml 极性值为 3.5-4.5 的有机溶剂中，例如可选择但不限于四氢呋喃（THF）或乙酸乙酯等常用有机溶剂，在包括常用的氮气等惰性气体氛围中，加入 100~400mg 包括 NaH、KOH、K₂CO₃ 或 KOCH₃、叔丁醇钾等碱金属碱性成分，搅拌溶解后，分别加入与基底材料聚多巴胺涂层表面的羟基，或是与含有羟基的功能成分的表面羟基等摩尔量的具有 X-R-C≡CH 形式卤代烷基端炔的炔丙基溴、炔丙基氯等，于 20-30℃ 搅拌反应，生成卤代物，至溶剂提取物无卤素反应，反应时间一般可为 12~48 小时，分别在基底材料聚多巴胺涂层表面，或者是在功能成分表面生成具有炔基的结构（RC≡CH）。酸中和后（可有限使用常用的稀盐酸），再用水洗除去杂质。所得到的炔基化基底材料可直接待用；所得到的功能成分，可用与其炔基化后对应的截留分子量的透

析袋透析，除去杂质，干燥，其中优选的是真空干燥或冷冻干燥后，待用。处理过程如式 (a-1) 所示：



a-2: 结构中的 -NH_2 转换为炔基

- 5 按 a-1 的比例方式，将所述的基底材料或所述的功能成分分别置于各自的沸点 150°C 以上的极性溶剂中，例如可优选如二甲基甲酰胺 (DMF)、二甲基亚砜 (DMSO) 等容积，在常用的氮气等惰性气体氛围中，在碱性成分存在下，分别加入与基底材料聚多巴胺涂层表面的氨基或与含有氨基的功能成分的表面氨基等摩尔量的具有端炔 $\text{X-R-C}\equiv\text{CH}$ 形式的炔丙基溴、炔丙基氯等卤代烷基成分，于 $<100^\circ\text{C}$ 的加热条件下反应。其中所述的
- 10 碱性成分，可优选包括常用的碳酸钾、三乙胺和氢化钠等碱性成分。反应后，可如上述 a-1 步中的方式，用酸中和并水洗除杂。所得到的炔基化基底材料可干燥后直接待用；所得到的炔基化功能成分用与其分子量对应的截留分子量的透析袋透析除去杂质，干燥（同样可优选真空干燥或冷冻干燥）后，待用。处理过程如式 (a-2) 所示：



- 15 a-3: 结构中的 -OH 和 -NH_2 都转换为炔基

将结构中同时含有羟基和氨基的所述基底材料或所述的功能成分，分别按上述 a-1 和 a-2 方式处理，将其中的羟基和氨基都转换为炔基，分别得到待用的炔基化基底材料，或待用的炔基化功能成分。

b. 叠氮基化处理：按下述方式之一进行叠氮基化处理：

- 20 b-1: 结构中的 -OH 转换为叠氮基

按下述比例的方式，将 $0.1\sim 1\text{cm}^3$ 所述待用的基底材料，或者 $0.8\sim 2\text{g}$ 所述的功能成分，分别置于各自的 $30\sim 80\text{ml}$ 沸点 $\geq 150^\circ\text{C}$ 的极性有机溶剂中，所述的溶剂优选二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺或二甲基亚砜，加入 $0.5\sim 1.5\text{ml}$ 的有机碱性成分，如三乙胺、甲基乙胺或二甲胺等，在保持为 $-2\sim 3^\circ\text{C}$ 的条件下滴加 2-溴异丁酰溴 (BIBB)、氯乙酸或 1,3-

溴丙烷 1~3ml 并反应 1~4 个小时。其中,所述的滴加投料是为防止反应体系的温度升高,例如滴加速度可优选的是 20~40 滴/min。低温反应后,再升至室温继续反应 24~72 小时,分别得到溴化处理或氯化处理的基底材料或者功能成分。溴化或氯化处理后的基底材料或者功能成分,用甲醇或无水乙醇沉淀后,基底材料清洗至清洗液 pH 值至 6.5-7.5;对

5 功能成分的沉淀物用二氯甲烷或丙酮溶解后再用甲醇或无水乙醇沉淀的方式进行纯化,根据实际情况和需要,这一沉淀-溶解的纯化过程可以多次重复,纯化后清洗至清洗液 pH 6.5-7.5。然后,将清洗后的基底材料或者功能成分各自放入在 50~250ml 二甲基甲酰胺 (DMF) 或二甲基亚砜 (DMSO) 中溶解有过饱和 NaN_3 或 $\text{Zn}(\text{N}_3)_2 \cdot 2\text{Py}$ 的溶液中,于

10 $20^\circ\text{C} \sim 90^\circ\text{C}$ 反应 6~48 小时,冷却至室温,分别得到叠氮基化的基底材料或叠氮基化的功能成分,对得到的叠氮基化基底材料经水洗除去杂质至洗液无卤素显色反应后,干燥,其中优选真空干燥或冷冻干燥,待用;对得到的叠氮基化功能成分用与其分子量对应的截留分子量透析袋透析后,水洗除去杂质至清洗液无卤素显色反应,干燥,其中优选真空干燥或冷冻干燥,待用。处理过程如式 (b-1) 所示:

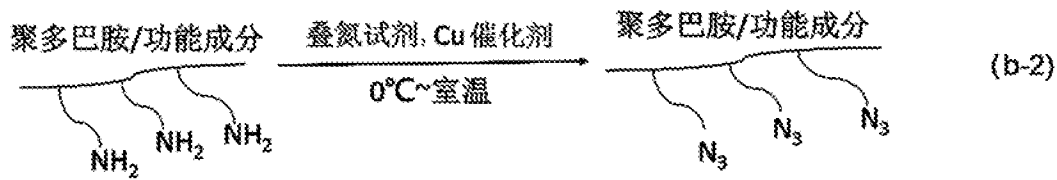


15 b-2: 结构中的 $-\text{NH}_2$ 转换为叠氮基

按下述比例的方式,将 $0.1 \sim 1\text{cm}^3$ 所述待用的基底材料,或者 $0.8 \sim 2\text{g}$ 所述的功能成分,分别置于各自的 50~200ml 极性有机溶剂中,可优选如二甲基亚砜、二氯甲烷或水等溶剂,各自加入在 50~150ml 二甲基亚砜 (DMSO) 或二甲基甲酰胺 (DMF) 中溶解有三氟磺酸叠氮 ($\text{TfN}_3 : \text{CF}_3\text{SON}_3$) 或对硝苯碘叠氮 ($p\text{-NO}_2\text{PhSO}_2\text{N}_3$) 的溶液,以

20 $1 \sim 5\text{wt}\% \text{CuSO}_4$ 或 CuBr_2 为催化剂,在 $0^\circ\text{C} \sim$ 室温下反应 24~72 小时,分别得到叠氮基化的基底材料或叠氮基化的功能成分。得到的叠氮基化基底材料经水洗除去杂质至洗液无卤素显色反应后,干燥(可优选真空干燥或冷冻干燥),待用;对得到的叠氮基化功能成分用与其分子量对应的截留分子量的透析袋透析后,水洗除去杂质,至清洗液无卤素显色反应后,干燥(同样可优选真空干燥或冷冻干燥),待用。处理过程如式 (b-2) 所示:

25 示:



b-3: 结构中的-OH 和-NH₂ 都转换为叠氮基

将结构中同时含有羟基和氨基的所述基底材料或所述的功能成分，分别按上述 b-1 和 b-2 方式处理，将其中的羟基和氨基都转换为叠氮基，分别得到待用的叠氮基化基底材料，或待用的叠氮基化功能成分。

第三步，以点击化学方式在多孔支架材料结构表面形成炔基-叠氮基对应接枝的功能成分结构层

在常用的 N₂ 气等惰性气体氛围保护下，将待用的已叠氮基化的基底材料，浸入含有 0.5~3mmol 浓度待用的已炔基化的功能成分的 50~250ml 沸点 $\geq 150^{\circ}\text{C}$ 的极性有机溶剂中，或是将待用的已炔基化处理的基底材料浸入含有 0.5~3mmol 浓度待用的已叠氮化的功能成分的 50~250 ml 的沸点 $\geq 150^{\circ}\text{C}$ 的极性有机溶剂中，于 $-2^{\circ}\text{C}\sim 3^{\circ}\text{C}$ （例如：冰盐浴中）加入催化量的铜催化液后，在 $20\sim 100^{\circ}\text{C}$ 反应 1-24 小时。所述的沸点 $\geq 150^{\circ}\text{C}$ 的极性有机溶剂可优先选择如 N,N-二甲基甲酰胺或二甲基亚砜等。所述的铜催化液可选用如 0.05-0.3 mmol CuBr；或依次加入 20~50 μL 的硫酸铜溶液(0.1~0.5mol/L)和 60~300 μL 的抗坏血酸钠溶液(2-4mol/L)等已有报道形式的催化液。反应后，用稀氨水清洗除去铜离子，得到在所述基底材料的聚多巴胺涂层表面以叠氮基化-炔基方式经环加成反应定向接枝有功能成分修饰涂层结构的多孔支架。反应后用所述的稀氨水清洗，可在保证尽可能除干净铜离子的同时，又能尽量减少其可能产生不利的腐蚀作用的前提下进行适当选择。例如，使用浓度为 1-2 % (v/v) 的稀氨水就是一种很好的选择。

本发明上述的制备方法中，利用了多巴胺小分子可渗入支架孔隙内部，从而在支架表面形成了预沉积的聚多巴胺涂层。该涂层一方面可以提高支架对药物等功能成分的粘附性，另一方面利用聚多巴胺涂层含有的大量羟基和氨基作为化学键合的锚定点位，通过分别对基底材料表面的聚多巴胺涂层和相应的功能成分进行叠氮基化与炔基化处理后，利用其间叠氮基-炔基间“点对点”的点击式化学反应完成相互接枝。由于叠氮基和炔基相对于其它常见的官能团都是化学惰性的，因此叠氮基与炔基间的偶联反应速率高，反应收率可实现等比定量的关系，并可同时实现对其它体系较大的兼容性。

相比于现有的对接枝药物或功能分子直接进行浸泡的方法，本发明采用叠氮与炔基

间高效加成反应的的制备方法，不仅可使接枝结构更为稳固，接枝效率更高，而且由于多巴胺在弱碱性条件下接触空气时，可以在任何固体表面聚合并形成聚多巴胺纳米薄膜，几乎可以粘附于任意的基底上形成聚多巴胺涂层，从而使可以使用的支架材料更具有普适性。而小分子多巴胺可以渗入支架孔隙内部实现均匀的高度交联聚合，在所形成的不溶的聚多巴胺分子涂层结构中包含了许多羟基和/或氨基的活性位点，因而只需将涂层和药物或生物分子等活性成分的活性位点分别转化为相应的叠氮基或端炔基模块，就能使其一一对应地实现将各种活性成分高效桥联接枝于各种材料的支架表面。因此本发明提出的上述形式具有表面定向功能修饰涂层的多孔支架，既拓展了支架材料的应用领域，也为支架材料提供了更多功能选择，特别是可为骨修复、血管治疗等提供了新手段。

以下结合由附图所示实施例的具体实施方式，对本发明的上述内容再作进一步的详细说明。但不应将此理解为本发明上述主题的范围仅限于以下的实例。在不脱离本发明上述技术思想情况下，根据本领域普通技术知识和惯用手段做出的各种替换或变更，均应包括在本发明的范围内。

附图说明

图 1 是本发明实施例 1 支架材料的聚多巴胺（PDA）涂层接枝硫酸软骨素（ChS）前后的 XPS 图谱比较。

图 2 是 对直接成型的支架和本发明支架材料表面的扫描电镜对比图片。

具体实施方式

实施例 1：表面接枝硫酸软骨素涂层的多孔钛合金支架材料

第一步，多孔钛合金的准备

多孔钛合金用 3D 打印的方式制备，长宽分别为 10mm，高 5mm。无水乙醇超声清洗 10 分钟，再用蒸馏水超声清洗 5 分钟，烘干。

第二步，聚多巴胺涂层制备

多孔钛合金浸泡在浓度为 2mg/ml 盐酸多巴胺溶液中，溶液中的三羟甲基氨基甲烷（Tris）浓度为 10mM，pH 值为 8.5，浸泡时间为 48 小时，反应温度 37℃。涂层沉积结束后，分别用蒸馏水和无水乙醇超声清洗 5 分钟，并干燥。形成结构为支架-聚多巴胺的基底材料。重复两次，形成双层聚多巴胺涂层。

第三步，硫酸软骨素的炔基化

硫酸软骨素（分子量 20000-50000Da）1g，加入 50ml THF 圆底烧瓶，充分搅拌溶解后，加入 NaH 250mg，搅拌 15min 后，加入 3-溴丙基溴 750 μ l，RT 下搅拌 24h。截留分子量为 1000 Da 的透析袋进行透析，除去杂质，冷冻干燥。

第四步，基底的叠氮基化

- 5 圆底烧瓶加入 30ml 二氯甲烷，基底浸入，再加 1ml 三乙胺。置于冰水浴，缓慢滴加 1ml BIBB（2-溴异丁酰溴），冰水浴中反应 2h，再室温下反应 24h。得到表面溴化的基底。分别用大量二氯甲烷、丙酮、无水乙醇、超纯水超声清洗 15min，真空烘箱中干燥。取 80ml 二甲基甲酰胺（DMF），加入叠氮钠粉末溶解至饱和。80℃ 下反应 48h，得基底-N₃，大量超纯水超声清洗，真空干燥。

- 10 第五步，用环加成反应接枝

1mmol 炔基-硫酸软骨素加入到 50ml DMF，将基底-N₃ 浸入。加入 0.1mmol PMDETA 作为配体。冰水浴下，对溶液“抽真空-通氮气”，3 次，在液面下通氮气 30min 除尽氧气。0.1mmol CuBr 加入封口，溶液浅绿色。60℃ 下反应 3h。得基底-硫酸软骨素。1%（v/v）氨水中清洗除去多余铜离子。得到表面接枝硫酸软骨素功能修饰涂层的多孔钛合金支架材料。

15

实施例 2：表面接枝硫酸软骨素涂层的多孔钛合金支架材料

第一步，多孔钛合金的准备

多孔钛合金用 3D 打印的方式制备，长宽分别为 10mm，高 5mm。无水乙醇超声清洗 10 分钟，再用蒸馏水超声清洗 5 分钟，烘干。

- 20 第二步，聚多巴胺涂层制备

多孔钛合金浸泡在浓度为 2mg/ml 盐酸多巴胺溶液中，溶液中的三羟甲基氨基甲烷（Tris）浓度为 10mM，pH 值为 8.5，浸泡时间为 48 小时，反应温度 37℃。涂层沉积结束后，分别用蒸馏水和无水乙醇超声清洗 5 分钟，并干燥。形成结构为支架-聚多巴胺的基底材料。重复三次，形成三层聚多巴胺涂层。

- 25 第三步，基底的炔基化

基底加入到装有 50ml THF 的圆底烧瓶，加入 NaH 250mg，震荡 15min 让气体排出后，加入 3-溴丙基溴 750 μ l，RT 下反应 24h。取出，用超纯水冲洗除去杂质。

第四步，硫酸软骨素的叠氮基化

圆底烧瓶加入 30ml 二氯甲烷，加入 1g 硫酸软骨素，再加 1ml 三乙胺。置于冰水浴，

缓慢滴加 1ml BIBB (2-溴异丁酰溴), 冰水浴中反应 2h, 再室温下反应 24h。得到表面溴化的硫酸软骨素。用截留分子量为 1000d 的透析袋透析, 真空烘箱中干燥。取 80ml 二甲基甲酰胺 (DMF), 加入叠氮钠粉末溶解至饱和, 加入溴化的硫酸软骨素。60℃ 下反应 48h, 得硫酸软骨素-N3, 截留分子量为 1000d 透析袋透析, 真空干燥。

5 第五步, 用环加成反应接枝

1mmol 叠氮基-硫酸软骨素加入到 50ml DMF, 将基底-炔基浸入。加入 0.1mmol PMDETA 作为配体。冰水浴下, 对溶液“抽真空-通氮气”, 3 次, 在液面下通氮气 30min 除尽氧气。0.1mmol CuBr 加入封口, 溶液浅绿色。60℃ 下反应 3h。得基底-硫酸软骨素。1% (v/v) 氨水中清洗除去多余铜离子。得到表面接枝硫酸软骨素的多孔钛合金支架材料。

对支架材料的聚多巴胺 (PDA) 涂层接枝硫酸软骨素 (ChS) 前后的 XPS 图谱比较, 如图 1 所示。图 1 中清楚显示, 接枝硫酸软骨素后的支架材料聚多巴胺载药涂层中出现了硫的 2p 和 2s 峰。

15 在图 2 所示的对直接成型后未接枝功能成分的支架的表面和本发明在支架材料聚多巴胺涂层表面接枝了硫酸软骨素后的表面的扫描电镜对比图片中也清楚显示, 直接成型的支架呈光滑微表面 (A), 本发明接枝了硫酸软骨素后的支架材料则呈粗糙微表面 (B)。

实施例 3: 表面含端炔抗菌药物特比奈酚涂层的多孔钛合金支架材料

第一步, 多孔钛合金的准备

20 多孔钛合金用 3D 打印的方式制备, 长宽分别为 10mm, 高 5mm。无水乙醇超声清洗 10 分钟, 再用蒸馏水超声清洗 5 分钟, 烘干。

第二步, 聚多巴胺涂层制备

25 多孔钛合金浸泡在浓度为 2mg/ml 盐酸多巴胺溶液中, 溶液中的三羟甲基氨基甲烷 (Tris) 浓度为 10mM, pH 值为 8.5, 浸泡时间为 48 小时, 反应温度 37℃。涂层沉积结束后, 分别用蒸馏水和无水乙醇超声清洗 5 分钟, 并干燥。重复三次, 形成三层聚多巴胺涂层的基底材料。

第三步, 基底的叠氮基化

圆底烧瓶加入 30ml 二氯甲烷, 基底浸入, 再加 1ml 三乙胺。置于冰水浴, 缓慢滴加 1ml BIBB (2-溴异丁酰溴), 冰水浴中反应 2h, 再室温下反应 24h。得到表面溴化的基底。分别用大量二氯甲烷、丙酮、无水乙醇、超纯水超声清洗 15min, 真空烘箱中干

干燥。取 80ml 二甲基甲酰胺 (DMF)，加入叠氮钠粉末溶解至饱和。80℃下反应 48h，得基底-N3，大量超纯水超声清洗，真空干燥。

第四步，用环加成反应接枝（无铜“点击反应”方法）

1mmol 含端炔抗菌药物特比奈酚加入到 50ml PBS 溶液中，将叠氮化的基底置入其中。在 37℃下，反应 24h，得到表面接枝有比奈酚的多孔钛合金支架材料。

实施例 4：表面接枝胶原蛋白涂层的聚氨酯 PU 支架材料

第一步，聚氨酯 PU 支架的准备

聚氨酯 PU 支架用发泡法制备，长宽分别为 10mm，高 5mm。无水乙醇超声清洗 10 分钟，再用蒸馏水超声清洗 5 分钟，烘干。

10 第二步，聚多巴胺涂层制备

聚氨酯支架浸泡在浓度为 2mg/ml 盐酸多巴胺溶液中，溶液中的三羟甲基氨基甲烷 (Tris) 浓度为 10mM，pH 值为 8.5，浸泡时间为 48 小时，反应温度 37℃。涂层沉积结束后，分别用蒸馏水和无水乙醇超声清洗 5 分钟，并干燥。形成结构为支架-聚多巴胺的基底材料。

15 第三步，胶原蛋白的炔基化

胶原蛋白（分子量 3000-10000d）1g，加入 50ml THF 圆底烧瓶，加入 NaH 250mg，搅拌 15min，排出气体后，加入炔丙基溴 750ul，RT 下搅拌 24h。截留分子量为 1000d 的透析袋进行透析，除去杂质，冷冻干燥。

第四步，基底的叠氮基化

20 圆底烧瓶加入 30ml 二氯甲烷，基底浸入，再加 1ml 三乙胺。置于冰水浴，缓慢滴加 1ml BIBB（2-溴异丁酰溴），冰水浴中反应 2h，再室温下反应 24h。得到表面溴化的基底。分别用大量二氯甲烷、丙酮、无水乙醇、超纯水超声清洗 15min，真空烘箱中干燥。取 80ml 二甲基甲酰胺 (DMF)，加入叠氮钠粉末溶解至饱和。80℃下反应 48h，得基底-N3，大量超纯水超声清洗，真空干燥。

25 第五步，用环加成反应接枝。

1mmol 炔基-胶原蛋白加入到 50ml DMF，将基底-N3 浸入。加入 0.1mmol PMDETA 作为配体。冰水浴下，对溶液“抽真空-通氮气”，3 次，在液面下通氮气 30min 除尽氧气。0.1mmol CuBr 加入封口，溶液浅绿色。60℃下反应 3h。得基底-胶原蛋白。1% (v/v) 氨水中清洗除去多余铜离子。得到表面接枝胶原蛋白的聚氨酯 PU 支架材料。

30 **实施例 5：**表面接枝玻尿酸涂层的聚氨酯 PU 支架材料

第一步，聚氨酯 PU 支架的准备

聚氨酯 PU 支架用发泡法制备，长宽分别为 10mm，高 5mm。无水乙醇超声清洗 10 分钟，再用蒸馏水超声清洗 5 分钟，烘干。

第二步，聚多巴胺涂层制备

- 5 多孔聚氨酯浸泡在浓度为 2mg/ml 盐酸多巴胺溶液中，溶液中的三羟甲基氨基甲烷（Tris）浓度为 10mM，pH 值为 8.5，浸泡时间为 48 小时，反应温度 37℃。涂层沉积结束后，分别用蒸馏水和无水乙醇超声清洗 5 分钟，并干燥。重复三次，形成三层聚多巴胺涂层的基底材料。

第三步，玻尿酸的炔基化

- 10 玻尿酸（分子量 100000-200000Da）1g，加入 50ml THF 圆底烧瓶，充分搅拌溶解后，加入 NaH 250mg，搅拌 15min 后，加入炔丙基溴 750 ul，RT 下搅拌 24h。截留分子量为 8000-14000Da 的透析袋进行透析，除去杂质，冷冻干燥。

第四步，基底的叠氮基化

- 15 圆底烧瓶加入 30ml 二氯甲烷，基底浸入，再加 1ml 三乙胺。置于冰水浴，缓慢滴加 1ml BIBB（2-溴异丁酰溴），冰水浴中反应 2h，再室温下反应 24h。得到表面溴化的基底。分别用大量二氯甲烷、丙酮、无水乙醇、超纯水超声清洗 15min，真空烘箱中干燥。取 80ml 二甲基甲酰胺（DMF），加入叠氮钠粉末溶解至饱和。80℃下反应 48h，得基底-N₃，大量超纯水超声清洗，真空干燥。

第五步，用环加成反应接枝。（无铜“点击反应”方法）

- 20 1mmol 炔基化的玻尿酸加入到 50ml PBS 溶液中，将叠氮化的基底置入其中。在 37℃ 下，反应 24h，得到表面接枝有玻尿酸涂层的聚氨酯 PU 支架材料。

实施例 6：接枝有肝素涂层的纳米羟基磷灰石/聚氨酯复合支架材料

第一步，纳米羟基磷灰石/聚氨酯复合多孔支架的制备。

- 25 采用脂肪族异佛尔酮二异氰酸酯（IPDI）作为硬段、蓖麻油甘油酯作为软段合成聚氨酯，通过原位聚合法得到纳米羟基磷灰石/聚氨酯多孔支架。

第二步，聚多巴胺涂层制备。

纳米羟基磷灰石/聚氨酯复合多孔支架浸泡在浓度为 2mg/ml 盐酸多巴胺溶液中，溶液中的三羟甲基氨基甲烷（Tris）浓度为 10mM，pH 值为 8.5，浸泡时间为 48 小时，反应温度 37℃。涂层沉积结束后，分别用蒸馏水和无水乙醇超声清洗 5 分钟，并干燥。重

复三次，形成三层聚多巴胺涂层的基底材料。

第三步，肝素的炔基化。

肝素（分子量 20000-30000Da）1g，加入 50ml THF 圆底烧瓶，充分搅拌溶解后，加入 NaH 250mg，搅拌 15min 后，加入炔丙基溴 750 μ l，RT 下搅拌 24h。截留分子量为 5 3500Da 的透析袋进行透析，除去杂质，冷冻干燥。

第四步，基底的叠氮基化。

圆底烧瓶加入 30ml 二氯甲烷，基底浸入，再加 1ml 三乙胺。置于冰水浴，缓慢滴加 1ml BIBB（2-溴异丁酰溴），冰水浴中反应 2h，再室温下反应 24h。得到表面溴化的基底。分别用大量二氯甲烷、丙酮、无水乙醇、超纯水超声清洗 15min，真空烘箱中干燥。取 80ml 二甲基甲酰胺（DMF），加入叠氮钠粉末溶解至饱和。80℃下反应 48h，得基底-N₃，大量超纯水超声清洗，真空干燥。

第五步，用环加成反应接枝。

1mmol 炔基化的肝素加入到 50ml PBS 溶液中，将叠氮化的基底置入其中。在 37℃ 下，反应 24h，得到表面接枝有肝素涂层的纳米羟基磷灰石/聚氨酯复合支架材料。

15 实施例 7：接枝有硫酸软骨素涂层的聚己内酯（PCL）支架材料

第一步，PCL 支架的准备

通过静电纺丝的方法制备 PCL 支架，体积约 0.5cm³。无水乙醇超声清洗 10 分钟，再用蒸馏水超声清洗 5 分钟，烘干。

第二步，聚多巴胺涂层制备

20 将 PCL 支架浸泡在浓度为 2mg/ml 盐酸多巴胺溶液中，溶液中的三羟甲基氨基甲烷（Tris）浓度为 10mM，pH 值为 8.5，浸泡时间为 48 小时，反应温度 37℃。涂层沉积结束后，分别用蒸馏水和无水乙醇超声清洗 5 分钟，并干燥。重复三次，形成三层聚多巴胺涂层的基底材料。

第三步，硫酸软骨素的炔基化

25 硫酸软骨素（分子量 20000-50000Da）1g，加入 50ml THF 圆底烧瓶，充分搅拌溶解后，加入 NaH 250mg，搅拌 15min 后，加入炔丙基溴 750 μ l，RT 下搅拌 24h。截留分子量为 3500 Da 的透析袋进行透析，除去杂质，冷冻干燥。

第四步，基底的叠氮基化

圆底烧瓶加入 30ml 二氯甲烷，基底浸入，再加 1ml 三乙胺。置于冰水浴，缓慢滴

加 1ml BIBB (2-溴异丁酰溴), 冰水浴中反应 2h, 再室温下反应 24h。得到表面溴化的基底。分别用大量二氯甲烷、丙酮、无水乙醇、超纯水超声清洗 15min, 真空烘箱中干燥。取 80ml 二甲基甲酰胺 (DMF), 加入叠氮钠粉末溶解至饱和。80℃下反应 48h, 得基底-N3, 大量超纯水超声清洗, 真空干燥。

5 第五步, 用环加成反应接枝

1mmol 炔基化的硫酸软骨素加入到 50ml PBS 溶液中, 将叠氮化的基底置入其中。在 37℃下, 反应 24h, 得到表面接硫酸软骨素涂层的 PCL 支架材料。

实施例 8: 接枝有硫酸软骨素涂层的羟基磷灰石多孔陶瓷支架材料

第一步, HA 支架的准备

10 配制 PVA/HA 浆料, 将 PVA/HA 浆料在 60-80℃时持续搅拌 20-30 分钟起泡, 倒入模具放入烘箱迅速干燥, 3-4 个小时后发泡体定型, 然后烧结成型。

第二步, 聚多巴胺涂层制备

将 HA 支架浸泡在浓度为 2mg/ml 盐酸多巴胺溶液中, 溶液中的三羟甲基氨基甲烷 (Tris) 浓度为 10mM, pH 值为 8.5, 浸泡时间为 48 小时, 反应温度 37℃。涂层沉积结
15 束后, 分别用蒸馏水和无水乙醇超声清洗 5 分钟, 并干燥。重复三次, 形成三层聚多巴胺涂层的基底材料。

第三步, 硫酸软骨素的炔基化

硫酸软骨素 (分子量 20000-50000Da) 1g, 加入 50ml THF 圆底烧瓶, 充分搅拌溶解后, 加入 NaH 250mg, 搅拌 15min 后, 加入炔丙基溴 750 ul, RT 下搅拌 24h。截留分子
20 量为 3500 Da 的透析袋进行透析, 除去杂质, 冷冻干燥。

第四步, 基底的叠氮基化

圆底烧瓶加入 30ml 二氯甲烷, 基底浸入, 再加 1ml 三乙胺。置于冰水浴, 缓慢滴加 1ml BIBB (2-溴异丁酰溴), 冰水浴中反应 2h, 再室温下反应 24h。得到表面溴化的基底。分别用大量二氯甲烷、丙酮、无水乙醇、超纯水超声清洗 15min, 真空烘箱中干
25 燥。取 80ml 二甲基甲酰胺 (DMF), 加入叠氮钠粉末溶解至饱和。80℃下反应 48h, 得基底-N3, 大量超纯水超声清洗, 真空干燥。

第五步, 用环加成反应接枝

1mmol 炔基化的硫酸软骨素加入到 50ml PBS 溶液中, 将叠氮化的基底置入其中。在 37℃下, 反应 24h, 得到表面接枝有硫酸软骨素涂层的羟基磷灰石多孔陶瓷支架材料。

实施例 9：表面接枝硫酸软骨素涂层的聚酰胺 PA 支架材料**第一步，聚酰胺 PA 支架材料的准备**

聚酰胺 PA 支架用发泡法制备，长宽分别为 10mm，高 5mm。无水乙醇超声清洗 10 分钟，再用蒸馏水超声清洗 5 分钟，烘干。

5 第二步，聚多巴胺涂层制备

聚酰胺 PA 支架在浓度为 2mg/ml 盐酸多巴胺溶液中，溶液中的三羟甲基氨基甲烷 (Tris) 浓度为 10mM，pH 值为 8.5，浸泡时间为 48 小时，反应温度 37℃。涂层沉积结束后，分别用蒸馏水和无水乙醇超声清洗 5 分钟，并干燥。形成结构为支架-聚多巴胺的基底材料。重复三次，形成三层聚多巴胺涂层。

10 第三步，基底的炔基化

基底加入到装有 50ml THF 的圆底烧瓶，加入 NaH 250mg，震荡 15min 让气体排出后，加入炔丙基溴 750ul，RT 下反应 24h。取出，用超纯水冲洗除去杂质。

第四步，肝素的叠氮基化

圆底烧瓶加入 30ml 二甲基亚砷，加入 1g 肝素，再加 1ml 甲基乙胺。置于冰水浴，
15 缓慢滴加 1ml 氯乙酸，冰水浴中反应 3h，再室温下反应 36 h。得到表面氯化的肝素。用截留分子量为 1000d 的透析袋透析，对沉淀物用二氯甲烷溶解后再用无水乙醇沉淀的方式进行反复纯化两次。取 120ml 二甲基亚砷 (DMSO)，加入 $\text{Zn}(\text{N}_3)_2 \cdot 2\text{Py}$ 溶解至饱和，加入氯化的肝素。20℃下反应 48h，得肝素- N_3 ，截留分子量为 1000d 透析袋透析，水洗除去杂质后真空干燥。

20 第五步，用环加成反应接枝

1mmol 叠氮基-肝素加入到 50ml DMF，将基底-炔基浸入。加入 0.1mmol PMDETA 作为配体。冰水浴下，对溶液“抽真空-通氮气”，3 次，在液面下通氮气 30min 除尽氧气。0.1mmol CuBr 加入封口，溶液浅绿色。60℃下反应 3h。得基底-硫酸软骨素。1% (v/v) 氨水中清洗除去多余铜离子。得到表面接枝肝素的多孔钛合金支架材料。

25 实施例 10：表面接枝厄洛替尼涂层的多孔钛合金支架**第一步，多孔钛合金支架的准备**

多孔钛合金用 3D 打印的方式制备，长宽分别为 10mm，高 5mm。无水乙醇超声清洗 10 分钟，再用蒸馏水超声清洗 5 分钟，烘干。

第二步，聚多巴胺涂层制备

多孔钛合金支架浸泡在浓度为 2mg/ml 盐酸多巴胺溶液中，溶液中的三羟甲基氨基甲烷（Tris）浓度为 10mM，pH 值为 8.5，浸泡时间为 48 小时，反应温度 37℃。涂层沉积结束后，分别用蒸馏水和无水乙醇超声清洗 5 分钟，并干燥。形成结构为支架-聚多巴胺的基底材料。

5 第三步，基底羟基的叠氮基化

圆底烧瓶加入 30ml N,N-二甲基甲酰胺，基底浸入，再加 1ml 二甲胺。置于冰水浴，缓慢滴加 2ml 1,3-溴丙烷，冰水浴中反应 2h，再室温下反应 24h。取代羟基得到表面溴化的基底。分别用无水乙醇、超纯水超声清洗 15min，真空烘箱中干燥。取 80ml 二甲基甲酰胺（DMF），加入叠氮钠粉末溶解至饱和。80℃下反应 48h，得基底-N₃，大量超
10 纯水超声清洗，真空干燥。

第四步，基底氨基的叠氮基化

圆底烧瓶加入 30ml 二甲基亚砷，基底浸入，加入在 50 ml 二甲基亚砷中溶解有三氟磺酸叠氮（TfN₃：CF₃SON₃）或对硝苯碘叠氮（p-NO₂PhSO₂N₃）的溶液，以 2wt% CuBr₂ 为催化剂，在 0℃~室温下反应 48 小时，得到氨基叠氮基化的基底材料，对得到的叠氮
15 基化基底材料经水洗除去杂质至洗液无卤素显色反应后，干燥，其中优选真空干燥或冷冻干燥，备用。

第五步，用环加成反应接枝。

1mmol 端炔基厄洛替尼加入到 50ml DMF，将基底-N₃ 浸入。加入 0.1mmol PMDETA 作为配体。冰水浴下，对溶液“抽真空-通氮气”，3 次，在液面下通氮气 30min 除尽氧气。
20 0.1mmol CuBr 加入封口，溶液浅绿色。60℃下反应 3h。得基底-厄洛替尼。1%（v/v）氨水中清洗除去多余铜离子。得到表面接厄洛替尼的多孔钛合金支架材料。

权利要求书

1. 具有表面定向功能修饰涂层的多孔支架，其特征是在多孔支架材料结构的表面被覆有聚多巴胺涂层结构，聚多巴胺涂层结构优选的厚度为 10~200 nm，更好的厚度为 60~500 nm，在聚多巴胺涂层结构表面的羟基和/或氨基部位，以模块化方式接枝有在生物体液环境中可释放具有生物活性功能/作用的包括药物或生物分子在内的功能成分结构层。

2. 如权利要求 1 所述的多孔支架，其特征是所述的功能成分结构层，为通过所述多孔支架多巴胺涂层表面的羟基和/或氨基部位经炔基化处理，或者经叠氮化处理后，与经叠氮化处理和/或炔基化处理后的所述功能成分，以炔基-叠氮基对应的偶联方式接枝形成的功能成分结构层。

3. 如权利要求 1 所述的多孔支架，其特征是所述的多孔支架材料结构为由医学中可以接受的成分和/或材料制备的孔径为 0.01mm ~1mm 和孔隙率为 20%~90%孔隙的多孔结构体。

4. 如权利要求 3 所述的多孔支架，其特征是所述多孔支架材料结构的孔隙孔径为 0.3mm ~0.8mm，和/或孔隙率为 30%~80%。

5. 如权利要求 3 所述的多孔支架，其特征是所述的医学中可以接受的多孔结构体，为惰性生物材料或者降解时间 ≥ 3 个月的可缓慢降解的生物材料的多孔结构体，包括钛合金、不锈钢在内的金属材料的支架结构、由包括氧化硅、氧化锆、聚氨酯、聚四氟乙烯、聚苯乙烯、聚乙烯、聚碳酸酯、聚酰胺在内的无机物成分、有机物成分中的至少一种。

6. 如权利要求 1 至 5 之一所述的多孔支架，其特征是所述的功能成分包括结构中含有端炔基、或可直接转化为端部状态的炔基或叠氮基的羟基和/或氨基的药物或生物分子；或是结构中含有可先经包括取代方式、加成方式在内的化学方式转化为包括端部状态的卤化物、羟基、巯基、烯基、烯酸、醛类、醚类在内的过渡形式结构后，再在同一反应系统中或以分步方式进一步转化为相应端部状态的炔基或叠氮基的药物或生物分子。

7. 如权利要求 6 所述的多孔支架，其特征是所述功能成分中含有端炔基的药物或生物分子包括抗菌类药物特比奈酚、激素类药物炔雌醇、抗癌类药物厄洛替尼中的至少一种；所述的可先经化学方式转化后再进而可转化为相应端部状态

的炔基或叠氮基的药物或生物分子，包括硫酸软骨素、胶原蛋白、玻尿酸、肝素、成骨蛋白中的至少一种。

8. 权利要求 1 至 7 之一所述具有表面定向功能修饰涂层的多孔支架的制备方法，其特征是包括下述操作：

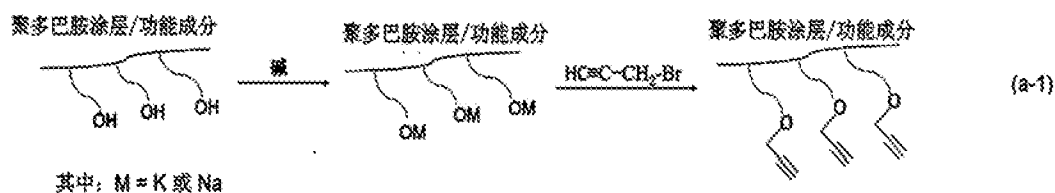
- 5 第一步，将表面清洁处理并干燥后的所述多孔支架材料，于 10℃~80℃ 条件下，在用含有 10mM 三羟甲基氨基甲烷且 pH 值为 8.0~9.0 的 Tris 溶液配制的含量为 0.1~5mg/ml 的盐酸多巴胺溶液中至少浸泡 6~72 小时，形成在多孔支架材料结构的表面沉积有聚多巴胺涂层的支架-聚多巴胺涂层的基底材料后，水清洗至清洗液 pH 值呈中性，优选为依次用水和无水乙醇清洗，更好的是用水和无水乙醇超声波清洗，干燥后待用；

第二步，对表面沉积有聚多巴胺涂层的待用基底材料表面和所述的功能成分表面，进行包括下述方式的叠氮基化或炔基化处理：

a. 炔基化处理：按下述方式之一进行炔基化处理

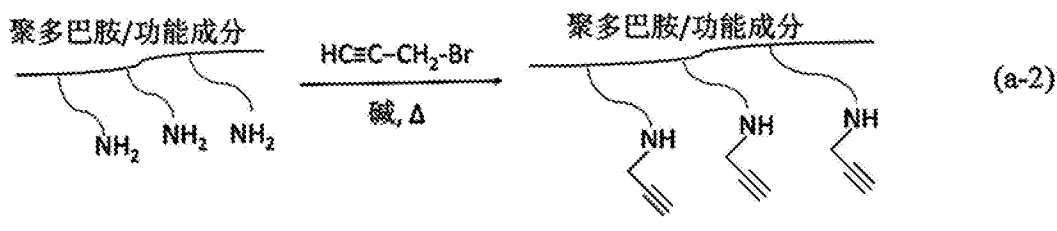
a-1：结构中的-OH 转换为炔基

- 15 按下述比例的方式，将 0.1~1cm³ 所述待用的基底材料，或者 0.8~2g 所述功能成分，分别置于各自的 30~80ml 极性值为 3.5-4.5 的有机溶剂中，优选的有机溶剂为四氢呋喃或乙酸乙酯，在惰性气体氛围中，加入 100~400mg 碱金属碱性成分搅拌溶解，优选的碱金属碱性成分包括 NaH、KOH、K₂CO₃ 或 KOCH₃、叔丁醇钾，分别加入与基底材料聚多巴胺涂层表面的羟基或与含有羟基的功能成分的表面羟基等摩尔量的炔丙基溴、炔丙基氯等卤代烷基端炔 X-R-C≡CH，于 20-30℃ 搅拌反应生成卤代物，至溶剂提取物无卤素反应，分别在基底材料聚多巴胺涂层表面或者功能成分表面生成具有炔基的结构（RC≡CH），酸中和并水洗除杂，其中的酸中和优选稀盐酸，所得到的炔基化基底材料待用，所得到的功能成分用与其炔基化后对应的截留分子量透析袋透析，除去杂质，干燥，其中优
- 25 选真空干燥或冷冻干燥，待用，处理过程如式（a-1）所示：



a-2: 结构中的 $-\text{NH}_2$ 转换为炔基

按 a-1 的比例方式, 将所述的基底材料或所述的功能成分分别置于各自的沸点 150°C 以上的极性溶剂中, 优选的溶剂为二甲基甲酰胺和二甲基亚砜, 在惰性气体氛围中, 在碱性成分存在下, 优选的碱性成分包括碳酸钾、三乙胺和氢化钠, 分别加入与基底材料聚多巴胺涂层表面的氨基或与含有氨基的功能成分的表面氨基等摩尔量的炔丙基溴、炔丙基氯等卤代烷基端炔 $\text{X-R-C}\equiv\text{CH}$, 于 $<100^\circ\text{C}$ 的加热条件下反应, 酸中和并水洗除杂, 其中的酸中和优选稀盐酸, 所得到的炔基化基底材料干燥后待用, 对所得到的炔基化功能成分用与其分子量对应的截留分子量透析袋透析除去杂质, 干燥, 其中优选真空干燥或冷冻干燥, 待用, 处理过程如式 (a-2) 所示:



a-3: 结构中的 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 都转换为炔基

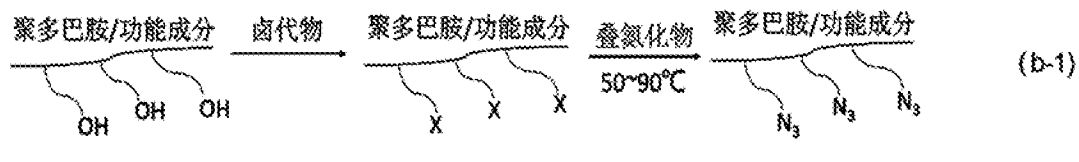
将结构中同时含有羟基和氨基的所述基底材料或所述的功能成分, 分别按上述 a-1 和 a-2 方式处理, 将其中的羟基和氨基都转换为炔基, 分别得到待用的炔基化基底材料, 或待用的炔基化功能成分;

b. 叠氮基化处理: 按下述方式之一进行叠氮基化处理

b-1: 结构中的 $-\text{OH}$ 转换为叠氮基

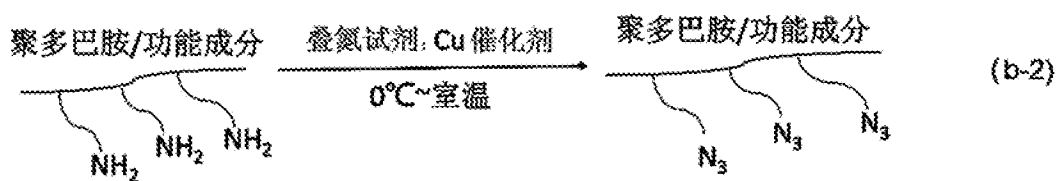
按下述比例的方式, 将 $0.1\sim 1\text{cm}^3$ 所述待用的基底材料, 或者 $0.8\sim 2\text{g}$ 所述的功能成分, 分别置于各自的 $30\sim 80\text{ml}$ 沸点 $\geq 150^\circ\text{C}$ 的极性有机溶剂中, 所述的溶剂优选二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺或二甲基亚砜, 加入 $0.5\sim 1.5\text{ml}$ 的三乙胺、甲基乙胺或二甲胺, 在保持为 $-2\sim 3^\circ\text{C}$ 的条件下滴加 2-溴异丁酰溴 (BIBB)、氯乙酸或 1,3-溴丙烷 $1\sim 3\text{ml}$ 并反应 $1\sim 4$ 个小时, 优选的滴加速度为 $20\sim 40$ 滴/min, 然后升至室温继续反应 $24\sim 72$ 小时, 分别得到溴化处理或氯化处理的基底材料或者功能成分; 得到的溴化或氯化处理的基底材料或者功能成分, 用甲醇或无水乙醇沉淀后, 基底材料清洗至清洗液 pH 值至 $6.5\sim 7.5$; 功能成分的沉淀物用二氯甲烷或丙酮溶解后再用甲醇或无水乙醇沉淀的方式进行纯化后, 清洗至清洗液 pH

6.5-7.5, 然后将清洗后的基底材料或者功能成分各自放入在 50~250ml 二甲基甲酰胺或二甲基亚砜中溶解有过饱和 NaN_3 或 $\text{Zn}(\text{N}_3)_2 \cdot 2\text{Py}$ 的溶液中, 于 $50^\circ\text{C} \sim 90^\circ\text{C}$ 反应 6~48 小时, 冷却至室温, 分别得到叠氮基化的基底材料或叠氮基化的功能成分, 对得到的叠氮基化基底材料经水洗除去杂质至洗液无卤素显色反应后, 干燥, 其中优选真空干燥或冷冻干燥, 待用; 对得到的叠氮基化功能成分用与其分子量对应的截留分子量透析袋透析后, 水洗除去杂质至清洗液无卤素显色反应, 干燥, 其中优选真空干燥或冷冻干燥, 待用, 处理过程如式 (b-1) 或式 (b-2) 所示:



10 b-2: 结构中的 $-\text{NH}_2$ 转换为叠氮基

按下述比例的方式, 将 $0.1 \sim 1\text{cm}^3$ 所述待用的基底材料, 或者 $0.8 \sim 2\text{g}$ 所述的功能成分, 分别置于各自的 $50 \sim 200\text{ml}$ 极性有机溶剂中, 所述的溶剂优选二甲基亚砜、二氯甲烷或水, 各自加入在 $50 \sim 150\text{ml}$ 二甲基亚砜或二甲基甲酰胺中溶解有三氟磺酸叠氮 ($\text{TfN}_3: \text{CF}_3\text{SON}_3$) 或对硝苯碘叠氮 ($p\text{-NO}_2\text{PhSO}_2\text{N}_3$) 的溶液, 以 $1 \sim 5\text{wt}\%$ CuSO_4 或 CuBr_2 为催化剂, 在 $0^\circ\text{C} \sim$ 室温下反应 24~72 小时, 分别得到叠氮基化的基底材料或叠氮基化的功能成分, 对得到的叠氮基化基底材料经水洗除去杂质至洗液无卤素显色反应后, 干燥, 其中优选真空干燥或冷冻干燥, 待用; 对得到的叠氮基化功能成分用与其分子量对应的截留分子量透析袋透析后, 水洗除去杂质至清洗液无卤素显色反应, 干燥, 其中优选真空干燥或冷冻干燥, 待用, 处理过程如式 (b-2) 所示:



b-3: 结构中的 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 都转换为叠氮基

将结构中同时含有羟基和氨基的所述基底材料或所述的功能成分, 分别按上述 b-1 和 b-2 方式处理, 将其中的羟基和氨基都转换为叠氮基, 分别得到待用的叠氮基化基底材料, 或待用的叠氮基化功能成分;

第三步，以点击化学方式在多孔支架材料结构表面经环加成反应形成炔基-叠氮基对应接枝的功能成分结构层

在惰性气体氛围中，将待用的已叠氮基化的基底材料，浸入含有 0.5~3mmol 浓度待用的已炔基化的功能成分的 50~250ml 沸点 $\geq 150^{\circ}\text{C}$ 的极性有机溶剂中，或是将待用的已炔基化处理的基底材料浸入含有 0.5~3mmol 浓度待用的已叠氮化的功能成分的 50~250 ml 的沸点 $\geq 150^{\circ}\text{C}$ 的极性有机溶剂中，于 -2°C ~ 3°C 加入催化量的铜催化液后，在 20 - 100°C 反应 1-24 小时，然后用氨水清洗除去铜离子，得到在所述基底材料的聚多巴胺涂层表面以叠氮基化-炔基方式经环加成反应定向接枝有功能成分修饰涂层结构的多孔支架。

9. 如权利要求 8 所述的制备方法，其特征是在所述的操作（1）中，将表面清洁处理并干燥后的多孔支架材料在所述的盐酸多巴胺溶液中按所述浸泡沉积方式进行 1-10 次，优选浸泡沉积 3-6 次，得到具有所需厚度聚多巴胺涂层的支架-聚多巴胺涂层基底材料。

10. 如权利要求 8 所述的制备方法，其特征是在操作（3）中所述的沸点 $\geq 150^{\circ}\text{C}$ 的极性有机溶剂为 N,N-二甲基甲酰胺或二甲基亚砷。

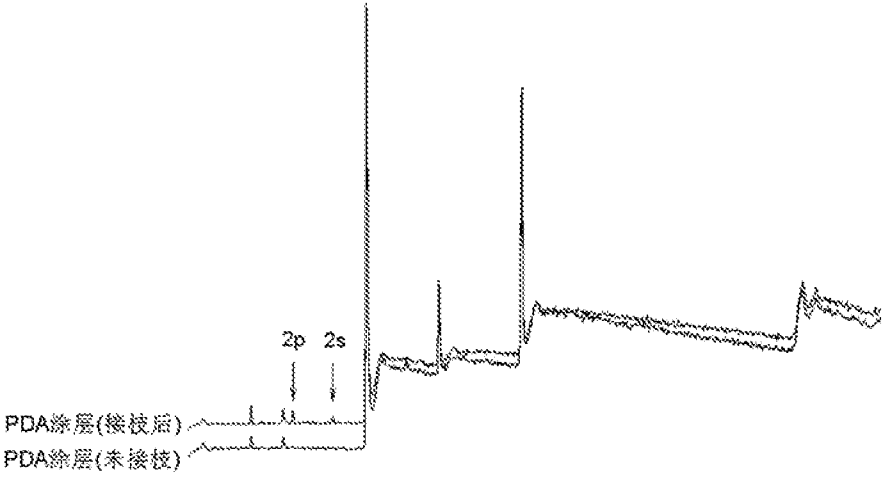


图 1

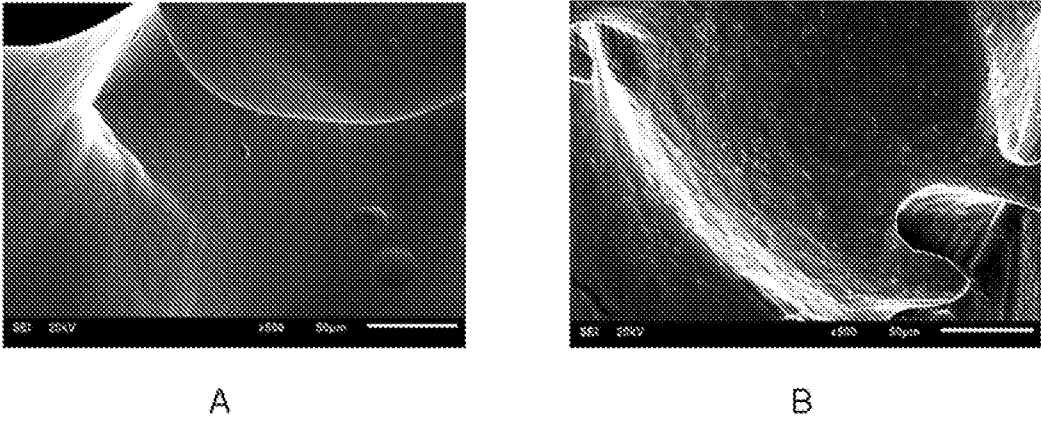


图 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2017/116211

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61L 27/34 (2006.01) i; A61L 27/18 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CNTXT, DWPI, ISI Web of Knowledge, CJFD: 四川大学, 李吉东, 李玉宝, 聚多巴胺, 特比奈酚, 叠氮, 炔雌醇, 玻尿酸, 接枝, 硫酸软骨素, 胡釜, 邹琴, 多巴胺, 多孔支架, 肝素, 炔基, 支架, 陈杰, 成骨蛋白, 叠氮基, 透明质酸, 左炔, 厄洛替尼, 多孔, 胶原蛋白, BIOMEDICAL MATERIAL, POLYDOPAMINE, GRAFT+, POROUS, SCAFFOLD, HYDROXYL, AMINO, AZIDIZ+, ALKYLAT+, NITROGEN

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 107335093 A (SICHUAN UNIVERSITY) 10 November 2017 (10.11.2017), claims 1-10	1-10
X	CN 102813963 A (GAO, Changyou) 12 December 2012 (12.12.2012), description, paragraphs [0005]-[0010]	1, 3-7
A	CN 104356345 A (SICHUAN UNIVERSITY) 18 February 2015 (18.02.2015), claims 1-10	1-10
A	CN 106983912 A (GUANGDONG PROVINCIAL BIOENGINEERING INSTITUTE; GUANGZHOU SUGARCANE INDUSTRY RESEARCH INSTITUTE) 28 July 2017 (28.07.2017), claims 1-10	1-10
A	CN 1453354 A (ZHEJIANG UNIVERSITY) 05 November 2003 (05.11.2003), claims 1-4	1-10
A	WO 2009047346 A1 (INSERM et al.) 16 April 2009 (16.04.2009), claims 1-19	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“&” document member of the same patent family
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 17 April 2018	Date of mailing of the international search report 26 April 2018
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer WANG, Shan Telephone No. (86-10) 53962802

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/116211

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 107335093 A	10 November 2017	None	
CN 102813963 A	12 December 2012	None	
CN 104356345 A	18 February 2015	CN 104356345 B	12 April 2017
CN 106983912 A	28 July 2017	None	
CN 1453354 A	05 November 2003	CN 1216984 C	31 August 2005
WO 2009047346 A1	16 April 2009	US 2017080123 A1	23 March 2017
		ES 2408554 T3	21 June 2013
		KR 101474852 B1	23 December 2014
		EP 2203194 B1	10 April 2013
		US 2010221303 A1	02 September 2010
		CA 2701858 A1	16 April 2009
		JP 6005685 B2	12 October 2016
		KR 20100080924 A	13 July 2010
		SG 185279 A1	29 November 2012
		CN 101848738 A	29 September 2010
		JP 2014140381 A	07 August 2014
		CN 104725660 A	24 June 2015
		CA 2701858 C	24 May 2016
		HK 1144182 A1	06 December 2013
		US 9522218 B2	20 December 2016
		EP 2203194 A1	07 July 2010
		JP 2011500118 A	06 January 2011
		JP 5579609 B2	27 August 2014

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2017/116211

A. 主题的分类

A61L 27/34(2006.01)i; A61L 27/18(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61L

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS, CNTXT, DWPI, ISI Web of Knowledge, 中国期刊网全文数据库: 四川大学, 李吉东, 李玉宝, 聚多巴胺, 特比奈酚, 叠氮, 炔雌醇, 玻尿酸, 接枝, 硫酸软骨素, 胡釜, 邹琴, 多巴胺, 多孔支架, 肝素, 炔基, 支架, 陈杰, 成骨蛋白, 叠氮基, 透明质酸, 左突, 厄洛替尼, 多孔, 胶原蛋白, BIOMEDICAL MATERIAL, POLYDOPAMINE, GRAFT+, POROUS, SCAFFOLD, HYDROXYL, AMINO, AZIDIZ+, ALKYLAT+, NITROGEN

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 107335093 A (四川大学) 2017年 11月 10日 (2017 - 11 - 10) 权利要求1-10	1-10
X	CN 102813963 A (高长有) 2012年 12月 12日 (2012 - 12 - 12) 说明书第5-10段	1、3-7
A	CN 104356345 A (四川大学) 2015年 2月 18日 (2015 - 02 - 18) 权利要求1-10	1-10
A	CN 106983912 A (广东省生物工程研究所广州甘蔗糖业研究所) 2017年 7月 28日 (2017 - 07 - 28) 权利要求1-10	1-10
A	CN 1453354 A (浙江大学) 2003年 11月 5日 (2003 - 11 - 05) 权利要求1-4	1-10
A	WO 2009047346 A1 (INSERM等) 2009年 4月 16日 (2009 - 04 - 16) 权利要求1-19	1-10

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2018年 4月 17日

国际检索报告邮寄日期

2018年 4月 26日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

受权官员

王姗

电话号码 86-(10)-53962802

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/116211

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	107335093	A	2017年 11月 10日	无			
CN	102813963	A	2012年 12月 12日	无			
CN	104356345	A	2015年 2月 18日	CN	104356345	B	2017年 4月 12日
CN	106983912	A	2017年 7月 28日	无			
CN	1453354	A	2003年 11月 5日	CN	1216984	C	2005年 8月 31日
WO	2009047346	A1	2009年 4月 16日	US	2017080123	A1	2017年 3月 23日
				ES	2408554	T3	2013年 6月 21日
				KR	101474852	B1	2014年 12月 23日
				EP	2203194	B1	2013年 4月 10日
				US	2010221303	A1	2010年 9月 2日
				CA	2701858	A1	2009年 4月 16日
				JP	6005685	B2	2016年 10月 12日
				KR	20100080924	A	2010年 7月 13日
				SG	185279	A1	2012年 11月 29日
				CN	101848738	A	2010年 9月 29日
				JP	2014140381	A	2014年 8月 7日
				CN	104725660	A	2015年 6月 24日
				CA	2701858	C	2016年 5月 24日
				HK	1144182	A1	2013年 12月 6日
				US	9522218	B2	2016年 12月 20日
				EP	2203194	A1	2010年 7月 7日
				JP	2011500118	A	2011年 1月 6日
				JP	5579609	B2	2014年 8月 27日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2015年1月)