



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105411725 B

(45)授权公告日 2018.04.20

(21)申请号 201510932435.4

A61L 27/54(2006.01)

(22)申请日 2015.12.14

A61L 27/56(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105411725 A

(43)申请公布日 2016.03.23

(73)专利权人 宋占涛

地址 116000 辽宁省大连市金州新区东北七街10号5-10

(72)发明人 宋占涛

(74)专利代理机构 大连东方专利代理有限责任公司 21212

代理人 赵淑梅 李馨

(56)对比文件

CN 103830775 A,2014.06.04,
EP 0647439 A2,1995.04.12,
CN 1290182 A,2001.04.04,
WO 2014/089711 A1,2014.06.19,
CN 101297980 A,2008.11.05,
CN 103800099 A,2014.05.21,
CN 101141987 A,2008.03.12,
EP 0719529 A1,1996.07.03,
CN 102274091 A,2011.12.14,
CN 204600799 U,2015.09.02,

审查员 万励之

(51)Int.Cl.

A61F 2/28(2006.01)

A61L 27/42(2006.01)

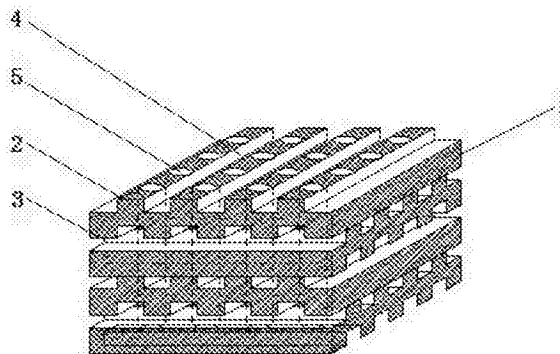
权利要求书2页 说明书8页 附图2页

(54)发明名称

一种具有多维通道结构的骨修复材料制备方法

(57)摘要

本发明公开一种具有多维通道结构的骨修复材料制备方法及其应用,所述骨修复材料由至少两个层状的基体结构层叠构成;所述基体结构具有通孔和凹槽,经配制基体材料、预制基体、制备填充物、填充、层叠、定型、热加工、热处理制得。本发明制备的骨修复材料,由基体结构的通孔和凹槽构建而成的立体网络通道,其中填充了胶原纤维,有利于细胞粘附生长以及血管和神经的长入,也便于营养物质的传递和细胞代谢物的排除,同时会使细胞在材料内部均匀分布有利于支架内部均匀一致的组织形成;该结构材料能与新生骨组织之间形成牢固的生物嵌合,也能在降解过程中维持良好的结构稳定性。



1. 一种具有多维通道结构的骨修复材料制备方法,其特征在于:

所述骨修复材料由至少两个层状的基体结构层叠构成;

所述基体结构具有通孔和凹槽;

步骤一:配制基体材料

将矿化胶原与陶瓷粉混合,搅拌,调节pH值、电导率,离心取沉淀物;加入金黄色葡萄球菌发酵液滤液浓缩液和胶原蛋白,搅拌,调节调节pH值、电导率,真空脱气;调节电导率,得基体材料;

步骤二:预制基体

将步骤一制备的基体材料沿同一方向压入模具中,然后在30~40℃、相对湿度为90%以上的条件下,陈化8~12h,得预制基体;

步骤三:制备填充物

将胶原纤维与金黄色葡萄球菌液混合,搅拌,真空脱气,得填充物;

步骤四:填充、层叠

向步骤二制备的预制基体的上下表面的凹槽、通孔中填充步骤三制备的填充物,然后层叠基体结构材料至少两层以上,得层叠体;

步骤五:定型

将步骤四制备的层叠体移入液氮中冻结成型,真空冷冻干燥,冷等静压缩;

步骤六:热加工

氮气保护条件下105~125℃热处理8~12h,制得样品;

所述基体结构(1)的一个表面设有若干列凸台I(2),另一表面设有若干列凸台II(3);所述凸台I(2)与凸台II(3)相间排列;相邻的凸台I(2)之间、相邻的凸台II(3)之间构成凹槽(4);垂直于所述凸台I(2)表面设有若干个通孔(5);所述材料由至少两层所述的基体结构(1)层叠构成;相邻两层基体结构(1)的凹槽(4)取向基本垂直;逐层基体结构(1)的通孔(5)相应地连通;所述通孔(5)的孔壁临近凹槽(4)处具有裂隙(6),所述通孔(5)经裂隙(6)与相邻的凹槽(4)连通,通孔的取向与所述基体结构的夹角为75~90度。

2. 根据权利要求1所述的具有多维通道结构的骨修复材料的制备方法,其特征在于:所述步骤一中,矿化胶原、胶原蛋白、陶瓷粉的重量比为10~13:1.5~4.5:1~3;所述金黄色葡萄球菌发酵液滤液的加入量以基体结构中金黄色葡萄球菌凝固酶活性1600~3200μg/g为计。

3. 根据权利要求1所述的具有多维通道结构的骨修复材料的制备方法,其特征在于:所述步骤一中,离心前,调节pH值7.2~8.0;真空脱气前,调节pH值为7.2~7.4;调节pH值采用磷酸、氢氧化钠、碳酸钠或碳酸氢钠;

所述步骤一中,离心前,调节电导率不大于1.5ms/cm;真空脱气前,调节电导率不大于3.0ms/cm;脱气之后电导率调节到5.0~8.0ms/cm,调节电导率采用磷酸、氢氧化钠或碳酸钠。

4. 根据权利要求1所述的具有多维通道结构的骨修复材料的制备方法,其特征在于:所述步骤三中,胶原纤维与金黄色葡萄球菌液的重量比为5.0~15:0.12~0.4。

5. 根据权利要求1所述的具有多维通道结构的骨修复材料的制备方法,其特征在于:所述步骤五中,采用200~400MPa冷等静压缩。

6. 权利要求1-5的任一项所述的制备方法所得具有多维通道结构的骨修复材料,其特征在于:所述骨修复材料的三点弯曲强度大于40.0Mpa,压缩强度大于51.8Mpa。

7. 根据权利要求1所述的具有多维通道结构的骨修复材料的制备方法,其特征在于:所述步骤二制备的预制基体的厚度为8~12mm;凹槽宽度为2~4mm,凹槽深度为2~4mm;凸台I (2)与凸台II (3)宽度为2~4mm;通孔直径为3~5mm,每列凸台I中通孔间距为2~4mm。

一种具有多维通道结构的骨修复材料制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物医学材料领域,涉及临床应用的骨修复材料,特别涉及具有强度增强的具有多维多孔、且具有缓释治疗作用的骨修复材料的制备方法及其应用。

背景技术

[0002] 骨缺损在临床中是很常见的疾病,但骨缺损修复仍然是骨科临床中面临的难题,尽管多年来科技工作者在临床骨修复材料的研究制备中做了大量的工作,取得很大进步,但应然存在诸多问题。

[0003] 自然骨的骨质按照骨板的排列形式和空间结构的疏密不同分为密质骨和松质骨,密质骨致密坚硬抗压抗扭曲能力强,分布于骨的表面,密质骨具有有序的各向异性结构,主要满足其机械性能需要。骨组织主要是羟基磷灰石沿着胶原纤维长轴矿化而成的具有多孔结构的复合材料,其结构和力学性能表现各向异性。自然骨正是这种各向异性的取向结构,因而具有最佳的力学优势和生理学功能优势。

[0004] 在骨组织修复中,组织细胞的长入,新血管的生成,营养和代谢物的交换以及支架材料的降解都要求修复材料具有高度的孔隙率和连通率。骨修复材料的多孔结构体系是新骨长入和创伤修复必备条件,没有这些多孔结构,所植入的材料不能完成细胞的爬行和成骨替代过程。孔隙率太低,表面积太小,不利于组织的长入,也不利于支架在体内的降解。因此在保证支架结构的稳定性和力学前提下,修复材料应具有高的孔隙率和连通率。孔的大小也会影响成骨的活动,过小的孔径,没有足够的空间供细胞的生长,影响细胞分泌基质和营养物质的渗入。研究表明15~50 μm 的孔径可以诱导纤维管组织的长入,50~150 μm 的孔径可刺激骨样组织的生成,而150~500 μm 的孔径可以直接诱发矿化骨的生成。太大的孔径会影响材料的力学性能。孔隙不相通会使新骨之间不能相互连接,而缺乏连续性和整合性。同时会使细胞在材料内部均匀分布有利于支架内部均匀一致的组织形成。

[0005] 专利CN1325734A、CN101297980A、CN1325734A、CN1647826A、CN103830775A 虽然也以胶原和羟基磷灰石为主要材料制备的骨修复材料,但也加入了部分有机高分子甚至有毒性的有机溶剂。这些材料存在的普遍的缺点是:(1) 胶原纤维材料或矿化胶原材料是无规律和取向性不规则各向,材料分子之间结合力弱,没有足够的机械强度,降解代谢快,不能满足成骨需要;(2) 材料的孔径较小,连通率低,普遍存在的问题是新生骨组织只在支架的外缘形成,使细胞很难渗透到支架内部,妨碍了支架内部体液的交换,并最终导致支架材料内部细胞的凋亡,会使新骨之间不能相互连接,而缺乏连续性和整合性,影响大缺损区域的重建。(3) 存在有毒物质残留,不利于临床应用。

[0006] 本发明骨修复材料由多层材料叠加而成,而每层基体材料都具有一定的取向性,该取向性材料的多孔三维结构能很好的实现骨缺损部位与正常骨组织间的力学传递。在植入骨缺损部位初期,骨修复材料能为缺损部位提供一定的力学支撑。这种网格结构既能保证孔隙贯通性,有利于细胞粘附生长以及血管和神经的长入,也便于营养物质的传递和细胞代谢物的排除。

[0007] 当支架开始降解时,该结构能与新生骨组织之间形成牢固的生物嵌合,也能在降解过程中维持良好的结构稳定性。随着骨细胞以及血管和神经的长入,新骨逐渐恢复自身的生物力学性能,同时材料也逐渐降解,并且降解产物无毒无副作用,并且随着机体的自然生理代谢而排出体外,已完成骨组织的修复和功能重建。

发明内容

[0008] 为解决人工骨修复材料的力学性能低,孔径小及孔通透率差的缺陷,本发明提供一种具有多维通道结构的骨修复材料制备方法,采用以下技术方案:

[0009] 所述骨修复材料由至少两个层状的基体结构层叠构成;优选垂直层叠;

[0010] 所述基体结构具有通孔和凹槽;

[0011] 步骤一:配制基体材料

[0012] 将矿化胶原与陶瓷粉混合,搅拌,调节pH值、电导率,离心取沉淀物;加入金黄色葡萄球菌发酵液滤液浓缩液和胶原蛋白,搅拌,调节pH值、电导率,真空脱气;调节电导率,得基体材料;

[0013] 步骤二:预制基体

[0014] 将步骤一制备的基体材料沿同一方向压入模具中,然后在30~40℃、相对湿度为90%以上的条件下,陈化8~12h,得预制基体;

[0015] 步骤三:制备填充物

[0016] 将胶原纤维与金黄色葡萄球菌液混合,搅拌,真空脱气,得填充物;

[0017] 步骤四:填充、层叠

[0018] 向步骤二制备的预制基体的上下表面的凹槽、通孔中填充步骤三制备的填充物,然后层叠基体结构材料至少两层以上,得层叠体;优选层叠四层以上。

[0019] 步骤五:定型

[0020] 将步骤四制备的层叠体移入液氮中冻结成型,真空冷冻干燥,冷等静压缩;

[0021] 步骤六:热加工

[0022] 氮气保护条件下105~125℃热处理8~12h,制得样品。

[0023] 本发明所述搅拌采用同向搅拌,一致为顺时针搅拌或一致为逆时针搅拌。

[0024] 作为优选的技术方案,所述步骤一中,矿化胶原、胶原蛋白、陶瓷粉的重量比为10~13:1.5~4.5:1~3;所述金黄色葡萄球菌发酵液滤液的加入量以基体结构中金黄色葡萄球菌发酵液凝固酶活性1600~3200 $\mu\text{g}/\text{g}$ 为计。

[0025] 作为优选的技术方案,所述步骤一中,离心前,调节pH值7.2~8.0;真空脱气前,调节pH值为7.2~7.4;调节pH值采用磷酸、氢氧化钠、碳酸钠或碳酸氢钠;所述步骤一中,离心前,调节电导率不大于1.5ms/cm;真空脱气前,调节电导率不大于3.0ms/cm;脱气之后电导率调节到5.0~8.0ms/cm,调节电导率采用磷酸、氢氧化钠或碳酸钠。

[0026] 作为优选的技术方案,所述步骤三中,胶原纤维与金黄色葡萄球菌液发酵滤液凝固酶活性的重量比为5.0~15:0.12~0.4。

[0027] 作为优选的技术方案,所述步骤五中,采用200~400MPa冷等静压缩。

[0028] 本发明还提供上述制备方法所得具有多维通道结构的骨修复材料,所述基体结构的一个表面设有若干列凸台I,另一表面设有若干列凸台II;所述凸台I与凸台II相间排列;

相邻的凸台 I 之间、相邻的凸台 II 之间构成凹槽；垂直于所述凸台 I 表面设有若干个通孔；所述材料由至少两层所述的基体结构层叠构成；相邻两层基体结构的凹槽取向基本垂直；逐层基体结构的通孔相应地连通，便于形成纵向通道；所述通孔的孔壁临近凹槽处具有裂隙，所述通孔经裂隙与相邻的凹槽连通，通孔的取向与所述基体结构的夹角为 75~90 度。本发明所述通道包括主通道和非主通道：主通道由凹槽、通孔构成；非主通道是指除了凹槽、通孔以外的基体结构所具有的孔隙所构成的通道。

[0029] 本发明提供的上述制备方法所得具有多维通道结构的骨修复材料的三点弯曲强度大于 40.0Mpa，压缩强度大于 51.8Mpa。

[0030] 作为优选的技术方案，所述基体结构的厚度为 600~1500 μm ；所述通孔的直径为 180~590 μm ；所述凹槽的宽度为 180~590 μm ，深度为 180~590 μm 。

[0031] 作为优选的技术方案，所述每列凸台 I 中，通孔的间距为 180~590 μm 。

[0032] 作为优选的技术方案，所述步骤二制备的预制基体的厚度为 8~12mm；凹槽宽度为 2~4mm，凹槽深度为 2~4mm；凸台 I 与凸台 II 宽度为 2~4mm；通孔直径为 3~5mm，每列凸台 I 中通孔间距为 2~4mm。

[0033] 作为优选的技术方案，所述陶瓷粉包括以下重量比的二氧化硅 1~5，氧化镁 1~5，氟化钙 1~5。

[0034] 作为优选的技术方案，所述步骤四中，层叠时使层间通孔相通，通孔的取向与所述基体结构的夹角为 75~90 度。

[0035] 作为优选的技术方案，所述步骤五中采用 200~400MPa 冷等静压缩。

[0036] 本发明制备的骨修复材料成品长宽厚尺寸可以根据临床需要进行选择，优选长宽不超过 5.0cm，厚度不超过 1.0cm，或者进行材料外形的处理，也可以进行碎块化处理，以使用于细微孔隙的填充。

[0037] 本发明提供的上述所得具有多维通道结构的骨修复材料的应用，用于骨折修复、骨缺损修复或填充、骨矫形、植骨融合或人工骨关节置换或翻修中骨缺损。

[0038] 作为优选的技术方案，所述骨折包括闭合性或开放性骨折；所述骨缺损包括先天性骨异常、肿瘤病变切除后骨缺损；所述植骨融合包括脊柱椎体间、椎板间趾骨融合；所述骨缺损充填包括空腔科的骨缺损充填。

[0039] 本发明的优点：

[0040] 本发明提供的骨修复材料，由基体结构的通孔和凹槽构建而成的立体网络通道，其中填充了胶原纤维，有利于细胞粘附生长以及血管和神经的长入，也便于营养物质的传递和细胞代谢物的排除，同时会使细胞在材料内部均匀分布有利于支架内部均匀一致的组织形成；该结构材料能与新生骨组织之间形成牢固的生物嵌合，也能在降解过程中维持良好的结构稳定性；采用此方法制备的骨修复材料力学强度高，能很好的实现骨缺损部位与正常骨组织间的力学传递。在植入骨缺损部位初期，骨修复材料能为缺损部位提供一定的力学支撑；骨修复材料降解时间长，并且与新生骨组织的生成一致，利于破损骨组织修复。

[0041] 本发明采用将样品进行高达 200~400MPa 冷等静压处理，基体结构经过压缩之后，分子之间的距离变小，范德华力、氢键等分子之间的作用力更强，特别经过热脱氢交联后材料的强度更大；材料中胶原纤维体的孔径为 130~450 μm ；微孔占有率为 60~90%。实现了真正意义的立体孔连通结构，并且这种孔径结构适合细胞的长入，会使细胞在材料内部均

匀分布有利于支架内部均匀一致的组织形成。

[0042] 材料中胶原蛋白和羟基磷灰石的成分比例与天然骨基本一致。基体结构使用的陶瓷粉为无机多孔材料,不但对细胞的成长有诱导作用,还对提高骨修复材料的机械强度有积极作用,避免了材料过快降解。

[0043] 基体和填充物中都含有促进骨折愈合作用的金黄色葡萄球菌发酵液滤液。金黄色葡萄球菌发酵液滤液的主要成分是蛋白质、多肽、十八种氨基酸、游离凝固酶。主要药理作用是促进骨折愈合,治疗骨质疏松症。在临床应用中主要在病变部位进行肌肉注射,效果很好,但副作用是引起局部肿胀感、疼痛、发热等现象,让病人产生排斥。本发明创造性的把金黄色葡萄球菌发酵液滤液加入到骨修复材料中,保持金黄色葡萄球菌发酵液滤液在材料中持续释放,发挥它的独特药理作用,随着组织液的渗入和材料的降解,先期胶原纤维中金黄色葡萄球菌发酵液滤液的药理成分先快速进行释放,随后基体材料中的药理成分随着基体材料的分解进行后续的持续释放,发挥长效作用。

附图说明

[0044] 本发明附图4幅,

[0045] 图1为本发明骨修复材料结构示意图;

[0046] 图2为实施例4制备样品的扫描电镜图;

[0047] 图3骨修复材料非主通道部分扫描电子显微镜图像,从扫描图中可见骨修复材料的结构为多维立体,非主通道部分孔径为30-180 μm ,微孔占有率为85%;

[0048] 图4骨修复材料主通道中孔径分布,可见主通道中胶原纤维的孔径主要为 130-450 μm ;

[0049] 图中,1基体结构;2凸台I;3凸台II;4凹槽;5通孔;6裂隙。

具体实施方式

[0050] 下述非限制性实施例可以使本领域的普通技术人员更全面地理解本发明,但不以任何方式限制本发明。

[0051] 本发明原料采用本领域技术通用材料即可实现发明效果,以下为实施例为优选的原料预处理方案:

[0052] 1.矿化胶原材料:制备方法参见Masanori Kikuchi,Soichiro Itoh,ect.Self-organization mechanism in a Bone-Like Hydroxyapatite/Collagen Nanocomposite synthesized in vitro and Its Biological Reaction in vivo.Biomaterials 22(2001) 1705-1711。其中Ca:P=1~2:1,羟基磷灰石:胶原蛋白=4:0.8~1.2,羟基磷灰石的c轴和胶原纤维长度平行,电导率小于20us/cm,含水量80%(g/g)。

[0053] 2.陶瓷粉:将按重量比二氧化硅1~5,氧化镁1~5,氟化钙1~5与聚乳酸混合,成型,200 $^{\circ}\text{C}$ 烘干,然后在1100~1300 $^{\circ}\text{C}$ 煅烧5h,冷却后粉碎成粒径为80~300 μm ,孔径为60~210 μm ,孔隙率大于80%,部分孔是相通的多孔结构体。

[0054] 3.金黄色葡萄球菌发酵液滤液:市售(购自于长春高士达生化药业公司)的金黄色葡萄球菌发酵液滤液采用截留分子量为20000道尔顿的超滤膜超滤,膜上部分为含凝固酶浓缩液,再经-0.098MPa 40 $^{\circ}\text{C}$ 低温真空浓缩制备金黄色葡萄球菌发酵液滤液凝固酶活性不

小于3200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的浓缩液。

[0055] 4. 胶原纤维:

[0056] a. 将纯度为99.5%以上的牛跟腱和/或马跟腱的I胶原溶于浓度为20mM醋酸或磷酸溶液中,胶原浓度为2.0g/L,向胶原溶液中滴加碱液,浓度为70mM,并保持10mM Mg^{2+} 、20mM K^+ 、20mM HPO_4^{3+} 离子,pH值7.0。获得胶原纤维,陈化4h,然后在4 $^{\circ}\text{C}$ 6000rpm离心30min,收集胶原纤维沉淀,含水量85% (g/g)。

[0057] 实施例1-4用于压制基体结构的模具依照以下结构加工:

[0058] 基体具有层状的基体结构1;所述基体结构1的一个表面设有若干列凸台I2,另一表面设有若干列凸台II3;所述凸台I2与凸台II3相间排列;相邻的凸台I2之间、相邻的凸台II3之间构成凹槽4;垂直于所述凸台I2表面设有若干个通孔5。材料由至少两层所述的基体结构1层叠构成;相邻两层基体结构1的凹槽4取向基本垂直;逐层基体结构1的通孔5相应地连通。通孔5的孔壁临近凹槽4处具有裂隙6,所述通孔5经裂隙6与相邻的凹槽4连通。

[0059] 实施例1

[0060] 骨修复材料制备

[0061] 步骤一配制基体材料

[0062] 称取50g矿化胶原材料(含水量为80%),向其中加入陶瓷粉2g,以100rpm的转速顺时针搅拌均匀,用1.0M磷酸液和1.0M氢氧化钠碱液调节pH值到7.0,然后用0.5M碳酸钠溶液调节pH值到7.2,电导率为1.5ms/cm。静止30min,10000rpm 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心30min去掉上清液。向沉淀中加入金黄色葡萄球菌发酵液滤液,使凝固酶活性为1600 $\mu\text{g}/\text{g}$,加入37.5g胶原蛋白材料(胶原蛋白的纯度为40mg/g),继续同一方向均匀搅拌,并调节沉淀使复合矿化胶原基体的pH值为7.2,电导率为3.0ms/cm。在大于 $1.01 \times 10^2 \text{Pa}$ 真空条件下脱气,再继续用1.0M磷酸液和1.0M氢氧化钠碱液调节使电导率为7.0ms/cm。

[0063] 步骤二预制基体(制备压缩前的层状的基体结构)

[0064] 将制备的基体材料向同一顺应方向压入模具中,使预制基体的厚度为8mm;,凹槽深度为2mm,凹槽宽度为2mm;凸台I与凸台II均宽2mm;通孔孔径3mm,裂隙宽度1mm;每列凸台I中通孔间距为2mm。然后在30 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度为90%以上的条件下陈化12h,得预制基体。

[0065] 步骤三制备填充物

[0066] 称取胶原纤维加入水稀释成15mg/g,向其中加入金黄色葡萄球菌发酵液滤液,使金黄色葡萄球菌发酵液滤液凝固活性为400 $\mu\text{g}/\text{g}$,顺序搅拌均匀,在 $1.01 \times 10^3 \text{Pa}$ 压力下真空脱气。

[0067] 步骤四填充、层叠

[0068] 向步骤二制备的预制基体上下表面的凹槽和通孔中填充步骤三制备的填充物;填充时从一侧向另一侧水平铺入或充入;然后进行立体层叠预制基体,基体层数为4层,层叠时使层间通孔相通,通孔和基体材料平面形成角度为75~90度,得层叠体。

[0069] 步骤五定型

[0070] 将步骤四制备的层叠体按照垂直于液面方向缓慢移入液氮中冻结成型,然后真空冷冻干燥,当产品水分含量为10~15% (g/g)时,进行200MPa的冷等静压缩,然后再继续真空干燥至水分含量为5%以下。

[0071] 压缩后,骨修复材料厚度为4000 μm ;非主通道部分孔径为30~180 μm ,主通道部分

孔径为130~450 μm 。

[0072] 步骤六热加工

[0073] 将材料进行高纯氮气保护条件下110 $^{\circ}\text{C}$ 交联10h,制得产品。

[0074] 实施例2

[0075] 步骤一 配制基体材料

[0076] 称取65g矿化胶原材料(含水量为80%),向其中加入陶瓷粉2g,以100rpm的转速顺时针搅拌均匀,然后用1.0M磷酸液和1.0M氢氧化钠碱液调节pH值到7.0,然后用0.5M碳酸钠溶液调节pH值到7.2,电导率为1.5ms/cm。静止30min,10000rpm 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心30min去掉上清液。向沉淀中加入金黄色葡萄球菌发酵液滤液,使凝固酶活性为3200 $\mu\text{g/g}$,加入75g胶原蛋白材料(胶原蛋白的纯度为40mg/g),继续同一方向均匀搅拌,并调节沉淀使复合矿化胶原基体的pH值为7.2,电导率为3.0ms/cm。在大于 $1.01 \times 10^2 \text{Pa}$ 真空条件下脱气,再继续用1.0M磷酸液和1.0M氢氧化钠碱液调节使电导率为7.0ms/cm。

[0077] 步骤二 预制基体(制备压缩前的层状的基体结构)

[0078] 将制备基体材料向同一顺应方向压入模具中,使预制基体的厚度为9mm;,凹槽深度为4mm,凹槽宽度为3mm;凸台I与凸台II均宽3mm;通孔孔径4mm,裂隙宽度1mm;每列凸台I中通孔间距为3mm。然后在30 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度为90%以上的条件下陈化12h,得预制基体。

[0079] 步骤三 制备填充物

[0080] 称取胶原纤维加入水稀释成10mg/g,向其中加入金黄色葡萄球菌发酵液滤液,使金黄色葡萄球菌发酵液滤液凝固活性为400 $\mu\text{g/ml}$,顺序搅拌均匀,在 $1.01 \times 10^3 \text{Pa}$ 压力下真空脱气。

[0081] 步骤四 填充、层叠

[0082] 向步骤二制备的预制基体的上下表面、凹槽和通孔用填充物从一侧向另一侧水平铺入或充入;然后进行立体层叠预制基体,基体材料层数为4层,层叠时使层间通孔相通,通孔和基体材料平面形成角度为75~90度,得层叠体。

[0083] 步骤五 定型

[0084] 将步骤四制备的层叠体按照垂直于液面方向缓慢移入液氮中冻结成型,然后真空冷冻干燥,当产品水分含量为10~15%(g/g)时,进行200MPa的冷等静压缩,然后再继续真空干燥至水分含量为5%以下。

[0085] 压缩后,骨修复材料厚度为4000 μm ;非主通道部分孔径为30~180 μm ,主通道部分孔径为130~450 μm 。

[0086] 步骤六 热加工

[0087] 将材料进行高纯氮气保护条件下105 $^{\circ}\text{C}$ 交联12h,制得产品。

[0088] 实施例3

[0089] 步骤一 配制基体材料

[0090] 称取50g矿化胶原材料(含水量为80%),向其中加入陶瓷粉1g,以100rpm的转速顺时针搅拌均匀,然后用1.0M磷酸液和1.0M氢氧化钠碱液调节pH值到7.0,然后用0.5M碳酸钠溶液调节pH值到7.2,电导率为1.5ms/cm。静止30min,10000rpm 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心30min去掉上清液。向沉淀中加入金黄色葡萄球菌发酵液滤液,使凝固酶活性为1600 $\mu\text{g/g}$,加入75g胶原蛋白材料(胶原蛋白的纯度为40mg/g),继续同一方向均匀搅拌,并调节沉淀使复合矿化胶原基

体的pH值为7.2,电导率为3.0ms/cm。在大于 1.01×10^2 Pa真空条件下脱气,再继续用1.0M磷酸液和1.0M氢氧化钠碱液调节使电导率为8.0ms/cm。

[0091] 步骤二 预制基体(制备压缩前的层状的基体结构)

[0092] 将制备的基体材料向同一顺应方向压入模具中,使预制基体厚度为8mm;,凹槽深度为2.5mm,凹槽宽度为2.5mm;凸台I与凸台II均宽2.5mm;通孔孔径3.5mm,裂隙宽度1mm;每列凸台I中通孔间距为2.5mm;。然后在30℃,相对湿度为90%以上的条件下陈化12h,得预制基体。

[0093] 步骤三 制备填充物

[0094] 称取胶原纤维加入水稀释成8mg/g,向其中加入金黄色葡萄球菌发酵液滤液,使金黄色葡萄球菌发酵液滤液凝固活性为400ug/g,顺序搅拌均匀,在 1.01×10^3 Pa压力下真空脱气。

[0095] 步骤四 填充、层叠

[0096] 向步骤二制备的预制基体的上下表面的凹槽和通孔用填充物从一侧向另一侧水平铺入或充入;然后进行立体层叠预制基体;基体材料层数为4层,层叠时使层间通孔相通,通孔和基体材料平面形成角度为75~90度,得层叠体。

[0097] 步骤五 定型

[0098] 将步骤四制备的层叠体按照垂直于液面方向缓慢移入液氮中冻结成型,然后真空冷冻干燥,当产品水分含量为10~15% (g/g)时,进行200MPa的冷等静压缩,然后再继续真空干燥至水分含量为5%以下。

[0099] 压缩后,骨修复材料厚度为4000μm;非主通道部分孔径为30~180μm,主通道部分孔径为130~450μm。

[0100] 步骤六 热加工

[0101] 将材料进行高纯氮气保护条件下110℃交联10h,制得产品。

[0102] 实施例4

[0103] 步骤一 配制基体材料

[0104] 称取65g矿化胶原材料(含水量为80%),向其中加入陶瓷粉3g,以100rpm的转速顺时针搅拌均匀,然后用1.0M磷酸液和1.0M氢氧化钠碱液调节pH值到7.0,然后用0.5M碳酸钠溶液调节pH值到7.2,电导率为2.5ms/cm。静置30min,10000rpm 4℃离心30min去掉上清液。向沉淀中加入金黄色葡萄球菌发酵液滤液,使凝固酶活性为3200 μg/g,加入112.5g胶原蛋白材料(胶原蛋白的纯度为40mg/g),继续同一方向均匀搅拌,并调节沉淀使复合矿化胶原基体的pH值为7.2,电导率为3.0ms/cm。在大于 1.01×10^2 Pa真空条件下脱气,再继续用1.0M磷酸液和1.0M氢氧化钠碱液调节使电导率为10.0ms/cm。

[0105] 步骤二 预制基体(制备压缩前的层状的基体结构)

[0106] 将制备的基体材料向同一顺应方向压入模具中,使预制基体厚度为9mm;,凹槽深度为4mm,凹槽宽度为4mm;凸台I与凸台II均宽4mm;通孔孔径5mm,裂隙宽度1mm;每列凸台I中孔间距为4mm。然后在30℃,相对湿度为90%以上的条件下陈化12h,得预制基体。

[0107] 步骤三 制备填充物

[0108] 称取胶原纤维加入水稀释成5mg/g,向其中加入金黄色葡萄球菌发酵液滤液,使金黄色葡萄球菌发酵液滤液凝固活性为400ug/g,顺序搅拌均匀,在 1.01×10^3 Pa压力下真空

脱气。

[0109] 步骤四 填充、层叠

[0110] 向步骤二制备的预制基体的上下表面的凹槽和通孔用填充物从一侧向另一侧水平铺入或充入,然后进行立体层叠预制基体;基体材料层数为4层,叠层时上下孔一一对应,得层叠体。

[0111] 步骤五 定型

[0112] 将步骤四制备的层叠体按照垂直于液面方向缓慢移入液氮中冻结成型,然后真空冷冻干燥,当产品水分含量为10~15% (g/g)时,进行200MPa的冷等静压缩,然后再继续真空干燥至水分含量为5%以下。

[0113] 压缩后,骨修复材料厚度为4200 μm ;非主通道部分孔径为30~180 μm ,主通道部分孔径为130~450 μm 。

[0114] 步骤六 热加工

[0115] 将材料进行高纯氮气保护条件下125 $^{\circ}\text{C}$ 交联8h,制得样品。

[0116] 结果检测

[0117] 1弯曲强度检测

[0118] 按照实施例1制备骨修复材料样品,样品层数为4层,200Mpa压缩后,长为20mm,宽10mm,厚为4.0mm。将样品用英斯特朗 (instron) 5569弯曲试验机进行三点弯曲检测,将跨距设置为15mm,加载速度为3mm/min,将样品加载后,将载荷及位移调零,载荷设置为1000N。实验速度设置为3mm/min,点击计算机界面上的运行按钮,进行弯曲试验,检测结果如下:

[0119] 表一 样品的弯曲强度检测结果

[0120]

样品	1	2	3	4	5	平均值	标准偏差
Mpa	40.60	42.06	42.63	41.82	42.31	41.88	0.019

[0121] 2压缩强度检测

[0122] 按照实施例4制备骨修复材料样品,样品层数为4层,200Mpa压缩后,长为20mm,宽10mm,厚为4.2mm,将样品用英斯特朗 (instron) 5500R试验机进行强度检测试验,抗压强度为试样形变1mm时单位面积所承受的最大压力,压缩速率为0.3mm/min,检测结果如下:

[0123] 表二 样品的压缩强度检测结果

[0124]

样品	1	2	3	4	5	平均值	标准偏差
Mpa	52.32	51.80	52.06	53.12	51.29	52.12	0.013

[0125] 3产品结构检测

[0126] 按照实施例4制备样品,样品层数为4层,200Mpa压缩后,长为20mm,宽10mm,厚为4.2mm。将样品喷金,用扫描电子显微镜EVO18 (SEM) 进行微结构扫描,非主通道部分扫描图谱见图3,骨修复材料主通道部分孔径比例见图4。

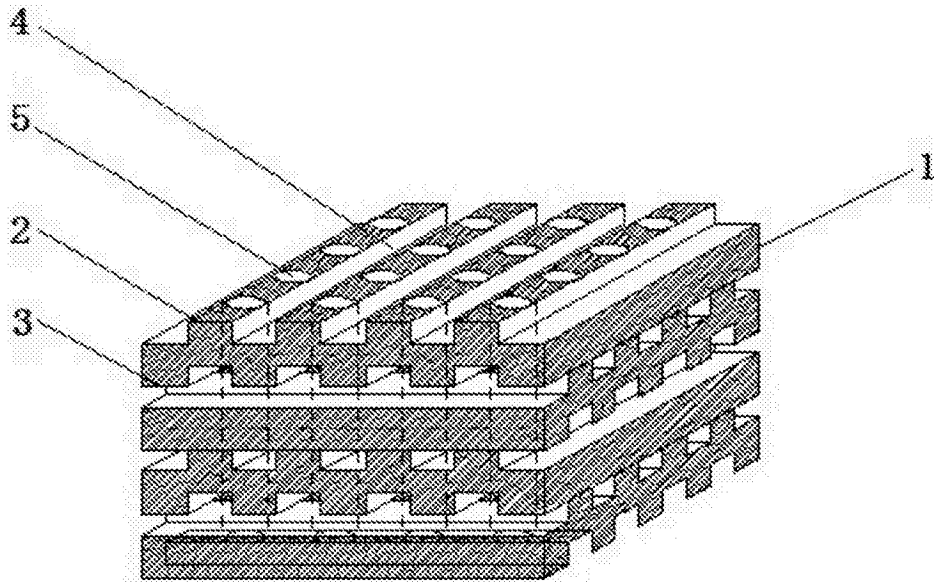


图1

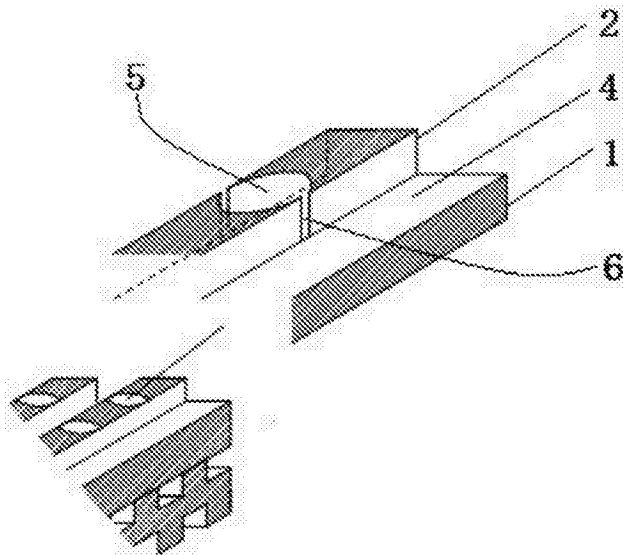


图2

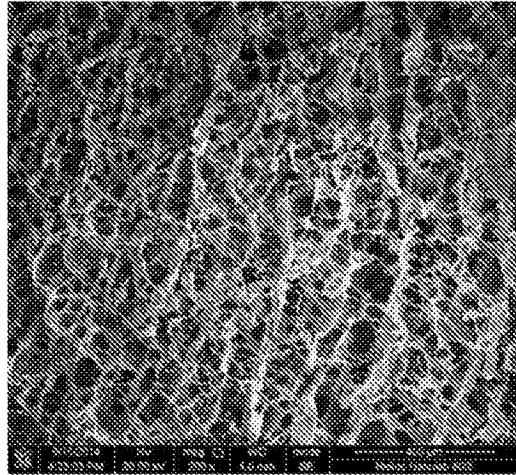


图3

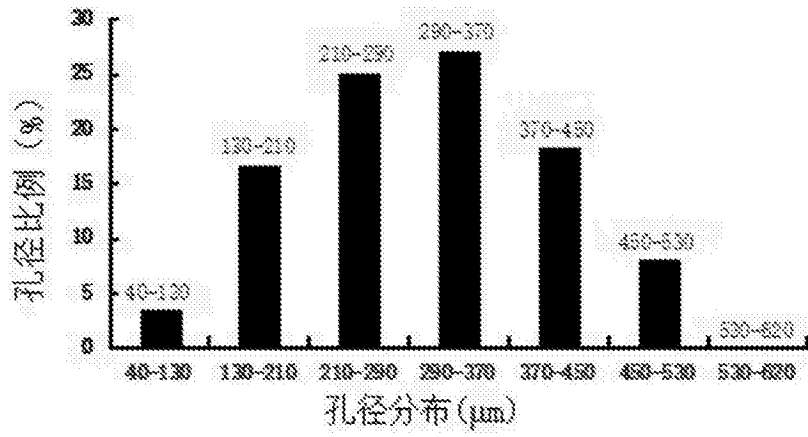


图4