



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102908664 B

(45) 授权公告日 2016. 03. 02

(21) 申请号 201110219761. 2

WO 2007/050387 A3, 2007. 05. 03,

(22) 申请日 2011. 08. 02

US 2010/0008969 A, 2010. 01. 14,

(73) 专利权人 香港理工大学

审查员 潘艺茗

地址 中国香港九龙红磡

(72) 发明人 李翼 李加深 胡军岩 麦福达
张晶

(74) 专利代理机构 深圳市顺天达专利商标代理
有限公司 44217

代理人 郭伟刚

(51) Int. Cl.

A61L 27/22(2006. 01)

A61L 27/12(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1562368 A, 2005. 01. 12,

CN 1919358 A, 2007. 02. 28,

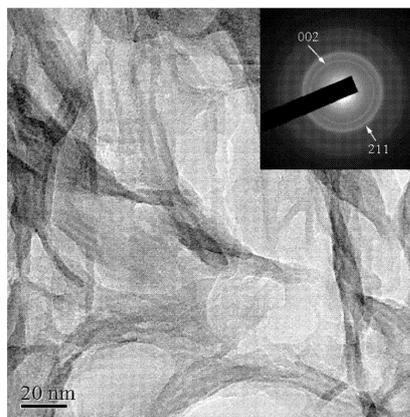
权利要求书1页 说明书6页 附图4页

(54) 发明名称

一种磷灰石 / 角蛋白复合支架及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种磷灰石 / 角蛋白复合支架及其制备方法。该方法包括 : 通过在水溶液中共沉淀磷灰石和角蛋白的步骤得到磷灰石与角蛋白复合物的沉淀, 然后经过冲洗、过滤并冻干该沉淀, 形成磷灰石 / 角蛋白复合支架。根据本发明的方法形成的磷灰石 / 角蛋白复合支架具有显著的生物性, 比如生物相容性、细胞亲和力、生物降解性和形态稳定性 ; 并且该复合支架的微观结构可以提高成骨细胞在支架上进行良好附着和增殖, 有助于引导骨组织的再生, 并随着新的骨组织的生成最终降解。本发明中的制备方法简单, 所用原料来源广泛, 所制备的磷灰石 / 角蛋白复合支架是一种具有优异的骨诱导性能和广泛应用前景的新型人工骨材料。



1. 一种磷灰石 / 角蛋白复合支架的制备方法, 其特征在于, 包括以下步骤:

S1: 配制溶液: 分别配制包含钙离子的钙离子溶液、包含磷酸根离子的磷酸盐溶液与包含角蛋白的角蛋白溶液, 备用; 所述角蛋白溶液的浓度为 0.1-10g/L;

S2: 形成磷灰石与角蛋白复合物的沉淀: 将步骤 S1 中配制的钙离子溶液与角蛋白溶液混合均匀形成成核中心, 然后伴随搅拌添加步骤 S1 中配制的磷酸盐溶液得到混合溶液, 持续搅拌所述混合溶液得到磷灰石与角蛋白复合物的沉淀; 所述磷灰石与角蛋白复合物的沉淀中的磷灰石是羟基磷灰石或者羟基磷灰石与二水合磷酸氢钙或磷酸八钙的至少一种的组合;

S3: 形成磷灰石 / 角蛋白复合支架: 冲洗和过滤步骤 S2 中形成的磷灰石与角蛋白复合物的沉淀, 并冻干所述沉淀, 通过控制冻干速度控制由冻干获得的多孔体的孔径和形态, 得到磷灰石 / 角蛋白复合支架。

2. 根据权利要求 1 所述的磷灰石 / 角蛋白复合支架的制备方法, 其特征在于, 在所述步骤 S2 中, 在所述混合溶液中, 所述钙离子和磷酸根离子的摩尔比为 1.0 ~ 2.0。

3. 根据权利要求 1 所述的磷灰石 / 角蛋白复合支架的制备方法, 其特征在于, 在所述步骤 S3 中, 所述磷灰石 / 角蛋白复合支架中磷灰石和角蛋白的标称重量比为 95/5-50/50。

4. 根据权利要求 1 所述的磷灰石 / 角蛋白复合支架的制备方法, 其特征在于, 在所述步骤 S2 中, 所述混合溶液的 pH 值为 7 ~ 9。

5. 根据权利要求 1 所述的磷灰石 / 角蛋白复合支架的制备方法, 其特征在于, 在所述步骤 S3 中, 所述冲洗和过滤步骤包括固液分离所述沉淀、冲洗沉淀并将沉淀转至滤纸的步骤, 或包括将所述沉淀转至滤纸上并在滤纸上冲洗沉淀的步骤。

6. 根据权利要求 1 所述的磷灰石 / 角蛋白复合支架的制备方法, 其特征在于, 在所述步骤 S3 中, 采用纯水冲洗所述沉淀。

7. 一种磷灰石 / 角蛋白复合支架, 其特征在于, 所述磷灰石 / 角蛋白复合支架由权利要求 1 至 6 中任意一项所述的制备方法制备得到。

一种磷灰石 / 角蛋白复合支架及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及引导骨再生的仿生工艺,更具体地,涉及一种磷灰石 / 角蛋白复合支架及其制备方法。

背景技术

[0002] 近年来,组织工程已经成为医学和工程领域重建缺陷组织最好的解决方案。其中最好的发展领域是引导骨再生或引导组织再生。

[0003] 目前已知的是,羟基磷灰石 (HA) 是组成脊椎动物硬组织的主要无机物部分。近年来,由于它高度优化的机械性能、生物相容性、骨传导性和生物活性,在骨组织再生领域 HA 已经引起了大量的注意。但是,HA 的临床应用因为它的脆性、不充足的机械韧性和 HA 颗粒易从移植点移动而受到很大的限制。为了弥补 HA 的以上弱点,通常将 HA 与一些具有生物相容性的聚合物或蛋白质结合应用,其中典型的应用即为将 HA 与角蛋白结合使用。

[0004] 角蛋白是构造头发、羊毛、指甲等的结构纤维状蛋白,并已证明其对成纤维细胞和成骨细胞的生长有促进作用。此外,它们在体外(通过胰蛋白酶)和在体内(通过在老鼠内的皮下包埋)是可以生物降解的。

[0005] 通常有两种方法用来结合角蛋白和 HA。第一种将角蛋白支架浸入包含钙离子和磷酸根离子的缓冲液中 1-3 天。通过这一方法,磷酸钙覆盖在角蛋白的表面,但是同时也覆盖和减弱了角蛋白的生物性能。第二种方法是将角蛋白支架浸入羟基磷灰石颗粒悬浮液中。在这一方法中,羟基磷灰石颗粒仅附着在角蛋白的表面,当角蛋白降解时羟基磷灰石即剥落。

发明内容

[0006] 本发明要解决的技术问题在于,针对现有技术中磷酸钙覆盖角蛋白的生物性能或者羟基磷灰石随角蛋白的降解而剥落的缺点,提供一种生物相容性良好、形态稳定性高、有助于成骨细胞附着与增殖的磷灰石 / 角蛋白复合支架及其制备方法。

[0007] 本发明解决的技术问题通过下述技术方案实现:提供一种磷灰石 / 角蛋白复合支架的制备方法,其中,该方法包括以下步骤:

[0008] S1:配制溶液:分别配制包含钙离子的钙离子溶液、包含磷酸根离子的磷酸盐溶液与包含角蛋白的角蛋白溶液,备用;

[0009] S2:形成磷灰石与角蛋白复合物的沉淀:将步骤 S1 中配制的钙离子溶液与角蛋白溶液混合均匀,然后伴随搅拌添加步骤 S1 中配制的磷酸盐溶液得到混合溶液,持续搅拌所述混合溶液得到磷灰石与角蛋白复合物的沉淀;

[0010] S3:形成磷灰石 / 角蛋白复合支架:冲洗和过滤步骤 S2 中形成的磷灰石与角蛋白复合物的沉淀,并冻干所述沉淀,得到磷灰石 / 角蛋白复合支架。

[0011] 在上述磷灰石 / 角蛋白复合支架的制备方法中,在所述步骤 S2 中,在所述混合溶液中,所述钙离子和磷酸根离子的摩尔比为 1.0-2.0。

[0012] 在上述磷灰石 / 角蛋白复合支架的制备方法中, 在所述步骤 S2 中, 所述磷灰石与角蛋白复合物的沉淀中的磷灰石是羟基磷灰石或者羟基磷灰石与二水合磷酸氢钙或磷酸八钙的至少一种的组合。

[0013] 在上述磷灰石 / 角蛋白复合支架的制备方法中, 在所述步骤 S3 中, 所述磷灰石 / 角蛋白复合支架中磷灰石和角蛋白的标称重量比为 95/5-50/50。

[0014] 在上述磷灰石 / 角蛋白复合支架的制备方法中, 在所述步骤 S2 中, 所述混合溶液的 pH 值为 7-9。

[0015] 在上述磷灰石 / 角蛋白复合支架的制备方法中, 在所述步骤 S3 中, 所述冲洗和过滤步骤包括固液分离所述沉淀、冲洗沉淀并将沉淀转至滤纸的步骤, 或包括将所述沉淀转至滤纸上并在滤纸上冲洗沉淀的步骤。

[0016] 在上述磷灰石 / 角蛋白复合支架的制备方法中, 在所述步骤 S3 中, 采用纯水冲洗所述沉淀。

[0017] 本发明提供一种磷灰石 / 角蛋白复合支架, 其中, 所述磷灰石 / 角蛋白复合支架由上述磷灰石 / 角蛋白复合支架的制备方法中的任意一项所述的制备方法制备得到。

[0018] 实施本发明的磷灰石 / 角蛋白复合支架及其制备方法, 可以获得以下有益效果: 在磷灰石 / 角蛋白复合支架的形成过程中, 钙离子溶液中的钙离子首先与角蛋白纳米纤维上的羟基结合, 形成成核中心, 随后加入的磷酸盐溶液中的磷酸根离子与钙离子形成晶粒状磷灰石, 角蛋白可以降低和控制磷灰石的晶核形成与生长, 使之更为接近天然骨组织中的形态。这样形成的复合支架具有显著的生物性, 比如生物相容性、细胞亲和力、生物降解性和形态稳定性, 并且本发明制备的复合支架的微观结构可以促进骨细胞在支架上进行良好附着和增殖, 有利于引导骨组织再生。本发明的制备方法简单, 便于操作与实现。

附图说明

[0019] 以下将通过附图和具体实施例对本发明作进一步详细说明。附图中:

[0020] 图 1 是本发明中磷灰石 / 角蛋白复合支架制备方法的步骤示意图;

[0021] 图 2 是角蛋白、HA 和磷灰石 / 角蛋白复合支架的 TGA 曲线图;

[0022] 图 3 是 HA、磷灰石 / 角蛋白复合支架和标准 HA 的 XRD 光谱图;

[0023] 图 4 是角蛋白、HA 和磷灰石 / 角蛋白复合支架的 FTIR 光谱图;

[0024] 图 5 是磷灰石 / 角蛋白复合支架的透射电镜照片和选区电子衍射图案;

[0025] 图 6 是 (6a) HA 和 (6b) 磷灰石 / 角蛋白复合支架的 XPS 宽扫描光谱图。

具体实施方式

[0026] 本发明中涉及的钙化合物、磷酸盐化合物以及其他化合物均购买自美国奥德里奇公司 (Aldrich, USA), 羊毛纤维购买自普通市场。

[0027] 本发明涉及通过仿生方法制备磷灰石 / 角蛋白复合支架。图 1 是本发明中磷灰石 / 角蛋白复合支架制备方法的步骤示意图。

[0028] 为了依照本发明的方法制备磷灰石 / 角蛋白复合支架, 配制包含钙离子的水溶液 (钙离子溶液)。如果钙离子在水中可溶解并不阻止磷灰石的沉淀, 钙离子溶液中包含的钙化合物不受特别限制, 依照本发明的实例优选使用氢氧化钙 ($\text{Ca}(\text{OH})_2$)。将一定量的

Ca(OH)₂以溶解度范围内的浓度溶解于水中。考虑到在最终支架中、通过沉淀形成的磷灰石和角蛋白的需要的成分比率,溶解的 Ca(OH)₂适宜的量 为 0.01-1.0mol/L。

[0029] 为了依照本发明的方法制备磷灰石 / 角蛋白复合支架,配制包含磷酸根离子的水溶液(磷酸盐溶液)。如果磷酸盐在水中可溶解并不阻止磷灰石的沉淀,磷酸盐溶液中包含的磷酸盐化合物不受特别限制,依照本发明的实例优选使用磷酸二氢钠(NaH₂PO₄)。将一定量的 NaH₂PO₄以溶解度范围内的浓度溶解于水中。考虑到在最终支架中、通过沉淀形成的磷灰石和角蛋白的需要的成分比率,溶解的 NaH₂PO₄适宜的量 为 0.01-1.0mol/L。

[0030] 为了依照本发明的方法制备磷灰石 / 角蛋白复合支架,配制包含角蛋白的水溶液(角蛋白溶液)。本发明中使用的角蛋白的来源不受特别限制,依照本发明的实例优选使用羊毛。在 80-100℃ 伴随搅拌将羊毛纤维浸入氢氧化钠溶液(2% wt)中。在羊毛纤维完全溶解后,缓慢添加盐酸中和角蛋白溶液至 pH 值为 7,然后通过过滤从溶液中移除杂质和沉淀。考虑到在最终支架中、通过沉淀形成的磷灰石和角蛋白的需要的成分比率,配制的角蛋白溶液的浓度为 0.1-10g/L。

[0031] 将钙离子溶液和磷酸盐溶液顺序添加至角蛋白溶液中。剧烈搅拌反应混合溶液以诱导磷灰石和角蛋白的共沉淀。反应混合溶液的 pH 值优选为 7 或更高,更优选地,pH 值为 9。这一过程中,通过使用酸(比如 HCl)和碱(比如 NaOH)调节和维持反应混合溶液的 pH 值。

[0032] 在上述共沉淀的诱导过程中,需重点考虑的是均匀共沉淀。均匀共沉淀的情况下,本发明中磷灰石与角蛋白的标称重量比为 95/5-50/50,优选地,本发明中磷灰石与角蛋白的标称重量比为 80/20-60/40。此处所述的“标称重量比”并不意味着最终的磷灰石 / 角蛋白复合支架中磷灰石与角蛋白的实际比率,但是意味着磷灰石和角蛋白的共沉淀反应没有损失、圆满进行的理想条件下的磷灰石与角蛋白的重量比。

[0033] 共沉淀反应过程中,与角蛋白纳米纤维上的羟基结合的钙离子与磷酸根离子反应的产物不限于 HA。由于受钙磷摩尔比例的影响,在形成 HA 的同时,还会形成少量的二水合磷酸氢钙、磷酸八钙或其组合物。也即是说,在共沉淀反应后,磷灰石与角蛋白复合物的沉淀中的磷灰石是 HA 或者 HA 与二水合磷酸氢钙或磷酸八钙中至少一种的组合。

[0034] 接下来,冲洗、过滤以及冻干通过仿生共沉淀反应系统形成的磷灰石与角蛋白复合物的沉淀。此处的“过滤”指将复合物的沉淀转至滤纸上形成片状支架。所述冲洗可能指在将沉淀转至滤纸上后,用纯水冲洗复合物的沉淀(通常冲洗 3-5 次);或者此处的“过滤”可能指通过固-液分离装置(比如离心),分离所述沉淀,然后将其再次分散至水中后再转至滤纸上。可能通过任一已知的方法执行所述冻干,此为本领域技术人员所熟知,在此不展开描述。应该注意的是,冻干的速度越快,多孔体中的孔的大小越小;因此可能通过控制冻干速度控制由冻干获得的多孔体的孔径和形态。因此,本发明可能还制造用于某一用途的、具有合适的孔径的复合支架。优选地,本发明中,磷灰石 / 角蛋白复合支架放入冻干机中后首先在 -10℃ 环境下静置 12 个小时,使其中的水分完全结冰,然后使样品处于高真空度中(100 μ Hg 以上的真空度)数小时或数天(取决于样品含水数量多少),得到干燥的样品。

[0035] 以下通过具体实施例进一步阐述本发明;以下的实施例仅用以阐述说明的目的,而不是限制本发明的范围。

[0036] 实施例 1 :

[0037] 以 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (99.995%)、 NaH_2PO_4 (99.99%) 和羊毛纤维作为起始物料使用。100ml $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 溶液 (0.1mol/l) 与 200ml 角蛋白溶液 (0.25g/L) 混合均匀并保持 20min。然后伴随搅拌缓慢地滴加 NaH_2PO_4 (60ml, 0.1mol/l); 此时溶液中 Ca/P 的摩尔比率为 1.67。通过 NaOH 溶液 (0.1mol/l) 将溶液的 pH 值调至 7.0。当 pH 值超过大约 6.0 时, 溶液变得过饱和并且一些沉淀出现。在饱和溶液保持 24h 后, 磷灰石与角蛋白复合物的沉淀沉积在瓶子的底部。随后将该沉淀转移至滤纸上并在滤纸上用纯水反复冲洗沉淀, 然后在 -60°C 在真空下冷冻干燥, 得到磷灰石 / 角蛋白复合支架。按照上述配料得到最终的磷灰石 / 角蛋白复合支架中磷灰石 / 角蛋白的标称重量比为 80/20 (wt/wt)。

[0038] 对实施例 1 中所得到的磷灰石 / 角蛋白复合支架进行表征, 具体地, 包括热重分析 (TGA)、X-射线粉末衍射分析 (XRD)、傅里叶变换红外 (FTIR) 光谱分析、透射式电子显微镜分析 (TEM) 以及 X-射线光电子能谱分析 (XPS), 具体试验参数与结果见下。

[0039] (1) TGA

[0040] 使用 TG 分析仪 (TGA, Netzsch 449) 进行热重分析 (TGA), 具体地, 取 20mg 支架, 在氩气下采用 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 的加热速率从 30°C 至 1100°C 记录测量结果。如图 2 中所示, 磷灰石 / 角蛋白复合支架、HA 和角蛋白由 TGA 分析仪加热至 1100°C , 根据分析结果, 认为残余物是无机成分, 并且主要为 HA。在用于制备复合支架的共沉淀反应中, 实施例 1 中磷灰石与角蛋白的标称重量比为 80/20, 但是鉴定的是实际的重量比为 78.7/21.3。标称重量比和实际重量比之间的上述差别应归因于 HA 的形成 / 沉淀的不完全反应。

[0041] (2) XRD

[0042] 通过 X-射线粉末衍射仪 (XRD, Bruker D8 Advance)、在 $10-80^\circ$ (2θ) 内以 0.05° 的步幅和 2.0s/步幅的扫描速率分析复合支架的相位。图 3 是 HA 和磷灰石 / 角蛋白复合支架的 XRD 分析结果的示意图。以商业上的标准 HA 粉末用作对照, 如图所示, 标准 HA 粉末具有良好的结晶度尖峰。尽管没有角蛋白的 HA 的峰不如标准 HA 粉末的尖峰突出, 但是在 25.9° 、 32.2° 、 46.6° 和 53.5° 可以观察到暗示晶相为 HA 的峰, 而且没有检测到其他杂质。由于没有检测到其他钙磷酸盐相的峰, 磷灰石 / 角蛋白复合材料中的无机相鉴定为单一相 HA。与结晶良好的标准 HA 粉末相比, 这里形成的 HA 中出现峰的增宽和重叠。

[0043] (3) FTIR 光谱

[0044] 通过傅里叶变换红外 (FTIR) 光谱仪 (Nicolet 5700, Thermo Co. USA)、在 4000cm^{-1} 和 400cm^{-1} 之间的范围以 4cm^{-1} 的分辨率对复合材料进行分析。图 4 是磷灰石 / 角蛋白复合支架、角蛋白和 HA 的 FTIR 光谱的示意图。对角蛋白的光谱而言, 在 1658cm^{-1} 、 1550cm^{-1} 和 1251cm^{-1} 的吸收带分别是氨基化合物 I、II 和 III 的特征酰胺峰。在角蛋白中, 氨基化合物 I 吸收带主要是酰胺基的 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩。在 1550cm^{-1} 的波数是与氨基化合物 II 的伸缩振动结合的 N-H 弯曲。氨基化合物 III 由 C-N 伸缩和 $\text{C}=\text{O}$ 弯曲振动引起。在 1401cm^{-1} 的带指定给 C-H 和 O-H 弯曲振动。对 HA 而言, 带集中在对应于 P-O 伸缩振动模式的 1114cm^{-1} 、 1034cm^{-1} 和 961cm^{-1} , 但是在 601cm^{-1} 和 563cm^{-1} 的带对应于 O-P-O 弯曲模式, 认为所述 O-P-O 弯曲模式来自于 HA 晶体中的 PO_4^{3-} 根。在 1401cm^{-1} 和 875cm^{-1} 的带属于在 CO_3^{2-} 上的 C-O 伸缩振动模式, 所述 C-O 伸缩振动模式表明即使使用没有碳酸盐的溶液, HA 中的位置部分由碳酸离子取代。这可能是由于在搅动过程中来自于大气的 CO_2 的溶解。与角蛋白的 FTIR 光谱中在

1636 cm^{-1} 的氨基化合物 I 带相比,在 HA 纳米结晶的光谱中在 1636 cm^{-1} 出现的低波数吸收是显著的。在磷灰石 / 角蛋白复合支架中,氨基化合物 I 蓝移至 1658 cm^{-1} ,大概表明在角蛋白分子链的酰胺基和钙离子之间的强相互作用下,所述钙离子假定为充当在体外有机模板的磷灰石晶体的成核位置。

[0045] (4) TEM 观察

[0046] 通过透射式电子显微镜 (TEM, JEM-1230, JEOL) 在 80kV 观察磷灰石 / 角蛋白复合支架的微观结构和纳米结构。图 5 是磷灰石 / 角蛋白复合支架的透射式电子显微镜和选区电子衍射图案。可以看到磷灰石晶体和角蛋白结合的非常紧密,并且分布均匀。电子衍射图中的光滑圆环分别代表磷灰石晶体的 (211) 和 (002) 晶面。在磷灰石 / 角蛋白复合支架形成过程中,角蛋白大分子链上的羧基或者氨基通过螯合作用结合了溶液中的钙离子,使得磷灰石晶体得不到充足的钙离子供应,从而不能保证磷灰石按照特定的轴向生长,这就导致复合材料中磷灰石晶体的大小和规整度比纯磷灰石晶体减低了很多。但是这种结构更为接近天然骨中无机物的分布情况,并为将来的骨细胞附着和生长提供了一个更为适宜的环境。

[0047] (5) XPS

[0048] 采用 X-射线光电电子能谱 (XPS) (Perkin-Elmer, PHI 1600 ESCA) 表征样品。在 PHI 1600 模式表面分析系统上采用 250W MgK X-射线 (1253.6eV) 源在 10^{-8} 至 10^{-9} 托的基准压力范围内进行分析。样品采用双面胶带附着于铝制样品台。从 0.8 mm^2 的表面区域收集 XPS 光谱。氮 (N) 用于表征在磷灰石 / 角蛋白复合支架的表面上陷入的角蛋白的量。在 XPS 宽扫描光谱 (图 6) 中,以下可以看出:

[0049] (1) 正如预期的,HA 的 XPS 光谱只显示钙 (Ca)、磷 (P) 和氧 (O) 的峰 (图 6a);

[0050] (2) 对磷灰石 / 角蛋白复合支架的 XPS 光谱而言 (图 6b),在 400eV 检测到对应于氮 (N1s) 的、具有结合能的峰,所述峰可以假定为是角蛋白中熟知的特征氨基酸残基。

[0051] 实施例 2:

[0052] CaCl_2 (99.995%)、 KH_2PO_4 (99.99%) 和羊毛纤维作为起始物料使用。150ml CaCl_2 溶液 (0.01mol/l) 与 200ml 角蛋白溶液 (0.1g/L) 混合并保持 20min。然后伴随搅拌缓慢地滴加 NaH_2PO_4 (100ml, 0.01mol/l); 此时溶液中 Ca/P 的摩尔比率设置为 1.5。通过 NaOH 溶液 (0.1mol/l) 将溶液的 pH 值调至 9.0。当 pH 值超过大约 6.0 时,溶液变得过饱和并且一些沉淀出现。在饱和溶液保持 24h 后,磷灰石 / 角蛋白复合物的沉淀沉积在瓶子的底部。随后将该沉淀转移至滤纸上并在滤纸上用纯水反复冲洗沉淀,然后在 -60°C 在真空下冷冻干燥,得到磷灰石 / 角蛋白复合支架。按照上述配料得到最终的磷灰石 / 角蛋白复合支架中磷灰石 / 角蛋白的标称重量比为 50/50 (wt/wt)。

[0053] 实施例 3:

[0054] $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (99.995%)、 NaH_2PO_4 (99.99%) 和羊毛纤维作为起始物料使用。100ml $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 溶液 (1.0mol/l) 与 100ml 角蛋白溶液 (10g/L) 混合并保持 20min。然后伴随搅拌缓慢地滴加 NaH_2PO_4 (50ml, 1.0mol/l); 此时溶液中 Ca/P 的摩尔比率设置为 2.0。通过 NaOH 溶液 (0.1mol/l) 将溶液的 pH 值调至 8.0。当 pH 值超过大约 6.0 时,溶液变得过饱和并且一些沉淀出现。在饱和溶液保持 24h 后,磷灰石 / 角蛋白复合物的沉淀沉积在瓶子的底部。随后固液分离该沉淀,将该沉淀重分散至纯水中,反复多次后将沉淀转移至滤纸上,然

后在 -60°C 在真空下冷冻干燥, 得到磷灰石 / 角蛋白复合支架。按照上述配料得到最终的磷灰石 / 角蛋白复合支架中磷灰石 / 角蛋白的标称重量比为 95/5(wt/wt)。

[0055] 同样地, 对实施例 2 与实施例 3 中所得到的磷灰石 / 角蛋白复合支架进行表征 (TGA、XRD、FTIR、TEM 以及 XPS), 各试验分析结果均表明, 实施例 2 与实施例 3 中制得的磷灰石 / 角蛋白复合支架中可以检测到钙 (Ca)、磷 (P)、氧 (O) 和氮 (N) 的峰, 其无机物成分主要为 HA (实施例 2 中无机物成分为 HA 与磷酸八钙的组合物; 实施例 3 中无机物成分为 HA、磷酸八钙与二水合磷酸氢钙的组合物)。

[0056] 以上结果表明, 采用本发明的方法所制备的磷灰石 / 角蛋白复合支架, 其无机物成分主要为羟基磷灰石。而且羟基磷灰石的晶核形成与生长过程受角蛋白的调控, 晶核的 c- 轴与角蛋白纤维的轴向平行。这样形成的复合支架一方面具有显著的生物性, 比如生物相容性、细胞亲和力、生物降解性和形态稳定性, 另一方面复合支架的微观结构使成骨细胞在支架上附着和增殖良好, 有利于引导骨再生。

[0057] 以上所述仅为本发明的优选实施例, 并不用以限制本发明, 凡在本发明的精神和原则内所作的任何修改、等同替换或改进等, 均应包含在本发明的保护范围内。

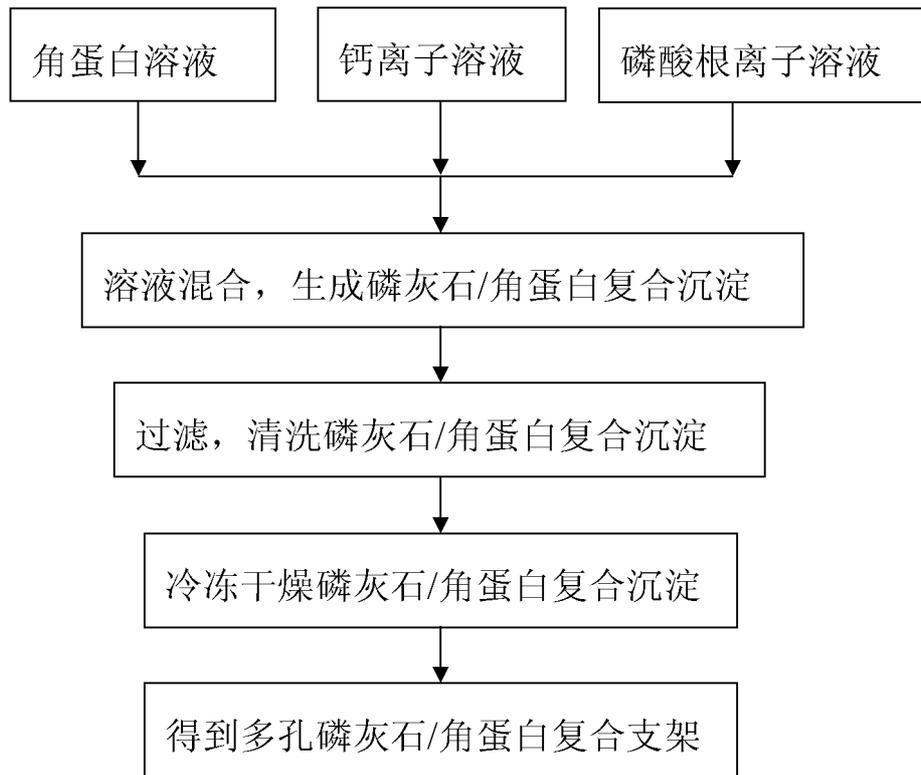


图 1

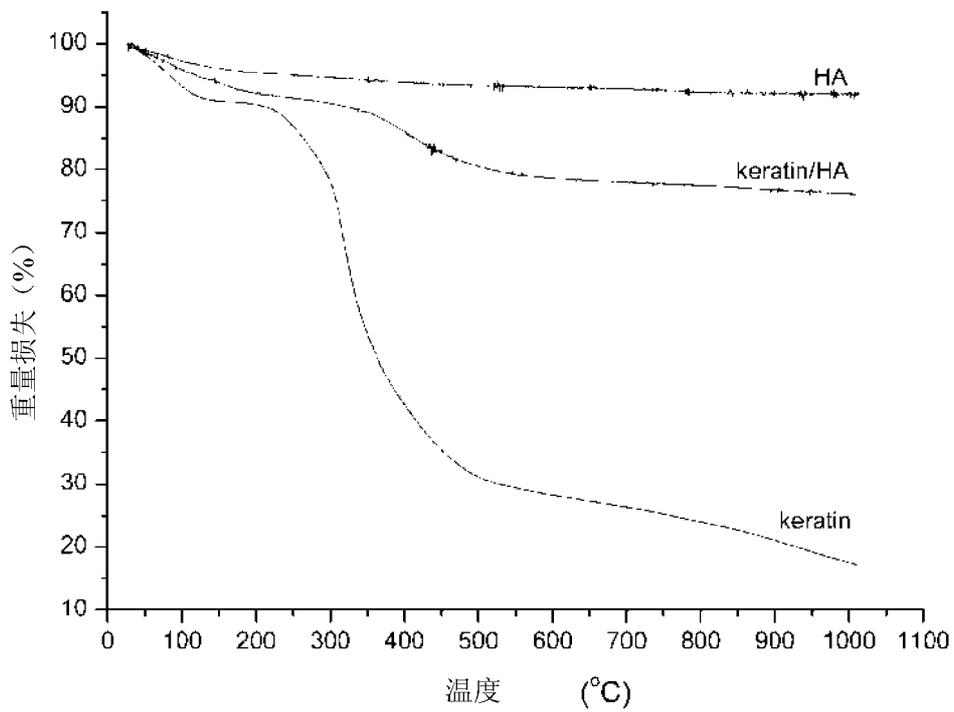


图 2

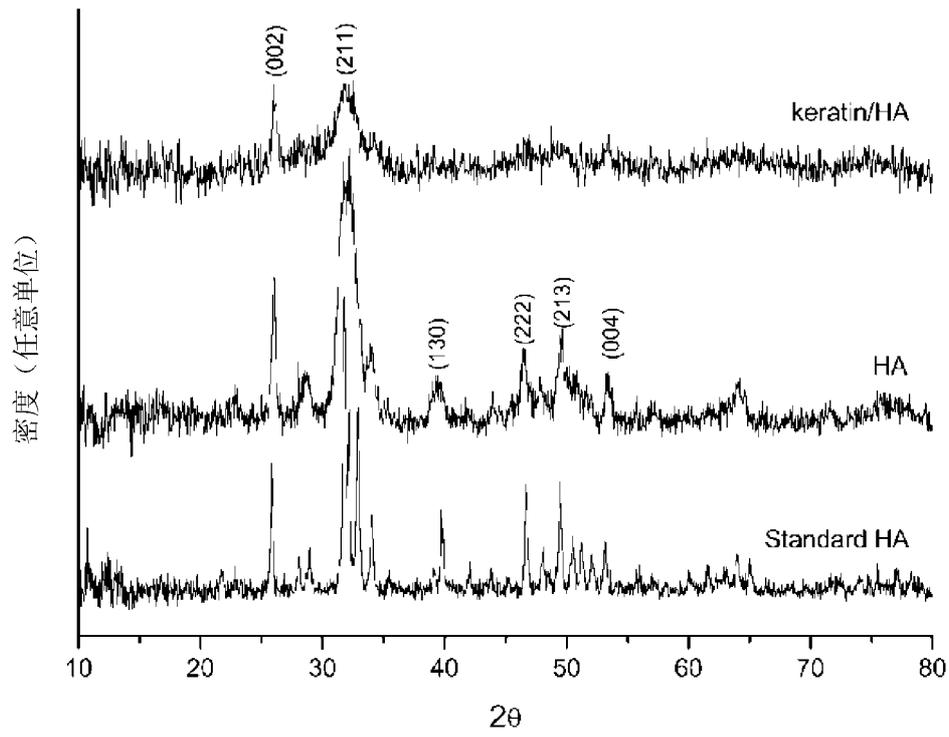


图 3

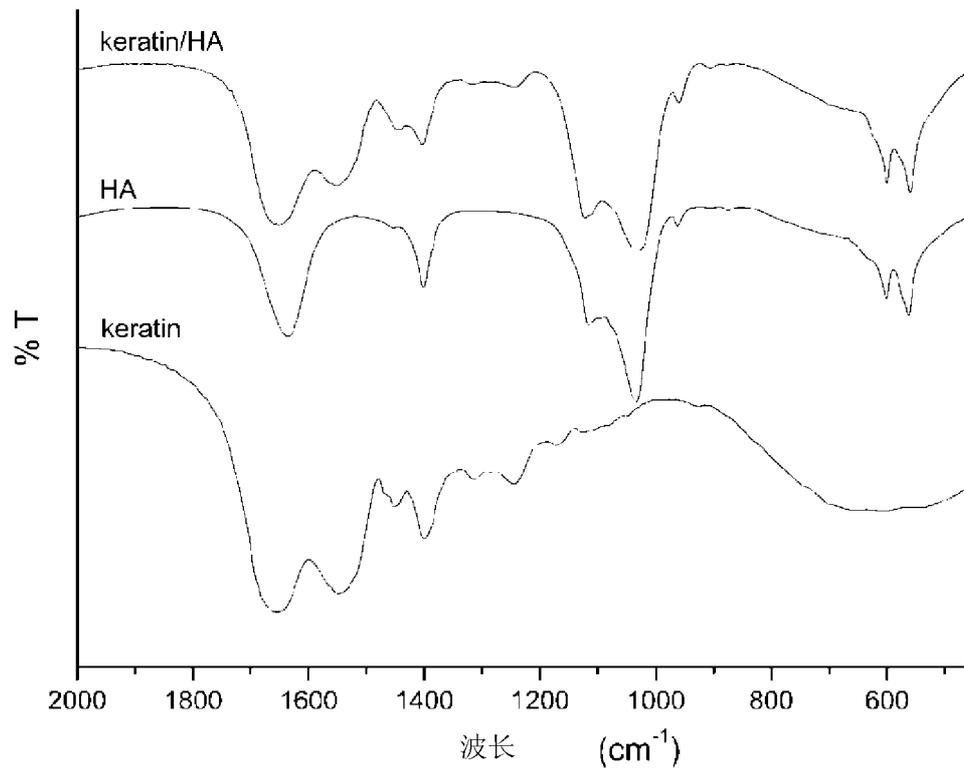


图 4

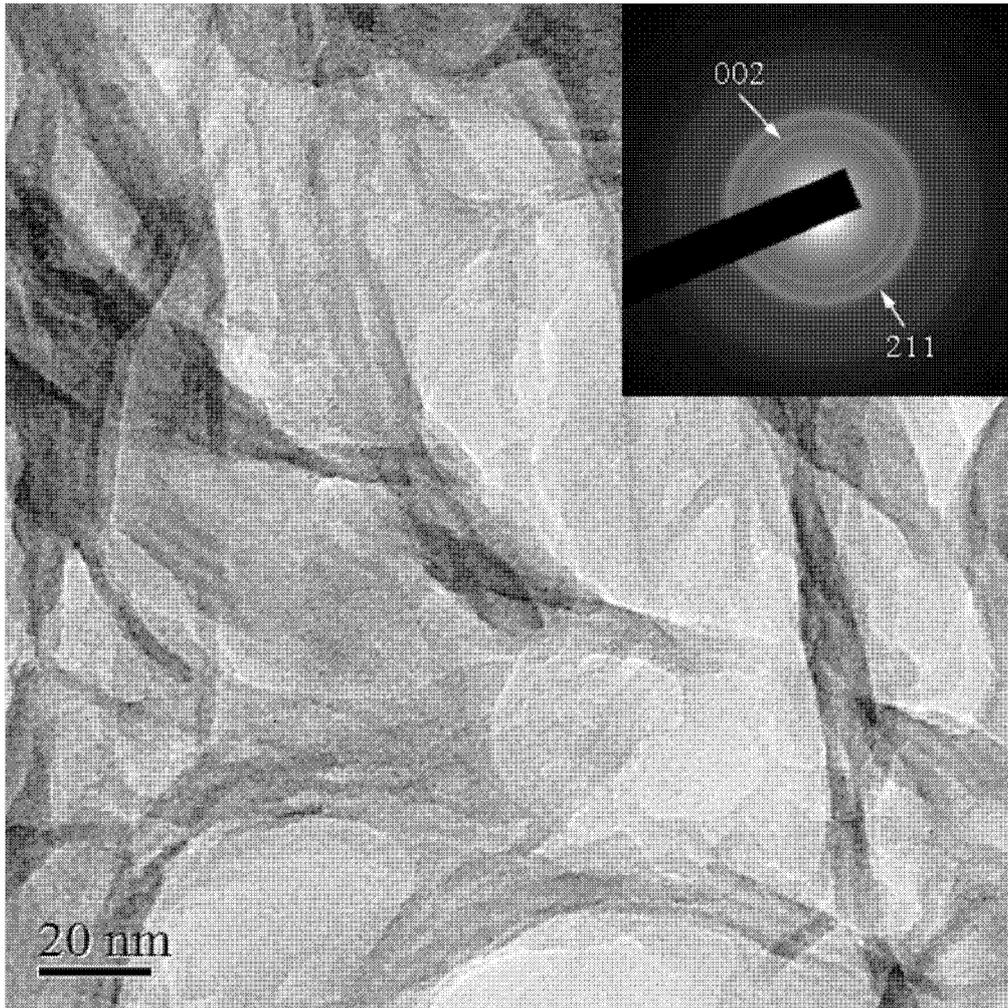
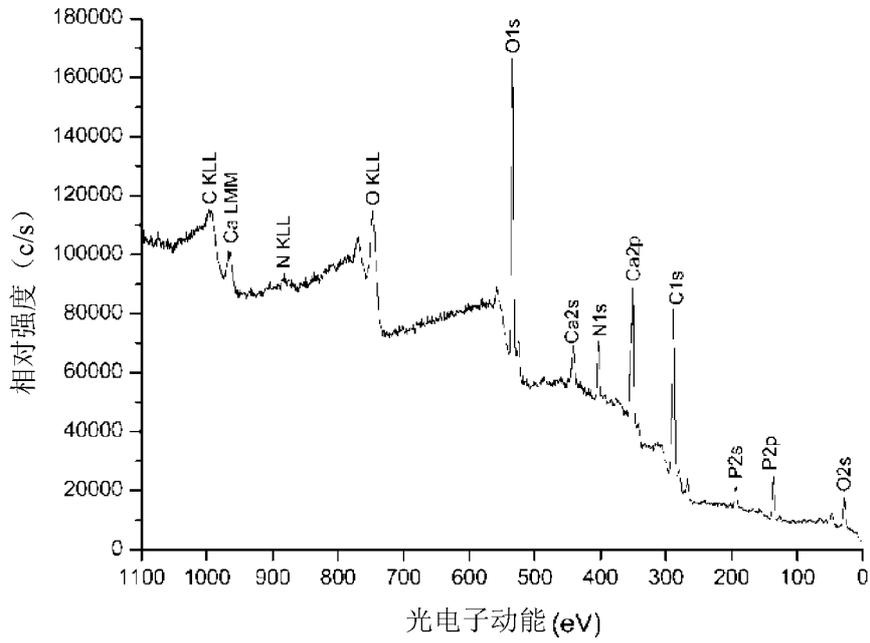
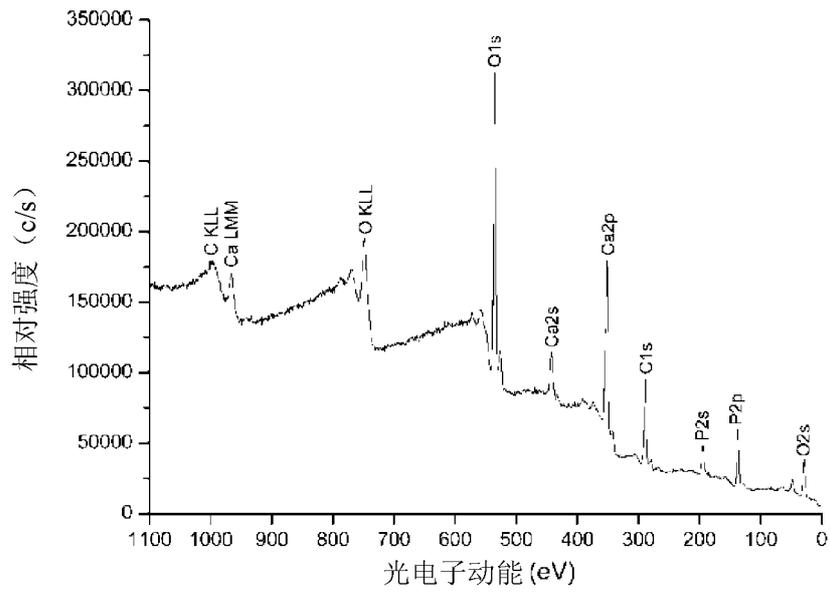


图 5



(6a)

(6b)

图 6