

(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
2021 年 9 月 30 日 (30.09.2021)



(10) 国际公布号
WO 2021/189192 A1

(51) 国际专利分类号:

A61L 27/12 (2006.01) *A61F 2/28* (2006.01)

A61L 27/58 (2006.01) *A61F 2/30* (2006.01)

A61L 27/50 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2020/080673

(22) 国际申请日: 2020 年 3 月 23 日 (23.03.2020)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人: 中国科学院深圳先进技术研究院 (SHENZHEN INSTITUTES OF ADVANCED TECHNOLOGY CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国广东省深圳市

南山区深圳大学城学苑大道 1068 号, Guangdong 518055 (CN)。

(72) 发明人: 王怀雨 (WANG, Huaiyu); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道 1068 号, Guangdong 518055 (CN)。伍煜政 (WU, Yuzheng); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道 1068 号, Guangdong 518055 (CN)。童丽萍 (TONG, Liping); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道 1068 号, Guangdong 518055 (CN)。

(74) 代理人: 北京市诚辉律师事务所 (BEIJING CHENGHUI LAW FIRM); 中国北京市朝阳区朝阳北路 99 号楼 2 单元 905, Beijing 100123 (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,

(54) **Title:** BONE TISSUE ENGINEERING SCAFFOLD HAVING GRADUALLY ANTIBACTERIAL AND BONE REGENERATION PROMOTING FUNCTIONS, MANUFACTURING METHOD FOR SCAFFOLD, AND APPLICATIONS THEREOF

(54) 发明名称: 一种具有逐步抗菌和促进骨再生功能的骨组织工程支架及其制备方法和应用

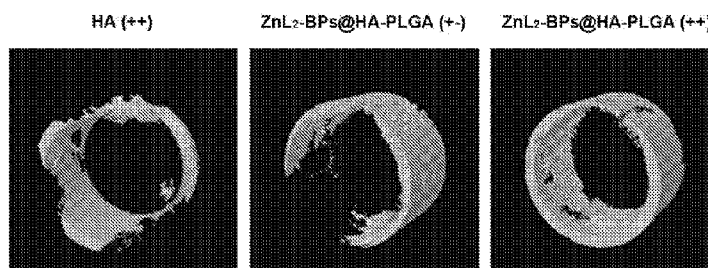


图 13

(57) **Abstract:** A bone tissue engineering scaffold having gradually antibacterial and bone regeneration promoting functions, a manufacturing method for the scaffold, and applications thereof. The composition of the scaffold comprises: a hydroxyapatite porous scaffold, a divalent metal ion-modified two-dimensional black phosphorus nanomaterial loaded on the surface of the hydroxyapatite porous scaffold, and a degradable polymer coating layer. First, a three-dimensionally ordered hydroxyapatite scaffold is manufactured by means of a 3D printing technique, then, a metal-ligand black phosphorous having a positive electric charge and great stability is manufactured by utilizing a coordination effect of a bivalent metal ion and black phosphorous, the ligand-modified black phosphorous is blended with a degradable polymer, the hydroxyapatite scaffold is immersed in the blend and then retrieved, when a solvent of the blend is evaporated, the metal-ligand black phosphorous having near-infrared responsiveness is loaded on the surface of the scaffold, and a composite bone implant capable of implementing photothermal bacterial control and heat-induced osteogenesis is produced.

(57) **摘要:** 一种具有逐步抗菌与促进骨再生功能的骨组织工程支架及其制备方法和应用。其组成包括: 羟基磷灰石多孔支架、羟基磷灰石多孔支架表面负载的二价金属离子修饰的二维黑磷纳米材料、以及可降解高分子包裹层。首先通过 3D 打印技术制备出三维有序的羟基磷灰石支架, 然后利用二价金属离子与黑磷的配位作用制备出带正电荷的、稳定性良好的金属配体黑磷, 再将配体修饰后的黑磷与可降解高分子共混, 羟基磷灰石支架浸入共混物后取出, 共混物的溶剂挥发后, 支架的表面即负载上具有近红外响应性的金属配体黑磷, 得到可实现光热抗菌及热促成骨的复合骨植入体。

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, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

一种具有逐步抗菌和促进骨再生功能的骨组织工程支架及其制备方法和应用

技术领域

本发明属于生物医用材料技术领域，涉及一种具有逐步抗菌和促进骨再生功能的骨组织工程支架及其制备方法和应用。

背景技术

骨植入体是生物医用材料的一种，可应用于生物体骨缺损部位以达到修复或替换原有骨组织功能的目的，由组成分类可分为无机、高分子、金属以及复合骨植入体。因为骨植入体需长时间应用于人体内部，并与人体的血液、体液、组织等直接接触，所以骨植入体需要具有无毒性、化学性能稳定、力学性能与植入部位骨匹配和优异的生物相容性等性能。此外，骨科植入手术后植入部位有发生细菌感染的可能，而细菌感染会降低植入手术的成功率，感染严重时还需进行二次手术将被感染的组织清除。因此，若骨植入体能预防或治疗植入后可能发生的细菌感染，疗效则会有大幅提高。

骨植入体的抗菌性能主要由其表面的物化性质所决定，因此对其进行表面改性可以保证在材料本体性能不受影响的前提下提高其抗菌性能。目前已有高温水解^[1]、气相沉积^[2]、化学接枝^[3]、离子注入^[4]等方法可在骨植入体上建立抗菌表面，这些抗菌表面通常具有可杀伤细菌的理化性质。例如，采用水热法在金属镁表面原位生长氢氧化镁纳米片，该纳米片可捕获细菌并通过拉伸细菌的细胞膜使细菌处于应激状态，导致细菌内部活性氧水平急剧上升，从而有效杀伤细菌^[1]。

在骨科植入手术中，手术后患者所面临的第一个问题是术后感染问题，如果在手术后植入部位发生细菌感染，将会影响后期的新骨形成，严重时会引起骨髓炎^[5]，需要进行二次手术将感染组织清除。目前临床采用的方法是通过全身性抗生素的使用以降低感染风险，而全身性抗生素的使用会带来系统问题^[6]。因此有材料学家提出在植入体表面构建抗菌功能层以降低植入后的感染风险，提高骨科植入手术的成功率。绝大多数对植入材料表面抗菌都是基于药物负载或者抗菌离子释放来完成的^[7]。例如在植入体表面构建负载抗菌药物的纳米管结构，然后利用可降解的高分子薄膜对纳米管表面进行包覆，从而获得可缓慢释放抗菌药物的植入物表面^[8]；又例如在钛基材料的表面修饰含银纳米颗粒，从银纳米颗粒缓慢释放出的银离子可赋予钛基材料一定的抗菌性能^[9]。改性后的材料在植入人体后也能有一定的抗菌效果，但较为突出的问题是药物的暴释或离子的安全性问题；并且材料在植入人体后只能被动地发挥抗菌效果，无法根据伤口实际情况主动调控抗菌或促进组织再生功能。

随着对植入材料性能的要求越来越高，主动调控已成为未来技术发展的趋势。将外界调控因子与植入材料结合使用，可根据损伤组织的恢复情况，更精准的实现对植入材料功能的主动调控。近红外光调控因其良好的生物组织穿透性^[10]，临床使用广泛等特点，成为较受关注的外界调控因子。多种通过近红外调控植入材料抗菌性能的研究和专利已相继发表，如宋焱焱等利用上转换发光材料将近红外光转换成可见光与紫外光，上转换材料包覆下的 TiO_2 在吸收紫外光后可与溶液中的氧和水反应产生可破坏细菌细胞壁及 DNA 结构的活性氧分子，从而实现光催化抗菌的效果^[11]；吴水林等在钛金属表面构建硫化铋纳米棒涂层，再利用磷酸银纳米粒子修饰硫化铋，使硫化铋在近红外照射下产生更多的活性氧分子，以达到近红外调控抗菌的效果^[12]；此外吴水林等还通过近红外调控硫化铋表面聚乙二醇包裹的庆大霉素释放实现抗菌，硫化铋具有的光热性能使其在近红外照射下快速升温，融化包裹在庆大霉素外的聚乙二醇从而释放药物，达到近红外调控药物释放的抗菌效果^[13]。

在上述的近红外响应材料中，近红外光在其中作为外界激发条件，激发的活性氧或庆大霉素是最终抗菌作用因素；此外，无论是上转换发光材料（含有稀土离子），还是硫化铋、硫化铋、甚至抗菌银离子，都会引入非人体所含元素，较低的生物安全性会限制他们在临床方面的应用^[14]。生物相容性较好的聚多巴胺也被尝试应用于近红外响应的抗菌生物材料中^[15,16]，但聚多巴胺的合成机理尚未明确、其合成过程中产生的副产物难以分离、聚多巴胺纳米粒子的分散性能不佳^[17]等因素均是其临床应用的阻碍。

为了解决植入物放入体内后需要通过全身性的抗生素用药预防或治疗因细菌感染引起的炎症问题，本发明提供了一种新型可降解骨植入材料，其组成包括：主体羟基磷灰石（HA）多孔支架、HA 支架表面负载的二价金属离子修饰的二维黑磷纳米材料、以及可降解高分子包裹层。本发明利用二价金属离子修饰的二维黑磷纳米材料作为近红外光热响应的核心部件，通过可降解高分子负载至 HA 支架表面，仅需通过在体外的近红外激光发生器远程近红外照射，即时调节植入部位的温度，实现调控骨缺损植入部位的抗菌和促进骨再生的不同功能，避免全身性抗生素等药物的使用，缩短缺损部位的愈合期。

[1] Wang G, Jiang W, Mo S, et al. Nonleaching Antibacterial Concept Demonstrated by In Situ Construction of 2D Nanoflakes on Magnesium[J]. Advanced Science, 2020, 7(1).

[2] 姜培齐，利用物理气相沉积技术制造表面抗菌制品的方法，CN1995422A

[3] 方立明，赵亮，陈海婷，一种医用钛或钛合金表面抗菌涂层的构建方法，CN 107137762 A

[4] 曹辉亮，刘宣勇，一种兼具成骨及抗菌性能的钛表面改性方法，CN 103014646 B

[5] Lister J L, Horswill A R. Staphylococcus aureus biofilms: recent developments in biofilm

dispersal[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2014: 178-178.

[6] 梁霞, 程晓丽, 抗生素不良反应分析及合理应用, 中国药物经济学, 2013, 06:15-16

[7] Gallo J, Holinka M, Moucha C S, et al. Antibacterial Surface Treatment for Orthopaedic Implants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, 15(8): 13849-13880.

[8] 黄浩潮, 欧阳江林, 陈贤帅, 一种用于牙种植体或骨科器械的抗菌药物抗菌药物缓释系统的构建方法, CN 109589454 A

[9] 蔡开勇, 袁璋, 刘鹏, 一种表面含银的具有良好生物相容性的抗菌钛材制备方法, CN 108434524 A

[10] Weissleder R. A clearer vision for in vivo imaging[J]. *Nature Biotechnology*, 2001, 19(4): 316-317.

[11] 宋焱焱, 高志达, 许婧文, 一种近红外光相应的抗菌剂及其制备方法, CN 109497088 A

[12] 刘想梅, 洪丽, 吴水林, 一种近红外相应的抗菌纳米复合涂层及其制备方法和应用, CN 110591430 A

[13] 吴水林, 马梦雪, 刘想梅, 一种 808 纳米近红外激发的符合抗菌涂层及其制备方法, CN 109260476 A

[14] Qiu M, Wang D, Liang W, et al. Novel concept of the smart NIR-light-controlled drug release of black phosphorus nanostructure for cancer therapy[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(3): 501-506.

[15] 郭保林, 梁永平, 史梦婷, 赵鑫, 一种抗菌粘附导电止血抗氧化的可注射复合水凝胶及其制备方法和应用, CN 110448721 A

[16] 李圣宇, 叶梦琪, 一种近红外应激型离子释放抗菌敷料、促进释放的方法及敷料组合, CN 110123523 A

[17] Cheng W, Zeng X, Chen H, et al. Versatile Polydopamine Platforms: Synthesis and Promising Applications for Surface Modification and Advanced Nanomedicine[J]. *ACS Nano*, 2019, 13(8): 8537-8565.

发明内容

本发明的目的之一是提供一种具有逐步抗菌和促进骨再生功能的骨组织工程支架。

为了达到上述目的, 本发明所采用的技术方案为: 一种具有逐步抗菌和促进骨再生功能的骨组织工程支架, 包括羟基磷灰石多孔支架、羟基磷灰石多孔支架表面负载的二价金属离子修饰的二维黑磷纳米材料、以及可降解高分子包裹层。

进一步地, 所述二价金属粒子包括 Zn 离子、Ca 离子;

所述可降解高分子包裹层包括聚乳酸-羟基乙酸共聚物 PLGA、聚乳酸 PLA、聚羟基乙酸、聚己内酯和聚丁二酸丁二醇酯。

进一步地, 通过体外即时调控的近红外激光与具有逐步抗菌功能的骨组织工程支架协调作用, 通过对近红外光密度的调节实现对具有逐步抗菌功能的骨组织工程支架温度的调节(通过体外调节近红外光强度调节其升温速度和最终保持温度), 在较高温度(45~60℃)和较低温度(39~42℃)时分别实现抗菌和促成骨的功能。

本发明的目的之二是提供一种上述所述具有逐步抗菌和促进骨再生功能的骨组织工程支架的制备方法。

为了达到上述目的, 本发明所采用的技术方案为: 一种上述所述具有逐步抗菌和促进骨再生功能的骨组织工程支架的制备方法, 包括以下步骤:

- 1) 制备羟基磷灰石支架;
- 2) 二价金属离子与黑磷的配位作用制备金属配体黑磷;
- 3) 将金属配体黑磷与可降解高分子溶液共混;

4) 羟基磷灰石支架浸入共混物后取出干燥。骨植入体从溶液中取出后, 需保证其表面的溶剂缓慢挥发以形成均匀无气孔的薄膜。二价金属离子修饰 BP 纳米材料在骨植入体表面的负载量, 可根据高分子与 BP 纳米材料悬液中所含 BP 纳米材料的浓度及总浸入时间来调节。

进一步地, 步骤 1) 中所述羟基磷灰石支架的制备方法为: 将羟基磷灰石粉末加到海藻酸钠水溶液中, 室温搅拌均匀后, 浆料填入 3D 打印机的腔室, 经加压后挤出得到羟基磷灰石支架胚体;

羟基磷灰石支架胚体在室温下干燥后, 转移到马弗炉中烧结成型;

成型后的支架用去离子水清洗 3 遍后, 即得到三维有序的羟基磷灰石支架。3D 打印 HA 支架可根据患者缺损部位的具体形状进行设计。

进一步地, 所述海藻酸钠水溶液的质量分数为 2%~3%, 所述羟基磷灰石粉末与海藻酸钠水溶液的质量比为 0.8: 1~1.2: 1, 所述搅拌时间为 6~12 小时, 所述挤出气压为 80~300kPa, 所述挤出速率为 1~1.5cm/s;

所述烧结温度为 1100~1300℃, 所述烧结时间为 6~10 小时。

进一步地, 步骤 2) 中所述金属配体黑磷的制备方法为: 将黑磷分散于 N-甲基吡咯烷酮与水的混合溶剂中, 然后加入二价金属离子配体, 在氩气保护下, 室温避光搅拌, 去离子水清洗离心后, 得到配体修饰的黑磷纳米片, 标记为金属配体黑磷。

进一步地，所述混合溶剂中水与 N-甲基吡咯烷酮的体积比为 1: 9~1: 1，所述黑磷与二价金属离子配体的投料摩尔比为 1: 1~1: 30，所述室温避光搅拌的时间为 3~12 小时，水洗离心次数为 3~5 次；

所述二价金属离子配体包括对甲苯磺酸锌、氯化锌、硝酸锌、硫酸锌、硝酸钙、氯化钙和葡萄糖酸钙等在内的盐类。

进一步地，步骤 3) 具体为：将可降解的高分子溶于二氯甲烷或三氯甲烷中得到可降解高分子溶液，将金属配体黑磷分散于无水乙醇中得到金属配体黑磷分散液，然后将金属配体黑磷分散液加入到可降解高分子溶液中，超声分散后得到金属配体黑磷与高分子的共混溶液；

步骤 4) 具体为：将步骤 1) 制备的羟基磷灰石支架浸入步骤 3) 的金属配体黑磷与可降解高分子的共混溶液中，支架取出后放置在冰箱中一段时间，然后室温真空干燥，最后得到表面修饰金属配体黑磷与可降解高分子共混物的羟基磷灰石骨组织工程支架。

进一步地，步骤 3) 所述可降解高分子溶液的浓度为 20~100 mg/mL，金属配体黑磷分散液的浓度为 1~10mg/mL，可降解高分子溶液与金属配体黑磷分散液的体积比为 1~3mL: 0.05~0.3mL，超声功率为 100~500W，超声时间为 10~60 分钟；所述可降解高分子包括聚乳酸-羟基乙酸共聚物、聚乳酸、聚羟基乙酸、聚己内酯和聚丁二酸丁二醇酯等可完全生物降解的高分子；

步骤 4) 中所述浸入时间为 0.5~3 分钟，支架取出后放置在 4℃冰箱中 1~3 天，然后室温真空干燥 6~18 小时，真空干燥的气压为 $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^4$ Pa。

本发明的目的之三是提供一种上述所述具有逐步抗菌和促进骨再生功能的骨组织工程支架的应用。

为了达到上述目的，本发明所采用的技术方案为：上述所述具有逐步抗菌和促进骨再生功能的骨组织工程支架作为骨科植入医用材料的应用。

本发明采用修饰的黑磷二维纳米片作为引入光热的核心元素，黑磷的制备工艺成熟、分散性良好和可生物降解，在生物体内降解为无生物毒性的磷酸根离子，且磷元素为人体中大量含有的必须元素，因此生物安全性良好。此外，黑磷纳米片具有良好的近红外响应性，在近红外光的照射下，黑磷的温度会快速升高，利用其产生的高温环境可以直接杀菌。黑磷纳米片在较低功率近红外照射下产生的局部微热环境也可促进新骨的形成。

本发明采用二价金属离子 (Zn^{2+} , Ca^{2+} 等) 对黑磷进行共价修饰，不仅可以提高黑磷在体内稳定性，随着黑磷的降解，这些二价金属离子可缓慢释放，与热协同作用，促进缺损部位的抗菌和骨再生。

本发明采用 3D 打印技术制备结构有序的羟基磷灰石支架，将该支架浸入含有二价金属离子配体黑磷的溶液中，即可在其表面构建具有光热响应性的功能化涂层，具有良好的抗菌及促成骨效果。与现有技术相比，本发明具有以下优点：

1) 通过 3D 打印技术制备的骨植入体具有与人体骨相匹配的结构，该结构可诱导新骨的形成。

2) 功能成分分散在具有流动性的高分子溶液中，即使骨植入体的形状不规则，也可通过浸入溶液中来实现均匀的负载。

3) 骨植入体浸入溶液后取出，溶剂挥发后即可在骨植入体表面修饰功能成分，不影响骨植入体本身的性能。

4) 黑磷与二价金属离子配位后，氧化速度减慢，在磷酸盐缓冲液中的稳定性提高，从而保证了金属配体黑磷在体内具有稳定、长效的光热性能。

5) 本发明制备的近红外响应性骨植入体，可通过在体外照射近红外光的方法，控制骨植入体在体内的抗菌效果。

6) 本发明制备的近红外响应性骨植入体在达到抗菌目的后，还可通过定期的近红外照射，来促进骨植入体附近新骨的形成。

7) 本发明制备的近红外响应性骨植入体可在体内缓慢降解，在完成骨修复后无需二次手术取出。

8) 本发明制备的近红外响应性骨植入体在体内具有逐渐降解的特性，最终降解产物为人体中常见的二氧化碳、水、锌离子、磷酸根离子和钙离子等，对人体无害，具有较高生物安全性。

附图说明

图 1 是实施例 1 中经 3D 打印和烧结处理得到的羟基磷灰石支架的宏观扫描电镜图。

图 2 是实施例 2 中羟基磷灰石支架的 X 射线衍射谱图。

图 3a 是实施例 3 中未经对甲苯磺酸锌配位的纯黑磷纳米片的扫描电镜图。

图 3b 是实施例 3 中经对甲苯磺酸锌配位的锌配体黑磷的扫描电镜图。

图 4 是实施例 4 中黑磷和锌配体黑磷的 X 射线光电子能谱全谱谱图。

图 5 是实施例 5 中对甲苯磺酸锌、黑磷和锌配体黑磷的 Zeta 电位图。

图 6 是实施例 6 中黑磷和锌配体黑磷分散在水中 7 天的光学照片。

图 7a 是实施例 7 中羟基磷灰石支架的表面微观形貌扫描电镜图。

图 7b 是实施例 7 中 $\text{ZnL}_2\text{-BPs@HA-PLGA}$ 的表面微观形貌扫描电镜图。

图 8 是实施例 8 中样品在近红外照射下的升温曲线。

图 9 是实施例 9 中样品在磷酸盐溶液里孵育 10 周期间的光学照片对比。

图 10 是实施例 10 中 $\text{ZnL}_2\text{-BPs@HA-PLGA}$ 在磷酸盐溶液里孵育 10 周期间的光热效率变化。

图 11 是实施例 11 中植入部位的光学照片对比。

图 12 是实施例 12 中材料在体内对金黄色葡萄球菌的抗菌率示意图。

图 13 是实施例 13 中植入体周围骨组织的三维重建图。

图 14 是实施例 14 中植入体周围的骨体积分数对比图。

具体实施方式

下面将结合本发明实施例中的附图，对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述，显然，所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例，而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例，本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例，都属于本发明保护的范围。

本发明首先通过 3D 打印技术制备出三维有序的羟基磷灰石支架，然后利用二价金属离子与黑磷的配位作用制备出带正电荷的、稳定性良好的金属配体黑磷（通过黑磷与二价金属离子的配位作用增强黑磷的稳定性），再将配体修饰后的黑磷与可降解高分子共混，羟基磷灰石支架浸入共混物后取出，共混物的溶剂挥发后，支架的表面即负载上具有近红外响应性的金属配体黑磷，得到可实现光热抗菌及热促成骨的金属配体黑磷改性骨植入体。

实施例 1

将 10g 羟基磷灰石粉末加入到 10mL 质量分数为 3% 的海藻酸钠溶液中，室温下搅拌 6 小时，然后将搅拌后的浆料填入 3D 打印机的腔室中，在 120kPa 的气压下，以 1cm/s 的打印速度挤出浆料。在胚体室温干燥后，将其转移到马弗炉中，在 1200℃ 下烧结 8 小时，烧结后的羟基磷灰石支架用去离子水超声清洗 3 次。以该步骤得到的样品称为 HA。

通过扫描电子显微镜对 HA 进行观察，得到图 1 所示的形貌照片。由图 1 可知，经烧结后，HA 呈规则的圆柱状羟基磷灰石组成的层状支架，其中单根羟基磷灰石圆柱的直径约为 550μm，每根圆柱之间的间距约为 180μm，层间夹角为 60°，可见 HA 具有规整有序的立体结构，有利于诱导骨再生。

实施例 2

采用 X 射线衍射仪对实施例 1 中处理得到的 HA 样品进行表征，得到图 2 所示的 X 射线

谱图。由图 2 中的谱图可知, 烧结清洗后 HA 的晶体结构与纯净的羟基磷灰石粉末的标准谱图一致, 这说明了 HA 中的有机相在烧结过程中已完全挥发, HA 支架由单纯的羟基磷灰石组成。

实施例 3

将 3mg 黑磷分散到 6mL 的 N-甲基吡咯烷酮与水的混合溶液中, 其中 N-甲基吡咯烷酮与水的体积比为 9: 1, 然后加入 60mg 对甲苯磺酸锌。在氩气保护下避光搅拌 12 小时后, 以 12000rpm 的转速离心 15 分钟, 倒掉上清液后, 用去离子水超声清洗沉淀, 12000rpm 的转速离心 15 分钟后收集经对甲苯磺酸锌修饰的黑磷沉淀, 标记为 $\text{ZnL}_2\text{-BPs}$ (锌配体黑磷)。

通过扫描电子显微镜对黑磷与锌配体黑磷进行观察, 得到图 3 所示的形貌照片。图 3a 表明黑磷呈现出纳米片状结构, 尺寸在 100-500nm 之间。在图 3b 中, 锌配体黑磷呈现出与未改性黑磷相似的结构与尺寸, 这说明与对甲苯磺酸锌的配位不会影响黑磷的结构与尺寸。

实施例 4

对实施案例 3 中的黑磷 (BPs) 与锌配体黑磷 ($\text{ZnL}_2\text{-BPs}$) 进行 X 射线光电子能谱 (XPS) 宽场扫描, 得到图 4 所示的 XPS 全谱谱图。其中横坐标表示结合能, 纵坐标表示峰强。通过观察图 4 中各试样的信号峰可知, $\text{ZnL}_2\text{-BPs}$ 除了呈现出与 BPs 一样的 O 1s 峰、C 1s 峰和 P 2p 峰外, 还存在与对甲苯磺酸锌相关的 Zn 2p 峰、Zn 的俄歇电子信号峰和 S 2p 峰, 说明 $\text{ZnL}_2\text{-BPs}$ 由对甲苯磺酸锌与黑磷配位形成。

实施例 5

采用 Zeta 电位仪对实施案例 3 中的对甲苯磺酸锌 (ZnL_2)、黑磷 (BPs) 与锌配体黑磷 ($\text{ZnL}_2\text{-BPs}$) 进行 Zeta 电位测试, 得到图 5 所示结果。结果显示, ZnL_2 的 zeta 电位为 +31.2 mV, BPs 表面与 ZnL_2 配位后, zeta 电位从 -25.8 mV 变至 +28.2 mV。

实施例 6

将实施案例 3 中的黑磷 (BPs) 与锌配体黑磷 ($\text{ZnL}_2\text{-BPs}$) 分别分散在去离子水中, 用相机记录 0、1、3、5、7 天后分散液的颜色变化, 结果如图 6 所示。由于黑磷易被氧化成可溶于水的磷酸根离子, 因此 BPs 分散液的颜色逐渐变透明。然而, $\text{ZnL}_2\text{-BPs}$ 分散液在放置 7 天后依然呈不透明的棕色, 这说明 $\text{ZnL}_2\text{-BPs}$ 的稳定性良好, 可以降低被氧化的速率。

实施例 7

将 100 mg 聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (PLGA) 溶解在 2 mL 三氯甲烷中, 同时将 1.0 mg 实施案例 3 中的锌配体黑磷 ($\text{ZnL}_2\text{-BPs}$) 分散在 100 μL 无水乙醇中, 然后把 $\text{ZnL}_2\text{-BPs}$ 分散液加入到 PLGA 溶液中, 超声分散 30 分钟。把实施步骤 1 中的羟基磷灰石支架 (HA) 浸入到

ZnL₂-BPs 与 PLGA 的混合液中, 1 分钟后取出, 放置在 4℃冰箱中 3 天, 然后室温下真空干燥 12 小时后, 得到表面负载有 ZnL₂-BPs 的支架, 该处理后的样品称为 ZnL₂-BPs@HA-PLGA。以上所选用的 HA 直径为 7mm, 厚度为 2.5 mm。相似地, 把 HA 浸入到 PLGA 溶液中制得的样品称为 HA-PLGA; 把 HA 浸入到黑磷 (BPs) 与 PLGA 的混合液中制得的样品称为 BPs@HA-PLGA。

采用扫描电子显微镜观察 HA 和 ZnL₂-BPs@HA-PLGA 的表面形貌, 得到图 7 所示的形貌图片。从图 7a 可知, HA 由纳米级的球形羟基磷灰石烧结而成, 表面存在大量孔隙。图 7b 中 ZnL₂-BPs@HA-PLGA 的表面相对光滑平整, 在制备时, ZnL₂-BPs 与 PLGA 的混合物填充了 HA 基底表面的孔隙, 溶剂挥发后在 HA 表面形成了负载有 ZnL₂-BPs 的 PLGA 薄膜。

实施例 8

将实施例 7 中的 HA、HA-PLGA、BPs@HA-PLGA 和 ZnL₂-BPs@HA-PLGA 分别浸泡在 300 μ L 磷酸盐缓冲液中, 用近红外激光器照射样品, 激光功率为 1.0 W/cm², 照射距离为 10 cm, 使用热成像仪记录近红外照射时样品的温度变化, 结果如图 8 所示。HA 和 HA-PLGA 在近红外照射下温度变化不明显, 说明 HA 与 PLGA 均不具有光热效应; 而在近红外照射下 BPs@HA-PLGA 和 ZnL₂-BPs@HA-PLGA 均快速升温至 50℃, 说明黑磷具有良好的光热效果, 并且对甲苯磺酸锌的加入不会影响黑磷的光热性能。

实施例 9

先将实施例 7 中的 HA、HA-PLGA、BPs@HA-PLGA 和 ZnL₂-BPs@HA-PLGA 分别放入装有 4 mL 磷酸盐缓冲液的玻璃瓶中, 其中玻璃瓶内液体可淹没样品, 然后将装有样品的玻璃瓶放置在 37℃的摇床中孵育 10 周, 摇床的转速为 100 rpm/min, 使用相机记录孵育过程中样品的宏观形貌变化。如图 9 所示, HA 和 HA-PLGA 在孵育过程中宏观形貌未发生明显变化; 而 BPs@HA-PLGA 在孵育的 4 周内颜色逐渐由深棕色变为白色, 这是 BPs@HA-PLGA 中的黑磷降解造成的。相反, ZnL₂-BPs@HA-PLGA 在孵育时的褪色速度明显较慢, 到第 6 周时依然呈浅棕色, 这说明 ZnL₂-BPs 具有更好的稳定性。

实施例 10

将实施例 9 中的 ZnL₂-BPs@HA-PLGA 从玻璃瓶中取出, 然后对其进行近红外激光照射, 激光功率为 1.0 W/cm², 照射距离为 10 cm, 同时用热成像仪监测样品的温度变化, 得到图 10 所示的温度-时间变化图。从图 10 可知, ZnL₂-BPs@HA-PLGA 具有稳定的光热性能, 在孵育的前 6 周内, 1.0 W/cm² 近红外照射下样品的升温幅度可达到 15℃以上。

实施例 11

选用 10 周大的 SD 大鼠作为体内实验对象，实验分为 HA+Light、ZnL₂-BPs@HA-PLGA 和 ZnL₂-BPs@HA-PLGA+Light 3 组。先将 3 组样品分别浸泡在金黄色葡萄球菌浓度为 5×10^4 CFU/mL 的生理盐水中 1 分钟，然后将样品取出植入到大鼠胫骨缺损部位。在植入后的 1、2、3 天对 HA+Light 和 ZnL₂-BPs@HA-PLGA+Light 组的胫骨进行 808 nm 的近红外激光照射，激光功率为 1.5 W/cm^2 ，照射时间为 10 分钟，激光光源与大鼠胫骨的距离为 15 cm，ZnL₂-BPs@HA-PLGA+Light 组的辐照温度为 $50 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 。

植入后的第 14 天对部分大鼠进行安乐死，用相机记录各组植入部位的细菌感染情况，得到如图 11 所示的照片。由图 11 可知，HA+Light 组的植入部位附近存在大量的脓液，这说明 HA+Light 组在植入后发生了细菌感染；虽然 ZnL₂-BPs@HA-PLGA 组的感染情况没有 HA+Light 组严重，但其植入部位附近依然有脓液出现，说明 ZnL₂-BPs@HA-PLGA 中虽然含有具抗菌效果的锌元素，但并不足以完全杀伤附着在其中的金黄色葡萄球菌；而在 ZnL₂-BPs@HA-PLGA+Light 组中没有发现脓液，说明近红外光照射 ZnL₂-BPs@HA-PLGA 时产生的局部高温可协同锌元素有效地杀伤细菌，达到良好的抗菌效果。

实施例 12

将实施案例 11 中各组的样品从植入部位取出，通过平板计数法计算出各组的抗菌率。如图 12 所示，ZnL₂-BPs@HA-PLGA+Light 达到了 98.5%，说明可以通过在体外照射近红外的方法，调控 ZnL₂-BPs@HA-PLGA 在体内的抗菌行为，以达到良好的抗菌效果。

实施例 13

在实施案例 11 中的 HA+Light 和 ZnL₂-BPs@HA-PLGA+Light 植入到大鼠胫骨后的前 6 周，每周都对 HA+Light 和部分 ZnL₂-BPs@HA-PLGA+Light 的大鼠的胫骨进行 808 nm 的近红外激光照射，对应的样品分别标记为 HA (++)和 ZnL₂-BPs@HA-PLGA (++)，激光功率为 1.0 W/cm^2 ，照射时间为 6 分钟，激光光源与大鼠胫骨的距离为 15 cm，辐照时 ZnL₂-BPs@HA-PLGA (++)组植入部位处的最高温度为 $40 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 。没有经过每周近红外照射的 ZnL₂-BPs@HA-PLGA+Light 样品标记为 ZnL₂-BPs@HA-PLGA (+-)。

在植入后的第 10 周，将各组大鼠进行安乐死，胫骨取出进行 micro-CT 扫描，扫描结果经数据重建后得到如图 13 所示的三维图片。从图 13 可知，HA (++)组植入物附近的骨组织最少，这是因为前期的细菌感染影响了后期的新骨形成；在前期已经消除细菌感染的两组中，ZnL₂-BPs@HA-PLGA (++)附近的骨组织比 ZnL₂-BPs@HA-PLGA (+-)要多，这说明在前期利用近红外达到抗菌效果后，后期还可利用照射近红外的方法提升 ZnL₂-BPs@HA-PLGA 在体内的成骨效果。

实施例 14

使用 CTAn 软件对实施例 13 中的 micro-CT 三维图片进行分析,得到如图 14 所示的骨体积分数 (BV/TV)图。其中,因为细菌感染,HA (++)组的 BV/TV 只有 31.49%;在消除细菌感染后,ZnL₂-BPs@HA-PLGA (+-)的 BV/TV 达到了 45.26%;在消除细菌感染后,若继续对样品照射近红外光,ZnL₂-BPs@HA-PLGA (++)组的 BV/TV 则提高至 57.72%。

最后应说明的是,以上各实施例仅用以说明本发明的技术方案,而非对其限制;尽管参照前述实施例对本发明进行了详细的说明,本领域的普通技术人员应当理解:凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

权 利 要 求 书

1、一种具有逐步抗菌和促进骨再生功能的骨组织工程支架，其特征在于，包括羟基磷灰石多孔支架、羟基磷灰石多孔支架表面负载的二价金属离子修饰的二维黑磷纳米材料、以及可降解高分子包裹层。

2、根据权利要求1所述的具有逐步抗菌和促进骨再生功能的骨组织工程支架，其特征在于，所述二价金属离子包括 Zn 离子、Ca 离子；

所述可降解高分子包裹层包括聚乳酸-羟基乙酸共聚物 PLGA、聚乳酸 PLA、聚羟基乙酸、聚己内酯和聚丁二酸丁二醇酯。

3、一种权利要求1或2所述具有逐步抗菌和促进骨再生功能的骨组织工程支架的制备方法，其特征在于，包括以下步骤：

- 1) 制备羟基磷灰石支架；
- 2) 二价金属离子与黑磷的配位作用制备金属配体黑磷；
- 3) 将金属配体黑磷与可降解高分子溶液共混；
- 4) 羟基磷灰石支架浸入共混物后取出干燥。

4、根据权利要求3所述的制备方法，其特征在于，步骤1)中所述羟基磷灰石支架的制备方法为：将羟基磷灰石粉末加到海藻酸钠水溶液中，室温搅拌均匀后，浆料填入3D打印机的腔室，经加压后挤出得到羟基磷灰石支架胚体；

羟基磷灰石支架胚体在室温下干燥后，转移到马弗炉中烧结成型；

成型后的支架用去离子水清洗3遍后，即得到三维有序的羟基磷灰石支架。

5、根据权利要求4所述的制备方法，其特征在于，所述海藻酸钠水溶液的质量分数为2%~3%，所述羟基磷灰石粉末与海藻酸钠水溶液的质量比为0.8:1~1.2:1，所述搅拌时间为6~12小时，所述挤出气压为80~300kPa，所述挤出速率为1~1.5cm/s；

所述烧结温度为1100~1300℃，所述烧结时间为6~10小时。

6、根据权利要求3所述的制备方法，其特征在于，步骤2)中所述金属配体黑磷的制备方法为：将黑磷分散于N-甲基吡咯烷酮与水的混合溶剂中，然后加入二价金属离子配体，在氩气保护下，室温避光搅拌，去离子水清洗离心后，得到配体修饰的黑磷纳米片，标记为金属配体黑磷。

7、根据权利要求6所述的制备方法，其特征在于，所述混合溶剂中水与N-甲基吡咯烷酮的体积比为1:9~1:1，所述黑磷与二价金属离子配体的投料摩尔比为1:1~1:30，所述室温避光搅拌的时间为3~12小时，水洗离心次数为3~5次；

所述二价金属离子配体包括对甲苯磺酸锌、氯化锌、硝酸锌、硫酸锌、硝酸钙、氯化钙

和葡萄糖酸钙。

8、根据权利要求3所述的制备方法，其特征在于，步骤3)具体为：将可降解的高分子溶于二氯甲烷或三氯甲烷中得到可降解高分子溶液，将金属配体黑磷分散于无水乙醇中得到金属配体黑磷分散液，然后将金属配体黑磷分散液加入到可降解高分子溶液中，超声分散后得到金属配体黑磷与高分子的共混溶液；

步骤4)具体为：将步骤1)制备的羟基磷灰石支架浸入步骤3)的金属配体黑磷与可降解高分子的共混溶液中，支架取出后放置在冰箱中一段时间，然后室温真空干燥，最后得到表面修饰金属配体黑磷与可降解高分子共混物的羟基磷灰石骨组织工程支架。

9、根据权利要求8所述的制备方法，其特征在于，步骤3)中所述可降解高分子溶液的浓度为20~100 mg/mL，金属配体黑磷分散液的浓度为1~10mg/mL，可降解高分子溶液与金属配体黑磷分散液的体积比为1~3mL: 0.05~0.3mL，超声功率为100~500W，超声时间为10~60分钟；所述可降解高分子包括聚乳酸-羟基乙酸共聚物、聚乳酸、聚羟基乙酸、聚己内酯和聚丁二酸丁二醇酯；

步骤4)中所述浸入时间为0.5~3分钟，支架取出后放置在4℃冰箱中1~3天，然后室温真空干燥6~18小时，真空干燥的气压为 $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^4$ Pa。

10、权利要求1所述具有逐步抗菌和促进骨再生功能的骨组织工程支架作为骨科植入医用材料的应用。

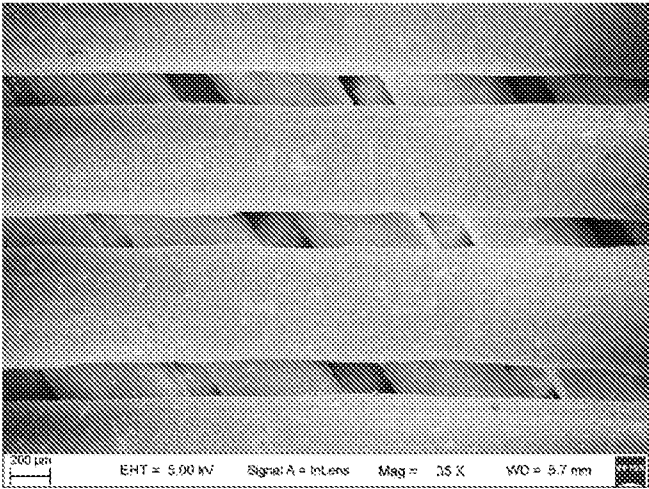


图 1

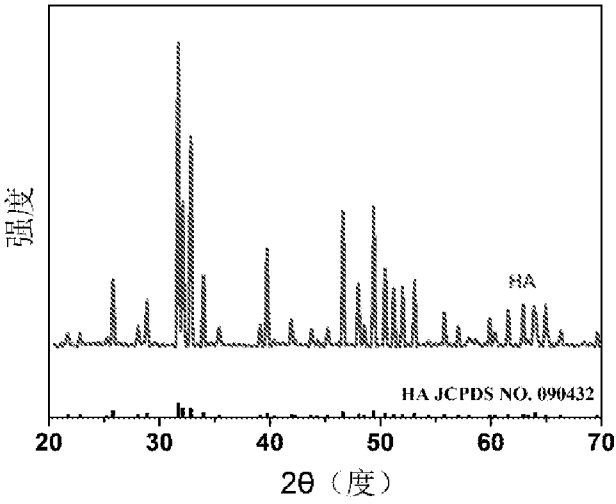


图 2

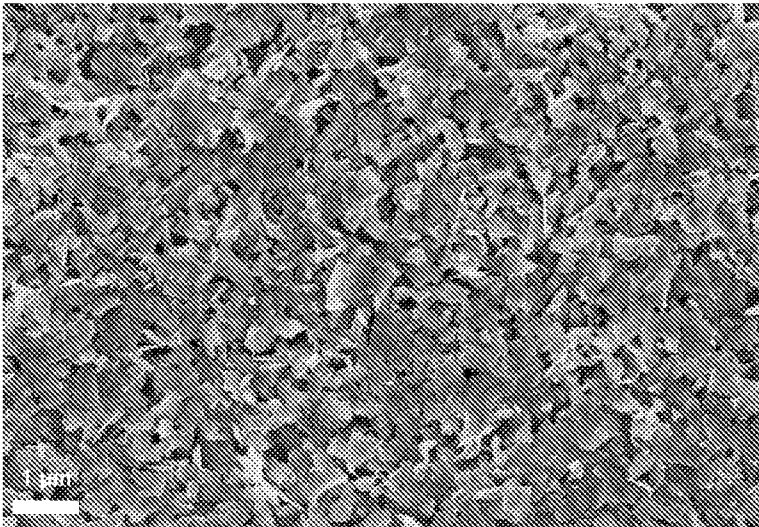


图 3a

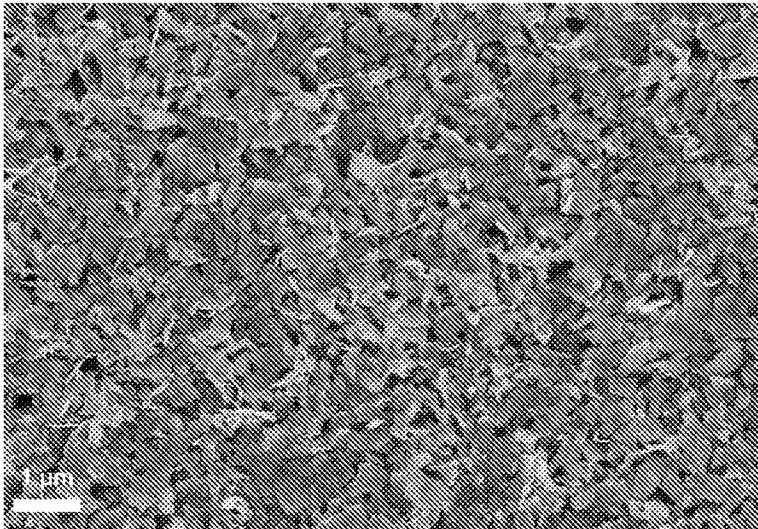


图 3b

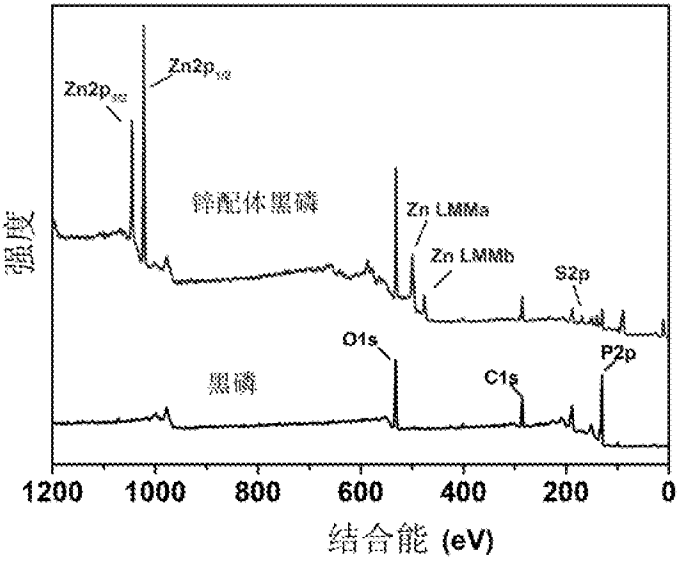


图 4

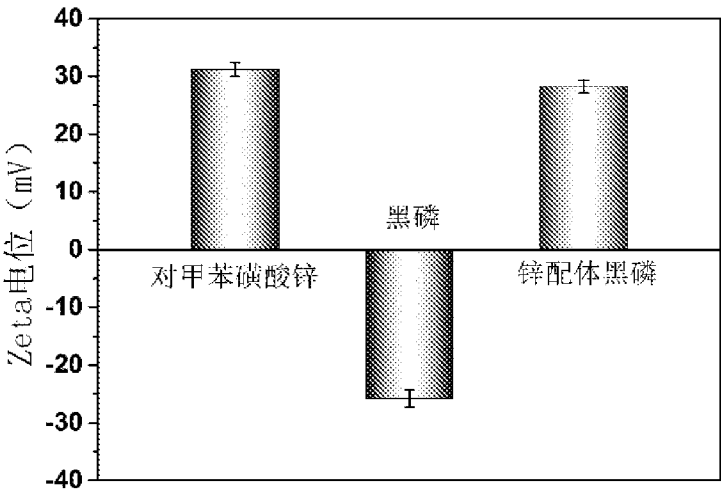


图 5

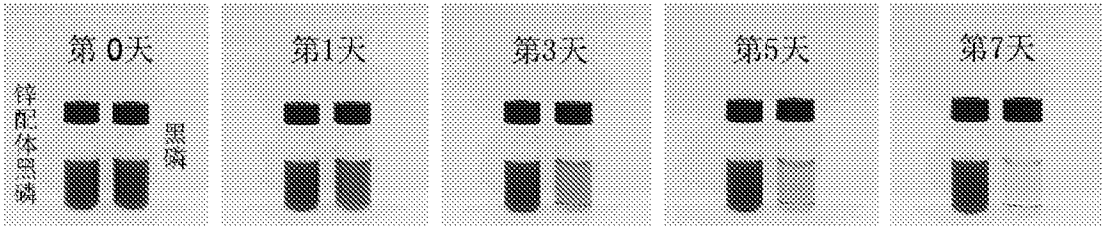


图 6

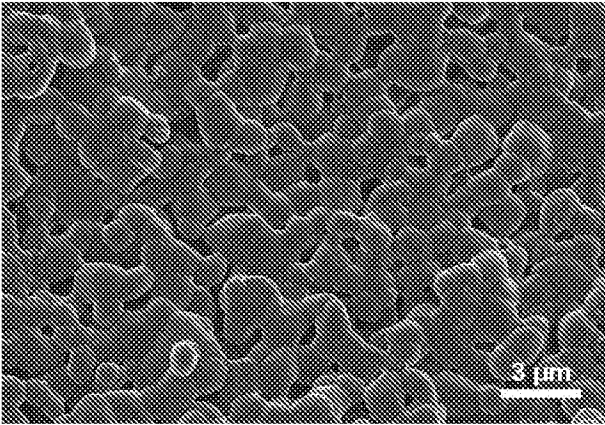


图 7a

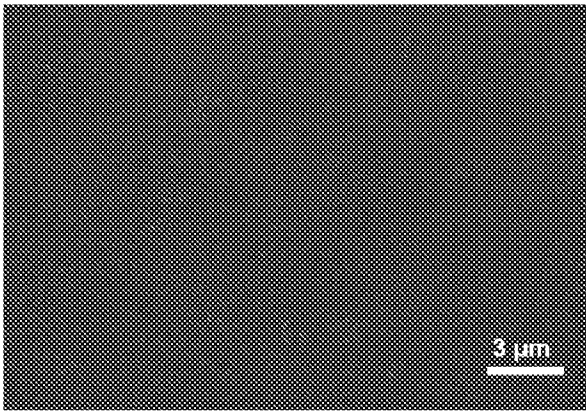


图 7b

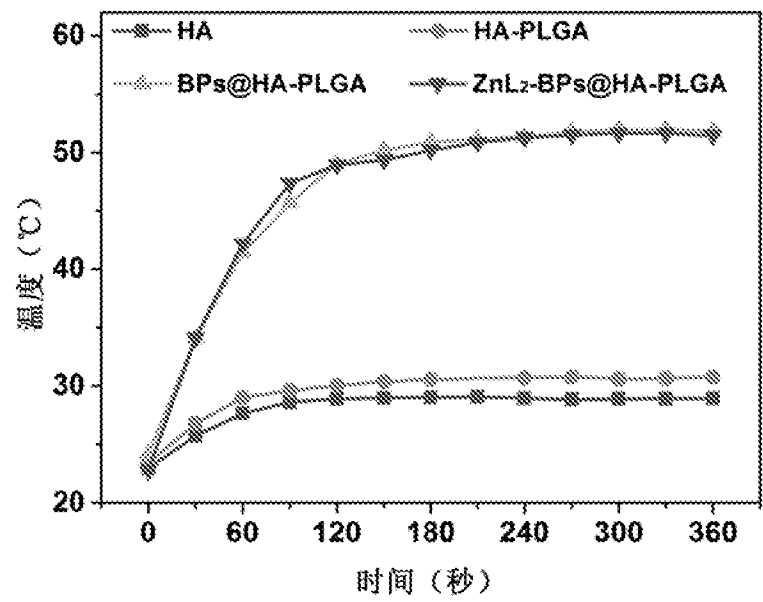


图 8

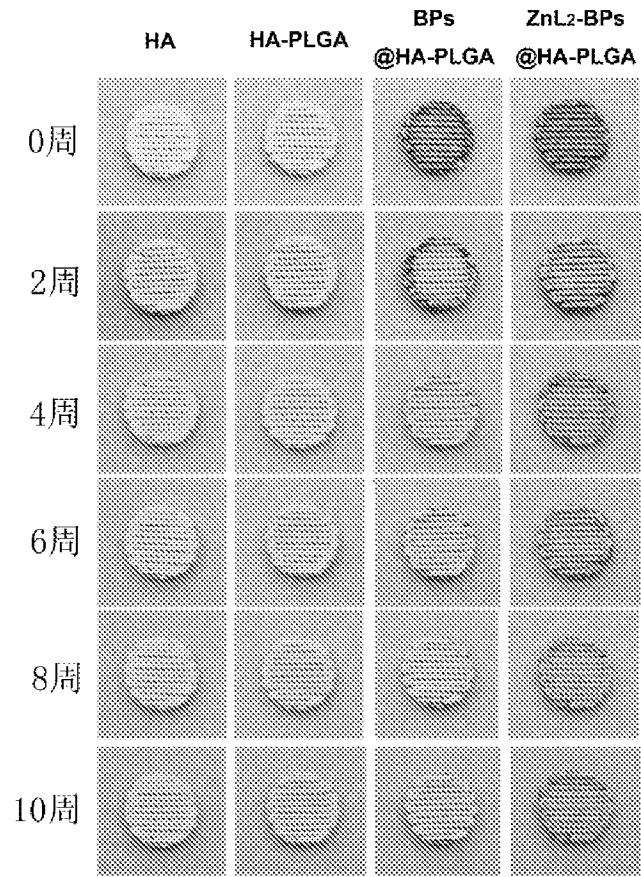


图 9

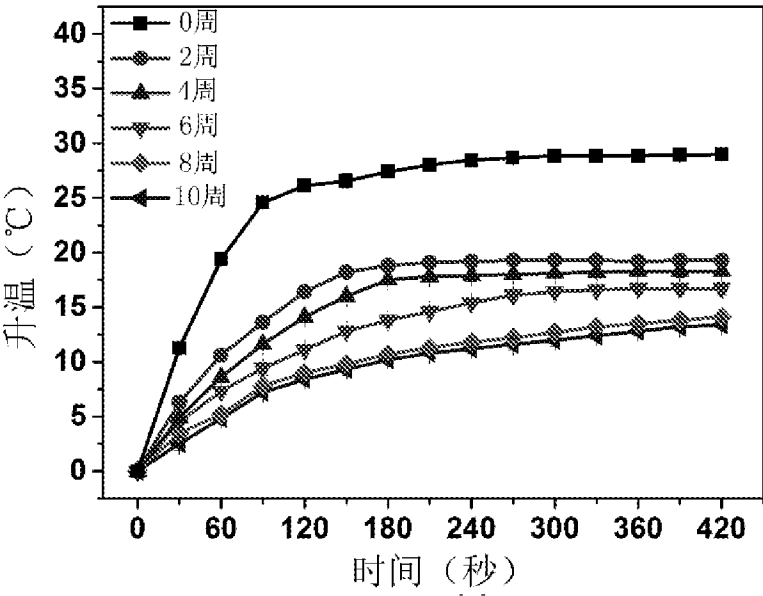


图 10



图 11

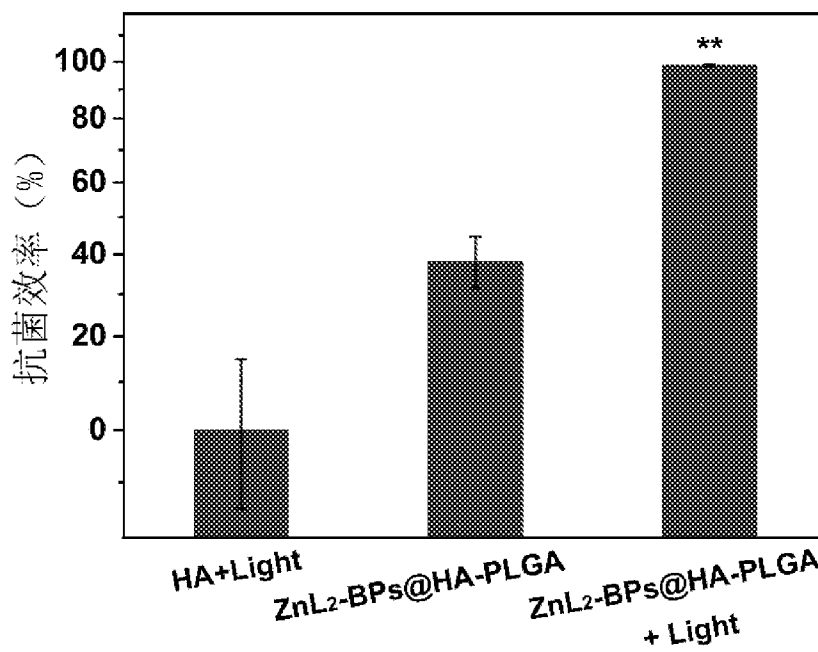


图 12

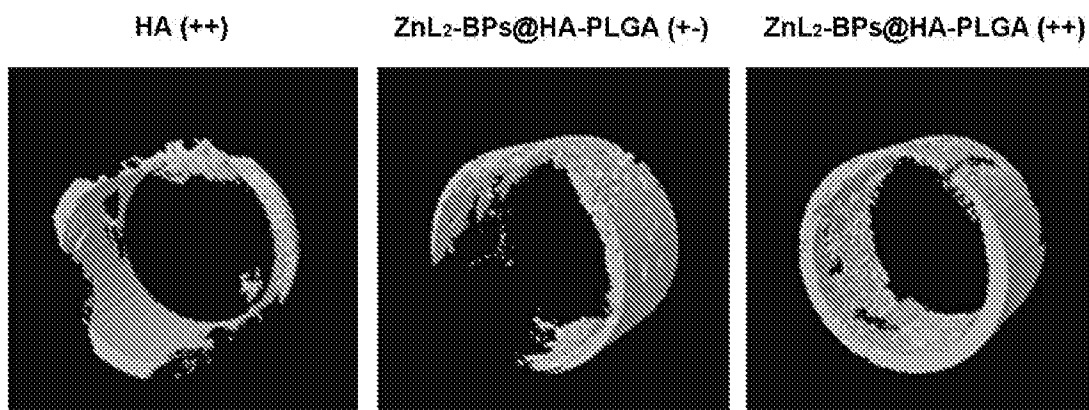


图 13

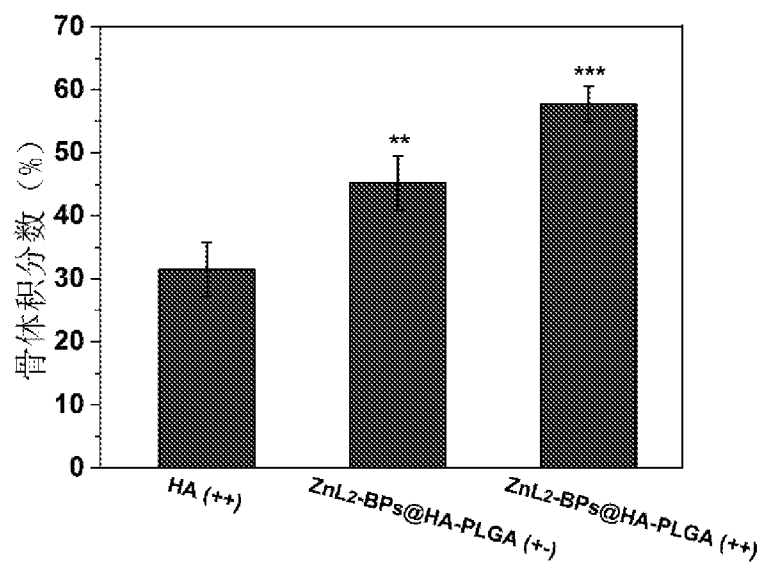


图 14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/080673

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61L 27/12(2006.01)i; A61L 27/58(2006.01)i; A61L 27/50(2006.01)i; A61F 2/28(2006.01)i; A61F 2/30(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;; A61F

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)

EPODOC, WPI, CNPAT, CNKI: 中国科学院深圳先进技术研究院, 伍煜政, 童丽萍, 王怀雨, 支架, 骨, 3D, 打印, 羟基磷灰石, 黑磷, 纳米, 量子, 光热, 近红外, 成骨, 再生, 配体, 配位, 修饰, 金属, 锌, 钙, 聚乳酸羟基乙酸共聚物, bone, scaffold, printing, black phosphorus, BP, BPs, BPn, osteogenesis, ligand, zinc, zn, calcium, ca, metal, ion, PLGA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Yang, Bowen et al. "2D-Black-Phosphorus-Reinforced 3D-Printed Scaffolds: A Stepwise Countermeasure for Osteosarcoma" <i>Advanced Materials</i> , Vol. 30, No. 10, 06 March 2018 (2018-03-06), ISSN: 1521-4095, pp. 1-11	1-10
Y	CN 106366121 A (SHENZHEN INSTITUTES OF ADVANCED TECHNOLOGY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 01 February 2017 (2017-02-01) description, paragraphs [0019]-[0069], and figures 1-4	1-10
A	CN 106668951 A (SHANGHAI NATIONAL ENGINEERING RESEARCH CENTER FOR NANOTECHNOLOGY CO., LTD.) 17 May 2017 (2017-05-17) entire document	1-10
A	CN 108066815 A (SHENZHEN INSTITUTES OF ADVANCED TECHNOLOGY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 25 May 2018 (2018-05-25) entire document	1-10
A	CN 107441488 A (SHENZHEN UNIVERSITY) 08 December 2017 (2017-12-08) entire document	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"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)

"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

"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

"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

"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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 November 2020

Date of mailing of the international search report

24 December 2020

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/080673

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2020049475 A1 (MATERIAS S.R.L.) 12 March 2020 (2020-03-12) entire document	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/080673

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	106366121	A	01 February 2017	US	2017174516	A1	22 June 2017
				US	10336615	B2	02 July 2019
				WO	2017101146	A1	22 June 2017
				CN	106366121	B	14 July 2017
CN	106668951	A	17 May 2017	None			
CN	108066815	A	25 May 2018	CN	108066815	B	28 July 2020
CN	107441488	A	08 December 2017	None			
WO	2020049475	A1	12 March 2020	None			

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/080673

A. 主题的分类 A61L 27/12(2006.01)i; A61L 27/58(2006.01)i; A61L 27/50(2006.01)i; A61F 2/28(2006.01)i; A61F 2/30(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;; A61F 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)) EP0DOC, WPI, CNPAT, CNKI: 中国科学院深圳先进技术研究院, 伍煜政, 童丽萍, 王怀雨, 支架, 骨, 3D, 打印, 羟基磷酸灰石, 黑磷, 纳米, 量子, 光热, 近红外, 成骨, 再生, 配体, 配位, 修饰, 金属, 锌, 钙, 聚乳酸羟基乙酸共聚物, bone, scaffold, printing, black phosphorus, BP, BPs, BPn, osteogenesis, ligand, zinc, zn, calcium, ca, metal, ion, PLGA		
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
Y	Yang, Bowen等. "2D-Black-Phosphorus-Reinforced 3D-Printed Scaffolds: A Stepwise Countermeasure for Osteosarcoma" Advanced Materials, 第30卷, 第10期, 2018年 3月 6日 (2018 - 03 - 06), ISSN: 1521-4095, 第1-11页	1-10
Y	CN 106366121 A (中国科学院深圳先进技术研究院) 2017年 2月 1日 (2017 - 02 - 01) 说明书第[0019]-[0069]段、图1-4	1-10
A	CN 106668951 A (上海纳米技术及应用国家工程研究中心有限公司) 2017年 5月 17日 (2017 - 05 - 17) 全文	1-10
A	CN 108066815 A (深圳先进技术研究院) 2018年 5月 25日 (2018 - 05 - 25) 全文	1-10
A	CN 107441488 A (深圳大学) 2017年 12月 8日 (2017 - 12 - 08) 全文	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		国际检索报告邮寄日期
2020年 11月 26日		2020年 12月 24日
ISA/CN的名称和邮寄地址		授权官员
中国国家知识产权局(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		刘超 电话号码 86-(10)-53962558

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
A	W0 2020049475 A1 (MATERIAS S.R.L.) 2020年 3月 12日 (2020 - 03 - 12) 全文	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/080673

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	106366121	A	2017年 2月 1日	US	2017174516	A1	2017年 6月 22日
				US	10336615	B2	2019年 7月 2日
				WO	2017101146	A1	2017年 6月 22日
				CN	106366121	B	2017年 7月 14日
CN	106668951	A	2017年 5月 17日	无			
CN	108066815	A	2018年 5月 25日	CN	108066815	B	2020年 7月 28日
CN	107441488	A	2017年 12月 8日	无			
WO	2020049475	A1	2020年 3月 12日	无			