

# (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  
2018年3月1日 (01.03.2018)



(10) 国际公布号  
**WO 2018/035773 A1**

(51) 国际专利分类号:

*A61L 27/02* (2006.01)     *A61K 8/25* (2006.01)  
*A61L 27/12* (2006.01)     *A61K 8/19* (2006.01)  
*A61L 27/20* (2006.01)     *A61K 8/24* (2006.01)  
*A61L 27/56* (2006.01)     *A61K 8/34* (2006.01)  
*A61L 27/58* (2006.01)     *A61Q 11/00* (2006.01)  
*A61K 8/73* (2006.01)

(72) 发明人; 及

(71) 申请人: 胡方(HU, Fang) [CN/CN]; 中国四川省大竹县周家镇新兴街128号, Sichuan 635199 (CN)。

(74) 代理人: 北京国坤专利代理事务所(普通合伙)(BEIJING GUOKUN PATENT AGENCY (GENERAL PARTNERSHIP)); 中国北京市朝阳区五里桥二街2号院10号楼1105, Beijing 100024 (CN)。

(21) 国际申请号: PCT/CN2016/096604

(22) 国际申请日: 2016年8月24日 (24.08.2016)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, 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,

(54) Title: REGENERATIVE MEDICAL MATERIAL, PREPARATION METHOD THEREFOR, AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 再生医学材料及其制备方法和应用

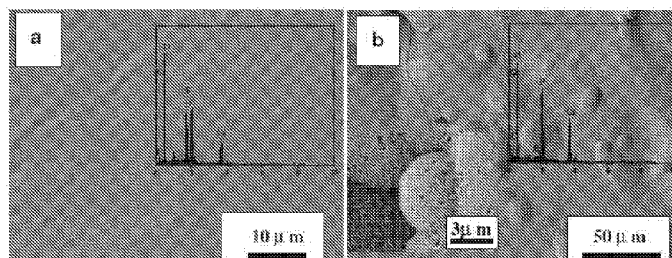


图 3

(57) Abstract: Disclosed are a regenerative medical material for promoting the repair of soft and hard tissues, a preparation method therefor, and the use thereof. The regenerative medical material has a three-dimensional network structure and is a composite material composed of inorganics and organics, wherein the mass ratio of the inorganics to the organics is 2 : 1 - 4 : 1. Based on the total mass of the inorganics, the inorganics contain 12-38% SiO<sub>2</sub>, 3-5% Na<sub>2</sub>O, 15-29% CaO, 10-32.5% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 1-5% inositol hexaphosphate, 1-5% cyclohexanhexol phosphate, and the balance of impurities, with the content of impurities being less than 0.5%. Based on the total mass of the organics, the organics contain 30-60% carboxymethyl chitosan and 30-60% sodium hyaluronate. The regenerative medical material has a composition and properties better suited to the human body and plays a key role in cell repair and bonding, cell proliferation, and promoting the growth of hair follicles.

(57) 摘要: 一种促进软硬组织修复的再生医学材料及其制备方法和应用, 再生医学材料具有三维网络结构, 且为由无机物和有机物组成的复合材料, 其中无机物与有机物的质量比为2:1-4:1。基于无机物的总质量, 无机物中包含12-38% SiO<sub>2</sub>、3-5% Na<sub>2</sub>O、15-29% CaO、10-32.5% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>、1-5%肌醇六磷酸酯、1-5%环己六醇磷酸酯, 余量为杂质, 杂质的含量小于0.5%。基于有机物的总质量, 有机物中包含30-60%羧甲基壳聚糖、30-60%透明质酸钠。该再生医学材料具有更加适于人体的组成及性质, 在细胞修复和键合、细胞增殖、促进毛囊生长方面有关键作用。

WO 2018/035773 A1

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)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

## 再生医学材料及其制备方法和应用

### 技术领域

本发明涉及再生医学领域，具体地涉及一种再生医学材料及其制备方法和应用。

### 背景技术

生物活性玻璃及玻璃陶瓷最显著的特征是植入人体后，表面状况随时间而动态变化，表面形成生物活性的碳酸羟基磷灰石(HCA)层，为组织提供了键合界面。多数生物活性玻璃是A类生物活性材料，既有骨生成性(osteopductive)，又有骨引导(osteoconductive)作用，与骨和软组织都有良好的结合性，生物活性玻璃(BAG)被认为是可应用在修复领域的良好生物材料。此种修复性材料的用途不但极为广泛，而且在众多领域的专业性产品上有着无法替代的神奇功效，如肌肤护理、美白去皱、烧伤烫伤、口腔溃疡、肠胃溃疡、皮肤溃烂、杀灭真菌、骨骼修复、软组织和骨组织的键合等，它的出现将为人类健康做出卓越贡献。此外，BAG还具有快速的表面反应；无定形二维结构使强度及断裂韧性低；弹性模量(30-35MPa)低，与皮质骨接近；可切削生物玻璃具有良好的加工性能。

但是这种生物玻璃存在一些关键问题：1、降解速度缓慢，完全降解通常需要1-2年时间；2、pH值不稳定，其pH值可达到11，形成强碱性，具有一定的细胞毒性；3、这种生物玻璃采用熔融淬冷反应温度很高，在1700-1900℃，造成高能耗，建设一条标准生产线需要投资10亿元以上；4、这种生物玻璃不能形成多孔材料，难于实现材料高度符合及拓展功能。

因此，目前市场上急需能够代替上述生物玻璃的新型再生医学材料。

## 发明内容

为了解决上述技术问题，本发明的一方面，提供一种促进软硬组织修复的再生医学材料，所述再生医学材料具有三维网络结构，且为由无机物和有机物组成的复合材料，其中，所述无机物与所述有机物的质量比为2:1-4:1；

基于所述无机物的总质量，所述无机物包含12-38%  $\text{SiO}_2$ 、3-5%  $\text{Na}_2\text{O}$ 、15-29%  $\text{CaO}$ 、10-32.5%  $\text{P}_2\text{O}_5$ ，1-5%肌醇六磷酸酯、1-5%环己六醇磷酸酯，余量为杂质，其含量小于0.5%；

基于所述有机物的总质量，所述有机物包含30-60% 羧甲基壳聚糖和30-60% 透明质酸钠。

在优选的实施方案中，所述无机物与所述有机物的质量比为3:1。另外，所述无机物中的钙磷重量比为1.5至1.8，优选1.67。

在优选的实施方案中，所述无机物通过溶胶-凝胶法以大豆皮提取液作为磷前驱体，在300~700℃下恒温烧结得到。

本发明的另一方面，提供一种细胞生长载体，其包含上述促进软硬组织修复的再生医学材料。优选地，所述细胞生长载体为医疗装置，特别是植入物的至少一部分。

本发明的再一方面，提供一种促进软硬组织修复的方法，其中使用本发明中所述的再生医学材料。

本发明的其他方面，提供本发明所述的促进软硬组织修复的再生医学材料在制备医药组合物、医疗装置、口腔护理品、整形外科用品或化妆品中的用途。

本发明的再生医学材料能更好地控制材料的降解速度，使原生物活性玻璃降解速度可控，在人工骨材料应用领域使新生骨植入材料的降解速度同步，克服新生骨无法达到骨结构、形态、功能的三重修复的现象。当运用在骨修复、脊柱和骨缺损、口腔骨植入等方面时，本发明的再生医学材料具有非常重大的意义。

本发明中，通过大豆提取液引入磷，可以提高再生医学材料的降解速度，

传统的制备方法制备的材料生物活性的组分范围较小，通常是通过降低磷的含量来降低降解速度。原传统方法制备的材料通常用磷酸、磷酸乙酯等，其与钙的前驱体（例如硝酸钙）的相容性较差，容易引起沉淀发生分离。选择毒性较大的乙二醇，降低前驱体的浓度，这样处理溶剂过程中会耗费大量的能源和时间，并很难实现标准化、规模化生产。

本发明的磷前驱体可以有效地与例如硝酸钙等钙前驱体共溶，溶剂为水、乙醇或其混合物，毒性较小，溶剂去除温度较低，通过改变钙、钠等前驱体，实现室温状况下形成凝胶，实现在600℃内达到生物活性玻璃的各项理化指标。克服传统方法的缺点，实现标准化、规模化生产。

本发明的再生医学材料中，1%至10%的硅原子具有5以上的高配位数，并且这些高配位硅在常压下形成。高配位硅对材料的结构和性能都有一定的影响，如高配位硅会使紫外线吸收峰发生转移。

在溶液合成中，目前大多数高配位硅主要与N、F或Cl配位，极少与O配位。通过改变外界刺激，如温度、溶剂和辐照强度可以改变硅原子的配位数，升高温度会使5配位的硅增加，在辐照下5配位硅与6配位硅之间可以相互转换。如果引入多元醇则有利于提高高配位硅的形成几率，多元醇能促使O与硅原子配位，从而形成高配位硅。在高配位硅，一般是在玻璃材料的高温处理，会使硅配位数由4转变为6，主要以Si-O-P或Si-O-Si的形式存在，随着P的含量增加，6配位硅增加，经过热处理，玻璃材料会结晶，而中低温、常压下含高配位硅原子的硅的固体材料目前研究还没有出现。

本发明的再生医学材料优于生物活性玻璃的理化指标及生物指标。该材料在生产时实现了在600℃低温节能，质量可控的规模化生产，改变原1700-1900℃煅烧高能耗、低产品合格率等缺点。在以该再生医学材料为母体的情况下，加入其它医用材料，将广泛的应用在生物治疗领域。

本发明的再生医学材料中，优选地，钙磷比与人体骨骼相对一致，例如为1.67左右。形成的三维网状结构及孔径可以实现和人体骨骼及软组织孔径一致。实现材料的生物活性、稳定性及降解速度可控。该材料制备温度低，

可以载入生物活性分子，例如蛋白质、抗菌素、化疗药物，并且具有多孔性，可以用于药物负载及控释，同时选用的磷前驱体为天然物质，与传统磷前驱体相对毒性极小，从而提高材料的生物相容性。材料在模拟人体液（SBF）中，在表面迅速形成羟基磷灰石。该材料可以克服传统生物活性玻璃的可塑性差。形成可调的无定形材料，非晶体结构。其他生物活性玻璃基本为结晶体，本发明的再生医学材料为非结晶体，材料的颗粒均匀、材料的生物相容性稳定，分散性较好，稳定性强。在人工骨中实现压缩强度、降解速度全部可控。

本发明的再生医学材料含有Si、Ca、Na、P离子，各离子的比例和人体骨组织的离子一致。这些离子均匀的分布在高温煅烧的SiO<sub>2</sub>的多孔径中，很自然使得材料与体液发生八步表面反应。

第一步：材料中的Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>离子均匀分布在多孔径的SiO<sub>2</sub>中（其孔径和人体骨骼孔径几乎一致），它们遇到体液，和H<sup>+</sup>以及H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>离子迅速交换，如：

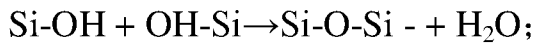


其中OH<sup>-</sup>为负电荷，吸附骨组织及软组织细胞、生长因子、胶原蛋白等物质往孔径中有序生长，形成人体结构生长机块。让再生细胞基因表达，有序生长，形成骨引导、骨传导能力。

第二步：Si-O-Si键，被溶液打断，在界面外形成许多Si-OH；

第三步：Si-OH的聚合反应会形成SiO<sub>2</sub>的多孔的肢体层；其与不同种类的蛋白质通过氢键和离子胺键（-Si-O-H<sub>3</sub>N<sup>+</sup>-）结合形成高密度的蛋白吸附，形成硅溶胶层和碳酸羟基磷灰石层，而该灰石层具有高表面积，适合吸附大量的生物分子，从而促进细胞外响应。相比于带较低负电荷量的硅溶胶层，新生骨吸附更多的生物分子。

第四步：高配位硅原子6、硅原子4和人体钾离子交换，形成稳定的三维网状固态机构，改变原硅原子为游离状态。可与人体化学成分自然交换，形成爬行替代的载体，高配位硅会使紫外线吸收峰发生转移，起到抗氧化的作用。



第五步： $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}$ 来源材料中或来源与溶液中，在富 $\text{SiO}_2$ 肢体层上聚集形成 $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ 无定型相层；通过P的比例，来调控新生细胞和原植入物的降解同步。

第六步：随着 $\text{OH}^-$ 和 $\text{CO}_3^{2-}$ 从溶液中引出， $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ 无定向相层将转变成含碳的羟基灰石(HCA)多晶体，吸附在创伤、溃疡及软组织表面，达到促进细胞增殖作用，促进创伤愈合、伤口无痕修复。

第七步：促进细胞增殖有序生长，促进毛囊的形成，促进毛囊的生长，达到减少疤痕的效果。

第八步：溃疡创面，特别是口腔溃疡，宫颈糜烂都是厌氧菌引起，本发明的再生医学材料能形成弱碱环境，让厌氧菌脱水而死，同时抑制厌氧菌的生长，促进新生细胞的修复，增殖。

综上所述，本发明的再生医学材料不仅具有适合于人体的各种性质，而且还具有与人体更加一致的成分及含量关系，从而更加适合于组织修复。

## 附图说明

图1为本发明示例性再生医学材料的X射线荧光光谱(XRF)的元素分布像( $210 \times 210 \mu\text{m}^2$ )。其表明本发明所述材料在微观尺度上的化学组成(Ca、P和Si)分布均一。

图2为本发明示例性再生医学材料与SBF溶液反应不同时间的XRD谱图。

图3为本发明的示例性再生医学材料的SEM-EDXS图。a-沉积前，b-SBF沉积后(14d)。

图4为本发明的示例性再生医学材料及其浸提液与成骨细胞相互作用的MTT值。(a)再生医学材料直接培养1d, 6d; (b)Regesi再生医学材料不同时间的浸提液培养24h。

图5为成骨前细胞(MC3T3)在生物玻璃片上培养不同时间的SEM图。

图6为本发明的示例性再生医学材料片在SBF溶液中的pH值变化。

图7为本发明的示例性再生医学材料在水中的重量变化。

图8为Regesi再生医学材料应用于脊柱及节段骨缺损修复时的结果图。

图9为以Regesi再生医学材料为核心，研发的溃疡用修复材料(凝胶)的治疗效果的图。

图10为Regesi再生医学材料易于涂敷的实验图。其说明本发明的再生医学材料可在体表温度下融化成膜。

图11为再生医学材料对于伤口愈合影响的实验图。其说明本发明的再生医学材料提高了伤口愈合的速度和质量，有毛囊生成。

图12为再生医学材料作为复合松质骨填充多孔支架时，骨缺损部位再生的图。其说明与松质骨力学性能相似，本发明的材料促进缺损部位骨的再生。

图13为本发明的再生医学材料与作为对照的45S材料相比时，对于生成的骨的性能的比较。其说明45S降解速度过快易形成骨坍塌，硬度过强易引起周边骨折。

图14为45S浸提液对Hacat细胞增殖的影响。

图15为45S粉末的降解实验的图。

## 具体实施方式

现详细说明本发明的多种示例性实施方式，该详细说明不应认为是对本发明的限制，而应理解为是对本发明的某些方面、特性和实施方案的更详细的描述。

应理解本发明中所述的术语仅仅是为描述特别的实施方式，并非用于限制本发明。另外，对于本发明中的数值范围，应理解为还具体公开了该范围的上限和下限之间的每个中间值。在任何陈述值或陈述范围内的中间值以及任何其他陈述值或在所述范围内的中间值之间的每个较小的范围也包括在

本发明内。这些较小范围的上限和下限可独立地包括或排除在范围内。

除非另有说明，否则本文使用的所有技术和科学术语具有本发明所述领域的常规技术人员通常理解的含义。虽然本发明仅描述了优选的材料和应用，但是在本发明的实施或测试中也可以使用与本文所述相似或等同的任何材料。本说明书中提到的所有文献通过引用并入，用以公开和描述与所述文献相关的方法和/或材料。在与任何并入的文献冲突时，以本说明书的内容为准。

本发明中，名词术语既包括单数形式，也包括复数形式，除非上下文另行明确指出。本发明中所述的“至少之一”或“至少一种”不仅仅指包含“一个”或“一种”的情况，更重要的还包含“多个”或“多种”的情况。

本发明所述的术语“再生医学材料”是指具有促进软硬组织再生功能的三维网格结构的无机-有机复合材料，有时还称作Regesi再生医学材料，或Regesi等，这些称号在本发明中具有相同的含义。优选地，再生医学材料中所述无机物与所述有机物的质量比为2:1-4:1。如果该质量比小于2:1，则所得再生医学材料的硬度变差，不能很好的作为细胞生长的载体。另一方面，如果该质量比大于4:1，则无机物中各元素的含量与人体组织，特别是硬组织例如骨骼中各元素的含量相差较大，从而不利于组织，特别是硬组织的再生。优选地，无机物与有机物的质量比为2.5:1-3.8:1，更优选2.6:1-3.5:1，进一步优选2.8:1至3.4:1，例如，3:1等。

本发明中，基于无机物的总质量，无机物中的SiO<sub>2</sub>含量为12-38%，优选15-35%，更优选16-33%，进一步优选18-30%，例如，20%、25%、28%、29%等。无机物中Na<sub>2</sub>O的含量为3-5%，优选为3.5-4.5%，更优选3.6-4.2%，进一步优选4%。无机物中CaO的含量为15-29%，优选为16-27%，更优选为18-25%，进一步优选为20-22%。无机物中P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>的含量为10-32.5%，优选为12-30%，更优选14-28%，进一步优选16-26%，还优选18-24%，20-22%。本发明中，肌醇六磷酸酯的含量为1-5%，优选2-4%，更优选3%。本发明中环己六醇磷酸酯的含量为1-5%，优选2-4%，更优选3%。无机物中上述各成分的含量如果

过低或过高，则再生医学材料中各元素的含量与机体，例如人体中硬组织如骨骼的元素含量将不相一致，从而不利于促进组织再生或修复。

本发明中，作为肌醇六磷酸酯和环己六醇磷酸酯可作为单独的成分添加，也可通过包含于大豆提取液中而在制备过程中混入。

本发明中，无机物中除上述各成分外均为本发明制备过程中不可避免产生的杂质，作为杂质，其含量通常小于0.5质量%，优选小于0.4质量%，更优选小于0.2质量%，特别优选小于0.1质量%，最优选为0。

本发明中，基于有机物的总质量，有机物中羧甲基壳聚糖的含量为30-60%，优选40-55%，更优选45-50%，进一步优选48%。有机物中透明质酸钠的含量为30-60%，优选40-55%，更优选45-50%，进一步优选48%。

本发明中，优选地，所述无机物中的钙磷重量比为1.5至1.8，优选1.67，在该范围内的钙磷比符合机体如人体内的钙磷比。

需要说明的是，本发明中，再生医学材料中所成分的含量及各成分之间的比例是根据人体中硬组织中各元素的含量及比例配制而成。因不同人体、性别及不同年龄段，硬组织中各元素的含量有所不同，因此，本发明的再生医学材料中各成分的含量及比例也会有所不同，但整体上这些含量及比例不能超出上述提及的范围。

例如，对于老年人群体，其优选的成分含量及比例可如下所述：

SiO<sub>2</sub> 36%；

Na<sub>2</sub>O 3%；

CaO 25%；

P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 28%；

肌醇六磷酸酯 4%

环己六醇磷酸酯 4%

基于无机物的总质量。

羧甲基壳聚糖 50%；

透明质酸钠 50%；

基于有机物的总质量。

对于老年人群体，优选的钙磷质量比为1.67。

对于年青人群体，其优选的成分含量及比例会适应调整。

本发明所述的促进软硬组织修复的再生医学材料的制备方法中，需选择特定的植物提取液，从而实现本发明再生医学材料所述有益技术效果，例如小至7.4的低pH值、P的释放可控，本发明所述的植物提取液优选为大豆提取液。在某些实施方案中，大豆提取液的制备方法包括大豆皮粉碎→粉碎料酸浸、过滤→浸出液碱中和→钙盐沉淀浸溶→RH<sup>+</sup>树脂离子交换→蒸发浓缩→大豆提取液，其中大豆提取液中羟基磷的含量需要为40-60重量%。

具体地，本发明的大豆提取液的制备步骤如下：

取粉碎后经筛分约20目的大豆皮，加6倍量的水。用7%盐酸，调pH至1.5~2，于室温搅拌浸渍。抽滤，用1.2%盐酸洗渣、弃渣，合并滤液。往浸出液中加入石灰中和至pH值约6.5，得钙盐沉淀静止1h，抽滤，弃滤液再用蒸馏水洗涤所得沉淀物2-3次，得净化的钙盐。往所得钙盐中加少量稀盐酸并调成稀浆状，稍后加入2 / 3倍量H型强酸性阳离子交换树脂。微搅0.5h，使钙盐溶转成可溶性盐溶液。抽滤、洗净，分离，提取液粗液。

将溶转所得的可溶性钙盐溶液上柱到离子交换柱，控制流速进行离子交换。此时，溶液中的Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>等杂质离子被交换到RH<sup>+</sup>树脂上，H<sup>+</sup>离子被交换下来，用约1%量的活性炭脱色1-2次，分离，再将脱色液减压蒸发浓缩，控温70-80℃左右，至瓶内溶液呈稀稠状，即得本发明的大豆提取液，其羟基磷的含量需要为40-60重量%。

本发明所述的植物提取液能够产生得到本发明所述的特定再生医学材料的原因并不是非常清楚，但是推测可能是因为植物提取液与钙的前驱体（例如硝酸钙）的相容性增强，从而不会产生沉淀。另外，植物提取液为天然成分，没有毒性。另一原因可能在于，大豆提取液中含有的各种其他元素，与本发明中的其他原料相互作用产生了预期不到的效果。此外，大豆提取液中各元素的含量组成与人体各元素的组成相似，容易地获得与机体组成相似

的再生医学材料。

另外，植物提取液具有能够使材料具有三维结构的多种成分，并且多种成分之间相互作用，从而实现低温下制造再生医学材料的目的。克服传统方法的缺点，实现标准化、规模化生产。

本发明中作为硅前驱体、钙前驱体、可使用本领域内通常使用的前驱体。另外，本发明的制备方法中可以使用水和/或乙醇作为反应介质。本发明中，通过上述物质配制成的凝胶前驱体溶胶溶液需要在较低的温度下烧结，例如在300-700℃下恒温烧结，所述温度还可优选400-600℃，例如500℃等温度。

本发明中，所述的“细胞生长载体”是指适合细胞，包括但不限于骨细胞、真皮细胞生长、增殖的基质。优选地，本发明的再生医学材料本身可以直接作为载体。可选地，本发明的再生医学材料与本领域内通常使用的其他材料组合/复合后作为载体。

## 实施例

### Regesi再生医学材料的制备方法

按照下述成分的含量，将相对应含量的前驱体配制成凝胶前驱体溶液(将四水硝酸钙换成氯化钙或硝酸钙均不影响结果)。

SiO <sub>2</sub>	36%;
Na <sub>2</sub> O	3%;
CaO	25%;
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	28%;
肌醇六磷酸酯	4%
环己六醇磷酸酯	4%

基于无机物的总质量。

首先，取本发明的大豆提取液30ml于50ml的样品瓶中，然后依次加入正硅酸乙酯(TEOS)，乙醇和水(体积比约为1：1，加入量以能溶解前述前驱体即可)，搅拌30min，在搅拌过程中加入Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O(或氯化钙、或硝酸钙)，

得到凝胶前驱体溶胶溶液。将配制的凝胶前驱体溶胶溶液在室温下放置直到凝胶(通常需要2~10天,取决于各前驱体之间的比例),将凝胶放入60℃烘箱中陈化1天以上,然后再放入120℃烘箱中烘烤1周使其中的溶剂全部挥发,降温至室温。在空气中将管式炉的温度由室温以5℃/min的升温速度升温到300~400℃,将干的凝胶在300℃~400℃下的管式炉中恒温进行烧结至少10分钟后自然冷却,得到Regesi再生医学材料中的无机物粉体。

按比例将羧甲基壳聚糖、透明质酸钠与上述粉体配方混合,加热到45摄氏度。溶解,搅拌均匀,得到混合物。将100克医用甘油,预热到80摄氏度。之后将上述混合物融入医用甘油中,搅拌均匀(医用甘油与生物材料质量比为55:45)。去除杂质,成化24小时,辐照灭菌,即得本发明的Regesi再生医学材料。

## Regesi再生医学材料性质研究

### 1 理化性质:

通过X射线荧光光谱(XRF)对材料的化学组成进行了分析,研究表明:材料在微观尺度上的化学组成(Ca、P和Si)分布均一,如图1所示。

将Regesi再生医学材料沉浸在模拟体液(SBF)中进行沉积实验,通过X射线衍射(XRD)研究发现,在沉积7天时,材料表面明显出现羟基磷灰石(HA)衍射峰(如图2所示),而且随着时间的延长HA的衍射峰增强,说明材料表面有更多的羟基磷灰石形成。在沉积14天后,HA的衍射峰变化不大,说明形成的HA已经完全覆盖了材料表面。

通过扫描电镜-能量分散x射线能谱(SEM-EDXS)对材料的表面形貌进行分析,如图3所示。结果表明,在SBF溶液中沉积前,材料表面平整,EDXS能谱分析证明其主要组成是Si、P和Ca。而在SBF溶液中沉积14天后,材料表面出现球形粒子。将球形粒子放大后发现,这些粒子是由针状的HA组成,同时通过EDXS能谱分析发现Si含量减少,Ca、P含量(Ca/P~1.65)增加,进一步证明了HA的形成。这些结果与前面的XRD结果一致。

## 2 生物学评价:

### 2.1.细胞毒性试验:

将1%的Regesi再生医学材料粉末直接与10%的DMEM/F12培养液共混,将其加入96孔板中,再将成骨前细胞(MC3T3)以 $1 \times 10^4$ 个/mL接种于96孔板内,DMEM/F12培养液作为对照组,CO<sub>2</sub>培养箱内分别培养1,6天(d)后,进行MTT试验,加入MTT后加入DMSO,震荡,酶联免疫法测量在570nm波长测定吸光度(Absorbance),测定结果如图4(a)所示。结果表明Regesi再生医学材料不具有细胞毒性。在培养1d时,材料的吸光度稍微低于空白样品(约为其92%),说明Regesi再生医学材料不具有细胞毒性,在培养6d时,材料的吸光度值与空白样品相同,说明Regesi再生医学材料无细胞毒性。

将Regesi再生医学材料以5mg/ml的比例浸入含10%的DMEM/F12培养液中,浸提不同时间后(1,2,3d)离心取上清液,24孔板浸提液作为空白对照组,均保存于4℃条件下,将成骨前细胞(MC3T3)以 $1 \times 10^4$ 个/mL接种于96孔板,CO<sub>2</sub>培养箱内培养后,加入不同条件的浸提液,24小时(h)后行MTT实验,加入MTT后加入DMSO,震荡,酶联免疫法测量在570nm波长测定吸光度,测定结果如图4(b)所示。结果表明Regesi再生医学材料不同时间的浸提液与空白样品的吸光度值基本相同,表明Regesi再生医学材料浸提液仍然没有细胞毒性。

### 2.2.细胞粘附性试验:

将Regesi再生医学材料研磨成粉末后,压片(直径13mm,厚度2mm)。将Regesi再生医学材料片进行灭菌、消毒处理,放入24孔板内,再将成骨前细胞(MC3T3)以 $1 \times 10^4$ 个/mL接种于24孔板内,培养1d和3d。然后用2.5%的戊二醛在4℃下固定24h,用PBS清洗3次,乙醇梯度脱洗(50%,75%,95%和100%),经自然干燥后,喷金,进行SEM观察,如图5所示。结果表明,生物玻璃表面成骨细胞附着良好,培养1d时,细胞变长,有丝状伪足出现。培养3d时,细胞开始进一步延展,变大,伪足变得更为明显。这些证明Regesi再生医学材料具有良好的细胞相容性,有利于细胞在Regesi再生医学材料表

面附着。

### 3.降解实验:

将Regesi再生医学材料片（PSC、45S5和S70C30）放入SBF溶液中测定其pH值变化，结果如图6所示。从图中可以看出，45S5和S70C30（均为已报道产品）的样品pH值在初始的168h均升高，而PSC样品（本发明的再生医学材料）的pH值在这段时间内一直保持不变(~7.4，生理pH值)，如图6所示。通过前期研究表明，pH值升高不利于细胞的生长，一般对于45S5和S70C30样品的细胞相容性测试，均需将样品放入磷酸盐缓冲溶液中浸泡24h，除去样品表面的一些离子，以防止其杀死细胞。而PSC样品由于其稳定的pH值变化，一般不需要前处理，可直接进行细胞相容性实验，而且通过上面实验结果表明PSC具有很好的细胞相容性，有利于细胞的粘附、增殖及分化。这些结果表明PSC经消毒、灭菌后，可直接应用于体内。

将Regesi再生医学材料片放入去离子水中（5片/50ml）进行降解实验，在每个间隔时间点完全替换其中的去离子水，取出5片样品，用纸吸去其表面的水分，放入真空干燥器中烘干，称量，取平均值，结果如图7所示。结果表明：材料在6d开始降解，9d降解加快，70天降解能够达到原来的40%，且降解速率变缓。

Regesi再生医学材料在SBF溶液中进行降解试验，随着材料中离子的释放，在材料表面形成HA。在开始1月会降解为原来的~80%，但在1月后，材料表面完全覆盖成HA，导致其重量变化不大，所以Regesi再生医学材料的降解应以其体内新陈代谢下的降解速率为准。目前报道的45S5生物玻璃其降解主要是通过植入体内考察的，完全降解约需1-2年。

## Regesi再生医学材料应用于脊柱及节段骨缺损修复的临床前研究

### 1、材料学

将RegeSi生物活性玻璃浸泡于模拟体液中，检测其pH值变化；生物力学实验检测其体外最大抗压缩强度；电子显微镜观察材料的显微形貌、表面接

触角，将材料表面喷镀金膜，扫描观察材料的表面形貌、微孔结构。

## 2、细胞学

在成骨细胞培养液中分别加入RegeSi生物活性玻璃作为实验组，选取Gsk材料作为对照组，利用实时定量PCR检测该材料对成骨细胞I型胶原、骨钙素、碱性磷酸酶基因表达影响，以进一步探讨该材料促进成骨细胞增殖的可能机制；同时利用上述两种材料的提取液培养成骨细胞，MTT法测定细胞生长曲线，按6级毒性分级法计算相对增殖度 $RGR = (\text{实验组}/\text{对照组}) \times 100\%$ ，并进行毒性评级；体外培养成骨细胞，然后分别接种至上述两种材料上，测定细胞粘附率和细胞粘附力，粘附率=粘附细胞数/总细胞数 $\times 100\%$ ，用微吸管吸吮法测定系统测量细胞的粘附力，并进行扫描电镜观察；进行细胞与材料复合试验，分别取1.0cm $\times$ 1.0cm $\times$ 0.5cm大小的材料置于培养板内，将细胞悬液接种在材料表面进行复合培养，在倒置相差显微镜下观察细胞在材料表面的生长情况。

## 3、动物实验

1) 选用雄性绵羊60只，平均体重75kg，分成3组，每组20只。在全麻无菌条件下行腰椎前路腰2椎体切除术，制作脊柱节段性骨缺损模型；同时制作尺骨中段4.5cm骨及骨膜缺损模型，将圆柱状RegeSi生物活性玻璃、Gsk材料、PMMA分别植入椎体切除后的间隙及尺骨缺损处，将三种修复材料分别用钛板固定在相邻节段的上下椎体及尺骨骨缺损修复处。在术后第1、6、12周行尺骨及腰椎正侧位X线检查观察骨愈合及缺损修复状况。同时分别处死3个观察组的5只动物，手术去除钛板，取出包括材料在内的相邻椎体及缺损处相邻尺骨，做以下研究：a.制作切片，显微镜观察材料填充部位的新骨生长以及材料降解情况；b.进行生物力学测试标本的抗压缩和牵拉强度；c.将标本置于Micro-CT系统进行三维重建观察，采用Microview ABA软件定量分析植骨处新生骨组织矿物质含量(TMC)、骨体积分数(BVF)；d.用Overlay叠加的方法用不同的颜色来复合显示各个标本植骨区域内的降解剩余材料和新生骨。于术后第24周将余下5只动物，在全麻无菌条件下手术取出椎体

及尺骨固定的钛板，缝合伤口，术后观察绵羊四肢的运动及行走能力，术后32周处死动物，取出修复后的椎体及尺骨标本做相应的生物力学检测及组织学分析。

2) 将80只新西兰大白兔分为去势组和假手术组，去势组60只，假手术组20只，通过双侧卵巢去势法建立兔骨质疏松模型。将去势组分为Regei组、PMMA组、空白对照组，每组20只，模拟椎体成形术，分别在Regei组兔子L1、L2椎体注射可注射的RegeSi生物活性玻璃，在PMMA组兔子L1、L2椎体注射PMMA，每组均于术后第1、6、12、24周处死5只兔子，取出相应的椎体，采用组织学、MicroCT分析、显微镜填充部位的新骨生长以及材料降解情况，利用生物力学实验评估Regei生物活性玻璃抗压强度、抗牵拉强度。

通过上述实验，证实本发明的Regei材料与Gsk材料组、PMMA组、空白对照组相比，具有优异的抗压强度、抗牵拉强度以及降解情况等(参见图8等)。

### 现有生物活性玻璃的性质研究

以45S粉末状样品作为测试对象。

实验过程：

- 1) 45S高温高压灭菌。
- 2) 浸提液制备：将灭菌后的45S浸泡在相应体积的MEM培养基中，37 °C浸泡24小时。质量体积百分比分别是0.1%，1%，10%。
- 3) 浸提液取上清，用1M HCl将pH调至7.2。0.22 $\mu$ m滤头灭菌。4°C保存。
- 4) 三种浓度浸提液分别加入10% FBS。
- 5) CCK-8测Hacat细胞的增殖能力，绘制吸光度-时间曲线。

测试结果：

10%浓度的45S浸提液不稳定，存放过程中会析出大量絮状物，未进行后续测试。CCK-8测试过程中发现1%的浸提液加入第二天细胞全部死亡。

0.1%浓度的浸提液对细胞没有明显的细胞毒性，但是从图14可知在测试后期细胞生长相比对照组减慢。

### 补充实验（45S浸泡于蒸馏水中对pH值的影响）

实验过程：将45S按照质量体积比1%的浓度浸泡于蒸馏水中，测试不同时间点的pH值。

测试结果：

时间	0 h	4 h	7 h	24 h
pH 值	9	10	11	13

结论：

结果显示45S浸提液随着浸泡时间的增加不断升高，24小时pH值内达13。pH大幅升高导致CCK-8测试中显示很强的细胞毒性。

### 其他实验

1) 将高温高压灭菌后的45S加入到MEM培养基中。45S的体积百分比分别为0.1%，1%，10%。45S一加入MEM培养基中就有明显的颜色变化，说明培养基的pH变化较大。浸泡24h后，取上清用1M HCl调节pH至7.2。随着45S浓度的增加，培养基碱性越强，所需HCl量越大。为确认实验结果，测试了45S在蒸馏水中浸泡后的pH值变化。测试结果仍然显示45S引起pH大幅度增加，产生细胞毒性。

2) 从4℃冰箱取出准备好的45S浸提液发现10%浓度样品中有大量白色絮状物。37℃水浴加热半小时不溶解。此浓度样品没有进行后续CCK-8测试。室温静置两周后10%浓度的45S粉末在MEM中呈溶胶状。说明45S粉末的降解速度快，参见图15。

3) 用0.1%和1%浓度浸提液加FBS进行CCK-8测试过程中，发现1%浓度的浸提液有很大的细胞毒性。细胞全部死亡。0.1%浓度的浸提液有较小细胞毒性。

### 工业实用性

本发明的再生医学材料可用于生物骨修复牙膏、组织工程再生、创伤修

复医用材料，特别是在：组织工程、口腔粘膜、骨修复材料、创伤修复等方面有着重大的科学价值和意义。将在组织工程、生物治疗领域做出重要贡献。

在不背离本发明的范围或精神的情况下，可对本发明说明书的具体实施方式做多种改进和变化，这对本领域技术人员而言是显而易见的。由本发明的说明书得到的其他实施方式对技术人员而言是显而易见的。本申请说明书和实施例仅是示例性的。

## 权 利 要 求 书

1. 一种促进软硬组织修复的再生医学材料,所述再生医学材料具有三维网络结构,且为由无机物和有机物组成的复合材料,其中,所述无机物与所述有机物的质量比为2:1-4:1;

基于所述无机物的总质量,所述无机物包含12-38%  $\text{SiO}_2$ 、3-5%  $\text{Na}_2\text{O}$ 、  
5 15-29%  $\text{CaO}$ 、10-32.5%  $\text{P}_2\text{O}_5$ 、1-5%肌醇六磷酸酯、1-5%环己六醇磷酸酯,余量为杂质,所述杂质的含量小于0.5%;

基于所述有机物的总质量,所述有机物包含30-60% 羧甲基壳聚糖、30-60% 透明质酸钠。

2. 根据权利要求1所述的促进软硬组织修复的再生医学材料,其中,所  
10 述无机物与所述有机物的质量比为3:1。

3. 根据权利要求1或2所述的促进软硬组织修复的再生医学材料,其中,所述无机物中的钙磷重量比为1.50至1.80。

4. 根据权利要求1或2所述的促进软硬组织修复的再生医学材料,其中,所述无机物中的钙磷重量比为1.67。

15 5. 根据权利要求1或2所述的促进软硬组织修复的再生医学材料,其pH值为 $7.4 \pm 1$ 。

6. 根据权利要求1或2所述的促进软硬组织修复的再生医学材料,其在体内的降解速率为4周至12周。

7. 根据权利要求1至6任一项所述的促进软硬组织修复的再生医学材料  
20 的制备方法,其包括以下步骤:

以大豆提取液作为磷前驱体,以正硅酸乙酯作为硅前驱体,以选自四水硝酸钙、硝酸钙和氯化钙的至少之一作为钙前驱体,以水和/或乙醇作为反应介质,将上述各前驱体及反应介质混合配制成凝胶前驱体溶胶溶液,在 $300 \sim 700^\circ\text{C}$ 下恒温烧结得到无机物;

25 将所述无机物与羧甲基壳聚糖、透明质酸钠混合,加热溶解。

8. 根据权利要求7所述的方法,其中所述大豆提取液的制备方法包括:大豆皮粉碎→粉碎料酸浸、过滤→浸出液碱中和→钙盐沉淀浸溶→ $\text{RH}^+$ 树脂

离子交换→蒸发浓缩→大豆提取液，其中大豆提取液中羟基磷的含量为40-60重量%。

9. 一种细胞生长载体，其包含根据权利要求1至6任一项所述的促进软硬组织修复的再生医学材料。

5 10. 一种促进软硬组织修复的方法，其使用根据权利要求1至6任一项所述的再生医学材料。

11. 根据权利要求1至6任一项所述的再生医学材料在制备医药组合物、医疗装置、口腔护理品、整形外科用品或化妆品中的用途。

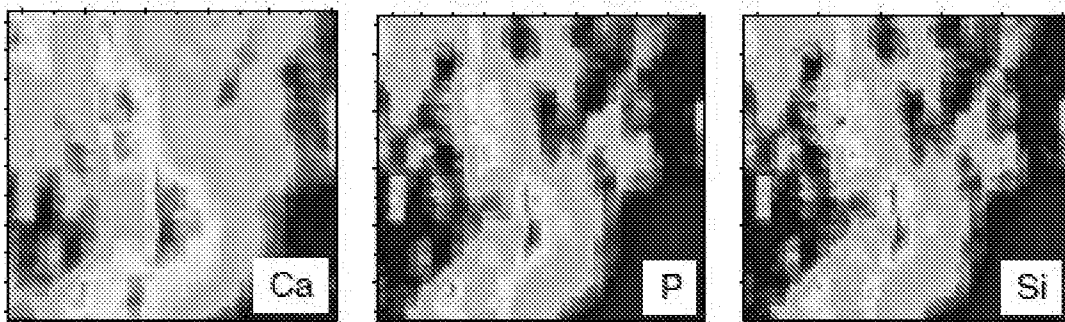


图 1

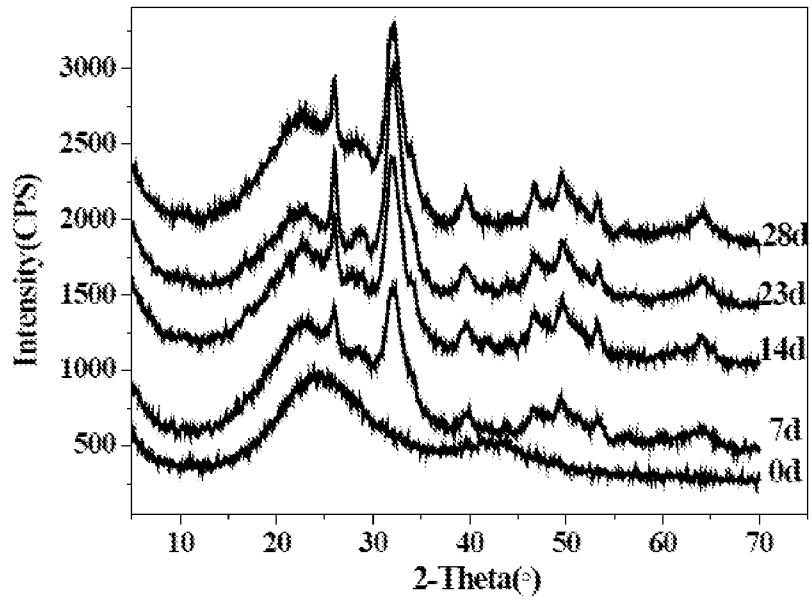


图 2

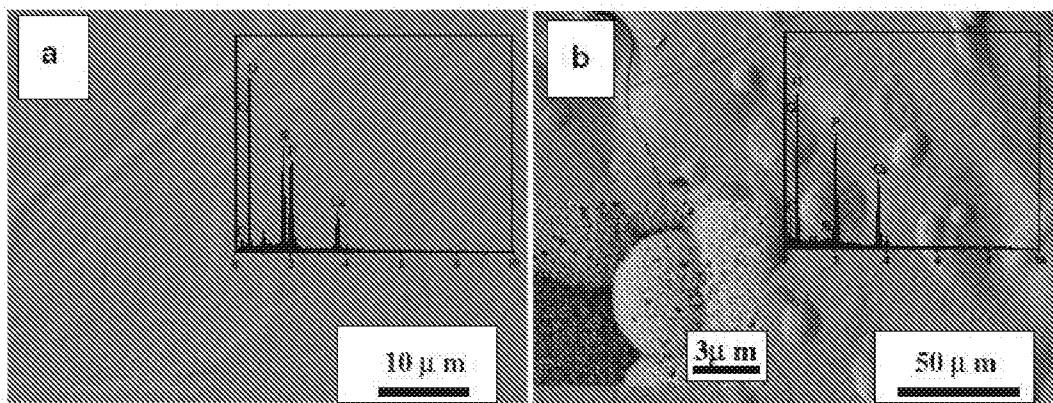
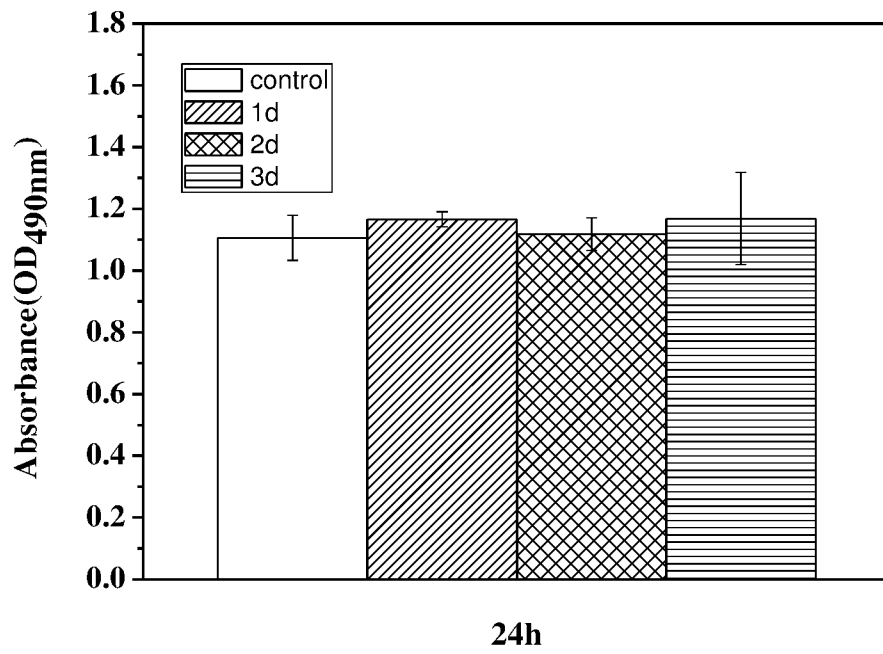
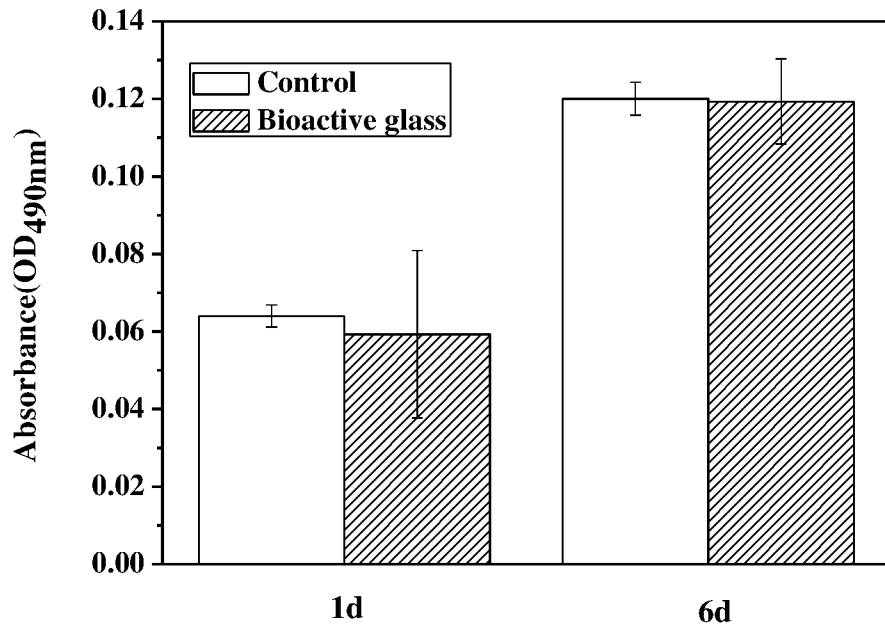


图 3



(b)

图 4

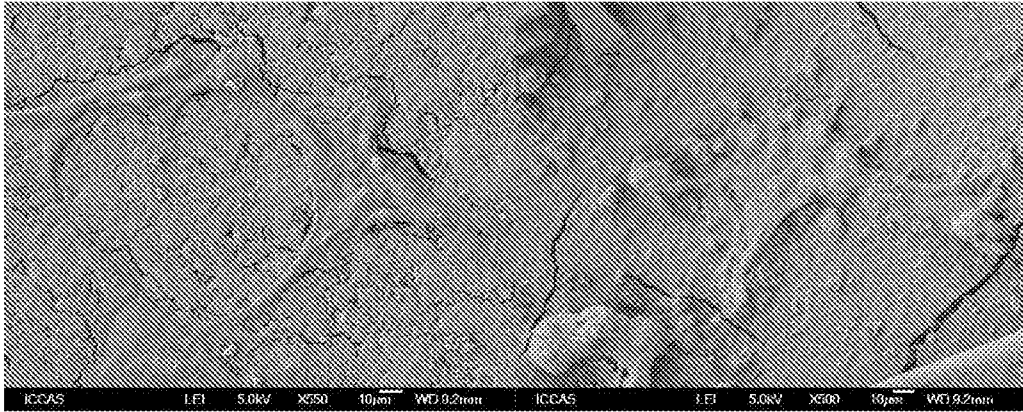


图 5

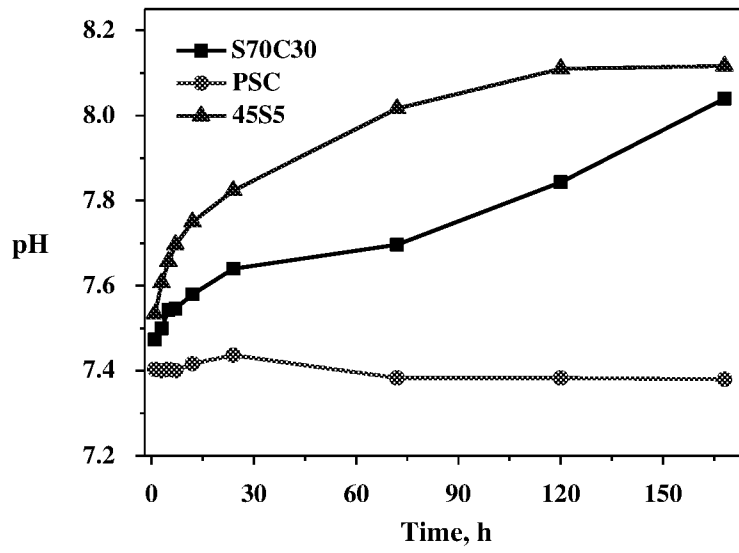


图 6

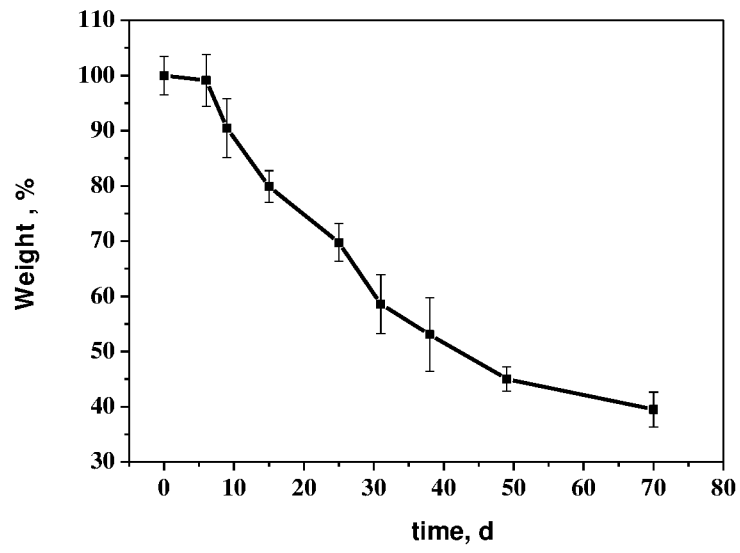


图 7

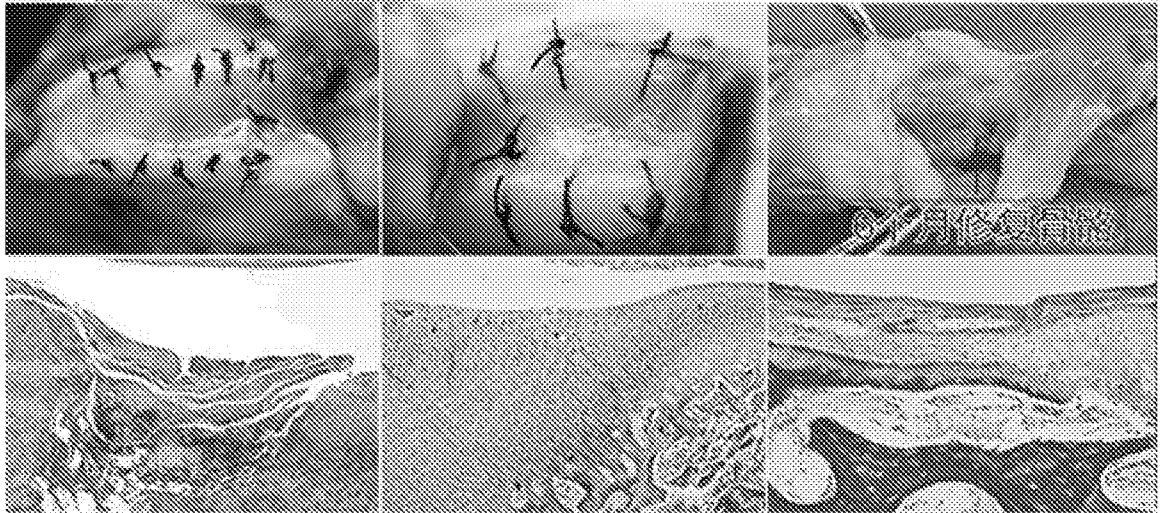


图 8

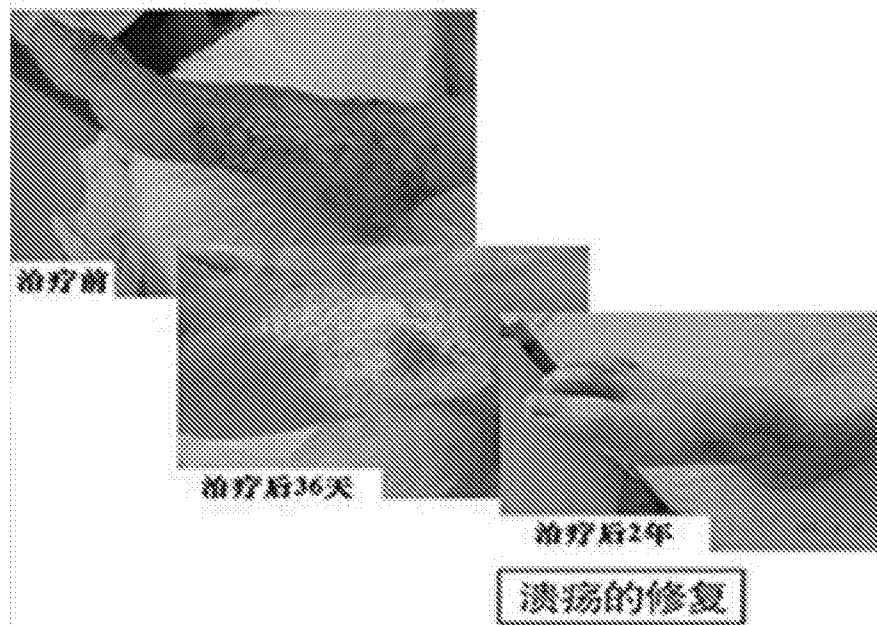


图 9

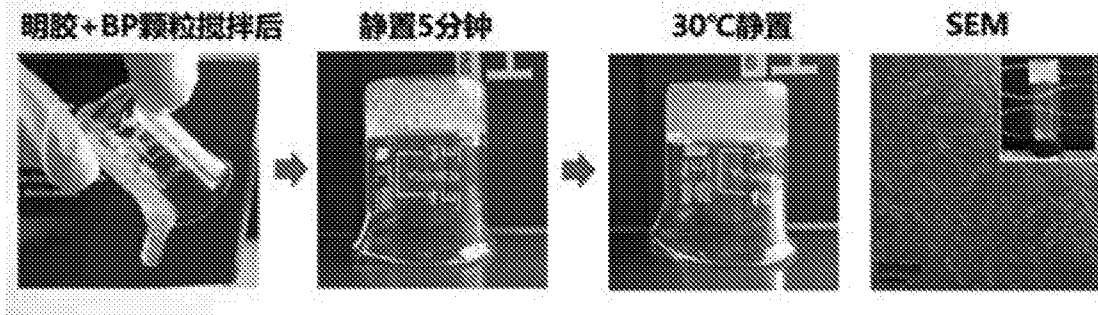


图 10

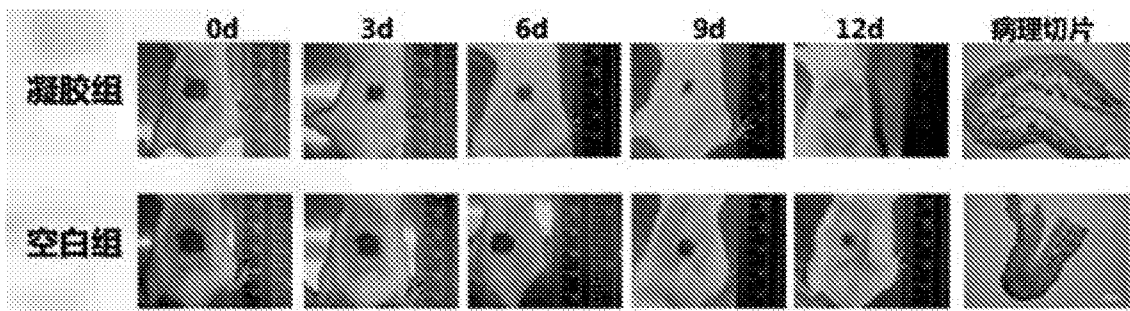


图 11

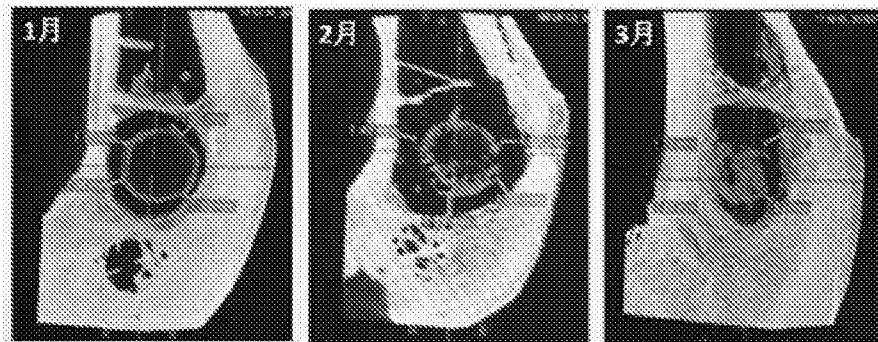


图 12

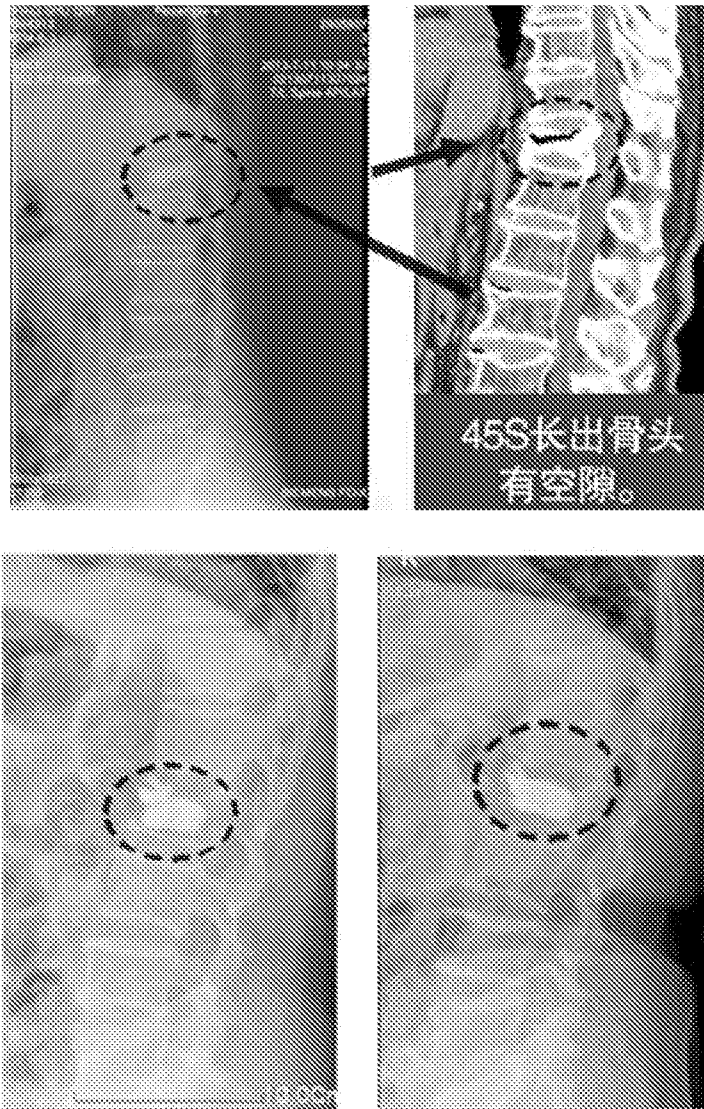


图 13

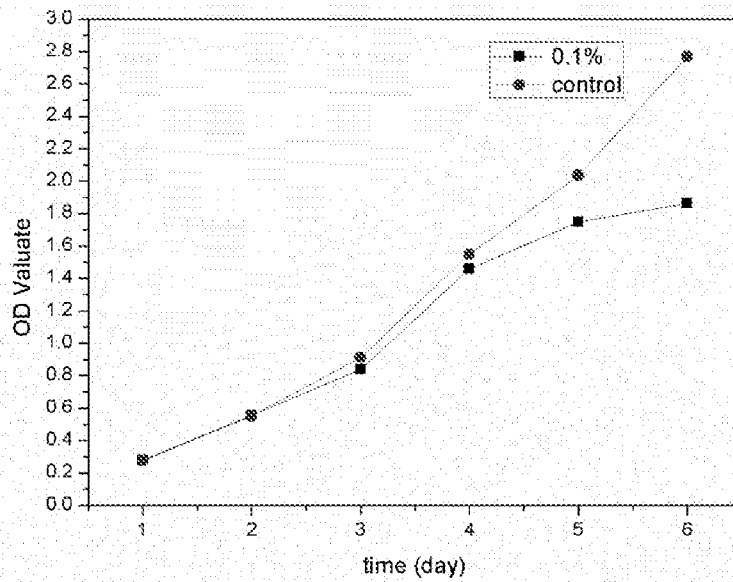


图 14

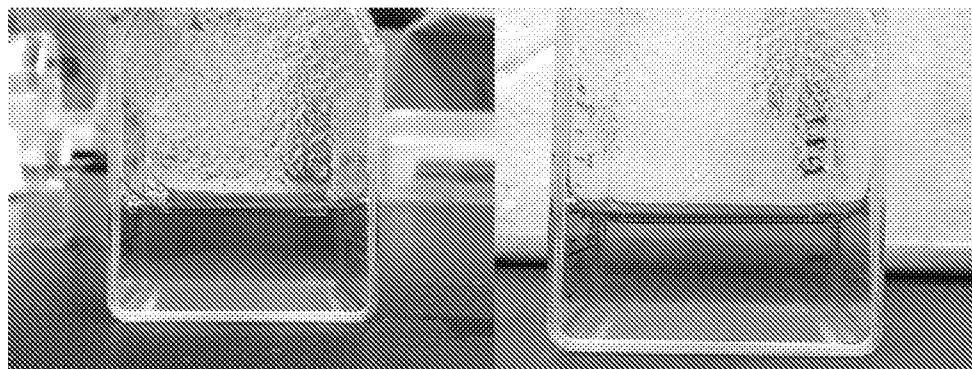


图 15

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CN2016/096604

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
A61L 27/02 (2006.01) i; A61L 27/12 (2006.01) i; A61L 27/20 (2006.01) i; A61L 27/56 (2006.01) i; A61L 27/58 (2006.01) i; A61K 8/73 (2006.01) i; A61K 8/25 (2006.01) i; A61K 8/19 (2006.01) i; A61K 8/24 (2006.01) i; A61K 8/34 (2006.01) i; A61Q 11/00 (2006.01) i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) <p style="text-align: center;">A61L; A61K; A61Q</p>		
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) CNTXT, CAPLUS, DWPI, CNABS, CNKI, ISI Web of Knowledge: 再生, SiO <sub>2</sub> , Na <sub>2</sub> O, CaO, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , 五氧化二磷, 二氧化硅, 氧化钠, 氧化钙, 肌醇六磷酸酯, 环己六醇磷酸酯, 羧甲基壳聚糖, 透明质酸钠, 四水硝酸钙, 硝酸钙, 氯化钙, 大豆, regenerative, inositol hexaphosphate, cyclohexanediol phosphate, carboxymethyl chitosan, hyaluronate sodium, calcium oxide, sodium oxide, phosphorus pentoxide, silica, soybean, ethyl orthosilicate, calcium chloride, calcium nitrate		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	CN 106421889 A (HU, Fang), 22 February 2017 (22.02.2017), claims 1-10, and description, paragraph 8	1-11
A	张晓凯等, 溶胶-凝胶生物活性玻璃在 SBF 中反应的形貌特征, 化学物理学报, 17(04), 31 August 2004 (31.08.2004), ISSN: 1003-7713, page 496, left-hand column, paragraphs 2-6, (ZHANG, Xiaokai et al., Morphology Character of the Sol-gel Derived Bioactive Glass in SBF Solution, Chinese Journal of Chemical Physics)	1-11
A	CN 103086708 A (SHANGHAI INSTITUTE OF CERAMICS, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES), 08 May 2013 (08.05.2013), claims 1-10	1-11
A	CN 104043150 A (NATIONAL TAIPEI UNIVERSITY OF TECHNOLOGY), 17 September 2014 (17.09.2014), claims 1-11	1-11
A	CN 104888281 A (KUNMING UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY), 09 September 2015 (09.09.2015), claims 1-11	1-11
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 <p style="text-align: center;">18 April 2017</p>	Date of mailing of the international search report <p style="text-align: center;">12 May 2017</p>	
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 <p style="text-align: center;">BIAN, Zhijia</p> Telephone No. (86-10) 62413763	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CN2016/096604

### Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: 10  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
[1] claim 10 relates to “a method for promoting soft and hard tissue repair”, which falls within a method for treating a disease, and does not comply with PCT Rule 39.1 (iv). This search report is provided based on the following subject matter: the use of regenerative medical materials as claimed in any one of claims 1 to 6 in preparing a material for promoting soft and hard tissue repair.
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/CN2016/096604

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 106421889 A	22 February 2017	None	
CN 103086708 A	08 May 2013	CN 103086708 B	17 June 2015
CN 104043150 A	17 September 2014	CN 104043150 B	13 July 2016
CN 104888281 A	09 September 2015	None	

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2016/096604

<p>A. 主题的分类</p> <p>A61L 27/02(2006.01)i; A61L 27/12(2006.01)i; A61L 27/20(2006.01)i; A61L 27/56(2006.01)i; A61L 27/58(2006.01)i; A61K 8/73(2006.01)i; A61K 8/25(2006.01)i; A61K 8/19(2006.01)i; A61K 8/24(2006.01)i; A61K 8/34(2006.01)i; A61Q 11/00(2006.01)i</p> <p>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</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>A61L; A61K; A61Q</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>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))</p> <p>CNXTX, CAPLUS, DWPI, CNABS, CNKI, ISI Web of Knowledge:再生, SiO2, Na2O, CaO, P2O5, 五氧化二磷, 二氧化硅, 氧化钠, 氧化钙, 肌醇六磷酸酯, 环己六醇磷酸酯, 羧甲基壳聚糖, 透明质酸钠, 四水硝酸钙, 硝酸钙, 氯化钙, 大豆, regenerative, inositol hexaphosphate, cyclohexanediol phosphate, carboxymethyl chitosan, hyaluronate sodium, calcium oxide, sodium oxide, phosphorus pentoxide, silica, soybean, ethyl orthosilicate, calcium chloride, calcium nitrate</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>E</td> <td>CN 106421889 A (胡方) 2017年 2月 22日 (2017 - 02 - 22) 权利要求1-10和说明书第8段</td> <td>1-11</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>张晓凯等. "溶胶-凝胶生物活性玻璃在SBF中反应的形貌特征" 化学物理学报, 第17卷, 第04期, 2004年 8月 31日 (2004 - 08 - 31), ISSN: 1003-7713, 第496页左栏2-6段</td> <td>1-11</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 103086708 A (中国科学院上海硅酸盐研究所) 2013年 5月 8日 (2013 - 05 - 08) 权利要求1-10</td> <td>1-11</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 104043150 A (台北科技大学) 2014年 9月 17日 (2014 - 09 - 17) 权利要求1-11</td> <td>1-11</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 104888281 A (昆明理工大学) 2015年 9月 9日 (2015 - 09 - 09) 权利要求1-11</td> <td>1-11</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 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          "&amp;" 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	E	CN 106421889 A (胡方) 2017年 2月 22日 (2017 - 02 - 22) 权利要求1-10和说明书第8段	1-11	A	张晓凯等. "溶胶-凝胶生物活性玻璃在SBF中反应的形貌特征" 化学物理学报, 第17卷, 第04期, 2004年 8月 31日 (2004 - 08 - 31), ISSN: 1003-7713, 第496页左栏2-6段	1-11	A	CN 103086708 A (中国科学院上海硅酸盐研究所) 2013年 5月 8日 (2013 - 05 - 08) 权利要求1-10	1-11	A	CN 104043150 A (台北科技大学) 2014年 9月 17日 (2014 - 09 - 17) 权利要求1-11	1-11	A	CN 104888281 A (昆明理工大学) 2015年 9月 9日 (2015 - 09 - 09) 权利要求1-11	1-11
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
E	CN 106421889 A (胡方) 2017年 2月 22日 (2017 - 02 - 22) 权利要求1-10和说明书第8段	1-11																		
A	张晓凯等. "溶胶-凝胶生物活性玻璃在SBF中反应的形貌特征" 化学物理学报, 第17卷, 第04期, 2004年 8月 31日 (2004 - 08 - 31), ISSN: 1003-7713, 第496页左栏2-6段	1-11																		
A	CN 103086708 A (中国科学院上海硅酸盐研究所) 2013年 5月 8日 (2013 - 05 - 08) 权利要求1-10	1-11																		
A	CN 104043150 A (台北科技大学) 2014年 9月 17日 (2014 - 09 - 17) 权利要求1-11	1-11																		
A	CN 104888281 A (昆明理工大学) 2015年 9月 9日 (2015 - 09 - 09) 权利要求1-11	1-11																		
国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期																			
2017年 4月 18日	2017年 5月 12日																			
ISA/CN的名称和邮寄地址	受权官员																			
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	卞志家																			
传真号 (86-10) 62019451	电话号码 (86-10) 62413763																			

## 第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1.  权利要求： 10  
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：  
[1] 权利要求10涉及“一种促进软硬组织修复的方法”，属于疾病的治疗方法，不符合PCT实施细则39.1(iv)的规定。本检索报告在如下主题基础上进行检索：权利要求1至6任一项所述的再生医学材料在制备促进软硬组织修复的材料中的用途。
2.  权利要求：  
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3.  权利要求：  
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2016/096604

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	106421889	A	2017年 2月 22日	无			
CN	103086708	A	2013年 5月 8日	CN	103086708	B	2015年 6月 17日
CN	104043150	A	2014年 9月 17日	CN	104043150	B	2016年 7月 13日
CN	104888281	A	2015年 9月 9日	无			

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)