

(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 5 月 24 日 (24.05.2018)



(10) 国际公布号
WO 2018/090190 A1

- (51) 国际专利分类号:
A61L 27/52 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2016/105922
- (22) 国际申请日: 2016 年 11 月 15 日 (15.11.2016)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (71) 申请人: 深圳先进技术研究院 (SHENZHEN INSTITUTE OF ADVANCED TECHNOLOGY) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区西丽大学城学苑大道1068号, Guangdong 518055 (CN)。
- (72) 发明人: 阮长顺 (RUAN, Changshun); 中国广东省深圳市南山区西丽大学城学苑大道1068号, Guangdong 518055 (CN)。 翟欣昀 (ZHAI, Xinyun); 中国广东省深圳市南山区西丽大学

城学苑大道1068号, Guangdong 518055 (CN)。
马宇飞 (MA, Yufei); 中国广东省深圳市南山区西丽大学城学苑大道1068号, Guangdong 518055 (CN)。 潘浩波 (PAN, Haobo); 中国广东省深圳市南山区西丽大学城学苑大道1068号, Guangdong 518055 (CN)。

(74) 代理人: 广州三环专利商标代理有限公司 (SCIHEAD IP LAW FIRM); 中国广东省广州市越秀区先烈中路80号汇华商贸大厦1508室, Guangdong 510070 (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, JP,

(54) **Title:** CLAY-BASED HYDROGEL MATRIX FOR THREE-DIMENSIONAL PRINTING, PREPARATION METHOD THEREFOR AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 用于三维打印的粘土基水凝胶基质及其制备方法和应用

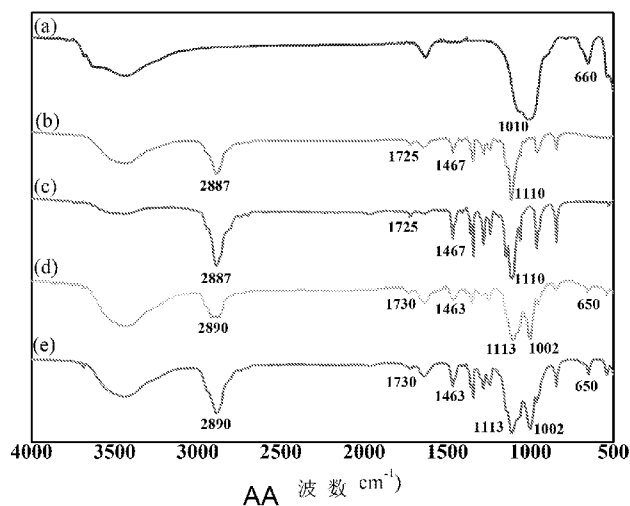


图 2

AA WAVE NUMBER

(57) **Abstract:** Provided is a clay-based hydrogel matrix for three-dimensional printing. The clay-based hydrogel matrix comprises raw material components in the following contents in mass percentage: 10-50% of a cross-linking agent, 3-20% of an inorganic clay, 0.05-0.1% of an ultraviolet light initiator and 30-86% of water, with the total content in mass percentage of these raw material components being 100%, wherein the cross-linking agent is a biologically compatible macromolecule with a carbon-carbon double bond, and the biologically compatible macromolecule is one or more of a polyethylene glycol, a polyvinyl alcohol, chitosan, gelatin and hyaluronic



WO 2018/090190 A1

KE, KG, 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)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

acid. The clay-based hydrogel matrix has a simple formulation, safe components, an appropriate viscosity and a certain pre-formed shape, is suitable for printing a continuously extruded three-dimensional scaffold and can achieve printing prior to curing and gelling and bulk printing of the three-dimensional scaffold, thereby greatly improving the efficiency of printing the three-dimensional scaffold. Further provided are a preparation method based on the clay-based hydrogel matrix and the use thereof.

(57) 摘要: 提供了一种用于三维打印的粘土基水凝胶基质, 所述粘土基水凝胶基质包括如下质量百分含量的原料组分: 交联剂: 10-50%; 无机粘土: 3-20%; 紫外光引发剂: 0.05-0.1%; 水: 30-86%; 上述各原料组分的总质量百分含量为100%; 其中, 所述交联剂为带碳碳双键的生物相容大分子, 所述生物相容大分子为聚乙二醇、聚乙烯醇、壳聚糖、明胶和透明质酸中的一种或多种。所述粘土基水凝胶基质的配方简单、成分安全, 其粘度合适、具有一定的预形状, 适合连续挤出的三维支架打印, 可实现先打印, 后固化成胶, 批量打印三维凝胶支架, 大大提高了三维支架的打印效率。还提供了基于该粘土基水凝胶基质的制备方法及应用。

用于三维打印的粘土基水凝胶基质及其制备方法和应用

技术领域

本发明涉及生物材料技术领域，具体涉及一种用于三维打印的粘土基水凝胶基质及其制备方法和应用。

背景技术

水凝胶是一种通过共价键、氢键或范德华力等作用相互交联构成的具有三维网状结构、能在水中溶胀并保持大量水分而又不溶解的聚合物。由于天然或合成的聚合物水凝胶在结构及性能上与生物体组织相似，因此近 20 年来，水凝胶一直是生物医用工程领域，特别是组织工程方面的诊断、治疗、修复或替换人体组织器官或增进其功能与生长因子、药物和基因载体等的一个研究热点。

热聚合、紫外聚合是水凝胶制备中较常用的聚合方法。其中热聚合在凝胶体系中加入热引发剂后，聚合时间不可控，需要随时调整打印时所需压力，或可能由于聚合过快，造成后期无法打印的问题。而采用紫外光对三维支架进行固化，则不存在上述问题，它可以在打印凝胶浆料的同时对其进行固化，但该方法对凝胶浆料的要求较高，需要其在较短时间内发生紫外交联成胶，否则打印出的凝胶支架的结构无法良好地保持，因此大大缩小了材料的可选择性。

发明内容

有鉴于此，本发明提供了一种可用于三维打印中紫外光固化的粘土基水凝

胶基质，所述粘土基水凝胶基质包括特定配比的无机黏土、带碳碳双键的生物相容大分子、紫外光引发剂和水，其配方简单、成分安全，所述粘土基水凝胶基质在经紫外光交联前具有一定的预形状，可实现先打印，后固化成胶，批量打印三维凝胶支架，大大提高了三维打印效率。

第一方面，本发明提供了一种用于三维打印的粘土基水凝胶基质，所述粘土基水凝胶基质包括如下质量百分含量的原料组分：

交联剂：10-50%；

无机粘土：3-20%；

紫外光引发剂：0.05-0.1%；

水：30-86%；

上述各原料组分的总质量百分含量为 100%；其中，所述交联剂为带碳碳双键的生物相容大分子，所述生物相容大分子为聚乙二醇、聚乙烯醇、壳聚糖、明胶、透明质酸中的一种或多种。

本发明通过上述特定质量配比的各种原料的协同作用，获得的所述粘土基水凝胶基质具有适宜的打印粘度和强度，在紫外光交联前具有一定的预形状。在常温下可以将所述粘土基水凝胶基质打印成力学强度、拉伸性能较好的稳定三维凝胶支架前驱体，便于后期对支架前驱体进行统一的紫外光固化，得到三维凝胶支架。所述粘土基水凝胶基质适用于批量打印制得三维打印凝胶支架，大大提高了三维打印效率，非常适合工业化生产。

在紫外光的作用下，本申请的所述粘土基水凝胶基质中，所述交联剂的碳碳双键之间发生交联，形成的聚合物长链穿插在无机黏土的有序片层结构中，形成三维网络结构的水凝胶，使得凝胶形状得以保持，同时无机粘土也充当物

理交联的作用，其与带碳碳双键的生物相容大分子之间形成的氢键作用、范德华力等，也使得打印出的三维凝胶支架的强度进一步提高，充分发挥物理交联与化学交联的协同效应。提高凝胶支架的稳定性。

所述无机粘土可以选自高岭土、膨润土、蒙脱土、锂皂石(laponite, 锂藻土)、锂蒙脱石(hectorite)、贝得石、皂石、硅镁石、硅酸镁铝、其它硅酸铝和各种其它天然和/或合成的粘土，以及它们的组合。

优选地，所述无机粘土的粒径不超过 500nm。进一步优选为 50-200nm。

在本发明的一优选实施方式中，所述无机粘土为锂皂石粘土。该锂皂石粘土可以在水中快速剥离分散成单片层，形成无色透明的胶体分散液，稳定性好。该黏土可以为购买自 Rockwood 公司的 Laponite XLG。Laponite XLG 是合成的层状粘土(layered clay)，与天然蒙脱石类似。

本申请中，无机黏土的加入，可有效提高水凝胶支架的强度，无机黏土相当于充当了物理交联剂的作用。此外，控制所述无机黏土的含量可以调控所述粘土基水凝胶基质的粘度，使所述粘土基水凝胶基质具有一定的预形状，可以实现先打印后固化。

优选地，所述粘土基水凝胶基质的粘度为 30-350Pa·s。待打印的所述粘土基水凝胶基质应该具有一定的粘度，粘度过高，流动性较差，打印时需要的压力过大，且材料不容易混匀；溶液黏度过低，流动性太高，打印时塑形困难，支架会发生塌陷，无法保持预形状。本申请中，将无机粘土的含量控制在 3%-20%之间，可以使所述粘土基水凝胶基质的粘度控制在 30-350Pa·s。

进一步优选地，所述无机黏土的质量百分含量为 5-15%。更优选为 8-15%。当所述无机黏土的质量百分含量提高至 8%以上，所述粘土基水凝胶基质达到

较高的黏度，其打印成的凝胶支架前驱体经固化后，固化的凝胶支架的拉伸率可以达到 5000%左右，力学强度有了明显提高。

优选地，所述粘土基水凝胶基质包括如下质量百分含量的原料组分：

交联剂：10-50%；

无机粘土：5-15%；

紫外光引发剂：0.05-0.1%；

水：35-84%；

上述各原料组分的总质量百分含量为 100%。

进一步优选地，所述粘土基水凝胶基质的粘度为 50-250Pa·s。更优选为 100-200 Pa·s。

本申请中，带碳碳双键的生物相容大分子的成胶效果较好，在所述无机粘土与水形成的分散液中，不需要额外添加化学交联剂，经紫外光聚合，即可得到强度较高的凝胶结构。形成的三维凝胶支架的毒性低，细胞相容性好。在提供细胞（例如成骨细胞以及骨髓间充质干细胞）生长所需的三维环境的同时，对细胞起到促进其黏附、生长与增殖的作用。

在本发明一实施方式中，所述交联剂的分子链的至少一端带有碳碳双键。所述交联剂可以为甲基丙烯酸、丙烯酸、聚乙二醇二丙烯酸酯（PEGDA）修饰的明胶、透明质酸、聚乙烯醇、聚乙醇醇等。例如可以是甲基丙烯酸修饰的明胶，丙烯酸修饰的透明质酸、丙烯酸修饰的聚乙醇醇、低分子量（分子量小于 1000 道尔顿）的 PEGDA 修饰的壳聚糖等。

在本发明另一实施方式中，所述交联剂的分子链的至少一端带有碳碳双键，所述交联剂的分子链中间为聚乙二醇的主链结构。

进一步优选地，所述交联剂为聚乙二醇二丙烯酸酯。

所述交联剂除了可促进凝胶形成、提高凝胶力学强度外，还可以通过控制其分子量和固含量，以达到控制细胞在制得的支架上黏附、生长、增殖甚至分化等目的。例如，聚乙二醇分子量为 4000，固含量为 20% 时，细胞能够在支架上黏附及伸展情况良好；但当聚乙二醇的分子量为 10000 以上时，细胞在支架上成球形，不能很好地展开，细胞增殖行为相对较弱。

优选地，所述交联剂中，聚乙二醇的主链结构的分子量为 1000-10000。例如可以为 2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000 或 9000。进一步优选为 2000-8000。

本申请中，所述交联剂的质量百分含量为 10-50%。例如可以为 15%、20%、25%、30%、35%、40% 或 45%。进一步优选为 20-40%。

优选地，所述粘土基水凝胶基质包括如下质量百分含量的原料组分：

交联剂：20-40%；

无机粘土：3-20%；

紫外光引发剂：0.05-0.1%；

水：40-76%；

上述各原料组分的总质量百分含量为 100%。

进一步优选地，所述粘土基水凝胶基质包括如下质量百分含量的原料组分：

交联剂：20-40%；

无机粘土：5-15%；

紫外光引发剂：0.05-0.1%；

水: 45-74%;

上述各原料组分的总质量百分含量为 100%。

本申请中所选用的紫外光引发剂为生物相容性良好的引发剂, 其用量极少, 且几乎不会对后期三维凝胶支架的细胞实验产生影响。

在本发明一实施方式中, 所述紫外光引发剂为 2-羟基-2-甲基-1-苯基-1-丙酮、2-羟基-4'-(2-羟乙氧基)-2-甲基苯丙酮、1-[4-(2-羟乙氧基)-亚苯基]-2-羟基-2', 2'-二甲基乙酮 (Irgacure2959)、1-羟基环己基苯基酮、 α,α' -二甲氧基- α -苯基苯乙酮和 2-甲基-1-(4-甲硫基苯基)-2-吗啉-1-丙酮中的一种或多种。并不限于本申请所列举的这几种。

优选地, 所述水的质量百分含量为 35-84%。进一步优选为 40-76%。更优选为 45-74%。

第二方面, 本发明提供了一种上述粘土基水凝胶基质的制备方法, 包括以下步骤:

按上述配方量, 称取交联剂、无机黏土、紫外光引发剂, 加入水混合均匀, 得到所述粘土基水凝胶基质, 上述各原料按如下质量百分含量混合:

交联剂: 10-50%;

无机粘土: 3-20%;

紫外光引发剂: 0.05-0.1%;

水: 30-86%;

上述各原料组分的总质量百分含量为 100%; 其中, 所述交联剂为带碳碳双键的生物相容大分子, 所述生物相容大分子为聚乙二醇、聚乙烯醇、壳聚糖、明胶、透明质酸中的一种或多种。

本发明实施例第二方面提供的制备方法，工艺简单，制备得到的所述粘土基水凝胶基质的粘度合适，具有一定的预形状，可实现先打印，后固化成胶，适用于批量打印三维凝胶支架，大大提高了三维打印效率。

本发明第三方面提供了一种三维凝胶支架的制备方法，包括以下步骤：

(1) 取本发明第一方面的所述粘土基水凝胶基质，将其在常温下进行三维打印，得到三维凝胶支架前驱体；

(2) 将所述三维凝胶支架前驱体置于紫外光下进行交联固化，得到三维凝胶支架。所述三维凝胶支架由无机黏土、带碳碳双键的生物相容大分子、紫外光引发剂通过紫外光聚合而成。

优选地，所述交联固化的时间为 1200s-3000s，即 30-50min。

优选地，所用紫外光的能量密度为 $0.1-999,990 \mu\text{J}/\text{cm}^2$ 。

进一步优选为 $100-500\text{mJ}/\text{cm}^2$ 。更优选为 $120 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ 。

优选地，所用紫外光的波长为 230-400nm。进一步优选为 250-350nm。更优选为 254nm。

三维打印技术可以对支架的孔径、孔隙、连通率等进行灵活调控。需要调控气压、间距、层高等参数来获得所期望的支架。一般而言，所述粘土基水凝胶基质的粘度较大时，打印所需的气压较大，粘度较小时，打印所需要的气压较小。打印时支架的行间距越大，最终得到的三维凝胶支架的孔隙率越大，支架的压缩强度越小。

本发明实施例中，所述三维凝胶支架前驱体、三维凝胶支架为规则的几何体（如长方体、正方体、圆柱体等，但不限于此）以及其他不规则的三维多孔结构体。优选为规则几何体。进一步优选为长方体。

本发明一实施例中，所述三维凝胶支架的底面边长为 10-30 mm，高度为 3-8 mm，行间距为 200-500 μ m，但不限于此，本领域技术人员可根据具体细胞培养条件选择并制备合适的相应大小的三维凝胶支架。

本发明一实施例中，所述三维凝胶支架的孔隙率为 70-95%。

所述三维凝胶支架上形成有多个孔洞，所述孔洞的孔径为 200-600 μ m。

本发明第三方面提供的所述三维凝胶架的制备方法中，采用上述特定配比的无机粘土、交联剂、紫外光引发剂、水构成的所述粘土基水凝胶基质（黏土基凝胶支架的三维打印浆料），所述粘土基水凝胶基质的粘度合适，具有一定的预形状，适合连续、批量打印，固化后得到三维凝胶支架，大大提高了三维打印效率。所述三维凝胶支架的制备方法，工艺简单，可控性强，能耗较低，无需改变打印过程中的压力，制造成本低廉，实用性较强。

第四方面，本发明还提供了如本发明第三方面所述的三维凝胶支架的制备方法得到的三维凝胶支架。

第五方面，本发明还提供了一种如本发明第一方面所述的粘土基水凝胶基质或如本发明第四方面所述的三维凝胶支架在制备组织修复材料中的应用。优选为在骨组织修复材料的应用。

本发明实施例的优点将会在下方的说明书中部分阐明，一部分根据说明书是显而易见的，或者可以通过本发明实施例的实施而获知。

附图说明

图 1 是分子量分别为 4000 和 10000 的聚乙二醇（B，D）以及双键修饰后的分子量为 4000 和 10000 的聚乙二醇（A，C）的核磁图谱；

图 2 为 Rockwood 公司生产的 Laponite XLG 黏土 (a)、双键修饰后的分子量为 4000 和 10000 的聚乙二醇(b, c)以及其分别与上述粘土交联形成凝胶支架后的红外图谱(d, e);

图 3 为成骨细胞在本发明实施例 1-3 制得的黏土基三维凝胶支架上铺展的扫描电镜图。

具体实施方式

以下所述是本发明实施例的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明实施例原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也视为本发明实施例的保护范围。

下面分多个实施例对本发明实施例进行进一步的说明。其中,本发明实施例不限于以下的具体实施例。在不变主权利的范围,可以适当的进行变更实施。

下述实施例中所用的聚乙烯醇为市售商品,(1788 型,醇解度 87-89%,阿拉丁);所述羟基磷灰石购买自南京埃普瑞纳米材料有限公司,医用级。

若无特别说明,本发明实施例所采用的试剂皆为市售商品。

实施例 1:

一种黏土基三维凝胶支架的制备方法,包括如下步骤:

A. 双键修饰的聚乙二醇 ($M_n=4000$) 大分子交联剂的制备

首先将 1.2 ml 的丙烯酰氯溶于 10 ml 二氯甲烷中,配制成丙烯酰氯溶液。随后将 10 g 的聚乙二醇($M_n=4000$)置于 50 ml 的三口烧瓶中,加入 20 ml 的二

氯甲烷溶解，室温下搅拌均匀。在冰水浴条件下，缓慢加入 2.1ml 的三乙胺溶液。随后，在冰水浴条件下，逐滴加入提前配置好的丙烯酰氯溶液。控制体系温度为零度，直至丙烯酰氯全部滴加完毕，氮气保护状态下，室温反应 24 h。反应结束后，滤去体系中形成的三乙胺盐酸盐，并用无水乙醚沉淀出合成出的双键修饰的聚乙二醇 ($M_n=4000$)，得到的粗产物经过真空干燥 1 d、透析 7 d、过滤、冻干 2 d 后得到纯度较高的双键修饰的聚乙二醇大分子交联剂，即为聚乙二醇二丙烯酸酯，其分子式为 $\text{CH}_2=\text{CHCO}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCOCH}=\text{CH}_2$ (n 为 88)。

B. 可用于三维打印的紫外光固化纳米粘土基水凝胶基质的制备

将步骤 A 得到的双键修饰的聚乙二醇大分子交联剂 ($M_n=4000$)、Laponite XLG 锂皂石粘土、紫外光引发剂 2-羟基-2-甲基-1-苯基-1-丙酮与水相混合，其中，上述各原料按如下质量百分含量混合：

聚乙二醇二丙烯酸酯（聚乙烯的分子量 $M_n=4000$ ） 20%

Laponite XLG 粘土： 5%

紫外光引发剂： 0.05%

水： 74.95%；

室温下混合均匀后，得到可用于三维打印的紫外光固化粘土基水凝胶基质，所述粘土基水凝胶基质的粘度为 $160\text{Pa}\cdot\text{s}$ 。

C、支架制备：

按照所期望的支架结构来设置打印参数，将上述粘土基水凝胶基质在常温下进行三维打印，得到三维凝胶支架前驱体，该三维凝胶支架前驱体的三维打印参数为底面边长为 15 mm，高度为 5 mm，支架行间距为 $300\mu\text{m}$ ；

将打印好的所述三维凝胶支架前驱体置于紫外交联仪中，在 254nm 下进行光固化 25min，得到黏土基三维凝胶支架。检测该黏土基三维凝胶支架的孔隙率为 75%，支架压缩强度为 1MPa。

实施例 2:

一种黏土基三维凝胶支架的制备方法的方法，包括如下步骤：

(1) 采用与实施例 1 相同的方法，对分子量为 4000 的聚乙二醇进行双键修饰，得到交联剂聚乙二醇二丙烯酸酯， $\text{CH}_2=\text{CHCO}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCOCH}=\text{CH}_2$ (n 为 88)；

(2) 采用 2-羟基-4'-(2-羟乙氧基)-2-甲基苯丙酮作为紫外光引发剂，Laponite XLG 作为无机黏土，按下述配方量，称取交联剂、无机黏土、紫外光引发剂，加入水混合均匀，得到粘度为 170Pa·s 的黏土基水凝胶基质，上述各原料按如下质量百分含量混合：

交联剂：30%；

无机粘土：8%；

紫外光引发剂：0.05%；

水：61.95 %；

(3) 将上述黏土基水凝胶基质在常温下进行三维打印（打印参数同实施例 1），得到三维凝胶支架前驱体，将打印好的将打印好的所述三维凝胶支架前驱体置于紫外交联仪中，在 254nm 下进行光固化 40min 后，得到黏土基三维凝胶支架。

实施例 3:

一种黏土基三维凝胶支架的制备方法，包括如下步骤:

(1) 采用与实施例 1 相同的方法，对分子量为 10000 的聚乙二醇进行双键修饰，得到交联剂聚乙二醇二丙烯酸酯， $\text{CH}_2=\text{CHCO}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCOCH}=\text{CH}_2$ (n 为 224)；

(2) 采用 2-羟基-2-甲基-1-苯基-1-丙酮作为紫外光引发剂，Laponite XLG 作为无机黏土，按下述配方量，称取交联剂、无机黏土、紫外光引发剂，加入水混合均匀，得到粘度为 150Pa·s 的黏土基水凝胶基质，上述各原料按如下质量百分含量混合:

交联剂: 20%;

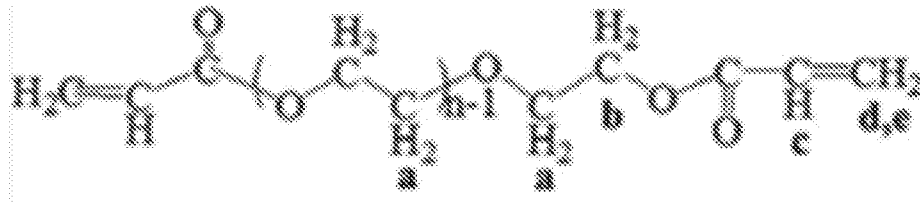
无机粘土: 7%;

紫外光引发剂: 0.05%;

水: 72.95 %;

(3) 将上述黏土基水凝胶基质在常温下进行三维打印（打印参数同实施例 1），得到三维凝胶支架前驱体，将打印好的将打印好的所述三维凝胶支架前驱体置于紫外交联仪中，在 254nm 下进行光固化 20min 后，得到黏土基三维凝胶支架。

图 1 为分子量分别为 4000 和 10000 的聚乙二醇 (B, D) 以及双键修饰后的分子量为 4000 和 10000 的聚乙二醇 (A, C) (即聚乙二醇二丙烯酸酯) 的核磁图谱。即(A)为 PEGDA4000, (B) 为 PEG 4000, (C)为 PEGDA 10000, (D) PEG 10000。其中聚乙二醇二丙烯酸酯的结构式如下式 (I) 所示:



(I)。

从图 1 可以看出, c,d,e 为聚乙二醇二丙烯酸酯上修饰的双键上氢元素的特征峰, 说明双键被成功地修饰到聚乙二醇上。

图 2 为 Rockwood 公司生产的 Laponite XLG 黏土 (a)、双键修饰后的分子量为 4000 和 10000 的聚乙二醇(b, c)以及其分别与上述粘土交联形成凝胶支架后的红外图谱(d, e)。图 2 中 D, E 分别为实施例 2、3 中的所述粘土基水凝胶基质形成的黏土基三维凝胶支架的红外图。

从图 2 可以看出, d, e 不仅具有 Laponite XLG 粘土的红外特征峰, 还具有乙二醇二丙烯酸酯 (PEGDA) 在 2887, 1725, 1110, 1467 cm^{-1} 处的特征峰, 以上特征峰分别代表 PEGDA 上 C-H 键, C=O 双键, C-O-C 的伸缩振动吸收峰, 以及-CH₂-的摇摆振动吸收峰, 说明粘土基复合凝胶成功地被制备出来。

图 3 为成骨细胞在本发明实施例 1-3 制得的黏土基三维凝胶支架上铺展的扫描电镜图。从图 3 可以看出, 成骨细胞 (图中方框处为细胞) 成功粘附在三维凝胶支架上的孔洞的孔壁上。

实施例 4:

一种黏土基三维凝胶支架的制备方法, 包括如下步骤:

(1) 采用与实施例 1 相同的方法, 对分子量为 4000 的聚乙二醇进行双键修饰, 得到交联剂聚乙二醇二丙烯酸酯, $\text{CH}_2=\text{CHCO}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCOCH}=\text{CH}_2$ (n 为 88);

(2) 采用 α,α' -二甲氧基- α -苯基苯乙酮作为紫外光引发剂，膨润土作为无机黏土，按下述配方量，称取交联剂、无机黏土、紫外光引发剂，加入水混合均匀，得到粘度为 190Pa·s 的粘土基水凝胶基质，其中，上述各原料按如下质量百分含量混合：

交联剂：25%；

无机粘土：10%；

紫外光引发剂：0.1%；

水：74.9 %；

(3) 将上述粘土基水凝胶基质在常温下进行三维打印，得到三维凝胶支架前驱体，该三维凝胶支架前驱体的三维打印参数为底面边长为 15 mm，高度为 5 mm，支架行间距为 500 μ m；

将打印好的所述三维凝胶支架前驱体置于紫外交联仪中，于 254nm、120 mJ/cm² 的能量密度下，进行光固化 20min 后，得到黏土基三维凝胶支架。

实施例 5

一种用于三维打印的紫外光固化粘土基水凝胶基质，所述粘土基水凝胶基质包括如下质量百分含量的原料组分：

交联剂：40%；

无机粘土：15%；

紫外光引发剂：0.05%；

水：44.95%；

其中，所述交联剂为甲基丙烯酸修饰的明胶；所述无机黏土为高岭土，所

述紫外光引发剂为 2-甲基-1-(4-甲硫基苯基)-2-吗啉-1-丙酮。

实施例 6

一种用于三维打印的紫外光固化粘土基水凝胶基质，所述粘土基水凝胶基质包括如下质量百分含量的原料组分：

交联剂：50%；

无机粘土：12%；

紫外光引发剂：0.08%；

水：37.92%；

其中，所述交联剂为丙烯酸修饰的透明质酸和聚乙二醇二丙烯酸酯（实施例 1 中制得）；所述无机黏土为高岭土，所述紫外光引发剂为 1-羟基环己基苯基酮。

以上所揭露的仅为本发明较佳实施例而已，当然不能以此来限定本发明之权利范围，本领域普通技术人员可以理解实现上述实施例的全部或部分流程，并依本发明权利要求所作的等同变化，仍属于发明所涵盖的范围。

权 利 要 求

1、一种用于三维打印的紫外光固化粘土基水凝胶基质，其特征在于，所述粘土基水凝胶基质包括如下质量百分含量的原料组分：

交联剂：10-50%；

无机粘土：3-20%；

紫外光引发剂：0.05-0.1%；

水：30-86%；

上述各原料组分的总质量百分含量为100%；其中，所述交联剂为带碳碳双键的生物相容大分子，所述生物相容大分子为聚乙二醇、聚乙烯醇、壳聚糖、明胶和透明质酸中的一种或多种。

2、如权利要求1所述的粘土基水凝胶基质，其特征在于，所述交联剂的分子链的至少一端带有碳碳双键，所述交联剂的分子链中间为聚乙二醇的主链结构；所述聚乙二醇的主链结构的分子量为1000-10000。

3、如权利要求2所述的粘土基水凝胶基质，其特征在于，所述交联剂为聚乙二醇二丙烯酸酯。

4、如权利要求1所述的粘土基水凝胶基质，其特征在于，所述交联剂包括甲基丙烯酸、丙烯酸或聚乙二醇二丙烯酸酯修饰的明胶、透明质酸、科举陶和聚乙烯醇。

5、如权利要求1所述的粘土基水凝胶基质，其特征在于，所述无机黏土的质量百分含量为5-15%。

6、如权利要求1所述的粘土基水凝胶基质，其特征在于，所述交联剂的质量百分含量为20-40%。

7、如权利要求 1 所述的粘土基水凝胶基质，其特征在于，所述黏土选自高岭土、膨润土、蒙脱土、锂皂石、锂蒙脱石、贝得石、皂石、硅镁石、硅酸镁铝、其它硅酸铝和各种其它天然和/或合成的粘土，以及它们的组合。

8、如权利要求 1 所述的粘土基水凝胶基质，其特征在于，所述粘土基水凝胶基质包括如下质量百分含量的原料组分：

交联剂：20-40%；

无机粘土：5-15%；

紫外光引发剂：0.05-0.1%；

水：45-74%；

上述各原料组分的总质量百分含量为 100%。

9、如权利要求 1-8 任一项所述的粘土基水凝胶基质，其特征在于，所述粘土基水凝胶基质的粘度为 30-350Pa·s。

10、一种粘土基水凝胶基质的制备方法，其特征在于，包括以下步骤：

按下述配方量，称取交联剂、无机黏土、紫外光引发剂，加入水混合均匀，得到所述粘土基水凝胶基质，上述各原料按如下质量百分含量混合：

交联剂：10-50%；

无机粘土：3-20%；

紫外光引发剂：0.05-0.1%；

水：30-86%；

上述各原料组分的总质量百分含量为 100%；其中，所述交联剂为带碳碳双键的生物相容大分子，所述生物相容大分子为聚乙二醇、聚乙烯醇、壳聚糖、明胶、透明质酸中的一种或多种。

11、一种三维凝胶支架的制备方法，其特征在于，包括以下步骤：

(1) 取权利要求 1-9 任一项所述的粘土基水凝胶基质，将其在常温下进行三维打印，得到三维凝胶支架前驱体；

(2) 将所述三维凝胶支架前驱体置于紫外光下进行交联固化，得到三维凝胶支架。

12、如权利要求 11 所述的制备方法，其特征在于，所述交联固化的时间为 30-50min。

13、如权利要求 11 所述的制备方法，其特征在于，所述三维凝胶支架的底面边长为 10 -30 mm，高度为 3-8 mm，行间距为 200-500 μ m。

14、如权利要求 13 所述的制备方法，其特征在于，所述三维凝胶支架上形成有多个孔洞，所述孔洞的孔径为 200-600 μ m。

15、一种如权利要求 11-14 任一项所述的制备方法得到的三维凝胶支架。

16、一种如权利要求 1-9 任一项所述的粘土基水凝胶基质或如权利要求 15 所述的三维凝胶支架在制备组织修复材料中的应用。

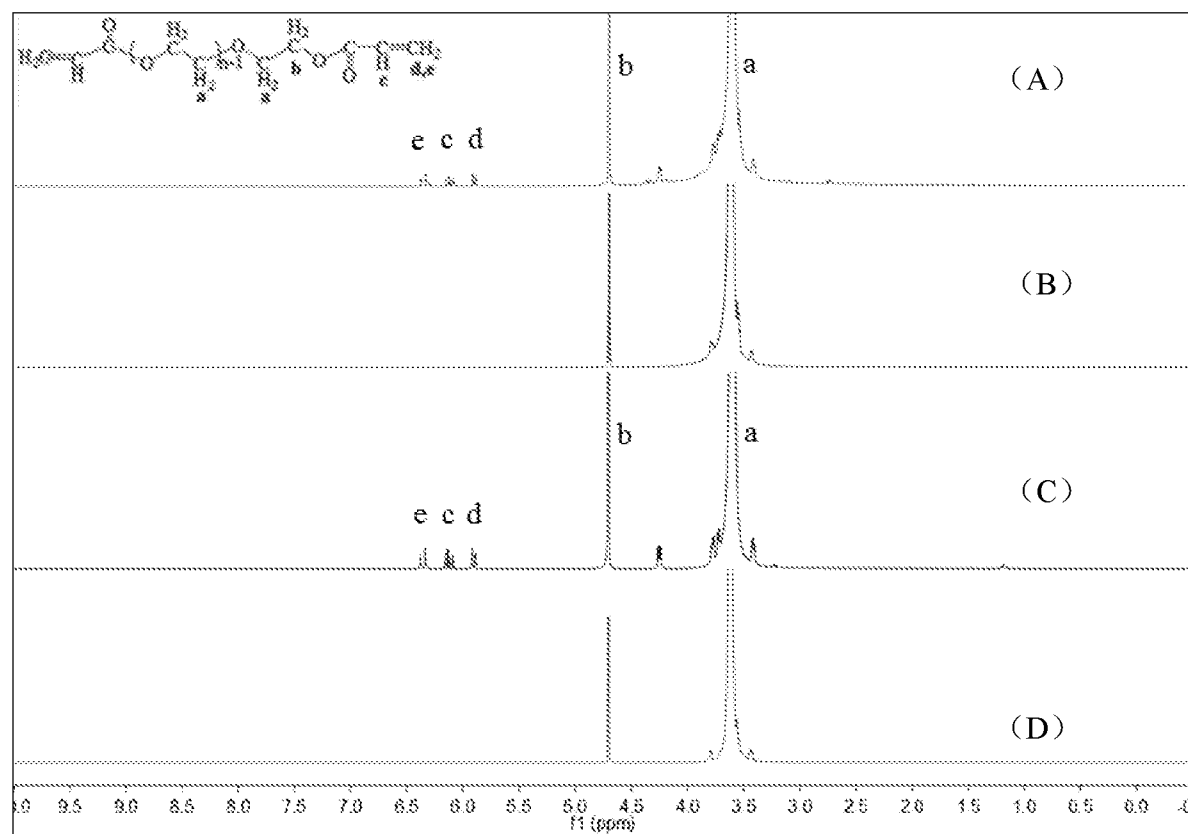


图 1

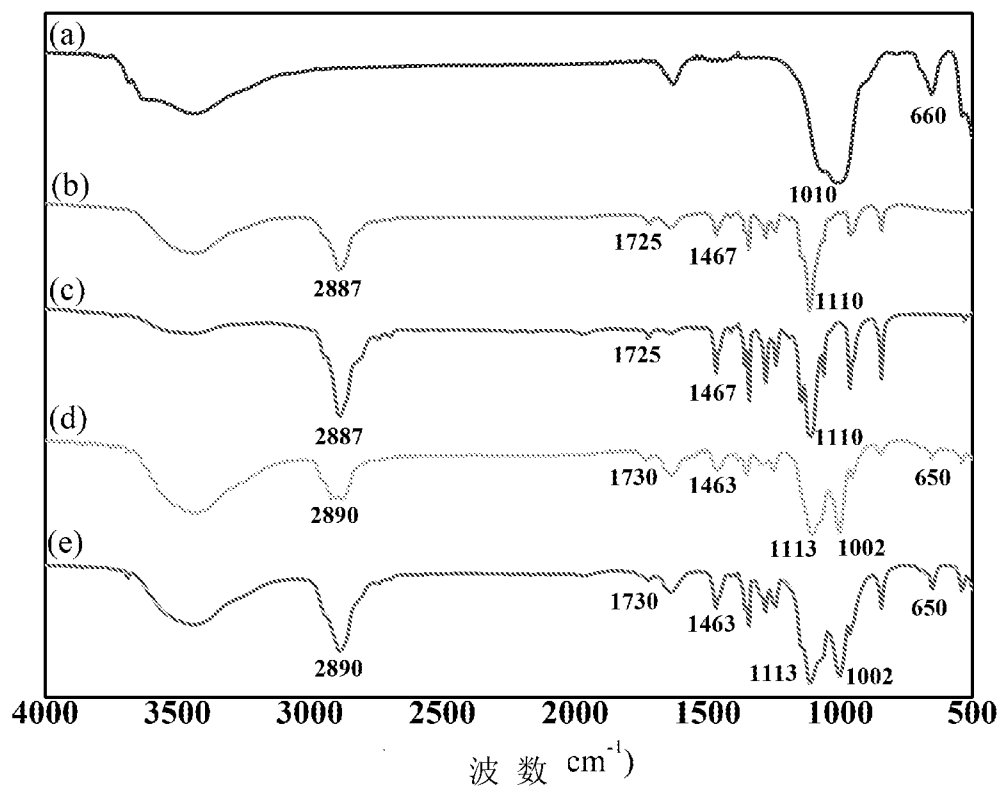


图 2

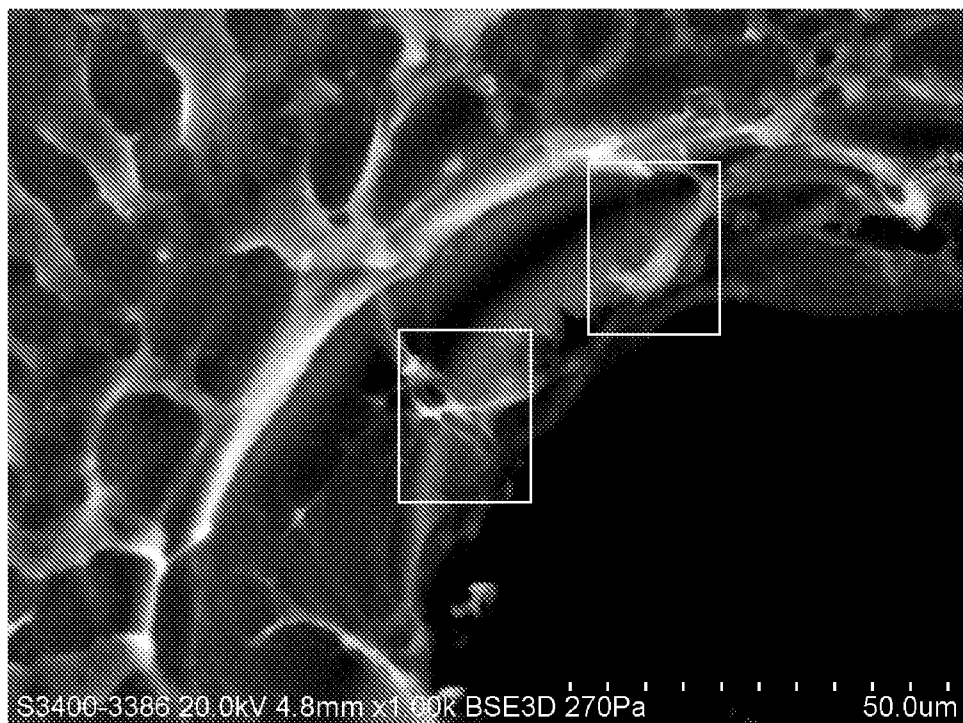


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2016/105922

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61L 27/52 (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 27/-

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)

DWPI, SIPOABS, CNKI, CNABS: 三维, 3D, three-dimensional, 3-D, 打印, print, 水凝胶, 凝胶, 生物墨水, 生物水泥, hydro gel, water gel, aqueous gel, 固化, 引发, 光, 紫外, photo initiator, ultraviolet light, UV, 交联剂, 聚乙二醇, 聚乙烯醇, 壳聚糖, 明胶, 透明质酸, inorganic clay, crosslink agent, polyethylene glycol, polyvinyl alcohol, chitosan, gelatin, hyaluronic acid

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 106008850 A (JI'NAN UNIVERSITY), 12 October 2016 (12.10.2016), description, paragraphs [0007]-[0009] and [0015]-[0016]	1-16
Y	CN 105111341 A (SOUTH CHINA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY), 02 December 2015 (02.12.2015), description, paragraphs [0012]-[0013] and [0017]	1-16
A	CN 104623729 A (WANG, Jian et al.), 20 May 2015 (20.05.2015), entire document	1-16
A	CN 105238132 A (SUN YAT-SEN UNIVERSITY), 13 January 2016 (13.01.2016), entire document	1-16
A	WO 2015/002707 A1 (THE JOHNS HOPKINS UNIVERSITY), 08 January 2015 (08.01.2015), entire document	1-16

☐ 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	“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
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“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
“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)	“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
“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	“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report 07 June 2017
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 PENG, Meixiang Telephone No. (86-10) 010-61648529

International application No.
PCT/CN2016/105922

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2009)

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2016/105922

A. 主题的分类

A61L 27/52 (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)

A61L27/-

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))

DWPI, SIPOABS, CNKI, CNABS 三维, 3D, three-dimensional, 3-D, 打印, print, 水凝胶, 凝胶, 生物墨水, 生物水泥, hydro gel, water gel, aqueous gel, 固化, 引发, 光, 紫外, photo initiator, ultraviolet light, UV, 交联剂, 聚乙二醇, 聚乙烯醇, 壳聚糖, 明胶, 透明质酸, inorganic clay, crosslink agent, polyethylene glycol, polyvinyl alcohol, chitosan, gelatin, hyaluronic acid

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	CN 106008850 A (暨南大学) 2016年 10月 12日 (2016 - 10 - 12) 说明书第[0007]-[0009], [0015]-[0016]段	1-16
Y	CN 105111341 A (华南理工大学) 2015年 12月 2日 (2015 - 12 - 02) 说明书第[0012]-[0013], [0017]段	1-16
A	CN 104623729 A (王健 等) 2015年 5月 20日 (2015 - 05 - 20) 全文	1-16
A	CN 105238132 A (中山大学) 2016年 1月 13日 (2016 - 01 - 13) 全文	1-16
A	WO 2015/002707 A1 (THE JOHNS HOPKINS UNIVERSITY) 2015年 1月 8日 (2015 - 01 - 08) 全文	1-16

☐ 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

2017年 6月 7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

彭梅香

电话号码 (86-10) 010-61648529

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2016/105922

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	106008850	A	2016年 10月 12日	无			
CN	105111341	A	2015年 12月 2日	无			
CN	104623729	A	2015年 5月 20日	无			
CN	105238132	A	2016年 1月 13日	无			
WO	2015/002707	A1	2015年 1月 8日	US	2016095958	A1	2016年 4月 7日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)