



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113087861 B

(45) 授权公告日 2022.07.08

(21) 申请号 202110350954.5

(22) 申请日 2021.03.31

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 113087861 A

(43) 申请公布日 2021.07.09

(73) 专利权人 四川大学

地址 610065 四川省成都市武侯区一环路  
南一段24号

(72) 发明人 廖金凤 吴妍廷 张旭 谭博文

(74) 专利代理机构 成都虹桥专利事务所(普通

合伙) 51124

专利代理师 黄鑫

(51) Int. Cl.

C08F 289/00 (2006.01)

C08F 283/00 (2006.01)

C08F 220/14 (2006.01)

A61K 41/00 (2020.01)

A61L 27/26 (2006.01)

A61L 27/50 (2006.01)

A61L 27/52 (2006.01)

A61P 19/08 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 104906637 A, 2015.09.16

US 2017232138 A1, 2017.08.17

CN 105107019 A, 2015.12.02

CN 105107019 A, 2015.12.02

CN 112521629 A, 2021.03.19

CN 111569148 A, 2020.08.25

Gan, DL. Mussel-inspired dopamine oligomer intercalated tough and resilient gelatin methacryloyl (GelMA) hydrogels for cartilage regeneration.《Journal of Materials Chemistry B》.2019,第7卷(第10期),第1716-1725页.

审查员 聂聪

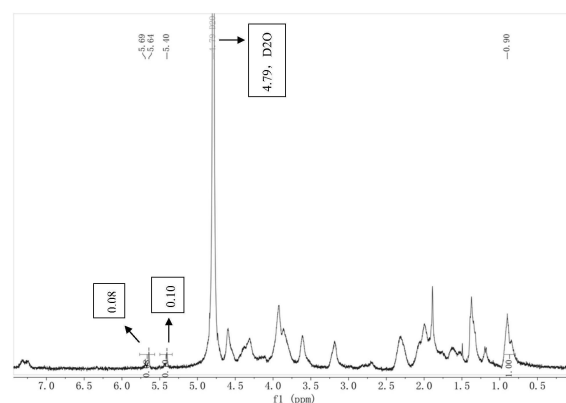
权利要求书1页 说明书6页 附图9页

(54) 发明名称

具有温和光热效应的改性水凝胶及其制备方法和用途

(57) 摘要

本发明涉及具有温和光热效应的改性水凝胶及其制备方法和用途,属于材料技术领域。本发明提供了具有温和光热效应的改性水凝胶,它是先将甲基丙烯酸与明胶反应,得到甲基丙烯酰化明胶,再用聚多巴胺和甲基丙烯酸甲酯改性所得甲基丙烯酰化明胶而得到的。本发明还提供了所述改性水凝胶的制备方法,以及所述改性水凝胶在制备骨修复材料中的用途。本发明改性水凝胶可用于制备生物相容性好、力学性能佳、且具有温和光热效应的支架材料,对于骨组织的修复具有重要的意义。



1. 一种具有温和光热效应的改性水凝胶在制备骨修复材料中的应用,其特征是:该改性水凝胶是先将甲基丙烯酸与明胶反应,得到甲基丙烯酰化明胶,再用聚多巴胺和甲基丙烯酸甲酯与所得甲基丙烯酰化明胶混合而得到的;甲基丙烯酸:明胶的投料比为(0.6~1.0):1,w/w;聚多巴胺:甲基丙烯酰化明胶的投料比为(30~50):40,w/w;甲基丙烯酸甲酯:甲基丙烯酰化明胶的投料比为(10~20):40,w/w;该水凝胶在近红外光照射4min时,升温至41.8℃。

2. 如权利要求1所述的应用,其特征是:所述明胶的分子量为50000~100000Da。

3. 如权利要求1所述的应用,其特征是:所述聚多巴胺是由多巴胺在碱性条件下自聚合形成的。

4. 如权利要求3所述的应用,其特征是:所述聚多巴胺由如下方法得到:在pH值为7.1~8.0的Tris-HCl缓冲液中加入多巴胺盐酸盐,反应即得。

5. 如权利要求4所述的应用,其特征是:所述Tris-HCl缓冲液的pH值为7.4。

6. 如权利要求1所述的应用,其特征是:甲基丙烯酸:明胶的投料比为0.8:1,w/w。

7. 如权利要求1所述的应用,其特征是:聚多巴胺:甲基丙烯酰化明胶的投料比为40:40,w/w。

8. 如权利要求1所述的应用,其特征是:甲基丙烯酸甲酯:甲基丙烯酰化明胶的投料比为15:40,w/w。

9. 权利要求1~8中任意一项所述改性水凝胶的制备方法,其特征是:包括如下步骤:a、按比例取明胶和甲基丙烯酸,反应后生成甲基丙烯酰化明胶;b、按比例将甲基丙烯酰化明胶、聚多巴胺和甲基丙烯酸甲酯混匀,并加入引发剂,反应即得。

10. 如权利要求9所述的制备方法,其特征是:所述的引发剂为过硫酸铵。

11. 如权利要求9所述的制备方法,其特征是:步骤a满足以下至少一项:

反应溶剂为PBS;

反应温度为45~55℃;

反应停止后进行纯化。

12. 如权利要求11所述的制备方法,其特征是:步骤a满足以下至少一项:

反应温度为50℃;

所述的纯化采用透析。

13. 如权利要求9所述的制备方法,其特征是:步骤b满足以下至少一项:

将甲基丙烯酰化明胶配制成300~500mg/ml的水溶液;

将过硫酸铵配制为100~300mg/ml的水溶液;

将聚多巴胺配制成40~60mg/ml的水溶液。

## 具有温和光热效应的改性水凝胶及其制备方法和用途

### 技术领域

[0001] 本发明涉及具有温和光热效应的改性水凝胶及其制备方法和用途,属于材料技术领域。

### 背景技术

[0002] 由于运动损伤、车祸、关节炎、年龄增长、先天性异常和疾病引起的骨缺损,临床通常采用自体移植和异体移植来治疗。这些方法具有一定的可行性,但受到供体有限、免疫排除、费用高昂等方面的限制。自20世纪80年代,骨组织工程成为骨缺损修复的重要策略。骨组织工程以生物材料为支架,搭载干细胞,药物或生长因子,植入骨缺损区域进行修复。其中,骨组织工程支架类似于细胞外基质,在骨组织工程中起着重要作用,它可以促进干细胞的浸润和分化,为新骨的生长提供微环境,并能起到连结新生骨与宿主骨的作用等。理想的骨修复材料应具备以下特点如生物相容性好、适宜的硬度、骨整合能力好、生物可降解性、成本低、易获得等,但是目前的支架材料还难以满足以上要求。因此,如何开发理化性能良好且修复功能优异的支架仍是广大科研工作者面临的重要科学难题,也是再生医学领域的热点问题。

[0003] 近年来,热疗作为一种有效的治疗方式,受到了越来越多研究者的关注,也逐步在临床上得到了应用。目前大部分实验研究都采用较高温度( $>46^{\circ}\text{C}$ )消融的方式杀灭肿瘤,临床常采用 $43-45^{\circ}\text{C}$ 的热疗进行肿瘤治疗。然而,较少人关注 $40-42^{\circ}\text{C}$ 的温和热疗对细胞或机体的影响。近年来相关研究表明,温和热疗可有效促进组织再生,有望成为一种新兴的组织修复方法。因此,温和光热效应将有望为颅骨缺损的治疗提供新的策略。

### 发明内容

[0004] 本发明旨在至少解决现有技术中存在的技术问题之一。为此,本发明的目的在于提供一种具有温和光热效应的改性水凝胶。本发明的另一目的在于提供所述改性水凝胶的制备方法,以及所述改性水凝胶在制备骨修复材料中的用途。

[0005] 本发明提供了具有温和光热效应的改性水凝胶,它是先将甲基丙烯酸与明胶反应,得到甲基丙烯酰化明胶,再用聚多巴胺和甲基丙烯酸甲酯改性所得甲基丙烯酰化明胶而得到的。

[0006] 进一步地,所述明胶的分子量为 $50000\sim 100000\text{Da}$ 。

[0007] 进一步地,所述聚多巴胺是由多巴胺在碱性条件下自聚合形成的。

[0008] 优选地,所述聚多巴胺由如下方法得到:在pH值为 $7.1\sim 8.0$ 的Tris-HCl缓冲液中加入多巴胺盐酸盐,反应即得。

[0009] 进一步优选地,所述Tris-HCl缓冲液的pH值为 $7.4$ 。

[0010] 进一步地,甲基丙烯酸:明胶的投料比为 $(0.6\sim 1.0):1, \text{w/w}$ 。试验中发现,如果甲基丙烯酸:明胶的投料比低于 $0.6:1$ ,甲基丙烯酰化明胶的接枝率有所下降,对水凝胶成品的性能有一定影响。另外,当甲基丙烯酸:明胶的投料比高于 $1.0:1$ 时,甲基丙烯酸容易残留

在甲基丙烯酰化明胶中,影响成品的生物相容性。

[0011] 优选地,甲基丙烯酸:明胶的投料比为0.8:1,w/w。

[0012] 进一步地,聚多巴胺:甲基丙烯酰化明胶的投料比为(30~50):40,w/w。试验中发现,如果聚多巴胺:甲基丙烯酰化明胶的投料比低于30:40,所得材料的光热效应有所降低。另外,在聚多巴胺:甲基丙烯酰化明胶的投料比高于50:40时,对水凝胶的力学性能有一定影响。

[0013] 优选地,聚多巴胺:甲基丙烯酰化明胶的投料比为40:40,w/w。

[0014] 进一步地,甲基丙烯酸甲酯:甲基丙烯酰化明胶的投料比为(10~20):40,w/w。试验中发现,如果甲基丙烯酸甲酯:甲基丙烯酰化明胶的投料比低于10:40,水凝胶的力学性能有所下降。

[0015] 优选地,甲基丙烯酸甲酯:甲基丙烯酰化明胶的投料比为15:40,w/w。

[0016] 本发明提供了所述改性水凝胶的制备方法,包括如下步骤:a、按比例取明胶和甲基丙烯酸,反应后生成甲基丙烯酰化明胶;b、按比例将甲基丙烯酰化明胶、聚多巴胺和甲基丙烯酸甲酯混匀,并加入引发剂,反应即得。

[0017] 优选地,所述的引发剂为过硫酸铵。

[0018] 进一步地,步骤a满足以下至少一项:

[0019] 反应溶剂为PBS;

[0020] 反应温度为45~55℃;

[0021] 优选地,反应温度为50℃;

[0022] 反应停止后进行纯化;

[0023] 优选地,所述的纯化采用透析。

[0024] 进一步地,步骤b满足以下至少一项:

[0025] 将甲基丙烯酰化明胶配制成300~500mg/ml的水溶液;

[0026] 将过硫酸铵配制为100~300mg/ml的水溶液;

[0027] 将聚多巴胺配制成40~60mg/ml的水溶液。

[0028] 本发明提供了所述改性水凝胶在制备骨修复材料中的用途。

[0029] 本发明提供了一种具有光热效应的改性GelMA水凝胶,可用于制备生物相容性好、力学性能佳、且具有温和光热效应的支架材料,对于骨组织的修复具有重要的意义。

## 附图说明

[0030] 图1为实施例1中GelMA的<sup>1</sup>H-NMR谱图;

[0031] 图2为实施例1中GelMA的傅立叶红外光谱图;

[0032] 图3为实施例1的化学反应示意图;

[0033] 图4为实施例1所得改性水凝胶的SEM图;

[0034] 图5为实施例2中改性水凝胶的溶胀比曲线图;

[0035] 图6为实施例3中水凝胶的应力-应变曲线图;

[0036] 图7为实施例3中水凝胶循环压缩5次的应力-应变曲线图;

[0037] 图8为实施例3中水凝胶的弹性模量测试结果图;

[0038] 图9为实施例4中水凝胶的光热性能测试结果图;

- [0039] 图10为实施例5中水凝胶的细胞相容性测定结果图；
- [0040] 图11为实施例6中茜素红染色图；
- [0041] 图12为实施例6中碱性磷酸酶ALP活性测定结果图；
- [0042] 图13为实施例6中茜素红染色钙结节的吸光度值测定结果图；
- [0043] 图14为实施例7中水凝胶植入小鼠皮下的形态与大小变化情况图；
- [0044] 图15为实施例7中H&E染色图；
- [0045] 图16为实施例8中大鼠颅骨光热近红外温度热成像图；
- [0046] 图17为实施例8中大鼠颅骨修复效果以及经计算机分析的骨体积分数结果图；
- [0047] 图18为实施例8中大鼠颅骨H&E染色图；
- [0048] 图19为实施例8中大鼠颅骨Masson染色图。

### 具体实施方式

[0049] 本发明提供了具有温和光热效应的改性水凝胶，它是先将甲基丙烯酸与明胶反应，得到甲基丙烯酰化明胶，再用聚多巴胺和甲基丙烯酸甲酯改性所得甲基丙烯酰化明胶而得到的。

[0050] 本发明首先通过在明胶的分子中引入甲基丙烯酰基，形成甲基丙烯酰化明胶(GelMA)。GelMA具有可生物降解性、无细胞毒性、较好的力学性能，以及数量可观的生物活性肽序列，故无论是在三维还是二维的细胞培养中都有较大的优势。而且，引入的甲基丙烯酰基并没有影响明胶多肽链中的功能氨基酸基序，例如与细胞粘附性能有紧密联系的RDG基序和与明胶在体内自然降解相关的MMP基序。由于其功能侧基数量众多，故经交联之后形成的GelMA具有良好的细胞粘附性与降解性。另外，通过控制甲基丙烯酸的添加量、合成时候的添加速度，以及加工方式能够调节其力学性能与其他特性。细胞实验表明，多种类型的细胞均可以粘附在GelMA表面并在其上生长，也可以封装在GelMA基质中，具有良好的生存能力。

[0051] 其次，多巴胺因具有高度活跃的儿茶酚和氨基基团，能在相对温和的碱性条件下进行聚合形成聚多巴胺(PDA)，表现出良好的近红外波长吸收率。本发明用PDA改性水凝胶，所得材料能够应用于光热疗法治疗骨缺损。当缺损区温度在40-42℃时，温和的光热治疗可以有效刺激热休克蛋白表达增加，进而促进骨形态发生蛋白等表达，增强材料的骨修复能力，促进骨组织修复。

[0052] 最后，向改性水凝胶中引入甲基丙烯酸甲酯(MMA)，能够增加GelMA的交联度，进一步改善其力学性能。

[0053] 动物实验证明，上述具有温和光热效应的改性GelMA水凝胶能够应用于大鼠颅骨全骨缺损的修复，为骨组织工程提供了一种基于光热效应的水凝胶的骨缺损修复策略。

[0054] 下面将结合实施例对本发明的方案进行解释。本领域技术人员将会理解，下面的实施例仅用于说明本发明，而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体技术或条件的，按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市购获得的常规产品。

[0055] 实施例1本发明改性水凝胶的制备

[0056] a. GelMA(甲基丙烯酰化明胶)的制备：将明胶(50000~100000Da)溶于PBS(磷酸盐

缓冲溶液)中形成10%溶液,之后按照0.8g MA(甲基丙烯酸):1.0g明胶的配比将其置于50℃油浴中搅拌2h,而后用PBS将其稀释至4倍体积停止反应。用透析袋于50℃下透析3天,冻干。

[0057] Ge1MA的<sup>1</sup>H-NMR图谱见图1,5.2和5.6ppm之间的区域,峰值为5.33和5.60ppm的峰显示了通过酰胺键形成的甲基丙烯酰基团加入到明胶中;通过积分计算,双键取代度(DoF)为35%。

[0058] 傅立叶红外光谱(FT-IR):测定Ge1MA在~4400cm<sup>-1</sup>到~600cm<sup>-1</sup>红外光谱。具体操作步骤如下:固体样本凝胶使用薄膜法。制备好测试样本后,打开谱图软件,开始测试,获取结果,见图2。傅里叶红外光谱显示,在3394cm<sup>-1</sup>左右有一吸收峰,代表氢键的形成。在1500cm<sup>-1</sup>左右,1648cm<sup>-1</sup>处的强峰与C=O有关,1543cm<sup>-1</sup>处的峰与C-N及N-H弯曲有关,提示其具有酰胺键。综上,MA能很好地被接入到明胶的结构中,引入双键。

[0059] b.聚多巴胺(PDA)的制备:在70毫升10mM的Tris-HCl(三羟甲基氨基甲烷盐酸盐缓冲液,pH=7.4)中加入20毫克多巴胺盐酸盐,不断搅拌该分散液。分散液的颜色在5分钟内迅速变为粉红色,然后在约30分钟内变为深褐色。搅拌24小时后,介质完全不透明。离心,得到产物。将产品洗净后再离心,直至上清液呈无色透明。冻干。

[0060] c.本发明改性水凝胶的制备:准备工作:将Ge1MA溶于双蒸水配制成400mg/ml溶液,将APS(过硫酸铵)溶于双蒸水配制成200mg/ml溶液,将PDA溶于双蒸水配制成50mg/ml溶液。凝胶的制备:按照Ge1MA:PDA:MMA:APS质量比为40:40:15:2.5的比例加入Ge1MA、APS溶液、PDA溶液和MMA混匀,将其放入硅胶模具中,50℃水浴下恒温1h。化学反应示意图见图3,水凝胶的SEM图见图4。

[0061] 实施例2本发明改性水凝胶的吸水溶胀实验

[0062] 测试实施例1所得改性水凝胶的溶胀比。具体操作步骤如下:将制备的三个圆柱形凝胶浸泡于去离子水中,在不同时间点测定其质量,直至平衡状态,测试溶胀比:①重量变化:吸水后重量-吸水前重量( $\Delta W=W-W_0$ );②溶胀比 $C=\Delta W/W_0$ 。结果见图5。

[0063] 实施例3本发明改性水凝胶的力学性能测试

[0064] 本实验测定实施例1所得改性水凝胶的力学强度。具体操作步骤如下:以是否加入MMA为标准,将水凝胶分为加入MMA及不加MMA组。分别取体积约5mm×3mm×2-3mm(厚度)的水凝胶,标记测试样原始标距 $L_0$ ,用厚度计测量真实的厚度,测量3点,取测量3点的中位数作为试样的厚度值。打开万能力学测试仪,预热15-20min,选定试验速度。将试样置于测试器中央,使应力均匀分布在横截面上。开始测试。按实验施加的负荷和试样尺寸计算出相应的应力值,并对应变作图,得应力-应变曲线。同时另取样品测试5个压缩循环的应力-应变曲线。计算压缩强度、压缩应力、弹性模量并作图。结果见图6~图8,图6表示加入MMA及不加MMA组水凝胶的压缩应力-应变曲线,直至水凝胶压碎;图7表示Ge1MA+PDA+PMMA水凝胶在不碎裂的情况下(应变80%)循环压缩5次的图,表示了该水凝胶有良好的力学性能;图8表示的是加入甲基丙烯酸甲酯和不加入甲基丙烯酸甲酯相比两种水凝胶的弹性模量。

[0065] 实施例4本发明改性水凝胶的光热效应

[0066] 体外光热效应:取改性水凝胶,用808nm激光照射仪照射凝胶5min,照射能量密度为2.5W/cm<sup>2</sup>,其中每30秒用Fluke红外热成像仪记录温度数据及图像。以上实验均有3个对照组。结果见图9。

[0067] 实施例5本发明改性水凝胶的细胞相容性测定

[0068] 根据ISO-10993-5-2009医疗器械生物学评价指南,选用间接法进行测试。将实施例1所得改性水凝胶浸泡于DMEM培养基24h后,收集凝胶浸取液体。设置不同凝胶浸取液浓度组(分别含有0%,6.25%,12.5%,25%,50%,75%,100%浸取液),培养人骨细胞,分别于1d,3d,5d,7d后CCK-8法检测吸收峰,计算细胞活性。结果见图10。

[0069] 从图10可以看出,实验组呈现出比对照组更高的O.D.值,说明实验组水凝胶浸出液中的细胞数量高于对照组。该结果表明,本发明水凝胶无毒,具有良好的细胞相容性。

[0070] 实施例6本发明改性水凝胶加载骨细胞实验

[0071] 细胞培养:提取原代骨细胞,按照 $2 \times 10^4$  cell/cm<sup>2</sup>接种至T25一次性培养瓶,用含10%胎牛血清和1%双抗的 $\alpha$ -MEM培养基,于37℃、5%CO<sub>2</sub>和95%相对湿度的培养箱中培养。每天在显微镜下观察细胞生长状况,每两天换液一次。当细胞生长汇合率达到80%-90%时,加入0.25%的胰酶-EDTA消化,按1:3的比例传代。

[0072] 细胞加载:0.25%的胰酶-EDTA消化悬浮骨细胞,加入150 $\mu$ L培养基,再加入150IU的抑肽酶,吹打混匀后制成细胞密度为 $4 \times 10^6$ 个/mL的悬液。将上述悬液与加载于实施例1所得改性水凝胶上,并加入500 $\mu$ L含500IU抑肽酶的培养基培养。

[0073] 成骨诱导:将加载在水凝胶上的细胞用成骨诱导培养基培养,每3d换液并分别在7d和14d时用定量试剂盒及染色试剂盒检测碱性磷酸酶(ALP)的含量,在14d时用茜素红染液检测钙结节,结果见图11。用碱性磷酸酶试剂盒测定ALP活性,结果见图12。钙结节用ARS染色后,在590nm处测定吸光度值,结果见图13。

[0074] 实施例7本发明改性水凝胶的体内生物相容性测试

[0075] 3%戊巴比妥进行腹腔麻醉后,消毒,铺巾,将体积约100 $\mu$ L水凝胶(按实施例1方法所得)植入体重约120g balb/c小鼠(购自四川大学动物实验中心)背部皮下(剃毛后于背部做一皮下切口,剥离组织后,将凝胶植入皮下),于1、2、4、8周处死小鼠后,用手术刀做切口翻开皮肤,肉眼观察水凝胶形态与大小变化,见图14。H&E染色,评价炎性反应程度,结果见图15。

[0076] 实施例8本发明改性水凝胶对m.SD大鼠颅骨缺损的修复作用

[0077] ①实验对象及分组:选取24只体重200g的健康SD大鼠(四川大学动物实验中心提供),随机分成A、B、C共3组:

[0078] A组:空白对照组。大鼠颅骨缺损未采取任何修复(分别于修复后第4,8周随机抽3只取材)。

[0079] B组:实验组1。大鼠颅骨缺损部用按实施例1方法制备的水凝胶修复,不加光热治疗(分别于修复后第4,8周随机抽3只取材)

[0080] C组:实验组2。大鼠颅骨缺损部用按实施例1方法制备的水凝胶修复,并给予每隔5天1次光热治疗,直至第四周取样为止(分别于修复后第4,8周随机抽3只取材)。大鼠颅骨光热近红外温度热成像图见于图16。

[0081] ②动物模型的建立

[0082] 10%水合氯醛进行腹腔麻醉后,消毒,铺巾,经颅顶暴露大鼠颅骨,用电钻在颅骨两侧打孔,直径5mm,制成大鼠颅骨缺损的模型。按照先前的分组置入生物材料,然后缝合切口。

[0083] ③术后处理

[0084] 术后将所有大鼠分笼进行常规饲养,室内温度控制在22℃,所有手术肢不予固定,任其自由活动,并予以常规抗感染处理。分别于手术后第4,8周过量麻醉注射处死3只动物

[0085] ④影像学评价Micro-CT分析:用Micro-CT扫描仪进行扫描样本,将扫描仪设置调整为:X-ray voltage=70kV,X-ray current=200μA,,and voxel resolution=10.0μm。通过软件VGStudioMax将每个角度的图像进行重建,还原成在电脑中可分析的3D图像,同时经计算机分析骨体积分数。结果见图17。

[0086] ⑤组织学评价:取出颅骨标本,去除周边软组织,以移植材料为中心,截取直径约为3cm大小标本,标本经10%福尔马林浸泡7天后用10%的EDTA脱钙,常规脱水,浸蜡,包埋,石蜡切片厚度为5μm,行H&E,Masson染色,显微镜下观察材料周边组织变化,结果见于图18、图19。

[0087] 需要说明的是,本说明书中描述的具体特征、结构、材料或者特点可以在任一个或多个实施例中以合适的方式结合。此外,在不相互矛盾的情况下,本领域的技术人员可以将本说明书中描述的不同实施例以及不同实施例的特征进行结合和组合。



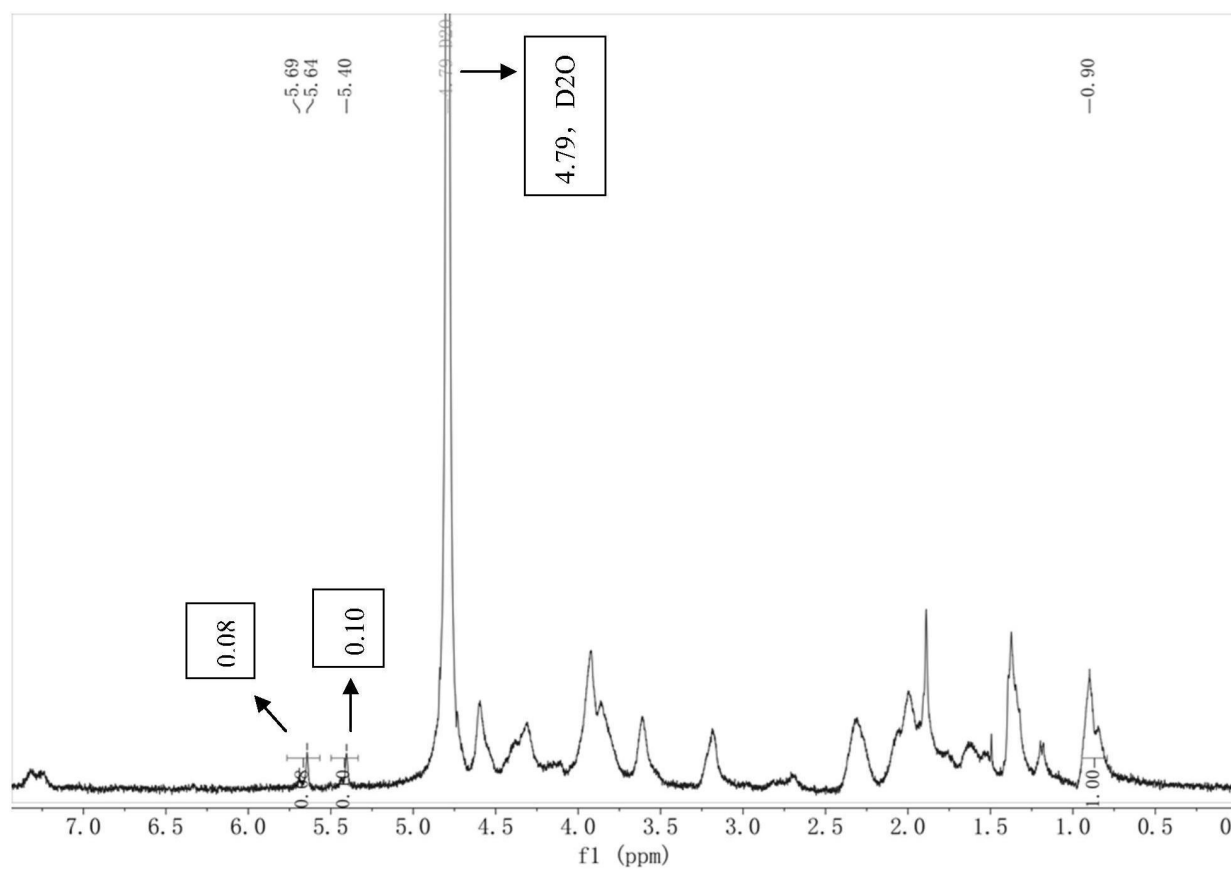


图1

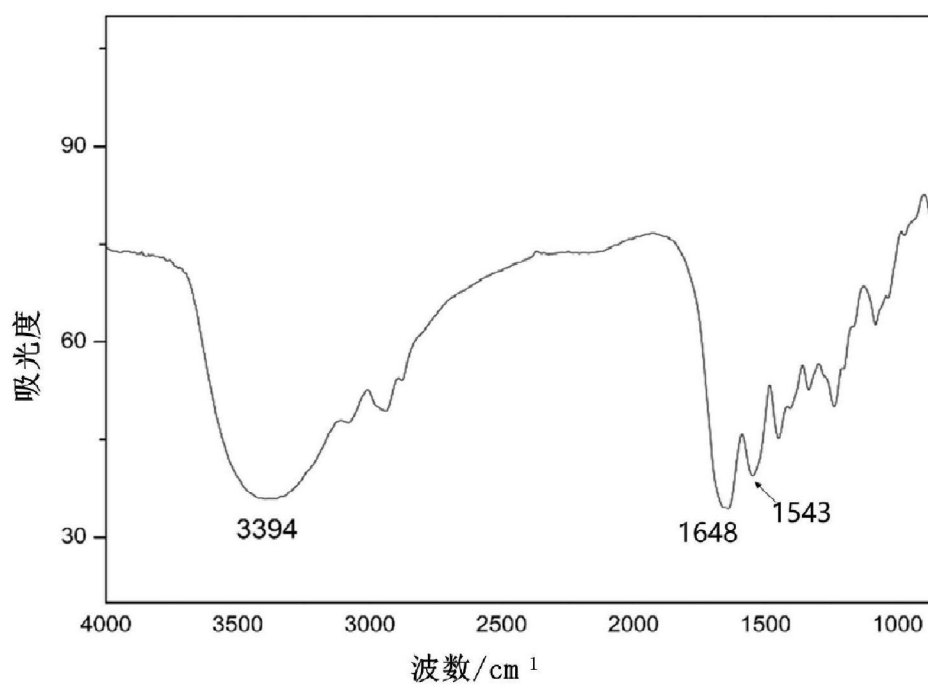


图2

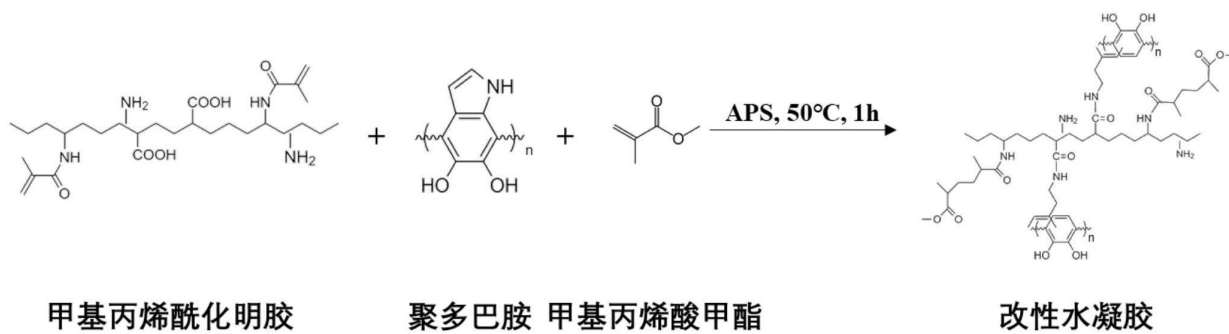


图3

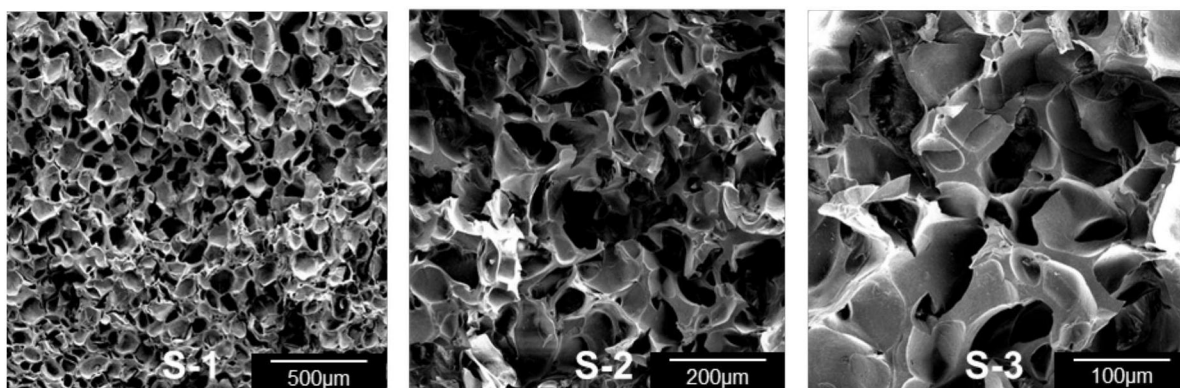


图4

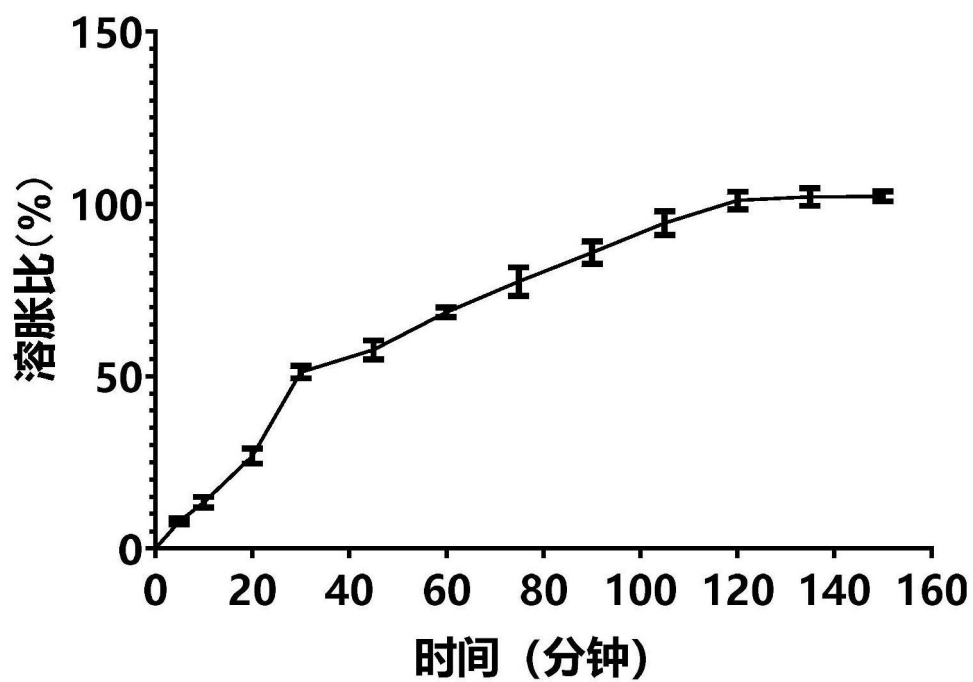


图5

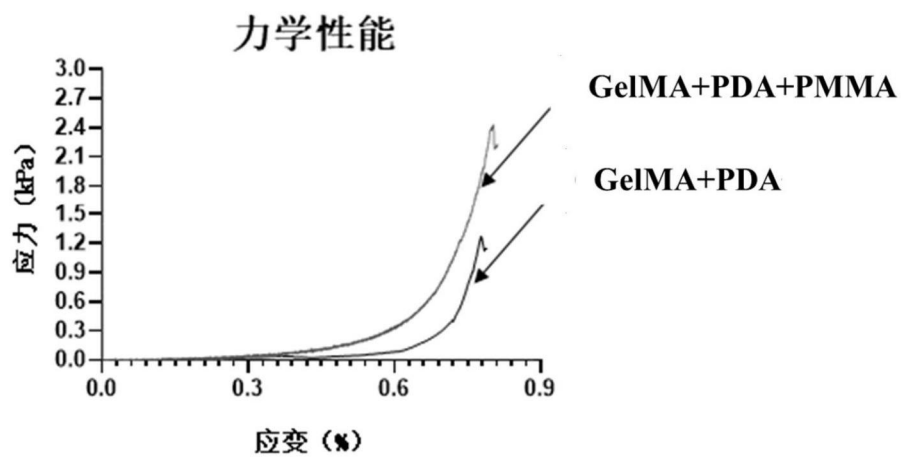


图6

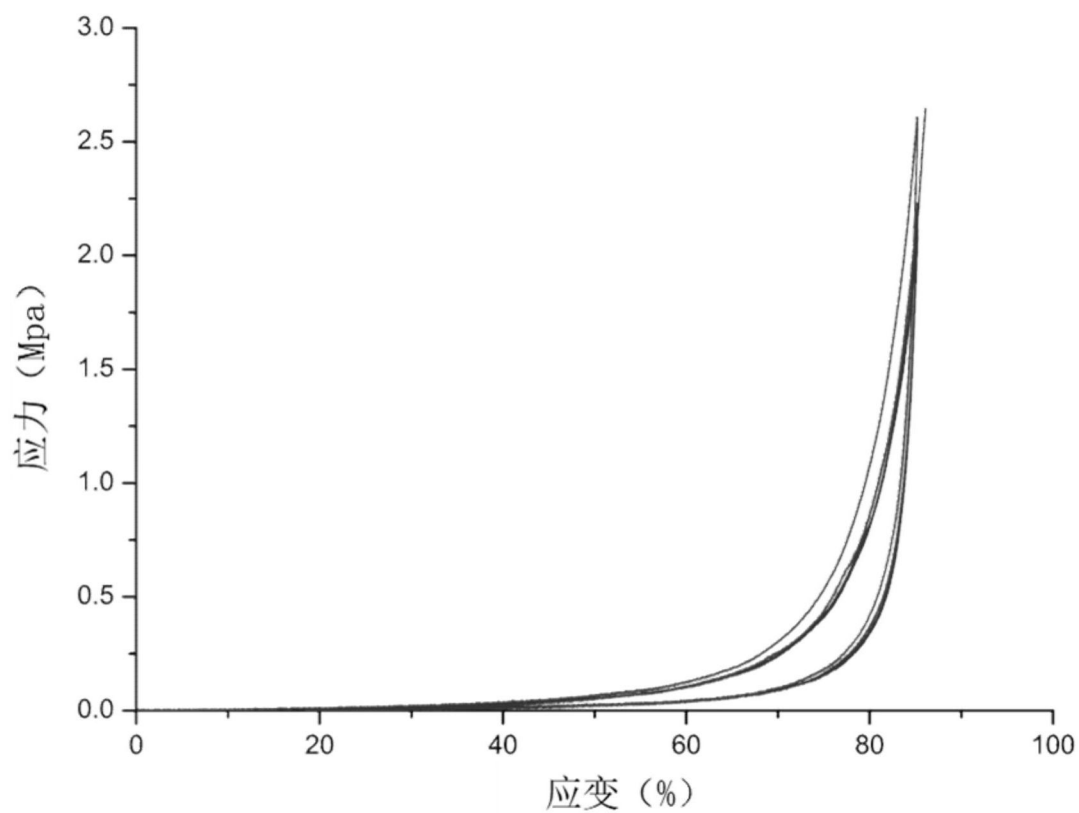


图7

## 力学性能

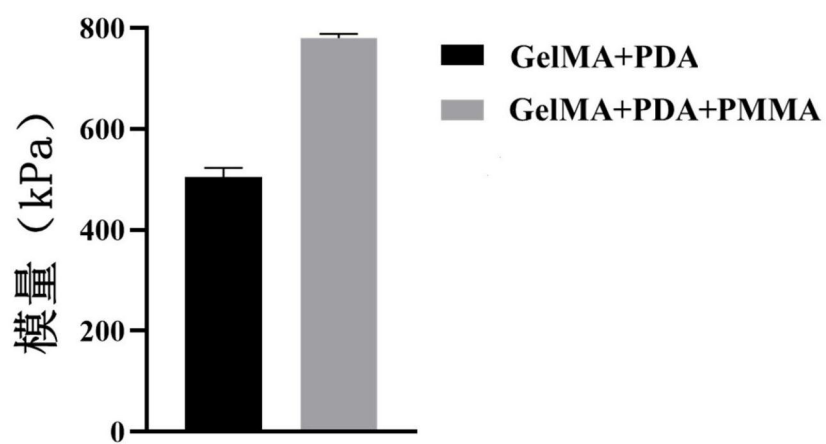


图8

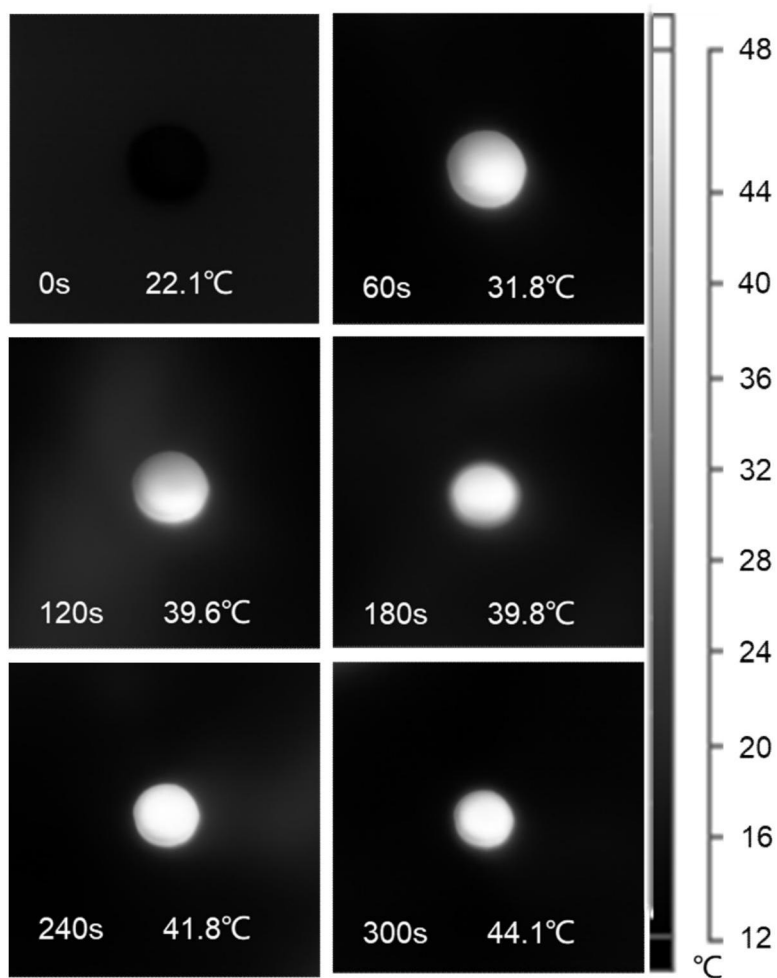


图9

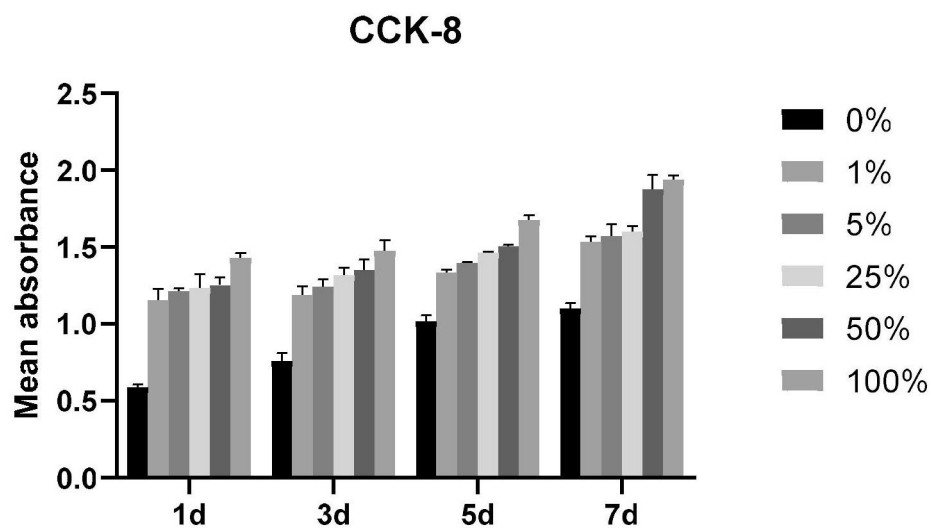


图10

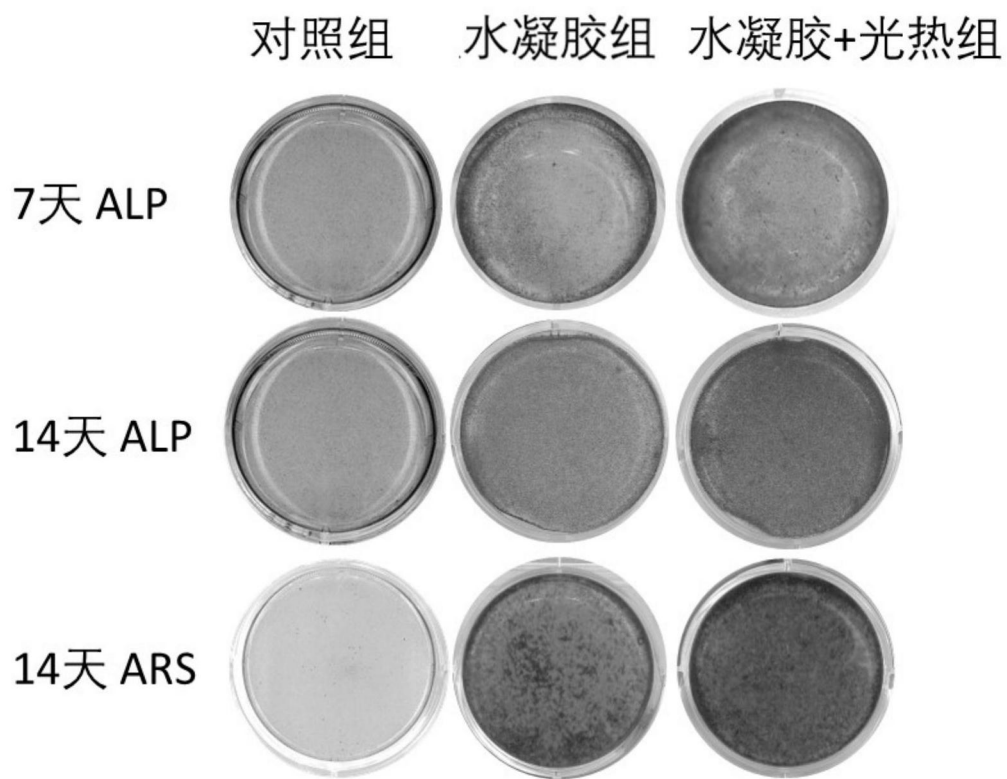


图11

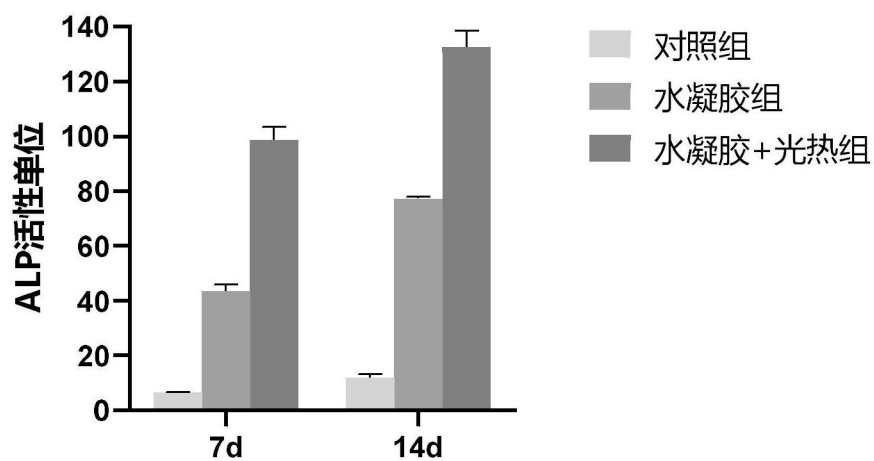


图12

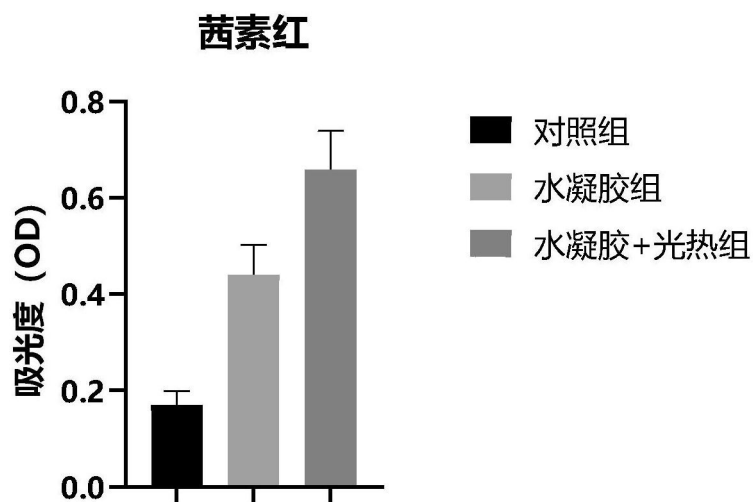


图13

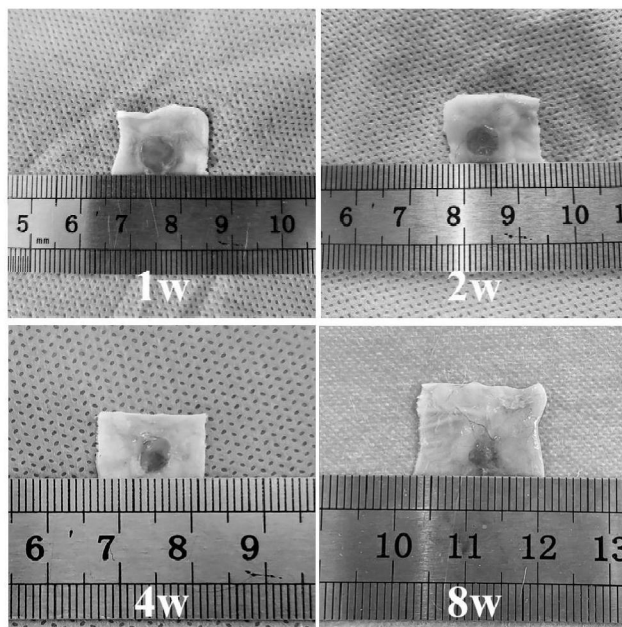


图14

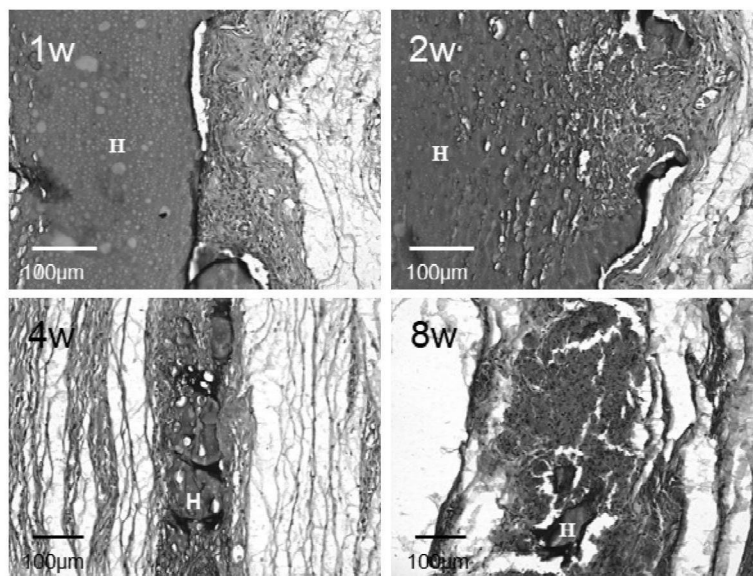


图15

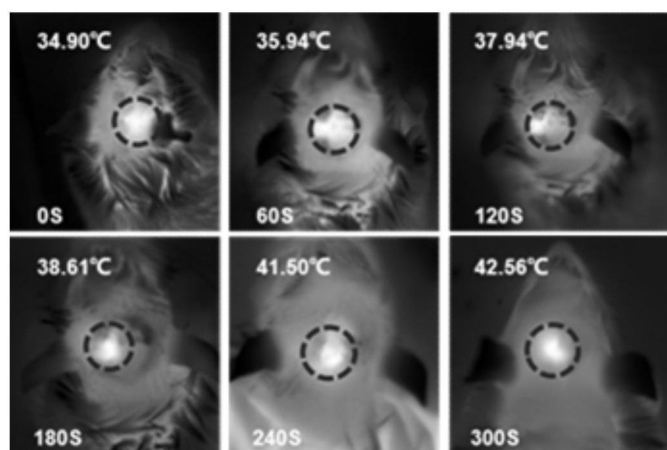


图16

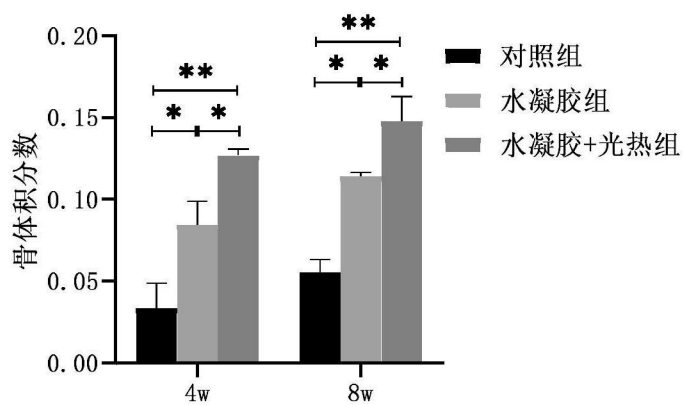
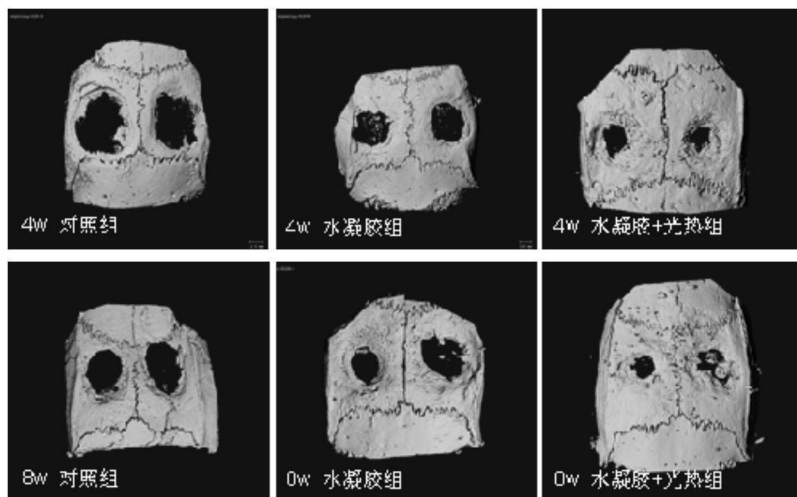


图17



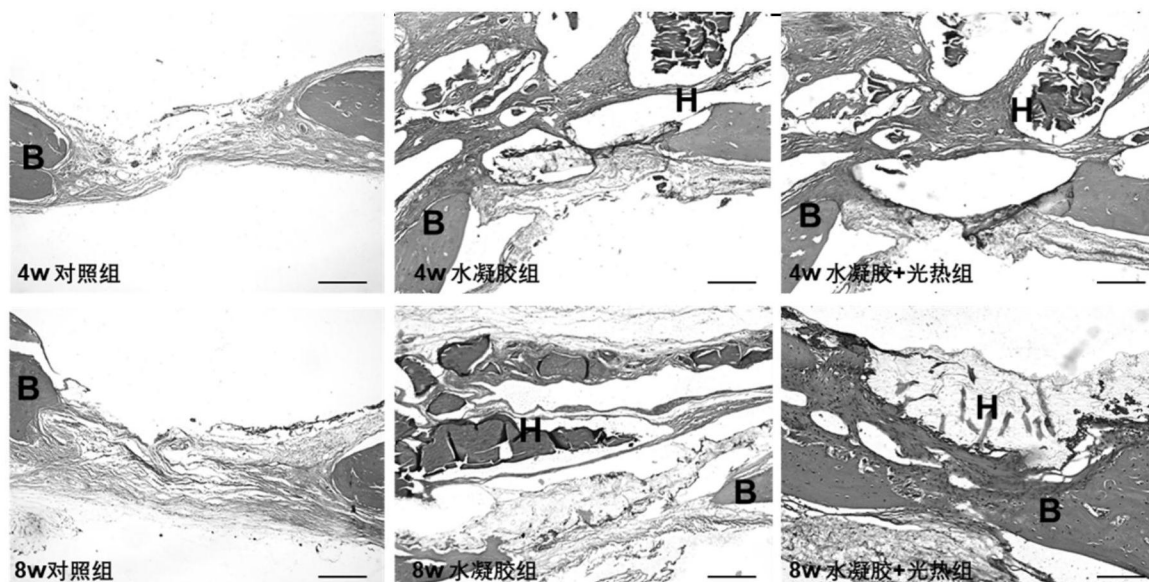


图18

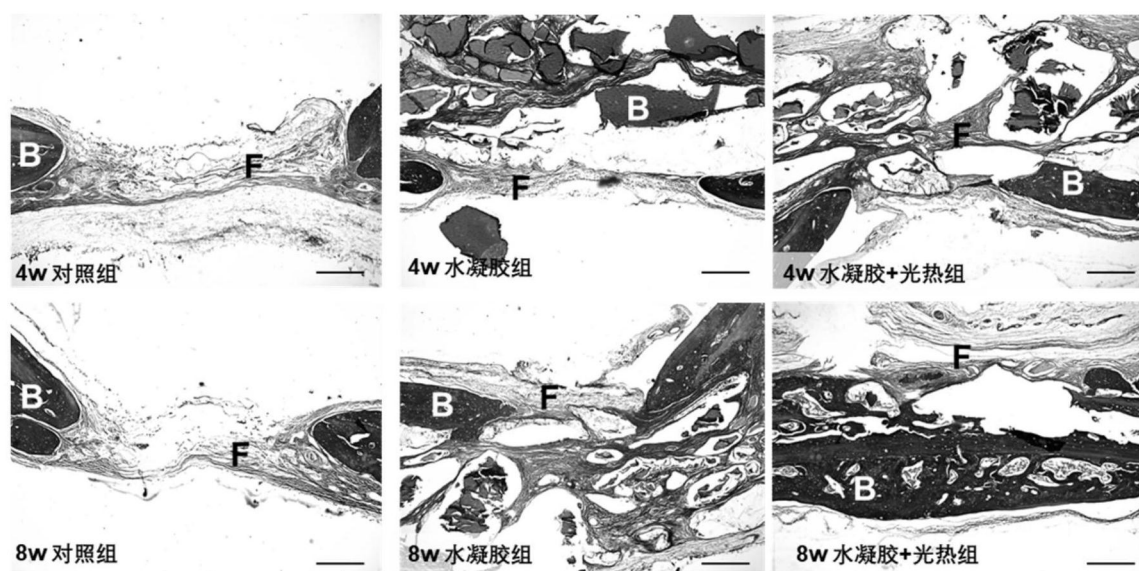


图19