

载异烟肼、利福平纳米羟基磷灰石-硫酸钙人工骨体外降解及释药研究

马 赫¹, 蔡则成¹, 梁思敏², 马 荣², 殷 飞¹, 潘希安¹, 宋天增¹, 戈朝晖²

(1 宁夏医科大学 750004 银川市; 2 宁夏医科大学总医院骨科 750004 银川市)

【摘要】目的:观察载异烟肼(isoniazid, INH)、利福平(rifampicin, RFP)纳米羟基磷灰石(nHA)-硫酸钙(CSH)人工骨体外降解情况并探讨其释药性能。**方法:**将制备好的人工骨置于 37℃模拟体液中降解, 分别于 24h、72h 及 1、2、4、6、8、10、12 周九个时相点取出, 采用扫描电子显微镜观察人工骨表面降解程度, 测量其质量变化, 采用电子万能试验机测试每个时相点人工骨的抗压强度。将人工骨置于 37℃ PBS 中释药, 采用高效液相色谱法(HPLC)分别检测 24h、72h 及 1、2、4、6、8、10、12 周九个时相点时的 INH、RFP 的释放浓度, 并计算出累计释药百分数, 观察药物的缓释程度。**结果:**随着浸泡时间的延长, 人工骨体积逐渐减小, 颜色变白; 扫描电镜观察人工骨表面晶体结构逐渐消失, 孔隙减少, 最终人工骨表面被无结构的降解物所覆盖; 人工骨的质量及其抗压强度都随着人工骨的降解而逐渐减小, 第 8 周时抗压强度仍接近松质骨的强度。人工骨释药过程中, INH 于 24h、72h 及 1、2、4、6、8 周时相点时的累计释药百分数分别为: 44.58%、71.06%、90.23%、95.98%、98.27%、99.72%、100.00%, 10、12 周时未检出。RFP 于 24h、72h 及 1、2、4、6、8、10、12 周九个时相点时的累计释药百分数分别为: 2.70%、16.82%、39.96%、61.71%、83.88%、96.38%、97.63%、98.00%、98.26%。**结论:**载异烟肼、利福平纳米羟基磷灰石-硫酸钙人工骨在体外稳定降解, 并具有持续时间较长的有效缓释性能。

【关键词】 异烟肼; 利福平; 纳米羟基磷灰石; 硫酸钙; 缓释

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2018.07.11

中图分类号: R529.2, R978.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2018)-07-0641-07

Degradation and release of isoniazid and rifampicin nano hydroxyapatite-calcium sulfate artificial bone in vitro/MA He, CAI Zecheng, LIANG Simin, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2018, 28(7): 641-647

【Abstract】 Objectives: To observe the degradation and drug release properties of isoniazid (INH) and rifampicin(RFP) nano hydroxyapatite(nHA)-calcium sulfate (CSH) artificial bone in vitro. **Methods:** The prepared artificial bone was degraded in simulated body fluid at 37 degrees centigrade and taken out at 24h, 72h, 1w, 2w, 4w, 6w, 8w, 10w, 12W, respectively. The degradation degree of artificial bone surface was observed by scanning electron microscope, and the quality changes were measured. The compressive strength of artificial bone at each time point was tested by electronic universal test machine. The artificial bone was placed at PBS at 37 degrees centigrade for release, the release concentration of INH and RFP at nine phase points of 24h, 72h, 1w, 2w, 4w, 6w, 8w, 10w and 12w were detected by high performance liquid chromatography (HPLC). The cumulative drug release percentage was calculated, and the drug release rate was observed. **Results:** With the prolongation of soaking time, the volume of artificial bone gradually decreased and the color became white. And the crystal structure of the artificial bone surface disappeared gradually and the pores decreased, and the surface of artificial bone was covered by unstructured degradations by scanning electron microscope. The quality and compressive strength of artificial bone decreased with the degradation of artificial bone. The compressive strength at eighth weeks was still close to the strength of cancellous bone. During the process of artificial bone release, the cumulative release percentages of INH at 24h, 72h, 1w, 2w, 4w, 6w, 8w

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81460335), 宁夏自然科学基金(编号: NZ17147)

第一作者简介: 男(1990-), 在读硕士, 研究方向: 脊柱结核

电话: (0951)6746122 E-mail: 1341233183@qq.com

通讯作者: 戈朝晖 E-mail: myovid@126.com

were 44.58%, 71.06%, 90.23%, 95.98%, 98.27%, 99.72%, 100%, respectively, which at 10w and 12w were not detected. The cumulative drug release percentages of RFP at 24h, 72h, 1w, 2w, 4w, 6w, 8w, 10w and 12w nine phases were 2.70%, 16.82%, 39.96%, 61.71%, 83.88%, 96.38%, 97.63%, 98.00%, 98.26%, respectively. **Conclusions:** Isoniazid and rifampicin nano hydroxyapatite-calcium sulfate artificial bone degrades steadily in vitro, and it has long and effective release performance.

【Key words】 Isoniazid; Rifampicin; Nano hydroxyapatite; Calcium sulfate; Sustained-release

【Author's address】 Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia Hui Autonomous Region, 750004

自体或同种异体骨植骨是目前脊柱结核病灶清除后局部结构支撑和稳定性重建的最主要方法,然而存在供体有限和免疫排斥等诸多问题^[1]。因此,设计并制备一种复合人工骨,既能在病灶清除后的病椎中起到结构性支撑、又能缓慢释放高浓度一线抗结核药物,则有助于局部高效杀灭结核分枝杆菌,对于脊柱结核局部的稳定性重建与快速治愈病灶具有重要意义。羟基磷灰石作为骨组织的主要无机矿物成分,已被广泛应用于复合人工骨的研究^[2,3],硫酸钙作为骨修复材料已被美国 FDA 认证^[4],基于此,本研究以纳米羟基磷灰石、硫酸钙为载体制备出载一线抗结核药物异烟肼、利福平的纳米羟基磷灰石-硫酸钙人工骨,观察其在体外的降解情况及释药性能。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

纳米羟基磷灰石(nHA,实验室自制)、硫酸钙($\text{CaSO}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$, CAS: 10034-76-1, Sigma 公司)、异烟肼标准品(INH,批号 100578-201502,中国食品药品检定研究院)、利福平标准品(RFP,批号 110757-201502,中国食品药品检定研究院)、壳聚糖(CS,国药集团化学试剂有限公司)、乙酸(CH_3COOH ,分析纯,天津科密欧化学试剂公司)、模拟体液(SBF,无菌,北京雷根生物技术有限公司)、磷酸二氢钠(NaH_2PO_4 ,分析纯,天津市天力化学试剂有限公司)、甲醇(Fisher Scientific, HPLC GRADE)、乙腈(Fisher Scientific, HPLC GRADE)、扫描电子显微镜(S-3400N, HITACHI)、电子万能试验机(UTM4304,深圳三思纵横科技公司)、高效液相色谱仪(Agilent 1200 Series)。

1.2 载 INH、RFP 纳米羟基磷灰石-硫酸钙人工骨的制备

按 nHA:CSH:INH:RFP=2:8:0.2:0.2 的配比,于暗室中,分别精确称取 0.2g nHA、0.8g CSH、20mg INH、20mg RFP,在涡旋混匀器上混合均匀,作为

固相。称取 2g 壳聚糖溶于 100ml 1%的乙酸溶液中作为液相。以 0.9ml/g 的液固比,将固液两相混合均匀后注入高 12mm,直径 6mm 的圆柱形模具,用 3kg 的重量压实 2~3min,从模具中取出,避光,自然干燥固化 72h 以上,即得载 INH、RFP 纳米羟基磷灰石-硫酸钙人工骨,备用。

1.3 载 INH、RFP 纳米羟基磷灰石-硫酸钙人工骨的体外降解

于暗室,制备 10 组人工骨,每组 5 个。将每个人工骨浸泡在 30ml SBF 模拟体液中,避光,置于 37℃水浴中降解,分别于降解实验的 24h、72h 及 1、2、4、6、8、10、12 周九个时相点取出,每个时相点取出 5 个,以未浸泡的 5 个人工骨作为对照组。取出的人工骨充分干燥后测定其质量;用扫描电子显微镜观察其面降解程度;分别置于电子万能试验机中,以 1mm/min 的速度压碎,测定、观察其抗压强度的变化。

1.4 载 INH、RFP 纳米羟基磷灰石-硫酸钙人工骨的体外释药

1.4.1 释药方法 于暗室,制备 5 个人工骨。将每个人工骨浸泡在 10ml PBS 中,避光,置于 37℃水浴中,分别于浸泡 24h、72h 及 1、2、4、6、8、10、12 周九个时相点时,将 5 个人工骨取出并分别置于新的 10ml PBS 中继续 37℃避光释药。将取出人工骨后的 5 份浸提液分别于涡旋混匀器上涡旋 2~3min,并用 0.22 μm 的微孔滤器过滤后,用高效液相色谱仪检测其中 INH、RFP 药物浓度。最后一个时相点 12w 时,分别将取出的人工骨放入均浆器中加 10ml 的甲醇水溶液(甲醇:水=1:1)进行均浆,将人工骨中未释出的残留药物萃取出,离心,取上清,用 0.22 μm 微孔滤器过滤后上样,检测残留的药物浓度。九个时相点和残留药物浓度全部检测完成后,再计算累计释药量和累计释药百分数,以观察药物的缓释程度。

1.4.2 HPLC 色谱条件 INH 色谱条件:色谱柱 5 μm 4.6 $\times$ 250mm ZORBAX SB-C18;预柱 5 μm

4.6×12.5mm SB-C18; 流动相为磷酸二氢钠缓冲液(0.02mol/L, pH 值 6.0): 甲醇: 乙腈=90:5:5; 进样量 20 μ L; 流速 0.9ml/min; 柱温 25 $^{\circ}$ C; 波长 264nm。

RFP 色谱条件: 色谱柱 5 μ m 4.6×150mm ZORBAX XDB-C18; 预柱 5 μ m 4.6×12.5mm XDB-C18; 流动相为磷酸二氢钠缓冲液(0.02mol/L, pH 值 7.2): 甲醇=33:67; 进样量 20 μ L; 流速 1.0ml/min; 柱温 35 $^{\circ}$ C; 波长 330nm。

1.4.3 标准曲线及回归方程的建立 将 10mg INH 标准品溶解于 10ml 甲醇水溶液(甲醇:水=1:1)中作为母液, 分别梯度稀释为 0.25 μ g/ml、0.5 μ g/ml、1 μ g/ml、10 μ g/ml、50 μ g/ml、100 μ g/ml、200 μ g/ml 的浓度。以 INH 的梯度浓度为 X 轴, 以 INH 的吸收峰面积为 Y 轴, 绘制标准曲线, 求得回归方程。同样, 将 10mg RFP 标准品溶解于 10ml 50% 甲醇水溶液后, 分别梯度稀释为 0.25 μ g/ml、0.5 μ g/ml、1 μ g/ml、10 μ g/ml、50 μ g/ml、100 μ g/ml、200 μ g/ml 的浓度。以 RFP 的梯度浓度为 X 轴, RFP 的吸收峰面积为 Y 轴, 绘制标准曲线, 求得回归方程。

1.5 统计分析

所有数据均使用 SPSS 17.0 软件处理, 计量资料用($\bar{x} \pm s$)示, 采用单因素方差分析和 LSD 检验进行比较, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 人工骨的体外降解

2.1.1 人工骨不同浸泡时间后大体观察 随着浸泡时间的延长, 人工骨逐渐降解, 体积逐渐减小, 由于红色利福平药物的缓慢释放, 人工骨红色逐渐变淡, 直至变为白色(图 1)。

2.1.2 扫描电镜观察人工骨不同浸泡时间后表面降解程度 通过扫描电镜照片可以看到, 未经浸泡过的人工骨面短柱状的硫酸钙晶体交错排列, 晶体形态规则, nHA 和抗结核药物散布在晶体面以及晶体间的孔隙中; 随着人工骨浸泡时间延长, 人工骨面开始由部分晶体降解, 柱状晶体变短或形态消失, 到大部分晶体被降解为团状、块状结构, 直至团块结构进一步降解, 相互融合成片, 最终人工骨面典型短柱状晶体结构消失, 孔隙减少, 面被无结构的降解物所覆盖(图 2)。

2.1.3 人工骨不同浸泡时间后质量的变化 0h 为未浸泡的对照组其质量为(0.623 $\pm$ 0.019)g, 24h、72h、1w、2w、4w、6w、8w、10w、12w 九个时相点的质量分别为: (0.609 $\pm$ 0.007)、(0.553 $\pm$ 0.013)、(0.542 $\pm$ 0.034)、(0.484 $\pm$ 0.035)、(0.436 $\pm$ 0.051)、(0.421 $\pm$ 0.034)、(0.394 $\pm$ 0.004)、(0.367 $\pm$ 0.037)、(0.329 $\pm$ 0.025)g。F=60.23, $P < 0.0001$ 。通过数据可以看到, 随着浸泡时间的延长, 人工骨不断降解, 质量也随之减小。

2.1.4 人工骨不同浸泡时间后抗压强度的变化 0h 为未浸泡的对照组其抗压强度为(16.370 $\pm$

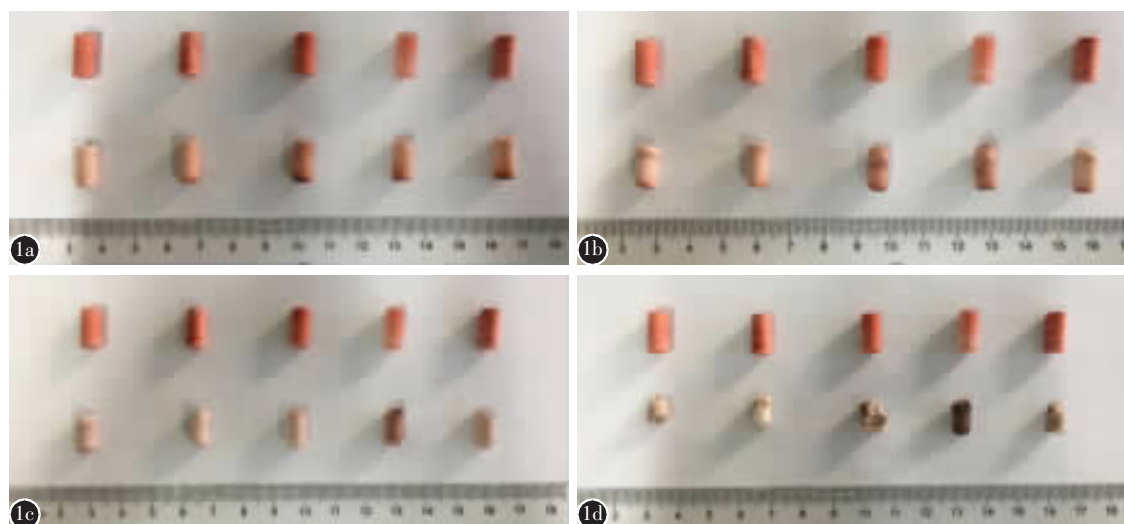


图 1 人工骨不同浸泡时间后大体观察 a~d 分别为浸泡 72h、4w、8w、12w 后的人工骨(下排)与未浸泡的人工骨(上排)对比观察

Figure 1 General observation of artificial bone after being soaked for different duration a~d are comparisons between artificial bones (lower row) and artificial bones after immersion for 72h, 4w, 8w and 12w(upper row)

0.960)MPa, 24h、72h、1w、2w、4w、6w、8w、10w、12w 九个时相点人工骨抗压强度分别为: (13.100 ± 1.752) 、 (11.530 ± 1.026) 、 (9.707 ± 1.284) 、 (8.399 ± 1.095) 、 (7.013 ± 0.551) 、 (5.599 ± 0.390) 、 (4.199 ± 0.224) 、 (2.568 ± 0.542) 、 (0.900 ± 0.262) MPa。 $F=82.50$, $P<0.0001$, 组间两两比较 P 均 <0.05 。通过数据可以看到, 随着浸泡时间的延长, 人工骨不断降解, 其抗压强度随之逐渐减小, 第 8 周时抗压强度仍接近松质骨的强度。

2.2 人工骨的体外释药

2.2.1 异烟肼、利福平的 HPLC 图谱和标准曲线及回归方程

采用上述色谱条件, INH 的出峰时间为 3.738min, 以 INH 的梯度浓度为 X 轴, 以 INH 的吸收峰面积为 Y 轴, 绘制标准曲线, 得回归方程: $Y=33.362X-27.651$, 相关系数 $r=0.99992$ 。RFP 的出峰时间为 4.201min, 以 RFP 的梯度浓度为 X 轴, 吸收峰面积为 Y 轴, 绘制标准曲线, 得回归方程: $Y=33.624X-20.265$, 相关系数 $r=0.99994$ (图 3)。

2.2.2 人工骨异烟肼、利福平的体外释药 INH

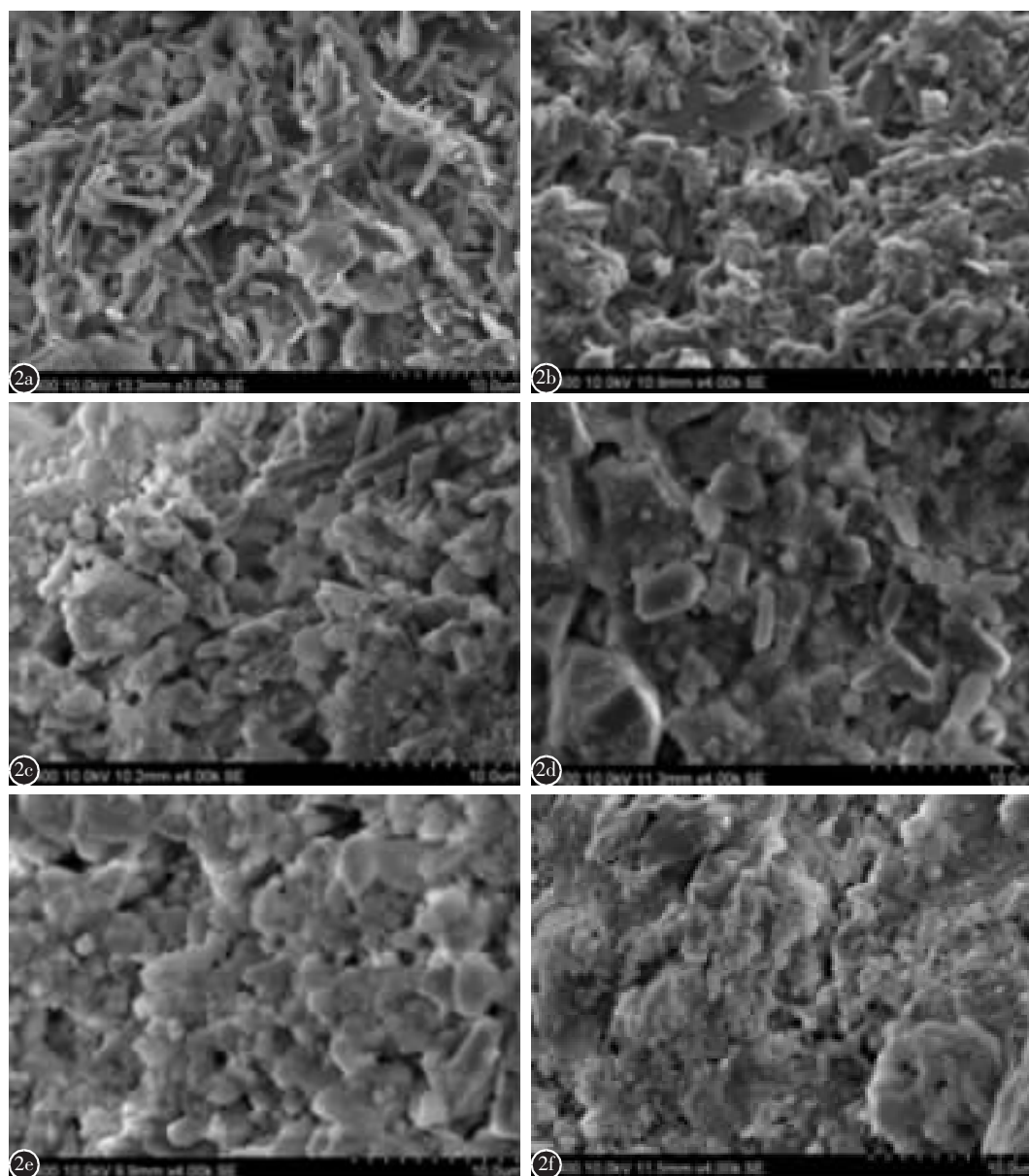


图 2 扫描电镜观察人工骨不同浸泡时间后表面降解程度 a 未浸泡的人工骨 b~f 分别为浸泡 72h、2、4、8、12 周时的人工骨

Figure 2 The surface degradation degree of artificial bone was observed at different time by scanning electron microscope a The artificial bone without immersion b~f The artificial bones immersed for 72h, 2w, 4w, 8w and 12w

释放到第 8 周时浓度为 $(1.012\pm 0.416)\mu\text{g/ml}$,仍高于其 10 倍的最小抑菌浓度(MIC),第 10 周时则未检测到,残留人工骨中也未检测出 INH 的含量。RFP 第 8 周之前浓度都较高的杀菌浓度,第 10 周、第 12 周仍处于抑菌浓度(图 4,表 1)。

INH 现出较明显的突释现象,24h 时释放出

44.58% 的药物含量,第 4 周时则累计释出了 98.27% 的药物含量。而 RFP 现出较稳定的释放,未见明显的突释现象,维持释放的时间较长,第 12 周时累计释出了 98.26% 的药物含量,残留人工骨中尚有 1.74% 的药量未释出。

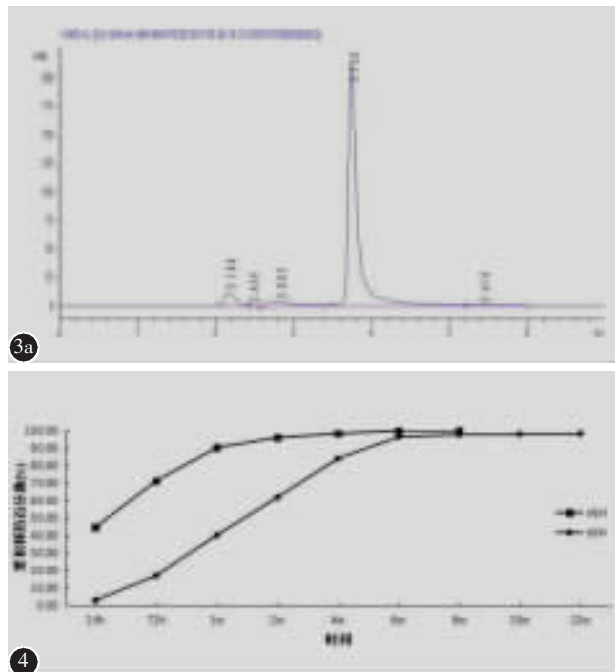


图 3 INH (a)、RFP (b) 的 HPLC 图谱 图 4 人工骨 INH、RFP 体外累计释药曲线

Figure 3 HPLC atlas of INH (a) and RFP (b) Figure 4 Cumulative release curve of INH and RFP in vitro

表 1 人工骨 INH、RFP 于各时相点的释药浓度及残留药物浓度 ($\mu\text{g/ml}$)

Table 1 The release concentration at different time points and residual drug concentration of INH and RFP of artificial bone

	INH	RFP
24h	163.900 ± 5.048	5.598 ± 0.837
72h	97.320 ± 6.001	29.330 ± 2.957
1w	70.460 ± 6.986	48.040 ± 2.247
2w	21.150 ± 2.719	45.170 ± 3.163
4w	8.409 ± 0.783	46.030 ± 4.990
6w	5.362 ± 0.531	25.950 ± 3.291
8w	1.012 ± 0.416	2.588 ± 1.007
10w	—	0.771 ± 0.126
12w	—	0.531 ± 0.041
残留/Residual	—	3.621 ± 0.462

3 讨论

脊柱结核病灶清除后骨缺损往往较大,须填充植骨以重建脊柱的稳定性。目前,自体骨、同种异体骨、人工骨修复材料是植骨材料的主要来源。

由于供骨量有限、供区可能发生骨折以及供骨区顽固性疼痛等缺点,采用自体骨植骨的方法在临床实际应用中受到一定限制;同种异体骨尽管可以弥补自体骨的相应不足,但也存在交叉感染、免疫排斥、愈合缓慢等问题;而人工骨修复材料不仅避免以上问题,还具有可塑性强、操作方便等优点,在骨缺损的修复中有着不可替代的重要作用。当前,由于脊柱结核普遍存在病灶周围硬化椎骨形成等特殊影像病理特征,即便规范化疗,INH、RFP 等一线抗结核药物仍难以穿透病椎的硬化椎骨而到达核心病灶,普遍存在病病变椎体药物浓度低、难以发挥有效的抗结核化疗效果^[5]。即便病灶清除术后在局部留置链霉素等抗结核药物,但这些药物由于缺乏载体,容易被体液稀释或带走,依然达不到用药的目的。此外,全身化疗药物毒副作用大、患者依从性差也是不容忽视的问题^[6]。因此,本研究的目的旨在构建一种新型人工骨,使之负载 INH、RFP 两种一线抗结核杀菌剂,兼具结构性支撑和局部药物缓释抗结核的作用,期望在脊柱结核局部的稳定性重建与快速治愈病灶起到一

定的作用。

随着对骨修复材料以及药物制剂的不断深入研究,载药骨修复材料得到了长足的发展^[7,8],如 Kankilic 等^[9,10]制备出 V-PLLA/ β -TCP 的载抗菌药的骨修复材料,并表现出了良好的生物相容性以及稳定的药物缓释性能。目前,常被用来载药的骨修复材料大致可分为无机材料、人工合成高分子材料和天然有机材料三类,它们有各自的优缺点^[11]。理想的载药骨修复材料应该具备以下特点:具有良好的生物相容性;稳定或可控的可降解性;具有一定的力学性能;不破坏药物的药效;能够稳定、持久的释放有效的药物浓度等。为满足以上要求,需要多种材料的复合使用。张世旺等^[12]通过复合 PLGA、 β -磷酸三钙制备的载 INH 的抗结核复合支架具有良好的孔隙率、机械强度,但前 9 天存在一定的突释现象,而且单一药物也无法实现多种药物联合杀菌的目的。Zhu 等^[13]将 β -磷酸三钙与生物玻璃相复合负载 INH、RFP,制备的抗结核人工骨具有较满意的药物缓释周期,但同时也发现材料脆性大、力学性能较差。本研究以 nHA 和硫酸钙为主要载体,以壳聚糖为辅料,制备载 INH、RFP 纳米羟基磷灰石-硫酸钙人工骨。研究发现,制备的人工骨在其体外降解过程中,随着药物的释出以及硫酸钙、nHA 的逐步降解,人工骨的体积、质量不断下降,但整个过程中人工骨都保持一定的形状,未发现断裂、粉碎等现象。扫描电镜照片显示随着浸泡时间的延长,人工骨表面微观结构的降解程度由浅到深,硫酸钙晶体逐渐失去原有形态,最终变为相互融合的大片无结构的降解产物。降解过程中人工骨力学性能呈现逐步稳定下降,第 8 周时的抗压强度仍接近松质骨的强度。能够为结核病灶清除术后的病椎提供一定程度与时效的稳定的结构支撑。

通常人工骨在体内时,被体液浸润,药物缓慢释放到体液中,体液通过毛细血管、淋巴管或组织间隙循环,不断将药物带走、消耗,这是一个动态的过程。选取合适方法准确评估载药人工骨释药行为对于研究其释药特性至关重要。Mclaren 等^[14]所采取的释药方法,能检测到药物浓度的时间要长于药物实际的缓释周期,每次取样都保留一部分一定药物浓度的液体,也忽略了药物本身在缓释介质中的稳定性,如果药物稳定性较差,将会使最终结果产生较大误差。在本研究中,对人工骨进

行体外释药时,采用的是无菌的 PBS 来模拟体液,在为期 12 周的释药过程中,选取九个时相点,每个时相点将人工骨从原有的缓释体系中取出,再放入新的 PBS 中继续进行缓释,目的是为了模拟人工骨在体内时药物不断被代谢消耗的现象,每个时相点所测定的药物浓度不受上一个时相点的影响,每个时相点的浓度全为人工骨在该时间段内所释放出的,检测不到药物浓度之时则为药物缓释结束之时,因此此释药方法能够较准确地得到人工骨所载各药物的缓释周期。

目前,研究者们发现了许多具有良好缓释性能的材料,如一系列的天然高分子材料、合成高分子材料等。然而,关于药物缓释载体的选择,文献报道不一。Sanchez 等^[15]将 20%聚乳酸与磷酸钙材料复合,发现所载的庆大霉素有效释药周期达到 4 周。Huang 等^[16]制备的 PLGA-INH- β -磷酸三钙复合材料,可维持 INH 的有效释放达 100 天以上。然而,有研究者认为聚乳酸、PLGA、聚乙醇酸等一些合成高分子材料在体内常被降解为酸性物质,易引起无菌性化学反应^[17]。而壳聚糖是自然界广泛存在的一种直链多糖,具有良好的物理化学性能,其分子结构类似于体内细胞外基质中的糖胺聚糖,在体内被降解为易吸收的小分子单糖或寡聚糖,无毒性、无免疫原性,并具有良好的生物组织相容性和抗菌性^[17],已被广泛地应用到药物缓释、控释以及组织工程中^[18-20]。研究发现壳聚糖表面有丰富的功能基团,其可通过化学交联、静电吸附或物理包裹等作用运载药物,被运载的药物在释放过程中要克服壳聚糖大分子糖链的阻碍,使得药物释放速度减慢,达到缓释的目的^[21-23]。本研究中在制备人工骨时,以壳聚糖溶液作为液相与人工骨的固相粉末相混合。从体外释药结果来看:RFP 表现出较稳定的释放,未见明显的突释现象,维持释放的时间较长,第 12 周时累计释出了 98.26%的药物含量,残留人工骨中有 1.74%的药量未释出。而 INH 出现了突释现象,24h 时释放出 44.58%的药物含量,第 4 周时则累计释出了 98.27%的药物含量。INH 释放到第 8 周时浓度为 $(1.012 \pm 0.416) \mu\text{g}/\text{m}$,仍高于其 10 倍的最小抑菌浓度^[24],RFP 第 8 周之前浓度都较高的杀菌浓度,第 10 周、第 12 周仍处于抑菌浓度。而刘海涛等^[25]所制备的载抗结核药物人工骨 INH 和 RFP 的缓释周期分别为 7 周和 8 周,而且 RFP 尚有近一半

的药量残留在人工骨中未能释出,因此,本研究所制备的载 INH、RFP 纳米羟基磷灰石-硫酸钙人工骨的整体缓释性能要优于其的缓释效果。INH 的突释现象可能是由于在制备人工骨的过程中加压时,INH 作为一种亲水性药物,会随着水分渗透到人工骨的表浅部位,造成表浅部位的药量较大,药量分布不均所导致。另外,壳聚糖对脂溶性药物利福平的缓释作用要强于水溶性药物异烟肼,这有可能也是导致 INH 突释现象发生的原因。

从对人工骨的体外降解观察及其缓释性能来看,载 INH、RFP 纳米羟基磷灰石-硫酸钙人工骨在体外稳定降解,并具有持续时间较长且有效的缓释性能,但药物的突释现象的解决以及缓释周期的延长,尚需我们对人工骨做进一步优化。

4 参考文献

- De Long WG, Einhorn TA, Koval K, et al. Bone grafts and bone graft substitutes in ortho-paedic trauma surgery: a critical analysis[J]. J Bone Joint Surg Am, 2007, 89(3): 648-658.
- 黄金亮, 马涛, 唐辉, 等. 万古霉素阳离子脂质体复合纳米羟基磷灰石/壳聚糖/魔芋葡甘聚糖治疗兔慢性感染性骨缺损 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2012, 26(2): 190-195.
- Lin L, Hao R, Xiong W, et al. Quantitative analyses of the effect of silk fibroin/nano-hydroxyapatite composites on osteogenic differentiation of MG-63 human osteosarcoma cells [J]. J Biosci Bioeng, 2015, 119(5): 591-595.
- 崔文岗, 石岩, 肖德明, 等. 硫酸钙人工骨修复骨缺损的应用研究进展[J]. 生物骨科材料与临床研究, 2013, 5(10): 21-23.
- Ge Z, Wang Z, Wei M. Measurement of the concentration of three antituberculosis drugs in the focus of spinal tuberculosis [J]. Eur Spine J, 2008, 17(11): 1482-1487.
- 任淑君. 肺结核患者治疗依从性及其影响因素分析[J]. 现代诊断与治疗, 2013, 24(10): 2180-2182.
- Miao G, Chen X, Dong H, et al. Investigation of emulsified, acid and acid-alkali catalyzed mesoporous bioactive glass microspheres for bone regeneration and drug delivery [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2013, 33(7): 4236-4243.
- Bhandari KH, Newa M, Uludag H, et al. Synthesis, characterization and in vitro evaluation of a bone targeting delivery system for salmon calcitonin[J]. Int J Pharm, 2010, 394(1-2): 26-34.
- Kankilic B, Bilgic E, Korkusuz P, et al. Vancomycin containing PLLA/ β -TCP controls experimental osteomyelitis in vivo [J]. J Orthop Surg Res, 2014, 9: 114.
- Kankilic B, Bayramli E, Kilic E, et al. Vancomycin Containing PLLA/ β -TCP Controls MRSA In Vitro [J]. Clin Orthop Relat Res, 2011, 469: 3222-3228.
- 桂钱欢, 李波. 载药抗结核人工骨的研究现状[J]. 广东医学, 2016, 37(24): 3776-3778.
- 张世旺, 马远征, 杨飞, 等. 抗结核药物复合支架的制备及其性能研究[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2014, 24(3): 266-270.
- Zhu M, Wang H, Liu J, et al. A mesoporous silica nanoparticulate/ β -TCP/BG composite drug delivery system for osteoarticular tuberculosis therapy [J]. Biomaterials, 2011, 32(32): 1986-1995.
- McLaren AC, McLaren SG, Nelson CL, et al. The effect of sampling method on the elution of tobramycin from calcium sulfate[J]. Clin Orthop Relat Res, 2002, 403: 54-57.
- Sanchez E, Baro M, Soriano I, et al. In vivo-in vitro study of biodegradable and osteointegrable gentamicin bone implants[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2001, 52(2): 151-158.
- Huang D, Li D, Wang T, et al. Isoniazid conjugated poly (lactide-co-glycolide): Long-term controlled drug release and tissue regeneration for bone tuberculosis therapy[J]. Biomaterials, 2015, 52: 417-425.
- Logithkumar R, Keshavnarayan A, Dhivya S, et al. A review of chitosan and its derivatives in bone tissue engineering [J]. Carbohydr Polym, 2016, 151: 172-188.
- Agnihotri SA, Mallikarjuna NN, Aminabhavi TM. Recent advances on chitosan-based micro-and nanoparticles in drug delivery[J]. J Control Release, 2004, 100(1): 5-28.
- Wang Y, Xu H, Wang J, et al. Development of a thermally responsive nanogel based on chitosan-poly (N-isopropylacrylamide-co-acrylamide) for paclitaxel delivery[J]. J Pharm Sci, 2014, 103(7): 2012-2021.
- Guerrey A, Cottaz S, Fleury E, et al. Redox-stimuli responsive micelles from DOX-encapsulating polycaprolactone-g-chitosan oligosaccharide[J]. Carbohydr Polym, 2014, 112: 746-752.
- 吴涛, 吴金辉, 郑国栋, 等. 仿生组装淫羊藿苷-壳聚糖/羟基磷灰石骨修复材料的体外释药行为[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(52): 8399-8404.
- 王苗, 张风河. 壳聚糖在口腔颌面组织工程修复中的研究现状[J]. 生物医学工程研究, 2017, 4(36): 397-400.
- Lai P, Daear W, Löbenberg R, et al. Overview of the preparation of organic polymeric nanoparticles for drug delivery based on gelatine, chitosan, poly (d, l-lactide-co-glycolic acid) and polyalkylecyanoacrylate [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2014, 118: 154-163.
- Liu P, Zhu Q, Jiang J. Distribution of three antituberculous drugs and their metabolites in different parts of pathological vertebrae with spinal tuberculosis[J]. Spine, 2011, 36(20): E1290-1295.
- 刘海涛, 施建党, 王骞, 等. 载三联抗结核药物硫酸钙/聚氨基酸人工材料体外缓释性能的观察[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2015, 25(3): 239-244.

(收稿日期:2018-04-20 修回日期:2018-07-03)

(英文编审 郑国权/贾丹彤)

(本文编辑 彭向峰)