

抗肿瘤药物复合磷酸钙骨水泥的理化性质研究

陈华江*, 贾连顺, 肖建如, 杨兴海

(第二军医大学长征医院骨科, 上海 200003)

[摘要] **目的:** 研究复合抗肿瘤药物后对磷酸钙骨水泥(calcium phosphate cement, CPC)理化性质的影响。**方法:** 将甲氨蝶呤(MTX)、表柔比星(EPI)、羟基喜树碱(OH-CPT)、三氧化二砷(As_2O_3)每种药物分别以 2%、5%、8% 的比例与 CPC 复合, 检测其固化时间、抗压强度及微结构改变。**结果:** EPI 对 CPC 复合量为 2% 时显著延长固化时间($P < 0.05$), OH-CPT 复合量为 5% 以及 MTX、EPI 复合量为 8% 时 CPC 最大抗压强度显著下降($P < 0.05$)。电镜扫描示药物复合后 CPC 晶体结构无明显改变。**结论:** CPC 与抗肿瘤药物复合时会导致其理化性质的改变, 在临床应用中应做好相关药物复合后的基础研究。

[关键词] 骨粘合剂; 磷酸钙类; 抗肿瘤药; 理化性质

[中图分类号] R 318.08

[文献标识码] A

[文章编号] 0258-879X(2007)03-0250-04

Physicochemical properties of calcium phosphate cement incorporated with anti-tumor drugs

CHEN Hua-jiang*, JIA Lian-shun, XIAO Jian-ru, YANG Xing-hai (Department of Orthopedics, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China)

[ABSTRACT] **Objective:** To study the influence of anti-tumor drug incorporation on the physicochemical properties of calcium phosphate cement(CPC). **Methods:** Methotrexate (MTX), epirubicin (EPI), hydroxy camptothecin (OH-CPT), and arsenic trioxide (As_2O_3) were incorporated, each in a proportion of 2%, 5%, and 8%, into the powder-phase CPC. Untreated CPC was taken as control. The setting time, compression strength, and the microstructure of the resultant products were evaluated and tested. **Results:** Compared with control group, the setting time was significantly prolonged when 2% EPI was incorporated into CPC ($P < 0.05$), and the maximum compression strength was significantly decreased when 5% OH-CPT and 8% MTX, EPI were incorporated into CPC ($P < 0.05$). Electron microscope showed no significant change in the crystal structure after incorporation of the drugs. **Conclusion:** CPC is an ideal anti-tumor drug delivery material. The changes of physicochemical properties of CPC must be considered when anti-tumor drugs are incorporated into CPC for clinical application.

[KEY WORDS] bone cements; calcium phosphates; antineoplastic agents; physicochemical properties

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(3):250-253]

磷酸钙骨水泥(calcium phosphate cement, CPC)是由一种以多种磷酸钙盐粉末为主要成分的无机材料,具有能在人体环境和温度下自行固化、无毒副作用、高度生物相容性及良好的缓释性等优点,从而成为一种较理想的骨骼修复与填充材料^[1-2]。在CPC中加入药物,能利用其缓释的特性,实现在局部获得更高的药物浓度,直接作用于局部病灶的目的。对于骨肿瘤而言,CPC复合抗肿瘤药物后,能在填充缺损的同时起到局部化疗的作用,直接作用于肿瘤细胞并减少全身用药所产生的全身多系统损害的特点。然而目前CPC与药物复合的研究多集中于抗生素,较少涉及抗肿瘤药物与CPC复合后的研究^[3-5]。考虑到抗肿瘤药物与CPC复合后,可能导致CPC理化性能的变化,因此本研究针对一些较新的化疗药物,如表柔比星(EPI)、羟基喜树碱(OH-CPT)、三氧化二砷(As_2O_3)等,研究其与CPC复合后CPC理化特性的改变,为后期临床应用提供实验基础。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂 试剂:自固化CPC由上海瑞邦公司提供(医药级),甲氨蝶呤(MTX,江苏恒瑞制药公司医药级),EPI(法玛西亚制药公司,医药级)、OH-CPT(江苏恒瑞制药公司,医药级)、 As_2O_3 粉剂(医药级)。其他试剂均为分析纯,所用水为重蒸水。

仪器:AB104-N 万分之一电子天平(上海医疗器械厂)、固化时间测定仪(维卡仪,杭州蓝天仪器有限公司)、调刀(上海瑞邦公司提供)、SWD-10 万能力学测试仪(长春材料试验研究所)

1.2 实验分组 实验共分为 5 组,分别为 MTX

[基金项目] 国家自然科学基金(30400452)。Supported by National Natural Science Foundation of China(30400452)。

[作者简介] 陈华江,博士,讲师、主治医师。

* Corresponding author. E-mail: spine.chen@163.com

组、EPI组、OH-CPT组、As₂O₃组及对照组(不加药物)。实验组每组分别按质量百分比为2%、5%、8%的药物与CPC粉末混合,每一质量百分比设6组重复平行实验。按固液比0.2 ml/g加入固化液,将浆体填入预制模具中(高6 mm,直径8 mm),尽量填实,两头密封,放入100%湿度环境中。

1.3 固化时间的测定 以维卡仪测定固化时间。滑动部分总质量为(300±2) g。测定时将样品置于玻璃板上使指针与浆面接触,突然放松拧紧螺丝,试针自由沉入浆体,观察指针指示数值。从加水起,至试针沉入浆体不超过1 mm时,所需时间即为固化时间。每个数据按6个平行实验取平均值。

1.4 载药CPC强度测定 将前述所制作的载药CPC及对照试件置于万能生物力学试验机上进行最大抗压强度(maximum strength of compression, MSC)的测定,施加载荷速度为1 mm/min,记录标本样条的最大抗压强度和断裂强度。为尽可能减小系统误差,开始测试前对标本样条横断面用细砂纸进行仔细打磨,使其表面尽可能平整光滑,测试时,试验机构件与标本样条之间夹一张湿的滤纸,使标本样条的横断面实际受压面积与该面的实测面积最为接近,减少与压力和压强有关的结果计算时的误差。每个数据按6个平行实验取平均值。

1.5 骨水泥微结构分析 CPC药物复合体均送扫描电子显微镜分析。电子显微镜采用上海生命科学院多功能扫描电镜(HITACHI公司S-2460),分辨率为4 nm(40 Å),放大倍数20~20万倍,加速电压0.3~30 kV。在高真空状态下观察样品表面结构。

1.6 统计学处理 SPSS 10.0 软件进行数据分析,采用配对 *t* 检验分析。应用 Skewness(偏度)和 Kurtosis(峰度)进行样本正态性检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 药物对水泥凝结时间的影响 药物加入CPC后对其凝结时间均有一定程度的影响。其中以EPI为著,加入2%即引起CPC凝结时间相对于对照组显著延长[(973.67±11.72) s vs (372.67±7.77) s, $P<0.01$]。OH-CPT加入8%后CPC凝结时间延长较为明显[(577.33±9.07) s vs (372.67±7.77) s, $P<0.05$]。As₂O₃及MTX加入量达8%时也引起CPC凝结时间的延长,但相对于对照组无统计学差异。

表1 抗肿瘤药物对CPC凝结时间的影响

Tab 1 Influence of anti-tumor drugs on setting time of CPC

($n=6, \bar{x} \pm s$)

Group		Setting time(<i>t</i> /s)
Control		372.67±7.77
As ₂ O ₃	2%	350.67±11.72
	5%	362.00±7.21
	8%	372.00±4.36
EPI	2%	973.67±11.72**
	5%	1 191.33±61.16**
	8%	1 244.00±28.79**
MTX	2%	361.67±6.81
	5%	359.00±4.59
	8%	368.67±4.04
OH-CPT	2%	342.00±1.00
	5%	363.33±11.02
	8%	577.33±9.07*

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group. EPI: Epirubicin; MTX: Methotrexate; OH-CPT: Hydroxy-camptothecin

2.2 药物对骨水泥生物力学强度测试 药物加入CPC后对其强度产生了影响。OH-CPT加入量达到5%后MSC明显下降($P<0.05$)。而MTX与EPI在加入量达8%时其MSC出现明显下降($P<0.05$)。而As₂O₃加入量达到8%时虽然引起MSC的下降,但无统计学意义。

表2 抗肿瘤药物对CPC最大抗压强度(MSC)测试

Tab 2 Influence of anti-tumor drugs on maximal compression strength of CPC

($\bar{x} \pm s, p$ /MPa)

Group		Maximal compression strength
Control		39.81±1.62
As ₂ O ₃	2%	40.64±1.35
	5%	39.11±3.67
	8%	36.27±4.05
EPI	2%	38.30±2.58
	5%	35.00±3.24
	8%	27.81±2.02*
MTX	2%	39.11±2.28
	5%	39.48±3.33
	8%	35.83±3.81*
OH-CPT	2%	37.45±1.23
	5%	33.73±2.92*
	8%	28.01±1.54**

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group

2.3 扫描电镜分析 CPC药物复合体经电镜扫描,各组标本固化后其电镜下表现均呈现为“花萼状”结构,固化物显微形态无明显差别,其微孔形态也未表现出明显差异,未发现大片针状结晶结构(图1)。

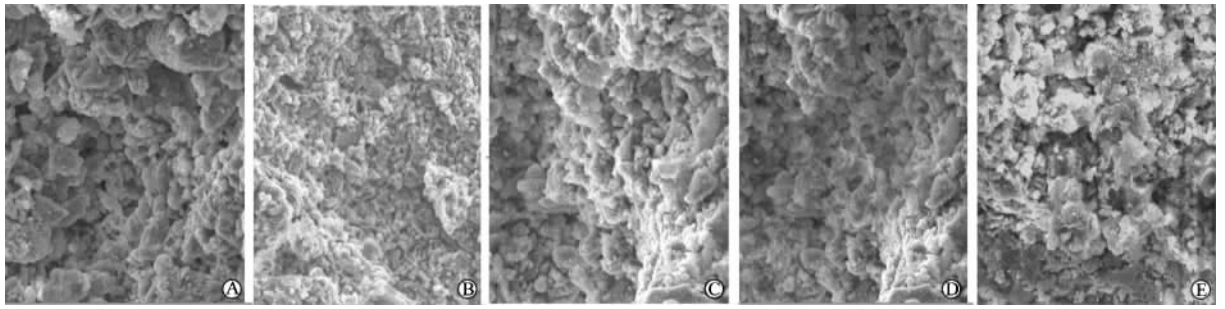


图 1 抗肿瘤药物复合 CPC 电镜下表现

Fig 1 Ultrastructure of CPC incorporated with anti-tumor drugs under electron microscope (×1 000)

A: CPC mixed with As_2O_3 ; B: CPC mixed with EPI; C: CPC mixed with MTX; D: CPC mixed with OH-CPT; E: Control

3 讨论

CPC 由多种磷酸钙组成,包括磷酸四钙 (TECP)、 α -磷酸三钙或 β -磷酸三钙 (α -TCP 或 β -TCP)、二水磷酸氢钙 (DCPD)、无水磷酸氢钙 (DCPA)、磷酸二氢钙 (MCPM) 等,在加入液相后,经相互反应,最终产物形成羟基磷灰石晶体 (HAP)。研究表明^[4,6] CPC 中一定量药物加入后可能会影响 CPC 的固化反应的进行和羟基磷灰石晶体的形成,进而改变反应终产物的固化反应时间、晶体结构和生物力学强度等性能。

固化反应时间是影响临床应用中的一个重要因素,目前 CPC 固化时间一般为 5~8 min。但加入药物后,则可能影响其固化时间,其中药物的溶解度、酸碱性、加入的量等均是重要的影响因素^[1,6-7]。当药物引入 CPC 骨水泥后,若药物不溶于水,则在常温下由于固-固界面的作用是非常弱的,一般不会发生强烈的吸附作用或化学反应,因此低含量的药物对于固化产生的影响较小。本研究中 As_2O_3 、MTX 及 OH-CPT 均为不溶或微溶于水,实验表明其对 CPC 固化时间影响较小,仅 OH-CPT 加入 8% 后其凝结时间延长较为明显 ($P < 0.05$)。而 EPI 则加入 2% 即引起凝结时间相对于对照组的显著延长 ($P < 0.01$)。

复合骨水泥中的药物酸碱性也是影响骨水泥固化的重要因素。在 CPC 骨水泥中 DCPA/TECP 是影响凝结的关键因素,在 pH 为酸性的条件下既导致 CPC 中无水磷酸氢钙 (DCPA) 溶解速率降低,同时以使 HAP 的溶解度减小不利于沉淀出 HAP,使得凝结时间延长^[7-8]。本实验中所用的 EPI 为临床药用的盐酸 EPI, pH 偏酸性,其与复合 CPC 后,凝结时间延长较之其他药物更为明显,可能是药物溶

解度和酸碱性共同作用的结果。研究表明^[1] 加入 CPC 中药物的比例越大,对于 CPC 凝结的影响也会增强。本实验中所有药物在加入量达到 8% 后,其固化时间均有不同程度延长,进一步证实了这一观点。

力学强度是评价 CPC 作为骨修复材料的一个重要指标,CPC 固化 4 h 约可基本达到最大抗压强度。研究表明 CPC 固化的强度取决于多方面的因素,其中 CPC 凝结过程中水化产物的结合能力、致密程度及 CPC 的孔隙率均是直接影响固体的强度的重要因素^[1,7]。抗肿瘤药物分子结构一般均较为复杂,加入 CPC 后可能影响 CPC 固化过程中的水化结合能力进而影响其强度,同时随着载药量的增加,CPC 的孔隙率增大,而 CPC 孔隙率的增大也可降低其力学强度^[6-7]。本实验组中药物在加入达 8% 以后,其强度均会下降,可能与 CPC 孔隙率增大有关。其中 OH-CPT 的加入对 CPC 的影响较大,当 OH-CPT 加入量占 5% 时,即导致其最大抗压强度的明显下降 ($P < 0.05$)。

药物与 CPC 复合后也可能引致 CPC 固化时微结构形态的变化^[1]。本研究所涉及的抗肿瘤药物与 CPC 复合后经 SEM 扫描示药物复合 CPC 与对照 CPC 相比其晶体结构均呈花萼状表现,其晶体形成未表现出明显差异。

综上所述,CPC 作为一种理想的提供局部负荷力学重建与药物缓释的载体,其理化特性可能随着加入药物而改变。抗肿瘤药物种类较多,其本身的生化性质也均有所不同,在临床上将抗肿瘤药物与 CPC 复合时应充分考虑到其可能的理化性质改变,做好临床前基础研究。

[参考文献]

[1] Ambard A J, Mueninghoff L. Calcium phosphate cement: re-

- view of mechanical and biological properties [J]. J Prosthodont, 2006,15:321-328.
- [2] Matsumine A, Kusuzaki K, Matsubara T, et al. Calcium phosphate cement in musculoskeletal tumor surgery[J]. J Surg Oncol, 2006,93:212-220.
- [3] Tani T, Okada K, Takahashi S, et al. Doxorubicin-loaded calcium phosphate cement in the management of bone and soft tissue tumors[J]. In Vivo, 2006,20:55-60.
- [4] Sasaki T, Ishibashi Y, Katano H, et al. *In vitro* elution of vancomycin from calcium phosphate cement[J]. J Arthroplasty, 2005,20:1055-1059.
- [5] 曾兆林,韩德恩,韩丽妹,等. 三氧化二砷预防大鼠肝癌肝移植后肿瘤复发的研究[J]. 中华实验外科杂志,2005,2:169-170.
- [6] 刘爱红,孙康宁,赵萍. 磷酸钙骨水泥的研究进展[J]. 材料导报,2005,19:17-19,30.
- [7] 沈卫,刘昌胜,顾燕芳,等. 磷酸钙骨水泥的水化反应机理研究[J]. 无机材料学报,1996,11:685-690.
- [8] Grover L M, Gbureck U, Wright A J, et al. Biologically mediated resorption of brushite cement *in vitro* [J]. Biomaterials, 2006,27:2178-2185.
- [收稿日期] 2007-01-23 [修回日期] 2007-02-12
[本文编辑] 孙岩

· 消 息 ·

卫生部健康管理师(国家特有新职业)培训班招生

上海市健康管理研究会经卫生部人才中心审核,成为上海市首家“健康管理师”职业技能培训工作站。为了更好地发展上海的健康管理事业、提高人民健康水平,上海市健康管理研究会和上海交通大学公共卫生学院合作开展健康管理师培训,经培训、考核合格的学员可获得相应级别的国家职业资格证书。相关情况可查询卫生部人才网 <http://www.21wecan.com/yjck/zyjd/jkgls/index.htm>

一、招生对象

医药、卫生系统中从事或准备从事健康管理相关职业的人员,体检、养老护理机构、健康保险从业人员或对健康管理相关知识抱有浓厚兴趣的人员,并符合以下申报条件者。

二、申报条件

1. 健康管理师三级(具备以下条件之一者):180学时。(1)具有医药卫生专业大学专科以上学历证书;(2)非医药卫生专业大学专科以上学历证书,连续从事本职业或相关职业工作2年以上,经健康管理师三级正规培训达规定标准学时数,并取得结业证书;(3)具有医学卫生中等专科以上学历证书,连续从事本职业或相关职业工作3年以上,经健康管理师三级正规培训达规定标准学时数,并取得结业证书。培训学费:本会会员优惠收费3850元,另加卫生部人才中心技术服务费400元。

2. 健康管理师二级(具备以下条件之一者):130学时。(1)取得健康管理师三级职业资格证书后,连续从事本职业工作5年以上者或连续从事本职业工作4年以上且经健康管理师二级正规培训达规定标准学时数,并取得结业证书者;(2)具有医药卫生专业本科学历证书,取得健康管理师三级职业资格证书后,连续从事本职工作4年以上者或连续从事本职工作3年以上且经健康管理师二级正规培训达规定标准学时数,并取得结业证书者;(3)具有医药卫生专业中级或以上专业技术职务任职资格后,经健康管理师二级正规培训达规定标准学时数,并取得结业证书者;(4)具有医药卫生专业硕士研究生及以上学历证书,连续从事本职业或相关工作2年以上者。培训学费:本会会员优惠收费3350元,另加卫生部人才中心技术服务费300元。

三、学习内容

健康管理概论,健康风险评估和风险管,健康保险与健康,临床医学基础知识,主要慢性非传染性疾病,筛检的基础知识,循证医学,预防医学,流行病学和医学统计学基本知识,健康教育与健康促进,中医学,医学信息学,膳食与营养,心理健康,生命伦理学,健康管理服务营销,健康管理技能。

四、报名办法

开班时间:2007年3月,即日起开始报名,每期3个月。上课时间:每周五晚和周六全天,地点:上海交通大学医学院斜土校区。

报名地点:上海市徐汇区平江路139号三航大厦6B甲室 上海市健康管理研究会(肇家浜路枫林路,靠近中山医院),电话:021-61026908,021-61027593;传真:021-23019951;网址:www.shhealth.org

所需证件:1. 本人身份证及复印件;2. 学历证书复印件;3. 专业职称证书复印件;4. 相关工作年限证明(由报名人所在或曾在单位劳资部门出具);5. 近期彩色免冠照片(2寸3张、1寸2张)。相关表格可在上海市管理研究会网站:www.shhealth.org、上海市卫生工作者协会网站:www.shwsxh.com、上海助医网:www.91985.com下载,其中《个人职业技能鉴定申请表》需加盖所在单位公章(两处)。