



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101420922 B

(45) 授权公告日 2013. 10. 16

(21) 申请号 200680052052. 7

(22) 申请日 2006. 12. 06

(30) 优先权数据

11/294, 819 2005. 12. 06 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008. 07. 30

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2006/046435 2006. 12. 06

(87) PCT申请的公布数据

W02007/067561 EN 2007. 06. 14

(73) 专利权人 埃特克斯公司

地址 美国麻萨诸塞州

(72) 发明人 A·D·罗森伯格

L·D·吉列斯德佩利奇 S·邦德尔

M·斯特伦克

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 关立新 黄可峻

(51) Int. Cl.

A61F 2/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 2005/0084542 A1, 2005. 04. 21, 摘要、说明书第 9-14、22、31、35、39、71-73 段.

US 2005/0084542 A1, 2005. 04. 21,

US 2002/0187104 A1, 2002. 12. 12, 说明书第 25 段.

US 2003/0180344 A1, 2003. 09. 25, 说明书第 15、31-32 段.

审查员 黄长斌

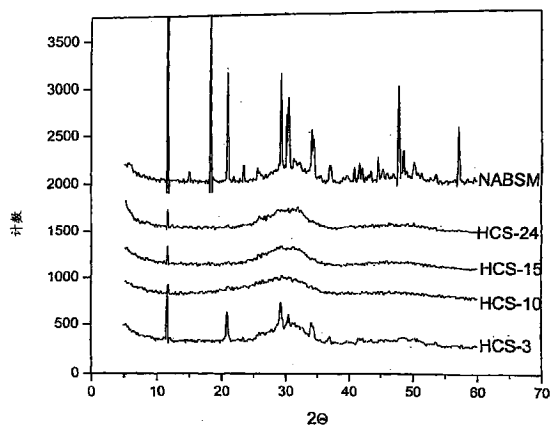
权利要求书3页 说明书23页 附图1页

(54) 发明名称

多孔磷酸钙骨材料

(57) 摘要

提供了化学组成与天然骨材料相似的多孔磷酸钙植入组合物。除磷酸钙以外,该组合物还含有促进互相连通孔形成的发泡剂和保持硬化的组合物的形状和硬度的黏聚剂。当加入到植入部位时,该磷酸钙组合物重建成骨骼。还提供了使用该磷酸钙组合物(例如)修复或替换骨骼的方法。



1. 一种自固化的多孔磷酸钙组合物,其中含有与一种生理上可接受的流体混合的磷酸钙、发泡剂和生物相容性黏聚剂,其中所述发泡剂包含碳酸盐和碳酸氢盐,该碳酸盐和碳酸氢盐在所述组合物内存在的摩尔比在 1:1 和 1:9 之间,并且它们在所述组合物水合时反应从而产生作为气体组分的二氧化碳,其中从所述组合物释放出所述气体组分在组合物中产生至少 5% 的孔隙率,在硬化后该磷酸钙组合物是固体,其具有 1MPa 或更高的抗压强度。

2. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述磷酸钙选自无定形磷酸钙、低晶磷酸钙、羟基磷灰石、贫钙羟基磷灰石、磷酸一钙、偏磷酸钙、磷酸七钙、二水合磷酸二钙,磷酸四钙,磷酸八钙,焦磷酸钙和磷酸三钙,或它们的混合物。

3. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述磷酸钙用无定形磷酸钙和第二磷酸钙源制备。

4. 根据权利要求 3 所述的组合物,其中所述第二磷酸钙源选自低晶磷酸钙、羟基磷灰石、贫钙羟基磷灰石、磷酸一钙、偏磷酸钙、磷酸七钙、二水合磷酸二钙,磷酸四钙,磷酸八钙,焦磷酸钙和磷酸三钙。

5. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述磷酸钙的平均晶畴大小小于 100nm。

6. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述组合物的孔的直径为 1-1000 μm 。

7. 根据权利要求 6 所述的组合物,其中的孔径为 10-100 μm 。

8. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述气体组分的释放产生至少 10% 的孔隙率。

9. 根据权利要求 8 所述的组合物,其中所述气体组分的释放产生至少 20% 的孔隙率。

10. 根据权利要求 9 所述的组合物,其中所述气体组分的释放产生至少 40% 的孔隙率。

11. 根据权利要求 10 所述的组合物,其中所述气体组分的释放产生至少 50% 的孔隙率。

12. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述气体组分的释放产生 5-60% 的孔隙率。

13. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述碳酸盐和碳酸氢盐在该组合物内的摩尔比为 1:1。

14. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述碳酸盐和碳酸氢盐在该组合物内的摩尔比为 1:9。

15. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述发泡剂产生具有贯穿该组合物的相互交连孔的基质。

16. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中发泡剂的含量为 1-40 重量 %。

17. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中生物相容性黏聚剂包括一种聚合物,选自:核酸,碳水化合物,蛋白质,多肽,聚(α -羟基酸),聚(内酯),聚(氨基酸),聚(酸酐),聚(原酸酯),聚(酸酐-CO-酰亚胺),聚(原碳酸酯),聚(α -羟基烷酸酯),聚(二噁烷酮),聚(磷酸酯),聚(L-丙交酯)(PLLA),聚(D, L-丙交酯)(PDLLA),聚乙交酯(PGA),聚(丙交酯-CO-乙交酯)(PLGA),聚(L-丙交酯-CO-D, L-丙交酯),聚(D, L-丙交酯-CO-亚丙基碳酸酯),聚羟基丁酸酯(PHB),聚羧酸,聚(盐酸烯丙胺),聚(氯化二烯丙基二甲铵),聚(亚乙基亚胺),聚富马酸丙二醇酯,聚乙烯醇,聚乙烯基吡咯烷酮,聚乙烯,聚甲基丙烯酸甲酯,碳纤维,聚乙二醇,聚氧乙醇,聚(乙烷基醇),聚(乙烷基吡咯烷酮),聚(乙基噁唑啉),环氧乙烷-CO-环氧丙烷嵌段共聚物,聚(对苯二甲酸乙二醇酯),聚酰胺,及它们的共聚物。

18. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述生物相容性黏聚剂包括选自多糖类和聚

丙烯酸的聚合物。

19. 根据权利要求 17 所述的组合物,其中所述聚(内酯)是聚(己内酯)。

20. 根据权利要求 17 所述的组合物,其中所述聚(内酯)选自聚(ϵ -己内酯),聚(δ -戊内酯),聚(γ -丁内酯)。

21. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中生物相容性黏聚剂选自:藻酸,阿拉伯酸,瓜尔胶,黄原胶,明胶,壳多糖,脱乙酰壳多糖,乙酸脱乙酰壳多糖,乳酸脱乙酰壳多糖,硫酸软骨素, N, O-羧甲基脱乙酰壳多糖,葡聚糖,纤维蛋白胶,甘油,透明质酸,透明质酸钠,纤维素,葡糖胺,蛋白聚糖,淀粉,乳酸,环氧乙烷与环氧丙烷共聚物,甘油磷酸钠,胶原,糖原,角蛋白,丝,及它们的混合物。

22. 根据权利要求 21 所述的组合物,其中该纤维素是甲基纤维素、羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素或羟乙基纤维素。

23. 根据权利要求 21 所述的组合物,其中葡聚糖是 α -环糊精、 β -环糊精、 γ -环糊精或葡聚糖硫酸钠。

24. 根据权利要求 21 所述的组合物,其中淀粉是可溶性淀粉。

25. 根据权利要求 21 所述的组合物,其中淀粉是羟乙基淀粉。

26. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中该生物相容性黏聚剂的含量为 0.5-20 重量%。

27. 根据权利要求 26 所述的组合物,其中生物相容性黏聚剂的含量少于 20 重量%。

28. 根据权利要求 27 所述的组合物,其中生物相容性黏聚剂的含量少于 10 重量%。

29. 根据权利要求 28 所述的组合物,其中生物相容性黏聚剂的含量少于 5 重量%。

30. 根据权利要求 29 所述的组合物,其中生物相容性黏聚剂的含量少于 1 重量%。

31. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中该组合物还含有一种生物活性剂。

32. 根据权利要求 31 所述的组合物,其中该生物活性剂选自抗体、抗生素、聚核苷酸、多肽、蛋白质、抗癌药物、生长因子和疫苗。

33. 根据权利要求 32 所述的组合物,其中蛋白质是成骨蛋白。

34. 根据权利要求 33 所述的组合物,其中该成骨蛋白选自

BMP-2, BMP-3, BMP-3b, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-8, BMP-9, BMP-10, BMP-11, BMP-12, BMP-13, BMP-14, BMP-15, BMP-16, BMP-17, 和 BMP-18。

35. 根据权利要求 32 所述的组合物,其中抗癌药物是选自烷化剂,铂试剂,抗代谢药,拓扑异构酶抑制剂,抗肿瘤抗生素,抗有丝分裂药,芳化酶抑制剂,胸苷酸合成酶抑制剂, DNA 拮抗剂,法尼基转移酶抑制剂,泵抑制剂,组蛋白乙酰转移酶抑制剂,金属蛋白酶抑制剂,核苷还原酶抑制剂, TNF α 激动剂 / 拮抗剂,内皮素 A 受体拮抗剂,维甲酸受体激动剂,免疫调节剂,激素和抗激素药物,光动力学药物和酪氨酸激酶抑制剂。

36. 根据权利要求 31 所述的组合物,其中生物活性剂是去矿化的骨基质(DBM)。

37. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中磷酸钙的钙 / 磷酸根 Ca/P 摩尔比为 1-1.67。

38. 根据权利要求 37 所述的组合物,其中磷酸钙的 Ca/P 摩尔比为 1.3-1.65。

39. 根据权利要求 38 所述的组合物,其中磷酸钙的 Ca/P 摩尔比为 1.4-1.6。

40. 根据权利要求 39 所述的组合物,其中磷酸钙的 Ca/P 摩尔比为 1.5。

41. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中该组合物在与生理上可接受的流体混合时形成自硬化的磷酸钙糊状物,该糊状物硬化后形成总 Ca/P 摩尔比小于 1.67 的低晶磷灰石磷

酸钙。

42. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中生理上可接受上的流体选自水、盐水和磷酸盐缓冲液。

43. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中在硬化后,组合物的抗压强度至少为 2MPa。

44. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中该组合物的抗压强度为 1-150MPa。

45. 根据权利要求 44 所述的组合物,其中该组合物的抗压强度为 10MPa。

46. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中该组合物在 37℃下于不到 30 分钟内硬化。

47. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中该组合物适合作为骨植入材料使用。

48. 根据权利要求 1-47 中任一项所述的组合物在用于骨修复的药物制备中的用途。

多孔磷酸钙骨材料

[0001] 发明背景

[0002] 本发明的领域是骨修复和替换。更具体地说,本发明涉及一种自硬化的多孔磷酸钙复合物,它具有理想的加工性能和力学性质。

[0003] 天然存在的骨骼包括有机和无机组分。有机组分包括生长因子、软骨、胶原和其它蛋白质。无机骨组分包括非化学计量的低晶磷灰石 (PCA) 磷酸钙,其 Ca/P 比在 1.45 和 1.75 之间 (Besic 等 (1969), J. Dental Res. 48(1) :131)。这种无机骨矿物质在体内被破骨细胞和成骨细胞连续地吸收和再生,此过程称为骨重建。

[0004] 骨植入物常用来在骨缺损和受伤的事件中增进天然的再生过程。这些植入物必须是生物相容的,在植入前能被外科医生操纵,并且具有能使植入物在体内保持其形状的程度和成分。

[0005] 考虑到它的再生能力,天然骨是一种可能的植入材料。然而,自生的、同种异体的和异种的骨的使用,由于相关的疾病传播、免疫原性植入物排斥、患者发病率和复杂的手术步骤而变得复杂。因此,合成的骨植入材料成为日益关注的焦点。

[0006] 可塑的自固化磷酸钙粘固剂显示出良好的强度性质,并且能容易地原位成形以填充多种临床缺损,但是由于细胞不能透过该致密材料而重建缓慢。多孔磷酸钙陶瓷是优选的植入材料,因为它们允许血管、细胞和组织、以及药物透过,而这些对于促进骨形成和防止感染是重要的。当作为植入材料使用时,多孔磷酸钙陶瓷优选具有高孔隙率。这一高孔隙率会造成多孔基体的机械强度较低,因此抵消了它们作为需要高机械强度的骨植入物的好处。另外,预先形成的多孔的小块和颗粒会难以操纵和植入,而且能导致缺损填充不完全。因此,需要兼有优异的生物相容性和机械强度的多孔磷酸钙陶瓷。

发明概要

[0007] 提供了与天然骨的化学成分相近的自硬化多孔磷酸钙组合物。该磷酸钙组合物的孔隙率(孔的数目和大小)由硬化过程中从混合物中逸出的发泡剂气相组分的释放速率决定。

[0008] 在第一方面,本发明的特色在于一种组合物,其中包含磷酸钙、发泡剂和生物相容的黏聚剂(例如,黏合剂)。该组合物用一种磷酸钙源制备,选自无定形磷酸钙、低晶磷酸钙、羟基磷灰石、碳化磷灰石(贫钙羟基磷灰石)、磷酸一钙、偏磷酸钙、磷酸七钙、二水合磷酸二钙、磷酸四钙、磷酸八钙、焦磷酸钙和磷酸三钙,或它们的混合物。或者是,该组合物用一种无定形磷酸钙和一种第二磷酸钙源制备,后者的实例包括,低晶磷酸钙、羟基磷灰石、磷酸化磷灰石(贫钙羟基磷灰石)、磷酸一钙、偏磷酸钙、磷酸七钙、二水合磷酸二钙、磷酸四钙、磷酸八钙、焦磷酸钙或磷酸三钙,或它们的混合物。

[0009] 在一项实施方案中,发泡剂包括碳酸盐/碳酸氢盐混合物,其中碳酸盐和碳酸氢盐组分按预定的摩尔比组合,例如,比例为约 1 : 1 至约 1 : 9 的碳酸盐/碳酸氢盐,优选为约 1 : 1、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8 或 1 : 9。在一项实施方案中,发泡剂是化学式为 M_xCO_3/M'_yHCO_3 的碳酸盐/碳酸氢盐化合物的混合物,其中 M 和 M' 是一

价阳离子,例如,钠(Na)、钾(K)、锂(Li)、铷(Rb)、铯(Cs)、银(Ag)、铊(Tl)和铵(NH_4^+), $x = 2, y = 1$ 。在另一实施方案中,发泡剂是化学式为 $\text{MxCO}_3/\text{M}'_y\text{HCO}_3$ 的碳酸盐/碳酸氢盐化合物的混合物,其中M是一个二价阳离子,例如,钡(Ba)、镉(Cd)、钙(Ca)、钴(Co)、铜(Cu)、铁(Fe)、镁(Mg)、锰(Mn)、镍(Ni)、锶(Sr)和锌(Zn),M'是一价阳离子,例如,钠(Na)、钾(K)、锂(Li)、铷(Rb)、铯(Cs)、银(Ag)、铊(Tl)和铵(NH_4^+), $x = 1$ 和 $y = 1$ 。在一项优选的实施方案中,选择发泡剂中碳酸盐与碳酸氢盐的摩尔比以促进在磷酸钙组合物硬化时从中受控释放出二氧化碳。在另一实施方案中,选择起泡剂中碳酸盐/碳酸氢盐组分的摩尔比以促进相互连通的孔的形成,这些孔的中值孔径为约1至约1000 μm ,更优选约1-100 μm 。在另一实施方案中,通过自发泡剂中释放二氧化碳至少1分钟,更优选至少2、3或4分钟,最优选约5分钟或更长,促进孔的形成;发泡剂中碳酸氢盐相对于碳酸盐的摩尔比的增加会增加二氧化碳的释放时间,同时孔隙率提高。

[0010] 在另一实施方案中,发泡剂是在植入前溶在磷酸钙组合物中的一种气体,它在硬化期间以选定能产生所要求数量的互连孔的速率从磷酸钙组合物中释放出来。例如,选择发泡剂,使其在硬化期间能释放1分钟,优选2、3或4分钟,更优选约5分钟或更长时间的气体,从而制得孔隙率至少为约5-60%的硬化的磷酸钙。优选磷酸钙组合物的孔隙率为约5%,更优选为约10%、20%或30%,最优选孔隙率为约40%、50%或60%。在一项优选的实施方案中,磷酸钙有至少约50%的孔隙率。最好是,选择发泡剂以促进形成中值孔径约1-1000 μm 、更优选约10-100 μm 的互连孔。在优选的实施方案中,气体是选自二氧化碳、空气、氮气、氦、氧和氩。在另一实施方案中,发泡剂是在溶解时释放气体的固体物质(例如碳酸盐,如碳酸氢钠)。在一项优选的实施方案中,发泡剂在磷酸钙组合物硬化期间产生具有互连孔隙的连续基质。在另一优选的实施方案中,发泡剂的用量为约1-40重量%。在另一实施方案中,根据其在生物温度下缓慢发泡的能力选择发泡剂,该温度优选为约4-42 $^{\circ}\text{C}$,更优选为约15-37 $^{\circ}\text{C}$,最优选在约37 $^{\circ}\text{C}$ 。

[0011] 在其它实施方案中,无定形磷酸钙和第二磷酸钙的平均晶畴大小小于100nm(例如,在约1-99nm的范围,优选50nm或更小,更优选10nm或更小)。

[0012] 在另一实施方案中,磷酸钙是一种非晶化的磷酸钙,其平均晶畴大小小于例如约100nm,振实密度大于0.7g/cm³。在另一实施方案中,该非晶化的磷酸钙选自一种或多种无定形磷酸钙、低晶磷酸钙、羟基磷灰石、碳酸化碳灰石(贫钙羟基磷灰石)、磷酸一钙、偏磷酸钙、磷酸七钙、二水合磷酸二钙、磷酸四钙、磷酸八钙、焦磷酸钙和磷酸三钙,或它们的混合物。

[0013] 在另一实施方案中,组合物中包含一种生物相容性黏聚剂。在优选的实施方案中,该黏聚剂包括聚合物,选自:多糖类,核酸,碳水化合物,蛋白质,多肽,聚(α -羟基酸),聚(内酯),聚(氨基酸),聚(酸酐),聚(原酸酯),聚(酸酐-CO-酰亚胺),聚(原碳酸酯),聚(α -羟基烷酸酯),聚(二噁烷酮),聚(磷酸酯),聚(L-丙交酯)(PLLA),聚(D, L-丙交酯)(PDLLA),聚乙交酯(PGA),聚(丙交酯-CO-乙交酯)(PLGA),聚(L-丙交酯-CO-D, L-丙交酯),聚(D, L-丙交酯-CO-亚丙基碳酸酯),聚羟基丁酸酯(PHB),聚(ϵ -己内酯),聚(δ -戊内酯),聚(γ -丁内酯),聚(己内酯),聚丙烯酸,聚羧酸,聚(盐酸烯丙胺)。聚(氯化二烯丙基二甲胺),聚(亚乙基亚胺),聚富马酸丙二醇酯,聚乙烯醇,聚乙烯基吡咯烷酮,聚乙烯,聚甲基丙烯酸甲酯,碳纤维,聚乙二醇,聚氧乙醇,聚(乙烯基醇),聚(乙烯基吡

咯烷酮),聚(乙基噁唑啉),环氧乙烷-CO-环氧丙烷嵌段共聚物,聚(对苯二甲酸乙二醇酯),聚酰胺,及它们的共聚物。优选的黏聚剂还包括藻酸,阿拉伯胶,瓜尔胶,黄原胶,明胶,壳多糖,脱乙酰壳多糖,乙酸脱乙酰壳多糖,乳酸脱乙酰壳多糖,硫酸软骨素,N,O-羧甲基脱乙酰壳多糖,葡聚糖(例如, α -环糊精, β -环糊精, γ -环糊精,或硫酸葡聚糖钠),纤维蛋白胶,甘油,透明质酸,透明质酸钠,纤维素(例如,甲基纤维素,羧甲基纤维素,羟丙基甲基纤维素或羟乙基纤维素),葡糖胺,蛋白聚糖,淀粉(例如,羟乙基淀粉或可溶性淀粉),乳酸,环氧乙烷与环氧丙烷共聚物,甘油磷酸钠,胶原,糖原,角蛋白,丝及它们的混合物。在另一项优选的实施方案中,组合物中的生物相容性黏聚剂的数量为约0.5-20%重量(例如少于约20%,优选少于约10%,更优选少于约5%,最优选少于约1%重量)。

[0014] 在其它实施方案中,当把生理上可接受的流体加到组合物的干组分中时,产生自硬化的糊或油灰状物。在本发明的几个实施方案中,合适的生理上可接受的流体包括,但不限于,水、盐水和磷酸盐缓冲液。在其它实施方案中,该流体可以是一种生物流体,例如与活的生命体有关的处理过或未处理过的流体(包括悬浮液),特别是血液,包括全血、温血或冷血,以及储存血或新鲜血;处理过的血,例如用至少一种生理溶液(包括但不限于盐水、营养液和/或抗凝血溶液)稀释过的血液;血液组分,例如血小板浓缩物(PC)、采集分离的血小板、富血小板血浆(PRP)、贫血小板血浆(PPP)、无血小板血浆、血浆、血清、新鲜冷冻血浆(FFP)、从血浆得到的组分、浓缩红细胞(PRC)、血沉棕黄层(BC);从血液或血液组分衍生的或从骨髓中衍生的血液产物;从血浆中分离后再悬浮于生理流体中的红血球;以及从血浆中分离后再悬浮于生理流体中的血小板。在其它实施方案中,该生物流体包括,例如,奶、尿、唾液、精液或阴道流体,滑膜流体,淋巴液,羊水,卵的卵黄囊,卵壳或尿壳内的流体,汗和眼泪。

[0015] 本发明的磷酸钙组合物一旦水化形成糊状物之后,与大多数先前已知的骨植入材料相比,其流动特性改善。可以向粉末中加入不同数量的流体以产生具有所希望的特性的糊状物。例如,在至少某些实施方案中,每克粉末使用0.5-2.0cc的流体,以制备可成型的,即能够被模制并保持其形状的糊状物。在至少某些实施方案中,该糊状物是可注射的,即,能通过一只16至18号针头。糊状物也能制备成用于经由导管输送(例如,一只只有7-15号针头,更优选一只只有7、8、9、10、11、12、13、14或15号针头的导管)。

[0016] 在另一方面,组合物在水化时产生一种可成型的自硬化的糊状物,它是可模制的,当施加到体内的移植部位时有黏聚性,并且硬化形成多孔的磷酸钙组合物。在至少某些实施方案中,该糊状物硬化形成具有显著的抗压强度的磷酸钙组合物(例如低晶磷灰石(PCA)磷酸钙)。该组合物可从以糊状形式或以硬化的磷酸钙的形式植入。组合物可以用来修复骨骼,例如损伤的骨骼,或者用来作为输运生物活性剂的载体。

[0017] 根据一些实施方案,组合物中另外还包含一种生物活性剂。可以在本文中所述的组合物和方法中使用的生物活性剂包括,但不限于,抗体、抗生素、多核苷酸、多肽、蛋白质(例如成骨蛋白)、抗癌药物、生长因子和疫苗。成骨蛋白包括,但不限于,BMP-2、BMP-3、BMP-3b、BMP-4、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、BMP-8、BMP-9、BMP-10、BMP-11、BMP-12、BMP-13、BMP-14、BMP-15、BMP-16、BMP-17和BMP-18。抗癌药物包括,但不限于,烷基化剂、铂试剂、抗代谢药、拓扑异构酶抑制剂、抗肿瘤抗体、抗有丝分裂药、芳化酶抑制剂、胸苷酸合成酶抑制剂、DNA拮抗剂、法呢基转移酶抑制剂、泵抑制剂、组蛋白脱乙酰酶抑制剂、金属蛋白酶抑

制剂、核苷还原酶抑制剂、TNF α 激动剂、TNF α 拮抗剂、内皮素 A 受体拮抗剂、维甲酸受体激动剂、免疫调节剂、激素药物、抗激素药物、光动力学药物和酪氨酸激酶抑制剂。

[0018] 在另一优选的实施方案中,组合物中包含去矿化的骨基质 (DBM)。在一项优选的实施方案中,该 DBM 的粒子大小为 53-850 μm 。在其它实施方案中,DBM 的粒子大小为 53-125 μm (即,细粒) 或 125-850 μm (即,全范围 DBM 颗粒)。

[0019] 在其它实施方案中,磷酸钙组合物的 Ca/P 比小于 1.67。在特别优选的实施方案中,可成型的自硬化多孔磷酸钙糊硬化形成磷酸钙。其总 Ca/P 比为 1.0-1.67,优选为 1.3-1.65,更优选为 1.4-1.6,最优选接近于数值为 1.45-1.67 的天然存在的骨骼的 Ca/P 比。在一项优选的实施方案中,磷酸钙组合物的 Ca/P 比等于或小于约 1.5。

[0020] 在其它实施方案中,这种多孔的硬化磷酸钙组合物显示出等于或大于 1 或 2MPa 的抗压强度。在其它实施方案中,该抗压强度在约 1MPa 至约 150MPa 的范围内 (例如,20、30、40、50、60、70、80、90 或 100MPa)。在其它优选的实施方案中,抗压强度为 120MPa 或更高 (例如 120 至 150MPa)。

[0021] 在第二方面,本发明的特色在于一种骨修复的方法,包括向需要修复的对象施用一种自固化的多孔磷酸钙组合物,其中含有和生理上可接受的流体混合的磷酸钙、发泡剂和生物相容性黏聚剂 (即,本发明第一方面中所述的组合物)。本发明第一方面的所有实施方案都适用于本发明第二方面中使用的组合物。

[0022] 本文中使用的术语“约”,意味着所述数值的 $\pm 10\%$ 。

[0023] 本文中对磷酸钙使用的“无定形”一词,是指没有或只有短程晶序的磷酸钙,即,晶序小于 100nm。

[0024] “非晶化”或“非晶化的”是指在热力学稳定形式中,晶格内,例如晶态或半晶态物质的原子、分子、离子和配位体之间存在的有序、重复的三维空间关系的机械或能量破坏的过程。该过程将平均的物质结晶度指数由其原始的有序态变为有序度变差的状态。

[0025] 这里所说的“生物相容性”物质,是在接受者内不产生不可接受的或不良的生理响应,例如免疫响应的物质。

[0026] 这里对组合物使用的“黏聚性”一词,是指组合物在与生物相容性流体混合时保持其形状和无质量损失的能力。如果组合物在水基环境中温育至少 10 分钟后,其初始质量和体积的 90% 以上保留在其初始形状轮廓内,则被认为是黏聚的。

[0027] 本文中所说的“黏聚剂”是指一种添加剂,当它被包含在本发明的磷酸钙组合物中时,会改善磷酸钙组合物保持其黏聚性的能力。优选的黏聚剂包括聚合物,选自:多糖类,核酸,碳水化合物,蛋白质,多肽,聚 (α -羟基酸),聚 (内酯),聚 (氨基酸),聚 (酸酐),聚 (原酸酯),聚 (酸酐-CO-酰亚胺),聚 (原碳酸酯),聚 (α -羟基烷酸酯),聚 (二噁烷酮),聚 (磷酸酯),聚 (L-丙交酯) (PLLA),聚 (D,L-丙交酯) (PDLLA),聚乙交酯 (PGA),聚 (丙交酯-CO-乙交酯) (PLGA),聚 (L-丙交酯-CO-D,L-丙交酯),聚 (D,L-丙交酯-CO-亚丙基碳酸酯),聚羟基丁酸酯 (PHB),聚 (ϵ -己内酯),聚 (δ -戊内酯),聚 (γ -丁内酯),聚 (己内酯),聚丙烯酸,聚羧酸,聚 (盐酸烯丙胺)。聚 (氯化二烯丙基二甲胺),聚 (亚乙基亚胺),聚富马酸丙二醇酯,聚乙烯醇,聚乙烯基吡咯烷酮,聚乙烯,聚甲基丙烯酸甲酯,碳纤维,聚乙二醇,聚氧乙醇,聚 (乙烯基醇),聚 (乙烯基吡咯烷酮),聚 (乙基噁唑啉),环氧乙烷-CO-环氧丙烷嵌段共聚物,聚 (对苯二甲酸乙二醇酯),聚酰胺,及它们的共聚物。

优选的黏聚剂还包括藻酸,阿拉伯胶,瓜尔胶,黄原胶,明胶,壳多糖,脱乙酰壳多糖,乙酸脱乙酰壳多糖,乳酸脱乙酰壳多糖,硫酸软骨素, N, O- 羧甲基脱乙酰壳多糖,葡聚糖(例如, α -环糊精, β -环糊精, γ -环糊精,或硫酸葡聚糖钠),纤维蛋白胶,甘油,透明质酸,透明质酸钠,纤维素(例如,甲基纤维素,羧甲基纤维素,羟丙基甲基纤维素或羟乙基纤维素),葡糖胺,蛋白聚糖,淀粉(例如,羟乙基淀粉或可溶性淀粉),乳酸,环氧乙烷与环氧丙烷共聚物,甘油磷酸钠,胶原,糖原,角蛋白,丝及它们的混合物。

[0028] “发泡剂”是指能在组合物内产生气泡的试剂或从组合物中以气泡形式放出的试剂;组合物中气泡的产生或释放是组合物内产生孔隙的原因。

[0029] 这里所说的“低晶磷灰石 (PCA) 磷酸钙”是指一种合成的磷酸钙材料,它具有与天然存在的骨骼中发现的相近的小晶畴,其特征是有一个宽的不太清晰的 X 射线衍射峰和 Ca/P 比小于 1.67。PCA 磷酸钙不必限于单一的磷酸钙相,只要它显示磷灰石矿物的特征 X 射线衍射峰,即,在 20-35°C 有两个宽峰,一个峰中心在 26°,第二个峰中心在 32°。

[0030] 附图简述

[0031] 参照以下附图来说本发明,列出该图只是为了说明,而无意用来限制本发明。

[0032] 图 1 表示了含有无定形磷酸钙和二水合磷酸二钙 (DCPD) 的磷酸钙粉末在高速球磨机中高速研磨之前和研磨 3、10、15 和 24 小时后的 X-射线衍射图。

[0033] 发明详述

[0034] 提供了可成型的自硬化多孔磷酸钙组合物,其化学成分与天然骨骼相近,并且当被引入到体内的植入部位里保持黏聚性。这些骨植入材料,不管其化学成分如何,都是高度诱导成骨的。磷酸钙组合物的孔隙率(孔的数目和大小)由硬化过程中从混合物中逸出的发泡剂的释放速率决定。另外,在硬化时,这些孔性植入材料显示出显著的抗压强度。

[0035] 这种可成型的、自硬化多孔磷酸钙组合物包含磷酸钙粉、发泡剂和生物相容性黏聚剂(例如黏合剂)。当与生理上可接受的流体结合时,磷酸钙粉产生一种可成型的糊体,它硬化和反应,形成低晶磷灰石磷酸钙。优选该低晶磷灰石磷酸钙的 Ca/P 比小于 1.67。例如,该低晶磷灰石磷酸钙的总 Ca/P 比在 1.0-1.67 的范围内,优选 1.3-1.65,更优选 1.4-1.6,最优选为 1.45-1.67(即,接近天然存在的骨骼)。最好是,低晶磷灰石磷酸钙的 Ca/P 比为约 1.5。这种 PCA 磷酸钙在体内重建形成骨骼。磷酸钙粉末的本性和/或生物相容性黏聚剂的存在,使得在骨植入材料中能包含大量的补充物质,例如,生物活性剂,如 DBM 颗粒,而不会损害它们的成型能力或机械强度。于是,植入材料在植入到体内的植入部位后,保持其黏聚性并在硬化时显示出显著的抗压强度。此外,包含发泡剂促进了在硬化的磷酸钙植入材料中孔的形成,这使血管、细胞、组织及药物的渗透成为可能,而不会损害植入材料的机械强度。特别是,至少在某些实施方案中,植入材料是高度诱导成骨的,尽管存在无机磷酸钙源。

[0036] 磷酸钙组合物的一个特点是其受发泡剂的存在促进的孔隙率。磷酸钙组合物的孔隙率是一种理想的特性,因为它有利于细胞迁移和渗透到磷酸钙组合物之内,从而细胞能分泌胞外骨基质。它还为血管形成提供了通路。孔性还提供了高表面积,用于提高活性物质的吸收和释放,以及增强细胞-基质相互作用。

[0037] 磷酸钙

[0038] 本发明的磷酸钙组合物可以只用一种无定形磷酸钙制备,或是将其与第二种磷酸

钙源组合制备。无定形的磷酸钙具有宽的弥散的 X-射线衍射图,它在纳米尺度上量度是均匀的,是从含钙和磷酸根离子源的溶液中快速沉淀形成的凝胶状物质。这种快速沉淀在磷酸钙晶核中产生了许多缺陷。在生理条件下,无定形磷酸钙具有高溶解度,高形成速率,和向 PCA 磷酸钙的高转化率。

[0039] 无定形磷酸钙的 Ca/P 摩尔比在约 1.1 至约 1.9 的范围内。在至少某些本发明实施方案中,无定形磷酸钙的 Ca/P 摩尔比小于 1.5。在特定的实施方案中, Ca/P 摩尔比为约 1.3-1.49。无定形磷酸钙的 Ca/P 摩尔比可以通过向含钙和磷酸根离子的溶液中加入另外的离子来改变。这些另外的离子的非限制性实例包括 CO_3^{2-} 、 Mg^{2+} 、 $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ 、硝酸根、亚硝酸根或乙酸根离子。在美国专利 5,650,176 和 6,214,368 中进一步描述了无定形磷酸钙的制备和表征,该专利被并入本文中作为参考文献。

[0040] 在至少某些实施方案中,无定形磷酸钙的含量大于或等于粉末组分的约 20% 重量。在特定的实施方案中,无定形磷酸钙的含量大于或等于粉末的约 30% 重量。

[0041] 在一些实施方案中,磷酸钙粉末中含有第二种磷酸钙源。该第二磷酸钙源可以是晶态或是无定形。适合用在本发明中的第二磷酸钙源包括酸性和中性磷酸钙,其化学计量比使得它们在与无定形磷酸钙反应时生成磷灰石磷酸钙。合适的酸性磷酸钙的非限制性实例包括偏磷酸钙,二水合磷酸二钙,磷酸七钙,磷酸三钙,二水合焦磷酸钙,低晶羟基磷灰石,焦磷酸钙和磷酸八钙。在特定的实施方案中,该第二磷酸钙是二水合磷酸二钙 (DCPD)。

[0042] 应当选择无定形磷酸钙和第二磷酸钙源,使得它们形成具有所要的总 Ca/P 摩尔比的磷酸钙粉末。于是,无定形磷酸钙和第二磷酸钙源的用量比为 1 : 10 至 10 : 1 或 1 : 5 至 5 : 1,或约 1 : 1。在至少某些实施方案中,所要的磷酸钙产物是低晶磷灰石 (PCA) 磷酸钙。因为从无定形磷酸钙和第二磷酸钙源形成 PCA 磷酸钙的反应基本上进行到反应完全,所以无定形磷酸钙和第二磷酸钙源的 Ca/P 摩尔比应当等于产物的摩尔比。PCA 磷酸钙的 Ca/P 摩尔比在约 1.1 和约 1.9 之间。因此,根据至少某些本发明实施方案,无定形磷酸钙和第二磷酸钙源的 Ca/P 摩尔比应在约 1.1 和约 1.9 之间。在一些实施方案中,无定形磷酸钙和第二磷酸钙源的 Ca/P 摩尔比为约 1.1-1.7。优选的是,无定形磷酸钙和第二磷酸钙源在组合时,形成 Ca/P 摩尔比小于 1.67 的低晶磷灰石 (PCA) 磷酸钙。在例如美国专利 6,027,742、6,214,368、6,287,341、6,331,312 和 6,541,037 中描述了优选的低晶磷灰石磷酸钙组合物,这些专利均并入本文作为参考文献。

[0043] 一种低温、高机械强度磷酸钙组合物也能被用来制备含发泡剂和黏聚剂的磷酸钙组合物。这样一种低温高机械强度磷酸钙组合物描述于例如美国专利 5,783,217 中,该专利并入本文作为参考文献。

[0044] 或者是,利用在足以使磷酸钙固体机械融化并将磷酸钙固体的晶畴减小到小于约 100nm 的力对磷酸钙固体进行高能研磨,所得到的无定形或纳米晶磷酸钙粉末可以用来制备多孔磷酸钙组合物。高能研磨可以用来制备结晶度和粒度减小和固态结构改变的单组分和多组分磷酸钙粉末。因为所形成的粉末具有小得多的结晶度,此过程被称作“非晶化”,该粉末被称作“非晶化粉末”。这些变化被用来控制硬化速率,固化、反应程度和 / 或最终产物的硬度。

[0045] 在本发明这一方面的一项或多项实施方案中,将单独一种磷酸钙源进行非晶化并与发泡剂和生物相容性粘聚剂混合。可能最好是将单一的磷酸钙源非晶化 (例如,高能研

磨),以便提高其反应活性,或改变其在与其它磷酸钙化合物或其它试剂的反应中的性质。也可能发生粉末的相互作用和反应。组合物中的磷酸钙组分可以只包括非晶化的磷酸钙粉末,也可以包括一种非晶化的磷酸钙粉末与常规的磷酸钙、钙源和/或磷酸根源的组合以提供磷酸钙组分。然后将该磷酸钙组合物(由磷酸钙粉末、发泡剂和生物相容性黏聚剂组成)与水化介质混合,例如水、含水溶液(如盐水或磷酸盐缓冲液)或血清混合,形成硬化的多孔磷酸钙产物。

[0046] 在本发明这一方面的另一实施方案中,将两种或多种粉末(其中至少一种是磷酸钙源)进行本发明的高能研磨过程。因此,在一项或多项实施方案中,粉末中可包含两种或多种磷酸钙。在一项或多项实施方案中,将磷酸钙源与第二种粉末,例如磷酸根源或钙源(或需要的其它试剂),混合并进行高能研磨以得到非晶化的粉末。除了上面对于单一组分粉末所述的作用,例如提高反应活性和降低结晶度以外,多组分粉末的高能研磨还能促进粉末之间的相互作用和反应。

[0047] 非晶化程度可以用傅里叶变换红外光谱和/或X射线衍射法监测。两种谱图上的清楚明确的峰都随着结晶度下降变成宽和不清楚的峰,如下面更详细说明的那样。按照本发明的一个或多个实施方案的非晶化的粉末具有高于 $0.7\text{g}/\text{cm}^3$ 的振实密度(与之相比,常规粉末的振实密度小于 $0.6\text{g}/\text{cm}^3$)。研磨的效率还影响由水化的含有该非晶化磷酸钙粉末(糊体)制备的最终硬化磷酸钙胶固材料的孔隙率。本发明的非晶化粉末比其常规的粉末对应物堆积得更有效,因此会形成紧密堆积的、但是多孔的磷酸钙产物。

[0048] 在高能球磨中,一种或多种磷酸钙被置于容器中,利用在转动杆或臂的摇动下作无规运动的球研磨。可以使用例如商品名称Attritor Model 101HD, Fritch Pulverisett 4, ASI Uni-Ball Mill II 和 Zoz Simoloyer[®]的研磨机械。高能研磨将磷酸钙破碎成纳米结构颗粒,其量级小于约100纳米(nm),比表面积为约 $50\text{--}150\text{m}^2/\text{g}$ 。将这种纳米结构颗粒均匀混合,形成一种缺乏长程晶序的高密度均匀产物粉末。高能研磨方法,包括高能球磨,及其对磷酸钙源的影响,在2002年8月16日提交的题为“Synthesis of Calcium Phosphates by Mechano-Chemical Process”的同时待审美国专利申请10/222,670中有进一步的描述,该申请并入本文作为参考文献。

[0049] 在至少某些实施方案中,磷酸钙被研磨少于或等于约24小时。在一些实施方案中,磷酸钙被研磨约15小时。在其它实施方案中,磷酸钙被研磨约3小时。随着高能研磨时间增加,磷酸钙的非晶化程度提高,其X射线衍射图变得更宽和更弥散(例如见图1)。

[0050] 磷酸钙粉末的用量将随植入材料的预定用途和所要求的特性而变。在某些实施方案中,磷酸钙粉末的用量为粉末组分的约20–99%重量(例如,至少约30%重量)。在其它实施方案中,磷酸钙粉末的含量为粉末组分的约50–99%重量(例如,至少约85%重量)。

[0051] 发泡剂

[0052] 本发明的多孔磷酸钙组合物还包含一种发泡剂。发泡剂可以是植入之前溶在磷酸钙组合物中的一种气体。该气体可以在压力下溶于磷酸钙组合物中,即,将组合物材料置于加压的气体气氛中,但该气体对于胶结反应呈惰性。然后在暴露于生理温度时(即,在注射或植入时),由于气体溶解度随温度升高而减小,气体被释放出来。在这些环境下,气体的和随后的孔形成仅在体内硬化期间发生,而不是在施用之前。这特别有吸引力,因为孔形成不希望在室温下于注射器内发生。合适的气体包括,但不限于,二氧化碳、空气、氮气、氦、氧和

氮。

[0053] 或者是,发泡剂可以是在溶解时释放气体的固体材料。例如,碳酸盐(如碳酸氢钠)放出二氧化碳,因为它转化成不稳定的碳酸中间体,它随后转化成二氧化碳和水。在一项实施方案中,发泡剂是碳酸氢钠,其在磷酸钙组合物中的含量为 0.5-40%重量。在 2002 年 5 月 31 日提交,并于 2002 年 12 月 12 日作为美国专利申请出版物 No. 20020187104 公布的题为“Calcium Phosphate Delivery Vehicles for Osteoinductive proteins”的 U. S. S. N. 10/160,607 中,可以找到对发泡剂及其应用的更详细的描述。发泡剂也可以是两种或多种组分的联合,当它们在水化介质(例如水、pH 缓冲盐水和血清)存在下结合时,由于该两组分或多组分之间的化学反应而释放出气体。最好是选择该两种或多种组分并按预定的摩尔比结合,从而在一段时间内产生一定量的气体。由发泡剂的两种或多种组分产生的气体以受控的速率释放,促进了硬化过程中磷酸钙组合物内相互交连孔的形成。

[0054] 本发明的磷酸钙组合物中孔的形成优选通过加入发泡剂和黏度调节剂(例如生物相容性黏聚剂)来实现。选择发泡剂使其在生理温度如约 37℃,或在约 30-43℃ 的范围内,缓慢发泡,而黏度调节剂则改善胶固材料的黏聚性。得到的胶固材料是可塑和自硬化的。硬化的胶固材料显示为具有相互连通孔道的连续基质。

[0055] 在其它实施方案中,硬化的磷酸钙组合物显示出至少约 5-60% 的孔隙率。优选该磷酸钙组合物的孔隙率为约 5%,更优选为约 10、20 或 30%,最优选为约 40、50 或 60%。在一项优选的实施方案中,磷酸钙有至少约 50% 的孔隙率。该孔隙率是由于发泡剂的气体组分的受控释放作用而形成的。

[0056] 在其它实施方案中,磷酸钙用预先确定的两种或多种组分的混合物作为发泡剂来制备,它在水化时反应产生气态副产物,气态副产物的释放促进了磷酸钙组合物内的互连孔的形成。例如,发泡剂可以包含按预定比例制备的两种组分;第一种组分具有化学式 M_xCO_3 ,第二种组分具有化学式 M'_yHCO_3 ,其中 M 和 M' 是一价阳离子, $x = 2, y = 1$ 。优选的一价阳离子包括钠(Na)、钾(K)、锂(Li)、铷(Rb)、铯(Cs)、银(Ag)、铊(Tl)和铵(NH_4^+)。或者是, M 和 M' 分别是二价和一价阳离子, $x = 1, y = 1$ 。优选的二价阳离子包括钡(Ba)、镉(Cd)、钙(Ca)、钴(Co)、铜(Cu)、铁(Fe)、镁(Mg)、锰(Mn)、镍(Ni)、锶(Sr)和锌(Zn),而优选的一价阳离子包括钠(Na)、钾(K)、锂(Li)、铷(Rb)、铯(Cs)、银(Ag)、铊(Tl)和铵(NH_4^+)。磷酸钙组合物的孔隙率受 CO_2 从这种发泡剂混合物中释放的速率控制。在溶剂化之前,发泡剂是稳定的固体形式。在溶剂化时, CO_2 从这些混合物中释放的速率取决于:合成混合物的总溶度积(K_{sp})和 M_xCO_3 与 M'_yHCO_3 的摩尔比。优选的碳酸盐与碳酸氢盐的摩尔比在约 1 : 1 至约 1 : 9 的范围内。更优选为约 1 : 2, 1 : 3, 1 : 4, 1 : 5, 1 : 6, 1 : 7 和 1 : 8。

[0057] 在一种构造形式中,将 Na_2CO_3 与 $NaHCO_3$ (摩尔比 1 : 9) 的混合物加到磷酸钙粉末和黏聚剂中。当该混合物用非缓冲溶液水化时,能原位形成稳定的糊状物,填充许多临床缺损。当该糊状材料被置于缺损部位时,在体温下造成了受控的孔形成。孔形成过程通过 CO_2 气的释放继续 4-5 分钟,形成硬化的形状吻合的固体,其中含有中值孔径标称 10-100 μm 的相互连通的孔,抗压强度在至少约 1MPa、更优选至少约 10MPa 或更高的量级。

[0058] 在第二种构造形式中,将 Na_2CO_3 与 $NaHCO_3$ (摩尔比 1 : 1) 的混合物加到磷酸钙粉末和黏聚剂中。当该混合物用非缓冲液水化时,能原位形成稳定的糊状物,填充各式各样

的临床缺损。当该糊状材料被置入缺损部位中时,在体温下引起受控的孔形成。孔形成过程通过 CO₂ 气的释放继续 0-1 分钟,形成硬化的、形状吻合的固体,其中含有中值孔径标称 1-10 μm 的相互连通的孔,抗压强度至少为约 1MPa,更优选至少为约 10MPa 或更高。

[0059] 生物相容性黏聚剂

[0060] 本发明的磷酸钙组合物包含一种生物相容性黏聚剂。合适的生物相容性黏聚剂的非限制性实例包括聚合物,选自:多糖类,核酸,碳水化合物,蛋白质,多肽,聚(α-羟基酸),聚(内酯),聚(氨基酸),聚(酸酐),聚(原酸酯),聚(酸酐-CO-酰亚胺),聚(原碳酸酯),聚(α-羟基烷酸酯),聚(二噁烷酮),聚(磷酸酯),聚(L-丙交酯)(PLLA),聚(D, L-丙交酯)(PDLLA),聚乙交酯(PGA),聚(丙交酯-CO-乙交酯)(PLGA),聚(L-丙交酯-CO-D, L-丙交酯),聚(D, L-丙交酯-CO-亚丙基碳酸酯),聚羟基丁酸酯(PHB),聚(ε-己内酯),聚(δ-戊内酯),聚(γ-丁内酯),聚(己内酯),聚丙烯酸,聚羧酸,聚(盐酸烯丙胺)。聚(氯化二烯丙基二甲铵),聚(亚乙基亚胺),聚富马酸丙二醇酯,聚乙烯醇,聚乙烯基吡咯烷酮,聚乙烯,聚甲基丙烯酸甲酯,碳纤维,聚乙二醇,聚氧乙醇,聚(乙烯基醇),聚(乙烯基吡咯烷酮),聚(乙基噁唑啉),环氧乙烷-CO-环氧丙烷嵌段共聚物,聚(对苯二甲酸乙二醇酯),聚酰胺,及它们的共聚物。优选的黏聚剂还包括藻酸,阿拉伯胶,瓜尔胶,黄原胶,明胶,壳多糖,脱乙酰壳多糖,乙酸脱乙酰壳多糖,乳酸脱乙酰壳多糖,硫酸软骨素, N, O-羧甲基脱乙酰壳多糖,葡聚糖(例如, α-环糊精, β-环糊精, γ-环糊精,或硫酸葡聚糖钠),纤维蛋白胶,甘油,透明质酸,透明质酸钠,纤维素(例如,甲基纤维素,羧甲基纤维素,羟丙基甲基纤维素或羟乙基纤维素),葡糖胺,蛋白聚糖,淀粉(例如,羟乙基淀粉或可溶性淀粉),乳酸,环氧乙烷与环氧丙烷共聚物,甘油磷酸钠,胶原,糖原,角蛋白,丝及它们的混合物。在一些实施方案中,生物相容性黏聚剂是水溶性的。水溶性黏聚剂在植入材料植入体内后不久就由其溶解出来,从而在骨植入材料中引入大孔隙。这种大孔隙通过增加了破骨细胞和成骨细胞在植入部位的通路并因此提高了重建活性,使骨植入材料的骨传导性增大。

[0061] 生物相容性黏聚剂可以在粉末组分的制造期间的不同阶段以各种各样的数量加到多孔磷酸钙组合物中。生物相容性黏聚剂的用量为约 1-50% 重量。在本发明的几个实施方案中,生物相容性黏聚剂的用量少于或等于粉末组分重量的 40%,优选少于或等于 30% 重量,更优选少于或等于 20% 重量,最优选少于或等于 10% 重量。在一项优选的实施方案中,生物相容性黏聚剂的用量为约 5% 重量。

[0062] 在本发明的一项实施方案中,磷酸钙组合物中包含 DBM。在一些情形,骨植入材料的 DBM 含量是如此之高,以致于尽管组合物的磷酸钙组分提供了成型能力和黏聚性,但可能还希望有一种黏聚剂用来进一步增大骨植入材料在植入期间的机械强度。在特定的实施方案中,生物相容性黏聚剂的用量为粉末组分的 10% 重量。在优选的实施方案中,磷酸钙组合物的 DBM 含量为约 40-50% 重量,磷酸钙组分的含量为约 35-45% 重量,黏聚剂的含量为约 5-10% 重量,发泡剂的含量为约 5-10% 重量,所有这些组分加起来为 100% 重量。生物相容性黏聚剂可以以溶液形式加到 DBM 颗粒中,例如,黏聚剂可以将 DBM 颗粒包覆。生物相容性黏聚剂可以加到包含 DBM 颗粒和磷酸钙粉末的本发明组合物粉末组分中。本领域技术人员能够决定对于指定用途所需要的黏聚剂的数量和加入方法。

[0063] 生物活性剂

[0064] 本发明的磷酸钙组合物还可以包含一种生物活性剂。通常,该生物活性剂应当在多孔磷酸钙的制造期间在糊状物内保持活性,或者能够在多孔磷酸钙的制造之后被激活或再活化。或者是,生物活性剂可以在多孔磷酸钙组合物(无论是可模制的糊状物或硬化的胶固材料的形式)植入到宿主中时加入,或者在该载体于含水环境中在 37℃ 下硬化后加入。

[0065] 可以掺加到本发明的组合物中的生物活性剂包括,但不限于,有机分子、无机材料、蛋白质、肽、核酸(例如,基因、基因片段、基因调节序列和反义分子)、核蛋白、多糖、糖蛋白和脂蛋白。可以掺加到本发明组合物中的各类生物活性化合物包括,但不限于,抗癌药物,抗生素,镇痛药,消炎药,免疫抑制剂,酶抑制剂,抗组胺药,抗惊厥药,激素,肌肉松弛药,解痉药,眼药,前列腺素,抗抑郁药,抗精神病药,营养因子,诱骨形成蛋白,生长因子和疫苗。

[0066] 抗癌药物包括烷化剂,钠试剂,抗代谢药,拓扑异构酶抑制剂,抗肿瘤抗生素,抗有丝分裂药,芳化酶抑制剂,胸苷酸合成酶抑制剂, DNA 拮抗剂,法尼基转移酶抑制剂,泵抑制剂,组蛋白乙酰转移酶抑制剂,金属蛋白酶抑制剂,核苷还原酶抑制剂, TNF α 激动剂/拮抗剂,内皮素 A 受体拮抗剂,维甲酸受体激动剂,免疫调节剂,激素和抗激素药物,光动力学药物和酪氨酸激酶抑制剂。

[0067] 列在表 1 中的任何生物活性剂均可使用。

[0068] 表 1

[0069]

烷化剂	环磷酰胺 白消安 异环磷酰胺 美法仑 六甲蜜胺 塞替派 苯丁酸氮芥 达卡巴嗪 卡莫司汀	洛莫司汀 丙卡巴肼 六甲蜜胺 磷酸雄莫司汀 氮芥 链佐星 替莫唑胺 司莫司汀
铂试剂	顺铂 奥沙利铂 螺铂 羧基邻苯二甲酸合铂 四铂 奥马铂	卡铂 ZD-0473 (AnorMED) 洛铂 (Aeterna) 沙铂 (Johnson Matthey) BBR-3464 (Hoffmann-La Roche) SM-11355 (Sumitomo)

[0070]

	异丙铂	AP-5280 (Access)
抗代谢药	阿扎胞苷 吉西他滨 卡培他滨 5- 氯尿嘧啶 氟尿苷 2- 氯脱氧腺苷 6- 巯基嘌呤 6- 硫鸟嘌呤 阿糖胞苷 2- 氟脱氧胞苷 甲氨蝶呤 idatrexate	拓优得 三甲曲沙 氧考福霉素 氟达拉滨 喷司他丁 雷替曲塞 羟基脲 地西他滨 (SuperGen) 氯法拉滨 (Bioenrision) 伊罗夫文 (MGI pharma) DMDC (Hoffmann-La Roche) 乙炔基胞苷 (Taiho)
拓扑异构酶抑制剂	安吡啶 表柔比星 依托泊苷 替尼泊苷或米托蒽醌 伊立替康 (CPT-11) 7- 乙基 -10- 羟基喜树碱 托泊替康 dexrazoxanet (Topo Target) 匹蒽醌 (Novuspharma) 若贝霉素类似物 (Exelixis) BBR-3576 (Novuspharma)	卢比替康 (SuperGen) 甲磺酸伊立替康 (Daiichi) Quinamed (chemGenex) 吉马替康 (Sigma-Tau) 二氟替康 (Beaufour-Ipsen) TAS-103 (Taiho) 伊沙芦星 (Spectrum) J-107088 (Merck&Co) BNP-1350 (BioNumerik) CKD-602 (Chong Kun Dang) KW-2170 (Kyowa Hakko)
抗肿瘤 抗生素	放线菌素 D 多柔比星 脱氧比星 戊柔比星 柔红霉素 表柔比星 therarubicin 伊达比星	氨茶非特 azonafide 蒽吡唑 oxantrazole 洛索蒽醌 硫酸博来霉素 (blenoxane) 博来霉素 博来霉素 A
	柔红霉素苯胺 普卡霉素 紫菜毒素 氰基吧啉多柔比星 米托蒽醌 (诺安托)	丝裂霉素 B 博来霉素 C MEN-10755 (Menarini) GPX-100 (Gem pharmaceuticals)

[0071]

抗有丝 分裂药	紫杉醇 多西他赛 秋水仙碱 长春碱 长春新碱 长春瑞滨 长春地辛 多拉司他汀 10 (NCI) 利索新 (Fujisawa) 米伏布林 (Warner-Lambert) 西马多丁 (BASF) RPR 109881A (Aventis) TXD 258 (Aventis) 埃坡霉素 B (Novartis) T 900607 (Tularik) T 138067 (Tularik) 含球藻环肽 52 (Eli Lilly) 长春氟宁 (Fabre) auristatin PE (Teikoku Hormone) BMS 247550 (BMS) BMS 184476 (BMS) BMS 188797 (BMS) 二十二碳六烯酸和紫杉醇轭合物 (Protarga)	SB 408075 (Glaxo Smithkline) E7010 (Abbott) PG-TXL (Cell Therapeutics) IDN 5109 (Bayer) A 105972 (Abbott) A 204197 (Abbott) Lu 223651 (BASF) D 24851 (ASTA Medica) ER-86526 (Eisai) 风车子抑碱 A4 (BMS) 异高软海绵 -B (PharmaMar) ZD 6126 (AstraZeneca) PEG- 紫杉醇 (Enzon) AZ 10992 (Asahi) IDN-5109 (Indena) AVLB (Prescient NeuroPharma) Azaepothilone B (BMS) BNP-7787 (BioNumerik) CA-4 前药 (OxiGENE) 多拉司他汀 -10 (NIH) CA-4 (OxiGENE)
芳化酶抑制剂	氨鲁米特 来曲唑 阿那曲唑	伊西美坦 阿他美坦 (BioMedicines) YM-511 (Yamanouchi)
	福美坦	
胸苷酸合成酶 抑制剂	培美曲塞 (Eli Lilly) ZD-9311 (BTG)	诺拉曲塞 (Eximias) CoFactor™ (Biokeys)
DNA 拮抗剂	曲贝替定 (phama Mar) 葡磷酰胺 (Baxter International) 白蛋白 +32P (Isotope Solutions) thymectacin (NewBiotics) 依度曲肽 (Novartis)	马磷酰胺 (Baxter International) 阿帕奇醌 (Spectrum Pharmaceuticals) 06 苄基鸟嘌呤 (Paligent)
法尼基转移酶 抑制剂	arglabin (NuOncology Labs) 氯那法尼 (Schering-Plough)	替匹法尼 (Johoson&Johnson) 紫苏子醇 (DOR Biopharma)

[0072]

泵抑制剂	CBT-1 (CBA Pharma) 他立喹达 (Xenova) MS-209 (Schering AG)	佐苏喹达三盐酸盐 (Eli Lilly) 比立考达 (Vertex)
组蛋白乙酰转移酶抑制剂	他地那兰 (Pfizer) SAHA (Aton pharma) MS-275 (ScheringAG)	新戊酰氧甲基丁酸酯 (Titan) 缩肽 (Fujisawa)
金属蛋白酶抑制剂	新伐司他 (Aeterna Laboratories) 马立马司他 (British Biotech)	CMT-3 (CollaGenex) BMS-275291 (Celltech)
核苷还原酶抑制剂	麦芽酚鎓 (Titan) triapine (Vion)	tezacitabine (Aventis) didox (Molecules for Health)
TNF α 激动剂 / 拮抗剂	Virulizin (Lorus Therapeutics) CDC-394 (Celgene)	来那度胺 (Celgene)
内皮素 A 受体拮抗剂	阿曲生坦 (Abbott) ZD-4054 (Astra Zeneca)	YM-598 (Yamanouchi)
维甲酸受体激动剂	芬维 A 胺 (Johoson&Johnson) LGD-1550 (Ligand)	阿利维 A 酸 (Ligand)
免疫调节剂	干扰素 个体化癌症疫苗 (Antigenics) GMK (Progenics) 腺癌疫苗 (Biomira) CTP-37 (AVI Biopharma) IRX-2 (Immuno-Rx)	dexsome therapy (Anosys) pentrix (Australian cancer Technology) ISF-154 (Tragen) 癌症疫苗 (InterCell) norelin (Biostar) BLP-25 (Biomira)
	PEP-005 (Peplin Biotech) Synchrovax 疫苗 (CTL Immuno) 黑素瘤疫苗 (CTL Immuno) p21RAS 疫苗 (Gem Vax)	MGV (Progenics) β -alethine (Dovetail) CLL 疗法 (Vasogen)

激素和抗激素药	雌激素 缀合雌激素 炔雌醇 氯烯雌醚 idenestrol 己酸羟孕酮 甲羟孕酮 睾丸酮 丙酸睾丸酮 氟甲睾酮 甲基睾丸酮 己烯雌酚 甲地孕酮 他莫昔芬 托瑞米芬 地塞米松	泼尼松 甲泼尼龙 泼尼松龙 氨鲁米特 亮丙立德 戈舍瑞林 高丙瑞林 比卡鲁胺 氟他胺 奥曲肽 尼鲁米特 米托坦 P-04 (Novogen) 2- 甲氧基雌二醇 (EntreMed) 阿佐昔芬 (Eli Lilly)
光动力学药物	他拉泊芬 (Light Sciences) Theralex (Theratechnologies) 莫特沙芬钆 (pharmacyclics)	Pd-bacteriopheophorbide (Yeda) 替沙林钆 (pharmacyclics) 金丝桃素
酪氨酸激酶抑制剂	伊马替尼 (Novartis) 来氟米特 (Sygen/pharmacia) ZD 1839 (AstraZeneca) 厄洛替尼 (Oncogene Science) 卡纳替尼 (Pfizer) 角鲨胺 (Genaera) SU 5416 (Pharmacia) SU 6668 (Pharmacia) ZD 4190 (AstraZeneca)	海蛞蝓提取物 (pharmaMar) CEP-701 (Cephalon) CEP-751 (Cephalon) MLN518 (Millenium) PKC412 (Novartis) 染料木黄酮类似物 0 曲妥珠单抗 (Genentech) C 225 (ImClone) rhu-Mab (Genentech)
	ZD 644 (AstraZeneca) 伐他拉尼 (Novartis) PKI 116 (Novartis) GW 2016 (Glaxo Smith Kline) EKB-509 (Wyeth) EKB-569 (Wyeth)	MDX-H210 (Medarex) 2C4 (Genentech) MDX-447 (Medarex) ABX-EGF (Abgenix) IMC-1C11 (ImClone)

[0073] 抗生素包括氨基糖苷类 (例如, 庆大霉素、妥布霉素、奈替米星、链霉素、阿米卡星、新霉素)、杆菌肽、碳青霉烯类 (例如, 亚胺培南 / cislactatin)、头孢菌素类、多黏菌素 E、鸟洛托品、单环内酰胺 (例如氨曲南)、青霉素类 (例如, 青霉素 G、青霉素 V、甲氧西林、nafcillin、苯唑西林、氯唑西林、双氯西林、氨苄西林、阿莫西林、羧苄西林、替卡西林、哌拉

西林、美洛西林、阿洛西林)、多黏菌素 B、喹诺酮类和万古霉素;以及抑菌药,例如,氯霉素,克林霉素,大环内酯(例如红霉素、阿奇霉素、克拉霉素)、林可霉素、呋喃妥因、磺胺类药、四环素类(例如,四环素、多西环素、米诺环素、地美环素)和甲氧苄啶。还包括甲硝唑、氟喹诺酮类和 ritampin。

[0074] 酶抑制剂是抑制酶反应的物质。酶抑制剂的实例包括依酚氯铵, N- 甲基毒扁豆碱, 溴新斯的明, 硫酸毒扁豆碱, 他克林, 1- 羟基马来酸他克林, 碘杀结核菌素, 对溴四咪唑, 10-(α -二乙基氨基丙酰) 酚噻嗪盐酸盐, 氯化卡米达佐, 半胆碱-3,3,5-二硝基儿茶酚, 二酰基甘油激酶抑制剂 I, 二酰基甘油激酶抑制剂 II, 3- 苯基炔丙胺, N⁶- 单甲基-L- 精氨酸乙酸酯, 卡比多巴, 3- 羟基苄基胍, 胍屈嗪, 氯吉兰, 得普尼林, 羟胺, 磷酸异丙烟胍, 6- 甲氧基四氢-9H- 吡啶并吡啶, 尼亚拉胺, 帕吉林, 奎纳克林, 氨基脲, 反苯环丙胺, N, N- 二乙基氨基乙基-2,2-二苯基戊酸酯盐酸盐, 3- 异丁基-1- 甲基咕吨酮, 罂粟碱, 吲哚美辛, 2- 环辛基-2- 羟基乙胺盐酸盐, 2,3- 二氯- α - 甲基苄胺 (DCMB), 8,9- 二氯-2,3,4,5- 四氢-1H-2- 苯并**葸**盐酸盐, 对氨鲁米特, 酒石酸氨鲁米特, 3- 碘化酪氨酸, α - 甲基酪氨酸, 乙酰唑胺, 双氯非那胺, 6- 羟基-2- 苯并噻唑磺酰胺和别嘌醇。

[0075] 抗组胺药包括美吡拉敏, 氯苯那敏, 四氢唑啉等。

[0076] 消炎药包括皮质类固醇类, 非甾类消炎药(例如, 阿斯匹林, 保泰松, 吲哚美辛, 舒林酸, 托美丁, 布洛芬, 吡罗昔康和 Fenamates), 乙酰氨基酚, 非那西丁, 金盐, 氯喹, D- 青霉胺, 甲氨蝶呤, 秋水仙碱, 别嘌醇, 丙磺舒和磺吡酮。

[0077] 肌肉松弛剂包括美芬新, 美索巴莫, 环苯扎林盐酸盐, 盐酸苯海索, 左旋多巴 / 卡比多巴和吡哌立登。

[0078] 解痉剂包括阿托品, 东莨菪碱, 奥芬铵和罂粟碱。

[0079] 镇痛药包括阿斯匹林, 保泰松, 吲哚美辛, 舒林酸, 托美丁, 布洛芬, 吡罗西康, fenamates, 乙酰氨基酚, 非那西丁, 硫酸吗啡, 硫酸可待因, 麦啉, 烯丙吗啡, 阿片类(例如, 硫酸可待因, 柠檬酸芬太尼, 氢可酮酒石酸氢盐, 洛哌丁胺, 硫酸吗啡, 那可丁, 去甲可待因, 去甲吗啡, 二甲基吗啡, nor-binaltorphimine, 丁丙诺非, chlornaltrexamine, 氟曲沙胺酮, 纳布啡, 纳洛酮, 纳洛胍, 纳曲酮和纳曲吲哚), 普鲁卡因, 利多卡因, 丁卡因和地布卡因。

[0080] 眼药包括荧光素钠, 玫瑰红, 醋甲胆碱, 肾上腺素, 可卡因, 阿托品, α - 糜蛋白酶, 透明质酸酶, 倍他洛尔, 毛果芸香碱, 噻吗洛尔, 噻吗洛尔盐, 以及它们的组合物。

[0081] 前列腺素是本领域已知的, 是一类天然存在的与长链脂肪酸化学上相关的化合物, 它具有多种生物效应。

[0082] 抗抑郁药是能够防止或减轻抑郁的物质。抗抑郁药的实例包括丙米嗪, 阿米替林, 去甲替林, 普罗替林, 地昔帕明, 阿莫沙平, 多塞平, 马普替林, 反苯环丙胺, 苯乙胍和异卡波胍。

[0083] 营养因子是其持续存在会改善细胞的存活力和寿命的那些因子。营养因子包括, 但不限于, 血小板衍生的生长因子 (PDGF), 嗜中性白红细胞活化蛋白, 单核细胞趋化蛋白, 巨噬细胞炎症性蛋白, 血小板因子, 血小板碱性蛋白和黑素瘤生长刺激因子; 表皮生长因子, 转化生长因子 (α), 成纤维细胞生长因子, 血小板衍生的内皮细胞生长因子, 胰岛素样生长因子, 胶质衍生的生长神经营养因子, 睫状神经营养因子, 神经生长因子, 骨生长 / 软骨诱发因子 (α 和 β), 骨形态发生蛋白, 白介素(例如, 白介素抑制剂或白介素受体, 包括白介素

1 至白介素 10), 干扰素 (例如干扰素 α 、 β 和 γ), 造血因子 (包括促红细胞生成素), 粒细胞集落刺激因子, 巨噬细胞集落刺激因子和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子; 肿瘤坏死因子, 转化生长因子 (β) (包括 β -1、 β -2、 β -3), 抑制素和活化素; 以及骨形态发生蛋白, 例如 OP-1、BMP-2 和 BMP-7。

[0084] 激素包括雌激素 (例如, 雌二醇, 雌酮, 雌三醇, 己烯雌酚, 炔雌醚, 氯烯雌醚, 炔雌醇, 美雌醇), 抗雌激素 (例如, 氯米芬, 他莫昔芬), 孕酮 (例如, 甲羟孕酮, 炔诺酮, 羟孕酮, 炔诺孕酮), 抗孕酮 (米非司酮), 雄激素 (例如, 环戊丙酸睾酮, 氟甲睾酮, 达那唑, 睾内酯), 抗雄激素 (例如, 醋酸环丙孕酮, 氟他胺), 甲状腺激素 (例如, 三碘甲状腺原氨酸, 甲状腺素, 丙硫氧嘧啶, 甲巯咪唑和 iodixode), 和垂体激素 (例如, 促皮质激素, sumatotropin, 缩宫素和加压素)。激素通常用于激素替代疗法和 / 或用于生育控制。甾体激素, 例如泼尼松, 也作为免疫抑制剂和消炎剂使用。

[0085] 成骨蛋白

[0086] 生物活性剂最好选自称作转化生长因子 β (TGF- β) 蛋白质超家族的蛋白质家族, 这包括活化素、抑制素和骨形态生成蛋白 (BMP)。最优选的是, 该活性剂包含至少一种选自通常称作 BMP 的亚类蛋白的蛋白质, 已发现 BMP 具有成骨活性和其它的生长及分化类型活性。这些 BMP 包括例如美国专利 5, 108, 922、5, 013, 649、5, 116, 738、5, 106, 748、5, 187, 076 和 5, 141, 905 中公开的 BMP 蛋白 BMP-2、BMP-3、BMP-3b、BMP-4、BMP-5、BMP-6 和 BMP-7; PCT 出版物 WO 91/18098 中公开的 BMP-8; 和 PCT 出版物 WO 93/00432 中公开的 BMP-9, PCT 申请 WO 94/26893 中公开的 BMP-10; PCT 申请 WO 94/26892 中公开的 BMP-11, 或 PCT 申请 WO 95/16035 中公开的 BMP-12 或 BMP-13; BMP-14; 美国专利 5, 635, 372 中公开的 BMP-15; 或美国专利 5, 965, 403 中公开的 BMP-16。其它的 BMP 包括 BMP-17 和 BMP-18。

[0087] 可以在本发明的磷酸钙组合物中作为活性剂使用的其它 TGF- β 蛋白质包括 Vgr-2, Jones et al., Mol. Endocrinol. 6:1961 (1992), 和任何生长及分化因子 (GDFs), 包括在 PCT 申请 WO 94/15965, WO 94/15949, WO 95/01801, WO 95/01802, WO 94/21681, WO 94/15966, WO 95/10539, WO 96/01845, WO 96/02559 及其它中所述的那些。可用于本发明中的还可以是 WO 94/01557 中公开的 BIP, 日本专利公布号 7-250688 中公开的 HP00269, 和 PCT 申请 WO 93/16099 中公开的 MP52。以上所有申请的公开内容都并入本文作为参考文献。目前优选用在本发明中的一亚类 BMP 包括 BMP-2, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-10, BMP-12, BMP-13, BMP-14 和 MP52。活性剂最优选是 BMP-2, 其序列公开在美国专利 5, 013, 649 中, 其内容并入本文作为参考文献。本领域已知的其它成骨剂也可以使用, 包括例如特立帕肽 (ForteoTM), Chrysalin[®], 前列腺素 E2 或 LIM 蛋白。

[0088] 生物活性剂可以重组产生, 或是从蛋白组合物中纯化。生物活性剂, 假设是 TGF- β , 例如 BMP, 或其它的二聚蛋白, 可以是同源二聚的, 也可以是与其它 BMP (例如, 由 BMP-2 和 BMP-6 各一个单体组成的异源二聚体), 或与 TGF- β 超家族的其它成员, 例如活化素、抑制素和 TGF- β 1, 异源二聚的 (例如, 由 BMP 和 TGF- β 超家族相关成员各一个单体组成的异源二聚体)。这些异源二聚蛋白的实例描述于例如已公布的 PCT 专利申请 WO 93/09229 中, 其说明书并入本文作为参考文献。

[0089] 生物活性剂还可含有其它的试剂, 例如, Hedgehog, Frazzled, 脊索发生素, 头发生素, Cerberus 和抑滤泡素蛋白。这些蛋白质家族在 Sasai 等, Cell 79:779-790 (1994)

(脊索发生素), PCT 专利出版物 WO 94/05800(头发生素)和 Fukui 等, *Devel. Biol.* 159: 131(1993)(抑滤泡素)中有一般的描述。Hedgehog 蛋白描述于 WO 96/16668、WO 96/17924 和 WO 95/18856 中。Frazzled 家族蛋白是近来发现的蛋白家族,它与称作 Frizzled 的受体蛋白家族的胞外结合域具有高度同源性。Frizzled 家族的基因和蛋白描述于 Wang 等, *J. Biol. Chem.* 271:4468-4476(1996)中。活性剂还可以包括其它可溶性受体,例如 PCT 专利出版物 WO 95/07982 中公开的截短的可溶性受体。根据 WO 95/07982 的说明,本领域技术人员会认识到,对于很多其它的受体蛋白都能制备截短的可溶性受体。以上出版物被并入本文作为参考文献。

[0090] 能有效刺激现有的或浸润的祖细胞或其它细胞的成骨活性提高的成骨蛋白的数量,将取决于所治疗的缺损的大小和本性,以及所使用的载体。

[0091] 通常,包含在磷酸钙组合物中的生物活性剂的数量,在该磷酸钙组合物用于骨再生方面时,是以治疗或改善骨缺损或损伤;或者当该磷酸钙组合物作为释放生物活性剂的贮库载体使用时,足以治疗或防止疾病或障碍。“足够数量”是指为促进临床上相关作用,磷酸钙组合物中需要的生物活性剂的数量。为将本发明用于治疗所使用的生物活性化合物的足够数量与给药方式和患者的年龄、体重及一般健康状况有关。最终将由医师决定适当的数量和给药方案。对于本文中所述的任何单一疗法或联合疗法,合适的数量可以由动物模型、体外试验,和/或临床研究确定。

[0092] 例如,磷酸钙组合物中包含的生物活性剂的数量可以是约 0.1ng 至约 1.0g;优选约 1.0 μ g 至约 100.0mg;最优选约 10.0 μ g 至约 1.0mg。

[0093] 生物活性剂可以在本发明的磷酸钙组合物配制期间或之后加入。可以方便地在组合物固化之前将活性剂混入其中。或者是,可以在载体成型和硬化后将其暴露在治疗药物的溶液中。这一特殊方法特别适合已知对磷灰石材料具有亲和性的蛋白质。可以使用含有生物活性剂的缓冲液代替水,作为自硬化糊体在植入前于其中灌注的水溶液。可以使用任何 pH 范围的缓冲液,但最常用的 pH 范围是 5.0-8.0,在优选的实施方案中 pH 应与所要求的治疗药物的延长的稳定性及效力相匹配,在最优选的实施方案中, pH 范围为 5.5 至 7.4。合适的缓冲剂包括,但不限于,磷酸盐、磷酸盐(例如磷酸盐缓冲液)和有机缓冲剂,例如, Tris, HEPES 和 MOPS。最常见的是,缓冲剂应根据它与宿主组织的生物相容性和与治疗药物的相容性来选择。对于核酸、肽或抗生素的大多数应用,简单的磷酸盐缓冲液已经足够。

[0094] 去矿化的骨基质

[0095] 在一项优选实施方案中,生物活性剂是 DBM。DBM 是一种有机诱导成骨材料,常由用酸处理的去矿化长骨碎片得到。酸处理溶解了骨中的无机矿物组分和酸溶性蛋白,留下了胶原基质以及酸不溶性蛋白和生长因子(例如,见, Glowacki et al. (1985) *Clin. Plast. Surg.* 12(2):233-241; Covey et al. (1989) *Orthop. Rev.* 17(8):857-863)。在残留的酸不溶性蛋白和生长因子之中是诱导成骨因子,例如骨形态生成蛋白(BMPs)和转化生长因子(TGFs)。因此,DMB 是诱导骨生成的和可完全吸收的,当与本文所述的磷酸钙粉末联合使用时,生成骨植入材料,因其精密模拟了天然骨的化学成分,所以是高度生物相容的。优越的是,DMB 的成本比很多其它现有的有机骨组合物添加剂(如分离的 BMPs)都低。

[0096] 本发明磷酸钙组合物中使用的 DBM 优选由自生的或异基因的来源衍生。如上所述, DBM 可以通过用酸处理长骨碎片这样一种本领域普通技术人员熟知的方法得到。或

者是,可以使用市售的 DBM(例如, Allsource、American Red Cross、Musculoskeletal Transplant Foundation、Regeneration Technologies, Inc., 和 Osteotech, Inc. 供应的 DBM)。

[0097] 在至少某些实施方案中,骨植入材料中的 DBM 的含量为粉末组分重量的约 10-70%。在特定的实施方案中,DBM 的含量等于粉末组分重量的约 60%。在其它实施方案中,DBM 的含量为粉末组分重量的约 1-50%。在另外的实施方案中,DBM 含量少于或等于粉末组分重量的约 1-20%。优选 DBM 含量少于或等于粉末组分重量的约 15%。

[0098] 在给定的组合物中,DBM 的数量将随生物相容性黏聚剂的数量及磷酸钙组合物的预定用途和要求的特性而变。在特定的实施方案中,黏聚剂和 DBM 在磷酸钙组合物中的含量比为约 1 : 1(例如,在粉末组分的约 0.5-20%重量的范围内),优选约 1 : 5,更优选约 1 : 10,最优选约 1 : 20。在优选的实施方案中,黏聚剂的含量为约 5%重量或更少。

[0099] 本领域技术人员能够确定对于特定用途所需的 DBM、磷酸钙、发泡剂和黏聚剂的数量。例如,一种优选的磷酸钙粉末组合物包含约 15%重量的 DBM 和约 85%重量的磷酸钙粉末,后者含有约 1-10%重量的黏聚剂和发泡剂。另一优选的磷酸钙粉末组合物包含约 45%重量 DBM,约 45%重量的磷酸钙粉末,和约 10%重量的生物相容性黏聚剂和发泡剂。

[0100] DBM 颗粒可具有各式各样的尺寸和物理形式。如同 DBM 的数量一样,DBM 颗粒的尺寸和形式将随骨植入材料的预定用途而变。在一些实施方案中,DBM 颗粒的最长尺度在约 35 μm 和约 850 μm 之间,并可进一步具有小于约 5 的纵横比。在其它实施方案中,DBM 颗粒的本性是纤维状的。在一些实施方案中,这些 DBM 纤维的长度约为 50 μm 至 3mm。在其它实施方案中,这些 DBM 纤维的长度约为 250 μm 至 2mm。在一些实施方案中,这些 DBM 纤维的纵横比大于 4。在其它实施方案中,这些 DBM 纤维的纵横比大于 10。这些 DBM 纤维可以是针形,平均宽度与平均厚度之比小于 5。得到各种尺寸的 DBM 颗粒的方法是本领域技术人员熟知的,公开在例如 2002 年 11 月 15 日提交的题为“Cohesive Demineralized Bone Compositions”的同时待审美国专利申请 10/298,112 中,该申请被并入本文作为参考文献。值得注意的是,由长骨碎片或刮屑得到的针形、纤维状 DBM,与由碎骨得到的 DBM 不同,当掺入到本发明的磷酸钙组合物中时提供增大的黏聚性。

[0101] 由于 DBM 有降低它所掺入的植入材料的机械强度的倾向,所以向磷酸钙基骨植入材料中掺入 DBM 受到限制。因此,含有为使其诱导成骨能力达到最大所需数量 DBM 的植入材料难以操作,缺乏成型能力,并在植入体内后失去其黏聚性和形状。硬化的磷酸钙产物也弱得多。另外,DBM 在含有无机骨传导组分(例如磷酸钙)的骨植入材料中不能有效地使用,因为该无机组分抑制 DBM 的诱导成骨作用。

[0102] 本发明的磷酸钙组合物通过加入一种生物相容性黏聚剂克服了这些已知的缺点,这些黏聚剂为磷酸钙组合物在生物活性剂(如 DBM)存在的情况下提供了优良的可成型性和黏聚性能。本发明的磷酸钙组合物还包含一种发泡剂,它促进了互相连通的孔的形成而不降低硬化的磷酸钙组合物的机械强度。这些孔促进了能分泌胞外骨基质的细胞向磷酸钙组合物内的迁移和渗透。这些孔还提供了血管形成的通路和高的表面积,从而增强了活性物质的吸收和释放以及细胞-基质相互作用。

[0103] 释放以上列出的试剂的标准计划和方案是本领域已知的。将生物活性剂以能够向植入部位释放合适剂量的数量加入到磷酸钙载体中。在大多数情形,利用医师已知的适用

于所研究的特定试剂的指导原则确定剂量。本发明的磷酸钙糊体中所包含的或是要加入到硬化的输送载体中的生物活性剂的典型数量,很可能与以下变量有关:病症的类型和程度,特定患者的总体健康状况,活性剂的制剂,以及所用的释药载体的生物吸收能力。可以使用标准的临床试验使得对任何特定的生物活性剂的剂量和用药频率最优化。

[0104] 在至少某些实施方案中,向粉末组分中加入合适数量的生理上可接受的流体以得到自硬化的糊状或油灰状材料。合适的生理上可接受的流体的非限制性实例包括水,盐水,磷酸盐缓冲液和生物流体。生物流体包括与生命有机体有关的任何处理过或未处理的流体(包括悬浮液),特别是血液,包括全血,温血或冷血以及储存或新鲜的血液;处理过的血液,例如用至少一种生理溶液(包括但不限于盐水、营养液和/或抗凝药溶液)稀释的血液;血液组分,例如血小板浓集物(PC)、采集分离的血小板、富血小板血浆(PRP)、贫血小板血浆(PPP)、无血小板血浆、血浆、血清、新鲜冷冻血浆(FFP)、由血浆得到的组分、浓缩红细胞(PRC)、血沉棕黄层(BC);由血液或血液组分衍生的或由骨髓衍生的血液产物;与血浆分离并再悬浮于生理流体中的红细胞;和与血浆分离并再悬浮于生理流体中的血小板。生物流体还包括,例如,奶、尿、唾液、精液或阴道流体,滑液、淋巴液、羊水、卵的卵黄囊、卵壳或尿囊内的流体,汗和眼泪。

[0105] 与大多数先前已知的植入材料相比,这些糊状组合物的流动特性改善,这归因为包含了无定形的磷酸钙和该磷酸钙粉的本性。可以向粉末中加入不同数量的流体以得到具有所要求特性的糊体。例如,在至少一些实施方案中,使用每克粉末 0.5-2.0cc 的流体制备可成型的,即,能够模制并保持其形状的糊体。在至少某些实施方案中,糊状物是可注射的,即,能够通过 16-18 号注射器。

[0106] 在加入生理上可接受的流体和适量的发泡剂之后,将该糊状物输送到植入部位。该糊状物可以被注射到植入部位中,或是形成所要的形状并装入到植入部位内。可以将糊状物形成所要求的形状,令其硬化,然后置于植入部位中。预成型装置可以是手工成型、模制或机械装置。本领域技术人员会了解适合给定用途的植入步骤。

[0107] 本发明的磷酸钙组合物 Ca/P 摩尔比与天然存在的骨骼相近。Ca/P 摩尔比在约 1.1 至约 1.9 之间。在一些实施方案中,Ca/P 摩尔比为 1.2-1.67。优选 Ca/P 摩尔比小于 1.67,并可以小于约 1.5。

[0108] 糊状物向硬化的磷酸钙的转化在环境温度或体温下发生。此硬化过程不受加入生物活性剂(例如 DBM)、生物相容性黏聚剂或发泡剂的不利影响。磷酸钙组合物的“自硬化”或“自固化”在环境温度下(即,在约 20-25°C 下)缓慢发生,在体温下(即,约 32-37°C)则显著加快。例如,糊状物在环境温度下于大约 20-60 分钟后硬化,而在体温下,该糊状物在约 3-15 分钟后硬化。在例如美国专利 6,214,368、6,027,742 和 5,650,176 中进一步描述了磷酸钙的形成和固化特性,上述专利被并入本文作为参考文献。

[0109] 硬化的本发明磷酸钙组合物,尽管包含着由发泡剂产生的孔,仍具有显著的抗压强度。抗压强度对于某些类型的骨植入物,例如脊柱植入物,是特别理想的特性。根据一些实施方案,磷酸钙骨植入材料的抗压强度大于约 1MPa。在特定的实施方案中,抗压强度为 1MPa-20MPa,并可高达 30、40、50、60、70、80、90 或 100MPa。超过 100MPa,例如 120-150MPa 的抗压强度也可以实现。在其它特定的实施方案中,抗压强度至少为 2-10MPa。由于发泡剂的作用而具有约 5-60% 的孔隙率的组合物保持至少约 1MPa 的抗压强度,甚至能显示出高

达 100MPa 的抗压强度。

[0110] 一理糊状物转化成硬化的磷酸钙,则磷酸钙被重建到体内的骨中。如上所述,磷酸钙的化学成分和晶体结构与天然骨相似,并可在生物体内吸收。重建涉及磷酸钙的缓慢降解,和所形成的钙及磷酸根材料被身体利用生成新骨。按照本发明的一个或多个实施方案制备的骨植入材料的重建是一个长期过程,通常进行几个月至几年的时间。高密度的骨植入材料需要更长的重建周期,因为植入物的高密度和低孔性减慢了细胞和生物物质的渗透,造成重建以长期的向内扩散过程的形式发生。本发明的磷酸钙植入物的特征是由于孔隙率增大而重建加快。

[0111] 本发明将用以下实施例示例说明,它们并非是用来限制本发明。

[0112] 实施例

[0113] 实施例 1 :去矿化骨基质纤维的制备

[0114] 此实施例描述了实质上是纤维状的 DBM 颗粒的制备。

[0115] 将长骨清洗,除去所有的结缔组织。去掉终板骨以便分离出长骨的皮质骨组分,除去骨髓。将中空的长骨在乙醇中洗涤,进一步清洁和去除脂肪。然后将骨在车床上旋削。利用将一个直缘的碳化硅切割工具压入骨的表面内进行刮削。该切割工具沿骨的长度前进以得到一段骨屑。骨的旋转速度与切割工具的运动速度一致,这可以由熟悉此工艺的人员控制,以便调节材料的去除速度。用此方法得到厚度为 50-250 μm 、宽度 2-10nm、长度无规的切屑。然后将这些切屑在乙醚中洗以除去剩余的脂肪。去矿化是通过在 0.5M 盐酸 (HCl) 中搅拌切屑 1 小时来完成。去矿化后,将纤维在去离子水中冲洗,直至除掉多余的酸。然后将纤维在乙醇和乙醚中冲洗,令乙醚蒸发,将纤维干燥。平均纤维长度无规地分布在约 250 μm 和 2mm 之间,平均纤维厚度为约 50-250 μm 。

[0116] 实施例 2 :无定形磷酸钙的制备

[0117] 此实施例描述了无定形磷酸钙粉末的制备。

[0118] 制备 1000g 七水合磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 在 14.4ml 蒸馏水中的溶液并搅拌之。向此溶液中依次加入 555g 氢氧化钠 (NaOH)、333g 碳酸氢钠 (NaHCO_3) 和 2.2g 十水合焦磷酸钠 ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$),形成溶液 1。

[0119] 配制 208g 四水合硝酸钙 ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 在 5.6L 蒸馏水中的溶液并搅拌之。向此溶液加入 11g 六水合氯化镁 ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$),形成溶液 2。

[0120] 在室温下将溶液 2 快速地倒入溶液 1 中,搅拌 1 分钟。无定形磷酸钙立即并完全沉淀。悬浮液的 pH 为 13 ± 0.5 ,保持该 pH 以防止沉淀转化成磷灰石或其它高晶度磷酸钙。

[0121] 然后利用篮式离心过滤法将沉淀立即与其母液分离,用大约 100L 蒸馏水洗。最后洗涤液的离子电导率小于 300 μs 证实洗涤完全。此过程产生约 500g 无定形磷酸钙的凝胶滤饼。

[0122] 将无定形磷酸钙的湿饼立即冷冻干燥,以便在干燥期间保存其无定形结构。除去约 80% 的水。将约 100g 的冷冻干燥粉末在 450 $^{\circ}\text{C}$ 煅烧 1 小时。

[0123] 该无定形磷酸钙产物的 Ca/P 比小于 1.5,通常为 1.35-1.49。

[0124] 实施例 3 :二水合磷酸二钙 (DCPD) 的制备

[0125] 此实施例描述了二水合磷酸二钙粉末的制备。

[0126] 20g 磷酸氢二铵 ($(\text{NH}_4)_2 \cdot \text{HPO}_4$) 溶在 1L 蒸馏水中制备溶液 3,它含有浓度为 0.15M

的可利用的磷酸根 (PO_4^{-3})。溶液 3 的 pH 经检验为 7.0–9.0。

[0127] 将 35.5g 四水合硝酸钙 ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 溶在 0.5L 蒸馏水中,配制成可利用的钙 (Ca^{+2}) 浓度为 0.3M 的溶液 4。溶液 4 的 pH 经检验为 5.0–8.0。

[0128] 将溶液 4 倒入溶液 3 中,接着搅拌约 2 分钟。形成的悬浮液的 pH 经检验在 5.2 和 6.2 之间。将该悬浮液抽气过滤,形成均匀的滤饼。用 750ml 蒸馏水洗滤饼 3 次 (总计 2.25L)。洗完后,将滤饼与滤纸分离,在层流通风橱中干燥 24 小时。将干燥的粉末研磨通过一只标称 120 μm 孔径的筛。

[0129] 实施例 4 :磷酸钙粉末的制备

[0130] 此实施例描述了含有无定形磷酸钙和第二种磷酸钙源的磷酸钙粉末的制备。

[0131] 将按实施例 2 中所述制备的无定形磷酸钙和按实施例 3 中所述制备的晶态 DCPD 按 1 : 1 的重量比 (例如各 25g) 混合。将混合的粉末在一台球磨机中于 100RPM 下高能研磨约 3 小时。形成的粉末的平均晶畴大小小于约 100nm。

[0132] 实施例 5 :DBM/ 磷酸钙粉末的制备

[0133] 此实施例描述了含有 DBM 颗粒和磷酸钙粉末的一种粉末的制备。

[0134] 将如实施例 1 中所述制备的 0.4g 纤维状 DBM 颗粒和如实施例 4 中所述制备的 0.6g 磷酸钙粉末用 Turbula 混合机混合。

[0135] 实施例 6 :DBM/ 磷酸钙 / 黏聚剂粉末的制备

[0136] 此实施例描述含有 DBM 颗粒、磷酸钙粉和生物相容性黏聚剂的粉末的制备。

[0137] 将 0.5g 如实施例 1 中所述制备的 DBM 颗粒,0.45g 如实施例 4 中所述制备的磷酸钙粉,和 0.05g 羧甲基纤维素在混合罐中混合。形成的粉末含有约 50% 重量的 DBM 颗粒,约 45% 得量的磷酸钙粉末和约 5% 重量的羧甲基纤维素。

[0138] 实施例 7 :DBM/ 磷酸钙 / 发泡剂 / 黏聚剂粉末的制备

[0139] 此实施例描述了含有去矿化骨颗粒、磷酸钙粉、发泡剂和生物相容性黏聚剂的粉末的制备

[0140] 0.50g 从组织库得到的人的去矿化骨粉,0.40g 按实施例 4 制备的磷酸钙粉,0.05g 碳酸氢钠和 0.05g 羧甲基纤维素在一只硅橡胶混合机中混合。

[0141] 实施例 8 :磷酸钙 / 发泡剂 / 黏聚剂粉末的制备

[0142] 此实施例描述了含有磷酸钙粉、发泡剂和生物相容性黏聚剂的粉末的制备。

[0143] 0.85g 按实施例 4 中所述制备的磷酸钙粉,0.1g Effersoda (1 : 9 摩尔比的碳酸盐 / 碳酸氢盐) 和 0.05g 羧甲基纤维素在一只硅橡胶混合机中混合。

[0144] 实施例 9 :可成型的自硬化糊的制备

[0145] 此实施例描述了从上述粉末制备可成型的自硬化糊状物。

[0146] 将实施例 4–8 中所述粉末的各 1.0g 样品与足量的盐水 (0.9% USP, 0.2–2.0cc) 混合,形成可模制的糊。

[0147] 所形成的糊是可成型的,可经由注射器挤出,在湿环境中黏聚,并且在 37°C 下于 20 分钟之内硬化。

[0148] 0.10cc 糊状物经由具有平头针头的 1cc Becton Dickinson 滑动针头注射器挤出,形成一个 0.1cc 的糊状物圆柱体。

[0149] 实施例 10 :可成型和自硬化糊状物的黏聚性

[0150] 此实施例描述了对于按照本发明制备的可成型和自硬化糊状物的黏聚性的评价。

[0151] 将 1.0g 按实施例 9 中所述制备的糊状物样品形成直径 1.0cm 的球,使球落在一烧杯水中。该球保持其原始形状至少 10 分钟,没有明显的可观察到的变形、溶胀或质量损失。从水中取出样品,滤除水,测定样品在浸入时的质量损失程度。未观察到可测量数量的质量损失。

[0152] 实施例 11 :CaP/ 发泡剂 /DBM 组合物的抗压强度

[0153] 此实施例描述了按照本发明制备的可成型和自硬化的糊状物的湿抗压强度的评价。

[0154] 5g 实施例 8 中所述粉末用每 g 粉末 0.35cc 的生理盐水水化,形成糊状物。

[0155] 此糊状物可以均匀地加到直径 6mm、高 12mm 的 5 只圆柱形不锈钢模具中。然后将模具在 37℃ 的生理盐水浴中浸泡 2 小时。

[0156] 从模具中取出 5 只硬化的样品,用一台万能试验机 (Instron, Canton, MA) 以 5mm/分的滑块速度试验抗压强度。磷酸钙组合物的评价表明抗压强度至少为 1MPa。

[0157] 实施例 12 :骨植入材料的诱导或骨能力的测定

[0158] 测定无胸腺大鼠肌肉或皮下囊袋中植入后的异位骨形成是表征诱导成骨材料的现行标准。此实施例描述了应用无胸腺大鼠模型评价按本文所述制备的骨植入材料并将该组合物与其它 DBM 制剂相比较。

[0159] 将 6-7 周龄雄性无胸腺大鼠 (*Rattus norvegicus*, Cr1 :NIH-rnu nudes, Charles River laboratories) 随机地植入四种不同的试验制品,两个在胸肌肉系统 (胸大肌) 中,两个在后肢 (四头肌) 中。每只动物接受腹膜内 (IP) 注射氯胺酮 (100mg/kg) 和塞拉嗪 (10mg/kg)。在全麻醉后,用手术刀在第一植入部位作一小刀口,用剪刀将皮肤、皮下组织和筋膜对切。用尖头剪形成一个肌肉囊以进入预定的肌肉。在与肌肉纤维相同的方向切第一刀,张开剪刀以形成小袋,保持袋张开,用镊子施加 0.1ml 试验制品。然后在其余三个植入部位重复此手术。如果需要,再施用半剂量的氯胺酮 / 塞拉嗪以保证麻醉足以完成植入步骤。

[0160] 植入后,对每只动物逐日临床观察 7 天。随后进行双周临床观察。

[0161] 植入 6 周后取出试验制品。将动物用超剂量的 CO₂ 麻醉,然后立即取出。收集的组织限于植入材料和大约 0.5cm 余量的骨骼肌和 / 或结缔组织。将组织样品在 10% 中性缓冲的福尔马林中固定至少 12 小时并转移至组织学等级的乙醇中。将组织样品在植入物中间截面横向对切,按常规加工进行石蜡包埋,切片置于玻璃载片上,用苏木精和伊红染色,放上盖玻片。如果需要,在组织分析之前将组织样品另外脱钙。

[0162] 以对于施加的植入物单盲的方式将代表不同的肌肉植入物切片的随机化的组织载玻片提供给病理学家。骨形成的数量用 0-4 级评分,0 表示没有骨形成的迹象,1、2、3 和 4 分别指示 < 25%、26-50%、51-75% 和 > 75% 的植入物表面参与新骨形成。衬有成骨细胞和 / 或腔隙内含有骨细胞和软骨细胞及其基质的新骨,以及被新骨的小梁包围的骨髓,都被认为是骨新生过程的一部分。还记下植入物的形状和尺寸 (相对于原始的 5mm 圆柱体),新骨在植入物内的分布,以及植入物基质的性质。一旦完成对载玻片的评价,即将分组评价的关键数据提供给评估者以总结结果。

[0163] 实施例 13 :骨植入材料的重建的评价

[0164] 在尺寸严格的骨缺损中植入是表征骨移植材料愈合能力的标准方法。此实施例描

述了本发明的磷酸钙组合物作为骨移植材料在兔模型的尺寸严格的缺损内的植入。

[0165] 按以下方式,在 4-5kg 新西兰雌性白兔的远侧股髁中形成双侧圆柱形缺陷。将动物用氯胺酮 30mg/kg、塞拉嗪 5mg/kg、阿托品 1-3mg/kg 肌肉注射麻醉,并在插管后用异氟烷维持。将双膝及以上面积处的皮肤除毛,用 7.5% 聚维酮碘和 70% 异丙醇清洗,并将手术场所适当用消毒布遮盖。通过侧向切口暴露出侧向股髁。利用在恒定的盐水灌注下打钻,在每个侧向股髁上形成直径 5.0mm、深 10mm 的骨缺陷。然后将本发明的磷酸钙组合物作为骨移植材料装入到该缺损中。随后常规关闭和缝合。通常留下一些缺损不填充以作为负对照,另一些用取自兔的髂嵴的小片状自体骨移植填充,作为正对照。

[0166] 手术后监测动物发生感染的迹象,这不常见。所有显示疼痛或不适的动物均每 12 小时皮下注射丁丙诺非(每 Kg 体重 0.02-0.05mg,必要时)。在恢复期以正常方式对其进行观察和治疗。不采用监禁方式。如果任何动物发生骨折,则立即将其安乐死。

[0167] 在手术后的适当时刻,通过静脉内过量注射戊巴比妥(浓度:390mg/ml,每 10 磅体重 1ml)将动物处死。这与美国兽医协会安乐死小组推荐的方法一致。所有各组手术移植的结果均用放射照相、组织学和组织形态学的方法进行评价。

[0168] AP 放射照片在手术后按规则的间隔得到。将动物麻醉,以俯卧位置放置,拍摄单侧 X 光照片。在所有处置过程中要小心尽量减小缺损部位的负载。

[0169] 对于组织学评价,将组织在 10% 中性缓冲的福尔马林中固定。对样品进行加工以用于常规的不脱钙的切片。将组织加工并包埋在甲基丙烯酸甲酯(MMA)中,切成矢状解剖平面。将切片用 Stevenel 蓝染色或 Goldner 三色染剂染色以用于组织分析。对组织切片进行新骨形成面积,未愈合的空洞或纤维状组织,以及残留的植入材料的评价。

[0170] 实施例 14:可模制的自固化大孔磷酸钙胶固材料的愈合能力评价

[0171] 按照实施例 9 中所述,制备实施例 8 中所述的粉末,并按实施例 13 中所述植入,与取自髂嵴的小片状自体骨和空置的未处理的缺损相比较进行评价。12 周后处死动物并收取组织。组织学样品显示出试验样品和自体骨都接近完全愈合。在未处理的缺损中未观察到愈合。

[0172] 其它实施方案

[0173] 本说明书中提到的所有出版物、专利和专利申请,均以各独立的出版物或专利申请专门和个别地被指出并入作为参考文献的同样程度,被并入本文作为参考文献。

[0174] 虽然已联系具体的实施方案对本发明作了描述,但是应该理解,它能够作进一步的修改,本发明打算涵盖一般遵照本发明的原则的任何变化、应用和修改,包括在本发明所属领域中的已知或惯用作法的范围内与本发明内容的偏离,这些偏离可被应用于此前所述的基本特点,并遵从权利要求的范围。

[0175] 其它的实施方案是在权利要求的范围之内。

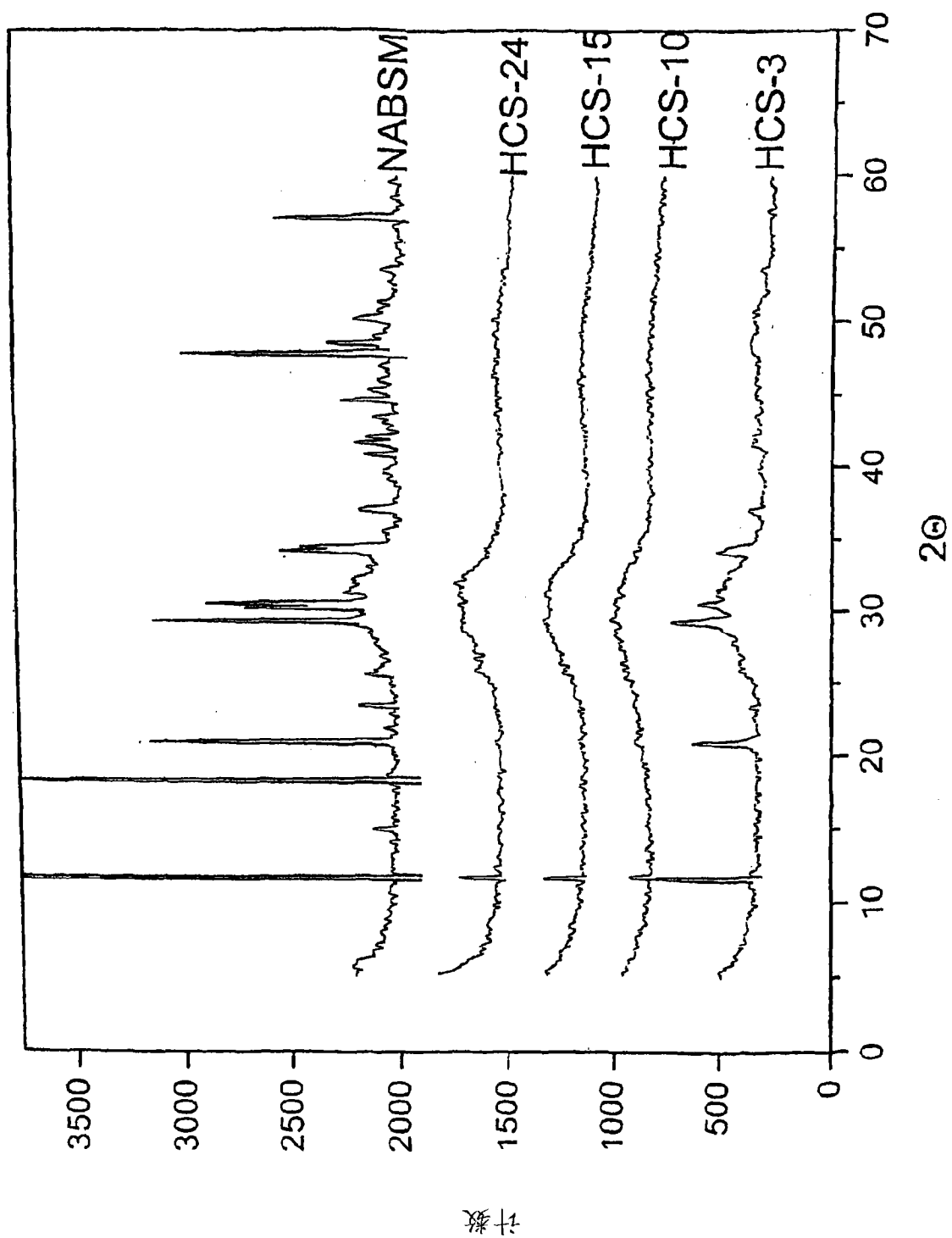


图 1