

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
A61K 9/14
A61K 9/16 A61K 9/20
A61K 47/02 A61K 9/00



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01817676.3

[43] 公开日 2004 年 1 月 21 日

[11] 公开号 CN 1469736A

[22] 申请日 2001.8.21 [21] 申请号 01817676.3
[30] 优先权
[32] 2000. 8.21 [33] GB [31] 0020610.2
[86] 国际申请 PCT/GB01/03739 2001.8.21
[87] 国际公布 WO02/15881 英 2002.2.28
[85] 进入国家阶段日期 2003.4.21
[71] 申请人 迪泰克有限公司
地址 英国谢菲尔德
[72] 发明人 罗德尼·马丁·萨姆布鲁克
韦恩·奥斯汀
马克·罗德尼·萨姆布鲁克
迈克尔·汉农

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
代理人 过晓东

权利要求书 5 页 说明书 31 页 附图 3 页

[54] 发明名称 多孔载体的用途
[57] 摘要

一种具有互联孔隙的多孔载体，该载体承载药物或者其它材料，用于控制药物或其它材料的释放。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1、一种预制成的多孔陶瓷载体，其包括有孔的互联骨架，大多数孔为约 20—约 1000 微米，该载体的密度低于约 40%的理论值，所述孔包含第二种材料，该第二种材料从载体上释放的速度得到控制。

2、如权利要求 1 的载体，其中所述骨架由台架和支柱制成。

3、如权利要求 1 或 2 的载体，其中所述骨架的平均孔径为 20—800 微米。

4、如权利要求 3 的载体，其中所述平均孔径在 60—800 微米。

5、如权利要求 4 的载体，其中所述微孔在低于充分烧结所需条件下通过烧结载体的前体形成。

6、如前述权利要求之一的载体，其由骨架形成，且是生物相容性材料。

7、如前述权利要求之一的载体，其中所述密度约为理论密度的 10%—30%。

8、如前述权利要求之一的载体，其中所述孔包含一种或多种以下物质：生长因子、抗生素、维生素、蛋白质、激素、化疗药剂、或放射不透明剂等。

9、如权利要求 8 的载体，其中所述孔包含几种或多种以下生长因子：

- 骨生长材料
- FGF(成纤维细胞生长因子)

- IGF-1
- IGF-II
- PDGF(血小板衍生生长因子)
- TGF-B(转化生长因子)
- 骨形成或骨降解细胞
- BMP-Z
- HGH
- 人体衍生生长因子的浓缩液

10、如权利要求 8 的载体，其中所述化疗药剂是顺铂。

11、如权利要求 8 的载体，其中所述放射不透明剂是锝-67 或钐-153。

12、如权利要求 8 的载体，其中所述药剂是 MTX。

13、如前述权利要求之一的载体，其中所述孔包含一种或多种 Werner 型的配位络合物、大环络合物、茂金属、夹心络合物以及有机金属络合物。

14、如前述权利要求之一的载体，其中所述孔的表面被改性以控制第二种材料的释放。

15、如权利要求 1—14 之一的载体，其中利用酸或碱或等离子体或化学汽相沉积处理而改变孔的表面。

16、如权利要求 1—14 之一的载体，其中在可降解载体如生物可降解载体中的孔含有第二种材料。

17、如权利要求 16 的载体，其中所述生物可降解载体是胶原或聚合物。

18、如权利要求 16 或 17 的载体，其中所述载体为 PCPP.SA、PCC、CPP.SA、FAD-SAPTMC、PAA 等。

19、如权利要求 16—18 之一的载体，其中所述孔含有第二种材料或生物可降解载体的层，每层都不同于其它相邻层。

20、如权利要求 16—19 之一的载体，其中所述孔含有层状材料，配置为无药剂层和含药剂层的交互层，或者沿不同的胶原或聚合物层药剂浓度不同而配置。

21、如前述权利要求之一的载体，其中所述第二种材料通过物理或化学键或同时通过二者保持在载体的孔中。

22、如前述权利要求之一的载体，其中所述第二种材料通过离心、浸渍、真空浸渍或冷冻干燥技术中一种或多种技术引入到孔中。

23、如前述权利要求之一的载体，其中所述外表面已用包含药物的生物可降解聚合物涂覆。

24、如前述权利要求之一的载体，其中所述骨架由金属或非金属氧化物等形式形成。

25、根据权利要求 24 的载体，其中所述陶瓷可部分或完全再吸收。

26、如权利要求 25 的载体，其中所述骨架由磷酸钙或 HA 形成。

27、一种预制成的多孔陶瓷载体，其包括有孔的互联骨架，大多数孔的孔径为约 20—1000 微米，该载体的密度低于 40%理论密度，所述孔包含 MTX，MTX 的释放速度得到控制。

28、如权利要求 27 的载体，其中所述 MTX 通过离心和/或冷冻干燥承载到孔中。

29、一种预制成的多孔陶瓷载体，其包括有孔的互联骨架，大多数孔的孔径为约 20—1000 微米，该载体的密度低于 40%理论密度，所述孔含有 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ ， $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 的释放速度得到控制。

30、如权利要求 29 的载体，其中所述 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 通过真空浸渍技术承载到孔中。

31、一种预制成的多孔陶瓷载体，其包括有孔的互联骨架，大多数孔的孔径为约 20—1000 微米，该载体的密度低于 40%理论密度，所述孔含有 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 和乙交酯， $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 的释放速度得到控制。

32、一种预制成的多孔陶瓷载体，其包括有孔的互联骨架，大多数孔的孔径为约 20—1000 微米，该载体的密度低于 40%理论密度，所述孔含有顺铂，顺铂的释放速度得到控制。

33、一种预制成的多孔陶瓷载体，其包括有孔的互联骨架，大多数孔的孔径为约 20—1000 微米，该载体的密度低于 40%理论密度，所述孔含有顺铂和乙交酯，顺铂和乙交酯的释放速度得到控制。

34、一种预制成的多孔陶瓷载体，其包括有孔的互联骨架，大多数孔的

孔径为约 20—1000 微米，该载体的密度低于 40%理论密度，所述孔含有泼尼松龙，泼尼松龙的释放速度得到控制。

35、如前述权利要求之一的载体，将其成形用于整形外科的、上颌面的或颌面的取代物等。

36、如权利要求 1—34 之一的载体，将其成形设置于身体的肌肉部位、腹膜间部位、皮下部位、中心神经系统或 ocular 部位。

37、如权利要求 1—7、14 或 15、20、21 或 22 之一的载体，其中所述孔含有普通化学品或树脂或石油衍生物或炸药等。

多孔载体的用途

技术领域

本发明涉及多孔载体的用途。

背景技术

在我们的专利 EP0598783B(代理机构卷号为 P00914PCT(EP))中,我们描述并要求保护:

“一种制备由耐火颗粒组成的多孔耐火制品的方法,该方法包括下列步骤:

- a) 在液相载体中形成包含颗粒的悬浮液;
- b) 向悬浮液中导入气体;
- c) 除去液相载体从而获得具有衍生自泡沫的有孔的固体制品;
- d) 干燥; 以及
- e) 焙烧,

其特征在于该悬浮液包括一种可聚合的单体材料。”

在我们的专利申请 WO98/15505(代理机构卷号为 P01885PCT)中,我们描述并要求保护:

“一种制备由粘合的颗粒(如羟基磷灰石等)组成的多孔材料的方法,该方法包括下列步骤:

- a) 形成由液相载体、颗粒和可聚合的单体材料组成的悬浮液;
- b) 形成悬浮液的泡沫;
- c) 聚合泡沫结构体;
- d) 干燥该结构体以除去液相载体,获得具有衍生自泡沫的有孔的固体制品;

e) 焙烧该制品以除去有机粘合剂，并提供陶瓷粘合剂，

其特征在于在单体材料聚合之前，利用搅拌将小的气泡引入到悬浮相中以形成泡沫，并允许出现聚结。”

更特别地，在 WO98/15505 中我们描述并要求保护：

“一种制备由粘合的颗粒组成的多孔制品的方法，该方法包括下列步骤：

a) 形成由液相载体、颗粒和可聚合的单体材料组成的悬浮液；

b) 形成悬浮液的泡沫；

c) 聚合泡沫结构；

d) 干燥结构以除去液相载体，获得具有衍生自泡沫的有孔的固体制品；

e) 焙烧该制品以除去有机粘合剂，并提供陶瓷粘合剂，

其特征在于在聚合之前，利用搅拌将小的气泡引入到悬浮相中以形成泡沫，并允许发生聚结，而且在合适的温度进行焙烧以促进骨架晶胞的生长。”

在我们的专利申请 GB0009731.1(代理机构卷号为 P02810GB)中描述并要求保护一种在低压下通过挤压制备陶瓷泡沫的方法。利用这种方法制备的泡沫陶瓷在本发明中是有用的。

此处，将这些早期的专利申请中所有公开的内容引入本发明作为参考。

发明内容

现在惊奇地发现，根据早期专利申请中的方法制备的多孔载体的结构使该载体特别适合于承载各种材料，而且能有效控制承载材料的释放。

根据本发明的一个方面，提供了一种预制多孔陶瓷载体，其包括一种有孔的互联骨架，该互联骨架中的大多数孔的孔径在 20 到 1000 微米之间，载体的密度理论上低于 40%，孔中包含第二种材料，第二种材料从载体上释放的速度得到控制。

根据本发明，所述的载体包含一种预制多孔陶瓷载体网络，其包括一种

有孔的互联骨架，该互联骨架中大多数孔的孔径在 20 到 1000 微米之间，载体的密度理论上低于 40%。所述的骨架由台架和支柱制成。所述的孔的孔径分布控制为平均孔径在 50 到 800 微米之间，优选在 60 到 650 微米之间。可以优化孔径以满足具体的应用。例如，对于一般的细胞渗透以及血管形成 (vascularisation) 来说，载体的适合孔径约为 50 到 1000 微米范围内，而对于骨细胞内生长来说优选孔径在 100 到 500 微米范围内。需要在孔中沉积可降解材料的载体则需要更大的孔径以满足层的厚度或层的沉积。这样的载体可以通过上面引用的专利和专利申请中的方法制备。

载体具有基本上完全互联的孔隙，其密度低于理论密度的 30%。所述的密度可以大约在 10%到 40%之间，优选约为 30%。如果理论密度低于 10%，那么将会看到由于缺乏强度，载体会变脆。如果理论密度超过 40%，材料可能就不是全部互联，可能得不到预期的孔径。可以通过物理方法测定质量和体积以决定密度。理论值引自文献。

陶瓷载体可以由颗粒如氧化物和非氧化物制成。这些材料本身具有水稳定性，或者具有在加工条件下稳定的表面涂层。已经使用的材料包括氧化铝、锆、尖晶石、碳化硅、氧化锡、NZP、羟磷灰石或磷酸钙的其它衍生物、氧化锆、蓝晶石(kyanite)、堇青石等。当载体用于医用目的时，陶瓷可全部或部分再吸收。再吸收过程包括通过体液、酶或细胞的作用消除初始的移植物。例如，再吸收的磷酸钙可以被重新沉积为骨无机物、或者被身体重新利用，或者排泄出去。

优选预制的多孔性陶瓷载体具有可以控制的网络度。为了减少渗透过程中产生的压力梯度，以及为了将冷却时与不同热收缩相关的缺陷水平减少到最小，网络度应该较高。

为了确保具有基本上完全互联的孔隙，泡沫陶瓷的密度优选低于 30%。更高密度的陶瓷可以用于由于强度和渗透性的原因而需要更致密材料的环境中。

这些更致密、即密度高于理论密度的 30%且由于搅拌泡沫技术所限而最

大值为 60%的材料可以施加于不很密集的材料，在未淬火的或焙烧状态下产生遍布整个多孔材料的孔隙梯度。在使用之前，制品需要焙烧。可以改变这些层的厚度以适合应用。

通过凝胶铸造、凝结铸造等加工技术，更高密度甚至完全致密的层可施加于未淬火状态下的泡沫陶瓷。形成的制品在使用前需要焙烧。

可以方便地调节两相的比例，这样从体积上而言，泡沫陶瓷或第二相如金属相可以构成所形成主体的主要成分。

完全互联的孔结构允许对载体的孔进行深层渗透。渗透材料可以形成单独连续的基体，或者其可以简单地沉积在内壁上。

引入孔中的材料可以从各种材料中选取。这些材料包括生长因子如人体生长激素或形态蛋白质；巨噬细胞；抗生素如青霉素、四环素、mystain；维生素如维生素 D；蛋白质如多肽、蛋白质、激素等。特殊的材料包括：

- 骨生长材料
- FGF(成纤维细胞生长因子)
- IGF-1
- IGF-II
- PDGF(血小板衍生生长因子)
- TGF-B(转化生长因子)
- BMP-Z(骨形态蛋白质)
- HGH(人体生长激素)
- 人体衍生生长因子的浓缩液

其它的实例包括至少一种形成骨或降解骨的细胞。特别有用的细胞类型包括软骨细胞、骨细胞、成骨细胞、破骨细胞、间充质干细胞、成纤维细胞、肌细胞、肝细胞、实质细胞、肠起端细胞、神经细胞和皮肤细胞，它们可被用作初生组织外植体、初生组织外植体的制剂、孤立细胞、细胞系、变换细胞系和宿主细胞。材料也可以是化疗药剂或放射遮光剂。已经开发了许多类似的使用生物材料载体如碳颗粒、碘化的罂粟种子油脂肪酸乙基酯和血纤维

凝块的释放抗癌药物的输送系统，长期输送高浓度的化疗药剂，该方法减小了系统的副作用，这些实例也可以并入本申请。

因此，本发明可以提供一种将生物可适应陶瓷引入到人体或动物身体，并按照可控的释放速率向局部提供药源，从而更有效地治疗各种疾病的方法。特别地，本发明可以更有效地处理癌和肿瘤，通过使用顺铂等化疗药剂处理或者使用锶-67 或钐-153 等放射性药剂放射处理身体中的具体部位而将副作用降低到最小。在某些情况下，这些药剂最好固定在孔中。

骨肉瘤是一种恶性骨肿瘤，其中正常骨组织被破坏，通过反常的增生、纺锤体细胞基质产生含瘤的骨质。它是一种很常见原发性恶性肿瘤。利用抗代谢物辅助化疗，即手术后再化疗可以帮助阻止微量肿瘤转移和防止局部再出现肿瘤，但是，它也使骨连续生长，所以也会使骨选择生成肿瘤细胞。抗代谢物是一类干扰正常新陈代谢的药剂，这是由于它们的结构与合成 RNA 和 DNA 前体时的正常中间体类似。它们既可用作酶的基质，抑制酶，或者两者皆可。由于正常细胞和癌细胞间的新陈代谢不同，几种抗代谢物都有可能某种程度上对癌细胞起作用。

在癌症的化疗中，氨甲喋呤(MTX，叶酸的 4-氨基、10-甲基类似物)大量用于抗叶酸，文献认为它对白血病、乳腺癌、头和颈癌、淋巴癌、尿道癌、绒毛膜癌以及骨肉瘤具有活性。这类药剂代表了临床使用的大多数的化学治疗药物的最主要特征。MTX 是一种紧密键合的二氢叶酸还原酶(DHFR)的抑制剂，是一类维持细胞内叶酸盐池为完全还原形态四氢叶酸所必需的酶。

对于快速抑制细胞繁殖，MTX 是最活泼的，因为细胞毒素的影响主要出现在细胞循环的 S 阶段。药物作用期较长会使得更多的细胞进入细胞周期的 DNA 合成阶段，从而杀死更多的细胞。此外，MTX 聚谷氨酸的形成随药物作用期的增加逐渐提高，从而增加细胞毒性。MTX 的细胞毒素的影响也随药物浓度的增加而变大。因此，MTX 细胞毒素与绝对药物浓度和作用期密切相关。因此，自 70 年代早期以来，骨肉瘤用药的剂量都较高(1-33g/m²)。

载体具有生物相容性，即“材料实现特殊生物活性，或者引出适当反应

以实现相当复杂及有效功能以用于特殊用途的能力”。

生物材料必须能被接受、能被生物识别并完全吸收，以及具有生物活性而不是绝对惰性的。这导致“第二代”生物材料的发展，这些材料专门根据如下目标设计：生物材料应该能引发来自特殊细胞以及身体中植入点组织的明确的特征反应。这样的话，为了在表面或在临近新植入的 *prosthese* 位置快速沉积矿化骨基质以及获得更好的骨整合，它们可以提高成骨细胞的刺激。具有这些性质的一类生物材料是羟化磷酸钙陶瓷或羟磷灰石(HA)。

HA 是一类引发低致免疫反应的生物相容性和生物活性材料。HA 也具有骨传导性质，即将它放到有活力的骨或分化型骨形成细胞附近时，它能促进骨直接沿着或向着它表面的方向生长。而且，它通过向可以生长的新骨提供机械性支持晶格而允许复原骨痂前缘生长。人们很久以前就知道合成 HA 的晶体结构和骨的无机组分、骨矿物质是惊人的相似，研究显示在 HA 和骨之间形成高强度的非机械键。该性质使人们对其用作骨缺陷修理的生物材料方面的潜力产生很大的兴趣，因为它允许骨的直接化学键合，即促进骨沉积到表面。

尽管具有这些有意思且有用的性质，但是由于 HA 具有很差的承重能力，使这些材料还有生物机械不匹配和很差的机械性能。因此，临床应用仍仅限于这样一些领域，即磷酸钙陶瓷将生物活性给予临近的惰性移植物上(例如，金属假体上的涂层)，或用于承载较小重量区域的缺陷，如用于上颌面。

除了这些骨增强的性质外，HA 可以容易地将生物因素和可能的化学化合物吸收到它的表面上。该吸收可以是物理吸收和化学吸收，这取决于分子结构和特定 HA 的表面化学。化学吸收的数量可能正比于表面上的几个单层。

HA 在单独存在以及与吸附在它表面的组织影响剂共同存在时可能保持优良的生物活性性质，这些影响剂如抗生素和抗癌药剂按治疗浓度释放于身体中。它们的目标用途将是促进恢复以及组织功能(如骨组织)的修复，以及通过维持环境中周围细胞及组织(如骨细胞)的自然活性以发展稳定平衡状态的生物活性相互作用(如增强的骨整合)，同时破坏不需要的组织如肿瘤细

胞或细菌细胞。

本发明的一个特征是当 HA 用作上面所说的载体时,能获得所需的优势。

药物传输系统的目的是在一个特定的理想点得到最佳的局部剂量。传统上,给药(口服或静脉注射)是在远离它们的目标组织的区域,因此生物利用率的药物浓度和持续时间不能独立控制,药物自由地扩散到全身各处,这样可能出现系统问题和并发症。这些系统旨在增加药物的生物利用率和因素,因此随时间的延长在特定的地点具有更有效和可控制的行为。控制释放通常等同于两段释放模式,在控制释放中,快速释放在早期阶段完成,然后是后阶段较慢的持续释放。

作为本发明的一部分,迄今进行的试验显示了在感染的骨被刮除后,HA 输送抗生素和处理骨的效果。同样地,承载 HA 块的化疗剂可能对骨肿瘤刮除后移植物的填充有利。这个系统将肿瘤长时间暴露在高浓度的抗癌剂中以减小增殖并杀死所有局部肿瘤细胞,通过该过程该系统将获得化疗剂的最佳效果。本发明推测,通过使用能将化合物吸附到其表面的互连孔状 HA 结构,可以很容易地完成局部和持续释放。孔状结构使其具有更大的表面积以吸收药物,这样可以通过脱附将药物释放到身体中。药物可以是上面列出的任何类型及其它类型,如聚(乳酸/羟基乙酸)聚合物、PEMfTHFMA、明胶以及血纤蛋白胶。

由于给药更安全、化疗效果更容易评价、防止局部再生以及减小对系统副作用,所以对于骨的局部控制和软组织肿瘤,利用 HA 局部给药是切实可行的和有效的。

此外,根据本发明的 HA 载体显示了良好的生物相容性以及和骨类似的机械和化学性质,允许组织并入及血管生成。作为骨移植物或避免需要供体部位的移植涂层,它赋予骨传导和骨感应性质,因为这些供体部位频繁导致病人发病。这些性质允许成骨细胞迁移并生长到移植物的孔状涂层中,创造了一个限制移植物和骨间发生移动的联锁键,从而提高假体的稳定性,同时释放的药物实施它的化疗作用。

因此,根据本发明,在肿瘤手术之后可以使用浸渍化疗剂的 HA 填充诸如额骨、头骨的枕骨脑叶、上颌骨以及面部的下颚骨的非重量支撑区域的缺陷,或者填充在肢体补救治疗时并入到假肢的重量支撑区。

在 HA 块中 MTX 可以用作抗癌剂,因为已经证明它对骨肉瘤是有效的,相对于其它的抗癌剂,它容易检测,同时它对瘤细胞具有相对选择性。与检查 HA-MTX 络合物的洗脱动力学一样,为了评价增加作用时间和 MTX 浓度是否在不影响成骨细胞增殖的同时对杀死骨肉瘤细胞更有效,我们同时针对成骨细胞和两种骨肉瘤细胞评价了增加浓度和作用时间(超过 24 到 42 小时的系统给药持续时间)对细胞毒素的影响。进行研究是因为 MTX 是已经有研究说明了对瘤细胞的选择性和浓度影响以及时间影响的关系的少数几种已化学治疗剂之一。这种 MTX-HA 系统的想法是为了增加的浓度和工作时间,同时对其它组织具有最小影响;为了证实 HA-MTX 系统在临床应用中的潜在用途,必须显示 MTX 的这些性质。

除了上面列出的药物外,载体可以在其孔中包含其它材料。这类其它材料包括 Werner 型的配位络合物(如,钴(III)六氨合物、铁(II)三(菲咯啉)盐、顺铂、碳铂(carboplatin)、oxaliplaten、EDTA 络合物、大环络合物(如金属卟啉)、茂金属和夹心络合物(如二茂铁和二茂络)以及有机金属络合物(如甲基钴胺素)。

优选地,采取控制措施降低释放的速度。

可以使用各种方式实现控制。一种优选的方式是调整孔壁的表面性质。一些试剂也可以调整壁的表面性质。可以通过下面方法实现:

i) 利用含有金属的有机或无机盐的溶液浸渍表面。可以使用各种浸渍技术如初始湿润、简单浸渍、真空浸渍、浸渍/沉积等创建需要的无机/金属有机盐的表面浓度。可以使用助剂,即可以使用促进水合的前体变硬以提高磷酸钙转化率的材料或处理过程。通过含钙离子的溶液浸渍孔状制品、如果需要可以干燥并加热至更高的温度,或者通过将钙盐混入孔状制品的原料中,可以提高孔状羟磷灰石制品中钙的表面浓度。这样的改性可以提高材料

如磷酸酯的吸附能力。可以对预制成的载体进行后处理实施该过程，或者通过该过程将需要键合的颗粒引入材料的成形体中。

ii) 在低于陶瓷完全煅烧所需的温度下，焙烧载体。该温度依赖于制备载体原料的性质。

iii) 利用酸或碱如根据载体的材料选择的硝酸、磷酸、氢氧化钠处理表面，或者用等离子体处理，或者利用化学汽相沉积方法处理。

iv) 将第二种材料放到可降解的载体中，例如放到生物降解载体如胶原、聚合物等中。本文中具体的生物降解聚合物包括 PCPP.SA(聚(羧基苯氧基)丙烷癸二酸)、PCC、CPP.SA、FAD-SAPTMC、PAA 等。概括起来，其中聚酸酐、聚原酸酯、聚丙交酯及聚乙交酯以及其共聚物是适合的。

可降解中间载体的用途是很吸引人的，因为它品种繁多，所以可以按照不同方式沉积，例如：

交替出现无药剂树脂或聚合物层以及包含药剂的层；

沿树脂或聚合物的不同层，改变药剂的浓度。

使用真空或压力或两者皆用，按照各种方式填充载体。如果载体各处都需要均相分布，那么这些层可以通过简单的连续浸渍、初始湿润或本领域技术人员都熟悉的其它技术建立。而如果需要多相分布，则可以使用其它的技术。例如，通过使用离心浸渍技术，可以在泡沫陶瓷的外部浓缩为一个特殊的层。利用特殊的药剂或药物向包含另一个药剂或药物的泡沫中插入几个泡沫，可以按机械形式创建层。优选使用冷冻干燥。

可以按照准确的剂量将药物释放到身体中。不是使用结合已知浓度药物的生物可降解单体去浸渍孔状制品然后聚合化，就是使用结合药物的聚合物去浸渍孔状材料。

可以使用结合药物的，或更具体地结合抗癌剂的生物降解聚合物喷涂内孔的外部几何表面和/或内表面。这些聚合物可以填充孔状材料中的空隙，其作用类似于慢速释放药剂的贮存器。如前面所显示的，可以创建层以使单个层具有不同的功能。例如，第一层可以包含生长因子，第二层是纯聚合物，

第三层可以并入抗癌素如顺铂。每层可以具有不同的生物降解速率，通过改变聚合物的性质，以控制和预见各种药剂的释放速率。

本发明的制品可以任何用途成形，优选将其制成为整形外科、颌鼻甲骨或颅面等替代品。

例如，这样的移植物可用作：

手术后骨段的替代品

在外伤或感染后，填补大量损失的骨

损坏关节的修复或再造

此外，本发明的材料可置于身体的其它位置，例如，肌内部位、腹膜间部位、皮下部位、中心神经系统以及 ocular 部位。

材料不需要为药物，作为代替，它可以选自各种材料，如常见的化学品、石油衍生物、炸药等。泡沫陶瓷网络将这些材料固定在其坚硬的基体中，从而保护它们，使它们不受机械应力或其它应力。渗透材料也可以是树脂。例如，可以用树脂、聚合物或润滑剂浸渍泡沫陶瓷基体直到空隙被与陶瓷基体紧密接触的树脂、聚合物或润滑剂基质添满。渗透材料和陶瓷的选择可以优化使其不管是在轻型结构、磨料成形体、自润滑陶瓷轴承，都可以在在大范围工业中获得最终的应用。

可以对多孔陶瓷进行加工成型，这样象氧化铝或金属这样的致密陶瓷衬垫就可以在放到要求最终承载轴承环境中插入物有较高机械强度的地方。这样的陶瓷或金属衬垫可以暴露在一个或多个泡沫陶瓷的外表面上或封闭在泡沫陶瓷的外壳中。该外壳的厚度可典型地为 1 mm 到 10 mm，但并不限于此范围。另外，泡沫陶瓷可以是包含在致密陶瓷或金属内部的插入物。

为了更好地理解本发明，下面将参考下列实施例的说明来描述本发明。

具体实施方式

实施例 1

根据本发明方法制备的多孔 HA 材料，即根据上述 Dytech 专利通过将

大孔引入到增密基体中生产具有最大机械强度的互连孔状陶瓷。这些材料商标为 HI-POR[®]。在形成过程中没有引入任何杂质。虽然，成品的化学成分和已经面市的那些 HA 产品一样 但是它通过提供唯一物理结构的技术生产。多孔 HA 样品制造为圆柱体(高约 13 毫米，直径约 6 毫米)。在研究中使用的 HA 的一种类型由 18%的孔密度和 300 微米的平均孔径。

单独的多孔 HA 样品称作圆盘，一旦它们承载药物如用于传输的 MTX，就称它们为“系统”。

MTX (David Bull 试验室，Onco-Tain 为 25mg/ml)是临床制品，包含 25 毫克氨甲喋呤 B.P.、0.49% w/v 氯化钠 B.P./氢氧化钠溶液。MTX 在 4℃ 保存。

然后，将 4 毫升 25 毫克/毫升的 MTX 和 46 毫升的 Dulbecco 的磷酸盐缓冲盐水(Sigma-D8537)混合，并充分混合为均相混合物。仔细操作不要将 MTX 直接暴露到光线下，因为光可能改变它的化学成分。

将 300 J.lm 孔径和 18%密度的 48 个 Ha 元件分别放入 7 毫升 Bijou 容器 (Sterilin cat. No 1298)中，并向每个元件加入 1 毫升 MTX/PBS 混合物，并盖住 Bijou。然后以四种方式承载充分浸泡的试样。

简单吸收

第一种方法涉及利用简单吸收承载，通过互连的孔被动地分散 MTX 溶液。这是将 18 个圆盘放入 37℃ 恒温箱中的 MTX 溶液中。然后，在 1 小时后从 MTX 中取出六个元件，下六个元件在 3 小时后取出，最后六个元件在 6 小时后取出。

真空浸渍

真空承载是将 18 个元件放入真空室(Angil Scientific，英国剑桥，no-1506)，松开 bijou 容器的盖子。然后，打开真空，压力为 150mbar，从而在容器内形成负压，使 MTX 通过元件中的大孔和微孔而挤出。1 小时后从真空中的 MTX 中取出六个试样，2 小时后取出六个元件，在 4 小时后再取

出六个元件。

离心分离

该方法包括将 6 个元件放入它们的 bijou 容器中，同时关紧盖子。每个 bijou 容器都被放入一个 Blue Max 50mL 的聚丙烯锥形管中(Becton Dickinson 30×115mm)。盖紧每个锥形管，将它们放到一个离心机中(Centra-3 型，Damon/IEC, Bedfordshire, 英国, no-23670102)，在转速为 1000 rpms 下旋转 1 小时。每个锥形管通过放有另一个试样的锥形管平衡。

冷冻干燥

该方法包括除去六个元件的 bijou 容器的盖子，并将容器放到温度为-60℃、压力为 8mbar 的冷冻干燥器中(Modulyo, Edwards, model no -165005)。所有的试样都放置大约 24 小时，然后移走。从 bijou 容器中移去所有的系统，并在无菌条件下空气干燥过夜。

一旦干燥完所有的试样，那么就可以进行洗脱研究。该过程包括洗脱液的加入，即加入 5ml Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM)和 5mL Dulbecco's Phosphate Buffered Saline(PBS)。然后，用镊子轻轻地将每个系统放到一个通用试管中以保持试样无菌，并防止任何可能抖落所承载 MTX 的突然运动。将每个承载技术的一半系统分别加入到 5mL 介质中，另外的 14 个和另外的 24 个加入到 PBS 中。

然后，将 48 个系统放到滚筒上，为了使所有系统完全浸没在洗脱液中，倾斜滚筒。然后，将系统移到无菌罩下，在 5 个不同的时间点—2 小时、4 小时、24 小时、48 小时和 168 小时，使用无菌镊子将系统放到一个新的含有 5mL 新鲜洗脱液的通用试管中。然后使用 UV 光谱技术分析 240 个含有释放的 MTX 的试样。

利用 UV 光谱定量洗脱液试样中的 MTX

使用 Unicam UV4 光谱分析仪(Cambridge, UK)在波长为 303nm 进行试

样洗脱液中 MTX 的 UV 分析。首先，为了获得一系列药物释放试样中已知 MTX 浓度的标样，用 MTX 浓度为 1000 $\mu\text{m/mL}$ 的 PBS 和 DMEM 溶液配制了一系列的稀释液(附录III)。所取的值低至 UV 光谱所能测得的最低值，绘制的值在校正数据的线形范围之内。

得到的校正方程式是：

$$1) \text{PBS}_{ly} = 0.0664x + 0.0044$$

$$2) \text{Medium}_y = 0.0663x + 0.0074$$

其中， y =吸光度读数(nm)， x =MTX 浓度($\mu\text{g/ml}$)

将 1ml 含有介质或 PBS、不含 MTX 的溶液放到石英样品池中，放到 UV 光谱仪中作为空白值。然后将 1ml 洗脱液放到另一个石英样品池，测量相对空白值的吸光度。将吸光度读数代入方程式 1 或 2 得到 MTX 的浓度。

一些吸光度读数超出校正曲线的线性部分，即对于 PBS 大于 2.079 nm，对介质大于 1.040 nm。因此，将这些试样稀释 5 倍，以得到在校正曲线上的读数。这些试样主要是处理 2 小时之后的试样。然后，将使用 4 种不同技术得到的系统的释放浓度结果列成表格，并使用 Tukey Kramer Honestly Difference Test (TKHSDT)确定结果之间是否有显著差别。

试管内细胞培养

在细胞培养研究中，使用两种骨肉瘤细胞系和初级的人体成骨细胞研究增加 MTX 浓度和持续时间的影响。MG63 细胞从一个 14 岁白种男性身上获得(ATCC-CRL-1427)。人体骨肉瘤型细胞(HOS)从一个 13 岁白种女性身上获得(ATCC-CRL-1543)。人体成骨细胞(HOB)是从经历膝盖整体替换手术的病人身上分离得到的。在 37°C，含 5% CO_2 以及 99%增湿无菌空气的条件下，将细胞系分别完全培养在 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (Gibco, UK)中，并添加 10%胎儿小腿血清(FCS) (Gibco, UK)、非必需的氨基酸(1%)、抗坏血酸(150~g/ml)、L 谷氨酸盐(0.02M)、HEPES (0.01M)、青霉素(100 单位/mL)以及链霉素(100~g/ml)。为了防止营养耗竭同时阻止废弃

产品聚集，一周至少改变介质两次。

一旦细胞已经融合，通过倒空介质方式将它们移出来，用 10ml PBS 洗涤并加入 5ml 0.25%胰蛋白酶在 37℃培养。5 分钟之后，通过将烧瓶放在固体表面轻轻拍打，从组织培养瓶中除去细胞层。然后，将瓶内物质收集到一个通用试管中，并用 10ml 介质洗涤烧瓶，同时放到通用试管中。然后，将该容器在 18℃，2000rpm 转速下离心 5 分钟，除去含有胰蛋白酶的上层清液，小心不要移出容器底部的细胞块。下一步，在光学显微镜下计数细胞，观察发现浓度为 13.2×10^4 细胞/ml。然后，将这些细胞播种到 96 个细胞板中。在总共 6 个细胞板中，为了测量细胞的增殖，每 2 个播种三个细胞系中的一个。

每个板培养 2 天，然后向每个板中加入 12 份不同浓度的 MTX。虽然 MTX 的剂量是以 mg/m^2 BSA 单位给出，但是在本研究中不可能使用这样一个指标计算合适的剂量。因此，必须确保剂量为正常人血浆中浓度。这包括找到人体中流体部分重量的比例，血管内的体积约占身体重量的 60%。因此，当 1 千克所占体积大约等于 1 升时，一位 70 公斤的病人具有 42 升血管体积。因此， 1m^2 BSA 的流体体积为：

$$42 \text{ 升} / 1.73\text{m}^2 = 24.3 \text{ 升}$$

BNF 推荐 MTX 单药剂疗法的剂量为 600mg/ml。因此，按该疗法得到下面的血浆浓度：

$$600\text{mg} / 24300\text{ml} = 0.0247\text{mg}/\text{ml} = 24.7\mu\text{g}/\text{ml}$$

因为身体会排泄，初始浓度的剂量会降低，然而一些研究使用剂量达到该值的 2、3 倍，所以，所用浓度的是在 $24.7\mu\text{g}/\text{ml}$ 上下 $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$ 到 $1000\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内。三个板，每个包含一种细胞系，加入 MTX 并作用 24 小时(1 天)，其它两个板作用 72 小时(3 天)，查看细胞增殖随浓度变化和作用时间的增长的差异。

MTT 化验

利用 MTT 化验测量 MTX 对骨肉瘤细胞增殖的影响。该化验需要的试剂是 MTT 粉末(sigma M2128 或 M5655)、二甲基亚砷 DMSO(sigma D2650)、磷酸盐的缓冲盐(PBS)。从样品池中移去介质。在通用试管中向 10ml PBS 中加入 50mg MTT 制成 MTT 溶液, 该溶液在 37°C 保温 15 分钟。然后, 过滤溶液并向每个样品池中加入 10 μ L MTT, 放回到 37°C、5% CO₂ 以及 99% 增湿条件下的培养器约 3 小时(有关 MTT 的功能和作用的详细情况参见附录 II)。通过反转法从系统中除去 MTT, 在棉纸上吸干。然后, 向每个样品池中加入 100 μ L DMSO 并摇动 1 分钟。然后利用 Dynatech 微板读出器(BioRad Model 3550)测出每个样品池在 595nm 和混合 5 秒时的吸光度。这些样品不能重新利用, 因此在完成化验后被抛弃。一旦获得读数, 把它们列成表格并统一表示为控制值的百分比。为了确定当 MTX 浓度升高时细胞增殖是否在分析上出现很大的差别, 在 5% 水平利用 Dunnetts 显著性测试分析了吸光度读数和控制值的关系。

结果

HA 作为 MTX 药物传输系统的评价

结果显示不同多孔 HA 系统都能成功地承载 MTX, 并释放抗癌药物。承载方法的差别对 MTX 的释放动力学有重要的影响。但是, 利用 UV 光谱仪测定置于介质中的样品不能得到稳定可读的吸光度读数, 因此不能图示化。

总的说来, 对控制药物的两相释放模式如系统 7 和 8 所示, 参见表 1。这包括快速连续的早期释放阶段和缓慢但渐进的后期药物释放阶段。表 1 中的系统 1 到系统 6 并不显示该模式, 它们显示了在首先 24 小时内, MTX 快速初始展开, 后期阶段则探测不到释放。每个系统的结果表示为三组平行测定的平均值, 每个系统的承载方法如表 1 所示。

表 1. 将 MTX 承载到 HA 圆盘的不同技术

系统 1	吸收 1 小时
系统 2	吸收 3 小时
系统 3	吸收 6 小时
系统 4	真空 1 小时
系统 5	真空 3 小时
系统 6	真空 6 小时
系统 7	在 1000rpm 转速下离心 1 小时
系统 8	冷冻干燥 24 小时

结果如图所示，其中图 1 显示初始释放的情况，图 2 显示了 24 小时后的释放情况。

本研究主要涉及药物释放系统，因此系统地处理 MTX 通常仅需要 24 到 42 小时，更详细的研究表明随浓度的增加在效果上并没有什么不同。本研究旨在弄清 MTX 从药物传输系统释放的时间长度是否具有足够的持续时间和浓度以增加骨肉瘤细胞的死亡从而获得更好的治疗。此外，测试 HOB 细胞系以弄清选择的药物(MTX)是否对瘤细胞具有足够的选择性，而不损伤成骨细胞，抑制骨的生长。

总之，结果确定了基于有效的释放动力学形式的最佳多孔材料系统。阐明了最佳的承载方法是离心技术和冷冻干燥，在所有系统中，这两种技术显示了最大的连续释放量。而且，作用时间表现为对至少为骨肉瘤细胞系之一的细胞增殖有明显的降低作用。

一般地，最佳的形式接近受控释放的“两段模型(图 3)”。这包括早期阶段的快速释放和后期的连续释放。这些最佳的形式是通过离心(系统 7)和冷冻干燥(系统 8)的方式将 MTX 承载到 HA 圆盘上。这些都可以看作为优选的系统，因为在上限为 168 小时的治疗范围内它们是唯一显示可检测 MTX 释放的系统。系统 1 到 6(通过吸收和真空承载)显示高的初始释放量但是在 48

小时后就已经检测不到释放了。

并入到孔状羟磷灰石孔中的药物的释放取决于大孔和微孔的程度，表观密度(AD)作为大孔的函数反映早期阶段的释放曲线，而真实密度(RD)作为开口微孔水平的函数反映的是后期的受控释放。也就是说，在早期阶段，大孔的百分率和形状以及携带承载药物(MTX)的水平是主要因素，而在后期第二药物释放阶段微孔中包含的药物是主要因素。

本研究的目的是决定不同承载技术能将药物承载到微孔和大孔而获得连续释放的程度。因为离心和冷冻干燥提供了一个连续的后释放和一个早期释放阶段，所以必须承载微孔和大孔。在抗癌的治疗中，早期的高释放是重要的，因为这样可以更早捕捉和杀死局部重新出现的癌细胞，后阶段的连续释放对于维持治疗效果是重要的。因此，在抗癌的治疗中，尤其具有早期快速释放和后期连续释放的 MTX 的生物药效率可能是必需的。

所有8个测试系统都显示了高的初始释放。高的初始释放可以归功于“洗掉”效应，即当系统开始放到第一个洗脱液时，结壳于表面的固化的药物会溶解。系统8(冷冻干燥)在2小时后显示了最高的初始释放，这最可能归功于冷冻过程的性质。在过程的后期，试样被浓缩，带有结壳于表面的固化 MTX，这些固化 MTX 可能被部分洗掉但是很多多余的 MTX 仍然保留下来，所以将溶解在第一个洗脱液中。

冷冻干燥过程(系统8)在第一个4小时后也显示了最高的释放速率，离心过程(系统7)次之，然后是真空和吸收过程(系统1到6)。这可以归结于下列原因：冷冻干燥过程可能会使 MTX 溶液快速喷到 HA 元件的孔中以使 MTX 溶液进入大孔，但是当除去 HA 元件时 MTX 并不在溶液中。因此，在除去 HA 圆盘过程中，在其它系统中一些液体 MTX 可能从大孔泄漏出来，从而减少初始释放所需的药物承载。然而，系统8中 MTX 在去除过程中不会从大孔泄露，因为它已经固化在孔中。

系统1到8的初始释放速率的差别可能归结于每个方法允许 MTX 的高效、有力地从小孔挤出的能力。离心可能是最有效的，然后是冷冻干燥。与

简单吸收方法相比，真空过程很明显有力一些。随真空次数和吸收次数增加之间的差别小，TKHSDT 不能显示这种分析差别，说明最大的药物承载是在第一个时间点之后获得，即在吸收 1 小时后和抽真空 1 小时后得到。由于制造过程中出现的略微不一致导致 HA 圆盘内孔径、密度和孔互联性出现细微的差别，从而可能出现轻微的区别。

连续释放系统是系统 7 和 8，系统 7 具有更高后阶段释放速率。这里提到的后阶段释放是微孔的功能。系统 1 到 6 在 24 小时后没有检测到 MTX 释放的事实说明 UV 光谱仪对少量的 MTX 不敏感或者没有 MTX 溶液进入 HA 圆盘的微孔中。然而，可能一些 MTX 溶液确实进入到微孔，而且少量的 MTX 可能被释放，但是释放量低于检测的低限，可能低于治疗的低限 $0.01\mu\text{m}$ 。

对于离心过程，连续后段释放的速率更高可能是因为 MTX 溶液在 1000rpm 转速下旋转 1 小时使药物能比冷冻干燥技术更有效地填充微孔。此外，在冷冻干燥机的负压下，将液体挤到 HA 的微孔的能力可能更充分，但是溶液可能在进入微孔之前或在过程中凝固。

在早期和后期的释放中，药物在表面的直接吸附化学力可能也起作用。所有这些方法都未使用药物传输载体，如明胶或者藻朊酸盐，药物能停在 HA 表面的唯一方式是通过物理和化学键。通过范德华力实现物理吸附 MTX。它允许几层 MTX 分子键合到 HA 表面。化学键合长度更短，而且化学键合力远强于物理键合，它分为静电(离子)和/或者共价键类型。这种类型的键合只允许在表面上形成单层分子。

物理吸附在 HA 表面的药物可能提供了早期的释放，随放置系统的空间 (37°C) 温度升高，其中的物理键断裂释放第一个洗脱液中的所有药物。但是，因为化学键比物理键强得多，所以化学键在很大程度上可能提供了后期释放。因为离心分离看起来提供了最大的微孔覆盖层，因此表面积也增大，那么认为这导致更大的物理和化学键形成的 HA 覆盖度好象是有道理的。因此，这些键的断裂导致在研究后阶段比任何其它系统具有最高的释放速率和释

放数量。这些化学键分为共价键合和离子键合，但是共价键相互作用在药物释放过程中不可能起作用，因为这种类型的键的强度可能不允许 MTX 解吸。离子键合可能有利于药物释放，它可能出现在 MTX 的钙离子和羧基之间或者出现在磷酸官能团和 N-甲基官能团之间。其它的化学键如 HA 的羟基和芳烃氮、羧基以及酰胺/肽之间也可能出现离子键。在钙离子和 MTX 分子之间各种螯合类型相互作用也通过几种或多种存在于药物中的下列官能团结合：酰胺/肽基团、羟基、芳烃氮、自由氨基。

直接吸附到 HA 的大多数 MTX 可能是用 MTX 承载在肢体补救手术上的外部假肢上的 HA 涂层，减少了骨肉瘤重新出现的可能性。

系统 8 显示了最高的总累积释放量，并且好象与 2 小时后最高的初始释放量有关。在 24 小时后释放的 MTX 数量与前面初始释放的剂量相比是很小的。因此，由于“洗涤影响”，系统中最大的总的累积释放量将主要由初始释放量控制。

所找到最佳的用 MTX 承载 HA 圆盘的方法是先离心分离，再冷冻干燥。HA 的其它物理性质如更改烧结次数(改变微孔互连性)、孔径以及孔密度可能决定它作为药物传输系统的能力。除了这些研究，也应该考察 MTX 吸附到 HA 上以后的治疗功效，因为脱附可能导致化学结构变化。

药物浓度和作用时间对三种细胞系—HOS、MG63 和 HOB 的影响显示了以下效果。在作用 1 天后所有的细胞系都显示随 MTX 浓度升高增殖减少。最不敏感的细胞系是 HOS 细胞，它在加入 MTX 之后细胞增殖只有小的减少，分析表明，在 12 个 MTX 浓度中只有 4 个出现重要的差别。在作用 3 天之后，在相同浓度下时，相对于作用 1 天的样品，HOB 和 HOS 细胞的细胞增殖降低到一个较低水平。而随 MTX 浓度的升高，对于 MG63 细胞则显示不稳定的行为。因此，这些结果表明 ROS 和 ROB 对增加 MTX 的作用时间而增加的细胞毒性作用不敏感。这可以通过下列事实解释：随药物作用周期增加，聚谷氨酸盐形成逐渐提高，从而增加了细胞毒性。此外，似乎当作用时间增加时，随浓度升高，细胞毒素的影响只是轻微地变大，说明作用时间是一个

重要因素，并且也许已经达到了细胞毒素效果的浓度极限。

当增加 MTX 浓度和作用时间时，只轻微地影响 MG63，其原因可能是由于抗药性。虽然在治疗骨肉瘤时，通常使用高剂量的 MTX，因为常规的剂量治疗有时可能是无效的。一些前人的研究显示为了获得对化疗剂/O-53 的良好反应，需要 MTX 水平有一个极限值。该关系说明骨肉瘤本身对常规剂量的 MTX 有抵抗能力，这可以通过使用相当高的剂量来克服。一种内在抗药性的潜在机制是通过减少叶酸盐载体(RFC)以减小向细胞的传输。这可以解释为什么延长作用时间对效果没有影响，因为利用不同的方式如被动扩散传输可能需要更多的时间。此外，剂量可能不是足够高，仍不足以传递到细胞中。第二个内在抗药性的潜在机制是削弱聚谷氨酸作用（polyglutamation），导致细胞中缺乏药物保持，从而抑制药物的作用。

假定 MTX 对瘤细胞具有高的选择性，而对 HOE 的影响和对 HOS 细胞的影响类似。其原因是对于快速增殖细胞，MTX 显示最大的活性，因为它的细胞毒素的影响主要出现在细胞循环的 S 阶段。更长的作用时间会使更多的细胞进入细胞循环的 DNA 合成阶段，导致更多的细胞死亡。因为与骨肉瘤细胞类似，试管内培育的 HOE 细胞也是快速分解的，所以它们受影响的方式是相同的。这应该模拟了临床情形，临床中一些成骨细胞并不快速分解。另一方面，在试管中研究显示当 MTX 为 5mM 时，与骨肉瘤细胞增殖减小 90%相比，成骨细胞增殖只减少 30%。

这个调查显示使用两种药物承载方法，多孔 HA 可以成功释放 MTX 的时间为 7 天。此外，释放的药物水平正好在治疗骨肉瘤细胞的治疗范围内。细胞增殖研究支持了增长药物作用时间对抑制 HOS 细胞增殖的治疗功效。测试的作用时间比允许系统服药的时间长，在所研究 HA 系统释放药物的时间周期之内。

因此，将 MTX 承载到 HA 作为药物传输系统用于治疗骨肉瘤显示了很大的潜力，在临床上，可将它们用于非重量支撑区域以填充微小的术后缺陷，例如，用于上颌面手术中，在肢体补救手术中，可能被合并到假肢中以处理

承重区域。

实施例 II

高氯酸三菲咯啉铁(II) $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 在 HA 上的吸收

开发了 HA 吸收 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 的四种方法，每种方法使用孔隙率为 83.35% (0006) 的块，其近似尺寸为 $20 \times 15 \times 20$ mm，重 303.5g。将 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ (0.031mmol) 溶解到甲醇 (30cm^3) 中制备溶液。在湿状态下称重所有块，并在约 100°C 烘箱中干燥过夜。

1. 将 HA 浸入到 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 溶液中 35 分钟进行吸收。
2. 将 HA 浸入到 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 溶液中 24 小时进行吸收。
3. 将 HA 放到真空中 10 分钟，然后将 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 溶液直接注入到块中，再保持真空 30 分钟，进行吸收。

4. 将 HA 浸入到 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 溶液中并施加真空 35 分钟进行吸收。

块所吸收的溶液的量在 2.7-3.5g 之间，使用真空方法时得到最大量。(由于溶剂蒸发限制了重量的精度)。

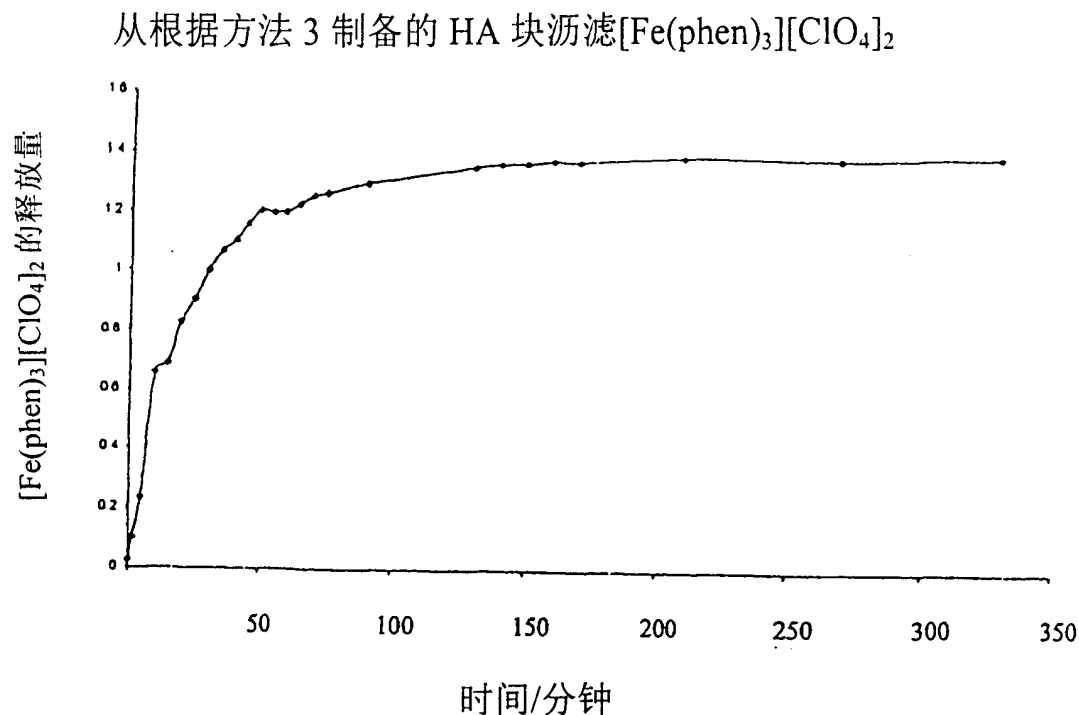
在所有情况下，可以看到对块的渗透很少，有大量的表面吸附。可以看到，根据方法 2 即长时间浸渍承载的块渗透得最好。

从根据方法 3 制备的 HA 块沥滤 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$

利用搅拌溶液沥滤以避免由于浓度差带来的误差。(但是，根据现有装置，由于磁性搅拌引起块的偶然振动可能导致一些异常)。

按方法 3 制备的块的一半被浸渍在去离子水中 (30cm^3)，用 UV-Vis 光谱仪在 512nm 波长记录吸光度。在所有计算中使用的消光系数为 $10620 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3$ 。

下图显示随时间延长从块中释放的 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 的质量。



上图显示两个阶段，这两个阶段可能对应表面吸附的 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 的初始释放阶段，紧接着是 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 从块内部释放阶段。在 170 分钟后，几乎所有的 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 都从块中释放。在 330 分钟后，利用去离子水置换溶液并在 20 多小时后测量吸光度。读数显示从块中又释放出 0.14mg，这可能由于在第一个 330 分钟期间当系统达到平衡时保留在块内部的 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 释放出来。

实施例Ⅲ

使用聚(DL-丙交酯-共-乙交酯)减缓 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ 释放

因为生物可降解聚合物聚(DL-丙交酯-共-乙交酯) (PLG)不溶于甲醇，所以在下面试验中使用乙腈。

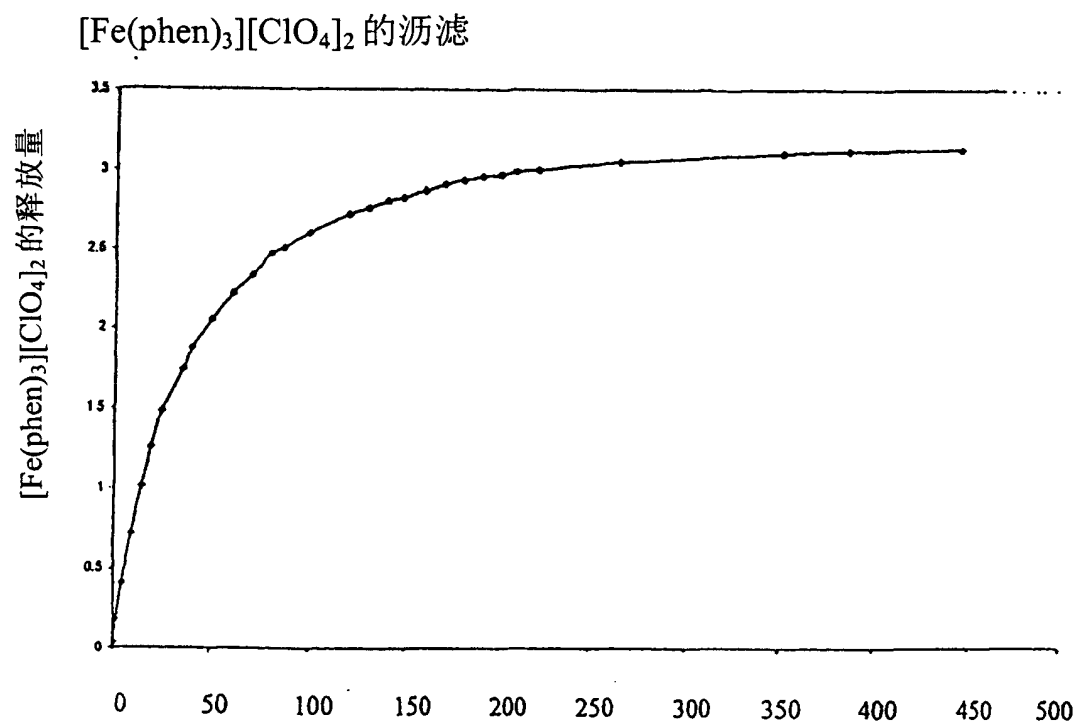
承载

使用真空浸渍方法 3 将化合物承载到 HA 上，还使用孔隙率为 83.35% (0006)的块，其近似尺寸为 $20 \times 20 \times 15\text{mm}$ ，重 3.6-3.8g。对于刚浸过

$[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ (在 6cm^3 乙腈中含量为 0.01g 、 0.013mmol) 的控制块, 可以看到良好块渗透性。对于承载 $[\text{Fe}(\text{phen})_3][\text{ClO}_4]_2$ (0.01g 、 0.013mmol) 和 PLG(50:50) (在 6cm^3 乙腈中含 200mg) 的块, 可以看到较差的渗透, 但是分布更均匀。在烘箱中干燥块 (为了将聚合物完全溶解在乙腈中, 在承载之前需要搅拌长达 1 小时)。

沥滤

使用切成一半的承载块, 加入去离子水 (30cm^3) 并在恒定搅拌下进行所有的沥滤试验。初始的沥滤试验显示聚合物浸渍块处于飘浮状态 (必要时使用玻璃棒搅动)。浮力的产生可能是由于聚合物阻塞了 HA 中的孔而将空气保留在块的内部。此外, 这些试验显示必须在多天以后进行读数, 因此, 需要封闭系统阻止水蒸发而影响精度。同时每隔适当的时间记录 512nm 波长的吸光度。

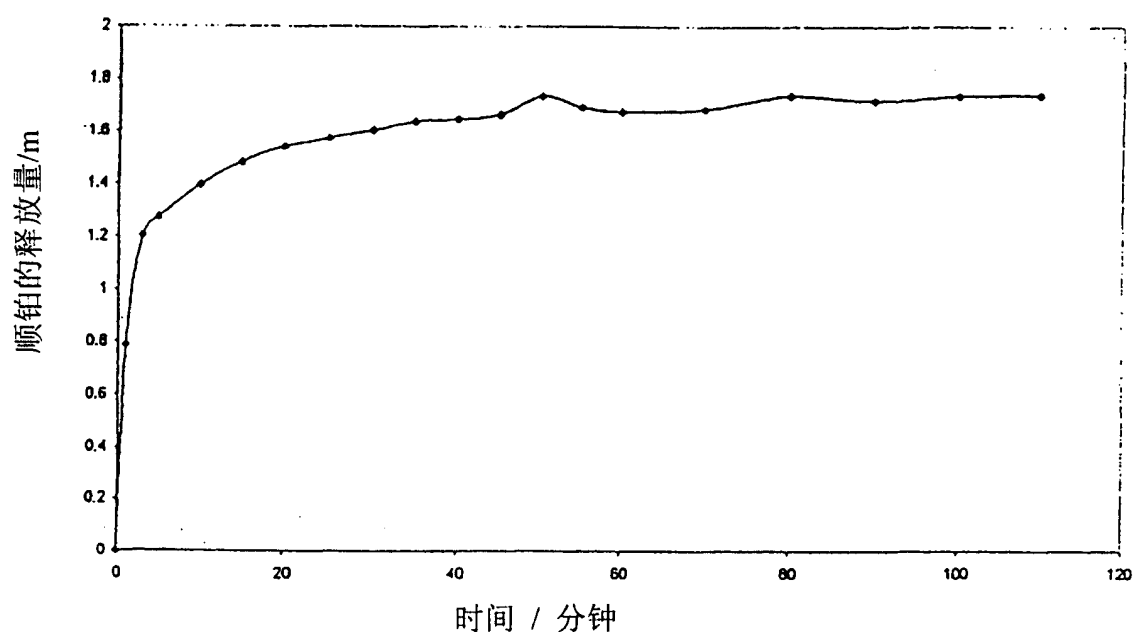


[Fe(phen)₃][ClO₄]₂ 的沥滤

在 300 分钟后,几乎所有的[Fe(phen)₃][ClO₄]₂都被释放。在 24 小时后再进一步读数,可以看到吸光度减小。在超过 48 小时后,可以看到颜色完全消失。这可能是由于[Fe(phen)₃][ClO₄]₂被 HA 块水解。

从浸渍[Fe(phen)₃][ClO₄]₂ PLG(50:50)的块中沥滤

从承载 PLG 的 HA 中沥滤[Fe(phen)₃][ClO₄]₂



当块开始浸入水中时,除了看到显示空气停留在块中的漂浮物外,在块的表面还可以看到气泡。在 24 小时后,块不再漂浮,这可能表示水渗透到整个块中。结果显示 PLG 浸渍到块上大大减缓了三苯基铁的释放。甚至在 5 天之后也能观察到大量的络合物释放。

在承载期间,通过应用真空过程增加吸附到 HA 的[Fe(phen)₃][ClO₄]₂的量。可以看到,用乙腈作溶剂比甲醇作溶剂具有更高的渗透率。

[Fe(phen)₃][ClO₄]₂从 HA 释放经过两个过程,即开始的突变阶段(由于络合物从块的表面释放)及随后的更缓慢阶段(络合物从块内部释放)。在 300 分钟之后,当大多数络合物释放时整体释放速度是最快的。利用

[Fe(phen)₃][ClO₄]₂ 和 PLG 的混合物浸渍 HA 明显减慢了 [Fe(phen)₃][ClO₄]₂ 的释放, 甚至在 5 天后都可以观察到络合物的连续释放。

实施例IV

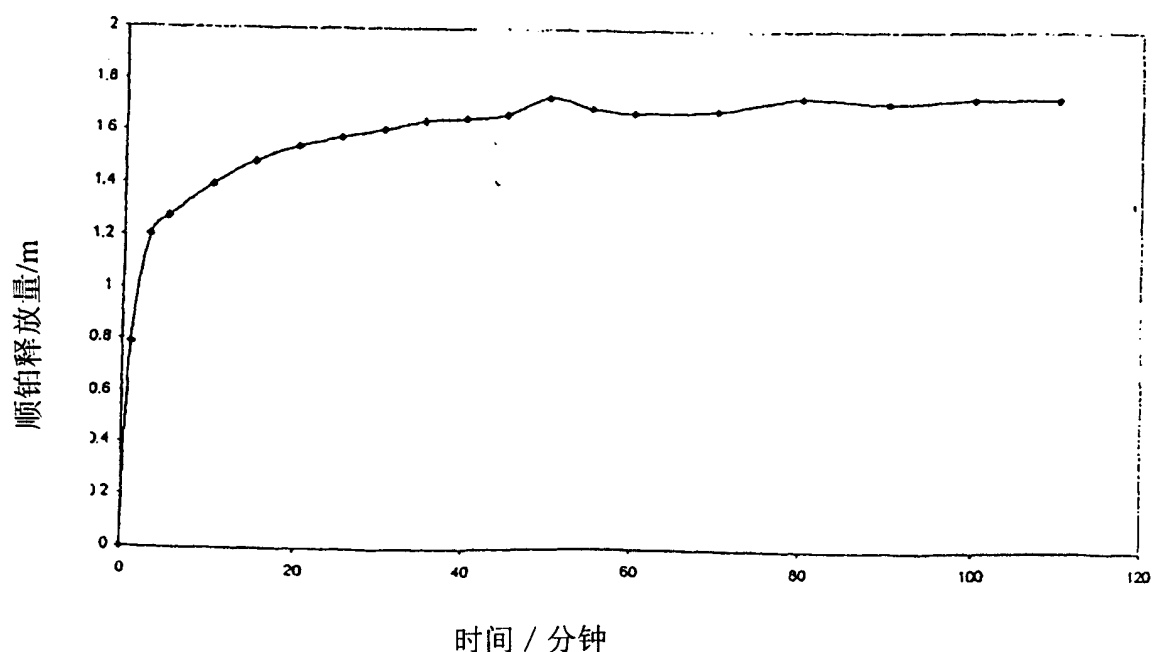
用抗癌药物顺铂浸渍 HA

使用真空方法 3 将顺铂(0.025g, 0.08mmol)的氯化钠水溶液(50cmJ 的重量百分比为 0.9%的溶液)注入到孔隙率为 84.04% (0003)、尺寸为 21×23×15mm、重 4.2g 的 HA 块中。干燥后, 在块的表面上可以观察到黄色的小块(推测可能是顺铂)。在块内部没有观察到黄色。

沥滤

在带有搅拌的去离子水(35cm³)中进行沥滤试验, 在无光情况下密封以防止蒸发。以适当的间隔记录波长 206nm 时的吸光度。在所有的计算中, 使用的消光系数都为 3057mol⁻¹Dm³cm⁻¹。

从 HA 沥滤顺铂



顺铂的释放是快速的——在 45 分钟之后几乎全部药物都已释放。药物的快速释放可说明没有发生块的渗透，药物只是从块的表面释放出来。

实施例 V

使用聚(DL-丙交酯-共-乙交酯)减缓顺铂释放

因为 PLG 不溶于水，而且顺铂也不溶于乙腈，所以需要进行两段承载。首先在氯化钠水溶液(50cm³ 的 0.9 重量%的溶液)中使用真空方法 3 将顺铂(0.025g, 0.08mmol)承载到块中。将块在烘箱中干燥过夜后，再使用真空方法 3 注入 PLG(85:15)(0.105g)的乙腈(50cm³)溶液。块在烘箱中重新干燥过夜。

结论

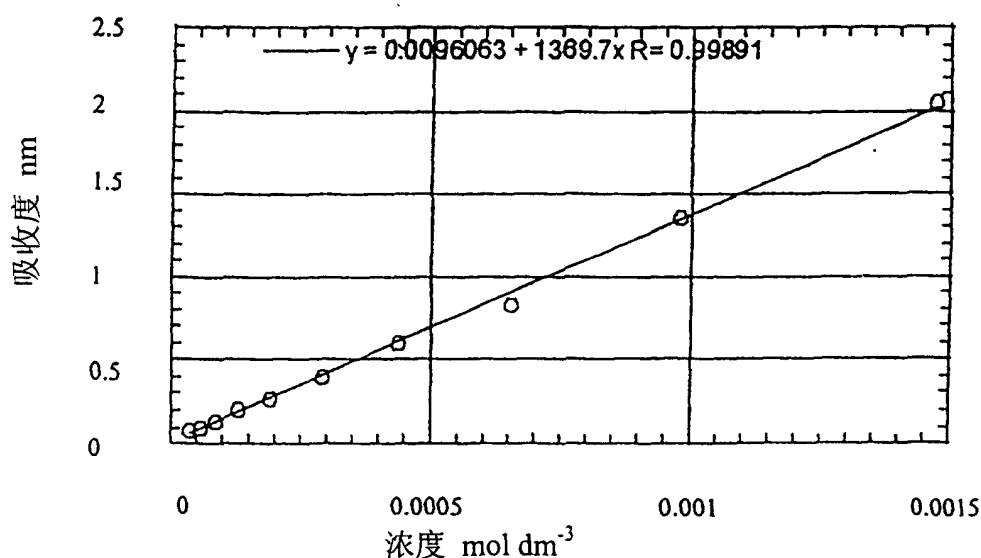
顺铂从 HA 中释放也是快速的，仅在 45 分钟后，大多数的药物就释放出来。

实施例 VI

从 HA 中释放抗炎药泼尼松龙

通过一系列的稀释试验得到了下列校正图表和有关泼尼松龙的方程。

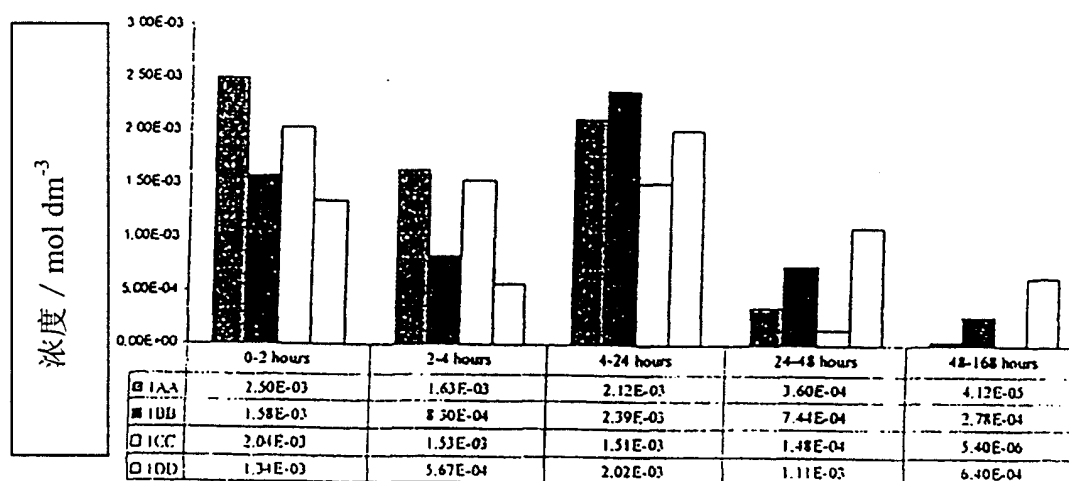
泼尼松龙的系列稀释物



在制备承载到 HA 圆盘的溶液过程(这包括搅拌药物/聚合物的溶液/悬浮液 1 小时, 有时浸入到声波池中 30 秒)中, 会发现泼尼松龙溶于乙腈中。因此, 应该很清楚下列的技术不是承载悬浮液技术。

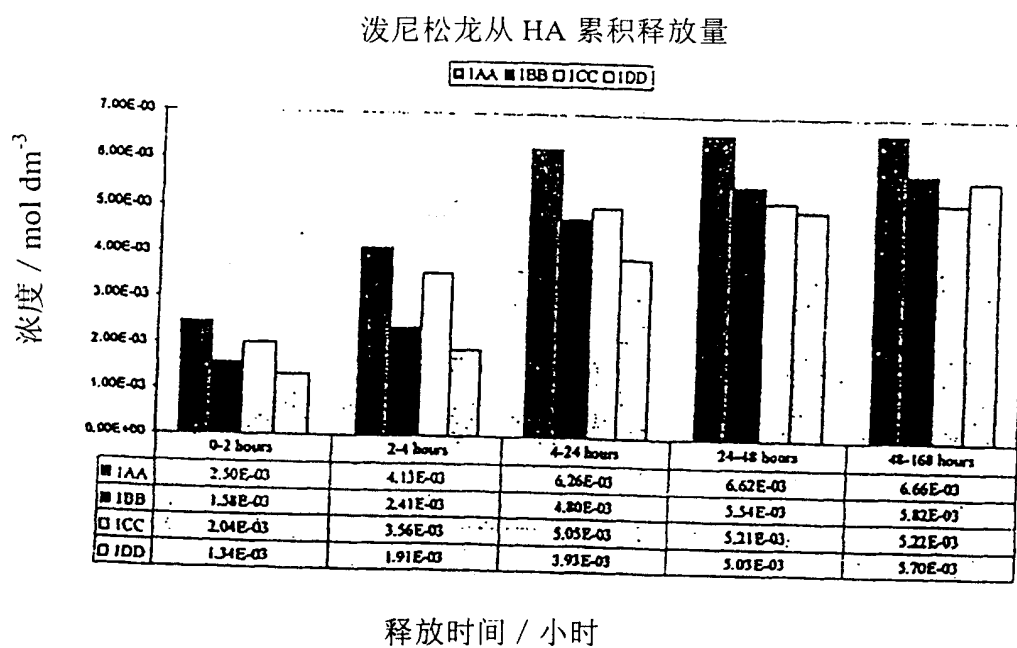
这些试验使用四个从第二批得到的 HA 圆盘。每个乙腈溶液使用约 0.01g 泼尼松龙。试验分别标记为 IAA、IBB、ICC 和 IDD。IAA 和 IBB 通过离心过程承载, 而且 IBB 包含 0.1g 的 PLG(50:50)。ICC 和 IDD 使用真空技术承载, 且 IDD 包含 0.1g 的 PLG(50:50)。进行标准沥滤试验, 结果示于下图。

从 HA 释放泼尼松龙

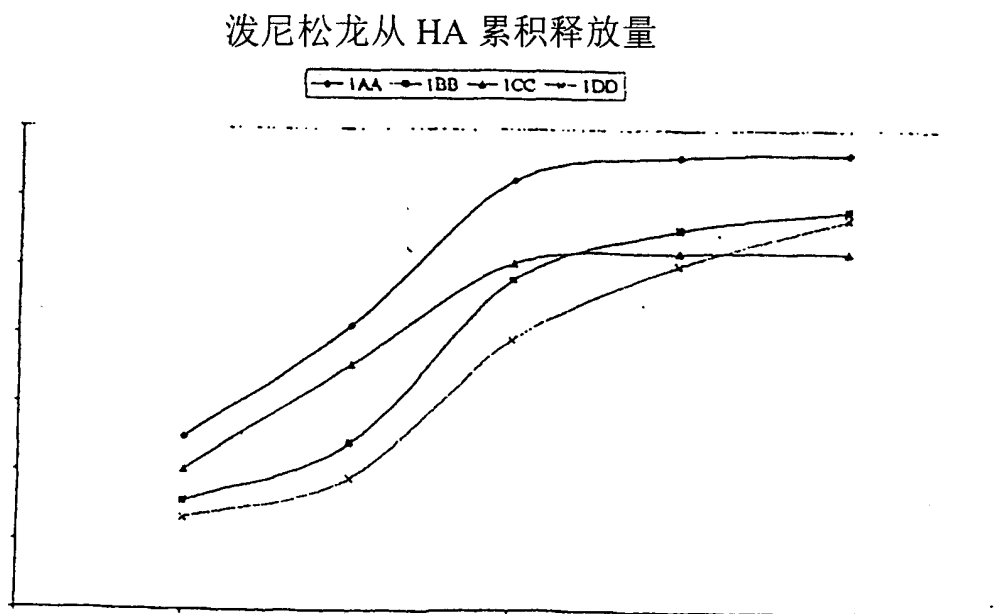


结果显示当存在聚合物时, 泼尼松龙从 HA 释放很慢。下面两图显示了药物从 HA 累积释放量。

泼尼松龙从 HA 累积释放量



泼尼松龙从 HA 累积释放量

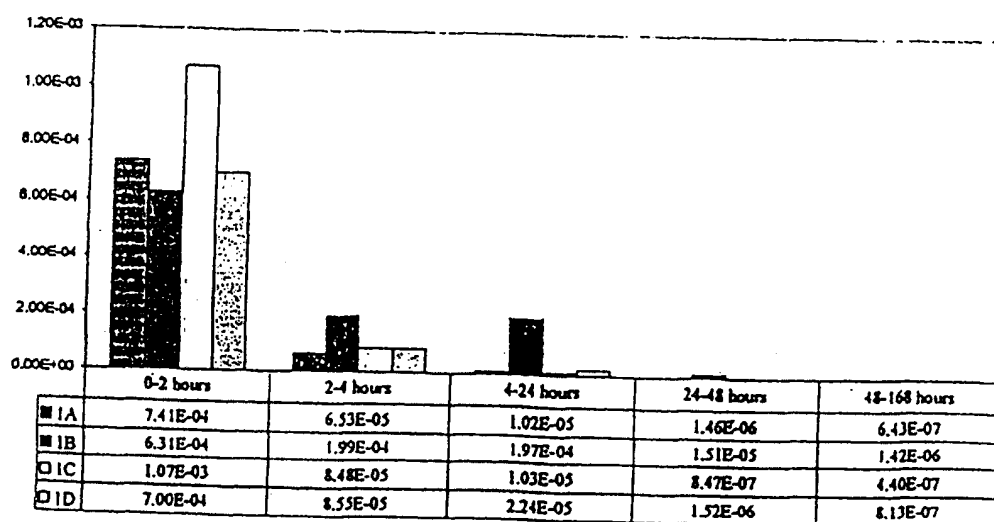


实施例VII

HA 圆盘中治疗药的分层

初始, 从使用聚合物 PLG(75:25)的 HA 中释放 MTX 以证实是否是该聚合物(期望其比 PLG(50:50)慢的速度降解)降低了 MTX 释放速度。试验使用第二批的 HA 圆盘, 大约使用相同量的 MTX、PLG 和乙腈。试验标记如下: IA 和 IB 通过离心过程承载, IB 包含聚合物; IC 和 ID 使用真空技术承载, ID 包含聚合物。结果如下所示:

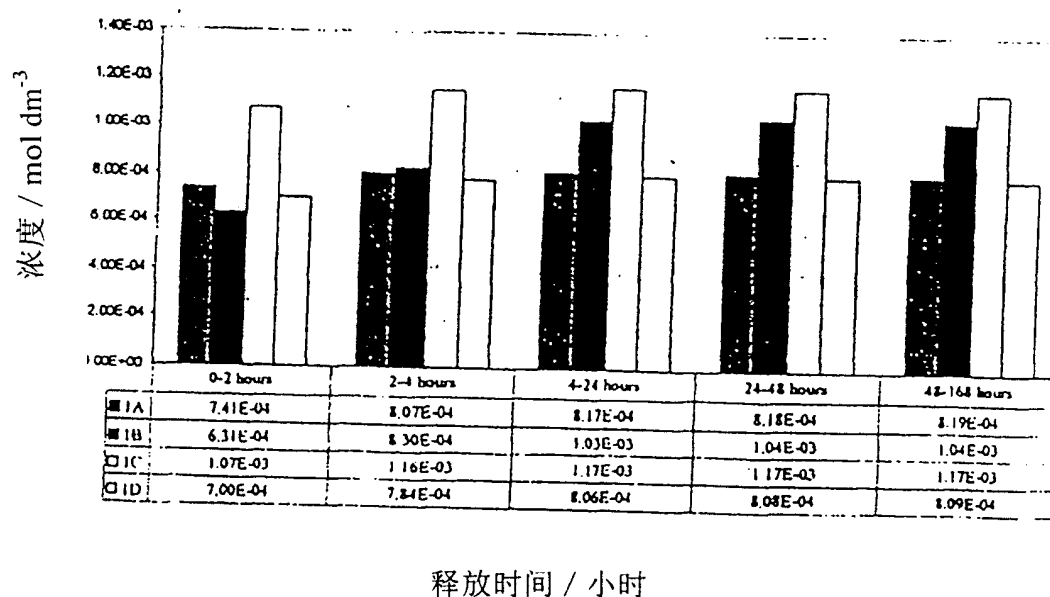
从试验获得 HA 释放的 MTX 量, 与 PLG(75:25)存在时释放量相对比。



释放时间 / 小时

结果证实 PLG(75:25)的存在确实减慢了 MTX 从 HA 的释放速度。但是, PLG(75:25)并不比 PLG(50:50)的效果明显多少。

包含 PLG 试验中, MTX 从 HA 中累积释放量。



尽管这些结果显示该聚合物并不能进一步减小 MTX 从 HA 释放的速度, 但是通过观察圆盘可以看出仍有大量的 MTX 留在圆盘上, 它们是在聚合物存在的情况下承载到盘上的。这表明大多数 MTX 可能在更多聚合物降解后释放。

实施例VIII

利用两种并入到聚合物的药物承载 HA

首先, 使用 MTX 的乙腈悬浮液承载四个从第二批得到的 HA 圆盘, 其中两个包含聚合物 PLG(75:25)。采用前面描述的离心和真空技术。然后, 在空气中干燥圆盘, 再次用包含泼尼松龙的溶液承载, 其中两种溶液含有聚合物, 这时候聚合物是 PLG(50:50)。此时, 需要辨别可能的问题, 对于两个存在聚合物的承载圆盘来说, 在承载泼尼松龙之后, 剩余溶液的颜色是浅黄色, 表明在承载过程中, 有一些 MTX 释放出来。这印证了第二个溶液(乙腈)溶解了圆盘上的一些初始聚合物(PLG(75:25))并使一些 MTX 释放出来。可以预见, 从沥滤这些圆盘会导致所有药物同时释放。为了使药物在 HA 上有效分

层，提出了两种研究方法。识别溶于不同溶剂的各种生物可降解聚合物可使药物分层，或者将聚合物溶液注入到 HA 块的不同区域也可成功。

结论

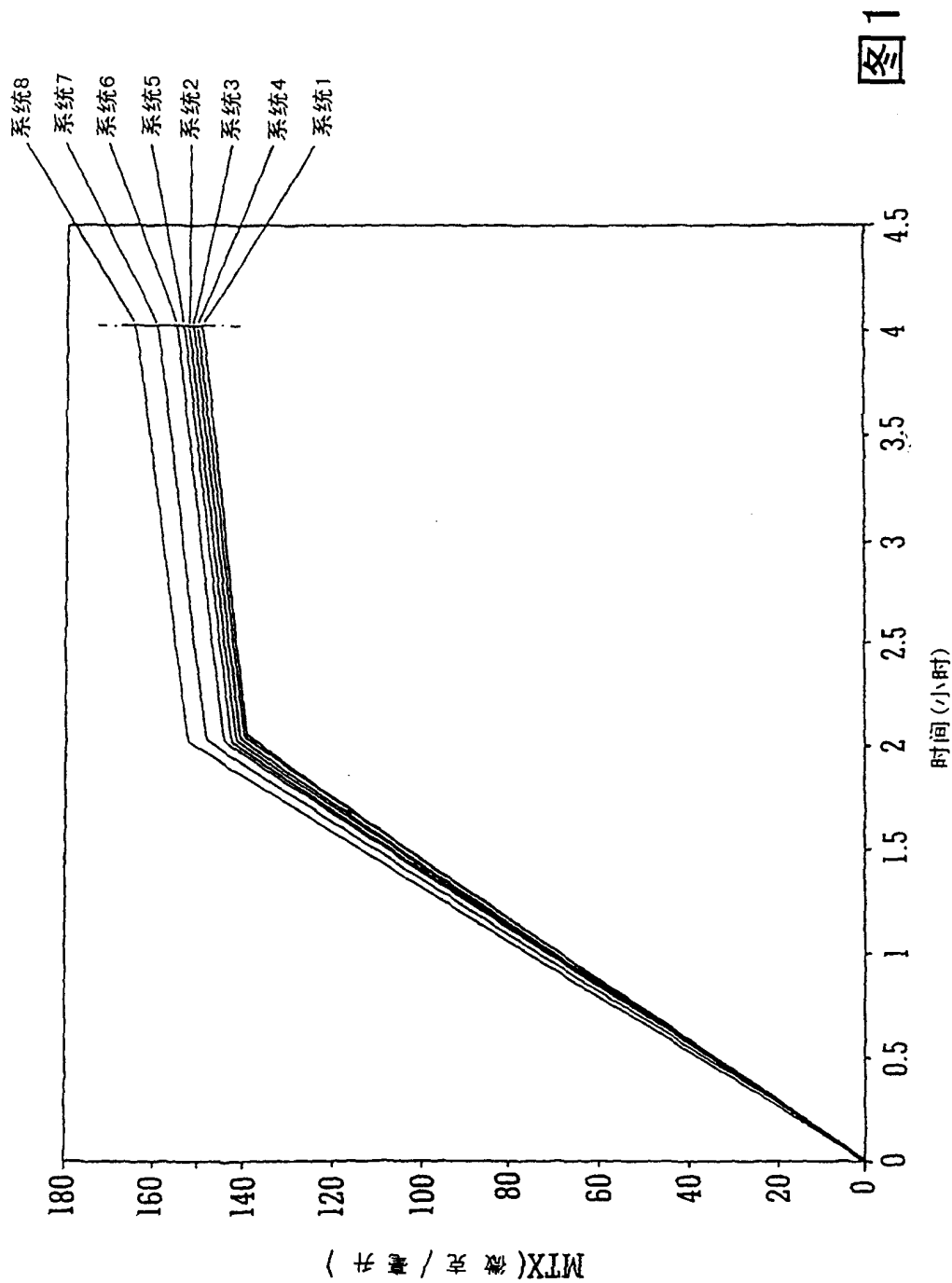
在存在或缺少 PLG(50:50)时 MTX 的多重重复释放不是结论性的，可能是由于 MTX 和 / 或聚合物的降解。

从 HA 上沥滤 MTX(一些圆盘含 PLG(50:50)并对圆盘称重，结果与原始试验的趋势一样，即与不含聚合物的情况相比，含 PLG(50:50)时，MTX 释放速度较慢。与不含聚合物的承载圆盘相比，存在聚合物时 MTX 在后期释放量更大。

PLG(50:50)存在时，药物顺铂和泼尼松龙从 HA 释放也很慢。

与 PLG(50:50)相比，从 HA 沥滤 MTX(一些圆盘含 PLG(75:25))的释放速度并没有明显的变慢，但是在沥滤试验完成后查看圆盘时的确发现 MTX 的量更多。当应用第二个聚合物/药物溶液时，由于一些原始聚合物被溶解，所以观察到一些原始药物的释放。具有不同溶解能力而促进分层的生物降解聚合物或将溶液注入到 HA 的技术将克服这个问题。

本发明可以扩展到此处公开的承载载体或承载载体的方法或承载载体的用途的每个新的和创造性的组合。



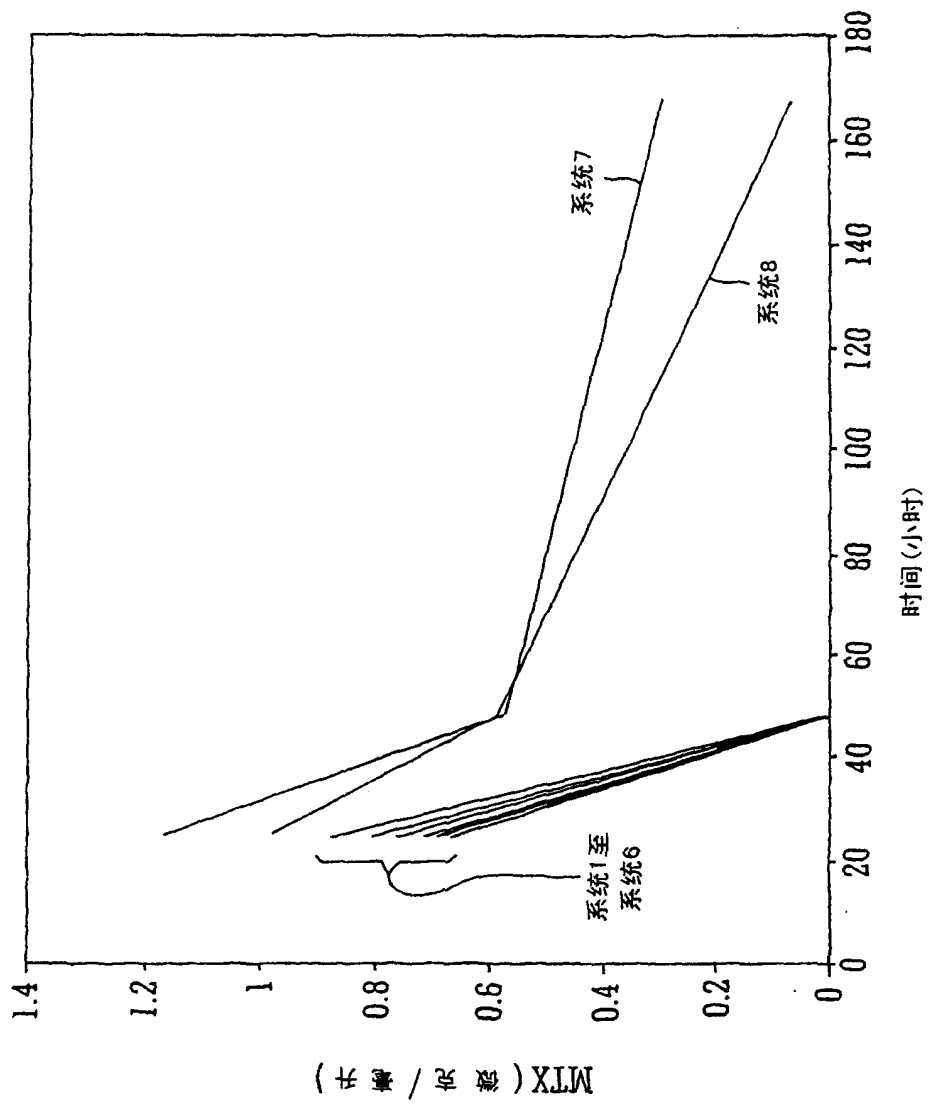


图2

图3

