

α -TCP/HAP 骨水泥做為 GENTAMICINE 釋放系統載體以治療骨髓炎之研究

林峰輝

台灣大學醫工程研究所

摘要

本研究之目的在於探討以 α -TCP/Hap 骨泥材料混合 gentamicin sulfate 做為藥物釋放系統，藉以治療骨髓炎 (osteomyelitis) 之可行性。首先製備含不同重量百分比 gentamicin 濃度的試片，藉由 SEM 的微觀結構觀察、XRD 的結晶分析及 FT/IR 的分析，我們証實了藥物的加入會延緩 α -TCP 的相轉變時間，但並不影響其最終產物，在顯微結構上則會使 α -TCP 相轉變後的顯微結構形成較為緻密的針狀與片狀結構，其平均晶粒尺寸也比不加藥物的試片小。從藥物釋放曲線中，我們可以發現此一藥物釋放系統有幾項特性，其釋放行為呈現兩階段釋放，初期有相當高的藥物釋放量，另外由於 α -TCP 溶解與再結晶產生的針狀或片狀結構 d-HAP，因此有緩釋的效果 (slow release)，使局部區域的藥物濃度能維持較長的時間。

前言

當人體的骨骼因外傷、骨瘤，或其它骨病變而進行外科手術移除部份骨質時，往往須要填補適當的基質來幫助受創部位的修復，而在手術及復原的過程中常會因為細菌的感染而造成手術的失敗。例如骨髓炎就是在臨床上常見的病症。

骨髓炎的治療再臨床上是相當困難的，一般而言必須以點滴注射方式持續約八週的時間，因此無論是在治療的方式及病患所必須承受的痛苦及不便上都是急待克服的。所以若能以骨頭替代材料作為藥物釋放系統植入感染部位，使藥物能緩慢且持續地釋放出來，將可更有效率地治療骨髓炎。

早期的一些研究指出，全身性注射效果廣泛的抗生素只有少量的藥物能到感染區域，並沒有辦法有效也降低感染的發生率。為了降低骨髓炎的發生，必須在局部區域有持續性的高濃度抗生素，而藥物傳送系統 (drug delivery system, DDS) 的使用在這一方面有相當顯著的成效^[1,2]，所謂的藥物釋放系統簡單來說即是將治療所須的藥物利用載體帶入人體體內並在體內進行持續而緩慢的釋放。也就是說，在進行手術的同時，我們在骨頭替代材料上添加所須的抗生素 (antibiotic)，當材料植入人體後，抗生素再以持續緩慢的釋放速度使局部區域長期維持在治療下限以上的高濃度。這樣的方式除了減低患者的痛苦及不便外，其治療及預防效果也高於全身性的靜脈注射。

目前來說，在臨床的使用上無論是做為骨頭替代材料或藥物釋放系統，PMMA 都是最常被使用的材料，在使用上通常將 PMMA 混合藥物做成球狀，以珠串的方式植入人體內，然而由於 PMMA 並不是一生物

可吸收性材料且其生物相容性也較差，因此在藥物釋放完後必須再次以外科手術將其取出，而這樣的手術過程除了造成病人的痛苦與不便外，也增加了再次感染的機會。

近年來鈣磷酸 由於其良好的生物相容性且與人體硬組織的成分相近而被廣泛地研究，有相當多的系統相繼提出。目前來說，鈣磷酸 在應用上大致可分為兩種方式：(1) 多孔性塊狀材料 (porous block)，這類材料可由牛骨或豬骨等天然材料燒製而成，在熱處理過程中會將骨頭內的有機成份去除，留下無機的鈣磷酸類，經切割成所須形狀來使用，或利用人工合成的鈣酸，經由燒結的方式來製得我們所須的材料，利用這種材料的多孔性質，將藥物含浸於其中而形成藥物傳輸系統 (drug delivery system, DDS)，在植入人體後，緩慢將藥物釋出來到預防或治療感染的目的地。(2) 骨水泥 (bone cement)，主要是利用不同的鈣磷酸鹽類於人體體液或含水的環境中會產生溶解作用及偏析磷灰石的反應來造成固結硬化，這些在材料中所形成的偏析的磷灰石結晶會使材料凝聚而產生如同水泥凝結的作用而到修補骨頭缺陷的效果。同樣地，在混合骨水泥時可將藥物加入使其在植入人體後緩慢釋放到預防及治療感染的效果。

本研究所使用的材料為 α -TCP/HAP 雙相材料，屬於骨水泥材料，其優點是可在體外捏製成所須形狀並加入藥物，且在植入人體後由於 α -TCP 產生溶解作用及偏析磷灰石的反應而到所須強度，並持續釋放藥物，以其能到治療效果。

材料與方法

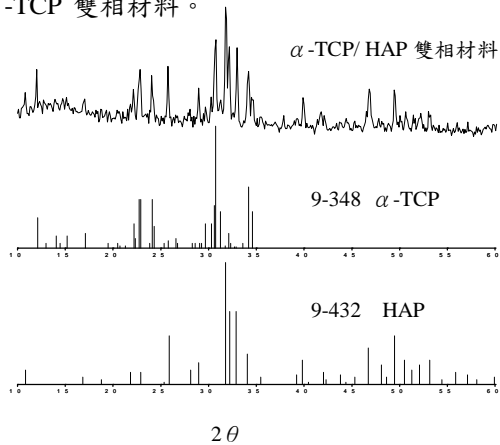
本實驗所使用的 α -TCP/HAP 雙相材料是由磷酸銨 $[(NH_4)_2HPO_4]$ 加去離子水 (distill water) 形成磷酸銨水溶液再加入氫氧基磷灰石 $[HAP, Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ 均勻混合後烘乾，再將烘乾後的混合物研磨後，經熱處理而得到 α -TCP/HAP 雙相粉末。

先將 gentamicin sulfate 粉末溶成不同濃度的水溶液，再把 α -TCP/HAP 粉末與 gentamicin sulfate 溶液混合捏製成塊狀，配製出含有 0wt%、4wt% 及 16wt% gentamicin sulfate 的三組試片，再將製備好的試片置於 10ml 的去離子水中，並且隔一段時間 (15min、2、4、8、16、24、48、72、96、120、144、168 hr) 將試片取出，取出的試片經適當的處理後進行 XRD、FT/IR 及 SEM 分析以了解其變化。

在釋放實驗中，我們製備含有 4wt%、8wt% 及 16wt% gentamicin sulfate 的三組試片，再將試片放置在 10ml 的去離子水中進行釋放，並隔一段時間更換釋放液，最後再偵測釋放液中 gentamicin 的濃度。

實驗結果與討論

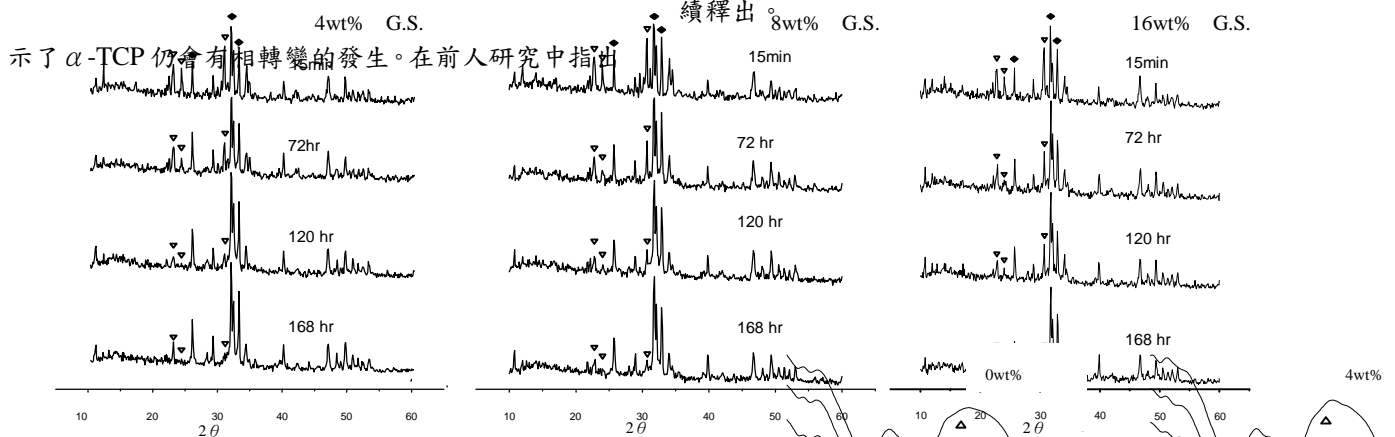
熱處理後由 XRD 的分析可確定是否形成所須的 α -TCP/HAP 雙相材料，圖一為 XRD 分析所得的繞射圖譜。JCPDS Card 9-348 為 α -TCP 的標準繞射圖譜，JCPDS Card 9-432 則為 HAP 的標準繞射圖譜。比對 JCPDS Card 後，我們可確定燒製出來的材料確為 HAP/ α -TCP 雙相材料。



圖二分別是 0wt%、4wt%、16wt% G.S. 含量的試片在不同時間下之 X-Ray 繞射圖譜，由這三張圖中各相的繞射峰強度可以看出 α -TCP(∇)的繞射峰強度隨著時間的增加而逐漸減弱。相對上，屬於 HAP(\blacklozenge)的繞射峰強度則逐漸增加。也就是說， α -TCP 的含量逐漸減少而 HAP 的含量則逐漸增加。由之前文獻所提及的固結硬化機構中，已知 α -TCP 在水中會溶釋並再結晶成 d-HAP[Ca₉(HPO₄)(PO₄)₅(OH)]，從 X-Ray 繞射圖譜証實了在加入了 gentamicin sulfate 後， α -TCP 仍然能轉變為 HAP。

此外，由圖二中比較 α -TCP(∇)的最大繞射峰強度($2\theta=30.751^\circ$)，可以發現到含有 gentamicin sulfate 的試片其 α -TCP 的最大繞射峰強度減弱之速率比不含 gentamicin sulfate 的試片來的慢。換句話說，在加入了藥物後可能會延緩 α -TCP 的相轉變，我們認為可能是由於 gentamicin sulfate 本身是一個相當大的分子，因此當 α -TCP/HAP 雙相材料混合了藥物後，巨大的藥物分子本身會形成 α -TCP 溶釋與再結晶過程的障礙，而使得 α -TCP 相轉變的速率變慢。

從圖二中也看到了 HAP 繞射峰強度的增加，這表

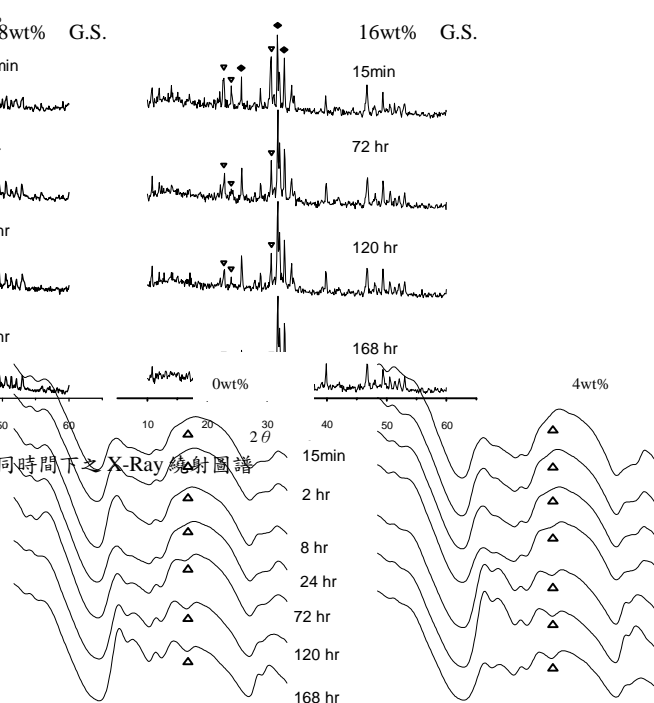


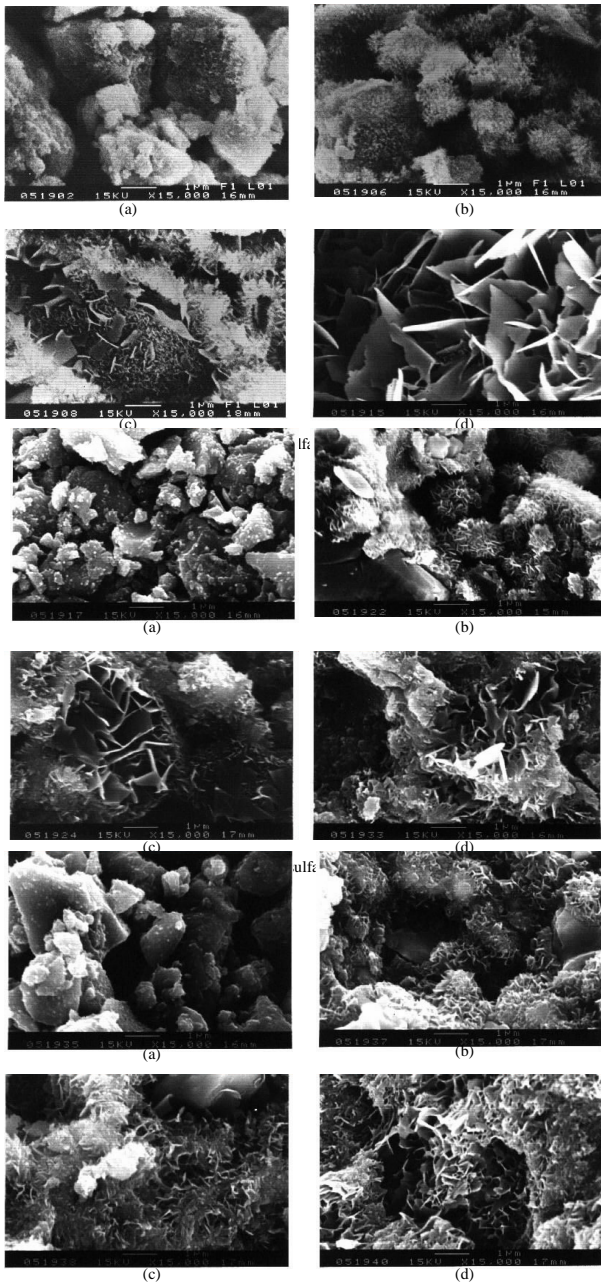
圖二 0wt%、4wt%、16wt% G.S. 含量的試片在不同時間下之 X-Ray 繞射圖譜

α -TCP 相轉變的最終產物應為 d-HAP，然而在 X-ray 繞射圖譜中並不能分辨 d-HAP 與 HAP 的差別，因此必須藉由傅利葉轉換紅外線光譜(FT/IR)來分析試片的官能基。圖三分別是含 0wt%、4wt%、16wt% gentamicin sulfate 之試片在水中浸泡不同時間的 FT/IR 吸收光譜。圖中在波長 863.95 cm^{-1} 處的吸收峰為 HPO_4^- 所造成^[41]，從這三張圖中可以看出，在 863.95 cm^{-1} 處的吸收峰隨著時間的進行逐漸變得明顯，也就是說 HPO_4^- 逐漸形成。而且不論是否含有藥物都可以看到此一吸收峰，圖三的各試片圖譜並沒有明顯的差異。因此從 FT/IR 吸收光譜証實了加入藥物並不會影響 α -TCP 相轉變的最終產物 d-HAP。

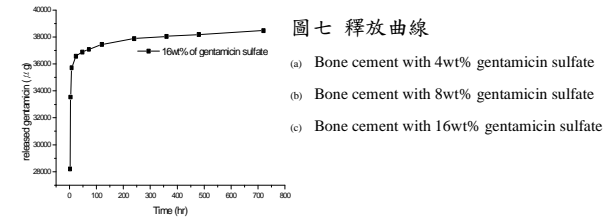
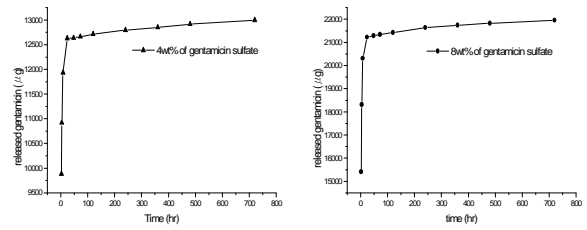
由一系列 SEM 照片中可發現幾個現象，首先比較圖四、圖五、圖六，即可發現在圖四(a)已有相當多的針狀，而圖五(a)、圖六(a)中則尚未看到明顯的針狀結構結構，再次証實了藥物的加入會延緩 α -TCP 的相轉變。此外藥物的加入導致了較細微的再結晶晶粒尺寸，比較圖四(d)、圖五(d)、圖六(d)可以發現在圖四(d)中有相當巨大的片狀結晶，其平均的晶粒尺寸在數個 μm 以上，相對而言，在圖五(d)、圖六(d)中的平均再結晶晶粒尺寸則在 $1\mu\text{m}$ 左右，甚至在 $1\mu\text{m}$ 以下。我們認為可能是由於 gentamicin sulfate 巨大的分子結構影響了孕核與晶粒成長速率所致，當晶粒成長速率減慢時有可能會使得孕核機率增加，而當孕核速率大於晶粒成長速率時就會形成較細微的結構。所以在這裡我們認為是由於 gentamicin sulfate 巨大的分子結構阻礙了 d-HAP 的晶粒成長，因而導致了此一緻密的顯微結構。

圖七(a)、(b)、(c)中可以看到在 24 小時前即有大量藥物的釋出，而這對於治療骨髓炎或其它骨骼感染而言是有益的。不論初始藥物含量(4、8、16wt%)的多寡，其釋放行為都分成兩階段，且其轉折點都在 24 小時左右。此一現象並不因藥物濃度高低而有明顯差異，因此我們推測這是由於 α -TCP 溶釋與再結晶產生的針狀或片狀結構 d-HAP 阻礙了藥物擴散。在這三個不同藥物濃度的系統中，我們可以觀察到在第二階段的釋放上，其釋放曲線的斜率都較平緩，意即初期釋放後所剩下的藥物以緩慢而持續的方式釋放出來，這對於須要長時間治療的疾病而言是相當重要的。從圖七(a)、(b)、(c)中亦可以看到在 720 小時仍有藥物的持續釋出。





圖六 Bone cement with 16wt% Gentamicin sulfate (a) 15 min (b) 24 hr (c) 72 hr (d) 168 hr



圖七 釋放曲線

- (a) Bone cement with 4wt% gentamicin sulfate
- (b) Bone cement with 8wt% gentamicin sulfate
- (c) Bone cement with 16wt% gentamicin sulfate

結論

我們証實了藥物的加入會延緩 α -TCP的相轉變時間，但並不影響其最終產物，而藥物的加入在顯微結構上會使 α -TCP相轉變後的顯微結構變得較為緻密，並形成針狀與片狀結構，而平均晶粒尺寸也比不加藥物的試片小。

從藥物釋放曲線中，我們可以發現此一藥物釋放系統有幾項特性，初期有相當高的藥物釋放量，且其釋放行為呈現兩階段釋放，另外由於 α -TCP溶釋與再結晶產生的針狀或片狀結構 d-HAP 因此在藥物釋放上有緩釋(slow release)的效果，使局部區域的藥物濃度能維持較長的時間。

因此對骨髓炎的治療而言，此一藥物釋放系統應可在局部區域維持一足夠之抑菌濃度 30 天，就治療上而言應是較為方便且能減少患者不便的一種有效方式。

參考文獻

1. Stephen B. Trippel “Antibiotic Impregnated Cement in Total Joint Arthroplasty” J. of Bone and Joint Surgery, vol.68-A, NO.8, 1986
2. Clive P. Duncan etc., “The Role of Antibiotic load Cement in the Treatment of an Infection after a Hip replacement” J. of Bone and Joint Surgery, vol.76-A, NO.11, 1994