

# TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/介孔羟基磷灰石复合型药物载体的构建及药物缓释研究

福建省福州市第二医院骨科 (福州 350007) 郑 竑 陈学生 林 伟<sup>1</sup>

**【摘 要】** 目的 构建一种骨科钛板表面 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/介孔羟基磷灰石 (m-HA) 复合型药物载体, 考察阿仑膦酸钠 (ALN) 在其上的缓释性能。方法 利用 X 射线衍射 (XRD)、扫描电镜 (SEM)、透射电镜 (TEM) 分别表征 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列及 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体的形貌, 并测定其上负载 ALN 的缓释。结果 成功构建了稳定的 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体, 相对于 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列具有更大的药物担载量。同时负载在 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列中的 ALN 在第 3 d 时释放量即达  $(88.06 \pm 6.27)\%$ , 从第 5 d 开始, 药物释放基本完毕, 8 d 后的总释放率为  $(94.91 \pm 8.51)\%$ ; 负载在 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体中的 ALN 在第 3 d 时的释放量仅为  $(66.51 \pm 5.37)\%$ , 且在后续的几天里保持持续缓慢释放药物, 8 d 后总释放率达到  $(97.31 \pm 8.22)\%$ 。结论 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体比单纯的 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列具有更大的药物担载量, 同时缓释性能更好。

**【关键词】** 骨科钛板; TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列; 介孔羟基磷灰石; 阿仑膦酸钠; 缓释

**【中图分类号】** R68 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-2600(2019)03-0008-04

**Construction and drug sustained release of TiO<sub>2</sub> nanotube array/mesoporous hydroxyapatite composite drug carrier** ZHENG Hong, CHEN Xuesheng, LIN Wei. Department of Orthopaedics, Fuzhou Municipal Second Hospital, Fuzhou, Fujian 350007, China

**【Abstract】** **Objective** To construct a TiO<sub>2</sub> nanotube array/mesoporous hydroxyapatite (m-HA) composite drug carrier on the surface of orthopedic titanium plate, and investigate the sustained release of alendronate sodium (ALN) on its performance. **Methods** X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM)

基金项目: 2018 年福建省自然科学基金面上项目 (2018J01357)

<sup>1</sup> 通信作者, Email: linwei\_fj@126.com

were used to characterize the morphology of  $\text{TiO}_2$  nanotube array and  $\text{TiO}_2$  nanotube array/m-HA composite drug carriers. The sustained release of the loaded ALN was measured. **Results** Stable  $\text{TiO}_2$  nanotube array/m-HA composite drug carriers were successfully constructed, which had a larger drug loading capacity than the  $\text{TiO}_2$  nanotube array. The release rate of ALN loaded on the  $\text{TiO}_2$  nanotube array at the 3rd days was  $(88.06 \pm 6.27)\%$ , the drug release was almost completed from the 5th day, and the total release rate after eight days was  $(94.91 \pm 8.51)\%$ . The release rate of ALN loaded on the  $\text{TiO}_2$  nanotube array/m-HA composite drug carriers was only  $(66.51 \pm 5.37)\%$  at the 3rd days, the sustained release of the drug continued for the next few days, and the total release rate reached  $(97.31 \pm 8.22)\%$  after eight days. **Conclusion** The  $\text{TiO}_2$  nanotube array/m-HA composite drug carrier has a larger drug loading than the pure  $\text{TiO}_2$  nanotube array, and the sustained release performance is better.

**【Key words】** orthopedic titanium plate;  $\text{TiO}_2$  nanotube array; mesoporous hydroxyapatite; alendronate sodium; sustained release

内植物材料由于其良好的生物学特性,目前已广泛地应用于骨科手术中,其中细菌贴附造成的内植物感染是骨科手术后的灾难性并发症。因此,如何在内植物表面进行抗菌或抑菌修饰是研究的热点。 $\text{TiO}_2$  纳米管阵列作为一种新型药物载体,具有独特的中空结构、纳米管径及表面易功能化等特点<sup>[1]</sup>。羟基磷灰石(HA)是天然骨组织中无机质的主要成分,具有良好的生物活性、生物相容性和骨诱导性。在骨科领域中,介孔羟基磷灰石(mesoporous hydroxyapatite, m-HA)由于具备更宽大的孔道空间和吸附性能,因此在增加药物的负载及释放控制的同时利于骨的诱导和骨的长入。因此,本研究以骨科钛板为基体,在其表面构建  $\text{TiO}_2$  纳米管阵列,在管内填充 m-HA,构建  $\text{TiO}_2$  纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体,并以阿仑磷酸钠(alendronate sodium, ALN)作为负载药物,考察该复合型药物载体的缓释性能。

## 1 材料与方法

**1.1 材料:** 钛片(西北有色金属研究院),纯度 99.6%,金相砂纸抛光后,无水乙醇超声振荡清洗去油,去离子水冲洗 3 次后室温干燥后备用。 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (西陇化工股份有限公司),ALN(杭州默沙东制药有限公司),其余试剂均为国产分析纯。

## 1.2 实验方法:

**1.2.1 m-HA 的合成:** 按 Ca/P 物质的量比 1.67 称取  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  和  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 。先将  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  溶于装有无水乙醇的小烧杯中得到  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  溶液,将其置于装有氨水的大烧杯中,薄膜封口,在氨气的作用下, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  溶液的 pH 被调节到 10.5 左右。将称取的  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  溶于蒸馏水中,边搅拌边缓慢将其滴加入  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  溶液中,滴加结束后,继续搅拌 2 h,室温陈化 24 h,即可得到介孔羟基磷灰石

溶胶<sup>[2]</sup>。

**1.2.2  $\text{TiO}_2$  纳米管阵列的制备及其表征:** 采用化学阳极氧化法制备  $\text{TiO}_2$  纳米管阵列。制备时采用量程为 0~30 V 的可调式直流稳压稳流电源,以钛片为阳极,石墨为阴极,电解液的成分为氟化铵、硫酸铵、甘油和水。阳极氧化反应在阳极电压为 20 V、磁力搅拌下室温连续进行 60 min。反应结束后,样品用蒸馏水清洗,置于空气中干燥。干燥后的样品放入马弗炉中煅烧,煅烧温度 450 °C,煅烧时间 2 h,即可得  $\text{TiO}_2$  纳米管阵列。

**1.2.3  $\text{TiO}_2$  纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体的构建:** 室温下,将  $\text{TiO}_2$  纳米管阵列钛片缓慢浸入到介孔羟基磷灰石溶胶中,完全浸没后静置 30 s,缓慢提出后置于烘箱内,缓慢加热至 70 °C,维持 15 min。取出后立即转入放到马弗炉中升温到 500 °C 煅烧,升温速率为 5 °C/min,保温 2 h,随炉冷却至室温,即可得到  $\text{TiO}_2$  纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体。

**1.2.4 不同材料的结构形貌表征:** 钛片、 $\text{TiO}_2$  纳米管阵列、 $\text{TiO}_2$  纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体的形貌采用场发射扫描电子显微镜(FE-SEM, JSM-5600LV 型)进行形貌观察。X 射线衍射(XRD)分析采用 Philips X'Pert 射线衍射仪测定。分别取 10 例  $\text{TiO}_2$  纳米管阵列、 $\text{TiO}_2$  纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体利用 Autosorb-1C-TCD 型全自动比表面积和孔径分布分析仪(荷兰帕纳科公司)进行比表面积及孔径的测定。

**1.2.5 ALN 在不同材料上的吸附与缓释:** 分别取 10 例  $\text{TiO}_2$  纳米管阵列、 $\text{TiO}_2$  纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体置于 200 mL、3 mg/mL 的 ALN 水溶液中,动态吸附 36 h 后取出,用柱前衍生化 HPLC 法测定溶液中的 ALN 剩余浓度<sup>[3-5]</sup>,计算 ALN 在载体中的最大吸附量 M (mg)<sup>[6]</sup>。释放率

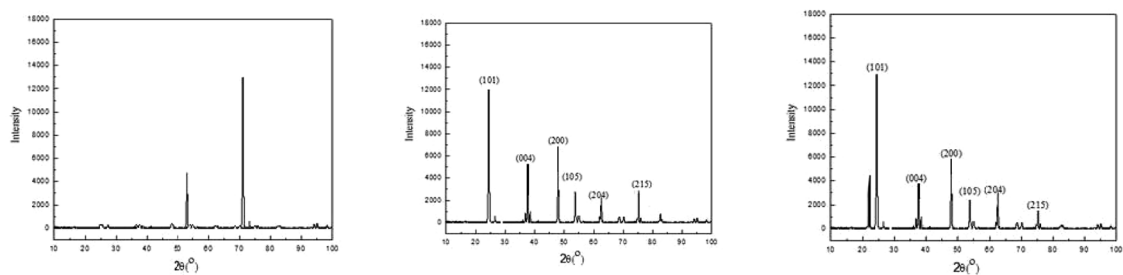
计算公式:  $\frac{200p}{M} \times 100\%$ 。

**1.6 统计学分析:** 采用 SPSS 19.0 进行结果的统计分析, 计量资料以均值±标准差表示, 结果采用 *t* 检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同材料的结构形貌表征:** 图 1 为 3 种材料的 XRD 图谱。如图 1 中的左图所示, 钛片只有 Ti 的特征峰, 在  $10 \sim 30^\circ$  范围内有轻微的隆起, 符合无定形结构的衍射图谱特征。TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列的

XRD 图谱如图 1 中的中图所示, 除 Ti 特征峰外, 在  $2\theta = 24.1^\circ$ 、 $38.3^\circ$ 、 $48.1^\circ$ 、 $53.9^\circ$ 、 $75.6^\circ$  处出现了 TiO<sub>2</sub> 锐钛矿相 (101)、(004)、(200)、(105)、(215) 晶面的特征峰。TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体的 XRD 图谱如图 1 中的右图所示, 图中除了基体 Ti 及 TiO<sub>2</sub> 锐钛矿的特征衍射峰外, 在  $2\theta = 21.7^\circ$  还出现了 HA 的特征衍射峰, 说明了 m-HA 成功地被固定到 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列的孔道中。

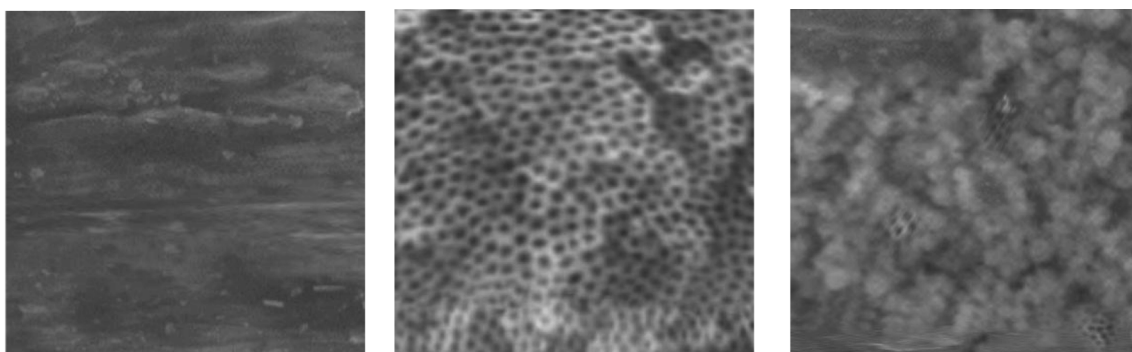


注: 左图为钛片; 中图为 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列; 右图为 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体。

图 1 不同材料的 XRD 图谱

**2.2 不同材料的扫描电镜分析:** 采用扫描电镜观察钛片 (图 2 左)、TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列 (图 2 中)、TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体 (图 2 右) 表面形貌。可见经过阳极氧化技术的钛金属表面的纳米管已聚集收拢成阵列, 其排列规则、形态均匀、垂直分布于钛金属基底 (图 2 中)。TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体 (图 2 右) 的钛片骨架保存完好, m-HA 填满了 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列

孔道中大部分缝隙, 少数小孔道未被填满, 说明 m-HA 已被成功固定到 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列的孔道中, 形成了没有完全填充的正面实心复合材料。TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体的孔容、载药量、比表面积较 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列载体升高, 平均管径降低, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 表 1)。



注: 左图为钛片; 中图为 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列; 右图为 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体。

图 2 不同材料的扫描电镜图 (1 μm)

表 1 两种复合型药物载体的表征 ( $\bar{x} \pm s$ )

药物载体	孔容/ (cm <sup>3</sup> /g)	载药量/ %	平均管径/nm	比表面积/ (m <sup>2</sup> /g)
TiO <sub>2</sub> 纳米管阵列载体	0.212±0.016	55.77±4.79	235.64±23.76	79.37±11.03
TiO <sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体	0.249±0.021 *	67.12±5.12 *	137.59±12.35 *	162.38±14.38 *

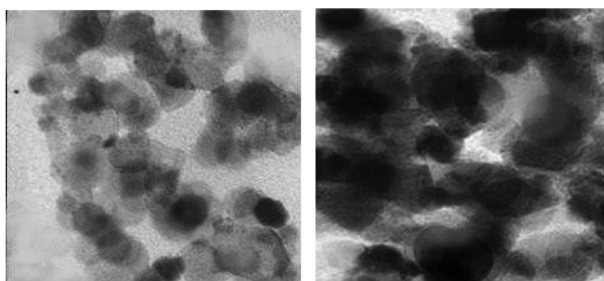
注: 与 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列载体比较, \*  $P < 0.05$ 。

表 2 不同药物载体在模拟体液中的释放速率 (%)

不同载体	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d
TiO <sub>2</sub> 纳米管阵列载体	50.98±4.12	76.11±5.03	88.06±6.27	91.71±8.31	92.37±7.85	93.22±7.47	94.67±8.22	94.91±8.51
TiO <sub>2</sub> 纳米管阵列/ m-HA 复合型药物载体	39.11±2.44*	54.89±3.83*	66.51±5.37*	79.96±6.82*	88.87±6.79*	90.37±7.85*	92.37±7.85	97.31±8.22

注：与 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列载体比较，\*  $P < 0.05$ 。

**2.3 ALN 在不同材料上的吸附与缓释：**图 3 为 ALN 在 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列以及 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合药物载体上的透射电镜 (TEM) 照片。从图中可以看出 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合药物载体较 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列有更大的药物负载量。



注：左图为 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/ALN；右图为 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA /ALN

图 3 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵/ALN 与 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA/ALN 的 TEM 图 (100 nm)

ALN 在 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列载体与 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体的模拟体液中的释放速率见表 2。负载在 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列中的 ALN 在第 3 d 时释放量即达 (88.06±6.27)%，从第 5 d 开始，药物释放基本完毕，8 d 后的总释放率为 (94.91±8.51)%；负载在 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体中的 ALN 在第 3 d 时的释放量仅为 (66.51±5.37)%，且在后续的几天里保持持续缓慢释放药物，8 d 后总释放率达到 (97.31±8.22)%。

### 3 讨论

TiO<sub>2</sub> 作为一种骨科内植物材料，其生物相容性已广为人所知。钛金属之所以具有良好的生物相容性，正是因为钛表面被一层致密的 TiO<sub>2</sub> 膜所覆盖。通过电化学阳极氧化的方法可在钛金属表面制备出一层管径可控、均匀有序的 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列，

其独特的中空结构、纳米管径及表面易功能化使之成为极有吸引力的新型药物载体。m-HA 具有良好生物活性和骨诱导性，其宽大的孔道空间和吸附性能，能够增加药物负载控制药物缓释，同时大孔道的存在有利于骨的诱导和骨的长入。

本研究通过阳极氧化在基体表面构建 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列，并在管内填充介孔羟基磷灰石，构建 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/介孔羟基磷灰石复合药物载体，并以 ALN 作为负载药物，考察该复合型药物载体的缓释性能，结果表明成功构建的稳定 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体，相对于 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列具有更大的药物负载量，同时负载在 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体中的 ALN 在 1~5 d 仅释放了 80.92%，8 d 后的释放率达到 97.31%，由此说明骨科钛板表面 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/m-HA 复合型药物载体较单纯的 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列能够有效增加药物负载量，同时提升阿仑膦酸钠在骨科钛板表面的缓释性能。

### 参考文献

- [1] 刘非拉, 肖鹏, 周明, 等. 二氧化钛纳米管阵列的制备、改性及应用 [J]. 无机化学学报, 2012, 28 (5): 861-872.
- [2] 王文焱, 卢高, 谢敬佩, 等. 溶胶-凝胶法在钛表面制备钛/羟基磷灰石生物涂层 [J]. 表面技术, 2011, 40 (5): 21-24.
- [3] 胡惠静, 卢婷利, 陈涛. 阿仑膦酸钠药物的分析 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2009, 26 (3): 198-202.
- [4] 宋少刚, 田洁, 聂新华, 等. 柱前衍生化 HPLC 法测定阿仑膦酸钠的浓度 [J]. 中国药房, 2009, 20 (16): 1251-1252.
- [5] Yun M H, Kwon K I. High-performance liquid chromatography method for determining alendronate sodium in human plasma by detecting fluorescence: Application to a pharmacokinetic study in humans [J]. J Pharm Biomed Anal, 2006, 40 (1): 168.
- [6] 林妙阔, 黄尔丹, 黄向红, 等. 骨科钛板表面 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列/MCM-41 分子筛复合型药物载体的构建及负载阿仑膦酸钠缓释性能研究 [J]. 福建医药杂志, 2017, 39 (1): 58-61.