

A New Preservable Calcium Phosphate-Based Root Canal Sealer

Zu-de Feng, Xiao-juan Chi, Jing-jing Sun, Yu-xing Song, Ying Ma

College of Materials, Xiamen University, Xiamen, China

Email: zdfeng@xmu.edu.cn

Abstract: Preservable root canal sealer had received extensive attention because of its well application in the therapy of pulpitis and periapical periodontitis. The objective of this study was to develop a new kind of preservable root canal sealer based on calcium phosphate cement (CPC). Metronidazole-loaded mesoporous calcium-stabilized zirconia, as a developer, was added to increase the sterilizing effect and exhibited good radiopacity and sealing ability. The physicochemical properties of sealer had no obvious change during two months when premixed and stored at 4°C, 50% relative humidity (RH). With the addition of moist agent and gelling agent, the workability and the microstructure of sealer hardly changed in two months after being stored at 4°C, 50% RH and the metronidazole could be released slowly so as to inhibit the growth of bacteria.

Keywords: preservable root canal sealer; calcium phosphate cement; calcium-doped mesoporous zirconium oxides drug controlled release

预调制可储存性根管充填糊剂的研制

冯祖德, 迟小娟, 孙婧婧, 宋玉兴, 马英

厦门大学 材料学院, 福建 厦门, 中国, 361005

Email: zdfeng@xmu.edu.cn

摘要: 磷酸钙骨水泥作为一种新型的根管充填材料, 以其生物相容性高和易塑形的特点得到材料界和医学界的广泛关注。本文用液相后移植工艺方法合成钙稳定介孔氧化锆, 将甲硝唑负载其孔道内, 作为根管消炎显影剂。在骨水泥中加入一定含量的保湿剂、增稠剂以及抗菌消炎显影剂, 制得可储存性根管充填材料。结果表明: 添加剂的加入增强了糊剂的稳定性。当糊剂保存在 4°C、50%相对湿度条件下, 两个月内糊剂的物化性能和显微结构几乎没有变化。此外该糊剂具有良好的显影性及生物相容性, 甲硝唑在一段时间内可以缓慢释放达到根管消炎的作用。

关键词: 可储存性根充糊剂; 磷酸钙骨水泥; 钙稳定介孔氧化锆; 药物缓释

1 引言

根管治疗(Root Canal Therapy, RCT)是治疗各种牙髓病与根尖周病的有效方法, 也是国际上最流行的先进治疗技术。根管治疗的成败与填充根管时所采用的材料有密切的关系, 开发新型的可注射成型、原位固化, 同时可促进根尖周组织愈合的材料是目前根管填充材料研究的方向。临床上使用的绝大多数根管填充糊剂, 如磷酸锌水门汀、氧化锌丁香油水门汀和玻璃离子水门汀等都是现调现用的^[1]。这些糊剂的产品大多采用固相与液相分离的大包装, 使用时再取出少量的粉末与液相调和成糊剂进行填充。这种传统根充

糊剂的缺点: (1)延长临床操作时间; (2)增大了糊剂混合不充分、不均匀的几率, 从而影响填充效果; (3)所有的器械和原料需要灭菌, 糊剂混合也需要在无菌条件下进行^[2], 这会因为人为因素影响糊剂的性能。以 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 与碘仿为主要原料的 Vitapex[®]糊剂虽然无需现调, 但是 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 为非固型填充糊剂, 不能完全封闭根尖孔^[3]。此外, 碘仿无杀菌作用, 遇到组织液、脂肪或遇到细菌产物时可缓慢分解产生游离碘, 有杀菌和使细菌产物氧化的作用^[4], 但碘仿具有一定的细胞毒性^[5]。

磷酸钙骨水泥(Calcium Phosphate Cement, CPC)作为一种比较成熟的骨科修复材料, 以其生物相容性高和易塑形的特点得到材料界和医学界的广泛关注, 而且它还具有潜在的牙本质重建功能^[6]。本文采用钙

基金项目: 福建省纳米重大专项 (2005HZ01-3); 福建省发改委专项资助

稳定介孔氧化锆为载体，将甲硝唑负载其孔道作为根管消炎显影剂，通过药物的缓慢释放来达到根管的持续抗菌消炎作用。其中保湿剂、增稠剂等添加剂的加入延长了糊剂存储时间，缩短了临床应用时间，极大方便了临床应用。

2 实验方法

本文采用液相后移植工艺方法合成钙掺杂介孔氧化锆^[7]，并将甲硝唑负载于其孔道内，使其具有抗菌消炎和显影功能以代替传统的碘仿显影剂。将该显影剂、磷酸钙骨水泥粉末和其他添加剂与适量固化液混合均匀制备成可储存型根管充填糊剂。用 X 射线衍射仪(X'pert PRO panalytical Netherlands)对钙稳定介孔氧化锆粉体、药物组装体及保存不同时间(最长至 3 个月)的根管填充糊剂进行分析；用红外光谱仪(Avatar 360, Nicolet)分析组装体中药物存在状态；用 MTT 法评价根管充填材料细胞毒性；用智能药物溶出仪(ZRS-8G, 天津)测试根管糊剂的药物缓释性能；按照 ISO 6876:2001(E)标准，对于根充糊剂的流动性、可操作时间、凝结时间进行测定。

3 实验结果与分析

3.1 药物组装体分析

图 1 为甲硝唑以及载药前后载体的红外图谱。图 1(A)是载药后载体的红外图谱，图 1(B)是甲硝唑的红外图谱，而图 1(C)显示载药前载体的红外图谱。可以看出，载药后载体的主要特征峰与载药前基本一致，但载药后，药物组装体中出现原药亚甲基(1535.16cm^{-1})和羟基(1477.87cm^{-1})的弯曲振动峰，说明药物分子已经载到钙稳定介孔氧化锆中。

甲硝唑与载体机械混合 A、组装体 B 和甲硝唑晶体 C 的 XRD 谱图如图 2 所示。图 2(B)与甲硝唑与图 2(A)的药物机械混合体相比可知，组装体中没有出现甲硝唑晶体的衍射峰，这表明药物分子是以单分子分散状态存在于载体孔道中，而不是以晶体形式存在的。这与在有限空间内进行结晶性能的研究结果^[8]相一致，当孔径尺寸明显大于分子尺寸，约分子尺寸 20 倍时才会有晶体形成。

3.2 X 射线阻射性分析

不同含量显影剂的根管糊剂的填充效果如图 3 所示。含有 5wt% 显影剂的磷酸钙糊剂显影效果很不理想，基本上看不出填入后的形状。含有 10wt% 显影剂

的磷酸钙糊剂具有一定的显影效果，但是边缘处不是很清晰。含有 15wt% 显影剂的磷酸钙糊剂能很好地显影根管而且不会像碘仿显影剂一样，过大量地加入会引起牙体的变色。

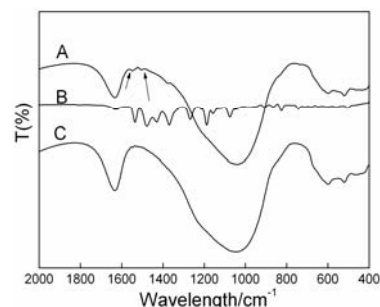


Figure 1. IR spectra of metronidazole together with carrier before and after drug storage

(A) metronidazole/carrier (B) metronidazole (C) carrier

图 1. 甲硝唑以及载药前后的载体红外图谱

(A)载药后 (B)甲硝唑 (C)载药前

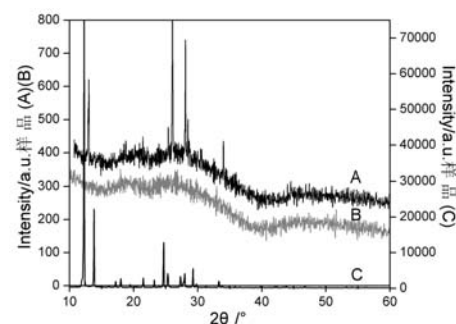


Figure 2. XRD patterns

(A) carrier loaded with metronidazole

(B) metronidazole mixed with carrier

(C) metronidazole

图 2. XRD 图

(A)甲硝唑与载体机械混合 (B)组装体 (C)甲硝唑

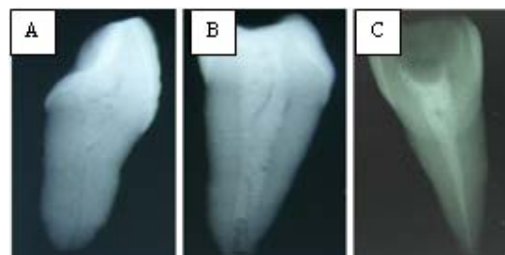


Figure 3. The radiographic visibility of filled tooth with different contents of developer

(A) 5wt% (B) 10wt% (C) 15wt%

图 3. 不同显影剂含量糊剂的 X-ray 显影图片

(A)5wt% (B)10wt% (C)15wt%

3.3 可储存性分析

影响固化反应进行的主要因素有固化液的组成、温度、湿度^[9, 10, 11]。将可存储性糊剂密封保存在 4℃, 50%RH 两周后电镜图片如图 4 所示。图 4(A)为现调糊剂, 图 4(B)为没有增稠剂的糊剂, 图 4(C)为含有增稠剂的可存储性糊剂。如图 4 所示, 两周之后, 与现调糊剂相比, 不含增稠剂的空白糊剂的颗粒间距变小, 而且部分颗粒还发生了溶解, 颗粒粒径变小, 如图 4(B)中箭头所指; 而含增稠剂的颗粒粒径大小基本一致, 并且颗粒间能够保持较好的分散关系, 如图 4(C)所示。结合 XRD 图可以看出两个月内糊剂的物相组成几乎没有发生变化。固化液中, 甘油有很强的吸湿性, 可以防止糊剂中水分的散失, 作为一种粘性化合物, 它具有很好的润滑性, 能使颗粒间更好地相对滑动, 增强了糊剂的流动性^[12]。此外, 增稠剂的加入增加了糊剂的粘度和稳定性, 糊剂中固体颗粒的沉降速率减慢, 不会像空白糊剂那样发生局部沉降, 最后导致液固两相分离; 另一方面, 增稠剂的加入减少了液相中水分的相对含量, 部分增稠剂会附着在颗粒表面, 减少颗粒与液相中水分的接触几率, 从而延缓或阻止了颗粒的溶解。根据阿伦尼乌斯方程:

$$k = A \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right)$$

温度与反应速率成反比关系, 当糊剂在低温保存时, 固化反应的速率常数很小, 不利于固化反应的进

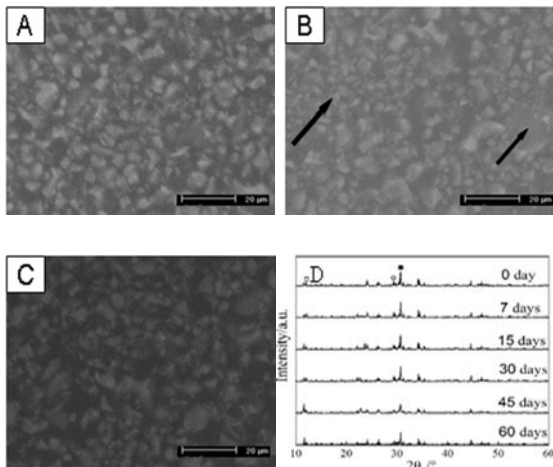


Figure 4. Morphology and phase of root canal sealer
 (A) fresh sealer (B) blank Sealer (C) preservable root canal sealer
 (D) preservable root canal sealer (■:α-TCP □:DCPD ○:CC)
 图 4. 根管填充糊剂的形貌及物相
 (A)现调糊剂 (B)空白糊剂 (C)可存储糊剂 (D)可存储糊剂曲线

行。同时, 低的湿度也不利于固化反应的进行。有研究表明, 不加任何添加剂的空白骨水泥在三天内固化反应完全^[13], 而可存储性根管糊剂固化过程持续十天。当糊剂解冻后注入根管后, 由于添加剂的加入, 在固化反应过程中, 显影剂、增稠剂等不参与固化反应的物质能够黏附在磷灰石颗粒表面, 阻碍颗粒间以及颗粒与水的接触, 延缓了固化反应的进行, 而固化液中的甘油等保湿剂可以吸收空气中的水分, 与外界进行水分交换, 维持固化反应的进行。

3.4 MTT 实验结果及分析

Table 1. The relative growth rate of extracting solution RGR(%) and toxicity assessment
 表 1. 根管糊剂浸提液的细胞相对增值率 RGR(%)及毒性评价

材料(浸提液浓度 100%)	RGR	毒性级
碘仿糊剂	81.12 ± 0.02	1
钙稳定介孔氧化锆糊剂	103.36 ± 0.03	0
阳性对照	38.00 ± 0.13	3
空白对照	100	0

各组细胞相对增值率 RGR 及毒性评价结果见表 1。碘仿糊剂 RGR>75%, 细胞毒性 1 级。与碘仿作为显影剂的碘仿糊剂相比, 钙稳定介孔氧化锆糊剂具有良好的生物相容性, RGR>100%, 细胞毒性 0 级。氧化锆作为一种生物惰性材料, 不具有生物活性, 不会与生物组织和口腔分泌物反应, 具有很好的生物相容性, 在口腔内能稳定存在, 不释放有害杂质, 并且不降解。C.Piconi^[14]等亦认为 ZrO₂ 材料无诱变和致癌效应。其较高的密度能很好地显影根管。

3.5 药物缓释分析

图 5 为组装体与机械混合体根管充填材料的药物释放曲线图。由图 5 可以看出, 与药物机械混合的糊剂, 在 10 天内药物几乎释放完全, 而药物与载体组装体的糊剂, 药物分子进入到载体孔道内, 药物分子尺寸与载体孔径尺寸能良好的匹配, 药物能够在根管中达到缓慢释放的效果。最初 4 小时内药物的爆发性释放, 是由于载体表面吸附药物快速溶解和释放^[15]。经十天后, 药物累积释放量仅达到 0.43 左右, 从而能够起到对根管的持续抗菌消炎作用。

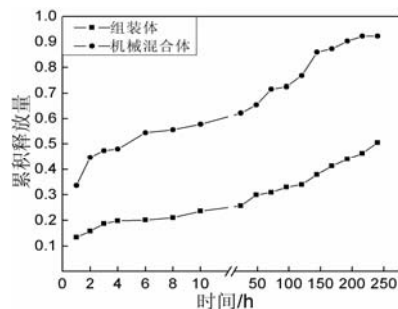


Figure 5. Metronidazole delivery properties with time

图 5. 甲硝唑随时间的缓释效果

4 结论

上述研究表明,以钙稳定介孔氧化锆为药物载体,将抗菌消炎药物负载其上得到一种良好的根管消炎显影剂,与骨水泥混合后,该根管糊剂具有良好的显影性和生物相容性。当加入一定的保湿剂及增稠剂并保存在 4℃、50%RH 环境下,糊剂的物化性能和微观结构在两个月内几乎没有发生变化,恢复室温解冻后注入根管时,能在一段时间内固化,封闭根管。其中的抗菌药物可以缓慢释放达到根管持续抗菌消炎的作

用,极大方便了临床应用。

References (参考文献)

- [1] Z Q Chen. Science of Dental Material [M]. Beijing: People Health Press, 2003. 123.
- [2] Xu H H K, Carey L E, Simon C G, *et al.* Dent Mater [J]. 2007, 943: 1-9.
- [3] Harbert H. Journal of Endodontics [J]. 1996, 22(12): 690.
- [4] Martin H. United States Patent: US5646197 [P]. 07/08/1997.
- [5] Kim J S, Baek S H, Bea K S. J Endodont [J]. 2004, 10:708-711.
- [6] Lee Y K, Lim B S, Kim C W, *et al.* Journal of Oral Rehabilitation, [J]. 2003, 30(4): 418-425.
- [7] J J Sun, S W Li, Z D Feng. Inorganic Chemistry [J]. 2009, 25(3): 480-484.
- [8] Sliwinska-Bartkowiak M, Dudziak G, Sikorski R, *et al.* J. Chem. Phys [J]. 2001, 114(2):950-962.
- [9] Driessens F C M, Boltong M G, De Maeyer E A P, *et al.* J Mater Sci: Mater Med [J]. 2000, 11: 453-457
- [10] Takagi S, Chow L C, Hirayama S, *et al.* Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials [J]. 2003, 67: 689-696.
- [11] Gbureck U, Dembski S, Thull R, *et al.* Biomaterials [J]. 2005, 26: 3691-3697.
- [12] Leroux L, Hatim Z, Freche M, *et al.* Bone [J]. 1999, 25: 31S-34S.
- [13] Y X Song, Z D Feng, T Wang. J Mater Sci: Mater Med [J]. 2007, 18: 1185-1193.
- [14] Piconi C, Maccauro G. Biomaterials [J]. 1999, 20(1): 1-25.
- [15] Sousa A, Sousa E M B. J Non-Cryst Solids [J]. 2006, 352: 3451-3456.