

基础研究

复合三联抗结核药聚乳酸-羟基乙酸缓释微球的制备及体外释药特性

何胤¹, 杨宗强¹, 王 骞², 施建党³, 王自立³, 金少举⁴, 刘海涛⁵, 岳学峰¹, 赵 晨¹

(1 宁夏医科大学研究生院 750004 银川市; 2 美国南佛罗里达大学药学院 33612 坦帕; 3 夏医科大学总医院 脊柱骨科 750004 银川市; 4 宁夏医科大学总医院创伤骨科 750004 银川市; 5 宁夏医科大学药学院 750004 银川市)

【摘要】目的:制备复合异烟肼(H)、利福平(R)、吡嗪酰胺(Z)的聚乳酸-羟基乙酸(HRZ/PLGA)缓释微球, 观察其理化性质和体外缓释特性。**方法:**以 PLGA(450mg)为载体, 避光条件下称取 H(40mg)、R(60mg)、Z(125mg), 采用复乳-溶剂挥发法制备 HRZ/PLGA 缓释微球, 应用扫描电镜观察微球的形态特征; 应用高效液相色谱法(HPLC)测定其载药量、包封率; 采用溶出法、HPLC 于 3h、6h、12h、1d、2d、3d、6d、9d、12d、15d、20d、25d、30d、40d、50d 测定 H、R、Z 三种药物的浓度, 观察其是否均大于 10 倍最低抑菌浓度(MIC), 计算其日均释药率、累计释药率。**结果:**HRZ/PLGA 微球在电镜下观察呈圆球形, 平均粒径为 $10.3\pm 4.7\mu\text{m}$; H、R、Z 三种药物的载药量分别为 $(18.02\pm 0.36)\%$ 、 $(22.46\pm 0.24)\%$ 、 $(21.68\pm 0.37)\%$, 包封率分别为 $(54.79\pm 1.13)\%$ 、 $(72.35\pm 0.39)\%$ 、 $(67.21\pm 0.68)\%$; 体外缓释试验显示微球缓释前 12d 左右, 三种药物的累计缓释度均超过了 50%, 日均释药率分别为 5.05%、4.89%、6.86%; 第 12 天后三药的缓释基本趋于稳定, 日均释药率分别为 0.17%、0.26%、0.16%; 三种药物缓释到 50d 时均大于 10 倍 MIC。**结论:**HRZ/PLGA 微球具有优良的载药及药物缓释效果, 是一种理想的复合抗结核药物缓释系统。

【关键词】抗结核药; 异烟肼; 利福平; 吡嗪酰胺; 聚乳酸-羟基乙酸; 微球; 缓释

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2015.05.14

中图分类号: R937.8, R318.08 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2015)-05-0456-06

Preparation of composite HRZ/PLGA slow-release microspheres and its drug release characteristics in vitro/HE Yin, YANG Zongqiang, WANG Qian, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2015, 25(5): 456-461

【Abstract】Objectives: To prepare the compound isoniazid(H), rifampicin(R) and pyrazinamide(Z)/polylactic acid-glycolic acid (PLGA)(HRZ/PLGA) sustained release microspheres, and to investigate the physical and chemical properties and slow-release characteristics in vitro. **Methods:** By using PLGA as the carrier, the HRZ/PLGA microspheres were prepared by emulsifying-solvent evaporation technique under dark conditions, H (40mg), R(60mg), Z(125mg), PLGA(450mg). The characteristics of HRZ/PLGA microspheres were observed under scanning electron microscopy (SEM). The drug-loading and encapsulation rate was evaluated by High performance liquid chromatography(HPLC) in simulated body fluid. The H, R, Z drugs concentration were detected by stripping and HPLC at 3h, 6h, 12h, 1d, 2d, 3d, 6d, 10d, 12d, 15d, 20d, 25d, 30d, 40d, 50d, respectively, in simulated body fluid in vitro and whether greater than minimal inhibitory concentrations(MIC) of 10 times or not was also observed, the average daily release rate and cumulative release rate were calculated by fitted mathematical equations in vitro. **Results:** HRZ/PLGA microspheres presented as round ball under the SEM, the average particle size was $10.3\pm 4.7\mu\text{m}$, drug loading of H, R, Z was $(18.02\pm 0.36)\%$, $(22.46\pm 0.24)\%$, $(21.68\pm 0.37)\%$ respectively, encapsulation rate was $(54.79\pm 1.13)\%$, $(72.35\pm 0.39)\%$, $(67.21\pm 0.68)\%$ respectively. In vitro the HRZ/PLGA microspheres of cumulative sustained release of three drugs were

基金项目:国家自然科学基金项目(代码:81360275);宁夏自然科学基金项目(代码:NZ13131);宁夏医科大学基金项目(代码:XT20)

第一作者简介:男(1989-),在读硕士,研究方向:脊柱结核

电话:(0951)6743242 E-mail:heyin126@126.com

并列第一作者:杨宗强 E-mail:13995201043@163.com;王骞 E-mail:49902705@qq.com

通讯作者:施建党 E-mail:shi_jiandang@163.com

more than 50% before 12d, the average daily release rate was 5.05%, 4.89%, 6.86%. And at the first 12d, the three drugs of release were basically stable, the average daily release rate was 0.17%, 0.26%, 0.16% respectively. Three drugs concentrations were ten times greater than the MIC even at 50 days. **Conclusions:** With perfect drug loading and slow release effect, HRZ/PLGA microsphere is an ideal anti-TB drug slow-release complex.

【Key word】 Anti-TB drug; Isoniazid; Rifampicin; Pyrazinamide; PLGA; Microsphere; Slow-release

【Author's address】 Ningxia Medical University Graduate College, Yinchuan, 750004, China

随着脊柱内固定技术及材料的发展, 脊柱结核的手术治疗有了长足的进步, 但抗结核药联合化疗仍为治疗的基础。然而药物的疗效很大程度上取决于局部病灶中的药物浓度^[1,2]。抗结核无效或低效是导致治疗失败的主要原因^[3]。由于病灶中硬化骨在局部形成天然屏障, 使病灶局部血供差, 抗结核药物到达靶器官之前的降解及其低渗透性等, 使病灶局部达不到有效的药物浓度^[4]。保证病灶局部有效药物浓度并能维持数月是提高脊柱结核疗效的理想措施。异烟肼(INH, H)、利福平(RFP, R)、吡嗪酰胺(PZA, Z)三药联用是临床最常采用的抗结核药物治疗的组合方式, 而将 HRZ 按 80:120:250 的比例联合用药, 其抗菌作用比单独应用 R、H 强 1~2 倍^[5]。聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)是由乳酸和羟基乙酸聚合而成的一种可生物降解的高分子有机化合物, 在美国已通过 FDA 认证, 具有良好的生物相容性、生物降解性、载药性及定向性等特征^[6,7], 是目前生物降解高分子材料中最活跃的载体及制备缓释微球和组织工程的常用材料^[8-10]。载药 PLGA 微球可增强药物疗效, 能够起到局部用药和缓释治疗的双重效果, 达到优势互补^[11-13]。本研究以 PLGA 为载体制备复合 HRZ 缓释微球, 并观察其理化性质和体外释药特性。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

PLGA[济南岱罡生物工程有限公司(90:10, 分子量 9.5 万)], 二氯甲烷(重庆川江化学试剂厂), 聚乙烯醇(PVA)(美国 Sigma 公司), 聚乙二醇(PEG, 美国 Sibma 公司), 高效液相色谱仪(HPLC)D-2000(日本日立公司), 庚烷磺酸钠、H、R、Z 标准品(中国药品技术监督检验所), H、R、Z 原药(>99%, 美国 Sigma 公司), 磷酸盐缓冲液(PBS, Cyclone 公司), 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司), 恒温磁力搅拌器(浙江乐成

电器厂), 光学显微镜(上海光学仪器厂), 离心机(上海安亭科技仪器厂), 恒温箱(北京长源实验设备厂), 涡旋震荡仪(上海青浦沪西仪器厂), 超声波振荡仪(深圳市诺赛德精密科技有限公司), 真空冷冻干燥机(上海比朗仪器有限公司), 扫描电镜(日本电子公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 HRZ/PLGA 缓释微球的制备 按照复乳-溶剂挥发法制备 HRZ/PLGA 缓释微球^[6,11]。分别精密称取 R 60mg 和 PLGA 450mg, 使其溶于 10ml 二氯甲烷中, 在超声振荡下充分溶解混匀形成油相(O);精密称取 40mg H 和 125mg PZA 并溶于 1ml 超纯水中, 适当加热, 在超声振荡下充分溶解形成内水相(W1);将上述内水相(W1)加入到油相(O)中, 涡旋振荡后超声形成初乳;将初乳缓慢滴加到 4ml 2% PVA (外水相 W2, 质量/体积, W/V)溶液之中, 再加入 0.14%的 PEG 1ml 后于磁力搅拌机上在 3000r/min 冰浴下搅拌 3min 形成复乳;将复乳加入到 40ml 2% PVA 溶液之中, 于 300r/min 常温下搅拌过夜, 待二氯甲烷完全挥发, 固化成微球, 用 10000r/min 离心后收集微球, 将制得的微球用模拟体液(PBS, pH 值 7.4)反复冲洗、离心 3 次, 真空冷冻干燥后-20℃冷冻备用。

1.2.2 缓释微球外观、粒径测量 取上述少量干燥微球粘于导电胶带上, 真空喷金, 分别观察微球的形状、表面形态和均匀性。

1.2.3 液相条件及标准曲线的绘制 色谱条件: 流动相为乙腈/庚烷磺酸钠(0.01mol/L, pH 值 2.2)=55/45, 流速为 1.0ml/min;柱箱温度为 30℃;检测波长为 270nm;进样体积为 20μl;时间范围 15min。用标准品分别配置溶液浓度为 146、73、29.2、14.6、7.3、2.92、1.46、0.73、0.292μg/ml 的 H; 105、52.5、21、10.5、5.25、2.1、1.05、0.525、0.21μg/ml 的 R; 143、71.5、28.6、14.3、7.15、2.86、1.43、0.715、0.286μg/ml 的 Z。按上述色谱条件将配置好的溶液进行测定, 记录峰面积。以浓度为横坐标(X),

峰面积为纵坐标(Y),以前 5 个点和后 5 个点分别作图,得出标准曲线方程。

1.2.4 载药量和包封率测定 将 10mg 载药微球完全溶解于 5ml 二氯甲烷中,甲醇定容 20ml,超声处理 20min,使液体通过 0.22 μ m 微孔滤膜,收集滤液,采用 HPLC 检测药物浓度。将所得峰面积代入回归方程得到浓度(根据样品液的峰面积在标准液浓度范围所对应的峰面积范围选择相对应的方程计算浓度),进一步计算可得出微球中 H、R、Z 的含量。分别代入公式:载药量=微球中含药量/载药 PLGA 微球总质量 $\times 100\%$,包封率=微球中实际含药量/理论投药量 $\times 100\%$,分别计算得出 H、R、Z 的载药量和包封率。共检测 5 组,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

1.2.5 复合 HRZ/PLGA 微球体外缓释实验 称取 HRZ/PLGA 微球 20mg $\times 5$ 组,分别置于透析袋(截留相对分子质量 7000)中,加入 1ml PBS,使微球悬浮于 PBS 中;将透析袋两端封口后置入盛有 5ml PBS 的 PE 管中,封口,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴振荡器中振荡孵育,于 3h、6h、12h、1d,之后每天取液。每次取液 5ml 于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 密封、冻存待检。同时加入 5ml 新鲜 PBS 于 PE 管内。将所取样品经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤,取滤液 20 μ l,采用“1.2.3”液相条件进行检测并记录峰面积,将峰面积值代入按面积对应的标准曲线方程中,得出药物浓度,求其均值。观察各药物浓度是否大于其 10 倍最低抑菌浓度(MIC, H:0.05 $\mu\text{g/ml}$, R:0.22 $\mu\text{g/ml}$, Z:2 $\mu\text{g/ml}$),得出每阶段释药量和累计释药度。以缓释时间为 x 轴,累计释放度为 y 轴,拟合零级动力

学缓释曲线;以释放时间为 x 轴,累积释放度的常用对数与 1 的差值为纵坐标,拟合一级动力学缓释曲线;以释放时间的 1/2 次方为 x 轴,累积释放度为 y 轴,拟合 Higuchi 释放曲线,比较其 R^2 值,得出三种药物在体外模拟体液中的缓释规律。

1.3 统计学分析

采用 Excel 完成原始数据处理及统计绘图,实验数据最终以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 HRZ/PLGA 缓释微球形态特征

肉眼下,HRZ 微球呈橙黄色粉末状颗粒,颗粒间无粘连,分散较均匀;电镜下载药微球成球形良好,颗粒圆整,大小均匀,微球间无粘连,分散性良好(图 1),表面可见分布均匀的微孔。电镜下观察 100 粒微球,计算微球的平均粒径为 $10.3 \pm 4.7 \mu\text{m}$ 。

2.2 微球载药量和包封率

HPLC 检测 H、R、Z 三种药物的保留时间分别为 3.76min、9.48min、2.96min,三者分离情况良好(图 2),可进行检测。以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,拟合 H、R、Z 三药标准曲线的回归方程见表 1。

利用标准曲线计算 PLGA 缓释微球中 H、R、Z 的载药量分别为 $(18.02 \pm 0.36)\%$ 、 $(22.46 \pm 0.24)\%$ 、 $(21.68 \pm 0.37)\%$,包封率分别为 $(54.79 \pm 1.13)\%$ 、 $(72.35 \pm 0.39)\%$ 、 $(67.21 \pm 0.68)\%$ 。

2.3 HRZ/PLGA 缓释微球在体外释放规律

不同时间点的阶段释药量和累计释药度见表

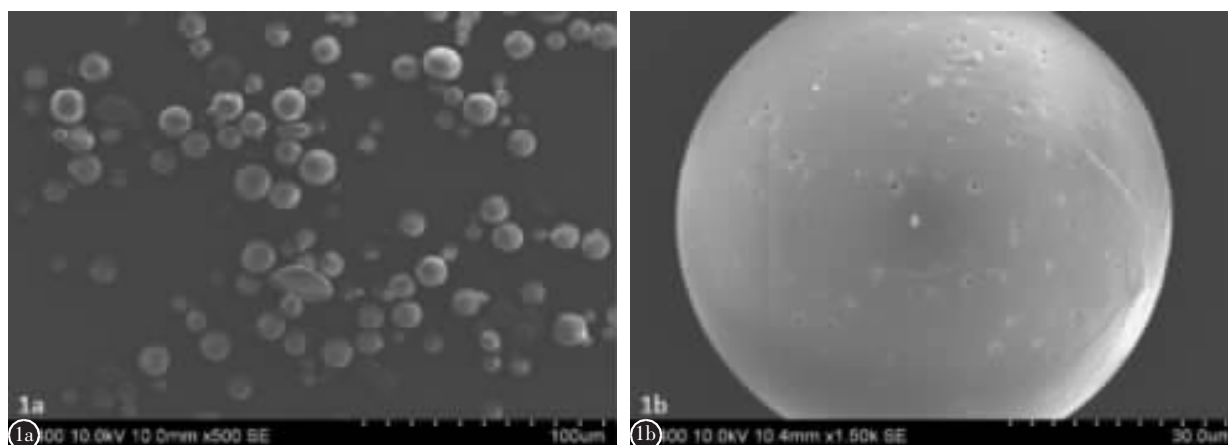


图 1 HRZ/PLGA 缓释微球电镜图(a $\times 500$, b $\times 1500$)

Figure 1 SEM of slow-release HRZ/PLGA microspheres(a $\times 500$, b $\times 1500$)

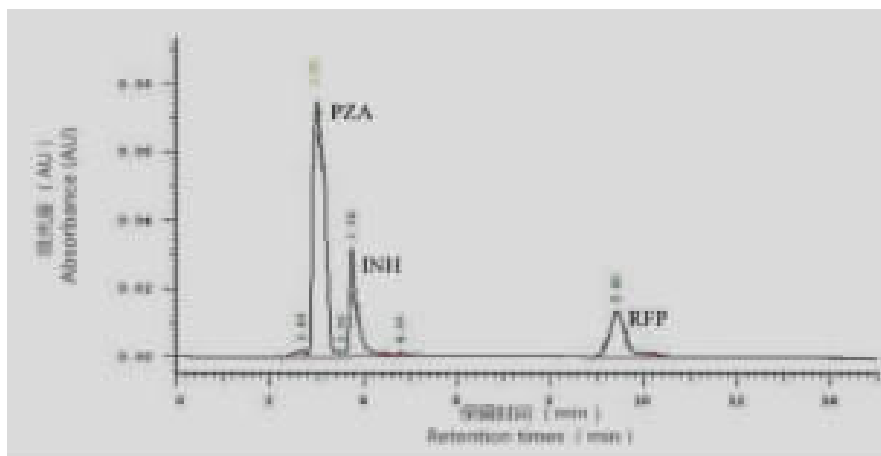


图2 HPLC 检测异烟肼(H)、利福平(R)和吡嗪酰胺(Z)的色谱图,三种药物保留时间分别为 3.76min、9.48min、2.96min,三者分离情况良好

Figure 2 Retention time of HRZ chromatogram, H was 3.76min; R was 9.48min; Z was 2.96min

2。前 12d,三种药物的累计缓释度均超过了 50%, H、R、Z 的日均释药率分别为 5.05%、4.89%、6.86%;第 12d 后三药的缓释基本趋于稳定,日均释药率分别为 0.17%、0.26%、0.16%;50d 时的浓度分别为 $9.018\mu\text{g/ml}$ 、 $5.254\mu\text{g/ml}$ 、 $51.562\mu\text{g/ml}$,均大于各自的 10 倍 MIC。分别采用三种数学方程对释放曲线进行拟合(表 3),三种药物在不同的时间段释放行为不相同,前 12d 的释放行为采用零级曲线和一级曲线进行拟合时 R^2 均较 Higuchi 曲线低,故前 12d 药物缓释规律按 Higuchi 方程拟合较好,可以认为前 12d 三种药物按照扩散的形式进行缓释;12d 后,三种药物以较稳定的速率恒速释放,按零级曲线拟合后 R^2 值最接近 1,可认为 12d 后三种药物按照零级动力学缓释曲线释放,亦即等量缓释。

3 讨论

抗结核药物在病灶局部难以达到有效浓度是脊柱结核难以治愈的主要原因,病灶局部应用抗结核药物化疗,以提高抗结核药物疗效是许多学者探索的课题^[12-14]。目前,结核病灶清除术后局部应用抗结核药物存在药物吸收快、无法保证局部药物有效浓度长期维持的问题。局部药物缓释系统(local drug delivery system, LDDS)^[15]可望解决这一问题。以 PLGA 为载体的载药缓释材料具有靶向释放、延长药物释放时间、降低药物毒性、减少药物刺激性等优点,故其制备的微球在 LDDS 可降解高分子材料中应用最广泛^[6,16],现有 8 种

表 1 HRZ 标准曲线方程

Table 1 Standard curve equation of HRZ

浓度范围 Range of concentration	回归方程 Regression equation	R^2
前 5 点	$y_H=19520x-14089$	0.9998
	$y_R=13853x-18162$	0.9998
	$y_Z=33092x+17598$	0.9991
后 5 点	$y_H=17471x-1418.4$	0.9990
	$y_R=8425.5x-1265.4$	0.9997
	$y_Z=37813x-2904.4$	0.9977

表 2 缓释微球中 HRZ 阶段释药量和累计释药度

Table 2 Stage released dosage and cumulative released degree of HRZ in sustained release microspheres

时间点 Point in time	阶段释药量(μg) Phase release dosage			累计释药度(%) Cumulative drug release degree		
	H	R	Z	H	R	Z
3h	360.32	349.93	178.22	8.31	7.79	4.95
6h	278.37	285.24	185.28	14.73	14.14	10.10
12h	333.44	348.13	186.42	22.42	21.89	15.28
24h	276.64	108.71	213.24	28.8	24.31	21.20
2d	404.12	278.5	272.37	38.12	30.51	28.76
3d	314.79	212.47	234.52	45.38	35.24	35.28
6d	651.27	353.97	336.21	60.40	43.12	44.62
9d	601.40	353.07	316.50	74.27	50.98	53.41
12d	347.31	346.33	256.74	82.28	58.69	60.54
15d	16.48	225.95	81.31	82.66	63.72	62.80
20d	25.15	19.80	121.03	83.24	64.16	66.16
25d	32.08	15.37	140.04	83.98	64.48	70.05
30d	46.12	18.98	227.56	84.02	64.59	71.95
40d	51.82	26.98	249.87	85.34	64.98	78.31
50d	45.63	25.87	260.21	86.40	65.72	85.94

表 3 缓释微球中 HRZ 各自释放曲线的数学方程
Table 3 Equations of HRZ mathematical release curve in sustained release microspheres

时间段 (d) Time	药物 Drug	拟合方程 Fitted equation		
		零级 Zero-order equation	一级 First-order equation	Higuchi 方程 Higuchi equation
0~50	H	$Mt/M\infty=0.0542t+24.358$ $R^2=0.8475$	$\ln(1-Mt/M\infty)=-0.0009t-0.2578$ $R^2=0.9217$	$Mt/M\infty=1.9875t^{1/2}+11.026$ $R^2=0.9621$
	R	$Mt/M\infty=0.0578t+31.027$ $R^2=0.7658$	$\ln(1-Mt/M\infty)=-0.0003t-0.3612$ $R^2=0.5138$	$Mt/M\infty=1.6817t^{1/2}+19.324$ $R^2=0.8034$
	Z	$Mt/M\infty=0.0672t+36.581$ $R^2=0.6521$	$\ln(1-Mt/M\infty)=-0.0005t-0.1021$ $R^2=0.7751$	$Mt/M\infty=1.9721t^{1/2}+29.351$ $R^2=0.7621$
0~12	H	$Mt/M\infty=0.2438t+19.612$ $R^2=0.9262$	$\ln(1-Mt/M\infty)=-0.0013t-0.0609$ $R^2=0.9633$	$Mt/M\infty=3.5182t^{1/2}+2.4601$ $R^2=0.9894$
	R	$Mt/M\infty=0.1548t+17.865$ $R^2=0.8972$	$\ln(1-Mt/M\infty)=-0.0011t-0.0811$ $R^2=0.9536$	$Mt/M\infty=2.9833t^{1/2}+8.0108$ $R^2=0.9828$
	Z	$Mt/M\infty=0.1492t+21.045$ $R^2=0.9342$	$\ln(1-Mt/M\infty)=-0.0024t-0.0712$ $R^2=0.992$	$Mt/M\infty=4.7288t^{1/2}+4.0006$ $R^2=0.9944$
12~50	H	$Mt/M\infty=0.6875t+28.515$ $R^2=0.9953$	$\ln(1-Mt/M\infty)=-0.0011t-0.1241$ $R^2=0.96128$	$Mt/M\infty=1.0594t^{1/2}+28.743$ $R^2=0.9872$
	R	$Mt/M\infty=0.0078t+58.267$ $R^2=0.9948$	$\ln(1-Mt/M\infty)=-0.0017t-0.2891$ $R^2=0.9810$	$Mt/M\infty=0.9821t^{1/2}+63.145$ $R^2=0.9849$
	Z	$Mt/M\infty=0.0057t+68.164$ $R^2=0.9981$	$\ln(1-Mt/M\infty)=-0.0001x-0.7143$ $R^2=0.9245$	$Mt/M\infty=0.7965t^{1/2}+77.963$ $R^2=0.9901$

PLGA 可注射微球型剂被美国 FDA 批准用于临床。目前对抗结核药/PLGA 缓释微球进行的研究主要以吸入、皮下植入和注射制剂为多,载药也多以单药为主。Dutt 等^[12]制备 RFP/PLGA 微球体外缓释时间达 7 周,生化实验显示没有肝脏毒性,较脂质体载药系统更为安全、持久。

H、R、Z 作为一线抗结核药物被广泛应用于临床,三药联合应用于病灶局部能明显增强药物的抗结核效果。本研究将具有良好缓释载体作用的 PLGA 搭载上 H、R、Z,实现了二者的优势互补,将其应用于脊柱结核局部病灶,能够达到载药和缓释的双重效果^[15,17]。在目前各种微球的制备方法中,乳化法适合水溶性和脂溶性药物的微球制备,本研究中 H、R、Z 三药的理化性质各异,故采用复乳-溶剂挥发法制备微球。该法是指将乳状液分散相中挥发性溶剂去除以制备微球,可提高载药量和包封率,是目前制备载抗结核药物聚乳酸类微球最常用的方法^[12]。微球的质量评价指标主要为载药量和包封率,越高越好^[18],而影响 PLGA 缓释微球载药量和包封率的因素主要包括 PLGA 浓度、PVA 浓度、油水相体积比等。黄术等^[9]的研究报道 PLGA 微球最佳处方为 PLGA 浓度 15%、PVA 浓度 2%、油/水比 1:5,所制备的载 RFP/PLGA 微球粒径为 $12.23\pm0.98\mu\text{m}$;载药量、包封率分别为 $(19.63\pm0.62)\%$ 、 $(59.49\pm2.62)\%$ 。本

研究在制备微球的过程中,加入了一定量的 PEG,所制备微球的粒径、载药量和包封率均有一定的改善^[20,21]。

一般认为微球中药物缓释的机制包括扩散和降解两种。本研究中,体外缓释实验结果显示 H、R、Z 三药在前 12d 左右按 Higuchi 方程释放,即药物由高浓度向低浓度方向扩散。微球表面或接近表面粘附的药物在缓释的早期迅速扩散到 PBS 中,形成了 H、R、Z 的突释现象,此阶段时间较短,释放速率较快,此过程是 H、R、Z 的速释过程,即扩散机制。随着时间的进展,PLGA 微球在浸泡中微球表面部分的 PLGA 首先溶胀,而这对 PLGA 微球内部抗结核药的缓释无影响,故 12d 后三药按零级曲线规律释放,即释放过程平稳,考虑系表层溶胀的 PLGA 继续在 PBS 的作用下水化溶胀,微球表面及靠近表面的药物已基本溶出,形成孔道,使 PBS 得以向微球内部渗透,使药物向外缓慢溶出。此阶段由于受到聚合物材料的阻碍作用,释放速率相对较低,释放平稳,即缓(控)释阶段,亦即降解机制^[22]。因为 RFP 本身脂溶性较强,在进行浓度检测时存在一定的系统误差;加之其见光易分解,在实验的过程中,无法绝对避免其的损耗。在计算累计释药度时仍参照 RFP 的总质量,故导致了 RFP 在整个缓释的过程中总体累计释药度较 INH 和 PZA 低。

LDDS是解决脊柱结核病灶中药物浓度不足最有前景的研究方向之一。本研究结果显示载HRZ三联抗结核药PLGA微球具有较好的载药缓释效果,实现了多种药物联合、局部规律给药及达到有效治疗浓度的目的,为后期动物体内缓释提供实验基础,为脊柱结核患者病灶清除术后置入病灶局部的缓释材料的进一步研究提供了体外实验依据。但本研究仍存在问题,如常规剂量全身用药后病灶中药物浓度的检测,局部缓释过程中HRZ的相互作用、三药的最佳配比、三药在体内的药物代谢动力学和药物效应动力学等,需进一步探索。

4 参考文献

- Shi JD, Wang ZL, Geng GQ, et al. Intervertebral focal surgery for the treatment of non-contiguous multifocal spinal tuberculosis[J]. *Int Orthop*, 2012, 36(7): 1423-1427.
- Liu P, Zhu Q, Jiang J. Distribution of three antituberculous drugs and their metabolites in different parts of pathological vertebrae with spinal tuberculosis [J]. *Spine*, 2011, 36(20): E1290-E1295.
- Wang Z, Shi J, Geng G, et al. Ultra-short-course chemotherapy for spinal tuberculosis: five years of observation [J]. *Eur Spine J*, 2013, 22(2): 274-281.
- Ge Z, Wang Z, Wei M. Measurement of the concentration of three antituberculosis drugs in the focus of spinal tuberculosis[J]. *Eur Spine J*, 2008, 17(11): 1482-1487.
- 刘勇, 张智洁, 王群, 等. 抗结核药复方制剂的体外药效学研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2001, 11(6): 460-461, 477.
- Hong SJ, Yu HS, Kim HW. Tissue engineering polymeric microcarriers with macroporous morphology and bone-bioactive surface[J]. *Macromol Biosci*, 2009, 9(7): 639-645.
- Alcantar NA, Aydil ES, Israelachvili JN. Polyethylene glycol-coated biocompatible surfaces[J]. *J Biomed Mater Res*, 2000, 51(3): 343-351.
- Khoe S, Rahmatolahzadeh R. Synthesis and characterization of pH-responsive and folated nanoparticles based on self-assembled brush-like PLGA/PEG/AEMA copolymer with targeted cancer therapy properties: a comprehensive kinetic study[J]. *Eur J Med Chem*, 2012, 50(11): 416-427.
- Li M, Panagi Z, Avgoustakis K, et al. Physiologically based pharmacokinetic modeling of PLGA nanoparticles with varied mPEG content[J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7(5): 1345-1356.
- Yang C, Plackett D, Needham D, et al. PLGA and PHBV microsphere formulations and solid-state characterization: possible implications for local delivery of fusidic acid for the treatment and prevention of orthopaedic infections[J]. *Pharm Res*, 2009, 26(7): 1644-1656.
- Dillen K, Vandervoort J, Ludwig A. Factorial design, physicochemical characterisation and activity of ciprofloxacin-loaded PLGA nanoparticles for ocular use[J]. *J Control Release*, 2005, 101(1-3): 369-371.
- Dutt M, Khuller GK. Sustained release of isoniazid from a single injectable dose of poly (DL-lactide-co-glycolide) microparticles as a therapeutic approach towards tuberculosis [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2001, 17(2): 115-122.
- Tomoda K, Kojima S, Kajimoto M, et al. Effects of pulmonary surfactant system on rifampicin release from rifampicin-loaded PLGA microspheres [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2005, 45(1): 1-6.
- Pandey R, Khuller GK. Solid lipid particle-based inhalable sustained drug delivery system against experimental tuberculosis[J]. *Tuberculosis(Edinb)*, 2005, 85(4): 227-234.
- Hirota K, Hasegawa T, Nakajima T, et al. Delivery of rifampicin-PLGA microspheres into alveolar macrophages is promising for treatment of tuberculosis[J]. *J Control Release*, 2010, 142(3): 339-346.
- 谭红香, 叶建东. PLGA包埋硫酸庆大霉素缓释微球的制备及体外释放行为[J]. *中国抗生素杂志*, 2007, 32(11): 682-684.
- Hirota K, Hasegawa T, Nakajima T, et al. Delivery of rifampicin-PLGA microspheres into alveolar macrophages is promising for treatment of tuberculosis[J]. *J Control Release*, 2010, 142(3): 339-346.
- 叶向阳, 孙湘, 贾会文, 等. 利福平/聚乳酸-聚羟基乙酸缓释微球的制备及特性[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(51): 9608-9612.
- 黄术. RFP-PLGA骨缓释复合体的初步实验研究[D]. 中南大学, 2013.
- 杨宗强, 何胤, 施建党. 聚乙二醇对利福平-聚乳酸-羟基乙酸聚合物缓释微球性能的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(3): 335-341.
- 路娟, 刘清飞, 罗国安, 等. 药物的聚乙二醇修饰研究进展[J]. *有机化学*, 2009, 29(8): 1167-1174.
- Meinel L, Illi OE, Zapf J, et al. Stabilizing insulin-like growth factor-I in poly (D, L-lactide-co-glycolide) microspheres[J]. *J Control Release*, 2001, 70(1-2): 193-202.

(收稿日期:2015-01-29 末次修回日期:2015-03-09)

(英文编审 蒋欣/贾丹彤)

(本文编辑 卢庆霞)