

基础研究

载异烟肼、利福平白蛋白纳米粒
在兔体内的药代动力学研究

马 荣¹, 陈 振¹, 张惠勇¹, 梁思敏¹, 刘晓印², 杨小英³, 党宏万³, 黑 龙¹, 张党锋⁴, 王自立¹, 戈朝晖¹
(1 宁夏医科大学总医院骨科 750004 银川市; 2 宁夏医科大学研究生院 750004 银川市; 3 宁夏医科大学总医院药剂科 750004 银川市; 4 西安交通大学医学院第一附属医院骨科 710061 西安市)

【摘要】目的:研究载异烟肼(Isoniazid, INH)、利福平(Rifampicin, RFP)牛血清白蛋白(Bovine serum albumin, BSA)纳米粒经新西兰大白兔静脉给药后的体内药代动力学特征及其相关参数。**方法:**16 只新西兰大白兔随机分为 2 组; 纳米粒组 8 只, INH、RFP 对照组 8 只。经耳缘静脉分别滴注等计量的载 INH、RFP 白蛋白纳米粒和普通对照品 (INH 11.43mg/kg、RFP 12mg/kg)。采用高效液相色谱分析方法测定各自 INH、RFP 的血浆药物浓度。对比研究静脉给药后两种剂型药物在不同时间(0、0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、6、8、12、24、36、48、72、96、120h)兔体内的血浆药代动力学参数, 包括最大血药浓度(C_{max})、生物半衰期($T_{1/2}$)、血药浓度时间曲线下的面积(AUC)及体内平均驻留时间(MRT), 以 DAS 2.0 药动学程序进行血药浓度数据拟合分析。**结果:**给药后两组药物的血药浓度-时间曲线显示: 纳米粒药组 INH、RFP 血药浓度相对稳定, 药物浓度持续缓慢下降, 给药后 96h INH 仍能检测到, RFP 则为 48h。INH 的 $C_{max}=9.79\pm1.38$ (mg/L), $T_{1/2}=28.10\pm6.69$ (h), $AUC=22.34\pm8.81$ (mg/L·h), $MRT=15.13\pm5.48$ (h); RFP 的 $C_{max}=16.79\pm3.74$ (mg/L), $T_{1/2}=14.13\pm3.78$ (h), $AUC=116.64\pm66.26$ (mg/L·h), $MRT=15.89\pm2.49$ (h)。对照组中 INH 的 $C_{max}=9.52\pm2.19$ (mg/L), $T_{1/2}=1.92\pm0.80$ (h), $AUC=20.97\pm3.11$ (mg/L·h), $MRT=2.03\pm0.62$ (h); RFP 的 $C_{max}=12.50\pm1.58$ (mg/L), $T_{1/2}=2.87\pm0.78$ (h), $AUC=50.05\pm14.50$ (mg/L·h), $MRT=3.70\pm0.99$ (h)。对照组 INH、RFP 血药浓度快速下降, 分别在给药后 24h 和 12h 检测不到。**结论:**载异烟肼、利福平白蛋白纳米粒在兔体内的药代动力学过程符合双隔室模型(权重系数为 1/cc)。白蛋白纳米粒可有效改变异烟肼和利福平的药动学行为并具有显著的缓释效果。

【关键词】 异烟肼; 利福平; 白蛋白; 纳米粒; 药代动力学

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2015.09.15

中图分类号: R529.2, R969.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2015)-09-0850-06

Study on pharmacokinetics of albumin nanoparticles loaded with isoniazid and rifampicin in rabbits/MA Rong, CHEN Zhen, ZHANG Huiyong, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2015, 25(9): 850-855

【Abstract】 Objectives: To study the pharmacokinetics characteristics and the relevant pharmacokinetic parameters of albumin nanoparticles loaded with isoniazid and rifampicin (INH-RFP-BSA-NPs) of the New Zealand rabbits after intravenous administration. **Methods:** Sixteen New Zealand rabbits were divided into 2 groups randomly as below, INH-RFP-BSA-NPs group(NPs group, 8 rabbits), control group(CON group, 8 rabbits). The rabbits in two groups were injected with NPs and common injection of INH and RFP according to the dosage of INH 11.43mg/kg, RFP 12mg/kg via ear veins, respectively. Then blood samples were obtained at certain time points(0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 72, 96, 120h). High performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine the concentrations of INH and RFP of plasma. Software program of DAS2.0 was used to study the difference of pharmacokinetic parameters. The pharmacokinetic parameters included maximal blood concentration (C_{max}), biological half-life ($T_{1/2}$), area under the time curve of blood concentration(AUC) and the mean retention time in the body(MRT). **Results:** The concentration of INH

基金项目:国家自然科学基金(30960391), 宁夏自然科学基金(NZ13144)

第一作者简介:男(1987-), 医师, 研究方向:脊柱结核基础与临床

电话:(0951)6746122 E-mail:marongtx228@163.com

通讯作者:戈朝晖 E-mail:myovid@126.com

and RFP in NPs group was relatively stable with a sustained decline, it could be detected at 96 hours for INH and at 48 hours for RFP respectively after administration. The isoniazid pharmacokinetic parameters of NPs were as follows: $C_{max}=9.79\pm1.38(\text{mg/L})$, $T_{1/2}=28.10\pm6.69(\text{h})$, $AUC=22.34\pm8.81(\text{mg/L}\cdot\text{h})$, $MRT=15.13\pm5.48(\text{h})$; those of rifampicin were $C_{max}=16.79\pm3.74(\text{mg/L})$, $T_{1/2}=14.13\pm3.78(\text{h})$, $AUC=116.64\pm66.26(\text{mg/L}\cdot\text{h})$, $MRT=15.89\pm2.49(\text{h})$. While in control group, the plasma concentration of INH and RFP decreased rapidly and could not be detected at 24h and at 12h after administration, respectively. Meanwhile the isoniazid pharmacokinetic parameters in CON group were as follows: $C_{max}=9.52\pm2.19(\text{mg/L})$, $T_{1/2}=1.92\pm0.80(\text{h})$, $AUC=20.97\pm3.11(\text{mg/L}\cdot\text{h})$, $MRT=2.03\pm0.62(\text{h})$; those of rifampicin were $C_{max}=12.50\pm1.58(\text{mg/L})$, $T_{1/2}=2.87\pm0.78(\text{h})$, $AUC=50.05\pm14.50(\text{mg/L}\cdot\text{h})$, $MRT=3.70\pm0.99(\text{h})$. **Conclusions:** The INH-RFP-BSA-NPs pharmacokinetics in rabbits process in line of double compartment model, albumin nanoparticles can effectively improve the pharmacokinetic behavior and has the advantage of significant prolonged release effect in vivo.

【Key words】 Isoniazid; Rifampicin; Albumin; Nanoparticles; Pharmacokinetics

【Author's address】 Department of Orthopedics Sugery, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia Hui Autonomous Region, 750004

异烟肼(isoniazid, INH)和利福平(rifampicin, RFP)是最常用的一线抗结核药物,研究^[1-5]证实常规制剂的基础上改变剂型,将异烟肼、利福平以微球、脂质体、纳米粒等为载体则能选择性浓集于实验动物的肺、脑等结核病变组织中,起到高效、低毒、缓释持久杀灭结核分枝杆菌的作用,疗效较好。目前,文献^[6-8]报道的脂质体、微球以及纳米粒等,由于载体选择以及粒径偏大等因素,多被限定于口服、吸入以及局部使用剂型的实验研究。我们前期已制备出载异烟肼、利福平的白蛋白纳米粒,平均粒径仅为 60.5nm,可以满足静脉给药,体外释药研究^[9]显示该纳米制剂具有良好的缓释作用,为进一步观察其体内释药行为,本研究以普通 INH、RFP 制剂作为对照,观察静脉给药后载 INH、RFP 白蛋白纳米粒在新西兰大白兔体内的药代动力学过程。

1 材料与方法

1.1 实验动物

新西兰大白兔 16 只(西安市迪乐普生物资源开发有限公司提供),体重 3.0~4.2kg/只,12~16 周龄,雌雄各半。

1.2 主要试剂和材料

异烟肼标准品(中国食品药品鉴定研究院,批号 100578-200401);利福平标准品(中国食品药品鉴定研究院,批号 110757-200206);利福平注射液(沈阳双鼎制药有限公司,国药准字 H20050725);异烟肼注射液(安徽城市药业有限责任公司,国药准字 H34020518);桂皮醛(上海楷洋生物技术有限公司,批号 Q0324);磷酸二氢钠、

磷酸二氢钾、三氯醋酸为分析纯;甲醇、乙腈为色谱纯;试验用水为纯化水。

1.3 主要仪器

Agilent1100 高效液相色谱系统(美国安捷伦科技有限公司):配备有 G1379A 脱气机, G1313A 自动进样器, G1311A 四元梯度泵, G1316A 柱温箱, G1315BDAD 检测器、Agilent1100 色谱工作站等;恒温磁力搅拌器(江苏金坛市科协仪器有限公司);HPD-25 隔膜真空泵(天津恒奥科技有限公司);XH-B 型涡旋混合器(姜堰市康健医疗器械有限公司);KQ-500VDY 医用三频数控超声清洗机(昆山市超声仪器公司);pHS-3B 型精密 pH 计(上海雷磁仪器厂);梅特勒十万分之一电子分析天平(瑞士 Mettler 公司);台式高速低温冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司 Centrifuge 5804R 型);高流速低蛋白质吸附的 Millipore Express (PES)膜针头式过滤器(美国 Millipore Millex-GP);1ml 一次性预灌封注射器(山东省药用玻璃股份有限公司)。

1.4 兔体内血浆药物浓度测定

采用改良自乳化-溶剂扩散法制备载异烟肼、利福平白蛋白纳米粒(INH-RFP-BSA-NPs)^[9]。采用透射电镜观察纳米粒形态,动态膜透析法观察载药纳米粒的体外释药特性。按照投药量 INH:RFP=0.4:0.42 的比例配比,制备的载异烟肼、利福平白蛋白纳米粒其载药量分别为 19.8%、20.1%,包封率分别为 87.8%、98.0%,平均粒径在(60.5±4.6)nm。实验动物实际给药量按按利福平 12mg/kg,异烟肼的给药量为 11.4312mg/kg。

1.4.1 给药方法 取体重 3.0~4.2kg 健康合格、耳

缘无损伤新西兰大白兔 16 只,配置好的药物经高流速低蛋白质吸附的 Millipore Express (PES)膜针头式过滤器过滤除菌。其中 8 只将制备好的载异烟肼、利福平白蛋白纳米粒按 INH 11.43mg/kg、RFP 12mg/kg 经耳缘静脉静滴注(10~15min 内完成)。将常规制剂的异烟肼和利福平注射液用生理盐水混合配置成与实验组制剂具有相同浓度的混悬液,另 8 只新西兰大白兔按公斤体重静脉滴注等量常规制剂异烟肼、利福平注射液作为对照组。

1.4.2 血样采集 新西兰大白兔静脉给药后(不禁饮食)于 0、0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、6、8、12、24、36、48、72、96、120h 在兔耳缘静脉取血约 1.5ml。所取血样均置肝素化离心管中,4000r/min 离心 10min 后分离回收全部血浆分装两份,于-70℃低温冰箱保存,备异烟肼和利福平血药浓度的检测。

1.4.3 血浆药物代谢动力学参数测定 色谱条件参考已建立好的色谱条件和样品处理方法^[10,11]:异烟肼选用 Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱(5 μ m,4.6 $\times$ 250mm),预柱 SB-C18 (5 μ m,4.6 $\times$ 12.5mm),柱温:35℃;流动相为 0.02mol/L 磷酸二氢钾缓冲液(H₃PO₄调 PH4.0):乙腈=55:45;流速 1.0ml/min;测定波长 325nm。利福平选用 Agilent ZORBAX XDB-C18 色谱柱(5 μ m,4.6 $\times$ 150mm),预柱 XDB-C18(5 μ m,4.6 $\times$ 12.5mm),柱温:35℃;流动相为 0.02mol/L 磷酸二氢钠缓冲液(PH=7.0):甲醇=30:70;流速 1.0ml/min;测定波长 330nm。

1.4.4 血浆样品处理

1.4.4.1 INH 血浆样品处理 精密移取兔血浆 0.1ml,加入 20%三氯醋酸 0.1ml,涡旋 2min,离心(-4℃,14000r/min,10min),取上清 100 μ l,加入 1%肉桂醛甲醇溶液 10 μ l,涡旋混匀后在室温下反应 15~20min,再离心(-4℃,14000r/min,10min)后取上清液 20 μ l 按上述色谱条件进样测量 INH 的血浆药物浓度。INH 血浆药物浓度的线性范围为 0.05~20 μ g/ml,线性关系良好($r=0.99989$, $n=6$)。平均提取回收率(%)为 100%,日内日间精密度(RSD)均小于 5.3%。

1.4.4.2 RFP 血浆样品处理 精密取血浆 0.1ml,加入 0.3ml 甲醇,涡旋 2min,离心 10min,取上清液 20 μ l 按利福平色谱条件进样测量 RFP 的血浆药物浓度。RFP 血浆药物浓度的线性范围为 0.5~72 μ g/ml($r=0.99969$, $n=6$)。平均提取回收率(%)为

99.72%,日内日间精密度(RSD)均小于 4.18%。

1.5 统计学处理

INH 和 RFP 血药浓度测定结果采用 DAS 2.0 软件药动学成批数据分析模块处理,对家兔按公斤体重注射药物后的平均血药浓度-时间数据进行房室模型判断,并计算得出主要的药动学参数,包括血药峰浓度(C_{max})、生物半衰期($T_{1/2}$)、血药浓度-时间曲线下的面积(AUC)、体内平均驻留时间(MRT)、体内总消除率(CL)及表观分布容积(V_{ss})。应用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行分析,两组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 形态学观察

透射电子显微镜显示白蛋白纳米粒外观圆整,表面光滑,互不粘连,大小均匀(图 1)。平均粒径为(60.5 $\pm$ 4.6)nm,粒径范围在 30~110nm。

2.2 药物体外释药检测

INH-RFP-BSA-NPs 中 INH 和 RFP 均缓慢释放,未见突释现象,INH 至第 6 天累积释放百分数达 97.02%;RFP 于第 5 天时完全释放,累积释放百分数达 100%。INH-RFP-BSA-NPs 具有良好的体外缓释作用。INH、RFP 体外累计释药曲线见图 2。

2.3 兔血浆药物代谢动力学参数

将两组兔各时间点血浆样品处理后进样,所得血药浓度数据经 DAS 2.0 软件拟合分析。结果表明,白蛋白纳米粒与普通对照品两组的药代动力学拟合均符合双隔室模型(权重系数为 1/cc)。两组 INH 及 RFP 的药代动力学参数测量结果见表 1,纳米粒组中 RFP 各参数与对照组比较差异有显著性($P<0.05$);纳米粒组中 INH 的 C_{max} 、CL 与对照组比较差异无显著性($P>0.05$),其余指标两组间比较差异有显著性($P<0.05$)。INH 和 RFP 平均血药质量浓度-时间曲线见图 3。INH 血药浓度相对稳定,给药后 96h 仍能检测到,RFP 能维持 48h。而对照组 INH、RFP 血药浓度快速下降,分别在给药后 24h 和 12h 即检测不到。

3 讨论

尽管异烟肼、利福平仍是目前一线抗结核治疗的主要药物,但其常规剂型仍存在一些不足:①药物在体内释放不可控,其在结核病变区不能达

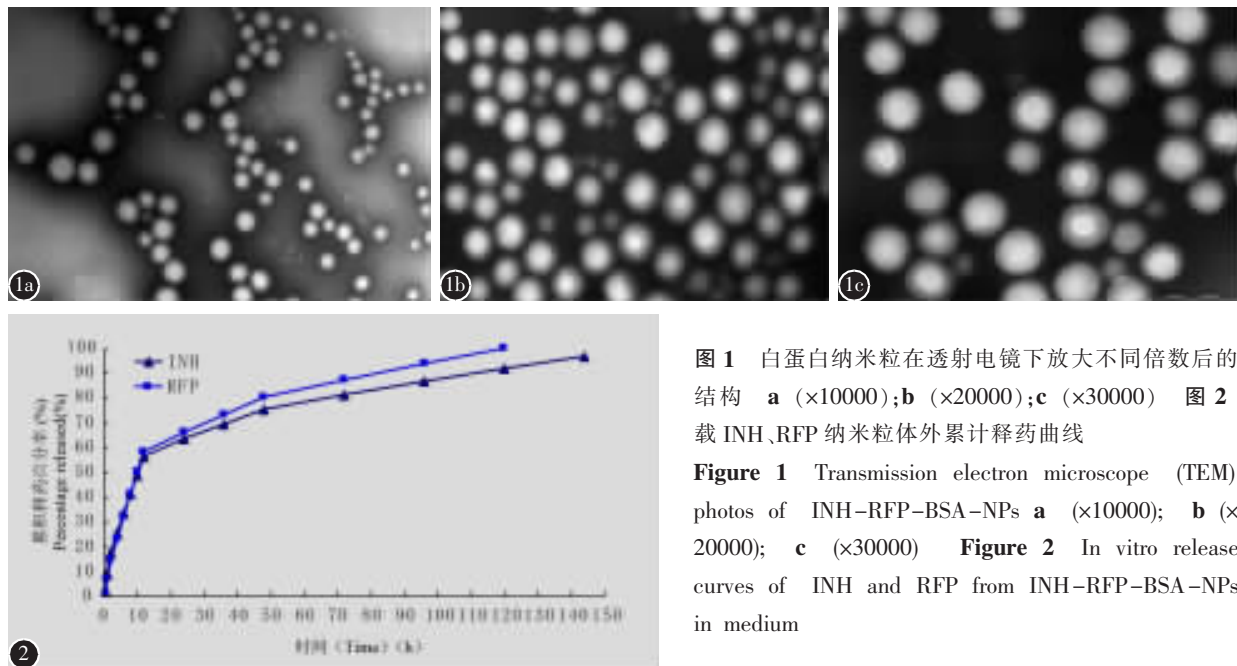


图 1 白蛋白纳米粒在透射电镜下放大不同倍数后的结构 a ($\times 10000$); b ($\times 20000$); c ($\times 30000$) 图 2 载 INH、RFP 纳米粒体外累计释药曲线

Figure 1 Transmission electron microscope (TEM) photos of INH-RFP-BSA-NPs a ($\times 10000$); b ($\times 20000$); c ($\times 30000$) Figure 2 In vitro release curves of INH and RFP from INH-RFP-BSA-NPs in medium

表 1 普通对照品制剂与白蛋白纳米粒中 INH、RFP 血浆药代动力学参数比较

($n=8$)

Table 1 INH-RFP-BSA-NPs and contrast group's pharmacokinetic parameter

给药参数 Parameters	单位 Unit	异烟肼 (isoniazid, INH)		利福平 (rifampicin, RFP)	
		对照组 Contrast group	纳米粒组 Nanoparticle group	对照组 Contrast group	纳米粒组 Nanoparticle group
生物半衰期($T_{1/2}$)	h	1.92 $\pm$ 0.80	28.10 $\pm$ 6.69 ^①	2.87 $\pm$ 0.78	14.13 $\pm$ 3.78 ^①
血药浓度时间曲线下的面积(AUC)	mg/L $\cdot$ h	20.97 $\pm$ 3.11	22.34 $\pm$ 8.81 ^①	50.05 $\pm$ 14.50	116.64 $\pm$ 66.26 ^①
体内平均驻留时间(MRT)	h	2.03 $\pm$ 0.62	15.13 $\pm$ 5.48 ^①	3.70 $\pm$ 0.99	15.89 $\pm$ 2.49 ^①
体内总消除率(CL)	L/h/kg	0.51 $\pm$ 0.10	0.51 $\pm$ 0.20	0.26 $\pm$ 0.10	0.14 $\pm$ 0.08 ^①
表观分布容积(V_{ss})	L/kg	1.35 $\pm$ 0.58	21.76 $\pm$ 12.28 ^①	1.01 $\pm$ 0.16	2.96 $\pm$ 2.03 ^①
最大血药浓度(C_{max})	mg/L	9.52 $\pm$ 2.19	9.79 $\pm$ 1.38	12.50 $\pm$ 1.58	16.79 $\pm$ 3.74 ^①

注:①与对照组比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with control group, $P<0.05$

到有效的组织穿透、难以维持有效的杀菌浓度;②需长期每日联合服药,存在严重的毒副作用及不良反应,部分患者化疗难以依从,致使化疗效果不佳^[12-15]。近年来,研究发现通过改变传统抗结核药物剂型,即可明显改变药物的药动学过程、提高其生物利用度和化疗效果、大幅减少给药频次。Pandey 等^[16]将利福平制备成利福平脂质体,通过雾化吸入治疗豚鼠肺结核模型,发现豚鼠血浆中利福平的有效杀菌浓度维持时间可达原药的两倍。Uaiin 等^[17]将异烟肼、利福平、吡嗪酰胺制备成粒径为 3 μ m 的微球,通过单次口服给药发现小鼠肺结核模型动物体内血浆最低抑菌浓度可维持 72h,组织分布可达 9d,其相对生物利用度远远高于原药,明显减少了药物剂量和给药频率。

目前,国内外研究较多的常用抗结核微粒主要有脂质体、微球、纳米粒等。针对不同的结核病,各有其适应证^[18-20]。微米级的脂质体、微球由于粒径过大、很难躲避单核巨噬细胞的吞噬,在肺结核的实验动物模型中多被用于吸入及局部应用的方式给药。相比较于脂质体和微球,纳米粒具有粒径小、稳定性好、表面能大、可穿透肺泡屏障和骨髓-血屏障等优势,在提高药物的载药量、通过机体的各种屏障、药物的通透性等诸多方面具有其他药物剂型难以企及的优势^[21]。研究显示,直径小于 150nm 的微粒方可有效躲避体内单核巨噬细胞的吞噬,直径小于 100nm 的纳米粒还可以穿透骨髓-血屏障,经静脉注射后可由细胞内或细胞间穿过内皮壁达到靶部位,可显著提高疗效和降

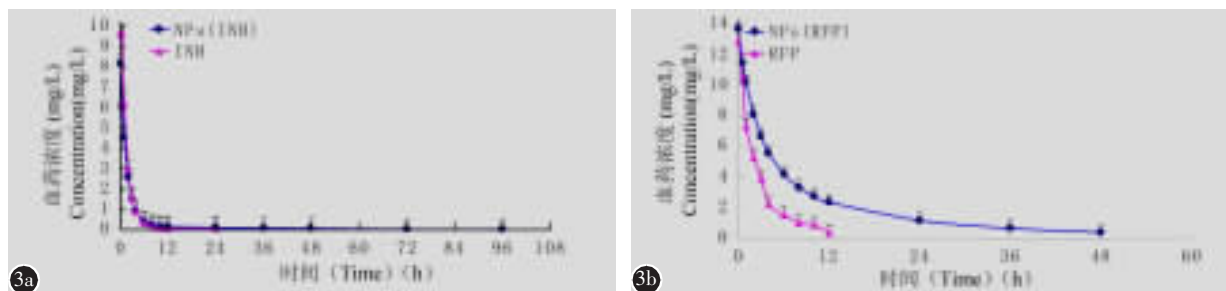


图3 白蛋白纳米粒静脉给药后平均血药浓度-时间曲线 a 纳米粒组 INH 血药浓度相对稳定, 给药后 96h 仍能检测到; 对照组 INH 血药浓度快速下降, 给药后 24h 即检测不到 b 纳米粒组 RFP 给药后 48h 仍能检测到, 对照组 RFP 血药浓度迅速下降, 给药后 12h 即检测不到

Figure 3 The INH-RFP-BSA-NPs and control group's concentration-versus-time curve

低毒副作用^[22,23]。本研究以白蛋白、聚乳酸为载体制备的纳米粒平均粒径仅为 60.5nm, 小于 100nm, 可满足体内静脉给药、最大限度发挥药物的生物利用度^[9,22]。研究发现经兔耳缘静脉注射给药后, 纳米粒中 INH、RFP 的血药浓度能够维持较为稳定的水平: 给药后 96h 仍能检测到异烟肼, 利福平的血药浓度则能维持到给药后 48h, 远高于普通制剂组中异烟肼的 24h 和利福平的 12h, 且所包封的两种药物的稳定性和生物活性均未受影响, 初步证明载药纳米粒中的 INH、RFP 在兔体内的药动学过程较普通制剂发生了明显的改变。

就药动学参数而言, 研究中纳米组的血药峰浓度(C_{max})、曲线下面积(AUC)、均明显高于对照组, 证实载药纳米粒的 INH 和 RFP 的生物利用度明显强于普通 INH 和 RFP 制剂。研究发现单次静脉给药后纳米粒中 INH 和 RFP 的生物半衰期($T_{1/2}$)显著延长, 分别是对照组的 14.6 倍和 4.9 倍, 说明新型纳米药物可以长时间维持有效血药浓度, 已经初步具备间隔较长时间的给药能力, 在维持有效血药浓度的情况下, 可减少给药频次。上述指标的改变分析可能与下列因素有关: ①载药纳米粒粒径、表面能大、静脉给药后在兔体内释放较快; ②纳米粒吸收入血后其体内稳态表观分布容积(V_{ss})增加, 很快被机体的网状内皮系统摄取; ③粒径小于 100nm 的粒子能躲避肝脏和脾脏的窦状小管截留而长时间在体内循环, 本研究中的纳米粒平均粒径仅 60.5nm, 绝大部分药物重新进入血液循环。此外, 研究还发现载药纳米粒中 INH 及 RFP 的体内平均驻留时间(MRT)比对照组分别增加了 7.45 倍和 4.29 倍, 证实纳米粒载体可以减缓 INH 和 RFP 的消除速率, 分析可能是由于白蛋白和聚乳酸(PLA)复合载体骨架的包裹延

长了药物在血液中的滞留时间, 由此也同步增加了药物的吸收, 提高了药物与机体的接触面积和生物利用度^[24]。

本研究发现纳米粒组中 INH 的 C_{max} 较对照组增加并不明显, 平均血药浓度-时间曲线和对照组几乎重叠, 而 RFP 的 C_{max} 则较对照组明显增大, 分析可能原因为: 所制备的白蛋白纳米粒为水包油(O/W)结构, 外层为水溶性结构包裹 INH、内层为脂溶性结构包裹 RFP。纳米粒在体内释放时前期为快速释药, 主要释放纳米粒外层表面以范德华力吸附的部分药物, 表层中的 INH 在此阶段绝大部分被释放出来。后期为缓慢释药, 随着纳米粒表面药物的减少, 内核的 RFP 逐步释放, 而且随药物的扩散势能降低, 白蛋白表面以共价键结合的药物开始缓慢释放。因此, 初期 24h 内, 两组 INH 平均血药浓度-时间曲线几乎重叠, 但 24h 以后, 由于一部分纳米药物重新被机体的网状内皮系统摄取, 形成长循环的药物, 故而 INH 药物的作用时间延长, 直至 96h 完全代谢。利福平因被包裹在纳米粒内层, 有白蛋白和聚乳酸共同作为支架, 其体内总消除率低, 平均驻留时间延迟, 释放速度相对缓慢, 导致纳米粒组利福平的 C_{max} 明显增高。上述结果初步显示本研究中的新型纳米药在改变剂型后 INH 及 RFP 呈现出较为明显的体内缓释特性, 明显超过各自口服剂型的释药性能。与文献^[25]比较, 本组纳米粒中 INH 及 RFP 的药动学参数变化要明显高于大粒径的纳米制剂, 尤其是缓释特性要更加明显, 分析可能与本组纳米粒粒径小, 能够躲避体内单核巨噬细胞吞噬, 相对生物利用度更高等因素有关。

当前, 结核病的药物化疗仍然存在很多问题, 特别是对于脊柱结核, 由于愈来愈多的脊柱结核

的影像病理特征表现为坏死灶周边广泛的硬化椎骨形成, 导致病变局部出现抗痨药物灌注及骨髓-血屏障通透性障碍, 致使 INH、RFP 等一线抗痨主药难以穿透硬化壁到达核心病灶^[14]。因此, 常规化疗往往难以奏效, 容易导致脊柱结核迁延不愈及复发^[15-26]。本研究的目的在于构建粒径小于 100nm、能够穿越骨髓-血屏障能力的载 INH、RFP 的纳米药物, 观察其体内的药代动力学过程与参数, 初步研究结果显示该纳米抗痨药物单次静脉给药即可在体内较长时间地维持有效 INH 和 RFP 血药浓度, 具备较好的药物缓释效应。本研究旨在为进一步的纳米抗痨制剂在脊柱结核模型动物病椎组织中的药动力学研究以及实验性治疗研究提供初步的研究基础, 以期对脊柱结核的高效化疗提供新的思路和研究方向。

4 参考文献

- Ahmad Z, Pandey R, Sharma S. et al. Novel hemotherapy for tuberculosis: chemotherapeutic potential of econazole-and moxifloxacin-loaded PLG nanoparticles[J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 31(2): 142-146.
- Pandey R, Khuller GK. Oral nanoparticle-based antituberculosis drug delivery to the brain in an experimental model[J]. J Antimicrob Chemother, 2006, 57(6): 1146-1152.
- 王心静, 王巍, 黎立, 等. 大鼠口服利福平海藻酸钠微球的体内药动力学研究[J]. 中国预防医学杂志, 2007, 8(5): 594-597.
- Muttil P, Kaur J, Kumar K, et al. inhalable microparticles containing large payload of anti-tuberculosis drugs [J]. Eur J Pharm Sci, 2007, 32(2): 140-150.
- Gaspar MM, Cruz A, Penha AF, et al. Rifabutin encapsulated in liposomes exhibits increased therapeutic activity in a model of disseminated tuberculosis[J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 31(1): 37-45.
- Hamishehkar H, Rahimpour Y, Kouhsoltani M. Niosomes as a propitious carrier for topical drug delivery [J]. Expert Opin Drug Deliv, 2013, 10(2): 261-272.
- Allen TM, Cullis PR. Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2013, 65(1): 36-48.
- Sharma A, Sharma S, Khuller GK. Lectin-functionalized poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles as oral/aerosolized antitubercular drug carriers for treatment of tuberculosis[J]. J Antimicrob Chemother, 2004, 54(4): 761-766.
- 马荣, 陈振, 张惠勇, 等. 载异烟肼、利福平白蛋白纳米粒的制备及其体外释药研究[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(21): 2336-2339.
- 马荣, 陈振, 张惠勇, 等. 兔血浆利福平反相高效液相色谱分析及药代动力学研究[J]. 宁夏医科大学学报, 2014, 36(1): 25-28.
- 马荣, 陈振, 张惠勇, 等. 兔血浆异烟肼反相高效液相色谱分析及药代动力学研究[J]. 宁夏医科大学学报, 2014, 36(4): 417-421.
- 林羽, 王自立, 吕国华, 等. 第二届全国骨关节结核病专题研讨会会议纪要[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2008, 18(11): 805-810.
- Rastogi R, Sultana Y, Ali A, et al. Particulate and vesicular drug carriers in the management of tuberculosis[J]. Curr Drug Deliv, 2006, 3(3): 121-128.
- 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.
- Wang Z, Ge Z, Jin W, et al. Treatment of spinal tuberculosis with ultrashort-course chemotherapy in conjunction with partial excision of pathologic vertebrae[J]. Spine J, 2007, 7(6): 671-681.
- Pandey R, Sharma S, Khuller GK. Nebulization of liposome encapsulated antitubercular drugs in guinea pigs [J]. Int J Antimicrob Agents, 2004, 24(1): 93-94.
- Uiain Q, Sharma S, Khuller GK. Chemotherapeutic potential of orally administered poly (lactide-co-glycolide) microparticles containing isoniazid, rifampin, and pyrazinamide against experimental tuberculosis [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(9): 3005-3007.
- Bhardwaj A, Kumar L, Narang RK, et al. Development and characterization of ligand-appended liposomes for multiple drug therapy for pulmonary tuberculosis [J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2013, 41(1): 52-59.
- Manca ML, Cassano R, Valenti D, et al. Isoniazid-gelatin conjugate microparticles containing rifampicin for the treatment of tuberculosis[J]. J Pharm Pharmacol, 2013, 65(9): 1302-1311.
- 徐颖颖, 蔡鑫君, 叶晓莉, 等. 利福平聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒雾化吸入给药肺靶向性研究 [J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(7): 755-758.
- 梅兴国. 微载体药物递送系统[M]. 武汉: 华中科技大学出版社. 2009, 86-87.
- 张志荣. 靶向治疗分子基础与靶向药物设计[M]. 北京: 科学出版社, 2005. 21-22.
- 张阳德. 纳米药理学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006. 28-29.
- 杨莹. 白蛋白纳米粒的制备工艺及在药学中的应用[J]. 今日药学, 2009, 19(4): 57-59.
- Booyesen LL, Kalombo L, Brooks E, et al. In vivo/in vitro pharmacokinetic and pharmacodynamic study of spray-dried-poly-(dl-lactic-co-glycolic) acid nanoparticles encapsulating rifampicin and isoniazid[J]. Int J Pharm, 2013, 444(1-2): 10-17.
- Rao GC, Kumar MS, Mathivanan N, et al. Nanosuspensions as the most promising approach in nanoparticulate drug delivery systems[J]. Pharmazie, 2004, 59(1): 5-9.

(收稿日期: 2015-04-23 修回日期: 2015-07-21)

(英文编审 唐翔宇/贾丹彤)

(本文编辑 彭向峰)