

复合三联抗结核药聚乳酸-羟基乙酸 缓释微球体内缓释实验研究

何胤^{1,2}, 赵晨¹, 施建党³, 王自立³, 杨宗强¹, 岳学锋¹, 苏胜杰¹, 张小敏⁴

(1 宁夏医科大学 750004 银川市; 2 广元市中心医院骨科 628000 广元市;

3 宁夏医科大学总医院脊柱骨科 750004 银川市; 4 宁夏医科大学科学技术研究中心 750004 银川市)

【摘要】目的:观察载异烟肼(H)、利福平(R)、吡嗪酰胺(Z)复合抗结核药/聚乳酸-羟基乙酸共聚物缓释微球在大鼠体内的缓释特性。**方法:**选取 SD 雄性成年大鼠 84 只,随机分成 A、B、C 三组,分别设为载药微球组、空白微球组、空白组,于术后 1d、3d、1 周、2 周、4 周、6 周、8 周时分别处死各组 4 只大鼠,处死时取微球周边 1cm 肌肉组织和腹腔静脉血 5ml,应用高效液相色谱法检测肌肉组织和血清中三种药物浓度;在 1 周、4 周时检测肝、肾功能,留取肝、肾组织观察其组织病理学变化。**结果:**术后 3d 时 A 组中肌肉和血浆中 HRZ 的药物浓度达到最高,1 周后药物的浓度趋于稳定;8 周时肌肉组织中 HRZ 的浓度分别为 0.56、0.63、1.51 $\mu\text{g/g}$,均达到了各自的 10 倍最低有效抑菌浓度,血浆中 HRZ 浓度分别为 0.112、0.046、0.189 $\mu\text{g/ml}$,肌肉中药物浓度和血浆中药物浓度行配对 *t* 检验,差异有统计学意义($P<0.05$);B、C 两组肌肉及血浆中均未检测出 HRZ。在 1、4 周时,对三组大鼠肝、肾功能相关指标进行检测,A 与 C、A 与 B、B 与 C 组间两两比较 *t* 检验,肝、肾功能各项指标在各检测点均无统计学差异($P>0.05$);A、B、C 三组大鼠肝、肾组织病理学检查未见明显损伤。**结论:**HRZ/PLGA 微球具有缓慢、平稳释放药物的特性,具有良好的组织生物相容性,可直接植入体内实现局部给药和缓释长程治疗的双重效果。

【关键词】抗结核药;聚乳酸-羟基乙酸微球;体内缓释

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2016.05.11

中图分类号:R738.91 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2016)-05-0447-06

Triple anti-tuberculosis drug polylactic acid-glycolic acid microsphere and its slow-release in vivo, an experimental study/HE Yin, ZHAO Chen, SHI Jiandang, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2016, 26(5): 447-452

【Abstract】Objectives: To observe the isoniazid(H), rifampicin(R), pyrazinamide(Z) composite anti-tuberculosis drug/polylactic acid-glycolic acid copolymer microsphere and its slow-release characteristics in rats. **Methods:** 84 SD adult male rats were divided into three groups randomly, carrier drug microsphere group (group A), blank microsphere group(group B) and blank group(group C). At postoperative 1d, 3d, 1 week, 2 weeks, 4 weeks, 6 weeks and 8 weeks, 4 rats in each group were undertaken to death, 1cm muscle around the microsphere was cut down and 5ml blood sample through vena cava was collected, high performance liquid chromatography(HPLC) was used to detect HRZ concentration in the muscle and serum. The liver and kidney function, as well as the histopathological changes in liver and kidney tissues were tested in the first and fourth week. **Results:** At the 3rd day after surgery in group A, HRZ reached the maximum in muscle and plasma and it tended to be stable after 1 week. The HRZ concentrations of group A in the muscle were 0.56, 0.63, 1.51 $\mu\text{g/g}$ respectively, which were 10 times as much as their minimum inhibitory concentration (MIC) in the eighth week. The blood concentrations of HRZ were 0.112, 0.046, 0.189 $\mu\text{g/g}$ respectively, drug concentration in muscle and plasma drug concentration were performed by the paired *t* test, the difference

基金项目:国家自然科学基金项目(81360275);宁夏自然科学基金项目(NZ13131);宁夏医科大学基金项目(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:赵晨 E-mail:zhaochen901010@163.com

通讯作者:施建党 E-mail:shi_jiandang@163.com

was statistically significant ($P < 0.05$). While it was not detected in the muscle and plasma in group B and C. In the first and fourth week of postoperation, after pairwise comparison t test, liver and renal function between group A and C, A and B, B and C related indicators, showed no statistical difference ($P > 0.05$). The liver and kidney histopathological examination of group A, B, C showed no obvious damages. **Conclusions:** HRZ/PLGA microsphere can be implanted directly for local drug delivery and slow-release, due to its smooth, slow release and good biocompatibility characteristics.

【Key words】 Anti-TB drug; PLGA microsphere; Slow-release in vivo

【Author's address】 Ningxia Medical University, Yinchuan, 750004; Department of Orthopedics, Guangyuan Central Hospital, Guangyuan, 628000, China

近年来,随着脊柱结核治疗理念和手术技术的进步,使其治疗效果得到了很大的改善,但其治疗仍是以全身性化疗为基础,由于全身用药毒副作用大,药物达到病灶前大部分已降解、药物的低渗透性及病灶局部硬化骨的形成使病灶中抗结核药物达不到有效药物浓度,最终导致脊柱结核病程延长甚至耐药结核菌株的出现^[1-2]。因此,局部药物缓释系统(drug delivery system, DDS)应运而生,并渐成为国内外治疗脊柱结核的研究重点和热点之一,聚乳酸-羟基乙酸 [poly (lactic-co-glycolic acid), PLGA] 已经广泛应用于 DDS 的实验研究并已被美国 FDA 所认证^[3-5]。目前已有关于 PLGA 搭载抗结核药物缓释系统的相关文献报道,但大多数的载药系统均存在载药单一、所搭载的药物缓释时间过快或过慢等问题^[6]。因此,临床上亟须一种药物缓释时间长、释放平稳、生物毒副作用小的抗结核缓释系统材料。本课题组前期已完成了异烟肼(H)、利福平(R)、吡嗪酰胺(Z)复合抗结核药 (HRZ)/PLGA 微球的体外缓释特性测定,证明了 HRZ/PLGA 微球是一种理想的复合型抗结核药物缓释系统^[7]。本研究将 HRZ/PLGA 缓释微球植入到大鼠骶脊肌内,观察载复合 HRZ/PLGA 缓释微球在大鼠体内的缓释特性及肝肾毒性及组织病理学研究,为 HRZ/PLGA 缓释微球体内局部抗结核特性提供基础实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 SPF 级 SD 大鼠 84 只(由宁夏医科大学实验动物中心提供,2 月龄,体重 300~350g,平均为 324 ± 12.3 g),于宁夏医科大学总医院外科学研究室实验室动物房饲养,喂清洁级饲料。

1.1.2 试剂与仪器 聚乳酸-羟基乙酸(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),高效液相色谱仪 D-2000(日本日立公司)RFP 标准品(中国药品技术监督检验所),庚烷磺酸钠、HRZ 标准品(中国药品技术监督检验所),HRZ 原药 (>99%, 美国 Sigma 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),徕卡手动石蜡切片机(北京中仪光科科技发展有限公司)。

1.2 研究方法

1.2.1 HRZ/PLGA 缓释微球制备 按照复乳-溶剂挥发法[(W/O/W)复乳法]^[8]制备复合 HRZ/PLGA 缓释微球。精密称取 R60mg 和 PLGA 450mg,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 Z,溶于 1ml 超纯水中,在超声振荡下适当加热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%聚乙醇酸(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 3000rpm 冰浴下搅拌 3min 形成复乳;将复乳加入到 40ml 2% PVA 溶液之中,于 300rpm 常温下搅拌过夜,待二氯甲烷完全挥发,固化微球,10000r/min 离心后收集微球,将制得的微球用模拟体液 [磷酸盐缓冲液(PBS), pH=7.4]反复冲洗、离心 3 次。按上述方法制备空白微球。将载药微球、HRZ 药物及空白微球真空冷冻干燥后密封,钴-60 辐照消毒后-20℃冷藏备用。

1.2.2 动物分组及手术操作 取成年雄性 SD 大白鼠 3 月龄 84 只(记录其体重值),随机分成 A、

B、C 三组,为载药微球组、空白微球组、空白组。术前禁饮食 8h。10%的水合氯醛(0.3ml/100g)腹腔内注射,麻醉显效后取俯卧位,固定、备皮、消毒、铺巾。于骶脊肌处行纵形切口,切开肌膜,钝性分离右侧骶脊肌。无菌条件下进行称量,按体重 1mg/g 于 A、B 两组大鼠骶脊肌内将预先制备的载 HRZ/PLGA 微球、空白 PLGA 微球分别植入,C 组单纯切开皮肤、肌膜,钝性分离右侧骶脊肌后不植入任何材料。止血、盐水冲洗后缝合肌膜,碘伏、生理盐水先后冲洗伤口,缝合皮肤后表面涂以红霉素软膏,无菌纱布包扎固定。麻醉复苏后送回动物饲养房。每天观察术后伤口情况,独笼饲养 4~5d 后并为 4 只/笼。

1.2.3 动物取材 于术后 1d、3d、1 周、2 周、4 周、6 周、8 周时分别处死各组 4 只大鼠,处死前分别记录各组大鼠体重。麻醉后去除微球,取 HRZ/PLGA 微球周边 1cm 内肌肉组织^[9];取下腔静脉血 5ml。均置于-20℃冰箱内待检。于术后 1 周、4 周处死大鼠时取适量肝、肾组织,福尔马林液固定后 HE 染色观察。将所取组织标本均予编号后避光、-20℃冰箱保存。

1.2.4 样品检测 (1)样品处理。将取下的肌肉精确称取 10g,冷冻干燥后再称重,计算干湿比,然后将肌肉组织研磨成粉,加入超纯水 1ml 进行匀浆,制成组织匀浆液,离心后取上清液测定肌肉中血液成分的血红蛋白(Hb)含量。取大鼠血液 5ml 置于肝素钠玻璃采血管中,离心后得血浆。取组织匀浆液和血浆各 200μl,向其中加入 1ml 甲醇沉淀蛋白后离心,取上清液 200μl 经 0.22μm 微孔滤膜过滤后,置于-20℃冰箱内待检。

(2)药物浓度检测。采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)检测血浆及组织匀浆中药物浓度。色谱条件:Water CN(5μm)色谱柱;流动相为乙腈:庚烷磺酸钠(0.01mol/L, pH2.2)=55:45,流速 1.0ml/min;柱箱温度 30℃;检测波长 270nm;进样体积 20μl;时间范围 15min。

(3)应用氰化高铁血红蛋白法(HICN)求得样本中污染血的 Hb 含量,经稀释比、干湿重量比以及校正公式计算求得肌肉组织样本的校正药物浓度。校正浓度=组织样本药物浓度-组织样本归因血污染的药物浓度,其中组织样本归因血污染的药物浓度由以下公式^[10,11]计算:归因血污染的药

物浓度($\mu\text{g/g}$)=(组织匀浆中 Hb/血液中 Hb) $\times K \times S \times [(100-Ht)/100]$ 。其中 K 为组织稀释因子,S 为血浆中药物浓度($\mu\text{g/ml}$),Ht 为红细胞压积(%)。

(4)肝肾功检测及组织病理切片观察。将所取 SD 大鼠静脉血进行生化检测,记录 AST、ALT、Cr 及 BUN 值。将所取肝肾组织固定切片后 HE 染色,于光镜下观察(HE $\times 40$)。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计学软件,实验数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较采用 t 检验,多样本均数比较用单因素方差分析, α 取 0.05。

2 结果

2.1 一般情况

HRZ/PLGA 微球植入大鼠体内后,术后切口感染:A 组 1 只,B 组 3 只,C 组 1 只;术后死亡:A 组 1 只,B 组中 2 只,C 组中 1 只。大鼠感染可能是术后大鼠生活的鼠笼环境、术后大鼠将固定的无菌辅料咬掉及对手术切开的舔舐等引起,感染最终导致部分大鼠的死亡。

2.2 体重变化

A、B、C 三组试验大鼠处死时全部称重(表 1)。三组间大鼠体重比较, P 值均 >0.05 ,差异无统计学意义,表明大鼠的饲养条件安全,植入剂对大鼠的生长无明显影响。

2.3 药物浓度及时间曲线

不同时间点 A 组肌肉和血浆中 HRZ 的药物浓度与时间关系见图 1、2。3d 时肌肉和血浆中 HRZ 的药物浓度达到最高,1 周后药物的浓度趋于稳定(表 2)。在 8 周时,肌肉组织中的 HRZ 的浓度分别为 0.56、0.63、1.51 $\mu\text{g/g}$,血浆中 HRZ 浓

表 1 各组 SD 大鼠体重变化情况 ($\bar{x} \pm s, g$)
Table 1 Groups of SD rats' weight changes

	A组 Group A	B组 Group B	C组 Group C
术前(Preoperation)	322 $\pm$ 18	331 $\pm$ 19	319 $\pm$ 22
术后(Postoperation)			
1d	315 $\pm$ 21	328 $\pm$ 17	314 $\pm$ 20
3d	311 $\pm$ 22	318 $\pm$ 15	315 $\pm$ 19
1 周(1 week)	315 $\pm$ 19	319 $\pm$ 16	320 $\pm$ 16
2 周(2 weeks)	324 $\pm$ 17	325 $\pm$ 19	323 $\pm$ 11
4 周(4 weeks)	331 $\pm$ 15	330 $\pm$ 16	329 $\pm$ 15
6 周(6 weeks)	338 $\pm$ 17	339 $\pm$ 18	336 $\pm$ 11
8 周(8 weeks)	344 $\pm$ 19	345 $\pm$ 15	342 $\pm$ 16

度分别为 0.112、0.046、0.189 $\mu\text{g/ml}$ ，局部肌肉中 HRZ 的浓度均达到了各自的 10 倍最低有效抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)，肌肉中和血浆中药物浓度行配对 t 检验, $t=1.81$, $P=0.023$, $P<0.05$, 差异有统计学意义, 可认为血液中的药物浓度显著低于局部肌肉中的药物浓度。

2.4 肝、肾功能测定

肝、肾功能指标(AST、ALT、Cr 及 BUN 值)见表 3。A、与 C、A 与 B、B 与 C 组间两两比较, 肝、肾功能各项指标在各检测点均无统计学差异($P>0.05$)。

2.5 肝肾组织病理切片观察

1 周和 4 周时, A、B 两组大鼠肝脏切片 HE 染色后观察: 肝巨噬细胞、肝细胞未见明显异常, 肝血窦、肝板、小叶间静脉未见异常。1 周和 4 周时, A、B 两组大鼠肾脏切片 HE 染色后观察: 肾皮

质、肾小管、近端小管、远端小管均未见异常(图 3~8)。

3 讨论

病灶局部抗结核药的药物浓度及其有效作用是治疗脊柱结核的关键^[12]。异烟肼、利福平、吡嗪酰胺三种药联合应用是临床最常采用的抗结核药物治疗的组合方式^[9]。HRZ 三药的代谢均主要为肝肾, 局部用药不但保障了病灶局部药物有效的杀菌浓度, 而且避免了全身用药对机体的毒副作用^[13]。HRZ 三药联用是临床最常采用抗痨药物治疗的组合方式, 刘勇等^[14]采用琼脂双倍稀释法测定表明, 将 HRZ 按 80:120:250 的比例联合用药, 其抗菌作用比单独的利福平、异烟肼强 1~2 倍。目前已知 H、R 的 MIC 分别为 0.005~0.5 $\mu\text{g/ml}$ 和 0.025~0.05 $\mu\text{g/ml}$, PZA 的 MIC 与细胞内酸碱

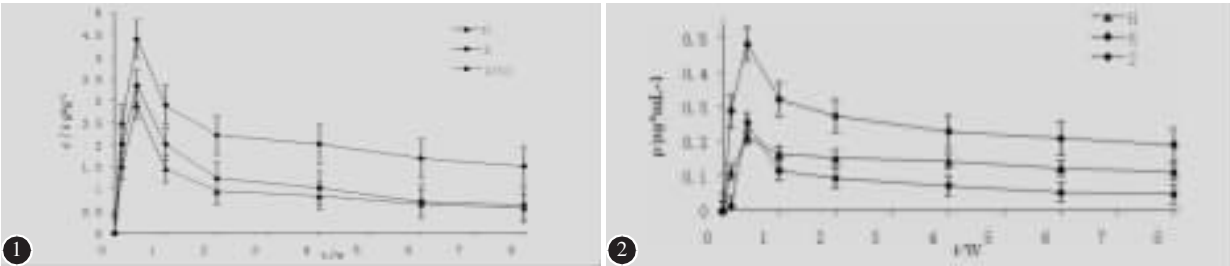


图 1 肌肉中药物浓度-时间曲线($\bar{x}\pm s$, $n=4$) 图 2 血清中药物浓度-时间时间曲线($\bar{x}\pm s$, $n=4$)
Figure 1 Concentration of HRZ in muscle-time curve Figure 2 Concentration of HRZ in serum-time curve($\bar{x}\pm s$, $n=4$)

表 2 术后不同时间点肌肉及血浆中药物浓度 ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)

Table 2 Liver and renal function of group A, B, C at 1 week and 4 weeks postoperatively

	肌肉中药物浓度(Drug concentrations in muscle)			血浆中药物浓度(Drug concentrations in plasma)		
	H	R	Z	H	R	Z
1d	1.51 $\pm$ 0.13	2.01 $\pm$ 0.11	2.48 $\pm$ 0.17	0.111 $\pm$ 0.03	0.0112 $\pm$ 0.01	0.287 $\pm$ 0.04
3d	2.89 $\pm$ 0.11	3.34 $\pm$ 0.18	4.39 $\pm$ 0.19	0.212 $\pm$ 0.04	0.253 0.02	0.481 $\pm$ 0.06
1周(1 week)	1.45 $\pm$ 0.12	2.01 $\pm$ 0.12	2.89 $\pm$ 0.18	0.163 $\pm$ 0.02	0.114 0.01	0.321 $\pm$ 0.02
2周(2 weeks)	0.95 $\pm$ 0.10	1.23 $\pm$ 0.12	2.21 $\pm$ 0.13	0.152 $\pm$ 0.02	0.092 0.01	0.273 $\pm$ 0.03
4周(4 weeks)	0.83 $\pm$ 0.15	1.02 $\pm$ 0.10	2.01 $\pm$ 0.12	0.142 $\pm$ 0.01	0.071 0.02	0.228 $\pm$ 0.02
6周(6 weeks)	0.65 $\pm$ 0.09	0.71 $\pm$ 0.09	1.69 $\pm$ 0.09	0.122 $\pm$ 0.01	0.052 0.01	0.208 $\pm$ 0.01
8周(8 weeks)	0.56 $\pm$ 0.10	0.63 $\pm$ 0.08	1.51 $\pm$ 0.10	0.112 $\pm$ 0.01	0.046 0.01	0.189 $\pm$ 0.01

表 3 术后 1、4 周时各组肝肾功能检测

Table 3 Liver and renal function of group A, B, C at 1 week and 4 weeks postoperatively

	1周(1 week)			4周(4 weeks)		
	A组(Group A)	B组(Group B)	C组(Group C)	A组(Group A)	B组(Group B)	C组(Group C)
谷草转氨酶(AST)(U/L)	229.1 $\pm$ 12.0	219.2 $\pm$ 18.2	228.0 $\pm$ 19.2	188.5 $\pm$ 17.3	177.2 $\pm$ 14.3	179.2 $\pm$ 18.2
谷丙转氨酶(ALT)(U/L)	46.8 $\pm$ 19.7	43.2 $\pm$ 15.4	50.2 $\pm$ 16.3	39.7 $\pm$ 21.5	41.5 $\pm$ 18.3	37.5 $\pm$ 20.2
尿素(Ur)(mmol/L)	5.7 $\pm$ 1.2	5.9 $\pm$ 2.3	5.3 $\pm$ 2.9	6.4 $\pm$ 0.8	5.8 $\pm$ 0.6	5.7 $\pm$ 1.1
肌酐(Cr)($\mu\text{mol/L}$)	67.1 $\pm$ 5.4	70.2 $\pm$ 4.8	66.0 $\pm$ 4.9	71.5 $\pm$ 4.1	72.4 $\pm$ 2.9	68.2 $\pm$ 3.6

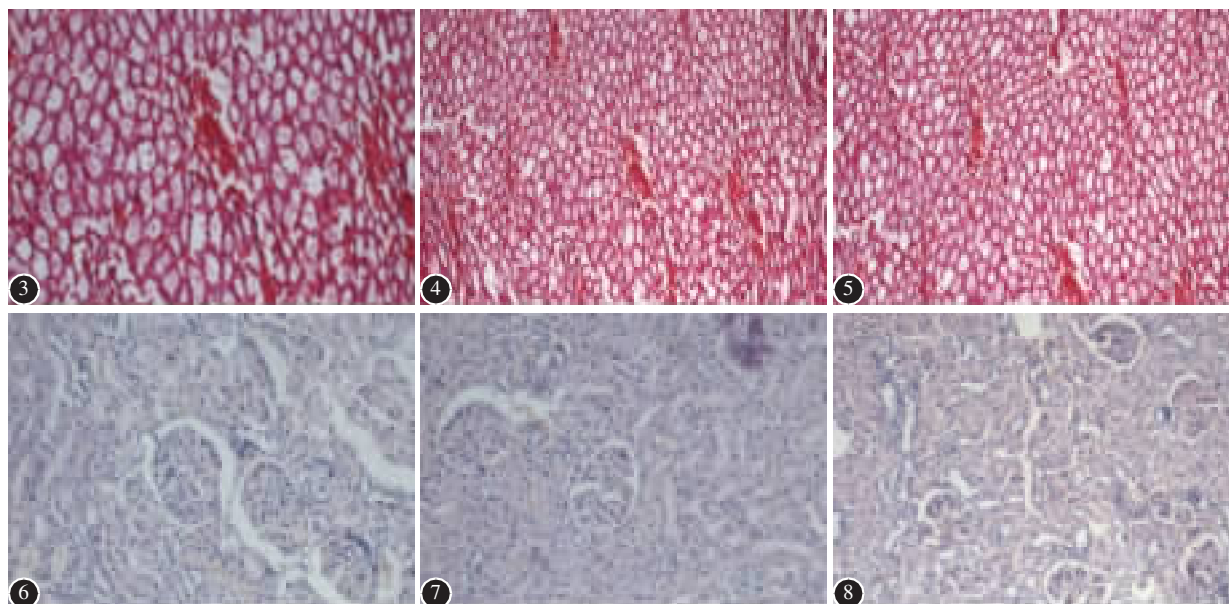


图 3 A 组术后 1 周大鼠肝组织未见明显异常(HE $\times 40$) 图 4 B 组术后 1 周大鼠肝组织未见明显异常(HE $\times 40$) 图 5 C 组术后 1 周大鼠肝组织未见明显异常(HE $\times 40$) 图 6 A 组术后 4 周肾脏 HE 染色表明肾小球、肾小管未见异常(HE $\times 40$) 图 7 B 组术后 4 周肾脏切片染色提示肾小球、肾小管未见异常(HE $\times 40$) 图 8 C 组术后 4 周肾脏切片染色提示肾小球、肾小管未见异常(HE $\times 40$)

Figure 3 Group A postoperative 1 week, rat liver tissue and cell are normal(HE $\times 40$) **Figure 4** Group B postoperative 1 week, rat liver tissue and cell are normal(HE $\times 40$) **Figure 5** Group B postoperative 1 week, rat liver tissue and cell are normal(HE $\times 40$) **Figure 6** Group A postoperative 4 weeks, HE staining showed renal glomerular and renal tubular no abnormalities(HE $\times 40$) **Figure 7** Group B postoperative 4 weeks, HE staining showed renal glomerular and renal tubular no abnormalities (HE $\times 40$) **Figure 8** Group B postoperative 4 weeks, HE staining showed renal glomerular and renal tubular no abnormalities(HE $\times 40$)

度相关,pH 5.0 时为 $1.5\mu\text{g/ml}$,一般最低杀菌浓度为 MIC 的 10 倍^[10,15]。PLGA 是由乳酸和羟基乙酸聚合形成的一种生物可降解高分子有机化合物,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,以 PLGA 为载体的载药缓释微球具有靶向释放、延长药物释放时间、降低药物毒性等优点,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用于组织工程的常用材料^[16,17]。林旭等^[18]制备的 RFP/PLGA 微球植入椎旁,检测椎旁肌中 RFP 浓度分别可以维持 10 倍 MIC 28d,血液中 RFP 各检测点都未检测到,局部椎旁肌也未见明显炎症反应,微球缓释出的 RFP 被逐渐持续缓慢吸收并被逐渐排除体外,说明 PLGA 微球具有良好的生物相容性,但存在 PLGA 微球搭载药物单一,所制备的微球缓释时间较短。本实验通过将 HRZ/PLGA 微球植入大鼠体内模拟局部用药,研究发现 HRZ 在大鼠肌肉组织中释放平稳,在术后第 8 周时检测大鼠肌肉组织中

HRZ,三药浓度仍均能大于 10 倍各自的 MIC,检测肝、肾功能提示无明显肝肾毒性,肝脏和肾脏的病理切片未见明显损害。HRZ/PLGA 微球局部植入达到了局部用药、有效药物浓度长期维持及无明显肝肾毒副作用的三重目的。

本研究中肌肉组织中 HRZ 的浓度于植入后 3d 时为最高,主要由微球表面或接近表面粘附的 HRZ 在缓释的早期迅速扩散到肌肉组织中引起,此阶段时间较短,释放速率较快。虽然前期在制备 HRZ/PLGA 微球时加入聚乙二醇(PEG)改善了微球体外缓释中的突释现象^[19],但该制剂在体内仍存在突释过程。此过程仍遵循药物的扩散机制释放,和本系列研究中前期体外缓释实验中 Higuchi 方程的规律相复合。随着时间的进展,HRZ/PLGA 微球在肌肉组织的浸泡中微球表面部分 PLGA 先溶胀,随后渐形成由外向内的孔道,药物缓慢释放,即 HRZ 突释后按零级曲线规律释放,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,也即药物的缓/控释阶段^[7]。静脉血中所测 HRZ 三药浓度明显小于肌肉组织局部药物浓度,HRZ 在体内缓慢释放过程中,有部分 HRZ 进入血液循环,血药浓度平稳且无明显蓄积,可减少对机体的毒副作用,同时在局部肌肉组织又能达到有效的药物浓度。Robbins 等^[20]研究证明局部应用抗结核药后,药物可少量入血,通过全身代谢最后肝肾排泄出体外。Jiang 等^[6]研究表明,静脉血药浓度低于肌肉组织中药物浓度的原因可能有以下几种:①HRZ/PLGA 微球本身的缓/控释作用导致 HRZ 进入血液系统较为平稳,而血液中浓度较低的 HRZ 在经过肝肾的代谢后很难蓄积到较高的血药浓度;②在微球植入的术区局部形成了炎性反应带、瘢痕组织,不利于药物进入血液循环;③HRZ 经过局部的微量代谢、消耗,可进入血液中的药物较少。RFP 在 8 周时局部肌肉中的浓度仅刚好大于 10 倍 MIC,在肌肉及血浆中的浓度降低率较异烟肼和吡嗪酰胺快,这可能与利福平本身易降解,加之 RFP 脂溶性相对较强,在进行浓度检测时存在一定的系统误差相关。

载 HRZ/PLGA 微球具有缓慢、平稳释放药物的特性,具有良好的组织生物相容性,可直接植入体内实现局部给药和缓释长程治疗的双重效果,理论上将 HRZ/PLGA 微球人工骨植入结核病灶骨中也可实现局部药物浓度大于静脉血中血药浓度,为后期 HRZ/PLGA 微球人工骨的体内抗结核基础试验提供依据。

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.
- Wang ZL, Shi JD, Geng GQ, et al. Ultra-short-course chemotherapy for spinal tuberculosis: five years of observation [J]. *Eur Spine J*, 2013, 22(2): 274-281.
- 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.
- 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(9): 1345-1356.
- 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(6): 416-427.
- Jiang Y, Wang F, Xu H, et al. Development of andrographolide loaded PLGA microspheres: optimization, characterization and in vitro-in vivo correlation[J]. *Int J Pharm*, 2014, 475(1-2): 475-484.
- 何胤, 杨宗强, 王骞, 等. 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 [J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2015, 25(5): 456-461.
- 黄术. RFP-PLGA 骨缓释复合体的初步实验研究[D]. 中南大学, 2013.
- 德向研, 施建党, 王自立, 等. 载三联抗结核药硫酸钙/氨基酸聚合物人工骨体内缓释实验研究 [J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2013, 23(6): 531-536.
- 戈朝晖, 王自立, 魏敏吉. 脊柱结核病灶中抗痨药物浓度的测定[J]. *中华骨科杂志*, 2005, 25(2): 97-101.
- Roncoroni AJ, Manuel C, Nedjar C, et al. Cefamandole bone diffusion in patients undergoing total hip replacement. [J]. *Chemotherapy*, 1981, 27(3): 166-172.
- 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.
- 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.
- 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): 63-64.
- Jutte PC, Rutgers SR, Altena RV, et al. Penetration of isoniazid, rifampicin and pyrazinamide in tuberculous pleural effusion and psoas abscess[J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2004, 8(11): 1368-1372.
- Alcantar NA, Aydil ES, Israelachvili JN. Polyethylene glycol-coated biocompatible surfaces [J]. *J Biomed Mater Res*, 2000, 51(3): 343-351.
- 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.
- 林旭. 缓释利福平微球释药性质及兔脊柱结核模型建立的初步实验研究[D]. 四川大学, 2006.
- 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): 421-426.
- Robbins SL. Robbins Pathologic Basis of Disease [M]. Chicago: Saunders, 1994. 75-77.

(收稿日期:2016-01-20 末次修回日期:2016-05-04)

(英文编审 蒋欣/贾丹彤)

(本文编辑 彭向峰)