

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.29.013

[http://www.crter.org]

鲍玉成, 张文龙, 王勇, 张洁, 王咏梅. 缓释双药物载体制备与性能[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(29): 5345-5350.

缓释双药物载体制备与性能*

鲍玉成, 张文龙, 王勇, 张洁, 王咏梅(天津市海河医院, 天津市呼吸疾病研究所, 天津市 300350)

文章亮点:

1 用聚乳酸-羟基乙酸包载抗结核药物利福平和异烟肼制成大的微米球, 置入骨缺损兔体内骨缺损部位可达到长时间缓释药物, 保持病灶部位一定的药物浓度。

2 缓释双药物载体与兔股骨转子间骨缺损部位生物相容性良好, 且促进兔股骨缺损处的骨性愈合。

3 体外释药结果显示, 缓释双药物载体中利福平和异烟肼在前 10 d 释放相对较快, 随后开始平稳释放。

关键词:

生物材料; 生物材料与药物控释; 异烟肼; 利福平; 聚乳酸-羟基乙酸共聚物; 缓释; 体外; 体内; 骨结核; 省级基金

摘要

背景: 骨结核患者常规用药, 病灶处结核药物的有效浓度低, 治疗效果差。

目的: 制备一种可直接植入骨结核病灶内的, 且具有在骨结核周围组织能够长期保持一定的抗结核药物浓度, 起到提高骨结核的治愈率有效治疗的新型生物材料。

方法: 采用乳剂-溶剂挥发法制备利福平-聚乳酸-羟基乙酸共聚物微球和异烟肼-聚乳酸-羟基乙酸共聚物微球, 利用生物黏合剂 α -氰基丙烯酸烷基酯将 2 种微球加工成长效缓释双组分药物载体, 观察缓释双药物载体体外释药特性; 然后将缓释双药物载体置入兔股骨转子间骨缺损部位, 观察载药缓释载体植入后不同时间点药物释放浓度、组织相容性及骨缺损的愈合情况。

结果与结论: 利福平-聚乳酸-羟基乙酸微球平均粒径(240 ± 13) μm , 载药率为(26 ± 1.5)%。异烟肼-聚乳酸-羟基乙酸微球平均粒径(250 ± 10) μm , 载药率为(28 ± 1.8)%。利福平、异烟肼, 90 d 体外累积释放率可达到 80% 和 90%。90 d 体内释放利福平和异烟肼的浓度可达(0.5 ± 0.4)和(0.6 ± 0.3) $\mu\text{g/g}$ 。缓释双药物载体置入兔股骨转子间骨缺损部位可见筋膜、肌纤维之间出现少量中性粒细胞浸润, 59 d 后肌肉组织中性粒细胞明显减少, X 射线平片显示骨缺损明显缩小。提示该载体能够长时间保持骨结核周围组织中一定的药物浓度, 弥补血中药物浓度不足, 有望在骨结核手术治疗中提供一种新型的双药物缓释载体。

Dual-drug sustained-release carrier: Preparation and performance

Bao Yu-cheng, Zhang Wen-long, Wang Yong, Zhang Jie, Wang Yong-mei (Tianjin Respiratory Disease Research Institute, Tianjin Haihe Hospital, Tianjin 300350, China)

Abstract

BACKGROUND: During conventional treatment for bone tuberculosis, there is a low effective concentration of anti-tuberculosis drugs, and the therapeutic effect is poor.

OBJECTIVE: To develop a new biomaterial as a slow-release artificial carrier that can be directly implanted into the surrounding tissue of bone tuberculosis, maintain a certain anti-tuberculosis drug concentration for a long time, thereby playing an effective therapeutic action.

METHODS: Rifampicin/poly(lactic acid/glycolic acid) microspheres and isoniazid/poly(lactic acid/glycolic acid) microspheres were prepared using the emulsion-solvent evaporation method. Using α -cyanoacrylate, a biological adhesive, two kinds of microspheres were processed into a long-term slow-release bicomponent drug carrier. Then, *in vitro* release characteristics of the dual-drug sustained-release carrier were observed. After that, the dual-drug sustained-release carrier was implanted into rabbit intertrochanteric femur bone defects for observing drug release concentrations, histocompatibility and bone defect healing at different time points after drug delivery carrier implantation.

RESULTS AND CONCLUSION: For rifampicin/poly(lactic acid/glycolic acid) microspheres, the mean particle size was (240 ± 13) μm , and the drug loading load rate was (26 ± 1.5)%. For isoniazid/poly(lactic acid/glycolic acid) microspheres, the mean particle size was (250 ± 10) μm , and drug loading rate was (28 ± 1.8)%. The *in vitro* cumulative release rate could reach 80% for rifampicin and 90% for isoniazid at day 90. The *in vivo* released concentration of rifampicin and isoniazid within 90 days was (0.5 ± 0.4) and (0.6 ± 0.3) $\mu\text{g/g}$, respectively. There were a small amount of infiltrated neutrophils between the fascia and muscle fibers after the drug delivery carrier was implanted, and the amount of neutrophils in the muscle were reduced significantly at day 59. X-ray plain film showed that bone defects decreased obviously in size. These findings indicate that this dual-drug sustained-release carrier can maintain a certain anti-tuberculosis drug concentration in the surrounding tissues of

鲍玉成, 男, 1975 年生, 天津市人, 汉族, 1999 年天津市医科大学毕业, 主治医师, 主要从事以骨结核为主的骨病方面的研究。

13752333203@163.com

通讯作者: 王勇, 正高级工程师, 天津市海河医院, 天津市呼吸疾病研究所, 天津市 300350

tjs.hyywy@yahoo.com.cn

中图分类号: R318

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2013)29-05345-06

收稿日期: 2013-03-16

修回日期: 2013-04-01

(201302159/YJ · W)

Bao Yu-cheng, Attending physician, Tianjin Respiratory Disease Research Institute, Tianjin Haihe Hospital, Tianjin 300350, China
13752333203@163.com

Corresponding author: Wang Yong, Senior engineer, Tianjin Respiratory Disease Research Institute, Tianjin Haihe Hospital, Tianjin 300350, China
tjs.hyywy@yahoo.com.cn

Supported by: the Foundation of Tianjin Health Bureau, No. 2010KY10*

Received: 2013-03-16

Accepted: 2013-04-01

bone tuberculosis, which is expected to provide a new type of dual-drug delivery carrier in the surgical treatment of bone tuberculosis.

Key Words: biomaterials; biomaterials and controlled drug release; isoniazid; rifampicin; polylactic acid-glycolic acid copolymer; slow release; *in vitro*; *in vivo*; bone tuberculosis; provincial grants-supported paper

Bao YC, Zhang WL, Wang Y, Zhang J, Wang YM. Dual-drug sustained-release carrier: Preparation and performance. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(29): 5345-5350.

0 引言

骨结核在有效抗结核药物的治疗下,行滑膜切除及病灶清除,并于骨缺损处植入同种异体骨,采用石膏或牵引的方法使关节制动;脊柱结核行病灶清除,同时行取肋骨病灶内植骨,椎弓根钉内固定治疗,取得明显的临床疗效^[1-4]。张光铂认为抗结核药物是治疗脊柱结核的基石^[5],病灶处抗结核药物的有效浓度是取得好的疗效的保证。

利福平、异烟肼对结核分枝杆菌有高度选择性,抗菌作用强是世界卫生组织推荐的结核病化疗方案中的一线用药。患者常规服用时,药物浓度达不到治疗要求,尤其是骨结核病灶部位药物浓度更低。而大剂量服用会引起不便亦会造成肝肾等器官的损伤^[6-8]。

天津市海河医院于2005年8月至2010年12月期间以异烟肼(0.3 g/次,1次/d)治疗231例结核病患者,结果占63%的患者服药2 h后血药浓度低于3 mg/L,血药浓度有效范围为3-5 mg/L^[9]。田洪英等^[10]对164例住院患者异烟肼血药浓度的监测结果表明54.3%患者血药浓度低于其治疗有效浓度,9.8%的患者利福平血药浓度低于0.5-10 mg/L治疗浓度。王自立等^[11-12]对1 102例脊柱结核椎体硬化骨进行了相关基础与临床研究,发现在硬化骨壁中抗痨药物利福平浓度仅为(0.47±0.11) μg/g远低于有效的治疗浓度。抗痨药物不能进到有硬化壁的病灶中央。

由于微米球比纳米球大,可以延长药物释放时间,因此作者拟应用微球技术制备利福平-聚乳酸-羟基乙酸和异烟肼-聚乳酸-羟基乙酸200-400 μm缓释降解微球,并将2种含药微球黏结制成双组分药物载体,观察对兔骨结核的治疗效果。

1 材料和方法

设计: 药物体内外释放实验。

时间及地点: 实验于2011年2月至2012年2月在天津市海河医院完成。

材料:

实验动物: 4月龄SPF级新西兰兔26只,雌雄不限,体质量1.8-2.5 kg,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,动物许可证号:SCXK(京)2009-0007。

实验期间,保持动物房室温在22℃,相对湿度60%-70%,早8点至晚8点自动照明。动物自由进食,自由饮水。实验符合动物伦理学要求。

缓释双药物载体制备与性能实验的主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
利福平(分子式: C ₄₃ H ₅₈ N ₄ O ₁₂ , 批准文号: 国药准字 H21023360)、异烟肼(分子式: C ₆ H ₇ N ₃ O, 批准文号: 国药准字 H21022351)	沈阳红旗制药厂
利福平、异烟肼化学对照品	中国药品生物制品检定所
聚乳酸-羟基乙酸(乳酸:羟基乙醇=80:20, 相对分子质量 150 000)	山东岱罡生物科技有限公司
聚乙烯醇(相对分子质量 75 000-79 000, 醇解度为 88%)	北京化学试剂公司
α-氰基丙烯酸烷基酯	北京舜康医用胶有限公司
乙腈、甲醇、二氯甲烷	天津市化学试剂一厂
恒温震荡培养箱	上海实验仪器厂
LC-10A 高效液相色谱仪	岛津公司
N-2000 色谱工作站	浙江大学智能工程研究所
恒温磁力搅拌器	荣华仪器制造有限公司
光学显微镜	OLYMPUS 公司

方法:

异烟肼-聚乳酸-羟基乙酸微球的制备: 根据预实验中优化后的条件^[13],按刘江涛等^[14]方法:准确称取异烟肼350 mg、聚乳酸-羟基乙酸700 mg,溶解在10 mL二氯甲烷溶剂中,充分溶解混匀形成油相,超声振荡分散均匀。在搅拌下将此乳液注入到体积分数0.8%聚乙烯醇水溶液中,在4℃温度下持续搅拌挥发二氯甲烷,固化微球。将乳液离心分离,得到的微球以PBS反复洗涤后离心干燥收集微球。光学显微镜下计数不少于500个微球,标尺测定微球大小。

利福平-聚乳酸-羟基乙酸微球的制备: 采用乳化-溶剂挥发法制备利福平-聚乳酸-羟基乙酸微球^[15-16]。准确称取利福平和聚乳酸-羟基乙酸溶于二氯甲烷中,充分溶解混匀形成油相,在超声震荡下均匀分散。将此溶液在高速搅拌下注入到质量分数为1%的聚乙烯醇水溶液中,乳化10 min,形成O/W乳液,温和搅拌4 h挥发二氯甲烷,固化微球。将获得的微球悬浮液离心,收集,用PBS液洗涤数次后冷冻干燥,在4℃冰箱内保存。

光学显微镜下计数不少于500个微球,标尺测定微球大小。

微球的载药率测定: 按刘江涛等^[14]方法测定微球载药率。分别称取10 mg异烟肼-聚乳酸-羟基乙酸微球和利福平-聚乳酸-羟基乙酸微球,溶解于10 mL二氯甲烷中,

超声搅拌30 min, 使微球中的药物完全释放溶解在其中; 之后离心分离, 取上清液, 用高效液相色谱法检测药物浓度, 计算微球载药率。

$$\text{微球载药率} = (\text{微球中药物总量} / \text{微球总量}) \times 100\%$$

载药缓释载体制备: 分别取异烟肼-聚乳酸-羟基乙酸微球和利福平-聚乳酸-羟基乙酸微球各100 mg加入20 mg的生物医用黏合剂(α -氰基丙烯酸烷基酯), 异烟肼-聚乳酸-羟基乙酸微球和利福平-聚乳酸-羟基乙酸微球混合均匀后放入预先用硅油脱模剂处理后的圆形模具中固化成型, 脱模, 冻干待用。

载药缓释载体体外释药特性的测定: 准确称取载药载体60 mg, 于一透析袋中, 两端扎紧, 放于广口瓶中加pH=7.4的PBS 3 mL润湿后加入30 mL pH=7.4的PBS, 密封放入37 °C的恒温振荡箱中, 定时取样30 mL, 每次取样后须及时将透析袋移入同样的缓冲液30 mL广口瓶中。高效液相色谱法测定利福平和异烟肼浓度^[17], 并以时间为横坐标, 药物累积释放率为纵坐标绘图。

载药缓释载体体内释药特性的测定: 载药缓释载体辐照灭菌, 7.5 MeV电子束一次性照射。将26只新西兰大白兔用戊巴比妥钠(1 mg/kg)耳缘静脉麻醉后, 局部去毛、消毒、铺巾。无菌条件下, 于股骨转子间钻直径6 mm圆孔, 深度约2 mm, 孔内置入载药缓释载体40 mg, 缝合肌筋膜及皮肤。放回笼内饲养并观察。实验兔腹腔注射青霉素 40×10^4 单位, 连续3 d。

于载药缓释载体植入后3, 10, 17, 24, 31, 38, 45, 52, 59, 66, 73, 80, 87 d各取2只实验兔, 以空气栓塞法处死, 在孔半径10 mm处对称取0.5 mg大小组织4块, 分别粉碎后加入5 mL PBS匀浆, 400 r/min离心半径12 cm离心15 min, 留取上清液-20 °C冻存待检。用高效液相色谱法检测上述实验兔样本中异烟肼、利福平浓度。

载药缓释载体组织相容性的测定: 取3 d和59 d实验兔植入部位组织用40 g/L多聚甲醛固定后脱水、浸蜡、行蜡块包埋, 石蜡切片厚度8-10 μ m、脱蜡、苏木精染液染色3-10 min, 去离子水洗3-5 min, 体积分数0.5%-1.0%盐酸乙醇溶液分化, 1-3 s去离子水洗10-30 s, 温热水洗5-10 min, 去离子水充分冲洗, 伊红复染2 min, 体积分数95%乙醇和纯乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树脂封固。光学显微镜观察。

X射线检查骨愈合: 于载药缓释载体植入后3 d和59 d各取2只实验兔, 麻醉后X射线拍片, 观察比较实验兔股骨转子间空洞愈合情况。投照条件: 45 kV, 1.2 mA; 投照方法: 前后位平片。

主要观察指标: 微球形态、粒径、载药量、体内外释放情况及骨愈合情况。

统计学分析: 采用SPSS 17.0软件数据处理, 实验

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 异烟肼-聚乳酸-羟基乙酸微球和利福平-聚乳酸-羟基乙酸微球的形态 经过成球、干燥等过程后, 光镜下微球分散均匀圆整, 球形度较好, 粒径范围较窄。光学显微镜观察显示85%利福平聚乳酸-羟基乙酸微球直径为200-300 μ m, 平均粒径(240 ± 13) μ m, 载药率为(26 ± 1.5)%, 见图1。



注: 异烟肼-聚乳酸-羟基乙酸微球分散均匀圆整, 球形度较好。

图1 异烟肼-聚乳酸-羟基乙酸微球的形态($\times 10$)

Figure 1 Morphology of isoniazid/poly(lactide-co-glycolide) microspheres ($\times 10$)

异烟肼聚乳酸-羟基乙酸微球直径200-300 μ m, 平均粒径(250 ± 10) μ m, 载药率为(28 ± 1.8)%, 见图2。



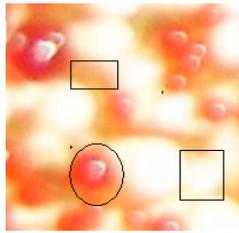
注: 利福平-聚乳酸-羟基乙酸微球分散均匀圆整, 球形度较好。

图2 利福平-聚乳酸-羟基乙酸微球的形态($\times 10$)

Figure 2 Morphology of rifampicin/poly(lactide-co-glycolide) acid microspheres ($\times 10$)

2.2 载药缓释载体形态 载药缓释载体中异烟肼-聚乳酸-羟基乙酸微球和利福平-聚乳酸-羟基乙酸微球分布均匀, 见图3。

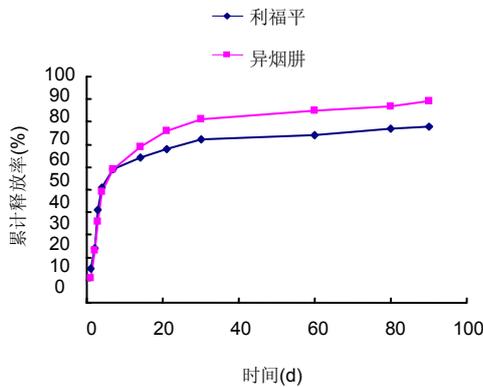
2.3 利福平和异烟肼在体外的释药效率 体外释药结果显示2种药物在前10 d释放相对较快, 释放量将近总量的60%, 其后开始平稳释放, 90 d测得利福平和异烟肼浓度分别为0.02和0.03 mg/L。药物释放曲线见图4。



注: 圆形示利福平-聚乳酸-羟基乙酸微球, 正方形示异烟肼-聚乳酸-羟基乙酸微球, 长方形示黏合剂 α -氰基丙烯酸烷基酯。光学纤维镜下异烟肼-聚乳酸-羟基乙酸微球和利福平-聚乳酸-羟基乙酸微球在载药缓释载体中均匀分布。

图3 载药缓释载体的形态($\times 10$)

Figure 3 Morphology of the dual-drug sustained-release carrier ($\times 10$)



注: 高效液相色谱法测定利福平和异烟肼浓度。2 种药物在前 10 d 释放相对较快, 随后逐渐平稳。

图4 缓释双药物载体体外药物释放曲线

Figure 4 *In vitro* drug release profile of the dual-drug sustained-release carrier

2.4 利福平和异烟肼在体内的释药效率 体内释药结果显示, 前 31 d 肌肉组织中利福平和异烟肼的浓度较高可分别达到 4.8 和 4.5 $\mu\text{g/g}$, 均可以抑制或杀死病灶组织周围的结核杆菌, 且在 87 d 时, 肌肉组织中利福平和异烟肼的浓度还可维持在 0.3 $\mu\text{g/g}$ 以上。肌肉组织中利福平和异烟肼的浓度与时间变化见表 1, 2。

2.5 缓释双药物载体的组织相容性 植入载体后 3 d 和 59 d, 肌肉剖面未见明显充血、急性炎症反应。光镜下可见 3 d 时筋膜、肌纤维之间可见少量中性粒细胞浸润, 未见异物肉芽肿及异物巨细胞反应, 见图 5; 59 d 后肌肉组织中性粒细胞明显减少, 炎症反应基本消失。说明材料对正常组织无异物反应与周围组织有良好的相容性, 见图 6。

表 1 载药缓释载体植入后不同时间兔注射部位肌肉组织中利福平浓度

Table 1 The *in vivo* released concentration of rifampicin at different time after drug carrier implantation ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{g/g}$)

载药缓释载体植入后时间(d)	利福平
3	13.0 \pm 1.1
10	8.8 \pm 1.6
17	5.9 \pm 0.8
24	5.4 \pm 1.0
31	4.8 \pm 0.7
38	3.8 \pm 0.4
45	3.0 \pm 0.5
52	2.5 \pm 0.6
59	1.6 \pm 0.7
66	1.5 \pm 0.5
73	0.8 \pm 0.4
80	0.5 \pm 0.3
87	0.3 \pm 0.4

注: 每个时间点检测 2 只兔, 每只兔子对称取 4 各部位共取 8 个不同部位。体内释药结果显示, 前 31 d 肌肉组织中利福平的浓度较高, 可以抑制或杀死病灶组织周围的结核杆菌, 随后肌肉组织中药物的浓度逐渐下降。

表 2 载药缓释载体植入后不同时间兔注射部位肌肉组织中异烟肼浓度

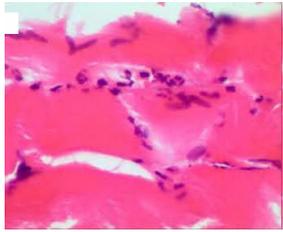
Table 2 The *in vivo* released concentration of isoniazid at different time after drug carrier implantation ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{g/g}$)

载药缓释载体植入后时间(d)	异烟肼
3	14.8 \pm 1.2
10	12.6 \pm 1.5
17	7.4 \pm 1.3
24	5.7 \pm 1.2
31	4.5 \pm 1.0
38	4.0 \pm 1.0
45	2.9 \pm 0.6
52	2.5 \pm 0.8
59	1.8 \pm 0.7
66	1.4 \pm 0.7
73	1.0 \pm 0.6
80	0.6 \pm 0.3
87	0.4 \pm 0.3

注: 每个时间点检测 2 只兔, 每只兔子对称取 4 各部位共取 8 个不同部位。体内释药结果显示, 前 31 d 肌肉组织中异烟肼的浓度较高, 可以抑制或杀死病灶组织周围的结核杆菌, 随后肌肉组织中药物的浓度逐渐下降。

2.6 缓释双药物载体对兔股骨转子间骨缺损的影响 X射线平片显示, 载药缓释载体植入后第3天兔股骨转子间可见一骨空洞, 其直径与载药缓释载体植入中对兔子股骨转子间钻孔直径基本吻合, 边缘光滑锐利符合新鲜骨创伤表现; 载药缓释载体植入59 d后兔子股骨转子间

骨空洞的直径较第3天明显缩小, 并且空洞边缘模糊, 证明兔子股骨缺损处已有骨性愈合, 见图7, 8。



注: 缓释双药物载体植入载体后 3 d, 肌肉剖面未见明显充血、急性炎症反应, 光镜下可见中性粒细胞浸润及减少, 炎症反应基本消失, 说明缓释双药物载体与周围组织具有良好的相容性。

图 5 缓释双药物载体植入体内 3 d 时缓释双药物载体的组织相容性($\times 40$)

Figure 5 Histocompatibility of the dual-drug sustained-release carrier at 3 d after implantation ($\times 40$)



注: 缓释双药物载体植入载体后 59 d, 肌肉剖面未见明显充血、急性炎症反应, 光镜下可见中性粒细胞浸润及减少, 炎症反应基本消失, 说明缓释双药物载体与周围组织具有良好的相容性

图 6 缓释双药物载体植入体内 59 d 时缓释双药物载体的组织相容性($\times 40$)

Figure 6 Histocompatibility of the dual-drug sustained-release carrier at 59 d after implantation ($\times 40$)



注: 箭头指示股骨转子间孔洞, X 射线平片显示, 载药缓释载体植入后兔股骨转子间骨缺损边缘光滑锐利。

图 7 缓释双药物载体植入体内 3 d 时缓释双药物载体对兔股骨转子间骨缺损的影响

Figure 7 Effect of the dual-drug sustained-release carrier on rabbit intertrochanteric femur bone defects at 3 d after implantation



注: 箭头指示股骨转子间孔洞, X 射线平片显示, 载药缓释载体植入后兔股骨转子间骨空洞逐渐缩小, 证明兔子股骨缺损逐渐愈合。

图 8 缓释双药物载体植入体内 59 d 缓释双药物载体对兔股骨转子间骨缺损的影响

Figure 8 Effect of the dual-drug sustained-release carrier on rabbit intertrochanteric femur bone defects at 59 d after implantation

3 讨论

目前用生物降解材料包载一种抗结核药物并制成微球进行体内释放研究报道很多^[18-22]。随着耐药结核传播流行, 结核疫情呈恶化态势, 世界卫生组织2050年前全球消灭结核病的目标形成严峻挑战。世界卫生组织全球结核报告2010显示, 2008年全球新发约44万例多耐药结核, 中国更是27个多耐药广泛耐药结核高负担国家之一, 2009年新增多耐药结核(10万)数首次超过印度, 位列全球第一^[23]。单一用药对耐药结核疗效差。戈朝晖等^[24]的研究发现利福平药物在脊柱结核病灶内无法达到有效杀菌浓度, 长期低于有效杀菌浓度的化疗, 有可能导致继发性耐药的发生, 骨结核治疗同样面临耐药问题, 若治疗不当可引起严重的神经功能障碍或脊柱畸形, 导致疾病迁延复发^[25]。甚至引起获得性耐药。但目前学界对耐药脊柱结核的关注甚少^[26-27]。

为了提高骨结核病灶部位药物浓度, 付裕等^[28-29]在病灶清除、冲洗后将链霉素、异烟肼及利福平粉剂直接放置于病灶骨槽底部, 取髂骨块嵌插植骨, 置引流管, 逐层缝合切口。药物在新鲜骨病灶中吸收和弥散快, 局部药物浓度高, 能够杀死结核杆菌, 但是药物维持时间短。刘江涛等^[14]用聚乳酸-羟基乙酸包载异烟肼制成载药率32%微球直径为59 μm , 动物体内药物释放可达8周以上。Manisha等^[30]报道了异烟肼: 聚乳酸-羟基乙酸的质量比在60:40, 利福平: 聚乳酸-羟基乙酸的质量比在1:20微粒载体系统采用皮下给药。药物对各器官的影响进行了评估, 实验研究观察了结核病小鼠化疗疗效和毒副反应。结果表明药物可以持续释放6周, 微粒系统可以用于结核化疗与常规治疗。

实验采用聚乳酸-羟基乙酸分别包载利福平、异烟肼制成含药大球复合载体, 体外体内药物释放随时间变化趋势一致, 可连续87 d持续释放具有杀菌抑菌浓度的

抗结核药物。苏木精-伊红染色结果显示组织相容性好。X射线平片显示骨缺损处有明显骨性愈合。缓释双药物载体可作为置入骨结核病灶部位, 持久抗结核治疗, 以维持病灶局部的药物浓度, 弥补血中药物浓度不足亦可实现多种药物联合、规律局部给药、药物生物利用率高, 不良反应小, 起到杀死和抑制结核杆菌作用。在药物释放过程中聚合物基质逐渐降解, 避免了二次手术取出减少痛苦。一个理想的骨支架应具有骨传导性和骨诱导性、力学性能与天然骨接近、具有微孔直径和容积呈梯度变化的结构, 有利于营养的输送, 也可引导细胞的附着和新生血管的走向、细胞的迁移、生长, 并诱导新骨组织的生长能被宿主骨组织逐步吸收^[31-32]。

基金资助: 天津市卫生局基金项目(2010KY10), 课题名称: 聚乳酸-羟基乙酸多药微球载体治疗结核性骨缺损的实验研究。

作者贡献: 王勇进行实验设计, 实验实施为鲍玉成, 张洁, 王咏梅, 实验评估为张文龙, 资料收集为张洁, 王咏梅。鲍玉成成文, 张文龙审校, 鲍玉成对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置应符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

学术术语: 载药缓释载体—可在使用条件下使药物缓慢释放以延长药物作用时间的材料。如制成可承装药物并使其缓慢释放的高分子微胶囊。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献

- Sundararaj GD, Behera S, Ravi V, et al. Role of posterior stabilisation in the management of tuberculosis of the dorsal and lumbar spine. *J Bone Joint Surg Br.* 2003;85(1):100-106.
- 施建党, 王自立, 马小民. 病灶清除植骨内固定治疗相邻多椎体脊柱结核[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2010, 20(2):98-102.
- Ozdemir HM, Us AK, Oğün T. The role of anterior spinal instrumentation and allograft fibula for the treatment of pott disease. *Spine (Phila Pa 1976).* 2003;28(5):474-479.
- 瞿东滨, 金大地. 正确认识脊柱结核病灶清除术[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2008, 18(8):565-567.
- 第四届全国脊柱及骨关节结核专题研讨会纪要[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2010, 20(11):965-968.
- Kumar G, Sharma S, Shafiq N, et al. Pharmacokinetics and tissue distribution studies of orally administered nanoparticles encapsulated ethionamide used as potential drug delivery system in management of multi-drug resistant tuberculosis. *Drug Deliv.* 2011;18(1):65-73.
- 郭虹, 李环, 李淑芬, 等. 抗结核药所致肝损害的发生机制及影响因素[J]. *北华大学学报(自然科学版)*, 2006, 7(2):159-161.
- 毕经瑞, 苏华田, 程莹, 等. 抗结核药物致肝损 127 例分析[J]. *中国防痨杂志*, 2002, 24(4):233-235.
- 刘会民, 张洁, 张永进. 我院异烟肼血药浓度监测结果分析[J]. *天津药学* 2011, 23(6):27-28.
- 田洪英, 王洪星, 姚明. 抗结核药血药浓度监测及临床疗效与安全性分析[J]. *中国药房*, 2012, 23(26):2485-2487.
- 王自立. 脊柱结核的病灶清除与融合固定问题[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2006, 16(12):888-889.
- Ge Z, Wang Z, Wei M. Measurement of the concentration of three antituberculosis drugs in the focus of spinal tuberculosis. *Eur Spine J.* 2008;17(11):1482-1487.
- 鲍玉成, 张文龙, 王勇, 等. 长效缓释双药物人工骨的制备及释放特性[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(38):7126-7130.
- 刘江涛, 王永清, 夏佩, 等. 异烟肼聚乳酸缓释体的制备及体内外释药特性[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2008, 18(4):290-293.
- Arshady R. Microspheres and microcapsules, a survey of manufacturing techniques: Part III: Solvent evaporation. *Polym Eng Sci.* 1990;30(15):915-924.
- 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.
- 叶向阳, 甄平, 李晓飞, 等. 新型抗结核多孔磷酸钙骨水泥缓释载体的制备与性能研究[J]. *中国矫形外科杂志* 2010, 18(23):1981-1986.
- 应小樟, 徐华梓, 彭磊, 等. 利福平硫酸钙植入剂的研制与相关性检测[J]. *温州医学院学报*, 2007, 1(37):50-55.
- 罗培培, 左奕, 孙斌, 等. 载异烟肼聚己内酯微球的制备及其性质研究[J]. *功能材料*, 2011, 42(8):1410-1414.
- Loo SC, Tan ZY, Chow YJ, et al. Drug release from irradiated PLGA and PLLA multi-layered films. *J Pharm Sci.* 2010;99(7):3060-3071.
- Parveen S, Sahoo SK. Polymeric nanoparticles for cancer therapy. *J Drug Target.* 2008;16(2):108-123.
- 张宏其, 高琪乐, 郭虎兵, 等. 人同种异体骨载异烟肼-壳聚糖缓释微球的制备和体内外释药特性[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(3):479-483.
- World Health Organization. Global tuberculosis report 2012 [EB/OL]. http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/
- 戈朝晖, 王自立, 魏敏吉. 脊柱结核病灶中抗药药物浓度的测定[J]. *中华骨科杂志*, 2005, 25(2):97-101.
- Pawar UM, Kundnani V, Agashe V, et al. Multidrug-resistant tuberculosis of the spine—is it the beginning of the end? A study of twenty-five culture proven multidrug-resistant tuberculosis spine patients. *Spine (Phila Pa 1976).* 2009;34(22):E806-810.
- 肖文德, 姬广林, 高辉. 脊柱结核的诊断与外科治疗进展[J]. *中国矫形外科杂志*, 2008, 16(5):359-361.
- 施建党, 王自立. 脊柱结核术后未愈及术后复发的原因探讨[J]. *中国矫形外科杂志*, 2005, 13(15):1184-1186.
- 付裕, 霍洪军, 肖宇龙, 等. 强化抗结核药物联合手术治疗胸腰椎结核[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2009, 23(12):1427-1430.
- 杨君礼, 袁牧, 许刚, 等. 利福平剂在脊柱结核病灶清除术中的应用观察[J]. *颈腰痛杂志*, 2005, 26(4):270-273.
- Dutt M, Khuller GK. Chemotherapy of Mycobacterium tuberculosis infections in mice with a combination of isoniazid and rifampicin entrapped in Poly (DL-lactide-co-glycolide) microparticles. *J Antimicrob Chemother.* 2001;47(6):829-835.
- 张厚安, 李敏, 唐思文. 骨组织工程用细胞支架生物材料的研究进展[J]. *机械工程材料*, 2007, 31(12):4-7.
- 龚明明, 谭丽丽, 杨柯. 骨组织工程支架材料及其力学性能[J]. *材料导报*, 2007, 21(10):43-46.