

利福平/聚乳酸-聚羟基乙酸缓释微球的制备及特性*

叶向阳¹, 孙 湘², 贾会文³, 汤立新¹, 赵玉果¹, 甄 平⁴

Preparation and characterization of rifampicin-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres

Ye Xiang-yang¹, Sun Xiang², Jia Hui-wen³, Tang Li-xin¹, Zhao Yu-guo¹, Zhen Ping⁴

Abstract

BACKGROUND: Some scholars prepared rifampicin-loaded poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) microspheres with diameter of 10 μ m which was not suitable to be combined with calcium phosphate cement to prepare repair materials with good degradation.

OBJECTIVE: To conduct the preparation of rifampicin-loaded PLGA microspheres with large size and to study the physicochemical characteristics of the microspheres and the characteristics of drug release *in vitro*.

METHODS: Rifampicin-loaded microspheres of biodegradable PLGA were prepared using a double-emulsion solvent-extraction [(water-in-oil)-in-water] technique. The morphology of the microspheres was observed by scanning electron microscope and light microscope. Their average diameter and the span were measured. Their envelopment rate and drug-carried rate were determined by high performance liquid chromatography. Their release characteristics were studied *in vitro* by dissolution method. The curve of drug release *in vitro* was fitted and the equation of the curve was established.

RESULTS AND CONCLUSION: Rifampicin-loaded PLGA microspheres presented complete globe, good dispersibility and no obviously aggregation. Their average diameter was (80.0 \pm 9.4) μ m, drug-carried rate was (33.18 \pm 1.36)% and envelopment rate was (54.79 \pm 1.13)%. *In vitro* release property of the microspheres was good. In the burst release phase, the rate of drug release *in vitro* was (14.66 \pm 0.18)%, and rose to (18.09 \pm 0.45)% and (92.17 \pm 1.23)% 3 and 42 days later. Rifampicin-loaded PLGA microspheres have the characteristics of slowing antituberculosis drugs releasing.

Ye XY, Sun X, Jia HW, Tang LX, Zhao YG, Zhen P. Preparation and characterization of rifampicin-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(51): 9608-9612. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 虽然国内外有很多制备利福平/聚乳酸-聚羟基乙酸共聚物(poly lactic acid-glycolic acid copolymer, PLGA)微球的报道, 但这些微球粒径多在10 μ m左右, 不适合与磷酸钙骨水泥复合制备成具有良好降解性的抗结核修复材料。

目的: 制备大粒径利福平/PLGA缓释微球, 观察其理化特性和体外缓释特性。

方法: 以PLGA为载体, 将利福平分散于PLGA的有机溶剂中, 采用复乳溶剂挥发法制备利福平/PLGA缓释微球。光镜和扫描电镜下观察微球的形态特征, 测定微球平均直径和跨距, 高效液相色谱法测定载药量和包封率, 以溶出法和高效液相色谱法观察其体外释药特性, 并拟合药物体外释放曲线建立曲线方程。

结果与结论: 利福平/PLGA微球电镜观察呈圆球形, 分散性好, 粘连少, 粒径分布集中, 平均粒径(80.0 \pm 9.4) μ m。载药量、包封率分别为(33.18 \pm 1.36)%, (54.79 \pm 1.13)%。体外缓释试验显示突释期内微球释放度为(14.66 \pm 0.18)%, 前3 d累计释放度(18.09 \pm 0.45)%, 到42 d体外累积释放度达到(92.17 \pm 1.23)%。提示利福平/PLGA微球具有良好的缓释效果, 是一种较为理想的抗结核药物的载体材料和释放系统; PLGA是良好的药物缓释载体, 可以用来制备载药缓释微球。

关键词: 聚乳酸-聚羟基乙酸; 利福平; 药物载体; 微球; 缓释; 骨缺损

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.51.025

叶向阳, 孙湘, 贾会文, 汤立新, 赵玉果, 甄平. 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. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

目前临床上治疗骨关节结核的方法是, 术中对照病灶清除后, 用自体骨移植填充残留的骨缺损, 并同时可在病灶处一次性直接置入或喷洒常用剂型的抗结核药物。其缺点是自体骨有限, 缺损空腔填充不完全, 往往少量的自体骨短期内就被吸收, 常规剂型抗结核药物很快被机体代谢, 局部抗结核作用极有限。因此, 骨结核病灶术后复发率高。为解决这个问题, 作者利用利福平/聚乳酸-聚羟基乙酸共聚物(poly

lactic acid-glycolic acid copolymer, PLGA)缓释微球复合磷酸钙骨水泥(calcium phosphate cement, CPC)用于修复结核性骨缺损, 以期达到骨修复替代和局部药物缓释的双重目的。利福平对结核杆菌有高度敏感性, 可透入细胞内, 对细胞内外的结核杆菌有强大的抑制和杀灭作用。目前PLGA广泛应用于载药系统的研制, PLGA已得到美国FDA批准, 可用于制作药物微球制剂的材料^[1]。虽然国内外有很多制备利福平/PLGA微球的报道, 但这些微球粒径多在10 μ m左右, 不适合与CPC复合制备成具有良好降解性的抗结核修复材料。因为研究表明, 只有CPC

¹First Department of Orthopedics, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000, Henan Province, China;
²Department of Blood Transfusion, Xichuan County People's Hospital, Xichuan 474450, Henan Province, China;
³Emergency Department, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000, Henan Province, China;
⁴Department of Orthopedics, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Area Command of Chinese PLA, Lanzhou 730050, Gansu Province, China

Ye Xiang-yang*, Master, Attending physician, First Department of Orthopaedics, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000, Henan Province, China; yexyang2008@163.com

Correspondence to: Zhen Ping, Doctor, Chief physician, Professor, Master's supervisor, Department of Orthopedics, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Area Command of Chinese PLA, Lanzhou 730050, Gansu Province, China zhenpingok@163.com

Received: 2011-03-11
Accepted: 2011-04-27

中的孔隙大于50 μm 时, 才有利于骨细胞长入材料内部。实验就大粒径利福平/PLGA微球的制备及其特性进行前期研究, 旨在为下一步的实验奠定基础。

1 材料和方法

设计: 材料学与药物体外缓释实验。

时间及地点: 实验于2009-11/2010-02在解放军兰州军区兰州总医院骨科研究所完成。

材料:

主要试剂及仪器:

| 试剂及仪器 | 来源 |
|--|---------------------|
| 利福平原药 | Sigma 公司 |
| 聚乳酸-聚羟基乙酸共聚物 (50 : 50, 重均分子量 20 000) | 山东岱罡生物技术公司 |
| 聚乙烯醇(PVA) | 北京有机化学厂 |
| 透析袋(截留相对分子量 7 000~12 000) | 南京都莱生物技术 有限公司 |
| 利福平标准品 | 中国食品药品检定所 |
| 78HW-1 型磁力搅拌器 | 杭州仪表电机厂 |
| 离心机 | 北京仪器厂 |
| LGJ 冷冻干燥机 | 解放军军事医学科 学院实验仪器厂 |
| 气浴恒温振荡器 | 江苏太仓医疗器械厂 |
| 高效液相色谱仪 | 日本岛津 |
| 扫描电镜(JSM-5600) | 日本 Jeol 公司 |
| IX70 倒置显微镜 | 日本 Olympus 公司 |
| 微量电子天平 (Sartorius1721 型) | 德国赛多利斯 |

实验方法:

利福平/PLGA微球的制备: 采用复乳-溶剂挥发法^[2-5], 即准确称取利福平原药和PLGA各200 mg共溶于2 mL二氯甲烷中, 充分溶解混匀形成油相。将其置于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰块上高速磁力搅拌, 待混匀时将2%的聚乙烯醇(PVA)缓慢加入其中。待搅拌均匀后, 速度下调为300 r/min。持续搅拌过夜挥发二氯甲烷, 固化微球。将乳液离心分离, 离心得到的固体以PBS洗涤。再次离心分离, 反复洗涤、离心3次, 见微球混悬于PBS中。最后将离心得到的固体置于玻璃皿中, 放入低温冷冻真空干燥机中干燥24 h。直到固体粉末质量恒定不变。-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

利福平/PLGA微球外观形态观察: 将少量微球悬浮于适量蒸馏水, 置于载玻片, 在光学显微镜下观察形态。另将适量微球喷金后粘于导电胶带上, 电镜下观察其形态。光学显微镜下观

察200粒微球, 采用Leica QWin分析软件测量微球的平均粒径及跨距。

载药量和包封率的测定: 采用高效液相色谱仪法测定载药量和包封率^[6]。①利福平的高效条件(中国药典2005版): CLC-ODS色谱柱(4.6 mm \times 250.0 mm), 预柱YWG-ODS(4.6mm \times 10 mm); 流动相为甲醇:乙睛:0.075 mol/L磷酸二氢钾溶液:1.0 mol/L枸橼酸溶液=30:30:36:4; 流速1.0 mL/min; 检测波长254 nm; 柱温25 $^{\circ}\text{C}$; 理论板数按Col色谱峰计算应不低于1 500, 归一化法测定含量大于98%。②标准曲线的绘制: 利用利福平标准品配置成5个浓度梯度溶液, 依据利福平的高效条件测定, 记录峰面积。以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标作图, 并得出曲线回归方程。

$$\text{载药量} = \frac{\text{微球中所含药物质量}}{\text{微球的总质量}} \times 100\%$$

$$\text{包封率} = \frac{\text{系统中的总药量} - \text{液体介质中未包封的药量}}{\text{系统中的总药量}} \times 100\%$$

载药量的测定: 精密称取含药微球10 mg, 3 mL CH_2C_{12} 溶解后, 甲醇定容。取10 μL 溶液注入色谱仪, 以外标一点法计算含量, 代入计算公式即得。

包封率的测定: 按照以上工艺制备微球, 记录加入总药量, 微球制备完成后离心取上清液10 μL 注入色谱仪, 以外标一点法计算含量, 代入计算公式即得。

利福平/PLGA微球体外缓释试验: 称取利福平/PLGA微球23 mg, 置于透析袋(截留相对分子量7 000~12 000)中, 加入1 mL pH为7.4的PBS, 使其悬浮于PBS中; 将透析袋封口后置入盛有10 mL PBS的试管中, 封口, 于37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温气浴振荡器中振荡孵育; 并于1, 2, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42 d分别从试管中取出10 mL液体(-20 $^{\circ}\text{C}$ 冻存待检), 同时加入10 mL PBS于试管内。用高效液相色谱法检测上述样本中RFP含量。并以时间为横坐标, 累积释放百分度为纵坐标绘图。

主要观察指标: 微球形态, 粒径, 载药量与包封率, 体外释放情况。

统计学分析: 由第三作者采用Sigma Plot软件完成统计处理, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 微球形态观察 利福平/PLGA微球大体

¹ 南阳中心医院骨一科, 河南省南阳市 473000;

² 河南省浙川县人民医院输血科, 河南省浙川县 474450; ³ 南阳中心医院急救中心, 河南省南阳市 473000; ⁴ 解放军兰州军区兰州总医院全军骨科中心, 甘肃省兰州市 730050

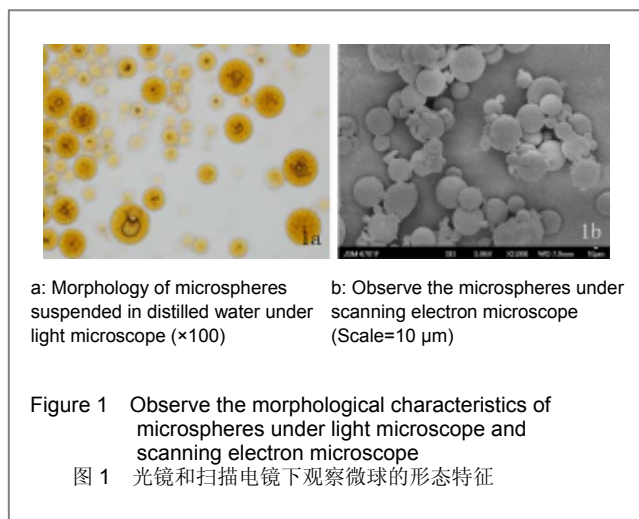
叶向阳^{*}, 男, 1978年生, 河南省南阳市人, 汉族, 硕士, 主治医师, 主要从事骨结核治疗与骨组织工程修复材料的研究。
yexyang2008@163.com

通讯作者: 甄平, 主任医师, 教授, 博士, 硕士生导师, 解放军兰州军区兰州总医院全军骨科中心, 甘肃省兰州市 730050
zhenpingok@163.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225
(2011)51-09608-05

收稿日期: 2011-03-11
修回日期: 2011-04-27
(20101211008/WL-W)

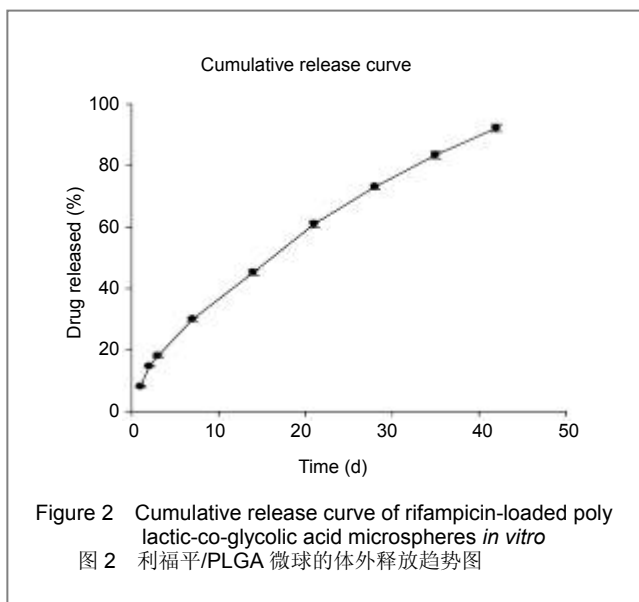
外观呈橘红色细粉状, 颗粒分散均匀, 无粘连。显微镜下微球呈橘黄色圆球状, 隐约可见包裹的深红色利福平颗粒, 微球大小比较均一, 见图1a。电镜下观察微球的大小均匀, 轻度粘连, 分散性较好, 见图1b。



2.2 微球粒径测定 光学显微镜下观察200粒微球, 采用Leica QWin分析软件计算平均粒径及跨距。微球的球形度较好, 均匀圆整, 粒径范围较窄, 平均粒径为 $(80\pm 9.4)\mu\text{m}$, 跨距0.61。

2.3 载药量与包封率测定 利福平/PLGA缓释微球的载药量与包封率分别为 $(33.18\pm 1.36)\%$, $(54.79\pm 1.13)\%$ 。

2.4 利福平/PLGA缓释微球的体外释放试验 结果显示, 该微球的体外释药过程较平稳, 其释放曲线较光滑, 无明显的锯齿状改变, 见图2。

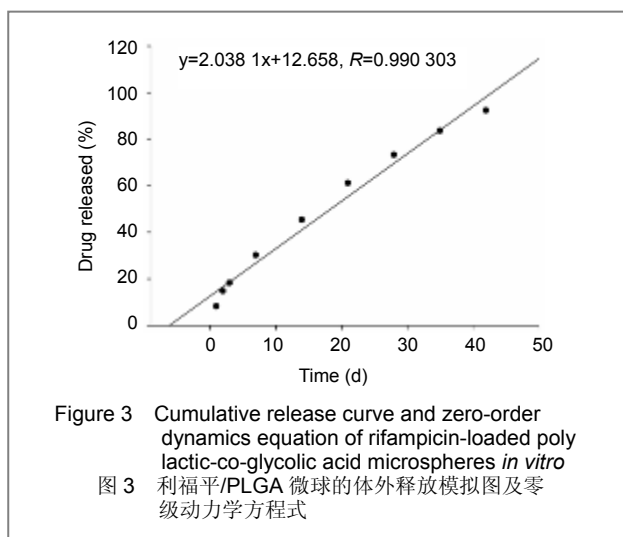


突释期内微球释放度为 $(14.66\pm 0.18)\%$, 前3 d累积释放度 $(18.09\pm 0.45)\%$, 到42 d体外累积释放度达到 $(92.17\pm 1.23)\%$, 见表1。

表1 利福平/PLGA 微球的体外释放情况
Table 1 *in vitro* release of rifampicin-loaded poly lactic-co-glycolic acid microspheres ($\bar{x}\pm s, \%$)

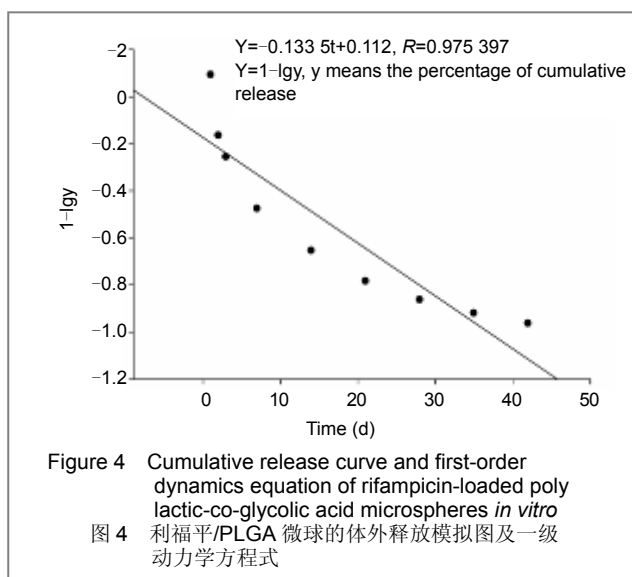
| Time (d) | Drug released |
|----------|------------------|
| 1 | 8.10 \pm 0.15 |
| 2 | 14.66 \pm 0.18 |
| 3 | 18.09 \pm 0.45 |
| 7 | 30.01 \pm 0.59 |
| 14 | 45.22 \pm 0.83 |
| 21 | 60.98 \pm 1.12 |
| 28 | 73.10 \pm 0.87 |
| 35 | 83.42 \pm 1.15 |
| 42 | 92.17 \pm 1.23 |

以累积释放百分率为纵坐标, 以时间为横坐标拟合零级动力学直线及方程, 见图3。



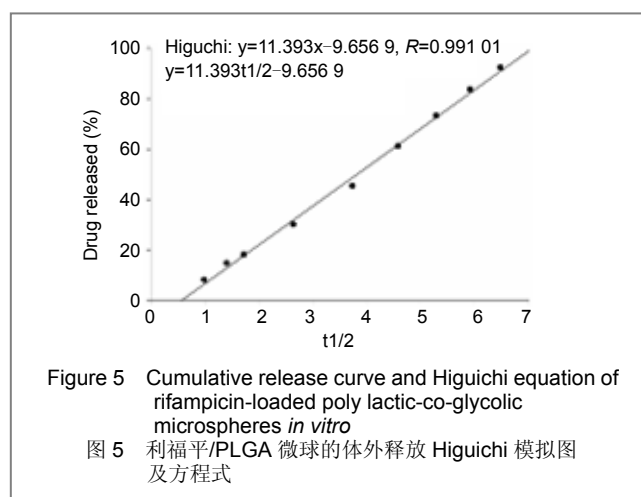
零级动力学方程 $y=2.038 1x+12.658, R=0.990 303$ 。

以累积释放百分率的常用对数与1的差值为纵坐标, 以时间为横坐标拟合一级动力学模型图及方程式, 见图4。



一级动力学方程式: $Y = -0.1335t + 0.112$, $R = 0.975397$, 这里 $Y = 1 - \lg y$, y 表示累积释放百分率值。亦即: $\lg y = 0.1335t - 0.112 + 1$, $R = 0.975397$ 。

以累积释放百分率为纵坐标, 以时间值的 $1/2$ 次方为横坐标拟合 Higuichi 曲线及动力学方程, 见图 5。



方程式: $Y = 11.393X - 9.6569$, $R = 0.99101$, 亦即: $Y = 11.393 t^{1/2} - 9.6569$, $R = 0.99101$ 。

以累积释放百分率为纵坐标, 以时间为横坐标拟合零级动力学方程, 一级动力学方程, Higuichi 方程, 相关系数 R 值分别为 0.990303, 0.975397, 0.99101, 以 Higuichi 方程最接近 1。故以 Higuichi 方程拟合较好。本微球体外释放更符合 Higuichi 方程的释放规律。

3 讨论

微球是溶解或分散于高分子材料中形成的微小球状或类球状实体, 一般可供注射, 口服, 呼吸道吸入, 皮下埋植或关节腔注射用, 粒径一般介于 $1 \sim 500 \mu\text{m}$ 。目前用于制备缓(控)释微球的可降解高分子材料中, 以聚乳酸及 PLGA 应用最广^[3]。制备微球的方法很多, 包括乳化溶剂挥发法^[7]、相分离法^[8-9]、乳化溶剂萃取法、喷雾干燥法等^[10], 其中乳化溶剂挥发法最为常用。目前, 以聚乳酸和 PLGA 为载体制备微球的方法多采用乳化法和相分离法。乳化法适合水溶性和脂溶性药物的微球制备, 而相分离法适用于水溶性药物。利福平属于脂溶性药物, 故宜采用乳化溶剂挥发法。溶剂挥发法是从乳状液中去除分散相中挥发性溶剂以制备微球的方法, 也是目前制备含抗结核药物的聚乳酸类微球最常用的方法^[11-12]。工艺包括两个主要过程: 两液相之间的萃取过程和气液相间的溶剂挥发过程。根据聚合物材料溶液和水溶液形成乳状液的类型, 分为 O/W 法和 W/O/W 复乳法。本实验采用改良的复乳溶剂挥发法(W/O/W 复乳法)制备微球, 可以进一步提高载药量和包封率。

微球的载药量和包封率是两个重要的指标。微球中

药物含量的提高不仅可以降低所需载体材料量, 而且可提高组织对药物的摄取量, 故载药量越高越好。包封率是指被包封在微球制剂中的药物量和投入药物量之比, 包封率越高, 体系中游离药物就越少, 药物在制备过程中的利用率也就越好, 因此包封率也越高越好。影响载药量和包封率的因素很多, 如乳化剂种类及用量、单体浓度、搅拌速度、反应温度均是影响载药量和包封率的重要因素。根据费正奇等^[13]的研究, PLGA 浓度、乳化剂 PVA 浓度、油水相之体积比(PLGA/PVA)是主要的影响因素。Blanco 等^[14]用复乳-干燥法制备的 PLGA 缓释微球, 包封率达 95%。张万国等^[15]采用溶剂挥发法制备聚乳酸/利福平微球, 经析因设计分析, 确定最佳制备工艺条件为利福平与聚乳酸比例为 1:1, 以二氯甲烷作有机溶剂, 甘油为分散介质, 二氯甲烷与甘油体积比为 2:40, 分散时间和扩散时间 10 min。在此条件下制成的微球大小分布集中, 粒径在 $10 \sim 15 \mu\text{m}$ 的占 74.26%, 包封率为 31.9%。作者采用 W/O/W 复乳法制备利福平/PLGA 微球, 所得微球的载药量和包封率分别为 $(33.18 \pm 1.36)\%$ 和 $(54.79 \pm 1.13)\%$, 与林旭^[4-5]的研究结果很接近。作者的载药量高于文献报道 Dutt^[16] 的 12%~14%, 与 Debra 等^[17] 的 (30%) 微球相当。

微球的外观形态、粒径大小及其分布, 不但反映了制备工艺的优劣, 还直接影响到药物缓释、生物利用度和有机溶剂残留量。故微球的粒径及其分布直接与其物理稳定性和应用安全性密切相关。粒径的选择是根据给药途径及预期降解时间决定的。通常静脉给药时, 微球需要通过毛细血管上皮细胞间隙进入靶向组织部位, 故需要较小的微球粒径, 最好为纳米级。而局部用药途径的微球粒径通常为微米级。研究表明粒径介于 $0.0025 \sim 10 \mu\text{m}$ 之间的微球较易被吞噬细胞所摄取容易扩散^[18]。若粒径过小则会造成微球扩散过快, 从而不利于在局部维持有效药物浓度。一般用于静脉途径和呼吸道的微球粒径较小、药物缓释时间短, 而用于关节腔注射、皮下或口服的粒径微球较大、药物缓释时间相对较长。影响微球粒径的因素很多, 包括乳化剂种类及用量、单体浓度、搅拌速度、反应温度等^[19]。Dutt 等^[20]制备的用于皮下注射的利福平/PLGA 微球平均粒径 $11.64 \mu\text{m}$, 体外缓释时间可达 7 周。而 Pandey 等^[21]以 PLGA 为载体制备的用于呼吸道的利福平微球平均粒径 $1.88 \mu\text{m}$, 体外释放时间约 6 d。费正奇等^[13]认为满足 PLGA 浓度 20%, 乳化剂 PVA 浓度 1%, 油水相体积比例(PLGA/PVA)为 1:1, 搅拌速度 300 r/min 时制备的微球粒径较大, 平均 $(253 \pm 64) \mu\text{m}$ 。本实验中制备的微球预期要达到 3 个要求: ①微球具有较高的载药量和包封率。②具有较长的降解时间, 一般为 4~6 周。③具有较大的粒径, 平均粒径至少 $>50 \mu\text{m}$, 但又不能太大 ($>150 \mu\text{m}$), 否则会引起利福平/PLGA 微球/CPC 复合材料抗压强度的大幅下降。这种大粒径的微球

(平均直径 $>50\ \mu\text{m}$)和CPC以一定的比例混合后用于修复结核性骨缺损, 微球在CPC中降解后能在其内形成较高的大孔隙率。虽然人的成骨细胞可以通过直径 $30\ \mu\text{m}$ 的孔, 但只有当互通孔径 $>50\ \mu\text{m}$ 时才有利于骨单元在大孔内形成, 利于骨细胞长入, 进一步加速CPC降解^[22-23], 从而达到骨修复替代和局部药物缓释的双重目的。基于以上考虑, 作者设计的微球选择了较大微米级的粒径。实验制备的利福平/PLGA微球外观为橘黄色, 细粉状, 光镜及扫描电镜显示微球表面均光滑圆整, 球体均匀度好, 无明显粘连现象, 平均粒径 $(80.0\pm 9.4)\ \mu\text{m}$, 跨距0.61。

一般认为, 微球中药物的释放有2种机制^[1, 3, 24]: ①扩散机制: 药物由进入微球的溶液溶解后经微球的孔隙扩散到介质中, 微球表面药物的溶解及扩散可形成释药的突释效应。②降解机制: 聚合物降解成为体内的代谢产物, 使药物释放。实验释药结果表明: 利福平/PLGA微球中的利福平释放符合双相药物动力学释药规律, 即早期为快速释药相, 后期为缓释相, 这种释药特点可以使局部形成有效浓度并维持下去, 符合抗结核药物的局部浓度要求和时间要求。

实验表明, 采用复乳-溶剂挥发法能够制备具有较大粒径($>50\ \mu\text{m}$)的利福平/PLGA缓释微球。该利福平/PLGA微球具有良好的缓释效果, 是一种较为理想的抗结核药物的载体材料和释放系统。实验为利用利福平/PLGA微球复合CPC制备新型抗结核多孔人工骨修复材料的研究奠定了基础。

4 参考文献

[1] Li X, Wei K, Luo Y, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(47):9282-9286.
李像, 魏坤, 罗云, 等. 聚乳酸羟基乙酸/纳米羟基磷灰石-5-氟尿嘧啶复合微球的制备及体外释放[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(47): 9282-9286.

[2] Yao Q, Zhang LH, Huang P, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(51):10028-10032.
姚琦, 张立海, 黄鹏, 等. 纤维蛋白胶复合重组人骨形态发生蛋白-2微球的制备及评价[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(51): 10028-10032.

[3] Tan HX, Ye JD. Zhongguo Kangshengsu Zazhi. 2007;32(11):14.
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): 14.

[4] Lin X. Chengdu: Sichuan Daxue. 2006.
林旭. 缓释利福平微球释药性及兔脊柱结核模型建立的初步实验研究[D]. 成都: 四川大学, 2006.

[5] Ito F, Fujimori H, Honnami H, et al. Effect of polyethylene glycol on preparation of rifampicin-loaded PLGA microspheres with membrane emulsification technique. Colloids Surf B Biointerfaces. 2008;66(1): 65-70.

[6] Shi ZH, Wang DK, Wang XY, et al. Zhonghua Linchuang Yiyao Zazhi. 2004;5(14):7-9.
史朝晖, 王东凯, 王晓艳, 等. 利福平明胶微球制剂及体内外释药特性的研究[J]. 中华临床医药杂志, 2004, 5(14): 7-9.

[7] Arifin DR, Palmer AF. Physical properties and stability mechanisms of poly(ethylene glycol) conjugated liposome encapsulated hemoglobin dispersions. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol. 2005;33(2):137-162.

[8] Nihant N, Grandfils C, Jerome R, et al. Microencapsulation by coacervation of poly(lactide-co-glycolide): Effect of processing parameters on coacervation and encapsulation. J Controlled Release. 1995;35(223):117-125.

[9] Castellanos IJ, Crespo R, Griebenow K. Poly(ethylene glycol) as stabilizer and emulsifying agent: a novel stabilization approach preventing aggregation and inactivation of proteins upon encapsulation in bioerodible polyester microspheres. J Control Release. 2003;88(1):135-145.

[10] Thomasin C, Corradin G. Tetanus toxoid and synthetic malaria antigen containing poly (lactide)/poly (lactide-co-glycolide) microspheres: importance of polymer degradation and antigen release for immune response. J Controlled Release. 1996;41: 131-145.

[11] Quenelle DC, Staas JK, Winchester GA, et al. Efficacy of microencapsulated rifampin in Mycobacterium tuberculosis-infected mice. Antimicrob Agents Chemother. 1999;43(5):1144-1151.

[12] Dutt M, Khuller GK. Liposomes and PLG microparticles as sustained release antitubercular drug carriers--an in vitro-in vivo study. Int J Ant Age. 2001;18(3):245-252.

[13] Fei ZQ. Chengdu: Sichuan Daxue. 2006.
费正奇. 携载rhBMP-2微球的新型自凝固复合人工骨的制备及特性研究[D]. 成都: 四川大学, 2006.

[14] Blanco D, Alonso MJ. Protein encapsulation and release from poly(lactide-co-glycolide) microspheres: effect of the protein and polymer properties and of the co-encapsulation of surfactants. Eur J Pharm Biopharm. 1998;45(3):285-294.

[15] Zhang WG, Jiang XT. Dier Junyi Daxue Xuebao. 2003;17(4): 395-397.
张万国, 蒋雪涛. 利福平聚乳酸微球的制备[J]. 第二军医大学学报, 2003, 17(4): 395-397.

[16] 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.

[17] Ratcliffe JH, Hunneyball IM, Wilson CG, et al. Albumin microspheres for intra-articular drug delivery: investigation of their retention in normal and arthritic knee joints of rabbits. J Pharm Pharmacol. 1987;39(4):290-295.

[18] Cun DM, Cui FD, You BG, et al. Shenyang Yaoke Daxue Xuebao. 2003;20(5):328-331.
寸冬梅, 崔福德, 游本刚, 等. 尼群地平聚乳酸微球的制备及影响因素考察[J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20(5): 328-331.

[19] 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 Ant Chem. 2001;47(6):829-835.

[20] Pande S, Vyas SP, Dixit VK. Localized rifampicin albumin microspheres. J Microencapsul. 1991;8(1):87-93.

[21] Fernández E, Vlad MD, Gel MM, et al. Modulation of porosity in apatitic cements by the use of alpha-tricalcium phosphate-calcium sulphate dihydrate mixtures. Biomaterials. 2005;26(17):3395-3404.

[22] del Real RP, Ooms E, Wolke JG, et al. In vivo bone response to porous calcium phosphate cement. J Biomed Mater Res A. 2003; 65(1):30-36.

[23] Schnieders J, Gbureck U, Thull R, et al. Controlled release of gentamicin from calcium phosphate-poly(lactic acid-co-glycolic acid) composite bone cement. Biomaterials. 2006;27(23):4239-4249.

来自本文课题的更多信息

作者贡献: 第一作者进行实验设计, 实验实施为第一、三作者, 实验评估为第五作者, 资料收集为第四作者, 第一作者成文, 通讯作者审校, 第一作者对文章负责。

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。

本文创新性: 通过检索中国期刊全文数据库(CNKI, 1994-01/2010-12)、中文科技期刊全文数据库(VIP, 1989-01/2010-12)、万方数据库(1979-01/2010-12)、PubMed(1966-01/2010-12)、Embase 数据库(1974-01/2010-12); 检索词: 利福平, 聚乳酸-聚羟基乙酸, 聚乳酸-聚乙醇酸, 微球, rifampicin, poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA, microsphere; 可知, 国内外关于制备利福平/聚乳酸-聚羟基乙酸微球报道较多, 制备的微球粒径多在 $10\ \mu\text{m}$ 左右, 用于制备呼吸道吸入的气雾剂和腔内注射剂。

实验利用复乳-溶剂挥发法, 通过调整制备工艺参数制备出了适合与磷酸钙骨水泥复合的大粒径($>50\ \mu\text{m}$)利福平/聚乳酸-聚羟基乙酸微球。微球降解后在磷酸钙骨水泥中形成大孔径的微孔, 利于骨细胞长入孔隙, 进一步促进骨水泥降解。