

# 骨组织中吡嗪酰胺浓度的高效液相色谱测定\*★

石 华, 戈朝晖, 刘 斌, 王自立

## Determination of pyrazinamide content in bone tissue by high performance liquid chromatography

Shi Hua, Ge Zhao-hui, Liu Bin, Wang Zi-li

### Abstract

**BACKGROUND:** Pyrazinamide is a primary drug for intensive chemotherapy and its tissue distribution is greatly significant for therapy of spinal tuberculosis.

**OBJECTIVE:** To establish a high performance liquid chromatography method to determine pyrazinamide content in bone tissue of patients with spinal tuberculosis.

**METHODS:** The vertebrae obtained from 10 patients with spinal fracture who underwent anterior cervical corpectomy were prepared into blank bone homogenate and pyrazinamide content in bone tissue was determined by high performance liquid chromatography. Bone tissue samples including sclerotic bone, subnormal bone, necrotic tissue and ilium were harvested from 18 patients with spinal tuberculosis who received 2HRZ/H2R2Z2 chemotherapy. Supernatant of pyrazinamide bone homogenate was prepared by perchloric acid precipitation. The specificity, recovery rate, precision, and linear range of the high performance liquid chromatography method were evaluated.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Pyrazinamide was greatly absorbed at a wavelength of 265 nm and retained for 7.48 minutes, without presence of interference peak. Within the range of 0.048-3.120  $\mu\text{g/g}$  bone homogenate, there was a good linear relationship between pyrazinamide peak area and bone homogenate concentration ( $r = 0.999\ 91$ ), absolute recovery rate was 89.18%-93.75%, method recovery rate was 96.30%-100.45%, inter-day and intra-day relative standard deviation was 4.26%-8.78% and 5.12%-9.01%, respectively. The pyrazinamide content in the sclerotic wall of the vertebrae was approximate to the minimal inhibitory content and its content may reach the effective therapeutic content in the subnormal bone outside the sclerotic bone and self-contrast ilium. But pyrazinamide was hardly detectable in the sclerotic foci in the compromised vertebrae. The established method is accurate, precise, and reproducible, and it is effective for detection of pyrazinamide content in bone tissue. The pyrazinamide content varies greatly in different tissues of spinal tuberculosis, and the sclerotic wall is a tissue barrier to prevent pyrazinamide penetration into tuberculosis focus from normal vertebrae.

Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Shi Hua★, Studying for master's degree, Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China  
shihuayisheng@126.com

Ge Zhao-hui, Master, Associate professor, Associate chief physician, Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China  
myovid@126.com

Shi Hua and Ge Zhao-hui contributed equally to this paper and were considered as co-first authors.

Correspondence to: Wang Zi-li, Professor, Chief physician, Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China  
WangZlhx@126.com

Supported by: Key Technologies Research & Development Program of Ningxia Hui Autonomous Region, No. K200512\*

Received: 2011-01-19  
Accepted: 2011-06-08

Shi H, Ge ZH, Liu B, Wang ZL. Determination of pyrazinamide content in bone tissue by high performance liquid chromatography. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(28): 5177-5180.  
[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

### 摘要

**背景:** 测定结核病化疗药物在病变椎体组织中的生物分布对脊柱结核的治疗具有重要价值。

**目的:** 建立吡嗪酰胺在骨组织中药物浓度的高效液相色谱分析法并测定其在脊柱结核椎体组织中的浓度。

**方法:** 取 10 例脊柱骨折患者前路椎体次全切除减压的椎骨制备成空白骨匀浆, 高效液相色谱法测定吡嗪酰胺骨组织药物浓度。取 18 例脊柱结核患者(2HRZ/H2R2Z2 化疗方案)的病椎硬化骨、亚正常骨、坏死组织以及髂骨为骨组织标本, 采用高氯酸蛋白沉淀法获得骨匀浆吡嗪酰胺上清, 对方法的专属性、回收率与精密度以及线性范围进行评价。

**结果与结论:** 吡嗪酰胺在 265 nm 波长下有较大吸收, 保留时间 7.48 min, 无干扰峰出现。在 0.048~3.120  $\mu\text{g/g}$  骨匀浆浓度范围内吡嗪酰胺峰面积与骨样本浓度线性关系良好( $r=0.999\ 91$ ), 绝对回收率在 89.18%~93.75%, 方法回收率为 96.30%~100.45%, 日内、日间精密度分别为 4.26%~8.78%和 5.12%~9.01%。应用此方法测得吡嗪酰胺在病椎硬化壁为最低抑菌浓度, 壁外亚正常骨及对照髂骨达到有效治疗浓度, 壁内核心病灶未检测到分布。提示吡嗪酰胺在脊柱结核椎体中存在明显的组织分布差异, 硬化壁是其经正常椎体向核心病灶穿透的组织屏障。

**关键词:** 高效液相色谱; 脊柱; 结核; 吡嗪酰胺; 分析

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.28.012

石华, 戈朝晖, 刘斌, 王自立. 骨组织中吡嗪酰胺浓度的高效液相色谱测定[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(28):5177-5180. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

由于在酸性条件下特异性细胞内结核杆菌的杀菌效果, 吡嗪酰胺这一传统药物再次被人们重视, 成为WHO推荐的一线抗结核化疗药物<sup>[1]</sup>。然而, 由于该药肝肾等不良反应明显, 使用不当常导致严重的药物并发症, 致使化疗难以依从; 更为重要的是, 结核病变中吡嗪酰胺

的浓度高低将直接影响其核心病变细胞内的杀菌效果从而影响化疗疗效。因此, 适时对其进行药物浓度监测对于结核病的整体化疗具有重要意义。目前, 吡嗪酰胺在结核病患者血浆及体液中已有相关定量分析报告<sup>[2-4]</sup>, 而在脊柱结核却少有报道, 文章就椎骨组织中吡嗪酰胺药物浓度的高效液相色谱检测方法及应用此法对18例患者病椎骨中吡嗪酰胺的测定结果报道如下。

宁夏医科大学附属医院骨科, 宁夏回族自治区银川市 750004

石华★, 男, 1980年生, 宁夏回族自治区银川市人, 汉族, 宁夏医科大学在读硕士, 主要从事脊柱外科工作。shihuayisheng@126.com

并列第一作者: 戈朝晖, 硕士, 副教授, 副主任医师。myovid@126.com

通讯作者: 王自立, 教授, 主任医师, 宁夏医科大学附属医院骨科, 宁夏回族自治区银川市 750004 WangZlxx@126.com

中图分类号: R318  
文献标识码: A  
文章编号: 1673-8225 (2011)28-05177-04

收稿日期: 2011-01-19  
修回日期: 2011-06-08  
(20101217004/WLM · S)

## 1 材料和方法

**设计:** 药物分析方法的实验研究。

**时间和地点:** 于2010-03/09在宁夏医科大学实验中心完成。

**材料:**

**骨组织标本:** 取自2010-03/08在宁夏医科大学附属医院脊柱外科采用2HRZ/2.5H2R2Z2化疗方案后行一期前路病灶清除植骨内固定的18例脊柱结核患者, 根据Jain等<sup>[5]</sup>CT分型标准, CT检查证实均为空洞硬化型脊柱结核。强化化疗4周, 吡嗪酰胺的口服剂量为每日清晨顿服1 500 mg。术中取服药后120~130 min和240~250 min两个时相点患者的髌骨, 硬化骨, 壁内坏死组织, 壁外亚正常骨。18例患者中, 3例因取样时间超时及样本量不符合要求予以剔除。15例患者样本按标准完整收集纳入研究范围。

取同一时期行脊柱骨折前路次全切除减压的健康椎体骨10例, 用于高效液相色谱法方法学的建立。

**试剂和仪器:**

试剂及仪器	来源
吡嗪酰胺胶囊	沈阳红旗制药厂
乙腈(色谱醇)、甲醇(色谱醇)	天津市四友生物医学技术有限公司
吡嗪酰胺对照品	中国药品检验研究所
Agilent 1100 高效液相色谱系统、紫外可见分光光度仪、BL-4000 冷冻离心机	美国 Agilent 公司
色谱柱 Hypersil ODS E240 型电子分析天平	大连依利特公司 上海第一分析仪器厂

### 方法

**样品处理:** 取10例健康椎体骨制备空白骨匀浆, 用作吡嗪酰胺骨组织药物浓度测定的高效液相色谱法方法学的建立。脊柱结核患者病椎不同组织样本切取后-70 °C保存。行样本组织匀浆制备时, 将其取出。避光-50 °C下冷冻干燥, 称质量, 迅速研磨成粉, 取200 μg, 加水1.8 mL于匀浆器内研磨成样品骨匀浆。

**色谱条件:** Agilent色谱仪, 检测波长265 nm, 色谱柱Hypersil ODS C18 15 mm×4.6 mm, 流动相: 0.02 mol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 4.0)-甲醇-乙腈(500 : 5 : 3), 流速1.0 mL/min, 柱温: 室温。

**吡嗪酰胺标准液的配制:** 精密称取吡嗪酰胺对照品10.0 mg, 以甲醇定量配置成100 mg/L的溶

液, 并倍比率稀释成0.048~3.120 mg/L不同浓度梯度的吡嗪酰胺标准液, 4 °C保存。

**骨匀浆的色谱处理:** 取骨匀浆200 μL于PP管中, 加入体积分数6%高氯酸200 μL, 充分混匀后离心, 直接取上清40 μL进样测定。

**方法专属性:** 空白骨匀浆、含吡嗪酰胺标准品的骨匀浆及口服3种抗结核药的患者骨匀浆参照样品处理项的方法处理进样后, 得到吡嗪酰胺色谱图, 以确定其专属性。

**标准曲线和最低检测浓度:** 配制0.048, 0.097, 0.391, 0.781, 1.560, 3.120 μg/g的标准吡嗪酰胺骨匀浆。各取200 μL于8 mL尖底PP管中, 根据样品处理方法处理后进样, 以吡嗪酰胺的峰面积为X轴, 浓度为Y轴进行加权线性回归。求得线性方程。

**回收率与精密度检测:** 以流动相稀释的标准溶液, 依次配置成浓度为0.048, 0.097, 0.391, 0.781, 1.560, 3.120 μg/g的溶液, 40 μL进样测定。根据不同浓度所得的峰面积与其对应浓度进行线性回归; 配制0.097, 0.781, 3.120 μg/g 3种不同浓度梯度的吡嗪酰胺骨匀浆, 依据样品处理方法处理并测定, 所得峰面积以流动相制作的标准曲线进行计算, 求出绝对回收率; 再次取上述3种药物浓度吡嗪酰胺骨匀浆连续测定5次, 计算求得相对回收率; 每天配制上述3种药物浓度的吡嗪酰胺骨匀浆, 连续5 d, 每天各浓度分别测定5次求得日内、日间变异。

**脊柱结核患者病椎组织样本吡嗪酰胺的测定:** 患者组织匀浆按上述色谱条件及处理方法40 μL进样, 将所得到的峰面积代入线性方程即可求得患者骨匀浆中吡嗪酰胺的药物浓度, 再依据骨匀浆稀释比(1 : 10)、组织的干湿质量比(1 : 0.6)两次换算并减去骨样本中的血污染后求得组织样本中吡嗪酰胺的真实浓度。骨样本中残留血液血红蛋白的测定及其溶液的配制参照文献[6]中的实验方法进行测定。

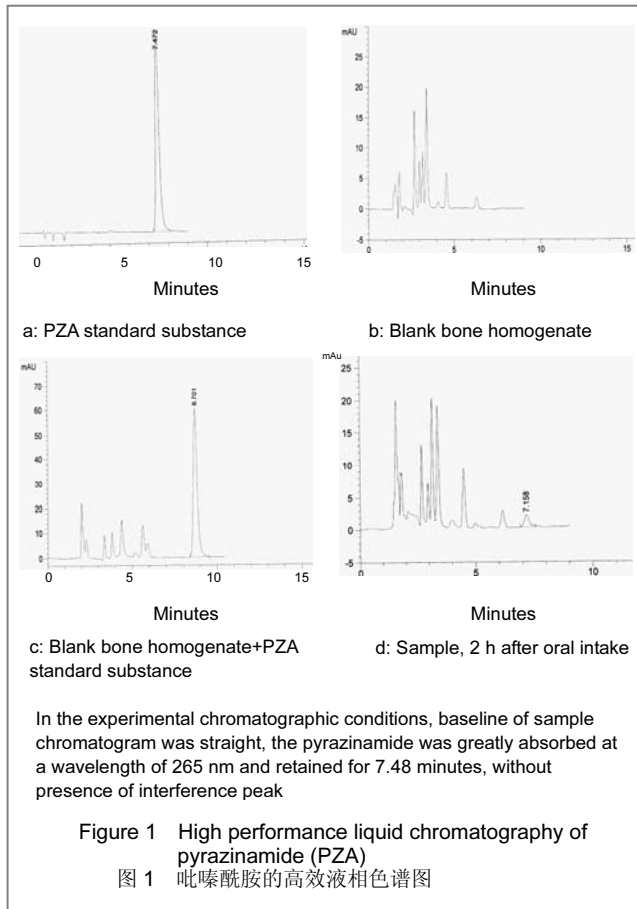
**主要观察指标:** 组织匀浆中吡嗪酰胺测定方法专属性、回收率和精密度; 服药后2, 4 h时患者病椎骨与髌骨中吡嗪酰胺浓度。

**统计学分析:** 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SPSS 10.0软件包对各样本均数进行配对比较的t检验, P < 0.05为差异有显著性意义。

## 2 结果

2.1 方法专属性及骨匀浆药物浓度测定的线性范围 吡嗪酰胺标准品洗脱液、空白骨

匀浆、空白骨匀浆附加吡嗪酰胺标准品、以及患者病椎组织样本的色谱图中吡嗪酰胺药物峰与杂峰完全分离, 具有较好的专属性, 见图1。



建立标准曲线发现吡嗪酰胺在0.048~3.120  $\mu\text{g/g}$ 内线性关系良好, 回归方程为:  $Y=0.023\ 14X+0.011\ 47$ , ( $r=0.999\ 91$ )。实验建立方法检测骨匀浆中吡嗪酰胺的最低浓度为0.02  $\mu\text{g/g}$ 。

2.2 组织匀浆中吡嗪酰胺测定方法回收率与精密度 吡嗪酰胺低,中,高3个浓度的绝对回收率>80%, 相对回收率>90%, 日内和日间精密度<10%, 表明该方法均符合生物样品分析要求, 见表1。

表1 组织匀浆中吡嗪酰胺测定方法回收率和精密度  
Table 1 Precision and recovery rate of pyrazinamide ( $n=5$ )

Concentration ( $\mu\text{g/g}$ )	Relative recovery rate (%)	Absolute recovery rate (%)	Precision relative standard deviation (%)	
			Within days	Between days
0.097	96.30 $\pm$ 3.69	89.18 $\pm$ 2.77	8.78	9.01
0.781	98.87 $\pm$ 4.53	91.98 $\pm$ 2.52	6.95	8.47
3.120	100.45 $\pm$ 6.80	93.75 $\pm$ 3.41	4.26	5.12

2.3 患者组织样本吡嗪酰胺浓度 吡嗪酰胺在病椎硬化壁为最低抑菌浓度, 壁外亚正常骨及对照髂骨达到5倍最低抑菌浓度, 壁内核心病灶未检测到分布, 见表2。

表2 服药后2, 4 h时相患者病椎骨与髂骨中吡嗪酰胺浓度  
Table 2 Pyrazinamide concentration in ilium and vertebral focus at 2 and 4 h after oral medication ( $\bar{x}\pm s, n=5, \mu\text{g/g}$ )

Time (h)	Ilium	Sclerotic bone outside the focus	Subnormal bone outside the sclerotic wall	Necrosis tissues inside the sclerotic wall
2	7.61 $\pm$ 2.62	0.82 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>	7.55 $\pm$ 2.58	None
4	7.10 $\pm$ 1.69	0.78 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	6.93 $\pm$ 1.72	None

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , vs. ilium

### 3 讨论

3.1 方法学评价 在实验色谱条件下, 样本色谱基线平直, 吡嗪酰胺在265 nm波长处有最大吸收, 保留时间7.48 min, 无干扰峰出现。实验中色谱条件简单, 所建立标准曲线线性范围覆盖全部待测浓度, 萃取回收率>80%, 方法回收率>90%, 日内、日间标准差<10%, 达到生物样品分析要求。

考虑到吡嗪酰胺服药量大, 血药浓度及组织药物浓度相对高, 实验用体积分数6%高氯酸蛋白沉淀离心后直接取上清液进样测定, 药物损失少, 测定方法简单方便, 故采用外标法测定。

对15例脊柱结核病椎吡嗪酰胺的测定结果进行分析证实: 此法分离效果好、精确、易操作、具有可重复性等诸多特点, 是一种可靠的测定骨中吡嗪酰胺浓度的方法, 可以用于抗结核化疗期间骨关节结核病组织样本中吡嗪酰胺生物分布的测定, 进行适时的组织治疗药物浓度监测。

3.2 脊柱结核患者吡嗪酰胺测定的临床意义 自20世纪70年代以来, 由于在酸性条件下能够特异性杀灭巨噬细胞内结核分枝杆菌, 吡嗪酰胺这一传统老药再次作为一线抗结核主要药物应用于结核病的强化期化疗方案中<sup>[7-8]</sup>。然而, 吡嗪酰胺的毒副作用较大, 在临床应用中发现其对全身各系统都有影响, 所致严重的肝脏毒性反应率高达15%, 远高于异烟肼和利福平<sup>[9-10]</sup>, 部分患者可因肝坏死而死亡。由于该药常规用药剂量较大, 其药物性肝损害程度呈剂量依赖性<sup>[11-15]</sup>, 并且与异烟肼、利福平合用会产生明显的协同作用, 产生严重肝肾毒性损害<sup>[16-20]</sup>。因此, 抗结核化疗强化期时需要定期监测其血药及靶组织药物浓度, 适时调整剂量或变更用药, 以最大限度地降低或避免其毒副作用, 提高患者的化疗依从性。

由于不规则抗痨, 结核菌基因突变、宿主免疫力的改变等诸多因素, 脊柱结核组织病理较之以往发生明显的改变, 表现为病变椎体核心及病变周围较广泛的硬化骨壁形成, 病椎骨内坏死、增殖及渗出性病变组织交织, 形成犬牙交错的硬化空洞及结核坏死病变组织<sup>[21]</sup>。相对于肺结核空洞, 脊柱结核病椎局部病理改变更为复杂,

硬化壁空洞内环境封闭, 偏酸性环境, 结核病变组织巨噬细胞中以慢殖菌、间殖菌为主的结核菌仅对吡嗪酰胺敏感, 难以被异烟肼和利福平所杀灭, 因而, 脊柱结核椎核心病变中吡嗪酰胺的分布对于脊柱结核的整体化疗及病灶清除方式的选择都非常重要。课题组的前期研究发现在以病灶周边硬化壁形成为主要病理影像改变的脊柱结核患者, 利福平和异烟肼不能有效穿透硬化壁进入空洞内核心病灶; 而对于非硬化型脊柱结核患者异烟肼却能在病变中心区达到有效抑菌浓度<sup>[22-23]</sup>。实验结果显示: 病椎硬化骨组织中吡嗪酰胺的平均浓度为  $0.82 \pm 0.26 \mu\text{g/g}$ , 明显低于吡嗪酰胺的最低抑菌浓度, 硬化壁周边亚正常骨与自身对照髂骨中吡嗪酰胺达到最低抑菌浓度的5倍, 为有效治疗药物浓度, 可以高效抑菌, 同样, 坏死组织中未检测到吡嗪酰胺的分布。临床研究发现, 在对脊柱结核患者进行病灶清除时, 由于核心病变外周硬化椎骨的残留, 患者往往经历长期的术后化疗难以痊愈而致复发<sup>[24-26]</sup>。实验结果进一步提示, 硬化壁空洞内结核病变组织中极低浓度的吡嗪酰胺无法有效杀灭分布于硬化壁内的干酪坏死及肉芽肿病变的持留菌, 成为疾病再次复燃的主要原因之一。因此, 对于硬化型脊柱结核, 手术中应切除硬化壁, 以利于术后吡嗪酰胺等一线抗结核药物在残椎的组织穿透, 达到真正有效的抗结核化疗, 提高患者的治愈率。

#### 4 参考文献

[1] Ramaswamy M, Mussor JM. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: 1998 update. *Tuber Lung Dis*. 1998;79(1):3-29.

[2] Wu QQ, Duan LS, Lin Y, et al. *Zhonghua Jiehe he Huxi Zazhi*. 1998;21(10):617-619.  
吴启秋, 段连山, 林羽, 等. 脊柱结核患者寒性脓肿及血液中三种抗结核药物浓度的比较[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 1998, 21(10):617-619.

[3] Ziglam HM, Baldwin DR, Daniels I, et al. Pyrazinamide concentrations in bronchial mucosa, epithelial lining fluid, alveolar macrophages and serum following a single 600mg oral dose in patients undergoing fibre-optic bronchoscopy. *Antimicrob Chemother*. 2002;50(6):1011-1015.

[4] Hedberg A, Hardemark HG, Olsson-Liljequist B, et al. Penetration of fusidic acid and pyrazinamide into cerebrospinal fluid in low-grade inflammatory meningitis caused by *Staphylococcus epidermidis*. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10(8):765-768.

[5] Jain R, Sawhney S, Berry M. Computed tomography of vertebral tuberculosis: patterns of bone destruction. *Clin Radio*. 1993;47(3):196-199.

[6] Ge ZH, Wang ZL, Wei JM, et al. *Jiangsu Yiyao*. 2009;6(35):669-671.  
戈朝晖, 王自立, 魏敏吉, 等. 异烟肼在脊柱结核患者不同组织中的分布[J]. *江苏医药*, 2009, 6(35):669-671.

[7] Zhang Y, Scorpio A, Nikaido H, et al. Role of acid pH and deficient efflux of pyrazinoic acid in unique susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to pyrazinamide. *Bacteriol*. 1999;181(7):2044-2049.

[8] Kremer L, Besra GS. Re-emergence of tuberculosis: Strategies and treatment. *Expert Opin Investing Drugs*. 2002;11:153-157.

[9] Yee D, Valiquette C, Pelletier M, et al. Incidence of serious side effects from first-line antituberculosis drugs among patients treated for active tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167(11):1472-1477.

[10] Schaberg T, Rebhan K, Lode H. Risk factors for side-effects of isoniazid, rifampin and pyrazinamide in patients hospitalized for pulmonary tuberculosis. *Eur Respir J*. 1996;9(10):2026-2030.

[11] Li JT. Beijing: People's Health Publishing House. 1997:698-699.  
李家泰. *临床药理学*[M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1997:698-699.

[12] Xie L, Gao WW. *Zhongguo Fanglao Zazhi*. 2008;8(30):167-168.  
谢莉, 高微微. 702例抗结核药物不良反应分析[J]. *中国防痨杂志*, 2008, 8(30):167-168.

[13] Yew WW, Leung CC. Antituberculosis drugs and hepatotoxicity. *Respirology*. 2006;11(6):699-707.

[14] Tost J R, Vidal T, Cayl J, et al. Severe hepatotoxicity due to antituberculosis drugs in Spain. *Tuberc Lung Dis*. 2005;9(5):534-540.

[15] Zhou XY, Yuan SH, Zhang HM. *Zhongguo Yaofang*. 2008;19(5):388-389.  
周晓映, 原淑鸿, 张红漫. 吡嗪酰胺的不良反应概述[J]. *中国药房*, 2008, 19(5):388-389.

[16] Robvan H, Hennie B, Sandra K, et al. Hepatotoxicity of rifampin-pyrazinamide and isoniazid preventive therapy and tuberculosis treatment. *Clin Infect Dis*. 2004;39(4):488-496.

[17] Fang YM, Cheng ZZ, Pan SZ. *Shiyong Yixue Zazhi*. 1997;13(9):609-610.  
方毅敏, 陈志成, 潘四珍. 异烟肼利福平吡嗪酰胺对结核病患者肝功能的影响[J]. *实用医学杂志*, 1997, 13(9):609-610.

[18] Yang BF, Su DF. Beijing: People's Health Publishing House. 2005:453-454.  
杨宝峰, 苏定冯. *药理学*[J]. 第6版. 北京: 人民卫生出版社, 2005:453-454.

[19] Duanmu HJ, Lu Y. *Yiyao Daobao*. 2008;27(3):245-246.  
端木宏谨, 陆宇. 抗结核药不良反应概述[J]. *医药导报*, 2008, 27(3):245-246.

[20] Zhou J, Luo SL, Zhang SG. *Huaxi Yixue*. 2010;25(1):197-198.  
周江, 罗世林, 张仕国. 抗结核药致药物性肝损害72例分析[J]. *华西医学*. 2010, 25(1):197-198.

[21] Ling Y. *Zhongguo Jizhu Jisui Zazhi*. 2006;16(12):885-887.  
林羽. 浅谈脊柱结核的手术治疗[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2006, 16(12):885-887.

[22] Liu P, Jang JM, Zhou FZ. *Nanfang Yike Daxue Xuebao*. 2010;30(2):364-367.  
刘鹏, 江建明, 周枝凤. HPLC法检测脊柱结核椎内外异烟肼和乙酰异烟肼浓度[J]. *南方医科大学学报*, 2010, 30(2):364-367.

[23] Liu XD, Liu Z. *Zhongguo Lingchuang Yanjiu*. 2011;1(24):21-23.  
刘向东, 吕智. 脊柱结核有限性病灶清除术的临床研究[J]. *中国临床研究*, 2011, 1(24):21-23.

[24] Wang ZL, Ge ZH, Jin WD, et al. Treatment of spinal tuberculosis with ultrashort-course chemotherapy in conjunction with partial excision of pathologic vertebrae. *The Spine Journal*. 2007;7(6):671-681.

[25] Fu ZQ, Li YQ, Guan HG, et al. *Guangdong Yixue*. 2011;6(32):741-744.  
付忠泉, 李逸群, 关宏刚, 等. 脊柱结核术后长期疗效影响因素分析[J]. *广东医学*, 2011, 6(32):741-744.

[26] Qu DB, Jin DD. *Zhongguo Jizhu Jisui Zazhi*. 2008;8(18):565-567.  
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, 8(18):565-567.

#### 来自本文课题的更多信息一

**基金资助:** 宁夏回族自治区科技攻关项目(K200512), 课题名称: 超短程化疗下的脊柱结核椎体部分切除术的临床研究。

**作者贡献:** 戈朝晖进行实验设计、技术指导, 石华、刘斌进行实验实施、评估、资料收集、成文, 王自立审校, 石华与戈朝晖对文章与实验的贡献相同, 故并列为第一作者。

**致谢:** 感谢宁夏医科大学中心实验室各位老师给予的大力帮助。

**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。

**伦理批准:** 实验用骨组织标本的取得均获得了捐献者及其家属的知情同意, 实验过程中对标本的处理得到宁夏医科大学伦理委员会批准。

#### 本文创新性:

**提供证据:** 应用计算机检索 PubMed 数据库 (1996/2010) 和中国知网数据库 (1999/2010), 分别以“HPLC, Spine, Tuberculosis, Pyrazinamide”和“高效液相、脊柱结核、吡嗪酰胺”为检索词, 共得到 29 篇与文献相关的文献。未见对骨组织中吡嗪酰胺药物浓度进行测定的方法学报道。

**创新点说明:** 文章首次建立骨组织吡嗪酰胺的高效液相色谱测定方法, 并对强化化疗期脊柱结核椎体组织中吡嗪酰胺的生物分布进行测定, 为临床初步掌握脊柱结核强化期抗结核药物的组织分布、指导治疗药物浓度监测以及病椎病灶清除方式的改良提供了理论参考价值。