

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☆

张宏其, 高琪乐, 郭虎兵, 李劲松, 郭超峰, 鲁世金, 黄 术

Preparation and release *in vitro* and *in vivo* of isoniazid-chitosan sustained release microsphere-loaded human allogeneic bone

Zhang Hong-qi, Gao Qi-le, Guo Hu-bing, Li Jin-song, Guo Chao-feng, Lu Shi-jin, Huang Shu

Abstract

BACKGROUND: Chitosan microspheres are widely used in various drug sustained release systems because of their good biocompatibility and antibacterial activity.

OBJECTIVE: To study the preparation and release *in vivo* of isoniazid-chitosan microsphere-loaded human allogeneic bone.

METHODS: After the preparation of the isoniazid-chitosan microspheres (ICMs) by spray-drying process, a 45-day *in vitro* drug release experiment was carried out. Isoniazid-loaded human allogeneic bone grafts (control group) and ICMs-loaded human allogeneic bone grafts (experimental group) were respectively implanted into both sides of the iliac in rabbits. The drug release characteristics *in vivo* were determined by high efficiency liquid chromatography.

RESULTS AND CONCLUSION: The appearances of ICMs were round, smooth and well-dispersed. Their average diameter and drug-loading rate were $(3.33\pm 0.9) \mu\text{m}$ and $(16.25\pm 1.24)\%$ respectively. There was no burst release *in vitro*. The release quantity was about 20% of total amount at 24 hours, and about 76% at 45 days. The release curve was flat. The drug release was stable. Mathematical model was in line with Ritger-Peppas model. In the experimental group, the concentration of isoniazid was slowly increased at first 28 days, and then slowly decreased and lasted for more than 56 days *in vivo*. The concentration range was $38.05\sim 155.75 \mu\text{g/g}$. In the control group, the isoniazid concentration reached a peak $1982.5 \mu\text{g/g}$ in about 1 week, and the isoniazid could not be detected around the bone after 21 days. The ICMs have the characteristics of slow isoniazid releasing both *in vitro* and *in vivo*, and the release can last for a long time. ICMs-loaded bone can be used as an implanted material, which can provide mechanical support and long time local chemotherapy after the operation of bone tuberculosis.

Zhang HQ, Gao QL, Guo HB, Li JS, Guo CF, Lu SJ, Huang S. Preparation and release *in vitro* and *in vivo* of isoniazid-chitosan sustained release microsphere-loaded human allogeneic bone. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(3): 479-483. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

Department of Spinal Surgery, Xiangya Hospital of Central South University, Xiangya Spinal Surgery Center, Changsha 410008, Hunan Province, China

Zhang Hong-qi☆, Doctor, Professor, Doctoral supervisor, Department of Spinal Surgery, Xiangya Hospital of Central South University, Xiangya Spinal Surgery Center, Changsha 410008, Hunan Province, China
zhq9996@yaho.com.cn

Correspondence to: Zhang Hong-qi, Department of Spinal Surgery, Xiangya Hospital of Central South University, Xiangya Spinal Surgery Center, Changsha 410008, Hunan Province, China
zhq9996@yaho.com.cn

Received: 2011-11-09
Accepted: 2011-12-05

摘要

背景: 壳聚糖微球具有良好的生物相容性及抗菌活性, 被广泛地运用于各种药物缓释系统中。

目的: 制备人同种异体骨载异烟肼-壳聚糖微球, 并分析其体内释药性能。

方法: 用喷雾干燥法制备异烟肼-壳聚糖微球, 进行体外 45 d 的药物释放实验。将单独装载异烟肼的异体骨块(对照组)和装载异烟肼-壳聚糖微球的异体骨块(实验组)分别植入家兔两侧髂骨, 采用高效液相色谱法检测药物体内释放情况。

结果与结论: 异烟肼-壳聚糖微球外观呈圆形、表面光滑、分散良好; 平均粒径 $(3.33\pm 0.9) \mu\text{m}$, 载药率 $(16.25\pm 1.24)\%$ 。体外药物释放实验显示无突释现象, 24 h 释放 20% 左右, 45 d 释放 76%, 释放曲线较平缓, 释放稳定; 数学模型拟合符合 Ritger-Peppas 模型。实验组异烟肼浓度在前 28 d 内缓慢升高, 其后缓慢下降, 持续 56 d 以上, 浓度 $38.05\sim 155.75 \mu\text{g/g}$; 对照组异烟肼浓度在 1 周左右达高峰, 为 $1982.5 \mu\text{g/g}$, 21 d 后骨块周围药物不能测到。说明异烟肼-壳聚糖缓释微球在体内外均可以缓慢平稳释放异烟肼, 且持续时间长。提示人同种异体骨载异烟肼-壳聚糖缓释微球复合体可以作为骨结核病灶清除后的一种置入材料, 在提供机械支持的同时进行长时间的局部化疗。

关键词: 异烟肼-壳聚糖微球; 人同种异体骨; 骨结核; 复合体; 缓释

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.03.022

张宏其, 高琪乐, 郭虎兵, 李劲松, 郭超峰, 鲁世金, 黄术. 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. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

在骨与关节结核治疗中, 口服药物不易进入局部病灶之内, 且服药时间长、全身不良反应大, 使其临床疗效受到限制^[1-2]。因此, 临床上需要一种持续时间长、药物释放平稳、不良反应小的局部缓释制剂来提高抗结核治疗效果^[3]。壳聚糖微球以其良好的生物相容性及抗菌活性, 被广泛地运用于各种药物缓释系统中^[4]。本实验首次将壳聚糖微球与人同种异体骨块结合起来, 旨在设

计一种能用于骨与关节抗痨治疗的载体材料, 携带能稳定释放的抗结核药物, 以手术的方法植入脊柱结核病灶清除后的残腔内, 使其在一段时间内持续释放药物并维持局部较高药物浓度, 一方面填充骨缺损, 发挥骨传导及骨诱导作用; 另一方面局部杀灭结核杆菌, 促进病灶愈合, 防止由于控制结核不力造成的融合失败。

1 材料和方法

设计: 新药研发, 随机对照实验。

中南大学湘雅医院脊柱外科, 湘雅脊柱外科中心, 湖南省长沙市 410008

张宏其, 男, 1965年生, 湖南省韶山市人, 汉族, 1996年湖南医科大学毕业, 博士, 博士生导师, 教授, 主要从事脊柱外科临床及相关基础研究。

通讯作者: 张宏其, 教授, 中南大学湘雅医院脊柱外科, 湘雅脊柱外科中心, 湖南省长沙市 410008
zhq9996@yahoo.com.cn

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2012)03-00479-05

收稿日期: 2011-11-09
修回日期: 2011-12-05
(20111027004/GW L)

时间及地点: 于 2009-10/2011-01 在中南大学药理学实验室和中南大学动物实验中心完成。

材料:

实验动物: 5 月龄雄性家兔 28 只, 体质量 (3.0±0.7) kg, 由中南大学动物实验中心提供。

主要试剂:

试剂	来源
异烟肼(纯度 98%)	Aladdin Chemistry Co. Ltd .Product Number:1041151
壳聚糖(脱乙酰化程度 90.2%)	山东奥康生物科技有限公司, 100821A
人同种异体骨块 (30 mm×8 mm×8 mm)	山西奥瑞生物材料有限公司
冰乙酸、戊二醛、无水乙醇、乙醚、磷酸二氢钠	市售分析纯
甲醇	市售色谱纯

实验方法:

异烟肼-壳聚糖微球的制备: 采用喷雾干燥法制备异烟肼-壳聚糖微球^[5]。取壳聚糖适量加入 1% 醋酸溶液中, 置磁力搅拌器上充分搅拌 30 min。避光条件下, 称取适量异烟肼晶体, 溶入上述壳聚糖醋酸溶液, 充分搅拌。待异烟肼-壳聚糖醋酸溶液气泡消失后, 置喷雾干燥机进样瓶, 避光条件下进行喷雾干燥。喷雾完毕后, 打开回收槽, 即可回收异烟肼-壳聚糖初级微球。工艺条件: 药物壳聚糖比例 1 : 5、进风温度 120 °C、进样速度 3 mL/min、壳聚糖浓度 2.0%。称取 20 mg 初级微球投入无水乙醇充分搅拌, 让微球充分分散, 形成悬浊液。在搅拌状态下, 缓慢滴加 50% 戊二醛溶液 10 mL, 低速搅拌固化 30 min。以抽滤法除去溶剂, 再将所得微球以超纯水抽滤清洗 3 遍。将所得微球置 45 °C 温箱干燥备用。

异烟肼-壳聚糖微球的形貌观察和粒径测量: 将少量微球分散于无水乙醇后, 滴到载玻片上, 用光学显微镜放大 1 000 倍观察计数。再以电子显微镜放大 10 000 倍后测量微球直径(样本数=500 粒)并计算平均粒径。

异烟肼-壳聚糖微球的载药量: 精密称取干燥的微球 10 mg, 加 5 mL pH 值 7.4 的 PBS, 再超声波破碎 2 h。静置 24 h 后, 3 000 r/min 条件下离心 10 min, 取上清液, 20 倍稀释后, 高效液相色谱法检测异烟肼含量。

$$\text{载药量} = \frac{\text{微球中药物总量}}{\text{微球总质量}} \times 100\%$$

再固化异烟肼-壳聚糖微球的体外缓释实验: 实验组为异烟肼-壳聚糖微球, 对照组为异烟肼晶体。称取适量样品, 令两组样品所含异烟肼量相等(表 1)。将各组样品投入透析袋内, 加入 PBS 液 100 mL, 在棕色瓶中加盖密封。37 °C 恒温振动水浴振荡器中摇动(100 r/min)。定时(0.5, 1, 2, 3, 5, 8, 12, 17, 23, 30, 45 d)从每个释放瓶内取出液体 5 mL, -20 °C 冻存待检, 同时再加同量等温的 PBS 液于瓶中, 继续摇动。最后用高效液相色谱法, 检测样品中异烟肼浓度, 并绘制缓释曲线。

Sample	Drug loading (%)	Weight (mg)	Isoniazid content (mg)
ICMs	16.25	12.06	1.96
Isoniazid crystals	98	2	1.96

人同种异体骨与异烟肼-壳聚糖微球、异烟肼晶体的组装: 将 56 块人同种异体骨块称质量后分别装入 EP 管, 用异烟肼壳聚糖微球粉末填满 28 个 EP 管, 用异烟肼晶体填满余下的 EP 管, 使微球或异烟肼晶体完全埋没骨块不留空隙。置 EP 管于超声波清洗器振荡 2 h, 取出骨块再次称质量, 计算出每块异体骨的含药量, 用毛刷小心扫除部分骨块表面多余的壳聚糖微球或异烟肼晶体, 重新称质量并再次计算骨块的含药量, 重复上述操作直至每一骨块含异烟肼的量相等。

再用滴定管取 5 mL 5% 壳聚糖溶液均匀喷洒于壳聚糖微球骨块表面, 置骨块于 45 °C 温箱烘干后取出。将骨块再次以 5% 壳聚糖溶液打湿, 投入 8% 三聚磷酸钠溶液^[6], 5 min 后取出, 再次 45 °C 温箱烘干, 接着重复该步骤一次。最后电镜扫描, 观察骨内微球分布。

载药骨块的体内药物释放实验: 将消毒好的异烟肼-壳聚糖微球骨块植入家兔右侧髂骨, 将异烟肼晶体骨块植入家兔左侧髂嵴。实验动物进行编号, 定期(3 d、1 周、2 周、3 周、4 周、6 周、8 周)分批处死家兔, 每次处死 4 只, 取植入骨块周围 0.5 cm 范围内的兔骨 0.5 g。再将所取标本剪碎后, 研钵充分研磨 30 min, 再加入生理盐水 5 mL, 再研磨 15 min。然后 4 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, -20 °C 冻存待检。最后以高效液相色谱法检测异烟肼浓度。

主要观察指标: ①异烟肼-壳聚糖微球的体

外释放率。②异烟肼-壳聚糖微球的动物体内释放情况。

统计学分析: 采用SPSS 13.0统计软件对各组数据进行ANOVA单因素方差分析, 结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 异烟肼-壳聚糖微球的形态 喷雾干燥法制备的壳聚糖微球外观形圆, 表面光滑, 球粒完整, 无粘连, 无杂质, 见图1; 平均粒径(3.33 ± 0.9) μm , 载药率(16.25 ± 1.24)%。

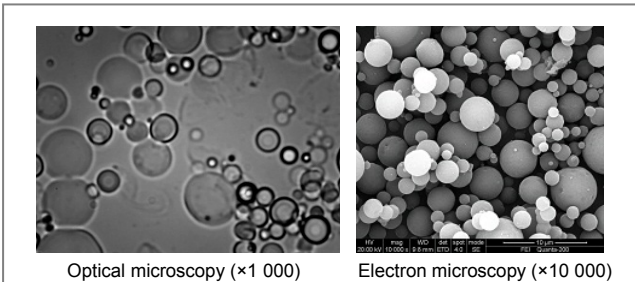


Figure 1 Optical microscopy ($\times 1000$) and electron microscopy ($\times 10000$) images of isoniazid-chitosan microspheres

图1 异烟肼-壳聚糖微球的光学显微镜及电镜图片

2.2 异烟肼-壳聚糖微球的体外释放实验 异烟肼-壳聚糖微球无突释现象, 24 h 释放 20%左右; 缓释时间明显延长, 45 d 释放 76%, 释放曲线较平缓, 释放稳定; 45 d 以后释放减慢, 曲线更趋于平缓, 预计有一部分体外不能释放, 在体内酶的作用才能更好释放。作为对照的异烟肼晶体, 基本在 24 h 内完全释放, 见表 2 及图 2。

表 2 异烟肼-壳聚糖微球与异烟肼晶体的缓释实验结果
Table 2 Release results of isoniazid-chitosan microspheres and isoniazid crystals ($\bar{x}\pm s$, %)

Time (d)	Isoniazid chitosan microspheres	Isoniazid crystals
0.5	10.33 \pm 1.14	98.78 \pm 1.05
1	15.33 \pm 1.08	99.89 \pm 1.03
2	19.68 \pm 1.20	/
3	23.44 \pm 1.80	/
5	27.83 \pm 1.76	/
8	39.72 \pm 1.52	/
12	50.06 \pm 1.23	/
17	59.2 \pm 1.63	/
23	64.45 \pm 1.51	/
30	71.23 \pm 1.01	/
45	85.34 \pm 1.27	/

按每个取样点药物浓度换算每个点的累积释放率, 按零级释放、一级释放、Higuchi 及 Ritger-Peppas 模型对微球的累积释放率数据进行拟合, 微球体外释药符合 Higuchi 数学模型, 也符合 Ritger-Peppas 数学模型;

从拟合优度来看, 更符合后者, 回归系数 $r=0.9943$, 见表 3。

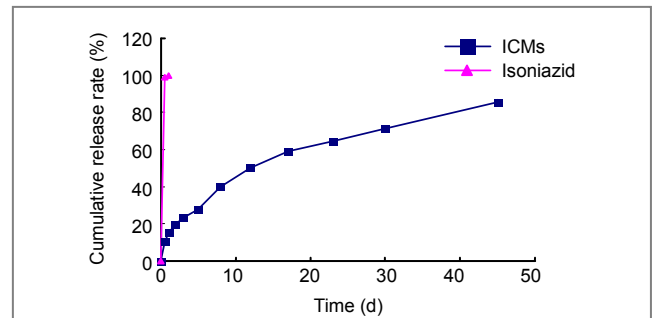


Figure 2 Release curve of isoniazid-chitosan microspheres (ICMs) *in vitro*

图2 异烟肼-壳聚糖微球的体外释放曲线

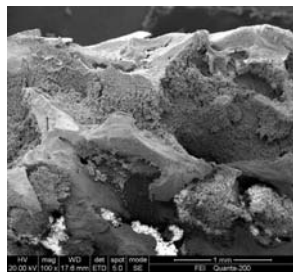
表 3 异烟肼-壳聚糖微球药物释放模型拟合结果
Table 3 Fitting results of drug release model of isoniazid-chitosan microspheres

Model	Equation	k	C	R^2
Zero-order	$Q=kt+C$	1.686 7	19.956	0.912 3
First-order	$\ln(100-Q)=kt+C$	-0.031 8	4.400 3	0.947 5
Higuchi equation	$Q=kt(1/2)+C$	12.818	2.232 7	0.991 8
Ritger-Peppas	$\ln Q=k\ln t+C$	0.475 3	2.669 1	0.994 3

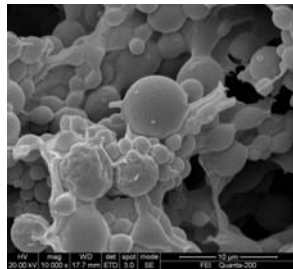
2.3 异烟肼-壳聚糖微球体内释放实验 异烟肼-壳聚糖微球灌注于人同种异体骨块后与之形成了紧密的组合。电镜下观察见微球能紧密、均匀地分布于人同种异体骨天然空隙内, 而且微球及骨块均未见明显破坏。微球骨块植入动物体内后, 无突释现象, 药物呈缓慢、稳定释放。与异烟肼晶体灌注骨块相比, 骨块周围骨组织里的异烟肼浓度差异有非常显著性意义($P < 0.0001$)。异烟肼晶体灌注骨块周围异烟肼浓度在 1 周左右达高峰 1 982.5 $\mu\text{g/g}$ 。而微球骨块周围的异烟肼浓度在 28 d 前缓慢升高, 其后缓慢下降, 最高浓度 155.75 $\mu\text{g/g}$, 最低浓度为 38.5 $\mu\text{g/g}$ 。药物浓度达异烟肼杀菌浓度(异烟肼最低抑菌浓度为 0.025~0.05 mg/L, 浓度达 10 mg/L 可呈现杀菌作用, 且释放稳定, 持续时间长, 见表 4 及图 3, 4。

表 4 人同种异体骨载异烟肼-壳聚糖微球的体内释放实验结果
Table 4 Results of release test *in vivo* of isoniazid-chitosan microspheres (ICMs)-loaded human allogeneic bone ($\bar{x}\pm s$, $\mu\text{g/g}$)

Time (d)	Implantation of human allogeneic bones loaded with isoniazid crystals	Implantation of human allogeneic bones loaded with ICMS
3	1 072.50 \pm 98.45	78.25 \pm 10.28
7	1 982.50 \pm 102.75	87.75 \pm 11.15
14	170.00 \pm 39.16	95.75 \pm 10.97
21	36.75 \pm 18.73	125.50 \pm 12.66
28	8.00 \pm 5.72	155.75 \pm 14.10
42	0	62.25 \pm 13.00
56	0	38.50 \pm 12.71



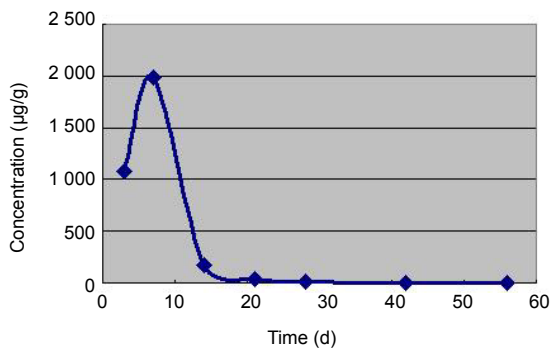
a: ×100



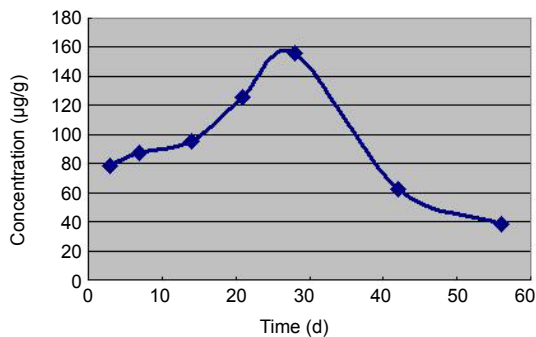
b: ×10 000

Figure 3 Scanning electron microscopy images of the allogeneic bones loaded with isoniazid-chitosan microspheres

图3 灌注异烟肼-壳聚糖微球后异体骨块放大100倍和10000倍的电镜扫描图



a: Isoniazid crystals



b: Isoniazid chitosan microspheres

Figure 4 Isoniazid concentrations around the bone tissues in isoniazid-chitosan microspheres-loaded human allogeneic bone and isoniazid-loaded human allogeneic bone grafts

图4 异烟肼-壳聚糖微球与异烟肼晶体灌注骨块周围骨组织异烟肼浓度

3 讨论

在骨结核的治疗中, 由于病灶区域血运差、瘢痕形成等原因, 全身用药难以在病灶区内达到有效杀菌浓度, 容易导致结核复燃; 长程、大剂量地口服抗痨药, 也容易损害肝肾功能导致全身不良反应的发生^[7]。因此许多学者尝试应用局部化疗, 以减轻不良反应、提高抗痨效果^[8-10]。目前在骨结核清除术中局部用药的形式仍然过于简单, 多数手术医生直接将抗痨药物喷洒于清除术后的残腔中或将抗痨药物喷洒于明胶海绵、异体骨块后再植入残腔, 这些局部用药方式并不能使抗结核药物在残腔内维持一个长时间的、有效杀菌浓度, 治疗效果有限。因此, 许多研究者试图寻找一种能长时间稳定释放药物的缓释剂来增强局部化疗的效果。壳聚糖缓释微球就是近年来研究较多的缓释剂之一。

壳聚糖缓释微球是指药物溶解或者分散在壳聚糖溶液中形成的微小球状结构, 通过喷雾法可使壳聚糖在药物颗粒表面固化成一层薄壁包膜, 形成粒径1~250 µm的基质型骨架微粒。药物释放需经过壳聚糖包膜的膨胀、降解、酶解等过程, 使药物逐渐溶出, 达到控释、缓释的目的^[11]。

在体外实验中, 再固化的异烟肼-壳聚糖微球释放的时间明显长于异烟肼晶体, 释放曲线平缓, 释放浓度也相对稳定。作者考虑原因有以下两点: 戊二醛交联再固化法令微球表面比较松散的壳聚糖分子连接在一起, 使其形成一层坚固的膜, 有效加固了微球的强度, 延长其降解时间; 当微球浸泡在水溶液中时, 必需随着时间的延长, 微球壁才会逐渐膨胀, 大分子链因水合而伸展, 壳聚糖分子间的间距逐渐增大, 药物才能慢慢溢出。经过戊二醛固化的壳聚糖微球在水中溶解度下降, 完全溶解更困难, 因此药物释出的时间显著延长。

在体内实验中, 人同种异体骨载异烟肼-壳聚糖微球同样表现出良好的释放曲线, 药物释放时间明显长于单纯灌注异烟肼的异体骨块, 药物在周围的骨组织中浓度也相对恒定。在微球-骨块植入动物体内的早期, 骨块表面大量药物微球直接浸泡在体液中, 球壁逐渐膨胀。由于在微球制备的干燥过程中, 水分从微球内部逃逸, 带动药物迁徙到微球表面或近面, 故而在释放初期药物扩散速度较快, 释药曲线呈明显上升趋势^[12]; 随着时间延长, 骨块内不断渗入体液, 体内的酶也开始进入骨块, 加速了骨块内部壳聚糖的分解, 使药物释放达到高峰; 随着药物微球不断的减少, 释药曲线出现下降趋势, 同时随着宿主血管逐渐爬入异体骨块, 自体骨组织缓慢取代异体骨块, 骨块内部的药物最终完全进入体内, 药物经体内代谢后浓度逐渐趋向于零。在整个释药过程中, 骨块里的微球没有明显的突释现象, 药物呈缓

慢、稳定释放, 56 d 所取异烟肼-壳聚糖微球骨块周围组织异烟肼浓度为 38.5 $\mu\text{g/g}$, 仍然达到异烟肼的杀菌浓度。

Greene 等^[13]曾将壳聚糖复合抗生素涂抹于骨科内固定装置的表面, 并观察到抗生素会从复合涂层中逐渐释放, 达到抑菌效果。由于其并没有将壳聚糖复合抗生素制作成缓释微球, 药物释放时间最长只能维持到 96 h, 远低于人同种异体骨载异烟肼-壳聚糖微球的释药时间。因此认为人同种异体骨载异烟肼-壳聚糖微球具有良好的生物相容性和稳定释药性, 可以作为骨与关节结核病灶清除后的一种置入材料, 在提供机械支持的同时进行长时间的局部化疗。

由于条件限制, 本实验同样也存在一些不足, 比如使用的人同种异体骨在兔体内排异反应较大、样本量偏小、抗结核药物单一等。但实验还在继续, 相信通过更多的实验和改进可以令异体骨载药物-壳聚糖微球系统更加完善, 令其在抗结核病的局部化疗中发挥更大的作用。

4 参考文献

- [1] Jutte PC, Rutgers SR, VanAltena R, et al. Penetration of isoniazid, rifampicin and pyrazinamide in tuberculous pleural effusion and psoas abscess. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2004;8(11):1368-1372.
- [2] Zhang HQ, Guo CF, Xiao XG, et al. One-stage surgical management for multilevel tuberculous spondylitis of the upper thoracic region by anterior decompression, strut autografting, posterior instrumentation, and fusion. *J Spinal Disord Tech.* 2007;20(4):263-267.
- [3] Pandey R, Khuller GK. Chemotherapeutic potential of alginate-chitosan microspheres as anti-tubercular drug carriers. *J Antimicrob Chemother.* 2004; 53(4):635-640.
- [4] Muzzarelli RA. Chitins and chitosans as immunoadjuvants and non-allergenic drug carriers. *Mar Drugs.* 2011;8(2):292-312.
- [5] Alhalaweh A, Andersson S, Velaga SP. Preparation of zolmitriptan-chitosan microparticles by spray drying for nasal delivery. *Eur J Pharm Sci.* 2009;38(3):206-214.
- [6] Dhawan S, Singla AK, Sinha VR. Evaluation of mucoadhesive properties of chitosan microspheres prepared by different methods. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2004;5(4):e67.
- [7] Zhang HQ, Wang YX, Guo CF, et al. One-stage posterior focus debridement, fusion, and instrumentation in the surgical treatment of cervicothoracic spinal tuberculosis with kyphosis in children: a preliminary report. *Childs Nerv Syst.* 2010;27(5):735-742.
- [8] Dutt M, Khuller GK. Sustained release of isoniazid from a single injectable dose of poly (DL-lactide-co-glycolide) microparticles as a therapeutic approach towards tuberculosis. *Int J Antimicrob Agents.* 2001;17(2):115-122.
- [9] Tomoda K, Kojima S, Kajimoto M, et al. Effects of pulmonary surfactant system on rifampicin release from rifampicin-loaded PLGA microspheres. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2005;45(1):1-6.
- [10] Pandey R, Sharma A, Zahoor A, et al. Poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticle-based inhalable sustained drug delivery system for experimental tuberculosis. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52(6):981-986.
- [11] Wang QZ, Chen XG, Li ZX, et al. Preparation and blood coagulation evaluation of chitosan microspheres. *J Mater Sci Mater Med.* 2008;19(3):1371-1377.
- [12] Takenaga M, Yamaguchi Y, Kitagawa A, et al. A novel sustained-release formulation of insulin with dramatic reduction in initial rapid release. *J Control Release.* 2002;79(1-3):81-91.
- [13] Greene AH, Bumgardner JD, Yang Y, et al. Chitosan-coated stainless steel screws for fixation in contaminated fractures. *Clin Orthop Relat Res.* 2008; 466(7):1699-1704.

来自本文课题的更多信息—

作者贡献: 郭虎兵、鲁世金、高琪乐进行实验设计, 实验实施为郭虎兵, 实验评估为鲁世金, 资料收集为李劲松、黄术, 高琪乐、郭虎兵成文, 张宏其审核并对文章负责。

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: 以“壳聚糖, 骨, 结核”为检索词检索万方数据库(2001/2011), 共检索出 0 篇, 可见国内对壳聚糖在骨结核病中应用的研究尚属空白; 以“chitosan; bone; tuberculosis”为检索词检索 Medline 数据库(2001/2011), 仅检索出 1 篇, 可见国际上对壳聚糖在骨结核病中应用的研究尚处于起步阶段。实验首次构建了人同种异体骨载异烟肼-壳聚糖微球复合体, 作为骨与关节结核病灶清除后的一种置入材料, 在提供机械支持的同时进行长时间的局部化疗, 为骨结核的治疗提供了一种新的可靠方法。