

猫爪草提取物离子敏感型原位凝胶肺部药物释放及局部安全性初步评价

胡春晖

青海大学医学院 药理学系, 青海 西宁 810001

摘要: **目的** 对制备的猫爪草提取物离子敏感型原位凝胶(RTRE-ISG)进行肺部滞留性、安全性及局部药物浓度的评价。**方法** 以海藻酸钠作为辅料,猫爪草提取物(70%乙醇)作为溶剂,在室温下磁力搅拌使其充分溶胀,制备得到 RTRE-ISG。大鼠通过气管介入给药后,测定肺部灌洗液中的炎症因子和致纤维化因子水平,筛选出相对安全的处方;再采用 Cy5.5 作为荧光染料,借助小动物活体成像系统对 RTRE-ISG 肺部滞留性进行评价;最后运用改良肺泡灌洗技术,对大鼠肺部进行灌洗,测定局部药物浓度。**结果** 1%海藻酸钠 RTRE-ISG 在肺部安全性较好,荧光活体成像技术显示其可在肺部滞留 120~144 h,肺部局部药物浓度的测定显示 1%海藻酸钠 RTRE-ISG 在 5 h 释放达到峰值为 5.24 $\mu\text{g/mL}$, 144 h 药物浓度为 0.08 $\mu\text{g/mL}$ 。**结论** RTRE-ISG 在肺部可滞留 120 h 以上,可为中药治疗肺结核提供一种新型的缓释制剂。

关键词: 猫爪草;离子敏感型原位凝胶;肺部安全性;荧光活体成像;肺泡灌洗技术;介入疗法

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)07-1163-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.07.017

Preliminary evaluation on drug release and local security of *Ranuncoli Ternati Radix* extracts-ion sensitive *in situ* gels

HU Chun-hui

Department of Pharmacy, Medical College of Qinghai University, Xining 810001, China

Abstract: **Objective** To evaluate the pulmonary retention, safety, and local drug concentration of *Ranuncoli Ternati Radix* extracts-ion sensitive *in situ* gels (RTRE-ISG). **Methods** Sodium alginate as excipient, RTRE (70% ethanol) as solvent, it was swollen at room temperature using magnetic stirring to prepare RTRE-ISG which was administered via endotracheal tube to rats. The levels of inflammatory cytokines and fibrosis factors were detected in BALF to screen the relative safe prescription. Then using CY5.5 as fluorescent dye, the pulmonary retention of RTRE-ISG was evaluated with the aid of the small animal *in vivo* imaging system. In the end, the lung lavage was performed by using the improved alveolar lavage technique and the local drug concentration was determined. **Results** The safety of RTRE-ISG prepared by 1% sodium alginate was better, the retention time in lung was 120—144 h revealed by fluorescence *in vivo* imaging system. The results showed that the release of drug reached to a peak of 5.24 $\mu\text{g/mL}$ in 5 h after administration and 0.08 $\mu\text{g/mL}$ in 144 h after administration. **Conclusion** RTRE-ISG was good safety with the retention time in lung more than 120 h, which is a novel sustained preparation of Chinese materia medica for the treatment of pulmonary tuberculosis.

Key words: *Ranuncoli Ternati Radix*; ion sensitive *in situ* gels; safety in pulmonary; fluorescence *in vivo* imaging system; alveolar lavage technique; interventional therapy

猫爪草 *Ranuncoli Ternati Radix* 的抗结核作用于 20 世纪 50 年代被报道,是目前抗结核疗效最好的药物之一^[1]。传统剂型猫爪草胶囊,由于口服给药,药物随血液分布到全身,但病灶部位如结核感染局部药物浓度较低,无法达到杀死结核杆菌的最低杀菌浓度,在一定程度上影响了药效发挥^[2]。多耐药难治性肺结核的病灶内有不同程度的纤维化,以常规制

剂给药,病灶部位达不到最低抑菌浓度,因此现阶段临床上采用介入疗法,运用纤维支气管镜将抗结核药物的水溶液或普通凝胶剂直接注入病灶部位^[3],增加病灶药物浓度,同时减少全身用药不良反应。但水溶液或普通凝胶剂无法在病灶部位长期滞留,为了制备在病灶部位长期滞留、缓释效果良好的制剂,本课题组设计了将抗结核药物制备成原位凝胶

收稿日期: 2015-09-10

基金项目: 青海大学中青年基金项目(2012-QYY-1)

作者简介: 胡春晖, 硕士, 副教授, 从事中药制剂学研究。Tel: (0971)5312252 E-mail: chunhuihu@hotmail.com

(*in situ* gel, ISG) 的方案。ISG 是一种新型药物传递系统,该系统在储藏条件下是自由流动的液体,给药后可根据环境变化而迅速发生相转变,在给药部位形成固态或半固态的凝胶^[4]。本课题组前期研究制备了猫爪草提取物离子敏感型原位凝胶 (*Ranuncoli Ternati Radix* extracts-ISG, RTRE-ISG),本研究对大鼠经纤维支气管镜肺部介入给予 RTRE-ISG,考察其肺部安全性、局部滞留性和局部药物释放性,为猫爪草新型给药体系的开发提供依据。

1 材料

1.1 仪器

85-2A 数显测速恒温磁力搅拌器 (江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司); ZRS-4 型智能溶出试验仪 (天津大学无线电厂); VV2000 型旋转蒸发仪 (德国 Heidolph); SNB-1 数字黏度计 (上海精密科学仪器有限公司天平仪器厂); AR2140 型电子天平 (上海天平仪器厂); LC-10AT 型高效液相色谱 (N2000 型色谱工作站, 日本岛津公司), FZ102 微型植物粉碎机 (天津泰斯特仪器有限公司), XW-80A 型旋涡混合器 (上海精科有限公司); Fx Pro 型多功能活体成像系统 (美国 Kodak 公司); 酶标仪 (VersaMax, Molecular Devices)。

1.2 药品与试剂

猫爪草药材 (原产地河南, 购自北京同仁堂) 经青海大学医学院药学系袁明副教授鉴定为毛茛科植物小毛茛 *Ranunculus ternatus* Thunb. 的块根; LF240D 海藻酸钠 (批号 S20527, 美国 FMC); 氯化钙 (CaCl_2 , 批号 20080431), 北京凤礼精求商贸有限公司; 小毛茛内酯对照品 (美国 Sigma 公司, 质量分数 >99%, 批号 BC4821), Cy5.5 荧光染料, 北京泛博生物化学有限公司; DIR 荧光染料 (批号 781178), 美国 Invitrogen 公司。甲醇为色谱纯, 水为娃哈哈矿泉水, 其他试剂均为分析纯。

1.3 动物

健康 SPF 级 SD 雄性大鼠, 体质量 150~200 g, 健康 Nu/Nu 雌性裸鼠, 体质量 18~20 g, 均购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 动物许可证号 SCXK (京) 2012-0001; 动物饲养室保持温度 (23.0 ± 1.5) °C, 相对湿度 (45 ± 15) %。动物自由饮食饮水, 适应 1 周后开始实验。

2 方法与结果

2.1 猫爪草提取物的制备^[5]

精密称取适量猫爪草粉末 (80 目), 置于圆底

烧瓶中, 料液比 1:3, 加 70%乙醇回流提取 3 次, 每次提取 2 h, 滤过, 浓缩, 1 200 r/min 离心 10 min, 上清液以 70%乙醇定容于 50 mL 量瓶中即得 (提取物中含小毛茛内酯 174 $\mu\text{g/mL}$)。

2.2 猫爪草提取物离子敏感型原位凝胶的制备^[6]

精密称取处方量海藻酸钠, 在室温的条件下搅拌使其在 50 mL 猫爪草提取物中充分溶胀 24 h, 制备 RTRE-ISG (含小毛茛内酯 174 $\mu\text{g/mL}$)。

2.3 统计学处理

使用 SPSS 13.0 软件对实验资料进行统计分析, 实验所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 软件单因素方差分析方法 (ANOVA), 进行组间差异的显著性检验。

2.4 肺部安全性的初步评价^[7-8]

2.4.1 分组及给药 将 SD 大鼠随机分为 7 组, 分别以 A~G 表示, A、B 组分别给予生理盐水 1、7 d, C、D 组分别给予 1%海藻酸钠 RTRE-ISG 1、7 d, E、F 组分别给予 2%海藻酸钠 RTRE-ISG 1、7 d, G 组为不处理的正常对照, 每组 6 只。除 G 组外, 各组大鼠 ip 戊巴比妥钠 (60 mg/kg) 麻醉, 气管插管, 将 0.2 mL 生理盐水或 RTRE-ISG (含小毛茛内酯 174 $\mu\text{g/mL}$, 小毛茛内酯抑制肺结核杆菌的最低抑菌浓度为 64 $\mu\text{g/mL}$ ^[2,7]), 注入肺底并注入 0.1 mL CaCl_2 。

2.4.2 肺灌洗液的制备及指标检测 实验结束时, 大鼠 ip 过量戊巴比妥钠致死, 仰卧位固定在手术台上, 打开胸腔, 延甲状软骨的上缘开口。采用外径为 1.8 mm 的静脉导管作为肺泡灌洗用导管, 并将插管沿气管缓缓插入, 待插管到达气管杈时, 用 2.5 mL 预热的生理盐水 (37 °C) 作为灌洗液对双肺灌洗, 重复 4 次, 收集灌洗液, 4 °C 离心 (1 500 r/min, 10 min), 取上清液 4 °C 保存备用。采用试剂盒 (均购自南京建成生物工程研究所) 方法分别测定肺灌洗液中的总蛋白、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-8 (IL-8)、羟脯氨酸 (Hyp)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平。

表 1 结果表明给药 1 d 后, A、C 及 E 组各项指标较 G 组均有升高 ($P < 0.01$), 且 C、E 组较 A 组各项指标水平显著升高 ($P < 0.01$), 说明 RTRE-ISG 对大鼠肺部可能具有损伤作用, E 组大鼠各项指标均显著高于 C 组 ($P < 0.01$), 说明 2%海藻酸钠 RTRE-ISG 较 1%海藻酸钠 RTRE-ISG 毒性增加; 给药 7 d 后, B 组各项指标水平与 G 组相比差异不显著, 表明生理盐水不会对大鼠肺部产生

表 1 各组大鼠肺灌洗液中相关指标测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 1 Determination of relative indicators in BALF of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	TNF- α /($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Hyp/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	总蛋白/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	IL-6/($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	IL-8/($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
G	14.26 $\pm$ 2.69	17.59 $\pm$ 3.66	40.99 $\pm$ 1.67	11.98 $\pm$ 0.99	9.99 $\pm$ 1.98
A	19.96 $\pm$ 1.26**	23.58 $\pm$ 2.59**	61.38 $\pm$ 2.39**	15.48 $\pm$ 0.29**	12.83 $\pm$ 1.29**
C	27.84 $\pm$ 2.69***	32.25 $\pm$ 1.39***	45.35 $\pm$ 3.48***	23.26 $\pm$ 2.78***	25.83 $\pm$ 3.48***
E	43.53 $\pm$ 2.36*** $\Delta\Delta$	56.92 $\pm$ 2.19*** $\Delta\Delta$	69.15 $\pm$ 3.58*** $\Delta\Delta$	31.52 $\pm$ 4.22*** $\Delta\Delta$	34.27 $\pm$ 2.98*** $\Delta\Delta$
B	15.96 $\pm$ 2.33	17.33 $\pm$ 3.36	40.79 $\pm$ 2.57	11.93 $\pm$ 0.59	10.08 $\pm$ 1.29
D	14.63 $\pm$ 1.36	23.58 $\pm$ 5.66*	42.80 $\pm$ 5.96	10.98 $\pm$ 3.59	10.11 $\pm$ 1.59
F	30.23 $\pm$ 1.39** $\Delta\Delta\Delta$	66.87 $\pm$ 5.79** $\Delta\Delta\Delta$	53.26 $\pm$ 2.39** $\Delta\Delta\Delta$	21.79 $\pm$ 1.39** $\Delta\Delta\Delta$	28.35 $\pm$ 1.48** $\Delta\Delta\Delta$

与 G 组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 A 组比较: *** $P < 0.01$; 与 B 组比较: $\Delta\Delta$ $P < 0.01$; 与 C 组比较: $\Delta\Delta$ $P < 0.01$; 与 D 组比较: $\Delta\Delta$ $P < 0.01$ * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs group G; *** $P < 0.01$ vs group A; $\Delta\Delta$ $P < 0.01$ vs group B; $\Delta\Delta$ $P < 0.01$ vs group C; $\Delta\Delta$ $P < 0.01$ vs group D

不良影响, D 组的 IL-6、IL-8、TNF- α 与 G 组比较差异不显著, 这可能跟海藻酸钠本身具有免疫调节作用有关, 但总蛋白、Hyp 较 G 组升高; F 组各项指标均显著高于 B 组和 D 组 ($P < 0.01$), 且 Hyp 与 E 组相比无下降趋势, 表明 2%海藻酸钠 RTRE-ISG 可能由于黏度过大或其他一些原因使肺部炎症反应和致纤维化作用强于 1%海藻酸钠 RTRE-ISG, 但 D 组中 Hyp 的表达较 C 组中有所下降, 说明随着时间的推移 1%海藻酸钠 RTRE-ISG 致肺纤维化作用有所减弱。

2.5 体内滞留性研究^[9]

2.5.1 Cy5.5-凝胶体系的制备 将 1%海藻酸钠 RTRE-ISG 灭菌后, 加入水溶性荧光染料 Cy5.5^[10-11] (激发波长 670 nm, 发射波长 760 nm), 使其在凝胶中溶解, 均匀分散后, 4 °C 冷藏保存。

2.5.2 受试药物 考察 1%海藻酸钠制备的 RTRE-ISG (含小毛茛内酯 174 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 在体内的滞留性, 同时以 2%卡波姆凝胶 RTRE-ISG (含小毛茛内酯 174 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 为对照。

2.5.3 活体荧光成像 采用 Nu/Nu 裸鼠 (20 g 左右), 分成 2 组, 每组 3 只。小鼠 ip 戊巴比妥钠 (7.5 mg/kg) 麻醉, 气管插管, 将 0.2 mL 1%海藻酸钠 RTRE-ISG 或 2%卡波姆凝胶 RTRE-ISG 注入肺底部, 再注入处方量的 CaCl_2 , 分别在规定时间内置入活体成像仪中观察复合缓释载体在小鼠体内的滞留情况。由实验结果 (图 1 和 2) 可知, 1%海藻酸钠 RTRE-ISG 注入 Nu/Nu 裸鼠肺部后即刻出现荧光, 随着时间的推移肺部荧光逐渐减弱, 且其在肺部滞留时间长达 120~144 h, 而 2%卡波姆凝胶 RTRE-ISG 在体内的滞留时间仅为 25~36 h。

2.6 肺部药物浓度的测定^[9]

2.6.1 色谱条件 Hypersil ODS 色谱柱 (150

mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm , 伊利特公司), 流动相甲醇-乙腈-水 (40:40:20), 体积流量 1 mL/min, 柱温 30 °C, 检测波长 254 nm, 进样量 20 μL 。

2.6.2 标准曲线绘制 精密称取小毛茛内酯对照品 1.24 mg, 加甲醇定容于 50 mL 量瓶中, 作为储备液。精密吸取适量储备液, 加甲醇分别稀释成 24.80、12.40、6.20、3.10、1.55、0.78、0.39、0.18、0.09、0.05 mg/L 的系列溶液, 按“2.6.1”项条件测定, 以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 得回归方程 $Y = 32\,658 X - 259$ ($R^2 = 0.999\,1$), 线性范围 0.18~24.8 mg/L。

2.6.3 精密度试验 分别精密量取 0.39、3.1、24.8 mg/L 共 3 个质量浓度的小毛茛内酯对照品溶液, 于 1 d 内重复测定 5 次, 计算日内精密度 RSD 分别为 1.32%、0.33%、0.17%, 连续测定 5 d, 计算日间精密度 RSD 分别为 1.74%、1.02%、0.85%。

2.6.4 稳定性试验 取大鼠空白肺灌洗液 1 mL, 配成含小毛茛内酯对照品 4.28 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的灌洗液 ($n = 5$), 作为质控样品, 分别在 0.5、1、2、4、8、12、24、48 h 进行 HPLC 分析, 计算得 RSD 均小于 5%, 可知小毛茛内酯在大鼠肺灌洗液中 48 h 稳定。

2.6.5 回收率试验 取大鼠空白肺灌洗液 1 mL, 配成含小毛茛内酯对照品分别为 0.27、4.28、34.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的灌洗液, 每个浓度配制 5 份, 作为质控样品, 进行 HPLC 分析, 将测得结果与相应浓度对照品溶液结果相比较, 计算绝对回收率。0.27、4.28、34.20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的灌洗液的绝对回收率分别为 (86.61 $\pm$ 3.96)%、(92.60 $\pm$ 1.32)%、(94.96 $\pm$ 1.91)%, RSD 分别为 4.17%、1.14%、2.21%。

2.6.6 改良肺泡灌洗技术的建立 大鼠 ip 过量戊巴比妥钠致死, 仰卧位固定在手术台上, 打开胸腔, 沿甲状软骨的上缘剪下气管, 取出全肺, 采用外径

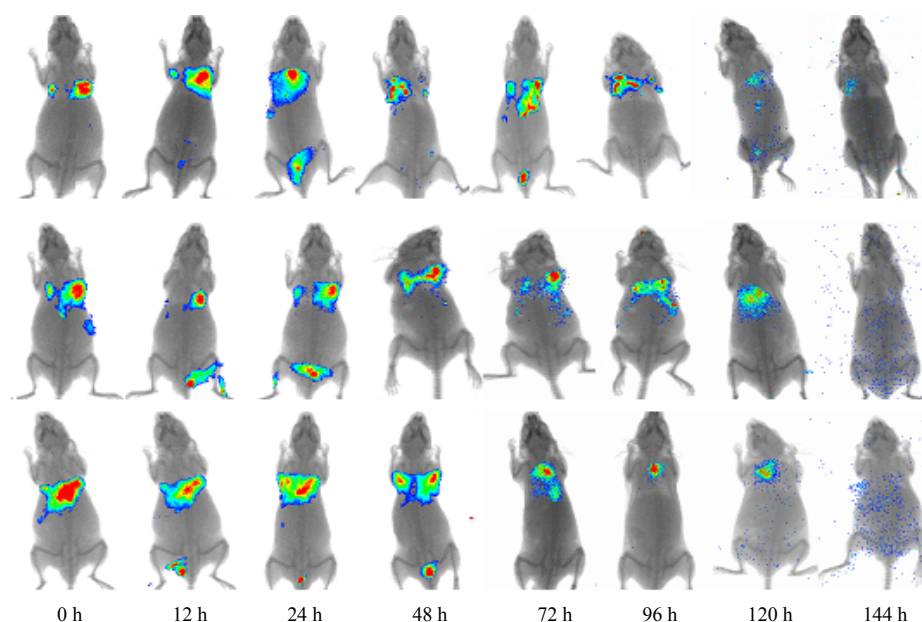


图 1 1%海藻酸钠制备的 RTRE-ISG 肺部滞留性

Fig. 1 Retention ability of RTR-ISG prepared by 1% sodium alginate in lung

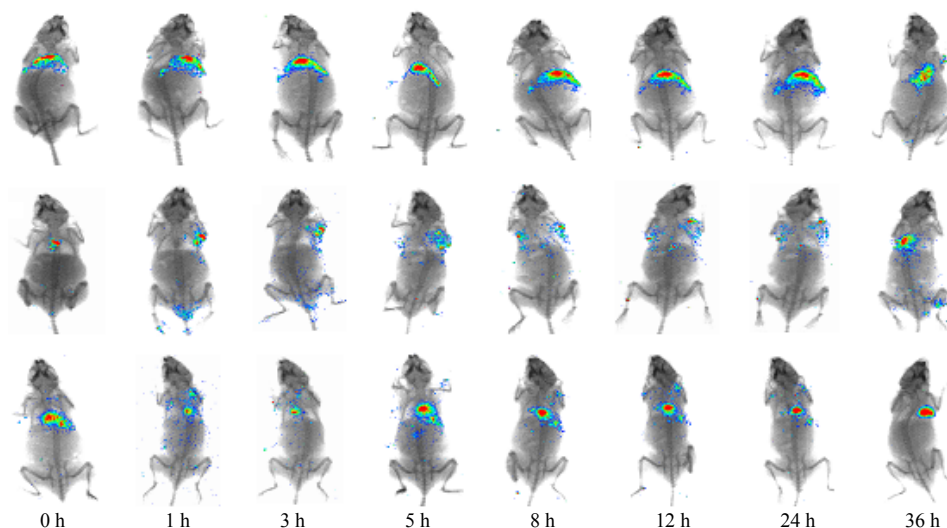


图 2 2%卡波姆凝胶制备的 RTRE-ISG 肺部滞留性

Fig. 2 Retention ability of RTRE-ISG prepared by 2% CG in lung

为 1.8 mm 的静脉导管作为肺泡灌洗用导管, 并将插管沿气管缓缓插入, 待插管到达气管叉时, 气管上端用线扎紧, 用注射器吸取生理盐水 2.5 mL, 通过导管将生理盐水缓慢注入肺部, 可见肺部逐渐变得膨大、苍白, 缓慢回抽灌洗液, 再将所得液体缓慢注入肺部, 如此反复抽注 4 次, 最后一次边回抽边将插管缓慢外拔, 此为第 1 次灌洗, 重复上述操作 3 次, 共完成 4 次灌洗, 最后挤压出存留在肺部的全部灌洗液, 合并上述所有灌洗液, 4 ℃ 离心

(1 500 r/min) 10 min, 冷冻干燥待测。

2.6.7 给药方案 大鼠 ip 戊巴比妥钠 (60 mg/kg) 麻醉后, 气管插管, 注入 1% 海藻酸钠 RTRE-ISG 或 2% 卡波姆凝胶 RTRE-ISG (均含小毛茛内酯 174 μg/mL) 0.2 mL, 并注入处方量的 CaCl₂, 分别在 0、0.5、1、3、5、8、12、24、48、72、96、120、144 h 处死大鼠, 每个时间点 6 只动物, 按“2.6.6”项方法提取肺灌洗液并处理样品, 按“2.6.1”项下条件测定得药物质量浓度。

2.6.8 肺部药物浓度-时间曲线 以时间为横坐标, 药物浓度为纵坐标, 绘制 RTRE-ISG 的肺局部药物浓度-时间曲线图。结果见图 3。由结果可知, 1% 海藻酸钠 RTRE-ISG 在大鼠肺部 5 h 药物释放浓度达到峰值为 5.24 $\mu\text{g/mL}$, 144 h 药物浓度为 0.08 $\mu\text{g/mL}$, 2% 卡波姆凝胶 RTRE-ISG 在大鼠肺部 3 h 药物释放浓度达到峰值为 9.21 $\mu\text{g/mL}$, 48 h 药物浓度为 0.03 $\mu\text{g/mL}$ 。

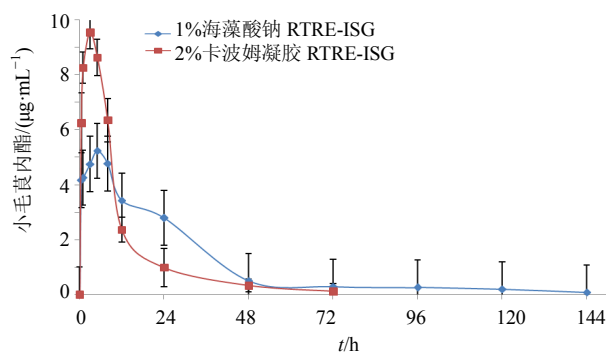


图 3 RTRE-ISG 肺局部药物浓度-时间曲线

Fig. 3 Concentration-time curves of RTRE-ISG in local lung

3 讨论

由于猫爪草提取物中含有多种成分, 可能会影响 RTRE-ISG 的离子敏感性, 通过实验证明, 1% 和 2% 海藻酸钠的 RTRE-ISG 再加入 CaCl_2 后, 依然能形成凝胶, 证明其离子敏感性未受影响。

在外源性化合物经呼吸道染毒对肺毒性作用的研究中, 特别是动物实验研究, 已越来越多地应用支气管肺泡灌洗技术。可以通过对支气管肺泡灌洗液中多种成分的分析, 探讨外源化合物对肺的毒性作用机制。

在本研究中选取了 5 种细胞因子作为观察指标, 分别为总蛋白、Hyp、IL-6、TNF- α 、IL-8, 肺灌洗液中总蛋白的变化可反映肺的急性损伤情况; Hyp 作为胶原纤维中特有的一类非必需氨基酸, 是肺成纤维细胞是肺内胶原的主要合成细胞, 而肺组织 Hyp 的量与胶原量之间具有较确定的数量关系, 因此, 研究肺组织 Hyp 量的表达变化可以反映肺纤维化的程度。IL-6 是由活化的单核细胞、成纤维细胞、内皮细胞等产生的细胞因子, 是炎症急性期合成的重要介质, 作为一种重要的非特异性炎症因子, 参与肺部炎症病理过程。TNF- α 是早期主要的前炎症因子之一, 是炎症反应释放最早、最重要的内源性介质。IL-8 是一种强而有力的中性粒细胞趋

化和活化因子, 由单核细胞、上皮细胞、表皮细胞、纤维母细胞和 T 淋巴细胞在 IL-1、TNF 和外源性因子细菌多糖的刺激下产生, 主要生物学作用是趋化并激活中心粒细胞, 促进中性粒细胞的溶酶体酶活性和吞噬作用, 对嗜碱性粒细胞和 T 细胞也有一定的趋化作用。

通过对大鼠肺部灌洗液细胞因子检测发现, 给药 1 d 后, 给予生理盐水组及 RTRE-ISG 组较对照组均有升高, 这可能是由于异物进入实验动物肺部引起的一过性反应; 给药 7 d 后, 给予生理盐水组细胞因子与对照组相比无显著性差异, 表明生理盐水不会对大鼠肺部产生不良影响, 给予 1% 海藻酸钠制备的 RTRE-ISG 组的 IL-6、IL-8、TNF- α 较对照组无差异, 这可能跟海藻酸钠本身具有免疫调节作用有关, 但总蛋白、Hyp 较对照组较高, 表明制剂有潜在的致肺纤维化的作用, 2% 海藻酸钠 RTRE-ISG 组各项指标较生理盐水组均高, 且 Hyp 与给药 1 d 相比无下降趋势, 表明 2% 海藻酸钠组可能由于黏度过大或其他一些原因使肺部炎症反应和致纤维化作用强于 1% 海藻酸钠 RTRE-ISG 组, 但 1% 海藻酸钠 RTRE-ISG 给药 7 d 后 Hyp 的水平较给药 1 d 后有所下降, 这说明随着时间的推移 1% 海藻酸钠 RTRE-ISG 致肺纤维化的作用有所减弱, 但其长期给药致肺纤维化问题还需进一步通过实验证明。安全性实验数据显示 1% 海藻酸钠 RTRE-ISG 较 2% 海藻酸钠 RTRE-ISG 肺部安全性好。

本实验共有 2 处制备肺泡灌洗液的方法, 但在操作手法上有所不同, 第 1 次是经典的肺泡灌洗液的制备方法, 主要是为了得到肺部表达的炎症因子, 第 2 次是本课题组改良的肺泡灌洗液的制备方法, 重点是为了得到肺部滞留的药物, 两者操作最大的区别在于最后一步经典的方法无需挤压肺部, 只是用导管吸出肺部灌洗液即可 (避免挤压时炎症因子等过度表达), 而改良法为了充分得到肺部滞留的药物, 需要挤压肺部时灌洗液全部挤出, 最大限度地提高药物的回收率。

本实验大鼠肺部滞留性实验与肺部药物浓度实验均采用 2% 卡波姆凝胶 RTRE-ISG 作对照, 结果显示, 1% 海藻酸钠 RTRE-ISG 体内滞留性优于对照组。

参考文献

- [1] Girling D J. The hepatic toxicity of antituberculosis regimens containing isoniazid, rifampicin and pyrazinamide [J]. *Tubercle*, 1977, 59(1): 13-32.

- [2] 何柯新, 吕世静. 猫爪草有效成分抗结核治疗进展 [J]. 检验医学与临床, 2008, 5(6): 354-356.
- [3] 陈 志, 张广宇. 支气管镜介入技术在支气管结核治疗中的应用进展 [J]. 中国防痨杂志, 2011, 33(8): 509-510.
- [4] 胡春晖, 朱春燕. 利福平微球-ISG 复合给药系统的研究 [J]. 中国药理学杂志, 2011, 46(4): 283-286.
- [5] 胡春晖, 邱祥建, 袁 庆. 正交试验优选猫爪草中小毛茛内酯的提取工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 20(12): 17-19.
- [6] 胡春晖. 猫爪草提取物离子敏感型原位凝胶的制备及体外释药研究 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(10): 2412-2413.
- [7] Ji X Y, Li S Y, Meng S, *et al.* Synthesis and antimycobacterial activity of ternatolide [J]. *J Chin Pharma Sci*, 2012, 21(3): 265-268.
- [8] 李艳贞, 张志荣, 林 燕, 等. 肺部吸入微球致大鼠急性肺损伤的初步研究 [J]. 中国药理学杂志, 2012, 47(15): 1123-1126.
- [9] Hu C H, Feng H Z, Zhu C Y. Preparation and characterization of rifampicin-PLGA microspheres/sodium alginate in situ gel combination delivery system [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2012(95): 162-169.
- [10] AlHilal T A, Alam F, Park J W, *et al.* Prevention effect of orally active heparin conjugate on cancer-associated thrombosis [J]. *J Controlled Release*, 2014, 195: 155-161.
- [11] Hu S H, Fang R H, Chen Y W, *et al.* Photoresponsive Protein-Graphene-Protein Hybrid Capsules with dual targeted heat-triggered drug delivery approach for enhanced tumor therapy [J]. *Adv Funct Mater*, 2014, 24(26): 4144-4155.