

网络出版时间: 2015-12-30 14:38 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20151230.1438.006.html>

INH-PZA-PLGA 缓释微球制备及体外释药性能的研究

杨宗强^{1*}, 何胤^{2*}, 施建党¹, 赵晨², 岳学峰², 刘海涛³, 张小敏⁴, 王洁⁴

摘要 目的 研究异烟肼 (INH)、吡嗪酰胺乳酸 (PZA)-羟基乙酸共聚物 (PLGA) 微球的制备及体外释药特性。方法 以 PLGA 为载体, 采用复乳-溶剂挥发法制备 INH-PZA-PLGA 微球; 扫描电子显微镜 (SEM) 观察 INH-PZA-PLGA 微球形态特征; 计算 INH-PZA-PLGA 微球中 INH、PZA 的载药量、包封率; 高效液相色谱法 (HPLC) 检测 INH-PZA-PLGA 微球在不同时段模拟体液中 INH、PZA 的药物浓度, 观察其是否均大于 10 倍最小抑菌浓度 (MIC), 计算其各阶段释药量、累计释药度并拟合药物体外释放数学方程并观察其体外释药特性。结果 INH-PZA-PLGA 微球成球规整、分布均匀、表面光滑、分散性好, 平均粒径为 $(11.04 \pm 0.4) \mu\text{m}$, INH 和 PZA 的载药量分别为 $(21.78 \pm 0.27) \%$ 、 $(24.91 \pm 0.16) \%$, 包封率分别为 $(58.52 \pm 1.65) \%$ 、 $(72.26 \pm 1.28) \%$ 。INH-PZA-PLGA 微球中 INH 突释现象较 PZA 突释现象明显, 46 d INH 累计释放量 93.01%, PZA 累计释放量 77.40%。前 9 d 两种药物释放规律拟合 Higuchi 曲线的 R^2 值最大, 可认为两种药物按从高浓度向低浓度的规律释放; 12 d 后两种药物拟合零级曲线的 R^2 值最大, 可认为两种药物按等量的规律释放。结论 INH-PZA-PLGA 微球具有良好的体外药物缓释性能, 阶段释放量均大于 10 倍的 MIC, 理论上可达到体内杀死结核杆菌的浓度, 为脊柱结核术后局部给药研究奠定基础。

关键词 脊柱结核; INH-PZA-PLGA 缓释微球; 体外; 释药性能

中图分类号 R 978.3; R 944

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)01-0009-05

随着脊柱结核生物材料的发展, 其疗效明显改善, 但药物化疗仍是治疗的基础和根本^[1-2]。药物疗效取决于病灶局部药物浓度, 由于病灶部位硬化

死骨形成, 局部血运差, 常规抗结核药物化疗难以达到有效杀菌药物浓度, 并易导致耐药结核病的出现, 已成药物化疗难以奏效、疾病迁延不愈和复发的主因^[3]。因此, 开发具有靶向、高效、低毒、缓释的新型抗结核药物, 提高脊柱结核局部药物浓度成为急需解决的难题。聚乳酸-羟基乙醇酸共聚物 (poly lactic-co-glycolic acid, PLGA) 有良好的生物相容性、生物降解性、载药性及定向性等特征^[4]。异烟肼 (isoniazide, INH)、吡嗪酰胺 (pyrazinamide, PZA) 是一线抗结核药物, 理化性质相近, 对杀死结核杆菌起到重要的作用。该研究以 PLGA 为载药载体, 采用复乳-溶剂挥发法制备载 INH、PZA 两种抗结核药物的微球^[5], 为后期体内药代动力学研究及脊柱结核局部用药治疗研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器 聚乳酸-乙醇酸 (PLGA 90/10 M: 9.7 万, 济南岱罡生物工程有限公司); PBS 缓冲液 (pH 7.4, 美国 Sigma 公司); 聚乙烯醇 (PVA, 美国 Sigma 公司); 聚乙二醇 (PEG 进口分装); INH 原药、PZA 原药 (美国 Sigma 公司); INH、PZA 标准品、庚烷磺酸钠 (中国药品技术监督检验所); 乙腈 (色谱纯, 美国 Fisher 公司); 高效液相色谱仪 (HPLC) D-2000 (日本日立公司); CN (5 μm) 250 mm $\times$ 4.6 mm 色谱柱 (美国 Waters 公司); 低温高速离心机 ALLEGRA6 (美国 Beckman 公司); 精密电子天平 (北京赛多利思科学仪器有限公司); 79HW-1 型恒温磁力搅拌器 (浙江乐成电器厂); 超声波清洗器 (深圳市诺赛德精密科技有限公司); 冷冻干燥机 (美国 Labconco 公司); S3400 扫描电镜 (日本日立公司)。

1.2 方法

1.2.1 INH-PZA-PLGA 微球的制备 准确称量 300 mg PLGA 溶于 10 ml 二氯甲烷中, 超声振荡均匀分散形成油相 (O); 再分别准确称量 30 mg INH 原药、30 mg PZA 原药置于 2 ml 的超纯水与甲醇的混合液 ($V/V=1:1$) 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下使其完全溶解形成内水相 (W_1); 将上述油相 (O) 缓慢注入内水相溶液中持续

2015-09-30 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81360275); 宁夏自然科学基金 (编号: NZ13131); 宁夏医科大学校级项目 (编号: XT20)

作者单位: 宁夏医科大学总医院¹ 脊柱骨科、³ 创伤骨科, 银川 750004

宁夏医科大学² 研究生学院、⁴ 医学科学技术研究中心, 银川 750004

作者简介: 杨宗强 男, 硕士研究生;

施建党 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: shi_jiandang@163.com

* 对本文具有同等贡献

搅拌乳化 10 min,使其均匀分散形成初乳乳剂(W_1/O);将上述初乳乳剂 60 滴/min 滴入 50 ml 1% PVA 溶液(外水相 W_2),外水相(W_2)中含有 5 ml 0.1% PEG 溶液,持续搅拌形成复乳($W_1/O/W_2$);将复乳乳剂续搅拌过夜,使二氯甲烷完全挥发,达到固化微球的目的,充分离心(5 000 r/min,15 min)沉降微球,再经超纯水反复冲洗离心 3 次,冻干干燥并放置 -20 °C 条件下避光保存备用。同样方法制备 3 批备用。

1.2.2 HPLC 色谱条件、标准曲线建立及回归方程的计算 采用 WatersCN 色谱柱(5 μ m,250 mm $\times$ 4.6 mm);预柱 SB-C18(5 μ m,4.6 mm $\times$ 2.5 mm);流动相:0.01 mol/L 庚烷磺酸钠(纯磷酸滴定 pH 2.4):乙腈=45:55;检测波长 270 nm;柱温:30 °C;进样体积 20 μ l;流速 1 ml/min。

利用 HPLC 在上述色谱条件下,检测配制 INH 浓度分别为 7.300、2.920、1.460、0.730、0.292、0.146 μ g/ml,进样 6 次,进样体积为 20 μ l;检测配制 PZA 浓度分别为 7.150、2.860、1.430、0.715、0.286、0.143 μ g/ml,进样 6 次,进样体积为 20 μ l,记录各自色谱图的峰面积,以浓度 X 对峰面积 Y 进行线性回归,分别得校准曲线方程:

$\hat{Y}_{INH} = 17\,471X - 1\,418.4$, $R^2 = 0.999\,8$,线性范围:7.300 ~ 0.146 μ g/ml

$\hat{Y}_{PZA} = 37\,813X - 2\,904.4$, $R^2 = 0.997\,7$,线性范围:7.150 ~ 0.143 μ g/ml

1.2.3 空白 PLGA 聚合物缓释微球干扰性研究

按 1.2.1 项的方法制备不含 INH、PZA 的聚合物缓释微球,称取一定量空白 PLGA 缓释微球置于 PBS (pH 7.4) 溶液一定时间取浸提液,按上述色谱条件进样,记录色谱图。

1.3 INH-PZA-PLGA 微球的研究

1.3.1 形态学分析及粒径的测定 INH-PZA-PLGA 聚合物微球分散导电胶带表面,烘干,喷金后置于 SEM 观察微球的形态特征并拍照存档,分别观察 100 粒微球,测量出各个微球的直径,计算其平均粒径。

1.3.2 载药量及包封率测定 分别精确称取 50 mg INH-PZA-PLGA 微球,于一定量的二氯甲烷中完全溶解,甲醇定容 100 ml,超声后,按上述条件 HPLC 法测定药物含量并按如下公式计算载药量。

载药量(%) = 微球中含药量/载药 PLGA 微球总质量 $\times$ 100%

INH-PZA-PLGA 微球备用微球称量后,于一定

量的二氯甲烷完全溶解,甲醇定容 100 ml,超声后,按上述条件 HPLC 法测定药物含量并按如下公式计算包封率。

包封率(%) = 微球中实际含药量/理论投药量 $\times$ 100%

1.3.3 INH-PZA-PLGA 微球体外药物缓释实验

准确称取 20 mg INH-PZA-PLGA 微球置于透析袋中,加入 2.5 ml PBS 缓冲液(pH 7.4),在 37 °C 恒温水浴箱中将密闭好的透析袋放入盛有 10 ml PBS 液摇床,严格于 0.125、0.25、0.5、1、2、3、6、9、12、15、18、25、32、39、46 d 各时间点取浸提液 5 ml,每次取样后向原缓冲液中及时补加 5 ml PBS。微球浸提液用 0.22 μ m 滤器过滤装入 1.5 ml 进样瓶中,采用“1.2.2”液相条件进行检测并记录峰面积,将峰面积值代入对应的标准曲线方程中,计算出各时间点药物释放量,再累计释药度,以缓释时间为 X 轴,累计释药度为 Y 轴,拟合零级动力学缓释曲线;以释放时间为 X 轴,累积释药度的常用对数与 1 的差值为纵坐标,拟合一级动力学缓释曲线;以释放时间的 1/2 次方为 X 轴,累积释药度为 Y 轴,拟合 Higuchi 释放曲线,比较其 R^2 值,观察两种药物在体外的缓释规律。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示计量数据;变量间的相关性分析采用直线回归相关分析,以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 空白 PLGA 微球干扰性研究 按上述色谱条件,空白 PLGA 微球浸提液在 INH 和 PZA 的色谱峰处没有出峰(图 1A),再取实验样品浸提液按上述色谱条件进 20 μ l,样品主峰保留时间与标准品溶液主峰的保留时间一致,两药保留时间分别为 3.76 min(INH)、2.96 min(PZA),两者分离良好(图 1B),因此,空白 PLGA 微球在此色谱条件下对主峰无干扰。

2.2 INH-PZA-PLGA 缓释微球形态学观察及粒径分析 INH-PZA-PLGA 微球外观呈白色,扫描电子显微镜(SEM)下微球大小均匀、外观圆整、表面光滑、互不粘连及分散性好。平均粒径为(11.04 $\pm$ 0.4) μ m,粒径变化范围小,分布差异性小,见图 2。

2.3 INH-PZA-PLGA 微球含药量 INH-PZA-PLGA 缓释微球中 INH 和 PZA 的载药量分别为(21.78 $\pm$ 0.27)%、(24.91 $\pm$ 0.16)%,包封率分别为(58.52 $\pm$ 1.65)%、(72.26 $\pm$ 1.28)%。

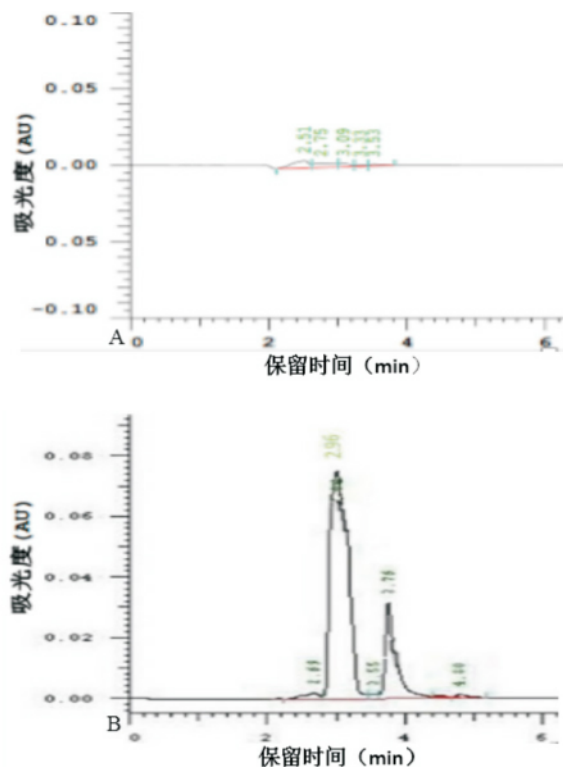


图1 色谱图

A: 空白 PLGA 微球浸提液色谱图; B: INH、PZA 保留时间的色谱图

图

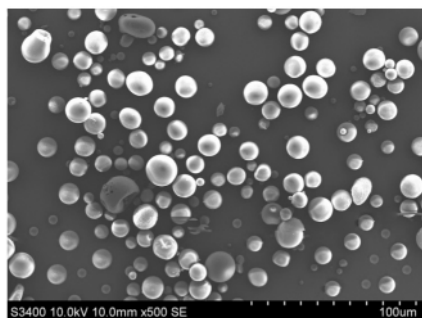


图2 INH-PZA-PLGA 微球的扫描电镜图 ×500

INH-PZA-PLGA 微球中INH、PZA各时间段的释药量和累计释药度的结果见表1。第6天时INH的累计释药度达51.27%,第12天时PZA的累计释药度达53.76%,两药的累计缓释度均超过了50%。46 d时INH累计释放量达93.01%,PZA的累计释药度达77.40%。INH的最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)是0.025~0.05 μg/ml,在pH 5.0的情况下,PZA的MIC为1.5 μg/ml。药物浓度大于10倍MIC即达到杀死结核杆菌的药物浓度,46 d时INH和PZA的阶段释药度分别为18.22、58.47 μg/ml,均大于两种药物各自10倍MIC。INH-PZA-PLGA微球INH、PZA体外药物释放曲线的数学方程(表2),前9 d两种药物释放进行拟合曲线,零级曲线和一级曲线二者 R^2 均小于拟合Higuchi曲线的 R^2 ,可认为两种药物按从高浓度向低浓度的规律释放;12 d后药物释放进行拟合曲线,Higuchi曲线和一级曲线二者 R^2 均小于拟合零级曲线的 R^2 ,可认为两种药物按等量的规律缓释。

表1 微球中INH、PZA阶段释药量和累计释药度

时间(d)	阶段释药量(μg)		累计释药度(%)	
	INH	PZA	INH	PZA
0.125	450.97	398.07	10.35	6.66
0.25	218.06	378.75	15.36	12.99
0.5	306.11	360.80	22.39	19.03
1	167.05	358.36	26.22	25.02
2	312.29	344.38	33.39	30.78
3	373.39	346.44	41.96	36.58
6	405.27	344.44	51.27	42.34
9	405.46	340.10	60.57	48.03
12	469.68	342.75	71.36	53.76
15	278.67	262.01	77.75	58.14
18	180.81	94.81	81.90	59.73
25	154.80	201.01	85.46	63.09
32	144.60	274.20	88.78	67.68
39	92.57	289.07	90.89	72.51
46	91.09	292.33	93.01	77.40

2.4 INH-PZA-PLGA 微球体外药物释放实验

表2 微球中INH、PZA各自释放曲线的数学方程

时间段(d)	药物	拟合方程		
		零级	一级	Higuchi
0~9	INH	$Mt/M\infty = 7.1069x + 0.7078$ $R^2 = 0.9838$	$\ln(1 - Mt/M\infty) = -0.049x + 0.0343$ $R^2 = 0.9445$	$Mt/M\infty = 0.0537x - 0.3624$ $R^2 = 0.9861$
	PZA	$Mt/M\infty = 4.0654x + 16.563$ $R^2 = 0.8111$	$\ln(1 - Mt/M\infty) = -0.0695x - 0.1818$ $R^2 = 0.5879$	$Mt/M\infty = 0.064x - 0.3759$ $R^2 = 0.9439$
12~46	INH	$Mt/M\infty = 3.5043x + 70.148$ $R^2 = 0.9938$	$\ln(1 - Mt/M\infty) = -0.0277x + 1.483$ $R^2 = 0.9600$	$Mt/M\infty = 0.1564x - 8.1228$ $R^2 = 0.9328$
	PZA	$Mt/M\infty = 0.6514x + 47.217$ $R^2 = 0.9906$	$\ln(1 - Mt/M\infty) = -0.0043x - 0.6915$ $R^2 = 0.9849$	$Mt/M\infty = 0.1479x - 4.5206$ $R^2 = 0.9855$

3 讨论

由于抗结核药物的剂型特征、给药方式等影响,对脊柱结核的治疗效果影响最为严重。为了提高结核病灶局部的药物浓度,许多研究者开始改变抗结核药物的剂型和给药方式,以提高化疗效果。新型缓释技术的研究是目前局部给药的最佳选择,PLGA微球具有良好的组织相容性、适宜的释药性能以及相对简单的制备方式,在体内最终产物是二氧化碳和水,降解速度缓慢^[6-7],故载抗结核药物的PLGA缓释微球的研究具有一定的可行性。

本研究表明PZA体外释放规律与Malathi et al^[8]制备载PZA-PLGA缓释微球缓释规律一致,但对于INH-PLGA缓释微球体外释放规律的研究未见文献报道。载药量和包封率是评价聚合物缓释微球的重要指标,PLGA浓度、PVA浓度、油水相体积比等是决定PLGA缓释微球载药量和包封率的关键因素。刘江涛等^[9]制备INH聚乳酸微球其包封率为 $(67.51 \pm 0.57)\%$,载药率为 $(32.82 \pm 0.65)\%$,42 d累计释药量占40%。但对于PLGA微球载两种理化性质相似INH、PZA的相关研究未见报道。本实验采用黄术^[10]研究报道PLGA微球,其最佳处方PLGA浓度15%、PVA浓度2%、油/水比1:5,制备INH-PZA-PLGA微球中INH和PZA的载药量分别为 $(21.78 \pm 0.27)\%$ 、 $(24.91 \pm 0.16)\%$,包封率分别为 $(58.52 \pm 1.65)\%$ 、 $(72.26 \pm 1.28)\%$,且药物缓释时间约46 d时INH和PZA累计释药度分别为93.01%、77.40%,本研究的载药量、包封率、缓释时间较其他研究有所改善,其存在很多方面的原因。本研究在微球制备过程中外水相中加入0.1% PEG溶液,PEG是一种线形聚醚二醇,常被用作非离子亲水聚合物,具有极强的溶解性,能溶于大部分溶剂,而且其无毒性、无免疫原性和抗原性,并且其能改善材料的亲水性,起到稳定剂的作用^[11]。Wu et al^[12]研究表明聚赖氨酸和透明质酸使得左氧氟沙星-PLGA微球中水溶性左氧氟沙星的载药量由31%增加到约50%,且34 d药物累计释放量约为15.2%。INH的载药量和包封率均低于PZA的载药量和包封率,INH累计释放量明显大于PZA累计释放量,究其原因可能与两种药物的理化性质有关系。INH属于极性分子,极易溶于水,PZA也属于极性分子,但其微溶于水中,在甲醇中加热37℃完全溶解,所以当初乳加入到外水相时,INH极易溶于水,导致微球在包封固化过程中含INH减少进而导

致INH载药率和包封率低于PZA,但未见其他相关文献详细报道。微球缓释的整个过程中INH较PZA明显存在不平稳的突释现象,前3 h内两种药物的突释可能与微球制备完成后冲洗不彻底有直接关系,但3~12 h INH存在其他不平稳的突释,主要是由于后期随着微球在缓冲溶液中吸水溶胀并水解以及异烟肼的理化性质造成^[13]。约12 d两种药物浓度明显增高,可能与微球支架崩解有直接关系。INH-PZA-PLGA微球药物释放时间较长,除上述物理化性质的影响外,PBS不能和体内完全一致,PLGA在体外和体内降解速度完全不一致,但未见明确文献报道。

聚合物缓释微球的制备过程中,选择的载药载体及制备方法的不同,聚合物缓释微球的粒径差异性很大。Hu et al^[14]采用SPG分散方法制备载RFP-PLGA微球,平均粒径为 $1.748 \mu\text{m}$ 。本实验中制备的载药PLGA微球的平均粒径为 $(11.04 \pm 0.40) \mu\text{m}$,缓释微球的用途不同,其制备方法也就不同,导致粒径有很大差异,主要因为本研究在外水相中加入1% PEG溶液5 ml,导致粒径增大。在聚合物缓释微球的制备过程中发现:转速对微球粒径大小有较大影响,转速越快,微球粒径越小,反之微球粒径越大;油相滴入外水向的方法方式对粒径大小也有关,与Hirota et al^[15]在制备载利福平PLGA微球的过程中证实一致。

本研究以PLGA作为载体制备INH-PZA-PLGA二联微球,载药效果好,理论上能够实现局部给药及达到有效治疗浓度的目的,为后期体内缓释实验提供研究基础,但本实验的研究结果对脊柱结核术后理论化疗还存在载药量低、缓释时间短等缺点,应继续完善或改进制备方法,提高载药量、延长缓释时间以及开展临床研究等。

参考文献

- [1] Shi J D, Wang Z L, Geng G Q, et al. Intervertebral focal surgery for the treatment of non-contiguous multifocal spinal tuberculosis [J]. *Int Orthop*, 2012, 36(7): 1423-7.
- [2] Wang Z L, Shi J D, Geng G Q, et al. Ultra-short-course chemotherapy for spinal tuberculosis: five years of observation [J]. *Eur Spine J* 2013, 22(2): 274-81.
- [3] Ozaki S, Saito A, Nakaminami H, et al. Comprehensive evaluation of fibrin glue as a local drug-delivery system-efficacy and safety of sustained release of vancomycin by fibrin glue against local methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection [J]. *J Artif Organs*, 2014, 17(1): 42-9.
- [4] Hong S J, Yu H S, Kim H W. Tissue engineering polymeric mi-

- crocarriers with macroporous morphology and bone-bioactive surface[J]. *Macromol Biosci*, 2009, 9(7): 639–45.
- [5] Liu J, Lv X. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of lido-caine-loaded biodegradable poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(10): 17469–77.
- [6] Rossi F, Perale G, Papa S, et al. Current options for drug delivery to the spinal cord[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2013, 10(3): 385–96.
- [7] Hua X, Tan S, Bandara H M, et al. Externally controlled triggered-release of drug from PLGA micro and nanoparticles [J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): 11–7.
- [8] Malathi S, Balasubramanian S. PLGA Nanoparticles for Anti Tuberculosis Drug Delivery [J]. *Adv Mat Res*, 2012, 548(10): 465–9.
- [9] 刘江涛,王永清,夏侃等. 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): 290–3.
- [10] 黄术. RFP-PLGA 骨缓释复合体的初步实验研究[D]. 长沙: 中南大学, 2013.
- [11] Veronese F M, Pasut G. PEGylation: Posttranslational bioengineering of protein biotherapeutics[J]. *Drug Discov Today Technol*, 2008, 5(2–3): e57–e64.
- [12] Wu G, Chen L, Li H, et al. Comparing microspheres with different internal phase of polyelectrolyte as local drug delivery system for bone tuberculosis therapy [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 15(11): 1–8.
- [13] 杨宗强,何胤,施建党. 聚乙二醇对利福平-聚乳酸-羟基乙酸聚合物缓释微球性能的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(3): 421–6.
- [14] Hu C, Feng H, Zhu C. Preparation and characterization of rifampicin-PLGA microspheres/sodium alginate in situ gel combination delivery system [J]. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 2012, 95(15): 162–9.
- [15] Hirota K, Hasegawa T, Nakajima T, et al. Delivery of rifampicin-PLGA microspheres into alveolar macrophages is promising for treatment of tuberculosis [J]. *J Control Release*, 2010, 142(3): 339–46.

To research INH-PZA-PLGA sustained release microspheres preparation and the drug release characteristics *in vitro*

Yang Zongqiang¹, He Yin², Shi Jiandang¹, et al

(¹Dept of Orthopedic Spine General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004;

²Graduate School of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004)

Abstract Objective To research the INH, PZA poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) sustained-release microsphere preparation and the drug release characteristic *in vitro*. **Methods** PLGA as a carrier, INH-PZA-PLGA sustained-release microsphere was prepared by using double emulsion-solvent evaporation method. INH-PZA-PLGA sustained-release microsphere feature was observed by scanning electron microscopy (SEM). The drug loading and encapsulation efficiency of INH, PZA were computed respectively in INH-PZA-PLGA polymeric microsphere. The drug concentration and the cumulative release of INH, PZA were detected by high performance liquid chromatography (HPLC) in simulated body fluid in different periods and observed whether they were greater than minimal inhibitory concentrations (MIC) 10 times, and calculated the cumulative release rate, fitted mathematical equations *in vitro*, and release characteristics observed *in vitro*. **Results** INH-PZA-PLGA microsphere was balling structure, evenly distributed, smooth surface and good dispersion each other, the average particle size was $(11.04 \pm 0.4) \mu\text{m}$ under the SEM. The drug loading of INH was $(21.78 \pm 0.27) \%$, PZA was $(24.91 \pm 0.16) \%$, the encapsulation efficiency of INH was $(58.52 \pm 1.65) \%$, PZA was $(72.26 \pm 1.28) \%$. In the microsphere, INH was more obvious than PZA in burst release, the cumulative release degree of INH was 93.01% and PZA was 77.40% at 46th day. INH and PZA with Higuchi curve kinetics R^2 were the biggest 9th day before, so both drugs could be considered their releases behavior, which was from the high concentration to low concentration *in vitro*. INH and PZA with zero-order kinetics R^2 were biggest 12th day after, so both drugs could be considered by the same amount of law to release. **Conclusion** INH-PZA-PLGA microspheres have good drug release performance, which the drug release is 10 times more than MIC *in vitro*. It can be achieved to kill tuberculosis *in vivo* in theory and lay the foundation of postoperative chemotherapy for local drug delivery system for spinal tuberculosis.

Key words spinal tuberculosis; sustained release microsphere; *in vitro*; release property