

# 诺氟沙星缓释微球的制备及释放性能

原佳露, 刘梅, 覃小龙, 邱阳, 李菁

https://doi.org/10.12307/2023.509

投稿日期: 2022-02-17

采用日期: 2022-08-29

修回日期: 2022-09-26

在线日期: 2022-10-25

中图分类号:

R459.9; R318.08; O636

文章编号:

2095-4344(2023)30-04790-06

文献标识码: A

## 文章快速阅读: 诺氟沙星缓释微球的制备及其释放性能

### 实验方法:

利用挤出-外源凝胶法制备出海藻酸钙/壳聚糖及SiO<sub>2</sub>-海藻酸钙/壳聚糖两种诺氟沙星微球, 优选最佳制备工艺参数, 考察微球的释放性能; 并对微球进行了表征。

### 制备与表征:

通过单因素实验确定最佳制备工艺参数, 诺氟沙星浓度、 $m(\text{SiO}_2) : m(\text{诺氟沙星})$ 、交联时间; 通过红外光谱、扫描电镜、X射线衍射和热重分析技术对制得微球进行表征。

### 释放性能:

以累积释放率为指标, 考察盐浓度、释放时间对微球在缓冲溶液中释放性能的影响。

### 结果与结论:

诺氟沙星质量浓度为1.5 g/L、 $m(\text{SiO}_2) : m(\text{诺氟沙星})$ 为4 : 10、交联时间为20 min时, 微球包封率较优。所制备的微球具有一定缓释作用, 释放时未出现突释现象, 添加SiO<sub>2</sub>的微球抗盐性能更好。所得微球更倾向于非晶性物质, 其外貌尺寸均一、形状规整, SiO<sub>2</sub>与海藻酸钙、壳聚糖相容性好。

## 文题释义:

**诺氟沙星:** 又称氟哌酸, 是一种广谱抗生素, 属第三代喹诺酮类, 主要用于敏感菌所引起的呼吸道、泌尿道、胃肠道感染, 如急性支气管炎、慢性支气管炎急性发作、肺炎、急/慢性肾盂肾炎、伤寒、膀胱炎等。

**缓释微球:** 以天然或合成的高分子材料为基质, 将药物分散、包埋在其中或吸附于其表面而形成的球状实体, 尺寸大小在5-500 μm之间, 是新型载药体系。与普通载药体系相比, 缓释微球能够根据需要在不同程度上延长药物作用时间, 提高药物的稳定性及生物利用度, 减少用药频率, 降低药物的毒副作用及患者在治疗周期内的不适感。

## 摘要

**背景:** 诺氟沙星在临床上应用广泛, 将其制备成缓释微球能够在较长时间发挥作用, 在很大程度上提高了药物的生物利用度与患者的顺应性, 减少了药物的毒副作用与患者治疗周期内的不适感和服药剂量, 具有重要的研究意义与应用价值。

**目的:** 以壳聚糖、纳米SiO<sub>2</sub>和海藻酸钠为原料, 制备诺氟沙星缓释微球, 并对其制备条件、释放性能与微球结构进行考察和分析。

**方法:** 利用挤出-外源凝胶法制备诺氟沙星微球, 通过单因素实验考察诺氟沙星浓度、 $m(\text{SiO}_2) : m(\text{诺氟沙星})$ 与交联时间对微球包封率的影响, 确定最优制备条件, 并在最佳制备条件下制备出海藻酸钙/壳聚糖及SiO<sub>2</sub>-海藻酸钙/壳聚糖两种诺氟沙星缓释微球, 对制得的微球进行表征和体外释放性能研究。

**结果与结论:** ①单因素实验结果表明, 诺氟沙星质量浓度为1.5 g/L、 $m(\text{SiO}_2) : m(\text{诺氟沙星})$ 为4 : 10、交联时间为20 min时, 微球包封率较优, 选择在此条件下制备微球; ②通过对微球的红外光谱、扫描电镜、X射线衍射和热重分析表征得出, 上述条件下制备的微球更倾向于非晶性物质, 其外貌尺寸均一、形状规整, SiO<sub>2</sub>与海藻酸钙、壳聚糖相容性好, 形成了新的复合物, 添加SiO<sub>2</sub>对微球的形貌基本没有影响, 且添加SiO<sub>2</sub>的微球热稳定性较好; ③对制得微球的缓释性能研究发现, 微球具有一定缓释作用, 释放时未出现突释现象, 且添加SiO<sub>2</sub>的微球抗盐性能更好。

**关键词:** 缓释微球; 诺氟沙星; 壳聚糖, 海藻酸钠; 纳米SiO<sub>2</sub>; 包封率; 释放性能; 挤出-外源凝胶法

## Preparation and release property of norfloxacin sustained-release microspheres

Yuan Jialu, Liu Mei, Qin Xiaolong, Qiu Yang, Li Jing

College of Chemistry & Chemical Engineering, Southwest Petroleum University, Chengdu 610500, Sichuan Province, China

Yuan Jialu, College of Chemistry & Chemical Engineering, Southwest Petroleum University, Chengdu 610500, Sichuan Province, China

**Corresponding author:** Liu Mei, Master, Senior experimentalist, College of Chemistry & Chemical Engineering, Southwest Petroleum University, Chengdu 610500, Sichuan Province, China

## Abstract

**BACKGROUND:** Norfloxacin is widely used in clinical practice. When it is used as the sustained-release microspheres, it can play a role in a long time, largely improve the bioavailability and elevate the compliance of patient's medication, and also can decrease the adverse reaction, discomfort and medication dosage during the treatment period. It has important research significance and application value.

**OBJECTIVE:** To prepare norfloxacin-loaded microspheres and investigate and analyze its preparation conditions, release properties and structure with chitosan, nano-SiO<sub>2</sub> and sodium alginate as the raw materials.

西南石油大学化学化工学院, 四川省成都市 610500

第一作者: 原佳露, 女, 2000年生, 山西省长治市人, 主要从事复合材料的制备及其应用研究。

通讯作者: 刘梅, 硕士, 高级实验师, 西南石油大学化学化工学院, 四川省成都市 610500

https://orcid.org/0000-0002-4321-5752(原佳露)

基金资助: 国家级大学生创新创业训练计划(202110615061), 项目负责人: 覃小龙

引用本文: 原佳露, 刘梅, 覃小龙, 邱阳, 李菁. 诺氟沙星缓释微球的制备及释放性能[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(30):4790-4795.



**METHODS:** Norfloxacin microspheres were prepared by extrusion-exogenous gel method. The effects of norfloxacin concentration,  $m(\text{SiO}_2):m(\text{norfloxacin})$  and crosslinking time on the encapsulation rate of norfloxacin microspheres were investigated by single factor experiment. The optimal preparation conditions were determined and two types of norfloxacin sustained release microspheres, calcium alginate/chitosan and  $\text{SiO}_2$ -calcium alginate/chitosan, were prepared under the optimal preparation conditions. The microspheres were characterized and released *in vitro*.

**RESULTS AND CONCLUSION:** (1) The single factor experiment results showed that the encapsulation rate of microspheres was better when the concentration of norfloxacin was 1.5 g/L, the concentration of  $m(\text{SiO}_2):m(\text{norfloxacin})$  was 4:10, and the crosslinking time was 20 minutes. (2) Through the characterization of the microspheres by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, scanning electron microscopy, X-ray diffraction and thermogravimetric analysis, it can be concluded that the microspheres prepared under the above conditions tended to be amorphous materials, with uniform appearance size and regular shape, and  $\text{SiO}_2$  had good compatibility with calcium alginate and chitosan, forming a new complex. The addition of  $\text{SiO}_2$  had no effect on the morphology of the microspheres. The thermal stability of  $\text{SiO}_2$  microspheres was better. (3) The sustained release performance of the prepared microspheres showed that the microspheres had a certain sustained release effect, no sudden release phenomenon occurred during the release, and the addition of  $\text{SiO}_2$  microspheres had better salt resistance.

**Key words:** sustained-release microsphere; norfloxacin; chitosan, sodium alginate; nano  $\text{SiO}_2$ ; encapsulation rate; release performance; extrusion-exogenous gel method

**Funding:** National Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students, No. 202110615061 (to QXL)

**How to cite this article:** YUAN JL, LIU M, QIN XL, QIU Y, LI J. Preparation and release property of norfloxacin sustained-release microspheres. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2023;27(30):4790-4795.

## 0 引言 Introduction

诺氟沙星是第三代喹诺酮类抗生素,具有广泛的抗菌谱,抗菌效果显著,被广泛应用于人体和动物细菌性疾病的防治,是低毒高效、价格低廉的杀菌类药物。该类药物的抗菌机制与其他类抗菌药物不同,其作用于细菌生长必需的拓扑异构酶IV,阻断细菌DNA复制,与其他抗菌药无明显的交叉耐药性<sup>[1]</sup>。喹诺酮类药物在临床上应用广泛,但其应用也带来影响软骨组织发育、变态反应、消化道反应、神经系统反应等诸多不良反应,且其大剂量使用与频繁用药还会造成肝损害<sup>[2]</sup>。载药缓释微球能够在较长时间发挥作用,在很大程度上提高了药物的生物利用度与患者的顺应性,减少了药物的毒副作用与患者治疗周期内的不适感和服药剂量,具有可观的应用前景<sup>[3-6]</sup>。制备包埋诺氟沙星的载药微球、开发抗生素新药物剂型对人类细菌感染的预防和治疗以及动物养殖具有重要意义和实践价值。

目前缓释载药微球的制备方法主要有挤出-外源凝胶法、乳化-溶剂挥发法、相分离法、喷雾干燥法以及膜乳化法等。其中,乳化-溶剂挥发法制备的微球粒径较均一,但会有一定的有机溶剂残留;相分离法所制备载药微球释药效果良好,可满足低温操作要求,适合用于包裹温度敏感型药物,但是此法在制备过程中同样需要使用多种有机溶剂,其安全性有待考察;喷雾干燥法减少了人为操作误差,适合于工业上大规模生产,但它对设备的要求高,所得微球的交联度较低;膜乳化法具有批次重复性好、能耗低等优点,但存在包封率低、突释现象严重等问题<sup>[7-14]</sup>。挤出-外源凝胶法是用注射器等将载体溶液挤出形成液滴,然后将该液滴引入交联剂溶液中实现对液滴的固定<sup>[15]</sup>,负载时先将药物掺混到载体溶液中,再将该混合溶液滴入交联剂溶液形成交联微球,该法具有原料易得、工艺简单、成本低廉、无需用到有机溶剂等优点。

壳聚糖是可再生的海洋多糖,具有良好的生物相容性、生物可降解性及低免疫原性,在组织工程中既是生长因子的良好支架,又可作为药物递送系统的良好载体<sup>[16-17]</sup>。JIANG等<sup>[18]</sup>在两相液态体系中通过自组装获得果胶-壳聚糖-胶原缓释微球,给生物大分子的封装和传输研究提出了新思路。

乐国平等<sup>[19]</sup>制备出盐酸万古霉素@聚乳酸-羟基乙酸共聚物-壳聚糖-透明质酸复合缓释微球,该微球具有良好的缓释性能、抗菌能力与生物组织相容性。海藻酸钠是一种线性阴离子多糖聚合物,存在于褐藻类植物中,储量丰富,具有良好的稳定性和生物相容性,易与钙离子等二价阳离子结合,适合作为释放或包埋药物及蛋白与细胞的微胶囊材料<sup>[20]</sup>。ILIESCU等<sup>[21]</sup>利用了海藻酸钠与蒙脱土的协同作用制备出了海藻酸钠/蒙脱土纳米复合材料,用于控制治疗结肠癌新药伊立替康的释放,得到较好的效果。纳米 $\text{SiO}_2$ 具备较大的比表面、较丰富的表面羟基,具有水热、热稳定性及生物相容性良好、孔径可调且孔道均匀等优点,在载药和药物缓释等领域应用广泛<sup>[22-23]</sup>。AHMADI等<sup>[24]</sup>以改性SBA-15为载体制备出非类固醇类抗炎药,发现用氨基改性后的SBA-15明显增加了材料的载药量并减小了释药速率。ZHAO等<sup>[25]</sup>合成了一种可双重载药的 $\text{SiO}_2$ 纳米粒子,该粒子可以通过种植和吸附两种作用负载药物,并具有一定的控释作用。尽管以壳聚糖、海藻酸钠和 $\text{SiO}_2$ 作为药物载体的研究很多,但用于缓释诺氟沙星的研究还鲜见报道。

此次实验利用纳米 $\text{SiO}_2$ 的强吸附性将诺氟沙星负载于其上,再将吸附了诺氟沙星的 $\text{SiO}_2$ 分散于海藻酸钠溶液中,然后与钙离子交联成核,并将该核在壳聚糖中孵化成膜,制备出核壳结构的诺氟沙星微球,利用海藻酸盐与诺氟沙星之间的静电作用、 $\text{SiO}_2$ 的强吸附性以及壳聚糖上的活性基团氨基和羟基与诺氟沙星上的羟基之间的氢键作用,将诺氟沙星束缚在药物内部,从而起到缓慢释放药物的作用,并考察了不同制备条件对微球包封率的影响,研究了微球的结构与释放特性,为开发新型抗生素缓释药物提供参考依据。

## 1 材料和方法 Materials and methods

### 1.1 设计 单因素实验。

1.2 时间及地点 实验于2021年4-10月在西南石油大学化学化工学院实验教学中心实验室完成。

### 1.3 材料

**实验试剂:** 海藻酸钠、氯化钙、冰醋酸、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、氯化钠、壳聚糖, AR, 购于成都市科龙化工试



剂厂。纳米 SiO<sub>2</sub> (平均粒径约 100 nm), 购于山东泰鹏金属材料有限公司。诺氟沙星, BR, 购于南京都莱生物技术有限公司。

**实验仪器:** 电热鼓风干燥箱 (天津泰斯特 DZ-2BC), 六联磁力搅拌器 (上海司乐 84-1A), 双光束紫外-可见分光光度计 (日本岛津 UV-1800), 扫描电镜 (北京中科 KYKY-EM6900), 红外光谱仪 (北京瑞利 WQF-520), X 射线衍射仪 (荷兰 Panalytical), 热分析仪 (德国耐驰 STA449C)。

#### 1.4 实验方法

**1.4.1 溶液的配制** 称取 0.375 0 g 诺氟沙星于烧杯, 加适量 0.1 mol/L 的醋酸溶液溶解, 用纯水定容至 250 mL, 得诺氟沙星溶液。称取 1.00 g 壳聚糖于烧杯中, 加入 1% 醋酸溶液 100 mL, 搅拌溶解, 得壳聚糖溶液。

**1.4.2 微球的制备** 以海藻酸钙、壳聚糖为原料制备诺氟沙星缓释微球。称取 0.4 g 海藻酸钠加入到一定浓度的诺氟沙星溶液中, 搅拌 30 min 混合均匀。用注射器抽取该混合液, 以 1 mL/min 的速率将其滴入到 0.15 mol/L CaCl<sub>2</sub> 溶液中, 针头距液面 10 cm, 滴完后静置交联一定时间, 过滤并将所得小球用纯水洗涤数次。将洗涤后的小球加入到壳聚糖溶液中孵化 10 min, 取出, 30 °C 下干燥至恒质量, 制得海藻酸钙/壳聚糖缓释微球, 记为 CA/CTS。

以海藻酸钙、壳聚糖、纳米 SiO<sub>2</sub> 为原料制备诺氟沙星缓释微球。称取 0.049 6 g 纳米 SiO<sub>2</sub> 于 10.00 mL 纯水中, 超声分散均匀。分别移取一定体积该 SiO<sub>2</sub> 溶液于诺氟沙星溶液, 搅拌 5 min, 再将海藻酸钠溶液加入上述混合溶液, 搅拌 30 min, 其余同上述操作, 得到 SiO<sub>2</sub>-海藻酸钙/壳聚糖缓释微球, 记为 Si-CA/CTS。

**1.4.3 诺氟沙星标准曲线的绘制** 称取 0.02 g 诺氟沙星于烧杯, 加 0.1 mol/L 醋酸溶液溶解, 用 0.1 mol/L 醋酸溶液定容至 100 mL, 得 200 μg/mL 的诺氟沙星储备液。移取一定量的诺氟沙星储备液于 50 mL 容量瓶, 加纯水定容, 配制 6.00, 8.00, 10.00, 15.00, 25.00, 30.00 μg/mL 诺氟沙星标准溶液。用 UV-1800 紫外可见分光光度计在 200-800 nm 范围内对所配制的 15.00 μg/mL 诺氟沙星溶液进行吸光度扫描。以吸光度为纵坐标, 以波长为横坐标, 对所测得的数据作图, 确定特征吸收波长。采用紫外分光光度计在特征吸收波长下测定标准溶液的吸光度值, 绘制实验用诺氟沙星在酸液中的标准曲线。

**1.4.4 包封率与载药量测试** 收集交联液与微球洗涤液, 用紫外-可见分光光度计测定其在特征吸收波长下的吸光度值, 通过标准曲线计算诺氟沙星浓度, 按式 (1) 和式 (2) 计算得包封率和载药量。

包封率 = (微球中药量 / 总投药量) × 100% = (总投药量 - 交联剂与洗涤液中药量) / 总投药量 × 100% (1)

载药量 = (微球中药量 / 微球质量) × 100% = (包封率 × 投药量) / 微球质量 × 100% (2)

**1.4.5 单因素实验** 海藻酸钠加量为 0.4 g、CaCl<sub>2</sub> 溶液浓度为 0.15 mol/L、壳聚糖溶液浓度为 1%, 以包封率为指标, 并结

合载药量, 进行如下单因素实验, 选择出制备微球的最优条件: ①不加 SiO<sub>2</sub>, 交联时间为 2 h 的条件下, 改变诺氟沙星质量浓度 (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 g/L) 进行实验, 制备出缓释微球, 考察其载药量。②在最优诺氟沙星质量浓度、交联时间为 2 h 的条件下, 改变  $m(\text{SiO}_2) : m(\text{诺氟沙星})$  为 0 : 10、1 : 10、2 : 10、3 : 10、4 : 10、5 : 10 进行实验, 制备出缓释微球, 考察其载药量。③在最优诺氟沙星质量浓度与  $m(\text{SiO}_2) : m(\text{诺氟沙星})$  条件下, 改变交联时间 (10, 20, 40, 60, 120 min) 进行实验, 制备出缓释微球, 考察其载药量。

**1.4.6 最优条件下制备微球** 在最佳制备条件下, 平行 3 次, 制备出 CA/CTS 及 Si-CA/CTS 两种缓释微球, 测试其包封率与载药量。

**1.4.7 缓释性能测试** 分别将 0.20 g 缓释微球加入到 50 mL 磷酸缓冲溶液中, 以 100 r/min 的转速搅拌, 考察 NaCl 浓度 (0%, 0.9%) 和温度 (35, 37, 39 °C) 的影响, 每隔一定时间用注射器吸取 4.0 mL 溶液, 并立即补充相同体积的新的缓冲液, 测定其在特征吸收波长下的吸光度, 根据标准曲线得诺氟沙星浓度, 再根据式 (3) 计算其累积释放率。式中  $Q$  为第  $i$  次取样后体系的累积释放率 (%);  $\rho_i$  为第  $i$  次取样时药物的释放质量浓度 (μg/mL);  $m$  为干微球质量 (g);  $s$  为载药量;  $V_1$  为每次取样的体积 (mL);  $V_2$  为缓冲溶液体积 (mL)。

$$Q = (V_1 \sum \rho_{i-1} + V_2 \rho_i) \times 10^{-3} / 1000 \text{ ms} \times 100\% \quad (3)$$

**1.4.8 微球表征** 将微球研细, 分别用扫描电镜、红外光谱仪 (分辨率 4 cm<sup>-1</sup>, 扫描次数 6 次, 扫描范围 400-4 000 cm<sup>-1</sup>)、X 射线衍射仪 [辐射源为 Cu Kα 射线, 管电流为 25 mA, 管电压为 40 kV, 扫描速率为 0.02 (°)/s, 扫描范围为 5°-80°]、热分析仪 (温度范围为室温至 800 °C, 升温速率 10 °C/min) 进行分析与表征。

**1.5 主要观察指标** CA/CTS 及 Si-CA/CTS 两种诺氟沙星缓释微球的包封率及累积释放率。

## 2 结果 Results

**2.1 微球制备的单因素实验结果** 图 1A 为诺氟沙星质量浓度对诺氟沙星缓释微球包封率的影响, 可以看出, 随着诺氟沙星质量浓度的增大, 诺氟沙星缓释微球包封率先逐渐增大、再略有降低, 说明适当增大诺氟沙星的质量浓度对提高微球的包封率有一定的促进作用。当诺氟沙星质量浓度为 1.5 g/L 时, 诺氟沙星缓释微球包封率最高。

图 1B 为  $m(\text{SiO}_2) : m(\text{诺氟沙星})$  对诺氟沙星缓释微球包封率的影响, 可以看出 SiO<sub>2</sub> 加量对包封率影响较大, 随着 SiO<sub>2</sub> 加量的增加, 诺氟沙星缓释微球的包封率先逐渐增大后减小, 其原因可能是 SiO<sub>2</sub> 加量太小, 无法对溶液中的诺氟沙星形成有效的负载; 而加量太多, 诺氟沙星缓释微球的包封率降低, 这可能是由于溶液中 SiO<sub>2</sub> 表面电荷与诺氟沙星的表面电荷相互排斥, 不利于对诺氟沙星的包覆。当  $m(\text{SiO}_2) : m(\text{诺氟沙星})$  为 4 : 10 时, 诺氟沙星缓释微球的包封率最高, 在后续实验中选择  $m(\text{SiO}_2) : m(\text{诺氟沙星})$  为

4 : 10 制备的缓释微球。

图 1C 为交联时间对 Si-CA/CTS 微球包封率的影响, 可以看出, 随着交联时间的增大, 微球的包封率先增大后减小, 这可能是交联时间太短, 不利于微球的形成和对药剂的包覆, 但交联时间太长, 微球表面药物的扩散损失将会增大, 微球的包封率减小。继续增大交联时间, 微球的包封率基本不变, 这可能是在较长的交联时间内, 微球表面已经被固化成膜, 药物难以从内部扩散出来, 导致包封率不再降低。因此, 选择 20 min 作为最佳交联时间。

在上述最佳制备条件下, 平行 3 次制备出 CA/CTS 及 Si-CA/CTS 两种缓释微球, 其包封率与载药量如图 1D 所示, 可以看出, Si-CA/CTS 较 CA/CTS 表现出较高的包封率与载药量。这是由于 SiO<sub>2</sub> 的强吸附性使得诺氟沙星被吸附于其表面或孔道内, 在交联过程中不容易被溶出, 从而提高了微球的包封率和载药量。Si-CA/CTS 微球的最优包封率为 35.6%。

2.2 微球表征 图 2A 为 CA/CTS 及 Si-CA/CTS 两种缓释微球干燥前的实物图, 可以看出, 所制备的缓释微球外貌尺寸均一、形状规整, 微球表面具有一层透明的薄膜, 这是海藻酸盐与壳聚糖通过静电作用形成的聚电解质复合物。图 2B 为两种缓释微球的扫描电镜照片, 可以看出, 两种缓释微球呈均质实心不规则球体, 其直径为 50–300 μm。由于钙离子浓度与凝胶时间对微球的凝胶厚度有一定影响, 而先后滴入到钙离子溶液中的含诺氟沙星海藻酸盐液滴享有不同的平均钙离子浓度与交联时间, 使其凝胶厚度与强度具有一定的差异, 致使其在烘干后产品的微观形貌不够均匀。从图 2B 还可以看出, 微球表面粗糙, 其切面边缘上可观察到层状结构, 可能是由海藻酸钙与壳聚糖之间的静电络合作用使高分子链之间相互缠绕而形成的微观结构。二者的样品在形貌上差别不大, 说明 SiO<sub>2</sub> 的加入并未改变壳聚糖–海藻酸钙形成的微观形貌, SiO<sub>2</sub> 与壳聚糖和海藻酸钙具有较好的相容性。

图 2C 为 CA/CTS 和 Si-CA/CTS 两种缓释微球的傅里叶红外光谱图, 可以看出, 两种样品的红外峰形大致相同, 其中 3 430 cm<sup>-1</sup> 左右的宽吸收峰为样品中羟基和氨基的伸缩振动峰混合而成, 670 cm<sup>-1</sup> 处为羟基的面外弯曲振动吸收, 1 613, 1 424 cm<sup>-1</sup> 处为样品中海藻酸钠引入的羧基的反对称与对称伸缩振动峰。在 CA/CTS 中, 1 087, 1 033 cm<sup>-1</sup> 处主要为样品中 C-O-C 伸缩振动引起的吸收峰。与 CA/CTS 相比, Si-CA/CTS 在 3 430, 670 cm<sup>-1</sup> 处的吸收峰变强、变宽, 且吸收峰发生了明显红移, 这是样品中引入了含有丰富表面羟基的 SiO<sub>2</sub> 引起的, 该结果也说明 SiO<sub>2</sub> 的表面羟基与 CA/CTS 中的羟基及氨基发生了明显的缔合效应, 这有利于提升微球的吸附性能。其次, Si-CA/CTS 在 1 087, 1 033 cm<sup>-1</sup> 处的吸收峰因 SiO<sub>2</sub> 的引入显著增强, 这主要是由 Si-O-Si 的反对称伸缩振动峰与此处的吸收峰重叠引起的。同时, Si-CA/CTS 还在 943 cm<sup>-1</sup> 和 474 cm<sup>-1</sup> 处出现了 Si-O-Si 的对称伸缩振动和弯曲振动峰<sup>[26]</sup>, 进一步证实了该样品中 SiO<sub>2</sub> 的存在。此外, 与 CA/CTS 相比, Si-CA/CTS 在 1 341, 1 306 cm<sup>-1</sup> 处还呈现出 2 个新的吸收峰,

可归属于 -CO-NH- 与 Si-OH-C 的吸收<sup>[27-28]</sup>, 说明在孵化过程中, 部分海藻酸盐中的羧基与壳聚糖上的氨基依靠氢键作用形成了新的化学单元, 而部分 SiO<sub>2</sub> 也通过 -OH 与海藻酸钙发生了桥连, 由此可以说明 SiO<sub>2</sub> 与 CA/CTS 之间通过化学键结合并形成了新的复合物。

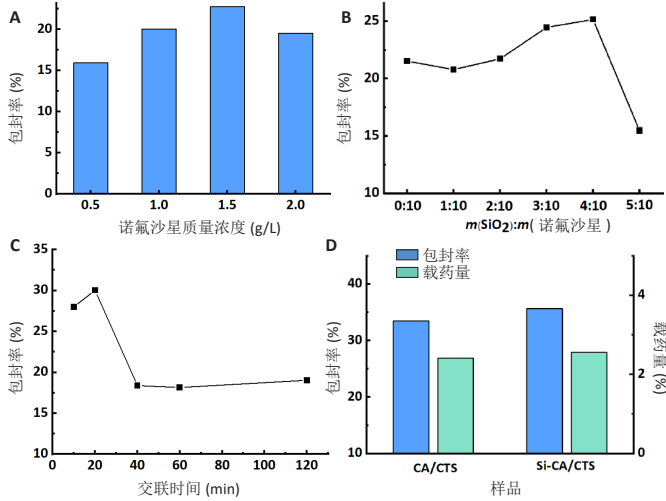
图 2D 为 CA/CTS 和 Si-CA/CTS 的 X 射线衍射谱图, 可以看出, CA/CTS 与 Si-CA/CTS 更趋于非晶性物质, 2 个样品中, 在 41° 附近的衍射峰是海藻酸盐与壳聚糖强烈的相互作用以及钙离子交联形成的结晶结构, 在 12.65° 与 26.65° 附近的衍射峰属于诺氟沙星的特征衍射峰, 该处的衍射峰与纯诺氟沙星相比 (13.24°、25.02°) 位置发生了一定程度的改变<sup>[29]</sup>, 说明诺氟沙星并不是简单的被吸附在微球材料上。与 CA/CTS 相比, Si-CA/CTS 的 X 射线衍射图谱中在 20.90° 处的衍射峰属于 SiO<sub>2</sub> 的特征峰, 再次证明 SiO<sub>2</sub> 与 CA/CTS 复合成功, 和纯 SiO<sub>2</sub> 相比 (22°)<sup>[30]</sup>, 该处的衍射峰向低角度发生了偏移, 说明 SiO<sub>2</sub> 与 CA/CTS 的复合破坏了 SiO<sub>2</sub> 的结晶结构。在 CA/CTS 样品中, 11.60° 处的衍射峰可归属于壳聚糖的特征衍射峰, 它是由壳聚糖分子上的 NH<sub>3</sub><sup>+</sup> 和羟基之间形成的分子内氢键, 使其分子链的运动受到限制引起的, 加入 SiO<sub>2</sub> 以后, 该处的衍射峰明显减弱, 说明 SiO<sub>2</sub> 与壳聚糖因氢键或静电作用而发生缔合, 其相容性较好。和 CA/CTS 相比, Si-CA/CTS 样品中在 27.88° 处出现了一个新的衍射峰, 结合红外分析结果可知, 这是由于 SiO<sub>2</sub> 与 CA/CTS 复合后, 部分 SiO<sub>2</sub> 表面羟基与海藻酸钙作用使其原有的结构发生畸变所致。

图 2E 为 Si-CA/CTS 的热重–微商热重曲线, 可以看出, Si-CA/CTS 的总失重率约为 77%, 其热稳定性较好, 在室温至 180 °C 区间内, 失重率约为 10%, 这主要是微球表面及孔道内的吸附水和结构水受热而损失所导致的; 在 180–350 °C 范围内, 失重率约为 32%, 说明在该温度区间缓释微球中的有机物开始分解, 在该过程中其最大分解速率所对应的温度为 260 °C; 当温度大于 350 °C 时, 失重率约为 35%, 是因为有机物上的骨架碳开始分解导致的, 其最大分解速率所对应的温度为 514 °C 和 700 °C。

2.3 微球缓释性能实验 图 3A 为 CA/CTS 与 Si-CA/CTS 在不同 NaCl 浓度下的缓释性能, 由图可知, 两种微球释放诺氟沙星的规律基本一致, 均未出现突释现象, 其释放行为可分为快速释放和慢速释放 2 个阶段, 在前 3 h 主要表现为快速释放, 3 h 后出现缓慢释放。Si-CA/CTS 中诺氟沙星的最大释放率略低于 CA/CTS, 但在 0.9%NaCl 缓释体系中, Si-CA/CTS 的释放率较 CA/CTS 高, 说明加入 SiO<sub>2</sub> 以后微球的抗盐性能更好。

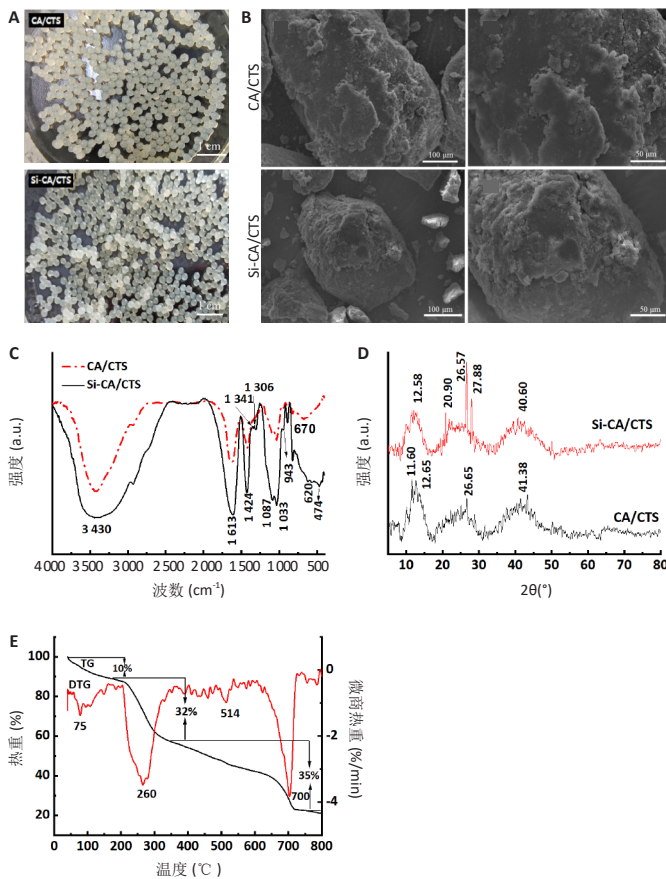
温度的高低会影响药物的水解、扩散、凝胶的溶胀等, 从而将影响药物的释放。图 3B 为不同温度下 Si-CA/CTS 的释放性能, 由图可知, 温度升高其药物累积释放率增大, 对于 Si-CA/CTS, 继续升高温度时药物释放率减小, 最佳释放温度为 37 °C, 在 10 h 药物释放率为 44.2%, 10 h 后释放极为缓慢, 48 h 药物释放率为 46.1%。





图注: A-C 分别为诺氟沙星质量浓度、 $m(\text{SiO}_2) : m(\text{诺氟沙星})$  和交联时间对微球封装率的影响, D 为两种缓释微球的封装率及载药量, CA/CTS 为以海藻酸钙、壳聚糖为原料制备的诺氟沙星缓释微球, Si-CA/CTS 为以海藻酸钙、壳聚糖、纳米  $\text{SiO}_2$  为原料制备的诺氟沙星缓释微球  
图 1 | 诺氟沙星缓释微球的制备单因素实验结果

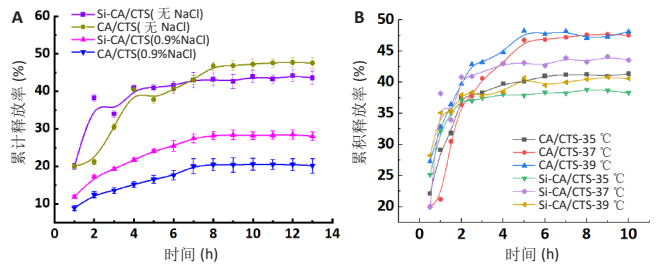
Figure 1 | Results of single factor experiment about norfloxacin sustained-release microspheres preparation



图注: CA/CTS 为以海藻酸钙、壳聚糖为原料制备的诺氟沙星缓释微球, Si-CA/CTS 为以海藻酸钙、壳聚糖、纳米  $\text{SiO}_2$  为原料制备的诺氟沙星缓释微球。A 为干燥前 CA/CTS 和 Si-CA/CTS 的实物图, 微球外貌尺寸均一、形状规整, 微球表面具有一层透明的薄膜; B 为 CA/CTS 和 Si-CA/CTS 的扫描电镜图片, 两种缓释微球呈均质实心不规则球体, 其直径为  $50\text{--}300\ \mu\text{m}$ ; C-E 为两种微球的傅里叶红外光谱图、X 射线衍射谱图及 Si-CA/CTS 的热重-微商热重曲线

图 2 | 诺氟沙星缓释微球的表征结果

Figure 2 | Characterization results of norfloxacin sustained-release microspheres



图注: CA/CTS 为以海藻酸钙、壳聚糖为原料制备的诺氟沙星缓释微球, Si-CA/CTS 为以海藻酸钙、壳聚糖、纳米  $\text{SiO}_2$  为原料制备的诺氟沙星缓释微球。A 为 NaCl 浓度对微球缓释性能的影响, 两种微球释放诺氟沙星的规律基本一致, 均未出现突释现象, 其释放行为可分为快速释放和慢速释放 2 个阶段, 在前 3 h 主要表现为快速释放, 3 h 后出现缓慢释放; B 为温度对微球缓释性能的影响, 温度升高其药物累积释放率增大, 对于 Si-CA/CTS, 继续升高温度时药物释放率减小, 最佳释放温度为  $37\ ^\circ\text{C}$   
图 3 | 诺氟沙星缓释微球的缓释性能

Figure 3 | Sustained-release property of norfloxacin sustained-release microspheres

### 3 讨论 Discussion

药物的缓控释制剂可按照需求将药物缓慢释放出来, 具有作用时间长、疗效好、毒副作用小等优点, 在组织工程、农业以及中医药等多领域均有重要应用<sup>[31-35]</sup>。在诸多缓控释剂型中, 缓释微球表现出良好的性能<sup>[36-37]</sup>。缓释微球主要由载体材料和药物主体两部分构成, 其中载体材料要求无毒、生物相容性好、可生物降解, 且降解产物能通过生理途径排出体外<sup>[38-42]</sup>。很多缓释微球制备方法如乳化-溶剂挥发法、相分离法等方法均需用到有机溶剂, 所制微球不可避免地有少量毒性有机溶剂残留。

此次实验利用挤出-外源凝胶法制备出 CA/CTS 及 Si-CA/CTS 缓释微球, 制备过程简单可行, 所用原料易得无毒, 全程未使用任何有机溶剂。所制备的微球更倾向于非晶性物质, 其外貌尺寸均一、形状规整,  $\text{SiO}_2$  与海藻酸钙、壳聚糖相容性好, 形成了新的复合物; 添加  $\text{SiO}_2$  对微球的形貌基本没有影响, 但添加  $\text{SiO}_2$  以后的样品 (即 Si-CA/CTS) 具有较好的热稳定性, 且较未添加  $\text{SiO}_2$  的样品表现出更高的封装率、载药量和抗盐性。

实验制得的微球在磷酸缓冲液中前 3 h 主要表现为快速释放, 这是微球表面吸附的诺氟沙星通过分子扩散的形式释放出来的。3 h 后出现缓慢释放, 这是包覆在微球内部以化学键结合的诺氟沙星被释放。Si-CA/CTS 样品中诺氟沙星的最大释放率略低于 CA/CTS, 这是由于  $\text{SiO}_2$  强的吸附性对诺氟沙星的束缚所致。但在 0.9%NaCl 缓释体系中, Si-CA/CTS 的释放率较 CA/CTS 更高, 这可能是因为在溶液中的带电离子的存在, 影响了微球壁的结构, 从而改变了其释放性能, 而加入  $\text{SiO}_2$  的样品, 分子链间的排斥力增加, 使壁结构连接更加松弛、壁上网眼变大、通透性更好, 诺氟沙星更容易扩散, 从而使得释放率增大。

实验所制备缓释微球存在最佳释放温度, 这可能是因为在温度较高时有利于微球表面诺氟沙星分子的脱附, 被释放到溶液中的诺氟沙星也更容易扩散, 从而使得释放率增加。但

继续升高温度,有利于诺氟沙星分子在微球表面的化学吸附,从而阻碍了诺氟沙星的释放。

赵依妮等<sup>[43]</sup>采用冷冻干燥法制备了诺氟沙星-壳聚糖微囊,在其研究中,单纯口灌诺氟沙星后 0.494 h 达到血药浓度峰值,诺氟沙星在被壳聚糖包埋后给药在 1.107 h 后达到浓度峰值,达峰时间延长 2 倍有余。此次实验制备的 Si-CA/CTS 载诺氟沙星缓释微球最大包封率为 35.6%,较文献提高了 3.7%<sup>[44]</sup>。此次实验制备的微球在体外释放实验中达到最大释放率需 7 h 有余,在一定程度上延长了诺氟沙星释放速度,且未出现突释现象。此外,此次实验对所制备微球进行了表征和深入分析,并考察和分析了 SiO<sub>2</sub> 的加入对微球性能的影响,为诺氟沙星缓释制剂的研制提供了参考。

实验仅对 CA/CTS 及 Si-CA/CTS 缓释微球的制备进行了初步探索,研究仍需进一步深入和改进,具体的不足之处及未来展望如下:仅探索了诺氟沙星缓释微球的体外释放规律,其体内释放性能及抗菌性仍需进一步探究。

**致谢:** 感谢国家级大学生创新创业训练计划项目的资助(202110615061)。

**作者贡献:** 原佳露、刘梅进行实验设计,实验实施为原佳露、邱阳、覃小龙、李菁,论文撰写与修改为原佳露、刘梅、覃小龙,资料收集为原佳露、刘梅、邱阳。

**利益冲突:** 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

**版权转让:** 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

**出版规范:** 该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发表宗旨。

#### 4 参考文献 References

- [1] 丁文东,崔康平,郭志,等. 纳米银在诺氟沙星胁迫下对黄孢原毛平革菌的毒物兴奋效应[J]. 生态毒理学报,2020,15(6):141-150.
- [2] GUO Q, ZHANG RF, HUA XW, et al. Syntheses, structures, in vitro cytostatic activity and antifungal activity evaluation of four diorganotin(IV) complexes based on norfloxacin and levofloxacin. *New J Chem.* 2022;46(9): 4314-4324.
- [3] 马改大. 喹诺酮类抗菌药物的药理作用和临床合理应用探析[J]. 中国药物与临床,2019,19(8):1347-1348.
- [4] 黎丽,刘玉贞,龚咏梅. 喹诺酮类抗菌药物的认知与临床用药现状调查[J]. 现代诊断与治疗,2014,25(23):5326-5327.
- [5] ZHANG JL, SRIVASTAVA RS, MISRA RDK. Core-shell magnetite nanoparticles surface encapsulated with smart stimuli-responsive polymer: synthesis, characterization, and LCST of viable drug-targeting delivery system. *Langmuir.* 2007;23(11):6342-6351.
- [6] 周健,方涛林,董健. 抗生素缓释载体在慢性骨髓炎治疗中的应用[J]. 中华临床医师杂志(电子版),2011,5(6):1708-1711.
- [7] 周红军,周新华,吴树鸿. 毒死蜱/改性膨润土/海藻酸钠复合微球的制备及其缓释性能[J]. 江苏农业科学,2015,43(1):150-152.
- [8] 阎观琼. 缓释微球的研究现状[J]. 世界最新医学信息文摘,2019,19(93):39+43.
- [9] 李勋,韦祎,马光辉,等. 缓释微球制剂的研究进展[J]. 北京化工大学学报(自然科学版),2017,44(6):1-11.
- [10] 赵佩,石磊,刘志龙,等. 利福平缓释微球的制备及体外释放特性[J]. 中国医院药学杂志,2014,34(24):2111-2116.
- [11] 韦祎,巩方玲,崔一民,等. 微孔膜乳化技术制备缓释微球的研究进展[J]. 中国医药工业杂志,2018,49(10):1341-1351.
- [12] MI Y, ZHOU W, LI Q, et al. Preparation of water-in-oil emulsions using a hydrophobic polymer membrane with 3D bicontinuous skeleton structure. *J Membrane Sci.* 2015;490:113-119.

- [13] YEO Y, BASARAN OA, PARK K. A new process for making reservoir-type microcapsules using ink-jet technology and interfacial phase separation. *J Controlled Release.* 2003;93(2):161-173.
- [14] CAO X, DAI LJ, SUN SC, et al. Preparation and performance of porous hydroxyapatite/poly(lactic-co-glycolic acid) drug-loaded microsphere scaffolds for gentamicin sulfate delivery. *J Mater Sci.* 2021;56:15278-15298.
- [15] SUNDARAM KMS, CURRY J. Effect of some UV light absorbers on the photostabilization of azadirachtin, a neem-based biopesticide. *Chemosphere.* 1996;32(4):649-659.
- [16] 张艳,孟雪. 壳聚糖相关的给药系统在血管生成治疗中的作用概述[J]. 中国药师,2022,25(1):118-123+129.
- [17] LACOB AT, LUPASCU FG, APOTROSOAEI M, et al. Recent biomedical approaches for chitosan based materials as drug delivery nanocarriers. *Pharmaceutics.* 2021;13(4):587.
- [18] JIANG ZY, ZHAO SJ, YANG MK, et al. Structurally stable sustained-release microcapsules stabilized by self-assembly of pectin-chitosan-collagen in aqueous two-phase system. *Food Hydrocoll.* 2022;125:107413.
- [19] 乐国平,张明,席立成,等. 盐酸万古霉素@聚乳酸-羟基乙酸共聚物-壳聚糖-透明质酸复合缓释微球的制备及体外评价[J]. 中国组织工程研究,2022,26(4):552-558.
- [20] 周焯,雷世焯,罗勉,等. 海藻酸钠微球制备方法进展[J]. 生物化工,2021,7(1):131-133.
- [21] ILIESCU RI, ANDRONESCUA E, GHITULICA CD, et al. Montmorillonite-alginate nanocomposite as a drug delivery system-incorporation and in vitro release of irinotecan. *Int J Pharmaceut.* 2014;463(2):184-192.
- [22] 朱玉婉,解英俊,张学文. 二氧化硅纳米材料在肝癌治疗中应用进展[J]. 中国实用外科杂志,2021,41(6):710-713+718.
- [23] 李宣民,许永权,赵瑞红,等. 介孔二氧化硅-阿维菌素缓释体系的制备与性能研究[J]. 应用化工,2019,48(6):1274-1278.
- [24] AHMADI E, DEGHANNEJAD N, HASHEMIKIA S, et al. Synthesis and surface modification of mesoporous silica nanoparticles and its application as carriers for sustained drug delivery. *Drug Deliv.* 2014;21(3):164-172.
- [25] ZHAO SS, ZHANG SL, MA J, et al. Double loaded self-decomposable SiO<sub>2</sub> nanoparticles for sustained drug release. *Nanoscale.* 2015;7(39):16389-16398.
- [26] XU X, LI J, HAO Z, et al. Characterization and catalytic performance of Co/SBA-15 supported gold catalysts for CO oxidation. *Mater Res Bull.* 2006;41(2):406-413.
- [27] 高奕红,王珊. 环保型壳聚糖/SiO<sub>2</sub> 材料制备及吸附染料性能初探[J]. 化工科技,2018,26(6):1-6.
- [28] 曹仕文,张鸿,孟驰涵,等. 海藻酸钙-二氧化硅杂化材料的制备及对 Cu(II) 吸附性能[J]. 高分子材料科学与工程,2020,36(2):169-175,183.
- [29] 刘云霞,曾凡桂,孙蓓蕾,等. 古交飞灰不同粒径颗粒的 XRD 及 FTIR 研究[J]. 光谱学与光谱分析,2020,40(5):1452-1456.
- [30] 黄栋,吴登庆,苏佳雯,等. 诺氟沙星和水杨酸药物-药物盐的制备与表征[J]. 浙江化工,2019,50(11):10-15.
- [31] VAIZOGULLAR A I, BALCI A, KULA I, et al. Preparation, characterization, and adsorption studies of core@shell SiO<sub>2</sub>@CeO<sub>2</sub> nanoparticles: a new candidate to remove Hg(II) from aqueous solutions. *Turk J Chem.* 2016;40:565-575.
- [32] 陈慧明. 同轴载药组织工程骨支架缓释特性研究[D]. 乌鲁木齐:新疆大学,2020.
- [33] 乔永杰,张吕丹,李旭升,等. β-磷酸三钙填充载药微球治疗兔感染性骨缺损[J]. 中国矫形外科杂志,2021,29(11):1013-1018.
- [34] 陈歌,曹立冬,赵鹏跃,等. 甲氧基丙烯酸酯类农药缓释制剂的研究进展[J]. 现代农药,2021,20(2):7-11+22.
- [35] 董玉洁,蒋元岐,陈金鹏,等. 中药缓释制剂的研究进展[J]. 中草药,2021,52(8):2465-2472.
- [36] 宋子健,丁宇翔,周勤. 感觉神经肽与 P 物质缓释微球对小鼠拔牙窝成骨的作用[J]. 口腔医学研究,2020,36(1):20-23.
- [37] 丁婷婷. 负载 BMP-2 的 MPEG-PCL 微球的制备及成骨活性评价[D]. 济南:山东大学,2018.
- [38] MUNICOY S, ÁLVAREZ ECHAZÚ MI, ANTEZANA PE, et al. Stimuli responsive materials for tissue engineering and drug delivery. *Int J Mol Sci.* 2020;21(13):4724.
- [39] 韦祎,巩方玲,崔一民,等. 微孔膜乳化技术制备缓释微球的研究进展[J]. 中国医药工业杂志,2018,49(10):1341-1352.
- [40] 刘嘉鑫,张广瑞,卢维新,等. 壳聚糖季铵盐在生物材料中的应用[J]. 生物骨科材料与临床研究,2020,17(4):59-62.
- [41] 吕婷婷. 关于丹参素钠-PLGA 缓释微球的制备及药剂学性能评价[J]. 中国社区医师,2019,35(21):8+10.
- [42] 于如月,邹茜茜,朱琳,等. 粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子缓释微球的研制[J]. 中国医药工业杂志,2021,52(12):1615-1621.
- [43] 赵依妮,李怡,胡鲲,等. 诺氟沙星壳聚糖微囊缓释作用研究[J]. 水生生物学报,2014,38(4):675-680.
- [44] 冉青,商龙臣,吴少尉,等. SeMet/CS 纳米复合微球的制备、缓释性能及抑制肿瘤活性[J]. 四川大学学报(自然科学版),2018(5):1057-1066.

(责任编辑: GW, ZN, ZJP)