

## 盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶的制备与评价

王 萌<sup>1</sup>, 高卫华<sup>2</sup>

1. 咸阳职业技术学院, 陕西 咸阳 712000

2. 陕西中医药大学第二附属医院, 陕西 咸阳 712000

**摘要:** 目的 制备盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶, 并评价其抑菌及创面愈合效果。方法 采用复乳法制备盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒, 采用2因素2水平全因子析因实验设计考察了壳聚糖相对分子质量( $X_1$ )和壳聚糖质量浓度( $X_2$ )对壳聚糖纳米粒的药物包封率( $Y_1$ )、粒径分布( $Y_2$ )、多分散系数( $Y_3$ )和Zeta电位( $Y_4$ )的影响; 并以泊洛沙姆407作为凝胶基质制备盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶。通过抑菌圈实验比较盐酸环丙沙星乳膏和盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的抑菌活性; 使用无菌活检穿刺针在大鼠背部造成直径为5 mm的皮肤全切除的圆形人工创面, 并使用金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的培养基感染24 h, 建立大鼠创面模型, 将模型大鼠随机分为模型组、盐酸环丙沙星乳膏组和盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶组, 模型组大鼠创面未接受任何处理, 给药组大鼠每2天给药1次, 每次给药量均约为1 mg, 观察并记录每组大鼠创面脱痂时间和愈合时间。结果 选择低相对分子质量壳聚糖、壳聚糖质量浓度为 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 制备盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒, 其中盐酸环丙沙星质量浓度为 $50.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 其包封率为 $(85.3 \pm 0.9) \%$ , 平均粒径为 $(354.7 \pm 15.7) \text{ nm}$ , PDI为 $0.357 \pm 0.014$ , Zeta电位为 $(22.2 \pm 0.5) \text{ mV}$ , 呈球状分布; 盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶和盐酸环丙沙星乳膏对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径分别为 $(38.4 \pm 0.2)$ 、 $(29.2 \pm 0.3) \text{ mm}$ , 对铜绿假单胞菌抑菌圈直径分别为 $(41.3 \pm 0.6)$ 、 $(32.1 \pm 0.1) \text{ mm}$ ; 大鼠创面给予盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶后, 其脱痂时间和愈合时间均较模型组和盐酸环丙沙星乳膏组显著缩短( $P < 0.05$ )。结论 成功制备盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶, 其可以抑制创面细菌繁殖、加速伤口愈合。

**关键词:** 盐酸环丙沙星; 壳聚糖纳米粒; 原位凝胶; 抑菌; 创面愈合

中图分类号: R943

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2022) 11-2263-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.11.013

## Preparation and evaluation of ciprofloxacin hydrochloride chitosan nanoparticles in situ gels

WANG Meng<sup>1</sup>, GAO Weihua<sup>2</sup>

1. Xianyang Vocational and Technical College, Xianyang 712000, China

2. The Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000, China

**Abstract:** **Objective** To prepare ciprofloxacin hydrochloride chitosan nanoparticles in situ gels (CHCNSG), and to evaluate its antibacterial and wound healing effect. **Methods** The ciprofloxacin hydrochloride chitosan nanoparticles were prepared by double emulsion method. The effect of chitosan molecular weight ( $X_1$ ) and chitosan concentration ( $X_2$ ) on the encapsulation efficiency ( $Y_1$ ), particle size distribution ( $Y_2$ ), polydispersity coefficient ( $Y_3$ ) and Zeta potential ( $Y_4$ ) of chitosan nanoparticles was investigated by  $2^2$  full factorial factorial experimental design. The CHCNSG were prepared with poloxamer 407 as the gel matrix. The antibacterial activities of ciprofloxacin hydrochloride cream and CHCNSG against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were compared by bacteriostatic circle assay. A sterile biopsy needle was used to create a circular artificial wound with a diameter of 5 mm for total skin resection on the back of rats. The rat wound model was established after 24 h infection with the medium of *S. aureus* and *P. aeruginosa*. The model rats were randomly divided into model group, the ciprofloxacin hydrochloride cream group and CHCNSG group. The wounds of the rats in the model group were not treated with any treatment, and the wounds of the rats in the administration group were given the drug once every two days, with the dose of about 1 mg each time. The eschar removal time and healing time of the wounds of rats in each group were observed and recorded. **Results** The ciprofloxacin hydrochloride chitosan nanoparticles prepared with low molecular weight chitosan at a concentration of  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , and the mass concentration of

收稿日期: 2022-05-09

第一作者: 王 萌,男,研究生学历,副教授,主要从事医药研究与教学方面工作。E-mail:xywangmeng1973@163.com

ciprofloxacin hydrochloride was  $50.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , and it had an encapsulation efficiency of  $(85.3 \pm 0.9)\%$ , average particle size of  $(354.7 \pm 15.7) \text{ nm}$ , PDI of  $(0.357 \pm 0.014)$  and Zeta potential of  $(22.2 \pm 0.5) \text{ mV}$ . The ciprofloxacin hydrochloride chitosan nanoparticles were observed to have a spherical distribution under the transmission electron microscope. The diameters of antibacterial zones of CHCNSG and ciprofloxacin hydrochloride cream against *S. aureus* were  $(38.4 \pm 0.2)$  and  $(29.2 \pm 0.3) \text{ mm}$ , respectively, and the diameters of antibacterial zones against *P. aeruginosa* were  $(41.3 \pm 0.6)$  and  $(32.1 \pm 0.1) \text{ mm}$ , respectively. The scab removal time and healing time of wound rats treated with CHCNSG were significantly shorter than those of model group and ciprofloxacin hydrochloride cream group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** CHCNSG was successfully prepared, which can inhibit the propagation of bacteria in wounds and accelerate wound healing.

**Key words:** ciprofloxacin hydrochloride; chitosan nanoparticles; in situ gels; bacteriostatic; wound healing

皮肤组织损伤后如果处理不当容易造成感染,不利于伤口愈合,金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌是促使伤口感染的主要细菌<sup>[1]</sup>。壳聚糖作为天然多糖,具有快速止血、渗出液吸收强、生物相容性好、无毒等优点<sup>[2]</sup>,而且还具有一定的抗菌活性<sup>[3]</sup>,已被广泛用于伤口护理中<sup>[4]</sup>。伤口愈合过程面临的主要挑战之一是细菌感染,在制剂中加入抗生素利于伤口快速愈合。盐酸环丙沙星属于第3代喹诺酮类抗菌药物,其对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌具有较高效抑菌活性<sup>[5]</sup>。因此本研究将开发一种载有盐酸环丙沙星的壳聚糖纳米粒原位凝胶,并评价其对大鼠伤口愈合的影响。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

Agilent-1200 高效液相色谱系统(安捷伦科技有限公司);Malvern Zetasizer Nano ZS90 纳米粒径分析仪(英国 Malvern 公司);JEM-2100 Plus 型透射电镜(日本电子株式会社);Sorvall WX 100 超速离心机(赛默飞世尔科技有限公司);FJ200 高速分散均质机(常州德杜精密仪器有限公司);R-1001VN 旋转蒸发仪器(郑州长城科工贸有限公司);MJX-250 细菌培养箱(常州金坛良友仪器有限公司)。

### 1.2 药物及主要试剂

盐酸环丙沙星(岳阳同联药业有限公司,批号 20210105,质量分数 99.6%);单硬脂酸甘油酯(GMS,江西阿尔法高科药业有限公司);聚山梨酯-80(江苏晨牌药业集团股份有限公司);低相对分子质量壳聚糖(相对分子质量 50 000~100 000,批号 L211003)、高相对分子质量壳聚糖(相对分子质量 300 000~350 000,批号 H201201)均由湖南新绿方药业有限公司提供;泊洛沙姆 407(批号 F42101)、泊洛沙姆 188(批号 P1243001)均由巴斯夫(中国)有限公司提供;胶原蛋白(法国罗赛洛公司,批号 20N0116);盐酸环丙沙星乳膏(规格 10 g:30 mg,广东恒健制药有限公司,批号 211113);其他试剂均分

析级。

### 1.3 实验动物与细菌菌株

雄性 SD 大鼠 18 只,体质量为 180~240 g,2~3 月龄,购自第四军医大学实验动物中心,实验动物生产许可证号 SCXK-(军)2012-0007,质量合格证号 20150021673。动物实验经陕西中医药大学伦理委员会批准,批准文号 SUCMDL202106250122。

金黄色葡萄球菌标准菌株(ATCC 33862)、铜绿假单胞菌标准菌株(ATCC 9027),北京中科质检生物技术有限公司提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒的制备

通过复乳( $W_1/O/W_2$ )法制备盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒<sup>[6]</sup>。称取一定量盐酸环丙沙星和低(或高)相对分子质量壳聚糖,溶解在质量浓度为  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的醋酸水溶液中,再称取胶原蛋白 50 mg 加入到上述溶液中,搅拌溶解,得到含有低(或高)相对分子质量壳聚糖质量浓度分别为 2.0 或  $4.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、胶原蛋白质量浓度为  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合水溶液,作为内水相( $W_1$ );另称取 GMS 和聚山梨酯-80 各 500 mg 加入到 25 mL 二氯甲烷中,搅拌溶解,作为油相(O);将油相缓慢添加到  $W_1$  中,并以  $20\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  的速度均质分散 10 min,形成油包水( $W_1/O$ )型白色乳状液;再将该乳状液加入到含有泊洛沙姆 188 质量浓度为  $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的外水相( $W_2$ )中,并在  $20\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  条件下再均质分散 10 min,得到水包油包水( $W_1/O/W_2$ )型复乳;将该复乳转移至旋转蒸发器中,并在  $45^\circ\text{C}$  条件下减压除去有机溶剂,即得到载有盐酸环丙沙星的壳聚糖纳米粒,溶液冷却至室温,放入低温冰箱中保存。

### 2.2 壳聚糖纳米粒子的评价指标

**2.2.1 包封率测定** 采用低温超速离心法测定盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒的包封率<sup>[7]</sup>。取载药壳聚糖纳米粒 2.0 mL 加入到超速离心管中,以  $20\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  低温离心 60 min,移取上部澄清溶液 1.0 mL 加入到

10 mL 量瓶中,用流动相稀释、定容,作为游离药量( $C_{\text{游离}}$ )待测液;另取盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒1 mL加入到50 mL量瓶中,加入甲醇溶液,水浴超声至溶液澄清,加入流动相稀释、定容,作为药物总载药量( $C_{\text{总}}$ )待测液;取上述2种药物溶液经微孔膜(0.22  $\mu\text{m}$ )滤过,采用HPLC法<sup>[8]</sup>检测药物含量,并计算包封率。

$$\text{包封率} = 1 - C_{\text{游离}}/C_{\text{总}}$$

**2.2.2 粒度分布及Zeta电位测定** 使用Malvern Zetasizer Nano ZS90纳米粒径分析仪在25  $^{\circ}\text{C}$ 条件下以90 $^{\circ}$ 的固定角度测定盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒的粒度分布,样品在检测之前用蒸馏水稀释25倍,每份样品重复测定3次,取平均值;以相同的方式在25  $^{\circ}\text{C}$ 条件下测定盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒的Zeta电位,每份样品重复测定3次,取平均值。

### 2.3 处方优化

采用2因素2水平全因子析因实验设计<sup>[9]</sup>考察壳聚糖相对分子质量( $X_1$ )和壳聚糖浓度( $X_2$ )2个处方因素对药物包封率( $Y_1$ )、粒径分布( $Y_2$ )、PDI( $Y_3$ )和Zeta电位( $Y_4$ )的影响,共设计了4次实验(表1),实验设计及结果见表2。

表1 2因素2水平全因子析因实验设计中变量及水平

Table 1 Variables and levels in 2<sup>2</sup> full factorial design

| 自变量                                     | 水平         |       |
|-----------------------------------------|------------|-------|
|                                         | 低(-1)      | 高(+1) |
| 壳聚糖相对分子质量( $X_1$ )                      | 低          | 高     |
| 壳聚糖质量浓度( $X_2$ )/(mg·mL <sup>-1</sup> ) | 2.0        | 4.0   |
| 因变量                                     | 目标值        |       |
| 包封率( $Y_1$ )/%                          | $\geq 80$  |       |
| 粒径分布( $Y_2$ )/nm                        | $\leq 500$ |       |
| PDI( $Y_3$ )                            | $< 0.5$    |       |
| Zeta电位绝对值( $Y_4$ )/mV                   | $\geq 20$  |       |

表2 实验设计及结果

Table 2 Results of experimental design

| 编号 | $X_1$ | 自变量                           | 因变量            |                  |                   |                |
|----|-------|-------------------------------|----------------|------------------|-------------------|----------------|
|    |       | $X_2$ /(mg·mL <sup>-1</sup> ) | $Y_1$ /%       | $Y_2$ /nm        | $Y_3$             | $Y_4$ /mV      |
| 1  | 低     | 2.0                           | 84.9 $\pm$ 1.3 | 357.3 $\pm$ 17.5 | 0.353 $\pm$ 0.016 | 22.6 $\pm$ 0.8 |
| 2  | 低     | 4.0                           | 85.2 $\pm$ 1.7 | 532.8 $\pm$ 21.3 | 0.414 $\pm$ 0.021 | 21.7 $\pm$ 0.5 |
| 3  | 高     | 2.0                           | 87.3 $\pm$ 0.8 | 576.6 $\pm$ 26.1 | 0.493 $\pm$ 0.033 | 25.8 $\pm$ 0.6 |
| 4  | 高     | 4.0                           | 87.2 $\pm$ 1.1 | 699.2 $\pm$ 25.1 | 0.484 $\pm$ 0.026 | 30.3 $\pm$ 1.1 |

由图1-A可知,相同相对分子质量的壳聚糖,增加其浓度不会对药物包封率产生显著影响;而在壳聚糖浓度相同的条件下,采用高相对分子质量壳聚糖可显著提高药物的包封率( $P < 0.05$ ),这可能是由于壳聚糖分子链长度的增加,提高了壳聚糖对药物的包裹作用<sup>[10]</sup>;由图1-B可知,壳聚糖的相对分子质量和质量浓度均对壳聚糖纳米粒子的粒径分布具有显著影响( $P < 0.05$ ),随着壳聚糖相对分子质量和浓度的增加,其粒径分布均呈增加趋势,这归因于壳聚糖的相对分子质量和质量浓度均在较高的条件下,其黏度明显增加,导致制备的壳聚糖纳米粒的粒径分布也较大<sup>[11]</sup>;PDI代表纳米粒粒径分布的均匀度,其值越小,表明粒径分布越均匀<sup>[12]</sup>,由图1-C可知,壳聚糖相对分子质量和质量浓度对壳聚糖纳米粒子的PDI均具有显著影响( $P < 0.05$ ),增加壳聚糖的相对分子质量和质量浓度均会导致PDI增加;Zeta电位大小会对壳聚糖纳米粒的物理稳定性起到关键作用<sup>[13]</sup>,图1-D显示,增加壳聚糖的质量浓度对Zeta电位无显著影响,而增加壳聚糖相对分子质量会导致Zeta电位显著增加( $P < 0.05$ ),这可能是由于壳聚糖长度增加,会出现更多的带有正电荷的胺基基团<sup>[14]</sup>,进而增加了Zeta电位。

根据表1对盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒的质量

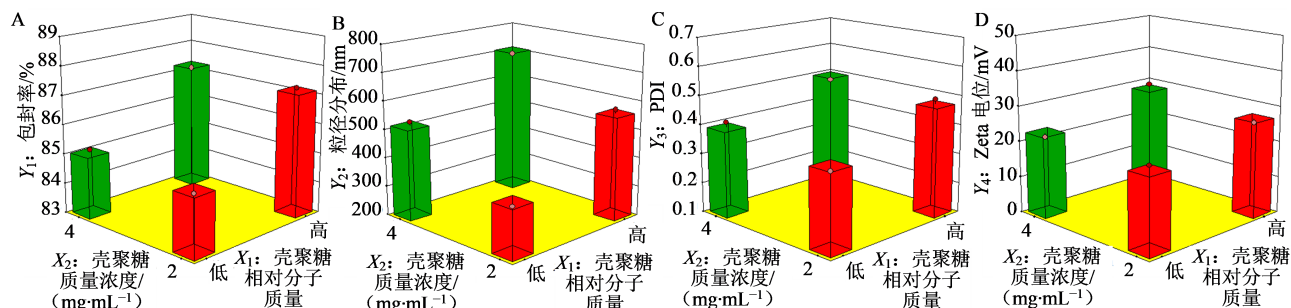


图1 壳聚糖相对分子质量和壳聚糖质量浓度对盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒的包封率(A)、粒径分布(B)、PDI(C)和Zeta电位(D)影响的柱状图

Fig. 1 Effect of chitosan molecular weight and chitosan concentration on encapsulation efficiency (A), particle size distribution (B), PDI (C) and Zeta potential (D) of ciprofloxacin hydrochloride chitosan nanoparticles

要求: 包封率 $\geq 80\%$ 、粒径分布 $\leq 500$  nm、PDI $< 0.5$ 以及Zeta 电位绝对值 $\geq 20$  mV, 确定选用低相对分子质量壳聚糖, 其质量浓度为 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 制备盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒, 按照该处方制备3批样品, 盐酸环丙沙星质量浓度为 $50.0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 包封率为 $(85.3 \pm 0.9)\%$ , 平均粒径为 $(354.7 \pm 15.7) \text{ nm}$ , PDI为 $0.357 \pm 0.014$ , Zeta 电位为 $(22.2 \pm 0.5) \text{ mV}$ 。

## 2.4 壳聚糖纳米粒微观形态

按照优化得到的处方制备盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒, 取1滴壳聚糖纳米粒样品, 用蒸馏水以1:100比例稀释, 取少量滴加到150目formvar/碳涂层铜网格上, 均匀铺展, 再滴加 $20 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 磷钨酸染色30 s, 用滤纸吸走多余水分, 放置在室温下风干, 通过透射电子显微镜观察壳聚糖纳米粒的微观形态, 并以合适的放大倍数拍摄显微照片。电镜照片(图2)显示, 盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒呈球状, 表面光滑, 结构致密, 分散性良好, 无聚集, 大部分粒子的直径在100~500 nm分布。

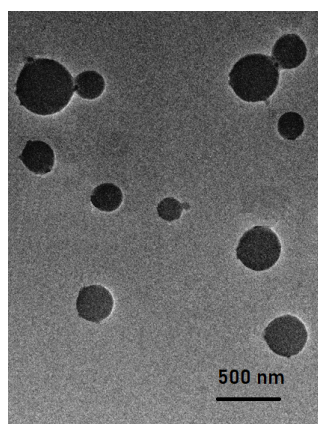


图2 盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒透射电镜照片  
Fig. 2 Transmission electron microscope of ciprofloxacin hydrochloride chitosan nanoparticles

## 2.5 原位凝胶的制备

以泊洛沙姆407作为凝胶基质, 采用冷溶法制备盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶<sup>[15]</sup>。分别称取一定量的泊洛沙姆407加入到壳聚糖纳米粒溶液中, 并定容至100 mL, 分散均匀, 放在4~8 °C冰箱中12 h, 既得到含有泊洛沙姆407质量浓度分别为160、180、200、220、240  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶, 外观都呈均匀透明状, 低温环境中保存。取上述5种盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶各5 mL, 分别加入到具塞试管(插有精度为0.1 °C的水银温度计)中, 使液面完全浸没温度计水银球, 将具塞试管放入到水浴中, 并以约

$2 \text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的升温速率使水浴温度从32 °C逐渐升高至38 °C, 温度计每升高0.2 °C时取出试管倾斜90°, 当凝胶液面不流动时记录温度, 即为凝胶化温度。重复测定3次, 计算平均值, 结果见表3。

人体体表的平均温度通常为 $(32 \pm 2) \text{ }^{\circ}\text{C}$ , 本研究选取泊洛沙姆407质量浓度为 $220 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 其凝胶化温度为 $(32.3 \pm 0.3) \text{ }^{\circ}\text{C}$ , 在应用时可以在人体皮肤表面形成固体状凝胶。

表3 凝胶化温度测定结果( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

| Table 3 Results of gelation temperature ( $\bar{x} \pm s, n=3$ ) |                           |
|------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 泊洛沙姆407/ $(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$                        | 凝胶化温度/ $^{\circ}\text{C}$ |
| 160                                                              | $45.7 \pm 0.5$            |
| 180                                                              | $41.5 \pm 0.3$            |
| 200                                                              | $36.4 \pm 0.2$            |
| 220                                                              | $32.3 \pm 0.3$            |
| 240                                                              | $30.6 \pm 0.2$            |

## 2.6 抑菌圈实验

移取浓度为 $1 \times 10^6 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, 革兰阳性菌)和铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, 革兰阴性菌)悬浮液各100  $\mu\text{L}$ , 分别加入到熔融状培养基中, 均匀铺展到表面皿中, 冷却凝固, 在每份培养基上各取3个直径为10 mm小孔, 做上标记; 分别取盐酸环丙沙星乳膏和盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶加入到小孔中(含药量均为1 mg), 37 °C下培养24 h, 用游标卡尺测定抑菌圈直径(图3); 通过抑菌圈实验比较盐酸环丙沙星乳膏和盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的抑菌活性, 结果见表4。

结果显示, 盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶和盐酸环丙沙星乳膏对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径分别为 $(38.4 \pm 0.2)$ 、 $(29.2 \pm 0.3) \text{ mm}$ , 对铜绿假单胞菌抗菌圈直径分别为 $(41.3 \pm 0.6)$ 、 $(32.1 \pm 0.1) \text{ mm}$ , 说明盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的抑菌活性均优于盐酸环丙沙星乳膏。

## 2.7 药效学评价

选择雄性SD大鼠18只, 体质量为180~240 g, ip 氯胺酮( $75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )麻醉, 并在背部脱毛, 使用无菌活检穿刺针在大鼠背部造成直径为5 mm的皮肤全切除的圆形人工创面, 并使用金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的培养基感染24 h, 建立大鼠创面模

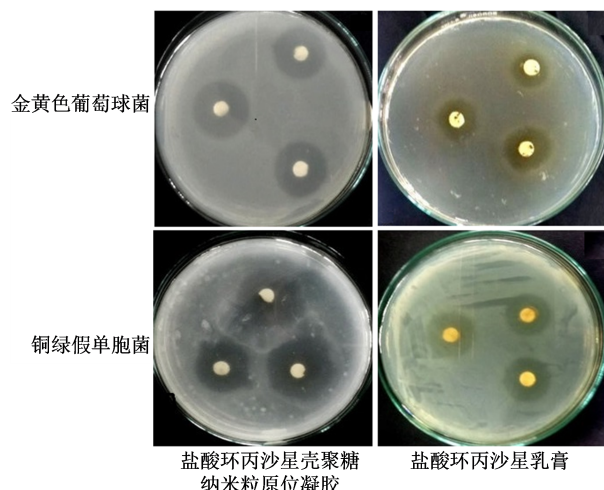


图3 盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶和盐酸环丙沙星乳膏对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌形成的抑菌圈

Fig. 3 Inhibition zone of ciprofloxacin hydrochloride chitosan nanoparticles in situ gels and ciprofloxacin hydrochloride cream against *S. aureus* and *P. Aeruginosa*

表4 抑菌圈直径测定结果( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 4 Results of inhibition zone ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

| 制剂               | 抑菌圈直径/mm |          |
|------------------|----------|----------|
|                  | 金黄色葡萄球菌  | 铜绿假单胞菌   |
| 盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶 | 38.4±0.2 | 41.3±0.6 |
| 盐酸环丙沙星乳膏         | 29.2±0.3 | 32.1±0.1 |

型<sup>[16]</sup>。将创面模型大鼠随机分为模型组、盐酸环丙沙星乳膏组和盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶组,模型组大鼠创面未接受任何处理,给药组大鼠每2天给药1次,每次给药量均约为1 mg,观察并记录每组大鼠创面脱痂时间和愈合时间,结果见表5。

实验结果表明,创面大鼠给予盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶后,其脱痂时间和愈合时间均

表5 各组创面脱痂时间和愈合时间( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 5 Scab removal time and healing time of scald wounds in each group ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 组别               | 脱痂时间/d               | 愈合时间/d                |
|------------------|----------------------|-----------------------|
| 模型               | 15.1±1.3             | 21.5±1.6              |
| 盐酸环丙沙星乳膏         | 12.5±0.9*            | 17.1±1.1*             |
| 盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶 | 9.6±0.8 <sup>#</sup> | 14.7±1.2 <sup>#</sup> |

与模型组比较: \* $P < 0.05$ ; 与盐酸环丙沙星乳膏组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs model group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs Ciprofloxacin Hydrochloride Cream group

较给予盐酸环丙沙星乳膏和未接受任何处理的大鼠显著缩短( $P < 0.05$ ),说明盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶对大鼠创面的愈合具有显著促进作用。

### 3 讨论

盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒处方中加入了带有负电荷的胶原蛋白,其能够与带正电荷的壳聚糖形成牢固的离子复合物,可增加壳聚糖纳米粒的机械强度<sup>[17]</sup>,此外,胶原蛋白也有助于创伤愈合<sup>[18]</sup>。

原位凝胶在加速伤口组织愈合过程中发挥着至关重要的作用,其能够在组织损伤处提供潮湿环境,刺激上皮细胞从伤口床边缘迁移和增殖,从而重塑受损区域,并吸收伤口渗出物。泊洛沙姆407作为原位凝胶基质,其在低温条件下为自由流动的液体,当温度升高后会自发形成不流动的固体凝胶状,该过程无需交联剂,对创伤组织非常安全,且泊洛沙姆407形成的水凝胶具有多孔状,能有效吸收组织渗出液,促进创伤面快速愈合<sup>[19]</sup>。

抑菌圈实验结果显示,盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶抗菌活性高于盐酸环丙沙星乳膏,一方面可归因于壳聚糖纳米粒的粒径为纳米级,结构致密,具有更好的渗透性;另一方面壳聚糖纳米粒表面带有正电荷,能够与带负电荷的细菌细胞壁之间通过静电相互作用,牢固的附着在细胞壁表面,增强对细菌的渗透,达到更强的抑菌效果<sup>[20]</sup>。

本研究成功制备盐酸环丙沙星壳聚糖纳米粒原位凝胶,其可以抑制创面细菌繁殖,加速伤口愈合,临床应用潜力巨大。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] 孙雪娇. 创伤感染患者伤口细菌耐药检测的相关研究[J]. 中国医药指南, 2020, 18(28): 63-64.  
Sun X J. Study on the detection of bacterial resistance in wounds of patients with traumatic infection [J]. Guide China Med, 2020, 18(28): 63-64.
- [2] Fan L H, Yang H, Yang J, et al. Preparation and characterization of chitosan/gelatin/PVA hydrogel for wound dressings [J]. Carbohydr Polym, 2016, 146: 427-434.
- [3] Rozman N A S, Tong W Y, Leong C R, et al. Potential antimicrobial applications of chitosan nanoparticles (ChNP) [J]. J Microbiol Biotechnol, 2019, 29(7): 1009-1013.
- [4] 杨欣, 杜田. 壳聚糖在伤口敷料中的应用研究进展

- [J]. 精细与专用化学品, 2017, 25(3): 42-45.
- Yang X, Du T. Progress on application research of chitosan in wound dressing [J]. Fine Specialty Chem, 2017, 25(3): 42-45.
- [5] Xue Y, Guan Y, Zheng A, et al. Synthesis and characterization of ciprofloxacin pendant antibacterial cationic polymers [J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2012, 23(8): 1115-1128.
- [6] Fu J J, Zhu Y L, Cheng F S, et al. A composite chitosan derivative nanoparticle to stabilize a W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub> emulsion: Preparation and characterization [J]. Carbohydr Polym, 2021, 256: 117533.
- [7] 季可非, 汪 洋. 眼用盐酸洛美沙星壳聚糖纳米粒的制备与体外评价 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(12): 2627-2634.
- Ji K F, Wang Y. Preparation and *in vitro* evaluation of ophthalmic lomefloxacin hydrochloride chitosan nanoparticles [J]. Drug Eval Res, 2021, 44(12): 2627-2634.
- [8] 豆妮娜, 马海艳, 李 岑, 等. 中空纤维离心超滤-HPLC法测定盐酸环丙沙星凝胶剂的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(11): 1104-1107.
- Dou N N, Ma H Y, Li C, et al. Determination of ciprofloxacin hydrochloride gel by centrifugal ultrafiltration and HPLC [J]. Chin J Hosp Pharm, 2017, 37(11): 1104-1107.
- [9] 沈 英, 黄雅菲, 俞 平, 等. 阿立哌唑纳米混悬剂口溶膜的制备与质量评价 [J]. 西北药学杂志, 2020, 35(4): 549-553.
- Shen Y, Huang Y F, Yu P, et al. Preparation and quality evaluation of aripiprazole nanosuspension orodispersible films [J]. Northwest Pharm J, 2020, 35(4): 549-553.
- [10] Gan Q, Wang T. Chitosan nanoparticle as protein delivery carrier: Systematic examination of fabrication conditions for efficient loading and release [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2007, 59(1): 24-34.
- [11] Sun Y, Cui F D, Shi K, et al. The effect of chitosan molecular weight on the characteristics of spray-dried methotrexate-loaded chitosan microspheres for nasal administration [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2009, 35(3): 379-386.
- [12] Wang F, Yang S Q, Hua D W, et al. A novel preparation method of paclitaxel-loaded folate-modified chitosan microparticles and *in vitro* evaluation [J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2016, 27(3): 276-289.
- [13] Centis V, Vermette P. Physico-chemical properties and cytotoxicity assessment of PEG-modified liposomes containing human hemoglobin [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2008, 65(2): 239-246.
- [14] Saroha A, Pandey P, Kaushik D. Development of timolol maleate loaded chitosan nanoparticles for improved ocular delivery [J]. Pharm Nanotechnol, 2017, 5(4): 310-316.
- [15] 刘媛媛. 温敏型眼用葛根素原位凝胶的制备与质量评价 [J]. 华西药学杂志, 2019, 34(3): 132-136.
- Liu Y Y. Preparation and quality evaluation of *in situ* thermosensitive ophthalmic gels of puerarin [J]. West China J Pharm Sci, 2019, 34(3): 132-136.
- [16] Phaeachamud T, Charoenteeraboon J. Antibacterial activity and drug release of chitosan sponge containing doxycycline hyclate [J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2008, 9(3): 829-835.
- [17] Chen M M, Huang Y Q, Cao H, et al. Collagen/chitosan film containing biotinylated glycol chitosan nanoparticles for localized drug delivery [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2015, 128: 339-346.
- [18] 余丕军, 陈 炜. 胶原蛋白/壳聚糖复合纳米纤维膜在生物医学工程中的应用 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(42): 7897-7901.
- Yu P J, Chen W. Application of collagen/chitosan compound nanofiber membrane in biomedical engineering [J]. J Clin Rehab Tissue Eng Res, 2011, 15(42): 7897-7901.
- [19] 王晓腾, 甘 慧, 刘晓亚, 等. 载 VEGF 及 bFGF 泊洛沙姆温敏凝胶的制备及其对大鼠皮肤创伤修复的促进作用 [J]. 国际药学研究杂志, 2019, 46(8): 597-605.
- Wang X T, Gan H, Liu X Y, et al. The preparation of VEGF/bFGF-loaded poloxamer thermosensitive gels and the promotive effect of the gels on the skin wound healing in rats [J]. J Int Pharm Res, 2019, 46(8): 597-605.
- [20] 薛金玲, 李健军, 白艳红, 等. 壳聚糖及其衍生物抗菌活性的研究进展 [J]. 高分子通报, 2017(11): 26-36.
- Xue J L, Li J J, Bai Y H, et al. Research development of chitosan and its derivatives in antibacterial activity [J]. Polym Bull, 2017(11): 26-36.

[责任编辑 兰新新]