

文章编号: 1008-9357(2025)02-0148-09

DOI: 10.14133/j.cnki.1008-9357.20240901001

定向多孔结构壳聚糖药物载体材料的构建

奚晓玮^{1,2}, 陈 诚^{1,2}, 高闻语^{1,2}, 刘子睿¹, 王东煜¹, 张传蕾^{1,2}, 邓林红^{1,2,3}, 刘 杨^{1,2,3}
(常州大学 1. 医学与健康工程学院; 2. 药学院 生物与食品工程学院; 3. 生物医学工程与健康科学研究院, 江苏 常州 213164)

摘要: 基于温度变化过程对高分子构象的作用, 通过调控冰晶生长过程制备了径向孔径呈梯度变化的壳聚糖支架材料 (CS-RC)。研究表明: 在低温环境下, 支架材料的外缘区域的温度梯度差大于内核区域的温度梯度差, 通过进一步调控冰晶的生长过程, 实现了壳聚糖支架内部孔隙结构呈规则的梯度分布, 孔径分布在 100~140 μm 。理化性能评价结果表明, CS-RC 支架具有良好的保湿性能、力学性能以及稳定的降解性能, 并且孔隙率能达到 88.8% 左右。此外, 相对于传统的低温冻干壳聚糖支架材料, CS-RC 支架的载药率显著提高, 对亲水性药物阿仑膦酸钠的载药率和包封率分别提高了 8.4%、15.9%, 对疏水性药物利福平的载药率和包封率分别提高了 4.8%、11.5%, 药物在支架中呈现出稳定的缓释过程和有效释放周期。

关键词: 壳聚糖; 多孔支架; 冷冻干燥; 冰晶生长; 药物载体

中图分类号: Q819

文献标志码: A

Construction of Chitosan with Oriented Porous Structure for Drug Carrier

XI Xiaowei^{1,2}, CHEN Cheng^{1,2}, GAO Wenyu^{1,2}, LIU Zirui¹, WANG Dongyu¹, ZHANG Chuanlei^{1,2},
DENG Linhong^{1,2,3}, LIU Yang^{1,2,3}

(1. School of Medical and Health Engineering; 2. School of Pharmacy & School of Biological and Food Engineering;
3. Institute of Biomedical Engineering & Health Sciences, Changzhou University, Changzhou 213164, Jiangsu, China)

Abstract: Chitosan (CS) scaffolds (CS-RC) with radially gradient changes in pore size were prepared by modulating the ice crystal growth process, based on the role of temperature changes on polymer conformation. Results show that the temperature gradient difference in the outer edge region is larger than that in the inner core region at low temperatures, and thus, modulation of the ice crystal growth process can achieve a regular, controlled morphology distribution of the internal pore structure of the CS-RC scaffolds, with pore diameters ranging from 100 μm to 140 μm . The physicochemical performance evaluation results indicate that the CS-RC scaffolds possess good moisturizing properties and mechanical properties, stable degradation properties, and a high porosity of about 88.8%. Additionally, compared to traditional low-temperature lyophilized chitosan scaffold materials, the CS-RC scaffolds exhibit a significant increase in drug loading rates and encapsulation rates, increasing by 8.4% and 15.9% for the hydrophilic drug alendronate, and 4.8% and 11.5% for the hydrophobic drug

收稿日期: 2024-09-01

基金项目: 国家自然科学基金 (81900814)

作者简介: 奚晓玮 (1998—), 女, 硕士生, 主要从事生物医用材料和组织工程等相关研究。E-mail: xxw2295419914@163.com

通信联系人: 邓林红, E-mail: dlh@cczu.edu.cn; 刘 杨, E-mail: liuyang@cczu.edu.cn

引用格式: 奚晓玮, 陈 诚, 高闻语, 刘子睿, 王东煜, 张传蕾, 邓林红, 刘 杨. 定向多孔结构壳聚糖药物载体材料的构建 [J]. 功能高分子学报, 2025, 38(2): 148-156.

Citation: XI Xiaowei, CHEN Cheng, GAO Wenyu, LIU Zirui, WANG Dongyu, ZHANG Chuanlei, DENG Linhong, LIU Yang. Construction of Chitosan with Oriented Porous Structure for Drug Carrier [J]. Journal of Functional Polymers, 2025, 38(2): 148-156.

rifampicin, respectively. The drugs also show a stable sustained-release process and an effective, sustained release cycle within the scaffolds.

Key words: chitosan; porous scaffold; freeze-drying; ice crystal growth; drug carrier

20 世纪 60 年代, 科学家发现利用胶囊^[1,2]或微球^[3,4]等载体将药物包裹, 可以实现药物的定向输送和控释释放。随后, 人们利用聚合物、脂质体等研发出了各种不同类型的药物载体系统。21 世纪以来, 随着生物医学技术的飞速发展, 药物载体在临床应用方面取得了长足进步。天然高分子材料(如胶原蛋白^[5]、丝素蛋白^[6]和壳聚糖^[7,8]等)因具有良好的生物相容性、可降解性和可吸收代谢性等优点, 在临床疾病治疗中显示出巨大的应用前景^[9,10]。其中, 壳聚糖(Chitosan, CS)作为天然高分子材料中的杰出代表^[11,12], 在组织工程和生物医药材料领域的发展被广泛关注^[13]。

壳聚糖支架材料内部多孔结构的尺寸及分布会对其载药性能及药物的释放过程和有效作用周期产生重要影响^[14,15]。为了提升壳聚糖支架材料的相关性能, 研究人员采用了多种方法, 包括表面修饰、结构调控、复合改性等^[16,17]。Su 等^[18]以咖啡酸化学修饰后的壳聚糖为原料, 制备了咖啡酸接枝壳聚糖/海藻酸钠/纳米黏土基多功能 3D 打印混合支架, 将其作为药物递送载体能够发挥持续的药物释放作用。Pantić 等^[19]采用超临界流体技术制备了新型聚乙内酯-壳聚糖支架材料, 增加了大孔材料的比表面积和吸附能力, 并提高了热稳定性。在温和的操作条件(40 °C, 1.5×10^7 Pa)下制备的支架材料, 结构更紧凑, 孔径更窄, 负载药物吡哆美辛后, 可在一周内受控释放。张中勋等^[20]采用化学交联法在壳聚糖中引入氧化石墨烯, 制备出具有高孔隙率的多孔复合支架, 为药物负载提供了更多的结合位点, 载药性能显著提升。除此之外, 也有研究者尝试将壳聚糖制成纳米颗粒或纳米纤维等形式来增加其比表面积, 从而提供更多的药物吸附位点^[21,22]。

虽然这些研究为壳聚糖基材料的载药应用提供了一些宝贵的思路, 但是往往需要引入新的化学成分, 或是面临着材料的力学性能和载药能力不足等问题, 这在一定程度上限制了壳聚糖支架作为药物载体材料的发展。鉴于此, 本文在不影响支架良好理化性能的前提下, 基于温度变化过程对高分子构象的作用, 通过调控冰晶生长过程来优化壳聚糖药物载体材料的构建, 最终形成径向孔径呈梯度变化的定向多孔海绵支架材料。这种多孔支架材料内部类似于“核壳结构”的特征, 即由一个致密的外壳和一个疏松的内核组成, 以期在不采用任何交联剂和复杂工艺的前提下, 制备出具有较好载药能力和药物缓释能力的药物载体支架材料。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

CS: 脱乙酰度 $\geq 95\%$, 黏度 200 mPa·s, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 冰醋酸(HAc): 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 氢氧化钠(NaOH): 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 阿仑膦酸钠(AL): $w=97\%$, 上海麦克林生化科技有限公司; 利福平(RFP): $w=99\%$, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 六水合三氯化铁($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$): 分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 高氯酸(HClO_4): 分析纯, 江苏强盛化工有限公司; 去离子水: 由 Milli Q Plus 型超级纯水仪制备。

LGJ-10 型冷冻干燥机(美国, Labconco 公司); IS50 型傅里叶变换红外光谱仪(美国, Thermo-Nicolet Co 公司); E200 型生物力学显微镜(日本, Nikon 公司); CKX53 型荧光相差显微镜(日本, Olympus 公司); JSM-IT100 型扫描电子显微镜(日本, JEOL 公司); ELF3200 型生物材料力学性能试验机(美国, Bose 公司); UV-2800 型紫外-可见分光光度计(上海, Unico 仪器有限公司)。

1.2 药物载体支架材料的制备

首先, 在室温下将 3.0 g 壳聚糖粉末溶于 100 mL 乙酸溶液($\varphi=2\%$)中, 充分搅拌使其混合均匀, 获得分散均匀、稳定的壳聚糖胶体悬浮液。超声除气后, 将悬浮液浇注于聚苯乙烯材质的圆柱体模具中, 圆柱体上下用聚四氟乙烯材料密封, 再用聚氨酯泡沫包裹柱体, 然后置于 -80 °C 冷冻 24 h 以上, 保持试样各处与环境冷源的物理距离相等。紧接着将经过不同冷冻过程得到的壳聚糖固态材料移至冷冻干燥机中冻干 48 h 以上, 使材料中生成的固态冰晶充分升华, 获得内孔隙结构。最后将各支架材料放入 $w=5\%$ 的氢氧化钠溶液中 20 min, 中和壳聚糖支架材料的醋酸分子, 用去离子水反复冲洗, 直至材料恢复中性, 再次冻干处理材料 12 h,

使材料内的冰晶升华,保持孔隙结构,得到的多孔结构的壳聚糖支架标记为 CS-RC。

为了形成对比,本文采用传统梯度降温法制备支架材料,即将悬浮液浇注于 24 孔板后,先置于 4 °C 环境中 6 h,后转入 0 °C 环境中 6 h,再转入 -20 °C 环境中冷冻 6 h,然后将其转入 -80 °C 冰箱过夜,最后冻干、碱浸处理后二次冻干。通过此方法所得壳聚糖支架标记为 CS-GC。

本文在传统梯度降温制备均匀多孔壳聚糖支架材料的基础上,还增加了孔洞不规则排列的壳聚糖支架材料作为对照,即将悬浮液浇注于 24 孔板后,直接置于 -80 °C 环境中冷冻,再冻干、碱处理后二次冻干,通过此方法得到的壳聚糖支架标记为 CS-IP。图 1 所示为 3 种支架材料内部冰晶生长过程的机理图。

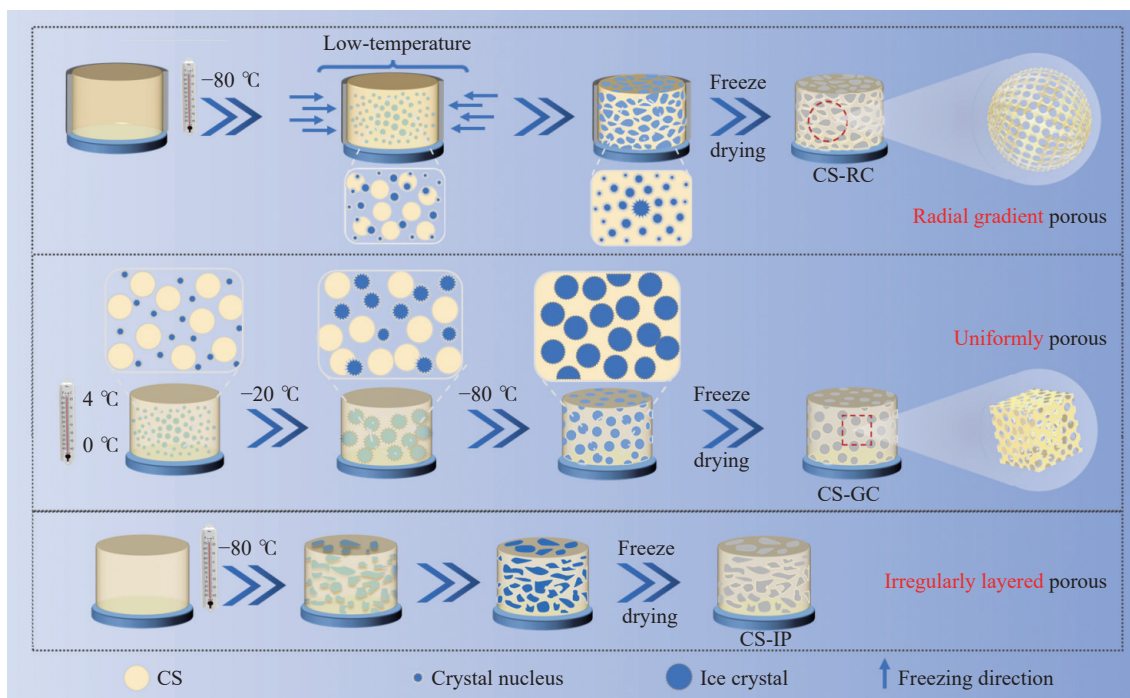


图 1 不同冷冻条件下壳聚糖溶液中冰晶生长过程的机理图

Fig. 1 Mechanism of ice crystal growth process in CS solution under different freezing conditions

1.3 测试与表征

1.3.1 傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 表征 利用傅里叶变换红外光谱仪对 3 种支架的官能团信息进行分析。首先,从 3 种壳聚糖支架材料中剥离出厚度约为 0.5 mm 的薄片状试样;然后,将样品固定在 ATR 模块上;最后,去除背景,在 500~4000 cm^{-1} 的波数范围内获得支架的 FT-IR 谱图。分辨率为 2 cm^{-1} ,扫描次数为 16 次。

1.3.2 形貌分析 采用生物力学显微镜、荧光相差显微镜和扫描电镜 (SEM) 观察了支架材料的微观形貌。测试前,利用液氮将支架样品切成薄片状,扫描电镜测试还需要将样品固定在导电样品台上,真空镀金处理后,在 5 kV 的加速电压下进行检测,并通过 Image J 软件 (NIH, v1.5 Maryland, US) 处理各支架材料的 SEM 图像,分析其孔径大小。

1.3.3 孔隙率测试 采用乙醇置换法测定 CS 支架材料的孔隙率。首先将 3 种 CS 支架材料置于装满无水乙醇的比重瓶中,然后抽真空脱气,使无水乙醇充盈于 3 种支架的孔隙中,最后从比重瓶中取出壳聚糖支架材料。每种支架取 5 个样品进行 5 次平行实验,计算平均值和标准偏差。孔隙率由式 (1) 计算:

$$\text{Porosity} = \frac{m_2 - m_3 - m_1}{m_0 - m_3} \times 100\% \quad (1)$$

式中: m_0 为比重瓶装满无水乙醇后的总质量; m_1 为壳聚糖支架的原始质量; m_2 为支架完全浸入无水乙醇后与比重瓶的总质量; m_3 为支架从比重瓶中取出后剩余无水乙醇与比重瓶的总质量。

1.3.4 吸水率测试 采用磷酸盐缓冲溶液 (PBS, pH = 7.4) 对 3 种 CS 支架材料的吸水率进行测试。首先将 3 种壳聚糖支架材料在干燥状态下称重 (此时质量记为 m),然后置于 PBS 溶液中浸泡一定时间间隔后取出,用

滤纸轻轻拭去支架表面残余的水分,紧接着在精密电子天平上称其吸水溶胀后的质量(m_w),每种支架取5个样品进行5次平行实验,计算平均值和标准偏差。吸水率由式(2)计算:

$$\text{Water absorption rate} = (m_w - m) / m_w \times 100\% \quad (2)$$

1.3.5 力学性能测试 使用生物材料力学性能试验机对3种圆柱形壳聚糖支架样品(直径为12 mm,高度为10 mm)进行力学性能测试,控制压缩探头的压缩速率为3 mm/min,每种支架取5个样品进行5次平行实验。

1.3.6 体外降解性能测试 在室温下(约25 °C)使用PBS缓冲液(pH=7.4)对相同形态和尺寸的3种支架进行了降解性能研究。首先对干燥状态下的支架材料进行称重(此时质量记为 m_i),然后将支架材料浸入PBS缓冲液(pH=7.4)中,并在37 °C下孵育一个月。在指定的时间间隔内,取出样品并用去离子水洗涤。最后将冲洗后的支架样品进行二次冻干再称重(此时质量记为 m_f)^[23]。支架的降解率由式(3)计算:

$$\text{Degradation rate} = (m_i - m_f) / m_i \times 100\% \quad (3)$$

1.3.7 载药性能测试 将直径为14 mm、高度为5.5 mm的3种壳聚糖支架材料分别完全浸入5 mL亲水性药物AL和疏水性药物RFP溶液($\rho=0.4$ mg/mL)中24 h,然后离心取上清液,用紫外分光光度法测量其吸光度,代入2种药物溶液的标准曲线得到上清液的质量浓度(ρ_1)。其中AL质量浓度检测根据文献[24]报道的方法测定,即将收集的上清液溶于氯化铁-高氯酸溶液中,再使用紫外-可见分光光度计检测AL质量浓度。支架的封装率和载药率由式(4、5)计算:

$$\text{Encapsulation rate} = (0.4 - \rho_1) / 0.4 \times 100\% \quad (4)$$

$$\text{Drug loading rate} = \frac{m(\text{Entrapped drug})}{m(\text{Scaffold after drug loading})} \times 100\% \quad (5)$$

1.3.8 药物的体外释放测试 首先,将分别负载了AL和RFP的2种壳聚糖支架浸入5 mL PBS中,每种支架材料平行3组,37 °C下置于培养箱中连续振荡,在给定时间间隔内(24、48、72、96、120、144、192、240、288、336、384 h)收集2 mL上清液,同时加入等体积的新鲜PBS。然后,将不同时间收集的上清液通过紫外-可见分光光度计测定吸光度。最后,按照标准曲线法,通过计算样品上清液中AL和RFP质量浓度获得目标药物的体外累积释放率。

1.3.9 统计分析 使用ANOVA分析各组数据间的显著性差异,当 $P < 0.05$ 时结果具有统计学意义,对于不同 P 值范围,数据图中具体标识如下: $0.01 < P < 0.05$ 记为*, $0.001 < P < 0.01$ 记为**, $P < 0.001$ 记为***。实验数据表示为平均值±标准差。

2 结果与讨论

2.1 化学结构分析

图2所示为CS-GC、CS-IP和CS-RC支架的FT-IR图谱。由图2可知,3种支架在 $3500 \sim 3000 \text{ cm}^{-1}$ 处均显示出一个较宽的吸收峰,对应CS的O—H和N—H伸缩振动峰重合而形成; 1600 cm^{-1} 左右的2个吸收峰分别对应CS的2个酰胺特征峰, 1640 cm^{-1} 附近为C=O(Amide I)的伸缩振动吸收峰; 1538 cm^{-1} 附近为N—H(Amide II)的弯曲振动峰; 1404 cm^{-1} 处对应CS的C—N(Amide III)伸缩振动峰; $1151 \sim 896 \text{ cm}^{-1}$ 处出现的特征峰对应CS中糖苷键C—O—C不对称拉伸振动峰。FT-IR图谱表明,通过调控冰晶生长过程制备的壳聚糖支架与传统梯度降温冻干制备的壳聚糖支架的红外图谱一致,

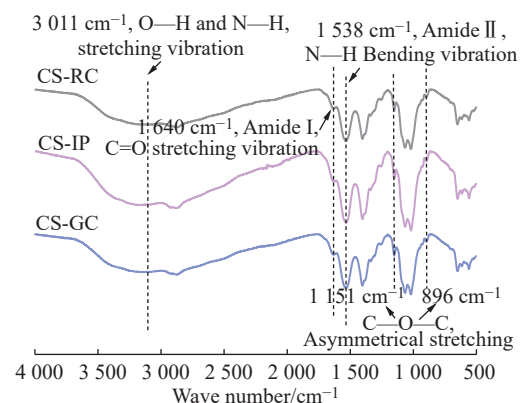


图2 CS-GC、CS-IP和CS-RC支架的红外谱图
Fig. 2 FT-IR spectra of CS-GC, CS-IP and CS-RC scaffolds

结构调控后没有对壳聚糖支架的化学组成造成影响。

2.2 形貌分析

在冰晶生长过程中,壳聚糖分子链发生旋转或运动的空间位阻效应逐步变大,分子与分子间的相互作用逐步增强,这在一定程度上导致聚合物分子链的构象发生变化,高分子链由初始的随机分布趋向更有序的构象状态。同时,当冰晶在壳聚糖凝胶体系中生长时,冰晶在冷冻过程中会形成具有一定取向的固化空间,从而在升华后留下相应的孔隙。图 3 所示为 CS-GC、CS-IP 和 CS-RC 这 3 种支架的形貌图。3 种 CS 支架样品的外观均呈浅黄色(图 3(a~c)),支架内部均呈现出多孔的三维结构,孔洞之间相互连接。其中 CS-GC 支架内部呈现椭圆形孔洞,相比 CS-RC 支架分布更加均一,支架的孔隙结构整体呈现出有规律分布(图 3(d、g、j))。CS-IP 支架内部大部分是不均一的片层状结构(图 3(e、h、k))。CS-RC 支架内部则呈现出大小不均一的孔洞,在靠近支架中心部分的孔洞排列较支架边缘部分更加疏松,整体结构的紧密度呈梯度变化(图 3(f、i、l))。这是由于在低温环境中,样品被快速冷冻,在模具的作用下,壳聚糖支架内不同部位的冰晶生长进程不同,样品的边缘部分相较于中心部分温度下降更快,致使其在速冻过程中形成了许多小的晶核,生长缓慢,故而形成的冰晶较小。靠近样品的中心部分因为距离冷源位置更远,温度差较小,致使形成的晶核更少,冰晶更大,最后通过冷冻干燥升华冰晶,在 CS-RC 支架中形成了径向孔径呈梯度变化的结构,在整体上近似呈现外部稠密、内部疏松的“核壳结构”,有利于其作为药物载体材料更好地包被药物分子。

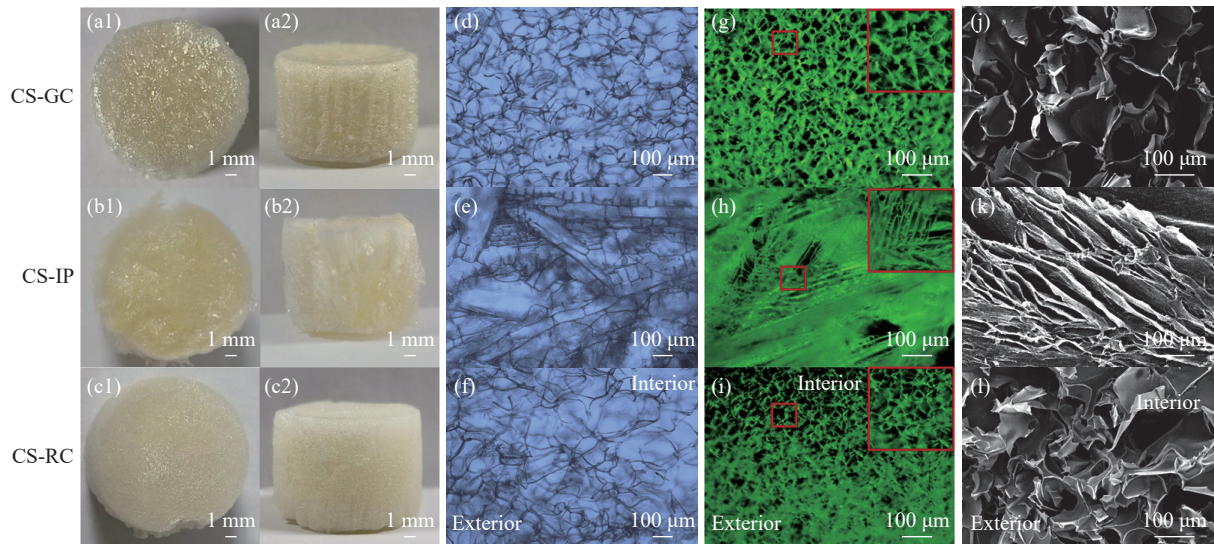


图 3 CS-GC、CS-IP 和 CS-RC 支架的(a~c)数码照片;(d~f)生物显微镜图;(g~i)荧光相差显微镜图;
Fig. 3 (a—c) Digital photographs, (d—f) biomicroscope images, (g—i) Fluorescence phase contrast microscope images and (j—l) SEM images of CS-GC, CS-IP and CS-RC scaffolds

2.3 孔隙率和孔径

CS-GC、CS-IP 和 CS-RC 支架的孔隙率和孔径如图 4 所示。这 3 种支架材料均具有较高的孔隙率(图 4(a)),其中 CS-RC 支架的孔隙率能达到 $(88.81 \pm 0.77)\%$, 显著高于在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温环境中预冷冻再冻干制备的、内部孔隙呈不规则排列的 CS-IP 支架。CS-GC 支架的内部孔径较 CS-RC 支架更均一,孔径在 $135\text{ }\mu\text{m}$ 左右,CS-RC 支架的孔径在 $100\sim 140\text{ }\mu\text{m}$ 范围内呈梯度变化(图 4(b~d))。结合图 3 中 CS-RC 支架的形貌分析,进一步验证了 CS-RC 支架的内部近似呈现外部稠密、内部疏松的“核壳结构”。该支架的高孔隙率主要归因于其内部高度连通的多孔结构,且支架内部孔径较大,从而提高了总体孔隙率。较高的孔隙率为其作为药物载体材料提供更多负载位点奠定了基础。

2.4 保湿性能

CS-GC、CS-IP 和 CS-RC 支架在 PBS 中连续浸泡了 24 h 后的吸水率如图 5 所示。从图 5 可以看出,随着时间的推移,3 种支架的吸水率都呈现上升趋势,连续浸泡 12 h 时吸水率趋于稳定,达到吸水饱和,且吸水率均保持在 90% 左右,表现出良好的保湿性能。这主要归因于壳聚糖大分子链上含有大量的羟基和氨基,这些亲水性基团赋予其较好的吸水性。另外,在相同时间段内,CS-RC 支架的吸水率要显著高于 CS-GC 和 CS-IP

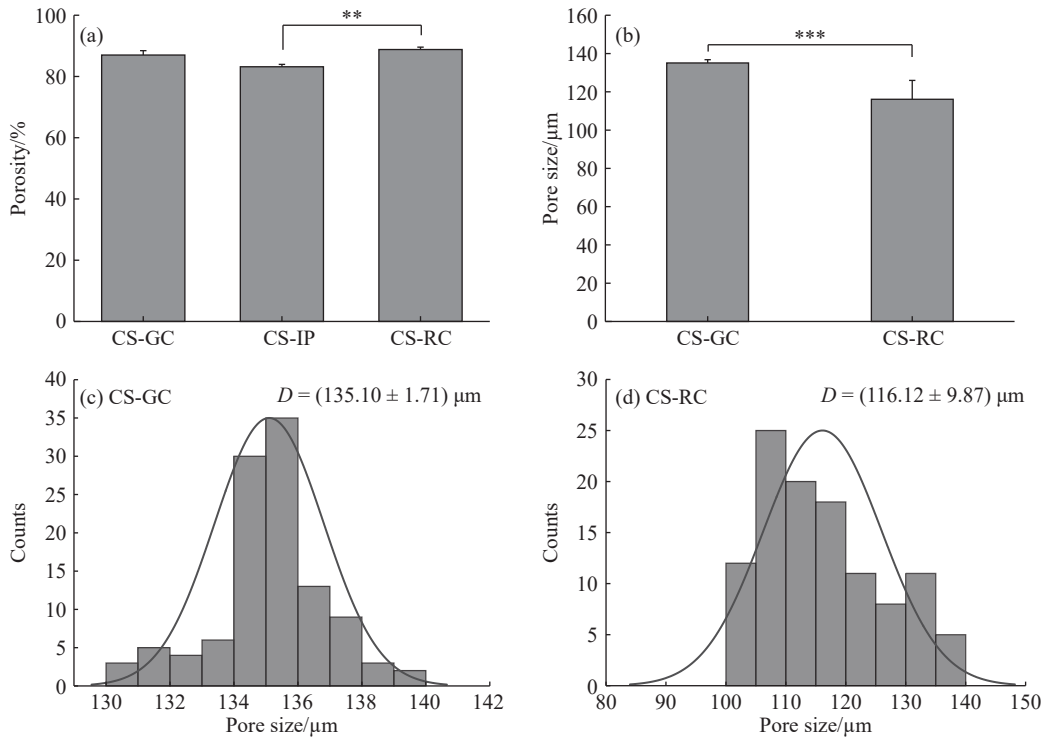


图 4 (a) CS-GC、CS-IP 和 CS-RC 支架的孔隙率; (b) CS-GC 和 CS-RC 支架的孔径; (c) CS-GC 和 (d) CS-RC 支架的孔径分布
 Fig. 4 (a) Porosity of CS-GC, CS-IP and CS-RC scaffolds; (b) Pore size of CS-GC and CS-RC scaffolds; Pore size distribution of (c) CS-GC and (d) CS-RC scaffolds

支架的吸水率。这可能是由于 CS-RC 支架内部较大的孔洞更有利于水分子的储存, 从而具有较高的吸水率, 这与前面对孔隙率的表征结果保持一致, 进一步说明了经过冰晶生长调控后构建的 CS-RC 支架仍然保持着良好的保湿性能。

2.5 力学性能

CS-GC、CS-IP 和 CS-RC 支架的应力-应变曲线、抗压强度和杨氏模量分别如图 6(a, b, c) 所示。CS-GC、CS-IP 和 CS-RC 支架材料被压缩至 50% 时的抗压强度分别为 213、166、202 kPa, 杨氏模量分别为 383、284、363 kPa。出现差异的原因主要是由于内部结构的不同: CS-GC 支架的孔隙结构排列更加均一, 在承受外力时应力分布会更均匀, 从而表现出更高的抗压强度; 内部呈片层状结构的 CS-IP 支架, 在力学载荷下, 不均一的孔隙可能导致应力集中于某些区域,

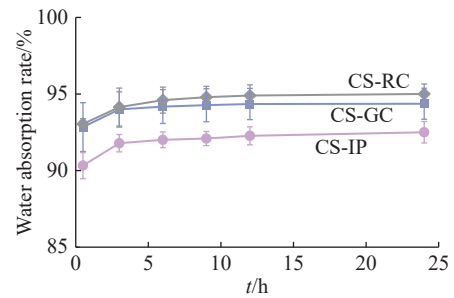


图 5 CS-GC、CS-IP 和 CS-RC 支架的吸水率
 Fig. 5 Water absorption rate of CS-GC, CS-IP and CS-RC scaffolds

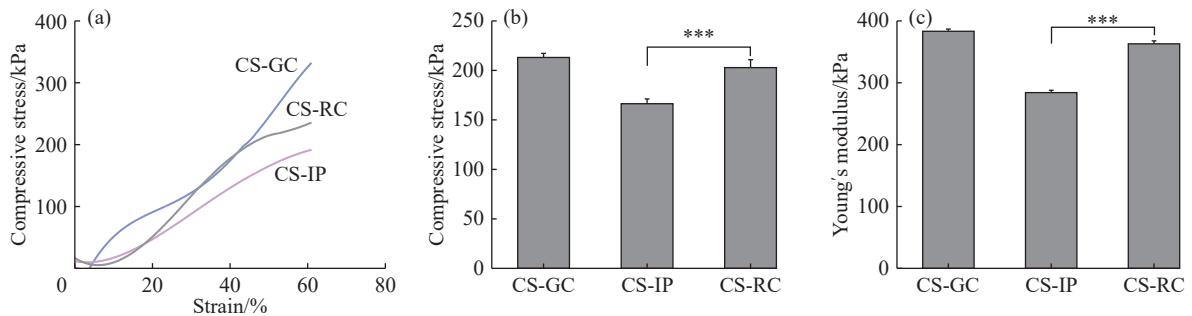


图 6 CS-GC、CS-IP 和 CS-RC 支架的 (a) 纵向压缩应力-应变曲线, 50% 压缩应变对应的 (b) 抗压强度和 (c) 纵向杨氏模量图
 Fig. 6 (a) Axial compression stress-strain curves, (b) compressive stress at 50% strain and (c) axial Young's modulus of CS-GC, CS-IP, and CS-RC scaffolds

致使其力学强度降低;CS-RC 支架由于外部致密可以有效抵抗外部应力,而内部疏松结构则有利于分散应力,避免应力集中,从而提高了整体的机械应力。

2.6 体外降解性能

CS-GC、CS-IP 和 CS-RC 支架在 PBS 中浸泡一个月内的体外降解率如图 7 所示。3 种支架样品在第 1 周质量下降最快,均接近其自身质量的 20%。随后 3 周,CS-GC 支架质量变化趋平。CS-RC 支架的体外降解率逐渐超过 CS-GC 支架,之后支架体外降解率放缓。推测是在初始阶段,支架材料与降解介质接触后,在短时间内发生吸收和溶解作用,支架质量快速下降。接着,CS-RC 支架由于其边缘部分孔径较小,不利于降解介质的渗透和作用,减缓了材料分子结构被破坏的速率,致使其在这一阶段的降解率稍低于 CS-GC 支架,在第 2 周之后降解介质逐渐浸入支架中心部分,CS-RC 支架的中心部分孔径较大,降解速率加快,这也与本课题组前期对支架的形貌分析结果相对应。当药物被包裹在支架材料中时,随着支架材料的降解会释放出药物,2 种支架材料均具有适宜的降解速率,这为所负载药物的稳定性和持续性释放提供了前提条件,从而提高药物利用率。

2.7 载药性能

3 种不同壳聚糖支架对亲水性药物 AL 和疏水性药物 RFP 的包封率和载药率如图 8 所示。可以看出,CS-RC 支架对亲水性药物 AL 的包封率和载药率分别为(54.33±0.40)%、(18.02±0.23)%,对疏水性药物 RFP 的包封率和载药率分别为(75.04±1.36)%、(10.82±0.59)%。与各向同性、不规则层状多孔的壳聚糖支架相比,径向孔径呈梯度变化的 CS-RC 支架的包封率和载药率均表现出显著提高。尤其是相对于传统的低温冻干壳聚糖

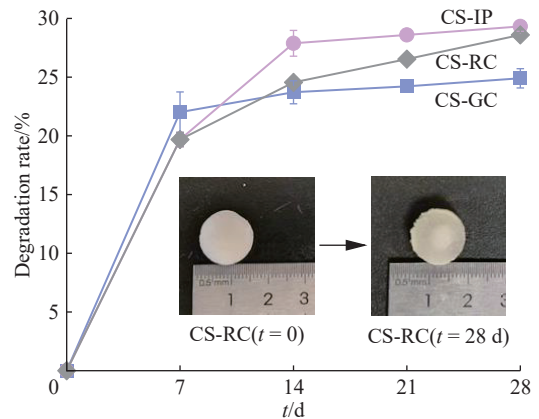


图 7 CS-GC、CS-IP 和 CS-RC 支架在 PBS 中的体外降解率
Fig. 7 *In vitro* degradation rate of CS-GC, CS-IP and CS-RC scaffolds in PBS

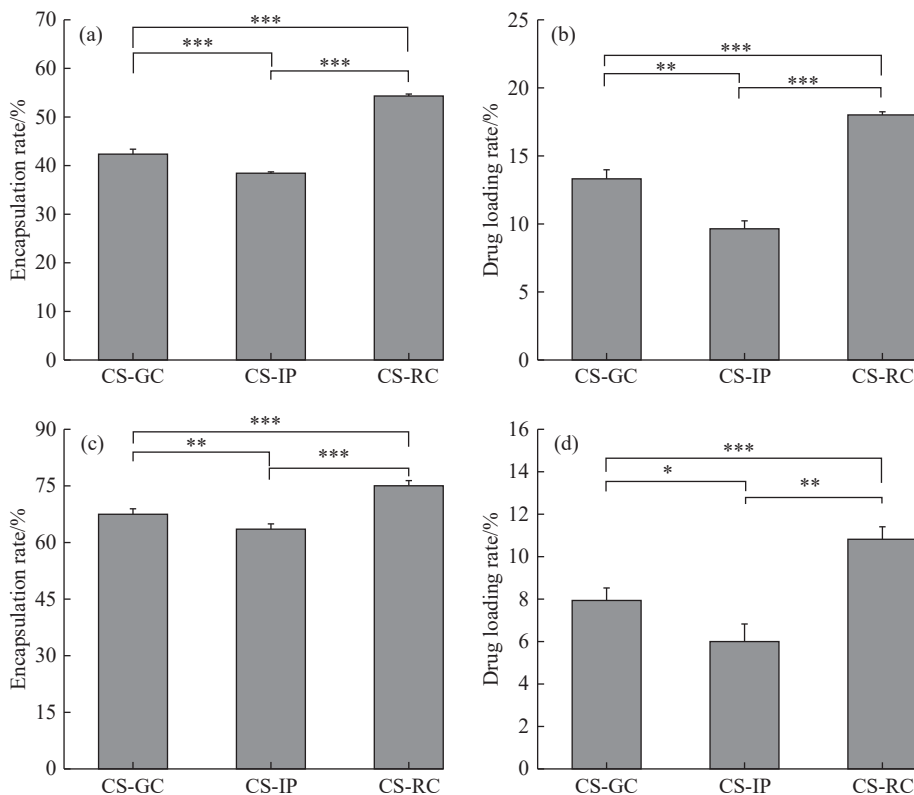


图 8 CS-GC、CS-IP 和 CS-RC 支架对(a, b)AL 和(c, d)RFP 的包封率和载药率

Fig. 8 Encapsulation rate and drug loading rate of CS-GC, CS-IP and CS-RC scaffolds for (a, b) AL and (c, d) RFP

支架材料 CS-IP, 对亲水性药物 AL 的载药率和包封率分别提高了 8.4%、15.9%, 对疏水性药物 RFP 的载药率和包封率分别提高了 4.8%、11.5%。这主要归因于 CS-RC 支架由边缘部分到中心部分呈现致密到疏松的梯度多孔结构, 通过调控冰晶生长后的支架内部孔隙分布类似于“核壳”包被结构。这种结构的外部致密层可以防止药物分子向支架的外面扩散, 从而将药物分子限制在支架的内部, 而内部疏松层可以为药物分子提供更多的孔隙空间, 药物被包裹在支架内部, 进而提高了药物的包封率和载药率。

2.8 体外药物释放

CS-GC 和 CS-RC 这 2 种载药支架在 15 d 内对 AL 和 RFP 的体外累计释放率如图 9 所示。2 种载药支架中的 AL 和 RFP 药物释放均呈指数趋势, 基本可以划分为 2 个阶段: 第 1 阶段为突释阶段, 主要集中在前 24 h 内, 从 CS-GC 和 CS-RC 这两种支架中释放出的 AL 约占总药量的 (38.65±1.33)%、(27.73±0.88)% (图 9(a)); 负载 RFP 的 2 种支架释放出的 RFP 约占总药量的 (75.36±1.71)%、(37.77±1.71)% (图 9(b))。随着时间的增加, 2 种载药支架的药物释放速率逐渐趋于平缓。相较于传统方法制备的均匀多孔壳聚糖支架材料, CS-RC 和 CS-RC 支架的突释效应要更小。这主要归因于 CS-RC 支架孔径的边缘部分到中心部分呈现致密到疏松的梯度变化, 这种结构可以有效减少药物从边缘部分流失, 减缓了药物的释放速率, 后期支架中心部分包裹的 AL 和 RFP 逐渐从内部向外部迁移, 然后再缓慢释放到 PBS 溶液中, 因而 CS-RC 支架的体外药物释放呈现出了缓释效果。同时, 由于小分子亲水性药物 AL 更易进入支架的孔隙内部, 从而负载到支架由外到内的整个区域, 而疏水性药物 RFP 则主要是进入支架外层的孔隙中, 使得 RFP 在释放过程中更容易通过扩散直接进入外部环境, 故表现出更高的释放速率。

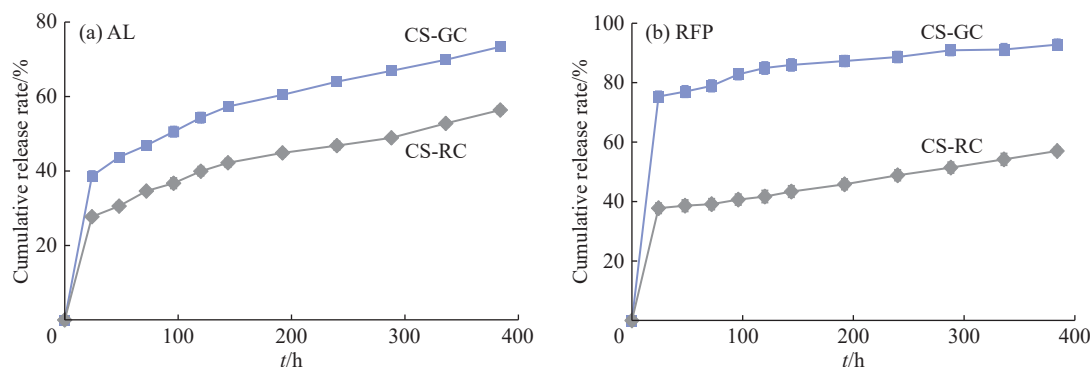


图 9 CS-GC 和 CS-RC 载药支架对(a)AL 和(b)RFP 的药物释放

Fig. 9 Drug release of (a) AL and (b) RFP from CS-GC and CS-RC drug-carrying scaffolds

3 结 论

(1) 基于温度变化过程对高分子构象的作用, 通过调控冰晶生长过程成功制备了径向孔径呈梯度变化的壳聚糖支架材料 CS-RC, 支架中心部分的孔隙结构较支架边缘部分更加疏松, 整体类似“核壳”包被结构, 有利于对负载药物的包封和负载。

(2) 结构调控后的 CS-RC 支架具有较高的孔隙率 (可达 88.8%), 还表现出良好的保湿性能 (吸水率可达 95%)、力学性能和稳定的降解性能, 这为其作为药物载体应用于临床奠定了基础。

(3) 结构调控后的 CS-RC 支架对于亲水性药物 AL 和疏水性药物 RFP 的载药率分别提高了 8.4% 和 4.8%, 并且药物在支架中呈现出稳定的缓释过程。

参考文献:

- [1] HU J, WAN J, XI J, SHI W, QIAN H. AI-driven design of customized 3D-printed multi-layer capsules with controlled drug release profiles for personalized medicine [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2024, 656: 124114.
- [2] ZU S, WANG Z, ZHANG S, GUO Y, CHEN C, ZHANG Q, LIU T, LIU Q, ZHANG Z. A bioinspired 4D printed hydrogel capsule for smart controlled drug release [J]. *Materials Today Chemistry*, 2022, 24: 100789.
- [3] SINGH R, JADHAV K, KAMBOJ R, MALHOTRA H, RAY E, JHILTA A, DHIR V, VERMA R K. Self-actuating inflammation responsive hydrogel microsphere formulation for controlled drug release in rheumatoid arthritis (RA): Animal trials and study in

- human fibroblast like synoviocytes (hFLS) of RA patients [J]. *Biomaterials Advances*, 2024, 160: 213853.
- [4] HAN Y, YANG J, ZHAO W, WANG H, SUN Y, CHEN Y, LUO J, DENG L, XU X, CUI W. Biomimetic injectable hydrogel microspheres with enhanced lubrication and controllable drug release for the treatment of osteoarthritis [J]. *Bioactive Materials*, 2021, 6(10): 3596-3607.
- [5] Nirmla Mazumder, Sanjiban Chakrabarty. Collagen Biomaterials[M]. IntechOpen. 2022.
- [6] FAROKHI M, MOTTAGHITALAB F, REIS R L, RAMAKRISHNA S, KUNDU S C. Functionalized silk fibroin nanofibers as drug carriers: Advantages and challenges [J]. *Journal of Controlled Release*, 2020, 321: 324-347.
- [7] 任东雪, 陈鹏程, 郑璞, 徐志南, 卢松. γ -聚谷氨酸/壳聚糖纳米颗粒的制备及 pH 响应释放性能 [J]. *功能高分子学报*, 2020, 33(1): 54-62
- REN D X, CHEN P C, ZHENG P, XU Z N, LU S. Preparation of poly- γ -glutamic acid/chitosan nanoparticles and pH responsive release properties [J]. *Journal of Functional Polymers*, 2020, 33(1): 54-62.
- [8] KUMAR G, CHAUDHARY K, MOGHA N K, KANT A, MASRAM D T. Extended release of metronidazole drug using chitosan/graphene oxide bionanocomposite beads as the drug carrier [J]. *ACS Omega*, 2021, 6(31): 20433-20444.
- [9] BALDE A, KIM S K, BENJAKUL S, NAZEER R A. Pulmonary drug delivery applications of natural polysaccharide polymer derived nano/micro-carrier systems: A review [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 220: 1464-1479.
- [10] JAIN S, JAIN A, JAIN R, CHOUHAN N S. Potential of natural polymeric materials in pharmaceuticals [J]. *Pharmacological Research-Natural Products*, 2024, 2: 100014.
- [11] LI B, LIN X, ZHAO Y. Facile preparation and application of magnetic chitosan/fly ash composite as a hybrid biosorbent for the effective removal of direct dyes [J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2024, 397: 124148.
- [12] VAKILI M, RAFATULLAH M, SALAMATINIA B, ABDULLAH A Z, IBRAHIM M H, TAN K B, GHOLAMI Z, AMOUZGAR P. Application of chitosan and its derivatives as adsorbents for dye removal from water and wastewater: A review [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 113: 115-130.
- [13] 衣振伟, 林浩东, 赵黎明. 壳聚糖支架在周围神经修复中的应用研究进展 [J]. *功能高分子学报*, 2024, 37(3): 251-261
- YI Z W, LIN H D, ZHAO L M. Research progress on application of chitosan scaffold in peripheral nerve repair [J]. *Journal of Functional Polymers*, 2024, 37(3): 251-261.
- [14] YARI K, GHARATI G, AKBARI I. Evaluating effect of salt leaching method on release and swelling rate of metformin nanoparticles loaded-chitosan/polyvinyl alcohol porous composite [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 227: 1282-1292.
- [15] XU D, CHEN L, LIU X, WANG J, JIAO S, YAO X, LIN R. Preparation of porous chitosan aerogels for efficient adsorption and sustained release of chlorogenic acid via enhanced water permeability [J]. *European Polymer Journal*, 2024, 207: 112821.
- [16] ZENG Y, YUAN J, RAN Z, ZHAN X, LI X, YE H, DONG J, CAO G, PAN Z, BAO Y. Chitosan/NH₂-MIL-125 (Ti) scaffold loaded with doxorubicin for postoperative bone tumor clearance and osteogenesis: An *in vitro* study [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 263: 130368.
- [17] UYAR M, CAKMAK S. Three-dimensional macro/micro-porous curcumin releasing polycaprolactone/chitosan nanofiber scaffolds as wound dressing [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2024, 688: 133573.
- [18] SU Y, LIU Y, HU X, LU Y, ZHANG J, JIN W, LIU W, SHU Y, CHENG Y Y, LI W. Caffeic acid-grafted chitosan/sodium alginate/nanoclay-based multifunctional 3D-printed hybrid scaffolds for local drug release therapy after breast cancer surgery [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2024, 324: 121441.
- [19] PANTIĆ M, HORVAT G, BEVC M B, KNEZ Ž, NOVAK Z. Design and synthesis of novel polycaprolactone-chitosan based scaffolds using supercritical carbon dioxide [J]. *Journal of CO₂ Utilization*, 2024, 80: 102697.
- [20] 张中勋, 刘霞, 刘杨, 邓林红. 氧化石墨烯修饰壳聚糖药物载体的构建 [J]. *高分子材料科学与工程*, 2019, 35(8): 137-143
- ZHANG Z X, LIU X, LIU Y, DENG L H. Construction of graphene oxide modified chitosan drug carrier [J]. *Polymer Materials Science and Engineering*, 2019, 35(8): 137-143.
- [21] SHIKHI-ABADI P G, IRANI M. A review on the applications of electrospun chitosan nanofibers for the cancer treatment [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 183: 790-810.
- [22] SHIKUKU R, HASNAT M A, MASHRUR S B A, HAQUE P, RAHMAN M M, KHAN M N. Chitosan-based pH-sensitive semi-interpenetrating network nanoparticles as a sustained release matrix for anticancer drug delivery [J]. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2024, 7: 100515.
- [23] DOUSTDAR F, OLAD A, GHORBANI M. Effect of glutaraldehyde and calcium chloride as different crosslinking agents on the characteristics of chitosan/cellulose nanocrystals scaffold [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 208: 912-924.
- [24] KULJANIN J, JANKOVIĆ I, NEDELJKOVIĆ J, PRSTOJEVIĆ D, MARINKOVIĆ V. Spectrophotometric determination of alendronate in pharmaceutical formulations via complex formation with Fe (III) ions [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2002, 28(6): 1215-1220.

(责任编辑: 王吉晶)