

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.25.004

壳聚糖膜在治疗宫颈疾病中的降解时间与影响因素的研究

刘真淋¹ 付正英^{2△} 安艳辰¹ 程红梅¹

(1 天津中医药大学 天津 300073; 2 武警后勤学院附属医院 天津 300162)

摘要 目的:研究不同壳聚糖膜在体外及体内的生物降解时间。**方法:**用不同分子量壳聚糖为制膜材料,将4组不同组成成分的壳聚糖溶于1.5%乙酸中,配成1%溶液,加入辅料烘干成膜称其重量,剪成大小相等的小块,精称后放置于弱酸介质和雌鼠阴道中。定时取样,水洗,烘干后称重,按 $\frac{W-W'}{W} \times 100\%$ 算得降解百分率。**结果:**1号较2号降解时间快,而加入PVA的3号与4号又较1号与2号更快。**结论:**壳聚糖是一种生物可降解材料,壳聚糖膜的降解时间与其分子量、PVA比例、介质酸性强度等因素相关。**关键词:**壳聚糖;膜;降解;宫颈疾病

中图分类号:R711.32;R318.08 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)25-4816-03

Study on Degradation Time and Influencing Factors of Chitosan Membrane in the Treatment of Cervical Diseases

LIU Zhen-lin¹, FU Zheng-ying^{2△}, AN Yan-chen¹, CHENG Hong-mei¹

(1 Tianjin TCM University, Tianjin, 300073, China; 2 Armed Logistics College Hospital, Tianjin, 300162, China)

ABSTRACT Objective: To explore the vitro and vivo degradation time of chitosan films. **Methods:** Using chitosan with different molecular weight as the membrane material, four groups of different compositions of chitosan dissolved in 1.5% acetic acid, Formulated as a 1% solution, after drying and weighing adding accessories, Cut into pieces of equal size, weighed and placed in a weak acid medium and Female rats vagina. Regular sampling, washed, dried and weighed. Calculated the percentage degradation by $\frac{W-W'}{W} \times 100\%$. **Results:** No.1 is faster than No.2, PVA added in the No.3 and No.4 is faster than No.1 and No.2. **Conclusion:** chitosan is a kind of biodegradable material, the degradation of chitosan membrane is related to its molecular weight, PVA ratio and the acidic strength of the medium etc.

Key words: Chitosan; Membrane; Degradation; Cervical disease

Chinese Library Classification (CLC): R711.32; R318.08 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)25-4816-03

前言

壳聚糖是甲壳素脱乙酰基的产物,化学名称为聚葡萄糖胺(1-4)-2-氨基-B-D葡萄糖,为自然界除纤维素外蕴藏第二大丰富的有机物质,因其具有良好的生物相容性及降解性能,作为生物材料广泛运用于药物、基因载体、控释支架、皮肤修复、组织工程等领域^[1,2]。近年来作为一种新型的医用高分子生物材料,尤其在膜剂中发展迅速,是生物材料上首选^[3]。有研究表明^[4-6]壳聚糖具有天然的抑菌活性,对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌均有明显的抑菌效果。并有研究表明,壳聚糖的低聚糖具有抗肿瘤转移的生理功能以及增强机体免疫力的作用^[7],且能刺激巨噬细胞产生淋巴因子,有免疫调节作用^[8],激活人体修复细胞,促进创面愈合^[9],但其分子量大,不溶于水和普通的溶剂,只能溶于酸性环境,其应用受到一定的限制^[10],由于阴道内环境为弱酸,故在治疗妇科宫颈疾病中也体现出了强大的优势,在

宫颈上形成一层保护膜,因女性特殊的生理情况,本文主要研究壳聚糖膜在治疗妇科宫颈疾病中降解时间上的控制及制备。

1 材料与方法

1.1 实验动物和试剂 以两种不同分子质量的甲壳素为原料(青岛海汇生物工程有限公司),为I和II,其平均分子质量分别为 4.8×10^5 , 10.8×10^5 ,脱乙酰度 >90%。辅料乙酸、丙三醇(天津化学试剂有限公司)、吐温-80、石蜡油适量(北京市新光化学试剂厂)、聚乙烯醇(PVA-1788,成都市科龙化工试剂厂)。辅料试剂均为分析纯。昆明雌性大鼠,8-10周龄,体重240-280g(武警后勤学院动物实验中心)。

1.2 实验方法

1.2.1 壳聚糖膜的制备 将上述的I、II壳聚糖制备成4组不同组成的壳聚糖膜。1号组成为I号壳聚糖;2号组成为II壳聚糖;3号组成为I号壳聚糖+PVA(10%);4号组成为II壳聚糖+PVA(10%)。将壳聚糖溶于1.5%(w/w)乙酸中,配成1%(w/w)的溶液,滤去不溶物,为了改善流动性和柔韧性等,加入适量增塑剂甘油,吐温-80适量,3、4号加入相应比例的已浸泡24h充分溶胀,浓度为10%的PVA,将几种溶液均匀混合搅拌,得混合凝胶。在玻璃板表面涂上一层薄的石蜡油,以便揭

作者简介:刘真淋(1987-),女,硕士研究生,中医妇科学,

电话:15510977805, E-mail: zhenlin17@163.com

△通讯作者:付正英,电话:13920029987,

E-mail: fuzhengying@126.com

(收稿日期:2014-01-24 接受日期:2014-02-18)

膜,将溶液静置脱泡后倾注于玻璃板表面,再放入烘干箱 37℃ 烘干 24 小时成膜。根据调配的醋酸浓度将膜用一定浓度的氢氧化钠溶液进行不同时间的碱处理,然后揭下膜置于室温下干燥。紫外照射 1 h 消毒,避光保存备用。

1.2.2 体外降解试验 该文研究的是壳聚糖在治疗宫颈疾病中的降解时间,故介质的配制需为一个恒温弱酸环境。有研究表明^[11],介质的批 pH 越低,壳聚糖膜的稳定性越差。当介质的 pH 5.0 时,趋于稳定。故取适量乙酸加 milli-Q 水,调配 pH 值在 5,稳定性较好。将制备的 4 种膜烘干后,称其重量,剪成大小相等的小块,精确后放置于恒温至 37℃ 左右的介质中。定时取样,水洗,烘干后称重,可按 $\frac{W-W'}{W} \times 100\%$ 算得降解百分率 (W 为膜降解前的质量;W' 为膜降解后的质量)。

1.2.3 体内降解试验 取雌鼠 36 只,对应 4 种受试膜随机分

成 4 组,10、20、30 d 3 个时间点^[12,13],每个时间点 3 只。将已消毒并称重后的膜放入小鼠阴道内。按 3 个时间点每次每组处死 3 只雌鼠,取出膜,水洗,烘干后称重,按上式计算其降解百分率。

2 结果

体外实验结果表明(图 1),不同组成成分的壳聚糖在同一介质中的降解速度不同。因介质环境不变,所以分子量的大小也决定其膜的降解时间,1 号壳聚糖的分子量较 II 号壳聚糖小,故 1 号较 2 号降解时间快,而加入 PVA 的 3 号与 4 号又较 1 号与 2 号更快。放入介质中 7 d 降解最快的已达到 70% 以上,放入介质中 30 d,3 号全部降解,4 号只余部分碎片,1 号与 2 号降解较慢,余下膜还可见大致形状。

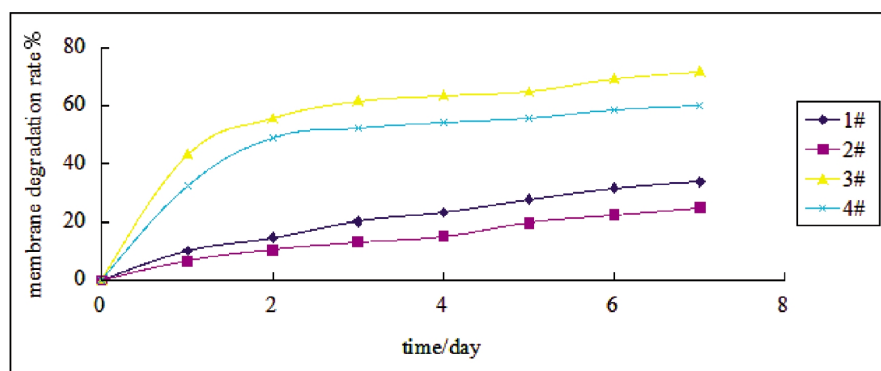


图 1 四种壳聚糖膜在体外的降解率

Fig.1 The vitro degradation rate of 4 kinds of chitosan films

体内实验结果表明(表 1),放入阴道内的雌鼠无明显不适,按 10、20、30 d 时间间隔取样,10 d 时 1 号和 2 号结构外形完整,具有较好的柔韧性;3 号和 4 号膜周围已有虫蚀样变。20

d 时 1、2 号膜周边开始变薄,3、4 号已降解大部分,已不能完全取出。30 d 时 1、2 号已降解部分,还具有初放入时膜形状,3 号已降解完全,4 号肉眼只能见少量碎渣。

表 1 四种壳聚糖膜在体内的降解率

Table 1 The vivo degradation rate of 4 kinds of chitosan films

膜 (Membrane)	降解时间(Day)		
	10	20	30
1#	8.31	15.96	26.73
2#	5.39	9.77	19.34
3#	58.21	87.34	100.00
4#	47.64	79.65	100.00

3 讨论

近年来,发生在宫颈部位的妇科疾病日见增多^[14],而直接作用于宫颈处的治疗方法较少,由于壳聚糖的成膜优越性,可直接放于宫颈处并贴合宫颈,因放置的环境较为特殊,考虑到女性生理周期及壳聚糖膜的疗效问题,故要求壳聚糖膜的降解时间较为短。因单用壳聚糖做的膜其降解速度过长,难以达到某些特殊要求。壳聚糖分子中含有大量的氨基、羟基以及少量

的乙酰氨基,这些生物官能团的存在以及与生物间极好的相容性,可与其他物质交联反应,改善壳聚糖膜的性能^[15,16],PVA 是水溶性的,显然,将壳聚糖与 PVA 混合制膜可以缩短膜的降解时间^[17]。PVA 的比例越大其降解速度越快。同时相对分子质量小的壳聚糖分子链较短,成膜过程中分子排列的规整性较高,结晶度较高,排列较规整,酶作用的位点相对较多,易于降解,而高相对分子质量膜则相反。有报道称^[18],炎性细胞及其产物可能参与加速其降解过程,在治疗宫颈炎症疾病时,降解时间

或许更快些。

其中3号制成的膜由I号壳聚糖组成,I号壳聚糖分子量相对小,同时加入了相应比例的PVA,降解时间较快,所以综合考虑,3号作为用于治疗宫颈疾病的膜剂最佳。原材料的出处、分子质量大小、加入PVA的比例是影响壳聚糖膜降解时间的主要因素,同时还得考虑介质中pH值的大小及恒温37℃左右的环境因素。

壳聚糖及其衍生物已成为人类巨大的再生资源宝库。其巨大医学前景正越来越受世界瞩目。随着研究的深入,广大的医学科学工作者一定能使这一宝库在医药保健领域得到充分开发与应用,让壳聚糖资源为人类的健康发挥更大的作用。

参考文献(References)

- [1] Lin H Y, Yeh C T. Alginate-crosslinked chitosan scaffolds as pentoxifylline delivery carriers [J]. J Mater Sci Mater Med, 2010, 21 (5): 1611-1620
- [2] Tada D B, Singh S, Nagesha D, et al. Chitosan film containing poly (D, L-lactic-co-glycolic acid) nanoparticles: a platform for localized dual-drug release[J]. Pharm Res, 2010, 27(8): 1938-1745
- [3] Park J H, Saravnakumar G, Kim K, et al. Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its derivatives[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2010, 62(1): 28-41
- [4] 滕丽菊,张子勇,唐书泽,等. 壳聚糖的抗菌活性研究[J]. 中国调味品, 2008, 10:48-55
Teng Li-ju, Zhang Zi-yong, Tang Shu-ze, et al. Antibacterial Activity of Chitosan[J]. Chinese condiment, 2008, 10: 48-55
- [5] Li L, Deng J, Deng H, et al. Preparation, characterization and antimicrobial activities of chitosan/Ag/ZnO blend films[J]. Chem Eng J, 2010, 160(1): 378-382
- [6] 陈佳阳, 陈实, 乐学义. 壳聚糖抗菌膜的研究进展 [J]. 广东农业科学, 2012, 12: 122-126
Chen Jia-yang, Chen Shi, Le Xue-yi. Progress of Antibacterial film [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2012, 12: 122-126
- [7] 肖丽娜. 壳聚糖酶、纤维素酶降解壳聚糖的研究[J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 2010, 26(6): 55-58
Xiao Li-na. The research of chitosan enzyme, cellulase degradation of chitosan[J]. Harbin Normal University Natural Science Journal, 2010, 26(6): 55-58
- [8] Sarrazin S, Lamanna WC, Esko JD. Heparan sulfate proteoglycans[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2011, 3(7): 4952-4960
- [9] Maciej S, Jakub K, Marian K. The role of heparanase in diseases of the glomeruli[J]. Arch Immunol Ther Exp(Warsz), 2010, 58(1): 45-46
- [10] 涂绍勇,杨爱华,梅双喜,等. 酶法降解壳聚糖工艺研究[J]. 化学与生物工程, 2009, 12: 63-65
Tu Shao-yong, Yang Ai-hua, Mei Shuang-xi, et al. Enzymatic degradation of chitosan technology [J]. Chemical and Biological Engineering, 2009, 12: 63-65
- [11] 曹宗顺,卢凤琦,王凤山. 壳聚糖膜的降解性研究[J]. 生物医学工程杂志, 1995, 12(4): 364-366
Cao Zong-shun, Lu Feng-qi, Wang Feng-shan. Study on the degradation of chitosan membrane [J]. Journal of Biomedical Engineering, 1995, 12(4): 364-366
- [12] 赵利芬,李承文,陈庆华,等. 壳聚糖/葡甘聚糖共混膜的生物降解性能初步研究[J]. 昆明医学院学报, 2010, (7): 6-9
Zhao Li-fen, Li Chen-wen, Chen Qing-hua, et al. A preliminary study of chitosan / biodegradability glucomannan blend films [J]. Kunming Medical College, 2010, (7): 6-9
- [13] 曹晶,孙淑爱,卢凤琦. 壳聚糖复合膜降解性研究[J]. 中国公共卫生, 2007, 23(2): 192
Cao Jing, Sun Shu-ai, Lu Feng-qi. The studies of Chitosan composite membrane degradation[J]. China Public Health, 2007, 23(2): 192
- [14] 曾定元,秦梅. 壳聚糖宫颈抗菌膜治疗宫颈病变的临床研究[J]. 中国临床新医学, 2013, 6(1): 16-18
Zeng Ding-yuan, Qin Mei. Clinical studies of cervical antimicrobial chitosan film treatment of cervical lesions [J]. Chinese New Clinical Medicine, 2013, 6(1): 16-18
- [15] 姜山. 壳聚糖国内外研究文献分析[J]. 实用医药杂志, 2010, 27(7): 658-662
Jiang Shan. The domestic and foreign research literature of chitosan [J]. Practical Journal of Medicine, 2010, 27(7): 658-662
- [16] Dash M, Chiellini F, Ottenbrite R M, et al. Chitosan-A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications [J]. Progress in Polymer Science, 2011, 36: 981-1014
- [17] 卢凤琦, 庄昭霞, 张毅, 等. 壳聚糖-羧甲基壳聚糖复合膜的研制及其生物相容性评价 [J]. 中国生物医学工程学报, 2003, 22(6): 567-569
Lu Feng-qi, Zhuang Zhao-xia, Zhang Yi, et al. Chitosan-carboxymethyl chitosan composite film and its biocompatibility evaluation [J]. Chinese Journal of Biomedical Engineering, 2003, 22 (6): 567-569
- [18] 熊敏剑, 李晓峰, 闵燕. 不同脱乙酰度壳聚糖支架制备及降解性能评价[J]. 生物医学工程杂志, 2012, 29(1): 107-111
Xiong Min-jian, Li Xiao-feng, Min Yan. Preparation of different degree of deacetylation and degradation of the stent evaluation [J]. Journal of Biomedical Engineering, 2012, 29(1): 107-111