

密闭性敷料支架的制备及其性能**

唐娜¹, 蔡文智², 邓凌³, 李淑娟¹, 汪晓娟¹, 李超¹

Preparation and property of closed dressing intelligent scaffolds

Tang Na¹, Cai Wen-zhi², Deng Ling³, Li Shu-juan¹, Wang Xiao-juan¹, Li Chao¹

Abstract

BACKGROUND: In recent years, the wound dressing research has developed quickly, but few reports the closed dressings prepared by traditional Chinese medicine combined with polymer composite, the efficacy of existing wound dressings is limited and not suitable for all wounds.

OBJECTIVE: To prepare closed dressing scaffolds loading traditional Chinese medicine, and to determine their properties.

METHODS: Firstly the chitosan, gelatin and polyvinyl alcohol were mixed, while the above materials were additionally mixed with sodium alginate. The scaffolds were prepared by mixing, precooling and freeze drying. The properties of the enclosed dressing scaffolds was evaluated by water absorption, moisture content, relative moisture retention, permeability, porosity, and scaffold appearance.

RESULTS AND CONCLUSION: Water absorption, moisture content, relative moisture retention and porosity of the mixture of chitosan, gelatin and polyvinyl alcohol were significantly better than those of the mixture containing chitosan, gelatin, polyvinyl alcohol and sodium alginate ($P < 0.05$). Chitosan, gelatin and polyvinyl alcohol are suitable to be used as closed dressing intelligent scaffolds.

¹Shenzhen Fourth People's Hospital, Shenzhen 518033, Guangdong Province, China; ²Nursing College of Southern Medical University, Guangzhou 510515; Guangdong Province, China; ³Nanfeng Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China

Tang N, Cai WZ, Deng L, Li SJ, Wang XJ, Li C. Preparation and property of closed dressing intelligent scaffolds. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(29):5325-5328. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

Tang Na★, Studying for master's degree, Nurse-in-charge, Shenzhen Fourth People's Hospital, Shenzhen 518033, Guangdong Province, China
prettymedicn@yahoo.com.cn

Supported by: Guangdong Provincial Natural Science Foundation, No. 2004B30101019*

Received: 2010-03-03
Accepted: 2010-04-29

摘要

背景:近年来创伤敷料的研究发展较快,但很少有中药联合高分子材料制备的复合密闭敷料,且现有的创伤敷料作用较局限,不能适用于任何创伤伤口。

目的:制备适用于中药载入的密闭敷料支架,并测定其性能。

方法:将壳聚糖、明胶、聚乙烯醇、壳聚糖、明胶、聚乙烯醇和海藻酸钠分别在一定条件下共混,预冻,冷冻干燥得到支架,考察两支架的吸水性、含水量、相对保湿性、透气性、孔隙率、支架的外形。

结果与结论:壳聚糖、明胶、聚乙烯醇所制成支架的吸水性、含水量、相对保湿性、孔隙率优于壳聚糖、明胶、聚乙烯醇和海藻酸钠所制成的支架,两组比较差异有显著性意义($P < 0.05$)。说明壳聚糖、明胶、聚乙烯醇适宜作为密闭敷料支架材料。

关键词:敷料支架;壳聚糖;明胶;海藻酸钠;聚乙烯醇

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.29.002

唐娜, 蔡文智, 邓凌, 李淑娟, 汪晓娟, 李超. 密闭性敷料支架的制备及其性能[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(29):5325-5328. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

据统计,美国每年的烧伤患者高达150万人^[1]。在中国,每年因各种创伤需要医治的患者高达数千万。选择良好性能的敷料对伤口愈合至关重要。海绵状敷料以其独特的结构和性能而得到广泛应用^[2]。但现今未有将中药和海绵状敷料联合起来研制出一种新型敷料。课题组应用高分子材料研制成一种具有海绵状结构并能载药的支架,制成一种集中药和高分子材料优点于一体的密闭性敷料。

本文将相同温度、相同湿度,不同比例、不同材料以冷冻干燥法制备支架,对其微观结构和相关性能进行了初步研究,以筛选出理想的敷料支架,为今后的中药载入打下坚实的基础。

1 材料和方法

设计:体外对比观察实验。

时间及地点:实验于2009-04/12在南方医科大学南方医院消化实验室完成。

材料:

主要试剂与材料:

主要试剂与材料	来源
壳聚糖(黏均分子量 5.85×10^5 , 脱乙酰度 92%)	青岛宇宙生化有限公司
聚乙烯醇(平均聚合度 1750 ± 50)	天津市大茂化学试剂厂
海藻酸钠(化学纯)	天津市福晨化学试剂厂
明胶(食用级)	上海国药集团化学试剂有限公司

¹深圳市第四人民医院,广东省深圳市518033; ²南方医科大学护理学院,广东省广州市510515; ³南方医科大学南方医院,广东省广州市510515

唐娜★,女,1977年生,安徽省淮南市人,回族,南方医科大学在读硕士,主管护师,主要从事临床护理的研究。
prettymedicn@yahoo.com.cn

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:1673-8225
(2010)29-05325-04

收稿日期:2010-03-03
修回日期:2010-04-29
(20100303009M·Y)

主要设备仪器:

主要设备仪器	来源
电子天平称(ACCULAB ALC-210.3)	上海
电热恒温水箱(CU600 型)	上海
电磁搅拌器(JB-2A)	上海
电热恒温鼓风干燥箱(DHG-9075A 型)	上海恒科技术有限公司
JSM-6360LV 扫描电镜	日本电子

实验方法:

密闭性敷料支架的制备: 室温下将壳聚糖溶于60 °C、3%冰乙酸水溶液中, 配制成3%的壳聚糖溶液, 充分搅拌使其混合均匀, 离心, 脱渣; 加入模具中, 分别加入一定浓度、一定量的聚乙烯醇、明胶和聚乙烯醇、明胶、海藻酸钠, 将其充分搅拌, 混合均匀, 离心, 脱气, 脱渣后, 放入-70 °C的冰箱内预冻2 h, 再放到室温(26±2) °C, 湿度(50%~60%)下自然干燥7 d, 壳聚糖、聚乙烯醇、明胶组所成膜在0.1 mol/L氢氧化钠溶液中浸泡1 h; 壳聚糖、聚乙烯醇、明胶和海藻酸钠组所成膜依次在2%氯化钙溶液和0.1 mol/L氢氧化钠溶液中浸泡2 h和1 h, 后用去离子水洗涤多次, 再放到电热恒温鼓风干燥箱内3 h, 得乳白色或微黄色, 手感柔软, 富有弹性可弯折, 具有良好柔韧性的支架。干燥器内避光保存备用。

密闭性敷料支架的性能测定:

吸水性: 将所制成密闭性敷料支架剪成形状规则的样品, 称取支架在干态时的质量为 m_1 , 然后将支架在去离子水中浸泡达饱和后小心取出, 用滤纸吸干表面的水分, 称质量为 m_2 , 则支架吸水率 $= (m_2 - m_1) / m_1$, 或含水量 $= (m_2 - m_1) / m_2$ 。每个样本测3次取其平均值。

相对保湿性: 将所制密闭性敷料支架剪成形状规则的样品, 精密称质量(m_1)。浸泡于去离子水中使其吸水达平衡, 取出后离心(500 r/min)3 min, 精密称定质量(m_2)。计算保湿性 $= (m_1 - m_2) / m_1$ 。

支架材料密度: 将支架材料裁剪成规则的形状, 求出其体积记为 V_s , 然后称其质量记为 m_s , 则支架材料的密度为 $\rho_s = m_s / V_s$, 每个样本测3次取其平均值。

孔隙率: 采用石柱欣等^[3]报道的测定多孔支架孔隙率的方法。测量支架的质量记为 m_s , 并根据支架的平均密度 ρ_s , 计算出这个支架的原始体积 V_s , 然后将支架材料放置无水乙醇(ρ_a)中24 h, 使乙醇溶液充分的进入到支架材料中, 然后小心地将支架材料取出, 将支架表面擦干, 称其质量记为 m , 则支架的体积 V_p 为: $V_p = (m - m_s) / \rho_a$ 。支架材料孔隙率为: $\epsilon\% = V_p / V_s$ 每个样本测3次取其平均值。

透气性: 广口瓶内装一定量的蒸馏水, 将两种不同

材料的支架材料密封瓶口, 室温放置24 h, 以不封口为对照, 计算透气性 $= 24 \text{ h失水量} / \text{对照失水量}$ 。

扫描电镜制样及分析方法: 取以上两种不同种类的支架材料裁剪成4 mm×8 mm大小, 分别对其表面、底面和内部结构喷铂金处理后置于扫描电镜下, 加速电压20 kV, 放大不同倍数观察。计算材料的平均孔径。折断材料, 电镜扫描其内部结构, 并在材料内部选取3个高倍视野(100倍), 每视野测量10个孔径。

主要观察指标: 支架的外形、吸水性、含水量、相对保湿性、透气性、孔隙率等。

设计、实施、评估者: 设计为第一作者, 实施、评估为第一~六作者, 均经过系统培训, 未使用盲法评估。

统计学分析: 对同一温度下制备的不同材料的性能, 以SPSS 13.0作t 检验, $P < 0.05$ 计为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 支架材料的大体观 冻干后所制得的两个支架外观颜色均为乳白色或微黄色, 表面粗糙。壳聚糖和明胶组冻干后制备的支架材料表面呈膜状, 手感柔软, 富有弹性可弯折无裂缝, 见图1。



Figure 1 Appearance of scaffolds prepared by chitosan, gelatin and polyvinyl alcohol
图1 壳聚糖、明胶和聚乙烯醇所制支架的外观

壳聚糖、明胶和海藻酸钠冻干后制备的支架材料表面呈鱼鳞状, 有大小不等的隆起, 手感较柔软, 弹性度比壳聚糖、明胶组稍微差点, 可弯折但有时有裂缝, 见图2。



Figure 2 Appearance of scaffolds prepared by chitosan, gelatin, polyvinyl alcohol and sodium alginate
图2 壳聚糖、明胶、海藻酸钠和聚乙烯醇所制支架的外观

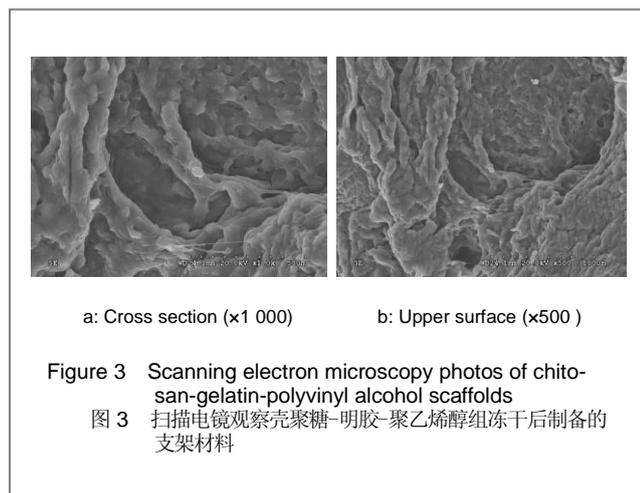
2.2 支架的的吸水性、含水量和孔隙率 见表1。

表1 两种不同密闭性敷料支架的性能比较
Table 1 Property comparison of two different closed dressing scaffolds (X±S)

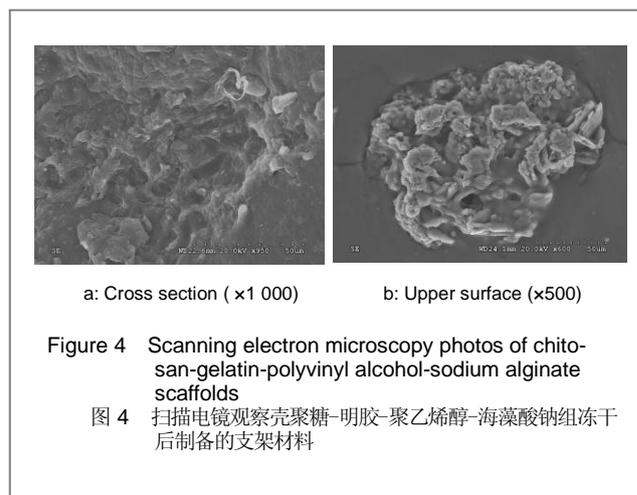
Item	Chitosan-gelatin-polyvinyl alcohol	Chitosan-gelatin-polyvinyl alcohol-sodium alginate
Water absorption	5.76±1.13	2.27±0.39
Moisture content	0.84±0.02	0.68±0.03
Relative moisture retention	4.90±0.78	1.75±0.34
Porosity	1.37±0.42	0.54±0.14
Permeability	0.19±0.04	0.13±0.07
Pore size (μm)	100.00±25.69	35.00±6.98

由表1可见, 在所研究的范围内, 壳聚糖-明胶-聚乙烯醇组支架的吸水性能和含水量优于壳聚糖-明胶-聚乙烯醇-海藻酸钠组。一般来说, 应为海藻酸钠组的吸水性和含水量应优于壳聚糖组, 但这和表1中所测得的含水量和吸收性的数据并不一致, 这主要是由于壳聚糖所带的阳离子和海藻酸钠所带的阴离子发生了结合影响了其吸收性和含水量。壳聚糖-明胶-聚乙烯醇组支架的保湿性明显优于壳聚糖-明胶-聚乙烯醇-海藻酸钠组, 根据创口湿润理论^[4], 止血材料和伤口包扎材料均要较高的吸水性能, 说明壳聚糖-明胶-聚乙烯醇组支架比较适用于作为敷料的支架。

2.3 支架的超微结构与孔径 经扫描电镜对样品的表面、底面和纵剖面进行超微结构观察, 发现表面和底面有大小不等的孔, 纵剖面上有较规则的由下向上的通道。这些孔和通道相互构成网架, 形成三维立体结构, 具有透气透水性, 利于细胞生长。扫描电镜下观察壳聚糖-明胶-聚乙烯醇组样品孔径, 最大为170 μm, 最小为30 μm, 平均孔径为100 μm, 孔结构均匀, 而且存在大量的内连通孔, 且各层之间的连接多为较细的似纤维结构, 造成整个支架的内部结构较粗糙, 有利于以后的中药载入和细胞的黏附生长, 见图3。



壳聚糖-明胶-聚乙烯醇-海藻酸钠组样品孔径, 最大为50 μm, 最小为20 μm, 平均孔径为35 μm, 孔结构不均匀, 且孔与孔之间部分相连, 各层之间的连接多为相对光滑的片层结构, 使得有效的孔径结构也相对减少, 材料内部的相对粗糙度较小, 不利于以后中药颗粒的载入和细胞的黏附、生长, 见图4。且支架孔径的大小也决定了日后中药的载入和伤口修复细胞向支架内部生长和营养及代谢物质的输送和排放。所以壳聚糖-明胶-聚乙烯醇组适合做为日后载药的支架。



3 讨论

作为敷料的支架, 材料的选择至关重要。壳聚糖是一种天然阳离子高分子碱性多糖聚合物, 具有良好的生物相容性、低毒性、生物可降解性及可被吸收等特点^[5-6], 且壳聚糖在创面上可降解成乙酰氨基葡萄糖, 后者能被表皮细胞所吸收, 是表皮细胞生长繁殖的必需营养物质。壳聚糖还能增加创面组织的网状结构以及胶原的合成, 从而增加伤口抗拉强度, 同时具有抗菌、防腐、止血等特殊功能和抗酸、抗溃疡的能力^[7-10], 可阻止或减弱药物在体液中和胃液中的刺激作用。因此, 它是一种良好的药物释放载体^[11], 可以用做微囊、微球、纳米粒等。作为药物载体它可以控制药物释放、延长药物疗效、降低药物毒副作用, 提高疏水性药物对细胞膜的通透性和药物的稳定性及改变给药途径等, 是一种新型药物制剂辅料^[12]。

明胶是构成哺乳类动物和人类众多组织的成分之一, 能参与细胞的迁移、分化和增殖, 使骨、腱、软骨和皮肤具有一定的机械强度。因其弱的抗原性和良好的生物相容性, 在烧伤、创伤、眼角膜疾病、美容、矫形、硬组织修复、创面止血等医药卫生领域用途广泛^[13-15]。多年来的研究表明: 明胶的性能满足作为表皮细胞、成纤维细胞、角膜细胞、软骨细胞、骨细胞的培养

基质。作为医用生物材料, 胶原已成功用于作为组织的引导材料、可降解缝线和止血海绵、人工皮肤代用品、人工血管、人工肌腱、人工晶体、角膜损伤治疗、骨支架材料等多个方面^[16-18]。

聚乙烯醇是一种常用的生物医用高分子材料, 对人体无毒副作用, 且有良好的生物降解性和生物相容性, 在医药上被用做药物粘合剂、包衣剂及药物载体^[19-21]。

敷料支架应该能够模拟体内细胞生存的微环境, 诱导伤口细胞与材料很好的黏附, 并最终在其上伸展、增殖以及分化, 同时要具备网络三维结构, 便于药物颗粒的载入, 具有良好的生物相容性、适宜的机械强度、透气和透湿性、适宜的孔径和通道, 这是理想的敷料支架。实验中制备的敷料支架, 其中壳聚糖、明胶组最能符合这一理念, 在电镜下进行超微结构观察, 明胶-壳聚糖所制成的支架表面和底面有大小不等的孔, 纵剖面上有较规则的由下向上的通道, 这些孔和通道相互构成网架, 形成三维立体结构, 孔隙率高, 适合细胞的三维生长, 对于细胞营养物质的传递、吸收伤口渗出液和日后的中药载入是非常有利的。并具有一定的机械强度, 能为新生组织提供良好的支架。在此材料中, 壳聚糖为细胞提供了一定密度的正电荷, 通过静电作用对细胞膜上带有负电荷的细胞更有亲和力。此外, 壳聚糖和明胶又是细胞生存所必需的糖类以及蛋白质类营养物质, 同时壳聚糖和明胶又可作为药物的缓释载体, 为以后中药的载入打下了良好的基础。

4 参考文献

- [1] Hunt JL, Purdue GF, Wang SH. Zhonghua Shunshang yu Xiufu Zazhi. 2008;3(1):62.
Hunt JL, Purdue GF, 王劭宏. 烧伤的流行病学、人口统计学及结局特点[J]. 中华损伤与修复杂志:电子版, 2008, 3(1):62.
- [2] Ding Y, Zhang WQ, Jin XR. Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi. 2008, 39(7):517-519.
丁晔, 张文清, 金鑫荣. 壳聚糖复合海绵材料的制备及性能[J]. 中国医药工业杂志, 2008, 39(7):517-519.
- [3] Shi GX, Wang SG, Bei JZ, et al. Beijing Shengwu Yixue Gongcheng. 2002;21(3):222-225.
石桂欣, 王身国, 贝建中, 等. 皮肤组织工程细胞支架的构筑及其生物相容性评价[J]. 北京生物医学工程, 2002, 21(3):222-225.
- [4] Li D, Zhang J, Niu XT, et al. Shiyong Meirong Zhengxing Waike Zazhi. 2000;11(3): 142-145.
李东, 张杰, 牛星焘, 等. 密闭湿润环境与创面愈合[J]. 实用美容整形外科杂志, 2000, 11(3): 142-145.
- [5] Onishi H, Machida Y. Biodegradation and distribution of water-soluble chitosan in mice. Biomaterials. 1999;20(2):175-182.
- [6] Ren D, Yi H, Wang W, et al. The enzymatic degradation and swelling properties of chitosan matrices with different degrees of N-acetylation. Carbohydr Res. 2005;340(15):2403-2410.
- [7] Rao SB, Sharma CP. Use of chitosan as a biomaterial: studies on its safety and hemostatic potential. J Biomed Mater Res. 1997;34(1): 21-28.
- [8] Sugamori T, Iwase H, Maeda M, et al. Local hemostatic effects of microcrystalline partially deacetylated chitin hydrochloride. J Biomed Mater Res. 2000;49(2):225-232.
- [9] Howling GI, Dettmar PW, Goddard PA, et al. The effect of chitin and chitosan on the proliferation of human skin fibroblasts and keratinocytes in vitro. Biomaterials. 2001;22(22):2959-2966.
- [10] Shentu J, Wu J, Song W, et al. Chitosan microspheres as immobilized dye affinity support for catalase adsorption. Int J Biol Macromol. 2005;37(1-2):42-46.
- [11] Felt O, Buri P, Gurny R. Chitosan: a unique polysaccharide for drug delivery. Drug Dev Ind Pharm. 1998;24(11):979-993.
- [12] Chang HT, Yingyong Keji. 2008;16(14):21-23.
常海涛. 壳聚糖/聚乙烯醇复合药物缓释微球制备工艺的研究[J]. 应用科技, 2008, 16(14):21-23.
- [13] Yang HM, Ge WG, Wen CL, et al. Guangxi Yike Daxue Xuebao. 2002, 19(5):690-691.
杨红梅, 葛为公, 文灿丽, 等. 阿司匹林壳聚糖缓释片的试制[J]. 广西医科大学学报, 2002, 19(5):690-691.
- [14] Qurashi MT, Blair HS, Allen SJ. Studies on modified chitosan membranes. I. Preparation and characterization. Journal of Applied Polymer Science. 1992;46(2):255-261.
- [15] Wei YC, Hudson SM, Mayer JM, et al. The crosslinking of chitosan fibers. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry. 1992; 30(2):2187-2193.
- [16] Zhang Y, Cheng X, Wang J, et al. Novel chitosan/collagen scaffold containing transforming growth factor-beta1 DNA for periodontal tissue engineering. Biochem Biophys Res Commun. 2006;344(1): 362-369.
- [17] Gu HQ, Xu GF. Tianjin: Tianjin Science & Technology Translation & Publishing Corp. 1993:119-129, 316-330.
顾汉卿, 徐国风. 生物医学材料学[M]. 天津: 天津科学技术翻译出版公司, 1993:119-129, 316-330.
- [18] Hyman WA. Contemporary biomaterials. Annals of Biomedical Engineering. 1985;13(5):469-471.
- [19] Wu L, Brazel CS. Modifying the release of proxiphylline from PVA hydrogels using surface crosslinking. Int J Pharm. 2008;349(1-2): 144-151.
- [20] Chen RS, Chen MH, Young TH. Induction of differentiation and mineralization in rat tooth germ cells on PVA through inhibition of ERK1/2. Biomaterials. 2009;30(4):541-547.
- [21] Ma RY, Xiong DS, Miao F, et al. Novel PVP/PVA hydrogels for articular cartilage replacement. Materials Science and Engineering: C. 2009;29(6):1979-1983.

来自本文课题的更多信息——

基金资助: 广东省自然科学基金项目(2004B30101019)。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

课题的意义: 现代药理学证实了许多中草药具有清热解毒、杀菌、抑菌等作用, 且抗菌广谱、不良反应小、耐药性小, 能控制感染, 有效地促进创面愈合作用, 受到医学界的广泛关注, 但国内硬膏剂为主的中药剂型吸收渗液差, 易污染伤口。目前新型功能敷料广泛应用于临床, 新型敷料大多为主动型敷料, 不但起到吸收渗液, 保护创面的作用, 更主要的是能与渗液相互作用, 为创面提供湿润的愈合环境, 促进肉芽组织和上皮细胞的生长。但新型敷料多为高分子聚合材料构成, 很少有结合中药的复合敷料, 更加有效应用临床创伤修复。因此, 有必要研制一种对急、慢性创面具有独特的疗效, 且能够根据伤口渗出物的多少来调控自身药物浓度的释放, 对多余水分子进行有效转移, 减少敷料下积液和污染创面, 并且价格合理的新型中药复合敷料。

设计或课题的倚倚与不足: 尽管初步设计的新型中药复合敷料是一种敷料支架, 但是支架材料的选择, 各种高分子材料的相互融合度, 以及透皮吸收性、生物毒性都值得进一步研究和探讨。

提供临床借鉴的价值: 这种密闭性中药复合敷料可以广泛应用于社区、工矿企业、医院等烧伤、意外开放伤、压疮、糖尿病皮肤损伤以及临床外科伤口等, 拟定单块价格 3~6 元, 按照平均每年出售 1 000 万贴, 3 年的直接经济效益可达 3 000 万~6 000 万元。综合考虑前期的研制投入、原料价格及生产成本、早期产品注册及宣传, 以及开展临床研究、推广所需的投资, 约 1 500 万元; 初步估计 3 年可获利润 3 000 万左右, 缴税总额达到 600 万左右, 替代进口敷料的总值达到 1 000 万以上; 初步估计投资回收期为一年。同时还可以带动高分子材料提取产业的发展和扩大中国丰富的中药材料的市场。