

超临界溶液浸渍法制备负载磺胺嘧啶银不对称壳聚糖膜伤口敷料研究^{*}

唐川 关怡新^{**} 姚善涇 朱自强

(浙江大学化学工程与生物工程学系 杭州 310027)

摘要 利用超临界溶液浸渍法 (SSI) 将磺胺嘧啶银 (AgSD) 负载到不对称壳聚糖膜 (ACF) 制备伤口敷料, 研究了 SSI 过程操作压力及温度对载药量的影响, 并对 AgSD-ACF 的吸水量、水蒸气渗透速率、体外释放、抑菌性能和动物皮肤伤口愈合行为进行了考察. 结果表明, AgSD-ACF 的载药量随着 CO₂ 压力的升高先增加后减少, 而温度对载药量的影响较复杂, 在 20 MPa 和 50 °C 时载药量达到最大为 5.0 mg/g. AgSD-ACF 的水蒸气渗透速率和吸水量可通过改变 ACF 中致密层的厚度进行调节. AgSD-ACF 具有缓释作用, 可持续释放 10 h 以上, 并且对金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌均有较强的抑制作用. 动物试验显示 AgSD-ACF 伤口敷料具有促进大鼠皮肤伤口愈合的作用.

关键词 超临界溶液浸渍法, 伤口敷料, 磺胺嘧啶银, 不对称壳聚糖膜

在手术创伤、烧伤和皮肤溃疡等的临床治疗中, 为了达到快速愈合的目的, 使用伤口敷料对伤口床进行覆盖是十分必要的^[1]. 理想的伤口敷料应具备以下特征: (1) 无毒, 不致敏, 不与伤口组织粘连, 去除时不会造成二次伤害; (2) 良好的吸水性和水蒸气渗透速率以保持伤口表面的适当湿润, 避免伤口渗出液累积或者过度干燥; (3) 良好的抑菌性, 抵御细菌入侵, 防止感染; (4) 具有生物学活性, 促进伤口愈合^[2]. 考虑到这些需求, 相对于均一的单层膜, 由致密层和多孔层复合的不对称膜在伤口敷料应用中具有很大优势. 其中, 不对称膜的致密层有提供强度和支撑、控制体液挥发速度等功能; 多孔层则可以吸收伤口的渗出液^[3]. 由于这些优点, 近年来不对称膜伤口敷料引起了研究者的广泛关注^[4-6].

壳聚糖具有良好的亲水性、生物相容性、生物可降解性和抑菌性, 能有效止血、止痛、促进创伤组织再生和愈合^[7]. 因此, 很多研究者将壳聚糖制成水凝胶、膜、海绵和支架用于伤口敷料^[8-11]及组织工程^[12, 13]. 为了更好地发挥伤口敷料的抑菌作用, 通常采用在伤口敷料中加入抑菌剂的方法来达到长时间防止伤口细菌感染的目的^[2]. 磺

胺嘧啶银 (AgSD) 是一种广谱抗菌药, 可以有效地抑制真菌和细菌生长, 尤其是金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 这 2 种极易引起伤口感染的细菌, 是目前应用于烧烫伤治疗的首选药物. 然而临床使用中, 高浓度银离子的吸收会对伤口组织产生毒害, 将 AgSD 负载于伤口敷料中, 制成具有缓释功能的载药伤口敷料是一种减少毒副作用的有效方法^[14, 15]. 目前, 将药物负载于聚合物基质中的方法主要是在聚合物加工阶段将药物直接混入或将聚合物基质浸没于药物溶液中. 这些方法在处理过程中会使用大量有机溶剂或者需要在高温条件下操作, 存在药物分布不均匀、易失活和有机溶剂残留等问题, 因而寻找一种安全高效的方法将药物负载到聚合物基质中变得非常迫切.

超临界溶液浸渍法 (supercritical solution impregnation, SSI) 是一种将小分子物质负载到聚合物中的技术^[16]. 在 SSI 过程中, 药物首先溶解于超临界二氧化碳 (SC-CO₂) 中, 通过扩散作用进入聚合物基质并与聚合物充分接触; 随后药物分子与聚合物分子发生相互作用吸附于聚合物内; 卸去压力后, CO₂ 挥发, 药物则留在聚合物中, 形

^{*} 2013-10-23 收稿, 2013-12-18 修稿; 国家自然科学基金 (基金号 21076185) 和高等学校博士学科点专项科研基金 (基金号 20110101110032) 资助项目.

^{**} 通讯联系人, E-mail: guanyx@zju.edu.cn

doi:10.3724/SP.J.1105.2014.13363

成具有缓释功能的载药聚合物^[17, 18]. SSI 过程不改变聚合物基质的形状,并且药物的负载量可以通过改变过程操作参数进行调节. 迄今为止,对 SSI 过程的研究主要集中在印染方面^[19, 20],在医药领域涉及较少,尤其在制备缓控释药物中的应用仍处于发展阶段.

本文拟利用 SSI 过程制备负载磺胺嘧啶银的不对称壳聚糖膜(AgSD-ACF)用于伤口敷料. 研究 SSI 过程操作参数对载药量的影响,对 AgSD-ACF 敷料的性质进行表征,观察其在大鼠皮肤伤口愈合过程中的作用.

1 实验部分

1.1 实验材料

Staphylococcus aureus (ATCC 25923) 和 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) 购自杭州天和微生物试剂有限公司;壳聚糖,脱乙酰度 95%,黏度 186 mPa·s(25 ℃,1% 冰醋酸水溶液,壳聚糖浓度 1%),购自浙江金壳生物化学有限公司;磺胺嘧啶银(AgSD),纯度 98%,购自湖北兴银河化工有限公司;磺胺嘧啶银软膏(AgSD 含量 0.1 g/g),购自广东恒健制药有限公司;冰醋酸和氢氧化钠,分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司;CO₂,食品级,纯度大于 99.9%,购自杭州今工特种气体有限公司.

1.2 实验方法

1.2.1 不对称壳聚糖膜制备

不对称壳聚糖膜(asymmetric chitosan film, ACF)由表层和底层构成,其中表层为致密壳聚糖层、底层为多孔壳聚糖层. 多孔壳聚糖层采用

凝胶冷冻干燥法制备:将壳聚糖溶解在 1% (体积比)的冰醋酸水溶液中,配制 3% 的壳聚糖溶液;取 30 mL 壳聚糖溶液倒入 90 mm 培养皿中,在 4 ℃下将 20 mL 浓度为 2 mol/L 的氢氧化钠溶液倒入培养皿形成壳聚糖凝胶;使用去离子水清洗壳聚糖凝胶至 pH 中性,冷冻干燥得到多孔壳聚糖层. 致密壳聚糖层则由溶液浇注法制备:根据致密层厚度不同,将 30 mL 或 50 mL 1% 的壳聚糖溶液倒入 90 mm 培养皿中,60 ℃干燥 6 h 即可. 最后将制备的多孔层置于培养皿中的致密层上压实,40 ℃下真空干燥 12 h,得到不对称壳聚糖膜.

1.2.2 超临界溶液浸渍负载药物

SSI 过程采用 SFE-500MR-2-FMC 10 System 超临界装置(Thar,美国),如图 1 所示. 该系统包括一个 100 mL 的高压釜,其温度和压力参数均由计算机控制,压力精度为 ±0.1 MPa,温度精度为 ±1 ℃. 具体实验流程如下:将药物 AgSD 置于高压釜 V 底部,加入的药物应过量使高压釜内 SC-CO₂ 饱和,不对称壳聚糖膜 ACF 用滤纸包裹悬挂于高压釜搅拌桨上部,与药物不直接接触. CO₂ 由钢瓶进入换热器 HE1 冷却至 0 ℃左右,经高压泵加压至操作压力,再由换热器 HE2 预热至实验温度后,进入高压釜 V,搅拌桨转速设定为 60 r/min. 釜内的温度由电加热套加热,压力由高压泵调节. 待系统达到预设压力和温度后,保持一定的时间使药物在 SC-CO₂ 和 ACF 之间达到分配平衡,打开高压釜下游的自动控压阀 ABPR 以 3 MPa/min 的速率泄压. 实验结束后取出样品进行性能表征.

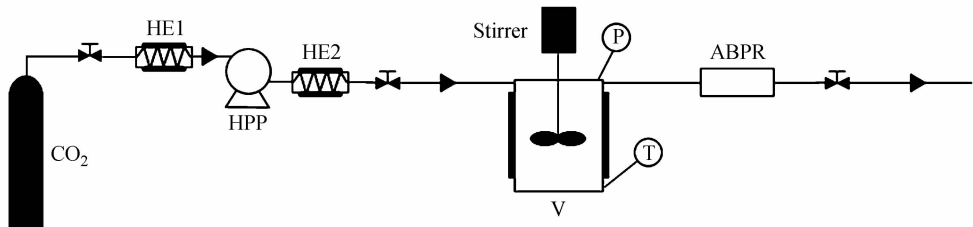


Fig. 1 SFE-500MR-2-FMC 10 system for SSI process
HE1: heat exchanger, cooling bath; HPP: high pressure pump; HE2: heat exchanger, heating bath; V: high pressure vessel; ABPR: automated back pressure regulating valve; P: pressure gauge and T: thermometer

1.3 负载药物不对称壳聚糖膜性质

1.3.1 AgSD-ACF 形貌及结晶性

AgSD-ACF 的形貌用扫描电子显微镜(Sirion, FEI, 荷兰)进行表征. 使用碳胶带将

AgSD-ACF 样品固定于样品台上,喷金处理 60 s 后,置于扫描电子显微镜下观察其形貌. 结晶性通过 X 射线衍射仪(X' Pert RPD, PANalvital, 荷兰)进行测定. Ni-filtered Cu 为靶材,采用 K α 发

射,激发电压 40 kV,管电流 40 mA, 2θ 角度范围为 5° 到 60° .

1.3.2 AgSD-ACF 载药量

AgSD-ACF 的载药量使用分光光度法测定. 将 50 mg 的 AgSD-ACF 浸于 10 mL 10% (质量比) 氨试液中,超声处理 30 min,使药物 AgSD 完全萃出. 样品溶液过滤后于 264 nm 处测量吸光度,根据标准曲线,计算得到负载的 AgSD 质量. 载药量 (drug loading capacity, DLC) 定义为负载的 AgSD 质量除以 ACF 质量.

1.3.3 AgSD-ACF 吸水量

AgSD-ACF 样品称重 (W_1) 后浸没于 pH 7.4 磷酸盐缓冲液中,待样品完全溶胀后取出,使用滤纸拭去样品表面多余水分后称量 (W_2),根据下式计算吸水量 (water uptake, WU):

$$WU (\%) = \frac{(W_2 - W_1)}{W_1} \times 100\% \quad (1)$$

1.3.4 AgSD-ACF 水蒸气渗透速率

AgSD-ACF 水蒸气渗透速率 (water vapor transmission rate, WVTR) 按照 ASTM E96-90 标准测定. 据文献报道^[21],人体皮肤伤口平均温度为 35°C ,医院烧伤病房相对湿度介于 22% ~ 49% 之间. 本文 AgSD-ACF 的水蒸气渗透速率实验在 $(35 \pm 1)^\circ\text{C}$ 下进行,并使用饱和氯化镁溶液维持环境相对湿度 $(35 \pm 5)\%$. 具体地,向渗透面积 2.8 cm^2 的渗透杯中加入 6 g 去离子水,将 AgSD-ACF 覆盖于渗透杯开口处作为样品. 假定渗透杯的重量减少量为透过 AgSD-ACF 水蒸气质量,通过实时监测渗透杯的重量变化即可得到 AgSD-ACF 的水蒸气渗透速率. WVTR 由式(2)计算得出:

$$WVTR = \frac{24m}{A\Delta t} \quad (2)$$

式中 m 为时间间隔内渗透杯的质量变化量 (g), Δt 为时间间隔 (h), A 为渗透面积 (m^2).

1.3.5 药物体外释放行为

AgSD-ACF 体外释放实验采用 Franz 渗透池进行. 设定 AgSD-ACF 样品直径为 10 mm,将其覆盖于 Franz 渗透池供给室和接收室之间,其致密层朝向供给室,多孔层朝向接收室,模拟人体伤口局部给药的释放过程. Franz 渗透池的供给室直接通向大气,接收室内有 6.5 mL pH 7.4 磷酸缓冲液,使用磁力搅拌以保证接收室内溶液分布均匀,并置于 35°C 的水浴槽中恒温. 实验中每隔一段时间,将接收室内的缓冲液全部取出,分析 AgSD 的

含量,并用等量的新鲜缓冲液替换.

1.3.6 敷料抑菌性能

AgSD-ACF 抑菌性能通过测定 *Staphylococcus aureus* 和 *Pseudomonas aeruginosa* 生长进行考察. 将两种细菌在 Luria-Bertani (LB) 培养基中 37°C 下培养 8 h 进行活化,活化后在 Tryptic Soy Agar (TSA) 平板上培养得到单菌落. 挑取单菌落接种于 5 mL LB 培养基中, 37°C 下摇床培养 8 h. 将菌液稀释 10 倍,取 200 μL 涂布于 TSA 平板,然后将直径为 10 mm 的 AgSD-ACF 置于平板上,于 37°C 下培养 24 h,测量 AgSD-ACF 抑菌圈大小. 同时取空白 ACF 作为阴性对照.

1.3.7 动物体内试验

为了进一步研究载药敷料对伤口愈合的促进作用,本实验中选用 300 ~ 350 g 的 SD (Sprague-Dawley) 大鼠进行动物试验,共分为 6 组,其中每组 3 只. 使用 1.5 mL 3% 戊巴比妥钠将大鼠麻醉,剃除背部毛发,割去直径 10 mm 的全皮层,随后将试验样品敷于伤口处,用纱布进行包扎,使用的 AgSD-ACF 样品直径 10 mm,空白对照为普通棉纱,阴性对照为 ACF,阳性对照为市售 AgSD 药膏. 分别于术后的 3 天,7 天和 14 天观察大鼠皮肤伤口的愈合情况,并按照式(3)计算伤口愈合率 (wound contraction):

$$\text{wound contraction} (\%) = \frac{S_0 - S_n}{S_0} \times 100\% \quad (3)$$

式中 S_0 为大鼠初始伤口面积 (cm^2), S_n 为第 n 天时伤口面积 (cm^2). 所有实验项目和操作经浙江大学实验动物中心的审核和批准,并在浙江省动物实验伦理监督委员会监督下进行.

2 结果与讨论

SSI 过程是利用 SC-CO_2 、药物和聚合物三者之间相互作用将药物负载到聚合物中的技术. 本文以壳聚糖为聚合物基质,选择 AgSD 药物,考察了 SSI 过程中操作条件对载药量的影响,对负载磺胺嘧啶银的不对称壳聚糖膜性质进行了研究,探讨了其在敷料方面的应用.

2.1 SSI 过程操作条件对载药量的影响

SSI 过程中药物在 SC-CO_2 中的溶解度、 CO_2 在聚合物中的吸附量以及药物与聚合物的相互作用与过程操作条件有着密切的关系,通过改变过程的操作参数可以调控药物在聚合物基质中的负

载量,从而满足给药的需求. 本实验采用不同壳聚糖用量(30 mL 和 50 mL),首先制备得到了致密层厚度分别为 65 μm (ACF₁)和 125 μm (ACF₂)的两种不对称壳聚糖膜基质,使用 SSI 过程将 AgSD 负载到膜中,考察浸渍过程操作参数对载药量的影响.

首先确定了 ACF₁ 膜载药适宜的浸渍时间,如图 2 所示. 在 20 MPa,50 $^{\circ}\text{C}$ 和 8 MPa,40 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,AgSD-ACF₁ 的载药量在 1 ~ 3 h 范围内变化不大,说明在 SSI 过程中,AgSD 的分配平衡在 1 h 内已经达到,继续延长浸渍时间不会提高载药量,为了保证 AgSD 在 SSI 过程中充分达到分配平衡,后续实验浸渍时间均选择 2 h. 另外,在实验中发现相同操作条件下 AgSD-ACF₁ 与 AgSD-ACF₂ 载药量基本相同,表明膜致密层厚度对载药量影响不大.

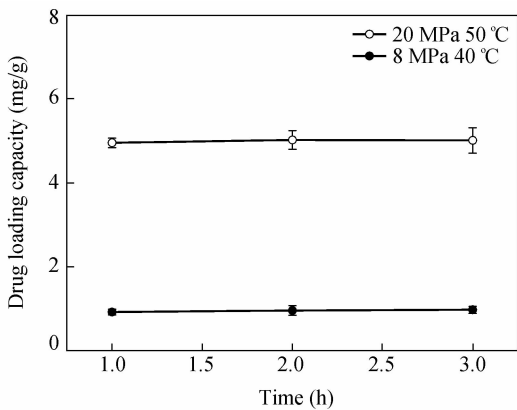


Fig. 2 Determination of impregnation time for ACF₁ matrix

在此基础上,考察了在温度 40 ~ 70 $^{\circ}\text{C}$ 、压力 8 ~ 30 MPa 范围内,载药量随温度和压力的变化. 由图 3 可见,在相同温度下,载药量随压力升高先增加,然后减少,在 20 MPa 时达到最大. 这是由于在相同温度下,压力较低时,随着压力的升高,AgSD 在 SC-CO₂ 中溶解度增加,因而随 SC-CO₂ 进入壳聚糖膜的 AgSD 增多,最终载药量增加^[18];然而随着压力的进一步升高,壳聚糖膜吸附的 AgSD 达到饱和,泄压时,由于压力较高,AgSD 更易随 CO₂ 逃逸离开聚合物基质,从而造成了载药量的降低^[22]. 温度对载药量的影响较复杂. 一方面,温度升高使 SC-CO₂ 密度下降,导致溶质的溶解度下降;另一方面,温度升高使得溶质的饱和蒸汽压升高,溶解度增大;并且温度同样会影响聚合物基质对溶质的吸附及溶质在聚合物基

质中的扩散,在这几方面因素的相互作用下,载药量随温度的变化也存在着极值点.

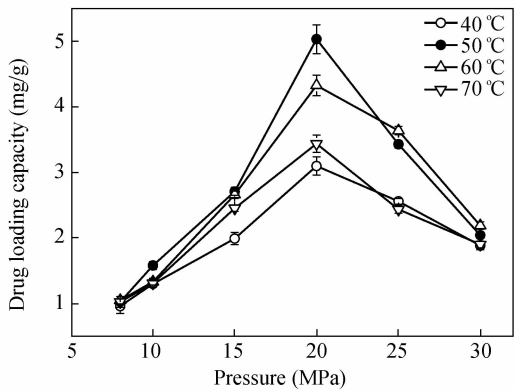


Fig. 3 Effect of operating pressure and temperature on DLC of AgSD-ACF₁ with the impregnation time of 2 h

2.2 AgSD-ACF 性能表征

载药不对称壳聚糖膜性能表征主要包括吸水量和水蒸气渗透速率等. 首先,观察了空白和载药不对称膜的形貌,浸渍前 ACF 以及浸渍后 (20 MPa,50 $^{\circ}\text{C}$) 载药不对称壳聚糖膜截面 SEM 如图 4 所示. 可以发现,多孔层是由薄层结构所构成;SSI 过程处理之后,壳聚糖膜形貌无明显变化,但薄层间距离有所增加^[23]. 使用 SSI 方法制备载药敷料的过程中,敷料的制备和载药过程可以分开进行,通过改进敷料的制备方法可以进一步提高载药敷料的性能从而充分发挥其功能.

AgSD 原料药和载药前后壳聚糖膜 XRD 谱图如图 5 所示. 对比图中 (a) 和 (b) 可以发现,经 SC-CO₂ 处理后,ACF₁ 结晶度无明显变化,说明 SC-CO₂ 对壳聚糖结晶性影响不大. 结合 (b)、(c) 和 (d),得到 AgSD 成功负载到 ACF₁ 的截面,表明 SSI 过程中 SC-CO₂ 溶解并携带 AgSD 可以将其浸渍至 ACF 膜的内部,从而实现缓释的目的^[23, 24].

将 2 种壳聚糖膜的主要性能列于表 1,不同的致密层厚度导致了载药膜吸水量和水蒸气渗透速率的差异. 随着致密层厚度的增加,吸水量下降,这是由于多孔层的孔隙率大于致密层,相同质量的壳聚糖膜其多孔层吸水量远高于致密层^[25],所以随着致密层厚度增加,总的吸水量下降;同时,随着致密层厚度增加,相同时间间隔内水蒸气渗透量减少,水蒸气渗透速率变慢. 可见,通过改变 ACF 膜致密层厚度可以对载药膜吸水量以及水蒸气渗透速率进行方便的调节.

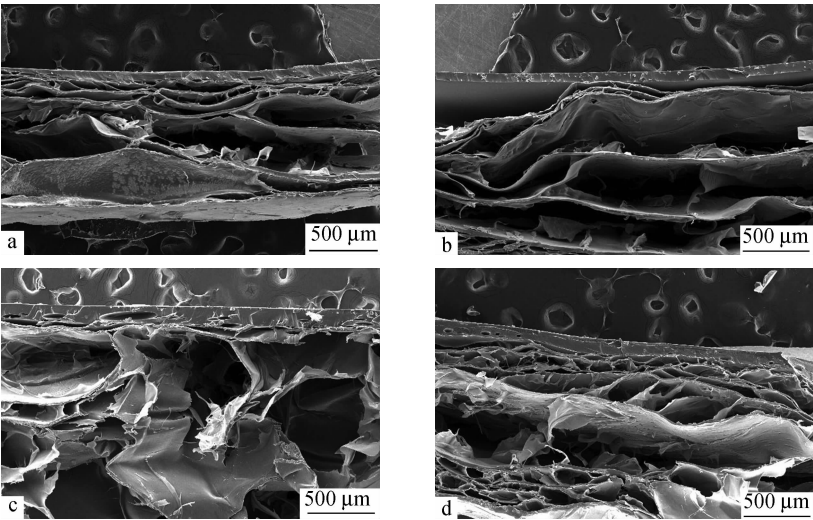


Fig. 4 SEM images for cross-section of asymmetric chitosan film before and after SSI process: (a) ACF₁, (b) AgSD-ACF₁ processed at 20 MPa and 50 °C, (c) ACF₂ and (d) AgSD-ACF₂ processed at 20 MPa and 50 °C

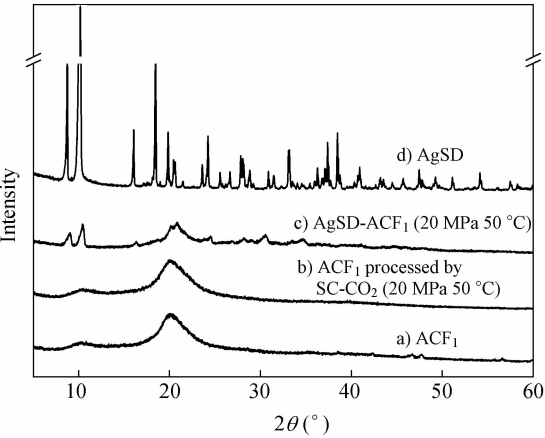


Fig. 5 The XRD spectra for different samples: (a) ACF₁ film, (b) ACF₁ film processed by SC-CO₂ at 20 MPa and 50 °C, (c) cross-section of AgSD-ACF₁ processed at 20 MPa and 50 °C and (d) AgSD powders

Table 1 Physical properties of AgSD-ACF produced by SSI at 20 MPa and 50 °C

Sample	Thickness of dense layer (μm)	WU (%)	WVTR (kg·d ⁻¹ ·m ⁻²)
AgSD-ACF ₁	65	736	2.5 ± 0.2
AgSD-ACF ₂	125	531	2.0 ± 0.2

2.3 体外释放

为了研究载药壳聚糖膜体外释放行为,本文采用 Franz 渗透池模拟皮肤伤口.如图 6 所示,在相同的操作温度下(50 °C),20 MPa 下制备的载药量为 5.0 mg/g 的 AgSD-ACF₁ 释放最多,在 10 h 内可释放 2.7 mg AgSD;而 8 MPa 下制备的载药量为 1.0 mg/g 的 AgSD-ACF₁ 释放相对较少,10 h

内仅释放 0.7 mg AgSD.结合载药量分析,发现随着载药量增大,AgSD-ACF₁ 的释放量也相应增加,且释放时间延长.另外,相同操作条件下制备的 AgSD-ACF₁ 和 AgSD-ACF₂ 相比,由于载药量相近,释放量无明显差别,但 AgSD-ACF₂ 释放速度相对较慢.这是由于 AgSD 在致密层中的扩散系数远小于在多孔层中的扩散系数,在释放的初始阶段,多孔层中的 AgSD 可释放至溶液中,随后致密层中的 AgSD 扩散至多孔层进一步释放至溶液中^[14],所以致密层厚度增加,释放速度变慢.由图 6 可知,AgSD-ACF 体外释放中无延迟及突释现象,结合 XRD 结果分析,药物主要分布在 AgSD-ACF 内部,且在 ACF 的致密层及多孔层中均匀分布.本实验条件下制备的载药壳聚糖膜均可持续释放 10 h 以上,适合伤口敷料方面的应用.

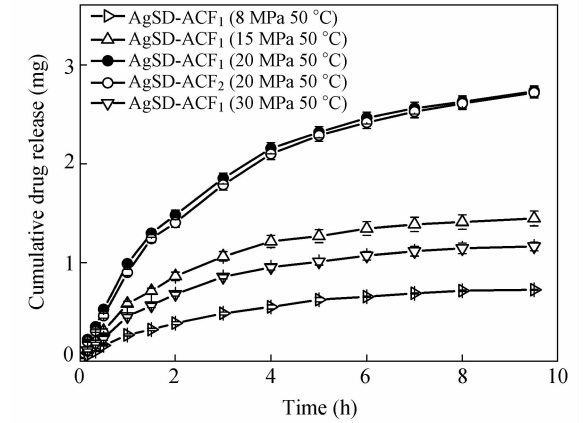


Fig. 6 Cumulative drug release profiles of AgSD-ACF produced by SSI under different operating conditions

2.4 体外抑菌

抑菌性能是伤口敷料性能的重要指标之一. 本实验采用抑菌圈法考察了载药壳聚糖膜对两种常见引起伤口感染的致病菌的抑制情况,结果如表 2 所示. 载药壳聚糖膜对金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 均有较强的抑制作用. 一般而言,相同的聚合物基质,抑菌圈随着药物负载总量的增加而增大. 对表 2 中相同致密层厚度的膜 (AgSD-ACF₁ 或 AgSD-ACF₂), 抑菌圈随着 DLC 增加而增大;而对于不同致密层厚度的膜,AgSD-ACF₂ 的抑

菌圈较 AgSD-ACF₁ 大,这是因为致密层较厚的 ACF₂ 膜质量较高,在 DLC 相同的情况下,载有的药物总量多. 可以看出,载药壳聚糖膜对绿脓杆菌的抑菌效果明显好于金黄色葡萄球菌,这是因为磺胺嘧啶类药物对于革兰氏阴性菌的抑制作用强于革兰氏阳性菌^[25]. 此外,对比参照实验,壳聚糖膜在金黄色葡萄球菌平板上抑菌圈直径测定为 10.5 mm,而在绿脓杆菌平板上则无抑菌现象,这说明聚合物基质本身对金黄色葡萄球菌同样也具有抑制作用,这是由于壳聚糖特有的阳离子电荷所造成的^[26].

Table 2 Inhibition zone diameters of AgSD-ACF produced by SSI at 50 ℃ and different pressures

Pressure of SSI (MPa)	DLC (mg/g)	Staphylococcus aureus (mm)		Pseudomonas aeruginosa (mm)	
		AgSD-ACF ₁	AgSD-ACF ₂	AgSD-ACF ₁	AgSD-ACF ₂
8	1.0	11.0	11.5	11.2	11.5
10	1.6	11.5	11.8	12.0	12.5
15	2.7	12.0	12.8	14.0	14.0
20	5.0	14.8	15.5	15.2	15.8
25	3.4	13.2	13.5	13.8	14.2
30	2.0	12.0	12.5	12.5	13.0

2.5 动物试验

本文利用制备的负载 AgSD 的不对称壳聚糖膜考察了其对动物皮肤伤口愈合过程中的促进作用. 选择雄性 SD 大鼠作为模型动物,普通棉纱包扎作为空白对照,ACF₁ 包扎作为阴性对照,商业 AgSD 药膏处理作为阳性对照. 如图 7 所示,相同愈合时间内,使用载药壳聚糖敷料包扎的伤口其伤口愈合率远好于使用普通棉纱包扎的伤口,说明载药壳聚糖膜对伤口愈合具有一定的促进作用. 20 MPa 50 ℃下制备的载药量为 5.0 mg/g 的 AgSD-ACF₁ 敷料的伤口愈合率要优于 8 MPa

50 ℃下制备的载药量为 1.0 mg/g 的 AgSD-ACF₁ 敷料,表明载药量大对伤口愈合效果更好. 同时时间内,20 MPa 50 ℃下制备的 AgSD-ACF₁ 与 AgSD-ACF₂ 由于载药量相近对伤口愈合的促进作用基本相同. 值得指出的是,20 MPa 50 ℃下制备的载药量为 5.0 mg/g 的载药壳聚糖膜对伤口愈合的促进作用接近于商业 AgSD 药膏,考虑到 AgSD 药膏需要每天更换,并且 AgSD 药膏浓度较高,长时间大面积使用可能会对伤口组织造成损害,显示了载药不对称壳聚糖膜在伤口敷料领域很好的应用潜力.

3 结论

利用 SSI 过程可以将 AgSD 负载到 ACF 基质中,通过调节过程参数制备具有不同载药量的 AgSD-ACF 敷料,并且通过改变 ACF 中致密层的厚度可以实现调节吸水量和水蒸气渗透速率的目的. 体外释放的药物释放速率及抑菌性能均与载药量密切相关,AgSD-ACF 敷料对绿脓杆菌的抑制作用强于金黄色葡萄球菌. 动物试验中,载药量大的 AgSD-ACF 敷料伤口愈合效果更好,可达到商业 AgSD 药膏的效果. 本文利用 SSI 方法制备负载有 AgSD 的不对称壳聚糖膜敷料,过程中有效避免了有机溶剂的使用和高温操作条件,AgSD-

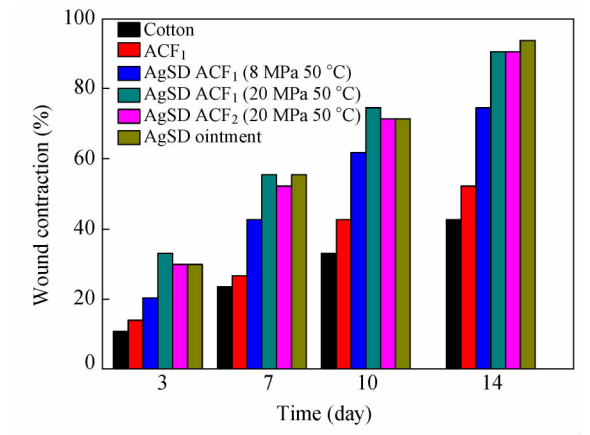


Fig. 7 Wound contraction of SD rats using AgSD-ACF produced by SSI under different conditions

ACF 敷料可调节吸水量和水蒸气渗透速率,并且合,表明 SSI 过程在伤口敷料领域具有广阔的应用前景.具有缓释作用和抑菌效果,可促进伤口组织的愈合

REFERENCES

1 Chen Y, Yan L D, Yuan T, Zhang Q Y, Fan H J. J Appl Polym Sci, 2011, 106(3) : 1532 ~ 1541

2 Ovington L G. Clin Dermatol, 2007, 25(1) : 33 ~ 38

3 Mi F L, Shyu S S, Wu Y B, Lee S T, Shyong J Y, Huang R N. Biomaterials, 2001, 22(2) : 165 ~ 173

4 Kazuya M, Shigehiko S, Nobuhiko I, Yoshito I. Biomaterials, 1993, 14(13) : 1030 ~ 1035

5 Thu H, Zulfakar M H, Ng S. Int J Pharm, 2012, 434(1-2) : 375 ~ 383

6 Kanokpanont S, Damrongsakkul S, Ratanavaraporn J, Aramwit P. Int J Pharm, 2012, 436(1-2) : 141 ~ 153

7 Jayakumar R, Prabakaran M, Sudheesh Kumar P T, Nair S V, Tamura H. Biotechnol Adv, 2011, 29(3) : 322 ~ 337

8 Sung J H, Hwang M, Kim J O, Lee J H, Kim Y I, Kim J H, Chang S W, Jin S G, Kim J A, Lyoo W S, Han S S, Ku S K, Yong C S, Choi H. Int J Pharm, 2010, 392(1-2) : 232 ~ 240

9 Azad A K, Sermsintham N, Chandkrachang S, Stevens W F. J Biomed Mater Res, 2004, 69B(2) : 216 ~ 222

10 Lin Y, Tan F, Marra K G, Jan S, Liu D. Acta Biomater, 2009, 5(7) : 2591 ~ 2600

11 Adekogbe I, Ghanem A. Biomaterials, 2005, 26(35) : 7241 ~ 7250

12 Li Xiaoxia(李晓霞), Yu Weiting(于炜婷), Guo Xin(郭昕), Zhang Ying(张英), Li Shuangyue(李双月), Ma Xiaojun(马小军). J Funct Mater(功能材料), 2009, 40(7) : 1143 ~ 1145

13 Li Baoqiang(李保强), Hu Qiaoling(胡巧玲), Qian Xiuzhen(钱秀珍), Fang Zhengping(方征平), Shen Jiacong(沈家骢). Acta Polym Sinica(高分子学报), 2002, (6) : 828 ~ 833

14 Mi F L, Wu Y B, Shyu S S, Chao A C, Lai J Y, Su C C. J Membrane Sci, 2003, 212(1-2) : 237 ~ 254

15 Seetharaman S, Natesan S, Stowers R S, Mullens C, Baer D G, Suggs L J, Christy R J. Acta Biomater, 2011, 7(7) : 2787 ~ 2796

16 Guan Yixin(关怡新), Yu Jinpeng(余金鹏), Yao Shanqing(姚善泾), Zhu Ziqiang(朱自强). CIESC J(化工学报), 2010, 61(2) : 269 ~ 274

17 Guney O, Akgerman A. AIChE J, 2002, 48(4) : 856 ~ 866

18 Yu J P, Guan Y X, Yao S J, Zhu Z Q. Ind Eng Chem Res, 2011, 50(24) : 13813 ~ 13818

19 Banchemo M. Color Technol, 2013, 129(1) : 2 ~ 17

20 Ferri A, Banchemo M, Manna L, Sicardi S. J Supercrit Fluid, 2006, 37(1) : 107 ~ 114

21 Wu P, Fisher A C, Foo P P, Queen D, Gaylor J D. Biomaterials, 1995, 16(3) : 171 ~ 175

22 Duarte A R C, Simplicio A L, Vega-Gonzalez A, Subra-Paternault P, Coimbra P, Gil M H, de Sousa H C, Duarte C M M. J Supercrit Fluid, 2007, 42(3) : 373 ~ 377

23 Braga M E M, Pato M T V, Silva H S C, Ferreira E I, Gil M H, Duarte C M M, de Sousa H C. J Supercrit Fluid, 2008, 44(2) : 245 ~ 257

24 Argemi A, Lopez-Periago A, Domingo C, Saurina J. J Pharm Biomed Anal, 2008, 46(3) : 456 ~ 462

25 Mi F L, Wu Y B, Shyu S S, Schoung J Y, Huang Y B, Tsai Y H, Hao J Y. J Biomed Mater Res, 2002, 59(3) : 438 ~ 449

26 Rabea E I, Badawy M E T, Stevens C V, Smagghe G, Steurbaut W. Biomacromolecules, 2003, 4(6) : 1457 ~ 1465

Preparation of Drug-loaded Asymmetric Chitosan Films towards
Wound Dressing Using Supercritical Solution Impregnation

Chuan Tang, Yi-xin Guan*, Shan-jing Yao, Zi-qiang Zhu

(Department of Chemical and Biological Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

Abstract Supercritical solution impregnation (SSI) process was applied to prepare asymmetric chitosan films (ACFs) loaded with silver sulfadiazine (AgSD) suitable for wound dressing. ACFs with different dense layers (65 μm and 125 μm) and porous layers were first prepared using solvent casting and lyophilization method respectively, and then AgSD was loaded into ACFs using SSI process. The effects of impregnation pressure (from 8 MPa to 30 MPa) and temperature (40, 50 and 60 $^{\circ}\text{C}$) on drug loading capacity (DLC) were investigated in detail, and the properties of AgSD-ACF were characterized such as morphology, water uptake (WU), water vapor transmission rate (WVTR), *in vitro* release, antibacterial and animal tests. The results showed that DLC of the AgSD-ACF increased with the elevation of the pressure and decreased when the pressure increased further; while the temperature affected the DLC in a complex manner, and the maximum DLC was achieved to be 5.0 mg/g at 20 MPa and 50 $^{\circ}\text{C}$. The *in vitro* release study indicated that the AgSD-ACF could prolong the release of AgSD to beyond 10 h under a sustained manner. The water uptake and water vapor transmission rate of AgSD-ACFs could be well adjusted by changing the thickness of the dense layer. AgSD-ACFs had a remarkable antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. The result of animal test showed that AgSD-ACFs could promote the healing of the wounds in SD rats. The supercritical solution impregnation method makes it possible to fabricate drug loaded polymer matrix without using organic solvents and high temperature, which provide a promising way to prepare drug loaded films for potential applications in wound dressing.

Keywords Supercritical solution impregnation, Wound dressing, Silver sulfadiazine, Asymmetric chitosan film

* Corresponding author; Yi-xin Guan, E-mail: guanyx@zju.edu.cn