

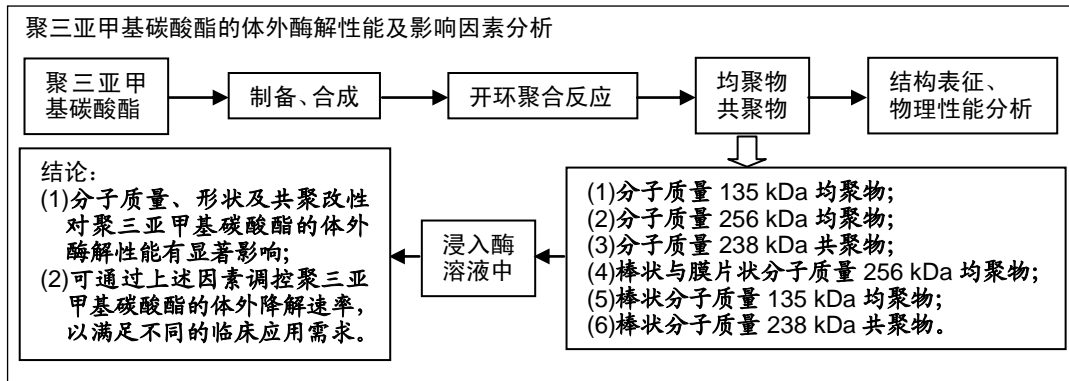
# 聚三亚甲基碳酸酯体外酶解性能的影响因素及其作用规律

李乌云塔娜<sup>1</sup>, 赵灵燕<sup>1</sup>, 张巍<sup>2</sup>, 夏远<sup>1</sup>, 杨立群<sup>2</sup> (1内蒙古医科大学, 内蒙古自治区呼和浩特市 010020; <sup>2</sup>辽宁省计划生育科学研究院, 中国医科大学, 辽宁省沈阳市 110031)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.1556

ORCID: 0000-0001-8349-4410(李乌云塔娜)

文章快速阅读:



李乌云塔娜, 1983 年生, 内蒙古自治区通辽市人, 蒙古族, 2011 年东北大学毕业, 硕士, 实验师, 主要从事卫生检验工作。

共同第一作者: 赵灵燕, 1981 年生, 内蒙古自治区呼和浩特市人, 汉族, 2013 年北京中医药大学毕业, 博士, 副教授, 主要从事分子流行病学研究。

通讯作者: 杨立群, 博士, 副研究员, 辽宁省计划生育科学研究院, 中国医科大学, 辽宁省沈阳市 110031

文献标识码: B

稿件接受: 2018-10-13



Li Wuyuntana, Master, Experimentalist, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010020, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Zhao Lingyan, MD, Associate professor, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010020, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Li Wuyuntana and Zhao Lingyan contributed equally to this work.

Corresponding author: Yang Liqun, MD, Associate researcher, Liaoning Research Institute of Family Planning, China Medical University, Shenyang 110031, Liaoning Province, China

## 文题释义:

**聚三亚甲基碳酸酯:** 是一种无定形态或具有少许结晶的聚碳酸酯, 其玻璃化转变温度大约为  $-17\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 在室温和体内条件下具有良好的弹性, 其在体内降解不会释放出酸类物质, 造成局部酸性上升, 导致自动加速降解行为的发生, 可作为体内植入材料及药物缓释控释材料应用于临床, 已在皮下避孕体系、三维组织工程支架、神经修复和药物控制释放等领域表现出极大的应用潜力。

**开环聚合反应:** 是指环状化合物单体经过开环加成转变为线型聚合物的过程, 包括链引发、链增长和链终止等基元反应。

## 摘要

**背景:** 聚三亚甲基碳酸酯具有良好的生物相容性和生物降解性能, 具有较大的临床应用前景。目前, 国内外关于聚三亚甲基碳酸酯体外酶解性能影响因素及其作用规律的研究较少。

**目的:** 研究聚三亚甲基碳酸酯的体外酶解性能, 并探讨影响聚三亚甲基碳酸酯体外酶解性能的因素及其作用规律。

**方法:** 通过开环聚合反应制备聚三亚甲基碳酸酯均聚物及其共聚物, 2 种均聚物的分子质量分别为 135、256 kDa, 共聚物的分子质量为 238 kDa, 将分子质量为 256 kDa 的均聚物制成棒状与膜片 2 种形状, 其余 2 种样品制成棒状。将均聚物、共聚物样品分别置于脂肪酶溶液中, 均聚物样品于第 1, 2, 4, 8, 10, 12 周取出, 共聚物样品于 3, 6, 9, 12, 15 d 后取出样品, 测量样品质量变化, 计算失重率及降解速率常数。

**结果与结论:** ① 分子质量、形状及共聚改性对聚三亚甲基碳酸酯的体外酶解性能有显著影响; ② 当分子质量由 135 kDa 增加至 256 kDa 时, 聚三亚甲基碳酸酯均聚物棒状的酶解速率常数由每周 1.46% 增加到每周 3.81%, 说明分子质量越高, 聚三亚甲基碳酸酯均聚物的体外酶解速率越快; ③ 当形状由棒状转换为膜片时, 分子质量为 256 kDa 聚三亚甲基碳酸酯均聚物的酶解速率常数由每周 3.81% 增加到每周 9.16%, 说明膜片形状样品降解速率更快; ④ 在分子质量为 256 kDa 聚三亚甲基碳酸酯结构中引入等摩尔比己内酯成分后, 其酶解速率常数由每周 3.81% 增加到每周 14.49%, 说明在结构中引入聚己内酯成分, 可加速聚三亚甲基碳酸酯的降解速率; ⑤ 各因素对聚三亚甲基碳酸酯体外酶解速率的影响程度顺序为: 共聚组成 > 样品形状 > 分子质量。

## 关键词:

聚三亚甲基碳酸酯; 体外酶解; 降解速率; 开环聚合反应; 键引发; 键增长; 键终止

## 主题词:

材料试验; 脂肪酶; 组织工程

中图分类号: R459.9; R318.08

## 基金资助:

国家十三五重点研发计划项目(2016YFC1000902), 项目负责人: 杨立群; 国家自然科学基金项目(51503093), 项目负责人: 杨立群; 辽宁省重点研发计划项目(2018225079), 项目负责人: 杨立群; 辽宁省自然科学基金项目(20170540491), 项目负责人: 张巍; 沈阳市高层次创新人才计划项目(RC170359), 项目负责人: 杨立群; 沈阳市科学技术计划项目(F16-205-1-37), 项目负责人: 杨立群

## 缩略语:

聚三亚甲基碳酸酯, poly(trimethylene carbonate), PTMC

## ***In vitro* enzymatic degradation of poly(trimethylene carbonate): influencing factors and their effects**

Li Wuyuntana<sup>1</sup>, Zhao Lingyan<sup>1</sup>, Zhang Wei<sup>2</sup>, Xia Yuan<sup>1</sup>, Yang Liqun<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010020, Inner Mongolia Autonomous Region, China; <sup>2</sup>Liaoning Research Institute of Family Planning, China Medical University, Shenyang 110031, Liaoning Province, China)

### **Abstract**

**BACKGROUND:** Poly(trimethylene carbonate) has great potential in clinical applications due to the excellent biocompatibility and biodegradability. Little is reported on the factors influencing the *in vitro* enzymatic degradation of poly(trimethylene carbonate) and the underlying mechanism.

**OBJECTIVE:** To investigate the *in vitro* enzymatic degradation of poly(trimethylene carbonate), and to explore the influencing factors and their effects on the poly(trimethylene carbonate) degradation.

**METHODS:** poly(trimethylene carbonate) homopolymers and copolymers were prepared by ring-opening polymerization. The molecular mass of the two homopolymers was 135 and 256 kDa, respectively. The molecular mass of the copolymers was 238 kDa. The homopolymer of 256 kDa was made into two shapes (rods and films), and the other two samples were shaped into rods. The *in vitro* enzymatic degradation of poly(trimethylene carbonate) was conducted in lipase solutions, the homopolymer samples were taken out at 1, 2, 4, 8, 10, and 12 weeks, and the copolymer samples were taken at 3, 6, 9, 12, and 15 days. The mass loss and degradation rate constant were measured.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The molecular mass and shape as well as molar ratio played important roles on the *in vitro* enzymatic degradation behavior of poly(trimethylene carbonate). As the molecular mass increased from 135 to 256 kDa, the degradation rate constant of poly(trimethylene carbonate) homopolymer increased from 1.46% to 3.81%, indicating that the higher the molecular mass, the higher degradation rate of poly(trimethylene carbonate). The poly(trimethylene carbonate) film presented with higher degradation rate than the cylinder one with the same molecular weight, and the degradation rate constant increased from 3.81% to 9.16% as the shape of poly(trimethylene carbonate) with a molecular weight of 256 kDa changed from rods to films. The introduction of polycaprolactone segment accelerated the degradation rate of poly(trimethylene carbonate). The degradation rate constant increased from 3.81% to 14.49% as the 50 mol% caprolactone content was introduced into the structure of poly(trimethylene carbonate) (256 kDa). In summary, the order of factors influencing the degradation rate of poly(trimethylene carbonate) is as follows: copolymer composition > shape > molecular mass.

**Subject headings:** Materials Testing; Lipase; Tissue Engineering

**Funding:** the National 13<sup>th</sup> Five-Year Key Research & Development Program of China, No. 2016YFC1000902 (to YLQ); the National Natural Science Foundation of China, No. 51503093 (to YLQ); the Key Research & Development Program of Liaoning Province, No. 2018225079 (to YLQ); the Natural Science Foundation of Liaoning Province, No. 20170540491 (to ZW); the High-Level Innovation Talent Program of Shenyang, No. RC170359 (to YLQ); the Shenyang Science and Technology Program, No. F16-205-1-37 (to YLQ)

## **0 引言 Introduction**

可生物降解脂肪族聚碳酸酯具有良好的生物降解性、优异的生物相容性和物理机械性能<sup>[1-3]</sup>, 是一类重要的生物降解医用高分子材料。与聚羧基酸酯及其共聚物相比<sup>[4-6]</sup>, 可生物降解脂肪族聚碳酸酯最大的优势是在降解过程中无酸性降解产物生成<sup>[7]</sup>, 不会使机体产生无菌炎症等不良反应。作为生物医用材料的可生物降解脂肪族聚碳酸酯, 最常见且研究较广泛的是三亚甲基碳酸酯均聚物—聚三亚甲基碳酸酯 [poly(trimethylene carbonate), PTMC]。PTMC是一种无定形态或具有少许结晶的聚碳酸酯, 其玻璃化转变温度大约为-17 °C<sup>[2]</sup>, 在室温和体内条件下具有良好的弹性。同时, PTMC在体内降解不会释放出酸类物质, 造成局部酸性上升而导致自动加速降解行为的发生, 可作为体内植入材料及药物缓控释材料应用于临床, 已在皮下避孕体系<sup>[8]</sup>、三维组织工程支架<sup>[9-12]</sup>、神经修复<sup>[13-15]</sup>、药物控制释放等领域表现出极大的应用潜力<sup>[16-17]</sup>。因此, PTMC的研究及其应用正引起人们越来越广泛的兴趣与关注。

研究表明, PTMC的水解速率非常慢。Pego等<sup>[18]</sup>发现PTMC在为期2年时间内的水解过程中, 其分子质量及力学性能仅发生较小的变化, 降解速率常数仅为 $0.004 \times 10^{-2}/d$ , 证明了PTMC的非水解特性; 而同为体外降解实验, PTMC的体外酶解性能与体外酶水性能存在明显差异。与其非水解性能相比, PTMC在脂肪酶溶液中降解非常快。相对分

子质量为29.1万的PTMC, 在PBS中几乎不降解, 而在 *Thermomyces lanuginosus* 脂肪酶溶液中降解40 d后, 失重率就已高达86%, 60 d后几乎降解完全<sup>[1]</sup>。在酶的作用下, PTMC的降解速率明显提高。由于人体内有酶存在, 可能对PTMC的体内降解行为产生显著影响。因此, 深入研究PTMC的体外酶解性能对探索其体内降解行为具有重要的指导意义。实验分别从分子质量、样品形状及共聚比例等多角度出发, 深入研究PTMC的体外酶解性能, 并探讨上述因素对PTMC体外酶解性能的影响及作用规律, 为开展体内降解性能研究提供指导与支持, 为进一步促进PTMC在生物医学领域的广泛应用奠定基础。

## **1 材料和方法 Materials and methods**

**1.1 设计** 开环聚合反应及降解实验。

**1.2 时间及地点** 实验于2013年7月至2017年5月在辽宁省计划生育科学研究院生物材料研究室完成。

**1.3 材料** 三亚甲基碳酸酯(山东济南岱罡生物科技有限公司提供, 使用前乙酸乙酯重结晶2次);  $\epsilon$ -己内酯(99%, 美国Sigma-Aldrich公司, 使用前用CaH<sub>2</sub>干燥并减压蒸馏); 催化剂Sn(Oct)<sub>2</sub>和脂肪酶溶液lipase from *Thermomyces lanuginosus*(100 000 U/g)(Sigma-Aldrich公司); 其他试剂购于国药集团化学试剂有限公司; 高分辨超导核磁共振波谱仪(瑞士Bruker公司, Bruker AV II-600 MHz); 凝胶渗透色谱仪(美国Waters公司, 1515型isocratic HPLC); 差示扫

描量热仪(德国Netzsch公司, DSC200F3型); 热重分析仪(德国Netzsch公司, TGA209F3型)。

#### 1.4 实验方法

**1.4.1 PTMC的制备** PTMC均聚物或共聚物采用聚合-成型一体化技术, 通过反应单体在模具内的本体开环聚合反应制备而得, 即开环聚合反应与成型过程同步发生。具体步骤为: 3个内含聚四氟管材(内径为3 mm, 长度为3 cm)的聚合管分别标记为No.1、No.2、No.3, 在氮气保护下, 将5.1 g(0.05 mol)三亚甲基碳酸酯装入No.1, 5.1 g(0.05 mol)三亚甲基碳酸酯装入No.2, 2.55 g(0.025 mol)三亚甲基碳酸酯及3.6 g(0.025 mol) $\epsilon$ -己内酯加入No.3后, 分别加入2 000  $\mu$ L、200  $\mu$ L及400  $\mu$ L浓度为0.25 mol/L的Sn(Oct)<sub>2</sub>无水甲苯溶液, 并以此为催化剂。抽真空除去甲苯溶液, 用氮气在真空下置换聚合管中的空气。连续置换3

次后, 负压下封闭聚合管。将聚合管置于(130 $\pm$ 2)  $^{\circ}$ C的油浴中加热将单体熔化, 振荡, 使单体与催化剂混合均匀, 然后在此温度聚合24 h后撤掉油浴, 冷却至室温终止反应。将聚合管砸碎, 取出聚四氟管, 将棒状聚合物抽出, 裁剪成长为1 cm的棒条备用。将No.2部分棒条溶解于氯仿, 铺膜, 干燥后待用。PTMC均聚物及共聚物的合成路线, 见图1, 2。

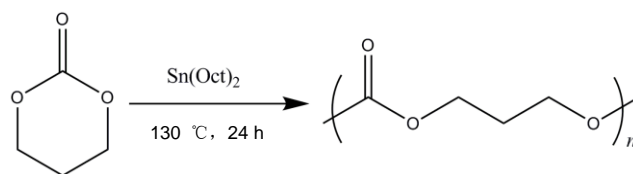


图1 聚三亚甲基碳酸酯的合成路线

Figure 1 Synthesis of poly(trimethylene carbonate)

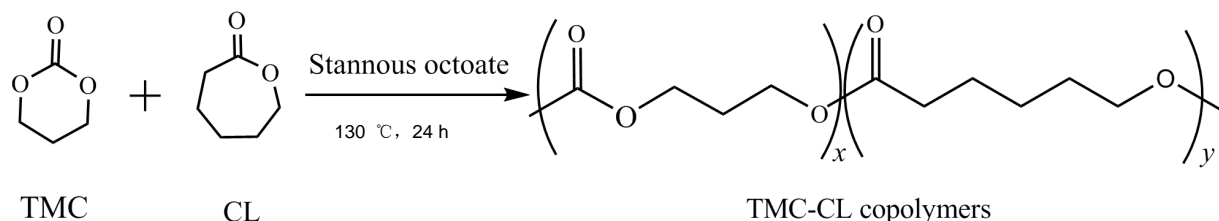


图2 聚三亚甲基碳酸酯共聚物的合成路线

Figure 2 Synthesis of poly(trimethylene carbonate) copolymers

**1.4.2 结构表征与物理性能分析** ①PTMC均聚物与共聚物的核磁共振氢谱(<sup>1</sup>H NMR)用高分辨超导核磁共振波谱仪在室温下测定, 氘代氯仿CDCl<sub>3</sub>为溶剂, 以0.5%四甲基硅烷为内标物; ②PTMC均聚物与共聚物的分子质量及其分布采用凝胶渗透色谱仪测定, 以THF作为流动相(淋洗液), 流速1 mL/min, PTMC均聚物与共聚物的数均分子量(M<sub>n</sub>)、重均分子量(M<sub>w</sub>)和分子量分散系数(M<sub>w</sub>/M<sub>n</sub>), 以单分散聚苯乙烯的分子质量或分子量分散系数为标样, 在恒温30  $^{\circ}$ C下测定; ③PTMC均聚物与共聚物的热性能在差示扫描量热仪上进行测试, 升温速率为10  $^{\circ}$ C/min, 降温速率为10  $^{\circ}$ C/min, 测试温度范围为-100-100  $^{\circ}$ C/min, N<sub>2</sub>为保护气; ④采用热重分析仪对PTMC均聚物与共聚物的热稳定性进行测试, 升温速度为20  $^{\circ}$ C/min, 测试温度范围为38-600  $^{\circ}$ C。

**1.4.3 体外酶降解实验** 准确称取所制备的PTMC棒条或膜片样品质量后将其置于1 mL酶溶液中, 并置于37  $^{\circ}$ C空气浴中, 每天振荡8 h, 振幅为65次/min。酶溶液每3 d更换1次, 以保持酶的活性。PTMC均聚物的棒条状及膜片样品分别于实验后第1, 2, 4, 8, 10或12周取出样品, 共聚物样品分别于3, 6, 9, 12, 15 d后取出样品, 用蒸馏水反复冲洗, 吸干表面液体, 真空干燥至恒质量, 进行失重考察。样品的失重率(Mass loss)根据以下公式计算:

$$\text{Mass loss (\%)} = \frac{m_i - m_d}{m_i} \times 100$$

式中,  $m_i$ 、 $m_d$ 分别为样品的初始质量和干燥后的质量;

$d_i$ 、 $d_d$ 分别为样品的初始直径和干燥后的直径。为避免误差, 在实验实施过程中每组样品在每个时间点平行操作3个样品, 失重率值为3个样品的平均值。

**1.5 主要观察指标** 各样品的失重率、降解速率及降解速率常数。

**1.6 统计学分析** 采用统计学软件SPSS 16.0进行数据统计分析。每个样品平行操作3个样品, 计算其失重率的平均值及标准偏差。比较不同分子质量、形状及不同共聚组成样品的降解速率及速率常数分析分子质量、形状、共聚组成对PTMC体外酶解性能的影响。

## 2 结果 Results

**2.1 结构表征结果** 图3是PTMC均聚物的核磁谱图, 核磁数据如下:  $\delta$ =4.14(tr, 4H, Ha), 2.02(m, 2H, Hb)。其中, -CH<sub>2</sub>-上质子的化学位移与文献[19]报道数据相符, 验证了其结构的正确性。

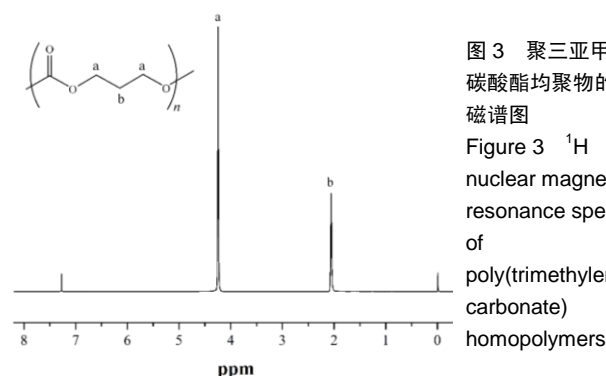


图3 聚三亚甲基碳酸酯均聚物的核磁谱图

Figure 3 <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance spectra of poly(trimethylene carbonate) homopolymers

图4为PTMC共聚物(三亚甲基碳酸酯/CL=50/50)的核磁共振谱图,核磁数据如下: $\delta=4.25-4.20$ (m, 4H, Ha)、 $4.14-4.07$ (tr, 2H, Hd)、 $2.34-2.30$ (m, 2H, Hh)、 $2.07-2.00$ (m, 2H, Hb)、 $1.72-1.63$ (m, 4H, He+g)及 $1.44-1.36$ (m, 2H, Hf)。其中, 三亚甲基碳酸酯-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-基团在2.05 ppm处的峰面积及ε-己内酯-COCH<sub>2</sub>-基团在2.30 ppm处的峰面积被用来计算共聚物组成<sup>[20]</sup>。计算结果表明, 共聚物组成比与投料比趋于一致。

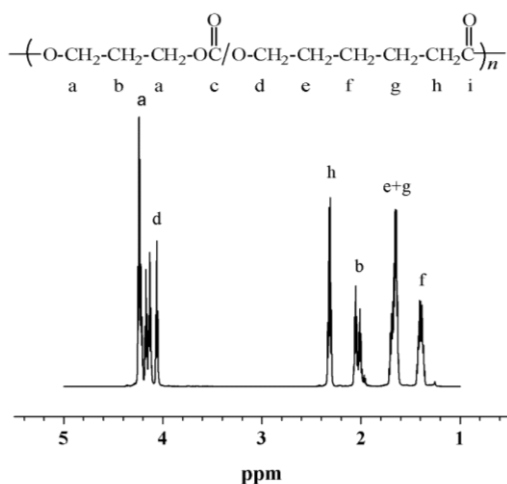


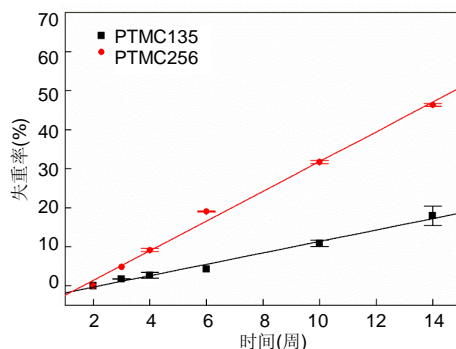
图4 聚三亚甲基碳酸酯共聚物的核磁谱图  
Figure 4 <sup>1</sup>H-nuclear magnetic resonance spectrum of poly(trimethylene carbonate) copolymers

2.2 物理性能表征结果 PTMC均聚物及共聚物的具体性能, 见表1。

表1 聚三亚甲基碳酸酯及其共聚物的性能  
Table 1 Performance of poly(trimethylene carbonate) and its copolymers

编号	名称	三亚甲基碳酸酯与ε-己内酯的摩尔比	分子量(kDa)	分散系数	黏度(dL/g)	玻璃化温度(°C)	热分解温度(°C)
No.1	PTMC135	100 : 0	135	1.25	1.86	-15.0	252.6
No.2	PTMC256	100 : 0	256	1.11	3.88	-14.3	258.9
No.3	PTMCL	50 : 50	238	1.14	2.91	-46.9	299.2

2.3 分子量对PTMC降解性能的影响 PTMC均聚物在体外酶解过程中失重率及其与降解时间的函数关系曲线, 见图5所示。PTMC在降解过程中均呈现显著失重, 并且失重率随降解时间呈线性关系增长。分子质量为256 kDa的PTMC均聚物在脂肪酶溶液中降解4, 8, 12周后的失重率分别为(19.04 ± 0.1)%, (31.71 ± 0.37)%, (43.65 ± 0.35)%, 分子质量为135 kDa的PTMC均聚物失重率同样随降解时间的延长而逐渐增大, 但在同一时间点的失重率小于分子质量为256 kDa PTMC均聚物的失重率, 例如其在降解12周后的失重率仅为(17.92 ± 2.51)%。

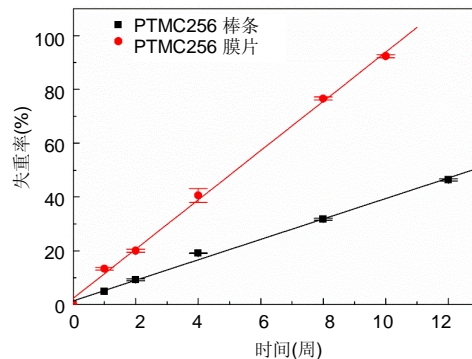


图注: 分子质量 135, 256 kDa 的 PTMC 均聚物失重率均随降解时间的延长而逐渐增大, 分子质量 135 kDa 的 PTMC 均聚物失重率小于分子质量为 256 kDa 的 PTMC 均聚物。

图5 不同分子质量聚三亚甲基碳酸酯(PTMC)在脂肪酶中失重率与降解时间的函数关系

Figure 5 Mass loss of poly(trimethylene carbonate) with different molecular weights during *in vitro* enzymatic degradation as a function of time

2.4 样品形状对PTMC降解性能的影响 不同形状PTMC(分子质量为256 kDa)均聚物在体外酶解过程中的失重率及其与降解时间的函数关系曲线, 见图6所示, 膜片状PTMC均聚物在脂肪酶溶液中降解12周后的失重率为(92.44 ± 0.62)%, 棒状PTMC均聚物在同一时间点的失重率仅为(43.65 ± 0.35)%。



图注: PTMC 均聚物分子质量为 256 kDa; 膜片状 PTMC 均聚物在脂肪酶溶液中降解 12 周后的失重率为(92.44 ± 0.62)%, 棒状 PTMC 均聚物在同一时间点的失重率仅为(43.65 ± 0.35)%。

图6 不同形状聚三亚甲基碳酸酯(PTMC)均聚物在脂肪酶中失重率与降解时间的函数关系

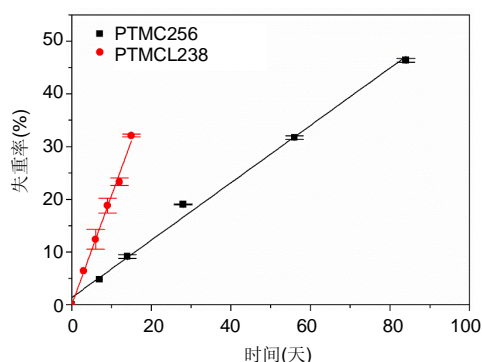
Figure 6 Mass loss of poly(trimethylene carbonate) homopolymers with different physical shapes during *in vitro* enzymatic degradation as a function of time

2.5 共聚对PTMC降解性能的影响 图7给出了PTMC均聚物与共聚物在体外酶解过程中失重率及其与降解时间的函数关系曲线, PTMC均聚物在脂肪酶溶液中降解14 d后的失重率为(9.15 ± 0.10)%, 而PTMC共聚物在15 d的失重率就高达(32.11 ± 0.28)%。

2.6 降解速率计算结果 在一级动力学模型的基础上, 通过失重率变化定量计算了PTMC的体外酶解速率常数, 计算公式如下<sup>[21-23]</sup>:

$$R_{t_2} = R_{t_1} - k(t_2 - t_1)$$

式中,  $k$ 为PTMC的酶解速率常数,  $R_t$ 为样品在 $t$ 时刻的失重率。



图注: PTMC 均聚物在脂肪酶溶液中降解 14 d 后的失重率为(9.15±0.10)%, 而 PTMC 共聚物在 15 d 的失重率高达(32.11±0.28)%。

图 7 聚三亚甲基碳酸酯均聚物(PTMC)与共聚物(PTMCL)在脂肪酶中失重率与降解时间的函数关系

Figure 7 Mass loss of poly(trimethylene carbonate) homopolymers and copolymers with different compositions during *in vitro* enzymatic degradation as a function of time

图5-7分别给出了不同分子质量、不同形状及不同共聚组成的PTMC失重率与降解时间的线性关系曲线, 通过数据的线性拟合即可得到各样品的体外酶解速率常数, 见表2。

表 2 通过失重率计算所得的 PTMC 体外酶解速率常数

Table 2 Enzymatic degradation rate constant of poly(trimethylene carbonate) *in vitro* determined based on the increase in mass loss

名称	分子质量 (kDa)	三亚甲基碳酸酯与 $\epsilon$ -己内酯的摩尔比	形状	速率常数 $k$ (%/周)	系数 $R$
PTMC135	135	100 : 0	棒	1.46	0.994
PTMC256	256	100 : 0	棒	3.81	0.997
		100 : 0	膜	9.16	0.997
PTMCL	238	50 : 50	棒	14.49	0.993

由表2可知, PTMC的体外酶解速率常数与其分子质量、形状及共聚组成有密切关系。当分子质量由135 kDa增大至256 kDa时, PTMC均聚物的酶解速率常数由每周1.46%增大至每周3.81%; 当相同分子质量的PTMC ( $M_n=256$  kDa)均聚物形状由棒状转变为膜片时, 其降解速率常数由每周3.81%增大至每周9.16%; 此外, 当其结构引入50% $\epsilon$ -己内酯成分时, PTMC降解速率常数由每周3.81%增大至每周14.49%。

### 3 讨论 Discussion

目前, 很多可生物降解聚合物已被用于医药领域研究, 其中PTMC因具有良好的生物降解性、优异的生物相容性已引起广泛的关注。目前, PTMC的体外降解行为已有报道, 但国内外关于其体外酶解性能的影响因素及其作用规律的研究较少。文章以分子质量、形状及共聚组成为考察因素, 对PTMC的体外酶解行为进行考察, 并分析上述因素对

PTMC酶解性能的影响及作用规律。结果表明, 分子质量、形状及共聚组成对PTMC的体外酶解行为具有显著影响, 并可以通过上述因素对PTMC的体外酶解速率进行调控。

PTMC的体外酶速率随着分子质量的增加而增大。当分子质量由135 kDa增大至256 kDa时, PTMC的酶解速率常数由每周1.46%增加至每周3.81%, 降解速率显著加速。这可能与PTMC的亲疏水性有关。PTMC的疏水性随分子质量的增大而逐渐提高<sup>[24]</sup>。据文献报道, 脂肪酶在疏水性表面具有更高的活性<sup>[25-26]</sup>。由此, 脂肪酶更倾向于降解高分子质量的PTMC均聚物, 由此导致PTMC的酶解速率常数随分子质量的增大而增大; 此外, 由于PTMC的酶解机制为表面溶蚀降解<sup>[24]</sup>, 样品表面积对降解行为有很大影响, 表面积越大降解速率越快。低分子质量PTMC容易发生蠕变流动, 导致样品发生严重形变并进一步导致样品表面积减少<sup>[24]</sup>。因此, 低分子质量PTMC具有较慢的降解速率。

PTMC的降解行为不仅受其分子质量的影响, 样品形状也对其有显著作用。实验将分子质量为256 kDa的PTMC通过溶剂挥发的方法制备成薄膜( $d=10$  mm,  $thk=0.5$  mm), 并将制得的薄膜与相同分子质量的棒状PTMC一并置于相同条件下进行酶解实验。结果表明, 分子质量为256 kDa PTMC棒条的酶解速率常数为每周3.81%, 而相同分子量PTMC膜片的酶解速率常数为每周9.16%, 膜片样品的降解速率明显大于棒条状样品的降解速率。这是由于膜状与棒状PTMC的表面积存在显著差异所造成的。PTMC膜片表面积约为50 mm<sup>2</sup>, 而棒状PTMC的表面积约为30 mm<sup>2</sup>。由于PTMC在脂肪酶溶液中的降解机制为表面溶蚀降解, 因此降解速率与样品表面积密切相关, 表面积越大降解速率越快。因此, 相同分子质量的PTMC膜片在脂肪酶溶液中降解更快。同时, 尽管分子质量为256 kDa棒状PTMC比分子质量为135 kDa棒状PTMC在脂肪酶溶液中降解的更快, 但是分子质量为256 kDa的PTMC膜片比相同分子质量的棒状PTMC在脂肪酶溶液中降解的还要快。该结果表明在体外酶解过程中, 样品形状比分子质量对PTMC酶解行为的影响更为显著。

$\epsilon$ -己内酯具有较高的药物渗透性、良好的生物相容性及优异的力学性能, 能在体内降解并被机体吸收<sup>[27-28]</sup>。由于 $\epsilon$ -己内酯是疏水性聚合物且具有较高的结晶度(约为60%)<sup>[29]</sup>, 在体内降解较慢, 很适合应用于长效药物缓释体系, 如Capronor<sup>[30-31]</sup>。因此, 将三亚甲基碳酸酯与 $\epsilon$ -己内酯共聚可有效改善PTMC的物理性能并调控其体内外的降解速率<sup>[8, 13, 21]</sup>。实验结果表明, PTMC在脂肪酶溶液中降解14 d后的失重率为(9.15±0.10)%, 而PTMC共聚物在15 d的失重率就高达(32.11±0.28)%; 同样, 分子质量为256 kDa的PTMC棒条酶解速率常数为每周3.81%, 而在其结构中引入等摩尔比的 $\epsilon$ -己内酯成分后, PTMCL的酶解速率常数为每周14.49%。PTMC共聚物比PTMC均聚物具有更快的降解速率, 即在PTMC主链中引入 $\epsilon$ -己内酯成分可

显著加速PTMC的降解。这是由于脂肪酶对于酯键的断裂具有更高的催化活性。此外,共聚物的分子链活动性对其降解行为也有一定的影响<sup>[32]</sup>。PTMC共聚物中 $\epsilon$ -己内酯含量越高共聚物的玻璃化温度 $T_g$ 越低。较低的 $T_g$ 可促进聚合物分子链段的运动,这将使分子链及酯键更易于与酶接触,进而导致更快速的降解。同时,与分子质量及样品形状相比较而言,共聚组成对PTMC酶解行为的影响最为显著。因此,实验中各因素对PTMC体外酶解速率的影响程度顺序为共聚组成>样品形状>分子质量。

综上所述,PTMC的体外酶解行为受多种因素影响,在将PTMC应用于临床工作时可根据实际情况,选择合适的分子质量、样品形状或者通过获得不同共聚组成的共聚物等手段来调控PTMC的降解性能,以更好地满足临床应用需求。实验能够为促进PTMC在生物医药领域的广泛应用奠定科学基础和数据支持。

**作者贡献:** 通讯作者构思并设计实验,由第一、二、三、四作者共同实施完成实验。第一作者撰写文章,通讯作者审核。

**经费支持:** 该文章接受了“国家十三五重点研发计划项目(2016YFC1000902)、国家自然科学基金项目(51503093)、辽宁省重点研发计划项目(2018225079)、辽宁省自然科学基金项目(20170540491)、沈阳市高层次人才计划项目(RC170359)、沈阳市科学技术计划项目(F16-205-1-37)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

**利益冲突:** 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**写作指南:** 该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

**文章查重:** 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

**文章外审:** 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

**生物统计学声明:** 该文统计学方法已经辽宁省计划生育科学研究院数据设计专家审核。

**文章版权:** 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

#### 4 参考文献 References

[1] Zhang Z,Kuijter R,Bulstra SK,et al.The in vivo and in vitro degradation behavior of poly(trimethylene carbonate). Biomaterials. 2006;27(9):1741-1748.

[2] Zhu KJ,Hendren RW,Jensen K, et al.Synthesis, properties, and degradation of poly(1, 3-trimethylene carbonate). Macromolecules. 1991;24(8):1736-1740.

[3] 杨立群,周群华,张巍,等.聚三亚甲基碳酸酯的研究进展[J].高分子通报,2016,29(8):29-43.

[4] 赵宁,张现军,李伟,等.左旋聚乳酸羟基磷灰石生物材料与牙周膜细胞的生物相容性[J].中国组织工程研究,2016,20(12):1732-1737.

[5] 马晓妍,石淑先,夏宇正,等.聚乳酸及其共聚物的制备和降解性能[J].北京化工大学学报(自然科学版),2004,31(1):51-56.

[6] 胡露,魏坤,邹芬.聚乳酸-羟基乙酸共聚物/硅酸钙三维多孔骨组织工程支架的构建与性能[J].中国组织工程研究,2016,20(47):6997-7005.

[7] Albertsson AC,Eklund M.In vitro degradation of poly(trimethylene carbonate), poly(trimethylene carbonate-co-caprolactone), and poly(adipic anhydride).J Appl Polym Sci.1995;57(1):87-103.

[8] 肖凯,郭颖志,顾忠伟.聚三亚甲基碳酸酯-丙交酯共聚物微球长效避孕体系的构建[J].中国计划生育学杂志,2008,16(4):219-222.

[9] 杨立群,张金哲,张巍,等.聚三亚甲基碳酸酯的改性研究[J].高分子通报,2016,29(11):23-38.

[10] Bat E,Kothman BH,Higuera GA, et al.Ultraviolet light crosslinking of poly(trimethylene carbonate) for elastomeric tissue engineering scaffolds. Biomaterials. 2010;31(33):8696-8705.

[11] 韩雅如.完全生物可降解心血管支架用复合材料研究[D].上海:复旦大学,2011.

[12] Papenburg BJ,Schüller-Ravoo S,Bolhuis-Versteeg LA,et al.Designing porosity and topography of poly(1, 3-trimethylene carbonate) scaffolds. Acta Biomaterialia. 2009;5(9):3281-3294.

[13] Pego AP,Poot AA,Grijpma DW,et al.Copolymers of trimethylene carbonate and  $\epsilon$ -caprolactone for porous nerve guides: synthesis and properties.J Biomater Sci Polym Ed. 2001;12(1):35-53.

[14] 邵国喜,焦晶雪,刘钦毅,等.聚乳酸-聚三亚甲基碳酸酯/GDNF导管对大鼠脊髓损伤区 GAP-43mRNA 表达的影响[J].中国实验诊断学,2015,19(2):198-201.

[15] Fabre T,Schappacher M,Bareille R, et al.Study of a (trimethylenecarbonate-co- $\epsilon$ -caprolactone)polymer-Part 2: in vitro cytocompatibility analysis and in vivo ED1 cell response of a new nerve guide.Biomaterials.2001;22(22):2951-2958.

[16] 裴香玲,恩诺沙星聚乳酸-聚三亚甲基碳酸酯的体内外降解和释药研究[D].兰州:甘肃农业大学,2007.

[17] 吴雷刚,吴婧,侯瑞霞,等.他克莫司-聚三亚甲基碳酸酯药物洗脱支架涂层研究[J].功能材料,2011,42(11):1954-1957.

[18] Pego AP,Poot AA,Grijpma DW, et al.In vitro degradation of trimethylene carbonate based (co)polymers. Macromol Biosci. 2002;2(9):411-419.

[19] 周群华,杨立群,张巍,等.聚三亚甲基碳酸酯的生物相容性研究[J].高分子通报,2016,29(6):71-77.

[20] Yang LQ,Yang D,Guan YM,et al.Random copolymers based on trimethylene carbonate and  $\epsilon$ -caprolactone for implant applications: Synthesis and properties.J Appl Polym Sci. 2012;124(5):3714-3720.

[21] Yang L,Li J,Meng S,et al.The in vitro and in vivo degradation behavior of poly (trimethylene carbonate-co- $\epsilon$ -caprolactone) implants. Polymer. 2014;55(20):5111-5124.

[22] Yang L,Li J,Jin Y,et al. In vitro enzymatic degradation of the cross-linked poly ( $\epsilon$ -caprolactone) implants.Polym Degrad Stab. 2015;112:10-19.

[23] Hou Z,Hu J,Li J,et al.The In Vitro Enzymatic Degradation of Cross-Linked Poly (trimethylene carbonate) Networks. Polymers. 2017;9(11):605.

[24] Yang L,Li J,Zhang W,et al.The degradation of poly (trimethylene carbonate) implants: the role of molecular weight and enzymes. Polym Degrad Stab.2015;122:77-87.

[25] Chen B,Yin C,Cheng Y,et al.Using silk woven fabric as support for lipase immobilization: The effect of surface hydrophilicity/hydrophobicity on enzymatic activity and stability. Biomass Bioenergy. 2012;39:59-66.

[26] Chen GJ,Kuo CH,Chen CI,et al.Effect of membranes with various hydrophobic/hydrophilic properties on lipase immobilized activity and stability.J Biosci Bioeng. 2012;113(2):166-172.

[27] Sun H,Mei L,Song C,et al.The in vivo degradation, absorption and excretion of PCL-based implant. Biomaterials. 2006;27(9):1735-1740.

[28] 宋存先,王彭延.聚己内酯在体内的降解,吸收和排泄[J].生物医学工程学杂志,2000,17(1):25-28.

[29] 於秋霞,朱光明,梁国正,等.聚  $\epsilon$ -己内酯的合成、性能及应用进展[J].高分子材料科学与工程,2004,20(5):37-40.

[30] 张金哲,周群华,杨立群,等.非生物降解型及生物降解型长效皮下埋植避孕剂的理论与应用进展[J].中国组织工程研究,2017,21(22):3595-3601.

[31] 刘春海.可生物降解皮下埋植避孕剂Capronor的临床研究[J].中国计划生育学杂志,1996,4(3):187-189.

[32] Marten E,Muller RJ,Deckwer WD. Studies on the enzymatic hydrolysis of polyesters I. Low molecular mass model esters and aliphatic polyesters. Polym Degrad Stab. 2003;80(3):485-501.