

## 摘要

### TCS-IH 提高树脂水门汀抗菌性能的研究

#### 研究目的:

本实验旨在商品自粘接树脂水门汀 Mutilink Speed 中加入具有抗菌作用的可光固化的三氯生衍生物( photocurable triclosan, TCS-IH ), 按照商品树脂水门汀的使用说明书对各组树脂水门汀进行操作, 将 TCS-IH 均匀混合在树脂水门汀中, 探究不同组成配比对树脂水门汀固化程度、表面润湿性、力学性能、粘接性能、抗菌能力及生物安全性的影响。以期在不影响树脂水门汀自身性能的前提下, 赋予其抗菌性能。

#### 研究方法:

1. 将 TCS-IH 以 25 wt%溶于丙酮后, 按照混合后 0 wt%、2 wt%、4 wt%、6 wt%、8 wt%的质量比加入商品树脂水门汀 Mutilink Speed 中, 按照 Mutilink Speed 使用说明 20s 内在避光条件下混合均匀。将混合均匀的抗菌性树脂水门汀分为五组: 0wt%TCS-IH 组、2 wt%TCS-IH 组、4 wt%TCS-IH 组、6 wt%TCS-IH 组、8 wt%TCS-IH 组。

2. 对树脂水门汀进行双键转化率的检测, 以评价树脂水门汀的固化程度。

3. 静态水接触角法检测各组抗菌树脂水门汀的表面润湿性。

4. 对树脂水门汀进行弯曲强度的检测, 以评价树脂水门汀的力学性能。

5. 微拉伸实验检测即刻粘接性能。

6. 选择变异链球菌进行 CFU、MTT 和活/死染色抗菌实验, 对树脂水门汀的抗菌性能进行评估。

7. 并通过 CCK-8 进行细胞毒性的测定, 评价体外细胞毒性等级。(细胞毒性实验分为六组: 阴性对照组, 0 wt%组、2 wt%组、4 wt%组、6 wt%组、8 wt%组。)

8. 对实验数据进行 One-way ANOVA 分析, 两组间样本均数比较采用 t 检验, 检验显著性水准为  $\alpha = 0.05$ 。实验结果以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。

#### 研究结果:

1. 实验组抗菌性树脂水门汀与 0wt%组（对照组）树脂水门汀相比，其双键转化率及表面润湿性的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

2. 2 wt%组和 4 wt%组抗菌性树脂水门汀与 0wt%组（对照组）树脂水门汀之间的弯曲强度无明显的差别( $P>0.05$ )，但 6 wt%组和 8 wt%组的弯曲强度与 0wt%组相比显著降低( $P<0.05$ )。

3. 添加 2.0 wt%和 4.0 wt%的 TCS-IH 对树脂水门汀的粘接强度没有影响( $P>0.05$ )；而当 TCS-IH 超过 4.0 wt%时，粘接强度下降明显( $P<0.05$ )。

4. 当 TCS-IH 含量为 4 wt%、6 wt%、8 wt%时，树脂水门汀均具有显著的抗菌效果( $P<0.05$ )。

5. 2 wt%和 4 wt%组树脂水门汀均具有良好的生物相容性。

#### **研究结论：**

成功合成了抗菌性树脂水门汀，其中 4wt%组抗菌性树脂水门汀在未影响商品树脂水门汀 Mutilink Speed 自身性能的前提下赋予其抗菌性，提高了树脂水门汀的综合性能。

#### **关键词：**

树脂水门汀；自粘接；可光固化三氯生；抗菌性能；粘接性能

## **Abstract**

### **Study on TCS-IH improving antibacterial properties of resin cements**

#### **Objective:**

This experiment aims to self adhesive resin cements adding antimicrobial effect of light curing Mutilink Speed triclosan derivatives (photocurable-triclosan, TCS - IH), in accordance with the instruction for use Multilink Speed resin cements, TCS-IH was evenly mixed in resin cements, and the effects of different composition ratios on curing degree, surface wettability, mechanical properties, bonding properties, antibacterial ability and biosafety of resin cements were investigated. In the hope of not affecting the properties of resin cements, it can be endowed with antibacterial properties.

#### **Methods:**

1. After TCS-IH is dissolved in acetone at 25wt%, add 0wt%, 2wt%, 4wt%, 6wt% and 8wt% Triclosan solution into commercial resin cements Multilink Speed. According to the instructions of Multilink Speed, mix well under the condition of avoiding light within 20s. The mixed antibacterial resin cements was divided into five groups: 0wt%, 2wt%, 4wt%, 6wt%, 8wt%.

2. The double bond conversion rate of resin cements was tested to evaluate the curing degree of resin cements.

3. The surface wettability of each group of antibacterial resin cements was detected by water contact angle.

4. The bending strength of resin cements is tested to evaluate the mechanical properties of resin cements.

5. Instant bonding strength was tested by micro-tensile test.

6. *Streptococcus mutans* were selected for CFU, MTT and live/dead

staining to evaluate the antibacterial properties of resin cement.

7. Cytotoxicity was determined by CCK-8 to evaluate the cytotoxicity level in vitro. ( Cytotoxicity tests were divided into six groups: negative control, 0wt%, 2wt%, 4wt%, 6wt% and 8wt% ).

8. One-way ANOVA analysis was performed on the experimental data, and T-test was used to compare the sample mean between the two groups. The test significance level was  $\alpha=0.05$ . Experimental results were expressed as mean  $\pm$  standard ( $\bar{x} \pm s$ ) deviation.

### **Research results:**

1. There was no significant difference in the double bond conversion rate and surface wettability between the experimental group and the 0wt% group (control group) ( $P>0.05$ ).

2. There was no significant difference in the bending strength between the antibacterial resin cement in the 2wt% and 4wt% groups and the 0wt% group (control group) ( $P>0.05$ ), but the bending strength of the 6wt% and 8wt% groups was significantly lower than that of the 0wt% group ( $P<0.05$ ).

3. Adding 2.0 wt% and 4.0 wt% TCS-IH had no effect on the bond strength of resin cement ( $P>0.05$ ). However, when TCS-IH exceeded 4.0 wt%, the bond strength decreased significantly ( $P<0.05$ ).

4. When TCS-IH content was 4 wt%, 6 wt% and 8 wt%, resin cement had significant antibacterial effect ( $P<0.05$ ).

5. The 2wt% and 4wt% resin cements showed good biocompatibility.

### **Conclusion:**

The antibacterial resin cement was successfully synthesized, among which 4wt% group of antibacterial resin cement gave antibacterial property to MutilinkSpeed without affecting its own performance, which improved the comprehensive performance of the resin cement.

### **Key words:**

resin cement, self bonding, photocurable triclosan derivative, antibacterial properties, adhesion property

# 目 录

第一章 绪论 .....	1
1.1 研究背景 .....	1
1.2 抗菌剂的研究进展 .....	2
1.3 树脂水门汀的研究进展 .....	4
1.4 研究思路 .....	6
第二章 抗菌性树脂水门汀的合成及综合性能检测 .....	7
2.1 实验材料与设备 .....	7
2.1.1 实验材料 .....	7
2.1.2 实验设备 .....	7
2.2 实验方法 .....	7
2.2.1 可光固化三氯生 ( TCS-IH ) 的合成 .....	8
2.2.2 含 TCS-IH 树脂水门汀的制备 .....	8
2.2.3 双键转化率检测 .....	8
2.2.4 水接触角检测 .....	9
2.2.5 力学性能检测 .....	9
2.2.6 即刻粘接强度检测 .....	9
2.2.6.1 离体牙的获取和预备 .....	9
2.2.6.2 树脂条的制备 .....	10
2.2.6.3 微拉伸试件的制备 .....	10

2.2.6.4	微拉伸强度检测 .....	10
2.2.6.5	断裂模式分析 .....	10
2.2.7	统计学分析 .....	11
2.3	实验结果 .....	11
2.3.1	转化率及接触角测试 .....	11
2.3.2	力学性能测试 .....	11
2.3.3	即刻粘接强度测试 .....	12
2.3.4	断裂模式分析 .....	12
2.4	讨论 .....	13
第三章	含 TCS-IH 树脂水门汀的抗菌活性和细胞毒性研究 .....	16
3.1	实验材料与设备 .....	16
3.1.1	实验材料 .....	16
3.1.2	实验设备 .....	16
3.2	实验方法 .....	16
3.2.1	抗菌实验 .....	16
3.2.1.1	试件制备及分组 .....	16
3.2.1.2	细菌黏附实验 .....	17
3.2.1.3	MTT 法检测细菌生物膜代谢活性 .....	17
3.2.1.4	细菌活/死荧光染色 .....	17
3.2.2	细胞毒性实验 .....	18
3.2.2.1	浸提液的制备 .....	18
3.2.2.2	CCK-8 实验 .....	18

3.2.3 统计学分析 .....	19
3.3 结果 .....	19
3.3.1 抗菌活性 .....	19
3.3.2 细胞毒性 .....	21
3.4 讨论 .....	22
第四章 结 论 .....	25
参考文献 .....	26
作者简介及在学期间取得的科研成果 .....	34
致 谢 .....	35



## 中英文缩略词对照

缩略词	英文全称	中文全称
<i>S.mutans</i>	Streptococcus mutans	变异链球菌
FAS	Fatty acid synthetase	脂肪酸合成酶
TCS	Triclosan	三氯生
TCS-IH	photocurable triclosan derivative	可光固化三氯生
FTIR	Fourier transform infrared spectrum	傅里叶转换红外光谱仪
CFU	colony-forming unit	菌落形成单位
DC	degree of conversion	聚合转化率
FS	flexural strength	弯曲强度
MS	micro-tensile strength	微拉伸强度
DMSO	dimethyl sulfoxide	二甲基亚砷
NC	negative control	阴性对照组
RGR	relative growth rate	细胞相对增值率

# TCS-IH 提高树脂水门汀抗菌性能的研究

## 第一章 绪论

### 1.1 研究背景

龋病是临床中牙体缺损的首要病因，治疗主要以复合树脂充填为主。龋病是牙体硬组织常见的慢性进行性细菌性感染性口腔疾病，且发病率和流行率较高，严重威胁人体健康，若不进行及时治疗，可加重或诱发全身疾病，使人类生活质量严重下降，造成巨大的经济负担。研究结果表明，龋病的患病率在众多疾病中居于首位<sup>[1]</sup>，全球患龋人数约为 24.4 亿。以往研究表明，继发龋导致了 50%~60% 的修复失败<sup>[2]</sup>。

继发龋是发生在修复体与牙体交界处的病变<sup>[3]</sup>。研究表明，继发龋与原发龋的发病机制相同，二者都是以菌斑微生物为主，受多重因素共同影响，发生于口腔牙体组织的一种慢性感染性疾病<sup>[4]</sup>。继发性龋会导致釉质脱矿，而牙本质继发龋还包括有机成分的降解。继发龋的发病原因可能有以下几种：(1)微渗漏使细菌代谢的酸性产物或细菌本身进入牙体-修复体粘接界面；(2)牙体-修复体粘接界面完整，但由于修复体边缘对酸的缓冲能力较牙体硬组织低，导致继发龋；(3)备牙时腐质未祛尽，残留细菌继续感染，牙体硬组织脱矿形成继发龋<sup>[5-7]</sup>。通常来讲，临床治疗继发龋的第一步是去除原有修复体，再进一步祛尽龋坏的牙体组织，最后再次对牙体组织进行修复，反复采用此种方法治疗修复体边缘继发龋，会使牙体硬组织强度减弱，甚至导致牙齿行使功能障碍，给患者带来生理、心理和经济负担。

目前临床研究中继发性龋病的预防可以分为以下三个方面：(1)在树脂或粘接剂中加入促矿化成分：树脂-牙本质粘接界面会面临降解问题，包括粘接剂的酶解和水解，唾液及细菌代谢产物中包含大量的酶，同时粘接材料具有一定的亲水性能，在湿润的口腔环境中唾液中的酶使得粘接界面的完整性受到破坏，因此在粘接材料中加入促矿化成分，可以促进形成新的羟基磷灰石晶体从而达到树脂-牙本质粘接界面重新矿化的目的<sup>[8]</sup>。(2)维持界面良好的封闭效果：主要从降低粘接材料的聚合收缩<sup>[9]</sup>和预防树脂-牙本质粘接界面的降解两方面着手<sup>[10]</sup>。(3)赋予树脂或粘接剂抗菌性能：即使修复体粘接时界面没有产生微小缝隙，但粘接材

料固化过程中聚合收缩产生的拉力、咀嚼运动过程中修复体产生的压力、进食过程中温度变化产生的温度应力等，随着时间的累积都会导致树脂-牙本质粘接界面的应力疲劳致使粘接界面产生缝隙<sup>[11]</sup>，最终必然会导致细菌的入侵，因此应该在口腔修复材料中加入具有抗菌作用的物质，进一步预防继发性龋病。

研究显示，变异链球菌(*Streptococcus mutans*, *S.mutans*)可以利用蔗糖促进其自身合成大量的细胞外多糖，从而利于细菌在牙齿表面定植，同时，*S.mutans*有能力将碳水化合物代谢成有机酸，并且可以在酸性环境下生长繁殖，所以*S.mutans*被认为具有强致龋性，是导致龋病的主要微生物<sup>[12,13]</sup>。因此，有必要对树脂水门汀粘接材料进行改性，在保持其综合性能的前提下赋予其抗菌性，提高牙体-修复体粘接界面稳定性及耐久性。

## 1.2 抗菌剂的研究进展

具有抗菌活性的物质可以统称为抗菌剂，抗菌剂能够通过多种作用方式影响细菌微生物的生长与繁殖，并且可以导致细菌微生物的死亡。

现有的抗菌剂按照作用方式分类，可以分为释放型抗菌剂和接触型抗菌剂两大类。由于释放型抗菌剂不存在动力学释放系统，因此容易导致“突释效应”，抗菌剂从材料中大量析出，再释放的浓度逐渐降低，难以保证抗菌长效性。此外，材料稳定性也难以保证，当释放型抗菌剂从材料中析出发挥抗菌作用时，材料内出现空隙，对其自身性能产生负面影响。而可聚合抗菌剂的抗菌作用是不依赖抗菌活性成分不断释放的，它可以通过化学结合的方式与材料形成共价键，使抗菌剂在材料中稳定地结合，共价结合后的材料与细菌接触达到杀菌目的，避免了“突释效应”，同时避免了释放型抗菌剂对口腔修复材料力学性能的伤害，不仅实现了抗菌长效性并且材料稳定性也得到保证，与释放型抗菌剂相比具有明显优势<sup>[14, 15]</sup>。

目前许多抗菌材料已被有效用于抗菌剂的开发，如银 (Ag)、N-卤代胺化合物(N-halamines)、氧化锌(ZnO)、季铵化合物(Quaternary ammonium compound, QACs)、聚维酮-碘 (PVP-I<sub>2</sub>) 和三氯生 (Triclosan, TCS) 等。Ag 通过干扰细菌蛋白质合成及诱导细菌产生活性氧等方式来杀灭细菌<sup>[16]</sup>，但 Ag 的释放显著增加细胞毒性，其生物安全性存在争议<sup>[17]</sup>。N-卤代胺化合物通过卤素原子在 N-X 共价键中的强氧化态，因此表现出强杀菌力<sup>[18]</sup>。ZnO 不仅可以与细菌微生物的

细胞壁直接作用破坏细菌细胞完整性，还可以通过释放  $Zn^{2+}$  和活性氧，与细菌微生物产生间接作用，发挥杀菌作用<sup>[19-21]</sup>。季铵化合物也是较为常见的可聚合抗菌剂，其表面带有正电基团（季铵  $N^+$ ），而细菌表面呈现为负价态，二者相互作用，细菌细膜受损内容物流出，从而杀灭细菌<sup>[22]</sup>。聚维酮碘可以在溶液中将负载的有效碘逐渐释放出来，抑制细菌酶系统从而杀灭细菌。

三氯生(Triclosan, TCS)化学式为  $C_{12}H_7Cl_3O_2$ ，是目前国际公认的具有多用途、广谱性、生物安全性良好、不易产生耐药性、能抑制多种细菌生长与繁殖（如金黄色葡萄球菌、变异链球菌和大肠杆菌等）的特效杀菌剂品种，TCS 广泛应用于医学领域，如导尿管<sup>[23]</sup>、外科缝线材料<sup>[24]</sup>、口腔医学领域<sup>[25, 26]</sup>等。TCS 具有疏水性，它不仅能与细菌中的酶相互作用，还能抑制细菌内蛋白质和脂肪酸的生成，达到杀灭细菌的目的<sup>[27, 28]</sup>。脂肪酸生成过程中脂肪酸合成酶（Fatty acid synthetase, FAS）起到了关键的催化作用，I型脂肪酸合成酶(FASI)主要存在于动物和许多酵母中，II型脂肪酸合成酶（FASII）是主要存在于细菌和大多数植物中<sup>[29]</sup>。FASII结构中的烯酰载体蛋白还原酶（Fab I）作为速率限制酶参与细菌脂肪酸的合成<sup>[30]</sup>。TCS 可以通过与 Fab I 相结合，从而抑制脂肪酸的合成<sup>[31]</sup>，研究人员还发现，TCS 在抑制 FASII活性的同时不会影响 FASI的活性<sup>[32]</sup>。

但若将 TCS 粉末直接添加到材料中，TCS 难以与材料形成化学键，易从材料中析出，产生“突释效应”。因此，课题组前期对 TCS 进行改性，合成了可光固化三氯生（TCS-IH），使其在光固化条件下可以与材料结合形成稳定的化学键，如图 1.1 所示，TCS 在改性的过程中增加可光固化基团的同时保留了“C-Cl”键，TCS-IH 即为前文所述的可聚合抗菌剂<sup>[33]</sup>。TCS-IH 长久稳定的留存于材料中，通过与细菌接触发挥其抗菌作用。

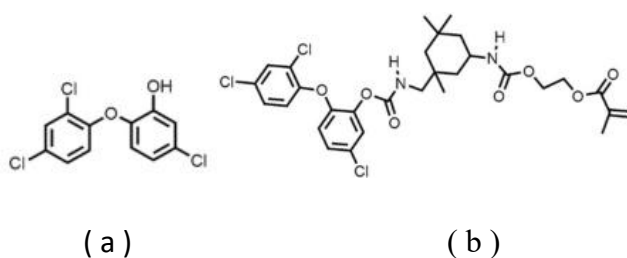


图 1.1 TCS (a)和TCS-IH (b)分子式<sup>[33]</sup>

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/766133035224010054>