

自黏附动态 GA-CS-OKGM 多糖水凝胶的制备及性能

陈咏梅^{1,2}, 杨智炫^{1,2}, 杨 宽^{1,2}, 原文瑾^{1,2}, 张其清^{3*}

[1. 陕西科技大学 轻工科学与工程学院 (柔性电子学院), 陕西 西安 710021; 2. 轻化工程国家级实验教学示范中心, 陕西 西安 710021; 3. 中国医学科学院 北京协和医学院生物医学工程研究所, 天津 300192]

摘要: 没食子酸 (GA) 改性的壳聚糖 (CS) (GA-CS) 与氧化魔芋葡甘聚糖 (OKGM) 交联制备了系列多糖水凝胶 GA-CS_x-OKGM, 其中, x 代表质量浓度均为 30 g/L 的 GA-CS 溶液与 OKGM 溶液体积的比值。采用 SEM 对 GA-CS_x-OKGM 进行了表征, 通过凝胶化时间测定、频率振荡扫描测试、剪切强度测试和降解实验, 评价了其自愈合、可注射、力学性能和可生物降解性能, 分析了最佳力学性能的 GA-CS_x-OKGM 的生物相容性, 推测了其自愈合机理。结果表明, 制备的 GA-CS₆-OKGM 具有最短的成胶时间 (17 s)、最高的储能模量 (应变 1% 时为 650 Pa)、最低的 15 d 降解率 (68.5%); 质量浓度 1.00 g/L 的 GA-CS₆-OKGM 溶液对大鼠红细胞的溶血率为 4.3%, NIH3T3 细胞培养实验测得培养 24 和 48 h 后的细胞存活率为 97% 和 90%, 表现出良好的生物相容性; GA-CS₆-OKGM 对皮肤、丁腈手套、不锈钢和玻璃都有黏附性。GA-CS 和 OKGM 大分子链上的官能团通过形成动态亚胺键、氢键和静电相互作用赋予水凝胶优异的可注射性、自愈合性和形状适应性, 同时, GA 中的多酚基团具有与贻贝邻苯二酚基团相似的结构, 赋予水凝胶黏附性能。

关键词: 自黏附; 自愈合; 可注射; 天然高分子; 没食子酸; 功能材料

中图分类号: TQ427.26; R318.08 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2025) 07-1534-09

Preparation and properties of self-adhesive dynamic GA-CS/OKGM polysaccharide hydrogel

CHEN Yongmei^{1,2}, YANG Zhixuan^{1,2}, YANG Kuan^{1,2}, YUAN Wenjin^{1,2}, ZHANG Qiqing^{3*}

[1. College of Bioresources Chemical and Materials Engineering (College of Flexible Electronics), Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, Shaanxi, China; 2. National Demonstration Center for Experimental Light Chemistry Engineering Education, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, Shaanxi, China; 3. Institute of Biomedical Engineering, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China]

Abstract: A series of polysaccharide hydrogels GA-CS_x-OKGM, where x represents the volume ratio of GA-CS solution to OKGM solution with mass concentration of 30 g/L, were prepared from crosslinking between gallic acid (GA) modified chitosan (CS) (GA-CS) and konjac glucomannan oxide (OKGM), characterized by SEM, and evaluated for their self-healing, injectable, mechanical properties and biodegradability via gelation time measurement, frequency oscillation scanning test, shear strength test and degradation experiment. GA-CS_x-OKGM with the best mechanical properties was then analyzed for its biocompatibility, with its self-healing mechanism discussed. The results showed that the GA-CS₆-OKGM obtained exhibited the shortest gumming time (17 s), the highest energy storage modulus (650 Pa at 1% strain) and the lowest degradation rate (68.5%) at 15 d. GA-CS₆-OKGM solution with a mass concentration of 1.00 g/L displayed a hemolysis rate of 4.3%, and the cell survival rate of NIH3T3 cell culture was 97% and 90%

收稿日期: 2024-05-14; 定用日期: 2024-07-15; DOI: 10.13550/j.jxhg.20240394

基金项目: 国家重点研发计划“政府间国际科技创新合作”重点专项项目 (2022YFE0104200); 陕西省科技厅重点研发计划——国际科技合作计划项目 (2020KWZ-006)

作者简介: 陈咏梅 (1968—), 女, 教授, E-mail: chenym@ust.edu.cn。联系人: 张其清 (1954—), 男, 教授, E-mail: zhangqiq@126.com。

after 24 and 48 h culturing, showing good biocompatibility. GA-CS6-OKGM was adhesive to skin, nitrile gloves, stainless steel and glass. The functional groups of GA-CS and OKGM macromolecular chains endowed hydrogels excellent injectable property, self-healing property and shape adaptability by forming dynamic imine bonds, hydrogen bonds and electrostatic interactions. Meanwhile, polyphenol groups in GA had similar structures to catechol groups in mussels, giving hydrogels adhesive properties.

Key words: self-adhesion; self-healing; injectability; natural polymer; gallic acid; functional materials

高分子水凝胶是一类兼具固体和液体双重性质的柔性材料,在生物医学领域中具有广泛的应用前景^[1-3]。可注射水凝胶是一类其前驱体溶液可以被注射器注射至靶标部位,然后原位交联成胶的材料^[4]。但是,传统可注射水凝胶因存在受损后力学性能难以恢复、细胞流失,以及化学反应物(单体、引发剂、交联剂等)引发毒性等问题而限制了其在生物医学领域中的应用。

随着现代生物医学的不断发展,可注射水凝胶生物医用材料的性能要求也不断提高^[5-6]。将自愈合性能赋予可注射水凝胶,开发自愈合可注射水凝胶,是解决可注射水凝胶性能缺陷的有效途径^[7-9]。自愈合可注射水凝胶是可以原位成胶、二次成型的材料,原位成胶的水凝胶经注射器注射至靶标部位后,水凝胶微粒之间通过动态共价键可逆反应交联再次成型,其力学性能等得到恢复^[10-11]。多糖基自愈合可注射水凝胶具有优异的生物相容性、生物可降解性等优势,在生物医学材料领域脱颖而出^[12-15]。尽管该类水凝胶取得了许多研究进展,但仍存在黏附性能低的问题,难以满足实际需求^[16]。

没食子酸(GA)也称五倍子酸或鞣酸,是一种有机酸,存在于五倍子、漆树、大黄、大叶桉、山茱萸、茶等植物中,是自然界存在的一种多酚类化合物,具有抗炎、抑菌、抗肿瘤和抗病毒等活性。由于没食子酸中的多酚基团具有与贻贝的邻苯二酚基团相似的结构,从而具有黏附性能^[17-18]。壳聚糖(CS)是自然界中存在的唯一碱性多糖,是甲壳素脱乙酰产物,大分子链上含有丰富的羟基和氨基,易于通过分子设计实现CS的化学修饰,设计制备多种具有特定功能的高分子材料^[19]。此外,CS还具有生物亲和性、抗菌性等特性^[20-21]。魔芋葡甘聚糖(KGM)是从魔芋的球茎中提取的一种水溶性高分子多糖,在自然界中储量非常丰富。KGM主要是由D-葡萄糖和D-甘露糖以 β -1,4糖苷键连接而成,不仅具有良好的吸水性、生物相容性、生物降解性,而且具有促进细胞增殖的功能^[22]。

本文拟设计制备GA改性CS-氧化魔芋葡甘聚糖(OKGM)水凝胶,考察其黏附性、自愈合和可注射能力,并分析其生物降解能力和生物相容性。以期为基于多糖的自黏附、自愈合、可注射水凝胶

生物材料的研究提供参考。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

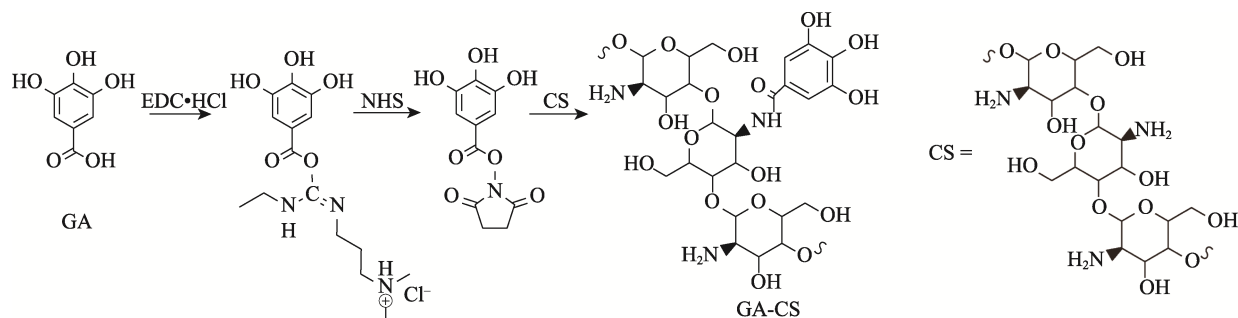
CS(黏度200~400 mPa·s,脱乙酰度80.9%),阿拉丁试剂(上海)有限公司;KGM,AR,国药集团化学试剂有限公司;高碘酸钠、GA、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl),AR,上海麦克林生化科技股份有限公司;透析袋(截留平均相对分子质量分别为8000、8000~140000 Da),优博生物科技有限公司;DMEM培养基,康宁公司;大鼠血,西安交通大学实验动物中心;NIH3T3细胞,武汉塞普诺生命科技有限公司;CCK-8试剂盒,大连美伦生物技术有限公司。

Xinyi-10N型真空冷冻干燥机,宁波新艺超声设备有限公司;CMT4304型电子万能试验机,深圳市三思试验仪器有限公司;BC-J250型二氧化碳细胞培养箱,上海博讯医疗生物仪器公司;VERTEX 70型傅里叶变换红外光谱仪(FTIR),德国Bruker公司;AVANCE NEO 600 MHz核磁共振波谱仪(NMR),瑞士布鲁克公司;VEGA 3 SBH型扫描电子显微镜(SEM),捷克Tescan公司;T3202S型紫外分光光度计,上海佑科仪器仪表有限公司;Multiskan FC酶标仪,青岛聚创环保集团有限公司。

1.2 方法

1.2.1 GA-CS的制备

将1.03 g GA充分溶解在20 mL无水乙醇中,再将1.15 g EDC·HCl和0.69 g NHS加入到上述溶液中,继续磁力搅拌0.5 h使其充分反应,得到混合GA乙醇溶液;将1.00 g CS加入到80 mL质量分数为0.5%的醋酸水溶液(去离子)中,充分搅拌使其溶解形成均匀CS溶液;然后,将混合GA乙醇溶液加入到CS溶液中,锡纸包裹遮光,室温下磁力搅拌反应6 h。将反应后的溶液转移至透析袋(8000 Da)中,在去离子水(pH=7.0,下同)中透析7 d,每天更换5次去离子水,透析完成后,将产物在冷冻干燥机中进行干燥(-60 °C, 72 h),得到白色粉末,记为GA-CS。其合成路线如下所示。



1.2.2 OKGM 的制备

首先,将 KGM (1.00 g, 5.6 mmol) 加入到 90 mL 去离子水中,充分搅拌形成均匀的 KGM 溶液;另将高碘酸钠 (1.20 g, 5.6 mmol) 完全溶解于 10 mL 去离子水中;再将该高碘酸钠溶液加入到 KGM 溶液中,室温下遮光搅拌 6 h 后,加入乙二醇 (1.5 mL) 继续搅拌 1 h 终止反应。将反应产物装入透析袋 (8000~14000 Da) 中,置于去离子水中透析 7 d,每天更换 5 次去离子水,透析完成后使用冷冻干燥机在 -60°C 下,干燥 3 d,制备得到白色粉末,记为 OKGM。

1.2.3 水凝胶的制备

将 0.18 g GA-CS 溶解在 6 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH=7.4, 0.1 mol/L, 下同) 中,再将 0.03 g OKGM 溶解在 1 mL PBS 中,GA-CS 和 OKGM 的质量浓度均为 30 g/L。按照 $V(\text{GA-CS 溶液}):V(\text{OKGM 溶液})=2:1、4:1、6:1、8:1、10:1$ 混合 (其中,OKGM 溶液体积为 1 mL),涡旋 1 min 使两者充分交联制备不同交联度的水凝胶 GA-CS_x-OKGM,其中, x 代表 GA-CS 溶液与 OKGM 溶液体积的比值,分别为 2、4、6、8、10。

1.3 表征方法与性能测试

1.3.1 表征方法

¹HNMR 测试:将约 20 mg GA-CS 溶解在 0.5 mL 氘代 H₂O 中。将完全溶解的 GA-CS 溶液用移液枪转移至核磁管中,使用 NMR 进行检测。SEM 测试:首先将水凝胶样品放入冷冻干燥机中干燥 (-60°C , 3 d),用导电胶将干燥后的样品黏附于样品台表面,喷金后在 7 kV 加速电压下观测样品的微观结构。

1.3.2 OKGM 醛基含量和氧化度测定

通过盐酸羟胺滴定法测定 OKGM 大分子链上醛基含量和氧化度^[23]。将 8.69 g 盐酸羟胺加入到 100 mL 烧杯中,加入 75 mL 去离子水溶解,再将 0.15 g 甲基橙加入到上述溶液中,所得溶液移入 500 mL 容量瓶中,用去离子水定容至 500 mL,得到浓度为 0.25 mol/L 盐酸羟胺-甲基橙溶液。将 0.10 g OKGM 置于锥形瓶中,用移液管取 25 mL 上述盐酸羟胺-甲基橙溶液,加入到锥形瓶中。用碱式滴定管移取 0.1 mol/L NaOH 溶液滴定,当溶液从红色变成

黄色后停止滴定,记录消耗 NaOH 溶液的体积,平行测定 3 次。根据式 (1) 计算不同氧化时间的氧化度 (%) :

$$\text{氧化度}/\% = \frac{(V_1 - V_0) \times c_{\text{NaOH}} \times M_w \times 10^{-3}}{m} \times 100 \quad (1)$$

式中: V_1 为样品液消耗 NaOH 溶液的体积, mL; V_0 为空白液消耗 NaOH 溶液的体积, mL; c_{NaOH} 为 NaOH 溶液的浓度, 0.1 mol/L; M_w 为 OKGM 中葡萄糖单元的摩尔质量, 162 g/mol; m 为 OKGM 质量, 0.10 g。

1.3.3 流变学测试

制备直径为 20 mm 的 GA-CS_x-OKGM 水凝胶样品进行流变学测试。首先,将应变 (ε) 固定为 1.0%, 设置角频率 (ω) 从 0.1 rad/s 逐渐升至 100 rad/s, 对水凝胶样品进行频率扫描实验。其次,在固定 $\omega=1$ rad/s 的条件下,设置应变幅度从 $\varepsilon=1\%$ 逐渐上升至 $\varepsilon=1000\%$, 测试水凝胶网络结构发生破坏的临界点。最后,在固定 $\omega=1$ rad/s 的条件下,进行交替振幅测试。应变由 $\varepsilon=1\%$ 维持 180 s,随后升至 $\varepsilon=300\%$ 继续维持 180 s,如此循环两次测试水凝胶的自愈合性能。

1.3.4 降解性能测试

采用体外模拟降解实验评价水凝胶的降解性能。将约 100 mg 水凝胶 (m_0) 置于离心管中,加入 PBS 使水凝胶完全浸入溶液中,然后放置 37°C 水浴中孵育,每天更换 1 次新鲜的 PBS。在预设的时间间隔内,完全去除 PBS,称取剩余水凝胶的质量 (m_t , mg), 根据式 (2) 计算每个时间点 (t) 的剩余凝胶质量分数 (w , %):

$$w/\% = m_t/m_0 \times 100 \quad (2)$$

1.3.5 自愈合和可注射性能测试

将圆柱状水凝胶 (直径 20 mm) 切成两等份,然后将断面对接后置于密闭容器中室温愈合 0.5 h,此过程没有任何外界干扰。将水凝胶前驱体溶液于 10 mL 注射器针筒中混合均匀,在室温中静置 0.5 h 使其完全凝胶化。通过 21G 注射器针头缓慢注射挤出水凝胶微粒,注入字母模板中,并自愈合形成 “H”、“Y”、“D”、“R”、“O”、“G”、“E” 和 “L” 字母样水凝胶。

1.3.6 黏附性能测试

采用胶原蛋白膜作为组织模型,通过搭接剪切实验测试水凝胶的体外黏附性能。将质量浓度为 30 g/L 的 GA-CS 溶液(600 μ L)涂覆在一片胶原膜(长 4 cm,宽 2 cm)表面,将质量浓度为 30 g/L 的 OKGM 溶液(100 μ L)涂覆在另一片胶原膜表面。然后将两片胶原膜按压在一起,使 GA-CS 和 OKGM 迅速交联形成水凝胶。为便于黏附,将样品置于 200 g 砝码下室温保存 5 min,然后采用万能试验机测试搭接剪切强度。

1.3.7 溶血率测试

首先,制备抗凝大鼠血,选用 50 mL 无菌离心管并使用肝素钠溶液将其表面完全润湿;然后,在离心管中加入一定量的生理盐水,将大鼠血滴加到离心管内;而后,将血液混合液离心 2~3 次(2000 r/min, 5 min, 37 $^{\circ}$ C),以收集相对洁净的红细胞,置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中保存备用;然后,分别吸取 2 mL 抗凝大鼠血液装入 4 个试管中,分别加入 2 mL 生理盐水和不同质量的干燥水凝胶(质量浓度 0.05、0.10、0.50、1.00 mg/L)浸提液作为测试样品,同时分别设置 2 mL 抗凝血液+2 mL 生理盐水为阴性对照组,2 mL 抗凝血液+2 mL 去离子水为阳性对照组;使用玻璃棒将各实验组轻微拌匀后置于 37 $^{\circ}$ C 恒温水浴锅中放置 1~3 h,随后取出静置,分别吸取 2 mL 上清液,用紫外分光光度计在 545 nm 处检测各上清液的吸光度,并根据(3)计算不同水凝胶浸提液质量浓度梯度时的溶血率(HR, %):

$$HR/\% = (OD_{\text{样品}} - OD_{\text{阴性}}) / (OD_{\text{阳性}} - OD_{\text{阴性}}) \times 100 \quad (3)$$

式中: $OD_{\text{样品}}$ 为不同质量浓度水凝胶浸提液与血液孵育后在 545 nm 处的吸光度; $OD_{\text{阴性}}$ 为阴性对照组在 545 nm 处的吸光度; $OD_{\text{阳性}}$ 为阳性对照组在 545 nm 处的吸光度。

1.3.8 细胞相容性测试

将装有 NIH3T3 细胞的冷冻瓶从液氮中移到 37 $^{\circ}$ C 水浴中,轻轻摇动以快速解冻。将解冻的细胞悬液吸入装有 10 mL 培养基的离心管中,以 1000 r/min 转速离心 2 min。移除上清液后,用 DMEM 培养基使细胞重新悬浮,并将细胞接种在 100 mL 培养瓶中。将培养瓶置于 37 $^{\circ}$ C、体积分数 5% 的 CO_2 的培养箱中,每两天更换培养基。当增殖率达到 90% 时,将细胞进行传代培养。取用 5~7 代的细胞作为实验对象,评估水凝胶的细胞相容性。将细胞密度 1×10^4 个/孔的 NIH3T3 细胞接种在 96 孔板中,加入完全培养基,并放入培养箱中,使其完全贴壁生长。培养 24 h 后,用移液枪将每个小孔中的完全培养基吸出,改用 100 μ L 含有水凝胶浸提液的培养基对细胞进行继续培养,同时设置对照组(纯

100 μ L 完全培养基),继续放入细胞培养箱中培养。在特定的培养时间(24、48 h)取出,分别向每个小孔中加入培养溶液体积 10% 的 CCK-8 溶液并用锡纸包裹培养 2~3 h,待反应显色后使用酶标仪在波长 450 nm 处测量吸光度,根据式(4)计算 NIH3T3 细胞存活率(CV, %):

$$CV/\% = (OD_{\text{样品}} - OD_{\text{空白}}) / (OD_{\text{对照}} - OD_{\text{空白}}) \times 100 \quad (4)$$

式中: $OD_{\text{样品}}$ 为不同质量水凝胶浸提液培养基培养细胞在 450 nm 处的吸光度; $OD_{\text{对照}}$ 为完全培养基培养细胞在 450 nm 处的吸光度; $OD_{\text{空白}}$ 为空白 96 孔板在 450 nm 处的吸光度。

1.4 数据处理

所有样品测试实验均平行测试 3 组,结果以“平均值 $\pm$ 标准差”的形式表示,讨论时采用平均值。

2 结果与讨论

2.1 GA-CS 的 1H NMR 表征分析

图 1 为 GA-CS 的 1H NMR 谱图。

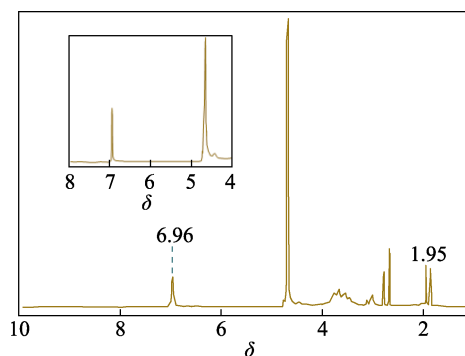


图 1 GA-CS 的 1H NMR 谱图
Fig. 1 1H NMR spectrum of GA-CS

从图 1 可以看出, δ 1.95 处为 CS 大分子链上乙酰氨基的 H 质子峰; δ 6.96 处对应 CA 苯环上的 H 质子峰。证实 CA 成功接枝于 CS 大分子链上。

2.2 OKGM 的氧化度分析

图 2 为氧化时间对 OKGM 的氧化度的影响。

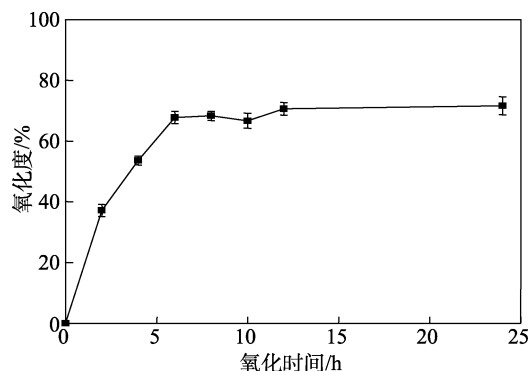


图 2 氧化时间对 OKGM 的氧化度的影响
Fig. 2 Effect of oxidation time on oxidation degree of OKGM

从图 2 可以看出, OKGM 的氧化度随着氧化时间的延长先快速增加后大体上趋于平稳。当氧化时间为 2 h, 醛基含量为 4.13 mmol/g, 相应 OKGM 的氧化度为 37.2%; 当氧化时间增至 6 h, 醛基含量提高至 7.52 mmol/g, OKGM 的氧化度升至 67.8%。氧化时间 6 h 后, OKGM 的氧化度基本上不再发生变化。因此, 选择氧化时间为 6 h 来制备 OKGM。

2.3 水凝胶的凝胶化时间分析

图 3 为 GA-CSx-OKGM 的凝胶化时间。

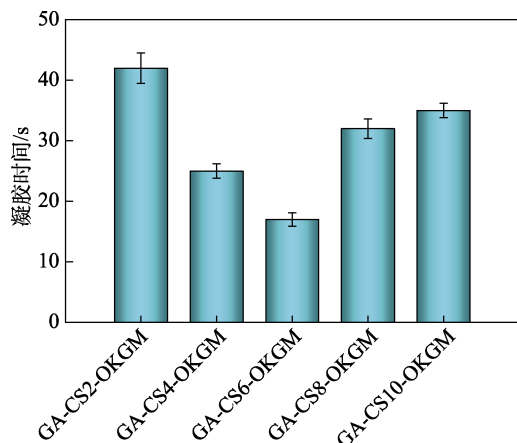


图 3 GA-CSx-OKGM 的凝胶化时间

Fig. 3 Gelation time of GA-CSx-OKGM

从图 3 可以看出, 随着 $V(\text{GA-CS 溶液}) : V(\text{OKGM 溶液})$ 的增加, GA-CSx-OKGM 的凝胶化时间先减小后增加。制备的 GA-CS6-OKGM 的凝胶化时间最短, 为 17 s。这是因为, 在交联反应中, 无论是 GA-CS 还是 OKGM 相对过量, 都会引起部分过剩的大分子链难以交联。从图 3 还可以看出, GA-CSx-OKGM 均在 1 min 内成胶, 这能够满足临床医学中便捷制备水凝胶材料的需求^[24]。

2.4 水凝胶的自愈合、可注射能力分析

图 4 为切断后的 GA-CS6-OKGM 愈合实物照片、可注射性能照片及自愈合机理示意图。

从图 4a 可以看出, 将圆柱状 GA-CS6-OKGM 从中间切开, 然后将切口断面贴合在一起放置 5 min, 两块切开的水凝胶逐渐愈合形成完整的水凝胶, 并且切痕逐渐愈合消失。

从图 4b 可以看出, 经注射器针头缓慢注射, GA-CS6-OKGM 微粒自愈合后形成“H”、“Y”、“D”、“R”、“O”、“G”、“E”和“L”字样。以上结果表明, GA-CS6-OKGM 具有自愈合性能和可注射性能, 便于满足微创介入手术的需求, 可以减少在应用过程中造成二次创伤。

从图 4c 可以看出, GA-CS 大分子链上的—NH₂与 OKGM 大分子链上的—CHO 之间通过席夫碱反应可形成动态亚胺键; GA 的多酚羟基与 OKGM 大

分子链上的—OH 以及 CS 的—NH₂和—OH 之间形成氢键; GA-CS 中带正电荷的—NH₃⁺与 OKGM 大分子链上带负电荷的—CH₃CO⁻之间存在静电相互作用。上述多重大分子间相互作用赋予水凝胶自愈合可注射性能。

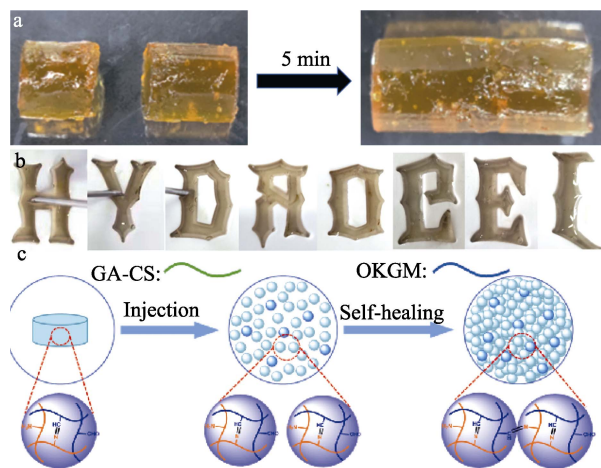


图 4 GA-CS6-OKGM 的自愈合实物照片 (a)、可注射性能照片 (b) 及自愈合机理示意图 (c)

Fig. 4 Self-healing (a) and injectable properties (b) photographs of GA-CS6/OKGM, as well as schematic diagram of self-healing mechanism (c)

2.5 水凝胶的力学性能分析

图 5 为 GA-CS2-OKGM、GA-CS6-OKGM、GA-CS10-OKGM 的频率振荡扫描曲线。

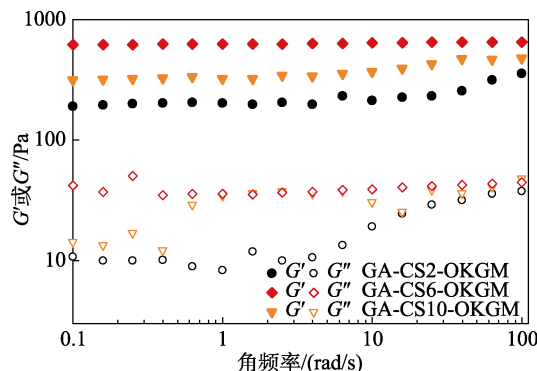


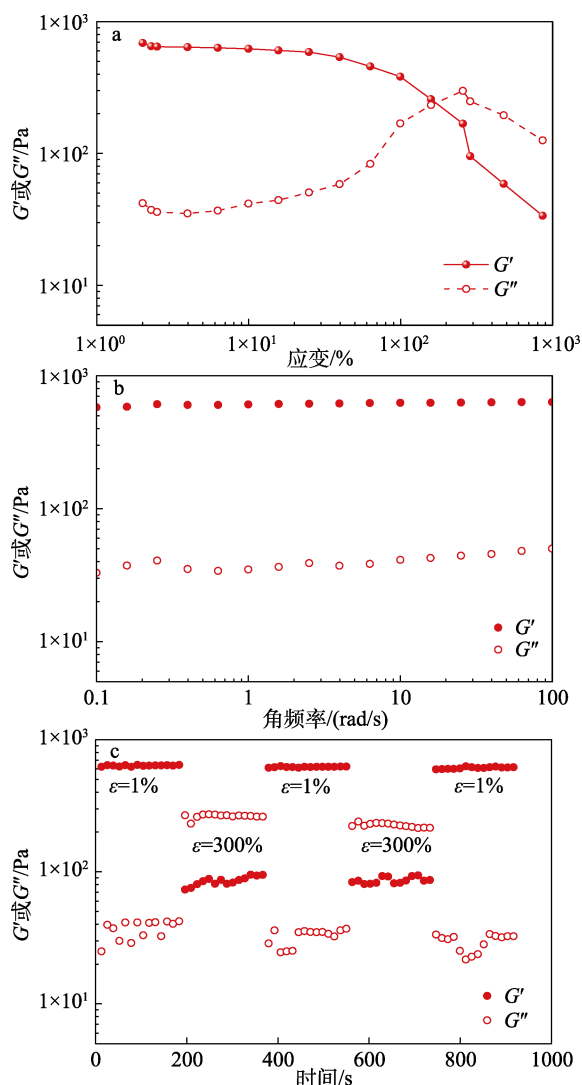
图 5 GA-CSx-OKGM 的频率振荡扫描曲线

Fig. 5 Frequency oscillation scanning curves of GA-CSx-OKGM

从图 5 可以看出, 在 0.1~100 rad/s 频率扫描范围内, 3 种水凝胶的储能模量 (G') 均高于损耗模量 (G''), 表明 GA-CS 与 OKGM 发生交联后, 已从流动的溶液状态转变成凝胶态。GA-CS6-OKGM 的 G' 最大, 为 650 Pa, 明显高于 GA-CS2-OKGM 的 230 Pa 和 GA-CS10-OKGM 的 350 Pa, 这与凝胶化时间结果一致。结果表明, GA-CS6-OKGM 的 GA-CS 大分子链上的氨基与 OKGM 大分子链上的醛基交联度最高, 从而具有最佳的力学性能。只有具备良好力学性能的生物材料才能满足生物医学对柔性材

料机械性能需求, 减少在应用过程中的损坏^[25]。因此, 后续实验选取力学性能最佳的 GA-CS6-OKGM 进行研究。

图 6 为 GA-CS6-OKGM 的流变学测试结果。



a—振荡应变扫描曲线; b—自愈合后的频率振荡扫描曲线; c—循环交替应变加载曲线

图 6 GA-CS6-OKGM 的流变性能

Fig. 6 Rheological properties of GA-CS6-OKGM

从图 6a 可以看出, 当应变从 1% 升至 1000% 时, GA-CS6-OKGM 的 G' 迅速从 650 Pa 降至 18 Pa, 表明在 1000% 的大应变下, GA-CS6-OKGM 的结构网络遭到严重破坏。当应变为 170% 时, GA-CS6-OKGM 的 G' 和 G'' 出现交叉点, 表明此时水凝胶中的交联网络开始遭到破坏。

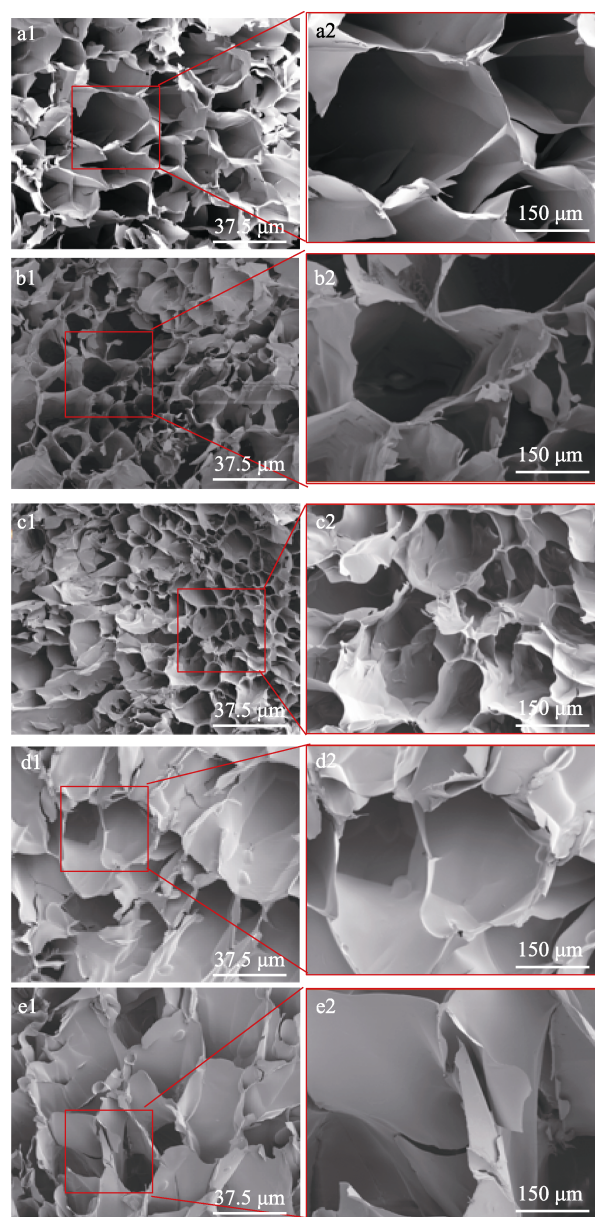
从图 6b 可以看出, 在 0.1~100 rad/s 范围时, 自愈合后的 GA-CS6-OKGM 的 G' 均大于 G'' , 并且 G' 仍能达到 600 Pa 以上, 基本接近原始 GA-CS6-OKGM 的性能 ($G'=650$ Pa), 表明 GA-CS6-OKGM 具有良好的自愈合特性, 自愈合后其力学性能可恢

复至接近原始状态。

从图 6c 可以看出, 在低应变 ($\epsilon=1\%$) 下, GA-CS6-OKGM 表现出典型的黏弹性固体状态 ($G'>G''$); 而在大应变 ($\epsilon=300\%$) 时, 其 G' 迅速从 650 Pa 降至约 20 Pa, 表明在大应变条件下水凝胶的网络结构遭到破坏。当应变交替从 300% 降至 1% 时, GA-CS6-OKGM 的 G' 和 G'' 在大小应变交替变换时均能够快速恢复。结果表明, 基于多重可逆交联, GA-CS6-OKGM 的网络结构在大应变破坏后可以多次自修复, 具有良好的自愈合性能。

2.6 水凝胶的微观结构和降解性能分析

图 7 为 GA-CSx-OKGM 的 SEM 图。



a1、a2—GA-CS2-OKGM; b1、b2—GA-CS4-OKGM; c1、c2—GA-CS6-OKGM; d1、d2—GA-CS8-OKGM; e1、e2—GA-CS10-OKGM

图 7 GA-CSx-OKGM 的 SEM 图

Fig. 7 SEM images of GA-CSx-OKGM

从图 7 可以看出, GA-CSx-OKGM 内部均呈现出微米级的孔道结构, 且各个孔道之间相互贯穿连通。该多孔网络结构可以作为氧气、水分、营养物质等的交换通道, 有利于与外界环境之间的物质交换。此外, 各 GA-CSx-OKGM 的内部孔道尺寸不同, 这是由于水凝胶的交联程度不同。比较发现, GA-CS6-OKGM 内部孔道直径最小。造成这种现象的原因可能是, 当 $V(\text{CA-CS 溶液}) : V(\text{OKGM 溶液})$ 较小 (2 : 1、4 : 1) 时, GA-CS2-OKGM 和 GA-CS4-OKGM 由于 OKGM 大分子中醛基含量高于 GA-CS 大分子中氨基的含量, OKGM 大分子没有完全交联, 导致交联网络比较稀松, 从而造成内部孔道直径较大; 当 $V(\text{CA-CS 溶液}) : V(\text{OKGM 溶液})$ 较大 (8 : 1、10 : 1) 时, GA-CS8-OKGM 和 GA-CS10-OKGM 由于 OKGM 大分子中醛基的含量低于 GA-CS 大分子中氨基的含量, GA-CS 大分子也存在没有完全交联的情况, 同样导致交联网络比较稀松, 从而造成内部孔道直径较大。

图 8 为 GA-CSx-OKGM 的降解曲线。

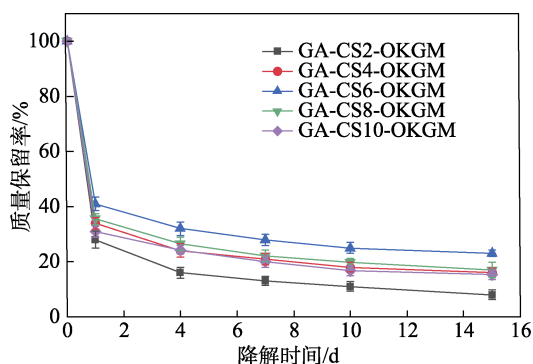


图 8 GA-CSx-OKGM 的降解曲线

Fig. 8 Degradation curves of GA-CSx-OKGM

从图 8 可以看出, 随着浸泡时间的延长, 水凝胶不断降解, 从而导致质量减少。在 0~7 d 时, 水凝胶降解较快, 所有水凝胶的质量降解至 50% 以下; 在 7~14 d 时, 水凝胶的降解速率减小。其中, GA-CS6-OKGM 降解最慢, 15 d 降解率为 68.5%, 这是由于其交联程度最高。GA-CS6-OKGM 有望作为修复材料植入体内并最终在体内降解。

2.7 水凝胶的黏附性能分析

图 9 为 GA-CS6-OKGM 对不同材质物品的黏附实物照片。

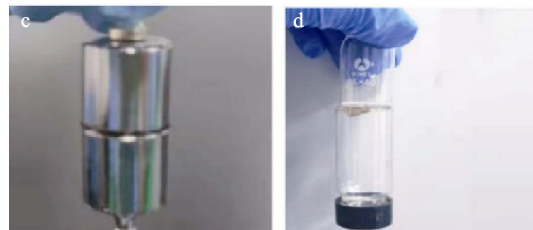
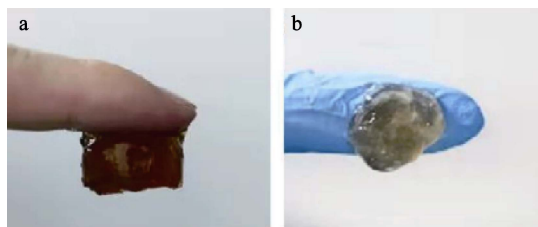


图 9 GA-CS6-OKGM 黏附食指 (a)、丁腈手套 (b)、砝码 (c) 和玻璃瓶 (d) 的实物照片

Fig. 9 Photographs of GA-CS6-OKGM adhering to index finger (a), nitrile gloves (b), weight (c) and glass bottle (d)

从图 9 可以看出, GA-CS6-OKGM 对皮肤、丁腈手套、不锈钢和玻璃都有黏附性能。

图 10 为 GA-CSx-OKGM 的黏附性能测试结果。

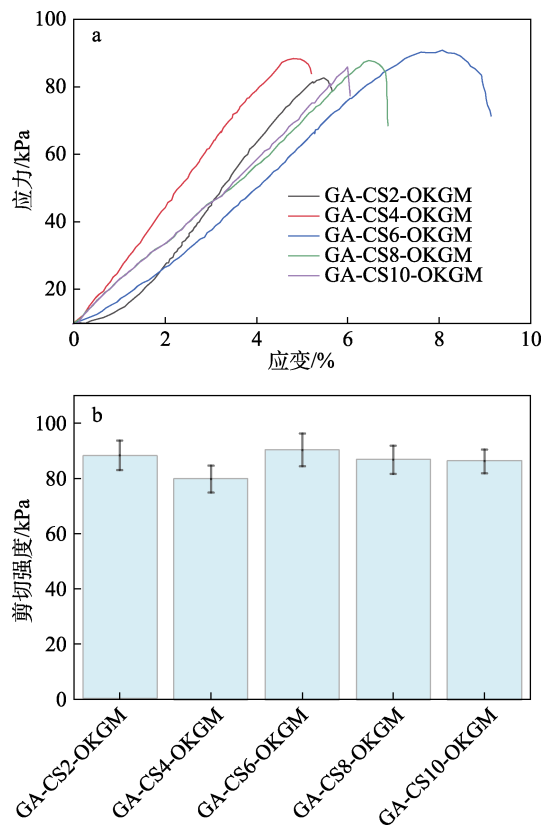


图 10 GA-CSx-OKGM 的拉伸应力-应变曲线 (a) 和搭接剪切强度 (b)

Fig. 10 Tensile stress-strain curves (a) and bond shear strength (b) of GA-CSx-OKGM

从图 10 可以看出, GA-CSx-OKGM 的拉伸应力和搭接剪切强度均处于 80~90 kPa 范围内, 表明其黏附性能没有明显的区别。这是因为, CA 中的多酚基团具有与贻贝邻苯二酚基团相似的结构, 与胶原蛋白膜表面的氨基、羟基等基团之间存在氢键相互作用, 从而赋予 GA-CS6-OKGM 黏附胶原蛋白膜的能力。

图 11 为 GA-CS6-OKGM 循环 3 次的黏附胶原蛋白膜的拉伸强度和搭接剪切强度。

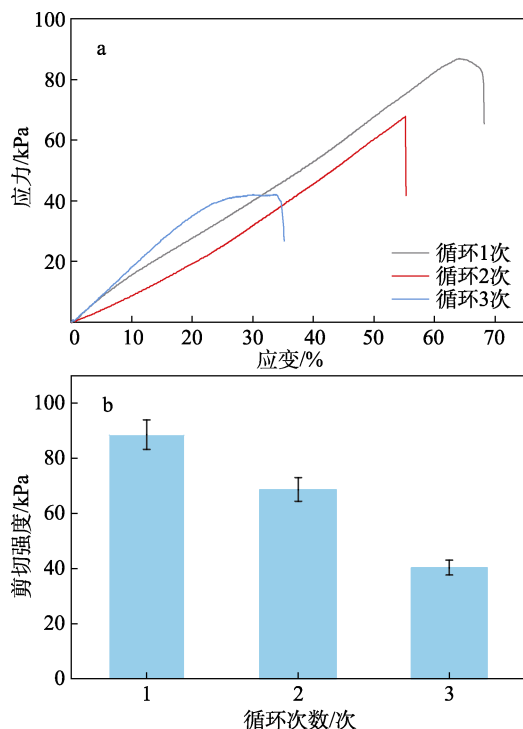


图 11 GA-CS6-OKGM 不同循环次数的拉伸应力-应变曲线 (a) 和搭接剪切强度 (b)

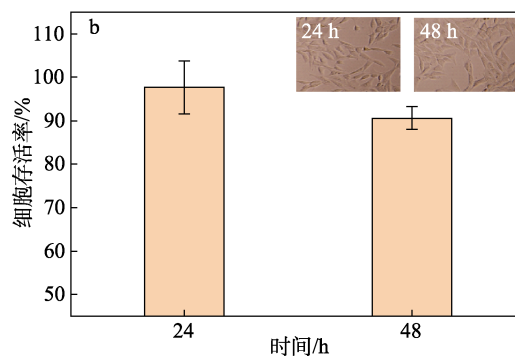
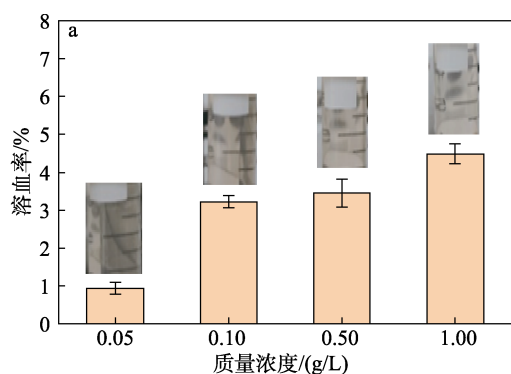
Fig. 11 Tensile stress-strain curves (a) and bond shear strength (b) of GA-CS6-OKGM with different cycles

从图 11 可以看出, GA-CS6-OKGM 的拉伸应力和搭接剪切强度均随着循环次数的增加而降低, 循环 3 次后的搭接剪切强度为 40 kPa, 表明 GA-CS6-OKGM 在重复黏合过程中黏附性能有所降低, 但仍然能够保持较好的黏附能力。

2.8 水凝胶生物相容性分析

评估生物材料能否用于体内的重要判断标准之一是生物相容性^[26-28]。图 12 为 GA-CS6-OKGM 的血液相容性和细胞相容性测试结果。

GA-CS6-OKGM 制备的原料 GA、CS、KGM 均源自天然动植物, 许多研究工作^[29-30]表明, 这几种材料均具有良好的生物相容性。从图 12a 可以看出, 随着 GA-CS6-OKGM 浸提液质量浓度的提高, 红细胞溶解率逐渐增加, 但所有实验组测得的溶血率均 <5%, 其中, 质量浓度 1.00 g/L 的 GA-CS6-OKGM 溶液对大鼠红细胞的溶血率为 4.3%, 表明 GA-CS6-OKGM 具有良好的血液相容性。



a—大鼠红细胞溶血率 (插图为溶血测试照片); b—细胞存活率 (插图为细胞光学显微镜照片)

图 12 GA-CS6-OKGM 的血液相容性和细胞相容性
Fig. 12 Haemocompatibility and cytocompatibility of GA-CS6-OKGM

GA、CS、KGM 均具有良好的生物相容性, 且 CS、KGM 降解后的产物可作为营养成分, 能够促进细胞生长、增殖^[17-18]。从图 12b 可以看出, 通过 NIH3T3 细胞培养实验测得培养 24 h 后的细胞存活率达到 97%, 培养 48 h 后的细胞存活率 >90%, 表明 GA-CS6-OKGM 具有良好的细胞相容性; 此外, 用水凝胶浸提液培养 24 和 48 h 后的细胞形态与在细胞培养板表面的细胞形态一样, 贴壁的细胞均呈现典型的成纤维细胞的梭形状态 (图 12b 插图)。结果表明, GA-CS6-OKGM 具有良好的生物相容性, 可作为组织工程支架材料。

3 结论

基于 GA 改性 CS 与 OKGM 成功制备了同时具有可注射、自愈合、黏附性能和形状适应性的多糖水凝胶 GA-CSx-OKGM。

(1) GA-CS6-OKGM 具有最短的成胶时间 (17 s), 最高的储能模量 (应变 1% 时为 650 Pa), 最低的 15 d 降解率 (68.5%) 和良好的生物相容性。

(2) GA-CS 和 OKGM 大分子链上的官能团通过形成动态亚胺键、氢键和静电相互作用赋予水凝胶优异的可注射性、自愈合性和形状适应性。

本工作制备的基于多糖的自黏附、自愈合、可注射水凝胶可以作为一类新型智能生物材料, 在生物医学领域中具有一定的应用前景。

参考文献:

- [1] POURSHAHRESTANI S, ZEIMARAN E, KADRI N A, *et al.* Polymeric hydrogel systems as emerging biomaterial platforms to enable hemostasis and wound healing[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2020, 9(20): 2000905.
- [2] CHEN Y M (陈咏梅). *Hydrogels-From structural design to functional modulation*[M]. Beijing: Science Press (科学出版社), 2023.
- [3] TAGHIPOUR Y D, HOKMABAD V R, DEL BAKHSHAYESH A R, *et al.* The application of hydrogels based on natural polymers for tissue engineering[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2020, 27(16): 1-15.

- 2658-2680.
- [4] GRIMAUDO M A, KRISHNAKUMAR G S, GIUSTO E, *et al.* Bioactive injectable hydrogels for on demand molecule/cell delivery and for tissue regeneration in the central nervous system[J]. *Acta Biomaterialia*, 2021, 18(6): 11769.
- [5] LI Y L, RODRIGUES J, TOMÁS H. Injectable and biodegradable hydrogels: Gelation, biodegradation and biomedical applications[J]. *Chemical Society Reviews*, 2012, 41(6): 2193-2221.
- [6] CHEN H L, CHENG J W, RAN L X, *et al.* An injectable self-healing hydrogel with adhesive and antibacterial properties effectively promotes wound healing[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 201: 522-531.
- [7] ZHANG E M (张恩勉), LI Z X (李紫秀), SUN L (孙蕾), *et al.* Novel self-healing hydrogels and their applications in tissue engineering[J]. *Science China Life Sciences (中国科学生命科学)*, 2019, 49(3): 250-265.
- [8] WEI Z, YANG J H, ZHOU J X, *et al.* Self-healing gels based on constitutional dynamic chemistry and their potential applications[J]. *Chemical Society Reviews*, 2014, 43(23): 8114-8131.
- [9] QU M F (曲萌菲), WANG Y X (王艺璇), ZHANG H (张杭), *et al.* Preparation and drug loading properties of hydroxypropyl chitosan/oxidized methyl cellulose self-healing hydrogel[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2023, 40(8): 1734-1741.
- [10] HUANG W J, WANG Y X, CHEN Y, *et al.* Strong and rapidly self-healing hydrogels: Potential hemostatic materials[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2016, 5(21): 2813-2822.
- [11] WEI Z, YANG J H, LIU Z Q, *et al.* Novel biocompatible polysaccharide-based self-healing hydrogel[J]. *Advanced Functional Materials*, 2015, 25(9): 1352-1359.
- [12] GOMEZ-FLORIT M, PARDO A, DOMINGUES R M A, *et al.* Natural-based hydrogels for tissue engineering applications[J]. *Molecules*, 2020, 25(24): 5858.
- [13] SRIVASTAVA N, RICHA, CHOUDHURY A R. Recent advances in composite hydrogels prepared solely from polysaccharides[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2021, 205: 111891.
- [14] WANG R Q, TIAN Y H, WANG J K, *et al.* Biomimetic glucose trigger-insulin release system based on hydrogel loading bidentate β -cyclodextrin[J]. *Advanced Functional Materials*, 2021, 31(38): 2104488.
- [15] YANG K, WEI W, GAO L L, *et al.* Dynamic and self-biodegradable polysaccharide hydrogel stores embryonic stem cell construct under ambient condition[J]. *Frontiers*, 2023, 11: 1169124.
- [16] YANG Y Y, XU L F, WANG J F, *et al.* Recent advances in polysaccharide-based self-healing hydrogels for biomedical applications[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 283: 119161.
- [17] YANG K, ZHAO X Y, WEI W, *et al.* A novel injectable and self-biodegradable poly(aspartic acid) hydrogel[J]. *Materials & Design*, 2023, 226: 111662.
- [18] FAN X M, FANG Y, ZHOU W K, *et al.* Mussel foot protein inspired tough tissue-selective underwater adhesive hydrogel[J]. *Materials Horizons*, 2021, 8(3): 997-1007.
- [19] XU Y S, LI Y S, CHEN Q M, *et al.* Injectable and self-healing chitosan hydrogel based on imine bonds: Design and therapeutic applications[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(8): 2198.
- [20] GAO L T, CHEN Y M, AZIZ Y, *et al.* Tough, self-healing and injectable dynamic nanocomposite hydrogel based on gelatin and sodium alginate[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2024, 330: 121812.
- [21] LI H B, CHENG F, WEI X J, *et al.* Injectable, self-healing, antibacterial, and hemostatic *N,O*-carboxymethyl chitosan/oxidized chondroitin sulfate composite hydrogel for wound dressing[J]. *Materials for Biological Applications*, 2021, 118: 111324.
- [22] ZHU F. Modifications of konjac glucomannan for diverse applications[J]. *Food Chemistry*, 2018, 256(1): 419-426.
- [23] LIU L (刘路), LUO G L (罗国柳), ZHONG J F (钟金锋), *et al.* Effect of oxidation degree of konjac glucomannan on properties of Maillard reaction products from oxidized konjac glucomannan with soybean protein isolate[J]. *Food and Fermentation Industries (食品与发酵工业)*, 2024, 50(4): 232-239.
- [24] KHATTAK S, ULLAH I, XIE H L, *et al.* Self-healing hydrogels as injectable implants: Advances in translational wound healing[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2024, 509: 215790.
- [25] SUN Q, HOU Y, CHU Z Q, *et al.* Soft overcomes the hard: Flexible materials adapt to cell adhesion to promote cell mechanotransduction[J]. *Bioactive Materials*, 2021, 10: 397-404.
- [26] HAN X S, LI P C, SONG H T, *et al.* Mussel inspired sequential protein delivery based on self-healing injectable nanocomposite hydrogel[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 264: 130568.
- [27] CHEN Y M (陈咏梅), WANG J X (王竞晓), ZHAO X Y (赵新一), *et al.* Study on the friction behavior of hydrogels with different charges under low loading[J]. *Journal of Shaanxi University of Science & Technology (陕西科技大学学报)*, 2022, 40(5): 76-84.
- [28] ZHAO X Y (赵新一), DONG K (董坤), SONG H M (宋贺明), *et al.* Study on the adsorption behavior of proteins on the surface of hydrogel[J]. *Journal of Shaanxi University of Science & Technology (陕西科技大学学报)*, 2022, 40(3): 77-83.
- [29] SUN C Y, ZENG X L, ZHENG S H, *et al.* Bio-adhesive catechol-modified chitosan wound healing hydrogel dressings through glow discharge plasma technique[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 427: 130843.
- [30] ZHANG W W, CHEN H W, ZHAO J K, *et al.* A guanosine/konjac glucomannan supramolecular hydrogel with antioxidant, antibacterial and immunoregulatory properties for cutaneous wound treatment[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2024, 326: 121580.

(上接第 1533 页)

- [38] ZHAO W L (赵万亮). Preparation and properties of high thermal conductivity functionalized zeolite/XPE composites[D]. Harbin: Harbin University of Science and Technology (哈尔滨科技大学), 2023.
- [39] HUANGFU L (皇甫林), SHANG B (尚波), LUO Z Q (罗中秋), *et al.* Preparation and CO₂ adsorption performance of porous zeolite molecular sieve adsorbents using titanium-bearing slag[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2024, 41(8): 1-14.
- [40] LI J X, LAI L, WU L B, *et al.* Enhancement of water vapor barrier properties of biodegradable poly(butylene adipate-co-terephthalate) films with highly oriented organomontmorillonite[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2018, 6(5): 6654-6662.
- [41] YU Y L, XU P F, JIA S L, *et al.* Exploring polylactide/poly(butylene adipate-co-terephthalate)/rare earth complexes biodegradable light conversion agricultural films[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 127: 210-221.
- [42] NING P (宁平), GAN D S (甘典松), XIAO Y H (肖远鹤). Study of PBAT/PVB blends miscibility and properties[J]. *Synthetic Materials Aging and Application (合成材料老化与应用)*, 2010, 39(2): 12-17.
- [43] GONG X F (弓雪峰). Preparation and properties of PLA/PBAT/PPC biodegradable blending controlled-release antioxidant and antibacterial active films[D]. Wuxi: Jiangnan University (江南大学), 2022.
- [44] LI J Y (李嘉彦), XIA F M (夏发明), WANG X G (王晓广), *et al.* Effect of different compatibilizer on properties of PBAT/TPS composites[J]. *Engineering Plastics Application (工程塑料应用)*, 2022, 50(8): 48-52.
- [45] LI X (李鑫). Synthesis and characterization of poly(butylene adipate-co-terephthalate)[D]. Zhenjiang: Jiangsu University of Science and Technology (江苏科技大学), 2018.