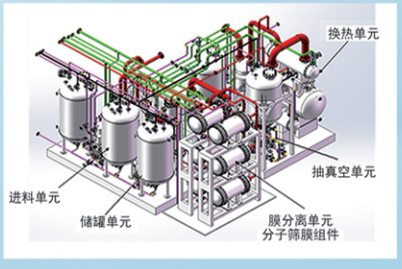
hymater
浙江汇甬

浙江汇甬新材料有限公司

微波合成第二代脱水膜

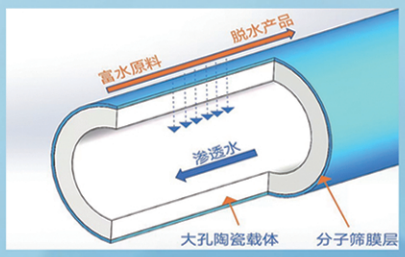


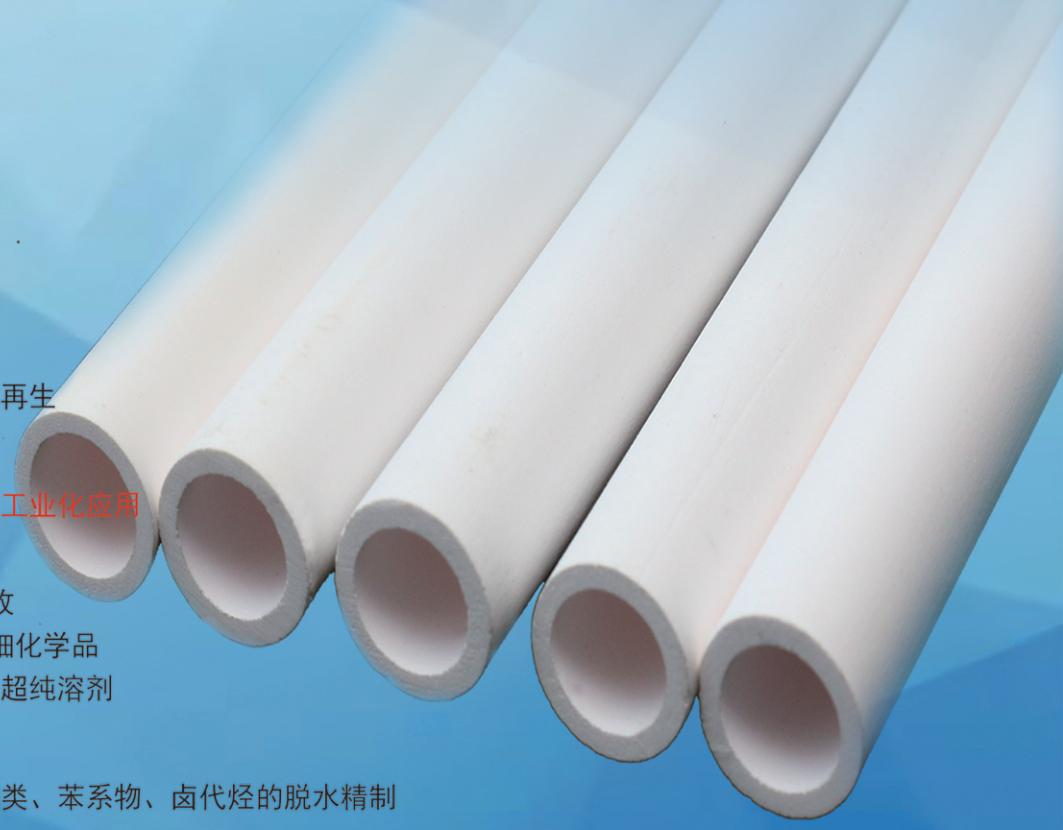
国家自然科学二等奖 成果转化

IChemE全球 创新产品冠军

微波分子筛膜 脱水性能遥遥领先

共沸体系、热敏体系、含水有机物脱水精制换代技术





收率高、能耗低、连续脱水、无需再生

在如下领域的有机物脱水精制已有工业化应用

锂电池电解液溶剂及NMP生产、回收
BDO产业链、煤化工、石油化工精细化学品
制药行业、溶媒回收、燃料乙醇、超纯溶剂

广泛适用于醇类、醚类、酯类、酮类、苯系物、卤代烃的脱水精制

网址：www.hymater.com

固定电话：0574-87648996　　电话：13396592011

地址：浙江省宁波市江北高新园区庆丰路联东U谷国际港56号楼

功能材料

基于普鲁兰多糖 Dess-Martin 醛基化的温敏水凝胶 OPL-HPCS-GP 制备与性能评价

张 群[1]，郭烨阳[1]，郑宇涛[1]，潘士印[2]，刘 睿[2]，
黄赛朋[1]，郭鹏琦[1]，薛伟明[1*]

（1. 西北大学 化工学院，陕西 西安 710069；2. 陕西省眼科研究所，陕西 西安 710016）

摘要：采用 Dess-Martin 氧化法，在保证普鲁兰多糖（PL）糖环结构完整基础上制备了氧化普鲁兰多糖（OPL），结合羟丙基壳聚糖（HPCS）和甘油磷酸钠（GP），制备了一种基于席夫碱键与氢键交联的互穿结构温敏水凝胶 OPL-HPCS-GP（OPL 质量浓度分别为 15、20、25 g/L）。。采用 ^{1}HNMR、FTIR、SEM 对水凝胶进行了表征，对其力学性能、流变性能、溶胀性能、降解性能、载药与释放性能、血液相容性和细胞毒性进行了测试，评价了 OPL-HPCS-GP 水凝胶作为泪道栓塞对兔干眼模型缓解干眼症的疗效。结果表明，生理温度（37 ℃）下，OPL_2-HPCS-GP 溶胶（OPL 质量浓度为 20 g/L）可快速（37.8 s）形成致密均匀的凝胶结构，OPL_2-HPCS-GP 水凝胶最大应力为(1.96±0.12) N，压缩模量为(30.22±2.27) kPa，力学性能良好；在模拟泪液中，OPL_2-HPCS-GP 水凝胶的平衡溶胀率为 226.46%±3.57%，60 d 内降解率为 30.85%±1.32%；OPL_2-HPCS-GP 水凝胶对绵羊红细胞的溶血率为 1.95%±0.11%，对 L929 细胞存活率为 112.97%±2.64%，生物相容性良好；与新西兰白兔自体干眼对照相比，注入 OPL_2-HPCS-GP 水凝胶作为泪道栓塞 30 d 的实验组仍能维持泪河高度 325.0 μm，可改善干眼症状。

关键词：Dess-Martin 氧化；普鲁兰多糖；羟丙基壳聚糖；甘油磷酸钠；温敏水凝胶；泪道栓塞；功能材料
中图分类号：TQ427.26；TQ460.1 **文献标识码：**A **文章编号：**1003-5214 (2025) 02-0313-11

Preparation and performance evaluation of a thermosensitive hydrogel OPL-HPCS-GP based on Dess-Martin aldehyde modified pullulan

ZHANG Qun[1], GUO Yeyang[1], ZHENG Yutao[1], PAN Shiyin[2], LIU Rui[2],
HUANG Saipeng[1], GUO Pengqi[1], XUE Weiming[1*]

（1. *School of Chemical Engineering, Northwest University, Xi'an* 710069, *Shaanxi, China*; 2. *Shaanxi Institute of Ophthalmology, Xi'an* 710016, *Shaanxi, China*）

Abstract: Oxidized pullulan polysaccharide (OPL) was prepared by Dess-Martin oxidation method without damaging the ring structure of pullulan polysaccharide (PL), and then combined with hydroxypropyl chitosan (HPCS) and sodium glycerophosphate (GP) to obtain a thermosensitive hydrogel OPL-HPCS-GP (mass concentration of OPL was 15、20、25 g/L) with interpenetrating structure by Schiff-base bond and hydrogen bond. The hydrogel was characterized by ^{1}HNMR, FTIR and SEM, and evaluated for its mechanical properties, rheology properties, swelling properties, degradation properties, drug loading and release properties, hemocompatibility, as well as cytotoxicity. The performance of OPL-HPCS-GP hydrogel as lacrimal embolism on relieving the rabbit dry eye was further analyzed. The results showed that OPL_2-HPCS-GP (mass concentration of OPL was 20 g/L) sol could rapidly transfer to gel (37.8 s) with dense and uniform network structure at physiological temperature (37 ℃). OPL_2-HPCS-GP hydrogel exhibited the maximum stress (1.96±0.12) N and compression modulus (30.22±2.27) kPa, indicating good mechanical properties. In simulated tear, OPL_2-HPCS-GP displayed an equilibrium swelling rate of

收稿日期：2024-01-28; **定用日期：**2024-03-29; **DOI:** 10.13550/j.jxhg.20240100
基金项目：国家自然科学基金项目（82304445）；陕西省自然科学基础研究计划项目（2018JM2037，2019JQ-461，2023-JC-YB-672）
作者简介：张 群（1999—），男，硕士生，E-mail：2907681908@qq.com。**联系人：**薛伟明（1966—），女，教授，E-mail：xuewm@nwu.edu.cn。

226.46%±3.57%, and a degradation rate of 30.85%±1.32% within 60 d. The hemolysis rate of OPL_2-HPCS-GP hydrogel on sheep erythrocytes was 1.95%±0.11%, and the cell viability of L929 cells was 112.97%±2.64%, showing excellent biocompatibility. Compared with the New Zealand white rabbit autogenous dry eye group, the treated one injected with OPL_2-HPCS-GP was able to maintain tear meniscus height with 325.0 μm at 30 d, significant relief on the symptoms of dry eye.

Key words: Dess-Martin oxidation; pullulan; hydroxypropyl chitosan; sodium glycerophosphate; thermosensitive hydrogels; lacrimal plug implanting; functional materials

干眼病（DED）是由于泪液动力不足或异常引起的综合性眼部疾病[1]。随着中国逐渐步入老龄化社会，以及可视化终端产品普及等原因，DED 发病率逐年上升[2-3]。流行病学调查数据显示[4-5]，世界各国报道的 DED 发病率有所差异，为 14.0%~33.7%，亚洲各国为 17.0%~33.0%，中国 DED 发病率约为 30.0%，高于大多数国家。DED 临床治疗方案主要包括药物治疗、人工泪液、泪道栓塞等[6]。其中，泪道栓塞是通过在下泪点放置泪塞阻塞泪道，防止泪液过度流失，延长泪液在眼表滞留时间以改善干眼症状的治疗方法，主要用于中、重度 DED 治疗[7]。目前，国内临床使用的泪道栓塞产品均为预制成型塞子，不能完全适应患者个体泪道结构差异，易导致塞子移位或脱落。可注射水凝胶[8-9]能够原位充盈泪道并在生理温度下凝胶化，其力学性能适宜，且生物相容性良好，在 DED 治疗领域极具应用潜力。

壳聚糖（CS）是来源广泛的天然阳离子多糖，生物相容性优良[10-11]。甘油磷酸钠（GP）分子中的磷酸根可通过静电作用力与 CS 分子中糖单元上 2-NH_3^+结合，形成锚点[12]。37 ℃下，作为锚点的 GP 分子之间通过氢键作用，促进 CS 分子链交联并实现凝胶化。本课题组[13]采用羟乙基壳聚糖（HECS）、羟丙基壳聚糖（HPCS）、壳聚糖季铵盐（HTCC）与 GP 交联，制备了可在 37 ℃温敏凝胶化的单网络凝胶，但存在温敏响应速度慢、凝胶力学强度不足等问题。魏荣等[14]以 HECS-GP 水凝胶为基础，与海藻酸钠（SA）共混，制备 HECS-GP/SA-Ca^{2+}温敏可注射水凝胶，改善了凝胶的温敏响应速度和力学性能，但 Ca^{2+}和 SA 进行离子交联速率过快，导致溶胶注射操作不易控制。普鲁兰多糖（PL）是麦芽三糖通过 *α*-1,4 和 *α*-1,6 糖苷键聚合形成的线性多糖，其成膜性和生物相容性良好[15-16]。PL 分子中羟基含量丰富，可作为修饰改性位点[17]。例如：采用高碘酸钠氧化 PL[18]，可通过裂解 PL 糖环上 C_2~C_3 位邻二醇结构引入醛基，但该法会导致糖环结构断裂，影响多糖骨架结构的稳定性和生物学功能。Dess-Martin 试剂（DMP）作为一种温和高效的氧化剂，可选择性地将伯醇基团氧化为醛基[19]。

本文拟采用 DMP 氧化 PL 糖环 C_6 位的伯醇基团，在不破坏糖环条件下引入醛基制备氧化普鲁兰多糖（OPL）。然后在 HPCS-GP 单网络温敏凝胶中引入 OPL[20]，利用 OPL 分子中醛基与 HPCS 分子中伯氨基之间可形成席夫碱键特性，构建 HPCS-GP 与 OPL-HPCS 双网络互穿结构温敏水凝胶 OPL-HPCS-GP，增强材料温敏凝胶化能力和力学稳定性。通过评价凝胶结构与性能，评估其作为泪道栓塞的可行性。

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

DMEM 培养基、透析袋〔截留相对分子质量（简称分子量）为 3500 Da〕，北京索莱宝科技有限公司；小鼠成纤维细胞株（L929），上海基尔顿生物科技有限公司；绵羊红细胞，南京森贝伽生物科技有限公司；硫酸阿托品滴眼液，药品级，西安市第一眼科医院。

HPCS（分子量 120 kDa）、PL（分子量 20 kDa）、DMP、噻唑蓝（MTT），化学纯，上海麦克林生化科技股份有限公司；GP，分析纯，苏州天可贸易有限公司；二甲基亚砜（DMSO），化学纯，天津市大茂化学试剂厂；胰蛋白酶，上海研谨生物科技有限公司；溴芬酸钠（BF），药品级，日本千寿制药株式会社唐津工厂；盐酸奥布卡因，药品级，参天制药（中国）有限公司；其他试剂均为分析纯。

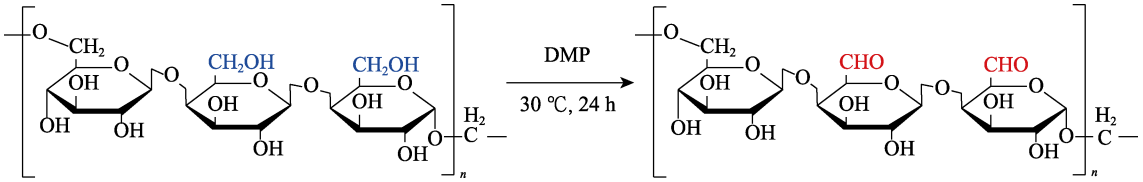
FD-1-50 型冷冻干燥机，北京博医康仪器有限公司；AVANCE NEO 600 MHz 型核磁共振波谱仪（NMR），德国 Bruker 公司；Sigma3K15 型高速冷冻离心机，重庆三克仪器有限公司；IR Affinity-1S 型傅里叶变换红外光谱仪（FTIR），日本 Shimadzu 公司；Sigma 300 型场发射扫描电子显微镜（SEM），德国 Carl Zeiss 公司；TA TOUCH 型质构仪，上海保圣实业发展有限公司；UV-3600 型紫外-可见分光光度计，北京普析通用仪器有限责任公司；NUNIRE 型 CO_2 细胞培养箱，美国 NUNIRE 公司；RT-Vue 型光学相干断层扫描仪（OCT），美国 Optovue 公司；TG 209 F3 型热重分析仪，德国 NETZSCH 公司；DHR-20 型旋转流变仪，美国 TA Instruments 公司；Infinite M1000 Pro 型酶标仪，瑞士 TECAN 公司。

1.2 方法

1.2.1 OPL 的制备

取 2.0 g 的 PL 溶于 100 mL 的 DMSO 中，向溶

液中缓慢加入 4.0 g 的 DMP，于 30 ℃避光反应 24 h。待溶液颜色由无色变为黄色，用去离子水将反应液稀释 2 倍，加入饱和 Na_2CO_3 溶液终止反应。将反应液于 2000 r/min 离心 10 min，除去反应生成的不溶性固体。将上清液移入透析袋（截留分子量为 3500 Da），在蒸馏水中常温透析 3 d。透析完成后，将透析液冷冻干燥，得到(1.6±0.2) g 淡黄色固体产物 OPL，其反应过程如下所示。



1.2.2　HPCS-GP 水凝胶的制备

首先，准确称取 100 mg 的 HPCS 和 400 mg 的 GP 粉末，分别溶解于 2 mL 去离子水中，得到 HPCS 溶液和 GP 溶液；室温下，将 1 mL 的 HPCS 溶液和 1 mL 的 GP 溶液混合得到 HPCS-GP 溶胶；然后，吸取 1 mL 的 HPCS-GP 溶胶注入边长为 1 cm 的锡纸模具中；最后，将模具置于 37 ℃恒温培养箱中，得到 HPCS-GP 水凝胶。

1.2.3　OPL-HPCS-GP 水凝胶的制备

首先，准确称量 100 mg 的 HPCS 和 400 mg 的 GP 粉末，分别溶解于 2 mL 去离子水中，得到 HPCS 溶液和 GP 溶液；称取一定量 OPL 溶解于上述 GP 溶液中，制备 OPL 质量浓度分别为 15、20、25 g/L 的 OPL-GP 溶液，记为 OPL_1、OPL_2 和 OPL_3；然后，室温下分别吸取 1 mL 的 HPCS 溶液和 1 mL 的 OPL-GP 溶液混合得到 OPL-HPCS-GP 溶胶；最后，将 1 mL 的 OPL-HPCS-GP 溶胶注入边长为 1 cm 的锡纸模具中，将模具置于 37 ℃恒温培养箱中，得到 OPL-HPCS-GP 水凝胶。根据 OPL-GP 溶液不同，分别将制备的 OPL-HPCS-GP 水凝胶记为 OPL_1-HPCS-GP、OPL_2-HPCS-GP 和 OPL_3-HPCS-GP 水凝胶。

1.2.4　载药水凝胶的制备

采用 1.2.2 和 1.2.3 节方法，在制备 HPCS-GP、OPL- HPCS-GP 溶胶的过程中分别加入一定量 BF，其负载量均为 100 μg/mL，得到的载药水凝胶分别记为 BF@HPCS-GP 和 BF@OPL-HPCS-GP。

1.3　表征与测试

1.3.1　表征

FTIR 表征：取适量 HPCS、GP、PL、OPL 样品粉末和 OPL-HPCS-GP 水凝胶冻干（操作条件：温度–50 ℃，真空度 20 Pa，下同）样品，用傅里叶变换红外光谱仪测定其 FTIR 谱图，波数范围 4000~500 cm^{-1}。

^{1}HNMR 表征：将 10 mg 的 PL 和 OPL 样品分别溶于 1 mL 氘水，在 400 MHz 下用核磁共振波谱仪测定其 ^{1}HNMR 谱图。

SEM 表征：将 HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶在冷冻干燥机中冻干后，经表面喷金处理后，用 SEM 观察凝胶横截面的微观形貌。

1.3.2　OPL 氧化度测定

采用盐酸羟胺滴定法[11]测定 OPL 分子中的醛基氧化度。称取 0.1 g 的 OPL 溶于 25 mL 盐酸羟胺溶液中，以甲基橙为指示剂，使用 0.05 mol/L 标准 NaOH 溶液进行滴定，记录溶液颜色由红色变为黄色时 NaOH 溶液的消耗量。根据公式（1）计算 OPL 氧化度（OD，%）。

$$OD/\% = c \times V/(2m/M_0) \times 100 \quad (1)$$

式中：c 为标准 NaOH 溶液浓度，0.05 mol/L；V 为 NaOH 溶液消耗量，L；m 为 OPL 质量，0.1 g；M_0 为 OPL 单体的摩尔质量，532.49 g/mol。

1.3.3　水凝胶温敏响应性能测试

采用小瓶倒置法[13]测定溶胶的温敏响应时间。将 1.2.3 节中 HPCS 溶液和 GP-OPL 溶液各取 1 mL 加入透明玻璃小瓶，并将小瓶置于 37 ℃水浴中。每隔一段时间倾斜小瓶，观察溶胶流动状态，当瓶中溶胶不再流动时，记录凝胶时间，测量 3 次取算数平均值。

取 HPCS-GP、OPL_2-HPCS-GP 溶胶各 2 mL，采用旋转流变仪在 37 ℃、1 Hz 条件下测量溶胶的储能模量（G'）和损耗模量（G''）随时间的变化，对样品的温敏响应行为进行量化测定。

1.3.4　水凝胶力学性能测试

采用质构仪测定 HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶的压缩性能。将水凝胶样品置于质构仪探头下，设置探头的触发力 0.05 N、压缩速率 2 mm/s，室温下，测定水凝胶被压缩 50%形变时的应力和应变，并根据应力-应变曲线，计算水凝胶的压缩模量。

1.3.5　水凝胶流变性能测试

取 HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 溶胶各 2 mL，采用旋转流变仪于 37 ℃、0.1~10.0 Hz 下测定样品的 G'和 G''随剪切频率的变化，并通过 G'/G''比值来判断凝胶化程度。

1.3.6　水凝胶溶胀性能测试

按照文献[21]所述方法配制模拟泪液。精确称量 HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶冻干样品的初

始干重 m_0（g），将其分别置于 37 ℃模拟泪液中，每隔一定时间将凝胶取出并吸除表面水分，称量湿重 m_t（g）直至水凝胶质量不变。根据公式（2）计算水凝胶的溶胀率（R_s，%）。

$$R_s/\%=(m_t-m_0)/m_0\times100 \quad (2)$$

1.3.7 水凝胶降解性能测试

精确称量 HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶冻干样品的初始干重 m_0'（g），将其置于 37 ℃模拟泪液中，每隔 3 d 将凝胶取出并放入烘箱中烘干 24 h 以除去水凝胶中剩余水分，干燥水凝胶称重记为 m_t'（g），降解实验进行 60 d。根据公式（3）计算水凝胶的降解率（R_D，%）。

$$R_D/\%=(m_0'-m_t')/m_0'\times100 \quad (3)$$

1.3.8 水凝胶热稳定性测试

将 HPCS-GP 和 OPL_2-HPCS-GP 水凝胶冻干样品磨成粉末，放入热分析坩埚中，采用热重分析仪测定凝胶样品的质量变化。氮气氛围，流速 100 mL/min；温度范围 35~900 ℃，升温速率 10 ℃/min。

1.4 药物释放实验

将相同质量的载药水凝胶 BF@HPCS-GP 和 BF@OPL-HPCS-GP 置于 100 mL 模拟泪液中，在 37 ℃、100 r/min 恒温摇床中释放。每隔一定时间吸取 2 mL 溶液，采用紫外-可见分光光度计测定其在 268 nm 处的吸光度（A_{268}）。每次测试结束后，将比色皿中样品溶液倒回释放介质中，保持实验过程中释放介质体积恒定。根据 BF 质量浓度（x）-吸光度（y）标准曲线方程（y=0.414x–0.003，R^2=0.9991），计算不同时刻释放介质中 BF 的质量浓度和释放量，根据公式（4）计算累积释放率（Q，%）。

$$Q/\%=m_t'/m_0''\times100 \quad (4)$$

式中：m_t''为 t 时刻模拟泪液中药物释放量，mg；m_0''为初始药物负载质量，mg。

1.5 血液相容性实验

血液相容性实验设置阴性对照组、阳性对照组和水凝胶样品组，每组平行进行 3 次实验。水凝胶样品组：取 0.5 mL 体积分数 4%绵羊红细胞（保存于阿氏液中，下同）加入 7.5 mL 生理盐水中，向其中分别加入 0.3 g 的 HPCS-GP 或 OPL-HPCS-GP 水凝胶冻干样品。阴性对照组：取 0.5 mL 的 4%绵羊红细胞加入 7.5 mL 生理盐水中。阳性对照组：取 0.5 mL 的 4%绵羊红细胞加入 7.5 mL 蒸馏水中。各组样品于 37 ℃静置 4 h 后，以 2000 r/min 离心 10 min，采用紫外-可见分光光度计测定上清液在 540 nm 处的吸光度（A）。根据公式（5）计算溶血率（R_H，%）。

$$R_H/\%=(A_{样品}-A_{阴性})/(A_{阳性}-A_{阴性})\times100 \quad (5)$$

式中：$A_{样品}$、$A_{阳性}$、$A_{阴性}$分别为水凝胶样品组、阳性对照组、阴性对照组上清液的吸光度。

1.6 细胞毒性实验

采用 MTT 法[22]评价水凝胶样品对小鼠成纤维细胞（L929）的细胞毒性。称取 0.01 g 的 HPCS-GP、OPL_1-HPCS-GP、OPL_2-HPCS-GP 和 OPL_3-HPCS-GP 水凝胶冻干粉末，无菌条件下分别在 10 mL 含双抗 DEME 培养基中浸提 24 h，获得 4 种水凝胶浸提液。

采用质量浓度 2.5 g/L 胰蛋白酶（保存于 pH=7.2~7.4 的 PBS 缓冲液中）对传代至对数生长期的 L929 细胞消化 2 min，于 600 r/min 离心 5 min 并弃去上清液。向细胞沉淀中加入新鲜含双抗 DMEM 培养基，轻轻吹打使细胞悬浮，于 600 r/min 离心 5 min 并弃去上清液，重复操作两次以除去消化液和原培养液。调整细胞密度为 2×10^5 个/mL，接种于 96 孔细胞培养板中，每孔 100 μL。将培养板置于 CO_2 细胞培养箱中于 37 ℃孵育 24 h 后，取出培养板并弃去孔中培养液，将 4 种水凝胶浸提液分别加入各培养孔中，每孔 100 μL，为实验设置 4 种水凝胶样品组。对照组只加入培养基和细胞，空白组只加入培养基，每组设置 3 个复孔。

将培养板置于 CO_2 细胞培养箱在 37 ℃下孵育 72 h 后，取出并弃去孔中培养液，向各孔加入 100 μL 质量浓度 5 g/L 的 MTT 溶液，再将培养板置于 CO_2 细胞培养箱在 37 ℃下孵育 4 h。取出培养板吸除孔中 MTT 溶液，加入 100 μL 的 DMSO 并与细胞混匀，在 CO_2 细胞培养箱中于 37 ℃孵育 30 min。采用酶标仪测定各孔在 490 nm 处的吸光度。根据公式（6）计算细胞存活率（C_V，%）。

$$C_V/\%=(A_{样品}-A_{空白})/(A_{对照}-A_{空白})\times100 \quad (6)$$

式中：$A_{样品}$、$A_{对照}$、$A_{空白}$分别为水凝胶样品组、对照组、空白组的吸光度。

1.7 动物泪道栓塞实验

本实验由陕西省眼科研究所协助完成，实验方案遵循第 8 版《实验动物护理和使用指南》，并经研究所动物伦理委员会审批（动物实验伦理备案号：AEWC-202308，动物实验批准号：SN-202308）。采用 OPL_2-HPCS-GP 水凝胶进行泪道栓塞效果评估。

选取 6 只健康新西兰大白兔，雌雄不限，体重约为 2~3 kg，在裂隙灯下观察兔子的结膜或角膜是否存在异常，同时采用光学相干断层扫描仪（OCT）测量正常兔眼的泪河高度。使用质量浓度 10 g/L 硫酸阿托品滴眼液对兔子进行 DED 建模，每天滴眼 4 次，持续 7 d，当泪河高度小于 0.1 mm，说明建模成功。在兔眼结膜囊内滴加盐酸奥布卡因对眼表麻醉，使用无菌泪道冲洗针吸取 1 mL 的 OPL_2-HPCS-GP 溶胶，通过下泪点注射入泪道，溶胶在生理温度下迅速凝胶栓塞泪道。每只兔子的左眼植入水凝胶，以右眼为自体干眼模型对照，实验观察 30 d，每 15 d 使用 OCT 对兔眼进行非侵入性断层成像，测量泪河高度（TMH）和泪河截面积（TMA）。

2　结果与讨论

2.1　OPL 制备与表征分析

2.1.1　OPL 制备

基于 Dess-Martin 氧化机理，DMP 可将 PL 分子糖单元中的 C_6 位伯醇羟基氧化为醛基，实现 PL 的氧化，即醛基化修饰。反应机理为[19]：DMP 分子中的一个乙酰氧基与 PL 的烷氧基发生置换；然后 DMP 分子中另一个乙酰氧基发生离去时，与醇羟基相连碳原子上的质子转移到乙酰氧基上，使 PL 的伯醇羟基氧化为醛基。该反应具有相当高的化学选择性，并且可以避免过度氧化。

采用盐酸羟胺滴定法测定 OPL 的氧化度。盐酸羟胺分子中的氨基可以与 OPL 分子中的醛基发生反应并生成 HCl。以甲基橙为指示剂，通过标准 NaOH 溶液的消耗量计算 OPL 的氧化度。根据公式（1）计算得到，OD=71.57%±2.32%。

2.1.2　OPL 表征

图 1 为 PL 和 OPL 的 ^{1}HNMR 谱图。可以看出，相比于 PL，OPL 在 δ 5.2 处出现新的半缩醛（醛基在氘水中以半缩醛形式存在[23]）信号峰，表明其分子中成功引入了醛基。

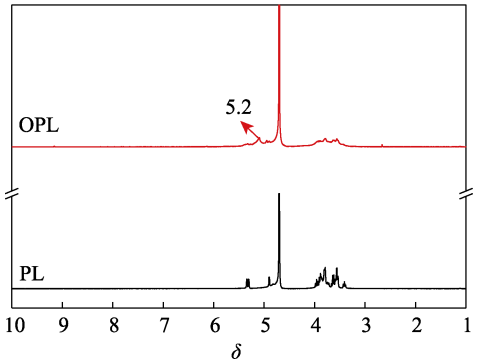


图 1　PL 和 OPL 的 ^{1}HNMR 谱图

Fig. 1　^{1}HNMR spectra of PL and OPL

图 2 为 PL 和 OPL 的 FTIR 谱图。

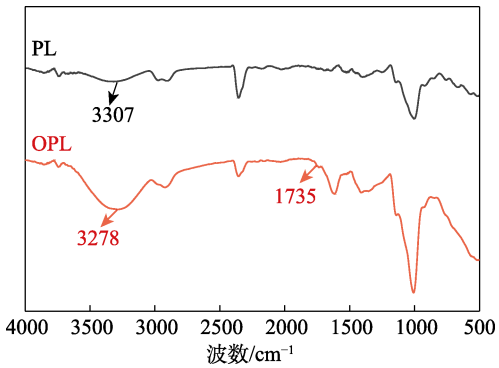


图 2　OPL 和 PL 的 FTIR 谱图

Fig. 2　FTIR spectra of OPL and PL

由图 2 可以看出，与 PL 相比，OPL 在 1735 cm^{-1} 处出现醛基（C═O）伸缩振动峰，表明 OPL 分子中成功引入了醛基，证实 OPL 的成功合成[24]。这与 ^{1}HNMR 谱图（图 1）结果一致。

2.2　OPL-HPCS-GP 水凝胶制备与表征

2.2.1　OPL-HPCS-GP 水凝胶制备

图 3 为 OPL-HPCS-GP 水凝胶的温敏交联机理示意图。从图 3 可以看出，GP 溶液与 HPCS 溶液混合过程中，GP 分子中的负电性磷酸基团—O—PO_3^{2-}与 HPCS 分子中部分质子化—NH_3^+通过静电作用结合，使 GP 分子结合在 HPCS 分子长链上成为锚点。锚点 GP 分子中，C_1、C_3 原子上各连接 1 个羟基，与 C_2 相连的—O—PO_3^{2-}具有强吸电子效应，促进电子云向 C_1 和 C_3 的羟基氧原子上分布。因此，在 HPCS 分子链上，一个 GP 锚点中负电性较强的羟基 O 原子与另一个 GP 锚点中正电性较强的羟基 H 原子之间能够形成氢键，使 HPCS 分子链形成交联位点。为了促进 GP 锚点之间形成稳定氢键，升高体系温度可以增强 HPCS 分子链的热运动，增大 GP 锚点间的碰撞概率，并为锚点间形成氢键提供能量，形成温敏凝胶交联网络。

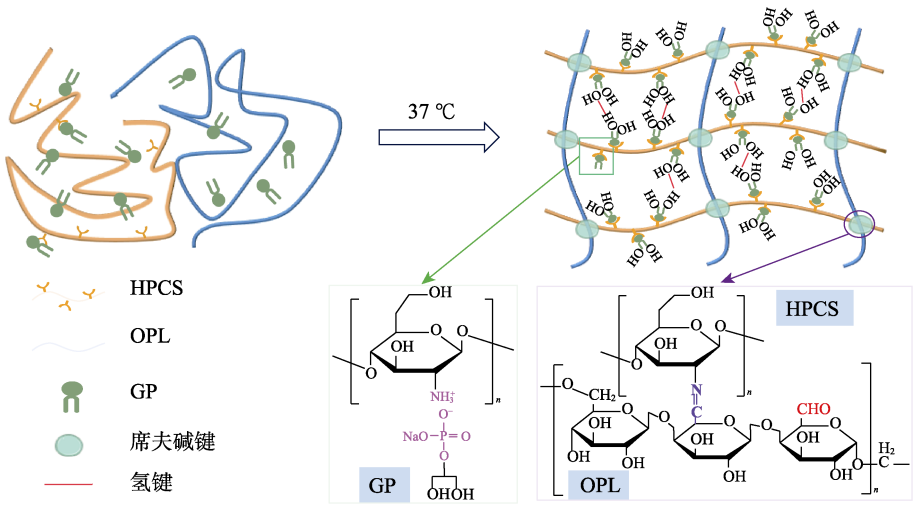


图 3　OPL-HPCS-GP 水凝胶的温敏交联机理示意图

Fig. 3　Schematic diagram of thermosensitive cross-linking mechanism of OPL-HPCS-GP hydrogel

但是，仅依赖氢键作用力形成的 HPCS-GP 凝胶的凝胶时间长（5~10 min）、凝胶力学强度弱，不能满足注射型泪道栓的制备需求。而利用 OPL 分子中醛基与 HPCS 分子中未质子化氨基之间能够发生席夫碱反应的特点，使 OPL 与 HPCS、GP 共混并在生理温度（37 ℃）环境中形成 GP 锚点-GP 锚点氢键交联与OPL-HPCS席夫碱键交联的协同交联网络结构。

2.2.2 OPL-HPCS-GP 表征

图 4 为 OPL_2-HPCS-GP 水凝胶和各组分的 FTIR 谱图。可以看出，HPCS 在 3312 cm^{-1} 处出现氨基伸缩振动峰；GP 在 1065 和 942 cm^{-1} 处出现磷酸基团的伸缩振动峰；OPL 在 3278 和 1735 cm^{-1} 处分别出现 O—H 键和 C═O 键的伸缩振动峰。由于 OPL 分子中醛基和 HPCS 分子中氨基之间形成亚胺键，使 OPL_2-HPCS-GP 水凝胶在 1735 cm^{-1} 处的信号峰消失，并且在 1648 cm^{-1} 处出现了 C═N 键的伸缩振动峰，证明了席夫碱键的形成[24]。与 GP 相比，OPL_2-HPCS-GP 水凝胶在 1065 和 942 cm^{-1} 处对应于磷酸基团的伸缩振动峰减弱，说明 GP 分子中磷酸根与 HPCS 分子中质子化氨基之间发生了静电相互作用。

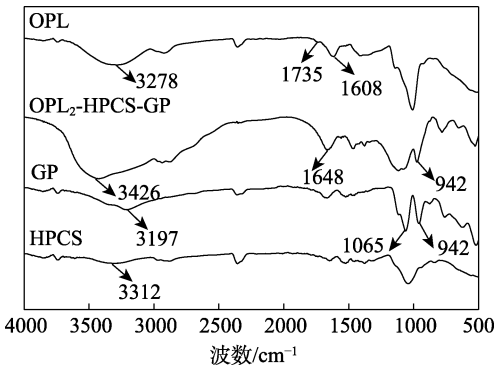


图 4 OPL_2-HPCS-GP 水凝胶和各组分的 FTIR 谱图

Fig. 4 FTIR spectra of OPL_2-HPCS-GP hydrogel and each component

图 5 为 HPCS-GP 和 OPL-HPCS-GP 水凝胶的 SEM 图。

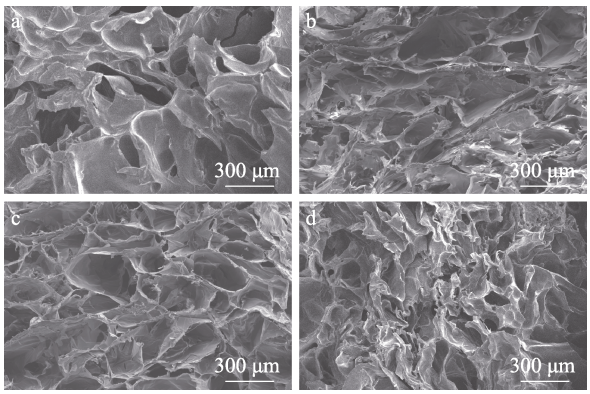


图 5 HPCS-GP（a）、OPL_1-HPCS-GP（b）、OPL_2-HPCS-GP（c）、OPL_3-HPCS-GP（d）水凝胶的 SEM 图

Fig. 5 SEM images of HPCS-GP (a), OPL_1-HPCS-GP (b), OPL_2-HPCS-GP (c), OPL_3-HPCS-GP (d) hydrogels

由图 5 可以看出，HPCS-GP 单网络交联凝胶的微观结构较为疏松[12-13]（图 5a），平均孔径为 443.0 μm；OPL_1-HPCS-GP（图 5b）、OPL_2-HPCS-GP（图 5c）、OPL_3-HPCS-GP（图 5d）水凝胶的微观结构致密程度增加，平均孔径逐渐减小，分别为 193.5、155.0、129.6 μm。这是因为，随着 OPL-HPCS-GP 水凝胶中引入 OPL 含量的增加，在 OPL-HPCS 席夫碱键交联与 HPCS-GP 氢键交联协同作用下，凝胶交联位点增多，交联密度增大。这也表明，OPL 能够实现对 OPL-HPCS-GP 水凝胶形貌与结构的调控。

2.3 OPL-HPCS-GP 水凝胶的性能

2.3.1 温敏凝胶化性能

溶胶/凝胶的温敏响应时间是判断其能否作为可注射材料的关键因素。作为泪道栓塞植入材料，溶胶/凝胶的温敏响应时间以 30~60 s 为宜，温敏响应过慢容易导致溶胶在泪道中扩散流失，而响应过快则不利于进行注射植入操作。图 6 为小瓶倒置法测定温敏凝胶化时间实际操作图。

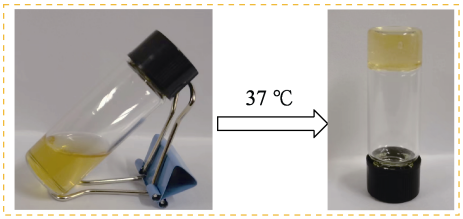


图 6 小瓶倒置法测定温敏凝胶化时间操作图

Fig. 6 Determination of gel time by vial inversion method

经测定，与 HPCS-GP 溶胶在 37 ℃环境中的凝胶时间〔(525.0±15.0) s〕相比，OPL_1-HPCS-GP、OPL_2-HPCS-GP、OPL_3-HPCS-GP 凝胶时间分别为 (51.0±3.8)、(42.7±1.3)、(36.3±2.7) s，表明具有双网络互穿结构的 OPL-HPCS-GP 凝胶具有更敏感的温敏凝胶化能力，且 OPL 含量对温敏凝胶化时间具有调节作用。

G'和 G''变化可以表征样品从低黏度液态溶胶到高强度固态凝胶的转变过程[25-26]。图 7 为 OPL-HPCS-GP 水凝胶的温敏凝胶化性能测试结果。

从图 7 可以看出，初始状态时，HPCS-GP 和 OPL_2-HPCS-GP 溶胶的扫描曲线均呈现 $G'' > G'$，此时样品呈液态溶胶；随着时间的延长，G''与 G'逐渐增大并在 516.5 s（HPCS-GP）和 37.8 s（OPL_2-HPCS-GP）出现交点（$G'' = G'$），这与溶胶向凝胶转变的相态转变时间对应；继续延长时间，HPCS-GP 和 OPL_2-HPCS-GP 的 G''、G'曲线趋于稳定且保持 $G''<G'$，表明两者均形成了稳定的固态凝胶。OPL_2-HPCS-GP 的相态转变时间远低于 HPCS-GP，表明引入 OPL 能够有效缩短和调节 HPCS-GP 的温敏凝胶时间，使

OPL_2-HPCS-GP 溶胶快速实现原位温敏凝胶化响应，其具有作为温敏泪道栓材料的可能性。

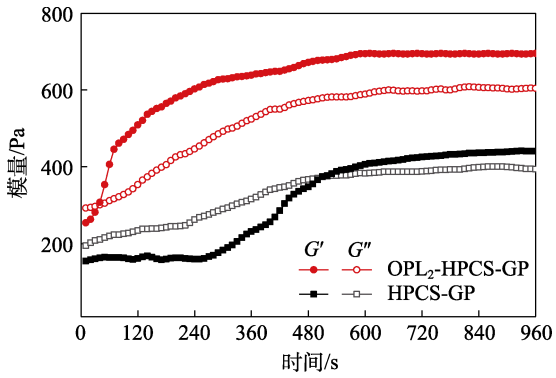


图 7　HPCS-GP 和 OPL_2-HPCS-GP 的 G'和 G''与时间关系曲线

Fig. 7　Relationship curves of G' and G'' of HPCS-GP and OPL_2-HPCS-GP with time

2.3.2　力学性能

图 8 为 HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶的压缩应力-应变曲线。

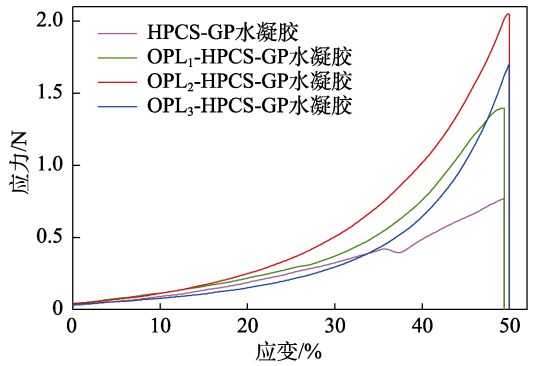


图 8　HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶的压缩应力-应变曲线

Fig. 8　Compressive stress-strain curves of HPCS-GP and OPL-HPCS-GP hydrogels

如图 8 所示，根据多次平行实验得到 HPCS-GP、OPL_1-HPCS-GP、OPL_2-HPCS-GP 和 OPL_3-HPCS-GP 的最大应力分别为 (0.81±0.03)、(1.45±0.07)、(1.96±0.12)、(1.72±0.05) N。根据应力-应变曲线计算得到的压缩模量分别为 (9.27±0.82)、(21.16±1.03)、(30.22±2.27)、(23.32±1.94) kPa。可见，与 HPCS-GP 凝胶相比，引入 OPL 显著提高了凝胶的力学强度。但是，当溶胶中加入的 OPL 质量浓度为 25 g/L 时，制备的 OPL_3-HPCS-GP 水凝胶的最大应力和压缩模量反而减小，这是因为，席夫碱键交联密度过大会引起凝胶柔韧性下降。因此，制备 OPL-HPCS-GP 水凝胶时，应综合评估 OPL 的含量。

2.3.3　流变性能

图 9 为 HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 溶胶的 G'、G''随剪切频率的变化曲线。

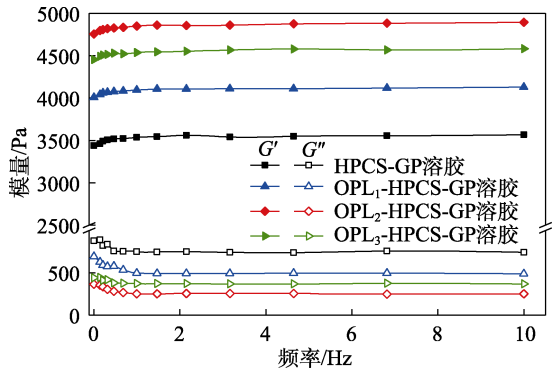


图 9　溶胶样品的模量-剪切频率关系曲线

Fig. 9　Relationship curves of modulus and shear frequency of sol samples

从图 9 可以看出，在 0.1~10.0 Hz 频率范围内，4 种溶胶的 G'均大于 G''，均能够实现温敏凝胶化转变。当 G'与 G''曲线趋于稳定时，HPCS-GP、OPL_1-HPCS-GP、OPL_2-HPCS-GP 和 OPL_3-HPCS-GP 溶胶在剪切频率 10.0 Hz 下的 G''/G'比值分别为 0.222±0.02、0.133±0.01、0.059±0.01 和 0.086±0.01，表明引入 OPL 可显著减小 G''/G'比值，能够促进凝胶化反应。OPL_2-HPCS-GP 在剪切频率 10.0 Hz 下的 G''/G'比值最小，其凝胶化转变效果最优。

2.3.4　溶胀性能

水凝胶溶胀过程是聚合物-水相互作用产生的向外张力和聚合物分子链间相互作用产生的弹性回缩力之间的竞争平衡，前者促进溶胀，后者抵抗溶胀[27]。因此，通过减弱聚合物与水的相互作用，或增强聚合物分子链相互作用，可以解决水凝胶过度溶胀带来的力学强度下降等问题。图 10 为 HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶在 37 ℃模拟泪液中的溶胀曲线。

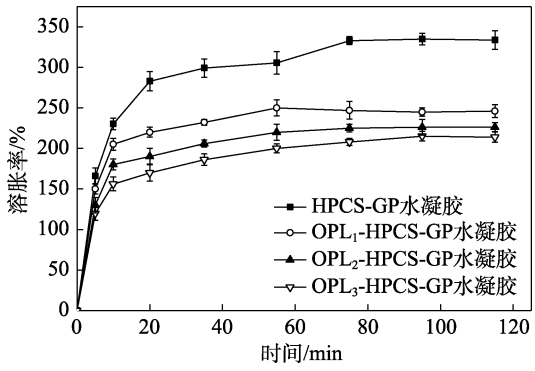


图 10　HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶在模拟泪液中的溶胀曲线

Fig. 10　Swelling curves of HPCS-GP and OPL-HPCS-GP hydrogels in simulated tear

从图 10 可以看出，在溶胀初期（0~10 min），4

种凝胶样品均呈现快速溶胀特征。这是因为，凝胶聚合物为亲水性材料，在凝胶界面外部与内部之间的水分子浓度差推动下，模拟泪液中水分子沿微孔通道快速向凝胶内部扩散，增大了聚合物链之间的距离，削弱了聚合物骨架之间的相互作用力，凝胶网络产生的向外张力占据优势，微孔尺寸增大。在溶胀中期（10~60 min），4 种凝胶样品溶胀减缓。这是因为，随着凝胶外部与内部之间水分子扩散推动力逐渐减小，凝胶溶胀速率逐渐减小，进入凝胶的水分子与凝胶骨架上亲水基团通过氢键结合，结合水的形成在此阶段占优势地位。溶胀后期（>60 min），4 种凝胶的溶胀率不再变化，凝胶溶胀趋于稳定。这是因为，凝胶外部与内部之间水分子扩散趋近动态平衡，聚合物链上亲水基团与水分子的结合亦趋近饱和状态，凝胶网络因吸水溶胀产生的向外张力与弹性回缩力逐渐平衡，使凝胶溶胀趋于稳定。HPCS-GP、OPL_1-HPCS-GP、OPL_2-HPCS-GP 和 OPL_3-HPCS-GP 水凝胶在模拟泪液中 120 min 时平衡溶胀率分别为 331.92%±8.08%、245.81%±4.19%、226.46%±3.57%、209.50%±5.75%。

从上述分析可知，向聚合物中引入双网络互穿结构，增加凝胶网络致密程度，是增强分子链相互作用的可行方案。与 HPCS-GP 水凝胶相比，OPL 和 HPCS 分子间亚胺键的形成，使 OPL-HPCS-GP 水凝胶在双网络互穿结构基础上交联密度较高，分子链间约束力较大，增强了凝胶网络在溶胀过程中的弹性回缩力，在模拟泪液中具有适度溶胀性能的同时，保持凝胶的结构完整和力学强度。通过改变 OPL 在凝胶中含量，可以调整 OPL-HPCS-GP 水凝胶的溶胀行为，使之能够应用于泪小管的稳定栓塞。

2.3.5　降解性能

水凝胶的降解性能是评价其能否作为泪道栓使用的一个重要指标。水凝胶在模拟泪液中应具有良好的抗降解性能，以发挥稳定栓塞作用。图 11 为 HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶在模拟泪液中的降解曲线。

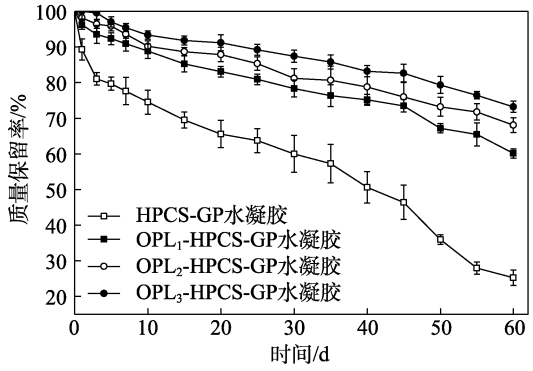


图 11　HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶在模拟泪液中的降解曲线

Fig. 11　Degradation curves of HPCS-GP and OPL-HPCS-GP hydrogels in simulated tear

从图 11 可以看出，与 HPCS-GP 水凝胶相比，OPL-HPCS-GP 水凝胶在模拟泪液中的降解速率明显较小。HPCS-GP、OPL_1-HPCS-GP、OPL_2-HPCS-GP 和 OPL_3-HPCS-GP 水凝胶 60 d 的降解率分别为：79.29%±1.86%、38.96%±0.93%、30.85%±1.32%、25.18%±1.47%。可见，引入 OPL 能够赋予双网络 OPL-HPCS-GP 水凝胶良好的抗降解能力，使其具备长期和稳定栓塞泪道的能力。

2.3.6　热稳定性

图 12 为 HPCS-GP 水凝胶和 OPL_2-HPCS-GP 水凝胶的 TGA 曲线。

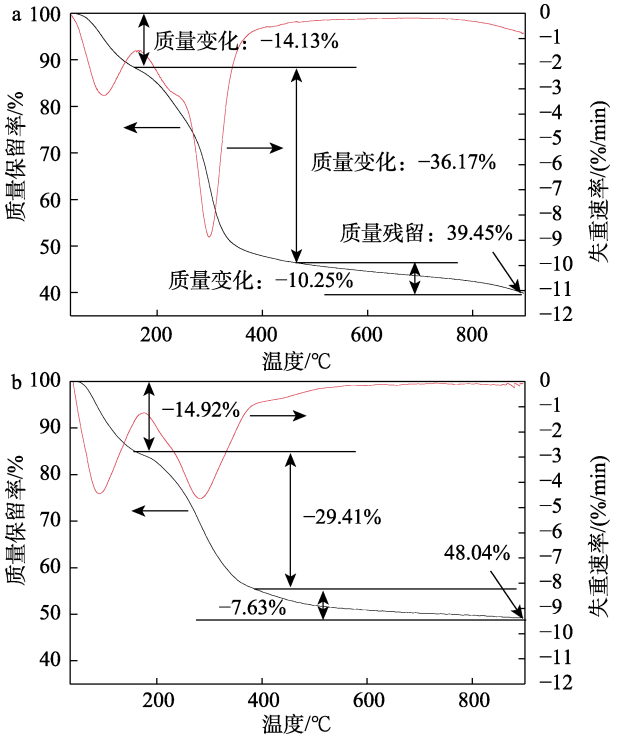


图 12　HPCS-GP 水凝胶（a）和 OPL_2-HPCS-GP 水凝胶（b）的 TGA 曲线

Fig. 12　TGA curves of HPCS-GP (a) and OPL_2-HPCS-GP (b) hydrogels

从图 12 可以看出，两种水凝胶的热失重可分为 3 个阶段：第一阶段（35~200 ℃）热失重主要由于凝胶网络中自由水和结合水的蒸发；第二阶段（200~400 ℃）热失重主要是由于凝胶样品中多糖分子链间糖苷键断裂并且伴随部分炭化；第三阶段（400~900 ℃）的热失重主要是由于凝胶样品中有机碳发生了彻底的氧化分解。

从图 12 还可以看出，OPL_2-HPCS-GP 水凝胶（图 12b）在 200~400 和 400~900 ℃的质量损失率为 29.41%和 7.63%，均小于 HPCS-GP 水凝胶的质量损失率 36.17%和 10.25%，两种样品在 900 ℃的最终质量残留率分别为 39.45%和 48.04%。表明 OPL_2- HPCS-GP 水凝胶内部网络结构较为致密，因此，向凝胶体系中

引入 OPL 有助于维持凝胶结构热稳定性。

2.4　载药水凝胶的体外释药行为

图 13 为 BF@HPCS-GP 和 BF@OPL-HPCS-GP 在模拟泪液中的药物释放曲线。表 1 为采用 Korsmeyer-Peppas 动力学模型[22]对释放曲线的动力学拟合结果。

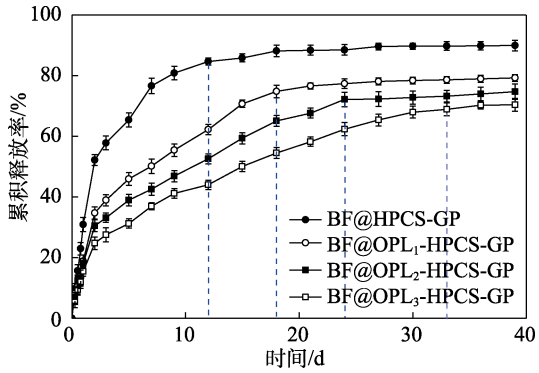


图 13　BF@HPCS-GP 和 BF@OPL-HPCS-GP 在模拟泪液中的体外药物释放曲线

Fig. 13　*In vitro* drug release curves of BF@HPCS-GP and BF@OPL-HPCS-GP hydrogels in stimulated tear

表 1　载药水凝胶在模拟泪液中的释放动力学拟合结果

Table 1　Fitting results of release kinetics of drug-loaded hydrogels in simulated tear

载药水凝胶	拟合方程	R^2	释药机制
BF@HPCS-GP	$Q=20.81t^{0.58}$	0.9743	Non-Fickian 扩散
BF@OPL$_1$-HPCS-GP	$Q=17.28t^{0.50}$	0.9836	Non-Fickian 扩散
BF@OPL$_2$-HPCS-GP	$Q=16.75t^{0.46}$	0.9904	Non-Fickian 扩散
BF@OPL$_3$-HPCS-GP	$Q=15.39t^{0.45}$	0.9951	Non-Fickian 扩散

从图 13 可以看出，与 BF@HPCS-GP 相比，随着载药凝胶中 OPL 含量的增加，BF@OPL-HPCS-GP 中的 BF 释放速率逐渐减小。这是因为，OPL 与 HPCS 之间席夫碱键交联作用在双网络互穿结构中增强，延长了 BF 释放平衡所需时间。

从表 1 可以看出，4 种载药水凝胶的 t 指数项（n）= 0.45~0.58。在 Korsmeyer-Peppas 动力学拟合方程中，n=0.43~0.89 时，药物释放机制为 Non-Fickian 扩散，即扩散与骨架溶蚀相结合。所以，BF@HPCS-GP 和 BF@OPL-HPCS-GP 的药物释放机制均为扩散与骨架溶蚀相结合。随着凝胶中 OPL 含量的增加，n 逐渐趋近于 0.43，即药物释放机制接近 Fickian 扩散。表明交联程度增加有利于稳定聚合物骨架结构，使药物扩散行为从扩散与骨架溶蚀相结合逐渐接近 Fickian 扩散机制。

从表 1 还可以看出，与 BF@HPCS-GP 相比，BF@OPL-HPCS-GP 内部交联网络更为致密，因此药物缓释效果较好，可以发挥稳定释药作用。DED 的患病过程中，由于眼表微环境发生改变，往往伴随着炎症反应。通过负载抗炎药物 BF，可以在进行稳定栓塞的同时协同抑制炎症反应。

2.5　血液相容性评价

根据 ISO 10993-4—2023《医疗器械生物学评价》，泪道栓塞材料应具有良好的生物相容性[28]，其溶血率应低于 5%。图 14 为 HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶对绵羊红细胞的溶血状态实物照片。图 15 为溶血率结果。

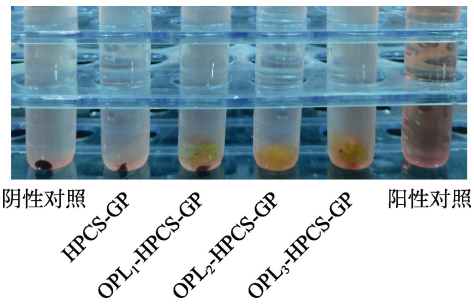


图 14　HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶对绵羊红细胞的溶血状态实物照片

Fig. 14　Hemolytic state photographs on sheep erythrocytes of HPCS-GP and OPL-HPCS-GP hydrogels

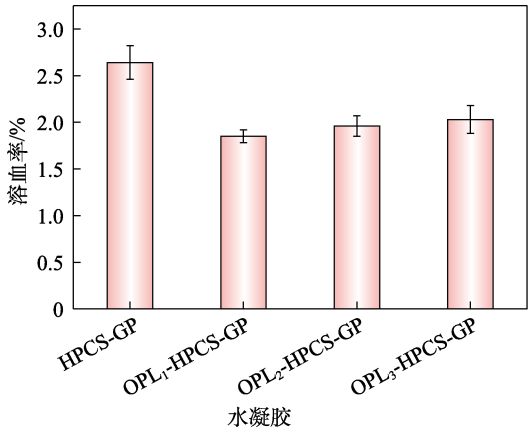


图 15　HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶对绵羊红细胞的溶血率

Fig. 15　Hemolysis rate to sheep erythrocytes of HPCS-GP and OPL-HPCS-GP hydrogels

从图 14 可以看出，将生理盐水（阴性对照组）和水凝胶（水凝胶样品组）加入绵羊红细胞中 4 h 后均未出现溶血现象，而以蒸馏水为分散介质的阳性对照组在 4 h 后呈现溶血状态。HPCS-GP、OPL$_1$-HPCS-GP、OPL$_2$-HPCS-GP 和 OPL$_3$-HPCS-GP 水凝胶的溶血率分别为 2.64%±0.18%、1.85%±0.07%、1.95%±0.11%和 2.03%±0.15%（图 15），符合 ISO 溶血标准，具有良好的血液相容性。这是由于 HPCS 和 PL 本身生物相容性优良，采用 DMP 试剂对 PL 氧化改性后的 OPL 依然能保留天然多糖的生物相容性。相比之下，引入 OPL 的凝胶样品显示出更为优异的血液相容性。

2.6　细胞毒性分析

图 16 为采用 MTT 法测定的 HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶对 L929 细胞的毒性结果。

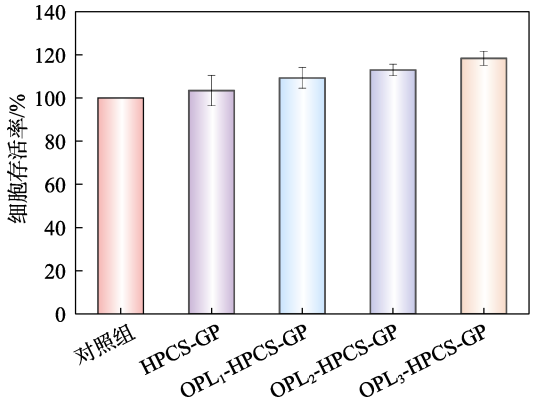


图 16　HPCS-GP、OPL-HPCS-GP 水凝胶的细胞存活率

Fig. 16　Cell viability of HPCS-GP and OPL-HPCS-GP hydrogels

从图 16 可以看出，与对照组相比，HPCS-GP、OPL_1-HPCS-GP、OPL_2-HPCS-GP 和 OPL_3-HPCS-GP 水凝胶样品组在 72 h 的细胞存活率分别为 103.43%±6.98%、109.28%±4.81%、112.97%±2.64%、118.35%±3.26%，表明凝胶样品不仅具有低细胞毒性，而且在一定程度上促进了细胞增殖。引入 OPL 的凝胶样品显示出更优异的细胞相容性，为 OPL-HPCS-GP 温敏凝胶在泪道栓塞中的应用提供了安全保障。

2.7　泪河高度分析

上下眼睑与角膜间的泪液弧面即为泪河，TMH 和 TMA 是诊断 DED 的重要指标[21]。OCT 可精确反映泪河状态，并获得 TMH 和 TMA 数据。图 17 为 OPL_2-HPCS-GP 水凝胶栓塞的 TMH 和 TMA。

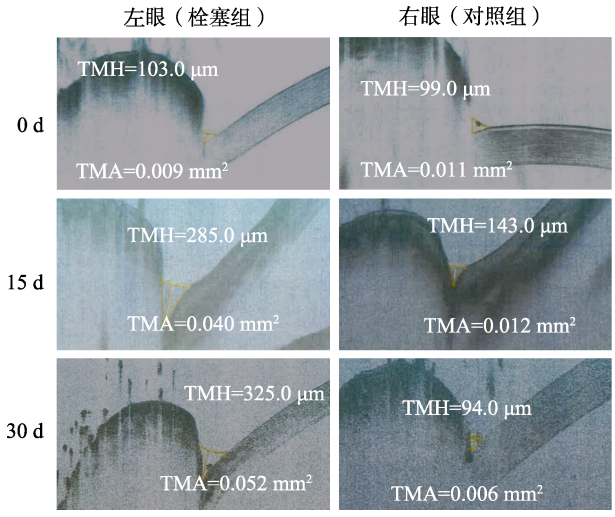


图 17　OPL-HPCS-GP 凝胶栓塞的 TMH 和 TMA

Fig. 17　TMH and TMA of OPL-HPCS-GP hydrogel plugs

经测定，空白对照（植入凝胶塞前正常兔眼）的 TMH 为(240.8±22.8) μm，TMA 为(0.037±0.005) mm^2。

从图 17 可以看出，未加入凝胶栓塞（0 d）时，兔眼 TMH 与 TMA 明显低于正常值并具有典型干眼症状，且左眼与右眼差异不大；当凝胶栓塞左眼 15 d 时，左眼 TMH（285.0 μm）和 TMA（0.040 mm^2）明显改善并接近正常值（240.8 μm 和 0.037 mm^2），而右眼 TMH（143.0 μm）和 TMA（0.012 mm^2）仍处于 DED 状态；当凝胶栓塞左眼 30 d 时，与右眼干眼症状进一步加重相比，左眼 TMH（325.0 μm）和 TMA（0.052 mm^2）提示其干眼症状得到改善。表明，OPL-HPCS-GP 温敏凝胶在泪道中发挥了稳定栓塞作用，延长了泪液在眼表滞留时间，有效改善了干眼症状。

3　结论

（1）经 DMP 氧化 PL 成功制备了 OPL。氧化改性过程主要发生在 PL 糖环 C_6 位的伯醇羟基上，在不破坏糖环主链完整性的基础上引入醛基，维持 PL 主链糖环化学结构稳定，并保留良好的生物相容性。

（2）HPCS 分子中的氨基官能团为构建凝胶网络提供了反应基础。一部分质子化的氨基使 GP 分子作为锚点结合在 HPCS 分子链上，在温度转变过程中，GP 锚点之间形成氢键，促进 HPCS 分子交联形成凝胶结构；同时，另一部分氨基与 OPL 分子中的醛基通过席夫碱键进行化学交联位点，协调优化凝胶的内部结构和性能。改变 OPL 含量，可以实现对 OPL-HPCS-GP 水凝胶结构和性能的调制。

（3）OPL_2-HPCS-GP 水凝胶具有温敏响应时间短（37.8 s）、力学稳定性好〔最大应力为(1.96±0.12) N〕、抗降解能力强（60 d 降解率为 30.85%±1.32%），药物缓释性能好，生物相容性优良等特点。通过对新西兰白兔进行干眼泪道栓塞评价，显示 OPL_2-HPCS-GP 水凝胶能够稳定有效栓塞泪道并改善干眼症状，体现出良好的研究和应用价值。

参考文献：

[1] DAI M L, XU K J, XIAO D C, *et al*. *In situ* forming hydrogel as a tracer and degradable lacrimal plug for dry eye treatment[J]. Advanced Healthcare Materials, 2022, 11(19): 2200678.

[2] ARAGONA P, GIANNACCARE G, MENCUCCI R, *et al*. Modern approach to the treatment of dry eye, a complex multifactorial disease: A P.I.C.A.S.S.O. board review[J]. British Journal of Ophthalmology, 2021, 105(4): 446-453.

[3] HU J W, ZHU X P, PAN S Y, *et al*. Prevalence and risk factors of dry eye disease in young and middle-aged office employee: A Xi'an study[J]. International Journal of Ophthalmology, 2021, 14(4): 567-573.

[4] CRAIG J P, MUNTZ A, WANG M T M, *et al*. Developing evidence-

based guidance for the treatment of dry eye disease with artificial tear supplements: A six-month multicentre, double-masked randomised controlled trial[J]. The Ocular Surface, 2021, 20: 62-69.

[5] BOIDO M, GHIBAUDI M, GENTILE P, *et al*. Chitosan-based hydrogel to support the paracrine activity of mesenchymal stem cells in spinal cord injury treatment[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 6402.

[6] KOBIA-ACQUAH E, ANKAMAH-LOMOTEY S, OWUSU E, *et al*. Prevalence and associated risk factors of symptomatic dry eye in Ghana: A cross-sectional population-based study[J]. Contact Lens & Anterior Eye, 2021, 44(6): 101404.

[7] SIEDLECKI A N, SMITH S D, SIEDLECKI A R, *et al*. Ocular pain response to treatment in dry eye patients[J]. The Ocular Surface, 2020, 18(2): 305-311.

[8] SEDOVA P, BUFFA R, SILHAR P, *et al*. The effect of hydrazide linkers on hyaluronan hydrazone hydrogels[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 216: 63-71.

[9] XU S K (徐世宽), ZHANG H M (张弘妹), QI P F (戚鹏飞), *et al*. Preparation and properties of thermoreversible gel based on chitosan and silver cation[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2024, 41(5): 1036-1042.

[10] LI C, JIANG T, ZHOU C, *et al*. Injectable self-healing chitosan-based POSS-PEG hybrid hydrogel as wound dressing to promote diabetic wound healing[J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 299: 120198.

[11] CAO B, WANG C J, GUO P Q, *et al.* Photo-crosslinked enhanced double-network hydrogels based on modified gelatin and oxidized sodium alginate for diabetic wound healing[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 245: 125528.

[12] XING Q Y (邢其毅), PEI W W (裴伟伟), XU R Q (徐瑞秋). Basic organic chemistry[M]. Beijing: Peking University Press (北京大学出版社), 2016.

[13] XUE W M (薛伟明), WEI R (魏荣), LI K X (李可欣), *et al*. An *in situ* injectable thermosensitive responsive water-soluble chitosan composite hydrogel for lacrimal embolization and its preparation and application: CN109045063B[P]. 2021-01-26.

[14] WEI R (魏荣), XU N X (许宁侠), HUANG S P (黄赛朋), *et al*. Preparation and characterization of chitosan-based injectable temperature-sensitive interpenetrating hydrogels[J]. Chemical Engineering (化学工程), 2019, 47(12): 6-11.

[15] DE SOUZA C K, GHOSH T, LUKHMANA N, *et al.* Pullulan as a sustainable biopolymer for versatile applications: A review[J]. Materials Today Communications, 2023, 36: 106447.

[16] ROY S, HALDER M, RAMPRASAD P, *et al*. Oxidized pullulan exhibits potent antibacterial activity against *S. aureus* by disrupting its membrane integrity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 249: 126049.

[17] THAKUR A, SHARMA S, NAMAN S, *et al*. Pullulan based polymeric novel drug delivery systems: A review on current state of art and prospects[J]. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2023, 90: 105117.

[18] SINGH R S, KAUR N, SINGH D, *et al*. Pullulan in pharmaceutical and cosmeceutical formulations: A review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 231: 123353.

[19] SEDOVA P, BUFFA R, KETTOU S, *et al*. Preparation of hyaluronan polyaldehyde- A precursor of biopolymer conjugates[J]. Carbohydrate Research, 2013, 371: 8-15.

[20] ZHENG W S, ZHANG Z, LI Y Y, *et al*. A novel pullulan oxidation approach to preparing a shape memory sponge with rapid reaction capability for massive hemorrhage[J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 447: 137482.

[21] XU N X, YANG H, WEI R, *et al.* Fabrication of Konjac glucomannan-based composite hydrogel crosslinked by calcium hydroxide for promising lacrimal plugging purpose[J]. International Journal Biological Macromolecules, 2019, 127: 440-449.

[22] CHEN X (陈欣), CAO B (曹波), WEN H Y (温惠云), *et al*. Drug release properties of GMA-grafted sodium alginate photo-crosslinking with metal coordination interpenetrating network gel[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2023, 40(7): 1454-1463.

[23] CONSTANTIN M, SPIRIDON M, ICHIM D L, *et al*. Synthesis, biological and catalytic activity of silver nanoparticles generated and covered by oxidized pullulan[J]. Materials Chemistry and Physics, 2023, 295: 127141.

[24] MA L, TAN Y F, CHEN X Y, *et al*. Injectable oxidized alginate/carboxylmethyl chitosan hydrogels functionalized with nanoparticles for wound repair[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 293: 119733.

[25] SUN M (孙萌), SUN H (孙惠), JIANG S (姜硕), *et al*. Research and application progress on polysaccharides-based thermosensitive injectable hydrogels[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2024, 41(8): 1679-1692.

[26] CHEN X Q (陈小菁), QIU X L (丘晓琳), FAN X Y (范晓月), *et al*. Preparation and properties of temperature-sensitive phase change hydrogels based on quadruple hydrogen bond self-healing[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2023, 40(8): 1688-1696.

[27] HE T B (何天白), HU H J (胡汉杰). Functional polymers and new technology[M]. Beijing: Chemical Industry Press (化学工业出版社), 2007.

[28] LIU C K, LIU C, LIU Z Y, *et al*. Injectable thermogelling bioadhesive chitosan-based hydrogels for efficient hemostasis[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 224: 1091-1100.

（上接第 297 页）

[62] HUANG Y Y, WANG Y Q, TANG C, *et al*. Atomic modulation and structure design of carbons for bifunctional electrocatalysis in metal-air batteries[J]. Adv Mater, 2019, 31(13): 1803800.

[63] TANG C, ZHANG Q. Nanocarbon for oxygen reduction electrocatalysis: Dopants, edges, and defects[J]. Adv Mater, 2017, 29(13): 1604103.

[64] HAN X P, ZHANG W, MA X Y, *et al*. Identifying the activation of bimetallic sites in $NiCO_2S_4$@g-C_3N_4-CNT hybrid electrocatalysts for synergistic oxygen reduction and evolution[J]. Adv Mater, 2019, 31(18): e1808281.

[65] LIU Q, FAN J, MIN Y L, *et al*. B, N-codoped graphene nanoribbons supported Pd nanoparticles for ethanol electrooxidation enhancemen[J]. Journal of Materials Chemistry A, 2016, 4(13): 4929-4933.

[66] KANG Y M, WANG W, LI J M, *et al*. Ultrathin B, N co-doped porous carbon nanosheets derived from intumescent flame retardant for rechargeable Zn-air battery[J]. Journal of Power Sources, 2021, 493: 229665.

[67] MUTHURASU A, PATHAK I, ACHARYA D, *et al*. Cutting-edge nitrogen, boron, and fluorine triply doped chain-like porous carbon nanofibers: A versatile solution for high-performance zinc-air batteries and self-powered water splitting[J]. Journal of Materials Chemistry A, 2024, 12(3): 1826-1839.

[68] ZHU X F, HU C G, AMAL R, *et al*. Heteroatom-doped carbon catalysts for zinc-air batteries: Progress, mechanism, and opportunities [J]. Energy & Environmental Science, 2020, 13(12): 4536-4563.