

CS/ β -GP/PDA 温敏水凝胶的喷涂与应用的初步探索

刘佳桂

上海交通大学医学院 上海市 210000

【摘要】本实验通过制备 CS/ β -GP/PDA 复合型温敏水凝胶, 调配各组分间比例, 并以喷涂的形式, 探究该温敏水凝胶的粘附性和成胶效果, 以及在不同液体中的降解性。最终可知, 当 CS 原液与 β -GP 原液体积比 2: 1 时, 凝胶效果最佳, 且在其中加入 PDA 时, PDA 占比越高, 凝胶时间越短。此外, 相比于蒸馏水, PBS 溶液对 CS/ β -GP/PDA 温敏水凝胶的降解性更强。

【关键词】温敏水凝胶; 喷涂; 降解性

一、研究背景

1.1 促伤口愈合水凝胶敷料

为保证术后伤口处理安全化, 伤口愈合这一预后处理措施, 需要被高度重视。水凝胶作为一种新兴的促进伤口愈合的湿性敷料, 因其良好的亲水性、生物相容性和三维多孔结构引起了研究者越来越多的研究。随着研究的深入, 水凝胶的功能也从单一的物理覆盖发展为如今的多功能集合。其中, 环境刺激响应型水凝胶能够对外界环境的变化会做出不同的响应, 它们在伤口敷料水凝胶领域具有良好的应用前景[1]。

1.2 壳聚糖基温敏水凝胶

在环境刺激响应型水凝胶中, 温敏水凝胶的研究应用最为广泛。作为一种生物安全的天然温敏凝胶材料, 壳聚糖水凝胶由于其在低温时呈现溶胶状态, 而高温时会呈现凝胶状态, 将其溶胶-凝胶转变温度调整为在人体体温 37℃左右, 即可实现可注射在体原位成胶[2]。应用较为广泛的一种温敏水凝胶为 CS/ β -GP 凝胶。

在术后创口修复的应用中, 为了进一步增强 CS/ β -GP 凝胶与生物组织的粘附性, 研究者尝试在体系中引入聚多巴胺 (PDA)。PDA 中的邻苯二酚基团很容易被氧化成邻苯二醌, 醌基结构具有很强的反应活性, 可以参与多种化学反应。另一方面, β -GP 具有一定的细胞毒性—— β -GP 溶液对细胞活力的影响呈剂量和孵育时间依赖性[3]。而低毒性的 PDA 的加入可以填补 β -GP 浓度限制所带来的不足。因此, PDA 的引入, 可使水凝胶敷料具有更好的紧贴组织表面, 更好的发挥包被伤口的作用。

1.3 可喷涂温敏水凝胶

温敏水凝胶常通过原位注射的方式涂敷于伤口处, 在体原位成胶, 保护伤口。但面对大面积的伤口、腔道内或形貌复杂的伤口等, 原位注射方案还存在作用面积小、涂抹不均匀、操作时间长等局限性。此时需要把温敏水凝胶通过导流管, 在一定的气压下, 推注于伤口处进行均匀喷涂, 使得伤口表面形成一层凝胶, 作为物理屏障, 防止细菌和病毒感染[4], 与此同时, 高效地将装载的治疗药物输送到表面[5]。现阶段, 温敏水凝胶喷涂技术在癌症治疗、伤口修复、感染预防等临床领域具有广阔的发展前景。

二、实验过程

2.1 仪器与试剂

仪器: GL1241-1SCN 电子天平购自 sartorius 科学仪器有限公司、C-MAG HS 4 S025 磁力搅拌加热器购自 IKA 仪器设备有限公司、

DHG-9123A 鼓风干燥箱购自上海一恒科学仪器有限公司、LSP01-1A 微量注射泵购自保定兰格恒流泵 (LongerPump) 公司。

试剂: 壳聚糖 (分子量 50, 000-190, 000 Da) 购自美国 Sigma 试剂公司、五水 β -甘油磷酸钠 (相对分子量 306.12) 购自 Alfa Aesar (中国) 化学有限公司、多巴胺 (相对分子量 153.181) 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

2.2 CS 母液与 β -GP 溶液的制备

称取 0.9998 g 壳聚糖 (CS) 粉末溶于 50 mL 0.1 mol/L 的 HCl 溶液, 配制成 2% (m/v) 的 CS 母液。称取 5.0036 g β -GP, 溶于 10 mL 0.4 mol/L 的 NaHCO₃ 溶液, 配制成 50% (m/v) 的 β -GP 溶液。将上述所有溶液置于 0-4℃ 环境下保存。

2.3 控制 CS 与 β -GP 体积比为变量的对照实验

通过差量法量取 4 份 2.0 mL CS 母液, 转移于螺口瓶中, 向其中分别在搅拌下滴加 0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL 的 β -GP 溶液, 分别配置为 CS/ β -GP 体积比为 2: 0.4、2: 0.6、2: 0.8 和 2: 1 的 CS/ β -GP 凝胶母液。溶解后, 选取 CS 与 β -GP 体积配比 2: 0.8 和 2: 1 的两份, 分别用注射器吸取 1.0 mL 并使得针管朝上。将上述凝胶母液转移至 37℃ 恒温箱内, 每隔 1min 观察各母液的成胶状态。若母液由透明色变为乳白色, 且螺口瓶倒置时母液不流动, 则判定为成胶。最终选出最佳的 CS 与 β -GP 的体积配比。

2.4 PDA 溶液的制备

称取 0.2011 g 氢氧化钠, 用 50mL 蒸馏水溶解, 后取 1 mL 该溶液稀释至 100 mL。称取 0.0498 g 多巴胺 (DA), 加入上述稀释后的氢氧化钠溶液, 搅拌过夜。次日, 停止搅拌, 静置 10min, 随后抽滤, 除去其中的不溶物, 即可得到最终用于实验的聚多巴胺 (PDA) 溶液。

2.5 控制 CS/ β -GP 原液和 PDA 溶液的体积比为变量的对照实验

取 CS 原液 10.0 mL, 冰水浴环境下向其中边搅拌边用推进器缓慢加入 β -GP 原液 5.0 mL, 得到溶液, 随后分成五份等量 3.0 mL, 前四份各加入 1.5 mL、1.0 mL、0.75 mL 和 0.5 mL 的 PDA 溶液, 即控制 CS/ β -GP 母液和 PDA 溶液的体积比为 2: 1、3: 1、4: 1 和 6: 1, 除 2: 1 以外, 剩余四份用蒸馏水稀释到 4.5 mL。随后, 立即全部倒入至喷雾分装瓶中, 并通过喷雾瓶喷洒到五个表面皿里的塑料环中, 之后放入 37℃ 恒温箱。五组表面皿每隔 30 s 开箱进行观察, 并进行倒置, 若表面皿或倒置时母液不流动, 则判定为成胶, 并同时记录每一份的成胶时间。该实验实际

重复操作两次。

2.6 CS/ β -GP/PDA 凝胶在蒸馏水和 PBS 溶液中降解性的对照实验

取 CS 原液 2.0 mL, 冰水浴环境下向其中边搅拌边用推进器缓慢加入 β -GP 原液 1.0 mL, 得到溶液, 随后加入 3.0 mL 的 PDA 溶液, 即控制 CS/ β -GP 母液和 PDA 溶液的体积比为 1:1。随后, 移取两次 1.0mL 的混合液, 分别装入两个空的干净的螺口瓶中, 待其成胶后, 用镊子从其中夹取这两块凝胶, 分别放入装有等体积的蒸馏水以及 PBS 溶液的螺口瓶中过夜, 次日观察两个螺口瓶中的凝胶的形状。

三、实验结果

3.1 CS/ β -GP 最佳体积比

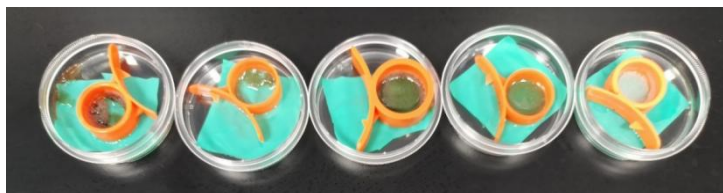


图 1 控制 CS/ β -GP 母液和 PDA 溶液的体积比为变量, 5 份母液最终成胶情况 (从左向右依次为 CS/ β -GP 母液和 PDA 溶液的体积比 2:1、3:1、4:1 和 6:1、以及二分之三倍稀释的 CS/ β -GP 母液)

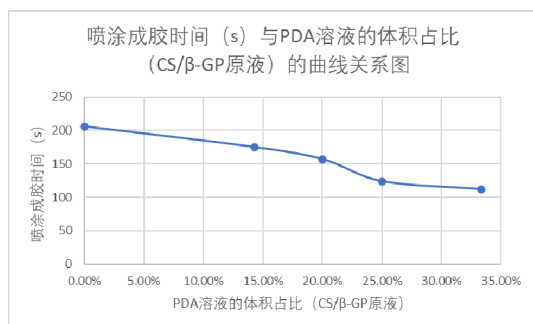


图 2 喷涂成胶时间 (s) 与 PDA 溶液的体积占比 (CS/ β -GP 原液) 的曲线关系图

3.3 凝胶的降解性

放在蒸馏水中的 CS/ β -GP 母液和 PDA 溶液的体积比为 1:1 的凝胶最终溶胀, 而放在 PBS 溶液中的同等凝胶最终碎裂 (图 3)。可见 PBS 溶液对凝胶降解性更佳。



图 3 CS/ β -GP 母液和 PDA 溶液的体积比为 1:1 的凝胶放在蒸馏水和 PBS 溶液的初始状况 (左) 和过夜后 (右) 的状况

四、总结与展望

CS/ β -GP/PDA 温敏水凝胶可具有更深层次的改进和应用。

就改进层面而言, 该水凝胶在喷涂时仍呈现相对粘稠的液滴状, 而非气雾状态, 为了增大其表面张力, 使得喷涂时能够雾化喷出, 以实现对

在控制 CS 与 β -GP 体积比的对照实验中, 当 CS 与 β -GP 体积比 2:0.4、2:0.6、2:0.8、2:1 时, 溶解后缓慢成胶, 且成胶时间与 β -GP 的体积占比呈正相关。将两段注射器的凝胶放在手上, 通过倒置对其粘附性测试可感知出, 体积比 2:1 的粘附性更强。

综上, 选用最佳 CS 与 β -GP 溶液体积比为 2:1。

3.2 PDA 的加入对成胶时间的影响

在第二次控制 CS/ β -GP 母液和 PDA 溶液的体积比为变量的对照实验中, 体积比 2:1、3:1、4:1 和 6:1、以及二分之三倍稀释的 CS/ β -GP 母液成胶时间为 112s、124s、157s、175s、206s (图 1-2), 验证了随着 PDA 溶液体积占比增大, 成胶时间越来越短的正常趋势。

伤口的更大表面积覆盖, 可以向凝胶体系中加入少许表面活性剂, 如乙醇。

就应用层面而言, 取两块结石, 分别放在装有同等体积的甲基叔丁基醚的螺口瓶中, 不同的是其中一块结石表面被凝胶所包被, 最终结果是被凝胶包被的结石完好无损, 裸露的结石溶解 (图 4), 表明了凝胶对甲基叔丁基醚渗透性也不理想。

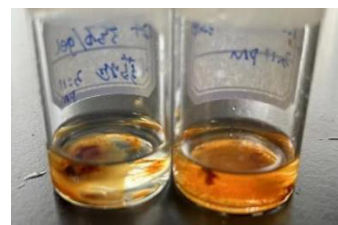


图 4 两块结石在甲基叔丁基醚中的状况 (左侧包被了凝胶)

总而言之, 欲探求喷涂性 CS/ β -GP/PDA 温敏水凝胶的实际应用, 需要进行更多深入的探索性实验, 例如, 可以模拟临床手术中处理脏器内壁伤口的情形, 将凝胶喷涂于球形内壁上, 观察其成胶速度、稳定性等性质, 并通过控制其中若干变量对凝胶的组成进行调整。

参考文献:

- [1]Huajuan Zhou, Guozhao Dong. Hydrogel-Based Stimuli-Responsive Micromotors for Biomedicine. Cyborg Bionic Syst. 2022 Oct 7; 2022: 9852853.
- [2]Sijia Ge, Jijia Li, Jian Geng. Adjustable dual temperature-sensitive hydrogel based on a self-assembly cross-linking strategy with highly stretchable and healable properties. Mater Horiz. 2021 Apr 1; 8 (4): 1189-1198.
- [3]Wu J, Su ZG, Ma GH. A thermo- and pH-sensitive hydrogel composed of quaternized chitosan/glycerophosphate. Int J Pharm 2006; 315: 1-11.
- [4]Radhakrishnan, A.; Kuppasamy, G.; Karri, V.V.S.R. Spray Bandage Strategy in Topical Drug Delivery. J. Drug Deliv. Sci. Technol. 2018, 43, 113-121.
- [5]Umar, A.K.; Butarbutar, M.; Sriwidodo, S.; Wathoni, N. Film-Forming Sprays for Topical Drug Delivery. Drug Des. Devel. Ther. 2020, 14, 2909-2925.

作者简介: 刘佳桂, 2001 年 6 月, 男, 汉, 江苏省徐州市邳州市, 上海交通大学医学院, 本科学历, 研究方向为药学、临床用材料研究。