

基于席夫碱反应的氧化葡聚糖/胺化羧甲基壳聚糖双组分水凝胶粘合剂

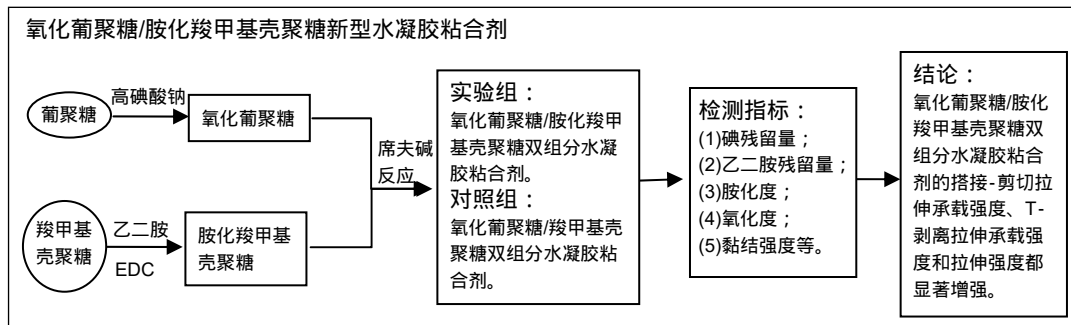
· 研究原著 ·

李丹丹, 莫秀梅(东华大学化学化工与生物工程学院, 上海市 201620)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0846

ORCID: 0000-0002-0741-4287(李丹丹)

文章快速阅读:



文题释义:

席夫碱反应: 是一级胺类化合物与醛、酮类化合物发生的亲核加成反应, 其中胺类化合物中的氮原子带有孤对电子为亲核试剂, 通过攻击羰基基团上的碳原子, 形成 α -羟胺类化合物, 完成亲核加成反应; 随后 α -羟胺类化合物发生脱水形成 Schiff base。醛基与胺基的席夫碱反应温和, 可在室温条件进行, 通过席夫碱反应形成的亚胺或甲亚胺基团可将不同组分交联, 形成具有互穿网络结构的水凝胶, 并因条件温和, 而具有良好的应用基础。

摘要

背景: 基于席夫碱反应的双交联水凝胶粘合剂, 具有一定的网络结构和更好的生物相容性, 黏结强度也更高, 在组织工程和临床医学中具有很好的应用前景。

目的: 通过席夫碱反应制备氧化葡聚糖/胺化羧甲基壳聚糖双组分水凝胶粘合剂, 并进行表征。

方法: 利用高碘酸钠对葡聚糖进行氧化处理, 利用乙二胺对羧甲基壳聚糖进行胺化处理; 在室温条件下, 通过席夫碱反应制备氧化葡聚糖/胺化羧甲基壳聚糖水凝胶粘合剂。利用红外吸收光谱表征氧化葡聚糖和胺化羧甲基壳聚糖的结构, 利用分光光度计测定氧化葡聚糖碘残留量, 利用气相色谱法测定胺化羧甲基壳聚糖乙二胺残留量。根据行业标准, 利用万能试验机检测氧化葡聚糖/羧甲基壳聚糖与氧化葡聚糖/胺化羧甲基壳聚糖水凝胶粘合剂的搭接-剪切拉伸承载强度、T-剥离拉伸承载强度、拉伸强度。

结果与结论: 红外光谱显示, 与葡聚糖相比, 氧化葡聚糖的峰强度下降, 同时在 1733 cm^{-1} 处出现一个新的吸收峰, 对应于半缩醛结构; 羧甲基壳聚糖本身具有胺基, 在 3358 cm^{-1} 处宽峰对应于胺基与羟基的伸缩振动, 胺化羧甲基壳聚糖在 3358 cm^{-1} 吸收峰大幅度增强; 氧化葡聚糖的氧化度为 73.42%, 碘残留量为 $138.58\text{ }\mu\text{g/g}$; 胺化羧甲基壳聚糖胺基含量为 0.6369 mmol/L , 无乙二胺残留; 氧化葡聚糖/胺化羧甲基壳聚糖水凝胶粘合剂的搭接-剪切拉伸承载强度、T-剥离拉伸承载强度和拉伸强度较氧化葡聚糖/羧甲基壳聚糖水凝胶粘合剂分别增大 47.48%、17.54% 和 76.42%, 增幅明显; 结果表明, 氧化葡聚糖/胺化羧甲基壳聚糖水凝胶粘合剂具有较高的搭接-剪切拉伸承载强度、T-剥离拉伸承载强度和拉伸强度。

关键词:

生物材料; 席夫碱; 葡聚糖; 羧甲基壳聚糖; 黏结强度; 水凝胶

主题词:

葡聚糖类; 壳聚糖; 水凝胶; 组织工程

Oxidized dextran/aminated carboxymethyl chitosan two-component hydrogel adhesive based on Schiff base reaction

Li Dan-dan, Mo Xiu-mei (School of Chemical Engineering and Bioengineering, Donghua University, Shanghai 201620, China)

Abstract

BACKGROUND: Dual-crosslinked hydrogel adhesives based on Schiff base reaction have certain network structure, good biocompatibility and high bond strength, which have good application prospects in tissue engineering and clinical medicine.

OBJECTIVE: To prepare and characterize oxidized dextran/aminated carboxymethyl chitosan two-component hydrogel adhesives through a Schiff base reaction.

METHODS: Dextran was oxidized with sodium periodate and carboxymethyl chitosan was aminated with ethylenediamine. Oxidized dextran/aminated carboxymethyl chitosan hydrogel adhesives were prepared by Schiff

李丹丹, 女, 1995年生, 湖南省常德市人, 汉族, 东华大学在读硕士, 主要从事生物材料与组织工程方面的研究。

通讯作者: 莫秀梅, 博士, 博士生导师, 教授, 东华大学生物所生物材料与组织工程课题组, 上海市 201620

中图分类号: R318

文献标识码: A

稿件接受: 2018-01-24



Li Dan-dan, Master candidate, School of Chemical Engineering and Bioengineering, Donghua University, Shanghai 201620, China

Corresponding author: Mo Xiu-mei, M.D., Doctoral supervisor, Professor, School of Chemical Engineering and Bioengineering, Donghua University, Shanghai 201620, China

base reaction at room temperature. The structures of oxidized dextran and aminated carboxymethyl chitosan were characterized by infrared absorption spectroscopy. The iodine residue of oxidized dextran was measured by spectrophotometer, and the ethylenediamine residue of aminated carboxymethyl chitosan was determined by gas chromatography. The lap-shear tensile load strength, T-peel tensile load strength and tensile strength of oxidized dextran/carboxymethyl chitosan and oxidized dextran/aminated carboxymethyl chitosan hydrogel adhesives were tested using a universal testing machine according to industry standards.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) IR spectra showed that the peak intensity of oxidized dextran decreased compared with that of dextran, with a new absorption peak appearing at $1\ 733\ \text{cm}^{-1}$, corresponding to the hemiacetal structure. The carboxymethyl chitosan itself had broad peak at $3\ 358\ \text{cm}^{-1}$, corresponding to the stretching vibration of the amine and hydroxyl groups, and the absorption peak at $3\ 358\ \text{cm}^{-1}$ of aminated carboxymethyl chitosan increased significantly. (2) The oxidation degree of dextran was 73.42%, and the iodine residue was $138.58\ \mu\text{g/g}$. The amino group content of aminated carboxymethyl chitosan was $0.636\ 9\ \text{mmol/L}$ and no ethylenediamine resided. (3) The lap-shear tensile load strength, T-peel tensile load strength and tensile strength of oxidized dextran/aminated carboxymethyl chitosan hydrogel adhesives increased by 47.48%, 17.54% and 76.42%, respectively, with a significant increase compared with oxidized dextran/carboxymethyl chitosan hydrogel adhesives. These results show that the oxidized dextran/aminated carboxymethyl chitosan hydrogel adhesive has higher lap-shear tensile load strength, T-peel tensile load strength and tensile strength.

Subject headings: Glucans; Chitosan; Hydrogel; Tissue Engineering

0 引言 Introduction

医用粘合剂作为一种医学用材料^[1-2], 广泛应用于牙科^[3-4]、骨科粘合^[5]、组织粘合等方面^[6], 表现出允许原位聚合引起组织对组织或非组织表面黏附的特征^[7]。目前, FDA批准的粘合剂有2-氰基丙烯酸丁酯、2-氰基丙烯酸辛酯等^[8]。水凝胶粘合剂具有优异的生物相容性和组织弹性, 是理想的粘合剂材料, 但是其力学性能和可降解性是其面临的技术难题^[9]。

1864年, Hugo Schiff首次提出了席夫碱反应, 其反应机制是由一级胺类化合物与含羰基的醛、酮类化合物发生亲核加成反应。由于反应温和, 可在室温下进行而具有良好的应用基础, 并已被应用于原位注射水凝胶的制备^[10-12]。通过席夫碱反应产生的交联结构水凝胶粘合剂, 具有一定网络结构, 孔隙率和水含量有一定的提升, 其生物相容性更高, 更易与组织结合, 水凝胶的粘合强度也更高, 在组织工程中具有很好的应用前景^[13-14]。基于席夫碱反应的水凝胶包含胶原基粘合剂、明胶基粘合剂、壳聚糖基粘合剂、海藻酸盐、硫酸软骨素等^[15-18]。

葡聚糖具有良好的生物相容性和可降解性, 被广泛应用于生物医学等领域^[19]。葡聚糖分子链上有大量羟基, 为化学改性提供了位点^[20-22]。葡聚糖水凝胶粘合剂表现出良好的粘结性能和促进细胞分化能力^[23]。羧甲基壳聚糖作为壳聚糖衍生物具有良好的生物相容性和溶解性^[24-26], 羧甲基壳聚糖力学性能较差, 但是其互穿网络结构的力学性能明显增强^[27-29]。实验通过席夫碱反应制备了氧化葡聚糖/胺化羧甲基壳聚糖双组分水凝胶, 并对其各组分进行表征, 研究了未胺化与胺化羧甲基壳聚糖对水凝胶黏结强度的影响。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 观察性实验。

1.2 时间及地点 实验于2017年3至9月在东华大学化学化工与生物工程学院生物研究所完成。

1.3 材料 葡聚糖($M_w=100\ 000$ 、高碘酸钠(NaIO_4)、 β -氨基丙酸、乙二胺、三硝基苯磺酸钠(Sigma-Aldrich); 乙二醇(梯希爱(上海)化成工业发展有限公司); 盐酸羟胺(百灵威化学有限公司); 溴酚蓝、浓盐酸、碘化钾、碘酸钾(国药集团); 透析袋(上海经科宏达科技公司); 羧甲基壳聚糖(羧化

度 80%)(上海邦成化工有限公司); 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸盐(EDC·HCl, 吉尔生化(上海)有限公司); 正癸醇(上海邦成化工有限公司); 恒温磁力搅拌器(金坛市科析仪器有限公司); 超低温冷冻干燥机(ALPHI, 德国Chrit公司); 傅里叶变换红外光谱仪(NEXUS-670, 美国Nicolet公司); 紫外-可见光光度计(Lambda950, 美国Perkin Elmer); 酶标仪(Model 550, Bio-Rad公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 氧化葡聚糖的制备 称取葡聚糖10 g, 溶于100 mL去离子水中。按照葡聚糖单元:高碘酸钠摩尔比为1:1.5配制100 g/L高碘酸钠水溶液, 缓慢滴入葡聚糖中。在25℃下避光反应5 h后, 滴加2 mL乙二醇停止反应。利用阻隔相对分子质量为3 500的透析袋进行三四天的透析, 溶液放置于超低温冷冻箱中冷冻24 h, 可得白色产物。

1.4.2 胺化羧甲基壳聚糖的制备 称取5 g羧甲基壳聚糖, 溶解于200 mL磷酸盐溶液中(pH=5.0, 100 mL), 37℃下加热搅拌完全溶解后, 按[ED]/[COOH]=40的比例加入30.44 mL的乙二醇溶液, 调节pH为5.0-6.0。然后加入EDC 4.60 g, 在37℃的恒温箱中反应6 h。利用阻隔相对分子质量为3 500的透析袋进行三四天的透析, 溶液放置于超低温冷冻箱中冷冻24 h, 可得淡黄色产物。

1.4.3 水凝胶粘合剂的制备 氧化葡聚糖/胺化羧甲基壳聚糖双组分水凝胶粘合剂的制备: 将氧化葡聚糖按100 g/L配成溶液; 称取一定量的胺化羧甲基壳聚糖, 配成50 g/L溶液; 将0.5 mL氧化葡聚糖溶液与0.5 mL胺化羧甲基壳聚糖溶液加入24孔细胞培养板中, 通过小转子在1 r/s速度下停止的时间来记录成胶时间。氧化葡聚糖/羧甲基壳聚糖双组分水凝胶粘合剂的制备方法与此相同。

1.5 主要观察指标

1.5.1 红外吸收光谱 利用红外吸收光谱分析对比改性前后的葡聚糖和羧甲基壳聚糖及凝胶产物的结构。

1.5.2 氧化葡聚糖的氧化度测定 盐酸羟胺可与醛基发生特异性反应, 氧化葡聚糖的氧化度采用盐酸羟胺滴定法进行测定^[30-31]。称取15 g盐酸羟胺, 室温下搅拌溶解于30 mL去离子水中, 随后加入40 mL无水乙醇和100 mL 4.2%的氢氧化钠乙醇溶液, 并加入5 mL 0.45%溴酚蓝溶液, 搅拌均匀。取上述盐酸羟胺溶液和无水乙醇各5 mL,

混合均匀,用分析天平精确称取0.100 0 g待测氧化葡聚糖,加入混合溶液中并搅拌均匀。将0.1 mol/L盐酸溶液缓慢滴入溶液中,待溶液变为黄绿色时记录滴加体积,并将滴定结果用空白实验校正。根据式1计算氧化度:

$$\text{氧化度} = \frac{198 \times N \times (V_2 - V_1)}{W} \times \frac{1}{2} \times 100\% \quad (\text{式 1})$$

其中N为盐酸的浓度(mol/L),W为氧化葡聚糖样品的质量, V_1 为空白实验组盐酸消耗体积(L), V_2 为样品实验组盐酸消耗体积(L)。

1.5.3 氧化葡聚糖碘残留量测定 IO^3 和 IO^4 是氧化葡聚糖中碘元素的主要残留存在形式,其中 IO^4 与I⁻反应生成 IO^3 , IO^3 会被进一步氧化从而析出碘单质。含碘单质的溶液在一定波长下的吸光度与其浓度呈正比,因此可通过测定已知浓度碘溶液的吸光度来绘制标准曲线,测定碘残留量^[32-33]。

1.5.4 胺化羧甲基壳聚糖胺化度测定 采用TNBS法进行测定^[34]。三硝基苯磺酸钠(TNBS)能够将胺化羧甲基壳聚糖中的胺基进行取代,所得产物在415 nm下具有特殊吸收峰,利用酶标仪可以进行快速测定,从而进行胺基含量的定量分析。

1.5.5 胺化羧甲基壳聚糖乙二醇胺残留量测定 采用气相色谱内标法进行测定。内标法受色谱条件影响比较少,定量准确,可适当减少误差,实验采用正癸醇作为内标物^[35-36]。

1.5.6 水凝胶粘合剂的黏结强度测定 按照中国相关行业标准进行测定,实验原料均为新鲜猪腹部两侧的猪皮,通过万能试验机进行测试。

按照YY/T 0729.1-2009标准进行搭接-剪切拉伸承载强度测试^[37]:猪皮试样长3 cm、宽2.5 cm、厚5 mm,分别取100 g/L氧化葡聚糖和50 g/L胺化羧甲基壳聚糖溶液,均匀涂覆在1 cm×2.5 cm面积大小的猪皮试样表面,其粘贴方式如图1a所示,用50 g砝码按压10 min后,将夹具放于试验机夹头处,调整夹具与夹头之间的受力,使得猪皮试样的受力方向沿着夹头的长轴方向,夹具夹头以200 mm/min的速度进行实验,直至试样被破坏,强度单位为MPa。

按照YY/T 0729.2-2009标准进行剥离拉伸承载强度测试^[38]:猪皮试样长15 cm、宽2.5 cm、厚5 mm,分别取100 g/L氧化葡聚糖和50 g/L胺化羧甲基壳聚糖溶液,均匀涂覆在12.5 cm×2.5 cm面积大小的猪皮试样表面,其粘贴方式如图1b所示,用50 g砝码按压10 min后,将猪皮试样放于试验机夹头处,其受力方向如图1b箭头所示,夹具夹头以100 000 mm/min的速度进行实验,直至试样被破坏,强度单位为N/cm。

按照YY/T 0729.3-2009标准进行拉伸强度测试^[39]:猪皮试样长宽均为2.5 cm、厚5 mm,分别取100 g/L氧化葡聚糖和50 g/L胺化羧甲基壳聚糖溶液,均匀涂覆猪皮试样表面,其粘贴方式如图1c所示,用50 g砝码按压10 min后,将夹具放于试验机夹头处,调整夹具与夹头之间的受力,使得猪皮试样的受力方向与其表面垂直,夹具夹头以100 000 mm/min的速度进行实验,直至试样被破坏,强度

单位为MPa。

按照YY/T 0729.4-2009标准进行伤口闭合强度测试^[40]:猪皮试样长为10 cm、宽为2.5 cm、厚5 mm,分别取100 g/L氧化葡聚糖和50 g/L胺化羧甲基壳聚糖溶液均匀涂覆在0.5 cm×2.5 cm的猪皮试样断面上,其粘贴方式如图1d所示,保持10 min使其充分粘合,将夹具放于试验机夹头处,调整夹具与夹头之间的受力,使得猪皮试样的受力方向沿着夹头的长轴方向,夹具夹头以10 mm/min的速度进行实验,直至试样被破坏,强度单位为N。

1.6 统计学分析 各组实验进行3次,强度测试进行5次,采用Origin 8.0 和Excel 2013进行数据和图表的处理。

2 结果 Results

2.1 氧化葡聚糖

2.1.1 葡聚糖和氧化葡聚糖的傅里叶红外光谱分析 如图2所示,其中3 800-3 000 cm^{-1} 的宽峰为-OH的伸缩振动,与葡聚糖相比,氧化葡聚糖的峰强度下降,同时在1 733 cm^{-1} 处出现一个新的吸收峰,对应于半缩醛结构。这是由于葡聚糖的羟基氧化形成的醛基与葡聚糖分子结构上的羟基互相影响,从而形成了半缩醛。

2.1.2 氧化葡聚糖氧化度分析 氧化葡聚糖实际氧化度的平均值为73.42%(表1),反应了 NaIO_4 对于葡聚糖的氧化是比较有效的,氧化效率达到70%以上。

表1 葡聚糖氧化度测量

Table 1 Oxidation degree of dextran

编号	n(NaIO_4)/n(Dextran unit)	理论氧化度(%)	实测氧化度(%)
1	1.5	100	77.7
2	1.5	100	71.8
3	1.5	100	70.8

2.1.3 氧化葡聚糖碘残留量分析 在234 nm波长下,去离子水中碘含量与其吸光度的标准曲线如图3所示,标准曲线方程为 $y=0.281\ 79+0.024\ 51x$, $R^2=0.978\ 9$ 。相同波长下氧化葡聚糖的吸光度平均值为3.115,计算后得到1 g氧化葡聚糖中碘残留量平均值为138.58 μg 。碘残留是由于 IO^3 和 IO^4 作为阴离子容易嵌入葡聚糖结构中,从而难以通过透析完全除去。

2.2 胺化羧甲基壳聚糖

2.2.1 胺化羧甲基壳聚糖胺化度分析 羧甲基壳聚糖本身具有胺基,在图4中3 358 cm^{-1} 处的宽峰对应于胺基与羟基的伸缩振动。实验利用乙二胺在EDC的作用下,对羧甲基壳聚糖上的羧基基团进行胺基化改性,从而增加羧甲基壳聚糖的胺基含量。从图4可看到,胺化羧甲基壳聚糖在3 358 cm^{-1} 吸收峰大幅度增强,说明了胺基化后羧甲基壳聚糖胺基-NH₂与羟基-OH的伸缩振动频率增加,证明了胺基化后羧甲基壳聚糖的胺基含量确实在进一步增加。

β -胺基丙酸溶液的胺基含量标准曲线如图5所示,拟合方程为 $y=0.063+0.174x$, $R^2=0.997\ 9$ 。在415 nm波长下对胺化羧甲基壳聚糖和未胺化羧甲基壳聚糖进行同样测试,其吸光度平均值分别为0.174和0.137,通过标准曲线标定

表 2 羧甲基壳聚糖改性或未改性与氧化葡聚糖的交联时间

(s)

Table 2 Cross-linking time of modified or unmodified carboxymethyl chitosan with oxidized dextran

组别	组号 1	组号 2	组号 3	组号 4	组号 5	平均值
胺化羧甲基壳聚糖/氧化葡聚糖水凝胶粘合剂	6.32	5.48	7.01	8.42	7.28	6.90
羧甲基壳聚糖/氧化葡聚糖水凝胶粘合剂	13.78	13.34	13.84	12.88	13.91	13.55

表 3 氧化葡聚糖/羧甲基壳聚糖与氧化葡聚糖/胺化羧甲基壳聚糖水凝胶粘合剂的黏结强度测试数据

Table 3 Bond strength test data of oxidized dextran/carboxymethyl chitosan and oxidized dextran/aminated carboxymethyl chitosan hydrogel adhesives

水凝胶编号	搭接-剪切拉伸承载强度(MPa)		T-剥离拉伸承载强度(N/cm)		拉伸强度(MPa)		伤口闭合强度(N)	
	胺+氧葡	羧+氧葡	胺+氧葡	羧+氧葡	胺+氧葡	羧+氧葡	胺+氧葡	羧+氧葡
1	0.019 70	0.014 83	0.118 0	0.111 6	0.083 18	0.041 24	0.309	0.507
2	0.027 13	0.011 88	0.126 4	0.129 6	0.076 60	0.044 99	0.399	0.394
3	0.021 27	0.012 07	0.098 0	0.108 4	0.078 09	0.043 83	0.354	0.379
4	0.025 25	0.018 24	0.143 2	0.100 0	0.081 00	0.051 87	0.411	0.395
5	0.020 97	0.020 50	0.150 8	0.092	0.078 09	0.043 06	0.309	0.625
平均值	0.022 9	0.015 5	0.127 3	0.108 3	0.079 4	0.045 0	0.356 4	0.460 0
偏差	0.002 8	0.003 4	0.018 7	0.012 6	0.002 4	0.003 6	0.043 1	0.094 4

表注：胺+氧葡代表胺化羧甲基壳聚糖/氧化葡聚糖水凝胶粘合剂；羧+氧葡代表羧甲基壳聚糖/氧化葡聚糖水凝胶粘合剂。

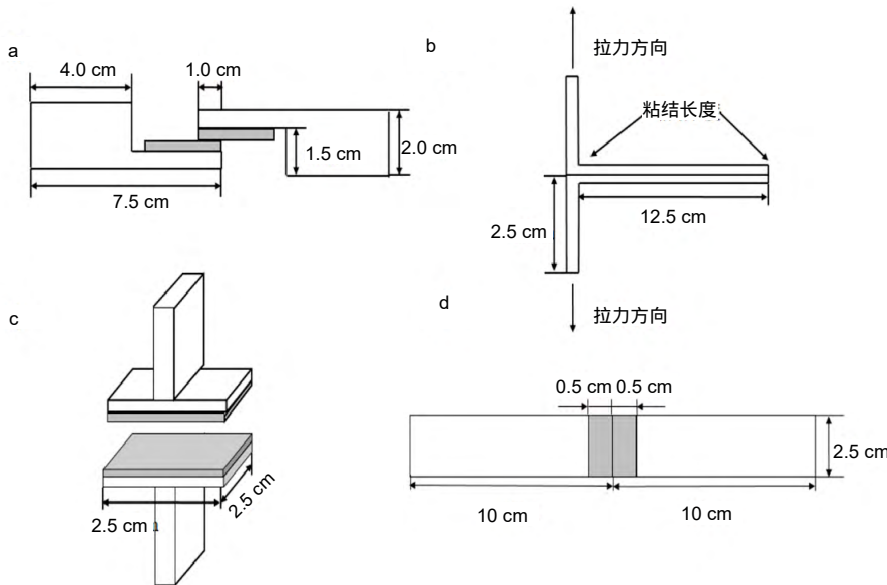


图 1 黏结强度测试示意图

Figure 1 Schematic diagram of bond strength test

图注：图中 a 为搭接-剪切拉伸承载强度测试侧视示意图；b 为剥离拉伸承载强度测试示意图；c 为拉伸强度测试示意图；d 为伤口闭合强度测试俯视图。

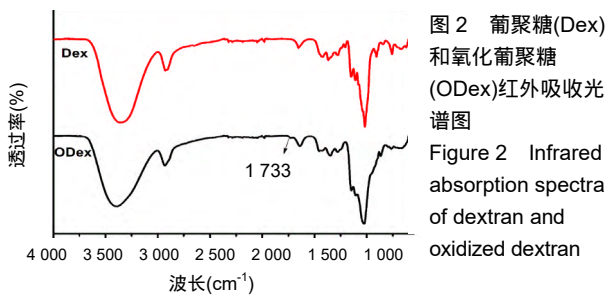


图 2 葡聚糖(Dex)和氧化葡聚糖(ODex)红外吸收光谱图
Figure 2 Infrared absorption spectra of dextran and oxidized dextran

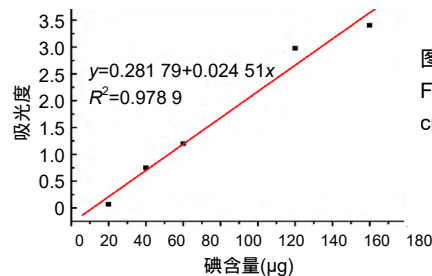


图 3 碘含量标准曲线
Figure 3 Standard curve of iodine content

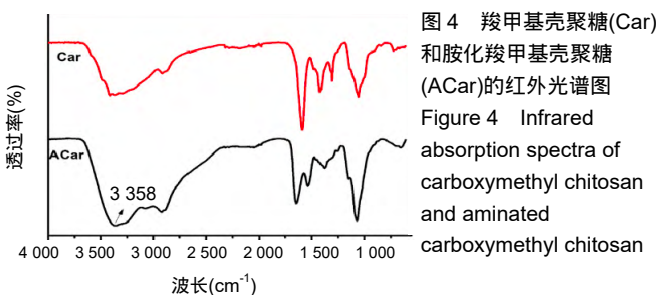


图 4 羧甲基壳聚糖(Car)和胺化羧甲基壳聚糖(ACar)的红外光谱图
Figure 4 Infrared absorption spectra of carboxymethyl chitosan and aminated carboxymethyl chitosan

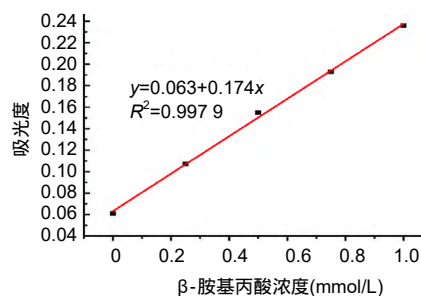


图 5 TNBS 法定测定胺基含量标准曲线
Figure 5 Standard curve of the determined amine content by trinitro-benzene-sulfonic acid method

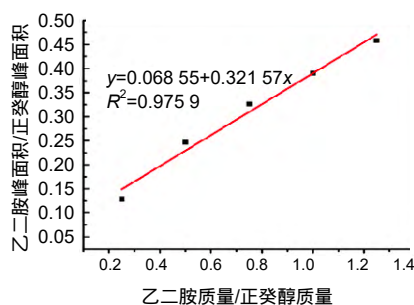


图6 气相色谱内标法测定胺化羧甲基壳聚糖乙二胺残留量标准曲线
Figure 6 Standard curve of the determined ethylenediamine residue in amidated carboxymethyl chitosan by gas chromatography internal standard method

并计算后可得出胺化羧甲基壳聚糖中的胺基含量平均值为0.012 8 mmol/g, 未胺化羧甲基壳聚糖的胺基含量平均值为0.008 5 mmol/g。

2.2.2 胺化羧甲基壳聚糖的乙二胺残留量分析 气相色谱内标法以正癸醇为内标物、1-2丙二醇为溶剂,计算乙二胺/正癸醇的峰面积比做出相关的标准曲线(图6) $y=0.06855+0.32157x$, $R^2=0.9759$ 。利用同样的方式进样,得到乙二胺/正癸醇的峰面积比为0,说明乙二胺残留量比较少,可忽略不计。这是由于乙二胺的挥发性很强,并经过透析处理后可完全被除去,故含量较低。

2.3 水凝胶粘合剂

2.3.1 交联时间的测定与分析 利用胺化羧甲基壳聚糖和羧甲基壳聚糖与氧化葡聚糖交联,制备出基于席夫碱反应的双组分水凝胶粘合剂,其成胶时间如表2所示。

由表2可知,胺化羧甲基壳聚糖与氧化葡聚糖交联的平均时间为6.90 s,而羧甲基壳聚糖与氧化葡聚糖交联的平均时间为13.55 s,可见胺基化后的羧甲基壳聚糖胺基含量的增加,导致其与氧化葡聚糖的交联时间显著降低,减少了50%左右,有利于成胶。

2.3.2 水凝胶粘合剂的黏结强度分析 表3是两种水凝胶粘合剂的搭接-剪切拉伸承载强度、T-剥离拉伸承载强度、拉伸强度和伤口闭合强度的测试数据,可以看到,氧化葡聚糖/胺化羧甲基壳聚糖水凝胶粘合剂的搭接-剪切拉伸承载强度、T-剥离拉伸承载强度和拉伸强度平均值分别为0.022 86 MPa、0.127 3 N/cm和0.793 9 MPa,较未改性水凝胶分别增大47.48%, 17.54%和76.42%,增幅明显。这是由于羧甲基壳聚糖经胺化处理,其胺基含量增加,水凝胶的交联度随之增大,同时氢键等分子间作用力增大,故强度更高。此外,伤口闭合强度由于测试接触面积小而具有较大的误差,有待进一步验证。

3 讨论 Discussion

医用粘合剂的快速粘合特性将传统的手术缝合技术推进到组织粘合缝合,为病患明显减少了痛苦,并因其疗效显著、特点独特、使用方便等优点越来越受到临床医生的重视,其临床需求也愈加急迫。伴随着高分子材料,特别是医用高分子材料的技术革新,医用粘合剂的临床应用也明显增加。到20世纪80年代初,越来越多的生物相容性医

用粘合剂不断被报道^[1-2]。

作为一种直接与组织、器官和细胞等接触的医用材料,理想的医用粘合剂需要满足以下几点要求^[41]:黏结速度快、黏结强度高,符合临床医学要求;具有良好的生物相容性和生物可降解性,不能长期残留在体内;黏结部分具有一定的柔韧性;安全,无毒,不致癌、致畸和致突变,尽可能低的引起过敏等反应,且降解产物无毒无害;使用便捷,易于保存,价格相对较低。但是目前产业化或被报道的医用粘合剂均或多或少存在很多问题,理想化的医用粘合剂还未出现。

目前的医用粘合剂可按照来源分为合成粘合剂和天然粘合剂。其中,合成医用粘合剂包括最早应用于临床的氰基丙烯酸酯及其衍生物等,虽然具有很好的黏结强度,但生物相容性均较差。天然医用粘合剂不仅具有卓越的生物相容性,而且安全无毒,受到广泛关注。例如,纤维蛋白胶是目前商业可购买的医用粘合剂,通过纤维蛋白原在凝血酶的作用下转化为不可溶的纤维蛋白,从而达到粘合组织的作用^[42-43],但是其黏结强度还有待提升。贻贝黏附蛋白是一种天然的黏性蛋白,其中的酪氨酸衍生氨基酸 L-3, 4-二羟基苯丙氨酸不仅仅含量高,而且具有很强的黏附能力^[44],但其原料获取较为繁杂。

目前,水凝胶粘合剂是医用粘合剂发展的方向之一。通过成分选择和结构设计可显著提高水凝胶粘合剂的黏结强度、组织弹性和生物相容性,并且还兼具药物缓释、促进细胞分化等潜在应用^[45-46]。通过席夫碱反应可使水凝胶粘合剂的制备条件更加温和,目前已报道的基于席夫碱反应的聚赖氨酸/氧化葡聚糖水凝胶粘合剂,与己二酸二酰肼和咪唑甲胺改性的透明质酸双网络结构水凝胶^[47-48],具有很高的组织黏附性和结构完整性,在组织修复领域具有很好的应用前景,但其生物相容性、黏结速度、成胶时间等性能还有待提升。此次实验主要通过改性的氧化葡聚糖与改性胺化羧甲基壳聚糖发生席夫碱反应,制备能够快速黏结的双组分水凝胶粘合剂。葡聚糖和羧甲基壳聚糖都是无毒且生物可降解,是制备粘合剂的理想材料。以高碘酸钠为氧化剂,葡聚糖为原料,通过高碘酸钠:葡聚糖(摩尔比1.5:1)制备了氧化度为73.42%的氧化葡聚糖,透析后其碘残留量为138.58 $\mu\text{g/g}$;以乙二胺为还原剂,羧甲基壳聚糖为原料,制备了胺基含量为0.637 9 mmol/L的胺化羧甲基壳聚糖,透析后通过气相色谱法未检测到乙二胺残留。通过席夫碱反应成功制备了氧化葡聚糖/胺化羧甲基壳聚糖双组分水凝胶粘合剂,具有较高的搭接-剪切拉伸承载强度、T-剥离拉伸承载强度和拉伸强度,有望应用于组织工程和临床医学等领域。

作者贡献:李丹丹主要负责资料收集和实验的具体实施;莫秀梅教授主要负责实验的设计、评估和审核。

经费支持:该文章没有接受任何经费支持。

利益冲突:文章中的干预手段应用了葡聚糖和羧甲基壳聚糖药物,应用了酶标仪等医疗器械,应用了乙二胺和高碘酸钠等试剂,但是所有作者声明没有接受相关的经费支持,不存在利益冲突。

伦理问题:研究用材料学的实验方案符合相关伦理学要求,文章的撰写与编辑修改后文章遵守了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 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

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 3.0”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] 胡亮, 郑昌琼, 冉均国. 医用粘合剂研究进展[J]. 国外医学: 生物医学工程分册, 1998, 21(1): 26.
- [2] Pfister WR. Silicone PSAS of flexibility for medical, pharmaceutical use. *Adhesives Age*. 1990; 33(3): 2.
- [3] Han JM, Hong G, Hayashida K, et al. Influence of composition on the adhesive strength and initial viscosity of denture adhesives. *Dent Mater J*. 2014; 33(1): 98-103.
- [4] Imazato S, Ma S, Chen JH, et al. Therapeutic polymers for dental adhesives: loading resins with bio-active components. *Dent Mater*. 2014; 30(1): 97-104.
- [5] Avre WN, Denver SP, Evans SL. Ageing and moisture uptake in polymethyl methacrylate (PMMA) bone cements. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2013; 32C: 76-88.
- [6] Howe N, Cherpelis B. Obtaining rapid and effective hemostasis: Part 1. Update And review of topical hemostatic agents. *J Am Acad Dermatol*. 2013; 69(5): 659.e1-659.e17.
- [7] Duarte AP, Coelho JF, Bordado JC, et al. Surgical adhesives: systematic review of the main types and development forecast. *Prog Polymer Sci*. 2012; 37: 1031-1050.
- [8] Sanders L, Nagatomi J. Clinical applications of surgical adhesives and sealants. *Crit Rev Biomed Eng*. 2014; 42(3-4): 271-292.
- [9] Amosi N, Zarzhtsky S, Gilson E, et al. Acidic Peptide Hydro-gel Scaffolds Enhance Calcium Phosphate Mineral Turnover into Bone Tissue. *Acta Biomaterialia*. 2012; 8(7): 2466-2475.
- [10] Li S, Wang J, Song L, et al. Injectable PAMAM/ODex double-crosslinked hydrogels with high mechanical strength. *Biomed Mater*. 2016; 12(1): 015012.
- [11] Bae KH, Wang LS, Kurisawa M. Injectable biodegradable hydrogels: progress and challenges. *J Mater Chem B*. 2013; 1(40): 5371-5388.
- [12] Shekaran A, Garcia JR, Clark AY, et al. Bone regeneration using an alpha 2 beta 1 integrin-specific hydrogel as a BMP2 delivery vehicle. *Biomaterials*. 2014; 35(21): 5453-5461.
- [13] Balakrishnan B, Joshi N, Banerjee R. Borate aided Schiff's base formation yields in situ gelling hydrogels for cartilage regeneration. *J Mater Chem B*. 2013; 1: 5564-5577.
- [14] Yuan L, Wu Y, Gu QS, et al. Injectable photo crosslinked enhanced double-network hydrogels from modified sodium alginate and gelatin. *Int J Biol Macromol*. 2017; 96: 569-577.
- [15] Geng X, Yuan L, Mo X. Oxidized dextran/amino gelatin/hyaluronic acid semi-interpenetrating network hydrogels for tissue engineering application. *Adv Mater Res*. 2013; 627: 745-750.
- [16] Weng L, Romanov A, Rooney J, et al. Non-cytotoxic, in situ gelable hydrogels composed of N-carboxyethyl chitosan and oxidized dextran. *Biomaterials*. 2008; 29(29): 3905-3913.
- [17] Balakrishnan B, Mohanty M, Umashankar PR, et al. Evaluation of an in situ forming hydrogel wound dressing based on oxidized alginate and gelatin. *Biomaterials*. 2005; 26(32): 6335-6342.
- [18] Mo X, Iwata H, Matsuda S, et al. Soft tissue adhesive composed of modified gelatin and polysaccharides. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2000; 11(4): 341-351.
- [19] Nowakowska M, Zapotoczny S, Sterzel M, et al. Novel Water-Soluble Photosensitizers from Dextran. *Biomacromolecules*. 2004; 5(3): 1009-1014.
- [20] Maia J, Ferreira L, Carvalho R, et al. Synthesis and characterization of new injectable and degradable dextran-based hydrogels. *Polymer*. 2005; 46(23): 9604-9614.
- [21] Schacht E, Bogdanov B, Bulcke AVD, et al. Hydrogels prepared by crosslinking of gelatin with dextran dialdehyde. *React Funct Polym*. 1997; 33(2-3): 109-116.
- [22] Massia SP, Stark J, Letbetter DS. Surface-immobilized dextran limits cell adhesion and spreading. *Biomaterials*. 2000; 21(22): 2253-2261.
- [23] Wang T, Mu X, Li H, et al. The photocrosslinkable tissue adhesive based on copolymeric dextran/HEMA. *Carbohydr Polym*. 2013; 5: 92(2): 1423-1431.
- [24] 崔莉, 贾军芳, 熊子豪, 等. 羧甲基壳聚糖/藻酸钠半互穿网络水凝胶的制备及性能研究[J]. 高分子学报, 2014, 58(3): 361-368.
- [25] Dodane V, Vilivalam VD. Pharmaceutical applications of chitosan. *Pharm Sci Tech Today*. 1998; 1(6): 246-253.
- [26] 孙立萃, 杜子民, 陈凌云, 等. 羧甲基壳聚糖水凝胶制备及其在药物控释中的应用[J]. 高分子学报, 2004, 48(2): 191-195.
- [27] Zhao SP, Ma D, Zhang LM. New semi-interpenetrating network hydrogels: Synthesis, characterization and properties. *Macromol Biosci*. 2006; 6(6): 445-451.
- [28] Sarem M, Moztarzadeh F, Mozafari M. How can genipin assist gelatin/carbohydrate chitosan scaffolds to act as replacements of load-bearing soft tissues? *Carbohydr Polym*. 2013; 93(2): 635-643.
- [29] Tseng HJ, Tsou TL, Wang HJ. Characterization of chitosan-gelatin scaffolds for dermal tissue engineering. *Tissue Eng Regen Med*. 2013; 7(1): 20-31.
- [30] 王琴梅, 廖燕红, 滕伟, 等. 盐酸羟胺-电位滴定法测定氧化海藻酸钠上的醛基浓度[J]. 分析试验室, 2008, 27(s1): 83-86.
- [31] Zhao H, Heindel ND. Determination of degree of substitution of formyl groups in polyaldehyde dextran by the hydroxylamine hydrochloride method. *Pharm Res*. 1991; 8(3): 400-402.
- [32] 马有香, 焦淑婷, 张金生, 等. 分光光度法测定核黄素碘盐含量方法的研究[J]. 中国卫生检验, 2008, 18(3): 460-461.
- [33] 李人宇, 李咏梅, 张成燕. 分光光度法测定食盐中碘含量方法的评述[J]. 中国地方病防治杂志, 2008, 28(2): 105-107.
- [34] 孙言蓓. 新型海藻酸盐-明胶水凝胶的研究[D]. 天津大学硕士学位论文, 2007.
- [35] 韦广辉. 电位滴定法测定胺茶碱片中乙二胺的含量[J]. 中国药房, 2011, 22(12): 1136-1137.
- [36] 陈赞民, 陈颖江. 气相色谱法测定胺茶碱及其制剂中乙二胺的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(9): 1673-1676.
- [37] YY/T 0729.1-2009, 组织粘合剂粘接性能试验方法 第1部分: 搭接-剪切拉伸承载强度.
- [38] YY/T 0729.2-2009, 组织粘合剂粘接性能试验方法 第2部分: T-剥离拉伸承载强度.
- [39] YY/T 0729.3-2009, 组织粘合剂粘接性能试验方法 第3部分: 拉伸强度.
- [40] YY/T 0729.4-2009, 组织粘合剂粘接性能试验方法 第4部分: 伤口闭合强度.
- [41] 王艳红, 顾汉卿. 医用粘合剂的发展及临床应用进展[J]. 透析与人工器官, 2008, 19(3): 23.
- [42] 侯彪, 谢松林. 医用粘合剂在血管吻合及修复中应用的研究进展[J]. 岭南现代临床外科, 2016, 16(1): 1115-1120.
- [43] 张国栋. 关于对医用粘合剂的研究[J]. 化学工程与装备, 2016, 45(3): 167-169.
- [44] 刘加鹏, 蒋臻, 杨丙晔, 等. 海洋贻贝粘附蛋白类的结构与功能[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2007, 23(11): 899-904.
- [45] Neha T, Manohar V. Enhanced drug release by selective cleavage of cross-links in a double-cross-linked hydrogel. *RSC Adv*. 2016; 6: 102453-102461.
- [46] Bao D, Chen M, Wang H, et al. Preparation and characterization of double cross-linked hydrogel films from carboxymethyl chitosan and carboxymethyl cellulose. *Carbohydr Polym*. 2014; 110: 113-120.
- [47] Ye MM, Jiang R, Zhao J, et al. In situ formation of adhesive hydrogels based on PL with laterally grafted catechol groups and their bonding efficacy to wet organic substrates. *J Mater Sci Mater Med*. 2015; 26: 273.
- [48] Yu F, Cao XD, Du J, et al. Multifunctional Hydrogel with Good Structure Integrity, Self-Healing, and Tissue-Adhesive Property Formed by Combining Diels-Alder Click Reaction and Acylhydrazone Bond ACS Appl Mater Interfaces. 2015; 7: 24023-24031.