

海藻酸钠/甘草多糖水凝胶的制备及其性能表征

鲍 慧 张伟杰*

(兰州理工大学生命科学与工程学院,兰州 730050)

摘 要 以海藻酸钠和甘草多糖为原材料,以 Ca^{2+} 为交联剂制备海藻酸钠/甘草多糖(Alg/LP)水凝胶,通过溶胀率、降解率、扫描电镜、流变学性能的测定以及药物的释放量来表征制备的水凝胶。结果表明:所制备的水凝胶具有一定的 pH 依赖性、生物可降解性能、多孔结构以及对药物的控释效果,说明制备的水凝胶具有应用于药物传递系统以及组织工程材料方面的潜力。

关键词 海藻酸钠,甘草多糖,水凝胶,组织工程材料

Preparation and characterization of Alg/LP hydrogel

Bao Hui Zhang Weijie

(College of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050)

Abstract Sodium alginate/licorice polysaccharide (Alg/LP) hydrogel was prepared by using sodium alginate and licorice polysaccharide as raw materials and Ca^{2+} as crosslinking agent. The swelling rate, degradation rate, SEM, rheological properties and drug release were determined to characterize the hydrogel. The results shown that the hydrogel had a certain pH dependence, biodegradability, porous structure and controlled release effect on the drug, indicating that the prepared hydrogel had potential for application in drug delivery systems and tissue engineering materials.

Key words sodium alginate, licorice polysaccharide, hydrogel, tissue engineering material

水凝胶是一种具有三维网状结构的高分子材料,能够吸收大量的水但是不会被溶解。根据原料的不同,所制备的水凝胶往往具有不同的性能^[1]。目前,常见的制备水凝胶的原材料有壳聚糖、透明质酸、聚乙烯醇、明胶以及海藻酸钠等^[2-5]。水凝胶可以通过物理交联、化学交联以及生物交联来形成,化学交联一般是使用交联剂如戊二醛、二乙烯基砜、丙烯酸乙酯等进行交联,优点是具有较强的交联度,一般具有较强的机械性能,缺点是交联剂的引入会带来细胞毒性从而限制水凝胶在组织工程上的应用;物理交联和生物交联一般是指离子交联和酶交联,与化学交联相比,这两种交联方式所制备的水凝胶具有相对较小的细胞毒性从而能够较好地应用于组织工程材料,缺点是机械性能较差^[6-9]。甘草多糖是一类 α -D-吡喃多糖,它具有抗病毒、抗肿瘤、抑菌、抗氧化以及调节机体免疫功能等生物活性^[10-14],本研究将甘草多糖应用到水凝胶的制备中,考察所制甘

草多糖水凝胶的性能。期望在改变海藻酸钠水凝胶性能的基础上赋予水凝胶更多的生物活性。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

海藻酸钠(分析纯)、氯化钙(分析纯),上海中素化学试剂有限公司;硫酸庆大霉素(分析纯),北京索来宝科技有限公司;甘草,甘肃省兰州黄河药材市场。所有其他化学品均为分析级,无需进一步纯化。用去离子水制备所有水溶液。

磁力搅拌器(ZF-7 型),江苏省金坛市医疗仪器厂;循环水式多用真空泵(SHB-III A 型),郑州长城科工贸有限公司;恒温水浴锅(B-220 型),上海亚荣生化仪器厂;扫描电镜(SEM, JSM-6010LA 型),日本电子(JEOL)公司;电子分析天平(AB104-N 型),梅特勒-托利多仪器有限公司;紫外-可见分光光度计(UV-9200 型),北京瑞利分析仪器公司;流变分

基金项目:国家自然科学基金(81560737);兰州理工大学博士基金(0908ZXC128)

作者简介:鲍慧(1994-),女,硕士,主要研究方向为水凝胶复合材料的制备。

联系人:张伟杰,博士,教授,主要研究方向为生物大分子在 3D 打印方面的应用。

析仪(RS6000 型),德国 TA 仪器公司。

1.2 甘草多糖的提取

称取 150g 经粉碎处理的甘草,加入 3000mL 水,70℃ 提取 40min,提取 3 次^[15],合并提取液,静置后真空抽滤,收集滤液,浓缩至 300mL,用 Seveg 法除蛋白,向除尽蛋白的浓缩液中加入 3 倍体积的 95% 乙醇,充分振荡,静置 24h 后抽滤,滤渣 50℃ 干燥得多糖。将脱蛋白的甘草多糖溶于 50mL 蒸馏水中,在去离子水中透析 3d,透析液冷冻干燥,得到纯化的甘草多糖。

1.3 海藻酸钠/甘草多糖(Alg/LP)水凝胶的制备

称取一定量的甘草多糖分别配制 2%、4%、6%、8% 和 10% 的甘草多糖水溶液,分别配制 4% 海藻酸钠水溶液和 2% CaCl_2 水溶液备用。先将海藻酸钠和多糖溶液混合均匀后吸取 1mL 混合液倒入模具,喷以 CaCl_2 形成水凝胶,本实验共制备了 6 个样品,具体组成见表 1。

表 1 水凝胶的组成

样品编号	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]
Alg/%	4	4	4	4	4	4
LP/%	—	2	4	6	8	10
CaCl_2 /%	2	2	2	2	2	2

1.4 溶胀率测试

将冷冻干燥的甘草多糖水凝胶样品称重,分别放入 pH=7.4 和 pH=1.2 的磷酸盐缓冲液(PBS)中,在 37℃ 下溶胀至平衡后,取出凝胶样品,用滤纸吸去凝胶表面的溶液,并称重^[16]。实验重复 3 次。溶胀率按式(1)计算。

$$\text{溶胀率} \% = [(m_{24} - m_0) / m_0] \times 100\% \quad (1)$$

式中, m_0 为水凝胶的初始质量,g; m_{24} 为在溶胀介质中 24h 后水凝胶的质量,g。

1.5 体外降解率测试

制备甘草多糖水凝胶样品,称重后分别放到试管中,加入 5mL pH=7.4 的 PBS 缓冲液,在 37℃,100r/min 下进行降解,每隔 5d 取出凝胶,用滤纸吸去凝胶表面的溶液,并称重,共测定 20d。每个样品重复 3 次体外降解实验。体外降解率^[17]按式(2)计算。

$$\text{降解率} \% = [(m_t - m_0) / m_0] \times 100\% \quad (2)$$

式中, m_0 为水凝胶的初始质量,g; m_t 为在 t 时间水凝胶的质量,g。

1.6 测试与表征

先将甘草多糖水凝胶进行冷冻干燥,再通过扫

描电镜(SEM,JSM-6010LA 型,日本 JEOL 公司)对 1[#] 和 2[#] 进行横截面扫描,切取不同截面进行扫描,观察水凝胶的形态结构^[18]。

通过流变学^[19]测定水凝胶样品的机械强度,将海藻酸钠溶液与不同浓度的甘草多糖溶液按体积比为 1:1 混合,吸取 1mL 混合液置于装载到下方固定的恒温流变板(直径 35mm)上,喷以 CaCl_2 溶液,待 3min 后,设定温度为 25℃,振动频率 1Hz,在振荡模式下,测定 5min,记录数据。

选择硫酸庆大霉素作为模型药物来评估水凝胶的药物释放性能^[20]。载药浓度为 24g/mL,以 10mL PBS 作为释放介质加入到装有水凝胶样品的试管中,在 37℃,100r/min 的条件下进行释放。在特定的时间点吸取 4mL PBS 在 355nm 处测定溶液的吸光度,并向试管中加入 4mL 新鲜的 PBS^[21],共测定 24h,水凝胶的体外释放实验重复 3 次。

2 结果与讨论

2.1 缓冲溶液 pH 对水凝胶溶胀率的影响

缓冲溶液 pH 对水凝胶溶胀率的影响见图 1。由图可见,所制备的水凝胶具有一定的 pH 依赖性,在 pH=1.2 的缓冲溶液中,水凝胶的溶胀率展现出逐渐递减的趋势,1[#] (不加甘草多糖)的溶胀率达到 1068.39%,5[#] (含 8% 甘草多糖)的溶胀率为 545.06%;在 pH=7.4 的缓冲溶液中,1[#] 的溶胀率为 616.51%,5[#] 的溶胀率达到 772.32%,3[#] (含 4% 甘草多糖)显示出最大的溶胀率 978.93%。因此,所制备的水凝胶样品在不同的 pH 缓冲溶液中具有不同的变化趋势,说明其具有一定的 pH 依赖性,从而说明其具有应用于药物传递系统的潜力。

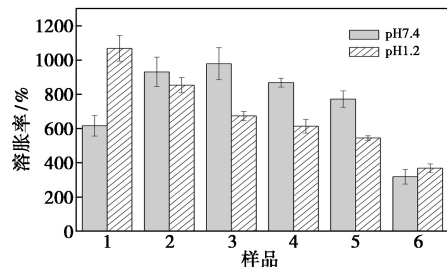


图 1 缓冲溶液 pH 对水凝胶溶胀率的影响

2.2 体外降解率分析

时间对水凝胶体外降解率的影响见图 2。由图可见,5[#] (含 8% 甘草多糖)的降解率最小,6[#] (含 10% 甘草多糖)的降解率最大。第 5d 时,甘草多糖的加入对水凝胶的降解影响较大,在之后的降解中,甘草多糖对水凝胶的影响逐渐变小。第 20d 时,水

凝胶的降解率依次为 87.49%、86.74%、92.85%、92.25%、81.42%和 93.61%。可以看出,甘草多糖的加入在一定程度上加快了水凝胶的降解速率。

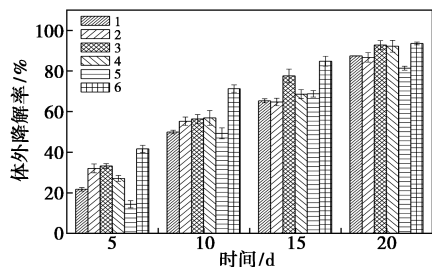


图2 时间对水凝胶体外降解率的影响

2.3 SEM 分析

1[#]和2[#]的SEM图见图3。由图可见,与1[#]相比,2[#]的孔径变大,孔隙壁的层状结构较多。这也进一步证明了在中性环境中2[#]的溶胀率大于1[#]。其原因可能是甘草多糖的加入导致水凝胶的交联密度降低,交联更加疏松。水凝胶的这种结构特征在一定程度上会影响药物的释放速率。

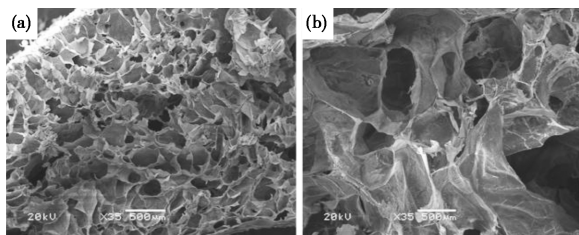


图3 1[#](a)和2[#](b)的SEM图

2.4 机械强度分析

通过流变学^[19]测定水凝胶样品的机械强度,结果见图4(a)。由图可见,1[#]的储能模量(G')最大为

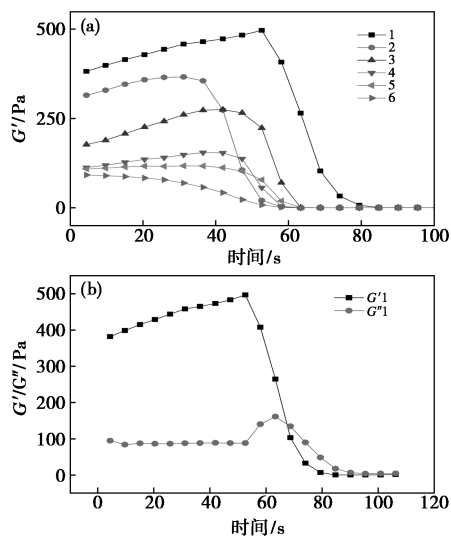


图4 水凝胶样品的储能模量变化情况图(a)和1[#]的机械强度变化情况图(b)

32~382Pa,6[#]的储能模量(G')最小为22~92Pa,即水凝胶样品的储能模量(G')在92~382Pa之间,说明甘草多糖的加入降低了水凝胶的机械强度。

为了进一步探究水凝胶的内部结构特征,考察1[#]的机械强度变化情况,结果见图4(b)。由图可见,随着时间的延长,水凝胶的储能模量(G')先增加再降低,经过某一时间点之后耗能模量(G'')大于储能模量(G')。这表明,在检测过程中,随着水凝胶被破坏,样品逐渐变为溶胶状态。

2.5 体外释放性能分析

硫酸庆大霉素标准曲线见图5,时间对水凝胶体外释放率的影响见图6。

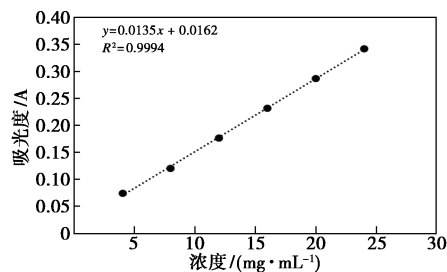


图5 硫酸庆大霉素标准曲线图

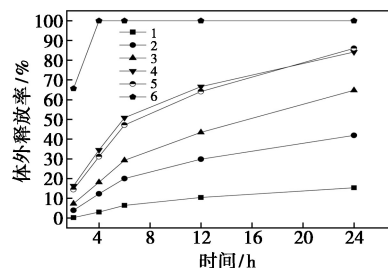


图6 时间对水凝胶体外释放率的影响

由图6可见,随着时间的延长,水凝胶对硫酸庆大霉素的累积释放率逐渐增加,在同一时间内,释放率最快的为6[#],最慢的为1[#]。在第4h,6[#]的累积释放率已经达到100%,而1[#]仅释放了3.02%。释放24h后,1[#]、2[#]和3[#]的累积释放率均未超过80%,4[#]、5[#]和6[#]的累计释放量依次为84.20%、86.05%和100%。可以看出随着甘草多糖的加入,增大了硫酸庆大霉素的累计释放量,这可能是由于水凝胶孔径变大使药物的释放率增大。可以通过调解甘草多糖的浓度来控制药物的释放,说明所制备的水凝胶具有应用于药物传递系统的潜力。

3 结论

成功制备了一系列Alg/LP水凝胶,并通过溶胀、降解、流变、SEM和体外释放等实验进行表征。

结果表明所制备的水凝胶具有一定的 pH 依赖性, 具有生物可降解性以及三维网孔结构, 具有 92~382Pa 的机械强度, 对模型药物硫酸庆大霉素的释放也有一定的控释作用。从而说明本实验所制备的一系列水凝胶具有应用于药物传递系统和组织工程材料等方面的潜力。

参考文献

- [1] 李贤真, 李彦锋, 朱晓夏, 等. 高分子水凝胶材料研究进展[J]. 功能材料, 2003, 34(4): 382-385.
- [2] 刘锋, 卓仁禧. 水凝胶的制备及应用[J]. 高分子通报, 1995(4): 205-216.
- [3] 翟茂林, 哈鸿飞. 水凝胶的合成、性质及应用[J]. 大学化学, 2001, 16(5): 22-27.
- [4] 刘晓华, 王晓工, 刘德山. 智能型水凝胶结构及响应机理的研究进展[J]. 化学通报, 2000, 63(10): 1-6.
- [5] 何淑兰, 尹玉姬, 张敏, 等. 组织工程用海藻酸盐水凝胶的研究进展[J]. 化工进展, 2004, 23(11): 1174-1178.
- [6] 赵朋, 郑化, 邓超, 等. 壳聚糖与聚乙二醇交联水凝胶研究[J]. 高分子通报, 2010(11): 84-91.
- [7] 张青松, 张龙柏, 赵义平, 等. 物理/化学共交联水凝胶的溶胀性能[J]. 天津工业大学学报, 2008, 27(6): 38-40.
- [8] 张念一, 黄秀晶, 张青松, 等. 化学/离子交联水凝胶的透光度溶胀行为和力学性能[J]. 高分子材料科学与工程, 2014, 30(4): 64-69.
- [9] 卓仁禧, 张先正. 温度及 pH 敏感聚(丙烯酸)/聚(N-异丙基丙

烯酰胺)互穿聚合物网络水凝胶的合成及性能研究[J]. 高分子学报, 1998(1): 39-42.

- [10] 刘三侠, 吴俊伟, 林永乐. 甘草多糖药理作用研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2013, 47(1): 64-67.
- [11] 代巧玉, 康丁, 张洪斌. 水溶性甘草多糖的分离纯化、结构及生物活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(9): 1292-1296.
- [12] 丛媛媛. 新疆胀果甘草多糖的分离纯化、结构分析和生物活性研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2008.
- [13] 宋飞. 甘草多糖在免疫调节方面的作用[J]. 开卷有益(求医问药), 2002(11): 12.
- [14] 汲晨峰, 姜薇, 王晓晶. 甘草多糖的化学与药理研究[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2004, 20(5): 515-518.
- [15] 张百刚, 钟旭美, 刘晓风, 等. 甘草多糖的提取及其抑菌试验的研究[J]. 粮油加工(电子版), 2010(8): 137-140.
- [16] 柳明珠, 程鎔时, 钱人元. 聚乙烯醇水凝胶溶胀特性研究[J]. 高分子学报, 1996(2): 234-239.
- [17] 聂华荣, 柳明珠, 陈振斌. 羧甲基纤维素水凝胶生物降解动力学研究[J]. 物理化学学报, 2004, 20(4): 386-390.
- [18] 陈欣, 卢小菊, 孟鸳. 聚乙烯吡咯烷酮/壳聚糖水凝胶的制备与表征[J]. 湖北理工学院学报, 2016, 32(4): 26-30.
- [19] 郑学晶, 刘芳蓓, 裴莹, 等. 水凝胶流变学研究概况[J]. 高分子通报, 2017(5): 1-10.
- [20] 姜琼. 新型复合壳聚糖水凝胶伤口敷料的制备及性能评价[D]. 合肥: 安徽大学, 2017.
- [21] 陈爱民, 侯春林. 几丁糖庆大霉素药物释放系统的研制及体外释放实验[J]. 中华骨科杂志, 1997(9): 591-593.

收稿日期: 2018-12-11

(上接第 140 页)

- [5] Wu Z Y, Xu X X, Hu B C, et al. Iron carbide nanoparticles encapsulated in mesoporous Fe-N-doped carbon nanofibers for efficient electrocatalysis[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2015, 54(28): 8179-83.
- [6] Qiu H, Han X, Qiu F, et al. Facile route to covalently-jointed graphene/polyaniline composite and its enhanced electrochemical performances for supercapacitors[J]. Applied Surface Science, 2016(376): 261-268.
- [7] He Y, Zhu C, Chen K, et al. Development of high-performance cathode catalyst of polypyrrole modified carbon supported CoOOH for direct borohydride fuel cell[J]. Journal of Power

Sources, 2017(339): 13-22.

- [8] Wu S L, Chen G X, Kim N Y, et al. Creating pores on graphene platelets by low-temperature KOH activation for enhanced electrochemical performance[J]. Small, 2016, 12(17): 2376-2384.
- [9] Zhou W Q, Xu J K. Progress in conjugated polyindoles: synthesis, polymerization mechanisms, properties, and applications[J]. Polym Rev, 2017(57): 248-275.
- [10] 贺馨平. 基于聚苯胺的复合电极材料制备及电化学性能研究[D]. 长春: 吉林大学, 2017.

收稿日期: 2018-12-17

修稿日期: 2019-02-28

(上接第 144 页)

- [12] Yi X, Sun F, Han Z, et al. Graphene oxide encapsulated polyvinyl alcohol/sodium alginate hydrogel microspheres for Cu(II) and U(VI) removal[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 158: 309-318.
- [13] Shen C, peng B, Wang Y, et al. Pb²⁺ and Hg²⁺ removal from polluted milk by di-acrylated Pluronic P123 hydrogels[J]. Food Chemistry, 2018, 258: 331-336.
- [14] Ruel-Gariepy E, Leroux J C. In situ-forming hydrogels-review of temperature-sensitive systems[J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics; official Journal of Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik eV,

2004, 58(2): 409-426.

- [15] Khine Y Y, Ganda S, Stenzel M H. Covalent tethering of temperature responsive pNIPAm onto tempo-oxidized cellulose nanofibrils via three-component passerini reaction[J]. ACS Macro Letters, 2018, 7(4): 412-418.
- [16] Quan J, Shen F W, Cai H, et al. Galactose-functionalized double-hydrophilic block glycopolymers and their thermoresponsive self-assembly dynamics[J]. Langmuir; The ACS Journal of Surfaces And Colloids, 2018, 34(36): 10721-10731.
- [17] 刘维俊, 范婷萍, 周丽绘, 等. 浊度法表征温敏性微凝胶体积的相转变行为[J]. 功能高分子学报, 2007, 19-20(4): 352-357.

收稿日期: 2018-12-11