

## 基于壳聚糖/海藻酸钠-聚乙烯醇的双层复合水凝胶膜伤口敷料研究

赵奇<sup>1,2</sup>, 赵祥宇<sup>2,3</sup>, 刘岩<sup>5</sup>, 谢和兵<sup>6</sup>, 张健翔<sup>2</sup>, 汪六一<sup>2</sup>, 张继稳<sup>1,2,4\*</sup>, 伍丽<sup>1,2,4\*</sup>

1. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004

2. 南通市海门长三角药物高等研究院, 江苏 南通 226123

3. 安徽中医药大学, 安徽 合肥 230012

4. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201210

5. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016

6. 江苏神猴医药研究有限公司, 江苏 南通 226133

**摘要:** 目的 制备聚乙烯醇(PVA)/海藻酸钠(SA)-聚乙烯醇(PVA)/壳聚糖(CS)双层(PAPCS)水凝胶膜伤口敷料, 并进行质量评价。方法 将PVA与SA以质量比2:1混合, 配制PVA/SA混合溶液; 将PVA与CS分别以质量比1:1、2:1、3:1、4:1、5:1混合, 配制不同质量比的PVA/CS混合溶液; 采用涂布法制备PAPCS双层水凝胶膜伤口敷料。通过水蒸气透过率、溶胀性能、保水性、力学性能、体外凝血性能和血液相容性考察对水凝胶膜的性能进行评价、筛选PVA与CS质量比; 通过傅里叶变换红外光谱检测(FTIR)和扫描电子显微镜(SEM)对PAPCS水凝胶膜的结构和形貌进行表征; 通过抑菌实验比较PAPCS以及PAPCS复合载碘交联环糊精金属有机骨架(I<sub>2</sub>@COF@PAPCS)的体外抗菌性能。结果 PVA与CS质量比为2:1时, PAPCS水凝胶膜综合性能较好。PAPCS水凝胶膜为多孔结构, 具有良好的溶胀性能、保水性以及力学性能; PAPCS水凝胶膜的水蒸气透过率为(2 643.76±91.62)g·m<sup>-2</sup>·d<sup>-1</sup>, 接近理想范围; 与PVA/SA相比, PAPCS的凝血指数显著降低( $P<0.01$ ), 为(72.93±3.58)%, 溶血率小于5%, 具有促进血液凝固的能力且血液相容性良好; 与PVA/SA相比, PAPCS对于金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌均有明显抑制作用, 抑菌圈直径分别为(11.89±0.22)、(12.28±0.25)mm; I<sub>2</sub>@COF@PAPCS对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌的抑菌圈直径分别为(21.95±1.47)、(18.89±0.81)mm, 抑菌效果显著优于PAPCS( $P<0.001$ )。结论 采用涂布法可成功制备双层PAPCS水凝胶膜敷料, 其各项性能指标良好, 具有明显的凝血、抑菌效果, 与I<sub>2</sub>@COF复合使用, 抑菌作用进一步增强。

关键词: 壳聚糖/海藻酸钠-聚乙烯醇; 水凝胶膜; 双层; 伤口敷料; 壳聚糖; 抑菌作用

中图分类号: R318.08 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)11-2321-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.11.005

## Study on bilayer composite hydrogel film for wound dressing based on chitosan/sodium alginate-polyvinyl alcohol

ZHAO Qi<sup>1,2</sup>, ZHAO Xiangyu<sup>2,3</sup>, LIU Yan<sup>5</sup>, XIE Hebing<sup>6</sup>, ZHANG Jianxiang<sup>2</sup>, WANG Liuyi<sup>2</sup>, ZHANG Jiwen<sup>1,2,4</sup>, WU Li<sup>1,2,4</sup>

1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. Yangtze Delta Drug Advanced Research Institute, Nantong 226133, China

3. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

4. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201210, China

5. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

6. Jiangsu Shenhou Pharmaceutical Research Co., Ltd., Nantong 226133, China

**Abstract: Objective** To prepare and evaluate the quality of polyvinyl alcohol (PVA)/sodium alginate (SA)-PVA/chitosan (CS) double-layer hydrogel film wound dressing. **Methods** Mix PVA and SA in a mass ratio of 2:1 to prepare a PVA/SA mixed solution.

收稿日期: 2023-04-23

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82273863)

第一作者: 赵奇(1996—),男,硕士研究生,研究方向为药剂学。E-mail: bbmczhaoqi@163.com

\*共同通信作者: 伍丽(1987—),女,硕士生导师,研究方向为结构药剂学与超分子给药系统。E-mail: wuli@simm.ac.cn

张继稳(1965—),男,博士生导师,研究方向为药剂学。E-mail: jwzhang@simm.ac.cn

Mix PVA and CS in mass ratios of 1 : 1, 2 : 1, 3 : 1, 4 : 1, and 5 : 1 to prepare PVA/CS mixed solutions with different mass ratios. PAPCS double-layer hydrogel membrane wound dressing was prepared by coating method. The properties of hydrogel films were evaluated, and PVA to CS quality ratio was screened by water vapor permeability, swelling property, water retention, mechanical property, *in vitro* coagulation ability and blood compatibility. The structure and morphology of the hydrogel films were then characterized by fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and scanning electron microscopy (SEM). Moreover, the antibacterial activity of PAPCS with I<sub>2</sub>@COF@PAPCS *in vitro* was compared through inhibition zone assay. **Results** When the mass ratio of PVA to CS was 2 : 1, the comprehensive properties of PAPCS hydrogel membrane were better. The results suggested bilayer PAPCS hydrogel films had porous structure, good swelling performance, water retention and mechanical properties. The water vapor transmission rate of PAPCS hydrogel films was  $(2\ 643.76 \pm 91.62) \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ , close to the ideal range. Compared with PVA/SA, the coagulation index of PAPCS hydrogel films was significantly decreased ( $P < 0.01$ ), the coagulation index was  $(72.93 \pm 3.58)\%$ , and the hemolysis rate was less than 5%, which had good blood coagulation ability and blood compatibility. Compared with PVA/SA, PAPCS hydrogel film showed significant bacteriostasis against *S. aureus* and *E. coli*, and the diameters of the antibacterial zone were  $(11.89 \pm 0.22)$  and  $(12.28 \pm 0.25)$  mm. The diameters of antibacterial zone of I<sub>2</sub>@COF@PAPCS against *S. aureus* and *E. coli* were  $(21.95 \pm 1.47)$  and  $(18.89 \pm 0.81)$  mm, which were significantly better than PAPCS ( $P < 0.001$ ). **Conclusion** PAPCS hydrogel film could be prepared successfully by coating method, which had good performance indexes, obvious clotting, and bacteriostatic effects. And the bacteriostasis of PAPCS hydrogel film could be further improved by combining with I<sub>2</sub>@COF.

**Key words:** chitosan/sodium alginate-polyvinyl alcohol; hydrogel film; bilayer; wound dressing; chitosan; bacteriostasis

在全球范围内,急性和慢性创伤给患者和医疗保健系统带来了严重负担<sup>[1]</sup>。在中国,糖尿病所引起的慢性创面患者多达4 000万<sup>[2]</sup>。根据BMI Research统计,2014—2019年,我国医用敷料市场由39.89亿元增长至73.12亿元,复合增长率达13.17%<sup>[3]</sup>。伤口敷料分为干性和湿性2种类型,与干性伤口敷料相比,使用湿性伤口敷料可使伤口愈合速度至少快1倍<sup>[4]</sup>。水凝胶由高分子三维网络组成,可以维持伤口区域的润湿性,吸收多余的伤口渗出液,加速伤口愈合,且易于从伤口表面移除,被认为是最有前途的伤口敷料种类之一<sup>[5-6]</sup>。

壳聚糖(CS)是一种天然的阳离子多糖,具有良好的生物相容性和生物可降解性,具有止血、抗菌和促进伤口愈合的性能,已广泛用于伤口护理敷料<sup>[7-8]</sup>。海藻酸钠(SA)是从褐藻中提取的一种天然线性多糖,具有高吸湿性、透氧性、细胞黏附性和生物相容性等优良性能<sup>[9]</sup>,可通过触发巨噬细胞和炎症介质的释放加快愈合过程<sup>[10]</sup>。聚乙烯醇(PVA)是一种具有良好透气性、抗拉强度高的生物相容性聚合物,应用于伤口敷料、滴眼液和人造软骨等,然而PVA缺乏吸收分泌物的能力,限制了其作为伤口敷料的应用<sup>[11-12]</sup>。将PVA与CS联合使用,不仅可以改善CS水凝胶的力学性能,还能赋予PVA水凝胶良好的溶胀性、弹性、水蒸气透过率以及抑菌性能<sup>[13-14]</sup>。但PVA/CS用于细菌感染时,自身抑菌能力不足,需要与其他抑菌成分联合使用<sup>[15-16]</sup>。广谱杀菌剂碘对需氧和厌氧菌均具有抗菌活性<sup>[17-18]</sup>,然而其低水溶性和化学、物理不稳定性限制了其的应

用<sup>[19]</sup>。本团队研究的新载体交联环糊精金属有机骨架(COF)具有规则的立方体形状、粒径均一,COF负载碘(I<sub>2</sub>@COF)可有效提高碘的稳定性和调控碘的释放<sup>[20]</sup>。

研究表明双层伤口敷料比单层伤口敷料具有更好的促进伤口愈合效果<sup>[21-22]</sup>。如双层伤口敷料(SRM-B)的小孔上层能有效防止细菌入侵,并保持适当的水蒸气透过率;大孔下层能促进细胞的黏附和增殖,有效促进伤口愈合<sup>[23]</sup>。将PVA分别与CS、SA复合制备双层PVA/SA-PVA/CS(PAPCS)水凝胶膜,PVA可增强PAPCS凝胶膜的力学性能,CS与SA能改善PAPCS凝胶膜的物理和生物学特性。具有抑菌、止血性能的PVA/CS作为凝胶膜的上层,具有高透氧性、黏附性能的PVA/SA作为凝胶膜的下层,CS与SA之间通过静电吸附形成网状结构,黏合紧密的同时,利于伤口气体交换。

本研究基于涂布法制备PAPCS双层水凝胶膜伤口敷料,考察了PAPCS水凝胶膜的溶胀性能、水蒸气透过率、力学性能、微观形貌、血液相容性、体外凝血性能等。并且通过复合抗菌成分I<sub>2</sub>@COF,进一步增强使用时的抑菌性能,研制出既能维持伤口润湿又能止血、抑菌的新型伤口敷料。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

RCTBS025磁力搅拌器(德国IKA集团);KTQ-III可调涂膜器(上海颖旭化工机械有限公司);TDZ5-WS低速台式离心机(湖南湘仪实验室仪器开发公司);12L Labconco冷冻干燥机(美国Labconco

公司); AGS-X-50N 电子万能试验机(日本 Shimadzu); Cary630 傅里叶变换红外光谱仪(美国安捷伦科技有限公司); SU8100 扫描电子显微镜(日本日立公司); Master-S15UV 超纯水机(上海和泰仪器有限公司); UV-2550 紫外可见分光光度计(日本岛津公司); DK-8AX 电热恒温水槽、YHZ-100 恒温培养摇床、DHG-9240A 鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

## 1.2 主要试剂

PVA 1750±50(批号 20220321)、CS(批号 20210824, 脱乙酰度 80%)、无水氯化钙(批号 20210119)、氯化钠(批号 20220119)(国药集团化学试剂有限公司); SA(批号 G2203391, 黏度 435 mPa·s, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 乙酸(批号 74807045, 上海迈瑞尔化学试剂有限公司); 大肠埃希氏菌[*Escherichia coli*, *E. coli*, CMCC(B)44102]、金黄色葡萄球菌[*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*, CMCC(B)26112](中国食品药品检定研究院); 酵母提取物(批号 S0923C)、胰蛋白胨(批号 A0406C)(大连美仑生物技术有限公司); 琼脂(批号 A88235DD4, 上海吉至生化科技有限公司); 枸橼酸钠抗凝兔血(批号 20230109, 武汉纯度生物科技有限公司);  $I_2@COF$ (实验室自制<sup>[20]</sup>); 纯水(实验室自制)。

## 2 方法

### 2.1 PAPCS 及 $I_2@COF@PAPCS$ 的制备

称取 8 g SA 溶于 192 g 纯水中, 配制质量分数为 4% 的 SA 溶液; 称取 4 g CS 溶于 196 g 1% 乙酸溶液中, 配制质量分数为 2% 的 CS 溶液; 称取 20 g PVA 置于 180 g 纯水中, 60 °C 溶胀 1 h, 100 °C 搅拌 3 h, 配制质量分数为 10% 的 PVA 溶液。

参考文献报道<sup>[9]</sup>, 将 PVA 与 SA 以质量比 2:1 混合, 搅拌 1 h, 静置脱泡, 得到 PVA/SA 混合溶液。将 PVA 与 CS 分别以质量比 1:1、2:1、3:1、4:1、5:1 混合, 搅拌 1 h, 静置脱泡, 得到不同质量比的 PVA/CS 混合溶液。

使用可调涂膜器在无纺布上先后涂布 PVA/SA、PVA/CS 混合溶液, 涂布量分别为 0.3 g·cm<sup>-2</sup> 和 0.9 g·cm<sup>-2</sup>, 然后将样品置于 -20 °C 冷冻 17 h, 室温解冻 4 h, 重复 3 次冻融循环, 分别得到 PVA 与 CS 的质量比为 1:1、2:1、3:1、4:1、5:1 的 PAPCS 水凝胶膜。

参考本课题组前期报道的方法<sup>[20]</sup>合成  $I_2@COF$ 。称取 5 g  $I_2$  于 250 mL 锥形瓶中, 加入 100 mL 1 mol·L<sup>-1</sup> KI 水溶液, 超声 10 min 至完全溶解, 加入 5.7 g COF, 于 25 °C、300 r·min<sup>-1</sup> 条件下

搅拌 2 h 后, 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 弃上清, 沉淀用 50 mL 1 mol·L<sup>-1</sup> KI 水溶液洗涤 1 次, 将洗涤过的沉淀置于 45 °C 干燥箱中 12 h 后即得  $I_2@COF$ 。

称取 10 mg  $I_2@COF$  平铺于 2 cm×2 cm 模具中, 将 PAPCS 水凝胶膜覆盖在  $I_2@COF$  上, 使 PAPCS 水凝胶膜黏附模具底部的  $I_2@COF$ , 取出, 即得  $I_2@COF@PAPCS$ 。PAPCS 及  $I_2@COF@PAPCS$  的制备过程见图 1。

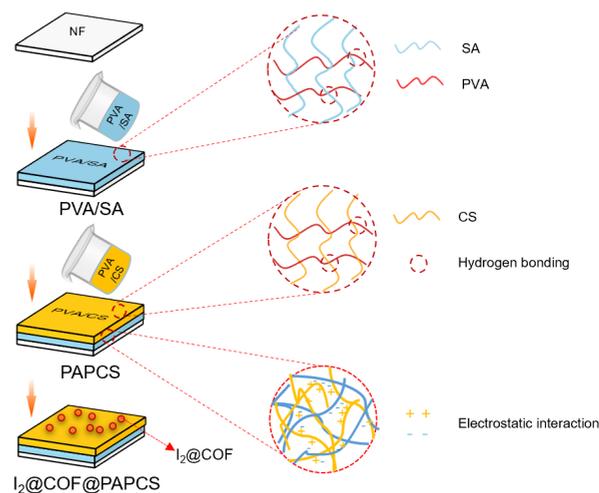


图 1  $I_2@COF@PAPCS$  水凝胶膜的制备过程

Fig. 1 Preparation process for  $I_2@COF@PAPCS$  hydrogels film

### 2.2 水蒸气透过率测定

保持合适的水蒸气透过率对于伤口敷料非常重要, 水蒸气透过率越高, 创面干燥速度越快, 脱水程度越高。水蒸气透过率过高则会导致伤口愈合缓慢, 敷料难以黏附在创面上; 而水蒸气透过率过低时, 又会导致渗出物堆积和细菌生长<sup>[24]</sup>。量取适量纯水于离心管中, 将 PAPCS 水凝胶膜置于瓶口, 使用胶带将 PAPCS 固定在瓶口, 称初始质量  $W_1$ , 置于鼓风干燥箱中 37 °C、24 h 后取出, 称终质量  $W_2$ , 测量瓶口直径, 计算内切面积 ( $S$ ), 计算水蒸气透过率 ( $g·m^{-2}·d^{-1}$ )。

$$\text{水蒸气透过率} = (W_1 - W_2) / S$$

### 2.3 含水率测定

取 PAPCS 水凝胶膜, 称湿质量; 置于 37 °C 干燥箱中烘干至恒质量, 称量其干质量, 计算含水率。

$$\text{含水率} = (\text{湿质量} - \text{干质量}) / \text{湿质量}$$

### 2.4 溶胀率测定

水凝胶的溶胀率与吸水能力正相关, 水凝胶良好的吸水能力能够高效吸收伤口渗出液, 降低感染风险, 从而加速伤口愈合, 这也是伤口敷料的要求之一<sup>[25]</sup>。将 PAPCS 水凝胶膜置于 37 °C 干燥箱中,

烘干至恒质量,称干质量;置于pH 7.4的PBS缓冲液中,37℃恒温溶胀12 h,用滤纸吸去水凝胶膜表面水分后,称溶胀质量,计算溶胀率。

$$\text{溶胀率} = (\text{溶胀质量} - \text{干质量}) / \text{溶胀质量}$$

## 2.5 凝胶分数测定

将PAPCS水凝胶膜烘干至恒定质量,称质量 $W_0$ ;置于纯水中浸泡12 h,以达到平衡溶胀,然后将水凝胶膜置于37℃干燥箱中,再次烘干至恒定质量,并称质量 $W_c$ ,计算凝胶分数。

$$\text{凝胶分数} = W_c / W_0$$

## 2.6 保水率测定

良好的保水能力可以保持伤口环境湿润,加速伤口愈合,减少疤痕形成。将PAPCS水凝胶膜称质量 $W_c$ ,置于室温条件下,分别于0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 h称质量 $W_t$ ,计算保水率。

$$\text{保水率} = W_t / W_c$$

## 2.7 傅里叶变换红外光谱检测(FTIR)

采用FTIR对CS、SA、PVA粉末以及冻干后PAPCS水凝胶膜进行衰减全反射模式扫描,分辨率 $4 \text{ cm}^{-1}$ ,扫描范围 $650 \sim 4\,000 \text{ cm}^{-1}$ 。

## 2.8 力学性能测定

水凝胶膜的力学性能是伤口敷料的重要指标,水凝胶膜应紧贴皮肤表面,且不易被撕裂。通过拉伸试验对水凝胶膜的力学性能进行测试,采用电子万能试验机对水凝胶膜进行拉伸性能测定,以评价水凝胶膜的强度和韧性。样品裁剪成 $75 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ 的哑铃形试样,测试温度 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,拉伸速度 $5 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ ,每组试样测3次。

## 2.9 扫描电子显微镜(SEM)

将制备好的PVA与CS质量比为2:1的PAPCS水凝胶膜进行冷冻干燥,对PAPCS水凝胶膜表面进行喷金处理,采用SEM观察样品表面以及横截面形貌。

## 2.10 溶血性能测定

将PAPCS水凝胶膜裁剪成 $2.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$ 的长方形置于离心管中,加入10 mL 0.9%氯化钠溶液,阴性对照组每管中加入10 mL 0.9%氯化钠溶液,阳性对照组每管中加入10 mL纯水。全部试管放入 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴,保温30 min,向每支试管加入0.2 mL枸橼酸钠抗凝兔血,轻轻混匀,再置于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴,继续保温60 min。倒出管内液体, $2\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心5 min。吸取上清液,用紫外可见分光光度计在545 nm波长处测定吸光度( $A$ )值,计算溶血率。

$$\text{溶血率} = (A_{\text{试样}} - A_{\text{阴性对照}}) / (A_{\text{阳性对照}} - A_{\text{阴性对照}})$$

## 2.11 体外凝血性能测定

止血是伤口愈合的第一个阶段,止血潜力是伤口敷料的重要表现。采用体外凝血法,测定PAPCS的凝血指数(BCI)。BCI越小,材料的止血潜力就越大<sup>[26]</sup>。将样品裁剪成直径为10 mm的圆形,放置于培养皿中, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴保温5 min。向待测样品表面滴加枸橼酸钠抗凝兔血100  $\mu\text{L}$ ,充分浸润待测样品后,立刻向待测样品表面滴加 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钙溶液10  $\mu\text{L}$ , $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温水浴5 min,从培养皿边缘加入10 mL纯水以去除未凝固的血液,收集溶液,采用紫外可见分光光度计在540 nm下测量 $A$ 值,采用未加材料的抗凝血液作为空白对照,计算BCI。

$$\text{BCI} = A_{\text{试样}} / A_{\text{空白对照}}$$

## 2.12 抑菌性能评价

当皮肤受损时,伤口内微生物和细菌的繁殖会导致伤口感染,愈合时间变长,伤口敷料应该具有一定的抑菌性,才能成为保护伤口的有效屏障<sup>[27]</sup>。根据GB/T 20944.1-2007标准,采用抑菌圈法评价材料的抑菌性。配制 $1.0 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的革兰阴性细菌(大肠埃希菌)、革兰阳性细菌(金黄色葡萄球菌)悬液。将大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌的菌悬液涂布接种到固体平板培养基上。每个平板上放置直径为10 mm的圆形无纺布、PVA/SA、PAPCS、 $\text{I}_2@ \text{COF} @ \text{PAPCS}$ ,轻压贴紧培养基, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养24 h,培养结束后使用游标卡尺测量抑菌圈直径。

## 2.13 统计学方法

采用SPSS 20.0统计分析软件进行统计学分析,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,显著性差异比较采用独立样本 $t$ 检验进行。

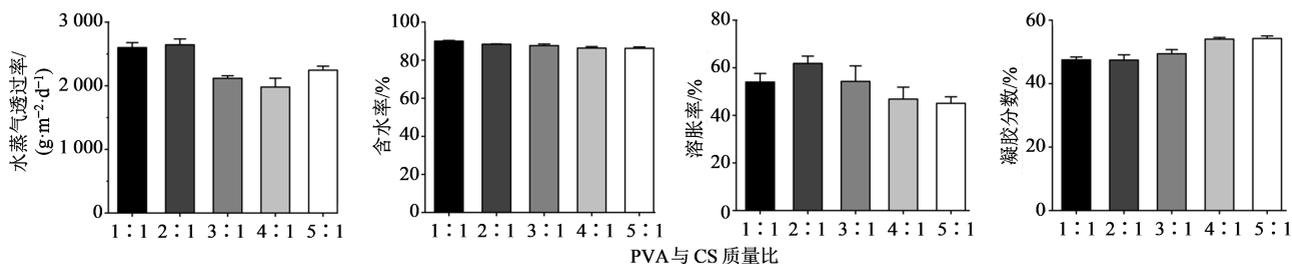
## 3 结果

### 3.1 水蒸气透过率

PVA与CS质量比为2:1组具有最大的水蒸气透过率,为 $(2\,643.76 \pm 91.62) \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ 。其后,随着PVA与CS质量比的增加,PAPCS水蒸气透过率呈降低趋势,结果见图2。PVA与CS的质量比增加,交联度增加,水凝胶膜形成更加紧密的结构,阻碍了水分子的扩散,导致水蒸气透过率降低<sup>[28]</sup>。理想的水蒸气透过率应为 $2\,000 \sim 2\,500 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ ,以防止伤口干燥和水分流失,并能有效防止伤口渗出物的形成<sup>[29]</sup>。制备的PAPCS水蒸气透过率均接近维持伤口液体平衡所需的适当范围。

### 3.2 含水率

PAPCS的含水率随PVA与CS质量比增加逐渐

图2 PAPCS水凝胶膜的物理性能评价( $\bar{x}\pm s, n=3$ )Fig. 2 Evaluation of physical properties of PAPCS hydrogels film ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

减少, PVA与CS质量比为1:1时含水率最大, 为(90.00±0.35)%(图2)。PVA含量越高, 水凝胶膜交联程度越强, 导致含水率降低, 但各组PAPCS含水率均大于85.00%, 可以为伤口愈合提供适当的潮湿环境。

### 3.3 溶胀率

各组PAPCS的溶胀率在450.67%~618.27%(图2), 其中2:1具有最大溶胀率(618.27±30.69)%。随PVA与CS质量比增加, 交联密度随之增加, 孔隙分布致密, 阻碍了水分子进入水凝胶网络, 导致溶胀率降低<sup>[30]</sup>。而1:1的溶胀率低于2:1, 可能是因为1:1的水凝胶膜成型较差, 交联网络结构不稳定, 网络结构在吸水溶胀时被破坏。

### 3.4 凝胶分数

随PVA与CS质量比从1:1增加到5:1, 凝胶分数从(47.50±0.90)%逐渐增加到(54.21±0.80)%, 见图2。PVA的增加对凝胶分数有正面影响, 配方比例中PVA占比增加, 导致水凝胶膜的交联程度变高, 更易形成氢键, 交联程度越高的水凝胶膜吸水能力越弱, 这也与溶胀率的实验结果相吻合<sup>[31]</sup>。

### 3.5 保水率

根据前期实验结果可知, PVA与CS质量比为1:1时, PAPCS水凝胶膜表面光滑, 含水率高, 但成型较差, 结构容易被破坏; 比例为5:1时交联程度最大, 但溶胀率低, 表面可见较多团状突起, 表面形态较差。因此后续仅对PVA与CS质量比为2:1、3:1、4:1的样品进行考察。PAPCS水凝胶膜的保水率在前3h内迅速下降, 然后下降速率逐渐减缓, 6h时基本恒定(图3-A)。3种水凝胶膜的保水率变化趋势相同, 6h时各组最终保水率均为15%左右。比例为2:1的水凝胶膜在0~4h内保水率明显高于3:1和4:1组。

### 3.6 FTIR

FTIR结果表明, 对于CS, 3260 cm<sup>-1</sup>附近的宽

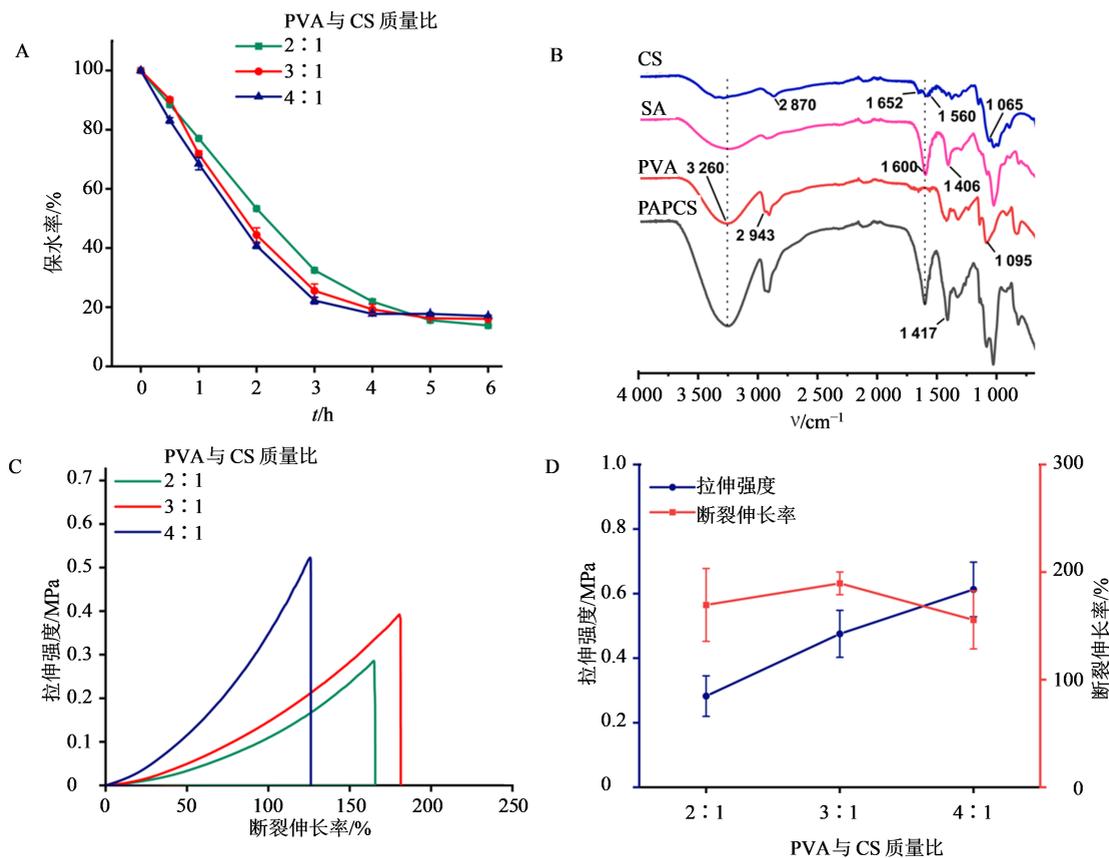
峰是由O—H键和N—H键的伸缩振动吸收峰重叠而成, 2870 cm<sup>-1</sup>是由C—H键伸缩振动造成, 1652 cm<sup>-1</sup>附近的吸收峰是乙酰氨基的酰胺I峰(即C=O基团的伸缩振动吸收峰), 在1560 cm<sup>-1</sup>处有N—H(酰胺II)的弯曲振动, 1065 cm<sup>-1</sup>附近的吸收峰是C—C骨架伸缩振动吸收峰<sup>[32]</sup>(图3-B)。SA的FTIR谱图中, 1600和1406 cm<sup>-1</sup>分别为—COO—基的对称和不对称伸缩振动。PVA的FTIR谱图中, C—H键的伸缩振动吸收峰出现在2943 cm<sup>-1</sup>附近, C—O骨架的伸缩振动吸收峰出现在1095 cm<sup>-1</sup>附近。通过比较CS、SA、PVA以及PVA与CS质量比为2:1的PAPCS谱图, PAPCS在3260 cm<sup>-1</sup>处是O—H键和N—H键的伸缩振动峰, 作用在2943 cm<sup>-1</sup>附近的峰是PVA的C—H键伸缩振动, 1600 cm<sup>-1</sup>附近是SA的—COO—基的伸缩振动, 1065 cm<sup>-1</sup>附近的吸收峰是CS的C—C骨架伸缩振动吸收峰。PAPCS含有CS、SA、PVA各自的特征峰, 且无新的特征峰产生, 说明PAPCS是由3种物质通过物理作用结合而成, PAPCS在3260 cm<sup>-1</sup>处谱O—H键和N—H键的伸缩振动峰显著增强, 可能是由于PVA与CS、SA之间的氢键相互作用导致, 进一步说明3种物质发生了物理作用结合。

### 3.7 力学性能

PAPCS水凝胶膜的力学性能研究表明, 随着PVA与CS质量比的增加, 水凝胶膜的拉伸强度逐渐增加, 但断裂伸长率呈现先增加后减少的趋势。PVA与CS质量比为2:1的水凝胶膜拉伸强度为(0.28±0.06)MPa, 断裂伸长率为(169.47±33.88)%, 与2:1相比, 4:1水凝胶膜具有最大拉伸强度(0.61±0.08)MPa, 3:1具有最大断裂伸长率(189.56±10.57)%(图3-C、D)。出现这种现象的原因是物理交联的水凝胶膜, 强度增加到一定程度后会使其韧性出现相应的减弱, 导致断裂伸长率降低<sup>[33]</sup>。

### 3.8 双层水凝胶膜的形貌分析

如图4所示, PVA与CS质量比为2:1的PAPCS



A-PAPCS 保水率; B-CS、SA、PVA 和 PAPCS 的 FTIR 图; C-PAPCS 应力-应变曲线; D-PAPCS 拉伸强度和断裂伸长率  
A-Water retention rate of PAPCS; B-FTIR of CS, SA, PVA and PAPCS; C-Stress-strain curve of PAPCS; D-Tensile strength and elongation at break of PAPCS

图 3 PAPCS 的表征和性能评价 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Fig. 3 Characterization and performance evaluation of PAPCS ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

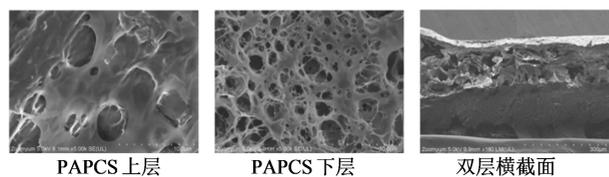


图 4 双层 PAPCS 的 SEM 图  
Fig. 4 SEM images of bilayer PAPCS

水凝胶膜表面形貌显示, PAPCS 上下层表面均为多孔结构, 下层孔隙数量更多。孔隙的形成是由于体系中形成了氢键, 增强了网络结构, 多孔的结构有利于渗透水汽和吸收伤口分泌物, 为 PAPCS 水凝胶膜的透气和吸水性能提供了结构基础<sup>[34]</sup>。SEM 结果显示 PAPCS 水凝胶膜的横截面为上下两层的片状, 两层之间通过三维网络结构相连接, 孔隙结构的互通性与连接的完整性表明水凝胶膜具有良好的结构稳定性, 能有效提升水凝胶膜的力学性能, 维持吸水溶胀后的形态。

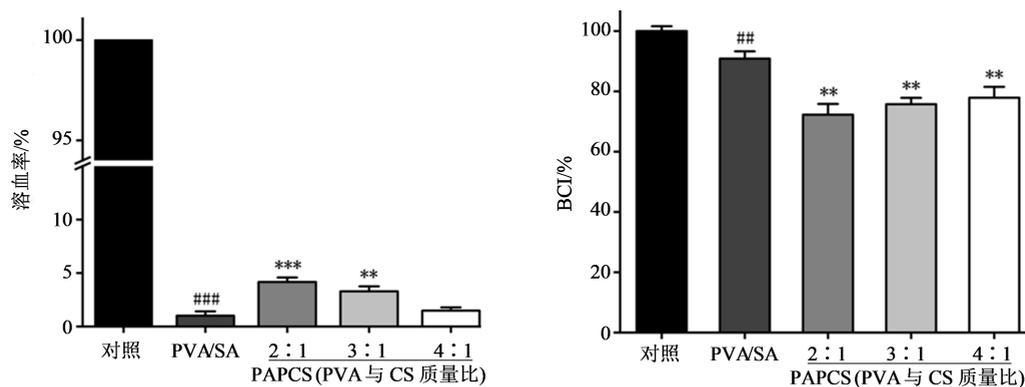
### 3.9 溶血性能评价

PAPCS 水凝胶膜的溶血率测定结果(图 5)显示, 与阳性对照组相比, PVA/SA 的溶血率显著降

低 ( $P < 0.001$ ), PVA/SA 具有良好的血液相容性; PVA 与 CS 质量比为 2:1 组的溶血率为  $(4.16 \pm 0.42)\%$ , 较 PVA/SA 组显著增加 ( $P < 0.001$ ); 3:1 组的溶血率为  $(3.29 \pm 0.46)\%$ , 较 PVA/SA 组显著增加 ( $P < 0.01$ ); 4:1 组的溶血率为  $(1.49 \pm 0.30)\%$ , 与 PVA/SA 的溶血率  $(1.01 \pm 0.40)\%$  接近, 无统计学差异。CS 中的阳离子会破坏红细胞的细胞膜, 产生溶血作用, PAPCS 水凝胶膜的溶血率高于 PVA/SA。因此当 PVA:CS 的比例增加时, 水凝胶膜中的 CS 的含量减少, 对红细胞的破坏作用减弱, 溶血率降低。但各组 PAPCS 水凝胶膜溶血率均小于 5%, 符合中国国家标准 GB/T 14233.2-2005 的规定, 具有良好的血液相容性。

### 3.10 体外凝血评价

体外 BCI 测定结果显示(图 5), 与对照组相比, PVA/SA 组的 BCI 显著降低 ( $P < 0.01$ ), 表明 PVA/SA 具有一定的促进血液凝固的能力。与 PVA/SA 相比, PAPCS 水凝胶膜的 BCI 均显著降低 ( $P < 0.01$ ), 表明 PAPCS 具有更好的促进血液凝固的能力。随



与对照组比较: # $P < 0.01$  ## $P < 0.001$ ; 与PVA/SA组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$   
 $^{##}P < 0.01$   $^{###}P < 0.001$  vs control group; \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs PVA/SA group

图5 PAPCS的生物学性能( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 5 Biological properties of PAPCS ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

着PVA与CS质量比增加,BCI随之升高,其中质量比为2:1组具有最低BCI,为(72.93±3.58)%。以凝血效果为评价指标时,应选择PVA与CS质量比为2:1,此时PAPCS水凝胶膜凝血效果最好。PAPCS具有促进血液凝固的能力,可能是因为水凝胶膜的三维结构及其良好的吸水性可以吸收血液中的水分,参与了凝血过程;另一方面是因为PAPCS水凝胶膜中的CS带正电荷,可以通过静电作用吸引红细胞表面的负电荷,从而促进血液凝固<sup>[35]</sup>。

### 3.11 I<sub>2</sub>@COF@PAPCS抑菌性能评价

无纺布与PVA/SA均未产生抑菌圈。PAPCS对于金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌的抑菌圈直径分别为(11.89±0.22)、(12.28±0.25)mm(图6),与无纺布、PVA/SA相比,PAPCS对于金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌均有明显抑菌作用。CS表面的正电荷是抗菌活性的主要来源,正电荷与微生物带负电荷的细胞膜相互作用,降低其活性从而抑制细菌的繁殖,导致细菌死亡<sup>[36]</sup>。I<sub>2</sub>@COF@PAPCS对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌的抑菌圈直径分别为(21.95±1.47)、(18.89±0.81)mm,抑菌效果显著优于PAPCS( $P < 0.001, n=3$ )。PAPCS表面的I<sub>2</sub>@COF逐渐释放出碘,碘对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌的生长起到抑制作用,协同增强了复合水凝胶膜的抑菌性能。

## 4 讨论

皮肤是人体最大的器官,任何损伤都可能使微生物进入身体并引起感染。皮肤的自我愈合过程并不总是完美无缺,它可能受到外部和内部因素的阻碍,导致伤口修复异常和并发症,伤口护理是帮助身体自我愈合的必要条件,在面对皮肤受损时,能有效预防或减轻感染<sup>[37]</sup>。因此,有效地研制创面

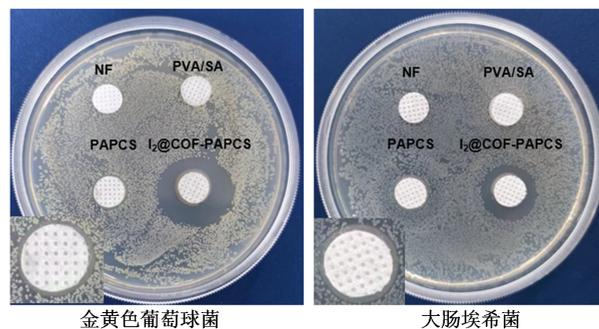


图6 PAPCS和I<sub>2</sub>@COF@PAPCS对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌形成的抑菌圈

Fig. 6 Zone of inhibition of PAPCS and I<sub>2</sub>@COF@PAPCS against *S. aureus* and *E. coli*

敷料,抑制创面感染,对于促进创面愈合至关重要。水凝胶类敷料具有透气、高含水量、易于移除、维持伤口湿润环境等特点,成为伤口敷料的理想候选者<sup>[38]</sup>。

本研究以CS和SA为成膜基材,PVA为互穿网络高分子,基于静电吸附和冻融原理,采用涂布法,成功制备了以PVA/SA为下层,PVA/CS为上层的PAPCS双层水凝胶膜伤口敷料。在结合PVA、SA、CS材料自身优点的基础上,选择简单直接的物理涂布法制备双层水凝胶膜,经济便捷,无化学交联剂添加,更安全。制备过程中需要注意消除溶液中的气泡,避免气泡残留在凝胶膜内部,影响凝胶结构的完整性和表面的光滑度。PAPCS水凝胶膜具有良好的溶胀率、水蒸气透过率、保水性能、力学性能、血液相容性,其多孔、稳定的三维结构有利于吸收伤口渗出物,维持透气环境。PVA与CS质量比为2:1时,PAPCS水凝胶膜综合性能较好,具有最大的水蒸气透过率、溶胀率以及最优的保水性能和凝血效果。生物学性能评价结果表明,双层PAPCS水

凝胶膜与单层PVA/SA相比具有更好的凝血能力与抑菌性能,且在复合抑菌成分I<sub>2</sub>@COF后抑菌作用进一步增强。

本研究设计的双层水凝胶膜敷料各项性能良好且具有显著的抗菌凝血效果,有望成为一种理想的伤口敷料。但研究仍然存在不足之处,如PAPCS水凝胶是否具有细胞毒性,面对创伤动物模型时的止血愈合性能均有待进一步研究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Homaeigozar S, Boccaccini A R. Antibacterial biohybrid nanofibers for wound dressings [J]. Acta Biomater, 2020, 107: 25-49.
- [2] 王芳, 栗勇, 苏映军. Hsp90 $\alpha$ 促进慢性难愈性创面愈合作用研究进展 [J]. 中国美容医学, 2012, 21(15): 2070-2073.  
Wang F, Li Y, Su Y. Research progress of heat shock protein 90 $\alpha$  promotes chronic wound healing [J]. Chin J Aesthetic Med, 2012, 21(11):2070-2073.
- [3] 徐向彩, 余晓芬, 郑建, 等. 医用敷料类医疗器械分类界定工作的研究 [J]. 中国医疗器械信息, 2022, 28(1): 17-19, 47.  
Xu X C, Yu X F, Zheng J, et al. Researching on the classification and definition of medical dressings [J]. China Med Device Inf, 2022, 28(1): 17-19, 47.
- [4] Jin S G. Production and application of biomaterials based on polyvinyl alcohol (PVA) as wound dressing [J]. Chem Asian J, 2022, 17(21): e202200595.
- [5] Kamoun E A, Kenawy E S, Chen X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings [J]. J Adv Res, 2017, 8(3): 217-233.
- [6] Mao Y J, Chen X L, Xu B H, et al. Eprinomectin nanoemulgel for transdermal delivery against endoparasites and ectoparasites: Preparation, *in vitro* and *in vivo* evaluation [J]. Drug Deliv, 2019, 26(1): 1104-1114.
- [7] Wang Z X, Gao S, Zhang W L, et al. Polyvinyl alcohol/chitosan composite hydrogels with sustained release of traditional Tibetan medicine for promoting chronic diabetic wound healing [J]. Biomater Sci, 2021, 9(10): 3821-3829.
- [8] Yin X L, Feng S S, Chi Y Y, et al. Estrogen-functionalized liposomes grafted with glutathione-responsive sheddable chotoooligosaccharides for the therapy of osteosarcoma [J]. Drug Deliv, 2018, 25(1): 900-908.
- [9] Kong F H, Fan C H, Yang Y L, et al. 5-hydroxymethylfurfural-embedded poly (vinyl alcohol)/sodium alginate hybrid hydrogels accelerate wound healing [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 138: 933-949.
- [10] Rezvanian M, Amin M, Ng S F. Development and physicochemical characterization of alginate composite film loaded with simvastatin as a potential wound dressing [J]. Carbohydr Polym, 2016, 137: 295-304.
- [11] Qi X L, Hu X Y, Wei W, et al. Investigation of Salecan/poly (vinyl alcohol) hydrogels prepared by freeze/thaw method [J]. Carbohydr Polym, 2015, 118: 60-69.
- [12] Sarwar M S, Niazi M B K, Jahan Z, et al. Preparation and characterization of PVA/nanocellulose/Ag nanocomposite films for antimicrobial food packaging [J]. Carbohydr Polym, 2018, 184: 453-464.
- [13] Guo W H, Yang M C, Liu S B, et al. Chitosan/polyvinyl alcohol/tannic acid multiple network composite hydrogel: Preparation and characterization [J]. Iran Polym J, 2021, 30(11): 1159-1168.
- [14] Sung J H, Hwang M R, Kim J O, et al. Gel characterisation and *in vivo* evaluation of minocycline-loaded wound dressing with enhanced wound healing using polyvinyl alcohol and chitosan [J]. Int J Pharm, 2010, 392(1/2): 232-240.
- [15] Kumar A, Kaur H. Sprayed in-situ synthesis of polyvinyl alcohol/chitosan loaded silver nanocomposite hydrogel for improved antibacterial effects [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 145: 950-964.
- [16] Ghasemian Lemraski E, Jahangirian H, Dashti M, et al. Antimicrobial double-layer wound dressing based on chitosan/polyvinyl alcohol/copper: *in vitro* and *in vivo* assessment [J]. Int J Nanomedicine, 2021, 16: 223-235.
- [17] Takahama T, Saharin S M, Tashiro K. Details of the intermolecular interactions in poly (vinyl alcohol)-iodine complexes as studied by quantum chemical calculations [J]. Polymer, 2016, 99: 566-579.
- [18] Akhmetova A, Saliev T, Allan I U, et al. A comprehensive review of topical odor-controlling treatment options for chronic wounds [J]. J Wound Ostomy Continence Nurs, 2016, 43(6): 598-609.
- [19] Selvaggi G, Monstrey S, van Landuyt K, et al. The role of iodine in antisepsis and wound management: A reappraisal [J]. Acta Chir Belg, 2003, 103(3): 241-247.
- [20] Lu S, Ren X H, Guo T, et al. Controlled release of iodine from cross-linked cyclodextrin metal-organic frameworks for prolonged periodontal pocket therapy [J]. Carbohydr Polym, 2021, 267: 118187.
- [21] Priya S G, Gupta A, Jain E, et al. Bilayer cryogel wound

- dressing and skin regeneration grafts for the treatment of acute skin wounds [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2016, 8(24): 15145-15159.
- [22] Zhang M, Wang G H, Wang D, et al. Ag@MOF-loaded chitosan nanoparticle and polyvinyl alcohol/sodium alginate/chitosan bilayer dressing for wound healing applications [J]. Int J Biol Macromol, 2021, 175: 481-494.
- [23] Xu R, Luo G X, Xia H S, et al. Novel bilayer wound dressing composed of silicone rubber with particular micropores enhanced wound re-epithelialization and contraction [J]. Biomaterials, 2015, 40: 1-11.
- [24] Kumar A, Behl T, Chadha S. Synthesis of physically crosslinked PVA/Chitosan loaded silver nanoparticles hydrogels with tunable mechanical properties and antibacterial effects [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 149: 1262-1274.
- [25] Wei L, Tan J Y, Li L, et al. Chitosan/alginate hydrogel dressing loaded FGF/VE-cadherin to accelerate full-thickness skin regeneration and more normal skin repairs [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3): 1249.
- [26] Rezaei A, Ehtesabi H, Ebrahimi S. Incorporation of Saez essential oil into polyvinyl alcohol/chitosan bilayer hydrogel as a potent wound dressing material [J]. Int J Biol Macromol, 2023, 226: 383-396.
- [27] Chen Q F, Wang W X, Chen G X, et al. Preparation and characterization of polyvinyl alcohol-chitosan/cerium hydrogel with significant antibacterial activity [J]. Starch Stärke, 2021, 73(5/6): 2000253.
- [28] Aycan D, Yayla N A, Aydin Y A. Chitosan polyvinyl alcohol blend films for ibuprofen encapsulation: Fabrication, characterization and kinetics [J]. Polym Degrad Stab, 2020, 181: 109346.
- [29] Khorasani M T, Joorabloo A, Moghaddam A, et al. Incorporation of ZnO nanoparticles into heparinised polyvinyl alcohol/chitosan hydrogels for wound dressing application [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 114: 1203-1215.
- [30] Qing X Y, He G H, Liu Z D, et al. Preparation and properties of polyvinyl alcohol/N-succinyl chitosan/lincomycin composite antibacterial hydrogels for wound dressing [J]. Carbohydr Polym, 2021, 261: 117875.
- [31] Lotfipour F, Alami-Milani M, Salatin S, et al. Free-thaw-induced cross-linked PVA/chitosan for oxytetracycline-loaded wound dressing: The experimental design and optimization [J]. Res Pharm Sci, 2019, 14(2): 175-189.
- [32] Zhang Y W, Jiang M M, Zhang Y Q, et al. Novel lignin-chitosan-PVA composite hydrogel for wound dressing [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2019, 104: 110002.
- [33] 郑春晓, 朱赛玲, 陆亚, 等. 纳米纤维素/聚丙烯酸-聚丙烯酰胺双网络导电水凝胶的合成与表征 [J]. 林业工程学报, 2020, 5(4): 93-100.
- Zheng C X, Zhu S L, Lu Y, et al. Synthesis and characterization of cellulose nanofibers/polyacrylic acid-polyacrylamide double network electroconductive hydrogel [J]. J For Eng, 2020, 5(4): 93-100.
- [34] Rezaei A, Ehtesabi H. Fabrication of alginate/chitosan nanocomposite sponges using green synthesized carbon dots as potential wound dressing [J]. Mater Today Chem, 2022, 24.
- [35] Yin H S, Song P Q, Chen X Y, et al. A self-healing hydrogel based on oxidized microcrystalline cellulose and carboxymethyl chitosan as wound dressing material [J]. Int J Biol Macromol, 2022, 221: 1606-1617.
- [36] Chopra H, Bibi S, Kumar S, et al. Preparation and evaluation of chitosan/PVA based hydrogel films loaded with honey for wound healing application [J]. Gels, 2022, 8(2): 111.
- [37] Rahimi M, Ahmadi R, Samadi K H, et al. A novel bioactive quaternized chitosan and its silver-containing nanocomposites as a potent antimicrobial wound dressing: Structural and biological properties [J]. Mater Sci Eng C, 2019, 101: 360-369.
- [38] Kamoun E A, Kenawy E S, Chen X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings [J]. J Adv Res, 2017, 8(3): 217-233.

[责任编辑 兰新新]