

人工血管用 PVA/CMCS/OCD 水凝胶的制备及性能研究

黄灿锋^{1,2}, 朱东雨^{1*}, 姜涛², 许杰盛²

(1. 广东工业大学轻工化工学院, 广东 广州 510006; 2. 广东佛山联创工程研究生院, 广东 佛山 528311)

摘要:以聚乙烯醇(PVA)和羧甲基壳聚糖(CMCS)为原料,醛基环糊精(OCD)为交联剂,通过物理-化学交联制备了高强度、血液相容性良好的PVA/CMCS/OCD水凝胶,然后研究了多糖组分含量对水凝胶性能的影响。通过红外光谱仪和扫描电子显微镜表征水凝胶的微观结构,结果表明,PVA和CMCS通过动态亚胺键、氢键和网络缠结形成互穿网络,这不仅减小了水凝胶的孔径,还提高了水凝胶的网络稳定性。同时,力学性能和抗疲劳性能也因为“刚柔相济”的网络结构而得到加强,拉伸模量从0.54 MPa提高到0.76 MPa,性能更贴近天然血管。此外,PVA/CMCS/OCD水凝胶还具有良好的细胞相容性和血液相容性。细胞毒性和溶血率均符合医疗器械生物学评价要求,蛋白质吸附、血小板粘附测试结果表明该水凝胶具有良好的抗凝血性能;复钙化时间测试和动态凝血时间测试结果显示该水凝胶的内源性凝血程度低。因此,成本低廉、制备方法简便、综合性能良好的PVA/CMCS/OCD水凝胶有望用于人工血管。

关键词:聚乙烯醇;羧甲基壳聚糖;水凝胶;人工血管;血液相容性

中图分类号:TQ317

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2022)S2-0152-08

DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2022.S2.032

Preparation and properties of PVA/CMCS/OCD hydrogel for artificial blood vessels

HUANG Can-feng^{1,2}, ZHU Dong-yu^{1*}, JIANG Tao², XU Jie-sheng²

(1.School of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology,

Guangzhou 510006, China; 2.Guangdong Foshan Union Graduate School of Engineering, Foshan 528311, China)

Abstract:PVA/CMCS/OCD hydrogel with high-strength and good blood compatible is prepared through physical-chemical cross-linking method using polyvinyl alcohol (PVA) and carboxymethyl chitosan (CMCS) as raw materials, and aldehyde cyclodextrin (OCD) as cross-linking agent.The effect of polysaccharide fraction content on the properties of hydrogel is investigated.The microstructure of the hydrogel is characterized by means of FT-IR and SEM.It is found that PVA and CMCS form interpenetrating networks through dynamic imine bonding, hydrogen bonding, and network entanglement,which reduces the pore size of hydrogel and improves its network stability.Meanwhile, the mechanical properties and fatigue resistance of the hydrogel are also enhanced by the “rigid-flexible” network structure, with the tensile modulus increasing from 0.54 MPa to 0.76 MPa.The performance of the hydrogel is closer to the requirements of natural blood vessels.In addition, PVA/CMCS/OCD hydrogel owns excellent cytocompatibility and hemocompatibility, and its cytotoxicity and hemolysis rates meet the requirements of the biological evaluation of medical devices.The results from protein adsorption and platelet adhesion tests indicate that the hydrogel shows good anticoagulant properties.It is shown through recalcification and dynamic coagulation tests that the hydrogel has a low degree of endogenous coagulation. Therefore,PVA/CMCS/OCD hydrogel with low cost,easy preparation method,and good overall performance is expected to be used for artificial blood vessels.

Key words:polyvinyl alcohol; carboxymethyl chitosan; hydrogel; artificial blood vessel; blood compatibility

自 20 世纪末以来,心血管疾病成为人类致死疾病的主要原因^[1]。对于心血管重症患者来说,人工血管移植治疗是最佳的治疗方法,仅 2000 年全球就有几十万例血管移植手术^[2-4]。目前常用的人工血管材料包括涤纶^[5]、聚四氟乙烯^[6]、聚氨酯^[7]和天然蚕丝^[8]等。但这些材料的性能存在缺陷,如通畅

性低、易钙化、易引发炎症等^[9]。随着科学的发展,大量的聚合物被用于合成人工血管的开发。Buscemi 等^[10]通过静电纺丝制备聚乳酸管状材料,组织学分析结果显示有明显的新生血管形成,但力学测试发现其脆性较大,韧性不足,与天然血管的性能有一定差距。Li 等^[11]采用聚己内酯类(PCL)材

收稿日期:2022-03-23;修回日期:2022-04-19

基金项目:广东省重点领域研发计划项目(2020B1111380003);国家自然科学基金项目(21506038)

作者简介:黄灿锋(1996-),男,硕士生,研究方向为功能水凝胶,1078851487@qq.com;朱东雨(1983-),女,博士,副教授,研究方向为功能高分子材料,通讯联系人,zdy16@gdut.edu.cn。

料构建血管移植模型,结果表明复合结构一定程度上提高了血管的机械特性,但PCL作为生物惰性材料,血液顺应性较差,需要对其表面进行生物活性修饰。

聚乙烯醇(PVA)是一种水溶性聚合物,由醋酸乙烯酯聚合后醇解制备而成^[12],PVA水凝胶被广泛应用于生物医学领域中^[13-15]。PVA水凝胶可通过化学交联、辐射交联和物理交联形成^[16]。其中,化学交联以戊二醛交联为主,但残留的交联剂对生物医学应用易造成不良影响^[17];辐射交联比戊二醛交联更清洁安全,但机械性能较差^[18],PVA物理交联是PVA溶液通过反复冻融循环形成致密的分子结构,依靠结晶交联形成水凝胶^[19],其力学强度高于其他交联方式形成的水凝胶,且安全低毒^[20],但PVA水凝胶的生物相容性依旧无法满足血管移植的需求,特别是血液相容性^[21]。

近些年,已有研究对PVA水凝胶的生物相容性进行改善,常见的是通过引入第二组分改善水凝胶的性能,如肝素^[22]、聚乙二醇^[23]、聚维酮^[24-25]、金属纳米粒子^[26]、纤维素纤维^[27]、氧化石墨烯^[28]等。这些研究一定程度上优化了PVA水凝胶的性能,但仍存在性能不稳定、价格昂贵、制备方法复杂等缺点。因此,本文提出以多糖作为第二组分对PVA水凝胶的各项性能进行改善。按一定比例将羧甲基壳聚糖(CMCS)和PVA制备成预聚液,以醛基环糊精(OCD)为交联剂,再通过冻融循环形成PVA/CMCS/OCD水凝胶,并对其理化性能和生物学性能进行系统评价。研究表明,该水凝胶制备方法简便、成本低廉,其综合性能体现出作为人工血管应用的巨大潜力。

1 实验部分

1.1 仪器及试剂

PVA(醇解度>98%)、CMCS(取代度80%)、环糊精(CD,纯度98%)、氢氧化钠(NaOH)、高碘酸钠(NaIO₄)、氯化钙(CaCl₂),上海阿拉丁试剂公司;MEM培养基、L929小鼠成纤维细胞,Procell公司;牛血清蛋白(BSA),绿源生物;抗凝兔血,河南跃驰生物;三纯水由实验室FLOM纯水仪制备。

扫描电子显微镜,Tescan Mira4,捷克泰思肯;旋转流变仪,MCR301,奥地利安东帕;多功能酶标仪,Bio-Red-iMark,上海坤科仪器;全波段研究级红外光谱仪,iS50R,美国赛默飞;真空冷冻干燥机,FD-1A-50,上海豫明仪器;紫外-可见分光光度计,

L5S,广州颖汉;集热式恒温加热磁力搅拌器,DF-101S,郑州予华仪器。

1.2 OCD的制备及表征

取2.1389g NaIO₄溶于30mL纯水中,搅拌溶解,按 $n(\text{NaIO}_4):n(\text{CD})=7:1$ 往NaIO₄溶液里加入CD,避光搅拌8h,加入200μL乙二醇继续避光搅拌2h,并置于透析袋中透析3d,最后冻干得到白色固体产物OCD。

将冻干后的OCD研磨成粉,采用溴化钾压片法,用研究级红外光谱仪分析OCD的化学结构,波数范围4000~500cm⁻¹。

1.3 PVA/CMCS/OCD水凝胶的制备及表征

称取一定质量PVA,溶于98℃纯水中,配制成质量分数10%PVA溶液;称取一定质量CMCS,溶解在60℃纯水中,配制成质量分数6%CMCS溶液。将PVA溶液和CMCS溶液按不同的体积比混匀,并在60℃下搅拌至形成均一溶液。按 $m(\text{CMCS}):m(\text{OCD})=12:5$ 往混合溶液中加入OCD,混合均匀,常温放置4h后在-18℃下冷冻12h,然后在室温下解冻4h,反复冻融操作4次。将冻融循环后的水凝胶浸泡除去游离成分后备用。预聚液的配方如表1所示。

表1 预凝液的配方

样品	V(PVA):V(CMCS)	V(PVA)/mL	V(CMCS)/mL
#1	20:0	20	0
#2	19:1	19	1
#3	18:2	18	2
#4	17:3	17	3
#5	16:4	16	4

将水凝胶冻干,用研究级红外光谱仪,以全反射模式分析PVA/CMCS/OCD水凝胶的化学结构,波数范围4000~500cm⁻¹。

1.4 扫描电子显微镜

将冻干水凝胶固定在铜板上喷金,使用扫描电子显微镜观察水凝胶的形貌。

1.5 动态溶胀测试

采用称重法对水凝胶的动态溶胀行为进行测定。将水凝胶裁剪成直径8mm的圆片,冻干后称重,并将干胶浸泡在磷酸缓冲盐(PBS)溶液中,在不同时间间隔下检测水凝胶质量变化,直至恒重。记录干胶的质量 m_1 (g)和水凝胶溶胀恒重时的质量 m_2 (g),通过公式(1)计算水凝胶的平衡溶胀率。

$$\text{平衡溶胀率}(\%) = [(m_2 - m_1)/m_1] \times 100\% \quad (1)$$

1.6 流变性能测试

使用旋转流变仪探究水凝胶的流变性能。将水凝胶裁剪为直径 25 mm、厚度 3 mm 的小圆片,设定恒定应变 1%,温度 37℃ 下进行频率扫描,频率范围 1~100 rad/s,测得水凝胶的模量-频率关系曲线。

1.7 力学性能测试

使用万能试验机对水凝胶进行力学性能测试。将水凝胶浸泡在 PBS 溶液中达到平衡溶胀状态后,用滤纸吸去表面水分。将水凝胶裁剪为长度 60 mm、宽度 10 mm、厚度 2 mm 的样条,两端固定在试验机的夹具上,夹具间的原始标距 35 mm,拉伸速率设定为 50 mm/min,采用单侧拉伸直到将样条拉断。

使用相同规格的水凝胶样条进行循环拉伸。两端固定在试验机的夹具上,夹具间的原始标距 35 mm。在 20% 拉伸形变下进行循环拉伸,拉伸速率设定为 100 mm/min,循环次数 100 次。

1.8 生物学评价

1.8.1 细胞毒性测试

采用 MTT 法 (GB/T 16886.1—2011) 检测水凝胶的体外细胞毒性,并通过公式 (2) 计算细胞相对增殖率 $RGR(\%)$ 。

$$RGR(\%) = (A_{\text{实验组}}/A_{\text{对照组}}) \times 100\% \quad (2)$$

式中: $A_{\text{实验组}}$ 为凝胶浸提液在波长 490 nm 处的吸光度值; $A_{\text{对照组}}$ 为未浸提的 MEM 培养液在波长 490 nm 处的吸光度值。

1.8.2 溶血率测试

取 5 mL 无菌 PBS 溶液,然后按 $V(\text{抗凝兔血}):V(\text{PBS})=4:5$ 加入新鲜抗凝兔血,制成稀释抗凝兔血并于 4℃ 冰箱保存备用。将水凝胶裁剪成直径 8 mm 的圆片,冻干后灭菌,放置于 PBS 溶液中溶胀平衡,转移至离心管中,每管加入 10 mL PBS 溶液。阴性对照组直接加入 10 mL PBS 溶液至离心管中,阳性对照组直接加入 10 mL 纯水。将所有组离心管置于 37℃ 水浴孵育 30 min,每管加入 200 μL 稀释抗凝兔血,于 37℃ 水浴孵育 1 h。将上述离心管用离心机在 2 500 r/min 离心 15 min,吸取上清液并用紫外分光光度计测试 540 nm 波长处的吸光度值。按公式 (3) 计算溶血率 $HR(\%)$ 。

$$HR(\%) = [(A_s - A_{nc}) / (A_{pc} - A_{nc})] \times 100\% \quad (3)$$

式中: A_s 为样品吸光度值; A_{nc} 为阴性对照吸光度值; A_{pc} 为阳性对照吸光度值。

1.8.3 蛋白质吸附测试

参照文献 [29] 中的方法对蛋白质吸附情况进

行测试。将水凝胶裁剪成直径 8 mm 的圆片,冻干后灭菌,放置于 PBS 溶液中溶胀平衡,转移至 48 孔板中,每孔加入 500 μL BSA 溶液。37℃ 孵育 2 h 后将水凝胶取出,使用无菌 PBS 溶液清洗 3 次;然后加入 500 μL 2% SDS 溶液,于 37℃ 摇床孵育 1 h,使吸附在水凝胶上的蛋白质脱落到溶液中。通过 BCA 蛋白质检测试剂盒绘制蛋白质标准曲线,并用酶标仪测试 560 nm 波长处的吸光度值,通过公式 (4) 计算水凝胶片上吸附蛋白质的量 $Q(\mu\text{g}/\text{cm}^2)$ 。

$$Q = (C \times V) / S \quad (4)$$

其中: C 表示溶液中蛋白质的浓度, $\mu\text{g}/\mu\text{L}$; V 表示溶液体积, μL ; S 表示水凝胶片的表面积, cm^2 。

1.8.4 含血小板血浆的制备

参照 GB/T14233.2—2005 制备富血小板血浆 PRP 和贫乏血小板血浆 PPP。

1.8.5 血小板吸附量测试

参照文献 [29] 中的方法,对血小板吸附情况进行测试。将 PVA/CMCS/OCD 水凝胶裁剪成直径 8 mm 的圆片,冻干后灭菌,放置于 PBS 溶液中溶胀平衡,转移至 48 孔板中,并加入 200 μL PRP,37℃ 孵育 1 h 后将水凝胶片取出并置于干净的孔板中,加入 200 μL 2% Ttiton-X100,37℃ 孵育 30 min 后,按乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒 (LDH 试剂盒) 说明,用酶标仪测试 440 nm 波长处的吸光度值。

1.8.6 血浆复钙化时间测试

参照 GB/T 14233.2—2005 等标准对复钙化时间进行测试。将水凝胶裁剪成直径 8 mm 的圆片,冻干后灭菌,放置于 PBS 溶液中溶胀至平衡,转移至 48 孔板中,加入 200 μL PPP,并于 37℃ 孵育 1 h 后,取 100 μL 于 96 孔板中,加入 100 μL CaCl_2 溶液 (25 mmol/L),振荡 30 s 后,用酶标仪测试 405 nm 波长处的吸光度值,每 1 min 测定一次,共观察 30 min。

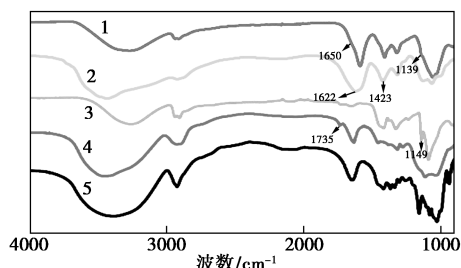
1.8.7 动态凝血时间测试

参照 GB/T14233.2—2005 等标准对动态凝血时间进行测试。将水凝胶裁剪成直径 8 mm 的圆片,冻干后灭菌,放置于 PBS 溶液中溶胀平衡,转移至 15 mL 离心管中,加入 100 μL 抗凝兔血,再加入 10 μL CaCl_2 溶液 (0.1 mol/L),开始计时。摇晃 1 min,使 CaCl_2 与全血混合均匀,分别于 37℃ 恒温 5、10、20、30、50、70、90 和 110 min。取出离心管后加入 10 mL 纯水,摇晃 10 min 后取上清液,用酶标仪测试 540 nm 波长处的吸光度值。

2 结果与讨论

2.1 红外谱图分析

图1为原料CD、PVA、CMCS和改性后的OCD和PVA/CMCS/OCD水凝胶的红外光谱。在原料CD中, 3386 cm^{-1} 处为分子中O—H的伸缩振动峰。改性后的OCD分子中O—H的伸缩振动峰发生偏移,说明有部分羟基参与了反应;同时在 1735 cm^{-1} 处出现了一个新的特征峰,归属于醛基中C=O的伸缩振动峰,说明CD被成功氧化成含部分双醛基的氧化多糖。PVA/CMCS/OCD水凝胶在 1139 cm^{-1} 处的吸收峰属于PVA结晶敏感峰;相对于CMCS羧基的两处伸缩振动峰,PVA/CMCS/OCD水凝胶在 1410 和 1322 cm^{-1} 两处存在偏移,可能是成胶过程中,羧基与其他亲水基团之间发生静电作用; 1650 cm^{-1} 处的特征吸收峰为亚胺键,证明水凝胶组分中的OCD和CMCS发生了席夫碱反应;另外, 1058 cm^{-1} 处出现了相比于CMCS和PVA的强吸收峰,此处为C—O的伸缩振动峰,可能是PVA的氨基和OCD的醛基发生了半缩醛反应形成醚键。



1—PVA/CMCS/OCD; 2—CMCS; 3—PVA; 4—OCD; 5—CD

图1 红外谱图

2.2 形貌分析

图2为不同配比的PVA/CMCS/OCD水凝胶在放大2000倍下的SEM图。5组水凝胶都呈现三维多孔网络结构;纯PVA水凝胶的孔径不均匀(#1),且呈现压缩状,同时还存在不规则的层状结构。CMCS/OCD网络的引入明显影响了水凝胶的形貌,使内部结构更加紧密,一定程度上改善了纯PVA水凝胶的保水性能。随着CMCS/OCD含量的增加,PVA/CMCS/OCD水凝胶的孔径大小呈现先减小后变大的趋势,最后孔洞呈现无序状分布,这归因于高强度的PVA组分含量减少,网络的稳定性降低,甚至出现类似散架的状态。相对于#4、#5组,#2、#3组水凝胶的孔洞分布有序、孔径均匀,这种骨架规律也赋予其低溶胀高强度的力学性能,此外内部高孔隙

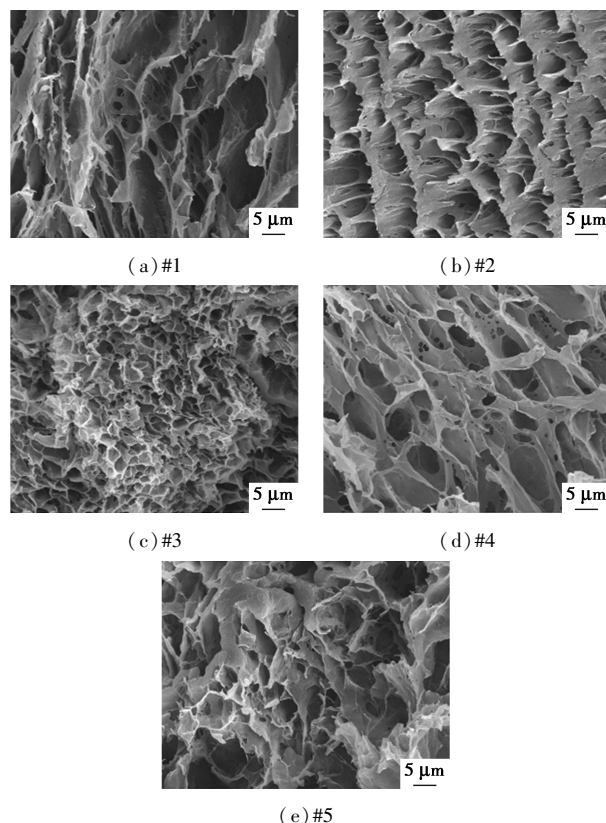


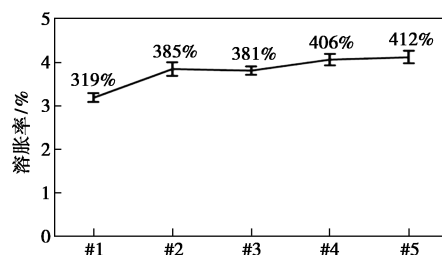
图2 水凝胶的扫描电镜图

率也使水凝胶具有较高的比表面积^[30],有望增强其生物活性。

2.3 溶胀性能分析

作为人工血管材料,水凝胶应该具有一定的保水性,同时溶胀后的变化不能过大,否则会影响对尺寸的把控。图3(a)显示,CMCS/OCD的引入一定程度上增大了溶胀率,#4、#5组水凝胶的溶胀率均突破400%,这要归因于多糖组分含量的提高,亲水基团增加,对水的结合能力增强。尽管水凝胶溶胀后的质量增加,但#3、#4组水凝胶总体积几乎保持不变,即不会发生严重的溶胀变形现象^[31],这对水凝胶人工血管在体内不发生体积膨胀具有重要意义。

另外,本文还进一步观察了水凝胶的溶胀平衡时间,如图3(b)所示,不同配比的PVA/CMCS/OCD水凝胶达到溶胀平衡所需的时间大致相同,为28~35 min,符合医用植入材料的预处理时间要求。



(a) 溶胀率

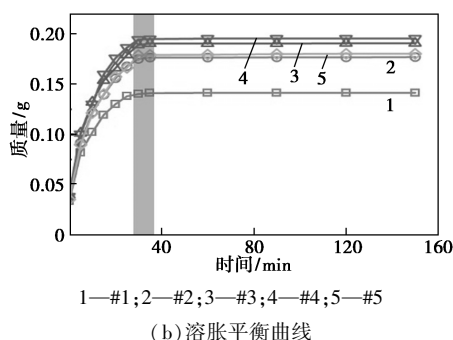
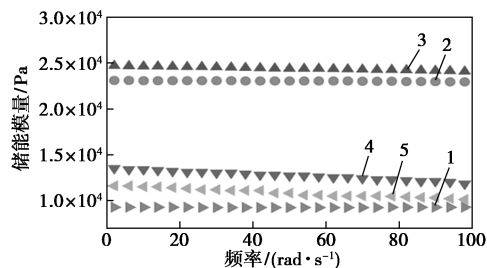


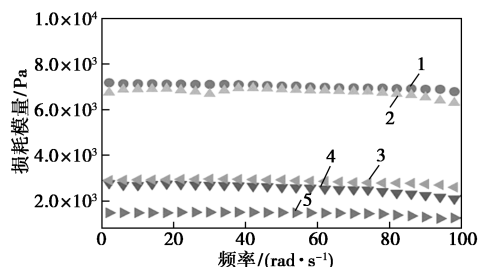
图 3 水凝胶的溶胀率和溶胀平衡曲线

2.4 流变学分析

流变性能是确定聚合物分子链三维结构的重要指标,也是评估水凝胶骨架稳定性的重要理化性能^[32]。图 4 显示了不同配比的 PVA/CMCS/OCD 水凝胶在 1~100 rad/s 频率范围内的储能模量和损耗模量。从图中可看出,在实验范围内,储能模量均远远超过损耗模量,这意味着水凝胶都表现出良好的弹性特征^[33-34]。此外,储能模量和损耗模量在测试频率范围内变化均不大,表现出类固体的流变特性和非常稳定的内部三维网络结构。多糖的加入,一定程度上增强了分子链间缠结和网络交联密度,从而提高了水凝胶网络的稳定性,但从#4、#5 组水凝胶的储能模量小于#3 组水凝胶的储能模量也可以看出,多糖组分的含量并不是越多越好。



(a) 储能模量



(b) 损耗模量

1—#1;2—#2;3—#3;4—#4;5—#5

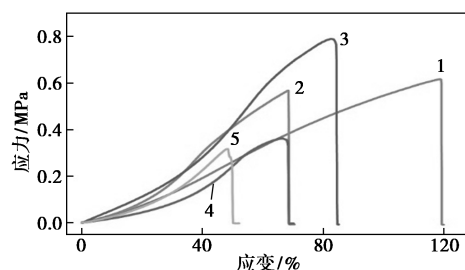
图 4 水凝胶的储能模量和损耗模量随频率变化曲线

2.5 力学性能分析

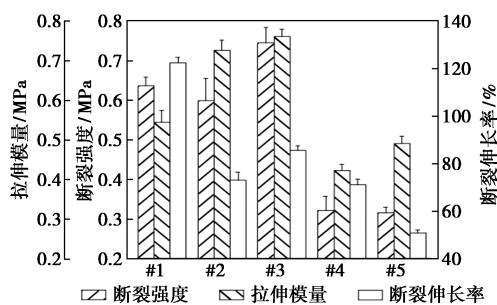
图 5 描述了不同配比的 PVA/CMCS/OCD 水凝胶

的力学性能。添加多糖组分之后,水凝胶的断裂强度呈现先增加后降低的趋势,#3 组水凝胶的断裂强度最高。一定含量 CMCS/OCD 的加入使分子链间的物理缠绕增多,PVA 分子中大量的羟基与 CMCS 分子形成氢键的作用更强,从而提高了水凝胶的刚性。另外,CMCS 与 OCD 交联的动态亚胺键也增加了凝胶的应力适应性,从而提高了凝胶的韧性^[35]。总之,具有互穿网络动态交联结构的水凝胶在拉伸过程中能够发生应力的部分转移和耗散,从而显著提高了水凝胶整体的机械性能。之后还对应力-应变曲线进行分析,取应变 0~10% 线性区域的斜率作为拉伸模量,结果如图 5(b) 所示。据报道,天然血管的拉伸模量一般为 0.3~1.5 MPa^[36-37],#3 水凝胶的拉伸模量为 (0.76±0.02) MPa,贴近天然血管。

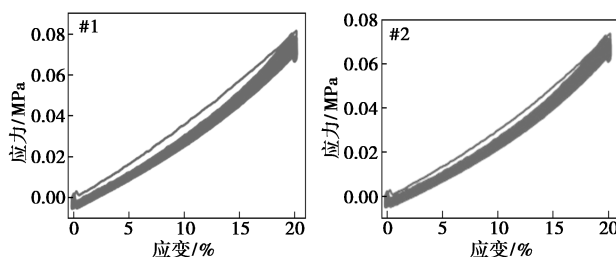
为了进一步研究 PVA/CMCS/OCD 水凝胶的抗疲劳性能,对 5 组水凝胶在相同条件下进行循环拉伸实验,图 5(c) 是不同配比的 PVA/CMCS/OCD 水凝胶在 20% 应变 100 次循环下的拉伸-恢复曲线。其中,#3 组水凝胶所有曲线几乎可以彼此重叠,显示出较好的抗疲劳性能。



(a) 应力应变曲线



(b) 力学特性



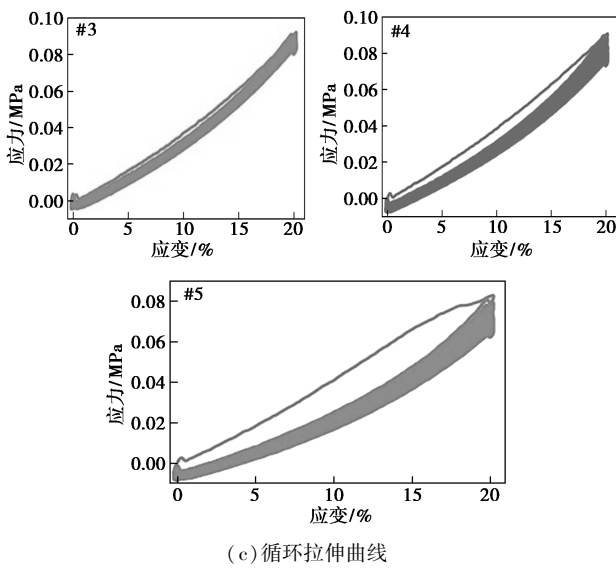


图5 样品的力学性能

2.6 生物学评价

通过 MTT 法检测 PVA/CMCS/OCD 水凝胶的体外细胞毒性,结果如图 6(a)所示。5 组水凝胶的细胞增殖率均大于 80%,在定性评价中属于 1 级,具有轻微细胞毒性。加入 CMCS/OCD 后,水凝胶的体外细胞增殖率有所上升,且随着组分比例的增加而增大。图 6(b)为 PVA/CMCS/OCD 水凝胶的溶血率,引入多糖组分后的水凝胶溶血率都低于 0.5%,#2~#5 组溶血率分别为 0.24%、0.22%、0.21%和 0.29%,均远远低于国标和 ISO 标准要求的 5%。综上,含有 CMCS/OCD 组分的 4 组水凝胶的细胞相容性均符合应用要求。

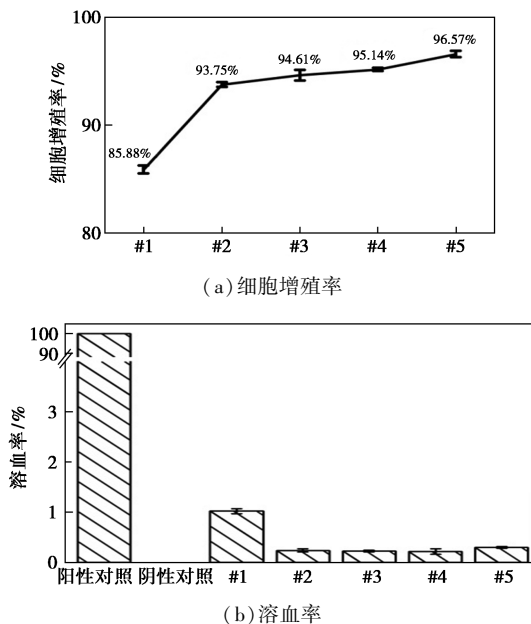


图6 细胞增殖率和溶血率

低的蛋白质吸附可以有效地抑制血栓的形成,这对于人工血管至关重要^[38]。蛋白质在生物材料上的吸附可分为可逆吸附和不可逆吸附,其中不可逆吸附的发生是因为蛋白质上丰富的基团与水凝胶表面发生共价键交联,使蛋白质变性而无法脱落,这种粘附是引起血栓的主要原因^[39]。从图 7(a)可以看出,随着多糖体系的引入,水凝胶的蛋白质吸附量都有所下降,较纯 PVA 水凝胶有一定的改善效果。这种情况的发生是因为 BSA 带负电(与凝血机制有关的白蛋白和纤维蛋白原也带负电^[40]),多糖组分中的 CMCS 含有大量的 COO^- ,增加了水凝胶对蛋白质的排斥力,从而降低了吸附量。研究表明,聚乙二醇二丙烯酸酯具有优异的抗蛋白吸附特性^[41],其可逆蛋白吸附量大概为 $0.6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$,而引入多糖组分的 PVA 水凝胶可逆蛋白吸附量均小于 $0.5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$,其中#5 水凝胶低至 $0.21 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。

为了检测 PVA/CMCS/OCD 水凝胶的抗凝血性能,通过 LDH 实验研究水凝胶对血小板的吸附情况。图 7(b)显示,PVA/CMCS/OCD 水凝胶的吸光度值都小于纯 PVA 水凝胶,归因于水凝胶表面的负电荷对纤维蛋白原的排斥,而纤维蛋白原可以与血小板 GP IIb/IIIa 结合从而导致血小板吸附在材料表面^[42]。综上,4 组含有 CMCS/OCD 组分的水凝胶均具有良好的抗血小板吸附能力。

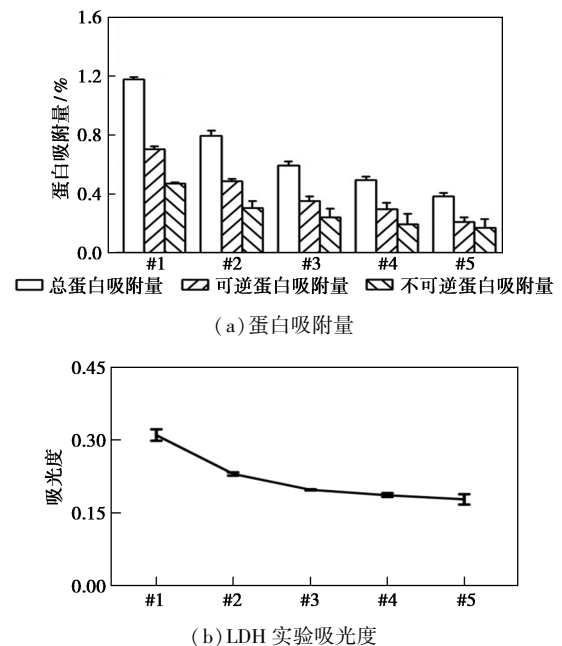
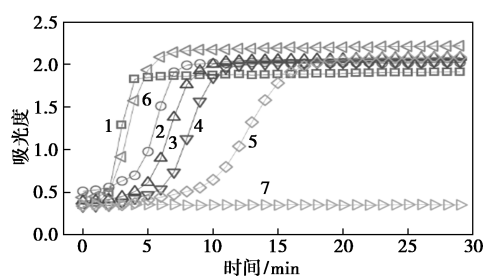


图7 蛋白吸附量和 LDH 实验吸光度

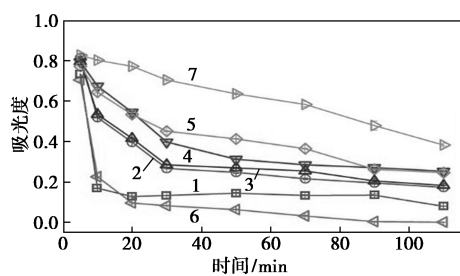
血浆复钙化时间可以用来表征内源性凝血,血浆吸光度值的增加表明凝血的发生^[43]。图 8(a)是

5 组水凝胶的血浆吸光度值随时间变化情况。阴性对照组没有添加 CaCl_2 , 其吸收值基本没有发生变化, 其他 5 组和阳性对照的吸收值均随时间逐渐增加, 直至达到稳定值。通过对比每组曲线的斜率可看出, #1 组水凝胶斜率与阳性对照组斜率基本相同, 表明 PVA 引起了内源性凝血。随着 CMCS/OCD 组分含量的增加, 曲线斜率越来越小, 说明多糖的加入一定程度上缓解了凝血的发生。此外, 5 组水凝胶的半峰值时间 (T_{half}) 分别为 3、6、7、8、13 min。在常见的人工血管材料中, 聚四氟乙烯和聚丙交酯-乙交酯 (PLGA) 的 T_{half} 分别为 7.5 和 13 min^[44-46]。对比发现, CMCS/OCD 组分的加入, 一定程度上减缓了内源性凝血的发生。

动态凝血时间是表征内源性凝血因子活性的另外一种方法。当生物材料的动态凝血时间曲线在很短时间内快速向下倾斜时, 可确定该材料的内源性凝血因子活性高, 材料易引起血液凝固, 血液相容性差^[47]。从图 8(b) 可看出, 阳性对照的初凝时间 (吸光度小于 0.1) 为 20 min。尽管 #1 水凝胶在 110 min 前吸光度都大于 0.1, 但在 20 min 时其吸光度值已经低至 0.127, 证明 PVA 材料的血液相容性较差。而另外 4 组水凝胶在测试时间内的吸光度均大于 0.2, 且呈现缓慢向下倾斜的趋势, 表明 PVA/CMCS/OCD 水凝胶的内源凝血因子活性低。综上, #3、#4、#5 水凝胶的血液相容性均得到改善, 且具有一定的抗凝血性能。



(a) 复钙化时间



(b) 动态凝血时间

1—#1; 2—#2; 3—#3; 4—#4; 5—#5; 6—阳性对照; 7—阴性对照

图 8 复钙化时间和动态凝血时间

3 结论

本文选用 OCD 作为交联剂, 以 PVA 和 CMCS 为主要骨架成分, 利用动态亚胺键、氢键等多重动态交联形成互穿网络水凝胶。经综合理化性能和生物学性能分析, #3 组水凝胶各方面的性能均得到改善。互穿网络结构不仅丰富了水凝胶的多孔结构, 还提高了水凝胶网络的稳定性, 同时 PVA 和 CMCS 网络刚柔并济的特性也使力学强度得到提高, 拉伸模量是纯 PVA 水凝胶的 1.4 倍, 抗疲劳性能也能够满足血管高频率的收缩-舒张运动。此外, 由于 CMCS 含有丰富的羧基, 对非特异性蛋白和血小板有一定的抗吸附作用, PVA/CMCS/OCD 水凝胶的内源性凝血因子活性较低, 复钙化和动态凝血时间得到延长, 具有一定的抗凝血性能, 在人工血管等血液接触材料方面具有良好的应用前景。

参考文献

- [1] Wang D F, Xu Y Y, Li Q, *et al.* Artificial small-diameter blood vessels: Materials, fabrication, surface modification, mechanical properties, and bioactive functionalities [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2020, 8(9): 1801-1822.
- [2] 曹海建, 钱坤. 人造血管的发展及现状 [J]. *北京纺织*, 2004, 25(6): 36-38.
- [3] Saberianpour S, Heidarzadeh M, Geranmayeh M H, *et al.* Tissue engineering strategies for the induction of angiogenesis using biomaterials [J]. *Journal of Biological Engineering*, 2018, 12: 1-15.
- [4] Seifu D G, Purnama A, Mequanint K, *et al.* Small-diameter vascular tissue engineering [J]. *Nature Reviews Cardiology*, 2013, 10(7): 410-421.
- [5] Calcaterra D, Jazayeri M A, Turek J W, *et al.* Aortic root reconstruction with a new dacron graft featuring prefabricated coronary side branches: Lessons learned from the cabrol procedure [J]. *AORTA*, 2017, 5(1): 1-10.
- [6] Wang D F, Xu Y Y, Wang L X, *et al.* Long-term nitric oxide release for rapid endothelialization in expanded polytetrafluoroethylene small-diameter artificial blood vessel grafts [J]. *Applied Surface Science*, 2020, 507: 145028.1-145028.10.
- [7] Fang J, Zhang J, Du J, *et al.* Orthogonally functionalizable polyurethane with subsequent modification with heparin and endothelium-inducing peptide aiming for vascular reconstruction [J]. *ACS Applied Materials Interfaces*, 2016, 8(23): 14442-14452.
- [8] Tanaka T, Abe Y, Cheng C J, *et al.* Development of small-diameter elastin-silk fibroin vascular grafts [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2020, 8: 1-12.
- [9] Chandra P, Atala A. Engineering blood vessels and vascularized tis-

- sues: Technology trends and potential clinical applications[J]. *Clinical Science*, 2019, 133(9): 1115–1135.
- [10] Buscemi S, Palumbo V D, Maffongelli A, *et al.* Electrospun phea-PLA/PCL scaffold for vascular regeneration: A preliminary in vivo evaluation[J]. *Transplantation Proceedings*, 2017, 49(4): 716–721.
- [11] Li C, Wang F, Douglas G, *et al.* Comprehensive mechanical characterization of PLA fabric combined with PCL to form a composite structure vascular graft[J]. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2017, 69: 39–49.
- [12] Buwalda S J, Boere K W, Dijkstra P J, *et al.* Hydrogels in a historical perspective: From simple networks to smart materials[J]. *Journal of Controlled Release*, 2014, 190: 254–273.
- [13] Sankari L, Fernandes B L, Rebelatto C L K, *et al.* Evaluation of PVA hydrogel as an extracellular matrix for in vitro study of fibroblast proliferation[J]. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 2019, 69(10): 653–658.
- [14] Duque-Ossa L C, Ruiz-Pulido G, Medina D I. Triborheological study under physiological conditions of PVA hydrogel/HA lubricant as synthetic system for soft tissue replacement[J]. *Polymers*, 2021, 13(5): 1–15.
- [15] Eble S K, Hansen O B, Chrea B, *et al.* Clinical outcomes of the polyvinyl alcohol (PVA) hydrogel implant for hallux rigidus[J]. *Foot & Ankle International*, 2020, 41(9): 1056–1064.
- [16] 韩领军, 杨荣杰. 聚乙烯醇(PVA)水凝胶研究进展[J]. *材料导报*, 1997, 11(2): 43–45.
- [17] Gough J E, Scotchford C A, Downes S. Cytotoxicity of glutaraldehyde crosslinked collagen-poly(vinyl alcohol) films is by the mechanism of apoptosis[J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2002, 6(1): 121–130.
- [18] Peppas N A, Merrill E W. Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels as swollen elastic networks[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 1977, 21(7): 1763–1770.
- [19] Peppas N A. Turbidimetric studies of aqueous poly vinyl alcohol solutions[J]. *Die Makromolekulare Chemie*, 1975, 176(11): 3433–3440.
- [20] Lozinsky V I, Plieva F M. Poly(vinyl alcohol) cryogels employed as matrices for cell immobilization. 3. Overview of recent research and developments[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 1998, 23(3/4): 227–242.
- [21] Chaouat M, Visage C L, Baille W E, *et al.* A novel cross-linked poly(vinyl alcohol) (PVA) for vascular grafts[J]. *Advanced Functional Materials*, 2008, 18(19): 2855–2861.
- [22] Negishi J, Nam K, Kimura T, *et al.* Fabrication of a heparin-PVA complex hydrogel for application as a vascular access[J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2014, 102(7): 1426–1433.
- [23] Ren X, Feng Y, Guo J, *et al.* Surface modification and endothelialization of biomaterials as potential scaffolds for vascular tissue engineering applications[J]. *Chemical Society Reviews*, 2015, 44(15): 5680–5742.
- [24] Zhang S D, Zhai Y C, Zhang Z F. Preparation and properties of polyvinyl alcohol (PVA)/polyvinyl pyrrolidone (PVP) hydrogel[J]. *Applied Mechanics and Materials*, 2011, 84/85: 485–488.
- [25] 宫宇宁, 王奇, 王红蕾, 等. 聚乙烯醇/聚乙烯吡咯烷酮/碘复合水凝胶的制备与性能[J]. *高等学校化学学报*, 2020, 41(9): 2078–2084.
- [26] Wen N, Jiang B, Wang X, *et al.* Overview of polyvinyl alcohol nanocomposite hydrogels for electro-skin, actuator, supercapacitor and fuel cell[J]. *The Chemical Record*, 2020, 20(8): 773–792.
- [27] Zhang J, Liu T, Liu Z, *et al.* Facile fabrication of tough photocrosslinked polyvinyl alcohol hydrogels with cellulose nanofibrils reinforcement[J]. *Polymer*, 2019, 173: 103–109.
- [28] Zhang L, Wang Z, Xu C, *et al.* High strength graphene oxide/polyvinyl alcohol composite hydrogels[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2011, 21(28): 10399–10406.
- [29] 张春亮. 纳米纤维素功能材料的制备及其应用研究[D]. 秦皇岛: 燕山大学, 2018.
- [30] Li Y S, Han Y, Qin J T, *et al.* Photosensitive antibacterial and cytotoxicity performances of a TiO₂/carboxymethyl chitosan/poly(vinyl alcohol) nanocomposite hydrogel by in situ radiation construction[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2016, 133(44): 44150.
- [31] Kamata H, Akagi Y, Kayasuga-Kariya Y, *et al.* “Nonswellable” hydrogel without mechanical hysteresis[J]. *Science*, 2014, 343(6173): 873–875.
- [32] Gu S, Cheng G, Yang T, *et al.* Mechanical and rheological behavior of hybrid cross-linked polyacrylamide/cationic micelle hydrogels[J]. *Macromolecular Materials and Engineering*, 2017, 302(12): 1700402.1–1700402.7.
- [33] Wei S C, Pan M, Li K, *et al.* A multistimuli-responsive photochromic metal-organic gel[J]. *Advanced Materials*, 2014, 26(13): 2072–2077.
- [34] Liu X J, Li H Q, Zhang B Y, *et al.* Highly stretchable and tough pH-sensitive hydrogels with reversible swelling and recoverable deformation[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(6): 4850–4857.
- [35] 何广华, 赵洒, 王海波, 等. 羧甲基壳聚糖/聚乙烯醇自愈水凝胶的制备及其性能[J]. *武汉大学学报(理学版)*, 2019, 65(4): 369–376.
- [36] Takagi H, Goto S N, Matsui M, *et al.* A contemporary meta-analysis of Dacron versus polytetrafluoroethylene grafts for femoropopliteal bypass grafting[J]. *Journal of Vascular Surgery*, 2010, 52(1): 232–236.
- [37] Soffer L, Wang X, Zhang X, *et al.* Silk-based electrospun tubular scaffolds for tissue-engineered vascular grafts[J]. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 2008, 19(5): 653–664.
- [38] He M, Cui X, Jiang H, *et al.* Super-anticoagulant heparin-mimicking hydrogel thin film attached substrate surfaces to improve hemocompatibility[J]. *Macromolecular Bioscience*, 2017, 17(2): 1–12.

透膜在经过一步化学清洗后,大量的 CaCO_3 无机垢被清洗掉,膜面上无明显颗粒物以及 CaCO_3 晶体堆积。清洗后的膜表面变得光滑平整。通过能谱分析未检出 Ca、P 元素,说明采用复配的酸性清洗配方可一步实现对反渗透膜的彻底清洗。

3 结论

(1) 田湾核电 3、4 号机除盐水处理厂反渗透系统结垢较为严重,其中无机垢主要为 CaCO_3 ,其含量达到 90% 以上。原因是来水中 Ca^{2+} 和 HCO_3^- 含量较高,在长期运行过程中逐渐形成 CaCO_3 垢,最终使反渗透膜跨膜压差显著升高,膜通量下降。通过控制温度低于 25°C ,且 pH 为 6.0 左右,便可以有效避免或减少 CaCO_3 垢的生成。

(2) 通过实验筛选出的最佳清洗配方为:0.1% 盐酸 + 2% 柠檬酸 + 0.01% SDBS + 0.05% AEO_5 + 0.05% MSDS。采用该配方可使膜通量恢复率达到 95.25%,跨膜压差下降 58.3%,清洗效果良好。

(3) 该清洗配方由不同功能的清洗药剂通过复配优化得到,只需要配制一种清洗液,便可一步实现对无机垢、有机垢及胶体的清洗及杀菌作用,有效克服了传统清洗方法的复杂操作流程。

参考文献

- [1] 黄维菊,魏星.膜分离技术概论[M].北京:国防工业出版社,2008:1-55.
- [2] 赵庆山.膜分离技术在水处理方面的应用[J].中国新技术新产品,2019,(6):55-56.
- [3] 王榴,蒙义舒.膜分离技术的应用现状及研究进展[J].现代矿业,2016,32(11):239-240,244.
- [4] Kucera J. Biofouling of polyamide membranes: Fouling mechanisms, current mitigation and cleaning strategies, and future prospects[J]. Membranes, 2019, 9(9): 111-192.
- [5] 沈悦啸,王利政,莫颖慧,等.膜污染和膜材料的最新研究进展[J].中国给水排水,2010,26(14):16-22.
- [6] 李永红,张伟,张晓健,等.超滤膜的污染控制研究进展[J].中国给水排水,2009,25(2):1-4.
- [7] 王冬梅,叶治安,程家庆,等.反渗透污堵与清洗对策分析[J].工业水处理,2015,(9):107-109.
- [8] 林帅.反渗透膜清洗药剂和设备的研究[J].分析仪器,2021,(3):80-84.
- [9] Ibrar I, Yadav S, Altaee A, et al. Treatment of biologically treated landfill leachate with forward osmosis: Investigating membrane performance and cleaning protocols[J]. Science of The Total Environment, 2020, 744. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.140901.
- [10] 刘亚兵.延长反渗透系统化学清洗周期的研究[J].化工管理,2020,(17):201-202.
- [11] 黄丽金.反渗透系统运行污堵诊断分析[J].能源与环境,2021,(1):80-82.
- [12] 向磊,陈刚.热电厂反渗透系统污堵原因解析及处理[J].工业用水与废水,2021,(1):40-42.
- [13] 李洋.化工废水处理中反渗透膜污染的产生及清洗研究[J].煤炭与化工,2021,(4):157-160.
- [14] Jafari M, D'Haese A, Zlopasa J, et al. A comparison between chemical cleaning efficiency in lab-scale and full-scale reverse osmosis membranes: Role of extracellular polymeric substances (EPS)[J]. Journal of Membrane Science, 2020, 609: 1-9. ■
- [39] 郑志雯.生物医用聚合物材料表面功能化构建及抗蛋白吸附研究[D].广州:华南理工大学,2013.
- [40] Bayramoğlu G, Yılmaz M, Batislam E, et al. Heparin-coated poly(hydroxyethyl methacrylate/albumin) hydrogel networks: In vitro hemocompatibility evaluation for vascular biomaterials[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2008, 109(2): 749-757.
- [41] 黄佳磊,郁李胤,王境鸿,等.可持续抗非特异性蛋白质吸附的凝血酶响应型水凝胶涂层[J].高分子学报,2021,52(9):1118-1128.
- [42] Xia Y, Cheng C, Wang R, et al. Surface-engineered nanogel assemblies with integrated blood compatibility, cell proliferation and anti-bacterial property: Towards multifunctional biomedical membranes[J]. Polymer Chemistry, 2014, 5(20): 5906-5919.
- [43] Alexandre N, Costa E, Coimbra S, et al. In vitro and in vivo evaluation of blood coagulation activation of polyvinyl alcohol hydrogel plus dextran-based vascular grafts[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2015, 103(4): 1366-1379.
- [44] Chung Y M, Jung M J, Lee M W, et al. Surface modification effects on film growth with atmospheric Ar/Ar+O₂ plasma[J]. Surface and Coatings Technology, 2003, 174-175: 1038-1042.
- [45] 李辉,陈群清,李少彬,等.改良小口径人工血管的血液相容性研究[J].中国医学创新,2013,10(15):10-12.
- [46] Motlagh D, Yang J, Lui K Y. Hemocompatibility evaluation of poly(glycerol-sebacate) in vitro for vascular tissue engineering[J]. Biomaterials, 2006, 27(24): 4315-4324.
- [47] 潘仕荣,黄宝鑫,贾磊,等.聚六亚甲基碳酸酯聚氨酯脲的抗凝血性[J].中山大学学报(医学科学版),2005,26(1):88-91,94. ■

(上接第 159 页)