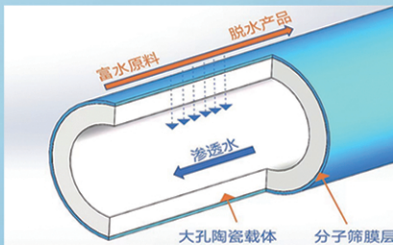
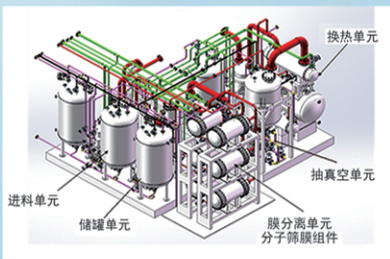




浙江汇甬新材料有限公司

微波合成第二代脱水膜



收率高、能耗低、连续脱水、无需再生

在如下领域的有机物脱水精制已有工业化应用

锂电池电解液溶剂及NMP生产、回收
BDO产业链、煤化工、石油化工精细化学品
制药行业、溶媒回收、燃料乙醇、超纯溶剂

广泛适用于醇类、醚类、酯类、酮类、苯系物、卤代烃的脱水精制



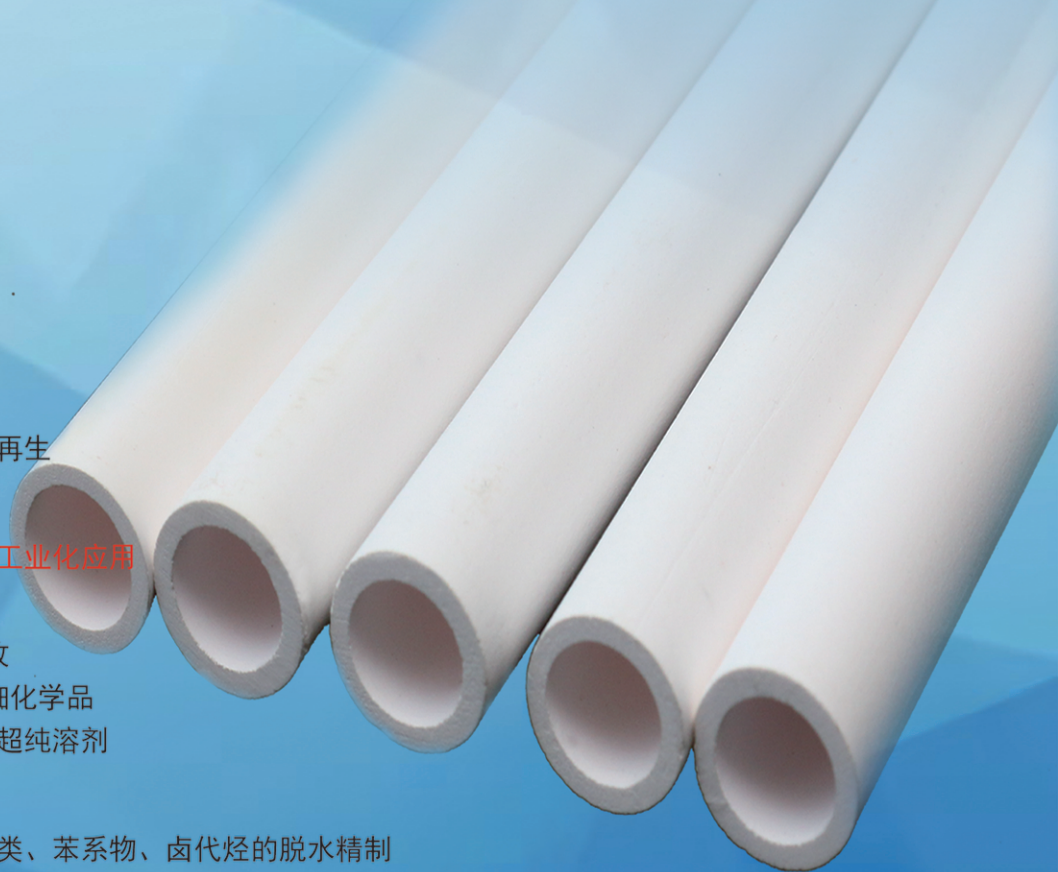
网址: www.hymater.com

固定电话: 0574-87648996

电话: 13396592011

地址: 浙江省宁波市江北高新园区庆丰路联东U谷国际港56号楼

国家自然科学基金二等奖 成果转化
IChemE全球 创新产品冠军
微波分子筛膜 脱水性能遥遥领先
共沸体系、热敏体系、含水有机物脱水精制换代技术



基于醛-胺席夫碱反应制备的葡聚糖水凝胶的结构和性能

李文鹏, 蒋林芮, 杨璟, 陕绍云, 苏红莹*

(昆明理工大学 化学工程学院, 云南 昆明 650500)

摘要: 采用高碘酸钠对葡聚糖进行氧化, 制备了氧化葡聚糖 (Dex-CHO), Dex-CHO 与胱胺二盐酸盐 (CYS) 发生醛-胺席夫碱交联反应制备了一系列葡聚糖水凝胶。采用 ^1H NMR 和 FTIR 对其进行了结构确认, 通过 SEM 和荧光光谱考察了 Dex-CHO 中的醛基和 CYS 中的氨基的物质的量之比 (简称醛氨比, 下同)、葡聚糖重均相对分子质量 (M_w)、Dex-CHO 质量浓度对葡聚糖水凝胶凝胶化时间、微观结构、溶胀性能及流变性能的影响。结果表明, 葡聚糖水凝胶具有经典三维多孔结构和良好荧光性质, 当葡聚糖 M_w 为 40000、Dex-CHO 质量浓度为 0.0750 g/mL、醛氨比为 1.49 : 1 时, 制备的葡聚糖水凝胶具有更优良的三维网状结构 (凝胶化时间 2.5 min)、黏弹性能 (弹性模量为 165 kPa, 黏性模量为 12 kPa) 及溶胀性能 (30 min 的溶胀率为 5.9 g/g)。此外, 酸敏感席夫碱键及还原敏感裂解二硫键使葡聚糖水凝胶的降解行为具有明显的 pH 和还原双敏感性。

关键词: 葡聚糖; 荧光水凝胶; 醛-胺席夫碱反应; 交联密度; 环境敏感; 功能材料

中图分类号: TQ427.26 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2025) 01-0069-09

Structure and properties of dextran hydrogels prepared by aldehyde-amine Schiff base reaction

LI Wenpeng, JIANG Linrui, YANG Jing, SHAN Shaoyun, SU Hongying*

(Faculty of Chemical Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, Yunnan, China)

Abstract: A series of dextran hydrogels were prepared from aldehyde-amine Schiff base cross-linking reaction between oxidized dextran (Dex-CHO), which was obtained by oxidation of dextran with sodium periodate, and cystamine dihydrochloride (CYS). The structure of the hydrogels was confirmed by ^1H NMR and FTIR. The effects of molar ratio of aldehyde group in Dex-CHO and amino group in CYS (for short aldehyde-ammonia ratio, the same below), weight-average relative molecular mass (M_w) of dextran and Dex-CHO mass concentration on the gelation time, microstructure, swelling properties and rheological properties of dextran hydrogel was analyzed by SEM and fluorescence spectroscopy. The results showed that dextran hydrogel had a classical three-dimensional porous structure and good fluorescence properties. When the dextran hydrogel, prepared from the reaction conditions of dextran M_w 40000, Dex-CHO mass concentration 0.0750 g/mL and aldehyde-ammonia ratio 1.49 : 1, displayed better three-dimensional network structure (gelation time 2.5 min), viscoelastic properties (elastic modulus 165 kPa, viscosity modulus 12 kPa) and swelling properties (swelling rate 5.9 g/g at 30 min). In addition, acid-sensitive Schiff base bonds and reduction-sensitive cleavage disulfide bonds led to the obvious pH and reduction-dual sensitivity of dextran hydrogel degradation behavior.

Key words: dextran; fluorescent hydrogels; aldehyde-amine Schiff base reaction; crosslink density; environmental sensitiveness; functional materials

收稿日期: 2023-08-17; 定用日期: 2024-02-07; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230682

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51963013); 云南省“万人计划”青年拔尖人才专项项目 (YNWR-QNBJ-2019-085)

作者简介: 李文鹏 (1996—), 男, 硕士生, E-mail: 1102237729@qq.com. 联系人: 苏红莹 (1986—), 女, 副教授, E-mail: hongyingsu@kust.edu.cn.

天然多糖水凝胶因其良好的生物相容性、可降解性、亲水性及独特的三维网状结构已在再生医学、关节软骨、玻璃体液替代品、药物输送和伤口敷料等生物医学领域获得了广泛的研究和应用^[1-5]。

目前,常用于制备天然多糖水凝胶的主要有壳聚糖、透明质酸、葡聚糖等天然多糖^[6]。天然多糖具有难以通过化学合成获得的特定性质与结构,因此其水凝胶的应用大多基于天然多糖具有的特定性质^[7]。壳聚糖具有抗菌活性,常用于制备具有伤口愈合能力和抗菌止血功能的生物医学水凝胶材料^[8-9]。基于透明质酸优异的生物相容性, XU 等^[10]制备了一种用作组织工程支架材料的细胞黏附水凝胶。葡聚糖作为使用最为广泛的天然多糖之一,是第一个由肠膜明串珠菌生产的商业化微生物多糖,长期以来作为抗血栓药和血浆增量剂在临床中具有广泛的应用^[11]。葡聚糖具有获取方式丰富、可降解、无毒副作用以及对环境友好等特性,是制备隐形眼镜、伤口辅料、组织工程和药物输送系统的一种理想材料,也是最有希望代替传统不可降解高分子材料的原料之一^[12]。目前,葡聚糖已被广泛应用于医疗辅料和生物分离等方面^[13],如药物的递送^[13]和多功能创面敷料^[14]等。葡聚糖分子主链上的羟基极易被修饰,进而可通过多种方式发生交联反应,可以同时引入刺激响应性基团制备功能性葡聚糖水凝胶^[15-17]。BREVÉ 等^[18]以苯酰基氮化物为交联剂与炔烃改性葡聚糖通过加成反应构建了一种具有光敏特性的葡聚糖水凝胶。功能性葡聚糖水凝胶不仅保留了亲水性、保水性及经典的三维网状结构,同时兼具环境响应特性,如 pH 响应、氧化还原响应、光响应等^[19-20]。因此,得益于葡聚糖自身优异的生物特性以及成功的商业化生产程序,葡聚糖水凝胶作为可持续生物材料具有广阔的临床应用前景。荧光水凝胶是一种具有光致发光性能的高分子软材料,与传统固体或溶液荧光材料相比,其以具有水溶胀性质的准固体形式存在。由于荧光水凝胶三维网状结构中包含大量的水分,易与周围的水溶液发生物质交换,诱导水凝胶的溶胀或去溶胀,因此可用于生物传感、生物成像和诊断、发光显示、信息加密、3D 打印和荧光追踪^[21]。化学合成法是制备荧光水凝胶的方法之一,主要用于构建由有机化合物分子与聚合物组成的荧光水凝胶^[22]。醛-胺席夫碱反应是制备多糖水凝胶的常用交联反应,而席夫碱键及其金属离子配合物具有良好的荧光特性^[23-24]。

基于此,本文拟采用基于醛-胺席夫碱反应的交联方式对醛基化葡聚糖进行交联,并通过选择小分子二胺交联剂的结构来制备具有 pH 及还原环境敏感性的葡聚糖荧光水凝胶。并对形成葡聚糖水凝胶

骨架结构的聚合物链分子长度、聚合物浓度、交联密度等参数与其微观形貌、溶胀性能、流变学性质和荧光性能的关联进行系统研究。采用荧光光谱法对其刺激响应性降解行为进行验证,以期多功能葡聚糖荧光水凝胶的制备提供参考。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

葡聚糖〔Dextran, 重均相对分子质量 (M_w) = 70000、40000、20000、5000〕、盐酸羟胺 (HONH₂Cl, 质量分数 99%), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 高碘酸钠 (NaIO₄, 质量分数 99.5%), 北京伊诺凯科技有限公司; 胱胺二盐酸盐 (C₄H₁₂N₂S₂·2HCl, CYS, 质量分数 99%), 上海阿达玛斯试剂有限公司; 丙三醇 (Glycerol, 质量分数 99%), NaOH (质量分数 96%), 天津市风船化学试剂科技有限公司。

VERTEX-70 型傅里叶变换红外光谱仪 (FTIR)、Avance III 型核磁共振波谱仪 (NMR), 德国 Bruker 公司; Nova Nano SEM 450 型扫描电子显微镜 (SEM), 美国 FEI 公司; Discovery DHR-2 型旋转流变仪, 美国 TA 仪器公司; FD-1A-50 型冷冻干燥机, 北京博医康实验仪器有限公司; F-4600 荧光分光光度计, 日本 Hitachi 公司。

1.2 方法

1.2.1 氧化葡聚糖的制备

采用经典 NaIO₄ 氧化法制备氧化葡聚糖 (Dex-CHO)。首先, 分别将 $M_w = 70000$ 、40000、20000、5000 的葡聚糖各 10.0 g 溶于 60 mL 超纯水, 置于 50 °C 的油浴下加热 20 min, 使其充分溶解后冷却至室温; 然后, 加入 13.0 g (0.06 mol) NaIO₄, 室温、避光条件下搅拌反应 4 h; 最后, 加入 2.0 mL (0.028 mol) 丙三醇终止反应。将所得溶液置于截留相对分子质量为 3500 Da 的透析袋中, 采用去离子水透析纯化, -60 °C 下冷冻干燥 24 h 得到白色的 Dex-CHO 固体。其反应式如下所示。

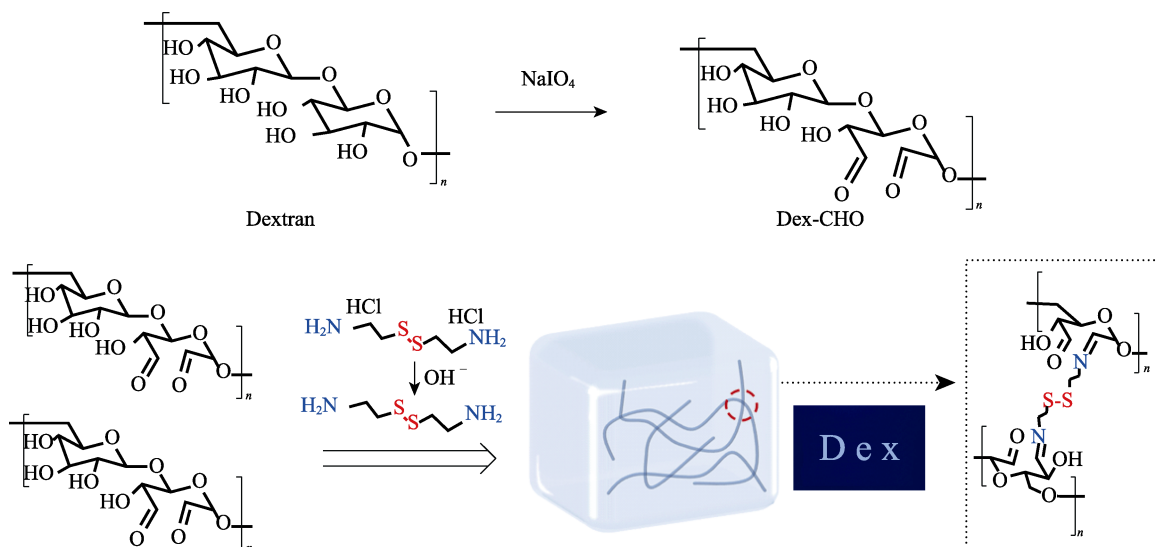
1.2.2 葡聚糖水凝胶的制备

将 Dex-CHO 配制成质量浓度为 0.15 g/mL 的水溶液, 按照表 1 中各成分比例加入质量浓度 0.14 g/mL 的 CYS 水溶液, 充分振荡混合, 即制得葡聚糖水凝胶。通过观察葡聚糖水凝胶的交联现象, 选取交联效果较好的样品在 -60 °C 下冷冻干燥处理 24 h, 在确定适当的 Dex-CHO 中的醛基 (-CHO) 和 CYS 中的氨基 (-NH₂) 的物质的量之比 (简称醛氨比, 下同) 范围后, 重新制备一系列以交联密度、葡聚糖 M_w 及 Dex-CHO 质量浓度为变量的水凝胶, 具体配方见表 1。其反应过程示意图如下所示。

表 1 不同醛氨比葡聚糖水凝胶的制备配方

Table 1 Formulation of dextran hydrogels with different aldehyde-ammonia ratios

编号	添加量/mL			醛氨比
	Dex-CHO 水溶液	CYS 水溶液	H ₂ O	
1	0.50	0.05	0.45	8.93 : 1
2	0.50	0.10	0.40	4.46 : 1
3	0.50	0.15	0.35	2.98 : 1
4	0.50	0.20	0.30	2.23 : 1
5	0.50	0.25	0.25	1.79 : 1
6	0.50	0.30	0.20	1.49 : 1
7	0.50	0.35	0.15	1.28 : 1
8	0.50	0.40	0.10	1.12 : 1
9	0.50	0.45	0.05	0.99 : 1
10	0.50	0.50	0	0.89 : 1



以未加入 Dex-CHO 的盐酸羟胺溶液为对照组。Dex-CHO 的葡聚糖氧化度根据式 (1) 进行计算^[26-27]:

$$\eta / \% = \frac{(V_0 - V) \times c \times M}{1000m} \times 100 \quad (1)$$

式中: η 为葡聚糖氧化度, %; V_0 为对照组 NaOH 溶液的消耗量, L; V 为样品组 NaOH 溶液的消耗量, mL; c 为 NaOH 溶液浓度, 0.0786 mol/L; m 为干燥 Dex-CHO 样品的质量, g; M 为 Dex-CHO 中重复单元的摩尔质量, g/mol。

将葡聚糖水凝胶冷冻干燥后, 精确称重并记录, 然后浸没于 10 mL 磷酸缓冲溶液 (PBS) (pH=7.4) 中。每间隔 15 min, 取出水凝胶并用滤纸吸去表面液体后再次称重记录直至恒重。葡聚糖水凝胶溶胀率按照式 (2) 进行计算:

$$SR = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \quad (2)$$

1.3 表征方法与性能测试

1.3.1 表征方法

FTIR 测试: 采用 KBr 压片法在傅里叶变换红外光谱仪上进行测试, 波数范围 4000~500 cm⁻¹, 分辨率为 1 cm⁻¹。¹HNMR 测试: 在 400 MHz 下, 采用核磁共振波谱仪测试样品在 600 μL DMSO-*d*₆ 中的 ¹HNMR 谱图。采用 SEM 观察葡聚糖水凝胶截面微观形貌, 放大倍数 1000 倍和 20000 倍。

采用倒杯法^[25]测定葡聚糖水凝胶的凝胶化时间。

采用盐酸羟胺滴定法对 Dex-CHO 的葡聚糖氧化度进行滴定。称取不同 M_w 葡聚糖制备的 Dex-CHO 各 20 mg, 分别溶于 25 mL 浓度为 0.25 mol/L 盐酸羟胺水溶液中, 室温搅拌 6 h 后, 加入甲基橙作为指示剂, 并以 0.0786 mol/L NaOH 溶液滴定, 至 pH 为 5.0 时(溶液颜色从红色转变为黄色)停止。

式中: SR 为葡聚糖水凝胶溶胀率, g/g; m_1 为恒重时溶胀样品的质量, g; m_0 为冻干样品的质量, g。所有溶胀实验重复 3 次, 获取数据取算数平均值。

1.3.2 流变学性能测试

采用旋转流变仪对葡聚糖水凝胶样品进行流变学测试。参照表 1 配制一系列具有不同参数的葡聚糖水凝胶 (直径 20 mm、厚度 2 mm), 静置 5 h, 充分交联。在 37 °C 下, 采用振荡频率扫描模式, 以 0.1% 的恒定剪切应变, 在频率 0.1~100 Hz 范围内进行测试, 记录弹性模量 (G') 和黏弹模量 (G'') 并绘图。

1.3.3 荧光性质测试

采用荧光分光光度计对葡聚糖水凝胶的荧光光谱进行了测定。参照表 1 水凝胶配方在比色皿中配制葡聚糖 $M_w = 40000$ 、醛氨比分别为 1.28 : 1、1.49 : 1 和 1.79 : 1 的葡聚糖水凝胶, 避光交联反应一定时

间后,测试不同时间点样品的荧光光谱。激发波长 400 nm,狭缝宽度 5 nm。

1.4 降解行为测试

葡聚糖水凝胶网络结构中含有对酸敏感的席夫碱键及还原环境下易发生断裂的二硫键,因此,其降解行为具有环境刺激敏感特性。对该葡聚糖水凝胶在不同酸性及谷胱甘肽(GSH)环境中的降解进行了测试。根据其降解反应,降解液中席夫碱残基含量可能随着降解过程进行发生变化。结合荧光性能测试,采用测定不同环境降解液荧光光谱的方法对其刺激响应降解行为进行了验证。

配制葡聚糖 $M_w = 40000$ 、醛氨比分别为 1.49 : 1、Dex-CHO 质量浓度 0.075 g/mL 的葡聚糖水凝胶,避光交联反应 5 h,分别置于(1) pH 为 5.0、6.5、7.4 的 PBS 中;(2) 浓度为 5 和 10 mmol/L 的 GSH 溶液(pH=7.4)中;(3) pH = 5.0、GSH 浓度为 5 mmol/L 的溶液中,37 °C 下振荡 12 h,取上清液 3 mL,通过荧光分光光度计测量其在 400 nm 激发波长下的荧光光谱,然后进行降解行为的测试。

2 结果与讨论

2.1 Dex-CHO 的表征分析

经测定,不同 M_w 的 Dex-CHO 的葡聚糖氧化度约为 52%。

图 1 为葡聚糖 ($M_w = 40000$) 和 Dex-CHO ($M_w = 40000$) 的 ^1H NMR 谱图。

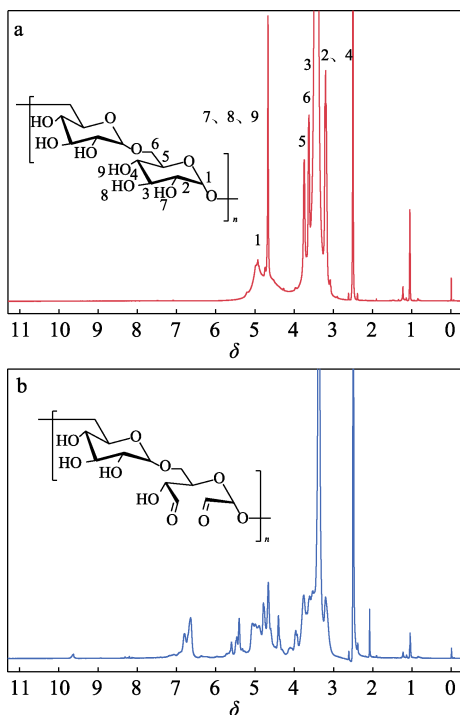


图 1 葡聚糖 (a) 和 Dex-CHO (b) 的 ^1H NMR 谱图
Fig. 1 ^1H NMR spectra of dextran (a) and Dex-CHO (b)

从图 1 可以看出, $\delta = 3.0 \sim 4.0$ 归属于葡聚糖碳骨架上 2~6 号质子氢, $\delta = 4.7 \sim 5.0$ 对应葡聚糖糖单元环上羟基及 1 号质子氢(图 1a)。而 Dex-CHO 在 $\delta = 9.6$ 处出现了归属于 $-\text{CHO}$ 质子氢^[28], 证实了葡聚糖上的羟基被 NaIO_4 氧化成为醛基。另外, 在 $\delta = 3.0 \sim 6.0$ 除葡聚糖糖单元中质子氢的特征峰外, 其余化学位移处出现的峰可能对应于被氧化的糖单元残基中的质子氢。这是因为, 糖单元中邻位羟基均可能被氧化且醛基与邻位羟基可能形成半缩醛结构, 因此, Dex-CHO 的 ^1H NMR 谱图较复杂, 难以对峰位置进行准确归属。

图 2 为葡聚糖 ($M_w = 40000$)、Dex-CHO ($M_w = 40000$) 和葡聚糖水凝胶的 FTIR 谱图。

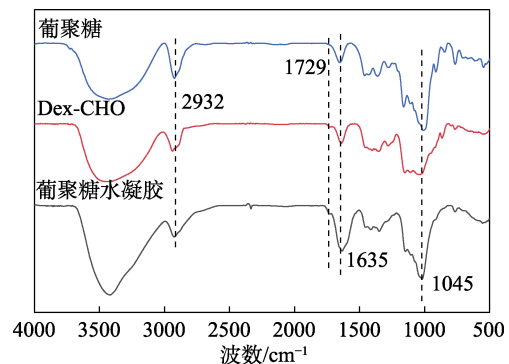


图 2 葡聚糖、Dex-CHO 和葡聚糖水凝胶的 FTIR 谱图
Fig. 2 FTIR spectra of dextran, Dex-CHO and dextran hydrogel

从图 2 可以看出, 相对于葡聚糖, Dex-CHO 在 1729 cm^{-1} 处出现了羰基的 $\text{C}=\text{O}$ 键的伸缩振动吸收峰, 其余特征峰均与葡聚糖基本一致, 表明葡聚糖分子主链上的部分邻羟基氧化成醛基时, 未破坏其骨架结构。制备葡聚糖水凝胶交联反应后, 醛基与氨基反应生成席夫碱而被大量消耗, 因此, 在形成的葡聚糖水凝胶中醛基特征峰强度明显变弱。 1635 cm^{-1} 处为席夫碱键的特征峰, 但此特征峰与 1640 cm^{-1} 处葡聚糖上 $-\text{OH}$ 的振动吸收峰有一定程度的叠加。

2.2 醛氨比对葡聚糖水凝胶交联密度的影响

交联密度是影响聚合物水凝胶材料的致密度、力学性能及微观结构的关键因素。本文构建的葡聚糖水凝胶基于 Dex-CHO 与 CYS 之间的醛-胺席夫碱反应, 其交联点为席夫碱键 ($-\text{C}=\text{N}-$), 水凝胶网络结构中席夫碱键的含量直接影响其交联密度。图 3 为根据表 1 制备的新鲜葡聚糖水凝胶和交联反应 10 min 后葡聚糖水凝胶的实物照片。固定葡聚糖 $M_w = 40000$ 、Dex-CHO 质量浓度 0.075 g/mL。

从图 3 和表 1 可以看出, 当醛氨比过高 ($\geq 2.98 : 1$) 时, 样品 1~3 无法形成水凝胶结构, 这是由于, 没有形成有效的席夫碱交联点, 交联密度低;

在形成的凝胶样品中, 随着醛氨比的降低, 水凝胶的透明度逐渐变差。水凝胶的透明度一般取决于聚合物溶解度、交联剂种类和交联密度。由于 Dex-CHO 具有良好的水溶性, 因此, 该葡聚糖水凝胶的透明度可能主要受到交联密度的影响。对比图 3a、b 可以发现, 随着交联时间延长, 葡聚糖水凝胶会从乳白色(图 3a)转变为浅棕黄色(图 3b)^[29], 这是由于, 水凝胶网络结构中席夫碱键含量的不断增加。

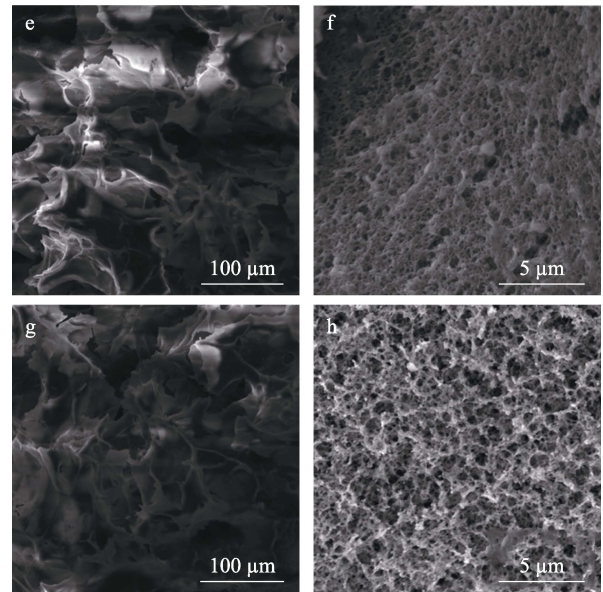
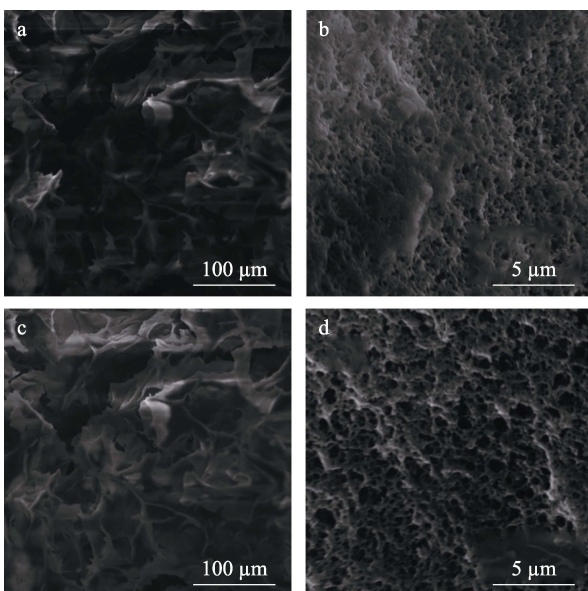


图 3 新鲜制备 (a) 和交联反应 10 min 后葡聚糖水凝胶 (b) 的实物照片

Fig. 3 Photographs of freshly formed dextran hydrogels (a) and dextran hydrogels after cross-linking for 10 min (b)

对比水凝胶样品 4~10, 发现样品 4~7 (醛氨比 2.23 : 1~1.28 : 1) 具有更好的软湿性能。因此, 本文后续对醛氨比在 2.23 : 1~1.28 : 1 的葡聚糖水凝胶样品 ($M_w=40000$) 的微观结构、溶胀及流变行为进行研究。在探讨葡聚糖 M_w 及 Dex-CHO 质量浓度的影响时则采用醛氨比为 1.49 : 1 制备的葡聚糖水凝胶。

图 4 为不同醛氨比制备的葡聚糖水凝胶冻干样品 4~7 的 SEM 图。固定葡聚糖 $M_w=40000$ 、Dex-CHO 质量浓度 0.075 g/mL。



a、b—2.23 : 1; c、d—1.79 : 1; e、f—1.49 : 1; g、h—1.28 : 1
图 4 不同醛氨比制备的葡聚糖水凝胶冻干样品的横截面 SEM 图

Fig. 4 SEM images of cross-section of lyophilized dextran hydrogels with different aldehyde-ammonia ratio

从图 4 可以看出, 4 组不同醛氨比制备的葡聚糖水凝胶均具有海绵状大孔结构, 孔隙间相互连通, 且孔壁为均匀的多孔网状结构。

这与本课题组前期通过 Dex-CHO 与乙二胺发生席夫碱交联反应形成的葡聚糖水凝胶相似^[30]。对比不同醛氨比制备的葡聚糖水凝胶, 可以观察到, 水凝胶网络的孔径没有明显差异。

2.3 凝胶化时间分析

聚合物的 M_w 、含量及交联程度是影响水凝胶凝胶化时间的重要因素^[31]。表 2 为葡聚糖水凝胶的凝胶化时间测定结果, 后续用于分析的葡聚糖水凝胶制备配方采用此表。

表 2 不同参数条件下葡聚糖水凝胶所需凝胶化时间
Table 2 Required gelation time for dextran hydrogels with different parameters

序号	M_w	醛氨比	Dex-CHO 质量浓度/(g/mL)	凝胶化时间/min
1	40000	2.23 : 1	0.0750	4.0
2	40000	1.79 : 1	0.0750	3.0
3	40000	1.49 : 1	0.0750	2.5
4	40000	1.28 : 1	0.0750	2.0
5	40000	1.49 : 1	0.0500	2.5
6	40000	1.49 : 1	0.0625	2.5
7	40000	1.49 : 1	0.1000	2.5
8	5000	1.49 : 1	0.0750	8.0
9	20000	1.49 : 1	0.0750	2.5
10	70000	1.49 : 1	0.0750	2.5

注: Dex-CHO 质量浓度为交联反应时水凝胶中 Dex-CHO 的质量浓度。

从表 2 可以看出, $M_w \geq 20000$ 的葡聚糖制备的水凝胶凝胶化时间明显缩短。这是因为, 具有更高 M_w 的聚合物分子链更长, 在水凝胶形成过程中更易导致聚合物网络的缠结, 显著缩短凝胶化时间。另外, 降低醛氨比能够提高交联体系的交联密度, 因此, 也能明显缩短水凝胶的凝胶化时间。然而, 质量浓度在 0.0500~0.1000 g/mL 时, Dex-CHO 的增加并未对葡聚糖水凝胶的凝胶化时间造成明显影响, 这可能是由于高质量浓度 Dex-CHO 溶液体系黏度增大, 交联剂无法快速均匀分散, 因此, 不能显著影响凝胶化时间。以上现象与文献[32-33]报道结论基本一致。

综上, 当葡聚糖 M_w 为 40000、Dex-CHO 质量浓度为 0.0750 g/mL、醛氨比为 1.49 : 1 时, 制备的葡聚糖水凝胶具有更优良的三维网状结构, 凝胶化时间为 2.5 min。

2.4 荧光性能

图 5 为醛氨比和交联时间对葡聚糖水凝胶荧光光谱的影响。

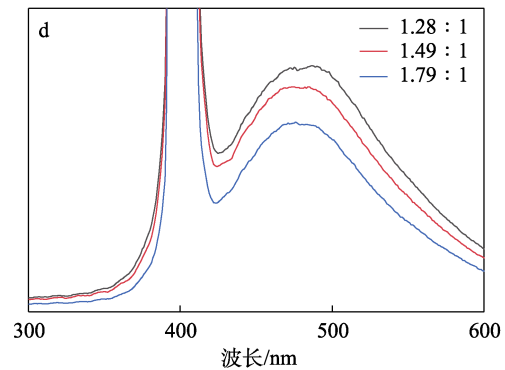
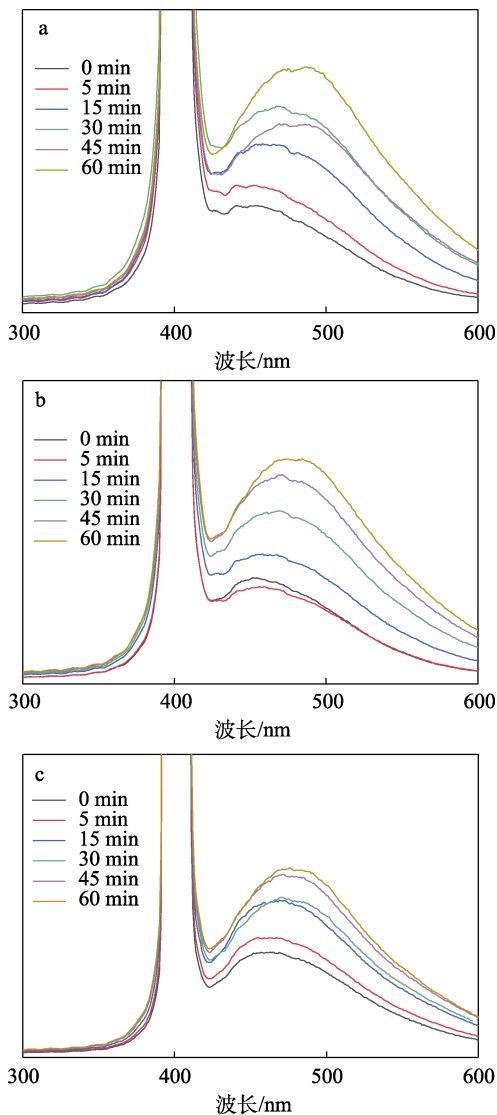


图 5 不同交联时间时, 醛氨比为 1.28 : 1 (a)、1.49 : 1 (b)、1.79 : 1 (c) 制备的葡聚糖水凝胶的荧光光谱; 交联时间 60 min 时不同醛氨比制备的葡聚糖水凝胶的荧光光谱 (d)

Fig. 5 Fluorescence spectra of dextran hydrogels with aldehyde-ammonia ratios of 1.28 : 1 (a), 1.49 : 1 (b) and 1.79 : 1 (c); Fluorescence spectra of dextran hydrogels prepared with different aldehyde-ammonia ratio at crosslinking time of 60 min (d)

从图 5a~c 可以看出, 在 400 nm 的激发光下, 葡聚糖水凝胶的最大发射波长在 480 nm 处。且所有水凝胶样品均表现出与交联时间相关的荧光光谱变化: 随着交联时间的增加, 席夫碱键逐渐形成, 水凝胶荧光强度逐渐增加。

对比不同醛氨比 (1.28 : 1、1.49 : 1 和 1.79 : 1) 交联 60 min 制备的葡聚糖水凝胶时的荧光光谱 (图 5d) 可以发现, 随着交联反应醛氨比的降低, 即交联密度增加, 葡聚糖水凝胶的荧光强度呈增大趋势, 表明葡聚糖水凝胶中的席夫碱键含量直接影响其荧光性能, 且在以上测试条件下, 席夫碱键含量增加未出现聚集诱导猝灭现象。

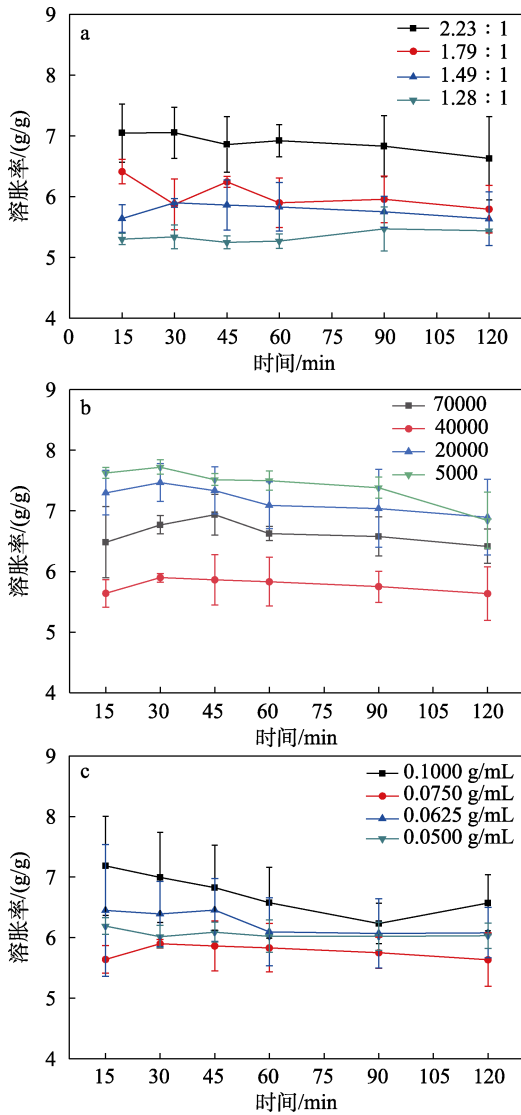
2.5 溶胀行为分析

水凝胶的溶胀率与其交联度及三维网状结构的完整性有着密切的联系, 在一定程度上表征了水凝胶所包覆物质与外界环境的交换速率。图 6 为不同醛氨比、葡聚糖 M_w 和 Dex-CHO 质量浓度制备的葡聚糖水凝胶的溶胀性能测试结果。

从图 6 可以看出, 所有葡聚糖水凝胶均在短时间内快速达到溶胀平衡。其中, 不同醛氨比制备的葡聚糖水凝胶溶胀率随着醛氨比的增大而逐渐增大 (图 6a), 这是因为, 醛氨比的增加会减小交联密度, 缩短交联点之间的距离, 提升葡聚糖水凝胶溶胀性能, 这与文献[34-35]报道类似。

而不同 M_w 葡聚糖制备的葡聚糖的溶胀曲线, 总体上呈现溶胀率随着葡聚糖 M_w 增加而减小的趋势 (图 6b)。通常来说, M_w 越大, 葡聚糖链在水凝胶网络中的缠结作用越明显^[36], 使葡聚糖水凝胶的孔状结构更为致密, 溶胀率随之越低。Dex-CHO 质

量浓度对溶胀率的影响不显著 (图 6c), 这一现象可能跟聚合物浓度对交联剂分散性及交联反应均匀性的影响有关。



a—醛氨比; b—葡聚糖 M_w ; c—Dex-CHO 质量浓度
图 6 不同参数制备的葡聚糖水凝胶的溶胀性能

Fig. 6 Swelling performance of dextran hydrogels prepared under different conditions

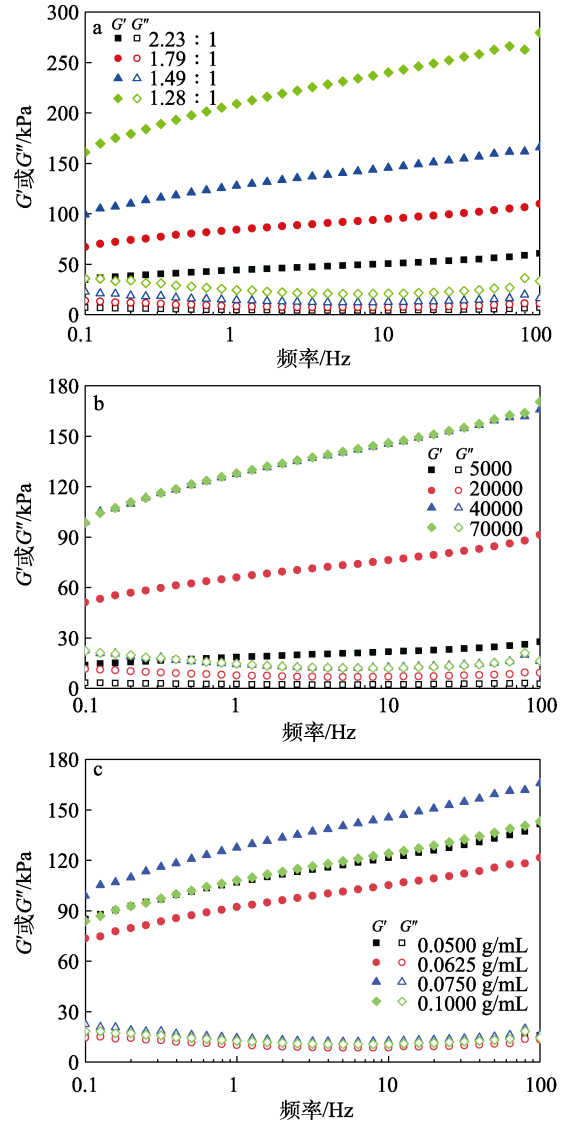
综上, 当葡聚糖 M_w 为 40000、Dex-CHO 质量浓度为 0.0750 g/mL、醛氨比为 1.49 : 1 时, 制备的葡聚糖水凝胶具有更优良的溶胀性能, 其 30 min 的溶胀率为 5.9 g/g。

2.6 流变性能分析

流变学是对水凝胶黏弹性能进行研究的重要工具, 通常, 化学交联水凝胶具有较稳定的力学性能^[37]。图 7 为不同醛氨比、葡聚糖 M_w 和 Dex-CHO 质量浓度制备的葡聚糖水凝胶的流变测试结果。

从图 7 可以看出, 所有葡聚糖水凝胶样品在 0.1~100 Hz 范围内 G' 均高于其 G'' , 说明这些葡聚糖

水凝胶均表现出良好的凝胶性能。 G' 均随着频率的增加而增加, 这与在高频下水凝胶没有足够的时间解缠有关^[36], 在高频时, 水凝胶内部缠结点比低频时更紧密。



a—醛氨比; b—葡聚糖 M_w ; c—Dex-CHO 质量浓度
图 7 不同参数制备的葡聚糖水凝胶的流变性能

Fig. 7 Rheological performances of dextran hydrogels prepared under different conditions

从不同醛氨比制备的葡聚糖水凝胶在恒定应变 (0.1%) 下的 G' 和 G'' 的测量结果来看 (图 7a), 由于醛氨比与交联密度为负相关, 交联密度是调节水凝胶力学性质 (或刚度) 的一个关键性因素, 所以交联度最高的水凝胶 (醛氨比 1.28 : 1) 具有最高的 G' , 关于水凝胶流变学性质的文献^[38]报道过类似的现象。从不同 M_w 的葡聚糖制备的葡聚糖水凝胶的流变性能结果来看 (图 7b), 葡聚糖 M_w 的增加将增强分子间的缠结作用^[36], 增加制备的葡聚糖水凝胶的 G' 。其中, $M_w = 40000$ 、70000 的葡聚糖制备的

葡聚糖水凝胶黏弹性曲线近乎重合,说明当葡聚糖 M_w 增加到一定值时,分子间的缠结作用达到最大值,水凝胶的黏弹性逐渐趋于稳定值。从不同 Dex-CHO 质量浓度对制备的葡聚糖水凝胶流变性能影响的结果(图 7c)来看,不同质量浓度 Dex-CHO 制备的葡聚糖水凝胶具有相近的 G' 与 G'' ,表明 Dex-CHO 质量浓度对制备的葡聚糖水凝胶的流变性能无显著影响。以上结果表明,葡聚糖水凝胶主要发生弹性形变,均具有良好的力学稳定性。

综上,当葡聚糖 M_w 为 40000、Dex-CHO 质量浓度为 0.0750 g/mL、醛氨比为 1.49 : 1 时,制备的葡聚糖水凝胶 G' 为 165 kPa, G'' 为 12 kPa,具有良好的黏弹性。

2.7 降解行为分析

图 8 为葡聚糖水凝胶在不同环境下的降解液荧光光谱测定结果。

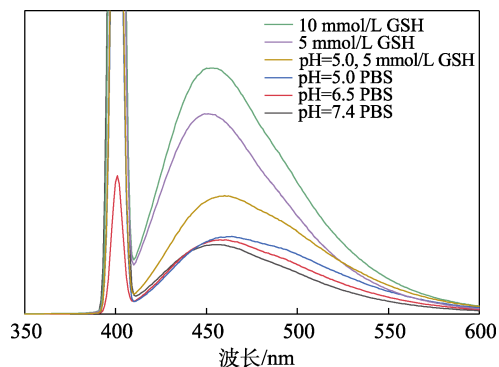


图 8 不同 pH 及 GSH 浓度条件下葡聚糖水凝胶降解液的荧光光谱

Fig. 8 Fluorescence spectra of dextran hydrogel degradation solution at different pH and GSH concentrations

从图 8 可以看出,随着 PBS 降解液 pH 的减小,葡聚糖水凝胶降解液的荧光强度逐渐增强并表现出红移的现象,原因可能是,酸催化席夫碱键水解破坏了水凝胶交联结构,尚未降解的席夫碱结构以游离状态分散到降解液中,降解液中席夫碱的含量增加增强了其荧光强度;含有 GSH 的降解液荧光强度明显增强,且具有更高浓度(10 mmol/L) GSH 的降解液表现出更高的荧光强度。这是因为,二硫键在 GSH 作用下发生断裂,导致大量含有席夫碱键的聚合物片段分散到降解液中,且随着 GSH 浓度的增加,降解程度加剧,降解液荧光增强;而在 pH=5.0 及 5 mmol/L GSH 的共同作用下,席夫碱键及二硫键均不同程度发生降解,降解液中席夫碱键的含量低于纯 GSH 作用条件下的含量,因此,其荧光强度有所降低。以上结果表明,葡聚糖水凝胶具有酸性及还原性环境刺激响应降解行为,即 pH 和双还原敏感性。同时,测定降解液荧光光谱变化是对葡聚糖水凝胶降解行

为进行监测的有效方法。

3 结论

采用 Dex-CHO 与 CYS 发生席夫碱反应成功制备了一系列葡聚糖水凝胶,考察了葡聚糖 M_w 、醛氨比、Dex-CHO 质量浓度对葡聚糖水凝胶的凝胶时间、溶胀行为和流变学性能的影响。

(1) 醛氨比和葡聚糖 M_w 是影响葡聚糖水凝胶结构及性质的关键因素,随着醛氨比降低,交联密度明显提高,导致其荧光强度呈现增强趋势。

(2) 葡聚糖水凝胶结构中含有酸性环境敏感的席夫碱键及氧化还原敏感的二硫键,因此,其降解行为具有明显的环境敏感性。

本文制备的葡聚糖水凝胶基于天然多糖及绿色温和的化学交联反应,且具有良好的环境刺激响应性能及荧光性质,可为环境敏感葡聚糖水凝胶的制备提供参考,有望在生物医学领域作为局部给药载体,或通过进一步微球化获得水凝胶微球载体,利用其环境响应特点及荧光性质实现药物的微环境刺激释放及释放过程示踪。

参考文献:

- [1] GREEN J J, ELISSEEFF J H. Mimicking biological functionality with polymers for biomedical applications[J]. *Nature*, 2016, 540 (7633): 386-394.
- [2] LEE K Y, MOONEY D J. Hydrogels for tissue engineering[J]. *Chemical Reviews*, 2001, 101(7): 1869-1880.
- [3] LIN C C, METTERS A T. Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2006, 58(12/13): 1379-1408.
- [4] NG J Y, OBUOBI S, CHUA M L, *et al.* Biomimicry of microbial polysaccharide hydrogels for tissue engineering and regenerative medicine-A review[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 241: 116345.
- [5] PEPPAS N A, HILT J Z, KHADEMHOSEINI A, *et al.* Hydrogels in biology and medicine: From molecular principles to bionanotechnology [J]. *Advanced Materials*, 2006, 18(11): 1345-1360.
- [6] BAI Z X (白忠薛), WANG X C (王学川), FENG Y Y (冯宇宇), *et al.* Advances in biomass-based hydrogels for sensing applications [J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2023, 40(11): 2357-2365, 2385.
- [7] RIAL-HERMIDA M I, REY-RICO A, BLANCO-FERNANDEZ B, *et al.* Recent progress on polysaccharide-based hydrogels for controlled delivery of therapeutic biomolecules[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2021, 7(9): 4102-4127.
- [8] MADHUMATHI K, SHALUMON K, RANI V D, *et al.* Wet chemical synthesis of chitosan hydrogel-hydroxyapatite composite membranes for tissue engineering applications[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2009, 45(1): 12-15.
- [9] CHICATUN F, MUJA N, SERPOOSHAN V, *et al.* Effect of chitosan incorporation on the consolidation process of highly hydrated collagen hydrogel scaffolds[J]. *Soft Matter*, 2013, 9(45): 10811-10821.
- [10] XU X, JHA A K, HARRINGTON D A, *et al.* Hyaluronic acid-based hydrogels: From a natural polysaccharide to complex networks[J]. *Soft Matter*, 2012, 8(12): 3280-3294.
- [11] SUN G, MAO J J. Engineering dextran-based scaffolds for drug delivery and tissue repair[J]. *Nanomedicine*, 2012, 7(11): 1771-1784.

- [12] WANG Y, ZHANG L N, LU A. Transparent, antifreezing, ionic conductive cellulose hydrogel with stable sensitivity at subzero temperature[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 11(44): 41710-41716.
- [13] HU Q B, LU Y J, LUO Y C. Recent advances in dextran-based drug delivery systems: From fabrication strategies to applications[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 264: 117999.
- [14] ZHAO Y F, JALILI S. Dextran, as a biological macromolecule for the development of bioactive wound dressing materials: A review of recent progress and future perspectives[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 207: 666-682.
- [15] LIU Y X, CHAN-PARK M B. A biomimetic hydrogel based on methacrylated dextran-graft-lysine and gelatin for 3D smooth muscle cell culture[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(6): 1158-1170.
- [16] NGUYEN K, DANG P N, ALSBERG E. Functionalized, biodegradable hydrogels for control over sustained and localized siRNA delivery to incorporated and surrounding cells[J]. *Acta Biomaterialia*, 2013, 9(1): 4487-4495.
- [17] SUN G, M SHEN Y I, KUSUMA S, *et al.* Functional neovascularization of biodegradable dextran hydrogels with multiple angiogenic growth factors[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(1): 95-106.
- [18] BREVÉ T G, FILIUS M, WEERDENBURG S, *et al.* Light-sensitive phenacyl crosslinked dextran hydrogels for controlled delivery[J]. *Chemistry*, 2022, 28(10): e2021103523.
- [19] CHIU H C, HSIUE G H, LEE Y P, *et al.* Synthesis and characterization of pH-sensitive dextran hydrogels as a potential colon-specific drug delivery system[J]. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 1999, 10(5): 591-608.
- [20] ZHANG R S, TANG M G, BOWYER A, *et al.* A novel pH- and ionic-strength-sensitive carboxy methyl dextran hydrogel[J]. *Biomaterials*, 2005, 26(22): 4677-4683.
- [21] WEI S X, LI Z, LU W, *et al.* Multicolor fluorescent polymeric hydrogels[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(16): 8608-8624.
- [22] LI Y, YOUNG D J, LOH X J. Fluorescent gels: A review of synthesis, properties, applications and challenges[J]. *Materials Chemistry Frontiers*, 2019, 3(8): 1489-1502.
- [23] XU J, LIU Y, HSU S H. Hydrogels based on Schiff base linkages for biomedical applications[J]. *Molecules*, 2019, 24(16): 3005.
- [24] BOULECHFAR C, FERKOUS H, DELIMI A, *et al.* Schiff bases and their metal complexes: A review on the history, synthesis, and applications[J]. *Inorganic Chemistry Communications*, 2023, 150: 110451.
- [25] GANJI F, ABDEKHODAIE M, RAMAZANI S A. Gelation time and degradation rate of chitosan-based injectable hydrogel[J]. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 2007, 42: 47-53.
- [26] LEGUY J, NISHIYAMA Y, JEAN B, *et al.* Ultrastructural characterization of the core-shell structure of a wide range of periodate-oxidized cellulose from different native sources by solid-state ¹³C CP-MAS NMR[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2018, 7(1): 412-420.
- [27] MAIA J, CARVALHO R A, COELHO J F, *et al.* Insight on the periodate oxidation of dextran and its structural vicissitudes[J]. *Polymer*, 2011, 52(2): 258-265.
- [28] ISHAK M F, PAINTER T J. Kinetic evidence for hemiacetal formation during the oxidation of dextran in aqueous periodate[J]. *Carbohydrate Research*, 1978, 64: 189-197.
- [29] LIU J, LI J, YU F, *et al.* *In situ* forming hydrogel of natural polysaccharides through Schiff base reaction for soft tissue adhesive and hemostasis[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 147: 653-666.
- [30] SU H Y, ZHANG W, WU Y Y, *et al.* Schiff base-containing dextran nanogel as pH-sensitive drug delivery system of doxorubicin: Synthesis and characterization[J]. *Journal of Biomaterials Applications*, 2018, 33(2): 170-181.
- [31] AMIR Z, SAID I M, JAN B M. *In situ* organically cross-linked polymer gel for high-temperature reservoir conformance control: A review[J]. *Polymers for Advanced Technologies*, 2019, 30(1): 13-39.
- [32] GHRIGA M A, GARECHE M, KHODJA M, *et al.* Structure-property relationships of the thermal gelation of partially hydrolyzed polyacrylamide/polyethylenimine mixtures in a semidilute regime[J]. *Polymer Bulletin*, 2020, 77(3): 1465-1488.
- [33] KOPPE M, BRABEC C J, HEIML S, *et al.* Influence of molecular weight distribution on the gelation of P3HT and its impact on the photovoltaic performance[J]. *Macromolecules*, 2009, 42(13): 4661-4666.
- [34] HU X Y, WANG Y M, ZHANG L L, *et al.* Redox/pH dual stimuli-responsive degradable salectan-g-SS-poly(IA-co-HEMA) hydrogel for release of doxorubicin[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 155: 242-251.
- [35] SHEN J F, YAN B, LI T, *et al.* Mechanical, thermal and swelling properties of poly(acrylic acid)-graphene oxide composite hydrogels [J]. *Soft Matter*, 2012, 8(6): 1831-1836.
- [36] KIM J, ZHANG G G, SHI M X Z, *et al.* Fracture, fatigue, and friction of polymers in which entanglements greatly outnumber cross-links[J]. *Science*, 2021, 374(6564): 212-216.
- [37] HENNINK W E, VAN NOSTRUM C F. Novel crosslinking methods to design hydrogels[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012, 64: 223-236.
- [38] LIU H C, RONG L D, WANG B J, *et al.* Facile fabrication of redox/pH dual stimuli responsive cellulose hydrogel[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 176: 299-306.