

功能高分子学报

JOURNAL OF FUNCTIONAL POLYMERS

负载石榴皮提取物的聚乙烯醇基水凝胶伤口敷料的制备与表征

赵中楠 张兴群 翟志毫 何明宇 夏鑫 王颖

Preparation of Polyvinyl Alcohol Hydrogel Wound Dressing Loaded With Pomegranate Peel Extract

ZHAO Zhongnan, ZHANG Xingqun, ZHAI Zhihao, HE Mingyu, XIA Xin, WANG Ying

在线阅读 View online: <http://doi.org/10.14133/j.cnki.1008-9357.20220922001>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

[胶原蛋白/纤维素纳米晶体敷料的制备及性能](#)

Preparation and Properties of Collagen/Cellulose Nanocrystals Dressing

功能高分子学报. 2020, 33(1): 78-85 <http://doi.org/10.14133/j.cnki.1008-9357.20181225001>

[溴化壳聚糖抗菌敷料的电化学制备及性能](#)

Electrochemical Fabrication and Properties of Brominated Chitosan Antimicrobial Dressing

功能高分子学报. 2018, 31(2): 160-166 <http://doi.org/10.14133/j.cnki.1008-9357.20170731002>

[基于聚肽和海藻酸钠自交联水凝胶的制备与表征](#)

Preparation and Characterization of Self-crosslinked Hydrogel Based on Polypeptide and Alginate

功能高分子学报. 2018, 31(1): 69-74 <http://doi.org/10.14133/j.cnki.1008-9357.20170328001>

[二乙烯基砜交联的可降解化学水凝胶的制备与表征](#)

Preparation and Characterization of Chemically Crosslinked Hydrogels of Curdlan Using Divinyl Sulfone as A Crosslinker

功能高分子学报. 2017, 30(2): 182-186 <http://doi.org/10.14133/j.cnki.1008-9357.2017.02.005>

[串联光照可控自由基聚合制备纳米氟核水凝胶：助力含氟小分子的水相分离](#)

Fluorous-Core Nanoparticle-Embedded Hydrogel Synthesized via Tandem Photo-Controlled Radical Polymerization: Facilitating the Separation of Perfluorinated Alkyl Substances from Water

功能高分子学报. 2020, 33(4): 313-315 <http://doi.org/10.14133/j.cnki.1008-9357.20200528001>

[柠檬酸改性壳聚糖水凝胶的制备与性能](#)

Fabrication and Characterization of Citric Acid Modified Chitosan Hydrogel

功能高分子学报. 2018, 31(3): 232-240 <http://doi.org/10.14133/j.cnki.1008-9357.20171127002>



扫码关注公众号，获取更多信息！

文章编号: 1008-9357(2023)02-0136-10

DOI: 10.14133/j.cnki.1008-9357.20220922001

负载石榴皮提取物的聚乙烯醇基水凝胶伤口敷料的制备与表征

赵中楠¹, 张兴群^{1,2}, 翟志毫¹, 何明宇³, 夏鑫¹, 王颖¹(1. 新疆大学纺织与服装学院, 乌鲁木齐 830046; 2. 东华大学化学化工与生物工程学院, 上海 201620;
3. 新疆大学生命科学与技术学院, 乌鲁木齐 830046)

摘要: 以聚乙烯醇(PVA)和羧甲基纤维素钠(Na-CMC)为原料,以丙三醇(GL)水溶液为溶剂,利用循环冻融法制备一种负载石榴皮提取物(PPE)的水凝胶。对水凝胶的化学结构、透光率、抗干燥性、溶胀性、拉伸性能、体外药物释放、抗氧化性及抗菌性进行了研究。结果表明,制备的水凝胶具备较好的抗干燥性,室温下放置72 h仍能保持完整。PPE的加入使水凝胶的透光率降低,溶胀性、拉伸性提高,同时使水凝胶具备良好的抗菌性和抗氧化性。经测试水凝胶中PPE的累计释放率最高可达(67.47±3.75)%,对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌均具有较好的抑菌性,抑菌圈最大分别为(18.78±0.26)mm、(15.11±0.23)mm,对1,1-二苯基-2-苦肼基(DPPH)的清除率最高可达(93.65±2.27)%。

关键词: 石榴皮提取物; 聚乙烯醇; 羧甲基纤维素钠; 水凝胶; 伤口敷料

中图分类号: R318.08;TB34

文献标志码: A

Preparation of Polyvinyl Alcohol Hydrogel Wound Dressing Loaded With Pomegranate Peel Extract

ZHAO Zhongnan¹, ZHANG Xingqun^{1,2}, ZHAI Zhihao¹, HE Mingyu³, XIA Xin¹, WANG Ying¹

(1. College of Textile and Clothing, Xinjiang University, Urumqi 830046, China; 2. College of Chemistry, Chemical Engineering and Biotechnology, Donghua University, Shanghai 201620, China; 3. College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

Abstract: In order to develop a wound dressing loaded with pomegranate peel extract (PPE), the hydrogel was prepared by cyclic freeze-thaw method using polyvinyl alcohol (PVA) and sodium carboxymethyl cellulose (Na-CMC) as raw materials, glycerol (GL) aqueous solution was used as the solvent. Subsequently, the chemical structure of hydrogels was analyzed by FT-IR. In addition, the transmittance, anti-drying, swelling, tensile properties, *in vitro* drug release, anti-oxidation and antibacterial properties of hydrogels were also studied. Results showed that the prepared hydrogels had good drying resistance and could remain intact at room temperature for 72 h. The addition of PPE reduced the light transmittance of the hydrogel,

收稿日期: 2022-09-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(51863020);新疆维吾尔自治区自然科学基金面上项目(2021D01C059);新疆维吾尔自治区天池博士计划项目(042312060)

作者简介: 赵中楠(1997—),男,硕士生,主要从事生物医用敷料的研究工作。E-mail: 1040663393@qq.com

通信联系人: 王颖, E-mail: 328532518@qq.com

引用格式: 赵中楠,张兴群,翟志毫,何明宇,夏鑫,王颖.负载石榴皮提取物的聚乙烯醇基水凝胶伤口敷料的制备与表征[J].功能高分子学报,2023,36(2):136-145.

Citation: ZHAO Zhongnan, ZHANG Xingqun, ZHAI Zhihao, HE Mingyu, XIA Xin, WANG Ying. Preparation of Polyvinyl Alcohol Hydrogel Wound Dressing Loaded With Pomegranate Peel Extract [J]. Journal of Functional Polymers, 2023, 36(2): 136-145.

improved the swelling and tensile property of the hydrogel, and made the hydrogel have good antibacterial and antioxidant properties. The cumulative release of PPE in the hydrogel was $(67.47 \pm 3.75)\%$, which showed good antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The inhibition zones were (18.78 ± 0.26) mm and (15.11 ± 0.23) mm, respectively. The highest scavenging rate to 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) was $(93.65 \pm 2.27)\%$. Therefore, the hydrogel loaded with PPE prepared in this study has the potential as a wound dressing.

Key words: pomegranate peel extract; polyvinyl alcohol; sodium carboxymethyl cellulose; hydrogel; wound dressing

皮肤作为人体最大的器官,是人体自然防御系统的第一道防线,具有防止外界微生物的入侵、保护内部组织等作用^[1]。然而,皮肤容易受到各种类型的创伤,如烧伤、烫伤、撕裂等^[2],虽然皮肤具有自我修复的能力,但是该能力具有一定的局限性,因而伤口敷料成为促进皮肤组织修复或愈合的有效辅助手段。水凝胶一般由可溶性高分子材料通过化学或物理交联的方法制备而成,是一种三维交联亲水聚合物,具有较高的含水量,可为伤口提供潮湿的环境并吸收渗出液^[3],近年来在伤口敷料领域备受关注。

聚乙烯醇(PVA)是一种无毒、亲水、可生物降解的材料,其独特的半结晶结构使其能通过冷冻/解冻的方法制备水凝胶^[4]。这种方法制备的PVA水凝胶可避免引入化学交联剂,从而降低水凝胶的毒性,但该方法制备的水凝胶仍存在透光率低、拉伸性能较差等问题^[4,5],因而限制了其在生物医学方面的应用。羧甲基纤维素钠(Na-CMC)是一种纤维素衍生物,具有良好的生物相容性和亲水性等优点,被广泛应用于食品和制药等多个领域^[2]。研究证实,Na-CMC与PVA通过冷冻/解冻法制备的水凝胶,可通过分子间氢键抑制PVA分子链的运动,降低其结晶度,从而改善水凝胶的拉伸性、吸水性和自愈性等^[6,7]。

伤口处的细菌和活性氧会引发炎症反应,延缓伤口愈合,因此具有抗菌和抗氧化功能的伤口敷料可以加速伤口愈合,但PVA与Na-CMC水凝胶无抗菌和抗氧化活性,因此限制了其在伤口敷料领域的应用^[8,9]。石榴作为一种常见水果,在我国种植历史悠久且种植面积广泛,其中石榴皮是一种常用中药材,其质量约占石榴质量的三分之一,有涩肠止泻、止血等功效,但大多数石榴皮被作为废弃物丢弃。根据药理学研究,石榴皮中存在大量的植物多酚,使石榴皮提取物(PPE)具有抗炎、抗氧化、抗菌等多种生物活性^[10]。研究表明,PPE对真菌、革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌等均具有良好的抑制效果;且PPE还具有优异的抗氧化性,可清除羟自由基、氧自由基等多种自由基^[11-14]。此外,Hayouni课题组^[15]发现使用石榴皮甲醇提取物制备的软膏可使豚鼠皮肤创伤愈合时间明显缩短,证实PPE在伤口敷料领域具有巨大的应用潜力。另一方面,相对于抗生素等抗菌药物,PPE作为一种天然抗菌物质,避免了细菌耐药性的产生。目前关于石榴皮的研究多集中于化学成分以及药理作用机制分析方面,鲜有关于其应用于伤口敷料的研究报道。

本文以PVA作为基材,向其中引入Na-CMC和/或PPE,采用循环冻融法,以丙三醇(GL)水溶液为溶剂,分别制备了PVA/Na-CMC和PVA/Na-CMC/PPE水凝胶,并对水凝胶的溶胀性、拉伸性、抗干燥、透明度、释放性、抗氧化性和抗菌活性进行了测试与表征,探索了该复合水凝胶在伤口敷料领域的应用前景。研究表明,Na-CMC和PPE改善了PVA水凝胶的性能,同时PPE的加入赋予了水凝胶良好的抗菌性和抗氧化性。

1 实验部分

1.1 材料与试剂

石榴皮收集于新疆乌鲁木齐;PVA:醇解度为98%~99%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;Na-CMC:取代度为0.7~0.9,黏度为600~3000 mPa·s,上海麦克林生化科技股份有限公司;GL、无水乙醇:天津市北联精细化学品开发有限公司;4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)、碘化丙啶(PI):北京索莱宝科技有限公司;福林酚(1 mol/L)、没食子酸标准品(纯度 $\geq 98\%$)和1,1-二苯基-2-苦肟基(DPPH,纯度 $\geq 98\%$):上海源叶生物技术有限公司;金黄色葡萄球菌(*S. aureus*,菌株编号ATCC 25923)和大肠杆菌(*E. coli*,菌株编号ATCC 25923):南通凯恒生物技术有限公司;酵母浸粉、琼脂、蛋白胨等:北京奥博星生物技术有限责任公司。

1.2 实验仪器

傅里叶红外光谱仪(FT-IR):德国Bruker公司VERTEX70型,4000~500 cm^{-1} 范围内进行扫描;紫外-可见分光光度计:上海屹谱仪器制造有限公司U-T9S型,透光率扫描范围为400~800 nm;高清微观成像系统:

中国国仪量子技术有限公司 TGY3100 型,将干凝胶裁剪成 0.2 cm×0.5 cm 的长方形,喷金后置于扫描电子显微镜(SEM)中观察凝胶的微观形貌,电压 15 kV,放大 5 000 倍;电子拉力试验机:东莞市智取精密仪器有限公司 ZQ-990 LB 型,将水凝胶制作成哑铃样,长度约为 30 mm,两端宽 10 mm,中间宽 5 mm,拉伸速率为 50 mm/min;隔水式电热恒温培养箱:上海博讯实业有限公司医疗设备厂 BG-160 型;净化工作台:上海博讯实业有限公司医疗设备厂 SW-CJ-2 FD 型;荧光倒置显微镜:德国 Carl Zeiss AG 公司 X-Cite 120 Q 型。

1.3 PPE 的制备

将干燥的石榴皮粉碎后过 420 μm 的筛网,取 100 g 石榴皮粉末浸泡于 4.8 L 乙醇溶液(体积分数为 50%)中,静置于 80 °C 水浴中 2 h 后真空抽滤。旋转蒸发浓缩上清液后使用石油醚(体积比为 1:1)萃取 3 次,浓缩冻干后得到 PPE。

1.4 水凝胶的制备

首先,以 GL 水溶液($w=50\%$)为溶剂分别制备 PVA 溶液($w=10\%$)与 Na-CMC 溶液($w=1\%$)。随后将 Na-CMC 溶液与 PVA 溶液按照溶液质量比(Na-CMC 含量)0:12、1:12、1.2:12、1.5:12 共混得到 PVA/Na-CMC 混合液,60 °C 下搅拌 3 h,倒入模具。在-20 °C 下冷冻 10 h,室温下解冻 1 h,循环 3 次。将制备好的水凝胶分别标记为 PGC₀, PGC₁, PGC_{1.2}, PGC_{1.5}。向 PVA/Na-CMC 溶液中添加 PPE(溶液质量的 3%),将负载 PPE 的样品分别标记为 PGC₀P, PGC₁P, PGC_{1.2}P, PGC_{1.5}P。

1.5 水凝胶的抗干燥性能分析

剪切一定质量(m_0)的水凝胶样品放置于培养皿中,在室温下,将其暴露在空气中放置一段时间,分别于 1、3、5、7、9、12、24、48、72 h 称取样品质量记为 m_t 。

1.6 水凝胶的溶胀性分析

称取一定质量的凝胶样品在 60 °C 下干燥至恒重(m),然后将样品浸泡于 37 °C 的去离子水中,分别于 0.5、1、2、3、5、7、9、12、24、48、72 h 将样品取出,用滤纸擦除表面液体,称取质量(m')。溶胀率(SR)计算公式如下:

$$SR = \frac{m'}{m} \times 100\% \quad (1)$$

1.7 水凝胶的体外释放性能分析

称取 10 mg 水凝胶,将其浸泡于含有 20 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)的离心管中,37 °C、120 r/min 振荡。分别于 0.5、1、2、3、6、9、12、24、48、72 h 取出 3 mL 溶液,同时加入相同体积的 PBS,保持试管内溶液体积恒定,利用没食子酸标准曲线测量 PPE 的累积释放量(E_t)。

1.8 水凝胶的抗氧化性测试

取 200 mg 的水凝胶样品分别浸泡于 5 mL 的 PBS 中,放置于 37 °C、120 r/min 的摇床中。30 min 后每个样品取出 1 mL 分别与 3 mL DPPH 的乙醇溶液(9.2 μg/mL)混匀,空白组为 1 mL 无水乙醇与 3 mL DPPH 溶液的混合溶液。避光反应 30 min,使用紫外分光光度计在 512 nm 处测量吸光度。自由基清除率(K)计算公式如下:

$$K = \frac{A_1 - A_0}{A_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中: A_0 为样品在 512 nm 处的吸光度, A_1 为空白组在 512 nm 处的吸光度。每个样品测试 3 次取平均值。

1.9 水凝胶的抑菌性能测试

利用抑菌圈法测定水凝胶对 *S. aureus* 和 *E. coli* 的抑菌性能。将水凝胶剪切成直径 10 mm 的圆柱形,紫外灭菌。放置于涂有 100 μL 菌液($10^6 \sim 10^7$ 个/mL)的固体培养基上,使用隔水式电热恒温培养箱在 37 °C 培养 24 h,观察抑菌圈情况。

1.10 水凝胶的抑菌机制初步分析

取 PGC₀, PGC₁, PGC₁P 水凝胶各 200 mg 分别与 *S. aureus* 和 *E. coli* 于 37 °C 孵育 6 h。PBS 洗涤菌体,加入 60 μL DAPI(40 μg/mL),避光染色 15 min。PBS 洗涤菌体后,加入 60 μL PI(40 μg/mL),避光染色 15 min。PBS 重悬菌体,去除多余染料,利用荧光倒置显微镜观察细菌。

取 PGC₀, PGC₁, PGC₁P 水凝胶各 1 g 分别与 *S. aureus* 和 *E. coli* 于 37 °C 孵育 6 h。取出样品后,使用 PBS 洗涤、离心;然后将两种细菌分别浸泡于 1 mL 戊二醛溶液(体积分数为 2.5%)中,在 4 °C 放置 12 h,离心后去掉上清液;接着使用浓度梯度的乙醇对细菌逐步脱水,每次静置 5 min;最后使用 SEM 观察细菌的形貌。

2 结果与讨论

2.1 红外分析

样品的红外谱图如图 1 所示。PGC₀、PGC₁、PGC₁P 分别在 3366、3383、3336 cm⁻¹ 处出现了较宽的峰,这与 -OH 的伸缩振动有关。由于每个 GL 分子可以提供 3 个 -OH,在冻融过程中可与 PVA 链结合形成多个协同氢键体系,导致出现的峰较宽^[16,17]。同时,3 种水凝胶均在 2939 cm⁻¹ 处出现了较小的峰,原因是 C-H 的拉伸作用。在 PGC₁ 与 PGC₁P 的 FT-IR 谱图中,两者分别于 1701 cm⁻¹ 与 1713 cm⁻¹ 处出现了较小的峰,这是由于 Na-CMC 中羧酸根的 C=O 振动造成的。3448 cm⁻¹ 和 1638 cm⁻¹ 处的特征峰为 PPE 的 -OH 伸缩振动和 C=C 伸缩振动^[18]。从图中可以看出,PGC₁P 与 PGC₁ 的特征峰相似,但由于 PPE 的加入,PGC₁P 红外光谱中的 -OH 振动峰向低波数移动,从 3383 cm⁻¹ 迁移至 3336 cm⁻¹,该结果说明 PPE 已成功负载至水凝胶中^[18,19]。PGC₁P 光谱中并未出现新的吸收峰,仅观察到吸收峰迁移,表明 PPE 与水凝胶之间是物理相互作用,无明显的化学反应^[20]。

2.2 透明度

由于以水作为溶剂,通过反复冻融制备的 PVA 水凝胶呈白色、不透明,因此常使用二甲基亚砜等有机溶剂提高水凝胶的透明度,但大多数有机溶剂具有毒性,很难从凝胶中去除^[4]。研究表明,GL 可降低 PVA 水凝胶的结晶度,扰乱分子链的顺序,从而使水凝胶的透光率更高^[21]。为获得较好透明度的水凝胶,本研究以 GL 水溶液为溶剂制备水凝胶。图 2 显示了水凝胶的透光率,未添加 PPE 时,水凝胶的透光率良好,在 600 nm 处 PGC₀、PGC₁、PGC_{1.2}、PGC_{1.5} 的透光率分别为 87.8%、86.8%、86.4% 和 85.9%,且透光率与 Na-CMC 的含量呈负相关。由于 PPE 中含有色素物质,负载 PPE 后 PGC₀P、PGC₁P、PGC_{1.2}P、PGC_{1.5}P 在 600 nm 处的透光率分别为 55.9%、55.1%、52.2% 和 51.2%,透光率虽有所降低,但仍可通过水凝胶观察到下方的直尺与数字。

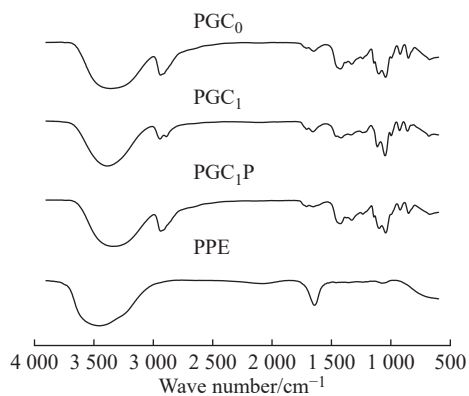


图 1 PPE 及水凝胶的红外谱图

Fig. 1 FT-IR spectra of PPE and hydrogels

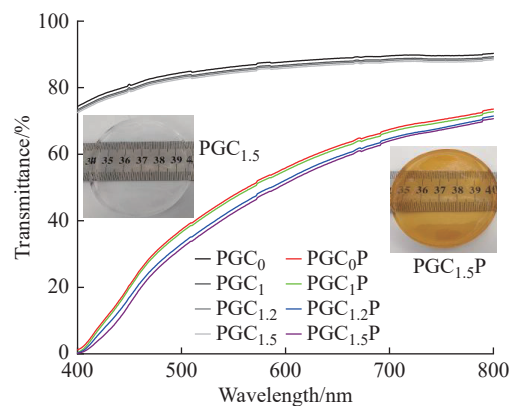


图 2 水凝胶的透光率

Fig. 2 Transmittance of hydrogel

2.3 抗干燥性能

研究表明,在水凝胶中加入如 GL、乙二醇和山梨醇等醇类物质可以提高水凝胶的抗干燥性能^[20]。24 h 与 72 h 后水凝胶的余重比如图 3 (a) 所示,各组水凝胶暴露于空气中 24 h 后质量虽有所降低,但仍维持在初始质量的 56.25%~60.51%,72 h 后质量降低至初始质量的 54.17%~56.49%。添加 PPE 的水凝胶与未添加 PPE 的水凝胶两者余重接近,说明 PPE 的加入并未对水凝胶的失水率产生影响。干燥 72 h 后水凝胶仍具有完整性,并未出现塌缩现象(图 3(b))。这是由于 GL 属于低蒸气压液体,能与 PVA 形成氢键,维持水凝胶结构的稳定^[22]。同时,凝胶表面孔隙较少,三维结构被覆盖。这可能是由于多余的 GL 留在水凝胶的孔隙中,并在水凝胶表层形成保护层,导致水凝胶失水率较低。

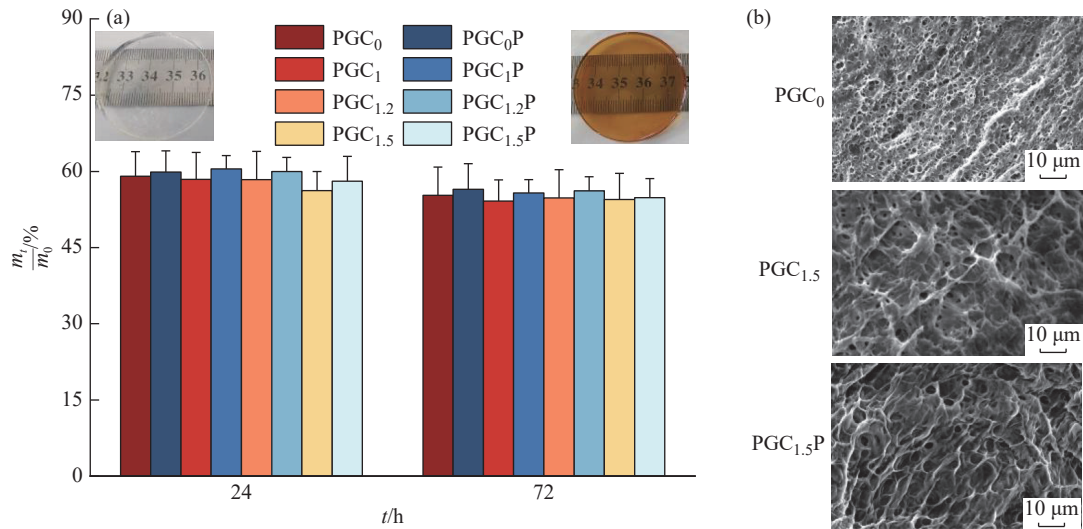


图 3 (a)24 h 与 72 h 后水凝胶的余重比; (b)72 h 后水凝胶的 SEM 图

Fig. 3 (a) Residual mass ratio of hydrogels after 24 h and 72 h; (b) SEM images of the hydrogels after 72 h

2.4 溶胀性能

水凝胶的溶胀性能如图 4 所示, 9 h 内水凝胶快速吸水膨胀, 最大溶胀率由 PGC₀ 组的(392.0±5.2)% 上升至 PGC_{1.5}P 组的(452.1±12.7)%。这主要是由于水凝胶中含有大量的氢键等亲水性基团。随着 Na-CMC 含量

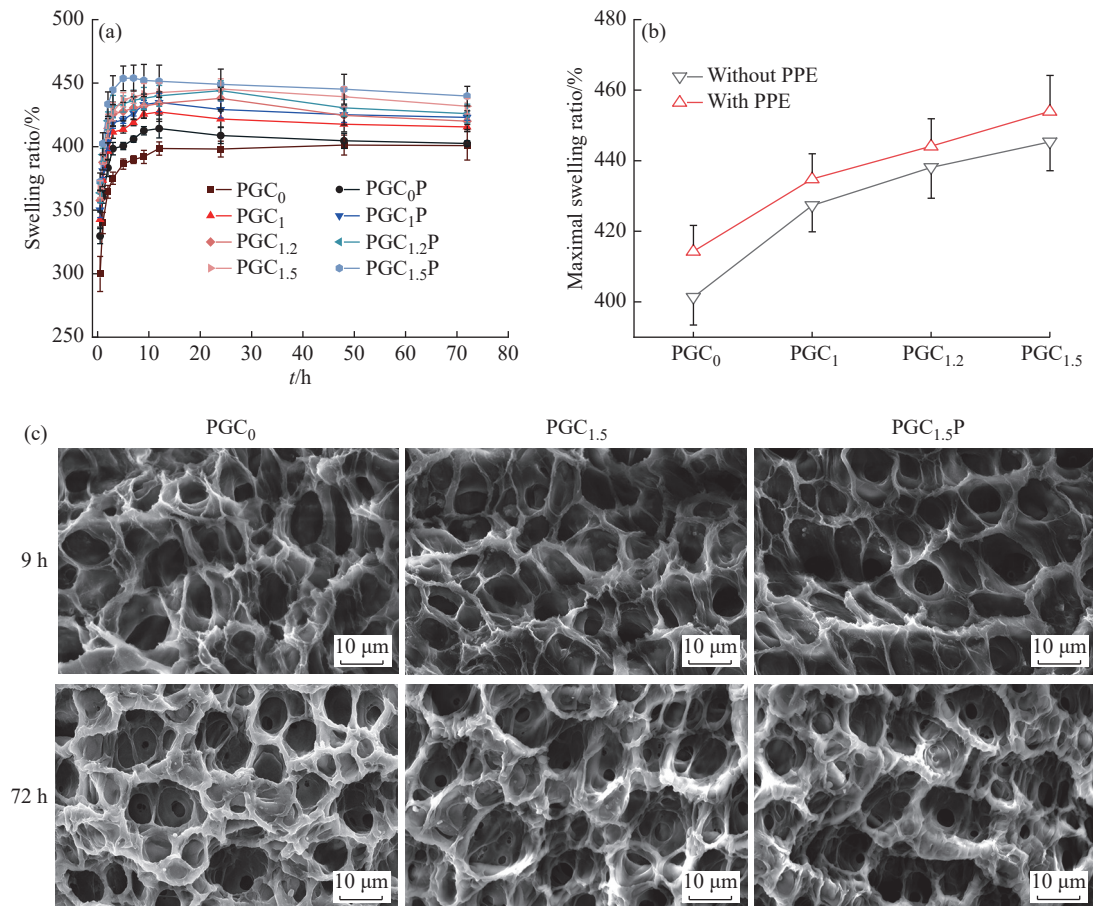


图 4 水凝胶的溶胀性能分析: (a)溶胀动力学曲线; (b)Na-CMC 含量对水凝胶最大溶胀率的影响; (c)9 h 与 72 h 后水凝胶的 SEM 图

Fig. 4 Swelling property analysis of hydrogels: (a) Swelling dynamic curves; (b) Effect of NA-CMC content on the maximum swelling ratio of hydrogel; (c) SEM images of hydrogels after 9 h and 72 h

的增加,水凝胶的溶胀率有所提高,PPE的加入进一步提高了水凝胶的溶胀率(图4(b))。水凝胶的溶胀率由PGC₀P组的(414.3±7.4)%提升至PGC_{1.5}P组的(454.0±10.2)%。这可能是PPE的加入使得水凝胶冻融产生的氢键减少,交联强度降低,吸水率提高^[23]。如图4(c)所示,水凝胶溶胀4h后出现大量孔洞,与图3(b)形成鲜明对比,这可能是由于水溶解了覆盖在水凝胶表面以及三维结构中的GL而产生的,因此水分可以快速进入到水凝胶中。浸泡9h的水凝胶结构与72h时的结构相似,说明9h后水凝胶溶胀速率降低,这可能是导致水凝胶溶胀速率变缓的原因。

2.5 拉伸性能

通过单向拉伸测试,水凝胶的力学性能试验结果如图5所示。随着Na-CMC含量的增加,水凝胶的拉伸强度逐渐降低(图5(a)),断裂伸长率逐渐增加(图5(b))。这可能是由于Na-CMC阻碍了PVA与GL之间的结合,导致冻融后产生的氢键减少,因此交联强度降低^[2]。而PPE的加入对水凝胶的拉伸性也有一定的影响,水凝胶的断裂强度由PGC₀P组的(0.42±0.02)MPa降低至PGC_{1.5}P组的(0.30±0.06)MPa,拉伸强度适中,伸长率由(209.92±25.01)%提升至(300.52±38.34)%。但含有PPE的水凝胶其断裂强度和断裂伸长率均略高于未添加PPE组的数值。这可能是PPE与聚合物分子间形成氢键或分子间相互作用,导致水凝胶的强度和柔韧性有一定提高^[24]。

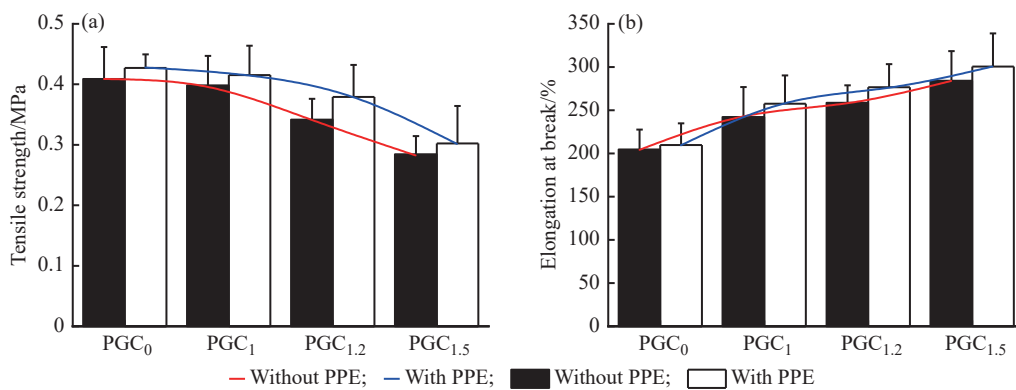


图5 水凝胶的(a)拉伸强度和(b)断裂伸长率

Fig. 5 (a) Tensile strength and (b) elongation at break of hydrogel

2.6 水凝胶的体外模拟释放

图6为水凝胶在37℃、72h内PPE的累积释放曲线。从图中可以看出。前9h,PGC₀P、PGC₁P、PGC_{1.2}P、PGC_{1.5}P这4组水凝胶中的PPE呈爆发式释放,PPE的累积释放率分别为(57.77±5.59)%、(60.27±4.82)%、(61.79±5.43)%、(64.94±5.16)%。随后水凝胶中的PPE释放逐渐变缓,到72h时PPE的累积释放率分别为(60.77±6.71)%、(62.27±6.21)%、(64.30±4.21)%和(67.47±3.75)%。这一结果与溶胀结果相对应,浸泡于PBS中的水凝胶迅速溶胀,水分子大量溶解水凝胶表面的GL并进入水凝胶三维结构内部,PPE为水溶性物质,溶解于表层GL的PPE以及存在于水凝胶孔隙中的PPE被快速溶解释放,因此在前9hPPE呈爆发式释放,随后水凝胶骨架中的GL逐渐与水结合,而其中溶解的PPE缓慢释放到溶液中,因此释放曲线变缓^[21]。

2.7 水凝胶的抗氧化性能

创伤愈合过程中产生的自由基会攻击和破坏组织中的蛋白质,影响伤口愈合,因此伤口敷料应具备清除自由基的能力^[25,26]。DPPH自由基清除实验被广泛应用于检测材料的抗氧化活性^[27]。如图7所示,未负载PPE的水凝胶均无法清除DPPH自由基,而负载了PPE的水凝胶均表现出较强的抗氧化活性,PGC₀P,PGC₁P,PGC_{1.2}P,和PGC_{1.5}P的DPPH清除率分别为(71.31±5.67)%、(89.34±2.98)%、(92.52±1.68)%和(93.65±2.27)%。这可能是由于PPE中含有丰富的多酚类和黄酮类物质,对DPPH自由基具有良好的清除效果,因此使得水凝胶抗氧化活性良好^[28]。此外,PGC₀P、PGC₁P、PGC_{1.2}P、PGC_{1.5}P对DPPH的清除率呈现逐渐递增的趋势,这与图6的PPE释放曲线结果相对应,随着水凝胶中PPE的累积释放量的升高其DPPH清除能力逐渐增强。

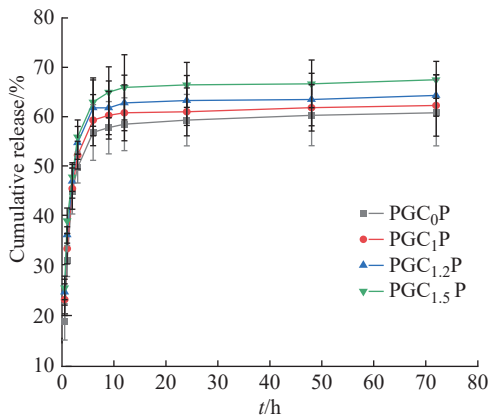


图 6 水凝胶的体外模拟释放曲线

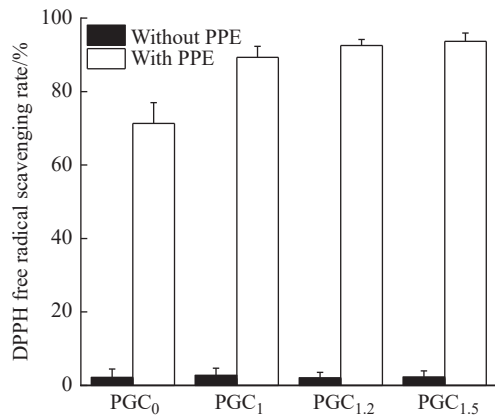
Fig. 6 Simulated release curves *in vitro* of hydrogels

图 7 水凝胶的体外抗氧化性能

Fig. 7 *In vitro* antioxidation of hydrogels

2.8 水凝胶的抗菌性能

在伤口愈合过程中, 伤口被细菌等微生物感染是创面愈合延迟的常见原因, 其中 *S. aureus* 和 *E. coli* 是伤口感染常见的致病菌^[29,30]。如图 8(a)所示, 未负载 PPE 的水凝胶并未表现出抑菌性, 而加入 PPE 的凝胶对 *S. aureus* 和 *E. coli* 显示出了较强的抑菌性。抑菌圈直径如图 8(b)所示, 水凝胶对 *S. aureus* 与 *E. coli* 的抑菌圈直径分别由 PGC₀P 组的 (15.29±0.41) mm、(14.59±0.25) mm 上升到至 PGC_{1.5}P 组的 (18.78±0.26) mm、(15.11±0.23) mm。抗菌实验结果显示水凝胶对 *S. aureus* 与 *E. coli* 均具有较好的抗菌性, 这可能是因为石榴皮中的酚类物质能够有效抑制细菌生长和繁殖^[31]。

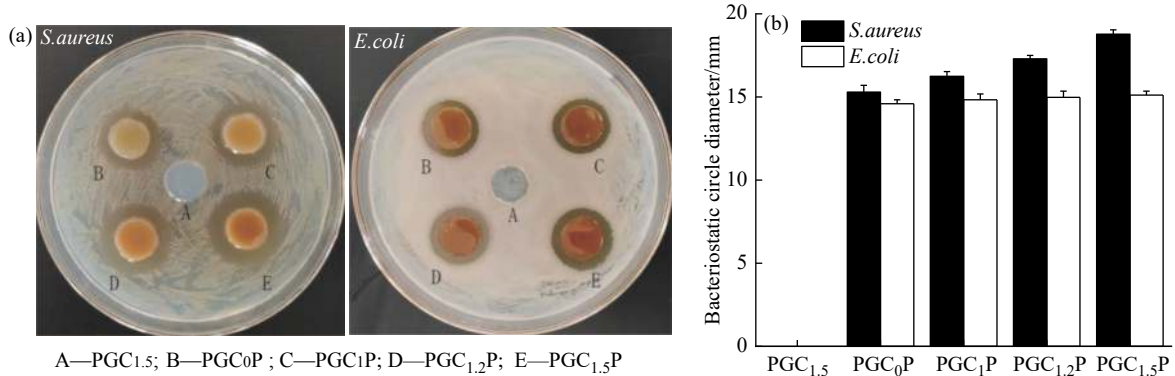
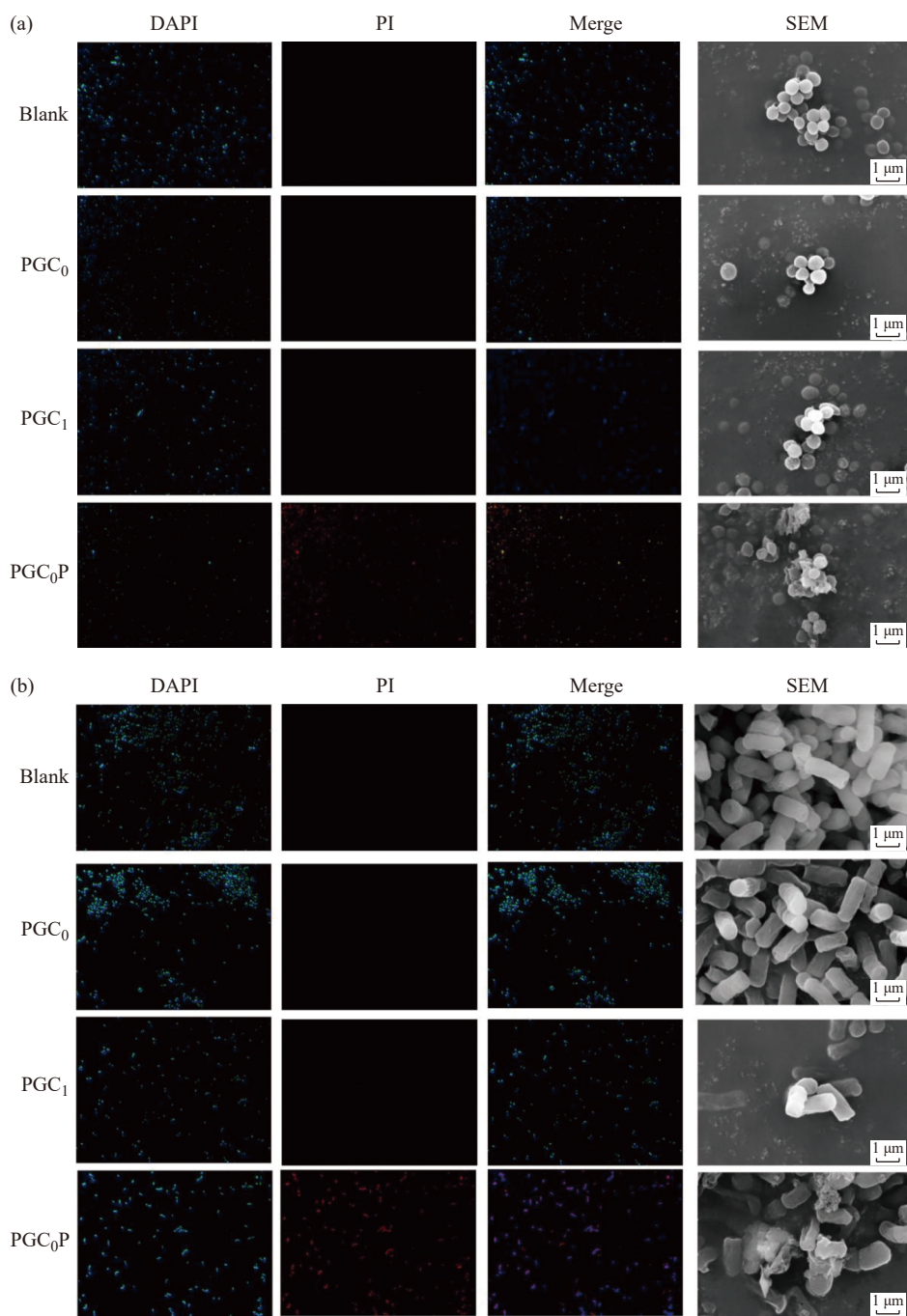


图 8 水凝胶的抑菌性能: (a) 实验结果图; (b) 抑菌圈直径

Fig. 8 Antibacterial properties of hydrogels: (a) Experimental results; (b) Bacteriostatic diameters

2.9 水凝胶的抑菌机制初步分析

为了分析水凝胶的抑菌机制, 以不含水凝胶的实验组为空白对照组, PGC₀ 和 PGC₁ 为阴性对照组, 检测 PPE 体外释放量最少的 PGC₀P 组的抑菌机理。水凝胶与细菌共同孵育后利用 DAPI 与 PI 双荧光染色检测细菌细胞膜的完整性。其中 DAPI 可以穿过具有活性的细菌细胞膜对细菌 DNA 染色而呈现蓝色荧光, PI 则不能穿过活细菌的细胞膜, 只能与凋亡或破损细菌 DNA 结合呈现红色荧光^[32]。如图 9 所示, 空白组、PGC₀ 与 PGC₁ 组的 *S. aureus* 与 *E. coli* 染色均呈现蓝色荧光, SEM 结果显示, 这 3 组的 *S. aureus* 与 *E. coli* 仍保持着完整的细胞形态, 分别呈球状与杆状。与 PGC₀P 共同孵育后, 细菌染色呈现红色, SEM 观察到部分细菌已无固定形状, 细胞表面出现破损、坍塌及细胞内容物外泄的现象。由此说明 PPE 可以通过破坏细菌的细胞膜从而抑制细菌的生长。

图 9 细菌荧光图及 SEM 图: (a) *S. aureus*; (b) *E. coli*Fig. 9 Bacterial fluorescence and SEM images: (a) *S. aureus*; (b) *E. coli*

3 结 论

- (1) 采用循环冻融法, 以 PVA 和 Na-CMC 为原料, GL 水溶液为溶剂, 制备了负载 PPE 的水凝胶。
- (2) 水凝胶具备较好的透明度和抗干燥性能, 溶胀性能良好, 拉伸性适中, 可满足伤口敷料的要求。
- (3) 水凝胶的抗氧化性能较强, 其 PPE 累计释放率最高可达 $(67.47 \pm 3.75)\%$, 对 DPPH 自由基的清除率超过 70%。
- (4) PPE 可通过破坏细胞膜抑制细菌生长, 使水凝胶具备良好的抗菌性能。

参考文献:

- [1] FANG H, WANG J H, LI L, XU L Q, WU Y X, WANG Y, FEI X, TIAN J, LI Y. A novel high-strength poly(ionic liquid)/PVA hydrogel dressing for antibacterial applications [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 365: 153-164.
- [2] WANG L Y, WANG M J. Removal of heavy metal ions by poly(vinyl alcohol) and carboxymethyl cellulose composite hydrogels prepared by a freeze-thaw method [J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2016, 4(5): 2830-2837.
- [3] DONG Y X, HASSAN W U, KENNEDY R, GREISER U, PANDIT A, GARCIA Y, WANG W X. Performance of an *in situ* formed bioactive hydrogel dressing from a PEG-based hyperbranched multifunctional copolymer [J]. *Acta Biomaterialia*, 2014, 10(5): 2076-2085.
- [4] KAMOUN E A, KENAWY E R, CHEN X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings [J]. *Journal of Advanced Research*, 2017, 8(3): 217-233.
- [5] KAMOUN E A, KENAWY E R, TAMER T M, ELMELIGY M A, ELDIN M S. Poly(vinyl alcohol)-alginate physically crosslinked hydrogel membranes for wound dressing applications: Characterization and bio-evaluation [J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2015, 8(1): 38-47.
- [6] MANDAL B, RAY S. Removal of safranin T and brilliant cresyl blue dyes from water by carboxy methyl cellulose incorporated acrylic hydrogels: Isotherms, kinetics and thermodynamic study [J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2016, 60: 313-327.
- [7] XIAO C M, GAO Y K. Preparation and properties of physically crosslinked sodium carboxymethylcellulose/poly(vinyl alcohol) complex hydrogels [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2008, 107(3): 1568-1572.
- [8] 范瑶, 梁文城, 王友长, 郎美东. 聚乙烯醇/ ϵ -聚赖氨酸水凝胶伤口敷料的制备及性能 [J]. *功能高分子学报*, 2022, 35(1): 85-92.
FAN Y, LIANG W C, WANG Y C, LANG M D. Preparation and properties of polyvinyl alcohol/ ϵ -polylysine hydrogel wound dressing [J]. *Journal of Functional Polymers*, 2022, 35(1): 85-92.
- [9] SADEGHI S, NOURMOHAMMADI J, GHAEI A, SOLEIMANI N. Carboxymethyl cellulose-human hair keratin hydrogel with controlled clindamycin release as antibacterial wound dressing [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 147: 1239-1247.
- [10] ZIVKOVIC J, SAVIKIN K, JANKOVIC T, CUJIC N, MENKOVIC N. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from pomegranate peel using response surface methodology [J]. *Separation and Purification Technology*, 2018, 194: 40-47.
- [11] PANICHAYUOAKARANANT P, TEWTRAKUL S, YUENYONGSAWED S. Antibacterial, anti-inflammatory and anti-allergic activities of standardised pomegranate rind extract [J]. *Food Chemistry*, 2010, 123(2): 400-403.
- [12] CHEN J, LIAO C L, OUYANG X L, KAHRAMANOLU I, GAN Y D, LI M X. Antimicrobial activity of pomegranate peel and its applications on food preservation [J]. *Journal of Food Quality*, 2020, 2020: 8850339.
- [13] KUMAR N, DANILOSKI D, PRATIBHA, NEERAJ, D'CUNHA N M, NAUMOVSKI N, PETKOSKA A T. Pomegranate peel extract: A natural bioactive addition to novel active edible packaging [J]. *Food Research International*, 2022, 156: 111378.
- [14] 李建科, 李国秀, 赵艳红, 余朝舟. 石榴皮多酚组成分析及其抗氧化活性 [J]. *中国农业科学*, 2009, 42(11): 4035-4041.
LI J K, LI G X, ZHAO Y H, YU C Z. Composition of pomegranate peel polyphenols and its antioxidant activities [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(11): 4035-4041.
- [15] HAYOUNI E A, MILED K, BOUBAKER S, BELLASFR Z, ABEDRABBA M, IWASKI H, MATSUI T, LIMAM F, HAMDI M. Hydroalcoholic extract based-ointment from *Punica granatum L.* peels with enhanced *in vivo* healing potential on dermal wounds [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(11): 976-984.
- [16] LIU X T, WU Z J, JIANG D W, GUO N, WANG Y, DING T, WENG L. A highly stretchable, sensing durability, transparent and environmentally stable ion conducting hydrogel strain sensor built by interpenetrating Ca^{2+} -SA and glycerol-PVA double physically cross-linked networks [J]. *Advanced Composites and Hybrid Materials*, 2022, 5(3): 1712-1729.
- [17] WANG S Y, REN J L, KONG W Q, GAO C D, LIU C F, PENG F, SUN R C. Influence of urea and glycerol on functional properties of biodegradable PVA/xylan composite films [J]. *Cellulose*, 2014, 21(1): 495-505.
- [18] 王保营, 卢芳芳, 李潇潇, 李璐瑶, 王超群, 孔维炜, 张岩. PVA/石榴皮粉复合薄膜的制备及性能研究 [J]. *塑料科技*, 2019, 47(3): 65-69.
WANG B Y, LU F F, LI X X, LI L L, WANG C Q, KONG W W, ZHANG Y. Study on preparation and properties of PVA/pomegranate peel powder composite films [J]. *Plastics Science and Technology*, 2019, 47(3): 65-69.
- [19] NASCIMENTO M F, CARDOSO J C, SANTOS T S, TAVARES L A, PASHIROVA T N, SEVERINO P, SOUTO E B,

- ALBUQUERQUE R L C. Development and characterization of biointeractive gelatin wound dressing based on extract of *Punica granatum linn* [J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(12): 1204.
- [20] MAROUFI L Y, TABIBIAZAR M, GHORBANI M, JAHANBAN-RSFAHLAN A. Fabrication and characterization of novel antibacterial chitosan/dialdehyde guar gum hydrogels containing pomegranate peel extract for active food packaging application [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 187: 179-188.
- [21] CAI Y P, CHE J Y, YUAN M L, SHI X H, CHEN W, YUAN W E. Effect of glycerol on sustained insulin release from PVA hydrogels and its application in diabetes therapy [J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2016, 12(4): 2039-2044.
- [22] CHEN J W, YU Q Y, SHI D J, YANG Z K, DONG K J, KANEKO D, DONG W F, CHEN M Q. Tough and antifreezing organohydrogel electrolyte for flexible supercapacitors with wide temperature stability [J]. *ACS Applied Energy Materials*, 2021, 4(9): 9353-9361.
- [23] HWANG M R, KIM J O, LEE J H, KIM Y I, KIM J H, CHANG S W, JIN S G, KIM J A, LYOO W S, HAN S S. Gentamicin-loaded wound dressing with polyvinyl alcohol/dextran hydrogel: Gel characterization and *in vivo* healing evaluation [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2010, 11(3): 1092-1103.
- [24] LIM S J, LEE J H, PIAO M G, LEE M K, OH D H, HWANG D H, QUAN Q Z, YONG C S, CHOI H G. Effect of sodium carboxymethylcellulose and fucidic acid on the gel characterization of polyvinylalcohol-based wound dressing [J]. *Archives of Pharmacol Research*, 2010, 33(7): 1073-1081.
- [25] QU J, ZHAO X, LIANG Y P, XU Y M, MA P X, GUO B L. Degradable conductive injectable hydrogels as novel antibacterial, antioxidant wound dressings for wound healing [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 362: 548-560.
- [26] 陈鹏, 杨凤英, 顾志鹏, 李乙文. 抗氧化水凝胶的研究进展 [J]. *功能高分子学报*, 2021, 34(2): 182-194.
CHEN P, YANG F Y, GU Z P, LI Y W. Recent progress in antioxidant hydrogels [J]. *Journal of Functional Polymers*, 2021, 34(2): 182-194.
- [27] YANG X, WANG B L, SHA D, LIU Y G, LIU Z, SHI K, LIU W, YU C, JI X L. PVA/poly(hexamethylene guanidine)/gallic acid composite hydrogel films and their antibacterial performance [J]. *ACS Applied Polymer Materials*, 2021, 3(8): 3867-3877.
- [28] 郭璐, 夏道宗, 张晓熙, 田崇梅, 邢梦雨. 石榴皮多组分提取工艺优化及多体系抗氧化活性评价 [J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(9): 4008-4012.
GUO L, XIA D Z, ZHANG X X, TIAN S M, XING M Y. Extraction process optimization of pomegranate peel multi-component and evaluation on antioxidant activity in multi-system [J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2019, 34(9): 4008-4012.
- [29] OGUNTIBEJU O O. Medicinal plants and their effects on diabetic wound healing [J]. *Veterinary World*, 2019, 12(5): 653-663.
- [30] 陈小芬, 林白浪, 符小玲, 李燕霞, 符小玉. 慢性伤口感染病原菌分布与银离子抗菌敷料应用的研究 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2016, 26(5): 1086-1088.
CHEN X F, LIN B L, FU X L, LI Y X, FU X Y. Distribution of pathogenic bacteria in chronic wound infections and application of silver ion antimicrobial dressing [J]. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 2016, 26(5): 1086-1088.
- [31] AL-ZOREKY N S. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit peels [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, 134(3): 244-248.
- [32] 冯金林, 王津, 韩榕. 活体染色显微技术和绿色荧光蛋白在本科实验教学中的应用 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2017, 39(7): 926-930.
FENG J L, WANG J, HAN R. The application of intravital staining microtechnic and green fluorescent protein in the experimental course for undergraduates [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2017, 39(7): 926-930.