·实验研究·

负载布洛芬光交联水凝胶敷料的生物性能及抑菌镇痛性能研究

周昱辰,张亮亮,刘　阳*
(首都医科大学附属北京世纪坛医院,北京 100038)

[摘要] **目的**:开发具有良好抑菌性能和生物相容性的多功能水凝胶,用于治疗细菌感染创面,起到快速愈合伤口和止痛的作用。**方法**:本文以甲基丙烯酰化明胶和聚丙烯酰胺为原料,搭载硫化铜粒子和布洛芬,采用光交联的方式制备三维多孔结构的复合水凝胶,具有良好的生物相容性和抗菌性能。通过扫描电子显微镜(SEM)、红外光谱仪(FT-IR)、X 射线衍射仪(XRD)等仪器对其形貌和结构进行表征,分析聚丙烯酰胺/甲基丙烯酰化明胶载药复合水凝胶的溶胀降解性、力学性能和流变性,同时进行生物体外实验,验证其优异的生物相容性,并探究其抗菌性能。**结果**:PG-CuS@Ib 水凝胶具有高溶胀性能(100% ±5%),能有效吸收渗出液;对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌的抗菌测试显示,抑菌率均超过 99%;生物相容性测试显示,MC3T1-E1 细胞存活率较高,细胞形态舒展,且无明显的溶血现象(<5%)。**结论**:PG-CuS@Ib 多功能复合水凝胶能够满足伤口愈合的关键要求。总体而言,PG-CuS@Ib 水凝胶作为伤口敷料具有一定应用前景。

[关键词] 硫化铜纳米粒子;布洛芬;抑菌性;镇痛;水凝胶
[中图分类号] R94　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1003-3734(2026)10-1072-10

Study on biological properties, antibacterial and analgesic activities of ibuprofen-loaded photocrosslinked hydrogel wound dressing

ZHOU Yu-chen, ZHANG Liang-liang, LIU Yang*
(*Beijing Shijitan Hospital*, *Beijing* 100038, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To develop multifunctional hydrogels with excellent antibacterial properties and biocompatibility for the treatment of bacterial infection wounds, which can rapidly heal wounds and relieve pain. **Methods**: A three-dimensional porous composite hydrogel was prepared by using methacrylated gelatin and polyacrylamide as raw materials and loading copper sulfide particles and ibuprofen through photo-crosslinking. The hydrogel has good biocompatibility and antibacterial properties. The morphology and structure of the hydrogel were characterized by scanning electron microscopy (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), X-ray diffractometer (XRD), etc. The swelling and degradation properties, mechanical properties and rheological properties of the drug-loaded PAAM/GelMA composite hydrogel were analyzed. Meanwhile, *in vitro* biological experiments were conducted to verify its excellent biocompatibility and explore its antibacterial properties. **Results**: The PG-CuS@Ib hydrogel displayed a high swelling performance (100% ±5%), which can effectively absorb exudate. The antibacterial tests against Escherichia coli and Staphylococcus aureus showed that the inhibition rates were both over 99%. In the biocompatibility test, the survival rate of MC3T1-E1 cells was high, the cell morphology was spread out, and there was no obvious hemolysis (<5%). **Conclusion**: The PG-CuS@Ib multifunctional composite

[作者简介] 周昱辰,男,硕士研究生,研究方向:水凝胶组分设计。E-mail:315299039@qq.com。
[通讯作者] *刘阳,男,副主任医师,研究方向:镇痛水凝胶设计。E-mail:liuyang3406@bjsjth.cn。
[DOI]10.20251/j.cnki.1003-3734.2026.10.009

hydrogel can meet the key requirements for wound healing. In general, the PG-CuS@ Ib hydrogel has promising prospects as a wound dressing.

[**Key words**] copper sulfide nanoparticles; ibuprofen; antibacterial activity; relieve pain; hydrogel

皮肤是人体最大的器官,由于其裸露在外,容易受到损伤[1]。保持创面伤口环境湿润、消除伤口感染、提高患者的生活质量是临床上一个重要的问题[2]。传统的伤口敷料如纱布、绷带等,通常无法满足伤口创面愈合对湿润性的要求,且在包扎时需要固定,使用不便[3]。因此,开发一种高效新型的皮肤创面伤口敷料尤为重要。

水凝胶因其可形成物理屏障并为伤口修复提供潮湿环境,被认为是最有前途的皮肤伤口护理材料[4]。水凝胶是具有立体网络结构的亲水性高分子聚合材料,其较高的孔隙率为负载药物和功能粒子提供物理支持,并能提高生物相容性和抑菌性[5]。各种天然聚合物因其生物相容性、仿生特性等,被开发为功能化水凝胶材料[6]。甲基丙烯酰化明胶(GelMA)因其来源充足、优异的生物相容性和快速光交联而备受关注[7]。GelMA 是 MA 改性明胶的光敏衍生物,保持了明胶所具有的生物相容性和生物可降解性,同时聚合物上的甲基丙烯酰胺基团赋予 GelMA 自由基光交联性能,其保留的 RGD 序列可显著增强细胞黏附与增殖能力[8]。但纯 GelMA 水凝胶由于其单一的网络结构,机械强度仍然不足,这限制了其应用[9]。聚丙烯酰胺水凝胶敷料在药物递送、促进细胞增殖和皮肤生长以及可调节降解性等方面表现卓越[10]。聚丙烯酰胺(PAAm)与 GelMA 形成的半互穿网络水凝胶,虽在机械性能上有所提升,但仍存在生物活性不足、抑菌能力较弱等问题,缺乏对复杂伤口微环境的调节能力。

为解决水凝胶目前存在的问题,引入功能性纳米粒子是一种重要的优化策略[11]。金属硫化物和金属氧化物在调节水凝胶机械性能和生理特性方面具有十分重要的作用[12]。硫化铜粒子已被证明可以促进体外人类内皮细胞的增殖并刺激血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)分泌,从而促进血管生成[13]。同时硫化铜纳米颗粒具有良好的抗菌性能,与细菌外膜发生反应,抑菌效果优异[14]。在开放性伤口敷料中,布洛芬(IBU)通过抑制环氧合酶,从源头减少前列腺素的生成。这不仅直接发挥强效的局部镇痛作用,缓解患者痛苦;更通过抑制过度的炎症反应,减轻红肿和肿胀,为伤口愈合创造良好的微环境。其与水凝胶敷料的结合,实现了药物的持续缓释,共同打破“疼痛-炎症-愈合延迟”的恶性循环,从而主动促进伤口修复[15]。

本研究通过改性天然生物材料,开发出一种搭载纳米粒子和镇痛药物的半互穿多功能水凝胶体系,旨在通过调节伤口微环境、抑制炎症、减轻患者疼痛并加速伤口愈合。为实现这一目标,将硫化铜纳米粒子(copper sulfide nanoparticles, CuS NPs)和 IBU 分子掺入以聚丙烯酰胺和甲基丙烯酰化明胶为基底、可快速光交联的复合水凝胶中。随后,对 PG-CuS@ Ib 水凝胶的微观结构、液体吸收能力、机械特性、生物相容性以及抗菌活性进行了全面评估。

材料与方法

1 药物与试剂

丙烯酰胺(AM,纯度 99%,批号:79-06-1)、明胶(Gel,BR,纯度 99%,批号:9000-70-8)、MA(批号:760-93-0)、硫化铜(CuS,批号:1317-40-4)、布洛芬(IBU,纯度 98%,批号:15687-27-1)、2-羟基-4′-(2-羟乙氧基)-2-甲基苯丙酮(I2959,纯度 98%,批号:106797-53-9)均购自阿拉丁试剂公司(上海)。

2 仪器

日立 SU8010 型扫描电子显微镜(SEM,德国蔡司公司)及其配套的 X 射线能谱仪(EDS);PerkinElmer Spectrum 100 型傅里叶变换红外光谱仪(美国珀金埃尔默公司);Q2000 型差示扫描量热仪(TA Instruments Q2000,沃特世公司)。

3 GelMA 的改性方法

在 60 ℃磁力搅拌下,将 10 g 明胶完全溶解于 100 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)中,向溶液中加入 10 mL MA,并在 50 ℃、避光条件下搅拌 2 h。用 PBS 稀释反应后的混合溶液至终体积为 400 mL。随后,使用 8 ~ 14 kDa 截止透析袋在 50 ℃下用去离子水透析混合物,以去除过量的 MA 和杂质。最后,冻干后获得 GelMA 海绵[16]。

4 水凝胶的制备方法

PG-CuS@ Ib 水凝胶的合成过程如下:将 0.5 g

丙烯酰胺加入 5 mL 去离子水中,搅拌 15 min,形成均匀溶液,加入 0.25 g 甲基丙烯酰化明胶,并于 60 ℃下搅拌至完全溶解,再分别加入 0.01 g·mL^{-1}的 CuS NPs 溶液和 5% IBU 溶液,在 60 ℃下分别搅拌 30 min,最后加入 1% I2959 光交联剂,搅拌 15 min,在紫外光下进行光交联。按此方法分别制备 PAAm-GelMA 水凝胶、PAAm-GelMA-GuS 水凝胶(下文简称“PG 水凝胶”“PG-CuS 水凝胶”),作为对照组。

5 溶胀测试和体外降解性能测试方法

采用重量法研究 PG-CuS@ Ib 水凝胶的溶胀情况。PG-CuS@ Ib 水凝胶呈精确的圆柱形,将其浸入 pH 值为 7.4 的 PBS 溶液中,并于 37 ℃下恒温孵育。在特定时间收集膨胀后的水凝胶,用滤纸吸干多余水分后称重。膨胀率计算公式为:

$$膨胀率(\%) = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100\% \qquad 公式(1)$$

其中 W_t 为溶胀时间后的水凝胶质量,而 W_0 为水凝胶未膨胀状态下的初始质量。

通过质量损失评估降解情况。在 25 ℃下,取等质量的样品浸入 pH 值为 7.4 的 PBS 溶液中。在指定的时间间隔内,将样本从 PBS 中取出,用去离子水仔细清洗,并在 37 ℃的烘箱中干燥。通过使用公式(2)跟踪样本的干重 W_i 随时间的变化,评估其降解性。

$$降解率(\%) = \frac{W_0 - W_i}{W_0} \times 100\% \qquad 公式(2)$$

其中,W_i 表示第 i 天水凝胶的干重,而 W_0 表示水凝胶的初始干重。

6 力学性能测试方法

机械测试是在常温下使用电子万能测试机(ZQ-990B,智曲精密仪器有限公司)进行的,该测试机配备有 500 N 的拉力传感器。用于压缩测试的水凝胶圆柱体直径和高度均为 15 mm。压缩值是在以 2 mm·min^{-1}的速度进行测试时获取的。使用一台速率控制型流变仪对 PG-CuS@ Ib 水凝胶的流变特性进行评估,该仪器配备有 15 mm 平行板和 2 mm 间隙,测试温度为 25 ℃。施加 1 N 的法向力防止壁面滑动。在 0.1% 应变下进行 0.1 ~ 100 rad·s^{-1}的频率扫描以评估水凝胶结构。在固定角频率 1 rad·s^{-1}、应变扫描范围 1% ~ 1 000% 的条件下,评估应变下的 G′和 G″波动。将实验的角频率设置为 1 rad·s^{-1},应变水平设置为 1% 和 200%。在 1% 应变下保持张力 50 s,然后将张力提升至 200%,并保持 50 s。之后进行 3 次循环以跟踪 G′和 G″的变化。在体外研究中,使用了小鼠成骨前体细胞 MC3T3-E1 来评估水凝胶的生物相容性。这些细胞于含有 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素的 DMEM 培养基中培养,培养环境为 37 ℃、5% CO_2 的恒温箱内。每天更换细胞培养基 2 次,取第 3 ~ 6 组细胞用于进一步测试。依据国家标准 GB/T 16886.12 制备水凝胶提取物用于细胞相容性和细胞黏附检测。水凝胶样本进行 2 h 的紫外线灭菌处理,以 50 mg·mL^{-1}的浓度浸入培养基中 24 h,制备水凝胶提取物培养基,用于后续实验。

7 生物相容性测试方法

MC3T3-E1 细胞以每孔 2×10^2 个细胞、每孔 100 μL 的量接种于 96 孔板中,培养 24 h。待细胞附着于板壁后,将提取液替换为空白培养基,作为实验组。空白组不添加细胞,对照组使用相同的培养基。经过 1、3、5 d 的培养后,向各培养孔中加入 10 μL 的 CCK-8 检测溶液,继续培养 2 h。随后使用泰康 F50 微孔板阅读器在 450 nm 波长下对 96 孔板进行光密度分析。通过公式(3)计算细胞活性。

$$细胞活性 = \frac{OD_{sample} - OD_{blank}}{OD_{control} - OD_{blank}} \times 100\% \qquad 公式(3)$$

使用水凝胶提取液培养 MC3T3-E1 细胞(5×10^4 个细胞·mL^{-1}),在 12 孔板中于 37 ℃、5% CO_2 条件下培养 24 h。提取后,样本用 PBS 洗涤 2 次。细胞用 4% 甲醛于室温下固定 2 h,然后用异硫氰酸荧光素(FITC)标记鬼笔环肽对肌动蛋白染色 30 min,用 DAPI 溶液对细胞核染色 30 s。采用 IX73 倒置荧光显微镜评估细胞形态。将细胞于常温下用 2.5% 甘油醛溶液固定 2 h,并用乙醇溶液(30%、50%、70%、80%、90%、95% 和 100% 体积分数)脱水,用 SEM 观察细胞黏附形态。经冷冻干燥和金溅射脱水材料处理后,使用 SEM 分析细胞黏附形态。

8 溶血性测试方法

水凝胶与血液的相容性通过与大鼠全血细胞的接触实验进行评价。采集 2 mL 大鼠新鲜全血,以 1 500 r·min^{-1}离心 15 min,经 2 ~ 3 次循环后,分离出下层红细胞(RBCs),将红细胞用 0.9% 氯化钠溶液稀释至 2% 红细胞悬液。样品溶液:0.5 mL 0.9% 的氯化钠溶液、0.5 mL 去离子水以及 0.5 mL 2% 的血红细胞悬液。实验组、阴性对照组和阳性对照组已进行命名。用移液器将混合物混合均匀,并在

37 ℃下孵育 1 h。进行离心操作。将样本在 1 500 r·min^{-1}的转速下静置 10 min。小心吸取上清液转移至 96 孔板中,测定 540 nm 波长下的光密度值。

溶血率计算公式为:

$$溶血率(\%)=\frac{A_s-A_{NC}}{A_{pc}-A_{NC}}\times 100\% \qquad 公式(4)$$

其中,A_s、A_{NC}和 A_{pc}分别为样品的吸光度。

9 抗菌性能测试方法

金黄色葡萄球菌(S. aureus)和大肠埃希菌(E. coli)分别作为革兰阳性菌和革兰阴性菌的菌种的代表,用于评估水凝胶的抗菌效果。采用平板扩散法来评估抗菌效果。

大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌在含胰蛋白胨的大豆琼脂培养基(TSA)平板上于 37 ℃培养 24 h,之后从中分离出单个菌落,并在无菌液体培养基(30 mL、37 ℃、100 r·min^{-1})中培养 6 h。用溶源性肉汤(液体)稀释,制备 1×10^6 CFU·mL^{-1}的细菌悬液。

将水凝胶样品置于 12 孔板中,加入 3 mL 细菌悬液(1×10^6 CFU·mL^{-1}),于 37 ℃孵育 24 h。使用微量分光光度计测量 600 nm 处的吸光度值。将两组的细菌溶液各稀释 1 000 倍,各取 100 份均匀接种于 LB 琼脂平板上,于 37 ℃培养 12 h。通过 TSA 平板计数菌落形成单位(CFU)计算抑制率(Rp)。对照组为 CON。

$$抑菌率(\%)=\frac{A_s-A_{NC}}{A_{pc}-A_{NC}}\times 100\% \qquad 公式(5)$$

A 代表样本组的计数,B 代表对照组的计数。使用 2.5% 的戊二醛溶液对细菌进行固定处理。随后,样品在不同浓度的乙醇溶液(30%、50%、70%、80%、90%、95% 和 100% 体积分数)中依次进行脱水处理,每次处理时间为 10 min。

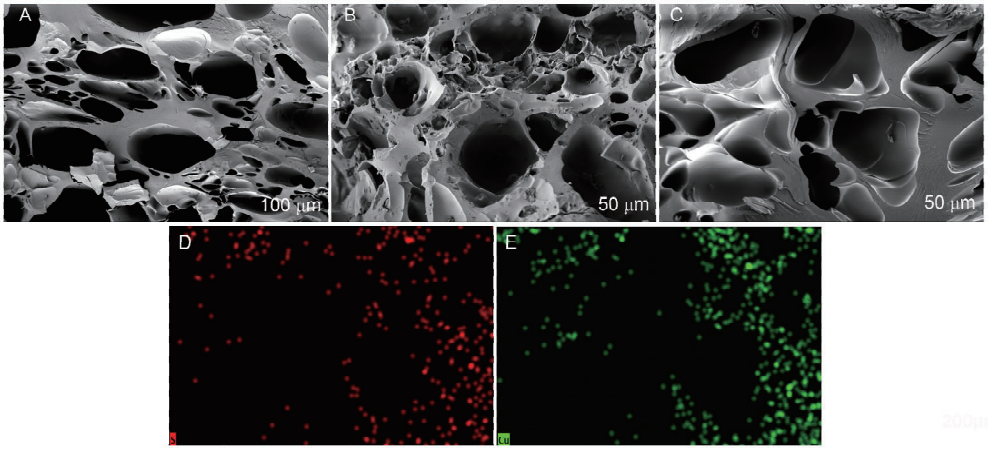
10 数据处理

所有实验均至少进行 3 次重复性实验,实验中获得的所有数据均为平均值 ± 标准差形式,并采用单因素方差分析对数据进行统计学分析,当 $P<0.05$ 时,认为差异具有统计学意义。

结　果

1 微观组织结构分析

由水凝胶截面 SEM 扫描电镜图可以清晰看出所有胶体均呈现多孔结构,这有利于伤口营养物质、气体和渗出液的交换。图 1A 为 PAAm 和 GelMA 制备的水凝胶,呈现疏松、分散、且相对孔径较大的结构,直径尺寸不均匀;图 1B 为 PG-CuS 水凝胶,添加 CuS NPs 后孔径有所减小,但尺寸仍不均匀;图 1C 为添加 IBU 之后的水凝胶,孔径进一步减少,孔径尺寸均匀且密集,IBU 和 CuS 粒子填充了更多缝隙,导致水凝胶的孔径进一步减小。在伤口愈合过程中,图 1C 中密集均匀的孔径有利于细胞黏附、增殖和药物传输[17],互相联通的水凝胶孔洞有利于 IBU 通过体液作用于皮肤伤口达到长期镇痛的作用。通过 EDS 扫描对 PG-CuS@ Ib 水凝胶进行了元素分析,图 1D 和图 1E 可以证明 CuS 粒子成功整合到水凝胶体系中,且分布均匀。所观察到的孔隙率不仅增强了水凝胶的机械性能,还为细胞浸润和营养物质运输提供了有利的环境,这对于组织再生至关重要[18]。



A ~ C:水凝胶的扫描电镜图像;D ~ E:水凝胶的 EDS 能谱

图 1 水凝胶的表面形貌和 EDS 能谱

2 化学成分分析

进一步通过红外光谱检测分析水凝胶的结构。图 2 为 AM、GelMA、PG、PG-CuS、PG-CuS@ Ib 的红外光谱图。在图 2A 中，丙烯酰胺单体在 1 660 cm^{-1} 处显示出 C = C 键变形振动的特征峰，但在合成聚丙烯酰胺后该峰值消失，证明 PAAm 合成成功。1 640、1 530 和 1 220 cm^{-1} 处的吸收带是酰胺Ⅰ、酰胺Ⅱ和酰胺Ⅲ的典型特征[19]。图 2B 中 GelMA 在 3 300 cm^{-1} 附近有特定的振动，对应 N-H 拉伸振动，反映出明胶中的氨基；2 930 和 2 869 cm^{-1} 处的峰则表明 CH2 基团的反对称和对称伸缩振动，从而证明水凝胶基底中存在 GelMA[20]。在图 2E 中，PG-CuS@ Ib 水凝胶红外光谱图出现 1 720 和 1 460 cm^{-1} IBU 分子特有的峰，说明其已成功负载于水凝胶内。

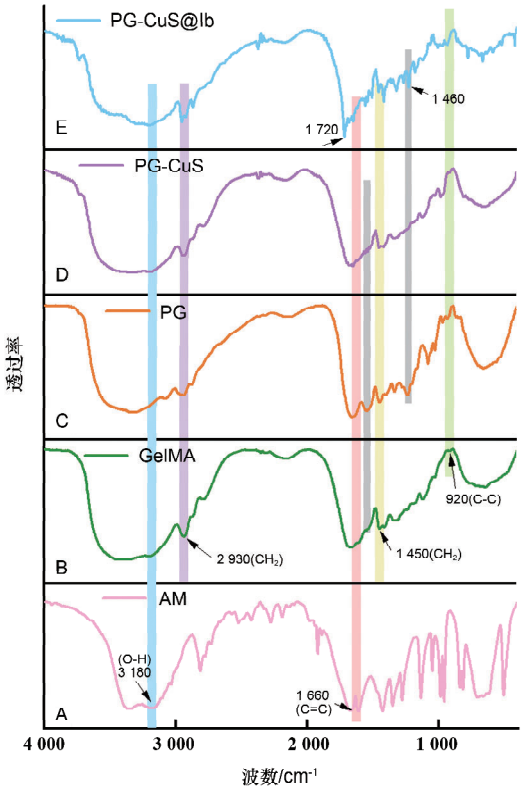


图 2 水凝胶的 FT-IR 图谱

热重分析（thermogravimetric analysis，TG）被用于研究水凝胶的热稳定性。将 PAAm 与 GelMA 进行交联反应，并添加 CuS NPs 以及 IBU 可提高其稳定性。PG 水凝胶的热谱图显示了两步分解过程：第一阶段（在 25 ~ 50 ℃之间表现为轻微的重量损失）是由于水分的流失；第二阶段（在 60 ~ 140 ℃之间）由于 PAAm 和 GelMA 降解而显示出较大的重量损失。在 160 ℃之后重量基本不变。PG-CuS 和 PG-CuS@ Ib 的热谱图显示了两步分解过程：第一阶段（在 0 ~ 60 ℃之间）为水分流失；第二阶段（在 80 ~ 160 ℃之间）为水凝胶基质的降解，下降速度相对较慢且平缓。在 220 ℃时的残留含量分别为：PG 11.5%、PG-CuS 13.6% 和 PG-CuS@ Ib 18.05%。CuS NPs 和 IBU 分子对聚合物链的物理交联可能会增强 PG-CuS 和 PG-CuS@ Ib 的稳定性（见图 3）。此方法通过限制聚合物链的热移动性来稳定体系。

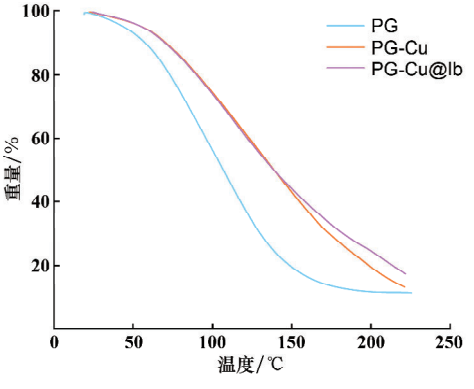
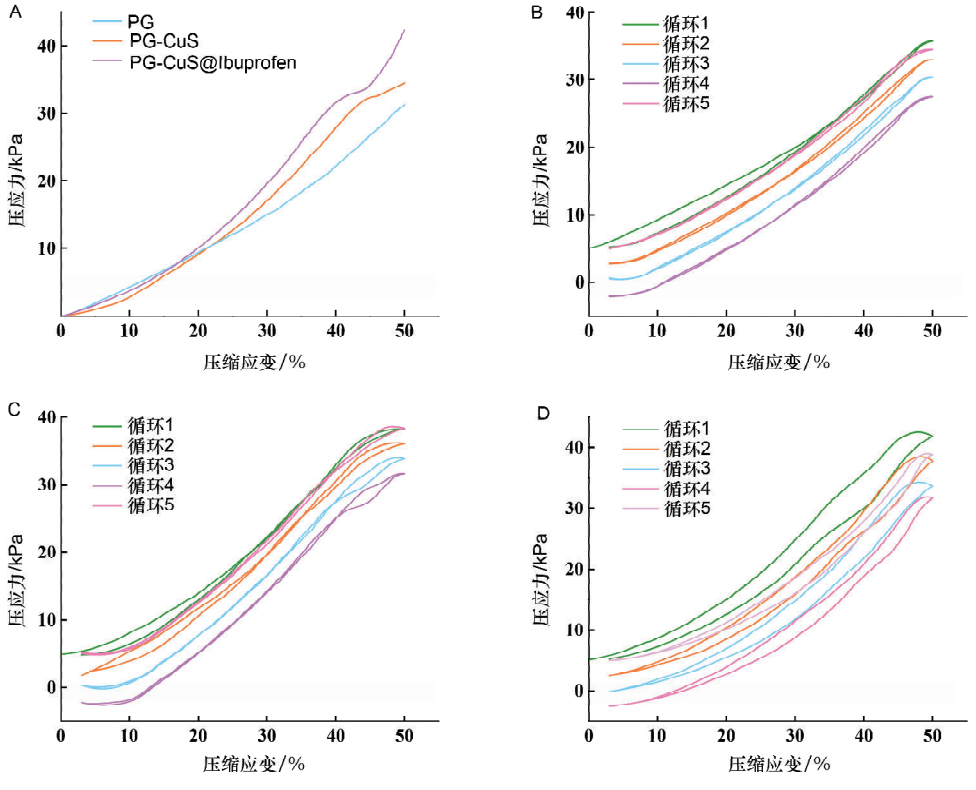


图 3 水凝胶 TG 分析图

3 力学性能分析

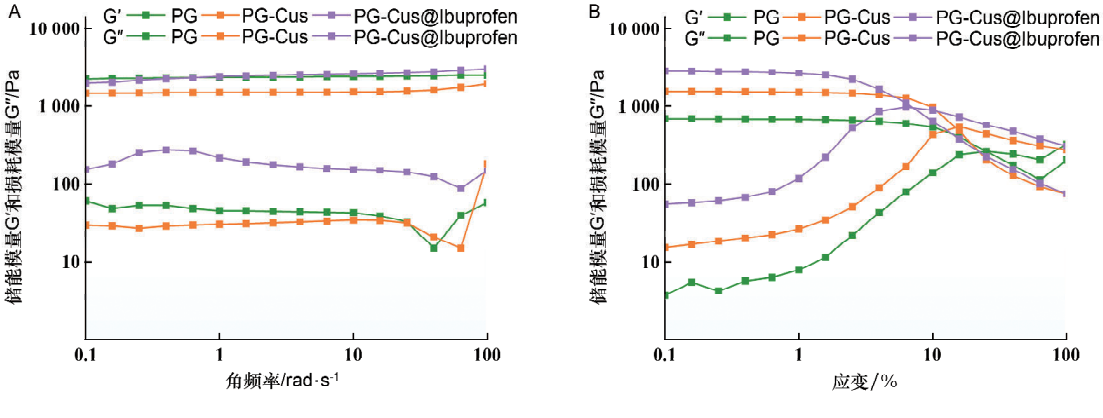
3.1 压缩力学性能分析 在伤口愈合过程中，理想的伤口敷料需具备黏附性、柔韧性、弹性等特性，以确保与伤口稳定贴合且在关节部位满足运动需求，能有效缓解外部冲击。图 4A 展示的是水凝胶的压缩应力-应变曲线。实验结果表明，PG-CuS@ Ib 水凝胶展现出最大的压缩力。与单一组分 PG 水凝胶相比，PG-CuS@ Ib 水凝胶最大压缩力显著提升，压缩力最高可达 45 kPa，高于其他两组。这种改进可能是由于水凝胶中引入 CuS NPs 和 IBU 分子后缠绕更加紧密，交联密度更高，促进了聚合物之间形成致密的物理缠绕网络。在进行压缩卸载-加载实验中，PG-CuS@ Ib 水凝胶展现出更优异的回弹性能。从图 4 中可以看出，PG 水凝胶在卸载-加载过程中强度有所下降，发生了一定的塑性变形，而 PG-CuS@ Ib 水凝胶在 5 次压缩循环中，未表现出显著的强度降低或塑性变形，在压缩后仍具有出色的可恢复性，表明 PG-CuS@ Ib 水凝胶在压缩力释放后能够恢复到原始形状，该特性有助于在伤口创面处有效保护伤口免受外部力量二次伤害。



A:水凝胶的 50% 压缩测试;B ~ D:水凝胶的 50% 压缩循环测试

图 4 水凝胶的力学测试结果

3.2 流变力学性能分析 对 3 组水凝胶进行了流变特性检测分析。图 5A 为水凝胶在频率扫描循环下的流变特性。每个储能模量(G′)均远大于对应的损耗模量(G″),表明所有样品均处于水凝胶状态。在 0.1 ~ 100 范围内扫描频率下,3 种水凝胶的 G′数值均大于 G″,并且 PG-CuS@ Ib 水凝胶因交联密度最大,其 G′和 G″大于其他 2 组胶体,表明其内部结构更加稳定,机械性能更加出色,硬度大于其他组,更类似于固体,这与上述的压缩性能结果相一致。图 5B 为 3 种水凝胶在适当的应变范围内呈现出的弹性行为。结果表明,3 组水凝胶在施加一定应变时,G″都会发生相应的增加,黏性特征增强,结构发生一定变化。当应变达到一定范围时,G′和 G″发生交叉,这种交叉表示,由于发生严重的形变导致水凝胶内部结构发生破坏,水凝胶胶体发生破裂,其黏弹性行为由弹性凝胶转变为溶胶。在 3 组对比中,PG-CuS@ Ib 水凝胶发生破碎是应变最大,说明内部交联缠绕最为紧密,结构较为坚韧。

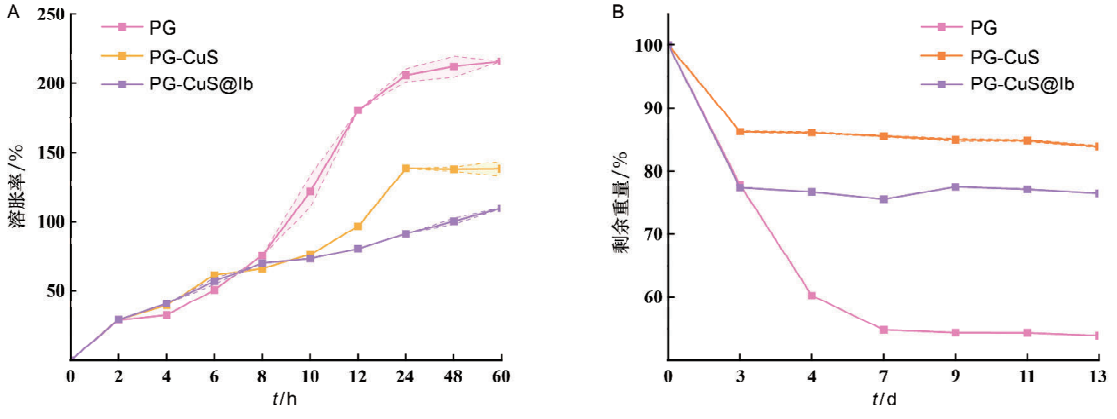


A:恒定应变率下的流变性质;B:恒定扫描频率下的流变性质

图 5 水凝胶的流变学测试

4 溶胀降解性能分析

水凝胶的微观结构差异直接影响其溶胀和降解过程。图 6 展示的是 3 种水凝胶在 pH 值为 7.4 的 PBS 溶液下的溶胀和降解曲线。3 种水凝胶的原材料分子链均存在大量亲水基团,均在 48 h 后达到溶胀平衡。与其他样品相比,PG-CuS@ Ib 水凝胶达到平衡时的溶胀率最低,这可能由于 IBU 分子填充了空隙,分子链之间的缠绕更加紧密,交联度增加。这有利于伤口创面护理,在吸收渗出液的同时,也能防止因过度溶胀发生结构破裂胶体损坏的情况。在达到溶胀平衡后,进行降解测试。在 d 1 ~ d 13 内,各组分水凝胶均发生降解,降解情况基本保持一致,13 d 后均能保持在原始重量的 50% 左右,其中 PG-CuS@ Ib 水凝胶速度较慢,有利于铜离子和药物的缓慢释放,降低药物突释的风险,利于伤口后期愈合,同时达到了 IBU 的长期镇痛效果。此外,上述结论也与水凝胶的形貌图结果相一致。

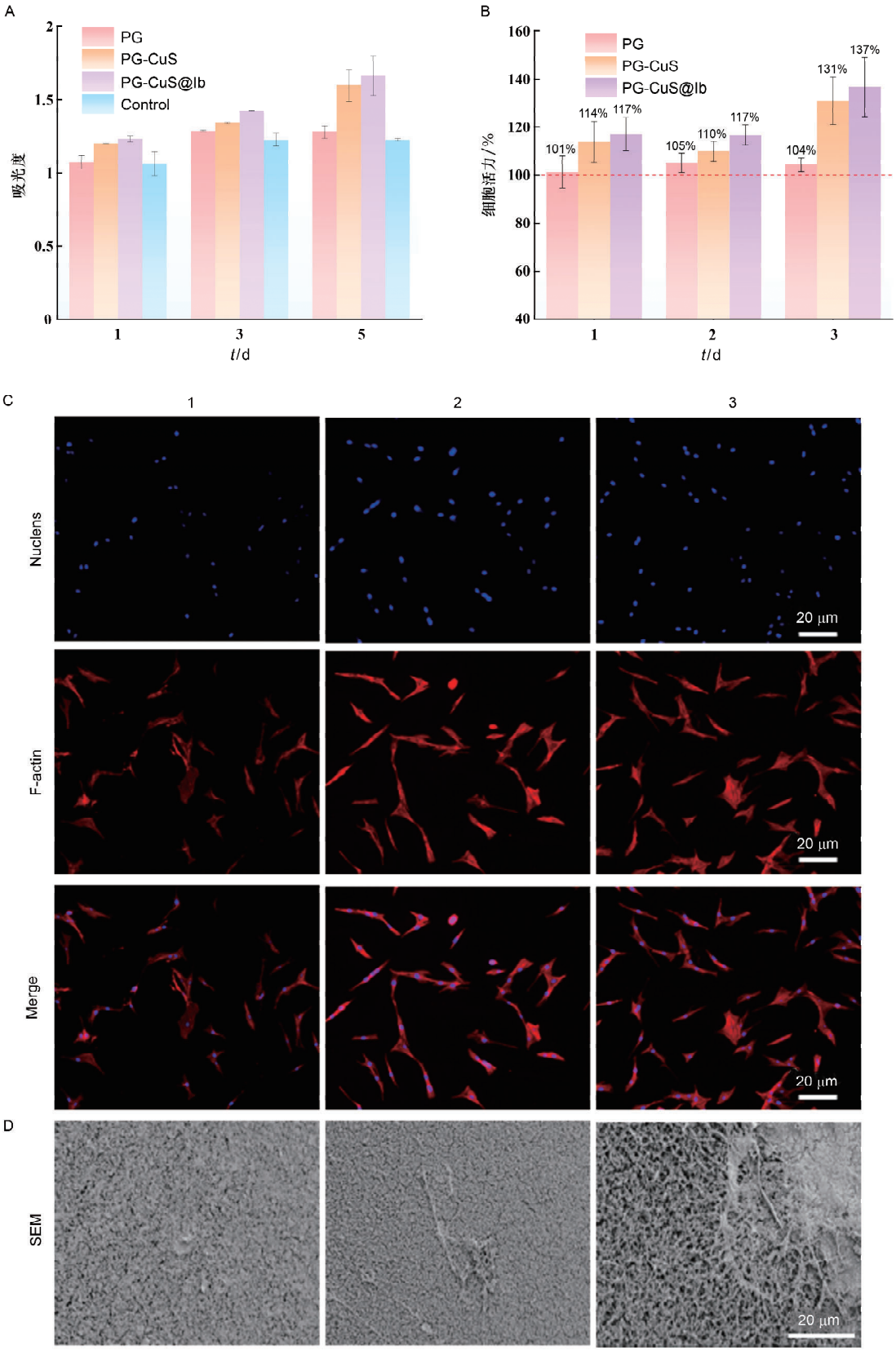


A:水凝胶的溶胀率;B:水凝胶的降解率

图 6 水凝胶的溶胀率及降解率

5 体外生物相容性分析

在生物医学应用中,水凝胶的生物相容性是十分重要的,通常采用细胞相容性和血液相容性实验进行评价[21]。图 7A 为各样品组的吸光度(OD 值)统计图,在 5 d 时间里,所有样品组细胞的 OD 值均超过 1,表明样品材料成分无毒且均具有促进细胞增殖的作用;在持续培养过程中,PG-CuS@ Ib 水凝胶于 d 5 时,OD 值达到 1.7,显著高于对照组,细胞密度增加,添加药品的水凝胶能有效促进细胞增殖。根据图 7B 中 CCK-8 检测结果,与水凝胶提取物共培养的活细胞数量自 d 1 ~ d 5 均有增加,所有组细胞活力均超过 100%,在 d 5 PG-CuS 和 PG-CuS@ Ib 组水凝胶细胞活力达 130% 以上,但仍未显著高于对照组,这可能是 CuS NPs 水凝胶中铜离子释放有关,但总体细胞毒性不明显,未对细胞增殖造成不利影响[22]。为进一步验证水凝胶的细胞相容性,对细胞形态和生长状态进行了相关观察分析。图 7C 和图 7D 展示了倒置荧光显微镜和扫描电子显微镜对共培养细胞拍摄的图像。荧光显微镜拍摄结果显示,共培养 1 d 的 MC3T3-E1 细胞均呈现出良好的舒展性,且细胞核的数量和状态也与 CCK-8 结果一致,SEM 拍摄的细胞呈现轮廓清晰的状态,细胞状态良好。由于伤口敷料必须接触血液,所以进行血液相容性实验是十分必要的[23]。由图 8 可知,3 种水凝胶分别于血液中孵育,未观察到明显的溶血现象。溶血率数据显示,所有水凝胶的溶血率均低于 5%,表明其均具有可接受的血液相容性。综上所述,PG-CuS@ Ib 水凝胶具备良好的生物相容性,能促进细胞生长和增殖。



A:CCK-8 细胞活性检测;B:细胞存活率统计;C:细胞免疫染色;D:细胞扫描电镜图片

图 7　水凝胶的生物相容性测试

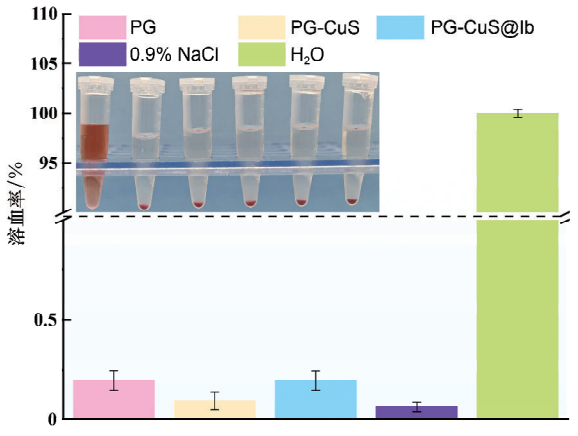
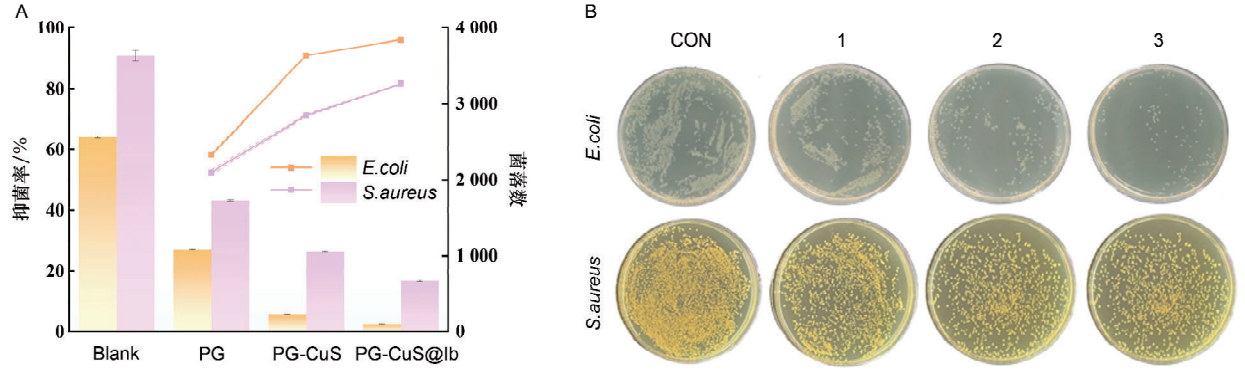


图 8 水凝胶溶血率测试

6 体外抗菌性能分析

图 9 展示的是 3 种水凝胶对 S. aureus 和 E. coli 的体外抗菌效果。观察琼脂板的菌落数，可以直观看出，与对照组相比，在加入水凝胶的培养皿中菌落数明显减少，尤其是第 2 组和第 3 组加入 CuS NPs 的水凝胶菌落减少显著，这可能是因为铜离子释放增强了水凝胶的抗菌性，Cu^{2+} 和细菌外膜之间的直接接触和相互作用导致膜破裂，从而使铜离子畅通无阻地进入细菌内部并扰乱其新陈代谢[24]。利用 ImagaJ 软件对 3 种琼脂板菌落进行计数。大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌数量相较于空白对照组显著降低；加入 PG-CuS@ Ib 水凝胶（第 3 组）大肠埃希菌的菌落数约为 100，金黄色葡萄球菌的菌落数约为 660，抑菌效果非常明显。通过与空白对照组计算分析，3 种水凝胶的抑菌率均超过 50%，PG-CuS@ Ib 水凝胶对 2 种细菌的抑菌率均达到 80% 以上，尤其对大肠埃希菌的抑菌率达 95%，这表明加入铜离子和 IBU 的水凝胶对 2 种细菌的抑制能力非常显著，可有效降低伤口创面感染风险，加速伤口愈合。



A：金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌存活率；B：金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌菌落数

图 9 水凝胶抑菌实验

讨　论

本研究针对传统伤口敷料在同时应对细菌感染和过度炎症反应方面功能单一的局限，成功制备了一种集高效抗菌与主动抗炎功能于一体的新型复合水凝胶。该材料以实验室自制的甲基丙烯酰化明胶与聚丙烯酰胺构建互穿网络骨架，通过物理包埋与化学交联的方式，共同负载 CuS NPs 与 IBU 分子。借助 CuS 固有的抑菌活性和 IBU 的抗炎作用，实现对感染微环境的双重协同调控。

作为水凝胶敷料的基底材料，甲基丙烯酰化明胶具备优异的生物相容性和快速光交联特性。然而，单一组分的水凝胶在力学性能、抑菌性能等方面存在临床应用的局限性。因此，制备复合型水凝胶已成为共识，通常采用的策略为引入第二相材料，通过物理缠结、化学交联或纳米增强效应提升力学性能，或者构建双网络或互穿网络，在保持 GelMA 优异生物相容性的前提下，实现机械强度数量级的提升，以满足不同组织工程应用的力学需求[25-26]。GelMA 和 PAAm 通过光引发自由基聚合和化学引发自由基交联共聚，两者结合时可构建网络互穿结构，提供刚性骨架和高交联密度，同时保持较高的生物相容性。

CuS 的抗菌活性主要依赖于其离子释放机制。在感染微环境中，CuS NPs 表面会缓慢解离释放 Cu^{2+}，带正电的 Cu^{2+} 与带负电的细菌细胞膜发生强烈相互作用，破坏其完整性，导致内容物泄漏[27]。将 CuS 负载于水凝胶中，可实现 Cu^{2+} 的可控、持续

释放,延长抗菌周期,同时避免突释高浓度离子所带来的潜在细胞毒性。而 IBU 作为经典的非甾体抗炎药,则可提供局部抗炎与镇痛效果[28]。二者结合,能够同时应对感染部位存在的细菌感染和炎症反应,改善微环境,促进愈合过程。

总体而言,结论如下:① 通过光交联技术制备出一种多功能 PG-CuS@ Ib 复合水凝胶,利用水凝胶成功负载 5% 的 IBU,使其缓慢释放达到长期镇痛作用,并抑制过度炎症反应,改善伤口微环境;② PG-CuS@ Ib 复合水凝胶具有较高的交联密度,赋予其优异的机械性能和韧性,能够有效附着于伤口表面并保持稳定覆盖;其出色的溶胀性能可有效管理伤口渗出液并维持伤口湿润环境;均匀密集的空隙能够为营养物质交换和细胞黏附提供支撑;在生物层面,该水凝胶表现出良好的细胞和血液相容性;③ 在抑菌性能方面,CuS NPs 的添加实现了显著的抗菌效果。整体而言,PG-CuS@ Ib 复合水凝胶集成了用于伤口敷料的核心功能,证明其在临床伤口护理中具有巨大应用潜力。

[参 考 文 献]

[1] SHPICHKA A, BUTNARU D, BEZRUKOV EA, *et al*. Skin tissue regeneration for burn injury[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 94.

[2] WELLER CD, TEAM V, SUSSMAN G. First-line interactive wound dressing update: a comprehensive review of the evidence[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 155.

[3] 闫锐, 王一宇, 刘雪, 等. 负载外泌体的水凝胶在神经损伤再生与创面修复中的应用[J]. 中国组织工程研究, 2025, 29(34): 7439 - 7446.

[4] WANG HY, HEILSHORN SC. Adaptable hydrogel networks with reversible linkages for tissue engineering[J]. *Adv Mater*, 2015, 27(25): 3717 - 3736.

[5] 杨亮亮. 多功能水凝胶基敷料的制备及其在组织损伤修复中的应用研究[D]. 长春: 吉林大学, 2023.

[6] FU YJ, SHI YF, WANG LY, *et al*. All-natural immunomodulatory bioadhesive hydrogel promotes angiogenesis and diabetic wound healing by regulating macrophage heterogeneity[J]. *Adv Sci*, 2023, 10(13): 2206771.

[7] PAUL S, SCHROBBACK K, TRAN PA, *et al*. Photo-cross-linkable, injectable, and highly adhesive GelMA-glycol chitosan hydrogels for cartilage repair[J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(32): 2302078.

[8] ZHU YR, YU XG, LIU H, *et al*. Strategies of functionalized GelMA-based bioinks for bone regeneration: Recent advances and future perspectives[J]. *Bioact Mater*, 2024, 38: 346 - 373.

[9] JI S, ZHAO Y, ZHAI X, *et al*. A Dual-Crosslinked Hydrogel Based on Gelatin Methacryloyl and Sulfhydrylated Chitosan for Promoting Wound Healing[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2447.

[10] 吴英, 李雨露, 王书芳, 等. pH 和温度双重敏感的聚丙烯酰胺/聚丙烯酸钠水凝胶的制备[J]. 池州学院学报, 2025, 39(3): 42 - 46.

[11] 王梓臻. 用于感染伤口的 CuS/ZnO 纳米粒子的改性及光治疗研究[D]. 成都: 四川大学, 2022.

[12] 杨玉婷, 许纯宾, 徐胜前, 等. 硫化铜纳米粒子活化的可注射水凝胶用于增强牙周治疗中的时空杀菌和骨生成性能[C]//中华口腔医学会牙周病学专业委员会. 中华口腔医学会牙周病学专业委员会第 16 次牙周病学学术会议论文汇编. 浙江大学医学院附属第二医院牙周病专科, 2024: 123 - 133, 141.

[13] SUN YW, YAO XX, ZHANG YQ, *et al*. Zinc oxide-copper sulfide nanozyme hydrogels for bone defect repair by modulating the bone immune microenvironment and promoting osteogenesis/angiogenesis[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2025, 17(20): 29100 - 29118.

[14] 胡金龙, 全桦红, 王静成, 等. 温敏性水凝胶 Pluronic F127 载硫化铜纳米颗粒修复大鼠感染性创面[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(12): 1927 - 1931.

[15] LU YF, CHEN B, LOU XX, *et al*. Ibuprofen conjugated Epsilon-poly-l-lysine methacrylate hydrogel modulates macrophage polarization and mitigates inflammation *in vivo*[J]. *Biomacromolecules*, 2025, 26(7): 4464 - 4476.

[16] LI ZT, XING XL, ZHAO CR, *et al*. A rapid interactive chitosan-based medium with antioxidant and pro-vascularization properties for infected burn wound healing[J]. *Carbohydr Polym*, 2024, 333: 121991.

[17] MURPHY CM, O'BRIEN FJ. Understanding the effect of mean pore size on cell activity in collagen-glycosaminoglycan scaffolds[J]. *Cell Adh Migr*, 2010, 4(3): 377 - 381.

[18] LIANG YP, HE JH, GUO BL. Functional hydrogels as wound dressing to enhance wound healing[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(8): 12687 - 12722.

[19] DAS VIRGENS SANTANA M, MAGULAS M, BRITO G, *et al*. Cryogenic 3D printing of GelMA/graphene bioinks: improved mechanical strength and structural properties for tissue engineering[J]. *Int J Nanomed*, 2024, 19: 10745 - 10765.

[20] BANSAL M, RAOS B, AQRAWE Z, *et al*. An interpenetrating and patternable conducting polymer hydrogel for electrically stimulated release of glutamate[J]. *Acta Biomater*, 2022, 137: 124 - 135.

[21] HUANG WC, YING R, WANG W, *et al*. A macroporous hydrogel dressing with enhanced antibacterial and anti-inflammatory capabilities for accelerated wound healing[J]. *Adv Funct Mater*, 2020, 30(21): 2000644.

[22] GE HJ, WANG M, WEI XL, *et al*. Copper-based nanozymes: potential therapies for infectious wounds[J]. *Small*, 2025, 21(8): 2407195.

[23] DUTRA FF, ALVES LS, RODRIGUES D, *et al*. Hemolysis-induced lethality involves inflammasome activation by heme[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(39): 4110 - 4118.

[24] LIU M, HUANG L, XU XY, *et al*. Copper doped carbon dots for addressing bacterial biofilm formation, wound infection, and tooth staining[J]. *ACS Nano*, 2022, 16(6): 9479 - 9497.

[25] LONG J, LUO Y, WANG YT, *et al*. Nanosilicate-reinforced GelMA-PEGDA hydrogel promotes angiogenesis for bone regeneration[J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 277: 133202.

[26] JIN WZ, SHEN SQ, XU X, *et al*. All-in-one hydrogel patches with sprayed bFGF-loaded GelMA microspheres for infected wound healing studies[J]. *Int J Pharm*, 2024, 658: 124205.

[27] KONG Y, HOU ZS, ZHOU LQ, *et al*. Injectable self-healing hydrogels containing CuS nanoparticles with abilities of hemostasis, antibacterial activity, and promoting wound healing[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2021, 7(1): 335 - 349.

[28] WANG WX, YAO HC, XIA J, *et al*. Chitosan-based immunomodulatory bioadhesive hydrogel promotes liver hemostasis and repair[J]. *Carbohydr Polym*, 2025, 353: 123268.

编辑:蒋欣欣/接受日期:2026 - 03 - 10