浙江理工大学学报，第 55 卷，第 4 期，2026 年 7 月
Journal of Zhejiang Sci-Tech University
DOI：10.3969/j.issn.1673-3851(n).2026.04.007

多层结构生物活性玻璃的制备及其止血性能研究

王　波，刘　涛，黄　睿，丁新波，祝国成
（浙江理工大学纺织科学与工程学院（国际丝绸学院），杭州 310018）

摘　要： 针对现有止血材料普遍存在适用伤口类型有限且易引起感染的问题，以掺铈生物玻璃（Ce-BG）纳米颗粒为基体，在其表面依次包覆聚多巴胺（PDA）与 ε-聚赖氨酸（EPL），构建具有多层结构的生物活性玻璃 Ce-BG@PDE 纳米颗粒；对改性前后的样品进行形貌结构表征，并系统评价其润湿行为、体外生物活性、抗菌性能及止血效果。结果表明：Ce-BG@PDE 的水接触角显著下降，亲水性能明显提升；在模拟体液中浸泡时，其羟基磷灰石形成速率高于未改性 Ce-BG；对金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌的抑菌率均超过 98.9%；体外凝血时间为（76.0±2.0）s，凝血指数为 16.9%，血液吸附能力强且溶血率低，红细胞聚集显著。该文制备的 Ce-BG@PDE 在润湿性、生物活性、抗菌及止血性能方面均有显著提升，展现出作为控制出血与伤口感染材料的潜在应用价值。

关键词： 掺铈生物玻璃；聚多巴胺；ε-聚赖氨酸；生物活性；抗菌性能；止血性能

中图分类号： TB332　　**文献标志码：** A　　**文章编号：** 1673-3851 (2026) 07-0431-12

引文格式： 王波，刘涛，黄睿，等. 多层结构生物活性玻璃的制备及其止血性能研究[J]. 浙江理工大学学报（自然科学），2026，55(4)：431-442.

Reference Format：WANG Bo，LIU Tao，HUANG Rui，et al. A study on the preparation of multilayered bioactive glass and its hemostatic properties[J]. Journal of Zhejiang Sci-Tech University，2026，55(4)：431-442.

A study on the preparation of multilayered bioactive glass and its hemostatic properties

WANG Bo，LIU Tao，HUANG Rui，DING Xinbo，ZHU Guocheng
（College of Textile Science and Engineering（International Institute of Silk），Zhejiang Sci-Tech University，Hangzhou 310018，China）

Abstract：Current hemostatic materials are often limited by narrow applicability to wound types and potential infection risks. A multi-layered bioactive glass nanocomposite（Ce-BG@PDE）was fabricated by coating with polydopamine（PDA）and ε-poly-L-lysine（EPL）in sequence on the basis of cerium-doped bioactive glass（Ce-BG）nanoparticles. The morphology and structure of the samples before and after modification were characterized，and their wetting behavior，*in vitro* biological properties，antibacterial properties，and hemostatic effect were systematically evaluated. The results show that the water contact angle of Ce-BG@PDE decreased significantly，and its hydrophilicity improved noticeably. When immersed in simulated body fluid，its hydroxyapatite formation rate was higher than that of unmodified Ce-BG. *In vitro* antibacterial experiments against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* revealed an antibacterial effect（exceeding 98.9%）on Ce-BG@PDE material. Simultaneously，*in vitro* coagulation time was（76.0±2.0）s，coagulation index was 16.9%，with strong blood adsorption capacity，low hemolysis rate，and significant red blood cell aggregation. The Ce-BG@PDE prepared in this study demonstrates significant improvements in wettability，bioactivity，antibacterial properties，and hemostatic properties，highlighting

收稿日期：2025－11－26　　网络出版日期：2026－01－27
基金项目：浙江省“尖兵”“领雁”研发攻关计划项目（2023C1194）；国家自然科学基金项目（31900964）
作者简介：王　波（2001－　），女，河南南阳人，硕士研究生，主要从事生物纳米材料的研究。
通信作者：丁新波，E-mail：dxblt@zstu.edu.cn

its potential application value as a material for controlling bleeding and wound infection.

Key words: cerium-doped bioactive glass; polydopamine; ε-poly-L-lysine; bioactivity; antibacterial properties; hemostatic properties

0 引 言

创伤修复是一个复杂的生理过程,包括止血、炎症、细胞增殖与组织重塑等多个阶段[1]。其中,止血作为创伤愈合的起始环节,能否在早期对其进行有效控制,对挽救生命具有至关重要的意义[2]。目前,已开发出多种基于天然/合成聚合物、硅基或金属材料的快速止血材料,其基材涵盖海绵、水凝胶及纳米纤维等[3]。然而现有的止血材料仍存在难以适应深窄或形状不规则的伤口[4],且作用机制多局限于单一的物理吸附或化学促凝途径[5]等问题,亟需开发一种可在湿润创面实现稳固黏附,且兼具高效止血、良好抗菌性能与生物安全性的新型止血材料。

粉状止血颗粒因其对创面类型的良好适用性,在止血治疗中具有广泛的应用前景[6]。其中,生物玻璃(Bioactive glass, BG)作为一类代表性材料,不仅能够通过物理和化学机制促进血液凝固,还能与组织相互作用加速伤口愈合[7]。为了进一步提高BG的止血性能,常引入锌、铈和钽等金属离子进行掺杂,其中铈离子(Ce^{3+}/Ce^{4+})主要通过两种途径参与并调控止血过程:第一,利用其氧化还原活性,调节伤口局部微环境中的活性氧(Reactive oxygen species, ROS)水平,从而直接影响血小板活化、聚集以及凝血级联反应的效率[8];第二,通过特定价态的铈离子与凝血因子(如纤维蛋白原)或血小板膜表面蛋白相互作用,潜在地影响凝血酶的生成或血小板的黏附行为[9]。但BG自身力学特性与硬组织相近,质地偏脆,与皮肤等软组织接触时难以形成稳定持久的界面结合。通过对生物玻璃进行表面改性,可增强其在生理环境中的稳定性,提高其与组织间的细胞黏附力与抗菌性,从而有效提高材料的生物活性与生物相容性。

聚多巴胺(Polydopamine, PDA)具有与贻贝足蛋白相似的结构,即使在潮湿和具有挑战性的环境中也能对各种表面具有高黏附性。因此,PDA广泛用于各种材料的表面改性,包括无机物、有机物或金属物[10]。Feng等[11]通过多巴胺氧化自聚在聚己内酯(Poly(ε-caprolactone), PCL)粉末表面,形成聚多巴胺涂层,经选择性激光烧结制备骨支架,显著增强了其表面生物活性、亲水性及细胞黏附能力,为骨组织工程提供了具有内在生物活性的支架材料。此外,由于血凝块形成的性质是渐进的,止血剂必须具有较强的湿黏附能力,同时快速激活血小板并触发凝血系统。ε-聚赖氨酸(ε-Poly-L-lysine, EPL)是一种具有广谱抗菌活性的天然抗菌多肽,其阳离子性质可触发一系列止血反应,增加凝血酶的生成,稳定纤维蛋白,诱导血小板聚集,在止血领域显示了广阔的应用前景[12]。Hou等[13]报道了一种以乙二醇壳聚糖和ε-聚赖氨酸为基质的多糖-肽低温凝胶(GC-EPL cryogels),该材料通过共价交联与宏孔结构设计,展现出优异的止血性能(在大鼠肝损伤模型中减少90%以上出血)与广谱抗菌活性(对*Staphylococcus aureus*、*Escherichia coli*等耐药菌灭菌效率大于99%),能够有效促进多重耐药细菌感染伤口的愈合,是一种兼具快速止血与抗耐药菌感染的双功能创面敷料。

本文以掺铈生物玻璃(Ce-BG)为基体材料,将具备仿生强黏附特性的聚多巴胺作为"分子锚",固定兼具抗菌与促凝功能的ε-聚赖氨酸,构建多层结构生物活性玻璃Ce-BG@PDE纳米颗粒;系统表征材料在改性前后的形貌特征、化学结构、光谱性质、润湿行为及体外生物活性,并进一步评估其抗菌与止血性能,以克服普通Ce-BG在复杂伤口环境中功能单一、界面稳定性不足的局限性。

1 实验部分

1.1 原料及试剂

十六烷基三甲基溴化铵($C_{19}H_{42}BrN$, CTAB)、正硅酸四乙酯($C_8H_{20}O_4Si$, TEOS)、氯化铈六水合物($CeCl_3 \cdot 6H_2O$)、三(羟甲基)氨基甲烷($C_4H_{11}NO_3$)、ε-聚赖氨酸($C_6H_{12}N_2O$, EPL)和氨水($NH_3 \cdot H_2O$),上海麦克林生化科技有限公司;氯化钠(NaCl)、碳酸氢钠($NaHCO_3$)、氯化钾(KCl)、无水氯化钙($CaCl_2$)和无水硫酸钠(Na_2SO_4),杭州高晶精细化工有限公司;磷酸氢二钾($KH_2PO_4 \cdot 3H_2O$)、氯化镁($MgCl_2 \cdot 6H_2O$)和磷酸氢二钠(NaH_2PO_4),天津科密欧化学试剂有限公司;四水合硝酸钙($Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, CaNT),成都科龙化工试剂厂;磷酸三乙酯($C_6H_{15}O_4P$, TEP),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;盐酸多巴胺

($C_8H_{12}ClNO_2$, DA-HCl)、乙醇(C_2H_5OH, EtOH),杭州双林化工试剂有限公司。以上试剂均为分析纯。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)和大肠埃希菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)菌种,均购于上海士锋生物科技有限公司。

1.2　试验设备

磁力搅拌器(S82-1,上海志威电器有限公司);台式高速离心机(TG16-WS,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);超声波清洗器(KQ5200E,昆山超声仪器有限公司);马弗炉(MF-1200C,安徽贝意克设计技术有限公司);电热恒温鼓风干燥箱(DHG-9036A,上海精宏实验设备有限公司);场发射扫描电子显微镜(Ultra55,德国 Carl Zeiss 半导体公司);傅里叶变换红外光谱仪(Nicolet5700,赛默飞世尔科技有限公司)和接触角测量仪(CA500S,昆山北斗精密仪器有限公司);热重分析仪(Pyris-1,美国 Perkin-Elmer 公司);电子能谱仪(JSM-5610LV,日本 Jeol 公司)。

1.3　Ce-BG 和多层结构 Ce-BG@PDE 纳米颗粒的制备

采用微乳液-溶胶-凝胶法合成 Ce-BG,具体方法如下:首先,在室温下将 0.40 g CTAB 溶于 80.00 mL 去离子水与 40.00 mL 无水乙醇的混合溶液中,待完全溶解后加入 1 mL 氨水继续搅拌 30 min。随后,每隔 2 h 依次向体系中加入 5.32 mL TEOS、0.21 mL TEP、1.06 g CaNT 与 0.32 g $CeCl_3 \cdot 6H_2O$,所有反应物添加完毕后,持续搅拌 12 h,再于室温静置 48 h。接着,对所得白色溶胶进行离心,收集沉淀,并依次用无水乙醇和去离子水交替洗涤 3 次,之后,将沉淀置于 60 ℃鼓风干燥箱中干燥 24 h,得到前驱体粉末。最后,将该粉末在马弗炉中以 2 ℃/min 的速率升温至 650 ℃,并在此温度下煅烧 5 h,制得 Ce-BG 纳米颗粒。

为了合成 Ce-BG@PDA,将 20 mg Ce-BG 分散在 40 mL Tris-HCl 缓冲溶液(10 mmol/L,pH 值 8.5)中,加入 40 mg DA-HCl,混合物在避光条件下剧烈搅拌 24 h;反应结束后,经离心洗涤获得 Ce-BG@PDA 纳米颗粒,冷冻干燥后备用。通过共价接枝将 EPL 修饰于 Ce-BG@PDA 表面,具体方法如下:40 mg Ce-BG@PDA 与等质量的 EPL 在 pH 值 9.0 的 Tris-HCl 缓冲溶液中混合,并持续搅拌 24 h;离心并去除上清液,反复用去离子水冲洗以去除多余的 EPL,于−50 ℃条件下冷冻干燥 24 h,即可得到多层结构生物活性玻璃 Ce-BG@PDE 纳米颗粒止血材料。

1.4　测试与表征

1.4.1　理化特性

将改性前后的生物活性玻璃纳米颗粒进行镀金处理,然后使用场发射扫描电镜在加速电压为 3 kV 的真空条件下观测其表面形貌,并采用 ImageJ 软件对生物活性玻璃纳米颗粒的粒径分布进行统计评估。采用溴化钾压片法,借助傅里叶变换红外光谱仪在 4000～500 cm^{-1} 的波数范围内扫描,分析材料的化学结构,结合能谱仪测定各元素组成及其分布状态。采用热重分析仪对样品进行热重测试,称取样品 3～5 mg,在氮气氛围下以 20 ℃/min 的升温速率从室温升至 800 ℃。使用接触角测量仪测量样品静态接触角,并通过 MindVision 软件分析数据,评价其表面润湿特性。

1.4.2　体外生物活性测试

根据 Kokubo 等[14]的方法配制模拟体液(Simulated body fluid, SBF),取 45 mg 改性前后的生物活性玻璃纳米颗粒加入 30 mL SBF 溶液中,于 37 ℃、120 r/min 的恒温摇床中持续振荡;每隔 1 d 换一次 SBF,并分别在 1、7 d 和 14 d 取浸泡后样品,经去离子水清洗后烘干留存。

1.4.3　抗菌性能测试

通过将不同的纳米材料分别与 2 种致病菌(*S. aureus*, 革兰氏阳性菌;*E. coli*, 革兰氏阴性菌)进行共培养,以评估其抗菌性能。使用稀释平板计数技术来评估不同纳米材料的抗菌性能,所有样品在细菌溶液中的浓度为 5 mg/mL。具体方法是:将单一菌落接种至 20 mL 营养肉汤培养基,在 37 ℃、180 r/min 条件下振荡培养 24 h。分别向装有 5 mg Ce-BG、Ce-BG@PDA、EPL 和 Ce-BG@PDE 样品的试管中加入 1 mL 浓度为 10^8 CFU/mL 的菌悬液,于 37 ℃共培养 18 h 后进行梯度稀释。吸取 100 μL 稀释液涂布于 LB 琼脂平板,用无菌涂布棒均匀铺开后,置于 37 ℃恒温培养箱中孵育 24 h。最后统计并记录平板上的菌落数量,并通过式(1)计算样品对 *S. aureus* 和 *E. coli* 的抑菌率:

$$R/\% = \frac{B-A}{B} \times 100 \tag{1}$$

其中:R 为样品对 *S. aureus* 和 *E. coli* 的抑菌率,%;A 为样品表面上的活细菌数量,个;B 为 PBS 对照样品表面上的活细菌数量,个。

1.4.4 止血性能测试

a) 血液吸收率。将改性前后的生物活性玻璃纳米颗粒完全浸入抗凝兔血中,评估其血液吸收性能。根据式(2)计算血液吸收率:

$$A_b/\% = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \times 100 \tag{2}$$

其中:A_b 为样品的血液吸收率,%;m_0 为样品的初始质量,g;m_1 为样品吸收血液后的质量,g。

b) 体外凝血时间。分别称取 10 mg 改性前后的生物活性玻璃纳米颗粒置于试管中,在 37 ℃水浴中预热 5 min,随后依次加入 1 mL 抗凝兔血与 100 μL $CaCl_2$ 溶液(0.1 mol/L),记录试管倾斜时液面不再流动所需时间即为凝血时间。

c) 体外凝血指数。按照 Liu 等[15]的方法评价样品体外凝血指数(BCI),分别将 10 mg 改性前后的生物活性玻璃纳米颗粒置于培养皿中央,于 37 ℃水浴中预热 5 min;随后依次滴加 200 μL 抗凝兔血和 40 μL、0.2 mol/L $CaCl_2$ 溶液引发凝血,凝血反应 10 min 后,加入 10 mL PBS 以溶解未凝结的 RBC,同时避免形成的凝块干扰;之后取 3 mL 上清液,利用可见分光光度计在 545 nm 下测定上清液的紫外吸光度;将不含任何样品的吸光度作为阴性对照组,重复测定 3 次取平均值。根据式(3)计算样品的体外凝血指数:

$$S_{BCI}/\% = \frac{A_t}{A_0} \times 100 \tag{3}$$

其中:A_t 为各组样品测得的紫外吸光度;A_0 为阴性对照组的紫外吸光度。

d) 体外生物相容性。采用分光光度计评价其血液相容性[16]。首先,将抗凝兔血在 2000 r/min 转速下离心 10 min,得到红细胞,用 PBS 洗涤数次后稀释;然后,将 1 mg/mL 的样品混悬液与 900 μL 红细胞混悬液轻轻混合,并在 37 ℃下孵育 2 h;最后,静置 10 min,用分光光度计在 545 nm 处记录上清液的吸光度,去离子水和 PBS 分别作为阳性对照组和阴性对照组。根据式(4)计算溶血率:

$$H_r/\% = \frac{OD_{样} - OD_{阴}}{OD_{阳} - OD_{阴}} \times 100 \tag{4}$$

其中:H_r 为各组样品的溶血率;$OD_{样}$ 为样品组的紫外吸光度;$OD_{阴}$ 为阴性对照组的紫外吸光度;$OD_{阳}$ 为阳性对照组的紫外吸光度。

e) 血细胞黏附。分别称量 10 mg 改性前后的纳米颗粒放在试管中,全血在 2000 r/min 转速下离心 10 min,得到富血小板血浆(Platelet-rich plasma, PRP),将 100 μL PRP 分别滴于样品表面,在 37 ℃条件下放置 30 min,然后用大量 PBS 洗涤所有样品,以彻底洗涤未黏附的血小板和红细胞。用 2.5%戊二醛(GA)溶液在 4 ℃下固定红细胞和血小板 4 h,然后用 60%、70%、80%、90%和 100%乙醇溶液逐步脱水,干燥后在不同样品上预涂金膜,扫描电镜观察。

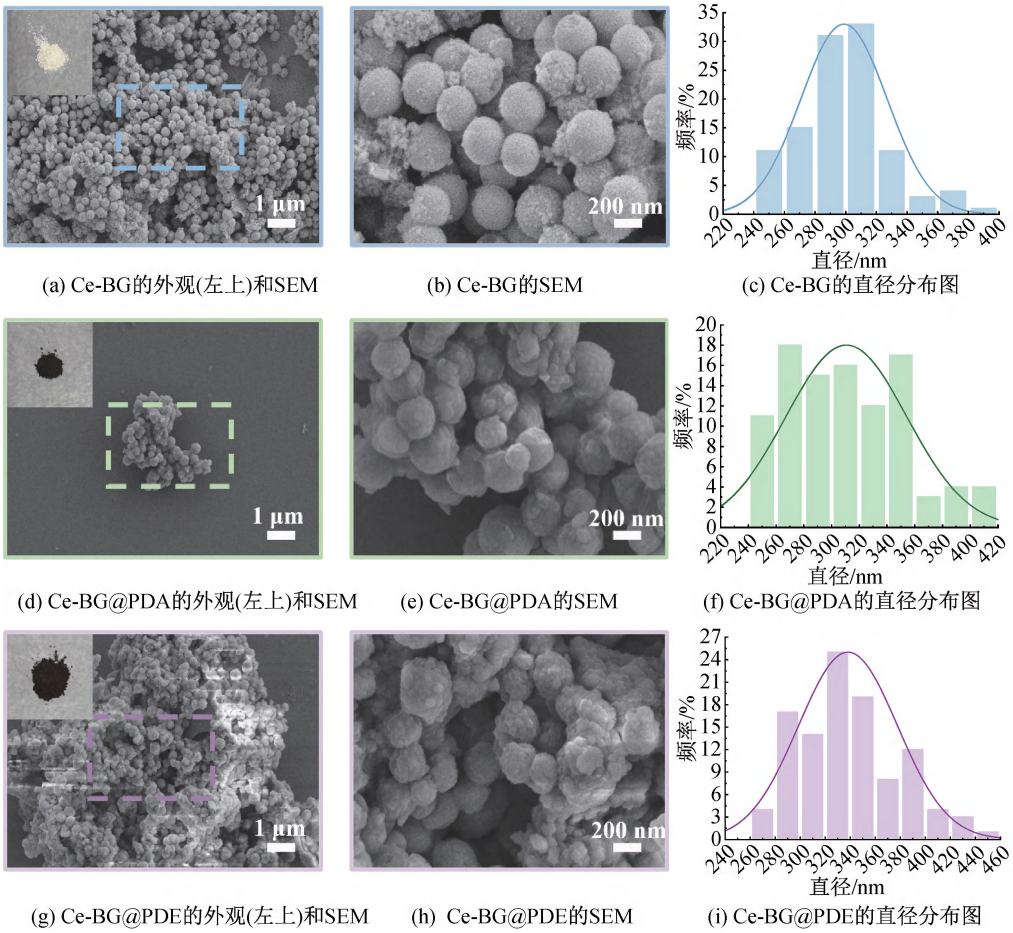
2 结果与讨论

2.1 Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 的理化性能

对制备的 Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 样品进行理化性能表征,其外观形貌、SEM 图像和粒径分布如图 1 所示。图 1(a)、(d)和(g)左上角的外观图显示:未改性 Ce-BG 为白色粉末,经 PDA 改性后变为黑色,在这个过程中,DA 氨基间的氢键与 Ce-BG 的羟基相互作用,随后发生氧化自聚合,在 Ce-BG 表面形成 PDA,溶液变黑也间接说明 PDA 包覆成功[17]。图 1(b)、(e)和(h)的 SEM 图像表明,Ce-BG 表面较为平整,经 PDA 改性后颗粒形貌未变,但表面变得粗糙,推测是由于 PDA 在 Ce-BG 表面发生不均匀沉积所致,进一步证实包覆成功[18]。经 EPL 改性后,颗粒仍保持球形但表面粗糙度增加,这可能与 EPL 自组装或与 PDA 表面反应形成不均匀涂层有关,说明 EPL 可能成功包覆于 Ce-BG@PDA 表面。结合粒径分析图 1(c)、图 1(f)与图 1(i)的直径分布图可知:Ce-BG@PDA 的平均粒径为(310.71±43.65)nm,Ce-BG@PDE 的平均粒径为(338.20±39.62)nm,后者较前者增加约 27.49 nm。以上结果表明 PDA 已成功包覆于 Ce-BG 表面,EPL 也可能实现了对 Ce-BG@PDA 的有效表面改性。

为分析材料元素组成与分布,对 PDA 与 EPL 改性前后的纳米颗粒进行了 EDS-mapping 表征,结果如图 2 所示。从图 2 可以看出:未改性 Ce-BG 中未检测到 C、N 元素,表明原始材料不含该 2 种元素;经 PDA 修饰后,Ce-BG@PDA 中可清晰地观察到 C 和 N 元素的连续均匀分布,证实 PDA 已成功包覆于 Ce-BG 表面;EPL 改性后样品中 C 元素分布密度降低,这归因于 EPL 中 C 元素所占比例低于 PDA 中相应比例,Ce-BG@PDE 中 C 元素分布与 Si 元素分布高度吻合,证实 EPL 已成功附着于 Ce-BG@PDA 表面;Ce-BG@PDA 与 Ce-BG@PDE 中 Ce、Ca 等其他元素仍

保持均匀分布,说明 PDA 与 EPL 修饰未改变纳米颗粒的原始结构,而是形成了均匀的复合表面层。该结果与前述 SEM 观察一致,进一步确认 PDA 和 EPL 分别在 Ce-BG 及 Ce-BG@PDA 表面实现了完整、均匀地包覆,为后续材料性能研究提供了可靠依据。



(a) Ce-BG的外观(左上)和SEM　(b) Ce-BG的SEM　(c) Ce-BG的直径分布图

(d) Ce-BG@PDA的外观(左上)和SEM　(e) Ce-BG@PDA的SEM　(f) Ce-BG@PDA的直径分布图

(g) Ce-BG@PDE的外观(左上)和SEM　(h) Ce-BG@PDE的SEM　(i) Ce-BG@PDE的直径分布图

图 1　Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 的外观、SEM 和直径分布图

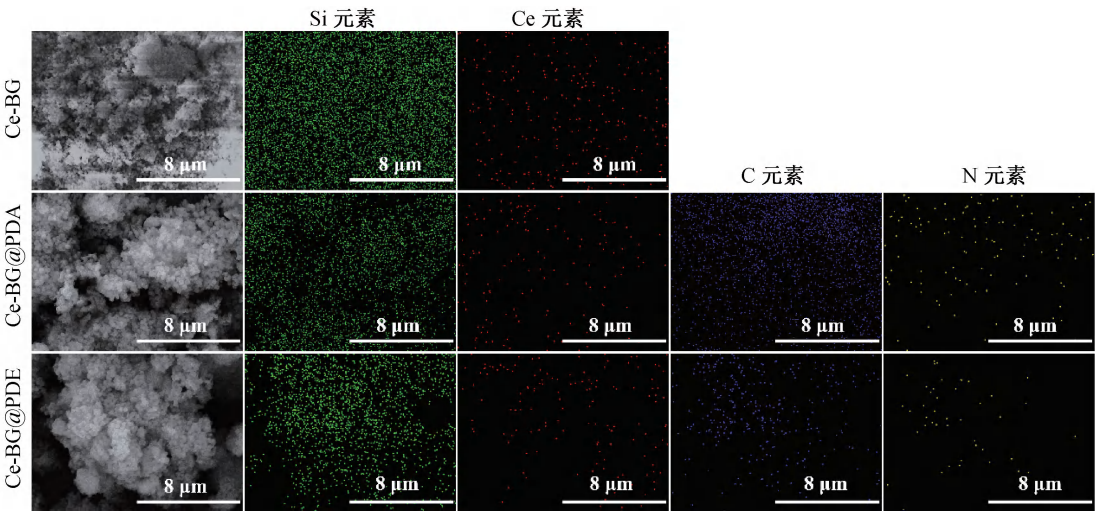


图 2　Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 的 EDS-mapping 图

具有氨基的分子可借助其氨基与聚多巴胺所含的邻苯二酚基团形成共价交联结构[19]。据此推测,ε-聚赖氨酸在对 Ce-BG@PDA 纳米颗粒进行修饰的过程中,可能通过席夫碱反应或迈克尔加成反应实现接枝。图 3 的 FT-IR 光谱表明:Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 均在 1080 cm^{-1} 附近存在一个强宽吸收峰,该峰来自生物玻璃中 Si—O—Si 键的不对称伸缩振动,证实样品中硅氧网络结构的

存在;在 Ce-BG@PDA 谱图中,3680 cm^{-1} 至 3180 cm^{-1} 范围的宽吸收带归因于 PDA 中邻苯二酚的 —OH 伸缩振动及伯胺的 N—H 伸缩振动;位于 1640 cm^{-1} 与 1510 cm^{-1} 处的特征峰分别对应苯环中 C=C 伸缩振动与 N—H 弯曲振动,这些均为 PDA 涂层成功修饰的有效证据;引入 EPL 后,在 3352~3244 cm^{-1} 区间的吸收强度增强,表明赖氨酸的加入进一步促进了 PDA 涂层的形成与稳定;Ce-BG@PDE 在 2930 cm^{-1} 和 2860 cm^{-1} 处出现的新峰可归因于 EPL 中 C—H 键的不对称伸缩振动。上述光谱特征证实,PDA 已成功包覆于 Ce-BG 表面,并且 EPL 通过席夫碱和/或迈克尔加成反应与 PDA 进一步结合,成功制备了 Ce-BG@PDE 纳米颗粒。

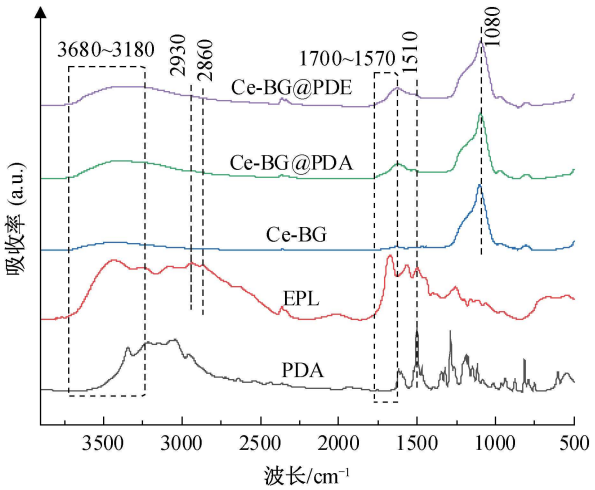


图 3 Ce-BG、PDA、Ce-BG@PDA、EPL 和 Ce-BG@PDE 的 FTIR 图

通过热重分析(TGA)表征了材料在高温下的质量变化,以验证 PDA 与 EPL 在 Ce-BG 表面的逐步涂覆,结果见图 4。由图 4 可知,在 25~800 ℃范围内,经煅烧后的 Ce-BG 仅有极少量的失重,残余量为 91.10%,主要归因于表面物理吸附水的脱附,表明材料具有良好的热稳定性。相较于 Ce-BG,Ce-BG@PDA 在相同温度区间内表现出显著质量下降,剩余质量为 63.09%,对应质量减少 28.01%,这归因于 PDA 涂层的热分解。进一步在 Ce-BG@PDA 表面修饰 EPL 后,所得 Ce-BG@PDE 的剩余质量降至 53.57%,较 Ce-BG@PDA 额外减少 9.52%,表明 EPL 层发生热分解。根据剩余质量百分比计算得出,Ce-BG@PDA 中 PDA 的质量分数约为 30.73%,Ce-BG@PDE 中 PDA 与 EPL 的质量分数分别为 26.09%和 15.11%。以上结果表明,通过层层自组装工艺在生物玻璃表面成功构建了具有一定质量的有机复合涂层,为后续调控材料表面性质及生物功能奠定了基础。

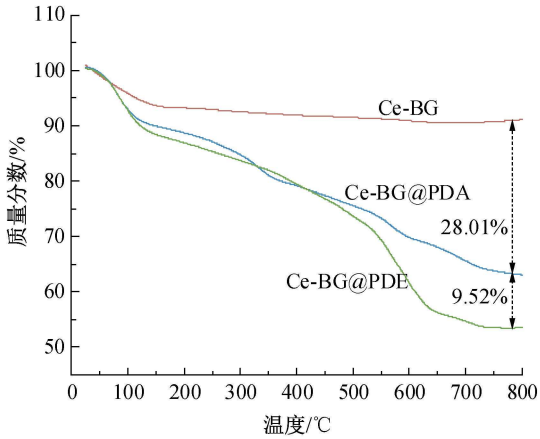
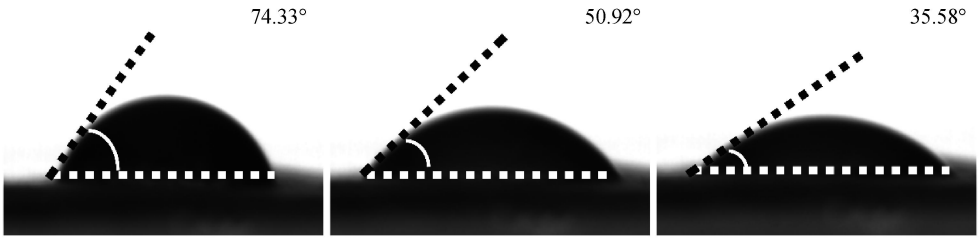


图 4 Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 的 TGA 曲线

为分析 PDA 与 EPL 改性处理对生物玻璃表面润湿特性的影响,测量了不同样品的水接触角,结果如图 5 所示。从图 5 可知:原始 Ce-BG 纳米颗粒的水接触角为 74.33°,其本身具有亲水性质;在引入 PDA 进行表面修饰后,所得 Ce-BG@PDA 样品的水接触角降至 50.92°,表明 PDA 的包覆进一步改善了材料亲水性,这主要归因于其分子内所含的酚羟基、氨基等具有亲水特性的官能团;经 EPL 对 Ce-BG@PDA 二次修饰制备 Ce-BG@PDE 后,水接触角进一步降至 35.58°,其原因主要在于 EPL 分子结构中富含氨基、羧基等强亲水性基团,其极性基团的电荷分布特性,共同强化了表面对水分子的吸附能力与相互作用,进而显著提高了材料的整体亲水性能。

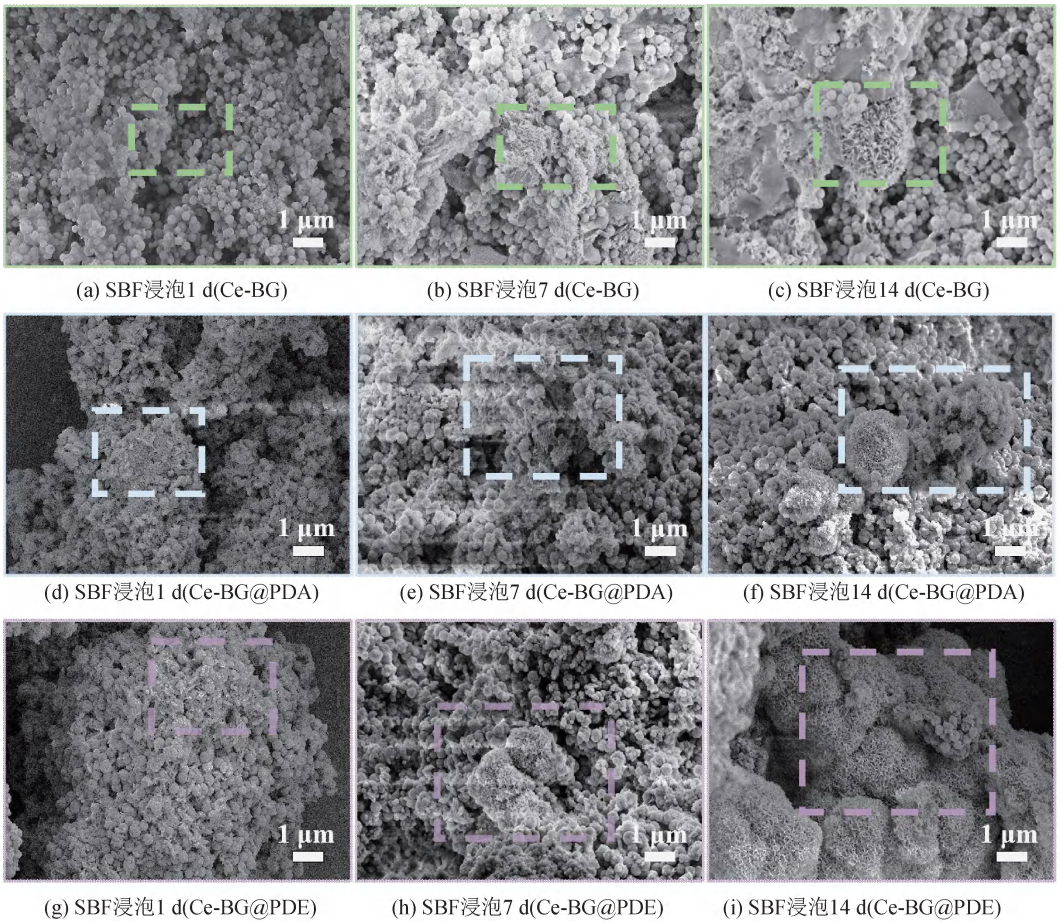


(a) Ce-BG (b) Ce-BG@PDA (c) Ce-BG@PDE

图 5 Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 的水接触角

2.2　体外生物活性

图 6 展示了 Ce-BG、Ce-BG@PDA 及 Ce-BG@PDE 在 SBF 中浸泡不同天数后的 SEM 图。图 6(a)、图 6(d)和图 6(g)显示,浸泡 1 d,Ce-BG 表面仅形成少量矿化产物,而 Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 表面则观察到显著沉积。这是因为在矿化初始阶段,SBF 中高浓度的 Ca^{2+} 与 PO_4^{3-} 离子被材料表面的羟基或羧基位点吸附,诱导晶核生成,从而促进后续矿化沉积的持续积累;当 Ce-BG@PDA 与 Ce-BG@PDE 纳米颗粒表现出颗粒间的聚集倾向时,密集的成核位点促使矿化产物聚集生长为更大尺寸,此现象与 Olszta 等[20]提出的机制一致。图 6(b)、图 6(e)与图 6(h)显示,浸泡 7 d,Ce-BG@PDA 与 Ce-BG@PDE 表面形成了针状或片状羟基磷灰石晶体,这些晶体与材料基体结合牢固,界面连续完整,有利于维持材料在矿化环境中的力学稳定性。图 6(c)、图 6(f)与图 6(i)表明:当浸泡时间延长至 14 d,Ce-BG 与 Ce-BG@PDA 纳米颗粒表面的沉积物呈现局部团聚状态,而 Ce-BG@PDE 则基本被连续的矿化层所覆盖,表面修饰 PDA 与 EPL 后,材料生物活性显著提升,且有利于血小板与凝血因子的吸附,进而改善了凝血效果[21]。综上所述,经过改性的生物玻璃材料在止血相关应用中展现出更佳潜力。



(a) SBF浸泡1 d(Ce-BG)　(b) SBF浸泡7 d(Ce-BG)　(c) SBF浸泡14 d(Ce-BG)

(d) SBF浸泡1 d(Ce-BG@PDA)　(e) SBF浸泡7 d(Ce-BG@PDA)　(f) SBF浸泡14 d(Ce-BG@PDA)

(g) SBF浸泡1 d(Ce-BG@PDE)　(h) SBF浸泡7 d(Ce-BG@PDE)　(i) SBF浸泡14 d(Ce-BG@PDE)

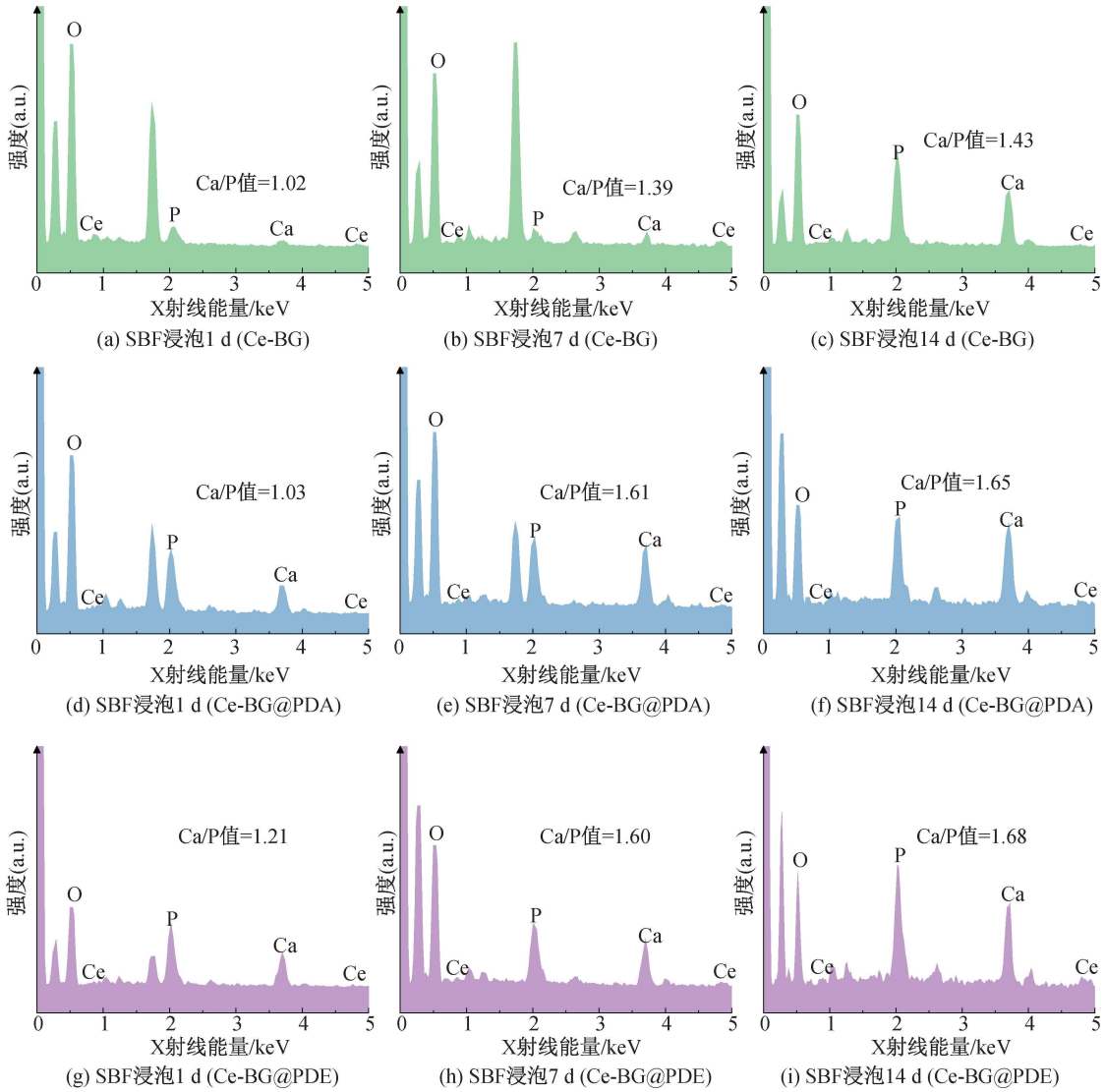
图 6　Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 在 SBF 中浸泡不同天数的 SEM 图

Ce-BG、Ce-BG@PDA 及 Ce-BG@PDE 在 SBF 中浸泡 1、7 d 及 14 d 后的 EDS 能谱图如图 7 所示。由图 7 可知:所有样品经 SBF 浸泡后,在 2.014 keV(P 元素)和 3.692 keV(Ca 元素)处的信号发生了较为显著的变化,并且在浸泡 14 d 时两者的峰值达到最大,这与 SEM 的结果相互印证;此外,Ce-BG、Ce-BG@PDA 及 Ce-BG@PDE 在 SBF 中浸泡 14 d 后生成的矿化物的 Ca/P 值分别为 1.43、1.65 和 1.68,可以看出此时样品 Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 的 Ca/P 值与羟基磷灰石的 Ca/P 值(1.67)非常接近,可以判断矿化物为羟基磷灰石。因此,在 Ce-BG 表面涂覆 PDA 和 EPL 后,可促进其表面的 Ca^{2+} 和 PO_4^{3-} 富集,提高 Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 生成羟基磷灰石的能力。

2.3　抗菌性能

抗菌能力是影响生物材料应用性能的关键指标

之一。图 8 和图 9 为不同样品抑菌效果图,从图中可以看出:Ce-BG 样品表面的 *S. aureus*、*E. coli* 数量均显著少于空白组,这归因于其同时具备离子释放与颗粒效应双重抗菌机制。一方面,Ce^{3+} 通过与细菌表面结合、提高膜通透性并进入细胞质,进而与磷酸盐及蛋白质结合,抑制呼吸代谢;另一方面,二氧化铈颗粒通过吸附于细菌表面,在发生 Ce^{4+} 向 Ce^{3+} 价态转变的同时诱发氧化应激,其物理附着还能阻碍营养运输并造成细胞膜机械损伤,表明颗粒的直接接触是关键的致毒因素。此外,经 PDA 包覆处理的 Ce-BG@PDA 纳米颗粒对细菌生长抑制作用有限。然而,在进一步通过 EPL 改性制得 Ce-BG@PDE 后,材料表面的细菌数量显著下降,其中对 *S. aureus* 的抑制效果尤为明显,基本未见明显菌落形成。同样,在 EPL 与 2 种细菌共同培养的实验中,琼脂平板也几乎未观察到菌落生长,这主要得益于 EPL 所具有的广谱抗菌特性,能够对革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌等多种微生物产生有效抑制。EPL 分子链富含带正电荷的氨基,可通过强静电作用与细胞膜表面的负电荷组分(如磷脂头基、脂多糖等)结合,破坏膜结构、增加通透性,导致胞内物质(钾离子、ATP 等)外泄并扰乱离子与能量代谢。此外,EPL 还能渗入细胞内,干扰基因表达、蛋白合成与酶活性,从而进一步抑制微生物生长与繁殖。



(a) SBF浸泡1 d (Ce-BG) (b) SBF浸泡7 d (Ce-BG) (c) SBF浸泡14 d (Ce-BG)

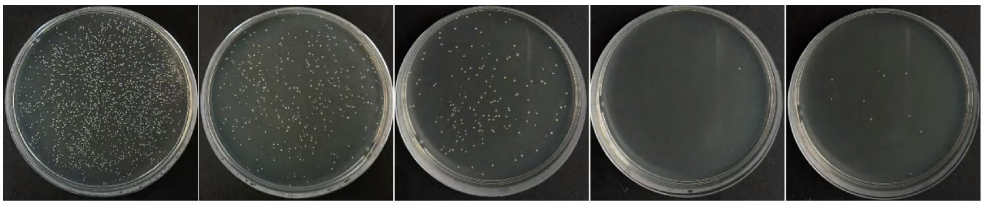
(d) SBF浸泡1 d (Ce-BG@PDA) (e) SBF浸泡7 d (Ce-BG@PDA) (f) SBF浸泡14 d (Ce-BG@PDA)

(g) SBF浸泡1 d (Ce-BG@PDE) (h) SBF浸泡7 d (Ce-BG@PDE) (i) SBF浸泡14 d (Ce-BG@PDE)

图 7 Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 在 SBF 中浸泡不同天数的 EDS 图

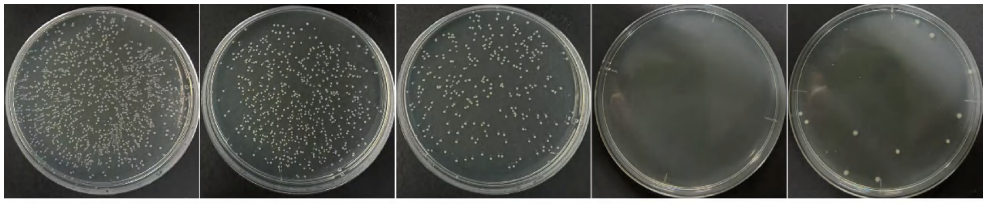
从图 10 可知,Ce-BG、Ce-BG@PDA、EPL 及 Ce-BG@PDE 对 *S. aureus* 的抑菌率分别为 74.4%、87.6%、99.9% 和 98.9%,对 *E. coli* 的抑菌率则分别为 70.5%、83.2%、100.0% 和 98.9%。结果表明,经 PDA 修饰的 Ce-BG@PDA 对 *S. aureus* 和 *E. coli* 的抑制能力仅有小幅提高。与之相比,EPL 表现出极强的抗菌性能,对两种测试菌种的抑菌率均接近完全抑制。同

时,Ce-BG@PDE 对这两种常见致病菌的抑菌率均超过 98.9%,显示出较强的综合抗菌能力。以上数据说明,EPL 的引入显著提升了材料的抗菌性能。



(a) 空白组　(b) Ce-BG　(c) Ce-BG@PDA　(d) EPL　(e) Ce-BG@PDE

图 8　不同样品对 *S. aureus* 的平板涂布照片



(a) 空白组　(b) Ce-BG　(c) Ce-BG@PDA　(d) EPL　(e) Ce-BG@PDE

图 9　不同样品对 *E. coli* 的平板涂布照片

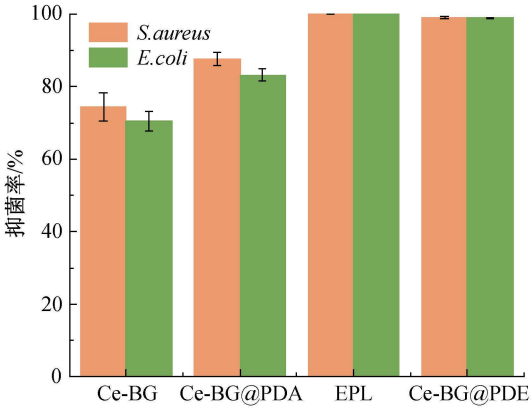


图 10　不同样品对 *S. aureus* 和 *E. coli* 的抑菌率

2.4　止血性能

2.4.1　血液吸收能力

图 11 显示了不同样品的血液吸收率。从图 11 可知,在血液中浸泡后,Ce-BG、Ce-BG@PDA 及 Ce-BG@PDE 的血液吸收率依次为 372.8%、495.4% 和 351.5%。Ce-BG@PDA 表现出相对较高的吸收性能,这可能归因于 PDA 涂层使生物玻璃表面变得粗糙,扩大了材料与液体的有效接触面积,促进了液体吸收;PDA 涂层本身在液体介质中具有良好的结构稳定性,有助于维持其较高的液体保持能力。相比之下,Ce-BG@PDE 血液吸收能力较低,主要归因于带正电的 EPL 分子(ε-聚赖氨酸在生理 pH 值条件下带正电荷)的引入,导致 Ce-BG@PDE 表面净正电荷增加。当与富含蛋白质和细胞的血液接触时,带正电的表面会迅速、大量地吸附带负电的血浆蛋白(如白蛋白、纤维蛋白原)和细胞成分,在材料表面快速形成一个致密的“蛋白质吸附层”,从而阻碍后续液体(血浆)向多孔结构内部的渗透,导致短时吸收率下降。同时,这种强烈的电荷相互作用可能改变了液体在材料表面的铺展和毛细管吸入的动力学过程。因此,Ce-BG@PDE 的血液吸收行为,是其增强的亲水性与由表面正电荷主导的、快速且致密的血液成分吸附效应共同作用的结果。

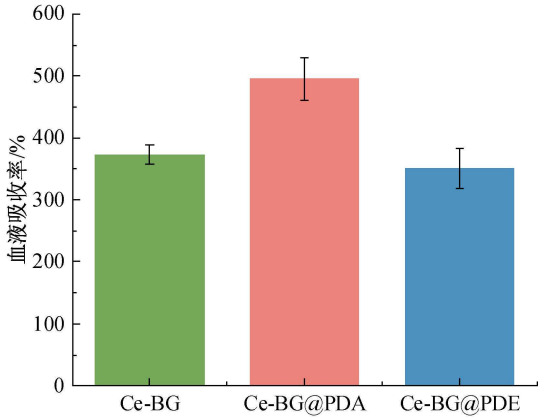
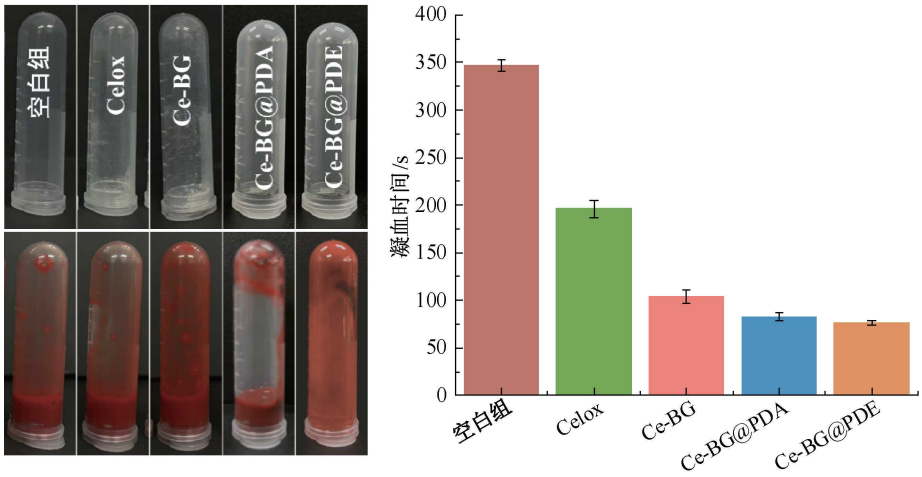


图 11　Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 的血液吸收率

2.4.2　体外凝血时间

图 12 为全血凝固时间测试结果。从图 12 可以看出:Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 样品均表现出不同程度的促凝活性,与空白组(346.3±6.0)s 相比,Ce-BG 组的凝血时间(104.0±7.6)s 显著减少;Ce-BG 的凝血时间明显低于市售壳聚糖止血材料 Celox(196.0±9.0)s;经 PDA 修饰后,Ce-BG@PDA 的凝血时间进一步缩短为(82.3±4.2)s,经 EPL 进一步改性的 Ce-BG@PDE 样品(76.0±

2.0)s,其凝血时间较 Ce-BG@PDA 又缩短约 6.3 s,通过 PDA 与 EPL 的协同修饰,Ce-BG@PDE 纳米颗粒的促凝血能力得到显著增强,其止血效果优于目前市售的壳聚糖基止血产品。

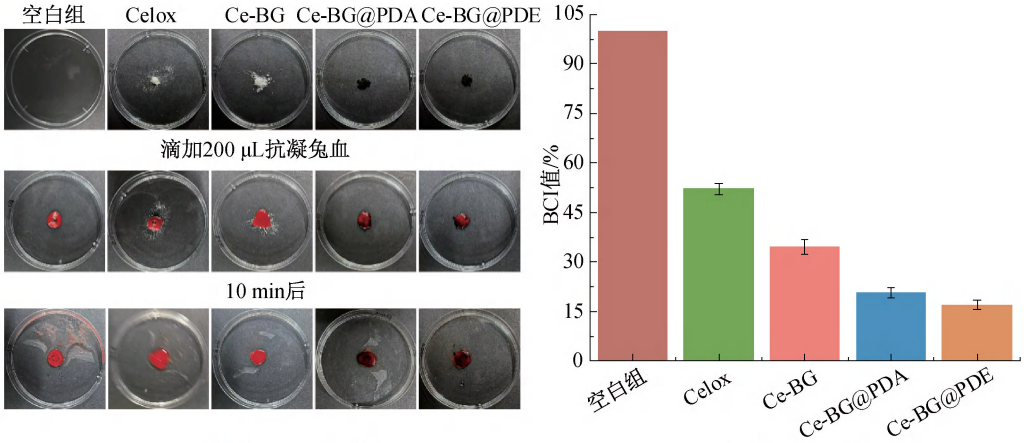


(a) 体外凝血时间过程图 (b) 体外凝血时间

图 12 Celox、Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 的体外凝血时间

2.4.3 体外凝血指数

通过 BCI 值对各样品的体外促凝血性能进行评价,结果如图 13 所示。图 13 表明,BCI 值通过游离血红蛋白的释放进行检测,其数值与材料的凝血效果呈负相关关系,即 BCI 值越低,凝血效能越显著。Celox、Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 的 BCI 值依次约为 52.0%、34.4%、20.7%和 16.9%。特别值得注意的是,经过 PDA、EPL 改性后的样品 BCI 值均明显降低,其中 Ce-BG@PDE 表现出最强的促凝性能,这说明 EPL 的引入能够有效增强材料的凝血活性。

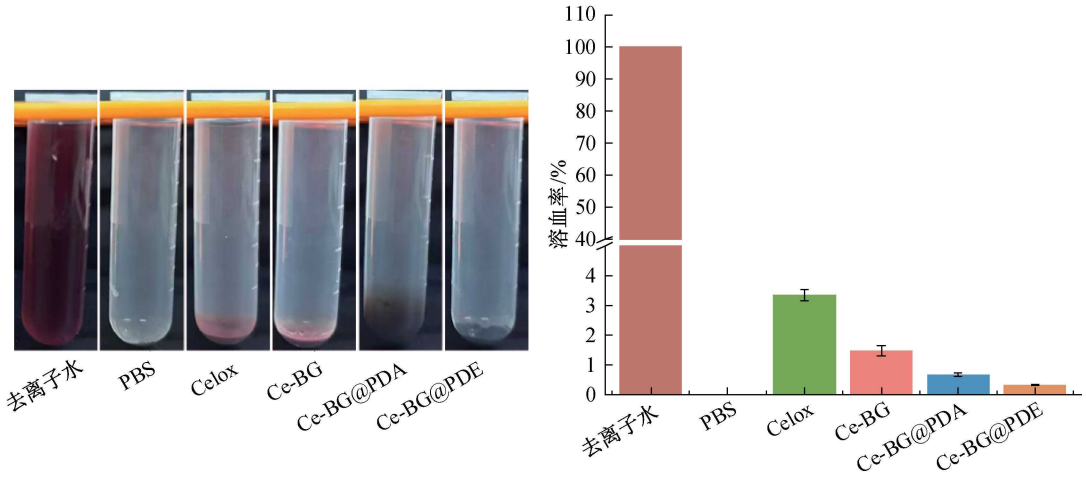


(a) 不同样品的BCI过程图 (b) 不同样品的BCI值

图 13 Celox、Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 的 BCI 值

2.4.4 生物相容性

图 14 展示了 Celox、Ce-BG、Ce-BG@PDA 与 Ce-BG@PDE 的体外溶血率。从 14(a)溶血图片可以观察到样品溶血情况有明显区别,与去离子水中呈现的鲜红色不同,PBS、Celox、Ce-BG、Ce-BG@PDA 与 Ce-BG@PDE 处理组在照片中未显示明显血液颜色。通过溶血率的测定(图 14(b)),Celox、Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 的溶血率依次约为 3.4%、1.5%、0.7% 和 0.3%,均低于 5.0%,符合国家安全标准[22]。与 Celox 和未改性的 Ce-BG 相比,经 PDA 包覆后的 Ce-BG@PDA 溶血率显著下降,能够有效减轻对红细胞的损伤,抑制溶血现象的发生。进一步经 EPL 修饰得到的 Ce-BG@PDE,其溶血率较 Ce-BG@PDA 更低。通常,材料的溶血率越低,表明其对红细胞破坏程度越轻,血液相容性也越优异。综上,Ce-BG@PDE 引起的红细胞损伤极低,显示出良好的生物安全性,为其在止血领域的应用提供了重要依据。



(a) 不同样品的溶血图片　　(b) 不同样品的溶血率

图 14　Celox、Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 的溶血率

2.4.5　血细胞黏附

为深入探究材料的止血机制,采用 SEM 观察了不同样品对血细胞黏附行为的影响,结果如图 15 所示。从图 15 可知:对照组 Celox 表面附着的红细胞数量有限,Ce-BG 样品表面则可见大量被激活的血细胞聚集;经过 PDA 和 EPL 改性后,Ce-BG@PDE 样品表面不仅红细胞黏附数量进一步上升,且细胞间呈现更为紧密的聚集状态,伪足延伸及细胞膜融合等形态特征。出现该现象,一方面可能与 EPL 所带的正电荷通过静电相互作用增强了与带负电红细胞膜的结合有关;另一方面,EPL 分子链的空间交联能力有助于在材料表面构建更为稳定的红细胞-材料界面复合结构,从而增强对凝血级联反应的物理屏障效应[23]。

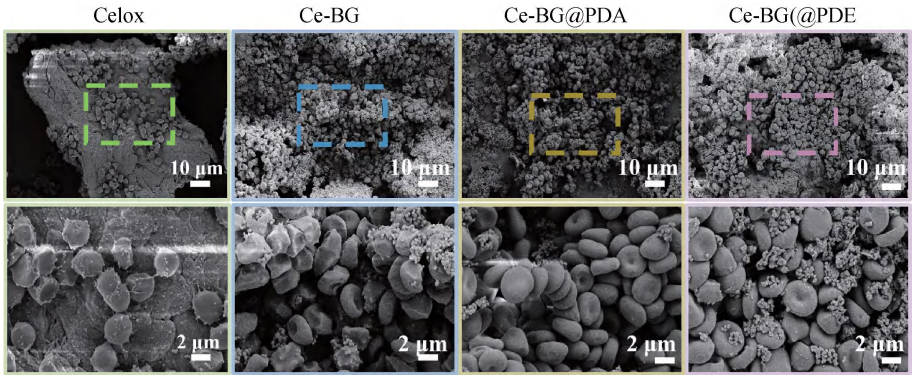


图 15　Celox、Ce-BG、Ce-BG@PDA 和 Ce-BG@PDE 纳米颗粒血细胞黏附图

3　结　论

本文采用微乳液-溶胶-凝胶法合成 Ce-BG,通过在其表面依次包覆 PDA 与 EPL,构建了具有多层结构的生物活性玻璃 Ce-BG@PDE 纳米颗粒,并分析了其形貌、光谱性能、亲水性能、生物活性、抗菌效果及体外止血性能,得到主要结论如下:

a) 基于 PDA 自聚合原理成功制备了 Ce-BG@PDA,进一步在其表面涂覆 EPL 合成了 Ce-BG@PDE 纳米颗粒。PDA 与 EPL 的修饰使其表面变得粗糙;润湿性测试结果显示,Ce-BG@PDE 的亲水性能显著提高,水接触角降低至 35.58°。

b) 经 PDA 与 EPL 表面改性后,Ce-BG@PDA 及 Ce-BG@PDE 纳米颗粒的生物活性得到显著提升。在 Ce-BG 表面引入 PDA 和 EPL 涂层,能够增强其对 Ca^{2+} 和 PO_4^{3-} 的富集能力,从而有效促进羟基磷灰石的沉积与形成。

c) Ce-BG@PDE 质量浓度为 5 mg/mL 时,对 *E. coil*、*S. aureus* 的抑菌率均大于 98.9%,表现出较强的抗菌性。

d) Ce-BG@PDE 的止血性能最优,其中血液吸收率为 351.5%,溶血率为 0.3%,体外凝血时间为(76.0±2.0) s,体外凝血指数为 16.9%,大量的红细胞聚集。

本文制备的 Ce-BG@PDE 纳米颗粒表现出较好亲水性、生物活性、抗菌性能和止血性能,在控制出血及伤口感染方面具有潜在应用价值。

参考文献:

[1] Wilkinson H N, Hardman M J. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes [J]. Open Biology, 2020, 10(9): 200223.

[2] Zheng Y, Xue J M, Ma B, et al. Mesoporous bioactive glass-graphene oxide composite aerogel with effective hemostatic and antibacterial activities[J]. ACS Applied Bio Materials, 2024, 7(1): 429-442.

[3] Guo B L, Dong R N, Liang Y P, et al. Haemostatic materials for wound healing applications[J]. Nature Reviews Chemistry, 2021, 5(11): 773-791.

[4] Nakielski P, Pierini F. Blood interactions with nano-and microfibers: recent advances, challenges and applications in nano- and microfibrous hemostatic agents [J]. Acta Biomaterialia, 2019, 84: 63-76.

[5] Guo Y Y, Cheng N Q, Sun H X, et al. Advances in the development and optimization strategies of the hemostatic biomaterials[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2023, 10: 1062676.

[6] Zheng C Y, Liu J X, Bai Q, et al. Preparation and hemostatic mechanism of bioactive glass-based membrane-like structure camouflage composite particles[J]. Materials & Design, 2022, 223: 111116.

[7] Roy P, Saha R P, Chakraborty J. A novel composition of bioactive glass with potent haemostatic action and antibacterial competence [J]. Ceramics International, 2023, 49(4): 6389-6400.

[8] Turco S D, Cianni C, Cappello V, et al. Effects of cerium oxide nanoparticles on hemostasis: coagulation, platelets, and vascular endothelial cells[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2019, 107(7): 1551-1562.

[9] Kailashiya J, Dash D. Effects of nanoceria on human platelet functions and blood coagulation[J]. International Journal of Nanomedicine, 2022, 17: 273-284.

[10] 贺蓉, 刘涛, 丁新波, 等. 聚多巴胺涂覆 Cu-MBG 的生物活性及抗菌性能研究[J]. 浙江理工大学学报(自然科学), 2023, 49(4): 508-515.

[11] Feng P, Liu M Y, Peng S P, et al. Polydopamine modified polycaprolactone powder for fabrication bone scaffold owing intrinsic bioactivity[J]. Journal of Materials Research and Technology, 2021, 15: 3375-3385.

[12] Wang Y D, Luo M, Li T, et al. Multi-layer-structured bioactive glass nanopowder for multistage-stimulated hemostasis and wound repair[J]. Bioactive Materials, 2023, 25: 319-332.

[13] Hou S, Liu Y Y, Feng F, et al. Polysaccharide-peptide cryogels for multidrug-resistant-bacteria infected wound healing and hemostasis[J]. Advanced Healthcare Materials, 2020, 9(3): e1901041.

[14] Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting *in vivo* bone bioactivity? [J]. Biomaterials, 2006, 27(15): 2907-2915.

[15] Liu J Y, Hu Y, Li L, et al. Biomass-derived multilayer-structured microparticles for accelerated hemostasis and bone repair[J]. Advanced Science, 2020, 7(22): 2002243.

[16] Wang Y P, He Y H, Zhu Z J, et al. *In vitro* degradation and biocompatibility of Mg-Nd-Zn-Zr alloy [J]. Chinese Science Bulletin, 2012, 57(17): 2163-2170.

[17] Wang J T, Bai H J, Zhang H Q, et al. Anhydrous proton exchange membrane of sulfonated poly(ether ether ketone) enabled by polydopamine-modified silica nanoparticles [J]. Electrochimica Acta, 2015, 152: 443-455.

[18] Ma S B, Ding X C, Tian W, et al. Dual-functional interface engineering of mesoporous bioactive glass *via* polydopamine chelation for 3D-printed scaffolds with synergistic photothermal therapy and enhanced osteogenesis[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2025, 17(51): 69162-69179.

[19] Yi B C, Yu L, Tang H, et al. Lysine-doped polydopamine coating enhances antithrombogenicity and endothelialization of an electrospun aligned fibrous vascular graft [J]. Applied Materials Today, 2021, 25: 101198.

[20] Olszta M J, Cheng X G, Jee S S, et al. Bone structure and formation: a new perspective [J]. Materials Science and Engineering: R: Reports, 2007, 58(3/4/5): 77-116.

[21] Ooi C H, Ling Y P, Abdullah W Z, et al. Physicochemical evaluation and in vitro hemocompatibility study on nanoporous hydroxyapatite[J]. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2019, 30(4): 44.

[22] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 医用输液、输血、注射器具检验方法 第 2 部分:生物学试验方法:GB/T 14233.2—2005[S]. 北京:中国标准出版社,2005.

[23] Zhang W, Liu F N. Effect of polylysine on blood clotting, and red blood cell morphology, aggregation and hemolysis[J]. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2017, 17(1): 251-255.

团队介绍

丁新波学术团队专注于生物纳米材料方面的研究,聚焦多功能止血材料与骨组织修复再生支架材料两大前沿方向,致力于通过材料创新推动医疗技术发展。团队包括副教授 2 名,硕士研究生 10 余名。丁新波 2008 年 1 月获博士学位,2008 年 3 月至今在浙江理工大学材料与纺织学院任教,2011 年 9 月晋升为副教授。目前,主持浙江省自然科学基金和产业用纺织材料技术科技创新团队项目各 2 项,主要参与完成了包括国家自然科学基金、教育部、省重大科技专项和省科技计划重点项目在内的国家和省部级科研项目多项,发表论文 20 余篇,授权国家发明专利 2 项,获 2010 年和 2012 年浙江省科学技术进步二等奖各 1 项。近期,团队在生物纳米材料应用转化方面取得关键进展,成功开发出多款用于高效伤口愈合与骨缺损修复的新型纳米材料,展现出良好的临床转化潜力。

(责任编辑:张会巍)