



# 丝素蛋白/多巴胺医用粘合剂的制备及其性能

刘 涵, 尹子楚, 蔡玉荣, 姚菊明

(浙江理工大学材料科学与工程学院, 杭州 310018)

**摘 要:** 为了获得兼具良好生物相容性及较强粘合强度的生物医用粘合剂, 以丝素蛋白为基质和 NHS/EDC 为交联剂, 在丝素蛋白上接枝多巴胺; 采用京尼平对丝蛋白-多巴胺材料进行共价交联, 从而制得了丝素蛋白/多巴胺医用粘合剂; 通过正交实验的方法, 分析多因素对粘合剂粘合强度的影响, 优化制备工艺。结果表明: 丝素蛋白浓度、反应时间、NHS/EDC 的使用量、多巴胺的添加量以及京尼平的用量均可影响所得粘合剂的粘合强度。当丝素蛋白浓度为 12%、多巴胺与丝素蛋白羧基摩尔比为 1:6, 以及京尼平与丝素蛋白氨基摩尔比为 2:1 时, 所制得的粘合剂性能最佳; 优化条件下制得的粘合剂在 37 °C 条件下具有最高的粘合强度, 且此强度随使用时间的增长而增大, 12 h 时可达 (181.49±42.82) kPa, 是临床上正在使用的纤维蛋白胶的粘合强度的 18 倍。制备的粘合剂具有较好的可降解性, 在临床上具有一定的应用前景。

**关键词:** 丝素蛋白; 多巴胺; 京尼平; 生物粘合剂; 共价交联

中图分类号: TB34

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851(2020)05-0308-07

## Preparation and properties of silk fibroin/dopamine medical adhesive

LIU Han, YIN Zichu, CAI Yurong, YAO Juming

(School of Materials Science and Engineering, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

**Abstract:** In order to obtain biomedical adhesives with high biocompatibility and strong adhesive properties, the silk fibroin was used as a matrix and NHS/EDC was used as a cross-linking agent to graft dopamine on the silk fibroin. Then, genipin was applied for covalent cross-linking of silk fibroin-dopamine material to prepare silk fibroin/dopamine medical adhesive. The influence of multiple factors on the bond strength of the adhesive was explored and the preparation process was optimized by the orthogonal experiment. The results show that silk fibroin concentration, reaction time, dose of NHS/EDC, addition volume of dopamine and dose of genipin can influence the bond strength of the adhesive. The adhesive prepared can reach the optimal performance under the following conditions: The concentration of silk fibroin 12%, the molar ratio of grafted dopamine to silk fibroin 1 : 6 and the molar ratio of genipin to amino group 2 : 1. The adhesive has the highest bond strength at 37 °C under the optimized conditions, and such strength increases with the use time and can reach (181.49±42.82) kPa at 12 h, 18 times higher than the bond strength of fibrin glue used clinically. The adhesive prepared has good biodegradability and owns certain clinical application prospect. During the lap shear test, the tensile strength of optimized adhesive increased with time and reached (181.49±42.82) kPa at 12 h under 37 °C, which is 18 times higher than fibrin glue for clinical use. Therefore, this bioadhesive has a good application prospect in clinical practice.

**Key words:** silk fibroin; dopamine; genipin; bioadhesive; covalent cross-linking

收稿日期: 2019-10-24 网络出版日期: 2020-01-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(51672251); 浙江省新苗人才计划(2019R406060)

作者简介: 刘 涵(1995-), 女, 广东汕头人, 硕士研究生, 主要从事生物医用材料方面的研究。

通信作者: 姚菊明, E-mail: yaoj@zstu.edu.cn

## 0 引言

近年来,在伤口修复时,逐步使用新型的生物粘合剂替代传统的缝合线及订皮器。与传统伤口修复方法相比,新型的生物粘合剂不仅可直接作用于伤口,将创口粘合,同时不会造成二次创伤,且易于操作,修复效果突出<sup>[1-2]</sup>。目前已经研发出一些天然衍生物、合成和半合成物质的粘合剂用于临床伤口修复,但其存在一定缺陷,如天然型的纤维蛋白胶虽然具有很好的生物相容性,但存在高成本、高污染风险及低粘合强度的缺点<sup>[3]</sup>。合成型的氰基丙烯酸酯类的粘合剂虽然能达到较高的粘合强度,但容易诱发免疫排斥反应<sup>[4]</sup>。因此,兼备高粘合强度与高生物相容性的医用粘合剂的相关研究具有重要的应用价值。

粘合剂内部的相互作用以及粘合剂与被粘物质表面的相互作用使得医用粘合剂产生粘性<sup>[5]</sup>。丝素蛋白(Silk fibroin, SF)作为天然高分子材料,有一定的粘性,具有良好的生物相容性<sup>[6]</sup>;丝素蛋白上含有丰富的侧链基团,可以提供化学和功能修饰的反应位点<sup>[7-8]</sup>,因此丝素蛋白作为生物医用材料具有广阔的应用前景。海洋贻贝会分泌一种蛋白质,该蛋白使贻贝紧紧粘附在礁石上,该性能与粘合剂使用原理相似,对贻贝蛋白的粘附原理进行探究发现,其中所含有的儿茶酚基结构起关键作用<sup>[9-11]</sup>。利用L-3,4-二羟基苯胺,即多巴胺(Dopamine)制备出许多新型的功能性材料,大大提升粘合剂的粘合强度<sup>[12-13]</sup>。Lim等<sup>[14]</sup>将多巴胺接枝在聚天冬酰胺上,制备可用于伤口修复的纳米颗粒;崔国廉等<sup>[11]</sup>在氧化海藻酸钠上接枝多巴胺,制备含有邻苯二酚结构的黏合水凝胶;Sogawa等<sup>[15]</sup>通过酶对丝素蛋白上的酪氨酸进行改性,得到邻苯二酚结构,制备出新型粘合剂。但以上制备方法产量较低,难以实现大批量的生产,并且在粘合强度上仍然存在较大的提升空间。

本文选择具备良好生物相容性的丝素蛋白作为基质,利用N-羟基琥珀酰亚胺(N-Hydroxysuccinimide, NHS)和1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride, EDC)活化丝素蛋白上的羧基,使之与盐酸多巴胺上的氨基反应;再利用京尼平对丝素蛋白的多肽链进行交联,提高粘合剂自身内聚力,由此提升粘合剂整体的粘合性能,获得既具有良好生物相容性,又具备足够的粘合强度的医用粘合剂。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验试剂与仪器

实验试剂:蚕茧购于湖州新天丝技术有限公司,溴化锂、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC)和N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)、聚乙二醇(M.W. 20000)和无水碳酸钠购于阿拉丁试剂(上海)有限公司,京尼平和灰色链霉菌蛋白酶XIV购于上海源叶生物技术有限公司,改良型SBF模拟体液购于西安赫特生物科技有限公司,新鲜猪皮购于超市。

仪器:Milli-Q纯水仪(美国密理博公司),恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司),J-25高速冷冻离心机(中国香港New Brunswick公司),ELB204分析天平(日本岛津公司),Vltra-55型场发射扫描电子显微镜(德国Carl Zeiss公司),5943型材料试验机(美国英斯特朗公司),iS50型傅里叶变换红外光谱仪(美国Thermo Scientific公司),Y172型纤维切片仪(苏州轩沃瑞智能科技有限公司)。

### 1.2 丝素蛋白溶液的制备

准备2 L的去离子水,煮沸,加入4.24 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 。同时将购入的蚕茧剪碎,剔除在除蛹时被污染的部分后,称取5.00 g,放入沸腾的 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 溶液中,搅拌煮沸30 min。取出脱胶后的丝素,放入2 L去离子水,缓慢搅拌20 min。重复此步骤三次后,拧干蚕丝,置于60℃烘箱过夜。取烘干后的蚕丝,每克蚕丝加入4 mL浓度为0.3 mol/L的LiBr溶液,置于60℃烘箱溶解4 h。将溶解的丝素蛋白溶液转入透析袋中,用去离子水透析3 d。取出离心,再用聚乙二醇溶液透析,得到高浓度的丝素蛋白溶液,置于4℃冰箱中保存。同时,为了确定丝素蛋白溶液的浓度(wt%),取35 mm培养皿,称量获得质量 $m_1$ 。在培养皿中加入0.5 mL丝素蛋白溶液,称量得质量 $m_2$ 。将培养皿置于60℃烘箱内,间断性称量直至质量不再减小,记录质量 $m_3$ 。 $m_3$ 与 $m_1$ 的质量差占 $m_2$ 与 $m_1$ 质量差之比,即为所得SF溶液的浓度。

### 1.3 丝素蛋白/多巴胺粘合剂的制备

取制备好的丝素蛋白溶液,加入EDC与NHS,缓慢搅拌30 min后,加入多巴胺,避光,继续搅拌1 h,获得丝素蛋白/多巴胺混合液(Silk fibroin-dopamine, SFD)。在SFD溶液中加入1%的京尼平溶液,缓慢搅拌30 min。由于粘合剂在不同的制备条件下,粘合强度会有明显差异,且影响因素较多,因此,为了探索制备SFDG粘合剂的优化工艺,设

计五因素四水平( $L_{16}(4^5)$ )的正交实验(表1)。以SF浓度、EDC和NHS与SF上的羧基添加的摩尔比例、多巴胺与SF上的羧基添加的摩尔比例、京尼平与丝素蛋白上的氨基添加的摩尔比例,以及在37℃下的反应时间5个变量作为5个影响因素,分别选择4个梯度水平,通过测定猪皮搭载拉伸强度,进行极差分析得到最优组合。每种样品的添加量根据表1计算所得。最终获得京尼平交联的丝素蛋白/多巴胺粘合剂(Silk fibroin-dopamine-genipin, SFDG)。所得粘合剂或直接涂覆于猪皮内表皮,用于猪皮搭载拉伸测试;置于-80℃冰箱中冷冻,制备冷冻干燥样品。冷冻干燥后的样品分别进行傅里叶红外变换测试、场发射扫描电子显微镜观察及体外降解实验。

表1  $L_{16}(4^5)$ 正交实验因素与水平表

水平	SF 浓度/ wt%	EDC 与 NHS 添加比例	多巴胺添 加比例	京尼平添 加比例	反应时 间/h
1	2	1:1:2	1:1	2:1	1
2	4	1:2:4	1:2	1:1	2
3	8	1:3:6	1:6	2:3	6
4	12	1:5:10	1:10	1:2	12

#### 1.4 猪皮搭载拉伸测试

利用材料试验机,根据美国材料与试验协会(ASTM)标准方案F2255定义的猪皮搭载剪切测试方式,进行样品粘合性能的测试,测试方法参考文献[16]。将新鲜猪皮的脂肪层去除干净,切为4.0 cm×1.0 cm的矩形小块。在两片猪皮的内表皮分别滴加10 μL粘合剂,并均匀涂覆于1.0 cm×1.0 cm范围,将两片猪皮涂覆粘合剂的部分重合覆盖,轻轻按压。随后用锡纸包覆保持水分,放置在33.5℃及37.0℃的培养箱中。在优化后的温度探究实验中,在培养箱中处理的时间分别为1、2、3、4、5、6、8、10 h和12 h。处理后,使用万能试验机进行拉伸,拉伸速率1 mm/min,平均测试6个平行样品,计算平均值,进行误差分析。

#### 1.5 形貌与结构分析

取材料与方法1.3中所获得的冷冻干燥样品,利用型场发射扫描电镜进行形貌分析。

将冷冻干燥后的样品制备成溴化钾压片,通过傅里叶红外光谱仪(FT-IR)对样品进行红外检测并进行结构分析。

#### 1.6 体外降解

将灰色链霉菌蛋白酶XIV与改良型SBF模拟体液(pH值7.4)配制成0.1 U/mL的模拟降解液。

将样品冷冻干燥后,置于降解液中(浴比1:100),每2 d将样品烘干后称量质量并且替换新鲜溶液。剩余质量保留率 $R_M$ 的计算公式如式(1):

$$R_M/\% = \frac{M_{dt}}{M_i} \times 100 \quad (1)$$

其中: $M_i$ 为初始质量,mg; $M_{dt}$ 为 $t$ 天后保留的质量,mg。

## 2 结果与讨论

### 2.1 正交实验结果分析

根据正交实验 $L_{16}(4^5)$ 矩阵数据的分析结果如表2所示,进行16组实验,其中,A代表SF溶液浓度,B代表EDC和NHS与丝素蛋白上的羧基的摩尔比例,C代表多巴胺与丝素蛋白上的羧基的摩尔比例,D代表京尼平与丝素蛋白上的氨基的摩尔比例,E代表在37℃下的反应时间。每组设置6个平行样,测试后取均值;对表2中的测试结果进行极差分析,结果如表3所示。由表3可知,最优组合为: $A_4B_2C_3D_1E_4$ 。 $A_4$ 表示丝素蛋白溶液浓度为12%, $B_2$ 表示 $n(\text{COOH}):n(\text{NHS}):n(\text{EDC})=1:1:2$ , $C_3$ 表示 $n(\text{COOH}):n(\text{dopamine})=1:6$ , $D_1$ 表示 $n(\text{NH}):n(\text{Genipin})=2:1$ , $E_4$ 为条件为37℃下处理12 h。在以上实验条件下,粘合剂涂覆于猪皮模型,在猪皮搭载拉伸测试中可达到最大的拉伸强度。

表2 正交实验结果

序号	因素					拉伸强度/kPa
	A	B	C	D	E	
1	1	1	1	1	1	9.23
2	1	2	2	2	2	11.84
3	1	3	3	3	3	30.87
4	1	4	4	4	4	28.04
5	2	1	2	3	4	8.55
6	2	2	1	4	3	18.85
7	2	3	4	1	2	17.77
8	2	4	3	2	1	18.03
9	3	1	3	4	2	7.73
10	3	2	4	3	1	16.38
11	3	3	1	2	4	56.00
12	3	4	2	1	3	38.98
13	4	1	4	2	3	39.95
14	4	2	3	1	4	162.62
15	4	3	2	4	1	62.24
16	4	4	1	3	2	76.87

为了探究在反应过程中,多巴胺是否成功接枝到丝素蛋白大分子主链上,本文对样品进行了FT-IR光谱分析,结果如图1所示。图1(b)为图1(a)

表3 正交实验极差分析结果

参数	因素				
	A	B	C	D	E
$K_1$	20.00	16.37	40.24	61.87	26.47
$K_2$	15.80	57.14	30.40	31.46	28.53
$K_3$	29.77	41.72	59.53	33.17	32.16
$K_4$	90.14	40.48	25.54	29.22	68.52
极差 $R$	74.34	40.78	34.00	32.65	42.05
主次顺序	$A > E > B > C > D$				
优水平	$A_4(12\%)$	$B_2(1:1:2)$	$C_3(1:6)$	$D_1(1:0.5)$	$E_4(12\text{ h})$
优组合	$A_4 B_2 C_3 D_1 E_4$				

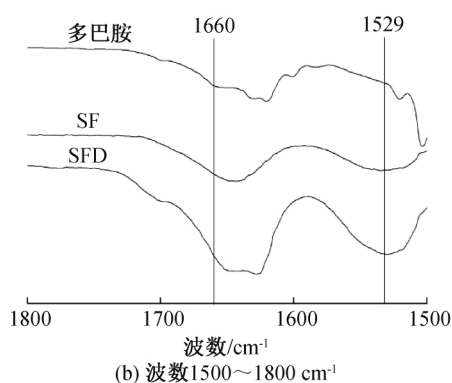
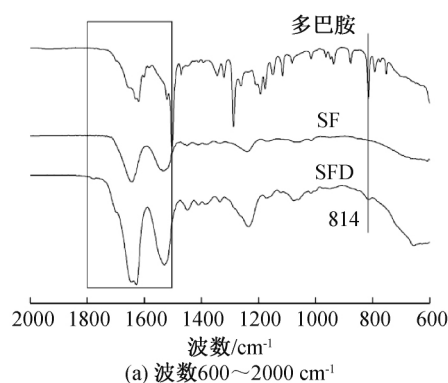


图1 多巴胺、SF与SFD的红外光谱图

## 2.2 反应温度及时间对丝素蛋白/多巴胺粘合剂的影响

人体内的正常温度约为  $37.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 体表温度约为  $33.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  [20]。为了进一步探究粘合剂的实际应用性能, 分别测试 SFDG 与 SF 在  $37.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  与  $33.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  环境中, 猪皮搭载拉伸强度的变化, 结果如图 2 所示。图 2 表明,  $12\%$  SF 在  $37.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  时, 随着时间的增长, 粘性会随之增长, 最终达到  $(66.49 \pm 24.58)\text{ kPa}$ ; 增长的原因可能是温度对丝素蛋白的构象产生了影响, 使得丝素蛋白从无规卷曲向  $\beta$ -折叠结构转变, 随着在  $37.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  下处理时间增长, 丝素蛋白构象的转变加剧, 导致丝素蛋白本身的强度增加 [21], 从而导致粘性随着时间的增长而增长。对于 SFDG 粘合剂, 其拉伸强度也随着时间的增长而增大, 最终在  $33.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  及  $37.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  下可分别达到  $(22.62 \pm 7.32)\text{ kPa}$  和  $(181.49 \pm 42.82)\text{ kPa}$ , 是  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  下的 SF 的强度的两倍以上。SFDG 的拉伸强度远大于 SF 的原因可能是多巴胺上的儿茶酚基能够与猪皮内表皮上的氨基发生反应, 增大粘合剂与被粘合物之间的作用力, 从而表现为拉伸强度的提升 [22]。对比在  $33.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  与  $37.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  下, SFDG 的异同发现, 二者的拉伸强度均随时间的增长而增强。这可能是由于京尼平是一种温和的无毒的交联剂, 其交联强度会随着时间的增长而增大 [23-24]。在粘合剂中, 京尼平主要作用于丝

的局部放大图。在  $814\text{ cm}^{-1}$  处为邻苯二酚的弯曲振动峰, 在 SFD 与纯多巴胺上均有对应峰位, 而 SF 上没有, 因此 SFD 上  $814\text{ cm}^{-1}$  处峰位的出现可能与多巴胺的接枝有关, 此外, 多巴胺  $1660\text{ cm}^{-1}$  处存在伯氨基  $\text{-NH}_2$  的反对称伸缩振动峰, 而 SF 与 SFD 上没有此峰 [17-18], 在 SFD 上的  $1529\text{ cm}^{-1}$  处仲酰胺的伸缩振动峰显著增强 [19], 其原因可能是由于多巴胺上的氨基与丝素蛋白上的羧基发生反应, 由伯氨基转化为仲酰胺基团, 由此可进一步推断, 多巴胺与丝素蛋白通过酰胺反应, 成功将多巴胺接枝在丝素蛋白上。

素蛋白分子链上的氨基, 从而对丝素蛋白进行交联, 增大了分子间的相互作用力, 提高了粘合剂的内聚力。在  $37.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  下, SFDG 粘合剂测得的粘合强度要高于在  $33.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下测得的粘合强度, 其原因可能是京尼平的最适反应温度是  $37.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 在  $37.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  下可以更快提升交联程度, 从而获得更高的粘合强度。

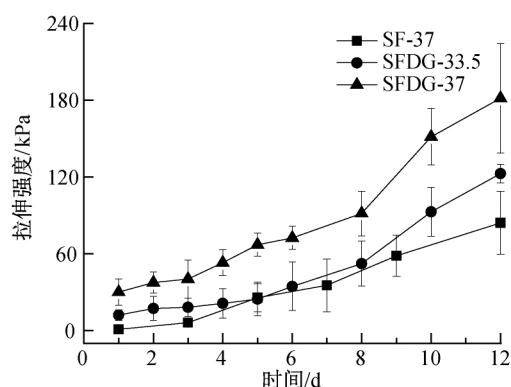


图2 多巴胺、SF与SFD的红外光谱图

通过在  $37.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  下经特定时间 (0、1、2 h 和 12 h) 处理后的样品的红外光谱图如图 3 所示。为了便于表示与阐述, 将不同处理时间的样品命名为 SFDGX, 其中 X 表示处理的时间长度, 如未经温度处理的样品命名为 SFDG0, 置于  $37.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  下反应 1 h 的样品命名为 SFDG1。由图 3 可知,  $1703\text{ cm}^{-1}$  处

对应  $\text{C}=\text{O}$  的伸缩振动峰,其峰值随反应时间增加而变小,说明  $\text{C}=\text{O}$  键变少;而在  $1523\text{ cm}^{-1}$  处的峰,表示酰胺 II 结构,随着时间的增长,有新的酰胺键形成,峰值变大。 $1523\text{ cm}^{-1}$  处的峰位与丝素蛋白二级结构的  $\beta$ -折叠结构有关,峰位的增长可能是由于丝素蛋白上的无规卷曲结构转变为  $\beta$ -折叠结构

的结果<sup>[25]</sup>。 $1230\text{ cm}^{-1}$  处峰值增大,表示  $\text{C}-\text{N}$  键增加。京尼平的交联原理是烯碳原子和酯基与丝素蛋白氨基酸上的氨基发生反应<sup>[25]</sup>, $1230\text{ cm}^{-1}$  处的变化与京尼平交联原理相符。以上结果表明,随着时间的增长,京尼平的交联程度逐步增大,由此可得拉伸强度随着时间的增长而逐步增强。

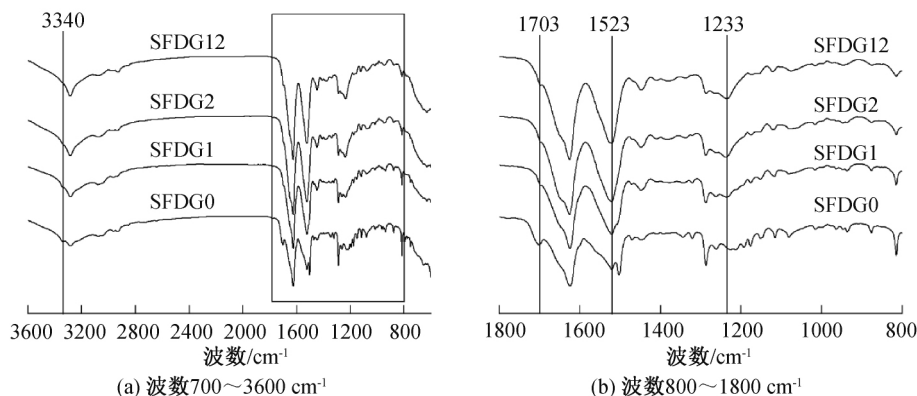


图3 SFDG 在  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  经不同处理时间的红外光谱图

### 2.3 SFDG 粘合剂形貌分析

冷冻干燥样品 12% SF、SFD、SFDG0、SFDG1、SFDG2 及 SFDG12 的扫描电镜形貌分析结果如图 4 所示。由图 4(a)表明,纯丝素蛋白溶液主要呈现片状结构,其连接位置易受外力作用破坏,因此作为粘合剂,虽然能够提供一定的强度,但强度较弱且不稳定。由图 4(b)所示的 SFD 形貌可以看出,在接枝了多巴胺后,对丝素蛋白起到了一定的交联作用,因此 SFD 呈现出均匀稳定的多孔状结构。图 4(c)中 SFDG0 的形貌分析结果显示,添加京尼平但未

经温度处理的粘合剂的形貌没有发生明显变化,并且与 SFD 相比由于在添加京尼平时引入了水,导致样品孔的大小差异增大,分布不均匀。由图 4(d)中 SFDG1 形貌结果可看出,经  $37.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  处理 1 h 后, SFDG1 孔间隙变小;图 4(f)的形貌分析结果表明,随着时间增长到 12 h 时,大部分的孔已经呈现闭合状态,使得粘合剂拥有一个更稳定的结构,丝素蛋白粘合剂最终形成了多孔疏松结构,利于细胞与外界的物质交换,且为细胞的生长提供了空间结构,有利于细胞的粘附生长。

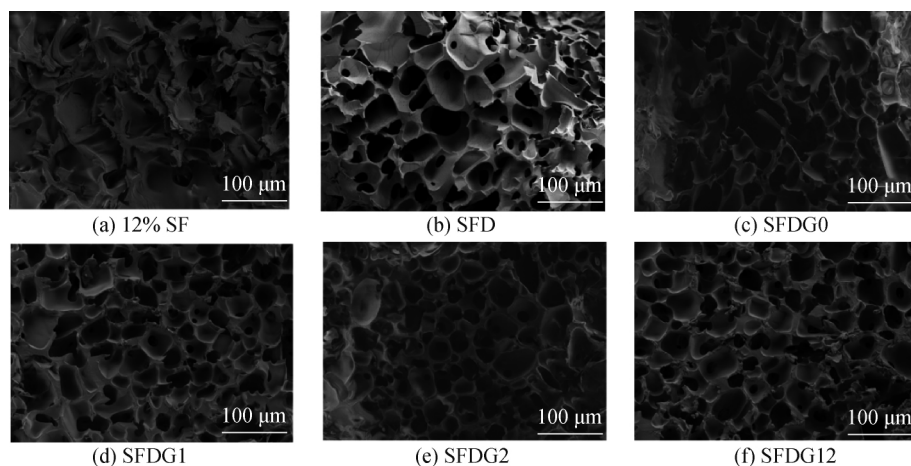


图4 不同阶段和不同处理时间的粘合剂的扫描电镜图

### 2.4 体外降解

模拟体液是一种含有多种离子的溶液,其含量与人体体液契合,pH 值为 7.4,可用于多种生物活性材料的评估<sup>[26]</sup>。为了探究粘合剂的降解性能,本

文利用改良型 SFB 模拟体液配制降解液,将冷冻干燥的样品 SFDG0、SFDG2 及 SFDG12 置于酶解液中降解,计算剩余保留率,结果如图 5 所示。由图 5 可知,对于材料的降解速率,第一周并没有明显的差

异;7 d 后,SFDG0 粘合剂开始加速降解;经 37.0 °C 处理 2 h 后的 SFDG2 粘合剂在 20 d 后有加速降解的趋势,而 SFDG12 的样品趋于平稳。丝素蛋白由于其本身的结构特性,降解速率有限<sup>[27]</sup>。作为粘合剂,要求具备完全降解性能,而制得的粘合剂在 22 d 后仍然有约 60% 的剩余保留质量。丝素蛋白是由多种必须氨基酸组成的,并含有较多的精氨酸残基,一种生物相容性良好的材料,为细胞粘附提供受体,将粘合剂应用在愈合速度缓慢的伤口上时,反而可辅助伤口处的细胞生长<sup>[28-32]</sup>。

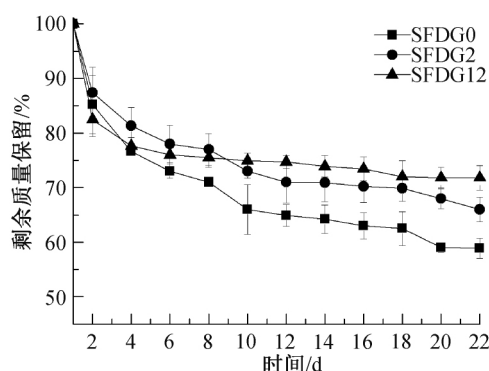


图5 SFDG 经不同处理时间后剩余质量保留率随时间的变化

### 3 结 论

本文利用 NHS 与 EDC 将多巴胺接枝到丝素蛋白上,并通过京尼平进行二级交联,获得生物相容性好且粘合强度高的生物医用粘合剂 SFDG,主要结果如下:

a) 由正交实验探究可得,当使用的丝素蛋白溶液浓度为 12%,添加的 NHS 与 EDC 之比为 2:1,且 NHS 与丝素蛋白上的羧基理论比例为 1:1,添加的多巴胺与丝素蛋白上羧基理论摩尔比为 1:6,添加的京尼平与丝素蛋白上氨基理论摩尔比为 2:1 时,为粘合剂的最优条件。

b) 优化后的粘合剂,在 37.0 °C 下处理 12 h 后,猪皮搭载拉伸强度可达到 $(181.49 \pm 42.82)$  kPa。与目前临床上使用的纤维蛋白胶相比,具有优异的粘合强度,在创伤闭合上具有良好的应用前景。

### 参考文献:

[1] Bré L P, Zheng Y, Pêgo A P, et al. Taking tissue adhesives to the future: From traditional synthetic to new biomimetic approaches[J]. *Biomaterials Science*, 2013, 1(3): 239-253.  
[2] Burks S, Spotnitz W. Safety and usability of hemostats,

sealants, and adhesives[J]. *AORN Journal*, 2014, 100(2): 160-176.

- [3] Scognamiglio F, Travan A, Rustighi I, et al. Adhesive and sealant interfaces for general surgery applications [J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2016, 104(3): 626-639.  
[4] Behrns K. Tissue adhesives in clinical medicine [J]. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2006, 10(8): 1185.  
[5] Zhu W Z, Chuah Y J, Wang D. Bioadhesives for internal medical applications: A review[J]. *Acta Biomaterialia*, 2018, 74: 1-16.  
[6] Burke K A, Roberts D C, Kaplan D L. Silk fibroin aqueous-based adhesives inspired by mussel adhesive proteins[J]. *Biomacromolecules*, 2016, 17(1): 237-245.  
[7] Rockwood D N, Preda R C, Yücel T, et al. Materials fabrication from Bombyx mori silk fibroin [J]. *Nature Protocols*, 2011, 6(10): 1612-1631.  
[8] 李莹莹,王昉,刘其春,等. 丝素蛋白及其复合材料的研究进展[J]. *材料工程*, 2018, 46(8): 14-26.  
[9] Yang J W, Bai R B, Chen B H, et al. Hydrogel adhesion: A supramolecular synergy of chemistry, topology, and mechanics [J]. *Advanced Functional Materials*, 2019, 1901693.  
[10] Marshall S J, Bayne S C, Baier R, et al. A review of adhesion science[J]. *Dental Materials*, 2010, 26(2): 11-16.  
[11] 崔国廉,但年华,但卫华. 基于多巴胺的黏合水凝胶的制备及表征[J]. *高等学校化学学报*, 2017, 38(2): 318-325.  
[12] Mehdizadeh M, Weng H, Gyawali D, et al. Injectable citrate-based mussel-inspired tissue bioadhesives with high wet strength for sutureless wound closure[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(32): 7972-7983.  
[13] Kord F P, Lee B P. Recent approaches in designing bioadhesive materials inspired by mussel adhesive protein [J]. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 2017, 55(1): 9-33.  
[14] Lim S, Nguyen M P, Choi Y, et al. Bioadhesive nanoaggregates based on polyaspartamide-g-C18/DOPA for wound healing [J]. *Biomacromolecules*, 2017, 18(8): 2402-2409.  
[15] Sogawa H, Ifuku N, Numata K. 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA)-containing silk fibroin: Its enzymatic synthesis and adhesion properties [J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2019, 5(11), 5644-5651  
[16] Machine T, Member F, Member M. Standard test method for strength properties of tissue adhesives in lap-shear by tension loading [S/OL]. *Annual Book of*

- ASTM Standards, 2015 [2019-11-20]. <https://standards.globalspec.com/std/9935893/astm-f2255>.
- [17] Cilurzo F, Gennari C G M, Selmin F, et al. An investigation into silk fibroin conformation in composite materials intended for drug delivery[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2011, 414(1/2): 218-224.
- [18] Maniglio D, Bonani W, Migliaresi C, et al. Silk fibroin porous scaffolds by  $N_2O$  foaming [J]. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2018, 29(5): 491-506.
- [19] Numata K, Ifuku N, Masunaga H, et al. Silk resin with hydrated dual chemical-physical cross-links achieves high strength and toughness [J]. *Biomacromolecules*, 2017, 18(6): 1937-1946.
- [20] Ramanathan N L. A new weighting system for mean surface temperature of the human body[J]. *Journal of Applied Physiology*, 1964, 19(3): 531-533.
- [21] Yoshioka T, Hata T, Kojima K, et al. Fabrication scheme for obtaining transparent, flexible, and water-insoluble silk films from apparently dissolved silk-gland fibroin of bombyx mori silkworm[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2017, 3(12): 3207-3214.
- [22] Yang Y J, Kwon Y, Choi B, et al. Multifunctional adhesive silk fibroin with blending of RGD-bioconjugated mussel adhesive protein [J]. *Biomacromolecules*, 2014, 15(4): 1390-1398.
- [23] Imsombut T, Srisuwan Y, Srihanam P, et al. Genipin-cross-linked silk fibroin microspheres prepared by the simple water-in-oil emulsion solvent diffusion method [J]. *Powder Technology*, 2010, 203(3): 603-608.
- [24] Xiao W Q, Liu W L, Sun J, et al. Ultrasonication and genipin cross-linking to prepare novel silk fibroin-gelatin composite hydrogel[J]. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 2012, 27(4): 327-341.
- [25] Mi F, Sung H, Shyu S. Synthesis and characterization of a novel chitosan-based network prepared using naturally occurring crosslinker[J]. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 2000, 38(15): 2804-2814.
- [26] Fan C J, Fu J Y, Zhu W Z, et al. A mussel-inspired double-crosslinked tissue adhesive intended for internal medical use[J]. *Acta Biomaterialia*, 2016, 33: 51-63.
- [27] Bai S M, Zhang X L, Lu Q, et al. Reversible hydrogel-solution system of silk with high beta-sheet content[J]. *Biomacromolecules*, 2014, 15(8): 3044-3051.
- [28] Rodriguez M J, Dixon T A, Cohen E, et al. 3D freeform printing of silk fibroin[J]. *Acta Biomaterialia*, 2018, 71: 379-387.
- [29] Minoura N, Aiba S I, Higuchi M, et al. Attachment and growth of fibroblast cells on silk fibroin[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1995, 208(2): 511-516.
- [30] Melke J, Midha S, Ghosh S, et al. Silk fibroin as biomaterial for bone tissue engineering [J]. *Acta Biomaterialia*, 2016, 31: 1-16.
- [31] Kasoju N, Bora U. Silk fibroin in tissue engineering[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2012, 1(4): 393-412.
- [32] Kundu B, Rajkhowa R, Kundu S C, et al. Silk fibroin biomaterials for tissue regenerations [J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2013, 65(4): 457-470.

(责任编辑:廖乾生)