http://pmse.scu.edu.cn

高黏弹性组织密封胶的制备及其性能

张 可，王千赫，贾础宁，纪 倩，陈 曦
（江南大学 生命科学与健康工程学院，江苏 无锡 214122）

摘要：文中选用冷水鱼皮明胶（CFG）为基材，通过定量修饰饱和脂肪链癸醛（C10）及儿茶酚基团3,4-二羟基苯甲醛（CAT）制备了3种改性明胶，再将改性明胶与四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺戊二酸酯（4arm-PEG-NHS）混合交联，构建了具有高黏弹性的组织密封胶。通过伯胺基团的测定和紫外光谱表征，确定了C10及CAT改性基团的取代度。双重改性明胶（CAT-C10-CFG）与4arm-PEG-NHS交联成水凝胶时间短，可在5 s内迅速成胶，具有良好的组织黏附性和伸缩性能。在体外模型评价中发现，CAT-C10-CFG密封胶的耐压爆破强度可达87.1 mmHg，远超肺部所承受的局部生理压力，表现出优异的肺组织密封性能。细胞毒性评价中，L-929细胞的存活率达到95%以上，表明密封胶材料具有良好的生物相容性，在胸外科领域具有良好的应用前景，为术后肺漏气的堵漏治疗提供了新思路。

关键词：冷水鱼皮明胶；双重改性；组织密封胶；高黏弹性
中图分类号：TQ436+.6 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-7555（2024）09-0026-10

持续性漏气（Prolonged air leak, PAL）是肺部手术后的一种常见并发症[1]，若不能及时封闭堵漏会导致患者带管时间大幅延长，同时增加感染风险，间接增加治疗费用[2]。胸腔镜手术相较传统开胸手术具有创伤小、恢复快、操作简便及视野清晰等优点[3]，现已成为胸外科的常规手术。然而，如何在术后PAL发生时快速有效地封闭漏气部位仍然是胸腔镜手术所面临的一项难题。近年来，能够快速封闭组织器官伤口的组织密封胶受到了越来越多的关注。其中，纤维蛋白胶具有较高的生物相容性，但也存在对湿润组织的黏附能力不足、延展性差等问题[4]。氰基丙烯酸酯胶对湿润界面表现出良好的黏附性，但其刚度过大会阻碍弹性肺组织的生理运动，其降解产物有细胞毒性[5, 6]。基于人血白蛋白和聚乙二醇的黏合剂虽然具有高爆破强度，但是分离人血白蛋白存在疾病传播的潜在风险，目前无法大规模推广[5, 7]。基于弹性蛋白的光交联组织密封胶可快速成膜并牢固结合，但光引发剂有毒副作用，且光固化操作在胸腔镜手术中实施不便[8]。鉴于此，开发兼具固化快、黏附强、弹性高、无毒性、可降解、成本低、使用方便等特性的组织密封胶对术后肺漏气的治疗具有重要的临床价值。

冷水鱼皮明胶（CFG）是一种具有优良生物学特性的天然高分子。相较于牛、羊来源的明胶，CFG的体内免疫原性低[4, 9]，对细胞、组织、器官的修复有促进作用。CFG分子链上存在丰富的伯胺官能团，易于化学修饰和交联。明胶本身具有一定的黏性，但明胶分子与组织之间的弱作用力无法实现牢固黏附，因此需要通过功能化改性提升明胶材料的组织黏附性。本文将癸醛（C10）和儿茶酚基团引入CFG分子中制备了3种改性明胶（C10-CFG，CAT-CFG和CAT-C10-CFG），然后利用四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺戊二酸酯（4arm-PEG-NHS）与改性明胶原位混合交联[10]，构建在湿润环境中具有高黏弹性的组织密封胶（如Fig.1所示）。一方面，饱和脂肪酸链C10可锚定在组织细胞的磷脂双分子层中，或与细胞外基质

doi: 10.16865/j.cnki.1000-7555.2024.0168
收稿日期：2023-11-20
基金项目：国家自然科学基金资助项目（22205083）；大学生创新创业计划训练项目（CXZ2023141）
通讯联系人：陈曦，主要从事生物医用材料的研究，E-mail: chenxi@jiangnan.edu.cn

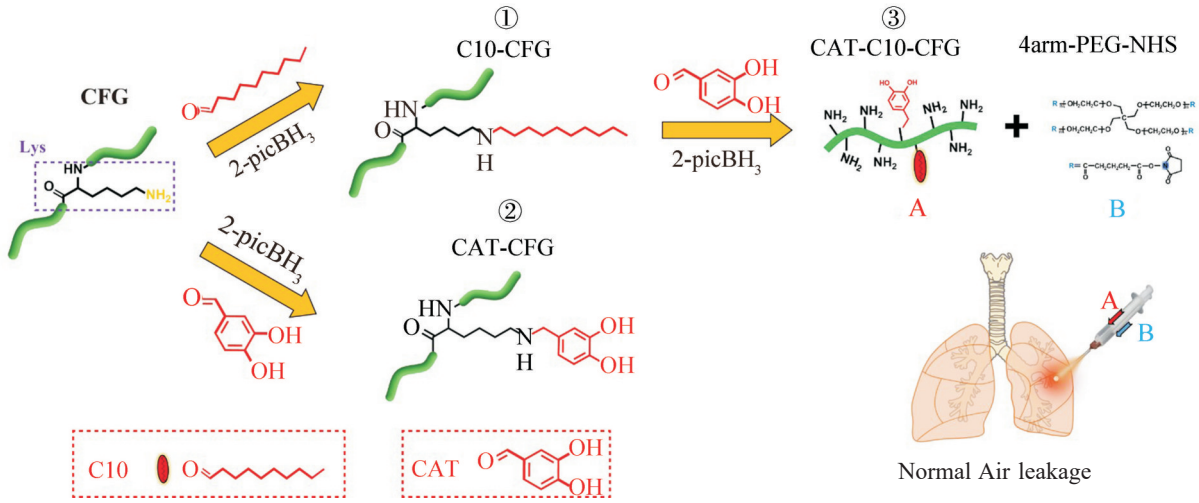


Fig. 1 Flowchart of the preparation of CAT-C10-CFG/4arm-PEG-NHS tissue sealant

产生疏水相互作用，从而提高明胶对湿润软组织的黏附能力[11, 12]；另一方面，贻贝蛋白在水生环境中的高黏附性主要得益于L-3,4-二羟基苯丙氨酸（DOPA），DOPA衍生物儿茶酚基团（CAT）具有相同的黏附原理，CAT可通过物理和化学作用与湿润界面牢固结合[13, 14]。本文以天然高分子CFG为基材，通过多重改性策略以及琥珀酰亚胺活性基团交联技术开发新型组织密封胶，为术后PAL提供一种新的治疗方案。

1　实验部分

1.1　试剂和仪器

饱和脂肪癸醛：分析纯，毕得医药公司；2,4,6-三硝基苯磺酸（TNBS）5%水溶液和冷水鱼皮明胶（CFG）：分析纯，Sigma-Aldrich公司；三乙胺、3,4-二羟基苯甲醛、四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺戊二酸酯（4arm-PEG-NHS, M_w=2×10^4）、Cell Counting Kit-8（CCK-8）试剂：分析纯，阿达玛斯试剂有限公司；福尔马林溶液：化学纯，阿达玛斯试剂有限公司；2-甲基吡啶-N-甲硼烷：分析纯，上海贤鼎生物科技有限公司；无水乙醇、盐酸、二甲基亚砜（DMSO）：化学纯，国药集团化学试剂有限公司；0.1 mol/L硼酸缓冲液：江苏凯基生物技术股份有限公司；小鼠成纤维细胞L-929：上海酶研科技生物有限公司。

紫外分光光度计：UV-2600I，日本岛津公司；水浴恒温振荡器：SHZ-B型，上海博迅医疗生物仪器股份有限公司；酶标仪：Moleculr Devices M2e型，美谷分子仪器有限公司；恒温培养箱：DH43D型，上海泰坦科技有限公司；微孔板恒温振荡器：MST-80型，上海泰坦科技有限公司。

1.2　改性明胶的制备

如Fig.1所示，设计了3种改性明胶，分别是疏水改性的C10-CFG、儿茶酚改性的CAT-CFG以及双重改性的CAT-C10-CFG。

1.2.1　C10-CFG和CAT-CFG的合成：以200 mL水/乙醇（体积比7:3）为溶剂，将30 g CFG在60 ℃充分溶解，待降温至50 ℃后添加132.2 μL的C10或96.9 mg的3,4-二羟基苯甲醛（CAT）反应1 h，然后向混合溶液中加入醛摩尔量1.5倍的2-甲基吡啶-N-甲硼烷，充分反应17 h。最后使用冰乙醇析出结晶，用乙醇清洗3~5次，真空干燥得到白色粉末。

1.2.2　CAT-C10-CFG的合成：对合成得到的C10-CFG进一步改性，将15 g C10-CFG固体在60 ℃充分溶解，待降温至50 ℃后添加48.5 mg CAT反应1 h，然后向混合溶液中加入醛物质的量1.5倍的2-甲基吡啶-N-甲硼烷，充分反应17 h。最后使用冰乙醇析出结晶，用乙醇清洗3~5次，真空干燥得到白色粉末。

1.3　改性明胶的取代度测定

1.3.1　C10-CFG取代度测定：分别称取50 mg CFG和C10-CFG溶于体积分数50% DMSO/H_2O溶液中，配制成0.01 g/mL的样品溶液，用TNBS法测定C10

基团的取代度[15]。

1.3.2 CAT-CFG及CAT-C10-CFG取代度测定：分别称量50 mg CAT，CFG，CAT-CFG和CAT-C10-CFG溶于体积分数50% DMSO/H_2O溶液中，配制成0.01 g/mL的样品溶液。其中将CAT标准溶液配制成一系列浓度梯度的标准溶液，通过紫外分光光度计制备标准曲线。由改性明胶与未改性明胶两者的差值可以得到对应浓度CAT-CFG或CAT-C10-CFG溶液所含CAT基团的浓度(C_{CAT})。改性明胶的实际取代度(*D.S.*)根据式(1)计算

$$D.S. = \frac{C_{CAT}}{M_{CAT} \times C_{sample} \times C_{CFG}} \quad (1)$$

式中：M_{CAT}——CAT基团的相对分子质量；C_{CFG}——TNBS法定量出的明胶所含伯胺官能团的浓度。

1.4 水凝胶的制备

用pH=9.4的硼酸缓冲液溶解明胶粉末，配成浓度0.2 g/mL的明胶液。另用pH=8.4的硼酸缓冲液溶解4arm-PEG-NHS，配成0.15 g/mL和0.2 g/mL的交联剂溶液。按溶液体积比1:1混合明胶溶液和交联剂溶液，放入37 ℃恒温培养箱中15 min充分交联得到水凝胶。

1.5 水凝胶性能测试与结构表征

1.5.1 水凝胶成胶时间测定：按溶液体积比1:1混合上述明胶溶液(0.2 g/mL，pH=9.4)和交联剂溶液(0.15 g/mL或0.2 g/mL，pH=8.4)，以涡旋液体不流动为标准测定成胶时间。

1.5.2 水凝胶溶胀性能测定：将水凝胶浸泡在超纯水中脱盐2 d，然后冻干称量(m_0)。将冻干的样品完全浸入37 ℃的磷酸缓冲液中(PBS，pH=7.4)，分别在对应的时间点取出样品并除去表面多余的水分，然后立即测量含水水凝胶样品的质量(m_1)并记录。溶胀率(Swelling ratio, *SR*)根据式(2)计算

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

1.5.3 水凝胶拉伸性能测试：将含25 mg/mL甲基蓝的交联剂溶液(0.2 g/mL，pH=8.4)与明胶溶液(0.2 g/mL，pH=9.4)混合，注入硅胶模具(长25 mm、宽10 mm、厚1 mm)中，固化后小心剥离，水凝胶的初始长度记为L_0(L_0 = 25 mm)。匀速拉伸橡胶薄膜，使用摄像机记录水凝胶脱落或破裂时的最大拉伸长度(L_1)。最大应变(ε)根据式(3)计算

$$\varepsilon = \frac{L_1 - L_0}{L_0} \quad (3)$$

1.5.4 压缩性能测试：精确吸取明胶溶液与4arm-PEG-NHS溶液各500 μL转移至2.5 mL注射器中混匀(总体积1 mL)，固化后取出(直径= 9 mm、高度= 10 mm)。将样品放置在万能试验机上带有圆形金属板的传感器之间，以5 mm/min的速度将样品压缩80%，记录数据并绘制应力-应变曲线以分析其压缩性能。

1.5.5 爆破强度性能分析：ASTM F2392是一种比较软组织上密封胶的爆裂或破裂强度的方法[16~18]。将新鲜猪肺剪成大小均一，直径为4 cm的圆片，在中间打一个直径为3 mm的小孔，放入生理盐水中备用。分别将明胶液和交联剂溶液加入AB胶混合注射器的两侧，等体积混合注射到肺的表面并堵住孔洞，密封胶厚度控制在1 mm，25 ℃等待成胶。将堵漏后的肺组织安装在爆破强度测试仪上，仪器下方通入生理盐水记录破裂时的最大值(最大抗爆破压力)。测试后的肺组织及其表面密封胶用福尔马林溶液固定2 d，包埋切片并用苏木精-伊红(HE)染色，使用数字切片扫描系统(生产公司：匈牙利3DHISTECH公司，产品型号：Pannoramic MIDI，制造国家：匈牙利)扫描并进行截面观察。

1.5.6 体外降解性能测定：将水凝胶浸泡在超纯水中脱盐2 d，然后冻干称量(m_0)。冻干样品在PBS缓冲液(pH=7.4)中浸泡24 h以上，以备后续实验使用。将复溶胀的水凝胶完全浸入胶原酶浓度为200 μg/mL的PBS溶液中，并在37 ℃，200 r/min的条件下振荡2 h，4 h，6 h，8 h，10 h和12 h。到点将溶液离心并移除液体，清洗沉淀物，冻干称量，记作m_1。质量残留率(W)根据式(4)计算

$$W = \frac{m_1}{m_0} \quad (4)$$

1.5.7 细胞毒性测定：在96孔板中接种1×10^4个/孔的L-929细胞悬液，细胞预培养24 h。24 h后换液，向培养板各孔中加入浸泡了24 h的密封胶浸提液，放入培养箱中孵育24 h。向每孔中加入10 μL CCK-8溶液，放入培养箱中孵育2 h。用酶标仪测定450

nm处的吸光度(*OD*),细胞存活率(Cell viability, *CV*)根据式(5)计算

$$CV = \frac{OD_{Hyd} - OD_{Blank}}{OD_{Tcps} - OD_{Blank}} \quad (5)$$

式中:$OD_{Hydrogel}$——水凝胶浸提液培养的细胞吸光度;OD_{Tcps}——细胞培养液培养的细胞吸光度;OD_{Blank}——含CCK-8试剂的培养液吸光度(无细胞)。

用4%多聚甲醛固定细胞,分别使用罗丹明标记鬼笔环肽和4',6-二脒基-2-苯基吲哚对细胞的细胞骨架和细胞核进行染色,利用DMIL型荧光倒置显微镜(德国徕卡公司)进行细胞形态观察。

2　结果与讨论

2.1　改性明胶取代度分析

TNBS伯胺定量法分别测定改性前后明胶分子中伯胺官能团的含量,通过比较伯胺官能团的减少比例得知,C10-CFG的疏水基团C10实际取代度为5.4%。如Fig.2(a)所示,CAT-CFG与CAT-C10-CFG溶液在278 nm波长处的紫外吸收峰相较CFG溶液增大,该吸收峰与CAT单体的吸收峰重叠,证明成功修饰上了儿茶酚基团CAT。在Fig.2(b)中,测定CFG,CAT-CFG及CAT-C10-CFG溶液在278 nm波长处的吸光度后代入标准曲线,求得单位质量中CAT基团的含量,再和TNBS法定量的未改性明胶中伯胺官能团的总量比较,得知CAT-CFG和CAT-C10-CFG的CAT基团取代度分别为1.6%和1.2%。

2.2　水凝胶性能评价

2.2.1　水凝胶成胶时间:根据Fig.3(a)可看出,3种改性明胶成胶时间(约5 s)皆短于未改性明胶(约8 s),说明C10基团的疏水性作用和CAT基团的氧化反应

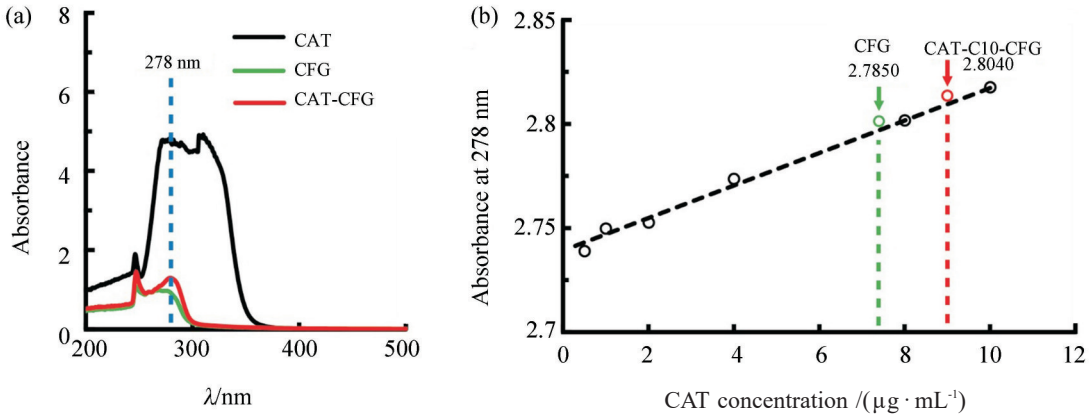


Fig. 2 (a) UV absorption peaks of the sample solution; (b) CAT monomer standard curve and sample absorbance

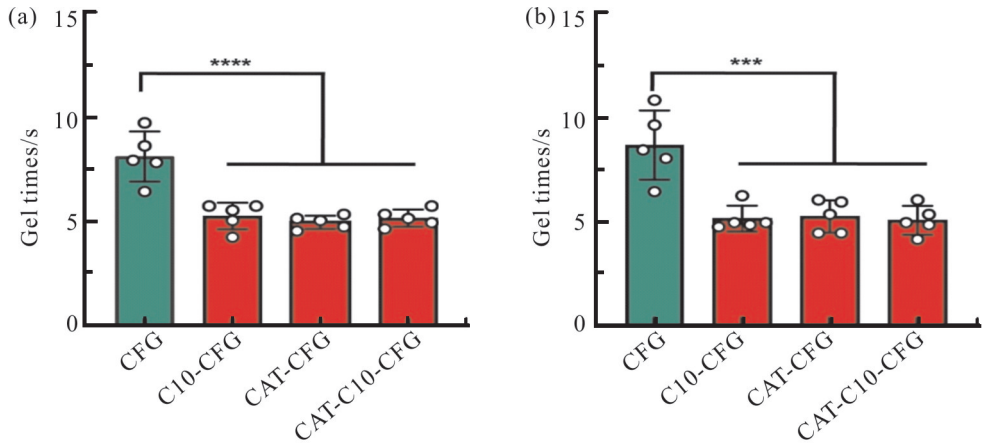


Fig. 3 Gel curing time under different ratios: (a) *C*(NH_2):*C*(NHS) = 3:3; (b) *C*(NH_2):*C*(NHS) = 3:4

可促进水凝胶迅速固化。其中双重改性CAT-C10-CFG成胶时间与C10-CFG和CAT-CFG相比无明显差异，说明疏水作用和CAT氧化反应不会互相干扰。Fig.3(a)中的交联剂浓度为0.15 g/mL，而Fig.3(b)中的交联剂浓度为0.2 g/mL，与明胶液等体积混合后，明胶中的伯胺基团与交联剂中NHS活性基团之比分别为3∶3和3∶4，交联剂浓度的提升并未缩短成胶时间，这可能是因为伯胺基团与NHS基团之比为3∶3时已达到饱和交联的状态。

2.2.2 水凝胶溶胀性能：在相同时间下，CFG密封胶的溶胀率最大，其次是CAT-CFG密封胶，C10-CFG密封胶溶胀率最小，而双重改性CAT-C10-CFG密封胶则介于CAT-CFG和C10-CFG之间(Fig.4(a, b))。CFG密封胶溶胀率大，这是由于其只有单一的化学交联方式，抗溶胀能力弱(Fig.4(c))。CAT-CFG密封胶的溶胀率与CFG密封胶相比略小，但差异不明显。这可能是因为儿茶酚基团只是部分发生了化学交联(Fig.4(d))，交联网络的密度要小于CAT-C10-

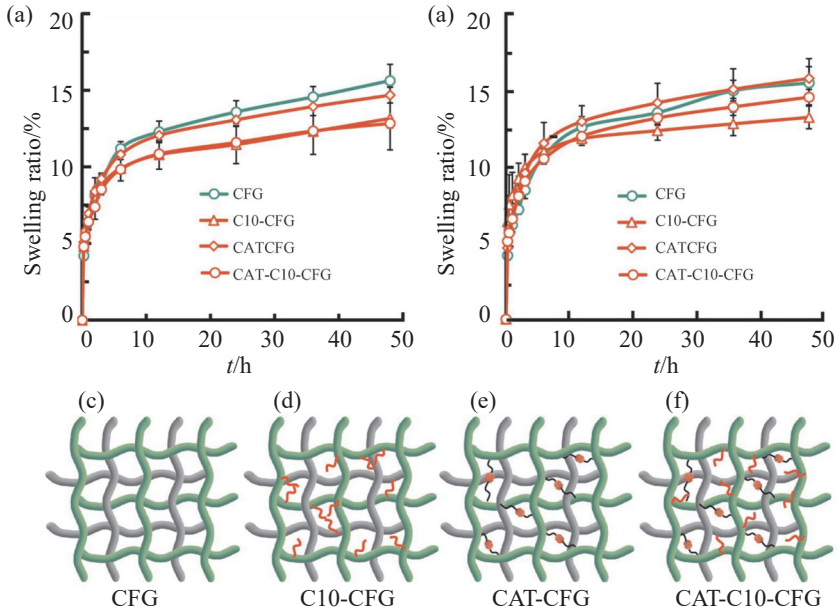


Fig. 4 Swelling rate with different amounts of 4arm-PEG-NHS cross-linker: (a) *C*(NH_2):*C*(NHS) = 3:3; (b) *C*(NH_2):*C*(NHS) = 3:4. Cross-linking networks of (c) CFG, (d) C10-CFG, (e) CAT-CFG and (f) CAT-C10-CFG

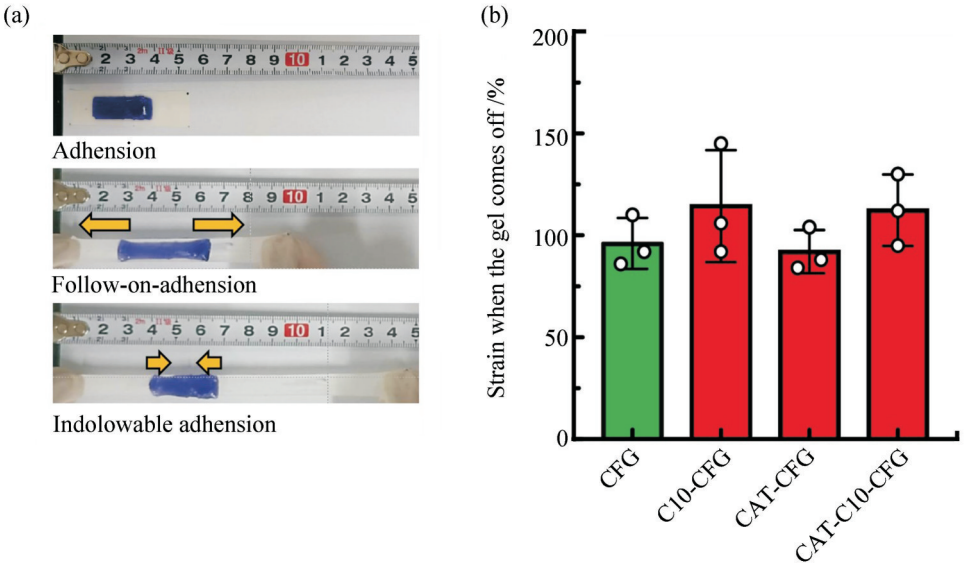


Fig. 5 (a) Tensile test process; (b) maximum strain when the sealant was detached or ruptured

CFG 和 C10-CFG 密封胶。C10-CFG 密封胶的抗溶胀能力最强,这是由于其同时拥有化学交联网络和物理交联网络(Fig.4(d))。导入明胶分子中的饱和脂肪酸链 C10 在水相中发挥疏水相互作用,使得 C10-CFG 密封胶具备更高的力学性能。随着时间的延长,密封胶的质量逐渐增大,最终趋于平稳。如(Fig.4(b))所示,增大交联剂添加量,整体溶胀率有所下降,后期更加平稳。鉴于此,后续实验都采用 *C*(NH_2):*C*(NHS) =3:4 这一配比。

2.2.3　水凝胶拉伸性能:拉伸测试结果发现,所有密封胶(原明胶与改性明胶组)都具有良好的黏附和延展性能,未有密封胶在测试过程中破裂。密封胶在拉伸过程中都无法与底材(模拟肺膜的橡胶膜)追随黏附而脱落蜷缩(如 Fig.5(a))。密封胶脱落时的最大应变如 Fig.5(b)所示,CFG 密封胶与 CAT-CFG 密封胶的最大应变分别为 94%和 92%,小于 C10-CFG 密封胶的 114%及双重改性 CAT-C10-CFG 密封胶的 112%,这可能是由于各密封胶的交联形式有差异所导致。CFG 与 CAT-CFG 密封胶网络由化学交联形式构建,而 C10-CFG 与 CAT-C10-CFG 密封胶网络则同时具有化学交联和物理交联 2 种形式。饱和脂肪酸链间还可以在凝胶内形成物理交联(疏水基团间相互作用)增强凝胶的内聚力,提升力学性能。测试结果表明,这些密封胶可满足肺部长时间的组织追

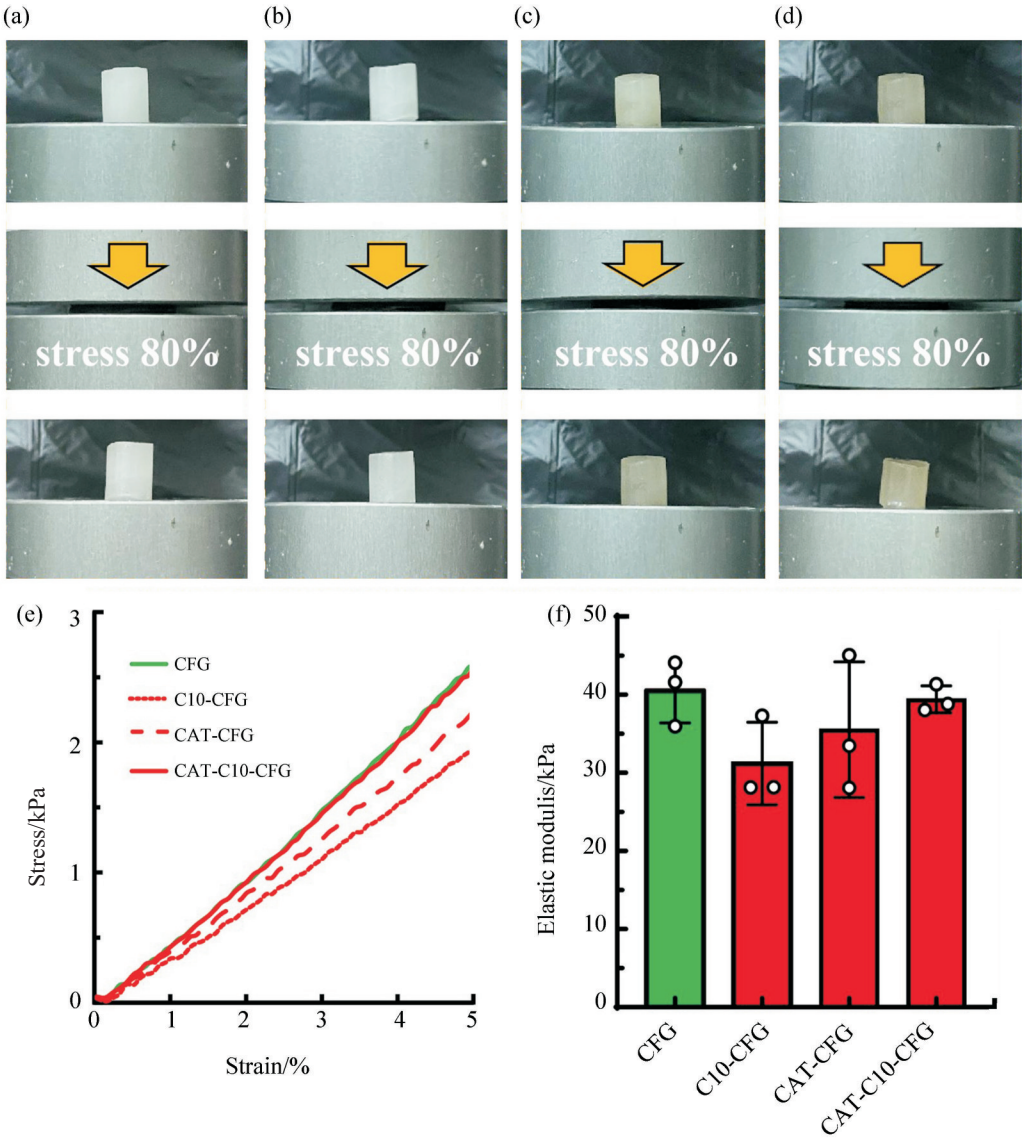


Fig. 6 Compression test process of (a) CFG, (b) C10-CFG, (c) CAT-CFG and (d) CAT-C10-CFG; (e) stress-strain curves of sealants; (f) elastic modulus of sealants

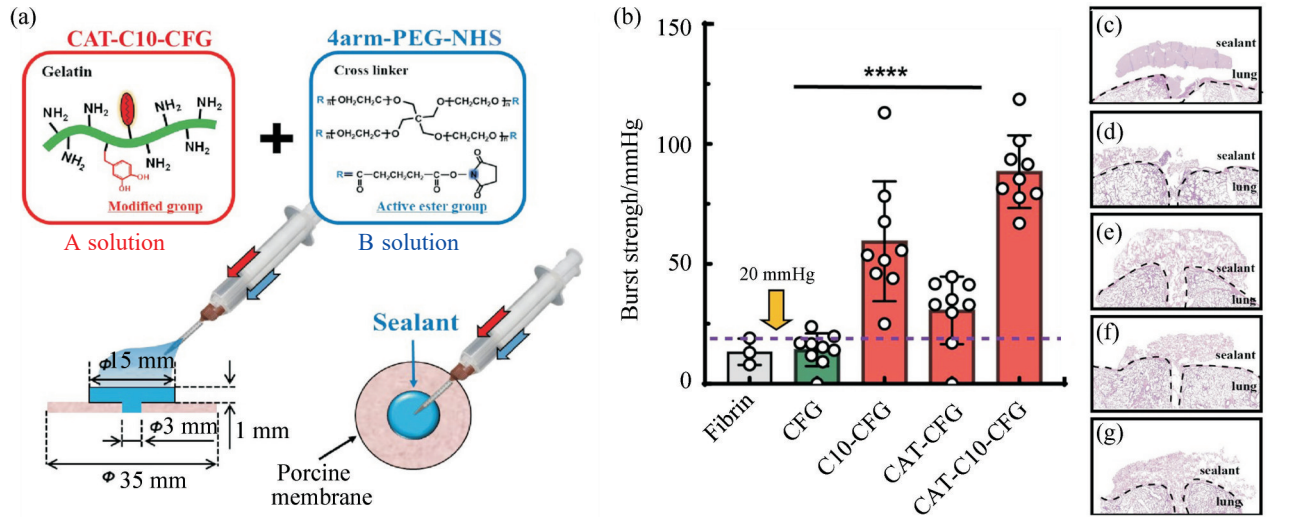


Fig. 7 (a) Process of bursting strength determination after plugging lung tissue holes with CAT-C10-CFG sealant; (b) burst strength of lung tissue. Hematoxylin-eosin staining of lung tissue and sealants: (c) fibrin; (d) CFG; (e) C10-CFG; (f) CAT-CFG; (g) CAT-C10-CFG

随需求(肺组织会周期性伸缩40%)。

2.2.4 水凝胶压缩性能:如Fig.6(a~d)所示,所有试样压缩80%都未发生破裂,说明由明胶和4arm-PEG-NHS交联剂构建的密封胶具有优异的压缩性能。此外,连续压缩10次后凝胶仍未有明显形变,说明各密封胶的力学性能稳定,抗疲劳能力强。如Fig.6(e, f)所示,CFG密封胶的弹性模量为40.5 kPa,大于C10-CFG和CAT-CFG密封胶,该差异是由于CFG密封胶(100%的化学交联)的交联网络较强,而C10-CFG(95%的化学交联和5%疏水相互作用)和CAT-CFG密封胶(接近100%的化学交联)的交联网络相对较弱。双重改性CAT-C10-CFG密封胶具备3种交联方式(4arm-PEG-NHS与明胶的化学交联、饱和脂肪酸链间的疏水相互作用和儿茶酚间的物化交联),其弹性模量也较高,达到了39.4 kPa。

2.2.5 水凝胶爆破耐压性能:密封胶的肺组织爆破强度测试结果如Fig.7所示。Fig.7(b)是CAT-C10-CFG密封胶堵漏肺组织孔洞后测定爆破强度的结果,随着生理盐水的灌入,密封胶追随肺组织一起伸缩,直至达到所能承受的最大压力而破裂。经过数据汇总并分析发现,由改性明胶制备的密封胶耐压效果皆强于未改性明胶制备的密封胶。CAT-C10-CFG密封胶的爆破强度(87.1 mmHg)达到原明胶密封胶(14.8 mmHg)的5倍以上,并远超肺组织所承受的最大生理肺压(20 mmHg),与临床常用的纤维蛋白胶相比也具有6倍以上的提升。C10-CFG密封胶的爆破强度虽达到了59 mmHg,然而相较其他组误差较大。造成这种现象的主要原因可能是C10-CFG体系成胶速率过快,且产生的气泡较多(导致密封胶样品内聚力差异较大)。碱性条件下CAT易氧化自交联,导致CAT-CFG密封胶交联效果不理想,其爆破强度大幅度降低至30 mmHg。如Fig.7(c~g)所示,将测试组织和密封胶一起固定进行苏木精-伊红染色并观察密封胶/肺组织的界面,发现CFG成胶慢且对组织的黏附性弱,HE染色结果也印证了这一点。市售纤维蛋白胶测试后从肺组织表面完全脱离,说明耐压堵漏性能差。由改性明胶制备的密封胶(尤其是C10-CFG和CAT-C10-CFG)与肺组织表面的脏层胸膜黏合得非常紧密,表现出优异的黏附性能。

2.2.6 水凝胶体外降解性能:胶原酶能引发明胶分子链中特定肽键的断裂,因此胶原酶可用于模拟水凝胶的体外降解过程。如Fig.8(a)所示,CFG与CAT-CFG密封胶的酶降解速率明显快于疏水改性明胶制备的密封胶(C10-CFG与CAT-C10-CFG),造成这种差异的原因可能是受到了饱和脂肪酸链间疏水相互作用的影响。相较于CFG与CAT-CFG这2种密封胶仅有的化学交联方式,C10-CFG与CAT-C10-CFG密封胶还具有物理交联,其在降解过程中还能依靠疏水基团C10的疏水相互作用来维系水凝胶的稳定,延缓水凝胶的生物降解。CFG与CAT-CFG密封胶的降解曲线几乎重叠,两者都在10 h内完全降解,表明CAT基团改性对降解率的影响微弱。如Fig.8

(b)所示,双重改性CAT-C10-CFG密封胶的降解曲线较为平缓,介于CAT-CFG与C10-CFG密封胶之间,6 h降解了大半(残存41.3%),12 h基本降解完全(仅残存3.3%)。综上所述,饱和脂肪链改性对生物降解的影响要远大于儿茶酚基团改性。

2.2.7 水凝胶细胞毒性评价:组织密封胶作为可植入医用材料,生物安全性要求高。本文采用浸提法评价了密封胶的细胞毒性,检测使用CCK-8试剂。如Fig.9(a)所示,所有密封胶组的细胞存活率都超过了95%,这表明研发的组织密封胶具备优异的生物相容性。如Fig.9(b)所示,通过细胞染色观察发现细胞轮廓完整,皆为梭形,与控制组的L-929细胞未见区别。这些数据表明该密封胶具有实际临床应用的潜力。

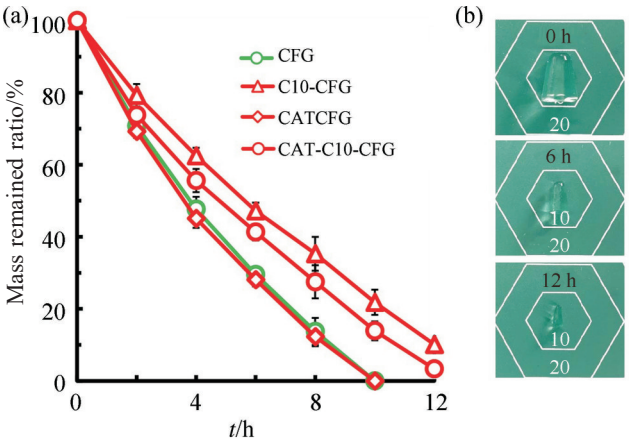


Fig. 8 (a) In vitro degradation curves of sealants; (b) size of CAT-C10-CFG sealants during degradation

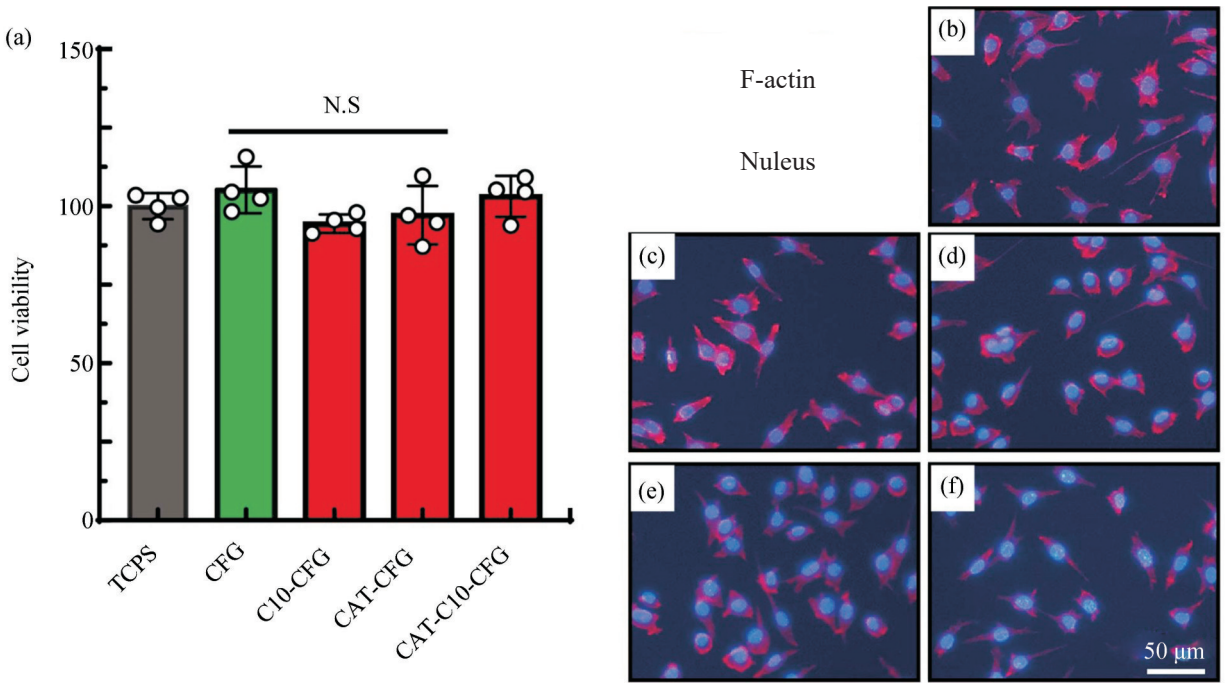


Fig. 9 (a) Cytotoxicity evaluation of sealants; cell staining observation of (b) TCPS, (c) CFG, (d) C10-CFG, (e) CAT-CFG and (f) CAT-C10-CFG by fluorescent inverted microscope

3 结论

本文以CFG为基材,通过定量修饰C10及CAT基团制备了3种改性明胶,与四臂聚乙二醇活性酯交联,构建了在湿润条件下具有良好伸缩能力和优异黏附性能的组织密封胶。结果表明,双重改性CAT-C10-CFG密封胶的各项性能优异,具有成胶时间短、力学顺应性良好且力学强度高、组织堵漏效果明显、降解周期稳定、生物安全性高等优点,在术后肺漏气的堵漏治疗等医疗领域具有潜在的应用前景。

参考文献:

[1] Taboada G M, Yang K, Pereira M J N, *et al.* Overcoming the translational barriers of tissue adhesives [J]. Nature Reviews Materials, 2020, 5: 310-329.

[2] 马琴莺, 姚梅琪, 张洁苹, 等. 胸腔镜肺癌术后并发持续性肺漏气的相关因素及护理进展[J]. 护理与康复, 2022, 21(8): 96-98.
Ma Q Y, Yao M Q, Zhang J P, *et al.* Related factors and nursing progress of prolonged air leak after thoracoscopic lung cancer surgery[J]. Journal of Nursing and Rehabilitation, 2022, 21(8)：96-98.

[3] 于海荣, 倪丽云, 朱华梅. 肺癌手术后患者并发持续性肺漏气真实体验的质性研究 [J]. 当代护士(上旬刊), 2021, 28(6): 1-4.
Yu H R, Ni L Y, Zhu H M. Patients with persistent lung leak after lung cancer surgery:a qualitative research based on real experience[J]. Modern Nurse, 2021, 28(6): 1-4.

[4] Yang W, Kang X Y, Gao X, *et al.* Biomimetic natural biopolymer-based wet-tissue adhesive for tough adhesion, seamless sealed, emergency/nonpressing hemostasis, and promoted wound healing [J]. Advanced Functional Materials, 2023, 33: 2211340.

[5] Ma C, Sun J, Li B, *et al.* Ultra-strong bio-glue from genetically engineered polypeptides[J]. Nature Communications, 2021, 12: 3613.

[6] Liu H N, Sheng M S, Liu H F, *et al.* Underwater adhering performance of alpha-cyanoacrylate adhesive modified with nano-silica [J]. Journal of Materials Protection, 2009, 42: 52-54.

[7] Mortman K, Corral M, Zhang X, *et al.* A retrospectine premier database study to evaluate differences between PROGEL™ pleural air leak sealant as compared with other sealants in the inpatient surgrcal setting[J]. Value in Health, 2016, 19: A691-A691.

[8] Hong Y, Zhou F F, Hua Y J, *et al.* A strongly adhesive hemostatic hydrogel for the repair of arterial and heart bleeds[J]. Nature Communications, 2019, 10: 2060.

[9] 杜晓丹, 方玉, 奚廷斐, 等. 动物源性胶原的生产、应用及其免疫原性[J]. 中国组织工程研究, 2008, 12(23): 4511-4514.
Du X D, Fang Y, Xi T F, *et al.* Manufacturing, application and immunogenicity of creatural collagen[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2008, 12(23): 4511-4514.

[10] Tan H, Jin D, Qu X, *et al.* A PEG-lysozyme hydrogel harvests multiple functions as a fit-to-shape tissue sealant for internal-use of body[J]. Biomaterials, 2019, 192: 392-404.

[11] Nishida T, Mikami I, Fujii Y. New technique to prevent prolonged air leak: use of 'Tachosuture' technique [J]. General Thoracic and Cardiovascular Surgery, 2017, 65: 133-136.

[12] Nishiguchi A, Sasaki F, Maeda H, *et al.* Multifunctional hydrophobized microparticles for accelerated wound healing after endoscopic submucosal dissection[J]. Small, 2019, 15: 1901566.

[13] 陈一明, 李慧颖, 倪鹏, 等. 含儿茶酚基团的湿态组织粘附水凝胶[J]. 化学进展, 2023, 35(4): 560-576.
Chen Y M, Li H Y, Ni P, *et al.* Catechol hydrogel as wet tissue adhesive[J]. Progress in Chemistry, 2023, 35(4): 560-576.

[14] Yang H, Li C H, Tang J D, *et al.* Strong and degradable adhesion of hydrogels[J]. ACS Applied Bio Materials, 2019, 2: 1781-1786.

[15] Mizuta R, Mizuno Y, Chen X, *et al.* Evaluation of an octyl group-modified Alaska pollock gelatin-based surgical sealant for prevention of postoperative adhesion[J]. Acta Biomaterialia, 2021, 121: 328-338.

[16] Fan X M, Fang Y, Zhou W K, *et al.* Mussel foot protein inspired tough tissue-selective underwater adhesive hydrogel[J]. Materials Horizons, 2021, 8: 997-1007.

[17] Brunelli A. Prolonged air leak following lung resection: a common but often underestimated problem [J]. European Journal of Cardio-Thoracic Surgery, 2022, 61: 118-119.

[18] Ma P, Liang W, Huang R, *et al.* Super-structured wet-adhesive hydrogel with ultralow swelling, ultrahigh burst pressure tolerance, and anti-postoperative adhesion properties for tissue adhesion[J]. Advanced Materials, 2024, 36: 2305400.

Preparation and Characterization of High Viscoelastic Tissue Sealant

Ke Zhang, Qianhe Wang, Chuning Jia, Qian Ji, Xi Chen
(*School of Life Sciences and Health Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China*)

ABSTRACT: Cold-water fish skin gelatin (CFG) was selected as substrate. Three modified gelatins were prepared by quantitatively modifying saturated fat chains capraldehyde (C10) and catechol groups 3, 4-dihydroxybenzaldehyde (CAT). Then, the modified gelatin was mixed and cross-linked with a four-arm polyethylene glycol succinimidyl glutarate (4arm-PEG-NHS) to construct a tissue sealant with high viscoelasticity. The degree of substitution of C10 and CAT modified groups was determined by the determination of primary amine groups and ultraviolet (UV) spectroscopy. The double-modified gelatin (CAT-C10-CFG) and 4arm-PEG-NHS were cross-linked into hydrogels quickly, which could be gelatinized within 5 s, and the hydrogels have good tissue adhesion and elastic properties. In the evaluation of in vitro model, it is found that the pressure burst strength of CAT-C10-CFG sealant could reach 87.1 mmHg, which far exceeds the local physiological pressure of the lungs and shows excellent lung tissue sealing performance. In the cytotoxicity evaluation, the survival rate of L-929 cells reaches more than 95%, indicating that the sealant material has a good biocompatibility. Given this, CAT-C10-CFG tissue sealant has a broad application prospect in thoracic surgery, which provides a new idea for treating postoperative pneumothorax leakage.

Keywords: cold-water fish skin gelatin; double modification; tissue sealant; high viscoelasticity