

载茜素明胶 - 透明质酸水凝胶的构建及止血性能初步评价

张璐瑶

东北林业大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2026年2月1日; 录用日期: 2026年3月12日; 发布日期: 2026年3月20日

摘要

目的: 制备负载中药茜素的明胶/透明质酸水凝胶复合止血材料(Al@Ge/HA), 并对其性能进行评价。方法: 采用双注射器系统进行原位交联制备Al@Ge/HA, 溶胀测试其吸水膨胀率, 进行水凝胶黏附测试, 体外凝血初步检测止血能力, 并通过SD大鼠尾出血和肝脏出血模型检测其快速止血效果。结果: 制备了Al@Ge/HA, 具有较好的吸水膨胀功能, 可浓缩血液实现快速止血, 且具有良好的血液相容性。止血实验表明, Al@Ge/HA对大鼠尾损伤和肝脏损伤的止血时间和止血效果均优于空白对照组。结论: Al@Ge/HA具有良好的止血效果和血液相容性, 具有进一步研究的价值和临床应用前景。

关键词

止血材料, 水凝胶, 明胶, 透明质酸, 茜素

Preparation of Alizarin-Loaded Gelatin-Hyaluronic Acid Hydrogel and Preliminary Evaluation of Its Hemostatic Performance

Luyao Zhang

College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang

Received: February 1, 2026; accepted: March 12, 2026; published: March 20, 2026

Abstract

Objective: To prepare a gelatin/hyaluronic acid hydrogel composite hemostatic material loaded

with alizarin (Al@Ge/HA) and evaluate its properties. Methods: Al@Ge/HA was prepared using a dual-syringe system for in situ crosslinking. Its water absorption and swelling rate were tested through swelling experiments, and its adhesive properties were assessed via hydrogel adhesion tests. Preliminary in vitro blood clotting assays were conducted to evaluate its hemostatic capability. The rapid hemostatic effect was further examined using SD rat tail bleeding and liver bleeding models. Results: Al@Ge/HA was successfully prepared, demonstrating favorable water absorption and swelling functions, which concentrated blood and achieved rapid hemostasis. It also exhibited good blood compatibility. Hemostatic experiments indicated that Al@Ge/HA outperformed the blank control group in terms of hemostatic time and efficacy for both rat tail and liver injuries. Conclusion: Al@Ge/HA exhibits excellent hemostatic performance and blood compatibility, holding significant value for further research and clinical application prospects.

Keywords

Hemostatic Material, Hydrogel, Gelatin, Hyaluronic Acid, Alizarin

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

止血阶段发生在组织受损的最初时刻，其中血小板扮演关键角色。它们在伤口处迅速聚集，促进血管收缩和血凝块形成，从而有效阻止继续失血，血小板在其中发挥重要作用[1]。明胶属于天然蛋白质范畴，其化学组成与胶原蛋白具有较高相似性[2]。这种物质在止血领域具备可观的应用潜力，止血机制主要体现在两方面：既能诱导并促进血小板聚集，又可在接触血液后发生膨胀，借助物理堵塞的方式实现止血效果。茜素的止血功效，核心在于对血小板活化与聚集过程的促进作用[3]。相关实验研究表明，采用灌胃与腹腔注射两种方式，为家兔施用茜草提取液后，家兔的凝血时间得到显著缩短，这一结果也证实了该提取液具有加快血液凝固的作用[4]。

一款理想的伤口敷料应当符合以下基本要求：1) 表面具有适合的微结构，能够为细胞的黏附、增殖与分化提供支持；2) 与生物组织有良好的相容性，避免对机体产生毒性或引发炎症；3) 具备较强的保湿能力，既能保持创面湿润、促进细胞水合作用，也能有效吸收渗出液；4) 具有适当的机械强度，能够维持敷料结构完整，避免因敷料损坏导致细菌侵入和伤口感染。目前虽已有多种新型敷料被开发用于促进伤口愈合，但仍存在一些不足。因此，未来的理想敷料应在现有成果基础上，进一步开展创新与改进[5]-[7]。

水胶体这类敷料通常具备良好的生物降解性与生物相容性，常用于处理浅表性创面，如轻度烧烫伤及皮下瘀伤等[8]。其作用机制在于能够调节伤口局部 pH 值，抑制细菌繁殖，并可吸收少量至中量的组织渗出液[9]。同时，敷料形成的封闭环境能阻隔水分、细菌及氧气进入伤口，还具有良好的可塑性[10]。

本研究开发了一种止血水凝胶材料。使用双注射器系统技术，合成出负载中药茜素的明胶/透明质酸水凝胶复合止血材料水凝胶(Al@Ge/HA)，对制备出的水凝胶的溶胀能力、材料黏附性、自愈合和凝血性能等性能进行测试和表征，探究 SD 大鼠尾损伤和肝脏损伤的止血效果。

2. 材料和方法

2.1. 水凝胶的合成

采用双注射器系统进行原位交联，首先将明胶溶解于 60℃ 的磷酸缓冲(PBS)溶液中，同时将透明质酸

钠在 EDC/NHS 的 PBS 溶液中预先活化, 随后将明胶溶液与活化的透明质酸钠溶液以等体积混合, 最终使混合体系中明胶浓度为 10% (wt/vol)、透明质酸浓度为 1% (wt/vol)、EDC 和 NHS 浓度均为 1% (wt/vol), 制备了凝胶(Ge/HA)。Al@Ge/HA 的制备, 是在明胶溶液与活化透明质酸钠溶液混合之前, 将茜素加入明胶溶液中, 搅拌均匀。随后按原方法将含茜素的溶液与活化透明质酸钠溶液混合, 形成载茜素水凝胶。

2.2. 水凝胶的溶胀测试

将制备完成的水凝胶置于 37℃ 环境下充分交联 24 小时, 随后经干燥处理并称取其干重(记为 W_0)。将干燥后的样品完全浸没于 PBS 缓冲液(pH=7.4)中, 在 37℃ 的恒温条件下溶胀。取出样品, 用滤纸吸去表面液体后迅速称重(记为 W_t)。溶胀度实验重复三次取平均值。

$$\text{溶胀度}(\%) = [(W_t - W_0)/W_0] \times 100\%$$

2.3. 水凝胶的黏附力测试和自愈合实验

水凝胶在不借助任何外力的情况下与不同材料粘附, 观察粘附物是否脱落。将水凝胶粘附于食指关节, 通过旋转手指关节, 观察水凝胶在不同运动角度的形态变化。评价水凝胶的自愈合性能: 将不同染色样品沿对称轴剪开后拼接, 密封 20 min 后观察界面愈合情况。水凝胶修复过程均在无外力条件下进行, 密封容器有效防止水分蒸发。

2.4. 溶血实验

PBS 溶液作为阴性对照组, 去离子水作为阳性对照组, 水凝胶溶液作为实验组。血液离心取下层红细胞后, 与水凝胶孵育 30 min, 设置温度为 37℃。孵育完成后, 所有样品以 1500 r/min 离心 5 分钟, 并将上清液转移到 96 孔板上, 测量 OD 值以确定样品的溶血速率。每个样本至少检测了 5 次, 测量在 540 纳米处吸收度。

$$\text{溶血率} = (\text{OD}_t - \text{OD}_n)/(\text{OD}_p - \text{OD}_n) \times 100\%$$

式中: OD_t 为试验组上清液的吸光度; OD_n 为阴性对照组上清液的吸光度; OD_p 为阳性对照组上清液的吸光度。

2.5. 体外凝血测试

抗凝鼠血中先加入氯化钙溶液, 再加入水凝胶, 在 37℃ 下孵育 5 分钟观察凝血, 随后用去离子水溶解未凝血的血液, 测量吸光度。通过观察上述溶液的颜色, 可以评估水凝胶的体外凝固能力。然后将上述溶液转移到新的 96 孔板上, 并通过酶标记仪器测得 540 纳米的吸光度。每个样本至少检测了 5 次。水凝胶材料的凝固指数计算公式如下:

$$\text{BCI} = \text{OD}_t/\text{OD}_n \times 100\%$$

式中: OD_t 为试验组上清液的吸光度; OD_n 为空白对照组上清液的吸光度。

2.6. 大鼠尾损伤模型

通过大鼠断尾出血模型检测体内止血性能。将大鼠分为三组, 每组 6 只, 分别为材料组(Ge/HA、Al@Ge/HA)、对照组。大鼠麻醉后, 在尾巴下放置事先称重过的干净滤纸, 并在距离尾部 1.5 cm 处切断, 立即将凝胶样品覆盖在出血部位, 对照组不做任何处理。待鼠尾断面彻底止血后测量滤纸质量。

2.7. 大鼠肝损伤模型

采用大鼠肝出血模型评价水凝胶样品的止血能力。采用体重约 170 g 的雄性大鼠建立肝出血模型。

首先麻醉大鼠，开胸暴露肝脏。将预先称重的干净滤纸置于肝脏下，用剪刀在肝脏划一个 0.5 cm 的伤口。同时，将水凝胶样品覆盖在出血部位，评估止血能力。将未处理的大鼠作为对照组。等止血后记录滤纸重量，根据滤纸的重量变化计算出出血量。

3. 结果与讨论

3.1. 水凝胶的溶胀度

水凝胶的溶胀性能直接影响其在生物体内外对细胞营养输送与氧气交换的效率。适宜的溶胀行为不仅能促进细胞黏附与增殖，也可以加速受损组织的再生与修复。Ge/HA 水凝胶的溶胀率为 81.5%，而加入茜素后，水凝胶的溶胀率下降为 78.2%。该变化可能与茜素的加入导致水凝胶内部交联网络更为紧密、微结构孔径减小有关(如图 1)。

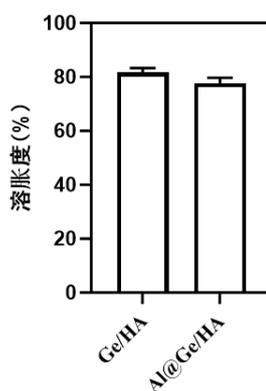


Figure 1. Swelling degree of the hydrogel

图 1. 水凝胶的溶胀度

3.2. 水凝胶的黏附力测试

水凝胶对树叶、金属钥匙、玻璃和塑料都有非常好的粘合能力，显示出对不同的材料都有较好的粘附力，应用比较广泛(图 2(a))。此外，可以看到水凝胶能牢固地粘附在人体手指关节(图 2(b))，并随着手指关节运动，水凝胶依然能附在于手指关节上，动态适应手指的运动能力，显示出对人体皮肤良好粘附力，以及运动适应能力。

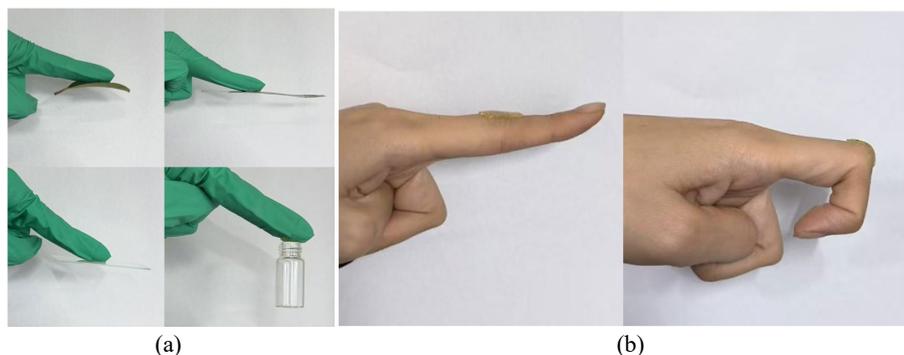


Figure 2. Adhesion property test of the hydrogel. (a) Photographs showing the adhesion of the hydrogel to different materials; (b) Photographs showing the adhesion of the hydrogel to a finger at different angles

图 2. 水凝胶的黏附力测试。(a) 水凝胶与不同材料的黏附照片；(b) 水凝胶与手指不同角度的黏附照片

3.3. 水凝胶的自愈合

将不同染料的圆形试样切割为两半后，在无外力作用下沿切口重新拼接，置于 37°C 密封容器中防止水分蒸发。经 20 分钟接触时间后，切口痕迹完全消失，并且夹住愈合后的水凝胶，从图中看出在重力作用下不会在切割缝处断裂(如图 3)。这种损伤自愈合能力源于材料内部动态网络结构的可逆重构机制，其中可逆共价键的快速重组与非共价相互作用的动态平衡共同主导了材料的自愈合行为，以上实验结果体现了水凝胶具有良好的愈合能力。

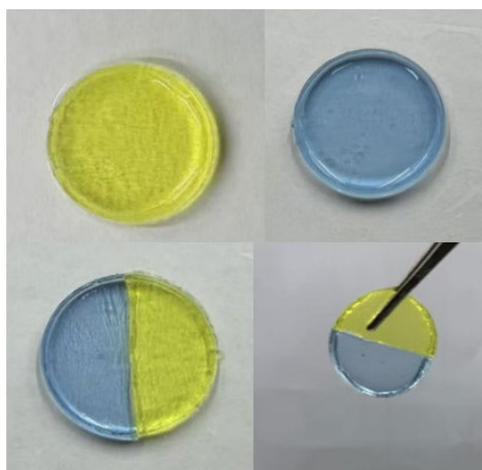


Figure 3. Self-healing test of the hydrogel
图 3. 水凝胶的自愈合测试

3.4. 水凝胶的溶血实验

溶血率是衡量血液相容性的关键指标之一，其测定原理是：将实验材料与稀释血液接触后，若材料含有溶血性物质，则会引起红细胞破裂，释放血红蛋白，进而可通过分光光度法进行检测。本研究将水凝胶与稀释的红细胞混合，孵育一定时间后离心，并拍摄水凝胶与红细胞接触后的照片(图 4(a))，看出水凝胶组上清液红细胞破裂较少。实验中以 PBS 缓冲液作为阴性对照，以去离子水作为阳性对照。Ge/HA 和 Al@Ge/HA 水凝胶的溶血率均低于 5%，符合国际止血药物相关标准(图 4(b))。该结果表明，所制备的水凝胶具有良好的血液相容性，对血液无明显损害。

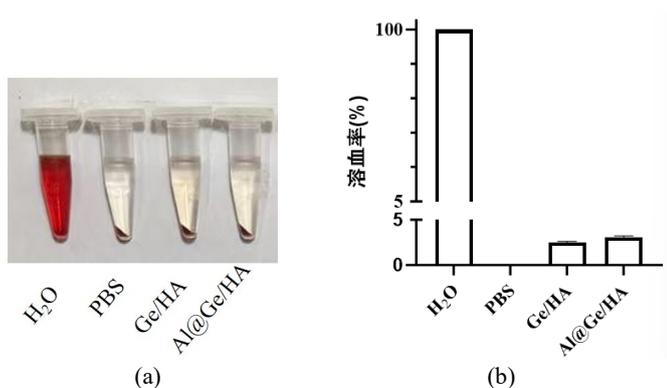


Figure 4. Hemolysis test of the hydrogel. (a) Photographs of the hemolysis assay of the hydrogel; (b) Hemolysis rate of the hydrogel

图 4. 水凝胶的溶血实验。(a) 水凝胶的溶血测定照片；(b) 水凝胶的溶血率

3.5. 体外凝血测试

为了评估水凝胶在体外血液环境中的促凝性能,本研究采用凝血指数(BCI)进行了测试。与未经处理的对照组血液相比,不同水凝胶与未凝集血细胞共孵育后,置于水中时凝血结构保持相对完整,不易发生崩解,因而洗涤液接近无色透明状态(如图 5(a))。经过一定时间孵育后,通过测定血红蛋白的吸光度计算得到 BCI 值。BCI 值越低,凝血效果越好。结果显示, Al@Ge/HA 水凝胶体系的凝血指数最低,显著低于空白组。这归因于水凝胶具有的较强吸附能力与多孔结构,能够为血细胞提供更多黏附与聚集的活性位点,从而促进血栓形成,并使被包裹于血凝块内的红细胞在水中不易破裂,茜素的加入会促进血液的凝固,可能是因为茜素会促进血小板聚集(如 5(b))。上述结果表明, Al@Ge/HA 水凝胶在体外表现出良好的止血活性。

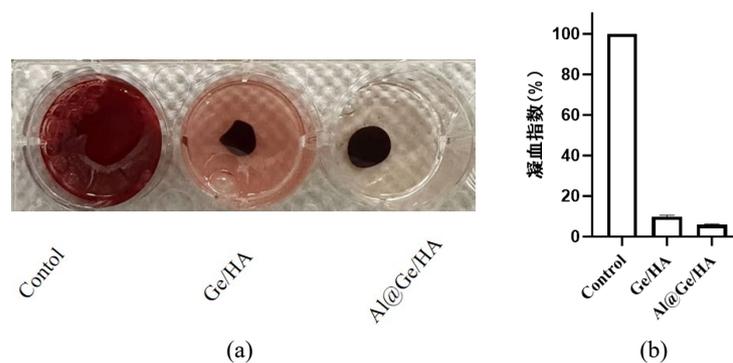


Figure 5. Blood coagulation test of the hydrogel. (a) Photographs of the blood coagulation assay of the hydrogel; (b) Blood coagulation index of the hydrogel

图 5. 水凝胶的凝血实验。(a) 水凝胶的凝血测定照片; (b) 水凝胶的凝血指数

3.6. 尾损伤实验

剪断大鼠尾巴后立即将等量的 Ge/HA、Al@Ge/HA 水凝胶应用于伤口。记录各组出血量,明显看到 Al@Ge/HA 水凝胶组失血最少。对照组(未治疗组)的失血量,达到 117.56 mg,相比之下, Al@Ge/HA 水凝胶显著阻止了出血,失血量最少。这表明通过水凝胶的粘附性和明胶、透明质酸和茜素的止血特性的综合作用,失血量减少到 26.44 mg。实验结果表明了 Al@Ge/HA 水凝胶优异的止血效果(图 6(a),图 6(b))。

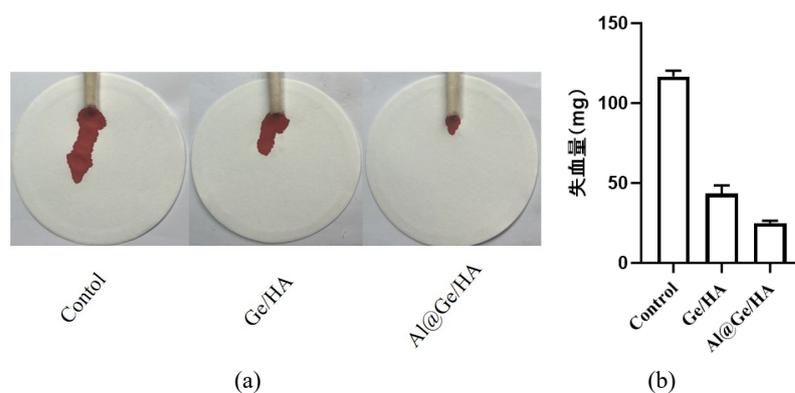


Figure 6. Tail injury test of the hydrogel. (a) Hemostatic effect on rat tail injury; (b) Blood loss volume of rat tail injury

图 6. 水凝胶的尾损伤。(a) 大鼠尾损伤止血效果; (b) 大鼠尾损伤失血量

3.7. 肝损伤实验

肝脏是一个极富挑战性的出血器官，能严格检验止血药的效果。在大鼠肝脏划伤模型中，Al@Ge/HA 的失血量是 32.23 mg，约为对照组的 8%，比没加茜素的水凝胶失血量少，表明茜素具有良好的止血效果。实验结果表明了 Al@Ge/HA 水凝胶优异的止血效果(图 7(a)，图 7(b))。

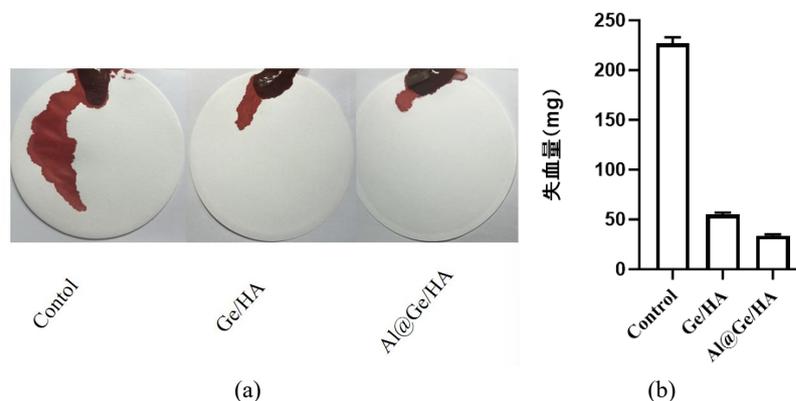


Figure 7. Liver injury test of the hydrogel. (a) Hemostatic effect on rat liver injury; (b) Blood loss volume of rat liver injury.

图 7. 水凝胶的肝损伤。(a) 大鼠肝损伤止血效果；(b) 大鼠肝损伤失血量

4. 结论

本研究以明胶和透明质酸为原料，以 EDC/NHS 作为催化剂，并且载入中药茜素制备了一种止血功效良好的水凝胶。溶血实验显示水凝胶的溶血百分比均在 5% 以下，符合国际对于止血材料的使用标准，展现其良好的血液相容性。通过体外凝血实验，动物 SD 大鼠尾损伤和肝损伤验证了其出色的止血效果，对于临床应用有着广阔的前景。

伦理声明

伦理批准号：HLK-20240522-007。

参考文献

- [1] Han, G. and Ceilley, R. (2017) Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. *Advances in Therapy*, **34**, 599-610. <https://doi.org/10.1007/s12325-017-0478-y>
- [2] Ramer, M.S., Priestley, J.V. and McMahon, S.B. (2000) Functional Regeneration of Sensory Axons into the Adult Spinal Cord. *Nature*, **403**, 312-316. <https://doi.org/10.1038/35002084>
- [3] 单鸣秋, 陈星, 李娟, 等. 茜草与茜草炭对大鼠急性血瘀模型的影响比较研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(3): 493-497.
- [4] 宋善俊, 王辨明, 沈迪, 等. 茜草对动物凝血过程的影响及作用机理[J]. 武汉医学院学报, 1979(2): 86-88.
- [5] Hu, H. and Xu, F. (2020) Rational Design and Latest Advances of Polysaccharide-Based Hydrogels for Wound Healing. *Biomaterials Science*, **8**, 2084-2101. <https://doi.org/10.1039/d0bm00055h>
- [6] Kamoun, E.A., Kenawy, E.S. and Chen, X. (2017) A Review on Polymeric Hydrogel Membranes for Wound Dressing Applications: PVA-Based Hydrogel Dressings. *Journal of Advanced Research*, **8**, 217-233. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.01.005>
- [7] Brumberg, V., Astrelina, T., Malivanova, T. and Samoilov, A. (2021) Modern Wound Dressings: Hydrogel Dressings. *Biomedicines*, **9**, Article No. 1235. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9091235>
- [8] Dumville, J.C., Deshpande, S., O'Meara, S. and Speak, K. (2013) Hydrocolloid Dressings for Healing Diabetic Foot Ulcers. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, **2013**, CD009099. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd009099.pub3>

-
- [9] Holmes, S.P., Rivera, S., Hooper, P.B., Slaven, J.E. and Que, S.K.T. (2022) Hydrocolloid Dressing versus Conventional Wound Care after Dermatologic Surgery. *JAAD International*, **6**, 37-42. <https://doi.org/10.1016/j.jdin.2021.11.002>
- [10] Chen, K.H., Chen, C.Y., Wang, W.R., Lee, Y.B., Chen, C. and Wong, P. (2024) Development and Evaluation of an Injectable ChitHCl-MgSO₄-DDA Hydrogel for Bone Regeneration: *In Vitro* and *in Vivo* Studies on Cell Migration and Osteogenesis Enhancement. *Biomaterials Advances*, **163**, Article ID: 213963. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2024.213963>