

· 基础研究 ·

## 温度/超声双重响应型相变液滴对水凝胶结构性能的调控

赵 婵, 刘 昊, 陈洁莹, 徐雪琴, 胡 克, 段 磊\*

南京医科大学生物医学工程系, 江苏 南京 211166

**[摘要]** 目的:制备温度/超声双重响应型脂质相变液滴(lipid phase-change droplet, LPCD),并将其与水凝胶进行复合,通过温度或低强度聚焦超声(low intensity focused ultrasound, LIFU)调控LPCD的内核发生液-气相转变,继而调控水凝胶的结构和力学性能。方法:首先通过薄膜水化法制备出脂质膜壳的全氟己烷(perfluorohexane, PFH)相变液滴,对其在温度和LIFU调控下的形貌变化、相转变能力进行表征,同时评估液-气相变前后LPCD的超声造影能力。在此基础上将其与水凝胶进行复合,通过各项表征评估温度/超声引起的液滴相变对水凝胶内部结构、浮力和机械性能的影响。结果:LPCD在温度或超声调控下有良好的相转变能力和超声造影能力。脂质液滴相变可使水凝胶内部生成直径在微米量级的诸多气孔,浮力得到显著提高,压缩应力和溶胀性能也有所变化。结论:脂质相变液滴-水凝胶复合材料(LPCD@Hy)是一种有潜力的智能响应型诊疗用微纳材料。

**[关键词]** 脂质相变液滴;水凝胶;造影剂;超声成像

**[中图分类号]** R318.5

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2022)07-948-09

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20220706

## Structure and properties regulation of hydrogels by temperature/ultrasound dual-responsive phase-change droplets

ZHAO Chan, LIU Hao, CHEN Jieying, XUE Xueqin, HU Ke, DUAN Lei\*

*Department of Biomedical Engineering, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China*

**[Abstract]** **Objective:** Prepare temperature/ultrasound dual-responsive lipid phase-change droplet (LPCD) and combine them with hydrogels to regulate liquid-gas transitions in the core of lipid droplets by temperature or low intensity focused ultrasound (LIFU), and then regulate the structure and mechanical properties of the hydrogels. **Methods:** Firstly, perfluorohexane (PFH) phase-change droplets of lipid membrane shell were prepared by thin-film hydration method. The morphological changes and phase transition ability under the control of temperature and LIFU were characterized. At the same time, the contrast-enhanced ability of LPCD before and after liquid-gas phase transition was evaluated. On this basis, it was combined with hydrogels, and the effects of temperature/ultrasound induced droplet transition on the internal structure, buoyancy and mechanical properties of hydrogels were evaluated by characterization. **Results:** LPCD had good phase transition ability and contrast-enhanced ultrasound ability under the control of temperature or ultrasound. Lipid droplet phase transitions caused many micropores inside the hydrogel, which significantly improved buoyancy, varying compressive stress and swelling properties. **Conclusion:** Lipid phase-change droplets-hydrogel composite material (LPCD@Hy) is a kind of potential intelligent response micro/nano material for diagnosis and treatment.

**[Key words]** lipid phase-change droplet; hydrogel; contrast agent; ultrasound imaging

[J Nanjing Med Univ, 2022, 42(07):948-956]

**[基金项目]** 国家重点研发计划(2019YFA0210104);国家自然科学基金(81701833);江苏省重点大学生创新创业训练计划项目(KY124J2019065)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: duanlei@njmu.edu.cn

相变液滴(phase-change droplet, PCD)是一种在微气泡研究基础上发展起来的具有液-气相变能力的诊疗一体化微纳材料<sup>[1]</sup>,相变液滴使用具有低溶解度和扩散率的全氟化碳(perfluorocarbon, PFC)作

为核心<sup>[2]</sup>, 使用白蛋白<sup>[3]</sup>、表面活性剂<sup>[4]</sup>、高分子聚合物<sup>[5]</sup>、脂质<sup>[6]</sup>等作为膜壳材料, 在其膜壳内外可进一步装载药物、蛋白等活性物质或氧化铁、金等纳米材料, 在外界温度、超声、磁场、激光等能量介导下, 其内核 PFC 可由液态转变为气态, 从而引起相变液滴结构、尺寸、超声成像能力、释药能力等一系列的变化, 赋予其“智能响应”能力。

水凝胶 (hydrogel, Hy) 是一类通过单体与亲水性基团的物理和化学交联, 形成的三维网络结构聚合物<sup>[7]</sup>, 可用于药物释放、组织工程和生物学研究等, 是良好的生物医用材料<sup>[8]</sup>。智能响应型水凝胶可以通过单体与交联方式等的改变实现其对 pH<sup>[9]</sup> 和温度<sup>[10]</sup> 等的响应, 进而实现逆体积转变或凝胶-溶胶转变等。但目前制备智能响应型水凝胶, 大多对原材料性能要求较高、成本高、制造工艺相对复杂, 且无法控制水凝胶的孔隙数量与尺度、无法引入治疗性气体; 与此同时, 提高其对外界响应的灵敏度和精准度也是一大挑战。

相变液滴与水凝胶的结合, 为水凝胶的智能调控赋予了新的思路, 将相变液滴作为中间媒介, 通过外部能量场对液滴相转变阈值的精准、联合调控, 间接影响水凝胶的结构与性能。这种新思路的优点在于: 一方面, 相变液滴本身即是一种优良的诊疗一体化载体材料, 在增强超声成像、药物/基因可控传递、高/低强度聚焦超声引导下的肿瘤消融等方面极具潜力, 相变液滴的引入不仅能赋予水凝胶以上诸多新功能, 还可通过对相变液滴的结构设计实现对外界刺激的快速、精确、多重响应; 另一方面, 这种通过间接响应达到智能调控的思路, 降低了对水凝胶单体和制备工艺的要求, 且可引入气体、可控制水凝胶的孔隙数量与尺寸, 对其结构和力学性能的调控将更加精准。相变液滴与水凝胶复合材料的研究近年来仍然较少报道, 主要的研究有: 作为细胞培养或组织工程支架, 调控细胞的生长迁移或生长因子的释放<sup>[11-12]</sup>; 作为药物载体, 进行局部药物递送等<sup>[13]</sup>。

基于以上思路, 本研究以脂质作为膜壳材料, 以全氟己烷 (perfluorohexane, PFH) 作为内核, 制备出脂质相变液滴 (lipid phase-change droplet, LPCD), 探究其对温度或低强度聚焦超声 (low intensity focused ultrasound, LIFU) 的响应能力及相变前后的超声造影能力, 并将其与光固化型水凝胶进行复合, 构建脂质相变液滴-水凝胶复合材料 (LPCD@Hy), 研究温度或 LIFU 对 LPCD@Hy 结构、浮力、压缩和溶胀等

力学性能的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1, 2-二棕榈酰-sn-甘油-3-磷脂酰胆碱 (1, 2-dipalmitoyl-sn-glycerol-3-phosphatidylcholine, DPPC)、二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇-羧基 (distearoyl phosphatidylethanolamine polyethylene glycol carboxyl, DSPE-PEG-COOH)、全氟己烷 (perfluorohexane, PFH)、聚乙二醇二丙烯酸酯 [poly (ethylene glycol) diacrylate, PEGDA] 和 N, N'-亚甲基双丙烯酰胺 [N, N'-methylenebis (acrylamide), BIS] (上海阿拉丁控股集团有限公司); 胆固醇 (cholesterol) (上海赛默飞世尔科技中国有限公司); 三氯甲烷和甲醇 (上海国药集团化学试剂有限公司); 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) (江苏凯基生物技术股份有限公司); 苯基-2, 4, 6-三甲基苯甲酰基膦酸锂 (lithium phenyl-2, 4, 6-trimethylbenzoyl phosphonate, LAP) (江阴司特易生物技术有限公司); 细胞膜红色荧光探针 (1, 1'-dioctadecyl-3, 3, 3', 3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate, DiI) 和细胞膜绿色荧光探针 (3, 3'-dioctadecyloxycarbocyanine, DiO) (上海碧云天生物科技有限公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 LPCD 的制备

采用薄膜水化法<sup>[14]</sup>制备 LPCD, 将 DPPC、胆固醇和 DSPE-PEG-COOH 按照 5:1:0.78 质量比溶于有机溶剂中, 溶剂由三氯甲烷和甲醇按照 9:1 的体积比配备而成, 加入 50  $\mu$ L 1 mmol/L 的 DiI 或 DiO 溶液 (DiI 或 DiO 染色 LPCD)。40  $^{\circ}$ C 旋转蒸发仪 (上海贤德实验仪器有限公司) 旋转 2 h 后, 放入真空干燥箱中过夜, 加入 30 mL PBS 缓冲液旋转蒸发仪水化 2 h。水化后加入 300  $\mu$ L PFH, 使用超声波细胞破碎仪 (南京先欧仪器制备有限公司) 超声 5 min, 功率为 130 W, 得到 LPCD。

#### 1.2.2 LPCD 的结构和粒径表征

使用光学显微镜 (Life Technologies 公司, 美国) 和扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM) (JEOL 公司, 日本) 观察 LPCD 的形貌、大小及膜壳情况。使用粒度仪 (Anton Paar 公司, 奥地利) 测定 LPCD 在常温下的粒径分布和 zeta 电位。

#### 1.2.3 LPCD 相变温度阈值的确定

使用粒度仪分别测定 LPCD 在常温、56  $^{\circ}$ C、60  $^{\circ}$ C、66  $^{\circ}$ C 的粒径大小, 分析其在核心 PFH 相转变

温度附近的粒径变化。并通过光学显微镜观察相转变前后的形貌变化。

#### 1.2.4 超声对LPCD粒径的调控

制备与人体软组织声阻抗相似的体模,体模中有1个用于注入样品的孔洞,将样品注入体模后,使用低强度聚焦超声(low intensity focused ultrasound, LIFU)(深圳一粟医疗科技有限公司)经体模照射LPCD,观察LPCD液-气相变现象。超声探头距离样品约1 cm,超声频率为840 kHz,输出功率为7.3 W,脉冲重复周期为20 ms,脉冲持续时间为8 ms。在超声时间分别为0、10、15、20 min时,光学显微镜下观察LPCD的粒径和形貌的变化。

#### 1.2.5 液-气相变对LPCD超声造影能力的影响

将相变前和相变后的LPCD样品注入体模,使用小动物超声成像系统(Visual Sonics公司,加拿大)进行成像,超声探头频率为18 MHz,增益为30 dB。并通过荧光显微镜(OLYMPUS公司,日本)观察相转变前后的形貌变化。

#### 1.2.6 LPCD@Hy的制备

将PEGDA、LAP、BIS按照摩尔比3.6:1.7:1放入LPCD溶液中,加入适量的DiI溶液对整个水凝胶染色(浮力实验),待完全溶解后,取160  $\mu$ L溶液于模具中,405 nm蓝紫光固化15 s,得到LPCD@Hy。单纯水凝胶(Hy)的制备方法与LPCD@Hy相似,只需将第一步中的LPCD溶液换成PBS即可。

#### 1.2.7 温度对LPCD@Hy结构的调控

使用荧光显微镜、场发射SEM(FEI公司,美国)和小动物CT(苏州海斯菲德信息科技有限公司)观察25  $^{\circ}$ C和65  $^{\circ}$ C加热3 min后LPCD@Hy的内部结构。

SEM样品制备:将25  $^{\circ}$ C和65  $^{\circ}$ C加热3 min后的LPCD@Hy放入西林瓶中冻干,撕成长条状,喷金,观察剖面的孔洞和网络结构。

小动物CT成像参数:X线管扫描条件设置为60 kV和133  $\mu$ A,单次曝光时间为50 ms,扫描分辨率为50  $\mu$ m,扫描角度间隔0.5 $^{\circ}$ 。成像后对图像进行三维重建,得到LPCD@Hy的三维立体图。

#### 1.2.8 超声对LPCD@Hy结构的调控

将LPCD@Hy放入盛有PBS的6孔板中,超声探头对准6孔板,和PBS的液面直接接触,探头距离LPCD@Hy约2 cm,超声参数与1.2.4相同。在超声时间分别为0、10、30、50、60 min时,荧光显微镜下观察水凝胶中LPCD的粒径和形貌的变化。

#### 1.2.9 温度/超声对LPCD@Hy浮力的调控

将Hy和LPCD@Hy装入带有刻度封闭透明玻

璃瓶中,65  $^{\circ}$ C水浴加热,观察水凝胶的浮力变化,然后将加热后的水凝胶放入4  $^{\circ}$ C冰箱,观察降温对水凝胶浮力的影响;用LIFU照射Hy和LPCD@Hy,步骤与1.2.6相同,观察LIFU对水凝胶中LPCD的作用,及其引起的水凝胶内部结构和浮力的改变,最后用125 W超声初步评估水凝胶中LPCD相变后形成的微气泡破碎所需超声参数。

#### 1.2.10 液-气相变对LPCD@Hy机械性能的调控

压缩性能:将Hy和LPCD@Hy制备成直径约10 mm,高4 mm的圆柱体。样品分为Hy 25  $^{\circ}$ C组、Hy 65  $^{\circ}$ C组、LPCD@Hy 25  $^{\circ}$ C组、LPCD@Hy 65  $^{\circ}$ C组。使用生物材料力学性能测试系统(MTS公司,美国)进行压缩,压缩程度为85%,每个样品重复3次。

溶胀性能:通过称重法测量水凝胶的溶胀率,样品分为Hy 37  $^{\circ}$ C组、Hy 65  $^{\circ}$ C组、LPCD@Hy 37  $^{\circ}$ C组、LPCD@Hy 65  $^{\circ}$ C组。每隔一段时间取出水凝胶,用湿润的吸水纸擦去水凝胶表面的水,然后用天平称重,得到 $W_t$ ,待水凝胶溶胀达到平衡后,取出水凝胶冻干,得到干凝胶的重量 $W_0$ ,计算水凝胶的溶胀率:溶胀率= $(W_t - W_0) / W_0 \times 100\%$ 。

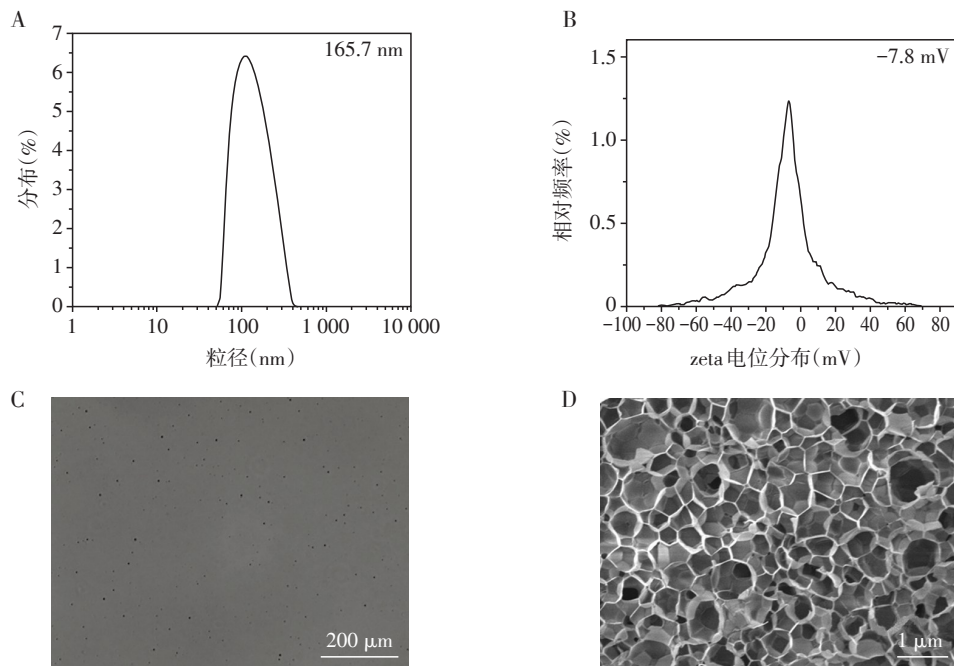
## 2 结果

### 2.1 LPCD粒径和形貌表征

常温时(25  $^{\circ}$ C)LPCD的平均水动力尺寸为165.7 nm(图1A),zeta电位为-7.8 mV(图1B),说明液-气相变前,LPCD处于纳米尺度。这一尺度使其在光学显微镜下很难被观察到(图1C),进一步通过SEM进行表征(图1D),可以清晰地观察到LPCD的空壳结构,在SEM拍摄过程中,由于电子束的作用使得相变液滴内核瞬间汽化,导致LPCD粒径增大,直至膜壳破裂,形成了大量直径在微米量级的空腔结构,这也一定程度上验证了LPCD在外界刺激下的液-气相转变能力及相转变所引起的尺度变化情况。

### 2.2 温度/超声对LPCD粒径的调控

相变液滴的内核成分PFC在环境温度超过其沸点或压力大于汽化阈值时,可以实现从液态到气态的转变。PFH是一种常用的PFC,沸点为56  $^{\circ}$ C,在37  $^{\circ}$ C下相对稳定<sup>[15]</sup>,且在重复激活方面表现优异<sup>[16]</sup>,因此本研究使用PFH作为LPCD的液态核心。脂质膜壳的包裹通常会对PFH的相转变能力产生影响,改变其发生相转变的阈值温度,通过对常温、56  $^{\circ}$ C、60  $^{\circ}$ C、66  $^{\circ}$ C条件下,LPCD粒径和zeta电位的检测,明确了LPCD的相变温度。



A:LPCD 粒径分布;B:LPCD zeta 电位;C:LPCD 光学显微镜图片;D:LPCD 扫描电镜图片。

图1 25 °C时LPCD 的表征

Figure 1 Characterization of LPCD at 25 °C

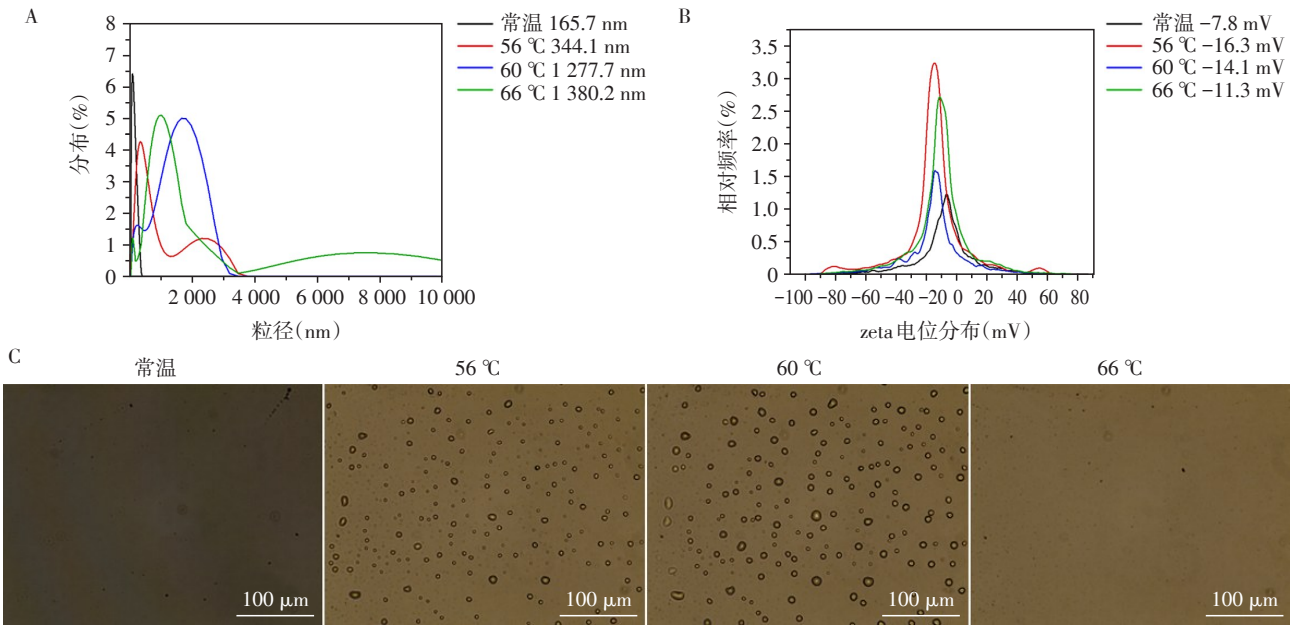
图2A为不同温度下LPCD的粒径分布变化情况,可以看出当温度升高至PFH的相变温度56 °C时,LPCD的平均水动力尺寸由165.7 nm增加至344.1 nm,粒径分布出现了双峰,说明此时一部分相变液滴内核发生明显汽化,粒径增加明显形成了微米粒度峰,而另一部分相变液滴内核还未发生明显汽化,粒径稍许增加保持纳米粒度峰;当温度升至60 °C时,LPCD的平均水动力尺寸增长至1 277.7 nm,粒径分布成为单峰,说明此时,绝大部分LPCD的内核均发生了明显液气相变,成为粒径为微米级的脂质微气泡;当温度继续升高至66 °C时,LPCD的平均水动力尺寸继续增加为1 380.2 nm,而粒径分布又一次出现双峰趋势,这是因为随着温度的进一步升高,内核进一步汽化,导致部分微气泡继续长大甚至破裂,留下粒径较小的微气泡稳定存在,使原来的单峰分化为双峰。图2B为不同温度下LPCD的zeta电位变化情况,表明温度变化不会对其表面zeta电位造成太大影响。光学显微镜下观察,也直观地验证了以上粒径变化的结果(图2C)。以上结果表明,使LPCD发生较完全相变的温度范围在60 °C至65 °C之间,此时LPCD的粒径会由纳米尺度变化为微米尺度。

温度调控LPCD相变需要将温度升高到PFH的相变点56 °C以上,这在体内应用时比较受限。压力

的变化也能够引起液滴发生相变,称为声液滴汽化现象(acoustic droplet vaporization, ADV)。超声具有无创、无辐射、成本低等特点<sup>[17-18]</sup>,尤其是低强度聚焦超声,在临床上具有较高的应用安全性,可作为声液滴汽化的激励源。图3为LIFU照射0、10、15、20 min时LPCD的光学显微镜图。可以观察到超声照射15~20 min时,部分LPCD发生明显相变,粒径显著增加至微米量级。随着超声照射时间的延长,发生液-气相转变的LPCD数量逐渐增多。以上实验结果表明,温度/超声调控下LPCD的粒径均能够发生巨大变化,这赋予了LPCD良好的应用潜力。

### 2.3 液-气相变对LPCD超声造影能力的影响

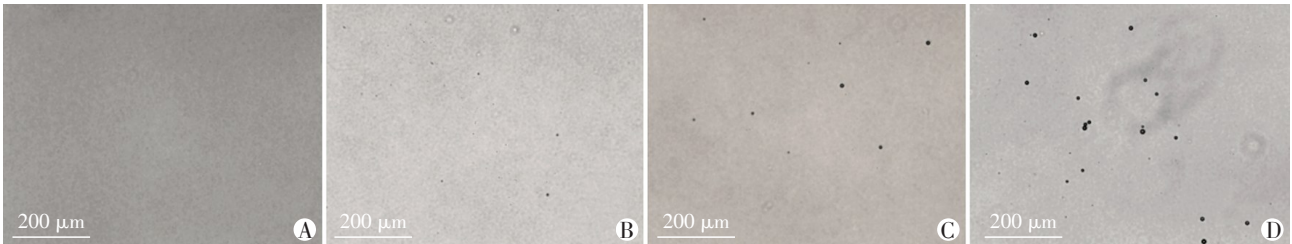
内核液-气相变使得纳米级液滴变为微米级气泡,理论上可显著提高其超声造影能力,图4是相变前、后LPCD的体外超声成像结果。可以看出无论是B-模式还是造影模式,发生相变之后LPCD的超声图像灰度均高于相变之前(图4A),说明相变液滴液-气相转变能够增强超声成像效果。图4B为造影模式下,相变前、后LPCD的平均信号强度随时间变化曲线,可以看出,相变后LPCD的超声图像增强时间可持续4 min以上,在造影开始的1 min内信号强度最高,之后由于微气泡逐渐发生团聚、破裂等现象,导致超声造影能力逐渐减弱。图4B中也给出了LPCD相变前后的荧光显微镜图片,可以观察到相



A:LPCD 在室温、56 °C、60 °C、66 °C 的粒径分布;B:LPCD 在室温、56 °C、60 °C、66 °C 的zeta电位;C:LPCD 在室温、56 °C、60 °C、66 °C 的光学显微镜图片。

图2 温度对LPCD粒径的调控

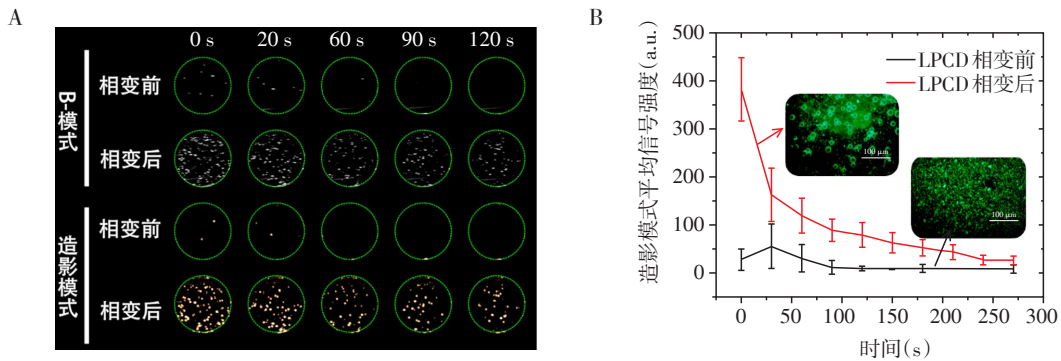
Figure 2 Regulation of temperature on particle size of LPCD



A:B:C:D: 超声照射0、10、15、20 min LPCD 的光学显微镜图。

图3 超声对LPCD粒径的调控

Figure 3 Regulation of ultrasound on particle size of LPCD



A:LPCD 在B模式和造影模式下的超声图像;B:LPCD 在造影模式下的信号强度曲线。

图4 LPCD的体外超声成像图片

Figure 4 Ultrasound images of LPCD *in vitro*

变前后其形貌的明显变化。

#### 2.4 温度/超声对LPCD@Hy结构的调控

将LPCD与水凝胶复合后,分别对25 °C与65 °C

加热3 min后的LPCD@Hy结构进行表征,研究液滴相变对水凝胶结构的影响。图5为加热前后,LPCD@Hy的宏观形貌、CT、荧光显微镜和扫描电镜

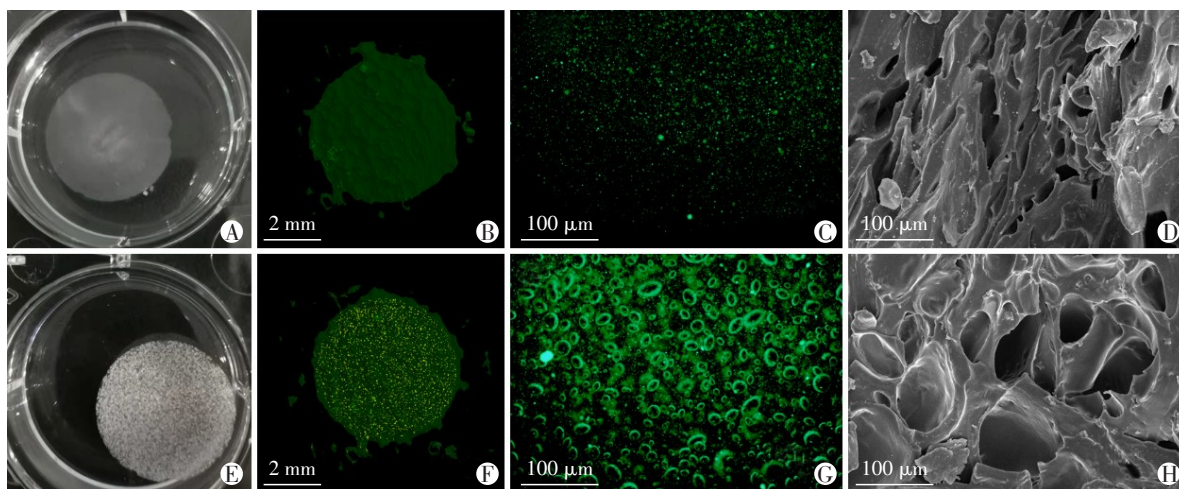
观察结果。可以看出温控下液滴的相变形成的气泡,可以使水凝胶内部形成密集的孔洞,如图5A中白色空泡和图5E中黄色亮点所示,由于水凝胶内部网络结构的限制,孔洞形状大部分呈梭形而非球形(图5G),直径在几十微米量级,尺寸大于水凝胶自身的空隙结构(图5H)。

虽然温度能够通过调节LPCD相变调控水凝胶的内部结构,但超声是更为有效和实用的方法。前述实验已经证实LIFU能够促使LPCD在水溶液中发生相变,但液滴汽化的声压阈值与周围介质的硬度和黏度有关,因此,本文通过荧光显微镜观察,探究了不同照射时间下LPCD在水凝胶中的相变情况,研究超声调控下液滴相变对水凝胶结构的影响。图6为LIFU照射0、10、30、50、60 min时LPCD@Hy的荧光显微镜图。可以观察到,随着照

射时间的增长,LPCD在水凝胶中的相变程度不断增大,逐步形成大量百微米量级的气孔。与温度调控相比,超声调控可通过对照射时间和强度的调节,实现在特定的时间和空间位置,对水凝胶结构的更精准和连续调控。上述表征结果证实了相变液滴可以作为中间媒介,通过响应外部温度或超声变化,间接而明显地改变水凝胶的结构。为水凝胶在细胞培养、组织工程和药物递送等方面的应用提供了新思路。

### 2.5 温度/超声对LPCD@Hy浮力的调控

理论上,LPCD@Hy内部结构的变化会对其性能造成影响。图7A直观地表明液滴相变会引起水凝胶浮力的显著变化,外部温度或超声能量的介导,均无法使未与相变液滴复合的水凝胶Hy浮力发生变化,而与相变液滴复合的水凝胶LPCD@Hy,



A~D:25 °C时 LPCD@Hy 的宏观、CT、荧光显微镜、扫描电子显微镜图像;E~H:65 °C时 LPCD@Hy 的宏观、CT、荧光显微镜、扫描电子显微镜图像。

图5 温度对LPCD@Hy结构的调控

Figure 5 Regulation of temperature on the structure of LPCD@Hy

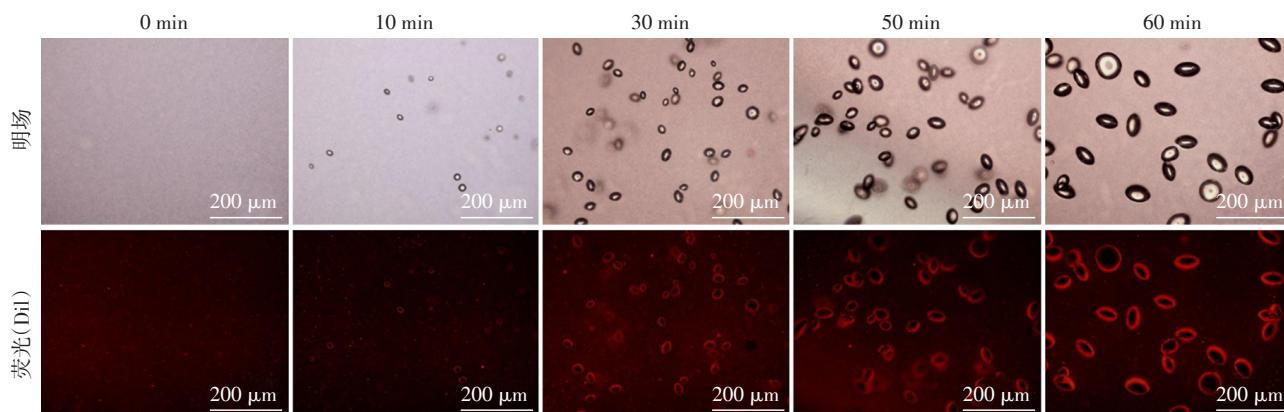
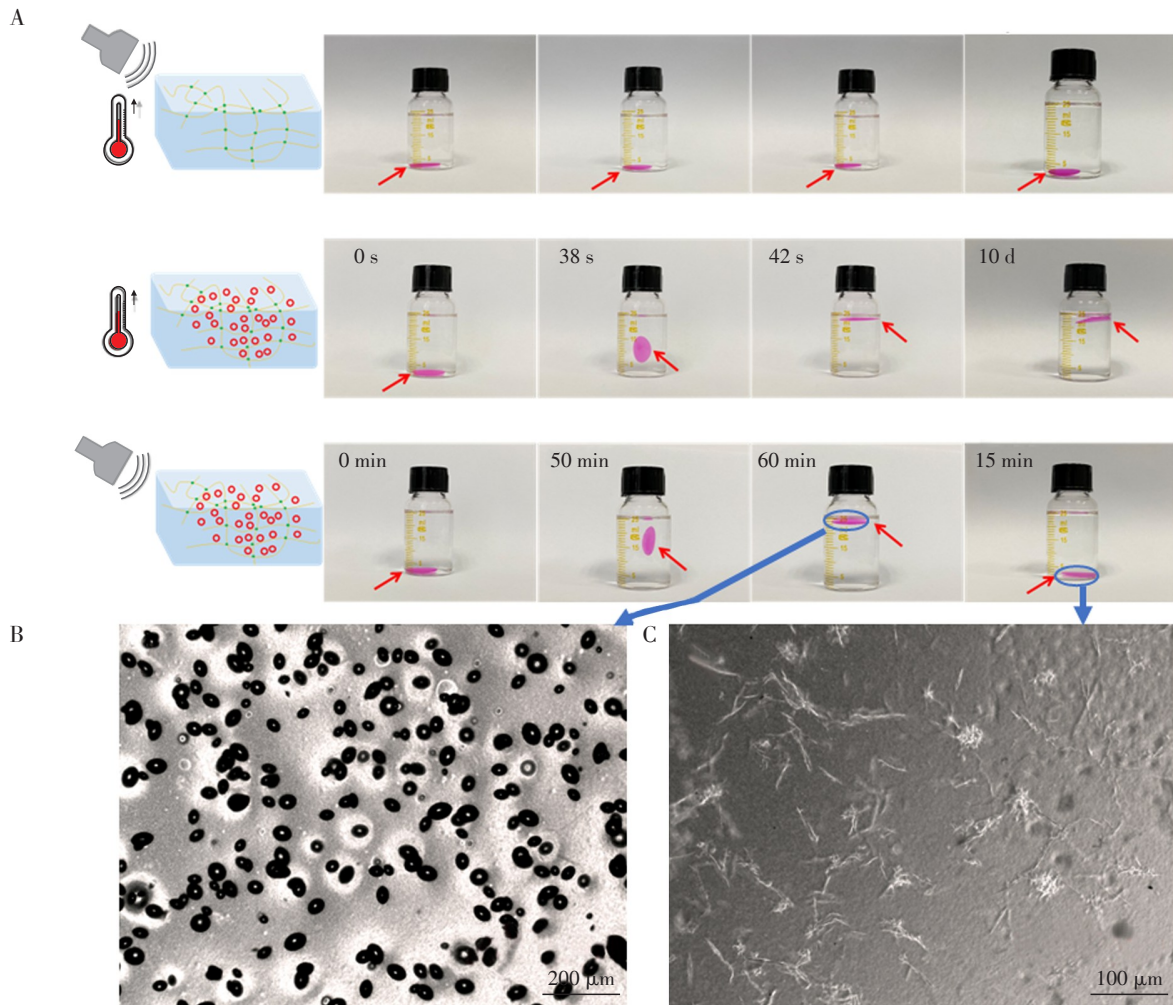


图6 超声对LPCD@Hy结构的调控

Figure 6 Regulation of ultrasound on the structure of LPCD@Hy

65 °C加热 32~42 s 即开始浮起并最终稳定漂浮于液面上,降温至 4 °C 未明显改变水凝胶在水溶液中的位置,说明降温未对水凝胶的结构和浮力产生明显影响。同样,LPCD@Hy 在 LIFU 照射 50 min 时开始浮起,60 min 时能够稳定地漂浮在液面上。当增大超声功率至 125 W 照射 15 min 后,LPCD@Hy 再次下沉至溶液底部,光学显微镜观察发现 125 W 超声作

用前后水凝胶的结构发生了明显变化,超声前水凝胶中存在的大量微米级气泡(图 7B),超声作用后气泡消失(图 7C),表明调节超声强度和作用时间,不仅可以使水凝胶中的 LPCD 发生相变,还可以产生破裂。以上结果提示,与 LPCD 的结合不仅可将气体成分引入水凝胶,还可通过对温度和超声的更细致调控,精准控制水凝胶在溶液或血液中的位置。



A: 温度/超声调控下 Hy 与 LPCD@Hy 的浮力变化; B: 125 W 超声作用前 LPCD@Hy 的光学显微镜图; C: 125 W 超声作用后 LPCD@Hy 的光学显微镜图。

图 7 LPCD@Hy 温度/超声调控下的浮力变化

Figure 7 Buoyancy variation of LPCD@Hy under temperature / ultrasound regulation

### 2.6 液-气相变对 LPCD@Hy 机械性能的影响

为了对比 LPCD 液-气相变对水凝胶压缩性能和溶胀性能的改变,通过加热的方式使水凝胶中的 LPCD 发生相转变,因为相比于超声,温度升高时水凝胶受热更均匀,LPCD 相转变更完全,水凝胶整体结构的改变更显著。首先,分析了液滴引入对水凝胶压缩性能的影响。图 8A 中的压缩应力-应变曲线

表明,未复合相变液滴的水凝胶 Hy,升温前后的应力曲线变化不大,说明升温对水凝胶自身的机械性能影响较小。而复合了相变液滴的水凝胶 LPCD@Hy,与 Hy 相比表现出较低的压缩强度,这是因为液滴的加入使得水凝胶的内部有了新的结构单元,交联网络更加不规则,导致凝胶强度降低。另一方面,升温对 LPCD@Hy 的压缩性能也会产生

影响。65 °C加热后,在压缩应变为60%时,压缩应力从21.06 kPa上升到28.99 kPa,而最大压缩应变由71.22%降低到65.44%,这是因为相变液滴在此过程成为微气泡,原本的液态内核成为气态,使凝胶抗压能力增强;而微气泡进一步撑大了水凝胶的网络结构,增加了其结构的不规则度,使其增强硬度的同时降低了韧性。

水凝胶的溶胀率是评价水凝胶性能的重要指标,也在一定程度上影响水凝胶在各方面的应用。图8B中溶胀率随时间的变化曲线表明,未复合相变液滴的水凝胶Hy升温后的溶胀速率和平衡溶胀率大于37 °C升温前,说明升温使得水凝胶网络结构变得疏松,对溶胀产生较大影响。而复合了相变液滴的水凝胶LPCD@Hy,与Hy相比,在37 °C和65 °C都表现出较低的溶胀率,这是因为LPCD在水凝胶网络结构中起一定的支撑和空间占据的作用,导致37 °C时水凝胶不容易发生溶胀;另一方面,65 °C时LPCD粒径变为微米级,在水凝胶网络结构中占据一定的空间,使得外环境的PBS溶液无法进入水凝胶内部。这也说明LPCD的加入使得水凝胶的网络更加稳定,溶胀性能相对减小。通过4条曲线的对比,可以发现水凝胶的溶胀率在温度较高时表现出一定的退溶胀性质,随后在不同的条件下均随时间逐渐增大至平台期。

### 3 讨论

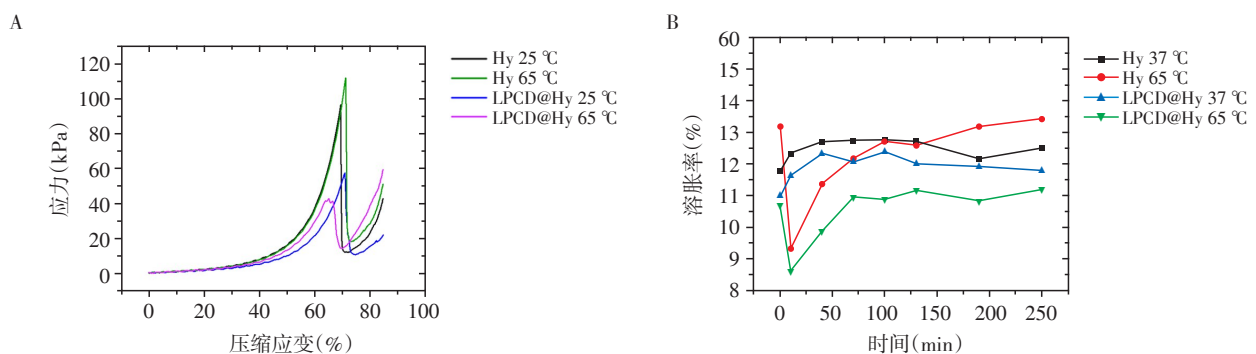
相变液滴与智能响应水凝胶均是近年来研究的热点,而将两者结合,设计能够响应外部多种激励的复合水凝胶的研究还鲜有报道。本研究制备了一种温度/超声双重响应型脂质相变液滴,并对其在温度/超声激励下的相转变能力,液-气相变前后

的超声造影能力进行评估,同时,当其与水凝胶复合后,研究了温度/超声激励下,相变液滴对水凝胶的结构与性能的调控。

在温度和超声调控下,脂质相变液滴能够发生液-气相转变,由纳米级液滴蒸发形成微米级气泡。和温度产生的单纯热效应相比,超声能够通过空化作用、机械作用等综合效应刺激液滴发生相变<sup>[19]</sup>。相变液滴相转变后能够增强超声造影效果,主要是由于与纳米液滴相比,微米级气泡有更大的散射面积,内核气体也比液体有更大的声阻抗,从而可以有效反射声波。外部激励对相变液滴超声造影能力的调控,一定程度上解决了传统微气泡的应用弊端。外界激励前,PFC核心保持液态,相变液滴粒径处于纳米量级,在血管内有较好的循环稳定性<sup>[20]</sup>,且可以通过血管壁扩张进入病变组织,克服了传统微气泡由于微米尺度的限制易被网状内皮系统清除<sup>[21]</sup>,无法透过血管进入肿瘤组织内部,从而仅适用于血管造影的不足;外界能量激励之后,纳米液滴转化为微气泡,又克服了纳米尺度造影剂对超声信号的增强作用不足的弊端。

和水凝胶结合后,在温度和超声的调控下,相变液滴同样能够发生液-气相转变,在水凝胶内部形成大量孔洞,从而改变水凝胶内部的结构;同时,能够通过调节相变液滴的相变程度控制水凝胶浮力的变化。除此之外,液-气相转变会影响水凝胶的机械性能,相变液滴的引入会降低水凝胶的压缩强度,升温后,使水凝胶的硬度增加,韧性下降。本文研究了温度和超声场对相变液滴-水凝胶复合材料的调控,但在超声对水凝胶结构性能变化的更精准调控方面,还有待进一步深入。

综上所述,本研究制备了一种温度/超声双重



A: 相变液滴-水凝胶复合材料的压缩应力-应变曲线; B: 相变液滴-水凝胶复合材料的溶胀率-时间曲线。

图8 相变液滴-水凝胶复合材料的压缩和溶胀性能

Figure 8 Compression and swelling properties of phase-change droplets-hydrogel composites



响应型脂质相变液滴,可在温度/超声激励下实现液-气相转变,能有效提高相变液滴的超声造影能力,同时,当与水凝胶复合后,通过温度/超声激励,可以间接调控水凝胶的结构与性能。该研究目前尚处于初步阶段,后续将从以下几个方面深入:优化相变液滴的结构,构建适用于体内应用的低沸点相变液滴;对相变液滴进行精准调控,细化超声参数,并探索不同尺寸相变液滴液-气相变所需的超声强度阈值;研究水凝胶结构和力学性能的改变对药物释放、组织工程、细胞培养等应用的影响。

## [参考文献]

- [1] KRIPFGANS O D, FOWLKES J B, MILLER D L, et al. Acoustic droplet vaporization for therapeutic and diagnostic applications [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2000, 26(7): 1177-1189
- [2] STROHM E, RUI M, GORELIKOV I, et al. Vaporization of perfluorocarbon droplets using optical irradiation [J]. *Biomed Opt Express*, 2011, 2(6): 1432-1442
- [3] QIN D, ZHANG L, CHANG N, et al. In situ observation of single cell response to acoustic droplet vaporization: membrane deformation, permeabilization, and blebbing [J]. *Ultrason Sonochemistry*, 2018, 47: 141-150
- [4] XU S S, CHANG N, WANG R, et al. Acoustic droplet vaporization and inertial cavitation thresholds and efficiencies of nanodroplets emulsions inside the focused region using a dual-frequency ring focused ultrasound [J]. *Ultrason Sonochemistry*, 2018, 48: 532-537
- [5] CAI C, LI X, WANG Y, et al. Polydopamine-coated gold core/hollow mesoporous silica shell particles as a nano-platform for multimode imaging and photothermal therapy of tumors [J]. *Chem Eng J*, 2019, 362: 842-850
- [6] SHENG D L, DENG L M, LI P, et al. Perfluorocarbon nanodroplets with deep tumor penetration and controlled drug delivery for ultrasound/fluorescence imaging guided breast cancer therapy [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2021, 7(2): 605-616
- [7] NAAHIDI S, JAFARI M, LOGAN M, et al. Biocompatibility of hydrogel-based scaffolds for tissue engineering applications [J]. *Biotechnol Adv*, 2017, 35(5): 530-544
- [8] LIU X Y, LIU J, LIN S T, et al. Hydrogel machines [J]. *Mater Today*, 2020, 36: 102-124
- [9] 岳 珍. 温度/pH 双敏感型水凝胶的制备及其药物缓释性能的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2019
- [10] CHI J J, ZHANG X X, CHEN C W, et al. Antibacterial and angiogenic chitosan microneedle array patch for promoting wound healing [J]. *Bioact Mater*, 2020, 5(2): 253-259
- [11] HUANG L D, QUESADA C, ALIABOUZAR M, et al. Spatially - directed angiogenesis using ultrasound - controlled release of basic fibroblast growth factor from acoustically-responsive scaffolds [J]. *Acta Biomater*, 2021, 129: 73-83
- [12] DONG X X, LU X F, KINGSTON K, et al. Controlled delivery of basic fibroblast growth factor (bFGF) using acoustic droplet vaporization stimulates endothelial network formation [J]. *Acta Biomater*, 2019, 97: 409-419
- [13] SOTO F, JEERAPAN I, SILVA-LÓPEZ C, et al. Noninvasive transdermal delivery system of lidocaine using an acoustic droplet - vaporization based wearable patch [J]. *Small Weinheim Der Bergstrasse Ger*, 2018, 14(49): e1803266
- [14] WANG Y T, CHEN C, LUO Y, et al. Experimental study of tumor therapy mediated by multimodal imaging based on a biological targeting synergistic agent [J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 1871-1888
- [15] CHANG N, QIN D, WU P Y, et al. IR780 loaded perfluorohexane nanodroplets for efficient sonodynamic effect induced by short-pulsed focused ultrasound [J]. *Ultrason Sonochemistry*, 2019, 53: 59-67
- [16] MOUNTFORD P A, THOMAS A N, BORDEN M A. Thermal activation of superheated lipid-coated perfluorocarbon drops [J]. *Langmuir*, 2015, 31(16): 4627-4634
- [17] ZHANG L, YI H J, SONG J, et al. Mitochondria-targeted and ultrasound-activated nanodroplets for enhanced deep-penetration sonodynamic cancer therapy [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(9): 9355-9366
- [18] LI J P, JI H, JING Y, et al. pH-and acoustic-responsive platforms based on perfluoropentane - loaded protein nanoparticles for ovarian tumor-targeted ultrasound imaging and therapy [J]. *Nanoscale Res Lett*, 2020, 15(1): 31
- [19] RAPOPORT N Y, KENNEDY A M, SHEA J E, et al. Controlled and targeted tumor chemotherapy by ultrasound-activated nanoemulsions/microbubbles [J]. *J Control Release*, 2009, 138(3): 268-276
- [20] YOO K, WALKER W R, WILLIAMS R, et al. Impact of encapsulation on in vitro and in vivo performance of volatile nanoscale phase - shift perfluorocarbon droplets [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2018, 44(8): 1836-1852
- [21] BARREIRO O, AGUILAR R J, TEJERA E, et al. Specific targeting of human inflamed endothelium and in situ vascular tissue transfection by the use of ultrasound contrast agents [J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2009, 2(8): 997-1005

[收稿日期] 2022-04-13

(责任编辑:蒋 莉)