

多糖基温敏可注射型水凝胶的研究与应用进展

孙萌^{1,3}, 孙惠^{1,3}, 姜硕^{1,3}, 田野^{1,2,3*}, 刘鹰^{2,3}, 李苗⁴

(1. 大连海洋大学 海洋科技与环境学院, 辽宁 大连 116023; 2. 浙江大学 生物系统工程与食品科学学院, 浙江 杭州 310058; 3. 大连海洋大学 设施渔业教育部重点实验室, 辽宁 大连 116023; 4. 大连工业大学 生物工程学院, 辽宁 大连 116034)

摘要: 多糖基温敏可注射型水凝胶作为一类智能软物质材料, 在不同温度的刺激下能够实现液态溶胶-固态凝胶的可逆转变, 具有生物相容性高、生物降解性强及物理和化学特性可调控等优势, 在生物医学领域受到了广泛关注。该文概括了温敏可注射型水凝胶的溶胶-凝胶相转变机理; 阐述了设计与合成多糖基温敏可注射型水凝胶的策略, 包括小分子基团修饰多糖、合成型温敏聚合物接枝多糖、添加剂改性多糖; 综述了多糖基温敏可注射型水凝胶在伤口愈合、药物递送和软骨修复生物医学领域中的应用, 并对该领域存在的优化原料组成及设计策略、开发多样化环境刺激响应、增强机械强度和稳定性三方面的挑战提出建议; 最后, 对拓展多糖基水凝胶产品应用范围、加速推进其大范围临床应用进行了展望。

关键词: 可注射型; 水凝胶; 多糖; 温度敏感性; 伤口愈合; 药物递送; 软骨修复

中图分类号: TQ427.26 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2024) 08-1679-14

Research and application progress on polysaccharides-based thermosensitive injectable hydrogels

SUN Meng^{1,3}, SUN Hui^{1,3}, JIANG Shuo^{1,3}, TIAN Ye^{1,2,3*}, LIU Ying^{2,3}, LI Miao⁴

(1. College of Marine Science and Environment, Dalian Ocean University, Dalian 116023, Liaoning, China; 2. College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang, China; 3. Key Laboratory of Environment Controlled Aquaculture, Dalian Ocean University, Dalian 116023, Liaoning, China; 4. School of Biological Engineering, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, Liaoning, China)

Abstract: Polysaccharides-based thermosensitive injectable hydrogels, a class of smart soft-matter materials which are capable of achieving reversible liquid-solid transition under temperature stimuli and show the advantages of high biocompatibility, biodegradability, and tunable physical and chemical properties, have attracted wide attention in the biomedical field. Herein, the sol-gel phase transition mechanism of thermosensitive injectable hydrogels was summarized. The strategies for design and synthesis of polysaccharides-based thermosensitive injectable hydrogels, including small molecule group modified polysaccharides, synthetic thermosensitive polymer grafted polysaccharides, additive modified polysaccharides, were described. The applications of polysaccharides-based thermosensitive injectable hydrogels in the biomedical field such as wound healing, drug delivery and cartilage repair were reviewed. The challenges of optimizing raw material composition and design strategy, developing diversified environmental stimulus responses, and enhancing mechanical strength and stability were also discussed. Finally, the prospect of expanding the application scope of polysaccharide-based hydrogel and accelerating their wide-scale clinical application was proposed.

收稿日期: 2023-11-01; 定用日期: 2023-12-15; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230931

基金项目: 国家自然科学基金项目(22108024、31901775); 辽宁省自然科学基金资助计划(面上)项目(2023-MS-285); 辽宁省教育厅高校基本科研项目(20220062); 大连市青年科技之星项目(2021RQ113、2022RQ016); 设施渔业教育部重点实验室(大连海洋大学)资助项目(202224)

作者简介: 孙萌(1999—), 女, 硕士生, E-mail: sunmeng04262022@163.com. 联系人: 田野(1986—), 男, 副教授, E-mail: tianye@dloou.edu.cn.

Key words: injectable type; hydrogels; polysaccharides; thermosensitivity; wound healing; drug delivery; cartilage repair

水凝胶是由亲水性聚合物通过物理或化学交联合成的一类具有三维网络结构的亲水性高分子材料^[1-3]。通过对聚合物的功能化改性,可使水凝胶具有良好的生物相容性、生物降解性、组织黏附性以及力学性能。目前,水凝胶材料已广泛应用于伤口愈合敷料^[4]、药物输送^[5]、软骨修复^[6]等生物医学领域。然而,传统的水凝胶材料在医学临床应用时不能准确地与周围伤口组织缺损处融合,而且侵入性植入很可能导致伤口的二次损伤^[7]。可注射型水凝胶具有操作简单、微创给药和低注射成本等优势,此外,它们既可以填充小而规则的损伤创口,也可以植入到有需求但难以到达的治疗部位,并在生理条件下逐渐进行溶胶-凝胶相转变,进而实现精准治疗的目的^[8-10]。

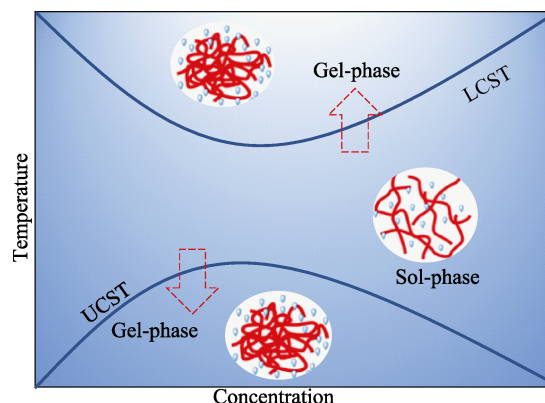
刺激响应型可注射水凝胶是指在 pH、温度、电场、压力、离子强度等环境条件的刺激下,能发生溶胶-凝胶相转变的一类亲水性凝胶材料^[11]。在众多的环境刺激因素中,温度比较容易获得和控制,并且生物体发生病变时,常伴随着体温的变化^[12],可采用初始状态为液态(溶胶)的可注射水凝胶,在注入生物体后,再通过环境温度的细微控制实现可逆的溶胶-凝胶状态转变^[13]。因此,在生物医学领域,开发性能优异的温度敏感(温敏)可注射型水凝胶,是研究人员关注的热点方向之一。根据原料来源,温敏可注射型水凝胶可分为天然高分子(如多糖基水凝胶)和化学合成型高分子。相比于化学合成型高分子水凝胶,多糖基水凝胶因资源、结构和性能等优势受到青睐。作为自然界中广泛存在的重要天然高分子,多糖(PS)不仅具有生物相容性、生物降解性以及易被生物体吸收等优势,甚至还可以为生命体提供能量^[14-16]。因此,天然多糖基高分子聚合物非常适用于体内植入水凝胶材料的制备,其在生物医学领域的研究也愈来愈受到重视。尽管目前已有一些生物医用水凝胶方面的综述^[17-19],但针对多糖基温敏可注射型水凝胶的介绍很少。

本综述主要围绕温敏可注射型水凝胶的相变机理、设计和合成策略,以及近 10 年来多糖基温敏可注射型水凝胶的代表性研究进展进行论述。简要概括具有最高临界溶液温度(UCST)和最低临界溶液温度(LCST)可注射型水凝胶的温敏相转变机理;阐述设计与合成可注射型水凝胶的策略,包括小分子基团修饰、接枝共聚以及添加剂改性等;重点综述温敏可注射型水凝胶在伤口愈合、药物递送

和软骨修复中的应用与相关研究进展。

1 温敏可注射型水凝胶的溶胶-凝胶相转变机理

温敏可注射型水凝胶溶胶-凝胶相转变机理的核心是聚合物分子链亲水和疏水平衡的变化^[20]。两亲性的温敏聚合物由疏水链段(基团)和亲水链段(基团)组成,此类聚合物受到疏水链段(基团)的疏水作用驱动,在水中自组装形成胶束,随着温度的升高,聚合物胶束表面与水分子之间的氢键作用减弱,导致胶束周围的水化层变薄,胶束相互聚集,进而形成宏观的水凝胶^[21]。如图 1 所示,在温度由低到高的变化过程中,聚合物由全部溶解态转变为部分溶解态,其状态也从溶胶状态(Sol-phase)转变为凝胶状态(Gel-phase),此类聚合物溶胶-凝胶相变过程称为 LCST 型相变(常用 LCST 表示相变温度或 $T_{\text{sol-gel}}$ 表示成胶温度)^[22];而少部分多糖随温度的变化与 LCST 型相变相反,称为 UCST 型相变(常用 UCST 表示相变温度或 $T_{\text{gel-sol}}$ 表示溶胶温度)。角叉菜胶、琼脂糖、结冷胶等多糖及其衍生物通常发生 UCST 型相变,其常作为增稠剂和乳化剂应用于食品和化妆品行业^[23]。UCST 型多糖水凝胶需要较高的温度才能维持其溶液状态,但温度过高将会降低细胞和生物体组织的活力^[24]。LCST 型多糖水凝胶在常温下是自由流动的溶液,更适合可注射型水凝胶系统,而在生理温度(36~37 °C)下转变为凝胶。因此,在生物医学应用中,LCST 型水凝胶得到更多的关注^[25-26]。



箭头朝上指温度超过 LCST 呈凝胶状态,箭头朝下指温度低于 UCST 呈凝胶状态

图 1 LCST 型相变和 UCST 型相变示意图

Fig. 1 Schematic diagram of phase transition of LCST-type and UCST-type

LCST 型可注射水凝胶的溶胶-凝胶相转变机理可从分子水平和热力学角度进行阐述。

(1) 在分子水平上, 当环境温度低于聚合物的 LCST 时, 亲水作用为主要作用力, 聚合物分子链上的亲水基团与水分子之间通过氢键作用进行连接, 体系呈溶胶状态^[27-28]; 当被注入温血动物体内后, 温度升至 LCST 以上, 疏水作用成为主要作用力, 聚合物分子链通过疏水链段(基团)相互作用并自组装缔合形成体积较大的聚集体, 从而发生凝胶化相变。一般情况下, 由于聚合物分子链与水分子之间的动态相互作用, 水凝胶的形态可以在溶胶态和凝胶态之间进行可逆转变^[29]。可见, 温敏聚合物发生溶胶-凝胶相变的主要驱动力是温度变化造成的聚合物疏水链段(基团)的相互作用的变化^[30-31]。

(2) 在热力学角度上, 根据吉布斯自由能公式 ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$) 可知, 聚合物分子链的缔合自由能与焓变 (ΔH)、熵变 (ΔS) 以及温度 (T) 密切相关, 在两亲性温敏聚合物-水的体系中, 当 $T < \text{LCST}$ 时, 聚合物分子链舒展并与水分子之间形成氢键, $\Delta H > 0$, 同时由于水分子在聚合物分子链周围较为有序的排布, 导致 $\Delta S < 0$, 进而使 $\Delta G > 0$, 聚合物溶解在水中呈现溶胶态; 当 $T > \text{LCST}$ 时, 体系熵增加且占主导地位, 进而 $\Delta H < T\Delta S$, 最终导致 $\Delta G < 0$, 有利于聚合物分子链的缔合并呈现凝胶态。可见, 温敏聚合物的溶胶-凝胶相转变源于温度变化造成的熵的变化。

2 温敏可注射型水凝胶的构建策略

目前, 在自然界中, 除了琼脂糖、卡拉胶和结冷胶等具有温敏性能的天然多糖之外, 大多数的多糖需要对其进行化学改性或物理改性^[32]才能赋予温敏性能。化学改性策略主要包括: (1) 小分子基团修饰多糖策略, 也称衍生化多糖, 即通过在多糖的分子结构中引入包括羧基、烷基在内的小分子官能团, 赋予其温敏性能; (2) 合成型温敏聚合物接枝多糖策略。物理改性策略主要是添加剂改性多糖策略, 即在不形成新的共价键前提下, 利用添加剂来诱导多组分的多糖溶液体系产生温度响应型溶胶-凝胶的变化。

2.1 小分子基团修饰多糖策略

2.1.1 羧化多糖

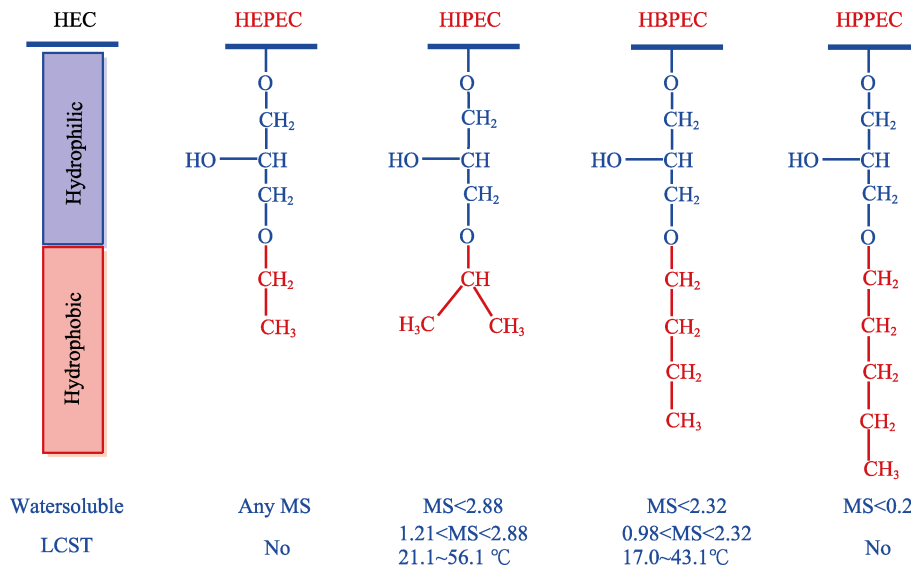
羧基是氢键的供体和受体, 因此羧基的引入必然会引起多糖分子链间和分子链内氢键的变化, 进而使多糖分子链的空间构象发生改变。这也是调控羧化多糖温敏性能的重要机制^[33]。琼脂糖是一种天然的 UCST 型温敏多糖, 它可以随温度变化呈现可逆的溶胶-凝胶相转变过程。此外, 琼脂糖 $T_{\text{gel-sol}}$ 和 $T_{\text{sol-gel}}$ 存在较大的温度滞后, 具体表现在 $T_{\text{sol-gel}}$

(15~30 °C) 远低于 $T_{\text{gel-sol}}$ (60~80 °C)^[34]。未改性琼脂糖的 $T_{\text{sol-gel}}$ 和 $T_{\text{gel-sol}}$ 以及相变速率取决于其来源、加工条件、浓度和冷却速率等因素^[29]。带电羧基的引入使羧化后的琼脂糖分子链间的静电斥力增强, 分子链间的距离增大, 氢键作用减弱, 进而引起琼脂糖构象的变化, 从 α -螺旋结构转变为 β -折叠结构, 最终影响其相转变温度^[35]。随着羧化度的增大, $T_{\text{sol-gel}}$ 明显降低, 当羧化度从 28% 增至 93% 时, $T_{\text{sol-gel}}$ 从 28 °C 降至 7 °C, $T_{\text{gel-sol}}$ 从 58 °C 降至 46 °C。因此, 通过改变羧化度可实现琼脂糖的溶胶-凝胶相转变温度在较宽范围内的调控。

2.1.2 烷基化多糖

烷基化多糖温敏可注射型水凝胶设计策略的关键是烷基侧链疏水性与多糖主链亲水性之间的平衡^[36]。而烷基化多糖结构中亲水和疏水组分的调控也是设计此类凝胶的基本原理。其中, 亲水组分调控策略包括多糖的相对分子质量(简称分子量)、结构以及亲水化改性等; 疏水组分调控策略包括烷基化试剂的碳链长度、结构以及在多糖主链上的摩尔取代度 (MS) 等。多糖具有羟基、氨基等可与水分子形成氢键的基团, 因此, 多糖具有亲水性^[37]。通过醚化或酯化反应, 将短链烷烃接枝到多糖分子骨架上进行疏水化改性, 使多糖衍生物同时具有亲水性和疏水性, 当两亲性多糖衍生物亲水/疏水达到平衡时, 就可以表现出温度响应性能^[38]。温敏研究发现, 烷基化多糖的温度响应溶胶-凝胶相转变温度主要取决于烷基碳链的长度和取代度, 相转变温度随着碳链长度的增长和取代度的增加而下降^[39-40]。甲基纤维素 (MC) 是纤维素经甲基化试剂修饰后的产物^[39], 其溶胶-凝胶相转变温度取决于甲基的取代度, 通常 LCST 在 60~80 °C。相比之下, 异丙氧基或丁氧基修饰后的羟乙基纤维素 (HEC) 衍生物可通过改变取代度使 LCST 分别在 21.1~56.1 °C 和 17.0~43.1 °C 范围内进行调控 (图 2)^[40]。然而, 当疏水碳链的碳原子数 ≥ 5 时, 即使在取代度极低的情况下, 烷基羟乙基纤维素也不溶于水, 导致产品不具有温敏性能。

除了纤维素, 淀粉、壳聚糖、瓜尔胶等多糖也可通过烷基化改性获得温度响应性能^[41]。在多糖链状结构方面, 相同碳链长度和相近取代度且分子量相近的情况下, 支链结构多糖的 LCST 低于直链结构多糖^[42]。例如: 同为丁氧基修饰后的多糖, 当取代度为 1.43 时, 直链结构的丁氧基纤维素的 LCST 为 57.1 °C, 而取代度为 1.31 的支链结构的丁氧基淀粉的 LCST 为 17.5 °C^[43-44]。这是因为, 支链结构的多糖分子之间更容易通过疏水链聚集, 所以具有较低的相转变温度。



HEPEC 为 2-羟基-3-乙氧基丙基羟乙基纤维素; HIPEC 为 2-羟基-3-异丙氧基丙基羟乙基纤维素; HBPEC 为 2-羟基-3-丁氧基丙基羟乙基纤维素; HPPEC 为 2-羟基-3-戊氧基丙基羟乙基纤维素

图 2 羟乙基纤维素衍生物的结构与温敏性能的关系^[40]

Fig. 2 Relationship between structure and temperature sensitive properties of hydroxyethyl cellulose derivatives^[40]

2.2 合成型温敏聚合物接枝多糖策略

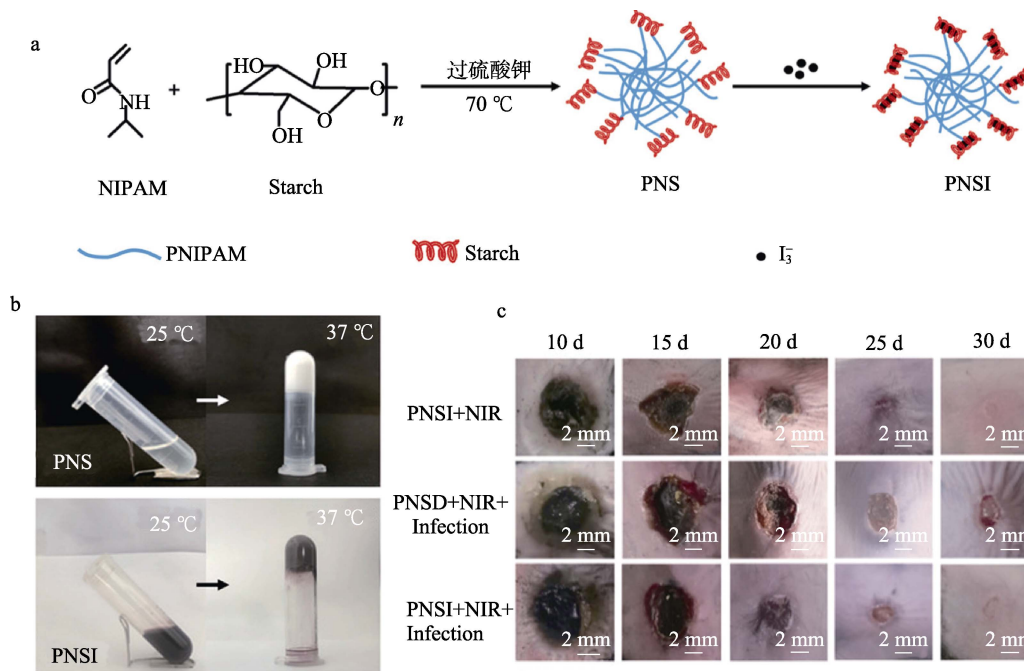
通常,可注射型多糖基接枝共聚物的温敏性能源于合成型聚合物组分,而多糖组分的作用是提供生物相容性、生物降解性、无污垢性、细胞黏附性等性能以及增强凝胶机械强度等^[45]。

将聚合物接枝到多糖主链上相当于在多糖骨架上接枝了亲水基团,是设计可调 LCST 型温敏聚合物的关键,能增加多糖基温敏聚合物的亲水性,进而升高多糖基接枝共聚物的 LCST。若接枝率过低,共聚物将会失去温敏性能,这一点在设计此类接枝共聚物时值得关注。上述可注射型水凝胶与传统的接枝共聚技术相同,也分为“长出支链式”,即多聚糖的骨架上直接“长”出聚合物链,以及“支链连接式”,即先合成一定分子量的聚合物链段,而后接枝到多聚糖骨架上。聚 *N*-烷基丙烯酰胺是温敏聚合物家族的重要成员,尤其是聚 *N*-异丙基丙烯酰胺 (PNIPAM)^[46],围绕 PNIPAM 制备的多糖基可注射水凝胶一直是研究热点。

目前,多糖与 PNIPAM 的接枝共聚物的设计可分为如下 3 类^[47]:(1)多糖仅与 PNIPAM 接枝共聚,即 (PS-*g*-PNIPAM)。与 PNIPAM 均聚物相比,亲水性多糖导致 PS-*g*-PNIPAM 的 $T_{sol-gel}$ 降低;(2)多糖与不同种类的合成型聚合物接枝共聚,这种设计策略分为 2 类,一类是将 PNIPAM 与其他聚合物组成的共聚物接枝到多糖骨架上 [PS-*g*-(PNIPAM-*co*-other polymers)],另一类是分别接枝 PNIPAM 和其他聚合物 (PS-*g*-PNIPAM-*g*-other polymers)。引入其他疏水或亲水聚合物的主要目的是调控凝胶的 $T_{sol-gel}$ 。显然,引入疏水性聚合物会降低 $T_{sol-gel}$,而引入亲水

性聚合物将升高 $T_{sol-gel}$;(3)在(1)或(2)的设计中,通过共价键或非共价键引入有机/无机分子、金属离子、酶、寡糖或其他多糖等功能性组分,这些组分赋予了凝胶特殊的功能。例如:FAN 等^[48]通过非共价键将碘引入淀粉的螺旋内部,形成“碘-淀粉”复合物,随后与 PNIPAM 接枝共聚,制备了负载碘淀粉-*g*-聚(*N*-异丙基丙烯酰胺) (PNSI) 的可注射型水凝胶(图 3),此水凝胶集光热和抗感染作用于一体,制备方法简单且生物安全性好,在肿瘤治疗和抗感染方面具有潜在的临床应用前景。

聚醚型温敏聚合物也普遍用于多糖接枝共聚物可注射型水凝胶的制备。对于自身具有温敏性的聚醚型聚合物而言,其温度响应溶胶-凝胶原理和共聚物设计策略与 PNIPAM-多糖的接枝共聚物相似。在聚醚型聚合物家族中,聚乙二醇 (PEG) 具有优异的水溶性及低抗原性和低毒性等优势。基于此,PEG 常被用来制备多糖基接枝共聚物,并用于生物医学领域。PEG 与多糖的接枝共聚物设计策略和温敏机制与上述共聚物不同,一方面,利用醛基对 PEG 分子链末端进行修饰,而后与多糖骨架上的活性基团进行反应得到 PEG 与多糖的接枝共聚物;另一方面,不同于 PNIPAM 和温敏型聚醚型聚合物,PEG 自身无温敏性能,PEG 与多糖接枝共聚物可以产生温度响应,溶胶-凝胶相变的原因是共聚物与水分子之间氢键作用力的变化。以壳聚糖 (CS) 与 PEG 接枝共聚物 (CS-*g*-PEG) 为例^[49-50],PEG 分子链末端修饰后的醛基与壳聚糖分子链上的氨基形成亚胺键,进而实现接枝共聚物的制备。



PNS 为淀粉-*g*-聚(*N*-异丙基丙烯酰胺)聚合物; PNSD 为无直接抗菌作用的聚多巴胺纳米粒子 (PDA NPs) 与 PNS 分散体混合物
 图 3 温敏可注射水凝胶 PNSI 的制备示意图 (a); PNS 和 PNSI 分散体分别在 25 和 37 °C 下的照片 (b); 不同时刻下, PNSI+NIR 组、PNSD+NIR+感染组、PNSI+NIR+感染组皮肤创面图片 (c)^[48]
 Fig. 3 Schematic diagram of preparation of thermosensitive injectable hydrogel PNSI (a); Photographs of PNS and PNSI dispersion at 25 and 37 °C, respectively (b); Pictures of skin wounds in PNSI+NIR group, PNSD+NIR+infection group, and PNSI+NIR+infection group in different moments (c)^[48]

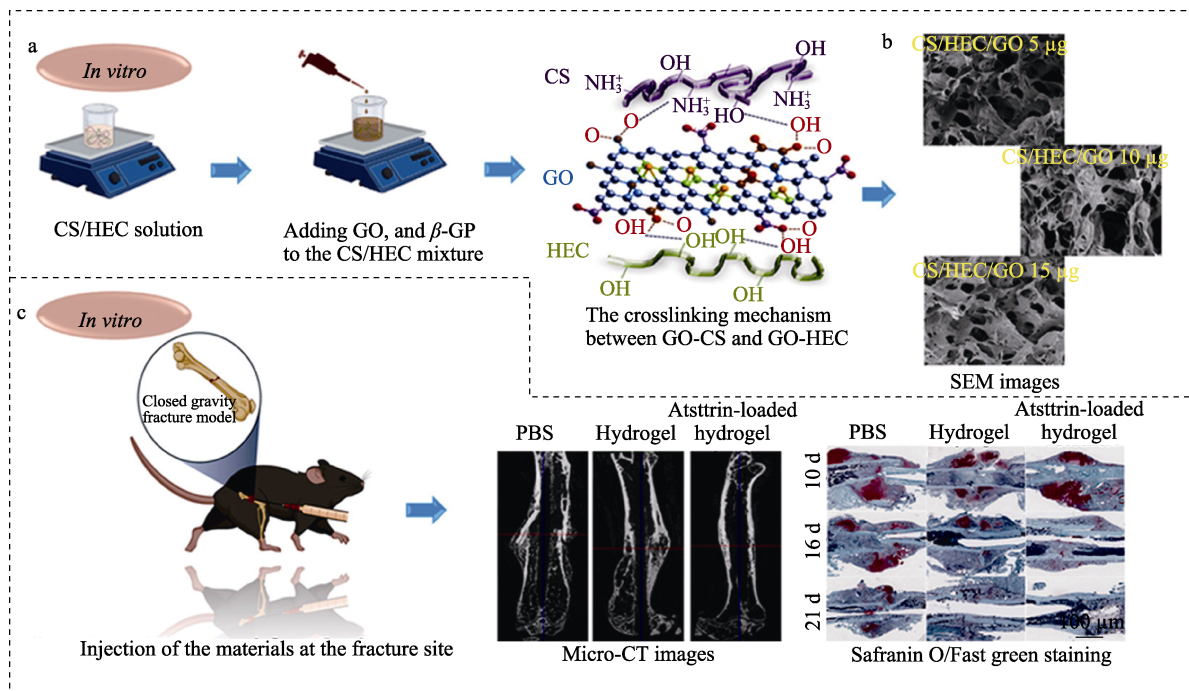
在低温下, CS-*g*-PEG 分子链通过氢键被水分子包围, 随着温度的升高, 水分子与共聚物形成的氢键被破坏, 导致水分子脱离 CS-*g*-PEG 表面, 而 CS-*g*-PEG 分子链之间的疏水相互作用和氢键相互作用增强, 从而形成凝胶。

2.3 添加剂改性多糖策略

利用小分子有机化合物作为添加剂可以诱导多糖在不同温度下产生溶胶-凝胶相转变, 进而赋予多糖-添加剂体系温敏性能。此类可注射凝胶发生相变的根本动力是水分子-多糖-添加剂三者之间的库仑力、氢键以及疏水键作用力的变化^[51]。具体的作用机理是: 小分子添加剂 (如多元醇磷酸盐、甘油三酯类衍生物) 的介入可以减弱多糖与水分子之间的氢键作用, 增强多糖分子间疏水键的相互作用^[52-53], 此消彼长时, 在温度的作用下疏水键占主导地位, 最终实现了溶胶到凝胶的相转变。值得注意的是, 添加剂促进溶胶-凝胶相转变的必要条件是多糖在水中的溶解度在外界条件 (温度、pH 和离子强度等) 改变时必须能够产生明显变化, 这也是多糖溶液体系相转变的直接动力。添加剂的核心作用是确保从溶液体系析出的多糖骨架周围具有足够的水分子, 能够使多糖维持在预凝胶状态, 而不是直接形成沉淀^[54]。壳聚糖可以在酸性环境中溶解, 当 pH>6.2 后, 壳聚糖开始逐渐去质子化并形成絮状沉淀物。在生物医

学领域, 溶解度在生理 pH 范围内的变化使壳聚糖成为利用添加剂制备温敏凝胶的理想原料。CHENITE 等^[55]提出利用壳聚糖/ β -甘油磷酸盐 (β -GP) 的水溶液组合物, 通过氢键、静电和疏水等几种有利于凝胶形成的作用力协同作用, 设计合成了一种可以在体内原位形成的温敏可注射型水凝胶。添加剂 β -GP 在凝胶体系中具有三重作用^[56]: (1) β -GP 呈碱性, 可以升高体系 pH 至生理范围; (2) 保证壳聚糖溶液在室温下、生理 pH 范围内保持溶液 (溶胶) 状态; (3) 当温度升高时, 促进溶胶到凝胶的相转变。

为了调控凝胶化速率和相变温度, 提高力学性能、抗菌性、生物相容性或赋予新的生物学功能, 通常多糖-添加剂体系中引入功能型化合物、金属或非金属 (离子或单质)。MORADI 等^[57]将羟乙基纤维素 (HEC) 和石墨烯 (GO) 引入到 CS/ β -GP 水凝胶体系中 (图 4), 水凝胶能够快速进行溶胶-凝胶相转变, 进而形成更加稳定的三维网络结构。此水凝胶体系中 HEC 和 GO 的作用如下: (1) 增强结构稳定性。HEC、GO 与 CS 分子链之间通过静电相互作用使水凝胶结构更加稳定; (2) 提高相变速率。GO 增强水凝胶体系疏水效应, 促进聚合物分子链间更容易相互聚集, 使溶胶-凝胶相转变速率加快; (3) 优化治疗效率。



b 中 3 个水凝胶中 GO 的质量分别为 5、10、15 μg；图 c 的比例尺均为 100 μm

图 4 温敏可注射型水凝胶 CS/GO/HEC/β-GP 合成示意图 (a)、SEM 图 (b) 及其在糖尿病小鼠骨折部位注射多功能水凝胶复合材料后骨折愈合程度评价 (c) [57]

Fig. 4 Schematic diagram (a) and SEM images (b) of synthesis of CS/GO/HEC/β-GP temperature-sensitive injectable hydrogel and evaluation of fracture healing degree after injection of multifunctional hydrogel composites into fracture sites of diabetic mice (c) [57]

该水凝胶应用于因糖尿病而骨折的愈合，而 HEC 组分可有助于细胞的黏附、生长以及钙沉积。

3 多糖基温敏可注射型水凝胶的生物医学应用

3.1 伤口愈合

皮肤损伤是最常见的身体损伤之一，由于伤口难以愈合，反复的细菌感染通常会导致复杂的临床问题[58-59]。

因此，设计和合成具有抗菌、止血和伤口愈合功能的新型伤口敷料具有重要的现实意义[60-62]。目前，如何优化敷料对伤口的黏结速率来加快其愈合效率，是创伤愈合新材料研究领域的核心科学问题，也是亟须解决的技术问题[63-64]。在众多的外用伤口敷料中，温敏多糖基可注射型水凝胶材料引起了研究人员的关注，其前体溶液的流体性质使其能够有效地填充具有不规则形状的伤口，并在凝胶化过程中与周围组织无缝黏合，既能够保持伤口水分，提供气体补充，又能够有效吸收伤口的分泌物，促进伤口的愈合[65-67]。

生物材料或植入物（包括水凝胶）与伤口周围原生组织的整合与黏附能力对于伤口愈合至关重要[68]。人体组织的水分使可注射型水凝胶难以黏附在出血部位，无法达到止血和伤口愈合的功能。受海洋贻贝[69]在水中具有优异黏附性能启发，SHOU

等[70]模拟了贻贝的黏附机制，将羟丁基和儿茶酚接枝到壳聚糖主链上，设计并合成了具有组织黏附性能的儿茶酚-羟丁基壳聚糖（HBSC-C）（图 5）。HBSC-C 通过分子链内和分子链间的氢键变化以及羟基丁基之间的疏水相互作用，实现快速温度响应溶胶-凝胶转变。HBSC-C 结构中的儿茶酚氨基官能团与组织的多重相互作用使水凝胶能够牢固地黏附在组织表面。利用该凝胶进行大鼠肝出血止血实验，结果表明，凝胶前体溶液在注入大鼠体内后，30 s 内即可原位形成凝胶，并与出血组织牢固结合，止血效果明显。上述研究不仅提供了一种可匹配不规则伤口形状和具有牢固组织黏附特性的多糖基水凝胶设计策略，还验证了水凝胶材料组织黏附性能在伤口止血中的实际应用，为止血剂的研究提供了新的视角。

通常，急慢性伤口（尤其是大面积全层伤口）需要很长时间才能愈合，这一直是困扰患者和医护人员的主要问题[71]。因此，如何设计合成具有快速愈合特性的伤口敷料是另一项具有挑战的工作。CAO 等[72]构建了一种具有自愈性能的壳聚糖基温敏水凝胶创面敷料 CMCS-Fe/Al（图 6），在羧甲基壳聚糖（CMCS）溶液体系引入能够促进伤口愈合的 Fe³⁺和 Al³⁺，可以整合壳聚糖结构中的羧基形成动态交联网络，制备的水凝胶 CMCS-Fe 表现出优异的自修复、自适应和温敏响应性能。

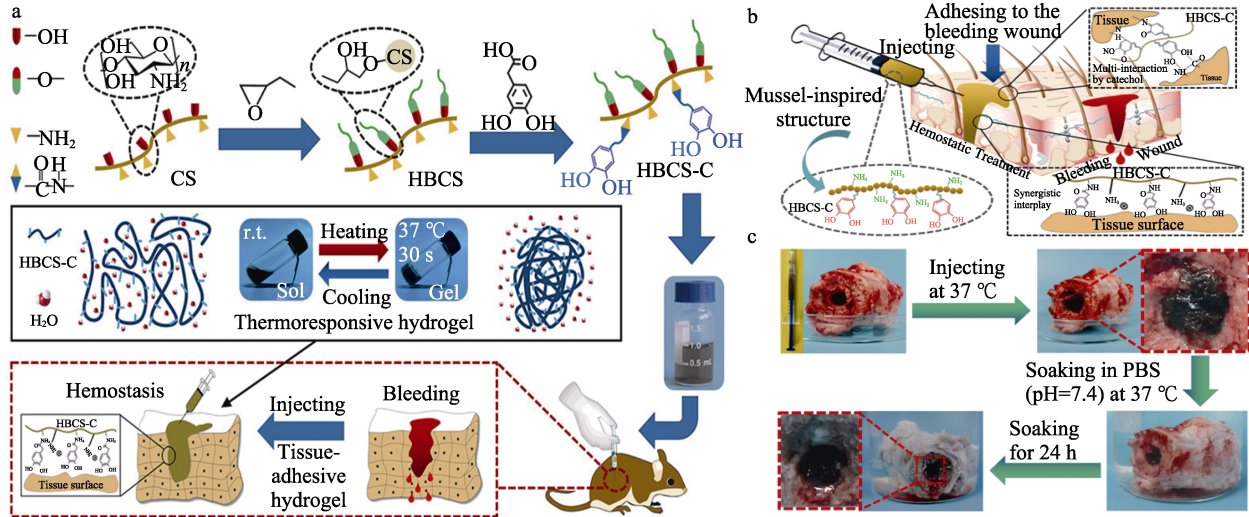
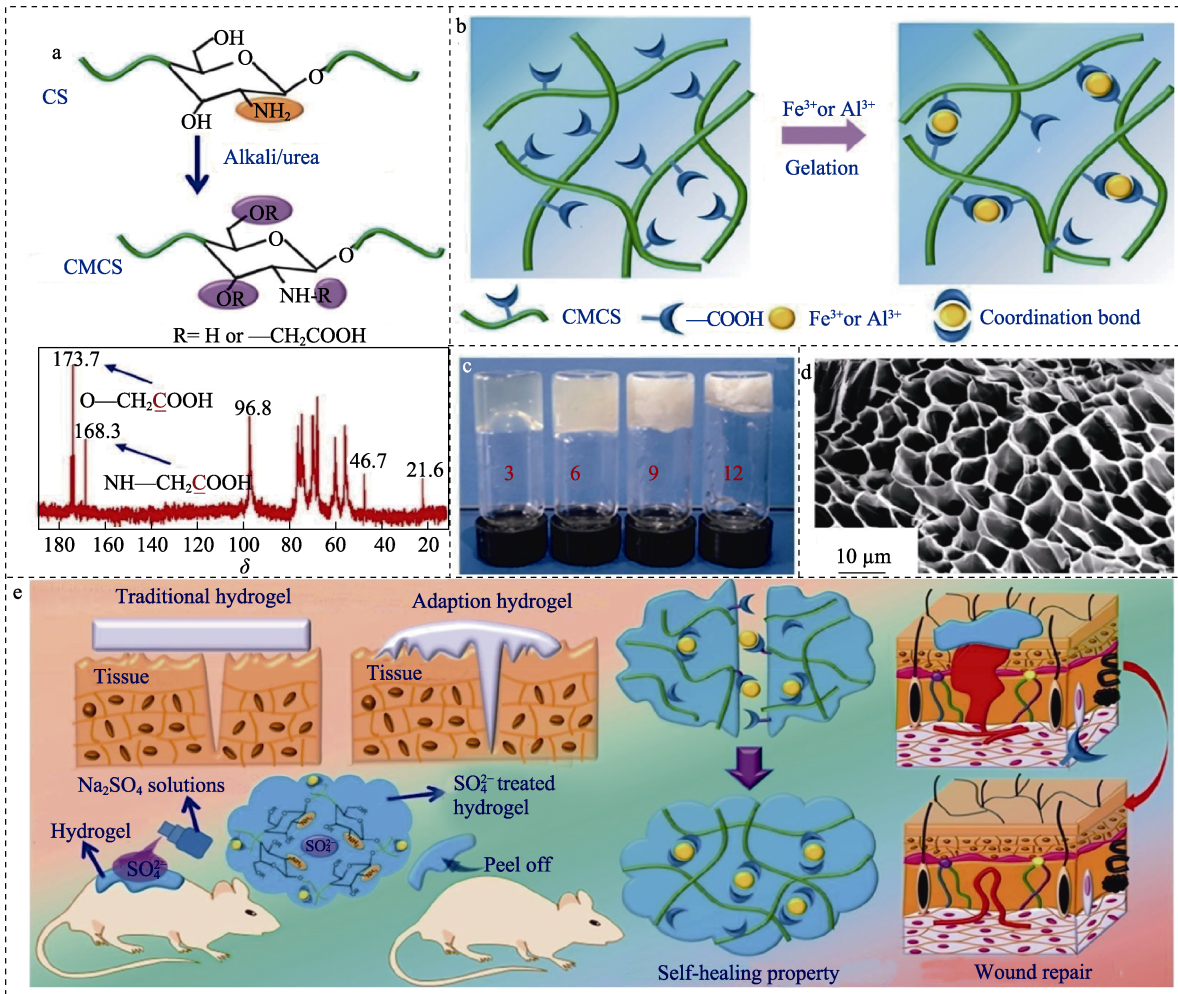


图 5 温敏可注射型水凝胶 HBSC-C 的制备示意图 (a); HBSC-C 组织黏附机制示意图 (b); 37 °C 下, HBSC-C 水凝胶对湿组织的黏附行为和稳定性 (c) [70]

Fig. 5 Schematic diagram of preparation of HBSC-C thermosensitive injectable hydrogel (a); Schematic diagram of tissue adhesion mechanism of HBSC-C hydrogel (b); Adhesion behavior and stability of HBSC-C hydrogel to wet organisms at 37 °C (c) [70]

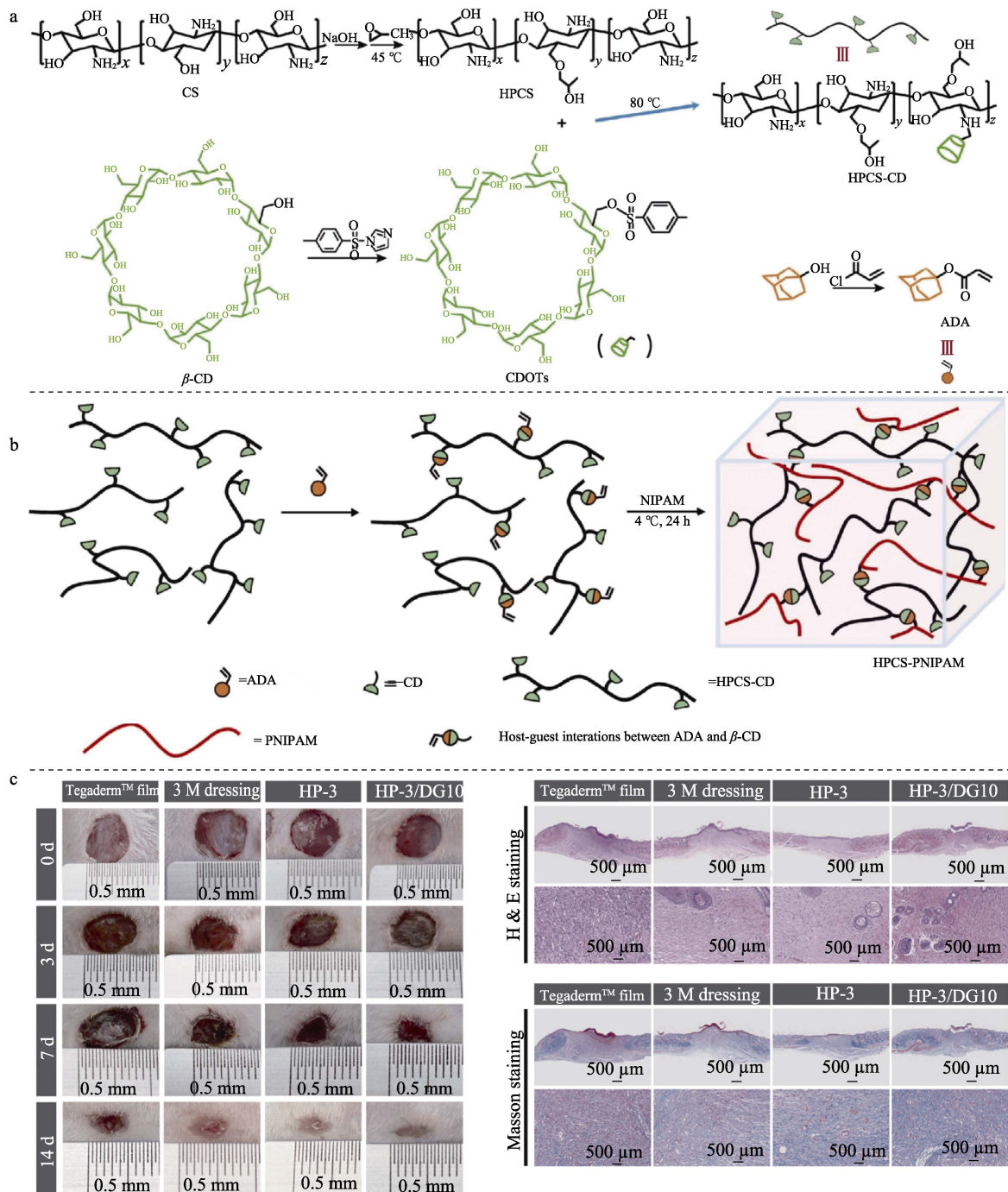


c 中 3、6、9、12 代表分别由 n (壳聚糖): n (氯乙酸钠)=3:1、6:1、9:1、12:1 制备样品, 即 CMCh-3、CMCh-6、CMCh-9、CMCh-12
图 6 CMCS 结构示意图和 ^{13}C NMR 谱图 (a); CMCS-Fe/Al 的结构示意图 (b); 以不同取代度的 CMCS 为原料制备的一系列 CMCS-Fe 产品实物照片 (c); CMCS-Fe 的 SEM 图 (d); CMCS-Fe 在伤口愈合中的应用 (e) [72]

Fig. 6 Structure schematic diagram of CMCS and ^{13}C NMR spectrum of CMCS (a); Schematic diagram of CMCS-Fe/Al (b); Photographs of a series of CMCS-Fe hydrogels products prepared using CMCS with different substitution degrees (c); SEM image of CMCS-Fe (d); Application of CMCS-Fe in wound healing (e) [72]

采用小鼠皮肤创面模型进行体内创面愈合实验，分别用纱布、商用创面敷料和自修复水凝胶处理创面，并比较伤口恢复的时间，相比于前 2 种伤口的处理材料，自修复水凝胶显著加快了创面愈合速率。此外，传统组织黏合剂无法防止伤口感染，不可避免地要使用额外的抗生素。因此，在临床应用中，需要伤口敷料自身具有高效的抗菌性能。

ZHU 等^[73]设计了一种基于羟丙基壳聚糖 (HPCS) 和 PNIPAM 的超分子水凝胶 (图 7)。首先，将 β -环糊精 (β -CD) 接枝到 HPCS 骨架上，得到 HPCS-CD；然后，通过 HPCS-CD 与 1-金刚烷丙烯酸酯 (ADA) 之间超分子作用力进行自组装；最后，不同含量 ADA 与 *N*-异丙基丙烯酰胺 (NIPAM) 采用自由基聚合反应制备了水凝胶 HP-1、HP-2 和 HP-3。



HP-3/DG10 为负载 DG 的 HP-3

图 7 HPCS-CD、1-金刚烷丙烯酸酯 (ADA) (a) 及 HPCS-PNIPAM 的温敏可注射型超分子水凝胶 (b) 制备过程示意图；采用小鼠皮肤全层缺损模型对多功能水凝胶复合材料伤口愈合的体内评价 (c)^[73]

Fig. 7 Schematic diagrams of synthesis of HPCS-CD and adamantan-1-yl acrylate (ADA) (a) and thermosensitive injectable supramolecular hydrogel HPCS-PNIPAM (b); *In vivo* evaluation of multifunctional hydrogel composite materials for wound healing with mouse skin full-thickness defect model (c)^[73]

制备的水凝胶具有可注射性、温敏性和自愈性等多重功能。为了提高 CS 的水溶性, 在碱性条件下, CS 通过环氧丙烷醚化进行羟丙基化, 得到的 HPCS; HPCS 通过氨基亲核取代与 CDOTs [单-(6-*O*-对甲苯磺酰基)- β -环糊精] 生成 HPCS-CD。更重要的是, 前体溶液中注入甘草酸二钾 (DG), 能够赋予水凝胶抵抗金黄色葡萄球菌的抗菌活性。以小鼠全层皮肤缺损为模型, 对该水凝胶的促进体内伤口愈合效果进行了评估, 结果表明, 将负载 DG 的水凝胶注入小鼠体内, 显示出组织高效重塑、胶原沉积、减少炎症等功效, 效果优于 TM 膜 (TegadermTM 薄膜) 和 3M 敷料 (商业 Tegaderm^{3M} 水胶体敷料), 为创伤的急救治疗提供了新策略。ZAKERIKHOOB 等^[74]利用上述水凝胶创面敷料的制备策略, 成功地构建了含有姜黄素的 PNIPAM-海藻酸钠 (Algate-g-PNIPAM) 温敏凝胶体系, 该凝胶体系不仅具有较好的伤口收缩效果, 还可以显著减轻炎症, 促进胶原形成, 增加纤维细胞数量等。

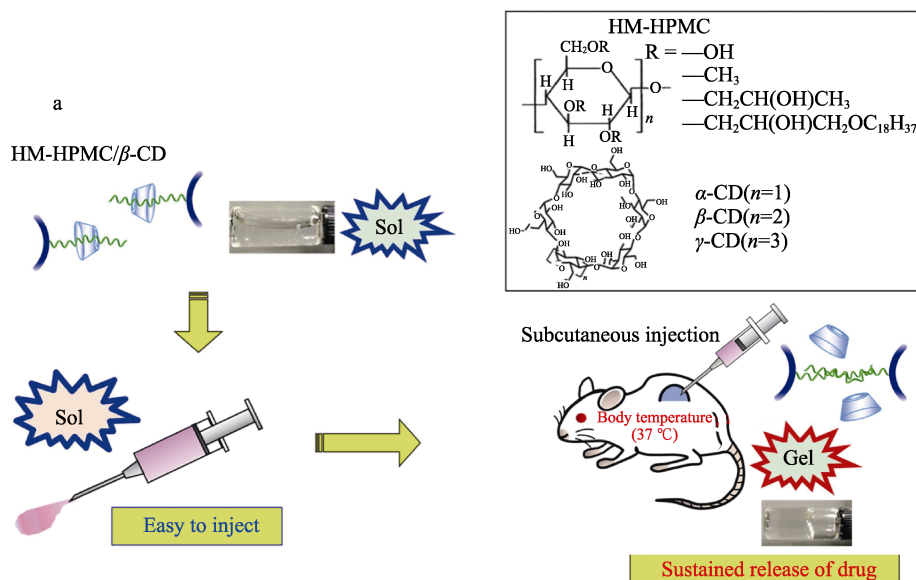
3.2 药物递送

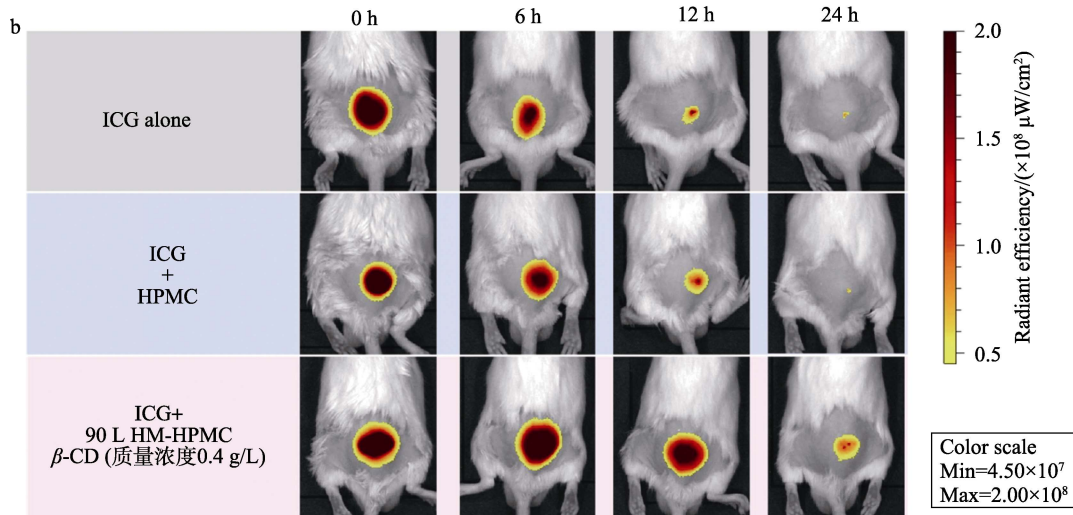
在对生物靶点进行给药时, 传统的药物递送只有少部分药物到达所需治疗的目标区域, 其余的药物会在全身分散^[75-77]。与此同时, 药物与非给药靶点之间的不良相互作用可能产生无法控制的毒副作用。因此, 如何进一步优化药物递送, 提高药物的治疗效果并降低给药剂量和毒副作用, 是亟须解决的问题。温敏可注射型水凝胶原位凝胶化的成胶特性对病灶处给药具有重要启示^[78-79], 掺入药物的凝胶前体溶液可以在生物靶点以微创的方式注射到目标部位, 随着温度的变化可以快速形成凝胶并且固定药物。上述凝胶相当于高浓度药物的“仓库”, 通过延长药物在病灶部位的滞留, 提高药物利用效率, 同时也减少

了给药频次, 降低毒副作用^[80]。一些多糖基温敏接枝共聚物在水溶液中可以自组装形成胶束, 疏水性药物可增溶至胶束的疏水内核中, 注射这种有增溶药物共聚物的水溶液到人体内, 在人体温度作用下, 溶液 (溶液) 发生相转变形成凝胶^[81]。上述给药方式不仅可以提高疏水药物载药量, 而且凝胶的网络结构也可以抑制药物的被动扩散释放, 以减少暴释的发生^[82]。LIU 等^[83]通过原子转移自由基聚合 (ATRP) 制备了一种海藻酸钠与 PNIPAM 的接枝共聚物 (Algate-g-PNIPAM), 可以提高抗癌药物阿霉素 (DOX) 的生物利用度和癌症治疗效果。此共聚物在温度高于临界胶束温度时自组装形成胶束, 可以将其封在疏水内核中。体外实验证实, 包裹 DOX 的 Algate-g-PNIPAM 可以持续释放 DOX, 提高了细胞对药物的摄取, 降低了耐药性, 进而实现有效杀死癌细胞的目的。

OKUBO 等^[84]提出了一种基于主客体识别的温敏可注射型水凝胶的策略 (图 8)。

利用疏水改性羟丙基甲基纤维素 (HM-HPMC) 和 β -CD 之间在不同温度下的主客体相互作用实现温度响应溶胶-凝胶转变。在低温下, β -CD 与 HM-HPMC 主客体相互作用形成包合物, 此时体系为溶胶态; 当温度上升到人体体温附近时, β -CD 从包合物体系中分离, 此时体系为凝胶状。这使 HM-HPMC/ β -CD 很容易在常温下被注射到生物体病灶部位, 并在此后迅速形成高黏度凝胶, 使药物缓慢释放并保持药效。结果表明, 包裹胰岛素的 HM-HPMC/ β -CD 缓慢释放的胰岛素具有持久的降糖作用, 胰岛素在体内的平均滞留时间 (MRT) 比直接给药方式提高了 1.6 倍。另外, 环糊精不仅参与水凝胶的合成, 同时其疏水空腔也是疏水性药物 (姜黄素、紫杉醇、地塞米松等) 的良好载体。



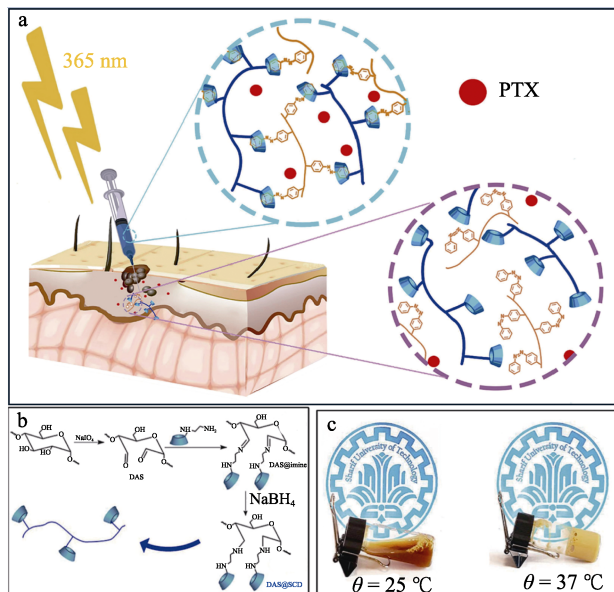


HM-HPMC (商业上称为 Sangelose 60L 或 Sangelose 90L)

图 8 温敏 HM-HPMC/β-CD 水凝胶制备过程示意图 (a); 小鼠皮下注射吲哚菁绿 (ICG) 溶液、含 ICG 的 HPMC 水凝胶和含 ICG 的 HM-HPMC/β-CD 水凝胶后的体内荧光图 (b) [84]

Fig. 8 Schematic diagram of preparation of HM-HPMC/CD temperature-sensitive hydrogel (a); *In vivo* fluorescence images after subcutaneous administration of an indocyanine green (ICG) solution, HPMC hydrogel containing ICG and HM-HPMC/β-CD hydrogel containing ICG (b) [84]

POURBADIEI 等 [85] 通过主客体相互作用机制, 设计合成了温度和紫外光双重响应可注射型水凝胶 (图 9)。



DAS@imine 为负载亚胺基团的二醛淀粉

图 9 紫外光照射下紫杉醇释放示意图 (a); DAS@SCD 的制备过程示意图 (b); DAS@SCD/NIPAZO 温度响应溶胶-凝胶相变示意图 (c) [85]

Fig. 9 Schematic diagram of paclitaxel release under ultraviolet light irradiation (a); Schematic diagram of synthesis of DAS@SCD (b); Schematic diagram of DAS@SCD/NIPAZO temperature-responsive sol-gel phase transition (c) [85]

该水凝胶制备过程较为复杂。首先, 通过自由基聚合方法将温敏单体 NIPAM 和光敏单体偶氮苯

衍生物 (AZO) 无规则共聚得到共聚物 P(NIPAM-AZO), 同时利用 β-CD 对双醛淀粉 (DAS) 进行修饰得到产物 DAS@SCD; 然后, 将 P(NIPAM-AZO) 与 DAS@SCD 混合形成凝胶前体溶液; 最后, 通过偶氮苯衍生物与环糊精主客体识别以及 PNIPAM 链段, 实现水凝胶 DAS@SCD/NIPAZO 在紫外光和温度刺激下的溶胶-凝胶相变。通过 β-CD 的疏水空腔, 成功地将紫杉醇 (PTX) 装载在双重响应水凝胶 DAS@SCD/NIPAZO 中。在人体温度且波长为 230 nm 紫外光照射下, 紫杉醇在 96 h 内缓慢持续释放。

3.3 软骨修复

骨骼作为人体的重要组织器官, 在生命活动中起关键作用。健康骨组织周围的成骨细胞和破骨细胞通常保持一种平衡, 这种平衡在创伤、疾病和衰老等因素的作用下不可避免地被打破, 最终导致不可逆转的骨损伤 [86]。多糖基温敏可注射型水凝胶可以模拟生物体细胞外基质结构, 并通过微创的方法填充到不同骨组织形状的缺陷中, 形成完美适应组织缺陷的 3D 支架, 使软骨层再生。因此, 多糖基温敏可注射型水凝胶在骨缺损的快速修复领域发挥愈来愈重要的作用 [87-88]。

理想的骨组织再生水凝胶应具有快速凝胶性能和可控的降解性能。CHENITE 等 [55] 报道了基于壳聚糖/多元醇盐复合物的温敏可注射型水凝胶, 该水凝胶系统成功用作体内传递生物活性生长因子以及活软骨细胞的封装基质。该类型的复合水凝胶具有良好的可控降解性, 通过控制壳聚糖的脱乙酰度, 其完全降解时间能够在数日到数周内调控, 通常脱乙

酰度越低, 降解速率越快。然而, 此报道并未深入探究如何调控凝胶成胶速率以及高浓度多元醇盐对凝胶生物相容性的影响。DANG 等^[89]通过改变 β -GP 的浓度来调控凝胶成胶和降解时间, 发现增加 β -GP 用量可以显著缩短成胶时间。然而, 该团队发现, β -GP 浓度升高会对人体的 HS68 细胞和小鼠胚胎成纤维细胞产生毒性。因此, 利用此策略制备水凝胶时应谨慎控制 β -GP 的用量。聚赖氨酸 (PL) 是赖氨酸的均聚物, 具有优异的溶解性、热稳定性和生物相容性, 同时, PL 也是对革兰氏阳性病菌和阴性病菌具有杀菌活性的抗菌剂。更为重要的是, PL 分子链中含有大量的氢键供体和受体, 为制备温度响应溶胶-凝胶相变材料提供了有效的发力点。ZHENG 等^[90]以热敏甘油磷酸酯 (GP) 为原料制备了 PL 修饰壳聚糖聚合物 (PCS) 与丝素蛋白 (SF) 共混的高分子材料 (SF/PCS) (图 10), 其中, Group IV 是由 $m(\text{SF}) : m(\text{PCS}) = 2 : 8$ 制备的 SF/PCS 水凝胶。将骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 和转化生长因子 ($\text{TGF-}\beta 1$) 负载到水凝胶中用来优化治疗效果。PL 的引入不仅提高了水凝胶的生物相容性和抗菌

性, 还由于 PL 和壳聚糖分子链间自发通过氢键作用形成的 β -折叠结构显著提高了凝胶快速成胶能力和力学性能。

水凝胶作为骨组织的填充材料, 不仅应具有快速凝胶性能、可控的降解性能、良好的力学性能^[91], 还应具有与组织机体匹配的机械强度。水凝胶的机械性能与交联网络的整齐程度密切相关^[92]。WASUPALLI 等^[93-94]在前期工作的基础上, 将水热处理的聚电解质复合物 (PEC) 和明胶引入到壳聚糖-聚半乳糖醛酸 (PgA)- β -GP 温敏凝胶体系中, PEC 的引入使凝胶具有接近完美的交联网络结构, 这种相对均匀的网络结构可以有效分散外部施加的应力, 进而实现力学性能的提升。另外, 包埋在凝胶内部的明胶组分也可以提高生物活性和细胞的附着力, 有助于细胞的增殖。作者对上述凝胶力学性能提高的机理进行了进一步研究, 并系统评价了水凝胶对细胞黏附和增殖功能以及促进骨组织生长、修复和再生的过程。结果表明, PEC 和 PgA 经水热处理后, 水凝胶孔隙的连通性增大, PEC 在凝胶中的整齐程度增加, 进而提高了水凝胶的机械强度。

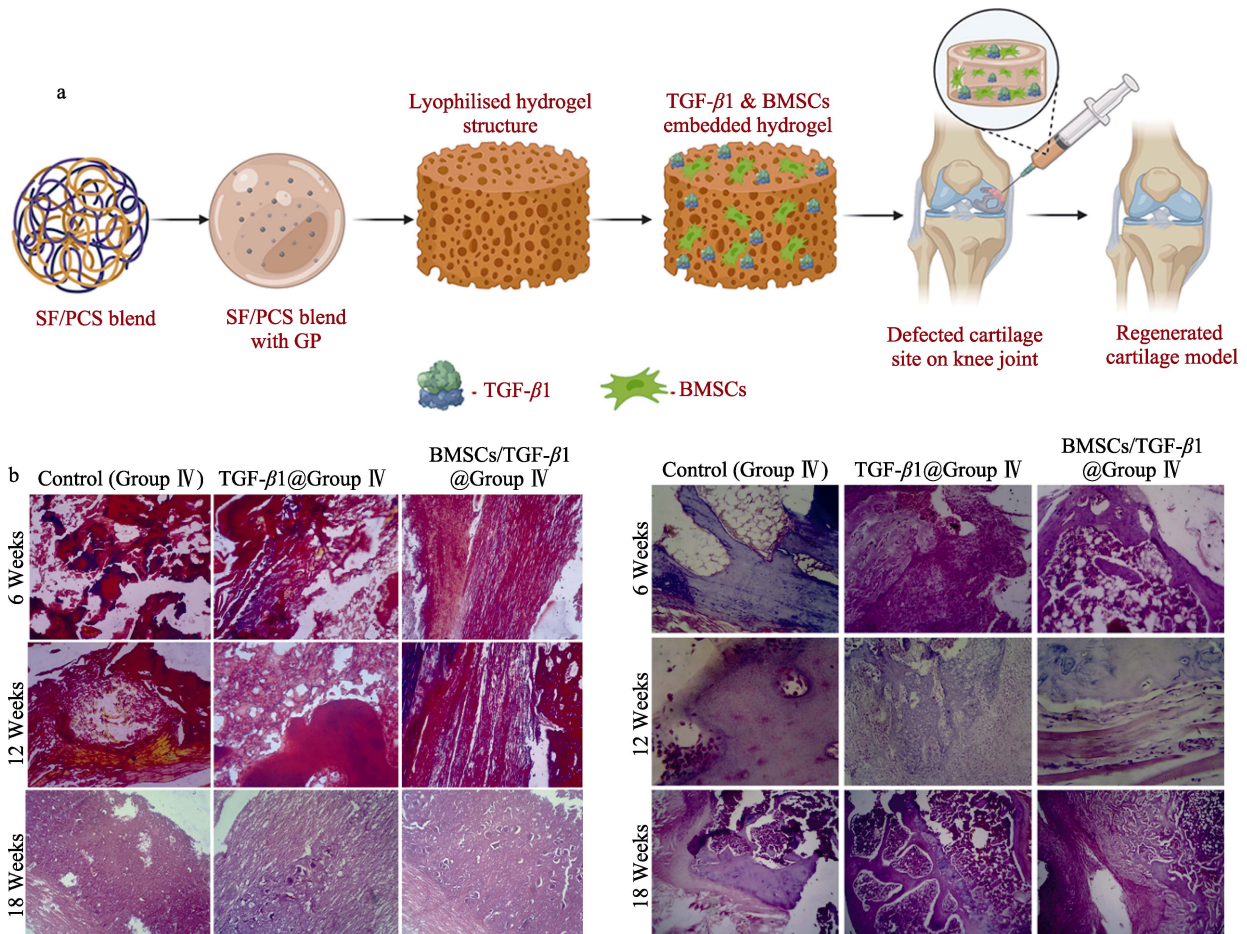


图 10 负载 BMSCs 和 $\text{TGF-}\beta 1$ 的 SF/PCS/GP 用于软骨修复的示意图 (a); 术后 6、12、18 周, SF/PCS/GP 组治疗软骨缺损的组织学观察 (b)^[90]

Fig. 10 Schematic diagram of SF/PCS/GP loaded with BMSCs and $\text{TGF-}\beta 1$ for cartilage repair (a); Histological observation of SF/PCS/GP hydrogel group in treating cartilage defects 6, 12 and 18 weeks after operation (b)^[90]

4 结束语与展望

近几十年来,多糖基温敏可注射型水凝胶因其温度控制原位成胶及良好的生物安全性等优势,已在生物医学领域得到迅速发展。部分多糖基水凝胶产品的应用已经从体外步入到体内,从实验室走向实际临床应用,相关的研究成果和产品应用前景广阔。为进一步拓展多糖基水凝胶产品的应用范围,加速推进其大范围临床应用,对多糖基温敏可注射型水凝胶的原料组成及设计策略、功能调控、机械强度、稳定性等方面的研发提出如下建议:

(1) 优化原料组成及设计策略。虽然多糖具有无毒性和良好的生物降解性,但多糖基温敏可注射型水凝胶的设计通常需要对多糖结构进行物理或化学修饰。新引入基团、化合物和功能聚合物可能会带来潜在的组织毒性问题,因此,多糖基温敏可注射型水凝胶的成分和设计方法的优化是需要考虑的主要问题。另外,多糖基温敏可注射型水凝胶的相转变温度的调控较为复杂,相转变温度可调节范围较窄。因此,如何方便、快捷地调控相转变温度以满足实际应用的需求,是未来研究的重点。

(2) 开发多样化环境刺激响应。生物体的病灶部位微环境较为复杂,常存在 pH、氧含量、温度、离子强度和微生物等因素的细微变化。因此,在未来的研究工作中,开发具有多重刺激敏感的可注射型水凝胶以适应生物体病灶组织内微环境的变化具有重要意义。

(3) 增强机械强度和稳定性。目前,温敏水凝胶通过物理和化学改性,其力学性能已基本达到了临床应用的要求。但是,相比于当前主流弹性体(如聚氨酯、聚二甲基硅氧烷和硫化弹性体等),其机械强度和稳定性还存在很大差异。因此,在保证多糖基温敏可注射型水凝胶可注射性能和生物安全性的前提下,如何提高其机械强度是此方向的重心。

参考文献:

- [1] MO C X, XIANG L, CHEN Y P. Advances in injectable and self-healing polysaccharide hydrogel based on the Schiff base reaction[J]. *Macromolecular Rapid Communications*, 2021, 42(10): 2100025.
- [2] ALTOMARE L, BONETTI L, CAMPIGLIO C E, *et al.* Biopolymer-based strategies in the design of smart medical devices and artificial organs[J]. *The International Journal of Artificial Organs*, 2018, 41(6): 337-359.
- [3] ROGINA A, RESSLER A, MATIĆ I, *et al.* Cellular hydrogels based on pH-responsive chitosan-hydroxyapatite system[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 166: 173-182.
- [4] TIAN Y (田野), LIU Y (刘鹰). Chitosan-based adsorption materials for removal of heavy metal ions from aqueous solution[J]. *Marine Sciences (海洋科学)*, 2018, 42(2): 167-176.
- [5] SHANG Y (尚悦), DAI M Y (代明允), LIU Y (刘鹰), *et al.* Hydrogels and removal of heavy metals from water body: A review [J]. *Journal of Dalian Ocean University (大连海洋大学学报)*, 2021, 36(2): 347-354.
- [6] CHEN S L (陈顺兰), SHANG L L (尚伶俐), CHEN H Y (陈晗予), *et al.* Dynamics in feeding process of cold feed rubber extruder[J]. *Polymer Materials Science and Engineering (高分子材料科学与工程)*, 2023, 39(3): 118-126.
- [7] MUIR V G, BURDICK J A. Chemically modified biopolymers for the formation of biomedical hydrogels[J]. *Chemical Reviews*, 2020, 121(18): 10908-10949.
- [8] YARAHMADI E, DIDEHBAN K, SARI M G, *et al.* Development and curing potential of epoxy/starch-functionalized graphene oxide nanocomposite coatings[J]. *Progress in Organic Coatings*, 2018, 119: 194-202.
- [9] LUTZ J F, LEHN J M, MEIJER E W, *et al.* From precision polymers to complex materials and systems[J]. *Nature Reviews Materials*, 2016, 1(5): 1-16.
- [10] GHIYASI S, SARI M G, SHABANIAN M, *et al.* Hyperbranched poly(ethyleneimine) physically attached to silica nanoparticles to facilitate curing of epoxy nanocomposite coatings[J]. *Progress in Organic Coatings*, 2018, 120: 100-109.
- [11] GIANG P V H, DUONG H T T, THAMBI T, *et al.* Modularly engineered injectable hybrid hydrogels based on protein-polymer network as potent immunologic adjuvant *in vivo*[J]. *Biomaterials*, 2019, 195: 100-110.
- [12] ZARRINTAJ P, BAKHSHANDEH B, SAEB M R, *et al.* Oligoaniline-based conductive biomaterials for tissue engineering[J]. *Acta Biomaterialia*, 2018, 72: 16-34.
- [13] DARGE H F, ANDRGIE A T, TSAI H C, *et al.* Polysaccharide and polypeptide based injectable thermo-sensitive hydrogels for local biomedical applications[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 133: 545-563.
- [14] NURKESH A, JAGUPAROV A, JIMI S, *et al.* Recent advances in the controlled release of growth factors and cytokines for improving cutaneous wound healing[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2020, 8: 638.
- [15] WANG J, TANG F, WANG Y, *et al.* Self-healing and highly stretchable gelatin hydrogel for self-powered strain sensor[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 12(1): 1558-1566.
- [16] SAEB M R, MOHAMMADI Y, KERMANIYAN T S, *et al.* Unspoken aspects of chain shuttling reactions: Patterning the molecular landscape of olefin multi-block copolymers[J]. *Polymer*, 2017, 116: 55-75.
- [17] BAKHSHANDEH B, ZARRINTAJ P, OFTADEH M O, *et al.* Tissue engineering: Strategies, tissues, and biomaterials[J]. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 2018, 33(2): 144-172.
- [18] BAO B K (鲍丙坤), LIU T (刘湍), LIN Q N (林秋宁), *et al.* Progress in research and biomedical applications of photocrosslinked hydrogels[J]. *Acta Polymerica Sinica (高分子学报)*, 2021, 52(6): 646-662.
- [19] RAINA N, PAHWA R, THAKUR V K, *et al.* Polysaccharide-based hydrogels: New insights and futuristic prospects in wound healing[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 223: 1586-1603.
- [20] RUEL-GARIÉPY E, LEROUX J C. *In situ*-forming hydrogels: Review of temperature-sensitive systems[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2004, 58(2): 409-426.
- [21] CHEN F P, LU G Q, YUAN H D, *et al.* Mechanism and regulation of LCST behavior in poly(hydroxypropyl acrylate)-based temperature-sensitive hydrogels[J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2022, 10(35): 18235-18247.
- [22] HEYDA J, SOLL S, YUAN J Y, *et al.* Thermodynamic description of the LCST of charged thermoresponsive copolymers[J]. *Macromolecules*, 2014, 47(6): 2096-2102.
- [23] SCHUETZ Y B, GURNY R, JORDAN O. A novel thermoresponsive

- hydrogel based on chitosan[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2008, 68(1): 19-25.
- [24] MATTHES R, FREY H. Polyethers based on short-chain alkyl glycidyl ethers: Thermoresponsive and highly biocompatible materials [J]. *Biomacromolecules*, 2022, 23(6): 2219-2235.
- [25] RIZZO F, KEHR N S. Recent advances in injectable hydrogels for controlled and local drug delivery[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2020, 10(1): 2001341.
- [26] SUDIPTA C, PATRICK C L H, JESSICA R, *et al.* Review of stimuli-responsive polymers in drug delivery and textile application[J]. *Molecules*, 2019, 24(14): 2547.
- [27] KIM Y J, MATSUNAGA Y T. Thermo-responsive polymers and their application as smart biomaterials[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2017, 5(23): 4307-4321.
- [28] KLOUDA L, MIKOS A G. Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2008, 68(1): 34-45.
- [29] GRAHAM S, MARINA P F, BLENCOWE A. Thermoresponsive polysaccharides and their thermoreversible physical hydrogel networks[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 207: 143-159.
- [30] WANG C, YANG T, WANG T, *et al.* Thermosensitive behavior of hydrophobically associating anionic guar gum solutions and gels[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 111: 169-177.
- [31] FAN R R, CHENG Y, WANG R R, *et al.* Thermosensitive hydrogels and advances in their application in disease therapy[J]. *Polymers*, 2022, 14(12): 2379.
- [32] JIANG J X (蒋建新), ZHANG L P (张乐平), XU W (徐伟), *et al.* Advance on modification and application of characteristic macromolecular polysaccharides[J]. *Journal of Forestry Engineering (林业工程学报)*, 2022, 7(6): 13-24.
- [33] REN X C (任显财). Preparation and properties of thermosensitive hydrogels[J]. *Coal Science and Technology (煤炭科学技术)*, 2021, 49(S2): 190-195.
- [34] BUCKLEY C T, THORPE S D, O'BRIEN F J, *et al.* The effect of concentration, thermal history and cell seeding density on the initial mechanical properties of agarose hydrogels[J]. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2009, 2(5): 512-521.
- [35] MA Y (马颖), WANG J Q (王建全), LI X M (李向梅), *et al.* Influence of two carboxylated cellulose derivatives on mechanical properties of polyacrylamide composite hydrogels[J]. *Polymer Materials Science and Engineering (高分子材料科学与工程)*, 2021, 37(10): 137-144.
- [36] NORMAND V, LOOTENS D L, AMICI E, *et al.* New insight into agarose gel mechanical properties[J]. *Biomacromolecules*, 2000, 1(4): 730-738.
- [37] FORGET A, CHRISTENSEN J, LÜDEKE S, *et al.* Polysaccharide hydrogels with tunable stiffness and provasculogenic properties via α -helix to β -sheet switch in secondary structure[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110(32): 12887-12892.
- [38] CHENG S (程爽), HE F (贺斐), ZHANG Y D (章亚东), *et al.* Preparation of selenium polysaccharide from *Rabdosia rubescens* and analysis of its antioxidant activity[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2021, 38(10): 2064-2071.
- [39] CHEABURU C N, CIOCOIU O N, STAIKOS G, *et al.* Thermoresponsive sodium alginate-g-poly(*N*-isopropylacrylamide) copolymers III. Solution properties[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2013, 127(5): 3340-3348.
- [40] TIAN Y (田野). Design, synthesis and properties of thermoresponsive hydroxyethyl cellulose derivatives[D]. Dalian: Dalian University of Technology (大连理工大学), 2018.
- [41] JU B Z, YAN D M, ZHANG S F. Micelles self-assembled from thermoresponsive 2-hydroxy-3-butoxypropyl starches for drug delivery[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 87(2): 1404-1409.
- [42] JU B Z, ZHANG C L, ZHANG S F. Thermoresponsive starch derivatives with widely tuned LCSTs by introducing short oligo (ethylene glycol) spacers[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 108: 307-312.
- [43] QU M F (曲萌萌), WANG Y X (王艺璇), ZHANG H (张杭), *et al.* Preparation and drug loading properties of hydroxypropyl chitosan/oxidized methyl cellulose self-healing hydrogel[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2023, 40(8): 1734-1741.
- [44] DAI M Y (代明允), TIAN Y (田野), LIU Y (刘鹰), *et al.* Preparation and temperature responsive properties of 2-hydroxy-3-allyloxypropyl hydroxyethyl celluloses[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2019, 36(4): 595-601, 608.
- [45] ATANASE L I, DESBRIERES J, RIESS G. Micellization of synthetic and polysaccharides-based graft copolymers in aqueous media[J]. *Progress in Polymer Science*, 2017, 73: 32-60.
- [46] COOPERSTEIN M A, CANAVAN H E. Assessment of cytotoxicity of *N*-isopropyl acrylamide and poly(*N*-isopropyl acrylamide)-coated surfaces[J]. *Biointerphases*, 2013, 8(1): 19.
- [47] YANG X D (杨晓东), ZHANG W Z (张文政). Preparation and characterization of bio based superabsorbent thermosensitive hydrogel [J]. *Coal Science and Technology (煤炭科学技术)*, 2022, 50(S2): 411-416.
- [48] FAN M, LI M Y, WANG X, *et al.* Injectable thermosensitive iodine-loaded starch-g-poly(*N*-isopropylacrylamide) hydrogel for cancer photothermal therapy and anti-infection[J]. *Macromolecular Rapid Communications*, 2022, 43(18): 2200203.
- [49] GHANAVI M, KHOSHANDAM A, ASLZAD S, *et al.* Injectable thermosensitive PEG-g-chitosan hydrogel for ocular delivery of vancomycin and prednisolone[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2023, 83: 104385.
- [50] SHI J Y, YU L, DING J D. PEG-based thermosensitive and biodegradable hydrogels[J]. *Acta Biomaterialia*, 2021, 128: 42-59.
- [51] LIU L, GAO Q, LU X M, *et al.* *In situ* forming hydrogels based on chitosan for drug delivery and tissue regeneration[J]. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2016, 11(6): 673-683.
- [52] KIM H K, SHIM W S, KIM S E, *et al.* Injectable *in situ*-forming pH/thermo-sensitive hydrogel for bone tissue engineering[J]. *Tissue Engineering Part A*, 2009, 15(4): 923-933.
- [53] DHIVYA S, SARAVANAN S, SASTRY T P, *et al.* Nanohydroxyapatite-reinforced chitosan composite hydrogel for bone tissue repair *in vitro* and *in vivo*[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2015, 13(1): 40.
- [54] ZHANG X Y, YANG Z D, XIE D M, *et al.* Design and synthesis study of the thermo-sensitive poly(*N*-vinylpyrrolidone-*b*-*N,N*-diethylacrylamide)[J]. *Designed Monomers and Polymers*, 2018, 21(1): 43-54.
- [55] CHENITE A, CHAPUT C, WANG D, *et al.* Novel injectable neutral solutions of chitosan form biodegradable gels *in situ*[J]. *Biomaterials*, 2000, 21(21): 2155-2161.
- [56] CHO J, HEUZEY M C, BÉGIN A, *et al.* Physical gelation of chitosan in the presence of β -glycerophosphate: The effect of temperature[J]. *Biomacromolecules*, 2005, 6(6): 3267-3275.
- [57] MORADI L, WITEK L, NAYAK V V, *et al.* Injectable hydrogel for sustained delivery of progranulin derivative atsttrin in treating diabetic fracture healing[J]. *Biomaterials*, 2023, 301: 122289.
- [58] JAFARI H, ALIMORADI H, DELPORTE C, *et al.* An injectable, self-healing, 3D printable, double network co-enzymatically crosslinked hydrogel using marine poly- and oligo-saccharides for wound healing application[J]. *Applied Materials Today*, 2022, 29: 101581.
- [59] DALY A C, RILEY L, SEGURA T, *et al.* Hydrogel microparticles for biomedical applications[J]. *Nature Reviews Materials*, 2019, 5(1): 20-43.
- [60] GAO F Y, JIAO C C, YU B, *et al.* Preparation and biomedical application of injectable hydrogels[J]. *Materials Chemistry Frontiers*, 2021, 5(13): 4912-4936.
- [61] DEVI V K A, SHYAM R, PALANIAPPAN A, *et al.* Self-healing hydrogels: Preparation, mechanism and advancement in biomedical

- applications[J]. *Polymers*, 2021, 13(21): 3782.
- [62] ZHENG Z Q, BIAN S Q, LI Z Q, *et al.* Catechol modified quaternized chitosan enhanced wet adhesive and antibacterial properties of injectable thermo-sensitive hydrogel for wound healing[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 249: 116826.
- [63] BARBU A, NEAMTU B, ZĂHAN M, *et al.* Current trends in advanced alginate-based wound dressings for chronic wounds[J]. *Journal of Personalized Medicine*, 2021, 11(9): 890.
- [64] WANG T (王通), WANG G F (王广飞), ZHANG S M (张淑敏), *et al.* Research progress of hydrogel wound dressing based on natural polysaccharides[J]. *Materials Reports (材料导报)*, 2022, 36(6): 182-190.
- [65] NISHANTHI R, MALATHI S, PALANI P, *et al.* Green synthesis and characterization of bioinspired silver, gold and platinum nanoparticles and evaluation of their synergistic antibacterial activity after combining with different classes of antibiotics[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2019, 96: 693-707.
- [66] DHAND V, SOUMYA L, BHARADWAJ S, *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using coffee arabica seed extract and its antibacterial activity[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2016, 58: 36-43.
- [67] ZANG S Q, MU R, CHEN F, *et al.* Injectable chitosan/ β -glycerophosphate hydrogels with sustained release of BMP-7 and ornidazole in periodontal wound healing of class III furcation defects [J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2019, 99: 919-928.
- [68] LUO X M, AO F, HUO Q Q, *et al.* Skin-inspired injectable adhesive gelatin/HA biocomposite hydrogel for hemostasis and full-thickness dermal wound healing[J]. *Biomaterials Advances*, 2022, 139: 212983.
- [69] HU B H, BERKEY C, FELICIANO T, *et al.* Thermal-disrupting interface mitigates intercellular cohesion loss for accurate topical antibacterial therapy[J]. *Advanced Materials*, 2020, 32(12): 1907030.
- [70] SHOU Y F, ZHANG J H, YAN S F, *et al.* Thermo-responsive chitosan/DOPA-based hydrogel as an injectable therapy approach for tissue-adhesion and hemostasis[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2020, 6(6): 3619-3629.
- [71] ABBAS M, HUSSAIN T, ARSHAD M, *et al.* Wound healing potential of curcumin cross-linked chitosan/polyvinyl alcohol[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 140: 871-876.
- [72] CAO J F, WU P, CHENG Q Q, *et al.* Ultrafast fabrication of self-healing and injectable carboxymethyl chitosan hydrogel dressing for wound healing[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2021, 13(20): 24095-24105.
- [73] ZHU D Y, CHEN Z P, HONG Z P, *et al.* Injectable thermo-sensitive and wide-crack self-healing hydrogel loaded with antibacterial anti-inflammatory dipotassium glycyrrhizate for full-thickness skin wound repair[J]. *Acta Biomaterialia*, 2022, 143: 203-215.
- [74] ZAKERIKHOOB M, ABBASI S, YOUSEFI G, *et al.* Curcumin-incorporated crosslinked sodium alginate-g-poly(*N*-isopropyl acrylamide) thermo-responsive hydrogel as an *in-situ* forming injectable dressing for wound healing: *In vitro* characterization and *in vivo* evaluation[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 271: 118434.
- [75] DUONG H T T, THAMBI T, YIN Y, *et al.* Degradation-regulated architecture of injectable smart hydrogels enhances humoral immune response and potentiates antitumor activity in human lung carcinoma [J]. *Biomaterials*, 2020, 230: 119599.
- [76] SUN P F, HUANG T, WANG X X, *et al.* Dynamic-covalent hydrogel with NIR-triggered drug delivery for localized chemophothermal combination therapy[J]. *Biomacromolecules*, 2019, 21(2): 556-565.
- [77] CHABRIA Y, DUFFY G, LOWERY A, *et al.* Hydrogels: 3D drug delivery systems for nanoparticles and extracellular vesicles[J]. *Biomedicine*, 2021, 9(11): 1694.
- [78] WANG D, XIA Y Z, ZHANG D, *et al.* Hydrogen-bonding reinforced injectable hydrogels: Application as a thermo-triggered drug controlled-release system[J]. *ACS Applied Polymer Materials*, 2020, 2(4): 1587-1596.
- [79] CHEN M C, TAN Y J, DONG Z L, *et al.* Injectable anti-inflammatory nanofiber hydrogel to achieve systemic immunotherapy post local administration[J]. *Nano Letters*, 2020, 20(9): 6763-6773.
- [80] ZIMINSKA M, WILSON J J, MCERLEAN E, *et al.* Synthesis and evaluation of a thermoresponsive degradable chitosan-grafted PNIPAAm hydrogel as a "smart" gene delivery system[J]. *Materials*, 2020, 13(11): 2530.
- [81] TANG W Q (唐文强), GAO Y R (高艳蓉), LIU B (刘斌), *et al.* Research progress on smart responsive nanocarrier systems for drug delivery[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2020, 37(5): 883-892.
- [82] GE J F (葛界芳), XIONG X Y (熊向源). Nanoscale drug delivery systems for multidrug resistance inhibition in cancer therapy[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2023, 40(5): 989-999.
- [83] LIU M, SONG X, WEN Y T, *et al.* Injectable thermoresponsive hydrogel formed by alginate-g-poly(*N*-isopropylacrylamide) that releases doxorubicin-encapsulated micelles as a smart drug delivery system[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(41): 35673-35682.
- [84] OKUBO M, IOHARA D, ANRAKU M, *et al.* A thermoresponsive hydrophobically modified hydroxypropylmethylcellulose/cyclodextrin injectable hydrogel for the sustained release of drugs[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2020, 575: 118845.
- [85] POURBADIEI B, ADLSADABAD S Y, RAHBARIASR N, *et al.* Synthesis and characterization of dual light/temperature-responsive supramolecular injectable hydrogel based on host-guest interaction between azobenzene and starch-grafted β -cyclodextrin: Melanoma therapy with paclitaxel[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2023, 313: 120667.
- [86] LIN X J, TSAO C T, KYOMOTO M, *et al.* Injectable natural polymer hydrogels for treatment of knee osteoarthritis[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2021, 11(9): 2101479.
- [87] CHEN J Y, ZHAI Z H, EDGAR K J. Recent advances in polysaccharide-based *in situ* forming hydrogels[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2022, 70: 102200.
- [88] SARAVANAN S, VIMALRAJ S, THANIKAVELAN P, *et al.* A review on injectable chitosan/beta glycerophosphate hydrogels for bone tissue regeneration[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 121: 38-54.
- [89] DANG Q F, YAN J Q, LI J J, *et al.* Controlled gelation temperature, pore diameter and degradation of a highly porous chitosan-based hydrogel[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 83(1): 171-178.
- [90] ZHENG D, CHEN T, HAN L, *et al.* Synergistic integrations of bone marrow stem cells and transforming growth factor- β 1 loaded chitosan nanoparticles blended silk fibroin injectable hydrogel to enhance repair and regeneration potential in articular cartilage tissue[J]. *International Wound Journal*, 2022, 19(5): 1023-1038.
- [91] CHEN H J Y (陈黄敬一), YU J (俞娟), JIANG J (蒋杰), *et al.* Research progress of TEMPO oxidation modified natural polysaccharide nanofiber reinforced composites and their functionality [J]. *Acta Materiae Compositae Sinica (复合材料学报)*, 2022, 39(4): 1425-1445.
- [92] STOLZING A, JONES E, MCGONAGLE D, *et al.* Age-related changes in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells: Consequences for cell therapies[J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2008, 129(3): 163-173.
- [93] WASUPALLI G K, VERMA D. Development of chitosan-polygalacturonic acid polyelectrolyte complex fibrous scaffolds using the hydrothermal treatment for bone tissue engineering[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2022, 111(3): 354-366.
- [94] WASUPALLI G K, VERMA D. Thermosensitive injectable hydrogel based on chitosan-polygalacturonic acid polyelectrolyte complexes for bone tissue engineering[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 294: 119769.