



海藻酸盐水凝胶作为递送载体在组织再生中的应用

臧帆^{1,2}, 秦松^{2,3}, 王蕾², 王宇², 李文军^{2,3*}, 林剑^{1*}

1. 烟台大学生命科学学院, 烟台 264005

2. 中国科学院烟台海岸带研究所, 烟台 264003

3. 中国科学院海洋大科学研究中心, 青岛 266071

*通讯作者, E-mail: wjli@yic.ac.cn; linjian3384@163.com

收稿日期: 2021-05-06; 接受日期: 2021-07-13; 网络版发表日期: 2021-11-22

山东省重大科技创新工程项目(编号: 2019JZZY011103)资助

摘要 海藻酸盐是一类存在于褐藻中的线性亲水多糖, 由D-甘露糖醛酸(M)和L-古洛糖醛酸(G)以不同比例的重复单元组成. 它是用于水凝胶合成的天然生物材料之一, 通过简单的离子交联, 即可与Ca²⁺等多价无机阳离子发生“蛋盒反应”, 形成水凝胶. 海藻酸盐骨架上存在大量-OH和-COOH极性基团, 通过化学或物理方法对其进行修饰, 使其可以在温度、pH、光等刺激的响应下实现细胞或生物活性分子的可控释放. 目前组织再生领域的主要应用策略之一是利用生物相容性材料, 结合生物活性分子和细胞, 以促进受损组织的再生. 水凝胶材料在保护嵌入的细胞并模仿天然细胞外基质方面具有潜力. 海藻酸盐也因为其易于凝胶化和良好的生物相容性, 被广泛用于组织再生领域. 本综述中, 我们总结了用于组织再生, 特别在伤口愈合、骨和心脏修复领域的海藻酸盐水凝胶的不同交联方法, 重点分析了刺激具有响应性的海藻酸盐水凝胶的特征以及其作为递送载体在组织再生中的应用.

关键词 海藻酸盐, 水凝胶, 共价和非共价交联, 刺激响应性, 递送载体, 组织再生

1 引言

海洋大型藻类中的多糖与陆生植物中存在的多糖有很大的差异, 其中褐藻细胞壁中存在的海藻酸盐, 在其他任何类型的海藻中均不存在. 海藻酸盐是一类阴离子酸性多糖, 属于线性非重复共聚物家族. 海藻酸盐具有生物相容性、低毒性、成本低以及在二价阳离子存在时易于凝胶等优势, 使其被广泛研究并应用于

许多生物医学领域^[1].

海藻酸盐通过β-D-甘露糖醛酸(M)和α-L-古洛糖醛酸(G)单体以不同比例的重复单元组成, 同时带有游离的官能羟基(-OH)和官能羧基(-COOH) (图1). 其中G和M单体的排列顺序分为MM、GG或GM嵌段三种类型^[2]. 在不同类型的藻类以及同一藻类的不同结构中, 海藻酸盐单体的比例和排列顺序有很大差异^[3]. 例如, 海带的叶子中含有大量M嵌段, 而柄和茎中含有大

引用格式: Zang F, Qin S, Wang L, Wang Y, Li W, Lin J. Application of alginate hydrogel as a delivery vehicle in tissue regeneration. *Sci Sin Chim*, 2022, 52: 23–37, doi: [10.1360/SSC-2021-0107](https://doi.org/10.1360/SSC-2021-0107)

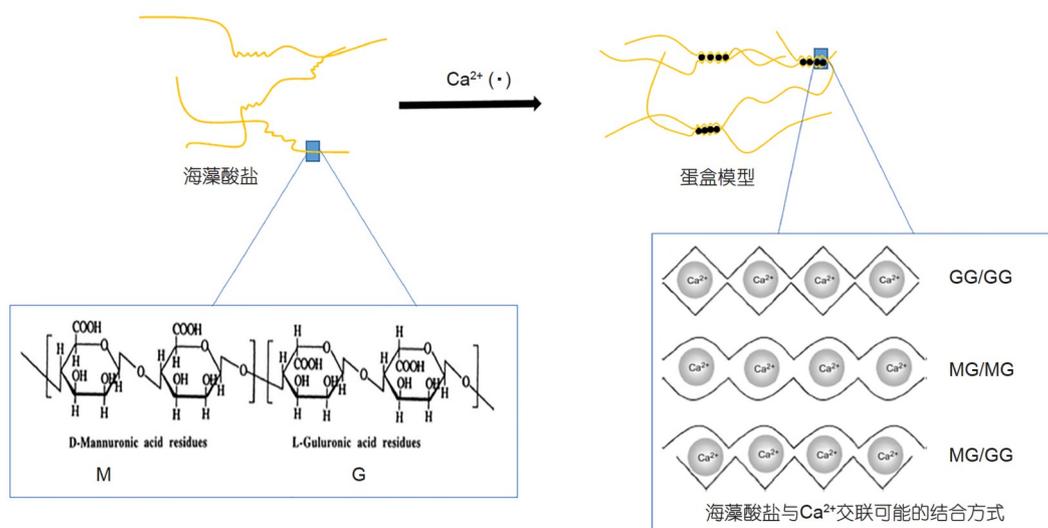


图 1 海藻酸盐离子凝胶化过程中蛋盒结构的形成(网络版彩图)

Figure 1 The formation of egg-box structure during the process of alginate ion gelation (color online).

量的G嵌段. 与此类似, 泡叶藻子实体中的M嵌段含量比旧组织要高得多. 同时, 不同的嵌段比例决定着海藻酸盐的物理性质. 当海藻酸盐中G嵌段含量较高时, 具有更好的凝胶性能. 当海藻酸盐中M嵌段含量较高时, 制备的水凝胶黏附性较高, 并显示出较高的生物相容性. 目前商业化的海藻酸盐大多是从*Laminaria*和*Macrocystis*等褐藻中提取的, 同时它也可以从*A. vinelandii*和各种铜绿假单胞菌中获取.

水凝胶是由亲水聚合物构成的三维交联网络, 其含水量高达干重的数千倍, 可以在吸收大量水分的同时保持其结构的完整性. 高度水合的网络结构使水凝胶可以在不破坏其生物活性和治疗功效的情况下, 实现水溶药物(尤其是大分子蛋白质类)的包封. 同时, 由于与人类细胞外基质结构相类似, 可以给细胞提供有效的生存环境, 实现细胞的固定. 海藻酸盐能够与二价阳离子(如 Ca^{2+})发生相互作用, 可以在温和的条件下形成海藻酸盐水凝胶. 水凝胶独特的生物相容性和低毒性. 这增加了水凝胶在生物医学领域, 特别是在组织再生领域的应用.

海藻酸盐水凝胶可以用作组织工程中的药物递送载体, 还与海藻酸盐的生物降解性息息相关. 由于哺乳动物体内缺乏裂解海藻酸盐聚合物链的海藻糖酶, 海藻酸盐在哺乳动物体内是不可降解的. 但是由于周围环境中存在 Na^+ 等单价阳离子, 其能够与水凝胶离子

交联过程中存在的二价阳离子发生置换, 使得其能够在体内逐渐分解^[3]. 同时, 还可以通过部分氧化尿酸残基, 以使海藻酸盐聚合物链易于水解. Silva和Mooney^[4]研究了海藻酸盐氧化对¹²⁵I标记的血管内皮生长因子(VEGF)向磷酸盐缓冲溶液(PBS)释放的影响. 高碘酸盐氧化后裂解了尿酸残基中顺式二醇基团的碳-碳键, 并改变了海藻酸盐的椅式构象和开链加合物形态, 从而使海藻酸盐降解, 同时氧化过程中分子量会略有降低, 而由于二价阳离子的存在, 部分氧化的海藻酸盐对其本身的凝胶性能影响不大^[5].

2 海藻酸盐凝胶过程的交联方式

目前, 海藻酸盐水凝胶的制备一般分为非共价和共价两种方式. 在非共价交联中, 通过存在于各种聚合物链之间的分子相互作用来防止水凝胶基质的降解. 在共价交联的水凝胶中, 聚合物链之间形成共价键. 我们总结了制备水凝胶的方法, 以及这些方法如何改变与生物医学相关的水凝胶的性质.

2.1 非共价交联

非共价交联的海藻酸盐水凝胶通常通过冻融、pH、阴离子和阳离子聚合物来触发, 交联过程温和且简单. 海藻酸盐在pH低于3可以进行超分子组装, 还可

以与 Ca^{2+} 等多价阳离子协同结合,用于形成水凝胶.该凝胶过程中没有共价键的参与,水凝胶内部主要通过相互作用相对较弱的作用力交联,如静电相互作用、氢键键合和疏水相互作用等.水凝胶网络的强度受到pH、温度等因素的影响.同时,由于该过程没有外源性物质或者化学交联剂的参与,得到的水凝胶几乎无细胞毒性.

2.1.1 离子交联

海藻酸盐的特征之一是在多价阳离子存在时具有形成离子凝胶的能力.研究认为,二价阳离子仅与海藻酸盐链的G嵌段结合,这是由于G嵌段的结构允许二价阳离子的高度配位.然后在称为蛋盒模型的交联过程中,海藻酸盐一条链上的G嵌段与相邻链上的G嵌段通过阳离子连接在一起,从而形成水凝胶结构(图1).

CaCl_2 是最常见的离子交联剂,凝胶温和且无细胞毒性.但是 Ca^{2+} -海藻酸盐水凝胶具有机械强度低、易于解聚以及受控释放能力弱等问题.因此研究人员也对其他金属离子交联剂产生了浓厚的兴趣.研究发现, Zn^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Sr^{2+} 等二价金属离子也可以与海藻酸盐反应形成水凝胶^[6,7].Liu等^[8]发现与 Ba^{2+} 、 Sr^{2+} 和 Zn^{2+} 交联的海藻酸盐凝胶具有良好的细胞相容性,与 Zn^{2+} 和 Ba^{2+} 交联的水凝胶具有更理想的结构稳定性和生物相容性.Mørch等^[9]报道了 Ba^{2+} 、 Sr^{2+} 分别与海藻酸盐链中G和M嵌段的交联性能,发现 Ba^{2+} 可以与G和M嵌段交联,而 Sr^{2+} 选择性地与G嵌段交联.

同时,由于 CaCl_2 在水性介质中具有较高的溶解度,使得海藻酸盐的凝胶速率过快且无法控制,形成的海藻酸盐水凝胶的均匀性和强度较差.为了延缓凝胶速度,可以采用 CaSO_4 和 CaCO_3 代替 CaCl_2 ,它们在水溶液中的溶解性较弱,这延长了海藻酸盐的老化时间.另外,可以使用含磷的缓冲液代替纯水介质.这是由于在与钙离子反应过程中,含磷缓冲液中的磷酸基团可以与海藻酸盐的羧酸基团发生竞争,从而减缓凝胶速率.

2.1.2 分子作用力

(1) 疏水相互作用

海藻酸盐是一类亲水性多糖,其携带的两个羟基使其具备亲水性,同时羧酸根离子的存在使其在 $\text{pH}>5$ 的水溶液中具有更高的水溶性.疏水键是可逆的非共

价相互作用,通常可以在非极性疏水基团中观察到^[10].海藻酸盐的疏水改性是指将具有亲水特性的海藻酸盐转化成两亲或疏水性分子^[3],实现这种转化最直接的方法是将长烷基链或芳族基团等疏水残基共价连接到海藻酸盐骨架上^[11].疏水改性后,海藻酸盐亲水性部分用来增加其在水中的溶解性,而疏水性部分在水溶液中聚集,形成的疏水腔可作为疏水药物的载体^[12].

(2) 氢键相互作用

由于海藻酸盐G和M残基的 pK_a 分别为3.38和3.65.因此,海藻酸盐在很宽的pH范围内带负电.当溶液的pH降低至海藻酸盐的离解常数(pK_a)以下时,就会形成海藻酸凝胶.与离子交联不同的是,酸性凝胶是通过氢键稳定的.另一方面,酸性凝胶的凝胶强度与海藻酸盐本身G嵌段的含量相关^[13].

2.2 共价交联

海藻酸盐通过其游离的-OH和-COOH官能团,与戊二醛和己二酸二酰肼等化学交联剂反应来实现共价交联.海藻酸盐的机械性能和溶胀度与交联剂的类型和交联密度息息相关.交联密度直接影响水凝胶的机械强度,不同的交联剂控制着水凝胶的溶胀率.例如,将亲水性基团作为交联剂引入海藻酸盐水凝胶,可提高海藻酸盐水凝胶的亲水性,进而影响水凝胶的溶胀率.目前,通过选择不同的交联剂类型和交联密度对海藻酸盐骨架进行修饰,改善海藻酸盐水凝胶的物理性质,使其能够作为递送载体应用于组织再生中(表1)^[14-29].

2.2.1 点击交联

点击化学因特异性强、效率高等优势而被广泛用于海藻酸盐的凝胶反应,其中最常使用1,3-偶极环加成反应.Krause等^[30]将环状RGD-五肽与海藻酸盐通过无金属共轭过程点击偶联在一起,开发了新颖的RGD改性水凝胶,提高了其细胞黏附性.在此基础上,Moody等^[31]将四双环壬炔(tBCN)试剂与叠氮化物修饰的海藻酸盐共价交联,得到的水凝胶可用于药物输送.通过这种方法,改良的海藻酸盐水凝胶的细胞黏附性强,它们可以从血液中捕获小分子药物.

2.2.2 细胞交联

通过共价键将细胞黏附性肽与海藻酸盐骨架连

表 1 共价交联的海藻酸盐水凝胶及其应用

Table 1 Covalently cross-linked alginate hydrogel and its application

海藻酸盐存在形式	交联剂	搭载药物	凝胶形式	应用	参考文献
点击反应					
叠氮化物修饰的海藻酸盐	四双环壬炔(tBCN)	-	可注射水凝胶	提高可填充海藻酸盐仓库的保留率和针对性	[31]
降冰片烯修饰的海藻酸盐	二碘化物-四嗪(Se-Tz)	吲哚菁绿和阿霉素	水凝胶	用于可控药物释放	[14]
降冰片烯或修饰的海藻酸盐	3-(对苯氨基)-1,2,4,5四嗪	-	水凝胶	用于2D细胞接种和3D封装	[15]
咪喃改性的海藻酸盐	聚乙二醇基双胺或三马来酰亚胺	香草醛	水凝胶	可用于芳香族模型药物的释放	[16]
酰胺键					
醛基化海藻酸盐	4-(2-氨基乙基)苯甲酸	-	水凝胶	药物递送	[17]
羧基化海藻酸盐	P(N-异丙基丙烯酰胺-共-N-叔丁基丙烯酰胺)	-	可注射的热敏性自组装水凝胶	调节热诱导凝胶和改性能力	[18]
酰化海藻酸钠	癸酰氯和三甲胺	-	水凝胶自组装胶束	载药的胶束表现出明显的pH敏感性	[19]
席夫碱反应					
氧化藻酸盐	醛	脂肪来源间充质干细胞(AMSC)	多孔水凝胶	细胞封存	[20]
海藻酸盐二醛	明胶	纳米级生物活性玻璃	水凝胶复合胶囊		[21]
海藻酸盐二醛	明胶		热敏水凝胶微球		[22]
氧化藻酸盐	DNA核苷酸	纳米颗粒	水凝胶	水凝胶表现出自愈和剪切稀化的性质	[23]
氧化藻酸盐	基于硼酸盐络合和席夫碱反应的自交联	纤维软骨细胞	可注射的原位凝胶多孔水凝胶		[24]
氧化海藻酸盐	明胶	Fe ₃ O ₄ 磁性纳米颗粒	多孔杂化水凝胶		[25]
单醛改性的海藻酸钠	席夫碱反应		多孔自修复水凝胶	伤口敷料	[26]
海藻酸盐	透明质酸	人脐带间充质干细胞衍生的外来体和羟基磷灰石	水凝胶	骨再生	[27]
脲键					
海藻酸盐醛	含烷氧基胺官能团的海藻酸盐(TBA-藻酸盐)	小家鼠B淋巴瘤细胞系	双重交联水凝胶	为培养的细胞提供受控的黏弹性环境(延长了脲键的交联时间)	[28]
细胞交联					
降冰片烯修饰的海藻酸盐	肽的交联剂VPMS↓MRGG和GPQG↓IWGQ(DEGR)(↓表示切割位点)	-	可酶降解的水凝胶	用于组织工程和药物递送	[29]
降冰片烯或修饰的海藻酸盐	细胞黏附肽RGD	-	水凝胶	2D细胞接种和3D封装	[15]

接, 可以提高细胞的黏附性和增殖能力^[32](图2)。RGD是最常用的细胞黏附肽, 由精氨酸、甘氨酸和天冬氨酸组成, 能够有效促进细胞对海藻酸盐水凝胶的黏附。将间充质干细胞固定在RGD-海藻酸盐水凝胶微球中21天, 其总体生存力高于90%^[33]。在Yu等^[34]的研究中, 比较了RGD修饰的海藻酸盐水凝胶与未修饰的海藻酸盐水凝胶对大鼠慢性心肌梗塞模型的作用。分别将

其注入心肌梗塞大鼠的梗塞区域, 5周后将心肌内的水凝胶回收, 与对照组相比, RGD修饰的海藻酸盐水凝胶和未修饰的海藻酸盐水凝胶均增加了动脉密度, 其中RGD修饰的海藻酸盐水凝胶能够提高人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的黏附性和增殖能力, 具有更好的血管生成作用。Zhang等^[35]利用可注射的RGD-海藻酸盐/锂蒙脱石混合水凝胶同时包裹了人牙髓干细胞

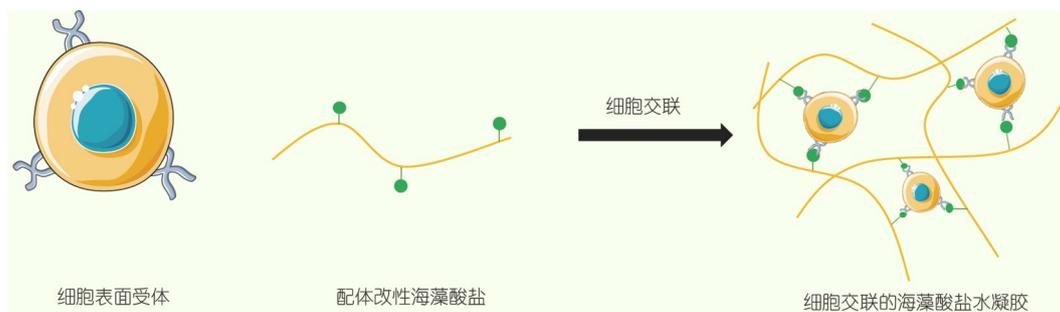


图2 细胞黏附肽修饰的海藻酸盐的交联示意图(网络版彩图)

Figure 2 Schematic diagram of cross-linking of alginate modified with cell adhesion peptide (color online).

(hDPSCs)和VEGF. 其中VEGF在持续释放28天后, 仍能保留活性. hDPSCs则均匀地黏附在水凝胶中, 细胞活力超过85%. 该水凝胶可以促进牙髓样组织的再生以及新的微血管的形成.

2.2.3 其他共价交联反应

近年来, 许多学者还通过对海藻酸钠的-COOH进行氧化生成醛基, 将氧化海藻酸钠作为交联剂, 与具有反应性官能团的高分子化合物进行交联, 合成可生物降解的水凝胶. Liang等^[36]描述了一种采用水溶性的壳聚糖衍生物羟丙基壳聚糖(HPCTS), 通过与海藻酸钠二醛(SAD)原位聚合的方法合成水凝胶, 交联机理是通过高碘酸盐氧化海藻酸钠的-COOH以产生醛基, 快速与HPCTS的氨基发生席夫碱反应. 早期的研究中, 利用氧化海藻酸盐与不同分子量的聚乙二醇-二胺发生席夫碱反应, 通过共价交联来制备具有不同力学性能的凝胶. 研究表明, 随着交联度和聚乙二醇PEG质量分数的增加, 弹性模量增大, 随后, 当交联点之间的分子量小于软段PEG的分子量时, 弹性模量减小. 因此, 海藻酸盐水凝胶的力学性能和溶胀性可通过使用不同种类的交联分子以及控制交联度进行必要的调节^[37].

3 刺激响应性海藻酸盐水凝胶

组织再生学的主要诉求是以最小的不良影响修复损伤^[38]. 在这方面, 选择合适的递送载体显得尤为重要. 通过对海藻酸盐骨架进行化学/物理修饰, 得到能够响应不同刺激的水凝胶. 这些刺激响应性海藻酸盐水凝胶可以在温度、光照、pH等环境刺激下发生结构变形, 从而使其成为生物活性分子以及细胞的“智

能”载体(表2)^[39-43].

3.1 温度响应性水凝胶

温度响应性水凝胶, 如聚(*N*-异丙基丙烯酰胺)(pNIPAAm)是刺激响应性水凝胶的一种. 将其置于水相介质中, 可以在人体温度(32~37℃)附近发生可逆相变. 在低临界溶解温度(LCST)以下, 表现为亲水性, 高于该转变温度, 则变成疏水性, 此时会导致明显的相分离, 从而形成水凝胶. 该水凝胶的缺点是疏水性差, 在高于LCST时, 显示出较差的弹性, 并且几乎不含水.

为了改善这一缺点以实现药物的定向递送, 可以将单一的温度响应性材料接枝到海藻酸盐骨架(图3). de Moura等^[44]研究了温度对pNIPAAm接枝的海藻酸盐水凝胶力学性质的影响, 其观察到温度大于LCST时, 该水凝胶的单轴压缩模量比单一的海藻酸盐水凝胶或pNIPAAm水凝胶的单轴压缩模量要高得多. 在该温度下, pNIPAAm链收缩, 并将海藻酸盐网络拉回, 因而水凝胶具有更紧密的结构和较小的孔径. Liu等^[45]也采用化学接枝的方法合成了热响应性海藻酸盐-g-pNIPAAm水凝胶, 其操作过程需要提前制备暴露氨基末端的PNIPAAm, 从而使海藻酸盐的羧基和PNIPAAm-NH₂的氨基之间形成酰胺键, 该水凝胶能够持续释放抗癌药. Durkut和Elçin^[46]介绍了聚*N*-乙烯基己内酰胺(PNVCL)接枝胺化海藻酸盐(PNVCL-g-Alg-NH₂)的水凝胶制备过程. 与PNVCL共聚后, 该水凝胶的温度依赖性相变接近人体温度, 同时降低了海藻酸盐的吸水率, 并提高了热稳定性. 使用PNVCL-g-Alg-NH₂水凝胶释放牛血清白蛋白的研究发现在低于LCST时, 其释放速率提高, 这是由于PNVCL链的存在使水凝胶形成更紧凑的网络.

表 2 海藻酸盐水凝胶在不同环境刺激下对药物的释放

Table 2 Drug release of alginate hydrogel under different environmental stimuli

基于海藻酸盐的水凝胶	药物	释放特性	参考文献
pH响应			
通过电离凝胶化方法, 制备alginate-gum tragacanth (GT)水凝胶, 而后采用壳聚糖聚电解质络合	胰岛素	Alg:GT=1:1, 157.82±12.70 ^{b)} , 15.25±0.77 ^{c)}	[39]
羧甲基壳聚糖(CMCS)和海藻酸盐形成聚电解质复合水凝胶	牛血清白蛋白	Alg:CMCS=2:1; 37°C, pH 1.2, 15 min ^{d)} , 1.6 (g/g) ^{e)} ; 37°C, pH 7.4, >720 min ^{d)} , 55 (g/g) ^{e)}	[40]
蒙脱石纳米片和海藻酸钠在高温下通过丙烯酰胺原位聚合, 而后使用CaCl ₂ 进行双重交联	-	pH 7, 9.8 ^{e)} ; pH 14, 24.2 (g/g) ^{e)}	[41]
温度响应			
将聚(N-异丙基丙烯酰胺)接枝到海藻酸盐骨架	阿霉素	37°C ^{d)} ,	[45]
聚(N-乙基己内酰胺)接枝胺化海藻酸盐 (PNVCL-g-Alg-NH ₂)	牛血清白蛋白	35°C ^{d)}	[46]
光响应			
通过0.49 kGy/h辐射诱导聚合制备还有海藻酸盐、sterculia胶多糖和PVP的水凝胶	磷胆碱药物 (一种神经再生剂)	总辐射量23.57 kGy, >1440 min ^{d)} , 6.25 (g/g) ^{e)}	[42]
海藻酸盐(Alg)、聚乙烯醇(PVA)、明胶(Gel)与甲基丙烯酸酐(MA)共同开发的自组装水凝胶	视黄酸	紫外光强365 nm处3 mW/cm ² , PVAMA-AlgMA-GelMA=1:2:1, 81.26 ^{a)}	[43]
电响应			
聚丙烯酰胺接枝到海藻酸盐	酮洛芬(非甾体抗炎药)	2 mA的电刺激4 h, 30 min ^{d)} , 0.55 (W _t /W ₀) ^{e)}	[60]

a) 孔隙率; b) 硬度(g); c) Springiness; d) 溶胀率时间; e) 上述时间下的溶胀比; f) LCST值

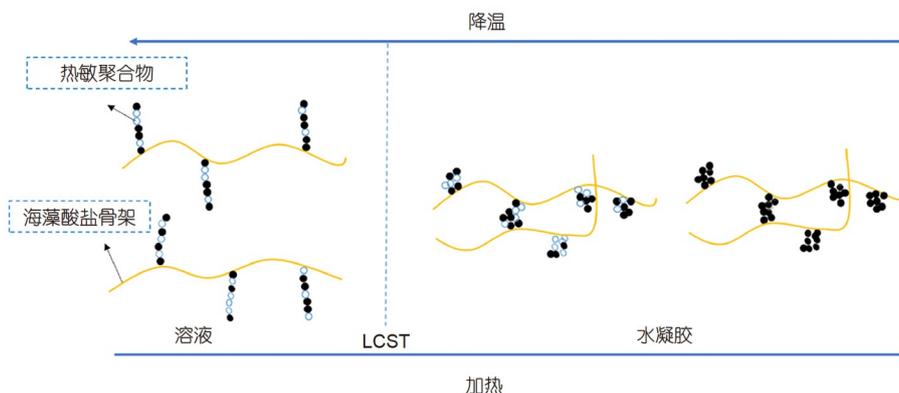


图 3 温度响应性水凝胶的温度依赖性示意图(网络版彩图)

Figure 3 Schematic diagram of temperature dependence of temperature-responsive hydrogel (color online).

3.2 pH响应性水凝胶

pH响应性水凝胶, 即能够通过调控pH来控制药物释放的水凝胶。海藻酸盐在酸性pH下交联形成水凝胶, 而在碱性和中性pH时溶胀, 交联断裂^[47]。因此可以通过调节pH使海藻酸盐发生不同程度的溶胀, 然后按需释放药物。

研究发现, pH 1.2时, 牛血清白蛋白能够从羧甲基壳聚糖-海藻酸盐水凝胶中释放, 但其释放速度远低于pH 7.4时^[48], 这与海藻酸盐水凝胶在pH 1.2时的低溶胀率有关。当pH 7.4时, 水凝胶的孔隙率降低, 从而导致酸性pH下的药物释放小于中性pH^[48]。人体消化系统中的pH变化, 也适用于海藻酸盐水凝胶中药物的可控释放。当其经过胃部时, 由于此时pH为1.2, 所以海藻酸盐

水凝胶紧密结合, 孔隙率低, 其中封装的物质不易释放^[49]. 而后经过小肠, 此时pH呈中性, 所以海藻酸盐水凝胶溶胀, 结构被破坏, 药物可以轻易从水凝胶孔隙中释放^[50].

肼和羰基化合物能够生成脎及其成环化合物, 相较于中性条件, 其在酸性条件下具有更快的水解速率, 因而常被用于药物递送^[51,52]. Kim和Jung^[51]将特定的羰基和肼基官能团引入琥珀聚糖和海藻酸盐, 在无需任何催化剂的情况下形成了琥珀酰二醛交联的海藻酸盐水凝胶. 该水凝胶被用于递送5-氟尿嘧啶, pH 2时, 12 h可释放98%, pH 7.4时, 24 h后仍未完全释放, 该水凝胶可以通过响应pH的变化来实现药物递送.

在pH响应的基础上, 可以通过引入其他基团使水凝胶能够响应双重刺激, 更好地控制药物递送. Hu等^[53]通过将苯硼酸接枝到海藻酸盐骨架上, 得到了能够同时响应低pH和高活性氧的双响应水凝胶(图4). 他们将载有抗生素阿米卡星的胶束和抗炎药萘普生一起组装至该水凝胶中, 在pH和ROS的双重反应中, 该水凝胶显著降低了周围组织的炎症反应, 并加速了感染区域的愈合过程.

3.3 光响应性水凝胶

光响应性水凝胶, 即通过在生理环境中改变光强度和曝光时间来改变水凝胶的交联度, 从而调节其机械性能、溶胀率以及降解速率. 当暴露于紫外线或可见光时, 具有烯酸酯、甲基丙烯酸酯等光引发基团的亲水/水溶性聚合物的均相键发生断裂, 从而产生自由基. 该自由基能够催化交联反应的发生^[54-56].

向海藻酸盐/聚乙二醇-丙烯酸酯溶液中加入胰岛细胞, 然后将其滴入CaCl₂中得到半互穿聚合物网络水凝胶. 随后暴露于紫外线下使丙烯酸酯部分发生交联

反应, 从而产生稳定的互穿聚合物网络水凝胶, 并将细胞包裹其中^[57]. 通过细胞的体外生存力测试发现, 该交联反应下, 被包封的胰岛细胞能够保留细胞活力和分泌胰岛素^[58]. Maji等^[59]开发了一种人造骨替代材料, 将甲基丙烯酸化的海藻酸盐溶液与表面官能化的羟基磷灰石纳米颗粒混合, 而后置于8 kW、265 nm的紫外光源中心, 用于制备水凝胶. 分析表明, 该材料有利于间充质干细胞的附着和增殖, 羟基磷灰石和重组人骨形态发生蛋白-2的添加也增加了海藻酸盐水凝胶的成骨效果.

3.4 电、磁响应性水凝胶

电响应性水凝胶制备过程中一般有聚电解质参与, 因此受pH和电能共同影响. 研究发现, 电响应性水凝胶对于需要按需释放的药物递送过程存在优势. 另外, 电控制有利于与反馈控制系统中的传感器和微电子设备实现耦合. 电调节的药物释放可以通过多种不同的机制发生. 例如, 带电药物向带相反电荷的电极迁移, 或者药物释放过程中电流对水凝胶基质产生影响. 聚阴离子水凝胶在阳极附近接触, 水在阴极渗出, 而聚阳离子水凝胶则相反. 水凝胶收缩和电渗使得药物在电刺激下从凝胶中排出. Kulkarni等^[60]制备了基于电响应的聚丙烯酰胺接枝的海藻酸盐水凝胶, 用于酮洛芬的透皮给药系统. 研究发现, 与被动扩散相比, 电刺激时, 药物释放量更大, 并且发现这与电流强度、交联物的浓度和密度等有关.

除此之外, 还可以通过添加磁性物质, 制备磁响应性水凝胶. Supramaniam等^[61]通过组装海藻酸盐和磁性纳米纤维素开发了磁性纳米纤维素海藻酸盐水凝胶, 用于药物递送. 研究发现, 除了磁性外, 磁性纳米纤维素的添加增加了海藻酸盐的溶胀百分比和机械性

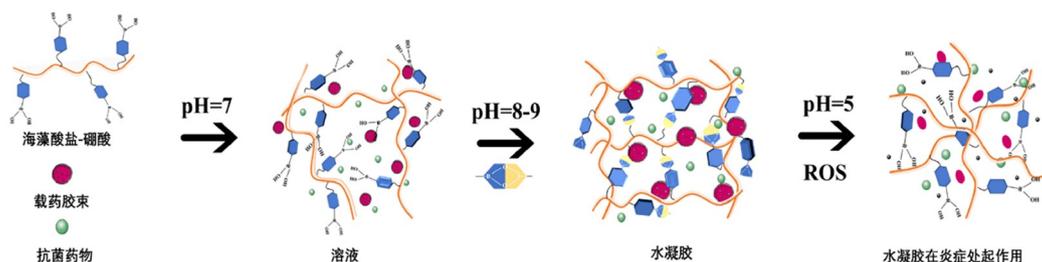


图4 pH响应的海藻酸盐水凝胶递送小分子药物示意图^[53] (网络版彩图)

Figure 4 Schematic diagram of pH-responsive alginate hydrogel to deliver small molecule drugs ^[53] (color online).

能, 样品的载药量增加到6 wt%.

4 海藻酸盐水凝胶在组织再生中的应用

组织再生学通过与药物递送结合, 利用材料科学、医学和生命科学等多学科原理, 再生得到具有更好的生物学结构和功能的组织和器官^[62]. 通过植入支架材料将细胞或生物活性分子包裹在支架中而后沉积在细胞外基质(ECM), 实现组织再生. 对于理想的支架材料, 其性能要求包括优良的生物相容性、合适的微观结构、机械强度和降解速度以及支持细胞滞留和保持代谢功能的能力. 海藻酸盐水凝胶已经被广泛作为传递小分子药物、蛋白质或细胞的媒介, 它们可以指导各种组织和器官的再生或工程化^[3](图5).

4.1 作为递送载体用于伤口愈合

伤口愈合是一个复杂且持续的过程, 受多个因素影响, 适当环境下可以加快伤口愈合速度. 伤口愈合

过程可分为三个重叠的阶段即炎症、新组织生成和重塑^[63]. 当伤口处于湿润而非潮湿的环境时, 上皮细胞从伤口边缘到受伤区域的迁移要快于伤口处于干燥状态时的细胞迁移. 现代“湿疗法”伤口敷料旨在创造一种湿润的环境以达到最佳的治疗效果, 其愈合伤口的速度是干法的3~5倍^[64].

基于海藻酸盐的水凝胶是应用于伤口愈合的理想材料^[65]. 其中海藻酸盐可以为伤口提供潮湿的微环境, 促进重新上皮化和肉芽组织的形成, 从而加快伤口闭合^[66]. 而基于海藻酸盐的水凝胶在与伤口渗出液接触时由于与体液交换离子而部分溶解, 导致形成可溶的凝胶结构, 保护伤口免受细菌负荷, 还能够提供湿润的微环境, 促进上皮形成和颗粒化, 从而加速伤口愈合^[67].

4.1.1 递送小分子颗粒

炎症反应是伤口愈合的第一阶段, 其主要是由坏死组织和/或病原微生物的感染引起的, 是受伤后伤口

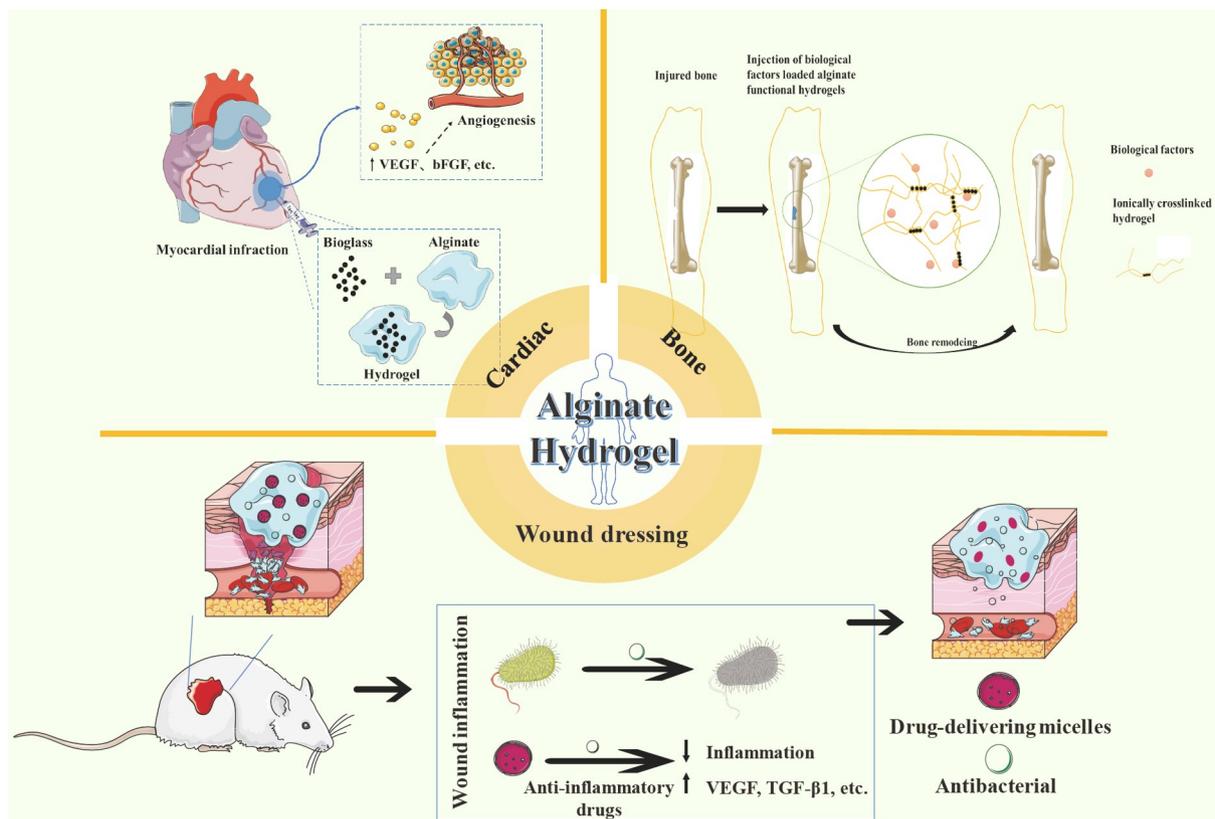


图5 海藻酸盐水凝胶作为递送载体在组织工程中的应用(网络版彩图)

Figure 5 Application of alginate hydrogel as a delivery vehicle in tissue engineering (color online).

的一种保护性反应, 发生在伤口形成后的2~3天内^[68]. 由于海藻酸盐水凝胶本身去除病原微生物的能力弱, 因此使用过程中可能出现伤口感染^[69], 可以通过携带抗生素、杀菌剂等物质来减轻炎症反应.

(1) 抗生素

研究人员通过携带抗菌剂, 开发了具有抗菌特性的海藻酸盐水凝胶敷料^[68]. 抗生素是最常见的抗菌剂, 其可以有效地抑制细菌的生长和繁殖, 甚至杀死细菌. 但是, 近年来, 抗生素的滥用导致了耐药微生物的出现, 这减弱了其抗感染的功效^[70].

(2) Ag纳米颗粒

为了避免使用抗生素, 海藻酸盐水凝胶携带其他物质的抗炎效果正在被广泛关注. 银颗粒是一种有效的杀菌剂, 可以有效地抵抗多种微生物, 包括细菌、病毒、真菌和酵母菌等^[71,72]. Baukum等^[73]制备了含AgNPs的海藻酸盐/明胶水凝胶, 该水凝胶显示出对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和大肠杆菌的抗菌活性. 然而, Ag纳米颗粒释放Ag⁺的同时能够产生活性氧, 从而发生氧化应激, 导致人体细胞内产生细胞毒、基因毒以及免疫反应. 因此将Ag颗粒引入水凝胶中控制Ag⁺的释放浓度, 以便于提供长期有效的抗菌作用并降低其毒性. Chalitangkoon等^[74]制备了羟乙基丙烯酸壳聚糖/海藻酸钠水凝胶, 通过原位化学法还原AgNO₃, 将Ag颗粒添加到该水凝胶中. 通过细胞毒性测试, 发现该水凝胶对细胞生存力的影响很小. 细胞活力大于90%. 同时该水凝胶对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌显示出抗菌活性.

4.1.2 递送蛋白质

新组织生成是伤口修复的第二个阶段, 发生在损伤产生后的2~10天, 包括通过角质形成细胞修复上皮细胞、通过血管生成调节剂产生新的血管以及形成主要由胶原蛋白组成的肉芽组织^[49,68]. 为此, 在新组织形成阶段通常通过递送bFGF、PDGF、VEGF、TGF- β 等蛋白质, 来加速伤口修复.

bFGF在伤口愈合过程中起到刺激细胞生长和组织修复的功能. 通过肠胃外途径给药时, 该蛋白质的半衰期非常短, 并且在溶液中不稳定^[75]. Lin等^[49]通过将热敏性聚合物聚(*N*-异丙基丙烯酰胺) (pNIPAM)接枝到海藻酸盐骨架, 合成了一种新型的复合水凝胶. 当温度降低至该水凝胶的LCST值以下时, pNIPAM纳米

颗粒肿胀, 允许bFGF从水凝胶孔洞中释放出来. 这样延长了bFGF的储存时间, 同时体外实验证明, bFGF持续释放超过8 d.

4.2 作为递送载体用于骨再生

创伤、感染、肿瘤、骨髓炎以及各种先天性疾病是导致骨缺损的重要原因, 而修复骨缺损的理想方法就是原位诱导成骨, 可以通过将可分化形成骨组织的干细胞加载到可注射的凝胶支架中实现, 也可以通过递送细胞因子等蛋白质治疗疾病.

4.2.1 递送小分子颗粒

Rottensteiner等^[76]将海藻酸盐与明胶混合以增强水凝胶的可降解性, 并使用生物活性玻璃促进血管生成和成骨, 结果发现海藻酸盐-明胶水凝胶比单独海藻酸盐凝胶具有更强的大鼠骨髓细胞活力.

4.2.2 搭载细胞

为了维持骨细胞表型和ECM蛋白的合成, 海藻酸盐在体外已被用作老年患者人类关节软骨细胞三维培养的基质^[77]. 在另一项研究中报道了类似的性能, 其中搭载在海藻酸盐水凝胶珠中的人关节软骨细胞能够增强II型胶原蛋白和可聚蛋白聚糖的表达^[78]. 此外, 海藻酸盐水凝胶已被用于诱导干细胞的增殖和分化^[79]. 诸多研究表明, 将海藻酸盐作为未分化间充质干细胞(MSCs)的载体, 所形成的水凝胶材料具有刺激骨再生的作用, 此时细胞呈空洞状, 带有凹腔^[80]. Park等^[81]使用壳聚糖-海藻酸复合凝胶作为MSCs和骨形态发生蛋白-2(BMP-2)的载体, 表明该可注射凝胶在小鼠体内能刺激新骨的形成; Xia等^[82]将骨髓间充质干细胞(BMSCs)植入海藻酸钠/明胶支架中, 亦表现出良好的成骨效应.

总之, 海藻酸盐水凝胶在骨修复方面具有巨大的治疗潜力. 相较于其他材料, 运载成骨干细胞的海藻酸盐水凝胶, 可通过微创方式进入体内, 能充分填充不规则的骨缺损部位, 易被RGD表面修饰, 利用成骨细胞对材料的黏附可促进骨再生进程^[83].

4.2.3 递送蛋白质

海藻酸盐水凝胶可通过运载骨诱导因子, 进而诱导骨细胞生成和增殖. 它能以注射的方式进入人体,

不仅微创,而且便于控制骨诱导因子的释放,在骨再生方面具有明显优势^[84]。Kolambkar等^[85]引入一种混合生长因子递送系统,通过海藻酸盐水凝胶持续输送重组BMP-2,用于大段骨缺损的治疗,效果良好。

骨形态发生蛋白(BMP)是一类影响骨骼以及软骨生长和修复的细胞因子,可在胚胎发生过程中和整个成年期形成骨骼组织。在骨组织再生研究中,BMP对骨形成和愈合过程起重要作用。将BMP加载至海藻酸盐水凝胶,然后递送BMP至损伤部位以刺激内源性骨修复的过程,是目前骨再生工程的一个重要策略^[86,87]。

Quinlan等^[86]研究了基于海藻酸盐-胶原羟基磷灰石的水凝胶,用于控制重组BMP-2(rhBMP-2)的传递。将rhBMP-2封装在喷雾干燥的海藻酸盐微球(1 μg/mg藻酸盐)中,封装率为45%。该水凝胶表现出高的rhBMP-2初始爆发,随后在接下来的7天内持续递送。在28天后,该水凝胶仅递送了最初封装的rhBMP-2的15%。研究认为初始爆发释放是由于喷雾干燥的海藻酸盐微球表面上包封的蛋白质的聚集引起的,因此rhBMP-2可能以较快的速度扩散。但是,rhBMP-2与羟基磷灰石的强相互作用阻止了一部分蛋白质的释放,这导致后续释放的rhBMP-2量明显减少。对MC3T3-E1鼠前成骨细胞的体外研究表明,从海藻酸盐-明胶羟基磷灰石水凝胶中释放的rhBMP-2通过增强细胞的ALP活性来保持其促成骨作用。Kolambkar等^[85]介绍了一种用于混合生长因子输送的系统,该系统由电纺纳米纤维网管组成,该网管被用于引导骨再生。该网管在与肽修饰的海藻酸盐水凝胶结合后注入骨骼中,可用于rhBMP-2的持续释放。研究表明,通过海藻酸盐水凝胶持续递送rhBMP-2在实质性再生过程中是必需的。在不愈合骨折和大骨缺损的情况下,这种混合技术可能在临床上对骨再生起到作用。

4.3 作为递送载体用于心脏再生

心血管疾病包括心肌梗塞(MI),是全球范围内死亡率和发病率的主要原因之一,目前心脏再生已成为一种有希望的解决方案^[88]。由于供体心脏的供应有限,并且心肌细胞的再生能力差,研究目标已转向能够改善心肌功能的治疗方法。目前,已探索的此类方法包括直接注射生物分子、趋化因子和心肌细胞等用于心脏再生。然而,这些技术中的每一个都面临着尚待克服的重大障碍,即体内生物分子半衰期短、非特异性细

胞/分子递送困难、细胞存活率低以及对目标区域的定位性差等^[89]。

心脏组织工程学方面已经通过利用生物材料克服了这些局限性,在各种天然、合成和杂化材料中,海藻酸盐及其水凝胶在心脏再生中具有其独特的优势^[90]。海藻酸盐水凝胶可以替代心肌梗塞后受损的细胞外基质(ECM),并为心脏提供必要的机械支持^[91]。同时,它们可用作微孔三维纤维支架,为移植细胞和细胞因子提供合适的微环境,从而提高移植细胞的存活率。它们还可以用作生物活性分子的载体,以增强心脏自我修复和心肌梗死后的内源性再生^[92]。目前,海藻酸盐水凝胶产品已进入临床前试验,在心脏再生中具有极好的应用和发展前景。

4.3.1 递送小分子物质

生物玻璃(BG)是生物活性玻璃的市售系列产品。研究表明,BG具有血管生成特性,因此可能是治疗MI的有效替代品。Qi等^[93]将BG装入海藻酸盐水凝胶,将其局部注射至心梗塞周围的心肌组织中。注射四周后,相较于对照组,促进了血管生成并抑制了细胞的凋亡,减轻了心梗面积。

4.3.2 递送蛋白质

MI后恢复的一个关键障碍是缺乏血管生成,这导致在发作最初的2~4 h内心肌细胞不可逆地丢失,从而推进了适应不良的心室重构的发展,包括疤痕形成和心室扩张,最终可能导致心力衰竭^[89]。为了解决这一问题,大多数研究集中在了血管内皮生长因子(VEGF)的递送上。

VEGF是一类功能强大且特征丰富的促血管生成因子,与心脏的形成有关。Jonathan等^[94]开发了由紧密的海藻酸盐水凝胶微球制成的载有VEGF的贴剂。为了使海藻酸盐与VEGF结合,研究人员将重组的VEGF与海藻酸钠溶液混合,并使用双乳化技术制备水凝胶微球,该微球能够可控地释放促血管生成因子。与此同时,体外实验证明载有VEGF的海藻酸盐水凝胶贴剂在植入动物体内四周后,仍能够维持其生物学活性。

4.3.3 细胞的封装及递送

在梗塞区血管生成后,需要用细胞重新填充受损

区域. 主要可以分为两种不同的细胞群, 即可能形成畸胎瘤的干细胞和成熟的心肌细胞^[90].

近年来, 基于干细胞的疗法成为治疗MI的可能手段. Shachar等^[95]通过碳二亚胺化学法将RGD肽固定在海藻酸盐骨架上, 该肽的末端胺基与海藻酸盐的羧基发生共价交联. 结果表明, 封装在该水凝胶中的人间充质干细胞(hMSC)对过氧化氢诱导的细胞死亡具有更高的抵抗力. 目前研究表明, 多能干细胞(PCSs)具有明显的分化为功能性心肌细胞的能力^[96]. Zhao等^[97]利用带正电的壳聚糖与带负电荷的细胞膜和海藻酸盐之间的静电相互作用, 将预先分化为早期心脏谱系的PSC封装到海藻酸盐-壳聚糖水凝胶中. 该水凝胶被注射到MI小鼠的心脏中, 小鼠的心脏功能增强, 存活率上升.

5 总结与展望

海藻酸盐水凝胶作为递送载体在生物医学领域已经显示出巨大的实用性和潜力, 特别是在伤口愈合、骨再生和心脏再生领域. 海藻酸盐水凝胶的主要成分是海藻酸盐, 仅在 Ca^{2+} 存在下, 即可进行交联反应, 凝胶条件温和. 同时, 通过添加各种类型的官能团对海藻酸盐骨架上的羟基和羧基修饰, 即可制备具有新特性的海藻酸盐衍生物, 以克服海藻酸盐在机械强度、细胞黏附性等方面的缺点. 由于诸如溶胀能力、生物相容性和溶液/凝胶转换能力之类的特性, 海藻酸盐在药物递送系统的开发中获得了优先地位. 海藻酸盐的类型和特性、搭载物质的类型、搭载物与海藻酸盐基质之间的相互作用以及加工方法都对搭载物的负载和释放产生影响.

海藻酸盐水凝胶作为递送载体在搭载物递送过程中经常会出现高爆发效应和短释放时间效应两个问题^[98]. 为此, 有必要对特定搭载物与带负电荷的海藻酸盐基质之间的相互作用进行全面的. 在此基础上, 开发海藻酸盐基质的新修饰形式, 以实现

对物释放动力学的良好控制, 并在延长的释放时间内保持其活性.

海藻酸盐水凝胶在细胞递送过程中主要起着两个重要的作用: 作为将细胞转运到体内的保护性载体, 同时提供了一种类似于ECM的临时支持基质, 可指导3D细胞的组织形成, 甚至可以调节细胞的命运, 从而促进细胞整合, 起到修复和再生组织的功能^[99]. 为了增强其类似ECM的功能, 本质上为“生物惰性”的海藻酸盐可以通过多种官能团进行修饰, 以促进细胞与基质的相互作用. 细胞黏附性配体的类型以及其在水凝胶中的空间排布方向是控制海藻酸盐水凝胶递送细胞的关键变量^[100]. 迄今为止, RGD是应用最广泛的细胞黏附性配体, 但可能需要与多个配体和/或配体与生物活性物质的组合才能够使细胞分化出正确的器官和组织^[35].

未来, 海藻酸盐水凝胶的研究重点可能放在基于细胞、生物活性物质递送的软、硬组织工程, 生物制造, 组织固定等领域. 实际上, 许多报道已表明基于海藻酸盐的水凝胶可以用于与细胞材料相互作用^[98,101]. 但是, 由于细胞密度低, 通过海藻酸盐水凝胶封装后, 其相比正常组织的机械强度低(尤其是骨组织), 而且容易发生降解进而无法长期保留在承载部位, 这增加了海藻酸盐水凝胶用于细胞封装的条件. 与此同时, 一些化学试剂, 如戊二醛、聚(*N*-异丙基丙烯酰胺)等的存在可能产生相应毒性, 因此需要选择能够与细胞相容的化学试剂, 同时彻底去除未反应的试剂和副产物^[102]. 在心脏、骨再生等组织工程领域应用时, 需要对其海藻酸盐水凝胶的理化性质及选择正确的治疗组合(干细胞、小型药物等的结合)进行深入研究, 以解决低封装效率并实现各类物质可控的释放. 另外, 随着技术的更新, 海藻酸盐- Ca^{2+} 水凝胶已用于将光热材料以及化学治疗药物固定在病变部位, 但是由于 Ca^{2+} 会迁移至病变部位, 海藻酸盐- Ca^{2+} 凝胶化机制也可能导致血管硬化^[103]. 因此, 可以考虑使用不同化学结构、分子量及交联功能的分子, 通过不同的交联策略, 得到适合每一种应用的水凝胶.

参考文献

- 1 Tønnesen HH, Karlsen J. *Drug Dev Indust Pharm*, 2002, 28: 621–630
- 2 Haug A, Larsen B, Fykse O, Block-Bolten A, Toguri JM, Flood H. *Acta Chem Scand*, 1962, 16: 1908–1918
- 3 Lee KY, Mooney DJ. *Prog Polym Sci*, 2012, 37: 106–126

- 4 Silva EA, Mooney DJ. *J Thromb Haemost*, 2007, 5: 590–598
- 5 Bouhadir KH, Lee KY, Alsberg E, Damm KL, Anderson KW, Mooney DJ. *Biotechnol Prog*, 2001, 17: 945–950
- 6 Huynh UTD, Lerbret A, Neiers F, Chambin O, Assifaoui A. *J Phys Chem B*, 2016, 120: 1021–1032
- 7 Kaygusuz H, Evingür GAİ, Pekcan Ö, von Klitzing R, Erim FB. *Int J Biol Macromol*, 2016, 92: 220–224
- 8 Liu Y, Tong Y, Wang S, Deng Q, Chen A. *J Sol-Gel Sci Technol*, 2013, 67: 66–76
- 9 Mørch YA, Donati I, Strand BL, Skjåk-Braek G. *Biomacromolecules*, 2006, 7: 1471–1480
- 10 Singh V, Singh A. *Alginate-Based Hydrogels: Synthesis, Characterization, and Biomedical Applications*. Boca Raton: CRC Press, 2019
- 11 Pawar SN, Edgar KJ. *Biomaterials*, 2012, 33: 3279–3305
- 12 Ray P, Maity M, Barik H, Sahoo GS, Hasnain MS, Hoda MN, Nayak K. *Alginate-Based Hydrogels for Drug Delivery Applications*. New York: Academic Press, 2020
- 13 Smith AM, Miri T, Norton IT, Spyropoulos F, Cox P. *Alginates in Foods. Practical Food Rheology an Interpretive Approach*. Hoboken: John Wiley & Sons, Ltd., 2011. 113–132
- 14 Anugrah DSB, Ramesh K, Kim M, Hyun K, Lim KT. *Carbohydrate Polym*, 2019, 223: 115070
- 15 Lueckgen A, Garske DS, Ellinghaus A, Desai RM, Stafford AG, Mooney DJ, Duda GN, Cipitria A. *Biomaterials*, 2018, 181: 189–198
- 16 García-Astrain C, Avérous L. *Int J Biol Macromol*, 2019, 137: 612–619
- 17 Banks SR, Enck K, Wright M, Opara EC, Welker ME. *J Agric Food Chem*, 2019, 67: 10481–10488
- 18 Iatridi Z, Saravanou SF, Tsitsilianis C. *Carbohydrate Polym*, 2019, 219: 344–352
- 19 Gao YZ, Chang TX, Wu YX. *Carbohydrate Polym*, 2019, 219: 201–209
- 20 Hajiabbas M, Alemzadeh I, Vossoughi M. *Carbohydrate Polym*, 2020, 245: 116465
- 21 Dorishetty P, Dutta NK, Choudhury NR. *Adv Colloid Interface Sci*, 2020, 281: 102163
- 22 Tallawi M, Germann N. *Mater Lett*, 2020, 263: 127211
- 23 Basu S, Pacelli S, Paul A. *Acta Biomater*, 2020, 105: 159–169
- 24 Resmi R, Parvathy J, John A, Joseph R. *Carbohydrate Polym*, 2020, 234: 115902
- 25 Jahanban-Esfahlan R, Derakhshankhah H, Haghshenas B, Massoumi B, Abbasian M, Jaymand M. *Int J Biol Macromol*, 2020, 156: 438–445
- 26 Du Y, Li L, Peng H, Zheng H, Cao S, Lv G, Yang A, Li H, Liu T. *Macromol Biosci*, 2020, 20: 1900303
- 27 Yang S, Zhu B, Yin P, Zhao L, Wang Y, Fu Z, Dang R, Xu J, Zhang J, Wen N. *ACS Biomater Sci Eng*, 2020, 6: 1590–1602
- 28 Sánchez-Morán H, Ahmadi A, Vogler B, Roh KH. *Biomacromolecules*, 2019, 20: 4419–4429
- 29 Lueckgen A, Garske DS, Ellinghaus A, Mooney DJ, Duda GN, Cipitria A. *Biomaterials*, 2019, 217: 119294
- 30 Krause A, Kirschning A, Dräger G. *Org Biomol Chem*, 2012, 10: 5547
- 31 Moody CT, Palvai S, Brudno Y. *Acta Biomater*, 2020, 112: 112–121
- 32 Ching SH, Bansal N, Bhandari B. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57: 1133–1152
- 33 Bidarra SJ, Barrias CC, Barbosa MA, Soares R, Granja PL. *Biomacromolecules*, 2010, 11: 1956–1964
- 34 Yu J, Gu Y, Du KT, Mihardja S, Sievers RE, Lee RJ. *Biomaterials*, 2009, 30: 751–756
- 35 Zhang R, Xie L, Wu H, Yang T, Zhang Q, Tian Y, Liu Y, Han X, Guo W, He M, Liu S, Tian W. *Acta Biomater*, 2020, 113: 305–316
- 36 Liang Y, Liu W, Han B, Yang C, Ma Q, Song F, Bi Q. *Colloids Surfs B-Biointerfaces*, 2011, 82: 1–7
- 37 Lee KY, Bouhadir KH, Mooney DJ. *Biomaterials*, 2004, 25: 2461–2466
- 38 Alizadeh R, Zarrintaj P, Kamrava SK, Bagher Z, Farhadi M, Heidari F, Komeili A, Gutiérrez TJ, Saeb MR. *Carbohydrate Polym*, 2019, 224: 115161
- 39 Asnani GP, Bahekar J, Kokare CR. *J Drug Deliver Sci Tech*, 2018, 48: 200–208
- 40 Lv X, Zhang W, Liu Y, Zhao Y, Zhang J, Hou M. *Carbohydrate Polym*, 2018, 198: 86–93
- 41 Su X, Chen B. *Carbohydrate Polym*, 2018, 197: 497–507
- 42 Singh B, Kumar A, Rohit A. *Int J Biol Macromol*, 2020, 148: 248–257
- 43 Kuo YC, Lee IH, Rajesh R. *J Taiwan Instit Chem Eng*, 2019, 104: 27–39
- 44 de Moura MR, Aouada FA, Guilherme MR, Radovanovic E, Rubira AF, Muniz EC. *Polym Testing*, 2006, 25: 961–969
- 45 Liu M, Song X, Wen Y, Zhu JL, Li J. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 35673–35682
- 46 Durkut S, Elçin YM. *Macromol Chem Phys*, 2020, 221: 1900412

- 47 Rizwan M, Yahya R, Hassan A, Yar M, Azzahari AD, Selvanathan V, Sonsudin F, Abouloula CN. *Polymers*, 2017, 9: 137
- 48 Xie CX, Tian TC, Yu ST, Li L. *J Appl Polym Sci*, 2019, 136: 46911
- 49 Lin X, Guan X, Wu Y, Zhuang S, Wu Y, Du L, Zhao J, Rong J, Zhao J, Tu M. *Mater Sci Eng-C*, 2020, 115: 111123
- 50 Chan AW, Neufeld RJ. *Biomaterials*, 2010, 31: 9040–9047
- 51 Kim S, Jung S. *Carbohydrate Polym*, 2020, 250: 116934
- 52 McKinnon DD, Domaille DW, Cha JN, Anseth KS. *Chem Mater*, 2014, 26: 2382–2387
- 53 Hu C, Zhang F, Long L, Kong Q, Luo R, Wang Y. *J Control Release*, 2020, 324: 204–217
- 54 Williams CG, Malik AN, Kim TK, Manson PN, Elisseeff JH. *Biomaterials*, 2005, 26: 1211–1218
- 55 Matricardi P, Di Meo C, Coviello T, Hennink WE, Alhaique F. *Adv Drug Deliver Rev*, 2013, 65: 1172–1187
- 56 Fedorovich NE, Oudshoorn MH, van Geemen D, Hennink WE, Alblas J, Dhert WJA. *Biomaterials*, 2009, 30: 344–353
- 57 Desai NP, Sojomihardjo A, Yao Z, Ron N, Soon-Shiong P. *J Microencapsul*, 2000, 17: 677–690
- 58 Dashtebayaz MSS, Nourbakhsh MS. *Int J Polymic Mater Polymic Biomater*, 2019, 68: 442–451
- 59 Maji K, Dasgupta S, Bhaskar R, Gupta MK. *Biomed Mater*, 2020, 15: 055019
- 60 Kulkarni RV, Setty CM, Sa B. *J Appl Polym Sci*, 2010, 115: 1180–1188
- 61 Supramaniam J, Adnan R, Mohd Kaus NH, Bushra R. *Int J Biol Macromol*, 2018, 118: 640–648
- 62 Sun J, Tan H. *Materials*, 2013, 6: 1285–1309
- 63 Ghomi ER, Khalili S, Khorasani SN, Neisiany RE, Ramakrishna S. *J Appl Polym Sci*, 2019, 136: 47738
- 64 Kim JO, Park JK, Kim JH, Jin SG, Yong CS, Li DX, Choi JY, Woo JS, Yoo BK, Lyoo WS, Kim JA, Choi HG. *Int J Pharm*, 2008, 359: 79–86
- 65 Liao JF, Jia YP, Wang BY, Shi K, Qian ZY. *ACS Biomater Sci Eng*, 2018, 4: 1029–1036
- 66 Yang JS, Xie YJ, He W. *Carbohydrate Polym*, 2011, 84: 33–39
- 67 Yang L, Ruan LM, Ye HH, Cui HB, Mu QT, Lou YR, Ji YX, Li WZ, Sun DH, Chen XB. *Acta Neuropsychiatr*, 2011, 23: 235–240
- 68 Zhang M, Zhao X. *Int J Biol Macromol*, 2020, 162: 1414–1428
- 69 Kaur P, Gondil VS, Chhibber S. *Int J Pharm*, 2019, 572: 118779
- 70 Lu B, Wang T, Li Z, Dai F, Lv L, Tang F, Yu K, Liu J, Lan G. *Int J Biol Macromol*, 2016, 82: 884–891
- 71 Nimal TR, Baranwal G, Bavva MC, Biswas R, Jayakumar R. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8: 22074–22083
- 72 Nešović K, Janković A, Radetić T, Vukašinović-Sekulić M, Kojić V, Živković L, Perić-Grujić A, Rhee KY, Mišković-Stanković V. *Eur Polym J*, 2019, 121: 109257
- 73 Baukum J, Pranjan J, Kaolaor A, Chuysinuan P, Suwantong O, Supaphol P. *Polym Bull*, 2020, 77: 2679–2695
- 74 Chalitangkoon J, Wongkittisin M, Monvisade P. *Int J Biol Macromol*, 2020, 159: 194–203
- 75 Edelman ER, Mathiowitz E, Langer R, Klagsbrun M. *Biomaterials*, 1991, 12: 619–626
- 76 Rottensteiner U, Sarker B, Heusinger D, Dafinova D, Rath SN, Beier JP, Kneser U, Horch RE, Detsch R, Boccaccini AR, Arkudas A. *Materials*, 2014, 7: 1957–1974
- 77 Carossino AM, Recenti R, Carossino R, Piscitelli E, Gozzini A, Martinetti V, Mavilia C, Franchi A, Danielli D, Aglietti P, Ciardullo A, Galli G, Tognarini I, Moggi Pignone A, Cagnoni M, Brandi ML. *Biogerontology*, 2007, 8: 483–498
- 78 Gründer T, Gaissmaier C, Fritz J, Stoop R, Hortschansky P, Mollenhauer J, Aicher WK. *Osteoarthritis Cartilage*, 2004, 12: 559–567
- 79 Tortelli F, Cancedda R. *eCM*, 2009, 17: 1–14
- 80 Krebs MD, Salter E, Chen E, Sutter KA, Alsberg E. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2009, 9999A: NA
- 81 Park DJ, Choi BH, Zhu SJ, Huh JY, Kim BY, Lee SH. *J Cranio-Maxillofac Surg*, 2005, 33: 50–54
- 82 Xia Y, Mei F, Duan Y, Gao Y, Xiong Z, Zhang T, Zhang H. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2012, 100A: 1044–1050
- 83 Silva J, Vanat P, Marques-da-Silva D, Rodrigues JR, Lagoa R. *Bioactive Mater*, 2020, 5: 447–457
- 84 Venkatesan J, Bhatnagar I, Manivasagan P, Kang KH, Kim SK. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72: 269–281
- 85 Kolambkar YM, Dupont KM, Boerckel JD, Huebsch N, Mooney DJ, Huttmacher DW, Guldberg RE. *Biomaterials*, 2011, 32: 65–74
- 86 Quinlan E, López-Noriega A, Thompson E, Kelly HM, Cryan SA, O'Brien FJ. *J Control Release*, 2015, 198: 71–79
- 87 Priddy LB, Chaudhuri O, Stevens HY, Krishnan L, Uhrig BA, Willett NJ, Guldberg RE. *Acta Biomater*, 2014, 10: 4390–4399
- 88 Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, Cushman M, Das SR, Deo R, de Ferranti SD, Floyd J, Fornage M, Gillespie C, Isasi CR, Jiménez MC, Jordan LC, Judd SE, Lackland D, Lichtman JH, Lisabeth L, Liu S, Longenecker CT, Mackey RH, Matsushita K, Mozaffarian D, Mussolino ME,

- Nasir K, Neumar RW, Palaniappan L, Pandey DK, Thiagarajan RR, Reeves MJ, Ritchey M, Rodriguez CJ, Roth GA, Rosamond WD, Sasson C, Towfighi A, Tsao CW, Turner MB, Virani SS, Voeks JH, Willey JZ, Wilkins JT, Wu JH, Alger HM, Wong SS, Muntner P. *Circulation*, 2017, 135
- 89 Feng J, Wu Y, Chen W, Li J, Wang X, Chen Y, Yu Y, Shen Z, Zhang Y. *J Mater Chem B*, 2020, 8: 308–315
- 90 Cattelan G, Guerrero Gerbolés A, Foresti R, Pramstaller PP, Rossini A, Miragoli M, Caffarra Malvezzi C. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8: 414
- 91 Ruvinov E, Cohen S. *Adv Drug Deliver Rev*, 2016, 96: 54–76
- 92 Ye Z, Zhou Y, Cai H, Tan W. *Adv Drug Deliver Rev*, 2011, 63: 688–697
- 93 Qi Q, Zhu Y, Liu G, Yuan Z, Li H, Zhao Q. *Biomed Pharmacother*, 2020, 129: 110382
- 94 Jonathan R, Anton M, Yasuo M, Jun W, Richard D W, Ren-K L. VEGF-loaded microsphere patch for local protein delivery to the ischemic heart. *Acta Biomater*, 2016, 45: 169–181
- 95 Shachar M, Tsur-Gang O, Dvir T, Leor J, Cohen S. *Acta Biomater*, 2011, 7: 152–162
- 96 Choe G, Park J, Jo H, Kim YS, Ahn Y, Lee JY. *Int J Biol Macromol*, 2019, 123: 512–520
- 97 Zhao Y, Shen W, Chen Z, Wu T. *Carbohydrate Polym*, 2016, 148: 45–51
- 98 Uyen NTT, Hamid ZAA, Tram NXT, Ahmad N. *Int J Biol Macromol*, 2020, 153: 1035–1046
- 99 Bidarra SJ, Barrias CC, Granja PL. *Acta Biomater*, 2014, 10: 1646–1662
- 100 Łabowska MB, Michalak I, Detyna J. *Open Chem*, 2019, 17: 738–762
- 101 Rezaei F, Damoogh S, Reis R L, Kundu SC, Mottaghitalab F, Farokhi M. *Biofabrication*, 2021, 13: 015005
- 102 Xu S, Liang W, Xu G, Huang C, Zhang J, Lang M. *Appl Surf Sci*, 2020, 515: 145811
- 103 Zhao J, Zhou C, Wu C, Wu H, Zhu C, Ye C, Wang S, Zou D. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10: 41947–41955

Application of alginate hydrogel as a delivery vehicle in tissue regeneration

Fan Zang^{1,2}, Song Qin^{2,3}, Lei Wang², Yu Wang², Wenjun Li^{2,3*}, Jian Lin^{1*}

¹ College of Life Sciences, Yantai University, Yantai 264005, China

² Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China

³ Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China

* Corresponding authors (email: wjli@yic.ac.cn; linjian3384@163.com)

Abstract: Alginate is a class of linear hydrophilic polysaccharides found in brown algae. It is composed of repeating units of D-mannuronic acid (M) and L-guluronic acid (G) in different proportions. It is one of the natural biological materials used for hydrogel synthesis. Through simple ion cross-linking, it can react with Ca^{2+} and other multivalent inorganic cations to form hydrogel, which called “egg box reaction”. There are a large number of $-\text{OH}$ and $-\text{COOH}$ polar groups on the alginate skeleton, which can be modified by chemical or physical methods to achieve controlled release of cells or biologically active molecules in response to temperature, pH, light and other stimuli. At present, one of the main application strategies in the field of tissue regeneration is to use biocompatible materials, combined with bioactive molecules and cells, to promote the regeneration of damaged tissues. Hydrogel materials have the potential to protect embedded cells and mimic the natural extracellular matrix. Alginate is also widely used in the field of tissue regeneration due to its easy gelation and good biocompatibility. In this review, we summarized the different cross-linking methods of alginate hydrogels, focusing on the characteristics of alginate hydrogels that are responsive to stimuli and their applications as delivery vehicles in tissue regeneration.

Keywords: alginate, hydrogel, covalent and non-covalent cross-linking, stimulus responsiveness, delivery vehicle, tissue regeneration

doi: 10.1360/SSC-2021-0107