

# 医用可降解水凝胶材料

Medical Biodegradable  
Hydrogel Material

谈华平 著



科学出版社

# 医用可降解水凝胶材料

谈华平 著

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

本书以组织工程和再生医学为应用背景,分别介绍离子交联、热致相转变、碱基配对、分子特异性识别、共轭反应、自由基聚合和酶反应等医用可降解水凝胶材料的制备技术和交联原理。简单介绍医用可降解水凝胶材料已经取得的一些科研成果,重点阐述可注射型组织工程支架材料和药物载体材料的制备、改性和应用,其中的许多原则和技术也适用于其他生物材料和再生医学材料的设计和制备。

本书可作为高等院校生物材料、高分子材料、材料学、生物医学工程、药物合成等专业的工程技术人员、研究生、本科生学习的参考书,同时对临床相关专业的医疗科研人员也有一定的参考价值。

### 图书在版编目(CIP)数据

医用可降解水凝胶材料/谈华平著. —北京:科学出版社, 2017.6

ISBN 978-7-03-053795-9

I. ①医… II. ①谈… III. ①水凝胶-可降解材料-医用高分子材料  
IV. ①R318.08

中国版本图书馆CIP数据核字(2017)第139636号

责任编辑:李涪汁 曾佳佳/责任校对:郑金红

责任印制:张倩/封面设计:许瑞

**科学出版社**出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

**新科印刷有限公司**印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2017年6月第一版 开本:720×1000 1/16

2017年6月第一次印刷 印张:13 1/2

字数:270 000

定价:79.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

# 前 言

新型医用水凝胶材料的开发是生物材料的重要发展方向。基于生物活性交联技术的可降解水凝胶为生物材料和再生医学领域带来了非常重要的意义。这方面的深入研究有望为提高人类的健康水平作出积极贡献，同时也具有显著的社会效应和经济价值。

医用可降解水凝胶主要用作细胞、药物和基因载体材料，广泛用于组织工程、药物控制释放、基因治疗等再生医学领域，按应用形式可分为大尺寸水凝胶、可注射型水凝胶和微凝胶材料等。近年来，我们对医用可降解水凝胶开展了大量的研究，在参阅国内外同行科研成果的基础上，结合我们自己对水凝胶制备技术和交联原理的理解，编写了本书。本书共分 10 章，分别对离子交联、热致相转变、碱基配对、分子特异性识别、共轭反应、自由基聚合和酶反应等水凝胶交联技术作了介绍，重点阐述了可注射型水凝胶细胞支架材料的制备、改性和应用。

本书的出版得到中央高校基本科研专项资金（AE16001）、江苏省骨科临床研究中心基金（BL2012002）及教育部留学归国人员启动基金等项目的资助。多年来，我的科学研究得到了浙江大学高长有教授、南京总医院陈勇主任、金陵科技学院胡小红教授、南京理工大学熊党生教授和邢晓东教授的指导和帮助。在本书成稿过程中，闫敬萱、高欣、范茗、陈会南、马焱、沈青、孙进晨和肖超参与了资料的收集和整理等工作。在此谨向他们表示衷心的感谢。

由于医用可降解水凝胶材料的发展非常迅速，并限于作者的水平，书中不妥之处在所难免，敬请读者不吝批评、指正。希望本书的出版能给读者的工作或学习提供一些帮助，如能达成此愿，我将感到无比的宽慰。

谈华平

2017 年 1 月于南京

# 目 录

## 前言

第 1 章 绪论 .....	1
1.1 医用水凝胶 .....	1
1.2 医用可降解水凝胶 .....	1
1.2.1 基体材料 .....	2
1.2.2 交联机理 .....	2
1.3 医用可降解水凝胶的应用 .....	5
1.3.1 细胞支架 .....	5
1.3.2 药物载体 .....	6
参考文献 .....	9
第 2 章 离子交联型水凝胶 .....	10
2.1 交联原理 .....	10
2.2 水凝胶 .....	12
2.2.1 Alg/HAp 水凝胶 .....	12
2.2.2 Alg/HAp/GMs 水凝胶 .....	19
2.3 微凝胶 .....	26
参考文献 .....	30
第 3 章 热致相转变水凝胶 .....	31
3.1 凝胶原理 .....	31
3.2 温敏透明质酸水凝胶 .....	32
3.3 嵌段共聚水凝胶 .....	39
参考文献 .....	41
第 4 章 碱基配对水凝胶 .....	42
4.1 碱基配对交联原理 .....	42
4.2 可注射水凝胶 .....	43
4.2.1 聚乙二醇水凝胶 .....	43
4.2.2 纤维素与肝素水凝胶 .....	48
4.3 微凝胶 .....	51
4.3.1 透明质酸微凝胶 .....	52

4.3.2	磁性多聚糖微凝胶 .....	53
	参考文献 .....	58
<b>第 5 章</b>	<b>分子特异性结合水凝胶 .....</b>	<b>59</b>
5.1	原理与分类 .....	59
5.2	配体与受体 .....	60
5.3	DNA 促旋酶与香豆霉素 .....	61
5.3.1	微凝胶材料 .....	61
5.3.2	活性表面材料 .....	63
5.4	葡萄糖与伴刀豆球蛋白 A .....	67
5.5	生物素与结合素 .....	72
5.6	肝素与肝素结合蛋白 .....	76
	参考文献 .....	80
<b>第 6 章</b>	<b>席夫碱交联水凝胶 .....</b>	<b>82</b>
6.1	席夫碱反应机理 .....	82
6.2	氧化透明质酸的应用 .....	83
6.2.1	壳聚糖与透明质酸水凝胶 .....	83
6.2.2	葡萄糖响应性水凝胶 .....	87
6.2.3	地塞米松接枝水凝胶 .....	88
6.3	氧化海藻酸钠的应用 .....	91
6.3.1	海藻酸钠与壳聚糖水凝胶 .....	91
6.3.2	微球填充水凝胶 .....	99
6.4	氧化硫酸软骨素的应用 .....	108
6.4.1	硫酸软骨素与壳聚糖水凝胶 .....	109
6.4.2	明胶微球填充水凝胶 .....	115
6.5	氧化纤维素的应用 .....	122
6.5.1	纤维素/壳聚糖水凝胶 .....	122
6.5.2	微球复合水凝胶 .....	132
6.6	氧化葡聚糖的应用 .....	142
	参考文献 .....	143
<b>第 7 章</b>	<b>第尔斯-阿尔德加成水凝胶 .....</b>	<b>145</b>
7.1	交联原理 .....	145
7.2	透明质酸水凝胶 .....	145
7.3	地塞米松在水凝胶中的固定 .....	149
7.4	透明质酸微凝胶 .....	154
	参考文献 .....	159

---

第 8 章 点击化学水凝胶 .....	160
8.1 交联原理 .....	160
8.2 铜催化交联水凝胶 .....	160
8.3 无铜催化交联水凝胶 .....	166
8.4 无铜点击化学微凝胶 .....	174
参考文献 .....	176
第 9 章 自由基聚合水凝胶 .....	177
9.1 机理和类型 .....	177
9.2 光引发交联水凝胶 .....	178
9.3 热引发交联水凝胶 .....	182
参考文献 .....	187
第 10 章 化学助剂交联水凝胶 .....	188
10.1 化学交联剂的类型 .....	188
10.2 京尼平交联水凝胶 .....	188
10.2.1 聚乙二醇水凝胶 .....	188
10.2.2 透明质酸水凝胶 .....	192
10.3 戊二醛交联微凝胶 .....	195
10.3.1 明胶微凝胶 .....	196
10.3.2 羧甲基壳聚糖微凝胶 .....	201
参考文献 .....	205

# 第1章 绪论

## 1.1 医用水凝胶

水凝胶是亲水性聚合物交联网络经水溶胀形成的一种材料形态，是少量的亲水性大分子与大量水的结合体，其中亲水性大分子之间有适度的物理或化学交联，能够保持水凝胶的固态结构。这些聚合物网络中有亲水的基团或区域，对水有高亲和力，可以吸收和保存大量的水。由于它们有交联网络，因而不会溶解，水可以渗透到聚合物网络的分子链之间，从而导致溶胀。从流体力学来看，低浓度亲水性高分子的水溶液，如果没有链段的缠绕，通常表现出牛顿力学行为，高分子链之间交联之后，网络结构就会表现出黏弹性或纯粹的弹性<sup>[1]</sup>。

医用水凝胶的特性在于较高的水分含量和生物相容性，是生物材料中的重要应用种类。最早的应用是将天然高分子胶原制成水凝胶支架，用作烧伤的敷料和人工皮肤，后来随着组织工程的兴起，以天然高分子为基体的水凝胶支架随即成为包裹细胞的研究热点。水凝胶作为最理想的细胞支架和药物载体，有望用于修复和诱导再生多种组织和器官。目前，医用水凝胶已在生物和医学领域得到广泛应用，最新的进展包括新型水凝胶的合成及其在药物输送、组织工程和再生医学方面的应用。

医用水凝胶材料按其生物性能可分为非生物降解和可生物降解两大类。非生物降解水凝胶材料在生物环境中能长期保持稳定，不发生降解、交联或物理磨损等，并保持良好的力学性能。该类材料应要求其本身生物相容性好，不对机体产生明显的毒副作用，主要用于止血材料、药物释放、人体软/硬组织的填充和替换等。

## 1.2 医用可降解水凝胶

医用可降解水凝胶，是指水凝胶在植入人体后经过一段时间能被逐渐分解或降解成无毒的小分子物质并被排出体外，或者是被人体代谢和吸收。对这类材料的基本要求是生物相容性良好、高分子本身和降解产物均无毒，同时，要具有与应用匹配的降解速度、适当的物理力学性能及可成型性。



### 1.2.1 基体材料

医用可降解水凝胶基体材料丰富多样，主要包括天然高分子和合成高分子。这两类材料各有优缺点，通常天然高分子的细胞相容性较好，而合成高分子的机械力学性能较好。

天然高分子是由生物体内提取或自然环境中直接得到的一类大分子，具有良好的生物相容性和可降解性。天然高分子一般不具备足够的机械性能和加工性能，某些蛋白类材料还会在体内引起异物免疫反应，因而在医学中应用更多的是经过化学改性的衍生物或与其他材料的复合物。天然高分子材料往往具有良好的生物安全性和生物相容性，但是，天然高分子材料的降解速率一般都太快，而且因其来源不同，结构与性能存在批次间的差异。

用于制备水凝胶的天然高分子材料为动物体的细胞外基质（ECMs）的主要组成以及其他一些生物体的提取物，主要为多聚糖和蛋白类材料，此外还包括一些生物合成聚酯。多聚糖材料主要包括甲壳质（chitin）、壳聚糖（chitosan）、海藻酸盐（alginates）、透明质酸（hyaluronic acid）、肝素（heparin）、硫酸软骨素（chondroitin sulfate）、改性纤维素（cellulose）、琼脂（agar）、淀粉（starch）及葡聚糖（dextran）衍生物等。蛋白类材料主要包括胶原（collagen）、明胶（gelatin）、血纤蛋白（fibrin）和蚕丝蛋白（silk protein）。合成高分子中研究最多的是聚乙二醇（PEG），另外常见的还有聚氧化乙烯（PEO）、聚反丁烯二酸丙二醇酯（PPF）、聚乳酸和聚己内酯等嵌段共聚物。

### 1.2.2 交联机理

水凝胶的形成，是采用适当的物理或化学方法，将前驱物或大分子单体在较短的时间内交联固化成为三维材料。通常，水凝胶转变体系在交联之前是黏度相对较低的水溶液，但是在一定的生理学条件下交联后会迅速转变成凝胶。因此，交联固化机理直接影响整个凝胶形成过程的动力学、水凝胶的稳定性以及活性物质在凝胶中的状态。目前，医用可降解水凝胶的交联固化方法主要有离子交联、氢键作用、热致相转变、特异性结合、自由基聚合、共轭反应、分子自组装和酶反应等交联手段<sup>[2]</sup>。此外，采用添加化学交联剂的方法，如戊二醛（GA）、水溶性碳二亚胺（EDAC）、京尼平等，也可交联制备可降解水凝胶，但由于交联剂具有细胞毒性，因此这类水凝胶不具备原位包覆细胞价值。表 1-1 中列举了部分近来报道较多的医用可降解水凝胶材料。

表 1-1 医用可降解水凝胶材料的交联机制

交联类型	固化机理	基体材料
物理交联	离子交联	海藻酸钠
	碱基配对（氢键作用）	壳聚糖、海藻酸钠、纤维素、聚乙二醇
	热致相转变	明胶、琼脂糖、PNIPAAm、Pluronic、PLGA-PEG-PLGA、PEG-PLLA-PEG
	分子特异性识别	海藻酸钠、葡聚糖、透明质酸、肝素、聚乙二醇
化学（共价）交联	席夫碱反应	海藻酸钠、透明质酸、葡聚糖、硫酸软骨素、纤维素
	第尔斯-阿尔德反应	壳聚糖、透明质酸、聚乙二醇
	迈克尔加成	透明质酸、肝素、聚乙二醇
	点击化学反应	壳聚糖、透明质酸、硫酸软骨素、海藻酸钠、聚乙二醇
	自由基聚合（光、热引发）	明胶、海藻酸钠、透明质酸、壳聚糖、硫酸软骨素、聚乙二醇、PPF
	酶交联	血纤蛋白原、明胶、肝素、壳聚糖
	化学交联剂（戊二醛、京尼平）	明胶、壳聚糖、聚乙二醇

离子交联是指带电荷的聚合物与带有相反电荷的多价离子或聚合物作用，通过离子键合作用形成水凝胶。某些天然多糖及其衍生物是高分子聚电解质，采用离子引发交联可以形成凝胶，并且产生特殊的刺激响应性，如 pH 等。海藻酸盐是一种天然衍生多糖，其水溶液通过与二价离子（如  $\text{Ca}^{2+}$ ）的相互作用呈现出可逆凝胶化反应，这些阳离子与海藻酸链上的古罗糖醛酸单元相互作用形成离子键桥，即所谓的“蛋盒结构”。海藻酸凝胶是被最广泛用作细胞外基质类似物的支架，具有良好的生物相容性，有利于体外细胞的培养，最有希望成为一种商品化的可注射型软组织修复用生物材料。

热致相转变主要是指聚合物溶液通过温度的改变形成凝胶，当温度变化时，聚合物分子链的物理缠结形成交联网络结构。这种水凝胶的形成不需要其他化学试剂的引发，可以以液体的形式注射于体内，原位固化，并且它们的交联点温度可通过调节接近体温，大大降低了外界物质对细胞的影响。热致相转变水凝胶的典型代表为 *N*-聚异丙基丙烯酰胺（PNIPAAm）和普朗尼克（Pluronic，PEO-PPO-PEO）。较为普遍的做法是将 PNIPAAm 和 Pluronic 以共聚物或化学接枝的形式与可降解聚合物结合，得到具有良好可控注射和细胞活性的温敏型水凝胶支架。热致相转变水凝胶的共同特征是有亲/疏水基团的共存，疏水基团包括甲基、乙基、丙基等。水凝胶在低温时为液体，当温度升到一定值时形成凝胶，存在最低临界溶解温度（LCST）。低于 LCST 时，焓变起主导作用，分子链中的极性基团与水分子形成氢键使聚合物溶解在水中；当温度高于 LCST 时，熵变（疏水作

用)起主导作用,疏水的异丙基在转变中发生脱水,导致聚合物分子在水中的沉淀,但其分子链中大量的羰基仍然能与水分子形成氢键。因此,温度高于 LCST 时,水凝胶的形成主要是由于疏水作用导致分子链聚集形成交联网络。这类热致相转变水凝胶体积会随温度而变化,在 LCST 附近体积会突然收缩或膨胀,即发生溶胶相到收缩相的体积转变。目前组织工程领域的研究,主要集中在 PNIPAAm 共聚物上面,尤其是作为细胞和生长因子的载体的研究;而 Pluronic 对细胞包载的机械性能,可通过将 Pluronic 的物理凝胶机制与化学固化结合来进行调节。

共轭反应或偶联反应交联的可注射水凝胶成为研究热点,主要包括迈克尔加成(Michael addition)、席夫碱(Schiff base)反应、第尔斯-阿尔德(Diels-Alder)加成反应和点击化学(click chemistry)等。此类交联过程可在温和条件下进行,且整个凝胶化过程不需要添加不利于细胞生长的化学助剂,因此应用于组织工程具有很大的优越性。与物理交联水凝胶不同,共轭反应交联水凝胶不会发生溶液-凝胶相转变,因此不会有明显的体积变化,这将有利于用于器官缺损的填补。其中,席夫碱反应(醛基与氨基缩合形成酰胺键)是最简单易行的交联水凝胶的方法。许多分子中含有相邻羟基基团的多聚糖,如海藻酸、硫酸软骨素、透明质酸和纤维素等,都可以被高碘酸盐氧化来制备此类水凝胶材料。例如,通过席夫碱反应交联的水溶性壳聚糖-透明质酸复合水凝胶支架材料具有较高的细胞活性。采用高碘酸钠使透明质酸部分氧化得到含醛基的透明质酸,与含有大量氨基的水溶性壳聚糖充分混合形成可原位自交联的水凝胶支架材料。该水凝胶的凝胶时间、降解、溶胀和压缩模量等性能可通过不同壳聚糖和透明质酸的浓度和配比进行调节<sup>[3,4]</sup>。

自由基聚合交联是使带有不饱和或光敏性官能团的前驱物在热或者光作用下发生自由基聚合或交联形成共价键交联水凝胶。自由基的产生主要通过添加热引发剂或者光引发剂,引发大分子单体上的官能团进行聚合和交联。热引发聚合中,官能团一般是 C=C 双键,主要采用氧化还原引发体系。氧化还原引发剂水溶性较好,活性较高,但氧化还原体系不可避免地会引起整个水凝胶体系的 pH 的变化,并且其副产物可能会影响细胞的存活和生长,所以引发体系的选择至关重要。软骨组织工程中常用的有过硫酸铵/四甲基乙二胺(APS/TEMED)和过硫酸铵/抗坏血酸等,主要用于接枝双键的高分子及其衍生物的交联。因此,该凝胶体系需注意引发剂种类的选择、引发剂及副产物的生物毒性、聚合中温度和 pH 的变化。光引发聚合中,含光敏性官能团(如叠氮)的前驱物可在 UV 照射下直接聚合;含双键官能团的前驱物可通过加入光引发剂(如 I2959)后在 UV 照射下聚合。光引发聚合速率相对较快,而且副产物较少,但须严格控制 UV 的照射强度及照射时间、光引发剂浓度以及反应时的温度变化。热引发聚合与光引发聚合比较,后者聚合速率快,对细胞影响较小,但由于 UV 的透过率有限,不能用

于较深组织的修复，而前者无此限制。自由基交联形成的凝胶为共价键交联，凝胶结构比较稳定，强度较高，而且反应可控制性较好，易于手术中的操作，但由于需其他物质参与，并伴有化学反应，因此对细胞的影响较大。通过对引发体系各项参数的优化及其他操作条件的严格控制，能够降低或消除体系对细胞的影响以满足组织工程的需要。通常采用自由基聚合交联的水凝胶支架的机械性能比较优异，这正是软骨修复应用中所希望的特性之一。采用不同类型、浓度的引发剂以及不同交联剂的比例，交联聚合物具有显著不同的特性，其中交联剂的比例影响交联密度，从而影响最终的机械性能。特别需要注意的是，固化时间的控制必须要符合临床上的应用，以避免水凝胶固化时间不当引起注射材料周围组织的坏死。

### 1.3 医用可降解水凝胶的应用

医用可降解水凝胶材料主要用于细胞、药物和基因载体材料，按材料形态可分为大尺寸水凝胶、可注射型水凝胶、微凝胶材料等。

#### 1.3.1 细胞支架

医用可降解水凝胶最重要的应用是作为可注射型细胞支架，用于组织工程和再生医学领域。通常情况下，细胞体外培养的环境无法完全模拟人体内部的细胞生长环境，因而细胞在体外培养时很容易丧失其功能性的表达，不能进行正常的基质分泌、分化和增殖。水凝胶有利于营养物质和细胞分泌产物的运输，能够为细胞的分裂与分化提供更接近于天然细胞外基质的化学与物理环境。

从临床使用的角度考虑，水凝胶支架可通过注射的方法植入所需部位，在一定条件下原位形成三维支撑体，避免了创伤性的外科手术，降低了手术难度，更容易被患者所接受。用于临床治疗时，将细胞悬浮于液态支架前驱体组分中，混合后直接注射到缺损部位，支架在体温下可快速原位成型，细胞可以均匀分布在整个水凝胶支架中。因其高含水量、生物相容性和机械性能类似天然软组织，类似体内环境的特质更有利于细胞的分化和功能表达，使得水凝胶在组织工程应用方面特别有吸引力。此外，水凝胶尤其适合填补任意形状的缺损，其物理形态和人体软组织接近，可用于向细胞传递信号，作为细胞生长和功能的支持结构，为缺损空间提供填充。

用于临床治疗时，水凝胶既可以直接植入体内作为组织的替代材料，也可在水凝胶交联之前将细胞悬浮于液态前驱体组分中，混合后直接注射到缺损部位，然后在体温下快速原位交联成型。所需营养由体液交换提供，细胞可渗透其中进行生长，最终修复受损的组织。图 1-1 为水凝胶材料作为细胞支架在组织工程中的应用示意图<sup>[5]</sup>。

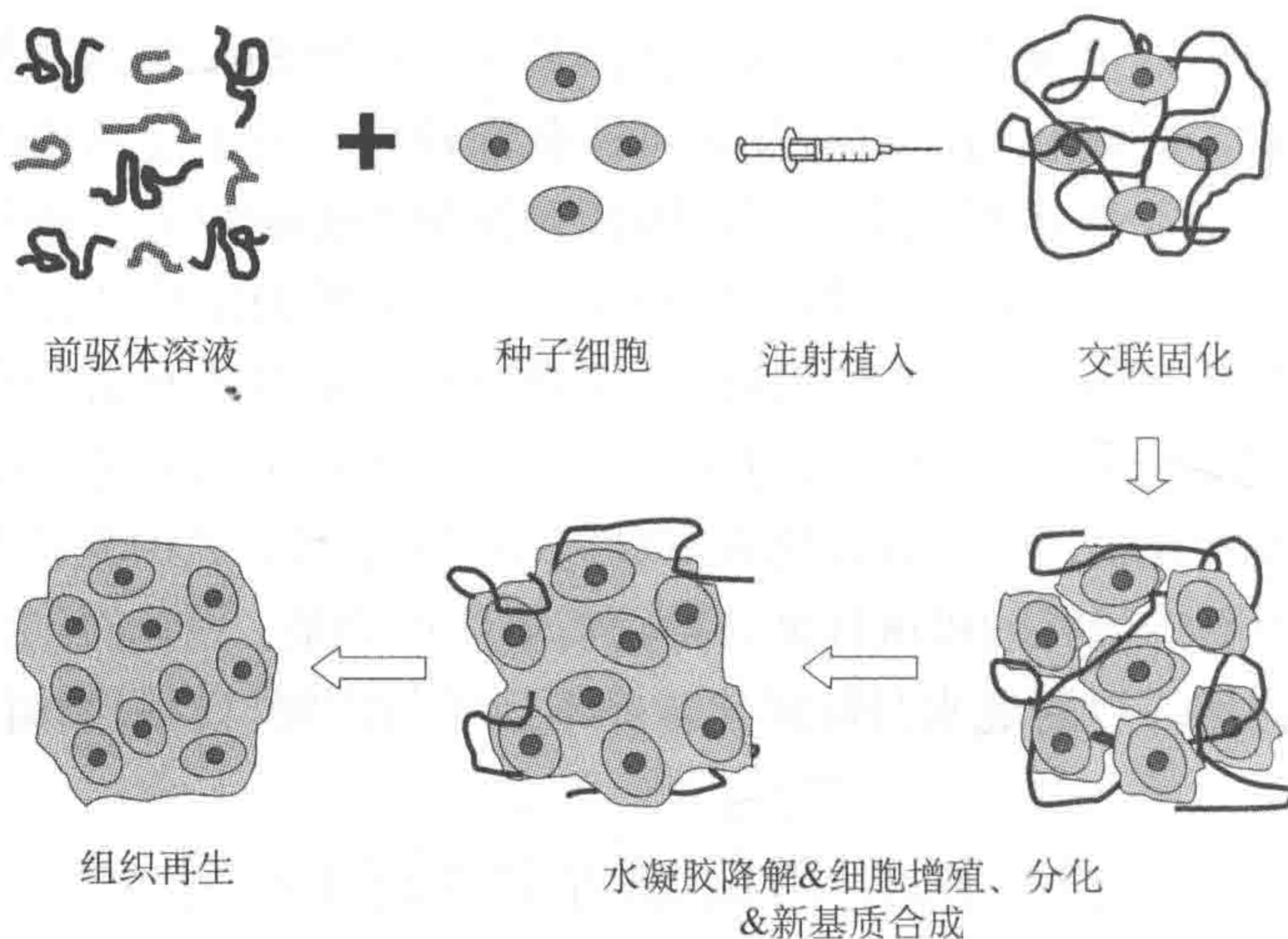


图 1-1 可注射型水凝胶材料在组织工程中的应用示意图

水凝胶支架的物理参数包括机械强度和降解等，而生物特性包括生物相容性和提供与生物相关的微环境的能力。由于水凝胶支架要负载细胞和细胞生长因子，因此注射后溶液凝胶化的条件必须是温和的。作为组织工程支架，还需考虑可注射型水凝胶的机械性能。对于软骨和骨等承重组织，支架需具有足够的机械强度以支撑所修复的组织，特别是在修复的早期，需要降解速率慢的材料，能够在较长的时间内维持其结构完整性和机械性能。细胞完全处于凝胶包围中，凝胶的应变易于对细胞产生应力刺激，能够为细胞的分裂与分化提供更接近于天然细胞外基质的化学与物理环境。

大量体外和体内实验从多角度研究了水凝胶的强度、细胞生长因子负载以及材料本身性质对种子细胞和组织再生的影响。与传统的多孔支架材料相比，水凝胶支架具有类似体内环境的特质，具有高度水合的三维聚合物网络，为软骨细胞的黏附、增殖和分化提供了空间，更有利于细胞的分化和功能表达，从而能更好地实现组织的再生。经过十多年的发展，已有多种适合负载细胞或干细胞的水凝胶支架被制备出来，并进行了大量的体外和体内的组织工程化研究，取得了丰富的研究成果。诚然，水凝胶作为细胞支架尚存在缺陷，主要是凝胶时间难以精确控制，机械强度较低，形状保持能力差，消毒困难。水凝胶是细胞支架材料的一个重要组成部分与发展方向，可注射型水凝胶具有重要的临床应用价值和很大的发展前景，必将有力推动组织工程技术的发展。

### 1.3.2 药物载体

水凝胶支架的另一个重要功能是传递药物和基因。人体组织或器官的细胞外

基质中含有大量的活性大分子, 这些活性大分子为组织细胞的存活及活动提供适宜的微环境, 并通过信号传导系统影响细胞的代谢、功能、黏附、迁移、增殖和分化等行为。组织再生中, 细胞生长因子的调节作用对组织再生具有重要的作用。由于生长因子在溶液中的活性半衰期较短, 因此生长因子的应用需要通过一定形式的载体以实现可控释放。在体内, 生长因子是通过分子间的弱相互作用力存储在细胞外基质中, 然后根据组织生长的需要在特定的部位以所需的速率和剂量释放。以往细胞生长因子等激素蛋白药物的给药方式主要是口服或静脉注射, 由于酶解作用, 大部分给药将被代谢或消耗, 这不仅造成浪费还会对身体产生副作用。例如, 为了促进局部软骨形成, 传统给药方式需要大量的细胞生长因子, 但会导致一些严重的副作用, 包括非靶组织的钙化、新软骨化、形成动脉粥样硬化斑块甚至肿瘤。这些对软骨或骨组织具有营养和促进作用的因子, 对其他组织很可能是有利的, 因此, 局部、靶向给药对于水凝胶支架负载细胞生长因子是非常必要的。

在运输细胞的同时, 水凝胶为化学和生物信号修饰提供了平台。在水凝胶支架中引入细胞生长因子等诱导信号以促进和控制组织生成十分重要。目前, 水凝胶已广泛地应用于输送细胞生长因子以促进组织的修复与再生。生长因子在水凝胶支架中的应用方式包括简单物理吸附、化学固定以及微粒包埋等。但是, 简单物理吸附无法获得长时间的释放效果, 而生长因子只有在所需的时间内实现缓慢地释放才有利于组织的再生。化学固定法则可能破坏生长因子的活性结构域, 影响其生物活性。微球或微粒包埋是目前研究最多的释放方式, 但对载体生物相容性以及释放速率的控制增加了组织工程支架研究的复杂性<sup>[5]</sup>。除了承担运载药物的基本功能以外, 水凝胶还应起到保护和稳定细胞生长因子的作用。另外, 力学信号和动态培养能够刺激种子细胞的分化和新基质分泌, 能增强工程化组织的机械和功能化性质。因此, 联合支架内化学诱导与外界力学信号, 水凝胶材料在诱导组织再生方面存在着巨大的潜力。

随着组织工程技术的发展, 新的构建组织结构的方法被开发出来。作为药物载体, 医用水凝胶可以制备成微球、微胶囊和纳米粒子等多种形式。例如, 软骨组织工程结构可以采用小的凝胶结构模块来进行组装构建, 通过这种“模块化”的方法, 可组装构建具有特定功能和结构的较大软骨组织。再如, 在癌症治疗中, 递送正确剂量的抗癌药物并靶向递送到正确的位置是成功治疗的关键, 特别是微凝胶 (microgel) 可被用作具有可控释放特性和靶向能力的抗癌载体。

微凝胶属于微米或纳米级的凝胶颗粒, 是一种具有分子内交联结构的聚合物微粒, 具有优良的加工性能和施工性能, 在克服许多组织工程难题方面具有很大的应用价值。微凝胶的合成方法主要包括: 乳化法、光刻技术、微流体技术以及微成型技术, 这些方法可用于制备尺寸在几十至几百纳米的微凝胶材料。在组织

工程中,主要采用乳化法制备和构建微凝胶材料。制备过程中,多相混合溶液经过机械搅拌,在有机相内形成水凝胶前驱物的小液滴。水凝胶的尺寸可通过调节机械搅拌力、各相溶液的黏度以及改变两相间界面张力表面活性剂的加入来进行控制。通过上述步骤所得的液滴可通过各种各样的交联机制进行交联,形成球形水凝胶。这种方法可用于各种各样的材料制备微凝胶,包括琼脂糖、海藻酸钠和胶原蛋白等。将细胞加入溶液中可制备负载细胞微凝胶,用于免疫隔离和作为生物学反应器或者用于干细胞生物学的分析等方面。乳化法主要的优点在于制备水凝胶工艺简便,可通过优化制备工艺条件减小水凝胶粒径的分布。但是,这种技术所制备的水凝胶粒径普遍比其他方法分布宽,且基本上通过这种方法制备得到的水凝胶都呈球状。微凝胶在克服软骨组织工程领域的某些挑战上表现出了显著的应用潜力。

最早用微米级凝胶颗粒来构建组织的例子是微胶囊材料,用于细胞的包载,这种方法采用聚电解质半透膜封装细胞后植入机体,可以避免机体的免疫反应。离子交联海藻酸是广泛应用于包裹细胞的微胶囊材料,这是因为海藻酸交联简单易行,凝胶条件温和,并且降解相对缓慢,细胞在体系凝胶化之前很容易与之混合<sup>[6]</sup>。多种  $\text{Ca}^{2+}$  或者  $\text{Ba}^{2+}$  交联的海藻酸微球和微胶囊已被开发出来用于种子细胞和生长因子的运载,同时,也有研究将活性分子和肝素引入海藻酸微球和微胶囊中用来包裹细胞。许多研究证实,离子交联海藻酸制备的微胶囊材料能成功封装种子细胞,并且能够持续释放细胞生长因子,在体内实现免疫隔离。然而,这种海藻酸微胶囊会随培养时间而发生纤维化,导致非渗透性包裹,从而造成细胞生长因子的损失和细胞的死亡。此外,微胶囊材料容易导致氧传输的扩散限制,从而降低处于微胶囊中心细胞的活性,由此限制了微胶囊的尺寸发展。一种限制纤维化包裹的方法是在海藻酸微胶囊表面接枝或涂层亲水性的透明质酸分子,也有研究尝试在微胶囊表面固定血红蛋白以提高氧扩散;还有通过化学接枝 RGD 多肽分子,来改善海藻酸微胶囊的生物活性。

除了传统的水凝胶和微凝胶,某些纳米微球体也已经被交联和堆积形成三维水凝胶材料。这种可注射型水凝胶材料的特点是由直径为几十到几百纳米的微球组成的。这些小尺寸的微球之间可通过静电吸附、特异性识别、酶反应和自由基聚合等交联机制<sup>[7-10]</sup>,原位自组装成具有符合创伤形状的三维水凝胶支架。纳米微球通常采用乳化法制备,以 EDAC 等缩合剂将反应性基团和多肽固定于微球表面,赋予纳米微球的反应活性。这些功能化的微球体不仅可给细胞和生长因子提供一个生长空间和运输载体,而且可以诱导干细胞定向分化,这丰富了水凝胶支架材料在组织工程中的应用。未来,水凝胶将向智能型和多功能性发展,并且在生物医学的应用会越来越广泛。这些材料的成功依赖于新材料的发展,此将通过新的聚合物合成或修改天然聚合物的出现来实现。

## 参 考 文 献

- [1] 薛巍, 张渊明. 生物医用水凝胶. 广州: 暨南大学出版社, 2012: 1-4.
- [2] 谈华平. 医用多聚糖材料. 北京: 科学出版社, 2015: 6-15.
- [3] Tan H P, Chu C R, Payne K A, et al. Injectable *in situ* forming biodegradable chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for cartilage tissue engineering. *Biomaterials*, 2009, 30(13): 2499-2506.
- [4] Tan H P, Rubin J P, Marra K G. Injectable *in situ* forming biodegradable chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for adipose tissue regeneration. *Organogenesis*, 2010, 6(3): 173-180.
- [5] Tan H P, Marra K G. Injectable, biodegradable hydrogels for tissue engineering applications. *Materials*, 2010, 3(3): 1746-1767.
- [6] Sun J C, Tan H P. Alginate-based biomaterials for regenerative medicine applications. *Materials*, 2013, 6(4): 1285-1309.
- [7] Wang H N, Hansen M B, Löwik D W P M, et al. Oppositely charged gelatin nanospheres as building blocks for injectable and biodegradable gels. *Advanced Materials*, 2011, 23(12): 119-124.
- [8] Salem A K, Rose F R A J, Oreffo R O C, et al. Porous polymer and cell composites that self-assemble *in situ*. *Advanced Materials*, 2003, 15(3): 210-213.
- [9] Tan H P, Fan M, Ma Y, et al. Injectable gel scaffold based on biopolymer microspheres *via* enzymatic reaction. *Advanced Healthcare Materials*, 2014, 3(11): 1769-1775.
- [10] Huang T, Xu H G, Jiao K X, et al. A novel hydrogel with high mechanical strength: a macromolecular microsphere composite hydrogel. *Advanced Materials*, 2010, 19(12): 1622-1626.



## 第2章 离子交联型水凝胶

### 2.1 交联原理

通过离子交联形成的水凝胶一般分为两种，一种为聚电解质与带相反电荷的多价离子通过键合作用形成水凝胶，又称为离子包埋型水凝胶；另一种为两种带相反电荷的聚电解质电离成阴离子高分子和阳离子高分子，两者相互作用形成水凝胶，又称为聚电解质复合物。离子交联水凝胶的形成机理如图 2-1 所示。

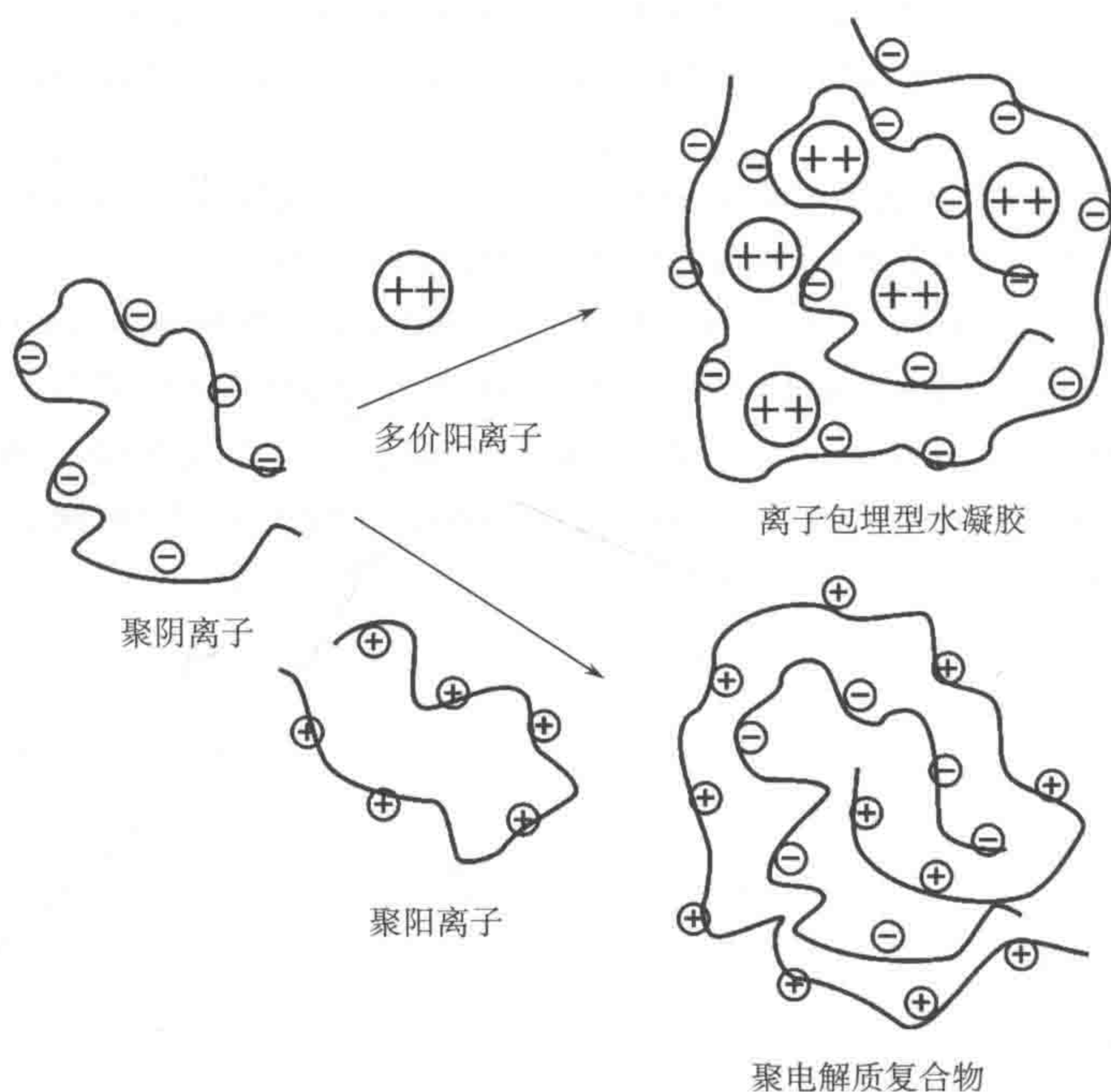


图 2-1 离子交联水凝胶形成机理

海藻酸钠是一种天然的带负电基团的 ( $-\text{COO}^-$ ) 亲水多聚糖，是由  $\alpha$ -L-甘露糖醛酸 (M 单元) 与  $\beta$ -D-古罗糖醛酸 (G 单元) 依靠 1,4-糖苷键连接而形成的共聚物 (图 2-2 (a))。海藻酸钠低热、无毒、无臭，无免疫原性，吸湿性强，具有良好的生物相容性和生物降解性，已被广泛应用于伤口敷料、牙齿修复、药物传递和组织工程等方面<sup>[1]</sup>。在众多的海藻酸钠水凝胶制备方法中，离子交联形成的