

可注射的壳聚糖水凝胶的制备及应用进展

刘 阳*,王 毅,王云娟,尹玉利,熊菀伶,冯晓祎

(南华大学药学院,肿瘤微环境响应药物研究湖南省重点实验室,衡阳 421001)

摘要:可注射的水凝胶由于其独特的性质在生物医学领域中备受关注。壳聚糖是自然界中唯一的一种阳离子多糖,具有含量丰富、价格低廉、生物相容性和生物可降解性良好等优点,经常被用来制备可注射的水凝胶。近年来,随着研究的进一步深入,通过采用各种化学或物理改性和修饰方法、引入各种生物功能分子或采用各种交联方法,具有优异性能的可注射的壳聚糖水凝胶不断涌现,其应用范围不断扩展,在实际应用中发挥了越来越重要的作用。本文主要介绍了常见的化学交联的和物理交联的可注射的壳聚糖水凝胶的制备方法,综述了其在药物载体、基因载体、细胞支架和伤口修复等生物医学领域中的应用进展,对其存在的问题及发展趋势进行了分析和展望,为可注射的壳聚糖水凝胶的进一步发展提供指导和借鉴。

关键词:壳聚糖;水凝胶;可注射

引言

水凝胶是一类由亲水性的高分子化合物通过物理或化学方法交联而成的,并含有大量水分的具有三维网络状结构的复合体系,具有与人体组织非常相似的理化性质,比如较高的含水量、良好的生物相容性等,因而在药物控释、组织修复等生物医学领域中的应用非常广泛^[1]。其中,可注射的水凝胶尤其引人注目^[2]。可注射的水凝胶材料在体外一般具有一定的流动性,能够和细胞、药物或活性分子等均匀混合,当被注射到体内后,能够原位的凝胶化形成水凝胶。内部包埋的细胞则能够继续生长,药物或活性分子等也可以逐渐释放出来,从而起到组织修复或疾病治疗等作用。按照凝胶化或交联方式的不同,可注射的水凝胶可以分为化学交联的水凝胶和物理交联的水凝胶两类^[3]。其中化学交联的水凝胶是利用化学反应交联形成的,具有良好的力学性能和稳定性,但是一般需要加入交联剂或引发剂,可能产生较大的毒性;而物理交联的水凝胶是通过氢键、疏水作用等方式形成的,对细胞损害小,但是其容易随着外界物理条件的变化而发生性能改变,稳定性较差。

壳聚糖是一种由甲壳质脱乙酰化而得到的阳离子型天然高分子多糖^[4]。自从1859年被发现以来,壳聚糖备受研究者关注。由于来源丰富,价格低廉,且具有良好的可降解性和成膜性等特点,壳聚糖在水处理、食品保鲜等化学化工领域已得到广泛的应用。通过深入研究发现,壳聚糖同时具有良好的生物相容性、抗菌性和止血活性等理化性能,且分子链上含有大量的易于修饰的羟基、氨基及乙酰化氨基等活性基团,因而壳聚糖在生物医药领域中同样备受关注。其中可注射的壳聚糖水凝胶在近年来已引起研究者的极大兴趣。由于既保留了壳聚糖的优良特性,又具有可注射的水凝胶的优点,可注射的壳聚糖水凝胶在药物载体、基因载体、细胞支架和伤口修复等生物医药领域中逐渐引人注目^[5]。

由于壳聚糖通常只能溶于酸性介质,而在生理条件下难溶,因此必须通过各种物理或化学的方法对其进行改性和修饰,所得到的壳聚糖及其衍生物通过交联则可以形成各种新型的可注射的水凝胶。这种

10.14028/j.cnki.1003-3726.2020.05.002

收稿:2019-07-15;修回:2019-10-09;

基金项目:湖南省自然科学基金青年基金项目(2018JJ3436),湖南省教育厅科学研究项目(16C1405),衡阳市指导性科技计划项目(2017KZ173),湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目(S201910555023),南华大学大学生研究性学习和创新性实验计划项目(2018XJXZ189,2018XJXZ347,X2019175),南华大学大学生创新团队研究基金;

作者简介:刘阳(1987-),男,博士,讲师,从事生物医用高分子材料研究;

* 通讯联系人,E-mail:liuyanghxl@126.com.

改性和修饰可以调节壳聚糖及其衍生物的性质,增强其理化性能,扩展其所形成的水凝胶的应用范围,目前已成为相关研究中的热点之一。另一方面,单纯的壳聚糖水凝胶可能存在着力学性能差、性能不稳定、功能单一等缺点,在实际应用中受到限制。因而,通过引入其它生物功能分子与壳聚糖形成复合水凝胶,也是目前研究中极具潜力的发展方向之一。随着研究的深入进行,各种新型的具有优异性能的可注射的壳聚糖水凝胶不断产生,其应用的深度和广度也不断扩展,并由实验室基础研究逐渐向实际应用转变。本文主要针对可注射的壳聚糖水凝胶的制备及其在生物医学领域中的应用进行了归纳和阐述(见图 1),并对其未来的发展前景进行展望。

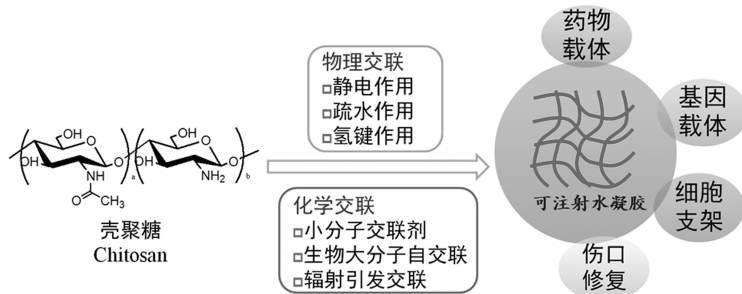


图 1 可注射的壳聚糖水凝胶的制备及应用示意图

Figure 1 Schematic diagram of the preparation and application of injectable chitosan hydrogel

1 可注射的壳聚糖水凝胶的制备

1.1 化学交联的可注射的壳聚糖水凝胶

壳聚糖是唯一的阳离子型多糖,分子结构上具有大量的氨基、羟基等活性基团,因而在外界的光、热、辐射以及交联剂等的作用下,非常容易发生化学反应而形成共价键交联的可注射的水凝胶三维网络结构。按照形成时的交联条件可将其分为小分子交联剂交联、生物大分子自交联以及辐射引发交联等。

1.1.1 小分子交联剂交联 通过选择合适的交联剂,将壳聚糖或其衍生物与交联剂在体外混合均匀后再立即注射进入体内,由于交联反应的发生可以在体内原位凝胶化形成水凝胶。由于体内环境较为特殊,交联剂的选择需要满足低毒或无毒、不影响细胞活性以及适应体内环境等条件。常见的交联剂主要有乙二醇二缩水甘油醚、甘油、戊二醛和京尼平等小分子物质(见图 2)。Li 等^[6]以乙二醇二缩水甘油醚作为交联剂,将经甲醛处理的壳聚糖分子链上的氨基与氨基发生化学反应而交联得到壳聚糖水凝胶。Hafeez 等^[7]采用甘油作为交联剂制备了一种基于低分子量壳聚糖与聚乙烯醇的可注射的共混水凝胶,用于药物递送应用。Zan 等^[8]以戊二醛为交联剂,利用壳聚糖和聚乙烯醇形成了具有互穿网络结构的可注射的水凝胶,用于溶菌酶模型药物的缓释。研究发现,通过改变交联剂的含量,可以影响水凝胶的溶胀度以及药物释放特性,且形成的水凝胶中没有明显的戊二醛残留。Gilaraska 等^[9]使用天然低毒的京尼平作为交联剂制备了以胶原/壳聚糖/透明质酸为基质的可注射的水凝胶,发现增加京尼平的浓度可以增加水凝胶的机械强度,延长其降解时间。由于交联剂的引入可能增加所形成的水凝胶的毒性风险,因而选择不具有毒性或不会与原料产生毒性反应的交联剂,是目前研究中的趋势。同时,通过调节交联剂的性质、浓度等因素,控制所形成的水凝胶的性质也逐渐引人关注。

1.1.2 生物大分子自交联 可注射的壳聚糖水凝胶也可以直接通过壳聚糖及其衍生物与其它大分子单体之间的自交联反应形成,因而可以减少因小分子交联剂的引入而带来的生物毒性等一系列副作用。这种自交联反应一般利用的是生命活动中常见的基团之间的化学反应,因而反应条件较为温和,工艺操作简便,通过控制两种单体之间适宜的比例,可以更好的控制其凝胶化的时间,保证其发挥作用的位置的准确性。

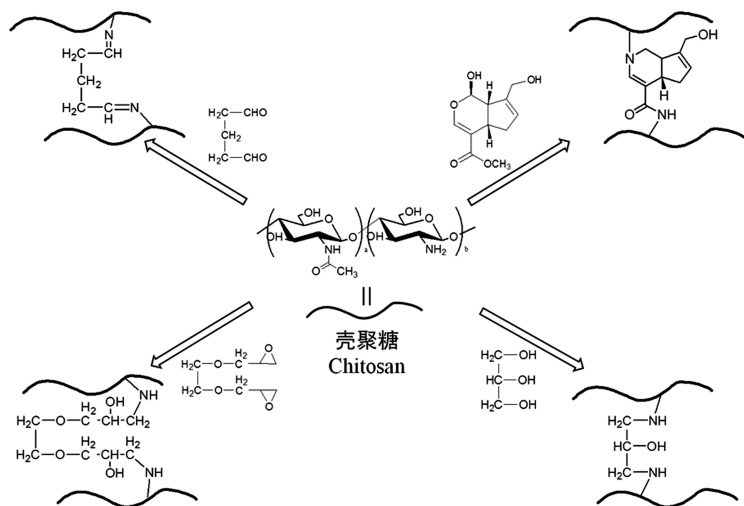


图2 常见的小分子交联剂交联形成壳聚糖水凝胶的示意图

Figure 2 Schematic diagram of the formation of chitosan hydrogel crosslinked by common small molecular crosslinkers

其中利用生物大分子之间的席夫碱反应而交联形成可注射的水凝胶备受关注^[10]。由于该反应条件较为温和,且生成的亚胺键是可逆的,因而所得到的水凝胶可注射性能较好,广泛应用于药物控释和细胞支架等领域。Yan等^[11]以醛基修饰的聚(L-谷氨酸)和乳酸改性的壳聚糖通过席夫碱反应交联制备了一系列可注射的水凝胶,通过控制醛基的含量、两种生物分子的比例,可以调节所制备的水凝胶的凝胶化时间、机械强度和形貌等特性。Sun等^[12]将醛基化的透明质酸与地塞米松接枝的水溶性壳聚糖混合,通过席夫碱反应也制备得到了可注射的水凝胶。该水凝胶能够维持人脂肪源性干细胞的生长,具有良好的生物相容性。Xing等^[13]也通过N-琥珀酰化壳聚糖的氨基和氧化海藻酸盐的醛基之间的席夫碱反应构建了一种新型水凝胶,有望应用于蛋白质药物递送和组织工程。

巯基在生物体内大量存在,通过引入巯基发生交联反应也是一种常见的形成可注射的壳聚糖水凝胶的方法。Wu等^[14]将巯基共价引入到聚(N-异丙基丙烯酰胺)接枝的壳聚糖侧链上,通过将其氧化形成二硫键,从而增加了体系的交联程度,极大的提高了水凝胶的机械强度。Teng等^[15]通过巯基改性的壳聚糖与聚乙二醇二丙烯酸酯在生理条件下的迈克尔加成反应,设计合成了一种具有良好生物相容性的新型可注射水凝胶。通过控制巯基的含量、温度等,可以调节凝胶化时间。Nie等^[16]也利用迈克尔加成反应,将巯基改性的壳聚糖与马来酰亚胺基团修饰的聚赖氨酸在温和的条件下进行交联,得到一种原位形成的多糖/多肽可注射水凝胶,有望应用于粘合剂和止血材料。

1.1.3 辐射引发交联 相比传统的化学交联方法,辐射引发交联一般可在常温下进行,不需要加入潜在的有毒试剂,交联反应更易控制,因而也常用来制备可注射的壳聚糖水凝胶。Zhang等^[17]通过紫外(UV)交联制备了基于聚(N-异丙基丙烯酰胺)-甲基丙烯酸缩水甘油酯接枝的羧甲基壳聚糖的pH和温度双敏感性的可注射的水凝胶,用于抗癌药物5-氟尿嘧啶和抗炎药物双氯芬酸钠的局部递送。Lu等^[18]在钆配合物存在的条件下,利用蓝光照射使3-(4-羟苯基)丙酸偶联的乙二醇化壳聚糖原位凝胶化形成了光交联的水凝胶,具有良好的组织黏合、药物控释和止血作用。Gao等^[19]通过壳聚糖与丙烯酸乙二醇酯的迈克尔加成反应,制备了一种水溶性的甲基丙烯酰氧基乙基羧甲基壳聚糖衍生物,当加入D-2959光引发剂,并用紫外线照射时,形成了一种可注射的光聚合水凝胶,有望应用于组织工程支架。

1.2 物理交联的可注射的壳聚糖水凝胶

物理交联的可注射的壳聚糖水凝胶在凝胶的形成过程中不涉及化学反应,分子链之间一般是通过物理作用而发生交联的。这些物理作用包括静电作用、疏水作用和氢键等。在交联过程中,一般不需要额外添加化学试剂,不涉及复杂的化学反应,因而操作条件更为简单,且可以减少化学试剂引起的毒性,降

低副反应的几率。Fathi 等^[20]以 *N*-异丙基丙烯酸酰胺与衣康酸共聚物、壳聚糖和甘油磷酸酯等为基础,通过静电作用,形成了一种具有温度和 pH 双敏感的可注射的壳聚糖水凝胶,通过负载 DOX,用于乳腺癌的治疗。Saekhor 等^[21]先利用羧甲基氯化物对壳聚糖进行改性得到羧甲基化壳聚糖,再通过与 α -环糊精偶联,得到了环糊精-壳聚糖偶联物,再以偶联物内部的疏水空腔作为交联点,通过疏水相互作用与聚乙二醇形成可注射的复合水凝胶,可应用于骨组织工程。Li 等^[22]利用乙二醇化的壳聚糖的氨基与己酸酐反应得到了一种具有温敏性的 *N*-己酰化的壳聚糖衍生物,其存在热可逆的溶胶-凝胶转变。通过升高温度,在氢键的作用下能够原位形成可注射的水凝胶。

2 可注射的壳聚糖水凝胶的应用

可注射的壳聚糖水凝胶兼具壳聚糖和可注射的水凝胶的优良性质,具有良好的生物相容性、生物可降解性,以及抑菌、促进伤口愈合等生物活性,在药物载体、基因载体、细胞支架和伤口修复等生物医学领域具有广阔的应用前景。研究者针对实际应用的需要,通过对壳聚糖进行化学改性或修饰、引入生物功能分子或采用新的制备方法等方式,不断调节和优化所形成的可注射的壳聚糖水凝胶的性能,从而扩展其应用的深度和广度。

2.1 药物载体

可注射的壳聚糖水凝胶材料在体外时多以液体或半固体形式存在,可以向其中加入药物分子并均匀混合,再通过注射在体内原位形成水凝胶载药体系。这种方式可以避免药物经口服的首过效应,同时具有一定的靶向性能,通过控制壳聚糖水凝胶的性质,可以达到控释或缓释药物的目的。Ren 等^[23]开发了一种在生理条件下通过直接氧化季铵化壳聚糖、明胶和多巴胺的混合物而制备可注射的水凝胶的方法。得到的水凝胶具有良好的细胞相容性,可作为帕金森病的治疗药物多巴胺和消炎药物甲硝唑的局部缓释给药系统。为提高药物的包封能力和局部药物浓度,Ning 等^[24]制备了一种基于巯基化壳聚糖和聚乙二醇二丙烯酸酯自交联形成的可注射的水凝胶。研究发现,该载药体系对抗癌药物姜黄素的包封率几乎可以达到 100%,可以持续的释放姜黄素,并迅速达到其治疗阈值,可以有效的延缓肿瘤生长,减少荷瘤裸鼠的不良反应。

通过向可注射的壳聚糖水凝胶药物载体中引入一些环境敏感性基团或单元,可以使其具有环境敏感性,能够对温度、pH 等刺激因子产生响应,从而有望提高药物释放的靶向性和可控性。Fathi 等^[20]以 *N*-异丙基丙烯酸酰胺与衣康酸共聚物、壳聚糖和甘油磷酸酯等为基础,形成了一种具有温度和 pH 双敏感的可注射的壳聚糖水凝胶药物载体。研究发现,37℃条件下,模型药物 DOX 在较低的浓度和 pH 条件下能够快速释放,有望应用于乳腺癌的局部治疗。Shi 等^[25]利用琥珀酸酯化的壳聚糖上的氨基与抗肿瘤药物 DOX 上的酮基间的席夫碱反应得到了一种 pH 敏感的可注射的抗肿瘤给药系统。其对 DOX 的释放呈现 pH 依赖性,且在肿瘤微环境的弱酸性条件下,释放更快。该水凝胶能够显著的抑制肿瘤细胞和移植瘤的生长。Zhang 等^[26]设计合成了一种基于壳聚糖/透明质酸/ β -甘油磷酸钠的可注射的水凝胶,其表现出良好的体温敏感性、pH 敏感药物释放性和对癌细胞的粘附性。

2.2 基因载体

基因治疗近年来备受关注。但是寻求安全高效的基因载体仍然是目前研究中的热点。而可注射的壳聚糖水凝胶具有良好的生物相容性、免疫抑制性等优点,因而利用其可注射性也常被用于基因的体内递送。通过调节壳聚糖水凝胶的性质,可以控制其内部负载的基因药物的释放,且其对基因无毒害作用,可以维持基因在体内的活性。Cao 等^[27]利用一种可注射的壳聚糖水凝胶用于靶向血管内皮生长因子(VEGF)的 siRNA 的负载和释放。研究发现,随着 siRNA 的缓慢释放,水凝胶上培养的支气管上皮细胞中 VEGF 的表达在 mRNA 和蛋白水平受到显著抑制,活细胞的数目显著减少,因此该负载基因的壳聚糖水凝胶有望应用于慢性鼻窦炎的简易治疗。Steinle 等^[28]将合成的人源化的高斯荧光素酶(hGLuc)

mRNA 引入到可注射的壳聚糖-海藻酸盐混合水凝胶中,发现 3 周后其可释放约 70% 的 mRNA。将 HEK293 细胞加入到该体系中,发现 3 周内均可以检测到荧光素酶的活性。结果表明,该可注射的壳聚糖-海藻酸盐混合水凝胶是一种非常有前途的向细胞持续输送 mRNAs 的递送系统。Ma 等^[29]为探讨基因对牙周病牙槽骨丢失的保护作用,将 Cy3 标记的 siRNA 包埋在温敏性的壳聚糖水凝胶中。通过体内外释放实验表明该水凝胶对基因的释放具有缓释性。当采用负载 RANK 特异性的 siRNA 的水凝胶培养细胞时,细胞可以维持 88% 以上的存活率,且 RANK 敲除可延长到 9 天。因此,该可注射的水凝胶可以作为 siRNA 的局部缓释载体。

2.3 细胞支架

可注射的壳聚糖水凝胶由于具有理想的生物相容性和生物可降解性,也可以作为细胞培养和输送的支架材料应用于组织工程领域。在体外将细胞与壳聚糖水凝胶前体材料均匀混合,注射到体内后,可以原位的形成水凝胶并包埋细胞,细胞在水凝胶支架内部生长,从而有望形成各种复杂的器官或组织。Park 等^[30]利用核黄素作为光交联剂,制备了由甲基丙烯酸乙二醇壳聚糖和透明质酸组成的可注射水凝胶,有望应用于软骨修复。其可以原位包埋软骨细胞,细胞活性维持在 87~90%。在 21 天的培养期,支架中软骨细胞保持圆形,并具有较好的活性。Naderi-Meshkin 等^[31]以壳聚糖为基质,加入 β -甘油磷酸和羟乙基纤维素合成了一种新型可注射的壳聚糖水凝胶。包埋的间充质干细胞(MSCS)在水凝胶支架中具有良好的存活率和增殖率,并可以进行分化。Chen 等^[32]采用溶胶-凝胶法制备了温敏性的壳聚糖/甘油磷酸酯/羟基磷灰石可注射水凝胶,用于骨髓干细胞的体外培养。培养 14 天后,细胞表现出典型的粘附细胞形态和快速增殖特性,具有较高的存活率,同时细胞表达出更高的碱性磷酸酶活性,对 RUNX-2、胶原蛋白 I、碱性磷酸酶和骨钙素等基因表达水平的上调作用更强。

2.4 伤口修复

由于壳聚糖具有良好的抗菌性能和止血活性,可注射的壳聚糖水凝胶在伤口修复与再生等领域也具有广泛的应用,已逐渐成为体表创伤修复敷料的首选材料。利用可注射性,其可以在伤口处原位的形成水凝胶,并且与伤口的形状可以很好地吻合。Dang 等^[33]研究了以抗氧化剂和消炎剂姜黄素与两亲性的壳聚糖-普朗尼克温敏接枝共聚物制备的生物纳米复合可注射水凝胶在烧伤创面愈合和修复方面的应用。体外研究表明该水凝胶具有良好的成纤维细胞增殖能力和抗菌能力;烧伤创面模型研究表明该水凝胶可有效的促进烧伤创面修复。Li 等^[34]利用羧甲基壳聚糖(CMC)的氨基与氧化葡聚糖(ODEX)的醛基进行席夫碱交联反应,制备了一种可注射的多糖杂化水凝胶。通过与 L929 细胞共培养,表明该水凝胶具有良好的细胞相容性,CMC 含量较高的水凝胶更为支持细胞的粘附。通过深二度烧伤大鼠的创面愈合实验,发现该水凝胶能够加快伤口的闭合,促进毛囊、皮脂腺和真皮乳头状突起等皮肤附属物的再生,说明其能够有效促进伤口愈合和皮肤再生。Qu 等^[35]通过在生理条件下混合 *N*-羧乙基壳聚糖和苯胺四聚体接枝的氧化透明质酸,制备了集导电性、良好的抗氧化能力和抗菌性能于一体的多功能可注射的水凝胶敷料。该水凝胶显示出良好的抗菌性能,能够有效的预防伤口感染,并增加肉芽组织厚度、胶原蛋白分布和血管生成,显著加快伤口的愈合速度。

3 结论及展望

壳聚糖来源广泛,分子链上具有大量可供修饰的基团,可以通过各种化学交联或物理交联的方法形成各种具有优良性能的可注射的水凝胶。通过向其中引入其它的生物活性分子,可以调节壳聚糖水凝胶的性质,扩展其应用范围。同时壳聚糖具有良好的生物相容性、生物可降解性、抗菌性和止血性等理化特性,因而可注射的壳聚糖水凝胶在生物医学领域具有极大的发展前景。将药物、细胞、基因或其它生物活性分子与壳聚糖水凝胶前体材料在体外进行均匀混合,通过注射到体内,可以原位形成水凝胶,因而可注射的壳聚糖水凝胶在药物载体、基因载体、细胞支架和伤口修复等方面发挥了非常重要的作用。随着研

究的深入,其应用的深度和广度不断增加,显示出良好的发展前景。目前,可注射的壳聚糖水凝胶的制备与应用研究也存在着一些不足,在许多方面仍具有较大的发展空间:(1)通过修饰改性或引入生物功能分子调节壳聚糖水凝胶的性质和功能的相关研究还不够深入,仍是今后的发展研究重点;(2)具有环境敏感性的可注射的智能型壳聚糖水凝胶显示出更为优异的性质,相关研究有待进一步的加强;(3)许多相关研究尚处于基础研究阶段,开发相关的水凝胶医用产品解决实际医疗问题值得期待;(4)可注射的壳聚糖水凝胶与生物体的相互作用机理还不够明确,尚有很多问题亟待研究和解决。随着材料学、化学、生物学、药学以及医学等多学科的发展和交叉研究的继续深入,相信可注射的壳聚糖水凝胶将具有更好的发展和应用前景。

参考文献:

- [1] Mahinroosta M, Jomeh Farsangi Z, Allahverdi A, Shakoori Z. *Mater Today Chem*, 2018, 8: 42~55.
- [2] Bae K H, Wang L S, Kurisawa M. *J Mater Chem B*, 2013, 1(40): 5371~5388.
- [3] Lu L, Yuan S, Wang J, Shen Y, Deng S, Xie L, Yang Q. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2018, 13(7): 490~496.
- [4] Islam S, Rahman Bhuiyan, Islam M N. *J Polym Environ*, 2017, 25(3): 854~866.
- [5] Wang K, Buschle-Diller G, Misra R D K. *Mater Technol*, 2016, 30(sup8): 198~205.
- [6] Li N, Bai R. *Ind Eng Chem Res*, 2005, 44(17):6692~6700.
- [7] Hafeez S, Islam A, Gull N, Ali A, Khan S M, Zia S, Anwar K, Khan S U, Jamil T. *Int J Biol Macromol*, 2018, 114: 890~897.
- [8] Zan J, Chen H H, Jiang G Q, Lin Y, Ding F X. *J Appl Polym Sci*, 2006, 101(3): 1892~1898.
- [9] Gilarska A, Lewandowska-Lancucka J, Horak W, Nowakowska M. *Colloids Surf B*, 2018, 170: 152~162.
- [10] Li Y, Wang X, Wei Y, Tao L. *Chin Chem Lett*, 2017, 28(11): 2053~2057.
- [11] Yan S F, Wan T T, Li X, Jian Y H, Zhang K X, Li G F, Yin J B. *RSC Adv*, 2017, 7: 17005~17019.
- [12] Sun J, Xiao C, Tan H, Hu X. *J Appl Polym Sci*, 2012, 129(2): 682~688.
- [13] Xing L, Sun J S, Tan H P, Yuan G L, Li J L, Jia Y, Xiong D S, Chen G, Lai J Z, Ling Z H, Chen Y, Niu X H. *Int J Biol Macromol*, 2019, 127: 340~348.
- [14] Wu S W, Liu X, Miller A L, Cheng Y S, Yeh M L, Lu L. *Carbohydr Polym*, 2018, 192: 308~316.
- [15] Teng D Y, Wu Z M, Zhang X G, Wang Y X, Zheng C, Wang Z, Li C X. *Polymer*, 2010, 51(3): 639~646.
- [16] Nie W, Yuan X, Zhao J, Zhou Y L, Bao H J. *Carbohydr Polym*, 2013, 96(1):342~348.
- [17] Zhang L, Wang L, Guo B, Ma P X. *Carbohydr Polym*, 2014, 103: 110~118.
- [18] Lu M, Liu Y, Huang Y C, Huang C J, Tsai W B. *Carbohydr Polym*, 2018, 181: 668~674.
- [19] Gao X, Zhou Y, Ma G, Shi S, Yang D, Lu F, Nie J. *Carbohydr Polym*, 2010, 79(3): 507~512.
- [20] Fathi M, Alami-Milani M, Geranmayeh M H, Barar J, Erfan-Niya H, Omid Y. *Int J Biol Macromol*, 2019, 128: 957~964.
- [21] Saekhor K, Udomsinprasert W, Honsawek S, Tachaboonyakiat W. *Int J Biol Macromol*, 2019, 123: 167~173.
- [22] Li Z, Shim H, Cho M O, Cho I S, Lee J H, Kang S W, Kwon B, Huh K M. *Carbohydr Polym*, 2018, 184: 342~353.
- [23] Ren Y, Zhao X, Liang X, Ma P X, Guo B. *Int J Biol Macromol*, 2017, 105: 1079~1087.
- [24] Ning P, Lü S, Bai X, Wu X, Gao C, Wen N, Liu M. *Mater Sci Eng, C*, 2018, 83: 121~129.
- [25] Shi J B, Wang G B, Chen H L, Zhong W, Qiu X Z, Xing M M Q. *Polym Chem*, 2014, 5(21): 6180~6189.
- [26] Zhang W, Jin X, Li H, Zhang R R, Wu C W. *Carbohydr Polym*, 2018, 186: 82~90.
- [27] Cao C, Yan C, Hu Z, Zhou S. *Mol Med Rep*, 2015, 12: 6688~6694.
- [28] Steinle H, Ionescu T M, Schenk S, Golombek S, Kunakattu S, Özbek M T, Schlensak C, Wendel H P, Avci-Adaliet M. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(5):1313.
- [29] Ma Z W, Yang C X, Song W, Wang Q T, Kjems J, Gao S. *J Nanobiotechnol*, 2014, 12: 23.
- [30] Park H, Choi B, Hu J, Lee M. *Acta Biomater*, 2013, 9(1): 4779~4786.
- [31] Naderi-Meshkin H, Andreas K, Matin M M, Sittinger M, Bidkhor H R, Ahmadiankia N, Bahrami A R, Ringe J. *Cell Biol Int*, 2013, 38(1): 72~84.
- [32] Chen Y T, Zhang F L, Fu Q, Liu Y, Wang Z J, Qi N M. *J Biomater Appl*, 2016, 31(3): 317~327.
- [33] Dang L H, Nguyen T H, Tran H L B, Doan V N, Tran N Q. *J Healthc Eng*, 2018, 56(5): 1~14.
- [34] Li Z Y, Yuan B M, Dong X M, Duan L J, Tian H Y, He C L, Chen X S. *RSC Adv*, 2014, 5(114): 94248~94256.
- [35] Qu J, Zhao X, Liang Y P, Xu Y M, Ma P X, Guo B L. *Chem Eng J*, 2019, 362: 548~560.

Preparation and Application Progress of Injectable Chitosan Hydrogel

LIU Yang* , WANG Yi, WANG Yun-juan, YIN Yu-li, XIONG Wan-ling, FENG Xiao-yi
(College of Pharmacy, University of South China, Hunan Provincial Key Laboratory of Tumor
Microenvironment Responsive Drug Research, Hengyang 421001, China)

Abstract:Injectable hydrogel has attracted much attention in the field of biomedicine due to its unique properties. Chitosan is the only cationic polysaccharide found in nature, which has the advantages of abundant content, low price, good biocompatibility and biodegradability, and is often used to prepare injectable hydrogel. In recent years, with the further development of research, injectable chitosan hydrogels with excellent properties were springing up by using various chemical or physical modification and functionalization methods, introducing various biological functional molecules or using various cross-linking methods. Their application scope has been expanding and they have played an increasingly important role in practical applications. In this article, the common preparation methods of injectable chitosan hydrogel with chemical crosslinking and physical crosslinking were introduced. The applications in drug carrier, gene vector, cell scaffold and wound repair were reviewed, and the existing problems and development trends were analyzed and prospected, which provided guidance and reference for the further development of injectable chitosan hydrogels.

Key words:Chitosan; Hydrogel; Injectable