

分类号：Q81

单位代码：10363

密 级：保密

学 号：2220520116

光响应抗菌水凝胶的制备表征及促伤口愈合性能
研究

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF
LIGHT-RESPONSIVE ANTIBACTERIAL
HYDROGELS FOR WOUND HEALING
PROMOTION

论文作者 杨 永 琪

校内导师 李 婉 珍（副教授）

校外导师 鹿 海 星

专业学位类别 生物与医药

研究方向（领域） 生物载体材料工程

论文答辩日期： 2025 年 5 月 15 日

安徽工程大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：我恪守学术道德，崇尚严谨学风。所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已明确和引用的内容外，本论文不包含其他个人或集体已经发表或撰写过的作品及成果的内容。论文为本人亲自撰写，我对所写的内容负责，并完全意识到本声明的法律后果由本人承担。

学术论文作者签名：

杨永琪

日期：2025 年 05 月 15 日

安徽工程大学学位论文版权使用授权书

学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅或借阅。本人授权安徽工程大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

保密，在1年解密后使用本版权书

本学位论文属于

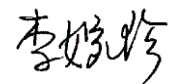
保密

学位论文作者签名：



日期：2025 年 05 月 15 日

指导教师签名：



日期：2025 年 05 月 15 日

光响应抗菌水凝胶的制备表征及促伤口愈合性能研究

摘 要

耐药菌的广泛存在已经成为全球公共卫生的重大挑战，尤其是在创伤感染治疗中，耐药细菌感染会导致伤口愈合延迟或失败。抗生素治疗虽然对初期感染有效，但由于细菌易产生耐药性，致使许多抗生素对感染的抑制逐渐失效，尤其在复杂伤口和糖尿病患者的创伤中更为明显。为克服这些挑战，目前研究人员正致力于开发负载纳米颗粒的光响应抗菌水凝胶。首先，许多光响应纳米颗粒具有强大的抗菌性能，可以有效抑制细菌生长，减少感染风险，特别在复杂或慢性创伤治疗中。通过负载光响应纳米颗粒，水凝胶的抗菌效果得到了显著提升，能够长时间持续释放抗菌物质，保证治疗的持续性和有效性。其次，光响应抗菌水凝胶可以在特定光照下激活药物释放机制，实现精确调控。外部光源可以刺激水凝胶的光响应特性，促使药物或活性成分在需要的时刻释放，提高治疗的精准度，减少副作用。纳米颗粒的引入还改善了水凝胶的力学性能，使其在伤口上的持久性和稳定性得到增强。总体而言，负载光响应纳米颗粒的抗菌水凝胶，具有抗菌效果强、可调控、持久稳定等优点，是一种理想的伤口治疗材料。本文具体的研究内容与研究结果如下：

（1）针对普通创伤伤口耐药菌感染难以愈合问题，本文设计利用全氟己烷（PFH）作为氧载体，光敏剂二氢卟吩 Ce6 （Ce6）与光热剂二硫化钼（ MoS_2 ）共同封装在卵磷脂脂质体纳米颗粒中，利用 ZIF-8 作为载体以增强脂质体的稳定性，设计合成了 $\text{MoS}_2\text{-Ce6-PFH@ZIF-8}$ （MCP@ZIF-8）纳米载氧平台。然后将 MCP@ZIF-8 负载到由羧甲基壳聚糖（CMCS）与普朗尼克 F-127（PF-127）交联形成的水凝胶（MCP@ZCP）中。通过对 MCP@ZIF-8 进行表征，结果表明纳米颗粒具有均匀的形态，粒径约为 220 nm，电位约为 6.7 mV。光热试验结果表明，MCP@ZIF-8 的光热转化效率达到 52.7%。光动力检测试验结果表明，与单独的光敏剂 Ce6 相比，MCP@ZIF-8 能够产生更多的活性氧。体外抗菌活性试验中，通过对 MCP@ZCP 纳米颗粒，进行 660 nm 可见光和 808 nm 近红外光照射下，对耐药大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的杀菌率可达到 99%。通过生物被膜消

融试验,发现 MCP@ZCP 可以有效破坏细菌形成的生物膜。小鼠伤口感染模型的建立以及体内试验结果表明,与空白组相比, MCP@ZCP 组创伤面积减少最快,伤口恢复的最好。在抑菌机制分析中, MCP@ZCP 可以影响细菌氨基酸合成(Amino Acid Synthesis)、碳代谢(Carbon metabolism)、氮代谢(Nitrogen metabolism)等途径,从而抑制细菌生长。MCP@ZCP 溶血实验与小鼠血液检测分析已确认 MCP@ZCP 的安全性和无毒性。因此, MCP@ZCP 载氧光疗水凝胶可能作为一种新颖的治疗耐药菌感染及促伤口愈合的手段。

(2) 针对糖尿病病人的伤口,上述水凝胶的促伤口愈合效果不尽人意。因此本文后续将针对糖尿病病人的伤口进行研究,针对糖尿病患者伤口处活性氧过量的问题,选择天然多酚表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)来清除伤口处的过量活性氧,促进伤口愈合。EGCG与羧甲基壳聚糖(CMCS)以2-甲酰苯硼酸(2-FPBA)为交联剂可以形成水凝胶网络。然后使用聚多巴胺(PDA)包裹中药成分葛根素(PUE),将 PDA-PU 纳米微球加载到 EGCG-CMCS 水凝胶中,获得 PDA-PU@EC 水凝胶。材料表征实验结果表明, PDA-PU 纳米颗粒粒径约为 223 nm 且具有良好的形态。光热实验结果表明, PDA-PU@EC 的光热转化效率约为 65.7%,清除活性氧实验结果表明,而且具有良好的清除活性氧能力。体外抗菌活性试验中, PDA-PU@EC 在 808 nm 近红外光照射下,对耐药大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的杀菌率可达到 99%。糖尿病创伤感染小鼠模型的建立与体内研究也表明 PDA-PU@EC 对糖尿病小鼠具有良好的促伤口愈合能力, PDA-PU@EC 溶血实验与小鼠血液指标分析也确认 PDA-PU@EC 的安全性和无毒性。

实验结果表明,本文所合成的水凝胶都有着优秀的抑菌能力以及良好的光热或光动力效果,且针对复杂病人的伤口具有良好的促伤口愈合性能,可能作为一种新颖的治疗耐药菌感染及促伤口愈合的手段。

关键词: 光热疗法, 光动力疗法, 载氧, 水凝胶, 创伤修复

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF LIGHT-RESPONSIVE ANTIBACTERIAL HYDROGELS FOR WOUND HEALING PROMOTION

ABSTRACT

The widespread presence of drug-resistant bacteria has become a significant challenge to global public health, particularly in the treatment of wound infections, where such infections can lead to delayed or failed wound healing. Although antibiotic treatment is effective for initial infections, the propensity of bacteria to develop resistance has resulted in the gradual ineffectiveness of many antibiotics against infections, especially evident in complex wounds and those in diabetic patients. To overcome these challenges, researchers are currently focused on developing light-responsive antibacterial hydrogels loaded with nanoparticles. Firstly, many nanoparticles possess strong antibacterial properties, effectively inhibiting bacterial growth and reducing the risk of infection, particularly in the treatment of complex or chronic wounds. By loading nanoparticles, the antibacterial efficacy of the hydrogels is significantly enhanced, allowing for the sustained release of antibacterial agents over an extended period, ensuring the continuity and effectiveness of treatment. Secondly, light-responsive hydrogels can activate drug release mechanisms under specific light exposure, enabling precise control. An external light source can stimulate the light-responsive characteristics of the hydrogels, prompting the release of drugs or active ingredients at the required moment, thereby improving treatment precision and reducing side effects. The introduction of nanoparticles also improves the mechanical properties of the hydrogels, enhancing their durability and stability on wounds. Overall, light-responsive antibacterial hydrogels loaded with nanoparticles exhibit strong antibacterial effects, controllability, and lasting stability, making them an ideal material for wound treatment. The specific research content and results of this study are as

follows:

(1) In response to the issue of difficult healing of drug-resistant bacterial infections in common traumatic wounds, this study designed a nanocarrier platform using perfluorohexane (PFH) as an oxygen carrier, with the photosensitizer chlorin e6(Ce6) and the photothermal agent molybdenum disulfide (MoS_2) co-encapsulated in lecithin liposome nanoparticles. ZIF-8 was utilized as a carrier to enhance the stability of the liposomes, resulting in the synthesis of the MoS_2 -Ce6-PFH@ZIF-8(MCP@ZIF-8) nanocarrier platform. Subsequently, MCP@ZIF-8 was loaded into a hydrogel (MCP@ZCP) formed by the crosslinking of carboxymethyl chitosan (CMCS) and polyethylene glycol F-127(PF-127). Characterization of MCP@ZIF-8 indicated that the nanoparticles exhibited a uniform morphology, with a particle size of approximately 220 nm and a zeta potential of about 6.7 mV. Photothermal testing results showed that the photothermal conversion efficiency of MCP@ZIF-8 reached 52.7%. Photodynamic detection experiments indicated that, compared to the standalone photosensitizer Ce6, MCP@ZIF-8 was capable of generating a greater amount of reactive oxygen species. In vitro antibacterial activity tests demonstrated that under 660 nm visible light and 808 nm near-infrared light irradiation, the bactericidal rate against drug-resistant *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* could reach 99%. Through biofilm ablation experiments, it was found that MCP@ZCP can effectively disrupt biofilms formed by bacteria. The establishment of a mouse wound infection model and the results of in vivo experiments indicate that, compared to the control group, the MCP@ZCP group exhibited the fastest reduction in wound area and the best wound healing. In the analysis of the antibacterial mechanism, MCP@ZCP can affect bacterial amino acid synthesis, carbon metabolism, nitrogen metabolism, and other pathways, thereby inhibiting bacterial growth. Hemolysis experiments and blood analysis in mice have confirmed the safety and non-toxicity of MCP@ZCP. Therefore, MCP@ZCP oxygen-carrying phototherapy hydrogel may serve as a novel means for treating drug-resistant bacterial infections and promoting wound healing.

(2) For the wounds of diabetic patients, the wound healing effect of the aforementioned hydrogel is not satisfactory. Therefore, this paper will subsequently

focus on the wounds of diabetic patients, addressing the issue of excessive reactive oxygen species (ROS) at the wound site by selecting the natural polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCG) to eliminate the excess ROS and promote wound healing. EGCG and carboxymethyl chitosan (CMCS) can form a hydrogel network using 2-formylphenylboronic acid (2-FPBA) as a crosslinking agent. Then, polydopamine (PDA) is used to encapsulate the traditional Chinese medicine component puerarin (PUE), and the PDA-PU nanomicrobeads are loaded into the EGCG-CMCS hydrogel to obtain the PDA-PU@EC hydrogel. Material characterization experiments indicate that the particle size of the PDA-PU nanoparticles is approximately 223 nm and they exhibit good morphology. Photothermal experiments show that the photothermal conversion efficiency of PDA-PU@EC is about 65.7%, and the results of the reactive oxygen species elimination experiments indicate that it has a good capacity to scavenge ROS. In vitro antibacterial activity tests demonstrate that under 808 nm near-infrared light irradiation, PDA-PU@EC can achieve a bactericidal rate of 99% against drug-resistant *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The establishment of a diabetic wound infection mouse model and *in vivo* studies also indicate that PDA-PU@EC has a good wound healing capability in diabetic mice. Hemolysis experiments and analysis of mouse blood parameters further confirm the safety and non-toxicity of PDA-PU@EC.

The experimental results indicate that the hydrogels synthesized in this study possess excellent antibacterial properties and good photothermal or photodynamic effects, as well as favorable wound healing performance for complex patients' wounds, demonstrating significant potential and promising to become an important therapeutic approach.

KEY WORDS: Photothermal therapy, Photodynamic therapy, Oxygen loading, Hydrogels, Trauma Repair

目录

摘要.....	I
ABSTRACT.....	III
第 1 章 绪论.....	1
1.1 引言.....	1
1.2 耐药菌导致创伤难以愈合的原因.....	2
1.2.1 创伤处的细菌感染及其危害.....	2
1.2.2 创伤处生物膜微环境的形成及危害.....	3
1.3 普通创伤和糖尿病创伤的治疗策略.....	4
1.3.1 普通创伤的治疗策略.....	4
1.3.2 糖尿病创伤的治疗策略.....	6
1.4 光响应抗菌水凝胶体系在伤口愈合中的应用.....	7
1.4.1 光响应纳米材料的应用.....	7
1.4.2 水凝胶载体的应用.....	8
1.5 课题设计及主要研究内容.....	10
1.5.1 课题设计思路.....	10
1.5.2 主要研究内容.....	11
第 2 章 全氟己烷水凝胶光热和光动力疗法联合抗菌机制及促伤口愈合研究.....	12
2.1 引言.....	12
2.2 实验材料与设备.....	12
2.2.1 实验材料.....	12
2.2.2 实验仪器.....	13
2.3 实验方法.....	14
2.3.1 MCP@ZCP 的制备及表征.....	14
2.3.2 光热性能评估.....	14
2.3.3 水凝胶性能测试.....	15
2.3.4 活性氧和氧气检测.....	15
2.3.5 光动力性能检测.....	15
2.3.6 体外抑菌性能测试.....	15

2.3.7 生物膜模型的建立和消融实验	16
2.3.8 细胞形态学观察	16
2.3.9 转录组测序分析	16
2.3.10 动物模型的建立及体内实验	16
2.3.11 生物安全性实验	17
2.4 实验结果与讨论	17
2.4.1 MCP@ZCP 的表征	17
2.4.2 MCP@ZCP 的光热性能	19
2.4.3 MCP@ZIF-8 的氧载运和增强光动力能力的检测	21
2.4.4 MCP@ZCP 的体外抑菌实验	22
2.4.5 细菌活/死染色分析	25
2.4.6 细菌形态观察实验	27
2.4.7 生物膜消融实验	28
2.4.8 细菌转录组分析	29
2.4.9 小鼠模型建立及体内实验	31
2.4.10 生物安全性实验	34
2.5 本章小结	34
第 3 章 抗氧化聚多巴胺水凝胶光热抑菌及促糖尿病伤口愈合性能研究	36
3.1 引言	36
3.2 实验试剂与设备	37
3.2.1 实验试剂	37
3.2.2 实验仪器	37
3.3 实验方法	37
3.3.1 PDA-PU@EC 水凝胶的合成与表征	37
3.3.2 PDA-PU@EC 的光热性能评估	38
3.3.3 PDA-PU@EC 体外抑菌试验	38
3.3.4 细菌活死染色实验及流式分析	38
3.3.5 细菌形态观察	38
3.3.6 小鼠模型的建立及体内实验	38
3.3.7 生物安全性评估	38
3.4 结果与讨论	38
3.4.1 PDA-PU@EC 的表征结果分析	38

3.4.2 PDA-PU@EC 的光热性能分析	39
3.4.3 PDA-PU@EC 的体外抑菌结果	41
3.4.4 细菌活死染色实验及流式分析	41
3.4.5 细菌形态观察	43
3.4.6 小鼠模型的建立及体内实验	44
3.4.7 生物安全性评估	45
3.5 本章小结	47
结论与展望	48
参考文献	50
攻读硕士学位期间学术论文发表情况	58
致谢	59

第 1 章 绪论

1.1 引言

随着全球人口的增加和抗生素的滥用，细菌感染已经成为威胁人类健康的一个重要问题，尤其是耐药性细菌的出现，使得治疗细菌感染变得愈加复杂和困难^[1,2]。抗生素的广泛使用在初期取得了显著的临床效果，但随着时间的推移，耐药性细菌的迅速崛起已成为全球公共卫生的重大挑战。世界卫生组织（WHO）在其报告中指出，抗生素耐药性已成为全球性的健康危机，特别是一些常见细菌如金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）、大肠杆菌（*Escherichia coli*）以及肺炎克雷伯菌（*Klebsiella pneumoniae*）等，已表现出对多种抗生素的耐药性，给临床治疗带来了巨大的困扰^[3,4]。

抗生素的滥用是导致耐药性细菌出现的主要原因。细菌通过基因突变或水平基因转移获得抗药性，甚至在抗生素的压力下通过自然选择迅速繁殖，形成耐药性群体^[5,6]。耐药性细菌不仅减弱了抗生素的治疗效果，还大大延长了感染的治疗时间，增加了医疗成本，严重时可能导致患者死亡。与此同时，生物膜的形成使得耐药细菌的治疗变得更加困难。生物膜是细菌在特定环境中通过分泌多糖物质形成的保护性屏障，它可以有效阻挡抗生素的渗透，并为细菌提供一个庇护所，使其能在不利环境中存活^[7-10]。研究表明，生物膜中的细菌对抗生素的耐药性比其悬浮态的同类细菌要高出数百到数千倍^[11-13]。

在抗生素治疗效果减弱的背景下，近年来一系列新型的治疗手段，如光热疗法、光动力疗法和声动力疗法等逐渐被研发，并在一定程度上改善了细菌感染的治疗效果^[14,15]。光热疗法利用高能光源照射靶向区域，使得靶向细胞或细菌通过光热效应受热致死^[16,17]。光动力疗法则依赖光敏剂在特定波长的光照射下激活，生成毒性活性氧物质（ROS）来杀死细菌^[18,19]；声动力疗法则是通过超声波与声敏剂相结合，利用声波作用提高药物渗透性，同时产生局部的热效应和气泡效应，杀伤细菌^[20,21]。这些新兴治疗手段在一定程度上克服了抗生素耐药性带来的挑战，但它们仍然存在一些局限性。例如，光热疗法的效果容易

受到照射深度的限制，无法深入到组织的较深层^[22,23]；光动力疗法需要特定的光源照射，且光敏剂可能对人体有一定的毒性，此外，光照的不均匀性也会影响治疗效果^[24,25]；声动力疗法在应用时可能会对周围健康组织造成损伤，且声波的渗透效果有限^[26,27]。因此，单一治疗手段在临床应用中的效果受到了一定的限制。

尽管新兴的治疗手段如光热疗法、光动力疗法和声动力疗法等在一定程度上缓解了这一问题，但由于单一治疗方式的局限性，它们尚不能完全替代抗生素治疗^[28,29]。而且，随着细菌生物膜的形成，它们对常规抗生素的耐药性大大增加，使得治疗效果更加复杂^[30,31]。因此，迫切需要寻求新的、多维度的治疗策略，结合不同的治疗手段，来有效应对耐药性细菌及生物膜带来的困境^[32,33]。近年来，光疗抗菌水凝胶等创新治疗策略的研究逐渐增多，显示出在治疗耐药细菌感染和清除生物膜方面的潜力，未来有望为临床治疗提供更为有效的解决方案^[34,35]。

1.2 耐药菌导致创伤难以愈合的原因

1.2.1 创伤处的细菌感染及其危害

伤口处的细菌感染是临床上常见的并发症，特别是在免疫力较弱的患者中，容易导致严重后果。当细菌通过伤口进入体内后，它们迅速繁殖并释放毒素，进而引发局部炎症反应^[36,37]。常见的致病菌包括金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和链球菌等。细菌在伤口表面形成生物膜，能有效抵抗免疫系统的清除作用，使得感染更加难以治愈^[38,39]。

伤口感染的危害不仅仅局限于局部红肿、化脓和疼痛，还可能引发全身性并发症，如败血症，严重时甚至威胁生命^[40]。细菌在伤口处持续生长，会破坏正常的组织结构，导致愈合进程的延缓，增加了伤口溃烂的风险。在一些特殊人群，如糖尿病患者，感染常常与高血糖等因素共同作用，使得免疫反应更加迟缓，感染扩展的速度更快，增加了治疗的难度^[41-43]。

此外，随着抗生素滥用的增加，耐药性细菌逐渐增多，使得传统治疗方法效果下降。治疗耐药性感染需要更强效的药物或治疗手段，治疗成本和风险也相应提高。因此，及时有效的伤口处理和感染控制显得尤为重要，能有效降低感染发生的概率并加速伤口愈合。

1.2.2 创伤处生物膜微环境的形成及危害

普通病人在伤口愈合过程中，生物膜微环境的形成是细菌感染的重要原因之一。伤口一旦受到细菌侵入，细菌会迅速在伤口表面附着并开始分泌外源性聚合物物质，逐渐形成生物膜^[44-46]。生物膜由细菌和它们分泌的粘性多糖物质组成，能够有效地保护细菌免受免疫系统和抗生素的攻击。细菌在生物膜中形成群体合作，彼此之间可以交换遗传信息、协调行动，增加其生存能力。对于免疫系统来说，生物膜成为一种屏障，难以穿透，导致局部免疫反应受到抑制^[47,48]。

这种生物膜微环境的存在，使得细菌在伤口内的代谢活动得以持续进行，且由于抗生素渗透性差，治疗效果有限。因此，伤口感染容易变得慢性，愈合速度显著降低，甚至可能导致长期的反复感染。细菌在生物膜内的共生关系使得它们对常规的抗生素治疗产生耐药性，抗生素的效果逐渐减弱，进一步加剧了感染的难度^[49-51]。对于糖尿病患者而言，生物膜微环境的形成带来的危害更加突出。糖尿病患者常伴有高血糖、微血管病变和免疫功能低下等问题，使得伤口愈合的能力远远不如健康人群。在糖尿病患者的伤口上，细菌更容易繁殖并形成生物膜^[52]。血糖水平的波动和微血管病变导致局部血液循环不畅，使得抗生素和免疫细胞难以到达伤口部位。这些因素使得糖尿病患者的伤口更加容易被细菌感染，并且一旦生物膜形成，细菌便能够在这个保护性的微环境中长期生存，从而加剧感染和慢性创面的发展。糖尿病患者的生物膜形成会加重伤口的慢性化过程，并使其面临更高的并发症风险。例如，常见的糖尿病患者伤口常伴有湿疹、坏死组织、严重感染等情况^[53-55]。

在这些感染的伤口中，细菌通过生物膜的方式抵抗免疫反应和治疗手段，进一步延缓愈合。甚至在一些严重病例中，可能导致截肢等极端后果。因此，普通病人和糖尿病患者在伤口愈合过程中，生物膜的形成都对治疗效果构成了显著的挑战。在细菌形成生物膜后，传统的抗生素治疗效果会大打折扣，患者的伤口很难愈合，感染容易反复。糖尿病患者由于血糖不稳定和免疫系统受损，生物膜的形成对伤口愈合的影响更加显著，严重时可能引发生命威胁^[56-59]。

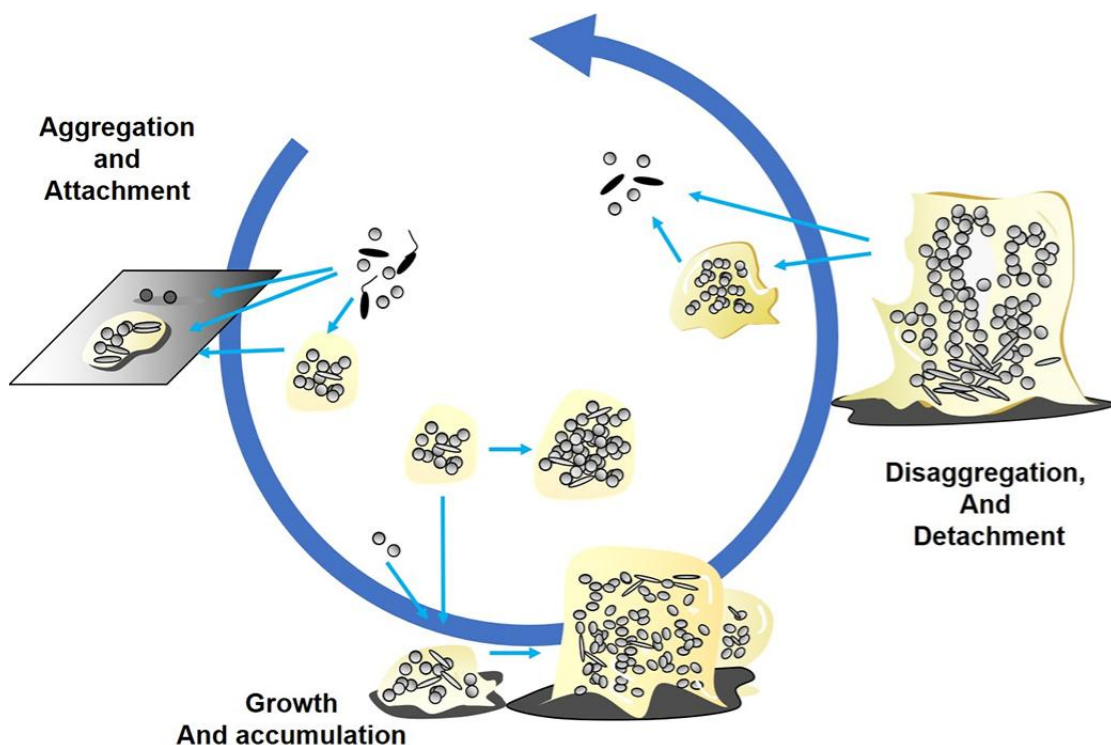


图 1-1. 生物膜的形成及分离细菌再形成的循环过程^[60]

Figure 1-1. The formation of biofilms and the cyclic process of bacterial reformation^[60]

1.3 普通创伤和糖尿病创伤的治疗策略

1.3.1 普通创伤的治疗策略

伤口治疗是临床医学中常见且至关重要的环节，特别是对于普通患者来说，伤口的正确处理不仅关乎伤口愈合的速度，还影响患者的整体健康恢复。传统的抗生素治疗在伤口管理中占据了核心地位。抗生素通过抑制或杀灭伤口中的细菌，能够有效预防或治疗感染，尤其是在复杂或有感染风险的伤口中^[61-63]。常用的抗生素如青霉素、头孢类药物等，通过局部或全身给药的方式，能够迅速抑制病原微生物的生长。然而，抗生素治疗存在一定的局限性，如过度使用可能导致细菌耐药性的发展，且对一些难治性细菌感染可能效果不佳。此外，抗生素的使用常常伴随着一定的副作用，尤其是在全身性应用时，如肝肾功能的损伤。

近年来，光热疗法与光动力疗法在伤口治疗中逐渐被应用，这些新兴的治疗方式通过非传统的物理机制对伤口进行干预^[64]。光热疗法利用特定波长的光照射至伤口表面，使伤口内的目标组织温度升高，从而加速血液循环、促进新陈代谢、增强局部免疫反应，有助于伤口的愈合。此外，光热疗法对于一些难

治性伤口或慢性伤口尤其有效，能够有效减少感染。然而，其缺点在于需要设备支持，并且治疗过程中的温度控制不当可能会对正常组织造成损伤^[65,66]。

光动力疗法则通过光敏剂和光源的结合，在照射光的作用下，生成活性氧物质，这些活性氧能够破坏细菌的细胞膜、抑制其增殖，从而达到治疗效果。光动力疗法对抗感染具有显著效果，尤其是在对抗抗药性细菌时表现突出。相比传统抗生素治疗，光动力疗法具有更少的副作用和更低的耐药性风险。此外，光动力疗法的疗程较短、操作简便，能够对伤口进行精确治疗。例如，金纳米颗粒和光敏剂复合材料的组合，可以通过两种机制同时作用于伤口的愈合过程。金纳米颗粒在近红外光照射下通过光热效应提升局部温度，促进血流和细胞迁移，而复合的光敏剂则在可见光照射下激发产生的 ROS 能够抑制细菌生长，减少感染的发生。这样，金纳米颗粒和光敏剂的联合使用，不仅能够在局部提升温度促进组织再生，还能够通过清除病原体加速伤口愈合过程^[67]。然而，光动力疗法也存在局限性，如治疗成本较高、对光敏感的患者可能不适用，并且效果可能受到光源照射深度和照射时间的限制^[68-69]。

综上所述，伤口治疗策略应根据患者的具体情况灵活选择。传统抗生素治疗仍然是治疗伤口感染的主要手段，但其局限性促使了光热疗法和光动力疗法的逐步应用。这些新兴疗法在伤口愈合中具有较好的前景，可能为未来的伤口治疗提供思路。

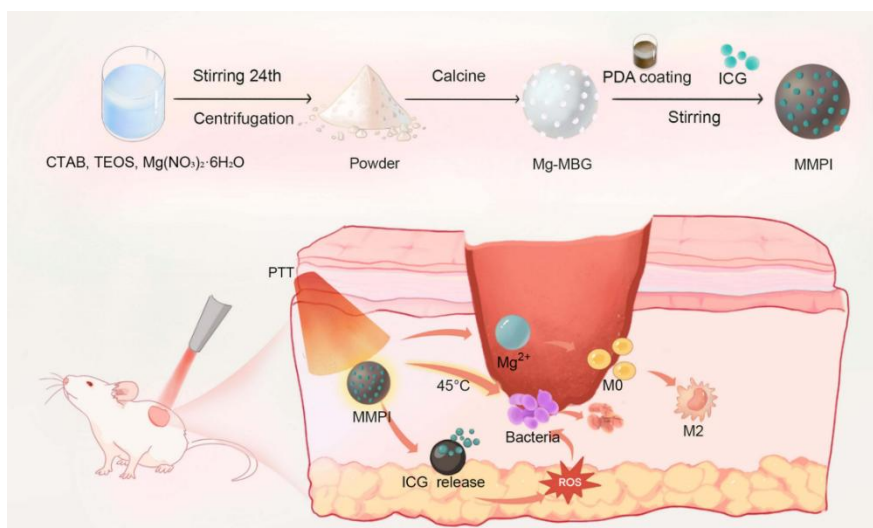


图 1-2. 一种新型纳米平台光动力疗法与低温光热疗法抗菌与伤口修复的示意图^[70]

Figure 1-2. Schematic diagram of a novel nanoplatform for photodynamic therapy and low-temperature photothermal therapy for antibacterial action and wound healing^[70]

1.3.2 糖尿病创伤的治疗策略

糖尿病患者因长期的高血糖状态，常伴随有微血管病变、免疫功能下降以及神经病变等问题，这使得他们的伤口愈合过程显著受限。尤其是在伤口愈合过程中，氧化应激的作用不容忽视。氧化应激是指体内的氧自由基与抗氧化系统失衡，导致过量的自由基引发细胞损伤和组织破坏，进而影响伤口愈合的各个阶段。糖尿病患者由于血糖控制不良，体内的氧化应激水平显著升高，伤口愈合的微环境更趋恶化^[71,72]。

在糖尿病患者的伤口治疗中，首先需要关注的是控制血糖水平，以减少高血糖对免疫系统和血管功能的负面影响^[73,74]。长期高血糖会使得血管壁的弹性下降，导致局部血液循环不畅，从而使得伤口的营养和氧气供应不足，进一步加重氧化应激反应，形成恶性循环。因此，合理控制血糖是伤口愈合的基础^[75,76]。

除了血糖控制外，抗氧化治疗也被认为是缓解氧化应激、促进伤口愈合的有效策略。抗氧化剂如维生素 C、维生素 E 以及一些植物提取物在一定程度上能够减轻自由基的损伤，保护细胞和组织免受氧化伤害，进而改善伤口的愈合环境^[77,78]。在临床上，一些药物和外用药物，如含有银、蜂蜜或植物提取物的敷料，也可以通过局部作用抑制过度的氧化反应，促进伤口修复^[79]。

此外，糖尿病患者的伤口常常伴有慢性炎症反应，氧化应激在其中起到了促进炎症反应的作用。过多的氧自由基会激活炎症介质，造成持续的炎症状态，这不仅延缓了伤口愈合的进程，还可能导致伤口的进一步感染^[80, 81]。因此，抑制氧化应激所引起的慢性炎症反应，是促进伤口愈合的另一个重要方面。通过应用抗氧化和抗炎的治疗手段，可以帮助恢复正常的愈合过程，减少感染的风险^[82,83]。

总之，糖尿病患者伤口的治疗策略应当从改善氧化应激微环境入手，通过综合措施，如血糖控制、抗氧化治疗及炎症管理，来恢复伤口愈合的正常功能。只有在多方面干预的基础上，才能有效地促进糖尿病患者伤口的愈合，减少并发症的发生。

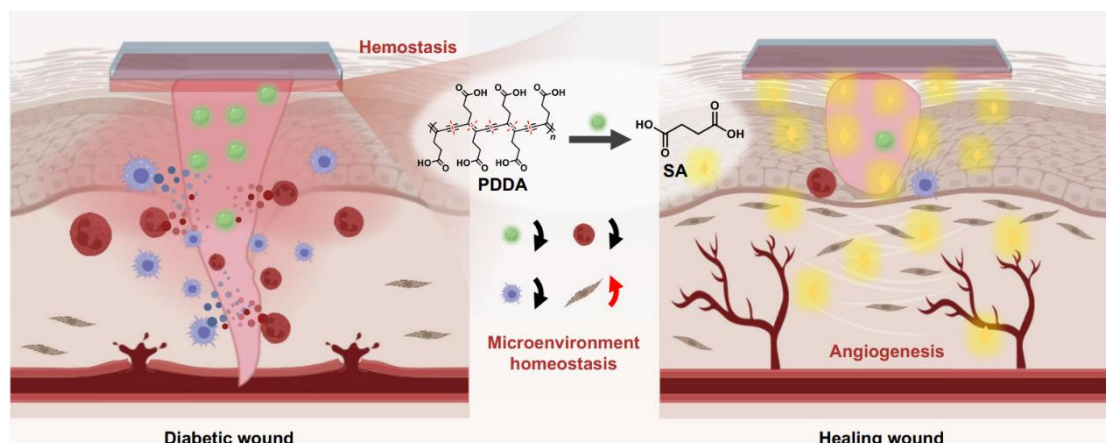


图 1-3. 微环境调节敷料治疗糖尿病患者的伤口的示意图^[84]

Figure 1-3. Schematic diagram of microenvironment-regulating dressings for the treatment of wounds in diabetic patients^[84]

1.4 光响应抗菌水凝胶体系在伤口愈合中的应用

1.4.1 光响应纳米材料的应用

近年来，纳米颗粒在医学领域的应用取得了显著进展，尤其是在伤口愈合方面。伤口愈合是一个复杂的生物学过程，通常分为炎症期、增生期和重建期。在这些过程中，局部的微环境、免疫反应、细胞增殖和迁移等因素共同作用，以促进组织修复。然而，由于糖尿病、老年化等因素的影响，伤口愈合可能受到不同程度的阻碍，导致慢性伤口的形成。为了改善伤口愈合过程，研究者们不断探索新型治疗方法，其中光热和光动力纳米材料的应用，因其独特的性质，展现出了巨大的潜力^[85-87]。

光热和光动力纳米材料的应用首先得益于它们能够在特定波长的光照射下，表现出与传统材料不同的功能性^[88]。光热纳米颗粒，如金属纳米颗粒和金属氧化物纳米颗粒，能够在近红外光照射下将光能转换为热能，这种局部的热效应对促进伤口愈合具有多重优势^[89]。例如，金纳米颗粒被广泛研究并应用于伤口愈合中。金纳米颗粒具有良好的生物相容性，并且在近红外光照射下可以产生显著的光热效应，这种效应可以帮助提高局部组织的温度，促进血液循环和新陈代谢，从而改善伤口区域的氧供给和营养供应。此外，光热效应还能够增强免疫系统的反应性，提高局部免疫细胞的活性，协助清除细菌和病原微生物，防止感染^[90]。对于一些慢性难愈合的伤口，金纳米颗粒通过光热效应的治疗，能够有效促进伤口愈合，减少并发症。

另一个重要的应用领域是光动力治疗，光动力纳米材料通过光照激发产生活性氧（ROS），进而引发一系列生物学反应，抑制细菌生长和炎症反应。这类纳米颗粒通常由有机或无机材料构成，能够在特定光照条件下激发产生活性氧，如过氧化氢和单线态氧，这些活性氧种具有强烈的抗菌作用^[91,92]。比如，二氧化钛（TiO₂）纳米颗粒便是应用广泛的光动力纳米材料之一。当 TiO₂纳米颗粒受到紫外光或可见光照射时，能够快速激发产生活性氧，进而杀灭伤口中的病原菌，减少感染的风险。二氧化钛纳米颗粒在杀菌的同时，还能通过刺激细胞的增殖和迁移，促进血管的生成，帮助伤口愈合^[93]。

总之，光疗纳米材料因其独特的功能性，在伤口愈合中的应用前景非常广阔。这些纳米材料不仅能够通过光照激发产生的热效应改善血液循环、增强免疫反应，还能够通过光动力作用抑制感染、促进细胞再生。随着纳米技术和光疗技术的不断发展，未来光热光动力纳米材料将在临床伤口治疗中发挥更加重要的作用，成为解决慢性伤口愈合难题的有力武器。

1.4.2 水凝胶载体的应用

水凝胶作为一种具有高度吸水性和良好生物相容性的材料，近年来在伤口愈合领域得到了广泛应用^[94,95]。尤其是在糖尿病引起的慢性伤口愈合过程中，水凝胶材料的优势尤为突出。糖尿病患者常常面临伤口愈合缓慢、易感染等问题，这与糖尿病对血糖控制、血液循环、免疫功能等方面的影响密切相关。水凝胶不仅能够为伤口提供湿润的环境，还能够通过药物递送、吸收多余的渗出液、缓解炎症反应等多重机制，促进伤口的愈合，尤其是糖尿病引起的伤口^[96,97]。

首先，糖尿病患者的伤口常常伴随有较长时间的慢性炎症，这一现象使得愈合过程陷入停滞。而水凝胶的独特结构和水合作用能够有效减少伤口表面与外界环境的直接接触，保持伤口局部的湿润状态，从而减少了干燥对细胞的负面影响。此外，水凝胶能够有效地吸收伤口渗出物，避免伤口因渗出物积累而变得更加严重，减轻了伤口周围皮肤的刺激^[98]。这种湿润的环境能够促进细胞的迁移和增殖，尤其是在糖尿病患者的慢性伤口中，细胞的迁移能力常常受到抑制，水凝胶的湿润效果为细胞的功能恢复提供了良好的支持。例如，一种常见的水凝胶材料——聚乙烯醇（PVA）水凝胶，在糖尿病伤口愈合中得到了有

效应用。研究表明，PVA 水凝胶在提供湿润环境的同时，能够通过调节局部温度和 pH 值，创造有利于细胞增殖和组织修复的环境。与此同时，PVA 水凝胶还能够通过缓慢释放抗菌成分（如银离子）来防止伤口感染，这是糖尿病患者伤口愈合过程中一个重要的挑战。银离子不仅具有广谱抗菌作用，还能够减轻炎症反应，从而促进伤口愈合^[99]。

此外，一些特殊功能的水凝胶材料，如含有生长因子的水凝胶，已经开始在糖尿病伤口愈合中展现出更为显著的效果。这类水凝胶通过负载生长因子（如表皮生长因子 EGF、血管内皮生长因子 VEGF 等），能够促进血管的再生和上皮细胞的增殖，有效加速伤口愈合过程。糖尿病患者由于血糖的长期不稳定，血管往往处于功能障碍的状态，导致供血不足，进一步延缓伤口愈合。而通过生长因子的定向释放，水凝胶能够有效促进新血管的生成，改善局部微循环，从而加速伤口的修复和愈合。

在临床应用中，已经有多款含有水凝胶的敷料被用于糖尿病患者的慢性伤口治疗。比如，使用了含有水凝胶的伤口敷料，如康复乐（Hydrocolloid）和艾德克（Allevyn）等产品。这些敷料利用水凝胶的湿润环境特性，有效缓解了糖尿病患者的慢性伤口问题。更进一步，这些敷料不仅能够保持伤口湿润，减少疼痛，还能够通过调节伤口的渗出物，减轻炎症并加速愈合过程^[100,101]。

值得一提的是，近年来，研究者们还尝试将水凝胶与纳米技术结合，通过纳米颗粒的加入来提升其性能。例如，纳米银水凝胶就是一种典型的应用案例。通过将纳米银颗粒与水凝胶结合，不仅增强了水凝胶的抗菌性能，还可以通过缓慢释放银离子，使其在伤口处持续发挥作用，避免了感染的发生，从而为伤口愈合提供了更有力的治疗^[102,103]。

另外，随着智能材料的不断发展，一些功能性水凝胶材料正在进行创新设计，例如响应性水凝胶。这类水凝胶能够根据伤口环境的变化（如温度、pH 值等）调节其结构，从而调控药物的释放速率。这一特性使得水凝胶在糖尿病伤口愈合中的应用更加精确和高效^[104,105]。

总体而言，水凝胶作为一种理想的伤口敷料材料，其在糖尿病伤口愈合中的应用展现了广阔的前景。通过提供湿润的愈合环境、减少炎症、缓解疼痛、改善微循环、促进血管生成等多种方式，水凝胶材料有效促进了糖尿病慢性伤

口的愈合过程。随着技术的不断进步，未来水凝胶将在糖尿病伤口治疗中扮演更加重要的角色，为患者提供更为先进、高效的治疗方案。

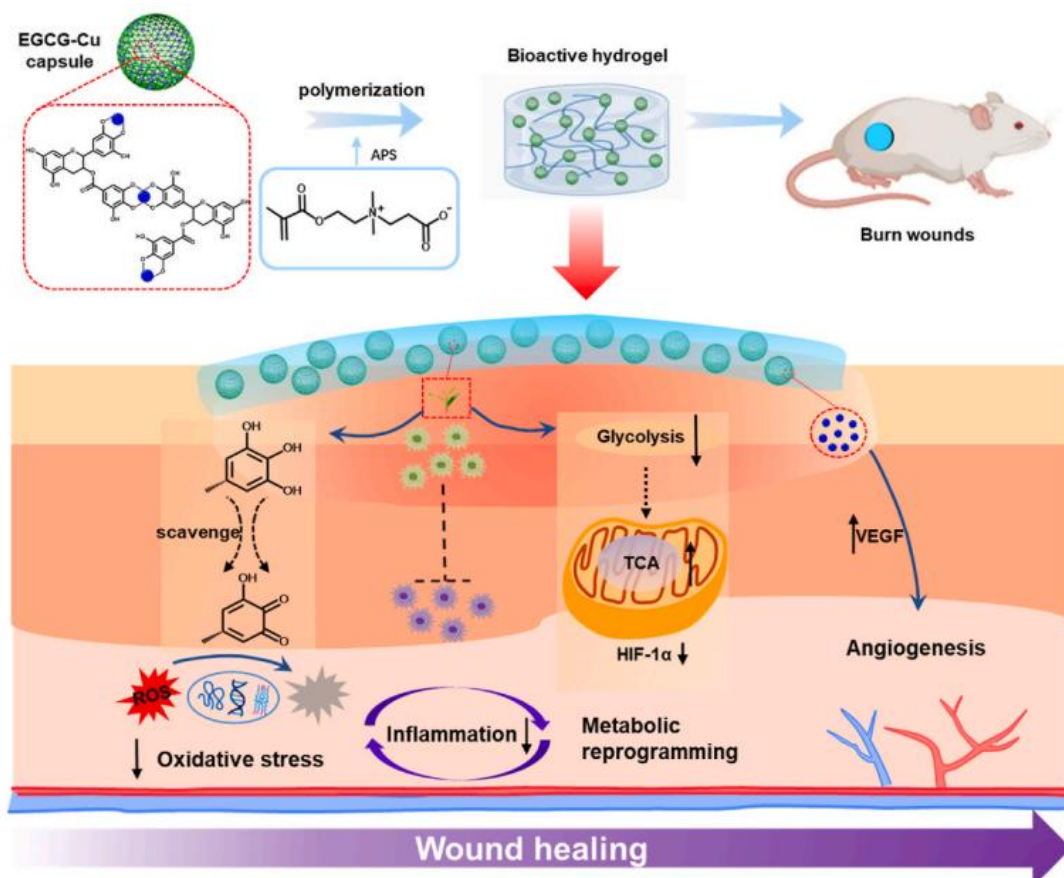


图 1-4. EGCG 水凝胶的合成路线以及促进伤口愈合的示意图^[106]

Figure 1-4. Synthesis route of EGCG hydrogel and schematic diagram of promoting wound healing^[106]

1.5 课题设计及主要研究内容

1.5.1 课题设计思路

本课题拟构建针对不同病人伤口微环境的光疗抑菌水凝胶。

(1) 针对普通病人的一些复杂伤口，本文采用全氟己烷（PFH）作为氧载体，光敏剂二氢卟吩 e6（Ce6）与光热剂二硫化钼（MoS₂）共同封装在脂质体纳米颗粒平台中，利用 ZIF-8 作为载体以增强脂质体的稳定性。同时，MoS₂-Ce6-PFH@ZIF-8（MCP@ZIF-8）负载到由羧甲基壳聚糖（CMCS）与普朗尼克 F-127（PF-127）交联形成的水凝胶（MCP@ZCP）中。

(2) 针对糖尿病病人的伤口上述水凝胶的促伤口愈合能力效果不尽人意。

因此本文后续将针对糖尿病病人的伤口进行研究，针对糖尿病患者伤口处活性氧过量的问题，选择天然多酚表没食子儿茶素没食子酸酯（EGCG）来清除伤口处的过量活性氧，促进伤口愈合。EGCG与羧甲基壳聚糖（CMCS）以2-甲酰苯硼酸（2-FPBA）为交联剂可以形成席夫碱和硼酸酯键，构建双动态共价交联水凝胶网络。然后使用聚多巴胺（PDA）包裹中药成分葛根素（PUE），然后将PDA-PU纳米微球加载到EGCG-CMCS水凝胶中。

1.5.2 主要研究内容

（1）全氟己烷水凝胶光热和光动力疗法联合抗菌研究

采用全氟己烷（PFH）作为氧载体，光敏剂二氢卟吩 e6（Ce6）与光热剂二硫化钼（MoS₂）共同封装在脂质体纳米颗粒平台中，利用 ZIF-8 作为载体以增强脂质体的稳定性。同时，MoS₂-Ce6-PFH@ZIF-8（MCP@ZIF-8）负载到由羧甲基壳聚糖（CMCS）与普朗尼克 F-127（PF-127）交联形成的水凝胶（MCP@ZCP）中。对材料进行一系列表征实验，包括紫外-可见光光谱（UV-vis）、红外光谱（IR）、扫描电子显微镜（SEM）、动态光散射（DLS）、Zeta 电位、能谱分析（EDS）等；根据材料的特性，还需进行一系列活性实验，如光热效应评估、活性氧（ROS）检测，并包括菌落形成单位（CFU）实验、最小抑菌浓度（MIC）测定、细胞摄取实验和转录组学分析；使用扫描电子显微镜（SEM）观察材料对细胞形态的影响；进行生物膜消融测试，并通过建立小鼠伤口模型来评估药物的抗菌效果，观察伤口愈合情况。实验结束后，对小鼠的主要器官及伤口组织进行切片，并进行 H&E 染色，以评估材料的生物安全性。

（2）抗氧化聚多巴胺水凝胶光热抑菌机制及促糖尿病伤口愈合性能研究

选择天然多酚表没食子儿茶素没食子酸酯（EGCG）来清除伤口处的过量活性氧，促进伤口愈合。EGCG与羧甲基壳聚糖（CMCS）以2-甲酰苯硼酸（2-FPBA）为交联剂可以形成席夫碱和硼酸酯键，构建共价交联水凝胶网络。然后使用聚多巴胺（PDA）包裹中药成分葛根素（PUE），将PDA-PU纳米微球加载到EGCG-CMCS水凝胶中得到PDA-PU@EC水凝胶。进行（1）中的各个实验，以及抗氧化特性试验，并建立糖尿病创伤小鼠模型来评估药物的抗菌以及促伤口愈合效果，然后进行生物安全性实验来评估PDA-PU@EC的生物安全性。

第2章 全氟己烷水凝胶光热和光动力疗法联合抗菌机制及促伤口愈合研究

2.1 引言

生物膜在细菌感染治疗中构成了重大障碍，因为它们能够逃避宿主免疫反应并抵抗传统抗菌药物。本研究提出了一种创新的方法，通过利用多功能治疗平台针对生物膜微环境来克服这些挑战。该平台利用全氟己烷（PFH）作为氧载体，以缓解多功能治疗平台。它结合了光敏剂二氢卟吩 e6（Ce6）和光热剂二硫化钼（MoS₂），共同封装在脂质体纳米颗粒结构中，并进一步由沸石咪唑框架-8（ZIF-8）稳定。这种配置被称为 MoS₂-Ce6-PFH@ZIF-8（MCP@ZIF-8），提高了纳米颗粒的稳定性、功能性和治疗潜力。此外，纳米颗粒嵌入到水凝胶基质中（MCP@ZCP，由羧甲基壳聚糖（CMCS）与普朗尼克 F-127（PF-127）交联形成），以实现局部递送。MCP@ZIF-8 在近红外（NIR）光照射下表现出约 52.7% 的高 PTT 转化效率，从而实现有效的热量产生。MCP@ZIF-8 在 660 nm 的 NIR 辐照下产生的活性氧物质水平高于单独的 Ce6。这种双重光热和光动力机制实现了高达 99% 的抗菌效力，有效破坏生物膜。动物研究表明，MCP@ZCP 促进的伤口愈合优于传统治疗。转录组分析表明，MCP@ZCP 破坏了细菌的代谢途径，包括氨基酸合成、碳代谢、氮代谢及其他途径，从而抑制细菌的生长和增殖。全面的生物安全性评估确认 MCP@ZCP 具有生物相容性和无毒性，表明其适合临床应用。因此，载氧水凝胶可以作为治疗细菌感染的新方法。

2.2 实验材料与仪器

2.2.1 实验材料

本研究中使用的主要材料如下：Ce6、PFH、乙腈、二氯甲烷和甲醇均来自阿拉丁生化有限公司（中国上海）。六水合硝酸锌、二水合钼酸钠、L-半胱氨酸、PF-127 和 CMCS 购自迈克林（中国上海）。活/死（PI/SYTO 9）细菌活性检测试剂盒来自赛默飞世尔科技（中国武汉）。

2.2.2 实验仪器

表 2-1 实验仪器

Table 2-1 Experimental equipment

仪器名称	型号	生产厂家
X 射线光电子能谱仪	Thermo Scientific	赛默飞世尔科技公司
扫描电子显微镜	S-4800	日本日立公司
顺磁共振波谱仪	Bruker EMXplus-6/1	布鲁克生物科技公司
傅立叶红外光谱仪	IRPrestige-21	日本岛津公司
荧光分光光度计	RF-5301PC	日本岛津公司
高速冷冻离心机	Z 326k	德国赫姆勒公司
流式细胞仪	CytoFLEX	贝克曼有限公司
超净工作台	BJ-2CD	上海博迅生物有限公司
恒温磁力搅拌器	SZCL-2	上海岐耀设备有限公司

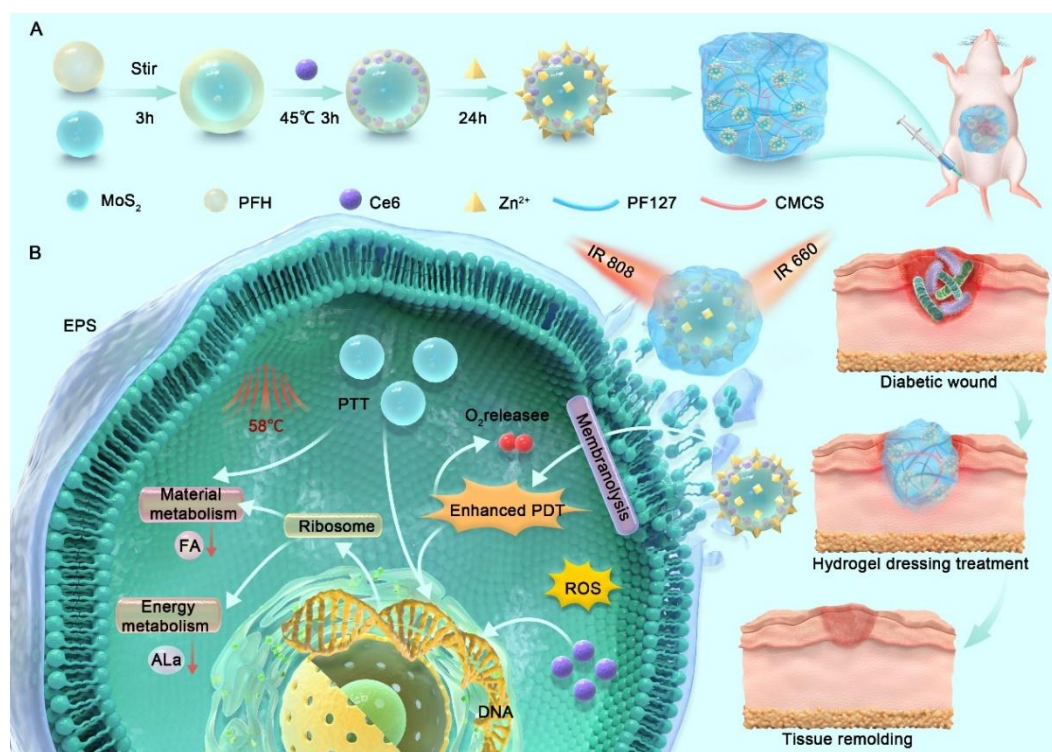


图 2-1. MCP@ZCP 的合成路线及其抗菌特性和促进伤口愈合的研究

Figure 2-1. The synthesis route of MCP@ZCP and its research on antibacterial properties and promotion of wound healing

2.3 实验方法

2.3.1 MCP@ZCP 的制备及表征

(1) 制备 MCP@ZIF-8 纳米平台

首先，将 30 毫克卵磷脂、0.25 克 Ce6 和 30 毫升二氯甲烷放入圆底烧瓶中，在黑暗中静置 20 分钟，然后通过旋转蒸发（57° C）去除二氯甲烷，以获得透明的脂质膜。将脂质膜溶解在 40 毫升乙醇、0.25 克 MoS₂ 和 1 毫升 PFH 中，膜通过超声处理在壁式破碎机中破碎 10 分钟，向烧杯中加入 0.06 克硝酸锌（H₂O₄），在黑暗中搅拌混合物 1 小时，然后加入 1.2 克 2-甲基咪唑，混合并在避光条件下搅拌 24 小时。将混合物以 10000 转/分钟离心 5 分钟，弃去上清液，冷冻干燥沉淀以获得 MCP@ZIF-8。

制备 MCP@ZCP 水凝胶：将 0.3 克 CMCS 与 0.1 克 PF127 溶解于 10 毫升去离子水中，在 40° C 下用磁力搅拌充分混合，并加入 2 毫克 GP 进行 1 小时的交联反应，以获得粘稠溶液。然后，将 0.2 克 PEG 加热至 60° C 融化后加入上述粘稠溶液中。冷却后，获得 CMCS-PF127 水凝胶。接下来，采用膨胀加载法合成 MCP@ZCP。简而言之，将 CMCS-PF127 水凝胶冷冻干燥形成水凝胶支架，然后将其浸入 MCP@ZIF-8 溶液中 24 小时，仔细取出以获得 MCP@ZCP。

(2) MCP@ZCP 的表征

为了验证 MCP@ZCP 的成功合成，我们使用了紫外-可见分光光度计（UV-3600，岛津，日本）和傅里叶变换红外光谱仪（IRPrestige-21，岛津，日本）来测量 MoS₂、PFH、Ce6、SL、ZIF-8、CMCS、PF127、MoS₂-PFH-Ce6-SL 和 MCP@ZIF-8 的光谱。此外，使用激光粒度分析仪（Mastersizer 3000，马尔文，英国）测量纳米颗粒的水动力学尺寸和电位。随后，使用扫描电子显微镜（SU-6800，日立，日本）观察 MoS₂、MCP@ZIF-8 和 MCP@ZCP 的形态。

2.3.2 光热性能评估

为了评估 PTT 特性，将 MCP@ZIF-8 放置在一个 2 毫升的离心管中，并使用 808 纳米的近红外激光在 0.5、1、1.5 和 2 W/cm² 的功率水平下进行照射。温度变化通过近红外热成像系统（UTI20S）进行监测。随后，通过进行四个周期的近红外开关照射，进一步评估了 MCP@ZIF-8 的 PTT 性能的稳定性。

2.3.3 水凝胶性能测试

使用旋转流变仪 (Physica MCR-301, Anton Paar, 奥地利) 评估水凝胶的流变特性。以 1 Hz (6.28 rad/s) 的频率进行幅度扫描, 应变范围为 0.1 - 1000。以 1% 的恒定应变在 0.1 - 100 rad/s 的频率范围内进行频率扫描。随后, 在 0.1 - 1000 rad/s 的频率范围内进行复杂粘度测试, 保持应变为 1% 和频率范围为 0.1 - 100 rad/s。最后, 在 0.1 - 1000 rad/s 的频率范围内进行复杂粘度测试。对于膨胀比, 称取 1 克 MCP@ZCP 并浸入 10 毫升 PBS (pH = 7.4) 中。每 5 分钟取出水凝胶, 擦去表面水分, 记录重量, 直到稳定。膨胀比计算如下: 此外, 将 1 克 MCP@ZCP 水凝胶浸入不同 pH 值 (5.5、6.8 和 7.4) 的 PBS 溶液 (各 10 毫升) 中, 在 37° C 下研究 Ce6 的释放。在预定时间点 (0.5、1、2、3、5、7、10、14 和 21 天), 使用紫外可见分光光度计在 410 nm 处测量释放的 Ce6 浓度。

2.3.4 活性氧和氧气检测

使用溶解氧试剂盒测量溶液中的溶解氧含量。通过碘量法分析组间 (H₂O, MCP@ZIF-8) 溶解氧水平的差异。为了检测活性氧 (ROS), 使用了 DPBF 探针。具体而言, 将 10 μ L DPBF 溶液 (5 mg/mL) 添加到含有 150 μ g/mL Ce6 和 MCP@ZIF-8 的溶液中。在 660 nm NIR 激光以 0.4 W/cm² 的强度连续照射 5 分钟的同时, 每分钟记录一次溶液的紫外-可见光谱。

2.3.5 光动力性能检测

在 PBS、Ce6 和 MCP@ZCP 的细菌溶液孵育 4 小时后, 混合物被离心以去除细菌。然后, 向混合物中添加 10 μ M H₂DCFH-DA 探针并孵育 30 分钟。随后, 样品在 0.4 W/cm² 强度和 660 nm 波长的近红外激光处理下进行处理。最后, 处理后的样品在激光共聚焦荧光显微镜下观察, 并记录获得的结果。

2.3.6 体外抑菌性能测试

最小抑菌浓度 (MIC) 采用之前的方法确定。在 96 孔板中, 向每个孔中添加了 1024、512、256、128、64 和 32 μ g/mL 的 MCP@ZCP 浓度, 以及 100 μ L 的细菌稀释液 (细菌密度为 10⁶ 个菌落形成单位 (CFU) /mL)。该板在 37°C 下孵育 16 小时, 并使用酶标记法测量 OD₅₉₅ 值, 细菌群落计数法用于确定 MCP@ZCP 对耐甲氧西林的大肠杆菌 (MDR *E.coli*) 和金黄色葡萄球菌 (MDR *S. aureus*) 的体外抗菌活性。简而言之, 两种细菌类型在 37°C 的液体培养基 (TSB) 中培

养过夜。第二天，细菌被允许生长到对数生长期。然后将细菌悬液与 150 $\mu\text{g/mL}$ 培养 2 小时。未照射组（-NIR）保持在黑暗中，而照射组（+NIR）则暴露于 1 W/cm^2 的 808 nm 和 0.4 W/cm^2 的 660 nm 近红外激光下 5 分钟。然后再次将细菌悬液与 150 $\mu\text{g/mL}$ 培养 2 小时。取 100 μL 样品均匀涂布在培养皿上，并在 37°C 下培养 12 小时，使用相机记录 CFU 计数。

2.3.7 生物膜模型的建立和消融实验

首先，将 200 μL (10^6 CFU/mL) 每种多重耐药大肠杆菌和多重耐药金黄色葡萄球菌在对数生长期添加到 96 孔板中，并在 37°C 下培养 48 小时以形成生物膜（注意：每个测试梯度有两个重复），对于每个孔，收集上清液并添加 200 μL 不同浓度的 MCP@ZCP，随后进行 5 分钟的近红外照射，并在 37°C 下孵育过夜。样品用 100 μL 的 4% 多聚甲醛固定 10 分钟。收集每个孔的上清液，并用 50 μL 的结晶紫（0.2%）染色 30 分钟。用 PBS 洗涤染色样品三次，并检查染色生物膜的分布。样品风干后，添加 33% 醋酸溶液以完全溶解生物膜，并使用酶标记试剂在 OD₄₉₂ 处测量吸光度。

2.3.8 细胞形态学观察

不同材料与细菌孵育 4 小时，然后进行 5 分钟的近红外辐射。细菌在离心后用 PBS 洗涤。细菌用多聚甲醛固定 30 分钟，然后用 PBS 洗涤。随后，细菌用不同浓度的乙醇洗脱（30%、50%、70%、80%、95% 和 100%）。悬浮液离心以收集沉淀后，样品使用冷冻干燥机进行冷冻干燥。最后，使用扫描电子显微镜检查细菌形态。

2.3.9 转录组测序分析

本研究调查了各种成分如何影响多重耐药金黄色葡萄球菌的转录。根据收集的样本建立了四个实验组：空白组、MoS₂ 组、Ce6 组和 MCP@ZCP 组。随后，将多重耐药金黄色葡萄球菌悬液与这些材料共同培养 4 小时。悬液在 5000 转/分钟下离心 5 分钟后，细菌用 PBS 冲洗。去除 rRNA，富集 mRNA 以构建文库，遵循特定链的协议。应用统计方法进行 RNA-seq 分析，以比较各组之间的基因表达差异，识别与各自条件相关的基因。

2.3.10 动物模型的建立及体内实验

实验小鼠（ICR 雌性小鼠，年龄：4 周）来自南京大学模型动物研究中心

(中国南京)。所有实验均获得苏州大学动物护理委员会的批准(批准号: 202310A411), 并遵循《动物福利法》和《实验动物护理与使用指南》。小鼠按体重分组, 每组 4 只, 饲养在 $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 的温度和 50%~60% 的湿度下, 提供无菌水和专用饲料。体重变化在 5-10 天内记录。通过在每只小鼠背部切除约 1 厘米的圆形浅表伤口建立伤口模型, 随后用适当浓度的多重耐药金黄色葡萄球菌感染 30 分钟。伤口每天用相应材料处理, 光照组接受 5 分钟的近红外照射。记录体重变化, 并在第 0、2、4、7 和 10 天拍摄伤口照片。测量伤口大小。治疗完成后, 处死小鼠, 切除伤口组织进行 H&E 和马松染色分析。

2.3.11 生物安全性实验

通过溶血实验评估了 MCP@ZCP 的生物相容性。新鲜的鼠红细胞用不同浓度的 MCP@ZCP 处理 (10%、30%、50%、70% 和 100% v/v)。阳性对照为 H_2O , 阴性对照为 PBS。这些溶液与红细胞溶液混合 1 小时、12 小时和 24 小时, 然后在 37°C 下以 1000 rpm 离心 5 分钟。以 570 nm 测量 500 μL 样本的溶血率。MEF 细胞在培养板中孵育 24 小时, 然后弃去培养基。细胞用 PBS 洗涤两次。添加不同浓度的 MCP@ZCP (10%、30%、50%、70% 和 100% v/v), 每个浓度进行三次重复。孵育 24 小时后, 细胞用 PBS 洗涤一次。每个孔中加入 100 μL CCK-8 试剂孵育 1 小时, 并使用酶联方法测量 450 nm 的光密度, 为了进一步验证材料的毒性, 切除小鼠的心脏、肝脏、脾脏、肺和肾脏, 并用多聚甲醛固定。这些组织经过 H&E 染色, 组织切片在显微镜下观察, 以评估不同实验组器官的生理变化, 从而评估材料的生物安全性。

2.4 实验结果与讨论

2.4.1 MCP@ZCP 的表征

结果显示, 使用粒径分析仪测得的 MoS_2 尺寸约为 130 - 140 纳米, 而 $\text{MoS}_2\text{-Ce6-PFH}$ 的尺寸约为 150~160 纳米。MCP@ZIF-8 的尺寸约为 215~225 纳米。此外, 液体的 DPI 小于 0.3, 表明纳米材料的尺寸分布均匀 (图 2-2b)。通过监测其水动力粒径的变化, 还评估了 MCP@ZIF-8 的体外稳定性。扫描电子显微镜 (SEM) 和透射电子显微镜 (TEM) 图像进一步确认了 MCP@ZIF-8 纳米颗粒的球形和均匀形态, 增强了其尺寸的一致性 (图 2-2d)。

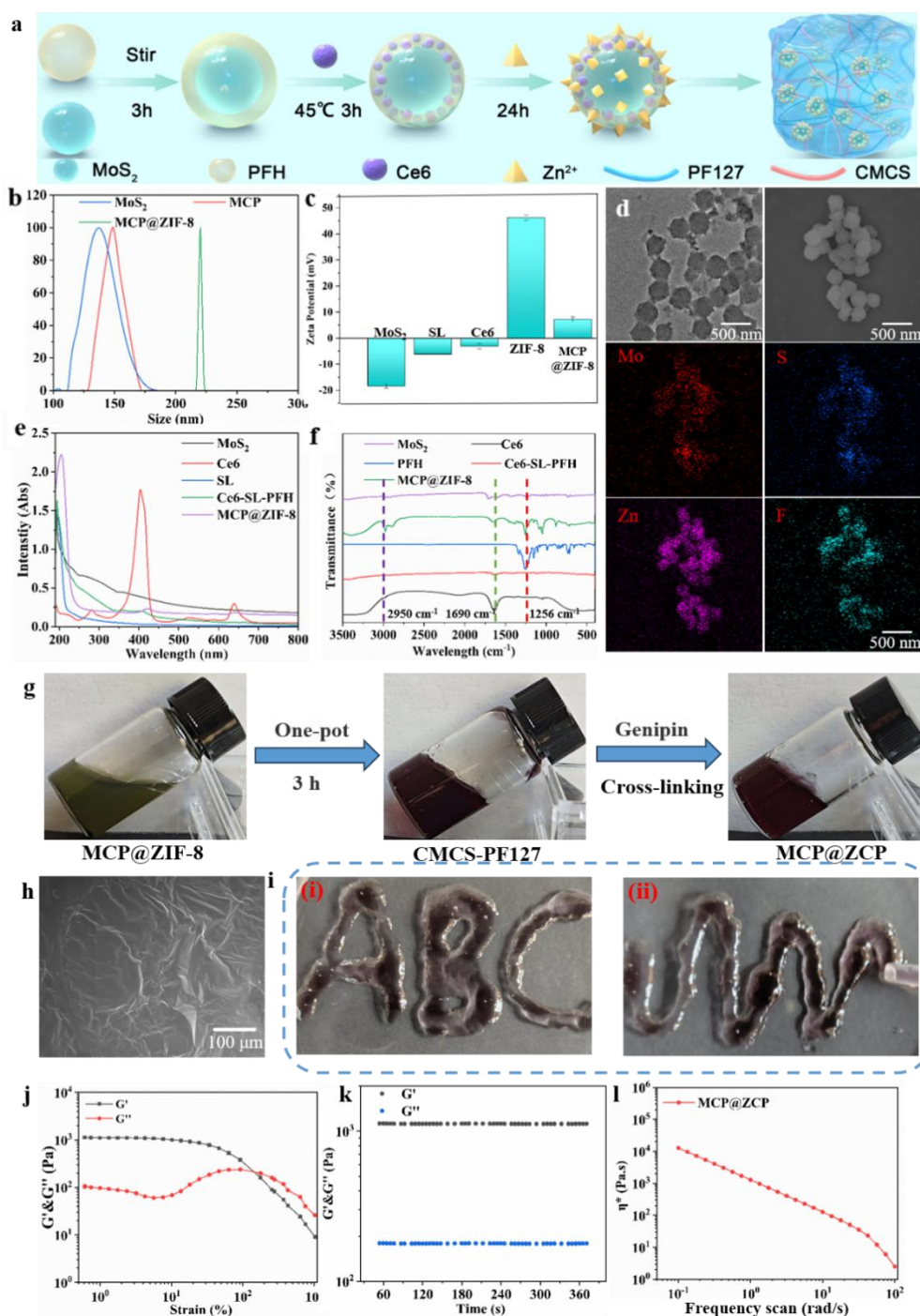


图 2-2. MCP@ZCP 的表征图像

(a) MCP@ZCP 的合成路线；(b) MoS₂、Ce6-SL-PFH 和 MCP@ZIF-8 的颗粒大小分布；
 (c) MoS₂、Ce6、SL、ZIF-8 和 MCP@ZIF-8 的电位图；(d) MCP@ZIF-8 的扫描电子显微镜 (SEM)、透射电子显微镜 (TEM) 和 SEM-EDS 元素映射；(e) MoS₂、Ce6、SL、Ce6-SL-PFH 和 MCP@ZIF-8 的紫外-可见光谱；(f) MoS₂、Ce6、SL、PFH、Ce6-SL-PFH 和 MCP@ZIF-8 的红外光谱；(g) 水凝胶的数码相机图像；(h) MCP@ZCP 的 SEM 图像。
 MCP@ZCP 的可塑性 (i) 和可注射性 (ii)；MCP@ZCP 的幅度扫描 (j) 复合粘度扫描

(k) 和频率扫描 (l)

Figure 2-2. Characterization of the MCP@ZCP.

(a) The synthesis route of MCP@ZCP; (b) Particle size distribution of MoS₂, Ce6-SL-PFH, and MCP@ZIF-8; (c) Potential diagram of MoS₂, Ce6, SL, ZIF-8, and MCP@ZIF-8; (d) SEM, TEM, and SEM-EDS elemental mapping of MCP@ZIF-8; (e) Ultraviolet-visible spectrum of MoS₂, Ce6, SL, Ce6-SL-PFH, and MCP@ZIF-8; (f) Infrared spectra of MoS₂, Ce6, SL, PFH, Ce6-SL-PFH, and MCP@ZIF-8; (g) Digital camera images of hydrogels. (h) SEM images of MCP@ZCP. Malleability; (i) and injectable (ii) of MCP@ZCP Amplitude scanning (j) complex viscosity scanning (k), and frequency scanning (l) of MCP@ZCP.

表面电位测量显示, MoS₂ 和 Ce6 原本的负表面电位在被正电荷的 ZIF-8 包裹后变为约 7.6 毫伏 (图 2-2c), 验证了 MCP@ZIF-8 的成功形成。紫外可见光谱显示 Ce6 在约 410 和 640 纳米处有吸收峰, 而 ZIF-8 在约 200 纳米处显示一个峰。MCP@ZIF-8 在这些波长附近表现出特征峰, 并伴有蓝移, 表明材料合成成功 (图 2-2e)。FTIR 光谱显示 MCP@ZIF-8 在 1690 cm⁻¹ 处有一个特征峰, 对应于 C=O 和羧基 O-H 振动, 确认了 Ce6 的成功负载。此外, 2950 cm⁻¹ 处的峰表明脂肪族基团, 暗示 ZIF-8 有效包裹形成纳米复合材料 (图 2-2f)。这些发现表明, MCP@ZIF-8 纳米颗粒成功合成, 具有均匀的尺寸和形态, 采用水热和原位生长方法。分析了 MCP@ZCP 的流变特性。图 1g 展示了水凝胶的形成及相应图像。SEM 图像显示 MCP@ZCP 中相对均匀的网络结构 (图 2-2h)。同时, 图 1i 也展示了水凝胶良好的可塑性和注射性。幅度扫描结果 (图 2-2j) 表明, 在宽线性粘弹性区域内, 固体结构稳定, 粘附点约为 210%。复杂粘度 (η^*) 扫描 (图 2-2k) 显示水凝胶的粘度随着频率的增加而降低。鉴于自愈合特性在组织粘合剂中的关键重要性, 特别是在大形变下, 评估了水凝胶的自愈合行为。应变依赖扫描 (图 2-2l) 表明, MCP@ZCP 可以在 1% - 300% 的应变范围内反复在破坏 ($G' < G''$) 和重建 ($G' > G''$) 之间切换, 突显其优异的自愈合能力。

2.4.2 MCP@ZCP 的光热性能

在 808 nm 近红外照射下, 研究了 MCP@ZIF-8 的光热治疗 (PTT) 特性, 测试了不同浓度和功率水平 (图 2-3a, b)。当 200 $\mu\text{g/mL}$ 的 MCP@ZIF-8 溶液在 1.5 W/cm² 的功率下照射 10 分钟时, 温度从 23°C 升高至 52.4°C (图 2-3e)。根

据之前的公式计算，PTT转化效率 (η) 为 52.7% (图 2-3d)，表明其优异的 PTT 性能。重复的加热和冷却循环 (进行四次) 进一步证明了 MCP@ZIF-8 的光热稳定性 (图 2-3c)。

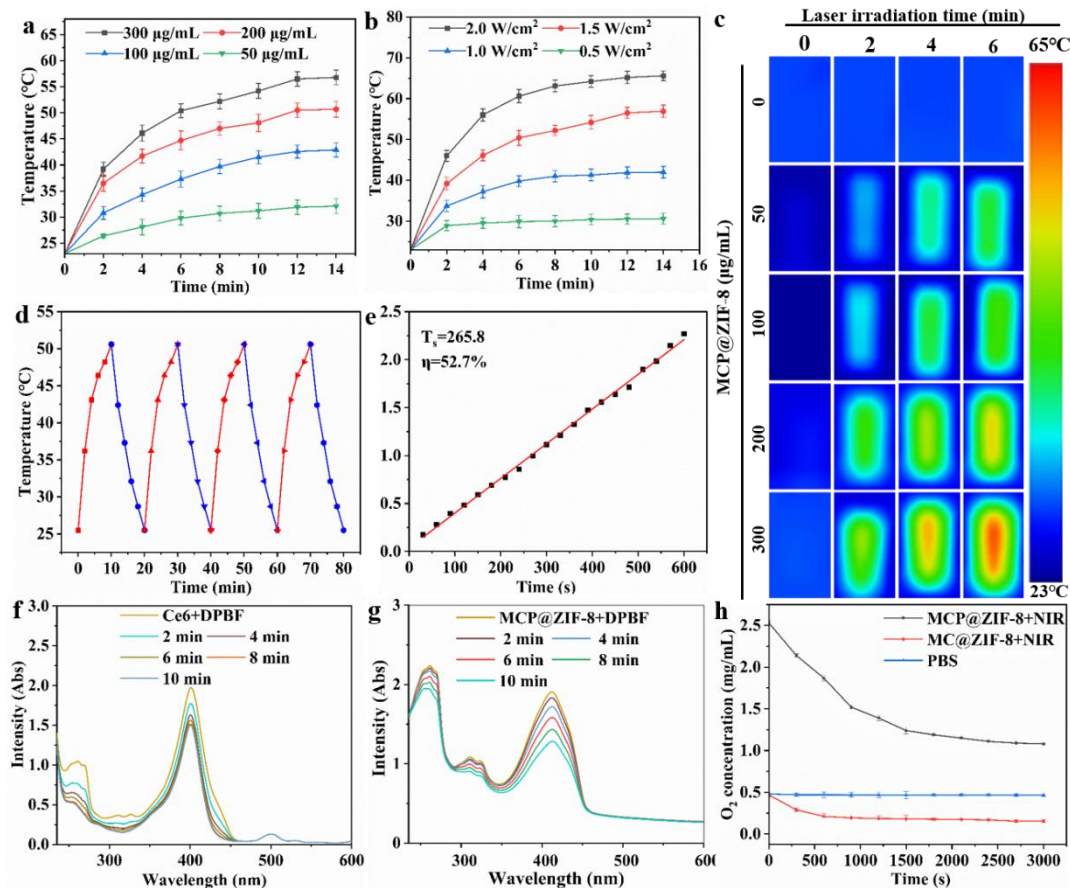


图 2-3. MCP@ZIF-8 的 PTT 性能

(a) 不同功率水平 (0.5、1.0、1.5 和 2.0 W/cm²) 下 200 µg/mL MCP@ZIF-8 的加热曲线;

(b) 在 1.5 W/cm² 功率的近红外光照射下, 不同浓度 (50、100、200 和 300 µg/mL)

MCP@ZIF-8 的加热曲线; (c) 在 1.5 W/cm² 功率的近红外光照射下, 200 µg/mL

MCP@ZIF-8 的加热和冷却曲线; (d) 时间与 $-\ln(\theta)$ 的线性回归曲线; (e) 在 1.5 W/cm²

功率的近红外光照射下, 不同浓度 (0、50、100、200 和 300 µg/mL) MCP@ZIF-8 的温度

升高的数字图像; (f) Ce6 + DPBF 的紫外光谱; (g) MCP@ZIF-8 + DPBF 的紫外光谱;

(h) MCP@ZIF-8 和 MC@ZIF-8 中溶解氧的含量

Figure 2-3. The PTT performance of MCP@ZIF-8

(a) The heating curves of 200 µg/mL MCP@ZIF-8 under different power levels (0.5, 1.0, 1.5, and

2.0 W/cm²) of near-infrared light;(b) The heating curves of different concentrations (50, 100, 200,

and 300 µg/mL) of MCP@ZIF-8 under near-infrared light irradiation with a power of 1.5 W/cm² ;

(c) The heating and cooling curves of MCP@ZIF-8 (200 $\mu\text{g/mL}$) under near-infrared light irradiation with a power of 1.5 W/cm^2 ; (d) The linear regression curve of time against $-\ln(\theta)$; (e) Digital images of temperature rise of different concentrations (0, 50, 100, 200, and 300 $\mu\text{g/mL}$) MCP@ZIF-8 under near-infrared light irradiation at a power of 1.5 W/cm^2 ; (f) UV spectra of Ce6 + DPBF; (g) UV spectra of MCP@ZIF-8 + DPBF. (h) The content of dissolved oxygen in MCP@ZIF-8 and MC@ZIF-8.

2.4.3 MCP@ZIF-8 的氧载运和增强光动力能力的检测

为了确认 PFH 的携氧能力及其在增强光动力性能中的作用, DPBF 与单独的 Ce6 (图 2-3f) 和 MCP@ZIF-8 (图 2-3g) 共同培养。结果显示在 410 nm 处特征峰呈下降趋势, 携氧的 MCP@ZIF-8 相比单独的 Ce6 表现出更显著的减少。这表明 MCP@ZIF-8 促进了更强的光动力活性。H₂DCFH-DA 作为一种与 ROS 反应生成荧光 DCFH-DA 的探针, 用于可视化 ROS 的生成。激光共聚焦荧光显微镜显示 Ce6 和 MCP@ZIF-8 均产生了 DCFH-DA 荧光。然而, MCP@ZIF-8 的绿色荧光显著高于单独的 Ce6 (图 2-4c), 确认了其优越的 ROS 生成能力。在不同时间间隔内测量了 PBS、MoS₂-Ce6@ZIF-8 和 MCP@ZIF-8 溶液中的溶解氧含量 (图 2-3h)。MCP@ZIF-8 表现出强大的携氧能力, 氧气的释放随时间持续进行。此外, 测量了不同 pH 值 (5.5、6.8 和 7.4) 下 Ce6 的释放速率 (图 2-4a 和 b), 结果显示在 pH 为 5.5 的酸性环境中释放速率最高。

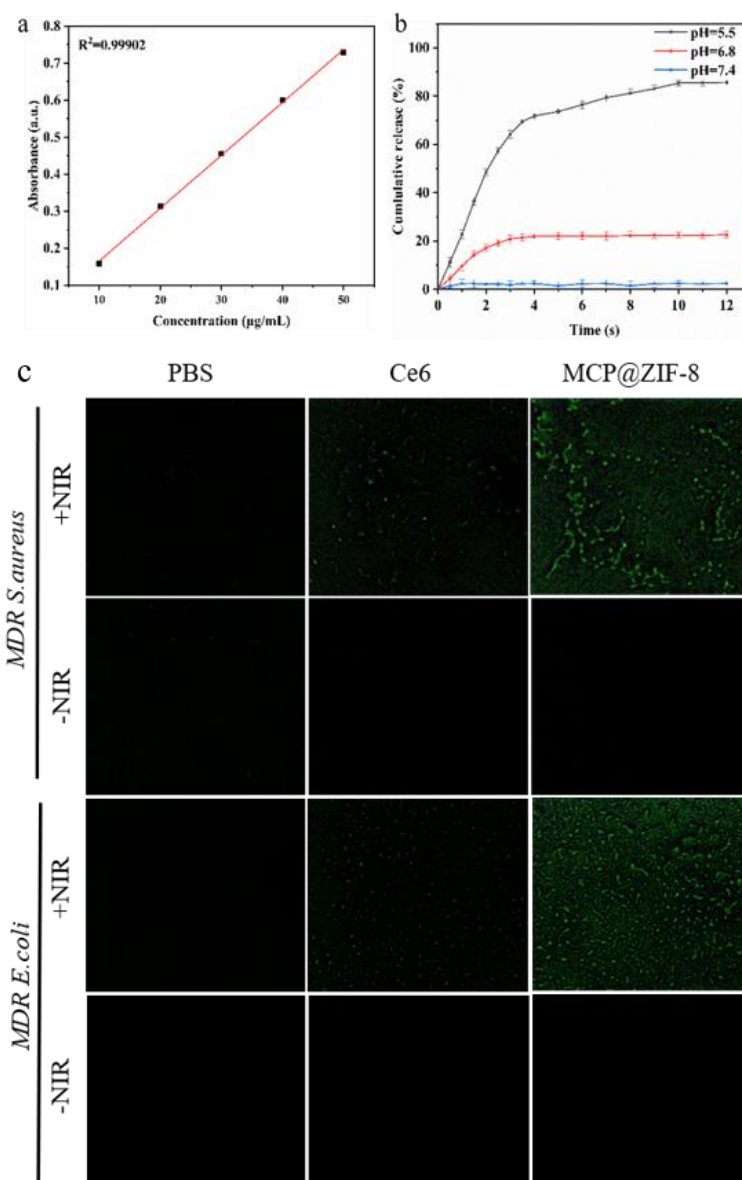


图 2-4. MCP@ZIF-8 的氧载运和增强光动力能力的检测

(a) Ce6 含量的标准曲线；(b) MCP@ZCP 中不同 pH 值下 Ce6 的释放曲线；(c) Ce6 和 MCP@ZIF-8 生成的活性氧类的荧光图像

Figure 2-4. Detection of Oxygen Carriage and Photodynamic Capability of MCP@ZIF-8

(a) Standard curve of Ce6 content. (b) Release curves of Ce6 at different pH levels in MCP@ZCP. (c) Fluorescent image of reactive oxygen specie generated by Ce6 and MCP@ZIF-8.

2.4.4 MCP@ZCP 的体外抑菌实验

MCP@ZIF-8 对两种耐药细菌 MDR 大肠杆菌和 MDR 金黄色葡萄球菌的 MIC 值分别约为 50 和 60 μg/mL，具体结果见表 2-2。MCP@ZIF-8 的抗菌效果进一步通过标准平板计数法进行评估。经过不同处理后的培养基板的图像和统计分析

如图 2-5 所示。MoS₂ 对 MDR 大肠杆菌和 MDR 金黄色葡萄球菌的抑制效果较小。然而，当 PFH 负载氧气时，MCP@ZIF-8 的抗菌效能显著增强，相较于 MC@ZIF-8。这一改善归因于 PFH 携带的氧气，促进了 ROS 的产生。此外，MCP@ZIF-8 与 PTT 和光动力增强治疗结合时，实现了近乎完全的细菌消除（图 2-5c 和 2-5d）。同时图 2-6 也展示出了 MCP@ZCP 的抑菌性能具有浓度依赖性，浓度越高，杀菌效果越强。

表 2-2 不同材料的最小抑菌浓度（+NIR， $\mu\text{g/mL}$ ）

Table 2-2 Measurement of MIC value（+NIR， $\mu\text{g/mL}$ ）

Materials	Bacteria	
	MDR <i>E. coli</i>	MDR <i>S. aureus</i>
MoS ₂	>120	>120
Ce6	>120	>120
MC@ZIF-8	89 $\pm$ 7	86 $\pm$ 7
MCP@ZIF-8	45 $\pm$ 6	49 $\pm$ 5
Kanamycin	5 $\pm$ 2	8 $\pm$ 3
Ampicillin	6 $\pm$ 3	4 $\pm$ 2

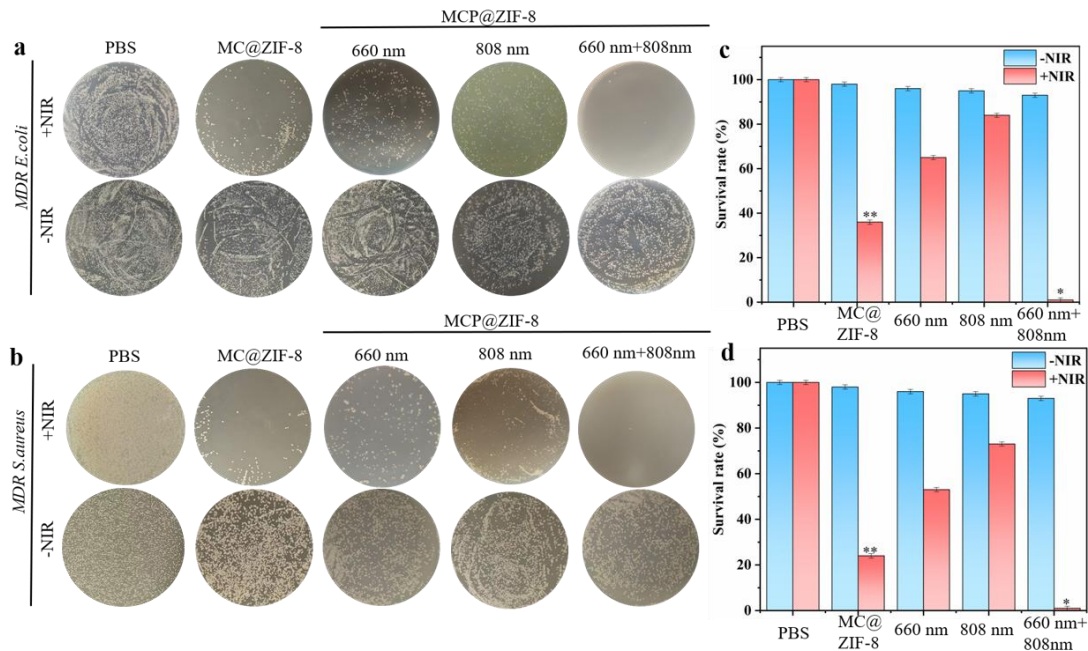


图 2-5. MDR 大肠杆菌 (a) 和 MDR 金黄色葡萄球菌 (b) 的代表性平板照片，水平对照为 PBS、MC@ZIF-8、MCP@ZIF-8 + 660 nm、MCP@ZIF-8 + 808 nm 以及 MCP@ZIF-8 + 660 nm + 808 nm，垂直对照为+NIR 和-NIR；(c) 和 (d) 表示与计数平板上的菌落计数相对应

的细菌相对存活率。NIR (660 nm 0.4 W/cm², 808 nm 1 W/cm²)。数据以均值±标准差表

示, n = 3, * p < 0.05, ** p < 0.005

Figure 2-5. Representative plate photos of MDR *E.coli* (a) and MDR *S. aureus* (b) with horizontal controls being PBS, MC @ ZIF-8, MCP@ZIF-8 + 660 nm, MCP@ZIF-8 + 808 nm, and MCP@ZIF-8 + 660 nm + 808 nm, while the vertical controls being +NIR and -NIR. (c) and (d) represent the relative survival rates of bacteria corresponding to the colony counts on the counting plates. NIR (660 nm 0.4 W/cm², 808 nm 1 W/cm²). The data is expressed as the mean ± standard deviation, n = 3, * p < 0.05, ** p < 0.005.

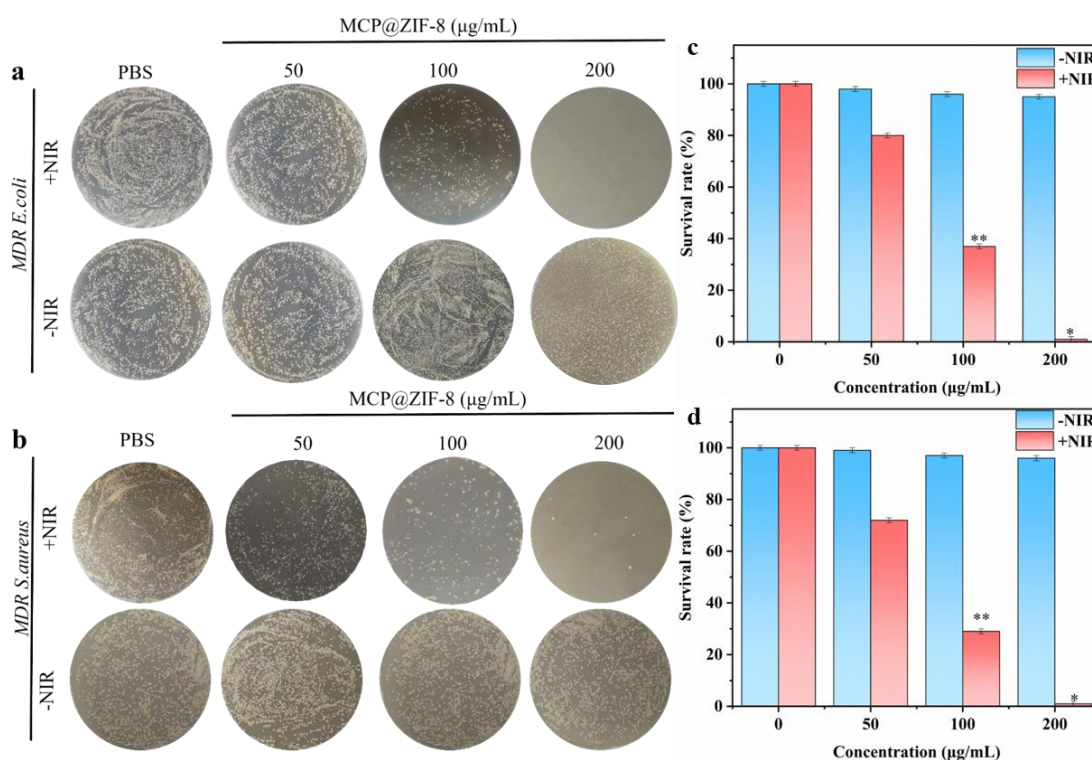


图 2-6. 不同浓度的 MCP@ZIF-8 处理后, MDR *E.coli* (a)、MDR *S.aureus* (b) 的代表性平板照片, 纵向对照为+NIR 和-NIR; c、d 为计数平板菌落数对应的细菌相对存活率 NIR (660nm 0.5W/cm².808nm 1W/cm²)。数据表示为平均值±s.d., n = 3, *p < 0.05, **p < 0.005

Figure 2-6. After treatment with different concentrations of MCP@ZIF-8, MDR *E. Coli* (a), MDR *S. aureus* (b), c and d show the relative survival rates of bacteria corresponding to the colony counts on the plates under NIR (660 nm 0.5 W/cm², 808 nm 1 W/cm²). Data are presented as mean ± s.d., n = 3, *p < 0.05, **p < 0.005.

2.4.5 细菌活/死染色分析

通过活/死染色评估了 PTT 和纳米材料增强的 PDT 的抗菌效果，采用耐药性大肠杆菌和耐药性金黄色葡萄球菌作为模型生物。在此分析中，活细菌在 PI 染色下发出绿色荧光，而死细菌在 SYTO 9 染色下显示红色荧光。当两种荧光图像叠加时，活细菌呈现绿色，死细菌则发出淡黄色荧光。图 2-7 显示，处理过 PBS 的细菌主要发出绿色荧光，红色荧光微乎其微，表明细菌大部分是活的。相比之下，暴露于 660 和 808 nm 辐射的实验组表现出不同程度的细菌死亡。这归因于 PTT 产生的热量和 PDT 产生的 ROS 的杀菌效果。值得注意的是，660 nm + 808 nm 组显示出最显著的黄色荧光，表明其卓越的抗菌效果。定量流式细胞术分析进一步证实了这些发现，显示 MCP@ZIF-8 处理的耐药性大肠杆菌和耐药性金黄色葡萄球菌的细菌死亡率超过 99%（图 2-8）。这些结果强调了 MCP@ZIF-8 的卓越抗菌性能，展示了结合 PTT 和 PDT 使用氧载体纳米平台的有效性。

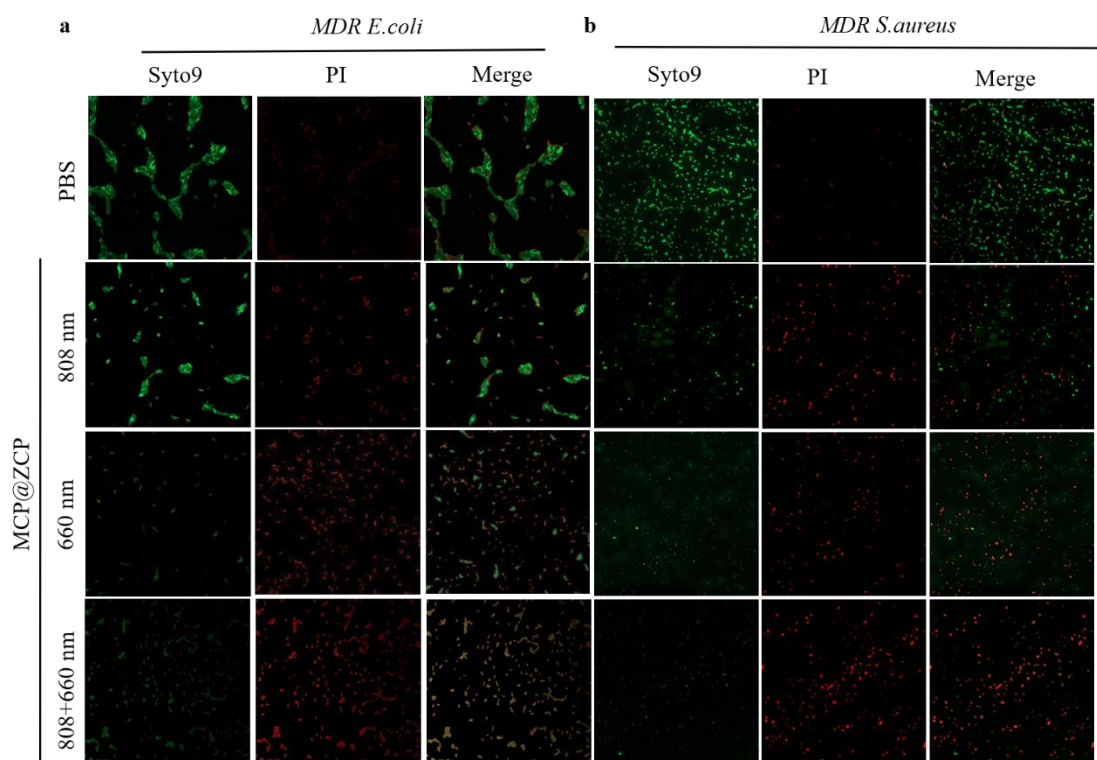


图 2-7. 不同实验组的荧光染色图像

(a) 耐药大肠杆菌的荧光图像；(b) 耐药金黄色葡萄球菌的荧光图像。在合并图中，绿色荧光代表活细菌，而浅黄色荧光表示死细菌；660 nm 指的是 660 nm 光照射,功率为 0.4

W/cm², 808 nm 代表 808 nm 近红外光照射，功率为 1 W/cm²

Figure 2-7. Fluorescence staining images of different experimental groups:

(a) Fluorescence image of MDR *E. coli* ; (b) Fluorescence image of MDR *S. aureus*. In the merge, green fluorescence represents live bacteria, while light yellow fluorescence indicates dead bacteria. 660 nm refers to 0.4 W/cm² of 660-nm near-infrared light irradiation, and 808 nm represents 1 W/cm² of 808-nm near-infrared light irradiation.

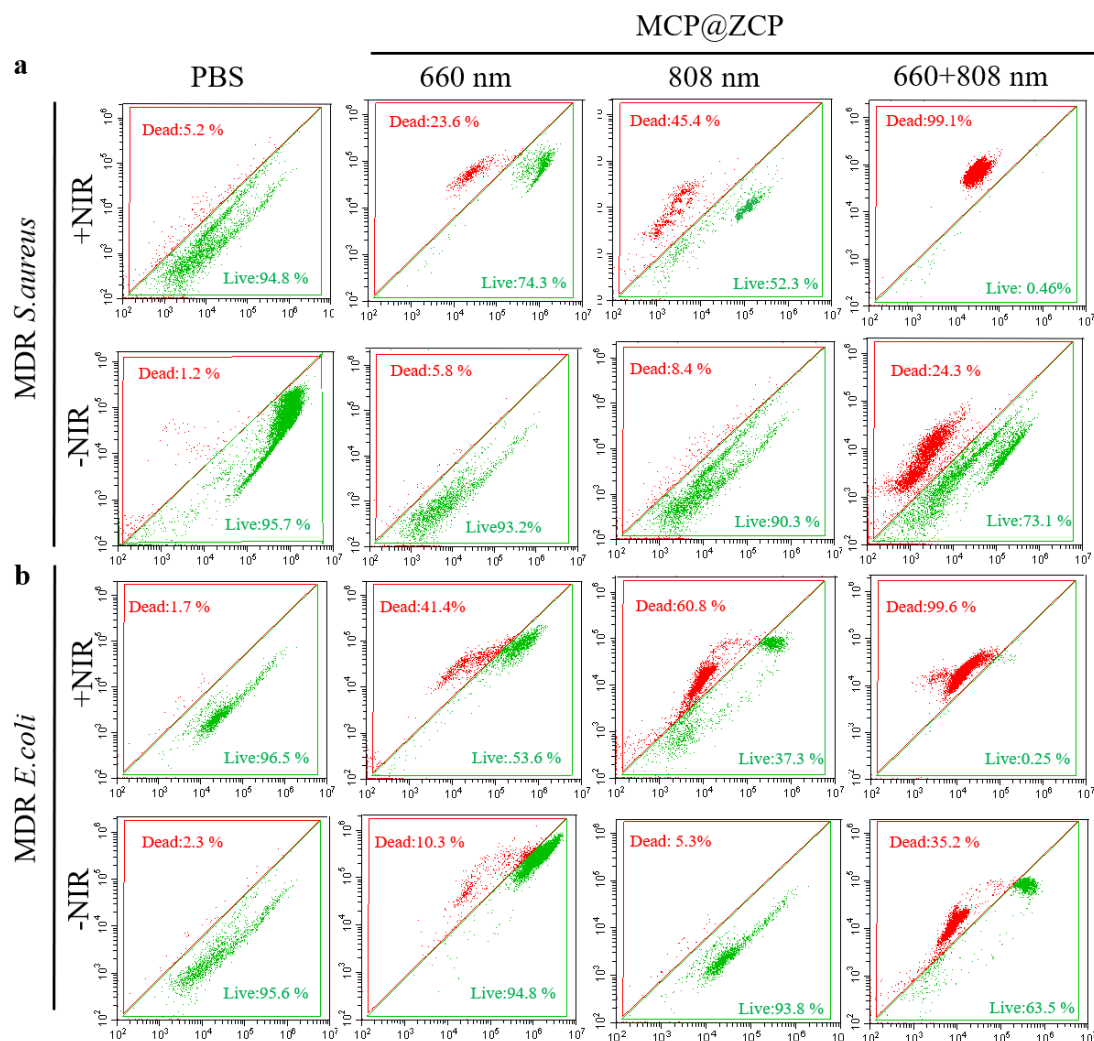


图 2-8. 流式细胞术描绘细胞凋亡的结果，来自不同实验组的细菌用 Syto9/PI 染色。

(a) 耐药金黄色葡萄球菌的凋亡 (b) 耐药大肠杆菌的凋亡；实验分为光照组和非光照组，进一步细分为四组：PBS、MCP@ZCP+660 nm、MCP@ZCP+808 nm 和 MCP@ZCP+660 nm+808 nm；光照组接受光照射（660 nm 0.4 W/cm²，808 nm 1 W/cm²）

Figure 2-8. Flow cytometry depicting the results of cell apoptosis, bacteria from different experimental groups were stained with Syto9/PI.

(a) Apoptosis of MDR *S. aureus* (a) and MDR *E. coli* (b). The experiment is divided into a light and a non-light group, further sub-grouped into four: PBS, MCP@ZCP+660 nm, MCP@ZCP

+808 nm, and MCP@ZCP+660 nm+808 nm. The light group was irradiated with light (660 nm 0.4 W/cm², 808 nm 1 W/cm²)

2.4.6 细菌形态观察实验

在处理后，通过扫描电子显微镜（SEM）观察了多重耐药大肠杆菌（MDR *E.coli*）和多重耐药金黄色葡萄球菌（MDR *S. aureus*）的形态（图 2-9）。PBS 处理的细菌保持了正常的形态，表面光滑，没有损伤迹象。然而，在 808 和 660 纳米实验组中，一些细菌表现出溶解的迹象。这可能是由于光动力疗法（PDT）产生的高温和活性氧（ROS）破坏了细胞膜的通透性，导致细胞内容物外流和细胞溶解。虽然单独使用光热疗法（PTT）或 PDT 的抗菌效果有限，但 MCP@ZCP+808 nm+660 nm 实验组表现出显著的细菌破裂和严重的形态损伤。这些发现证实了 PTT 和 PDT 联合应用产生显著抗菌效果。

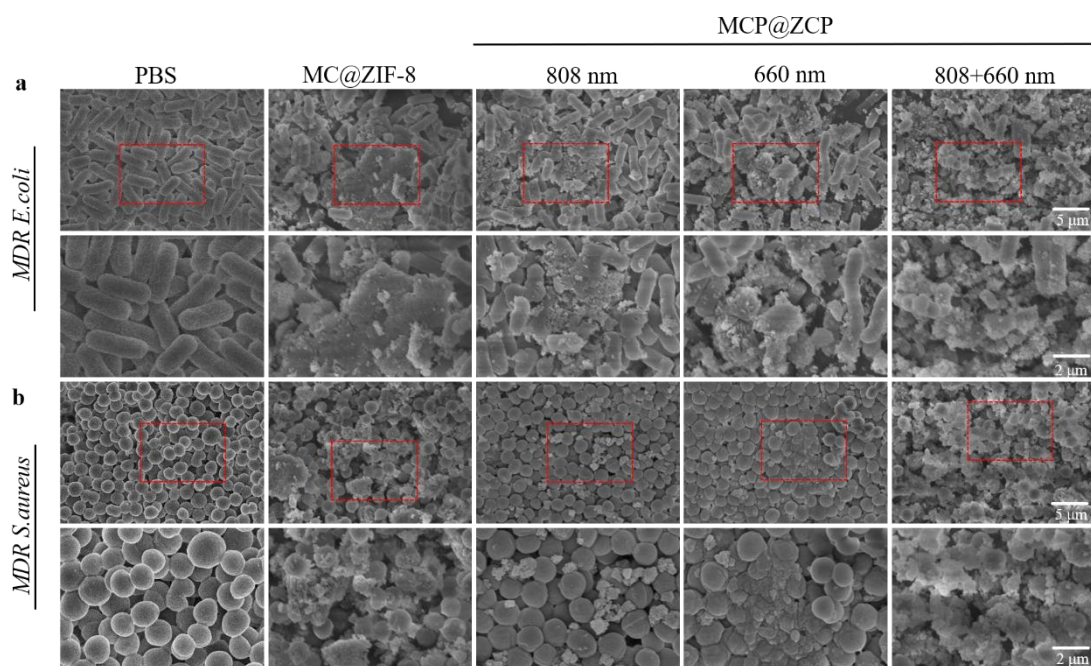


图 2-9. 细菌形态观察，使用扫描电子显微镜（SEM）观察

（a）多重耐药大肠杆菌（MDR *E.coli*）和（b）多重耐药金黄色葡萄球菌（MDR *S. aureus*）的形态；实验进一步分为 PBS、MC@ZIF-8、MCP@ZCP+660 nm、MCP@ZCP+808 nm 和 MCP@ZCP+660 nm+808 nm。光照组使用光照射（660 nm 0.4 W/cm², 808 nm 1 W/cm²）

Figure 2-9. Observation of bacterial morphology. SEM was used to observe the images of (a) MDR *E.coli* and (b) MDR *S. aureus* morphology. The experiment was further grouped as PBS,

MC@ZIF-8, MCP@ZCP+660 nm, MCP@ZCP+808 nm, and MCP@ZCP+660 nm+808 nm. The light group was irradiated with light (660 nm 0.4 W/cm², 808 nm 1 W/cm²)

2.4.7 生物膜消融实验

使用结晶紫染色法评估了 MCP@ZCP 对生物膜的破坏性影响。在 PBS 对照组中，观察到形成良好的生物膜，其特征为深紫色（图 2-10a）。使用 MCP@ZCP + 808 nm 和 MCP@ZCP + 660 nm 照射处理后，紫色略有减弱，表明生物膜受到中等程度的损伤。值得注意的是，MC@ZIF-8（不含 PFH）处理组的紫色染色减少更为明显，反映出生物膜的显著破坏。在 MCP@ZCP + 808 nm + 660 nm 组中，紫色几乎消失，表明生物膜几乎被破坏。通过 OD₄₉₂ 的吸光度测量（图 2-10b）进一步证实了这一点，显示出随着生物膜逐渐消融，吸光度显著降低。图 2-10c 提供了通过光学显微镜和激光共聚焦荧光显微镜观察到的生物膜破坏过程的更详细视角。结果共同表明，MCP@ZCP 能够破坏生物膜。

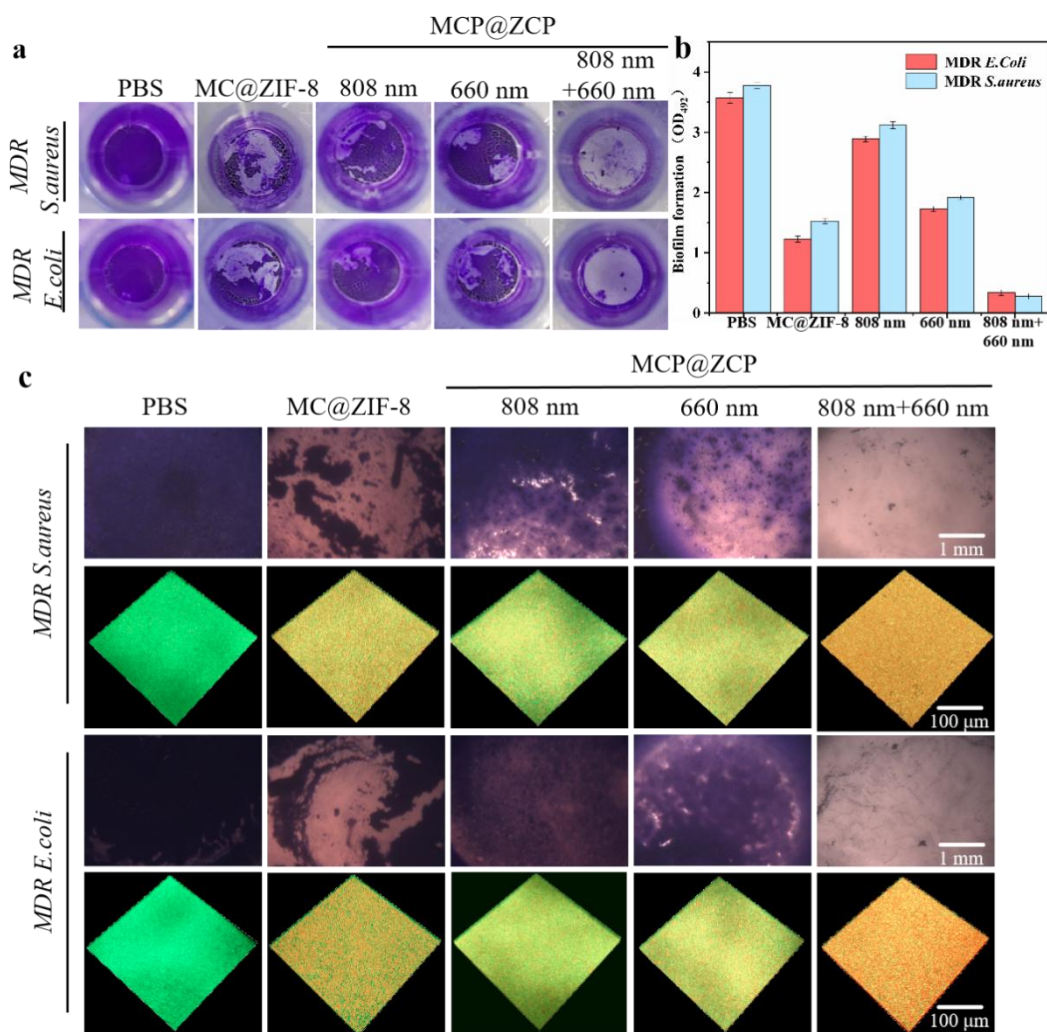


图 2-10. 不同浓度的 MCP@ZCP 对多重耐药大肠杆菌和金黄色葡萄球菌生物膜的影响

- (a) 用 MCP@ZCP + NIR 处理的生物膜的数字照片以及在 96 孔板上进行的结晶紫染色；
 (b) 在 492 nm 处结晶紫染色生物膜的紫外-可见吸收强度；(c) 在光学显微镜和激光共聚焦荧光显微镜下观察的生物膜。生物膜分别用结晶紫和 PI/SYTO 9 染色

Figure 2-10. The effects of different concentrations of MCP@ZCP on the biofilms of MDR *E.coli* and MDR *S. aureus*.

(a) Digital photographs of biofilms treated with MCP@ZCP + NIR and crystal violet staining on a 96-well plate. (b) Ultraviolet-visible absorption intensity of crystal violet-stained biofilms at 492 nm. (c) Biological membranes observed under optical microscopy and laser confocal fluorescence microscopy. The biological membranes were stained with crystal violet and PI/SYTO 9, respectively

2.4.8 细菌转录组分析

为了探讨 MCP@ZCP 与纯 MoS₂ 和 Ce6 的抗菌机制，进行了四个实验组的转录组分析：空白组、MoS₂ 组、Ce6 组和 MCP@ZCP 组。热图（图 2-11a）表示实验组之间的相关性，突出了不同处理下的基因表达模式。图 2-11b 展示了 MCP@ZCP 的作用机制。基因表达箱线图（图 2-11c）说明了空白组、MoS₂ 组、Ce6 组和 MCP@ZCP 组的基因表达丰度，显示出它们之间的变异性和显著差异。GO 二级注释图（图 2-11d）将上调和下调的基因分类为生物过程（BPs）、分子功能（MFs）和细胞组分（CCs）。MCP@ZCP 组在这些类别中表现出显著的上调基因，反映了其对各种细胞活动的影响。京都基因与基因组百科全书富集分析（图 2-11f）揭示了 MCP@ZCP 显著影响的通路，如苯丙氨酸代谢、诺氟沙星生物合成、氨基酸代谢和嘧啶代谢。这些通路在抑制细菌生长和伤口修复中发挥着关键作用。热图（图 2-11g）清晰地显示了各组之间最显著差异的各种基因的表达水平。热图中有 20 个基因表现出最大的表达差异。值得注意的是，与伤口修复和组织再生相关的基因如 *cdh16* 和 *igfn1* 在 MCP@ZCP 组中显著上调。总之，转录组测序揭示 MCP@ZCP 通过调节细胞增殖和物质代谢抑制细菌生长并有效促进伤口愈合。

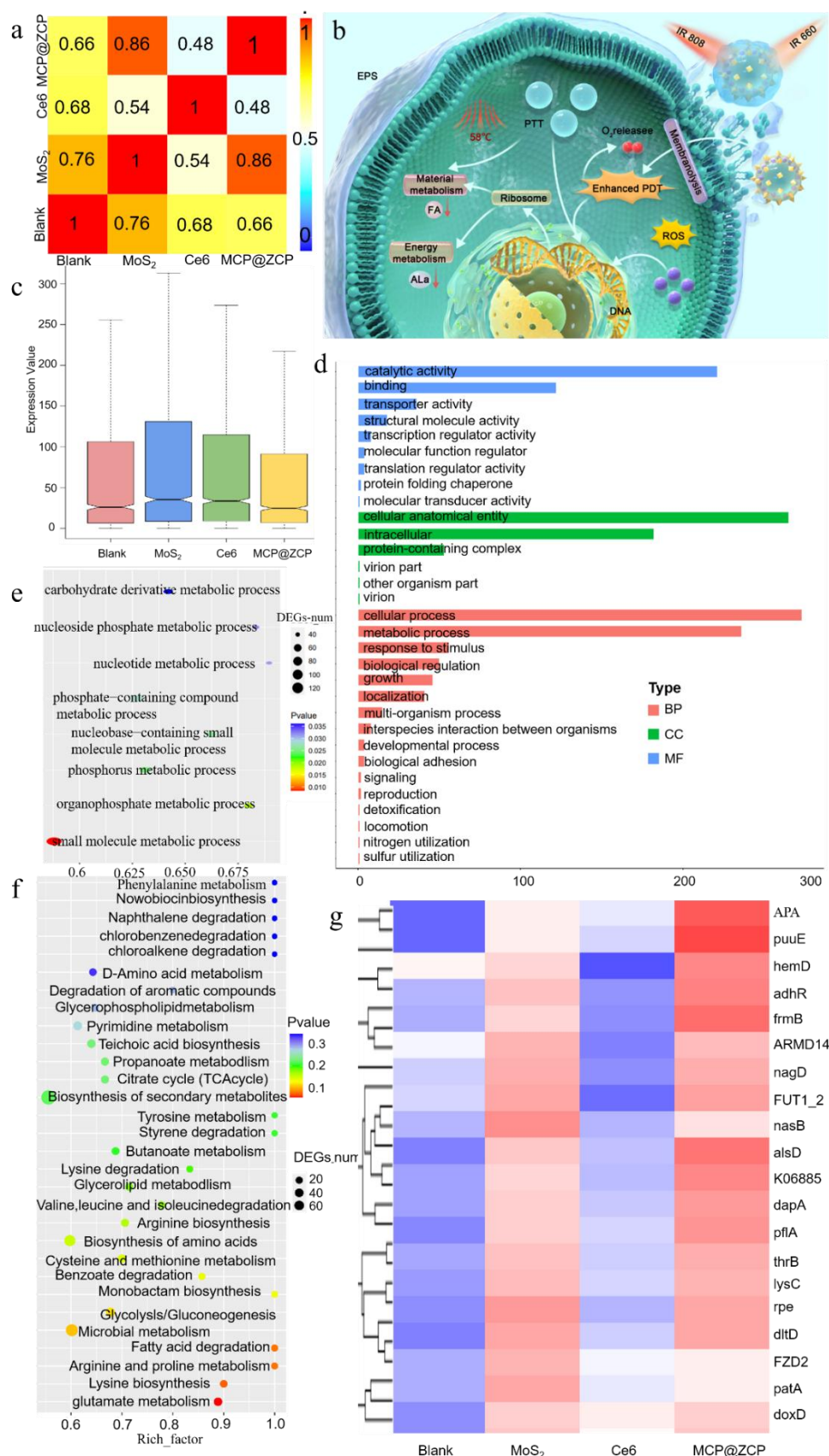


图 2-11. 耐药性金黄色葡萄球菌的转录组分析

(a) 样本相关性分析热图，分组标记为空白、MoS₂、Ce6 和 MCP@ZCP；(b)

MCP@ZCP 的作用机制图；(c) 空白、MoS₂、Ce6 和 MCP@ZCP 的基因表达箱线图；(d) 空白与 MCP@ZCP 之间差异表达基因的 GO 注释图；(e) 空白与 MCP@ZCP 之间差异表达基因的 GO 富集分析图；(f) 空白与 MCP@ZCP 之间差异表达基因的 KEGG 富集分析图；(g) 空白与 MCP@ZCP 的基因表达模式聚类图

Figure 2-11. Transcriptome analysis of MDR *S. aureus*.

(a) Sample correlation analysis heatmap, with groups labeled as Blank, MoS₂, Ce6, and MCP@ZCP. (b) Mechanism of Action Diagram for MCP@ZCP. (c) Box plots of the gene expression for Blank, MoS₂, Ce6, and MCP@ZCP. (d) GO annotation map of differentially expressed genes between Blank and MCP@ZCP. (e) and KEGG (f) enrichment analysis diagram of differentially expressed genes between Blank and MCP@ZCP. (g) Clustering diagram of the gene expression patterns for Blank and MCP@ZCP

2.4.9 小鼠模型建立及体内实验

建立了一种由多重耐药金黄色葡萄球菌诱导的细菌性皮肤感染小鼠模型，以评估 MCP@ZCP 对伤口愈合的影响（图 2-12a）。PBS 处理的伤口面积保持在 45%，而单独使用 MoS₂ 和 Ce6 的处理分别导致伤口面积为 38% 和 36%。这些发现表明，单独的光热治疗（PTT）或光动力治疗（PDT）仅提供适度的伤口愈合效果。使用 MCP@ZIF-8 的治疗将伤口面积减少到约 28%（图 2-12b, c），突显其优越的杀菌效能。这一改善归因于提供氧气的 PFH，它增强了 PDT，并在与 PTT 结合时实现了协同抗菌效果。凝胶化的 MCP@ZCP 表现出更强的伤口愈合能力，强调了载氧水凝胶在 PTT 和 PDT 联合抗菌策略中的有效性。此外，通过 H&E 染色和马松三色染色研究了涉及炎症反应、血管生成和组织重塑的愈合过程。在图 2-12e 中，H&E 染色显示 PBS、MoS₂ 和 Ce6 实验组中有大量炎症细胞和明显的组织损失。尽管在 MCP@ZIF-8 实验组中炎症细胞显著减少，但组织损失仍然明显。相比之下，MCP@ZCP 组显示出最小的组织损失，组织结构完整且光滑（图 2-12e）。马松三色染色还显示 MCP@ZCP 实验组的伤口组织中胶原纤维显著增加，呈深蓝色区域，表明成纤维细胞活性强和组织再生良好。细胞外基质密度增加，炎症细胞浸润减少，炎症反应显著缓解。其他组显示胶原纤维网络稀疏，愈合速度较慢，组织结构松散。这些发现表明，载氧水凝胶与 PTT/PDT 结合对伤口愈合具有显著促进作用。

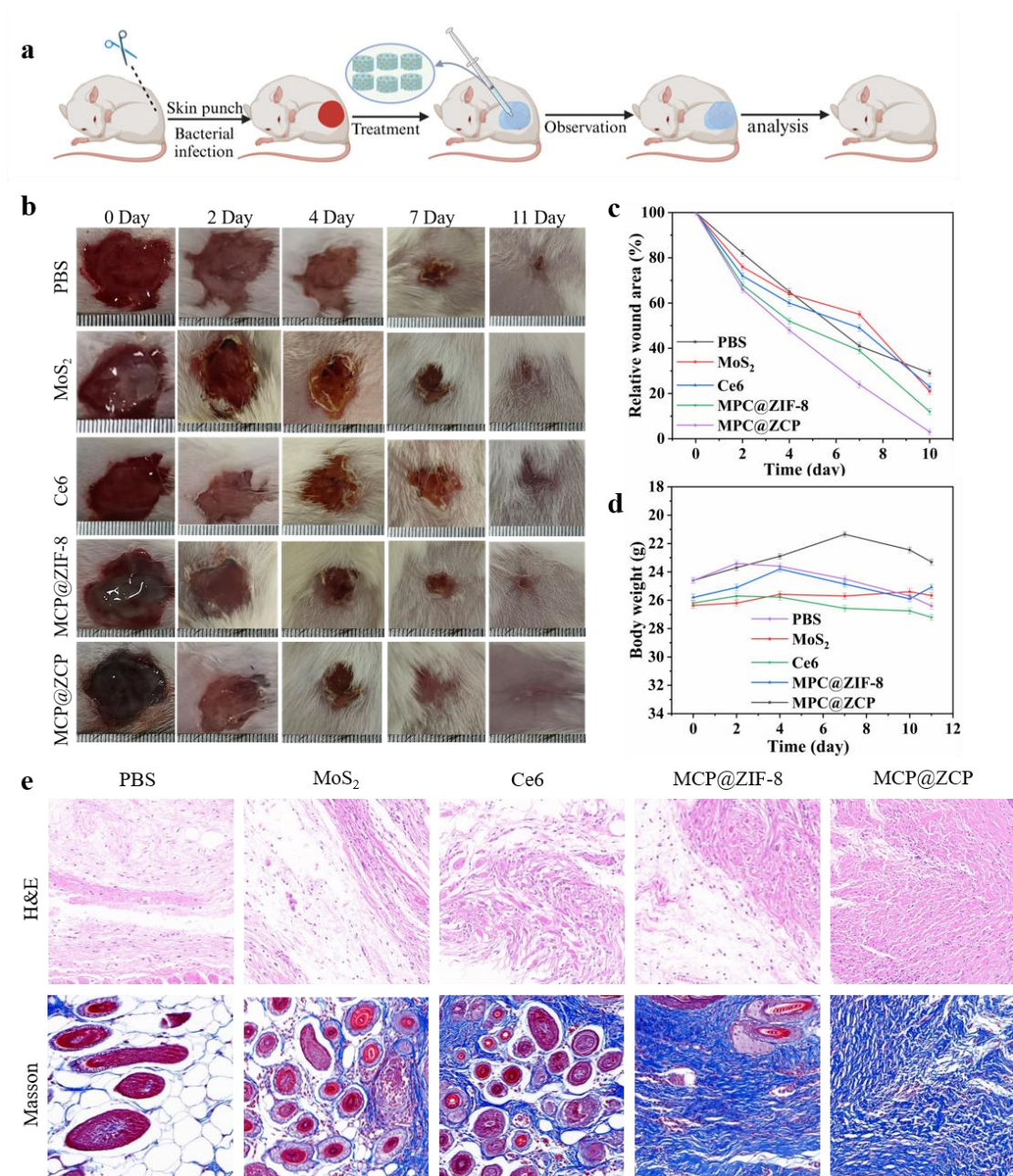


图 2-12. 小鼠感染伤口模型的处理

(a) 建立多重耐药金黄色葡萄球菌小鼠感染模型及 MCP@ZCP 的治疗过程；(b) 小鼠伤口的照片；(c) 小鼠体重变化；(d) 小鼠伤口面积的定量分析；(e) 小鼠伤口切片的 H&E 和马松染色

Figure 2-12. Treatment of mouse infection wound model

(a) Establishment of the MDR *S.aureus* mouse infection model and the treatment process with MCP@ZCP;(b) Photos of mouse wounds; (c) Changes in mouse body weight; (d) Quantitative analysis of the mouse wound area; (e) H&E and Masson staining of the mouse wound sections

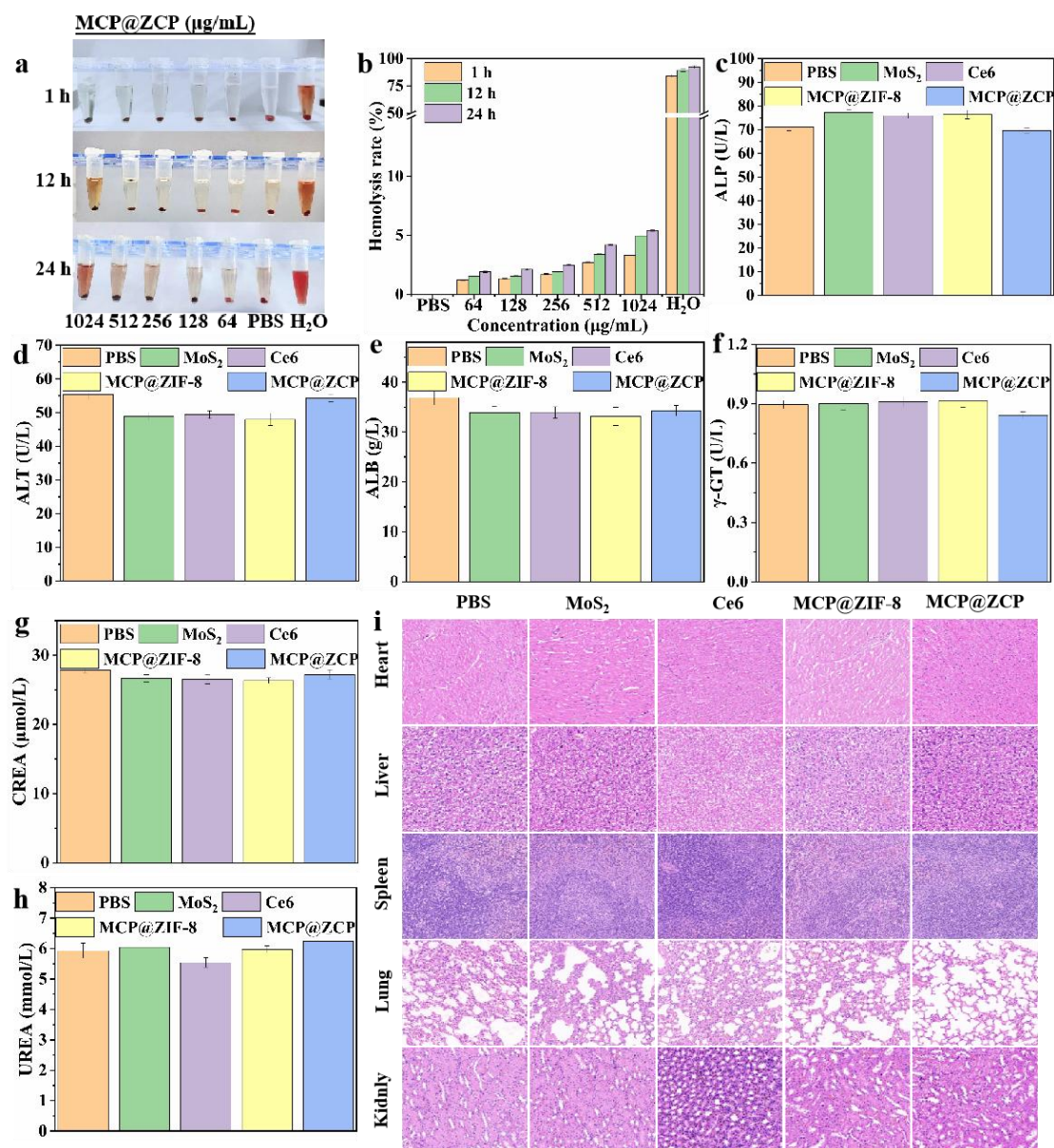


图 2-13. 生物安全性评估

(a) MCP@ZCP 下大鼠红细胞的溶血图像；(b) 不同浓度材料处理后大鼠红细胞在 OD₅₇₀ 下的吸光度测量；(c) 碱性磷酸酶 (ALP) 的变化；(d) 丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 的变化；(e) 白蛋白 (ALB) 的变化；(f) γ -谷氨酰转肽酶 (γ -GT) 的变化；(g) 肌酐 (CREA) 的变化；(h) 尿素的变化；(i) 心脏、肝脏、脾脏、肺和肾脏的 H&E 染色

Figure 2-13. Biosafety Assessment

(a) Hemolysis images of rat red blood cells at MCP@ZCP. (b) Measurement of the absorbance of rat red blood cells at OD₅₇₀ after treatment with materials of different concentrations at different times. Changes in (c) alkaline phosphatase (ALP), (d) alanine aminotransferase (ALT), (e) albumin (ALB), (f) gamma-glutamyl transferase (γ -GT), (g) creatinine (CREA), and (h) urea. (i)

H&E staining of the heart, liver, spleen, lungs, and kidneys

2.4.10 生物安全性实验

生物安全性是评估新材料和药物应用中的关键因素，确保其对人体和环境无害。随着生物技术和纳米技术的快速发展，材料的生物相容性、毒性和长期影响成为重要关注点。对材料进行生物安全性评估，不仅能够防止潜在的健康风险，还能提高其在临床应用中的可行性和可接受性。只有通过严格的生物安全性检测，才能确保新型材料在医疗、环境等领域的广泛应用不会对人类和生态系统造成负面影响。根据溶血测试结果，当 MCP@ZCP 浓度达到 1024 $\mu\text{g/mL}$ 时，溶血率仅为 7%。相比之下，水处理实验组的溶血率均低于 5%，显示出 MCP@ZCP 优良的生物相容性（图 10a 和 10b）。在应用于小鼠伤口后，H&E 切片显示心脏组织结构正常，心脏、肝脏、脾脏、肺和肾脏未观察到明显的炎症或坏死迹象（图 10i）。此外，血清生化测试显示心脏、肝脏、脾脏、肺和肾脏的功能正常。这些结果充分证明了所制备材料在小鼠中的安全性和良好的生物相容性（图 10c-h）。

2.5 本章小结

为了解决抗生素耐药细菌生物膜和伤口愈合受损所带来的挑战，本研究开发了一种 pH 响应、携氧水凝胶，利用光热治疗（PTT）和增强的光动力治疗（PDT）来抑制细菌。在该水凝胶系统中，PFH 作为氧气载体，通过提供持续的氧气供应来增强 PDT。MoS₂ 和 Ce6 被封装在脂质体膜内，与 PFH 一起，而 ZIF-8 则作为酸敏感外壳，以稳定纳米材料并促进在酸性环境中的控制释放。水凝胶基质由 CMCS 和 PF-127 组成，结合 MCP@ZIF-8，创建一个有利于伤口愈合的框架。表征实验表明，MCP@ZIF-8 呈现均匀的球形形态，粒径约为 220 纳米，表面电位约为 7.6 毫伏。FTIR 和紫外-可见光谱确认了纳米材料的成功合成。PTT 实验表明，MCP@ZCP 的光热转化率约为 52.7%，使其在 PTT 应用中具有很高的有效性。光动力实验还显示，PFH 的加入使得活性氧（ROS）生成增加，显著增强了光动力抗菌效能。MCP@ZCP 对多重耐药大肠杆菌和多重耐药金黄色葡萄球菌的抑制率超过 99%。此外，MCP@ZCP 有效破坏了生物膜。转录组分析揭示，MCP@ZCP 影响细菌的代谢途径，包括氨基酸合成、碳代谢、氮代谢及其他途径，从而抑制细菌生长。在体内实验中，MCP@ZCP 显著

促进了小鼠的伤口愈合，表现出良好的生物相容性和低生物毒性，表明其在抗菌治疗中的潜力。总之，本研究为提高细菌感染治疗的有效性提供了新材料和新策略。

第3章 抗氧化聚多巴胺水凝胶光热抑菌及促糖尿病伤口愈合性能研究

3.1 引言

上述研究虽然可以满足普通病人的伤口愈合需求，但对于糖尿病病人伤口的作用不尽人意，这是因为糖尿病患者常面临伤口愈合困难的问题，这与长期高血糖引起的生理变化密切相关。高血糖状态会导致微血管损伤、免疫功能下降、炎症反应失调等，从而影响伤口修复的各个阶段。血液供应不足使得伤口部位缺乏必要的氧气和营养，细胞增殖和迁移能力减弱，导致伤口愈合过程显著延长。此外，糖尿病患者还容易出现感染，进一步加重愈合难度。因此，糖尿病伤口愈合是临床治疗中的一大挑战^[107,108]。

为了更好的促进糖尿病患者的伤口愈合，本文选择表没食子儿茶素没食子酸酯（EGCG），它作为一种天然的多酚类化合物，具有显著的抗氧化、抗炎和抗菌作用，已被广泛研究在促进糖尿病患者伤口愈合中的潜力。EGCG 能够有效减轻由高血糖引发的氧化应激，减少自由基的生成，从而降低细胞损伤并促进组织修复。此外，EGCG 还通过调节炎症反应，抑制过度的炎症因子释放，帮助恢复伤口愈合过程中的正常生理平衡。在糖尿病患者中，因血糖控制不良导致的免疫功能下降使得伤口容易感染，而 EGCG 的抗菌特性能够有效降低感染风险，进一步促进伤口愈合。同时，EGCG 通过改善微循环和增强细胞增殖能力，促进伤口愈合的各个阶段，提升愈合效率。因此，EGCG 不仅能改善糖尿病患者的伤口愈合情况，还能在一定程度上减少并发症的发生，是一种具有广阔应用前景的治疗选择^[109]。

聚多巴胺（PDA）在水凝胶和光热应用中具有显著的优势。首先，PDA 作为水凝胶的组成部分，能够增强其机械强度和稳定性，同时保持水凝胶的高水合作用。PDA 的自组装特性和丰富的官能团，如酚羟基和氨基，使其能够与水凝胶中的其他成分形成共价结合，提升水凝胶的功能性。例如，PDA 能够改善水凝胶的药物负载能力与控释性能，增强其在生物医用领域的应用。其次，PDA 具有良好的光吸收能力，能够在近红外光照射下高效转化为热能，从而实

现光热治疗。PDA 在水凝胶中的引入不仅赋予其光热响应特性，还使其能够在光照条件下诱导局部加热，促进肿瘤细胞的热损伤或加速伤口愈合。由于其生物相容性、可调控性和光热效应，PDA 在智能水凝胶的制备和光热治疗中展现出极大的潜力。

将 PDA 包裹葛根素（PU）的纳米球加载到水凝胶网络中，PDA 的光热性能在杀死细菌的同时可以促进药物释放，EGCG 与 PU 可以清除伤口处的活性氧，，达到协同促伤口愈合的效果

3.2 实验试剂与仪器

3.2.1 实验试剂

表没食子儿茶素没食子酸酯（EGCG）；聚多巴胺（PDA）；葛根素（PU）；2-甲酰苯硼酸（2- FPBA）；多巴胺（DA）；二氯甲烷（CH₂Cl₂）；DCFH-DA（C₂₄ H₁₆Cl₂O₇）；溴化钾（KBr）；细菌细胞活性测定试剂盒；无水甲醇；无水乙醇；磷酸盐缓冲液（PBS）；等均购自阿拉丁生化科技有限公司，中国上海；活/死（PI/SYTO 9）细菌活性检测试剂盒来自赛默飞世尔科技（中国武汉）。

3.2.2 实验仪器

本部分实验仪器同表 2-1。

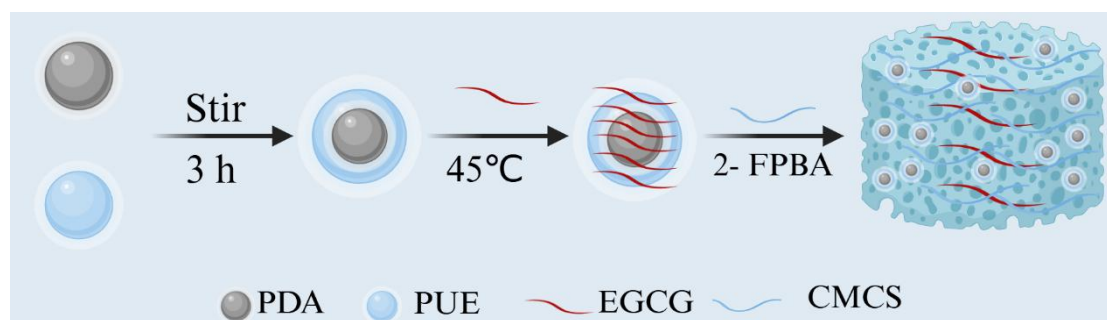


图 3-1. PDA-PU@ EGCG-CMCS（PDA-PU@EC）水凝胶合成示意图

Figure 3-1. Schematic diagram of synthesis of PDA-PU@EC hydrogel

3.3 实验方法

3.3.1 PDA-PU@EC 水凝胶的合成与表征

（1）PDA-PU 纳米球的合成

a) 首先将 20 mg 多巴胺倒入 10 mL 去离子水中，然后缓慢滴入氨水，使其 pH 值为 8.5，然后在磁力搅拌器上过夜摇匀，离心洗净后获得聚多巴胺粉末，

然后与 PU 按质量比 1: 2 混合, 磁力搅拌 3 h, 然后使用细胞破碎仪超声 10 min 后, 获得 PDA-PU 纳米球。

b) PDA-PU@EC 水凝胶的合成: 首先将 0.6 g 羧甲基壳聚糖溶于 10 mL 去离子水中, 然后加入 0.2 g EGCG, 充分混合后加入 2 mg 2-甲酰苯硼酸 (2-FPBA), 同时加入 10 mL PDA-PU 纳米溶液, 剧烈搅拌后得到 PDA-PU@EC 水凝胶。

(2) PAT@SL 纳米复合材料的表征

材料表征验证方法同 2.3.1。

3.3.2 PDA-PU@EC 的光热性能评估

光热性能评估方法同 2.3.2。

3.3.3 PDA-PU@EC 体外抑菌试验

体外抑菌实验方法同 2.3.6。

3.3.4 细菌活死染色实验及流式分析

体外抑菌实验方法同 2.3.7。

3.3.5 细菌形态观察

细菌形态观察实验方法同 2.3.8。

3.3.6 小鼠模型的建立及体内实验

糖尿病小鼠模型的建立通常通过注射诱导剂链脲佐菌素 (STZ) 来实现。具体方法是将 8 周龄的雌性 C57BL 小鼠进行禁食 12 小时后, 使用链脲佐菌素溶液 (剂量为 50-60mg/kg) 通过腹腔注射进行处理。注射后 48 小时, 通过尾静脉血糖测试确认小鼠是否成功诱导出糖尿病, 若血糖值超过 16.7 mmol/L, 可认为模型建立成功。

体内实验方法同上

3.3.7 生物安全性评估

生物安全性实验方法同上

3.4 结果与讨论

3.4.1 PDA-PU@EC 的表征结果分析

如图 3-2 所示, 通过上述实验结果可以确认 PDA-PU 的成功合成, 并且其形貌均匀, 粒径大约为 223nm。这一粒径范围表明 PDA-PU 材料具有良好的纳米

尺度结构，能够提供足够的表面积用于后续的功能化处理。进一步的实验表明，PDA-PU@EC 水凝胶也成功合成，其形貌呈现均匀的网孔状结构，展示出优异的网络构造特征。这种网孔状结构能够提供丰富的孔隙，增加其表面积，从而有助于提高其在生物医药等领域的应用性能。此外，PDA-PU@EC 水凝胶在流变性方面表现出良好的性能，具备较好的可塑性和流动性，能够在不同的应用场景下保持稳定的性能。这些结果表明，PDA-PU@EC 水凝胶不仅具有良好的合成效果，而且在形貌和流变性方面也展现了理想的特性，为其在药物释放、伤口敷料等领域的应用奠定了基础。

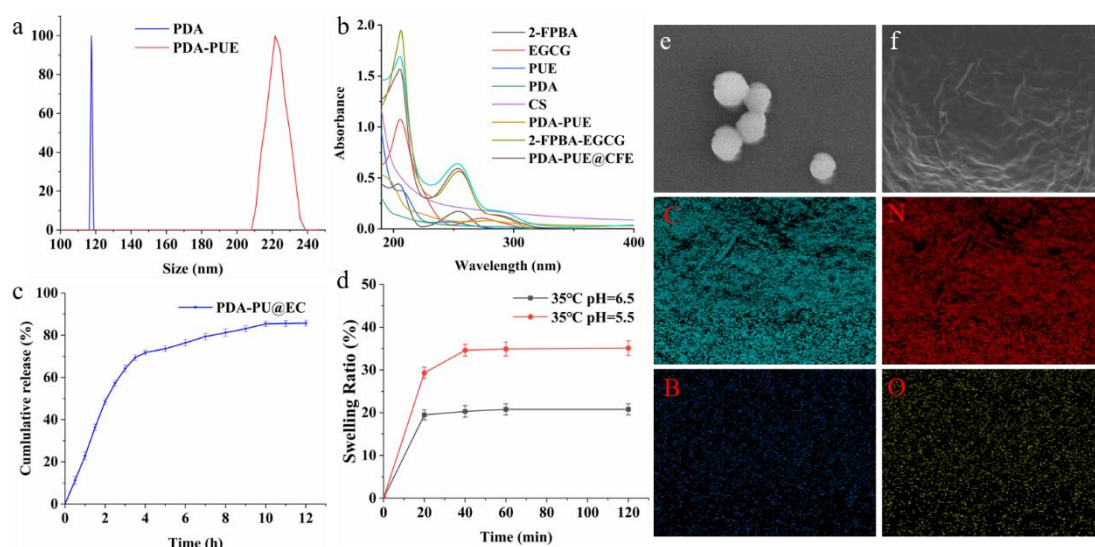


图 3-2. PDA-PU@EC 的表征图象

(a) PDA,PDA-PUE 的粒径分布图；(b) EGCG、PDA 等材料的 UV 图谱；(c) PDA-PU@EC 中 EGCG 的释放曲线；(d) 不同 pH 下水凝胶的膨胀系数；(e) PDA-PU 纳米球的扫描电镜图象；(f) PDA-PU@EC 的扫描电镜图象及元素分析

Figure 3-2. Characterization images of PDA-PU@EC.

(a) Particle size distribution graphs of PDA and PDA-PUE;(b) UV spectra of materials such as EGCG and PDA;(c) Release curve of EGCG in PDA-PU@EC;(d) Expansion coefficients of hydrogels at different pH levels; (e) Scanning electron microscopy images of PDA-PU nanospheres;(f) Scanning electron microscopy images and elemental analysis of PDA-PU@EC

3.4.2 PDA-PU@EC 的光热性能分析

如图所示，经过 $0.6\text{W}/\text{cm}^2$ 的 808 nm 近红外光照射，水凝胶能够从 25°C 迅速升温至 45°C ，这一现象表明 PDA-PU@EC 具有显著的光热性能。在光照下，

PDA-PU@EC 能够有效吸收近红外光并转化为热能，迅速加热水凝胶。这种快速的升温响应不仅证明了其良好的光热转换能力，而且通过计算其光热转换效率，得出结果约为 65.7%，这一数值表明该材料具有较高的光热能量转化能力，能够高效地利用外部光源进行温度调节。此外，通过四次升降温循环的实验结果，也表明 PDA-PU@EC 在多次温度变化过程中保持了稳定的光热响应和热稳定性，未出现明显的性能衰减。此结果进一步验证了其在反复使用中的可靠性和长期应用潜力，表明 PDA-PU@EC 在实际应用中具有很好的光热稳定性，能够满足不同温控需求，尤其在温度敏感的生物医学领域中具有广泛的应用前景。

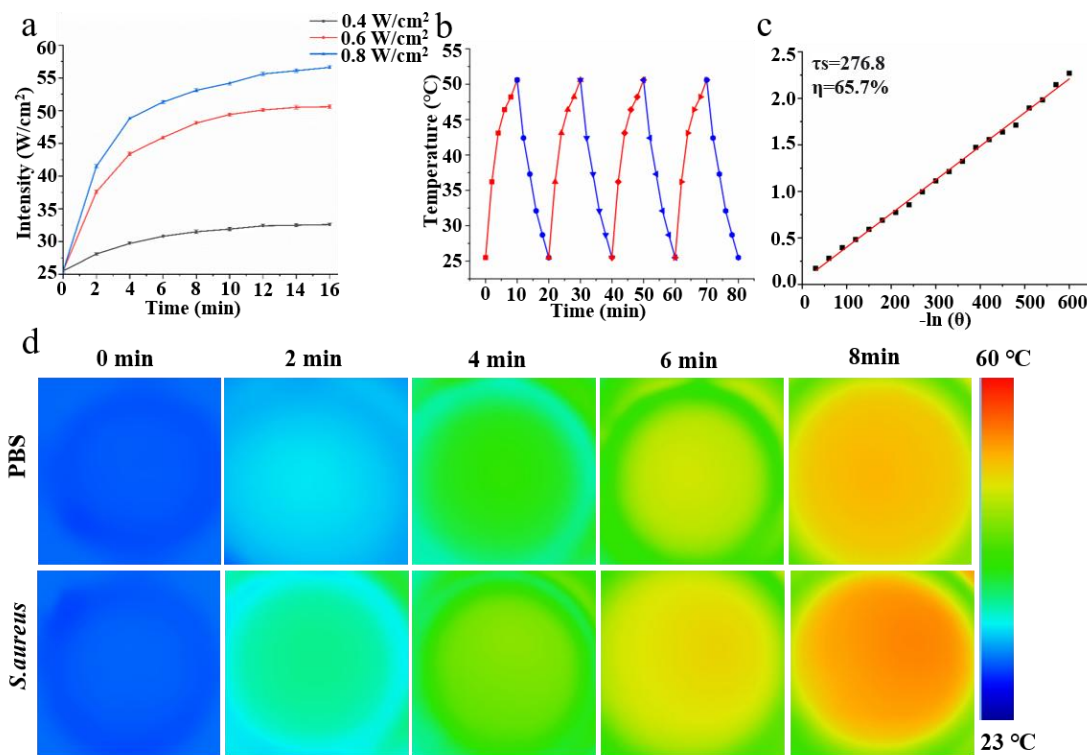


图 3-3. (a) 不同功率下 PDA-PU@EC 的升温曲线，(b) PDA-PU@EC 在 0.6 W/cm² 照射下的升降温曲线，(c) PDA-PU@EC 的光热转换效率，(d) 0.6 W/cm² 下不同溶液下 PDA-PU@EC 升温的数码图像

Figure 3-3. (a) The heating curves of PDA-PU@EC at different power levels, (b) The heating and cooling curves of PDA-PU@EC under 0.6 W/cm² irradiation, (c) The photothermal conversion efficiency of PDA-PU@EC, (d) Digital images of the temperature rise of PDA-PU@EC in different solutions under 0.6 W/cm²

3.4.3 PDA-PU@EC 的体外抑菌结果

图 3-4 的结果显示，单独的 PTT (PAT@SL+Ice) 和 PDT (PAT@SL+VC) 组具有一定的抑菌效果，而联合策略的 PAT@SL+NIR 组处理的耐药菌存活率极低，表明 PTDT 抑菌效果要优于单独的 PTT 或 PDT，单因素 CFU 实验证实了 PAT@SL 纳米抗菌载体具有良好的广谱抗菌活性。

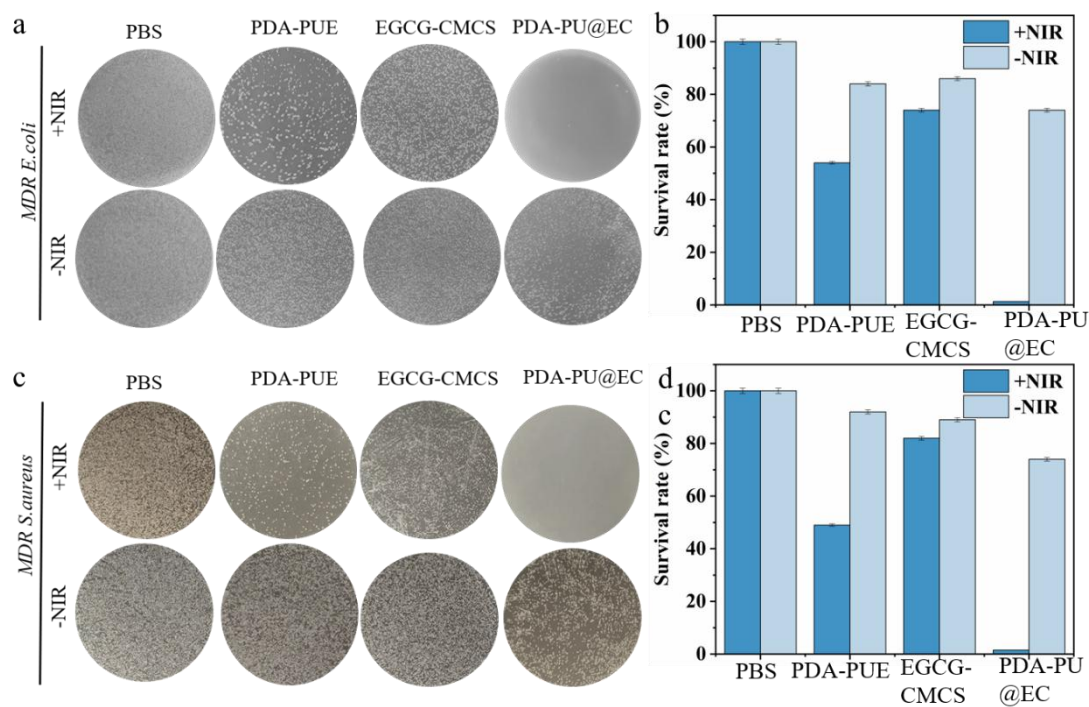


图 3-4. 体外抑菌实验

(a) MDR *E. coli*、(c) MDR *S. aureus* 的代表性平板照片，横向对照为 PBS、PDA-PUE、ECGG-CMCS、PDA-PU@EC，纵向对照为+NIR 和-NIR；c、d 为计数平板菌落数对应的细菌相对存活率，NIR (808nm 0.6 W/cm²)

Figure. 3-4. *In vitro* antibacterial experiments.

Representative plate photos of MDR *E. coli* and MDR *S. aureus*, with horizontal controls being PBS, PDA-PUE, ECGG-CMCS, PDA-PU@EC, and vertical controls being +NIR and -NIR, c and d represent the relative survival rates of bacteria corresponding to the colony counts on the counting plates, NIR (808 nm, 0.6 W/cm²)

3.4.4 细菌活死染色实验及流式分析

如图 3-5 所示，通过共聚焦荧光显微镜观察，可以明显看出，PDA-PU@EC 对细菌的杀伤效果最强，远超其他处理组。在显微镜下，在共定位图像中，黄

色信号最为明显，表明细菌几乎全部死亡，显示出其对细菌的强烈破坏作用。与此同时，流式细胞术的分析结果也进一步证实了这一点（图 3-6）。实验数据显示，PDA-PU@EC 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的致死率均超过了 99%，表现出极高的杀菌效率。与其他组相比，PDA-PU@EC 处理组能够显著降低细菌的存活率，几乎完全消灭了这些致病菌。此结果表明，PDA-PU@EC 具有极强的抗菌活性，并能够在多种细菌种类中发挥有效的杀菌作用。这种高效的杀菌能力为 PDA-PU@EC 在抗感染治疗中的潜在应用提供了有力的支持，尤其是在应对细菌感染的治疗中展现出其优异的效果。

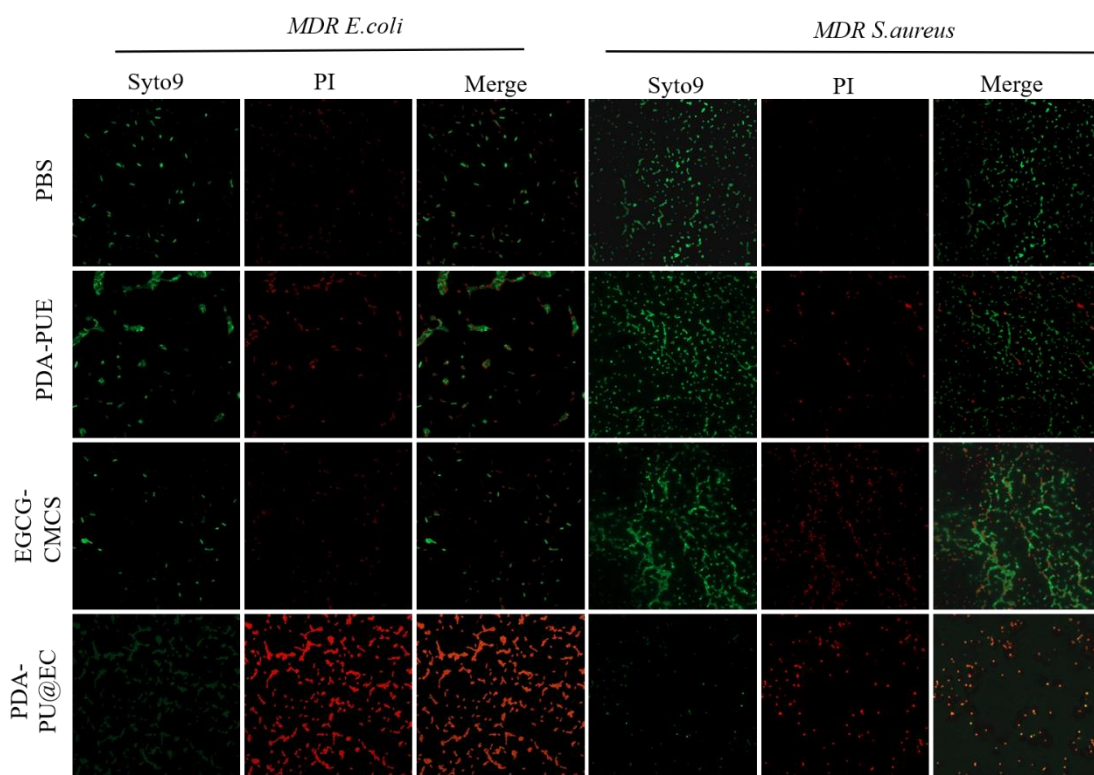


图 3-5. (a) MDR *E. coli* 的荧光图像 (b) MDR *S. aureus* 的荧光图像；在共定位图像中，绿色荧光代表活细菌，而淡黄色荧光代表死细菌

Figure. 3-5. (a) Fluorescence image of MDR *E. coli* (b) Fluorescence image of MDR *S. aureus*. In the colocalization images, green fluorescence represents live bacteria, while light yellow fluorescence represents dead bacteria

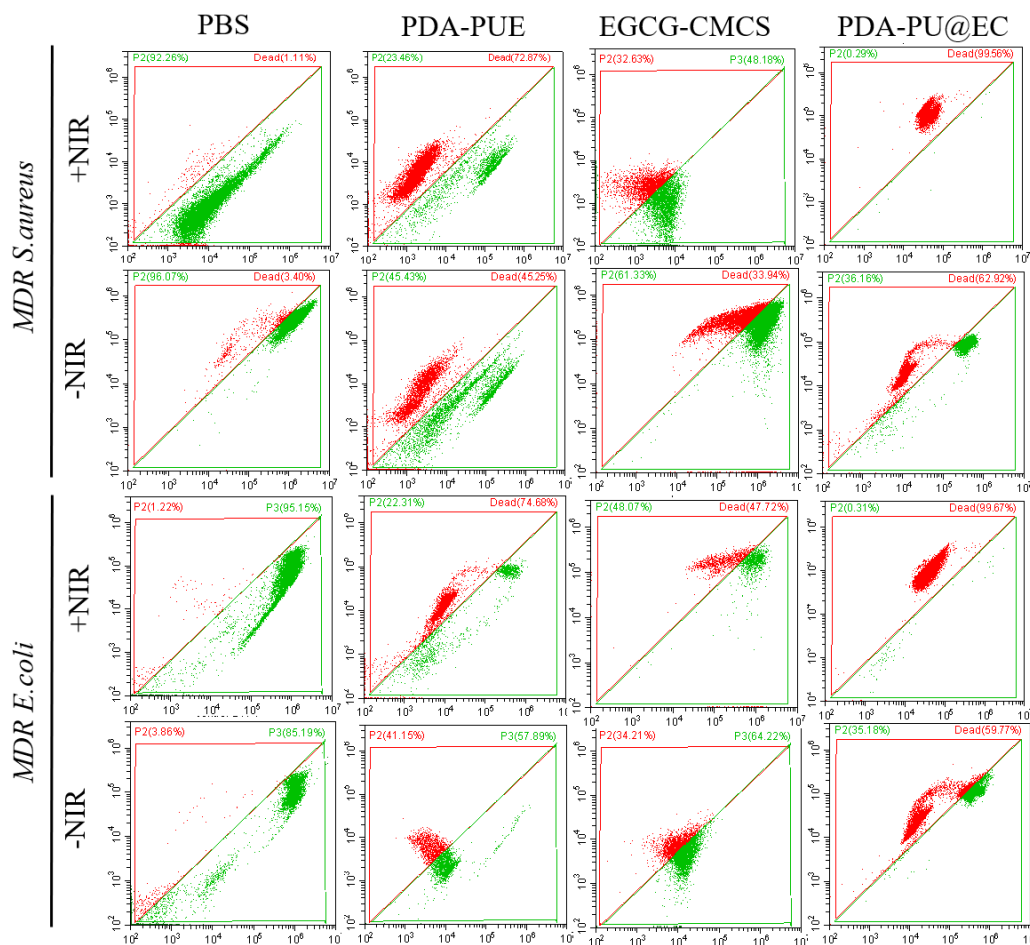


图 3-6. 流式细胞术描绘细胞凋亡的结果，来自不同实验组的细菌用 Syto9/PI 染色。MDR *S. aureus* 的凋亡和 MDR *E. coli* 的凋亡。实验分为光照组和非光照组，进一步细分为四组：

PBS、PDA-PUE、ECGG-CMCS、PDA-PU@EC。

Figure. 3-6. Bacteria from different experimental groups were stained with SYTO 9/PI. Apoptosis of MDR *S. aureus* and apoptosis of MDR *E. coli*. The experiment is divided into a light group and a non-light group, further subdivided into four groups: PBS, PDA-PUE, ECGG-CMCS, and PDA-PU@EC.

3.4.5 细菌形态观察

通过图像 3-7 可以清晰地观察到，PDA-PU@EC 对细菌的杀伤效果显著优于其他处理组。相比之下，其他组的细菌虽然有所抑制，但仍有部分存活或损伤较轻。而在 PDA-PU@EC 处理组中，大多数细菌表现出明显的破裂现象，细胞壁受到破坏，导致细菌内容物泄漏。这种破裂不仅证明了 PDA-PU@EC 对细菌的强烈杀伤作用，还说明其能够有效地破坏细菌的结构完整性，从而阻止其繁殖和生长。PDA-PU@EC 展示了作为抗菌材料的巨大潜力，能够在抑制细菌感

染方面发挥重要作用。总的来说, PDA-PU@EC 不仅具备良好的杀菌效果, 还可能为抗菌治疗提供一种新的有效途径。

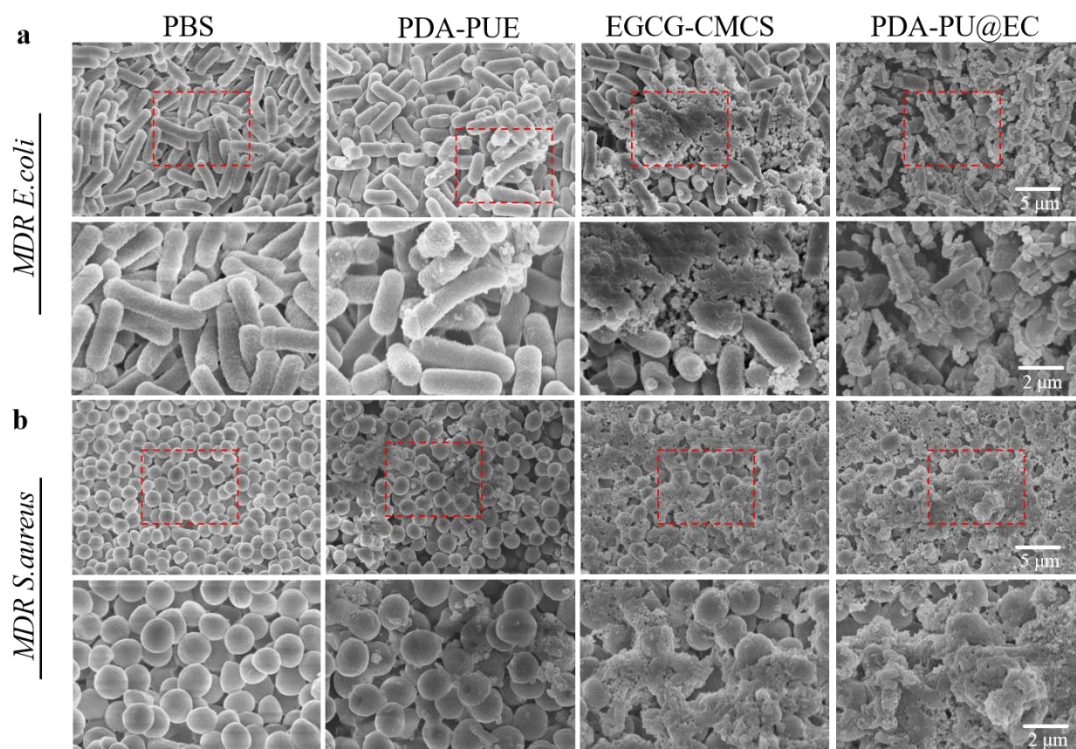


图 3-7. (a) 处理后 MDR *E. coli* 形态的 SEM 图像; (b) 处理后 MDR *S. aureus* 形态的 SEM 图像

Figure 3-7. (a) SEM images of MDR *E. coli* morphology after processing, (b) SEM images of the morphology of MDR *S. aureus* after treatment.

3.4.6 小鼠模型的建立及体内实验

由图 3-8 可见, 经过 PDA-PU@EC 处理后的小鼠伤口愈合速度显著加快, 伤口面积明显减小, 表明 PDA-PU@EC 在促进伤口愈合方面具有显著的效果。小鼠在治疗过程中体重保持较为稳定, 未出现因治疗引起的负面影响。这些结果进一步表明, PDA-PU@EC 对小鼠的生理状态没有不良干扰, 且能够有效促进伤口的修复。通过 H&E 染色和 Masson 染色的组织学检查也表明, 经 PDA-PU@EC 处理的小鼠伤口处未出现明显的炎症反应, 组织结构清晰且无过度纤维化, 肌肉组织的愈合进程顺利。这些染色结果进一步证明了 PDA-PU@EC 在组织修复过程中能够提供理想的支持, 不仅促进细胞增殖与迁移, 还能有效控制炎症反应, 促进伤口的快速愈合。总的来说, PDA-PU@EC 展示了良好的生物功能, 具有潜力应用于临床创伤修复和组织再生领域。

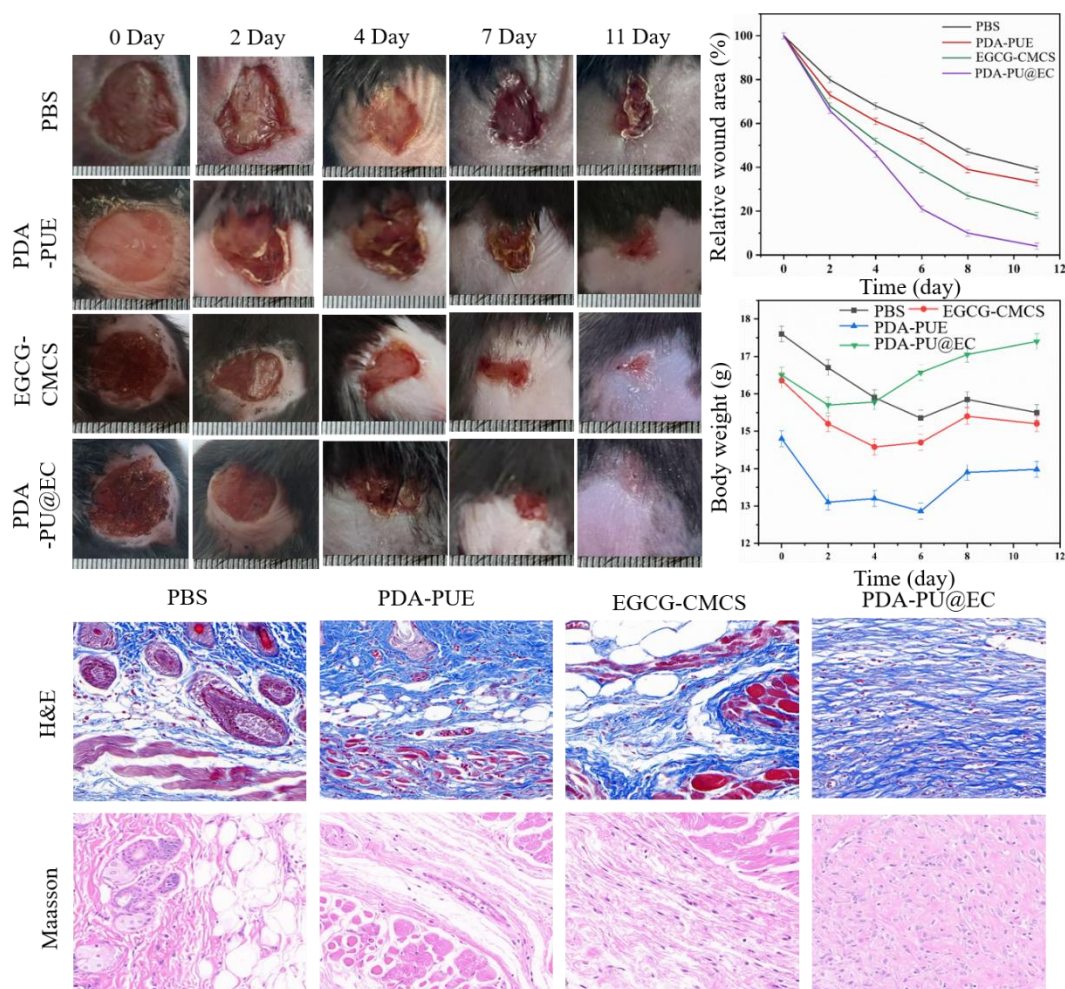


图 3-8. 糖尿病小鼠感染创面模型的治疗

(a) 小鼠治疗过程中伤口变化的图片；(b) 小鼠体重的变化；(c) 小鼠伤口面积的定量分析；(d) 小鼠伤口切片的 H&E 和 Masson 染色

Fig. 3-8. Treatment of diabetic mice in a wound infection model.

(a) Images of wound changes during the treatment of mice, (b) Changes in body weight of mice, (c) Quantitative analysis of wound area in mice, (d) H&E and Masson staining of wound sections in mice.

3.4.7 生物安全性评估

PDA-PU@EC 的溶血率在 1mg/mL 以下始终低于 5%，显示出其在血液接触条件下极低的溶血性，这表明其具有很好的血液相容性。进一步的生物安全性评估中，PDA-PU@EC 在小鼠体内的各个重要器官，包括心脏、肝脏、脾脏、肺脏和肾脏，均未显示出任何明显的毒性反应或损伤（图 3-9）。这些实验结果表明，PDA-PU@EC 具有良好的生物相容性，能够在体内实现安全的应用。其

低溶血性和无毒害作用使其成为一种理想的生物材料，特别适合用于药物递送、组织工程等领域。此外，PDA-PU@EC 的良好生物安全性也为其在临床前的进一步研究和应用奠定了坚实基础。这些优异的特性使得 PDA-PU@EC 在生物医用领域具有广泛的应用前景。

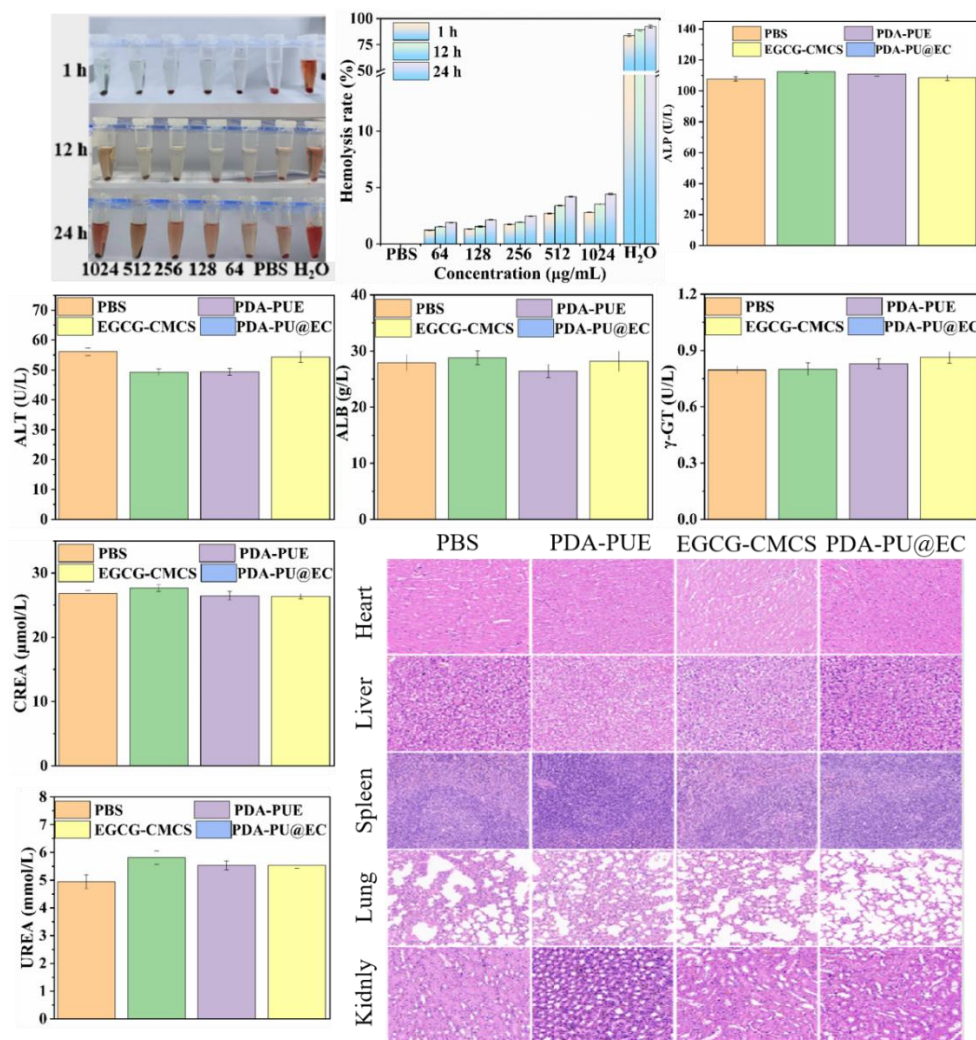


图 3-9. (a) PDA-PU@EC 对大鼠红细胞的溶血图像；(b) 检测不同时间与不同浓度材料处理后大鼠红细胞在 OD₅₇₀ 处的吸光度；(c) 碱性磷酸酶 (ALP)；(d) 谷丙转氨酶 (ALT)；(e) 白蛋白 (ALB)；(f) γ -谷氨酰转肽酶 (γ -GT)；(g) 肌酐 (CREA)；(h) 尿素 (UREA)；(i) 心脏、肝脏、脾脏、肺和肾脏的 H&E 染色

Fig. 3-9. (a) Hemolysis images of rat red blood cells treated with MCP @ ZCP, (b) Absorbance of rat red blood cells at OD₅₇₀ after treatment with materials of different concentrations and at different time points, (c) Alkaline phosphatase (ALP), (d) Alanine aminotransferase (ALT), (e) Albumin (ALB), (f) gamma-glutamyl transferase (gamma-GT), (g) creatinine (CREA), (h) UREA, (i) H&E staining of the heart, liver, spleen, lungs, and kidneys.

3.5 本章小结

在本章研究中,针对糖尿病患者伤口处活性氧(ROS)过量的问题,我们选择了天然多酚表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)作为活性氧的清除剂,旨在促进糖尿病患者伤口的愈合。活性氧在糖尿病伤口愈合过程中扮演着双重角色,过量的活性氧会加剧组织损伤,延缓愈合,而 EGCG 因其强大的抗氧化特性,可以有效清除过量的活性氧。为了增强 EGCG 在伤口愈合中的作用,我们将其与羧甲基壳聚糖(CMCS)进行复合,使用 2-甲酰苯硼酸(2-FPBA)作为交联剂,通过形成席夫碱和硼酸酯键构建了一个双动态共价交联的水凝胶网络。这种网络结构不仅能够保持 EGCG 的稳定性,还能在生理条件下具备一定的自修复能力。进一步地,为了提高药物的靶向传递和治疗效果,我们使用聚多巴胺(PDA)包裹中药成分葛根素(PUE),并将 PDA-PUE 纳米微球加载到 EGCG-CMCS 水凝胶中,获得了 PDA-PUE@EC 水凝胶。实验结果显示,PDA-PUE 纳米颗粒的粒径约为 223nm,具有良好的光热转化效率,约为 65.7%。在 808nm 近红外光照射下,PDA-PUE@EC 水凝胶能够显著清除活性氧,并且其光热效应使得其在杀菌方面表现优异,杀菌率可达到 99%。此外,体内实验结果也表明,PDA-PUE@EC 水凝胶对糖尿病患者的伤口愈合具有显著促进作用。通过生物安全性评估,我们进一步确认了该水凝胶的安全性与无毒性,为其临床应用奠定了基础。总的来说,本研究通过精心设计的复合材料和创新的交联方法,为糖尿病伤口愈合提供了一种潜在的治疗策略。

结论与展望

本研究通过开发创新的水凝胶系统，提出了两种有效应对伤口愈合与细菌感染的策略。首先，针对抗生素耐药细菌生物膜和伤口愈合问题，研究团队设计了一种 pH 响应型水凝胶，结合了光热治疗（PTT）和光动力治疗（PDT），通过提供持续氧气供应增强抗菌效果，并有效破坏细菌生物膜。该水凝胶在体内外实验中均表现出良好的抗菌活性和伤口愈合促进作用。其次，对于糖尿病患者伤口中的活性氧（ROS）过量问题，研究采用天然多酚 EGCG 作为 ROS 清除剂，并结合动态共价交联技术与靶向传递系统，开发出了一种具有自修复能力和优异抗菌效果的水凝胶。该水凝胶不仅能够有效清除过量的活性氧，还在近红外光照射下具备良好的光热转化效率，对糖尿病患者的伤口愈合有显著促进作用。总体而言，本研究为治疗细菌感染、促进伤口愈合提供了新的策略和材料，为临床应用奠定了坚实基础。相关研究结果如下：

（1）本段构建了一个创新的 pH 响应型水凝胶系统，主要针对抗生素耐药细菌和伤口愈合问题。该系统通过结合 PFH 提供的氧气供应、MoS₂、Ce6 封装的脂质体、以及 ZIF-8 作为酸敏感外壳，形成了一个高效的抗菌治疗框架。研究表明，MCP@ZIF-8 纳米材料具有良好的光热转化率和增强的光动力效应，能够有效抑制多重耐药细菌，并且能破坏细菌生物膜。转录组分析进一步揭示了其通过影响细菌代谢途径来抑制细菌生长。实验结果表明，该水凝胶不仅在体外表现出优秀的抗菌效果，在小鼠体内也显著促进了伤口愈合，展现了良好的生物相容性和低生物毒性。因此，本研究为细菌感染治疗和伤口愈合提供了新的治疗策略。

（2）本段集中研究了糖尿病患者伤口中的活性氧（ROS）过量问题，提出了一种以 EGCG 为基础的水凝胶系统来清除过量 ROS，并促进伤口愈合。EGCG 通过其强大的抗氧化特性，能够有效减缓糖尿病患者因 ROS 过量导致的伤口愈合延迟。为提高 EGCG 的稳定性和治疗效果，研究者通过与羧甲基壳聚糖（CMCS）的复合，以及 2-甲酰苯硼酸（2-FPBA）交联构建了自修复的动态水凝胶网络。此外，PDA-PUE 纳米微球的加入提高了水凝胶的靶向传递效果和光热效应，进一步增强了其抗菌效果。实验结果表明，PDA-PUE@EC 水凝胶在

杀菌方面表现优异，并显著促进糖尿病患者的伤口愈合。生物安全性评估也确认了该水凝胶的安全性与无毒性。因此，本研究为糖尿病患者伤口愈合提供了一个新的、潜在的治疗策略。

在未来的研究和临床应用中，这些创新的水凝胶系统将为抗生素耐药细菌感染和糖尿病伤口愈合提供新的解决方案。随着抗生素耐药性细菌问题的日益严峻，开发新型、多功能的抗菌治疗材料显得尤为重要。本研究中的 pH 响应、携氧水凝胶结合了光热治疗（PTT）和光动力治疗（PDT），利用光热效应和增强的光动力作用有效抑制细菌生长，并具有强大的生物膜破坏能力，展示了其在抗菌治疗中的巨大潜力。未来，可以进一步优化这些水凝胶系统的设计，增加其稳定性和靶向性，使其能够更高效地抵抗耐药性细菌，并减少对正常细胞的毒性。同时，结合现代纳米技术和靶向药物释放机制，可能使这些水凝胶更加精准地作用于感染部位，提升治疗效果。

另一方面，针对糖尿病患者伤口愈合过程中活性氧（ROS）过量的问题，采用天然多酚 EGCG 作为活性氧清除剂，结合自修复的水凝胶网络，有望为糖尿病患者提供新的治疗策略。活性氧在伤口愈合中的复杂作用需要精确调控，EGCG 的抗氧化特性能够有效减轻过量活性氧带来的损伤，促进伤口愈合。结合光热效应的 PDA-PUE@EC 水凝胶，不仅能够清除多余的 ROS，还能通过光热治疗进一步增强杀菌作用。未来，这些复合水凝胶系统可以进一步提升其稳定性、可控性以及临床中的应用效果。同时，随着对糖尿病伤口愈合机制理解的深入，这些材料可能会与其他治疗手段，如干细胞治疗或生长因子疗法相结合，提供更加综合和高效的治疗方案。

本研究的创新材料为抗菌治疗和伤口愈合提供了新的思路，未来随着技术的发展和临床验证，它们有望成为临床上解决细菌感染、伤口愈合等问题的重要工具。

参考文献

- [1] 龚晓玲,朱小妹,余志勇,等.慢性伤口细菌生物膜研究进展[J].实用临床医药杂志,2024,28(21):142-148.
- [2] 毛燕青,付婷,王娟,等.老年多重耐药菌感染肺炎患者 mir-127-5p、Mir-127、Mir-155 表达水平及其与免疫相关细胞因子的相关性[J].实用医学杂志,2025,41(03):385-390.
- [3] 张艳茹,杨豆豆,赵冠杰,等.中药治疗耐药菌的作用机制研究进展[J].中国资源综合利用,2025,43(01):98-103.
- [4] 黄美佳,李少轩,张鸿娟.治疗多重耐药菌感染的非抗生素疗法研究进展[J].检验医学与临床, 2025,22(04):563-567+572.
- [5] Jin W, Song P, Wu Y, Etc. Biofilm Microenvironment-Mediated Mos2 Nanoplatfrom With Its Photothermal/Photodynamic Synergistic Antibacterial Molecular Mechanism And Wound Healing Study[J]. Acs Biomaterials Science & Engineering, 2022, 8(10): 4274-4288.
- [6] Ruiz-Ramos J, Gras-Martín L, Ramírez P. Antimicrobial Pharmacokinetics And Pharmacodynamics In Critical Care: Adjusting The Dose In Extracorporeal Circulation And To Prevent The Genesis Of Multiresistant Bacteria[J]. Antibiotics, 20vb 23, 12(3): 475.
- [7] Zhao Y, Liu Y, Liao R, Etc. Biofilm Microenvironment-Sensitive Piezoelectric Nanomotors For Enhanced Penetration And Ros/No Synergistic Bacterial Elimination[J]. Acs Applied Materials & Interfaces, 2024, 16(3): 3147-3161.
- [8] Roy R, Tiwari M, Donelli G, Etc. Strategies For Combating Bacterial Biofilms: A Focus On Anti-Biofilm Agents And Their Mechanisms Of Action[J]. Virulence, 2018, 9(1): 522-554.
- [9] Yan J, Bassler B L. Surviving As A Community: Antibiotic Tolerance And Persistence In Bacterial Biofilms[J]. Cell Host & Microbe, 2019, 26(1): 15-21.
- [10] Karygianni L, Ren Z, Koo H, Etc. Biofilm Matrixome: Extracellular Components In Structured Microbial Communities[J]. Trends In Microbiology, 2020, 28(8): 668-681.
- [11] 丁梦.刺激响应型细菌生物膜清除体系的构建及性能研究[D].中国科学技术大学,2023.Doi:10.27517/D.Cnki.Gzku.2023.002296.
- [12] Huang Y, Mu L, Zhao X, Etc. Bacterial Growth-Induced Tobramycin Smart Release Self-Healing Hydrogel For *Pseudomonas Aeruginosa* -Infected Burn Wound Healing[J]. Acs Nano, 2022, 16(8): 13022-13036.
- [13] Jeong G J, Khan F, Tabassum N, Etc. Bacterial Extracellular Vesicles: Modulation Of Biofilm And Virulence Properties[J]. Acta Biomaterialia, 2024, 178: 13-23.
- [14] Wang W, Gao Y, Xu W, Etc. The One - Stop Integrated Nanoagent Based On Photothermal Therapy For Deep Infection Healing And Inflammation Inhibition[J]. Advanced Materials, 2024, 36(3): 2307785.
- [15] Miao L, Xu Z, Sui J, Etc. A New Nanoplatfrom Under Nir Released Ros Enhanced Photodynamic Therapy And Low Temperature Photothermal Therapy

- For Antibacterial And Wound Repair[J]. International Journal Of Nanomedicine, 2024, Volume 19: 7509-7527.
- [16] Hao S, Han H, Yang Z, Etc. Recent Advancements On Photothermal Conversion And Antibacterial Applications Over Mxenes-Based Materials[J]. Nano-Micro Letters, 2022, 14(1): 178.
- [17] Mei L, Zhang Y, Wang K, Etc. Nanomaterials At The Forefront Of Antimicrobial Therapy By Photodynamic And Photothermal Strategies[J]. Materials Today Bio, 2024, 29: 101354.
- [18] Wang H, Bi D, Yu B, Etc. Photonic Hydrogels Combining The Slow Photon Effect And No Gas Therapy For Synergetic Enhanced Photodynamic Antibacterial Therapy[J]. Journal Of Colloid And Interface Science, 2025, 682: 1185-1194.
- [19] Chen L, Wang Y, Huang X, Etc. Maltodextrin-Driven Mof Nano-Antibacterial System For Effective Targeted Bacteria And Enhancing Photodynamic Therapy In Bacterial Keratitis[J]. Journal Of Controlled Release, 2025, 380: 1164-1183.
- [20] Yin X, Lai Y, Zhang X, Etc. Targeted Sonodynamic Therapy Platform For Holistic Integrative *Helicobacter Pylori* Therapy[J]. Advanced Science, 2025, 12(2): 2408583.
- [21] Yang F, Lv J, Ma W, Etc. Engineering Sonosensitizer - Derived Nanotheranostics For Augmented Sonodynamic Therapy[J]. Small, 2024, 20(44): 2402669.
- [22] Zhou X, Dong L, Zhao B, Etc. A Photoactivatable And Phenylboronic Acid-Functionalized Nanoassembly For Combating Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria And Their Biofilms[J]. Burns & Trauma, 2023, 11: Tkad041.
- [23] Ye L, He X, Obeng E, Etc. The Cuo And Ago Co-Modified Zno Nanocomposites For Promoting Wound Healing In Staphylococcus Aureus Infection[J]. Materials Today Bio, 2023, 18: 100552.
- [24] Yan R, Zhan M, Xu J, Etc. Functional Nanomaterials As Photosensitizers Or Delivery Systems For Antibacterial Photodynamic Therapy[J]. Biomaterials Advances, 2024, 159: 213820.
- [25] Wang Z, Gong X, Li J, Etc. Oxygen-Delivering Polyfluorocarbon Nanovehicles Improve Tumor Oxygenation And Potentiate Photodynamic-Mediated Antitumor Immunity[J]. Acs Nano, 2021, 15(3): 5405-5419.
- [26] Wang R, Liu Q, Gao A, Etc. Recent Developments Of Sonodynamic Therapy In Antibacterial Application[J]. Nanoscale, 2022, 14(36): 12999-13017.
- [27] Wang T, Zhao J, Chen M, Etc. On-Demand Celastrol Delivery By Hyaluronic Acid-Porphyrinic Metal-Organic Frameworks For Synergistic Sonodynamic/Pharmacological Antibacterial Therapy[J]. International Journal Of Biological Macromolecules, 2025, 302: 140421.
- [28] Zhang L, Hu C, Sun M, Etc. Bodipy - Functionalized Natural Polymer Coatings For Multimodal Therapy Of Drug - Resistant Bacterial Infection[J]. Advanced Science, 2023, 10(14): 2300328.
- [29] Liu X, Howell S T, Conde - Rubio A, Etc. Thermomechanical Nanocutting Of 2d Materials[J]. Advanced Materials, 2020, 32(31): 2001232.

- [30] Jiang B, Lai Y, Xiao W, Etc. Microbial Extracellular Vesicles Contribute To Antimicrobial Resistance[J]. *Plos Pathogens*, 2024, 20(5): E1012143.
- [31] Ho C S, Wong C T H, Aung T T, Etc. Antimicrobial Resistance: A Concise Update[J]. *The Lancet Microbe*, 2025, 6(1): 100947.
- [32] Shafiq M, Obinwanne Okoye C, Nazar M, Etc. Ecological Consequences Of Antimicrobial Residues And Bioactive Chemicals On Antimicrobial Resistance In Agroecosystems[J]. *Journal Of Advanced Research*, 2024: S2090123224004673.
- [33] McGillin M, Tokman J I, Hsu E, Etc. Assessment Of Resistance To Colicinogenic Synthetic Phage Antimicrobial System[J]. *Microbiology Spectrum*, 2024, 12(11): E00793-24.
- [34] Yao C, Wu Q, Zhao Y, Etc. Engineered Au@Mofs Silk Fibroin-Based Hydrogel Phototherapy Platform For Enhanced Wound Healing Performance[J]. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 2025, 297: 139872.
- [35] Zhu J, Zhang M, Qiu R, Etc. Hagfish-Inspired Hydrogel For Root Caries: A Multifunctional Approach Including Immediate Protection, Antimicrobial Phototherapy, And Remineralization[J]. *Acta Biomaterialia*, 2024, 188: 117-137.
- [36] Uberoi A, Mccready-Vangi A, Grice E A. The Wound Microbiota: Microbial Mechanisms Of Impaired Wound Healing And Infection[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2024, 22(8): 507-521.
- [37] Huang K, Liu W, Wei W, Etc. Photothermal Hydrogel Encapsulating Intelligently Bacteria-Capturing Bio-Mof For Infectious Wound Healing[J]. *Acs Nano*, 2022, 16(11): 19491-19508.
- [38] Freedman B R, Hwang C, Talbot S, Etc. Breakthrough Treatments For Accelerated Wound Healing[J]. *Science Advances*, 2023, 9(20): Eade7007.
- [39] Dang B, Gao Q, Zhang L, Etc. The Glycolysis/Hif-1 α Axis Defines The Inflammatory Role Of Il-4-Primed Macrophages[J]. *Cell Reports*, 2023, 42(5): 112471.
- [40] Minutti C M, Modak R V, Macdonald F, Etc. A Macrophage-Pericyte Axis Directs Tissue Restoration Via Amphiregulin-Induced Transforming Growth Factor Beta Activation[J]. *Immunity*, 2019, 50(3): 645-654.E6.
- [41] Guan Y, Niu H, Liu Z, Etc. Sustained Oxygenation Accelerates Diabetic Wound Healing By Promoting Epithelialization And Angiogenesis And Decreasing Inflammation[J]. *Science Advances*, 2021, 7(35): Eabj0153.
- [42] Yu D M, Zhao J, Lee E E, Etc. Glut3 Promotes Macrophage Signaling And Function Via Ras-Mediated Endocytosis In Atopic Dermatitis And Wound Healing[J]. *Journal Of Clinical Investigation*, 2023, 133(21): E170706.
- [43] Justynski O, Bridges K, Krause W, Etc. Apoptosis Recognition Receptors Regulate Skin Tissue Repair In Mice[J]. *Elife*, 2023, 12: E86269.
- [44] Zhao Y, Liu Y, Liao R, Etc. Biofilm Microenvironment-Sensitive Piezoelectric Nanomotors For Enhanced Penetration And Ros/No Synergistic Bacterial Elimination[J]. *Acs Applied Materials & Interfaces*, 2024, 16(3): 3147-3161.
- [45] Finbloom J A, Raghavan P, Kwon M, Etc. Codelivery Of Synergistic Antimicrobials With Polyelectrolyte Nanocomplexes To Treat Bacterial Biofilms

- And Lung Infections[J]. Science Advances.
- [46] Runtzsch M C, O'Neill L A J. Pseudomonas Persists By Feeding Off Itaconate[J]. Cell Metabolism, 2020, 31(6): 1045-1047.
- [47] Lichtenberg M, Kragh K N, Fritz B, Etc. Cyclic-Di-Gmp Signaling Controls Metabolic Activity In Pseudomonas Aeruginosa[J]. Cell Reports, 2022, 41(3): 111515.
- [48] Coenye T. Biofilm Antimicrobial Susceptibility Testing: Where Are We And Where Could We Be Going?[J]. Clinical Microbiology Reviews, 2023, 36(4): E00024-23.
- [49] Skaar E P. Imaging Infection Across Scales Of Size: From Whole Animals To Single Molecules[J]. Annual Review Of Microbiology, 2021, 75(1): 407-426.
- [50] Francis V I, Porter S L. Multikinase Networks: Two-Component Signaling Networks Integrating Multiple Stimuli[J]. Annual Review Of Microbiology, 2019, 73(1): 199-223.
- [51] Mukherjee S, Bassler B L. Bacterial Quorum Sensing In Complex And Dynamically Changing Environments[J]. Nature Reviews Microbiology, 2019, 17(6): 371-382.
- [52] The Role Of P53 In Regulating Chronic Inflammation And Panoptosis In Diabetic Wounds[J/OI].2024[2025-03-05]. Ad.2024.0212.
- [53] Cheng L. A Microenvironment-Modulating Dressing With Proliferative Degradants For The Healing Of Diabetic Wounds[J].
- [54] Zhao Y, Zhao Y, Xu B, Etc. Microenvironmental Dynamics Of Diabetic Wounds And Insights For Hydrogel-Based Therapeutics[J]. Journal Of Tissue Engineering, 2024, 15: 20417314241253290.
- [55] White E K, Uberoi A, Pan J T C, Etc. *Alcaligenes Faecalis* Corrects Aberrant Matrix Metalloproteinase Expression To Promote Reepithelialization Of Diabetic Wounds[J]. Science Advances, 2024, 10(26): Eadj2020.
- [56] Skaar E P. Imaging Infection Across Scales Of Size: From Whole Animals To Single Molecules[J]. Annual Review Of Microbiology, 2021, 75(1): 407-426.
- [57] Francis V I, Porter S L. Multikinase Networks: Two-Component Signaling Networks Integrating Multiple Stimuli[J]. Annual Review Of Microbiology, 2019, 73(1): 199-223.
- [58] Cox C D, Bavi N, Martinac B. Bacterial Mechanosensors[J]. Annual Review Of Physiology, 2018, 80(1): 71-93.
- [59] Vishwakarma A, Dang F, Ferrell A, Etc. Peptidomimetic Polyurethanes Inhibit Bacterial Biofilm Formation And Disrupt Surface Established Biofilms[J]. Journal Of The American Chemical Society, 2021, 143(25): 9440-9449.
- [60] Yan J, Bassler B L. Surviving As A Community: Antibiotic Tolerance And Persistence In Bacterial Biofilms[J]. Cell Host & Microbe, 2019, 26(1): 15-21.
- [61] Xie Y Y, Zhang Y W, Liu X Z, Etc. Aggregation-Induced Emission-Active Amino Acid/Berberine Hydrogels With Enhanced Photodynamic Antibacterial And Anti-Biofilm Activity[J]. Chemical Engineering Journal, 2021, 413: 127542.
- [62] Xu Y, Jiang J, Lv X, Etc. Environment-Triggered Nanoagent With Programmed Gas Release Performance For Accelerating Diabetic Infected Wound Healing[J].

- Chemical Engineering Journal, 2024, 479: 147645.
- [63] Wang Y, Zhang D, Sun Y, Etc. Precise Localization And Simultaneous Bacterial Eradication Of Biofilms Based On Nanocontainers With Successive Responsive Property Toward Ph And Atp[J]. *Acs Applied Materials & Interfaces*, 2023, 15(6): 8424-8435.
 - [64] Jin W, Song P, Wu Y, Etc. Biofilm Microenvironment-Mediated Mos₂ Nanoplatfrom With Its Photothermal/Photodynamic Synergistic Antibacterial Molecular Mechanism And Wound Healing Study[J]. *Acs Biomaterials Science & Engineering*, 2022, 8(10): 4274-4288.
 - [65] Wang L, Gao F, Wang A, Etc. Defect - Rich Adhesive Molybdenum Disulfide/Rgo Vertical Heterostructures With Enhanced Nanozyme Activity For Smart Bacterial Killing Application[J]. *Advanced Materials*, 2020, 32(48): 2005423.
 - [66] Yu R, Chen H, He J, Etc. Engineering Antimicrobial Metal–Phenolic Network Nanoparticles With High Biocompatibility For Wound Healing[J]. *Advanced Materials*, 2024, 36(6): 2307680.
 - [67] Yang Y, Burkhard P. Encapsulation Of Gold Nanoparticles Into Self-Assembling Protein Nanoparticles[J]. *Journal Of Nanobiotechnology*, 2012, 10(1): 42.
 - [68] Xu X, An H, Zhang D, Etc. A Self-Illuminating Nanoparticle For Inflammation Imaging And Cancer Therapy[J]. *Science Advances*, 2019, 5(1): Ea2953.
 - [69] Piksa M, Lian C, Samuel I C, Etc. The Role Of The Light Source In Antimicrobial Photodynamic Therapy[J]. *Chemical Society Reviews*, 2023, 52(5): 1697-1722.
 - [70] Xia F, Guo B, Zhao Y, Etc. Type I Photosensitizer Targeting Glycans: Overcoming Biofilm Resistance By Inhibiting The Two - Component System, Quorum Sensing, And Multidrug Efflux[J]. *Advanced Materials*, 2023, 35(52): 2309797.
 - [71] Liang Y, Wang W, Qi K, Etc. Exudate Unidirectional Pump To Promote Glucose Catabolism Triggering Fenton - Like Reaction For Chronic Diabetic Wounds Therapy[J]. *Advanced Science*, 2024, 11(38): 2404652.
 - [72] Chen X, Wu J, Zhang T, Etc. Multifunctional Coaxial Gelatin/Polylactic Acid Three-Dimensional Nanofibrous Scaffolds For Diabetic Wounds[J]. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 2025: 141525.
 - [73] Merrill N J, Davidson W S, He Y, Etc. Human Cerebrospinal Fluid Contains Diverse Lipoprotein Subspecies Enriched In Proteins Implicated In Central Nervous System Health[J]. *Science Advances*, 2023, 9(35): Eadi5571.
 - [74] Kalan L R, Meisel J S, Loesche M A, Etc. Strain- And Species-Level Variation In The Microbiome Of Diabetic Wounds Is Associated With Clinical Outcomes And Therapeutic Efficacy[J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 25(5): 641-655.E5.
 - [75] Chen C Y, Yin H, Chen X, Etc. Ångstrom-Scale Silver Particle–Embedded Carbomer Gel Promotes Wound Healing By Inhibiting Bacterial Colonization And Inflammation[J]. *Science Advances*, 2020, 6(43): Eaba0942.
 - [76] Khalil A S, Yu X, Umhoefer J M, Etc. Single-Dose Mrna Therapy Via Biomaterial-Mediated Sequestration Of Overexpressed Proteins[J]. *Science*

- Advances, 2020, 6(27): Eaba2422.
- [77] Deng Y, Gao Y, Li T, Etc. Amorphizing Metal Selenides-Based Ros Biocatalysts At Surface Nanolayer Toward Ultrafast Inflammatory Diabetic Wound Healing[J]. *Acs Nano*, 2023, 17(3): 2943-2957.
- [78] Keogh R A, Haeberle A L, Langouët-Astrié C J, Etc. Group B Streptococcus Adaptation Promotes Survival In A Hyperinflammatory Diabetic Wound Environment[J]. *Science Advances*, 2022.
- [79] Derakhshandeh H, Aghabaglou F, Mccarthy A, Etc. A Wirelessly Controlled Smart Bandage With 3d - Printed Miniaturized Needle Arrays[J]. *Advanced Functional Materials*, 2020, 30(13): 1905544.
- [80] Kim Y M, Youn S W, Sudhahar V, Etc. Redox Regulation Of Mitochondrial Fission Protein Drp1 By Protein Disulfide Isomerase Limits Endothelial Senescence[J]. *Cell Reports*, 2018, 23(12): 3565-3578.
- [81] Santema K T B, Stoekenbroek R M, Koelemay M J W, Etc. Hyperbaric Oxygen Therapy In The Treatment Of Ischemic Lower- Extremity Ulcers In Patients With Diabetes: Results Of The Damocles Multicenter Randomized Clinical Trial[J]. *Diabetes Care*, 2018, 41(1): 112-119.
- [82] Zhao F, Su Y, Wang J, Etc. A Highly Efficacious Electrical Biofilm Treatment System For Combating Chronic Wound Bacterial Infections[J]. *Advanced Materials*, 2023, 35(6): 2208069.
- [83] Féron F, De Ponfilly G P, Potier L, Etc. Reliability And Safety Of Bedside Blind Bone Biopsy Performed By A Diabetologist For The Diagnosis And Treatment Of Diabetic Foot Osteomyelitis[J]. *Diabetes Care*, 2021, 44(11): 2480-2486.
- [84] Knipper J A, Ding X, Eming S A. Diabetes Impedes The Epigenetic Switch Of Macrophages Into Repair Mode[J]. *Immunity*, 2019, 51(2): 199-201.
- [85] Verma M, Nisha A, Bathla M, Etc. Resveratrol-Encapsulated Glutathione-Modified Robust Mesoporous Silica Nanoparticles As An Antibacterial And Antibiofilm Coating Agent For Medical Devices[J]. *Acs Applied Materials & Interfaces*, 2023, 15(50): 58212-58229.
- [86] Yang K, Zhou X, Li Z, Etc. Ultrastretchable, Self-Healable, And Tissue-Adhesive Hydrogel Dressings Involving Nanoscale Tannic Acid/Ferric Ion Complexes For Combating Bacterial Infection And Promoting Wound Healing[J]. *Acs Applied Materials & Interfaces*, 2022, 14(38): 43010-43025.
- [87] Song J, Chen H, Lv Y, Etc. Cu₂O-Assisting-Zn Single Atom Hybrid Nanozymes For Biofilm-Infected Wound Healing[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 474: 145706.
- [88] Zhang Y, Fu H, Liu D E, Etc. Construction Of Biocompatible Bovine Serum Albumin Nanoparticles Composed Of Nano Graphene Oxide And Aiegen For Dual-Mode Phototherapy Bacteriostatic And Bacterial Tracking[J]. *Journal Of Nanobiotechnology*, 2019, 17(1): 104.
- [89] Mei L, Zhang Y, Wang K, Etc. Nanomaterials At The Forefront Of Antimicrobial Therapy By Photodynamic And Photothermal Strategies[J]. *Materials Today Bio*, 2024, 29: 101354.
- [90] Ahmad A, Sabir A, Iqbal S S, Etc. Novel Antibacterial Polyurethane And

- Cellulose Acetate Mixed Matrix Membrane Modified With Functionalized Tio₂ Nanoparticles For Water Treatment Applications[J]. *Chemosphere*, 2022, 301: 134711.
- [91] Liu X, Xu W, Feng J, Etc. Adoptive Cell Transfer Of Piezo-Activated Macrophage Rescues Immunosuppressed Rodents From Life-Threatening Bacterial Infections[J]. *Nature Communications*, 2025, 16(1): 1363.
- [92] Chen H, Wu L, Wang T, Etc. Ptt/ Pdt-Induced Microbial Apoptosis And Wound Healing Depend On Immune Activation And Macrophage Phenotype Transformation[J]. *Acta Biomaterialia*, 2023, 167: 489-505.
- [93] Shi Z, Zhang K, Zada S, Etc. Upconversion Nanoparticle-Induced Multimode Photodynamic Therapy Based On A Metal–Organic Framework/Titanium Dioxide Nanocomposite[J]. *Acs Applied Materials & Interfaces*, 2020, 12(11): 12600-12608.
- [94] Wei G, Xiao T, Xi Y, Etc. A Macrophage-Like Biomimetic Nanoparticle With High-Efficiency Biofilm Disruption And Innate Immunity Activation For Implant-Related Infection Therapy[J]. *Materials Today Bio*, 2025, 31: 101575.
- [95] Zou H, Wang P, Bai Z, Etc. An Aggregation-Induced Emission-Active Lysosome Hijacker: Sabotaging Lysosomes To Boost Photodynamic Therapy Efficacy And Conquer Tumor Therapeutic Resistance[J]. *Materials Today Bio*, 2025, 31: 101564.
- [96] Chen X, Xu J, Qin F, Etc. An Immunoregulation Plga/Chitosan Aligned Nanofibers With Polydopamine Coupling Basic Fibroblast Growth Factor And Ros Scavenging For Peripheral Nerve Regeneration[J]. *Materials Today Bio*, 2025, 31: 101543.
- [97] Ou X, Yu Z, Zheng X, Etc. An Mxene Nanocomposite Hydrogel For Enhanced Diabetic Infected Wound Healing Via Photothermal Antibacterial Properties And Bioactive Molecule Integration[J]. *Materials Today Bio*, 2025, 31: 101538.
- [98] Chen L, Li Y, Zhang X, Etc. A One-Two Punch Of Inflammation And Oxidative Stress Promotes Revascularization For Diabetic Foot Ulcers[J]. *Materials Today Bio*, 2025, 31: 101548.
- [99] Liu Y, Mao J, Guo Z, Etc. Polyvinyl Alcohol/Carboxymethyl Chitosan Hydrogel Loaded With Silver Nanoparticles Exhibited Antibacterial And Self-Healing Properties[J]. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 2022, 220: 211-222.
- [100] Su X, Luo Y, Wang Y, Etc. A Select Inhibitor Of Morc2 Encapsulated By Chimeric Membranecoated Dna Nanocage Target Alleviation Tnbc Progression[J]. *Materials Today Bio*, 2025, 31: 101497.
- [101] Ni C, Li X, Jiang H, Etc. A Targeted And Synergetic Nano-Delivery System Against Pseudomonas Aeruginosa Infection For Promoting Wound Healing[J]. *Materials Today Bio*, 2025, 31: 101470.
- [102] Kainz M P, Polz M, Ziesel D, Etc. Biointegration Of Soft Tissue-Inspired Hydrogels On The Chorioallantoic Membrane: An Experimental Characterization[J]. *Materials Today Bio*, 2025, 31: 101508.
- [103] Tan S, Wang Q, Feng C, Etc. Biomimetic Mineralized Dcpa/ Anti-Cd47

- Containing Thermo-Sensitive Injectable Hydrogel For Bone-Metastatic Prostate Cancer Treatment[J]. *Materials Today Bio*, 2025, 31: 101573.
- [104] Lee S J, Wu Z, Huang M, Etc. Crosslinker-Free In Situ Hydrogel Induces Self-Aggregation Of Human Dental Pulp Stem Cells With Enhanced Antibacterial Activity[J]. *Materials Today Bio*, 2025, 31: 101451.
- [105] Du L, Zhang X, Huang L, Etc. Dual-Action Flavonol Carbonized Polymer Dots Spray: Accelerating Burn Wound Recovery Through Immune Responses Modulation And Emt Induction[J]. *Materials Today Bio*, 2025, 31: 101572.
- [106] Li Q, Song H, Li S, Etc. Macrophage Metabolism Reprogramming Egcg-Cu Coordination Capsules Delivered In Polyzwitterionic Hydrogel For Burn Wound Healing And Regeneration[J]. *Bioactive Materials*, 2023, 29: 251-264.
- [107] Peixoto D, Ravasco J M, Blanco-Fernandez B, Etc. Enzyme-Responsive Vitamin D-Based Micelles For Paclitaxel-Controlled Delivery And Synergistic Pancreatic Cancer Therapy[J]. *Materials Today Bio*, 2025, 31: 101555.
- [108] Xian D, Luo R, Lin Q, Etc. Epsilon-Polylysine Microneedle Potentiating Mxene-Mediated Photothermal Ablation For Combating Antibiotic-Resistant Bacterial Infections[J]. *Materials Today Bio*, 2025, 31: 101498.
- [109] Tu Y, Zheng W, Ding Z, Etc. Exosome-Loaded Tannic Acid–Thioctic Acid Hydrogel Enhances Wound Healing In Coagulation Disorders[J]. *Materials Today Bio*, 2025, 31: 101496.

攻读硕士学位期间学术论文发表情况

1. “Establishment Of Bone-Targeted Nano-Platform And The Study Of Its Combination With 2-Deoxy-D-Glucose Enhanced Photodynamic Therapy To Inhibit Bone Metastasis.” *Journal Of The Mechanical Behavior Of Biomedical Materials*.

<https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2023.106306>. (导师第一，本人第二作者)

致谢

在本论文的撰写过程中，我得到了许多老师、同学、朋友以及家人的关心和帮助，在此我想对所有在我研究生阶段给予我支持和鼓励的人表达我最真挚的感谢。

首先，我要衷心感谢张伟伟老师和李婉珍老师。他们在实验设计、论文写作以及科研思路方面给予了我极大的帮助。在研究过程中，他们不仅从学术上给我提供了指导，更在我迷茫时给予了耐心的指点，在实验写作方面也给我提供了宝贵的建议，尤其是在数据分析和论文框架构建上，两位老师的严谨学术态度和不懈追求精神深深感染了我，我将铭记在心，继续在科研道路上不断努力。

在实验方面，我要特别感谢金伟豪师兄和徐光林师兄。他们在实验操作方面给了我很多帮助，尤其是实验的细节处理和数据采集技巧，使我能够顺利完成实验，在实验过程中，他们耐心解答我的问题，帮助我解决了许多技术性难题。两位师兄不仅在技术上给予了我很多帮助，也在精神上给予了我很多鼓励，帮助我不断提高自己。同时，我还要感谢我的同级沈孝阔和杨健平同学。他们在整个实验过程中，尤其是在资料整理和文献阅读方面提供了许多宝贵的意见。他严谨的态度和扎实的专业知识让我深感钦佩，在我实验进展缓慢时，他们给予了我很多鼓励，分享了他们的一些经验，帮助我调整了研究思路。在整个研究过程中，他们的帮助和支持让我倍感温暖，也增强了我前进的信心。

在此，我还要特别感谢我的父母。感谢你们在我求学路上始终如一的支持与鼓励，给我提供了一个温暖的家。你们的关心和理解让我无论面对什么困难都能从容应对。在我每次感到迷茫或疲惫时，你们的鼓励总是让我找回了前进的动力。

在研究生阶段的学习和生活中，我深知每一项成就的取得都离不开他人的支持与帮助。感谢所有曾经给予我帮助的老师、师兄、同学和朋友，是你们的关心和支持让我在科研的道路上不断前行，再次感谢所有关心和帮助过我的人，感谢你们的陪伴与支持！