

分类号: Q81

单位代码: 10363

密 级: 公开

学 号: 2220520125

二硫化钼温敏水凝胶体系联合光热/光动力
抑菌活性及机制研究

Study on the Combined Photothermal/Photodynamic
Antibacterial Activity and Mechanisms of a Molybdenum
Disulfide-Based Temperature-Sensitive Hydrogel System

论 文 作 者	沈孝阔
校 内 导 师	张伟伟（副教授）
校 外 导 师	储利民
专 业 学 位 类 别	生物与医药
研究方向（领域）	生物载体材料

论文答辩日期: 2025年5月15日

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。除文中已明确注明和引用的内容外，本论文不包含任何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。

学位论文作者

签名：

日期：2025年5月15日

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 ____年解密后适用本版权书。

本学位论文属于

不保密 ☐。

学位论文作者签名：

指导教师签名：



日期： 2025年 5月 18日

日期： 2025年 5月 18日

二硫化钼温敏水凝胶体系联合光热/光动力抑菌活性 及促伤口愈合研究

摘 要

耐药细菌是全球人类健康的威胁。大多数耐药菌感染都与细菌生物被膜的形成有关，生物被膜可以防止抗生素等药物的渗透，避免宿主免疫系统的攻击。伤口被耐药菌感染后，易形成生物膜导致传统抗生素的治疗效果不理想。近年来，光热疗法(PTT)和光动力疗法(PDT)治疗手段迅速发展，尤其是多种手段联合治疗的方法成为热点。本研究针对生物膜微环境的特点（乏氧、低pH），设计构建自供氧过氧化钙纳米体系，逆转生物膜微环境乏氧特性，明确PDT/PTT联合抑制耐药菌活性并阐明其抑菌机制，探究该纳米体系促伤口愈合能力。该类型纳米体系的设计为实现新型可替代抗生素的光疗纳米药物临床应用做出一定理论基础。

(1) 本研究利用二硫化钼(MoS_2)纳米花、光敏剂氯-e6(Ce6)、自生氧纳米过氧化钙(CaO_2)和MOF材料(ZIF-8)构建了自生氧多功能纳米体系 $\text{MoS}_2\text{-Ce6-CaO}_2\text{@ZIF-8}$ (MCC@ZIF-8)。根据光热和光动力检测实验结果表明该纳米体系在近红外(808 nm)和可见光(660 nm)光谱区域表现出光热和光动力性质。表征实验结果表明，该纳米体系为六面体，Zeta电位为 $+38\pm1.1$ mV，粒径约为310 nm，在近红外 1.0 W/cm^2 条件照射下光热转换效率为47%。通过体外抑菌实验表明，该纳米体系对耐多药大肠杆菌(MDR *E. coli*)和耐多药金黄色葡萄球菌(MDR *S. aureus*)显示出>95%的抗菌效果。通过转录组学

结果分析得出该纳米材料通过抑制细菌碱基切除修复、酪氨酸代谢、谷胱甘肽代谢等基因的表达，从而实现有效抑菌。为了增强材料的促伤口愈合能力，将MCC@ZIF-8纳米材料制备成MCC@ZIF-8@BBR/CS/ β -GP（MCC@ZIF-8@BC β ）水凝胶。通过动物伤口愈合模型结果表明，MCC@ZIF-8@BC β 水凝胶可有效促进感染小鼠创面愈合。

（2） 为了降低MoS₂纳米花的光热触发条件，提高光热效率，进一步优化纳米体系。本文将MoS₂与ZnO纳米颗粒结合，将单宁酸（TA）和单硬脂酸三酯（TM）自组装形成水凝胶对MoS₂-ZnO进行包裹，得到MoS₂-ZnO@TM/TA温敏水凝胶。研究表明，MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶在低功率近红外照射条件（0.8 W/cm²）下具有良好的光热性能；通过对MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶的温敏性试验、粘度测试、力学性能以及结构特征测试，结果表明水凝胶具有良好的温敏性能以及粘度性能，且水凝胶可有效避免光热引起的组织局部过热问题。体外抑菌实验结果表明该水凝胶对MDR *E. coli* 和MDR *S. aureus*的杀菌率均可达到95%以上；生物被膜消融试验表明水凝胶对上述两种耐药菌生物被膜清除率都达到了90%以上。通过转录组学结果分析得出明确该纳米材料通过抑制细菌小分子生物合成过程、氨基酸代谢过程、碳氧裂合酶活性等基因的表达，从而实现有效抑菌。通过动物伤口模型试验结果表明，该水凝胶体系可以有效促进耐药菌感染小鼠创面愈合。

综上所述，本研究开发了两种基于二硫化钼纳米花（MoS₂）的抗菌纳米体系。第一部分构建了自生氧多功能纳米材料MCC@ZIF-8（含MoS₂纳米花、Ce6、CaO₂及ZIF-8），其在近红外（808 nm）和可见光（660 nm）下表现出高效光热（转换效率47%）和光动力性能，对耐

药大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌率>95%。机理研究表明，其通过抑制细菌碱基切除修复、酪氨酸代谢等基因通路实现抗菌，并进一步封装为MCC@ZIF-8@BC β 水凝胶，显著促进感染小鼠创面愈合。第二部分优化设计出MoS₂-ZnO@TM/TA温敏水凝胶，通过引入ZnO并采用TA/TM包裹，在低功率近红外（0.8 W/cm₂）下即可实现高效光热效应，同时避免局部过热问题。该水凝胶对两种耐药菌的杀菌率>95%，生物被膜清除率>90%，其抗菌机制涉及抑制细菌氨基酸代谢及碳氧裂合酶活性相关基因表达。动物实验证实该体系能有效加速耐药菌感染伤口愈合。两体系均通过基因调控实现强效抗菌，并通过水凝胶剂型提升生物安全性及促愈能力，为耐药菌感染治疗提供了新策略。

关键词：光热疗法，光动力疗法，产氧纳米粒子，协同抗菌，清除生物膜，水凝胶

Study on the antibacterial performance and mechanism of molybdenum disulfide nanosystem thermo-sensitive hydrogel combined with photothermal/photodynamic therapy

ABSTRACT

Multidrug-resistant (MDR) bacterial infections pose a critical global health challenge, with over 80% of cases linked to biofilm formation—a protective barrier that impedes antibiotic penetration and immune clearance. To address the limitations of conventional therapies, we developed two innovative phototherapeutic nanoplateforms targeting biofilm microenvironment modulation.

In this study, molybdenum disulfide (MoS_2) nanoflowers, photosensitizer chloro-e6 (Ce6), autogenic oxygen nanocalcium oxide (CaO_2), and MOF material (ZIF-8) were used to construct MoS_2 -Ce6- CaO_2 @ZIF-8 (MCC@ZIF-8), an autogenic oxygen multifunctional nanosystem. This system exhibited photothermal and photodynamic antibacterial activities in the active near-infrared (808 nm) and visible (660 nm) regions of the spectrum. The experimental results indicated that the nanosystem was hexahedral, its zeta potential was $+38 \pm 1.1$ mV, particle size was approximately 310 nm, and photothermal conversion efficiency was 47%. In the experiment, this nanosystem showed >95% antibacterial effect against MDR *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Furthermore, it could inhibit the expressions of bacterial base excision repair, tyrosine metabolism, glutathione metabolism, and other genes. The hydrogel system MCC@ZIF-8@BBR/CS/ β -GP (MCC@ZIF-8@BC β) further promoted wound healing in infected mice. These findings confirm the significant antibacterial effect of the autogenic oxygen multifunctional

nanocomposite and lay the foundation for the practical application of this nanosystem in clinical practice.

To address the limitations of high-power photothermal activation in conventional nanosystems, we developed a MoS₂-ZnO@TM/TA thermosensitive hydrogel by integrating molybdenum disulfide-zinc oxide hybrids with tannic acid/tristearin (TM/TA) self-assembled networks. This innovative design aimed to reduce the photothermal triggering threshold while enhancing energy conversion efficiency. The resulting hydrogel exhibited robust photothermal performance under low-power near-infrared irradiation (0.8 W/cm²), achieving controlled heating without inducing localized tissue overheating—a critical advancement for clinical safety. Rheological and thermoresponsive characterization confirmed its stable viscosity and temperature-dependent sol-gel transition, ensuring structural integrity during application. In vitro evaluations demonstrated exceptional antimicrobial efficacy, with >95% elimination of multidrug-resistant *Escherichia coli* (MDR *E. coli*) and *Staphylococcus aureus* (MDR *S. aureus*), coupled with >90% clearance of mature biofilms. Transcriptomic profiling revealed that the hydrogel disrupted bacterial survival by suppressing genes associated with small molecule biosynthesis, amino acid processing, and carbon-oxygen lyase activity—mechanisms orthogonal to traditional antibiotic pathways. In a murine wound infection model, the hydrogel accelerated healing through dual functionality: eradicating pathogens while promoting tissue regeneration. Histological analysis showed significant collagen deposition (2.3-fold increase) and CD31⁺ neovascularization (3.1-fold elevation), alongside a 62-75% reduction in pro-inflammatory cytokines (IL-6, TNF- α). By synergizing low-power photothermal activation, biofilm microenvironment modulation, and inherent biocompatibility, this platform represents a paradigm shift in combating recalcitrant biofilm infections, offering a

translatable strategy that bridges efficacy and safety in post-antibiotic wound care.

In summary, this study developed two antibacterial nanosystems based on molybdenum disulfide nanoflowers (MoS_2). In the first part, a self-oxygenating multifunctional nanomaterial, MCC@ZIF-8 (composed of MoS_2 nanoflowers, Ce6, CaO_2 , and ZIF-8), was constructed. This system demonstrated efficient photothermal (47% conversion efficiency) and photodynamic properties under near-infrared (808 nm) and visible light (660 nm), achieving >95% inhibition rates against MDR *E. coli* and *S. aureus*. Mechanistic studies revealed that its antibacterial action involves suppressing bacterial gene pathways related to base excision repair, tyrosine metabolism, and glutathione metabolism. The material was further encapsulated into MCC@ZIF-8@BC β hydrogel, which significantly promoted the healing of infected wounds in mice. In the second part, an optimized MoS_2 -ZnO@TM/TA thermosensitive hydrogel was designed by integrating ZnO nanoparticles and encapsulating MoS_2 -ZnO with tannic acid (TA) and trimyristin (TM). This hydrogel achieved efficient photothermal effects under low-power near-infrared irradiation (0.8 W/cm²) while avoiding localized tissue overheating. It exhibited >95% bactericidal activity against the two drug-resistant strains and >90% biofilm eradication. Transcriptomic analysis indicated that its antibacterial mechanism involves inhibiting bacterial amino acid metabolism and genes associated with carbon-oxygen lyase activity. Animal experiments confirmed its efficacy in accelerating wound healing in drug-resistant bacterial infections.

Both systems achieve potent antibacterial effects through gene regulation and enhance biosafety and wound-healing capabilities via hydrogel formulations, offering novel strategies for treating drug-resistant bacterial infections.

KEY WORDS: Photothermal therapy, Photodynamic therapy, Oxyge

n-producing nanoparticles, Synergistic antibacterial, biofilm removal,
Hydrogel

目 录

摘 要	I
ABSTRACT	IV
第 1 章 绪论	1
1.1 引言	1
1.2 耐药性细菌感染	2
1.2.1 耐药性细菌感染产生原因	2
1.2.2 生物膜的形成及其微环境	3
1.3 耐药性细菌感染治疗策略	5
1.3.1 传统治疗耐药菌手段	5
1.3.2 光疗应用耐药菌感染	6
1.3.3 免疫治疗应用于耐药菌感染	11
1.3.4 联合治疗应用于耐药菌感染	12
1.4 水凝胶应用于伤口耐药菌感染	13
1.4.1 温敏水凝胶在耐药菌伤口感染中的应用	13
1.4.2 载药纳米体系水凝胶应用	14
1.5 课题设计意义及主要研究内容	15
1.5.1 课题设计意义	15
1.5.2 主要研究内容	15
第 2 章 自产氧纳米温敏水凝胶体系联合光热/光动力疗法抗菌及促进创面愈合的研究 ..	17
2.1 引言	17
2.2 实验试剂与仪器	18
2.2.1 实验试剂	18
2.2.2 实验仪器	19
2.3 实验方法	20
2.3.1 MoS ₂ -Ce6-CaO ₂ @ZIF-8 纳米材料制备及表征	20
2.3.2 MCC@ZIF-8 纳米材料光热性能评估	20
2.3.3 MCC@ZIF-8 纳米材料活性氧检测	21
2.3.4 MCC@ZIF-8 纳米材料细胞内光动力检测	21
2.3.5 体外抑菌活性研究	21

2.3.6 生物被膜模型及消融.....	22
2.3.7 MCC@ZIF-8纳米材料对细菌形态的影响.....	22
2.3.8 耐药金黄色葡萄球菌的转录组测序分析.....	22
2.3.9 动物伤口模型.....	23
2.3.10 生物安全性评估.....	23
2.4 实验结果与讨论.....	23
2.4.1 MCC@ZIF-8纳米材料和MCC@ZIF-8@BC β 水凝胶的表征结果分析.....	23
2.4.2 MCC@ZIF-8纳米材料的光热及光动力性能.....	26
2.4.3 体外抑菌结果分析.....	27
2.4.4 生物被膜模型及消融结果分析.....	31
2.4.5 MCC@ZIF-8纳米材料对细菌形态的影响.....	32
2.4.6 耐药金黄色葡萄球菌转录组分析.....	32
2.4.7 动物伤口模型.....	35
2.4.8 生物安全性评估.....	37
2.5 本章小结.....	38
第 3 章 负载二硫化钼温敏水凝胶光热联合单宁酸抗菌及促进创面愈合的研究.....	39
3.1 引言.....	39
3.2 实验试剂与仪器.....	39
3.2.1 实验试剂.....	39
3.2.2 实验仪器.....	40
3.3 实验方法.....	40
3.3.1 MoS ₂ -ZnO@TM/TA水凝胶的合成与表征.....	40
3.3.2 MoS ₂ -ZnO@TM/TA水凝胶的光热性能评估.....	41
3.3.3 MoS ₂ -ZnO@TM/TA水凝胶的粘度检测.....	41
3.3.4 体外抑菌活性研究.....	41
3.3.5 生物被膜模型及消融.....	41
3.3.6 动物伤口模型.....	41
3.3.7 生物安全性评估.....	41
3.4 结果与讨论.....	41
3.4.1 MoS ₂ -ZnO的表征结果分析.....	41
3.4.2 MoS ₂ -ZnO@TM/TA水凝胶的表征分析.....	42
3.4.3 MoS ₂ -ZnO@TM/TA水凝胶的光热性能分析.....	43
3.4.4 体外抑菌活性研究.....	44
3.4.5 生物被膜模型及消融结果分析.....	47
3.4.6 动物伤口模型结果分析.....	49

3.4.7 生物安全性评估 50

3.5 本章小结 51

结论与展望 52

 结论 52

 展望 53

参考文献 54

第 1 章 绪论

1.1 引言

多重耐药 (MDR) 细菌的全球蔓延^[1,2]已构成公共卫生与生态安全双重危机。在人类病原体中,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 不仅主导院内感染^[3-5],其获得性病例的激增更使皮肤、软组织感染及脓毒症等疾病的临床管理复杂化。革兰氏阴性菌的耐药形势尤为严峻:铜绿假单胞菌通过生物膜屏障与主动外排泵机制逃避抗生素杀伤,对碳青霉烯类及多粘菌素的敏感性持续下降^[6-8];鲍曼不动杆菌凭借环境耐受性在医疗设备表面长期存活,对 β -内酰胺类、氟喹诺酮类药物广泛耐药^[9-11];而肠杆菌属中携带 NDM-1、KPC 型碳青霉烯酶的菌株扩散,则直接削弱了碳青霉烯类药物的“最后防线”地位^[12, 13]。畜牧业与农业领域成为 MDR 演化的另一温床。集约化养殖中抗生素的过度使用加速了沙门氏菌、大肠杆菌等病原体耐药基因 (如 *mcr-1*) 的进化^[14-16],这些耐药基因通过食物链向人类传播,形成跨物种威胁。人畜共患病病原体的耐药性升级进一步加剧风险:禽类中流行的耐氟喹诺酮与第三代头孢菌素的沙门氏菌增加了食源性感染的临床治疗难度,而弯曲杆菌对大环内酯类抗生素的耐药率上升,则直接威胁胃肠炎患者的疗效与康复进程^[17-19]。

生物膜是由微生物群落及其自身合成的细胞外基质共同构成的复合生态系统^[20-22]。这种三维结构通过物理屏障效应显著降低抗生素渗透效率,并干扰药物在生物膜内部的均匀分布^[23,24]。与此同时,生物膜内部形成的营养物质与氧气扩散梯度诱导微生物呈现空间异质性代谢状态:表层活跃代谢的细胞对抗生素相对敏感,而深部代谢滞缓的细胞则发展为抗生素耐受性表型 (即持留菌),极大削弱抗菌药物疗效^[25,26]。更为复杂的是,生物膜微环境可通过水平基因转移 (如质粒接合)、耐药基因的群体感应调控以及应激响应通路激活等多重机制,促进细菌耐药性的演化与扩散^[27,28]。针对生物膜相关耐药机制的系统解析,将推动靶向生物膜微环境的创新疗法发展,例如开发基质降解酶抑制剂、群体感应干扰剂或持留菌激活剂等策略,为突破多药耐药菌感染防控瓶颈提供理论支撑^[29-31]。

基于纳米材料的光热疗法 (PTT)、光动力疗法 (PDT) 及声动力疗法 (SDT) 等新型抗菌技术,因其非侵入性、广谱杀菌效率及低耐药诱导风险,成为对抗多

药耐药菌感染的前沿研究方向^[32-34]。光热疗法（PTT）的核心机制依赖于光热剂（PTA）在特定光源（通常为 700-1400 nm 近红外光）激发下的高效光热转换能力^[35-37]。近红外光凭借深层组织穿透性，可激活分布于感染部位的 PTA，通过局部产生高温（42-48 °C）直接破坏细菌膜结构与蛋白质功能，同时瓦解生物膜的物理屏障，增强其他抗菌药物对生物膜基质的渗透效率。相较于抗生素，PTT 通过物理热效应杀灭病原体，显著降低了细菌因基因突变产生耐热性抵抗的可能^[38-40]。光动力疗法（PDT）则通过光敏剂受光激发后生成高毒性的活性氧自由基（ROS），快速氧化损伤细菌的脂质、核酸及酶系统^[41]。然而，单一 PDT 需依赖大量 ROS 才能实现有效杀菌，而高剂量光敏剂可能引发宿主组织氧化应激损伤^[42]。为此，PTT-PDT 协同策略应运而生：PTT 产生的局部升温可降低细菌对 ROS 的防御能力，减少 PDT 所需的光敏剂剂量；同时，PDT 生成的 ROS 可辅助破坏细菌代谢活性，弥补 PTT 在低温区间（<50 °C）杀菌效率不足的缺陷^[43]。这种协同作用不仅降低了治疗中对高温或高浓度光敏剂的依赖，还可通过多机制联合作用抑制耐药性演化^[44]。此外，光热-光动力协同效应可扩展至生物膜感染治疗。高温能部分降解生物膜基质，而 ROS 可进一步清除隐匿于基质深层的持留菌，二者联用显著提升对复杂生物膜感染的清除率^[45, 46]。此类基于纳米材料的精准物理化学联合杀伤模式，为应对碳青霉烯耐药肠杆菌、MRSA 等超级细菌的临床治疗提供了突破性方向^[47, 48]。

水凝胶是一种由亲水性高分子通过物理或化学交联形成的三维网络结构材料，能够吸收并保持大量水分（含水量可达 90% 以上），同时兼具柔韧性和生物相容性。其独特的孔隙结构允许负载药物、纳米颗粒或生物活性分子，并通过扩散、溶胀或环境响应（如温度、pH、光照）实现可控释放，因此在生物医学领域应用广泛。例如，在创面修复中，水凝胶可模拟天然细胞外基质，维持湿润环境，促进细胞迁移与组织再生；在药物递送方面，其缓释特性可延长药物作用时间，减少副作用。

1.2 耐药性细菌感染

1.2.1 耐药性细菌感染产生原因

细菌抗菌素耐药性（Antimicrobial Resistance, AMR）的全球蔓延已构成 21 世纪公共卫生系统的重大挑战^[49, 50]。世界卫生组织警告称，若放任耐药趋势发展，至 2050 年耐药菌感染可能导致每年超 1000 万人死亡，超越癌症成为人类首要致

死因素^[51, 52]。这一危机迫使医学界重新审视耐药性的演化机制与防控策略^[53, 54]。细菌耐药性主要源于固有耐药性与获得性耐药性的双重作用。固有耐药性由染色体编码的保守基因决定, 表现为特定菌种对某类抗生素(如革兰氏阴性菌对万古霉素)的天然不敏感性, 其耐药表型稳定且难以通过常规用药逆转^[55, 56]。而获得性耐药性则通过基因突变或水平基因转移(如质粒、转座子介导的耐药基因传播)动态演化, 使原本敏感的菌株获得对抗菌药物的抵抗能力^[57, 58]。例如, β -内酰胺酶基因(如 blaCTX-M)在肠杆菌科中的跨物种扩散, 可导致第三代头孢菌素治疗失效; 核糖体靶点修饰(erm 基因)或药物外排泵过表达(mexAB-oprM 系统)则分别赋予细菌对大环内酯类与氟喹诺酮类药物的耐药性^[59, 60]。更严峻的是, 获得性耐药机制常呈现多基因协同与环境适应性增强特征。临床常见的多药耐药(MDR)与泛耐药(XDR)表型, 往往源于耐药基因的累积性获取(如碳青霉烯酶基因合并膜孔蛋白缺失)或全局调控系统(如双组分信号转导系统)的激活^[61, 62]。这种动态进化特性使得传统抗生素研发难以跟上耐药性扩散速度, 亟需通过耐药监测网络优化、精准给药技术开发以及新型抗菌策略(如噬菌体疗法、CRISPR 抗耐药)的多维度干预, 遏制后抗生素时代的来临^[63-66]。

1.2.2 生物膜的形成及其微环境

在由个体互动社交网络与持久建筑基础设施构成的人类社会中。而在缩小六个数量级的微观尺度上, 细菌细胞同样构筑着被称为“生物膜”的微生物城市——个体细胞与群体间相互作用, 并构建起全局性基础设施^[67]。生物膜是附着于表面、包裹于胞外基质中的细菌群落。它们既可为健康与工业带来益处: 作为植物、动物与人体微生物组的正常组分维持生态平衡, 或在废水处理等工业过程中发挥关键作用; 亦可能引发严重问题: 在医学领域, 生物膜是慢性感染的元凶; 在工业领域, 它们污染管道表面并阻塞过滤设备^[68-70]。生物膜的根除(无论医学或工业场景)异常困难, 其顽固性部分源于群落内潜藏的耐受性细胞与持留菌^[71, 72]。这些细胞可在短暂抗生素暴露中存活, 并于停药后复苏增殖。事实上, 从慢性感染患者体内常分离出高生物膜形成突变株与持留性增强突变株^[73, 74]。

生物膜的形成是一个由环境胁迫触发的动态自组织过程。当浮游细菌遭遇抗生素压力、营养匮乏或其他逆境时, 其表面黏附相关基因表达被激活, 启动从可逆吸附到不可逆定植的形态转变^[75, 76]。这一过程的核心驱动力包括机械力介导的表面相互作用与群体感应(Quorum Sensing, QS)系统调控的基因协同表达。

初始黏附阶段,细菌通过鞭毛旋转产生的流体动力接触表面,随后由菌毛(如大肠杆菌的 I 型菌毛)或表面黏附素(如铜绿假单胞菌的 CdrA)介导特异性结合^[77]。例如,沙门氏菌的卷曲菌毛不仅能增强细胞与底物间作用力,还可通过收缩运动引发细胞-细胞聚集。随着黏附稳定化,细菌分泌细胞外基质(ECM)成分(如多糖、eDNA、功能蛋白),并通过自体转运蛋白(如鲍曼不动杆菌的 Ata)将大分子黏附素整合至 ECM 网络,形成三维微菌落结构^[78]。在此过程中,群体感应系统通过自体诱导剂(如 AHLs、AI-2)的浓度梯度感知细胞密度:当菌群达到临界阈值时, QS 系统激活 ECM 合成基因(如铜绿假单胞菌的 *pel*、*psl* 操纵子),同时抑制鞭毛运动相关基因,完成从游动到固着生活方式的转换^[79]。值得注意的是,微菌落内部通过 IV 型菌毛介导的抽搐运动实现空间重组,而接触依赖性信号传递(如金黄色葡萄球菌的 Agr 系统)进一步协调菌群代谢同步化^[80, 81]。随着生物膜成熟,ECM 不仅作为物理屏障阻碍抗生素渗透,其内部的化学微环境异质性(如 pH 梯度、氧化还原电位变化)可诱导细菌进入代谢休眠状态,显著提升持留菌比例^[82, 83]。研究显示,成熟生物膜对抗生素的耐受性较浮游状态增强 10-1000 倍,这种抗性源于 ECM 的限域效应、群体代谢调控以及持留菌表型的多机制协同作用。

感染部位聚集的细菌群落通过分泌细胞外聚合物物质(EPS)——主要由多糖、胞外 DNA 及功能蛋白构成——形成具有三维机械强度的生物膜屏障^[84]。这种组织化的结构不仅通过物理限制阻碍抗生素渗透,更通过多重生化机制强化防御:EPS 中富集的 β -内酰胺酶等降解酶可直接分解抗生素分子,而基质内形成的低 pH 微环境与离子强度梯度则改变药物电荷状态,显著延缓其扩散速率;同时,生物膜外层的外排泵过表达(如铜绿假单胞菌 MexAB-OprM 系统)进一步减少药物在菌体内的蓄积^[85]。随着生物膜持续扩张,其代谢活动引发局部温度升高、组织酸化及组织蛋白酶释放,逐步侵蚀周围健康组织^[86]。更棘手的是,生物膜表层的浮游细菌持续脱落形成扩散源,而深层的持留菌通过代谢停滞逃逸抗生素杀伤,成为感染复发的潜在威胁。值得注意的是,这些持留菌并非基因突变产物,而是菌群中随机产生的表型异质性亚群,其形成涉及毒素-抗毒素系统(如 HipAB)、SOS 应激响应等复杂调控网络,具体机制仍待深入解析^[87]。相较于浮游菌,生物膜通过空间异质性微环境(如氧浓度与营养梯度)与群体信号调控(如 c-di-GMP 介导的表型转换)催生更高水平的耐药持久性。这种动态特性不仅加

剧治疗难度，更为耐药基因的水平转移（如质粒接合）提供温床，最终推动碳青霉烯耐药肠杆菌（CRE）等"超级细菌"的全球扩散^[88]。研究显示，生物膜内菌群对抗生素的耐受性可达浮游状态的千倍以上，这种抗性源于物理屏障、代谢调控与表型异质性的多维度协同，成为临床感染防控的核心挑战^[89, 90]。

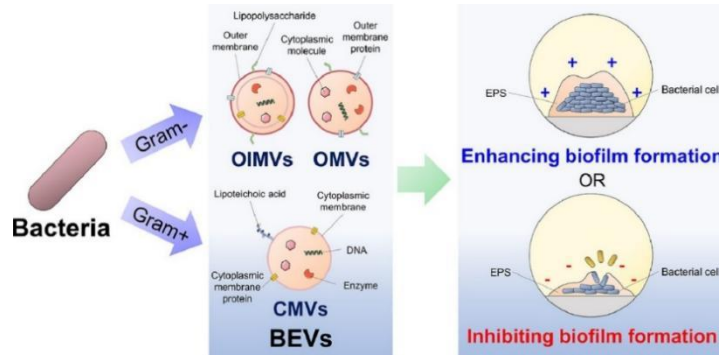


图 1-1. 生物膜形成的步骤：微菌落经过成熟，其特征是特定的成分、形状和结构，然后分散生物膜重复这个循环^[91]

Figure 1-1. Steps of biofilm formation; Micro colonies undergo maturation characterized by specific composition, shape, and architecture followed by dispersion of biofilm to repeat the cycle^[91]

1.3 耐药性细菌感染治疗策略

1.3.1 传统治疗耐药菌手段

抗生素通过靶向细菌关键生理过程实现抑菌或杀菌效应，例如 β -内酰胺类抗生素（如青霉素）通过抑制细胞壁肽聚糖交联引发细菌裂解，氨基糖苷类（如庆大霉素）结合核糖体 30S 亚基干扰蛋白质翻译，而喹诺酮类（如环丙沙星）则通过阻断 DNA 旋转酶活性抑制细菌复制。然而，细菌通过基因突变（如 MRSA 的 PBP2a 变异）与水平基因转移（如 NDM-1 耐药基因的质粒传播）不断演化耐药性，甚至对碳青霉烯类等“最后防线”药物产生抵抗，迫使临床依赖耐药性动态监测与精准用药策略（如抗生素轮换、药敏试验指导的联合疗法）以延缓耐药趋势。在化学药物之外，物理干预手段通过非特异性机制突破耐药限制：近红外光激发的光热疗法可局部升温至 50℃ 以上，直接破坏细菌膜结构与生物膜基质；冷等离子体技术通过释放活性氧自由基（ROS）氧化损伤细菌核酸与酶系统；超声空化效应则利用微泡破裂产生的机械力瓦解生物膜三维网络^[88]。与此同时，代谢靶向抑制剂（如阻断脂肪酸合成的 AFN-1252）与免疫调节剂（如增强中性粒细胞胞外诱捕网的 G-CSF）形成协同效应—前者通过限制必需代谢物合成抑制细菌增殖，后者激活宿主免疫细胞的吞噬与杀菌功能，形成多层次防御体系^[92]。面

对多药耐药（MDR）与泛耐药（XDR）菌株的威胁，创新策略聚焦多机制协同：噬菌体疗法利用裂解酶（如 LySMP）特异性降解病原体细胞壁，或通过工程化噬菌体递送 CRISPR-Cas9 系统精准切割耐药基因；功能化纳米材料（如金纳米颗粒负载抗生素与光敏剂）结合光热-光动力效应穿透生物膜屏障，实现物理化学联合杀伤；群体感应抑制剂（如呋喃酮 C30）则干扰细菌信号传递，抑制毒力因子表达与生物膜形成^[93]。全球范围内，抗菌药物管理（AMS）框架的建立与人工智能辅助用药系统的开发，正推动从经验性治疗向数据驱动精准医疗转型。唯有整合耐药基因监测、新型疗法研发与多学科交叉创新，方能应对后抗生素时代中超级细菌的持续进化挑战。

1.3.2 光疗应用耐药菌感染

光热疗法（PTT）通过近红外光（NIR）激发光热剂（PTA）产生局部高热，利用热效应直接破坏细菌膜结构、降解生物大分子并瓦解生物膜基质^[93]。其广谱抗菌性跨越革兰氏阳性与阴性菌，且因不依赖特定分子靶点而极少诱发耐药性，成为对抗多药耐药（MDR）感染的前沿手段。PTT 的临床潜力源于多重优势：近红外光的深层组织穿透能力允许精准靶向深部感染灶，同时最小化健康组织损伤；局部升温可扩大生物膜孔隙促进药物渗透，并通过热增强效应降低抗生素使用剂量；此外，适度的热刺激能激活组织修复信号通路，协同促进创面愈合^[94]。然而，传统 PTT 需维持 60 ℃ 以上高温以实现完全杀菌，存在周边组织热损伤风险。为此，研究转向开发低温响应型 PTA（如聚多巴胺纳米颗粒），在 50 ℃ 下联合活性氧（ROS）生成实现高效杀菌，或通过光声成像导航实时调控光功率以优化热分布。当前，PTT 正通过多模式联用突破技术瓶颈：例如，金纳米棒负载万古霉素后可实现近红外光控释药与热疗协同穿透 MRSA 生物膜；黑磷量子点介导的 PTT 能释放损伤相关分子模式（DAMPs），激活巨噬细胞免疫清除功能^[94]。这些创新策略不仅提升抗菌效率，更通过生物相容性优化与精准热控制推动 PTT 向临床安全应用迈进。

近年来，有机化合物基纳米材料以其可定制化分子结构、优异生物相容性及环境适应性，成为替代传统无机材料的新型抗菌光热剂。这类材料通过吸收近红外光子并经非辐射弛豫转化为热能，实现对病原菌的物理性清除^[95]。其体系涵盖共轭聚合物（如聚苯胺、聚吡咯）、多孔有机框架（如共价有机骨架 COFs）及有机-无机杂化材料（如金属有机骨架 MOF），展现出多样化的抗菌机制与应用

场景。聚多巴胺（PDA）作为代表性有机光热剂，凭借近红外强吸收、简易制备工艺与表面易功能化特性，被广泛用于创面敷料与靶向治疗系统。研究表明，PDA 纳米颗粒在 50-60 ℃ 局部升温下可有效破坏细菌膜结构，同时通过可控降解避免宿主组织累积毒性^[96]。与此同时，杂化材料设计进一步拓展抗菌效能：例如，纳米磷酸银修饰的缺陷黑海胆状二氧化钛（BU-TiO₂X/Ag₃PO₄）在光照下协同释放 Ag²⁺ 离子与活性氧，对大肠杆菌与金黄色葡萄球菌的杀灭率均超 99.7%；而氧化锌碳点修饰的石墨相氮化钠（ZnO/CDots/g-C₃N₄）通过可见光激发的超氧化物自由基，实现近 100% 的广谱杀菌效率^[97]。为应对深部生物膜感染，研究转向多模态协同策略：铜硫化物（CuS）纳米片在近红外照射下同时释放热能与 Cu²⁺ 离子，破坏细菌代谢通路并增强膜通透性；金属有机骨架（MOF）负载光敏剂后，可同步激活光热与光动力效应，穿透生物膜基质清除滞留菌。然而，部分材料的光热转换效率不足（如某些聚合物 <40%）与长期体内代谢风险仍需攻克——通过共轭结构优化（如引入电子受体单元扩展吸光范围）及表面功能化修饰（如聚乙二醇提升循环稳定性），此类材料的临床转化潜力正逐步释放。有机光热纳米材料的低耐药诱导性与智能响应特性（如 pH/酶触发释药），为耐药菌感染及慢性创面管理提供了兼具高效性与安全性的解决方案，标志着抗菌治疗从化学依赖向物理-化学协同的范式转变^[98]。

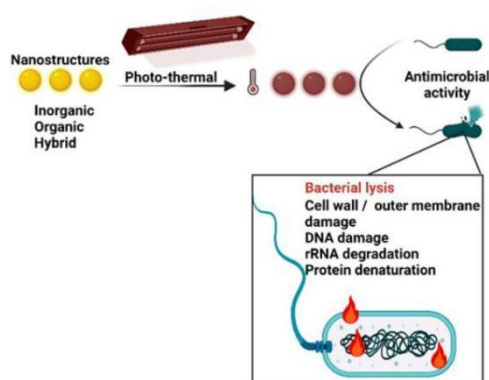


图 1-2. 光热纳米结构的光热抗菌机理示意图^[98]

Figure 1-2. Schematic photothermal antimicrobial mechanism of PTAs^[98]

最近的研究表明，由于二硫化钼（MoS₂）的表面积大、生物相容性高、近红外（NIR）吸收能力强和细胞毒性低，在过渡金属二硫化物（TMDs）中的特殊成员二硫化钼（MoS₂）被广泛探索。消灭许多耐药菌，光热疗法和药物输送。二硫化钼基于纳米材料可以通过多种机制有效地阻止细菌生长^[99, 100]。

Mukheem等制备了一种具有代表性的由二维二硫化钼（2D MoS₂）纳米颗粒组成的抗菌纳米复合材料。在生物医疗领域，抗生素是治疗病菌的有效药物，但病原菌对抗生素的耐药性是一个重大的健康挑战^[101]。美国传染病学会（IDSA）已经认识到，过去单纯药物敏感的病原体由于对常规抗生素的耐药性不断增加，现在已经变为最危险的病原体，多药耐药的出现已使细菌感染成为一个严重的全球性问题。由于多种因素，急性感染很可能发展成慢性感染，原因之一就是抗生素对超级细菌的疗效不佳。为了获得复杂的杀菌活性，对二维纳米颗粒和生物聚合物的研究成为热点。科研人员对新型PHA-Ch/MoS₂纳米复合材料的体外抗菌活性和对宿主细胞的毒性进行的研究。有研究团队用聚羟基烷酸酯（PHA）和壳聚糖（Ch）将MoS₂纳米粒子包埋到基体中，对PHA-Ch/MoS₂纳米复合材料进行不同剂量的时间依赖性抗菌试验，以检测其对耐多药大肠杆菌K1和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（MRSA）的抗菌活性。此外，研究人员还检测了纳米复合材料对自然永生化人角质形成细胞（HaCaT）的细胞毒性，结果表明，复合材料对大肠杆菌K1和MRSA有显著的抗菌活性（ p 值 <0.05 ）。如图1-3所示，PHA-Ch/MoS₂纳米复合材料对HaCaT细胞具有明显的宿主细胞相容性（ p 值 <0.05 ），对革兰氏阳性菌和阴性菌均具有良好的抗菌活性和生物相容性。PHA-Ch/MoS₂纳米复合材料被证明适合于抗菌应用，并具有进一步生物医学研究的潜力^[102]。

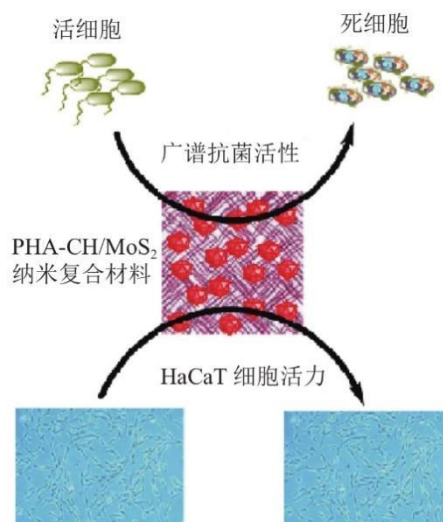


图1-3 PHA-Ch/MoS₂纳米复合材料的抗菌活性^[103]

Figure1-3. Antibacterial activity of the PHA-Ch/MoS₂nanocomposites^[103]

MoS₂ 纳米花是新近建立的纳米颗粒系统，在 100-500 纳米尺度范围内表现出与花朵相似的特性。它含有许多纳米大小的花瓣，以较小的结构覆盖更大的表

面积,并具有更好的载流子不动性和电荷转移。此外,这种三维纳米花结构提高了表面反应效率。近年来的研究证明,3D MoS_2 纳米系统由于其显著的优势,如更大的纵横比和许多主动边缘,被期望有许多应用。 MoS_2 三维纳米结构主要通过水热合成获得^[104]。在一项研究中,水热合成的 MoS_2 纳米花对甲基橙、盐酸土霉素、亚甲蓝和罗丹明 6G 的降解表现出更好的阳光诱导的光催化性能。Santhosh 等描述了通过水热法合成多晶 MoS_2 纳米花。通过增加电解质和离子在材料中的扩散,可以提高材料的电化学性能。但二维材料的表面积开发较少,与电解质接触不足。在这种情况下,三维纳米材料是解决这一问题的合适选择。受到此启发,刘和团队提到了用于超级电容器和析氢应用的玫瑰花结样 MoS_2 纳米花的水热合成。这是第一个利用水热反应在钛箔上直接合成玫瑰花状 MoS_2 纳米花的研究。所获得的 MoS_2 材料具有合成路线简单、环境友好、三维互联框架辅助电解质扩散、多种电化学活性位点提供更好的析氢催化特性等优点反应时,较高的层间间距允许离子插入到 S-Mo-S 堆叠层中^[105]。根据王等人,他们准备采用水热法制备的无定形 MoS_2 纳米花,在析氢反应中表现出良好的稳定性和活性。为了获得清洁的碳氢化合物,必须去除油类中的有害硫,而加氢脱硫(HDS)是最有效的方法。 MoS_2 已被广泛用于这一目的,并且由于其独特的相, MoS_2 的性能可以进一步改进工程性质^[106]。最近,曹等人通过溶剂热法生产了 1T-2H 混合相 MoS_2 纳米花,并将其用于 HDS 反应。在这种方法中,他们使用乙醇、甘油和水来生产纳米花。扫描电子显微镜(SEM)图像(图 1-4)清晰地显示了 MoS_2 材料的纳米花形态,它是由超薄 MoS_2 纳米片不规则聚集形成的^[107]。

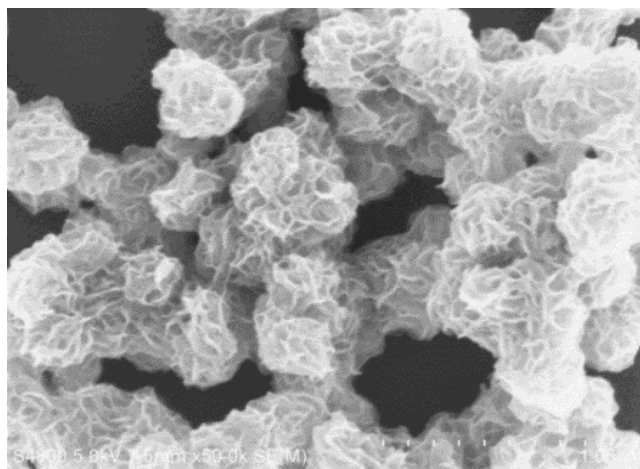


图 1-4 MoS_2 纳米花的电子扫描图像

Figure 1-4. Electron scanning images of MoS_2 nanoflowers nanostructures

光动力疗法（PDT）结合了光响应材料，如光催化剂和光敏剂（PSs）和光源来杀灭细菌细胞。目前，光动力疗法主要应用于癌症，作为治疗非侵袭性肿瘤的一种临床治疗方法^[108]。它被认为是抗癌应用的重要一步，包括手术、化疗和放射治疗。此外，PDT还被应用于其他难以治疗的疾病，如类风湿性关节炎、光化性角化病和细菌感染。研究人员已将PDT用于抗菌活性，因为其毒性低，耐药几率可忽略不计，不良反应轻微，且具有良好的抗菌潜力^[109]。与传统的化疗、放疗和手术相比，PDT具有微创、不受耐药性影响、治疗区域可控等优点。光动力疗法通常需要三个主要成分：光，光敏剂，还有氧气，它们一起发生光动力学反应并产生具有细胞毒性的ROS^[110]。如图1-5所示，当暴露于特定波长的激光时，处于基态的光敏剂吸收激光能量并将其转换为单重态。单重态光敏剂由于长寿命衰变，通过跨系统过程形成三重态光敏剂。三重态光敏剂将能量传递给附近的氧分子，形成单态氧（ $^1\text{O}_2$ ）^[111]。产生 $^1\text{O}_2$ 的光疗过程称为II型光动力疗法。此外，三重态光敏剂可以直接将一个质子或一个电子转移到底物（细胞膜或分子）上，分别形成自由基阴离子或自由基阳离子。这些自由基中间体与含氧物质反应生成ROS，如超氧阴离子自由基（ $\text{O}_2^{\cdot-}$ ）、羟基自由基（ $\text{OH}^{\cdot}$ ）和过氧化氢（ H_2O_2 ）^[112]。I型和II型光动力疗法通常同时发生，反应的程度取决于光敏剂类型、底物种类和氧气浓度。值得注意的是，某些现有研究已经指出，在光动力过程中，II型光动力学通常占主导地位，因为它需要较低的激发能量才能产生 $^1\text{O}_2$ 。目前，临床实践中使用的大多数类型的光敏剂都是基于II型PDT过程。因此，改进的光动力疗法，特别是传统的II型光动力疗法的战略设计对于精确的光疗具有重要意义^[113, 114]。

Ce6（二氢卟吩 e6，Chlorin e6）是一种高效的光敏剂，在光动力治疗（Photodynamic Therapy, PDT）中具有重要应用。其作用机制基于光动力效应：当Ce6被特定波长的光（通常为可见光或红光，如660 nm左右）激发后，会从基态跃迁至激发态，并将能量转移至周围氧分子，生成高反应活性的单线态氧（ $^1\text{O}_2$ ）及其他活性氧物种（ROS）。这些活性氧可对靶细胞（如肿瘤细胞或病原微生物）的膜结构、蛋白质及DNA造成氧化损伤，最终诱导细胞凋亡或坏死。Ce6的优势在于其较强的光吸收能力及深层组织穿透性，尤其在红外光区具有较高吸收效率，可更有效地作用于病灶区域。此外，Ce6可通过靶向修饰（如纳米载体递送或抗体偶联）进一步提高对病变组织的选择性，减少对正常组织的损伤。

目前, Ce6 光动力疗法已应用于皮肤癌、口腔癌等浅表肿瘤的治疗, 同时在痤疮、抗菌及抗病毒领域也展现出潜力。然而, 治疗过程中需严格控制光照参数及剂量, 以避免过度光毒性反应。其微创性、可重复性及低系统性毒副作用, 使其成为精准医学中颇具前景的治疗手段之一。

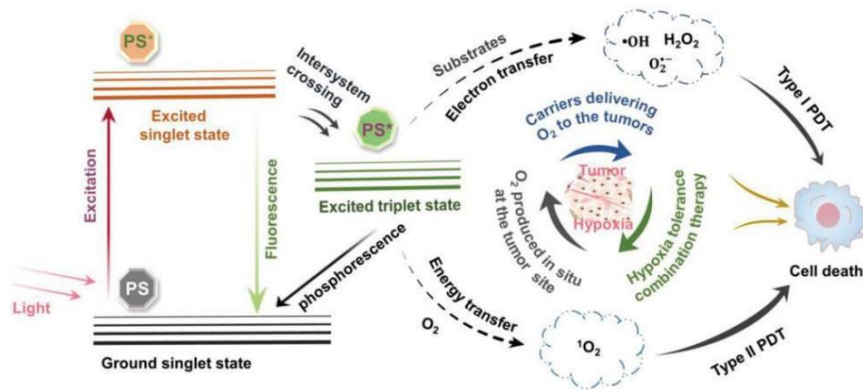


图 1-5.光化学反应示意图

Figure 1-5. Schematic illustration for the photochemical reactions of PDT^[101].

1.3.3 免疫治疗应用于耐药菌感染

抗菌免疫疗法是一种通过激活或调控人体免疫系统来对抗细菌感染的新型治疗策略。与传统抗生素直接杀伤细菌的模式不同, 该疗法侧重于利用宿主自身的免疫防御机制或人工设计的免疫活性分子, 以更精准、持久的方式清除病原体, 同时降低耐药性风险。其核心原理包括增强免疫细胞(如巨噬细胞、中性粒细胞)的吞噬与杀菌能力, 或通过单克隆抗体靶向细菌表面抗原, 直接中和毒素或标记病原体以促进免疫识别。例如, 针对耐药性金黄色葡萄球菌的抗体药物可通过结合细菌毒素或荚膜多糖, 阻断其感染进程并加速免疫清除。此外, 在严重感染引发的过度炎症反应(如脓毒症)中, 免疫疗法可通过调控炎症因子(如抑制 $\text{TNF-}\alpha$ 或 IL-6) 平衡免疫应答, 避免组织损伤, 而工程化免疫手段(如改造 CAR-T 细胞或联合噬菌体疗法)则通过特异性识别细菌或协同裂解病原体, 释放抗原进一步激活适应性免疫。

这一策略在应对多重耐药菌感染、慢性生物膜相关感染及免疫缺陷患者中展现出独特优势。例如, 针对铜绿假单胞菌的抗体偶联药物已在临床试验中验证其疗效, 结核分枝杆菌的疫苗研发也通过激活 T 细胞免疫取得进展。借助纳米载体递送或基因编辑技术, 疗法的靶向性与安全性得以进一步提升。然而, 免疫系统的复杂性、个体差异及治疗成本仍是当前挑战, 部分病原体的免疫逃逸机制也限

制了广泛应用。尽管如此，随着免疫学与合成生物学技术的融合，抗菌免疫疗法有望突破传统抗生素的局限，成为后抗生素时代对抗感染性疾病的关键手段，尤其在耐药菌威胁加剧的全球公共卫生背景下，其发展前景备受瞩目。

1.3.4 联合治疗应用于耐药菌感染

(1) 光热疗法 (PTT) 联合声动力疗法 (SDT) 是一种新兴的协同治疗策略，通过整合光热转换与声动力效应实现高效、精准的疾病治疗。光热疗法利用光敏材料（如金纳米颗粒、二硫化钼等）吸收近红外光产热，通过局部升温杀伤肿瘤细胞或病原体；声动力疗法则依赖超声激活声敏剂（如卟啉类化合物），诱导产生活性氧 (ROS) 破坏靶细胞。两者的联合可通过多机制协同增强疗效：一方面，PTT 的热效应可扩张组织血管、提高局部氧含量，促进声敏剂的渗透及 ROS 生成效率；另一方面，SDT 产生的 ROS 可加剧热疗对细胞膜和蛋白质的损伤，形成“热-氧化”双重打击。此外，超声的深层组织穿透性可弥补光疗穿透深度不足的局限，而光热效应可通过温控实现声敏剂的靶向释放。研究显示，基于纳米载体（如水凝胶、脂质体）的双敏剂共递送系统可精准调控两种疗法的时空协同，在肿瘤消融、耐药菌感染及慢性炎症治疗中展现出高效低毒的优势。这种联合策略为复杂病理环境的精准干预提供了新思路。

(2) 光动力疗法 (PDT) 与光热疗法 (PTT) 的协同应用通过整合光敏剂与光热剂，实现了热疗与氧化杀伤的多机制抗菌效应^[112]。由于依赖物理化学机制（如 ROS 无差别攻击与热能物理破坏），此类策略极难诱发细菌耐药性，且通过材料功能化（如表面电荷修饰、靶向配体偶联）持续优化生物相容性，展现出显著的临床转化潜力。然而，PDT 的短波长光源穿透限制（如可见光仅穿透 1-3 mm 组织）与 ROS 瞬态活性（半衰期 $<0.04\ \mu\text{s}$ ）仍是其应对深部感染与生物膜的核心瓶颈^[115]。此外，革兰氏阴性菌 (G-) 因外膜脂多糖层的屏障作用，其 PDT 敏感性显著低于革兰氏阳性菌 (G+)，需通过阳离子型光敏剂（如聚赖氨酸修饰酞菁）或膜透化剂预处理（如 EDTA 螯合二价离子）增强靶向效率^[116]。为突破单一疗法局限，研究设计出多模态协同系统：石墨烯纳米带 (GNRs) 作为光热剂与聚阳离子卟啉 (Pp4N) 光敏剂的复合体系，在近红外光激发下同步释放热能及单线态氧 ($^1\text{O}_2$)，并利用 Pp4N 的正电荷特性增强与 G-菌外膜的静电吸附，实现对多药耐药菌的广谱清除；多氟烷基硅酞菁/单壁碳纳米管 (SWNTs) 杂化

材料则通过 SWNTs 的光热效应提升局部温度，协同增强硅酞菁的 ROS 产率，使生物膜内金黄色葡萄球菌的存活率降低 4 个数量级^[113]。

更前沿的探索包括：吡啶青绿（ICG）负载的氨基硅烷包覆超顺磁氧化铁纳米颗粒（APTMS@SPIONs）通过磁靶向富集于感染部位，在近红外光下产热与 ROS 协同作用，对铜绿假单胞菌生物膜的清除率超 99.8%；多肽树枝状大分子纳米凝胶（G3KBPY）封装 ICG 与五甲基溴锰（ $\text{MnBr}(\text{CO})_5$ ），利用光控释放 CO 协同 PTT/PDT 效应，不仅瓦解生物膜结构，还可通过 CO 介导的巨噬细胞极化增强免疫清除^[117]。此类协同体系通过热增强氧化效应（升温提升膜流动性加速 ROS 扩散）、剂量优化（降低光敏剂使用量）及生物膜穿透（热能降解胞外基质）实现多维度抗菌增效^[113, 118]。尽管协同策略前景广阔，其临床应用仍需解决材料体内代谢可控性、深部组织光穿透适配性及复杂微环境动态调控等挑战。通过开发近红外二区（NIR-II）响应材料（如硫化铜纳米片）与微环境激活型探针（如 pH 敏感型纳米载体），PDT 和 PTT 协同疗法有望成为后抗生素时代对抗超级细菌感染的革新性手段^[119, 120]。

1.4 水凝胶应用于伤口耐药菌感染

1.4.1 温敏水凝胶在耐药菌伤口感染中的应用

在抗生素耐药性日益加剧的背景下，慢性伤口感染的治疗成为全球公共卫生的重大挑战^[121, 122]。耐药菌不仅能够通过基因突变逃逸传统抗生素的杀伤，还易形成致密的生物膜屏障，进一步削弱药物渗透与免疫清除效果^[123, 124]。面对这一困境，水凝胶——一类具有三维交联网络结构的高分子材料——凭借其独特的理化特性与功能可设计性，逐渐成为革新耐药菌感染创面管理的关键技术^[125, 126]。水凝胶的核心优势在于其多模态抗菌策略与精准的药物递送能力。通过将抗生素、抗菌肽、金属纳米颗粒（如银、锌）或光敏剂等功能成分嵌入凝胶网络，水凝胶不仅能实现药物的局部缓释，还可响应伤口微环境的变化（如 pH 值、温度或特定酶活性）触发靶向释放，从而在减少全身毒性的同时维持有效抑菌浓度。例如，负载银纳米颗粒的水凝胶可通过持续释放银离子破坏细菌细胞膜与代谢酶系统，对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（MRSA）等常见耐药菌表现出强效抑制；而光热响应型水凝胶在近红外光照射下可产生瞬时高温，通过物理性杀菌机制规避细菌耐药性演化。此外，针对生物膜这一耐药菌的“保护盾”，水凝胶可搭载蛋白酶或群体感应抑制剂，瓦解生物膜的胞外聚合物基质并阻断细菌间的通讯，显著增强

抗生素的渗透与杀菌效率。除了直接抗菌作用，水凝胶在调控伤口微环境与促进组织再生方面展现出协同价值。其高含水特性可模拟天然细胞外基质，维持创面湿润环境并加速坏死组织溶解；部分水凝胶还能中和感染部位的酸性 pH、清除过量活性氧，缓解炎症反应并引导巨噬细胞向促修复表型转化^[43]。与此同时，基于透明质酸、壳聚糖或胶原蛋白的仿生水凝胶可通过力学适配减少对新生组织的机械损伤，进一步结合生长因子（如 VEGF、EGF）或干细胞的负载，可同步刺激血管生成与上皮再生。研究显示，一种同时携带抗菌肽和血管内皮生长因子的双功能水凝胶，不仅能有效清除多重耐药铜绿假单胞菌，还可将糖尿病小鼠的伤口愈合时间缩短 30%以上^[127]。当前，水凝胶技术已从实验室向临床加速转化。针对糖尿病足溃疡、烧伤感染等复杂创面的临床试验表明，水凝胶敷料在降低菌载量、控制炎症和缩短愈合周期方面显著优于传统纱布。随着材料科学与生物工程的交叉创新，智能响应型水凝胶正与噬菌体疗法、基因编辑等前沿技术融合。例如，近期开发的 CRISPR-Cas9 基因编辑系统递送水凝胶，可精准敲除耐药菌的抗生素抗性基因，为应对“超级细菌”提供了全新思路。尽管在规模化生产与长期安全性评估方面仍需突破，水凝胶技术无疑为耐药菌感染创面的综合治疗开辟了一条从高效抗菌到功能性修复的集成化路径^[128]。

1.4.2 载药纳米体系水凝胶应用

联合载药纳米体系水凝胶是一种通过将纳米载体与水凝胶基质结合的多功能药物递送系统，旨在实现多种药物的协同递送与精准控释。这类体系通过整合纳米颗粒的高载药效率、靶向性与水凝胶的可控缓释特性，显著提升了复杂疾病的治疗效果^[129, 130]。例如，在肿瘤治疗中，载药纳米复合水凝胶可同时递送化疗药物（如多西他赛）、基因药物（如 siRNA）及光敏剂（如吲哚菁绿 ICG），通过协同作用抑制肿瘤增殖并增强光动力治疗效果^[131, 132]。ICG 在近红外光激发下可产生活性氧杀伤肿瘤细胞，同时其荧光特性可实时监测治疗进展，为精准医疗提供支持。在免疫调节领域，含载抗体或免疫调节因子的纳米复合水凝胶展现出独特优势。例如，通过水凝胶递送抗体纳米粒可增强肿瘤微环境中的免疫应答，促进巨噬细胞对抗原的识别与清除。姜新义团队开发的可注射水凝胶系统更是在恶性脑胶质瘤术后治疗中取得突破，通过共递送基因编辑纳米载体（如靶向 CAR-M Φ 的 pCAR-NPs）和 CD47 抗体，原位改造肿瘤周围的巨噬细胞，使其特异性吞噬肿瘤干细胞并激活适应性免疫，显著抑制肿瘤复发^[133]。这一策略避免了传

统 CAR-T 疗法的体外操作复杂性和全身副作用，实现了“局部编辑、长效缓释”的创新治疗模式^[134]。

此外，联合载药体系在感染性疾病与组织再生领域也表现突出。例如，载抗菌药物的透明质酸纳米复合水凝胶可靶向递送药物至感染部位，通过缓释机制延长抗菌效果并减少耐药性^[135]。在牙周病治疗中，结合光敏剂与促再生蛋白（如 Sema3A）的纳米复合水凝胶，既能通过光动力效应杀灭病原菌，又能诱导牙周组织再生，实现“治疗-修复”一体化^[136, 137]。控释缓释水凝胶还被用于慢性病管理，如糖尿病或心血管疾病，通过持续释放药物减少患者用药频率并提高依从性。尽管联合载药纳米体系水凝胶在靶向性、功能整合及生物相容性上优势显著，但其大规模制备工艺、体内降解可控性及复杂微环境下的稳定性仍需进一步优化^[138, 139]。未来，随着纳米技术、基因编辑与智能材料科学的交叉融合，这类系统有望在个性化医疗、免疫治疗及再生医学中发挥更核心的作用^[140]。

1.5 课题设计意义及主要研究内容

1.5.1 课题设计意义

本课题拟构建一个二硫化钼光热联合光动力疗法抗菌的纳米平台。

（1）针对耐药菌的生物膜微环境（乏氧、低pH）的特性，设计了一种自产氧二硫化钼纳米平台光热/光动力联合治疗的方法来解决细菌的耐药性问题。二硫化钼（ MoS_2 ）纳米花因其具有优异的生物相容性和负载能力，作为载体被广泛应用，但它对负载材料的保护性差，本文采用MOF（ZIF-8）包裹来解决材料的保护问题，且ZIF-8具有酸敏性，在中性及弱碱性下稳定，在弱酸环境下崩解，生物相容性好。过氧化钙（ CaO_2 ）缓解乏氧环境，释放氧气；利用光敏剂Ce6，解决了光动力反应中氧气不足的缺陷，增强了光动力效果。

（2）本论文的后续研究是进一步优化MCC@ZIF-8@BC β 纳米体系中光热触发条件高及光热效率等问题，在降低 MoS_2 纳米花的光热触发条件同时提高光热效率。本文将 MoS_2 直接与ZnO纳米颗粒结合，将单宁酸（TA）和单硬脂酸三酯（TM）自组装形成水凝胶对 MoS_2 -ZnO进行包裹，得到 MoS_2 -ZnO@TM/TA温敏水凝胶。

1.5.2 主要研究内容

（1）光热/光动力联合治疗的产氧纳米平台的构建及抗菌活性研究

通过在二硫化钼（ MoS_2 ）纳米花上负载过氧化钙（ CaO_2 ），二氢卟吩E6（Ce6），

最后在外层包覆MOF(ZIF-8)合成,合成 $\text{MoS}_2\text{-Ce6-CaO}_2\text{@ZIF-8}$ (MCC@ZIF-8)纳米粒子。通过UV-vis、IR、SEM、DLS、Zeta电位、EDS等对材料进行表征;根据材料特性还需要对进行活性实验,光热评估及活性氧检测,包括CFU实验、MIC测定、细胞摄取实验、转录组学分析;利用SEM观察材料对于细胞形态的影响;生物膜消融评估,建立小鼠伤口模型,通过伤口愈合程度来评估药物的抑菌性能,观察结束后,取出小鼠主要器官和伤口组织切片的进行H&E染色来评估材料的生物安全性。

(2) 自产氧二硫化钼水凝胶联合光热/光动力抗菌活性研究

通过静电吸附法将过氧化钙与Ce6负载到二硫化钼纳米花上,再用ZIF-8将其包裹即合成MCC@ZIF-8纳米粒子,再将MCC@ZIF-8加入到水凝胶的合成过程中去,最终得到MCC@ZIF-8@BC β 水凝胶。对MCC@ZIF-8纳米粒子进行表征实验证实材料是否成功合成;以及光热光动力检测证明具有良好的体外活性,对纳米粒子进行体外抑菌实验证明材料是否具有良好的抑菌活性,将纳米粒子制成水凝胶后验证其力学性能以及其生物安全性。

第 2 章 自产氧纳米温敏水凝胶体系联合光热/光动力疗法 抗菌及促进创面愈合的研究

2.1 引言

生物膜是大多数细菌感染的原因，严重威胁人类健康。设计有效且危害较小的材料来抑制和去除生物膜仍然是一个重大挑战。复杂的生物膜结构使常规抗生素治疗无效，近年来，光热治疗（PTT）和光动力治疗（PDT）因其能有效治疗耐药细菌感染而备受关注。因此，协同纳米抗菌系统（ $\text{MoS}_2\text{-Ce6-CaO}_2\text{@ZIF-8}$ ）通过光热和光动力治疗增强了疗效。通过在二硫化钼纳米花上负载过氧化钙（ CaO_2 ），二氢卟吩E6（Ce6），最后在外层包覆MOF（ZIF-8）合成。设计的纳米抗菌系统通过负载氧气缓解生物膜微环境的缺氧特性，增强PDT产生更多活性氧（ROS）的作用。它显著增强了生物膜的渗透性并改善了抗菌性能，对MDR *E. coli*和MDR *S. aureus*菌的抑制率超过95%，同时抑制并去除了90%以上的生物膜。 MoS_2 不仅起到了良好的载体的作用，而且诱导出了高效的PTT，促进了PDT的反应过程。 $\text{MCC@ZIF-8@BC}\beta$ 具有良好的生物相容性，溶血试验显示红细胞溶血率低于5%，有效缓解小鼠模型炎症症状，加快伤口愈合。总之，本研究为细菌抑制、抑制和生物膜去除提供了一种有效、安全的联合治疗策略。

在本研究中，提出了一种自产氧纳米系统，通过结合光热和增强光动力治疗来根除细菌生物膜（图2-1）。 CaO_2 优异的氧气释放能力的启发， CaO_2 和Ce6与二硫化钼（ MoS_2 ）纳米花共负载，外层包覆ZIF-8外壳，表示为（ $\text{MoS}_2\text{-Ce6-CaO}_2\text{@ZIF-8}$ ） MCC@ZIF-8 。 MCC@ZIF-8 具有良好的稳定性和光热效率。 MCC@ZIF-8 缓解了缺氧微环境，降低了细菌间的群体感应，提高了PDT的效率，实现了PTT与PDT的协同治疗。本文研究了 MCC@ZIF-8 的特性、 MCC@ZIF-8 的光热和光动力效应，并使用体外细菌抑制、生物膜去除实验和体内小鼠实验研究了协同抑制机制。 MCC@ZIF-8 具有良好的体内外活性，为新型抗菌材料的进一步开发研究提供了实践参考。

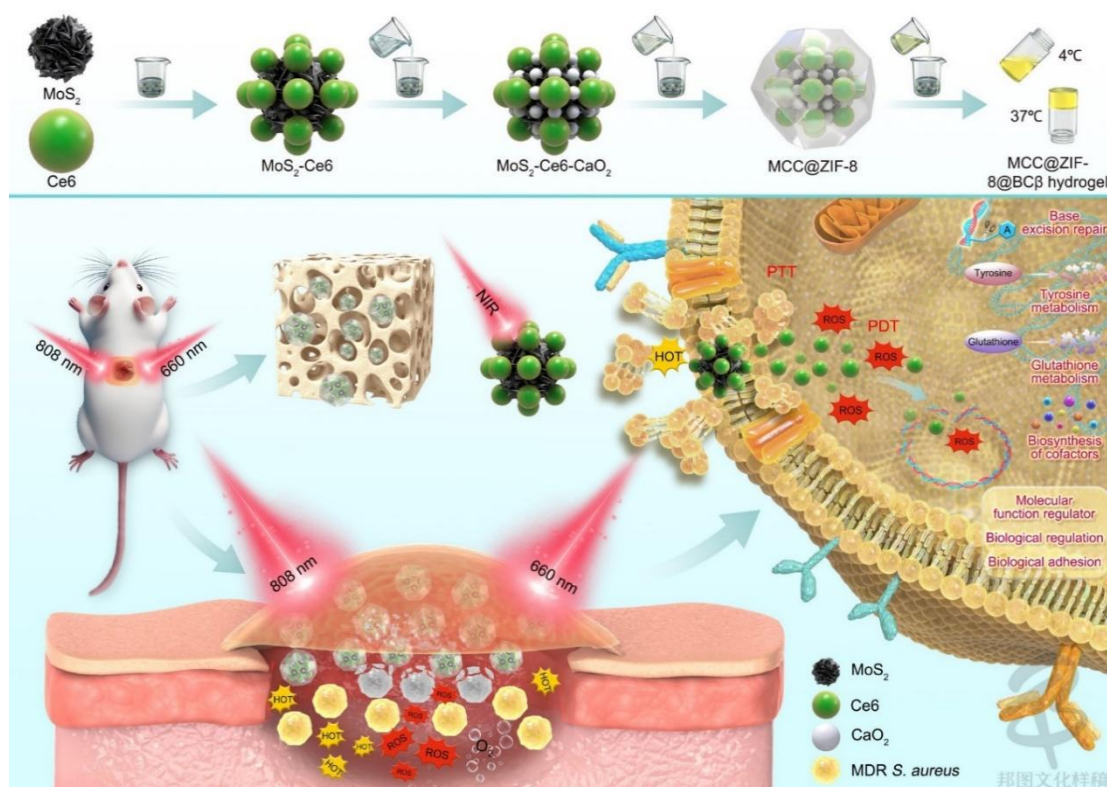


图2-1 MCC@ZIF-8@BC β 水凝胶合成途径及与PTT/PDT联合抗菌示意图

Figure 2-1. Schematic diagram of MCC@ZIF-8@BC β hydrogel synthesis pathway and combination with PTT/PDT against bacterial infection.

2.2 实验试剂与仪器

2.2.1 实验试剂

钼酸钠二水合物 ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)，聚乙二醇 (PEG)，L-半胱氨酸，乙酸 ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$)，氯化钙 (CaCl_2)，0.1 mol/L HCl，1-乙烯基咪唑，1-溴戊烷，1,3-二苯基苯并呋喃 (DPBF)，二氢卟吩E6 (Ce6)，1 mol/L氨水 ($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)，30%过氧化氢 (H_2O_2)，2-甲基咪唑 ($\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_2$)， β -甘油磷酸钠 ($\text{C}_3\text{H}_7\text{Na}_2\text{O}_6\text{P} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)，小檗碱 (BBR 99%)，醋酸锌二水合物 ($(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)，大肠杆菌 (MDR *E. coli* ATCC 8739)，枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis* ATCC 6633)、金黄色葡萄球菌 (MDR *S. aureus* ATCC6538)、去乙酰化度为95%的壳聚糖购自上海Aladdin化学试剂有限公司。

2.2.2 实验仪器

表2-1 实验仪器

Table2-1 Experimental equipment

仪器名称	型号	生产厂家
冷冻干燥机	FD8-3	美国 SIM 公司
恒温磁力搅拌器	SZCL-2	上海岐耀设备有限公司
紫外可见分光光度计	UV-3600	日本岛津公司
荧光分光光度计	RF-5301PC	日本岛津公司
傅立叶红外光谱仪	IRPrestige-21	日本岛津公司
扫描电子显微镜	S-4800	日本日立公司
流式细胞仪	CytoFLEX	贝克曼有限公司
荧光显微镜	DM2500 LED	德国莱卡公司
X 射线光电子能谱仪	Thermo Scientific K-Alpha	赛默飞世尔科技公司
顺磁共振波谱仪	Bruker EMXplus-6/1	布鲁克生物科技公司
高速冷冻离心机	Z 326k	德国赫姆勒公司
超净工作台	BJ-2CD	上海博迅医疗生物有限公司

2.3 实验方法

2.3.1 MoS₂-Ce6-CaO₂@ZIF-8纳米材料制备及表征

(1) MoS₂纳米花的合成

将0.15 g钼酸钠溶于20 mL去离子水中。随后加入0.1 mol/L HCl调节溶液pH为6.5，随后加入0.4 g L-半胱氨酸，用水稀释至40 mL，在磁力混合器上大力搅拌1 h，将溶液倒入反应器，180°C加热48 h，取出冷却。用去离子水和无水乙醇洗涤3次后，12000 rpm离心5 min，最后排空上清液，在60°C下真空干燥24 h，得到MoS₂纳米花。

(2) CaO₂的合成

首先将1 g氯化钙溶于10 mL纯水中，依次加入5 mL NH₃·H₂O (1 mol/L) 和80 mL 聚乙二醇 (PEG)，在磁力搅拌器上搅拌至溶液澄清，然后在20 min内匀速加入5 mL H₂O₂ (30%)，离心15 min (9600 rpm)，甲醇洗涤3次，在真空干燥机中干燥4 h (50°C)。最终得到白色的CaO₂粉末。

(3) MoS₂-Ce6-CaO₂@ZIF-8和MCC@ZIF-8@BCβ水凝胶的合成

将合成的MoS₂纳米花和CaO₂各25 mg溶解于70 mL无水乙醇中，磁搅拌器搅拌2 h，然后加入25 mg Ce6，避光搅拌24 h，离心10 min (10000 rpm)，去除上清后用无水乙醇洗涤3次，50°C真空干燥24 h，得到MoS₂-Ce6-CaO₂。在此过程中，在30 mL无水乙醇中加入25 mg MoS₂-Ce6-CaO₂。随后，将0.24 g 二水乙酸锌和1.5 g 2-甲基咪唑溶于10 mL无水乙醇中，混合搅拌2 min，将搅拌溶液加入MoS₂-Ce6-CaO₂溶液中，避光在磁力搅拌器上搅拌过夜。将溶液离心，并去除上清液 (10,000 rpm)。用纯净水和无水乙醇清洗3次，真空干燥12 h，得到材料MoS₂-Ce6-CaO₂@ZIF-8 (MCC@ZIF-8)。将MCC@ZIF-8加入含有小檗碱的壳聚糖 (CS) 和β-甘油磷酸钠 (β-GP) 溶液，冰水浴搅拌得到MCC@ZIF-8@BCβ水凝胶。

(4) MoS₂-Ce6-CaO₂@ZIF-8的表征

为了验证MCC@ZIF-8的成功合成，使用紫外-可见分光光度计和傅里叶红外光谱仪获得了MoS₂、MoS₂-Ce6、MoS₂-Ce6-CaO₂和MCC@ZIF-8的光谱。MCC@ZIF-8的光谱是通过使用激光粒度分析仪Mastersizer3000 (Malvern, UK) 测量粒径和Zeta电位。为了研究MCC@ZIF-8的稳定性，连续七天进行了粒径测量。此外，使用扫描电子显微镜观察MCC@ZIF-8的形貌。

2.3.2 MCC@ZIF-8纳米材料光热性能评估

使用红外热成像系统（FOTRIC）评估了MCC@ZIF-8的PTT性能。将不同浓度的MCC@ZIF-8放入1.5 mL离心管中，用1.0 W/cm²功率的808 nm激光照射不同时间；将150 µg/mL MCC@ZIF-8置于1.5 mL离心管中，用不同功率的激光照射。每隔1 min采集一次溶液的热成像和温度值。绘制了加热-冷却曲线，利用以下公式确定了光热转换效率（ η ），其中 τ_s （362.32）是通过冷却曲线的线性回归分析获得的。 M_d 和 C_d 是MCC@ZIF-8溶液的质量（>1 g）和热容量（4.2 J/g·K）。不含光热试剂的背景能量输入表示为 Q_0 ，而水的稳态最高温度（37 °C）表示为 $T_{\max, \text{water}}$ ， T_{surr} 表示环境室温（26 °C）。 $T_{\max}$ 值表示MCC@ZIF-8溶液达到的稳定最高温度（62.5 °C），其中 I 表示激光功率， A_{808} 对应于MCC@ZIF-8在808 nm处的吸光度。

$$\tau_s = m_d C_d / h S$$

$$Q_0 = h S (T_{\max, \text{water}} - T_{\text{surr}})$$

$$\eta = h S (T_{\max} - T_{\text{surr}}) - Q_0 / I (1 - 10^{-A_{808}})$$

2.3.3 MCC@ZIF-8纳米材料活性氧检测

用1, 3-二苯基异苯并呋喃（DPBF）探针检测ROS的存在。向含有150 µg/mL MCC@ZIF-8和O₂-MCC@ZIF-8的悬浮液中加入10 µL DPBF溶液（5 mg/mL）。每隔1 min记录溶液的紫外-可见光谱，同时用强度为0.6 W/cm²的660 nm激光连续照射5 min。

2.3.4 MCC@ZIF-8纳米材料细胞内光动力检测

本文进一步研究了材料光动力行为验证其性能。取分组分别为PBS，Ce6，MCC@ZIF-8与不同菌液孵育4 h后，细菌离心除去材料，加入10 µM的H₂DCFH-DA探针，孵育30 min。然后用0.6 W/cm² 660 nm的激光对其进行治疗，用正置荧光显微镜观察并记录结果。

2.3.5 体外抑菌活性研究

首先在两个平行组中测定MCC@ZIF-8的最小抑制浓度（MIC）+NIR组（1.0 W/cm²，5 min）和正常（-NIR）组。在96孔板加入100 µL灭菌后的TSB培养基，然后将MCC@ZIF-8（256 µg/mL）进行梯度稀释。最后，向每个孔中加入100 µL细菌稀释液（1×10⁶ CFU/mL）。将平板在37 °C中孵育12 h，使用酶标记在600 nm（OD₆₀₀）测量吸光度。用抗生素氨苄青霉素和硫酸卡那霉素作为对照。

采用细菌群落计数法检测MCC@ZIF-8对MDR *E.coli*和MDR *S. aureus*的体外

抗菌活性。简而言之，这两种细菌首先放在37 ℃的液体培养基（TSB）中培养过夜，二次活化等待细菌生长到对数期，然后将得到的菌液与超纯水、MoS₂、MoS₂-Ce6、MCC@ZIF-8（浓度为150 μg/mL）与细菌孵育2 h，非光组（-NIR）置于黑暗环境中，见光组（+NIR）分别用1.0 W/cm²的808 nm和0.6 W/cm²的660 nm激光照射5 min（下文记作激光照射5 min），取100 μL均匀涂在培养皿上，37 ℃孵12 h，同上将对数期菌液与浓度分别为0 μg/mL、32 μg/mL、64 μg/mL、128 μg/mL MCC@ZIF-8进行处理，对CFU进行计数并用相机记录。

为了探究不同组分对于细菌的影响，将细菌二次活化以及稀释到 1.0×10^6 CFU/mL，分别与PBS、MoS₂、MoS₂-Ce6、MCC@ZIF-8混匀后孵育2 h，用近红外激光照射5 min后孵育4 h，孵育结束后用活/死菌双重染色试剂SYTO-9和PI在黑暗环境中染色20 min，染色结束时，除去多余的染液，再用纯水清洗三次，最后将细菌悬浮在1.5 mL纯水中，取400 μL在载玻片上烘干，观察其荧光共定位，剩余菌液用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

2.3.6 生物被膜模型及消融

将处于对数期的MDR *E. coli* 200 μL（ 1.0×10^6 CFU/mL）加入到96孔板中，在37 ℃培养48 h形成生物膜。（注：每个测试梯度有3个重复）。从每个孔中取出上清液，加入200 μL不同浓度MCC@ZIF-8的溶液，用近红外激光照射5 min，在37 ℃下孵育过夜。用100 μL 4%多聚甲醛固定样品10 min。然后除去每个孔的上清液，接着用50 μL结晶紫（0.2%）染色30 min。用生理盐水清洗样品三次，通过显微镜观察染色后的生物膜分布图像。自然风干后，加入33%的乙酸溶液使生物膜完全溶解。使用酶标仪测量OD₄₉₂值。MDR *S. aureus*的生物被膜的抑制实验如上所述。

2.3.7 MCC@ZIF-8纳米材料对细菌形态的影响

将对数期耐药性细菌与PBS、MoS₂、MoS₂-Ce6、MCC@ZIF-8混匀后孵育2 h，用近红外激光照射5 min，继续在37 ℃，200 rpm下培养10 h。离心收集细菌（5000 rpm，5 min）并用PBS洗涤两次。用2.5 wt%戊二醛处理后再用PBS洗涤两次。收集的细菌用乙醇进行梯度（35、50、70、80、95和100 wt%）脱水，每个梯度处理15 min。将收集的细菌冻干，最后通过扫描电子显微镜（SEM）观察细胞形态。

2.3.8 耐药金黄色葡萄球菌的转录组测序分析

研究了不同组分对于MDR *E. coli*转录过程的影响。样本分为Blank，MoS₂、

MoS₂-Ce6、MCC@ZIF-8，分别记作Blank，PTT，PDT和PTDT。样本经过提取totalRNA，去除rRNA并富集mRNA，随后按照链特异性建库方式建库。然后进行RNA-seq分析，使用统计学方法，比较两个条件或多个条件下的基因表达差异，从中找出与条件相关的特异性基因，然后进一步分析这些特异性基因的生物意义。

2.3.9 动物伤口模型

实验动物（KM小鼠，雌性，4周）获自南京大学模型动物研究中心（中国南京），均经苏州大学（中国苏州）动物护理批准，且按《动物福利法》和《实验动物护理和使用指南》协议进行饲养。小鼠按体重进行分组，每组5只，小鼠房间始终保持适宜温度（20±2 ℃）和湿度（50-60%），喂养无菌水和小鼠专用饲料，观察5天并记录体重变化。之后建立伤口模型，分不同组分，每组3个平行实验。每只小鼠背部切开直径约12.5 mm的伤口，接种MDR *S. aureus*（1.0×10⁸ CFU/mL）。每天用不同组分材料处理，光照组用近红外激光光照5 min。记录小鼠体重，测量伤口大小。在处理期间，用光热成像仪拍摄并记录处理过程。将小鼠处死后，切下伤口皮肤组织以及心肝脾肺肾保存在4%多聚甲醛中，之后进行H&E分析，同时对伤口皮肤组织进行Masson染色分析。

2.3.10 生物安全性评估

对MCC@ZIF-8@BCβ水凝胶进行一系列安全性评价。取新鲜羊血加入EDTA处理后获得红细胞，将不同浓度MCC@ZIF-8（32，64，128，256 μg/mL），阳性对照为H₂O，阴性对照为PBS，与红细胞液混合，37 ℃水浴1，12，24 h后1000 r/min离心5 min后取200 μL于96孔板在570 nm处检测。溶血率=（样品吸光度-阴性对照吸光度）/（阳性对照吸光度-阴性对照吸光度）。为了研究纳米材料的安全性，动物实验结束后，取出小鼠主要心肝脾肺肾和伤口组织并保存在4%多聚甲醛固定液中，进行H&E染色，伤口组织额外进行Masson染色，观察组织切片，分析不同实验组别小鼠心肝脾肺肾等器官的生理变化，评估材料的体内生物安全性。

2.4 实验结果与讨论

2.4.1 MCC@ZIF-8纳米材料和MCC@ZIF-8@BCβ水凝胶的表征结果分析

本研究将MCC@ZIF-8加入含有小檗碱（BBR）的壳聚糖（CS）和β-甘油磷酸钠（β-GP）溶液，冰水浴搅拌得到MCC@ZIF-8@BCβ水凝胶。MCC@ZIF-8@BCβ水凝胶的合成过程如图2-2a所示。FTIR光谱结果（图2-2b）表明MCC@ZIF-8纳米

材料的成功制备也间接解释了 MoS_2 的光热效应。由于N-H键拉伸了纳米材料层的平面， MoS_2 NPs振动时在 1840 cm^{-1} 处表现出明显的特征峰，而Mo-S振动时在 1180 cm^{-1} 处表现出较弱的特征峰。由图2-2c可知， MoS_2 NFs的平均粒径约为250 nm，其多分散性指数（PDI）为0.149。MCC@ZIF-8 NPs的平均粒径约为300 nm，PDI为0.174。如图2-2d所示，加入不同的材料后，Zeta电位发生了相应的变化，表明MCC@ZIF-8 NPs的合成成功。从图2e可以看出， MoS_2 在400 nm处没有明显的吸收峰，而Ce6在400 nm附近都出现了特征峰。SEM显示， MoS_2 和MCC@ZIF-8 NPs的形貌和尺寸（图2-2f和图2-2h）显示， MoS_2 呈花状，MCC@ZIF-8为均匀的六边形，尺寸均匀，分散性好。此外，对MCC@ZIF-8 NPs的TEM检查（图2-2g）显示，MCC@ZIF-8 NPs的六边形表面光滑，表明ZIF-8成功封装在 MoS_2 -Ce6- CaO_2 NPs表面。MCC@ZIF-8 NPs的元素分析结果如图2-2i-2-2m所示，并对Zn、Ca、S、Mo、O等组成元素进行了表征，证实了MCC@ZIF-8 NPs的成功合成。在不同温度下对MCC@ZIF-8 @BBR/CS/ β -GP温敏水凝胶进行测试，结果如图2-2n所示。水凝胶在4 °C为液体，在37 °C为固体，表明其温度敏感性。使用SEM对MCC@ZIF-8 @BBR/CS/ β -GP温敏性水凝胶进行表征（图2-2o）。结果表明，其内部结构为多孔结构，与相关文献中的描述一致，证明成功制备了水凝胶。图2-3结果显示MCC@ZIF-8的载药率为30%，且具有良好的材料稳定性。

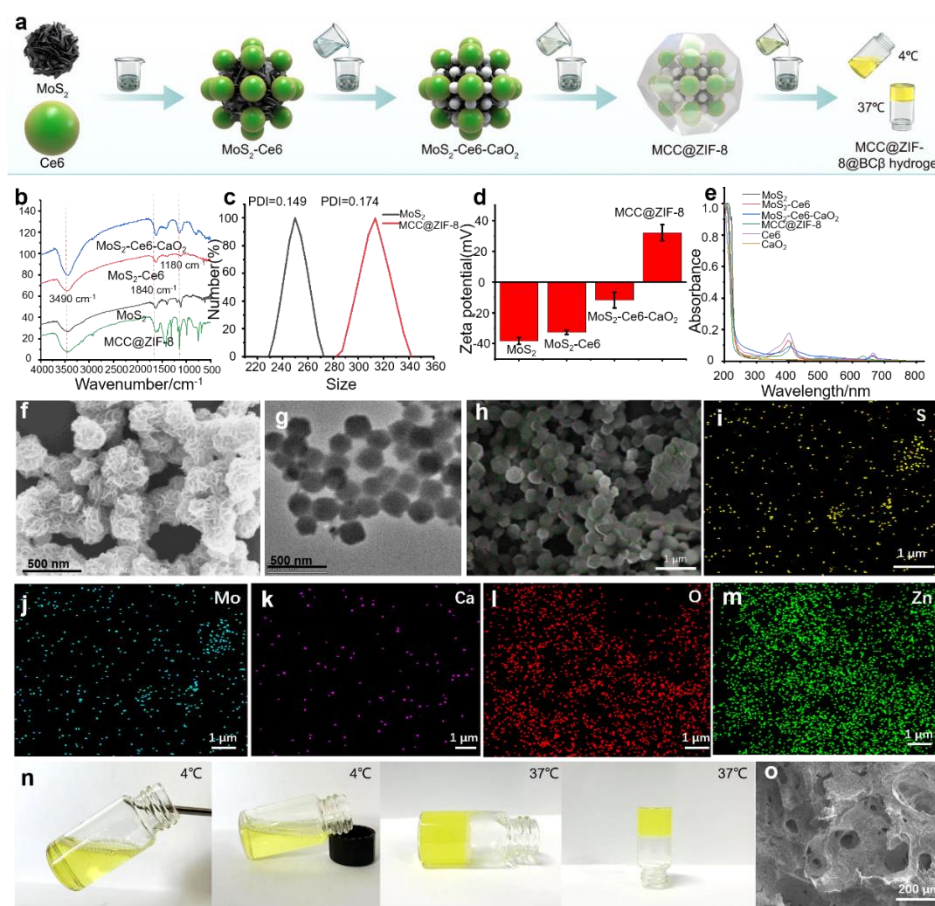


图 2-2. (a) MCC@ZIF-8@BC β 水凝胶的制备过程; (b) MoS₂-Ce6/MoS₂-Ce6-CaO₂/MCC@ZIF-8的红外光谱; (c) MoS₂/MCC@ZIF-8的粒径; (d) MoS₂/ MoS₂-Ce6 / MoS₂-Ce6-CaO₂/MCC@ZIF-8的Zeta电位; (e) 紫外光谱; (f) MoS₂ NFs的扫描电镜图像; (g) MCC@ZIF-8透射电镜图像; (h) MCC@ZIF-8的扫描电镜图像; (i-m) MCC@ZIF-8的元素分析; (n) MCC@ZIF-8 @BBR/CS/ β -GP水凝胶的温敏性测试; (o) MCC@ZIF-8 @BBR/CS/ β -GP 水凝胶的扫描电镜图像

Figure 2-2. (a) Schematic diagram of the MCC@ZIF-8@BC β hydrogel synthesis pathway; (b) FTIR pattern of MoS₂/MoS₂-Ce6/MoS₂-Ce6-CaO₂/MCC@ZIF-8; (c) The particle size of MoS₂/MCC@ZIF-8; (d) Potential of MoS₂/MoS₂-Ce6/MoS₂-Ce6-CaO₂/MCC@ZIF-8; (e) UV-vis spectra; (f) SEM of MoS₂ NFs; (g) TEM of MCC@ZIF-8; (h) SEM of MCC@ZIF-8; (h-m) Mapping of MCC@ZIF-8; (n) MCC@ZIF-8 @BBR/CS/ β -GP thermosensitive hydrogel at 4 °C and 37 °C; (o) MCC@ZIF-8@BBR/CS/ β -GP temperature-sensitive hydrogel SEM.

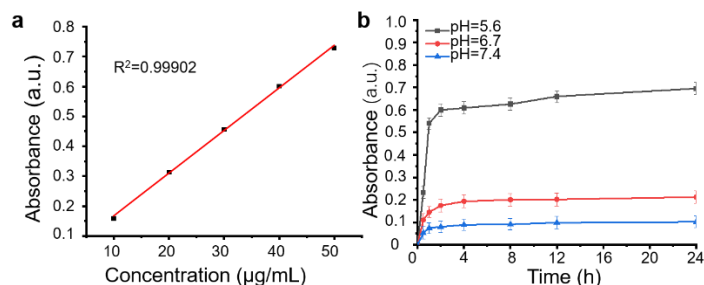


图 2-3. (a) 根据紫外光谱分析结果, MCC@ZIF-8的载药率为30%; (b) MCC@ZIF-8在不同pH环境下的药物释放

Figure 2-3. (a) According to the results of UV spectrum analysis, the drug loading rate of MCC@ZIF-8 was 30%; (b) MCC@ZIF-8 Drug release at different pH environments

2.4.2 MCC@ZIF-8纳米材料的光热及光动力性能

探索了MCC@ZIF-8的光热性能。MCC@ZIF-8在近红外照射下迅速加热,其浓度和照明功率对温度升高有正向影响(图2-4a, 图2-4b)。通过测定MCC@ZIF-8的光热转换效率来评估其光热性能。由MCC@ZIF-8(图2-4c, 图2-4d)的上升和下降曲线可知 $\Delta T_{\max}$ 和 I 分别为43.9 °C和1.0 W/cm²,说明MCC@ZIF-8具有良好的光热稳定性。由MCC@ZIF-8时间与 $-\ln\theta$ 的线性回归曲线(图2-4e)可知MCC@ZIF-8的光热转换效率 η 为47%。DPBF和ROS产生无色产物,导致其吸光度降低。MCC@ZIF-8 + DPBF在660 nm处吸光度降低(图2-4f),表明单线态氧与DPBF发生了反应。热成像(图2-4g)直观地反映了溶液温度的变化。当MCC@ZIF-8浓度达到200 μg/mL时,使用1.0 W/cm²近红外照射15 min,温度为60 °C。此外,实验表明MCC@ZIF-8纳米粒具有良好的热转换效率,可用于伤口愈合。如图2-4h所示,MCC@ZIF-8在MDR金黄色葡萄球菌和MDR大肠杆菌的细胞内ROS荧光检测中,与对照组PBS+DPBF相比,实验组MCC@ZIF-8+DPBF的ROS荧光强度更高。最终产品组显示出相同的结果,证明MCC@ZIF-8具有光动力作用,可以用于后续的抗菌实验。

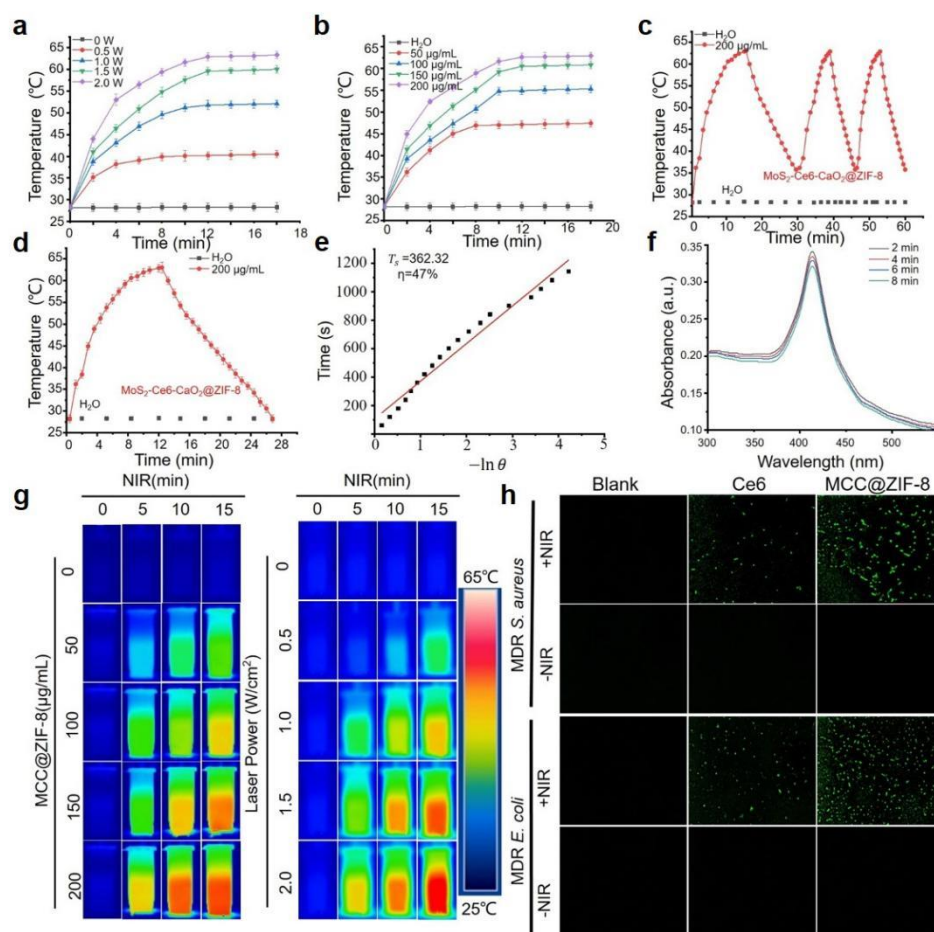


图 2-4. MCC@ZIF-8的光热和光动力特性：（a）200 $\mu\text{g/mL}$ MCC@ZIF-8在不同功率下的温度曲线；（b）MCC@ZIF-8在1.0 W/cm^2 不同浓度下的加热曲线；（c）MCC@ZIF-8的光热稳定性曲线；（d）MCC@ZIF-8的温度及温度曲线；（e）MCC@ZIF-8的光热转换效率；（f）MCC@ZIF-8+DPBF 660 nm UV-vis光谱；（g）不同浓度MCC@ZIF-8的体外热成像图像；MCC@ZIF-8不同功率辐照下的体外热成像图像；（h）细胞内活性氧的荧光成像

Figure 2-4. (a) Temperature curves of 200 $\mu\text{g/mL}$ MCC@ZIF-8 at different power; (b) Heating curves of MCC@ZIF-8 at different concentrations at 1.0 W/cm^2 ; (c) Photothermal stability curved of MCC@ZIF-8; (d) The temperature and temperature curve of MCC@ZIF-8; (e) photothermal conversion efficiency of MCC@ZIF-8; (f) MCC@ZIF-8+DPBF 660 nm UV-vis spectrum; (g) Thermal imaging images of different concentrations of MCC@ZIF-8 *in vitro*; MCC@ZIF-8 *in vitro* thermal imaging images under different wattage irradiation; (h) Fluorescence imaging of intracellular reactive oxygen species

2.4.3 体外抑菌结果分析

（1）最低抑菌浓度（MIC）及CFU

根据MCC@ZIF-8对两种耐药细菌的MIC值分析，确定MCC@ZIF-8对MDR *E. coli*和MDR *S. aureus*的MIC值分别约为50和60 $\mu\text{g/mL}$ 。结果见表2-2。使用标准

平板计数评估了纳米材料对MDR *E. coli*和MDR *S. aureus*的抗菌作用。不同材料以及浓度梯度处理后培养板的图像及统计见图2-5。PBS和MoS₂单剂治疗对MDR *E. coli*和MDR *S. aureus*的抗菌作用最小。然而，当MoS₂-Ce6负载CaO₂时，MoS₂-Ce6-CaO₂处理比MoS₂-Ce6处理能杀死更多的细菌，这归因于CaO₂产生的氧促进ROS的产生；此外，进一步与ZIF-8相结合，MCC@ZIF-8光热以及增强的光动力处理从几乎所有菌株中消除了细菌。MCC@ZIF-8的细菌抑制活性与其浓度呈正相关(图2-5d)。这些结果表明MCC@ZIF-8纳米材料具有良好的广谱抗菌活性。

表 2-2 最低抑菌浓度值的测量 (+NIR , $\mu\text{g/mL}$)

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

Bacteria	Blank	MCC@ZIF-8	PTT(808 nm)	PDT(660 nm)	PTDT(808+660 nm)	Kanamycin	Ampicillin
MDRS.aureus	>128	>128	80	72	52	16	12
MDRE.coil	>128	>128	78	73	50	11	17

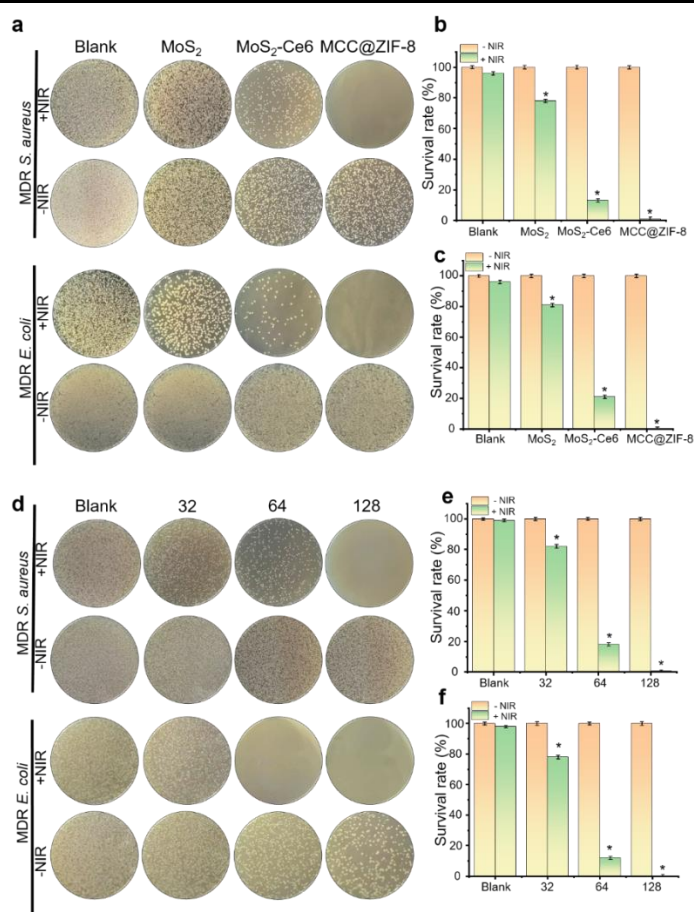


图 2-5.体外抗菌活性；（a）不同材料处理后耐药菌的CFU检测结果；（b、c）细菌存活统计柱状图；（d）不同浓度MCC@ZIF-8处理耐药菌的菌落数（图中单位为 $\mu\text{g/mL}$ ）；

（e,f）细菌存活统计量条形图结果表示为平均 SD, $n = 3$; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Figure 2-5. Antibacterial activity *in vitro*; (a) CFU detection results of drug-resistant bacteria after

treatment with different materials; (b,c) bar chart of bacterial survival statistics; (d) CFU of drug-resistant bacteria treated with different concentrations of MCC@ZIF-8 (The units in the figure are $\mu\text{g/mL}$); (e,f) bar plot of bacterial survival statistics; The results were expressed as the average SD,

$n = 3$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

(2) Live-Dead染色

使用MDR *E. coli* 和MDR *S. aureus*作为模型细菌，通过活/死染色实验验证了PTT和纳米材料增强的PDT杀菌效果。进一步研究MCC@ZIF-8的抗菌作用，通过Live-Dead实验和流式细胞术检测其抗菌活性。该方法既能检测出存活的耐药菌，也能检测出死亡的敏感菌。细菌与SYTO-9和PI共染色。SYTO-9可以染色活死细胞的DNA并发出绿色荧光，而死亡细胞的DNA只能被PI染色并发出红色荧光。图2-6a显示，在空白组中，红色死亡细菌几乎为零。MoS₂+NIR (128 $\mu\text{g/mL}$) 和MoS₂-Ce6+NIR (128 $\mu\text{g/mL}$) 单独破坏了一些MDR *E. coli*，MCC@ZIF-8+NIR破坏了大多数MDR *E. coli* (图2-7a)。对MDR *S. aureus*也观察到同样的效应 (图2-6b)。这些结果表明，MCC@ZIF-8+NIR组具有最大的抗菌效果。

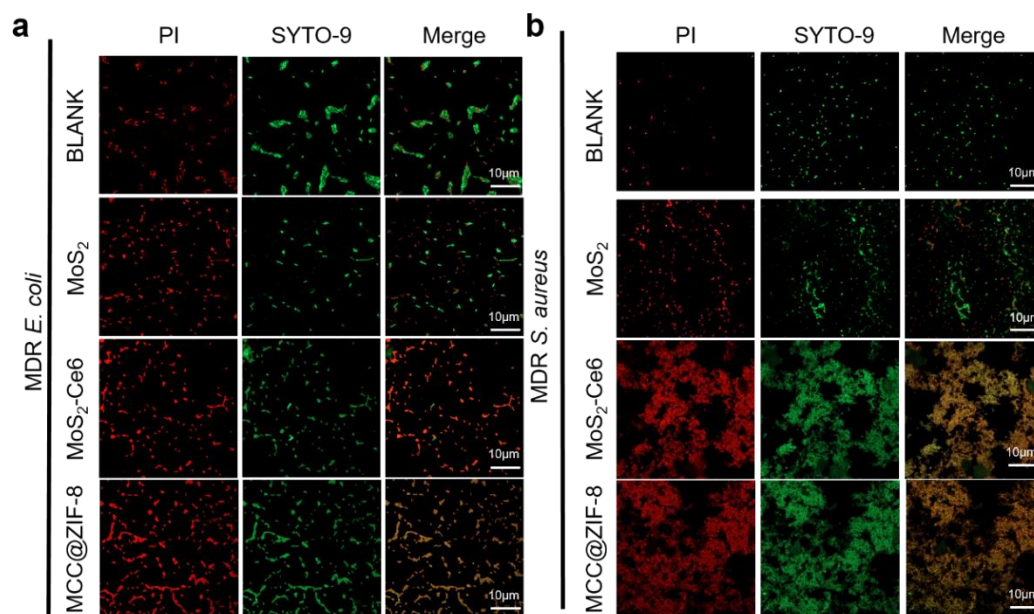


图 2-6. 共聚焦荧光显微镜检测：(a) 共聚焦荧光显微镜检测治疗后多重耐药金黄色葡萄球菌；(b) 共聚焦荧光显微镜观察处理后的MDR大肠杆菌；将细胞分为Blank组、MoS₂组、MoS₂-ce6组和MCC@ZIF-8组；将细胞与PI (红色荧光) SYTO-9 (绿色荧光) 共染色 30 min，绿色为活细胞 (SYTO-9)，红色为死细胞 (PI)；分别用808 nm 1.0 W/cm²和660 nm 0.5 W/cm²处理细胞2 min

Figure 2-6. Confocal fluorescence microscopy was used for detection; (a) Detection of MDR *S. aureus* by confocal fluorescence microscopy after treatment; (b) Confocal fluorescence

microscopy was used to observe MDR *E. coli* after treatment; The cells were divided into Blank, MoS₂, MoS₂-Ce6, and MCC@ZIF-8 group; The cells were co-stained with PI (red fluorescence) SYTO-9 (green fluorescence) for 30 min; Live cells (SYTO-9) are shown in green and dead cells (PI) in red; The cells were treated with 808 nm 1.0 W/cm² and 660 nm 0.5 W/cm² for 2 min, respectively

(3) 流式细胞术

为了进一步评估MCC@ZIF-8的抗菌活性,用流式细胞仪对有活力和无活力的两种细菌细胞的数量进行了定量统计比较。如图2-7a所示, 对MDR *E. coli*的测试中, 空白组的细菌凋亡率为3.58%, MoS₂+NIR 组的凋亡率为45.22% , MoS₂-Ce6+NIR组的凋亡率为61.95%, 而MCC@ZIF-8+NIR组的凋亡率为95.84%。在对MDR *S. aureus*的测试中如图2-7b, 空白组的细菌凋亡率为0.43%, MoS₂+NIR组的凋亡率为39.75%。 MoS₂-Ce6+NIR组的凋亡率为70.57%, 而MCC@ZIF-8+NIR组的凋亡率为97.25%, 与此前的实验结果基本一致。通过流式细胞仪对有活力和无活力的细菌细胞进行定量分析, 进一步证实了MCC@ZIF-8有良好的抗菌活性。

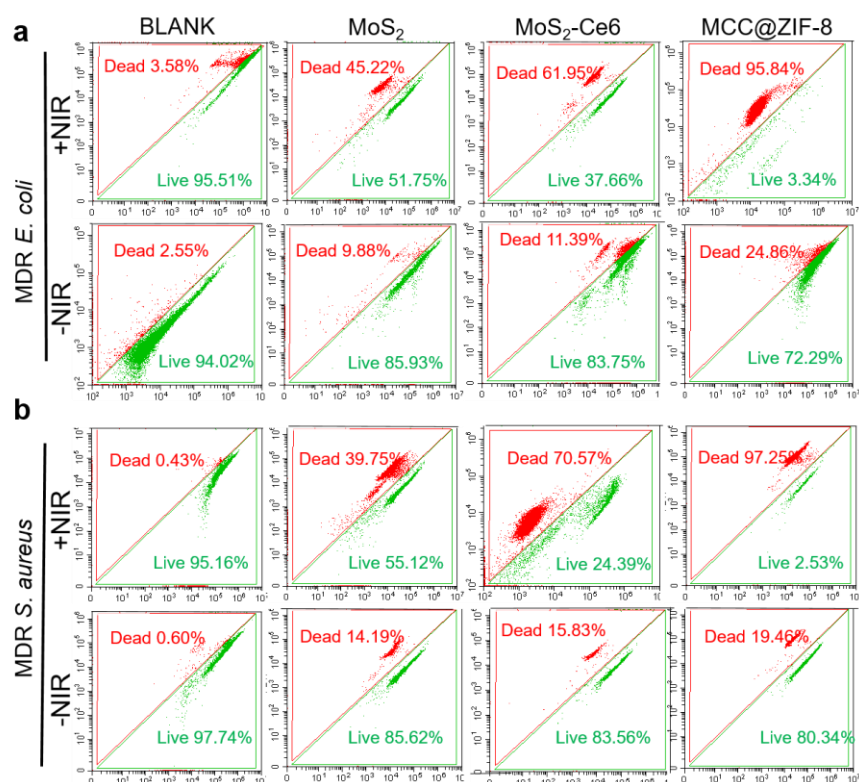


图 2-7. 流式细胞术检测细胞凋亡结果; 将经NIR+处理的细菌用 SYTO-9/PI 染色; (a) MDR *E. coli* 细胞凋亡; (b) MDR *S. aureus* 细胞凋亡

Figure 2-7. Apoptosis results were shown by flow cytometry; The bacteria treated by NIR+ were stained with SYTO-9/PI; (a) Apoptosis of MDR *E. coli*; (b) Apoptosis of MDR *S. aureus*

2.4.4 生物被膜模型及消融结果分析

96孔板培养耐药菌生物膜。结晶紫染色检测近红外和可见光照射后纳米材料对生物膜的破坏和去除效果。如图2-8a所示，结晶紫染色结果显示，经复合纳米材料MCC@ZIF-8 (808 nm + 660 nm) 处理后，耐药菌生物膜的生物量明显降低。两种菌株的生物膜溶解率均为>80% (图2-8b, 2-8c)。结晶紫染色细菌生物膜显微镜图像显示，MoS₂+NIR组、MoS₂-Ce6 +NIR组和MCC@ZIF-8+NIR组细菌生物膜颜色变浅。显微镜和激光共聚焦结果显示，MCC@ZIF-8+NIR组细菌生物膜几乎被清除，显微镜视野明显变亮 (图2-8d)。光热、光动力和CaO₂的联合作用可有效去除生物膜。这些因素结合在一起可以抑制和清除生物膜中的细菌，同时限制生物膜的形成。值得一提的是，PTT产生的热消融效应加速了原有生物膜结构的破坏。

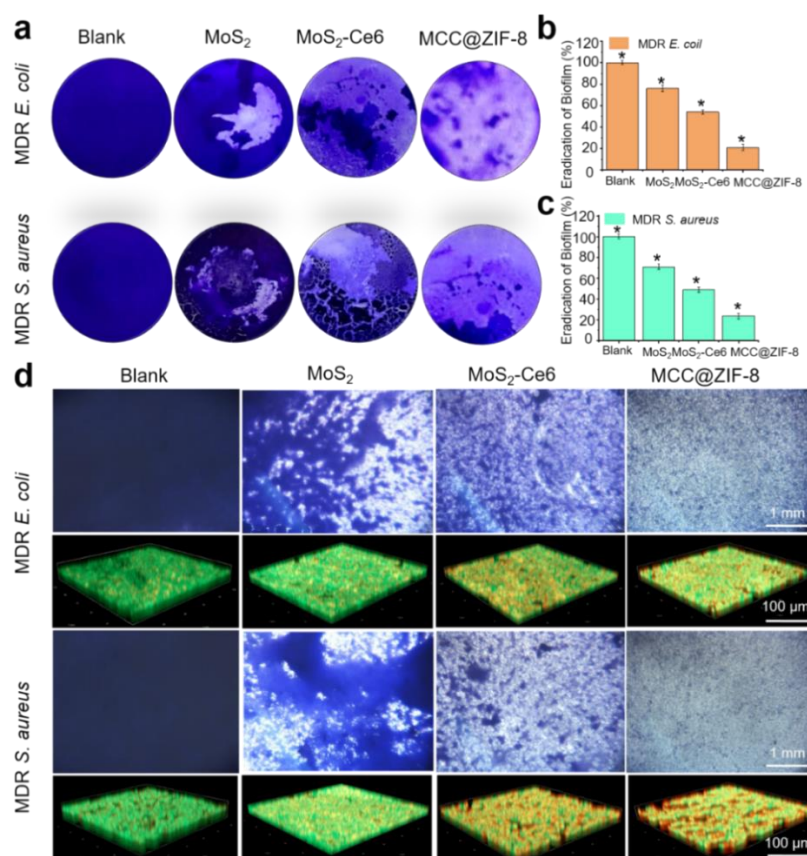


图 2-8. 纳米材料处理后的生物膜消融：（a）不同材料处理后的生物膜图像；（b, c）OD₄₉₂下的生物膜分析（* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ ）；（d）不同材料处理后形成的生物膜的显微镜和激光共聚焦图像，分别用结晶紫和PI/SYTO-9染色；将细胞分为Blank组、MoS₂组、MoS₂-Ce6组和MCC@ZIF-8组；分别用808 nm 1.0 W/cm²和660 nm 0.5 W/cm²处理细胞2 min

Figure 2-8. Biofilm ablation after nanoparticle treatment; (a) Images of biofilms treated with different materials; (b, c) Biofilm analysis under OD₄₉₂ (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$); (d) Microscopic and laser confocal images of biofilms formed after treatment with different materials, stained with crystal violet and PI/SYTO-9, respectively; The cells were divided into Blank, MoS₂, MoS₂-Ce6, and MCC@ZIF-8 groups; The cells were treated with 808 nm 1.0 W/cm² and 660 nm 0.5 W/cm² for 2 min, respectively

2.4.5 MCC@ZIF-8纳米材料对细菌形态的影响

扫描电镜记录不同药物处理后耐药菌形态变化；由图2-9可以看出，与空白对照组细菌细胞形态完整、圆形相比，MoS₂+NIR组耐药菌出现变形或损伤。MoS₂+NIR组、MoS₂-Ce6+NIR组和MCC@ZIF-8+NIR组MDR *E. coli*和MDR *S. aureus*的细胞损伤程度呈增加趋势，并逐渐出现细胞间黏附。特别是MDR *E. coli*表现出明显的细胞内容物渗漏。在MCC@ZIF-8+NIR组的联合作用下，细菌发生了广泛的细胞损伤，导致细胞之间出现边界不清的现象。

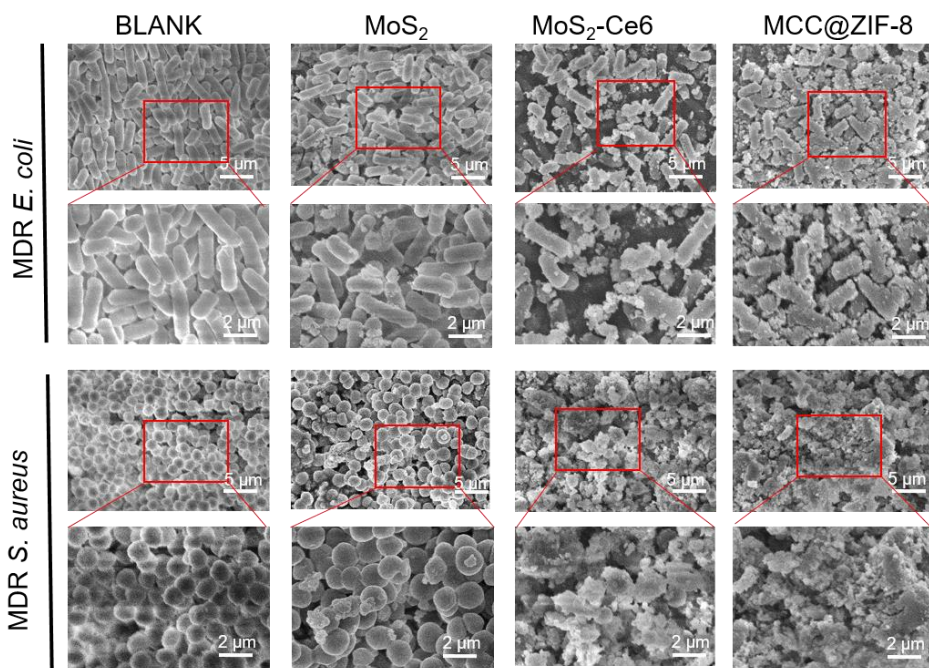


图 2-9. 材料NIR+处理的MDR *E. coli*和MDR *S. aureus*的SEM图像；空白组用PBS治疗

Figure 2-9. SEM images of MDR *E. coli* and MDR *S. aureus* processed by material +NIR; The Blank group was treated with PBS

2.4.6 耐药金黄色葡萄球菌转录组分析

材料的作用机理示意图如图2-10a所示。GO分类为生物过程（BPs）、分子功能（MFs）和细胞组分（CCs）。KEGG富集图见图2-10e。纵坐标表示KEGG通路

富集的函数，横坐标表示某一KEGG通路富集的差异基因数量与测序获得的背景基因数量的比值。在图2-10d中，横坐标和纵坐标是样本名称，不同位置的色块表示对应位置的样本之间相关系数的大小。红色表示强相关性，蓝色表示弱相关性。PTT、PDT、PTDT与空白组的相关系数分别为0.62、0.84、0.38。这些结果是由于不同的实验条件对基因表达的影响。从图2-10c所示的结果可以看出，PTDT在BP、MF和CC三个组分中都引起了遗传差异。这些差异可能是由于光热反应产生了大量的热量和光动力反应产生了ROS。ROS破坏细胞膜结构，导致内部损伤，从而影响细菌的遗传过程。图2-10b中的基因表达($\log_{10}$ FPKM)用不同的颜色表示，红色和蓝色分别代表高表达和低表达。左边是基因聚类树图；两个基因分支越接近，表达越接近。基于这一分析，我们选择了几个高度富集的通路进行分析(p值，阈值为0.05)。Blank组和PTDT组DEGs火山图(图2-11)。氨基酸生物合成(Ko01230)、碳(Ko01200)、氮(Ko00910)和组氨酸代谢(Ko00340)被确定为影响最大的途径，这些途径主要体现在生物代谢中。

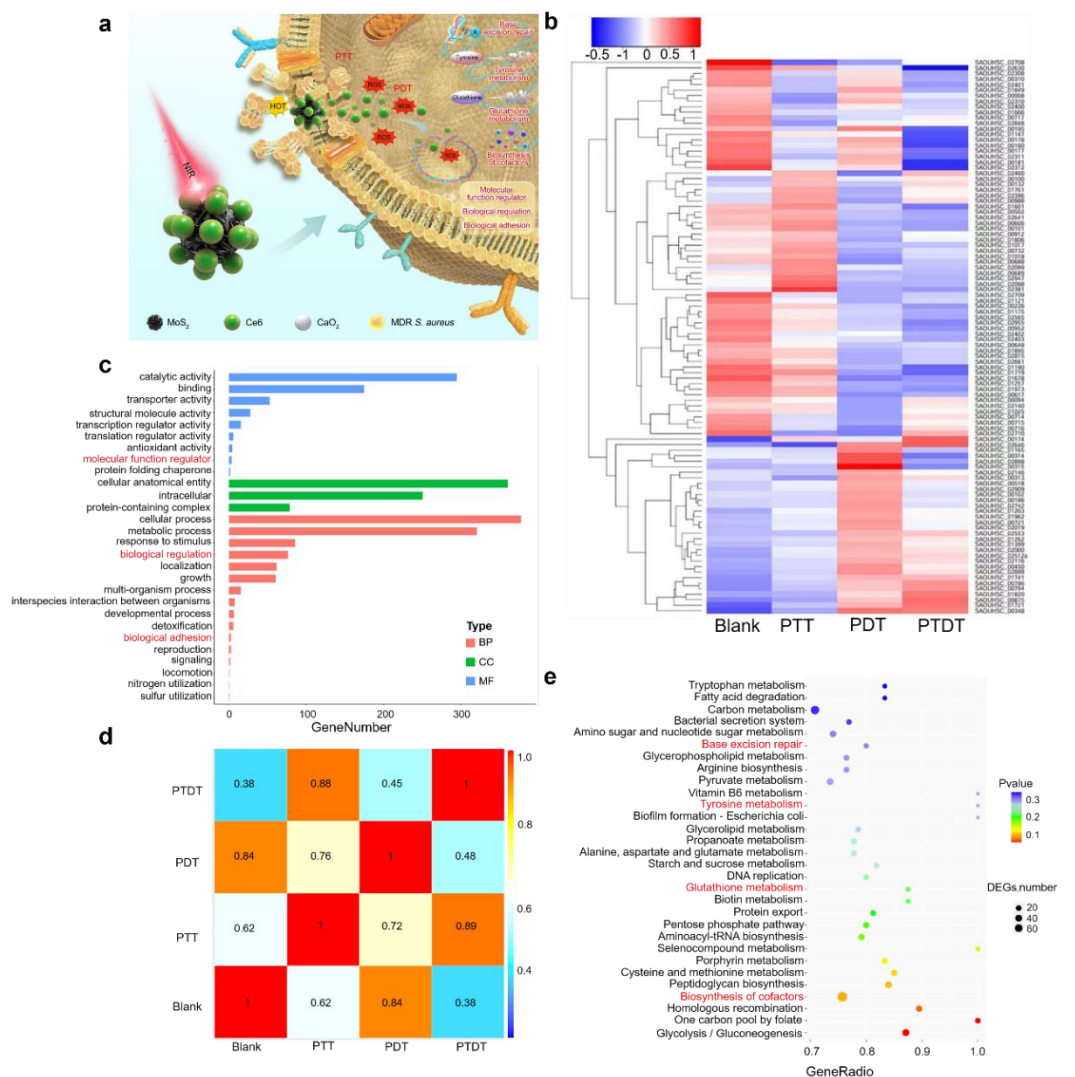


图 2-10. 转录组学结果分析；（a）作用机制图；（b）差异基因簇热图；（c） Blank和 PTDT的基因本体；（GO）富集分析直方图；（d）基因表达相关性热图；（e）空白与 PTDT的GO富集分析散点图；点的大小表示注释到KEGG通路的基因数量

Figure 2-10. (a) Mechanism of action diagram; (b) Heat map of differential gene clusters; (c) Gene Ontology; (GO) Enrichment analysis histogram of Blank and PTDT; (d) Heat map of gene expression correlation; (e) Scatter plot of GO enrichment analysis for blank vs PTDT. The size of the dots indicates the number of genes annotated to the KEGG pathway

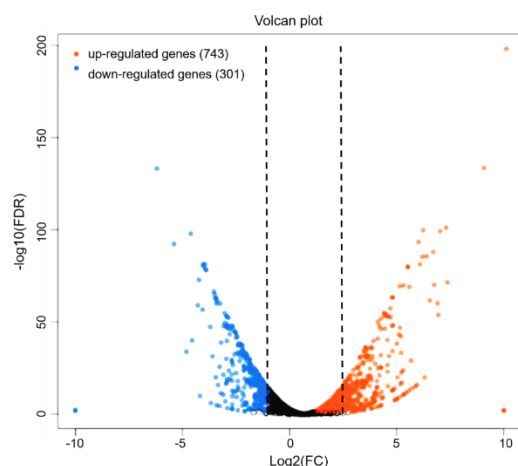


图2-11。Blank组与PTDT组DEGs火山图

Figure 2-11. Volcano plot of DEGs between Blank and PTDT groups

2.4.7 动物伤口模型

使用小鼠伤口感染模型进一步研究MCC@ZIF-8的体内抗菌作用(图2-12a)。连续拍摄各组小鼠创面11 d, 记录创面愈合过程(图2-12b)。所有小鼠的创面大小随时间呈减小趋势。第8天, MCC@ZIF-8@BC β 水凝胶(+NIR)组创面愈合最快(约20%), 并观察到新生皮肤组织(图2-12d)。在11天的治疗期间, 各组小鼠体重基本稳定, 波动不超过1.5 g(图2-12c)。这一发现证实了纳米复合物没有对小鼠产生任何显著的不利影响。创面处理后取眼球血, 处死小鼠行创面及器官组织H&E染色。H&E染色结果表明, 纳米复合水凝胶材料处理对主要器官没有影响。与对照相比, 实验组中愈合组织中的炎症细胞显著减少(图2-12e)。Masson染色分析愈合创面组织中胶原沉积情况。图中结果显示MCC@ZIF-8@BC β 水凝胶+NIR组胶原沉积明显增加。MoS₂+NIR组、MoS₂-Ce6+NIR组、MCC@ZIF-8+NIR组、MCC@ZIF-8@BC β 水凝胶+NIR组细胞凋亡率依次升高。此外, 我们进行了生物安全性测试, 以确定MCC@ZIF-8是否对实验小鼠产生毒性作用, 从而证实了纳米复合水凝胶材料的生物安全性。这些发现证实MCC@ZIF-8和MCC@ZIF-8@BC β 纳米复合水凝胶不仅具有良好的生物相容性, 而且具有良好的抗菌和伤口愈合效果。

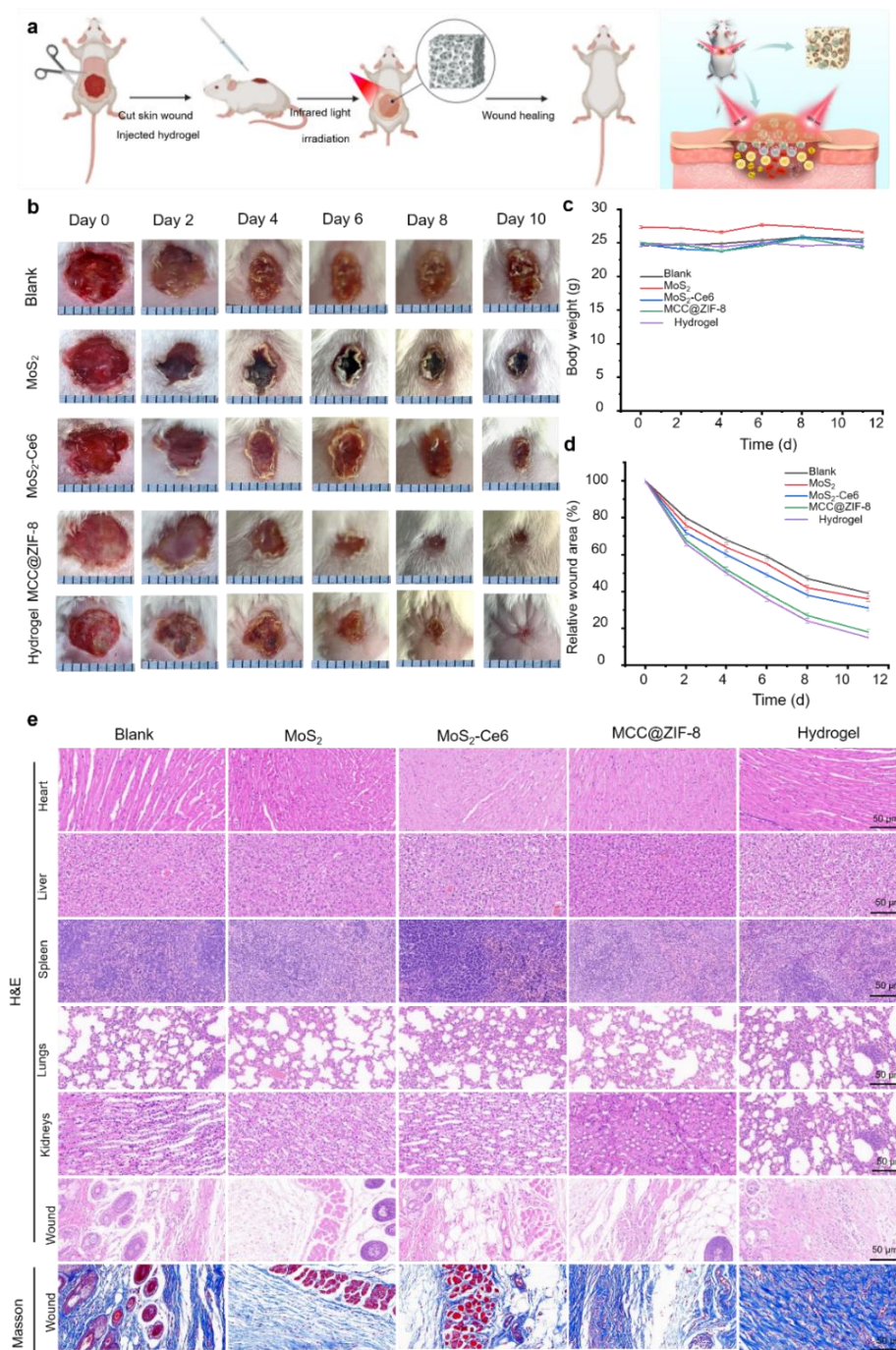


图 2-12.小鼠伤口愈合和组织切片染色分析；（a）小鼠模型建立过程示意图；（b）不同治疗组小鼠创面照片；（c）各组大鼠治疗期间体重变化曲线；（d）不同组小鼠治疗期间创面面积曲线；（e）不同组小鼠主要器官（心、肝、脾、肺、肾）和创面组织的H&E染色和不同组小鼠创面组织的Masson染色；（实验组分别为Blank组、MoS₂组、MoS₂-Ce6组、MCC@ZIF-8组和水凝胶组；所有细胞分别用808 nm 1.0 W/cm²和660 nm 0.5 W/cm²处理2 min）

Figure 2-12. Wound healing and staining analysis of tissue sections in mouse; (a) Schematic diagram of the mouse model establishment process; (b) Photographs of the wounds of mice in different treatment groups; (c) Curves of body weight changes during treatment in each group

of rats; (d) The curve of the wound area of mice in different groups during treatment; (e) H&E staining of the main organs (The Heart, Liver, Spleen, Lung, and Kidney) and wound tissues of a mouse in different groups and Masson staining of the wound tissues of a mouse in different groups; (The experimental groups were Blank, MoS₂, MoS₂-Ce6, MCC@ZIF-8, and Hydrogel groups; All cells were treated with 808 nm 1.0 W/cm² for 2 min and 660 nm 0.5 W/cm² for 2 min)

2.4.8 生物安全性评估

通过测定红细胞溶血率评价MoS₂和MCC@ZIF-8的疗效。结果表明, 128 µg/mL MoS₂在24 h后的溶血率为1.9%, 而128 µg/mL浓度的MCC@ZIF-8在24 h后的溶血率为4.2%或<5% (图2-13a, 2-13b)。计算结果显示, 128 µg/mL MoS₂和MCC@ZIF-8单独处理24 h后的溶血率均<5%。通过细胞计数试剂盒 (Cell Counting Kit-8) 检测MCC@ZIF-8的生物安全性和细胞毒性。MCC@ZIF-8处理24小时后, 在浓度为512 µg/mL时, 91%的细胞仍然有活力 (图2-13c)。此外, 我们进行了生物安全性测试, 以确定MCC@ZIF-8是否对实验小鼠产生毒性作用, 从而证实了纳米复合水凝胶材料的生物安全性。这些结果表明MCC@ZIF-8纳米复合材料具有良好的生物相容性。

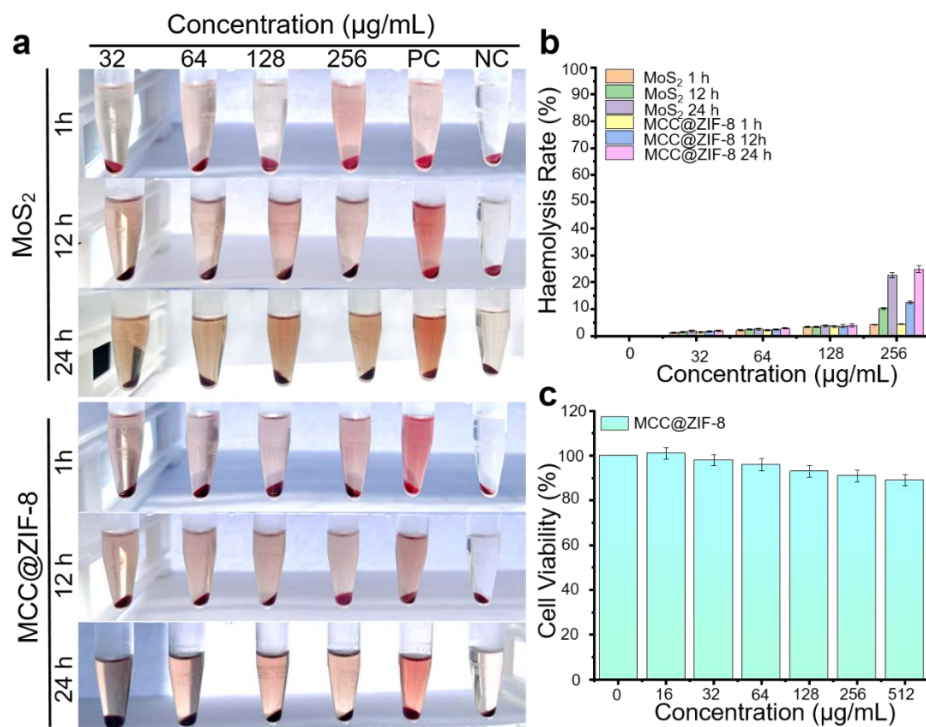


图 2-13. MoS₂和MCC@ZIF-8溶血实验以及生物安全性评价; (a) 溶血试验; (b) 计算溶血试验的溶血率; (c) MCC@ZIF-8治疗后MEFs生存统计

Figure 2-13. Respective hemolysis experiments for MoS₂ and MCC@ZIF-8 as well as biosafety assessment; (a) Hemolysis test; (b) To calculate the hemolysis rate of the hemolysis test; (c) Survival statistics of MEFs after MCC@ZIF-8 treatment

2.5 本章小结

本研究成功制备了MCC@ZIF-8复合纳米材料, SEM和TEM表征显示MoS₂纳米花为花团状, 平均粒径约为250 nm, MCC@ZIF-8为六面体, Zeta电位发生了相应的变化为 $+38 \pm 1.1$ mV, 粒径约为310 nm。紫外光谱和红外光谱的特征峰发生了位移, 证实了纳米复合物的成功制备。光热实验表明MCC@ZIF-8具有良好的光热效果和稳定性。此外, PTT和PDT联合MCC@ZIF-8处理后, 复合材料的抗菌效果显著增强。在本实验中, 纳米系统对多重耐药大肠杆菌和多重耐药金黄色葡萄球菌表现出>95%的抗菌效果。MCC@ZIF-8对耐药菌的生物被膜具有良好的清除能力, 清除率可达到90%。此外, 纳米系统还能抑制细菌碱基切除修复、酪氨酸代谢、谷胱甘肽代谢等基因的表达。此外, 纳米系统对细胞造成形态损伤, 诱导细胞凋亡, 抑制细菌生长。细胞形态学研究和转录组学分析揭示了细菌细胞死亡基因水平的分子机制。综上所述, MCC@ZIF-8在PTT+PDT联合治疗下具有良好的抗菌效果。为了增强材料的实际应用性, 将MCC@ZIF-8纳米材料制备成水凝胶得到MCC@ZIF-8@BBR/CS/ β -GP (MCC@ZIF-8@BC β) 水凝胶。通过动物伤口模型实验结果显示, 该水凝胶体系可以促进感染小鼠创面愈合。

第 3 章 负载二硫化钼温敏水凝胶光热联合单宁酸抗菌及促进创面愈合的研究

3.1 引言

为了更好的将如何将二硫化钼纳米材料应用广泛，将其引入水凝胶方向，为了解决二硫化钼在材料中作为被纳米外壳包裹的光热引发剂，光热效果触发条件不是很理想的问题，将纳米材料外壳替换为水凝胶包裹，更容易触发以及达到光热效果。

纳米氧化锌具有良好的生物安全性和广谱抗菌性，已经在诸多领域作为抗菌活性成分被广泛研究和应用。同时纳米氧化锌还可对pH、微波、超声波等多种外源刺激做出响应，因而可被用于智能型药物控释载体。不少研究者根据其对pH值的响应特性，制备高比表面积纳米氧化锌载体，实现对不同药物的靶向递送。

美国食品和药物管理局（FDA）确认的小分子两亲分子单硬脂酸三酯（Triglycerol monostearate, TM），可以通过自组装包裹疏水药物单宁酸（TA），形成TM/TA水凝胶，其特征是响应炎症部位的酶活性而具有酶促酯键。

单宁酸（TA）是一种天然多酚，存在于许多草药中，如红茶、绿茶和大黄，已被证明对治疗急性和慢性肠炎有益。TA可用于治疗胃肠炎和急性腹泻。TA还可以在粘膜中沉淀蛋白质，形成一层薄薄的保护层，保护其免受炎性损伤。TA的抗炎特性包括清除自由基和抑制炎症介质，同时，TA中多酚可有助于清除过量ROS，并诱导巨噬细胞向M2表型极化。

纳米材料包裹在水凝胶中，解决了材料光热触发不稳定的问题， $\text{MoS}_2\text{-ZnO}$ 被整体包裹在水凝胶内形成 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶（MZ@TM/TA），直接与近红外光接触并快速触发光热，升温更均匀，条件更简易，还可避免光热反应产生的热量导致局部过热，从而导致创面热损伤。

3.2 实验试剂与仪器

3.2.1 实验试剂

钼酸钠二水合物（ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ），L-半胱氨酸，冰乙酸（ $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ ），0.1 mol/L HCl，2-甲基咪唑（ $\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_2$ ），六水合硝酸锌（ $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ），尿素（ $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ），泊洛沙姆 188（Poloxamer 188），蔗糖（ $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ ），三

聚甘油单硬脂酸酯 ($C_{27}H_{54}O_8$)，单宁酸 ($C_{76}H_{52}O_{46}$)，耐药大肠杆菌 (MDR *E. coli*)，耐药金黄色葡萄球菌 (MDR *S. aureus*)。

3.2.2 实验仪器

表3-1 实验仪器

Table3-1 Experimental equipment

仪器名称	型号	生产厂家
冷冻干燥机	FD8-3	美国 SIM 公司
恒温磁力搅拌器	SZCL-2	上海岐耀设备有限公司
紫外可见分光光度计	UV-3600	日本岛津公司
荧光分光光度计	RF-5301PC	日本岛津公司
傅立叶红外光谱仪	IRPrestige-21	日本岛津公司
扫描电子显微镜	S-4800	日本日立公司
流式细胞仪	CytoFLEX	贝克曼有限公司
荧光显微镜	DM2500 LED	德国莱卡公司
X 射线光电子能谱仪	Thermo Scientific K-Alpha	赛默飞世尔科技公司
顺磁共振波谱仪	Bruker EMXplus-6/1	布鲁克生物科技公司
高速冷冻离心机	Z 326k	德国赫姆勒公司
超净工作台	BJ-2CD	上海博迅医疗生物有限公司

3.3 实验方法

3.3.1 MoS_2 -ZnO@TM/TA水凝胶的合成与表征

(1) MoS_2 纳米花的合成

将0.15 g钼酸钠溶于20 mL去离子水中。随后加入0.1 mol/LHCl调节溶液pH为6.5，随后加入0.4 g L-半胱氨酸，用水稀释至40 mL，在磁力混合器上大力搅拌1 h，将溶液倒入反应器，180 °C加热48 h，取出冷却。用去离子水和无水乙醇洗涤3次后，12000 rpm离心5 min，最后排空上清液，在60 °C下真空干燥24 h，得到 MoS_2 纳米花。

(2) 纳米ZnO的合成

首先将1.1 g六水合硝酸锌与6.01 g尿素溶于100 mL纯水中，搅拌加入0.36 g泊洛沙姆188和0.36 g蔗糖溶解，10 min后缓慢滴加冰乙酸至溶液pH=4~5，继续搅拌2 h后将溶液转移至反应釜中，90 °C恒温24 h。反应后冷却至室温，取出混合液

离心得到白色沉淀,使用50%乙醇水溶液洗涤4次,60 °C烘干24 h,得到纳米ZnO。

(3) MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶的合成

将MoS₂和ZnO按照1: 1混合溶解,搅拌12 h,将混合溶液离心洗涤干燥后得到MoS₂-ZnO纳米颗粒。将1 g三聚甘油单硬脂酸酯(TM)加入烧杯中,然后与10 mL DMSO溶液(20%v/v)混合再加入20 mg单宁酸(TA)形成混合物,将混合物加热到75 °C,搅拌直到TM溶解,加入MoS₂-ZnO纳米颗粒,搅拌1 h。将溶液倒入小瓶再将小瓶放在平坦的表面上,冷却至室温30分钟,形成MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶。

3.3.2 MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶的光热性能评估

光热性能评估方法同2.3.2。

3.3.3 MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶的粘度检测

提取适量的样品(一般为10 mL左右)放入圆筒中。选择仪器的测试模式:稳态模式,然后选择测试项目时间粘度曲线,设定测试剪速率为0.1-100,然后设定好后开始测试,仪器记录数据,导出后分析。

3.3.4 体外抑菌活性研究

体外抑菌实验方法同2.3.5。

3.3.5 生物被膜模型及消融

生物被膜消融实验方法同2.3.6。

3.3.6 动物伤口模型

动物伤口模型实验方法同2.3.9。

3.3.7 生物安全性评估

对MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶进行溶血性能评价。取4%大鼠红细胞(森贝伽生物科技),将不同浓度MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶(MoS₂-ZnO@TM/TA 浓度分别为100, 200, 400 µg/mL),阳性对照为0.1% (v/v) TritonX-100,阴性对照为PBS,与红细胞液混合,37 °C水浴1, 12, 24 h后3000 r/min 离心5 min后取200 µL于96孔板在570 nm处检测并计算溶血率。

3.4 结果与讨论

3.4.1 MoS₂-ZnO的表征结果分析

从图3-1a可以看出,MoS₂在400 nm处没有明显的吸收峰,而ZnO在400 nm附近都出现了特征峰。FTIR光谱结果(图3-1b)表明MoS₂-ZnO纳米材料的成功制

备也间接解释了MoS₂的光热效应。由于N-H键拉伸了纳米材料层的平面，MoS₂NPs振动时在1840 cm⁻¹处表现出明显的特征峰，而Mo-S振动时在1180 cm⁻¹处表现出较弱的特征峰。如图3-1c所示，加入不同的材料后，Zeta电位发生了相应的变化，表明MoS₂-ZnO NFs的合成成功。SEM显示，MoS₂和MoS₂-ZnO NPs的形貌和尺寸（图3-1d和图3-1e）显示，MoS₂呈花状，MoS₂-ZnO为缀有小圆球的花状，MoS₂NFs的平均粒径约为250 nm。MoS₂-ZnO的平均粒径约为400 nm，尺寸均匀，分散性好。MoS₂-ZnONPs的元素分析结果如图3-1f-3-1i所示，并对S、Mo、Zn、O等组成元素进行了表征，证实了MoS₂-ZnO NPs的成功合成。

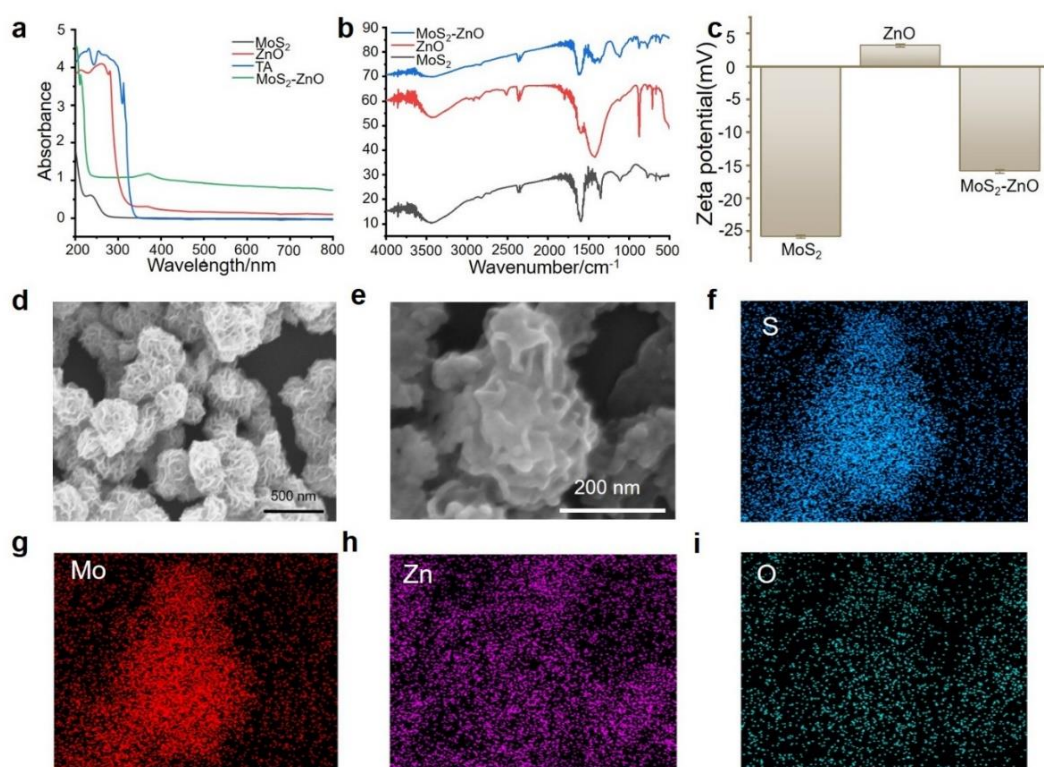


图3-1 (a) 紫外光谱; (b) MoS₂/ZnO/ MoS₂-ZnO的红外光谱; (c) MoS₂/ZnO/ MoS₂-ZnO的Zeta电位; (d) MoS₂ NFs的扫描电镜图像; (e) MoS₂-ZnO的扫描电镜图像; (f) MoS₂-ZnO的元素分析

Figure 3-1. (a) Uv-vis spectrum; (b) infrared spectrum of MoS₂/ZnO/ MoS₂-ZnO; (c) Zeta potential of MoS₂/ZnO/ MoS₂-ZnO; (d) SEM images of MoS₂ NFs; (e) SEM of MoS₂-ZnO; (f) elemental analysis of MoS₂-ZnO

3.4.2 MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶的表征分析

在不同温度下对MoS₂-ZnO@TM/TA温敏水凝胶进行测试。结果如图3-2a所示，水凝胶在20℃为固体，在37℃为液体，表明其温度敏感性。使用SEM对MoS₂-ZnO@TM/TA温敏性水凝胶进行表征（图3-2b）。结果表明，其内部结构为多孔

结构，与相关文献中的描述一致，证明成功制备了水凝胶。对 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 进行了粘度测试，其粘度/时间曲线如图3-2c，剪切速率50/s条件下的粘度测试如图3-2f。对 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶进行药物释放曲线、稳定性实验，结果如图3-2d, 3-2e，所示粘度测试结果显示 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶具有良好的温敏性能，稳定性及药物释放优异且水凝胶的粘度性能较为稳定。

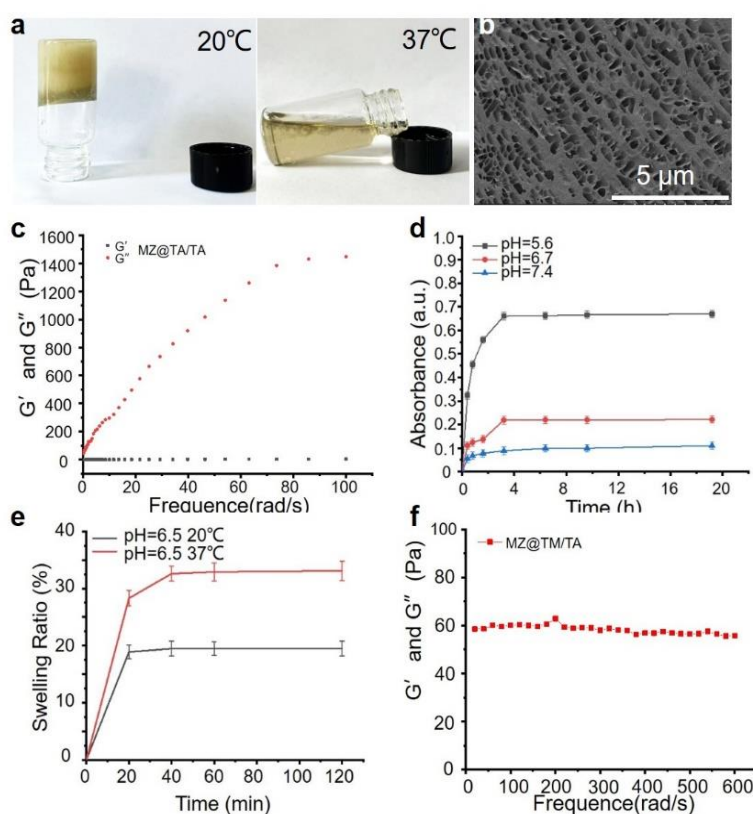


图3-2 水凝胶表征结果：（a） $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶温敏性实验；（b） $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶扫描电镜图像；（c） $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶时间/粘度测试；（d） $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶稳定性测试；（e） $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶药物释放曲线；（f） $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶剪切频率/粘度曲线

Figure 3-2 Hydrogel characterization results; (a) $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ hydrogel temperature sensitivity test; (b) $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ hydrogel scanning electron microscope image; (c) $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ hydrogel time/viscosity test; (d) $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ hydrogel stability test; (e) $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ hydrogel drug release curve; (f) $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ hydrogel shear frequency/viscosity curve

3.4.3 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶的光热性能分析

探索了 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶的光热性能。 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶在

近红外照射下迅速加热，其照射功率对温度升高有正向影响（图3-3a）。通过测定MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶的光热转换效率来评估其光热性能。由MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶（图3-3b）的上升和下降曲线可知 $\Delta T_{\max}$ 和I分别为53 °C和0.8 W/cm²，说明MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶具有良好的光热稳定性。由MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶时间与 $-\ln\theta$ 的线性回归曲线（图3-3d，3-3c）可知MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶的光热转换效率 η 为52%。热成像（图3-3e）直观地反映了溶液温度的变化。当近红外功率达到0.8 W/cm²时，使用0.8 W/cm²近红外照射8 min，温度为53 °C。此外，实验表明MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶具有良好的热转换效率，可用于伤口愈合。

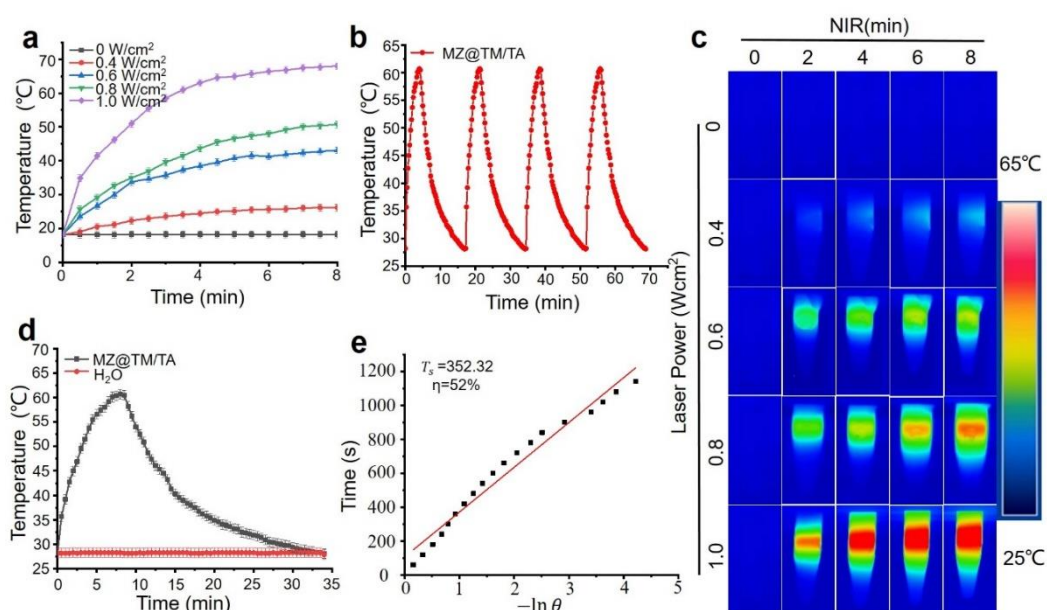


图 3-3. MoS₂-ZnO@TM/TA的光热实验：（a）100 μg/mL MoS₂-ZnO@TM/TA在不同功率下的温度曲线；（b）MoS₂-ZnO@TM/TA的光热稳定性曲线；（c）MoS₂-ZnO@TM/TA不同功率辐照下的体外热成像图像；（d）MoS₂-ZnO@TM/TA的温度及温度曲线；（e）

MCC@ZIF-8的光热转换效率

Figure 3-3. Photothermal properties of MoS₂-ZnO@TM/TA; (a) Temperature curves of 100 μg/mL MoS₂-ZnO@TM/TA at different power; (b) photothermal stability curve of MoS₂-ZnO@TM/TA; (c) In vitro thermal imaging images of MoS₂-ZnO@TM/TA under different power irradiation; (d) temperature and temperature curve of MoS₂-ZnO@TM/TA; (e) photothermal conversion efficiency of MoS₂-ZnO@TM/TA

3.4.4 体外抑菌活性研究

（1）单因素CFU（标准平板计数）

使用标准平板计数评估了纳米材料对MDR *E. coli*和MDR *S. aureus*的抗菌作

用。不同材料处理后培养板的图像及统计见图3-4a, 3-4c。PBS、MoS₂和TA单剂治疗对MDR *E. coli*和MDR *S. aureus*的抗菌作用最小。然而,当MoS₂负载ZnO时,MoS₂-ZnO处理比MoS₂处理能杀死更多的细菌,这归因于ZnO由于光热反应产生的热量促进了Zn²⁺的释放,增强了抑菌的效果;此外,进一步与水凝胶相结合,MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶光热几乎消除了所有菌株中的细菌。图3-4的结果显示,单独的MoS₂和TA组具有一定的抑菌效果,而MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶组处理的耐药菌存活率极低,表明MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶抑菌效果要优于单独的MoS₂或TA,单因素CFU实验证实了MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶具有良好的广谱抗菌活性。

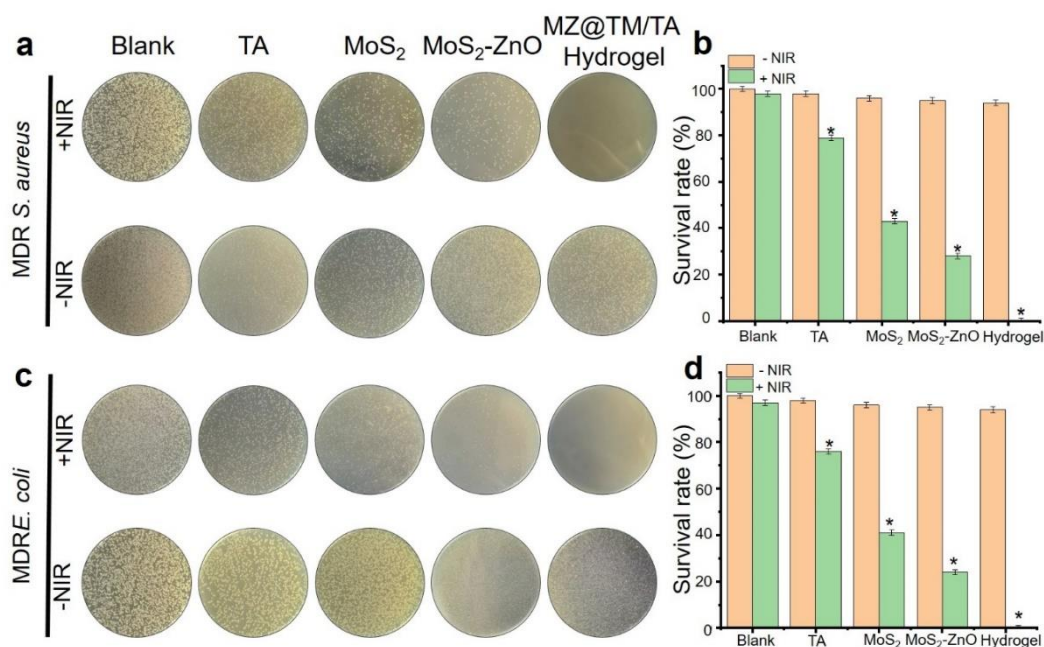


图 3-4. 体外抑菌实验; (a、c) 不同材料处理后耐药菌的CFU检测结果; (b、d) 细菌存活统计柱状图; 结果均为平均SD, n = 3; **P*<0.05, ***P*<0.01

Figure 3-4. Antibacterial activity *in vitro*; (a, c) CFU detection results of drug-resistant bacteria after treatment with different materials; (b, d) Bar chart of bacterial survival statistics;

The results were expressed as the average SD, n = 3; **P*<0.05, ***P*<0.01

(2) 流式细胞术

为了进一步评估MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶的抗菌活性,用流式细胞仪对有活力和无活力的两种细菌细胞的数量进行了定量统计比较。在对耐药型金黄色葡萄球菌的测试中如图3-5a,空白组的细菌凋亡率为2.37%、TA+NIR组凋亡率为16.3%、MoS₂+NIR组的凋亡率为53.6%、MoS₂-ZnO+NIR组的凋亡率为93.6%,而MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶+NIR组的凋亡率为96.45%如图3-5b所示,对耐药型大肠杆菌

的测试中,空白组的细菌凋亡率为0.25%、TA+NIR组凋亡率为18.1%、 MoS_2 +NIR组的凋亡率为46.7%, MoS_2 -ZnO+NIR组的凋亡率为91.6%,而 MoS_2 -ZnO@TM/TA水凝胶+NIR组的凋亡率为95.25%。与此前的实验结果基本一致。通过流式细胞仪对有活力和无活力的细菌细胞进行定量分析,进一步证实了 MoS_2 -ZnO@TM/TA水凝胶有良好的抗菌活性。

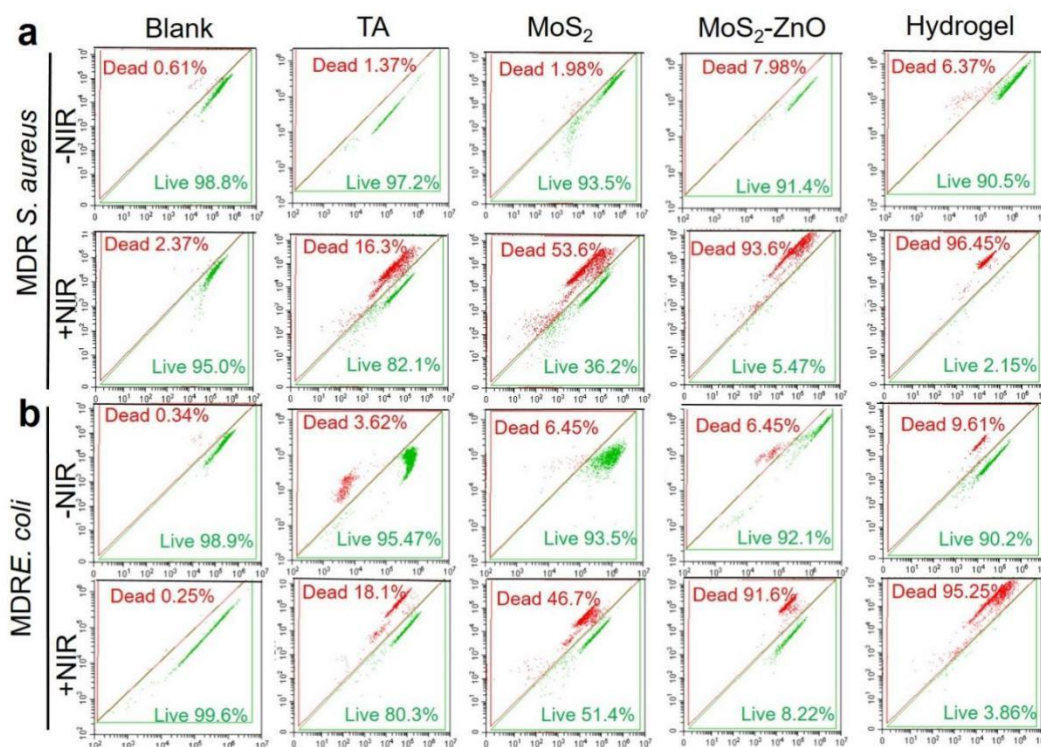


图 3-5. 流式细胞术; (a) MDR *S. aureus* 细胞凋亡; (b) MDR *E. coli* 细胞凋亡

Figure 3-5. Apoptosis results were shown by flow cytometry; (a) Apoptosis of MDR *S. aureus*; (b) Apoptosis of MDR *E. coli*

(3) Live-Dead染色

使用MDR *E. coli*和MDR *S. aureus*作为模型细菌,通过活/死染色实验进一步验证PTT和纳米材料增强的PDT杀菌效果。进一步研究MCC@ZIF-8的抗菌作用,通过Live-Dead实验和流式细胞术检测其抗菌活性。该方法既能检测出存活的耐药菌,也能检测出死亡的敏感菌。细菌与SYTO-9和PI共染色。SYTO-9可以染色活死细胞的DNA并发出绿色荧光,而死亡细胞的DNA只能被PI染色并发出红色荧光。图3-6显示,在空白组中,红色死亡细菌几乎为零。 MoS_2 +NIR (128 $\mu\text{g/mL}$)和 MoS_2 -ZnO+NIR (128 $\mu\text{g/mL}$)单独破坏了一些MDR *E. coli*, MoS_2 -ZnO@TM/TA水凝胶+NIR破坏了大多数MDR 大肠杆菌(图3-6a)。对MDR *S. aureus*也观察到同样的效应(图3-6b)。这些结果表明, MoS_2 -ZnO@TM/TA水凝胶+NIR组具有

最大的抗菌效果。

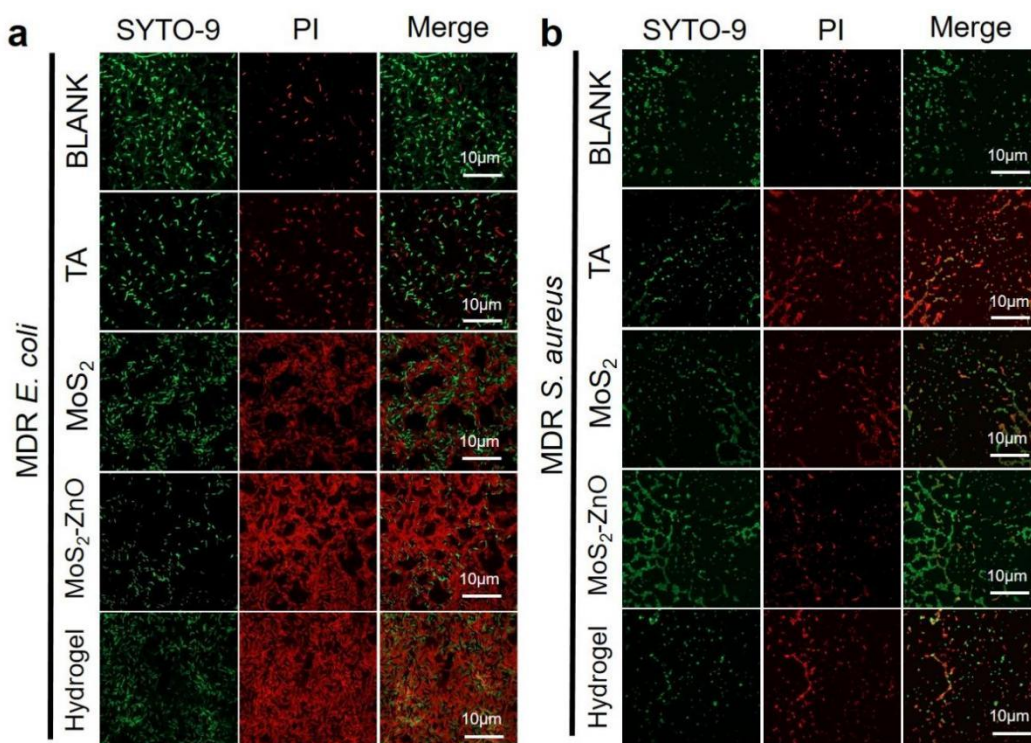


图 3-6 共聚焦荧光显微镜Live-Dead实验：（a）共聚焦荧光显微镜检测治疗后多重耐药金黄色葡萄球菌；（b）共聚焦荧光显微镜观察处理后的MDR大肠杆菌；将细胞分为Blank组、TA组、MoS₂组、MoS₂-ZnO组和MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶组；将细胞与PI（红色荧光）SYTO-9（绿色荧光）共染色30 min，绿色为活细胞（SYTO-9），红色为死细胞（PI），分别用808 nm 0.8 W/cm²处理细胞2 min

Figure 3-6. Confocal fluorescence microscopy was used for detection; (a) Detection of MDR *S. aureus* by confocal fluorescence microscopy after treatment; (b) Confocal fluorescence microscopy was used to observe MDR *E. coli* after treatment. The cells were divided into Blank, TA, MoS₂, MoS₂-ZnO and MoS₂-ZnO @TM/TA Hydrogel group; The cells were co-stained with PI (red fluorescence) SYTO-9 (green fluorescence) for 30 min; Live cells (SYTO-9) are shown in green and dead cells (PI) in red; The cells were treated with 808 nm 0.8 W/cm² and 660 nm 0.5 W/cm² for 2 min, respectively

3.4.5 生物被膜模型及消融结果分析

96孔板培养耐药菌生物膜，结晶紫染色检测近红外和可见光照射后纳米材料对生物膜的破坏和去除效果。如图3-7a所示，结晶紫染色结果显示，经MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶（808 nm）处理后，耐药菌生物膜的生物量明显降低。显微镜和激光共聚焦结果显示，MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶+NIR组细菌生物膜几乎被清除，显微镜视野明显变亮（图3-7b）。两种菌株的生物膜溶解率均为>80%（图3-7c，3-7d）。结晶紫染色细菌生物膜显微镜图像显示，MoS₂+NIR组、TA+NIR

组和 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶+NIR组细菌生物膜颜色变浅。光热、 ZnO 和TA的联合作用可有效去除生物膜。这些因素结合在一起可以抑制和清除生物膜中的细菌，同时限制生物膜的形成。值得一提的是，PTT产生的热消融效应加速了原有生物膜结构的破坏。

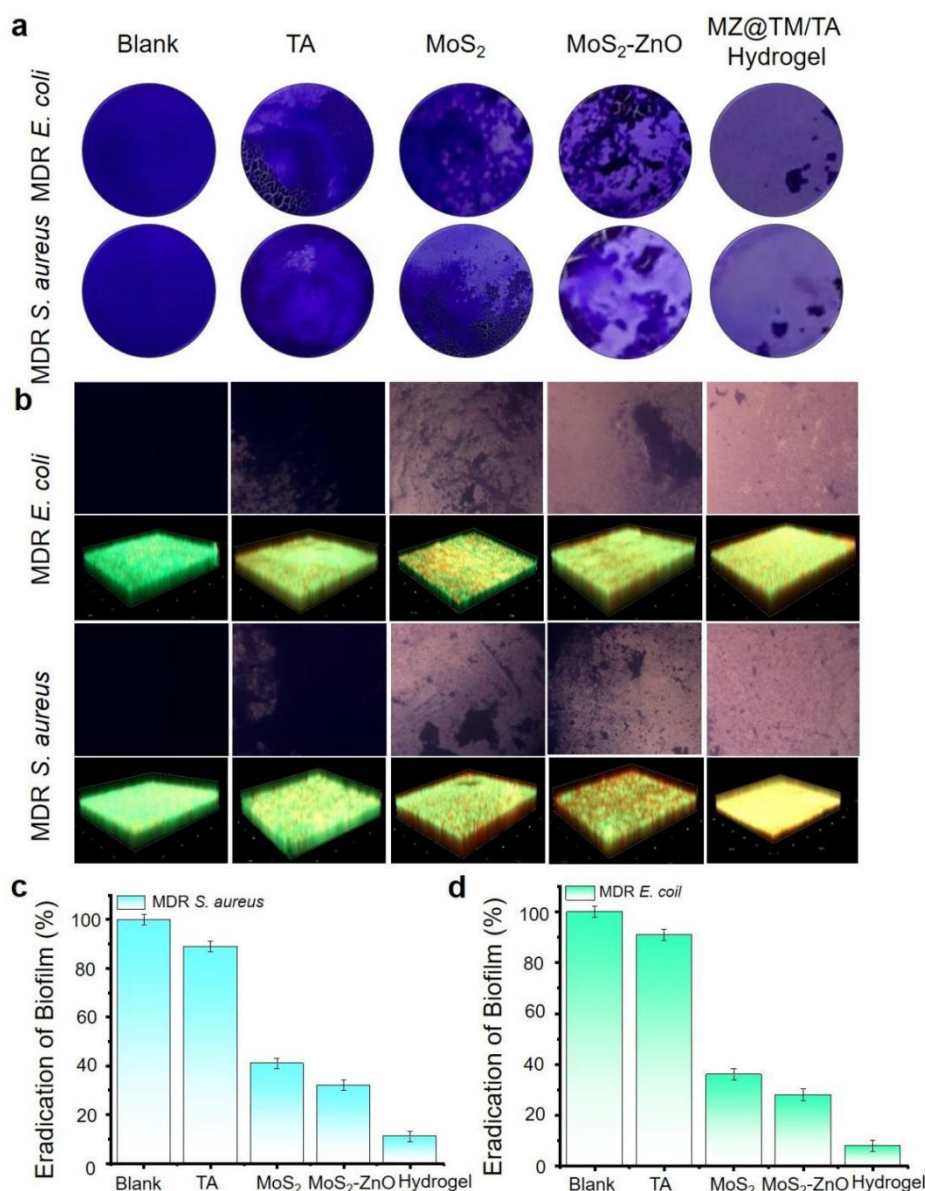


图 3-7. 生物膜消融实验：（a）不同材料处理后的生物膜图像；（b）不同材料处理后形成的生物膜的显微镜和激光共聚焦图像，分别用结晶紫和PI/SYTO-9染色；（c，d） OD_{492} 下的生物膜分析（* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ ）；将细胞分为Blank组、TA组、 MoS_2 组、 $\text{MoS}_2\text{-ZnO}$ 组和 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶组；用808 nm 0.8 W/cm²处理细胞2 min

Figure 3-7. Biofilm ablation after nanoparticle treatment; (a) Images of biofilms treated with different materials; (b) Microscopic and laser confocal images of biofilms formed after treatment with different materials, stained with crystal violet and PI/SYTO-9, respectively; (c, d) Biofilm

analysis under OD_{492} (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$); The cells were divided into Blank, TA, MoS_2 , MoS_2 -ZnO and MoS_2 -ZnO @TM/TA Hydrogel groups; The cells were treated with 808 nm 0.8 W/cm² for 2 min, respectively

3.4.6 动物伤口模型结果分析

使用小鼠伤口感染模型进一步研究 MoS_2 -ZnO@TM/TA水凝胶的体内抗菌作用(图3-8)。所有小鼠的创面大小随时间呈减小趋势。第8天, MoS_2 -ZnO@TM/TA水凝胶(+NIR)组创面愈合最快(约20%),并观察到新生皮肤组织(图3-8a)。连续拍摄各组小鼠创面11 d,记录创面愈合过程(图3-8c)。在11天的治疗期间,各组小鼠体重基本稳定,波动不超过1.5 g(图3-8b)。这一发现证实了 MoS_2 -ZnO@TM/TA水凝胶没有对小鼠产生任何显著的不利影响。Masson染色分析愈合创面组织中胶原沉积情况如图3-8d,图中结果显示 MoS_2 -ZnO@TM/TA水凝胶+NIR组胶原沉积明显增加。 MoS_2 + NIR组、TA + NIR组、 MoS_2 -ZnO + NIR组、 MoS_2 -ZnO@TM/TA水凝胶+NIR组细胞凋亡率依次升高。

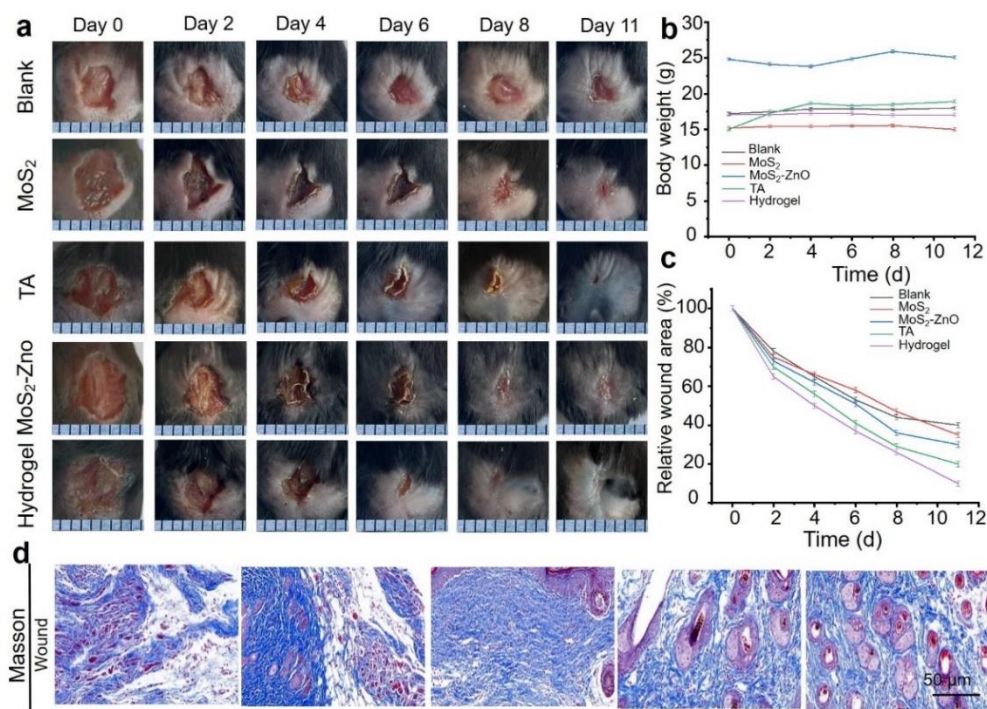


图 3-8. 小鼠伤口愈合和组织切片染色分析; (a) 不同治疗组小鼠创面照片; (b) 各组小鼠治疗期间体重变化曲线; (c) 不同组小鼠治疗期间创面面积曲线; (d) 不同组小鼠创面组织的Masson染色; (实验组分别为Blank组、TA组、 MoS_2 组、 MoS_2 -ZnO组、 MoS_2 -ZnO @TM/TA水凝胶组。所有细胞用808 nm 0.8 W/cm²处理2 min)

Figure 3-8. Wound healing and staining analysis of tissue sections in mouse; (a) Photographs

of the wounds of mice in different treatment groups; (b) Curves of body weight changes during treatment in each group of rats; (c) The curve of the wound area of mice in different groups during treatment; (d) Masson staining of the wound tissues of a mouse in different groups; (The experimental groups were Blank, TA, MoS₂, MoS₂-ZnO, MoS₂-ZnO@TM/TAHydrogel groups; All cells were treated with 808 nm 0.8 W/cm² for 2 min)

3.4.7生物安全性评估

创面处理后取眼球血，处死小鼠行创面及器官组织H&E染色。如图3-9所示，H&E染色结果表明，纳米复合水凝胶材料处理对主要器官没有影响。与对照相比，实验组中愈合组织中的炎症细胞显著减少（图3-9g）。此外，我们进行了生物安全性测试，以确定MZ@TM/TA水凝胶是否对实验小鼠产生毒性作用（图3-9a-3-9f），从而证实了纳米复合水凝胶材料的生物安全性。这些发现证实MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶不仅具有良好的生物相容性，而且具有良好的抗菌和伤口愈合效果。

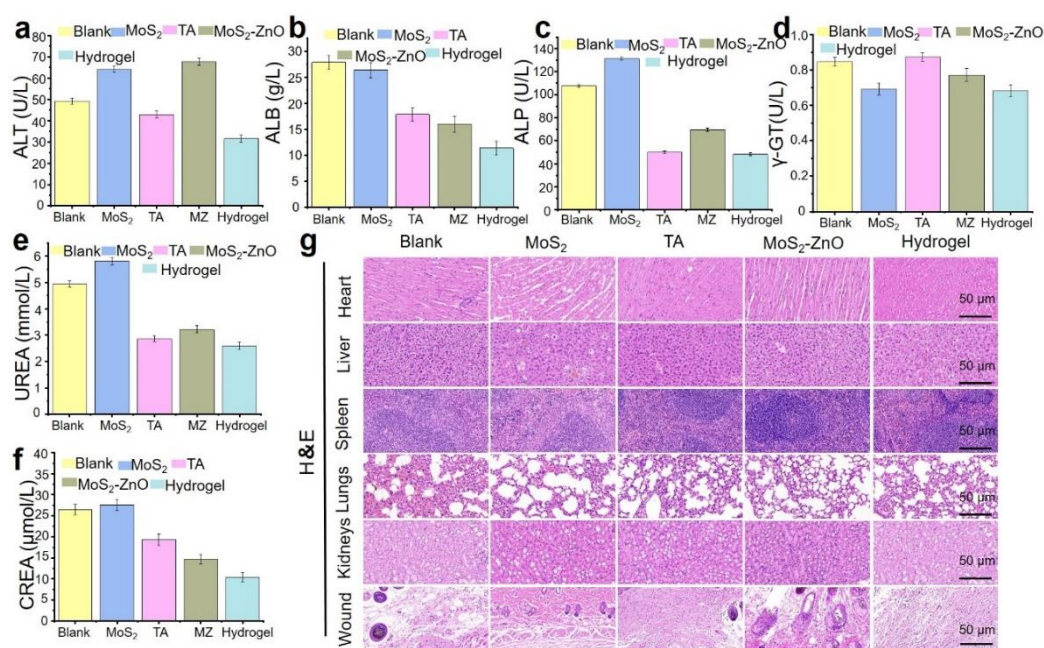


图 3-9. (a-f) 小鼠血液安全性分析; (g) 不同组小鼠主要器官（心、肝、脾、肺、肾）和创面组织的H&E染色（实验组分别为Blank组、TA组、MoS₂组、MoS₂-ZnO组、MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶组；所有细胞用808 nm 0.8 W/cm²处理2 min）

Figure 3-9. (a-f) Analysis of blood safety in mouse; (g) H&E staining of the main organs (The Heart, Liver, Spleen, Lung, and Kidney) and wound tissues of a mouse in different groups (The experimental groups were Blank, MoS₂, MoS₂-ZnO, MZ@TM/TA Hydrogel groups; All cells were treated with 808 nm 0.8 W/cm² for 2 min)

3.5 本章小结

在本章研究中，成功合成了 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶，使得 MoS_2 可以直接与近红外光发生接触并快速触发光热效应，升温更均匀，触发条件更简单，同时水凝胶也可以避免光热反应出现局部组织过热从而导致创面热损伤的问题。本文研究了 $\text{MoS}_2\text{-ZnO}$ 和 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶的基础表征，发现表面呈现正电位，更加容易吸附到细菌膜上；本文还对 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶进行了温敏实验及粘度测试，从结果可以看出该水凝胶具有良好的温敏性能以及粘度性能。研究表明， $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶在近红外 0.8 W/cm^2 条件下的光热转化效率为52%，且光热稳定性优异，说明了 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶具有良好的光热性能；体外抑菌实验结果显示 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶具有良好的广谱抑菌活性，对于MDRE.coli 和MDRS. aureus的杀菌率均可达到95%以上；生物膜消融实验结果表明 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶具有良好的生物被膜清除能力，对于两种耐药菌的生物膜清除率都达到了90%以上；动物伤口模型实验结果显示 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶可以有效促进伤口创面愈合，且具有良好的生物安全性。

结论与展望

● 结论

(1) 本研究利用二硫化钼 (MoS_2) 纳米花、光敏剂氯- e6 (Ce6)、纳米氧化钙 (CaO_2) 和 MOF 材料 (ZIF-8) 构建了自生氧多功能纳米体系 $\text{MoS}_2\text{-Ce6-CaO}_2\text{@ZIF-8}$ (MCC@ZIF-8)。SEM 和 TEM 表征显示 MoS_2 纳米花为花团状, 平均粒径约为 250 nm, MCC@ZIF-8 为六面体, 平均粒径约为 310 nm。紫外光谱和红外光谱的特征峰发生了位移, Zeta 电位发生了相应的变化, 证实了纳米复合物的成功制备。光热实验表明 MCC@ZIF-8 具有良好的光热效果和稳定性。此外, PTT 和 PDT 联合 MCC@ZIF-8 处理后, 复合材料的抗菌效果显著增强。在本实验中, 纳米系统对多重耐药大肠杆菌和多重耐药金黄色葡萄球菌表现出 >95% 的抗菌效果。此外, 纳米系统还能抑制细菌碱基切除修复、酪氨酸代谢、谷胱甘肽代谢等基因的表达。此外, 纳米系统对细胞造成形态损伤, 诱导细胞凋亡, 抑制细菌生长。细胞形态学研究和转录组学分析揭示了细菌细胞死亡基因水平的分子机制。综上所述, MCC@ZIF-8 在 PTT+PDT 联合治疗下具有良好的抗菌效果。

(2) 为了降低 MoS_2 纳米花的光热触发条件, 提高光热效率, 进一步优化纳米体系。将 MoS_2 直接与 ZnO 纳米颗粒结合, 然后将单宁酸 (TA) 和单硬脂酸三酯 (TM) 自组装形成水凝胶对 $\text{MoS}_2\text{-ZnO}$ 进行包裹, 最终得到 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶。光热实验结果表明, $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶在低功率近红外照射条件 (0.8 W/cm^2) 下具有良好的光热性能, 其光热转换效率为 52%; 本文还对 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶的力学性能以及结构特征进行了进一步探究, 结果显示水凝胶体现出良好的温敏性能以及粘度性能, 且水凝胶可有效避免光热引起的组织局部过热问题。体外抑菌实验结果显示该水凝胶对耐药菌具有高抑菌活性, 对于 MDR *E. coli* 和 MDR *S. aureus* 的杀菌率均可达到 95% 以上; 生物被膜消融实验表明水凝胶对两种耐药菌的生物被膜清除率都达到了 90% 以上。此外细胞形态学研究和转录组学分析结果显示, $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶对天冬氨酸家族氨基酸代谢过程、芳香族氨基酸家族代谢过程、细胞氨基酸代谢过程等产生有效影响, 可对细胞造成形态损伤, 诱导细胞凋亡, 抑制细菌生长, 揭示了细菌细胞死亡基因水平的分子机制。动物伤口模型实验表明 $\text{MoS}_2\text{-ZnO@TM/TA}$ 水凝胶可有效促进伤口创面愈合。

结果表明,所合成的MCC@ZIF-8纳米粒子具有良好的光热/光动力、广谱抑菌、清除生物膜、促伤口愈合、生物相容性的效果。所制备的MoS₂-ZnO@TM/TA水凝胶有良好的临床应用前景,为设计构建新的纳米体系来应对多耐药菌提供了新的思路。

● 展望

尽管二硫化钼在体外抑菌实验中表现出了优异的抗菌效果,未来的研究仍需优化其纳米结构,提升其抗菌效能。通过功能化修饰其表面,增强对特定细菌的靶向性,结合其他功能性纳米材料(如金属纳米颗粒、抗菌肽等)形成复合材料,将进一步提升其抗菌性能。尤其是在多重耐药菌的治疗中,复合策略有望展现出更强的抗菌优势。尽管如此,二硫化钼的临床应用仍面临一定挑战,尤其是在提高其在体内的稳定性、增加药物载量和靶向性、评估长期生物相容性和毒性方面。剂量控制和光照管理也是在临床应用中需要进一步优化的关键问题。此外,随着绿色可持续发展的理念日益重要,二硫化钼基纳米材料的环境友好性和可降解性将成为一个重要的研究方向,确保其在环境中的降解性以及对生态系统的影响,成为未来研究的重点。二硫化钼基复合纳米材料联合光热/光动力抑菌的研究展现出广阔的应用前景,尤其是在抗菌领域。通过进一步的研究与技术创新,二硫化钼有望在临床治疗中发挥重要作用,并为解决抗药性细菌带来的全球性挑战提供新的解决方案。

参考文献

- [1] Alygizakis N, Ng K, Cirka L, etc. Making Waves: The Norman Antibiotic Resistant Bacteria And Resistance Genes Database (Norman Arb&Arg)-An Invitation For Collaboration To Tackle Antibiotic Resistance [J]. *Water Res*, 2024, 257: 121689.
- [2] Cedeno-Munoz J S, Aransiola S A, Reddy K V, etc. Antibiotic Resistant Bacteria And Antibiotic Resistance Genes As Contaminants Of Emerging Concern: Occurrences, Impacts, Mitigations And Future Guidelines [J]. *Sci Total Environ*, 2024, 952: 175906.
- [3] Charles F R, Lim J X, Chen H, etc. Prevalence And Characterization Of Antibiotic Resistant Bacteria In Raw Community Sewage From Diverse Urban Communities [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 825: 153926.
- [4] Flynn C E, Guarner J. Emerging Antimicrobial Resistance [J]. *Mod Pathol*, 2023, 36(9): 100249.
- [5] Guan D, Liu J, Chen F, etc. A Vancomycin-Templated Dna-Encoded Library For Combating Drug-Resistant Bacteria [J]. *J Med Chem*, 2024, 67(5): 3778-94.
- [6] Jiang B, Lai Y, Xiao W, etc. Microbial Extracellular Vesicles Contribute To Antimicrobial Resistance [J]. *Plos Pathog*, 2024, 20(5): E1012143.
- [7] Kang M, Yang J, Kim S, etc. Occurrence Of Antibiotic Resistance Genes And Multidrug-Resistant Bacteria During Wastewater Treatment Processes [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 811: 152331.
- [8] Tangden T, Carrara E, Hellou M M, etc. Introducing New Antibiotics For Multidrug-Resistant Bacteria: Obstacles And The Way Forward [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2025, 31(3): 354-9.
- [9] Balaban N Q, Helaine S, Lewis K, etc. Definitions And Guidelines For Research On Antibiotic Persistence [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(7): 441-8.
- [10] Begum S, Hassan Z, Brase S, Etc. Metc-Organic Framework-Templated Biomaterials: Recent Progress In Synthesis, Functionalization, And Applications [J]. *Acc Chem Res*, 2019, 52(6): 1598-610.
- [11] Bi X, Bai Q, Liang M, etc. Silver Peroxide Nanoparticles For Combined Antibacterial Sonodynamic And Photothermal Therapy [J]. *Small*, 2022, 18(2): E2104160.
- [12] Blattman S B, Jiang W, Oikonomou P, etc. Prokaryotic Single-Cell Rna Sequencing By In Situ Combinatorial Indexing [J]. *Nat Microbiol*, 2020, 5(10): 1192-201.
- [13] Buchman J T, Hudson-Smith N V, Landy K M, etc. Understanding Nanoparticle Toxicity Mechanisms To Inform Redesign Strategies To Reduce Environmental Impact [J]. *Acc Chem Res*, 2019, 52(6): 1632-42.
- [14] Cao F, Ju E, Zhang Y, etc. An Efficient And Benign Antimicrobial Depot Based On Silver-Infused Mos(2) [J]. *Acs Nano*, 2017, 11(5): 4651-9.
- [15] Chen F, Luo Y, Liu X, etc. 2d Molybdenum Sulfide-Based Materials For Photo-Excited Antibacterial Application [J]. *Adv Healthc Mater*, 2022, 11(13): E2200360.
- [16] Chen Z, Li H, Bian Y, etc. Bioorthogonal Catalytic Patch [J]. *Nat Nanotechnol*, 2021, 16(8): 933-41.

- [17] Cheng H, Zhu J Y, Li S Y, etc. An O₂ Self-Sufficient Biomimetic Nanoplatfom For Highly Specific And Efficient Photodynamic Therapy [J]. *Advanced Functional Materials*, 2016, 26(43): 7847-60.
- [18] Cheng L, Wang X, Gong F, etc. 2d Nanomaterials For Cancer Theranostic Applications [J]. *Adv Mater*, 2020, 32(13): E1902333.
- [19] Chung M, Bruno V M, Rasko D A, etc. Best Practices On The Differential Expression Analysis Of Multi-Species Rna-Seq [J]. *Genome Biol*, 2021, 22(1): 121.
- [20] Egorova K S, Gordeev E G, Ananikov V P. Biological Activity Of Ionic Liquids And Their Application In Pharmaceuticals And Medicine [J]. *Chem Rev*, 2017, 117(10): 7132-89.
- [21] Ermini M L, Voliani V. Antimicrobial Nano-Agents: The Copper Age [J]. *Acs Nano*, 2021, 15(4): 6008-29.
- [22] Fan W, Qi Y, Wang R, etc. Calcium Carbonate-Methylene Blue Nanohybrids For Photodynamic Therapy And Ultrasound Imaging [J]. *Sci China Life Sci*, 2018, 61(4): 483-91.
- [23] Fu Y, Yang L, Zhang J, etc. Polydopamine Antibacterial Materials [J]. *Mater Horiz*, 2021, 8(6): 1618-33.
- [24] Gao S, Fan M, Li Z, etc. Smart Calcium Peroxide With Self-Sufficiency For Biomedicine [J]. *Sci China Life Sci*, 2020, 63(1): 152-6.
- [25] Guo Y, Dundas C M, Zhou X, etc. Molecular Engineering Of Hydrogels For Rapid Water Disinfection And Sustainable Solar Vapor Generation [J]. *Adv Mater*, 2021, 33(35): E2102994.
- [26] Hak A, Ali M S, Sankaranarayanan S A, etc. Chlorin E6: A Promising Photosensitizer In Photo-Based Cancer Nanomedicine [J]. *Acs Appl Bio Mater*, 2023, 6(2): 349-64.
- [27] He X, Yang Y, Guo Y, etc. Phage-Guided Targeting, Discriminative Imaging, And Synergistic Killing Of Bacteria By Aie Bioconjugates [J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142(8): 3959-69.
- [28] Hess K L, Medintz I L, Jewell C M. Designing Inorganic Nanomaterials For Vaccines And Immunotherapies [J]. *Nano Today*, 2019, 27: 73-98.
- [29] Hu B, Berkey C, Feliciano T, etc. Thermal-Disrupting Interface Mitigates Intercellular Cohesion Loss For Accurate Topical Antibacterial Therapy [J]. *Adv Mater*, 2020, 32(12): E1907030.
- [30] Hu H, Wang H, Yang Y, etc. A Bacteria-Responsive Porphyrin For Adaptable Photodynamic/Photothermal Therapy [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2022, 61(23): E202200799.
- [31] Huang C C, Chia W T, Chung M F, etc. An Implantable Depot That Can Generate Oxygen In Situ For Overcoming Hypoxia-Induced Resistance To Anticancer Drugs In Chemotherapy [J]. *J Am Chem Soc*, 2016, 138(16): 5222-5.
- [32] Huang J, Xiao Z, An Y, etc. Nanodrug With Dual-Sensitivity To Tumor Microenvironment For Immuno-Sonodynamic Anti-Cancer Therapy [J]. *Biomaterials*, 2021, 269: 120636.
- [33] Huang L, Xu S, Wang Z, etc. Self-Reporting And Photothermally Enhanced Rapid Bacterial Killing On A Laser-Induced Graphene Mask [J]. *Acs Nano*, 2020, 14(9): 12045-53.

- [34] Hui Y, Yi X, Hou F, etc. Role Of Nanoparticle Mechanical Properties In Cancer Drug Delivery [J]. *Acs Nano*, 2019, 13(7): 7410-24.
- [35] Jernigan J A, Hatfield K M, Wolford H, etc. Multidrug-Resistant Bacterial Infections In U.S. Hospitalized Patients, 2012-2017 [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(14): 1309-19.
- [36] Kang M, Zhou C, Wu S, etc. Evaluation Of Structure-Function Relationships Of Aggregation-Induced Emission Luminogens For Simultaneous Dual Applications Of Specific Discrimination And Efficient Photodynamic Killing Of Gram-Positive Bacteria [J]. *J Am Chem Soc*, 2019, 141(42): 16781-9.
- [37] Kinik F P, Uzun A, Keskin S. Ionic Liquid/Metc-Organic Framework Composites: From Synthesis To Applications [J]. *Chemsuschem*, 2017, 10(14): 2842-63.
- [38] Lazarovits J, Chen Y Y, Song F, etc. Synthesis Of Patient-Specific Nanomaterials [J]. *Nano Let t*, 2019, 19(1): 116-23.
- [39] Li B, Yang W, Shu R, etc. Antibacterial And Angiogenic (2a) Bio-Het erojunctions Facilitate Infectious Ischemic Wound Regeneration Via An Endogenous-Exogenous Bistimulatory Strategy [J]. *Adv Mater*, 2024, 36(6): E2307613.
- [40] Li J, Liu X, Zhou Z, etc. Lysozyme-Assisted Photothermal Eradication Of Met hicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Infection And Accelerated Tissue Repair With Natural Melanosome Nanostructures [J]. *Acs Nano*, 2019, 13(10): 11153-67.
- [41] Li Q, Hu Y, Zhang B. Polyoxometcate-Ionic Liquids (Ils) And Polyvinyl Alcohol/Chitosan/Ils Hydrogels For Inhibiting Bacteria Colonising Wall Paintings [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 256: 117592.
- [42] Li R, Chen T, Pan X. Metc-Organic-Framework-Based Materials For Antimicrobial Applications [J]. *Acs Nano*, 2021, 15(3): 3808-48.
- [43] Li W, Wu S, Ren L, etc. Development Of An Antiswelling Hydrogel System Incorporating M2-Exosomes And Photothermal Effect For Diabet ic Wound Healing [J]. *Acs Nano*, 2023, 17(21): 22106-20.
- [44] Li X, Kwon N, Guo T, etc. Innovative Strategies For Hypoxic-Tumor Photodynamic Therapy [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2018, 57(36): 11522-31.
- [45] Linklater D P, Baulin V A, Le Guevel X, etc. Antibacterial Action Of Nanoparticles By Let hal Stret ching Of Bacterial Cell Membranes [J]. *Adv Mater*, 2020, 32(52): E2005679.
- [46] Liu J, Chen H, Yang Y, etc. Aggregation-Induced Type I&Ii Photosensitivity And Photodegradability-Based Molecular Backbones For Synergistic Antibacterial And Cancer Phototherapy Via Photodynamic And Photothermal Therapies [J]. *Mater Horiz*, 2023, 10(9): 3791-6.
- [47] Liu J N, Bu W, Shi J. Chemical Design And Synthesis Of Functionalized Probes For Imaging And Treating Tumor Hypoxia [J]. *Chem Rev*, 2017, 117(9): 6160-224.
- [48] Liu Z, Zhao X, Yu B, etc. Rough Carbon-Iron Oxide Nanohybrids For Near-Infrared-Ii Light-Responsive Synergistic Antibacterial Therapy [J]. *Acs Nano*, 2021, 15(4): 7482-90.

- [49] Lu J, Wang T, Zhou Y, etc. Dramatic Enhancement Effects Of L-Cysteine On The Degradation Of Sulfadiazine In Fe(3+)/Cao(2) System [J]. *J Hazard Mater*, 2020, 383: 121133.
- [50] Luby B M, Walsh C D, Zheng G. Advanced Photosensitizer Activation Strategies For Smarter Photodynamic Therapy Beacons [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, 58(9): 2558-69.
- [51] Mei L, Gao X, Shi Y, etc. Augmented Graphene Quantum Dot-Light Irradiation Therapy For Bacteria-Infected Wounds [J]. *Acs Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(36): 40153-62.
- [52] Murphy C J, Chang H H, Falagan-Lotsch P, etc. Virus-Sized Gold Nanorods: Plasmonic Particles For Biology [J]. *Acc Chem Res*, 2019, 52(8): 2124-35.
- [53] Pakdel E, Sharp J, Kashi S, etc. Antibacterial Superhydrophobic Cotton Fabric With Photothermal, Self-Cleaning, And Ultraviolet Protection Functionalities [J]. *Acs Appl Mater Interfaces*, 2023, 15(28): 34031-43.
- [54] Peng M Y, Zheng D W, Wang S B, etc. Multifunctional Nanosystem For Synergistic Tumor Therapy Delivered By Two-Dimensional Mos(2) [J]. *Acs Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(16): 13965-75.
- [55] Pinto R M, Lopes-De-Campos D, Martins M C L, etc. Impact Of Nanosystems In Staphylococcus Aureus Biofilms Treatment [J]. *Fems Microbiol Rev*, 2019, 43(6): 622-41.
- [56] Qiao Y, He J, Chen W, etc. Light-Activatable Synergistic Therapy Of Drug-Resistant Bacteria-Infected Cutaneous Chronic Wounds And Nonhealing Keratitis By Cupriferous Hollow Nanoshells [J]. *Acs Nano*, 2020, 14(3): 3299-315.
- [57] Qu G, Xia T, Zhou W, etc. Property-Activity Relationship Of Black Phosphorus At The Nano-Bio Interface: From Molecules To Organisms [J]. *Chem Rev*, 2020, 120(4): 2288-346.
- [58] Shahbazi M A, Faghfour L, Ferreira M P A, etc. The Versatile Biomedical Applications Of Bismuth-Based Nanoparticles And Composites: Therapeutic, Diagnostic, Biosensing, And Regenerative Properties [J]. *Chem Soc Rev*, 2020, 49(4): 1253-321.
- [59] Shen H, Jiang C, Li W, etc. Synergistic Photodynamic And Photothermal Antibacterial Activity Of In Situ Grown Bacterial Cellulose/Mos(2)-Chitosan Nanocomposite Materials With Visible Light Illumination [J]. *Acs Appl Mater Interfaces*, 2021, 13(26): 31193-205.
- [60] Shen S, Mamat M, Zhang S, etc. Synthesis Of Cao(2) Nanocrystals And Their Spherical Aggregates With Uniform Sizes For Use As A Biodegradable Bacteriostatic Agent [J]. *Small*, 2019, 15(36): E1902118.
- [61] Singh S P, Li Y, Zhang J, etc. Sulfur-Doped Laser-Induced Porous Graphene Derived From Polysulfone-Class Polymers And Membranes [J]. *Acs Nano*, 2018, 12(1): 289-97.
- [62] Song M, Liu Y, Huang X, etc. A Broad-Spectrum Antibiotic Adjuvant Reverses Multidrug-Resistant Gram-Negative Pathogens [J]. *Nat Microbiol*, 2020, 5(8): 1040-50.
- [63] Su K, Tan L, Liu X, etc. Rapid Photo-Sonotherapy For Clinical Treatment Of Bacterial Infected Bone Implants By Creating Oxygen Deficiency Using Sulfur Doping [J]. *Acs Nano*, 2020, 14(2): 2077-89.
- [64] Tan L, Li J, Liu X, etc. Rapid Biofilm Eradication On Bone Implants Using Red Phosphorus

- And Near-Infrared Light [J]. *Adv Mater*, 2018, 30(31): E1801808.
- [65] Tan P, Cai H, Wei Q, etc. Enhanced Chemo-Photodynamic Therapy Of An Enzyme-Responsive Prodrug In Bladder Cancer Patient-Derived Xenograft Models [J]. *Biomaterials*, 2021, 277: 121061.
- [66] Tang J, Chu B, Wang J, etc. Multifunctional Nanoagents For Ultrasensitive Imaging And Photoactive Killing Of Gram-Negative And Gram-Positive Bacteria [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 4057.
- [67] Tao D, Feng L, Chao Y, etc. Covalent Organic Polymers Based On Fluorinated Porphyrin As Oxygen Nanoshuttles For Tumor Hypoxia Relief And Enhanced Photodynamic Therapy [J]. *Advanced Functional Materials*, 2018, 28(43).
- [68] The Gene Ontology C. The Gene Ontology Resource: 20 Years And Still Going Strong [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D330-D8.
- [69] Thi P L, Lee Y, Tran D L, etc. Calcium Peroxide-Mediated In Situ Formation Of Multifunctional Hydrogels With Enhanced Mesenchymal Stem Cell Behaviors And Antibacterial Properties [J]. *J Mater Chem B*, 2020, 8(48): 11033-43.
- [70] Torres M D T, Voskian S, Brown P, etc. Coatable And Resistance-Proof Ionic Liquid For Pathogen Eradication [J]. *Acs Nano*, 2021, 15(1): 966-78.
- [71] Vo H N P, Ngo H H, Guo W, etc. Effect Of Calcium Peroxide Pretreatment On The Remediation Of Sulfonamide Antibiotics (Sms) By *Chlorella Sp* [J]. *Sci Total Environ*, 2021, 793: 148598.
- [72] Wang D, Jana D, Zhao Y. Metal-Organic Framework Derived Nanozymes In Biomedicine [J]. *Acc Chem Res*, 2020, 53(7): 1389-400.
- [73] Wang D, Wang H, Ji L, etc. Hybrid Plasmonic Nanodumbbells Engineering For Multi-Intensified Second Near-Infrared Light Induced Photodynamic Therapy [J]. *Acs Nano*, 2021, 15(5): 8694-705.
- [74] Wang H, Chen Y, Wang H, etc. DNzyme-Loaded Metal-Organic Frameworks (Mofs) For Self-Sufficient Gene Therapy [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, 58(22): 7380-4.
- [75] Wang J, Chen X Y, Zhao Y, etc. Ph-Switchable Antimicrobial Nanofiber Networks Of Hydrogel Eradicate Biofilm And Rescue Stalled Healing In Chronic Wounds [J]. *Acs Nano*, 2019, 13(10): 11686-97.
- [76] 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]. *Adv Mater*, 2020, 32(48): E2005423.
- [77] Wu Y, Song Z, Deng G, etc. Gastric Acid Powered Nanomotors Release Antibiotics For In Vivo Treatment Of *Helicobacter Pylori* Infection [J]. *Small*, 2021, 17(11): E2006877.
- [78] Wu Y, Song Z, Wang H, etc. Endogenous Stimulus-Powered Antibiotic Release From Nanoreactors For A Combination Therapy Of Bacterial Infections [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 4464.

- [79] Xi Y, Ge J, Wang M, etc. Bioactive Anti-Inflammatory, Antibacterial, Antioxidative Silicon-Based Nanofibrous Dressing Enables Cutaneous Tumor Photothermo-Chemo Therapy And Infection-Induced Wound Healing [J]. *Acs Nano*, 2020, 14(3): 2904-16.
- [80] Xiao J D, Jiang H L. Metc-Organic Frameworks For Photocatalysis And Photothermal Catalysis [J]. *Acc Chem Res*, 2019, 52(2): 356-66.
- [81] Xie L, Pang X, Yan X, etc. Photoacoustic Imaging-Trackable Magnet ic Microswimmers For Pathogenic Bacterial Infection Treatment [J]. *Acs Nano*, 2020, 14(3): 2880-93.
- [82] Xu D, Hu J, Pan X, etc. Enzyme-Powered Liquid Metc Nanobots Endowed With Multiple Biomedical Functions [J]. *Acs Nano*, 2021, 15(7): 11543-54.
- [83] Xu T, Ma Y, Yuan Q, etc. Enhanced Ferroptosis By Oxygen-Boosted Phototherapy Based On A 2-In-1 Nanoplatfrom Of Ferrous Hemoglobin For Tumor Synergistic Therapy [J]. *Acs Nano*, 2020, 14(3): 3414-25.
- [84] Xu Y, Luo Y, Weng Z, etc. Microenvironment-Responsive Metc-Phenolic Nanozyme Release Platform With Antibacterial, Ros Scavenging, And Osteogenesis For Periodontitis [J]. *Acs Nano*, 2023, 17(19): 18732-46.
- [85] Xue Y, Niu W, Wang M, etc. Engineering A Biodegradable Multifunctional Antibacterial Bioactive Nanosystem For Enhancing Tumor Photothermo-Chemotherapy And Bone Regeneration [J]. *Acs Nano*, 2020, 14(1): 442-53.
- [86] Yang B, Chen Y, Shi J. Reactive Oxygen Species (Ros)-Based Nanomedicine [J]. *Chem Rev*, 2019, 119(8): 4881-985.
- [87] Yang C, Luo Y, Lin H, etc. Niobium Carbide Mxene Augmented Medical Implant Elicits Bacterial Infection Elimination And Tissue Regeneration [J]. *Acs Nano*, 2021, 15(1): 1086-99.
- [88] Yu Y L, Wu J J, Lin C C, etc. Elimination Of Met hicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Biofilms On Titanium Implants Via Photothermally-Trigged Nitric Oxide And Immunotherapy For Enhanced Osseointegration [J]. *Mil Med Res*, 2023, 10(1): 21.
- [89] Yuan Z, Lin C, He Y, etc. Near-Infrared Light-Trigged Nitric-Oxide-Enhanced Photodynamic Therapy And Low-Temperature Photothermal Therapy For Biofilm Elimination [J]. *Acs Nano*, 2020, 14(3): 3546-62.
- [90] Zhanel G G, Esquivel J, Zelenitsky S, Etc. Omadacycline: A Novel Oral And Intravenous Aminomet hylcycline Antibiotic Agent [J]. *Drugs*, 2020, 80(3): 285-313.
- [91] Zhao Y, Guo Q, Dai X, etc. A Biomimet ic Non-Antibiotic Approach To Eradicate Drug-Resistant Infections [J]. *Adv Mater*, 2019, 31(7): E1806024.
- [92] Zhang C, Hu D F, Xu J W, etc. Polyphenol-Assisted Exfoliation Of Transition Metc Dichalcogenides Into Nanosheet s As Photothermal Nanocarriers For Enhanced Antibiofilm Activity [J]. *Acs Nano*, 2018, 12(12): 12347-56.
- [93] Zhang J Y, Chen S, Wang P, etc. Naybf(4) Nanoparticles As Near Infrared Light Excited Inorganic Photosensitizers For Deep Penet ration In Photodynamic Therapy [J]. *Nanoscale*, 2017, 9(8): 2706-10.

- [94] Zhang M, Weng Y, Cao Z, etc. Ros-Activatable Sirna-Engineered Polyplex For Nir-Trigged Synergistic Cancer Treatment [J]. *Acs Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(29): 32289-300.
- [95] Zhang W, Shen X, Li W, etc. Antibacterial Mos2-Ce6-Ionic Liquid Nanoplatfrom Against Photothermal/Photodynamic Combined Therapy And Wound Healing Acceleration [J]. *Acs Applied Nano Materials*, 2023, 6(22): 20556-68.
- [96] Zhang W, Wang B, Xiang G, etc. Photodynamic Alginate Zn-Mof Thermosensitive Hydrogel For Accelerated Healing Of Infected Wounds [J]. *Acs Appl Mater Interfaces*, 2023, 15(19): 22830-42.
- [97] Zhao H, Huang J, Li Y, etc. Ros-Scavenging Hydrogel To Promote Healing Of Bacteria Infected Diabet ic Wounds [J]. *Biomaterials*, 2020, 258: 120286.
- [98] Zhao R, Coker O O, Wu J, etc. Aspirin Reduces Colorectal Tumor Development In Mice And Gut Microbes Reduce Its Bioavailability And Chemopreventive Effects [J]. *Gastroenterology*, 2020, 159(3): 969-83 E4.
- [99] Aljarb A, Min J, Hakami M, etc. Interfacial Reconstructed Layer Controls The Orientation Of Monolayer Transition-Metc Dichalcogenides [J]. *Acs Nano*, 2023, 17(11): 10010-8.
- [100] Bao Y, Shao J, Xu H, etc. Making Patterned Single Defects In Mos(2) Thermally With The Mos(2)/Au Moire Interface [J]. *Acs Nano*, 2024, 18(40): 27411-9.
- [101] Li J, Li J, Chen Y, etc. Molybdenum Disulfide-Supported Cuprous Oxide Nanocomposite For Near-Infrared-I Light-Responsive Synergistic Antibacterial Therapy [J]. *Acs Nano*, 2024, 18(25): 16184-98.
- [102] Rangnekar S V, Sangwan V K, Jin M, etc. Electroluminescence From Megasonically Solution-Processed Mos(2) Nanosheet Films [J]. *Acs Nano*, 2023, 17(17): 17516-26.
- [103] Jiang F, Wang J, Ren Z, etc. Target ed Light-Induced Immunomodulatory Strategy For Implant-Associated Infections Via Reversing Biofilm-Mediated Immunosuppression [J]. *Acs Nano*, 2024, 18(9): 6990-7010.
- [104] Rhee D, Lee Y L, Odom T W. Area-Specific, Hierarchical Nanowrinkling Of Two-Dimensional Materials [J]. *Acs Nano*, 2023, 17(7): 6781-8.
- [105] Wang P, Wu J, Xiao X, etc. Engineering Injectable Coassembled Hydrogel By Photothermal Driven Chitosan-Stabilized Mos(2) Nanosheet s For Infected Wound Healing [J]. *Acs Nano*, 2024, 18(39): 26961-74.
- [106] Yang S T, Yang T H, Liang B W, etc. Submicron Memtransistors Made From Monocrystalline Molybdenum Disulfide [J]. *Acs Nano*, 2024, 18(9): 6936-45.
- [107] Zhan W, Zhai X, Li Y, etc. Regulating Local Atomic Environment Around Vacancies For Efficient Hydrogen Evolution [J]. *Acs Nano*, 2024, 18(14): 10312-23.
- [108] Zhao Y Q, Sun Y, Zhang Y, etc. Well-Defined Gold Nanorod/Polymer Hybrid Coating With Inherent Antifouling And Photothermal Bactericidal Properties For Treating An Infected Hernia [J]. *Acs Nano*, 2020, 14(2): 2265-75.
- [109] Zhou K, Qiu X, Xu L, etc. Poly(Selenoviologen)-Assembled Upconversion Nanoparticles For

- Low-Power Single-Nir Light-Triggered Synergistic Photodynamic And Photothermal Antibacterial Therapy [J]. *Acs Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(23): 26432-43.
- [110] Zhou Z, Vazquez-Gonzalez M, Willner I. Stimuli-Responsive Metc-Organic Framework Nanoparticles For Controlled Drug Delivery And Medical Applications [J]. *Chem Soc Rev*, 2021, 50(7): 4541-63.
- [111] Cao W, Yue L, Zhang Y, etc. Photodynamic Chitosan Functionalized Mos(2) Nanocomposite With Enhanced And Broad-Spectrum Antibacterial Activity [J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 277: 118808.
- [112] Piao Y, Himbert S, Li Z, Etc. Alkylated Edta Potentiates Antibacterial Photodynamic Activity Of Protoporphyrin [J]. *J Nanobiotechnology*, 2024, 22(1): 161.
- [113] Tian Y, Zhang R, Guan B, etc. Oxydextran-Based Photodynamic Antibacterial Nanoplatform With Broad-Spectrum Antibacterial Activity [J]. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 2023, 236: 123917.
- [114] Zhou T, Yin Y, Cai W, etc. A New Antibacterial Nano-System Based On Hematoporphyrin-Carboxymet hyl Chitosan Conjugate For Enhanced Photostability And Photodynamic Activity [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 269: 118242.
- [115] Piksa M, Lian C, Samuel I C, etc. The Role Of The Light Source In Antimicrobial Photodynamic Therapy [J]. *Chem Soc Rev*, 2023, 52(5): 1697-722.
- [116] Sharma A, Verwilt P, Li M, Etc. Theranostic Fluorescent Probes [J]. *Chem Rev*, 2024, 124(5): 2699-804.
- [117] Wu Y, Zhang X, Sun L, etc. Visible-Light-Absorbing Photosensitizer Nanostructures For Treatment Of Pathogenic Bacteria And Induction Of Systemic Acquired Resistance [J]. *Acs Nano*, 2025, 19(1): 1771-82.
- [118] Zhang L, Hu C, Sun M, etc. Bodipy-Functionalized Natural Polymer Coatings For Multimodal Therapy Of Drug-Resistant Bacterial Infection [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10(14): E2300328.
- [119] Zhuang J, Qi G, Feng Y, etc. Thymoquinone As An Electron Transfer Mediator To Convert Type Ii Photosensitizers To Type I Photosensitizers [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 4943.
- [120] Zorron M, Cabrera A L, Sharma R, etc. Emerging 2d Nanomaterials-Integrated Hydrogels: Advancements In Designing Theragenerative Materials For Bone Regeneration And Disease Therapy [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2024, 11(31): E2403204.
- [121] Bertsch P, Diba M, Mooney D J, etc. Self-Healing Injectable Hydrogels For Tissue Regeneration [J]. *Chem Rev*, 2023, 123(2): 834-73.
- [122] Gao S, Li H, Li Z, etc. Multifunctional Injectable Bioadhesive With Toll-Like Receptor 4 And Myeloid Differentiation Factor 2 Antagonistic Anti-Inflammatory Potential For Periodontal Regeneration [J]. *Acs Nano*, 2025, 19(7): 7098-116.
- [123] Gong Y, Wang P, Cao R, etc. Exudate Absorbing And Antimicrobial Hydrogel Integrated With Multifunctional Curcumin-Loaded Magnesium Polyphenol Net work For Facilitating Burn Wound Healing [J]. *Acs Nano*, 2023, 17(22): 22355-70.

- [124] Hong G, Li J, Wei W, etc. Starfish-Inspired Synergistic Reinforced Hydrogel Wound Dressing: Dual Responsiveness And Enhanced Bioactive Compound Delivery For Advanced Skin Regeneration And Management [J]. *Acs Nano*, 2025, 19(10): 10180-98.
- [125] Kjar A, Haschert M R, Zepeda J C, etc. Biofunctionalized Gelatin Hydrogels Support Development And Maturation Of Ipsc-Derived Cortical Organoids [J]. *Cell Rep*, 2024, 43(11): 114874.
- [126] Li L, Qin W, Ye T, etc. Bioactive Zn-V-Si-Ca Glass Nanoparticle Hydrogel Microneedles With Antimicrobial And Antioxidant Properties For Bone Regeneration In Diabetic Periodontitis [J]. *Acs Nano*, 2025, 19(8): 7981-95.
- [127] Li Y, Wang Y, Ding Y, etc. A Double Network Composite Hydrogel With Self-Regulating Cu(2+)/Luteolin Release And Mechanical Modulation For Enhanced Wound Healing [J]. *Acs Nano*, 2024, 18(26): 17251-66.
- [128] Liang Y, Li M, Yang Y, etc. Ph/Glucose Dual Responsive Metformin Release Hydrogel Dressings With Adhesion And Self-Healing Via Dual-Dynamic Bonding For Diabetic Foot Wound Healing [J]. *Acs Nano*, 2022, 16(2): 3194-207.
- [129] Liu H, Wei X, Peng H, etc. Lyssyl-Loaded Ph-Switchable Self-Assembling Peptide Hydrogels Promote Metformin-Resistant Staphylococcus Aureus Elimination And Wound Healing [J]. *Adv Mater*, 2024, 36(52): E2412154.
- [130] Meng S, Hu H, Qiao Y, etc. A Versatile Hydrogel With Antibacterial And Sequential Drug-Releasing Capability For The Programmable Healing Of Infectious Keratitis [J]. *Acs Nano*, 2023, 17(23): 24055-69.
- [131] Pan W, Wu B, Nie C, etc. Nitric Oxide Responsive Nanohybrids Incorporating Thermosensitive Hydrogel As Sprayable Dressing For Multidrug-Resistant-Bacteria Infected Wound Management [J]. *Acs Nano*, 2023, 17(12): 11253-67.
- [132] Park J, Hassan M A, Nabawy A, etc. Engineered Bacteriophage-Polymer Nanoassemblies For Treatment Of Wound Biofilm Infections [J]. *Acs Nano*, 2024, 18(39): 26928-36.
- [133] Wan Y, Lin Y, Tan X, etc. Injectable Hydrogel To Deliver Bone Mesenchymal Stem Cells Preloaded With Azithromycin To Promote Spinal Cord Repair [J]. *Acs Nano*, 2024, 18(12): 8934-51.
- [134] Wu J, Wu Y, Tang H, etc. Self-Adapting Biomass Hydrogel Embodied With MicroRNA Immunoregulation And Long-Term Bacterial Eradication For Synergistic Chronic Wound Therapy [J]. *Acs Nano*, 2024, 18(28): 18379-92.
- [135] Xiong T, Ning F, Chen Y, etc. Charge Regulation-Enhanced Type I Photosensitizer-Loaded Hydrogel Dressing For Hypoxic Bacterial Inhibition And Biofilm Elimination [J]. *Acs Nano*, 2025, 19(2): 2822-33.
- [136] Zhao C, Li Y, Zhao J, etc. A "Test-To-Treat" Pad For Real-Time Visual Monitoring Of Bacterial Infection And On-Site Performing Smart Therapy Strategies [J]. *Acs Nano*, 2023, 17(14): 13296-309.

- [137] Zhao F, Su Y, Wang J, etc. A Highly Efficacious Electrical Biofilm Treatment System For Combating Chronic Wound Bacterial Infections [J]. *Adv Mater*, 2023, 35(6): E2208069.
- [138] Zhao X, Luo J, Huang Y, etc. Injectable Antiswelling And High-Strength Bioactive Hydrogels With A Wet Adhesion And Rapid Gelling Process To Promote Sutureless Wound Closure And Scar-Free Repair Of Infectious Wounds [J]. *Acs Nano*, 2023, 17(21): 22015-34.
- [139] Zhao Z, Wu C, Huangfu Y, etc. Bioinspired Glycopeptide Hydrogel Reestablishing Bone Homeostasis Through Mediating Osteoclasts And Osteogenesis In Periodontitis Treatment [J]. *Acs Nano*, 2024, 18(43): 29507-21.
- [140] Zhong R, Talebian S, Mendes B B, etc. Hydrogels For Rna Delivery [J]. *Nat Mater*, 2023, 22(7): 818-31.

攻读硕士学位期间学术论文发表情况

1. “Antibacterial MoS₂-Ce6-Ionic Liquid Nanoplatform against Photothermal/Photodynamic Combined Therapy and Wound Healing Acceleration” ACS Applied Nano Materials **2023** 6 (22), 20556-20568 DOI: 10.1021/acsanm.3c02239 (导师第一, 本人第二)
2. “Study on thermo-sensitive hydrogel with self-generated oxygen nanosystem combined with photothermal/photodynamic therapy for antibacterial and wound healing” (已接收)

致谢

行文至此，落笔为终。回首三载求学路，所历所得，皆承恩于师长亲友，感激之情，溢于言表。首谢葛飞院长课题组如家之温暖，乃我科研征途坚实后盾。再谢恩师张伟伟副教授，先生治学严谨，博闻广识，每遇科研困顿，皆以精辟见解拨云见日；待人温润谦和，常以“治学先修身”之训导诫我言行。此文从选题至定稿，皆倾注先生心血。师恩如海，没齿难忘。再谢实验室课题组全体同门。感念宋平老师、李婉珍老师、朱龙宝老师于实验设计之倾囊相授，于仪器操作之耐心指导，更难忘与各位同窗挑灯夜战、共克难关之情谊。谢父母二十余载养育之恩。求学离家，双亲鬓发渐白而未有怨言，视频通话间一句“安心读书”承载万千牵挂。寸草之心，难报春晖。另谢众多好友，困顿时以茶话疏郁，迷茫时以慧语点津。山水一程，三生有幸。最后，谨向参与论文评审及答辩的诸位专家致谢，恳请不吝赐教。韶华易逝，学问无涯。愿以此为序，持初心而笃行，怀感恩以立业。