

## 负载 ZIF-8 的 GelMA 水凝胶制备及其药物缓释性能和 抑菌作用评价

姜孔昭<sup>1</sup>, 李驰宇<sup>2</sup>, 罗云纲<sup>3</sup>, 刘志辉<sup>1</sup>

(1. 吉林大学口腔医院修复科, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学第二医院骨科, 吉林 长春 130022;  
3. 吉林大学第一医院净月分院口腔科, 吉林 长春 130117)

**[摘要]** **目的:** 制备一种含沸石咪唑类骨架材料 8 (ZIF-8) 的复合光交联水凝胶, 评价其体外细胞毒性、药物释放能力和抗菌性能。**方法:** 采用水热法合成 ZIF-8 颗粒, 扫描电子显微镜 (SEM) 观察 ZIF-8 颗粒微观形态表现。将 ZIF-8 颗粒以质量分数 0.2% 的比例与甲基丙烯酸酐化明胶 (GelMA) 混合获得复合水凝胶 GelMA-Z。采用原子吸收光谱法检测各时间点 GelMA-Z 中锌离子 ( $Zn^{2+}$ ) 累计释放量。NIH-3T3 细胞分为对照组、GelMA 组和 GelMA-Z 组, 将 GelMA 和 GelMA-Z 与 NIH-3T3 细胞共培养 1、3 和 7 d, 采用 CCK-8 法检测各组细胞存活率。大肠杆菌 (*E. coli*) 和金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 分为对照组、GelMA 组和 GelMA-Z 组, 将 GelMA 和 GelMA-Z 分别与 *E. coli* 和 *S. aureus* 共培养 6、12 和 24 h, 采用酶标仪检测不同时间点各组细菌活性, 采用平板抑菌实验和活/死细菌染色实验检测各组细菌菌落形成情况和活/死细菌染色情况。**结果:** SEM 观察, 采用水热法合成的 ZIF-8 颗粒具有均匀的粒径。原子吸收光谱法检测, GelMA-Z 中  $Zn^{2+}$  在 1 d 内呈突释阶段后缓慢释放, 7 d 左右达到平衡。与对照组比较, 1、3 和 7 d 时 GelMA 组和 GelMA-Z 组细胞存活率均大于 90%, 差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。酶标仪检测菌液活性, 与细菌共培养 6、12 和 24 h 时, 与对照组和 GelMA 组比较, GelMA-Z 组 *E. coli* 和 *S. aureus* 活性明显降低 ( $P<0.05$ )。平板抑菌实验, GelMA-Z 组中菌液涂布后形成的菌落数明显少于对照组和 GelMA 组。活/死细菌染色实验, GelMA-Z 组存在大量红色荧光染色的死细菌, 对照组和 GelMA 组中则为大量绿色荧光染色的活细菌。**结论:** 负载 ZIF-8 的 GelMA 水凝胶可实现原位光交联, 具有良好的  $Zn^{2+}$  释放能力和抗菌性, 是一种可用于感染伤口治疗的新型水凝胶敷料。

**[关键词]** 含沸石咪唑类骨架材料 8; 甲基丙烯酸酐化明胶; 水凝胶; 感染伤口; 抗菌性能

**[中图分类号]** R318.08 **[文献标志码]** A

## Preparation of GelMA hydrogel loaded with ZIF-8 and evaluation of drug sustained release and antibacterial effect

JIANG Kongzhao<sup>1</sup>, LI Chiyu<sup>2</sup>, LUO Yungang<sup>3</sup>, LIU Zhihui<sup>1</sup>

(1. Department of Prosthodontics, Stomatology Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China;  
2. Department of Orthopaedics, Second Hospital, Jilin University, Changchun 130022, China;  
3. Department of Stomatology, Jingyue Hospital District, First Hospital, Jilin University,  
Changchun 130117, China)

**[收稿日期]** 2023-04-08

**[基金项目]** 吉林省科技厅医药健康专项项目 (20200708107YY); 吉林省科技厅重点研发项目 (20220204124YY)

**[作者简介]** 姜孔昭 (1992-), 女, 辽宁省大连市人, 主治医师, 医学硕士, 主要从事口腔修复方面的研究。

**[通信作者]** 罗云纲, 教授, 博士研究生导师 (E-mail: luoyg@jlu.edu.cn);  
刘志辉, 教授, 博士研究生导师 (E-mail: liu\_zh@jlu.edu.cn)

**ABSTRACT objective:** To prepare a composite photocrosslinked hydrogel containing zeolite imidazole framework-8 (ZIF-8), and to evaluate its *in vitro* cytotoxicity, drug release capability, and antimicrobial property. **Methods:** The ZIF-8 particles were synthesized by hydrothermal method, and the microstructure characteristic was observed under scanning electron microscope (SEM). The particles were mixed with the gelatin methacryloyl (GelMA) with the mass fraction of 0.2% to obtain the composite hydrogel GelMA-Z. The atomic absorption spectroscope was used to detect the cumulative zinc ion ( $Zn^{2+}$ ) release amounts in GelMA-Z at different time points. The NIH-3T3 cells were co-cultured with GelMA-Z for 1, 3, and 7 d; the viabilities of the cells in various groups were detected by CCK-8 assay; the GelMA-Z was co-cultured with *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) for 6, 12, and 24 h and divided into control group, GelMA group, and GelMA-Z group. The bacterial activities of the cells in various groups at different time points were detected by microplate reader; the bacterial formation and the presence of live/dead bacterial staining condition were detected by plate antibacterial experiment and live/dead bacterial staining method. **Results:** The SEM observation results showed that the hydrothermally synthesized ZIF-8 particles had the uniform particle sizes. The atomic absorption spectroscope results showed that  $Zn^{2+}$  in GelMA-Z showed an initial burst phase within 1 d, followed by a slow release, and reached the equilibrium around 7 d. Compared with control group, the viabilities the cells in GelMA group and GelMA-Z group were above 90% on the 1st, 3rd, and 7th days, but there was no significant difference ( $P > 0.05$ ). The bacterial activity detection results showed that when co-cultured with bacteria for 6, 12, and 24 h, compared with control group and GelMA group, the bacterial activities of the *E. coli* and *S. aureus* in GelMA-Z group were decreased ( $P < 0.05$ ). The plate antibacterial experiment results showed that the number of bacterial formation in GelMA-Z group was fewer than those in control group and GelMA group. The live/dead bacterial staining results showed that in GelMA-Z group, there was a large number of red fluorescence stained dead bacteria; in control group and GelMA group, there was a large number of green fluorescence stained live bacteria. **Conclusion:** The GelMA hydrogel loaded with ZIF-8 particles can achieve the *in situ* photocrosslinking and possesses good  $Zn^{2+}$  release capability and antimicrobial activity, and it is a novel hydrogel dressing for treatment of the infected wounds.

**KEYWORDS** Zeolite imidazole framework-8; Gelatin methacryloyl; Hydrogel; Infected wound; Antibacterial property

皮肤是人体最大的器官, 具有保护体内器官不受外界因素影响和抵御微生物感染等功能<sup>[1-2]</sup>。皮肤受损后, 持续的细菌感染会导致长期的慢性炎症, 减缓伤口愈合进程, 使其转变为慢性伤口<sup>[3-4]</sup>。伤口敷料可在一定程度上避免受损部位与外界接触, 降低细菌感染风险, 有助于伤口愈合。但传统的伤口敷料, 如纱布和绷带, 仅具有止血、吸收渗出液和物理屏障等简单功能, 并且由于材料的固有缺陷而易黏附于肉芽组织上。水凝胶因其仿生结构和特有的理化性能有望成为新型伤口敷料<sup>[5-7]</sup>。水凝胶具有三维多孔结构, 能够吸收伤口渗出液、保持伤口湿润和促进气体交换, 并对细菌和灰尘具有屏障作用。此外, 许多治疗性药物能够加载至水凝胶中, 如抗生素、生长因子和中药等活性物质<sup>[8-9]</sup>。考虑到伤口多为不规则形状, 理想的水凝胶敷料应能够原位注射覆盖伤口, 并及时凝

胶化以起到屏障作用。甲基丙烯酸酐化明胶 (gelatin methacryloyl, GelMA) 是一种由甲基丙烯酸酐 (methacrylic anhydride, MA) 修饰的明胶衍生材料, 因为其含有精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸序列和对基质金属蛋白酶敏感的基序, 其性质类似于天然细胞外基质<sup>[10-11]</sup>。最近的研究<sup>[12-14]</sup>表明: GelMA 允许细胞黏附和重塑, 是组织再生的支架材料。GelMA 在体温下为液体, 在波长 405 nm 光作用下可以交联。由于良好的生物相容性和独特的物理化学性质<sup>[15]</sup>, GelMA 可应用于伤口愈合研究领域, GelMA 基水凝胶可作为伤口敷料使用。但 GelMA 无抗菌功能, 难以满足应用于感染伤口的要求, 因此需要添加抗菌物质赋予其特定功能。抗生素的过度使用会引起细菌的耐药性, 给人类健康造成巨大威胁, 增加了治疗负担<sup>[16]</sup>。沸石咪唑类骨架材料 8 (zeolite imidazole framework-8, ZIF-8)

是一种非抗生素类抗菌化合物,因其制备工艺简单且抗菌效果和生物相容性良好,可作为抗生素的替代品。由ZIF-8中释放的 $Zn^{2+}$ 可以破坏细菌被膜的完整性,催化氧自由基产生,从而导致细菌死亡<sup>[17]</sup>。此外,ZIF-8纳米颗粒的粗糙表面可以增加其与细菌的接触面积,更好地发挥抗菌活性。XIA等<sup>[18]</sup>证实:ZIF-8@Rutin复合物对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌具有杀菌活性,并可用于伤口愈合。DENG等<sup>[19]</sup>证实:负载ZIF-8的纤维素水凝胶具有同样良好的杀菌活性及促进皮肤再生的成血管活性。将ZIF-8与GelMA结合,既可发挥水凝胶用于伤口敷料的优点,也具备一定的抗感染能力。本研究采用水热法合成ZIF-8颗粒,并与GelMA混合制备复合水凝胶GelMA-ZIF-8(GelMA-Z),通过观察GelMA-Z水凝胶对NIH-3T3细胞、大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)和金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)的影响,探讨GelMA-Z的生物相容性和抗菌性能,为感染性伤口的治疗提供新材料。

## 1 材料与方法

### 1.1 细菌、细胞、主要试剂和仪器

*E. coli*、*S. aureus*和小鼠胚胎成纤维NIH-3T3细胞由吉林大学第二医院提供。GelMA和苯基(2,4,6-三甲基苯甲酰基)磷酸锂盐(lithium phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphinate, LAP)(中国EFL公司),六水合硝酸锌和2-甲基咪唑(上海阿拉丁生化科技有限公司),DMEM F12高糖培养基和青-链霉素溶液(美国Hyclone公司),胎牛血清(美国BI公司),CCK-8试剂盒(美国Invitrogen公司),LB肉汤和LB营养琼脂培养基(中国海博生物公司),活/死细菌染色试剂盒(上海贝博生物科技有限公司)。恒温细胞培养箱(型号:SLI-1200,日本Sanyo公司),多功能酶标仪(型号:BL340,美国BioTech公司),扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)(型号:SSX-550,日本岛津公司),原子吸收分光光度计(型号:TAS-990,北京普析通用仪器有限责任公司),倒置荧光显微镜(型号:IX73,日本Olympus公司)。

### 1.2 ZIF-8颗粒的制备和表征

水热法合成ZIF-8颗粒<sup>[20]</sup>。首先,于80 mL去离子水中溶解2-甲基咪唑4.54 g和六水合硝酸锌0.22 g,轻轻搅拌20 min。将该混合物置于聚四氟

乙烯内衬的高压反应釜中,37℃加热6 h,离心得到ZIF-8颗粒,甲醇清洗3次,37℃烘干,收集备用。将ZIF-8颗粒粘于金属台的导电双面胶上,采用SEM观察ZIF-8颗粒微观形态表现。

### 1.3 GelMA-Z的制备

将GelMA(10% W/V)和LAP(0.2%)溶于去离子水中,50℃水浴搅拌3 min,制备GelMA溶液。使用0.22 μm微孔的无菌滤膜过滤,最终获得无菌GelMA溶液。将无菌ZIF-8颗粒均匀分散于GelMA溶液中,40℃避光搅拌过夜,得到含ZIF-8浓度为0.2%(W/V)的GelMA-Z复合水凝胶。

### 1.4 原子吸收光谱(atomic absorption spectroscopy, AAS)法检测GelMA-Z的 $Zn^{2+}$ 释放量

将300 μL GelMA-Z预凝胶溶液注射至圆柱形模具中,光照射交联15 s。将交联后的水凝胶浸于3 mL PBS缓冲液(pH 7.4)中,密封置于37℃恒温环境。在12 h、1 d、3 d和7 d时,每组取出1 mL溶液并加入等体积PBS缓冲液。采用AAS法检测各时间点样本溶液中 $Zn^{2+}$ 浓度,并计算出各时间点累计总 $Zn^{2+}$ 浓度。累计释放量计算公式: $C_{累计} = C_n \times V + V_m \times \sum_{i=1}^{n-1} C_i$ ,其中 $C_{累计}$ 为 $Zn^{2+}$ 累积释放量( $mg \cdot L^{-1}$ ), $C_n$ 为第n次取样时溶液中 $Zn^{2+}$ 的质量浓度( $mg \cdot L^{-1}$ ), $C_i$ 为第i次取样时溶液中 $Zn^{2+}$ 的质量浓度( $mg \cdot L^{-1}$ ),V为释放介质的总体积(mL), $V_m$ 为每隔一段时间内取出的释放溶液体积(mL)。

### 1.5 CCK-8法检测各组细胞存活率

NIH-3T3细胞分为对照组、GelMA组和GelMA-Z组,将GelMA和GelMA-Z预凝胶溶液(50 μL)注射至24孔细胞培养板中,光照射15 s,然后将NIH-3T3细胞以每孔 $5 \times 10^3$ 的密度接种于孔板中,与水凝胶共培养。加入1 mL含10%胎牛血清和1%青-链霉素的DMEM F12高糖培养基,于5% CO<sub>2</sub>、37℃条件下培养。培养基每2 d更换1次。在第1、3和7天时,每孔更换含有10% CCK-8溶液的培养基。37℃孵育2 h,采用酶标仪检测各组细胞上清液于波长600 nm处吸光度(A)值,并计算各组细胞存活率。细胞存活率=(实验组A值-空白组A值)/(对照组A值-空白组A值)×100%。

### 1.6 检测GelMA-Z的抗菌性能

1.6.1 细菌的复苏和培养 将冻存的*E. coli*和*S. aureus*菌液取出,采用无菌接种环蘸取菌液涂

布于 LB 营养琼脂板上。37 °C 条件下培养 3 d。使用无菌接种环从 LB 营养琼脂板上取 2~3 个菌落分散于 5 mL 液体培养基中, 37 °C 培养 2 d。采用液体培养基将菌液密度调整至  $1 \times 10^6$  CFU·mL<sup>-1</sup> 用于后续实验。

1.6.2 绘制细菌生长曲线 实验分为对照组、GelMA 组和 GelMA-Z 组。将 300  $\mu$ L GelMA 和 GelMA-Z 预凝胶溶液注射圆柱形模具中, 光交联 15 s。将交联后的 GelMA 和 GelMA-Z 分别放入 3 mL 菌液中, 对照组只含有 3 mL 菌液, 于 37 °C 条件下培养。0、12 和 24 h 检测各组细菌在波长 600 nm 处的 A 值, 代表细菌活性。

1.6.3 平板抑菌实验 实验分为对照组、GelMA 组和 GelMA-Z 组, 将 300  $\mu$ L GelMA 和 GelMA-Z 预凝胶溶液注射至圆柱形模具中, 光交联 15 s 后分别放入 3 mL 菌液中, 对照组只含有 3 mL 菌液, 37 °C 条件下培养。将每组菌液梯度稀释至  $1 \times 10^5$  CFU·mL<sup>-1</sup> 后, 取 100  $\mu$ L 菌液均匀涂布于 LB 营养琼脂板上。菌液充分吸收后倒置, 37 °C 培养 2 d, 拍照记录菌落形成情况。

1.6.4 活/死细菌染色实验 实验分为对照组、GelMA 组和 GelMA-Z 组。将 300  $\mu$ L GelMA 和 GelMA-Z 预凝胶溶液注射至圆柱形模具中, 光交联 15 s 后分别放入 3 mL 菌液中, 对照组只含有 3 mL 菌液, 37 °C 培养 6 h 离心收集各组细菌, 0.85% NaCl 溶液冲洗细菌 3 次, 采用适量的活/死细菌染色工作液重悬细菌, 室温避光孵育 15 min。0.85% NaCl 溶液冲洗细菌 1 次, 适量的 0.85% NaCl 溶液重悬细菌, 荧光显微镜观察活/死细菌染色情况。

## 1.7 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析, 所有实验至少重复 3 次。各组细胞存活率和各组细菌活性均符合正态分布, 以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间样本均数比较采用单因素方差分析, 组间样本均数两两比较采用 SNK-*q* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ZIF-8 颗粒的表征

SEM 观察显示: ZIF-8 颗粒呈圆形, 粒径均匀, 平均粒径  $(0.41 \pm 0.09)$   $\mu$ m。见图 1。

### 2.2 GelMA-Z 水凝胶的 Zn<sup>2+</sup> 释放量

GelMA-Z 在 1 d 内有一段突释, 该部分 Zn<sup>2+</sup> 可

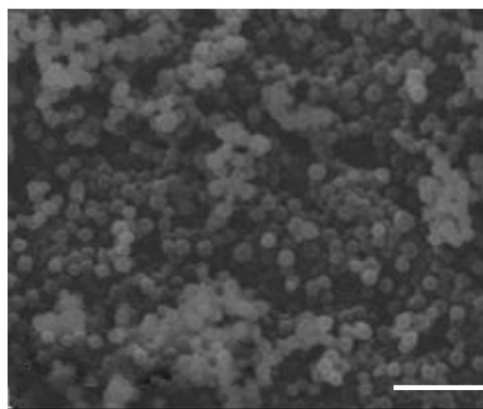


图 1 ZIF-8 的微观形态表现(SEM, Bar=5  $\mu$ m)

Fig. 1 Microscopic morphology of ZIF-8 (SEM, Bar=5  $\mu$ m)

能主要来源于水凝胶表面的 ZIF-8 颗粒。1 d 后 Zn<sup>2+</sup> 的释放速率逐渐减慢, 其稳定释放一直持续至 7 d, 表明 GelMA 可能具有保护作用, 可降低 ZIF-8 颗粒的水解速度。见表 1。

表 1 不同时间点 GelMA-Z 的 Zn<sup>2+</sup> 累计释放量

Tab. 1 Cumulative release amounts of Zn<sup>2+</sup> at different time points [n=3,  $\bar{x} \pm s, \rho_B / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ ]

| Time | Cumulative release amount of Zn <sup>2+</sup> |
|------|---|
| 0 h  | 0   |
| 12 h | 0.55 $\pm$ 0.03                               |
| 1 d  | 0.91 $\pm$ 0.02                               |
| 3 d  | 1.07 $\pm$ 0.02                               |
| 7 d  | 1.19 $\pm$ 0.03                               |

### 2.3 各组细胞存活率

将 NIH-3T3 细胞与水凝胶共培养 1、3 和 7 d 后, 对照组、GelMA 组和 GelMA-Z 组在相同时间点细胞存活率均大于 90%, 并且组间比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 表明 GelMA 和 GelMA-Z 具有良好的细胞相容性, 不影响 NIH-3T3 细胞增殖。见表 2。

### 2.4 各组细菌活性

在体外抗菌实验中, 对照组和 GelMA 组 *E. coli* 和 *S. aureus* 在 24 h 内持续增殖, 与对照组和 GelMA 组比较, 6、12 和 24 h 时 GelMA-Z 组 2 种细菌活性明显降低 ( $P < 0.05$ )。见表 3 和 4。

与对照组和 GelMA 组比较, GelMA-Z 组 2 种细菌菌落数量明显减少。见图 2。活/死细菌染色结果显示: GelMA-Z 组大部分细菌死亡 (红色荧

表2 各组细胞存活率

Tab. 2 Survival rates of cells in various groups

 $(n=3, \bar{x} \pm s, \eta/\%)$ 

| Group   | Survival rate |             |             |
|---------|---------------|-------------|-------------|
|         | (t/d) 1       | 3           | 7           |
| Control | 100.00±0.00   | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 |
| GelMA   | 98.21±0.26    | 98.26±0.49  | 99.11±0.51  |
| GelMA-Z | 97.23±1.17    | 97.33±0.89  | 98.75±0.55  |

表3 不同时间点各组 *E. coli* 的活性Tab. 3 Activities of *E. coli* in various groups at different time points $(n=3, \bar{x} \pm s)$ 

| Group   | Activity of <i>E. coli</i> |                         |                         |                         |
|---------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|         | (t/h) 0                    | 6                       | 12                      | 24                      |
| Control | 0.23±0.01                  | 0.72±0.03               | 0.95±0.08               | 1.02±0.06               |
| GelMA   | 0.23±0.01                  | 0.71±0.03               | 0.96±0.06               | 1.01±0.07               |
| GelMA-Z | 0.23±0.01                  | 0.24±0.01 <sup>*△</sup> | 0.25±0.02 <sup>*△</sup> | 0.24±0.02 <sup>*△</sup> |

\* $P<0.05$  compared with control group; <sup>△</sup> $P<0.05$  compared with GelMA group.表4 不同时间点各组 *S. aureus* 的活性Tab. 4 Activities of *S. aureus* in various groups at different time points $(n=3, \bar{x} \pm s)$ 

| Group   | Activity of <i>S. aureus</i> |                         |                         |                         |
|---------|------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|         | (t/h) 0                      | 6                       | 12                      | 24                      |
| Control | 0.24±0.02                    | 0.76±0.03               | 1.02±0.07               | 1.13±0.03               |
| GelMA   | 0.24±0.02                    | 0.77±0.03               | 1.03±0.04               | 1.12±0.08               |
| GelMA-Z | 0.24±0.02                    | 0.25±0.02 <sup>*△</sup> | 0.25±0.05 <sup>*△</sup> | 0.24±0.04 <sup>*△</sup> |

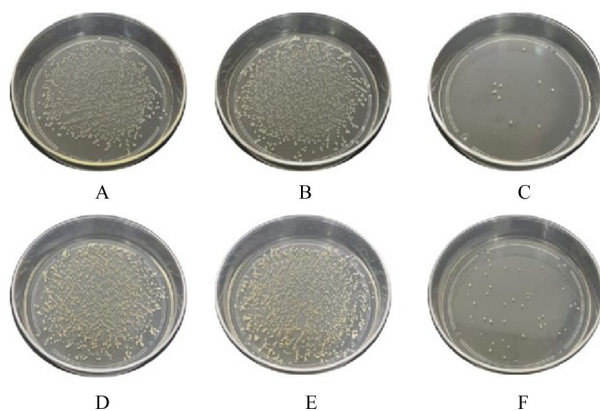
\* $P<0.05$  compared with control group; <sup>△</sup> $P<0.05$  compared with GelMA group.

光染色), 而对照组和 GelMA 组多数为活细菌(绿色荧光染色)。见图3。

### 3 讨论

感染伤口的愈合需要抗菌敷料的支持, 目前已经设计和研究出具有抗菌性能的水凝胶敷料<sup>[21]</sup>, 其中药物载体和抗菌剂是关注的重点。

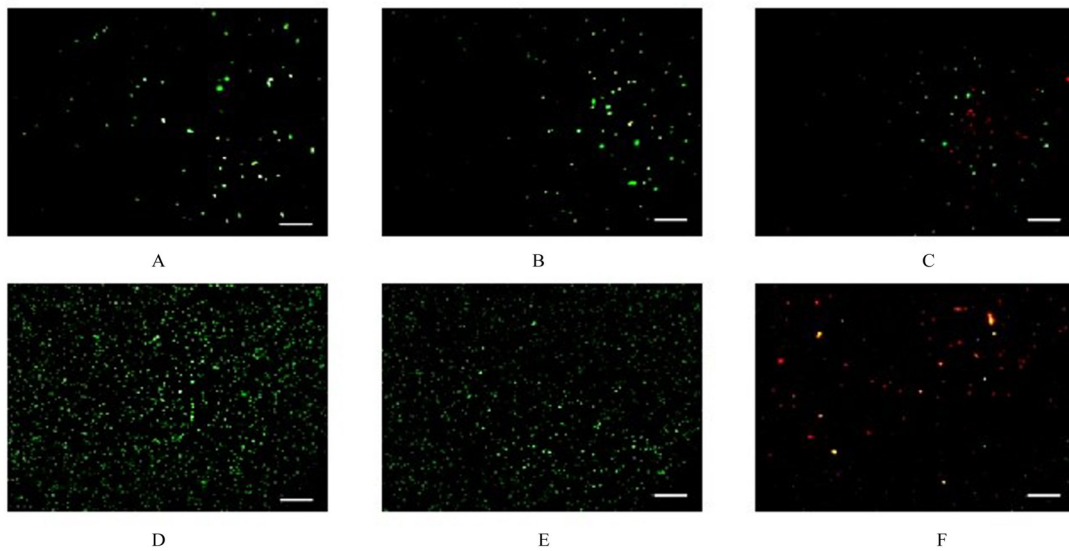
理想的载体应具有生物相容性好、稳定性好和可塑性强等特点。GelMA 是一种由明胶和甲基丙烯酸酐共聚合而成的光交联材料, 具有以下优点: ①生物相容性好。GelMA 由明胶制成, 是一种天然生物高分子材料, 在人体内具有良好的生物相容性, 不会引起过敏或排异反应。②可调节性强。通过改变甲基丙烯酸酐的接枝率, 可以精确地调节 GelMA 的物理和化学性质, 以满足不同伤口愈合的需要。③易于操作。未交联的 GelMA 在室温下呈黏稠液态, 易于填充不规则伤口, 405 nm 波长光照后立即交联固定, 使其在治疗伤口时更加方便。④模拟组织特性。由于水凝胶基质为明胶,



A—C: *E. coli*; D—F: *S. aureus*; A, D: Control group; B, E: GelMA group; C, F: GelMA-Z group.

图2 各组 *E. coli* 和 *S. aureus* 菌落形成情况Fig. 2 Bacterial formation of *E. coli* and *S. aureus* in various groups

GelMA 的机械特性和形态与人体软组织非常相似, 能够进行更好的组织和细胞工程修复。⑤促进细胞生长。GelMA 中的明胶可以在一定程度上促进细



A—C:*E.coli*;D—F:*S.aureus*; A,D:Control group; B,E:GelMA group; C,F:GelMA-Z group.

图3 各组活/死细菌染色情况(Bar=25 μm)

Fig. 3 Staining condition of living/dead bacteria in various groups (Bar=25 μm)

胞生长和增殖,有利于伤口的愈合。因此,GelMA作为一种新型伤口敷料,已被广泛应用于组织工程和医学等领域,可以促进伤口的愈合,缩短愈合时间,提高治疗效果。

抗菌剂应具有良好的抗菌性能,此外其细胞相容性和是否容易产生耐药性均是重点考虑的问题。目前常见的抗菌剂有金属离子、抗菌肽、抗生素和季铵盐化合物等多种类型<sup>[22-23]</sup>。其中金属离子具有广谱杀菌作用、低毒性和不易产生耐药等优点。ZIF-8是一种由 $Zn^{2+}$ 和有机配体组成的金属有机框架材料。ZIF-8作为 $Zn^{2+}$ 载体,能够稳定释放 $Zn^{2+}$ ,发挥各种生物学功能。

本研究首次将ZIF-8和GelMA联合使用,构建抗菌光交联水凝胶。GelMA-Z主要的抗菌机制是释放 $Zn^{2+}$ 。 $Zn^{2+}$ 是目前医学领域中常用的一种抗菌金属离子,其应用范围广泛,具有较高的安全性和效果。 $Zn^{2+}$ 主要用于各种感染性疾病的治疗,如口腔感染、皮肤感染、消化道感染和眼部感染等。含 $Zn^{2+}$ 的漱口水、牙膏和含片等产品可有效预防口腔感染; $Zn^{2+}$ 对幽门螺旋杆菌具有明显的抑制作用,因此被广泛应用于胃溃疡和十二指肠溃疡的治疗;含 $Zn^{2+}$ 抗菌剂应用于眼科领域用于治疗各种眼部感染,如结膜炎和角膜炎等。 $Zn^{2+}$ 能够与细胞膜上的磷脂双分子层和蛋白质相互作用,引起膜内的酶活性变化和磷脂的氧化损伤,最终导致细胞膜破裂和细胞死亡。研究<sup>[24-25]</sup>表明: $Zn^{2+}$ 主要通过促进

膜脂过氧化作用破坏细菌细胞膜的完整性,可以干扰细菌的吸收、代谢和转运等生化过程,从而抑制菌体的生长和增殖;可以在细菌内部产生氧化应激反应,诱导产生大量自由基,导致DNA和蛋白质等生物大分子的损伤和细菌死亡;干扰细菌的信号传递过程,抑制一些关键酶的活性,从而阻碍细菌的正常生长和代谢。本研究中,GelMA-Z可稳定释放 $Zn^{2+}$ ,对*E. coli*和*S. aureus*具有明显抑制作用。

综上所述,本研究制备了负载ZIF-8颗粒的GelMA复合水凝胶GelMA-Z,并进行了注射性、光交联性、体外毒性和抗菌性能检测,结果表明:负载质量分数为0.2% ZIF-8颗粒的光交联GelMA-Z复合水凝胶具有可注射性和良好的生物相容性,并且该水凝胶能够发挥明显的抗菌作用。本研究结果为抗菌敷料的研究提供了新思路。

#### 利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

#### 作者贡献声明:

姜孔昭参与实验设计、起草和修改论文,李驰宇参与论文修改,罗云纲参与研究设计和论文指导,刘志辉参与研究数据整理和统计学分析。

#### [参考文献]

- [1] WELLS A, NUSCHKE A, YATES C C. Skin tissue repair: matrix microenvironmental influences[J]. Matrix Biol, 2016, 49: 25-36.

- [2] DĄBROWSKA A K, SPANO F, DERLER S, et al. The relationship between skin function, barrier properties, and body-dependent factors [J]. *Skin Res Technol*, 2018, 24(2): 165-174.
- [3] SEEBAUER C, LUCAS C, KINDLER S, et al. Wound management-biology and wound healing disorders[J]. *Ophthalmologe*, 2019, 116(6): 585-596.
- [4] REINKE J M, SORG H. Wound repair and regeneration[J]. *Eur Surg Res*, 2012, 49(1): 35-43.
- [5] FRANCESKO A, PETKOVA P, TZANOV T. Hydrogel dressings for advanced wound management[J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25(41): 5782-5797.
- [6] HAMED H, MORADI S, HUDSON S M, et al. Chitosan based hydrogels and their applications for drug delivery in wound dressings: a review [J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 199: 445-460.
- [7] LIANG Y P, HE J H, GUO B L. Functional hydrogels as wound dressing to enhance wound healing [J]. *ACS Nano*, 2021, 15(8): 12687-12722.
- [8] QU J, ZHAO X, LIANG Y P, et al. Antibacterial adhesive injectable hydrogels with rapid self-healing, extensibility and compressibility as wound dressing for joints skin wound healing [J]. *Biomaterials*, 2018, 183: 185-199.
- [9] ZHENG J F, ZHAO F J, ZHANG W, et al. Sequentially-crosslinked biomimetic bioactive glass/gelatin methacryloyl composites hydrogels for bone regeneration [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2018, 89: 119-127.
- [10] LIU Y X, CHAN-PARK M B. A biomimetic hydrogel based on methacrylated dextran-graft-lysine and gelatin for 3D smooth muscle cell culture [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(6): 1158-1170.
- [11] VAN DEN STEEN P E, DUBOIS B, NELISSEN I, et al. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) [J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2002, 37(6): 375-536.
- [12] JIANG G Y, LI S H, YU K, et al. A 3D-printed PRP-GelMA hydrogel promotes osteochondral regeneration through M2 macrophage polarization in a rabbit model [J]. *Acta Biomater*, 2021, 128: 150-162.
- [13] KURIAN A G, SINGH R K, PATEL K D, et al. Multifunctional GelMA platforms with nanomaterials for advanced tissue therapeutics [J]. *Bioact Mater*, 2021, 8: 267-295.
- [14] XIAO S N, ZHAO T F, WANG J K, et al. Gelatin methacrylate (GelMA) -based hydrogels for cell transplantation: an effective strategy for tissue engineering [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2019, 15 (5): 664-679.
- [15] NAZIR F, ASHRAF I, IQBAL M, et al. 6-deoxy-aminocellulose derivatives embedded soft gelatin methacryloyl (GelMA) hydrogels for improved wound healing applications: *in vitro* and *in vivo* studies [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 185: 419-433.
- [16] HUEMER M, MAIRPADY SHAMBAT S, BRUGGER S D, et al. Antibiotic resistance and persistence-Implications for human health and treatment perspectives [J]. *EMBO Rep*, 2020, 21(12): e51034.
- [17] YAO S, CHI J J, WANG Y T, et al. Zn-MOF encapsulated antibacterial and degradable microneedles array for promoting wound healing [J]. *Adv Healthc Mater*, 2021, 10(12): e2100056.
- [18] XIA X M, SONG X J, LI Y, et al. Antibacterial and anti-inflammatory ZIF-8@Rutin nanocomposite as an efficient agent for accelerating infected wound healing [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 10: 1026743.
- [19] DENG L L, HUANG Y J, CHEN S Y, et al. Bacterial cellulose-based hydrogel with antibacterial activity and vascularization for wound healing [J]. *Carbohydr Polym*, 2023, 308: 120647.
- [20] LIU Y H, ZHU Z, PEI X B, et al. ZIF-8-modified multifunctional bone-adhesive hydrogels promoting angiogenesis and osteogenesis for bone regeneration [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(33): 36978-36995.
- [21] CHEN C Y, YIN H, CHEN X, et al. Ångstrom-scale silver particle-embedded carbomer gel promotes wound healing by inhibiting bacterial colonization and inflammation [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(43): eaba0942.
- [22] JABEEN M, BISWAS P, ISLAM M T, et al. Antiviral peptides in antimicrobial surface coatings-from current techniques to potential applications [J]. *Viruses*, 2023, 15(3): 640.
- [23] BREIJYEH Z, KARAMAN R. Design and synthesis of novel antimicrobial agents [J]. *Antibiotics*, 2023, 12(3): 628.
- [24] ZHANG Y, CHANG M L, BAO F, et al. Multifunctional Zn doped hollow mesoporous silica/polycaprolactone electrospun membranes with enhanced hair follicle regeneration and antibacterial activity for wound healing [J]. *Nanoscale*, 2019, 11(13): 6315-6333.
- [25] SAMANI S, HOSSAINALIPOUR S M, TAMIZIFAR M, et al. *In vitro* antibacterial evaluation of Sol-gel-derived Zn-, Ag-, and (Zn + Ag)-doped hydroxyapatite coatings against methicillin-resistant staphylococcus aureus [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2013, 101(1): 222-230.