

抗菌水凝胶敷料的研究进展

全宸良, 张里程, 高远, 唐佩福
解放军总医院 骨科, 北京 100853

摘要: 感染是骨科创伤特别是开放性骨折的严重并发症之一, 如何有效降低感染发生的风险, 已经成为骨科领域亟待解决的热点及难点问题。随着材料学和组织工程学的飞速发展, 许多新型医用敷料应运而生, 如薄膜类、水凝胶类、泡沫类、水胶体类等, 其中水凝胶类医用辅料以其优异的生物相容性及良好的伤口形状适应性被广泛应用于创伤敷料领域。本文将水凝胶抗菌性能的研究进展及现状进行综述, 为临床水凝胶敷料的选择提供参考。

关键词: 创伤; 开放性骨折; 水凝胶; 抑菌敷料

中图分类号: R 318.08 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2017)03-0253-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2017.03.018

网络出版时间: 2017-02-07 09:39:27

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20170207.0939.002.html

Hydrogel dressing with antibacterial activity: progress and perspective

QUAN Chenliang, ZHANG Licheng, GAO Yuan, TANG Peifu

Department of Orthopaedics, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: TANG Peifu. Email: pftang301@163.com

Abstract: Infection is one of the most serious complications in orthopedic trauma especially in open fractures. To urgently and effectively reduce the risk of infection has always been a hot spot or a difficult issue. With the rapid development of material science and tissue engineering, many new medical dressings have been invented at the historic moment, such as film type, hydrogel type, foam type, hydrocolloid type, especially the surgical dressings of hydrogel type, which has an excellent biocompatibility and a good wound shape adaptability, are widely used in the field of wound dressing. This review aims to summarize the status quo and progress of antibacterial properties in hydrogel dressings, analyze the advantages and disadvantages of different kinds of hydrogel antibacterial activity, and provide evidences for clinical applications.

Keywords: trauma; open fracture; hydrogel; antimicrobial dressing

感染是骨科创伤特别是开放性骨折普遍发生的严重并发症之一, 严重开放性创伤合并骨折患者发生感染的概率高达 16% ~ 44%^[1]。如何有效降低开放性骨折感染的风险, 已经成为骨科领域亟待解决的热点及难点问题。近年来, 随着材料学和组织工程学的飞速发展, 许多新型医用敷料应运而生^[2]。水凝胶又称为含水水凝胶, 是一种能够在水中溶胀, 吸收并保持大量水分而又不溶解于水的亲水性网状高分子溶胀体^[3]。正因为其高含水量, 使水凝胶可以随意塑形, 适合于任何部位的创面, 为伤口的愈合提供必要条件, 其生物相容性也优于纤维、薄膜类敷料^[4-11]。本文就抑菌水凝胶敷料的抑菌机制、化学结构、研究进展等方面进行综述, 为开放性骨折创面抗菌敷料的选择提供一定的临床参考。

1 自身抗菌水凝胶

1.1 壳聚糖及衍生物水凝胶 壳聚糖(chitosan)又称壳多糖、甲壳胺、脱乙酰甲壳素、几丁聚糖等, 源于植物、节肢动物、微生物及真菌细胞壁等。壳聚糖是到目前为止所

发现唯一的天然碱性多糖, 其化学名称为 β -(1, 4)-2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖。壳聚糖纯净物为白色、粉末状或片状固体, 无毒性, 其分子性质是一种带强阳性电荷的氨基糖类分子, 对带负电荷的分子具有很强的吸引力^[12]。因此通过静电作用, 可以与带有负电荷的细菌细胞壁产生静电吸附, 从而破坏细菌细胞壁^[13]。在一定条件下, 壳聚糖可发生酰基化、烷基化、络合、缩合和水解等化学反应, 生成多种不同生物特性的衍生物。由于壳聚糖含有 -OH 和 -NH₂, 因此可以通过化学交联来制备壳聚糖水凝胶。

1811年, 壳聚糖首次由法国科学家 Braconnot 教授在蕈类生物中发现并命名。21世纪以来, 以壳聚糖为基质的水凝胶敷料逐渐成为医用敷料研究的热点之一。单纯利用壳聚糖制备的水凝胶大多存在机械强度不足等问题, 因此通过互穿等方式与其他聚合物形成水凝胶有更好的力学强度和交联度^[14]。壳聚糖最常与聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA)交联制备水凝胶^[15]。Sakai等^[16]通过辣根过氧化物酶(HPR)制得Ph-壳聚糖/Ph-PVA互穿水凝胶(phenolic hydroxyl groups, Ph-chitosan and Ph-PVA), 并经哺乳动物细胞实验和大肠埃希菌(E.coli)细菌行为学实验证明, 该复合水凝胶具有良好的可降解性、生物组织相容性及有效的抗菌性能。Sung等^[17]利用冻-融技术将壳聚糖、PVA和二甲基四环素合成水凝胶, 通过大鼠背部伤口模型测试, 并对比纱布组和其他常规敷料组发现该复合水凝胶具有良好

收稿日期: 2016-11-11

基金项目: 部委级资助项目; 军队后勤课题面上项目(CWS14C066)

Supported by the Foundation of Logistics of Chinese PLA (CWS14C066)

作者简介: 全宸良, 男, 硕士, 医师。研究方向: 创伤骨科。Email: 937256768@qq.com

通信作者: 唐佩福, 男, 博士, 主任医师, 教授, 主任。Email: pftang301@163.com

的抗菌作用,并能够促进伤口愈合。

1.2 其他自身抗菌水凝胶 β 折叠型-缩氨酸基水凝胶(peptide-based β -hairpin hydrogel, MAX1 Hydrogel):Salick等^[18]研发的MAX1水凝胶无需任何抗菌药物,便可对革兰阳性及阴性菌产生良好的抗菌作用。MAX1水凝胶不会对人体红细胞造成溶血反应,并且在细菌及哺乳动物细胞共同培养实验中发现,MAX1水凝胶在杀灭细菌的同时也促进了哺乳动物细胞的增殖。MAX1水凝胶自身抗菌的关键在于由赖氨酸和缬氨酸通过自组而形成一种四肽序列(-VDPPT-)。这种四肽序列有两种 β -折叠的空间结构,一种为富含赖氨酸带正电的亲水层,另一种为富含缬氨酸的疏水层^[19]。MAX1水凝胶主要的抗菌机制在于富含赖氨酸带正电的亲水层会和带负电的细菌细胞膜产生静电吸附,从而破坏细菌细胞膜达到抗菌作用^[20]。

葡聚糖醛/聚乙烯亚胺水凝胶:Giano等^[21]通过化学交联方式制得自身抗菌水凝胶,其抗菌机制与MAX1水凝胶相似,都是带正电的水凝胶与带负电的细菌产生静电吸附作用,使细菌去极化或破坏其细胞膜,从而达到抗菌作用。葡聚糖醛/聚乙烯亚胺水凝胶抗菌谱广,对革兰阴性菌和阳性菌都具有一定的杀灭作用。小鼠脓疱链球菌感染实验发现,葡聚糖醛/聚乙烯亚胺水凝胶可以有效地杀死脓疱链球菌,而且不会损伤小鼠自身组织细胞,其灭菌过程产生自身炎症反应也可达到最小。可见葡聚糖醛/聚乙烯亚胺水凝胶也具备良好的生物组织相容性。

自身抗菌水凝胶抗菌性能不依赖于抗菌剂,主要依靠自身理化结构以及对细菌的相互作用产生抗菌效果,避免了使用抗菌剂的不良反应,但同时也是自身抗菌水凝胶最大的局限性所在。当严重感染或感染加重难以利用自身抗菌水凝胶达到抗菌效果时,水凝胶敷料则必须通过负载抗菌剂来达到抗菌作用^[22]。

2 负载抗菌剂水凝胶

2.1 负载抗菌剂水凝胶的分类 抗菌剂的缓释主要通过水凝胶自身理化结构改变来实现。按照对生物微环境反应释放机制将负载抗菌剂水凝胶分为传统缓释抗菌水凝胶和智能缓释水凝胶。传统水凝胶对微环境变化并不敏感,只能对机体微环境做出单一应答,抗菌剂的释放仅可以保证局部创面浓度,不能根据创面具体情况(如局部创面炎症反应的强弱)来精确控制抗菌剂的释放含量。而智能水凝胶能够对机体微环境做出不同应答,自发组装形成有序的超分子结构,最终形成具有特殊三维结构的水凝胶^[23]。

2.2 智能水凝胶的发展 近年来,智能水凝胶药物释放系统(DDS)有了突破性的发展^[24-26]。智能水凝胶分为温度敏感型、pH敏感型、压力敏感型、光敏感型等。温度敏感型水凝胶是研究最为广泛的一类,其中温度敏感型水凝胶以聚N-异丙基丙烯酰胺(PNIPAAm)类最为常用。Tanaka等在1984年报道聚N-异丙基丙烯酰胺(PNIPAAm)在32℃的含水媒介中可以由亲水形态向疏水形态急速转变,这种发生急速变化的临界温度称为最低临界溶液温度(LCST)^[27]。当温度高于最低临界温度时,抗菌水凝胶收缩进而释放抗菌

剂;温度低于最低临界温度时,抗菌水凝胶向亲水性转变,吸收创面渗液并同时缓慢释放抗菌剂。Li等^[28]将 β -内酰胺酶与聚N-异丙基丙烯酰胺(PNIPAAm)通过氢键相链接合成 β -内酰胺酶印迹水凝胶(IP水凝胶)。IP水凝胶在20℃时活化并暴露 β -内酰胺酶,对耐药菌产生破坏,使其对抗生素敏感;在37℃抑制并回收 β -内酰胺酶,以达到周期性使用的目的。IP水凝胶不仅可以使抗生素对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌产生敏感性,并且可以在杀死细菌后降解残留抗生素,从而减少抗生素对机体的不良反应和细菌耐药性。Liu等^[29]通过壳聚糖和聚亚氨基酯阴离子对聚N-异丙基丙烯酰胺(PNIPAAm)水凝胶进行改性组装,不仅提高了水凝胶的机械强度,对金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌的抗菌率也达到了80%以上。pH敏感型水凝胶适用于胃肠道疾病治疗,根据pH值变化给予相应浓度药物。光敏感型水凝胶可适用于眼部和皮肤给药。

智能水凝胶不仅在药物释放系统(DDS)广为应用,也可以应用于伤口细菌的检测。Thet等^[30]设计了一种生物膜敏感型水凝胶,可以根据检测到细菌的种类及浓度产生荧光变色,从而提示伤口潜在感染的风险,以便对伤口感染做出预防性的处理。

3 缓释水凝胶抗菌剂种类

3.1 纳米银缓释水凝胶 负载抗菌剂水凝胶可以负载多种抗菌剂,如纳米银、抗生素或其他抗菌剂等,其中纳米银为负载抗菌剂水凝胶最常用的负载抗菌剂^[13]。在耐药细菌增长的今天,银作为抗菌剂越来越受到医学界的关注。单质银(Ag)并不具备抗菌性质,而银离子或纳米银具有很高的抗菌活性。目前认为银的抗菌机制主要在于其能够破坏细菌细胞体内的呼吸系统和传输系统,从而抑制细菌新陈代谢,并阻碍细菌DNA的复制^[31-32]。

纳米银缓释抗菌水凝胶主要有两种合成方式:一种为利用水凝胶吸附纳米银悬浊液;另一种先利用水凝胶吸附硝酸银等化合物,然后将银离子在水凝胶内原位还原。前者虽然制备方式简单,但容易使纳米银颗粒聚团,影响抗菌效果。后者形成的纳米银颗粒小,分散度高,发展及应用前景广阔。Reithofer等^[33]利用硝酸银溶液、三羟甲基氨基甲烷缓冲液、Ac-LK6-NH₂超短肽水凝胶基质凝胶之后,在黑暗处通过照射波长为254 nm的紫外线5 min后,将银离子还原生成纳米银,从而制得一种Ac-LK6-NH₂超短肽/纳米银缓释抗菌水凝胶。利用这种还原合成方式可以精确控制纳米银颗粒的大小、防止纳米银颗粒产生聚集;通过纳米银缓释实验和抗菌实验表明,Ac-LK6-NH₂超短肽/纳米银缓释抗菌水凝胶可以有效缓释纳米银长达14 d,并且对大肠埃希菌、铜绿假单胞菌和葡萄球菌都具有良好的抗菌效果。Fullenkamp等^[34]将硝酸银溶液通过儿茶酚胺聚合物还原,与聚乙二醇(polyethylene, PEG)共价交联形成水凝胶,并加入蚌类软体动物的黏附蛋白,使制得的水凝胶可以贴附任何湿润环境创面。此水凝胶纳米银缓释时间至少为14 d。

然而对纳米银安全性的质疑也一直存在。目前为止,对纳米银毒性的相关研究主要集中在形态学、线粒体功能

测定、酶活力等细胞毒性方面,对于机体整体水平的毒性检测也有相关报道,但都缺乏分子水平机制方面的研究,大规模的流行病学调查也相对缺乏^[35-36]。

3.2 其他抗菌剂缓释水凝胶 除了纳米银之外,水凝胶还可以负载多种抗菌剂。Gustafson等^[37]通过交联方式合成聚(乙二醇)延胡索酸酯/甲基丙烯酸钠水凝胶(OPF/SMA水凝胶),通过基质与万古霉素电荷间的吸附作用并控制其缓释过程,每毫克水凝胶负载不少于500 μ g万古霉素为标准,最初6h万古霉素释放达到33.7%,24h缓释浓度已经达到总体浓度的80%,并在以后的4d可以持续缓释万古霉素,抗菌活性也达到了临床抗菌标准。Ji等^[38]所研制的聚合壳聚糖水凝胶(CS-HTCC/GP水凝胶)负载0.1%洗必泰在体外缓释实验证明此水凝胶可以持续缓释18h,并对多种革兰阴性细菌具有很好的抗菌作用。

4 结语

抗菌水凝胶敷料特别是负载抗菌剂缓释类水凝胶敷料在医药领域应用越来越广泛,但目前仍有一定的局限性。首先,其机械强度相对于纤维型等抗菌敷料仍显不足;其次,纳米银、万古霉素等虽然抗菌性能强,但仍具有一定的细胞或组织器官毒性(万古霉素的过敏反应,肾毒性等)^[39-40]。如何加强水凝胶机械强度、降低抗菌剂细胞毒性、根据创面炎症情况精确控制抗菌剂的释放等都是抗菌水凝胶敷料发展的方向。相信随着上述问题的解决,抗菌水凝胶敷料将会给创伤特别是开放性损伤抗感染领域带来长足发展。

参考文献

- Hull PD, Johnson SC, Stephen D, et al. Delayed debridement of severe open fractures is associated with a higher rate of deep infection [J]. *Bone Joint J*, 2014, 96B (3): 379-384.
- Queen D, Orsted H, Sanada H, et al. A dressing history [J]. *Int Wound J*, 2004, 1 (1): 59-77.
- Lee KY, Mooney DJ. Hydrogels for tissue engineering [J]. *Chem Rev*, 2001, 101 (7): 1869-1879.
- Kumar PT, Lakshmanan VK, Anilkumar TV, et al. Flexible and microporous chitosan hydrogel/nano ZnO composite bandages for wound dressing: in vitro and in vivo evaluation [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2012, 4 (5): 2618-2629.
- Ko DY, Shinde UP, Yeon B, et al. Recent progress of in situ formed gels for biomedical applications [J]. *Prog Polym Sci*, 2013, 38(3/4): 672-701.
- Winter GD. Formation of the scab and the rate of epithelisation of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. 1962 [J]. *J Wound Care*, 1995, 4 (8): 366-367; discussion 368-371.
- Hinman CD, Maibach H. Effect of air exposure and occlusion on experimental human skin wounds [J]. *Nature*, 1963, 200 (4904): 377-378.
- 朱朝军, 张朝晖, 马静, 等. 干性与湿性愈合疗法在糖尿病足坏疽治疗中的应用 [J]. *中华损伤与修复杂志: 电子版*, 2014 (2): 186-188.
- Sajid MT, Mustafa QU, Shaheen N, et al. Comparison of negative pressure wound therapy using Vacuum-Assisted closure with advanced moist wound therapy in the treatment of diabetic foot ulcers [J]. *Diabetes Care*, 2015, 25 (11): 789-793.
- Benbow M. Exploring the concept of moist wound healing and its application in practice [J]. *Br J Nurs*, 2008, 17 (15): S4, S6,

S8 passim.

- Souliotis K, Kalemikerakis I, Saridi M, et al. A cost and clinical effectiveness analysis among moist wound healing dressings versus traditional methods in home care patients with pressure ulcers [J]. *Wound Repair Regen*, 2016, 24 (3): 596-601.
- Periyah MH, Halim AS, Saad AZ. Chitosan: A Promising Marine Polysaccharide for Biomedical Research [J]. *Pharmacogn Rev*, 2016, 10 (19): 39-42.
- 周英, 许零. 抗菌敷料研究进展 [J]. *中华损伤与修复杂志: 电子版*, 2012, 7 (3): 307-311.
- 王薇, 美国平, 王璐. 生物医用水凝胶研究进展 [J]. *生物医学工程学进展*, 2015, 36 (4): 221-225.
- Rafique A, Mahmood Zia K, Zuber M, et al. Chitosan functionalized poly (vinyl alcohol) for prospects biomedical and industrial applications: A review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 87: 141-154.
- Sakai S, Khanmohammadi M, Khoshfetrat AB. Horseradish peroxidase-catalyzed formation of hydrogels from chitosan and poly (vinyl alcohol) derivatives both possessing phenolic hydroxyl groups [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 111 (1): 404-409.
- Sung JH, Hwang MR, Kim JO, et al. Gel characterisation and in vivo evaluation of minocycline-loaded wound dressing with enhanced wound healing using polyvinyl alcohol and chitosan [J]. *Int J Pharm*, 2010, 392 (1/2): 232-240.
- Salick DA, Kretsinger JK, Pochan DJ. Inherent antibacterial activity of a peptide-based beta-hairpin hydrogel [J]. *J Am Chem Soc*, 2007, 129 (47): 14793-14799.
- Schneider JP, Pochan DJ, Ozbas B, et al. Responsive hydrogels from the intramolecular folding and self-assembly of a designed peptide [J]. *J Am Chem Soc*, 2002, 124 (50): 15030-15037.
- Hyltdgaard M, Mygind T, Vad BS, et al. The antimicrobial mechanism of action of epsilon-Poly-L-Lysine [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80 (24): 7758-7770.
- Giano MC, Ibrahim Z, Medina SH, et al. Injectable bioadhesive hydrogels with innate antibacterial properties [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4095.
- Nho YC, Lim YM, Gwon HJ, et al. Preparation and characterization of PVA/PVP/glycerin/antibacterial agent hydrogels using γ -irradiation followed by freeze-thawing [J]. *Korean J Chem Eng*, 2009, 26 (6): 1675-1678.
- 张丁文, 刘燕飞, 亓鹏, 等. 智能水凝胶在组织工程中的应用 [J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18 (12): 1944-1950.
- Alvarez-Lorenzo C, Concheiro A. Intelligent drug delivery systems: polymeric micelles and hydrogels [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2008, 8 (11): 1065-1074.
- Jagur-Grodzinski J. Polymeric gels and hydrogels for biomedical and pharmaceutical applications [J]. *Polym Adv Technol*, 2010, 21 (1): 27-47.
- Ullah F, Othman MB, Javed F, et al. Classification, processing and application of hydrogels: A review [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2015, 57: 414-433.
- He L, Zuo Q, Xie S, et al. Intelligent hydrogels for drug delivery system [J]. *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 2011, 5 (3): 265-274.
- Li W, Dong K, Ren JS, et al. A beta-Lactamase-Imprinted Responsive Hydrogel for the Treatment of Antibiotic-Resistant Bacteria [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2016, 55 (28): 8049-8053.
- Liu BH, Hu JL, Meng QH. Nonwoven supported Temperature-Sensitive poly (n-isopropylacrylamide) /polyurethane copolymer hydrogel with antibacterial activity [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2009, 89B (1): 1-8.
- Thet NT, Alves DR, Bean JE, et al. Prototype development of the intelligent hydrogel wound dressing and its efficacy in the detection of model pathogenic wound biofilms [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8 (24, SI): 14909-14919.

(上接255页)

- 31 Leaper DJ. Silver dressings : their role in wound management [J] . Int Wound J, 2006, 3 (4) : 282-294.
- 32 Klasen HJ. Historical review of the use of Silver in the treatment of burns. I. Early uses [J] . Burns, 2000, 26 (2) : 117-130.
- 33 Reithofer MR, Lakshmanan A, Ping AT, et al. In situ synthesis of size-controlled, stable Silver nanoparticles within ultrashort peptide hydrogels and their anti-bacterial properties [J] . Biomaterials, 2014, 35 (26) : 7535-7542.
- 34 Fullenkamp DE, Rivera JG, Gong YK, et al. Mussel-inspired silver-releasing antibacterial hydrogels [J] . Biomaterials, 2012, 33 (15) : 3783-3791.
- 35 刘焕亮, 王慧杰, 裘著革. 纳米银的抗菌原理及生物安全性研究进展 [J] . 环境与健康杂志, 2009, 26 (8) : 736-739.
- 36 施畅, 徐丽明, 邵安良. 纳米银的毒理学研究现状 [J] . 药物分析杂志, 2013, 257 (12) : 2025-2033.
- 37 Gustafson CT, Boakye-Agyeman F, Brinkman CL, et al. Controlled delivery of vancomycin via charged hydrogels [J] . PLoS One, 2016, 11 (1) : e0146401.
- 38 Ji QX, Zhao QS, Deng J, et al. A novel injectable chlorhexidine thermosensitive hydrogel for periodontal application : preparation, antibacterial activity and toxicity evaluation [J] . J Mater Sci Mater Med, 2010, 21 (8) : 2435-2442.
- 39 谭慧心. 万古霉素 2001-2013 年不良反应报道文献的分析 [J] . 现代药物与临床, 2013, 28 (4) : 598-601.
- 40 曲连悦, 李紫璇, 初阳, 等. 万古霉素相关肾毒性危险因素分析 [J] . 中国医院药学杂志, 2016, 36 (14) : 1216-1219.