

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.05.009

负载聚六亚甲基双胍丝素蛋白纳米粒子抗菌活性及释放性能评价*

陈翔,刘耀,倪睿,赵祎博,曹梓珍,陈剑鸿[△]

(中国人民解放军陆军军医大学大坪医院药剂科,重庆 400042)

摘要:目的 评价负载聚六亚甲基双胍的丝素蛋白纳米粒子(PHMB-NPs)的抗菌活性及体外释放性能。方法 采用自组装法制备 PHMB-NPs,考察其粒径、多分散指数、Zeta 电位和药物负载量,采用扫描电子显微镜(SEM)观察形貌,测定红外光谱,采用牛津杯抑菌圈法测定体外抗菌活性,并建立其体外释放曲线。结果 PHMB-NPs 的粒径为 150~170 nm,粒径分布较集中,分散体系稳定性好,在 SEM 下呈球形,对大肠杆菌 E577 有良好的抗菌活性,体外释放主要集中在 24 h 内。结论 该方法制备的 PHMB-NPs 具有良好的抗菌活性,为进一步将其开发为抗菌敷料提供了实验依据。

关键词:聚六亚甲基双胍;丝素蛋白;纳米粒子;抗菌;释放性能

中图分类号:R917;R979.7

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)05-0041-05

Antibacterial Activity and Release Properties of Polyhexamethylene Biguanide Loaded Silk Fibroin Nanoparticles

CHEN Xiang, LIU Yao, NI Rui, ZHAO Yibo, CAO Zizhen, CHEN Jianhong

(Department of Pharmacy, Daping Hospital, Army Medical University, Chongqing, China 400042)

Abstract: Objective To evaluate the antibacterial activity and *in vitro* release properties of polyhexamethylene biguanide loaded silk fibroin nanoparticles (PHMB-NPs). **Methods** PHMB-NPs were prepared by self-assembly method. The particle size, polydispersity index (PDI), Zeta potential and drug-loading content were investigated, the morphology was observed by the scanning electron microscope (SEM), the infrared spectrum was measured, the antibacterial activity was measured through the bacteriostatic test by the Oxford cup method and the *in vitro* release profiles were established. **Results** The particle sizes of PHMB-NPs were in the range of 150-170 nm, the particle size distribution was concentrated, and the dispersion system was stable. It was spherical under the SEM and had good antibacterial activity against *Escherichia coli* E577. The *in vitro* release was mainly concentrated within 24 h. **Conclusion** The PHMB-NPs prepared by this method have good antibacterial activity, which provides an experimental basis for further developing them into antibacterial dressings.

Key words: polyhexamethylene biguanide; silk fibroin; nanoparticles; antibacterial; release properties

抗菌药物的大量使用导致耐药菌出现,使得细菌感染的治疗更加困难^[1]。因此,需要寻找新的抗菌药物及开发新型抗菌制剂,以应对抗菌药物耐药菌带来的挑战。聚六亚甲基双胍(PHMB)是一种阳离子聚合物,对革兰阳性菌和革兰阴性菌均具有较强的抗菌活性,可与带负电的细菌细胞膜结合,导致细胞质渗漏,从而杀死细菌^[2-3]。PHMB具有抗菌活性强、细胞毒性低、生物相容性好等优点^[4-5],已被用作伤口消毒剂和治疗伤口感染的泡沫敷料^[6-7]。丝素蛋白(SF)是从蚕茧中提取的蛋白质,生物相容性良好,生物降解性可控,力学性能优异^[8-9]。SF作为一种性能良好的生物材料,已在生物医学领域中用作药物的载体材料,如用于制备薄膜、纤维、多孔海绵、水凝胶、纳米粒子等^[10]。本研究中将 PHMB 负载于 SF 纳米粒子(PHMB-NPs),并对

PHMB-NPs 进行表征,考察其体外抗菌活性和累积释放率,为新型抗菌敷料的开发提供理论依据。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与菌种

仪器:SW-CJ-2FD型洁净工作台(苏州安泰空气技术有限公司);Nano ZS90型激光粒度仪(英国Malvin公司);Gemini型扫描电镜(德国Zeiss公司);IRAffinity-1S型红外光谱仪(日本Shimadzu公司);THZ-C型气浴恒温振荡器(常州市中贝仪器有限公司);PYX-DHS-400-BS型隔水式电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械有限公司);Allegra X-30R型高速冷冻离心机(美国Beckman公司);84-1A型磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司);VCX750型超声破碎仪(美国Sonics公

*基金项目:国家科技重大专项[2018ZX09J18109-005];陆军后勤科研项目1226工程重大专项[BWS17J031-08]。

第一作者:陈翔,男,在读硕士研究生,药师,研究方向为药剂学,(电子信箱)cxiang339@sina.com。

[△]通信作者:陈剑鸿,女,博士研究生,主任药师,研究方向为抗感染与化疗药物的分子机制及天然植物药作用机制,(电话)023-68746956。

司);VORTEX-5型涡旋振荡器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);Synergy H1型酶标仪(美国BioTek公司);CoolSafe Pro 110-4型冷冻干燥机(丹麦LaboGene公司)。

材料和试剂:蚕茧由西南大学肖波教授赠予;PHMB(上海麦克林生化科技有限公司,批号为C12298306,纯度为98%);碳酸钠(批号为H120BA0007,纯度不低于99.8%),三水合醋酸钠(批号为H115BA0010,纯度不低于99%),均购于生工生物工程(上海)股份有限公司;无水氯化钙(批号为402L021,纯度不低于96%),曙红Y(批号为A916L032,纯度不低于88%),透析袋(批号为1123C028),LB肉汤(批号为1228O031),LB营养琼脂(批号为1223A031),均购于北京索莱宝科技有限公司;丙酮(重庆川东化工<集团>有限公司,批号为20161201,纯度不低于99.5%)。

菌种:大肠杆菌E577由中国人民解放军陆军军医大学大坪医院药剂科提供。

1.2 方法

1.2.1 丝素提取^[11]

将蚕茧置0.5%碳酸钠溶液中煮沸30 min,用蒸馏水清洗,重复此步骤3次,以彻底除去丝胶。丝素纤维在60℃下干燥4 h,用氯化钙-无水乙醇-水溶液(1:2:8, V/V/V)在60℃条件下溶解1 h。将得到的溶液放入透析袋(截留相对分子量为8 000~14 000)中,置蒸馏水中透析72 h,得丝素溶液,冻干,得丝素冻干粉。

1.2.2 PHMB-NPs制备^[12]

将丝素蛋白冻干粉溶于适量水中,得到质量浓度为10 mg/mL的SF溶液。将适量PHMB加入SF溶液中,使PHMB的质量浓度为0.8 mg/mL。在涡旋条件下,将2 mL含有PHMB的SF溶液缓慢滴加到10 mL丙酮中,混合溶液随即呈现乳白色,继续涡旋1 min,冰浴条件下超声处理1 min,于通风装置中搅拌3 h以挥发丙酮。随后,4℃离心(转速为6 000 r/min)10 min,收集上清液;4℃离心(转速为12 500 r/min)20 min,收集纳米粒子。为增加PHMB的负载量进行二次载药,将冻干后的纳米粒子放入不同PHMB溶液中(1%,0.5%,0.25%,0.1%,0.05%,0.025%,0.01%,m/V)搅拌20 h,4℃,离心(转速为12 500 r/min)20 min,收集纳米粒子,冻干,即得PHMB-NPs(1%,m/V),PHMB-NPs(0.5%,m/V),PHMB-NPs(0.25%,m/V),PHMB-NPs(0.1%,m/V),PHMB-NPs(0.05%,m/V),PHMB-NPs(0.025%,m/V),PHMB-NPs(0.01%,m/V),置-20℃条件下保存,备用。

1.2.3 纳米粒子粒径、多分散指数(PDI)、Zeta 电位、药物负载量测定

取PHMB-NPs,均匀分散在蒸馏水中,测量前用样品溶液润洗样品池。取适量溶液于样品池中,采用激光粒度仪测定,重复3次。

纳米粒子中PHMB的含量测定参考《中华人民共和国国家标准·胍类消毒剂卫生要求》(GB/T 26367—2020)。取少量PHMB-NPs,用1 mL DMSO溶解,取适量,加入三水合醋酸钠溶液(10%,m/V)、曙红Y溶液(0.024%,m/V)、水,按DMSO溶液、三水合醋酸钠溶液、曙红Y溶液、水体积比为2:1:2.5:19.5(V/V/V/V),混匀,采用酶标仪于545 nm波长处测定吸光度(OD),并计算PHMB含量。

1.2.4 PHMB-NPs的形貌观察

取少量制备的PHMB-NPs样品,滴加于硅片上,自然风干。将载有样品的硅片用导电胶固定在铜钉台上,行喷金处理,采用扫描电子显微镜(SEM)观察PHMB-NPs的形貌。

1.2.5 傅里叶变换红外光谱检测

取1 mg PHMB-NPs和50 mg溴化钾,置玛瑙研钵中,充分研磨,放入模具,压片。采用傅里叶红外光谱仪进行检测,设置扫描范围为4 000~400 cm⁻¹,分辨率为4 cm⁻¹。

1.2.6 抗菌活性试验^[13]

采用牛津杯抑菌圈法观察纳米粒子对大肠杆菌E577的抗菌活性。取各PHMB-NPs 3 mg,加入200 μL蒸馏水,吹打均匀。取0.1 mL 10⁷ cfu/mL大肠杆菌E577菌悬液,滴加于LB营养琼脂平板上,用涂布棒将菌悬液涂布均匀,将牛津杯置琼脂平板上,吸取各PHMB-NPs混悬液200 μL,加至牛津杯内。将此琼脂平板放入37℃培养箱中培养24 h,观察抑菌圈大小,用游标卡尺测量并计算抑菌圈宽度,重复3次。抑菌圈宽度=抑菌圈直径-牛津杯直径。

1.2.7 PHMB-NPs体外释放曲线建立^[14]

分别称取PHMB-NPs(1%,m/V),PHMB-NPs(0.5%,m/V),PHMB-NPs(0.25%,m/V)各100 mg,加入适量蒸馏水,使纳米粒子分散均匀。将混悬液放入透析袋(截留相对分子量为3 500~5 000)中,用细线扎紧透析袋两端,将此透析袋放入装有10 mL pH为7.2的磷酸盐缓冲液(PBS)的试管中,置气浴恒温振荡器中培养,设置转速为100 r/min,温度为37℃。在预定时间点,吸取1 mL样品溶液测定含量,加入1 mL新鲜PBS溶液,并保持试管内体积不变。

向样品中加入三水合醋酸钠溶液(10%,m/V)、曙

红Y溶液(0.024%,*m/V*)、水,按DMSO溶液、三水合醋酸钠溶液、曙红Y溶液、水体积比为10:1:2.5:11.5(*V/V/V/V*),混匀,采用酶标仪于545 nm波长处测定OD,并计算PHMB含量。

2 结果

2.1 粒径、PDI、Zeta 电位、药物负载量

纳米粒子的粒径、PDI、Zeta 电位、药物负载量见表1。纳米粒子的粒径范围为150~170 nm,PDI值均小于0.16,说明粒径的分布范围较窄。SF-NPs的Zeta 电位为负值,PHMB-NPs的Zeta 电位均为正值,说明负载PHMB后,SF-NPs表面的负电荷被中和,并由负电变为正电。二次载药时,纳米粒子的药物负载量随PHMB溶液质量体积比的增加而增加。

表1 纳米粒子的粒径、PDI、Zeta 电位和药物负载量($\bar{X} \pm s, n=3$)
Tab.1 Particle size, PDI, Zeta potential and drug-loading content of nanoparticles ($\bar{X} \pm s, n=3$)

纳米粒子	粒径(nm)	PDI	Zeta 电位	药物负载量(%)
SF-NPs	159.7±7.159	0.120±0.006	-19.0±0.306	
PHMB-NPs	0.01% 159.6±4.687	0.128±0.013	45.4±0.321	2.30±0.34
	0.025% 162.4±5.116	0.141±0.012	51.3±0.987	2.56±0.41
	0.05% 163.7±5.021	0.090±0.015	53.3±1.530	3.25±0.2
	0.1% 160.3±2.892	0.120±0.023	49.7±0.666	3.67±0.27
	0.25% 153.5±8.902	0.155±0.034	48.6±0.700	5.82±0.31
	0.5% 159.3±10.03	0.110±0.031	48.8±0.306	7.41±0.42
	1% 169.0±9.945	0.098±0.038	46.5±0.700	11.51±0.25

2.2 形貌

纳米粒子的形貌见图1。可见,所有纳米粒子均呈球形颗粒状,平均粒径小于100 nm。

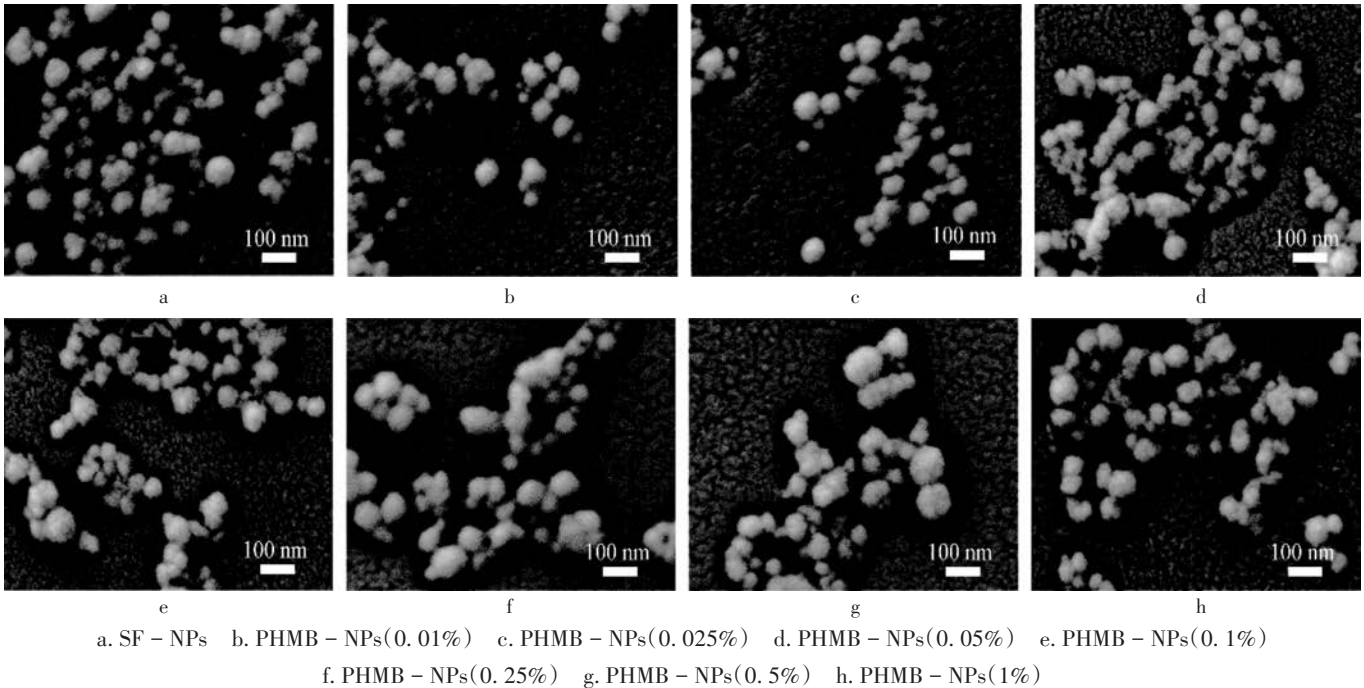


图1 纳米粒子的SEM图($\times 50\,000$)

a. SF-NPs b. PHMB-NPs(0.01%) c. PHMB-NPs(0.025%) d. PHMB-NPs(0.05%) e. PHMB-NPs(0.1%) f. PHMB-NPs(0.25%) g. PHMB-NPs(0.5%) h. PHMB-NPs(1%)

Fig.1 SEM photographs of nanoparticles($\times 50\,000$)

2.3 傅里叶变换红外光谱

纳米粒子的红外光谱图见图2,1 645,1 521,1 232 cm^{-1} 波数处的特征吸收峰分别对应SF中3个酰胺键的伸缩振动吸收峰。随着纳米粒子中PHMB负载量的增加,SF的特征吸收峰并无明显区别,说明负载PHMB后SF的分子构象未发生明显改变。

2.4 抗菌活性试验

由图3可知,PHMB-NPs(1%,*m/V*),PHMB-NPs(0.5%,*m/V*),PHMB-NPs(0.25%,*m/V*)均显示出抑菌圈,其余质量体积比PHMB-NPs及SF-NPs均

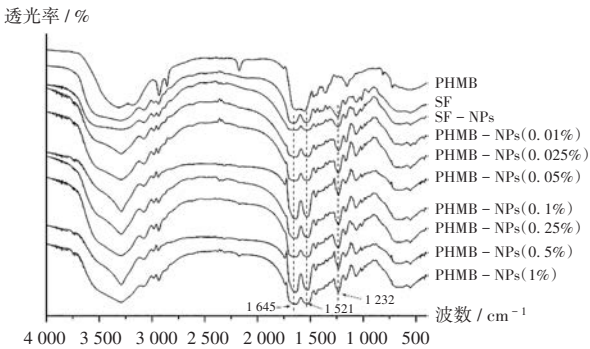


图2 纳米粒子的红外光谱图

Fig.2 Fourier transform infrared spectra of nanoparticles



图3 PHMB-NPs对大肠杆菌E577的抑制作用

Fig. 3 Inhibitory effect of PHMB-NPs on *Escherichia coli* E577
未显示出抑菌圈。PHMB-NPs对大肠杆菌E577的抑菌圈宽度见表2。

表2 纳米粒子对大肠杆菌E577的抑菌圈宽度($\bar{X} \pm s, n=3$)

Tab. 2 Width of inhibition zone of nanoparticles against *Escherichia coli* E577 ($\bar{X} \pm s, n=3$)

纳米粒子	抑菌圈宽度(mm)
PHMB-NPs	
1%	5.52 ± 0.187
0.5%	2.26 ± 0.226
0.25%	0.39 ± 0.185
0.1%	0
0.05%	0
0.025%	0
0.01%	0
SF-NPs	0

2.5 体外释放曲线

由于 PHMB-NPs (0.1%, m/V), PHMB-NPs (0.05%, m/V), PHMB-NPs (0.025%, m/V), PHMB-NPs (0.01%, m/V) 均未显示出抗菌活性, 故不评价其体外释放情况。PHMB的体外释放曲线见图4。PHMB在PBS中的释放主要集中在24 h内, 之后PHMB持续释放, 但释放率不高, 释放168 h后 PHMB-NPs (1%, m/V), PHMB-NPs (0.5%, m/V), PHMB-NPs (0.25%, m/V) 的累积释放率分别为(8.74 ± 0.04)%、(4.60 ± 0.06)%、(3.89 ± 0.04)%。

3 讨论

伤口的治疗会给医疗保障部门带来巨大的经济负担。在美国, 所有伤口类型的医疗保险支出总额估计为281亿至968亿美元, 且随着人口老龄化的加剧, 全球用于伤口治疗的支出正在迅速增加^[15]。伤口一旦被细菌感染, 可导致组织损伤、基质重塑、胶原纤维降解等, 延长其愈合时间^[16]。由于越来越多的细菌对抗菌药物产生了耐药性, 传统的抗菌药物治疗达不到期望的疗效^[17]。此外, 治疗开放性伤口感染时, 杀菌剂不会产生临床相关耐药性的风险, 抗菌谱更广, 皮肤致敏率更低, 比抗菌药物更具优势^[18-19]。故选用PHMB为模型药

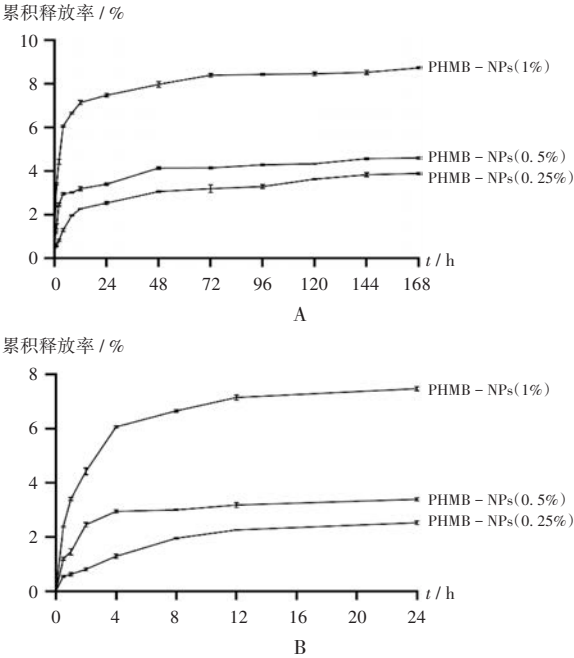


图4 PHMB-NPs在37 °C PBS中的体外释放曲线($n=3$)

A. Within 168 h B. Within 24 h

Fig. 4 *In vitro* release profiles of PHMB-NPs in PBS at 37 °C ($n=3$)
物以制备抗菌制剂。

SF是来源于蚕茧的天然蛋白质, 由1个重链(350 000)、1个轻链(26 000)和1个P25基因编码的糖蛋白组成。SF主要有Silk I和Silk II 2种构象, Silk I溶于水, 包含无规则卷曲、 α 螺旋和其他非晶态结构; 而Silk II不溶于水, 主要包含 β 折叠结构^[20]。通过混合水溶性的SF和与水互溶的有机溶剂, 可以制备纳米粒子, 期间SF的构象可从Silk I立即转化为Silk II, 生成不溶于水的纳米粒子^[21]。SF具有良好的生物相容性、可控的降解性和可调节的药物释放特性, 已广泛用于药物递送系统的制备^[22]。有研究表明, 纳米颗粒具有与伤口治疗相关的有益特性, 如药物的控制释放^[23]。故本研究中选择以SF为药物载体制备负载PHMB的纳米粒子。

本研究中使用激光粒度仪测定了纳米粒子的粒径、PDI和Zeta电位。通过检测发现, 所有纳米粒子粒径均在160 nm左右, 且具有良好的单分散性。此外, 在负载PHMB后, SF表面的电位由负值变为正值。所有纳米粒子Zeta电位的绝对值接近或大于20 mV, 表明纳米粒子的分散体系具有良好的稳定性。通过观察SEM图像中显示的粒径, 纳米粒子平均粒径小于100 nm, 与激光粒度仪测定的粒径差别较大, 可能是由于用激光粒度仪测定时纳米粒子在水中呈膨胀状态, 用SEM观察形貌时纳米粒子经过干燥而处于收缩状态。

通过对比不同纳米粒子的红外光谱图发现, 差异不明显, 没有因为负载PHMB含量的增加而出现明显变化, 说明PHMB的加入不会改变SF的分子构象。

牛津杯抑菌圈试验表明,PHMB-NPs在质量体积比高于0.2% (m/V)的PHMB溶液中进行二次载药,所得纳米粒子才具有抗菌活性。因此,选取了PHMB-NPs (1%, m/V), PHMB-NPs (0.5%, m/V), PHMB-NPs (0.25%, m/V) 3种纳米粒子进行PHMB的体外释放试验,发现PHMB的释放主要集中在24 h内,且纳米粒子上负载的PHMB含量越高,累积释放率也越高。这可能是因为,当PHMB含量较低时,带正电的SF和带负电的PHMB间的静电相互作用较强,使得PHMB难以克服SF的束缚而释放;而当PHMB含量较高时,SF表面的负电被PHMB中和,SF与PHMB的静电相互作用变弱,导致PHMB释放增加^[24]。

本研究中成功制备了负载PHMB的PHMB-NPs,并考察了其抗菌活性和体外释放性。结果表明,PHMB-NPs具有良好的抗菌作用,是一种具有应用潜力的抗菌制剂。本研究为进一步将其开发成新型抗菌敷料提供了实验依据。

参考文献

- [1] XU Q, CHANG MML, ZHANG Y, et al. PDA / Cu Bioactive Hydrogel with "Hot Ions Effect" for Inhibition of Drug - Resistant Bacteria and Enhancement of Infectious Skin Wound Healing[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2020, 12(28): 31255 - 31269.
- [2] ZHENG YQ, WANG D, MA LZ. Effect of Polyhexamethylene Biguanide in Combination with Undecylenamidopropyl Betaine or PslG on Biofilm Clearance[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(2): 768.
- [3] ZHU K, ZHENG L, XING JW, et al. Mechanical, antibacterial, biocompatible and microleakage evaluation of glass ionomer cement modified by nanohydroxyapatite / polyhexamethylene biguanide [J / OL]. Dent Mater J, 2021 [2021 - 11 - 20]. https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmj/advpub/0/advpub_2021-096/_article. DOI:10.4012/dmj.2021-096.
- [4] JIN J, CHEN ZL, XIANG Y, et al. Development of a PHMB hydrogel - modified wound scaffold dressing with antibacterial activity[J]. Wound Repair Regen, 2020, 28(4): 480 - 492.
- [5] DONG W, CHEN R, LIN YT, et al. A novel zinc oxide eugenol modified by polyhexamethylene biguanide: Physical and antimicrobial properties[J]. Dent Mater J, 2020, 39(2): 200 - 205.
- [6] GRAY M. Context for Practice: Polyhexamethylene Biguanide and Wound Care: Cutting - Edge Evidence[J]. J Wound Ostomy Continence Nurs, 2018, 45(5): 403 - 407.
- [7] SIBBALD RG, COUTTS P, WOO KY. Reduction of bacterial burden and pain in chronic wounds using a new polyhexamethylene biguanide antimicrobial foam dressing - clinical trial results[J]. Adv Skin Wound Care, 2011, 24(2): 78 - 84.
- [8] GHOLIPOURMALEKABADI M, SAPRU S, SAMADIKUCHAKSARAEI A, et al. Silk fibroin for skin injury repair: Where do things stand?[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2020, 153: 28 - 53.
- [9] PATIL PP, REAGAN MR, BOHARA RA. Silk fibroin and silk - based biomaterial derivatives for ideal wound dressings [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 164: 4613 - 4627.
- [10] AL SAQR A, WANI SUD, GANGADHARAPPA HV, et al. Enhanced Cytotoxic Activity of Docetaxel - Loaded Silk Fibroin Nanoparticles against Breast Cancer Cells[J]. Polymers (Basel), 2021, 13(9): 1416.
- [11] HCINI K, LOZANO - PÉREZ AA, LUIS CENIS J, et al. Extraction and Encapsulation of Phenolic Compounds of Tunisian Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extracts in Silk Fibroin Nanoparticles [J]. Plants (Basel), 2021, 10(11): 2312.
- [12] GOU SQ, HUANG YM, WAN Y, et al. Multi - bioresponsive silk fibroin - based nanoparticles with on - demand cytoplasmic drug release capacity for CD44 - targeted alleviation of ulcerative colitis[J]. Biomaterials, 2019, 212: 39 - 54.
- [13] FU YX, MA LJ, YI YP, et al. A new pleuromutilin candidate with potent antibacterial activity against *Pasteurella multocida* [J]. Microb Pathog, 2019, 127: 202 - 207.
- [14] PATHADE AD, KOMMINENI N, BULBAKE U, et al. Preparation and Comparison of Oral Bioavailability for Different Nano - formulations of Olaparib [J]. AAPS PharmSciTech, 2019, 20(7): 276.
- [15] CALDWELL MD. Bacteria and Antibiotics in Wound Healing[J]. Surg Clin North Am, 2020, 100(4): 757 - 776.
- [16] LI Z, KNETSCH M. Antibacterial Strategies for Wound Dressing: Preventing Infection and Stimulating Healing [J]. Current Pharmaceutical Design, 2018, 24(8): 936 - 951.
- [17] TAATI MOGHADAM M, KHOSH BAYAN A, CHEGINI Z, et al. Bacteriophages, a New Therapeutic Solution for Inhibiting Multidrug - Resistant Bacteria Causing Wound Infection: Lesson from Animal Models and Clinical Trials [J]. Drug Des, Devel Ther, 2020, 4: 1867 - 1883.
- [18] COOPER R, KIRKETERP - MØLLER K. Non - antibiotic antimicrobial interventions and antimicrobial stewardship in wound care[J]. Journal of Wound Care, 2018, 27(6): 355 - 377.
- [19] KIM HS, SUN X, LEE JH, et al. Advanced drug delivery systems and artificial skin grafts for skin wound healing [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2019, 146: 209 - 239.
- [20] MA Y, CANUP BSB, TONG X, et al. Multi - Responsive Silk Fibroin - Based Nanoparticles for Drug Delivery [J]. Front Chem, 2020, 8: 585077.
- [21] ZHAO Z, LI Y, XIE MB. Silk fibroin - based nanoparticles for drug delivery[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(3): 4880 - 4903.
- [22] TOMEH M A, HADIANAMREI R, ZHAO X. Silk Fibroin as a Functional Biomaterial for Drug and Gene Delivery [J]. Pharmaceutics, 2019, 11(10): 494.
- [23] WU DY, WEI D, DU MT, et al. Targeting Antibacterial Effect and Promoting of Skin Wound Healing After Infected with Methicillin - Resistant *Staphylococcus aureus* for the Novel Polyvinyl Alcohol Nanoparticles [J]. Int J Nanomedicine, 2021, 16: 4031 - 4044.
- [24] LIANG A, ZHANG M, LUO H, et al. Porous Poly (Hexamethylene Biguanide) Hydrochloride Loaded Silk Fibroin Sponges with Antibacterial Function [J]. Materials (Basel), 2020, 13(2): 85.

(收稿日期: 2021 - 12 - 12; 修回日期: 2022 - 01 - 08)