



基于自组装交联的水凝胶在皮肤损伤中的应用*

李 超 郭玉凤 党旭红**

(中国辐射防护研究院放射医学与环境医学研究所, 太原 030006)

摘要 自组装水凝胶具有高吸水性、高保水性、良好的生物相容性、生物降解性和三维立体结构等物理优势, 同时具备止血、抗菌、抗炎、抗氧化等功能优势。因此自组装水凝胶作为一种新型伤口敷料, 在皮肤损伤的创面愈合和调节再生中具有广阔的应用前景。本文通过分析讨论自组装水凝胶的交联机制, 阐述自组装水凝胶的功能, 明确其作为伤口敷料在皮肤损伤中的优势, 总结自组装水凝胶在皮肤损伤应用中的发展趋势, 展望自组装水凝胶的未来方向, 有助于更全面地了解自组装水凝胶, 为自组装水凝胶的多技术联合应用提供新思路。

关键词 自组装, 水凝胶, 皮肤损伤, 创面愈合, 组织工程

中图分类号 R318.08, TQ427.2

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0199

皮肤作为人体最大的器官, 由表皮层、真皮层、皮下组织及其附属器官(汗腺、皮脂腺、血管等)构成, 具有物理屏障、免疫防御、调节体温等多种功能^[1]。然而皮肤作为人体直接与外界环境接触的器官, 易受外界因素损伤, 创面皮肤的完整性缺损涉及物理和生理因素^[2]。创面愈合的过程, 包括凝血期、炎症期和修复期3个阶段, 其间受凝血因子、炎症因子、生长因子及酶等多种因素的调控^[3]。

糖尿病^[4]、烧伤^[5]、放射^[6]等造成的特殊创面, 可能形成复杂创面环境。复杂的创面环境更容易使伤口感染、诱导中性粒细胞和炎症因子大量堆积发生过度炎症反应、释放过量活性氧(reactive oxygen species, ROS)形成高度氧化应激反应^[7]。这些因素可能对细胞膜、蛋白质、DNA等造成损伤, 对伤口周围的修复细胞造成威胁, 形成慢性伤口, 阻碍伤口愈合。

因此对于无法单纯依靠机体自身完成伤口创面修复的慢性伤口, 需要进行人工干预。目前, 在临床实践中, 伤口敷料是一种公认的有效治疗方法^[8]。伤口敷料可以为受损皮肤提供暂时的保护, 避免或控制伤口感染, 提供合适的愈合环境, 促进伤口愈合。理想的伤口敷料应当满足以下特点:

a. 高保水和吸水性; b. 类细胞外基质(extra

cellular matrix, ECM); c. 抗菌性; d. 优异的机械性能和柔韧性; e. 黏附性; f. 良好的生物相容性和生物降解性; g. 易于去除; h. 持久耐用^[9]。纱布、棉球、绷带等传统敷料本身无抗菌性, 黏附性弱, 机械性能差, 易诱发炎症、妨碍血管生成, 需频繁更换, 无法为伤口愈合提供一个有利的环境^[10]。

随着医用敷料的升级改进, 出现了水凝胶、纳米纤维支架、薄膜、微针等新型伤口敷料, 其中水凝胶是一种极为亲水的三维网络结构, 是最接近于理想的敷料, 具有药物输送、改善微环境、调节生长因子等多种功能, 广泛应用于皮肤损伤的组织工程和再生医学中^[11]。本文从自组装水凝胶的交联机制和功能进行分析和阐述, 从而明确自组装水凝胶在皮肤损伤应用的优势。

1 自组装水凝胶

自组装, 是基本结构单元自发组织成有序结构的一种形式。自组装水凝胶由小分子化合物^[12]、

* 中核集团青年英才(JY22020202)和中核集团领创科研(JT23010201)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 0351-2202260, E-mail: dangxuhong005@163.com

收稿日期: 2023-05-19, 接受日期: 2023-08-28

生物大分子^[13]、高分子化合物^[14]及肽类化合物^[15]等物质通过非共价或共价相互作用自发组织或聚集形成的稳定规则的聚合物,非共价作用力^[16]包括静电相互作用、 π - π 堆积、范德华力、疏水性相互作用和金属配位键等,共价作用力主要为二硫键^[17]、亚胺键^[18]等动态共价键(dynamic covalently crosslinking, DCC)。

1.1 非共价交联自组装

基于非共价键相互作用发生物理交联,可诱导生成自组装水凝胶。物理交联网络可由单一或多种非共价相互作用诱导分子聚集缠绕形成凝胶网络。单一非共价相互作用力,可以诱导凝胶生成。Chen等^[19]以阳离子多糖壳聚糖的季铵盐(HACC)与阴离子多糖海藻酸钠(SA)为原料,HACC的正电荷和SA的负电荷相互吸引并缠绕在一起,形成自组装凝胶网络。经酸处理后,HACC的氨基被质子化,SA的Na⁺被质子取代,进一步加强静电相互作用。Zhang等^[20]利用细菌纤维素(BC)和瓜尔豆胶(GG)间存在的羟基,构成分子间、分子内氢键网络,诱导自组装。Wunnoo等^[21]通过泊洛沙姆(PEO-PPO-PEO)特殊的反向热凝胶作用,在37°C下交替排列的亲水性聚氧乙烯(PEO)和疏水性聚氧丙烯(PPO)发生疏水相互作用自组装成束。

然而非共价交联网络往往包括两种及两种以上的多物理作用诱导形成交联网络。Huan等^[22]将自组装多肽(SAPs) LVFF-CONH₂嫁接在O-羧甲基壳聚糖(O-CMCs)上,SAPs通过二苯丙氨酸(FF)相邻苯基之间的分子间 π - π 相互作用,疏水性氨基酸(亮氨酸、缬氨酸)形成的疏水相互作用以及与周围溶剂间形成的氢键,发生 β 折叠,生成自组装水凝胶,同时O-CMCs分子间氢键作用也参与自组装行为。Huang等^[23]利用壳聚糖与海藻多糖间的静电相互作用和聚乙烯醇反复冻融形成的分子间氢键,诱导形成刚柔兼备的双物理交联水凝胶。Feng等^[24]通过壳聚糖骨架上的伯胺和羟基与氧化石墨烯上的羧基、羟基和环氧化物,形成氢键、静电引力等多种非共价相互作用诱导成胶。虽然多种物理相互作用一定程度上可以增强机械性能,改善流变性质,但是非特异性物理相互作用诱导形成的水凝胶存在固有的机械性能差、物理硬度和强度低,以及水凝胶结构与性能不可控的缺陷。然而其优异的生物相容性和生物降解性不可忽视。

1.2 共价交联自组装

随着对自组装行为的不断深入了解,人们发现,自组装水凝胶的交联不局限于静电相互作用、疏水/亲水相互作用和氢键等非共价物理作用,二硫键、亚胺键等DCC构成共价交联网络,也可诱导自组装^[25]。DCC完美地结合了非共价键的可逆性和共价键的坚固性,其双重性赋予更优异的物理硬度和强度,有效地提高了自组装水凝胶的稳定性,同时弥补了物理交联不可控的缺陷。例如:Chen等^[26]经还原剂提取的角蛋白启发,利用角蛋白分子内丰富的硫醇基团和二硫键,制备出动态共价交联水凝胶。在碱性条件下,角蛋白的二硫键与自由硫醇基团通过硫醇-硫键交换动态共价交联,分子间的自由硫醇基团交联形成二硫键交联(图1)。

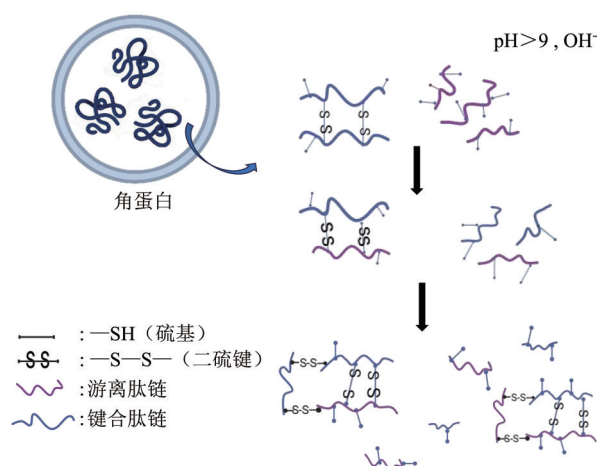


Fig. 1 Schematic diagram of hydrogel gumming mechanism

图1 水凝胶成胶机制示意图

由氨(胺)基和醛基之间发生缩合反应,产生亚胺键(C=N)的希夫碱化学反应(Schiff base chemistry)也属于DCC^[27],同样具备动态可逆,剪切稀化特性,为组装系统提供更高稳定性。除此之外还具有抗菌性和良好的黏附性,更易于不规则伤口和关节等频繁运动伤口的应用,因此存在大量研究和设计。Deng等^[28]以季胺化壳聚糖(HACC)和二醛细菌纤维素(DABC)为原料,HACC提供氨基、DABC提供醛基形成亚胺键自组装成水凝胶,应用于不规则伤口和频繁移动的伤口(图2)。

共价交联过程虽然简单快速,凝胶反应过程可

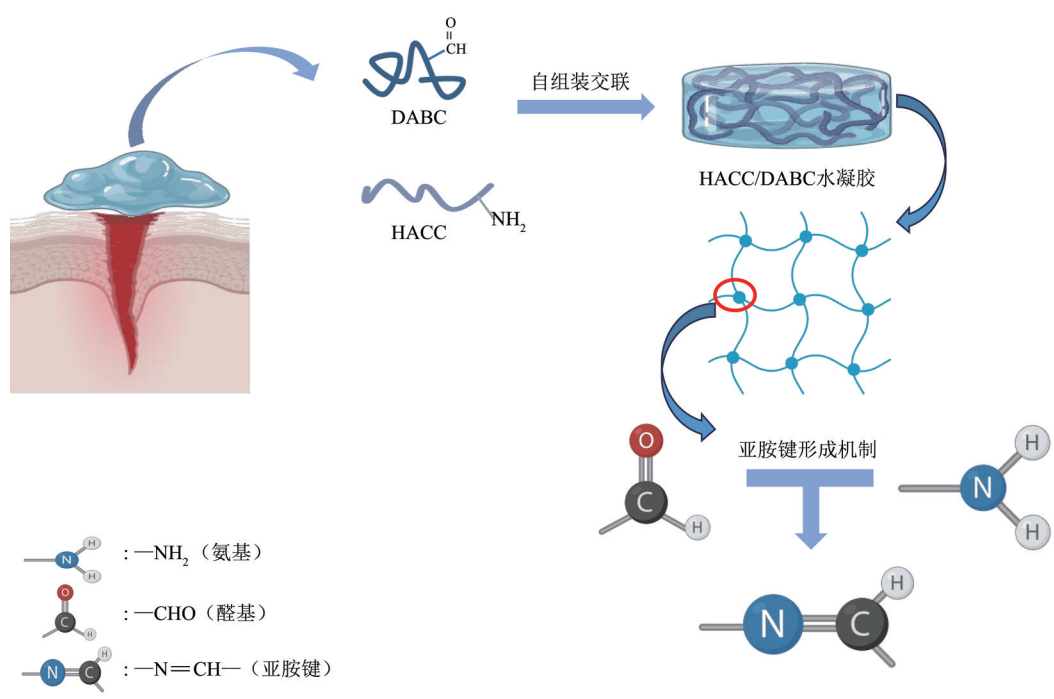


Fig. 2 Schematic diagram of HACC/DABC hydrogel synthesis process
图2 HACC/DABC水凝胶合成过程示意图

控; DCC的双重性也使共价交联网络具备非共价键的可逆性和共价键的坚固性;但是合成原料化学改性的处理中会涉及额外化学物质,导致生物相容性较差。

1.3 混合多网络交联

随着对自组装行为的了解,交联方式的种类和数量没有限制,实验证明,结合非共价相互作用和共价相互作用形成的混合多网络交联,可以形成可控、稳定、安全的自组装水凝胶。复杂网络的交联赋予水凝胶优异的黏附性、自愈性、耐磨性、机械性能、良好的生物相容性和安全性。

Liu 等^[29]在绿色LED灯下,将聚丙烯酰胺(PAAM)、N-[三(羟甲基)甲基丁丙烯酰胺](THMA)和季胺化壳聚糖(QCS)照射5 s快速制备可调谐多功能水凝胶(P-QCS)。经光刺激生成的化学键和分子间丰富的氢键交联(图3)。其中PAAM具有高拉伸强度,THMA具有高氢键密度,QCS具有抗菌活性,赋予P-QCS水凝胶具有良好的物理强度和机械性能,而且具有黏附、抗菌和可自愈的多功能。

Liang 等^[30]以QCS为凝胶基底,混合原儿茶酚(PA)和铁纳米颗粒(FeNPs)生成双动态键的

可拆卸水凝胶。含醛基的PA与QCS中的氨基生成亚胺键,此外PA中儿茶酚基团与Fe之间形成金属配位键(PA-Fe)可以促进QCS分子间缠绕,增强水凝胶强度,形成自交联混合网络。pH敏感的配位键(PA-Fe)和亚胺键的双动态交联,提高水凝胶的力学性能、可注射性和自愈性;而且经医用铁螯合剂或酸溶液处理可实现无痛拆卸。

混合多网络交联将非共价交联和共价交联相结合,非共价相互作用可以进一步加强共价交联网络的稳定性,引入的共价键可以弥补物理相互交联不可控的情况。并且DCC具有剪切稀化作用,不会影响物理相互作用的可逆性,构成的凝胶网络仍具备自愈性和可注射性。除此之外,DCC本身还有其他功能,例如亚胺键其本身具备一定的抗菌性,其中的氨基与组织表面羧基的共价结合,具备优异黏附性。二硫键可以被体内广泛分布的谷胱甘肽迅速破坏,因此具有良好的生物降解性,更适于作为伤口敷料,广泛地应用于皮肤损伤。但是DCC形成的过程中仍会涉及到化学物质,导致水凝胶的生物相容性较差,造成生物安全性降低。三种交联机制的各有优缺点,需要进一步明确了解其交联机制,从而不断优化改进(表1)。

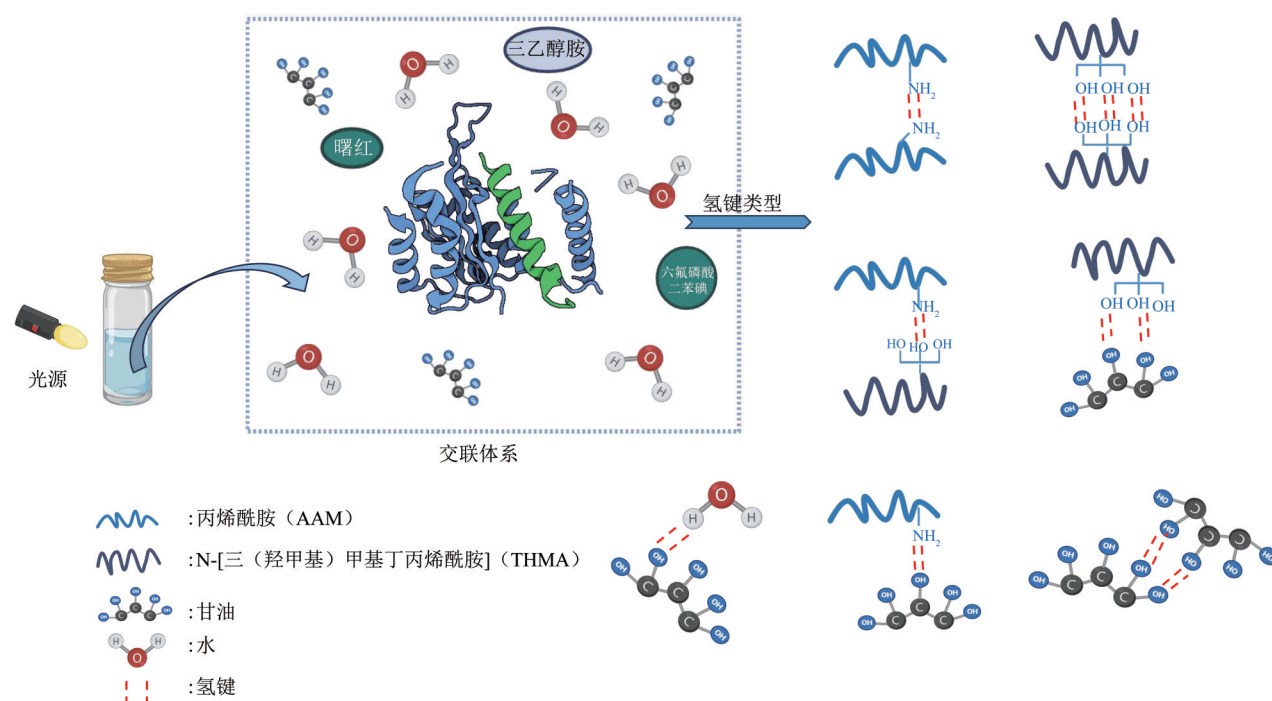


Fig. 3 Preparation strategy and enrichment of hydrogen bonding types in P (THMA-co-AAM) hydrogels

图3 P (THMA-co-AAM) 水凝胶的制备策略及丰富氢键类型

Table 1 The characteristics of the crosslinking types of self-assembled hydrogel

表1 自组装水凝胶交联类型特性

分类	交联机制	优势	不足	参考文献
非共价交联自组装	静电相互作用	合成原料为天然物质，具备良好的生物相容性	制备过程繁琐，制备时间较长；成胶后需酸处理稳定	[19]
	氢键	合成原料为天然物质，具备良好的生物相容性；丰富的分子间和分子内氢键赋予良好的柔韧性	成胶过程不可控；物理强度弱	[20]
	疏水相互作用	原料泊洛沙姆407和泊洛沙姆188具有内疏外亲的表面活性和反向胶凝性质是理想的载体	机械性能和溶蚀性能较差；较高浓度存在毒性等问题	[21]
	金属配位键	配位键可以保障金属蛋白的结构完整性，作为体内多种酶的催化中心；金属离子还提供治疗效果或杀菌作用	金属离子具有一定的毒性；同时需要调整聚合物和颗粒浓度等条件，以避免沉淀反应，无法成胶	[31]
	主客体配位	与静电或疏水相互作用等物理交联方法相比，主客体配位中主客体一一对应，凝胶过程更可预测、凝胶效果更可重复	相较于化学交联得到的水凝胶较弱，交联效果较短暂	[32]
	氢键	可以根据外部刺激（浓度、pH值和或温度）发生反应，因此可以用于检测、吸附和分离重要的多种物质	对其自组装机理需要更多的研究，充分理解尚未明确的交联机制	[33]
	π - π 堆积			
共价交联自组装	主客体配位			
	疏水相互作用			
	氢键	将自组装多肽序列接枝于成胶物质，可赋予水凝胶更广泛的生物学功能，开辟水凝胶制备新思路	合成过程繁冗复杂；合成的水凝胶力学性能有限，需要提高其力学性能	[22]
共价交联自组装	π - π 堆积			
	疏水相互作用			
共价交联自组装	二硫键	合成过程无需对角蛋白进行化学修饰，也无需添加外部交联剂；生物降解性优异	原材料角蛋白处理需要繁琐处理，且合成条件呈碱性	[26]

续表1

分类	交联机制	优势	不足	参考文献
混合交联 自组装	亚胺键	制备过程简单便捷, 可以在短时间内迅速成胶; 亚胺键具有抗菌、剪切稀化等特殊效果	原材料需经酸和碱等多种溶剂处理获得	[28]
	亚胺键 金属配位键	非共价作用金属配位键和共价作用亚胺键形成双动态交联, 水凝胶具备可注射性和自愈性, 力学性能得到提高	水凝胶前驱体溶液在碱性环境中合成和保存	[30]
	氢键	制备好的水凝胶前驱体溶液, 冻干后可以长期保存	制备前驱体溶液的步骤较为繁琐, 且涉及到	[34]
	亚胺键	于-20℃; 冻存粉末溶解后振荡, 可快速制备水凝胶	额外的化学试剂	
	氢键	多种交联作用相互促进加强, 凝胶网络更稳定, 机械性能更优异	原材料需要化学修饰, 获得所需基团, 涉及	[35]
	亚胺键 π - π 堆积 迈克尔反应		额外的化学试剂	

2 自组装水凝胶在皮肤损伤中的应用

2.1 促进细胞增殖

细胞在体内处于三维立体环境, 接收物理、化学信号, 维持正常的生理学功能, 组织受损时增殖分泌生长因子参与修复。传统敷料无法提供细胞外基质, 满足细胞生长的三维环境, 对细胞的形态特征及生长、分化等生理学功能不利^[36]。自组装水凝胶具有亲水性三维网络结构, 类似ECM结构, 模拟体内微环境促使细胞向三维支架迁移, 有效提高细胞存活率、促进细胞增殖。而且可以加强细胞间交流, 发挥细胞黏附生长信号通路的最佳功能^[37]。

自组装水凝胶良好生物相容性是确保细胞正常增殖的根本, 优异的黏附能力则是促进细胞增殖的关键。Li等^[38]设计的水凝胶G/THPZB/Fe培养L929细胞(小鼠成纤维细胞), 共聚焦显微镜观察细胞膜骨架和形态呈长纺锤形, 证明其具有细胞黏附作用, 从而促进L929细胞增殖。水凝胶还可以改善伤口处的微环境, 调节细胞分化和生长相关因子分泌。Lou等^[39]发现, KGH多肽水凝胶中培养的HaCaT细胞(人角质细胞)能形成具有高活力的细胞球体或细胞簇, 并且细胞与凝胶支架之间紧密连接。与常规二维培养相比, 水凝胶中培养的细胞, ECM蛋白(如层黏连蛋白)和生长因子(如TGF- β 、VEGFA)的表达上调。将自组装水凝胶应用于皮肤损伤中, 营造三维培养环境, 能够更好地模拟生物体内细胞存活的自然环境, 保持细胞间相互作用和生化、生理反应。对促进上皮细胞等细胞的生长和迁移, 加速创面愈合有重要作用。

2.2 负载物质平台

自组装水凝胶疏松多孔的物理结构, 十分利于负载物质。一方面充分包裹物质, 避免物质扩散和降解, 保持负载物质的稳定; 另一方面通过扩散、溶胀、化学或者其他环境刺激等释放机制, 实现负载物质的持续释放、延长物质作用时长, 局部高浓度释放、降低全身毒性。

天然大黄酸小分子可以通过J型方式聚集, 自组装形成纳米纤维网状水凝胶, 发挥抗炎作用。但其稳定性有限, 容易分解消散。Zhao等^[40]将大黄酸负载于透明质酸-二茂铁(HA-Fc)和透明质酸- β -环糊精(HA-CD)主客体作用交联的凝胶网络中, 保证大黄酸的稳定性, 并且在氧化应激的状态下释放大黄酸, 充分发挥作用。Zhang等^[41]设计的丝胶蛋白水凝胶, 负载辣根过氧化物酶(HRP)符合一级释放动力学, 24 h内快速释放20%, 随后持续缓慢释放, 实现药物的持续作用, 并且其降解后可中和伤口环境, 保持药物稳定性。具有高孔隙率、高降解性的自组装水凝胶还可以负载天然物质——荨麻提取物^[42]、牡荆素^[43]、人参^[44], 干细胞——脂肪干细胞^[45]; 纳米颗粒——Au、Pt纳米颗粒^[46], 生长因子——血小板生长因子^[47], 药物——双氯芬酸^[48]、强力霉素^[49]等活性物质应用于皮肤损伤加速创面愈合。随着对水凝胶负载行为的深入了解, 多功能负载平台成为发展新趋势。Xie等^[50]基于卡拉胶设计的水凝胶同时负载溴百里酚蓝和铜邻苯二酚纳米片, 分别赋予水凝胶指示作用和光热杀菌能力, 集杀菌和传感于一体。

2.3 促进止血凝血

水凝胶疏松多孔的网络, 不仅可以作为负载平台, 还可以浓集红细胞和血小板, 加速形成血凝

块。加上优异吸水性能,可以实现快速止血。除水凝胶物理结构作用外,含醛基、氨基、羟基等官能团的水凝胶,可紧密黏附于皮肤表面,共同形成物理止血屏障。You等^[34]以氧化 β 葡聚糖、季胺化壳聚糖和聚单宁酸为原料合成的水凝胶,富含氨基、醛基和羟基,紧密黏附于皮肤。结合凝胶网络的浓集和摄取作用,形成物理屏障阻断出血。Yu等^[51]设计的水凝胶通过压力诱导增强能力,反复物理加压实现止血。同时水凝胶负载活性物质,激活凝血途径,调节血小板和凝血因子VIII IX、XI释放、从而缩短活化部分凝血活酶时间(APTT)和凝血时间。例如:Zhang等^[52]设计的水凝胶负载的电气石(Tourmaline, TM)带负电荷,刺激红细胞和血小板聚集。Anjali等^[53]设计水凝胶,负载带负电的阿魏酸,可以激活体内凝血因子XII自组装水凝胶特殊的物理性质,负载活性物质的加持,可以形成多机制协同止血凝血的伤口敷料。You等^[54]由氧化海藻酸钠、明胶和 Cu^{2+} 组成的水凝胶,具有多重止血机制,首先三维多孔结构可以快速吸收渗液,其次所含的酚羟基激活凝血系统^[55],最后诱导血小板黏附促进止血。

此外,作为伤口敷料的水凝胶应具有良好的血液相容性和生物安全性。Wang等^[56]经溶血实验测试GP-2的溶血率 $<5\%$,符合抗凝血生物医学材料的国际标准,具有良好的血液相容性。You等^[54]合成的生物聚合物水凝胶,处理红细胞后的溶血现象与PBS溶液相似。

2.4 加速愈合

感染、炎症和氧化应激是慢性创面形成的重要因素,并且3个过程逐步进行,互相影响。自组装水凝胶合成原料和(或)负载物质赋予其抗菌、抗炎、抗氧化能力,改善伤口皮肤创面的微环境,进而加速伤口愈合。减少和避免伤口感染是加速愈合的关键,因此水凝胶具备抗菌性至关重要。例如:多肽水凝胶RADA-16,所含的精氨酸带正电荷,与带负电荷的细菌细胞膜结合后,破坏膜结构发挥抗微生物作用^[47]。并且由于细菌膜带负电荷的固有性质,不会产生耐药性。Abbasabadi等^[57]设计的壳聚糖/氧化锌复合柠檬醛纳米水凝胶, Zn^{2+} 、柠檬醛和壳聚糖能阻止氨基酸代谢,破坏酶系统,改变ATP浓度,破坏膜结构导致细菌死亡,实现多种机制协同抗菌,避免伤口感染。当伤口感染,损伤表面的细菌、真菌等微生物会释放大量ROS,另一方面细胞受到有害刺激时,产生过多的高活性分

子如活性氧自由基与活性氮自由基,导致细胞体内氧化与抗氧化作用失衡^[58],对细胞造成巨大损伤,加重皮肤损伤程度。Zhang等^[46]将金铂纳米颗粒负载于OHCN水凝胶,凝胶中的AuNPs和PtNPs分别具有类葡萄糖氧化酶和类过氧化氢酶活性,应用于糖尿病皮肤伤口时。通过酶级联反应降低血糖、消除氧自由基,产生氧气,平衡氧化和抗氧化机制,改善伤口微环境,加快创面愈合。Li等^[59]合成水凝胶HAMA/PHMB负载红景天苷复合微球,其中的抗菌剂PHMB、正电荷微球和红景天苷协同抑制金黄色葡萄球菌和大肠杆菌生长。同时红景天苷具有抗氧化性,从而减弱氧化应激反应,加速ROS清除。氧化应激与炎症反应之间存在相互促进的关系,氧化应激激活炎症反应,而炎症反应可以增加氧化应激的程度和持续时间,从而形成恶性循环。Zhao等^[60]以泊洛沙姆/透明质酸/壳聚糖为基础合成的热敏水凝胶(DHM-Gel),负载二氢杨梅素。二氢杨梅素可以抑制启动炎症相关因子的NF- κ B信号通路,减弱炎症反应程度^[61]。免疫荧光和蛋白质印迹法(Western blot)分析均证实负载二氢杨梅素的DHM-Gel减少TNF- α 和IL-1 β 炎症细胞因子,促进创面愈合。

2.5 调节再生

肉芽组织形成、血管再生、胶原蛋白沉积是创面愈合再生的关键。自组装水凝胶可以调节改善相应信号通路,确保创面正常增生和成熟。Pérez-Rafael等^[35]用硫代透明质酸水凝胶负载银木质素NPs,木质素中羧基分别与基质金属蛋白酶(MMP)、髓过氧化物酶(MPO)结合,减少ECM和生长因子的不可控降解,清除内源性次氯酸。Jafari等^[62]设计的水凝胶Gel-cos可以上调miR-27基因,激活TGF- β -1-smad2/3通路促进成纤维细胞增殖和迁移,同时诱导生长因子VEGF、EGF、bFGF等合成增多,促进组织再生和血管生成。 Cu^{2+} 具有激活和放大血管生成反应的功能,Xia等^[63]将 Cu^{2+} 与多巴胺聚合形成金属-酚类网络负载于水凝胶,赋予水凝胶抗菌、抗炎、维持氧化/还原平衡和促血管生成的能力。电信号参与细胞迁移、增殖、分化及组织修复和再生,Han等^[64]以多巴胺接枝明胶、聚多巴胺和氧化石墨烯为原料合成具导电性的水凝胶Gelda/PGO,处理的创面表皮结构更完整,上皮组织更成熟。

传统敷料往往仅存在“敷”的效果,单纯地覆盖伤口,隔绝空气,减少细菌灰尘等物质的影响。

然而自组装水凝胶可以同时满足“敷”和“料”的作用效果。如前所述,自组装水凝胶优越的生物相容性、生物降解性、黏附性以及剪切稀化作用,可以紧密覆盖皮肤创面,与外界隔绝。同时自组装水凝胶类ECM结构、负载能力、高吸水性等特殊性质还可以促进细胞增殖,控制活性物质释放,加快止血凝血速度,减弱微生物感染、调节改善炎症反应和氧化应激反应,激活再生调节通路,加速损伤愈合和组织再生,实现“料”的效果。

3 总结与展望

近年来水凝胶作为新型伤口敷料,在皮肤损伤领域得到广泛开发和应用。其中自组装水凝胶优异的生物相容性、生物降解性、自愈性、低免疫原性以及灵活拆卸性更契合理想敷料的要求,并且不断进行优化改进以应对皮肤伤口复杂的愈合过程。从单纯非共价或共价交联到多网络混合交联,DCC和物理相互作用的结合,两种交联作用互不干扰的情况下,完美地协调了凝胶体系的刚性与韧性,实现敷料持久耐用、灵活移动和无痛拆卸;从单策略作用到多策略协同发挥抗菌、抗炎、抗氧化等作用,且不再局限于依靠负载活性物质发挥作用,结合原料本身、动态共价键和凝集体系中的特殊官能团多策略联合,放大作用效果;从单一功能到集多功能于一体,交联行为的明确,扩充了凝胶原料的范围和选择,交联网络的稳定,增进了负载活性物质的数量和类型,进一步丰富凝胶功能,加快伤口愈合速度,改善增生环境。

此外,多层水凝胶敷料^[65-67]的概念也逐渐兴起,将凝胶分为抗菌层、增强层、促进愈合层的立体直观体系;甚至随着凝胶降解,不同功能层相继发挥作用,实现去除更换敷料的效果;肽及其衍生物可以自组装成定义良好、高度有序的超分子结构,以实现其生物功能,并且其结构简单、易于生产以及分子设计的灵活性和可变性^[68],通过改变氨基酸序列、添加功能性基序等方式,设计出具有特定性能的想法也成为研究主流趋势;同时再进一步完善自组装水凝胶机械活性和自适应的基础上,融入其他功能如刺激响应^[69]、导电^[70]也在伤口愈合应用中显示出巨大的前景。总之,在未来发展中,自组装水凝胶应趋向于:a.从天然可自组装的生物分子多肽、脂质、蛋白质和多糖出发,构建多策略联用的仿生凝胶;b.改善原材料的性能和交联方式,提升水凝胶储存能力,延长水凝胶使用寿命

和(或)形成可循环利用;c.对于水凝胶尚未明确的交联过程进一步研究和探明,实现凝胶降解速率的可控;d.应用3D打印和三维显微成像技术,设计构建一对一专用的凝胶敷料;同时考虑时间因素,利用计算机仿真技术模拟愈合进程,从而形成完美契合理想敷料的自组装水凝胶。

参 考 文 献

- [1] Azimi B, Maleki H, Zavagna L, *et al.* Bio-based electrospun fibers for wound healing. *J Funct Biomater*, 2020, **11**(3): 67
- [2] Iqbal M K, Iqbal A, Anjum H, *et al.* Determination of *in vivo* virtue of dermal targeted combinatorial lipid nanocolloidal based formulation of 5-fluorouracil and resveratrol against skin cancer. *Int J Pharm*, 2021, **610**: 121179
- [3] Wang G, Yang F, Zhou W, *et al.* The initiation of oxidative stress and therapeutic strategies in wound healing. *Biomed Pharmacother*, 2023, **157**: 114004
- [4] Gao D, Zhang Y, Bowers D T, *et al.* Functional hydrogels for diabetic wound management. *APL Bioeng*, 2021, **5**(3): 031503
- [5] Wang Y, Beekman J, Hew J, *et al.* Burn injury: challenges and advances in burn wound healing, infection, pain and scarring. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, **123**: 3-17
- [6] 王萍,范莉,田梅.放射性皮肤损伤机制的研究进展. *中国辐射卫生*, 2022, **31**(4): 524-529
Wang P, Fan L, Tian M. *Chin J Radiol Health*, 2022, **31**(4): 524-529
- [7] Eming S, Martin P, Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. *Sci Transl Med*, 2014, **6**(265): 265-266
- [8] Yang Z, Huang R, Zheng B, *et al.* Highly stretchable, adhesive, biocompatible, and antibacterial hydrogel dressings for wound healing. *Adv Sci*, 2021, **8**(8): 2003627
- [9] Yildirim L, Thanh N T, Seifalian A M. Skin regeneration scaffolds: a multimodal bottom-up approach. *Trends Biotechnol*, 2012, **30**(12): 638-648
- [10] Ovington L. Advances in wound dressings. *Clin Dermatol*, 2007, **25**(1): 33-38
- [11] Li X, Cao C, Wei P, *et al.* Self-Assembly of amphiphilic peptides for recognizing high furin-expressing cancer cells. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, **11**(13): 12327-12334
- [12] Hou Y, Zou L, Li Q, *et al.* Supramolecular assemblies based on natural small molecules: union would be effective. *Mater Today Bio*, 2022, **15**: 100327
- [13] Farazin A, Shirazi F A, Shafiei M. Natural biomacromolecule-based antimicrobial hydrogel for rapid wound healing: a review. *Int J Biol Macromol*, 2023, **244**: 125454
- [14] Zhao J, Qiu P, Wang Y, *et al.* Chitosan-based hydrogel wound dressing: from mechanism to applications, a review. *Int J Biol Macromol*, 2023, **244**: 125250
- [15] Gelain F, Luo Z, Zhang S. Self-Assembling peptide EAK16 and RADA16 nanofiber scaffold hydrogel. *Chem Rev*, 2020, **120**(24): 13434-13460

- [16] Ren H, Wu L, Tan L, *et al.* Self-assembly of amino acids toward functional biomaterials. *Beilstein J Nanotech*, 2021, **12**: 1140-1150
- [17] Dong L, Chen H, Liu T, *et al.* Poly(L-cysteine) peptide amphiphile derivatives containing disulfide bonds: synthesis, self-assembly-induced β -Sheet nanostructures, pH/reduction dual response, and drug release. *Biomacromolecules*, 2021, **22**(12): 5374-5381
- [18] 汤小涵, 王哲, 闫巧, 等. 基于羧甲基壳聚糖-氧化透明质酸自组装行为构建的 pH 响应型纳米乳水凝胶给药系统. *中草药*, 2022, **53**(16):4992-5000
Tang X H, Wang Z, Yan Q, *et al.* Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, **53**(16):4992-5000
- [19] Chen F, Wu M, Dong Q, *et al.* Arbitrarily shapeable and conductive hydrogel with "Magic Cube" like structure for real-time monitoring and promoting wound healing. *Compos B Eng*, 2022, **238**: 109903
- [20] Zhang S, Ding F, Liu Y, *et al.* Glucose-responsive biomimetic nanoreactor in bacterial cellulose hydrogel for antibacterial and hemostatic therapies. *Carbohydr Polym*, 2022, **292**: 119615
- [21] Wunnoo S, Billman S, Waen - Ngoen T, *et al.* Thermosensitive hydrogel loaded with biosynthesized silver nanoparticles using eucalyptus camaldulensis leaf extract as an alternative treatment for microbial biofilms and persistent cells in tissue infections. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2022, **74**: 103588
- [22] Huan Y, Kong Q, Tang Q, *et al.* Antimicrobial peptides/ciprofloxacin-loaded O-carboxymethyl chitosan/self-assembling peptides hydrogel dressing with sustained-release effect for enhanced anti-bacterial infection and wound healing. *Carbohydr Polym*, 2022, **280**: 119033
- [23] Huang W, Chen Y, Hu J, *et al.* Algal sulfated polysaccharide-based hydrogels enhance gelling properties and *in vitro* wound healing compared to conventional hydrogels. *Algal Res*, 2022, **65**: 102740
- [24] Feng W, Wang Z. Shear-thinning and self-healing chitosan-graphene oxide hydrogel for hemostasis and wound healing. *Carbohydr Polym*, 2022, **294**: 119824
- [25] Jia Y, Yan X, Li J. Schiff base mediated dipeptide assembly toward nanoarchitectonics. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2022, **61**(43): e202207752
- [26] Chen M, Ren X, Dong L, *et al.* Preparation of dynamic covalently crosslinking keratin hydrogels based on thiol/disulfide bonds exchange strategy. *Int J Biol Macromol*, 2021, **182**: 1259-1267
- [27] Xu J, Liu Y, Hsu S-H. Hydrogels based on Schiff base linkages for biomedical applications. *Molecules*, 2019, **24**(16): 3005
- [28] Deng L, Wang B, Li W, *et al.* Bacterial cellulose reinforced chitosan-based hydrogel with highly efficient self-healing and enhanced antibacterial activity for wound healing. *Int J Biol Macromol*, 2022, **217**: 77-87
- [29] Liu S, Wang Z, Xing J. A tunable multifunctional hydrogel with balanced adhesion, toughness and self-healing ability prepared by photopolymerization under green LED irradiation for wound dressing. *Eur Polym J*, 2022, **168**: 111119
- [30] Liang Y, Li Z, Huang Y, *et al.* Dual-Dynamic-Bond cross-linked antibacterial adhesive hydrogel sealants with on-demand removability for post-wound-closure and infected wound healing. *ACS Nano*, 2021, **15**(4): 7078-7093
- [31] Shi L, Ding P, Wang Y, *et al.* Self-Healing polymeric hydrogel formed by metal-ligand coordination assembly: design, fabrication, and biomedical applications. *Macromol Rapid Commun*, 2019, **40**(7): 1800837
- [32] Mantooth S M, Munoz-Robles B G, Webber M J. Dynamic hydrogels from host-guest supramolecular interactions. *Macromol Biosci*, 2019, **19**(1): 1800281
- [33] Zhang H, Liu Z, Fu H. Pillararenes trimer for self-assembly. *Nanomaterials*, 2020, **10**(4): 651-670
- [34] You S, Huang Y, Mao R, *et al.* Together is better: poly(tannic acid) nanorods functionalized polysaccharide hydrogels for diabetic wound healing. *Ind Crops Prod*, 2022, **186**: 115273
- [35] Pérez-Rafael S, Ivanova K, Stefanov I, *et al.* Nanoparticle-driven self-assembling injectable hydrogels provide a multi-factorial approach for chronic wound treatment. *Acta Biomater*, 2021, **134**: 131-143
- [36] 张书筠, 于鑫, 丁晨, 等. 功能化自组装肽水凝胶在细胞培养中应用. *生物加工过程*, 2022, **20**(1):60-64
Zhang S Y, Yu X, Yu C, *et al.* Chinese Journal of Bioprocess Engineerin, 2022, **20**(1):60-64
- [37] Schneider A, Garlick J A, Egles C. Self-assembling peptide nanofiber scaffolds accelerate wound healing. *PLoS One*, 2008, **3**(1): e1410
- [38] Li Y, Liu C, Cheng X, *et al.* Tunicate inspired gelatin-based tough hydrogel wound dressing containing twisted phthalazinone with adhesive, self-healing and antibacterial properties. *Int J Biol Macromol*, 2022, **218**: 639-653
- [39] Lou P, Liu S, Wang Y, *et al.* Injectable self-assembling peptide nanofiber hydrogel as a bioactive 3D platform to promote chronic wound tissue regeneration. *Acta Biomater*, 2021, **135**: 100-112
- [40] Zhao W, Zhang X, Zhang R, *et al.* Self-assembled herbal medicine encapsulated by an oxidation-sensitive supramolecular hydrogel for chronic wound treatment. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, **12**(51): 56898-56907
- [41] Zhang Y, Zhao Y, He X, *et al.* A sterile self-assembled sericin hydrogel via a simple two-step process. *Polym Test*, 2019, **80**: 106016
- [42] Geng H, Zhang P, Liu L, *et al.* Convergent architecting of multifunction-in-one hydrogels as wound dressings for surgical anti-infections. *Mater Today Chem*, 2022, **25**: 100968
- [43] Bektas N, Senel B, Yenilmez E, *et al.* Evaluation of wound healing effect of chitosan-based gel formulation containing vitexin. *Saudi Pharm J*, 2020, **28**(1): 87-94
- [44] Md S, Abdullah S, Alhakamy NA, *et al.* Sustained-release ginseng/sodium alginate nano hydrogel formulation, characterization, and *in vivo* assessment to facilitate wound healing. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2022, **74**: 103565
- [45] Bo Q, Yan L, Li H, *et al.* Decellularized dermal matrix-based photo-crosslinking hydrogels as a platform for delivery of adipose derived stem cells to accelerate cutaneous wound healing. *Mater*

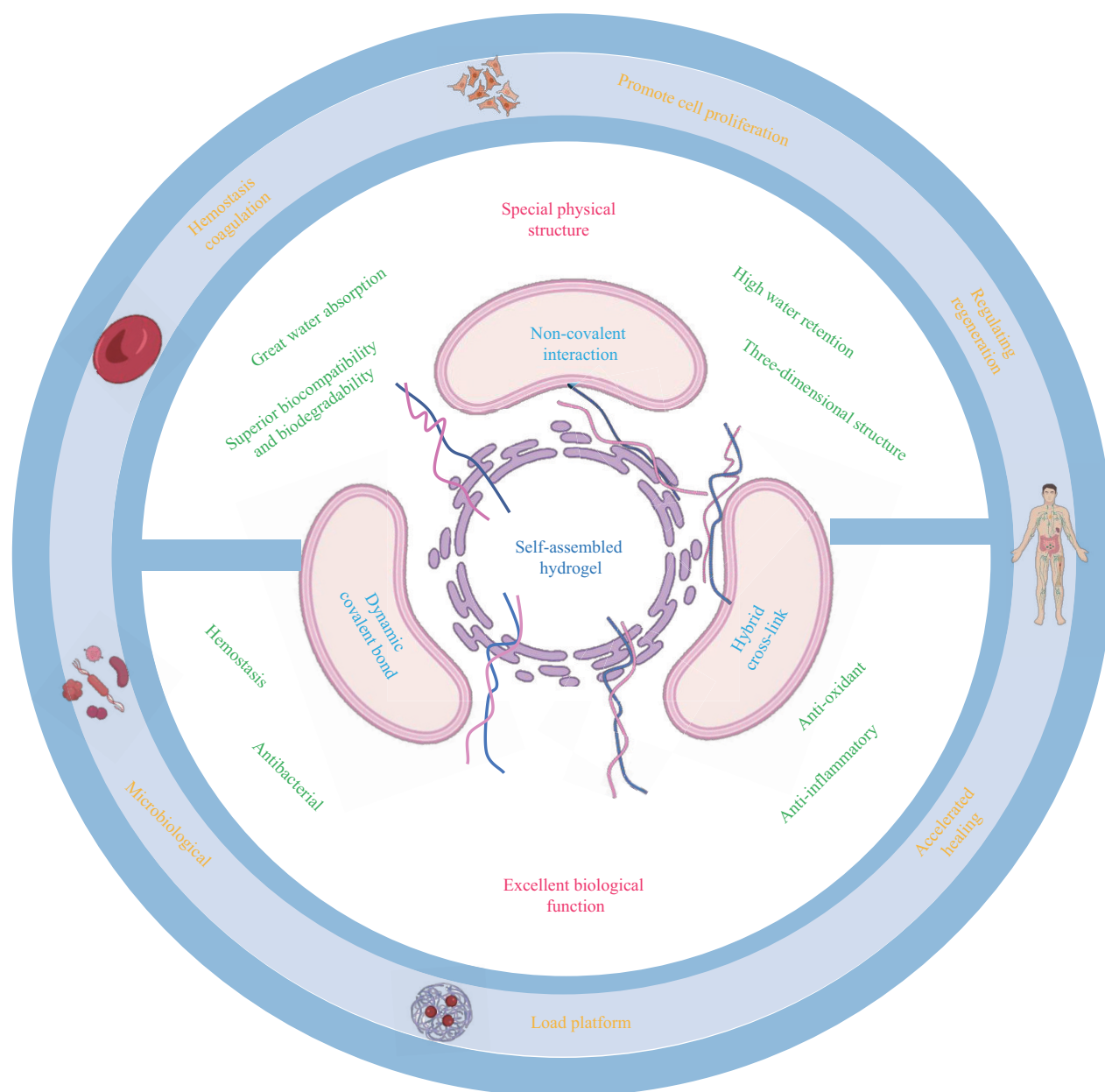
- Des, 2020, **196**: 109152
- [46] Zhang B, Lv Y, Yu C, *et al.* Au-Pt nanozyme-based multifunctional hydrogel dressing for diabetic wound healing. *Biomater Adv*, 2022, **137**: 212869
- [47] Santhini E, Parthasarathy R, Shalini M, *et al.* Bio inspired growth factor loaded self assembling peptide nano hydrogel for chronic wound healing. *Int J Biol Macromol*, 2022, **197**: 77-87
- [48] Pandey D K, Kuddushi M, Kumar A, *et al.* Iron oxide nanoparticles loaded smart hybrid hydrogel for anti-inflammatory drug delivery: preparation and characterizations. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, 2022, **650**: 129631
- [49] Rozan H E, Wu G, Zhou Z, *et al.* The complex hydrogel based on diatom biosilica and hydroxybutyl chitosan for wound healing. *Colloids Surf B*, 2022, **216**: 112523
- [50] Xie X, Li Y, Zhang M, *et al.* A “sense-and-treat” hydrogel for rapid diagnose and photothermal therapy of bacterial infection. *Chem Eng J*, 2022, **443**: 136437
- [51] Yu J, Li X, Chen N, *et al.* Microgel-integrated, high-strength in-situ formed hydrogel enables timely emergency trauma treatment. *Colloids Surf B*, 2022, **215**: 112508
- [52] Zhang H, Xu Y, Lei Y, *et al.* Tourmaline nanoparticles modifying hemostatic property of chitosan/polyvinyl alcohol hydrogels. *Mater Lett*, 2022, **324**: 132718
- [53] Anjali S, Resmi R, Saravana R P, *et al.* Ferulic acid incorporated anti-microbial self cross-linking hydrogel: a promising system for moderately exudating wounds. *J Drug Deliv Sci Tec*, 2022, **73**: 103446
- [54] You S, Xiang Y, Qi X, *et al.* Harnessing a biopolymer hydrogel reinforced by copper/tannic acid nanosheets for treating bacteria-infected diabetic wounds. *Mater Today Adv*, 2022, **15**: 100271
- [55] Guo Y, Wang Y, Zhao X, *et al.* Snake extract-laden hemostatic bioadhesive gel cross-linked by visible light. *Sci Adv*, 2021, **7**(29): eabf9635
- [56] Wang S, Wang F, Shi K, *et al.* Osteichthyes skin-inspired tough and sticky composite hydrogels for dynamic adhesive dressings. *Compos B Eng*, 2022, **241**: 110010
- [57] Abbasabadi O R, Farahpour M R, Tabatabaei Z G. Accelerative effect of nanohydrogels based on chitosan/ZnO incorporated with citral to heal the infected full-thickness wounds; an experimental study. *Int J Biol Macromol*, 2022, **217**: 42-54
- [58] Deng L, Du C, Song P, *et al.* The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic wound healing. *Oxi Med Cell Longev*, 2021, **2021**: 8852759
- [59] Li Y, Zheng H, Liang Y, *et al.* Hyaluronic acid-methacrylic anhydride/polyhexamethylene biguanide hybrid hydrogel with antibacterial and proangiogenic functions for diabetic wound repair. *Chin Chem Lett*, 2022, **33**(12): 5030-5034
- [60] Zhao Y, Liu X, Peng X, *et al.* A poloxamer/hyaluronic acid/chitosan-based thermosensitive hydrogel that releases dihydromyricetin to promote wound healing. *Int J Biol Macromol*, 2022, **216**: 475-486
- [61] Zarrintaj P, Ramsey J D, Samadi A, *et al.* Poloxamer: a versatile tri-block copolymer for biomedical applications. *Acta Biomater*, 2020, **110**: 37-67
- [62] Jafari H, Alimoradi H, Delporte C, *et al.* An injectable, self-healing, 3D printable, double network co-enzymatically crosslinked hydrogel using marine poly- and oligo-saccharides for wound healing application. *Appl Mater Today*, 2022, **29**: 101581
- [63] Xia H, Zhang Y, Xin H, *et al.* Metal-phenolic network-based polydopamine@Cu within a polyvinyl alcohol hydrogel film for improved infected wound healing through antibacterial and pro-angiogenesis activity. *Mater Design*, 2022, **221**: 110904
- [64] Han K, Bai Q, Zeng Q, *et al.* A multifunctional mussel-inspired hydrogel with antioxidant, electrical conductivity and photothermal activity loaded with mupirocin for burn healing. *Mater Design*, 2022, **217**: 110598
- [65] Chen Y, Hao Y, Mensah A, *et al.* Bio-inspired hydrogels with fibrous structure: a review on design and biomedical applications. *Biomater Adv*, 2022, **136**: 212799
- [66] Zhang F, Han X, Guo C, *et al.* Fibrous aramid hydrogel supported antibacterial agents for accelerating bacterial-infected wound healing. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, **121**: 111833
- [67] Yang H, Liang Y, Wang J, *et al.* Multifunctional wound dressing for rapid hemostasis, bacterial infection monitoring and photodynamic antibacterial therapy. *Acta Biomater*, 2021, **135**: 179-190
- [68] Du Z, Fan B, Dai Q, *et al.* Supramolecular peptide nanostructures: self-assembly and biomedical applications. *Giant*, 2022, **9**: 100082
- [69] Yang X, Zhang C, Deng D, *et al.* Multiple stimuli-responsive MXene-Based hydrogel as intelligent drug delivery carriers for deep chronic wound healing. *Small*, 2022, **18**(5): e2104368
- [70] Zhao X, Wu H, Guo B, *et al.* Antibacterial anti-oxidant electroactive injectable hydrogel as self-healing wound dressing with hemostasis and adhesiveness for cutaneous wound healing. *Biomaterials*, 2017, **122**: 34-47

Self-assembled Cross-linking Based Hydrogels for Skin Injury Applications*

LI Chao, GUO Yu-Feng, DANG Xu-Hong**

(Institute of Radiation Medicine and Environmental Medicine, China Institute for Radiation Protection, Taiyuan 030006, China)

Graphical abstract



* This work was supported by grants from CNNC Young Talents Program (JY22020202) and CNNC Leading Research (JT23010201).

** Corresponding author.

Tel: 86-351-2202260, E-mail: dangxuhong005@163.com

Received: May 19, 2023 Accepted: August 28, 2023

Abstract When skin injuries are healing, complex wound environments can be easily created, which can result in wound infection, excessive inflammation caused by neutrophil accumulation and inflammatory factors, and excessive reactive oxygen species, resulting in high levels of oxidative stress. As a result of these factors, cell membranes, proteins, DNA, *etc.* may become damaged, which adversely affects the repair function of normal cells around the wound, resulting in the formation of chronic wounds. The effectiveness of wound dressings as a treatment is well known. They can offer temporary skin damage protection, prevent or control wound infection, create an environment that is conducive to mending skin damage, and speed wound healing. Traditional dressings like gauze, cotton balls, and bandages, however, have the drawbacks of having no antimicrobial properties, having weak adhesive properties, having poor mechanical properties, being susceptible to inflammation, obstructing angiogenesis, needing frequent replacement, and being unable to create an environment that is conducive to wound healing. As an innovative bandage, self-assembled hydrogel has great water absorption, high water retention, superior biocompatibility, biodegradability and three-dimensional (3D) structure. With properties including hemostasis, antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant, the synthesized raw material itself and the loaded active compounds have a wide range of potential applications in the treatment of skin injuries and wound healing. This research begins by examining and discussing the mechanism of cross-linking in self-assembled hydrogels. The cross-linking modes include non-covalent consisting of physical interaction forces such as electrostatic interactions, π -stacking, van der Waals forces, hydrophobic interactions, and metal-ligand bonds, covalent cross-linking formed by dynamic covalent bonding such as disulfide bonding and Schiff bases. And hybrid cross-linking with mixed physical forces and dynamic covalent bonding. The next part describes the special structure and excellent functions of self-assembled hydrogels, which include an extracellular matrix-like structure, the removal of exogenous microorganisms, and the mitigation of inflammation and oxidative stress. It goes on to explain the benefits of using self-assembled hydrogels as dressings for skin injuries. These dressings are capable of controlling cell proliferation, loading active ingredients, achieving hemostasis and coagulation, hastening wound healing, and controlling the regeneration of the injured area. The development of self-assembly hydrogels as dressings is summarized in the last section. The transition from purely non-covalent or covalent cross-linking to hybrid cross-linking with multiple networks, from one-strategy action to multi-strategy synergy in exerting antimicrobial, anti-inflammatory, and antioxidant effects and from single-function to multi-functioning in a single product. Additionally, it is predicted that future developments in self-assembled hydrogels will focus on creating biomimetic gels with multi-strategy associations linkage from naturally self-assembling biomolecules peptides, lipids, proteins and polysaccharides; improving the properties and cross-linking of raw materials to enhance the storage capabilities of hydrogels and cross-linking techniques, realizing the recycling of hydrogels; conducting additional research and exploration into the cross-linking process of hydrogels; and realizing the gel's controllable rate of degradation. Furthermore, combining 3D printing and 3D microscopic imaging technology to design and build one-to-one specialized gel dressings; using computer simulation and virtual reality to eliminate the time factor, resulting in self-assembled hydrogels that perfectly fit the ideal dressing.

Key words self-assembly, hydrogel, skin injury, wound healing, tissue engineering

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0199