活性氧响应纳米粒嵌合油凝胶通过铁代谢–胶原重构协同促MRSA创面无瘢痕愈合

任玮晔[1,2], 程苇钇[2], 陈井泉[2], 何李婷[2], 朴寄纲[2], 魏颖慧[2,3*], 包丹丹[1*]

(1. 浙江中医药大学附属第一医院, 浙江 杭州 310006; 2. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311402; 3. 浙江中医药大学金华研究院, 浙江 金华 321015)

摘要: 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 感染严重阻碍皮肤创面愈合, 常伴随炎症持续与瘢痕增生, 临床治疗亟需更有效的局部治疗策略。本研究构建了一种基于天然活性成分的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 响应纳米粒嵌合油凝胶系统, 集抗菌、抗炎及抗瘢痕多重功能于一体, 用于MRSA感染创面的综合治疗。该油凝胶系扁柏酚与维替泊芬 (verteporfin, VP) 自组装纳米粒嵌合于*β*-谷甾醇构建的油凝胶中, 其可贴合不规则创面, 并在感染部位ROS刺激下响应释放药物。扁柏酚在局部与Fe^{3+}螯合, 破坏细菌铁代谢, 诱导膜损伤并破坏DNA, 实现非抗生素杀菌; VP通过抑制Yes相关蛋白/具有PDZ结合基序的转录共激活因子 (Yes-associated protein/transcriptional co-activator with PDZ-binding motif, YAP/TAZ) 通路, 减少成纤维细胞过度活化, 促进组织再生并抑制瘢痕形成; 胶凝剂*β*-谷甾醇具备一定抗炎活性并辅助调控早期免疫反应。该制剂可发挥抗菌、抗炎及瘢痕修复等多重协同作用, 为感染性慢性创面治疗提供新策略。动物实验经浙江中医药大学动物实验研究中心批准, 且实验均按相关指导原则和规定进行, 批准号: IACUC-20241125-07。

关键词: 活性氧响应; 纳米粒; 油凝胶; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 创面修复; 递送系统

中图分类号: R943 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)02-0624-12

ROS-responsive nanoparticles embedded in oleogel promote scarless healing of MRSA-infected wounds through synergistic regulation of iron metabolism and collagen remodeling

REN Wei-ye[1,2], CHENG Wei-yi[2], CHEN Jing-quan[2], HE Li-ting[2], PIAO Ji-gang[2], WEI Ying-hui[2,3*], BAO Dan-dan[1*]

(*1. The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, China; 2. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311402, China; 3. Jinhua Academy of Zhejiang Chinese Medical University, Jinhua 321015, China*)

Abstract: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection poses a major obstacle to skin wound healing, often accompanied by persistent inflammation and excessive scar formation. There is an urgent clinical need for more effective localized therapeutic strategies. In this study, we developed a responsive nano-oleogel system based on natural bioactive compounds for the synergistic treatment of MRSA-infected wounds. This system consists of self-assembled nanoparticles of hinokitiol and verteporfin (VP), embedded within an oleogel

收稿日期: 2025-07-05; 修回日期: 2025-08-01.

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (LY23H300002); 浙江中医药大学重点支撑项目 (2025JKZDZC07); 浙江中医药大学校级科研项目 (2024JKZKTS24, 2025JKZKTS4).

*通讯作者 Tel: 13357178565, E-mail: yhw_nn@zcmu.edu.cn;

Tel: 18668055188, E-mail: baodandan1990@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0773

matrix constructed using β-sitosterol. The oleogel conforms well to irregular wound surfaces and enables stimuli-responsive drug release in the presence of reactive oxygen species (ROS) at the infection site. Hinokitiol chelates Fe^{3+} locally, disrupting bacterial iron metabolism and inducing membrane damage and DNA disruption, thereby achieving non-antibiotic bactericidal effects. β-Sitosterol contributes inherent anti-inflammatory activity, helping to modulate early immune responses. VP exerts its effects by inhibiting the Yes-associated protein/transcriptional co-activator with PDZ-binding motif (YAP/TAZ) signaling pathway. This multifunctional formulation demonstrates synergistic antibacterial, anti-inflammatory, and scar-modulating effects, offering a promising strategy for the treatment of infected chronic wounds. The animal experiments were approved by the Animal Experimental Research Center of Zhejiang Chinese Medical University and were conducted in accordance with the relevant guidelines and regulations (approval No. IACUC-20241125-07).

Key words: ROS-responsive; nanoparticle; oleogel; methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; wound healing; delivery system

皮肤在维持机体屏障功能、抵御外部病原体侵袭方面起着关键作用[1,2]。然而烧伤、手术或外伤等因素一旦破坏其完整性, 创面易被细菌感染, 尤其是耐药菌如金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 侵袭[3,4]。其中, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 因其高度耐药性和致病力, 成为皮肤感染中的主要挑战之一[5]。MRSA可通过破损创面迅速侵入组织, 诱发局部炎症, 释放毒素并通过免疫逃逸机制加剧组织坏死, 显著延缓伤口愈合。传统抗生素在应对MRSA感染时疗效受限, 易造成疗程延长、复发率上升甚至引发败血症[5]。因此, 如何在局部实现高效抗菌、调控炎症并促进再生, 是慢性创面治疗亟待解决的问题。

近年来, 传统中药中的活性成分如槲皮素、丁香酚等因其抗菌、抗氧化和抗炎等多重生物活性, 受到广泛关注[6]。扁柏为柏科植物侧柏的嫩枝与叶, 具有清热解毒、止血等功效。其主要成分扁柏酚 (hinokitiol) 为具有酚酮骨架的单萜类天然产物, 不仅抗菌活性强, 还可作为高效铁螯合剂, 与Fe^{3+}形成脂溶性螯合物, 增强其膜穿透性, 从而破坏细菌膜结构并诱导DNA损伤, 发挥杀菌作用[7,8]。研究表明, 在细菌感染部位, 细菌会主动摄取宿主铁离子以维持代谢稳态, 导致局部铁离子富集[9,10]。这一病理特征为以扁柏酚为代表的铁螯合抗菌策略提供了理想靶点, 尤其适用于应对耐药性细菌。

单一的抗菌并不足以实现功能性愈合。慢性创面中持续炎症与异常胶原沉积往往会诱发瘢痕形成, 阻碍组织重建。维替泊芬 (verteporfin, VP) 是临床常用光敏剂, 传统用于光动力治疗[11]。近年来研究发现, VP在无光照条件下亦可通过抑制Yes相关蛋白/具有PDZ结合基序的转录共激活因子 (Yes-associated protein/transcriptional co-activator with PDZ-binding motif, YAP/TAZ) 信号通路, 调控成纤维细胞活化、肌成纤维细胞分化及胶原沉积, 从而改善组织重建质量[12-14]。因此, VP在慢性创面修复及瘢痕调控方面展现出新的应用潜力。

本课题组前期研究表明, 扁柏酚与VP可通过非共价作用 (如π-π堆积、疏水相互作用) 自组装形成稳定纳米复合物 (hinokitiol-verteporfin nanoparticles, H-VP NPs), 实现协同递送并提高在感染环境中的靶向富集能力。其中, 扁柏酚可螯合铁离子并破坏细菌膜结构发挥抗菌作用, VP则抑制YAP/TAZ信号通路, 减轻瘢痕形成, 协同实现抗感染与组织修复的双重治疗。然而, 该纳米系统在复杂伤口环境中存在局部滞留时间短、生物屏障阻碍及适形性差等限制, 需借助合适的递送平台加以优化。

油凝胶是一种由低分子凝胶剂在油相中自组装形成三维网络的半固态材料, 具有良好的延展性、成膜性和黏附性, 尤其适用于不规则或渗出性创面, 可有效克服水凝胶在适形性与耐久性方面的不足[15,16]。其疏水基质可阻隔外源污染, 形成保护屏障, 同时减少水分蒸发, 维持湿润微环境, 有助于组织修复。与水凝胶相比, 油凝胶在活动部位黏附性更强, 稳定性更高; 同时, 其脂相环境更适于包载疏水性药物, 并具一定的缓释能力。部分油凝胶基质如β-谷甾醇等还具有一定抗炎作用, 能协同调控局部炎症反应[17]。值得一提的是, 慢性伤口往往存在高水平活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 累积, 这是组织持续损伤和愈合延迟的关键因素。油凝胶常用的脂类或磷脂类胶凝剂在ROS作用下易发生脂质过氧化或结构断裂, 导致三维网络解体, 进而实现药物的“按需释放”。因此, ROS响应机制已成为近年来油凝胶在感染创面治疗中重要的功能拓展方向, 增强了其在复杂微环境下的适应性与精准性。

综上所述, 本研究设计并构建了一种具有ROS响

应能力的纳米油凝胶, 用于治疗MRSA感染相关慢性创面。该系统以β-谷甾醇为凝胶剂, 嵌入H-VP自组装纳米粒子, 在高ROS环境下促使药物释放: 扁柏酚通过铁螯合作用破坏细菌膜结构, 发挥广谱抗菌活性; VP抑制YAP/TAZ通路, 减少瘢痕增生并促进组织再生; 油凝胶基质则为药物提供稳定递送平台, 并协同调节炎症反应。该系统集抗菌、抗炎与瘢痕调控功能于一体, 为耐药菌感染性创面提供了协同、高效且具转化潜力的治疗策略。

材料与方法

仪器 酶标仪 (Varioskan ALF)、CO_2培养箱 (311)、傅里叶红外光谱仪 (Nicolet IS5)、流变仪 (Haake Mars40) (美国赛默飞公司); 透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM, H-7650, 日本日立公司); ZD-85恒温振荡器 (SHP-250, 中国上海力辰仪器科技有限公司); 紫外可见近红外光谱仪 (UV-3600)、X射线衍射仪 (XRD-6100) (日本岛津公司); 电子天平 (CP225D, 德国Sartorius公司); 超纯水仪 (Cascada 3.1, 美国Pall公司); 集热式恒温磁力搅拌器 (DF-101S, 中国郑州科创仪器有限公司); Optima Max超速低温离心机 (Avanti JXN-26, 美国Beckman公司); 生物安全柜 (SW-CJ-1FD, 中国苏州净化设备有限公司); 激光共聚焦显微镜 (Axio Imager 2, 德国Carl Zeiss公司)。

药品与试剂 扁柏酚 (> 99%, C16851354)、玉米油 (C16082922) 购自上海源叶生物科技有限公司; VP (> 99%, D2318504)、氯化铁 (> 98%, I1930059) 购自中国上海阿拉丁有限公司; β-谷甾醇 (C17256164)、卵磷脂 (≥ 98%, L812366) 购自上海麦克林生化科技股份有限公司; 胰蛋白胨大豆肉汤、琼脂购自北京索莱宝科技有限公司; 4% 多聚甲醛 (24319739, 合肥兰杰柯科技有限公司,); 活死细菌染色试剂盒 (2725311, 美国Thermo Fisher公司); 舒泰50 (Zoletil, 法国维克宠物保健公司)。

细菌 MRSA菌株usa300 *Staphyococcus aureus* usa300购自北京北纳创联生物技术研究院 (编号BNCC361194)。

实验动物 雄性Balb/c小鼠 (SPF级, 4～6周龄), 体质量 (20 ± 2 g), 购自上海斯莱克实验动物公司。动物实验通过浙江中医药大学实验动物管理和伦理委员会批准, 按照浙江中医药大学动物饲养和使用指南进行, 实验动物许可证号SYXK (浙) 2021-0012, 本研究动物伦理批准号IACUC-20241125-07。

不同比例凝胶剂油凝胶的制备 取一定质量的干燥玉米油, 向其中分别加入油脂质量10%和20%的胶凝剂 (β-谷甾醇和卵磷脂混合物, 质量比为8∶2), 90 ℃加热搅拌溶解后将其移至4 ℃冰箱中 (平均冷却速率约为10 ℃·min^{-1}) 储藏24 h, 然后置于25 ℃的恒温培养箱中储藏。

形态观察 取少量两种油凝胶于预热载玻片上, 盖上盖玻片, 5 ℃下储藏24 h。采用偏光显微镜观察油脂凝胶中晶态聚集体形貌和三维网络情况并进行拍照。

晶体多态性分析 通过X射线行射仪 (X-ray diffraction, XRD) 测定油凝胶的晶体结构。采Cu-Ka辐射源 (λ = 1.545 8, 40 kV, 30 mÅ), 在室温下进行测试。样品在10°～0°的衍射角 (2θ) 内以1 °·min^{-1}的扫描速度进行扫描。

流变学分析 在25 ℃下, 使用直径为8 mm、间隙为3 mm的平行板流变仪检测样品流变特性。动态振荡应变扫描 (1 Hz, 0.001%～100%应变) 确定线性黏弹区间。在线性黏弹性区 (应变0.01%, 1～100 rad·s^{-1}) 进行动态振荡频率扫描, 记录弹性模量 (G) 和黏性模量 (G'') 随频率的变化。动力学黏度旋转模式测试, 剪切速率对数变化待测剪切速率范围0.1～1 000 s^{-1}。

红外光谱测定 通过傅里叶近红外光谱仪测定不同比例各油凝胶的结构组成: 采用4 000～400 cm^{-1}的广泛波数范围扫描32次, 分辨率为4 cm^{-1}。

热力学性质测试 采用差示扫描量热仪进行热力学性质的测定: 取3 mg各油凝胶样品放置到铝盘中密封, 设置起始温度为30 ℃, 以5 ℃·min^{-1}的速率加热至150 ℃, 此温度下保持5 min, 再以5 ℃·min^{-1}的冷却速率从150降至30 ℃, 此温度下保持5 min。

流动性测试 将不同比例凝胶剂的油凝胶至于瓶中倒置, 观察2、10、30 min凝胶的流动情况。

H-VP NPs的制备 采用“一锅法”制备H-VP NPs。精密称量适量VP溶于DMSO中; 精密称取适量扁柏酚溶于甲醇中。上述两溶液混合后置于磁力搅拌器中反应2 h, 10 000 r·min^{-1}离心10 min, 重复2次, 收集沉淀, 用超纯水洗涤后离心, 重复2次, 最后将沉淀分散在超纯水中, 冷冻干燥, 即得绿色H-VP NPs冻干粉。取冻干前样品至于铜网上, 在透射电子显微镜下观察其形态。

H-VP油凝胶的制备 取H-VP NPs冻干粉适量分散于玉米油中, 加入油脂质量20%的胶凝剂, 90 ℃下加热搅拌待胶凝剂溶解后将样品转入4 ℃的冰箱中。同样采用偏光显微镜观察油凝胶内部结构。

荷载量和包埋率的测定 扁柏酚和VP紫外吸收标准曲线。准确称取2 g油凝胶样品, 加入用95%乙醇5 mL, 超声提取5 min后过滤, 收集滤液。重复3次

合并滤液适当稀释100倍后用紫外分光光度计分别在592和320 nm下测定吸光度值。根据已建立的扁柏酚和VP标准曲线方程求算扁柏酚、VP的质量浓度, 按下列公式计算荷载量和包埋率:

$$荷载量 = \frac{荷载扁柏酚/VP质量}{油凝胶质量} \times 100\% \quad (1)$$

$$包埋率 = \frac{荷载扁柏酚/VP质量}{投入扁柏酚/VP质量} \times 100\% \quad (2)$$

H-VP自组装分子对接模拟 使用AutoDock Vina 1.1.2软件进行分子对接。化合物结构文件下载自Pubchem数据库 (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)。采用Chemdraw 20.0进行化合物的三维模型建立和能量最小化; AutoDock Tools 1.5.6用于生成用于对接模拟的PDBQT文件; 对接盒子设定为最大尺寸以包裹; 其他参数保持默认值。将对接结果设置为输出10个最佳对接位置。结合能最低、聚簇频率最高的对接构象被认为是配体与受体之间最潜在的结合模式。分子对接结果通过结合能表示, 重复运行3次取平均值并计算标准偏差。最后, 使用PLIP和Pymol 2.4软件对对接结果进行可视化。

体外释放研究 分别采用不同浓度H_2O_2 (10、20、50 μmol·L^{-1}) 为释放介质。准确称取20%凝胶剂100 mg, 置于预处理的透析袋 (相对分子质量8 000～14 000) 中, 排除气泡后密封, 置于25 mL释放介质中, 于37.0 ± 0.5 ℃恒温水浴振荡 (100 r·min^{-1}), 分别于0、1、2、4、6、8、12、24 h取样1 mL, 并立即补加等量同温同浓度新鲜释放介质。样品用酶标仪测692及310 nm (VP和扁柏酚的紫外特征吸收峰) 处吸收值, 计算累积释药百分率并绘制释药曲线。

细菌培养 用接种环从长有MRSA的TSB固体培养基上挑取3～5个单一菌落接种至装有2.5 mL TSB液体培养基的培养管中, 旋松管帽, 置于37 ℃恒温气浴震荡箱, 200 r·min^{-1}培养16～18 h获得稳定期细菌。取40 uL稳定期菌液接种至含有4 mL TSB液体培养基的培养管中, 37 ℃、200 r·min^{-1}培养3～4 h至对数期, 离心 (8 000 r·min^{-1}) 5 min, 管底见白色菌斑。弃去上清液采用PBS缓冲液离心清洗两次后, 添加PBS缓冲液吹匀成细菌悬液, 调节其OD_{600}在0.5左右 (每次固定此数值, 方便后期细菌数量控制及保证重复性), 此时细菌浓度约为5×10^{10}～5×10^{11} CFU·mL^{-1}。

最低抑菌浓度 使用96孔板按梯度稀释法配制系列梯度MRSA菌株液。向稀释好的菌液中加入0.1 mL不同浓度的药液 (H-VP NBs质量浓度由高到低为32～2 μg·mL^{-1}), 加入TSB肉汤培养基0.1 mL作为空白对照组; 加入0.1 mL PBS和接种液0.1 mL于一空孔中作为阴性对照组。将接种好的96孔板放入37 ℃培养箱培养24 h。平行实验3次。培养结束后取各培养液10 μL于平板上培养24 h, 观察有无菌生长, 培养基内无菌生长时的最低浓度即为最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC)。

细菌涂板及活死实验 取浓度为10^6 CFU·mL^{-1}的MRSA菌液, 分别加入PBS、Fe^{3+}、H-VP NBs、Fe^{3+}+VP、Fe^{3+}+H-VP NBs, 在37 ℃恒温培养基中培养过夜。取10 μL处理后的菌液于琼脂板上涂布后置于恒温培养箱中培养过夜, 24 h后拍照计数。在不同治疗组对细菌治疗后, 在黑暗中向MRSA悬浮液中加入含有SYTO9 (2 μmol·L^{-1}) 和PI (1 μmol·L^{-1}) 染料的PBS缓冲液, 并孵育15 min。离心除去游离SYTO9和PI后用PBS缓冲液洗涤2次, 弃去洗涤液加入4%多聚甲醛溶液固定。将得到的MRSA悬浮液转移到盖玻片上, 封片剂封片。最后用正置荧光显微镜对图像进行荧光观察。

扫描电子显微镜观察细菌形态 取不同处理的MRSA菌液 (处理方式同上述), 6 000 r·min^{-1}离心5 min, 用适量的2.5% (*w*/*v*) 戊二醛溶液重悬并吹散菌液, 在4 ℃冰箱中放置过夜以固定生物膜中的细菌。随后, 离心弃去固定液并用PBS缓冲盐溶液漂洗3次后, 加入1% (*w*/*v*) 的锇酸溶液固定1 h, 继而用PBS缓冲液漂洗。漂洗完毕后, 样品分别在系列浓度 (50%、70%、80%、90%和100%) 的乙醇和叔丁醇中连续脱水。脱水后的样品经喷金处理后采用扫描电子显微镜观察不同条件下处理后细菌的形态。

伤口感染模型构建 选用健康BALB/c小鼠, 腹腔注射麻醉剂舒泰50 (Zoletil, 0.5 mg·kg^{-1}) 待小鼠充分麻醉。使用剃毛器清除其后腿部毛发, 随后于裸露皮肤处均匀涂抹脱毛膏, 静置适当时间后用无菌棉签擦除, 以完全暴露干净皮肤。使用已消毒的直径10 mm的金属圆环轻压于皮肤表面, 制造标准化圆形伤口, 操作过程中注意避免损伤皮下筋膜层。随后在创面中央滴加50 μL MRSA悬液, 使其均匀分布。用创面贴覆盖伤口, 以防菌液流失并维持局部湿润感染环境。模型建立后第2天, 揭除创面贴, 评估伤口状态。建立皮肤伤口感染模型后, 随机将小鼠分为6组 (n = 5), 分别为: 对照组、10%凝胶剂空白油凝胶组、20%凝胶剂空白油凝胶组、扁柏酚油凝胶组、VP油凝胶组及H-VP NBs复合油凝胶组。各组小鼠均经腹腔注射舒泰50 (0.5 mg·kg^{-1}) 麻醉, 确保充分镇静后进行处理。分别取对应组别油凝胶, 均匀涂抹于伤口表面, 每次用量50 mg。处理完毕后使用无菌创面贴覆盖伤口, 以维持局部药物浓度并防止污染。在第0、1、3、5、7天重复上

述治疗, 并于每次处理前行腹腔麻醉后打开创面贴, 拍照记录伤口面积, 评估愈合情况。第7天治疗结束后, 处死小鼠, 使用无菌剪刀和镊子取下伤口组织 (包括感染区域及其周围0.5 cm范围内的组织), 并立即置于含有1 mL无菌PBS的离心管中。手动匀浆将组织充分匀浆, 确保细菌充分释放至溶液中。将所得匀浆液稀释10^4倍, 吸取100 μL适当稀释倍数的溶液, 均匀涂布于营养琼脂平板。每组设平行重复。将平板倒置置于37 ℃恒温培养箱中, 培养18～24 h。

皮肤伤口切片 处死小鼠后使用无菌剪刀和镊子沿皮肤边缘取下完整伤口组织 (包括伤口区域及周围约0.5 cm正常组织), 将组织立即置入4%多聚甲醛溶液 (pH 7.4) 中, 常温固定24 h。按常规组织处理流程使用酒精梯度 (70%、80%、90%、95%、100%) 逐级脱水, 每级10～30 min; 然后使用二甲苯进行透明处理, 每次15～30 min, 共两次。将组织置入熔融石蜡中浸泡2、3次, 再转移至包埋盒进行定向包埋, 室温冷却凝固。使用轮转式切片机将石蜡块切成4～6 μm厚的连续切片; 切片经温水展片后转移至载玻片上, 于60 ℃烘片1～2 h备用。脱蜡至水, 用H&E、Masson、天狼星红染色, 之后脱水封片; 使用光学显微镜观察采取图像。固定、包埋的操作同上, 之后进行脱蜡与重水化, 组织切片依次经过二甲苯脱蜡, 然后依次用100%、95%、85%、75%酒精各浸泡5 min, 最后用超纯水漂洗。随后将切片置于柠檬酸钠缓冲液 (10 mmol·L^{-1}, pH 6.0) 中; 使用微波中火加热10～15 min, 自然冷却至室温并用PBS冲洗; 切片用3%过氧化氢溶液室温孵育10～15 min; 去除内源性过氧化物酶活性, 避免假阳性; PBS冲洗3次后使用5%正常山羊血清或BSA封闭液室温孵育30 min, 然后进行抗体孵育。滴加TNF-α一抗后置于4 ℃冰箱中过夜孵育16 h; 次日PBS洗涤, 滴加HRP标记的二抗; 室温孵育30～60 min; PBS洗涤后用DAB显色后用显微镜采集图像。为评价胶原重构与表皮再生完整性, 采用偏振光显微镜观察天狼星红染色切片, 胶原I型呈强红色或黄红色、胶原III型呈绿色。利用ImageJ软件进行定量分析, 计算胶原I与III型的相对面积比值, 用以反映组织中胶原纤维的构成及重塑趋势, 从而评价是否存在瘢痕样胶原沉积。为评价表皮结构的完整再生情况, 选取愈合组织H&E染色切片, 观察相同创面区域的毛囊及皮脂腺结构, 每张切片随机选择5个视野计数, 统计每单位面积下毛囊及腺体的数量, 用以反映皮肤附属结构的恢复程度, 间接评价表皮层再生的完整性与功能恢复水平。

统计学分析 采用GraphPad Prism软件进行统计分析, 数据表示为平均值 ± SEM, 使用单因素方差分析 (ANOVA) 和t检验进行组间比较, 随后进行Tukey's多重比较检验以确定显著性差异, $P < 0.05$为具有统计学差异。

结果

1 H-VP NBs油凝胶的表征

1.1 油凝胶内部结构观察 为了探究不同组分比例对凝胶体系结构的影响, 本文采用偏光显微镜, 观察了谷甾醇和卵磷脂不同添加比例情况下, 凝胶体系中微观结构的变化情况, 结果如图1A所示, 两种油凝胶在微观结构上差异显著, 随着胶凝剂含量的增加, 油凝胶在偏光显微镜下呈现出交错排列的纤维状晶体结构, 排列更致密、均匀且方向一致, 显示出强烈的双折射现象, 增强了成胶稳定性和物理强度, 该复合结构的形成有利于药物在凝胶体系中均匀分布。因此, 20%胶凝剂 (β-谷甾醇∶卵磷脂 = 2∶8) 作为载药体系是较优选。

1.2 油凝胶热性能表征 差示扫描量热法 (differential scanning calorimetry, DSC) 是研究油凝胶热性能的重要手段, 其曲线在一定程度上表明凝胶的相变行为及热稳定性, 可用于筛选配方和比例。结果如图1B所示, 在吸热过程中, 10%凝胶剂油凝胶, 仅见到逐渐上升的基线, 无明显的吸热峰, 说明凝胶中结构较为无序, 升温过程中无明显熔融或相变; 20%凝胶剂油凝胶在约50～110 ℃之间存在明显的宽吸热峰, 为典型的凝胶熔融峰, 表示体系中有较多有序结构在升温过程中解体, 吸热峰面积大于10%, 进一步支持其形成了更稳定的三维结构。在放热过程中, 10%凝胶剂油凝胶几乎无明显放热峰, 整体曲线平缓, 仅在接近140 ℃处出现轻微波动, 说明10%油凝胶体系中结晶行为不明显或结晶度较低; 20%凝胶剂油凝胶在约60～80 ℃出现一个明显的放热峰且面积较大 (34.99 J·g^{-1}), 代表体系中发生了明显的热结晶现象。DSC结果表明随着凝胶剂浓度增加, 体系内部分子之间相互作用增强, 可能促进了有序结构的形成。

1.3 油凝胶晶型结构分析 采用XRD对两种不同样品进行了结构分析, 其衍射图谱如图1C所示, 两种油凝胶样品均呈现出多个宽而非对称的衍射峰, 表明样品具有部分结晶性结构, 且包含一定比例的无定型区域。黑色曲线所对应样品2θ为18.2°和20.1°处出现主衍射峰 (图1C), 分别对应d值为4.86和4.63 Å。此外, 2θ为14.8° (d = 5.97 Å) 处出现较弱衍射峰, 推测该结构可能与疏水组分间疏松堆积相关。相比之下, 20%凝胶剂油凝胶XRD图中出现更多衍射峰, 分别位于2θ为12.6°、15.0°、19.0°、21.9°和22.6°, 对应的d值分别为7.05、5.89、4.82、4.05和3.93 Å。其中, 低角度区域出现

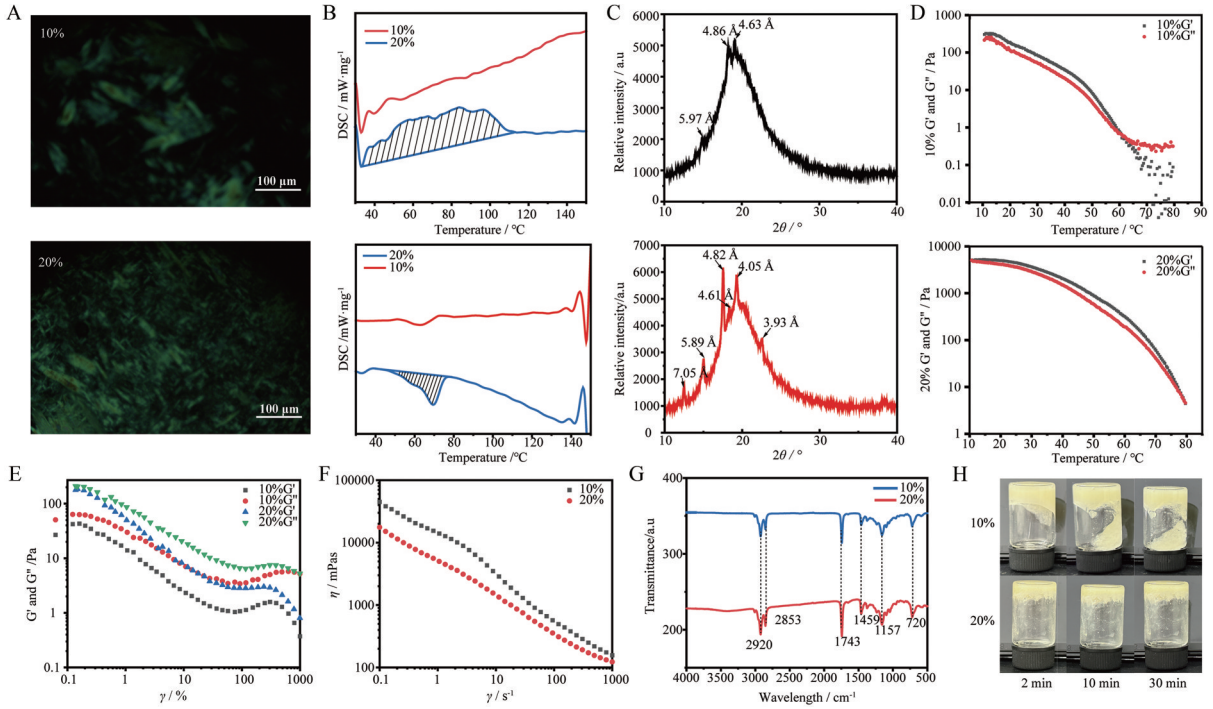


Figure 1 Evaluation of the drug-loaded oleogel system performance. A: Polarized optical microscopy images of oleogels with different gelator ratios; B: DSC thermograms of oleogels with different gelator ratios; C: XRD patterns of oleogels with different gelator ratios; D: The strain sweep curves of different oleogels; E: Strain-sweep rheological curves of oil gels prepared with different concentrations of gelling agent; F: Dynamic frequency-sweep rheological curves of oil gels prepared with varying gelling agent ratios; G: FTIR spectra of oleogels with different gelator ratios; H: Images showing the gel state of oleogels with different gelator ratios after inversion for varying durations. DSC: Differential scanning calorimetry; XRD: X-ray diffraction; FTIR: Fourier-transform infrared

的峰 (如7.05 Å) 表明该样品可能具有一定程度的层状排列结构, 这可能由油凝胶网络中的脂质链段或结晶域形成。综上, 20%凝胶剂油凝胶的衍射峰数量更多且更分散, 说明其内部存在较复杂的分子堆积方式和更高程度的局部有序性, 这可能与其更高的凝胶剂浓度、不同的自组装驱动力或形成机制有关, 且该结果与偏光显微镜及DSC结果一致。

1.4 油凝胶流变性能分析 通过流变仪对油凝胶的流变性能进行考察, 图1D表明20%胶凝剂油凝胶储能模量 G' (黑线) 和损耗模量 G'' (红线) 在10～60 ℃内基本保持平稳, G'始终高于 G'', 整体呈弹性结构; 从60 ℃开始, G'和 G''迅速下降, 到约75～80 ℃显著降低, 凝胶网络塌陷。表明该油凝胶具有良好的热稳定性和力学强度, 在体温及稍高温度下仍保持稳定; 说明其结构致密、网络架构牢固, 可用于常规体表创伤修复; 而10%胶凝剂油凝胶初始 G'和 G''较低, 约100～200 Pa, 随温度升高持续下降; 60 ℃后 G'急剧下降, 70 ℃以上几乎丧失结构, G'跌落到 < 1 Pa, 且出现明显波动, 表明结构解体, 表明此油凝胶力学性能差, 热稳定性较差, 易随温度升高而塌陷; 网络结构相对20%胶凝剂油凝胶较松散, 抗热流变稳定性差。应变扫描结果显示, 在低应变区 (γ < 1%), 两组均呈现典型凝胶特征, G'均高于 G'', 20%体系的 G'平台值约为100 Pa, 10%体系降至约10 Pa (图1E、F), 表明胶凝剂浓度升高显著增强网络交联密度。两组 G'在 $\gamma \approx 1\%$ 处开始下降, 随后出现 G'-G''交叉, 20%样品的临界应变 γ 为5.6%, 而10%样品提前至2.1%; 高浓度样品在屈服后 G仍维持10 Pa以上, 提示更强的结构完整性。该结果证明, 将胶凝剂由10%提升至20%可将油凝胶的线性黏弹区扩大2.7倍, 并在高剪切后保留一定弹性骨架, 有利于在复杂创面中维持形态稳定并延长药物滞留时间。此外, 剪切黏度测试结果显示两种油凝胶均表现出典型的剪切变稀行为, 即随着剪切速率的增加, 体系黏度迅速下降。这一现象说明油凝胶内部形成了一定的空间网络结构, 在外力作用下可被破坏, 从而降低黏度, 是非牛顿流体的典型特征。在低剪切速率 (< 1 s^{-1}) 区间内, 20%胶凝剂油凝胶的黏度显著高于10%组, 表明更高的胶凝剂含量有助于形成更加致密和稳定的三维网络结构, 从而增强体系的抗流动性。这种高初始黏度对于需要维持形态稳定性的应用场景具有重要意义。随着剪切速率逐渐升高, 两组样品黏度均呈持续下降趋势, 但20%胶凝剂油凝胶组整体黏度始终高

10% 胶凝剂油凝胶组, 且其黏度下降速率略快, 提示其网络结构在高剪切条件下更容易塌陷。这可能与高浓度胶凝剂形成的较密结构在外力作用下更易发生断裂有关。综上所述, 提高胶凝剂浓度可显著增强油凝胶的初始黏度和结构强度, 赋予其更优异的成型性与黏附性。

1.5 油凝胶红外光谱分析 不同比例凝胶剂油凝胶在主要特征峰位处具有高度一致性 (图 1G), 表明体系中化学结构未发生明显变化。在 3 000～2 800 cm^{-1} 区域, 两个样品均出现两对特征性吸收峰, 对应于脂肪族 CH_2 和 CH_3-的对称与反对称伸缩振动, 其中位于 2 920 和 2 853 cm^{-1} 的峰是油脂分子链的典型特征。该区域峰形无明显位移, 说明油凝胶形成过程中主要为物理作用主导的自组装过程, 未引起脂质主链的化学变化。在 1 743 cm^{-1} 处出现的强吸收峰归属于酯羰基 (C=O) 伸缩振动, 是植物油三酰甘油结构的标志, 20% 样品此峰略增强, 可能与凝胶剂含量升高导致体系中酯类成分分布更集中有关。在 1 459 和 1 375 cm^{-1} 附近分别可见-CH_2-弯曲振动和-CH_3-弯曲振动的峰, 进一步验证了体系中脂质分子的存在。10% 和 20% 胶凝剂油凝胶在 3 300～3 200 cm^{-1} 区域均表现出较弱的宽峰, 表明可能存在少量-OH 或-NH-类氢键结构, 该现象可能来源于凝胶剂的羟基或氨基结构。与 10% 凝胶剂油凝胶相比, 20% 样品在该区域的吸收略增强, 暗示凝胶剂含量增加增强了氢键网络的构建能力, 有助于稳定三维凝胶网络。

1.6 油凝胶机械性能分析 利用试管倾斜法探究油凝胶的凝胶化性能。图 1H 表明, 10% 凝胶剂油凝胶倒置后无法长时间挂壁, 而 20% 凝胶剂油凝胶 30 min 未出现明显流动现象。试管斜置实验显示, 10% 和 20% 凝胶剂均能形成油凝胶且随凝胶剂用量增加油凝胶机械性能增强。

1.7 H-VP NPs 油凝胶表征 首先, 通过分子对接考察扁柏酚与 VP 的结合能, 结果表明, 二者能通过氢键、范德华力等分子间作用力结合, 结合能为−19.67 $kJ·mol^{-1}$ (图 2B), 表明二者能够自发紧密组装。由透射电子显微镜图像可知, 二者自组装形成的纳米粒粒径约为 50 nm。偏光显微镜图像显示, 载药油凝胶 20% 凝胶剂空白油凝胶呈现相似的交错排列纤维状晶体结构, 排列紧密且均匀 (图 2C), 表明 H-VP NPs 的加入不会影响油凝胶的内部结构。同样, 加入 H-VP NPs 的油凝胶倒置 30 min 仍然挂壁 (图 2D) 且具有良好的机械性。

1.8 H-VP NPs 油凝胶荷载量、包埋率及释放曲线 油凝胶的荷载量和包埋率是评价其药物递送效率和负载能力的关键指标, 直接关系到其治疗效果、释放性能及应用价值。因此, 考察了 20% 凝胶剂油凝胶基质中扁柏酚和 VP 的载药量和包封率。从图 2E、F 可知, 扁柏

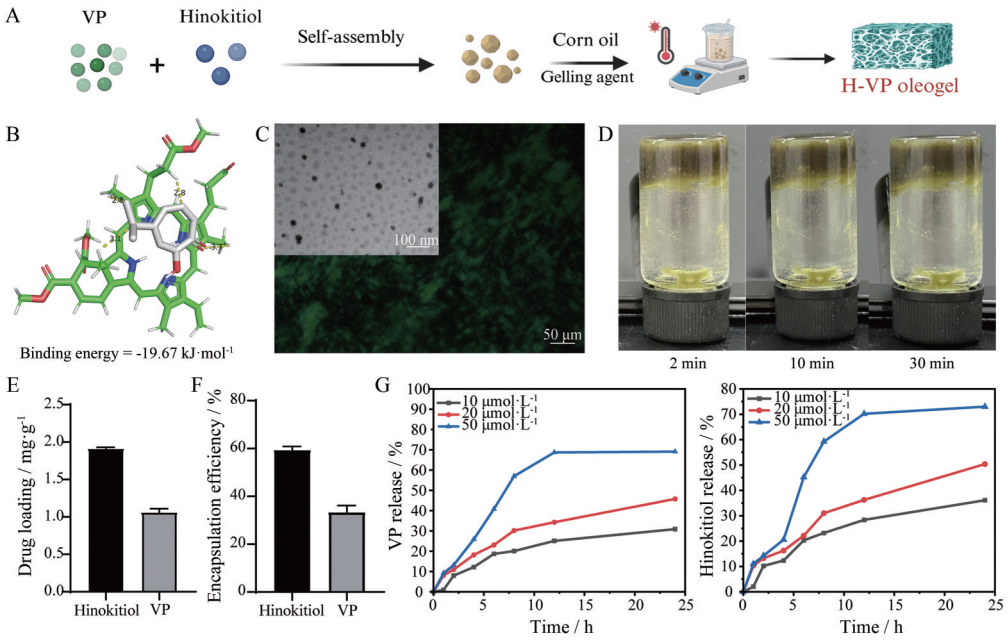


Figure 2 Fabrication and Characterization of H-VP oleogel. A: Schematic illustration of the preparation process of the H-VP oleogel; B: Molecular docking images and binding energies showing the self-assembly interaction between hinokitiol and VP; C: TEM image of H-VP nanoparticles and polarized optical microscopy image of the oleogel; D: Photographs of the gel state after inversion at different time points; E, F: Encapsulation efficiency and drug loading content of hinokitiol and VP in the oleogel; G: Release profiles of VP and hinokitiol from the oleogel under different concentrations of H_2O_2. n = 3. VP: Verteporfin; H-VP: Hinokitiol-verteporfin

酚和VP的荷载量分别为1.93 ± 0.1、1.07 ± 0.31 mg·g^{-1}; 包埋率分别为 (56 ± 2.01)%、(34 ± 1.56)%。此外, 为考察H-VP NPs油凝胶的ROS响应释放特性, 分别选用10、20、50 μmol·L^{-1}的H_2O_2作为释放介质进行了释药行为研究。如图2G所示, 在逐渐增强的活性氧环境中, H-VP NPs油凝胶中VP的累积释放百分比分别约为28.6%、42.3%和69.8%, 呈现出明显的H_2O_2浓度依赖性释放趋势, 表明该凝胶系统在氧化应激条件下能够实现有效响应性释放药物。

2 H-VP NPs油凝胶的体外抗菌性能探究

H-VP NPs油凝胶响应活性氧释放药物后, 扁柏酚作为中药多酚结构, 易于Fe^{3+}螯合形成金属螯合物, 该螯合物具有良好的破膜作用, 致使MRSA菌膜胀破死亡 (图3A)。首先采用微量肉汤稀释法对MRSA进行初步的体外抑菌实验, 如图3B～D所示, 当扁柏酚质量浓度达到32 μg·mL^{-1}时, 其单独使用时表现出一定的抑菌活性, 抑菌率约为80%。然而, 而在铁离子共存的情况下, 同样浓度的H-VP自组装纳米粒抑菌率可达96.7%。值得注意的是, 在慢性感染伤口微环境中, 铁离子呈富集状态已被多项研究证实, 细菌在感染部位常通过表达特异性受体或分泌铁, 主动从宿主组织摄取铁离子, 以维持其氧化还原平衡和代谢稳定性[18,19]。为更贴近真实病理条件, 本研究在体外实验中外源添加50 μmol·L^{-1} Fe^{3+}以模拟感染创面中铁离子富集的环境, 并考察其对抗菌效果的影响。之后通过SYTO9/PI染色考查了不同组处理后MRSA的活死情况, 活死染色结果 (图3E、F) 显示, control、Fe^{3+}和VP处理组中, 细菌基本保持存活状态, 说明三价铁离子和VP本身不具有杀菌活性。扁柏酚组可引起一定程度的细菌死亡, 表现出较强的抗菌活性。H-VP NPs处理组中, 细菌死亡显著增加, 表明Fe^{3+}与扁柏酚协同作用显著增强了后者的抗菌活性, 可能与金属螯合物介导的膜破坏或氧化应激有关。为更加直观的观察细菌膜的涨破情况, 通过扫描电子显微镜观察处理后细菌的形态。从图3G结果显示, 对照组、加Fe^{3+}和VP组中细菌呈现完整的球状, 细菌膜完整, 而扁柏酚和H-VP NPs组出现了大量菌膜破碎的情况, 表明扁柏酚–金属螯合物促进了细菌膜的通透性从而导致细菌死亡。

3 H-VP油凝胶的体内药效学探究

伤口闭合率是衡量伤口修复进程的重要指标之一。受细菌感染的伤口通常愈合缓慢, 若能有效抑制感染, 将显著提升愈合速度, 使其接近于无感染状态下的修复水平[17]。在伤口感染后第6天, 对照组、10%凝胶剂油凝胶组、20%凝胶剂油凝胶组的伤口闭合率均较低, 而VP和H-VP油凝胶组伤口出现明显的愈合, 且瘢痕不明显 (图4B), 表明H-VP显著促进了伤口愈合进程, 愈合率高达96.4% (图4C、D)。同时, 图4E、F显示, 在治疗后期, 伤口组织细菌涂板仍能看见大量菌落, 表明未处理伤口MRSA会持续生长, 而扁柏酚组可能因为结合了伤口表面富集的Fe^{3+}, 加速了伤口表面细菌的死亡。上述结果表明, 清除细菌能加速感染伤口的闭合过程, 具有良好的促愈合潜力。后续通过伤口组织病理学切片考察伤口愈合情况。

通过H&E染色观察伤口组织形态与细胞结构 (图5A)[20], control组可见明显的组织紊乱, 可能存在炎症细胞浸润、组织损伤, 提示感染的发生和进展; 而不同凝胶剂比例的空白油凝胶组中, 20%凝胶剂组的细胞排列较为有序, 可能与凝胶剂中β-谷甾醇的抗炎作用相关。此外, H-VP组表现出最佳的组织修复效果。伤口中新生结缔组织的形成情况是伤口修复的关键指标。Masson染色可用来比较不同处理组在伤口修复中是否促进或抑制胶原生成。胶原越多, 蓝色区域越深, 面积越大, 说明纤维化越严重或修复越活跃。从图5B可以看出对照组的胶原纤维分布零散、密度低, 且与周围组织分界模糊, 表明细菌感染后伤口胶原重构障碍, 而10%、20%油凝胶组胶原纤维逐渐密集、排列更规整, 表明抗炎作用伴随着一定的胶原纤维生长作用, VP组蓝色胶原区域显著增多且结构清晰, 说明VP抑制YAP能促进胶原沉积与有序重构, H-VP油凝胶组因杀菌辅以VP的YAP抑制作用, 进一步加快了组织修复, 表现出更优的治疗效果。天狼星红染色用于考察胶原亚型与成熟度评估伤口修复过程中的胶原生成, 尤其适合在皮肤或黏膜组织中观察胶原再生与排列结构, 可区分排列紊乱的瘢痕组织与正常重建的胶原网络[21]。从图5C可以看出, VP、H-VP组红色胶原密集、染色深, 说明药物可促进I型胶原成熟, 增强组织力学稳定性。因油凝胶凝胶剂本身具有良好的抗炎作用, 通过TNF-α免疫组化考察炎症水平 (图5D), control组棕褐色阳性染色广泛且深, 提示感染诱导的促炎因子高表达, 炎症反应强烈。且相较于10%凝胶剂组, 20%凝胶剂油凝胶显著降低了炎症因子表达, 表明其能抑制炎症因子释放, 减轻组织炎性损伤。为进一步验证H-VP油凝胶在瘢痕抑制及表皮完整性重建中的作用, 对胶原亚型 (I型/III型) 比例与毛囊/腺体再生进行了定量分析。通过偏振光显微镜对天狼星红染色伤口组织切片观察后定量分析, 结果显示, control组创面I型胶原显著高表达, I/III型胶原比值接近3, 与正常皮肤组织的I/III型胶原比值相差较大 (图5E), 提示瘢痕化趋势明显; H-VP组给药后I型胶原显著减少, I/III比值降至1.12, 接近正常皮肤比值1.08, 表明胶原

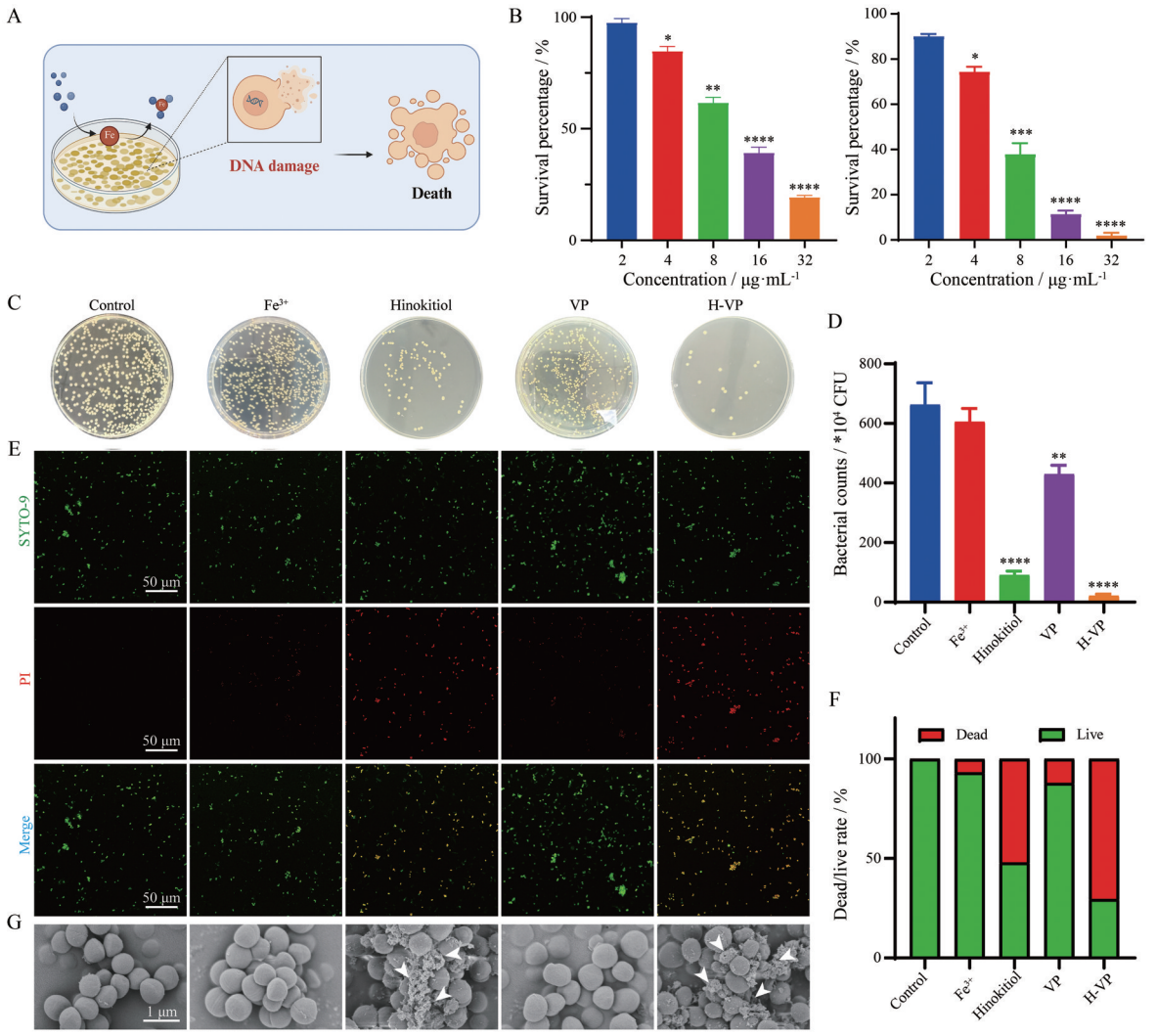


Figure 3 Evaluation of *in vitro* antibacterial activity. A: Schematic illustration of the antibacterial mechanism by which Hinokitiol chelates Fe^{3+} to disrupt methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA); B: Inhibition rates of H-VP nanoparticles at different concentrations, with and without Fe^{3+} (left panel: without Fe^{3+}, right panel: with Fe^{3+}); C: Bacterial colony formation assay after treatment with different groups; D: Quantitative analysis of colony counts; E, F: Live/dead staining and corresponding quantification of MRSA after various treatments. Scale bar = 50 μm; G: Scanning electron microscope (SEM) images showing morphological changes of MRSA after treatment. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.000\ 1$ *vs* control group

成熟与排列更有序, 瘢痕形成显著受抑。此外, 通过对H&E切片上皮肤腺体及毛囊计数考察伤口皮肤的表皮再生完整性, 结果显示, H-VP组新生毛囊及皮脂腺密度为每10 mm^2 396个, 显著高于control组每10 mm^2 46个 (图5F)。以上结果表明, H-VP油凝胶可有效改善组织病理结构、促进胶原重构、抑制炎症, 加速伤口愈合并且减轻瘢痕组织。

讨论

细菌引起的慢性伤口感染因其顽固的耐药性、持续的炎症级联反应及紊乱的组织修复进程, 已成为临床治疗的重大挑战。此类创面不仅需要强效清除病原体以阻断感染源, 更需同步调控炎症微环境、促进胶原有序再生以实现功能性愈合。这一过程涉及复杂的抗菌−抗炎−再生协同机制, 其关键在于: 单一抗菌策略难以应对细菌生物膜屏障及耐药演化, 而过度炎症反应与失控的纤维化又会加剧瘢痕增生。本研究基于扁柏酚和VP各自的作用机制, 构建了H-VP纳米复合物, 期望通过协同抗感染与抗瘢痕机制, 加速MRSA感染创面的功能性修复。研究结果表明, 该纳米复合系统不仅在抗菌实验中表现出显著抑制MRSA生长的能力, 且能有效抑制YAP/TAZ信号通路, 降低成纤维细胞活化, 从而在抑菌的同时实现瘢痕形成的干预。

在治疗系统的递送方面, 本研究引入了一种以油

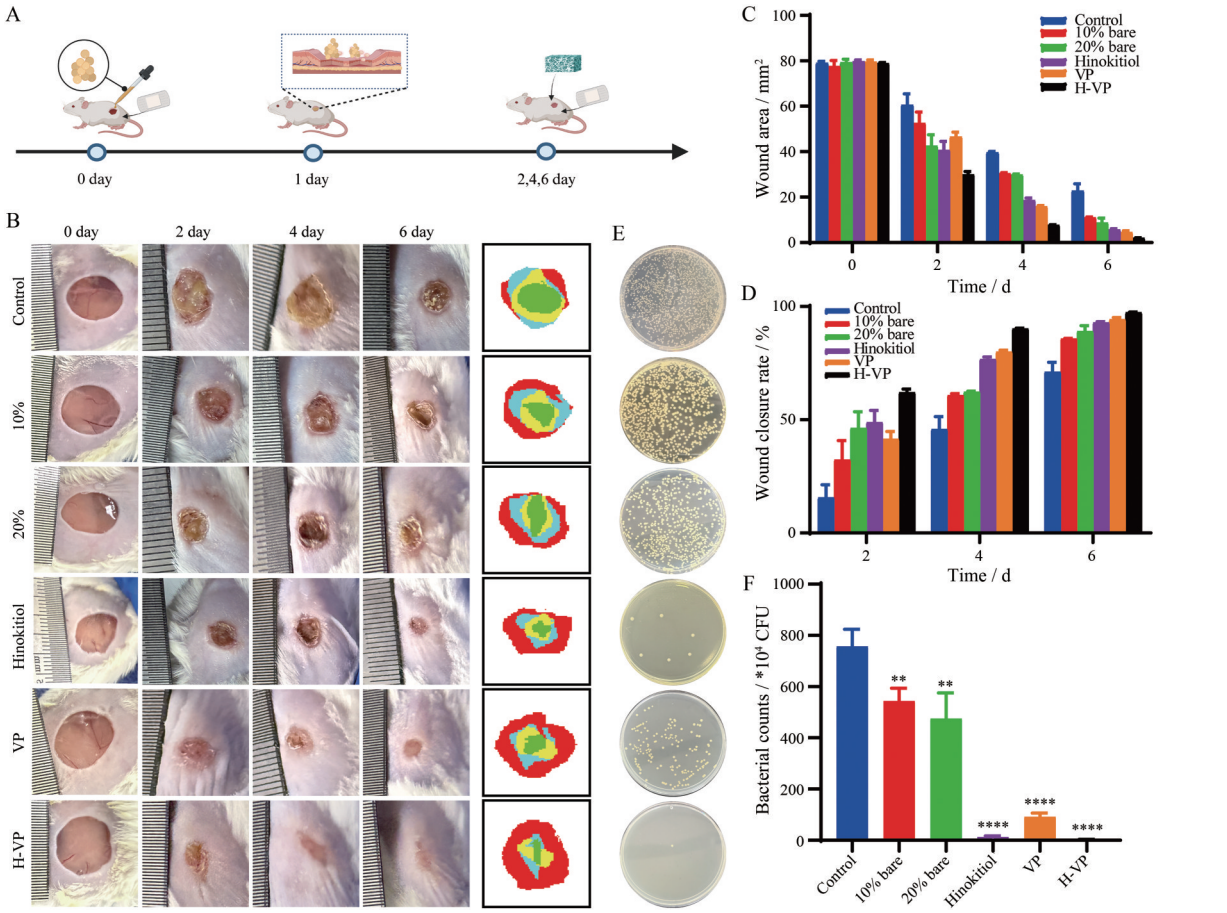


Figure 4 *In vivo* therapeutic evaluation of H-VP oleogel. A: Schematic illustration of the establishment of a bacterial-infected wound model in mice and the treatment regimen; B–D: Wound appearance at different time points post-treatment and comparison of wound area and healing progression among groups; E, F: Bacterial colonization in wound tissues after treatment and corresponding quantitative analysis. $n = 5$, $\bar{x} \pm s$. $^{**}P < 0.01$, $^{****}P < 0.000\ 1$ *vs* control group

凝胶为载体的给药平台。与传统水凝胶或水乳体系相比, 油凝胶具有优异的疏水性、良好的皮肤附着性及可调控的释放性能, 尤其适合用于渗出液丰富或表面不规则的慢性创面。此外, 油凝胶作为疏水环境中的分散介质, 有助于稳定疏水性纳米粒子的分布, 避免其在皮肤表面形成不均匀沉积, 从而增强其与创面组织的接触面积并提高治疗效能。本研究构建的H-VP NBs嵌合油凝胶在体外释放实验中表现出良好的控释性能, 可实现药物的有效释放, 同时在动物感染模型中显示出优良的创面贴合性与生物相容性, 有助于延长药物在感染部位的滞留时间, 提升治疗效率。

从作用机制角度看, 扁柏酚在感染区域可通过螯合富集铁离子、破坏细菌膜结构并诱导DNA损伤来实现直接的杀菌效应, 尤其适用于MRSA等多重耐药菌株的清除; VP则在无光条件下通过抑制YAP/TAZ信号通路干预成纤维细胞的活化及胶原异常沉积, 减少瘢痕形成并促进组织再生。这种“以病理特征为靶点”的协同机制既有效清除了感染源, 又重构了有利于组织修复的细胞微环境, 为复杂创面的治疗提供了新的策略。此外, 动物实验结果也进一步验证了该系统的有效性。在MRSA感染小鼠创面模型中, 油凝胶递送的H-VP NBs可显著减少伤口区域的细菌负载, 降低炎症程度, 同时促进血管生成与胶原有序沉积, 最终加快愈合进程并降低瘢痕形成风险。免疫组化等结果也支持了上述分子机制推测, 表明该治疗系统不仅在宏观层面上改善创面形态, 更在细胞与分子水平实现了对创面微环境的精准调控。

本研究构建了一种具备ROS响应特性的HVP纳米嵌合油凝胶递药系统, 通过扁柏酚与VP的联合作用, 实现了针对MRSA感染创面的抗菌、抗炎与抗瘢痕多维协同治疗。该系统不仅高效清除了MRSA感染源, 还抑制了YAP/TAZ信号通路介导的成纤维细胞异常活化, 促进血管生成与胶原有序沉积, 从而显著提升创面修复质量。油凝胶载体的引入有效改善了传统

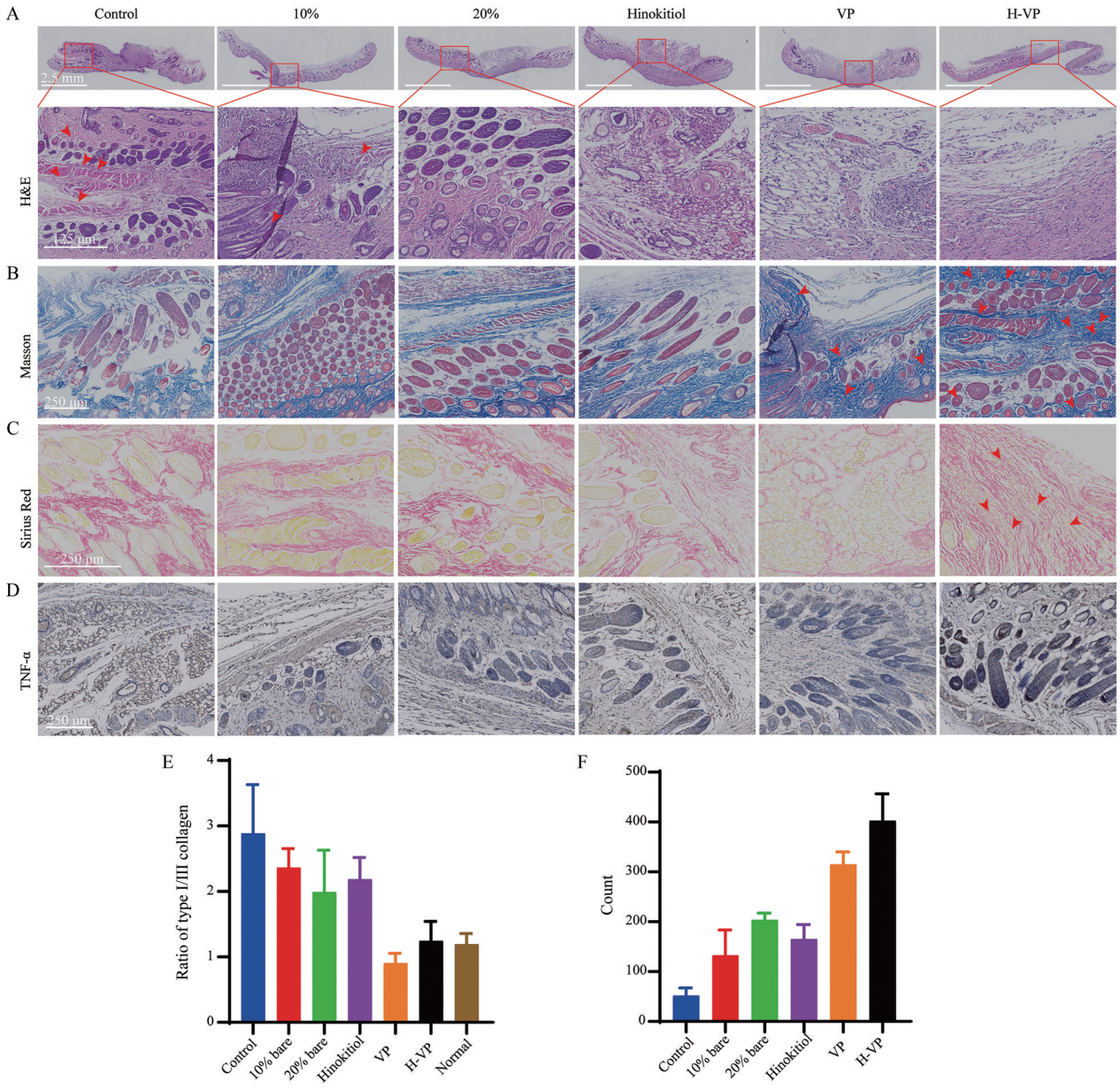


Figure 5 Histopathological analysis of wound tissues after different treatments. A: H&E staining of wound tissues. Scale bar = 125 μm; B: Masson's trichrome staining of wound tissues. Scale bar = 250 μm; C: Sirius red staining to evaluate collagen deposition and scar formation. Scale bar = 250 μm; D: Immunohistochemical staining of TNF-*α* expression at the wound site. Scale bar = 250 μm; E: Sirius red staining for the ratio of type I to type III collagen; F: Number of hair follicles and glands in 10 mm^2 wound tissue sections. $n = 5$, $\bar{x} \pm s$

外用制剂在慢性创面中的滞留与贴附问题，确保纳米粒子的稳定释放与治疗成分的精准作用，并克服了局部滞留时间短、适应性差等瓶颈。整体而言，该智能响应递药系统在功能性愈合、瘢痕抑制及感染控制方面均展现出良好潜力，为复杂创面环境下的精准治疗提供了切实可行的策略与新思路。

作者贡献：任玮晔负责文献查阅、实验设计、实验操作、数据分析、论文初稿撰写；程苇钇负责实验操作、样品采集和论文后续修改；陈井泉、何李婷负责实验操作、文章图表格式处理；朴寄纲参与论文修改；包丹丹、魏颖慧参与理论指导、实验设计、论文修改及论文定稿。

利益冲突：本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

[1] Gribonika I, Band VI, Chi L, et al. Skin autonomous antibody production regulates host-microbiota interactions [J]. Nature, 2025, 638: 1043-1053.

[2] Harris-Tryon TA, Grice EA. Microbiota and maintenance of skin barrier function [J]. Science, 2022, 376: 940-945.

[3] Del Giudice P. Skin infections caused by *Staphylococcus aureus* [J]. Acta Derm Venereol, 2020, 100: adv00110.

[4] Ting GW, Xue LJ, Dan HY, et al. 3D printed *Bdellovibrio bacteriovorus* hydrogel for treatment of infected combined radiation and burn injury [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2025, 60: 1262-1271.

[5] Adedeji-Olulana AF, Wacnik K, Lafage L, et al. Two codependent routes lead to high-level MRSA [J]. Science, 2024, 386: 573-580.

[6] Chen CH, Chen L, Mao CY, et al. Natural extracts for antibacterial applications [J]. Small, 2024, 20: e2306553.

[7] Grillo AS, SantaMaria AM, Kafina MD, et al. Restored iron transport by a small molecule promotes absorption and hemoglobinization in animals [J]. Science, 2017, 356: 608-616.

[8] Qin M, Shao B, Lin L, et al. Molecular mechanism of the unusual biphasic effects of the natural compound hinokitiol on iron-induced cellular DNA damage [J]. Free Radic Biol Med, 2023, 194: 163-171.

[9] Choi J, Ryu S. Regulation of iron uptake by fine-tuning the iron responsiveness of the iron sensor fur [J]. Appl Environ Microbiol, 2019, 85: 9.

[10] Tong ZX, Lt L, Xuan ZW, et al. Research progress on siderophore-antibiotic conjugates [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2021, 56: 3004-3013.

[11] Price G, Anastasiadou M, Sudhir S, et al. ITVT-02. Elucidating the pleiotropic effects of verteporfin photodynamic therapy in preclinical glioblastoma models [J]. Neuro-Oncology, 2021, 23: 228-229.

[12] Talukdar PD, Pramanik K, Gatti P, et al. Precise targeting of transcriptional co-activators YAP/TAZ annihilates chemoresistant brCSCs by alteration of their mitochondrial homeostasis [J]. Signal Transduct Target Ther, 2025, 10: 61.

[13] McNeill H, Reginensi A. Lats1/2 regulate Yap/Taz to control nephron progenitor epithelialization and inhibit myofibroblast formation [J]. J Am Soc Nephrol, 2017, 28: 852-861.

[14] Chen K, Liu YH, Liu XH, et al. Hyaluronic acid-modified and verteporfin-loaded polylactic acid nanogels promote scarless wound healing by accelerating wound re-epithelialization and controlling scar formation [J]. J Nanobiotechnology, 2023, 21: 241.

[15] Sivakanthan S, Fawzia S, Madhujith T, et al. Synergistic effects of oleogelators in tailoring the properties of oleogels: a review [J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2022, 21: 3507-3539.

[16] Xiao WY, Wan XZ, Shi LX, et al. A viscous-biofluid self-pumping organohydrogel dressing to accelerate diabetic wound healing [J]. Adv Mater, 2024, 36: e2401539.

[17] Peña OA, Martin P. Cellular and molecular mechanisms of skin wound healing [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2024, 25: 599-616.

[18] Fang G, Dong QR, Shen XM, et al. Modulation of bacterial iron homeostasis to enhance cuproptosis-like death for the treatment of infected diabetic wound [J]. ACS Nano, 2025, 19: 15578-15595.

[19] Temel A, Aksoyalp Z. A preliminary study on the effect of deferoxamine on the disruption of bacterial biofilms and antimicrobial resistance [J]. Turk J Pharm Sci, 2024, 21: 267-273.

[20] Schmauch B, Romagnoni A, Pronier E, et al. A deep learning model to predict RNA-Seq expression of tumours from whole slide images [J]. Nat Commun, 2020, 11: 3877.

[21] Zhang Y, Wang SQ, Yang YX, et al. Scarless wound healing programmed by core-shell microneedles [J]. Nat Commun, 2023, 14: 3431.