

· 实验研究 ·

醛基化透明质酸修饰的抗菌碳点滴眼液治疗小鼠细菌性角膜炎效果评估

储丹丹 陈会营 李竞帆 王梦珂 栗占荣 李景果

河南省人民医院眼科 河南省立眼科医院 郑州大学人民医院, 郑州 450003

通信作者: 李景果, Email: lijingguo@zzu.edu.cn

【摘要】 目的 制备醛基化透明质酸修饰的抗菌碳点(AHA-CDs)滴眼液并评估其体内抗金黄色葡萄球菌效果。**方法** 通过对小粒径正电荷碳点进行修饰,引入醛基化透明质酸,合成AHA-CDs滴眼液。通过透射电子显微镜、傅里叶红外光谱和X射线光电子能谱等方法对AHA-CDs进行表征。采用微量稀释法、平板计数法和活/死菌荧光染色法检测AHA-CDs的体外抗金黄色葡萄球菌效果。选取普通级6~8周龄C57BL/6雌性小鼠18只,环钻标记后去除角膜上皮接种金黄色葡萄球菌建立小鼠细菌性角膜炎模型,采用随机数字表法将其分为空白对照组、AHA-CDs治疗组和妥布霉素治疗组,每组6只,分别用磷酸盐缓冲液、80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ AHA-CDs和80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 妥布霉素滴眼液每日点眼3次,连续给药5 d,以评估体内抗金黄色葡萄球菌效果。另取小鼠12只,采用随机数字表法将其分为AHA-CDs组和正常对照组,每组6只,分别采用80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ AHA-CDs和磷酸盐缓冲液连续点眼7 d后处死小鼠并摘取眼球,采用苏木精-伊红染色法观察并比较2个组小鼠眼球各组织形态和完整性,以评估AHA-CDs滴眼液的安全性。**结果** 透射电子显微镜、傅里叶红外光谱和X射线光电子能谱等表征证明了AHA-CDs的成功制备。体外研究表明,AHA-CDs对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度约为8 $\mu\text{g}/\text{ml}$,在较低质量浓度下即可有效抑制细菌生长。平板计数法结果显示,AHA-CDs作用于细菌后10 min活菌比例降至20%。活/死菌荧光染色结果显示,经AHA-CDs和SP-CDs处理后4 h,均呈现明显的红色荧光信号。体内研究表明,使用AHA-CDs滴眼液治疗后5 d,小鼠角膜明显恢复透明,角膜上皮基本修复,妥布霉素治疗组仍存在上皮修复不完全及轻度角膜水肿现象。体内安全性评估显示,AHA-CDs处理后眼部组织形态完整,未见结构异常。**结论** AHA-CDs滴眼液具有优越的体内抗细菌效果,可快速有效地灭活细菌。

【关键词】 细菌性角膜炎; 小鼠; 抗菌剂; 碳点; 滴眼液; 安全性**基金项目:** 国家自然科学基金(52173143、82371108)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20241016-00291

Efficacy evaluation of aldolylated hyaluronic acid-modified antibacterial carbon dots eye drops for mouse bacterial keratitis

Chu Dandan, Chen Huiying, Li Jingfan, Wang Mengke, Li Zhanrong, Li Jingguo

Department of Ophthalmology, Henan Provincial People's Hospital, Henan Eye Hospital, People's Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, China

Corresponding author: Li Jingguo, Email: lijingguo@zzu.edu.cn

[Abstract] Objective To prepare aldolylated hyaluronic acid-modified antimicrobial carbon dots (AHA-CDs) eye drops and evaluate its antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* *in vitro* and *in vivo*. **Methods** AHA-CDs eye drops were synthesized by modifying small particle size positively charged carbon dots and introducing aldehyde-based hyaluronic acid. The AHA-CDs were characterized by transmission electron microscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, and X-ray photoelectron spectroscopy. The antibacterial activity of AHA-CDs against *Staphylococcus aureus* was evaluated using the microdilution method, plate counting, and live-dead bacteria fluorescence staining *in vitro*. The mouse bacterial keratitis model was established by removing the corneal epithelium after ring drilling and inoculating *Staphylococcus aureus*. Eighteen conventional female C57BL/6 mice aged 6–8 weeks were selected and divided into a blank control group, an AHA-CDs-treated group and a tobramycin-treated group of 6 mice each using random number table method, and the mice were treated with phosphate buffer saline, 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ AHA-CDs, and 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ tobramycin eye drops three times daily for 5 consecutive days accordingly to assess



antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* *in vivo*. Another 12 mice were divided into an AHA-CDs group and a normal control group using the random number table method, with 6 mice in each group, which were treated with 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ AHA-CDs and phosphate buffer saline for 7 days. The mice were then sacrificed. Their eyeballs were removed and stained with hematoxylin-eosin to observe and compare the morphology and integrity of the eyeballs between the two groups to evaluate the treatment's biosafety. The use and care of the animals complied with the principles of the ARRIVE guidelines. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Experimental Animal Care of Henan Eye Hospital (No. HNEECA-2022-17). **Results** The successful preparation of AHA-CDs was demonstrated by transmission electron microscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, and X-ray photoelectron spectroscopy. *In vitro* studies showed that the minimum inhibitory concentration of AHA-CDs against *Staphylococcus aureus* was approximately 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$, which effectively inhibited bacterial growth at a lower concentration. Plate counting results showed that only 20% of the bacteria survived after 10 minutes of treatment with AHA-CDs. Fluorescence staining of live/dead bacteria showed obvious red fluorescence signals after 4 hours of treatment with AHA-CDs and SP-CDs. *In vivo* studies showed that, after 5 days of treatment with AHA-CDs eye drops, the corneas of mice with bacterial keratitis were obviously transparent, and the corneal epithelium was basically repaired. In contrast, the tobramycin-treated group exhibited incomplete epithelial repair and mild corneal edema. *In vivo* safety evaluation revealed that the eye tissue morphology remained intact and no structural abnormalities were observed after AHA-CDs treatment. **Conclusions** AHA-CDs eye drops have superior antibacterial effects *in vivo* and *in vitro*, and inactivate bacteria rapidly and effectively.

[Key words] Bacterial keratitis; Mice; Antibacterial agents; Carbon dots; Eye drops; Safety

Fund program: National Natural Science Foundation of China (52173143, 82371108)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20241016-00291

细菌性角膜炎 (bacterial keratitis, BK) 是导致角膜盲的主要原因之一, 约占感染性角膜炎病例的 90%^[1-2]。细菌通过释放蛋白酶和毒力因子破坏角膜上皮屏障, 启动感染过程, 导致炎症和组织破坏。若不及时治疗, 可能导致严重后果, 如角膜穿孔、眼内炎、视力丧失, 甚至眼球摘除^[3-4]。局部使用抗生素滴眼液是目前临床上治疗 BK 的主要方法。然而, 由于抗生素耐药性的出现以及眼部固有的泪膜屏障、角膜屏障等因素导致药物生物利用度较低, 严重影响了治疗效果^[5-7]。此外, 角膜感染的快速进展以及缺乏快速得出药敏结果的技术常常延误早期治疗时机^[8-10]。因此, 开发出具有高效抗菌活性且不易产生耐药性的新型抗菌剂型刻不容缓。

碳点 (carbon quantum dots, CDs) 具有优异的荧光特性、极小的尺寸 (<10 nm) 以及良好的生物相容性, 在治疗眼部感染方面具有巨大优势^[11-12]。本团队在前期研究中制备了一种非抗生素纳米药物体系-正电荷修饰的小尺寸碳点 (small positively charged carbon dots, SP-CDs), 成功用于真菌性角膜炎的治疗^[13]。为进一步解决抗菌药物在眼表滞留时间短、生物利用度低以及毒性大的局限性, 本研究拟对 SP-CDs 进行修饰。透明质酸 (hyaluronan, HA) 作为治疗干眼的重要成分, 其独特的生物黏附性、生物相容性和受体识别特性能够降低药物的刺激性, 实现缓释效果^[14-16]; 另一方面醛基与 SP-CDs 表面氨基基团形成动态亚胺键,

增加 SP-CDs 在眼表的滞留, 减少给药频次。因此, 本研究拟以 SP-CDs 为基底“药物”, 引入醛基化透明质酸 (aldehydyluronic acid, AHA) 合成新型 AHA-CDs 滴眼液, 通过体内外实验对 AHA-CDs 滴眼液的抗菌性能进行评估, 以期对相关问题的解决提供新方案。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选取经裂隙灯显微镜检查眼表正常, 无白内障、角膜混浊和角膜白斑等病变的 6~8 周龄普通级 C57BL/6 雌性小鼠 30 只, 体质量 20~25 g, 由郑州市惠济区华兴实验动物农场提供。所有小鼠均饲养在室温光照/暗循环 12 h 的环境中, 给予充足的食物和水。实验动物的喂养和使用均遵循 ARRIVE 指南进行, 本研究方案经河南省立眼科医院实验动物伦理委员会审核批准 (批文号: HNEECA-2022-17)。

1.1.2 主要试剂及仪器 柠檬酸 (郑州派尼有限公司); 97% 聚乙二醇-400、活/死菌染色试剂盒 (L7012) (北京索莱宝有限公司); L-谷胱甘肽 (L-glutathione, L-GSH)、多乙烯多胺 (polyethylene polyamine, PEPA)、HA、高碘酸钠、乙二醇 (北京百灵威科技有限公司); 金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 由河南省立眼科医院微生物室提供。ECLIPSE8i 荧光显微镜、EnVision 型酶标仪 (日本 Nikon 公司); OMS-90 手术显微镜 (日本 Topcon 公司)。

1.2 方法

1.2.1 AHA-CDs 的合成 利用阶段熔融法,以一水合柠檬酸与 L-GSH 作为前驱体,并引入 PEPA 作为表面钝化剂,成功制备出具有正电荷的 SP-CDs^[13]。将 0.1 g HA 在 100 ml 水中避光搅拌 1 h 溶解,加入 0.05 g 高碘酸钠混合后避光反应 2 h。用 100 μ l 乙二醇终止反应,透析 3 d,冷冻干燥得到 AHA,4 $^{\circ}$ C 保存。将 SP-CDs 分散在纯水中,加入 AHA,使其质量分数为 0.01%,搅拌过夜,即可得到 AHA-CDs 滴眼液。

1.2.2 AHA-CDs 的结构表征观察 采用透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 观察 AHA-CDs 的微观形貌,采用 ImageJ 软件测量 AHA-CDs 粒径,观察 AHA 的引入对 SP-CDs 的形态特征及结构组成所产生的影响。利用傅里叶红外光谱仪分析 AHA-CDs 的表面官能团,研究 AHA-CDs 的结构特征。采用 X 射线光电子能谱 (X-ray photoelectron spectroscopy, XPS) 技术对 AHA-CDs 进行表征,分析 AHA 对 CDs 结构和原子价态的影响;采用马尔文激光粒度仪和电泳光散射 (electrophoretic light scattering, ELS) 技术对 AHA-CDs 的 Zeta 电位进行表征并测定其电位分布情况。

1.2.3 AHA-CDs 的光学特性表征 为了确定 AHA-CDs 的最佳激发波长和发射波长,进行吸收光谱分析和发射光谱分析。利用紫外可见分光光度计,在 300~1 100 nm 波长区间对 CDs 进行光谱扫描,通过分析紫外吸收光谱,确定其最佳激发波长。将 AHA-CDs 配制成特定浓度的水溶液,通过调节其激发波长,测定发射光谱,以确定最佳荧光发射条件。

1.2.4 *S. aureus* 菌液制备 将 *S. aureus* 冻存菌种复苏转移至琼脂平板上,在 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中过夜培养。随后取单菌落于 LB 培养基中摇床培养 10 h 至对数期,稀释至 1.5×10^7 CFU/ml 用于实验,此时用酶标仪测得波长 600 nm 下的吸光度 (absorbance, A) 为 0.1。

1.2.5 最低抑菌浓度测定 在 96 孔板每个孔中加入 100 μ l *S. aureus* 菌液 (1×10^7 CFU/ml),然后向孔板中依次添加用无菌培养基稀释的 100 μ l 不同浓度的 SP-CDs 和 AHA-CDs 药物溶液,药物溶液终质量浓度依次为 128.0、64.0、32.0、16.0、8.0、4.0、2.0、1.0 和 0.5 μ g/ml,其中仅添加培养基者作为阴性对照组,放置在 37 $^{\circ}$ C 培养箱中孵育 12 h。用酶标仪测定每孔的 A_{600} ,计算 *S. aureus* 活性。 $S. aureus$ 成活率 (%) = $(A_{\text{药物} 12 \text{ h}} - A_{\text{药物} 0 \text{ h}}) / (A_{\text{对照} 12 \text{ h}} - A_{\text{对照} 0 \text{ h}}) \times 100\%$ 。实验重复 3 次。

1.2.6 生长曲线测定 在 96 孔板每个孔中加入等量 100 μ l 新鲜培养基配制的 *S. aureus* 菌液 ($1 \times$

10^7 CFU/ml),然后向孔板中依次添加用培养基稀释的 100 μ l 不同浓度的 SP-CDs 和 AHA-CDs 药物溶液,药物溶液终质量浓度依次为 64、32、16、8 和 0 μ g/ml,其中仅添加培养基者作为阴性对照组,放置在 37 $^{\circ}$ C 培养箱中培养,在 0、2、4、6、8、10、12、24 h 时,采用酶标仪测定 600 nm 处的 A 值,结合时间与 A_{600} 的变化绘制生长曲线。

1.2.7 杀菌曲线测定 通过平板计数法评估 SP-CDs 和 AHA-CDs 对 *S. aureus* 的抑菌效果。将 *S. aureus* 与 2 种 CDs 溶液 (终质量浓度为 40 μ g/ml) 混合,置于 37 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中孵育。分别在 10、20、30、60、120 min 时取样 100 μ l,稀释 1 000 倍后均匀涂布于培养基平板上,37 $^{\circ}$ C 培养 12 h 后对菌落进行拍照并计数。根据菌落形成数量分析 SP-CDs 和 AHA-CDs 对 *S. aureus* 的抑菌时效。

1.2.8 活/死菌荧光染色 采用活/死菌染色试剂盒对 AHA-CDs 与 SP-CDs 处理后的 *S. aureus* 进行染色,进一步评估抗菌效果。SYTO 9 用于标记活死细胞,碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 标记细胞膜受损的死菌。取 500 μ l 新鲜 *S. aureus* 细菌悬浮液于 1.5 ml 离心管中,向离心管中各加入 500 μ l 无菌磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer saline, PBS)、SP-CDs 溶液以及 AHA-CDs 溶液 (质量浓度为 40 μ g/ml),充分混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱中孵育 4 h。孵育结束后,1 500 g 离心 5 min,对细菌细胞洗涤 3 次,使用活/死菌染色试剂盒中的 SYTO 9 染料和 PI 在避光条件下染色 15 min。离心去除多余染料后,通过荧光显微镜观察细菌的染色状态。

1.2.9 体内抗菌效果评估 建立 BK 模型以评估 AHA-CDs 是否具有体内抗菌效果。对小鼠进行全身麻醉、剪胡须、消毒,并行角膜表面麻醉以暴露角膜。在手术显微镜下采用 2 mm 环钻标记法标记右眼角膜,左眼不作任何处理作为对照。使用 45 $^{\circ}$ 刀刮除标记区域的角膜上皮,深度至浅基质层,并涂抹 *S. aureus* 以建立角膜炎模型。第 0 天 (12 h 后),将 18 只小鼠采用随机数字表法随机分为空白对照组、AHA-CDs 治疗组和妥布霉素治疗组,每组 6 只,分别给予 PBS、80 μ g/ml AHA-CDs、80 μ g/ml 妥布霉素滴眼液各 5 μ l 点眼,每天 3 次,共 5 d。采用裂隙灯显微镜观察造模后第 0、1、2、3、5 天各组角膜病灶大小、角膜混浊及病变深度、角膜新生血管形成等情况。

1.2.10 组织安全性实验 另取 12 只小鼠,采用随机数字表法随机分为 AHA-CDs 组和正常对照组,每组 6 只,分别给予 80 μ g/ml AHA-CDs 和 PBS 各 5 μ l 点眼,连续使用 7 d,过量麻醉处死小鼠并摘取眼球,使

用 FAS 固定液固定 2 d, 石蜡包埋, 5 μm 厚矢状面切片。采用苏木精-伊红染色, 观察并比较 2 个组小鼠眼球各组织的炎症及毒性反应。

2 结果

2.1 AHA-CDs 的结构表征

TEM 观察结果显示, AHA-CDs 为分散性良好的准球面纳米颗粒, 其平均粒径为 3.84 nm。AHA-CDs 含有间距为 0.21 nm 的晶格条纹, 对应石墨的 (101) 晶面, 证实 0.01% AHA 的加入未对 SP-CDs 的形貌结构产生影响。EDS 分析显示, 除了 C 元素外, AHA-CDs 中含有 N、O 元素, 元素映射图表明 C、N 和 O 元素在 AHA-CDs 中分布均匀 (图 1)。

与 SP-CDs 相比, AHA-CDs 的电位下降至 +3.39 mV (图 2), 结果进一步证实了 AHA 与 SP-CDs 的成功接枝以及 AHA-CDs 的成功合成。

通过傅里叶红外光谱仪分析, 观察到 AHA 和 HA 在 $1\ 660\ \text{cm}^{-1}$ 处均显示出吸收峰, 但峰强度有所不同, 这可能归因于 HA 的部分醛基化所致。此外, AHA-CDs 在 $1\ 459\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 635\ \text{cm}^{-1}$ 处出现了新的吸收峰 (图 3), 这些峰可以归因于 C=N 键的伸缩振动, 从而证实了席夫碱键的形成, 进一步验证了 AHA-CDs 的成功合成。

XPS 结果显示, AHA-CDs 中存在 C、O 和 N 元素, 与 EDS 能谱结果一致, 证明 AHA-CDs 的成功合成。高分辨率 C 1s 光谱揭示了 AHA-CDs 中的 C-C ($284.8\ \text{eV}$)、C-N ($286.0\ \text{eV}$) 和 N-C=O ($288.5\ \text{eV}$) 的存在。在 O 1s X 射线光电子能谱中观察到 2 个特征峰, 其结合能分别为 531.8 和 $533.5\ \text{eV}$, 分别归属于 C-O 键和 C=O 键的特征振动。在 $399.9\ \text{eV}$ 处出现的 N 1s 特征峰证实了 AHA-CDs 中吡啶氮结构的存在, 这与 C 1s 光谱的结果相符 (图 4)。这些结果共同证明了 AHA-CDs 的成功合成。

2.2 AHA-CDs 的荧光特性表征

采用紫外-可见分光光度法对 AHA-CDs 进行表征, 在 $360\ \text{nm}$ 波长处观察到特征吸收峰, 这归因于芳香环结构中 C=C 键的 $\pi-\pi^*$ 电子跃迁。AHA-CDs 水溶液在可见光区呈现淡黄色, 当激发波长为 $365\ \text{nm}$ 时, 可观察到明显的蓝色荧光发射。通过对

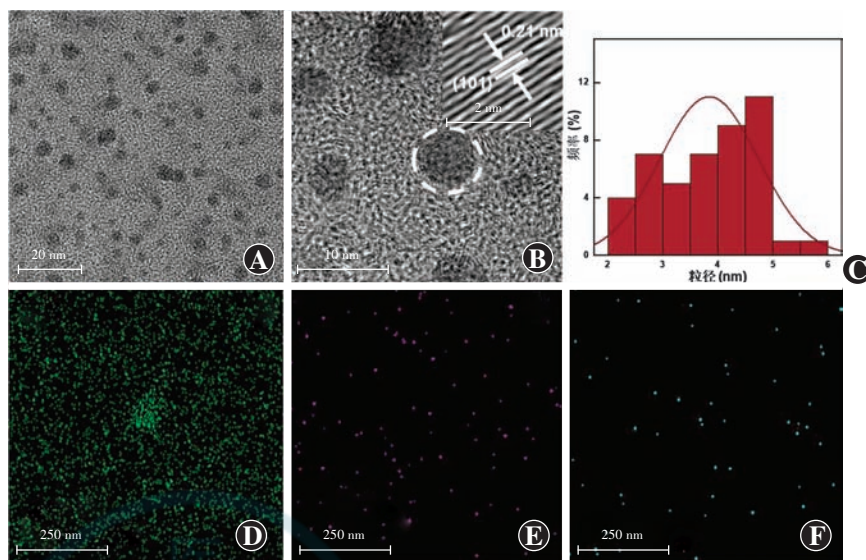


图 1 AHA-CDs 的结构表征 A: AHA-CDs TEM 图像 (标尺 = 20 nm) B: AHA-CDs HR-TEM 晶格条纹图像 (标尺 = 10 nm) C: AHA-CDs 的粒径分布 D: AHA-CDs 中 C 元素能量色散 X 射线能谱图 (标尺 = 250 nm) E: AHA-CDs 中 O 元素能量色散 X 射线能谱图 (标尺 = 250 nm) F: AHA-CDs 中 N 元素能量色散 X 射线能谱图 (标尺 = 250 nm)

Figure 1 Structural characterization of AHA-CDs A: TEM image of AHA-CDs (scale bar = 20 nm) B: HR-TEM lattice stripe image of AHA-CDs (scale bar = 10 nm) C: Particle size distribution of AHA-CDs D: Energy-dispersive X-ray spectroscopy map of C element in AHA-CDs (scale bar = 250 nm) E: Energy-dispersive X-ray spectroscopy map of O element in AHA-CDs (scale bar = 250 nm) F: Energy-dispersive X-ray spectroscopy map of N element in AHA-CDs (scale bar = 250 nm)

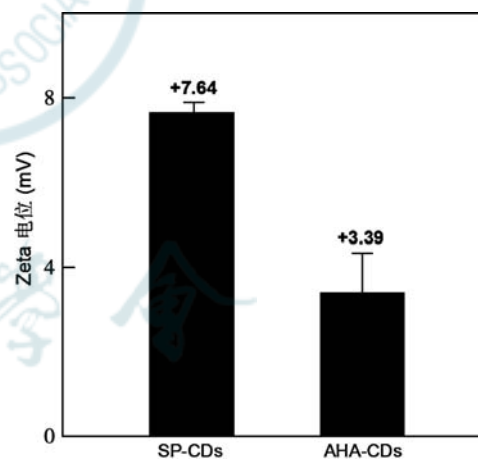


图 2 SP-CDs 和 AHA-CDs 的 Zeta 电位 SP-CDs: 正电荷修饰的小尺寸碳点; AHA-CDs: 醛基化透明质酸修饰的抗菌碳点

Figure 2 Zeta potentials of SP-CDs and AHA-CDs SP-CDs: small positively charged carbon dots; AHA-CDs: aldolyated hyaluronic acid-modified antimicrobial carbon dots

其荧光性能的研究发现, 当激发波长从 $300\ \text{nm}$ 逐渐增至 $400\ \text{nm}$ 时, AHA-CDs 的荧光强度呈现先上升后下降的趋势。荧光光谱分析表明, 当激发波长为 $370\ \text{nm}$ 时, 体系在 $450\ \text{nm}$ 处呈现最大荧光发射强度 (图 5)。据此确定其最佳激发和发射波长分别为 $370\ \text{nm}$ 和 $450\ \text{nm}$, 这一结果与 SP-CDs 的荧光行为一致。

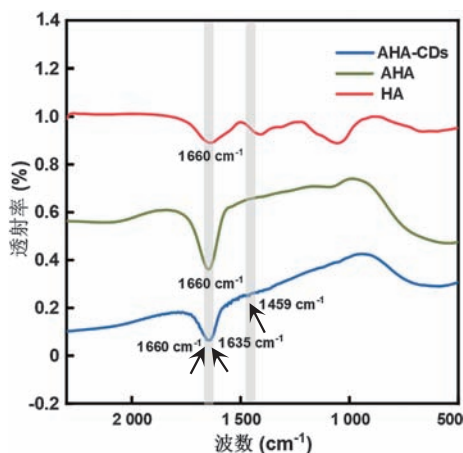


图3 AHA-CDs 红外光谱图 AHA-CDs:醛基化透明质酸修饰的抗菌碳点;AHA:醛基化透明质酸;HA:透明质酸

Figure 3 Fourier transform infrared spectroscopy spectra of AHA-CDs AHA-CDs: aldolylated hyaluronic acid-modified antimicrobial carbon dots;AHA:aldehyde-modified hyaluronic acid;HA:hyaluronic acid

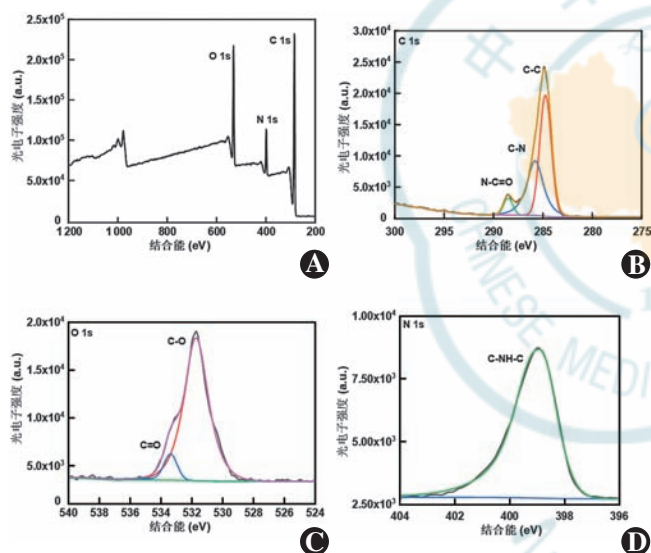


图4 AHA-CDs 的 X 射线光电子能谱 A:全谱 B:C 1s C:O 1s D:N 1s

Figure 4 X-ray photoelectron spectroscopy spectra of AHA-CDs A:Full spectrum B:C 1s C:O 1s D:N 1s

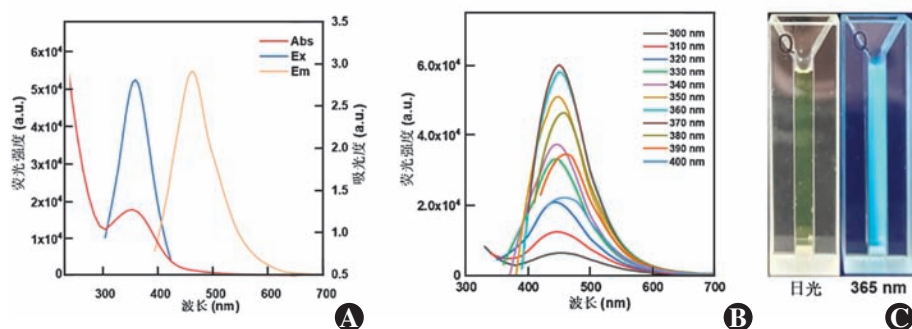


图5 AHA-CDs 的荧光特性表征 A: AHA-CDs 的紫外可见光谱(Abs)、激发光谱(Ex)和发射光谱(Em) B: AHA-CDs 在不同波长激发下的荧光光谱 C: SP-CDs 在日光和手持紫外灯(365 nm)照射的图像

Figure 5 Fluorescence characterization of AHA-CDs A: UV-visible spectra (Abs), excitation spectra (Ex) and emission spectra (Em) of AHA-CDs B: Fluorescence spectra of AHA-CDs at various excitation wavelengths C: Images of SP-CDs irradiated by daylight and hand-held UV lamps (365 nm)

2.3 AHA-CDs 的体外抗菌能力评估

体外抗菌性能检测结果显示,随着 SP-CDs 和 AHA-CDs 浓度的增加,观察到细菌增殖呈现显著的抑制效应(图6)。SP-CDs 和 AHA-CDs 对 *S. aureus* 的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)值约为 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$,在此浓度下,超过 90% 的细菌增殖被抑制。

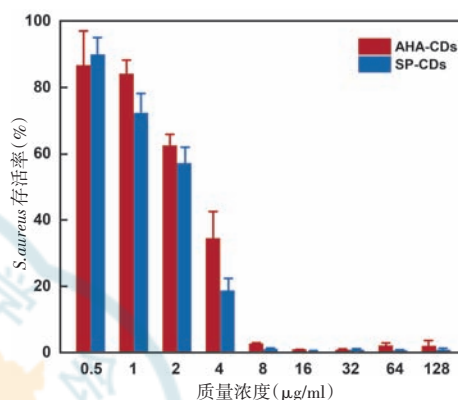


图6 SP-CDs 和 AHA-CDs 对 *S. aureus* 活力的影响 AHA-CDs:醛基化透明质酸修饰的抗菌碳点;SP-CDs:正电荷修饰的小尺寸碳点

Figure 6 Cell viability of *S. aureus* treated with SP-CDs and AHA-CDs AHA-CDs: aldolylated hyaluronic acid-modified antimicrobial carbon dots;SP-CDs:small positively charged carbon dots

细菌生长曲线结果显示,在所有检测浓度下,菌液在最初的 4 h 内 *A* 值基本保持不变,这一阶段为细菌生长的迟缓期,细菌正在适应新的培养环境,繁殖速度慢,代谢活性显著提升,为后续的细胞分裂与增殖奠定基础。5~10 h 时,未处理的细菌进入对数生长期,*A* 值呈线性增长。经 AHA-CDs 和 SP-CDs 处理的细菌生长速度明显放缓。当药物质量浓度大于 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,*A* 值基本保持不变,表明抑菌效果显著增强。12 h 后 AHA-CDs 质量浓度为 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的生长曲线 *A* 值有所增加(图7)。

随着 AHA-CDs 和 SP-CDs 作用时间的延长,细菌菌落数量显著下降。其中, AHA-CDs 和 SP-CDs 处理后 10 min,活菌比例降至 20%;当作用时间达到 120 min 时,琼脂平板上未检测到任何细菌菌落的生长(图8),这表明 2 种药物均具有显著的杀菌效果。

活/死菌荧光染色结果显示,经 AHA-CDs 和 SP-CDs 处理后 4 h,均呈现明显的红色荧光信号(图9)。

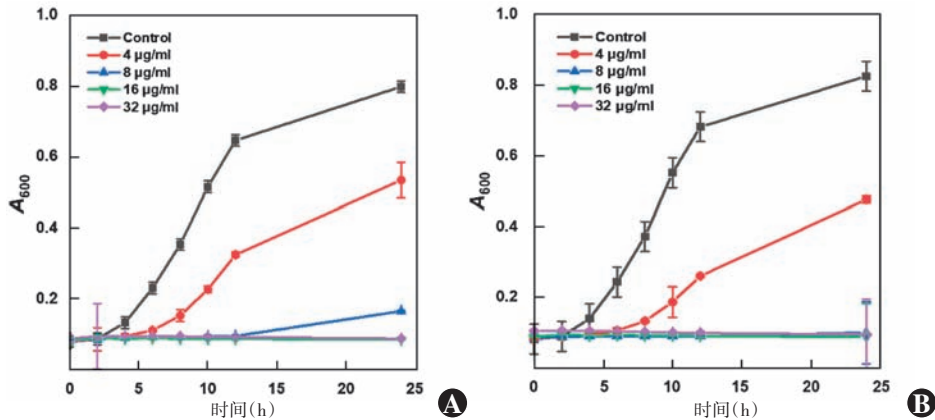


图 7 不同质量浓度作用后 *S. aureus* 的生长曲线 A: AHA-CDs B: SP-CDs A: 吸光度
Figure 7 Growth kinetics of *S. aureus* treated with different concentrations of SP-CDs and AHA-CDs
A: AHA-CDs B: SP-CDs A: absorbance

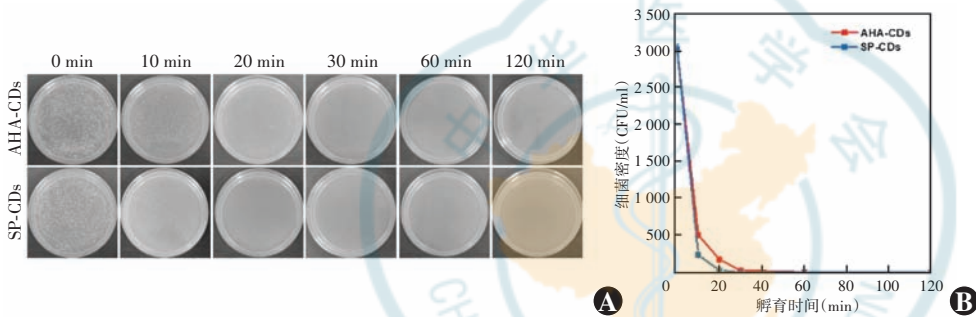


图 8 AHA-CDs 和 SP-CDs 处理 *S. aureus* 不同时间菌落的形成和相应的生长抑制曲线 A: 菌落的形成
B: 生长抑制曲线 AHA-CDs: 醛基化透明质酸修饰的抗菌碳点; SP-CDs: 正电荷修饰的小尺寸碳点
Figure 8 Bacterial colony formation of *S. aureus* treated with AHA-CDs and SP-CDs and the corresponding growth-inhibition curve A: Bacterial colony formation B: Growth-inhibition curve AHA-CDs: aldolylated hyaluronic acid-modified antimicrobial carbon dots; SP-CDs: small positively charged carbon dots

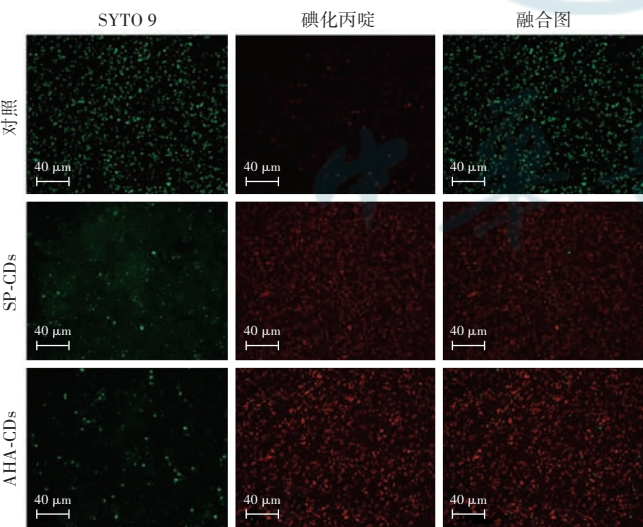


图 9 AHA-CDs 与 SP-CDs 作用 *S. aureus* 的活/死菌荧光染色图像 ($\times 200$, 标尺 = 40 μm) AHA-CDs 和 SP-CDs 处理后 4 h 均呈现明显的红色荧光信号 SP-CDs: 正电荷修饰的小尺寸碳点; AHA-CDs: 醛基化透明质酸修饰的抗菌碳点
Figure 9 Fluorescent live/dead assay images of *S. aureus* treated with AHA-CDs and SP-CDs ($\times 200$, scale bar = 40 μm) Both AHA-CDs and SP-CDs showed obvious red fluorescent signals after 4-hour treatment SP-CDs: small positively charged carbon dots; AHA-CDs: aldolylated hyaluronic acid-modified antimicrobial carbon dots

2.4 AHA-CDs 滴眼液体内抗菌效果评估

造模后第 0 天,所有小鼠均出现角膜上皮缺损和轻度混浊,各组之间感染情况均一。随后,空白对照组小鼠病情逐渐加重,感染区域从局部扩展到整个角膜,伴随着角膜水肿和角膜重度混浊,最终发展为角膜穿孔和眼内炎。相较于空白对照组, AHA-CDs 治疗组和妥布霉素治疗组均表现出显著的抗菌效果,其中 AHA-CDs 治疗组效果更优。造模后第 5 天 AHA-CDs 治疗组小鼠角膜透明度显著改善,上皮组织基本完成修复。妥布霉素治疗组仍存在上皮修复不完全及角膜轻度水肿现象(图 10)。

2.5 AHA-CDs 滴眼液眼部组织安全性评估

与正常对照组相比, AHA-CDs 组小鼠角膜、虹膜、视网膜和晶状体均未见结构异常或完整性改变(图 11)。

3 讨论

BK 是一种严重的眼部感染,能够快速导致角膜损伤和角膜盲。该病可由多种细菌引起,其中以 *S. aureus* 和铜绿假单胞菌较为常见^[17-18]。BK 发病机制复杂,涉及上皮损伤、细菌感染和宿主免疫反应多个方面。眼外伤、长期配戴角膜接触镜以及干眼、结膜炎等眼表疾病均能导致角膜上皮损伤,增加感染风险^[19-21]。病原菌在角膜表面定植,通过释放毒素或形成生物膜引发感染,损伤宿主细胞,破坏角膜组织,引发炎症反应。感染后,宿主的免疫系统会对细菌及其产生的毒素作出反应,中性粒细胞和巨噬细胞等炎症细胞被招募至感染部位,释放细胞因子和炎症介质来杀死细菌,同时这也会角膜组织造成不可逆的损害,新生血管和瘢痕导致角膜透光性降低^[22]。BK 若未能获得及时有效的临床干预,将可能引发角膜瘢痕形成、感染扩散,甚至视力丧失。在病情严重的情况下,

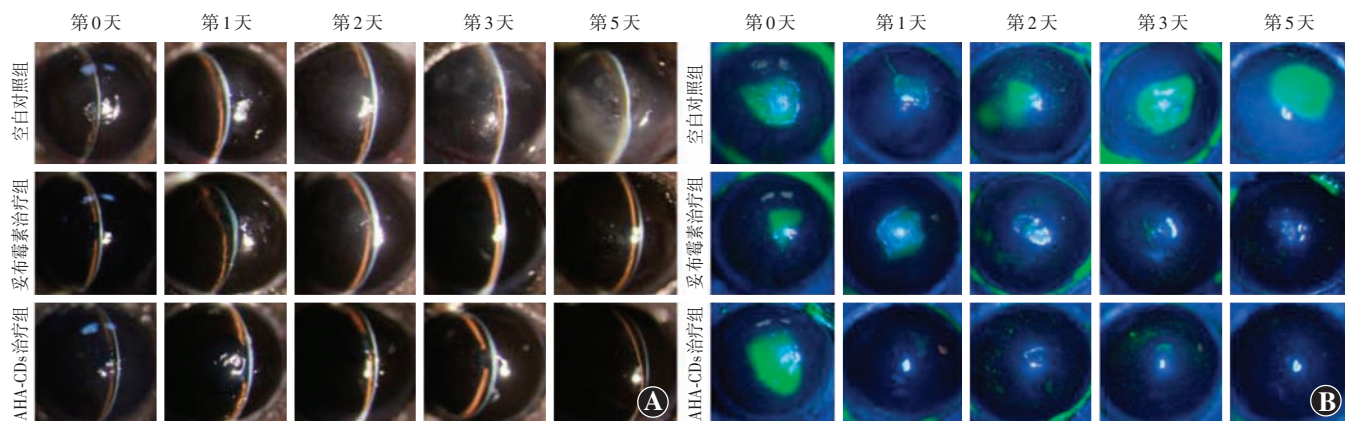


图 10 各组 BK 小鼠的代表性角膜照片 A: 裂隙灯显微镜图像 B: 荧光素钠染色图像 AHA-CDs: 醛基化透明质酸修饰的抗菌碳点

Figure 10 Representative corneal photographs of BK mice A: Slit-lamp microscopy images B: Fluorescein sodium staining images AHA-CDs: aldehydylated hyaluronic acid-modified antimicrobial carbon dots

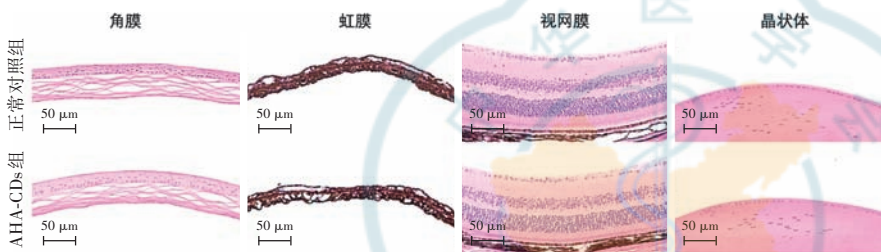


图 11 各组小鼠眼部组织结构变化 (HE $\times 400$, 标尺 = 50 μm) 与正常对照组相比, AHA-CDs 组小鼠角膜、虹膜、视网膜和晶状体未见结构异常或完整性改变 AHA-CDs: 醛基化透明质酸修饰的抗菌碳点

Figure 11 Changes of ocular tissue structure of mice in each group (HE $\times 400$, scale bar = 50 μm) Compared with the normal control group, no structural abnormalities or integrity changes were observed in the cornea, iris, retina and lens of the AHA-CDs group mice AHA-CDs: aldehydylated hyaluronic acid-modified antimicrobial carbon dots

可能进展为角膜穿孔,甚至眼内炎,最终需要实施眼球摘除手术。同时,由于抗生素的长期广泛使用促进了耐药菌株的进化,使得常规抗生素滴眼液的治疗效果明显下降。

CDs 是一种直径在数纳米范围内的碳基纳米材料,具有生物相容性优良、制备工艺简单以及几乎不诱导细菌耐药性的特性,成为抗菌剂研究的热点^[23-24]。据报道,亚精胺合成超阳离子 CDs 可以打开角膜上皮细胞紧密连接,对非多重耐药大肠杆菌、*S. aureus*、铜绿假单胞菌具有良好的抑菌活性,其小尺寸和高正电荷可对细菌膜造成严重破坏^[25]。此外,精氨酸衍生的 CDs 和聚合姜黄素制备的碳纳米复合材料具有抗菌、抗氧化、抗炎、促增殖特性,并能在角膜上长期保留,可以有效治疗铜绿假单胞菌引起的 BK^[26]。来自生物胺的高黏附性 CDs 还可以抑制 *S. aureus* 生物膜的形成^[27]。最近的研究显示,CDs 与光疗法的结合可以进一步提高治疗效果。这种方法利用 CDs 在近红外光照射下产生热量,从而杀死细菌^[28-30]。

在前期工作中,本课题组已系统性验证了 SP-CDs 对真菌性角膜炎的干预效果^[13]。为了进一步解决抗菌药物在眼表滞留时间短、生物利用度低以及高毒性的局限性,本课题组以具有优异抗真菌性能和高渗透性的 SP-CDs 为基础,通过修饰成功引入 AHA,制备出 AHA-CDs 滴眼液。AHA 的引入采用微量接枝策略,其添加量严格控制在体系总质量的 0.01%。AHA 分子通过动态亚胺键与 CDs 表面氨基结合,该

可逆键合方式能有效维持 CDs 的固有结构稳定,通过对比接枝前后 CDs 的 TEM 图片、XPS 谱图、紫外-可见光谱特征峰证实 AHA 修饰未引起 CDs 的显著聚集或结构改变,AHA 的接枝前后 CDs 在体系中的比例基本保持不变。通过红外光谱、表面电位和 XPS 等表征手段,证明了目标材料的成功制备。体外 MIC 测定结果表明,不同浓度 SP-CDs 和 AHA-CDs 与 *S. aureus* 孵育后 12 h, 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 质量浓度下,超过 90% 的细菌增殖被抑制,这表明 SP-CDs 和 AHA-CDs 具有良好的抗菌活性,与 AHA-CDs 相比,SP-CDs 表现出更显著的抗菌活性,这种差异可能源于 AHA 与 SP-CDs 形成的动态席夫碱键,但这并不会显著影响 AHA-CDs 的抗菌性能。值得注意的是,此浓度下细菌仍有一定的存活率,表明了活菌的存在。本研究进一步检测了 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ AHA-CDs 与 *S. aureus* 孵育不同时间对细菌生长曲线的影响,结果显示 12 h 后生长曲线 A 值有所增加,这表明在该质量浓度下仍存在活菌菌落,随着培养时间的延长,存活的菌落可能会继续增殖,造成 A 值增加。

平板实验结果表明, AHA-CDs 作用后仅 10 min 可以灭活 80% 的细菌, AHA-CDs 能够在极短时间内高效灭活细菌, 并在较长时间内保持杀菌效果, 从而有效抑制耐药菌的产生。活/死菌荧光染色结果证实了 SP-CDs 和 AHA-CDs 能够通过破坏细菌细胞膜结构导致细胞死亡, 进一步验证了其显著的体外抗菌活性。体内研究结果显示, AHA-CDs 治疗组在治疗过程中显示出比妥布霉素更显著的治疗效果, 症状明显较轻且疾病持续时间明显缩短, 这表明 AHA-CDs 滴眼液在 BK 的治疗中具有潜在优势, 能够有效干预病情发展。安全性评估实验数据证实, AHA-CDs 具有良好的生物相容性, 未观察到明显的刺激性和组织毒性反应, 这为其在临床治疗中的应用提供了重要的安全性依据。

关于本研究中药物浓度选择, 基于 MIC 并非杀菌浓度, 在实际应用时用药浓度一般是 MIC 的 5~10 倍^[6]。因此, 在用平板计数法及活死菌染色评估 AHA-CDs 与 SP-CDs 的体外杀菌效果时, 本研究采用了 MIC 的 5 倍, 即 40 $\mu\text{g/ml}$ 。在采用 BK 小鼠模型验证 AHA-CDs 的体内抗菌效果时, 考虑到泪液不断的冲刷作用, 会严重阻碍药物的利用和疗效, 导致药物生物利用度偏低^[9,16], 故体内浓度选用了体外 MIC 的 10 倍, 即 80 $\mu\text{g/ml}$ 。

CDs 的抗菌作用机制可能与物理损伤、氧化应激和代谢抑制有关^[31]。CDs 的两亲性结构赋予其独特的抗菌作用机制, 其表面阳离子及极性基团能够通过静电吸引与革兰阴性菌外膜的磷酸脂多糖等带负电组分产生稳定结合^[32], 同时疏水空腔可通过疏水相互作用嵌入真核细胞膜磷脂双分子层。这种双模态作用可有效破坏膜结构的完整性, 导致细胞内容物外泄, 从而抑制细菌生长^[25]。研究表明, 聚集于细菌膜表面的 CDs 能够通过其类酶活性诱导氧化应激反应, 促进活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 的过量生成。这些 ROS 可对细菌的 DNA、蛋白质和脂质等生物大分子造成损伤, 最终导致细胞死亡^[5,33]。同时, ROS 的产生还能够有效破坏细菌生物膜结构, 从而增强细菌对抗生素的敏感性。

细菌的存活与繁殖依赖于其内部信号通路的正常运作及遗传物质的完整性, 而 CDs 能够通过干扰基因表达、阻碍蛋白质合成、诱导 DNA 损伤等方式破坏细菌代谢过程, 最终引发细菌死亡^[34-35]。与抗生素不同, CDs 具有多重抗菌机制。本研究表明, AHA-CDs 展现出显著的抗菌活性, 但其具体作用途径仍需深入探索以阐明完整的分子机制。

本研究构建了一种基于碳基纳米材料的新型非抗

生素抗菌平台。通过引入 AHA 构建动态亚胺键网络结构, 有效增强了制剂的黏膜黏附特性, 延长了纳米材料在眼表组织的滞留时间, 同时提高了其生物利用效率。这种修饰策略显著提升了材料对 BK 的干预效果, 且大大减少给药频次, 因此有利于提高患者的依从性。当前研究仍存在一定局限性, 如该 CDs 体系虽能穿透眼部屏障, 但其递送效率和靶向性仍需优化。未来可设计兼具抗炎、生物相容性及促修复功能的多功能纳米 CDs 体系, 以更全面地满足眼部治疗需求。如何通过结构优化和功能整合实现临床应用转化, 仍是后续研究的重要方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 储丹丹: 参与选题与研究设计、实施研究、收集数据、资料分析和解释、论文撰写及修改; 陈会营: 参与选题与研究设计、收集数据、资料分析和解释; 李竞帆、王梦珂: 参与研究设计、资料分析和解释; 栗占荣、李景果: 参与选题与研究设计、论文修改及定稿

参考文献

- [1] Huang H, Xie Y, Zhong J, et al. Antimicrobial peptides loaded collagen nanosheets with enhanced antibacterial activity, corneal wound healing and M1 macrophage polarization in bacterial keratitis [J/OL]. *Compos Part B-Eng*, 2024, 275 : 111283 [2025 - 02 - 10]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359836824000945>. DOI: 10.1016/j.compositesb.2024.111283.
- [2] Austin A, Lietman T, Rose-Nussbaumer J. Update on the management of infectious keratitis [J]. *Ophthalmology*, 2017, 124 (11) : 1678-1689. DOI: 10.1016/j.ophtha.2017.05.012.
- [3] Li P, Kang J, Wu X, et al. Mild phototherapy strategies for efficient treatment of bacterial keratitis while avoiding side effects [J/OL]. *Nano Today*, 2024, 57 : 102336 [2025 - 02 - 10]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1748013224001919>. DOI: 10.1016/j.nantod.2024.102336.
- [4] 王军. 细菌性角膜炎药物治疗研究进展 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2015, 24 (18) : 2049-2052. DOI: 10.3969/j.issn.1008-8849.2015.18.044.
- [5] Zhou L, Deng Y, Ren Y, et al. Antibiotics-free nanomaterials against bacterial keratitis: eliminating infections with reactive oxygen species (ROS) [J/OL]. *Chem Eng J*, 2024, 482 : 148978 [2025 - 02 - 10]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894724004637>. DOI: 10.1016/j.cej.2024.148978.
- [6] Geng X, Zhang N, Li Z, et al. Iron-doped nanozymes with spontaneous peroxidase-mimic activity as a promising antibacterial therapy for bacterial keratitis [J/OL]. *Smart Med*, 2024, 3 (2) : e20240004 [2025 - 02 - 10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39188699/>. DOI: 10.1002/SMMD.20240004.
- [7] 胡卫萍, 徐永根, 倪利洋, 等. 细菌性角膜炎 951 例病原学及药物敏感性分析 [J]. *眼科新进展*, 2019, 39 (10) : 976-979. DOI: 10.13389/j.cnki.rao.2019.0223.
Hu WP, Xu YG, Ni LY, et al. Pathogenicity and drug sensitivity analysis of 951 patients of bacterial keratitis [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2019, 39 (10) : 976-979. DOI: 10.13389/j.cnki.rao.2019.0223.
- [8] Tuft S, Somerville TF, Li JO, et al. Bacterial keratitis: identifying the areas of clinical uncertainty [J/OL]. *Prog Retin Eye Res*, 2022, 89 : 101031 [2025 - 02 - 10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34915112/>. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2021.101031.
- [9] Cheng B, Cui H, Zhang N, et al. Antibiotic-free self-assembled polypeptide nanomicelles for bacterial keratitis [J]. *ACS Appl Polym*



- Mater, 2022, 4(10): 7250–7257. DOI: 10. 1021/acsapm. 2c01099.
- [10] 原越, 张少斌, 刘玉强, 等. 离子导入角膜胶原交联术治疗兔眼金黄色葡萄球菌性角膜炎[J]. 中华实验眼科杂志, 2014, 32(7): 607–612. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2014. 07. 007.
- Yuan Y, Zhang SB, Liu YQ, et al. Experimental study of iontophoresis-mediated corneal collagen crosslinking for rabbit *Staphylococcus aureus* keratitis[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2014, 32(7): 607–612. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2014. 07. 007.
- [11] Li S, Li L, Tu H, et al. The development of carbon dots: from the perspective of materials chemistry[J]. Mater Today, 2021, 51: 188–207. DOI: 10. 1016/j. mattod. 2021. 07. 028.
- [12] Liu H, Zhong X, Pan Q, et al. A review of carbon dots in synthesis strategy[J/OL]. Coordin Chem Rev, 2024, 498: 215468[2025-02-10]. <https://www. sciencedirect. com/science/article/abs/pii/S0010854523004575>. DOI: 10. 1016/j. ccr. 2023. 215468.
- [13] Chen H, Geng X, Ning Q, et al. Biophilic positive carbon dot exerts antifungal activity and augments corneal permeation for fungal keratitis[J]. Nano Lett, 2024, 24(13): 4044–4053. DOI: 10. 1021/acs.nanolett. 4c01042.
- [14] Zhang X, Wei D, Xu Y, et al. Hyaluronic acid in ocular drug delivery[J/OL]. Carbohydr Polym, 2021, 264: 118006[2025-02-10]. <https://pubmed. ncbi..nlm.nih.gov/33910737/>. DOI: 10. 1016/j. carbpol. 2021. 118006.
- [15] Passi A, Vigetti D. Hyaluronan as tunable drug delivery system[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2019, 146: 83–96. DOI: 10. 1016/j. addr. 2019. 08. 006.
- [16] Chu D, Zhao M, Rong S, et al. Dual-atom nanozyme eye drops attenuate inflammation and break the vicious cycle in dry eye disease[J/OL]. Nanomicro Lett, 2024, 16(1): 120[2025-02-11]. <https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/38372846/>. DOI: 10. 1007/s40820-024-01322-7.
- [17] Cabrera-Aguas M, Khoo P, Watson SL. Infectious keratitis: a review[J]. Clin Exp Ophthalmol, 2022, 50(5): 543–562. DOI: 10. 1111/ceo. 14113.
- [18] 黄旭, 吴国栋, 汤宪辉. 细菌性角膜炎的病原菌分布与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(14): 3184–3185, 3237. DOI: 10. 11816/cn. ni. 2015-142089.
- Huang X, Wu GD, Tang XH. Distribution and drug resistance of pathogens causing bacterial keratitis[J]. Chin J Nosocomiol, 2015, 25(14): 3184–3185, 3237. DOI: 10. 11816/cn. ni. 2015-142089.
- [19] Ting D, Ho CS, Deshmukh R, et al. Infectious keratitis: an update on epidemiology, causative microorganisms, risk factors, and antimicrobial resistance[J]. Eye (Lond), 2021, 35(4): 1084–1101. DOI: 10. 1038/s41433-020-01339-3.
- [20] 李海燕, 李德厚, 程兴东, 等. 细菌性角膜炎病原学特征及危险因素[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(21): 3331–3335. DOI: 10. 11816/cn. ni. 2020-192426.
- Li HY, Li DH, Cheng XD, et al. Etiological characteristics and risk factors for bacterial keratitis[J]. Chin J Nosocomiol, 2020, 30(21): 3331–3335. DOI: 10. 11816/cn. ni. 2020-192426.
- [21] 颜瑜琳, 杨燕宁, 万珊珊. 角膜接触镜相关细菌性角膜炎的研究进展[J]. 国际眼科杂志, 2023, 23(6): 923–927. DOI: 10. 3980/j. issn. 1672-5123. 2023. 6. 08.
- Yan YL, Yang YN, Wan SS. Research advances in contact lens associated bacterial keratitis[J]. Int Eye Sci, 2023, 23(6): 923–927. DOI: 10. 3980/j. issn. 1672-5123. 2023. 6. 08.
- [22] 陈柳, 邱敏, 代解杰. 病原体感染角膜炎机制及动物模型研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(4): 137–144. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-7856. 2022. 04. 020.
- Chen L, Qiu M, Dai JJ. Research progress on the mechanism and animal models of keratitis caused by pathogen infection[J]. Chin J Comparat Med, 2022, 32(4): 137–144. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-7856. 2022. 04. 020.
- [23] Chen H, Luo K, Xie C, et al. Nanotechnology of carbon dots with their hybrids for biomedical applications: a review[J/OL]. Chem Eng J, 2024, 496: 153915[2025-02-11]. <https://www. sciencedirect. com/science/article/abs/pii/S1385894724054044>. DOI: 10. 1016/j. cej. 2024. 153915.
- [24] Song W, Wang X, Nong S, et al. D-cysteine-derived carbon dots for selective discrimination, imaging, and synergistic elimination of gram-positive bacteria and fungi[J/OL]. Adv Funct Mater, 2024, 34(38): 2402761[2025-02-11]. <https://advanced. onlinelibrary. wiley. com/doi/10. 1002/adfm. 202402761>. DOI: 10. 1002/adfm. 2024 02761.
- [25] Jian HJ, Wu RS, Lin TY, et al. Super-cationic carbon quantum dots synthesized from spermidine as an eye drop formulation for topical treatment of bacterial keratitis[J]. ACS Nano, 2017, 11(7): 6703–6716. DOI: 10. 1021/acsnano. 7b01023.
- [26] Jian HJ, Anand A, Lai JY, et al. In situ hybridization of polymeric curcumin to arginine-derived carbon quantum dots for synergistic treatment of bacterial infections[J/OL]. ACS Appl Mater Interfaces, 2023, 15(22): 26457–26471[2025-02-11]. <https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/37246350/>. DOI: 10. 1021/acsami. 3c04316.
- [27] Jian H, Yu J, Li Y, et al. Highly adhesive carbon quantum dots from biogenic amines for prevention of biofilm formation[J/OL]. Chem Eng J, 2020, 386: 123913[2025-02-11]. <https://www. sci-hub. ru/10. 1016/j. cej. 2019. 123913>. DOI: 10. 1016/j. cej. 2019. 123913.
- [28] Wang S, McCoy CP, Li P, et al. Carbon dots in photodynamic/photothermal antimicrobial therapy[J/OL]. Nanomaterials (Basel), 2024, 14(15): 1250[2025-02-12]. <https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/39120355/>. DOI: 10. 3390/nano14151250.
- [29] Wang W, Xu W, Zhang J, et al. One-stop integrated nanoagent for bacterial biofilm eradication and wound disinfection[J]. ACS Nano, 2024, 18(5): 4089–4103. DOI: 10. 1021/acsnano. 3c08054.
- [30] Sun L, Zhao Y, Peng H, et al. Carbon dots as a novel photosensitizer for photodynamic therapy of cancer and bacterial infectious diseases: recent advances[J/OL]. J Nanobiotechnology, 2024, 22(1): 210[2025-02-12]. <https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/38671474/>. DOI: 10. 1186/s12951-024-02479-4.
- [31] Zhao WB, Liu KK, Wang Y, et al. Antibacterial carbon dots: mechanisms, design, and applications[J/OL]. Adv Healthc Mater, 2023, 12(23): e2300324[2025-02-13]. <https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/37178318/>. DOI: 10. 1002/adhm. 202300324.
- [32] Fang Y, Zhuo L, Yuan H, et al. Construction of graphene quantum dot-based dissolving microneedle patches for the treatment of bacterial keratitis[J/OL]. Int J Pharm, 2023, 639: 122945[2025-02-13]. <https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/37044225/>. DOI: 10. 1016/j. ijpharm. 2023. 122945.
- [33] He L, Li Z, Gu M, et al. Intelligent carbon dots with switchable photo-activated oxidase-mimicking activity and pH responsive antioxidant activity adaptive to the wound microenvironment for selective antibacterial therapy[J/OL]. Adv Sci (Weinh), 2024, 11(40): e2406681[2025-02-13]. <https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/39225540/>. DOI: 10. 1002/advs. 202406681.
- [34] Li J, Zhou Z, Liu X, et al. Material-herbology: an effective and safe strategy to eradicate lethal viral-bacterial pneumonia[J]. Matter, 2021, 4: 3030–3048. DOI: 10. 1016/j. matt. 2021. 07. 001.
- [35] Zhao C, Wu L, Wang X, et al. Quaternary ammonium carbon quantum dots as an antimicrobial agent against gram-positive bacteria for the treatment of MRSA-infected pneumonia in mice[J]. Carbon, 2020, 163: 70–84. DOI: 10. 1016/j. carbon. 2020. 03. 009.

(收稿日期: 2025-03-27 修回日期: 2025-06-26)

(本文编辑: 刘艳 施晓萌)

